

文章编号:1000-0615(2009)05-0871-07

大口黑鲈病毒性溃疡病病原的分离和鉴定

邓国成, 谢 骏, 李胜杰, 白俊杰,
陈昆慈, 马冬梅, 江小燕, 劳海华

(中国水产科学研究院珠江水产研究所, 中国水产科学研究院热带亚热带鱼类选育
与养殖重点开放实验室, 广东 广州 510380)

摘要:对广东省佛山地区2008年夏季高温时期暴发的大口黑鲈溃疡病的病原进行分离,从患病鱼的病灶肌肉组织中分离到5株嗜水气单胞菌,人工感染健康大口黑鲈,均未出现溃疡暴发病的典型症状——病鱼体表大片溃烂,裸露肌肉坏死并有出血,尾鳍、胸鳍和背鳍基部红肿溃烂。制备病灶肌肉组织的除菌过滤液,背部肌肉注射感染健康大口黑鲈,7 d后出现典型的溃疡病症状。取自然发病鱼和人工感染的患病鱼病灶肌肉组织制作超薄切片,经电镜观察,均发现组织中有大量病毒颗粒,病毒粒子有囊膜,呈六角形,为正20面体对称结构,大小约为145.5 nm。根据已知虹彩病毒主要衣壳蛋白(MCP)基因序列设计特异引物,提取人工感染发病鱼病灶肌肉组织的DNA进行PCR扩增,将扩增片段进行序列测定与分析,结果表明该序列与已报道的虹彩病毒MCP基因有着较高同源性(39.5%~100%)。从电镜观察和MCP基因测序分析结果确认该病毒为虹彩病毒科蛙病毒属中的一种病毒,与国外报道的大口黑鲈病毒(LMBV)在分子特性和引起的疾病特征上有一定差异。研究结果表明引起大口黑鲈溃疡性暴发病的病原是虹彩病毒,将该病暂命名为大口黑鲈病毒性溃疡病。

关键词:大口黑鲈;溃疡病;病原;虹彩病毒

中图分类号:S 941.41*7

文献标识码:A

大口黑鲈(*Micropterus salmoides* Lacépède)俗名加州鲈,原产于北美密西西比河流域,自上世纪八十年代引入我国大陆后,因其生长快,肉质鲜美,已成为我国淡水养殖的重要品种,年产量在 10×10^4 t以上^[1-3]。2008年6-10月期间,在广东省佛山市的龙江镇、勒流镇和九江镇的养殖鱼塘先后出现大口黑鲈大面积发病和死亡,病鱼的症状主要表现为病鱼体表大片溃烂,裸露肌肉坏死并有出血,尾鳍、胸鳍和背鳍基部红肿溃烂,部分病鱼体色变黑,眼有白内障,或伴有心脏血块聚积,鳃动脉扩张淤血,鳃丝和肝脏发白,少数病鱼螺旋游动,且出现肝、脾、肾肿大并伴有出血。使用二氧化氯和二氯异氰尿酸钠等消毒药和氟哌酸等抗菌药物进行治疗,结果均未见疗效。初步调

查发现,该病全年均有发生,但主要发生在25~32℃高水温期。该病发病急、死亡率高,给养殖者造成了巨大的损失,已对大口黑鲈养殖产业构成了严重威胁。为了查明发病原因,在疾病调查的基础上开展了病原体分析研究。

1 材料与方法

1.1 实验材料

2008年8月和9月从佛山市南海区九江镇分2批次共采取了20尾具有典型溃疡症状的发病大口黑鲈,体重150~300 g,症状为病鱼体表大片溃烂,裸露肌肉坏死并有出血,尾鳍、胸鳍和背鳍基部红肿溃烂。供感染用的健康大口黑鲈取自珠江水产研究所良种基地,体长为12~13 cm。

收稿日期:2009-01-18 修回日期:2009-04-06

资助项目:国家科技支撑项目(2006BAD01A1209);广东省科技计划项目(2007B020708008);广东省科技兴渔项目(B200701A06);

通讯作者:白俊杰,E-mail:jjbai@163.net

1.2 细菌的分离与鉴定

以无菌操作直接从大口黑鲈病鱼肌肉病灶处取样进行普通营养琼脂和 R-S 培养基^[4] 平板划线分离, 28 ℃ 培养 24 ~ 48 h, 纯化后的菌落按参考文献[5]介绍的方法进行鉴定及感染健康鱼。

1.3 病毒悬液的制备

取溃疡肌肉组织 1 g, 用 0.65% 的生理盐水按 1:10 的比例用匀浆器研磨, 制成组织悬液, -20 ℃ 冻融一次后, 10 ℃ 下 10 000 r/min 离心 30 min, 取上清液, 再经 0.22 μm 的微孔过滤器过滤除菌, 过滤后的除菌液经再次划平板培养, 确认无菌后用来感染试验鱼。

1.4 病灶肌肉组织的超薄切片与观察

用解剖刀从自然发病鱼和人工感染鱼的病灶肌肉组织处取 0.5 ~ 1.0 mm³ 大小的组织块, 放进装有戊二醛的小瓶进行固定, 用 0.1 mol/L pH 7.0 磷酸缓冲液漂洗后, 依次用 2% 锇酸固定、乙醇系列脱水、Spurr 包埋、切片, 用醋酸铀柠檬酸铅双染色, PHILIPS CM10 电镜观察。

1.5 感染试验

细菌感染试验 用无菌棉签沾取纯化后的菌落涂布在人为划伤的健康大口黑鲈背部体表, 每株细菌各感染 10 尾大口黑鲈, 另设 1 组人为划伤体表且未经感染的试验鱼作为对照, 将各组试验鱼分组放在相同条件的水族缸中饲养, 每日观察其发病情况。

病毒感染试验 用组织过滤病毒原液的 1/10 和 1/100 的稀释液 (0.65% 的生理盐水稀释) 分别注射健康大口黑鲈背鳍基部处肌肉, 每种浓度注射 10 尾, 每尾注射量为 0.2 mL, 同时注射生理盐水 10 尾作为对照, 每日观察发病情况。细菌感染试验和病毒感染试验的水体均为 100 L, 试验期间水温控制在 28 ℃ 左右。

病毒重新分离和感染试验 将人工感染出现有明显症状的病鱼再次制备组织过滤液进行感染试验, 方法同上。

1.6 MCP 基因的扩增与序列测定

PCR 扩增引物 P1 (5'-GACTTGCCACTTATGAC-3') 和 P2 (5'-GTCTCTGGAGAAGAAGAA-3') 参照文献[6]中的鱼类虹彩病毒 MCP 基因扩增引物设计, 并委托上海英骏生物技术有限公司进行合成, 用 ddH₂O 溶解至终浓度为 20 μmol/L。采用 Tiangen 公司提取基因组 DNA 试剂盒来

分别提取人工感染后显典型症状的大口黑鲈病灶肌肉组织和健康大口黑鲈肌肉组织 DNA, 方法参照试剂盒说明书进行。提取的 DNA 经琼脂糖凝胶电泳检测后进行 PCR 扩增, 反应体系为 50 μL, 含有 10 × Buffer (含 Mg²⁺) 5.0 μL, dNTPs (10 mmol/L) 1 μL, 上、下游引物 (20 pmol/L) 各 1 μL, Taq DNA 聚合酶 3 U, 模板 DNA 60 ng 左右。反应程序是 94 ℃ 预变性 3 min; 94 ℃ 变性 30 s, 55 ℃ 复性 30 s, 72 ℃ 延伸 30 s, 共循环 32 次; 72 ℃ 延伸 10 min。取 5 μL PCR 产物在 1% 的琼脂糖上进行凝胶电泳, 紫外灯下观察结果并拍照, 将剩余 PCR 扩增产物进行纯化回收, 送上海英骏生物科技有限公司进行序列测定。

2 结果与分析

2.1 发病大口黑鲈临床症状

此次流行暴发的大口黑鲈溃疡病的发生温度为 25 ~ 32 ℃, 病鱼体表大片溃烂, 裸露肌肉坏死并有出血, 尾鳍、胸鳍和背鳍基部红肿溃烂 (图 1), 部分病鱼体色变黑, 眼有白内障, 或伴有心脏血块聚积, 鳃动脉扩张淤血, 鳃丝和肝脏发白, 少数病鱼螺旋游动, 肝、脾、肾肿大并伴有出血。

2.2 细菌的分离及人工感染

从典型症状的大口黑鲈病灶肌肉处取样, 于普通营养琼脂及 R-S 培养基上分别培养, 两者均有细菌生长, 经鉴定主要为嗜水气单胞菌, 挑选其中 5 株用于人工感染试验, 结果显示, 从感染的第 2 天开始, 试验鱼的划伤部位均有不同程度的发炎和溃疡, 10 d 后开始愈合, 均未复制出自然发病鱼的典型症状, 初步表明所分离的细菌不是引起大口黑鲈溃疡病的病原。

2.3 病毒悬液的人工感染

将制备的病毒悬液注射感染健康大口黑鲈, 第 7 天开始, 组织过滤病毒原液 1/10 和 1/100 的稀释液的感染组分别有 8 和 7 尾开始出现溃疡病典型症状, 至第 9 天 2 个感染组的试验鱼全部染病, 染病后 3 ~ 5 d 全部死亡。病鱼症状表现为体色变黑, 注射部位肌肉红肿, 表皮腐脱, 肌肉坏死并开始溃烂, 病灶面积逐步扩大, 部分病鱼伴有白内障, 感染鱼的发病症状与自然发病鱼的症状相似, 而对照组均未出现患病症状且无死亡。另外, 将人工感染出现有明显症状的病鱼再次制备病灶肌肉组织过滤液进行感染实验, 结果与初次感染



图1 自然发病鱼和症状
箭头指示病灶

Fig.1 The naturally infected fish and symptom
Arrow denotes focus

结果一致,表明此次溃疡性暴发病是由病毒引起的。

2.4 病灶肌肉组织的电镜观察

将自然发病鱼的病灶肌肉组织进行电镜观察,结果发现,细胞质中存在大量的病毒样颗粒,

直径大小约为 145.5 nm,有囊膜,均呈六角形,为二十面体对称结构。被病毒感染的细胞膜破裂,包浆肿胀,肌细胞核固缩,肌丝溶解(图 2)。人工感染发病鱼的病灶肌肉组织切片的观察结果与自然发病鱼的结果相似(图 2-2,3)。

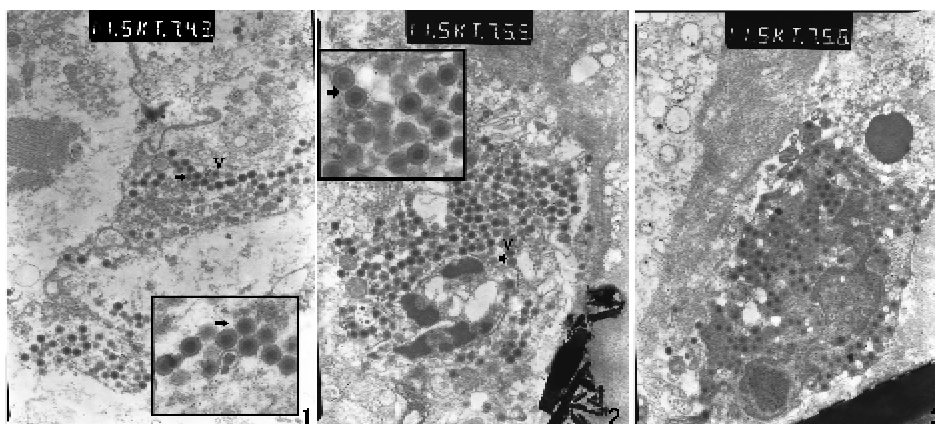


图2 肌肉组织中病毒颗粒的观察
1. 自然发病鱼; 2,3. 人工感染显症鱼

小图指示大图中的 V 字母附近区域,被放大 ×28 000

Fig.2 The virus in the musculature of diseased fish

1. naturally infected fish; 2,3. experimentally infected fish

the magnified figure (×28 000) in big figure denoted the area near V letter

2.5 病毒 MCP 基因扩增和测序分析结果

用提取的病灶肌肉组织 DNA 作为模板,PCR 扩增 MCP 基因,扩增产物经检测有唯一且与预期大小相符的条带出现,大小约为 500 bp,而对照样品未检测到扩增条带(图 3)。将扩增产物纯化后

测序,测序结果图 4。将获得的序列输入到 NCBI 数据库中进行 BLAST,发现该序列与虹彩病毒科病毒的 MCP 基因序列聚在一起,与已报道的细胞肿大病毒属的传染性脾肾坏死病毒^[7](ISKNV, AF370008)、虹彩病毒属的草地金龟甲虹彩病毒

(*costelytra zealandica iridescent virus*, CzIV; AF025775)、蝙蝠蛾虹彩病毒(*wiseana iridescent virus*, WIV; AF025774)、淋巴囊肿病毒属的 LCDV-1(L63545)、蛙病毒属的 FV3(U36913)、裂唇鱼病毒^[6](*doctor fish virus*, DFV)和大口黑鲈病毒(*largemouth bass virus*, LMBV; AF080250)、绿虹彩病毒属的 *Invertebrate iridescent virus 3*(DQ643392) MCP 氨基酸序列进行比对(图 5),结果表明,该序列与 DFV 和 LMBV 的 MCP 氨基酸序列的同源性最高,分别为 100% 和 98.0%,与其他虹彩病毒 MCP 的氨基

酸的一致性介于 39.5% ~ 81.6%,表明该病毒在分类上属于虹彩病毒科蛙病毒属。

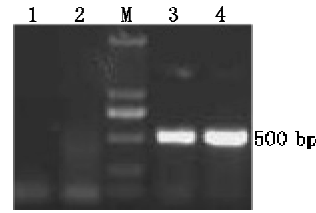


图3 患溃疡病大口黑鲈肌肉组织 DNA 的 PCR 扩增结果

1,2. 健康大口黑鲈; 3,4. 患病大口黑鲈

Fig. 3 PCR amplification results of muscle in largemouth bass with ulcerative disease

1,2. healthy largemouth bass; 3,4. diseased largemouth bass

```

1   ACTTATTTGGTCAAAGAGCATTATCCCGTGGGTTFG3TITACCAAACTGCCTACGGCTGCC
61  ACAAAAACCTICT3GTACGGCTSCPTTCGGGCGAGCACITTTCCGTAGGAGTGGCCAGGTCC
121  GGGACATATCTGCTCAACICTTTCCCTCCTCCTCAAGACCCGCCAGATTAACCTCCTGCCG
181  GGCBAACAGTTTAAACAATGACGGTACCATCAGATGAGACCAAAAATCTCATGCAAAACGTT
241  CTCCACCAACCCCGCACTCCTCTTCAACGAGATTCAAGCCACCACCTTAAACACIGCTTTC
301  CTGCAAGCCCTGGAAACGAGTACACCAATGCCCCGAGGCCAAGCCCATCGGCTACTACAAACATG
361  ATTGSCAAACACTAGCCATCTCTTCAATCCCGCCCCCGCCACCCGCTCAAGCAGSAGCTAGS
421  GTCTTGCCCCCCAAAACCTTGTCTTCTCTCTCCC

```

图4 大口黑鲈溃疡病病毒 MCP 基因部分序列

Fig. 4 A part of nucleotide sequence of MCP gene of the virus from largemouth bass ulcerative disease

3 讨论

上世纪 90 年代大口黑鲈溃疡病已有报道^[9-10],邓国成等^[11]从加州鲈溃疡病病灶肌肉组织中分离出嗜水气单胞菌(*Aeromonas hydrophila*)和温和气单胞菌(*Aeromonas sobria*),通过皮肤划伤感染导致大口黑鲈产生溃疡,而皮肤无划伤的对照试验鱼没有出现,认为嗜水气单胞菌和温和气单胞菌是溃疡病的致病菌;黄文芳等^[12]从加州鲈溃疡病灶中分离出镰刀菌,同样通过体表皮肤划伤感染也能使试验鱼出现溃疡症状,皮肤无划伤试验鱼没有出现患病症状,认为加州鲈皮肤溃烂病与镰刀菌有密切的关系。但这两篇文献所报导的溃疡病都是在水温比较低的冬春季节时发生,病情发展缓慢,其症状主要表现为体表及头部出现圆形或椭圆形的红斑,严重时病灶腐烂呈灰白色,并伴有头部骨头裸露,下鄂骨断

裂,鳍条缺损等,用抗菌素和二氧化氯消毒剂可治愈该病。而本次溃疡病发生在夏季的高水温时期,表现的症状主要为体表、尾鳍、胸鳍和背鳍基部出现溃烂,部分病鱼体色变黑,眼有白内障,或伴有心腔血块聚积,鳃动脉扩张淤血,鳃丝和肝脏发白,与低温溃疡病的症状有较大差异。本实验除菌过滤液感染健康大口黑鲈可重现出与自然发病相似的症状,而分离的嗜水气单胞菌感染的健康大口黑鲈均未出现患病症状,结果表明引起此次大口黑鲈溃疡病的病因是病毒性传染病,而从电镜观察和 MCP 基因测序分析结果可进一步确认该病毒为虹彩病毒科中的一种病毒,我们将此病毒暂命名为大口黑鲈溃疡病病毒,将由此病毒引起的溃疡病暂定名为大口黑鲈病毒性溃疡病,有关大口黑鲈溃疡病的病毒病例在国内尚属首次报道。

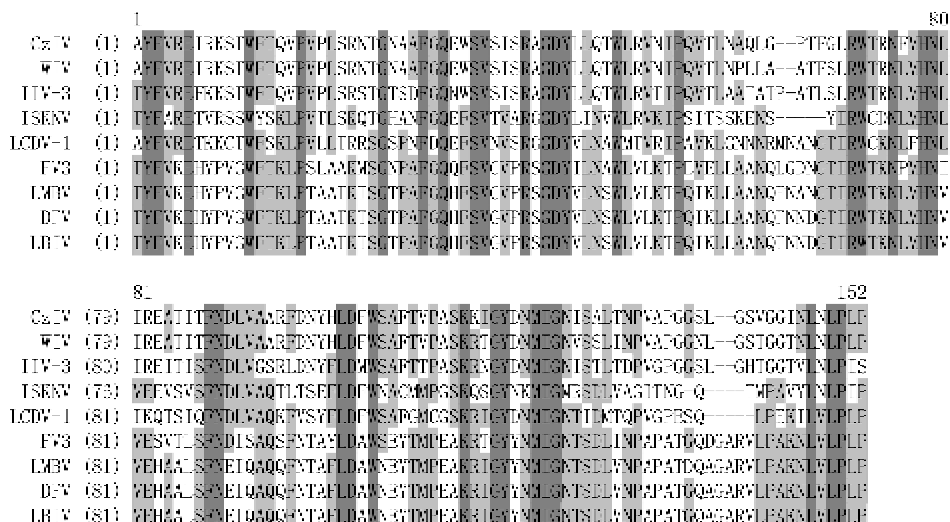


图5 大口黑鲈溃疡病病毒 MCP 氨基酸序列与其他虹彩病毒的同源性比较

LBIV 代表大口黑鲈溃疡病病毒,完全一致序列用深色区域表示,部分一致序列用浅色区域表示,缺失的氨基酸用横线“-”表示

Fig. 5 Multiple amino acid sequence alignment of largemouth bass ulcerative disease virus MCP and other known MCP of ISKNV, CzIV, IIV3, LCDV-1, WIV, LMBV, DFV and FV3

LBIV denotes largemouth bass ulcerative disease virus. Identical amino acid residues are underlaid dark gray, whereas similar residues are marked light gray. Gaps are indicated by a dash (-)

1996 年在大口黑鲈原产地美国报道了一种叫大口黑鲈病毒(largemouth bass virus, LMBV)的传染性病原^[13],分子特性研究表明该病毒隶属于虹彩病毒科,蛙病毒属^[8]。本实验分离得到的大口黑鲈溃疡病病毒在病毒粒子大小和形态特征上与 LMBV 基本一致,进一步的 MCP 基因分析结果表明,该病毒与 LMBV 的 MCP 基因核苷酸和推测的氨基酸的同源性分别为 97.8% 和 98.0%,说明该病毒为蛙病毒属中的一种,与 LMBV 很相似,但并不完全一样。有研究表明, LMBV 可对多种鱼类进行感染,但只对大口黑鲈产生致命危害,且只有部分带病毒的大口黑鲈才出现病症^[14],其疾病特征与本文报道的病毒性溃疡病有一定差异,主要表现为病毒性溃疡病病鱼体表、尾鳍、胸鳍和背鳍基部出现红肿溃烂,而大口黑鲈病毒病没有出现上述症状^[15],这也从侧面反映出这两种病毒不是同一种病毒。Hedrick 等^[16]曾经从东南亚地区的观赏鱼 doctor fish (*Labroides dimidiatus*) 和 guppy fish (*Poecilia reticulata*) 中分离出非致病性病毒 DFV (doctor fish virus) 或 GV6 (guppyfish iridovirus 6),有研究推测这些病毒经水族交易途径传播到美国并感染大口黑鲈而形成了 SCRV (santee-cooper ranavirus) 新毒株 LMBV^[8,17-18]。这两种病毒的

蛋白图谱、基因组酶切图谱研究结果表明,DFV 与 LMBV 存在微小差异^[8]。本实验中虹彩病毒 MCP 基因氨基酸序列分析结果表明,溃疡病病毒与 LMBV 之间有 3 个氨基酸残基差异,与 DFV 则完全一致。国内养殖大口黑鲈自引进之后 20 多年内并未暴发大规模高致死率的溃疡病,在 2006-2008 年期间才出现该病。因此推测此次暴发溃疡病是由观赏鱼 DFV 病毒传播感染大口黑鲈所致。大口黑鲈暴发性溃疡病病原的确定为该病的防治奠定了基础。

参考文献:

[1] 张韵桐,何幼发. 大口黑鲈养殖研究[J]. 湛江水产学院学报, 1994, 14(1): 23-28.

[2] 梁素娴,白俊杰,叶星,等. 养殖大口黑鲈的遗传多样性分析[J]. 大连水产学院学报,2007, 22(4): 260-263.

[3] 陆伟民. 大口黑鲈仔、稚鱼生长和食性的观察[J]. 水产学报,1994, 18(4): 330-334.

[4] 凌红丽,陆承平. 嗜水气单胞菌选择培养基鉴别效果的比较[J]. 中国兽药杂志,1998,32(4): 6-9.

[5] 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: 68-71.

- [6] Mao J, Hedrick R P, Chinchar V G. Molecular characterization, sequence analysis, and taxonomic position of newly isolated fish iridoviruses [J]. *Virology*, 1997, 229(1): 212-220.
- [7] 邓敏,翁少萍,关浩基,等. 鳊传染性脾肾坏死病毒主衣壳蛋白基因结构及序列分析[J]. *病毒学报*, 2003, 19(2): 154-158.
- [8] Mao J, Wang J, Chinchar G D, *et al.* Molecular characterization of a ranavirus isolated from largemouth bass *Micropterus salmoides* [J]. *Dis Aquat Organ*, 1999, 37(2): 107-114.
- [9] 李海文,陈信廉,邹为民. 加州鲈鱼溃疡病原的研究[J]. *珠江水产*, 1994(20): 89-94.
- [10] 邓国成,姜兰. 加州鲈鱼病害调查及其防治[J]. *鱼类病害研究*, 1994, 16(4): 12-15.
- [11] 邓国成,姜兰,许淑英. 加州鲈鱼溃疡病致病菌的研究[C]. *淡水名优水产品养殖技术研讨会论文集*, 1995: 19-25.
- [12] 黄文芳,陈红,胡朝晖,等. 鱼类镰刀菌的研究 I. 从大口黑鲈病灶上分离的镰状镰刀菌的研究[J]. *水生生物学报*, 1996, 20(4): 345-351.
- [13] Plumb J A, Grizzle J M, Young H E, *et al.* An iridovirus isolated from wild largemouth bass[J]. *J Aquat Anim Health*, 1996, 8: 265-270.
- [14] Goldberg T L. Largemouth bass virus: An emerging problem for warmwater fisheries? [C]. *American Fisheries Society Symposium*. American Fisheries Society, 2002, 411-418.
- [14] Zilberg D, Grizzle J M, Plumb J A. Preliminary description of lesions in juvenile largemouth bass injected with largemouth bass virus[J]. *Dis Aquat Organ*, 2000, 39(2): 143-146.
- [16] Hedrick R P, McDowell T S. Properties of iridoviruses from ornamental fish[J]. *Vet Res*, 1995, 26(5-6): 423.
- [17] Mayo M A, Horzinek M C. A revised version of the international code of virus classification and nomenclature[J]. *Arch Virol*, 1998, 143(8): 1645-1654.
- [18] Williams T. The iridoviruses[J]. *Advances in virus research*, 1996, 46: 345-412.

欢迎订阅 2010 年《上海海洋大学学报》

《上海海洋大学学报》为上海海洋大学主办,面向全国的以海洋、水产科学技术为主的综合性学术刊物。前身为《上海水产大学学报》,2009年起因学校更名而变更刊名。主要刊登研究论文,少量刊登综述、评述、简讯,并酌登学术动态和主要书刊评介等。目前学报是《中国科学引文数据库》来源期刊,《中国学术期刊综合评价数据库》来源期刊,《中国期刊网》、《中国学术期刊(光盘版)》全文收录期刊,万方数据-数字化期刊群全文收录期刊,中国科技论文统计源核心期刊,水产渔业类中文核心期刊。学报在 2008 版的中国科技期刊引证报告中的影响因子是 0.613。

本刊为双月刊,大 16 开,国内外公开发行人。每期单价:10.00 元。国际标准刊号:ISSN 1674-5566,国内统一刊号:CN 31-2024/S。国内邮发代号:4-604,国际发行代号:4822Q。读者可在当地邮局订阅,也可直接汇款至编辑部订阅,学生享半价订阅优惠。

编辑部联系地址:上海市临港新城沪城环路 999 号,上海海洋大学 201 信箱

邮政编码:201306

联系人:张海宁,孙海燕

联系电话:021-61900229

传真:021-61900227

E-mail: xuebao@shou.edu.cn

Isolation and preliminary identification of the pathogen from largemouth bass ulcerative syndrome

DENG Guo-cheng, XIE Jun, LI Sheng-jie, BAI Jun-jie,
CHEN Kun-ci, MA Dong-mei, JIANG Xiao-yan, LAO Hai-hua

(Key Laboratory of Tropical & Subtropical Fish Breeding & Cultivation, Pearl River Fisheries Research Institute,
Chinese Academy of Fishery Sciences, Guangzhou 510380, China)

Abstract: A largemouth bass ulcerative disease broke out in the summer and autumn of 2008 at Foshan area of Guangdong Province. The clinical signs of this disease were a great size of ulcer and necrosis on body surface and inflamed fin bases. The ulcerative disease broke out quickly and caused a high rate of mortality, which led to large losses for many largemouth bass breeding farms and threatened its aquaculture industry. So it was necessary to find out the cause of this disease and take corresponding countermeasures for prevention and cure or diagnosis. In this research, in order to identify the pathogen of largemouth bass ulcerative disease, five *Aeromonas hydrophila* strains were isolated from the muscle of diseased fish for artificial infection. Experimental infection under aquarium conditions suggested the infected largemouth bass did not show any clinical sign. The homogenated muscle ultra-filtrate from diseased fish with no bacteria was prepared and injected into healthy largemouth bass. 7 days later, these treated largemouth bass showed typical symptoms of ulcerative disease similar to those of natural diseased fish. The muscle specimens of artificially infected and naturally diseased largemouth bass were prepared and made into ultra-thin sections for observing the morphological character of the pathogen. Electron microscopic observation showed that a large amount of viral particles existed in the cytoplasm. The matured particles were enveloped and had hexagonal outline. The diameter of these virions was about 145.5 nm. A pair of primers based on the conserved region of the reported iridovirus major capsid protein (MCP) gene was designed, and a 530 bp fragment was amplified from the DNA extracted from the muscle of artificial infected largemouth bass and sequenced. The amino acid sequence showed 39.5% – 100% homology with the MCP gene sequences of other iridoviruses. Both electron microscopic observation and MCP gene sequences analysis results showed the virus belonged to the genus ranavirus of family Iridoviridae, which was different from LMBV on molecular character and induced clinical signs. These results indicated that this virus was the lethal pathogen of largemouth bass ulcerative disease. The ulcerative disease reported here was designated temporally largemouth bass ulcerative syndrome.

Key words: largemouth bass (*Micropterus salmoides*); ulcerative disease; pathogen; iridovirus