



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	CBB培地による河川および沿岸で採取されたサケ(<i>Oncorhynchus keta</i>)からのせっそう病原菌 <i>Aeromonas salmonicida</i> の検出
Author(s)	野村, 哲一; NOMURA, Tetsuichi; 本間, 裕美 他
Citation	北海道大学水産科学研究彙報, 53(1), 45-50
Issue Date	2002-03
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/21965
Type	departmental bulletin paper
File Information	53(1)_P45-50.pdf



CBB 培地による河川および沿岸で採取されたサケ (*Oncorhynchus keta*) からのせっそう病原菌 *Aeromonas salmonicida* の検出

野村 哲一¹⁾・本間 裕美¹⁾・笠井 久会²⁾・吉水 守²⁾

Isolation of *Aeromonas salmonicida*, Causative Agent of Furunculosis, from Chum Salmon Caught in the River or Coast

Tetsuichi NOMURA, Hiromi HONMA, Hisae KASAI and Mamoru YOSHIMIZU

Abstract

Furunculosis, caused by the bacterium *Aeromonas salmonicida*, is a serious disease in salmonid fish and this study was carried out for the purpose of establishing control methods for the disease. In this report, the prevalence of *A. salmonicida* on gill surface, kidney and intestine of chum salmon was studied using CBB medium, made by dissolving 0.1 mg/ml Coomassie Brilliant Blue R250 in Nutrient agar. The fish were sampled at the Shibetsu, Rausu and Ishikari coasts, and in the Rausu, Shibetsu and Ishikari Rivers. Using CBB medium, we examined the prevalence of the agent of the chum salmon caught at the Chitose River catching site. The prevalence of the agent on gill surface was high (50%) at catching site on the Chitose River, and decreased in fish in the holding pond in the river. The agent was isolated from the gill surfaces, but could not be found in the kidneys and intestines. *A. salmonicida* was also isolated from the gill surfaces of masu salmon which were kept directly behind the chum salmon holding pond. The bacteria are spread during fish migration within the river and during transportation of the fish from capture site to holding pond. The agent was also isolated from the gill surface of chum salmon caught off the coast of Shibetsu, Rausu, but the prevalence was low (1.7%). To control furunculosis in salmonid fish, fish should mature in ponds under conditions of low density and should be disinfected to prevent spread of furunculosis before keeping in the pond for maturation.

Key words: CBB agar, *Aeromonas salmonicida*, Furunculosis

緒 言

Aeromonas salmonicida (以下本菌とする) を原因菌とするせっそう病は、サケ科魚類の増養殖において大きな被害を与える重要な疾病として古くから知られている (Emmerich and Weibel, 1894; MacKie et al., 1930)。本菌の微生物学側面やせっそう病の病理学については、魚類の疾病中最も知見が集積されており、優れた総説や成書がある (McCraw, 1952; Bernoth et al., 1997)。わが国においても小林 (1963) の報告以来多くの報告が見られ (Nomura, 1994)、天然河川に溯上したサケ科魚類のせっそう病に関しては西野 (1967)、木村 (1963a; 1963b; 1970) の報告がある。このように多くの知見のある疾病ではあるが、疫学的な観点からは環境中における本菌の動態など未解明の部分も多い。しかし、病原体の動態の解明は防疫対策上不可欠である。本菌の環境中での動態解明が困難な理由は、多く

の病原体の場合と同様ではあるが、本菌を検出するための選択培地がなく、他の細菌が存在する状況下では、供試材料から少数の本菌を検出することが困難なためである (Bernoth et al., 1997)。

著者らは、本菌の催熟蓄養した外観正常な成熟親魚腎臓からの検出率について検討し、河川によっては 80% にもおよぶ高い検出率を示すことを報告した (野村, 1978; 野村・木村, 1981; 野村ら, 1991a; 1991b; 1992; Nomura et al., 1992a; 1992b; 1993)。また、本菌は病魚を離れて水中に生残しないとされており (Austin and Austin, 1987)、これら成熟親魚から検出される本菌の来源を解明するためにはさらなる検討が必要とされている。

著者らはすでに、普通寒天培地に CBB (coomassie brilliant blue) を添加した CBB 培地が本菌を検出するのに有効であると報告した (Nomura et al., 1994)。本報では、催熟蓄養後の成熟親魚から検出された本菌の来源を明らかに

¹⁾ 独立行政法人 さけ・ます資源管理センター調査研究課健康管理研究室
(Fish Health Section, Research Division, National Salmon Resources Center)

²⁾ 北海道大学大学院水産科学研究所生命資源科学専攻応用生物科学講座
(Laboratory of Biochemistry and Biotechnology, Graduate School of Fisheries Sciences, Hokkaido University)

するために、CBB 培地を用いて捕獲場および沿岸で採集されたサケの腎臓、鰓、腸管からの検出について検討したので報告する。

材料および方法

CBB 平板培地

普通寒天培地 (栄研化学, 東京) に 0.1 mg/ml となるように Coomassie Brilliant Blue R250 (CBB; Sigma Chem. USA) を添加し高圧滅菌後、直径 9 cm の滅菌済みプラスチックシャーレ (テルモ, 東京) に分注し、CBB 培地平板とした (Nomura et al., 1994)。

分離方法

野村ら (1992) に従い供試魚腎臓の中心部から滅菌綿棒 (日本綿棒, 東京) を用いて腎臓を穿刺し、前記 CBB 培地平板に塗抹した。塗抹した平板は 15°C で 5 日間培養し、Nomura et al., (1994) の方法によりコロニーの色を観察し、出現した濃紺色コロニーを釣菌し、純培養後、後述の性状検査を実施して本菌と同定した。鰓表面からの *A. salmonicida* (以下本菌と称する) の検出は前記した綿棒を用い、鰓表面をふき取り CBB 培地平板に塗抹した。腸管からの検出は、腸管表面をアルコール消毒した後腸管を切開し、滅菌プラスチック エーゼ (岩城硝子, 東京) を用いて腸管内容物 1 μ l を採取し、前記した CBB 培地平板に塗抹した。

分離菌の同定

純培養した分離菌株について、運動性、37°C での増殖、褐色の水溶性色素の産生、インドール、糖の分解性を基に本菌と同定した。

実験 I. 捕獲直後および催熟蓄養後の本菌検出率の変化 供試魚

石狩川水系千歳川に 1999 年 9 月に遡上したサケ (*Oncorhynchus keta*) 親魚を用いた。

調査地点

Fig. 1 に示した石狩川水系千歳川で検討を行った。日本海より石狩川を遡上したサケは河口から 75 km 上流の千歳川さけます捕獲場 (以下捕獲場とする) において捕獲される。捕獲されたサケは捕獲装置の上流部に設置された一時蓄養槽に 24 時間収容され、その後トラックで活魚輸送し 7 km 上流の、さけ・ます資源管理センター千歳支所内の催熟蓄養池 (以下蓄養池とする) に 6 尾/m² の密度で収容した。

検出率の検討

捕獲直後のサケ 60 尾を調査した。24 時間経過後、一時蓄養槽内のサケ 60 尾を調査し、これらの親魚が蓄養池に収容されてから 3 日ならびに 5 日経過後の成熟親魚各 60 尾に

ついても本菌保有率を調査した。

検出臓器

腎臓、鰓、腸管について本菌の検出を試みた。

実験 II. 捕獲直後のサケの鰓における本菌生菌数 供試魚

1999 年 9 月に前記した捕獲場において捕獲されたサケ 20 尾を用いた。

本菌生菌数の測定

供試魚の鰓を採取し、ホモジナイズ後滅菌 PBS により希釈液列を作成した。常法に従い CBB 培地を用いて 15°C で 5 日間培養し、出現した濃紺色のコロニーを前記と同様に純培養し本菌と同定カウントして本菌生菌数とした。

実験 III. 蓄養池下流部に収容したサクラマス幼魚鰓、腎臓、腸管からの検出率の比較 供試魚

さけ・ます資源管理センター千歳支所で飼育されていた平均体重 5.6 g のサクラマス幼魚を用いた。

供試魚の飼育場所

事前の調査で本菌が検出されないことを確認した後、サクラマス幼魚をサケ蓄養池の上流部および下流部に設置したプラスチック製カゴに収容した。

本菌の検出

前記実験 I と同様の方法で供試魚の鰓、腎臓、腸管からの本菌検出を行った。

実験 IV. 河川および沿岸におけるサケ腎臓、鰓、腸管からの本菌検出率の比較 供試魚

標津川、標津沿岸、羅臼沿岸で 1998 年から 2001 年の 10 月に採集されたサケを用いた。

調査地点

調査河川および沿岸における供試魚の採集地点を Fig. 1 に示した。これらの調査地点付近の河川は従来から本菌検出率の高い地域である。

本菌の検出

前記実験 I と同様に行った。

結 果

実験 I. 捕獲直後および催熟蓄養後の本菌検出率の変化

石狩川水系千歳川の捕獲直後と蓄養後のサケの腎臓、鰓、腸管からの検出率を Table 1 に示した。捕獲直後では

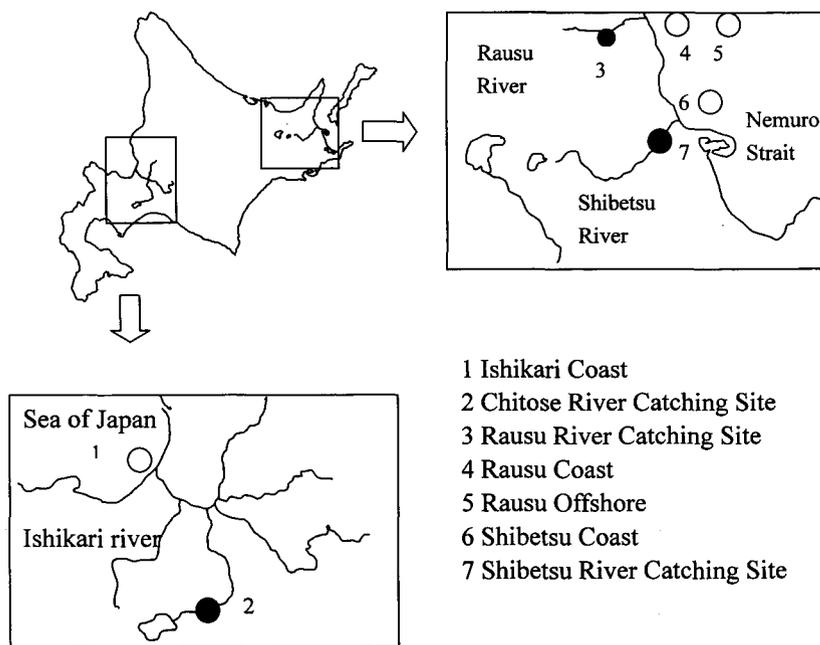


Fig. 1. Location of sampling points in the Chitose River, Ishikari coast, Shibetsu River, Shibetsu coast, and Rausu coast.

Table 1. Isolation of *Aeromonas salmonicida*, causative agent of fish furunculosis, from kidney, gill surface and intestine of chum salmon caught in the Chitose River

Place	Examined	No. of fish Isolated <i>A. salmonicida</i>		
		Kidney	Gill surface	Intestine
Catching site	60	0 (0)* ¹	30 (50.0)	0 (0)
After 24 hr* ²	60	0 (0)	12 (20.0)	0 (0)
After 3 days holding	60	6 (10.0)	15 (25.0)	2 (3.3)
After 5 days holding	60	9 (15.0)	15 (25.0)	2 (3.3)

*¹: Incidence (%).

*²: The chum salmon was kept for 24 hours in the cage in the river near to the catching site for 24 hours.

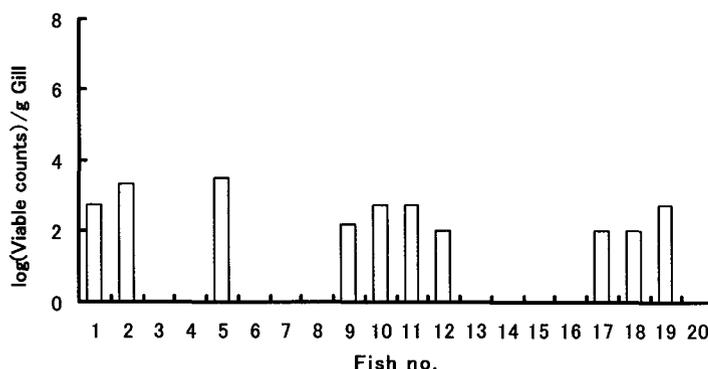


Fig. 2. Viable counts of *Aeromonas salmonicida* on gill surface of masu salmon (*Oncorhynchus masou*).

50%にあたる 30 尾の鯉から本菌が検出された。腎臓、腸管からは本菌は検出されなかった。捕獲装置の上流部に設置された一時蓄養槽にて 24 時間蓄養した後では 20% の個体の鯉から本菌が検出された。捕獲直後と同様に、腎臓およ

び腸管からは本菌は検出されなかった。

蓄養 3 日後および 5 日後にはいずれも 25% にあたる 60 尾中 15 尾の鯉から本菌が検出された。これに対して捕獲直後および 24 時間後に本菌が検出されなかった腎臓からは、

蓄養3日後に供試60尾中の10%にあたる6尾から、5日後には15%にあたる9尾から本菌が検出された。

腸管からは蓄養3日後と5日後にそれぞれ3.3%にあたる2尾から本菌が検出された。

実験 II. 捕獲直後のサケの鰓における本菌生菌数

石狩川水系千歳川で捕獲直後のサケの鰓表面の本菌生菌数を20尾について測定した結果を Fig. 2 に示した。20尾中50%にあたる10尾から本菌が検出され生菌数は、鰓では10² から10³ CFU/gであった。

実験 III. 蓄養池下流部に収容したサクラマス幼魚鰓、腎臓、腸管からの検出率の比較

蓄養池下流部に収容したサクラマス幼魚鰓、腎臓、腸管からの本菌検出率を Table 2 に示した。飼育池のサクラマス幼魚60尾の腎臓、鰓、腸管とも本菌の存在は確認されなかった。また、蓄養池の上流部に設置したプラスチックカゴに3日間および5日間収容した各30尾のサクラマス幼魚の腎臓、鰓、腸管からも本菌は検出されなかった。これに対して蓄養池下流部に収容したサクラマス幼魚では3日後には30尾中4尾の鰓から、5日後には8尾の鰓から本菌が検出された。同時に調査した腎臓および腸管からは本菌は検出されなかった。

実験 IV. 河川および沿岸におけるサケ腎臓、鰓、腸管からの本菌検出率の比較

標津川、羅臼川および標津沿岸、羅臼沿岸について検出率を比較した結果を Table 3 に示した。1998年から2000年の標津沿岸、羅臼沿岸および2001年の石狩沿岸では供試した鰓、腎臓、腸管から本菌は検出されなかった。しかし、2001年には標津沿岸と羅臼沿岸で供試した60尾中1尾の鰓から本菌が検出された。各1尾の鰓から本菌が検出された2001年の標津沿岸および羅臼沿岸で採集されたサケの腎臓および腸管からは検出されなかった。1998年から2001年までの河川で供試した個体からは腎臓、鰓からいずれの年度でも本菌が検出され、検出率は腎臓で3.3%から

46.7%、鰓で11.7%から31.7%であった。腸管からは標津川で1998年、1999年、2000年に検出され、検出率は10%から31.7%であった。

考 察

従来、病魚や不顕性感染魚からの病原体の分離は分離対象臓器として腎臓を用いることが一般的である。サケ科魚類においても腎臓は浮き袋および腹膜により腹腔と区分されており、解剖後浮き袋および腹膜を注意深く除去するならば、腎臓から他の細菌の汚染を避けて細菌分離用試料を採取することは容易である。腎臓に比べて鰓や腸管は環境由来や常在細菌が多く、選択培地を使用するか試料に特殊な前処理を行わない限り病原体分離用試料として用いることは困難である。著者らはすでに本菌の判定にCBB培地の使用が有効であることを報告し(Nomura et al., 1994)、本培地を用いることにより、他の細菌が混在していても少数の本菌を検出出来るようになった。

一方、著者らはこれまでに本菌がせつそう病の症状を呈さない成熟親魚の腎臓から検出されることを長年観察し報告してきた(野村, 1978; 野村・木村, 1981; 野村ら, 1991a; 1991b; 1992; Nomura et al., 1992a; 1992b; 1993)。しかし、河川や海洋中での本菌の動態が未解明なままでは防疫対策上不都合である。そこで、本報では、本菌の動態をより明らかにするため、河川での捕獲直後および沿岸で採集した個体について、蓄養後成熟した個体と同様に鰓、腎臓、腸管からの本菌検出を試みた。その結果、河川では捕獲直後にすでに本菌が鰓表面に存在することが明らかになった。鰓からの検出率は沿岸、捕獲場、蓄養池と増加するのに対し、腎臓からの検出率は沿岸および捕獲場では検出されず、蓄養池においてのみ日数の経過と共に増加傾向を示した(Table 1)。さらに、蓄養池下流にて飼育したサクラマスでは鰓への本菌付着が観察される場合でも腎臓、腸管からは検出されなかった(Table 2)。Cipriano (1982) は本菌を飼育水中に懸濁させ、カワマスに浸漬することにより感染を起こさせた場合、7日後には80%がせつそう病で死亡し

Table 2. Isolation of *Aeromonas salmonicida* from kidney, gill surface and intestine of masu salmon kept first in the rearing pond and subsequently in front of and behind the chum salmon holding pond

Place	No. of fish			
	Examined	Isolated <i>A. salmonicida</i>		
		Kidney	Gill surface	Intestine
Pond Start of experiment	60	0 (0)* ¹	0 (0)	0 (0)
Pond End of experiment	60	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Masu kept in front of holding pond after 3 days	30	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Masu kept in front of holding pond after 5 days	30	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Masu kept behind of holding pond after 3 days	30	0 (0)	4 (13.3)	0 (0)
Masu kept behind of holding pond after 5 days	30	0 (0)	8 (26.7)	0 (0)

*¹: Incidence (%).

Table 3. Isolation of *Aeromonas salmonicida* in the kidney, gill surface and intestine of chum salmon caught off the coast of Rausu and Shibetsu, and in the Rausu and Shibetsu Rivers

Year	Place	Examined	No. of fish		
			Isolated <i>A. salmonicida</i> (Incidence %)		
			Kidney	Gill surface	Intestine
1998	Rausu Coast	60	0 (0)* ¹	0 (0)	0 (0)
1998	Rausu River	60	28 (46.7)	18 (30.0)	0 (0)
1998	Shibetsu Coast	60	0 (0)	0 (0)	0 (0)
1998	Shibetsu River	60	15 (25.0)	7 (11.7)	19 (31.7)
1999	Rausu Offshore	60	0 (0)	0 (0)	0 (0)
1999	Rausu Coast	60	0 (0)	0 (0)	0 (0)
1999	Shibetsu Coast	60	0 (0)	0 (0)	0 (0)
1999	Shibetsu River	60	24 (40.0)	19 (31.7)	6 (10.0)
2000	Rausu Coast	60	NT* ²	0 (0)	0 (0)
2000	Rausu Coast	60	0 (0)	0 (0)	0 (0)
2000	Shibetsu Coast	60	0 (0)	0 (0)	0 (0)
2000	Shibetsu River	60	23 (38.3)	17 (28.3)	6 (10.0)
2001	Rausu Coast	60	0 (0)	1 (1.7)	0 (0)
2001	Shibetsu Coast	60	0 (0)	1 (1.7)	0 (0)
2001	Shibetsu River	60	2 (3.3)	14 (23.3)	0 (0)
2001	Ishikari Coast	180	0 (0)	0 (0)	0 (0)

*¹: Incidence (%), *²: NT; not tested.

たことを報告している。また、宮崎・窪田 (1975) は本菌の侵入門戸に関して組織学的検討を行い、鰓が侵入門戸として重要であることを報告している。さらに、Cipriano et al. (1996) は飼育中のニジマスの脾臓、体表および鰓表面の本菌生菌数を検討し、19尾中16尾の鰓において 10^2 から 10^4 CFU/gの本菌が検出されたが、脾臓ではわずか1尾からのみ検出されたことを報告している。以上の報告は、本菌が水中に存在する場合でも容易に感染を引き起こすことを示唆しており、さらに鰓に付着していた本菌が感染に重要な役割を担っているものと推察される。これに今回の結果を合わせて考察すると、河川遡上時に鰓に付着した本菌が感染して増殖し、さらに他の個体への感染を引き起こすものと推察される。蓄養池下流に置かれたサクラマス幼魚において鰓表面の本菌検出率が経時的に増加したことも、本推察を強く支持するものである。

本菌の来源を、さらに詳細に検討するため、従来から本菌の検出率の高い標津川、羅臼川および標津沿岸、羅臼沿岸について検出率を比較した結果、低率ではあるが、沿岸で採取された個体の鰓表面からも本菌が検出された。沿岸において検出された本菌も河川から供給された本菌が低塩濃度の環境下で生残していたため沿岸に回帰したサケの鰓に本菌が付着したものと推察される。本菌の海水や淡水での生残に関しては、Morgan et al. (1991) はろ過滅菌した河川水中での本菌の生残を検討し、開始時 10^6 CFU/mlの生菌数が8日後には3 CFU/ml以下に減少したが、その後21日まで数菌体が供試水から回収されたことを報告して

いる。Effendi and Austin (1994) は本菌が25%の海水中で最も長く生残し、10日間以上検出されたことを報告している。さらに、Enger and Thorsen (1992) はせつそう病の発生している海中網いけす養殖施設より1,500 m離れた場所で本菌を表面海水より検出し、魚類由来の油滴が本菌の分布拡大に強く影響していることを報告している。以上のように、本菌の来源は淡水由来であることが示唆されたが、供給源については更なる検討が必要であろう。しかし、蓄養池に収容する前に鰓に本菌が付着していることから、活魚輸送時における鰓養面からの本菌の除去 (Cipriano et al., 1992; Cipriano et al., 1996) および蓄養池における環境改善により汚染の拡大を防止する必要がある。

文 献

- Austin, B., and Austin, D.A. (1987) *Aeromonads, Disease in farmed and wild fish*. pp. 111-195, Austin, B. (ed), *Bacterial fish pathogens*, Ellis Horwood Limited, Chichester, U.K.
- Bernoth, E.M., Ellis, A.E., Midtling, P.J., Olivier, G., and Smith, P. (eds). (1997). *Furunculosis. Multidisciplinary fish disease research*. 529 pp, Academic Press, U.S.A.
- Cipriano, R.C. (1982). Furunculosis in brook trout: Infection by contact exposure. *Prog. Fish-Cult.*, **44**, 12-14.
- Cipriano, R.C., Ford, L.A., Teska, J.D., and Hale, L.E. (1992). Detection of *Aeromonas salmonicida* in the mucus of salmonid fishes. *J. Aquat. Animal Health*, **4**,

- 114-118.
- Cipriano, R.C., Ford, L.A., Starliper, C.E., Teska, J.D., Nelson, J.T., and Jensen, B.N. (1996). Control of external *Aeromonas salmonicida*: Topical disinfection of salmonids with chloramine-T. *Prog. Fish-Cult.*, **8**, 52-57.
- Effendi, I. and Austin, B. (1994). Survival of the fish pathogen *Aeromonas salmonicida* in the marine environment. *J. Fish. Diseases*, **17**, 375-385.
- Emmerich, R. and Weibel E. (1894). Über eine durch Bacterien erzeugte Seuche unter den Forellen. *Archiv für Hygiene*, **21**, 1-2.
- Enger, O. and Thorsen, B.K. (1992). Possible ecological implications of the high cell surface hydrophobicity of the fish pathogen *Aeromonas salmonicida*. *Can. J. Microbiol.*, **38**, 1048-1052.
- 木村喬久 (1963a). 催熟蓄養中のサクラマスならびカラフトマスに発生したせつそう病様疾病の原因菌に関する分類学的研究-I 原因菌の形態学的, 生化学的ならびに生物学的性状による分類上の位置. 魚病研究, **3**, 34-43.
- 木村喬久 (1963b). 催熟蓄養中のサクラマスならびカラフトマスに発生したせつそう病様疾病の原因菌に関する分類学的研究-II 血清学的性状を基礎とした分類学的研究. 魚病研究, **3**, 45-44.
- 木村喬久 (1970). 催熟蓄養中のサクラマスならびカラフトマス親魚に発生した細菌性疾病に関する研究. 北海道さけますふ化場研究報告, **24**, 9-100.
- 小林哲夫・粟倉輝彦・本間 馨・田村 正 (1963). サケの飼育に関する研究. 孵化場研究報告, **18**, 11-26.
- Mackie, T.J., Arkwright, J.A., Pyrcie-Tannatt, T.E., Mottram, J.C. Johnston, W.D., and Menzies, W.J. (1930). Interim report of the furunculosis committee. Edinburgh, HMSO.
- McCraw, B.M. (1952). Furunculosis of fish. *United States Dept. of the Interior, Fish and Wildlife Service, Special Scientific Report Fisheries*, **84**, 1-87.
- 宮崎照雄・窪田三朗 (1975). アマゴせつそう病の病理組織学的研究. 経鯉感染について. 魚病研究, **9**, 213-218.
- Morgan, J.A.W., Cranwell, P.A., and Pickup, R.W. (1991). Survival of *Aeromonas salmonicida* in Lake Water. *Appl. Environ. Microbiol.*, **57**, 1777-1782.
- 西野一彦 (1967). 蓄養サケ親魚に発生した細菌性疾病について. 魚病研究, **2**, 73-74.
- 野村哲一 (1978). ニジマスメス親魚の採卵後の斃死について-II. *Aeromonas salmonicida* の検出率. ふ化場研報, **32**, 43-48.
- Nomura, T. (1994). Bacterial diseases of freshwater fishes of Hokkaido. *Sci. Rep. Hokkaido Fish Hat.*, **48**, 39-46.
- 野村哲一・木村喬久 (1981). 北海道内の主要河川に溯上するサケ (*Oncorhynchus keta*) カラフトマス (*Oncorhynchus gorbuscha*) サクラマス (*Oncorhynchus masou*) ヒメマス (*Oncorhynchus nerka*) 親魚における *Aeromonas salmonicida* の保有状況. 魚病研究, **16**, 69-74.
- 野村哲一・吉水 守・木村喬久 (1991a). 外観正常なサケ, カラフトマス及びサクラマス成熟親魚の *Aeromonas salmonicida* 保有状況. 魚病研究, **26**, 139-147.
- 野村哲一・吉水 守・木村喬久 (1991b). サケ及びサクラマスの各生活期における *Aeromonas salmonicida* 保有状況. 魚病研究, **26**, 149-153.
- 野村哲一・吉水 守・木村喬久 (1992). サケ, カラフトマス及びサクラマス成熟親魚体腔液からの *Aeromonas salmonicida* の検出. 魚病研究, **27**, 69-72.
- Nomura, T., Yoshimizu, M., and Kimura, T. (1992a). An epidemiological study of furunculosis in salmon propagation. *Proceedings of the Oji International Symposium of Salmonid Diseases*. 187-193.
- Nomura, T., Yoshimizu, M., and Kimura, T. (1992b). The epidemiological study of furunculosis in salmon propagation. *NOAA Tech. Rep.*, **111**, 101-108.
- Nomura, T., Yoshimizu, M., and Kimura, T. (1993). An epidemiological study of furunculosis in salmon propagation in Japanese rivers. *Fish. Res.*, **17**, 137-146.
- Nomura, T., Yoshimizu, M., Moki, S., and Ezura, Y. (1994). Existence of non-agglutinating *Aeromonas salmonicida* subsp. *salmonicida* in strains isolated from salmonids in Yamagata Prefecture, Japan. *Sci. Rep. Hokkaido Salmon Hatch.*, **48**, 23-29.