

黄颡鱼源柱状黄杆菌的分离鉴定 及其对翘嘴鲌的致病性

张玉蕾¹ 赵丽娟² 周伟东³ 艾桃山³ 林 鑫¹

1. 华中农业大学水产学院, 武汉 430070; 2. 山东省淡水渔业研究院, 济南 250013;

3. 武汉市水产科学研究所, 武汉 430207

摘要 从患病黄颡鱼上分离出1株柱状黄杆菌(Pf1), 对其进行分类鉴定和药物敏感试验。用Pf1感染黄颡鱼和翘嘴鲌, 发现Pf1对2种鱼均有致病性。Pf1可导致翘嘴鲌多个组织细胞坏死和炎症反应, 严重损伤肝、体肾和鳃。被感染翘嘴鲌肝细胞肿胀、空泡化坏死; 肾小管广泛坏死和大量炎症细胞浸润; 鳃小片毛细血管充血, 呼吸上皮细胞肿胀变性, 鳃的呼吸功能衰退。鳃部病变导致感染鳃呼吸频率加快、游动缓慢, 最后大量死亡。

关键词 柱状黄杆菌; 黄颡鱼; 翘嘴鲌; 致病性; 组织病理

中图分类号 S 917.1 **文献标识码** A **文章编号** 1000-2421(2016)02-0083-07

柱状黄杆菌(*Flavobacterium columnare*)属于黄杆菌目、黄杆菌科、黄杆菌属, 是柱形病的病原体^[1-2], 其学名几经更改, 曾用名包括柱状芽孢杆菌(*Bacillus columnaris*)^[3]、柱形粒球粘细菌(*Chondrococcus columnaris*)^[4]、柱状噬纤维菌(*Cytophaga columnaris*)^[5]和柱状曲挠杆菌(*Flexibacter columnaris*)^[6]等。它是一种广泛分布的重要水生致病菌, 能够引发多种经济鱼类烂鳃、体表溃疡、出血, 并导致高死亡率, 已分离鉴定出该病原的鱼类包括翘嘴鲌^[7]、斑点叉尾鲌^[8]、草鱼^[9]等。其感染力强、发病迅速, 导致药物治疗收效甚微, 加之预防措施薄弱, 每年给水产养殖业造成巨大的经济损失^[10-11]。

翘嘴鲌(*Siniperca chuatsi*)是我国特产的名贵淡水鱼, 已在多个省份开展了养殖^[12]。随着翘嘴鲌的人工养殖规模扩大, 疾病问题也越来越严重, 烂鳃病是严重危害翘嘴鲌养殖的疾病之一, 常引起翘嘴鲌的大批量死亡, 使得人工养殖风险加大^[13-14]。陈昌福等^[7]应用细菌学方法对患病的翘嘴鲌病原菌进行了分离与鉴定, 初步证明了柱状嗜纤维菌是翘嘴鲌烂鳃病的病原。

2014年5月笔者所在实验室部分黄颡鱼养殖水池暴发细菌性疾病, 笔者从患病黄颡鱼上分离鉴定得到一株柱状黄杆菌, 并对其进行了形态学、生理

生化特性、系统进化以及药物敏感性试验及致病性研究。由于柱状黄杆菌引起的柱形病宿主广泛, 症状相似, 本研究利用分离的病原菌感染另一种宿主翘嘴鲌, 通过观察其致死率和组织病理切片, 反映该病原的毒力与致病性, 旨在为开展柱形病的防治提供重要参考。

1 材料与方法

1.1 试验材料

黄颡鱼病鱼材料取自华中农业大学水产学院养殖基地(体长15~18 cm, 体质量10~18 g)。人工感染用的黄颡鱼来自该养殖基地提供的健康鱼。人工感染的翘嘴鲌购于武汉市江夏区鲁湖渔场。

柱状黄杆菌常规 Shieh 培养基配方参照文献^[15]配制, 柱状黄杆菌选择性培养基配方在 Shieh 培养基基础上, 加入2 μg/mL 托普霉素、20 U/mL 多粘菌素 B。微生物生化管和药敏片由杭州微生物试剂有限公司生产。

1.2 病原菌的分离纯化

选取具有典型病症如烂尾、烂鳍、体表溃烂的濒死黄颡鱼, 用接种环蘸取溃烂病灶部位位于 Shieh 平板上划线分离细菌。将平板倒置于28℃生化培养箱培养, 1~2 d后平板长出菌落, 即挑选优势细菌

收稿日期: 2015-07-26

基金项目: 湖北省科技支撑计划项目(2015-241); 高校自主创新基金项目(2013PY069, 2014PY035)

张玉蕾, 博士研究生。研究方向: 水产动物医学。E-mail: 125249670@webmail.hzau.edu.cn

通信作者: 林 鑫, 博士, 教授。研究方向: 水产动物医学。E-mail: linli@mail.hzau.edu.cn

进一步在含有上述双抗的 Shieh 平板上多次纯化。

1.3 病原菌的鉴定与保种

1)菌落形态观察。将分离纯化后的细菌划线接种于 Shieh 平板,于 28℃生化培养箱培养 1~2 d 至长出较均匀菌落,观察其形态。

2)显微镜观察。将纯化后的细菌菌液做革兰氏染色涂片,普通光学显微镜观察菌体形态及染色特性。

3)菌种的分子生物学鉴定。活化细菌,提取细菌基因组 DNA,用于 16S rDNA 基因 PCR 扩增,PCR 产物送擎科生物有限公司进行测序。其中 PCR 引物为细菌的通用引物 27F(5'-AGAGTTT-GATCCTGGCTCAG-3')和 1492R(5'-TACGGC-TACCTTGTTACGACTT-3')。PCR 反应体系(20 μL)为:细菌基因组 DNA 1 μL,27F:1 μL(10 μmol/L),1492R:1 μL(10 μmol/L),2×Taq Mix(康为世纪公司):10 μL,dd H₂O:7 μL。PCR 反应程序为:预变性 95℃ 5 min;变性 95℃ 30 s,退火 55℃ 40 s,延伸 72℃ 2 min,35 个循环;终止延伸 72℃ 10 min。将测序结果在 NCBI 数据库中进行比对(<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>),确认细菌种类。

4)分离菌株的系统进化分析。将扩增得到的 16S rDNA 序列于 NCBI 数据库 GenBank 中比对得到相应的属种信息,并从 GenBank 中下载相应属部分种类的 16S rDNA 序列(表 1)。用软件 MEGA4.0 基于邻接法(Neighbor-joining)构建系统发育树,Bootstraps 重复检验 1 000 次。

表 1 16S rDNA 序列及其来源细菌

Table 1 16S rDNA sequences used in the present study

细菌 Bacterium	菌株 Strain	登录号 GenBank accession number
柱状黄杆菌 <i>Flavobacterium columnare</i>	IAM14301	AB010951
	ATCC 49512	AY635167
	Ga-6-93	AY842901
	LP 8	AB015480
	EK-28	AB016515
	PH-97028	AB015481
约氏黄杆菌 <i>Flavobacterium johnsoniae</i>	AU-98-24	AY842899
	IFO 15970	AB078043
	IFO 14942	D12664
水生黄杆菌 <i>Flavobacterium hydati</i>	DSM 2063	AM230487
	IAM 12365	D12656
嗜冷黄杆菌 <i>Flavobacterium psychrophilum</i>	ATCC 49418	AY662493
	CSF 259-93	AY662494

5)生理生化鉴定。根据杭州百思生物技术有限公司提供的微生物生化鉴定管说明书进行,包括以下项目:葡萄糖、蔗糖、麦芽糖、木糖、精氨酸水解、精氨酸脱羧、赖氨酸脱羧、鸟氨酸脱羧、甘露醇、尿素、硝酸盐还原、硫化氢、半固体琼脂、枸橼酸盐、七叶苷、OPNG、靛基质、氧化酶。

6)药敏试验。按照美国临床和实验室标准协会(NC-CL)发布的抗菌药物敏感性实验标准进行。活化细菌调整浓度至 5×10⁷~5×10⁸ cfu/mL,取 200 μL 菌悬液,均匀涂于固体 Shieh 培养基平板。用无菌镊子取待测药敏纸片紧贴于琼脂平板表面,将平板倒置于 28℃生化培养箱中培养 24 h,记录各药敏片的抑菌圈直径(mm)。根据药敏纸片说明推荐的抑菌范围判断试验结果。药敏片种类包括:四环素、新霉素、妥布霉素、磺胺甲基异恶唑、复方新诺明、多粘菌素 B、诺氟沙星、环丙沙星、氟苯尼考。

7)保种。收集新鲜菌液保存于甘油中(甘油终体积分数为 15%),置于-80℃超低温冰箱保存。

1.4 人工回归感染黄颡鱼

健康黄颡鱼 40 尾(体长 13~15 cm)随机均分为 2 组,暂养 1 周。感染组采用新鲜活化的菌液浸泡感染,终浓度为 5×10⁶ cfu/mL,阴性对照组添加等量的 Shieh 培养基。观察发病和统计感染死亡情况,对濒死的鱼进行解剖,取鳃、皮肤、头肾、体肾、肝脏、脾脏等组织,加适量细菌稀释液,剪碎组织,划线接种于常规 Shieh 平板上,检测各组织中细菌感染与残留情况。28℃培养箱培养 24 h 后观察生长情况,根据科赫原则鉴定是否能再次分离到相同的细菌。

1.5 病原菌感染翘嘴鲃的组织病理观察

健康翘嘴鲃 40 尾(体长 5~6 cm)随机均分为 4 组,暂养 1 周。对每组的鱼用小针头划伤后加新鲜活化的细菌进行浸泡感染,终浓度分别为 1×10⁵、1×10⁶、1×10⁷ cfu/mL;阴性对照组添加等量的 Shieh 培养基。感染期间不喂食不换水。观察感染后鱼的活动情况,及时记录死亡鱼数量。随机选取刚死亡的翘嘴鲃,解剖取鳃、头肾、肝、体肾、脾等组织,检测各组织中细菌感染与残留情况。

选取感染和没有感染的鱼进行组织病理切片。组织选取鳃、肝、头肾、体肾、脾、心脏、胃和肠,用 4%的多聚甲醛固定。石蜡切片的步骤如下:(1)材料透明:将组织置于 85%乙醇处理 2 h,之后置于 95%乙醇中过夜处理,再置于甲苯 1 中透明 2 h 左右,再将组织置于甲苯 2 中透明至组织透明;(2)石

蜡包埋:将组织选择好切片方向后,置于高温液体石蜡中,待石蜡固定后,修理石蜡;(3)切片:选择合适的切片厚度切片;(4)染色:染色过程主要包括脱蜡(梯度乙醇)—苏木精染色—伊红—脱水—烘片;(5)盖片:中性树胶封片,烘干后可以镜检。

2 结果与分析

2.1 自然发病鱼症状

发病黄颡鱼食欲下降,游泳异常,沿着壁上下游动,反应迟钝,体表溃烂,主要在靠近尾鳍部分形成不规则腐蚀斑块,表皮脱落(图 1)。解剖可见腹腔积水,肠系膜充血等症状。

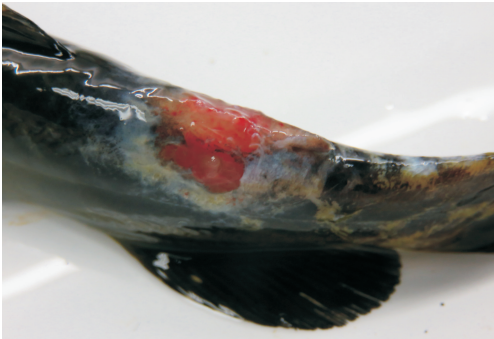


图 1 黄颡鱼感染柱状黄杆菌的症状
Fig.1 The symptoms of yellow catfish infected with *F. columnare*

2.2 病原形态

Shieh 平板上 28℃ 培养 24 h 出现干燥的、平铺在培养基表面上呈蔓延生长的菌落,菌落边缘不整齐、呈假根状,中央较厚、呈颗粒状、大小不一,菌落

呈黄色,随着培养时间的延长黄色逐渐加深。显微镜下观察到菌体形态细长呈直杆状或弯曲状,有时弯成半圆形或 U 形等,长短不一,无鞭毛。细菌革兰氏染色后呈红色,属于革兰氏阴性菌,细菌形态单一(图 2)。

2.3 16S rDNA 序列分析

PCR 扩增获得片段大小为 1 409 bp 的 16S rDNA 序列, GenBank 数据库的登录号为 KR013058。在 NCBI 数据库中比对分析,结果表明,该菌株为柱状黄杆菌,菌株命名为 Pf1 (*Flavobacterium columnare* from *Pelteobagrus fulvidraco*)。将 Pf1 菌株与 GenBank 中其他黄杆菌属的 16S rDNA 部分序列比对,通过邻接法构建的系统发育树分析发现,Pf1 与柱状黄杆菌聚在一起,并与菌株 *Flavobacterium columnare* AB010951 亲缘关系较近(图 3)。

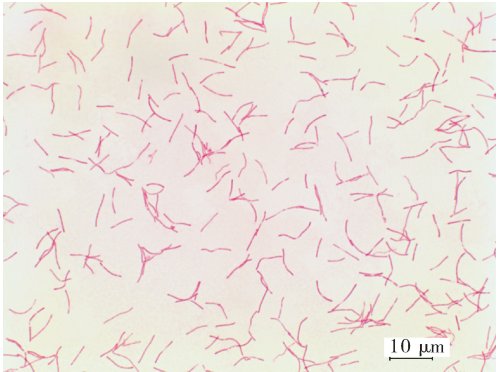


图 2 分离菌株的革兰氏染色图(1 000 倍)
Fig.2 Gram staining of isolated Pf1 (1 000×)

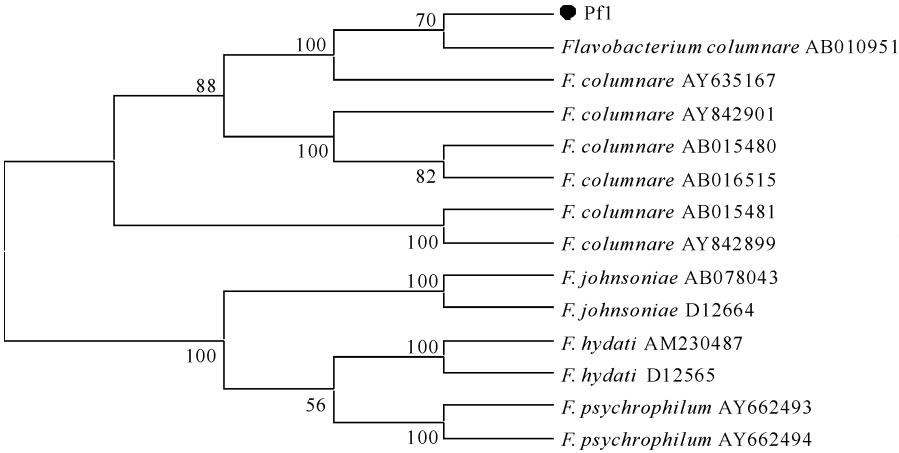


图 3 基于黄杆菌属的 16S rDNA 部分序列构建的系统树

Fig.3 Phylogenetic tree based on 16S rDNA sequences of the species in *Flavobacterium*

2.4 生理生化特性

根据生化管说明书对培养细菌的生化管前后颜色变化与是否产气等进行判断,得到的结果如表 2 所示。Pf1 菌株在尿素和硝酸盐还原反应中表现为阳性,其他均为阴性。

表 2 菌株 Pf1 生理生化鉴定结果

Table 2 Physiological and biochemical identification results of Pf1 strain

测试项目 Test items	结果 Results	测试项目 Test items	结果 Results
葡萄糖 Glucose	—	甘露醇 Mannitol	—
蔗糖 Sucrose	—	尿素 Urea	+
麦芽糖 Maltose	—	硝酸盐还原 Nitrate reduction	+
木糖 Xylose	—	硫化氢 Hydrogen sulfide	—
精氨酸水解 Arginine digydrolase	—	半固体琼脂 Semi-solid agar	—
精氨酸脱羧 Arginine decarboxylase	—	枸橼酸盐 Citrate	—
赖氨酸脱羧 Lysine decarboxylase	—	ONPG 邻硝基酚半乳糖甙 Onitrophenyl-β galactoside	—
鸟氨酸脱羧 Ornithine decarboxylase	—	靛基质 Indole	—
七叶苷 Esculin	—	氧化酶 Oxidase	—

注:“+”表示阳性;“—”表示阴性。Note:“+” positive; “—” negative.

2.5 药敏试验结果

分离的 Pf1 菌株药敏试验结果如表 3 所示,在测定的 9 种抗生素中,菌株 Pf1 对其中的四环素、新霉素、诺氟沙星、环丙沙星、氟苯尼考 5 种抗生素敏感。

表 3 菌株 Pf1 对常用抗生素的敏感性分析

Table 3 The sensitivity of strain Pf1 to the common antibiotics

抗生素 Antibiotics	敏感性 Sensitivity	抗生素 Antibiotics	敏感性 Sensitivity
四环素 Tetracycline	S	多粘菌素 B Polymyxin B	R
新霉素 Neomycin	S	诺氟沙星 Norfloxacin	S
妥布霉素 Tobramycin	R	环丙沙星 Ciprofloxacin	S
磺胺甲基异恶唑 Sulfamethoxazole	R	氟苯尼考 Florfenicol	S
复方新诺明 SMZ-TMP	I		

注:R. 耐药;I. 中介;S. 敏感。Note: R. Resistance; I. Media-tion; S. Sensitivity.

2.6 回归感染黄颡鱼结果

黄颡鱼感染一段时间后,开始出现游泳异常、急躁乱窜,12 h 内全部死亡,解剖濒死的鱼,鳃丝发白、不整齐,腹腔有积水,而体表没有出现溃烂,可能是由于感染时间太短,高浓度的细菌进入鱼体内组织导致鱼迅速死亡。对照组的鱼均正常。感染组黄颡鱼各个组织接种于 Shieh 平板 24 h 后,均不同程度地分离到柱状黄杆菌,其中以鳃中最多。

2.7 Pf1 对翘嘴鲌的致病性

高浓度感染组(10^7 cfu/mL)表现为游泳异常、急躁、呼吸困难等症状,并在 6 h 内全部死亡,中浓度组(10^6 cfu/mL)和低浓度组(10^5 cfu/mL)在后续时间内陆续有出现上述状况并死亡的情况,经过 4 d 连续观察并记录死亡数,计算出翘嘴鲌感染 Pf1 的存活率曲线如图 4 所示。解剖刚死亡的翘嘴鲌,有

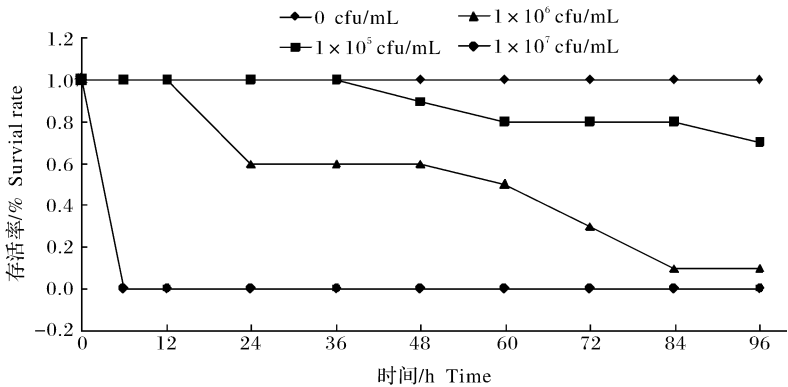


图 4 翘嘴鲌感染 Pf1 后的存活率变化情况

Fig. 4 Survival rate of mandarin fish after Pf1 infection

鳃丝发白、破损,鳍条基部充血,内脏有严重腹水等症状。划线接种各个组织器官于 Shieh 培养基,均不同程度地分离到柱状黄杆菌,其中鳃和头肾中分

离出较多细菌。

2.8 翘嘴鲌感染 Pf1 的组织病理切片分析

在人工感染的翘嘴鲌发病鱼中,感染菌液浓度

为 1×10^6 cfu/mL 组发病的翘嘴鲌被感染的时程较长, 并有存活, 因此用于组织器官病理切片制作, 在显微镜下观察并拍照记录, 各组织病变情况总结如下。

鳃: 鳃丝充血, 鳃小片水肿, 呼吸上皮细胞肿胀增生, 与毛细血管分离, 并伴有大量炎症细胞(图 5A)。

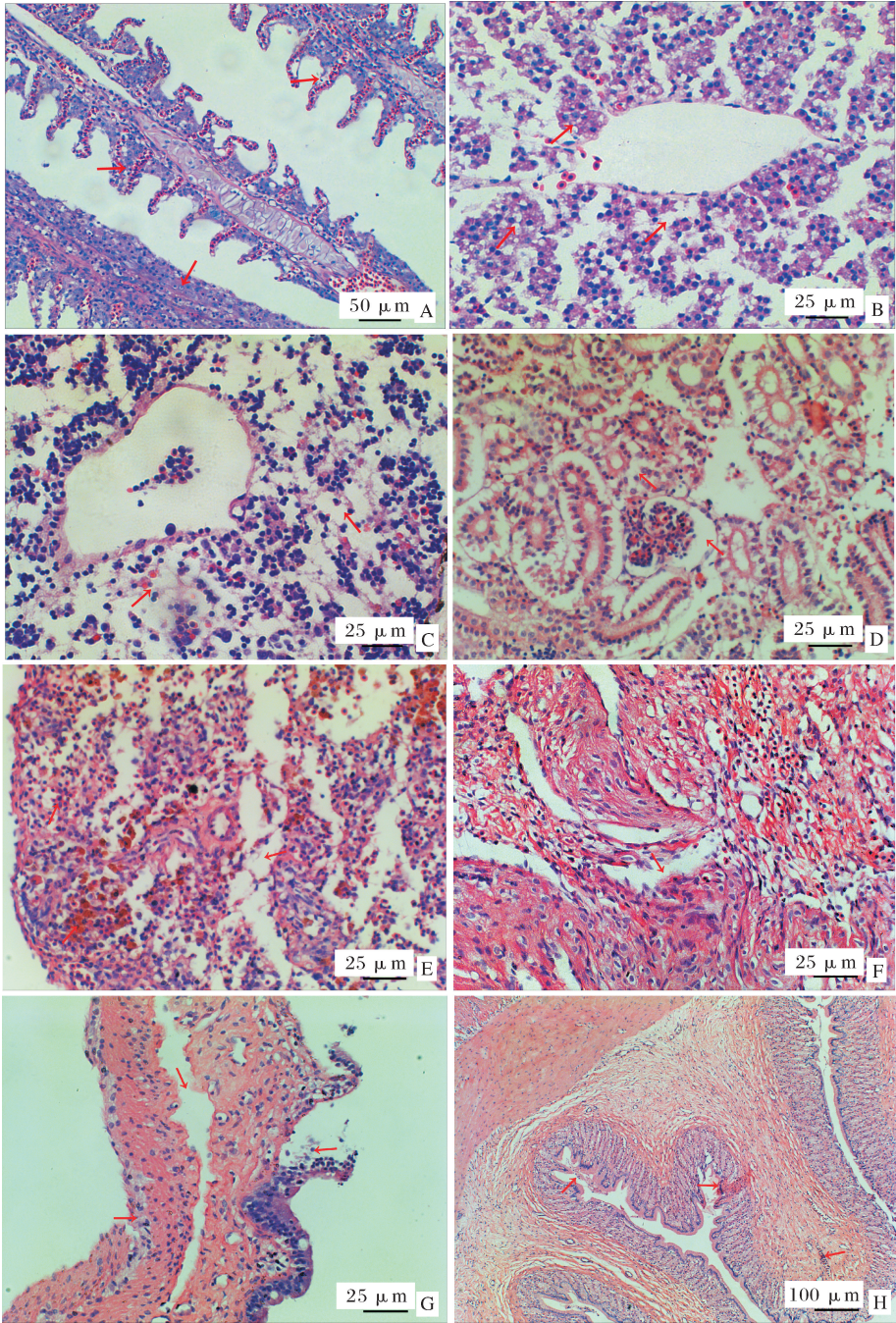
肝: 肝细胞肿胀、严重离散, 肝索结构不清晰, 肝

细胞空泡化变性, 甚至发生溶解、坏死(图 5B)。

头肾: 头肾细胞空泡化严重, 大量溶解, 细胞离散(图 5C)。

体肾: 肾小囊内有炎性细胞浸润, 肾小管上皮细胞出现空泡化变性, 局部发生坏死, 甚至肾小管结构破坏, 造血组织坏死, 大量炎性细胞浸润(图 5D)。

脾: 脾出血, 细胞离散, 脾窦内充满大量红细胞,



A: 鳃 Gill; B: 肝 Liver; C: 头肾 Head kidney; D: 体肾 Trunk kidney; E: 脾 Spleen; F: 心 Heart; G: 肠 Intestine; H: 胃 Stomach.

图 5 翘嘴鲌感染 Pf1 后的组织病理切片

Fig. 5 Histopathological sections of mandarin fish after Pf1 infection

脾髓内大量含铁血黄素沉积,脾脏淋巴细胞坏死,数量减少(图5E)。

心脏:心肌纤维变性水肿,肌间隙内有炎症细胞浸润(图5F)。

肠:肠黏膜上皮坏死脱落,黏膜下层固缩,固有层脱离,肠壁变薄(图5G)。

胃:胃壁毛细血管淤血,胃粘膜分泌多量炎性渗出物,胃腺上皮细胞肿胀(图5H)。

3 讨 论

柱状黄杆菌广泛存在于水环境中,是多种鱼类的主要致病菌,可导致被感染鱼类出现烂鳃、体表溃疡等症状,使集约化养殖鱼类大规模死亡。柱状黄杆菌可以导致我国多种重要鱼类的疾病。但从细菌性烂尾病黄颡鱼中分离出致病性柱状黄杆菌属于首次报道。

本研究应用黄颡鱼源的柱状黄杆菌感染翘嘴鲌, 10^7 cfu/mL 感染组致死率 100%, 10^6 cfu/mL 感染组在 96 h 的死亡率也达到 90%, 各个组织器官均能分离到柱状黄杆菌, 说明其感染力和致死力都较高, 此菌株是一株强毒株, 并且可以跨物种感染和致病。

柱状黄杆菌的致病机制还不是很清楚。李海燕等^[16]通过电镜观察患有柱状屈挠杆菌引起的烂鳃病翘嘴鲌的组织和细胞的亚显微结构病变情况, 结果表明, 鳃、肝、肾组织和细胞均发生严重病变, 其中鳃组织细胞发生大面积坏死; 肝、肾存在不同程度的病变, 细胞从肿胀、变性到坏死解体等。从组织病理学变化的观察结果来看, 翘嘴鲌感染柱状黄杆菌的主要病理损伤是多器官细胞肿胀坏死、空泡化变性、出血和炎症细胞浸润, 特别是鳃、肝、头肾和体肾的损伤较为严重。翘嘴鲌鳃充血, 鳃小片毛细血管扩张、充血明显, 呼吸上皮细胞肿胀增生, 鳃的呼吸功能遭到严重破坏, 翘嘴鲌开始表现出呼吸频率加快、游动缓慢等症状, 最后导致大量死亡。头肾细胞空泡化严重, 大量溶解; 脾有变性、出血、大量含铁血黄素沉积, 脾脏淋巴细胞坏死等现象。头肾和脾等免疫器官的病变, 导致机体免疫功能下降, 更易引发病原菌的继发感染和交叉感染。肝细胞肿胀、空泡化变性; 肾小管广泛性的变性、坏死及肾间造血组织坏死, 肝肾的损伤, 导致机体解毒能力降低, 并引起体内水、钠代谢平衡失调, 病鱼产生大量腹水, 出现腹部膨大现象。与代谢有关的肠道器官损伤, 肠黏膜

坏死, 导致机体代谢失调。机体多器官的损伤, 导致免疫障碍、代谢紊乱, 最终导致鱼体全身性中毒衰竭而死亡。

我们用柱状黄杆菌感染翘嘴鲌后, 对其转录组进行了分析^[17], 结果显示感染组翘嘴鲌的铁调素升高了 126 倍, 血红蛋白 beta-A 下调了 15 倍。铁代谢调节是宿主防御细菌感染的重要策略, 我们推测, 翘嘴鲌在感染柱状黄杆菌的过程中, 通过高水平表达铁调素和低水平表达血红蛋白, 从而降低机体的铁水平, 抑制细菌生长, 达到抗感染目的。柱状黄杆菌的感染机制与宿主的抗感染策略机制需要从病理学、免疫学和分子生物学方面进行更深入的研究。

参 考 文 献

- [1] BADER J A, STARLIPER C E. The genera *Flavobacterium* and *Flexibacter*[M] // CUNNINGHAM C O. Molecular diagnosis of salmonid diseases. Boston M A: Kluwer Academic Publishers, 2002: 99-139.
- [2] BERNARDET J F, SEGERS P, VANCANNEYT M, et al. Cutting a Gordian knot: emended classification and description of the genus *Flavobacterium*, emended description of the family *Flavobacteriaceae*, and proposal of *Flavobacterium hydatis* nom. nov. (basonym, *Cytophaga aquatilis* Strohl and Tait 1978)[J]. International Journal of Systematic Bacteriology, 1996, 46(1): 128-148.
- [3] DAVIS H S. A new bacterial disease of fresh-water fishes[J]. US Bureau of Fisheries Bulletin, 1922, 38: 261-280.
- [4] ORDAL E J, RUCKER R R. Pathogenic myxobacteria[J]. Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine, 1944, 56(1): 15-18.
- [5] GARNJOBST L. *Cytophaga columnaris* (Davis) in pure culture: a myxobacterium pathogenic to fish[J]. Journal of Bacteriology, 1945, 49(2): 113-128.
- [6] PACHA R E, ORDAL E J. Myxobacterial diseases of salmonids [C] // SNIESZKO S F. A symposium on diseases of fishes and shellfishes. Washington DC: American Fisheries Society Special Publication, 1970: 243-257.
- [7] 陈昌福, 史维舟, 赵桂珍, 等. 翘嘴鲌烂鳃病原菌的分离及初步鉴定[J]. 华中农业大学学报, 1995, 14(3): 263-266.
- [8] 刘礼辉, 李宇求, 石存斌, 等. 斑点叉尾鲷烂鳃病原柱状黄杆菌的分离及鉴定[J]. 安徽农业科学, 2008, 36(17): 7124-7126.
- [9] 李楠, 郭慧芝, 焦冉, 等. 草鱼的一种急性细菌性传染病病原的分离鉴定及致病性研究[J]. 水生生物学报, 2011, 35(6): 980-987.
- [10] KOSKI P, HIRVELA-KOSKI V, BERNARDET J F. *Flexibacter columnaris* infection in Arctic charr (*Salvelinus alpinus* L.): first isolation in Finland[J]. Bulletin of the European Association of Fish Pathologists, 1993, 13: 66-69.

[11] WAGNER B A, WISE D J, KHOO L H, et al. The epidemiology of bacterial diseases in food-size channel catfish[J]. Journal of Aquatic Animal Health, 2002, 14(4): 263-272.

[12] LIANG X F, LIN X, LI S, et al. Impact of environmental and innate factors on the food habit of Chinese perch *Siniperca chuatsi* (Basilewsky) (Percichthyidae) [J]. Aquaculture Research, 2008, 39(2): 150-157.

[13] HE J G, ZENG K, WENG S P, et al. Experimental transmission, pathogenicity and physical-chemical properties of infectious spleen and kidney necrosis virus (ISKNV) [J]. Aquaculture, 2002, 204(1): 11-24.

[14] SUN B J, NIE P. Molecular cloning of the viperin gene and its promoter region from the mandarin fish *Siniperca chuatsi* [J]. Veterinary Immunology and Immunopathology, 2004, 101(3): 161-170.

[15] SHIEH H S. Studies on the nutrition of a fish pathogen, *Flexibacter columnaris* [J]. Microbios Lett, 1980, 13: 129-133.

[16] 李海燕, 黄文芳. 鳊细菌性烂鳃病的组织及细胞超微结构观察 [J]. 华南师范大学学报(自然科学版), 2000(1): 109-112.

[17] ZHOU W, ZHANG Y, WEN Y, et al. Analysis of the transcriptional profilings of Mandarin fish (*Siniperca chuatsi*) infected with *Flavobacterium columnare* with an emphasis on immune responses [J]. Fish and Shellfish Immunology, 2015, 43(1): 111-119.

Characterization and pathogenicity of a strain of *Flavobacterium columnare* isolated from *Pelteobagrus fulvidraco*

ZHANG Yulei¹ ZHAO Lijuan² ZHOU Weidong³ AI Taoshan³ LIN Li¹

1. College of Fisheries, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China;
2. Shandong Freshwater Fisheries Research Institute, Jinan 250013, China;
3. Wuhan Fishery Research Institute, Wuhan 430207, China

Abstract In this report, we isolated and identified a strain of *Flavobacterium columnare* (named Pf1 strain) from a diseased yellow Chinese catfish, *Pelteobagrus fulvidraco*. Subsequently, the drug sensitive tests and the pathogenicity of Pf1 on yellow Chinese catfish and mandarin fish (*Siniperca chuatsi*) were carried out and the results showed that Pf1 was pathogenic. Pf1 infection could cause necrosis and inflammation of several tissues, especially the liver, trunk kidney and gill in mandarin fish. In the infected mandarin fish, liver cells were swollen, vacuolar and necrotic. Necrosis of renal tubular and extensive inflammatory cells infiltration were observed. Gill lamellae capillaries were swollen and hyperemic, and respiratory epithelia were swollen and degenerated. The lesioned gill lead to the higher breathing rate, slower swimming, and eventually mass mortality of the infected mandarin fish.

Keywords *Flavobacterium columnare*; *Pelteobagrus fulvidraco*; *Siniperca chuatsi*; pathogenicity; histopathology

(责任编辑:边书京)