

水生生物學集刊

ACTA HYDROBIOLOGICA SINICA

中国科学院水生生物研究所編輯

1 9 5 8

科学出版社

44-0

白洋淀生物資源及其綜合利用初步調查報告

中国科学院动物研究所白洋淀工作站

本书是中国科学院动物研究所，对白洋淀地区生物資源进行的初步調查報告。内容包括水的理化性质和浮游生物、底栖生物、水生維管束植物、魚类、两栖类、爬行类、鳥类等生物資源情况，以及开展水生毛皮兽（如麝鼠、海狸鼠、水獭、水貂等）飼养的自然条件和途径。可使生物学、水生生物学、淡水养殖工作者对白洋淀得到初步的概括了解，作为他們工作中的參攷資料。

定价：0.44 元

* * * * *

黄海潮間带生态学研究

E. Ф. 古丽亚諾娃 著

本书是黄海潮間带調查工作报告。按潮汐水位涨落的規律，闡明了黄海沿岸两个代表性地点——青島，煙台——各类无脊椎动物在潮間带垂直分布的規律性，并对有經濟价值的种类在一定范围内的产量作了統計和分析。这些資料可供給海洋生态学和海洋无脊椎动物学工作者及浅海养殖工作者的參攷。

定价：道林本 0.60 元 报纸本 0.45 元

水生生物学集刊

(1958)

編輯者 中国科学院水生生物研究所

出版者 科 学 出 版 社
北京朝陽門大街 117 号
北京市书刊出版业营业許可証出字第 061 号

印刷者 中国 科学院 印刷 厂

总經售 新 华 书 店

1959 年 4 月 第 一 版 书号：1722 字数：100,000
1959 年 4 月 第 一 次 印 刷 开本：787×1092 1/16
(京) 1—2,300 印张：4 1/4

統一书号：13031·1046

定 价： 0.60 元

水生生物学集刊

1958

目 录

- 硫酸銅硫酸亞鐵合剂的时效問題.....任云峯 徐墨耕 (1)
鯪、青魚爛鰓及赤皮病致病菌的研究王德銘 (9)
中国淡水輪虫的生态分布.....王家楫 (26)
南京仙女虫类之新种及新記錄.....梁彥齡 (41)
武昌东湖湖水中亞鐵(Fe^{++})存在的初步研究.....卢奮英 丘昌強 (59)

ACTA HYDROBIOLOGICA SINICA

(1958)

CONTENTS

- Factors influencing the application of copper turnbull sulphate and ferrous sulphate
as a paraciticide in ponds Jen Yung-feng and Hsu Me-keng (8)
Studies on the pathogenic bacteria of the "Gill-Rot" and "Red-Skin" diseases of
Ctenopharyngodon idellus and *Mylopharyngodon piceus* ... Wang Teh-ming (23)
A general survey of the ecological distribution of freshwater Rotifers in China
..... Wang Chia-chi (39)
On some new species of Naididae from Nanking including remarks of certain
known species..... Liang Yan-lin (49)
Предварительное изучение железистого(Fe^{++}), имеющегося в воде озера
Дунху в городе Учан..... Лу Фэнь-ин и Ую Чан-цян (67)

硫酸銅硫酸亞鐵合劑的時效問題¹⁾

任云峯 徐墨耕²⁾

中國科學院水生生物研究所化學組

自 1953 年 7 月作者等發現了硫酸銅、硫酸亞鐵合劑 (5:2, 總濃度為 0.7 p.p.m.), 能有效地殺滅草魚鰓上的中華魚蚤及所有鰓上的其他寄生蟲后¹⁾, 這一藥劑, 在治療寄生蟲性鰓癬病的實際應用中, 普遍採用, 並獲得了良好的效果²⁾。但是, 在其後數年的使用中, 又發現這一藥劑在有些魚池中施放時, 功效較差, 尤其在秋末及冬初, 甚至可完全失去其效力。這種情況, 定由於魚池水質特性, 以及水的溫度影響了硫酸銅、硫酸亞鐵合劑³⁾的毒性, 使其毒性降到不能殺死魚鰓上寄生蟲的限度。為了解決這個問題, 使在不同的季節及不同的水質中使用上述藥劑時, 都能有滿意的結果, 乃進行本題目的研究。

本研究題, 除一部分工作在中國科學院水生生物研究所菱湖魚病工作站進行者外, 大部分工作係在廣東九江廣東水產實驗所淡水組所進行的。在實驗過程中蒙淡水組工作同志多方協助, 使工作得能順利地开展, 這裡深致由衷謝忱。

一、材料及方法

(一) 材料的選擇

雖然寄生蟲性的鰓癬病其寄生主都是草魚, 然而在本研究題中, 我們用花鰱 (一部分用白鰱) 為試驗材料, 因為在魚池的實際飼養中, 花白鰱是與草魚混養的, 而花白鰱對藥劑毒性的耐力, 一般說來, 比較草魚為差。對草魚無害的藥液濃度, 可能已使花白鰱中毒而死。因此, 在施藥的時候, 其可允許的藥液濃度, 必須以花白鰱為準。為了保證實驗結果的一致性, 所用的魚都飼養在同一魚池中, 魚體健康大小均勻, 其長度自 9 至 13 厘米, 平均體長為 11 厘米, 平均體重為 12 克。在實驗前, 先將魚從魚池中捕出, 飼養在置于魚池中的竹簍內, 使魚馴化 1、2 天后, 方用以作實驗。

(二) 實驗用的容器

所用容器為直徑約 50 厘米, 高約 60 厘米的陶質水缸, 能盛放水 100 升左右。實驗缸放在室內, 這樣可使水的溫度, 在實驗期間, 除因天氣的劇變而發生較大的升降外, 一般可無多大改變。

(三) 藥劑毒性的測定法

本文所用方法為生物測定法^{5,6,9)} (Bioassay), 硫酸銅、硫酸亞鐵合劑在不同水質中的相對毒性, 以半忍受度 (TL_m) 作為它們的指標。所謂半忍受度, 為在一定時間內能殺

1) 1956 年 11 月 12 日收到。

2) 同時參加工作者尚有張甬元、閔根芳、張家漢。

3) 此後凡提到硫酸銅時, 即代表這一合劑, 亦即除硫酸銅外, 尚含有 $\frac{2}{5}$ 硫酸銅量的硫酸亞鐵。

死 50% 实验鱼的药剂的浓度。本文所应用的是 24 小时及 48 小时的半忍受度，因为经过 24 小时及 48 小时后药剂的毒性已足够显著。半忍受度有时为直接在实验中观察得的有 50% 实验鱼活存时的浓度，或者将 24 小时（或 48 小时）后实验鱼的活存百分率，与其相对应的药剂浓度，在半对数纸上，作一滑顺曲线。此曲线与 50% 活存率的交点，即为所求的 24 小时（或 48 小时）的半忍受度。

(四) 具体步骤

取不同的鱼池水于实验缸中，每缸放 80 升。放置过夜，使水的温度降低到与室温相接近。放入 10 条花鲢，并让它们在其中自由生活 2、3 小时，稍习惯于缸中的环境。然后采取水样，测定其 pH 值、硷度、硬度、有机物耗氧量及氯化物，同时加入不同量的硫酸铜及硫酸亚铁合剂（二者之比为 5:2），在加药剂后的最初时间内，由于硫酸亚铁的氧化而消耗氧，水中溶氧很少，此时经常将水用瓢扬起，不断充气使水中能有足够量的氧，以保证实验的鱼不致因缺乏氧¹⁾而影响实验结果。在其后的 24 及 48 小时内记录最高及最低水温，随时记录鱼的死亡情况，计算实验鱼在 24 小时及 48 小时后活存的百分率，计算 24 小时及 48 小时的半忍受度，并依此而求出实验的鱼在这一药液中的安全浓度²⁾。然后再试验鱼在这种浓度的药液中，是否确系安全。7 天后鱼不死时，表示鱼确能忍受这样高的药液浓度。

二、实验数据

有关不同鱼池的水质特性，实验期间的水温，实验结果以及安全浓度等数据，列于表 1。安全浓度，系根据在实验中求得的 24 小时及 48 小时的半忍受度，依下式计算而得：

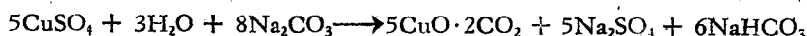
$$\text{安全浓度} = \frac{48 \text{ 小时半忍受度} \times 0.3}{(24 \text{ 小时半忍受度} / 48 \text{ 小时半忍受度})^2} \quad (1)^{[9]}$$

三、讨论

我们知道，每一种药剂对鱼鳃上的寄生虫都有其一定的致死浓度，低于此浓度时，便不会使寄生虫致死。Turnbull 氏^[9]指出了水的硬度、硷度、pH、有机物及氯化物，能影响药剂的毒性。Powers 氏^[10]指出了水的温度大大地影响到药剂的毒性：温度升高，药的毒性增加；温度降低，药剂的毒性减小。因此鱼池的水质特性以及水的温度能影响硫酸铜、硫酸亚铁合剂的毒性，这是毫无疑问的。问题是在于究竟哪些因素是最主要的，对硫酸铜的毒性影响最大，它们之间的量的关系如何，这是我们必须了解的一个问题。

(一) 硷度、硬度、pH 对硫酸铜毒性的影响

Ellis 氏^[11]早已指出，同一浓度的硫酸铜，其在硬水中的毒性比较在软水中为小，而硬度对于硫酸铜毒性的影响，许多学者都认为是由于在硬水中的碳酸盐能与硫酸铜作用生成蓝绿色的硷性碳酸盐沉淀。其反应式如下：



这种沉淀作用，不会完全，因为硷性碳酸铜能溶解在生成的碳酸氢盐中。Gröger 氏^[12]认为硫酸铜与碳酸盐所生成的蓝绿色沉淀在水中是以含有不定量水的胶状 CuCO_3 的形式存在。

1) 邓波儿^[14]采用通氧设备。

2) 此处及其后所述的安全浓度，仅为硫酸铜的浓度，实际上在药液中尚有硫酸铜量的硫酸亚铁。

表 1.

实 驗 号 数	实 驗 日 期	平 均 水 温 (t°C)	pH	有 机 物 (以毫克O ₂ /升計)	24* 小时 半 忍 受 度	48* 小时 半 忍 受 度	依 式 I 計 算 而 得 的 安 全 浓 度	实 际 复 核 过 的 安 全 浓 度
1	2/V/55	24	7.8	17.4	6.5	5.0	0.86	1
2	5/V	25	7.7	46.1	5.6	4.8	1.06	1
3	22/V	24	7.4	55.3	3.0	3.0	0.9	1
4	9/V	24	6.9	47.6	3.2	2.9	0.72	1
5	12/V	22	7.1	46.8	3.1	2.8	0.67	1
6	25/V	27	7.1	46.0	2.6	2.3	0.53	0.7
7	26/V	27	7.2	49.1	2.5	2.5	0.75	0.75
8	27/V	27	7.2	47.6	1.8	1.7	0.47	0.75
9	6/V	25	7.4	55.2	4.9	4.4	1.06	1.1
10	30/V	25	7.2	46.5	2.7	2.7	0.81	1
11	30/V	25	6.7	51.5	2.1	2.0	0.55	1
12	2/VI	24	6.8	47.2	2.9	2.9	0.87	1
13	2/VI	24	7.5	41.8	3.0	2.9	0.81	0.87
14	3/VI	24	7.5	46.1	3.0	3.0	0.9	1
15	3/VII	26	7.5	43.3	2.25	2.0	0.48	—
16	10/VII	27	7.6	67.0	3.5	3.0	0.66	1
17	14/VII	27	8.0	45.1	4.1	3.23	0.6	1
18	6/VIII	27	8.0	13.2	2.0	1.9	0.51	0.75
19	15/VIII	26	8.2	18.5	4.5	3.35	0.55	1
20	19/VIII	27	7.7	25.4	3.55	3.25	0.9	1.1
21	20/VIII	27	8.0	26.0	3.4	3.4	1.02	1
22	29/VIII	26	7.8	18.3	4.73	4.0	0.86	0.75
23	13/IX	27	7.5	21.3	3.81	3.58	0.95	1
24	3/X	24	8.0	14.0	3.35	2.73	0.56	1
25	5/X	24	7.7	12.0	2.15	2.1	0.6	1
26	7/X	20	7.9	15.0	4.46	3.35	0.57	1
27	11/X	22	8.4	10.4	2.75	2.3	0.5	1
28	9/V	23.5	6.9	47.6	3.6	3.2	0.76	1
29	3/VII	26	7.5	43.3	2.25	2.0	0.48	0.5
30	27/VII	25	7.8	17.0	2.0	1.7	0.31	1
31	1/VIII	26	8.0	15.8	1.4	1.25	0.3	1
32	27/VIII	26	7.5	18.7	2.2	1.92	0.44	0.75
33	24/IX	24	7.2	10.8	3.1	2.3	0.4	0.7
34	6/X	21	8.4	28.2	5.0	4.75	1.28	1.28
35	26/XI	17	8.3	32.0	4.3	4.0	1.05	2.5
36	4/XII	14	8.0	7.3	2.0	1.8	0.44	1.5
37	7/XII	16	9.0	10.8	3.8	2.26	0.88	1.5
38	10/XII	17	8.1	37.5	6.8	5.64	1.17	2
39	31/XII	14	8.4	5.6	2.73	2.57	0.68	1.5
40	4/I/56	14	8.1	19.7	5.65	4.65	0.95	2

* 此处及其后各表中半忍受度及安全浓度仅系硫酸銅的浓度(以 p. p. m. 計),硫酸亚鉄未計在內。

Pickling 氏^[1] 认为极稀的 CuSO_4 溶液也能与碳酸氢盐缓慢作用, 生成淡蓝色的微细沉淀, 这种沉淀很可能也呈胶态, 因此, 水中的碳酸盐类, 无论碳酸或碳酸氢盐, 对于水中硫酸铜的浓度, 无疑地都起着一定的影响, 这种影响, 都是趋向于减低硫酸铜的毒性方面, 而就碳酸盐与碳酸氢盐的影响来说, 前者要比后者为大。我们知道, 水中碳酸的盐类代表水的硬度, 也近似地代表水的硬度, 而水的 pH 值, 主要是由水中各种碳酸盐类(碳酸盐、碳酸氢盐及游离二氧化碳)之间的相互比率所决定的。当水中有碳酸盐存在时, 水中便不会有游离二氧化碳, 此时水的 pH 值主要由碳酸盐与碳酸氢盐的比率所决定。碳酸盐愈多, 水的 pH 值愈高, 对硫酸铜毒性的减低也愈大。当水中有游离二氧化碳存在时, 便不会有碳酸盐, 因此, 水的 pH 值主要由碳酸氢盐与游离二氧化碳的比率所决定, 游离二氧化碳愈多, 水的 pH 值愈小, 此时硫酸铜毒性的减小, 仅由于碳酸氢盐所致, 其影响也就较小。由此我们可以用水的 pH 值来代表水的硬度及硬度对硫酸铜的毒性所生的影响, 这种影响是随 pH 的增加而增加的。

(二) 有机物对硫酸铜毒性的影响

水中的溶解有机物质, 特别是蛋白质及多羟基化合物能与硫酸铜形成铜的复合物, 因而减低了硫酸铜的毒性。

(三) 温度对硫酸铜毒性的影响

一般说来, 温度升高, 药剂的毒性增加; 温度降低, 药剂的毒性减小。其量的关系, Rowers 氏^[2] 曾用氯化锂及氯化铵对金鱼 (*Carassius carassius* L.) 进行过些研究, 结果得到在温度高时每升高一度的影响远大于在温度低时, 就整个说来, 温度的影响并不符合于范霍夫氏定则 (Van't Hoff's rule) 即温度每升高 10°C 毒性增加不及 2—3 倍。就氯化锂在各种不同的温度对金鱼的相对毒性看, 极近似于 Krogh 氏的脊椎动物相对标准代谢曲线的平方根 (一般说来 Q_{10} 小于 2)。我们亦曾按保惠斯的办法 (略有改变) 用白鲢 (*Hypophthalmichthys molitrix*) 作过些温度对硫酸铜合剂毒性的影响的试验, 得到结果大致亦如上述, 在 $16-30^\circ$ 间温度每升高 10°C 毒性约增高 1.7—1.8 倍。

(四) 其他因素的影响

由于金属化合物相互间可起复杂的合力或相消作用, 常使物质的毒性发生变化。硫酸铜的毒性即因食盐及氯化钙的存在而减小^[3]。当在硫酸铜溶液中加入 1/200 的食盐, 则金鱼的活存时间可从 $2\frac{1}{2}$ 小时延长至 $6\frac{1}{2}$ 小时, 再加入 50 p.p.m. 的氯化钙, 则鱼的活存时间, 更可延长至 $12\frac{3}{4}$ 小时。但是在鱼池水中钠钙的含量是低的, 可能影响不大。

根据上述讨论, 我们可以知道: 硫酸铜的毒性系与 pH 值及有机物含量成反比, 而与温度成正比。也就是说, 有机物愈多, pH 值愈大, 硫酸铜的毒性愈小, 即其安全浓度愈大; 在另一方面, 水的温度愈高, 硫酸铜的毒性愈大, 亦即其安全浓度愈小。但是这三种因素, 其对硫酸铜的毒性或安全浓度的影响是不相同的, 我们可以用下式来表示它们之间的相互关系:

$$S \propto \frac{H^x \cdot O^y}{T^z} \text{ 或 } S = K \frac{H^x \cdot O^y}{T^z} \quad (\text{II})$$

这里: S——安全浓度;

H——水的 pH 值;

O——水中的溶解有机物 (毫克 O_2 /升);

T——水温($t^{\circ}\text{C}$);

K——常数,称为安全系数。

x, y, z ——未知数,分别代表该因素对安全浓度的影响的定量关系。

为了求得 x, y, z 的数值,也就是说求出 pH, 有机物及温度这三个因素, 分别对安全浓度所生的影响的定量关系, 我们从表 1 中选择部分数据, 使在上述三个因素中, 有二个因素几近相同, 求出第三个因素的幂次, 也即第三个因素对安全浓度所起的影响。例如为了求出温度对安全浓度的影响, 我们选择了如下的数据, 列于表 2。

表 2

实验号数	平均水温 ($t^{\circ}\text{C}$)	pH	有机 物 (以毫克 O_2 /升计)	依式 I 计算而 得的安全浓度
5	22	7.1	46.8	0.67
6	27	7.1	46.0	0.53
8	27	7.2	47.6	0.47
10	25	7.2	46.5	0.81
13	24	7.5	41.8	0.81
14	24	7.5	46.1	0.90
15	26	7.5	43.3	0.48
18	27	8.0	13.2	0.51
24	24	8.0	14.0	0.56
26	20	7.9	15.0	0.57

在表 2 中, 我们将有机物及 pH 基本上相同的实验, 归成三组(实验 5, 6, 8, 及 10; 13, 14, 及 15, 18, 24 及 26)。在各组中, 我们将安全浓度的不同归之于温度的影响。于是便可得到如下的数据(表 3):

表 3

温 度 ($t^{\circ}\text{C}$)	安 全 浓 度 (S)
$t_1 - t_2$	$S_1 - S_2$
22—27	0.67—0.53
22—27	0.67—0.47
25—27	0.81—0.53
25—27	0.81—0.47
24—26	0.81—0.48
24—26	0.90—0.48
20—24	0.57—0.56
20—27	0.57—0.51
24—27	0.56—0.51
平均数 22.88—26.44	0.708—0.504

从上表可以看到, 当温度从 22.88° 升高至 26.44° 时, 安全浓度即从 0.708 p.p.m. 降低至 0.504 p.p.m.。我们知道, 安全浓度是与温度成反比的, 也就是说 $\frac{t_1}{t_2}$ 应等于 $\frac{S_2}{S_1}$ 。这里 $\frac{S_2}{S_1}$ 的数值为 $\frac{0.504}{0.708}$ 等于 0.713, 而 $\frac{t_1}{t_2}$ 的数值为 $\frac{22.88}{26.44}$, 等于 0.865, 二者并不相等。将温度的幂次升至 2.3 次方后, 则 $\frac{t_1^{2.3}}{t_2^{2.3}}$ 或 $\frac{22.88^{2.3}}{26.44^{2.3}}$ 等于 0.717。这一数值即与 $\frac{S_2}{S_1}$ 的数值相同。这

表 4

实 验 号 数	依 式 III 计 算 而 得 的 安 全 浓 度	依 式 I 计 算 而 得 的 安 全 浓 度	实 际 上 复 核 过 的 安 全 浓 度
1	0.46	0.86	1
2	0.89	1.06	1
3	1.1	0.90	1
4	0.77	0.72	1
5	1	0.67	1
6	0.58	0.53	0.7
7	0.67	0.75	0.75
8	0.65	0.47	0.75
9	1	1.06	1.1
10	0.77	0.81	1
11	0.72	0.55	1
12	0.73	0.87	1
13	0.79	0.81	0.87
14	0.91	0.90	1
15	0.75	0.48	1
16	0.96	0.66	1
17	0.79	0.60	1
18	0.30	0.51	0.75
19	0.45	0.55	1
20	0.46	0.90	1.1
21	0.51	1.02	1
22	0.44	0.86	0.75
23	0.38	0.95	1
24	0.41	0.56	1
25	0.33	0.60	1
26	0.64	0.57	1
27	0.46	0.50	1
28	0.81	0.76	1
29	0.72	0.48	0.5
30	0.41	0.31	1
31	0.38	0.30	1
32	0.37	0.44	0.75
33	0.39	0.40	0.7
34	1.09	1.28	1.28
35	1.90	1.05	2.5
36	0.88	0.44	1.5
37	1.18	0.88	1.5
38	2.06	0.17	2
39	0.76	0.68	1.5
40	1.90	0.95	2

样,我們可以认为安全浓度系与温度的2.3次方成反比的,这一幂次即为式II中所求的 z 。依类似的方法,从表1的数据中,我們可以求得pH及有机物的幂次,也即式II中的 x 及 y ,分别为2.3及0.6。

如果 x, y, z 的数值完全正确的話,則將 x, y 及 z 代入式II中, K 应为一常数。經將表1的数据加以复驗,并用嘗試法(trial and error method)加以校核后,知道將有机物的幂次,也即 y 的数值,自0.6提高到0.8后, K 基本上接近于一常数,等于0.62。因此,我們將計算安全浓度的公式(式II)写成如下的形式:

$$S = 0.62 \frac{H^{2.3} \cdot O^{0.8}}{T^{2.3}} \quad (\text{III})$$

这样一来,我們只要知道了魚池水的pH,有机物及水的温度,即可根据上式計算,應該使用的硫酸銅浓度,并再加上2/5硫酸銅量的硫酸亞鐵,这样的浓度能杀死魚鳃上的寄生虫,但对魚是安全的。

根据上述討論,我們就不难了解用0.7 p. p. m. 硫酸銅及硫酸亞鐵合剂来治理草魚的寄生虫性鳃瓣病,在夏天及初秋功效极佳,而至秋末及冬初有时可能失效的原因,是由于魚池的水温較低,以及水质特性的不同所致。从上式来看,当水温較低时,安全浓度可以相当地提高,也就是說硫酸銅的毒性,由于水质及温度的影响,已經大大地减小,如仍用0.7 p. p. m. 的葯剂,对魚來說当屬安全,但其毒性可能已不足以杀死魚鳃上的寄生虫,必須适当地提高硫酸銅硫酸亞鐵合剂的浓度,方能显效。在另一方面,如在盛夏水温較高的时候,用0.7 p. p. m. 的合剂,毒性可能太大,也可根据上式适当地減少所施葯剂的浓度。

为了驗證式III的正确性,我們用表1的数据,計算理論上的安全浓度,并与依式I計算而得的安全浓度以及实际上复核过的安全浓度相比較,其結果列于表4。

由表4可以看到,依式III計算而得的安全浓度,絕大多数都超过0.5 p. p. m. (再加上0.2 p. p. m. 硫酸亞鐵,即为0.7 p. p. m.) 甚至在有些实际中,高达2.06 p. p. m. 之多,而这样高的浓度,根据实际复核的結果,对魚依然是安全的。但是也有一些实验,依式III計算而得的安全浓度,远低于实际复核过的安全浓度,这是因为魚池的水质是多种多样的,影响硫酸銅的因素也是錯綜复杂的,我們不可能期望温度、有机物及pH这三个因素,已能代表水质特性对硫酸銅毒性的影响,因此上述的安全浓度公式(式III)仅为一經驗式,只能适用于大多数的情况,在某些情况下,可能全不适用。同时,当应用式III求安全浓度,如发现这一求得的浓度与平常的施放浓度相差太大时,我們建議先用飼养的魚作初步試驗,以保証魚的生命安全。

四、总 結

1. 用硫酸銅、硫酸亞鐵合剂来治理草魚的寄生虫性鳃瓣病,其用量应随水质特性的差异以及温度的高低而有所不同,其量的关系式如下:

$$S = K \frac{H^{2.3} \cdot O^{0.8}}{T^{2.3}}$$

这里: S ——安全浓度,即应加的硫酸銅的浓度,以p.p.m.計;

K ——安全系数,0.62;

H ——水的pH;

O——水的有机物耗氧量(毫克 O₂/升計);

T——水温(t°C)。

2. 在任何季节及任何魚池中, 只要测定了水的有机物及 pH 以及水的温度后, 即可依上式計算, 应使用的硫酸銅浓度再加上 2/5 量的硫酸亚鉄。这一浓度能有效地杀死魚鰓上的寄生虫, 而不致使魚死亡。

参 考 文 献

- [1] 徐墨耕, 任云峯, 1955, 中华魚蚤化学治理的初步报告。水生生物学集刊, 1955 (2): 57—59。
- [2] 倪达书, 1955, 1953 年魚病防治工作报告。水生生物学集刊, 1955 (1): 7—23。
- [3] 費鴻年, 1954, 河水污染对于水生生物的影响, 学艺, 23 (5): 10—15。
- [4] Ellis, M. M., 1937, Detection and Measurement of Stream Pollution, *Bull. U. S. Bur. Fish.*, 56(22): 365—437。
- [5] Hart, W. B., Doudoroff, P., & J. Greenbank, 1945. *The Evaluation of The Toxicity of Industrial Wastes, Chemicals and Other Substances to Fresh Water Fishes*, Philadelphia; Atlantic Refining Company.
- [6] Lagler, K. F., 1952, *Fresh water Biology*. Chap. XV.
- [7] Mellor, A *Comprehensive Treatise on Inorganic & Theoretical Chemistry*, 3: 267—279.
- [8] Powers, E. B., 1920. Influence of temperature and concentration on the toxicity of salts to fishes. *Ecology*, 1: 95—112.
- [9] Turnbull, H., Demann, J. G. & Weston, R. F.; 1954: Toxicity of Various Refining Materials to Fresh Water Fish. *Ind. & Eng. Chem.*, 46, 324—333.

FACTORS INFLUENCING THE APPLICATION OF COPPER TURNBULL SULPHATE AND FERROUS SULPHATE AS A PARACITICIDE IN PONDS

JEN YUNG-FENG AND HSU ME-KENG
(*Institute of Hydrobiology, Academia Sinica*)

(ABSTRACT)

A mixture of copper sulphate and ferrous sulphate in the ratio of 5:2 with a total concentration of 0.7 ppm. has been used extensively for the control of some parasitic organisms on the gills of the Chinese pond fish, *Ctenopharyngodon*. Its effect, however, is sometimes decreased or even entirely lost in cold seasons, and in some particular fish-ponds. The possible explanation is that the decrease in temperature, and the precipitation of cupric ions, together with the formation of relatively non-toxic complexes, would affect the toxicity of the mixture. For adjusting the concentration of the mixture, an empirical formula has been derived by the authors in the following expression:

$$S = K \frac{H^{2.3} \cdot O^{0.8}}{T^{2.3}}$$

Where S = Safety concentration (in ppm. of CuSO₄ with a given proportion of FeSO₄);
K = Safety coefficient (=0.62);
H = pH of the water;
O = Organic-matter content content (in mg O₂/l.);
T = Temperature of the water (in t°C.).

In practice, after the pH, the organic-matter content as well as the temperature of water in a pond have been determined, the concentration of copper sulphate necessary to provide the effective concentration lethal to the parasites, but non-toxic to the fish, can be calculated.

This formula is derived empirically, but some modifications may still be necessary in particular cases.

鯪、青魚烂鰓及赤皮病致病菌的研究¹⁾

王 德 銘

(中国科学院水生生物研究所魚病学組)

一、引 言

淡水魚的鰓病根据目前了解,是由二类病原引起的。一类是动物性寄生虫,有寄生原生动物、甲壳类、单殖类吸虫等;其中危害特别大的是鯪魚鰓隱鞭虫(*Cryptobia branchialis* Nie),可引起池魚大量死亡;尤其是一齡鯪魚,受害最为严重;已找出防治方法^[4,5]。另一类是植物性病原,它們分別属于藻菌綱(Phycomycetes)及裂殖菌綱(Schizomycetes)。由藻菌綱的鰓霉(Branchiomycetes)引起的鰓病,国外已有研究^[8,24],已发现二种病原:*Branchiomyces sanguinis* Plehn 及 *Branchiomyces demigrans* Wundsch。但根据 Беспальый 氏^[1]分离培养結果,认为此二种霉菌是同种,只是不同的生长时期而已。此类鰓病在我国池养的鯪、青、鲢、鱒中均有发现,除在广东省淡水养殖区内分布較广,危害較大外,其他地区很少发现。至于由裂殖菌綱的变形粘菌(Myxobacteria)引起的鰓病, Davis 氏^[14], Ordal 及 Rucker 氏^[21], Rucker, Johnson 及 Kaydas 氏^[23]等均进行了研究,已分离出一种变形粘菌,但人工感染迄未成功。Griffin 氏^[16]援引梅毒及麻瘋为例,认为仍可將此菌視作一种鰓病的病原。此种鰓病在我国尚无发现。

我們在江苏、浙江两省的淡水魚区中,經常发现由細菌(裂殖菌綱)引起的鰓病。此类鰓病在我国池养鯪、青魚中較多,鲢、鱒魚中較少見;在天然水面放养的鯪、青、鲢、鱒則偶有发现。它的征象是鰓器坏疽,鰓絲边緣附着污泥(見图版 I, 图 1),个别病魚的鰓絲頂端胀大,有时粘在一起;病变严重时鰓器失去紅潤顏色,宿主因血液的正常循环被破坏,最后窒息而死亡。显微镜检查病魚鰓絲时,一般寄生虫很少,只見成簇的短桿状細菌附着鰓絲;这类細菌在液体中游动极快。

淡水魚的赤皮病,是細菌和病毒引起的皮肤病的总称,如:出血性腐敗病、疔疮病、肿瘤病、鱗立病等,传布极广。多数发生在鯪、青、鯉三种魚中。已对江、浙地区的鯪、青魚赤皮病进行了初步研究^[2],但因研究材料有限,調查地区不广,参考資料不全,目前尚很难將各种病型分清。在国外这方面已进行很多的工作,分別記述在藤田經信氏^[7], 谷川英一氏^[3], Breed, Murray 及 Hitchens 氏^[13], Davis 氏^[14], Цион 氏^[11], Ляйман 氏^[10], Шербина 氏^[12], Hauduroy 氏 et al.^[18], Schäperclaus 氏^[24] 以及 Горегляд 氏^[9] 等的文献中。但有些魚病目前在病原上究竟是病毒抑是細菌,尚有爭論。

工作过程中蒙倪达书教授和高尙蔭教授給予指导,又承葛蕊芳、吳兰彰二位同志协助进行試驗工作,一併在此致謝。

1) 1957年4月20日收到。

二、材料和方法

我們共解剖了 17 尾患烂鰓病和 35 尾患赤皮病的鮭、青魚，大部分来自漁农的魚池，小部分来自中国科学院水生生物研究所魚病学組及浙江省淡水水产試驗所的試驗魚池。取菌的材料有烂鰓病灶、肌肉病灶、心血、腎血、肝、胆汁等。

检查病魚鰓器，发现有上述細菌性烂鰓征象时，即用灭菌剪刀，剪下一部分病灶，接种入肉湯或魚湯中，室温（20—30°C）培育 5—24 小时，用灭菌白金耳在魚肉琼脂平板上塗布；室温培养 24 小时后，观察菌落特性，挑选单个菌落入琼脂斜面，再室温培养 15—18 小时后行革兰氏染色。显微镜检查塗片，确定为純种后，进行細菌的各种性状測定。

赤皮病病魚材料取时操作方法与“青魚赤皮病致病菌的初步研究”一文中所述相同。

1956 年开始应用魚湯及魚肉琼脂培养基，均由鮭魚及鯉魚的肌肉配制而成。青魚肌肉因含脂肪量較多，所得液体較渾濁，不易澄清，故試制一次后未繼續采用。

在生物化学反应中，所用培养基、試剂以及培养時間均与“青魚赤皮病致病菌的初步研究”一文中所述相同，仅尿素分解試驗是采用 Levine 氏改良法^[19]。尿素不經濾菌器过滤灭菌，先配制溶液甲——尿素母液：乙醇（95%）2 毫升，尿素 2 克，蒸餾水 4 毫升（不需灭菌保存于冰箱）；溶液乙——緩冲母液：磷酸氢二鉀 0.1 克，磷酸二氢鉀 0.1 克，氯化鈉 0.5 克，酚紅（0.2%）1 毫升，蒸餾水 100 毫升（高压蒸气灭菌 12 磅 30 分鐘）。用时将甲液 1 份与乙液 19 份混合，在小而干淨的試管内（不需灭菌）加入 0.25—0.5 毫升混合液，接种入大量細菌培养，使极度混濁。另一試管加上述混合液，不加細菌培养液作为对照；37°C 培养 1 小时，观察結果。尿素分解时显著硷化，現粉紅色。

莖膜染色采用墨汁染色法。

鞭毛染色系将张大中氏离心沉淀法^[9]及魏臚氏改良法結合应用。

螢光素（fluorescin）及綠脓素（pyocyanine）是根据 Munoz, Scherago 及 Weaver 氏^[20]所述方法測定。

三、步驟及結果

（一）細菌性状測定

在 17 尾病魚的烂鰓病灶中，我們共分离到 57 个菌株。其中有 44 个菌株（14 尾病魚中）产生一种水溶性的黄綠色或綠色螢光色素，引起了我們的注意。以后又在 7 尾患赤皮病的鮭、青魚病灶內分离得到产生同样色素的細菌，但未分离到如作者 1956 年所描述的青魚赤皮桿菌（为叙述方便起見，暫用此名）。特別在 1956 年 6 月間，浙江省淡水水产試驗所一口进行人工施肥——无机肥料（过磷酸鈣、硫酸銨、硝酸鉀）和有机肥料（青草、人糞）的“发塘”中，突然发生魚苗大量死亡，作者获得 18 尾鮭魚苗及 4 尾青魚苗。病征是头部隆起充血，身体两侧現紅斑；患病的魚苗离羣在池边独游，行动迟緩，以后突然翻身，腹部向上，1—2 分鐘后即死亡。检查病魚，除鰓部、体表有少量寄生絨毛虫（車輪虫）外，未見其他寄生虫。取头部腐烂皮层培养，亦均分离得到此种产生色素的細菌。鉴于此类細菌屢次从病灶分离得到，同时，有的赤皮病灶內只分离得到此种細菌，作者怀疑此种細菌可能是烂鰓及赤皮病的致病菌，因此决定进行下列試驗。

先进行性状測定。

这些細菌可分为两类。一类是：

細菌形态：短杆状，中軸直行，边側平形，两端圓形，单个或成对排列；有运动力，极端1—3鞭毛；无芽胞；菌体染色均匀，革兰氏染色阴性；大小为0.7—0.75 × 0.4—0.45微米。

琼脂平板表面菌落：圓形，24小时培养后，直径1—1.5毫米，48小时后增至3—4毫米，10日后增至8—15毫米；微凸，表面光滑、湿润，边缘整齐，灰白色，半透明，奶油状，易乳化；24或48小时后产生綠色或黄綠色素，弥漫培养基。

明胶平板表面菌落：24小时内圓形，針孔大小；微凸，表面光滑，边缘整齐，透明，奶油状，易乳化；20小时左右开始产生綠色或黄綠色素，弥漫培养基。

琼脂斜面培养：丰盛生长，綫形，高起，表面光滑，湿润，边缘整齐或波紋状，灰白色或黄白色，有臭味。在琼脂平板上挑选单个菌落接种到琼脂斜面的第一代培养，48小时后产生綠色或黄綠色素，弥漫培养基。

琼脂穿刺培养：表面生长丰盛，沿穿刺綫生长稀少，菌呈白色，接近培养基的表面部分16小时后产生色素。

明胶穿刺培养：24小时后杯状液化，72小时后层面形液化，液化部分現色素。

肉湯培养：生长丰盛，均匀渾浊，微有絮状沉淀，一搖即散；表面有光滑、柔軟层状菌膜，一搖即碎；24小时后培养基表层产生色素。

溶血性(兔血)：溶血，β型。

馬鈴薯培养：中等生长，微凸，光滑湿润，菌苔呈綠色，培养基二日后呈綠色。

糖类发酵：发酵右旋阿拉伯糖、木糖、甘露糖、半乳糖，产酸不产气；微发酵葡萄糖，产酸不产气。对其他单糖类——左旋阿拉伯糖、鼠李糖；双糖类——蔗糖、麦芽糖、乳糖、鞣糖；多糖类——棉子糖、淀粉、菊淀粉、糊精；醇类——右旋阿拉伯醇、丙三醇、赤絲藻醇(erythritol)、戊五醇、甘露醇、卫矛醇、山梨醇；甙类——水楊甙、馬栗树皮甙(aesculin)、α-甲基甙(α-methyl-glucoside)及非糖物质——肌醇均不能发酵。

靛基質試驗：阴性(少数菌株阳性)。

美紅試驗：阴性。

乙醯基甲基甲醇試驗：阴性。

枸橼酸鈉利用試驗：阳性。

尿素分解試驗：阴性。

不还原硝酸盐至亚硝酸盐。

醋酸鉛琼脂中不产生硫化氢(沿穿刺綫微呈黑色)。

不产生氨(少数菌株生成氨)。

牛乳培养基中产硷，蛋白胨化，凝固，凝块加硷后不溶解。

需气。

pH 5—11中均能生长。pH 12中少数菌株微弱生长。pH 3以下，13以上均不生长。

产生螢光素及綠胺素。25—35°C培养24小时产生色素丰盛，40°C尚产生色素，45°C停止产生色素；在含有丙三醇及磷酸盐的培养基中产生色素丰盛。

适宜温度：30—35°C；40°C尚能生长；50°C 1小时，55°C半小时，60°C 10分钟死亡。

另一类細菌的特性大致相同，不同点是不液化明胶，有的菌株两端有鞭毛，牛乳中产

硷,馬鈴薯上生长不产生色素。

二类細菌通过魚体后,液化明胶的能力能够互相变异。

根据以上特点,作者认为这些細菌应该是,螢光假单胞菌 (*Pseudomonas fluorescens* Migula)。

(二)人工感染試驗

我們从以上菌株中,选择了二株螢光假单胞菌 56-12-10 (液化明胶,由二龄青魚烂鰓病灶分得), 56-IV-1 (不液化明胶,由鮭魚苗腐烂皮层分得),进行人工感染試驗。

1. 鰓部感染試驗 将 56-12-10 及 56-IV-1 菌接种到琼脂平板培养基上, 30°C 培养 18 小时,然后用镊子刮取菌苔塗在正常鮭、青魚鰓部,养入水族箱內,观察病情。

我們共进行了 6 次鰓部感染試驗。結果見表 1。感染試驗中 84 尾試驗魚仅 5 尾魚的腐烂鰓部培养分离得到原感染菌。其余試驗魚均未感染。

表 1 螢光假单胞菌人工感染鮭、青魚鰓部試驗

菌号	試驗日期	試驗魚			发病魚数	未发病魚数	試驗期間 平均水温	菌苔塗布		感染后一月內魚体变化記錄
		类别	年齡	尾数				培 时	养 間 部 位	
56-12-10	56,8,4	鮭魚	一齡	20	0	20	27.5°C	18小时	鰓部	一月后解剖,鰓部色澤鮮紅,无病变。 2天后死亡2尾,鰓腐烂,培养分离得到原感染菌;24天后死亡1尾,鰓部发白,未分离到原感染菌;28天后死亡1尾,鰓部微有腐烂状,未分离到原感染菌;余6尾一月后解剖,无病变。 2天后死亡3尾,鰓无病变;4天后死亡3尾,鰓无病变;9天后死亡1尾,鰓微腐烂,培养分离到原感染菌;16天后死亡1尾,鰓腐烂,培养分离到原感染菌。 2天后死亡1尾,鰓腐烂,分离得到原感染菌;余4尾无病变。
	56,9,19	青魚	一齡	10	2	8	22.8°C	18小时	鰓部	
	56,10,27	青魚	一齡	8	2	6	17.5°C	18小时	鰓部	
	57,1,22	鮭魚	一齡	5	1	4	11°C	18小时	鰓部	
	共計				43	5	38			
56-IV-1	56,6,14	青魚	二齡	10	0	10	24°C	18小时	鰓部	一月后解剖,鰓部色澤鮮紅,无病变。
	56,8,4	鮭魚	一齡	21	0	21	27.5°C	18小时	鰓部	一月后解剖,鰓部色澤鮮紅,无病变。
	57,1,22	青魚	一齡	10	0	10	11°C	18小时	鰓部	一月后解剖,鰓部色澤鮮紅,无病变。
	共計			41	0	41				

* 进行試驗时,为求减低魚体抵抗力,曾同时在腹腔注射 18 小时肉湯培养,菌量为每尾 0.5 毫升。

2. 肌肉感染試驗 将琼脂上 56-12-10 及 56-IV-1 二菌 18 小时培养用无菌生理盐水洗下,离心沉淀,棄去上清液,再加无菌生理盐水,搖渾,如是洗滌三次,按照 McFarland 氏渾浊度比色管第三管,配成相当浓度。或者用 18 小时肉湯培养注射魚鰓基部,进行試驗。結果見表 2。試驗魚在注射菌液后,注射部位附近的肌肉或者相对体側的肌肉稍微隆起,第二日出現紅斑,益形浮腫,一般于第三日浮腫部位肌肉开始腐烂;此菌产生的病征与青魚赤皮桿菌引起的病征,不同处在于前者潰瘍的部位并不蔓延(見图版 I, 图 2),产生病变的过程較长,头部、鰓盖多数不出現紅斑;而后者潰瘍部位扩大,縱橫蔓延,严重的可延及头尾,头部、鰓盖出現紅斑,病变过程很短(24 小时)。65 尾試驗魚中,有 60 尾发病。对照試驗中,56-8-3、56-29-1 二菌培养和盐水注射入青魚体内,不发生病变。因此作者认为此菌也是鮭、青魚赤皮病的一种病原菌。

表2 螢光假单胞菌人工感染鮭、青魚背鳍基部試驗

菌号	試驗日期	試驗魚			发病魚数	未发病魚数	試驗期間 平均水温	注射菌液*			注射后二週內魚体变化記錄
		类别	年齡	尾数				浓度	部位	菌量(毫升)	
56-12-10	56,9,19	青魚	一齡	10	10	0	24.5°C	3	背鳍基部	0.5	注射部位肌肉腐爛, 鳍基充血, 体側及腹面現紅斑。
	56,11,19	青魚	一齡	10	10	0	15°C	3	背鳍基部	0.5	注射部位肌肉腐爛, 鳍基充血, 体側及腹面現紅斑。
	57,1,12	鮭魚	一齡	5	5	0	11°C	18小时肉湯培养	背鳍基部	0.5	3天后死亡3尾, 4天后死亡1尾, 5天后死亡1尾, 經解剖检查, 注射部位肌肉充血。
	57,1,22	鮭魚	一齡	10	8	2	9.2°C	18小时肉湯培养	背鳍基部	0.5	14天后解剖, 8尾注射部位肌肉充血; 2尾正常。
	共計				35	33	2				
56-IV-1	56,9,19	青魚	一齡	10	10	0	24.5°C	3	背鳍基部	0.5	注射部位肌肉腐爛, 鳍基充血, 体側及腹面現紅斑。
	56,11,19	青魚	一齡	10	10	0	15°C	3	背鳍基部	0.5	注射部位肌肉腐爛, 鳍基充血, 体側及腹面現紅斑。
	57,1,22	鮭魚	一齡	10	7	3	9.2°C	18小时肉湯培养	背鳍基部	0.5	14天后解剖, 7尾注射部位肌肉充血; 3尾正常。
	共計				30	27	3				
对照	56-8-3	青魚	一齡	5	0	5	24°C	18小时肉湯培养	背鳍基部	0.5	无病变。
	56-8-3 盐水	青魚	一齡	5	0	5	15°C	18小时肉湯培养	背鳍基部	0.5	无病变。
	56-29-1	青魚	一齡	5	0	5	11°C	18小时肉湯培养	背鳍基部	0.5	无病变。
	共計				15	0	15				

附註: * 注射菌液浓度3系指盐水稀释菌液与 McFarland 氏渾濁度比色管第三管相当。

** 对照試驗中, 56-8-3 菌系从病魚腹水中分离得到, 为不发酵糖类的革兰氏阳性球菌; 56-29-1 菌系从泥鳅体内分离得到的革兰氏阴性桿菌。

3. 实验动物(温血)毒力試驗 实验动物选用普通医学上常用的小白鼠及豚鼠, 均向武汉生物制品所购得。实验动物于购得后均飼养7—20天, 观察无异状后, 才用作試驗。

菌液的配法有四种(見表3附註)。小白鼠注射菌液3至5小时后, 即不活动, 全身抽搐, 現痛苦状; 死前到处乱钻, 突然伸直四肢死去。死后解剖尸体, 大腸中部微呈液化; 豚鼠于注射菌液18—20小时后, 不肯移动, 微閉双目, 呈昏昏欲睡状; 尸体解剖, 大腸有一段約4—7厘米充滿气泡。試驗結果見表3。注射56-12-10菌液的小白鼠全部死亡, 注射56-IV-1菌液的10只小白鼠有8只死亡。注射56-12-10菌液的豚鼠有4只死亡, 但对照試驗中亦有1只豚鼠死亡, 經過解剖检查, 內脏及外表均完好, 死因不明。注射56-IV-1菌液的5只豚鼠仅1只死亡, 分析其原因有二: 56-IV-1菌对豚鼠的毒力試驗, 进行試驗的时间最晚, 菌在琼脂斜面上传接已达6月, 传接代数在10代以上, 故菌株毒力已經減退; 其次, 試驗中所用注射量較少, 仅1毫升, 豚鼠的注射量可高达5毫升(方景灿等^[1]), 而这組試驗中菌液浓度又配得較稀, 这均可能影响結果。但总的來說, 螢光假单胞菌对小白鼠及豚鼠是具有毒力的。

表3 荧光假单胞菌对实验动物的毒力试验

菌号	组别	注射液	实验动物			注射量 (毫升)	注射部位	注射后一週内的变化
			类别	编号	体重 (克)			
56-12-10	1	菌液甲	小白鼠	1	23	0.2	腹腔	8 小时死亡
			小白鼠	2	20	0.2	腹腔	8 小时死亡
			小白鼠	3	25	0.2	腹腔	8 小时死亡
			小白鼠	4	20	0.2	腹腔	7.5小时死亡
			小白鼠	5	19.5	0.2	腹腔	7.5小时死亡
对 照	2	无菌蛋白 胨水	小白鼠	1	21.5	0.2	腹腔	——
			小白鼠	2	27.5	0.2	腹腔	——
			小白鼠	3	21.5	0.2	腹腔	——
56-12-10	3	菌液乙	小白鼠	1	22.5	0.2	腹腔	11 小时死亡
			小白鼠	2	25	0.2	腹腔	11.5小时死亡
			小白鼠	3	24	0.2	腹腔	11.5小时死亡
			小白鼠	4	21	0.2	腹腔	10 小时死亡
			小白鼠	5	23.5	0.2	腹腔	12 小时死亡
对 照	4	无菌蛋白 胨水	小白鼠	1	25	0.2	腹腔	——
			小白鼠	2	21.5	0.2	腹腔	——
			小白鼠	3	24	0.2	腹腔	——
56-IV-1	5	菌液乙	小白鼠	1	26.5	0.2	腹腔	22 小时死亡
			小白鼠	2	23.4	0.2	腹腔	22 小时死亡
			小白鼠	3	23.4	0.2	腹腔	26 小时死亡
			小白鼠	4	22	0.2	腹腔	22 小时死亡
			小白鼠	5	28	0.2	腹腔	22 小时死亡
			小白鼠	6	23.4	0.2	腹腔	33 小时死亡
			小白鼠	7	22	0.2	腹腔	68 小时死亡
			小白鼠	8	25	0.2	腹腔	——
			小白鼠	9	20.3	0.2	腹腔	——
			小白鼠	10	20.3	0.2	腹腔	35 小时死亡
对 照	6	盐 水	小白鼠	1	26.5	0.2	腹腔	——
			小白鼠	2	26.5	0.2	腹腔	——
			小白鼠	3	26.5	0.2	腹腔	——
56-12-10	7	菌液丙	豚鼠	1	562.5	1	腹腔	——
			豚鼠	2	406	1	腹腔	21 小时死亡
			豚鼠	3	390.6	1	腹腔	29 小时死亡
			豚鼠	4	437.5	1	腹腔	20 小时死亡
			豚鼠	5	462.5	1	腹腔	52 小时死亡
对 照	8	无菌肉汤	豚鼠	1	390.6	1	腹腔	——
			豚鼠	2	437.5	1	腹腔	76 小时死亡
			豚鼠	3	462.5	1	腹腔	——
56-IV-1	9	菌液丁	豚鼠	1	500	1	腹腔	——
			豚鼠	2	656	1	腹腔	——
			豚鼠	3	531	1	腹腔	——
			豚鼠	4	593.7	1	腹腔	——
			豚鼠	5	562.5	1	腹腔	45 小时死亡
对 照	10	无菌蛋白 胨水	豚鼠	1	625	1	腹腔	——
			豚鼠	2	656	1	腹腔	——
			豚鼠	3	469	1	腹腔	——

附註：各种菌液配法说明如下：

菌液甲：蛋白胨水 18 小时培养。

菌液乙：琼脂平板培养 18 小时后用生理盐水洗下，离心沉淀，洗涤三次，按照 McFarland 氏浑浊度比色管第三管用盐水稀释。

菌液丙：肉汤 18 小时培养，按照 McFarland 氏浑浊度比色管第一管用肉汤稀释。

菌液丁：蛋白胨水 18 小时培养，按照 McFarland 氏浑浊度比色管第一管用蛋白胨水稀释。