

# 鳃鲰病原菌16S rRNA 基因序列测定 及系统进化分析\*

马英 关瑞章\*\* 郭松林 邓德波 张俊荣

集美大学水产学院/福建省高校水产科学技术与食品安全重点实验室, 厦门 361021

**摘要** 对从福建省不同鳃鲰养殖场发病鳃鲰肝脏中分离并经感染证实的35株致病菌的16S rRNA基因进行序列测定和系统进化分析。用CTAB法提取各菌株DNA,以细菌16S rDNA通用引物进行PCR扩增,用限制性片段长度多态性分析、16S rDNA序列分析和系统进化分析对其进行分子鉴定,构建系统进化树。结果表明:35株致病菌分别属于 $\gamma$ -变形菌纲和厚壁菌门2大类群的6个属和1个科,主要种类是气单胞菌属的嗜水气单胞菌、维氏气单胞菌、简氏气单胞菌和豚鼠气单胞菌等,占63%;其次是芽孢杆菌属细菌;少量为鲁氏耶尔森菌、弗氏柠檬酸杆菌、克雷伯氏菌属、假交替单胞菌属细菌和肠杆菌科细菌。

**关键词** 鳃鲰; 病原菌; 16S rRNA 基因; 限制性片段长度多态性(RFLP); 系统进化树

**中图分类号** Q 959.46<sup>+</sup>9 **文献标识码** A **文章编号** 1000-2421(2010)06-0758-06

我国是世界上最大的鳃鲰生产国,鳃鲰产业是我国出口创汇的重要产业之一。但鳃鲰细菌性疾病周年发生,对鳃鲰养殖业造成了严重危害<sup>[1]</sup>。目前已报道的鳃鲰致病菌有十几种,包括气单胞菌属细菌、肠杆菌科细菌、弧菌科细菌、假单胞菌属细菌等<sup>[2]</sup>。准确鉴定这些病原菌将为采取不同针对性治疗措施奠定基础。

传统的细菌鉴定方法主要依据细胞的表型特征。近年来,随着分子生物学的发展,细菌的分类鉴定开始进入分子水平。16S rRNA基因是研究细菌进化和亲缘关系的重要指标<sup>[3]</sup>。目前,大量已知细菌的16S rDNA序列已被测定并输入GenBank库,成为对微生物鉴定分类非常有用的参照系统。16S rRNA基因序列分析已成为细菌种属鉴定和分类的最重要方法之一,对传统的细菌鉴定方法起到很好的补充和确证作用<sup>[4-5]</sup>。

笔者所在实验室研究人员从福建省十余个鳃鲰养殖场发病鳃鲰脏器中分离培养了数百株细菌,本文选取其中经人工感染证实并具有较强的致病力的鳃鲰病原菌35株,通过PCR扩增、RFLP分析、序列

测定等,对这些病原菌的16S rRNA基因序列进行系统进化分析,以期为准确定这些病原、建立鳃鲰病原菌种库,进而进行鳃鲰细菌性病原菌的快速诊断和防治等奠定基础。

## 1 材料与方 法

### 1.1 菌种来源

样品是从福建省不同鳃鲰养殖场发病鳃鲰的脏器中分离培养的、经人工感染证实的病原菌,以甘油菌的形式保存在-80℃冰箱中。

### 1.2 细菌DNA制备和16S rDNA PCR扩增

保存在超低温冰箱中的细菌取出后接种于普通肉汤培养基中,37℃培养过夜。取1.5 mL饱和菌液用CTAB法提取各菌株DNA,DNA提取和纯化方法参照文献<sup>[6]</sup>。用细菌16S rRNA基因通用引物27F(5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3')和1492R(5'-TACCTTGTTACGACTT-3')进行PCR扩增。扩增反应体系DNA(约50 ng/ $\mu$ L)1  $\mu$ L,10 $\times$  PCR Buffer 2  $\mu$ L,dNTP(10 mmol/L)0.4  $\mu$ L,引物27F和引物1492R(100 mmol/L)各

收稿日期:2010-03-05;修回日期:2010-08-31

\* 国家公益性行业农业科研专项项目(NYHYZX07-043)、福建省自然科学基金(B0740010)、福建省科技重大专项(2004NZ03-2)、福建省教育厅项目(2007062100001)和厦门市科技局项目(3502Z2001)资助

\*\* 通讯作者. E-mail: rzguan@jmu.edu.cn

马英,女,1968年生,博士,副教授.研究方向:环境微生物分子生态学和水产病原微生物学. E-mail: maying@jmu.edu.cn

2  $\mu\text{L}$ , *Taq* 酶(50 U/L) 0.2  $\mu\text{L}$ , 补无菌水至 20  $\mu\text{L}$ 。反应条件: 94  $^{\circ}\text{C}$  预变性 5 min; 接以 94  $^{\circ}\text{C}$  1 min, 56  $^{\circ}\text{C}$  1 min, 72  $^{\circ}\text{C}$  2 min, 30 个循环; 最后 72  $^{\circ}\text{C}$  延伸 10 min。

### 1.3 RFLP 分析

分别用限制性内切酶 *Hha* I、*Afa* I 和 *Msp* I 对 PCR 产物进行单酶切。各反应体系为 15  $\mu\text{L}$ , 其中含 8  $\mu\text{L}$  PCR 产物, 5 U 内切酶及相应的缓冲液, 37  $^{\circ}\text{C}$  酶切 4 h。酶切片段经 2.5% 的琼脂糖凝胶电泳分离, 凝胶图像分析系统(Bio-Rad Gel Doc 2000) 记录结果。

### 1.4 测序、序列分析、系统进化树的构建和细菌鉴定

根据 RFLP 分析结果, 各带型分别选取 1~3 株细菌, 菌株的 PCR 扩增产物经切胶回收(宝生物公司)纯化, 由 Invitrogen 公司用 ABI 377 DNA 测序仪测序, 测序引物为 27F。所有序列递交到 GenBank 库, 序列号 FJ494884-FJ494907、FJ628392-FJ628394。所得序列用 BLASTN 程序在 GenBank 中进行同源性检索, 找出最相似的序列。根据目前普遍采用的标准<sup>[7]</sup>, 即: 相似性 80%~90% 之间, 视为同门水平; 相似性 90%~95% 之间, 视为同科水平; 相似性 95%~97% 之间, 视为同属水平; 相似性 97% 以上, 视为同种水平, 对试验菌株初步分类。利用 MEGA3 软件, 用 Neighbour Joining 方法构建系统发育树, 结合系统发育进化分析结果, 对受试菌株进行鉴定。

## 2 结果与分析

### 2.1 16S rDNA 的 PCR 扩增 RFLP 分析

分别用 3 种限制性内切酶对试验菌株扩增产物, 16S rDNA 酶切的 RFLP 图谱表明: 35 个菌株共分为 16 种酶切带型, 其中有 1 种带型出现了 7 次(带型 1), 占试验菌株的 20%。有 2 种带型各出现了 5 次(2 和 3), 另外 4 种带型各出现了 2~3 次(5、12、13 和 14), 其余 9 种带型分别只出现 1 次(表 1)。

### 2.2 序列比对和系统进化分析

BLAST 结果表明, 除 2 株细菌(B24 和 B28) 外, 其他细菌的 16S rDNA 序列与 GenBank 库中的序列均有较高的相似性(95%~100%)(表 1)。结合系统进化分析结果, 所得的 27 条有效序列被分为

2 大类群, 分别是  $\gamma$ -变形菌纲( $\gamma$ -Proteobacteria) 和厚壁菌门(Firmicutes) 细菌。其中  $\gamma$ -变形菌纲的气单胞菌属(*Aeromonas*) 细菌占试验菌株的 63%, 厚壁菌门的芽孢杆菌属细菌占试验菌株的 20% (表 1, 图 1)。

根据 BLAST 相似性, 结合系统进化树分析, 结果表明: 菌株 B11、B15、B27 和 B33 及其所代表的菌株鉴定为嗜水气单胞菌(*Aeromonas hydrophila*); 菌株 B001、B002、B003、B004、B005、B006、B06、B09 鉴定为维氏气单胞菌(*Aeromonas veronii*); B21、B14、B04 和 B25 分别鉴定为简氏气单胞菌(*Aeromonas jandaei*)、豚鼠气单胞菌(*Aeromonas punctata*)、鲁氏耶尔森菌(*Yersinia ruckeri*) 和弗氏柠檬酸杆菌(*Citrobacter freundii*)。菌株 B12 属于克雷伯氏菌属细菌(*Klebsiella* sp.), B10 属于假交替单胞菌属细菌。

除了菌株 B24 需要进一步鉴定外, 鉴定为厚壁菌门的细菌均是芽孢杆菌属(*Bacillus*) 细菌。其中菌株 B02、B08 和 B17 鉴定为蜡质芽孢杆菌组<sup>[8]</sup> 细菌(蜡质芽孢杆菌或苏云金芽孢杆菌, 表 1 和图 1)。其他菌株由于 GenBank 库中与它们最相似的参比菌均未鉴定到种, 因此这些菌的种类需要用其他方法进一步鉴定。

## 3 讨论

### 3.1 细菌 16S rDNA 序列分析作为种类鉴定的可行性

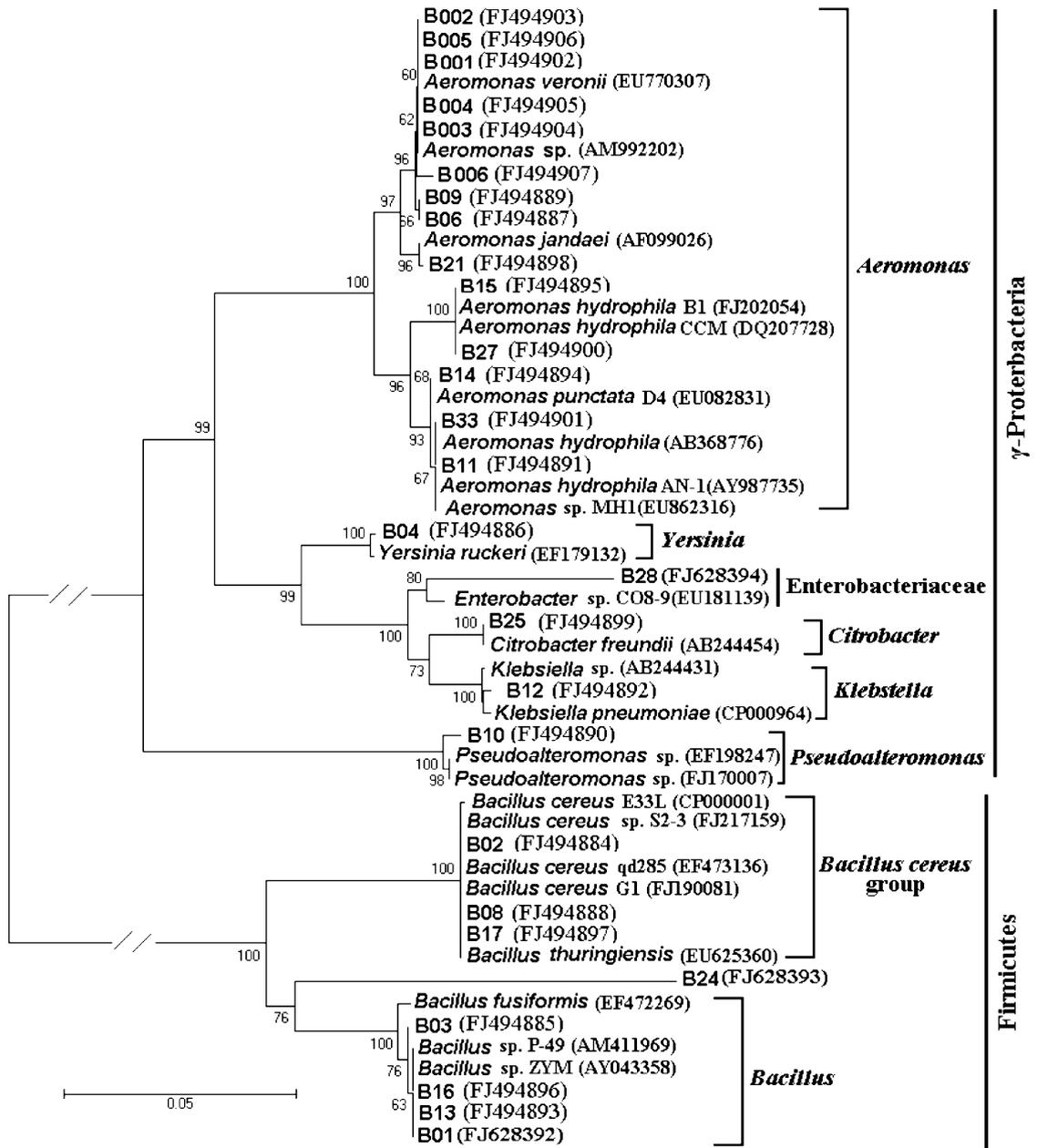
16S rDNA 序列分析法具有简单、快速等优点, 在 GenBank 中有相似序列的情况下, 对未知细菌至少可以鉴定属的水平, 一般可以鉴定到种的水平。将本研究结果与笔者所在实验室所做的部分试验菌株生化鉴定结果进行比较发现, 2 种方法的鉴定结果在属的水平上高度一致(数据未发表)。但因为 16S rDNA 序列保守性较强, 在相近种的水平上区分细菌存在一定困难。例如 2 种同属但不同种细菌——蜡质芽孢杆菌(*Bacillus cereus*) 和苏云金芽孢杆菌(*Bacillus thuringiensis*), 在 DNA 水平上具有较高的同源性, 只有个别碱基有差异<sup>[9]</sup>, 有些研究者将它们归为蜡质芽孢杆菌组, 许多细菌分类学家甚至认为 Bt 与 Bc 应为同一个种<sup>[8,10]</sup>。本研究中 B02、B08 和 B17 号样品的 16S rDNA 序列与蜡质芽孢杆菌和苏云金芽孢杆菌的 16S rDNA 序列相似性

表 1 发病鳃瓣脏器中细菌 16S rDNA 酶切带型、序列相似性分析及菌种鉴定结果

Table 1 RFLP analysis and similarity values of bacterial 16S rDNA sequences retrieved from livers of diseased eels

| 酶切带型<br>(出现频数)<br>RFLP patterns<br>(Frequency) | 菌株编号 <sup>1)</sup><br>Number of<br>strains   | 序列长度(序列号)<br>Sequence length<br>(Accession<br>numbers)/bp | 最相似物种(序列号)<br>Most similar reference<br>(accession numbers)                                 | 相似性/%<br>Similarity | 最相似物种来源或特性<br>Isolation source or<br>speciality of the most<br>similar reference | 鉴定结果<br>Identifying<br>results         |
|--|--|---|---|---------------------|--|--|
| 1 (7)  | <u>15</u> , <u>18</u> , <u>19</u> , <u>20</u> ,<br><u>26</u> , <u>27</u> , <u>29</u> | 1266 (FJ494895)<br>1419 (FJ494900)                        | <i>Aeromonas hydrophila</i> B1 (FJ202054)<br><i>Aeromonas hydrophila</i> CCM7232 (DQ207728) | 98<br>99            | 淡水鳃野鲮原菌 <sup>2)</sup><br>不详 Unknown  | 嗜水气单胞菌<br><i>Aeromonas hydrophila</i>  |
| 2 (5)  | <u>11</u> , <u>30</u> , <u>31</u> ,<br><u>32</u> , <u>33</u>                         | 1206 (FJ494891)<br>1422 (FJ494901)                        | <i>Aeromonas hydrophila</i> (AB368776)<br><i>Aeromonas</i> sp. MHI (EU862316)               | 96<br>99            | 不详 Unknown<br>不详 Unknown   | 嗜水气单胞菌属<br><i>Aeromonas</i>            |
| 3 (5)  | <u>B001</u> , <u>B002</u> , <u>B003</u> ,<br><u>B004</u> , <u>B005</u>               | 1443 (FJ494902)   | <i>Aeromonas veronii</i> WE11 (EU770307)  | 99                  | 鱼塘水中   | 维氏气单胞菌<br><i>Aeromonas veronii</i>     |
| 4 (1)  | <u>B006</u>  | 1294 (FJ494907)   | <i>Aeromonas veronii</i> WE11 (EU770307)  | 96                  | 鱼塘水中   | 维氏气单胞菌<br><i>Aeromonas veronii</i>     |
| 5 (2)  | <u>06</u> , <u>09</u>  | 1133 (FJ494887)   | <i>Aeromonas veronii</i> WE11 (EU770307)  | 97                  | 鱼塘水中   | 维氏气单胞菌<br><i>Aeromonas veronii</i>     |
| 6 (1)  | <u>21</u>  | 1278 (FJ494898)   | <i>Aeromonas jandaei</i> B10 (AF099026)   | 98                  | 患溃疡综合症的印度鲃 <sup>3)</sup>   | 简氏气单胞菌<br><i>Aeromonas jandaei</i>     |
| 7 (1)  | <u>14</u>  | 1275 (FJ494894)   | <i>Aeromonas punctata</i> D4 (EU082831)   | 97                  | 阿根廷的一个水生环境 <sup>4)</sup>   | 豚鼠气单胞菌<br><i>Aeromonas punctata</i>    |
| 8 (1)  | <u>04</u>  | 980 (FJ494886)  | <i>Yersinia ruckeri</i> CCUG 14190 (EF179132)   | 99                  | 淡水湖 Fresh water  | 鲁氏耶尔森菌<br><i>Yersinia ruckeri</i>      |
| 9 (1)  | <u>25</u>  | 961 (FJ494899)  | <i>Citrobacter freundii</i> An18-1 (AB244454)   | 99                  | 分离自仅狮幼虫的杀虫菌 <sup>5)</sup>  | 弗氏柠檬酸杆菌<br><i>Citrobacter freundii</i> |
| 10 (1)   | <u>12</u>  | 1240 (FJ494892)   | <i>Klebsiella pneumoniae</i> 342 (CP000964)   | 95                  | 植物内生固氮菌 <sup>6)</sup>  | 克雷伯氏菌属<br><i>Klebsiella</i>            |
| 11 (1)   | <u>10</u>  | 1458 (FJ494890)   | <i>Pseudoalteromonas</i> sp. CF6-14 (FJ170007)  | 98                  | 分泌蛋白酶细菌<br>Protease-producing bacteria   | 假交替单胞菌属<br><i>Pseudoalteromonas</i>    |
| 12 (3)   | <u>02</u> , <u>08</u> , <u>17</u>  | 1156 (FJ494884)   | <i>Bacillus cereus</i> G1 (FJ190081)<br><i>Bacillus thuringiensis</i> LDC-415 (EU625360)    | 97<br>97            | 亚热带地区植物的根际 <sup>7)</sup><br>土壤 Soil  | 芽孢杆菌属<br><i>Bacillus</i>               |
| 13 (2)   | <u>03</u>  | 1263 (FJ494885)   | <i>Bacillus</i> sp. (AM411969)  | 97                  | 休耕的水稻土好氧区 <sup>8)</sup>  | 芽孢杆菌属<br><i>Bacillus</i>               |
| 14 (3)   | <u>01</u> , <u>13</u> , <u>16</u>  | 894 (FJ628392)<br>1448 (FJ494896)                         | <i>Bacillus</i> sp. P-49 (AM411969)<br><i>Bacillus</i> sp. ZYM (AY043358)                   | 100<br>98           | 休耕的水稻土好氧区 <sup>8)</sup><br>不详 Unknown  | 芽孢杆菌属<br><i>Bacillus</i>               |
| 15 (1)   | <u>24</u>  | 837 (FJ628393)  | <i>Bacillus</i> sp. P-49 (AM411969)   | 88                  | 休耕的水稻土好氧区 <sup>8)</sup>  | 厚壁菌门<br>Firmicutes                     |
| 16 (1)   | <u>28</u>  | 881 (FJ628394)  | <i>Enterobacter</i> sp. CO 8-9 (EU181139)   | 93                  | 肉食动物肠内<br>Intestine of carnivores  | 肠杆菌科<br>Enterobacteriaceae             |

1) 具下划线的菌株为代表性的测序菌株 Underlined strains are representatives of sequenced strains; 2) Pathogen from the freshwater crayfish; 3) *Cirrhinus mrigala* with epizootic ulcerative syndrome (EUS); 4) Aquatic environment of Argentina; 5) Insecticide bacteria from larvae of antlion; 6) Endophytic nitrogen-fixing bacteria; 7) Rhizosphere in sub-tropical regions; 8) Oxidic zone of unplanted rice paddy soil.



图中 Bn 代表分离培养的菌株,其中 n 表示菌株编号,括号中数字是 GenBank 序列号,参比序列均来自 GeneBank 库。每个节点上显示自举值(100 次重复),标尺代表核苷置换率。Isolates from this study are named Bn, in which n represents the number of strains. Accession numbers are shown in parentheses. All the reference sequences are from GenBank database. Bootstrap values (100 iterations) are shown at each node. Scale bar represents the nucleotide substitution percentage.

图 1 从发病鳎鲷脏器中分离培养的细菌系统发育进化树

Fig. 1 Neighbor joining phylogenetic tree generated from an alignment of 16S rDNA sequences from livers of diseased eels

均达到 97% 以上(表 1),难以确定其具体种类。在进行 BLAST 比对时还发现,气单胞菌属某些病原菌分别与不同种类气单胞菌的 16S rDNA 序列最相似,这也给气单胞菌属病原菌的种类鉴定带来困难。

此外,GenBank 数据库中 16S rRNA 基因序列数量有限,也在一定程度上限制了分子鉴定方法的应用。16S-23S rDNA 间隔区或功能基因序列一般比 16S rDNA 序列变异大,后续研究可以用间隔区或功能

基因做细菌分类的分子标记。如针对气单胞菌属细菌,可以用变异更大的 *gyrB*(DNA 解旋酶 B 亚基)基因<sup>[11-12]</sup>、*rpoD* 基因(编码 sigma70 因子)<sup>[12]</sup> 等做分类标记,结合传统细菌鉴定技术,可望得到更准确的分类结果。

### 3.2 养殖鳗鲡病原菌的主要种类

本试验中,35 个试验菌株共分为 16 种酶切带型,且其中 9 种带型分别只出现 1 次,说明鳗鲡病原菌的遗传多样性比较丰富。但有 1 种带型出现频数高达 7 次,占试验菌株的 20%(表 1),鉴定结果显示这种细菌属于气单胞菌属,说明养殖鳗鲡主要病原菌中,气单胞菌属病原菌数量较多。系统进化分析也支持这一结果(图 1)。

已报道的鳗鲡致病菌有十几种,包括气单胞菌属的嗜水气单胞菌、温和气单胞菌、豚鼠气单胞菌;肠杆菌科的迟顿爱德华氏菌和鲁氏不动杆菌;弧菌科的致伤弧菌、鳗弧菌和非 O1 群霍乱弧菌;假单胞菌属的柱状屈挠杆菌和鳗败血性假单胞菌等<sup>[2]</sup>。本研究鉴定的鳗鲡病原菌除了已报道的嗜水气单胞菌和豚鼠气单胞菌外,还有维氏气单胞菌、简氏气单胞菌。也发现一些芽孢杆菌种类及鲁氏耶尔森菌、弗氏柠檬酸杆菌、克雷伯氏菌属、假交替单胞菌属和肠杆菌科的细菌。这些结果充分说明养殖鳗鲡的致病菌种类繁多。

GenBank 库提供的信息和相关文献资料研究表明,与本研究中细菌最相似的气单胞菌属细菌多来自发病的养鱼池或发病的水产生物(鲤、淡水螯虾等),说明气单胞菌属细菌是水产养殖生物细菌性病害中最常见的病原菌之一。

本研究中鉴定的鲁氏耶尔森菌(*Yersinia ruckeri*)、克雷伯氏菌属细菌(*Klebsiella* sp.)和弗氏柠檬酸杆菌(*Citrobacter freundii*)等一般也是水产生物致病的病原菌<sup>[13-14]</sup>。与本研究中细菌最相似的芽孢杆菌多存在于土壤或沉积物中,工业废水中也有发现(表 1),说明这类细菌分布范围较广,适应能力较强。

尽管由于样本采集地区不同,采集时间不同,分离所用培养基不同等原因,不同研究中分离到的细菌多样性可能会有一定的差异。本研究中分离出的 35 株细菌是从福建省 10 个鳗鲡养殖场数百株细菌

中筛选出来的、具有较强致病力的鳗鲡病原菌,在福建省鳗鲡病原菌中有一定的代表性。

### 参 考 文 献

- [1] 艾红,李永振. 养殖鳗鲡的主要疾病与防治研究现状 [J]. 湛江海洋大学学报,1998,18(4):71-76.
- [2] 吴亮. 鳗鲡病原菌的现场快速检测与药物防治 [D]. 厦门:集美大学水产学院,2007.
- [3] CLARRIDGE III J E. Impact of 16S rRNA gene sequence analysis for identification of bacteria on clinical microbiology and infectious diseases [J]. Clin Microbiol Rev, 2004, 17(4): 840-862.
- [4] MA H Y, JIANG G L, WU Z Q, et al. 16S rRNA gene phylogenesis of culturable predominant bacteria from diseased *Apostichopus japonicus* (Holothuroidea, Echinodermata) [J]. J Ocean Univ China, 2009, 8(2): 166-170.
- [5] 严雪瑞, 陈文峰, 陈文新, 等. 小叶锦鸡儿根瘤菌的分离及其 16S rDNA PCR-RFLP 分析 [J]. 华中农业大学学报, 2007, 26(2): 141-146.
- [6] SAMBROOK J, FRITSCH E F, MANIATIS F. 分子克隆实验指南 [M]. 2 版. 北京: 科学出版社, 1995.
- [7] SCHLOSS P D, HANDELSMAN J. Status of the microbial census [J]. Microbiol Mol Biol Rev, 2004, 68(4): 686-691.
- [8] HELGASON E, OKSTAD O A, CAUGANT D A, et al. *Bacillus anthracis*, *Bacillus cereus*, and *Bacillus thuringiensis*—one species on the basis of genetic evidence [J]. Appl Environ Microbiol, 2000, 66(6): 2627-2630.
- [9] TEGIFFEL M C, BEUMER R R, KLIJN N, et al. Discrimination between *Bacillus cereus* and *Bacillus thuringiensis* using specific DNA probes based on variable regions of 16S rRNA [J]. FEMS Microbiol Lett, 1997, 146(1): 47-51.
- [10] BAVYKIN S G, LYSOV Y P, ZAKHARIEV V, et al. Use of 16S rRNA, 23S rRNA, and *gyrB* gene sequence analysis to determine phylogenetic relationships of *Bacillus cereus* group microorganisms [J]. J Clin Microbiol, 2004, 42(8): 3711-3730.
- [11] YANEZ M A, CATALAN V, APRAIZ D, et al. Phylogenetic analysis of members of the genus *Aeromonas* based on *gyrB* gene sequences [J]. Int J Syst Evol Microbiol, 2003, 53: 875-883.
- [12] SOLER L, YANEZ M A, CHACON M R, et al. Phylogenetic analysis of the genus *Aeromonas* based on two housekeeping genes [J]. Int J Syst Evol Microbiol, 2004, 54: 1511-1519.
- [13] 张晓君. 鲁氏耶尔森氏菌及鱼类相应感染症 [J]. 河北科技师范学院学报, 2004, 18(3): 86-98.
- [14] 沈锦玉, 顾志敏, 潘晓艺, 等. 红螯螯虾弗氏柠檬酸杆菌病原的分离与鉴定 [J]. 中国水产科学, 2005, 12(2): 197-200.

## Sequencing and Phylogenetic Analysis of 16S rRNA Genes of Pathogenic Bacteria Isolated from Cultivated Eels

MA Ying GUAN Rui-zhang GUO Song-lin DENG De-bo ZHANG Jun-rong  
Fisheries College, Jimei University/Fujian Key Laboratory of Science and Technology  
for Aquaculture and Food Safety, Xiamen 361021, China

**Abstract** Thirty five pathogenic bacteria verified by artificial infection from the livers of diseased eels were subjected to sequencing and phylogenetic analysis. DNA was extracted by CTAB method from each isolate, the 16S rRNA genes were amplified using universal bacterial primers, and then the 35 isolates were identified by restriction fragment length polymorphism (RFLP) analysis, sequences analysis and phylogenetic analysis of the 16S rRNA genes. The phylogenetic tree was constructed. The results indicated that these pathogenic bacteria belong to six genera and one family of two major groups ( $\gamma$ -Proteobacteria and Firmicutes). The *Aeromonas* genus is predominant (occupied 63%), including *Aeromonas hydrophila*, *Aeromonas veronii*, *Aeromonas jandaei*, and *Aeromonas punctata*. The *Bacillus* genus is second dominant. The rest are *Yersinia ruckeri*, *Citrobacter freundii*, and species of *klebsiella* genus, *Pseudoalteromonas* genus and Enterobacteriaceae family.

**Key words** cultivated eel; pathogenic bacteria; 16S rRNA gene; restriction fragment length polymorphism (RFLP); phylogenetic tree

(责任编辑:边书京)

### 《华中农业大学学报》获第三届中国高校精品科技期刊奖

2010年11月6日,教育部科技司主办的第三届“中国高校精品·优秀·特色科技期刊”颁奖大会在重庆隆重举行,《华中农业大学学报》获得第三届“中国高校精品科技期刊”奖。该奖项每两年评选一次,这次共评出中国高校精品科技期刊70种,优秀科技期刊120种,特色科技期刊59种。《华中农业大学学报》已连续三届获得中国高校精品科技期刊奖,全国仅有40种科技期刊连续三届获得该殊荣。

据悉,新闻出版总署人事司司长余昌祥、中宣部出版局副局长刘建生、教育部科技司副司长陈盈晖、教育部科技司综合处处长高润生等领导出席了颁奖大会。目前,全国高校主办近1500种科技期刊,为持续培育一批精品、特色科技期刊,扩大我国高校科技期刊在国内外的影响,提升学术影响力和竞争力,进一步推动高校科技事业的发展,教育部科技司主办了这次评奖活动。