

## 鲢鳙鱼的打印病致病细菌的研究

徐伯亥 葛蕊芳 熊木林\*

(中国科学院水生生物研究所)

打印病是鲢、鳙鱼的主要病害之一,对鱼种、成鱼和亲鱼阶段都能感染。据我们调查,严重的发病鱼池其感染率可高达80%。我国各地都有发现,特别是华中和华北地区比较流行,有些地区河道中也有发现;一年四季都有,而以夏秋两季最易发生。严重影响鱼种和成鱼的生长及亲鱼的催情产卵。

打印病的症状是:鱼种和成鱼患病的部位通常在肛门附近的两侧,或尾鳍基部,极少数在身体前部;亲鱼患病没有固定部位,全身各处都可以出现病灶。初期症状是皮肤及其下层肌肉出现红斑,随着病情的发展,鳞片脱落,肌肉腐烂,直至烂穿,露出骨骼和内脏。病灶呈圆形或椭圆形,周缘充血发红,状似打上了一个红色印记,因此称为打印病。病情严重者,身体瘦弱,游动缓慢,食欲减退,终至衰竭而死。

此病可能与国外报道的鲑鳟鱼溃疡病(ulcer disease)相似<sup>[1,14]</sup>,溃疡病目前在国外很少流行,据 Snieszko 等(1950)的研究,定名为嗜血杆菌(*Haemophilus piscium*)<sup>[20]</sup>。此外,未见到与此病有关的记载。

国内,唐士良等(1965)在上海地区分离出这种病的致病菌,认为与腐败极毛杆菌(*Pseudomonas putida*)相似,但未作最后肯定<sup>[8]</sup>。北京市水产试验站(1977)确定鲢、鳙鱼打印病的致病菌是嗜水产气单胞菌,嗜水亚种(*Aeromonas hydrophila* sub. *hydrophila*) 1963年,我们以武汉市附近养殖场的发病鱼为材料,对此病进行了分离,做了部分形态、培养特性观察,生化反应测定,药物筛选和防治等试验。1974年又进行了分离。1978年在以往工作基础上,进一步开展试验和比较,终于分离得几株毒力较强的打印病致病菌,按照细菌命名法规优先律,我们采用了点状产气单胞菌的点状亚种(*Aeromonas punctata* (Zimmermann) sub. *punctata* Schubert 1974) 学名<sup>[9]</sup>。对健康鲢、鳙鱼种用浸泡和涂抹方法进行毒力试验,获得阳性结果。

### 一、材料和方法

#### (一) 材料来源

几年来,我们先后从14条患打印病的病鱼分离到84株细菌,这些病鱼都从池塘中获得。分离部位有病灶和心血。心血分离时,先将病鱼体表用75%酒精擦洗消毒,打开胸腔,在心耳处用烧灼的铁片烫过,然后用无菌接种针插入取出少许血液,或用无菌解剖剪,剪破心耳,让血液自然流出,然后用接种环蘸取少许血液。

\* 参加工作的还有刘元斌、芦全章。

本刊编辑部收到稿件日期: 1979年7月10日收到。

## (二) 分离方法

分离时使用的培养基: 鱼肉汤胰蛋白胍琼脂培养基

胰蛋白胍	10 克	食盐	5 克
磷酸氢二钾	2 克	酵母浸膏	10 克
琼脂	18—20 克	10—15% 鱼肉汤	1,000 毫升

pH 7.2—7.4, 高压蒸气灭菌 15 磅 30 分钟。

Rimler-Shotts 培养基(简称 R-S 选择和鉴别培养基)<sup>[22]</sup>:

L-赖氨酸氢氯化物 (L-Lysine-hydrochloride)	5.0 克
L-鸟氨酸氢氯化物 (L-Ornithine-hydrochloride)	6.5 克
麦芽糖	3.5 克
硫代硫酸钠 (Sodium thiosulfate)	6.8 克
L-半胱氨酸氢氯化物 (L-Cysteine-hydrochloride)	0.3 克
溴麝香兰 (Bromo-thymol blue)	0.03 克
柠檬酸铁铵	0.8 克
去氧胆酸钠 (Sodium deoxycholate)	1.0 克
新生霉素 (Novobiocin)	0.005 克
酵母浸膏	3.0 克
食盐	5.0 克
琼脂	13.5 克

水 1,000 毫升, pH 7.0。

加热溶解, 经常搅拌, 使药品溶解, 煮沸一分钟, 待培养基冷却至 45°C, 倾注平板, 贮于冰箱中保存。接种培养于 37°C, 20—24 小时获得最好的鉴别。

分离时, 从病灶和心血部位取菌, 接种于上述培养基——鱼肉汤胰蛋白胍琼脂培养基, 在 28°C 下培养 24—48 小时; R-S 培养基则于 37°C 培养 20—24 小时, 挑取单个菌落分纯, 做成纯培养, 或直接扩大培养后供作测试之用, 或冷冻干燥保存, 做试验时再从冰冻管中取出。

## (三) 毒力试验方法

我们考虑到打印病是一种体表疾病, 所以采用浸泡和涂沫两种方法进行感染试验。

**1. 浸泡** 将平板纯培养菌洗下, 稀释成一定浓度, 将擦去少许鳞片的健康鱼放入, 浸泡一定时间后, 取出饲养于水族箱中观察。

**2. 涂沫** 将上述平板培养菌, 涂沫于擦去少许鳞片的损伤处。

## (四) 试剂的制备和应用

1. 用培养 18—24 小时的营养琼脂培养菌作细胞形态和革兰氏染色等观察。

2. 葡萄糖的氧化发酵测定<sup>[45]</sup>, 将纯培养菌接种到含葡萄糖的基础培养基(Bacto of basal medium) 的两管中, 其中一管用无菌软石蜡 (petralatum) 深度为 1 厘米左右封盖, 两者均

培养于 28℃, 24—48 小时观察, 在两管中产酸或产气是葡萄糖发酵的标志, 仅在没有石蜡的管中产酸是葡萄糖氧化的指示。

3. 荧光色素的产生, 用金氏 (King) 等人的 B 种培养基<sup>[3]</sup>, 以斜面培养基接种细菌, 在 28℃ 培养 24—48 小时, 置紫外光下观察。

4. 氧化酶或细胞色素氧化酶的测定<sup>[22]</sup>, 试剂: 1% 盐酸二甲基对苯二胺溶液 (Dimethyl paraphenylene diamine hydrochloride) 和 1% α-萘酚酒精溶液 (Alphanaphthol)。在滴上试剂的滤纸上用无菌玻棒取培养 18—24 小时的菌苔涂上, 观察颜色反应。

5. 美红 (M. R) 试验: 葡萄糖蛋白胨水培养基

试剂: 美红 (0.04%) 试液

培养 2, 4, 6 天后滴加试液, 摇匀观察。

6. 乙酰基甲基甲醇 (Voges-proskauer) 试验<sup>[23]</sup>: 葡萄糖蛋白胨水培养基

试液: NaOH 40% 和肌酸

培养 3—4 天后, 滴加 NaOH 并加少许肌酸, 若为阴性需要适当延长时间。

7. 含碳化合物利用的测定<sup>[3]</sup>: 培养基为 NH<sub>4</sub>Cl 0.1%, MgSO<sub>4</sub> · 7 H<sub>2</sub>O 0.05%, 柠檬酸高铁铵 0.005%, CaCl<sub>2</sub> 0.0005%, Na-K 磷酸盐缓冲液, pH 6.8, 1/30M, 100 毫升, 氨基酸含量 0.1—0.2%, 用过滤法灭菌后加入已灭菌的基础培养基中。

28℃ 培养 2, 5, 7 天观察。

8. 赖氨酸脱羧酶的测定<sup>[24]</sup>: 培养基为酵母膏 0.3%, 蛋白胨 0.5%, 葡萄糖 0.1%, 溴甲酚紫 (1.6%) 0.1 毫升。

28℃ 培养 4 天, 每日观察。

9. 氰化钾试验<sup>[3]</sup>: 培养基为蛋白胨 0.5%, NaCl 0.5%, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0.0225%, Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> · 2H<sub>2</sub>O 0.564%, pH 7.6, 15 磅 15 分钟灭菌, 灭菌后冷却加 15 毫升 0.5% 的 KCN 水溶液, 无菌分装小试管, 28℃ 培养 1—2 日观察。

10. 乙醇氧化试验: 培养基为在糖发酵培养基中以乙醇代糖, 乙醇终极浓度为 1%, 观察方法与糖氧化发酵试验相同。

## 二、步骤及结果

### (一) 毒力试验

分离到的细菌, 接种于鱼肉汤蛋白胨琼脂平板培养基中, 置于 28℃ 培养 18 小时, 洗下稀释成 3 号比浊管 (MCF) 的浓度 (每毫升水中相当于 9 亿细菌), 放置于 500 毫升的三角烧瓶中, 然后将擦去鳞片的健康鱼种放入浸泡, 6 分钟后, 弃去菌液, 把鱼饲养于水簇箱中观察。若用于涂沫, 则直接将培养菌涂沫于损伤处。每次试验都设有对照组。

被试验的菌株, 多数都有不同程度的致病力, 其中毒力较强的有 ST63-64-6, ST78-5-2, ST74-D-1, ST78-1-1, ST78-3-3 5 株 (前 2 株从患打印病的鲢鱼中分离得到, 后 3 株从患打印病的鲢鱼中分离到), 结果见表 1。从表 1 中可以看出: 这 5 株细菌毒力都较强, 当水温在 10—30℃ 时均能发病, 从比较涂沫和浸泡两种方法来看, 涂沫似乎比浸泡要明显些, 而对照组的鱼则都不感染。

在这 5 株毒力较强的菌株中, 每次择 1—2 株, 供以下试验用。

表 1 鲢鳙鱼打印病人工感染试验

菌 株	次 数	试验鱼 (1 龄)		*发病鱼数及程度	未发病 鱼数	平均水温 °C	感染方法	菌液浓度 (MCF)	最初出现 病征时间 (天)	观察时间 (天)	备 注
		鱼 别	尾 数								
ST74-D-1	1	鲢	7	++++ +++ +	0	17.2	涂沫		3	15	
	2	鲢	8	+ + + + + + + + + + +	1	19.9	*浸泡	3	2	15	
	3	鲢	9	+ + + + + + + + + + +	2	19.9	浸泡	3	2	15	
ST63-64-6	1	鲢	8	+++ + + + + + + + + + +	0	19.9	涂沫		2	15	
	2	鲢	8	+ + + + + + + + + + +	3	19.9	浸泡	3	2	15	
ST78-1-1	1	鲢	3	+++ + + + + +	0	22.2	涂沫		3	16	
	2	鳙	3	+ + + + + + + + + + +	0	24.1	涂沫		2	13	
	3	鲢	7	+++ + + + + + + + + + +	0	30.0	浸泡	3	1	12	
ST78-3-3	1	鳙	3	++++ + + + + +	0	24.1	涂沫		2	13	
	2	鳙	7	+ + + + + + + + + + +	0	30.0	浸泡	3	1	12	
	3	鲢	10	+++ + + + + + + + + + +	0	30.0	浸泡	3	1	12	
	4	鲢	10	+ + + + + + + + + + + + + + + +	1	29.9	浸泡	3	2	10	
	5	鳙	8	- - + + + + + + + + + +	2	29.9	浸泡	3	2	10	
	6	鲢	10	++++ + + + + + + + + + + + + + + +	0	22.2	浸泡	3	3	16	
	7	鲢	7	+++ + + + + + + + + + +	0	10.0	浸泡	3	4	17	
ST78-5-2	1	鲢	3	+++ + + + + + + + + + +	0	24.0	浸泡	3	2	12	
	2	鲢	8	+++ + + + + + + + + + + + + + + +	0	10.0	浸泡	3	4	17	

\* 注 - 未发病, + 稍微, ++ 较明显, +++ 明显, ++++ 肌肉腐烂呈火山口状; 发病鱼数包括严重发病而死亡的鱼数; 浸泡时间都为 6 分钟。(表 2、3、4 均同)

选取 ST74-D-1 作再分离再感染, 在被感染鱼的病灶上, 可再分离到原来的这株细菌, 用它再感染鱼体, 结果见表 2。据表 2 可看出: 再分离到的 3 株细菌, 都有一定毒力, 其中 ST74-D-1-3 的毒力与原来的 ST74-D-1 相当。

表 2 再分离重新感染的结果

菌 号	试验鱼数	发病鱼数及程度	未发病鱼数
ST74-D-1	8	+ + - ++ + ++ ++ ++	1
ST74-D-1-1	8	+ + + + + +++ + +	0
ST74-D-1-2	8	+ + - - - ++ - -	5
ST74-D-1-3	8	+++ + +++ + +++ + + ++	0

选取 ST78-3-3 菌株, 对鲢、鳙、草鱼、鲤鱼、罗汉鱼的感染, 结果见表 3。从表 3 可看出: ST78-3-3 菌株对草鱼、鲤鱼、罗汉鱼的毒力不及鲢、鳙鱼强。不同鱼种表现的症状也不尽同, 在草鱼表现为皮肤发炎, 充血, 鳍条基部充血, 有时肛门发红, 腹腔多腹水; 在鲤鱼和罗汉鱼则多半表现为一块红斑。值得注意的是无论草鱼或是鲤鱼或罗汉鱼, 大多感染后在几天内即死去。

表 3 ST78-3-3 菌株对不同鱼的人工感染试验

菌 株	试验鱼种类	次 数	数 量	发病鱼数及病程	水 温	感染方法
ST78-3-3	鲢	1	10	+ + + +++ - ++ ++ ++ + + +	29°C	浸泡
	鳙	1	8	- - + + + + + ++ +	29°C	浸泡
	草鱼	1	10	- - - + ++ - - - - -	29°C	浸泡
	罗汉鱼	1	10	- - - - + - + - - - -	29°C	浸泡
	鲤鱼	1	10	- - - - - - + - - - -	29°C	浸泡

选取 ST78-3-3 菌株, 对不损伤的健康鱼作感染时, 所得结果都是阴性反应, 而经损伤的对照组则全是阳性反应, 结果见表 4。由此可见, 打印病病菌是一种条件致病菌, 鱼体受伤后才给病菌侵入打开了方便之门, 鱼体不受伤, 它是无法侵入的。

表 4 ST78-3-3 对不去鳞片鱼种的感染

试 验 鱼			感染方法	水 温	发病鱼数及程度	观察天数
种 类	次 数	数 量				
鲢	1	10	擦鳞浸泡	30°C	+ +++ ++ ++ +++ + + + + + +	10
鲢	1	10	不擦鳞浸泡	30°C	- - - - - - - - - - -	10
鲢	2	10	擦鳞浸泡	20°C	+++ +++ +++ +++ + +++ +++ + + ++	14
鲢	2	10	不擦鳞浸泡	20°C	- - - - - - - - - - -	14
鲢	3	10	不擦鳞浸泡	30°C	- - - - - - - - - - -	13
鲢	4	7	不擦鳞浸泡	24°C	- - - - - - - - - - -	12

## (二) 培养特性, 细菌形态及生化反应

选用 ST63-64-6, ST78-5-2, ST74-D-1, ST78-1-1, 和 ST78-3-3 5 株毒力较强的细菌, 进行细菌形态、培养特性及生化反应的观察和测定, 证明这 5 株细菌性状相似, 仅

ST63-64-6 稍有不同。现以 ST78-3-3 为代表,叙述其性状为下:

细菌形态:短杆状,0.6—0.7 × 0.7—1.7 微米,中轴直形,两侧弧形,两端圆形,多数两个相联,少数单个;有运动力,极端单鞭毛;无芽胞,革兰氏染色阴性。R-S 培养基培养 18—24 小时菌落呈黄色。

琼脂平板菌落:圆形、直径 1.5 毫米左右,48 小时增至 3—4 毫米,微凸,表面光滑、湿润,边缘整齐,半透明,灰白色。

琼脂斜面:生长丰盛、丝形,扁平高起,表面光滑,湿润,边缘整齐,灰白色。

琼脂穿刺:生长中等,念珠状,生长到底,表面部分生长。

明胶穿刺:层面形液化。

肉汤培养:中等生长,均匀混浊,表面有薄菌膜,或呈环状,摇后即散。

马铃薯:中等生长,无色奶油状。

糖类发酵:发酵葡萄糖,乳糖,麦芽糖,甘露醇,蔗糖,半乳糖,糊精,丙三醇,甘露糖产酸、产气;不发酵木糖,菊淀粉,肌醇,山梨醇,卫芽醇。

葡萄糖的氧化发酵测定:发酵产酸、产气。

乙醇氧化阴性;氧化酶或细胞色素氧化酶阳性;产生靛基质;美红试验阳性;乙酰基甲基甲醇试验阳性;柠檬酸盐利用试验阳性;产黄绿色非水溶性色素;还原硝酸盐至亚硝酸盐;蛋白胨水中产生氨;分解尿素;醋酸铅琼脂中产生硫化氢;牛乳中产碱,胨化,兼性需氧。精氨酸、天门冬酰胺、组氨酸、谷氨酸、丝氨酸、丙氨酸等氨基酸可作唯一碳源;葡萄糖和铵可作唯一氮源;赖氨酸脱羧酶阳性,氰化钾肉汤生长阳性。

适宜温度 28℃ 左右,65℃ 半小时死亡。pH 3—11 中均能生长;pH 3 以下或 11 以上均不生长。

根据以上特性与 Schubert in Buchanan, Gibbons<sup>[10]</sup>, Popoff<sup>[17]</sup>, Snieszko, Bullock<sup>[18]</sup>, Graham<sup>[13]</sup>, Shotts<sup>[22]</sup>, Bullock<sup>[11]</sup> 等特别是 Schubert 在文献中所记述的相比,应为点状产气单胞菌点状亚种 (*Aeromonas punctata* sub. *punctata*)。

### (三) 药物治疗试验

点状产气单胞菌是一种水生细菌,我们曾用 R-S 培养基初步测定过池水中此菌的含量,即使在不是最易发病的季节,每毫升水中的含量也还有 2,000 多个。由此可知,在夏秋两季,随着水温的上升,在适温下此菌必然能大量繁殖。如果鱼体健康、皮肤、粘膜屏障机构完整,能起到阻挡病菌侵入的作用,即使有少数病菌侵入鱼体,也可被吞噬白细胞消化掉。但是鱼体受到损伤,大量细菌便乘机而入,形成疾病。所以,对打印病的预防和对其他鱼类皮肤病一样,一是要注意保持池水洁净;二是要注意鱼体健康,要避免因寄生虫或操作不慎使鱼体受伤。倘若发生了这种病,就必须用药物来进行治疗。

几年来,我们试验了呋喃唑酮、畜用链霉素、漂白粉、畜用红霉素、五倍子、石灰、大黄、食盐等十多种药物。现将所用药物的来源和效果介绍如下:

1. 呋喃唑酮 (Furazolidone), 此种药物用于实验室水族箱中的病鱼治疗与发病鱼池治疗结果一致,疗效好。水族箱中的治疗试验:先将 ST78-3-3 菌株感染健康鱼,待发病后,随机取样,取同等数量的鱼饲养于装有三万水的各个搪瓷桶中,用 0.1 ppm 的呋喃唑酮遍

洒, 1/10,000 浸泡, 1/100 涂沫三种方法进行试验, 结果遍洒效果最好, 病灶长出新肉, 新皮逐渐愈合。

发病池塘治疗试验。1978年6月, 本所7号小鱼池白鲢鱼种(20厘米左右)爆发打印病, 发病率达80%以上, 0.2亩平均水深1米, 下药13.3克(0.1ppm)。20天后检查, 病灶周围出现一层白色膜状物, 中间长出鲜红色新肉, 有的已经愈合; 又深又大的病灶, 长出新肉和新皮逐渐趋于愈合。同年7月, 2号小鱼池发病, 发病率为64.3%。照前法下药, 结果一致。

2. 其他药物, 如: 50单位/毫升的畜用链霉素, 0.2单位/毫升的畜用红霉素, 1ppm的漂白粉, 10ppm的五倍子等, 疗效也较好, 各地可根据具体情况, 选择使用。

### 三、讨 论

1. 1963年以来, 我们断断续续地进行了鲢、鳙鱼打印病致病菌分离。从不同地区和池塘的14条病鱼分离得到的细菌, 大多数都有一定毒力。毒力较强的有: ST78-3-3, ST78-1-1, ST74-D-1, ST63-64-6, ST78-5-2 5株, 经反复感染, 再分离再感染, 前后结果一致, 所出现的症状与自然发病症状相似。根据这5个菌株的菌体形态、培养特性和生理生化反应, 以及在R-S培养基中产生黄色菌落等, 与Schubert(1974)所列的鉴定特征基本一致<sup>[9]</sup>。根据McCarty<sup>[10]</sup>(1973)血清学分析和肠酶同酶模式(enterase isozyme patterns)测试, 认为*Aeromonas punctata* (Zemm. 1890) Snieszko 1957是个正确的学名, 并将*A. formicans*, *A. liquefaciens*和*A. hydrophila*作为其同物异名, 我们同意这个意见。

2. 只有在除去少许鳞片, 损伤皮肤的情况下, 才能使鱼得病。对皮肤没有损伤的健康鱼, 迄今我们未能获得感染成功。根据调查积累的资料, 一般患打印病的渔池, 多数是多年未加清理、水质比较污浊的。因此, 为了预防打印病, 在捕捞、搬运等操作过程中, 必须仔细, 切勿损伤鱼体; 放养前要彻底清塘消毒。点状产气单胞菌, 平时栖居于水中, 纯属一种条件致病菌, 在适当的条件下, 由腐生转变为寄生。

3. 在适宜的水温、水质等条件下, 这种菌能使草鱼皮肤发炎、充血, 嗜条基部充血、肛门发红以及腹腔中多腹水等类似草鱼赤皮病的症状。此菌是否也是草鱼赤皮病的致病菌? 尚有待进一步地探讨。

4. 在没有找到更理想的药物以前, 目前可以0.3ppm的呋喃唑酮治疗鲢、鳙打印病。

### 参 考 文 献

- [1] 王德铭, 1956. 青鱼赤皮病致病菌的初步研究. 水生生物学集刊 1: 1—18.
- [2] 王德铭, 1958. 鲢、青鱼烂鳃及赤皮病致病菌的研究. 水生生物学集刊 1958: 9—25.
- [3] 中国科学院微生物研究所细菌分类组, 1978. 一般细菌常用鉴定方法. 科学出版社.
- [4] 北京市水产试验站, 1976. 鲢、鳙鱼打印病致病菌的分离及其防治方法的初步试验. 全国鱼病防治技术经验交流会资料汇编, 第93—96页.
- [5] 余灏, 1964. 微生物学实验指导. 人民卫生出版社.
- [6] 倪达书, 1955. 1953年鱼病防治工作报告. 水生生物学集刊 1: 7—23.
- [7] 倪达书, 1955. 几种主要鱼病的防治方法. 学艺 25(3): 2—7.
- [8] 唐士良、柳传吉、项文良, 1965. 鲢、鳙腐皮病及其防治方法的初步研究. 水产学报 2: 33—53.
- [9] Breed, R. S., Murray, S. G. D. and N. R. Smith, 1957. *Bergey's manual of determinative bacteriology*, 7th ed. Bailliere, Tindall and Cox, Ltd. London.
- [10] Buchanan, R. E. and N. E. Gibbons (eds.), 1974. *Bergey's manual of determinative bac-*

- teriology. 8th ed. Williams, Co. Baltimore.
- [11] Bullock, G. L. and T. T. A. McLaughlin, 1970. Advance in knowledge concerning bacteria pathogenic to fishes (1954—1968). *Sop. Pupls. Am. Fish* 5: 231—242.
- [12] Gaby, W. L. and C. Hadley, 1957. Practical laboratory test for the identification of *Pseudomonas aeruginosa*. *J. Bact.* 74: 356—358.
- [13] Grahan, L. Bullock, 1961. The identification and separation of *Aeromonas liquefaciens* from *Pseudomonas* and related organisms occurring in diseased fish. *Appl. Microbiol.* 9: 587—590.
- [14] Griffin, P. J., 1954. The nature of bacteria pathogenic to fish. *Trans. Amer. Fish. Soc.* 83: 241—253.
- [15] Hugh, R. E. and E. Leifson, 1953. The taxonomic significance of fermentative versus oxidative metabolism of carbohydrates by various gram negative bacteria. *J. Bact.* 60: 24—26.
- [16] McCarthy, D. H., 1973. Thesis, Institute of Biology, London.
- [17] Popoff, M. and M. Veran, 1976. A taxonomic study of the *Aeromonas hydrophila*-*Aeromonas punctata* group. *J. Gen. Microbiol.* 94: 11—22.
- [18] Snieszko, S. F. and G. L. Bullock, 1976. Disease of fresh-water fish caused by bacteria of the genera *Aeromonas*, *Pseudomonas* and *Vibrio*. *fish Health News*, FDL-40.
- [19] Snieszko, S. F., 1972. Progress in fish pathology in this century. *Symp. Zool. Soc. Lond.* 30: 1—15.
- [20] Snieszko, P. J. Griffin and S. B. Friddle 1950. A new bacterium (*Haemophilus piscium* n. sp.) from ulcer disease of trout. *J. Bact.* 59: 699—710.
- [21] Shotts, E. B. JR. and G. L. Bullock, 1975. Bacterial disease of fish: Diagnostic procedures for Gram-negative pathogens. *J. Fish. Res. Bd. Can.* 32: 1243—1247.
- [22] ————— and R. Rimler, 1973. Medium for the isolation of *Aeromonas hydrophila*. *Appl. Microbiol.* 26: 550—553.
- [23] Skerman, V. B. D., 1969. Abstracts of microbiological methods. pp. 25—27.
- [24] —————, 1969. Abstracts of microbiological methods. pp. 552—553.



STUDIES ON THE "STIGMATOSIS" OF SILVER CARP  
(*HYPOPHTHALMICHTHYS MOLITRIX*) AND  
BIGHEAD (*ARISTICHTHYS NOBILIS*)

Xu Bohai Ge Ruifang and Xiong Mulin

(*Institute of Hydrobiology, Academia Sinica*)

ABSTRACT

Stigmatosis is one of the bacterial diseases of the silver carp and bighead in majority provinces of China where it has caused high losses. According to informations we have collected, it is primarily an ailment for both the fingerling and adult fishes.

As the name signifies, stigma lesion is characterized by the formation of a red stigma on the surface of the body. In ordinary cases there are usually two in number and symmetrically arranged on both sides of the latero-ventral regions just above the vent, although they may occur on other parts of the body. In its early stages the lesion appears to the naked eye as a small red spot-like outgrowth of the epidermis; this later become putrefied and the scales begin to fall off, and as the lesion grows, the bacteria invade the dermis in an ever-enlarging circle and eventually destroy it entirely, so that it shows a great thickening of the epithelia round the blood stained margin and makes the center a deep depression, somewhat like a Chinese seal.

The bacterium is a short rod,  $0.6-0.7 \times 0.7-1.7 \mu\text{m}$  long, with rounded ends, motile by a polar flagellum, nonsporulating, and Gram-negative in its stain reactions. The most important characteristic of the organism, which makes it easy to distinguish from other bacteria when growing in Rimler-Shotts medium 18-24 hours, is the formation of a yellow colony. Chemoorganotrophic reactions fit well to the characteristics of *Aeromonas punctata* (Zimmermann) Snieszko 1957, which was presented in Bergey's Manual 8 Ed. by Sohubert.

According to McCarthy (1973) in a computer study using more than 80 tests plus immunodiffusion serological analysis and enterase isozyme pattern showed that *Aeromonas punctata* (Zimmermann 1890) Snieszko 1957 is the correct name, with *A. formicans*, *A. liquefaciens* and *A. hydrophila* as synonyms. We agreed to his suggestion and using *Aeromonas punctata* subsp. *punctata* as the causative agent of Stigmatosis of silver carp and bighead.