

文章编号: 1674-5566(2012)01-0048-06

灰额刺尾鱼溃疡病病原分离及鉴定

张 季, 潘连德

(上海海洋大学 省部共建水产种质资源发掘与利用教育部重点实验室, 上海 201306)

摘 要: 从灰额刺尾鱼(*Acanthurus glaucopareius*)体表溃烂处及内脏器官中分离到5株较强致病力的菌株, 经过人工感染健康鱼证实该菌株是致病菌。对该病原菌进行了形态、生理生化反应测试, 结果显示为溶藻弧菌(*Vibrio alginolyticus*)。应用细菌16S rDNA的通用引物对该菌基因组DNA进行PCR扩增、克隆测序, 得到1条长度为1392 bp的核苷酸序列, 该序列与溶藻弧菌(登录号GQ455008)的16S rDNA基因序列同源性达99%, 进一步确定该致病菌为溶藻弧菌。药敏试验结果表明, 该菌株对痢特灵、氟哌酸、环丙沙星等药物敏感, 对甲氧胺嘧啶、氨苄青霉素、阿米卡星、青霉素等药物耐药。

研究亮点: 通过系统的病原学试验研究, 证实了灰额刺尾鱼溃疡病的病原为溶藻弧菌, 并验证了该病原菌的药物敏感性等特性, 以及对该病的病症、病因及临床治疗方法进行了分析, 这些结论尚属首次报道, 为灰额刺尾鱼溃疡病以及其他海水观赏鱼同类疾病的临床诊断和防治技术提供科学依据。

关键词: 灰额刺尾鱼; 溶藻弧菌; 溃疡病; 病原鉴定

中图分类号: S 941.42

文献标志码: A

灰额刺尾鱼(*Acanthurus glaucopareius*), 属于鲈形目(Perciformes)、刺尾鱼科(Acanthuridae)、刺尾鱼属(*Acanthurus*), 俗名花倒吊, 是一种比较常见的海水观赏鱼, 主要分布于东印度洋和太平洋海域^[1]。关于海水观赏鱼疾病防治方面的文献资料相当有限, 从业者遇到问题时, 基本都是参考海水经济鱼类养殖与疾病防治方法。海水鱼类溃疡病是一种比较常见的细菌性疾病, 大黄鱼(*Pseudosciaena crocea*)溃疡病是由费氏弧菌(*Vibrio fischeri*)引起的^[2], 同样哈维氏弧菌(*Vibrio harveyi*)能引起海水养殖青石斑鱼(*Epinephelus awoara*)、鲈鱼(*Lateolabrax japonicus*)、斜带石斑鱼(*Epinephelus coioides*)等鱼类不同程度的体表溃疡病^[3-5]。LOVE等^[6]报道海水雀鲷科鱼(*Chromis punctipinnis*)皮肤溃烂病由美人鱼弧菌(*Vibrio damsela*)导致。近几年来, 灰额刺尾鱼经常发生溃疡病, 病鱼出现大量死亡, 主要症状为行动迟缓, 精神不振, 停止摄

食, 体表多处出现溃烂, 鱼鳍充血, 这种溃疡病严重影响灰额刺尾鱼的观赏价值及经济价值。本研究对2010年3月海南某观赏鱼养殖场的灰额刺尾鱼溃疡病致病菌进行分离鉴定和药物敏感试验, 为灰额刺尾鱼溃疡病以及其他海水观赏鱼同类疾病的临床诊断和防治技术提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

患病灰额刺尾鱼取自海南省海口市某观赏鱼养殖场, 体重(154.0 ± 28.0) g, 体长(18.0 ± 2.1) cm, 病鱼病症表现为行动迟缓, 食欲减退, 体表溃烂, 鱼鳍伴有充血现象, 眼球突出, 晶体混浊, 角膜溃烂, 肠道内无内容物, 肝脏肿胀, 肾脏肿大, 肛门红肿(图1)。人工感染用健康灰额刺尾鱼, 体重(200.0 ± 3.4) g, 体长(15.0 ± 0.8) cm, 购于上海曹杨花鸟市场。

普通营养琼脂、TCBS 营养琼脂购自杭州微

收稿日期: 2011-01-06 修回日期: 2011-11-21

基金项目: 上海市重点学科建设项目(Y1101)

作者简介: 张 季(1986—), 男, 硕士研究生, 研究方向为观赏鱼临床兽医学。E-mail: jackyzy1986@hotmail.com

通讯作者: 潘连德, E-mail: ldpan@shou.edu.cn

生物试剂有限公司,2216 E 营养琼脂购自青岛海博生物技术有限公司,药敏纸片购自杭州天和微生物试剂有限公司。



图 1 患病的灰额刺尾鱼

Fig. 1 Diseased *Acanthurus glaucopareius*

1.2 病原分离

取发病症状典型的濒死病鱼,以 75% 酒精棉反复擦拭病鱼体表溃烂处,用接种环挑取病灶组织,在营养琼脂平板(含 3% NaCl)和 2216 E 海水培养基平板划线。然后继续无菌操作进行解剖,取出病鱼的肝、胆、肾、脑、脾等组织小块于无菌离心管中,无菌盐水冲洗组织块,用无菌棉签将组织捣碎,并蘸取少量组织液接种于营养琼脂平板(含 3% NaCl)和 2216 E 海水培养基平板。28 °C 恒温培养 24 h 后,挑取形态特征一致的优势菌落进行分离纯化,再接种于 TCBS 培养基进行培养,将获得的菌株斜面培养,长出菌苔后,试管封口和液体石蜡分别保存于 4 °C 冰箱备用。

1.3 人工感染试验

试验用健康灰额刺尾鱼按每组 8 尾,共分 4 组,饲养于水族循环系统中,观察 7 d,检验试验鱼健康、无疾病,然后进行攻毒,攻毒期间正常喂食。将分离菌株接种于营养琼脂平板(含 3% NaCl),28 °C 培养 16 ~ 18 h 后,用无菌生理盐水将菌苔洗下,对照麦氏比浊管制成浓度为每毫升 3×10^8 菌落形成单位的菌悬液。采用以下两种方法感染。

(1) 注射法:按每尾 0.1 mL 进行肌肉注射;空白对照组,按每尾 0.1 mL 肌肉注射无菌生理盐水。

(2) 浸泡感染:将灰额刺尾鱼放入海水水族箱(60 cm × 40 cm × 40 cm)后,加入终浓度为每毫升 3×10^8 菌落形成单位的菌悬液 10 mL,浸泡

20 min 后移入水族循环系统常规饲养;空白对照组灰额刺尾鱼放入海水水族箱(60 cm × 40 cm × 40 cm)后,加入无菌生理盐水 10 mL,浸泡 20 min 后移入水族循环系统常规饲养。

观察感染鱼的发病死亡情况,连续观察 15 d,并对发病的鱼及时剖检和致病菌株的再次分离。

1.4 细菌形态观察及生理生化试验

首先对菌株作革兰氏染色,在光学显微镜下观察细菌形态。生理生化试验采用 ATB 微生物鉴定系统(法国梅里埃)和 API ID 32E 自动鉴定卡,按说明所述方法进行鉴定,并按东秀珠和蔡妙英^[7]所述测定生理生化方法进行补充鉴定。

1.5 药敏试验

采用药敏纸片扩散法,将菌株接种于营养琼脂培养基上(含 3% NaCl),28 °C 恒温培养 24 h 后,用接种针挑取单菌落于 0.85 % 的无菌生理盐水中,对照麦氏比浊管制成浓度为每毫升 1×10^8 菌落形成单位的菌悬液,吸取 100 μL 菌悬液均匀涂布于营养培养基上(含 3% NaCl)。用无菌镊子将抗生素纸片轻轻贴在培养基表面,28 °C 恒温培养 24 h 后,测定抑菌圈的直径。药物敏感判定标准参照杭州天和微生物试剂有限公司提供的使用说明书。

1.6 16S rDNA 序列测定与分析

PCR 模板 DNA 的制备:按照上海生工生物工程公司基因组 DNA 提取试剂盒的操作手册,提取细菌基因组 DNA。

16S rDNA 扩增与纯化:引物采用细菌 16S rDNA 序列扩增的通用引物,正向引物为 27F:5'-GAGTTGGAACGGGTGAG-3',反向引物为 1492R:5'-GGTTACCTTGTACGACTT-3'。PCR 反应体系(50 μL):5 μL 10 × PCR 缓冲溶液(含 Mg⁺),1 μL 10 mmol/L 4 × dNTP,各 1 μL 10 μmol/L 正向和反向引物,0.25 μL 5 U/μL Taq DNA 聚合酶,1 μL 模板。PCR 反应条件:98 °C 预变性 5 min,95 °C 变性 35 s,55 °C 复性 35 s,72 °C 温育 1 min 30 s,35 个循环,延伸 8 min。扩增产物经电泳检测后,经柱式 DNA 胶回收试剂盒回收 PCR 产物,送至上海生工生物工程公司进行序列测定。测序结果登录 GenBank 中进行 BLAST 序列同源性分析,构建系统发育进化树。

2 结果

2.1 菌落形态特征

采样眼部病灶进行显微镜镜检,未发现寄生虫感染。从患病鱼的皮肤溃烂处、脾脏和肾脏等组织分离出病原菌各 1 株,共计 5 株。在营养琼脂上生长良好,菌落呈圆形,表面光滑,有光泽,湿润,边缘整齐,直径 3~5 mm;在 TCBS 培养基上菌落呈圆形,表面光滑,有光泽,湿润,边缘整齐,黄色菌落,直径 4~6 mm。对 5 株菌所测的生理生化特征相同,故判定为同一种细菌,将体表分离出的菌株记为 C100311。

2.2 人工感染试验结果

菌株 C100311 肌肉注射健康灰额刺尾鱼后 36 h,注射处皮肤发白、鳞片脱落,72 h 后注射处出现明显的溃疡病灶,局部肌肉溶解坏死,并在

3~5 d 内病情逐渐加重,鳍条基部出现充血,感染率为 100%。解剖感染 96 h 的试验阳性鱼,肠道内有黄色液体,肝脏肿胀,肾脏肿大,肛门红肿,其症状与自然发病病例相同。注射无菌生理盐水对照组鱼正常。菌株 C100311 浸泡感染的灰额刺尾鱼在 72 h 后逐步出现食欲下降、行动迟缓、反应迟钝等症状,6 d 后开始出现呼吸困难,鳃盖内皮肤充血发炎,鳃上的粘液增多,鳃丝肿胀。感染鱼集中第 9~15 d 出现阳性,鳍条基部出现轻微充血,感染率达 75%,解剖感染 360 h 的试验阳性鱼,肠道内有少量黄色液体,肠壁无弹性,肾脏充血,其症状与自然发病病例基本相同,对照组鱼未见异常。对同一菌株经两种不同途径感染并出现阳性的灰额刺尾鱼再次进行细菌分离,得到的菌株菌落形态、生理生化特征与 C100311 一致,由此证实 C100311 为病原菌。

表 1 人工回归感染试验结果

Tab.1 Results of artificial infection experiment

分组	每毫升菌悬液的菌落数	剂量/mL	样本数/尾	累计感染数/尾					感染率/%
				3d	6d	9d	12d	15d	
注射	3×10^8	0.1	8	2	3	2	1	0	100
	对照组	0.1	8	0	0	0	0	0	0
浸染	3×10^8	-	8	0	1	2	2	1	75
	对照组	-	8	0	0	0	0	0	0

2.3 细菌生理生化特征

菌株 C100311 革兰氏染色呈红色,为革兰氏阴性杆菌(图 2),显微镜下观察,无荚膜,无芽孢。精氨酸双水解酶、脂酶为阴性,鸟氨酸脱羧酶、氧化酶和脂酶等为阳性,据温度 4 °C 时不生长,盐度为 0 时也不生长等特征判断,其生理生化结果与溶藻弧菌 (*Vibrio alginolyticus*) 一致。菌株 C100311 的生理生化鉴定结果见表 2。

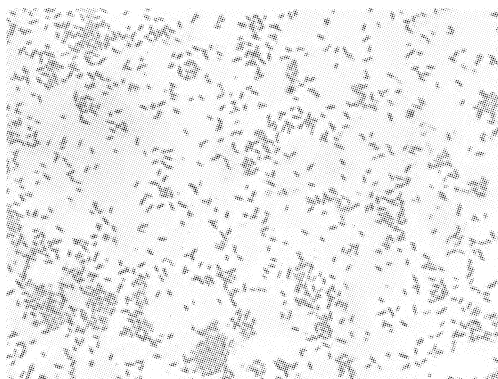


图 2 菌株 C100311 革兰氏染色

Fig.2 Gram stain of strain C100311

表 2 菌株 C100311 的形态和生理生化特征

Tab.2 Morphological, physiological and biochemical characteristics of strain C100311

项目	菌株 C100311	项目	菌株 C100311
革兰氏染色	-	β-葡萄糖酸酶	-
氧化酶	+	海藻糖	+
4 °C 生长	-	鼠李糖	-
10 °C 生长	+	肌醇	-
28 °C 生长	+	纤维二糖	-
40 °C 生长	+	古老糖	-
0% NaCl 生长	-	吡啶产生	+
3% NaCl 生长	+	N-乙酰葡萄糖苷酶	-
6% NaCl 生长	+	β-半乳糖苷酶	-
10% NaCl 生长	+	葡萄糖	+
鸟氨酸脱羧酶	+	蔗糖	+
精氨酸双水解酶	-	L-阿拉伯糖	-
赖氨酸脱羧酶	+	D-阿拉伯糖醇	-
脲酶	+	α-葡萄糖	+
L-阿拉伯醇	-	山梨醇	-
半乳糖酸盐	-	α-麦芽糖苷酶	+
5-酮基-葡萄糖酸钠	-	L-天门冬素芳胺酶	-
脂肪酶	-	α-半乳糖苷酶	-
酚红	+	侧金盏花醇	-
β-葡萄糖苷酶	+	丙二酸	-
甘露醇	+		

注: + 表示阳性; - 表示阴性。

2.4 16S rDNA 序列测定与分析结果

菌株 C100311 的基因组经 PCR 扩增获得了 1 392 bp 的特异条带(图 3),PCR 产物经回收,获得了细菌 16S rDNA 基因的部分序列,将测定的序列递交 NCBI 进行 BLAST 同源序列比对,并构建系统发育树(图 4),获得登录号 HQ827779。结果显示,C100311 与溶藻弧菌的 16S rDNA 基因具有 99% 同源性,因此认为菌株 C100311 为溶藻弧菌。

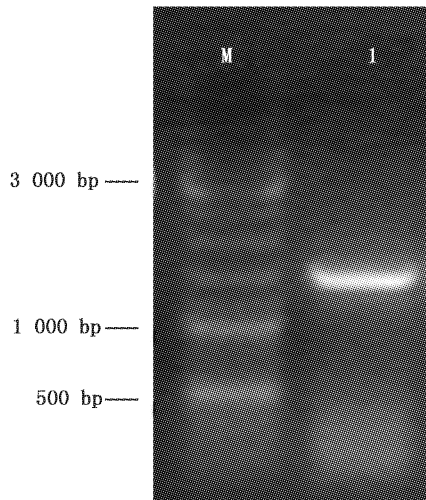


图 3 菌株 C100311 PCR 产物电泳结果

Fig. 3 Results of PCR production electrophoresis of isolated strain C100311

M 为 Maker; 1 为菌株 C100311 的 PCR 产物。

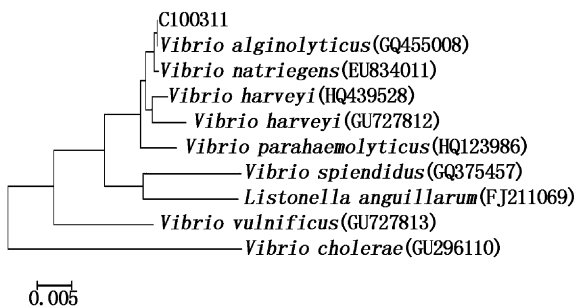


图 4 菌株 C100311 的 16S rDNA 基因序列分子系统发育树

Fig. 4 The molecular phylogenetic tree of strain C100311 based on 16S rDNA sequences

2.5 药敏试验结果

菌株 C100311 对 19 种药物的敏感试验结果(表 3)可知,该菌株对甲氧胺嘧啶、氨苄青霉素、

阿米卡星、青霉素等药物不敏感,对痢特灵、氟哌酸、环丙沙星等药物敏感。

3 讨论

3.1 灰额刺尾鱼溃疡病的病症及临床诊断

本试验中自然发病的灰额刺尾鱼主要的病症是行动迟缓,食欲减退,体表溃烂,鱼鳍伴有充血现象,眼球突出,晶体混浊,角膜溃烂。眼部和鱼鳍症状可能为并发症,与病原菌的毒素释放,或引起菌血症等有关。ROGERS 和 BRENT^[8]、WILLIAM 和 HARGIS^[9] 均研究眼部受各种寄生虫感染、真菌感染、营养缺乏也会导致的晶体混浊、眼球突出、角膜溃烂等病症,因此在临床诊断时要注意区分寄生虫性眼病和细菌性眼病,以及细菌性溃疡病的眼症状。鳃弧菌、副溶血弧菌、哈维氏弧菌会引起单纯性突眼病^[10-11],若不及时治疗也会导致鱼类死亡。

3.2 海水鱼类和灰额刺尾鱼溃疡病的病原

溃疡病是海水观赏鱼类的常见疾病,目前对于该病的病原报道不一,其中弧菌是最常见的致病菌,哈维氏弧菌、溶藻弧菌、费氏弧菌、美人鱼弧菌都会不同程度地引起海水鱼类溃疡病^[2-6]。本试验在灰额刺尾鱼体表的溃烂处及内脏器官分离出细菌菌株,试验表明为溶藻弧菌。并且通过 16S rDNA 测定序列构建的系统发育树,结果也显示该致病菌与溶藻弧菌的亲缘关系最近,因此确认溶藻弧菌为灰额刺尾鱼溃疡病的病原菌。溶藻弧菌广泛分布于海洋和河口,生长适温 17 ~ 35℃,最适盐度 5 ~ 25^[12],是水产动物的条件致病菌^[13-17],在观赏水族方面,溶藻弧菌可引起石珊瑚白化病及海马皮肤病^[12,18],但溶藻弧菌作为海水观赏鱼病原菌尚属首次报道。

大黄鱼溃疡病主要是外伤引起皮肤组织的破损,造成细菌在破损处的繁殖进而导致溃烂^[19]。在观赏鱼养殖过程中养殖密度过大或不恰当捕捞等都会导致鱼体表擦伤,不同品系种类之间以及同性之间追斗也会造成观赏鱼体表伤口,加之水体中病原菌较多,进而产生感染。当鱼体表寄生寄生虫后,体表皮肤受刺激也产生大量的黏液,鱼体因磨擦水族箱底或装饰物,使鳞片脱落,体表皮肤红肿,严重时因细菌感染,使鱼体表呈溃疡状。

表3 菌株 C100311 对不同抗菌药物的敏感性
Tab.3 Sensitivity of the strain C100311 to antibiotics

药物名称	纸片含量 /μg	判断标准:抑菌圈直径/mm			实际抑菌圈直径 /mm	敏感性
		R	M	S		
甲氧胺嘧啶	5	≤10	11~15	≥16	8	R
氨苄青霉素	10	≤11	12~14	≥15	0	R
氧哌嗪青霉素	100	≤17	-	≥18	35	S
先锋 V	30	≤14	15~17	≥18	30	S
头孢噻肟	30	≤14	15~22	≥23	36	S
阿奇霉素	15	≤13	14~17	≥18	36	S
妥布霉素	10	≤12	13~14	≥15	11	R
卡那霉素	30	≤13	14~17	≥18	30	S
阿米卡星	30	≤14	15~16	≥17	13	R
庆大霉素	10	≤12	13~14	≥15	21	S
链霉素	10	≤11	12~14	≥15	12	M
红霉素	15	≤13	14~22	≥23	17	M
四环素	30	≤14	15~18	≥19	16	M
左氧沙星	5	≤13	14~16	≥17	18	S
环丙沙星	5	≤15	16~20	≥21	34	S
氟哌酸	10	≤12	13~16	≥17	36	S
青霉素	5	≤16	17~19	≥20	0	R
氯霉素	30	≤12	13~17	≥18	12	R
痢特灵	300	≤14	15~16	≥17	24	S

注:S表示敏感;M表示中度敏感;R表示抗性。

3.3 灰额刺尾鱼溃疡病的临床治疗方法建议

由药敏结果可知,溶藻弧菌对痢特灵、氟哌酸、环丙沙星等药物敏感,而对甲氧胺嘧啶、氨苄青霉素、阿米卡星、青霉素等药物具有抗性。在生产实践中,庆大霉素、土霉素、恩诺沙星都是常用的药物^[20],尽管目前在观赏鱼养殖上不存在禁药,但正确有效的药物治疗是十分必要的,应防止滥用药物而导致病原菌抗性的产生。也可使用五倍子和黄连等中草药来代替抗生素的使用^[21]。同时用紫外灯、臭氧消毒水体^[22],向水中投入交替假单胞菌、乳酸菌、枯草芽孢杆菌等益生菌来拮抗环境中有害微生物的增殖^[23-24],以此来达到预防疾病和健康养殖的效果。除此之外,提高观赏鱼免疫力也是控制疾病的关键措施之一。

参考文献:

- [1] 陈清潮,蔡永贞.珊瑚礁鱼类——南沙群岛及热带观赏鱼[M].北京:科学技术出版社,1994.
- [2] 张庆华,瞿小英,郑岳夫,等.大黄鱼体表溃烂症病原菌的鉴定[J].上海水产大学学报,2003,12(3):233-237.
- [3] 覃映雪,池信才,苏永全,等.网箱养殖青石斑鱼的溃疡病病原[J].水产学报,2004,28(3):297-302.
- [4] 王国良,金珊,薛良义,等.海水网箱养殖鲈鱼皮肤溃疡病及其病原菌的研究[J].黄渤海海洋,2000,18(3):85-89.
- [5] 陈献稿,吴淑勤,石存斌,等.斜带石斑鱼病原菌(哈维氏弧菌)的分离与鉴定[J].中国水产科学,2004,11(7):313-317.
- [6] LOVE M,TEEBKEN-FISHER D,HOSE J E,et al. *Vibrio damsela*, a Marine Bacterium, Causes Skin Ulcers on the Damselfish *Chromis punctipinnis*[J]. *Microbial Pathogenesis*, 1995, 19(1):39-48.
- [7] 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.
- [8] ROGERS W, BRENT R. The Evaluation and Treatment of Common Ocular Disorders in Teleosts[J]. *Seminars in Avian and Exotic Pet Medicine*, 1997, 6(3): 160-169.
- [9] WILLIAM J, HARGIS J. Disorders of the eye in finfish[J]. *Annual review of fish disease*, 1991, 1:95-117.
- [10] SHOME R, SHOME B R, KRISHNAMURTHY V, et al. Bacteriological investigation of pop-eye disease in marine ornamental aquaria fishes from Andaman. *Indian Journal of Fisheries* [J]. *Indian Fish*, 1999, 46(4): 351-358.
- [11] 陈超,程波,于宏,等.七带石斑鱼繁殖群体“突眼”症病原菌的分离与鉴定[J].渔业科学进展,2010,31(1):25-33.
- [12] STEFAN H, HELMUT W, KARIN N, et al. Isolation of *Vibrio alginolyticus* from seawater aquaria[J]. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, 2000, 203(2): 169-175.
- [13] 郑天伦,王国良,金珊,等.养殖大黄鱼溃疡病的病原菌及其防治药物研究[J].南方水产,2006,2(1):5-10.
- [14] 胡学峰,石存斌,潘厚军,等.海水养殖斜带石斑鱼溃疡病

- 病原菌(溶藻弧菌)的初步研究[J]. 中国海洋大学学报, 2005, 35(2): 232 - 236.
- [15] 张伟妮,周丽,邢婧,等. 养殖大菱鲆腹水症病原菌 SR1 的分离及鉴定[J]. 中国水产科学, 2006, 13(4): 603 - 609.
- [16] 薛淑霞,冯守明,孙金生. 海水工厂化养殖大菱鲆和褐牙鲆腹水病病原菌的分离与鉴定[J]. 海洋与湖沼, 2006, 37(6): 548 - 554.
- [17] 朱传华,何建国,黄志坚. 网箱养殖石斑鱼暴发性溃疡病病原菌分离、鉴定及致病性研究[J]. 中山大学学报, 2000, 39(s): 278 - 282.
- [18] JOSE L, ALFONSO G, MIQUEL P, et al. Isolation of *Vibrio alginolyticus* and *Vibrio splendidus* from captive-bred seahorses with disease symptoms [J]. *Antonie van Leeuwenhoek*, 2010, 97(2): 207 - 210.
- [19] 金姗,蔡完其,於宏,等. 大黄鱼溶藻弧菌病细胞病理变化的初步研究[J]. 海洋科学, 2003, 27(2): 59 - 62.
- [20] WILDGOOSE, WILLIAM H. BSAVA manual of ornamental fish [M]. United Kingdom: British Small Animal Veterinary Association, 2001: 245.
- [21] 王玉娥,邢晨光,王国良. 5 种海洋致病弧菌对 34 种中草药敏感性的测定[J]. 水产科学, 2008, 27(5): 221 - 225.
- [22] OEMCKE D, PARKER N, MOUNTFORT D. Effect of UV irradiation on viability of micro scale and resistant forms of marine organisms: implications for the treatment of ships' ballast water [J]. *Journal of Marine Environmental Engineering*, 2004, 7(3): 153 - 171.
- [23] ALIM I, INDAH I, MUHTADI, et al. A potential bacterial biocontrol agent, strain S2V2 against pathogenic marine *Vibrio* in aquaculture [J]. *World Journal of Microbiology Biotechnology*, 2009, 25(6): 1103 - 1113.
- [24] VILLAMIL L, FIGUERAS A, PLANAS M, et al. Control of *Vibrio alginolyticus* in *Artemia* culture by treatment with bacterial probiotics [J]. *Aquaculture*, 2003, 219(1): 43 - 56.

Identification of the pathogen isolated from the skin-ulcered *Acanthurus glaucopareius*

ZHANG Ji, PAN Lian-de

(Key Laboratory of Exploration and Utilization of Aquatic Genetic Resources of Ministry of Education, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China)

Abstract: Five bacteria strains were isolated from the skin ulcer and internal organ of the *Acanthurus glaucopareius*. The artificial infection test proved that the isolated strain was the pathogenic bacterium. Its morphological, physiological and biochemical characteristics were studied, and they completely matched *Vibrio alginolyticus*. The 16S rDNA gene was amplified by using the universal primers, and the PCR product was cloned and sequenced. A sequence of 1 392 base pair (bp) was obtained from the bacteria. The sequence was similar to the sequence of *Vibrio alginolyticus* (accession No. GQ455008), and the similarity was 99%. *Vibrio alginolyticus* was confirmed to be the pathogenic bacterium. The drug sensitivity test of bacteria strain revealed that the pathogen was sensitive to drugs such as furazolidone, norfloxacin and ciprofloxacin, and the pathogen was resistant to drugs such as methoxamine pyrimidine, ampicillin, amikacin and penicillin.

Key words: *Acanthurus glaucopareius*; *Vibrio alginolyticus*; ulcer disease; pathogen identification