

コイのエロモナス病における 血液学的変化の発現機構*

高橋 幸 則

Appearance Mechanisms of Haematological Symptoms of the Aeromonas Disease in Carp

by

Yukinori TAKAHASHI

The appearance mechanisms of the haematological symptoms which occurs in naturally infected fish of the Aeromonas disease were clarified by inoculating healthy carp with pathogenic *Aeromonas hydrophila* from haematological findings. As the result, there were marked decreases in erythrocyte counts, hematocrit values, and hemoglobin levels, and anemia appeared in the experimentally infected carp. It was found that the anemia was normocytic and normochromic. From these results, the following appearance mechanisms of anemia were considered. Namely, erythrocytes were destroyed by hemolysin produced by the pathogenic *Aeromonas* entering the blood, while there was also transudation of erythrocytes from the vascular wall. Regressive changes such as necrosis of the kidney and spleen tissue occurred, and then there was a decrease in hematopoietic function.

1. 緒 言

Aeromonas hydrophila の感染に基づく、コイ科魚類のエロモナス病の血液学的変化の特徴は、赤血球数の減少、ヘマトクリット値の低下ならびに色素素量の減少など、いわゆる貧血が生じることである。

これらの血液学的異常は、病原菌のいかなる作用に基づく変化であるのかについては、いまだ明確にされていない。

そこで、病原菌を接種して得られた人為的感染魚の血液性状を調べ、本病における貧血の発現メカニズムを解析したので、その概要を報告する。

2. 材料および方法

2・1 供試魚

平均体重44.5gのニシキゴイ (*Cyprinus carpio*) を4個のアクリル樹脂製水槽〔40×60×40(深さ)cm〕に20尾ずつ収容し、水温20±1℃で2週間予備飼育したのち実験に供した。

2・2 人為的感染

病魚から分離した *Aeromonas hydrophila* CA-1 株を、普通寒天培地斜面に25℃、20時間培養後、滅菌生理食塩水

* 水産大学校研究業績 第1016号, 1984年1月19日受理.

Contribution from Shimonoseki University of Fisheries, No. 1016. Received Jan. 19, 1984.

に懸濁させ、供試魚の体重 g あたり約 10^6 細胞の生菌数となるように筋肉内接種した。

2・3 採血

菌接種後24, 48, 72, 96時間ごとに7尾ずつとりあげ、tricaine methanesulfonate (MS222) で麻酔したのち、尾柄部を切断して、ヘパリン処理の小試験管に採血した。

2・4 赤血球数の算定

赤血球用メランジュールを用い、HAYEM 氏液で血液を200倍に希釈し、THOMA の血球算定盤により、血液 1mm^3 中の赤血球数を算定した。

2・5 ヘマトクリット値の測定

ブレイン毛細管に血液を採取したのち、8,000 rpm, 30分間の遠心分離を行い、血球容積比を測定した。

2・6 血液および血漿比重の測定

硫酸銅法によって行った。

2・7 血色素量の定量

Acuglobin (Orth Corp. 製) を用いて検量線を求め、シアンメトヘモグロビン法によって定量した。

2・8 血液水分量の測定

血液 0.2ml を秤量瓶にとり、 105°C 、1時間放置したのちに秤量をくり返し、重量が一定した時点で、その減量をもって水分量とした。

2・9 血清タンパク量の定量

ヘパリン無処理の血液を 4°C 、20時間放置して得られた上澄の血清について、屈折タンパク計 (Erma 社製) を用いて定量した。

3. 結 果

3・1 赤血球数の経時的変化

A. hydrophila を接種したニシキゴイにおける赤血球数の経時的変化を Table 1 に示した。

菌を接種する前のニシキゴイの赤血球数は、 201 ± 24.9 ($10^4/\text{mm}^3$) (以下、単位省略) であったのに対して、菌接種24時間後には 184 ± 34.0 となり、以後は時間の経過に伴って漸減し、96時間後には 148 ± 15.9 となった。

3・2 ヘマトクリット値の経時的変化

ヘマトクリット値の経時的変化を Table 2 に示した。菌接種前のヘマトクリット値は、 $41.5 \pm 3.52\%$ (以下、単位省略) であったのに対して、菌接種24時間後には 32.5 ± 5.16 となり、以後は時間の経過に伴って漸減し、96時間後には 27.4 ± 3.25 となった。

3・3 血液比重の経時的変化

血液比重の経時的変化を Table 3 に示した。菌接種前の血液比重は、 1.046 ± 0.0020 であったのに対して、菌接種24時間後には 1.040 ± 0.0028 となり、以後は時間の経過に伴って漸減し、96時間後には 1.035 ± 0.0014 となった。

前項のヘマトクリット値と血液比重との相関関係について

Table 1. Changes in erythrocyte counts on experimental infection in fancy red carp inoculated with *A. hydrophila*

| Hours after inoculation | Number of fish | Body weight (g) | | Erythrocyte counts ($\times 10^4/\text{mm}^3$) | | |
|-------------------------|----------------|-----------------|------|--|------|--------------------|
| | | Range | Mean | Range | Mean | Standard deviation |
| 0 | 7 | 33—57 | 43.6 | 174—249 | 201 | 24.85 |
| 24 | 7 | 36—55 | 45.1 | 141—221 | 184 | 34.03 |
| 48 | 7 | 30—59 | 43.3 | 90—229 | 166 | 42.95 |
| 72 | 7 | 38—51 | 46.0 | 108—203 | 155 | 30.14 |
| 96 | 7 | 30—53 | 45.3 | 128—171 | 148 | 15.84 |

て調べた結果を Table 4 および Fig. 1 に示した。菌接種前の両者の相関係数は、0.732であったのに対して、接種後のそれは0.664~0.981の範囲内にあり、各経過時間ともに高い正の相関が認められた。

3・4 血色素量の経時的变化

血色素量の経時的变化を Table 5 に示した。菌接種前の血色素量は、 $10.2 \pm 1.86 \text{ g/dl}$ (以下、単位省略)であつ

Table 2. Changes in haematocrit value on experimental infection in fancy red carp inoculated with *A. hydrophila*

| Hours after inoculation | Number of fish | Body weight (g) | | Haematocrit value (%) | | |
|-------------------------|----------------|-----------------|------|-----------------------|------|--------------------|
| | | Range | Mean | Range | Mean | Standard deviation |
| 0 | 7 | 35—57 | 49 | 34.5—44.7 | 41.5 | 3.52 |
| 24 | 7 | 33—54 | 48 | 26.3—40.9 | 32.5 | 5.16 |
| 48 | 7 | 32—56 | 47 | 25.7—42.2 | 32.1 | 5.95 |
| 72 | 7 | 31—58 | 50 | 22.0—38.6 | 28.4 | 6.91 |
| 96 | 7 | 30—56 | 48 | 23.4—33.4 | 27.4 | 3.25 |

Table 3. Changes in specific gravity of blood on experimental infection in fancy red carp inoculated with *A. hydrophila*

| Hours after inoculation | Number of fish | Body weight (g) | | Specific gravity of blood | | |
|-------------------------|----------------|-----------------|------|---------------------------|-------|--------------------|
| | | Range | Mean | Range | Mean | Standard deviation |
| 0 | 7 | 35—57 | 49 | 1.044—1.049 | 1.046 | 0.0020 |
| 24 | 7 | 33—54 | 48 | 1.036—1.043 | 1.040 | 0.0028 |
| 48 | 7 | 32—56 | 47 | 1.034—1.046 | 1.039 | 0.0043 |
| 72 | 7 | 31—58 | 50 | 1.028—1.044 | 1.036 | 0.0053 |
| 96 | 7 | 30—56 | 48 | 1.033—1.037 | 1.035 | 0.0014 |

Table 4. Correlation coefficients between haematocrit value and specific gravity of blood on experimental in fancy red carp inoculated with *A. hydrophila*

| Hours after inoculation | Number of fish | Body weight (g) | | Correlation coefficient |
|-------------------------|----------------|-----------------|------|-------------------------|
| | | Range | Mean | |
| 0 | 7 | 35—57 | 49 | 0.732 |
| 24 | 7 | 33—54 | 48 | 0.664 |
| 48 | 7 | 32—56 | 47 | 0.981 |
| 72 | 7 | 31—58 | 50 | 0.909 |
| 96 | 7 | 30—56 | 48 | 0.829 |

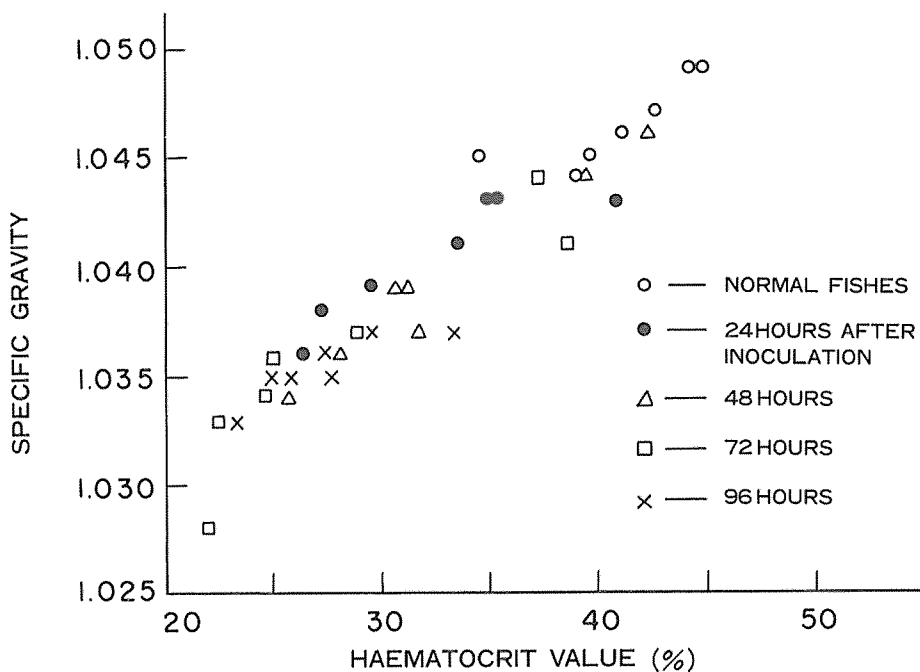


Fig. 1. Relation between the haematocrit value and the specific gravity of blood.

たのに対して、菌接種24時間後には、 8.0 ± 1.54 となり、96時間後には 7.1 ± 1.16 まで減少した。

3・5 血漿比重の経時的変化

血漿比重の経時的変化を Table 6 に示した。菌接種前の血漿比重は、 1.017 ± 0.0019 であったのに対して、菌接種24時間後には 1.014 ± 0.0005 まで低下した。48～96時間後にはほとんど変動がみられず、各経過時間における比重は、

いずれも 1.014 であった。

3・6 血液水分量の経時的変化

血液水分量の経時的変化を Table 7 に示した。菌接種前の血液水分量は、 $85.3 \pm 1.51\%$ (以下、単位省略)であったのに対して、菌接種24時間後には 86.5 ± 1.59 となった。その後、経過時間によって多少の変動がみられるが、接種前の水分量に比較して、いずれも増加する傾向が認められた。

Table 5. Changes in hemoglobin content on experimental infection in fancy red carp inoculated with *A. hydrophila*

| Hours after inoculation | Number of fish | Body weight (g) | | Hemoglobin content (g/dl) | | |
|-------------------------|----------------|-----------------|------|---------------------------|------|--------------------|
| | | Range | Mean | Range | Mean | Standard deviation |
| 0 | 7 | 37—60 | 51 | 8.2—13.5 | 10.2 | 1.86 |
| 24 | 7 | 34—57 | 49 | 5.3—10.2 | 8.0 | 1.54 |
| 48 | 7 | 31—58 | 49 | 5.0—10.6 | 7.7 | 2.03 |
| 72 | 7 | 36—56 | 47 | 6.1—9.9 | 7.9 | 1.17 |
| 96 | 7 | 34—54 | 47 | 5.4—9.0 | 7.1 | 1.16 |

3・7 血清タンパク量の経時的変化

血清タンパク量の経時的変化を Table 8 に示した。菌接種前の血清タンパク量は、 2.6 ± 0.46 g/dl (以下、単位省略)

であったのに対して、菌接種24および48時間後には、それぞれ1.5, 1.4まで減少した。しかし、72時間後からは再び増加の傾向がみられ、96時間後には 2.1 ± 0.54 となった。

Table 6. Changes in specific gravity of plasma on experimental infection in fancy red carp inoculated with *A. hydrophila*

| Hours after inoculation | Number of fish | Body weight (g) | | Specific gravity of plasma | | |
|-------------------------|----------------|-----------------|------|----------------------------|-------|--------------------|
| | | Range | Mean | Range | Mean | Standard deviation |
| 0 | 7 | 35—57 | 49 | 1.015—1.020 | 1.017 | 0.0019 |
| 24 | 7 | 33—54 | 48 | 1.014—1.015 | 1.014 | 0.0005 |
| 48 | 7 | 32—56 | 47 | 1.013—1.015 | 1.014 | 0.0009 |
| 72 | 7 | 31—58 | 50 | 1.013—1.016 | 1.014 | 0.0011 |
| 96 | 7 | 30—56 | 48 | 1.013—1.015 | 1.014 | 0.0006 |

Table 7. Changes in moisture content of blood on experimental infection in fancy red carp inoculated with *A. hydrophila*

| Hours after inoculation | Number of fish | Body weight (g) | | Moisture content of blood (g) | | |
|-------------------------|----------------|-----------------|------|-------------------------------|------|--------------------|
| | | Range | Mean | Range | Mean | Standard deviation |
| 0 | 7 | 36—60 | 47 | 82.7—86.8 | 85.3 | 1.51 |
| 24 | 7 | 32—50 | 41 | 85.6—87.4 | 86.5 | 1.59 |
| 48 | 7 | 34—60 | 44 | 83.6—87.6 | 85.6 | 1.63 |
| 72 | 7 | 34—51 | 43 | 86.9—91.2 | 87.6 | 1.61 |
| 96 | 7 | 32—58 | 44 | 84.7—90.7 | 87.8 | 1.91 |

Table 8. Changes in amounts of serum protein on experimental infection in fancy red carp inoculated with *A. hydrophila*

| Hours after inoculation | Number of fish | Body weight (g) | | Amounts of serum protein (g/dl) | | |
|-------------------------|----------------|-----------------|------|---------------------------------|------|--------------------|
| | | Range | Mean | Range | Mean | Standard deviation |
| 0 | 7 | 34—52 | 42 | 2.0—3.5 | 2.6 | 0.46 |
| 24 | 7 | 36—50 | 45 | 1.1—2.4 | 1.5 | 0.44 |
| 48 | 7 | 34—56 | 47 | 1.1—1.7 | 1.4 | 0.48 |
| 72 | 7 | 32—53 | 44 | 1.5—1.9 | 1.7 | 0.13 |
| 96 | 7 | 33—51 | 42 | 1.5—2.9 | 2.1 | 0.54 |

Table 9. Haematological indices of experimentally infected fancy red carp inoculated with *A. hydrophila*

| Hours after inoculation | Color index | Volume index | Saturation index |
|-------------------------|-------------|--------------|------------------|
| 0 | 1.00 | 1.00 | 1.00 |
| 24 | 0.87 | 0.88 | 0.98 |
| 48 | 0.93 | 0.97 | 0.96 |
| 72 | 1.02 | 0.92 | 1.11 |
| 96 | 0.96 | 0.93 | 1.04 |

4. 考 察

保科¹⁾は、鰭赤病のウナギの血液性状について、感染初期の諸測定値には個体間の変異の幅が大きい、病状の進行した個体では、赤血球数ならびにヘモグロビン量が減少し、ヘマトクリット値は低下することを明らかにしている。

コイ科魚類のエロモナス病の原因菌である *A. hydrophila* を接種したニシキゴイの血液性状の測定値には、個体間に多少のばらつきがみられるものの、時間の経過に伴って、赤血球数ならびにヘモグロビン量の減少およびヘマトクリット値の低下が認められ、保科¹⁾が報告した鰭赤病のウナギと同様の貧血の所見が得られた。

KATŌ²⁾は、ヒトにおける貧血を色素指数、容積指数および飽和指数によって解析している。本実験における人為的感染魚に生じた貧血の内容について、KATŌ²⁾の方法に基づいて、以下に解析する。すなわち、赤血球数を R ($10^6/\text{mm}^3$)、ヘモグロビン量を Hb (g/dl)、ヘマトクリット値を V (%) で表わすと、3つの指数はそれぞれ次式によって計算される。

$$\text{色素指数} = Hb / R \times a \quad (a \text{ は色素指数の常数})$$

$$\text{容積指数} = V / R \times b \quad (b \text{ は容積指数の常数})$$

$$\text{飽和指数} = (Hb / R \times a) / (V / R \times b)$$

ニシキゴイにおける R , Hb , V の正常値を仮りに、 R_n , Hb_n , V_n とすると、色素指数の常数 a は

$$a = Hb_n / R_n \quad \text{により}$$

容積指数の常数 b は

$$b = V_n / R_n \quad \text{により求められる。}$$

ここで、各性状の正常値として、本実験における菌接種前

の健康魚の平均値を採用すると、常数 a および b は次式によって求められる。

$$a = Hb_n / R_n = 10.20 / 2.01 \approx 5$$

$$b = V_n / R_n = 41.50 / 2.01 \approx 20$$

したがって、3指数は次式によって得られる。

$$\text{色素指数} = Hb / 5R$$

$$\text{容積指数} = V / 20R$$

$$\text{飽和指数} = 4Hb / V$$

上式によって求めた菌接種後の経過時間別の色素指数、容積指数および飽和指数を Table 9 に示した。すなわち、菌接種24時間後には、個々の赤血球内のヘモグロビン飽和度はさほど低くないが、小さい赤血球が多いために、ヘモグロビン量がやや少い傾向を示し、いわゆる小赤血球性低色素性貧血をきたしているものと推察される。著者ら³⁾はすでに、*A. hydrophila* を接種したニシキゴイの血液中には、菌接種24時間後に小型の幼若赤血球が多数出現することを明らかにした。上記の小赤血球性低色素性貧血は、幼若赤血球が多く出現したことに起因するものと考えられる。魚類の感染症において、幼若赤血球が多く出現することは、SCHÄPERCLAUS and MANN⁴⁾が伝染性腹水症のコイで、尾崎⁵⁾がX病(IPN)のニジマスで、また保科¹⁾が鰭赤病のウナギで明らかにしている。これらの現象は、病原体の感染をうけた魚類に貧血が生じたために、未成熟な赤血球まで放出して、これに対応しようとする生体の防衛反応の一つと考えられる。

また、著者ら³⁾がすでにプライス・ジョンズ曲線によって明らかにしたように、菌接種48時間後には、赤血球の大きさが正常に近づくために、色素指数も健康魚のそれとほ

とんど変わらない。72～96時間後には、ヘモグロビン飽和度も高く、正色素性貧血であるといえる。したがって、本病の人為的感染魚に発現した貧血は、感染初期（菌接種後24時間）には、やや小赤血球性低色素性貧血の傾向がみられるものの、病状の進行した個体には正赤血球性正色素性貧血が生じると考えてさしつかえないものと思われる。

ヒトの正赤血球性正色素性貧血の原因としては、次の事項が明らかにされている。⁶⁾すなわち、(1) 造血機能の低下に基づく再生不良性貧血。(2) 急性の大量出血。(3) 溶血性貧血。(4) 慢性腎臓病、肝臓病、悪性腫瘍および慢性感染症などに基づく二次性貧血。(5) 遺伝性球形赤血球症などである。

魚類において、腎臓や脾臓などの造血器官が冒される感染症では、著しい貧血が生じることが明らかにされている。AMEND and SMITH⁷⁾は、IHN ウイルスを腹腔内注射したニジマス幼魚は、ヘマトクリット値が低下し、ヘモグロビン量および赤血球数が減少すると述べている。HUNN⁸⁾は、カワマスの細菌性腎臓病について、健康魚のヘマトクリット値は 39 ± 1 であったのに対して、病魚のそれは 22 ± 1 であったことを報告し、木村・粟倉⁹⁾はマスノスケの同疾病について、健康魚のヘマトクリット値は44.4であったのに対して、病魚のそれは22.6であったと述べている。著者¹⁰⁾がすでに明らかにしたように、*A. hydrophila* を接種したコイの腎臓などの造血器官には壊死が生じていた。したがって、本病での貧血の原因の一つとして、腎臓および脾臓などに損傷をうけた結果、造血機能が衰えたことが考えられる。

一方、魚類において、出血を伴う感染症では、著しい貧血が生じることが明らかにされている。FODA¹¹⁾は、せうそう病の大西洋産サケについて、正常魚のヘマトクリット値は 44.5 ± 3.5 、ヘモグロビン量は 9.5 ± 0.86 であったのに対して、病魚ではそれぞれ 18.8 ± 2.89 、 4.3 ± 0.39 であったとし、これらの低下は出血によるものであることを推論している。エロモナス病の自然感染魚ならびに人為的感染魚には、体表や各組織に著しい出血が生じている。^{10, 12)}したがって、本病に発現する貧血の第二の原因として、各組織における出血が考えられる。

また、種々の細菌が溶血毒素を産生することが知られている。^{13, 14)}清水¹⁵⁾は、ウナギから分離された *Aeromonas liquefaciens* (Bergey's Manual of Determinative Bacteriology 第8版¹⁶⁾によれば、*A. hydrophila*) の超音波破壊によって得られた菌体内物質の、ゲル濾過による素通り分画の中に、溶血因子が存在することを明らかにしている。ま

た、若林¹⁷⁾は POPOFF and VERON¹⁸⁾の分類に基づく *A. hydrophila* biovar. *hydrophila* 6株と、その他の運動性 *Aeromonas* の29株中25株が、ウナギ、ヒツジおよびウマの血液を溶血したことを報告している。著者ら¹²⁾がすでに明らかにしたように、本病の原因菌は溶血性を有することから、貧血の第三の原因として、病原菌の毒素に起因する溶血が考えられる。したがって、本病にみられる貧血の発現メカニズムについては、血液中に侵入した病原菌の産生する毒素によって赤血球が溶血し、一方では血管壁から赤血球が漏出し、さらには腎臓および脾臓組織に壊死などの退行性病変が生じて、造血機能が低下することなどが考えられる。

一方、山下¹⁹⁾は潰瘍が生じたカサゴの血液性状を調べ、ヘマトクリット値とともに血液比重が低下することを報告している。本実験における血液比重の変化は、ヘマトクリット値の変動傾向と一致しており、両者の経過時間別測定値には相関係数0.66～0.98の高い正相関が得られた。血液比重は血球数、血球容積およびヘモグロビン含量などに強く影響されることから、血液比重がヘマトクリット値と正相関を示したことは、当然の結果と思われる。

また、血漿比重は菌接種24時間後に低下したのち、96時間まで大きな変動はみられなかった。この原因について以下に考察する。血漿比重と関係の深い血液水分量と血清タンパク量は、前者が経過時間によって多少変動するものの、平均的に増加するのに対して、後者は48時間後までは減少し、その後増加した。保科¹⁾は、鰭赤病のウナギの血液水分量について、初期症状のものでは減少する個体がみられたが、末期には増加することを明らかにしている。また、保科¹⁾は同報告の中で、鰭赤病のウナギの血清タンパク量は、一般に健康魚より低い、組織の崩壊が強く起きている個体では高まる傾向にあると述べている。その理由としては、血球の崩壊や患部からのタンパク吸収によって、血清中のタンパク量が一時的に増加するのではないかと推論している。

本病の人為的感染魚は、各組織が崩壊していること¹⁰⁾から、72時間後から血清タンパク量が増加した原因は、保科¹⁾が述べているように、組織崩壊部位からの蛋白吸収に基づく一時的な現象ではないかと考えられる。以上のことから、菌接種後48時間以降に、血液水分量が増加するにもかかわらず、血漿比重が変動しなかった原因は、血清タンパク量の増加によるものであると推察される。

5. 要 約

コイ科魚類のエロモナス病の原因菌である *Aeromonas hydrophila* を、健康なニシキゴイに接種して、血液性状の変化を調べ、本病に生じる貧血の発現メカニズムの解析を試みた。

血液性状検査の結果、人為的感染魚に発現した貧血は、正赤血球性正色素性貧血であったことから、本病の貧血の発現機構を次のように推論した。すなわち、(1) 血液中に侵入した病原菌の産生する毒素によって赤血球が溶血する。(2) 病原菌の毒素によって血管壁の透過性が充進し、出血が起こる。(3) 腎臓および脾臓組織に壊死などの退行性病変が生じて、造血機能が低下するなどである。

終わりに、本研究の一部は高知大学大学院在籍中に実施したものであり、ご懇篤なるご指導を賜った恩師高知大学農学部教授楠田理一先生に謹んで深謝の意を表す。また、有益なるご助言とご校閲を賜った水産大学教授小林博先生に衷心より御礼申し上げる。

文 献

- 1) 保科利一：東京水産大学特別報告, **6**(1), 1~104(1962).
- 2) K. KATŌ: *J. Lab. Clin. Med.*, **24**, 191~197(1938).
- 3) Y. TAKAHASHI and R. KUSUDA: *Rept. Usa Mar. Biol. Inst.*, No 1, 33~39(1979).
- 4) W. SCHÄPERCLAUS and K. MANN: *Zeit. Fisch.*, **37**, 1~182(1939).
- 5) 尾崎久雄：滋賀県醒井養鱒場報告, **2**, 17~19(1959).
- 6) 日野志郎：衛生検査技術講座3, 血液学, 第4版, 医歯薬出版, 東京, 1969, pp. 57~63.
- 7) D. F. AMEND and L. SMITH: *Jour. Fish. Res. Board Can.*, **31**, 1371~1378(1974).
- 8) J. B. HUNN: *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **117**, 383~385(1964).
- 9) 木村喬久・粟倉輝彦：日水誌, **43**, 143~150(1977).
- 10) 高橋幸則：水産大研報, **32**, 41~48(1984).
- 11) A. FODA: *Jour. Fish. Res. Board Can.*, **30**, 463~467(1973).
- 12) 楠田理一・高橋幸則：魚病研究, **4**, 87~97(1970).
- 13) 小山次郎：蛋白質・核酸・酵素, **9**, 708~715(1964).
- 14) 加藤巖：蛋白質・核酸・酵素, **9**, 697~707(1964).
- 15) 清水朋子：魚病研究, **4**, 19~30(1969).
- 16) R. E. BUCHANAN and N. E. GIBBONS: *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*, 8th ed., The Williams and Wilkins Co., Baltimore, 1974, pp. 345~348.
- 17) 若林久嗣：昭和55年度魚病対策技術開発研究成果報告書, 1~24(1981).
- 18) M. POPOFF and M. VÉRON: *Jour. Gener. Microbiol.*, **94**, 11~22(1976).
- 19) 山下秀夫：日水誌, **33**, 81~90(1967).