

研究报告

## 鳊源致病性维氏气单胞菌的鉴定及药敏试验

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

(1. 上海海洋大学水产与生命学院 上海 201306)

(2. 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)

(3. 南京农业大学无锡渔业学院 江苏 无锡 214081)

**摘要:**【目的】通过对从患病的鳊(*Siniperca chuatsi*)肝脏中分离得到的一株优势菌 WJ2014-1 进行鉴定,旨在确定病因并筛选出敏感药物,为今后鳊维氏气单胞菌(*Aeromonas veronii*)的防治提供参考。【方法】从患病鳊肝脏分离致病菌,通过对其生理生化特征与 16S rRNA 基因序列分析进行鉴定,并通过纸片扩散法进行药敏试验。【结果】用菌株 WJ2014-1 进行人工回归感染试验后,鳊发病症状与自然发病症状相似。根据该菌株的形态特征、生化特性、16S rRNA 基因序列分析结果鉴定为维氏气单胞菌。该菌株对复方新诺明、强力霉素、罗红霉素、头孢噻肟、哌拉西林等 21 种抗生素敏感,对氯霉素、诺氟沙星、茶啶酸等 9 种抗生素耐药。【结论】分离得到的菌株 WJ2014-1 对鳊有致病性,生产中可选用复方新诺明、强力霉素、罗红霉素等药物进行防治。

**关键词:** 鳊, 维氏气单胞菌, 鉴定, 药敏试验

## Identification and susceptibility test of pathogenic *Aeromonas veronii* isolated from *Siniperca chuatsi*

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

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

(2. 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)

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

**Abstract:** [Objective] To determine the cause of death for *Siniperca chuatsi* and screen sensitive drugs, a dominant bacteria WJ2014-1 was isolated from the liver of sick *S. chuatsi*. This study will provide reference for further prevention and treatment of *Aeromonas veronii* in *S. chuatsi*.

**Foundation item:** China Agriculture Research System (No. CARS-46-10); Three new Projects of Agricultural Aquaculture Program of Jiangsu Province (No. D2015-13)

\*Corresponding authors: LIANG Li-Guo: Fax: 86-510-85556566; E-mail: lianlg@zju.edu.cn  
XIE Jun: E-mail: xiej@ffrc.cn

Received: January 09, 2016; Accepted: March 31, 2016; Published online (www.cnki.net): April 18, 2016  
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: 梁利国: Fax: 86-510-85556566; E-mail: lianlg@zju.edu.cn  
谢骏: E-mail: xiej@ffrc.cn

收稿日期: 2016-01-09; 接受日期: 2016-03-31; 优先数字出版日期(www.cnki.net): 2016-04-18

**[Methods]** The pathogenic bacteria were isolated and purified from the liver of *S. chuatsi*. And the identification of phenotypic information of the strain WJ2014-1 was conducted, including the biochemical identification and 16S rRNA gene sequence determination. Antimicrobial susceptibility test was conducted by disk diffusion technique. **[Results]** The results of artificial infection tests by using WJ2014-1 to infect *S. chuatsi* displayed that the prevalence of symptoms and spontaneous onset symptoms were the same. According to morphological and biochemical characteristics as well as the result of 16S rRNA gene sequence analysis, the isolated strain WJ2014-1 was *A. veronii*. WJ2014-1 was susceptible to sulfamethoxazole, doxycycline, roxithromycin, cefotaxime, piperacillin and other 21 kinds of antibiotics. Meanwhile, it showed resistance to chloramphenicol, norfloxacin, nalidixic acid and other 9 kinds of antibiotics. **[Conclusion]** The isolated bacterial strain WJ2014-1 was pathogenic to *S. chuatsi*, and prevented by administering drugs such as sulfamethoxazole, doxycycline and roxithromycin in fisheries production.

**Keywords:** *Siniperca chuatsi*, *Aeromonas veronii*, Identification, Susceptibility test

鳊 (*Siniperca chuatsi*) 隶属于硬骨鱼纲 (Osteichthyes)、鲈形目 (Perciformes)、鲈科 (Serranidae)、鳊属 (*Siniperca*), 又名桂花鱼、季花鱼, 是我国特有的淡水名贵经济鱼类。鳊肉质丰腴细嫩、营养丰富, 深受消费者的青睐, 因其外形与石斑鱼相似, 素有“淡水石斑”的美誉, 已成为国内极为重要的水产养殖品种<sup>[1-2]</sup>。

近年来, 由于极大的市场需求和良好的经济前景的刺激, 鳊的养殖面积和养殖密度逐渐增加, 加之近亲繁殖严重等原因, 导致鳊抗病力下降, 疾病暴发越来越严重, 主要有病毒病、细菌病、真菌病和寄生虫病, 极大地影响了鳊养殖业的健康发展。病毒病流行快、发病率高, 主要为传染性脾肾坏死病毒 (Infectious spleen and kidney necrosis virus, ISKNV) 引起的暴发性流行病, 目前尚无有效的控制措施, 给鳊鱼养殖业带来严重经济损失<sup>[3-4]</sup>。细菌病常见的有白皮病、细菌性烂鳃病、细菌性败血病等, 如细菌性烂鳃病的病原体为柱状曲挠杆菌 (*Flavobacterium columnare*)<sup>[5]</sup>, 细菌性出血病的病原体为嗜水气单胞菌 (*Aeromonas hydrophila*)<sup>[6]</sup>。研究发现, 水生动物细菌性疾病的暴发常常是多种细菌混合感染所致, 目前关于鳊中致病性维氏气单胞菌的分离纯化尚未被报道, 本研究有利于明确病因, 具有一定的研究意义。真菌病主要为水霉病, 其病原体为水霉菌 (*Saprolegnia* sp.)<sup>[7]</sup>。寄生虫病的病原体主要有河鲈锚首虫 (*Ancyrocephalus*

*mogurndae*)、微山尾孢虫 (*Henneguya weishanensis*)、车轮虫 (*Trichodina*)、小瓜虫 (*Ichthyophthirius multifiliis*) 等<sup>[7-8]</sup>。

2014年6月江苏省常州市横山镇某养殖场养殖的鳊出现死亡, 病鱼的主要症状为体表出血、肛门红肿, 剖检见淡黄色的腹水, 主要脏器有不同程度的病变。通过光学显微镜检测排除真菌及寄生虫感染。本研究从濒死鳊体内分离得到优势菌株, 采用常规的细菌表型特征及生理、生化特性的测定方法, 并结合分子生物学 16S rRNA 基因序列的系统发育学分析等方法对分离菌进行鉴定, 同时对病原菌进行耐药性试验, 旨在分析该菌的分类地位、致病因素并筛选敏感药物, 为鳊病原多样性研究及进一步查清其发病机理、传播途径和探索有效防治措施提供依据。

## 1 材料与方 法

### 1.1 实验样品及主要试剂

濒死鳊样品取自横山镇某发病塘口, 规格为 120±5 g。营养肉汤、胰酪胨大豆肉汤培养基 (TSB)、大豆酪蛋白琼脂培养基 (TSA)、生化微量鉴定管和药敏试纸均购自杭州滨河微生物试剂有限公司; 气单胞菌培养基 (RS)、营养琼脂购自北京陆桥生物技术有限责任公司; LB 肉汤购自广东环凯微生物科技有限公司; 5% 绵羊血琼脂培养平板购自美国 BD 公司; Ezup 柱式细菌基因组 DNA 抽提试剂盒购自生工生物工程 (上海) 股份有限公司。

## 1.2 细菌分离与纯培养

分别无菌操作取患病鳊鱼肝脏的新鲜断面、腹腔积液,接种于 TSA 培养基,28 °C、180 r/min 培养 18 h 后,挑取优势单菌落划线培养,从而获得纯培养的菌株,转接至 TSA 斜面,置于 4 °C 保存备用。共获得 5 株形态、大小完全一致的单克隆菌,依次编号为 WJ2014-1-WJ2014-5。选取 WJ2014-1 进行检测。

## 1.3 人工感染试验

将分离株 WJ2014-1 接种于普通营养肉汤中,28 °C、180 r/min 培养 18 h,制成菌悬液。并分别稀释至  $5 \times 10^8$ 、 $5 \times 10^7$ 、 $5 \times 10^6$ 、 $5 \times 10^5$ 、 $5 \times 10^4$  CFU/mL。选择体表无伤痕、活力强、质量为 50±5 g 左右的鳊鱼作试验鱼。将暂养 7 d 的健康鳊鱼随机分组,每稀释度菌液接种 10 尾鱼,每尾 0.1 mL;对照组注射 0.1 mL 同批次无菌营养肉汤。试验组和对照组均设 2 个重复,每个重复放 10 尾鱼。试验鱼均隔离养殖于试验水族箱中,记录试验鱼的发病和死亡情况,同时对人工感染发病濒死的鳊鱼进行病原菌的重分离,以引起试验鳊鱼发病死亡并能重新分离到原感染菌作为分离菌致病性的判定标准。

## 1.4 细菌形态特征观察和理化特性检查

取纯培养菌 WJ2014-1 进行革兰氏染色镜检形态。同时将供试菌株接种于 LB、RS、血平板等培养基中,置于 28 °C 培养 18 h 观察生长情况。将供试菌株无菌操作接种于细菌生化鉴定管中,按照常规方法进行硝酸盐还原、糖(醇、苷)类代谢等较系统的理化特性测定,具体方法参照《常见细菌系统鉴定手册》<sup>[9]</sup>。

## 1.5 细菌的分子鉴定

**1.5.1 DNA 模板的制备:**按照生工生物工程(上海)股份有限公司 Ezup 柱式细菌基因组 DNA 抽提试剂盒所述方法提取供试菌株 WJ2014-1 基因组 DNA,并保存于-20 °C 备用。

**1.5.2 16S rRNA 基因序列的扩增及测序:**16S rRNA 基因序列的扩增体系参照梁利国等<sup>[10]</sup>的方法进行。PCR 扩增产物送于生工生物工程(上海)股份有限公

司进行基因序列测定。

**1.5.3 系统发育树的构建:**利用 NCBI 的 BLASTn 检索系统(<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>)对分离菌株的 16S rRNA 基因序列与 GenBank 中的相关亲物种进行相似性检索,并使用 ClusterX 1.83 软件与从 GenBank 数据库中获得的核酸序列相似性较高的菌株序列进行多序列比对,再用 MEGA 5.0 软件包中的 Neighbour-Joining 法构建系统进化树,采用 Kimura 2-parameter 作为校正模型,自举 1 000 次(Bootstrap)进行置信度检测。

## 1.6 药物敏感试验

采用琼脂扩散法(K-B)对菌株 WJ2014-1 进行 39 种常用抗生素的敏感性检测。于 28 °C 培养 24 h 后观察并记录抑菌环的直径(包括药敏片),以抑菌圈直径大小作为判定细菌对药物敏感性的标准<sup>[11]</sup>。

## 2 结果与分析

### 2.1 病原菌菌落和形态观察及其培养特性

分离菌经过革兰氏染色呈阴性,为单个或 2 个并排排列、两端钝圆的杆状细菌。28 °C 培养 18 h, TSA 平板上的菌落形态为:表面光滑、中央向上隆起、边缘整齐、灰白色较不透明的菌落。纯培养菌在 RS 培养基上的菌落特征与在 LB 琼脂培养基上的形态基本一致,橙黄色。在血平板上生长良好,呈 β-溶血。在普通营养肉汤的液体培养基中呈均匀混浊生长。

### 2.2 回归感染试验结果

健康鳊鱼在人工感染菌株 WJ2014-1 后,不同接种菌液梯度出现不同程度的死亡情况,而对照组鳊鱼在试验期间均未出现死亡。接种 18 h 后,试验鱼开始游动缓慢,胸鳍基部出现充血点;24 h 后开始出现死亡,3 d 后试验组鳊鱼死亡率为 100%,症状与自然发病症状基本一致。从感染死亡的鱼体内脏器官及血中再次分离纯化到感染菌,经细菌学特征鉴定,其性状与原菌株一致。

### 2.3 病原菌生理生化特性检测

菌株 WJ2014-1 的生理生化特性如表 1 所示。

表 1 分离菌株 WJ2014-1 主要生化特性检测结果  
Table 1 Main biochemical characteristics test results of the isolate WJ2014-1

鉴定项目 Characteristics	分离株 WJ2014-1	标准株 ATCC35624	鉴定项目 Characteristics	分离株 WJ2014-1	标准株 ATCC35624
葡萄糖 Glucose	+	+	丙二酸盐 Malonate	-	-
乳糖 Lactose	+	-	西蒙氏枸橼酸盐 Simmons citrate	-	+
麦芽糖 Maltose	+	+	苯丙氨酸 Phenylalanine	-	+
甘露醇 Mannitol	+	+	蜜二糖 Melibiose	+	-
蔗糖 Saccharose	+	+	蛋白胨水(靛基质试验用) Peptone water	+	+
山梨醇 Sorbitol	+	-	鸟氨酸脱羧酶 Ornithine decarboxylase	-	-
卫茅醇 Dulcitol	-	-	赖氨酸脱羧酶 Lysine decarboxylase	+	+
鼠李糖 Rhamnose	+	-	精氨酸脱羧酶 Arginine decarboxylase	+	+
肌醇 Inositol	-	-	氨基酸脱羧酶对照 Amino acid decarboxylase control	-	-
硫化氢 Hydrothion	+	-	精氨酸双水解酶 Arginine dihydrolase	+	+
乙酰胺 Acetamide	-	-	精氨酸双水解酶对照 Arginine dihydrolase control	-	-
水杨素 Salicin	-	-	硝酸盐(还原) Nitrate (Reduction)	+	+
尿素 Urea	-	-			

注: +: 阳性; -: 阴性; ·: 未记录。

Note: +: Positive; -: Negative; ·: Not record.

结合菌落与菌体特征, 参照文献[9]和[12], 初步判定菌株 WJ2014-1 为维氏气单胞菌。

#### 2.4 16S rRNA 基因序列分析

分离菌(WJ2014-1)所扩增的 16S rRNA 基因序列长度为 1 451 bp, GenBank 登录号为 KF413415。将其通过 NCBI 的 BLASTn 检索系统进行序列同源性分析, WJ2014-1 菌株与维氏气单胞菌(KJ650080、FJ940798、KF358430)等聚为一支, 相似性最近为

99% (图 1)。

综合供试菌株的表型特征、理化特性及 16S rRNA 基因序列的系统发育分析结果, 判定分离菌为气单胞菌属(*Aeromonas*)的维氏气单胞菌(*A. veronii*)。

#### 2.5 药敏试验

分离菌对 39 种抗菌药物的药敏试验结果如表 2 所示。该菌株对供试的复方新诺明、强力霉素、罗红霉素、头孢噻肟、哌拉西林等 21 种抗生素敏感,

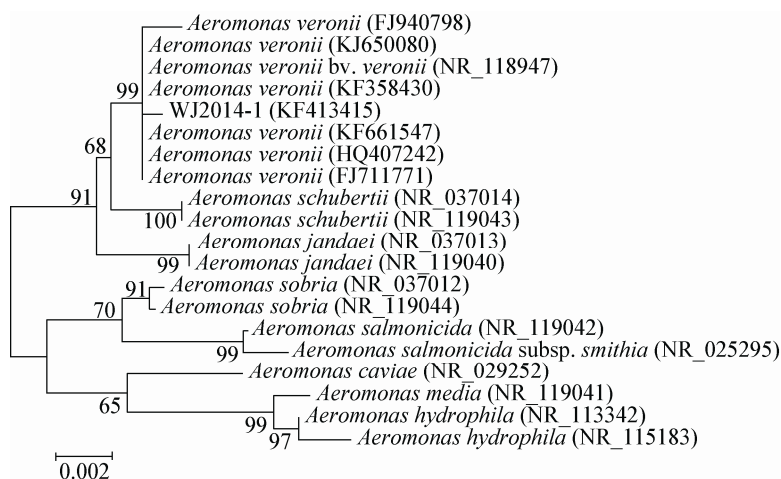


图 1 分离菌 WJ2014-1 16S rRNA 基因序列发育进化树

Figure 1 The phylogenetic analysis based on 16S rRNA gene sequence of WJ2014-1

注: 括号内的数字为 GenBank 序列号; 节点处的数字为 Bootstrap 值。

Note: Numbers in parenthesis represented GenBank accession number; Numbers at the branch points indicated the bootstrap values.

表2 分离菌株 WJ2014-1 药敏试验结果  
Table 2 Drug susceptibility test results of the isolate WJ2014-1

抗菌药物 Antibacterials	抑菌圈直径 Inhibition zone (mm)	敏感性 Sensitivity	抗菌药物 Antibacterials	抑菌圈直径 Inhibition zone (mm)	敏感性 Sensitivity
阿米卡星 Amikacin	19±0.01	I	强力霉素 Doxycycline	25±0.31	S
庆大霉素 Gentamicin	13±0.03	R	诺氟沙星 Norfloxacin	7±0.05	R
妥布霉素 Tobramycin	12±0.21	R	萘啶酸 Nalidixic acid	7±0.10	R
新霉素 Neomycin	17±0.06	I	乙酰螺旋霉素 Acetylspiramycin	7±0.09	R
新生霉素 Novobiocin	19±0.26	I	大观霉素 Spectinomycin	7±0.02	R
四环素 Tetracycline	16±0.08	I	头孢拉定 Cefradine	15±0.21	I
氯霉素 Chloramphenicol	7±0.15	R	氧氟沙星 Ofloxacin	17±0.18	I
红霉素 Erythrocin	16±0.23	I	环丙沙星 Ciprofloxacin	26±0.38	S
麦迪霉素 Medemycin	16±0.31	I	米诺环素 Minocycline	25±0.24	S
林可霉素 Lincomycin	18±0.18	I	洛美沙星 Lomefloxacin	27±0.19	S
复方新诺明 Sulfamethoxazole	28±0.43	S	氨曲南 Aztreonam	31±0.46	S
呋喃唑酮 Furazolidone	27±0.39	S	氟罗沙星 Fleroxacin	30±0.39	S
万古霉素 Vancomycin	10±0.27	R	头孢哌酮 Cefoperazone	29±0.28	S
头孢噻吩 Cefalotin	12±0.24	R	克拉霉素 Clarithromycin	21±0.20	S
依诺沙星 Enoxacin	26±0.35	S	左氟沙星 Levofloxacin	27±0.25	S
罗红霉素 Roxithromycin	21±0.26	S	头孢氨苄 Cefalexin	28±0.32	S
恩诺沙星 Enrofloxacin	27±0.26	S	磷霉素 Fosfomycin	38±0.40	S
替考拉宁 Teicoplanin	27±0.35	S	头孢孟多 Cefamandole	31±0.37	S
头孢噻肟 Cefotaxime	28±0.19	S	多粘霉素 Polymyxin	28±0.28	S
哌拉西林 Piperacillin	26±0.28	S			

注：S：敏感( $d \geq 20$ )；I：中度敏感 ( $14 < d < 20$ )；R：耐药( $0 \leq d \leq 14$ )。

Note: S: Denotes high sensitivity ( $d \geq 20$ ); I: Denotes moderate sensitivity ( $14 < d < 20$ ); R: Denotes low or no sensitivity ( $0 \leq d \leq 14$ ).

对阿米卡星、新霉素、四环素、林可霉素、氧氟沙星等 9 种抗生素中度敏感，对氯霉素、诺氟沙星、萘啶酸等 9 种抗生素有耐药性。

### 3 讨论

维氏气单胞菌(*Aeromonas veronii*)隶属于气单胞菌科(Aeromonadaceae)气单胞菌属(*Aeromonas*)，广泛存在于淡水、海水、污水和土壤等环境中<sup>[13]</sup>，最早于 1987 年被确定为气单胞菌属的一个新种<sup>[14]</sup>，对人和多种水产动物具有较强的感染性和致病力，是一种新型的人-兽-鱼共患致病菌，对水产养殖业的发展和人类的健康逐渐构成了严重的威胁，已经被部分国家列为食品安全和水体检测的对象。近年来，有关维氏气单胞菌引起水生动物患病的报道日

益增多，如斑点叉尾鲷<sup>[15]</sup>、西伯利亚鲟<sup>[16]</sup>、框镜鲤<sup>[17]</sup>、黄颡鱼<sup>[18]</sup>、异育银鲫<sup>[19]</sup>等。

目前，细菌的鉴定主要有表型鉴定和分子遗传学鉴定，细菌常规表型鉴定是最经典、最常用的分类鉴定指标<sup>[20]</sup>，但存在工作量大、耗时长、敏感度低等缺点。根据《常见细菌系统鉴定手册》<sup>[9]</sup>和 Garrity 等<sup>[12]</sup>编写的《伯杰氏细菌鉴定手册》可知维氏气单胞菌区别于其他气单胞菌的主要特征为赖氨酸脱羧酶阳性和精氨酸双水解酶阳性，这与本实验的结果一致。近年来，随着分子生物学和分子遗传学的飞速发展，16S rRNA 基因检测技术因其快速简便、特异性较高等优点，被广泛用于细菌的种属鉴定，但是对于亲缘关系较近的细菌，其分辨率

不高。因此, 鱼类细菌的分类鉴定除了常规表型鉴定外, 还需要借助分子生物学和系统发育学的方法, 两者相互辅证、互为补充, 使鉴定结果更为准确可靠<sup>[21-22]</sup>。通过较系统地对病原菌 *A. veronii* 的鉴定, 丰富了该菌在形态特征、理化特性等表型生物学及 16S rRNA 基因序列与系统发育学方面的内容, 为该菌的有效检验提供了参考依据。

抗生素敏感试验结果显示, 维氏气单胞菌对环丙沙星、头孢噻肟、哌拉西林等 21 种抗生素敏感, 仅对氯霉素、诺氟沙星、萘啶酸等 9 种药物有耐药性。本实验结果与杨求华等<sup>[23]</sup>、康元环等<sup>[24]</sup>、蒋礼平等<sup>[25]</sup>及徐晓丽等<sup>[26]</sup>的结果不一致, 这可能与不同菌株之间耐药特性不同及地域分布有关。此外, 本试验选取的药物并非均可用于生产, 其中氯霉素、呋喃类、环丙沙星、万古霉素和头孢类等抗生素已被农业部列为禁药, 只有在国家允许的药物使用标准下, 这些药物才能为由该菌引起的疾病防治提供参考依据。水产养殖业中抗生素的使用是保证疾病防治和动物生产的重要措施, 然而我国目前水产上可用的抗生素并不多, 渔药市场混乱无序, 产品质量良莠不齐, 产品有效含量不足, 加之水产养殖从业者专业素质普遍偏低, 使得抗生素类药物使用不科学、不规范, 导致药物残留、环境污染及细菌耐药性等问题出现, 给水产养殖业的健康发展带来了极大的挑战。因此在选用药物时, 应结合药敏试验结果, 严格遵守水产用药的相关规定, 对症下药, 同时应注意药物的浓度和合理轮换, 降低药物残留, 尽量避免耐药性的产生。另外, 在加强对渔用抗菌药物及细菌耐药性研究的基础上, 应开发安全绿色的中草药及稳定高效的生物制剂, 或者寻求广谱抗生素, 以减少化学药物的使用, 防止或延缓细菌耐药性的产生, 从而确保水产养殖业的可持续发展。

## 参 考 文 献

- [1] Li MF. Research progress on biology of mandarin fish[J]. Modern Fisheries Information, 2010, 25(7): 16-21 (in Chinese)  
李明锋. 鳊鱼生物学研究进展[J]. 现代渔业信息, 2010, 25(7): 16-21
- [2] Zhang J, Liang XF, Yang M, et al. Genetic structure and genetic diversity analysis of artificial selection populations of mandarin fish *Siniperca chuatsi*[J]. Fisheries Science, 2014, 33(7): 447-450 (in Chinese)  
张进, 梁旭方, 杨敏, 等. 2 个鳊鱼选育群体遗传多样性分析[J]. 水产科学, 2014, 33(7): 447-450
- [3] He JG, Zeng K, Weng SP, et al. Experimental transmission, pathogenicity and physical-chemical properties of infectious spleen and kidney necrosis virus(ISKNV)[J]. Aquaculture, 2002, 204(1-2): 11-24
- [4] Tanaka N, Izawa T, Kuwamura M, et al. The first case of infectious spleen and kidney necrosis virus (ISKNV) infection in aquarium-maintained mandarin fish, *Siniperca chuatsi* (Basilewsky), in Japan[J]. Journal of Fish Diseases, 2014, 37(4): 401-405
- [5] Zhou WD, Zhang YL, Wen Y, et al. Analysis of the transcriptomic profilings of Mandarin fish (*Siniperca chuatsi*) infected with *Flavobacterium columnare* with an emphasis on immune responses[J]. Fish & Shellfish Immunology, 2015, 43(1): 111-119
- [6] Zhao HJ, Zhang X, Lin CJ, et al. Isolation and identification of *Aeromonas hydrophila* in *Siniperca chuatsi*[J]. China Animal Health Inspection, 2012, 29(6): 54-56 (in Chinese)  
肇慧君, 张雪, 林长军, 等. 鳊鱼嗜水气单胞菌的分离与鉴定[J]. 中国动物检疫, 2012, 29(6): 54-56
- [7] Li MF. Progress and Prospect on Disease Research of Mandarin fish [J]. Modern Fisheries Information, 2011, 26(3): 14-16,19 (in Chinese)  
李明锋. 鳊鱼病害研究进展及前景展望[J]. 现代渔业信息, 2011, 26(3): 14-16,19
- [8] Nie P. Co-occurrence and microhabitat of *Ancyrocephalus mogurndae* (Monogenea) and *Henneguya weishanensis* (Myxosporaea) on gills of the mandarin fish, *Siniperca chuatsi*[J]. Folia Parasitologica, 1996, 43(4): 272-276
- [9] Dong XZ, Cai MY. Identification System Manual of Common Bacteria[M]. Beijing: Science Press, 2001: 348-392 (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: 348-392
- [10] Liang LG, Xie J, Ye SY. Identification and detection of the pathogenic *Aeromonas hydrophila* isolated from *Hypophthalmichthys molitrix*[J]. Chinese Journal of Preventive Veterinary Medicine, 2015, 35(5): 374-378 (in Chinese)  
梁利国, 谢骏, 叶诗尧. 鲢病原嗜水气单胞菌分离鉴定及检测方法建立[J]. 中国预防兽医学报, 2015, 35(5): 374-378
- [11] CLSI. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests; approved standards[S]. 11th Edition. CLSI document M02-A11. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2012: 1-53
- [12] Garrity G, Brenner DJ, Krieg NR, et al. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology[M]. 2nd Edition. New York: Springer-verlag, 2005: 557-578
- [13] Chen HL, Jiang H, Hu W, et al. Isolation and identification of pathogenic *Aeromonas veronii* biovar *sobria* from *Monopterus albus*[J]. Biotechnology Bulletin, 2014(3): 130-136 (in Chinese)  
陈红莲, 江河, 胡王, 等. 黄鳝病原性维氏气单胞菌温和生物变种的分离与鉴定[J]. 生物技术通报, 2014(3): 130-136
- [14] Hiekman-Brenner FW, MacDonald KL, Sleigerwalt AG, et al. *Aeromonas veronii*, a new ornithine decarboxylase-positive species that may cause diarrhea[J]. Journal of Clinical Microbiology, 1987, 25(5): 900-906
- [15] Huang XL, Wu CY, Deng YQ, et al. Pathohistological observation of *Ictalurus punctatus* infected with *Aeromonas veronii*[J]. Chinese Veterinary Science, 2010, 40(7): 738-742 (in Chinese)  
黄小丽, 吴春燕, 邓永强, 等. 斑点叉尾鮰源维氏气单胞菌病的病理组织学观察[J]. 中国兽医科学, 2010, 40(7): 738-742

- [16] Ma ZH, Yang H, Li TL, et al. Isolation and identification of pathogenic *Aeromonas veronii* isolated from infected Siberian sturgeon (*Acipenser baerii*)[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2009, 49(10): 1289-1294 (in Chinese)  
马志宏, 杨慧, 李铁梁, 等. 西伯利亚鲟(*Acipenser baerii*)致病性维氏气单胞菌的分离鉴定[J]. 微生物学报, 2009, 49(10): 1289-1294
- [17] Gong Q, Gao SQ, Shan XF, et al. Isolation and identification of pathogenic *Aeromonas veronii* from *Cyprinus carpio*[J]. Chinese Journal of Preventive Veterinary Medicine, 2010, 32(12): 981-983 (in Chinese)  
龚倩, 高淑琴, 单晓枫, 等. 框镜鲤致病性维氏气单胞菌的分离鉴定[J]. 中国预防兽医学报, 2010, 32(12): 981-983
- [18] Zhu CK, Xiang Z, Ye H, et al. Isolation and identification of pathogenic *Aeromonas veronii* from yellow catfish, *Pelteobagrus fulvidraco*[J]. Journal of Southwest University (Natural Science Edition), 2013, 35(5): 37-42 (in Chinese)  
朱成科, 向桢, 叶华, 等. 黄颡鱼致病性维氏气单胞菌的分离鉴定[J]. 西南大学学报: 自然科学版, 2013, 35(5): 37-42
- [19] Xia F, Liang LG, Xie J. Isolation, identification and susceptibility test of the pathogenic *Aeromonas veronii* from *Carassius auratus gibelio*[J]. Freshwater Fisheries, 2012, 42(5): 22-26 (in Chinese)  
夏飞, 梁利国, 谢骏. 异育银鲫病原维氏气单胞菌的分离鉴定及药敏试验[J]. 淡水渔业, 2012, 42(5): 22-26
- [20] Li L, Li JN, Yu WY. Brief introduction of the method of bacterial classification and identification[J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 2004, 32(3): 549-551 (in Chinese)  
李琳, 李瑾年, 余为一. 细菌分类鉴定方法的研究概况[J]. 安徽农业科学, 2004, 32(3): 549-551
- [21] Li L, Chen Y, Zhang C, et al. A review: identification of *Aeromonas* in aquaculture[J]. Fisheries Science, 2015, 34(2): 128-134 (in Chinese)  
李莉, 陈颖, 张超, 等. 水产动物气单胞菌鉴定方法研究进展[J]. 水产科学, 2015, 34(2): 128-134
- [22] Li L, Xie XY, Cao YC, et al. Application of ribosomal RNA technique in identification to aquatic animal's bacterial pathogeny[J]. Biotechnology Bulletin, 2013(4): 27-32 (in Chinese)  
李莉, 谢旭阳, 曹延超, 等. rRNA 在水产动物细菌性病原鉴定中的应用[J]. 生物技术通报, 2013(4): 27-32
- [23] Yang QH, Guo SL, Guan RZ, et al. Isolation and identification of pathogenic *Aeromonas veronii* from *Anguilla japonica*[J]. Biotechnology Bulletin, 2012(7): 134-139 (in Chinese)  
杨求华, 郭松林, 关瑞章, 等. 鳗鲡病原性维氏气单胞菌的分离与鉴定[J]. 生物技术通报, 2012(7): 134-139
- [24] Kang YH, Meng QF, Xia JJ, et al. Isolation identification and study on biological characteristics of *Aeromonas veronii* isolated from *Channa argus*[J]. Progress in Veterinary Medicine, 2014, 35(5): 40-43 (in Chinese)  
康元环, 孟庆峰, 夏京津, 等. 乌鳢致病性维氏气单胞菌的分离鉴定及生物学特性研究[J]. 动物医学进展, 2014, 35(5): 40-43
- [25] Jiang LP, Liang QL, Li YL, et al. Identification of pathogens in an outbreak deaths of southern catfish (*Silurus meridionalis*) juveniles[J]. Freshwater Fisheries, 2014, 44(3): 56-61 (in Chinese)  
蒋礼平, 梁勤朗, 李云兰, 等. 南方鲇稚鱼爆发性死亡的病原鉴定[J]. 淡水渔业, 2014, 44(3): 56-61
- [26] Xu XL, Shao P, Cui KK, et al. Identification of bacterial pathogens isolated from the diseased *Xiphophorus hellerii*[J]. Freshwater Fisheries, 2014, 44(1): 66-72 (in Chinese)  
徐晓丽, 邵蓬, 崔宽宽, 等. 剑尾鱼烂鳃、烂尾病菌的分离鉴定[J]. 淡水渔业, 2014, 44(1): 66-72