

引起文蛤爆发性死亡病原菌的分离和鉴定

刘连生^{1,2} 闫茂仓² 林志华² 柴雪良² 汤洁¹ 赵海泉^{1*}

(1. 安徽农业大学生命科学学院 安徽 合肥 230036)

(2. 浙江省海洋水产养殖研究所 浙江 温州 325005)

摘要: 本文从江苏吕泗文蛤养殖区发病文蛤和养殖水体中分离到5株优势菌(病蛤中分离到3株优势菌, 养殖水体中分离到2株优势菌), 人工感染实验结果显示, 菌株WG1702能引起供试文蛤发病, 死亡率为100%, 且发病症状与原发病症状相同, 提示该菌是引起文蛤大面积死亡的主要致病菌, 对其形态、生理生化特征、分类地位及致病性进行了初步研究, 菌株WG1702为革兰氏阴性菌, 直杆状, 生理生化指标为: 赖氨酸脱羧酶、鸟氨酸脱羧酶、硝酸盐还原、甘露糖、氧化酶、甲基红阳性, 精氨酸脱羧酶、精氨酸双水解酶、水杨素、V.P. 阴性。为确定该致病菌的分类学地位, 进行了16S rRNA分子鉴定, PCR扩增获得了大小约1.5 kb的16S rRNA部分基因片段, 对其序列进行了测定, 并进行同源性分析和系统进化树构建。结果表明, 该菌株与哈氏弧菌(DQ146937)同源性最高, 为97.4%, 结合形态、生理生化鉴定结果, 最后鉴定菌株WG1702为哈氏弧菌(*Vibrio harveyi*)。

关键词: 文蛤, 哈氏弧菌, 16S rRNA, 系统发育

Pathogens Isolation and Identification of Eruptive Epidemic Disease in *Meretrix meretrix*

LIU Lian-Sheng^{1,2} YAN Mao-Cang² LIN Zhi-Hua² CHAI Xue-Liang²
TANG Jie¹ ZHAO Hai-Quan^{1*}

(1. Faculty of Life Science, Anhui Agricultural University, Hefei, Anhui 230036, China)

(2. Zhejiang Mariculture Research Institute, Wenzhou, Zhejiang 325005, China)

Abstract: Five kinds of bacteria were isolated from disease *Meretrix meretrix* and culture water (two isolated from the *M. meretrix*, three from the culture water) in Lvsi harbor, Jiangsu province. The results of infection showed that strain WG1702 can cause disease with the mortality rate 100 percent and the same symptoms as original. It was cued that strain WG1702 was the pathogenic bacteria and caused the death in large scare, a preliminary research was done on the bacteria including morphological, physiological, biochemical characteristics, phylogenetic position and pathogenic. Strain WG1702 was a straight-rod gram negative bacterium, the physiological and biochemical indicators were lysine decarboxylase, ornithine de-carboxylase, reduction of NO₃⁻ to NO₂⁻, mannitose, oxidase and methylred reaction positive, arginine de-carboxylase, arginine dihydrolase, salicin and voges-proskauer negative. In order to identify the bacteria phylogenetic position and a 16S rRNA molecular identification was done, PCR amplification got a size of

* 通讯作者: swjs12@ahau.edu.cn

收稿日期: 2008-05-23; 接受日期: 2008-08-29

about 1.5 kb gene fragment, The whole 16S rRNA sequences were determined, analyzed the homology of sequences and built the phylogenetic tree. Sequences analysis revealed that strain WG1702 exhibited the highest level of 97.4% similarity to *Vibrio harveyi*(DQ146937), combining morphological, physiological and biochemical identification results, the isolated strain WG1702 was identified as *Vibrio harveyi*.

Keywords: *Meretrix meretrix*, *Vibrio Harveyi*, 16S rRNA, Phylogenetic analysis

文蛤(*Meretrix meretrix* Linnaeus)是我国沿海常见的一种重要经济贝类，因其肉质细嫩、营养丰富，深受国内外消费者欢迎，是出口创汇的重要水产品之一。文蛤养殖在我国已有多年的历史，随着国际市场对文蛤需求量的不断增长，我国的文蛤养殖业得到了迅速发展，据不完全统计，全国文蛤养殖面积已达到 1.4×10^5 hm²，年产量约 6.0×10^5 t，出口量达 2.0×10^5 t^[1]。但是近十几年来，随着文蛤养殖规模的逐年扩大，养殖环境恶化导致微生物疾病的流行而引发的养殖文蛤的大规模死亡屡屡发生，已造成巨大的经济损失，全国养殖贝类因微生物疾病导致死亡而造成的经济损失保守估计每年达到20~30亿元^[2]。而弧菌(*Vibrio*)是导致文蛤发病的主要致病菌，发病的文蛤表现为不能潜入沙中，双壳不能紧闭，壳边缘有许多粘液，消化道内细菌大量繁殖^[3]，国内外的报道有副溶血弧菌(*Vibrio parahaemolyticus*)^[4-7]和弗氏弧菌(*Vibrio furnissii*)^[8]，郑国兴等^[9]发现导致江苏沿岸文蛤大规模死亡的病原菌为溶藻弧菌(*Vibrio alginolyticus*)，而哈氏弧菌作为文蛤病原菌的研究还未见报道。本研究对发病文蛤和养殖水体中交叉优势菌株进行分离、鉴定，并进行人工感染试验和药物敏感性分析，探讨分析导致江苏吕泗文蛤大规模死亡的病原，旨在为文蛤疾病研究提供理论依据，为文蛤健康养殖提供一些参考资料。

1 材料与方法

1.1 发病文蛤症状

于2007年9月份江苏吕泗文蛤发病高峰期，采集病状特征明显、濒临死亡的文蛤。患病文蛤(壳长2 cm左右)花色暗淡无光泽，表皮部分脱落、表面粘液较少，解剖发现外套膜萎缩，闭壳肌松弛、开合无力，有些发烂发白，软体部消瘦，颜色淡红，血管无色，部分病蛤腮黏液明显增多。

1.2 分离方法

无菌盐水洗净，用70%的酒精棉球对体表擦拭消毒，无菌手术刀开启，取肝胰脏等部位无菌匀浆

器中匀浆处理，zobell 2216E 平板和 TCBS 平板划线接种，28°C 培养 24 h 后，选取优势菌落进行重复划线纯化，纯培养物于4°C 冰箱中保存。

1.3 人工感染试验

人工感染试验在20 L 水族箱中进行，条件为温度28°C，盐度26.4，pH 8.2，连续充气，每组放16只2 cm 大小的文蛤。每天换水1次，试验组调节水体中细菌浓度为 10^8 CFU/mL，每日投单胞藻1次；对照组不加入菌体，按上述方法饲养；连续观察12 d，纪录死亡状况，并进行解剖和病原的再分离以确定是否死于攻毒活菌引起的感染。

1.4 细菌鉴定

1.4.1 传统的细菌生理生化方法鉴定：按一般细菌常用鉴定方法^[10]进行分离菌的生物学性状测定，包括革兰氏染色、形态观察、生理生化特性测定(所用试剂购自杭州天和微生物试剂有限公司)。

1.4.2 分子生物学方法鉴定：将培养24 h 的菌种用无菌盐水稀释至浓度为 10^8 CFU/mL，取1 mL 菌液，10000 r/min 离心1 min，弃上清。按照上海生物工程公司基因组DNA 提取试剂盒的操作手册，提取细菌基因组DNA；16S rRNA 的扩增：16S rRNA 基因 PCR 扩增引物为：正向引物 27F : 5'-AGAGTTGAT CCTGGCTCAG-3'，对应于 *E. coli* 16S rRNA 的第8-27个碱基位置，反向引物 1492R : 5'-TACGGCTA CCTTGTTACGACTT-3'，对应于 *E. coli* 16S rRNA 基因序列的第1492-1510个碱基位置。

PCR 反应体系(20 μL): Sterilized ddH₂O 13.6 μL, 10×PCR Buffer 2 μL, 2 mmol/L dNTPs 0.3 μL, 引物各 0.4 μL, 5 U/50 μL *Taq* DNA 聚合酶 0.1 μL, 25 mmol/L MgCl₂ 1.2 μL, 模板 DNA 2 μL。

PCR 反应条件为：96°C 预变性 6 min; 94°C 变性 1 min, 55°C 退火 1 min, 72°C 延伸 2 min, 30 个循环；72°C 延伸 6 min。整个反应完成后，1.0%的琼脂糖凝胶电泳对 PCR 扩增产物进行鉴定。由上海生工生物技术服务有限公司测序。

1.4.3 序列分析与数据处理： 将分离菌株的 16S

rRNA 所测序列通过 Blast 与 GenBank 中的序列进行比对，采用 Clustal V 方法和 DNA Star 软件进行序列同源性比对和系统发育树的建立。

1.5 药敏试验

采用纸片琼脂扩散法，在 zobell 2216E 培养基上培养 24 h，测量抑菌圈直径。药敏纸片(杭州天和微生物试剂有限公司)，共 19 种抗菌药物。

2 结果与分析

2.1 细菌分离及其形态特征

经分离纯化后，从发病区水体中获得 2 株优势菌 WS1501 和 WS1502。从病蛤中分离到 3 株优势

菌 WG1701、WG1501 和 WG1702，分离到的菌株均为革兰氏阴性直杆菌，菌体直或稍弯，无荚膜，靠鞭毛运动。在 TCBS(硫代硫酸钠-柠檬酸盐-胆盐)琼脂平板上培养 18 h 后，菌株 WG1702 形成黄色扁平的大菌落，再培养 18 h 左右菌落最终变成绿色，菌落直径为 3 mm~7 mm；菌株 WS1502 和 WG1501 形成绿色平整的菌落，菌落直径为 1 mm~4 mm；菌株 WS1501 和 WG1701 则为金黄色突起状菌落，菌落直径为 3 mm~5 mm；5 株病原菌在 zobell 2216E 平板上生长的菌落均无色素。

2.2 人工感染试验

表 2 显示，5 株弧菌均可使文蛤感染病死，以菌

表 1 人工感染试验结果

Table 1 Results of infection

组别 Group	试验数 Numbers	死亡时间和死亡数量 The time and the number of death							死亡率 Mortality
		1 d~6 d	7 d	8 d	9 d	10 d	11 d	12 d	
WS1501	16	0	0	2	2	3	1	0	50
WS1502	16	0	0	0	0	1	1	0	12.5
WG1702	16	0	2	6	8	0	0	0	100
WG1701	16	0	0	0	2	1	2	2	43.75
WG1501	16	0	0	2	4	3	0	2	68.75
对照组 Contral items	16	0	0	0	0	0	0	0	0

表 2 菌株 WG1702 药敏试验结果
Table 2 Results of the strain WG1702 antibiotics experiments

药物 Chemical	抑菌圈直径 Diameter(mm)	敏感度 Sensitivity
阿米卡星(AN)	17.86	S
氟哌酸(NOR)	14.17	M
复方新诺明(SXT)	22.63	S
利福平(RIF)	18.10	M
头孢噻吩(CEF)	15.18	M
头孢拉定(CED)	19.22	S
菌必治(CRO)	27.11	S
先锋必(CFP)	23.70	S
链霉素(STR)	22.12	S
庆大霉素(GEN)	22.97	S
头孢氨苄(CEX)	17.76	M
青霉素 G(PCN)	-	R
四环素(TE)	9.21	R
新霉素(NEO)	20.27	S
卡那霉素(KAN)	18.58	S
氨苄青霉素(AMP)	18.48	M

注：S：高度敏感；M：中度敏感；R：抑制；-：无抑菌圈。

Note : S: Highly sensitive; M: Middlely sensitive; R: Restrain; -: No-inhibitory zone.

表 3 分离菌株的生理生化特性

Table 3 Physiological and biochemical characteristics of bacteria isolated

反应项目 Test items	WG1702	哈氏弧菌 ^[1] (<i>V. harveyi</i>)
革兰氏染色 Gram stain	-	V
TCBS 生长 Test items	黄/绿	黄/绿
色素 Pigment	-	-
O/F 试验 Oxidation/Fermentation	F	F
O/129(10 μg)O/129 Sensitivity	R	S
O/129(150 μg)O/129 Sensitivity	S	S
4°C 生长 Growth at 4°C	-	-
10°C 生长 Growth at 10°C	+	+
30°C 生长 Growth at 30°C	+	+
40°C 生长 Growth at 40°C	+	D
0%NaCl 生长 Growth in 0% NaCl	-	-
1%NaCl 生长 Growth in 1% NaCl	+	+
6%NaCl 生长 Growth in 6% NaCl	+	+
8%NaCl 生长 Growth in 8% NaCl	-	D
10%NaCl 生长 Growth in 10% NaCl	-	D
水杨素 Salicin	-	D
氧化酶 Oxidase	+	+
接触酶 Catalase	+	+
精氨酸脱羧酶 Arginine Decarboxylase	-	-
精氨酸双水解酶 Arginine Dihydrolase	-	-
赖氨酸脱羧酶 Lysine Decarboxylase	+	+
鸟氨酸脱羧酶 Ornithine Decarboxylase	+	+
葡萄糖产气 Gas from Glucose	-	-
阿拉伯糖 Arabinose	-	D
纤维二糖 Cellobiose	+	+
蔗糖 Sucrose	+	D
乳糖 Lactose	-	-
甘露糖 Mannose	+	+
肌醇 Inositol	-	-
氰化钾 KCN	-	-
D-甘露醇 D-Mannitol	+	+
硝酸盐还原 Nitrate Reduction	+	+
明胶液化 Gelatine Liquefaction	D	+
吲哚产生 Indole Production	+	+
甲基红 Methyl Red	+	+
V.P Voges-Proskauer	-	-

注 : +: 阳性; -: 阴性; R: 抗性; S: 敏感; F: 发酵型; D: 可变化。

Note: +: Positive; -: Negative; R: Resistant; S: Sensitive; F: Ferment; D: Some strains are positive and some negative.

株 WG1702 感染病死率最高, 为 100%, 菌株 WS1502 病死率最低, 为 12.50%; 人工感染菌株 WG1702 7 d 后, 文蛤开始出现死亡, 9 d 后全部死亡。于是初步判定 2007 年 9 月江苏吕泗港文蛤大批死亡主要是以菌株 WG1702 为主要病原体的传染病所造成。

2.3 药物敏感性试验

利用纸片法测定 16 种抗菌药物对致病菌的抑制作用, 由结果可知, 菌株 WG1702 对阿米卡星等 9 种药物高度敏感, 对氟哌酸等 5 种药物中度敏感, 对青霉素产生耐药性。

2.4 分离菌株生化特性

菌株 WG1702 在 40°C 以上和 4°C 以下不生长, 无盐不生长, 在含 8% 以上 NaCl 脱水中不生长, 葡萄糖不产气、精氨酸脱羧酶、精氨酸双水解酶、肌醇、水杨素、V.P 阴性, 赖氨酸脱羧酶、鸟氨酸脱羧酶、硝酸盐还原、甘露糖、氧化酶、甲基红阳性, 对弧菌抑制剂 O/129(150 μg) 敏感, 这些特性相关文献对哈氏弧菌的描述基本一致, 认为分离菌株 WG1702 为哈氏弧菌(*V. harveyi*)。

2.5 PCR 扩增 16S rRNA 图谱

分离菌株基因组扩增后的 PCR 产物经 1.0% 琼脂糖凝胶电泳, 从图 1 中可观察到在 1.5 kb 左右处有一明亮的特征条带。

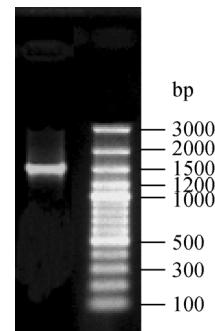


图 1 PCR 扩增菌株 WG1702 16S rRNA 序列

Fig. 1 PCR amplification of strain WG1702 16S rRNA sequences

2.6 测序结果及同源性分析

经过与 GenBank 中已知的相关微生物序列进行相似性搜索表明, 测定序列与搜索到其他弧菌序列的同源性在 89.2% 以上, 遗传距离在 5.7% 以上。菌株 WG1702 和哈氏弧菌 DQ146937 16S rRNA 基因序列相似性最高, 同源性达 97.4%, 其次是需钠弧菌 AJ874352, 同源性为 96.0%, 核苷酸序列同源性和

与遗传距离分析结果见图 2。

2.7 系统发育分析

在 GenBank 中进行同源性检索, 结果发现在所得到的 100 个检索结果中, 弧菌种数占 86%, 其余为

海洋类细菌、不可培养的细菌和未鉴定细菌。图 3 是根据分离菌株 WG1702 的 16S rRNA 序列与相关弧菌种 16S rRNA 序列构建的系统发育树, 从图中可以看出 WG1702 与哈氏弧菌 DQ146937 自然聚为

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15		
Divergence																	
1	90.3	93.0	93.2	93.1	92.9	93.3	93.2	93.6	93.5	94.6	91.5	93.8	94.8	91.0	1	<i>Vibrio aestuarianus</i> (AJ845011)	
2	6.1	92.6	91.3	94.0	91.9	93.7	90.3	93.7	93.6	92.6	91.5	91.3	91.4	90.2	2	<i>Vibrio fisheri</i> ATCC 7744T(X74702.1)	
3	3.9	6.0	97.4	95.1	93.1	95.4	93.6	95.5	95.9	94.2	93.1	94.8	95.1	92.2	3	<i>Vibrio fluvialis</i> ATCC 33809T(X74703.1)	
4	3.9	5.9	0.3	94.7	93.6	94.2	93.4	95.0	94.9	94.7	95.2	95.9	97.3	92.3	4	<i>Vibrio fluvialis</i> (X76335.1)	
5	3.8	4.8	4.0	3.8		97.9	95.6	92.5	99.0	98.6	94.5	96.8	93.9	94.8	5	<i>Vibrio harveyi</i> (AY911396)	
6	4.2	5.4	3.9	3.9	1.2	94.1	88.8	98.3	97.1	90.9	98.1	92.3	94.0	97.4	6	<i>Vibrio harveyi</i> (DQ146937)	
7	3.3	5.5	3.8	3.7	3.5	3.7	92.9	95.6	95.7	94.5	93.3	94.6	95.2	92.8	7	<i>Vibrio mediterranei</i> CIP 103203T(X74710.1)	
8	3.4	6.8	3.5	3.3	4.5	5.0	4.5		92.3	92.5	95.6	88.6	94.5	94.1	89.2	8	<i>Vibrio metschnikovii</i> CIP 69.14T(X74711.1)
9	3.6	5.0	3.5	3.4	0.8	0.8	3.4	4.5	99.2	94.1	97.4	94.4	95.2	96.0	9	<i>Vibrio natriegens</i> (AJ874352.1)	
10	3.3	4.8	3.1	3.2	1.0	0.9	3.2	4.2	0.3	94.4	96.7	94.3	95.0	96.0	10	<i>Vibrio natriegens</i> ATCC14048T (X74714.1)	
11	2.8	5.9	4.1	3.9	3.8	4.6	4.2	2.7	4.1	3.9	91.5	96.8	96.5	90.4	11	<i>Vibrio ordalii</i> ATCC 33509T(X74718.1)	
12	3.8	5.1	3.7	3.5	0.9	1.0	3.5	4.8	0.5	0.6	4.5	91.9	95.2	95.8	12	<i>Vibrio parahaemolyticus</i> (AY562192)	
13	2.1	5.7	2.3	1.9	3.3	3.1	2.8	2.4	2.8	2.5	2.4	3.1		97.9	90.6	13	<i>Vibrio vulnificus</i> ATCC 29307 (X74727.1)
14	2.2	5.8	2.6	2.3	3.4	3.5	2.7	2.7	3.0	2.8	2.5	3.2	0.0	91.9	14	<i>Vibrio fluvialis</i> (X76334.1)	
15	4.2	5.7	3.7	4.2	1.5	1.1	3.6	4.9	1.0	1.0	4.6	1.5	3.1	3.8	15	<i>Vibrio harveyi</i> (FJ154796)	
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15		

图 2 菌株 WG1702 核苷酸序列同源性和遗传距离分析结果
Fig. 2 Homology and Genetic Relationship results of the strain WG1702 nucleotide sequences

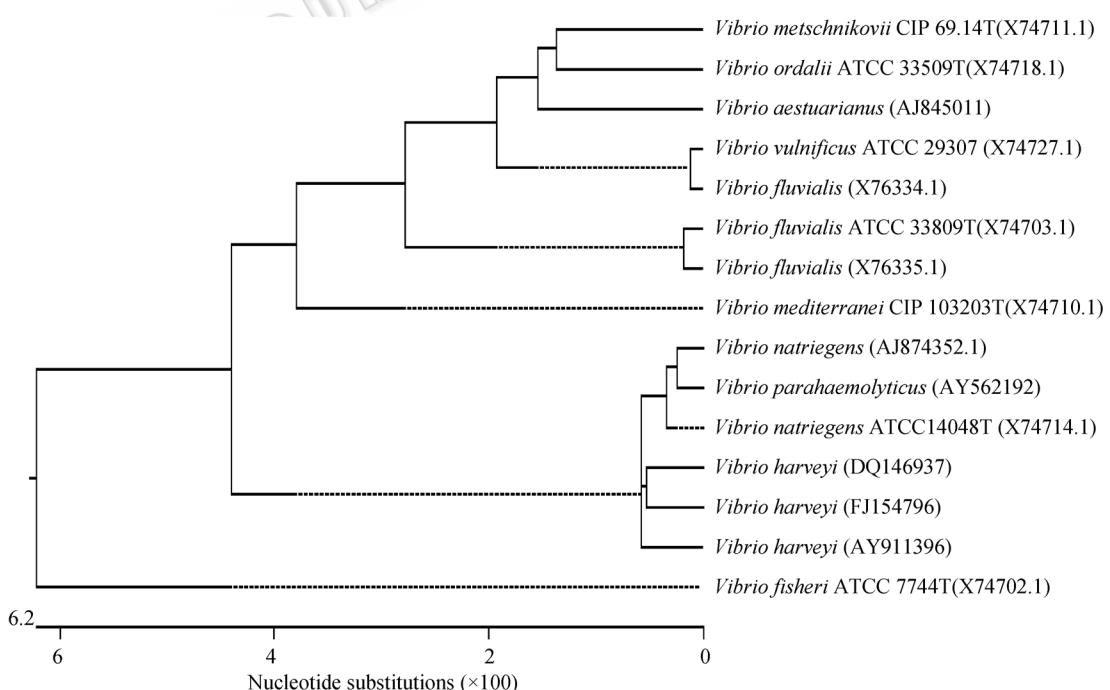


图 3 16S rRNA 序列的系统发育树
Fig. 3 Phylogenetic tree of 16S rRNA sequences

一支, 经过同源性比较 16S rRNA 序列的同源性高达 97.4%, 这也就意味着分离菌株 WG1702 在分类学地位上是归属于弧菌属, 可将其鉴定为哈氏弧菌。

3 讨论

本实验采用传统的生理生化和 16S rRNA 系统发育学分析技术, 对从患病文蛤和养殖水体中分离的菌株 WG1702 进行了综合鉴定。通过生理生化实验可知, 菌株 WG1702 与哈氏弧菌标准菌株^[11]基本相同, 初步鉴定菌株 WG1702 为哈氏弧菌(*Vibrio harveyi*), 这与邓欢^[12]、石亚素^[13]、王斌^[14]等学者在扇贝、大黄鱼、红鳍东方鲀体内分离到的哈氏弧菌鉴定结果相一致; 将测定的 16S rRNA 全序列递交 NCBI 进行 Blast 同源序列比对, 通过 16S rRNA 序列构建的系统发育树来看, 菌株 WG1702 与哈氏弧菌 DQ146937 亲缘关系最近, 同源性高达 97.4%, 最终可以确认菌株 WG1702 为哈氏弧菌(*V. harveyi*)。

值得注意的是菌株 WG1702 除了与哈氏弧菌参考菌株 16S rRNA 序列具有很高同源性和遗传距离外, 与需钠弧菌 AJ874352(*V. natriegens*)的同源性和遗传距离也很高, 但需钠弧菌不能利用甘露糖, TCBS 上菌落为黄色; 而哈氏弧菌能利用甘露糖, TCBS 上菌落一开始为黄色, 24 h 左右菌落最终变成绿色, 最终可以确认分离菌株为哈氏弧菌, 对于亲缘关系较近的细菌, 通过表型分析很难区分开, 鉴定时容易产生错误, 用分子方法鉴定能很好的解决这个问题^[15], 如果 GenBank 中同属细菌的 16S rRNA 序列多一些, 比较就会更准确, 再将生化特征和分子指标结合起来综合分析以保证鉴定结果的准确性。

哈氏弧菌感染海水养殖动物的报道比较多^[16-20], 但导致贝类病害发生的报道却未见到, 其感染发病的水温大多是高水温期, 与 2007 年 9 月江苏吕泗病害水温一致, 表明哈氏弧菌是容易高温环境下生长并导致海水养殖动物的弧菌病, 通过人工感染实验可知, 感染后的实验文蛤出现明显的病症: 花色暗淡无光泽, 表皮部分脱落、表面粘液较少, 解剖发现外套膜萎缩, 闭壳肌松弛、开合无力, 有些发烂发白, 软体部消瘦, 颜色淡红, 血管无色, 部分病蛤腮黏液明显增多, 这与邓欢^[12]对扇贝的人工感染实验结果极为相似, 死亡率高达 100%, 从浸泡感染方式发

病文蛤处分离到与自然发病相同的细菌, 因此可以确定菌株 WG1702 是文蛤发病的病原体, 为文蛤暴发性疾病的预防和控制赢得了宝贵的时间。

从药敏试验结果来看, 哈氏弧菌 WG1702 对阿米卡星、复方新诺明、卡那霉素、菌必治、先锋必、链霉素、庆大霉素、新霉素和头孢拉定 9 种药物高度敏感, 对氟哌酸、利福平、头孢噻吩、头孢氨苄和氨苄青霉素 5 种药物中度敏感, 对四环素和青霉素 G 低度敏感, 因此在疾病发生时可以适量投放一些抗菌性药物, 但值得注意的是目前在养殖过程中误用、滥用抗生素和消毒剂等, 影响了水体中微生态环境的平衡, 可能导致了一些耐药菌株的出现, 但是合理选择和使用有效的抗生素仍是目前和近期内控制疾病主要方法。为了更好的预防病害发生, 塘养或池养文蛤(滩涂除外)可以适量投放微生态制剂, 如: 芽孢杆菌和光合细菌, 以达到生态防治的目的。

参 考 文 献

- [1] 张安国, 李太武, 苏秀榕, 等. 文蛤养殖现状及展望. 水产科学, 2005, 24(2): 31-33.
- [2] 吴信忠. 海洋养殖贝类病害的流行状况及其控制对策. 广州: 广东经济出版社, 1998, pp.670-679.
- [3] 王斌, 王翔, 王莉明, 等. 我国主要养殖贝类微生物性疾病研究进展. 海洋环境科学, 2000, 21(3): 76-80.
- [4] Sen YL, Yu YS. Pathogenicity of *vibrio paraheamolyticus* to healthy clam *Meretrix meretrix* and the prevention and treatment of *vibrio* infections. Fisheries China, 1993, 17(3): 249-252.
- [5] 杨美桂. 新竹区养殖文蛤病原菌 *vibrao paraheamolyticus* 之分离. 农发会鱼病研究集(二), 1978, pp.59-67.
- [6] 阎冰, 洪家明, 刘军义, 等. 文蛤副溶血弧菌病的研究. 微生物学杂志, 1996, 16(4): 1-5.
- [7] 刘军义. 广西沿海文蛤及其生境中细菌菌群的初步调查. 水产科技情报, 1996, 23(2): 80-83.
- [8] 王广和, 沈艳云, 沙培荣, 等. 文蛤弗尼斯弧菌病研究. 微生物学通报, 1992, 19(4): 222-225.
- [9] 郑国兴, 李何, 黄宁宇, 等. 文蛤病原菌(溶藻弧菌)的分离与性状及病文蛤组织的电镜观察. 水产学报, 1991, 15(2): 85-95.
- [10] John GH, Noel RK, Peter HAS, et al. Bergey's manual of

- determinative bacteriology. Baltimore: Williams & Wilkins Press, 1994, pp.259–274.
- [11] Baumann P. Genus *Vibrio* In: Holt JC. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Wilkins: Baltimore & Williams, 1984, pp.518–538.
- [12] 邓 欢, 陈 倏, 刘权恕, 等. 养殖海湾扇贝弧菌病的研究. 应用与环境生物学报, 2003, 9(5): 517–521.
- [13] 石亚素, 童国忠, 薛超波, 等. 舟山养殖大黄鱼烂尾病中哈氏弧菌的分离鉴定及药敏试验. 中国卫生检验杂志, 2005, 15(3): 267–269.
- [14] 王 斌, 于兰萍, 胡 亮, 等. 红鳍东方鲍皮肤溃烂病病原菌的分离与鉴定. 中国水产科学, 2008, 15(2): 352–358.
- [15] Bruno Gomez-Gil, Sonia Soto-Rodriguez, Alejandra Garcia-Gas-ca, et al. Molecular identification of *Vibrio harveyi*-related isolates associated with diseased aquatic organisms. Microbiology, 2004, 150(6): 1769–1777.
- [16] 王 斌, 李 华, 何幽峰. 引起中国对虾红腿病的两种新病原菌的研究. 大连水产学院学报, 1993, 8(2): 43–48.
- [17] 金 珊, 王国良, 赵青松, 等. 控制海水网箱养殖鲈鱼皮肤溃疡病的药物研究. 浙江海洋学院学报(自然科学版), 1999, 18(4): 301–304.
- [18] 王国良, 金 珊, 薛良义, 等. 海水网箱养殖鲈鱼皮肤溃疡病及其病原菌的研究. 黄渤海海洋, 2000, 18(3): 85–89.
- [19] 王 军. 闽南地区养殖大黄鱼细菌性疾病的病原生物学研究. 厦门大学学报, 2001, 40(1): 85–91.
- [20] 童国忠, 石亚素, 薛超波. 舟山海水网箱养殖大黄鱼烂尾病病原菌及药敏分析. 浙江海洋学院学报(自然科学版), 2005, 24(2): 118–121.

编辑部公告

中国科学院微生物研究所期刊广告部成立

中国科学院微生物研究所期刊广告部于 2007 年 3 月正式成立, 已取得北京市工商管理局正式批准的广告经营许可证(京海工商广字第 8107 号)。广告部代理《生物工程学报》、《微生物学报》、《微生物学通报》、《菌物学报》四个期刊的广告经营业务, 此四种期刊均为中国自然科学核心期刊, 国内外公开发行, 主要报道微生物学和生物技术领域的最新研究成果和研究动态, 已被美国化学文摘(CA)、生物学文摘(BA)、医学索引(MEDLINE)、俄罗斯文摘杂志(AJ)及《中国学术期刊文摘》、《生物学文摘》等国内外著名数据库和检索期刊收录, 是促进国内外学术交流的重要科技期刊。

广告刊登内容主要包括大型生化仪器(如显微镜、离心机、色谱仪、无菌操作台、大、中、小型发酵罐)、设备耗材(如 PCR 仪、细胞生物反应器、微量移液器、离心管、杂交膜)及生化试剂(如各种酶、载体、试剂盒)等的产品宣传信息, 也可以发布生物技术人才招聘信息、会议消息、以及与生命科学有关的各类服务信息。广告部以严谨、诚信为原则, 愿与从事生物技术产品生产与销售的各类厂商和公司精诚合作, 共同发展。如有刊登广告的需要, 欢迎与我们电话或 email 联系获取各刊版位及报价信息! 也可以登陆各刊网站, 了解更多详情。

提示: 从 2007 年起, 各公司与此四刊签订的广告费用请汇入以下新账号:

收款单位: 中国科学院微生物研究所
开户银行: 中国工商银行北京分行海淀西区支行
帐号: 0200004509089117425

中国科学院微生物研究所·期刊广告部
联系电话: 010-64807336; 010-64807521
联系人: 武文 王闵
电子信箱: gg@im.ac.cn
网 址: <http://journals.im.ac.cn>