

研究报告

乌鳢源病原菌的分离、耐药性及基因组特性分析

谭贵良^{*1}, 戚少含², 李雪雁¹, 林凯文¹, 赵力超², 李向丽^{*3}, 吴小禾³

1 电子科技大学中山学院, 广东 中山 528402

2 华南农业大学 食品学院, 广东 广州 510642

3 中山火炬职业技术学院, 广东 中山 528436

谭贵良, 戚少含, 李雪雁, 林凯文, 赵力超, 李向丽, 吴小禾. 乌鳢源病原菌的分离、耐药性及基因组特性分析[J]. 微生物学通报, 2025, 52(4): 1724-1741.

TAN Guiliang, QI Shaohan, LI Xueyan, LIN Kaiwen, ZHAO Lichao, LI Xiangli, WU Xiaohu. Isolation, antibiotic resistance examination, and genomic characterization of pathogenic bacteria from *Channa argus*[J]. Microbiology China, 2025, 52(4): 1724-1741.

摘要: 【背景】乌鳢(*Channa argus*)是一种重要的淡水经济鱼类, 其养殖业快速发展, 但病害侵扰尤其是易发生细菌性疾病, 已成为制约其可持续发展的瓶颈。【目的】深入了解乌鳢源病原菌耐药性、致病机制, 为病害的预防和控制提供科学指导。【方法】从患病乌鳢病灶部位分离获得了3株病原菌(SY1、SY3、SY7), 并对其进行抗生素药物敏感性试验和全基因组测序; 根据全基因组测序数据注释病原菌的毒力基因、耐药基因、前噬菌体及前噬菌体携带的毒力基因和抗性基因。【结果】经过16S rRNA基因测序及基因组平均核苷酸一致性(average nucleotide identity, ANI)分析, 菌株SY1、SY3、SY7分别被鉴定为厦门希瓦氏菌(*Shewanella xiamenensis*)、达卡气单胞菌(*Aeromonas dhakensis*)和鳗鱼诺卡氏菌(*Nocardia seriolae*)。药物敏感性试验结果显示, 这些病原菌对多种抗生素具有耐药性, 并且对青霉素、苯唑西林、氨苄西林、红霉素、克拉霉素、阿奇霉素、万古霉素、林可霉素均表现出抗药性。它们的全基因组大小分别为4 895 555 bp (G+C含量46.23%)、4 853 433 bp (G+C含量61.54%)和9 294 386 bp (G+C含量68.24%)。在病原菌基因组中总共检出毒力基因171个, 涉及运动性、黏附、外毒素、效应传递系统、营养和代谢、抗逆性; 检测到耐多药类、四环素类、大环内酯类等15种类别的抗生素抗性基因; 发现病原菌均携带前噬菌体, 但在前噬菌体序列中未检出

资助项目: 广东省自然科学基金(2022A1515012158); 广东省教育厅重点项目(2021ZDZX4072); 电子科技大学中山学院科研团队培育项目(424YT02); 广东省普通高校创新团队项目(2021KCXTD070); 中山市社会公益重大专项(2020B2010) This work was supported by the Natural Science Foundation of Guangdong Province (2022A1515012158), the Key Project of Department of Education of Guangdong Province (2021ZDZX4072), the Research Team Project from University of Electronic Science and Technology of China, Zhongshan Institute (424YT02), the Guangdong Innovation Team Project for the Higher-educational Institution (2021KCXTD070), and the Zhongshan Social Public Welfare Major Special Project (2020B2010).

*Corresponding authors. E-mail: TAN Guiliang, joe88tan@126.com; LI Xiangli, bluecloudli@126.com

Received: 2024-07-06; Accepted: 2024-10-15; Published online: 2024-11-15

毒力基因和抗生素抗性基因。【结论】本研究扩展了乌鳢源病原菌耐药性和致病机制的认识，可为乌鳢病害的预防和治疗提供科学依据。

关键词：乌鳢；病原菌；药物敏感性；毒力基因；抗生素抗性基因；前噬菌体

Isolation, antibiotic resistance examination, and genomic characterization of pathogenic bacteria from *Channa argus*

TAN Guiliang^{*1}, QI Shaohan², LI Xueyan¹, LIN Kaiwen¹, ZHAO Lichao², LI Xiangli^{*3}, WU Xiaohe³

1 University of Electronic Science and Technology of China, Zhongshan Institute, Zhongshan 528402, Guangdong, China

2 College of Food Science, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, Guangdong, China

3 Zhongshan Torch Polytechnic, Zhongshan 528436, Guangdong, China

Abstract: [Background] Snakehead fish (*Channa argus*) is an important species of freshwater economic fish. The farming industry of *C. argus* is developing rapidly, while diseases, especially bacterial diseases, have become a bottleneck restricting the sustainable development of this industry. **[Objective]** To gain deep insights into the antibiotic resistance and infection mechanisms of the pathogens from *C. argus* and provide scientific guidance for disease prevention and control. **[Methods]** Three pathogen strains (SY1, SY3, and SY7) were isolated from diseased *C. argus* and subjected to antibiotic susceptibility testing and whole genome sequencing. The virulence genes, resistance genes, prophages, as well as potential virulence and resistance genes carried by the prophages, were annotated based on the whole genome sequencing data. **[Results]** Based on 16S rRNA sequencing and genomic average nucleotide identity (ANI) analysis, strains SY1, SY3, and SY7 were identified as *Shewanella xiamenensis*, *Aeromonas dhakensis*, and *Nocardia seriolae*, respectively. Antibiotic susceptibility testing revealed that these pathogens had resistance to multiple antibiotics, and all showed resistance to penicillin, oxacillin, ampicillin, erythromycin, clarithromycin, azithromycin, vancomycin, and lincomycin. The genome sizes of strains SY1, SY3, and SY7 were 4 895 555 bp (G+C content of 46.23%), 4 853 433 bp (G+C content of 61.54%), and 9 294 386 bp (G+C content of 68.24%), respectively. A total of 171 virulence genes were detected in the genomes of the three pathogens, and they were involved in motility, adherence, exotoxin, effector delivery system, nutrition/metabolism, and stress responses. The genes conferring resistance to 15 categories of antibiotic were detected in the bacteria. Prophage prediction analysis revealed that all the three strains carried prophages, while no virulence or antibiotic resistance genes were detected in the prophage sequences. **[Conclusion]** This study expands our understanding of antibiotic resistance and infection mechanisms of pathogens from *C. argus*, providing a scientific basis for the prevention and treatment of diseases in *Channa argus*.

Keywords: *Channa argus*; pathogenic bacteria; antibiotic susceptibility; virulence gene; antibiotic resistance gene; prophage

乌鳢(*Channa argus*), 又称黑鱼、乌鱼、生鱼, 属鲈形目鳢科, 原产于东亚, 为我国重要的淡水经济鱼类^[1]。乌鳢因肉多刺少、肉质鲜嫩备受喜爱, 是一种高蛋白、低脂肪的优质淡水肉食性鱼类。近年来, 乌鳢养殖年产量呈现出稳步上升的趋势, 至 2022 年全国年产量已达到 55.3 万 t, 其中广东省的养殖年产量更是超过了 29.5 万 t, 成为全国乌鳢养殖年产量最高的省份^[2]。然而, 随着乌鳢养殖业的快速发展, 由于放养密度过高、养殖水体环境污染以及水体温度过高等复杂因素的共同作用, 病害侵扰已成为乌鳢水产健康养殖的一大瓶颈, 对整个养殖业的可持续发展构成了威胁。

细菌性疾病是乌鳢养殖中主要的病害之一, 常见症状表现为病鱼双目呆滞, 体表出血、溃烂, 解剖后肉眼可见腹水、组织化脓、内脏结节^[3]。目前已知的乌鳢细菌性病原菌有嗜水气单胞菌(*Aeromonas hydrophila*)、鳊鱼诺卡氏菌(*Nocardia seriolae*)、哈维氏弧菌(*Vibrio harveyi*)、维氏气单胞菌(*Aeromonas veronii*)、舒氏气单胞菌(*Aeromonas schubertii*)等^[4-6]。为了控制病害, 抗生素药物滥用导致了大量抗性菌株的不断涌现和抗生素抗性基因的迅速传播, 严重威胁食品安全和公众健康。莫金凤等^[7]研究发现乌鳢源舒氏气单胞菌对磺胺类、酰胺醇类及链霉素等 8 种药物具有耐药性; 付立霞等^[3]研究发现乌鳢源杀鱼爱德华菌(*Edwardsiella piscicida*)对苯唑西啉、克拉霉素、万古霉素、克林霉素、复方新诺明和麦迪霉素这 6 种药物呈现耐药; 王晓磊等^[8]研究发现乌鳢源维氏气单胞菌 WL-3 对氨苄西林、多西环素、卡那霉素、红霉素、四环素、复方新诺明等 12 种药物有较强耐药性。总的来说, 目前较为常见的乌鳢细菌性疾病主要是诺卡氏菌病(结节病)和出血性败血症^[9], 其中鳊鱼诺卡氏菌和嗜水气单胞菌分别

是这 2 种疾病主要的病原体。达卡气单胞菌(*Aeromonas dhakensis*)因与嗜水气单胞菌具有相似的特征曾被认为是嗜水气单胞菌亚种, 可感染细鳞鲱、虾和牛蛙^[10-12], 然而当前尚无乌鳢源达卡气单胞菌的相关报道。厦门希瓦氏菌(*Shewanella xiamenensis*)隶属于希瓦氏菌属(*Shewanella*), 广泛分布于自然环境中, 一直被认为是条件致病菌^[13]。该菌主要引起鱼类、虾类等海产品的腐败, 也能感染淡水养殖鱼类, 感染引发锦鲤发病肌肉糜烂致死^[14], 但目前同样未见厦门希瓦氏菌感染乌鳢并致病的研究报道。

当前, 基因组测序技术在揭示水产病原菌种类、遗传特性、预测病害风险等方面取得了显著进展; 相关研究深入分析了病原菌的基因组特性、致病基因与毒力因子、耐药性与耐药机制以及病原菌的代谢能力, 为深入理解其致病机制和发展针对性的预防控制措施提供了重要依据^[15-16]。然而就乌鳢养殖而言, 张美超等^[17]通过全基因组测序分析了一株乌鳢源鳊鱼诺卡氏菌的代谢功能潜力和毒力因子。周阳等^[18]报道了乌鳢源舒氏气单胞菌的全基因组信息, 对乌鳢中其他病原菌全基因组的研究仍未见报道。为进一步深入了解乌鳢病原菌的种类、耐药性和致病机制, 本研究从乌鳢病灶部位分离病原菌, 对病原菌进行抗生素敏感性试验, 通过全基因组测序分析其毒力基因、抗生素抗性基因, 并预测前噬菌体中携带的毒力和耐药基因, 以期深入阐释病原菌的耐药性和致病机制, 为未来针对该类病原菌的感染防控提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 病鱼样本

患病乌鳢采自广东省中山市三角镇某乌鳢

养殖场。

1.2 培养基、主要试剂和仪器

脑心浸出液(brain heart infusion, BHI)肉汤, 北京陆桥技术股份有限公司。琼脂粉, 广东环凯生物科技有限公司; 细菌 DNA 提取试剂盒、引物 27F/1492R, 湖南艾科瑞生物工程有限公司; dNTPs、*Taq* DNA 聚合酶, 宝生物工程(大连)有限公司; Sepharose 6B 琼脂糖, 北京索莱宝科技有限公司; 核酸染液、DNA marker, 北京鼎国昌盛生物科技有限责任公司; 乙酸, 天津永大化学试剂有限公司; 药敏纸片, 杭州微生物试剂有限公司。电子分析天平, 上海佑科仪器仪表有限公司; 超净工作台, 青岛海尔生物医疗股份有限公司; 高压灭菌锅, 上海申安医疗器械厂; 生化培养箱, 上海一恒科学仪器有限公司; 高速冷冻离心机、台式恒温冷冻摇床和 PCR 仪, 赛默飞世尔科技(中国)有限公司; 电泳仪, 北京六一生物科技有限责任公司; 凝胶成像系统, 伯乐生命医学产品(上海)有限公司。

1.3 病原菌的分离纯化

在无菌条件下对濒死的患病乌鳢进行解剖, 分别采集其病变的肝脏、肾脏和脾脏组织。随后, 使用无菌生理盐水对这些组织进行轻柔洗脱, 以收集病灶微生物。将收集到的洗脱液依次进行 10 倍梯度稀释, 取 80 μ L 稀释液均匀涂布于 BHI 琼脂培养基, 28 $^{\circ}$ C 恒温培养 7–10 d。从优势菌群挑选单菌落继续纯化 2–3 次。最终获得 3 株细菌, 编号分别为 SY1、SY3 和 SY7。肉眼观察菌落形态特征。

1.4 病原菌的分子生物学鉴定

按照细菌基因组 DNA 提取试剂盒的说明方法提取纯化菌株的 DNA。利用 16S rRNA 基因通用引物 27F (5'-AGAGTTTGATCCTGGCT CAG-3')和 1492R (5'-TACGGCTACCTTGTTACG ACTT-3')进行 PCR 扩增。PCR 反应体系: PCR Mix

45 μ L, 27F (10 μ mol/L) 2 μ L, 1492R (10 μ mol/L) 2 μ L, DNA 模板 1 μ L。PCR 反应条件: 98 $^{\circ}$ C 5 min; 98 $^{\circ}$ C 10 s, 56 $^{\circ}$ C 10 s, 72 $^{\circ}$ C 10 s, 35 个循环; 72 $^{\circ}$ C 5 min; 4 $^{\circ}$ C 保存。PCR 产物经琼脂糖凝胶电泳检测无误后送至深圳市易科吉生物科技有限公司进行测序, 鉴定病原菌所属的物种。

1.5 人工回接感染试验

从乌鳢养殖场选购健康乌鳢[(100 $\pm$ 25) g/尾], 在水箱中暂养 1 周后, 分别以 SY1 (1.9 $\times$ 10⁷ CFU/mL)、SY3 (8.4 $\times$ 10⁶ CFU/mL)、SY7 (3.0 $\times$ 10⁷ CFU/mL)的菌液对乌鳢进行腹腔注射 (200 μ L/尾), 实验组每组 8 尾。对照组(4 尾)注射等量无菌生理盐水。每天观察和记录乌鳢发病情况, 及时捞出死亡个体并解剖观察病症, 连续观察 2 周。对上述回接感染出现病症的病鱼再次进行菌株的分离与分子生物学鉴定。

1.6 药敏试验

采用药敏纸片扩散法^[19]测定分离菌株 SY1、SY3、SY7 对青霉素、苯唑西林、氨苄西林、庆大霉素等 31 种抗生素的敏感性。根据美国临床实验室标准化协会^[19]标准并结合杭州微生物试剂有限公司提供的药敏试验纸片法抑菌范围解释标准进行结果判定。

1.7 病原菌的基因组学分析

1.7.1 基因组测序及平均核苷酸一致性 (average nucleotide identity, ANI)比

将分离纯化后的菌液提取基因组 DNA 后送样至深圳市易科吉生物科技有限公司, 采用 Illumina 高通量测序平台对 DNA 进行测序。测序完成后, 使用 Trimmomatic 软件^[20]对获得的原始序列读长进行数据质控, 接着通过 MEGAHIT 工具^[21]对过滤后的序列进行组装, 以注释病原菌基因组的基本特征。采用 PyANI 软件计算目标菌株与参考菌株的 ANI, 并通过 Mauve 软件做共线性分析^[22]。

1.7.2 毒力基因分析

采用 BLAST 软件与毒力因子数据库 (virulence factor database, VFDB) (<http://www.mgc.ac.cn/VFs/>)相结合的方法,对病原菌的基因组序列进行毒力基因注释。毒力基因鉴定标准:氨基酸序列的一致性 $\geq 85\%$,覆盖度 $\geq 90\%$ 。

1.7.3 抗生素抗性基因分析

通过 Resistance Gene Identifier 工具,使用抗生素耐药性综合数据库 (comprehensive antibiotic resistance database, CARD) (<https://card.mcmaster.ca>)进行耐药基因的注释,获得病原菌的耐药基因及耐药基因种类^[23]。抗生素抗性基因 (antibiotic resistance gene, ARG)的鉴定标准:氨基酸序列的一致性 $\geq 80\%$, *E*-value 为 $1e-5$ 。

1.7.4 前噬菌体预测分析

通过 PhiSpy 工具^[24]分别对菌株 SY1、SY3、SY7 全基因组中的前噬菌体进行预测,并分析这些前噬菌体序列中可能携带的毒力基因和抗生素抗性基因,鉴定的阈值标准同 1.7.3。

2 结果与分析

2.1 乌鳢源病原菌分离、菌落形态学观察及回接感染结果

患病乌鳢表现为食欲不振,体表出血、溃疡,解剖后肉眼可见腹腔积水,肝、肾、脾等内脏出现白色的病变结节(图 1A、1B)。取病变的内脏于无菌生理盐水中进行洗脱处理,随后将洗脱液进行梯度稀释并均匀涂布在 BHI 固体培养基上,28 °C 培养 7–10 d。从母板中一共纯化了 8 个分离株,其中 3 株经 16S rRNA 基因测序分别被鉴定为厦门希瓦氏菌(*S. xiamenensis*) SY1、达卡气单胞菌(*A. dhakensis*) SY3 和鳊鱼诺卡氏菌(*N. seriolae*) SY7 (图 1C–1E),其系统发育树见图 2。

对这 3 株病原菌的菌落进行形态学观察发现,厦门希瓦氏菌 SY1 菌落中心呈粉红色,边缘半透明,湿润有光泽;达卡气单胞菌 SY3 菌落呈粉白色,不透明,湿润有光泽;而鳊鱼诺卡

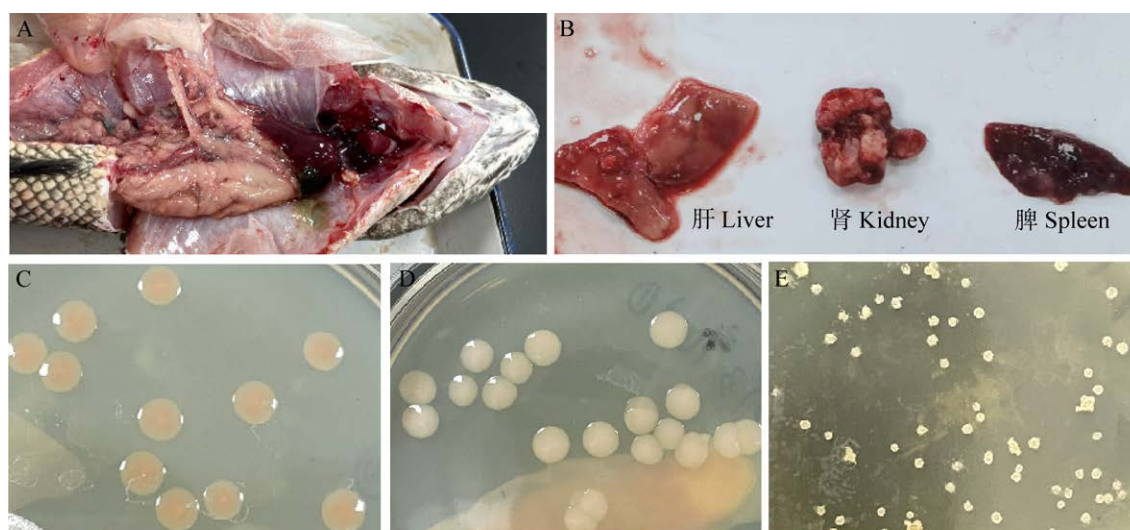


图 1 乌鳢病灶及病原菌菌落形态 A: 病鱼解剖图; B: 病变内脏; C–E 分别为 SY1、SY3 和 SY7 在 BHI 平板上的菌落形态。

Figure 1 Lesions of *Channa argus* and colony status of pathogenic bacteria. A: The anatomical map of the diseased fish; B: The diseased viscera; C–E: Colonies of SY1, SY3, and SY7 on BHI agar plates, respectively.

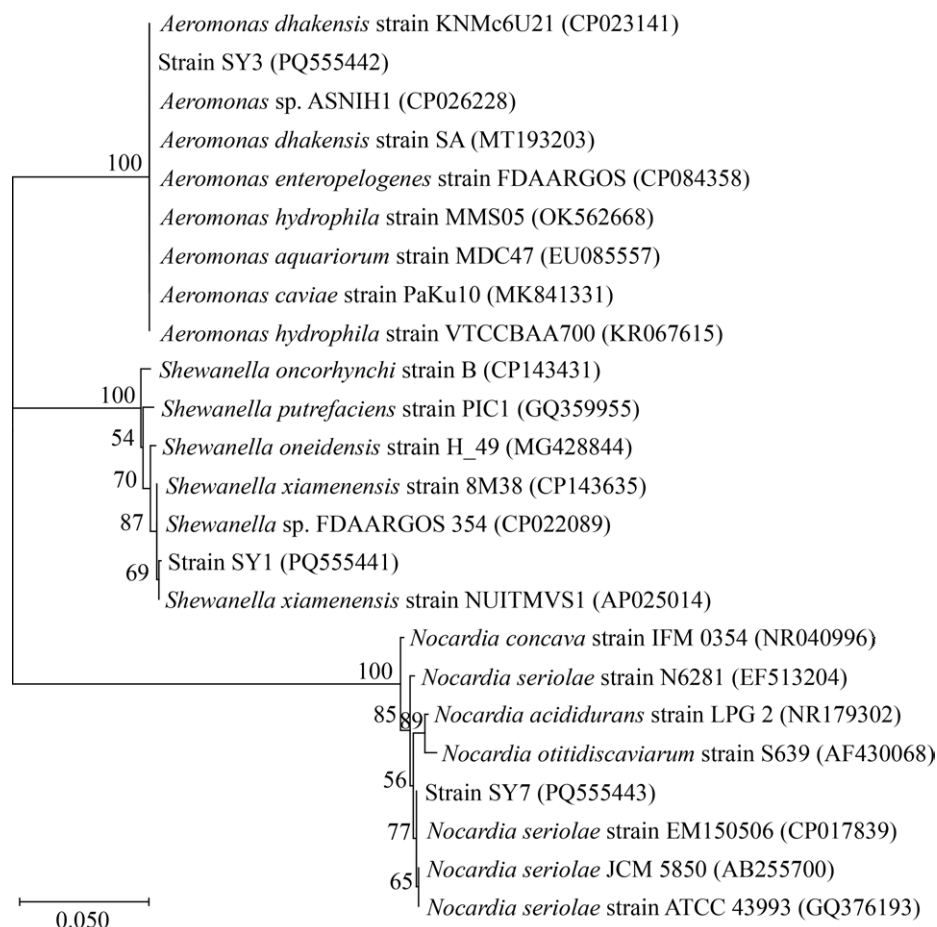


图2 基于16S rRNA基因序列构建的病原菌菌株的系统发育树 括号内编号为GenBank登录号;节点处数字代表1 000次重复取样Bootstrap检验置信度值;标尺0.05表示遗传距离的单位。

Figure 2 Phylogenetic tree of pathogenic bacterial strains based on 16S rRNA gene sequences. The numbers in parentheses are GenBank accession numbers; The numbers at nodes represent bootstrap confidence values from 1 000 resampling tests; The scale bar of 0.05 indicates the unit of genetic distance.

氏菌SY7菌落呈白色,形状不规则,表面干燥、无光泽(表1)。

回接感染试验结果显示,自第3天起,达卡气单胞菌SY3实验组的乌鳢陆续出现死亡,外表症状包括肛门溃疡出血、腹胀,解剖症状表现为腹腔积水、内脏肌层紊乱。回接感染试验进行一周后,鳊鱼诺卡氏菌SY7实验组的乌鳢表现出游动无力、食欲不振,但无死亡现象,外观无明显病症。麻醉解剖发现其肝脏、肾脏布满结节,但无腹水。至实验结束,厦门希瓦

氏菌SY1实验组的乌鳢仅有一条出现病症,表现为注射创口红肿,下腹部腹鳍底部溃烂破洞,解剖时发现溃烂部位内脏结痂,无腹水或结节症状。从以上病鱼的病灶中,均分离到与接种菌株菌落形态相同的菌株,通过16S rRNA基因序列鉴定,该分离菌株与目标菌株的序列高度一致。综上实验结果,达卡气单胞菌可以引发乌鳢的出血性败血症,鳊鱼诺卡氏菌可导致产生结节病;而厦门希瓦氏菌可能为条件致病菌,在宿主免疫力低下时引发肌肉溃烂。

表 1 病原菌菌落的形态学观察

Table 1 Morphological observation of pathogenic bacteria isolated

菌株 Strain	BHI 平板菌落形态 Colony morphology on BHI agar	参考物种 Reference species	登录号 Accession number	同源度 Homology (%)
SY1	粉红色, 圆形, 半透明, 有光泽, 湿润, 表面平坦光滑, 边缘整齐 Pink, round, translucent, glossy, moist, smooth and flat surface, regular edge	<i>Shewanella xiamenensis</i> strain NUITM-VS1	AP025014	99.8
SY3	粉白色, 圆形, 不透明, 有光泽, 湿润, 表面平坦光滑, 边缘整齐 Pinkish white, round, opaque, glossy, moist, smooth and flat surface, regular edge	<i>Aeromonas dhakensis</i> strain KN-Mc-6U21	CP023141	99.8
SY7	白色, 不规则形, 不透明, 无光泽, 干燥, 表面粗糙, 边缘不齐 White, irregular shape, opaque, dull, dry, rough surface, irregular edge	<i>Nocardia seriolae</i> strain EM150506	CP017839	100

2.2 乌鳢源病原菌的抗生素药物敏感性试验结果

用纸片扩散法测定菌株 SY1、SY3 和 SY7 对 31 种抗生素的敏感性。结果显示, 厦门希瓦氏菌 SY1 对哌拉西林等 12 种药物敏感, 对头孢唑啉等 3 种药物中度敏感, 对青霉素等 16 种抗生素具有耐药性; 达卡气单胞菌 SY3 对头孢他啶等 7 种抗生素敏感, 对哌拉西林等 4 种药物中度敏感, 对哌拉西林等 20 种药物具有耐药性; 鳊鱼诺卡氏菌 SY7 对四环素等 12 种抗生素敏感, 对青霉素 19 种抗生素耐药(表 2)。这些菌株均对青霉素、苯唑西林、氨苄西林, 以及所有大环内酯类、糖肽类和林可酰胺类具有耐药性。

2.3 病原菌的基因组学分析结果

2.3.1 菌株的基因组特性

对病原菌的全基因组序列进行校对后, 绘制菌株的基因组圈图谱。厦门希瓦氏菌 SY1 的基因组序列全长为 4 895 555 bp, G+C 含量为 46.23%, 包含编码序列(coding sequence, CDS) 4 321 个, 转运 RNA (transfer RNA, tRNA) 基因

100 个, 核糖体 RNA (ribosomal RNA, rRNA) 基因 8 个, CRISPR 序列 1 个(图 3A)。达卡气单胞菌 SY3 的基因组序列全长为 4 853 433 bp, G+C 含量为 61.54%, 包含 CDS 基因 4 443 个, tRNA 基因 115 个, rRNA 基因 9 个, CRISPR 序列 9 个(图 3B)。鳊鱼诺卡氏菌 SY7 的基因组序列全长为 9 294 386 bp, G+C 含量为 68.24%, 包含 CDS 基因 10 223 个, tRNA 基因 79 个, rRNA 基因 13 个, CRISPR 序列 2 个(图 3C)。与其他厦门希瓦氏菌菌株(GenBank 登录号: GCF_019973655、GCF_007595335、GCF_012490345、GCF_023283665、GCF_014647135、GCF_030008365、GCF_026012575)相比, 菌株 SY1 的 CDS 基因数量和 G+C 含量大致相同, 但其 tRNA 基因数量较高, rRNA 基因数量较低; 与其他达卡气单胞菌菌株(GenBank 登录号: GCF_002285935、GCF_019348695、GCF_019348645、GCF_000820305、GCF_000819705、GCF_029773005、GCF_022703095)相比, 菌株 SY3 的 CDS 基因数量较高, rRNA 基因数量较低, 而 G+C 含量和 tRNA 基因数量相近; 与其他鳊鱼诺卡氏菌菌株(GenBank 登录号:

表 2 纸片扩散法测定抗生素药敏结果

Table 2 Results of antibiotic susceptibility paper diffusion test

抗生素类别 Antibiotic category	药物名称 Drug name	菌株敏感性 Strain susceptibility			抗生素类别 Antibiotic category	药物名称 Drug name	菌株敏感性 Strain susceptibility		
		SY1	SY3	SY7			SY1	SY3	SY7
青霉素类 Penicillins	青霉素 Penicillin	R	R	R	大环内酯类 Macrolides	红霉素 Erythromycin	R	R	R
	苯唑西林 Oxacillin	R	R	R		克拉霉素 Clarithromycin	R	R	R
	氨苄西林 Ampicillin	R	R	R		阿奇霉素 Azithromycin	R	R	R
	哌拉西林 Piperacillin	S	I	R	氨基糖苷类 Aminoglycosides	阿米卡星 Amikacin	S	S	S
	舒他西林 Sulbactam	S	R	R		庆大霉素 Gentamicin	S	S	S
头孢菌素类 Cephalosporins	头孢氨苄 Cefalexin	S	R	R		卡那霉素 Kanamycin	R	R	S
	头孢唑啉 Cefazolin	I	R	R		新霉素 Neomycin	I	I	S
	头孢拉定 Cefradine	S	R	R	喹诺酮类 Quinolones	诺氟沙星 Norfloxacin	R	S	R
	头孢呋辛 Cefuroxime	S	I	R		氧氟沙星 Ofloxacin	R	R	S
	头孢他啶 Ceftazidime	S	S	R		环丙沙星 Ciprofloxacin	R	S	S
	头孢曲松 Ceftriaxone	S	S	R	糖肽类 Glycopeptides	万古霉素 Vancomycin	R	R	R
四环素类 Tetracyclines	四环素 Tetracycline	R	R	S		磺胺类 复方新诺明	S	R	R
	多西环素 Doxycycline	I	R	S	林可酰胺类 Lincosamides	Trimethoprim- sulfamethoxazole			
	米诺环素 Minocycline	S	I	S		林可霉素 Clindamycin	R	R	R
氯霉素类 Chloramphenicols	氯霉素 Chloramphenicol	R	R	S	多肽类 Polypeptides	多黏菌素 B Polymyxin B	S	R	R
	氟苯尼考 Florfenicol	R	S	S	利福霉素类 Rifamycins	利福平 Rifampicin	R	R	S

S: 敏感; I: 中度敏感; R: 耐药。

S: Sensitive; I: Medium sensitivity; R: Drug resistant.

GCF_001865855、GCF_009712165、GCF_009712555、GCF_003667075、GCF_000583715、GCF_003013595、GCF_001885535)相比, 菌株 SY7 基因组最大, 具有较多的 CDS 基因、tRNA 基因和 rRNA 基因, 但 G+C 含量基本一致。

通过 Mauve 软件分别对菌株 SY1 与参考菌株 *S. xiamenensis* strain NUITMVS1、SY3 与参考菌株 *A. dhakensis* strain KNMc6U21、SY7 与参考菌株 *N. seriola* strain EM150506 的全基因组进行比对, 研究共线性关系(图 4)。结果表明,

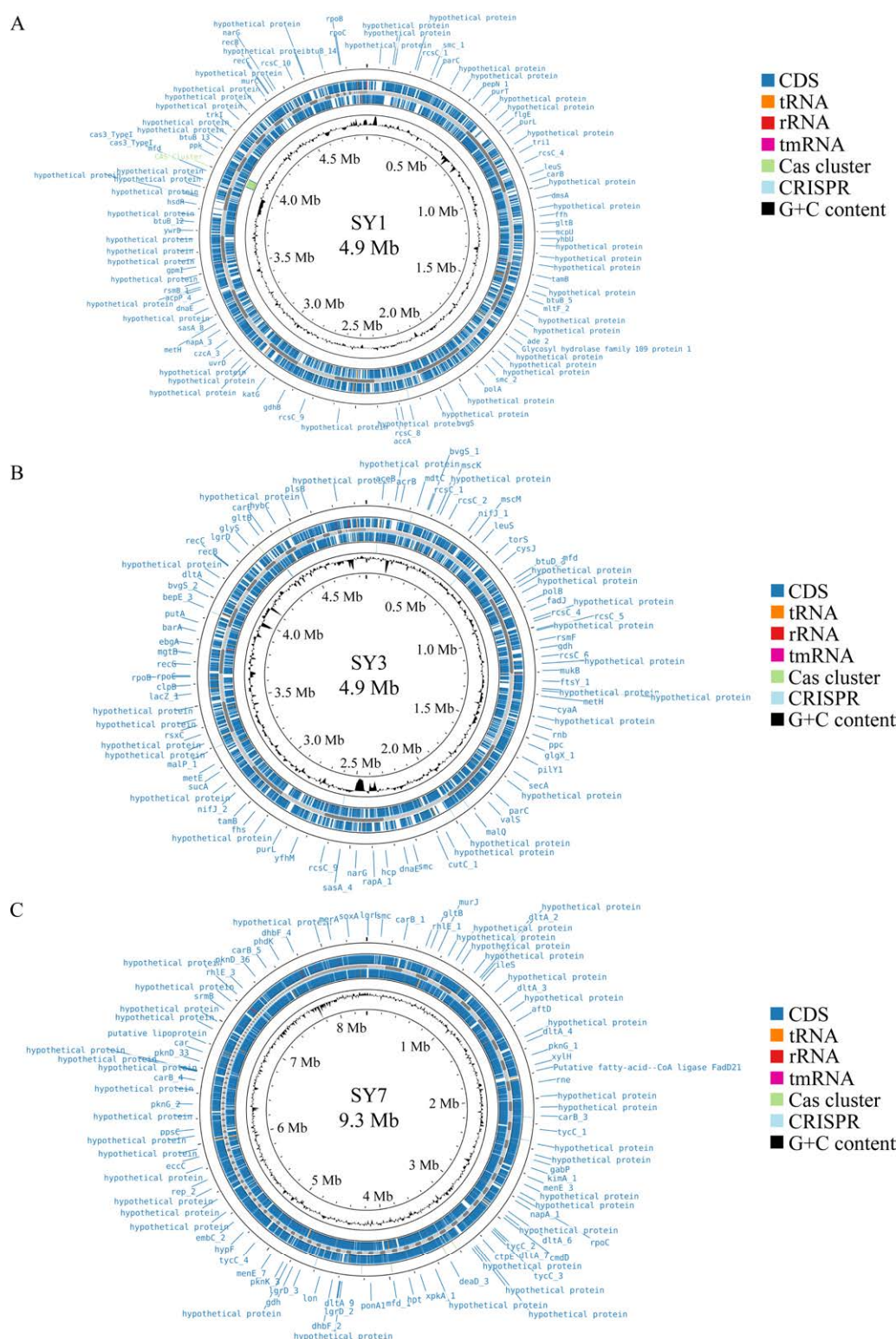


图3 病原菌的基因组圈图 A、B、C 分别为菌株 SY1、SY3、SY7 的基因组圈图。

Figure 3 Circular genome map of pathogenic bacteria. A, B and C: the circular genome map of strains SY1, SY3, and SY7, respectively.

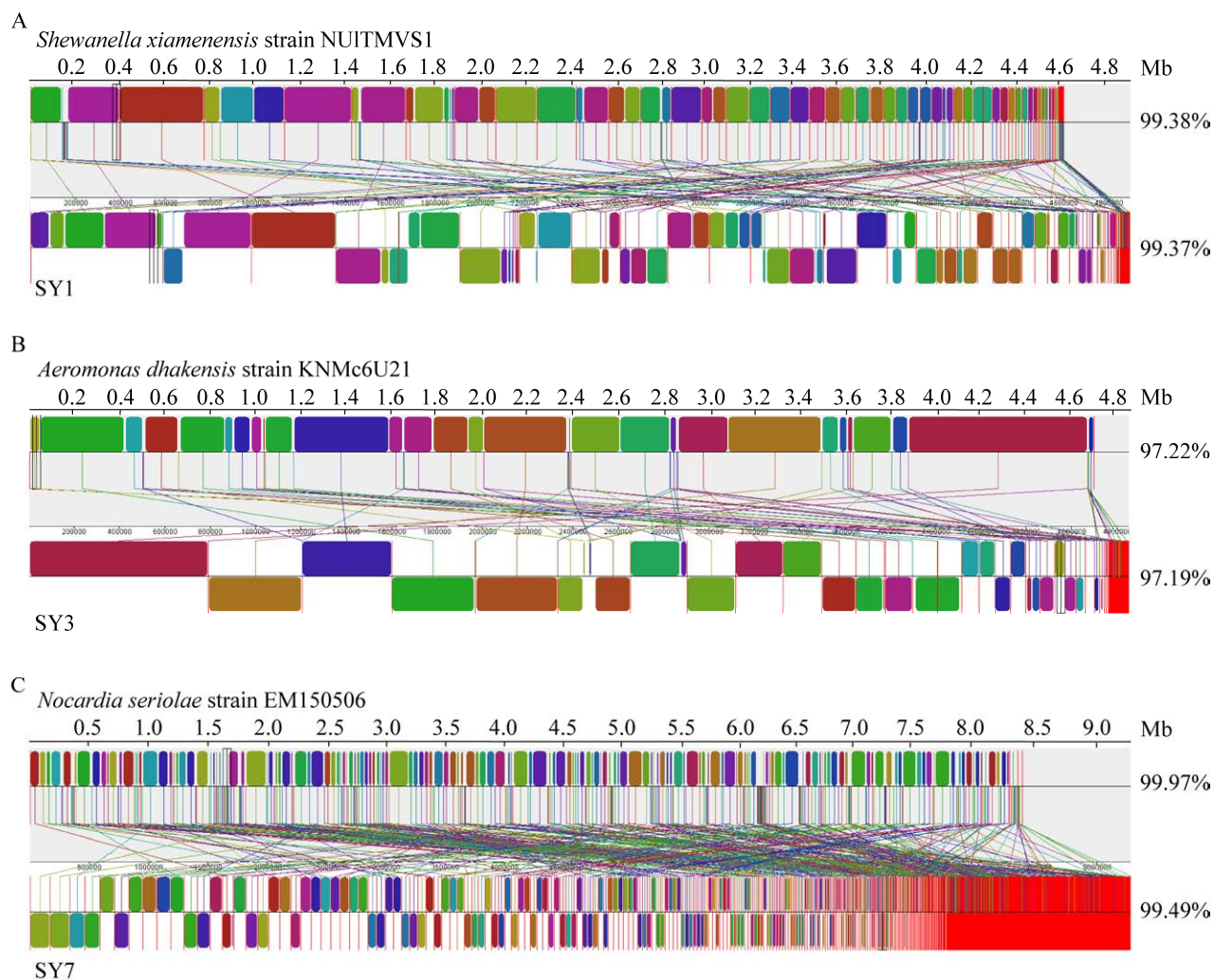


图4 乌鳢源病原菌基因组共线性分析 A: 菌株 *S. xiamenensis* NUTMVS1 与 SY1 的共线性分析; B: 菌株 *A. dhakensis* KNMc6U21 与 SY3 的共线性分析; C: 菌株 *N. seriolae* EM150506 与 SY7 的共线性分析。
Figure 4 Genomic collinearity analysis of pathogenic bacteria from *Channa argus*. A: Collinearity analysis of *S. xiamenensis* strain NUTMVS1 and SY1; B: Collinearity analysis of *A. dhakensis* strain KNMc6U21 and SY3; C: Collinearity analysis of *N. seriolae* strain EM150506 and SY7.

菌株 SY1 与参考基因组在多个区域内呈现出清晰的共线性关系, 基因序列的排列顺序和相对位置大致相同, 二者序列具有高度一致性(序列相似度大于 99%); 尽管菌株 SY3 与参考基因组的局部区域存在较小的差异或重排, 但总体上 2 个基因组在结构上呈现出良好的对应关系(序列相似度大于 97%); 菌株 SY7 与参考基因组具有极高的相似度, 序列相似度在 99% 以上。

2.3.2 毒力基因分析结果

根据 VFDB 数据库, 在 3 个病原菌的全基因组中总共预测到了 171 个毒力基因, 其中菌株 SY1、SY3、SY7 分别携带 4、161 和 6 个毒力基因(图 5, 表 3), 涉及运动性(motility)、黏附(adherence)、外毒素(exotoxin)、效应传递系统(effector delivery system)、营养和代谢(nutritional/metabolic factor)、抗逆性(stress

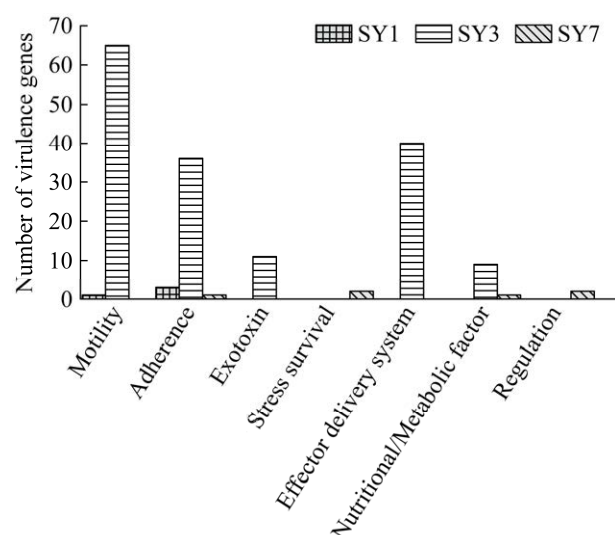


图5 病原菌毒力基因分类

Figure 5 Classification of virulence genes of pathogens.

survival)和信号调控(regulation)这7种毒力基因类别。其中,菌株SY3含有较多的毒力基因,它们主要与运动性、黏附和效应传递系统相关。

具体的毒力基因见表3。采用严格的毒力基因鉴定标准(氨基酸序列一致性 $\geq 85\%$,覆盖度 $\geq 90\%$),菌株SY1检测到*tufA*基因和*cheY*基因,分别编码延伸因子(EF-Tu)和鞭毛蛋白;菌株SY3的毒力基因与菌毛(*tapO*、*mshL*、*fimA*等)、II型(*exxC*、*exxD*、*exxE*、*exxF*等)及VI型效应传递系统(*vgrG1*、*hcp*、*atsA*、*vipA*、*dotU*、*clpB*、*vasH*等)、溶血素(*hlyA*、*AHA_RS16280*、*ahh1*、*AHML_RS18555*)及RTX毒素(*rtxA*、*rtxC*、*rtxH*等)、极生鞭毛(*nueA*、*flrC*、*flgL*、*cheR-3*、*fliA*、*flhG*、*flaB*等)、血红素摄取系统(*ASA_RS16540*、*hutZ*等)相关;菌株SY7检测到*groEL2*(编码分子伴侣GroEL,帮助结核分枝杆菌在宿主细胞内生存和复制)、*pafA*(编码Pup-蛋白质连接酶,参与Pup-蛋白酶体系统的蛋白质降解途径)、*ahpC*(编码推定烷基过氧化氢还原酶C,帮助细菌抵御过氧化氢等氧化应

激,促进生存)、*icl*(编码异柠檬酸裂解酶,为柠檬酸代谢提供碳源)、*mprA*(编码双组分系统反应调节蛋白MprA,参与细菌对环境压力的调控,帮助调节细胞的应激反应和毒力基因表达)和*regX3*基因(编码感官传导蛋白,调节与磷酸盐获取相关的基因表达)。

2.3.3 抗生素抗性基因分析结果

为深入了解病原菌的耐药特征,分别对分离菌株厦门希瓦氏菌SY1、达卡气单胞菌SY3、鲫鱼诺卡氏菌SY7的耐药基因进行了预测。CARD数据库比对结果表明,在3株病原菌的基因组中总共检出15种类别的耐药基因(图6)。其中菌株SY1、SY3、SY7的基因组均携带多药和四环素类抗生素抗性基因;菌株SY1和SY3的基因组同时携带大环内酯类、磺胺类、碳青霉烯类、氯霉素类、*elfamycin*类、氟喹诺酮类抗性基因;菌株SY1和SY7的基因组则同时携带利福霉素类抗性基因。其中,菌株SY1检测到最多数量的耐药基因(25个)。例如*mphE*、*mphA*、*Mrx*、*mphF*,它们通过编码大环内酯磷酸转移酶使病原菌对红霉素等大环内酯类抗生素产生耐药性。部分多药类耐药基因如*rsmA*、*CRP*、*MexD*与多药耐药外排泵相关。菌株SY1被发现携带3个*sul1*基因,表明该菌株可能对磺胺类抗生素(如磺胺嘧啶、磺胺二甲嘧、磺胺多辛等)存在抗性。菌株SY3携带2个*Escherichia coli* EF-Tu突变基因,表明该菌株可能对*pulvomycin*(一种*elfamycin*类抗生素)存在抗性。在菌株SY7中仅检测到5个耐药基因,分别为*RbpA*、*rpoB*突变基因、*TEM-116*、*vanR*和*tetB(58)*。

2.3.4 前噬菌体预测分析结果

通过PhiSpy对3株病原菌所携带的前噬菌体进行预测,共预测到5个前噬菌体,其基因组长度为4 757–39 088 bp, G+C含量为48.5%–67.1%(表4)。在菌株SY1、SY3中预测到的前噬菌体

表 3 病原菌基因组携带的具体毒力基因

Table 3 Specific virulence genes carried by the pathogen genome

病原菌 Pathogen	毒力基因类别 Virulence gene category	毒力基因 Virulence gene								
SY1	黏附 Adherence	<i>tufA</i> (3)								
	运动性 Motility	<i>cheY</i>								
SY3	黏附 Adherence	<i>tapQ</i>	<i>mshI1</i>	<i>mshG</i>	<i>fimD</i>	<i>tapC</i>	<i>tapV</i> (2)	<i>tapU</i>	<i>tppY1</i>	
		<i>tapP</i>	<i>mshK</i>	<i>mshB</i>	<i>tppE</i>	<i>tapB</i>	<i>tapW</i>	<i>tapT</i>	<i>tppA</i>	
		<i>tapO</i>	<i>mshL</i>	<i>mshD</i>	<i>tppB</i>	<i>tppF</i>	<i>tapF</i>	<i>tapD/pilD</i>	<i>mshN</i>	
		<i>tapN</i>	<i>mshM</i>	<i>mshP</i>	<i>tapM</i>	<i>mshE</i>	<i>fimC</i>	<i>mshI</i>	<i>fimA</i>	
		<i>mshJ</i>	<i>mshC</i>	<i>ASA_RS18105</i>						
	效应传递系统 Effector delivery system	<i>exeC</i>	<i>exeG</i>	<i>exeL</i>	<i>hcp</i> (2)	<i>vgrG3</i> (2)	<i>atsD</i>	<i>atsH</i>	<i>atsL</i>	
		<i>exeD</i>	<i>exeH</i>	<i>exeM</i>	<i>exeA</i>	<i>vgrG2</i> (3)	<i>vipA</i>	<i>atsI</i>	<i>dotU</i>	
		<i>exeE</i>	<i>exeI</i>	<i>exeN</i>	<i>vgrG1</i>	<i>atsA</i>	<i>vipB</i>	<i>atsJ</i>	<i>clpB</i>	
		<i>exeF</i>	<i>exeK</i>	<i>exeB</i>		<i>atsB</i>	<i>atsG</i>	<i>atsK</i>	<i>vasH</i>	
		<i>AHA_</i> <i>RS09305</i>	<i>atsP</i>	<i>atsQ</i>	<i>vasK/icmF</i>	<i>atsS</i>				
	运动性 Motility	<i>nueA</i> (2)	<i>flmH</i> (2)	<i>cheV</i>	<i>flgB</i>	<i>cheW-2</i>	<i>cheZ</i>	<i>flhB</i>	<i>flaB</i>	
		<i>flrC</i>	<i>flgI</i>	<i>flgA</i>	<i>cheR-3</i>	<i>cheW</i>	<i>cheY</i>	<i>fliR</i>	<i>flaG</i>	
		<i>flrB</i>	<i>flgH</i>	<i>flgM</i>	<i>maf-1</i>	<i>AHML_</i> <i>RS07540</i>	<i>fliA</i>	<i>fliQ</i>	<i>fliO</i>	
		<i>flrA</i>	<i>flgG</i>	<i>flgN</i>	<i>pomA2</i>	<i>pomB</i>	<i>flhG</i>	<i>fliP</i>	<i>fliN</i>	
		<i>flgL</i>	<i>flgF</i>	<i>flgD</i>		<i>motA</i>	<i>flhF</i>	<i>fliF</i>	<i>fliM</i>	
		<i>flgK</i>	<i>flgE</i>	<i>flgC</i>	<i>motX</i>	<i>cheB-2</i>	<i>flhA</i>	<i>fliE</i>	<i>fliL</i>	
		<i>flgJ</i>	<i>pomB2</i> (2)	<i>AHA_RS21095</i>	<i>motY</i>	<i>maf-2</i>	<i>nueB</i>	<i>flmD</i>	<i>fliJ</i>	
		<i>fliH</i>	<i>fliG</i>	<i>flaH</i>	<i>flaJ</i>	<i>fliI</i>	<i>cheA-2</i>	<i>flaA</i>		
	营养和代谢 Nutritional/ Metabolic factor	<i>ASA_</i> <i>RS16540</i>	<i>ASA_</i> <i>RS16570</i>	<i>hutZ</i>	<i>ASA_</i> <i>RS16575</i>	<i>hutX</i>	<i>amoA</i>	<i>ASA_</i> <i>RS16580</i>	<i>ASA_</i> <i>RS16555</i>	
		<i>ASA_</i> <i>RS16550</i>								
	Exotoxin 外毒素	<i>hlyA</i>	<i>AHA_</i> <i>RS16280</i>	<i>rtxA</i>	<i>rtxC</i>	<i>rtxH</i>	<i>rtxB</i>	<i>rtxD</i>	<i>rtxE</i>	
		<i>AHML_</i> <i>RS18555</i>	<i>ahh1</i>	<i>ABJ52834</i>						
SY7	黏附 Adherence	<i>groEL2</i>								
	抗逆性 Stress survival	<i>pafA</i>	<i>ahpC</i>							
	营养和代谢 Nutritional/ Metabolic factor	<i>icl</i>								
	信号调控 Regulation	<i>mprA</i>	<i>regX3</i>							

括号中的数字代表基因的拷贝数。

The numbers in parentheses represent the copy number of the genes.

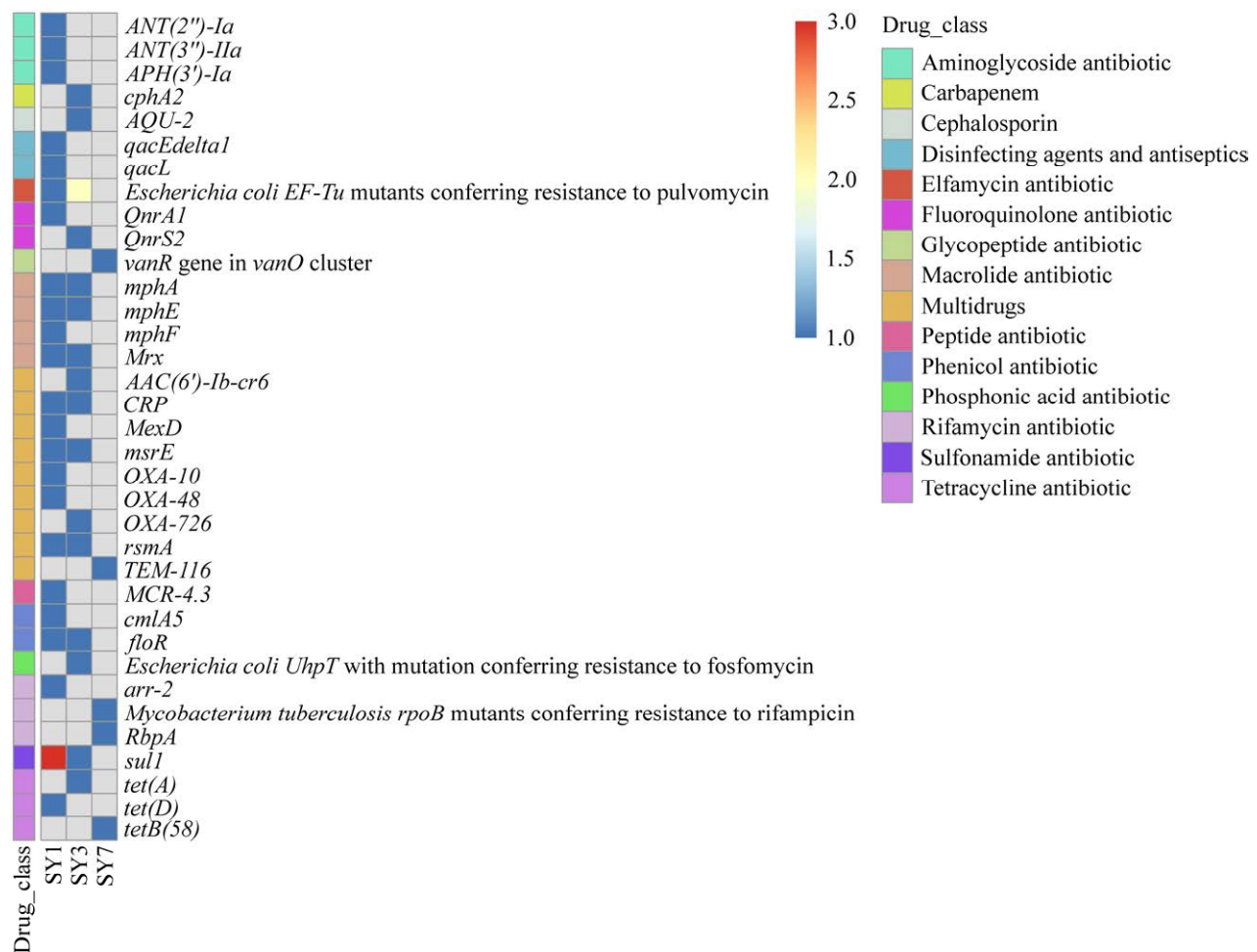


图 6 抗生素抗性基因的总体特征
Figure 6 Overall characteristics of antibiotic resistance genes.

表 4 前噬菌体预测基本情况
Table 4 Basic information for predicting prophages

菌株	噬菌体编号	科水平分类	位置	长度	G+C 含量
Strain	Phage ID	Family-level classification	Position (bp)	Length (bp)	G+C content (%)
SY1	SY1-pp1	Peduoviridae	267 916–307 003	39 088	48.5
SY3	SY3-pp1	Peduoviridae	294–23 069	22 776	56.1
	SY3-pp2	Peduoviridae	10 077–36 541	26 465	57.9
SY7	SY7-pp1	Unknown	13 496–18 252	4 757	64.3
	SY7-pp2	Unknown	929–12 348	11 420	67.1

属于 *Peduoviridae* 科，而菌株 SY7 中的前噬菌体则不与任意已知的噬菌体科相匹配，可能为新的噬菌体。

此外，本研究还对前噬菌体所携带的抗生

素抗性基因和毒力基因进行了预测。结果发现，预测到的这些功能基因与参考基因的相似性较低(抗生素抗性基因相似度低于 40%，毒力基因低于 51%)，结果可信度并不高。

3 讨论

本实验通过常规细菌分离法从患病乌鳢病灶获得 3 株病原菌, 包括 1 株厦门希瓦氏菌(SY1)、1 株达卡气单胞菌(SY3)、1 株鳊鱼诺卡氏菌(SY7)。其中, 厦门希瓦氏菌和达卡气单胞菌为首次从乌鳢中分离获得。气单胞菌和诺卡氏菌是乌鳢养殖中较为常见的病原菌, 也是诱导大口黑鲈、红鲮等淡水鱼类发病的主要病原体^[25-26]。在本实验中, 我们观察到患病乌鳢的病理组织学变化, 包括皮肤溃疡、内脏肌层排列紊乱以及组织结节的形成。这些病理特征与文献中报道的由达卡气单胞菌和鳊鱼诺卡氏菌引起的疾病症状相吻合^[17,27], 也与回感试验结果相一致。此外, 厦门希瓦氏菌通常与锦鲤的疾病相关^[14], 表明该菌株可能对乌鳢构成新的疾病威胁。

根据药敏试验, 菌株对青霉素类、大环内酯类抗生素的耐药性普遍较高, 这一现象可能与这类药物在水产养殖业中的广泛使用有关^[28-30]。菌株 SY1 对某些头孢类药物(如头孢氨苄、头孢拉定、头孢呋辛)敏感, 表明在治疗由厦门希瓦氏菌引起的感染时, 仍然可以合理使用这些药物进行预防和治疗。菌株 SY3 对头孢他啶、头孢曲松、阿米卡星、庆大霉素、诺氟沙星、环丙沙星、氟苯尼考这 7 种抗生素敏感, 与人源达卡气单胞菌的药物敏感性存在一定的差异^[31]。菌株 SY7 对氯霉素、新霉素、庆大霉、卡那霉素、阿奇霉素、利福平这些药物敏感, 与其他学者对鳊鱼诺卡氏菌的研究报道^[32]相一致。

根据毒力基因注释, 发现病原菌基因组中携带多种毒力基因, 其中以 SY3 毒力基因的检出量最多, 表明该菌有较强的致病能力。这些毒力基因在病原菌的营养和代谢(如 *hutZ*、*hutX*、*amoA*)、黏附(如 *tufA*、*tapQ*、*groEl2*)、运动性(如

cheY、*cheV*、*flgB* 等)、效应蛋白传递(如 *exeC*、*hcp*、*vgrG*)等方面起着关键作用。其中, *hutZ*、*hutX* 是与细菌血红素利用系统和铁摄取相关的毒力基因, 铁作为细菌病原体增殖和致病的必需营养素, 其摄取效率的提高能够增强细菌的毒力和致病性^[33]。此外, *HutZ* 蛋白对于杀鱼爱德华氏菌(*Edwardsiella piscicida*)的生物膜形成至关重要^[34]。黏附是微生物病原菌侵入宿主的先决条件, 而趋化基因(*cheA*、*cheB*、*cheR*、*cheV* 和 *cheY*)能够通过影响细菌运动性来调节哈维氏弧菌的黏附能力^[35]。*flgB* 基因缺失则会导致沙门氏菌(*Salmonella*)失去运动性^[36]。细菌的 VI 型效应传递系统通过将不同的效应蛋白传递至宿主细胞, 直接干扰宿主功能并帮助细菌逃避宿主免疫系统, 促进细菌在宿主体内的扩散和感染^[37]。蒋魁^[38]研究发现, 参与这一系统的毒力基因 *vgrG* 被敲除后, 哈维氏弧菌对斑马鱼的致死率下降了 40%。

根据抗生素抗性基因预测结果, 3 株病原菌总共涉及氨基糖苷类、碳青霉烯类、头孢菌素类、消毒剂 and 防腐剂、elfamycin 类、氟喹诺酮类、糖肽类、大环内酯类、多药类、多肽类、氯霉素类、磷霉素类、利福霉素类、磺胺类、四环素类 15 种耐药基因类别。其中厦门希瓦氏菌 SY1、达卡气单胞菌 SY3 携带较多的耐药基因, 鳊鱼诺卡氏菌 SY7 携带耐药基因最少。菌株 SY1 基因组中携带的碳青霉烯类耐药基因(*OXA-48*)在青石斑鱼源厦门希瓦氏菌全基因组中也被检出^[39]。在越南产鲶鱼的养殖场水源、患病鲶鱼以及血流感染患者分离出的达卡气单胞菌基因组中, 检测到 *floR*、*sul1*、*QnrS2* 和 *tetA* 基因^[40], 这些基因均在菌株 SY3 中被检出。结合药敏试验结果, 菌株 SY1 和 SY3 均表现出对氯霉素的耐药性, 这可能与氯霉素耐药基因 *floR* 相对应^[41], 该基因在这 2 个菌的基因组中

已成功检测到。尽管 SY1、SY3 和 SY7 这 3 株细菌均携带四环素耐药基因, 但仅菌株 SY1 和 SY3 表现出对四环素的耐药表型, 菌株 SY7 仍对四环素敏感。此外, 虽然菌株 SY7 的基因组存在编码利福霉素类的耐药基因, 但该菌依旧对这类抗生素表现出敏感性。细菌耐药表型与基因型的不一致, 可能是由于耐药基因在菌株内未表达或缺乏某种机制协同作用或宿主个体间的差异^[42-43]。

前噬菌体作为细菌基因组中的重要组成部分, 其存在可能对细菌的生长、代谢以及适应性等方面产生重要影响^[44]。本文首次对从乌鳢中分离到的病原菌的前噬菌体进行了预测。在本研究中, 我们在菌株厦门希瓦氏菌 SY1、达卡气单胞菌 SY3、鲈鱼诺卡氏菌 SY7 的基因组中均检测到前噬菌体, 每株菌含有 1-2 个前噬菌体。前噬菌体在多种细菌中广泛存在, 其数量和类型因细菌种类和来源的不同而有所差异。前人分别在虾源达卡气单胞菌和斑马鱼源厦门希瓦氏菌的基因组中鉴定到 2 个和 4 个前噬菌体序列^[11,45]。此外, 在黄尾鱼源鲈鱼诺卡氏菌 UTF1^[46]和日本鳗鱼源鲈鱼诺卡氏菌 MH196537^[47]的全基因组序列中也均注释到前噬菌体序列。研究中获得的前噬菌体信息为了解这些病原菌与噬菌体的相互作用及将来的噬菌体治疗提供了重要信息。

4 结论

本研究从患病乌鳢病灶中分离获得 3 株病原菌, 其中厦门希瓦氏菌 SY1 可能作为条件致病菌, 在宿主免疫力低下时引发肌肉溃烂; 达卡气单胞菌 SY3 可引发乌鳢的出血性败血症; 鲈鱼诺卡氏菌 SY7 可导致结节病的发生。达卡气单胞菌 SY3 检出 161 个毒力基因, 具有强致病性。在 31 种抗生素中, 厦门希瓦氏菌 SY1、

达卡气单胞菌 SY3、鲈鱼诺卡氏菌 SY7 均对阿米卡星和庆大霉素敏感, 因此在乌鳢遭遇此类病原菌混合感染时, 可使用阿米卡星和庆大霉素作为优选治疗药物。四环素类、氯霉素类、氨基糖苷类抗生素可用于治疗鲈鱼诺卡氏菌引发的结节病。本研究结果可为乌鳢细菌性病原感染的防控与治疗提供科学依据, 为水产养殖中的疾病管理提供参考。

REFERENCES

- [1] XU J, BIAN C, CHEN KC, LIU GM, JIANG YL, LUO Q, YOU XX, PENG WZ, LI J, HUANG Y, YI YH, DONG CJ, DENG H, ZHANG SH, ZHANG HY, SHI Q, XU P. Draft genome of the Northern snakehead, *Channa argus*[J]. GigaScience, 2017, 6(4): 1-5.
- [2] 路光明, 相欢, 陈胜军, 胡晓, 薛勇, 黄卉. 乌鳢不同部位肌肉营养成分分析与评价[J]. 中国食物与营养, 2024, 30(7): 61-68.
LU MM, XIANG H, CHEN SJ, HU X, XUE Y, HUANG H. Muscle nutritional components between different parts of *Channa argus*: analysis and evaluation[J]. Food and Nutrition in China, 2024, 30(7): 61-68 (in Chinese).
- [3] 付立霞, 马士杰, 徐敬潇, 龚建森, 杨辉, 赖迎迢, 赵飞, 黄志斌. 乌鳢源杀鱼爱德华菌的分离鉴定及药敏特性研究[J]. 微生物学通报, 2021, 48(12): 4789-4798.
FU LX, MA SJ, XU JX, GONG JS, YANG H, LAI YT, ZHAO F, HUANG ZB. Isolation, identification and antibiotic sensitivity of *Edwardsiella piscicida* from *Channa argus*[J]. Microbiology China, 2021, 48(12): 4789-4798 (in Chinese).
- [4] 李冬琦, 崔正伟, 赵飞, 邓玉婷, 谭爱萍, 黄志斌, 姜兰. 乌鳢 IL-1RAcP 的分子特征及其对两种病原菌感染的免疫应答[J]. 农业生物技术学报, 2022, 30(1): 96-105.
LI DQ, CUI ZW, ZHAO F, DENG YT, TAN AP, HUANG ZB, JIANG L. Molecular characterization of IL-1RAcP in snakehead (*Channa argus*) and its immune response to the infection with two pathogenic bacteria[J]. Journal of Agricultural Biotechnology, 2022, 30(1): 96-105 (in Chinese).
- [5] 喻大鹏, 唐怀庆, 丘金珠, 宋海霞, 梁富, 夏洪丽, 宋长江, 鲁义善. 乌鳢烂身病原的分离鉴定及病理组织观察[J]. 大连海洋大学学报, 2021, 36(5): 745-751.
YU DP, TANG HQ, QIU JZ, SONG HX, LIANG F, XIA HL, SONG CJ, LU YS. Isolation and identification of bacterial pathogen and histopathological change in skin ulcer disease of Chinese snakehead *Channa argus*[J]. Journal of Dalian Ocean University, 2021, 36(5): 745-751 (in Chinese).
- [6] 赵林辉, 田佳鑫, 孔伟峰, 李莹, 康元环, 单晓枫, 王桂芹. 乌鳢致病嗜水气单胞菌的分离与毒力基因检测及耐药分析[J]. 经济动物学报, 2022, 26(1):

- 52-61.
ZHAO LH, TIAN JX, KONG YD, LI Y, KANG YH, SHAN XF, WANG GQ. Isolation, identification and drugs susceptibility test of the pathogenic *Aeromonas hydrophila* from *Channa argus*[J]. Journal of Economic Animal, 2022, 26(1): 52-61 (in Chinese).
- [7] 莫金凤, 姜兰, 吴灶和. 乌鳢源舒伯特气单胞菌生物学特性及其药物敏感性分析[J]. 水产学报, 2016, 40(3): 484-494.
MO JF, JIANG L, WU ZH. Biological characteristics and drug susceptibility of *Aeromonas schubertii* WL-4 isolated from snakehead[J]. Journal of Fisheries of China, 2016, 40(3): 484-494 (in Chinese).
- [8] 王晓磊, 谭劭雯, 李子雁, 温际富, 刘学美, 姜彤彤, 隋智海. 乌鳢源维氏气单胞菌的分离鉴定及其生物学特性研究[J]. 水产养殖, 2022, 43(10): 26-33.
WANG XL, TAN SW, LI ZY, WEN JF, LIU XM, JIANG TT, SUI ZH. Identification on *Aeromonas veronii* isolated from infected *Channa argus* and analysis of its biological characteristics[J]. Journal of Aquaculture, 2022, 43(10): 26-33 (in Chinese).
- [9] 姜志勇. 乌鳢常见病的特点及防治措施[J]. 海洋与渔业, 2016(6): 75-77.
JIANG ZY. Characteristics and control measures of common diseases of snakehead[J]. Ocean and Fishery, 2016(6): 75-77 (in Chinese).
- [10] CARRIERO MM, MENDES MAIA AA, MORO SOUSA RL, HENRIQUE-SILVA F. Characterization of a new strain of *Aeromonas dhakensis* isolated from diseased pacu fish (*Piaractus mesopotamicus*) in Brazil[J]. Journal of Fish Diseases, 2016, 39(11): 1285-1295.
- [11] 渠凤甜, 周海健, 薛佳琦, 杜小莉, 胡锦瑞, 崔志刚, 谢桂林, 刘辰庚, 孟双. 虾源达卡气单胞菌全基因组分析和致病性研究[J]. 中国比较医学杂志, 2023, 33(3): 24-36.
QU FT, ZHOU HJ, XUE JQ, DU XL, HU JR, CUI ZG, XIE GL, LIU CG, MENG S. Whole-genome analysis and pathogenicity of *Aeromonas dhakensis* isolated from shrimps[J]. Chinese Journal of Comparative Medicine, 2023, 33(3): 24-36 (in Chinese).
- [12] 潘纪汶, 王昕, 杨诺, 韩语, 郭桂英, 曾纪锋, 郑继平. 牛蛙源达卡气单胞菌的分离鉴定及毒力特性分析[J]. 畜牧与兽医, 2021, 53(3): 77-83.
PAN JW, WANG X, YANG N, HAN Y, GUO GY, ZENG JF, ZHENG JP. Isolation, identification and virulence analysis of *Aeromonas dhakensis* from *Rana catesbiana*[J]. Animal Husbandry & Veterinary Medicine, 2021, 53(3): 77-83 (in Chinese).
- [13] WANG HC, XIA FJ, XIA YB, LI J, HU YM, DENG YT, ZOU MX. Pangenome analysis of *Shewanella xiamenensis* revealed important genetic traits concerning genetic diversity, pathogenicity and antibiotic resistance[J]. BMC Genomics, 2024, 25(1): 216.
- [14] 苗森, 吕爱军, 胡秀彩, 韩卓然, 王景桂, 陈成勋, 孙敬锋. 锦鲤厦门希氏菌的分离鉴定及药敏试验[J]. 南方农业学报, 2018, 49(1): 172-177.
MIAO M, LÜ AJ, HU XC, HAN ZR, WANG JG, CHEN CX, SUN JF. Isolation, identification and antibiotic susceptibility analysis of *Shewanella xiamenensis* from *Cyprinus carpio* var. Koi[J]. Journal of Southern Agriculture, 2018, 49(1): 172-177 (in Chinese).
- [15] 何宏港, 吴悠, 刘乃瑜, 王至诚, 刘静霞, 罗毅. 鳖源铜绿假单胞菌的分离鉴定及多位点序列与全基因组分析[J]. 微生物学报, 2022, 62(7): 2751-2767.
HE HG, WU Y, LIU NY, WANG ZC, LIU JX, LUO Y. Identification, multilocus sequence typing and whole-genome analysis of *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated from diseased *Trionyx sinensis*[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2022, 62(7): 2751-2767 (in Chinese).
- [16] 王迎平, 赵静贤, 尚佳富, 郝成森, 左好祺, 朱桓奕, 冯旭东, 徐婷婷, 倪兴维, 刘霞, 杨晓伟, 曹蓝云, 张立武, 谭昌藩, 曹礼静, 赵光伟. 大口黑鲈源豚鼠气单胞菌的分离鉴定及全基因组分析[J]. 中国畜牧兽医, 2024, 51(4): 1706-1716.
WANG YP, ZHAO JX, SHANG JF, HAO CS, ZUO YQ, ZHU HY, FENG XD, XU TT, NI XW, LIU X, YANG XW, CAO LY, ZHANG LW, TAN CF, CAO LJ, ZHAO GW. Isolation, identification and whole genome analysis of *Aeromonas caviae* from *Micropterus salmoides*[J]. China Animal Husbandry & Veterinary Medicine, 2024, 51(4): 1706-1716 (in Chinese).
- [17] 张美超, 邓玉婷, 赵飞, 谭爱萍, 罗愿, 李东铭, 姜兰, 黄志斌. 一株鳢源诺卡氏菌致病性与全基因组分析[J]. 微生物学通报, 2022, 49(6): 2193-2211.
ZHANG MC, DENG YT, ZHAO F, TAN AP, LUO Y, LI DM, JIANG L, HUANG ZB. Pathogenicity and whole genome analysis of a *Nocardia seriolae* strain isolated from snakehead[J]. Microbiology China, 2022, 49(6): 2193-2211 (in Chinese).
- [18] 周阳, 刘礼辉, 李宁求, 付小哲. 舒氏气单胞菌全基因组的比较分析[C]//中国水产学会. 2017年中国水产学会学术年会论文摘要集. 农业部渔用药物创制重点实验室珠江水产研究所中国水产科学研究院; 上海海洋大学水产与生命学院, 2017.
ZHOU Y, LIU LH, LI NQ, FU XZ. Comparative analysis of the whole genome of *Aeromonas hydrophila* in *Schubert*[C]//Chinese Society of Fisheries. Abstract Collection of the 2017 Academic Annual Meeting of the Chinese Society of Fisheries. Key Laboratory of Aquatic Drug Creation, Ministry of Agriculture; Pearl River Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences; College of Fisheries and Life Sciences, Shanghai Ocean University, 2017 (in Chinese).
- [19] 王瑞旋, 刘广锋, 王江勇, 冯娟, 郭志勋, 徐力文. 养殖卵形鲳鲹诺卡氏菌病的研究[J]. 海洋湖沼通报, 2010, 32(1): 52-58.
WANG RX, LIU GF, WANG JY, FENG J, GUO ZX, XU LW. Studies on nocardiosis infected farming *Trachinotus ovatus*[J]. Transactions of Oceanology and Limnology, 2010, 32(1): 52-58 (in Chinese).
- [20] BOLGER AM, LOHSE M, USADEL B. Trimmomatic: a flexible trimmer for Illumina sequence data[J]. Bioinformatics, 2014, 30(15): 2114-2120.
- [21] LI DH, LIU CM, LUO RB, SADAKANE K, LAM TW. MEGAHIT: an ultra-fast single-node solution for large and complex metagenomics assembly via succinct de Bruijn graph[J]. Bioinformatics, 2015, 31(10): 1674-1676.
- [22] 田桂铭, 周润芝, 吴琼, 赵飞燕, 李伟程, 于洁. 基于比较基因组学解析两歧双歧杆菌 B1628 遗传背景及潜在益生基因[J]. 食品与发酵工业, 2025, 51(3):

- 72-80.
TIAN GM, ZHOU RZ, WU Q, ZHAO FY, LI WC, YU J. Comparative genomic analysis of genetic background and potential probiotic genes of *Bifidobacterium bifidum* B1628[J]. Food and Fermentation Industries, 2025, 51(3): 72-80 (in Chinese).
- [23] ALCOCK BP, HUYNH W, CHALIL R, SMITH KW, RAPHENYA AR, WLODARSKI MA, EDALATMAND A, PETKAU A, SYED SA, TSANG KK, BAKER SJC, DAVE M, MCCARTHY MC, MUKIRI KM, NASIR JA, GOLBON B, IMTIAZ H, JIANG XJ, KAUR K, KWONG M, et al. CARD 2023: expanded curation, support for machine learning, and resistome prediction at the Comprehensive Antibiotic Resistance Database[J]. Nucleic Acids Research, 2023, 51(D1): D690-D699.
- [24] SWEET T Jr, SINDI S, SISTROM M. Going through phages: a computational approach to revealing the role of prophage in *Staphylococcus aureus*[J]. Access Microbiology, 2023, 5(6): acmi000424.
- [25] 吕丽丽, 梅飞, 曹守林, 郭佳静, 李瑾年. 加州鲈源鳊鱼诺卡氏菌的分离鉴定及致病性[J]. 微生物学通报, 2021, 48(12): 4765-4775.
(LÜ/LV/LU/LYU) LL, MEI F, CAO SL, GUOJIA J, LI JN. Isolation, identification and pathogenicity of *Nocardia seriolae* from *Micropterus salmoides*[J]. Microbiology China, 2021, 48(12): 4765-4775 (in Chinese).
- [26] 杨宗英, 李裕卫, 曾柳根, 杨移斌, 严保华, 姚毅. 天峡红鲢致病性嗜水气单胞菌的分离、鉴定及药敏试验[J]. 水产养殖, 2024, 45(4): 35-38.
YANG ZY, LI YW, ZENG LG, YANG YB, YAN BH, YAO Y. Isolation, identification, and antibiotic sensitivity test of *Aeromonas hydrophila* pathogenic to *Tetragnathidae* red catfish[J]. Journal of Aquaculture, 2024, 45(4): 35-38 (in Chinese).
- [27] HUANG MX, CHEN HT, LI CN, LIU Y, GAN CJ, EL-SAYED AHMED MAE, LIU RH, SHEN C, ZHONG RX, TIAN GB, HUANG X, XIA JY. Rapid fulminant progression and mortality secondary to *Aeromonas dhakensis* septicemia with hepatitis B virus infection following the ingestion of snakehead fish in China's mainland: a case report[J]. Foodborne Pathogens and Disease, 2020, 17(12): 743-749.
- [28] 王秋水, 刘悦, 邓婕, 左嘉, 袁立艳, 丁奇, 吴赞, 邵鹏, 高丽娟. 动物性水产品及其养殖环境中抗生素抗性基因的研究进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2022, 13(5): 1453-1461.
WANG QS, LIU Y, DENG J, ZUO J, YUAN LY, DING Q, WU Z, SHAO P, GAO LJ. Research progress of antibiotic resistance genes in animal aquatic products and aquaculture environment[J]. Journal of Food Safety & Quality, 2022, 13(5): 1453-1461 (in Chinese).
- [29] 耿庆华, 廖立珊, 吴江, 曹宽仁, 刘瑜, 姜莉, 刘荻, 孙洁. 我国养殖业抗生素耐药基因污染特征及“One Health”框架下应对策略[J]. 畜牧兽医科技信息, 2024(1): 32-35.
GENG QH, LIAO LS, WU J, CAO KR, LIU Y, JIANG L, LIU H, SUN J. Characteristics of antibiotic resistance gene pollution in China's aquaculture industry and its countermeasures under the framework of “One Health” [J]. Chinese Journal of Animal Husbandry and Veterinary Medicine, 2024(1): 32-35 (in Chinese).
- [30] 金慧, 赵城, 郑光明, 魏琳婷, 史晓娜, 林嘉薇, 李丽春, 单奇, 马丽莎, 尹怡. QuEChERS 技术结合高效液相色谱-串联质谱法测定鱼肉中 6 种替考拉宁残留量[J]. 分析测试学报, 2022, 41(6): 835-842.
JIN H, ZHAO C, ZHENG GM, WEI LT, SHI XN, LIN JW, LI LC, SHAN Q, MA LS, YIN Y. Simultaneous determination of six teicoplanins residues in fish samples by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry coupled with QuEChERS method[J]. Journal of Instrumental Analysis, 2022, 41(6): 835-842 (in Chinese).
- [31] 裴文婧, 刘辉, 高磊, 胡昆, 郑凌, 叶静. 达卡气单胞菌致脓毒性休克一例并文献复习[J]. 中国呼吸与危重监护杂志, 2022, 21(11): 815-819.
PEI WJ, LIU H, GAO L, HU K, ZHENG L, YE J. A case of septic shock caused by *Aeromonas dhakensis* and literature review[J]. Chinese Journal of Respiratory and Critical Care Medicine, 2022, 21(11): 815-819 (in Chinese).
- [32] 滕建, 陈红菊, 薛良义, 李岩, 路广金, 周敏, 张冲, 季相山. 乌鳢诺卡氏菌病致病菌的分离、鉴定及组织病理学观察[J]. 水产学报, 2022, 46(5): 836-847.
TENG J, CHEN HJ, XUE LY, LI Y, LU GJ, ZHOU M, ZHANG C, JI XS. Isolation, identification, and histopathological observation of pathogen causing nocardiosis in *Channa argus*[J]. Journal of Fisheries of China, 2022, 46(5): 836-847 (in Chinese).
- [33] SHON AS, BAJWA RPS, RUSSO TA. Hypervirulent (hypermucoviscous) *Klebsiella pneumoniae*: a new and dangerous breed[J]. Virulence, 2013, 4(2): 107-118.
- [34] SHI YJ, FANG QJ, HUANG HQ, GONG CG, HU YH. HutZ is required for biofilm formation and contributes to the pathogenicity of *Edwardsiella piscicida*[J]. Veterinary Research, 2019, 50(1): 76.
- [35] XU XJ, LI HY, QI X, CHEN YN, QIN YX, ZHENG J, JIANG XL. *cheA*, *cheB*, *cheR*, *cheV*, and *cheY* are involved in regulating the adhesion of *Vibrio harveyi*[J]. Frontiers in Cellular and Infection Microbiology, 2021, 10: 591751.
- [36] KIM SI, KIM S, KIM E, HWANG SY, YOON H. Secretion of *Salmonella* pathogenicity island 1-encoded type III secretion system effectors by outer membrane vesicles in *Salmonella enterica* serovar typhimurium[J]. Frontiers in Microbiology, 2018, 9: 2810.
- [37] 袁思琪, 李倩, 毛旭虎. 细菌VI型分泌系统的调控与功能研究进展[J]. 微生物学通报, 2021, 48(2): 620-626.
YUAN SQ, LI Q, MAO XH. Advances in regulation and function of the bacterial type VI secretion system[J]. Microbiology China, 2021, 48(2): 620-626 (in Chinese).
- [38] 蒋魁. 哈维弧菌致病性及其 T6SS 相关基因的克隆与敲除研究[D]. 上海: 上海海洋大学硕士学位论文, 2016.
JIANG K. Pathogenicity of *Vibrio harveyi* and cloning and deleting of T6SS related gene[D]. Shanghai: Master's Thesis of Shanghai Ocean University, 2016 (in Chinese).
- [39] WANG JH, TSENG SY, TUNG KC. Genomic investigation of emerging zoonotic pathogen *Shewanella xiamenensis*[J]. Tzu Chi Medical Journal, 2019, 32(2): 162-166.

- [40] TRUONG NHM, NGUYEN Q, VOONG PV, CHAU V, NGUYEN NHT, NGUYEN THM, VO PH, NGUYEN LT, HA TTP, NGUYEN LPH, LE PH, THANH DP, NGUYEN HD. Genomic characterization of *Aeromonas* spp. isolates from striped catfish with motile *Aeromonas* septicemia and human bloodstream infections in Vietnam[J]. *Microbial Genomics*, 2024, 10(5): 001248.
- [41] 黎毅, 张琪, 胡力凡, 刘凤燕, 肖国生, 戚文华. 三峡水库铜绿假单胞菌分离株的耐药性与毒理评价[J]. *微生物学杂志*, 2024, 44(4): 72-81.
LI Y, ZHANG Q, HU LF, LIU FY, XIAO GS, QI WH. Drug resistance and toxicological evaluation of *Pseudomonas aeruginosa* isolates from Three Gorges Reservoir[J]. *Journal of Microbiology*, 2024, 44(4): 72-81 (in Chinese).
- [42] 丁慧, 伍茜, 程建国, 吴杰, 龚杭, 刘洁, 杨凯惟, 周磊, 付文龙, 罗燕. 一株林麝源丙二酸盐克罗诺杆菌的分离鉴定及其全基因组序列分析[J]. *微生物学通报*, 2024, 51(10): 4212-4229.
DING H, WU X, CHENG JG, WU J, GONG H, LIU J, YANG KW, ZHOU L, FU WL, LUO Y. Isolation, identification, and whole genome sequencing of *Cronobacter malonicus* from forest musk Deer[J]. *Microbiology China*, 2024, 51(10): 4212-4229 (in Chinese).
- [43] 刘博华, 符汉字, 王玉恒, 索朗斯珠, 牛家强, 包玉花, 李家奎, 徐业芬. 西藏那曲市牦牛源 b 型多杀性巴氏杆菌的分离鉴定及基因组分析[J]. *畜牧兽医学报*, 2024, 55(7): 3105-3118.
LIU BH, FU HY, WANG YH, SUO LMZ, NIU JQ, BAO YH, LIJK, XU YF. Isolation, identification and genome analysis of type B *Pasteurella multocida* isolated from yak in Xizang Nakchu city[J]. *Acta Veterinaria et Zootechnica Sinica*, 2024, 55(7): 3105-3118 (in Chinese).
- [44] 吴汉卿, 阮楚晋, 韩苗, 王钢. 土壤病毒之奥秘: 研究进展、挑战及未来展望[J]. *微生物学报*, 2024, 64(6): 1824-1847.
WU HQ, RUAN CJ, HAN M, WANG G. Mystery of soil viruses: advances, challenges, and perspectives[J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2024, 64(6): 1824-1847 (in Chinese).
- [45] GRENFELL AW, INTILE PJ, McFARLANE JA, LEUNG DC, ABDALLA K, WOLD MC, KEES ED, GRALNICK JA. The outer membrane cytochrome OmcA is essential for infection of *Shewanella oneidensis* by a zebrafish-associated bacteriophage[J]. *Journal of Bacteriology*, 2023, 205(6): e0046922.
- [46] YASUIKE M, NISHIKI I, IWASAKI Y, NAKAMURA Y, FUJIWARA A, SHIMAHARA Y, KAMAISHI T, YOSHIDA T, NAGAI S, KOBAYASHI T, KATOH M. Analysis of the complete genome sequence of *Nocardia seriolae* UTF1, the causative agent of fish nocardiosis: The first reference genome sequence of the fish pathogenic *Nocardia* species[J]. *PLoS One*, 2017, 12(3): e0173198.
- [47] KIM BS, HUH MD, ROH H. The complete genome of *Nocardia seriolae* MH196537 and intra-species level as analyzed by comparative genomics based on random forest algorithm[J]. *Current Microbiology*, 2021, 78(6): 2391-2399.