

引用格式:

张秋实, 邓新兰, 刘智明, 丁戈野, 李烟亮, 冯兴浪, 李秋云, 陈光荣, 刘小燕, 李军华. 杂交鲟烂身病原菌的分离、鉴定及耐药性分析[J]. 湖南农业大学学报(自然科学版), 2025, 51(3): 63–70.

ZHANG Q S, DENG X L, LIU Z M, DING G Y, LI Y L, FENG X L, LI Q Y, CHEN G R, LIU X Y, LI J H. Isolation, characterization and drug resistance analysis of pathogenic bacteria of rotting body disease in hybrid sturgeon[J]. Journal of Hunan Agricultural University(Natural Sciences), 2025, 51(3): 63–70.

投稿网址: <http://xb.hunau.edu.cn>



## 杂交鲟烂身病原菌的分离、鉴定及耐药性分析

张秋实<sup>1</sup>, 邓新兰<sup>1</sup>, 刘智明<sup>1</sup>, 丁戈野<sup>1</sup>, 李烟亮<sup>2</sup>, 冯兴浪<sup>1</sup>, 李秋云<sup>2</sup>, 陈光荣<sup>2</sup>, 刘小燕<sup>1</sup>, 李军华<sup>1\*</sup>

(1. 湖南农业大学水产学院, 湖南长沙 410128; 2. 郴州市农业科学研究所, 湖南郴州 423000)

**摘要:** 为探明湖南省资兴市地区杂交鲟患烂身病的病原, 从患病鲟鱼中分离出1株优势菌ABSW-1, 并对其进行形态学、生理生化特征和16S rDNA序列分析以及毒力基因检测、回归感染和药敏试验等。结果表明: 患烂身病的鲟鱼体表出现白色溃烂, 肾脏出现白点, 肾脏细胞间隙扩大, 肾小球明显萎缩, 部分肾小管单层立方上皮细胞受损, 其结构发生萎缩; 经鉴定, 分离出的优势菌ABSW-1为革兰阴性短杆菌, 具有单极生鞭毛。该菌与维氏气单胞菌标准菌株(MK990549.1)高度相关且聚为一支, 置信度为100%; 菌株ABSW-1与维氏气单胞菌标准菌株的生理生化反应基本一致; 菌株ABSW-1携带了*act*、*hly*、*aer*、*ompa*、*aha*和*alt*共6种毒力基因; 在水温为(24±1) °C时, 同对照组相比, 实验组的死亡率显著增加; 菌株ABSW-1对氨基西林、万古霉素、红霉素、头孢噻吩、青霉素表现出耐药性, 但对四环素、庆大霉素、恩诺沙星、氟苯尼考、氯霉素高度敏感。综上可知, 菌株ABSW-1为杂交鲟烂身病的致病菌, 具有较高的致病性, 可引发杂交鲟多个器官的病变。

**关键词:** 杂交鲟; 烂身病; 维氏气单胞菌; 菌株分离鉴定; 耐药性分析

中图分类号: S917.1

文献标志码: A

文章编号: 1007-1032(2025)03-0063-08

## Isolation, characterization and drug resistance analysis of pathogenic bacteria of rotting body disease in hybrid sturgeon

ZHANG Qiushi<sup>1</sup>, DENG Xinlan<sup>1</sup>, LIU Zhiming<sup>1</sup>, DING Geyu<sup>1</sup>, LI Yanliang<sup>2</sup>, FENG Xinglang<sup>1</sup>,  
LI Qiuyun<sup>2</sup>, CHEN Guangrong<sup>2</sup>, LIU Xiaoyan<sup>1</sup>, LI Junhua<sup>1\*</sup>

(1. College of Fisheries, Hunan Agricultural University, Changsha, Hunan 410128, China; 2. Chenzhou Institute of Agricultural Science, Chenzhou, Hunan 423000, China)

**Abstract:** To identify the pathogen of rotting body disease in hybrid sturgeon (*Acipenser baerii* ♀ × *Acipenser schrenckii* ♂) in Xixing City, Hunan Province, a dominant strain of ABSW-1 was isolated from diseased sturgeon, and was subjected to morphology, physiological and biochemical characterization, 16S rDNA sequence analysis, virulence gene detection, regression infection, and antibiotic drug sensitivity tests. The results showed that sturgeon suffering from rotting body disease showed white ulceration on the body surface, white spots on the kidney, enlarged cellular gaps in the kidney, obvious atrophy of the glomeruli, and damage to the monolayer cuboidal epithelial cells of some of the renal tubules, and atrophy of their structures. The isolated dominant bacterium, ABSW-1, was identified as a gram-negative short bacterium with a monopolar flagellum. The bacterium was highly correlated and clustered into a single unit with the standard strain of *Aeromonas veronii* (MK990549.1) with a confidence level of 100%. The physiological and biochemical responses of strain ABSW-1 was essentially identical to those of the *Aeromonas veronii* standard strain. Strain ABSW-1

收稿日期: 2024-05-22

修回日期: 2024-06-13

基金项目: 湖南省科技专项(2022sfq30, 20231F18); 湖南省教育厅重点项目(23A0196)

作者简介: 张秋实(1999—), 男, 湖北赤壁人, 硕士, 主要从事水生生物免疫与病害研究, 948624276@qq.com; \*通信作者, 李军华, 博士, 教授, 主要从事水生生物免疫与病害研究, lijunhua@hunau.edu.cn

carried a total of six virulence genes, i.e., *act*, *hly*, *aer*, *ompa*, *aha* and *alt*. At a water temperature of (24±1) °C, the mortality rate of the experimental group was significantly increased compared with that of the control group. Strain ABSW-1 exhibited resistance to ampicillin, vancomycin, erythromycin, cefathiofene and penicillin, but was highly sensitive to tetracycline, gentamicin, enrofloxacin, florfenicol and chloramphenicol. In summary, strain ABSW-1 may be the causative agent of rotting body disease in hybrid sturgeon, which has high pathogenicity and can trigger lesions in several organs of hybrid sturgeon.

**Keywords:** hybrid sturgeon; rotting body disease; *Aeromonas veronii*; Bacterial isolation and identification of strains; drug analysis resistant

鲟鱼隶属于硬骨鱼纲鲟形目, 是一种古老的软骨鳞鱼类<sup>[1]</sup>。鲟鱼肉质鲜美, 鲟鱼卵是制作鱼子酱的珍品, 具有较高的营养与经济价值<sup>[2]</sup>。然而, 由于经济发展、过度捕捞、种质退化、河流障碍、水质污染等因素的影响, 鲟鱼数量急剧减少, 多数种类濒临灭绝<sup>[3]</sup>。因此, 人工养殖鲟鱼以供开发利用对于保护野生鲟鱼资源至关重要。自20世纪80年代起, 我国开始养殖多种鲟鱼, 包括西伯利亚鲟(*Acipenser baerii*)、施氏鲟(*Acipenser schrenckii*)、俄罗斯鲟(*Acipenser gueldenstaedtii*)和杂交鲟(*Acipenser baerii* × *Acipenser schrenckii*), 其中杂交鲟相较于亲本具备更强的繁殖力和更快的生长速度等优势<sup>[4]</sup>。然而, 随着养殖密度的增加, 鲟鱼养殖环境逐渐恶化, 近年来, 鲟鱼养殖场普遍发生细菌性疾病, 常见病原菌包括气单胞菌、分枝杆菌、荧光假单胞菌、鲁氏耶尔森菌和海豚链球菌等, 这些病原菌严重阻碍了鲟鱼产业的发展<sup>[2, 4-7]</sup>。

维氏气单胞菌(*Aeromonas veronii*)属于弧菌科、气单胞菌属, 是一种重要的人-畜-水生动物共患病原菌, 能够引起淡水鱼败血症和溃疡综合征, 给中华鳖、加州鲈、中华绒螯蟹等养殖产业造成严重经济损失, 同时也对食品安全构成威胁<sup>[8-9]</sup>。目前, 由该菌感染导致的溃疡烂身病在鲟鱼养殖中尚未见报道。

2023年5月, 湖南省资兴市一家养殖场内的杂交鲟暴发疾病, 发病温度在25 °C左右。疾病的初期症状包括运动迟缓、食欲减退、轻度腹水和肠道发红, 而在疾病发展后期, 鱼头部出现泛白现象, 严重者甚至出现白色溃疡, 解剖后肾脏区域可见少量白点, 根据其症状将该病暂定为烂身

病。本研究从患烂身病的杂交鲟中分离出病原菌, 并通过形态学、生理生化特征、16S rDNA测序、回归感染以及药敏试验等方法对该病原菌进行了分析鉴定。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料

患病的杂交鲟(西伯利亚鲟♀×施氏鲟♂, 子一代)由湖南省郴州市资兴某鲟鱼养殖场提供, 体质量约50 g; 健康成年斑马鱼(体质量为(0.7±0.2) g)购自长沙市某花鸟鱼虫市场, 经确认健康后暂养7 d, 用于后续人工回归感染实验。

### 1.2 主要试剂

LB培养基购自北京酷来搏科技有限公司, 革兰染色试剂盒和细菌生化微量鉴定管购自海博生物技术有限公司, 药敏纸片购自常德比克曼生物科技有限公司, 细菌基因组DNA提取试剂盒购自北京全式金生物技术股份有限公司。

### 1.3 实验方法

#### 1.3.1 病原菌分离与纯化

用75%乙醇棉球对濒死杂交鲟体表进行消毒, 在超净台进行解剖, 检查其体内是否有寄生虫感染, 并记录临床症状。使用无菌接种环蘸取有明显病变的皮肤、肝脏、肾脏和肠道组织, 采用三区划线法接种到普通LB琼脂平板上, 在25 °C恒温培养箱中培养24 h。筛选形态和颜色相同的优势菌落进行纯化培养(重复3次以上)。将纯化的菌株保存在含有25%甘油的无菌LB液体培养基中, 并存放于-80 °C冰箱备用。

### 1.3.2 分离病原菌鉴定和形态学观察

经过纯化后的分离菌在25 °C培养箱中培养24 h后,挑取单一菌落进行革兰染色和细菌鞭毛染色(改良Ryu染色法),通过显微镜观察单一菌体的形态特征<sup>[10]</sup>。使用戊二醛固定液对单一菌落进行固定,经过脱水和干燥处理,并使用扫描电镜(日立,日本)进行拍照观察<sup>[10]</sup>。

根据菌落形态和染色结果,选择若干鉴定指标,按照细菌生化微量鉴定管的说明书挑取分离菌并对其生化特性分析,同时参考《常见细菌与古细菌系统分类鉴定手册》<sup>[11]</sup>对其进行初步鉴定。

将单一菌落接种到无菌LB液体培养基中,在25 °C培养5 h后,提取基因组DNA,利用细菌16S rDNA通用引物进行PCR扩增,所使用的通用引物序列见表1<sup>[12-14]</sup>。PCR产物由北京擎科生物科技股份有限公司进行测序,将所得序列与NCBI网站上的BLAST数据库进行同源性比对。通过MEGA 11软件进行序列比对后,采用NJ邻接法(neighbour-joining method)构建系统发育进化树,并通过自举分析进行置信度检测,自举数集为10 000。

### 1.3.3 分离病原菌的致病力的测定

通过PCR扩增反应检测分离病原菌的主要毒力

基因,包括细胞毒性肠毒素基因(*act*)、气溶素基因(*aer*)、热敏感性细胞毒性肠毒素基因(*alt*)、热稳定性细胞紧张素基因(*ast*)、外膜蛋白A基因(*ompa*)、DNA酶基因(*exu*)、溶血素基因(*hly*)、鞭毛蛋白基因(*flgA*)和黏附素基因(*aha*)共9种,实验过程中使用的检测引物见表1,以PBS(磷酸盐缓冲液)为阴性对照。PCR反应体系如下:2×PCR Master Mix 25 μL, DNA模板2 μL,上下游引物各1 μL,加灭菌水至50 μL。反应程序如下:95 °C预变性3 min,95 °C变性30 s;54 °C退火30 s,72 °C延伸30 s,31个循环;72 °C延伸10 min<sup>[15]</sup>。

将纯化后的分离菌接种至无菌LB培养基中,在25 °C条件下培养至OD值为0.3,然后通过加入无菌PBS将菌悬液分别调至 $1 \times 10^4$ 、 $1 \times 10^5$ 和 $1 \times 10^6$  cfu/mL。选用暂养7 d的健康斑马鱼,将其分为1个对照组和3个实验组,每组各20尾鱼。3个实验组中的斑马鱼分别注射40 μL  $1 \times 10^4$ 、 $1 \times 10^5$ 和 $1 \times 10^6$  cfu/mL的菌悬液,对照组则注射等量的无菌PBS。连续观察并记录7 d内鱼的死亡情况,并利用GraphPad Prism 8软件绘制生存曲线图。在此期间,水温保持为 $(24 \pm 1)$  °C。

表 1 用于鉴定病原体的 PCR 引物<sup>[12-14]</sup>

Table 1 PCR primers used for pathogen identification<sup>[12-14]</sup>

引物名称	序列(5'—3')	扩增产物序列长度/bp	参考文献
16S-F	AGAGTTTGATCCTGGCTCAG	1 492	本研究
16S-R	GGTACCTTGTTACGACTT		
<i>S. Ver-hly</i> -F	CGGACGATTATCAGGATGG	289	[12]
<i>S. Ver-hly</i> -R	CAAGAACGAGTTTCAGTGGC		
<i>S. Ver-flgA</i> -F	GGGACCTGCTGAGTGAAA	362	[13]
<i>S. Ver-flgA</i> -R	GACCGATACGGCACCTAC		
<i>S. Ver-exu</i> -F	AGACATGCACAACCTCTTCC	323	[12]
<i>S. Ver-exu</i> -R	GATTGGTATTGCCCTGCAAC		
<i>S. Ver-ompa</i> -F	GCGGTTTATCGCTTTGGT	397	[12]
<i>S. Ver-ompa</i> -R	CACGCTTGGAAGTCTGTA		
<i>S. Ver-aer</i> -F	CCTATGGCCTGAGCGAGAAG	417	[12]
<i>S. Ver-aer</i> -R	CCAGTTCCAGTCCCACCACT		
<i>S. Ver-act</i> -F	AGAAGGTGACCACCAAGAACA	232	[12]
<i>S. Ver-act</i> -R	AACTGACATCGGCCTGAACTC		
<i>S. Ver-aha</i> -F	GGCTATTGCTATCCCGCTCTGTT	998	[14]
<i>S. Ver-aha</i> -R	CGGTCCACTCGTCGTCATCTTG		
<i>S. Ver-alt</i> -F	TGACCCAGTCTGGCACGGC	442	[13]
<i>S. Ver-alt</i> -R	GGTGATCGATCACCACCAGC		
<i>S. Ver-ast</i> -F	TCTCCATGCTTCCCTTCCACT	331	[13]
<i>S. Ver-ast</i> -R	GTGTAGGGATTGAAGAAGCCG		

### 1.3.4 组织病理学分析

采集患病鲟鱼的肝脏、鳃和肾脏组织,用无菌PBS清洗后,使用4%多聚甲醛进行固定。随后将固定好的样品送至武汉赛维尔生物科技有限公司对组织进行苏木精-伊红染色。在收到染色切片后,使用光学显微镜观察并进行拍照。

### 1.3.5 分离病原菌药物敏感性实验

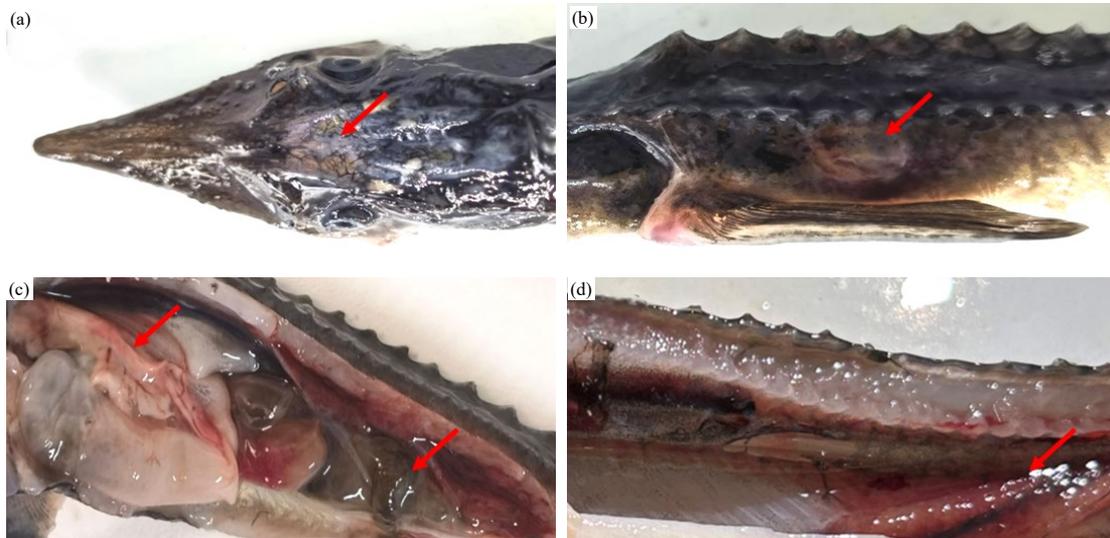
将纯化后的分离菌接种至无菌LB培养基中,在25℃的培养箱中过夜培养。随后,取适量菌液均匀涂抹于无抗LB固体培养基上,然后采用K-B药敏纸片法检测分离菌对药物的敏感性。每种药

敏片进行3次重复实验,利用游标卡尺测定抑菌圈的直径(mm)。根据WS/T 639—2018《抗菌药物敏感性试验的技术要求》判断结果。

## 2 结果

### 2.1 杂交鲟烂身病的临床症状

患有烂身病的杂交鲟体表皮肤出现多处溃疡(图1(a)和图1(b)),有些伴随肛门红肿和额部发白的情况。解剖后可见患病杂交鲟的肝脏呈现白色并伴有红肿,肠道轻度肿胀且有轻微腹水(图1(c)),肾脏出现了少量白点(图1(d))。



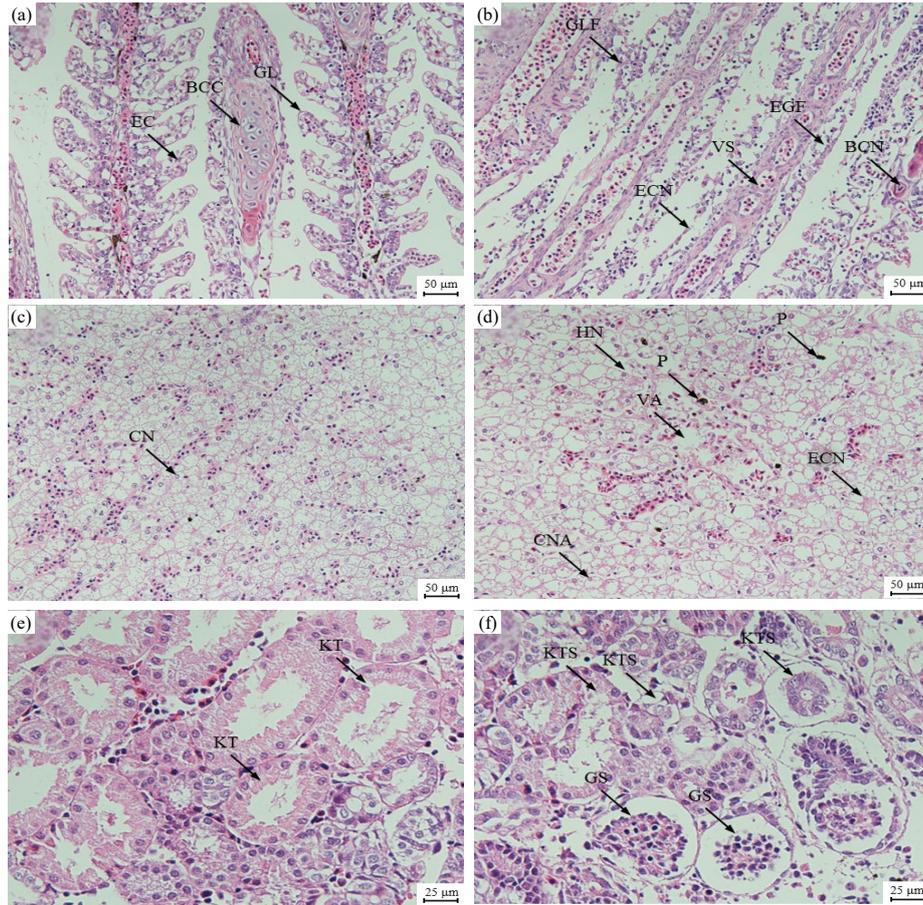
(a) 患病鲟鱼额部有白色溃疡; (b) 患病鲟鱼侧部有明显白色溃疡;  
(c) 患病鲟鱼肝脏红肿, 肠道肿胀且有轻微腹水; (d) 患病鲟鱼肾脏出现少量白点

图1 杂交鲟烂身病的临床症状

Fig.1 Clinical symptoms of rotting body disease in hybrid sturgeon(*Acipenser baerii* × *Acipenser schrenckii*)

组织切片结果显示,正常杂交鲟的鳃丝和鳃小片组织结构良好,相比之下,患病杂交鲟的鳃丝出现水肿,部分鳃丝的软骨细胞坏死,鳃丝血管被分隔,部分鳃小片之间发生融合,大量鳃丝上皮细胞坏死(图2(a)和图2(b))。在正常的肝脏组织中,细胞间隙清晰,排列规则,由完整的肝索和肝血窦组成;而患病杂交鲟的肝脏组织结构紊乱,细胞间隙扩大,肝细胞肿胀并出现空泡化,

部分肝细胞已经溶解变性,同时伴随色素沉着和充血(图2(c)和图2(d))。正常的肾脏组织结构紧致,由肾小球、肾小囊、近曲小管、远曲小管和集合管组成,肾细胞形状正常,肾小管管腔清晰;而患病杂交鲟的肾脏细胞间隙变大,肾小球明显萎缩,部分肾小管单层立方上皮细胞受损,其结构发生萎缩(图2(e)和图2(f))。



EC表示上皮细胞；GL表示鳃片；BCC表示鳃丝软骨细胞；GLF表示鳃片融合；ECN表示上皮细胞坏死；EGF表示鳃丝水肿；BCN表示软骨细胞坏死；VS表示血管分隔；CN表示细胞核；CNA表示细胞核萎缩；HN表示肝细胞坏死；P表示色素沉着；VA表示空泡化；KT表示肾小管；GS表示肾小球萎缩；KTS表示肾小管收缩。

(a) 正常鳃组织；(b) 患病鳃组织；(c) 正常肝脏组织；(d) 患病肝脏组织；(e) 正常肾脏组织；(f) 患病肾脏组织

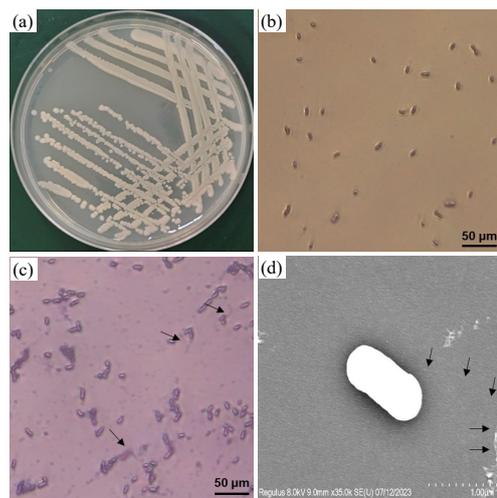
图2 杂交鲟烂身病的组织病理学观察结果

Fig.2 Histopathological observation results of rotting body disease in hybrid sturgeon(*Acipenser baerii* × *Acipenser schrenckii*)

## 2.2 病原菌株ABSW-1的鉴定结果

### 2.2.1 形态学特征

从患病杂交鲟病变皮肤、肝脏、肾脏和肠道组织分离出1株优势病原菌，将其命名为ABSW-1。在LB培养基上，该菌形成单一的乳白色菌落且表面湿润光滑(图3(a))，并散发出一定的气味。革兰染色结果呈现为粉红色，表明该菌为革兰阴性菌，且为短杆状(图3(b))。鞭毛染色结果呈阳性(图3(c))。扫描电镜结果显示，该菌具有鞭毛(图中用黑色箭头指示)，菌体长度约为1 μm(图3(d))。综上，该优势病原菌属于有鞭毛的短杆状革兰阴性菌。



(a) LB培养基上的菌落形态；(b) 革兰染色细菌形态；(c) 鞭毛染色后细菌形态；(d) 扫描电镜下的细菌形态

图3 病原菌ABSW-1的形态学特征

Fig.3 Morphological characterization of the pathogenic bacterium ABSW-1

### 2.2.2 生理生化特性分析结果

采用细菌微量生化反应鉴定管对病原菌 ABSW-1 进行生理生化特性鉴定。结果(表2)显示, 该病原菌能够产生赖氨酸脱羧酶和β-半乳糖

表2 病原菌ABSW-1的生理生化特性

Table 2 Physiological and biochemical characteristics of pathogenic bacterium ABSW-1

反应项目	ABSW-1	维氏气单胞菌标准菌株 <sup>[14]</sup>
赖氨酸脱羧酶	+	d
半固体琼脂	+	+
麦芽糖	+	+
肌醇	-	-
尿素酶	-	-
明胶液化	+	+
β-半乳糖苷酶	+	+
阿拉伯糖	-	-
葡萄糖	+	+
乳糖	-	-
卫矛醇	-	-
鼠李糖	-	-
VP反应	+	+
氰化钾	+	d

注: “+”表示阳性结果; “-”表示阴性结果; “d”表示未进行测试。

苷酶, 具有利用葡萄糖、麦芽糖的能力, 可引起明胶的液化, 具有运动性, 氰化钾和VP反应试验结果呈阳性; 不能利用肌醇、阿拉伯糖、乳糖、卫矛醇和鼠李糖, 也不能分解尿素。病原菌的生理生化反应与维氏气单胞菌标准菌株<sup>[14]</sup>的基本一致。

### 2.2.3 16S rDNA序列分析

通过提取分离菌的基因组DNA, 利用PCR扩增得到其16S rDNA片段, 大小为1 411 bp, GenBank登录号为PP791028.1。将获得的16S rDNA序列与NCBI数据库中的维氏气单胞菌标准菌株 ATCC 35624(GenBank登录号: MK990549.1)的相应序列进行比对, 发现二者在序列上高度相似。基于病原菌 ABSW-1 的16S rDNA序列构建系统进化树(图4), 发现病原菌 ABSW-1 与维氏气单胞菌标准菌株 (MK990549.1)聚为一支, 置信度为100%。综合考虑病原菌 ABSW-1 的生理生化特征鉴定及形态学观察结果, 确认分离的病原菌 ABSW-1 属于维氏气单胞菌。

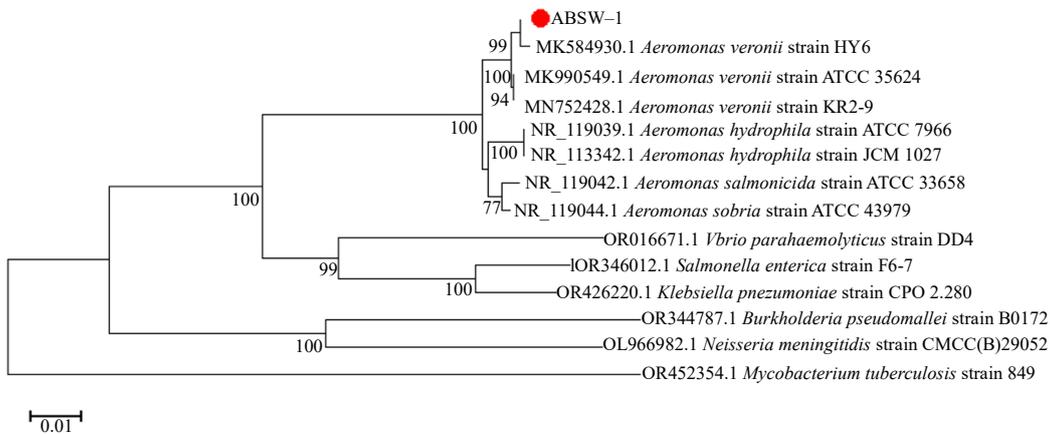


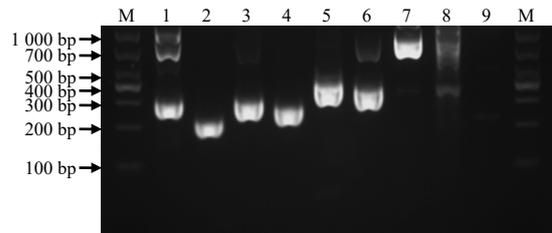
图4 病原菌ABSW-1的系统进化树

Fig.4 Phylogenetic tree of the pathogenic bacterium ABSW-1

## 2.3 病原菌株ABSW-1的致病力

### 2.3.1 菌株ABSW-1的主要毒力基因

病原菌 ABSW-1 的主要毒力基因 *act*、*hly*、*aer*、*ompA*、*aha* 和 *alt* 的 PCR 扩增结果均为阳性, 经测序可知目的条带的序列长度分别为 232、289、417、397、998 和 442 bp; 而 *exu*、*flgA* 和 *ast* 基因扩增结果均为阴性(图5)。这表明菌株 ABSW-1 携带 *act*、*hly*、*aer*、*ompA*、*aha* 和 *alt* 毒力基因,



M为 DL1000 DNA Marker; 1~9分别为 *exu*、*act*、*flgA*、*hly*、*aer*、*ompA*、*aha*、*alt*、*ast* 基因扩增产物。

图5 病原菌ABSW-1毒力基因检测结果

Fig.5 Virulence genes examination result for pathogenic bacterium ABSW-1

而没有携带 *exu*、*flga* 和 *ast* 毒力基因，暗示该菌株毒力较强。

### 2.3.2 菌株 ABSW-1 的回归感染

人工回归感染实验结果表明，感染菌株 ABSW-1 后会导致健康斑马鱼发病死亡(图6)，病鱼出现游动无力、肛门红肿、体表发红等症状。随着注射菌液浓度升高，实验组存活率逐渐降低，而对照组没有出现死亡，这表明菌株 ABSW-1 具有较高的毒力。

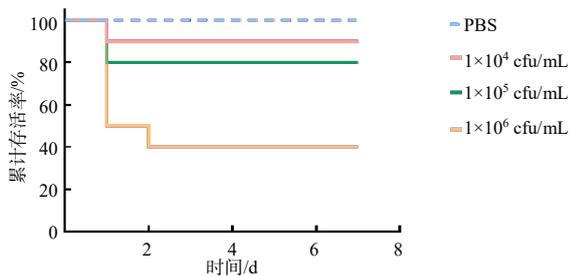


图6 病原菌回归感染后7 d内健康斑马鱼的累计存活率  
Fig.6 Cumulative survival rate of healthy zebrafish within 7 d of pathogenic bacterium re-infection

### 2.4 病原菌菌株 ABSW-1 的药物敏感性

药物敏感性实验结果(表3)显示，病原菌菌株 ABSW-1 对氨苄西林、万古霉素、红霉素、头孢噻吩、青霉素表现为耐药，对四环素、庆大霉素、恩诺沙星、氟苯尼考、氯霉素表现出高度敏感。

表3 病原菌 ABSW-1 对抗生素的敏感性

抗生素	抑菌圈直径/mm	药物含量/(μg·片 <sup>-1</sup> )	敏感性
四环素	20	30	高度敏感
氨苄西林	0	30	耐药
庆大霉素	16	120	高度敏感
万古霉素	10	30	耐药
红霉素	12	15	耐药
头孢噻吩	11	30	耐药
恩诺沙星	28	75	高度敏感
氟苯尼考	29	30	高度敏感
青霉素	0	5	耐药
氯霉素	29	30	高度敏感

## 3 讨论

维氏气单胞菌是我国淡水养殖鱼类中最常见的致病菌之一，对水产养殖业造成了重大的经济损失。近年来，维氏气单胞菌引起的鱼类死亡病例急剧增加，其主要表现为皮肤溃疡、器官出血

和严重腹水等症状<sup>[12]</sup>。维氏气单胞菌是杂交鲟出血病的致病菌<sup>[16-17]</sup>，其引起的症状包括体表大面积充血、肛门红肿以及腹腔和肠道充血红肿。然而，本研究从患烂身病的杂交鲟中分离出维氏气单胞菌，并未使患病杂交鲟出现体表大面积充血的症状，而是表现为体表发白溃烂，甚至肾脏出现白点；组织病理结果显示肾脏细胞间隙变大，肾小球萎缩明显，肾小囊扩大，部分肾小管单层立方上皮细胞受损，其结构发生萎缩。这说明维氏气单胞菌能够引起同种鱼的发病，但症状并不完全相同，这可能是由菌株、温度和水生环境等因素的差异所致。

有报道称金鱼源的维氏气单胞菌是一种极生单鞭毛的革兰阴性菌<sup>[18]</sup>。本次研究从池塘养殖的患烂身病的鲟鱼中分离出了维氏气单胞菌 ABSW-1，通过鞭毛染色和扫描电镜的方法对菌株进行形态学的鉴定，确定了该病原菌为革兰阴性短杆菌且具有单极生鞭毛。这与金鱼源的维氏气单胞菌的形态学特征基本一致，后续通过 16S rDNA 序列分析和生理生化特征分析将分离菌 ABSW-1 鉴定为维氏气单胞菌。

以往的研究表明，维氏气单胞菌的致病力往往取决于其自身携带的毒力基因，其中 *act*、*aer*、*alt* 以及 *aha* 等基因在维氏气单胞菌致病性中起着重要作用<sup>[19]</sup>。有报道指出 *aha* 是维氏气单胞菌引起体表溃烂的重要因素<sup>[20]</sup>。在本研究中，维氏气单胞菌 ABSW-1 携带了 *act*、*hly*、*aer*、*ompa*、*aha* 和 *alt* 毒力基因，没有携带 *ast*、*exu* 和 *flga* 毒力基因，暗示该菌株具有高致病性，可能导致体表溃烂。人工回归感染实验结果表明，菌株 ABSW-1 感染健康斑马鱼后表现出与杂交鲟自然感染类似的状况，且同对照组相比，死亡率显著升高，这也暗示分离株 ABSW-1 具有较高毒力。

已有研究证实维氏气单胞菌 GZZY-01 对氟苯尼考、环丙沙星等抗生素高度敏感，对红霉素则呈现中度敏感<sup>[6]</sup>；而维氏气单胞菌 CQST-2 对氨苄西林、青霉素等抗生素显示出耐药性，但对恩诺沙星、头孢他啶等抗生素高度敏感<sup>[7]</sup>。本研究中，维氏气单胞菌菌株 ABSW-1 对氨苄西林、万古霉素、红霉素、头孢噻吩、青霉素均表现出耐药性，但对四环素、庆大霉素、恩诺沙星、氟苯尼考、氯霉素

则高度敏感。尽管这与之前的研究结果在很大程度上保持一致,但也存在一些细微的差异,这可能是分离菌株的来源以及养殖场使用的药物不同等多种因素综合作用的结果。因此,在进行抗菌药物治疗时,应当优先考虑分离出的致病菌株的药敏测试结果,并参照NY 5071—2002《无公害食品渔用药物使用准则》等相关规定,选择国家允许使用和效果最佳的抗菌药物进行治疗。

#### 4 结论

本研究从患烂身病的杂交鲟中分离出维氏气单胞菌ABSW-1,其具有高致病性,携带了*act*、*hly*、*aer*、*ompa*、*aha*和*alt*共6种毒力基因,没有携带*exu*、*flga*和*ast*毒力基因,可引发杂交鲟肝脏、肾脏和鳃组织不同程度的病变。通过药敏试验证实该菌对氨苄西林、万古霉素、红霉素、头孢噻吩、青霉素均表现出耐药性,但对四环素、庆大霉素、恩诺沙星、氟苯尼考、氯霉素则高度敏感。本研究可为后续对患烂身病的杂交鲟进行抗菌药物治疗提供参考依据。

#### 参考文献:

- [1] 张永芳,张飘,蒋娴,等.人工感染维氏气单胞菌对杂交鲟体内组织抗菌肽含量的影响[J].贵州畜牧兽医,2020,44(2):32-35.
- [2] 刘家星,陶丽竹,陈健,等.杂交鲟源维氏气单胞菌的分离鉴定及人工感染后组织中HSP70基因的表达分析[J].黑龙江畜牧兽医,2023(14):125-131,142.
- [3] 陈会琴,胡青,孔令富,等.低盐驯化对西杂鲟幼鱼生长发育的影响[J].淡水渔业,2023,53(2):50-60.
- [4] ZHANG M J, DOU Y Q, XIAO Z D, et al. Identification of an *Acinetobacter lwoffii* strain isolated from diseased hybrid sturgeon(*Acipenser baerii*♀ × *Acipenser schrenckii*♂)[J]. Aquaculture, 2023, 574: 739649.
- [5] 王静,邓玉婷,姜兰,等.杂交鲟海豚链球菌分离鉴定及药物敏感性[J].云南农业大学学报(自然科学),2020,35(6):1010-1015.
- [6] 胡安东,张明洋,张安青,等.鲟源荧光假单胞菌的分离鉴定及药敏特性分析[J].畜牧与兽医,2019,51(7):107-111.
- [7] 张小丽,麻强生,焦世璋,等.鲟源鲁氏耶尔森菌多位点序列分型及耐药谱测定[J].水产科学,2021,40(3):394-402.
- [8] 刘晓丽,王恬畅,蒋红艳,等.一株中华鳖源维氏气单胞菌的分离鉴定及抗性研究[J].河北渔业,2023(11):42-46,2.
- [9] LI T, RAZA S H A, YANG B T, et al. *Aeromonas veronii* infection in commercial freshwater fish: a potential threat to public health[J]. Animals, 2020, 10(4): 608.
- [10] 冯兴浪,丁戈野,张秋实,等.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.
- [11] 东秀珠,周宇光,朱红惠,等.常见细菌与古菌系统分类鉴定手册[M].北京:科学出版社,2023.
- [12] ZHU X H, QIAN Q Q, WU C C, et al. Pathogenicity of *Aeromonas veronii* causing mass mortality of largemouth bass(*Micropterus salmoides*) and its induced host immune response[J]. Microorganisms, 2022, 10(11): 2198.
- [13] NAWAZ M, KHAN S A, KHAN A A, et al. Detection and characterization of virulence genes and integrons in *Aeromonas veronii* isolated from catfish[J]. Food Microbiology, 2010, 27(3): 327-331.
- [14] 汤环宇,钱且奇,陈圳,等.泗洪地区克氏原螯虾病原维氏气单胞菌鉴定及致病性分析[J].淡水渔业,2023,53(4):61-71.
- [15] 袁橙,郭长明,张步彩,等.鸭致病性大肠埃希菌的分离鉴定与毒力基因检测及菌蜡制备[J].湖南农业大学学报(自然科学版),2020,46(2):223-229.
- [16] 潘吉脉,张明洋,贺欣微,等.杂交鲟维氏气单胞菌的分离鉴定及其耐药性分析[J].中国兽医杂志,2019,55(3):85-89,6.
- [17] 杨成年,李芳,朱成科,等.杂交鲟出血病病原的分离鉴定与组织病理学观察[J].浙江农业学报,2021,33(12):2275-2285.
- [18] 饶秋华,刘洋,张志灯,等.金鱼源维氏气单胞菌的分离鉴定与耐药特性研究[J].中国预防兽医学报,2021,43(12):1334-1338.
- [19] CASTRO-ESCARPULLI G, FIGUERAS M J, AGUILERA-ARREOLA G, et al. Characterisation of *Aeromonas* spp. isolated from frozen fish intended for human consumption in Mexico[J]. International Journal of Food Microbiology, 2003, 84(1): 41-49.
- [20] ZEPEDA-VELÁZQUEZ A P, VEGA-SÁNCHEZ V, SALGADO-MIRANDA C, et al. Histopathological findings in farmed rainbow trout(*Oncorhynchus mykiss*) naturally infected with 3 different *Aeromonas* species[J]. Canadian Journal of Veterinary Research, 2015, 79(3): 250-254.

责任编辑:伍锦花

英文编辑:张承平