

サケ科魚類の腸内細菌叢に関する研究—I

飼育魚の腸内細菌数と細菌叢*1

吉水 守・木村 喬久・坂井 稔

(1975年10月6日受理)

Studies on the Intestinal Microflora of Salmonids—I.

The Intestinal Microflora of Fish Reared in Fresh Water and Sea Water

Mamoru YOSHIMIZU,*2 Takahisa KIMURA*2, and Minoru SAKAI*2

Viable counts were determined seasonally on the intestinal contents of 22 masu salmon (*Oncorhynchus masou*) and 10 king salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) reared in fresh water and sea water, and on these ambient waters. Two kinds of media, fresh- and sea-water based media, were put in parallel. Over 1600 strains were isolated from the above samples. The composition of the microflora was determined according to the scheme of SHEWAN *et al.* (1960).

The results are summarized as follows:

- 1) The number of viable bacteria in both fresh and sea breeding waters was about 10^3 per milliliter with no observed seasonal variation. The composition of the microflora mainly included the genera *Flavobacterium*/*Cytophaga*, *Achromobacter* and *Pseudomonas*.
- 2) The number of viable bacteria in the intestinal contents of salmon ranged from 10^4 to 10^7 per gram. The intestinal microflora was comparatively simpler than that of the ambient water, and the floras of fresh- and sea-water reared salmon were quite different. The principal genera in the intestinal contents of fresh water reared salmon was genus *Aeromonas* and the family *Enterobacteriaceae*, while that of sea water reared salmon consisted mainly of the genus *Vibrio*.

魚類の腸内細菌叢については、魚の腐敗や人畜由来の腸内細菌による汚染など主として食品衛生的観点から、また魚類の生理、疾病に関連して、古くから研究が行われている。魚類の消化管特に腸管内には多数の細菌が存在することが知られているが、¹⁻²¹⁾ その細菌叢は体表・鰓などの細菌叢と異なり、特定の優勢種が認められるという報告が多く、²²⁻²⁷⁾ 一方魚類は固有の正常腸内細菌叢を有しないという見解も古くから支持されている。²⁸⁻³²⁾ しかし一般にこの種の研究には断片的なものが多く、正常腸内細菌叢の実態、優勢種出現の機構およびその来源、さらにそれらの生体に及ぼす影響などについては未だ明確でない点が多い。³³⁻³⁸⁾

魚類の正常腸内細菌叢を明らかにすることは、その生理的意義を明らかにする上に、また魚類の疾病研究においてもきわめて重要と考えられる。このような見地から著者らは冷水域における重要な養殖魚類である広塩魚のサケ科魚類の降海および溯河の過程を含む一連の生活環中における腸内細菌叢の実態並びに変遷を知り、腸内細菌叢の魚類の生理に及ぼす影響を知ることを目的に、まず本報では淡水および海水飼育魚の腸内細菌叢と飼育環境水の細菌叢について観察を行い比較検討したので、その結果について報告する。

*1 本研究の要旨は昭和48年4月の日本水産学会春季大会において発表した。

*2 北海道大学水産学部微生物学講座 (Lab. Microbiol., Fac. Fish., Hokkaido Univ., Hakodate, Hokkaido, Japan)

実験材料および方法

飼育環境水: Fig. 1 に示す北海道立水産孵化場・森支場 (以下森ふ化場と略す) において, 1971年7月から1972年6月の間に8回, それぞれ飼育用水路の2点 (A・B地点) および3飼育池 (8・9・10号池) から計5試料, また1971年10月, 同孵化場・忍路湾実験飼育場において, 湾口および湾内生簀の外側と内側の計3海水試料を滅菌フラスコおよびJZ式採水器を用いて無菌的に採取・氷蔵して研究室に持ち帰り直ちに実験に供した。なお運搬に要した時間は前者が約1時間, 後者は約4時間である。

供試魚: 森ふ化場において1971年7月から1972年7月までの間に計7回, 淡水飼育中の健康なサクラマス (*Oncorhynchus masou*) 1年魚およびマスノスケ (*Oncorhynchus tshawytscha*) 1年魚 (平均体長 19.0 cm, 平均体重 88.3 g) 計27尾および1971年10月, 前年度森ふ化場より忍路湾飼育場に移殖し, 生簀で海水飼育中のマスノスケ2年魚 (平均体長 38.4 cm, 平均体重 997.0 g) 5尾を捕獲直後即殺・氷蔵して研究室に持ち帰り直ちに実験に供した。

基礎培地および培養条件: 予め2, 3の試料について実施した培養条件の検討結果を参考にして, Table 1 に示す淡水培地と海水培地を供試し, 好氣的条件下で 25°C・5日間の培養を行った。

生菌数の測定および供試菌株の分離: 腸内容物は本研究の初期 (1972年1月まで) には魚体表面, 特に腹部総排泄口周囲をアルコールで消毒後, 腹部を圧して排泄口より採取したが, 以後は体表面を同様に消毒

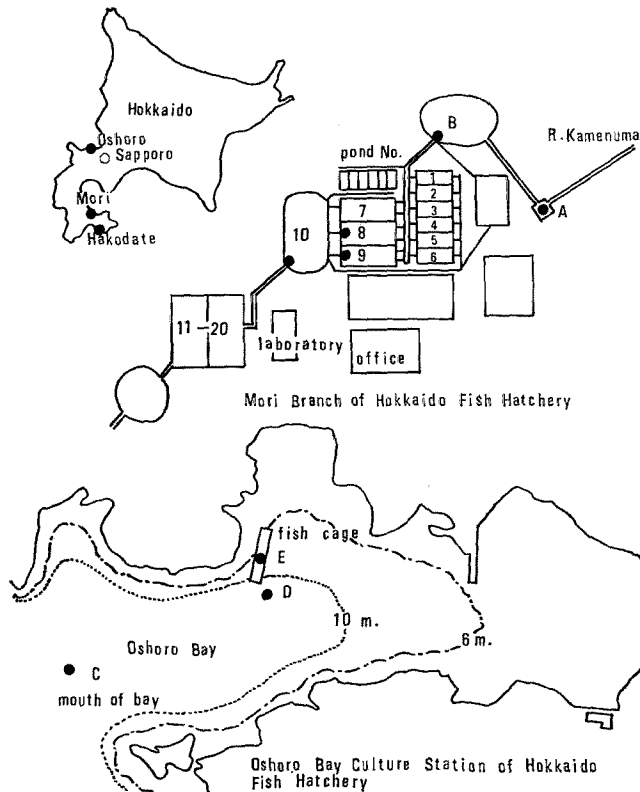


Fig. 1. Sampling station at Mori Branch and Oshoro Bay Culture Station of Hokkaido Fish Hatchery.

後開腹し幽門部末端から排泄口の手前 1 cm の部位までの腸管を摘出して、その内容を無菌的に採取した。腸内容物および飼育環境水のうち、淡水由来および淡水試料は生理的食塩水、海水由来および海水試料は人工海水を用いてそれぞれ 10 倍希釈法による希釈液列を作製し、各希釈液 0.2 ml を平板培地面に塗抹し、25°C・5 日間培養後、発生集落数を常法により算出し、腸内容物では湿重量 1 g 当り、水試料では 1 ml 当りの細菌数で示した。菌株の分離は、各検体の最適希釈平板の一定面積中の全集落(約 30 個宛)を釣菌し、純培養を繰返して供試分離菌株を得た。

分離菌株の分類: 分離菌株は下記の各種性状の検査を行い、SHEWAN *et. al.* の方法³⁹⁾に準拠して genus レベルの分類を行った。

形態学的性状検査: 菌株の由来により、淡水あるいは海水培地で 25°C・24~48 時間培養した菌体について、常法通りグラム染色性、菌型、運動性、鞭毛の有無を観察した。

生化学的性状検査: 前記同様の培養菌体を供試し、グルコースの酸化発酵性については淡水由来株は HUGH and LEIFSON,⁴⁰⁾ 海水由来株は LEIFSON の方法⁴¹⁾により、またチトクロームオキシダーゼ活性は KOVAC's の方法⁴²⁾により観察した。さらに genus *Vibrio* の検索には *Vibrio static compound*. 0/129 感受性試験を行った。

結 果

生菌数 森ふ化場の飼育用水、飼育池水および忍路湾飼育場の海水の生菌数を採年月日、水温、水深、気温と共に Table 2 に示した。

森ふ化場の飼育用水および飼育池水の生菌数は 1971 年 7 月より 1972 年 6 月に至る周年、 10^8 /ml (淡水培地) のオーダーでほとんど季節的変動は認められず、1970 年 10 月における忍路湾飼育場の生菌数も 10^8 /ml (海水培地) のオーダーであつた。また淡水試料の海水培地、海水試料の淡水培地における生菌数はいずれの場合も上述の生菌数より少なく算出された。

次に飼育魚の腸内容物の生菌数を捕獲年月日、魚種、体重、体長と共に Table 3 に示した。

淡水(森ふ化場)飼育魚の腸内容物の生菌数は、 $10^4 \sim 10^7$ /g (淡水培地) の範囲で、かなり個体差がみられ、季節的変動も明確でなかつた。また海水(忍路湾飼育場)飼育魚の場合では、1971 年 10 月のみの観察結果であるが、 $10^8 \sim 10^9$ /g (海水培地) の程度であつた。

細菌叢 飼育環境水および飼育魚の腸内容物から前述の方法で分離した 1609 株より継代不能株を除いた 1361 株について、Fig. 2 に示す SHEWAN *et. al.* の方法に準拠して genus レベルの分類を行った。その結果を分離菌株数に対する各 genus の出現率(百分率)で示すと Table 4, Table 5 および Table 6 のごとくである。

Table 4 にみられるように、飼育環境水のうち森ふ化場飼育用水の細菌叢の主体は周年 genus *Flavobacterium*/Cytophaga, *Pseudomonas* および *Achromobacter* 等で、季節的には冬期間において genus *Pseudomonas* の割合が増加し、genus *Aeromonas* は全く、また family *Enterobacteriaceae* もほとんど検出されなかつた。一方飼育池水の細菌叢の主体は飼育用水とはほぼ同様であるが、冬期間でも genus *Aeromonas*

Table 1. Composition of the medium used

	FWA* ¹ (g)	SWA* ² (g)
Polypepton (Daigo)	5.0	5.0
Beef extract (Kyokuto)	2.5	2.5
Yeast extract (Daigo)	2.5	2.5
K ₂ HPO ₄	0.2	0.2
MgSO ₄	0.05	—
Glucose	1.0	1.0
NaCl	5.0	—
Agar (Kyokuto)	15.0	15.0
distilled water	1000 ml	250 ml
artificial sea water* ³	—	750 ml
Adjusted to pH.	7.5	7.8

cf. *¹: fresh water agar,

*²: sea water agar

*³: HERBST's artificial sea water (composition: g/100 ml; NaCl 3.0, KCl 0.07, MgSO₄ 0.26, MgCl₂ 0.5, CaSO₄ 0.1)

Table 2. Viable counts in fresh water of Mori Hatchery and sea water of Oshoro Bay Culture Station

Place	Sampling date	Atmos. Temp.* ¹ (min-max) (°C)	Position	Depth (m)	Water temp. (°C)	Viable Counts/ml (FWA)* ²	(SWA)* ³
Mori	9, July '71	18.1-24.1	A	0	12.7	5.2×10 ⁸	1.4×10 ⁸
			B		13.0	4.4×10 ⁸	8.0×10 ²
			p-8* ⁴	0	13.5	3.8×10 ⁸	7.5×10 ²
	p-9	13.6	4.6×10 ⁸		4.0×10 ⁸		
	p-10	13.6	5.7×10 ⁸		8.5×10 ²		
	3, Sep. '71	12.9-23.8	A	0	13.5	3.6×10 ⁸	8.7×10 ²
			B		13.8	4.1×10 ⁸	3.1×10 ²
			p-8	0	15.6	2.0×10 ⁸	3.0×10 ²
	p-9	14.5	3.9×10 ⁸		1.3×10 ²		
	p-10	15.0	—		—		
	10, Nov. '71	1.4-10.3	A	0	9.2	4.8×10 ⁸	4.2×10 ²
			B		10.7	3.2×10 ⁸	2.7×10 ²
			p-8	0	9.8	4.8×10 ⁸	4.2×10 ²
	p-9	10.8	4.4×10 ⁸		2.2×10 ²		
p-10	10.6	9.7×10 ⁸	2.5×10 ²				
9, Dec. '71	-3.4- 1.4	A	0	7.8	3.9×10 ⁸	1.9×10 ²	
		B		9.5	2.4×10 ⁸	1.4×10 ²	
		p-8	0	8.0	4.2×10 ⁸	7.0×10 ²	
p-9	9.7	4.3×10 ⁸		3.8×10 ¹			
p-10	9.2	3.2×10 ⁸		3.5×10 ¹			
26, Jan. '72	-8.7- 0.8	A	0	6.2	6.6×10 ⁸	6.4×10 ²	
		B		8.6	4.0×10 ⁸	3.4×10 ²	
		p-8	0	6.4	8.5×10 ⁸	1.7×10 ²	
p-9	8.6	2.2×10 ⁸		2.2×10 ²			
p-10	7.5	2.7×10 ⁸		1.9×10 ²			
17, Apr. '72	-3.1-17.8	A	0	11.7	3.4×10 ⁸	—	
B	11.4	4.0×10 ⁸		—			
18, May. '72	10.0-17.1	A	0	11.9	5.1×10 ⁸	—	
B	13.0	4.9×10 ⁸		—			
22, June '72	15.0-19.1	A	0	12.9	4.6×10 ⁸	—	
B	13.3	5.5×10 ⁸		—			
Oshoro	30, Oct. '71	—	C	0	14.1	2.4×10 ⁸	9.6×10 ⁸
				15	14.6	1.0×10 ²	4.1×10 ²
			D	0	14.2	8.9×10 ²	1.5×10 ⁸
				9	15.2	1.0×10 ²	3.0×10 ⁸
			E	0	14.2	9.0×10 ²	2.0×10 ⁸
				5	14.8	7.3×10 ²	1.6×10 ⁸

cf. *¹: atmospheric temperature,

*²: fresh water agar,

*³: sea water agar,

*⁴: pond No.

Table 3. Viable counts in intestinal contents of salmon reared in Mori Hatchery and in Oshoro Bay Culture Station

Place	Fish No.	Sampling date	Fish species	Body length (cm)	Body weight (g)	Viable counts/g. intest. cont.* ¹	
						(FWA)* ²	(SWA)* ³
Mori	1	16, July '71	O.m.* ⁴	15.0	29.5	1.4×10^5	5.4×10^3
	2			18.8	61.0	—	2.2×10^3
	3	3, Sep. '71	O.m.	21.0	103.7	3.6×10^5	1.1×10^4
	4			21.0	96.6	8.4×10^4	4.0×10^3
	5	13, Oct. '71	O.t.* ⁵	13.5	38.3	1.9×10^4	5.9×10^3
	6			16.5	46.1	6.8×10^7	4.4×10^7
	7			15.0	30.0	3.4×10^6	6.2×10^6
	8			19.0	62.4	1.2×10^4	—
	9			17.5	53.4	1.8×10^7	5.8×10^6
	10	17, Apr. '72	O.m.	18.0	68.1	9.3×10^4	—
	11			18.5	84.1	1.4×10^5	—
	12			18.9	71.3	2.3×10^4	—
	13			18.0	71.3	1.2×10^4	—
	14			19.0	99.0	6.3×10^4	—
	15	18, May '72	O.m.	21.5	140.0	1.5×10^7	—
	16			21.0	132.0	6.8×10^6	—
	17			24.0	187.0	4.8×10^4	—
	18			20.0	101.0	1.9×10^5	—
	19			21.5	142.0	1.6×10^5	—
	20			21.0	100.0	8.0×10^6	—
	21	22, June '72	O.m.	24.0	200.0	1.5×10^6	—
	22			25.5	215.0	1.1×10^5	—
	23	7, July '72	O.m.	15.0	39.0	5.5×10^5	—
	24			16.5	50.0	3.4×10^6	—
	25			18.0	58.0	1.0×10^6	—
	26			18.5	58.0	3.3×10^7	—
	27			15.5	38.0	7.4×10^4	—
Oshoro	28	30, Oct. '71	O.t.	35.0	885	2.8×10^3	3.5×10^5
	29			39.5	865	3.3×10^3	2.6×10^4
	30			44.0	1300	6.4×10^3	8.7×10^3
	31			38.5	1150	3.0×10^2	4.0×10^3
	32			35.0	785	2.3×10^3	9.4×10^5

cf. *¹: viable counts/g. intestinal contents,

*²: fresh water agar,

*³: sea water agar,

*⁴: *Oncorhynchus masou*; masu salmon,

*⁵: *Oncorhynchus tshawytscha*; king salmon.

Table 4. Generic distribution of organisms isolated from fresh water of Mori Hatchery and sea water of Oshoro Bay Culture Station

Place and media	Sampling date	Position									No. of the isolates	
			<i>Micrococcus</i>	Coryneforms	<i>Achromobacter</i>	<i>Flavobacterium</i> / <i>Cytophaga</i>	<i>Enterobacteriaceae</i>	<i>Pseudomonas</i>	<i>Vibrio</i>	<i>Aeromonas</i>		Yeast
Mori (FWA)*1	9, July '71	A	% 0	14	3	35	10	17	0	21	0	29
		A	5	13	24	20	7	14	0	16	2	68
	3, Sep. '71	A	% 17	7	7	31	17	17	0	4	0	29
		B	4	0	14	28	32	11	0	7	0	28
	9, Dec. '71	A	% 6	6	6	44	13	25	0	0	0	16
		B	7	7	7	36	0	43	0	0	0	14
	26, Jan. '72	A	% 0	11	35	18	0	36	0	0	0	28
	17, Apr. '72	A	% 5	0	26	37	0	11	0	16	0	19
	9, July '71	p-8	% 8	8	38	8	19	15	0	4	0	26
		p-9	4	0	16	12	4	28	0	36	0	25
		p-10	6	13	13	39	3	10	0	16	0	31
	3, Sep. '71	p-8	% 4	0	12	54	11	0	0	19	0	26
p-9		0	8	16	36	20	0	0	20	0	25	
9, Dec. '71	p-10	% 0	0	24	28	14	29	0	5	0	21	
Oshoro (SWA)*2	30, Oct. '71	C	% 0	26	26	21	0	26	0	0	0	19
		E	17	4	30	13	22	9	4	0	0	23
Average												
Mori. water to pond			% 5	9	18	28	11	19	0	10	0	231
water in pond			4	5	19	30	12	13	0	17	0	154
Oshoro. sea water			9	14	29	17	12	17	2	0	0	42

cf. *1: fresh water agar

*2: sea water agar

および family *Enterobacteriaceae* に属する菌株が若干検出された。

次に忍路湾飼育場の海水では genus *Achromobacter*, *Flavobacterium*/*Cytophaga* および *Pseudomonas* が細菌叢の主体を占めることは森ふ化場の淡水の場合と同様であつたが、淡水由来菌株中には全く検出されなかつた genus *Vibrio* に属す菌株が若干検出された。

Table 5 に示す飼育魚の腸内容物由来菌株の分類結果は、前述の飼育環境水の細菌叢とは趣きを異にし、水試料において主体を占めた genus *Achromobacter*, *Flavobacterium*/*Cytophaga* および *Pseudomonas* 等はほとんど検出されず、淡水飼育魚の場合は genus *Aeromonas* と family *Enterobacteriaceae* が、また海水飼育魚の場合には genus *Vibrio* が高率に検出され、淡水飼育魚と海水飼育魚の間にきわめて特徴的な相違が観察された。

Table 5. Generic distribution of organisms isolated from intestinal contents of salmon reared in Mori Hatchery and in Oshoro Bay Culture Station

Place and media	Sampling date	Fish No.	%	<i>Micrococcus</i>	Coryneforms	<i>Achromobacter</i>	<i>Flavobacterium/</i> <i>Cytophaga</i>	<i>Enterobacteriaceae</i>	<i>Pseudomonas</i>	<i>Vibrio</i>	<i>Aeromonas</i>	Yeast	No. of the isolates
Mori (FWA)* ¹	16, July '71	1	% 0	0	4	0	0	0	0	0	96	0	28
		2	0	8	0	0	0	0	0	0	92	0	13
	8, Sep. '71	3	% 0	0	0	0	22	0	0	0	78	0	30
		4	0	0	10	0	0	0	0	0	90	0	27
	13, Oct. '71	5	% 4	83	0	4	0	0	0	0	5	4	23
		6	0	0	11	0	89	0	0	0	0	0	27
		7	19	7	8	0	35	0	0	0	32	0	26
		8	0	3	0	0	0	0	0	0	97	0	22
		9	0	5	0	0	63	0	0	0	32	0	30
	17, Apr. '72	10	% 7	24	14	3	3	0	0	0	49	0	29
		11	0	0	7	0	4	0	0	0	89	0	27
		14	0	33	27	0	0	0	0	0	40	0	30
	18, May '72	15	% 0	0	0	0	0	0	0	0	100	0	30
		18	3	0	3	0	0	0	0	0	94	0	30
		19	0	0	18	0	0	0	0	0	82	0	27
7, July '72	23	% 0	0	0	0	37	0	0	0	63	0	30	
	24	0	0	0	0	83	0	0	0	17	0	30	
Average		% 2	9	6	1	19	0	0	0	62	1	459	
Oshoro (SWA)* ²	30, Oct. '71	28	% 0	0	0	0	0	0	0	100	0	0	11
		29	0	17	10	0	0	0	0	78	0	0	29
		30	0	0	0	0	0	0	0	100	0	0	25
	Average		% 0	7	5	0	0	0	0	88	0	0	65

cf. *¹: fresh water agar

*²: sea water agar

以上の検体別の分類結果を総括すると Table 6 に示すごとくで、飼育魚の腸内容物の細菌叢は淡水飼育魚では genus *Aeromonas*, family *Enterobacteriaceae*, 海水飼育魚では genus *Vibrio* が主体をなし、それぞれの飼育環境水の細菌叢において主体をなす genus *Achromobacter*, *Flavobacterium/Cytophaga* および *Pseudomonas* 等とは異なる結果を示した。

考 察

本研究の供試魚は人為的に限られた条件下で飼育されたもので、サケ科魚類の腸内細菌についての全般的な様相は推察し得ないが、得られた結果を考察すると次の通りである。

Table 6. Generic distribution of organisms isolated from waters and intestinal contents of salmon

Place	Mori						Oshoro			
	Water to pond		Water in pond		Intestinal contents		Sea water		Intestinal contents	
Sample	FWA* ¹	SWA* ²	FWA	SWA	FWA	SWA	FWA	SWA	FWA	SWA
<i>Micrococcus</i>	5	7	4	2	2	1	21	9	7	0
Coryneforms	9	21	5	22	9	47	10	14	26	7
<i>Achromobacter</i>	18	16	19	17	6	3	32	29	23	5
<i>Flavobacterium/Cytophaga</i>	28	9	30	15	1	1	15	17	3	0
<i>Enterobacteriaceae</i>	11	30	12	34	19	47	0	12	16	0
<i>Pseudomonas</i>	19	11	13	6	0	1	22	17	21	0
<i>Vibrio</i>	0	0	0	0	0	0	0	2	0	88
<i>Aeromonas</i>	10	6	17	3	62	0	0	0	1	0
Yeast	0	0	0	1	1	0	0	0	3	0
No. of the isolates	231	127	154	65	459	102	28	42	88	65

cf. *¹: fresh water agar, *²: sea water agar

魚類の腸内容物には通常 $10^4 \sim 10^8/g$ と、かなり多数の細菌が存在することが知られているが、^{1,88)} 本研究の供試魚においても、淡水飼育魚および海水飼育魚のいずれの場合も同様の結果が得られた。しかし、淡水飼育魚では海水培地より淡水培地により常に高い生菌数が検出され、また海水飼育魚の場合はその逆の結果が得られ、飼育環境水の相違が腸内容物中の細菌の生態に明らかに影響を与えていることが推察された。

腸内容物の細菌叢は、森ふ化場（淡水）の飼育魚では genus *Aeromonas*, family *Enterobacteriaceae* が全体の 81%、忍路湾飼育場（海水）の飼育魚では genus *Vibrio* が 88% とその主体を占め、それぞれの飼育環境水の細菌叢中に主体をなす genus *Achromobacter*, *Flavobacterium/Cytophaga* *Pseudomonas* 等とは明らかに異り、淡水魚と海産魚の腸内細菌叢に明確な相違のあることが推察された。

以上の結果は、genus *Aeromonas*, *Enterobacter*, *Pseudomonas*, *Acinetobacter* 等を淡水魚の腸内細菌叢の主要構成員と考える MATTHEIS,²⁻⁵⁾ TRUST,⁶⁾ 鍾・郭^{20,21)} の報告を肯定するとき結果であり、また海産魚については、genus *Vibrio* をその優勢種と考える LISTON,²³⁾ 奥積・堀江,²⁵⁾ 金子,²⁴⁾ 瀬良・木保,²⁶⁾ の報告や、生息環境の細菌叢に比較して高率に genus *Vibrio* が検出されるとする COLWELL,⁴³⁾ SHRIVASTAVA and FLOODGATE,⁴⁴⁾ NEWMAN *et. al.*⁴⁵⁾ 等の報告と一致する結果である。

要 約

1. 森ふ化場（淡水）および忍路湾飼育場（海水）の飼育環境水の生菌数は約 $10^9/ml$ 程度で、年間を通じて観察した前者における結果では季節的変動が認められず、周年ほぼ一定であった。
2. 飼育魚の腸内容物中の生菌数は $10^3 \sim 10^7/g$ の範囲でかなりの個体差が認められ、季節的にも特定の傾向は認められなかつた。
3. 飼育環境水の細菌叢としては、淡水、湾内海水共に genus *Flavobacterium/Cytophaga*, *Achromobacter*, *Pseudomonas* がその主体を占めた。
4. 飼育魚の腸内容物の細菌叢は飼育環境水のそれに比較し、その構成は単純で、特に淡水飼育魚では genus *Aeromonas*, family *Enterobacteriaceae*, 海水飼育魚では genus *Vibrio* がその主体をなすことが知られた。

謝 辞

本研究の遂行に当り貴重なる試料の提供, 並びに種々御援助を頂いた北海道立水産孵化場の粟倉輝彦博士に厚く御礼申し上げます。

文 献

- 1) J. M. SHEWAN: in "Fish as Food" (ed. by G. I. BORGSTON) Academic Press, New York, 1961, pp. 487-560.
- 2) TH. MATTHEIS: *Zeit. für Fish.*, **12**, N. F., 507-535 (1966).
- 3) TH. MATTHEIS: *ibid.*, **12**, N. F., 537-559 (1966).
- 4) TH. MATTHEIS: *ibid.*, **12**, N. F., 561-580 (1966).
- 5) TH. MATTHEIS: *ibid.*, **12**, N. F., 581-600 (1966).
- 6) T. J. TRUST: *Can. J. Microbiol.*, **20**, 1219-1228 (1974).
- 7) 金子精一・長南茂樹・武原文三郎・小金井正一: 日獣会誌, **22**, 15-22 (1969).
- 8) 金子精一: 同誌, **23**, 380-385 (1970).
- 9) E. E. GELDREICH and N. A. CLARKE: *Appl. Microbiol.*, **14**, 429-437 (1966).
- 10) 柏田研一・手島新一: 本誌, **32**, 961-966 (1966).
- 11) 柏田研一・手島新一: 鹿児島大学水産学部紀要, **15**, 1-7 (1966).
- 12) 手島新一・柏田研一: 本誌, **33**, 979-987 (1967).
- 13) 手島新一・柏田研一: 鹿児島大学水産学部紀要, **18**, 87-91 (1969).
- 14) K. KASHIWADA, S. TEJIMA, and A. KANAZAWA: *This Bull.*, **36**, 421-424 (1970).
- 15) 富山哲夫・大庭信夫: 本誌, **33**, 448-452 (1967).
- 16) 奥谷康一・早崎幸夫・木俣正夫: 同誌, **30**, 926-929 (1964).
- 17) 奥谷康一・来田秀雄: 同誌, **34**, 88-92 (1968).
- 18) K. OKUTANI and H. KITADA: *This Bull.*, **34**, 1141-1146 (1968).
- 19) G. Y. YANKOV: *Bull. Off. int. Epiz.*, **66**, 1057-1072 (1968).
- 20) 鍾 虎雲・郭 光雄: 台湾水産学会刊, (2), 20-25 (1973).
- 21) 鍾 虎雲・郭 光雄: *ibid.*, (3), 23-28 (1974).
- 22) J. LISTON: *J. gen. Microbiol.*, **15**, 305-314 (1956).
- 23) J. LISTON: *ibid.*, **16**, 205-216 (1957).
- 24) 金子精一: *New Food Industry*, **13**(4), 28-33 (1971).
- 25) 奥積昌世・堀江 進: 本誌, **35**, 93-100 (1969).
- 26) 瀬良 洋・木俣正雄: 同誌, **38**, 50-55 (1972).
- 27) K. AISO, U. SHIMIZU and K. HASUO: *J. gen. Microbiol.*, **52**, 361-364 (1968).
- 28) M. M. OBST: *J. Infect. Dis.*, **24**, 158-169 (1919).
- 29) A. C. HUNTER: *J. Bacteriol.*, **5**, 353-358 (1920).
- 30) I. BLAKE: Final Rep. Furuncul. Comm., App. B. H. M. Stationary Office, Edinburgh, 1935, pp. 60-67.
- 31) L. MARGOLIS: *J. Fish. Res. Bd. Can.*, **10**, 62-63 (1953).
- 32) 反町 稔・江草周三: 魚病研究, **6**(1), 1-7 (1971).
- 33) H. SERA and Y. ISHIDA: *This Bull.*, **38**, 633-637 (1972).
- 34) H. SERA and Y. ISHIDA: *ibid.*, **38**, 853-858 (1972).
- 35) H. SERA, Y. ISHIDA and H. KADOTA: *ibid.*, **33**, 859-863 (1972).
- 36) H. SEKI: *Appl. Microbiol.*, **17**, 252-255 (1972).
- 37) B. B. RAE: in "Fishing News", Ltd. London, 1956.
- 38) 尾崎久雄: 魚類生理学講座, 緑書房, 東京, 1972, pp. 269-306.
- 39) J. M. SHEWAN, G. HOBBS, and W. HODGKISS: *J. appl. Bact.*, **23**, 463-468 (1960).
- 40) R. HUGH and E. LEIFSON: *J. Bact.*, **66**, 24-26 (1953).
- 41) E. LEIFSON: *ibid.*, **85**, 1183-1184 (1963).
- 42) H. KOVAC: *Nature*, **29**, 703 (1956).
- 43) R. R. COLWELL: *J. appl. Bact.*, **25**, 147-157 (1962).
- 44) K. P. SHRIVASTAVA and G. D. FLOODGATE: *J. Mar. biol. Ass. India.*, **8**, 1-7 (1966).
- 45) J. T. NEWMAN J. B. COSENZA, and J. D. BUCK: *J. Fish. Res. Bd. Can.*, **29**, 333-336 (1972).