



Title	魚類病原ウイルスの紫外線感受性
Author(s)	吉水, 守; 瀧澤, 宏子; 木村, 喬久
Citation	魚病研究, 21(1), 47-52
Issue Date	1986-03
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/38323
Type	journal article
File Information	yoshimizu-39.pdf



魚類病原ウイルスの紫外線感受性^{*1}

吉水 守^{*2}・瀧澤宏子^{*3}・木村喬久^{*2}

(昭和 60 年 11 月 22 日受理)

U. V. Susceptibility of Some Fish Pathogenic Viruses

Mamoru YOSHIMIZU,^{*2} Hiroko TAKIZAWA^{*3} and Takahisa KIMURA^{*2}

^{*2}Lab. Microbiol., Fac. Fish., Hokkaido Univ., Hakodate, Hokkaido, Japan

^{*3}Central Res. Lab., Ajinomoto Co. Inc., Kawasaki, Kanagawa, Japan

(Received November 22, 1985)

The cidal effects of ultraviolet (U.V.) irradiation on fish pathogenic viruses were examined. Basic experiments were carried out to determine the usefulness of a U.V.-water treatment unit for the disinfection of IHNV and OMV.

The results obtained are summarized as follows:

1. The disinfectant effect of U.V. on 6 species of 7 strains of cell free fish pathogenic viruses was examined. IHNV, OMV, CCV and *H. salmonis* were found to be sensitive to U.V. and the 99% or more reduction of their infectivity (ID_{99}) was measured to $1.0-3.0 \times 10^3 \mu W \cdot sec/cm^2$. Susceptibility of IPNV and CSV was found to be low and the ID_{99} was measured to $1.0-1.5 \times 10^5 \mu W \cdot sec/cm^2$.
2. U.V. treatment of less than 16.7 l/min flow rate that is equivalent to more than $7.6 \times 10^4 \mu W \cdot sec/cm^2$ U.V. dosage, is an effective means of disinfecting the 100 TCID₅₀/ml of IHNV and OMV suspended in dechlorinated city water.

魚類の疾病の中でウイルス性疾病に対する確実な予防・治療法が見当たらない現在、その防除対策の確立が重要な課題と考えられる。その一つとしてウイルスをはじめ細菌その他の病原体に感受性の強い幼稚仔期の魚を病原体フリーの用水で飼育することが最良の対策と考えられる。特に人工孵化時の卵や稚魚あるいは催熟産卵期の親魚用水の微生物学的管理はきわめて重要である。

養魚用水の殺菌に関しては様々な方法が考えられるが、化学的消毒法や高温による滅菌では水の理化学的性質を変える恐れがあり、汙過除菌は大量の水を必要とする養魚用水の殺菌法としては不適當である。水の物理化学的性状を変えることなく殺菌処理を行なう方法としては紫外線の殺菌力を利用する方法が最も目的にかなっていると考えられる。

この紫外線による水の殺菌法はガラス殺菌灯が開発された頃から検討され、当初食品衛生的見地から飲料水や

食品加工用水の殺菌に使用されたのをはじめ、現在では工業用水にまで広く利用され、水産領域でもカキの浄化をはじめ、カキの幼生や稚貝 (坂井, 1956; ABOULELA, 1958; WAUGH, 1958; BROWN and RUSSO, 1979), ハマグリ, ロブスター幼生の飼育用水の殺菌 (LOOSANOFF and DAVIS, 1963; FISHER *et al.*, 1976) に利用され、良好な成績が報告されている。

著者らも魚類病原細菌、水中生存菌およびミズカビの紫外線感受性を観察すると共に、流水殺菌装置を用いた飼育用水の殺菌効果ならびに紫外線処理水使用によるサケ・マス の 孵 化 効 果 に つ い て 検 討 し 報 告 し て き た (木村ら 1976, 1980a, b)。本報では魚類病原ウイルスを対象にその紫外線感受性を測定すると共に、市販の流水殺菌装置を用いたウイルス不活化効果についても予備的観察を行なったのでその結果について報告する。

実験材料と方法

供試ウイルス: 紫外線 (以下 U. V. と略す) 感受性の測定には Table 7 に示す IPNV (Buhl), IHNV

*1 養魚用水の紫外線殺菌について—IV

*2 北海道大学水産学部微生物学講座

*3 味の素株式会社中央研究所

(CHAB, RTTO), OMV (OO-7812), CCV, CSV および *Herpesvirus salmonis* (以下 *H. salmonis* と略す) の6種7株のウイルスを供試し、流水殺菌装置を用いたウイルス不活化効果の観察には IHNV (CHAB) および OMV (OO-7812) の2株を供試した。

ウイルス力価の測定法: ウイルス力価の測定は CCV には BB 細胞を, CSV に CHSE-214 細胞を, 他の4種のウイルスには RTG-2 細胞を用い, 常法のマイクロプレート法によりウイルス感染価を求めた。なお培養温度は CCV では 20°C, *H. salmonis* では 10°C, 他は 15°C として 14 日間培養した。

供試 U.V. 照射装置: U.V. 感受性測定の際には市販の殺菌灯 (ナショナル GL-15 型) を用い, U.V. 照射量は照度計 (トプコン UVR-254 型) による照度の実測値と照射時間から計算した。また流水中のウイルス不活化効果の観察には流水式 U.V. 殺菌装置 (ニッポ SF-INSM, U.V. 出力 3.2 W) を用い, 渦流ポンプ, 流量計などを組み合わせ流量を 2.5~16.7 l/分まで変化させ照射量を調節した。

供試ウイルスの U.V. 感受性測定法: 供試ウイルス培養液を直径 60 mm のプラスチックシャーレに約 0.5 ml とり, 厚さ 0.02 mm 以下となるよう広げた後, 所定時間の U.V. 照射を行ない, 照射前後のウイルス感染価を 99% 以上減少させるに要する U.V. 照射量 (ID_{99}) をそれぞれ3回の反復実験の結果から求めた。

流水殺菌装置のウイルス不活化効果観察法: 供試ウイルス培養液を 100 $TCID_{50}/ml$ となるよう脱塩素処理水道水に懸濁し, 16.7, 10.0, 7.5, 5.0, 2.5 l/分の流量で U.V. 処理をした時のウイルス感染価を前述の方法により測定した。

結 果

供試ウイルスの U.V. 感受性: 前述の方法により供試ウイルスの U.V. 感受性を観察した結果を Table 1 ~7 および Fig. 1 に示した。Table 1 に IPNV の U.V. 感受性測定結果を示したが, U.V. 照射前にそれぞれ 7.80, 8.30, 7.30 $\log. TCID_{50}/ml$ であった培養液の感染価は, 1000 $\mu W/cm^2$ の U.V. 50 秒の照射, すなわち $5.0 \times 10^4 \mu W \cdot sec/cm^2$ の照射により 7.30, 8.30, 6.30 に減少し, $1.0 \times 10^5 \mu W \cdot sec/cm^2$ の照射時には 4.30, 5.05, 3.80 に減少した。これらの結果をもとに供試ウイルスの生存率を図示すると Fig. 1 の如くとなり, ウイルス感染価を 99% 以上減少させるに要する U.V. 照射量 (ID_{99}) は $1.0 \sim 1.5 \times 10^5 \mu W \cdot sec/cm^2$

Table 1. Susceptibility of IPNV to U.V.

U.V. treatment time	U.V. dosage* ($\mu W \cdot sec/cm^2$)	Titer ($\log. TCID_{50}/ml$)		
		experiment		
		1	2	3
0''	0	7.80	8.30	7.30
50''	5.0×10^4	7.30	8.30	6.30
1'40''	1.0×10^5	6.05	6.30	5.55
3'20''	2.0×10^5	4.30	5.05	3.08
ID_{99} (U.V. dosage)		$1.0 \sim 1.5 \times 10^5$		

* U.V. intensity, 1000 $\mu W/cm^2$.

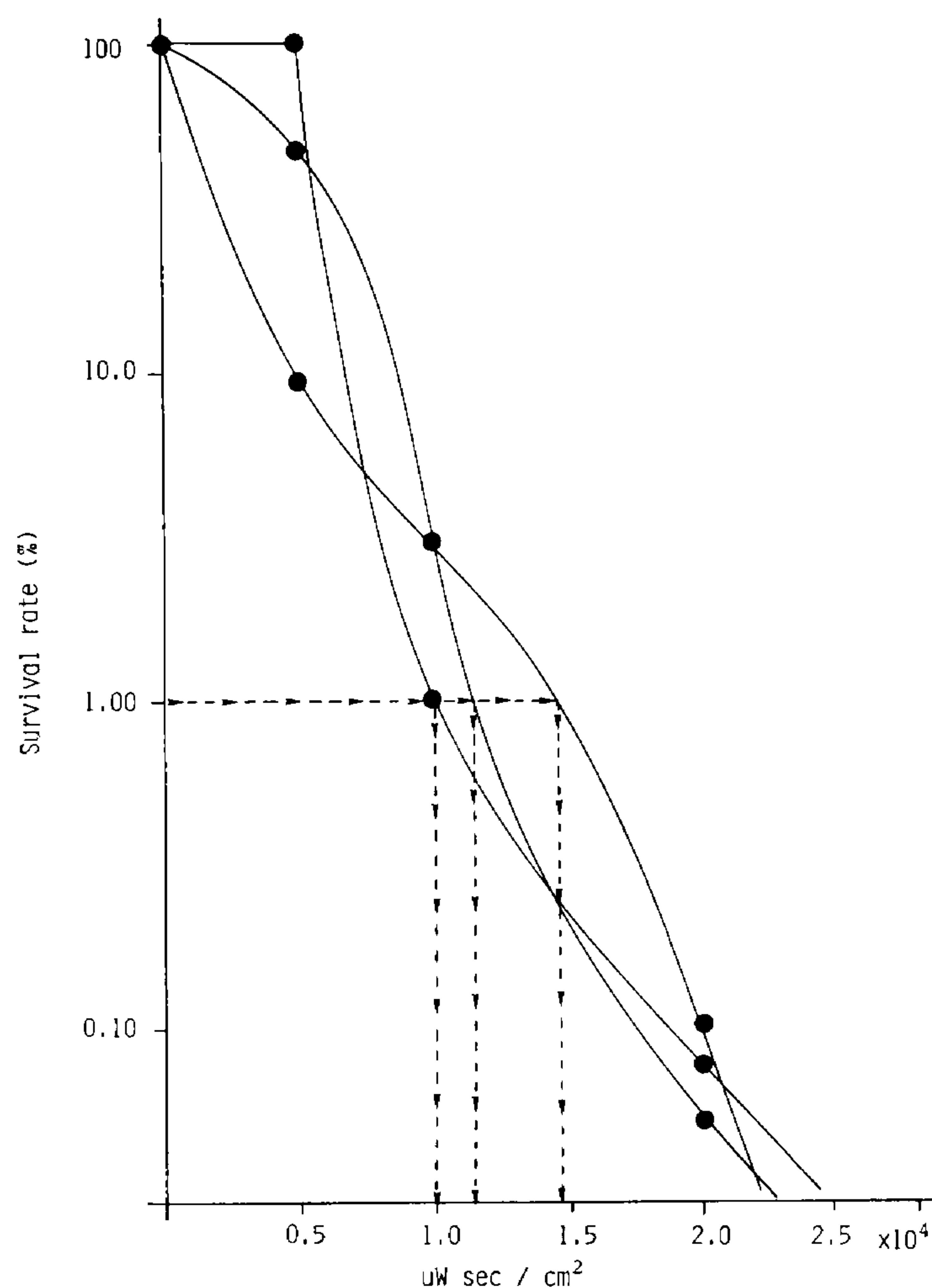


Fig. 1. Reduction of IPNV (Buhl) infectivity by U.V. irradiation.

と測定された。

次に IHNV 2株の結果を Table 2 に示した。U.V. 照射前のウイルス培養液の感染価がそれぞれ 5.05, 6.30, 4.80 $\log. TCID_{50}/ml$ であった IHNV (CHAB) 株は 100 $\mu W/cm^2$ の U.V. 20 秒の照射により 2.05, 2.80, 2.80 以下となり, 30 秒の照射では 1.55 以下, 2.30, 2.80 以下に減少した。これらの結果をもとに IPNV の場合と同様にして求めた ID_{99} 値は $1.0 \sim 2.0 \times 10^5 \mu W \cdot sec/cm^2$ であった。一方, IHNV (RTTO) 株

Table 2. Susceptibility of IHN to U.V.

Strain	U.V. treatment time	U.V. dosage* ($\mu\text{W}\cdot\text{sec}/\text{cm}^2$)	Titer (log. TCID ₅₀ /ml)		
			1	2	3
CHAB	0''*	0	5.00	6.30	4.80
	10''	1.0×10^3	5.00	4.30	3.55
	20''	2.0×10^3	2.00	2.80	<2.80
	30''	3.0×10^3	<1.50	2.30	<2.80
RTTO	0''**	0	>7.80	6.80	7.05
	10''	2.0×10^3	4.55	5.30	4.30
	20''	4.0×10^3	3.30	<3.80	<3.80
	30''	6.0×10^3	2.05	<3.80	<3.80
ID ₉₉	CHAB (U.V. dosage)		$1.0-2.0 \times 10^3$		
	RTTO (U.V. dosage)		$1.5-3.0 \times 10^3$		

U.V. intensity, 100* and 200** $\mu\text{W}/\text{cm}^2$.

Table 3. Susceptibility of OMV to U.V.

U.V. treatment time	U.V. dosage* ($\mu\text{W}\cdot\text{sec}/\text{cm}^2$)	Titer (log. TCID ₅₀ /ml)		
		experiment		
		1	2	3
0''	0	3.05	6.55	4.30
10''	1.0×10^3	2.30	3.80	2.30
20''	2.0×10^3	1.05	3.05	<1.80
30''	3.0×10^3	<0.80	<1.80	<1.80
ID ₉₉ (U.V. dosage)		$1.0-2.0 \times 10^3$		

* U.V. intensity, 100 $\mu\text{W}/\text{cm}^2$

Table 4. Suceptibility of CCV to U.V.

U.V. treatment time	U.V. dosage* ($\mu\text{W}\cdot\text{sec}/\text{cm}^2$)	Titer (log. TCID ₅₀ /ml)		
		experiment		
		1	2	3
0''	0	7.05	7.05	6.55
10''	1.0×10^3	5.55	5.30	6.05
20''	2.0×10^3	5.05	4.80	4.55
30''	3.0×10^3	4.30	4.30	4.05
ID ₉₉ (U.V. dosage)		$1.8-2.0 \times 10^3$		

* U.V. intensity, 100 $\mu\text{W}/\text{cm}^2$

では U.V. 照射前 7.80 以上, 6.80, 7.05 log. TCID₅₀/ml であった感染価が, 200 $\mu\text{W}/\text{cm}^2$ の U.V. 10 秒の照射で 4.55, 5.30, 4.30 に, 30 秒の照射により 2.05, 3.80 以下, 3.80 以下に減少し, ID₉₉ は $1.5-3.0 \times 10^3 \mu\text{W}\cdot\text{sec}/\text{cm}^2$ と測定された。

Table 3 に OMV の結果を示した。U.V. 照射前 3.05, 6.55, 4.30 log. TCID₅₀/ml を示したウイルス感

Table 5. Susceptibility of CSV to U.V.

U.V. treatment time	U.V. dosage* ($\mu\text{W}\cdot\text{sec}/\text{cm}^2$)	Titer (log. TCID ₅₀ /ml)		
		experiment		
		1	2	3
0''	0	4.80	5.05	4.30
50''	5.0×10^4	4.05	3.80	3.55
1'40''	1.0×10^5	<2.80	<2.80	<2.80
3'20''	2.0×10^5	<2.80	<2.80	<2.80
ID ₉₉ (U.V. dosage)		1.0×10^5		

* U.V. intensity, 1000 $\mu\text{W}/\text{cm}^2$.

染価は 100 $\mu\text{W}/\text{cm}^2$ の U.V. 10 秒の照射により 2.30, 3.80, 2.30 に, 20 秒の照射により 1.05, 3.05, 1.80 以下と減少し, ID₉₉ 値は $1.0-2.0 \times 10^3 \mu\text{W}\cdot\text{sec}/\text{cm}^2$ と測定された。

CCV の U.V. 感受性を Table 4 に示す。U.V. 照射前にそれぞれ 7.50, 7.05, 6.55 log. TCID₅₀/ml の感染価を示したウイルス培養液は, 同じく 100 $\mu\text{W}/\text{cm}^2$ の U.V. 10 秒の照射により 5.55, 5.30, 6.05 に, 20 秒の照射により 5.55, 4.80, 4.55 に減少し, ID₉₉ 値は $1.8-2.0 \times 10^3 \mu\text{W}\cdot\text{sec}/\text{cm}^2$ であった。

Table 5 は CSV の結果を示したもので, 照射前に 4.80, 5.05, 4.30 log. TCID₅₀/ml であったウイルス感染価は 1000 $\mu\text{W}/\text{cm}^2$ の U.V. 50 秒の照射で 4.05, 3.80, 3.55 に, 100 秒の照射時にはすべて 2.80 以下と検出限界以下となった。ID₉₉ 値は $1.0 \times 10^5 \mu\text{W}\cdot\text{sec}/\text{cm}^2$ と測定された。

Table 6 に *H. salmonis* の結果を示した。U.V. 照射前に 4.30, 4.05, 4.30 log. TCID₅₀/ml を示したウ

Table 6. Susceptibility of *H. salmonis* to U.V.

U.V. treatment time	U.V. dosage* ($\mu\text{W}\cdot\text{sec}/\text{cm}^2$)	Titer (log. TCID ₅₀ /ml) experiment		
		1	2	3
0''	0	4.30	4.05	4.30
10''	1.0×10^3	2.80	2.80	2.80
20''	2.0×10^3	2.30	1.80	2.05
30''	3.0×10^3	1.80	1.80	1.80
ID ₉₉ (U.V. dosage)		2.0×10^3		

* U.V. intensity, 100 $\mu\text{W}/\text{cm}^2$.

Table 7. Minimal inactivated U.V. dosage for fish pathogenic viruses

Virus	U.V. dosage (ID ₉₉)*
IPNV (Buhl)	$1.0-1.5 \times 10^5$
CSV	1.0×10^5
IHNV (CHAB)	$1.0-2.0 \times 10^3$
IHNV (RTTO)	$1.5-3.0 \times 10^3$
OMV (OO-7812)	$1.0-2.0 \times 10^3$
CCV	$1.8-2.0 \times 10^3$
<i>H. salmonis</i>	2.0×10^3

* $\mu\text{W}\cdot\text{sec}/\text{cm}^2$; to decrease a virus infectivity (TCID₅₀/ml) more than 99%.

Table 8. Effect of U.V. irradiation on virus infectivity of IHNV and OMV contaminated water

Flow rate (l/min)	U.V. treatment	U.V. dosage ($\mu\text{W}\cdot\text{sec}/\text{cm}^2$)	Titer*					
			IHNV (CHAB)			OMV (OO-7812)		
			1	2	3	1	2	3
—	untreated	0	2.05	2.30	2.05	2.05	2.05	1.80
16.7	treated	6.8×10^4	<0.80	<0.80	<0.80	<0.80	<0.80	<0.80
10.0	..	1.1×10^5	<0.80	<0.80	<0.80	<0.80	<0.80	<0.80
7.5	..	1.5×10^5	<0.80	<0.80	<0.80	<0.80	<0.80	<0.80
5.0	..	2.3×10^5	<0.80	<0.80	<0.80	<0.80	<0.80	<0.80
2.5	..	4.9×10^5	<0.80	<0.80	<0.80	<0.80	<0.80	<0.80

* log. TCID₅₀/ml.

イルス感染価は $100 \mu\text{W}/\text{cm}^2$ の U. V. 10 秒の照射によりいずれも 2.80 に、20 秒の照射時に 2.30, 1.80 以下、1.80 以下に減少し、ID₉₉ 値は $2.0 \times 10^3 \mu\text{W}\cdot\text{sec}/\text{cm}^2$ であった。

以上供試ウイルス 6 種 7 株の ID₉₉ 値をまとめて Table 7 に示した。IHNV (CHAB), OMV, CCV および *H. salmonis* では $1.0-2.0 \times 10^3 \mu\text{W}\cdot\text{sec}/\text{cm}^2$, IHNV (RTTO) で $1.5-3.0 \times 10^3 \mu\text{W}\cdot\text{sec}/\text{cm}^2$ と高い U. V. 感受性を示したが、IPNV (Buhl) および CSV では $1.0-1.5 \times 10^5 \mu\text{W}\cdot\text{sec}/\text{cm}^2$ と感受性は低く、前記 4 種の供試ウイルスに比べ約 100 倍の照射量を必要とした。

流水殺菌装置のウイルス不活化効果: IHNV (CHAB) および OMV を約 100 TCID₅₀/ml となるよう懸濁した脱塩素処理水道水を種々の流量で U. V. 照射処理した場合のウイルス感染価を Table 8 に示した。供試流水殺菌装置のメーカー公称能力 1.0t/時、すなわち 16.7 l/分、 $6.8 \times 10^4 \mu\text{W}\cdot\text{sec}/\text{cm}^2$ (U. V. 透過率 90% 時) の U. V. 照射で供試した IHNV および OMV は共に検

出限界以下となった。

考 察

本研究においては 6 種の魚類病原ウイルスを供試し、紫外線に対する感受性を測定すると共に、市販の流水殺菌装置によるウイルス不活化効果についても若干の検討を行なったが、供試した 6 種のウイルスのうち IPNV および CSV の紫外線感受性は比較的 low、感染価を 99% 以上減少させるに要する紫外線照射量は $1.0-1.5 \times 10^5 \mu\text{W}\cdot\text{sec}/\text{cm}^2$ であった。この IPNV の ID₉₉ は McKELVIE and DESANTOLS (1975) の測定値ともほぼ一致している。この値は魚病関連ミズカビ類の菌糸殺菌に要する紫外線照射量 (木村ら, 1980a) や原虫のコスティア, トリコディナ (VLASENKO, 1969; HOFFMAN 1974), ケカビやコウジカビの胞子の紫外線感受性 (河端, 1965) にも近似している。

一方 IHNV, OMV, *H. salmonis* および CCV では感染価を 99% 以上減少させるに要する紫外線照射量は IPNV および CSV の 1/50~1/100 量、すなわち 1.0

～ $3.0 \times 10^3 \mu\text{W} \cdot \text{sec}/\text{cm}^2$ であり、この値はグラム陰性菌の殺菌に要する紫外線照射量（木村ら、1976；川端、1965）と同程度であり、ヒトの病原ウイルス Polio virus や Vaccinia virus の ID_{99} 値（BISHOP et al., 1967）にも近似している。

以上の結果から本研究において供試した流水殺菌装置の公称処理能力 1.0t/時における紫外線照射量 $6.8 \times 10^4 \mu\text{W} \cdot \text{sec}/\text{cm}^2$ が、IHNV、OMV、*H. salmonis* および CCV の感染価を 99% 以上減少させるに要する紫外線照射量の約 10～50 倍に相当すると考えられ、これらのウイルスに対しては本装置による養魚用水のウイルス不活化効果が期待できることが示唆された。そこで我国において現在問題となっている魚類病原ウイルスのうち U. V. 感受性の比較的低い IPNV を除く IHNV および OMV を対象に流水殺菌装置のウイルス不活化能について検討を行なったが、1.0t/時すなわち 16.7l/分の U. V. 照射において、脱塩素処理水中に懸濁した 100 $\text{TCID}_{50}/\text{ml}$ の IHNV および OMV は全く検出されなくなり、有効なウイルス不活化効果が観察された。しかし今回は供試ウイルス懸濁液の感染価が 100 $\text{TCID}_{50}/\text{ml}$ と低かったため、どの程度のウイルス不活化効果があったのかは判定できなかった。今後供試ウイルス懸濁液のウイルス感染価を高めさらに詳細な検討が必要と考えられる。

また今回の試験には脱塩素処理水道水を供試し、通常養魚用水に存在すると考えられる微細懸濁物の混入もなく、水質もきわめて良好であったが、実際に養魚用水に使用する場合には細泥などの微細粒子の混入が予想される。汙過後の養魚用水に対する紫外線の殺菌効果については BULLOCK and STUCKEY (1977) が 5 種のグラム陰性病原細菌を対象に検討し、 $4000 \sim 4750 \mu\text{W} \cdot \text{sec}/\text{cm}^2$ で 99.33～99.99% 殺菌されることを示し用水の汙過が非常に有効であることを示唆している。

なお IPNV および CSV を不活化させるには本装置の有効処理能力 ($7.6 \times 10^4 \mu\text{W} \cdot \text{sec}/\text{cm}^2$, U. V. 透過率 100% 時) の約 10 倍の能力を必要とし、これら 2 種のウイルスに対してはより強力な紫外線照射装置の開発が必要と考えられる。

要 約

魚類病原ウイルス 6 種 7 株の紫外線感受性を測定すると共に市販の流水殺菌装置を用いたウイルス不活化効果についての観察を行なった。得られた結果は以下の通りである。

1. IPNV, CSV の紫外線感受性は低く、 ID_{99} 値は $1.0 \sim 1.5 \times 10^5 \mu\text{W} \cdot \text{sec}/\text{cm}^2$ であった。
2. IHNV, OMV, CCV および *H. salmonis* の紫外線感受性は IPNV, CSV の約 50～100 倍と高く、 ID_{99} 値は $1.0 \sim 3.0 \times 10^3 \mu\text{W} \cdot \text{sec}/\text{cm}^2$ であった。
3. 本実験に供した流水殺菌装置の公称能力 1.0t/時 ($6.8 \times 10^4 \mu\text{W} \cdot \text{sec}/\text{cm}^2$) 処理において、100 $\text{TCID}_{50}/\text{ml}$ の IHNV および OMV は検出できなくなり本装置の有効性が認められた。

参 考 文 献

- ABOUL-ELA, I. A. (1958): Effect of ultraviolet radiation on oysters. *Nature*, **181**, 1013.
- BISHOP, J. M., J. N. QUINTRELL and G. KOCH (1967): Polio virus double-strand RNA: inactivation by ultraviolet light. *J. Mol. Biol.*, **24**, 125-128.
- BROWN, C. and D. J. RUSSO (1979): Ultraviolet light disinfection of shellfish hatchery sea water. I. Elimination of five pathogenic bacteria, *Aquaculture*, **17**, 17-23.
- BULLOCK, G. L. and H. M. STUCKEY (1977): Ultraviolet treatment of water for destruction of five gram negative bacteria pathogenic to fishes. *Rep. U.S. Dep. Interir. Fish. Wildlife Service*, **27**.
- FISHER, W. S., E. H. NILSON, L. F. FOLLETT and R. A. SHLESET (1976): Hatching and rearing lobster larvae (*Homarus americanus*) in a disease situation. *Aquaculture*, **7**, 75-80.
- HOFFMAN, G. L. (1974): Disinfection of contaminated water by ultraviolet irradiation, with emphasis on wirling disease (*Myxosoma cerebralis*) and its effect on fish. *Trans. Amer. Fish. Soc.*, **103**, 541-550.
- 河端俊治 (1965): 食品の加工技術と微生物, 相磯和嘉監修. 食品微生物学, 医歯薬出版, 東京, 440 p.
- 木村喬久・吉水 守・田島研一・絵面良男・坂井 稔 (1976) 養魚用水の紫外線殺菌について—I. 魚類病原細菌ならびに養魚水中生存菌の紫外線感受性. 日本水誌, **42**, 207-211.
- 木村喬久・吉水 守・田島研一・絵面良男 (1980a): 養魚用水の紫外線殺菌について—II. 魚病原因ミズカビの紫外線感受性について. 魚病研究, **14**, 133-137.
- 木村喬久・吉水 守・阿刀田光昭 (1980b): 養魚用水の紫外線殺菌について—III. U. V. 処理水使用によるサケ・マス 孵化成績について. 魚病研究, **14**, 139-142.
- LOOSANOFF, V. L. and H. C. DAVIS (1963): Rearing of bivalve mollusks. *Adv. Mar. Biol.*, **1**, 1-136.
- McKELVIE, R. M. and D. DESANTOLS (1975): Fish

virus—Survival and inactivation of infectious pancreatic necrosis virus. *J. Fish. Res. Board Can.*, **32**, 1267–1273.

坂井 稔 (1956): 牡蠣に関する公衆衛生学的研究——特に細菌汚染とその浄化に就て。広島衛研報, **6**, 65–112.

VLASENKO, M. I. (1969): Ultraviolet rays as a method for the control of disease of fish eggs and young fishes. *Problems of Ichtyol.*, **9**, 697–705.

WAUGH, G. D. (1958): Ultraviolet sterilization of water used for rearing oyster larvae. *Nature*, **181**, 1747.