

引用格式:

冯兴浪, 丁戈野, 张秋实, 侯金亮, 刘智明, 陈中元, 向建国, 肖调义, 李军华. 大口黑鲈烂身病病原菌的分离鉴定及其药物敏感性[J]. 湖南农业大学学报(自然科学版), 2024, 50(4): 82–88.

FENG X L, DING G Y, ZHANG Q S, HOU J L, LIU Z M, CHEN Z Y, XIANG J G, XIAO T Y, LI J H. Isolation, identification and drug sensitivity analysis of pathogenic bacteria causing rotten disease in *Micropterus salmoides*[J]. Journal of Hunan Agricultural University(Natural Sciences), 2024, 50(4): 82–88.

投稿网址: <http://xb.hunau.edu.cn>



大口黑鲈烂身病病原菌的分离鉴定及其药物敏感性

冯兴浪¹, 丁戈野¹, 张秋实¹, 侯金亮¹, 刘智明¹, 陈中元², 向建国¹, 肖调义¹, 李军华^{1*}

(1.湖南农业大学水产学院, 湖南 长沙 410128; 2.湖南文理学院生命与环境科学学院, 湖南 常德 415000)

摘要:从湖南省醴陵市某大口黑鲈工厂化养殖场中患烂身病的大口黑鲈体表溃疡处分离得到 1 株病原菌 MS315509, 经形态学和分子生物学鉴定, 确定该病原菌为嗜水气单胞菌(*Aeromonas hydrophila*)。人工感染结果显示, MS315509 对大口黑鲈鱼苗的半数致死剂量为 5.47×10^7 cfu/mL, 为弱毒株; MS315509 携带细胞兴奋性肠毒素基因(*alt*)、细胞毒性肠毒素基因(*act*)和黏附素基因(*ahaI*) 3 种毒力基因; 采用 12 种抗生素与 12 种中草药对菌株 MS315509 进行药物敏感性试验, 结果表明 MS315509 对庆大霉素、头孢拉定、石榴皮、苏木、五倍子、诃子等高度敏感, 对四环素、头孢唑啉、卡那霉素、苯唑西林、恩诺沙星、青霉素、强力霉素、链霉素、黄连、艾叶和熟地黄等表现出耐药性。

关键词:大口黑鲈; 烂身病; 嗜水气单胞菌; 毒力基因; 药物敏感性; 致病性

中图分类号: S941.42+9

文献标志码: A

文章编号: 1007-1032(2024)04-0082-07

Isolation, identification and drug sensitivity analysis of pathogenic bacteria causing rotten disease in *Micropterus salmoides*

FENG Xinglang¹, DING Geyi¹, ZHANG Qiushi¹, HOU Jinliang¹, LIU Zhiming¹,
CHEN Zhongyuan², XIANG Jianguo¹, XIAO Tiaoyi¹, LI Junhua^{1*}

(1.Fisheries College, Hunan Agricultural University, Changsha, Hunan 410128, China; 2.College of Life and Environmental Science, Hunan University of Arts and Science, Changde, Hunan 415000, China)

Abstract: A bacterial pathogen strain MS315509 was isolated from the surface ulcer of the sick *Micropterus salmoides* (*M. salmoides*) in a perch farm in Liling City, Zhuzhou City, Hunan Province. The isolate was identified morphologically and molecularly as *Aeromonas hydrophila*. The results of artificial infection showed that the half lethal dosage of MS315509 in *M. salmoides* fry was 5.47×10^7 cfu/mL. The virulence gene detection showed that the strain MS315509 carried three virulence genes: cytotoxic enterotoxin(*alt*), excitatory enterotoxin(*act*) and adhesin(*ahaI*). Drug susceptibility testing of strain MS315509 utilizing 12 antibiotics and 12 herbs showed that the strain MS315509 was highly sensitive to gentamicin, cefradine, Shiliupi, Sumu, Wubeizi, Hezi, and resistant to tetracycline, cefazolin, kanamycin, oxacillin, enrofloxacin, penicillin, vibramycin, streptomycin, Huanglian, Aiye and Shudihuang.

Keywords: *Micropterus salmoides*; rotten disease; *Aeromonas hydrophila*; virulence gene; drug sensitivity; pathogenicity

收稿日期: 2023-03-11

修回日期: 2024-05-20

基金项目: 国家自然科学基金项目(32173021); 湖南省自然科学基金项目 (2021JJ30326); 省部共建国家重点实验室开放课题基金(2020KF005); 湖南省重点实验室开放课题基金(2021KJ01)

作者简介: 冯兴浪(1992—), 男, 四川泸州人, 硕士研究生, 农艺师, 主要从事水产养殖病害防控研究, FXL132231@126.com; *通信作者, 李军华, 博士, 副教授, 主要从事水产养殖病害防控研究, lijunhua@hunau.edu.cn

大口黑鲈(*Micropterus salmoides*)俗称加州鲈,原产于北美淡水水域,是中国引进的重要淡水经济鱼类^[1],因其具有生长快、无肌间刺且环境适应性强等优点,深受养殖户和消费者喜欢,成为近年来迅速发展的水产养殖品种。至 2021 年,全国大口黑鲈养殖产量已突破 70 万 t^[2],大部分依靠工厂化循环水养殖。高密度、高投喂量的工厂化养殖模式以及养殖过程中的不当操作,极易导致大口黑鲈在抢食、分级过程中受到机械损伤,继而引起细菌感染,引发大规模死亡,造成巨大经济损失。

近年来,湖南及其他省(市)的大口黑鲈工厂化循环水养殖频繁暴发以皮肤溃烂、出血为主要病症的传染性疾病,引发大口黑鲈持续性死亡,病情波及范围广,经济损失较大,严重限制了大口黑鲈循环水养殖的健康发展。笔者从患烂身病大口黑鲈体表溃疡处分离得到 1 株菌株,采用形态学和分子生物学等方法进行鉴定,并通过回归感染和毒力基因鉴定验证其致病力后,通过多种药物进行药物敏感性试验,筛选防治效果好的药物,以期为工厂化循环水养殖大口黑鲈的疾病防治提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料

自湖南省醴陵市某大口黑鲈工厂化养殖基地采集患病和健康大口黑鲈各 3 尾,体质量(450.6±50.2) g,体长(30.7±5.1) cm。健康大口黑鲈鱼苗体质量(21.3±3.1) g,体长(7.5±1.3) cm,由湖南省湘阴水产科学研究所提供。

12 种抗生素的药敏纸片购于常德比克曼生物科技有限公司;12 味中草药药粉购于陕西新天域生物科技有限公司。PCR 相关试剂购于北京全式金生物技术股份有限公司。

1.2 方法

1.2.1 大口黑鲈烂身病病原菌的分离与鉴定

用无菌磷酸盐缓冲溶液(PBS)清洗患病大口黑鲈体表 3 次后,用无菌接种环自其体表溃疡处取样,接种于 TSA 平板。置于 28 ℃恒温箱培养 24 h 后,选取优势菌株进行划线分离^[3],重复纯化 3 代后,得到 1 株纯化菌株。挑取该菌株菌落并接种于 TSB 培养液中 28 ℃恒温培养,12 h 后用 25%甘油保存于-80 ℃冰箱。

取患病大口黑鲈的肝脏、肾脏、脾脏组织,用多聚甲醛溶液固定、苏木精-伊红(H.E)染色后用光学显微镜观察。分离菌进行革兰染色和细菌鞭毛染色(改良 Ryu 法),在光学显微镜下观察染色结果。

培养分离菌至其菌液 OD₆₀₀ 约为 0.3~0.4 时,4 000 r/min 离心并吸去上清液,用无菌 PBS 洗涤 3 次。将菌体用 2.5%的戊二醛在 4 ℃固定 8 h 后,参照 ZHONG 等^[4]的方法处理样本,并用扫描电子显微镜观察拍照。

参照《常见细菌系统鉴定手册》^[5]对病症、菌落形态及生理生化特性进行判断。提取分离菌的基因组 DNA,对其 16S rDNA 基因进行 PCR 扩增。正向引物为 27F,序列为 5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3';反向引物为 1492R,序列为 5'-GGTTACCTTGTTACGACTT-3'。PCR 扩增产物纯化后委托生工生物工程(上海)股份有限公司测序。将获得的拼接序列进行在线 Blastn 同源性比对,运用 Mega 7.0 进行多重比较,采用邻接法构建系统发育树,并通过自举分析进行置信度检测,自举数集为 1 000。

1.2.2 大口黑鲈烂身病病原菌致病力的测定

通过 PCR 扩增检测病原菌的 6 种主要毒力基因,包括溶血素基因(*hly*)、黏附素基因(*ahaI*)、细胞毒性肠毒素基因(*act*)、丝氨酸蛋白酶基因(*ahp*)、热敏感细胞肠毒素基因(*alt*)及气溶素基因(*aer*)。PCR 扩增引物和扩增条件见表 1。

表 1 6 种主要毒力基因检测所用引物

Table 1 Primers used for testing the 6 major virulence genes				
引物	序列(5'-3')	产物序列长度/bp	退火温度/℃	GenBank 登录号
<i>hly</i> -F	GGCCGGTGGCCCGAAGATACGGG	597	62	HQ656578.1
<i>hly</i> -R	GGCGGCGCCGGACGAGACGGG			
<i>aer</i> -F	ATGACCCAGTCCTGGCACGG	326	52	MH607886.1
<i>aer</i> -R	GTCACCTTCTCGCTCCAGGC			

表 1(续)

引物	序列(5'-3')	产物序列长度/bp	退火温度/℃	GenBank 登录号
<i>act</i> -F	AGAAGGTGACCAAGAACA	232	55	KC687134.1
<i>act</i> -R	AACTGACATCGGCCTTGAATC			
<i>alt</i> -F	ATGACCCAGTCCTGGCACGG	482	59	KC695750.1
<i>alt</i> -R	GCCGCTCAGGGCGGAGCCGC			
<i>ahp</i> -F	ATTGGATCCCTGCCTATCGCTTCAGGTCA	898	50	KP942389.1
<i>ahp</i> -R	GCTAAGCTTGCAGTGCCGTATTCC			
<i>aha1</i> -F	CTATGAAAAAGACAATTCTGGCT	1 132	55	KC297682.1
<i>aha1</i> -R	AGGCTAGATTAGAAGTTGTATTG			

将病原菌接种于 TSB 培养液中,28 ℃培养 12 h, 5 000 r/min 离心 10 min, 去除上清液。用无菌 PBS 洗 3 次后重悬, 用稀释涂布平板法测定并调节菌悬液浓度至 $5.0\times10^4\sim5.0\times10^8$ cfu/mL。将健康的大口黑鲈鱼苗分为对照组和试验组, 每组 15 尾。试验组的鱼苗腹腔注射 $5.0\times10^4\sim5.0\times10^8$ cfu/mL 菌悬液 0.1 mL, 对照组则注射等体积的无菌 PBS。观察记录 7 d 内大口黑鲈鱼苗的病症、运动状态、死亡情况。在此期间, 水温保持在 (26 ± 2) ℃。将死亡鱼苗病症与原始病症进行比较, 并采用概率单位图解法^[6]计算病原菌对鱼苗的半数致死剂量(LD₅₀)。

1.2.3 大口黑鲈烂身病病原菌的药物敏感性检测

12 味中草药粉未经高压蒸汽灭菌后烘干, 参照

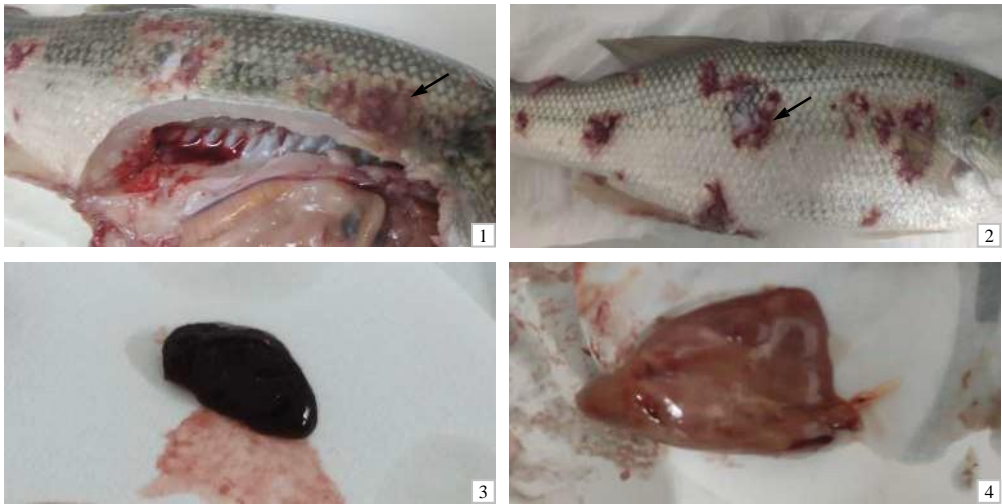
张浩然等^[7]的方法分析病原菌的药物敏感性。参照厂家提供的使用说明书, 对分离菌进行 12 种抗生素药物敏感性检测。

2 结果与分析

2.1 大口黑鲈烂身病病原菌的分离与鉴定结果

2.1.1 大口黑鲈烂身病症状及病原菌的形态特征

患烂身病的大口黑鲈的皮肤有多处明显红肿和溃疡(图 1-1), 有的伴有肛门红肿, 部分严重者体色发暗、烂鳍, 病灶处有出血点并伴有白色增生物(图 1-2)。解剖发现, 病鱼腹部部分脓肿并有少许淡黄色腹水, 脾脏发黑(图 1-3), 肝脏肿大, 呈现白色交错的花肝现象(图 1-4)。



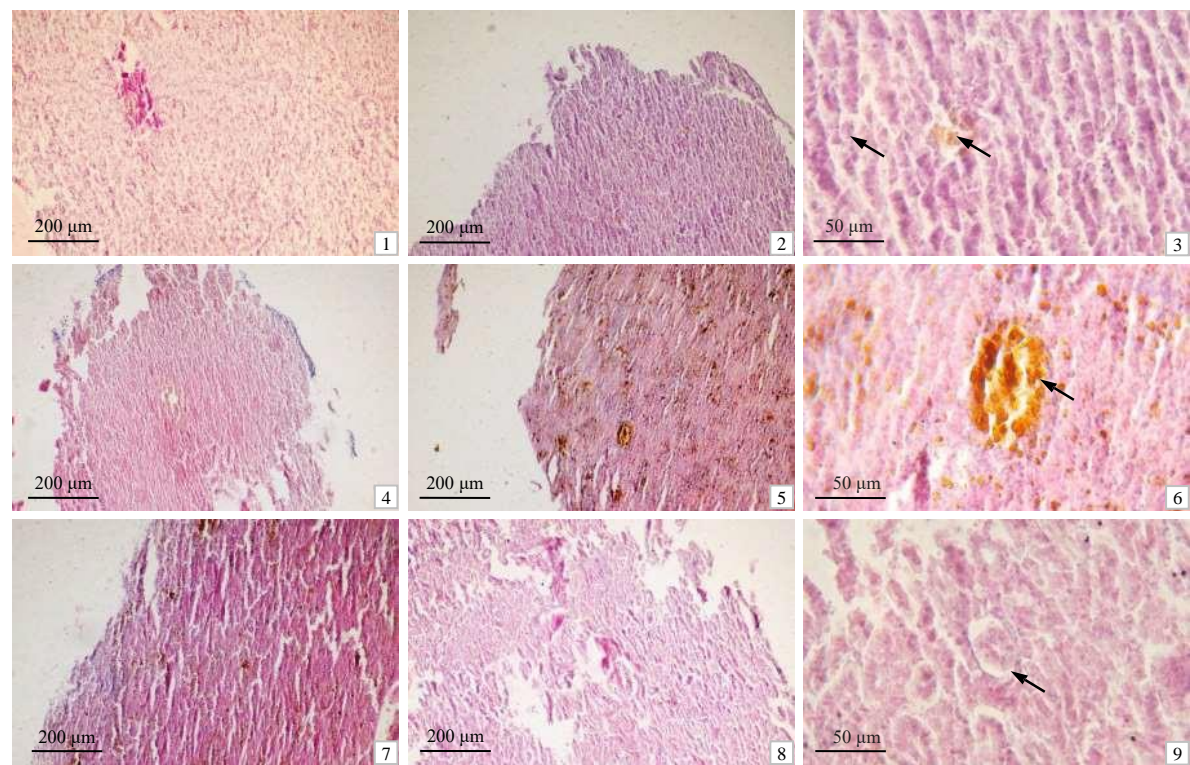
1 皮肤红肿溃疡处; 2 皮肤出血点; 3 脾脏发黑; 4 肝脏肿大。

图 1 大口黑鲈烂身病的临床症状

Fig.1 Clinical symptoms of rotten disease of *M. salmoides*

由组织病理学结果可见, 健康鱼肝脏细胞排列规则且分布均匀, 细胞边界清晰(图 2-1); 脾脏组织中可见淋巴细胞和红细胞, 排列整齐, 分布均匀(图 2-4); 肾脏组织中肾小管上皮细胞排列紧密有序, 管腔无损伤(图 2-7)。患病鱼部分器官存在明显病变

(图 2-2、图 2-5、图 2-8), 例如, 肝脏组织混浊肿胀、细胞核溶解、脂褐素沉着(图 2-3), 脾脏组织有大量血铁素沉积, 细胞坏死(图 2-6), 肾脏组织中肾小球萎缩、空泡化(图 2-9)。



1、4、7 分别为健康大口黑鲈的肝脏、脾脏和肾脏组织；2 患病肝脏组织混浊肿胀；3 患病肝细胞核溶解，组织内有脂褐素沉着；5 患病脾脏细胞排列混乱；6 患病脾脏组织中有大量血铁素沉积；8 患病肾脏组织出现大量空泡化和萎缩；9 患病肾小球萎缩。

图 2 大口黑鲈烂身病的组织病理学观察结果

Fig.2 Histopathological analysis for *M. salmoides* with rotten disease

利用 TSA 平板从患病鱼体表溃疡处分离纯化得到 1 株优势菌，编号为 MS315509。菌落呈乳白色，形态为圆形，中央略凸起、边缘较整齐、湿润光滑(图 3-1)。光学显微镜下，MS315509 菌株为短

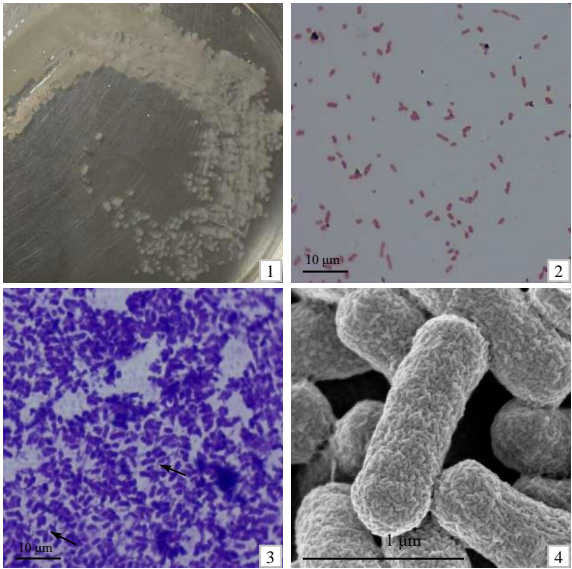
杆状革兰阴性菌(图 3-2)，鞭毛染色呈阳性(图 3-3)。扫描电镜分析发现 MS315509 菌株长约为 1 μm，细菌表面粗糙(图 3-4)。

2.1.2 大口黑鲈烂身病病原菌的生理生化特性

大口黑鲈烂身病病原菌的生理生化特征测定结果表明，病原菌的 β-半乳糖苷酶试验、氧化-发酵(O/F)试验、氧化酶反应、赖氨酸脱羧酶试验、精氨酸双水解酶试验、色氨酸脱氨酶试验均呈阳性，鸟氨酸脱羧酶试验呈阴性，可以使甘露醇发酵，能够液化明胶，使葡萄糖产气，不能使尿素分解和肌醇发酵。病原菌与嗜水气单胞菌标准菌株的反应符合概率为 100%。

2.1.3 大口黑鲈烂身病病原菌的 16S rDNA 基因序列

PCR 扩增病原菌 MS315509 的 16S rDNA，获得长度约 1 450 bp 的片段，其在 GenBank 上的序列号为 OQ030184。PCR 扩增产物经测序及 Blastn 比对分析后发现，病原菌 MS315509 的 16S rDNA 序列与 NCBI 数据库中的嗜水气单胞菌菌株 S5-35 株 (GenBank 登录号 KC202278.1)的 16S rDNA 序列同



1 TSA 培养基上的菌落形态；2 革兰染色下的细菌形态；3 改良 Ryu 法染色后细菌的鞭毛；4 扫描电镜下的细菌形态。

图 3 大口黑鲈烂身病病原菌 MS315509 的形态学特征

Fig.3 Morphological characteristics of the pathogen MS315509, the pathogen strain of rotting body disease in *M. salmoides*

源性高达 99.58%。基于 16S rDNA 序列构建病原菌 MS315509 的系统进化树(图 4), 分析发现病原菌 MS315509 与嗜水气单胞菌聚为 1 支。结合病原菌

MS315509 的生理生化特性鉴定与 16S rDNA 基因序列分析的结果, 认为病原菌 MS315509 为嗜水气单胞菌。

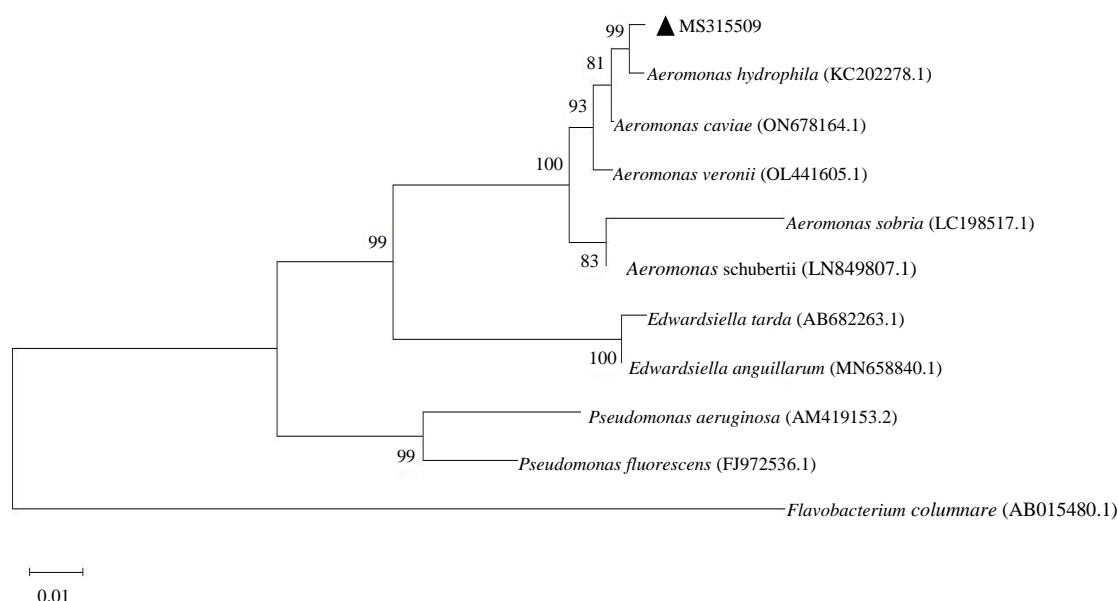


图 4 基于 16S rDNA 的大口黑鲈烂身病病原菌 MS315509 的系统进化树

Fig.4 Evolutionary tree of MS315509 *M. salmoides* rotting body disease pathogen based on 16S rDNA

2.2 大口黑鲈烂身病病原菌的致病力

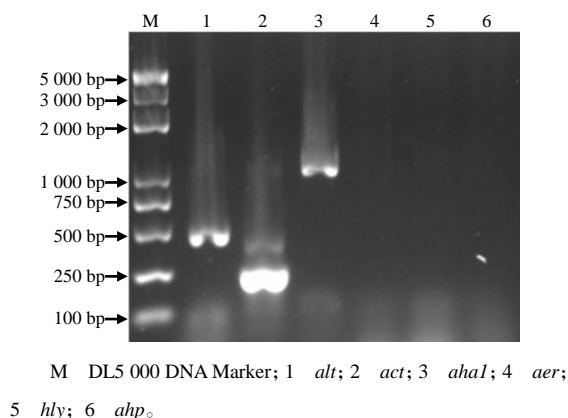
2.2.1 大口黑鲈烂身病病原菌的主要毒力基因

病原菌 MS315509 的细胞兴奋性肠毒素基因(*alt*)、细胞毒性肠毒素基因(*act*)和黏附素基因(*aha1*)的 PCR 扩增结果均为阳性(图 5), 目的条带长度分

别为 482、232 和 1 132 bp; 而菌株的气溶素基因(*aer*)、溶血素基因(*hly*)和丝氨酸蛋白酶基因(*ahp*)的扩增结果均为阴性, 表明病原菌携带 *alt*、*act* 和 *aha1* 相关毒力基因, 不携带 *aer*、*hly* 和 *ahp* 相关毒力基因。

2.2.2 大口黑鲈烂身病病原菌的回归感染

大口黑鲈烂身病病原菌的人工回归感染试验结果显示, 病原菌 MS315509 可导致健康大口黑鲈鱼苗发病死亡, 发病鱼出现游动无力、体表出血、充血等病症, 部分鱼体出现腹部溃疡样症状(图 6)。依据 7 d 内的存活率, 并根据概率单位图解法建立死亡概率(*Y*)与菌液浓度对数(*X*)的关系曲线方程 $Y=0.103\ 4X-0.227\ 8$, 计算出菌株 MS315509 对健康大口黑鲈的半数致死剂量约小于等于 5.47×10^7 cfu/mL。菌液浓度为 5.0×10^4 cfu/mL 时的存活率与对照组相比无显著差异。



M DL5 000 DNA Marker; 1 *alt*; 2 *act*; 3 *aha1*; 4 *aer*;

5 *hly*; 6 *ahp*。

图 5 大口黑鲈烂身病病原菌 MS315509 的毒力基因 PCR 扩增结果

Fig.5 PCR amplification of virulence genes of the pathogen strain of *M. salmoides* rotting body disease, MS315509



1、2 患病鱼胸鳍、腹鳍周围出现出血点；3 腹部红肿并疑似出现腐烂溃疡症状。

图 6 大口黑鲈烂身病病原菌回归感染患病死亡鱼的症状

Fig.6 *M. salmoides* rotting body disease pathogen returns infection disease symptoms of death fishes

2.3 大口黑鲈烂身病病原菌的药物敏感性

大口黑鲈烂身病病原菌对抗生素药物敏感性试验结果(表2)表明,病原菌 MS315509 对四环素、卡那霉素、苯唑西林、恩诺沙星、头孢唑啉、强力

霉素、链霉素、青霉素等表现出耐药性,对头孢曲松、阿米卡星中等敏感,对庆大霉素、头孢拉定等高度敏感。

表 2 大口黑鲈烂身病病原菌 MS315509 对抗生素的敏感性

Table 2 Susceptibility to antibiotics of the pathogenic bacterium MS315509, the pathogen strain of rotting body disease in <i>M. salmoides</i>					
抗生素	抑菌圈直径/mm	敏感性	抗生素	抑菌圈直径/mm	敏感性
四环素	4.0	耐药	头孢曲松	16.0	中度敏感
庆大霉素	17.6	高度敏感	头孢唑啉	0.0	耐药
卡那霉素	10.6	耐药	链霉素	2.0	耐药
苯唑西林	0.2	耐药	强力霉素	6.6	耐药
头孢拉定	30.4	高度敏感	青霉素	1.0	耐药
恩诺沙星	0.4	耐药	阿米卡星	15.4	中度敏感

大口黑鲈烂身病病原菌对中草药敏感性试验结果(表 3)表明,病原菌 MS315509 对黄连、艾叶、山地、熟地黄等表现出耐药性,对丁香、乌梅、大

黄、黄柏中等敏感,对苏木、五倍子、诃子、石榴皮等高度敏感。

表 3 大口黑鲈烂身病病原菌 MS315509 对中草药的敏感性

Table 3 Susceptibility to herbal medicines of the pathogenic bacterium MS315509, the pathogen strain of rotting body disease in <i>M. salmoides</i>					
药物	抑菌圈直径/mm	敏感性	药物	抑菌圈直径/mm	敏感性
丁香	11.7	中度敏感	诃子	17.1	高度敏感
苏木	32.2	高度敏感	石榴皮	17.4	高度敏感
五倍子	15.5	高度敏感	艾叶	9.8	耐药
乌梅	14.3	中度敏感	山楂	8.2	耐药
大黄	12.1	中度敏感	熟地黄	8.5	耐药
黄连	6.9	耐药	黄柏	12.2	中度敏感

3 结论与讨论

嗜水气单胞菌是多种水生动物的条件致病菌,其感染池塘养殖大口黑鲈引发烂身病于 2011 年被报道^[8]。近年来,工厂化循环水养殖大口黑鲈频发烂身病,死亡率虽不高,但时间跨度长,病情反复且难以根治。笔者从工厂化养殖的患烂身病的大口黑鲈的体表溃疡处分离获得 1 株嗜水气单胞菌

MS315509, 序列比对分析发现, MS315509 与池塘养殖的大口黑鲈烂身病病原菌同属嗜水气单胞菌。结合毒力基因检测和回归感染分析判定 MS315509 为弱毒株,这可能与池塘养殖和工厂化循环水养殖因水文环境差异导致的细菌协同演化相关,菌株毒性虽减弱,但易受工厂化循环水养殖模式的环境因子如养殖密度、氨氮浓度、亚盐浓度、温度、溶氧

等多种因素胁迫, 导致疾病暴发。

aer、*hly*、*act*、*alt*、*aha1* 和 *ahp* 是嗜水气单胞菌重要的毒力基因^[9-10]。研究表明, 嗜水气单胞菌的致病性往往由多种毒力基因协同作用产生。例如, 在携带有 *hly* 和 *act* 毒力基因的基础上, 若还存在多种其他毒力基因, 则被认定为强毒株^[11]。而本研究未见 *hly* 毒力基因的表达, 不符合强毒株的特征。此外, 人工感染试验结果表明, 大口黑鲈鱼苗腹腔注射 MS315509 菌株的半数致死剂量为 5.47×10^7 cfu/mL。参考陆承平等^[12]的研究结果, 对于嗜水气单胞菌而言, 若其半数致死剂量高于 10^7 cfu/mL 则可视为弱毒株或无毒株, 因而判断 MS315509 菌株为弱毒株。

菌株 MS315509 对五倍子、苏木、诃子和石榴皮等中草药高度敏感。以往的研究也表明, 石榴皮、黄柏、艾叶、紫花地丁、诃子、乌梅等多种中草药对嗜水气单胞菌都有一定的抑制效果^[13-14], 表明中草药在嗜水气单胞菌的防治上存在一定的共性。但是, 实际生产中对于中草药的使用方法和剂量, 在行业内尚缺乏共识。

参考文献:

- [1] BAI J J, LUTZ-CARRILLO D J, QUAN Y C, et al. Taxonomic status and genetic diversity of cultured largemouth bass *Micropterus salmoides* in China[J]. *Aquaculture*, 2008, 278(1/2/3/4): 27–30.
- [2] 刘新中. 2022 中国渔业统计年鉴[M]. 北京: 中国农业出版社, 2022: 22–25.
- [3] 何亮银, 周逢芳, 史晓丽, 等. 大黄鱼致病嗜水气单胞菌的分离鉴定及其多克隆抗体制备[J]. *水产科学*, 2022, 41(1): 69–75.
- [4] ZHONG W M, CHEN K Y, YANG L L, et al. Essential oils from *Citrus unshiu* Marc. effectively kill *Aeromonas hydrophila* by destroying cell membrane integrity, influencing cell potential, and leaking intracellular substances[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2022, 13: 869953.
- [5] 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: 162–166.
- [6] 徐叔云. 药理实验方法学[M]. 3 版. 北京: 人民卫生出版社, 2002: 216–218.
- [7] 张浩然, 刘琴琴, 徐杭忠, 等. 不同单味中草药与其复配组方对鲫鱼源嗜水气单胞菌的抑菌效果[J]. *贵州农业科学*, 2022, 50(3): 74–82.
- [8] 刘春, 李凯彬, 王庆, 等. 大口黑鲈烂身病病原菌的分离、鉴定与特性分析[J]. *广东农业科学*, 2011, 38(6): 126–128.
- [9] 方兵, 李槿年, 汪天杰, 等. 6 株水产动物源气单胞菌安徽分离株的毒力基因的克隆与序列分析[J]. *中国水产科学*, 2006, 13(6): 966–972.
- [10] 陈国权, 吴征卓, 姚碧琼, 等. 鸭源致病性嗜水气单胞菌的分离鉴定与生物学特性分析[J]. *中国家禽*, 2020, 42(4): 34–40.
- [11] 张曼, 王振光, 高峰, 等. 巴马拟缨鱼源嗜水气单胞菌分离鉴定及其致病力分析[J]. *南方农业学报*, 2020, 51(9): 2051–2060.
- [12] 陆承平, 陈怀青. 研究鱼类病原菌的思路和方法[J]. *鱼类病害研究*, 1995, 17(3): 42–43.
- [13] 任海, 葛慕湘, 华智杰, 等. 25 种中草药对 3 种鱼源嗜水气单胞菌的抑杀效果比较[J]. *黑龙江畜牧兽医*, 2018(21): 176–179.
- [14] 陶莎, 张效平, 商宝娣, 等. 中草药及复方对嗜水气单胞菌体外抑菌作用研究[J]. *水产科学*, 2022, 41(5): 883–890.

责任编辑: 罗慧敏
英文编辑: 罗 维