

异育银鲫溶血性腹水病病原的研究*

孙其焕 孙佩芳 金丽华 吴建农

(上海水产大学)

提 要 本文对上海市郊县和江苏省吴江县的异育银鲫溶血性腹水病,进行了病原分离和人工感染试验。对致病菌株进行了细菌学鉴定,其分别为运动型气单胞菌的苏伯利气单胞菌(*Aeromonas sobria*)和嗜水气单胞菌(*A. hydrophila*)。通过对人工感染病鱼血清内毒素(Endotoxin)的测定,并用菌体破碎液注射健康鱼体试验,初步认为病原产生和释放的内毒素类物质,是使鱼类致病和死亡的主要原因之一。

关键词 异育银鲫,溶血性腹水病,苏伯利气单胞菌,嗜水气单胞菌,鲎试验法

异育银鲫生长快、肉质鲜嫩,在上海市郊广为养殖。但最近几年发生了一种新的疾病,尤其在 1989—1990 年流行甚广,死亡率很高。它是一种暴发性流行病,使池塘鱼产量受到极大损失。这种病的主要症状是:体表及眼睛充血,腹部、鳍基、下颚、口腔尤为严重;肝脏肿大呈花肝,贫血;部份病鱼肠道充血,肛门红肿,有的有腹水;少数有突眼、竖鳞等。由于异育银鲫是我国近年来池塘养殖的新品种,对这一疾病的研究,在国内外还未见报导。作者希望本试验结果能对深入探讨该疾病及其病原有所帮助。

材 料 和 方 法

1. 病原分离 病原 1987 年 9 月来自上海市南汇县新港养殖场; 1989 年 6 月来自于奉贤县朝阳农场; 1989 年 7 月来自江苏省吴江县平望镇养殖场。使用弧菌培养基 (TYE)^[1]及肉汁蛋白胨琼脂。以无菌操作剪取病鱼肝脏或肾脏一小块,再在无菌水中漂洗三次,并放在平板边缘处,用接种环轻压使其破碎,作平板划线分离。在 28°C 下培养 24 小时。在平板上出现较多形态一致的小菌落,选取单个菌落接种斜面。再进行平板划线,直至获得纯培养,供试验用。

2. 人工感染试验

(1) 注射感染 纯培养接种在 TYE 或肉汁蛋白胨琼脂平板上。培养 18 小时后,用无菌生理盐水洗下,制成菌悬液。用比浊管稀释成 MCF3 号管浓度或以活菌计数测得感染浓度为 2.3×10^8 /ml。对每尾为 110—245 克的健康鱼体以不同剂量进行背肌及腹腔注射。饲养在 25—26°C 的水族箱内。

(2) 浸泡感染 菌液以液体 16 小时(28°C)培养。对每尾为 110—135 克健康鱼体进行两种方式感

* 上海水产大学蔡其副教授、湖南农业大学肖克宇同志参加部份工作; 参加部份工作的尚有上海水产大学陆宏达同志、淡养 85.86 届学生马志宏、王华、陈奇志、江庆生; 上海水产大学张敏、周孝康同志协助拍摄照片,在工作中得到复旦大学黄静娟副教授、徐德强同志的大力帮助和菌株 DNA G+C mol% 的测定; 上海第二军医大学焦炳华副教授、周炳荣同志对内毒素测定工作的帮助; 菌种鉴定得到中国科学院北京微生物研究所蔡妙英研究员的指导。在此一并致谢。

收稿年月:1990 年 11 月;1991 年 1 月修改。

染: ①在细菌培养原液(活菌计数浓度为 7×10^8 /ml)中浸泡十分钟,取出后放入清水中饲养(水温 27°C)。②菌液加入水族箱中,使鱼体始终接触细菌,水族箱的水体中含菌量为活菌计数 1.3×10^4 /ml(水温 27°C)。浸泡感染前每尾鱼均拔去1—2鳞片。

3. 生理生化特性的测定 参照有关文献进行^[1,5,10]。

4. 菌株 DNA 的提取及 DNA 的 G+C mol% 的测定^[8,11] 采用溶菌酶和 2% SDS 联合破壁,氯仿——异戊醇反复去蛋白,加 RNase 去除 RNA,然后加异丙醇去多糖,获得菌株纯的 DNA。用热变性温度法(T_m)测定,由 T_m 值计算 DNA G+C mol%。

5. 人工感染病鱼血清的内毒素测定

(1) 病鱼血清制备 用 N-1-2 菌株人工感染后呈典型症状的殃胚。尾动脉取血。常规制备血清(不加抗凝剂)。

(2) 内毒素的定性测定 血清标本先进行酸化法预处理^[12]。内毒素的测定采用鲎试验法(TAL 试验)(鲎试剂取自中国东方鲎试剂公司平潭厂出品)。标准内毒素为大肠杆菌内毒素(*E. coli* O₁₁₁B₄),测定标准内毒素的敏感度为 1ng/ml(由上海第二军医大学微生物教研室提供)。测定以系列试管法。在 $37^\circ\text{C}(\pm 0.5^\circ\text{C})$ 的水浴中进行^[12]。

6. 菌体破碎液注射健康鱼体试验^[8] N-1-2 菌株在 TYE 平板上培养 24 小时后,用无菌生理盐水洗下,制成浓菌悬液,加入经清洗后干热灭菌的铝矾土(AlO_3),在研钵中用力研磨 35 分,离心处理两次(每次 15 分钟,转速为 3,500 转/分钟)。取其上清液注射入健康鱼体(鱼体重为 55—114 克/尾,注射剂量为 1.0—1.5ml/尾),放入 $25-26^\circ\text{C}$ 清水中饲养。

试验结果

(一) 致病性

1. N-1-2 等菌株的致病性试验结果 1987 年取自新港养殖场发病鱼池病鱼的肾、肝分离到 N-1、N-2 菌株;又在 N-1 菌株人工感染病鱼上再分离到 N-1-1、N-1-2 菌株。对以上菌株先后进行毒力感染试验(注射及浸泡方式),各菌株均具有较强的致病力。人工感染的病鱼与自然病鱼症状基本一致结果如表 1、表 2。

2. 89-7-14 和 D-II-1 菌株的致病性试验结果 1989 年在平望镇养殖场和朝阳农场发病鱼池的病鱼上分离到 89-7-14 和 D-II-1 菌株。毒力感染试验同前,结果如表 3、表 4。

从表 3、表 4 看出,89-7-14 和 D-II-1 菌株对异育银鲫同样具有致病力,人工感染病鱼症状和自然病鱼的基本一致。

综上实验结果表明,不同地区分离的菌株 N-1-2 和 89-7-14、D-II-1,对异育银鲫均具有致病力。而从剂量、症状和发病及死亡时间,则 N-1-2 菌株尤甚。它们均为引起异育银鲫溶血性腹水病的病原菌。

(二) 菌体形态、培养特征和生理生化反应

1. 菌体形态 三菌株均为革兰氏阴性杆菌。两端钝圆,菌体大多呈杆状,也有稍呈弯曲状者,无芽胞,无荚膜。菌体大小为 $0.5 \times 1.3 - 1.8 \mu\text{m}$ (18—24 小时),多数单个、少数双个排列,单极生鞭毛,鞭毛未见有鞘的结构,运动活泼(附图 N-1-2 菌株电镜照

(1) 吴伟洪编,1983。鲎与鲎试剂论文汇编。厦门市医药研究所鲎研究室出版(厦门)。

表1 N-1、N-2、N-1-1、N-1-2菌株注射感染试验

Table 1 The infectional experiments of injecting method with N-1, N-2, N-1-1 and N-1-2 strains

菌株	感染菌液浓度	剂量 (ml)	鱼体重 (g)	感染途径	水温 (°C)	死亡数/试验数	感染后发病及死亡时间和发病程度
N-1	MCF3	1	150—190	背肌注射	25—26	5/5	12—16小时发病, 先后死亡。 +++ +++ +++ +++ +++
N-2	MCF3	1	150—190	背肌注射	25—26	5/5	12—17小时发病, 先后死亡。 +++ +++ +++ ++ ++
N-1	MCF3	1	150—190	腹腔注射	25—26	3/3	14—19小时发病, 先后死亡。 +++ +++ +++
N-2	MCF3	1	150—190	腹腔注射	25—26	3/3	14—22小时发病, 先后死亡。 +++ +++ +++
N-1-1	MCF3	0.5	150—190	背肌注射	25	5/5	24小时左右发病, 先后死亡。 ++++ +++ +++ ++ ++
N-1-2	MCF3	0.5	150—190	背肌注射	25	5/5	24小时左右发病, 先后死亡。 +++ +++ +++ +++ ++
N-1-2	活菌计数 2.3×10^8 /ml	0.15	220—230	背肌注射	25—26	5/5	26小时左右发病, 先后死亡。 +++ +++ ++ ++ +
N-1-2	活菌计数 2.3×10^8 /ml	0.075	110—140	背肌注射	25—26	5/5	24小时左右发病, 28小时先 后死亡 +++++ +++ +++++ +++++
N-1-1	活菌计数 2.3×10^8 /ml	0.075	110—150	背肌注射	25—26	5/5	24小时左右发病, 29小时先 后死亡。+++++ +++++ +++ ++ ++
对照	0.85% 生理盐水	0.5	110—140	背肌注射	25—26	0/3	无任何症状, 一周内健活。

注: (1) 试验鱼先在 25°C 水温下饲养 3 天, 无任何症状。

(2) 发病程度相对比较的划分表示为: +++++, 全身严重充血, 腹部、鳍、下颚、口腔尤甚, 肝脏发白显肿大, 肛门红肿, 有腹水; ++++, 全身充血, 腹部、鳍、下颚、口腔充血严重, 肛门红肿, 有的肠道充血, 有的肝脏发白显肿大, 或伴有腹水; ++, 全身呈现出血点, 鳍基、腹部、下颚充血明显, 肛门红肿; +, 鳍基、腹部、下颚微充血, 肛门红肿。

表2 N-1-2 菌株浸泡感染试验

Table 2 The infectional experiment of immersing method with N-1-2 strain

菌株	感染方式	细菌原液或饲养水体中活菌数 (ind/ml)	水温 (°C)	发病死亡数/试验鱼数	鱼体死亡时间和发病程度
N-1-2	直接在小体积水体中原液浸泡	7×10^8	27.5	4/5	一尾 7 小时后未见症状死亡; 四尾 20 小时后出现症状, 24 小时后先后死亡。 +++ +++ ++ ++ -
	在饲养水体中加菌	1.3×10^4	27	9/10	三尾 20 小时后出现症状 六尾 24 小时后出现症状, 一尾未见症状; 28 小时后有症状的先后死亡。 +++++ +++++ +++++ +++++ -
对照	清水	—	27.5	0/3	健康鱼未经任何处理, 在相同温度下清水饲养, 全部生活正常。

注: 试验鱼体大小重在 110~185 克范围内, 试验前在 27°C 下先饲养 8 天, 无任何症状。

表 3 89-7-14 和 D-II-1 菌株注射感染试验
 Table 3 The infectional experiment of injecting method
 with 89-7-14 and D-II-1 strains

菌 株	感染菌液浓度	剂量(ml)	鱼体重(g)	感染途径	水温(℃)	死亡数/ 试验数	感 染 结 果
89-7-14	MCF3号	1	150左右	背肌注射	25—28	4/4	24小时后出现症状, 28小时后 先后死亡。+++ +++ +++ ++
同上	同上	0.3	150左右	背肌注射	25—28	4/4	24小时后出现症状, 28小时后 先后死亡 +++ ++ ++ ++
同上	同上	0.15	150左右	背肌注射	25—28	4/4	24小时后出现症状, 28小时后 先后死亡。++ +++ ++ +
D-II-1	活菌计数 2.3×10^8 , ml	1	150左右	背肌注射	25—26	5/5	24小时后出现症状, 29小时后 先后死亡。+++ +++ +++ +++ ++
同上	同上	0.3	150左右	背肌注射	25—26	5/5	24小时后出现症状, 二天内先 后死亡。+++ ++ ++ ++ +
同上	同上	0.15	150左右	背肌注射	25—26	3/3	24小时后出现症状, 二天内先 后死亡。++ ++ +
对照	0.85% 生理盐水	1	150左右	背肌注射	25—26	0/3	无任何症状

表 4 89-7-14、D-II-1 菌株浸泡感染试验
 Table 4 The infecting experiments of immersing method with 89-7-14 and D-II-1 strains

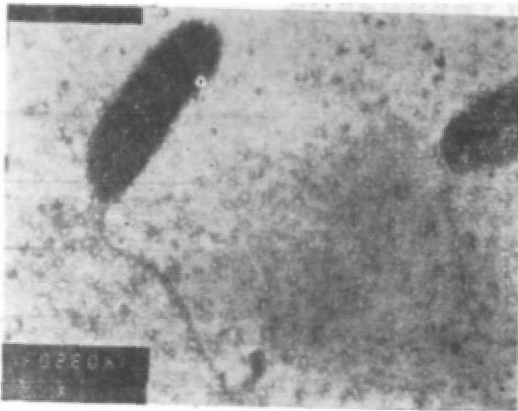
菌 株	感染方式	饲养水体中活菌 数(ind/ml)	水温(℃)	发病死亡数/ 试验鱼数	鱼体死亡时间和发病程度
89-7-14	在饲养水体中 加菌	1.3×10^4	27.3	3/3	28小时后一尾症状轻微, 一尾 症状严重, 30小时后先后死亡。 +++ + -
D-II-1	同 上	1.3×10^4	27.3	3/3	28小时后一尾症状轻微, 一尾 症状明显; 30小时后先后死亡。 +++ + -
对 照	清 水	—	27.3	0/3	健康鱼未经任何处理、在相同 温度下清水饲养, 全部生活正 常。

注: 试验鱼体大小重在 110~135 克范围内, 试验前在 27℃ 下先饲养 3 天, 无任何症状。

片)。

2. 培养特征 三菌株在 TYE 或肉汁蛋白胨琼脂平板上, 经 18—24 小时、28℃ 培养, 菌落形态基本一致。淡黄褐色, 无水溶性色素, 半透明; 菌落圆形, 直径 0.10—0.15cm, 边缘整齐, 中间略隆起, 表面湿润, 有光泽。在 TYE 液体中培养特征: 28℃ 下 24 小时呈均匀混浊生长, 表面沿壁有微量环状生长。48 小时后表面沿壁环状生长增加, 呈少量薄膜状。其中, 89-7-14、D-II-1 较明显, 均一摇即散。N-1-2 菌株 48 小时后, 底部絮状沉淀物较另两菌株为多, 均也一摇即散。在 TCBS 琼脂上 N-1-2 菌株 18—24 小时能生长, 呈黄色小菌落; 89-7-14 及 D-II-1 菌株 18—24 小时未见生长, 48 小时则能生长。强烈 β 溶血(羊血)。

3. 菌株的生理生化反应



附图 N-1-2 菌株电镜照片(12,000×)

Attached fig. Electron micrograph of strain N-1-2(12,000×)

(1) 三菌株均为兼性厌氧, 最适生长温度 25—28°C, 在 4—10°C 下能生长, 43°C 不生长。在无 NaCl 的胨水中生长良好。pH 生长范围 5.5—10。对 0/129 弧菌抑制剂不敏感。对链霉素、四环素、氯霉素等 18 种抗菌素敏感, 对青霉素不敏感, 对呋喃唑酮、磺胺胍等敏感。均为化能异养型, 呼吸和发酵代谢(发酵型), 氧化酶阳性, 接触酶阳性, 发酵葡萄糖产酸产气, 不发酵肌醇等。三菌株的生化及糖发酵特性如表 5、表 6。可见, 该三菌株的生理生化反应及糖发酵特性, 同运动型气单胞菌属的嗜水气单胞菌或苏伯利气单胞菌相近。

表5 N-1-2、87-7-14、D-II-1菌株的生化特性

Table 5 The biochemical characteristics of stains N-1-2; 89-7-14 and D-II-1 strains

测定项目	N-1-2 菌株	89-7-14菌株	D-II-1菌株	<i>A. hydrophila</i>	<i>A. sobria</i>
葡萄糖氧化发酵试验(O/F)	发酵型	发酵型	发酵型	发酵型	发酵型
精氨酸双水解酶	+	+	+	+	+
赖氨酸脱羧酶	+	+	+	d	d
鸟氨酸脱羧酶	-	-	-	-	d
氧化酶(Kovacs')	+	+	+	+	+
过氧化氢酶	+	+	+	+	+
肌醇产酸	-	-	-	-	-
葡萄糖产气	+	+	+	+	+
甘油产气	-	+	±(微量)	+	
V. P. 反应	-	+	+	+	-
M. R. 试验	+	-	-		+
在37°C 营养肉汤中生长	+	+	+	+	+
水解七叶灵	-	+	+	+	-
在含1%胨水中产生吲哚	+	+	+	+	+
从半胱氨酸产生 H ₂ S	+	+	+	+	+
从葡萄糖中产生β-羟基丁酮	-	+	+	+	d
葡萄糖酸盐氧化	-			d	
淀粉水解	+			+	+
液化明胶	+			+	+

续 表

测 定 项 目	N-1-2	89-7-14	D-II-1	<i>A. hydrophila</i>	<i>A. sobria</i>
分解尿素(脲酶)	-			-	d
ONPG (半乳糖苷酶)	-	+	+	+	+
NO ₂ ⁻ →NO ₃ ⁻	+	+	+	+	+
柠檬酸盐利用	-			d	-
几丁质水解试验	-	-	-	-	-
可作唯一碳源的氨基酸:					
精氨酸	-	+	+	+	-
组氨酸	-	+	+	+	-
亮氨酸	+	+	+	+	+
天冬氨酸	-	+	+	+	+
谷氨酸	+			+	+
丝氨酸	+			+	
丙氨酸	-			d	
酪氨酸	-	-	-		
蛋氨酸	-				

注: +:表示阳性反应; -:表示阴性反应; d:表示菌株间有差异。

表 6 N-1-2、89-7-14、D-II-1 菌株的糖发酵特性
Table 6 The carbohydrates fermentative characteristics
of N-1-2, 89-7-14, and D-II-1 strains

糖、醇 种 类	N-1-2	89-7-14	D-II-1	<i>A. hydrophila</i>	<i>A. sobria</i>
葡萄糖	+	+	+	+	+
麦芽糖	+	+	+	+	+
半乳糖	+			+	+
海藻糖	+			+	+
蔗糖	+	+	+	+	+
阿拉伯糖	+	+	+	+	-
甘露醇	+	+	+	+	+
甘露糖	+			+	+
甘油	+	+	+	+	
乳糖	-	-	-	-	-
鼠李糖	-			-	-
棉子糖	-			-	-

续表

糖、醇种类	N-1-2	89-7-14	D-II-1	<i>A. hydrophila</i>	<i>A. sobria</i>
山梨醇	-	-	-	-	-
水杨素(甙)	-	+	+	+	-
肌醇	-	-	-	-	-
密二糖	+			-	
果糖	+			+	+
糊精	+			+	+
木糖	-			-	-
卫矛醇	-			-	-
菊糖	-			-	-

注：“+”表示代谢糖、醇产酸。“-”表示不变。

表7 N-1-2、89-7-14、D-II-1 菌株生化特性与 *A. hydrophila*、*A. sobria* 比较Table 7 The biochemical comparison between N-1-2, 89-7-14, D-II-1 strains and *A. sobria*, *A. hydrophila*

生化项目		N-1-2	89-7-14	D-II-1	<i>A. hydrophila</i>	<i>A. sobria</i>
可作唯一碳源	组氨酸	-	+	+	+	-
	精氨酸	-	+	+	+	-
	阿拉伯糖	-	+	+	+	-
	水杨甙	-	-	-	+	-
	天冬氨酸	-	+	+	+	+
水解七叶灵		-	+	+	+	-
酵解水杨甙		-	+	+	+	-
V. P. 反应		-	+	+	+	菌株间有差异
ONPG试验		-	+	+	+	+
在5%NaCl 碱水中可生长		72小时微弱生长	-		-	-

(2) 各菌株生理生化性状的差异,及其和嗜水气单胞菌、苏伯利气单胞菌的比较(表7)。

89-7-14 和 D-II-1 菌株生化性状无明显差异。N-1-2 菌株与 89-7-14、D-II-1 的不同主要表现在:利用组氨酸、精氨酸、阿拉伯糖能否作唯一碳源生长;以及水解七叶灵,酵解水杨甙和 V.P 反应上。根据对气单胞菌种的描述^[6],N-1-2 菌株应为苏伯利气单胞菌较为合理;而 89-7-14 及 D-II-1 菌株则为嗜水气单胞菌。

(三) 菌株 DNA 的 G + C mol% 的测定结果

用 T_m 值的测定方法,测得 N-1-2 菌株为 54.2%,89-7-14 菌株为 58.3%。(D-II-1

菌株由于其生理生化反应完全和 89-7-14 一致,故未再测定)。测定时的对照菌株为枯草杆菌 1.88,测定为 42.7%,符合文献报导数值^[6]。N-1-2 菌株数值和苏伯利气单胞菌(58—62%)及嗜水气单胞菌(58—60%)^[16]的差异均在种内允许范围^[8,7]。而 89-7-14 菌株则和二者完全一致。

(四) 人工感染病鱼血清中内毒素定性测定

五尾病鱼血清均测定为阳性结果,而四尾正常鱼血清均测定为阴性结果。测定结果见表 8。

表 8 N-1-2 菌株人工感染病鱼血清内毒素测定
Table 8 The endotoxin of diseased fish serum
infected by stain N-1-2

	编号	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻⁶	10 ⁻⁷	10 ⁻⁸	10 ⁻⁹	10 ⁻¹⁰	阳性对照	阴性对照	备注
正常鱼血清	1	+	+	+	+	+	+	- ⁽²⁾	-	-	-	+++	-	
	2	+	+	+	- ⁽¹⁾	-	-	-	-	-	-	+++	-	
	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+++	-	
	4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+++	-	注射 1ml 生理盐水
病鱼血清	1	± ⁽¹⁾	±	+	+	+	+	+	+	+	+	+++	-	
	2	± ⁽¹⁾	±	±	+	+	+	+	+	+	+	+++	-	
	3	+++	+++	++	++	++	++	++	+	+	+	+++	-	
	4	+ ⁽¹⁾	+	++	++	+	+	+	+	+	+	+++	-	
	5	+ ⁽¹⁾	+	+	++	++	++	++	++	+	+	+++	-	

注:(1) 由于血清标本酸化法预处理不彻底,在血清中尚有抑制物存在。而其存在量常和血清浓度成正比,故使试验中出现跳跃现象。

(2) 认为在血清稀释度 10⁻⁶ 之后,检测结果呈阴性者,仍可判断为阴性反应。

(五) 菌体破碎液的鱼体注射试验结果

通过对五条健康鱼背部肌肉注射,11.5小时后出现症状,18小时先后死亡。症状和细胞状病原感染一致。说明无细胞状病原的菌体破碎液,与活菌体一样同样能诱发疾病,症状基本一致。

小结与讨论

1. 运动型气单胞菌属细菌(*Aeromonas* spp.)是引起上海市郊县和江苏省吴江县池养异育银鲫溶血性腹水病的致病菌。经不同地区病原的比较研究,致病菌分别为苏伯利气单胞菌和嗜水气单胞菌。运动型气单胞菌是淡水鱼类的条件致病菌^[2,8,10,12]其发病和

池塘环境及鱼体状况密切有关。故此,在选择有效药物防治的同时,加强饲养管理是十分重要的。

2. 运动型气单胞菌广泛存在于水体,可使鱼类致病是众所周知的。近年证明也是人类急性胃肠道感染的病原之一^[8]。它们的主要致病因子是产生各种溶血毒素与肠毒素,多见于嗜水气单胞菌及苏伯利气单胞菌^[9,14]。这些毒素具多种生物学活性,能引起生物体严重、广泛而复杂的病理变化^[4]。目前对鱼类致病性气单胞菌的毒素性质尚在逐步深入研究的阶段^[12]。在本试验中,试用内毒素测定方法,对 N-1-2 菌株人工感染病鱼血清进行测定;同时用菌体破碎液注射健康鱼体的试验^[8]。初步认为其在鱼体内生长、繁殖和自溶过程中,内毒素类物质的产生与释放是致使银鲫发病、死亡的主要原因之一。有关外毒性质的研究尚在进行中。

3. 关于运动型气单胞菌的分种,是较复杂和困难的^[9,17]。许多学者对此持有不同的观点^[18],该书编者采纳了 Popoff 等(1981)的意见,将其分为三个种:嗜水气单胞菌、苏伯利气单胞菌、豚鼠气单胞菌(*A. caviae*)。运动型气单胞菌引起淡水鱼类疾病,其中多数被鉴定为嗜水气单胞菌^[2,8,10,12],如本研究中的 89-7-14 及 D-II-1 菌株。而本研究中的 N-1-2 菌株,根据其生化表型的某些差异,被鉴定为苏伯利气单胞菌^[16]。Lallier 等(1980)人工感染加氏河鲑,在 10°C 和 18°C 水温下的试验结果,苏伯利气单胞菌的致病力低于嗜水气单胞菌。其认为苏伯利气单胞菌为运动型气单胞菌的弱毒菌株^[17]。从本研究中以 N-1-2 菌株用不同剂量及不同方式感染异育银鲫情况看,其致病力是相当强的。国内也有报导苏伯利气单胞菌对中温性鱼类具较强的致病力^[9]。故此,我们认为毒力强弱的差异,不仅存在于运动型气单胞菌种间,也存在于种内的不同菌株。同时,其毒力的表现又和水温及鱼类品种有密切关系。

参 考 文 献

- [1] 中国科学院北京微生物研究所细菌分类组,1978。一般细菌常用鉴定方法。科学出版社(京)。
- [2] 孙其焕等,1986。尼罗罗非鱼溃烂病病原研究及防治。淡水渔业,(5):9—12。
- [3] 李 蓉、徐迪诚,1989。微生物分类和鉴定技术进展,194—196,259—261,296—297,400—401,光明日报出版社(京)。
- [4] 余 庆,1986。内毒素的结构与功能。医学分子生物学论文集,科学出版社。
- [5] 周德庆主编,1986。微生物学实验手册。上海科学技术出版社。
- [6] 周慧玲,1978。北京棒状杆菌等五种细菌的DNA中G+C含量的测定。微生物学报,18(2):134—139。
- [7] 林万明等,1981。细菌DNA G+C mol%的测定及其在细菌分类鉴定上的应用。微生物通报,8(5):245—247。
- [8] 徐伯亥等,1988。二龄草鱼肠炎病发病机理。水生生物学报,12(4):308—315。
- [9] ——,1986。草鱼尾炳病及其与其他体表病关系的研究。水生生物学报,10(1):39—51。
- [10] ——,1980。鳊鱼打甲病致病细菌的研究。海洋与湖沼,11(1):85—93。
- [11] 韩先朴等,1984。鳊鱼弧菌病原的分离与鉴定。微生物学报,24(4):386—391。
- [12] 江草周三,1978。魚の感染症。恒里社厚生阁(东京)。
- [13] Buchanan, R. E. & N. E. Gibbons, 1974. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*, 8th Ed., The Williams & Wilkins Co., Baltimore, 345—348.
- [14] Boulanger, Y. et al., 1977. Enterotoxin-producing *Aeromonas* isolated from fish. *Canadian Journal of Microbiology*, 23(7): 1161—1164
- [15] Furniss, A. L. et al., 1978. *The Vibrio*. Public Health Laboratory Service Monograph Series, No. 11.

Her Majesty's Stationery Office, London.

- [16] Krige, N. R. & J. G. Holt (Eds), 1984. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, Vol. 1, The Williams & Wilkins Co., Baltimore, 516—538 & 545—548.
- [17] Lallier, R. *et al.*, 1980. A toxic difference between the two species of *Aeromonas* (*A. hydrophila*, *A. sobria*) infecting trout (*Salmo gairdneri*). *The progressive fish-culturist*, 42(4): 199—200.

ON THE PATHOGENIC BACTERIA OF THE HEMOLYTIC ASCITESOSIS OF ALLOGYNOGENETIC CRUCIAN CARP

Sun Qihuan, Sun Peifang, Jin Lihua and Wu Jiannong

(Shanghai Fisheries University)

ABSTRACT Hemolytic ascitesosis of allogynogenetic crucian carp occurred recently both in the suburb of Shanghai and Wujian County (Jiashu Province). Experiments of isolation and artificial infection tests have been done and the virulent pathogenic bacteria strains such as N-1-2, 89-7-14, D-II-1 were available. According to the morphological features of the bacterium, cultural characteristics, physiological and biochemical reacts, and the G + C Mol % of these strains, it was identified to be *Aeromonas sobria* and *A. hydrophila* of moving *Aeromonas*.

By applying the methods of tachypleus amebocyte lysate, serum of five ill fish which were artifically infected by N-1-2 strain has been given the qualitative analysis of endotoxin, and the result is positive. The same experiment has been applied to the serum of four other healthy fish, and the result is negative. Then the disrupted bacteria cell suspension of the strain is injected to healthy fish, the result obtained are the same as those caused by pathogeny cells infection. so it is considered that the pathogony during its growing, reproduction and self-dissolving within the fish produces and liberates such a substance as endotoxin which caused the fish disease.

KEYWORDS allogynogenetic crucian carp, hemolytic ascitesosis, *Aeromonas sobria*, *Aeromonas hydrophila*, tachypleus amebocyte lysate