

人工採苗アユに対するビブリオ病 バクテリンの効果について

森川 進・熊崎隆夫・渡部邦夫・犬飼政昭

杉下 徹・田代文男・石井重男

Vibrio anguillarum Vaccination of Hatchery-reared Ayu-fish,
Plecoglossus altivelis

Susumu MORIKAWA · Takao KUMAZAKI · Kunio WATABE* · Masaaki I NUKAI*
Tooru SUGISHITA* · Fumio TASHIRO · Shigeo ISHII

アユのビブリオ病バクテリンについては昭和51年より、腹腔内接種法、経口投与法、浸漬法について検討され、いずれの処理方法においても、バクテリンの有効性が認められている。しかし、これらの研究は、比較的大型な稚魚（5 g以上）を用いたもので、天然採苗アユの池中養成におけるビブリオ病を対象としたものであった。

岐阜水試では、アユの人工採苗過程におけるふ化後100日目頃のシラス型仔魚および稚魚期にビブリオ病が発生し、少なからぬ被害が出ている。本病に対しては、抗菌剤による化学療法がなされているが、耐性菌の出現等、問題点も

多く、ワクチンによる予防が望まれている。

そこで、人工採苗アユに対する、ビブリオ病バクテリンの効果を、経口投与法および浸漬法について検討した。

なお、本試験は全国湖沼河川養殖研究会・ビブリオ病研究部会の連絡試験の一部として、昭和53年度から55年度にかけて実施された。

試験—I 人工採苗アユに対するバクテリンの効果の検討

人工採苗アユに対するワクチン効果を、経口投与法および浸漬法について検討した。

試験の方法

試験区 第1表に示すとおりで、経口投与法および浸漬法について検討した。

供試魚 岐阜県魚苗生産調査事業・美濃試験地で、人工採苗された稚魚で、バクテリン処理時(経口投与については投与初日)の平均体重 0.6 g(ふ化後 148日目)および 2.0 g(同 183日目)のものを各区 300尾づつ用いた。なおこれらの供試魚は、Cl-約 0.3%の人工海水で飼育されていたものであった。

バクテリン *Vibrio anguillarum* PT-479 株(徳島分離株・宮崎大抗血清 I型)のホルマリン死菌で、湿菌重量として 1 mL 当り 0.5 g の菌体が懸濁されているもので、北里研究所で作製

された。

バクテリン処理 経口投与法については、所定量のバクテリン液を人工配合飼料に吸着させ、風乾後手まき給餌によって投与した。

浸漬法については、所定量の濃度になるよう、バクテリン液を飼育水で希釈し、所定時間浸漬した。浸漬処理の間は軽く通気した。

飼育池 满水量3.5トンのコンクリート池を用い、飼育水は当初 Cl-3%の人工海水とし、ワクチン処理後2日目から淡水のかけ流し飼育とした。飼育水温は、14.0~15.5°Cであった。

効果判定 経口投与法については、投与終了1週間後に、浸漬法については、処理、2, 4および9週間後に、*Vibrio anguillarum* PT-479 株の菌浴感染によって効果の判定を行なった。

第1表 試験-I の試験区

試験区	処理方法	平均体重
0.6-15-0	無処理対照区	
0.6-15-0.5	湿菌重量 0.5 g / kg · BW 15日間経口投与	0.6 g
0.6-15-2.0	" 2.0 g / kg · BW "	
0.6-1-0	湿菌重量 0 g / ℥ 1分間浸漬処理(対照)	
0.6-1-0.1	" 0.1 g / ℥ "	0.6 g
0.6-1-1.0	" 1.0 g / ℥ "	
0.6-60-0	湿菌重量 0 g / ℥ 60分間浸漬処理(対照)	
0.6-60-0.1	" 0.1 g / ℥ "	0.6 g
0.6-60-1.0	" 1.0 g / ℥ "	
2.0-1-0	湿菌重量 0 g / ℥ 1分間浸漬処理(対照)	
2.0-1-0.1	" 0.1 g / ℥ "	2.0 g
2.0-1-1.0	" 1.0 g / ℥ "	
2.0-60-0	湿菌重量 0 g / ℥ 60分間浸漬処理(対照)	
2.0-60-0.1	" 0.1 g / ℥ "	2.0 g
2.0-60-1.0	" 1.0 g / ℥ "	

すなわち本株を、ハートインフュージョンプロス(栄研)で、25°C・一夜培養し、それを1%の食塩を添加した飼育水で希釈して、 10^7 ~ 10^8 CFU/mlの菌浮遊液を作成し、供試魚を5分間浸漬した。感染後は、湛水量18ℓのスチロール製水槽に収容し、淡水のかけ流し飼育で2週間観察を行ない、斃死魚の外観症状および腎臓からの菌分離により、その死因を判定した。菌液浸漬時の水温は 15 ± 1 °Cとし、その後の飼育水温は、攻撃試験の結果の表に示した。また各攻撃試験時の平均魚体重も結果の表に示した。

更に浸漬法によるバクテリン効果の持続性を検討する為に、処理時平均体重0.6gのものについて、処理4週間および9週間後に攻撃試験を行なったところ、4週間後では、60分間処理の場合、 0.1 g/l の濃度で有効率44.4%， 1.0 g/l で66.7%で、9週間後では、1分間処理の場合、 0.1 g/l の濃度で有効率10.7%， 1.0 g/l で53.8%といずれも有効性が認められた。

以上の結果から、処理方法については、浸漬法の方が経口投与法に比較して、有効性が高いと思われ、また前者は1回の処理で作業が完了するのに対して、後者は15日間にわたって、ワクチンを飼料に吸着させ投与する必要があり、作業能率の点からも、浸漬法の方が現場への適用が容易であると思われた。

浸漬法については、処理2週間後の攻撃試験の結果から、バクテリン濃度が 0.1 g/l の場合は、処理時の平均体重が0.6gではやや有効性が低く同2.0gでは高かったこと、 1.0 g/l の場合は、いざれの供試魚でも有効性が高かったことから、処理時の魚体重によって免疫獲得能力に差があることが示唆された。¹¹⁾ AMEND & JOHNSONは、マス類のビブリオ病浸漬バクテリンについて、処理時の魚体重がその効果に大きく影響し、魚体重が大きくなれば有効性は高くなるとしており、本試験の結果と同様の傾向を認めている。また

結果および考察

飼育期間中、ビブリオ病の自然発生は認められず、攻撃試験によってバクテリンの効果を判定し、その結果を第2表に示した。

経口投与法については、投与終了1週間後に攻撃試験を行なったところ、無処理対照群のビブリオ病による斃死率が80.0%であったのに対して、 $0.5\text{ g/kg} \cdot \text{BW}$ 投与区は35.0%，有効率56.3%， $2.0\text{ g/kg} \cdot \text{BW}$ 投与区は50.0%，同37.5%と有効性が認められたが、後述する浸漬法に比較すると低かった。

浸漬法については、処理2週間後の攻撃試験では、処理時平均体重0.6gの場合は、 0.1 g/l の濃度で1分間処理区の有効率が47.4%，60分間処理区は同35.7%で、有効性は認められたもののやや低かった。 1.0 g/l の濃度では1分間処理区の有効率が84.2%，60分間処理区は92.9%で著

第2表 試験-Iの攻撃試験結果

試験区	供試尾数	斃死尾数	ピフリオ病による斃死率	バクテリンの有効率	攻撃
<経口投与法・投与終了1週間後、平均体重2.1g>					
0.6-15-0	20	16	80.0%	—%	2.5×10^7 CFU/ml
0.6-15-0.5	20	7	35.0	56.3	
0.6-15-2.0	20	10	50.0	37.5	W.T. 13.5~14.8°C
<浸漬法・処理2週間後、平均体重1.0g, 5.5g>					
0.6-1-0	20	19	95.0%	—%	
0.6-1-0.1	20	10	50.0	47.4	
0.6-1-1.0	20	3	15.0	84.2	2.1×10^7 CFU/ml
0.6-60-0	20	14	70.0%	—%	W.T. 16.5~20.0°C
0.6-60-0.1	20	9	45.0	35.7	
0.6-60-1.0	20	1	5.0	92.9	
2.0-1-0	19	12	63.2%	—%	
2.0-1-0.1	20	2	10.0	84.1	
2.0-1-1.0	20	1	5.0	92.1	2.9×10^8 CFU/ml
2.0-60-0	20	16	80.0%	—%	W.T. 13.9~18.2°C
2.0-60-0.1	20	1	5.0	93.4	
2.0-60-1.0	20	1	5.0	93.4	
<浸漬法・処理4週間後、平均体重2.2g>					
0.6-60-0	20	18	90.0%	—%	2.5×10^8 CFU/ml
0.6-60-0.1	20	10	50.0	44.4	
0.6-60-1.0	20	6	30.0	66.7	W.T. 13.5~14.8°C
<浸漬法・処理9週間後、平均体重7.0g>					
0.6-1-0	20	13	65.0%	—%	2.5×10^8 CFU/ml
0.6-1-0.1	19	11	57.9	10.7	
0.6-1-1.0	20	6	30.0	53.8	W.T. 15.3~16.5°C

免疫獲得能力が低いと思われる小型魚の場合には、 0.1 g/l と 1.0 g/l の濃度の差が有効性に反映すると思われた。処理時間については、1分間と60分間との間に効果の差はなく、対象魚

を取り揚げて処理する場合は、作業能率の点からも、1分間が適していると思われた。効果の持続性については、処理時平均体重が 0.6 g の場合を検討し、処理9週間後まで有効性

を認めたが、いずれの濃度においても徐々に有効性が低下していることが明らかになった。

試験-II バクテリン効果の持続性の検討

前項では、本バクテリンの人工採苗アユに対する有効性を明らかにしたが、その持続性については充分検討できなかった。本項では、本バクテリンの効果の持続性を浸漬処理法について検討した。

試験の方法

試験区 第3表に示すとおり、 1.0 g/l に10分間浸漬処理を行なった。

供試魚 前項と同様で、バクテリン処理時の平均体重 1.3 g (ふ化後 148日目)のものを各区500尾づつ用いた。

バクテリン・バクテリン処理 前項と同様である。

飼育池 前項と同様であるが、飼育水温は、 $14.0\sim17.0^{\circ}\text{C}$ であった。

効果判定 浸漬処理 3, 10および14.5週間後に前項と同様の方法で攻撃試験を行ない、効果判定をした。

結果および考察

飼育期間中、ビブリオ病の自然発生は認められず、攻撃試験によってバクテリンの効果を判定し、その結果を第4表に示した。

浸漬バクテリン処理区の有効率は、処理3週

第3表 試験-IIの試験区

試験区	処理方法	平均体重
1.3-10-0	湿菌重量 0 g/l 10分間浸漬処理(対照)	
1.3-10-1.0	" 1.0 g/l "	1.3 g

第4表 試験-IIの攻撃試験結果

試験区	供試尾数	斃死尾数	ビブリオ病による斃死率	バクテリンの有効率	攻撃
<処理3週間後、平均体重 3.2 g >					
1.3-10-0	20	20	100.0%	—%	$2.9 \times 10^7\text{ CFU/ml}$
1.3-10-1.0	20	1	5.0	95.0	W.T. $12.7\sim13.3^{\circ}\text{C}$
<処理10週間後、平均体重 5.0 g >					
1.3-10-0	20	17	85.0%	—%	$2.0 \times 10^7\text{ CFU/ml}$
1.3-10-1.0	20	3	10.0	88.2	W.T. $14.8\sim17.0^{\circ}\text{C}$
<処理14.5週間後、平均体重 6.0 g >					
1.3-10-0	20	20	100.0%	—%	$1.8 \times 10^6\text{ CFU/ml}$
1.3-10-1.0	20	14	70.0	30.0	W.T. $16.0\sim16.8^{\circ}\text{C}$

間後では95.0%，10週間後では88.2%と著効が認められたが、14.5週間後には30.0%と効果が低下した。

人工採苗アユを河川へ放流する場合は、ふ化後200日前後が多く、本試験の結果からワクチン効果は10週間持続するので、ふ化後120日前後にワクチン処理を行なえば、ふ化後100日以降のシラス型仔魚期に発生する場合を除いて、人工採苗過程におけるビブリオ病の予防は可能であると思われた。

試験-III シラス型仔魚に対するバクテリン効果の検討

前述したように、人工採苗過程において、ふ化後100日以降のシラス型仔魚にビブリオ病の発生が見られる場合がある。試験-Iにおいては、平均体重0.6g、ふ化後148日の供試魚に対して、本バクテリンの経口投与法および浸漬法の有効性を明らかにしたが、ここでは更にふ化後日数の少ない小型魚について、浸漬法による効果を検討した。

試験の方法

第5表 試験-IIIの試験区

試験区	処理方法	平均体重
0.18-60-0	湿菌重量 0 g / ℥ 60分間浸漬処理(対照)	0.18 g
0.18-60-1.0	" 1.0 g / ℥ "	

第6表 試験-IIIの攻撃試験結果

試験区	供試尾数	斃死尾数	ビブリオ病による斃死率	バクテリンの有効率	攻撃
0.18-60-0	20	15	75.0%	—%	2.1×10^6 CFU/ml
0.18-60-1.0	21	6	19.0	74.7	W.T. 13.8~15.3°C

試験区 第5表に示すとおりである。

供試魚 前項と同様で、バクテリン処理時の平均体重 176mg(ふ化後120日目)のものを400尾づつ用いた。

バクテリン・バフテリン処理 前項と同様である。

飼育池 満水量 2.5トンのプラスチック製バットを用い、飼育水は当初、Cl-3‰の人工海水とし、バクテリン処理後、約10日間で淡水化を行ない、その後は淡水のかけ流し飼育とした。飼育水温は、9.6~15.0°Cであった。

効果判定 浸漬処理2週間後(当時の平均体重 241mg)に前項と同様の方法で行ない、効果判定をした。

結果および考察

飼育期間中、ビブリオ病の自然発生は認められず、攻撃試験によってバクテリンの効果を判定し、その結果を第6表に示した。

浸漬処理2週間後における攻撃試験では、対照区の斃死率が75.0%であったのに対して、ワクチン区の有効率は74.7%と高く著効が認められ、平均体重 176mg、ふ化後120日のシラス型

仔魚にも免疫獲得能力が備わっていることが明らかになった。従って、この時期に見られるビブリオ病についても、本バクテリンによって予防し得ると思われた。

試験-Iにおいて、浸漬処理のバクテリン濃度が低い場合(0.1 g/l)は、平均体重 0.6 g と 2.0 g の供試魚の間では、魚体重が小さい方が効果が劣る傾向が認められたこと、また前述したAMEND & JOHNSON⁽¹⁾は魚体重が大きい程、バクテリン効果が高くなることを報告していることから今後はアユのビブリオ病バクテリンだけの問題ではなく、基礎免疫学的な意味からも、魚類の発育段階と免疫獲得能力との相関について検討されるべきであると思われる。

をとっていたが、仔アユの取り扱いに対する抵抗性の低さから、ふ化後 120日前後より以前にはこの取り揚げ浸漬処理は不可能である。従って供試魚を取り揚げることなく、飼育池において飼育水中にバクテリンを投入して、浸漬処理を行なう必要がある。しかしこの方法は、取り揚げ浸漬法に比較して多量のバクテリンを必要とし、また処理後の速やかな換水も不可能である。以上の点を考慮して、低濃度・長時間浸漬処理のバクテリン効果を検討した。

試験の方法

試験区 第7表に示すとおりで、湿菌重量で 0.01 および 0.001 g/l ・24時間処理について検討した。

供試魚 前項と同様で、ワクチン処理時の平均体重 1.3 g （ふ化後 148日目）のものを各区200尾づつ用いた。

バクテリン・バクテリン処理 前項と同様であるが、供試魚を取り揚げることなく、飼育水中にバクテリンを投入した。

飼育池 前々項と同様で、飼育水温は $14.0\sim 17.0^{\circ}\text{C}$ であった。

効果判定 浸漬処理 2週間後（当時の平均体

第7表 試験-IVの試験区

試験区	処理方法	平均体重
1.3-24-0	湿菌重量 0 g/l 24時間浸漬処理(対照)	
1.3-24-0.01	$" 0.01\text{ g/l}$	1.3 g
1.3-24-0.001	$" 0.001\text{ g/l}$	

重1.6 g)に前項と同様の方法で行ない効果判定をした。

結果および考察

飼育期間中、ビブリオ病の自然発病は認められず、攻撃試験によってバクテリンの効果を判定し、その結果を第8表に示した。

浸漬処理2週間後における攻撃試験では、対照区の斃死率が65.0%であったのに対して0.01

前項では、低濃度・長時間浸漬法として、0.01および0.001 g / ℥ の有効性を明らかにしたが、後者の効果は充分なものではなかった。そこで、この濃度で反復処理をすることによって、効果が上昇するか否かを検討した。

試験の方法

試験区 第9表に示すとおりで、0.01 g / ℥ ・1回処理区と、0.001 g / ℥ ・1, 2および3回処

第8表 試験-IVの攻撃試験結果

試験区	供試尾数	斃死尾数	ビブリオ病による斃死率	バクテリンの有効率	攻撃
1.3-24-0	20	14	65.0%	—%	2.5×10^7 CFU/ml
1.3-24-0.01	19	4	21.1	67.5	W.T. 12.4~13.0°C
1.3-24-0.001	19	7	36.8	43.4	

g / ℥ 区の有効率は67.5%, 0.001 g / ℥ 区は同じく43.4%と両区とも有効性を示したが、後者の方が低くバクテリン濃度の差が有効性に反映していると思われた。

理区を設けた。

供試魚 前項と同様で、初回バクテリン処理時の平均体重 2.5 g (ふ化後 177日目)のものを各区 400尾づつ用いた。これらの供試魚は試験-I~IV と異なり、淡水で飼育されていたものである。

試験-V 低濃度・長時間浸漬の反復処理のバクテリン効果の検討

バクテリン・バクテリン処理 前項と同様である。なお反復処理は、2週間の間隔をあけて

第9表 試験-Vの試験区

試験区	処理方	法	回数	平均体重
2.5-24-0	湿菌重量 0	g / ℥	24時間浸漬処理(対照)	1
2.5-24-0.01-1	"	0.01 g / ℥	"	1
2.5-24-0.001-1	"	0.001 g / ℥	"	1 2.5 g
2.5-24-0.001-2	"	0.001 g / ℥	"	2
2.5-24-0.001-3	"	0.001 g / ℥	"	3

行なった。

飼育池 前項と同様で、飼育水温は、12.3～17.4°Cであった。

効果判定 第10表に示すとおり攻撃試験を前回と同様に行ない、効果を判定した。

飼育期間中、ビブリオ病の自然発病は認めら

れず、攻撃試験によってバクテリンの効果を判定し、その結果を第11表に、各試験区毎のまとめを第12表に示した。

0.01 g / ℥ · 1回処理区は、前項と同様、処理2および10週間後までは、有効率がそれぞれ、89.5%および66.9%と高かったが、14週間後には同16.7%と効果が低下した。0.001 g / ℥ · 1回

結果および考察

第10表 試験-V の攻撃試験実施日

試験区	攻撃試験実施日
2.5-24-0.01-1	5% (2週間後) 1% (10週間後) 7% (14週間後)
2.5-24-0.001-1	5% (2週間後)
2.5-24-0.001-2	6% (最終処理6週間後)
2.5-24-0.001-3	6% (最終処理4週間後) 2% (最終処理10週間後)

第11表 試験-V の攻撃試験結果

試験区	供試尾数	斃死尾数	ビブリオ病による斃死率	バクテリンの有効率	攻撃
〈5月7日攻撃・平均体重 3.5g〉					
2.5-24-0	19	9	47.4%	—%	4.0×10^6 CFU/ml
2.5-24-0.01-1	20	1	5.0	89.5	W.T. 12.8～13.3°C
2.5-24-0.001-1	20	15	65.0	—	
〈6月16日攻撃・平均体重 6.5g〉					
2.5-24-0	20	13	65.0%	—%	1.2×10^6 CFU/ml
2.5-24-0.001-2	20	10	45.0	30.8	W.T. 14.5～16.7°C
2.5-24-0.001-3	20	9	40.0	38.5	
〈7月1日攻撃・平均体重 7.1g〉					
2.5-24-0	21	19	90.5%	—%	7.1×10^5 CFU/ml
2.5-24-0.01-1	20	6	30.0	66.9	W.T. 14.5～16.7°C
〈7月28日攻撃・平均体重 9.2g〉					
2.5-24-0	20	12	60.0%	—%	4.9×10^5 CFU/ml
2.5-24-0.01-1	20	10	50.0	16.7	W.T. 16.8～17.4°C
2.5-24-0.001-3	20	18	65.0	—	

第12表 試験-Vの攻撃試験結果のまとめ

最終処理から 攻撃時までの週数	対照区のビブリオ病 による斃死率	バクテリンの有効率
<2.5-24-0.01-1区>		
2	47.4%	89.5%
10	90.5	66.9
14	60.0	16.7
<2.5-24-0.001-1区>		
2	100.0	15.0
<2.5-24-0.001-2区>		
6	65.0	30.8
<2.5-24-0.001-3区>		
4	65.0	38.5
10	60.0	—

処理区は、処理2週間後の有効率が15.0%と、ほとんど効果は認められなかった。同じく、2回処理区は最終処理後6週間後の有効率が30.8%で、有効性は認められたが、0.01g/l区に比べると低かった。また3回処理区の最終処理4週間後の有効率も38.5%で、2回処理区と同様であり、10週間後ではバクテリン効果は認められなかった。

これらの結果から、0.001g/lのバクテリン濃度では、反復処理による効果の上昇は認められるが、充分な有効性は期待し難く、0.01g/lの濃度が必要であり、その効果を処理後10週間以上持続させるには、何らかの形で追加免疫が必要であると思われた。

総合考察

以上の結果から、①バクテリン投与法としては浸漬法の方が、経口投与法よりも有効性が高く、また実用性も高いこと、②浸漬法では、④バクテリン濃度が低い場合は、魚体重によって免疫獲得能力に差が見られること、⑤処理時間は有効性に対して影響を及ぼさないが、バクテリン濃度が有効性に反映すること、⑥バクテリン効果の持続期間は、およそ10週間であること、⑦ふ化後120日目、平均体重176mgの供試魚にも免疫獲得能力があること、⑧低濃度・長時間処理の場合は反復処理によって効果が上昇すること、などが明らかとなった。

本バクテリンのアユの人工採苗過程への応用としては、稚魚期のビブリオ病に対しては、1.0g/l・1分間以上の浸漬処理を行なえば、河川放流されるまでの本病による被害を大幅に減少させ得ると思われた。シラス型仔魚期のビブリオ病に対しては、更に詳細な検討が必要であるが、

ふ化後100日前後に、 0.01 g/l ・24時間処理を行なえば、本病を予防し得る可能性があると思われた。

今後は、事業規模で有効性が確認されるべきであり、また本試験で使用したバクテリンの抗原の血清型は単一のもの（宮崎大・I型）であり自然流行株にはこれの他に2型以上のものが知られていることから、他の血清型についての検討も必要であろう。更に、人工採苗アユを池中養殖する場合は飼育期間が長期になるため、バクテリン効果を持続させる必要があり、追加免疫についての検討も望まれよう。

文 献

- 1) 青木宙・福留己樹夫・河野勝彦・北尾忠利・江草周三・高橋誓・岩田一夫・中川豊・渡辺久博, 1976; 浸漬法（菌浴法）による魚類の免疫効果と免疫魚の攻撃試験方法について, 昭和51年度日本水産学会秋季大会講演要旨集, 40.
- 2) ——・北尾忠利・河野勝彦・高橋誓・江草周三, 1978; 同上-IV, 昭和53年度同上春季大会同上, 52.
- 3) 楠田理一・川合研児・城泰彦・秋月友治・福永稔・小竹子之助, 1978; アユのビブリオ病に対する経口ワクチンの効果について, 日水誌, 44(1), 21~25
- 4) 中島基寛・近畠裕邦, 1979; アユのビブリオ病に対するワクチン経口投与と高張浸漬法の効果, 魚病研究, 14(1), 9~13.
- 5) 川合研児・楠田理一, 1981; ビブリオ病経口ワクチンによるアユの免疫機構の研究-I, 体表における感染防御作用, 魚病研究, 16(1), 1~8.
- 6) 青木宙・福留己樹夫・北尾忠利・高橋誓・大江孝二・江草周三, 1977; 浸漬法（菌浴法）による魚類の免疫効果と免疫魚の攻撃方法について-II, 昭和52年度日本水産学会春季大会講演要旨集, 97
- 7) ——・北尾忠利・河野勝彦・高橋誓・江草周三, 1978; 同上-III, 昭和53年度同上, 52
- 8) ——・——・——・——, 1978; 魚類を対照とする浸漬ワクチン処理法に関する研究II, 日細誌, 33, 216.
- 9) ——・——, 1978; アユのビブリオ病, 魚病研究, 13(1), 19~24.
- 10) ITAMI, T. and R. KUSUDA, 1978; Efficacy of a vaccination by spray administration against vibriosis in cultured ayu. 日水誌, 44(12), 1413.
- 11) AMEND, D. F., and K. A. JOHNSON, 1981; Current status and needs of *Vibrio anguillarum* bacterins.

International symposium on fish
biologics : Serodiagnosis and
vaccines, Leetown, W.Va., U.S.A.