

· 综 述 ·

约氏黄杆菌研究进展

胡钱东^{1,2,3}, 林 强^{2,3}, 石存斌^{2,3}, 付小哲^{2,3}, 李宁求^{2,3}, 刘礼辉^{2,3}, 吴淑勤^{2,3*}

(1.大连海洋大学 水产与生命学院,中国辽宁 大连 1160231;2.中国水产科学研究院 珠江水产研究所,农业部渔药创制重点实验室,广东省水产动物免疫技术重点实验室,中国广东 广州 510380; 3.淡水水产健康养殖湖北省协同创新中心,中国湖北 武汉 430070)

摘 要:约氏黄杆菌属于黄杆菌科,黄杆菌属,是自然界中一种常见的环境微生物。约氏黄杆菌研究集中在降解机制和滑动机制上,并取得了一定的研究进展,同时在致病性上也有研究。概述了约氏黄杆菌的分类地位和生物学性状,并对其降解机制、滑动机制和引起的疾病进行了综述。目前,该菌全基因组测序已经完成,通过研究发现,其降解机制、滑动机制和致病机理三者间存在相关性。因此,联合研究三种机制可能成为以后研究的热点。

关键词:约氏黄杆菌;降解机制;滑动机制;烂鳃病

中图分类号:Q938.8

文献标识码:A

文章编号:1007-7847(2014)01-0060-06

Progresses on *Flavobacterium johnsoniae*

HU Qian-dong^{1,2,3}, LIN qiang^{2,3}, SHI Cun-bin^{2,3}, FU Xiao-zhe^{2,3},
LI Ning-qiu^{2,3}, LIU Li-hui^{2,3}, WU Shu-qin^{2,3*}

(1. College of Fisheries and Life Science, Dalian Ocean University, Dalian 116023, Liaoning, China; 2. Pearl River Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Key Laboratory of Fishery Drug Development, Ministry of Agriculture, Key Laboratory of Aquatic Animal Immune Technology, Guangzhou 510380, Guangdong, China; Freshwater Aquaculture Collaborative Innovation Center of Hubei Province, Wuhan 430070, Hubei, China)

Abstract: *Flavobacterium johnsoniae* is a common environmental organism, which belongs to the genus *Flavobacterium*, the family *Flavobacteriaceae*. A number of researches about *Flavobacterium johnsoniae* have already been made including digest mechanism, gliding motility etc. and some accomplishments have been achieved. *Flavobacterium psychrophilum* causes a severe disease in fish, a lot of researches about its pathogenesis were made. The recent progresses on the taxonomic status, biological characteristics, the digest mechanism, gliding motility and pathogenesis of *Flavobacterium johnsoniae* were summarized. Now, the genome sequence of *Flavobacterium johnsoniae* has been completed. The results showed that there is some correlation between the degradation mechanism, sliding mechanism and pathogenesis. Therefore, the combined researches of three kinds of mechanism have to be done in the future.

Key words: *Flavobacterium johnsoniae*; digest mechanism; gliding motility; gill-rote disease

(*Life Science Research*, 2014, 18(1): 060~065)

约氏黄杆菌(*Flavobacterium johnsoniae*)是一种好氧性革兰氏阴性菌,该菌普遍存在于淡水、海水、土壤中^[1,2],可以降解许多大分子物质,包括

淀粉、明胶、木糖葡聚糖和几丁质等,同时也是条件致病菌,主要感染变温动物^[3,4]。约氏黄杆菌的全基因组测序已经完成,全基因序列大小为6.10 Mb,

收稿日期:2013-05-03;修回日期:2013-07-10

基金项目:国家现代产业技术体系建设经费“大宗淡水鱼类产业技术体系”项目(CARS46);国家科技支撑计划项目(2012BAD25B02);广州市珠江科技新星专项资助项目(2012J2200078)

作者简介:胡钱东(1987-),男,四川达州人,硕士研究生,主要从事水产动物疾病与免疫学研究,E-mail:hqd19871114@163.com;* 通讯作者:吴淑勤(1956-),女,福建厦门人,中国水产科学院研究员,博士生导师,中国水产科学院首席科学家,主要从事水产动物疫病流行病学、水产动物免疫学、疾病风险评估和标准模式生物等方面的研究,Tel:020-81616813,E-mail:wushuqin001@21cn.com。

包含 5 056 个开放解读码框。在黄杆菌属细菌种类中,约氏黄杆菌具有一套稳定的基因组,因此被作为一种模式生物来研究拟杆菌门细菌的滑行运动、生物被膜形成和分子生物学等特征^[4]。目前国内外学者对约氏黄杆菌的研究逐渐增多,在降解机制、滑动机制和流行病学等方面积累了大量的资料。本文从该菌的分类地位、生物学特征、鉴定方法、滑动机制和流行病学 5 个方面的研究进行综述,提出了一些问题和建议,以为相关研究提供参考。

1 分类地位

约氏黄杆菌,属于拟杆菌门(噬纤维菌黄杆菌群),黄杆菌目,黄杆菌科,黄杆菌属,是一种严格需氧的革兰氏阴性菌,模式菌株为 UW101 (ATCC17061)^[5]。约氏黄杆菌由美国微生物学家 Delia 首次从环境中分离发现^[6],曾先后被命名为约氏噬纤维菌,橙色屈挠杆菌。从 1947 年 Stanier 首次提出约氏噬纤维菌 (*Cytophaga johnsonae*) 以来,约氏黄杆菌的分类研究逐渐由最初的以形态描述、生理生化特征为主发展到现在的多相分类(将分子分类、系统进化与形态、生理生化、化学特征相结合进行分类研究)。但直到 1996 年, Bernardet 等根据 DNA-DNA 杂交、DNA-rRNA 杂交、细菌脂肪酸甲酯(fatty acid methyl ester, FAME)和菌体蛋白电泳分析试验结果,才将该菌划分到黄杆菌属,命名为约氏黄杆菌,并一直沿用至今^[6]。

2 生物学特征

2.1 菌体形态

约氏黄杆菌是自然环境中普遍存在的革兰氏阴性细长杆菌,两端钝圆,无鞭毛,滑行运动,菌体的大小为(5~10) μm ×(0.3~0.7) μm ; 电镜下观察可见荚膜,无鞭毛^[7-9]。培养后会变形,如:菌体变得细长弯曲、指状等,还出现退缩变成球形^[10];菌落的形态也有变化,如菌落边缘的树根状变粗变短、表面疣状物隆起并变得具有粘稠感^[11]。从患病鱼感染部位取下一小块组织放在载玻片上镜检,很容易观察到菌体的滑行运动,同时还可观察到一些细菌集合在一起形成团状。

2.2 分离与培养特性

从水体、土壤中均能分离到约氏黄杆菌,而从患病鱼的体表、鳃、肝脏、脾脏和肾脏等部位接种培养是分离病原菌约氏黄杆菌的主要途径^[12]。约氏黄杆菌的生理生化特性,使其难以在普通培养

基上生长,目前国内外广泛使用的生长培养基有如下几种:CYE 培养基:酪蛋白胨 1%,酵母提取物 0.5%, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.2%,Tris 0.12%,pH 7.5^[13]; TSA 培养基:酪蛋白胰酶消化物 1.5%,大豆粉木瓜蛋白酶消化物 0.5%,氯化钠 0.5%,琼脂 1.5%,pH(7.3±0.2)^[12]。观察细菌滑动特征的培养基主要有 PY2 培养基:胰蛋白胨 0.2%,酵母提取物 0.05%,琼脂 1.0%,pH 7.3; EAOB 培养基:蛋白胨 0.05%,酵母浸膏 0.05%,牛肉浸膏 0.02%,醋酸氢钠 0.02%,琼脂 0.9%,pH(7.2~7.4)^[14]。在培养该菌时,根据不同的需要选择适合的培养温度。一般而言,约氏黄杆菌的生长盐浓度范围是 0~1.5%,温度范围为 4~37 $^{\circ}\text{C}$ ^[7,12]。

值得注意的是,约氏黄杆菌虽然能在 CYE 培养基、TSA 培养基、EAOB 培养基等上生长良好,但污染菌的存在大大降低了病原成功分离的几率,因此在培养基中添加不影响约氏黄杆菌的生长而对其他污染菌有抑制作用的抗生素药物,如加入红霉素(100 mg/L)、氨苄青霉素(100 mg/L)、氯霉素(30 mg/L)、四环素(15 mg/L)、卡那霉素(30 mg/L)、链霉素(30 mg/L)等制成用于约氏黄杆菌分离的选择培养基,对成功分离到该菌有重要作用^[11]。但笔者在研究中发现,不同的约氏黄杆菌菌株对抗生素有不同的敏感性,因此,在选择抗生素时应有所选择。

3 鉴定方法

3.1 常规生理生化鉴定方法

常规生理生化检测是依据细菌的营养需求和代谢产物的不同而设计的。首先在约氏黄杆菌的选择培养基上分离培养,待长出特征性菌落纯化后,进行一系列的生理生化试验鉴定。

生理生化鉴定可以采用商品化的标准检测系统。主要的鉴定系统有 Biolog Microlog 3 系统、Riboprinter Microbial 系统、APIZYM 系统或其修正系统包括一系列生化反应,灵活方便,经常被用来检测约氏黄杆菌。在 APIZYM 系统中,使用 API20E 和 API20NE 试剂盒(BioMerieux, France, Marcy l'Etoile) 对约氏黄杆菌进行鉴定。在 API20E 和 API20NE 系统中都被鉴定为约氏黄杆菌^[7]。约氏黄杆菌是革兰氏阴性菌,氧化酶和过氧化氢酶阳性,刚果红吸收,硝酸盐还原,产生 β -半乳糖苷酶,葡萄糖产酸,能水解明胶和酪蛋白。在笔者对鱼源约氏黄杆菌的生理生化特性研究中发

现,不同菌株之间的生化特性存在差异。具体的生理生化试验结果见表 1^[7,12]。

表 1 约氏黄杆菌的生理生化特征

Table 1 Biochemical and physiological characteristics of *Flavobacterium johnsoniae*

Reaction item	<i>Flavobacterium johnsoniae</i>
Gram-reaction	-
LDC	-
ODC	-
TDC	-
CTT	+
DCEL	-
dSOR	-
RHA	-
ARA	-
OFF	+
GEL	+
CAT	+
NIT	V
H ₂ S	-
AES	+
CEL	+
CHI	+
TYR	+
AMY	+
dGLU	+
IND	-

注:+:阳性;-:阴性;V:菌株间多样性。

Notes:+:Denotes positivity;-:Denotes negativity;V:Denotes diversity.

3.2 分子生物学鉴定方法

对分离的细菌进行生理生化实验鉴定是一种常规的鉴定方法,但因为菌株在地域、宿主、季节和培养条件等方面存在着差异,所以选择的生化试验指标也可能不尽相同,鉴定结果并不十分准确。故而生化鉴定结果仅能作为辅助性检测,不能作为最终的诊断依据。

近 20 年来,分子生物学技术发展迅速,被广泛应用于细菌的分类。相对于生理生化鉴定,基于 16S rRNA 的分子鉴定技术更为准确可靠。Suheyla 等^[7]利用 16S rRNA 基因特异性引物对土耳其患病俄罗斯鲟鱼分离的菌株进行分子鉴定,发现 16S rRNA 基因序列与约氏黄杆菌菌株 188 (EU730945)的相似性为 99.4%,与菌株 Tibet S721 16S rRNA 序列相似性为 99%,同源性均大于 99%。这个鉴定结果与生理生化鉴定结果相一致,确定为约氏黄杆菌。Flemming 等^[14]用生化鉴定系统将 32 株从患病鱼体分离到的菌株鉴定到属,不能准确鉴定到种一级;在后续的试验中综合利用 RAPD-PCR (Randomly amplified polymorphic DNA)

指纹图谱技术、REP-PCR (Repetitive extragenic palindromic)指纹图谱技术、WCP (Whole cell protein)分析和 OMP (Outer membrane protein)分析技术,将 32 株黄杆菌属细菌成功鉴定到种,并从患病罗非鱼中鉴定出南非第一株约氏黄杆菌致病菌株。

Bernardet 等^[15]通过细菌形态、生长特性等特征将 ATCC43622 鉴定为柱状黄杆菌。但 Darwish 等^[16]利用柱状黄杆菌 16S rRNA 基因序列中的一段特异性序列,设计了一对特异性引物 F:CAGTGGTGAAATCTGGT,R:GCTCCTACTTGCG-TAGT,对黄杆菌属 7 种细菌进行分离鉴定,结果显示,所有的柱状黄杆菌中均扩增出目的片段,但菌株 ATCC43622 和其他菌不能扩增出目的片段。系统进化树显示菌株 ATCC43622 16S rRNA 的序列与其他约氏黄杆菌的分叉距离为 1.7~1.8,而与柱状黄杆菌的分叉距离为 7.9~9.0。因此,结合相应的生理生化鉴定结果,将柱状黄杆菌菌株 ATCC43622 归类于约氏黄杆菌。

4 降解特征

约氏黄杆菌是常见的环境工程微生物,可以有效地降解果胶、葡聚糖和蛋白质等生物大分子物质,特别是难分解的几丁质,在自然界物质循环过程中发挥着重要作用^[17]。早期研究发现,约氏黄杆菌胞外酶具有降解酵母细胞壁的能力^[18]。酵母细胞壁的主要成分包括 β -葡聚糖、几丁质和甘露聚糖等,所占比例最大的 β -1,3-葡聚糖是造成酵母细胞壁结构坚固的主要因素^[19]。而多糖和蛋白质构成特殊的层状结构使得酵母细胞壁更加难以被降解^[20]。Bacon 等^[21]于 20 世纪 70 年代发现约氏黄杆菌可以降解酵母细胞壁,并从该菌培养液中分离到多种具有葡聚糖酶活性的组分。周亮等^[13]从 *F.johnsoniae* 发酵液中分离纯化到一种昆布多糖酶,以内切酶方式作用于可溶性葡聚糖底物的 β -1,3-糖苷键,最终导致酵母细胞壁的完全裂解。

Anderson 等^[22-24]在多行拟杆菌中发现细胞膜表面蛋白 *SusC*、*SusD* (Starch utilization system, Sus)参与低聚糖的结合和运输,并与 8 个这样的肽酶构成 Sus 系统参与利用多聚糖。*SusC* 和 *SusD* 蛋白的同系物在拟杆菌门细菌中很常见,McBride 等^[25]在约氏黄杆菌染色体组 3.5~5.34 Mb 区域中发现了 44 个 *SusC* 和 42 个 *SusD* 同源编码基因,参与多糖的分解利用,并且把这样的区域命名为多糖利用位点(polysaccharide utilization loci,PULs)。

并发现这个位点不仅可以利用可溶性多糖,也可以利用不溶性多糖,如几丁质和半纤维素等。另外,在更深一步的研究中还发现这个区域位点中的1,4- β -N-乙酰氨基葡萄糖苷酶基因参与几丁质细胞质外的初步分解,形成可溶性多糖转运到细胞质内;两个 *SusC* 和两个 *SusD* 蛋白参与几丁质在细胞质内的分解;这个模型可以用来解释约氏黄杆菌降解其他大分子物质的机制。

约氏黄杆菌基因组测序已经完成,通过对其基因组信息分析,发现其含有大量与生物大分子降解相关的酶编码基因,其中包括125个蛋白酶、138个糖苷水解酶、9个聚糖裂解酶和17个糖酯酶编码基因^[3];实验证实约氏黄杆菌还具有降解半纤维素的能力,如木聚糖、甘露聚糖以及葡聚糖。约氏黄杆菌基因组中大量生物大分子降解酶基因的存在,不仅可解释该菌对蛋白质、多糖等大分子物质进行有效降解的原因,同时也为我们开发利用这些基因资源提供了一个很好的材料。这些基因也为笔者研究约氏黄杆菌的致病机理提供了基础资料。

5 滑动机制

约氏黄杆菌在湿润平面上以大约(0.05~10) $\mu\text{m/s}$ 的速度移动的过程,称为滑行运动,这是拟杆菌门细菌的基本特征。该细菌不仅可以在琼脂、玻璃、聚苯乙烯、聚四氟乙烯等上做滑行运动,也可以与乳胶小颗粒一样的球状小分子结合,向不同方向滑动^[26-28]。滑行运动是约氏黄杆菌形成特定菌落形态的主要原因,与细菌的感染机制具有相关性。

约氏黄杆菌的运动机制相当奇特,它没有其他种类细菌运动所具有的细胞器,如鞭毛或者IV型菌毛等,这一特性使之成为研究拟杆菌门细菌运动系统的模式生物。通过基因操纵技术,已经证实有16个基因(*gldA*、*gldB*、*gldD*、*gldF*、*gldG*、*gldH*、*gldI*、*gldJ*、*gldK*、*gldL*、*gldM*、*gldN*、*gldO*、*sprA*、*sprB*、*sprT*、*gld* (glding motility)、*spr* (surface protein))参与了约氏黄杆菌的滑行运动,它们由11个操纵子调控^[4,5];这16个基因编码的蛋白都定位或预测定位于细胞膜上,但它们都不是细胞膜表面蛋白,其中*gldB*、*gldD*、*gldH*、*gldI*、*gldJ*、*gldK*是6个脂蛋白编码基因;*gldA*、*gldF*和*gldG*编码的蛋白与ATP相结合(ATP-binding cassette, ABC),形成转运蛋白,参与滑行运动^[5]。

利用转座子诱变技术研究滑动基因的功能和

作用越来越受到国内外学者的青睐,Braun等已经通过基因突变技术构建了*sprE*、*sprB*(黏附素)、*gldH*、*gldJ*等滑动基因的突变株。McBride等^[4]研究发现,*gld*基因发生突变,导致约氏黄杆菌丧失滑动和消化几丁质的功能,并且会感染噬菌体;但是*sprB*基因缺失,滑行运动则不会受太大影响,因为约氏黄杆菌中包含多个*sprB*的同系物。研究发现*sprB*蛋白是细胞表面蛋白,在约氏黄杆菌运动过程中起重要作用,蛋白相对分子质量为669 kD,具有高度重复性。*gldK*、*gldL*、*gldM*、*gldN*、*sprA*和*sprT*参与*sprB*蛋白的分泌^[29,30]。*gldA*、*gldB*、*gldD*、*gldF*、*gldG*、*gldH*、*gldI*和*gldJ*这些基因编码的蛋白中可能包含一些“马达”类的物质推动*sprB*在细胞表面滑动^[31,32],*sprB*将“马达”类物质的动力传递到细胞表面使细菌滑动。因此,约氏黄杆菌的滑行运动可能是通过黏附素(*sprB*)介导的快速运动。

在Sato等^[30,33]的研究中发现牙龈卟啉单胞菌PorSS (*Porphyromonas secretion system*)蛋白分泌系统中的N-端信号肽蛋白是典型的靶向Sec系统(secretion system)蛋白,这些蛋白质通过Sec系统运输穿越细胞膜,利用Por系统进行外膜运输。但PorSS系统与细菌其他蛋白质分泌系统,例如I-VI分泌系统没有关联^[34-36]。同时研究中还发现*PorK*、*PorL*、*PorM*、*PorN*、*PorW*和*Sov*编码蛋白基因与约氏黄杆菌的滑动蛋白基因具有相似的序列,推测约氏黄杆菌滑动系统可能参与蛋白的外膜运输。

6 流行病学

至2013年,黄杆菌属包含51种细菌,大多数种类具有致病性或者作为条件致病菌感染植物、鱼和人类。已经有报道的水产致病菌有柱状黄杆菌(*Flavobacterium columnare*)、嗜冷黄杆菌(*Flavobacterium psychrophilum*)、嗜鳍黄杆菌(*Flavobacterium branchiophila*)以及约氏黄杆菌^[14]。

约氏黄杆菌呈世界范围分布,是一种全球性的细菌性鱼病病原菌,能感染大部分淡水鱼、海水鱼。约氏黄杆菌的宿主范围广泛,可感染锦鲤、大马哈鱼、鲟鱼、虹鳟、日本鳗鲡、尖吻鲈、草鱼等多种重要的观赏鱼类和经济鱼类^[37,38]。1993年Carson等^[39]首次从澳洲肺鱼上分离到约氏黄杆菌致病菌株。该菌主要引起病鱼鳃丝腐烂、皮肤溃疡等症状,与柱状黄杆菌引起患病鱼有相似的症状,因此约氏黄杆菌引起的疾病常被误诊^[25]。这种情况在

我们的研究中也经常发生。笔者在我国草鱼烂鳃病流行病学调查中还发现,烂鳃病也可能由车轮虫、指环虫等寄生虫引发,或者是寄生虫和细菌两者混合感染,这对该病病原的诊断和防治带来了一定的困难。

约氏黄杆菌是一种条件致病菌,可以在疾病暴发的水域检测到。Turgay 等^[7]在土耳其的俄罗斯鲟集约化养殖场中发现,在秋季暴雨后养殖水体的悬浮物突然增加、水温急剧下降的情况下,该菌引起疾病的暴发。约氏黄杆菌虽然能引起疾病的发生,但致死率并不高。Carson 等^[9]发现感染约氏黄杆菌的澳洲肺鱼的死亡率为 2%~5%,在 Turgay 等^[7]报道中,感染该菌的俄罗斯鲟的死亡率也只有 1%~2%。在实验室试验条件下,Moyer 等做了斑马鱼对约氏黄杆菌和柱状黄杆菌易感性的研究(试验标准为 IACUC No.18922,感染试验环境比较温和),发现柱状黄杆菌是一种致死率较高的致病菌:注射感染 LD₅₀ 约为 3.2×10⁶ cfu,浸泡感染 LD₅₀ 约为 1.1×10⁷ cfu/mL,而约氏黄杆菌对斑马鱼的致病性很差,注射感染的 LD₅₀ 约为 3×10¹⁰ cfu;柱状黄杆菌对斑马鱼的直接致病性远大于约氏黄杆菌^[10]。约氏黄杆菌的毒力受到许多环境因子的影响,如水体盐度、温度、饲养应激等。Flemming 等^[14]在罗非鱼感染约氏黄杆菌的试验中,发现最高的死亡率和严重发病症状出现在水温突变和注射病原菌的双重试验条件下,死亡率为 60%;72 h 后注射病原菌试验条件下的试验鱼才开始出现症状;对照组没有出现死亡和发生病变症状;同时不同菌株之间由于毒力存在差异,引起鱼类发病率和死亡也明显不同,YO12 和 YO60 引起较高的死亡率。

7 问题与展望

拟杆菌门细菌缺少其他种类细菌运动所必须的菌毛或鞭毛,运动具有独特性。约氏黄杆菌作为研究这类细菌运动的模式菌,数十年来国内外学者从约氏黄杆菌的运动性、生理生化特征以及基因遗传性分析等方面做了大量研究,也提出了许多模型,取得了一定的成果,但对其滑动机制和参与滑行运动的细胞器尚不清楚^[28]。笔者认为,构建单一的滑动基因的突变株不足以充分揭示约氏黄杆菌的滑动机制,在以后的研究中可以从多个滑动基因或者整体范围来研究。

约氏黄杆菌可以降解多种大分子物质,特别

能降解几丁质,在物质循环中起重要作用。作为一种工程菌,已广泛运用到环境污染处理和资源的再生利用。通过基因组分析,发现大量降解大分子物质的基因,这对我们开发利用这些基因资源提供了一个很好的材料。

发现约氏黄杆菌是鱼类致病菌至今已有 20 年的时间,但对其血清型、致病机理等的研究几乎还是空白。开展约氏黄杆菌基因组学的研究,从分子水平上阐明该病原菌的生物学特性及其感染机制,为进一步研究约氏黄杆菌的毒力基因提供理论基础。约氏黄杆菌作为一种条件致病菌,致病性受环境因子的影响较为明显,笔者在对烂鳃病做流行病学调查中发现,水温突变、高氨氮、水质浑浊的鱼塘发生该病的几率大于水环境因子较好的鱼塘。因此,开展环境因子对约氏黄杆菌致病性研究,将有助于阐明其流行病学规律和感染发生机制,为安全、有效地控制该病原菌的感染提供重要的理论基础。

参考文献(References):

- [1] BERNARDET J F, NAKAGAWA Y, HOLMES B. Proposed minimal standards for describing new taxa of the family Flavobacteriaceae and emended description of the family[J]. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2002, 52(3): 1049-1070.
- [2] CRUMP E M, PERRY M B, CLOUTHIER S C, et al. Antigenic characterization of the fish pathogen *Flavobacterium psychrophilum*[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2001, 67(2): 750-759.
- [3] SACK E L W, van der WIELEN P W J J, van der KOOIJ D. *Flavobacterium johnsoniae* as a model organism for characterizing biopolymer utilization in oligotrophic freshwater environments[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2011, 77(19): 6931-6938.
- [4] MCBRIDE M J, XIE G, MARTENS E C, et al. Novel features of the polysaccharide-digesting gliding bacterium *Flavobacterium johnsoniae* as revealed by genome sequence analysis[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2009, 75(21): 6864-6875.
- [5] RHODES R G, SAMARASAM M N, van GROLL E J, et al. Mutations in *Flavobacterium johnsoniae* sprE result in defects in gliding motility and protein secretion[J]. Journal of Bacteriology, 2011, 193(19): 5322-5327.
- [6] 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.
- [7] TURGAY E, MEMIS D, CANDAN A. First isolation of a *Flavobacterium johnsoniae* like bacteria from cultured Russian sturgeon in Turkey[J]. Journal of Animal and Veterinary Advances, 2010, 9(14): 1943-1946.
- [8] BASSON A, FLEMMING L A, CHENIA H Y. Evaluation of

- adherence, hydrophobicity, aggregation, and biofilm development of *Flavobacterium johnsoniae*-like isolates[J]. Microbial Ecology, 2008, 55(1): 1-14.
- [9] LIU J, MCBRIDE M J, SUBRAMANIAM S. Cell surface filaments of the gliding bacterium *Flavobacterium johnsoniae* revealed by cryo-electron tomography[J]. Journal of Bacteriology, 2007, 189(20): 7503-7506.
- [10] MOYER T R, HUNNICUTT D W. Susceptibility of zebra fish *Danio rerio* to infection by *Flavobacterium columnare* and *F. johnsoniae*[J]. Diseases of Aquatic Organisms, 2007, 76(1): 39.
- [11] AGARWAL S, HUNNICUTT D W, MCBRIDE M J. Cloning and characterization of the *Flavobacterium johnsoniae* (*Cytophaga johnsonae*) gliding motility gene, *gldA*[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, 1997, 94(22): 12139-12144.
- [12] SUEBSING R, KIM J H. Isolation and characterization of *Flavobacterium johnsoniae* from farmed rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* [J]. Journal of Fisheries and Aquatic Science, 2012, 15(1): 83-89.
- [13] 周亮, 朱永涛, 陈冠军, 等. *Flavobacterium johnsoniae* 昆布多糖酶的分离纯化及其催化性质[J]. 微生物学通报(ZHOU Liang, ZHU Yong-tao, CHEN Guan-jun, et al. Purification and catalytic properties of a laminarinase from *Flavobacterium johnsoniae*[J]. Microbiology China, 2011, 38(6): 839-846.
- [14] FLEMMING L, RAWLINGS D, CHENIA H. Phenotypic and molecular characterisation of fish-borne *Flavobacterium johnsoniae*-like isolates from aquaculture systems in South Africa [J]. Research in Microbiology, 2007, 158(1): 18-30.
- [15] BERNARDET J F. *Flexibacter columnaris*: first description in France and comparison with bacterial strains from other origins[J]. Diseases of Aquatic Organisms, 1989, 6(1): 37-44.
- [16] DARWISH A M, ISMAIELA A A, NEWTON J C, et al. Identification of *Flavobacterium columnare* by a species-specific polymerase chain reaction and renaming of ATCC43622 strain to *Flavobacterium johnsoniae*[J]. Molecular and Cellular Probes, 2004, 18: 421-427.
- [17] KIRCHMAN D L. The ecology of *Cytophaga-Flavobacteria* in aquatic environments[J]. FEMS Microbiology Ecology, 2002, 39(2): 91-100.
- [18] BACON J S, GORDON A H, WEBLEY D M. Fractionation of the beta-glucanases in a *Cytophaga johnsonii* culture filtrate lysing yeast cell walls[J]. Biochemical Journal, 1970, 117(2): 42.
- [19] GACTO M, VICENTE-SOLER J, CANSADO J, et al. Characterization of an extracellular enzyme system produced by *Microspora chalcona* with lytic activity on yeast cells [J]. Journal of Applied Microbiology, 2000, 88(6): 961-967.
- [20] CID V J, DURÁN A, REY F, et al. Molecular basis of cell integrity and morphogenesis in *Saccharomyces cerevisiae*[J]. Microbiological Reviews, 1995, 59(3): 345-386.
- [21] BACON J S, MILNE B D, TAYLOR I F, et al. Features of the cell-wall structure of yeast revealed by the action of enzymes from a non-fruiting myxobacterium (*Cytophaga Johnsonii*)[J]. Biochemical Journal, 1965, 95: 28C-30C.
- [22] ANDERSON K L, SALYERS A A. Biochemical evidence that starch breakdown by *Bacteroides thetaiotaomicron* involves outer membrane starch-binding sites and periplasmic starch-degrading enzymes [J]. Journal of Bacteriology, 1989, 171(6): 3192-3198.
- [23] BJURSELL M K, MARTENS E C, GORDON J I. Functional genomic and metabolic studies of the adaptations of a prominent adult human gut symbiont, *Bacteroides thetaiotaomicron*, to the suckling period [J]. Journal of Biological Chemistry, 2006, 281(47): 36269-36279.
- [24] SALYERS A A, REEVES A, D'ELIA J. Solving the problem of how to eat something as big as yourself: diverse bacterial strategies for degrading polysaccharides [J]. Journal of Industrial Microbiology, 1996, 17(5-6): 470-476.
- [25] MCBRIDE M J, BRAUN T F, BRUST J L. *Flavobacterium johnsoniae GldH* is a lipoprotein that is required for gliding motility and chitin utilization[J]. Journal of Bacteriology, 2003, 185(22): 6648-6657.
- [26] MCBRIDE M J. *Cytophaga-Flavobacterium* gliding motility[J]. Journal of Molecular Microbiology and Biotechnology, 2004, 7(1-2): 63-71.
- [27] NELSON S S, GLOCKA P P, AGARWAL S, et al. *Flavobacterium johnsoniae SprA* is a cell surface protein involved in gliding motility[J]. Journal of Bacteriology, 2007, 189(19): 7145-7150.
- [28] JARRELL K F, MCBRIDE M J. The surprisingly diverse ways that prokaryotes move [J]. Nature Reviews Microbiology, 2008, 6(6): 466-476.
- [29] RHODES R G, SAMARASAM M N, SHRIVASTAVA A, et al. *Flavobacterium johnsoniae gldN* and *gldO* are partially redundant genes required for gliding motility and surface localization of *sprB*[J]. Journal of Bacteriology, 2010, 192(5): 1201-1211.
- [30] SATO K, NAITO M, YUKITAKE H, et al. A protein secretion system linked to bacteroidete gliding motility and pathogenesis[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2010, 107(1): 276-281.
- [31] BRAUN T F, MCBRIDE M J. *Flavobacterium johnsoniae GldJ* is a lipoprotein that is required for gliding motility[J]. Journal of Bacteriology, 2005, 187(8): 2628-2637.
- [32] HUNNICUTT D W, MCBRIDE M J. Cloning and characterization of the *Flavobacterium johnsoniae* gliding motility genes *gldD* and *gldE*[J]. Journal of Bacteriology, 2001, 183(14): 4167-4175.
- [33] SATO K, SAKAI E, VEITH P D, et al. Identification of a new membrane-associated protein that influences transport/maturation of gingipains and adhesins of *Porphyromonas gingivalis*[J]. Journal of Biological Chemistry, 2005, 280(10): 8668-8677.
- [34] ECONOMOU A, CHRISTIE P J, FERNANDEZ R C, et al. Secretion by numbers: protein traffic in prokaryotes[J]. Molecular Microbiology, 2006, 62(2): 308-319.
- [35] GARDY J L, LAIRD M R, CHEN F, et al. PSORTb v. 2.0: expanded prediction of bacterial protein subcellular localization and insights gained from comparative proteome analysis[J]. Bioinformatics, 2005, 21(5): 617-623.
- [36] HOLLAND I B. The Extraordinary Diversity of Bacterial Protein Secretion Mechanisms[M]. Clifton USA: Humana Press, 2010. 1-20.
- [37] 刘礼辉, 李宁求, 石存斌, 等. TAIL-PCR 方法克隆约氏黄杆菌 *aroA* 基因序列[J]. 安徽农业科学(LIU Li-hui, LI Ning-qiu, SHI Cun-bin, et al. Cloning and analysis of *aroA* gene sequence of *Flavobacterium johnsoniae* through TAIL-PCR[J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 2010, 38(32): 18074-18076.
- [38] SOLTANI M, MUNDAY B, CARSON J. Susceptibility of some freshwater species of fish to infection by *Cytophaga johnsonae*[J]. Bulletin of the European Association of Fish Pathologists, 1994, 14(4): 133-135.
- [39] CARSON J, SCHMIDTKE L M, MUNDAY B L. *Cytophaga johnsonae*: a putative skin pathogen of juvenile farmed barra mundi, *Lates calcarifer* Bloch[J]. Journal of Fish Diseases, 1993, 16(3): 209-218.