

補稿 電子顕微鏡による観察

微孢子虫の電子顕微鏡による研究は、WEISER, J. (1959) の *Nosema laphygmae* の研究を最初として、1960年代に入ってさかんに行われるようになり、光学的顕微鏡ではほとんど明らかにしえなかったこと、例えば、胞子の構造(KUDO, 1963)や、極糸形成過程(JENSEN *et al.*, 1972)などが明らかにされつゝある。*Glugea* 属についても、*G. sp.* (LOM & VAVRA 1963), *G. Weissenbergi* (SPRAGUE *et al.*, 1968; ERICKSON *et al.*, 1968; VERNIC *et al.*, 1969), *G. stephani* (JENSEN *et al.*, 1972; WEIDNER 1976), *G. takedai* (三木ら, 1977) の生活史や極糸形成についての報告がある。

しかし、微孢子虫の研究にとって不可欠となりつゝある電子顕微鏡観察のための標本作製法は、発表された写真からみる限り確立されているとは云い難い、特に、*Glugea* 属の場合は他の *Nosema* 属や *Plistophora* 属に比してより困難があるのか、完熟胞子の内部構造の写真はいずれの種についてもまだ報告されていない。

著者も、*G. plecoglossi* の電子顕微鏡観察のため、種々の固定法と包埋法を試みて来たが、未だに満足な結果を得ていない。しかし、本論文で述べたいくつかの事実を裏付ける観察結果が得られたので、それらを紹介し、本論文の参考としたい。なお、超薄切片作成、染色ならびに電子顕微鏡による観察と撮影は水産庁淡水研究所の横手元義博士の全面的な御援助のもとに行われたもので、ここに深く感謝する次第です。

材料と方法

供された *G. plecoglossi* は自然発症魚または人為感染による発症魚に形成されていた初期の“グルゲアシスト”である。

固定は、二重固定法によった。試みた固定液は次のとおりである。前固定には、4%グルタルアルデヒド、4%グルタルアルデヒドと4%パラホルムアルデヒドの1:1の混合液、4%グルタルアルデヒドと4%アクロレインの1:1混合液、また、それらにシヨ糖やジメチルスルホキ

シドを添加したのもも試みた。後固定には、2%オスミウム酸と2%または6%過マンガン酸カリ溶液を用いた。緩衝液には0.2M カコジル酸液を用いた。なお、“グルゲアシスト”は魚体より摘出し直ちに前固定液に入れた後、液中でカミソリを用いて細片にした。固定時間は、前・後固定とも2時間が原則であるが、中には18時間固定を試みたものもある。

脱水には、エチルアルコール、アセトン、クエトール、ポリエチレングリコールを用い、置換剤にはQy-1を用いた。

包埋剤としては、エポン(Luft 3:7処方)、クエトール、ヴェストパールWを用いた。

染色は酢酸ウランと鉛の2重染色で、使用した電子顕微鏡は、日本電子製のJEM-T-8型である。

結果と考察

グルタルアルデヒドとオスミウム酸の2重固定・エポン包埋からはじめて種々の方法を組み合わせを試みた結果、次の三方法によって以下に述べる事実が観察された。

(1) 4%グルタルアルデヒドと2%オスミウム酸で固定、エチルアルコール系列で脱水し、置換剤としてQy-1を用い、Luft処方のエポン樹脂に包埋。

この方法は“シスト”内部の構造の観察には適当ではないが、外部の膜構造が宿主由来のものであることが観察された(付図1)。即ち、“シスト”の4つの構成部分のうちの最外層の膜は光学顕微鏡観察においても宿主由来と判断されたが、PAS染色陽性の無構造な膜については不明であったが、この電子顕微鏡観察では繊維構造とともに宿主の繊維芽細胞(Fb)が明らかに認められる。

(2) 4%グルタルアルデヒドと4%パラホルムアルデヒド1:1混合液と2%オスミウム酸で固定、エチルアルコール系列で脱水後、アセトンを置換剤として、ヴェストパールW樹脂に包埋。

この方法で、スポロゴニー胞の膜の存在が明らかに認められる。しかし、胞子やスポロント等の観察には不十分である(付図2)。

(3) 4%アクロレインと4%グルタルアルデヒ

ド1:1混合液と6%過マンガン酸カリ溶液で固定, アセトンで脱水, ヴェストパールWで包埋, または, ポリエチレングリコールで脱水, Luftの処方のエポキシ樹脂に包埋。

この方法により, “シスト”内のG.

plecoglossi の生活史の各段階(付図3)や完熟の前段階の胞子の内部構造(付図4)をある程度明らかにしえた。すなわち, 宿主細胞の核(N)と考えられるもの, 多核シズント(d), スポロント(g), およびその2分裂像(h), スポロプラスト(i), と初期(j)および中期(k)の胞子が認められた。胞子は二重膜でおおわれ, その内部には胞子の核(Ns)と考えられるものと, 三重層構造の極糸(F)が, 最高15周, 外壁にそってコイルしている。極糸と胞子の先端部の接着点には電子密度の非常に高い部分があり, PAS染色によるPAS強染部位がこれに該当するものと思われる。その他, 電子密度の高い顆粒状物(G), 小胞体状構造物(R), 渦状の構造物(W)等種々の構造物の存在が認められる。しかし, この方法では, スポロゴニー胞膜は痕跡程度に認められるだけである。

以上のように, それぞれの標本作製法によって, 明瞭に観察される構造物は異なるが, 換言すれば, それぞれの観察対象にはそれぞれ適した方法があると思われるが, 完熟した胞子の内部構造を明確に観察しうる方法はまだ確立しえないし, スポロントやスポロプラストの内部構造についても同様であり, さらに標本作製法の検討が必要である。

要 約

本研究は、アユのグルゲア症について、その症状と発生状況、病原体の分類、宿主体内における発育、人為感染法、感染経路、発症に及ぼす水温の影響ならびに化学療法による制御に関して検討したものである。

第 I 章 アユのグルゲア症について、その症状と発生状況ならびにびわ湖産種苗アユの感染状況について調べた。

1) アユのグルゲア症は、Glugea属の微胞子虫がアユの諸器官、主として幽門垂や腸管の周囲の脂肪組織、腹腔、腹膜、卵巣、精巣、脾臓、軀幹筋、ときには肝臓、心臓、鰓、虹彩などに寄生し、乳白色の1~3 mm 程度の球状のいわゆるグルゲアシストを無数に形成することを特徴とした疾病である。致死性は低いが罹病魚は商品価値を全く喪失する。

2) 本症は、1964年に鹿児島県の養魚場で初めて認められ、その後、16県のアユ養魚場や種苗生産場でしばしば、時には河川のアユにも発生し、アユ産業界に被害を与えている。

3) 本症はびわ湖産稚アユを種苗とした養魚場で発生することが多く、湖産稚アユは湖内で既に本病に感染している可能性が疑われたので、年、時期および場所を異にして採捕されたびわ湖産種苗アユ21群の隔離飼育を行った結果、その15群(71.4%)に“グルゲアシスト”形成アユを認めた。

4) “シスト”形成は、7・8月に観察された14群では4群であったものが、9月に観察された14群では12群と3倍に増えた。一方、光処理による成熟抑制を行なった群では、無処理群に比べて、発症率(“シスト”形成魚数/調査魚数)は低かった。このことは、成熟による生理的変化が、“シスト”形成を促進させることを示唆している。

その他、年、採捕場所および採捕時期によって、特に、発症率が異なるということとはなかった。

第 II 章 本症の病原体の微胞子虫の生物学的研究を行い、その胞子の大きさ、生活史、キセノマの発育、“グルゲアシスト”の形成と崩壊、感受性魚種について明らかにして、この微胞子虫がGlugea属の新しい種であることを明らかにし

た。

5) 本病原体の胞子は、生鮮の場合、長楕円形で $5.1-6.2 \times 2.0-2.5 \mu$ (平均 $5.8 \times 2.1 \mu$)、ブアン氏液固定の場合は西洋梨形で $3.8-4.8 \times 1.5-2.0 \mu$ (平均 $4.0 \times 1.8 \mu$)であり、極糸を一本有し、その長さは最大 180μ 、大半は $100-150 \mu$ である。

6) 人為経口感染させた魚体内における病原体の発育を観察した結果、本寄生体は真性細胞内寄生性で、キセノマを形成すること、初期キセノマは腸の絨毛の粘膜固有層に見出され、それが粘膜固有層から、シゾゴニーを行い肥大しつつ、粘膜下組織、二層の筋肉層を通過して腹腔内へ移動すること、腹腔内の種々の臓器表面に定着し、その周囲に宿主由来の被膜形成を伴いながら、シゾゴニーを続けて、さらに、スポロゴニーを行ないながら肥大して“グルゲアシスト”となることが明らかにされた。

7) “グルゲアシスト”は、中央に胞子を貯蔵する部分、その外側に胞子形成層、ついでPAS反応陽性膜、最外部に結合組織の層の4つの構成部分から成るが、最外部の結合組織の層が欠如しているものもある。これらの構成部分のそれぞれ占める割合は、“シスト”の発育段階で異なり、初期には胞子形成層が、終期には胞子貯蔵部が主要な部分を占める。胞子の十分な生産がなされ

“シスト”内に胞子が充満した時点で、胞子の形成像はみられなくなり胞子形成層は消失し、また、PAS染色陽性膜も消失する。即ち、キセノマは崩壊する。同時に、それを囲む結合組織性の被膜は疎化し、周囲組織は肉芽腫化する。こうして、“シスト”は消失し、形成された胞子は宿主体内に拡散する。

8) 胞子形成は、スポロゴニー胞内で多核のシゾントの断裂によって生じた1個のスポロント(塗抹標本で $3 \times 4 \mu$)から、2個のスポロプラスト($3 \times 3 \mu$)が生じ、2個の胞子が形成される。このことから、本微胞子虫はGlugea属に属することが確認された。

9) 経口人為感染による宿主範囲に関する実験を行った結果、本寄生体は、ニジマス(Salmo gairdneri)に感受性が認められたが、イトヨ(Gasterosteus aculeatus microcephalus)ほか4魚種には感受性を認

めなかった。

10) 生物学的知見を既知の *Glugea* 属 28 種と比較検討した結果、胞子の形態の点で、本種は *G. depressa*, *G. dogieli*, *G. anomala*, *G. gasterostei*, と近似するが、宿主の点で異なる。*G. hertwigi* とは、胞子の形態は近似し、その宿主である *Osmerus mordax* は分類学上アユに近い種であり、“シスト”形成部位なども似ている。しかし、*G. hertwigi* は *Gasterosteus aculeatus* への人為感染が成立するが、本種では成立しない点で区別された。これらの検討結果に基づき、本種を新種と認め、*Glugea plecoglossi* Takahashi & Egusa, 1977 と命名した。

第三章 *G. plecoglossi* の生物学的研究や防除法の研究に不可欠である人為感染法の確立を計るため種々の実験を行うとともに、その結果に基づいて、本種の感染・発症の機序に関する考察を行った。

11) *G. plecoglossi* の胞子懸濁液をカテーテルを用いて強制経口投与することによっても感染せしめうるが、感染成功率は必ずしも高くはない。胞子を摂取した動物プランクトンや胞子懸濁液をしみこませたクランブルを経口投与すると、感染は 80% 以上の高率で成功した。これらいずれの人為経口感染をさせた場合も“グルゲアシスト”は、幽門垂まれに腸管の周囲の脂肪組織、または腹膜にのみ形成され、その他の部位に出現することはなかった。

12) 胞子浮遊液（濃度 10^4 – 10^5 胞子/ml）中に 17–24 時間置かれたアユはすべて感染・発症した。この感染法によった場合にも“グルゲアシスト”の形成は、腹腔内の幽門垂の周囲の脂肪組織に認められ、胞子浮遊液中の胞子が経口的に摂取され経口感染が起ったことも考えられた。しかし、“シスト”は脾臓や皮膚または皮下脂肪組織やその直下の筋肉組織にもしばしば形成される。このことは、経口感染以外の感染経路恐らくは経皮感染があることが示唆された。

13) 胞子懸濁液を皮下に接種することによっても感染は成立した。この場合“グルゲアシスト”形成部位は接種点の皮下や筋肉のほか遠隔の腹腔内脂肪組織、腹膜、生殖腺、脾臓に認められた。

皮下接種点の皮下組織のスタンプ標本を作成し検鏡したところ、食細胞による胞子の消滅像がみられるいっぽう、経口感染初期の腸絨毛組織固有層にみられたキセノマ様体も観察された。この接種法では、経口感染の可能性はないので体各所の“シスト”形成は、接種された胞子、あるいはキセノマ様体の接種点からの移動によっておこったと考えられる。

14) 腹腔内への胞子懸濁液の接種によっても感染は高率に成立した。“グルゲアシスト”形成部位は、皮膚、皮下組織、表層に近い筋肉組織、幽門垂や腸の周囲の脂肪組織、腹膜、生殖腺、脾臓に認められ、その“シスト”の数も多いことが特徴的であった。その状態は自然感染発症した魚の末期的症状とよく似ていた。

15) 人為感染実験結果と前述した“グルゲアシスト”形成と崩壊の観察結果から、養魚場内で発生するグルゲア症の感染・発症機序について考察し、“シスト”の崩壊が重要な要となっていることを指摘した。びわ湖産稚アユを種苗とした養魚場でのグルゲア症の発生を例にとると、感染は、びわ湖内で稚アユが *G. plecoglossi* の胞子を摂取した動物プランクトンを捕食することによると考えられるが、この感染だけでは、せいぜい幽門垂附近の脂肪組織に限られた数の“シスト”が形成されるに止まり、各種臓器などに大量の“シスト”が形成される典型的グルゲア症の状態にはなりえない。それが、びわ湖内感染の結果形成された“シスト”が崩壊すると体内に胞子が拡散するが、その状態は腹腔内に胞子が接種された状態に相似し、拡散した多量の胞子の感染が起った結果、典型的グルゲア症の症状を呈するようになる。また、この段階になって、何らかの経路で体外に胞子が放出され、これが新たな感染源となり、経口感染や経皮感染などによって養魚池内全体のアユに感染が広がる可能性が大きいと論じた。

第四章 本症の防除法に関連して、水温の調節による発症抑制効果と、化学療法剤による予防・治療について検討した。

16) *G. plecoglossi* の感染は、 12.8°C の低い水温においても可能であったが、キセノマの成長には 18°C 以上の水温が必要で、それ以下ではシゾゴニーは殆んど停止し、肉眼可視大の“グルゲ

アシスト”形成は起こらない。したがって、養殖池の水温は18℃以下に保てば、グルゲア症の発症は起こりえない。

⑦ スルファ剤、抗生物質、抗マラリア剤など15種の薬剤を、人為感染させたアユに経口投与して発症抑制効果をみた結果、抗生物質フマジリンが顕著な効果をもつことが判明した。その投薬の有効な時期、量および期間について人為経口感染魚を用いて一連の実験を行った結果、投薬期間は人為感染10日後から15日間の段階にDCH塩で177mg/kg/day 5日間投薬を行えばよいこと、投薬量と投薬期間は人為感染5日後から11.1mg/kg/day 10日間投薬か、感染10日後から44.3mg/kg/day 3日間の投薬が有効であることが明らかになった。また、6月に採捕されたびわ湖産種苗アユに、採捕直後から5日間、フマジリン(DCH塩)177mg/kg/day投与を行ったところ、グルゲア症の発生を阻止しえた。従って、この薬剤は種苗に対し予防的に使用することによって、グルゲア症被害を防止出来ることが判った。

謝 辞

稿を終るに臨み、終始、懇篤なる指導と鞭撻を賜り、また厳密なる校閲を頂いた、東京大学農学部名誉教授江草周三先生に深甚なる敬意と謝意を表します。

本研究の組織学的研究の面で、また、特に電子顕微鏡に関する研究において、その技術的、学問的内容に関して終始指導下さった、水産東海区研究所の横手元義博士に心から拝謝します。

また、本研究中のグルゲア症発生状況に関するアンケートならびに情報に関してお世話になった全国の水産試験場の魚病担当者の方々に厚く感謝の意を表します。

本研究を進展途上にあつて、貴重なる指導と助言を賜った、北海道立水産孵化場の粟倉輝彦博士ならびに三共株式会社中央研究所の中島健次博士に心から謝意を表します。また、文献収集に関して、各地の大学の方にお世話になりましたが、特に東京大学農学部の若林久嗣助教授、小川和夫助手、同教室の大学院生に心からお礼申し上げます。

なお、化学療法剤に関する研究において、各種薬剤をこころよく提供して下さい、三共株式会社、武田薬品工業株式会社、田辺製薬株式会社、第一製薬株式会社、大日本製薬株式会社にお礼申し上げます。

最後に、本研究のために積極的な援助と便宜を与えられた滋賀県下の水産関係者の方々に深謝の意を表します。

引用文献

- 1) 東幹夫 (1964): びわ湖におけるアユの生活史, 一発育段階的研究の試み一. 生理生態, 12, 55-71.
- 2) 栗倉輝彦 (1965): サケ科魚類の *Plistopora* 病に関する研究-I, 千歳川における発生状況と病理. 北海道水産孵化場研究報告, 20, 1-27.
- 3) 栗倉輝彦・倉橋澄雄・松本春義 (1966): サケ科魚類の *Plistopora* 病に関する研究-II, 新しい発生地について. 北海道水産孵化場研究報告, 21, 1-2.
- 4) 栗倉輝彦・倉橋澄雄 (1967): サケ科魚類の *Plistophara* 病に関する研究-III, 治療予防法について. 北海道水産孵化場研究報告, 22, 51-68.
- 5) 栗倉輝彦 (1974): サケ科魚類の微孢子虫病に関する研究. 北海道水産孵化場研究報告, 29, 1-95.
- 6) 栗倉輝彦 (1978): サケ科魚類における微孢子虫病の新しい発生地について, 魚病研究, 13, (1), 17-18.
- 7) BAER, J. G. (1973): 動物の寄生虫. 訳竹協潔, 平凡社, 東京, 294.
- 8) BYCHOSKY, B. E. 編 (1968): 魚類寄生虫 (原生動物篇). 訳佐野徳夫, 恒星社厚生閣, 東京, 195.
- 9) CHEN, M. and POWER, G. (1972): Infection of American smelt in Lake Ontario and Lake Erie with the microsporidian parasite *Glugea hertwigi* (WEISSENBERG). Can. J. Zool., 50, 1183-1188.
- 10) DELISLE, C. E. (1969): Bimonthly progress of a non-lethal by *Glugea hertwigi* in young-of-the-year smelt, *Osmerus eperlanus mordax*. Can. J. zool., 47, 871-877.
- 11) DELISLE, C. E. (1972): Monthly variations of *Glugea hertwigi* (Sporozoa: Microsporida) in different tissues and organs of the adult freshwater smelt and consequence of the infection on a massive annual mortality of this fish. Can. J. Zool., 50, 1589-1600.
- 12) DYKOVÁ, I. & J. LOM (1978): Tissue reaction of the three-spined stickleback *Gasterosteus aculeatus* L. to infection with *Glugea anomala* (Moniez, 1887). J. Fish Disease, 1(1), 83-90.
- 13) ERICKSON, B. W., Jr., S.H. VERNICK and V. SPRAGUE (1968): Electron microscope study of the everted polar filament of *Glugea weissenbergi* (Microsporida, Nosematidae). J. protozool., 15, (4), 758-761.
- 14) 舟橋紀男・宮崎照雄・窪田三朗 (1973): ニジマス稚魚にみられた微孢子虫病-病理組織学的所見について. 魚病研究, 8, 64-67.
- 15) FURGALA, B. and T. A. GOCHNAUER (1969): Chemotherapy of nosema disease. Am. Bee. J., 109, 218-219.
- 16) HALEY, A. J. (1952): Preliminary observations on a severe epidemic of microsporidiosis in the smelt, *Osmerus mordax* (Mitchell). J. parasitol., 38(2), 183.
- 17) HALYE, A. J. (1953): Microsporidian parasite, *Glugea hertwigi*, in American smelt from the Great Bay region, New Hampshire. Trans. Am. Fish. Soc., 83, 84-90.
- 18) HALEY, A. J. (1954): Further observations on *Glugea hertwigi* Weissenberg 1911, 1913 (Microsporidia) in fresh water smelt in New Hampshire. J. parasitol., 40, 482-483.

- 19) 橋本康平・滝波弘一(1976):ウナギに寄生する plistophora anguillarum 胞子の電子顕微鏡的観察. 日水誌, 42(4), 411-420.
- 20) 橋本康平・佐々木幸夫・滝波弘一(1976):ウナギに寄生する plistophora anguillarum 胞子の極糸弹出条件. 日水誌, 42(8), 837-846.
- 21) HONIGBERG, B. M., et al. (1964): A revised Classification of the phylum Protozoa. J. protozool., 11(1), 7-20.
- 22) HOSINA, T. (1951): On a new microsporidian, Plistophora anguillarum n. sp., from the muscle of the eel, Anguilla japonica. J. Tokyo Univ. Fish., 38, 35-49.
- 23) 保科利一・富村義彦(1966): アユに寄生する微孢子虫の一種について. 昭和41年日本水産学会春季大会講演要旨
- 24) 保科利一(1972): 台湾産種苗ウナギに見られる Plistophora anguillarum の感染. 魚病研究, 6, 120.
- 25) HSIAO, T. H. and C. HSIAO(1973): Benomyl: A novel drug for controlling a microsporidian disease of the alfalfa Weevil. J. invert. pathol., 22, 303-304.
- 26) HUGER, A., (1960): Electron microscope study on the cytology of a microsporidian spore by means of ultrathin sectioning. J. Insect Path., 2, 84-105.
- 27) 石原康(1969): 小孢子虫類(Microsporidia)に関する最近の知見. 日蚕雑, 38(2), 176-183.
- 28) ISHIHARA, R. (1968): Some observation on the fine structure of sporoplasm discharged from spore of a microsporidian Nosema bombycis. J. Invert. Path., 12, 245-258.
- 29) JSSI, L. V. and S. S. SCHULMAN(1968): The systematic position of Microsporidia. Acta Protozool., 6(12), 121-135.
- 30) JAROWSKI, S. T. (1972): Cytochemical evidence for RNA synthesis inhibition by fumagillin. J. Antibiot., 25, 327-331.
- 31) JENSEN, H. M. and S. R. WELLINGS (1972): Development of the polar filament-polaroplast complex in a microsporidian parasite. J. Protozool., 19(2), 297-305.
- 32) KATZNELSON, H. and C. A. JAMIESON (1952): Control of nosema disease of honeybees with fumagillin. Science, Vol. 115, 70-71.
- 33) KUDO, R. (1918): Experiments on the extrusion of polar filaments of cnidosporidian spores. J. parasitol., 4, 143-149.
- 34) KUDO, R. (1924): A biologic and taxonomic study of the microsporidia. Illinois Biol. Mon., Vol. 9, No. 2, 3, 83-344.
- 35) KUDO, R. R. and E. W. DANIELS, (1963): An electron microscope study of the spore of a microsporidian, Thelohania californica. J. Protozool., 10(1), 112-120.
- 36) KUDO, R. R. (1966): Protozoology 5th ed., Charles C. Thomas Publ., Springfield, 1174 p.
- 37) LEACH, J. H. and S. J. NEPSZY (1976): The fish community in Lake Erie. J. Fish. Res. Bd. Can., 33, 622-638.
- 38) LEGAULT, R. O. and C. DELJSLÉ (1967): Acute infection by Glugea hertwigi WEISSENBERG in young-of-the-year rainbow smelt, Osmerus mordax (Mitchill). Can. J. Zool., 45, 1291-1293.
- 39) LOM, J. (1963): The mode of

- sporoplasm extrusion in microsporidian spores. Acta protozool., 1, 81-90.
- 40) LOM, J. and J. VÁVRA (1963): Fine morphology of the spore in microsporidia. Acta protozool., 1, 279-283.
- 41) LOM, J. and J. O. CORLISS (1967): Ultrastructural observations on the development of the microsporidian protozoon Plistophora hypnessobryconis Schaperclaus. J. protozool., 14 (1), 141-152.
- 42) LOM, J. (1969): Experimental transmission of a microsporidian, Plisophora hypnessobryconis, by intramuscular transplantation. J. protozool., 16 (Suppl.) 17.
- 43) LOM, J. and J. WEISER (1969): Notes on two microsporidian species from Silurus glanis and on the systematic status of the genus Glugea Thélohan. Folia parasit. (Praha), 16, 97-103.
- 44) LOM, J. (1970): Protozoa causing diseases in marine fishes. Am. Fish. Soc. Special Pub., No. 5, 101-123.
- 45) LOM, J. and J. WEISER (1972): Surface pattern of some microsporidian spores as seen in the scanning electron microscope. Folia Parasit., 19, 359-363.
- 46) LOM, J. (1972): On the structure of the extruded microsporidian polar filament. Z. parasitenkd., 38, 200-213.
- 47) LYNCH, R. E., and L. C. LEWIS (1971): Reoccurrence of the microsporidian Perezia pyraustae in the European corn borer, Ostrinia nubilalis, reared on diet containing Fumidil B. J. Invevt. Pathol., 17, 243-246.
- 48) MCVICAR, A. H. (1975): Infection of plaice pleuronectes platessa L. with Glugea (Nosema) stephani (Hagenmiiller 1899) (Protozoa: Microsporidia) in a fish farm and under experimental conditions. J. Fish Biol., 7, 611-619.
- 49) 三木伸一・栗倉輝彦 (1977): 微胞子虫 Glugea takedai の微細構造. 北海道水産孵化場研究報告, 32, 1-19.
- 50) 宮地伝三郎・川那部浩哉・水野信彦著 (1976): 原色日本淡水魚類図鑑, 保育社, 大阪 p462.
- 51) 中島健次・江草周三 (1975): 養殖アユの微胞子虫対策に関する予備実験-I, Xenomaの性状. 魚病研究, 9, 134-139.
- 52) 中島健次・江草周三 (1975): 養殖アユの微胞子虫対策に関する予備実験-II. 胞子の性状, (1)極糸の弾出に関して. 魚病研究, 9, 140-150.
- 53) 中島健次・江草周三 (1975): 養殖アユの微胞子虫対策に関する予備実験-III, 胞子の性状, (2)特に胞子の殺滅に関して. 魚病研究, 9, 151-161.
- 54) 中島健次・江草周三 (1976): 微胞子虫胞子の走査電顕像を種の同定に利用する試み, 魚病研究, 10, 167-170.
- 55) 中島健次・江草周三 (1979): 魚類寄生グルゲア属3種の胞子SEM像. 一特にアユ寄生 Glugea sp. AWAKURAに関する論議を中心として. 魚病研究, 13, 153-158.
- 56) NEPSZY, S. J. and A. O. DECHTIAR (1972): Occurrence of Glugea hertwigi in Lake Erie rainbow smelt (Osmerus mordax) and a associated mortality of adult smelt. J. Fish. Res. Bd. Can., 29, 1639-1641.
- 57) NEPSZY, S. J. and A. O. DECHTIAR (1978): Mortality of young-of-the-year rainbow smelt (Osmerus

- mordax) in Lake Erie associated with the occurrence of Glugea hertwigi. J. Wild. Diseases, 14, 233-239.
- 58) OHSHIMA, K. (1927): A preliminary note on the structure of the polar filament of Nosema bombycis and its functional significance. Anno. Zool. Jap. Vol. 11, 235-243.
- 59) OHSHIMA, K. (1927): On the function of the polar filament of Nosema bombycis. Parasit., 29, 220-224.
- 60) 大島格 (1935): 稻の二化螟虫 Chilo simplex BUTLER に対する Nosema bombycis の伝染力及び血淋巴細胞の作用に就て. 動物学雑誌, 47, 607-629
- 61) 大島格 (1936): Nosema bombycis の極糸の機能に就て. 日本学術協会報告, 11, 251-255.
- 62) 大島格 (1939): Nosema bombycis の孢子生死鑑別の一新法に就て. 日本学術協会報告, 14, 307-312.
- 63) 大島格・鈴木護 (1939): 微粒子病々原体孢子 of 極糸脱出の新法. 動物学雑誌, , 463-473.
- 64) OLSON, R. E. and I. PRATT (1973): Parasites as indicators of English sole (Parophrys vetulus) nursery ground. Trans. Am. Fish. Soc., 102, 405-411.
- 65) OLSON, R. E. (1976): Laboratory and field studies on Glugea stephani (HAGENMULLER), a microsporidian parasite of pleuronectid flatfishes. J. protozool., 23, 158-164.
- 66) OOSTEN, J. V. (1947): Mortality of smelt, Osmerus mordax MITCHILL, in Lakes Huron and Michigan during the fall and winter of 1942-1943. Trans. Am. Fish. Soc., 74, 310-337.
- 67) OVERSTREET, R. H. (1975): Biquinolate as a preventive drug to control microsporidiosis in the blue crab. J. Invert. Pathol., 26(2), 213-216.
- 68) PUTZ, R. E., G. L. HOFFMAN and C. E. DUNBAR (1965): Two new species of Plistophora (Microsporidea) from north American fish with a synopsis of microsporidea of freshwater and euryhaline fishes. J. protozool., 12, 2-10.
- 69) PUTZ, R. E. and J. J. A. MCLAVGHLIH (1970): Biology of Nosematidae (Microsporida) from freshwater and euryhaline fishes. Am. Fish. Soc. Special Pnb., No. 5, 124-132.
- 70) REYNOLDS, D. C. (1971): Parasitization of Culex fatigans by Nosema stegomyiae. J. Invert. Pathol., 26(2), 213-216.
- 71) SCHRADER, F. (1921): A microsporidian occurring in the smelt. J. parasit., 7(3), 151-153.
- 72) SPRAGUE, V. (1966): Suggested changes in "A revised classification of the phylum Protozoa." with particular reference to the position of the Haplosporidians. Systematic Zool., 15(4), 345-349.
- 73) SPRAGUE, V. and S. H. VERNICK (1968): Light and electron microscope study of a new Species of Glugea (Microsporida, Nosematidae) in the 4-spined stickleback Apeltes quadracus. J. protozool., 15(3), 547-571.
- 74) SPRAGUE, V., S. H. VERNICK and B. J. LLOYD, JR., (1968): The fine structure of Nosema sp. Sprague, 1965 (Microsporida, Nosematidae) with particular reference to stages in sprogony. J. Invert. Pathol., 12, 105-117.

- 75) SPRAGUE, V. and S. H. VERNICK (1969): Light and electron microscope observations on Nosema nelsoni Sproge. 1950 (Microsporidia, Nosematidae) with particular reference to its golgi complex. J. protozool., 16 (2), 264-271.
- 76) STANKARD, H. W. and LWX, F. E. (1965): A microsporidian infection of the digestive tract of the winter flounder, Pseudopleuronectes americanus. Biol. Bull., 129, 371-387.
- 77) SUMMERFELT, R. C. (1964): A new microsporidian parasite from the gulden shiner, Notemigonus crysoleucas. Trans. Amer. Fish Soc., 6-10.
- 78) SUMMERFELT, R. C. and M. C. WARNER (1970): Incidence and intensity of infection of Plistophora ovariae, a microsporidian parasite of the golden shiner, Notemigonus crysoleuca. Am. Fish. Soc. Special Pub., No. 5, 142-160.
- 79) 高橋誓・江草周三 (1977a): アユのグルギア症に関する研究-I 新種の提案. 魚病研究, 11, 175-182.
- 80) 高橋誓・江草周三 (1976): アユのグルギア症に関する研究-II 防除法の検討(1) フマジリン経口投与の効果. 魚病研究, 11, 83-88.
- 81) 高橋誓・江草周三 (1977b): アユのグルギア症に関する研究-III グルギア症と水温の関係. 魚病研究, 11, 195-200.
- 82) 高橋誓・江草周三 (1978): アユのグルギア症に関する研究-IV 孢子の注射による人為感染. 魚病研究. 12, 255-259.
- 83) 高橋誓 (1978): アユのグルギア症, 一魚類の微孢子虫症の防除に関して-魚病研究, 13, 9-16.
- 84) 武田志麻之輔 (1933): 虹鱒の新しい病気. 鮭鱒彙報 No. 5 (2), 1-10.
- 85) THOMPSON, H. M. (1960): Variation of some of the characteristics used to distinguish between species of microsporidia. I. spore size. J. Insect. Pathol., 2, 147-151.
- 86) VAVRA, J. (1964): Recording microsporidian Spores. J. Invert. Pathol., (2), 258-260.
- 87) VORONIN (1974): Some microsporidians (Microsporidia, Nosematidae) from sticklebacks Pungitius pungitius and Gasterosteus aculeatus of the Finnish Bay. Acta Protozool., Vol. 13, 211-220.
- 88) 傍士和彦 (1966): 獣医畜産家のためのサルファ剤の基礎知識. 社団法人日本動物薬事協会, 東京, 104.
- 89) WALES, J. H. and H. WOLE (1955): Three protozoan disease of trout in California. California fish and Game, , 183-187.
- 90) WALKER, M. H. and G. W. HINSCH (1972): Ultrastructural observations of a microsporidian protozoan parasite in Libinia dubia (Decapoda). I. Early spore development. Z. Parasitenkd., 39, 17-26.
- 91) WALTERS, V. A. (1958): Structure, hatching and size variation of the spores in a species of Nosema (Microsporidia) from in Hyalophora cecropia (Lepidoptera). Parasitol., 48, 113-120.
- 92) WEIDNER, E. (1973): Studies of microsporidan disease transmission in winter flounder and smelt. Biol. Bull., 145, 459.
- 93) WEISER, J. (1959): Nosema laphygmae n. sp. and the internal structure of the microsporidian spora. J. Insect Pathol., 1, 52-59.

- 94) WEISER, J. (1965): Nosema muris n. sp., a new microsporidian parasite of the white mouse (Mus musculus L.). J. protozool. 12(1), 78-83.
- 95) WEISSENBERG, R. (1921): Zur Wirtsgewebsableitung des Plasmakörpers der Glugea anomala-cysten. Arch. Protist., 42, 400-421.
- 96) WEISSENBERG, R. (1949): Cell growth and Cell transformation induced by intracellular parasites. Anat. Rec., 103, 517-518.
- 97) WEISSENBERG, R. (1968): Intracellular development of the microsporidian Glugea anomala Moniez in hypertrophying migratory cells of the fish Gasterosteus aculeatus an example of the formation of "Xenoma tumors. J. protozool., 15 (1), 44-57.
- 98) WELLINGS, S. R., L. E. ASHLEY and G. E. MCARN (1965): Microsporidial infection of English sole, Parophrys vetulus. J. Fish. Res. Bd. Can., 26, 2215-2218.
- 99) WOLE, K. and M. E. MARKW (1976): Myxosoma cerebralis; in vitro Sporulation of the myxosporidian of salmonid whirling disease. J. protozool., 23 (3), 425-427.
- 100) YASUTAKE, W. T., O. R. BUHLER and W. E. SHANKS (1961): Chemotherapy of Hexamitiasis in fish. J. parasitol., 47 (1), 81-86.
- 101) 吉田幸雄・松野喜六・細田四郎・馬場忠雄・萩野賢二 (1973): 難治の人イソスポーラ症例 (第2報告). 寄生虫学雑誌, 22 卷, 38.