

白斑狗鱼(*Esox lucius*)致病性嗜水气单胞菌 的分离与鉴定*

秦 莉 殷建国 张 薇 贾舒安 岳 城

(新疆农业大学动物医学学院 乌鲁木齐 830052)

摘要 近些年来,新疆许多养殖场发生白斑狗鱼暴发性疾病而死亡。为鉴定病因,本研究对乌鲁木齐周边地区的自然患病白斑狗鱼(*Esox lucius*)的肝脏、肾脏等组织进行分离,经形态观察、生理生化试验、16S rDNA 序列分析进行细菌鉴定。并通过人工回归感染白斑狗鱼和鲫,来验证分离菌株的致病性。结果表明,分离出的 9 株优势菌为致病性嗜水气单胞菌,命名为 PK001-PK009。经 PCR 特异性检测发现,所得的 9 个菌株分别含有丝氨酸蛋白酶基因(*ahpA*)、溶血素基因(*hlyA*)和气溶素基因(*aerA*)中的 0-3 个,从而导致了菌株间致病性的差异。通过人工回归感染实验发现,白斑狗鱼患病症状与自然病例相似,并重新分离得到原感染菌,经细菌学鉴定,其性状与原菌株一致,为嗜水气单胞菌。

关键词 白斑狗鱼;嗜水气单胞菌;毒力基因;致病性

中图分类号 S965 文献标识码 A 文章编号 1000-7075(2014)05-0040-06

白斑狗鱼(*Esox lucius*)属鲑形目(Salmoniformes)、狗鱼亚目(Esocoidei)、狗鱼科(Esocidae)、狗鱼属(*Esox*),分布于亚洲、欧洲和北美(任慕莲等,2002)。在我国,白斑狗鱼主要分布在新疆阿勒泰地区的额尔齐斯河流域,在乌伦古湖和博斯腾湖均有产量。白斑狗鱼因生长快速、捕食范围广、适宜生长水温广(6-26℃)、肉质坚韧少刺、味道鲜美、营养价值高等特点,逐渐成为各地广泛开展的特色养殖新品种。自 2000 年人工繁殖取得成功以来,白斑狗鱼的池塘流水养殖和网箱养殖日益成熟,其产品已占领了新疆渔业的主要市场(郭焱等,2012)。然而,生产者为了追求更高经济效益,人工养殖过程养殖中,密度不断加大、饲喂高蛋白饲料,导致养殖水体水质恶化、细菌大量繁殖,造成鱼体患病,严重时大量死亡,损失惨重,给整个白斑狗鱼养殖业的发展带来了隐患(王高等,2006)。因此,很有必要进行白斑狗鱼病原菌的分离

和鉴定,寻找合适的治疗措施,保障该特色产业的健康发展。

嗜水气单胞菌广泛分布于自然界的各种水体(张文青等,2012),是多种水生动物的原发性致病菌,也为条件致病菌(吕爱军等,2000;郭闯等,2003;邵光富等,2013),是典型的人-兽-鱼共患病病原菌(杨守明等,2006;陆承平,1992)。本研究从患病白斑狗鱼组织中分离和鉴定病原菌,检测其毒力,扩增致病基因,探讨其致病机理,研究结果将为白斑狗鱼养殖业的健康可持续发展提供重要的理论指导和技术支持,同时为相关行业标准的制定积累基础资料。

1 材料与方 法

1.1 实验材料

1.1.1 白斑狗鱼及嗜水气单胞菌阳性菌株 患病

* 科技支疆项目(20101230760)和“新疆维吾尔自治区普通高校重点学科基础兽医学”共同资助。秦 莉, E-mail: lilyjackson99@163.com

通讯作者:岳 城,教授, E-mail: yuechengxnd@yahoo.com.cn

收稿日期: 2013-12-09, 收修改稿日期: 2014-03-04

白斑狗鱼于 2012 年和 2013 年分别采自新疆呼图壁、昌吉及五家渠、米泉地区的人工养殖池塘;健康白斑狗鱼购自新疆昌吉白斑狗鱼养殖基地,体长(35±5) cm,体质量(145.0±2.5) g。健康鲫鱼购自水产批发市场,体长(13.5±1.5) cm,体质量(115.0±4.5) g。

致病性嗜水气单胞菌阳性菌株由中国科学院水生生物研究所提供。

1.1.2 试剂 普通营养琼脂购自北京奥博星生物技术有限责任公司,TSB 液体培养基购自美国 BD 公司,健康无菌绵羊血采自新疆医科大学医学院实验动物繁育中心,细菌基因组 DNA 提取试剂盒购自北京天根生物技术公司,RS 琼脂选择培养基购自青岛日水生物技术有限公司,生化试剂购自大连宝生物技术有限公司,16S rDNA、丝氨酸蛋白酶、溶血素、气溶素基因引物由生工生物工程(上海)股份有限公司合成。

1.2 细菌分离与纯化

参照文献(GB/T18652-2002)和陆承平(2001),取患病白斑狗鱼的肝脏、肾脏、脾脏、肌肉等组织,在无菌操作下分离优势菌,接种于营养琼脂平板,37℃培养 18–24 h 后,观察菌落及细菌形态特征。挑取优势菌株划线于 RS 选择培养基,培养 24 h 后,选取黄色无黑心的菌株划线于血琼脂培养基,培养并观察溶血情况。最后,将具有溶血性的菌株接种于 TSB 液体培养基,细菌培养 24 h 后,取适量菌液,加甘油保存液冷冻干燥保存,备用。

1.3 菌落形态特征观察

对 37℃培养 18–24 h 的细菌,先肉眼观察菌落形态特征,再挑取单个菌落进行细菌革兰氏染色,然后在显微镜下进一步观察细菌形态特征并拍照(李学勤等,1997;梁利国等,2013)。

1.4 生理生化特征

采用生化试管进行生理生化特征鉴定:将分离得到的各菌株接种于生化微量发酵管,37℃恒温培养 24 h 后,记录结果。

1.5 细菌的分子鉴定

1.5.1 模板 DNA 的制备 将分离所得菌株接种于营养肉汤培养基中,28℃摇床培养 18 h 后,取 1.5 ml 菌液,按细菌基因组 DNA 提取试剂盒说明书提取模板 DNA。

1.5.2 16S rDNA 基因 PCR 扩增 根据已报道的嗜水气单胞菌的 16S rDNA 序列(储卫华等,2005;萨姆布鲁克等,1999),通过 Primer Premier 5.0 软件设计 1 对特异性引物 P1 5'-GAGGAGGAAAGGTTGATGCC-3', P2: 5'-CTTGAGTTCCCACCATTACG-3'。PCR 反应条件:94℃预变性 10 min;94℃ 30 s、60℃ 30 s、72℃ 1 min,30 个循环;72℃延伸 10 min。PCR 产物用胶回收试剂盒回收纯化后,送上海生物工程有限公司测序。将测序所得序列用 Blast(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Blast/>)进行序列同源性分析。

1.5.3 毒力基因检测 参照储卫华(2006)、朱大玲等(2006)、Hazen 等(1982),根据 GenBank 上已登录的嗜水气单胞菌的丝氨酸蛋白酶基因(*ahpA*)、溶血素基因(*hlyA*)和气溶素基因(*aerA*)序列,通过 Primer Premier 5.0 软件,分别引用饶静静等(2007)、王春林等(2008)设计的 3 对特异性引物进行毒力基因的检测,即 *ahpA*-f: 5'-ATTGGATCCCTGCCTATCGC-TTCAGTTCA-3',*ahpA*-r: 5'-GCTAAGCTTGATCCG TGCCGTATTCC-3';*hlyA*-f: 5'-ACCTTAACGTCAAC-CGCA AGAT-3',*hlyA*-r: 5'-GTCTG CGCTTGTCGGTA-TCCTC-3';*aerA*-f: 5'-GCAGAGCCC GTCTATCCAGA-3',*aerA*-r: 5'-CTCCAGCCTCAGGCCTTGAC-3',分别用于扩增 893 bp 的 *ahpA* 基因、876 bp 的 *hlyA* 基因及 1332 bp 的 *aerA* 基因。3 个基因的退火温度依次为 55℃、61℃和 61℃,PCR 反应的其他条件:94℃预变性 10 min;94℃ 30 s、退火 30 s、72℃ 1 min,30 个循环;72℃延伸 10 min。产物经 1%的琼脂糖凝胶电泳检测。

1.6 人工感染实验

1.6.1 白斑狗鱼回归感染实验 根据细菌毒力基因的检测结果,挑选菌株 PK001、PK005,接种于营养琼脂平板上,28℃培养 24 h,用无菌生理盐水制成菌悬液(徐海圣,2004)¹⁾,经麦氏比浊法测定,菌液浓度为 2.2×10^8 CFU/ml。将暂养 7 d 的健康白斑狗鱼随机分为实验组和对照组各两组,每组 10 尾。实验组采取腹腔注射和肌肉注射的方法,每尾接种 1.0 ml 菌液;对照组同样采取腹腔注射和肌肉注射,每尾接种 1.0 ml 无菌生理盐水。连续充氧,保持水温等外界环境一致,每日定时投饵和换水,并观察、记录 14 d 内试验鱼的患病症状和死亡情况(卢强等,2001)。取人工感染濒死个体按 1.2 的方法再次进行细菌分离,结合感染症状和细菌分离结果再次判定病原菌(邹玉

1) 徐海圣. 中华绒螯蟹常见病原的分离鉴定、致病及免疫机制研究. 浙江大学博士学位论文,2004,37–50

霞, 2004)¹⁾。

1.6.2 鲫人工感染实验 根据细菌的毒力基因检测结果, 选取含有 3 种、2 种、1 种及无目的基因的菌株, 经培养后制成浓度为 2.2×10^8 CFU/ml 的菌液。设实验组 4 个、对照组 1 个, 每组健康鲫 10 尾。采取腹腔注射法, 实验组每尾注射 1.0 ml 菌液, 而对照组则注射 1.0 ml 无菌生理盐水。管理方法同上。观察记录实验鱼 14 d 内的患病症状和死亡情况, 并选取患病个体进行细菌分离。

2 结果

2.1 病原菌菌落形态与培养特性

本研究从采自新疆呼图壁、昌吉、五家渠、米泉

地区的患病白斑狗鱼的肾脏、肝脏、脾脏、肌肉等病变组织中, 共分离得到 PK001、PK002、PK003、PK004、PK005、PK006、PK007、PK008 和 PK009 共 9 个菌株。将它们分别接种于营养琼脂平板, 28℃ 培养 18–24 h 后观察, 发现这些菌株的菌落形态相似, 均为圆形、淡黄色菌落, 边缘薄、中间略隆起, 且湿润、光滑、边缘整齐。9 株菌的革兰氏染色均为阴性, 显微镜下观察为短杆状, 多数单个排列, 具运动性。菌株在 5% 绵羊血琼脂培养基上, 均呈现典型的透明状 β-溶血; 在肉汤培养基生长混浊均匀, 表面有菌膜, 轻轻摇动即破碎; 在 RS 选择培养基呈现黄色菌落, 无黑心。

2.2 病原菌生理生化特性检测

与表 1 中嗜水气单胞菌的阳性菌株 XS91-4(中国

表 1 分离菌株及嗜水气单胞菌阳性菌株的生理生化鉴定

Tab.1 The physiological and biochemical identification of the isolated strains and the typical *Aeromonas hydrophila*

项目 Items	<i>Aeromonas hydrophila</i> XS91-4	分离菌株编号 Serial number of the isolated strains									
		PK001	PK002	PK003	PK004	PK005	PK006	PK007	PK008	PK009	
氧化酶试验 Oxidase	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
乙酰甲基甲醇 V-P	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	
甲基红 MR	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	
吲哚 Indol	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
硫化氢 H ₂ S	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
明胶液化 Gelatin liquefaction	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
运动性 Bacterial motility	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	
葡萄糖 Glucose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
麦芽糖 Maltose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
乳糖 Lactose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
蔗糖 Sucrose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
甘露醇 Mannitol	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
纤维二糖 Cellobiose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
阿拉伯糖 Arabinose	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	
水杨苷 Salicin	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	
七叶苷 Aesculin	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	
赖氨酸脱羧酶 Lysine decarboxylase	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
尿素酶 Urease	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
精氨酸双水解酶 Arginine dihydrolase	+	+	+	-	+	+	+	+	-	+	
鸟氨酸脱羧酶 Ornithine decarboxylase	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
硝酸盐还原 Nitrate reduction	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	

“+”为阳性反应; “-”为阴性反应。 “+” is positive; “-” is negative

1) 邹玉霞. 大菱鲆致病菌的分离鉴定和鳃弧菌溶血素基因的克隆、突变和表达. 中国科学院研究生院(海洋研究所) 博士学位论文, 2004, 46–57

科学院水生生物研究所提供)的各种生化反应结果相比,本研究获得的 9 个菌株中,菌株 PK001 和 PK006 的生化反应特性与 XS91-4 完全一致;而其余 7 个菌株的大多数生化反应结果与 XS91-4 基本一致,只有 1-3 个反应特性有差异,具体为 PK002 不利用水杨苷和七叶苷;PK003 和 PK008 不分解精氨酸双水解酶;PK004 不利用阿拉伯糖;PK005、PK007 分别不利用水杨苷、七叶苷;PK009 的 VP、MR 反应阴性,不具运动性。

2.3 16S rDNA 同源分析及致病基因检测

用设计的一对特异性引物,对分离的 PK001-PK009 等 9 个菌株进行 16S rDNA 基因的扩增,均获得单一清晰条带,与预期结果一致(图 1)。经测序,目的基因序列长度为 685 bp。通过 NCBI 的 Blast 检索系统(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Blast/>)进行序列比较,同源率为 99%。

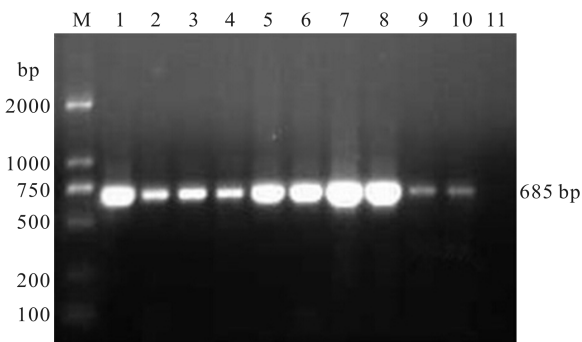


图 1 分离菌株及阳性菌株 16S rDNA 基因扩增

Fig.1 The gene amplification of 16S rDNA of isolated strains and *A. hydrophila* positive control

M: DNA 分子量标准 2000 bp; 1: 阳性对照(嗜水气单胞菌 XS91-4); 2-10: 分离菌株(PK001-PK009); 11: 阴性对照
M: Marker D2000; 1: Positive control (typical *A. hydrophila* XS91-4); 2-10: Isolated strains; 11: Negative control

用设计的 3 对特异性引物,分别扩增丝氨酸蛋白酶基因(*ahpA*)、溶血素基因(*hlyA*)和气溶素基因(*aerA*)序列。结果显示,菌株 PK001、PK006、PK007、PK008 和阳性菌株 XS91-4 一样,均扩增出 3 个目的基因序列,而 PK009 则未扩增出任何一个目的基因;其余 4 个菌株,分别缺少 1-2 个目的基因,即 PK002 和 PK004 未扩增出 *ahpA* 基因,PK003 缺少 *aerA* 基因,而 PK005 则只扩增出 *aerA* 基因。可见,从基因水平看,这 9 个菌株所含毒力基因的类别不完全相同,导致各菌株间的毒力有所差异。

2.4 人工感染实验

将含有 3 种毒力基因的分离株 PK001、PK006 对健康白斑狗鱼进行人工感染回归实验,观测死亡数。腹腔注射组接种后,发现第 3 天开始发病,15 d 内分别死亡 9 尾、8 尾,14 d 内的死亡率分别为 90%、80%;而两个肌肉注射组接种后第 4 天才开始发病,15 d 内均死亡 8 尾,其余 4 尾直至试验结束仍然存活,死亡率均为 80%。人工感染白斑狗鱼的患病症状与自然病例相似。从临死白斑狗鱼的肾脏、肝脏等组织分离得到感染菌,经细菌学鉴定,其性状与原菌株一致。对照组整个实验期内,均健康、活泼,无任何患病症状。

进一步用鲫作为分离菌株的毒力检测对象,人工感染的结果表明,菌株含有毒力基因的种类影响其致死力。对于 4 个实验组的各 10 尾鲫,分别感染含有 3 种、2 种、1 种和无目的毒力基因的菌株 PK001、PK002、PK005、PK009 后,在实验期内,各组的死亡数依次为 10 尾、6 尾、3 尾和 0 尾,即存活率由 0%、40%、70%到 100%逐步增高,而对照组的 10 尾鲫健康生长,无任何症状。提示菌株所含毒力基因越少则毒力越弱的规律。

3 讨论

许多研究表明,普遍存在于自然环境中的嗜水气单胞菌能引起鲢(梁利国等, 2013)、鲤(汪开毓, 2004; 钟妮娜等, 2001)、中华鳖(杨先乐等, 1999)等许多淡水养殖对象的各种疾病(齐雷等, 2007; 马再玉等, 2007)。近年来,白斑狗鱼在新疆地区广泛养殖,但随着养殖密度的不断增大,不时有疾病暴发,造成重大经济损失。2012-2013 年,作者从新疆乌鲁木齐周边地区的白斑狗鱼养殖基地,获得了自然患病程度不同的白斑狗鱼,并从濒死病鱼的肝脏、肾脏等不同组织,获得了 9 株细菌。经细菌的常规和分子生物学方法鉴定,证明这些菌株均为嗜水气单胞菌。经 PCR 方法特异性扩增,发现这 9 株细菌中,有的(如 PK001)含有丝氨酸蛋白酶基因(*ahpA*)、溶血素基因(*hlyA*)和气溶素基因(*aerA*),而有的(如 PK009)不含这 3 种基因的任何,有的(如 PK002、PK005)则含有这 3 个基因的 1-2 个毒力基因。不同菌株基因水平上的差异,或许导致了其致病能力的差异性。事实上,本研究发现,含有 3 种毒力基因的菌株,不仅可以导致试验组白斑狗鱼的高死亡率(80%-85%),且能引起试验组鲫 100%的死亡。虽然本研究未用含有 1-2 个毒力基因的菌株对白斑狗鱼进行人工感染试验,但在鲫的毒力检测试验中发现,不含毒力基因的 PK009 菌株未

能导致其死亡,而含有 2 个或 1 个毒力基因的菌株,试验组鲫的死亡率分别为 60%和 30%,差异很大。

由此可见,在同一养殖条件下,同一菌株在不同对象上的致病能力不同;而对于同一感染对象,含有不同毒力基因的嗜水气单胞菌,引起的致病性差异也很大。因此,嗜水气单胞菌不同菌株的内在基因结构也是其致病强弱的重要决定因素,这与杨先乐等(1999)、胡靖等(2006)和王志铮等(2010)的观点接近。此外,Shubhadeep 等(2008)和 Masachika 等(1997)也指出,由于养殖环境的复杂性和不可控性,水生动物疾病的发生与传播,往往是多种因子综合作用的结果,种间干扰等生物因素也可能会对嗜水气单胞菌的致病力产生影响。

本研究从白斑狗鱼病死鱼肝脏、肾脏、脾脏中分离的 9 株菌表现为明显的 β -溶血、革兰氏阴性短杆状,经形态学、生理生化鉴定以及分子生物学方法鉴定,最后确定为嗜水气单胞菌。这些菌株的毒力差异很大,而菌株毒力的强弱需进一步进行研究。

参 考 文 献

- 马再玉,张强,胡晓宁. 海豹嗜水气单胞菌病的诊治. 中国兽医杂志, 2007, 43(8): 82-83
- 王志铮,赵蓓蓓,王忠发,等. 四株鳙源致病性嗜水气单胞菌(*Aeromonas hydrophila*)的表型、分子鉴定及其毒力基因检测. 海洋与湖沼, 2010, 41(5): 776-783
- 王春林,曹雪,刘晓丹,等. 嗜水气单胞菌不同分离株生化特性及胞外蛋白酶的检测. 畜牧与兽医, 2008, 40(6): 16-19
- 王高学,黄增荣. 白斑狗鱼“败血症”病原及组织病理研究. 水产学报, 2006, 30(3): 383-389
- 中华人民共和国国家标准 GB/T18652-2002 致病性嗜水气单胞菌检验方法
- 卢强,任瑞文,王文东. 致病性嗜水气单胞菌气溶素基因 PCR 检测方法的建立. 中国兽医学报, 2001, 21(4): 347-349
- 吕爱军,李槿年,余为一. 嗜温气单胞菌研究进展. 中国动物检疫, 2000, 17(11): 42-43
- 朱大玲,李爱华,汪建国,等. 嗜水气单胞菌毒力与毒力基因分布的相关性. 中山大学学报(自然科学版), 2006, 45(1): 82-85
- 任慕莲,等. 中国额尔齐斯河鱼类资源及渔业(第1版). 新疆: 新疆科技卫生出版社, 2002, 5-7
- 齐雷,徐可利. 鸭嗜水气单胞菌病的病原分离与诊治. 水禽世界, 2007, 25(1): 26-27
- 李学勤,王振英,马家好,等. 淡水鱼类主要细菌性传染病快速诊断的研究. SPA-CoA 检测 6 株运动型气单胞菌. 中国兽医学报, 1997, 17(1): 33-35
- 杨先乐,柯福恩,周剑光,等. 嗜水气单胞菌对中华鳖致病力的研究. 中国水产科学, 1999, 6(1): 117-121
- 杨守明,王民生. 嗜水气单胞菌及其对人的致病性. 疾病控制杂志, 2006, 10(5): 511-514
- 汪开毓. 鲤鱼细菌性败血症的病理学研究. 四川农业大学学报, 2004, 22(3): 257-262
- 陆承平. 致病性嗜水气单胞菌及其所致鱼病综述. 水产学报, 1992, 16(3): 282-288
- 陆承平. 兽医微生物学(第三版). 北京: 中国农业出版社, 2001, 49-53
- 邵光富,鄢庆彬,徐晓津,等. 2013. 鳗鲡外周血白细胞体外吞噬嗜水气单胞菌数量模型的建立. 渔业科学进展, 34(6): 68-74
- 张文青,龚一富,金思,等. 2012. 中草药及其配伍对嗜水气单胞菌的抑菌作用. 渔业科学进展, 33(1): 114-121
- 胡靖,李爱华,胡成钰,等. 温度和 pH 对嗜水气单胞菌毒力基因表达的影响. 南京理工大学学报(自然科学版), 2006, 30(3): 375-380
- 钟妮娜,汪开毓. 鲤鱼细菌性败血症及穿孔病病原菌与嗜水气单胞菌标准株特性的比较研究. 四川农业大学学报, 2001, 19(1): 94-96
- 饶静静,李寿崧,黄克和,等. 致病性嗜水气单胞菌多重 PCR 检测方法的建立. 中国水产科学, 2007, 14(5): 749-755
- 郭闯,王永坤. 嗜水气单胞菌研究进展. 水产科学, 2003, 22(6): 48-51
- 郭焱,等. 2012. 新疆鱼类志(第1版). 新疆: 新疆科学技术出版社, 19-23
- 萨姆布鲁克,弗里奇,曼尼阿蒂斯著,等译. 分子克隆实验指南(第2版). 北京: 科学出版社, 1999, 463-468
- 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的建立. 中国预防兽医学报, 2013, 35(5): 374-378
- 储卫华,陆承平. PCR 扩增特异性 16S rDNA 和溶血素基因检测致病性嗜水气单胞菌. 水产学报, 2005, 29(1): 79-82
- 储卫华. 嗜水气单胞菌临床分离株胞外毒力因子的检测. 中国兽医杂志, 2006, 42(1): 49-50
- Hazen TC, Esch GW, Dimock RV Jr, et al. Chemotaxis of *Aeromonas hydrophila* to the surface mucus of fish. Current Microbiol, 1982, 7(6): 371-375
- Masachika M, Kinya N, Masaei K, et al. The concept of biological control methods in aquaculture. Hydrobiologia, 1997, 358(1-3): 285-290
- Shubhadeep G, Archana S, Chittaranjan S. Bioaugmentation in the growth and water quality of livebearing ornamental fishes. Aquaculture International, 2008, 16(5): 393-405

(编辑 冯小花)

Isolation and Identification of Pathogenic *Aeromonas hydrophila* From *Esox lucius* Around Urumqi in Xinjiang

QIN Li, YIN Jianguo, ZHANG Wei, JIA Shuan, YUE Cheng

(College of Veterinary Medicine, Xinjiang Agricultural University, Urumqi 830052)

Abstract Northern pike (*Esox lucius*), one of the major indigenous economic fish in Xinjiang, belongs to the ferocious carnivorous cold-water fish family. With the fast development of artificial breeding, disease outbreak has raised. The outbreak of bacterial sepsis is one of the dominant diseases to Northern pike farming, causing huge economic losses in local aquaculture. In order to identify the etiology of the Northern pike, the liver and kidney samples of Northern pike were collected for the morphology observations, physiological and biochemical tests, and 16S rDNA sequence analysis. Nine dominant bacteria were separated, which belong to the *Aeromonas hydrophila* family (named PK001–PK009). The PCR specificity detection results indicated that the separated nine strains contained three mainly and widely studied virulence factors of *A. hydrophila* *ahpA*, *hlyA* and *aerA* with the frequency from zero to three, which led to the discrepancy of strains. The illness of artificial recurrent infection and natural case of *E. lucius* were similar, and the origin infection bacteria were separated and further confirmed with *A. hydrophila* infection. *A. hydrophila* is the main pathogenic bacteria that induce fish bacterial sepsis.

Key words *Esox lucius*; *Aeromonas hydrophila*; Disease genes; Pathogenicity