HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	魚類棲息環境水中での魚類ウイルスの生存性と不活化に関与する細菌の利用によるウイルス病制御の試み
Author(s)	吉水, 守
Description	燈火ー漁場環境を考えるー
Citation	日本水産資源保護協会月報, 511, 3-8
Issue Date	2007-11-15
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/39506
Type	journal article
File Information	yoshimizu-266.pdf

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

燈火

——漁場環境を考える——

魚類棲息環境水中での魚類ウイルスの生存性と不活化に関与する細菌の利用によるウイルス病制御の試み

北海道大学大学院水産科学研究院　教授　**吉水 守**

はじめに

魚介類の増養殖事業の進展に伴い、疾病、特にウイルス病の被害が大きな問題となっている[1)]。人や家畜と同様あるいはそれ以上に水棲生物のウイルス病は予防・治療が困難であり[2)]、環境水中でのウイルスの生存性を知り、さらに水圏の他の微生物との相互作用を明らかにすることは、ウイルス病の防疫対策を考える上で重要である。私どもは魚類のウイルス病対策確立を目指して研究を進め、その一環として病魚から水中に放出されたウイルスの挙動、特にその感染性の変化を検討してきた。その過程で、飼育水にウイルスを添加してその感染価の変化を観察したところ、特にエンベロープを有するウイルスの感染価は微生物を除去した飼育水や高圧滅菌した飼育水に比べ、処理をしていない飼育水では早く減少する現象が観察された。そして、この現象はウイルスが細菌の菌体表面に吸着されるためであるとともに菌体外に産生される物質によってウイルスが不活化されることによるものであることが明らかになった[3、4)]。しかもこのような抗ウイルス物質産生細菌は水圏環境に広く分布し、比較的高率に分離される[5、6)]。

ところで、魚類のウイルス病ワクチンが開発され、実用段階に達してきたが、稚仔魚が免疫応答を示すまでの期間、あるいはワクチン投与が可能なサイズに達するまでは、従来どおりのウイルス病対策に頼らなければならない[2)]。そこで、これら抗ウイルス物質を産生する細菌を有効に利用できないかと、経口投与によるウイルス病の制御を検討してきた[7)]。ここではサケ科魚類の伝染性造血器壊死症ウイルス、マツカワ（*Verasper moseri*）・ヒラメ（*Paralichthys olivaceus*）等異体類の魚類ノダウイルスおよびウイルス性表皮増生症原因ウイルスを対象に、水棲細菌によるウイルス不活化現象を紹介するとともに、このような抗ウイルス物質産生細菌の水圏からの分離率、種類および作用機序、ならびに、これら細菌を魚類に経口投与した場合の腸内容物の抗ウイルス活性とウイルス病制御への応用例を紹介したい。

水棲細菌による伝染性造血器壊死症ウイルスの不活化現象

魚類ウイルスが宿主である魚を離れ、環境水中に出たのちの消長に関する知見は乏しく、病魚から排出されたウイルスがどのような挙動をとるかも不明であった。そこで、まずサケ科魚類の代表的な病原ウイルスである伝染性造血器壊死症ウイルス（infectious hematopoietic necrosis virus：IHNV）を対象に、本ウイルスが病魚から離れ環境水中に放出された後の生存性について、サケ科魚類の飼育水、Hanks ’ BSS、脱塩素処理水道水、再蒸留水中での消長を温度別に観察した。0、5、10、15°C の各温度条件下で IHNV の感染価を 14 日間観察したところ、0°C ではいずれの供試水中でも 14 日間安定であったが、15°C では飼育水中で 7 日目に感染価の大幅な減少が観察された。この傾向は温度が高い方が顕著で、14 日目には 5、10°C でも検出限界以下となった（飼育水中での結果を図1に示した）。これらの供試水は無菌ではないために、IHNV の感染価の減少は温度に加え、共存する微生物が関与している可能性が示唆された。そこで高圧滅菌あるいは濾過除菌した飼育水中での IHNV の感染価の変化と比較したところ、無処理飼育水中では同様に急速な感染価の減少が観察されたが、高圧滅菌あるいは濾過除菌した飼育水中では比較的安定であり、IHNV の不活化現象は飼育水中に存在する微生物あるいは細菌濾過膜を通過する微生物の産生した物質による可能性が示された（図 2）[4)]。

この IHNV 不活化現象に関与している微生物を特定するために、飼育水に魚類細胞培養用培地（抗生物質無添加）を加えて 15°C で 7 日間培養し、0.20 μm の濾過膜で除菌後、濾液に IHNV を懸濁して感染価の変化を観察した。この場合、IHNV の感染価は 5、15 °C ともに 3 日目に検出限界以下となり、IHNVの不活化が観察された。濾過前の培養液の微生物叢を調べると細菌が優勢であり、他に真菌類や原生動物等は見られず、生菌数は 1.8×10^8 CFU/mL、菌叢は *Achromobacter* および *Pseudomonas* 属細菌が優勢であった。この細菌の中

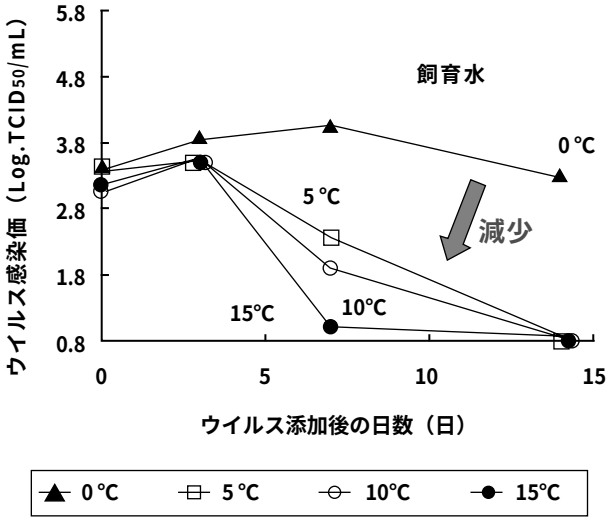

図１　IHNV の飼育水中での生存性（0、5、10、15℃）

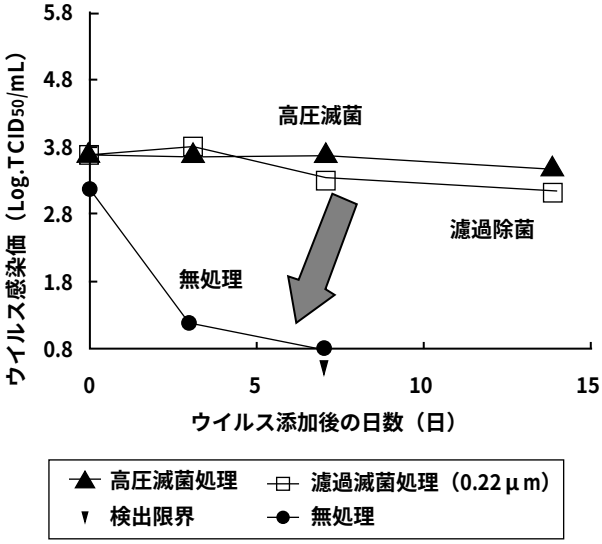

図２　飼育水中での IHNV の生存性（15℃）

に IHNV に対する抗ウイルス作用を有する物質を産生する細菌が存在するか否かを、両属の代表分離株を対象に観察した。その結果、*Pseudomonas* 属代表株の培養液を高圧滅菌したものに IHNV を加えた場合にはウイルス感染価に変化なく安定であったが、培養液の濾過除菌液に加えた場合には 4 ～ 8 日後に IHNV は検出できなくなった[8]。さらに菌体を含む培養液に IHNV を加えて 1 時間後に濾過した場合、濾液からウイルスは検出できなくなった。このことは本ウイルスが泥など微細粒子への吸着とともに菌体にも吸着する現象が知られていることから[9]、菌体に吸着したウイルスが濾過除菌の際に菌体とともに除去されたことによると考えられた。

同様の試験をコイヘルペスウイルス（KHV）を対象に行ったところ、霞ヶ浦の湖水と泥、神奈川県下の鶴見川の河川水、函館近郊の 3 河川および五稜郭公園の堀の水ともに、15°C で最長 3 日間でウイルスは不活化し、温度が高くなるとより速やかに不活化した。この不活化を実験室で確かめるために、五稜郭公園の堀の水を実験室に運び、KHV を懸濁後直ちに病原体フリー（specific pathogen free：SPF）コイを飼育したところ、コイは全数死亡した。しかし 3 日後にコイを投入して飼育した場合、発症・死亡は見られなかった。繰返し実験では 3 日後に投入した区で1尾の死亡が観察されたが、死亡魚に KHV 病の症状はなく、ウイルスも分離されなかった。霞ヶ浦の湖水および函館近郊の河川水からは KHV を不活化する細菌が分離されている。

抗ウイルス作用を有する細菌とその分布ならびに代表株が産生した抗ウイルス物質

上記のような抗ウイルス作用を有する細菌が魚類棲息環境水中にどの程度存在するかを把握するため、まず北海道大学水産学部七飯養魚場の飼育用水、北海道立水産孵化場森支場の飼育用水、函館市近郊茂辺地川河口域の汽水および水産学部前浜七重浜の海水を対象に採水地点の底泥を含め季節ごとに細菌数と菌叢を調査し、そこから分離された細菌について、前述の IHNV を用いて抗ウイルス作用をもつ細菌のスクリーニングを行った[5, 6]。供試した各種試料の生菌数およびその細菌叢はこれまでの研究結果とほぼ同様であり、魚類棲息環境の一般的な菌数と細菌叢を示していた[8, 10]。次いで、それぞれの地点の水試料および底泥試料から分離した計 1458 株の細菌の培養濾液について、IHNV に対する抗ウイルス作用を観察した。この際、プロテアーゼや細胞毒性物質を含む培養液は除外した。表 1 に見られるように、試料採取場所にかかわらず 90% 以上のプラーク減少を示したものが分離菌の 1 ～ 23% と、予想外に多く検出された[5, 6]。これら抗ウイルス活性を示した細菌のうち淡水由来株では 53 ～ 60%、海水由来株では 23 ～ 33% が、*Pseudomonas* 属の細菌であった。

抗ウイルス活性を示した分離株の中から数株を選択して抗ウイルス物質の検討を行ったところ、*Pseudomonas* 属の 1 株 46NW－04 株は低分子で耐熱性の抗ウイルス物質を産生した。その分子量は 1126、ペプタイド系の物質で、計 9 個のアミノ酸と 3－hydroxydecanonic

表 1　魚類飼育環境からの抗ウイルス物質産生細菌の分離

場所	サンプル	供試菌数	90%以上のプラーク減少率を示した細菌の数とその割合（%）
森	水	170	1　（0.6%）
	底泥	156	28　（17.9%）
七飯	水	194	8　（4.1%）
	底泥	190	7　（3.7%）
茂辺地	水	199	46　（23.1%）
	底泥	177	13　（7.3%）
七重浜	水	176	18　（10.2%）
	底泥	196	5　（2.6%）
合計		1,458	126　（8.6%）

acid から構成される新規抗ウイルス物質であった[11]。本物質は魚類ヘルペスウイルス（*Oncorhynchus masou* virus；OMV）[8] の他、狂犬病ウイルスやヒトの単純ヘルペスウイルス（HSV）やヒト免疫不全ウイルス（HIV）に対しても抗ウイルス効果を示した。本物質の抗ウイルス作用はウイルス粒子に対する直接作用、すなわちエンベロープ全体か、レセプターをコーテイングあるいは崩壊するものと推察されている[5]。他の 5 株の検討結果では、同様のペプタイド系低分子物質や酵素作用を有する高分子物質、未同定の低分子物質など、細菌の産生する抗ウイルス物質の種類は多岐にわたっていた[12]。

抗ウイルス物質産生腸内細菌の経口投与による IHNV の制御

これら抗ウイルス物質産生細菌を魚類のウイルス病制御に応用するにあたり、抗ウイルス物質産生遺伝子を特定し、大腸菌を用いた組換え体を作出して、抗ウイルス物質を大量に産生する場合は薬剤としての利用になる。また魚類の正常細菌叢を構成する細菌にこの遺伝子を導入した場合には、たとえ成功したとしても、現状では自然界での利用は難しい。そこで、魚類の正常細菌叢を構成する細菌、特に魚類で細菌叢がよく調べられ、把握が容易な腸内細菌[13] のなかから抗ウイルス物質を産生する細菌の検索を行い、抗ウイルス物質産生細菌を選出し、その代表株を用いて腸管内での抗ウイルス物質産生能を観察した。

サケ科魚類の腸内細菌叢[14～20] のうち、淡水生活期の菌叢の主体を成す *Aeromonas* 属を対象に抗 IHNV 作用を示す菌株のスクリーニングを行った。108 株のスクリーニングで 90% 以上のプラーク減少を示す菌株が 3 株分離された。これらの菌株は飼料成分を栄養源として抗ウイルス物質を産生することが確認された。そこで餌料ペレットに 10% の割合で菌体培養液を混ぜ、経口的に投与したところ、腸管内の菌叢の主体を成して定着し、腸内容物も強い抗ウイルス活性を示した。ただし、この場合対照に用いた供試魚の腸内細菌叢も同様に *Aeromonas* 属細菌が優勢であった。抗ウイルス性の *Aeromonas* 属細菌を添加した餌料を 3 週間にわたってニジマス（*Oncorhynchus mykiss*）に給餌した後、100 $TCID_{50}$/mL の IHNV で浸漬法による攻撃試験を行ったところ、抗ウイルス細菌を投与した群の累積死亡率が約 10%、対照群は約 30% と有意の差が観察された[21]。この場合、対照群の腸内細菌叢も *Aeromonas* 属細菌が優勢で、腸内容物に抗ウイルス活性が見られた。

そこでサクラマス（*O. masou*）を用いて、抗ウイルス物質を産生しない *Pseudomonas* 属が優勢でかつ腸内容物にも抗ウイルス活性のないことを確認した対照群を選抜し、再度抗ウイルス細菌投与群とともに IHNV による攻撃試験を行った。抗ウイルス物質を産生しない *Pseudomonas* 属が優勢で、かつ腸内容物にも抗ウイルス活性のない群の累積死亡率は 70% となり、抗ウイルス物質産生菌投与群の死亡率との差が大きく開いた[22]。ただし、ウイルス攻撃量を 100 倍にした場合、あるいは養魚場のニジマスに対し試料ペレットを用いた経口投与試験を実施した場合には効果が認められなかった。この原因として、IHNV の感染侵入門戸が鰓および体表であること、さらに養魚場では流水量が大きいために飼育水中の抗ウイルス物質が有効濃度に達しなかったものと考えられる。今回の試験は容量 3 L の小型水槽を使用したため、腸内で多量に産生された抗ウイルス物質が糞とともに排泄され、鰓や体表面を覆っていた可能性が考えられる。今後は腸管感染系のウイルスを用いて試験を実施するか、海産魚介類の種苗生産水槽のように換水率の低い水槽を対象に抗ウイルス物質産生細菌を増殖させ、ウイルス病の防除が可能かどうかを検討する等の工夫が必要と考えられた。

海産魚種苗生産用餌料生物の細菌叢を抗ウイルス物質産生細菌に置き換える試み

異体類のマツカワやヒラメのウイルス病としては、魚類ノダウイルスによるウイルス性神経壊死症や IHNV と近縁のヒラメラブドウイルス（HIRRV）感染症、ヘルペスウイルスによるウイルス性表皮増生症、イリドウイルスの一種リンホシスチスウイルスによるリンホシスチス病が知られている[1]。マツカワやヒラメの種苗生産施設における飼育用水、餌料生物のワムシ（*Brachionus plicatilis*）、アルテミア（*Artemia salina*）

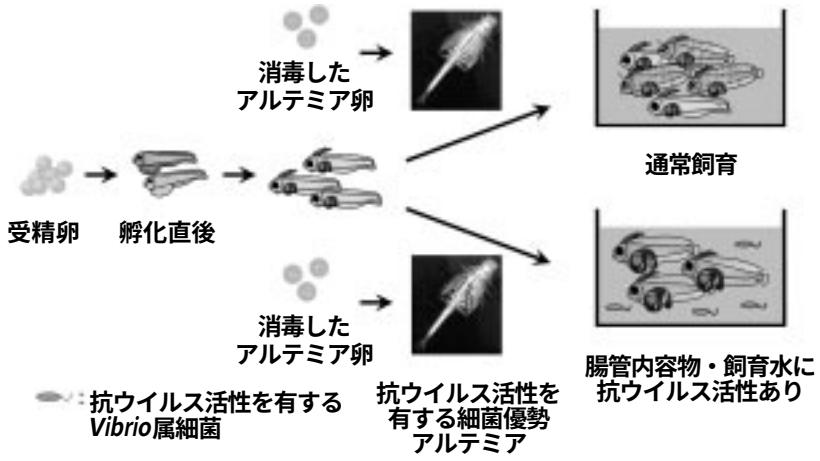

図３　抗ウイルス活性を有する細菌を用いた魚類ウイルス病制御の試み

および飼育仔稚魚の細菌叢の調査結果では、ワムシ、アルテミアおよび仔稚魚の消化管内の菌叢の主体は *Vibrio* 属細菌が優勢であった[23]。これら *Vibrio* 属細菌の中に抗ウイルス活性を有する細菌がどの程度存在するか、*Vibrio* 属細菌 155 株を対象に、まず IHNV に対する抗ウイルス効果についてスクリーニングしたところ、25 菌株が 90% 以上のプラーク減少率を示した。さらにこれら 25 菌株の中から高い抗 IHNV 活性を示した 5 株について、抗ヘルペスウイルス（ウイルス性表皮増生症原因ウイルスは培養できないため海産ギンザケ（*O. kisutch*）由来株の OMV を使用）、抗 HIRRV および抗 BFNNV（barfin flounder nervous necrosis virus）活性を調べ、これらすべてのウイルスに対し強い抗ウイルス効果を示す菌株を得た[24]。

稚仔魚の生物餌料の中で、最も細菌叢のコントロールが容易と考えられるのは乾燥卵を用いるアルテミアである。そこで、まずアルテミア卵を次亜塩素酸ナトリウムで消毒後、無菌海水で孵化させ、抗ウイルス物質産生細菌 *Vibrio* sp. 2IF6a 株を添加して培養した。*Vibrio* sp. 2IF6a 株を添加したアルテミアは、培養開始時に抗 IHNV および BFNNV 活性は認められなかったものの、培養 2 日後のアルテミアには IHNV に対し 56 % のプラーク減少を、BFNNV に対しては 90% の感染価減少を示し、アルテミア培養液ではそれぞれ 100% と 99% を示した。対照の無菌培養アルテミアには抗ウイルス効果は認められなかった[3]。マツカワあるいはヒラメの餌料がワムシからアルテミアに置き換わるときに、抗ウイルス活性を有する細菌を添加したアルテミアに切り替えて給餌すれば、腸内細菌叢を抗ウイルス物質産生 *Vibrio* に置き換えられるものと考えられた（図 3）。

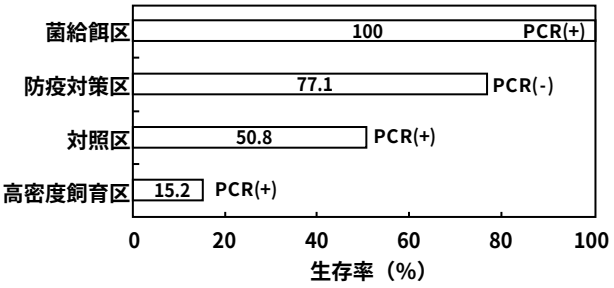

図４　抗 BFNNV 活性を有す腸内細菌 *Vibrio* sp. 2IF6a 株を添加したアルテミアを給餌したマツカワの生存率

抗ウイルス物質産生 *Vibrio* 属細菌添加アルテミアを給餌したマツカワのウイルス病の制御

抗ウイルス物質産生 *Vibrio* sp. 2IF6a 株を添加したアルテミアおよびこのアルテミアを給餌したマツカワの腸内容物の細菌叢は *Vibrio* 属細菌が優勢となった。このアルテミアおよびマツカワの腸内容物の 10 倍希釈濾液に $10^{5.8}$ $TCID_{50}$/mL に調整した BFNNV を混合して 3 時間接触させた場合、ともにウイルス感染価は 99.99% 以上減少した。このような抗ウイルス活性は IHNV および OMV に対しても認められた。マツカワ仔魚を換水率 0 ～ 300 % で 60 日間飼育した後の生存率は、試験的防疫対策実施区[24] で 77.1%、通常飼育区で 50.8%、高密度飼育区で 15.2% であった。これに対し抗ウイルス物質産生 *Vibrio* sp. 2IF6a 株添加アルテミア給餌区では死亡は全く見られず、生存率は 100% となった（図 4）。ただ BFNNV 特異遺伝子を検出する RT−PCR 法による検査の結果では、防疫対策実施区以外ではウイルス遺伝子が検出された。その後、ウイルス性神経壊死症の防疫対策が確立され本症の発症は見られなくなったが[25]、3 年間同様の給餌飼育を行ったと

ころ、稚魚の成長の遅れもなく、従来散見されたヘルペスウイルスによるウイルス性表皮増生症も見られなくなった。5 年前からは、マツカワにはマツカワの腸管由来の抗ウイルス物質産生 *Vibrio* 属細菌を選抜して添加したアルテミアを投与している。なお、この置換には、前述の試験で用いた *Vibrio* sp. 2IF6a 株ではなく、強い抗 BFNNV および OMV 活性を有し、病原性がなく、かつアルテミアおよびマツカワ仔魚の成長に影響が認められない *Vibrio* sp. V－9715 株を選抜した。平行して行った *Alteromonas* sp. 2IF6a 株の給餌試験において、本来、腸管内に定着しない *Alteromonas* 属細菌が給餌魚の腸内細菌叢に占める割合が高くなったことから、*Vibrio* sp. V－9715 株もマツカワの腸管内に定着しているものと推測された。

このように、抗ウイルス物質産生腸内細菌を経口投与する方法は、換水率の低い海産稚仔のウイルス防除対策として、方法を工夫すれば有効に活用できると推察された。

抗ウイルス物質産生 *Vibrio* 属細菌添加ワムシを給餌したヒラメのウイルス性表皮増生症の防除

近年、シオミズツボワムシ複相単性生殖卵の消毒が可能になり[26]、上記生物餌料としてアルテミアの前に給餌する初期餌料のワムシに抗ウイルス活性を持たせることができれば、稚仔魚期の早期に防除対策に用いることが期待できる。抗ウイルス物質産生 *Vibrio* 属細菌添加ワムシの給餌によるヒラメのウイルス性表皮増生症の防除を目的に、まず、ヒラメ腸管内容物から抗ヘルペスウイルス活性を有する細菌の検索を行ったところ、ヒラメの腸管内容物からは抗ヘルペスウイルス活性を有する細菌を 33.3% の割合で分離することができた。さらに、消毒したワムシ卵を殺菌海水で孵化させた後に、抗ノダウイルス、ラブドウイルス、ヘルペスウイルス活性を有するショ糖分解能陰性の *Vibrio* sp. V－9715 株を添加したところ、ワムシの細菌叢は *Vibrio* 属細菌が優勢となった。菌無添加ワムシの細菌叢は *Flavobacterium* 属が優勢であったことから、ワムシの細菌叢は制御可能であることが明らかとなった[27]。次いで、*Vibrio* sp. V－9715 株が優勢となったワムシをヒラメに給餌し、14 日後のヒラメ腸管内容物の細菌叢を調べた結果、菌無添加ワムシ、菌添加ワムシを給餌したヒラメの腸管内では、ショ糖非分解 *Vibrio* 属細菌がそれぞれ 58%、100% であったことから、ヒラメ腸管内の細菌叢も制御可能であることが示された。このとき、ヒラメの生存率および成長率に対照区と差はなく、菌を給餌することによるヒラメへの悪影響はないものと考えられた。また、抗ヘルペスウイルス活性を有する *V. alginolyticus* V－23 株を添加したワムシをヒラメ稚仔魚に給餌したときのヒラメ腸管内および飼育水への抗ヘルペスウイルス活性の賦与について検討した結果、10^3 $TCID_{50}$ のウイルスを中和する最大希釈倍数で求めた抗ヘルペスウイルス活性は、給餌 10 日では差が見られなかったものの、給餌 20 日以降、菌添加区のヒラメでは対照区の 2 ～ 5 倍、菌添加区の飼育水では対照区の 2 ～ 4 倍と測定された。

このように、消毒した卵を殺菌海水で孵化させたワムシに抗ウイルス物質産生腸内細菌を添加して給餌することにより、より早期のウイルス防除が期待できると考えられる。今後は、実際に病気の起こっている現場での利用を試み、その効果を試してみたいと考えている。

おわりに

以上、紹介した結果は、魚類のウイルス病対策への応用を目的とした研究結果であったが、前述の細菌の中にはウイルスが細胞へ感染した後のウイルス複製過程を阻害する物質を産生する株もあり、これらは今後の研究次第によっては医薬品としての利用の道が開けるものと考えられる。今まで未知の世界としてあまり調査研究対象とされてこなかった水の中の微生物、特に地球の 2/3 以上を占める海洋の微生物の中にはまだまだ未知の有用遺伝子源を持ったものが多数存在すると考えられる。今回紹介した抗ウイルス性生理活性物質をはじめ、抗菌、抗腫瘍、酵素阻害等の生理活性物質産生細菌等の検索が精力的に行われている[11]。今後、より多くの分野で有用微生物が、私たちの生活に役立てられることを願ってやまない。

文　献

1) Kimura, T. and M. Yoshimizu. 1991. Viral diseases of fish in Japan. Annu. Rev. Fish Dis., 1: 67 – 82.
2) 吉水　守・笠井久会 . 2005. 魚類ウイルス病の防疫対策の現状と課題 , 化学と生物 , 43: 48 – 58.
3) 吉水　守・絵面良男 . 1999. 抗ウイルス物質産生細菌による魚類ウイルス病の制御 , Microbes Environ., 14: 269 – 275.
4) 吉水　守・瀧澤宏子・亀井勇統・木村喬久 . 1986. 魚類病原ウイルスと環境由来微生物との相互作用: 飼育用水中での生存性 , 魚病研究 , 21: 223 – 231.
5) Kamei, Y., M. Yoshimizu, Y. Ezura and T. Kimura. 1987. Screening of bacteria with antiviral activity against infectious hematopoietic necrosis virus（IHNV）from estuarine and marine environments. Nippon Suisan Gakkaishi, 53: 2179 – 2185.
6) Kamei, Y., M. Yoshimizu, Y. Ezura and T. Kimura. 1988.

Screening of bacteria with antiviral activity from the freshwater salmonid hatcheries. Microbiol. Immunol., 32: 67－73.
7） 吉水 守. 1999. ワクチン投与までの防疫対策, アクアネット, 2: 26－29.
8） Kamei, Y., M. Yoshimizu, Y. Ezura and T. Kimura. 1987. Effect of estuarine and marine waters on the infectivities of infectious hematopoietic necrosis virus（IHNV）and infectious pancreatic necrosis virus（IPNV）. Bull. Fac. Fish. Hokkaido Univ., 38: 271－285.
9） Yoshinaka, T., M. Yoshimizu and Y. Ezura. 2000. Adsorption and infectivity of infectious hematopoietic necrosis virus（IHNV）with various solids. J. Aquat. Anim. Health, 12: 64－68.
10） Kamei, Y., M. Yoshimizu, Y. Ezura and T. Kimura. 1987. Effect of environmental water on the infectivities of infectious hematopoietic necrosis virus(IHNV)and infectious pancreatic necrosis virus（IPNV）. J. Appl. Ichthyol., 4: 37－47.
11） Kimura, T., M. Yoshimizu, Y. Ezura and Y. Kamei. 1990. An antiviral agent（46NW－04A）produced by *Pseudomonas* sp. and its activity against fish viruses. J. Aquat. Anim. Health, 2: 12－20.
12） Kamei, Y., M. Yoshimizu, Y. Ezura and T. Kimura. 1992. Isolation and characterization of antiviral substance against salmonid viruses, 46NW－04A produced by an aquatic bacterium, *Pseudomonas fluorescens* 46NW－04, in “ Salmonid Diseases ”ed by T. Kimura. Hokkaido University Press, Sapporo, pp.293 － 300.
13） 吉水 守. 1986. 魚類の消化管内細菌（好気性細菌）, “ 水産増養殖と微生物 ”, 水産学シリーズ 61, 河合 章編, 恒星社厚生閣, 東京, pp.9－24.
14） Yoshimizu, M. and T. Kimura. 1976. Study on the intestinal microflora of salmonids. Fish Pathol., 10: 243－259.
15） 吉水 守・木村喬久・坂井 稔. 1976. 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, 日水誌, 42: 91－99.
16） 吉水 守・木村喬久・坂井 稔. 1976. サケ科魚類の腸内細菌叢に関する研究－II. 人為的海水移行および餌止め飼育の腸内細菌叢におよぼす影響, 日水誌, 42: 863－873.
17） 吉水 守・木村喬久・坂井 稔. 1976. サケ科魚類の腸内細菌叢に関する研究－III. 海洋棲息魚の腸内細菌叢, 日水誌, 42: 875－884.
18） 吉水 守・木村喬久・坂井 稔. 1976. サケ科魚類の腸内細菌叢に関する研究－IV. 河川及び湖沼棲息魚の腸内細菌叢, 日水誌, 42: 1281－1290.
19） 吉水 守・木村喬久・坂井 稔. 1976. サケ科魚類の腸内細菌叢に関する研究－V. 遡河魚の腸内細菌叢, 日水誌, 42: 1291－1298.
20） 吉水 守・木村喬久・坂井 稔. 1980. サケ科魚類の稚仔魚期における腸内細菌叢の形成時期について, 日水誌, 46: 967－975.
21） Yoshimizu, M., Y. Fushimi, K. Kouno, C. Shinada, Y. Ezura and T. Kimura. 1992. Biological control of infectious hematopoietic necrosis by antiviral substance producing bacteria, in “ Salmonid Diseases ”, ed by T. Kimura. Hokkaido University Press, Sapporo, pp.301－307.
22） Yoshimizu, M. and T. Kimura. 1994. Production of anti－infectious hematopoietic necrosis virus（IHNV）substances by intestinal bacteria, in “ The Third Asian Fisheries Forum ”, ed by Chou, L. M., A. D. Munro, T. J. Lam, T. W. Chen, L. K. K. Cheong, J. K. Ding, K. K. Hooi, H. W. Khoo, V. P. E. Phang, K. F. Shim and C. H. Tan. Asian Fisheries Forum, Manila, pp.310－314.
23） 吉水 守・石川香織・河野和子・岩山奈央・木村喬久. 1999. 種苗生産施設におけるヒラメ稚魚の細菌叢, 北大研究彙報, 50: 193－200.
24） Watanabe, K., S. Suzuki, T. Nishizawa, K. Suzuki, M. Yoshimizu and Y. Ezura. 1998. Control strategy of viral nervous necrosis of barfin flounder. Fish Pathol., 33: 445－446.
25） Watanabe, K., T. Nishizawa and M. Yoshimizu. 2000. Selection of brood stock candidates of barfin flounder using an ELISA system with recombinant protein of barfin flounder nervous necrosis virus. Dis. Aquat. Org., 41: 219－223.
26） 渡邊研一・篠崎大祐・小磯雅彦・桑田 博・吉水 守. 2005. シオミズツボワムシ複相単性生殖卵の消毒, 日水誌, 71: 294－298.
27） 清水智子・篠崎大祐・笠井久会・澤辺智雄・渡辺研一・吉水 守. 2005. 細菌叢を制御したシオミズツボワムシを投与したヒラメの腸内細菌叢, 水産増殖, 53: 275－278.