

文章编号:1000-0615(2002)04-0357-06

养殖河蟹弧菌病原菌 分离鉴定及其胞外产物的致病性

徐海圣¹, 舒妙安¹, 占秀安¹, 王淑霞²

(1. 浙江大学动物科学学院, 浙江 杭州 310029;

2. 浙江大学生命科学学院, 浙江 杭州 310012)

摘要:从杭州一养蟹场的病蟹体内分离到 3 株细菌,经形态学检查、生化性质测定,鉴定为副溶血弧菌。人工感染健康蟹,48h 内均发生死亡,死亡率 100%,证实副溶血弧菌为河蟹的致病菌。药敏试验结果表明,此病原菌对链霉素、利福平、卡那霉素、复方新诺明、环丙沙星、氟哌酸、四环素、氯霉素、氟嗉酸、复达欣、菌必治、萘啶酸等药物高度敏感。分离菌株培养物经理化方法处理获得的胞外产物蛋白具有明胶酶、几丁质酶、淀粉酶、酪蛋白酶、脂酶、磷脂酶等多种酶活性及溶血活性,并对河蟹具有明显的致病作用。

关键词:河蟹;副溶血弧菌;病原菌;胞外产物

中图分类号:S945.1 文献标识码:A

Identification of *Vibrio parahemolyticus* isolated from cultured *Eriocheir sinensis* and pathogenicity of its extracellular products

XU Hai-sheng¹, SHU Miao-an¹, ZHAN Xiu-an¹, Wang Shu-xia²

(1. College of Animal Science, Zhejiang University, Hangzhou 310029, China;

2. College of Life Science, Zhejiang University, Hangzhou 310012, China)

Abstract: Three strains of bacteria were isolated from the diseased *Eriocheir sinensis*, which were cultured in the ponds in Hangzhou. Morphological, physiological and biochemical characteristics of these isolates were the same as those of *Vibrio parahemolyticus*, therefore, these pathogens isolated from the diseased *E. sinensis* were identified as *Vibrio parahemolyticus*. The mortality of artificial infection was 100%, which ascertained that the bacterial isolates were the pathogens of the *E. sinensis*. The pathogens were highly sensitive to streptomycin, rifampin, kanamycin, SMZ + TMP, ciprofloxacin, norfloxacin, tetracycline, chloramphenicol, ofloxacin, ceftazidime, ceftriaxone, nalidixic acid. The suspension was centrifuged, precipitated by $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, dialysed, concentrated and filter sterilized, and the extracellular products obtained were found to show gelatinase, chitinase, amylase, caseinase, lipase, phospholipase activities, and to be highly toxic to *E. sinensis*.

Key words: *Eriocheir sinensis*; *Vibrio parahemolyticus*; pathogenic bacteria; extracellular products

河蟹,学名中华绒螯蟹(*Eriocheir sinensis*),是我国名特水产养殖品种之一。近年来,随着养殖面积不

收稿日期:2001-11-19

资助项目:国家“九五”攻关项目(96-015-01-010);杭州市科委资助项目(99121B07)

作者简介:徐海圣(1969-),男,山东昌邑人,博士,讲师。主要从事水产动物疾病防治方面研究。Tel: 0571-86971094, E-mail: hxsu@zju.edu.cn

断扩大,养殖水域日趋恶化,其病害愈来愈严重,严重制约了养蟹业的正常发展。2000年8月杭州某养蟹场发生了严重的蟹病,病蟹体色正常,胸部与腹部连接处水肿,不能正常脱壳,活动能力减弱,行动迟缓,匍匐于池边浅水处,摄食减少或不摄食,发病不久即死亡,给养蟹场造成了较大的损失。解剖病蟹,发现体内大量腹水,肠道内无食物。该病主要发生在夏季高温季节,死亡率可达30%~50%,经鉴定为河蟹弧菌病。本文对濒死病蟹进行了病原的分离、鉴定、药物敏感性试验等,以期为养蟹生产中的疾病防治提供技术指导,并对分离菌株胞外产物(extracellular products,简称ECP)的酶活性和致病性进行了分析,初步探讨了副溶血弧菌对河蟹的致病机理。

1 材料与amp;方法

1.1 材料来源

病蟹来源于浙江省杭州地区某养蟹场,体重为65g左右;健康蟹购于杭州袁浦养蟹场,体重为60~70g,在水温25~28℃的水族箱内饲养1周后备用;细菌生化反应微量鉴定管、成套药物敏感试纸等购自杭州天和微生物试剂有限公司(原浙江省军区后勤部卫生防疫检验所)。

1.2 病原菌分离培养

取濒死病蟹,用无菌水冲洗干净,再用75%酒精棉球反复擦洗病蟹体表及步足后,打开甲壳,分别取血淋巴、肝胰腺、腹水、肌肉等组织于普通营养琼脂平板上作划线分离,在28℃培养18~24h,待平板上长出形态一致的优势菌落后,挑选单个优势菌落再次划线分离,获得纯培养819A、819B、819C菌株后转接于营养琼脂斜面,备用。

1.3 人工感染河蟹试验

将分离到的3个菌株接种于新鲜营养琼脂斜面,28℃恒温培养16~18h,用无菌生理盐水洗下菌苔,制成菌悬液(菌悬液浓度采用活菌平板计数法计数)。取健康蟹10只,于第三步足基部注射菌悬液,剂量均为0.1mL;另取同样规格的健康蟹10只,分别注射生理盐水0.1mL,作为对照组。将不同菌株感染的河蟹及对照组分别置于不同水族箱中,于28~30℃水温下饲养,不喂食,不换水,连续观察3周。

1.4 病原菌的分类鉴定

病原菌菌落形态在营养琼脂平板上28℃培养24h后观察;细菌形态的观察是取固体斜面的新鲜培养物,经革兰氏染色后,用光学显微镜观察和测量;细菌鞭毛经负染后用透射电镜观察;其它各项生理生化试验按中国科学院微生物研究所细菌分类组^[1]进行。根据细菌的形态特征及生理生化反应,按中国科学院微生物研究所细菌分类组^[1]、Krieg和Hotlt^[2]、东秀珠和蔡妙英^[3]以及West等^[4]鉴定至种。

1.5 药物敏感性试验

采用药物敏感试纸进行,将28℃培养16~18h的菌苔用生理盐水调成菌悬液后,均匀涂布于M-H琼脂平板上,然后贴上含药物试纸,恒温28℃培养24h后观察并记录结果。

1.6 胞外产物的致病性试验

1.6.1 胞外产物的制备

将分离菌株接种营养肉汤,28℃,300 r·min⁻¹振荡培养48h,离心(10 000 r·min⁻¹),上清液用70%饱和(NH₄)₂SO₄沉淀,获得粗提蛋白;经透析、浓缩及过滤除菌(0.25μm微孔滤膜)后获得ECP蛋白,用紫外吸收法测定ECP中蛋白质含量后,保存于-20℃冰箱备用。

1.6.2 胞外产物的酶活性分析

采用杯碟法测定酶活性^[5]。菌株的酶活性是用接种针取少量细菌分别点于含相应底物的琼脂平板上来测定。

1.6.3 胞外产物对河蟹的致病性

制备的 ECP 经适当浓缩后,注射感染河蟹,注射部位与方法同上。

2 结果

2.1 人工感染河蟹试验

人工注射 819A、819B、819C 菌株感染健康河蟹在 48h 内全部死亡,死亡率 100%,病蟹体表、体色正常,活动能力减弱,腹腔内有腹水,胸部与腹部连接处水肿,同自然发病症状基本相同;对照组无症状,30d 后仍无死亡。

2.2 病原菌的分类鉴定

对从病蟹血淋巴、肝胰腺、腹水、肌肉中分离到的病原菌 819A、819B、819C 三菌株进行分类鉴定,均属革兰氏阴性杆菌,菌体直杆状,两端钝圆,单极生鞭毛,无荚膜,无芽胞,菌体大小为 $(0.8 \sim 1.0) \mu\text{m} \times (1.5 \sim 3.0) \mu\text{m}$ (图 1)。在 TCBS 琼脂平板上 28℃ 恒温培养 24h,菌落直径约 4~5mm,圆形、蓝绿色、湿润、表面光滑、边缘整齐,有异味。分离菌株的形态、生理生化特性、糖发酵试验详见表 1 和表 2。

由表 1、表 2 可知,从病蟹体内分离到的 3 株病原菌形态特征及生理生化反应完全一致,均属革兰氏阴性杆菌,单极生鞭毛,运动,兼性厌氧,发酵葡萄糖产酸不产气,氧化酶阳性,触酶阳性,能还原硝酸盐等,对 0/129 ($150 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$) 敏感,除吡啶阴性、对 0/129 ($10 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$) 敏感外,其形态特征及生理生化反应与副溶血弧菌基本一致^[2-4],故鉴定该 3 株病原菌均为副溶血弧菌。

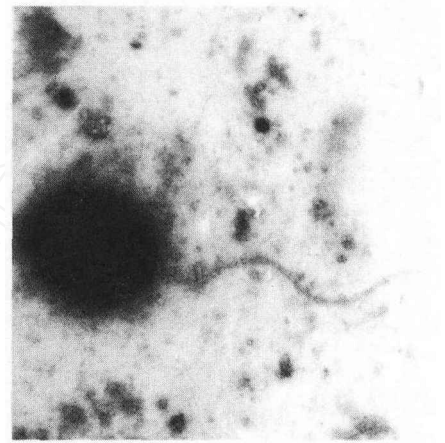


图 1 副溶血弧菌的电镜照片 ($\times 12\ 000$)

Fig.1 Electron micrograph of *V. parahaemolyticus*

2.3 药物敏感性试验

药敏试验结果表明,此病原菌对链霉素、利福平、卡那霉素、复方新诺明、环丙沙星、氟哌酸、四环素、氯霉素、氟喹酸、复达欣、菌必治、萘啶酸等药物高度敏感,对红霉素、新霉素、乙酰螺旋霉素、先锋霉素 VI、痢特灵、强力霉素、新生霉素、壮观霉素、头孢呋肟、呋喃妥因、多粘菌素 B、头孢噻吩等药物中度敏感,对氨苄青霉素、羧苄青霉素、头孢氨苄、林可霉素等药物不敏感。在养蟹生产过程中,可选用高度敏感药物来预防和治疗因副溶血弧菌引起的河蟹弧菌病。

2.4 胞外产物的酶活性分析

分离菌株培养物经离心、 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 沉淀、透析、浓缩及过滤除菌获得的 ECP 蛋白具有明胶酶、几丁质酶、淀粉酶、酪蛋白酶、脂酶、磷脂酶等多种酶活性及溶血活性,其中明胶酶、几丁质酶、淀粉酶、酪蛋白酶活性较优强,不具有脲酶活性,同分离菌株的酶活性相同(表 3)。

表1 3株分离菌株特性与副溶血弧菌的比较

Tab.1 The characteristics of three bacterial strains and comparison with those of *V. parahemolyticus*

鉴定项目 characteristics	819A	819B	819C	副溶血弧菌 <i>V. parahemolyticus</i>	鉴定项目 characteristics	819A	819B	819C	副溶血弧菌 <i>V. parahemolyticus</i>
革兰氏 gram strain	-	-	-	-	明胶酶 gelatinase	+	+	+	+
O/F 试验 O/F test	F	F	F	F	ONPG 水解 ONPG hydrolysis	-	-	-	-
单极生鞭毛 monotricha	+	+	+	+	硝酸盐还原 nitrate reduction	+	+	+	+
杆菌 rods	+	+	+	+	西蒙氏枸橼酸盐 citrate	-	-	-	d
运动 motility	+	+	+	+	酒石酸盐 tartrate	-	-	-	-
色素产生 pigment production	-	-	-	-	丙二酸盐 malonate	-	-	-	N
氧化酶 oxidase	+	+	+	+	七叶苷水解 esculin hydrolysis	-	-	-	-
葡萄糖产气 gas from glucose	-	-	-	-	4℃生长 growth	-	-	-	-
触酶 catalase	+	+	+	+	10℃生长 growth	+	+	+	+
M-R 试验 methyl test	-	-	-	d	35℃生长 growth	+	+	+	+
V-P 试验 V-P test	-	-	-	-	42℃生长 growth	+	+	+	+
吲哚 indole production	-	-	-	+	无盐胨水 0% NaCl	-	-	-	-
精氨酸双水解酶 Arg dihydrolase	-	-	-	-	3% NaCl	+	+	+	+
赖氨酸脱羧酶 Lys decarboxylase	+	+	+	+	6% NaCl	+	+	+	+
精氨酸脱羧酶 Arg decarboxylase	-	-	-	-	8% NaCl	+	+	+	+
鸟氨酸脱羧酶 Orn decarboxylase	+	+	+	+	10% NaCl	-	-	-	-
脂酶 lipase	+	+	+	+	0/129(10 μ g·mL ⁻¹)	S	S	S	R
淀粉酶 amylase	+	+	+	+	0/129(150 μ g·mL ⁻¹)	S	S	S	S
脲酶 urease	-	-	-	-	TSBC	G	G	G	G

注: + 阳性; - 阴性; d 菌株间有差异; F 发酵; N 无记录; S 敏感; R 耐药; G 蓝绿色。

Notes: + means positive; - means negative; d means variable; F means fermentative; N means no noted; S means sensitive; R means resistance; G means green.

表2 三株分离菌株糖发酵产酸试验结果与副溶血弧菌的比较

Tab.2 The results of carbohydrates fermentation tests of three bacterial strains and comparison with those of *V. Parahemolyticus*

鉴定项目 characteristics	819A	819B	819C	副溶血弧菌 <i>V. parahemolyticus</i>	鉴定项目 characteristics	819A	819B	819C	副溶血弧菌 <i>V. parahemolyticus</i>
肌醇 inositol	-	-	-	-	蔗糖 sucrose	-	-	-	-
甘露醇 mannitol	+	+	+	+	山梨醇 sorbitol	-	-	-	-
水杨素 salicin	-	-	-	-	葡萄糖 glucose	+	+	+	+
阿拉伯糖 arabinose	+	+	+	d	甘露糖 mannose	+	+	+	+
乳糖 lactose	-	-	-	d	半乳糖 galactose	+	+	+	+
纤维二糖 cellobiose	+	+	+	+	麦芽糖 maltose	+	+	+	N
蕈糖 trehalose	+	+	+	+	木糖 xylose	-	-	-	N
棉子糖 raffinose	-	-	-	N	果糖 levulose	+	+	+	N
卫矛醇 dulcitol	-	-	-	N	鼠李糖 rhamnose	+	+	+	N

注: + 阳性; - 阴性; d 菌株间有差异; N 无记录。

Notes: + means positive; - means negative; d means variable; N means no noted.

表 3 分离菌株及其 ECP 的酶活性

Tab.3 Enzymatic activities of the solated strain and its ECP

鉴定项目 characteristics	明胶酶 gelatinase	酪蛋白酶 caseinase	淀粉酶 amylase	几丁质酶 chitinase	脂酶 lipase	磷脂酶 phospholipase	脲酶 urease	溶血活性 haemolysis
分离菌株 isolated strain	+++	+++	++	++	+	+	-	+
ECP	+++	+++	++	++	+	+	-	+

2.5 胞外产物对河蟹的致病性

用制备的 ECP 注射感染河蟹后发现, ECP 具有明显的致病性(表 4), 而且病蟹表现出的症状与分离菌株菌悬液感染河蟹相似, 再对 ECP 感染致死的河蟹进行细菌性病原的分离, 结果未发现有副溶血弧菌。

表 4 分离菌株菌悬液及 ECP 对河蟹致病性的比较

Tab.4 The comparison of pathogenicity to *Eriocheir sinensis* between the suspension of the isolated stain and its ECP

项目类别 groups	接种剂量 challenge dose	实验数(ind) tested number	死亡数(ind)dead number				死亡率(%) mortality
			12h	24h	36h	48h	
菌悬液 suspension of bacteria	$1.2 \times 10^6 \text{ cell} \cdot \text{ind}^{-1}$	10	2	5	3	0	100
	$10 \mu\text{g} \cdot \text{ind}^{-1}$	10	0	0	0	2	20
ECP	$20 \mu\text{g} \cdot \text{ind}^{-1}$	10	0	2	2	5	90
	$40 \mu\text{g} \cdot \text{ind}^{-1}$	10	1	3	5	1	100
生理盐水 saline	$0.1 \text{ mL} \cdot \text{ind}^{-1}$	10	0	0	0	0	0

3 讨论

实验中发现, 病蟹体内存在大量的副溶血弧菌, 能在 2d 内使健康蟹全部致死, 死亡率 100%, 并从感染的病蟹中分离到在菌落形态、生理生化特性方面均与原菌株相同的菌株, 从而证实副溶血弧菌为河蟹弧菌病的病原菌。副溶血弧菌是一种海水中常见的条件致病菌, 可引起海水养殖鱼类疾病, 也是养殖贝类和对虾等常见致病菌, 能引起海鲷^[6]、文蛤^[7,8]、对虾^[4]等海水养殖动物的大量死亡。经调查发现, 河蟹发病场位于杭州钱塘江口附近, 养殖用水的盐度为 1.00 左右, 副溶血弧菌可以生长和繁殖, 并且养殖用户经常投喂一些海水小杂鱼等。近年来, 由于河蟹养殖业的迅速发展, 放养密度过大, 养殖水域恶化, 加上投喂的海水小杂鱼容易变质, 河蟹摄食后体质下降, 并且污染养殖水域, 特别是在夏季高温季节, 副溶血弧菌大量繁殖并侵染河蟹, 造成河蟹弧菌病的发生和流行。因此, 预防河蟹弧菌病首先要适当降低养殖密度, 使用污染少的养殖用水, 特别是减少或不投喂变质的小杂鱼等。同时在夏季高温季节应经常观察河蟹的活动规律和摄食情况, 如发现异常应及时检查, 发病早期应用高度敏感药物拌饲投喂进行防治。

目前已发现嗜水气单胞菌^[9]、杀鲑气单胞菌^[10-12]、鳃弧菌^[13-15]、溶藻弧菌^[16,17]、河流弧菌^[18]等多种鱼、虾类病原菌均可产生具有强烈致病作用的胞外蛋白酶。Fyfe 等^[10,11]将纯化的杀鲑气单胞菌的胞外蛋白酶肌肉注射大西洋鲑, 导致注射部位组织液化, 而将整个胞外产物注入则引起更严重的病理反应。Lamas 等^[13]利用鳃弧菌及其胞外产物对虹鳟进行腹腔注射感染后表现出极为相似的症状, Inamura 等^[14]证实鳃弧菌的胞外产物可致多种鱼类死亡, 认为胞外产物中的蛋白酶和外毒素是其主要致病因子。许兵等^[5]、牟海津等^[19]用副溶血弧菌和溶藻弧菌的胞外产物肌肉注射感染中国对虾后, 发现死亡对虾的病状同自然发病虾基本一致。本实验发现从病蟹体内分离到的副溶血弧菌的胞外产物对河蟹具有较强的致病性, 是其重要的一种致病因子, 结果同 Lamas 等^[13]、Inamura 等^[14]和许兵^[5]等的结果类似。水产动物病原菌的胞外产物具有多种酶的活性, 其中蛋白酶的活性对病原菌的致病性有重要作用^[20], 实验发现副溶血弧菌的胞外产物具有较强的明胶酶、几丁质酶、淀粉酶、酪蛋白酶和较低的脂酶、磷脂酶

等蛋白酶活性,由于明胶酶、酪蛋白酶能分解胶原等蛋白成分,淀粉酶有分解糖原的作用,几丁质酶可破坏河蟹外壳造成外表损伤,磷酸酯酶可分解包括卵磷脂在内的磷脂,破坏血细胞和体细胞等。因此,胞外产物在副溶血弧菌感染河蟹的过程中发挥了极为重要的作用,其详细致病机理还有待进一步研究。

参考文献:

- [1] The group of systematic bacteriology in the Institute of Microbiology, Chinese Academy of Sciences. Method of common identification of bacteria[M]. Beijing: Science Press, 1978. 111-198. [中国科学院微生物研究所细菌分类组. 一般细菌常用鉴定方法[M]. 北京: 科学出版社, 1978. 111-198.]
- [2] Krieg N R, Holt J G. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology (volume 1)[M]. Baltimore: Williams & Wilkins, 1984.
- [3] Dong X Z, Cai M Y. Manual of Systematic and Determinative Bacteriology [M]. Beijing: Science Press, 2001. [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.]
- [4] West P A, Brayton P R, Bryant T N, et al. Numerical taxonomy of vibrios isolated from aquatic environments[J]. International Journal of Systematic Bacteriology, 1986, 36(4): 531-543.
- [5] Xu B, Ji W S, Xu H S, et al. Pathogens and pathogenicity to *Penaeus chinensis* [J]. Acta Oceanologica Sinica, 1993, 15(1): 98-107. [许兵, 纪伟尚, 徐怀恕, 等. 中国对虾病原菌及其致病机理的研究[J]. 海洋学报, 1993, 15(1): 98-107.]
- [6] LI J, Yie J, Fu W T, et al. Antibiotic resistance and plasmid profiles of vibrio isolates from cultured *Sparus sarba* [J]. Acta Microbiologica Sinica, 1999, 39(5): 461-468. [李军, 叶军, 傅慰亭, 等. 香港养殖海鲷弧菌致病菌药物敏感性及其耐药质粒研究[J]. 微生物学报, 1999, 39(5): 461-468.]
- [7] Liu J Y, Chen Z H, Yan B, et al. A report of the clam's disease caused by *Vibrio parahaemolyticus* [J]. Journal of the Microbiology, 1996, 16(4): 1-5. [刘军义, 陈振鸿, 阎冰, 等. 文蛤副溶血弧菌病的研究[J]. 微生物学杂志, 1996, 16(4): 1-5.]
- [8] Shen Y L, Yu Y S. Pathogenicity of *Vibrio parahaemolyticus* to healthy clam *Meretrix meretrix* and the prevention and treatment of vibrio infections [J]. Journal of Fisheries of China, 1993, 17(3): 249-252. [沈亚林, 于业绍. 副溶血弧菌对文蛤的致病性及其防治[J]. 水产学报, 1993, 17(3): 249-252.]
- [9] Chabot D J, Thune R L. Proteases of the *Aeromonas hydrophila* complex: identification, characterization and relation to virulence in channel catfish, *Ictalurus punctatus* [J]. Journal of Fish Diseases, 1991, 14: 171-183.
- [10] Fyfe L, Finley A, Coleman G, et al. A study of the pathological effects of isolated *Aeromonas salmonicida* extracellular protease on Atlantic salmon, *Salmo salar* L [J]. Journal of Fish Diseases, 1986, 9: 403-409.
- [11] Fyfe L, Coleman G, Munro A L S. Identification of common extracellular proteins secreted by *Aeromonas salmonicida* stains isolated from diseased fish [J]. Applied and Environmental Microbiology, 1987, 3: 722-726.
- [12] Ellis A E, Hastings T S, Munro A L S. The role of *Aeromonas salmonicida* extracellular products in the pathology of furunculosis [J]. Journal of Fish Disease, 1981, 4: 41-51.
- [13] Lamas J, Santos Y, Bruno D, et al. A comparison of pathological changes caused by *Vibrio anguillarum* and its extracellular products in rainbow trout [J]. Fish Pathology, 1994, 29: 79-89.
- [14] Inamura H, Muroga K, Nakai T. Toxicity of extracellular products of *Vibrio anguillarum* [J]. Fish Pathology, 1984, 19: 89-96.
- [15] Kanemori Y, Nakai T, Muroga K. The role of extracellular protease produced by *Vibrio anguillarum* [J]. Fish Pathology, 1987, 22: 153-158.
- [16] Zhang Z X, Wang J, Su Y Q, et al. Studies on pathogenesis of extracellular products from pathogenic bacteria in *Penaeus monodon* fabrivius [J]. Acta Oceanologica Sinica, 2000, 22(5): 94-99. [张朝霞, 王军, 苏永全, 等. 斑节对虾病原菌胞外产物的致病性研究[J]. 海洋学报, 2000, 22(5): 94-99.]
- [17] Lee K K, Yu S R, Liu P C. Alkaline serine protease is an exotoxin of *Vibrio alginolyticus* in Kuruma prawn, *Penaeus japonicus* [J]. Current Microbiology, 1997, 34: 110-117.
- [18] Li T W, Su X R, Ding M J. Study on extracellular products of *Vibrio fluvialis* II. pathogen of pustule disease of *Haliotis discus hannai* [J]. Journal of Liaoning Normal University (Natural Science), 1999, 22(3): 231-235. [李太武, 苏秀榕, 丁明进. 皱纹盘鲍脓疱病菌-河流弧菌 II 胞外产物的研究[J]. 辽宁师范大学学报(自然科学版), 1999, 22(3): 231-235.]
- [19] Mou H J, Li Y, Bao Z M, et al. Pathogenicity of extracellular products of *Vibrio parahaemolyticus* to *Penaeus chinensis* [J]. Oceanologia et Limnologia Sinica, 2000, 31(3): 273-279. [牟海津, 李筠, 包振民, 等. 副溶血弧菌胞外产物对中国对虾的致病性分析[J]. 海洋与湖沼, 2000, 31(3): 273-279.]
- [20] Mou H J, Liu Z H. Research progress of extracellular products from aquacultural pathogenic bacteria [J]. Journal of Fishery Science of China, 2000, 7(2): 93-95. [牟海津, 刘志鸿. 水产动物病原菌致病性胞外产物的研究进展[J]. 中国水产科学, 2000, 7(2): 93-95.]