

胡秀彩, 陆梦莹, 孙敬锋, 等. 鲇源异嗜糖气单胞菌的分离鉴定及药敏特性[J]. 江苏农业科学, 2018, 46(10): 159–162.  
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2018.10.040

# 鲇源异嗜糖气单胞菌的分离鉴定及药敏特性

胡秀彩, 陆梦莹, 孙敬锋, 吕爱军, 陈成勋, 王晓梅

(天津市水产生态及养殖重点实验室/天津农学院水产学院, 天津 300384)

**摘要:**从发病鲇鱼体内分离出 1 株革兰氏阴性细菌 SJ-2, 通过细菌形态学观察、理化特性、16S rDNA 测序以及构建系统发育进化树分析, 表明 SJ-2 菌株葡萄糖产气、氧化酶、硝酸盐还原为阳性, 鸟氨酸脱羧酶、硫化氢为阴性等; 进一步采用 PCR 方法扩增 16S rDNA 序列, 测序获得片段大小为 1 401 bp, 与 *Aeromonas allosaccharophila* 模式菌株 ATCC 51208 序列相似性达 99.64%; 构建系统发育树分析显示分离菌与 *Aeromonas allosaccharophila* 自然聚为一支, 最终判定 SJ-2 菌株为异嗜糖气单胞菌(*A. allosaccharophila*)。人工腹腔注射斑马鱼死亡率达 100%, 病鱼呈现体色变白、腹水等症状。药敏试验结果显示对头孢克肟、头孢哌酮、头孢噻肟、诺氟沙星、左氧沙星、氟苯尼考等药物敏感, 对阿莫西林、氨苄西林、磺胺异噁唑、复方新诺明等耐药。首次报道鲇源异嗜糖气单胞菌的分子鉴定与药敏特性, 旨在为该病防治提供参考。

**关键词:**鲇; 异嗜糖气单胞菌; 16S rDNA; 系统发育树; 药敏试验

**中图分类号:** S941.42+9 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2018)10-0159-04

气单胞菌属(*Aeromonas*)细菌广泛分布于淡水、海水等水生环境, 正常条件下在养殖水体及水产动物体内均存在, 多为条件致病菌<sup>[1-2]</sup>。气单胞菌组成与分类较为复杂, 目前在水产动物中发现杀鲑气单胞菌(*A. salmonicida*)、嗜水气单胞菌(*A. hydrophila*)、豚鼠气单胞菌(*A. caviae*)、温和气单胞菌(*A. sobria*)、维氏气单胞菌(*A. veronii*)和异嗜糖气单胞菌(*A. allosaccharophila*)等多个种<sup>[3]</sup>。近年来, 国内外有关异嗜糖气单胞菌的研究主要集中在人类和哺乳动物方面<sup>[4-5]</sup>。Lee 等最早从美国腹泻患者体内分离获得异嗜糖气单胞菌, 即

ATCC35942 模式菌株<sup>[4]</sup>。Saavedra 等分离到猪源气单胞菌菌株, 经 *gyrB* 和 16S rRNA 基因鉴定为异嗜糖气单胞菌<sup>[5]</sup>。最近, 李欣悦等对气单胞菌分类研究发现 *gyrA* 基因在异嗜糖气单胞菌鉴定中更加准确<sup>[6]</sup>。

关于鱼源异嗜糖气单胞菌的分离鉴定, 目前鲜有报道<sup>[3,7-8]</sup>。刘双凤等从史氏鲟(*Acipenser schrencki*)体内分离到 1 株致病菌, 经 16S rRNA 序列分析鉴定为异嗜糖气单胞菌<sup>[7]</sup>。Martinezmurcia 等对欧洲鳗鲡(*Anguilla anguilla*) CECT4199 菌株进行理化特性、16S rRNA 分子鉴定研究, 确定为异嗜糖气单胞菌<sup>[3]</sup>。杨求华等从发病鳗鲡(*A. japonica*)脏器中分离到异嗜糖气单胞菌, 动物感染试验验证该菌对鳗鲡具有致病性<sup>[8]</sup>。本研究首次从自然发病鲇鱼(*Silurus sp.*)腹水等组织中分离出 1 株细菌, 病鱼主要表现为体表出血、肛门红肿突出、腹部膨大等临床症状, 采用理化特性结合 16S rDNA 用基因序列分子鉴定及其药物敏感性, 这不仅为异嗜糖气单胞菌的致病机理奠定基础, 而且为该病的预防治疗提供科学参考。

收稿日期: 2016-12-15

基金项目: 天津市自然科学基金重点项目(编号: 16JCZDJC33500、15JCZDJC34000、15JCZDJC33500); 国家自然科学基金(编号: 31272692)。

作者简介: 胡秀彩(1976—), 女, 江苏徐州人, 实验师, 主要从事水产微生物学研究, E-mail: huxiucail@126.com。

通信作者: 吕爱军, 教授, 主要从事水产动物微生物与免疫学方面研究。

[7] Oorschot R V, Maddox J F, Adams L A, et al. Characterization and evolution of ovine MHC class II DQB sequence polymorphism[J]. *Animal Genetics*, 1994, 25(6): 417–424.

[8] 唐一通, 肖娜, 李智山, 等. 单核苷酸多态性检测方法研究进展[J]. *现代生物医学进展*, 2013, 13(27): 5393–5397.

[9] 马超. 单核苷酸多态性与广州汉族人群前列腺癌的相关性研究[D]. 广州: 南方医科大学, 2014.

[10] 杨俊. 上位作用特征基因的选择与分类方法研究[D]. 长沙: 国防科学技术大学, 2011.

[11] Jakobsdottir J, Gorin M B, Conley Y P, et al. Interpretation of genetic association studies: markers with replicated highly significant odds ratios may be poor classifiers[J]. *PLoS Genetics*, 2009, 5(2): e1000337.

[12] 尚军亮. 全基因组单核苷酸多态性交互作用研究[D]. 西安: 西

安电子科技大学, 2013.

[13] Shi Y Y, He L. SHeSis, a powerful software platform for analyses of linkage disequilibrium, haplotype construction, and genetic association at polymorphism loci[J]. *Cell Research*, 2005, 15(2): 97–98.

[14] 陈月娥, 李建华, 苟亚峰, 等. 中国美利奴羊 *MHC-DRB1* exon2 单倍型构建及与布鲁氏菌病易感性关联分析[J]. *中国科学(生命科学)*, 2014, 44(5): 495–501.

[15] 王文文, 许万云, 胡梦薇, 等. 中国美利奴羊 *OLA-DQB1* 基因 exon2 遗传多态性与布鲁氏菌病易感性的关联分析[J]. *中国畜牧兽医*, 2015, 42(6): 1495–1503.

[16] 亢孝珍, 额尔敦木图, 姜建强, 等. 主要组织相容性复合体(MHC)基因研究进展[J]. *中国畜牧兽医*, 2014, 41(5): 28–33.

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

患病鲢 (*Silurus sp.*) 来自天津某养殖场;  $2 \times \text{Taq}$  PCR MixPCR 预混体系、DNA Marker DL2000、LB 琼脂以及药敏纸片, 均购自上海捷瑞生物工程; 细菌总基因组提取试剂盒 (DNA)、胶回收试剂盒 (离心柱型), 均购自上海生工生物工程有限公司; 肠杆菌科细菌生化编码鉴定管 GYZ-11e, 购自环凯微生物公司。

### 1.2 方法

**1.2.1 细菌的分离纯化** 参照胡秀彩等的方法<sup>[9]</sup>进行, 无菌操作取患病鲢腹水等组织, 接种于 LB 平板上,  $28^{\circ}\text{C}$  恒温培养  $18 \sim 24$  h。挑取优势单菌落接种纯化, 经过  $2 \sim 3$  次传代纯化后得到纯菌株, 置于  $4^{\circ}\text{C}$  保存备用。菌液按照  $1:1$  的比例, 取  $0.5$  mL 菌液于  $1.5$  mL 离心管, 加入  $0.5$  mL  $40\%$  甘油, 封口膜封口, 保存于  $-20^{\circ}\text{C}$  冰箱。

**1.2.2 细菌形态特征及理化特性检查** 将分离菌株接种于新配制的 LB 固体培养基上, 置于  $28^{\circ}\text{C}$  培养  $18$  h, 肉眼观察菌落形态记录, 并进行革兰氏染色镜检。无菌操作接种供试菌株于细菌生化编码鉴定管中, 按照常规方法进行硝酸盐还原、糖 (醇、苷) 类代谢等  $19$  种理化特性测定, 参考文献<sup>[2]</sup>进行。

**1.2.3 动物感染试验** 健康鲢体质量约  $40.0$  g, 购自天津某养殖场; 斑马鱼体质量约  $0.5$  g, 购自天津某水产市场。参照黎炯等的方法<sup>[10]</sup>, 将分离到的菌株用  $0.65\%$  的生理盐水制成  $2.0 \times 10^8$  CFU/mL 的菌悬液。选取健康鲢和斑马鱼作为试验对象, 采取腹腔注射的方法进行试验。每组  $10$  尾鱼, 试验组鲢鱼每尾注射  $0.15$  mL 菌悬液, 斑马鱼每尾注射  $10$   $\mu\text{L}$  菌悬液; 对照组鲢鱼、斑马鱼等量注射  $0.65\%$  无菌生理盐水。试验鱼感染后连续观察  $7$  d, 统计鲢和斑马鱼发病死亡情况。

**1.2.4 细菌基因组 DNA 提取** 将分离菌株接种于 LB 液体培养基中,  $28^{\circ}\text{C}$ 、 $120$  r/min 振荡培养至对数期后期至菌液浑浊。取  $2$  mL 菌液于  $2$  mL 离心管中,  $12\,000$  r/min 离心  $2$  min, 弃去上清液, 向离心管中加入  $500$   $\mu\text{L}$  无菌双蒸水, 涡旋  $30$  s, 置于  $95^{\circ}\text{C}$  水浴  $5$  min,  $12\,000$  r/min 离心  $2$  min, 以上清液作为模板。

**1.2.5 细菌 16S rDNA 基因序列的扩增及测序** 细菌 16S rDNA 采用通用引物 27F:  $5' - \text{AGAGTTTGATCATGGCTCAG} - 3'$ , 1492R:  $5' - \text{GGTTACCTTGTTACGACTT} - 3'$ , 引物来自上海生工生物工程有限公司。PCR 扩增反应体系 ( $20$   $\mu\text{L}$ ):  $2 \times \text{Taq PCR Master Mix}$   $10$   $\mu\text{L}$ , 上下游引物各  $1$   $\mu\text{L}$ , DNA 模板  $1$   $\mu\text{L}$ , 无菌双蒸水  $7$   $\mu\text{L}$ 。PCR 反应条件:  $95^{\circ}\text{C}$  预变性  $5$  min;  $95^{\circ}\text{C}$  变性  $40$  s,  $56^{\circ}\text{C}$  退火  $40$  s,  $72^{\circ}\text{C}$  延伸  $1$  min,  $35$  个循环;  $72^{\circ}\text{C}$  再延伸  $10$  min。采用  $1\%$  琼脂糖凝胶电泳检测目的基因, 并将 PCR 扩增产物送金唯智生物科技有限公司进行基因测序。将 16S rDNA 序列通过 NCBI 的 Blast 检索序列同源性分析, 采用 MEGA 5.05 软件邻接法构建系统发育树。

**1.2.6 药敏试验** 药敏试验采用 K-B 纸片法对分离菌株进行  $30$  种常用抗生素药物的敏感性检测, 将分离菌株均匀涂布于 LB 平板上, 依次贴上药敏纸片,  $28^{\circ}\text{C}$  培养  $36$  h 后, 测量抑菌圈直径  $3$  次, 取平均值, 以抑菌圈直径大小作为判定细菌对药物敏感性的标准。

## 2 结果与分析

### 2.1 分离菌株 SJ-2 菌体及理化特性

从病鲢腹水中分离纯化获得  $1$  株细菌, 编号为 SJ-2, 该菌株在 LB 固体培养基上形成圆形、透明、表面湿润、边缘整齐的小菌落, 为革兰氏染色阴性短杆状, 两端钝圆 (图 1)。细菌生理生化试验结果表明, SJ-2 菌株为发酵型细菌, 葡萄糖产气、氧化酶、硝酸盐还原、吡嗪产生、V-P、枸橼酸盐、尿素、动力、葡萄糖酸盐、赖氨酸脱羧酶为阳性, 鸟氨酸脱羧酶、苯丙氨酸脱氨酶、硫化氢、M.R、棉子糖、山梨醇、侧金盏花醇、木糖为阴性等, 该菌株的菌体形态和生理生化特性基本符合气单胞菌属 (*Aeromonas*) 特征。

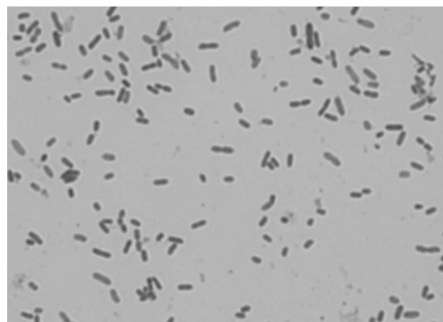


图1 SJ-2 革兰氏染色

### 2.2 分离菌的 16S rDNA 序列及系统发育分析

以分离菌 SJ-2 基因组 DNA 为模板, 采用 PCR 方法扩增 16S rDNA 序列, 通过琼脂糖凝胶电泳检测大小约为  $1\,500$  bp 的目的条带 (图 2), 16S rDNA 测序获得基因片段长为  $1\,401$  bp; 通过 Blast 检索系统进行基因序列同源性比对, 表明菌株 SJ-2 的 16S rDNA 基因序列与 *Aeromonas allosaccharophila* 模式菌株 ATCC51208 (= CECT4199, = DSM11576) 的 16S rDNA 序列相似性达  $99.64\%$ ; 构建系统发育树分析显示分离菌 SJ-2 与 *Aeromonas allosaccharophila* 亲缘关系最近、自然聚为一支 (图 3), 进一步确定 SJ-2 为异嗜糖气单胞菌 (*A. allosaccharophila*)。

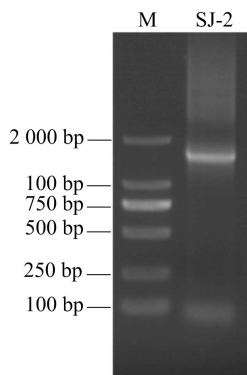


图2 SJ-2 菌株的 16S rDNA PCR 检测

### 2.3 动物感染试验结果

人工腹腔注射斑马鱼 (*D. rerio*) 感染  $12$  h 后出现肛门红肿、腹部膨大等症状,  $48$  h 死亡率达  $100\%$ ; 人工回感染鲢 (*Silurus sp.*) 出现皮肤变白、局部出血、腹部膨大, 解剖有大量腹水等症状,  $72$  h 累积死亡率达  $20\%$ , 并且从发病鱼肝脏、腹水等组织中再次分离到与 SJ-2 菌株特征一致的细菌。生

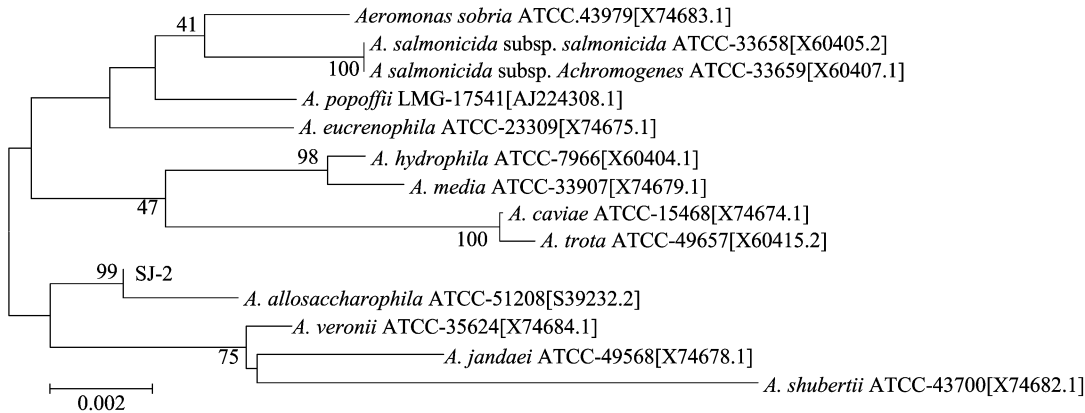


图3 菌株 SJ-2 的16S rDNA 序列的系统进化树

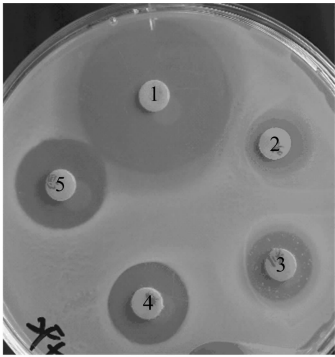
理盐水对照组鱼无发病死亡现象。

2.4 药敏试验结果

药敏试验结果显示 SJ-2 菌株对头孢克肟、头孢哌酮、头孢噻肟、诺氟沙星、左氟沙星、氟苯尼考等药物敏感,对阿莫西林、氨苄西林、磺胺异噁唑、甲氧嘧啶、复方新诺明等耐药(表 1),其中氯霉素、呋喃妥因、利福平、诺氟沙星、恩诺沙星药敏谱见图 4。

表 1 菌株 SJ-2 的药敏试验结果

抗菌素名称	抑菌圈直径(mm)			结果判定
	判定标准			
	耐药(R)	中敏(I)	敏感(S)	
阿莫西林	≤13	14 ~ 17	≥18	7/R
氨苄西林	≤11	12 ~ 14	≥15	7/R
头孢克肟	≤15	16 ~ 18	≥19	27/S
头孢哌酮	≤15	16 ~ 20	≥21	27/S
头孢噻肟	≤14	15 ~ 22	≥23	30/S
头孢氨苄	≤14	15 ~ 17	≥18	9/R
美罗培南	≤13	14 ~ 15	≥16	13/R
亚胺培南	≤13	14 ~ 15	≥16	12/R
万古霉素	≤9	10 ~ 11	≥12	11/I
阿米卡星	≤14	15 ~ 16	≥17	17/I
庆大霉素	≤12	13 ~ 14	≥15	18/S
卡那霉素	≤13	14 ~ 17	≥18	19/S
链霉素	≤11	12 ~ 14	≥15	18/S
新霉素	≤12	13 ~ 16	≥17	19/S
阿齐霉素	≤13	14 ~ 17	≥18	12/R
克林霉素	≤14	15 ~ 20	≥21	15/R
红霉素	≤13	14 ~ 22	≥23	7/R
四环素	≤14	15 ~ 18	≥19	7/R
萘啶酸	≤13	14 ~ 18	≥19	24/S
诺氟沙星	≤12	13 ~ 16	≥17	18/S
左氟沙星	≤13	14 ~ 16	≥17	24/S
恩诺沙星	≤15	16 ~ 20	≥21	20/I
依诺沙星	≤14	15 ~ 17	≥18	12/R
氯霉素	≤12	13 ~ 17	≥18	33/S
呋喃妥因	≤14	15 ~ 16	≥17	11/R
利福平	≤16	17 ~ 19	≥20	15/R
氟苯尼考	≤12	13 ~ 17	≥18	34/S
磺胺异噁唑	≤12	13 ~ 16	≥17	7/R
甲氧嘧啶	≤10	11 ~ 15	≥16	7/R
复方新诺明	≤10	11 ~ 15	≥16	7/R



1—氯霉素; 2—呋喃妥因; 3—利福平;  
4—诺氟沙星; 5—恩诺沙星  
图4 菌株 SJ-2 药敏试验

3 讨论

气单胞菌是一类重要的水产养殖动物病原菌,能导致多种鱼类感染患病,一旦暴发往往造成巨大的经济损失<sup>[11]</sup>。目前,已有报道显示气单胞菌可引起鱼类、爬行类、两栖类、无脊椎动物和哺乳动物患病,鱼类感染后可引起出血性败血症和流行性溃疡综合征(EUS)等症<sup>[12-13]</sup>。气单胞菌组成与分类较为复杂,国外学者最早发现 2 株异嗜糖气单胞菌菌株,1 株来自鳗鲡(*A. anguilla*),另 1 株来自腹泻患者<sup>[3,5]</sup>,而且该菌与异嗜糖气单胞菌 DNA 杂交分类结果一致<sup>[14]</sup>。Saavedra 等从一个患肠胃炎病例分离到 1 株菌株,经 *gyrB* 和 16S rRNA 基因序列分析鉴定为异嗜糖气单胞菌<sup>[5]</sup>。Huys 等研究表明异嗜糖气单胞菌表型和基因型特征与维氏气单胞菌密切相关<sup>[15]</sup>。Nhung 等通过细菌基因组 DNA 杂交结合进化树分析,认为异嗜糖气单胞菌与维氏气单胞菌亲缘关系较近<sup>[16]</sup>。本研究首次从病鲈(*Silurus* sp.)腹水等组织中分离出 1 株 SJ-2 致病菌,采用理化特性结合 16S rDNA 用基因序列分子鉴定为异嗜糖气单胞菌,并且构建进化树分析显示与维氏气单胞菌(*A. veronii*)亲缘关系较近,这与国外学者研究结果<sup>[15-16]</sup>一致。

研究表明,异嗜糖气单胞菌做为气单胞菌属中新发现鉴定的一个新种,可以感染鲟(*A. schrencki*)、鳗(*A. japonica*)等鱼类发病<sup>[7-8]</sup>。Yanez 等从湖水中分离获得 A34 菌株,根据 *gyrB* 基因序列鉴定为异嗜糖气单胞菌,结果表明该菌是一种鱼类病原菌<sup>[17]</sup>。最近,国内学者从病鱼体内被分离到异嗜糖

气单胞菌,而在鲑鱼尚未见文献报道。刘双凤等报道异嗜糖气单胞菌感染史氏鲟(*A. schrencki*),发病初期病鱼主要表现为食欲减退、行动迟缓,病重时体表颜色深浅不一,病鱼口部四周充血、肿胀,肛门红肿,剖检时发现肝脏质地变脆发白,肠道内没有食物等症状<sup>[4]</sup>。杨求华等从发病鳊鲂(*A. japonica*)脏器中分离到异嗜糖气单胞菌,进行动物感染鳊鲂表现为注射部位溃烂、肿大,腹腔肿大,肛门红肿外突,死亡率均超过 80%,证实异嗜糖气单胞菌对鳊鲂具有致病性<sup>[8]</sup>。本研究首次报道异嗜糖气单胞菌感染鲢,临床主要表现为反应迟钝、不摄食、体表出血、肛门红肿突出、腹部膨大,解剖发现腹腔中有大量血性腹水,肠道无内容物、肝脏坏死等症状。人工腹腔注射斑马鱼、鲑鱼呈现体色变白、腹水等症状,这与国内学者等报道该菌感染鲟、鳊等鱼类临床症状<sup>[7-8]</sup>基本一致。但是,异嗜糖气单胞菌 SJ-2 菌株感染鲢(*Silurus* sp.)死亡率较低,仅为 20%,可能由于异嗜糖气单胞菌为条件致病菌<sup>[11]</sup>,也与鲑鱼抗病力强有关<sup>[20]</sup>。以上研究结果为鱼源异嗜糖气单胞菌的致病机理研究奠定基础。

近些年,水产病原菌耐药性问题备受关注,针对异嗜糖气单胞菌药敏性研究较少<sup>[7-8]</sup>。Yanez 等进行药敏试验显示湖水中异嗜糖气单胞菌 A34 菌株对喹诺酮类、氟喹诺酮类药物敏感性较低,而对阿莫西林、替卡西林、卡那霉素、妥布霉素、磺胺类药物高度敏感<sup>[17]</sup>。Picão 等报道水源异嗜糖气单胞菌 *Qnr* 基因介导质粒菌株对喹诺酮类药物耐药,并且不同水生环境中气单胞菌通过 *Qnr* 基因遗传获得类似的耐药性<sup>[18]</sup>。Girlich 等从河水样品中分离到异嗜糖气单胞菌进行多重耐药性菌株筛选研究,结果表明该菌形成一种新的广谱内酰胺酶,认为异嗜糖气单胞菌 PER-6 (Period1)、中间气单胞菌的 *PER-1* 基因在水环境中遗传蔓延与该菌多重耐药性有关<sup>[19]</sup>。刘双凤等采用纸片扩散法检测鲟源异嗜糖气单胞菌对 23 种抗生素敏感性,结果表明对氯霉素、环丙沙星、左氟沙星、头孢唑啉、四环素、新霉素、阿奇霉素、庆大霉素等多种药物敏感,对链霉素、妥布霉素、红霉素等耐药<sup>[4]</sup>。杨求华等对鳊鲂致病性异嗜糖气单胞菌对哌拉西林、美洛西林、氯霉素、四环素、复方新诺明、氧氟沙星和环丙沙星等敏感<sup>[8]</sup>。本研究首次对鲢源异嗜糖气单胞菌分离株 SJ-2 进行 30 种抗生素敏感性测试,结果显示对头孢克肟、头孢哌酮、头孢噻肟、诺氟沙星、左氟沙星、氟苯尼考等药物敏感,对阿莫西林、氨苄西林、磺胺异噁唑、复方新诺明等耐药,这与国内外报道异嗜糖气单胞菌在喹诺酮类、四环素、复方新诺明药敏谱<sup>[7,18]</sup>存在差异,这可能与细菌来源不同、环境条件、临床用药等因素有关。本研究搞清异嗜糖气单胞菌分离株 SJ-2 的药敏特性,旨在为鱼类异嗜糖气单胞菌疾病防治提供科学参考。

## 参考文献:

- [1] 杨东霞,曲险峰,杨暑伏. 气单胞菌分类及检测技术的研究进展[J]. 中国卫生检验杂志,2003,13(2):247-249.
- [2] Martin - Carnahan A, Joseph S W, Genus I. Bergey's manual of systematic bacteriology[M]. Berlin:Springer,2005:557-578.
- [3] Martinezmurcia A J, Esteve C, Garay E, et al. *Aeromonas allosaccharophila* SP - NOV, a new mesophilic member of the genus *Aeromonas*[J]. Fems Microbiology Letters,1992,91(3):199-206.
- [4] Lee J V, Donovan T J. Isolation and identification of microorganisms of medical and veterinary importance [J]. Society for Applied Bacteriology,1985,16:387.
- [5] Saavedra M J, Perea V, Fontes M C, et al. Phylogenetic identification of *Aeromonas* strains isolated from carcasses of pig as new members of the species *Aeromonas allosaccharophila* [J]. Antonie Van Leeuwenhoek,2007,91(2):159-167.
- [6] 李欣悦,李凤娟,杜鹏程,等. *rpoD* 和 *gyrA* 基因对气单胞菌鉴定的比较分析[J]. 疾病监测,2016,31(3):200-204.
- [7] 刘双凤,邹作宇,袁美云,等. 史氏鲟肿嘴病的诊断与防治[J]. 科学养鱼,2015(1):57-58.
- [8] 杨求华. 养殖鳊鲂致病性气单胞菌的分离与鉴定[D]. 厦门:集美大学,2012.
- [9] 胡秀彩,边延峰,赵腊梅,等. 鱼源维氏气单胞菌的分离鉴定[J]. 动物医学进展,2013,34(12):232-235.
- [10] 黎 炯,叶 星,卢近星,等. 罗非鱼维氏气单胞菌的分离鉴定和药敏试验[J]. 水生态学杂志,2011,32(3):132-136.
- [11] 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.
- [12] Soler L, Yáñez M A, Chacon M R, et al. Phylogenetic analysis of the genus *Aeromonas* based on two housekeeping genes [J]. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2004,54(Pt 5):1511-1519.
- [13] Saavedra M J, Figuera M J. Martínez - Murcia A J. Updated phylogeny of the genus *Aeromonas* [J]. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2006,56(10):2481-2487.
- [14] Esteve C, Gutiérrez M C, Ventosa A. *Aeromonas encheleia* sp. nov., isolated from European eels[J]. International Journal of Systematic Bacteriology,1995,45(3):462-466.
- [15] Huys G, Mpfers K, Swings P. New DNA - DNA hybridization and phenotypic data on the species *Aeromonas ichthiosmia* and *Aeromonas allosaccharophila*: *A. ichthiosmia* Schubert et al. 1990 is a later synonym of *A. veronii* Hickman - Brenner et al. 1990 [J]. Systematic & Applied Microbiology,2001,24(2):177-182.
- [16] Nhung P H, Hata H, Ohkusu K, et al. Use of the novel phylogenetic marker *dnaJ* and DNA - DNA hybridization to clarify interrelationships within the genus *Aeromonas* [J]. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2007,57(Pt 6):1232-1237.
- [17] Yanez M A, Catalan V, Apraiz D, et al. Phylogenetic analysis of members of the genus *Aeromonas* based on *gyrB* gene sequences[J]. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2003,53(3):875-883.
- [18] Picão R C, Poirel L, Demarta A, et al. Plasmid - mediated quinolone resistance in *Aeromonas allosaccharophila* recovered from a Swiss lake[J]. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 2008,62(5):948-950.
- [19] Girlich D, Poirel L, Nordmann P. PER-6, an extended - spectrum beta - lactamase from *Aeromonas allosaccharophila* [J]. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 2010,54(4):1619-1622.
- [20] 黄 文,胡庆杰. 怀头鲢大规格苗种培育试验[J]. 科学养鱼,2014(1):9.