

研究报告

## 异育银鲫源杀鲑气单胞菌杀鲑亚种的分离鉴定

王亚冰<sup>1,2</sup> 梁利国<sup>1\*</sup> 高金伟<sup>1,3</sup> 习丙文<sup>1</sup> 谢骏<sup>1\*</sup>

(1. 中国水产科学研究院淡水渔业研究中心 农业部淡水渔业和种质资源利用重点实验室 江苏 无锡 214081)

(2. 南京农业大学无锡渔业学院 江苏 无锡 214081)

(3. 上海海洋大学水产与生命学院 上海 201306)

**摘要:**【目的】分离鉴定江苏省扬州市养殖场异育银鲫患病病原。【方法】采用常规的理化特性和分子生物学的方法,对从濒死异育银鲫肝脏处分离到的菌株 YZ-1 进行表型生物学、分子生物学及药敏试验的系统研究。【结果】该菌株 16S rRNA 基因(序列长度 1 446 bp, GenBank 登录号为 JX164202)与其它杀鲑气单胞菌 16S rRNA 基因一致性在 99%–100%之间,构建发育树确定该菌株为杀鲑气单胞菌杀鲑亚种(*Aeromonas salmonicida* subsp. *salmonicida*)。人工回感可导致异育银鲫死亡。药敏试验结果显示:对头孢呋辛、复方新诺明、恩诺沙星等 23 种抗生素敏感;对阿米卡星、四环素、大观霉素、头孢拉定等 11 种抗生素中度敏感;对青霉素 G、链霉素、庆大霉素、氟苯尼考、万古霉素等 10 种抗生素耐药。【结论】研究结果证实引起异育银鲫死亡的病原为杀鲑气单胞菌杀鲑亚种。

**关键词:** 异育银鲫(*Carassius auratus gibelio*), 杀鲑气单胞菌杀鲑亚种(*Aeromonas salmonicida* subsp. *salmonicida*), 16S rRNA 基因, 药敏试验

## Identification of *Aeromonas salmonicida* subsp. *salmonicida* isolated from *Carassius auratus gibelio*

WANG Ya-Bing<sup>1,2</sup> LIANG Li-Guo<sup>1\*</sup> GAO Jin-Wei<sup>1,3</sup> XI Bing-Wen<sup>1</sup> XIE Jun<sup>1\*</sup>

(1. Key Laboratory of Freshwater Fisheries and Germplasm Resources Utilization, Ministry of Agriculture, Freshwater Fisheries Research Center, Chinese Academy of Fishery Sciences, Wuxi, Jiangsu 214081, China)

(2. Wuxi Fisheries College, Nanjing Agricultural University, Wuxi, Jiangsu 214081, China)

(3. College of Fisheries and Life Science, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China)

**Abstract:** [Objective] A continuous high mortality of *Carassius auratus gibelio* occurred in a farm of Yangzhou area in Jiangsu Province. [Methods] A purely cultured strain (YZ-1) isolated from liver of

**Foundation item:** The Modern Agriculture Industrial Technology System Special Project-the National Staple Freshwater Fish Industrial Technology System (No. CARS-46-10); Aquaculture project in Jiangsu Province (No. D2015-13)

\*Corresponding author: Tel: 86-510-85556566

E-mail: LIANG Li-Guo: lianglg@zju.edu.cn; XIE Jun: heplic@hotmail.com

Received: July 26, 2015; Accepted: October 30, 2015; Published online (www.cnki.net): November 06, 2015

基金项目: 现代农业产业技术体系建设专项(No. CARS-46-10); 江苏省水产三新工程(No. D2015-13)

\*通讯作者: Tel: 86-510-85556566

E-mail: 梁利国: lianglg@zju.edu.cn; 谢骏: heplic@hotmail.com

收稿日期: 2015-07-26; 接受日期: 2015-10-30; 优先数字出版日期(www.cnki.net): 2015-11-06

sick *Carassius auratus gibelio*, and its main morphological physiological and biochemical characteristics were examined. **[Results]** For further confirmation on molecular level, 16S rRNA gene was sequenced; and the accession number in GenBank is JX164202 in length of 1 446 bp. Sequences analysis on the 16S rRNA gene shows that it is very similar to other *Aeromonas salmonicida*, and their nucleotide homology was between 99% to 100%. Its phylogenetic tree showed that the pathogen isolated from the diseased *C. auratus gibelio* was identified as *Aeromonas salmonicida* subsp. *salmonicida* isolate. The challenge test using YZ-1 displayed that the prevalence of symptoms and spontaneous onset symptoms were the same. The antibiotic sensitivity using 44 antimicrobial agents showed that the isolate was sensitive to 23 agents, including cefuroxime, cotrimoxazole, enrofloxacin, and cephadrine; sensitive slightly to 11 agents, including amikacin, tetracycline, norfloxacin, spectinomycin, and cefradine; and resistant to 10 agents, including peillin G, streptomycin, gentamicin, florfenicol, and vancomycin. **[Conclusion]** The death of *Carassius auratus gibelio* is caused by *Aeromonas salmonicida* subsp. *salmonicida*.

**Keywords:** *Carassius auratus gibelio*, *Aeromonas salmonicida* subsp. *salmonicida*, 16S rRNA gene, Drug sensitivity test

异育银鲫是我国重要的大宗淡水养殖鱼类之一。异育银鲫生长快、肉质鲜美已在全国多个省市大规模推广养殖<sup>[1]</sup>。但近年来,在异育银鲫的养殖中其连续发病率在 70%以上,且死亡率高达 80%<sup>[2]</sup>。对于细菌性疾病的研究报道,最早见于孙其焕等<sup>[3]</sup>对异育银鲫溶血性腹水病病原的研究,鉴定为苏伯利气单胞菌和嗜水气单胞菌。王春燕<sup>[4]</sup>也在患病异育银鲫体内分离到具有强致病性气单胞菌。江苏省扬州市是我国异育银鲫密集养殖区域之一,随着养殖规模的增加和机械化集约程度的提高也滋生了一些问题,导致了异育银鲫病害的日趋严重<sup>[5-7]</sup>。

2014 年 3 月江苏省扬州市某养殖场的异育银鲫暴发死亡,症状表现为:病鱼口腔、鳃盖边缘、鳍条基部及鱼体尾柄处充血,眼球凸出,部分病鱼背鳍及尾鳍末梢鳍条呈蛀蚀状开裂,个别病鱼有竖鳞现象。解剖可见肠道无食物,腹腔内有淡黄色积液,肝脏发白。为查明该病病因,经过细菌性病原的分离和鉴定,从患病鱼的肝脏分离到大量优势生长的细菌,经细菌学鉴定,判定该菌为气单胞菌属的杀鲑气单胞菌杀鲑亚种(*Aeromonas salmonicida* subsp. *salmonicida*)。有关异育银鲫源杀鲑气单胞菌的相关研究国内外鲜有报道。本研究旨在对分离自患病异育银鲫的杀鲑气单胞菌杀鲑亚种的生理生化特性、分子学特性以及其耐药性进行研究,以期为该菌的

种类鉴定、用药等方面提供依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 主要试剂及仪器

TSA 营养琼脂、营养肉汤、药敏纸片,杭州滨和微生物试剂有限公司;DNA 提取试剂盒,生工生物工程(上海)股份有限公司;冷冻离心机、PCR 仪,德国 Eppendorf 公司。

### 1.2 细菌分离及纯化

濒死异育银鲫在无菌操作下取新鲜肝脏断面接种于 TSA 平板培养基,28 °C 培养 24 h 后观察。挑取菌落形态一致的细菌在 TSA 平板培养基纯化,直至获得单菌落,再次纯化选取 4 株保存于 TSA 斜面备用,记为 YZ-1。

### 1.3 人工感染试验

将分离的菌株 YZ-1 移接于普通营养肉汤<sup>[8]</sup>里,28 °C 培养 24 h 后,制成  $2 \times 10^8$ 、 $2 \times 10^7$ 、 $2 \times 10^6$ 、 $2 \times 10^5$ 、 $2 \times 10^4$  CFU/mL 的菌悬液。将暂养 1 周的健康异育银鲫(体重  $100 \pm 5$  g)随机分组,每组 10 尾(腹腔注射 0.5 mL/尾);对照组注射 0.5 mL 无菌营养肉汤。接种后均隔离充气饲养于水族箱里,每天换水一次(换水量为 1/3),早、中、晚各投喂一次。观察并记录发病及死亡情况,死亡的试验鱼按照 1.2 的方法进行细菌的分离。试验期间水温维持在 10–13 °C。

## 1.4 菌种鉴定

**1.4.1 生理生化特性鉴定:** 将菌株 YZ-1 分别穿刺接种于细菌鉴定的相应的微量反应管,进行糖(醇和苷)类代谢、有机盐利用、硫化氢产生、硝酸盐产气、氨基酸脱羧酶、葡萄糖产气等试验,参考《常见细菌系统鉴定手册》<sup>[9]</sup>、《伯杰氏系统细菌学手册》<sup>[10]</sup>第 9 版(修订版)对菌株进行系统的生理生化特性测定。

**1.4.2 16S rRNA 基因序列测定和系统发育学分析:** 将菌株 YZ-1 于 28 °C 肉汤培养基中培养 24 h 后,12 000 r/min 离心 1 min 收集菌体,按照细菌基因组 DNA 提取试剂盒提取基因组 DNA,作为 PCR 模板,-20 °C 保存备用。

按照夏飞等<sup>[11]</sup>所述方法对分离菌进行 16S rRNA 基因扩增。取 3 μL 产物在含 Goldview 染色剂的 1%琼脂糖凝胶上电泳,电泳结束后将胶放入凝胶成像系统,拍照观察结果。PCR 扩增产物交由生工生物工程(上海)股份有限公司进行序列测定。

将菌株 YZ-1 的 16S rRNA 基因序列与 GenBank 中已知核酸序列进行 BLAST 分析,使用 ClustalX 2.0 软件与从 GenBank 数据库中获得的相似性较高的菌株序列进行多序列匹配排列,之后使用 MEGA 5.1 软件采用邻接法(Neighbor-Joining, NJ)构建系统进化树,并通过 Bootstrap 法(1 000 次重复)检验。

## 1.5 药敏试验

药敏试验采 Kirby-Bauer (K-B)纸片法进行,菌

液浓度为  $1 \times 10^7$  CFU/mL,在无菌条件下进行操作,以抑菌圈直径大小作为敏感与耐药的判定指标<sup>[12]</sup>。

## 2 结果与分析

### 2.1 人工感染试验

健康异育银鲫在人工感染分离菌株后,不同的试验组出现程度不一的死亡情况,具体见表 1。症状与自然发病的异育银鲫基本一致,经复核鉴定与所用的感染菌相一致。浓度为  $2 \times 10^4$  CFU/mL 的试验组观察 14 d 未见发病,对照组观察 14 d 均正常存活。

### 2.2 生理生化结果

生理生化特性结果显示,分离菌株 YZ-1 能利用葡萄糖、麦芽糖、甘露醇、甘露糖、蔗糖、半乳糖、草糖、棉籽糖、果糖、蜜二糖、纤维二糖,其他糖醇类不利用;不利用苯丙氨酸,可利用鸟氨酸、赖氨酸以及精氨酸;硝酸盐还原不产气;葡萄糖产酸不产气;能在丙二盐酸、枸橼酸盐、醋酸盐中生长。属发酵型细菌。具体见表 2。

### 2.3 16S rRNA 基因序列测定及分析

菌株 YZ-1 所扩增的 16S rRNA 基因序列长度为 1 446 bp, GenBank 中登录号: JX164202。将菌株 YZ-1 的 16S rRNA 基因序列通过 NCBI 的 BLAST 检索系统进行序列同源性检索,结果其与气单胞菌属(*Aeromonas*)细菌的 16S rRNA 基因序列聚为一支,在检索出的气单胞菌属细菌序列中,该菌株

表 1 菌株 YZ-1 对健康异育银鲫的感染试验  
Table 1 Pathogenic test in *Carassius auratus gibelio* with isolate strain YZ-1

组别 Group	菌液浓度 Dosage (CFU/mL)	试验鱼数 Numbers	死亡鱼数 Death numbers					累计死亡率 Mortality (%)
			1 d	2 d	3 d	4 d	5 d	
Injection groups	$2 \times 10^8$	10	3	4	3	0	0	100
	$2 \times 10^7$	10	1	2	4	3	0	100
	$2 \times 10^6$	10	0	0	1	2	0	30
	$2 \times 10^5$	10	0	0	0	1	0	10
	$2 \times 10^4$	10	0	0	0	0	0	0
Control group	Sterile broth	10	0	0	0	0	0	0

表 2 分离菌株的生理生化特性  
Table 2 Physiological and biochemical characteristics of the isolate

特性 Characteristics	Strain		特性 Characteristics	Strain	
	YZ-1	<i>A. s</i> *		YZ-1	<i>A. s</i> *
葡萄糖 Glucose	+	+	醋酸盐 Acetate	+	/
乳糖 Lactose	—	—	酒石酸盐 Tartrate	—	—
麦芽糖 Maltose	+	+	DNA	+	+
甘露醇 Mannitol	+	+	粘液酸 Mucate	—	/
甘露糖 Mannose	+	+	苯丙氨酸 Phenylalanine	—	—
蔗糖 Sucrose	+	+	蕈糖 Trehalose	+	/
阿拉伯糖 Arabinose	—	+	棉籽糖 Raffinose	+	—
阿拉伯醇 Arabitol	—	—	果糖 Fructose	+	/
木糖 Xylose	—	—	蜜二糖 Melibiose	+	/
木糖醇 Xylitol	—	/	纤维二糖 Cellobiose	+	/
半乳糖 Galactose	+	+	酮基质 Ketole	—	/
松三糖 Melezitose	—	/	葡萄糖胺 Glucosamine	+	/
山梨醇 Sorbitose	—	—	鸟氨酸脱羧酶 Ornithine decarboxylase	+	/
山梨糖 Sorbose	—	/	赖氨酸脱羧酶 Lysine decarboxylase	+	+
卫矛醇 Dulcitol	—	—	精氨酸脱羧酶 Arginine decarboxylase	+	/
赤藓醇 Erythritol	—	—	精氨酸双水解酶 Arginine dihydrolase	+	+
苦杏仁 Amygdalin	—	/	硫化氢 H <sub>2</sub> S	—	—
鼠李糖 L-Rhamnose	—	—	乙酰胺 Acetamide	+	/
糊精 Oextrin	+	/	硝酸盐还原 Nitrate reduction	+	+
淀粉 Starch	+	/	硝酸盐产气 Nitrate gas production	—	/
肌醇 Inositol	—	—	OF	F	/
侧金盏花醇 Adonitol	—	—	氰化钾生长 Growth at KCN	+	+
水杨素 Salicin	—	/	葡萄糖产气 Glucose, gas production	—	—
尿素 Urea	+	/	$\alpha$ -甲基-D 葡萄糖苷 $\alpha$ -Methyl-D-glucoside	—	—
胆汁七叶苷 Esculin	+	/	葡萄糖酸盐 Gluconate	—	/
ONPG	+	+	枸橼酸盐 Citrate	+	—
丙二酸盐 Malonate	+	/	运动性 Motility	—	—

注：—：0–10%阳性；+：90%–100%阳性；F：发酵型；/：原文表中无记载；\*：来自《伯杰氏系统细菌学手册》(ATCC 编号：33658)。  
Note: —: 0–10% positive; +: 90%–100% positive; F: Fermentation; /: No record; \*: From Bergey's Manual of Systematic Bacteriology (ATCC number: 33658).

与它们的一致性在 99%–100%。从中选取 17 株细菌的 16S rRNA 基因序列进行系统发育学分析, 结果其与杀鲑气单胞菌杀鲑亚种(登录号: JX860591)聚为一分支, 系统发育树如图 1 所示。综合细菌生理生化特性以及 16S rRNA 基因序列分析结果, 判定分离菌为气单胞菌属的杀鲑气单胞菌杀鲑亚种(*Aeromonas salmonicida* subsp. *salmonicida*)。

## 2.4 药敏试验结果

菌株 YZ-1 对 44 种抗菌类药物的敏感性如下: 对头孢呋辛、头孢唑林、头孢哌酮、头孢他啶、头孢曲松、头孢噻吩、复方新诺明、萘啶酸、米诺环素、氨曲南、氟罗沙星、克拉霉素、左氧氟沙星、头孢氨苄、依诺沙星、恩诺沙星、替考拉宁、头孢噻肟、哌拉西林、磷霉素、头孢孟多、多粘霉素 B、强力霉素 23 种抗生素敏感; 对青霉素 G、羧苄青

霉素、苯唑西林、链霉素、卡那霉素、庆大霉素、妥布霉素、氟苯尼考、万古霉素、乙酰螺旋霉素 10 种抗生素耐药, 其中青霉素 G、羧苄青霉素、乙酰螺旋霉素等 3 种无抑菌圈。具体结果见表 3。

## 3 讨论

杀鲑气单胞菌(*Aeromonas salmonicida*)为气单胞菌属(*Aeromonas*)革兰氏阴性短杆菌, 可导致鲑鳟鱼类发生疖疮病或溃疡病, 包括无色亚种(*A. salmonicida* subsp. *achromogenes*)、杀鲑亚种(*A. salmonicida* subsp. *salmonicida*)、杀日本鲑亚种(*A. salmonicida* subsp. *masoucida*)、史氏亚种(*A. salmonicida* subsp. *smithia*)和溶果胶亚种(*A. salmonicida* subsp. *pectinolytica*) 5 个亚种<sup>[13]</sup>。杀鲑气单胞菌是一种条件致病菌, 分布和宿主范围广泛, 在世界范围内的许多国家均有该菌的分布。但近年

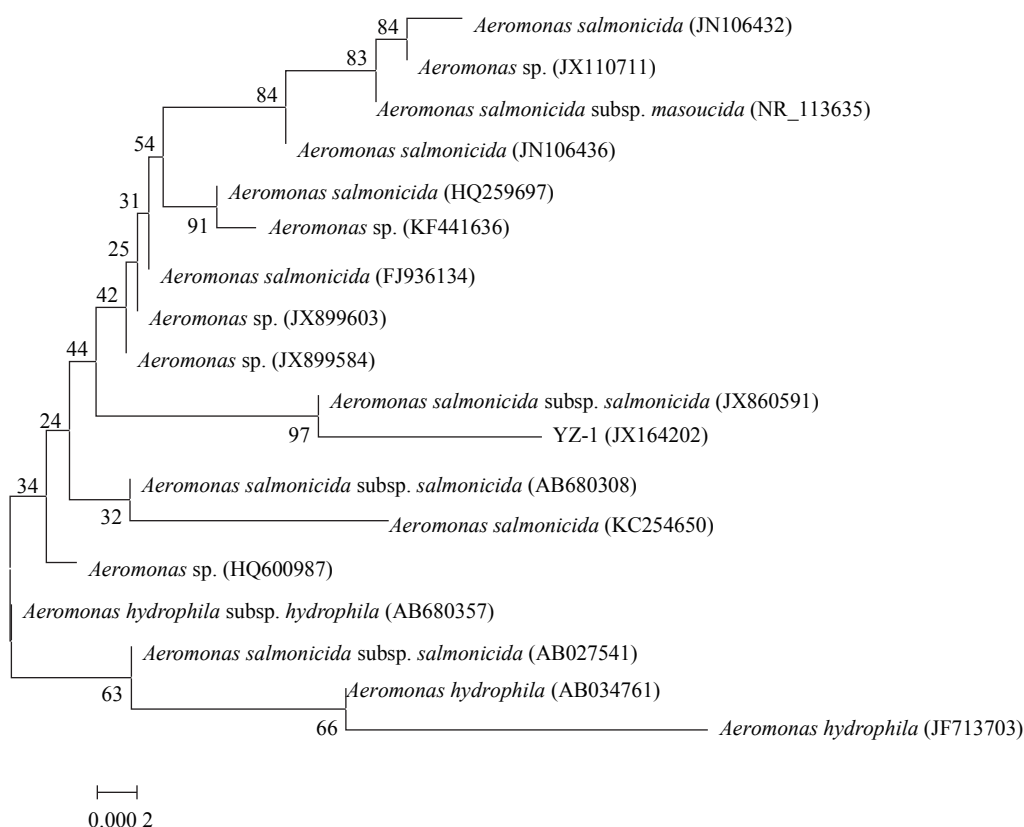


图 1 分离菌 YZ-1 16S rRNA 基因序列发育进化树

Figure 1 Phylogenetic tree based on 16S rRNA gene sequence of the isolate YZ-1

表 3 分离菌株 YZ-1 的药敏试验结果  
Table 3 Results of drug sensitive test on the isolate YZ-1

药物名称 Antibiotics	药物含量 Drug content ( $\mu\text{g/slice}$ )	抑菌圈 Diameter (mm)	敏感性 Sensitivity	药物名称 Antibiotics	药物含量 Drug content ( $\mu\text{g/slice}$ )	抑菌圈 Diameter (mm)	敏感性 Sensitivity
青霉素 G Penicillin G	10	7	R	恩诺沙星 Enrofloxacin	5	23	S
氨苄西林 Ampicillin	10	15	I	强力霉素 Doxycycline	30	25	S
羧苄青霉素 Carbenicillin	100	7	R	萘啶酸 Nalidixic acid	30	27	S
苯唑西林 Oxacillin	1	12	R	乙酰螺旋霉素 Acetylspiramycin	30	7	R
头孢呋辛 Cefuroxime	30	27	S	大观霉素 Spectinomycin	100	17	I
头孢唑林 Cefazolin	30	26	S	头孢拉定 Cefradine	30	15	I
头孢他啶 Ceftazidime	30	25	S	米诺环素 Minocycline	30	25	S
头孢曲松 Ceftriaxone	30	28	S	氨基糖苷 Aminoglycoside	30	33	S
利福平 Rifampicin	5	18	I	Aztreonam	30	30	S
链霉素 Streptomycin	10	13	R	氟罗沙星 Fleroxacin	30	30	S
卡那霉素 kanamycin	30	10	R	头孢哌酮 Cefoperazone	75	25	S
阿米卡星 Amikacin	30	19	I	克拉霉素 Clarithromycin	15	21	S
庆大霉素 Gentamicin	10	14	R	左氧氟沙星 Levofloxacin	5	27	S
妥布霉素 Tobramycin	10	12	R	头孢氨苄 Cephalexin	30	25	S
新霉素 Neomycin	30	18	I	依诺沙星 Enoxacin	10	26	S
新生霉素 Novobiocin	30	19	I	替考拉宁 Teicoplanin	30	22	S
四环素 Tetracycline	30	16	I	头孢噻肟 Cefotaxime	30	28	S
氟苯尼考 Florfenicol	30	12	R	哌拉西林 Piperacillin	100	20	S
红霉素 Erythromycin	15	16	I	磷霉素 Fosfomycin	200	28	S
麦迪霉素 Midecamycin	30	16	I	头孢孟多 Cefamandole	30	27	S
林可霉素 Lincomycin	2	18	I	多粘霉素 B Polymyxin B	300	28	S
复方新诺明 Compound sinomin	1.25/23.7	24	S	头孢噻吩 Cephalothin	30	22	S
				万古霉素 Vancomycin	30	10	R

注: 抑菌圈直径包括药敏纸片直径 7 mm; R (耐药): 7 mm $\leq$ 抑菌圈直径 $\leq$ 14 mm; S (敏感): 抑菌圈直径 $\geq$ 20 mm; I (中介): 15 mm $\leq$ 抑菌圈直径 $\leq$ 19 mm.

Note: The diameter of inhibition zone including drug diameter 7 mm; R: Denotes low or no sensitivity (7 mm $\leq d \leq$ 14 mm); S: Denotes high sensitivity ( $d \geq$ 20 mm); I: Denotes intermediate (15 mm $\leq d \leq$ 19 mm).

来,发现其宿主范围明显在扩大,除了鲑科鱼类外,鲱科、鲤科和裸盖科鱼类均有报道,其中包括米诺鱼、金鱼、鲤、河鲈、欧鳊、六线鱼、鲇、狗鱼、大西洋雪、鲾等<sup>[14]</sup>。

本研究所检的异育银鲫病例,经显微镜观察只发现极少数的寄生虫,可以排除因寄生虫感染引起的死亡,从鲤疱疹病毒 II 型的发病温度以及用病毒引物检测阴性的结果,也可以排除因鲤疱疹病毒 II 型感染引起的死亡。

人工感染试验表明,从濒死异育银鲫中分离到的菌株 YZ-1 可感染健康异育银鲫,并对异育银鲫有较强的致病和致死作用,且发病症状一致,均表现出腔、鳃盖边缘、鳍条基部及鱼体尾柄处充血、腹腔内有淡黄色积液,肝脏发白等症状。从人工感染患病异育银鲫中分离的细菌经鉴定与 YZ-1 株在生理生化特性、药敏结果和 16S rRNA 基因序列上完全一致,证明菌株 YZ-1 为本次异育银鲫大量死亡的致病菌。该结果也与科赫法则完全相符。

本研究生理生化试验结果显示,分离菌株 YZ-1 具有杀鲑气单胞菌杀鲑亚种的生理生化特性,如可利用葡萄糖、蔗糖等,但葡萄糖产气阴性,阿拉伯糖、棉籽糖、枸橼酸盐的利用与杀鲑亚种的理化特征不符合,这可能与不同菌株的生理生化特性间的差异有关。因此为了更准确地区分不同亚种,有必要通过分子生物学方法进一步确定。细菌 16S rRNA 基因因其高度保守性,被认为最适合细菌系统发育和分类鉴定的指标<sup>[15]</sup>。本研究分离的 YZ-1 株的 16S rRNA 基因序列与 GenBank 中登录的杀鲑气单胞菌杀鲑亚种 16S rRNA 基因序列一致性达到 99%以上,基于该系列构建的系统发育树表明 YZ-1 株与杀鲑气单胞菌杀鲑亚种聚成一支,进一步确认 YZ-1 株为杀鲑气单胞菌杀鲑亚种。

水产动物养殖过程中常选用抗生素等药物进行抑制或治疗细菌感染<sup>[16]</sup>,但是过多使用抗菌药物会产生耐药菌株。经 44 种抗菌类药物对分离菌的药敏测定,结果显示该菌对头孢呋辛、头孢唑林、头孢哌酮、头孢他啶、头孢曲松、头孢噻吩、复方

新诺明、强力霉素、萘啶酸、米诺环素、氨曲南、氟罗沙星等 23 种药物高度敏感,对青霉素 G、羧苄青霉素、苯唑西林等 10 种抗生素耐药。王海娟等<sup>[8]</sup>研究表明,鲤源的杀鲑气单胞菌杀鲑亚种对强力霉素、美满霉素等四环素类,卡那霉素、庆大霉素等氨基糖苷类和菌必治、氟苯尼考、诺氟沙星等药物高度敏感,但对氨苄西林等  $\beta$ -内酰胺类和复方新诺明、甲氧苄啶等磺胺类药物耐药,与本文的结果有差异。史秀杰等<sup>[17]</sup>研究表明,北极红点鲑源杀鲑气单胞菌杀鲑亚种对氨曲南、萘啶酸、复方新诺明、卡那霉素敏感,与本文一致;但对妥布霉素、庆大霉素耐药,与本文结果相反。此外从患病虹鳟和美洲红点鲑中分离到的杀鲑气单胞菌杀鲑亚种均对氟喹诺酮类药物高度敏感,而对其他药物的耐药性不尽相同<sup>[18]</sup>。因此,在鱼类疮疡病防治过程中应加强用药的科学性和针对性,避免盲目用药导致的病原菌耐药性,同时积极研发杀鲑气单胞菌疫苗,逐渐减少抗生素类药物的使用,维持生态环境的平衡。

## 参考文献

- [1] Wang ZW, Zhu HP, Wang D, et al. A novel nucleo-cytoplasmic hybrid clone formed via androgenesis in polyploid gibel carp[J]. BMC Research Notes, 2011, 82: 1-13
- [2] Lu WH, Chen H, Huang CG. Identification and drug sensitive test of the pathogen of *Aeromonas* disease from hybridized prussian carp[J]. Journal of Guangdong Ocean University, 2009, 29(1): 26-30 (in Chinese)  
陆文浩, 陈辉, 黄春贵. 异育银鲫气单胞菌病原菌鉴定和药敏试验[J]. 广东海洋大学学报, 2009, 29(1): 26-30
- [3] Sun QH, Sun PF, Jin LH, et al. On the pathogenic bacteria of the hemolytic ascites of allogynogenetic crucian carp[J]. Journal of Fisheries of China, 1991, 15(2): 130-139 (in Chinese)  
孙其焕, 孙佩芳, 金丽华, 等. 异育银鲫溶血性腹水病病原的研究[J]. 水产学报, 1991, 15(2): 130-139
- [4] Wang CY. The pathogenicity and drug sensitivity tests of bacterial septicemia from *C. gibelio*[J]. Journal of Biology, 2002, 19(6): 30-31 (in Chinese)  
王春燕. 异育银鲫败血病病原体的诊断及毒力和药敏实验[J]. 生物学杂志, 2002, 19(6): 30-31
- [5] Zhang QY, Gui JF. Aquatic Virology[M]. Beijing: Higher Education Press, 2008: 122-128 (in Chinese)  
张奇亚, 桂建芳. 水生病毒学[M]. 北京: 高等教育出版社, 2008: 122-128
- [6] Lu WH, Chen H, Zou Y, et al. Identification and drug sensitive test of the pathogen in *acinetobacter* disease from hybrid crucian carp (*Carassius auratus gibelio*♀×*Cyprinus carpio*♂)[J]. Fisheries Science, 2010, 29(3): 156-161 (in Chinese)  
陆文浩, 陈辉, 邹勇, 等. 银鲫不动杆菌病原菌鉴定及药敏



- 试验[J]. 水产科学, 2010, 29(3): 156-161
- [7] Liu YN, Liang LG, Gu W, et al. Isolation, identification and antibiotic susceptibility test of pathogenic bacteria strain from hybridized prussian carp[J]. Journal of Hydroecology, 2012, 33(5): 108-113 (in Chinese)  
刘亚楠, 梁利国, 顾伟, 等. 异育银鲫致病性嗜水气单胞菌的分离鉴定与药敏特性研究[J]. 水生生态学杂志, 2012, 33(5): 108-113
- [8] Wang HJ, Wang L. Identification and antibiotic resistance analysis of *Aeromonas salmonicida* isolated from *Cyprinus carpio*[J]. China Animal Husbandry & Veterinary Medicine, 2015, 42(1): 192-196 (in Chinese)  
王海娟, 王利. 鲤鱼杀鲑气单胞菌的分离鉴定及耐药性分析[J]. 中国畜牧兽医, 2015, 42(1): 192-196
- [9] Dong XZ, Cai MY. Manual of Systematic and Determinative Bacteriology[M]. Beijing: Science Press, 2001: 364-398 (in Chinese)  
东秀珠, 蔡妙英. 常见细菌系统鉴定手册[M]. 北京: 科学出版社, 2001: 364-398
- [10] Garrity GM. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology[M]. 9th Edition. New York: Springer, 2004
- [11] Xia F, Liang LG, Gu W, et al. Phenotypes and molecular identification of pathogenic *Acinetobacter calcoaceticus* from *Carassius auratus gibelio*[J]. Oceanologia et Limnologia Sinica, 2013, 44(3): 801-806 (in Chinese)  
夏飞, 梁利国, 顾伟, 等. 异育银鲫(*Carassius auratus gibelio*)源醋酸钙不动杆菌表型及分子鉴定[J]. 海洋与湖沼, 2013, 44(3): 801-806
- [12] Ye YW, Wang YS. National Clinical Laboratory Operating Procedures[M]. 2nd Edition. Nanjing: Southeast University Press, 1997: 553-560 (in Chinese)  
叶应妩, 王毓三. 全国临床检验操作规程[M]. 第2版. 南京: 东南大学出版社, 1997: 553-560
- [13] Nash JHE, Findlay WA, Luebbert CC, et al. Comparative genomics profiling of clinical isolates of *Aeromonas salmonicida* using DNA microarrays[J]. BMC Genomics, 2006, 7: 43
- [14] Austin B, Austin DDA. Bacterial Fish Pathogens: Diseases of Farmed and Wild Fish[M]. 4th Edition. Chichester: Praxis Publishing Ltd, 2007: 162-164
- [15] Chen WX. Bacterial phylogeny[J]. Acta Microbiologica Sinica, 1998, 38(3): 240-243 (in Chinese)  
陈文新. 细菌系统发育[J]. 微生物学报, 1998, 38(3): 240-243
- [16] Zhu JL, Yang H, Zou ZY, et al. Isolation, identification and drug sensitivity test of pathogenic streptococcus from tilapia *Oreochromis niloticus* cultured in hainan[J]. Oceanologia et Limnologia Sinica, 2010, 41(4): 590-596 (in Chinese)  
祝琳璟, 杨弘, 邹芝英, 等. 海南养殖罗非鱼(*Oreochromis niloticus*)致病链球菌的分离、鉴定及其药敏试验[J]. 海洋与湖沼, 2010, 41(4): 590-596
- [17] Shi XJ, Liu H, Gao LJ, et al. Isolation and Identification of Causative Agents of Sick Arctic Charr (*Salvelinus alpinus*)[J]. Journal of Huazhong Agricultural University, 2007, 26(2): 223-227 (in Chinese)  
史秀杰, 刘荭, 高隆英, 等. 患病北极红点鲑的病原分离与鉴定[J]. 华中农业大学学报, 2007, 26(2): 223-227
- [18] Li SW, Wang D, Lian HM, et al. Isolation, identification and pathogenicity of *Aeromonas salmonicida* subsp. *achromogenes* from Atlantic salmon (*Salmo salar*)[J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2015, 39(1): 234-240 (in Chinese)  
李绍戊, 王荻, 连浩森, 等. 大西洋鲑杀鲑气单胞菌无色亚种的分离鉴定和致病性研究[J]. 水生生物学报, 2015, 39(1): 234-240