

어류면역

안 수 환*

서 론

진화과정에서 동물들은 환경에 적응하며 생존하기 위하여 어떠한 형태든 나름대로의 방어기전을 가지고 있다. 면역반응도 이러한 적극적인 방어수단의 하나이며 질병으로부터 개체를 보호할 수 있도록 진화하는 것이다.

실례로 무척추동물에서도 비특이적이긴 하지만 용균소(Bacteriolyins), 용혈소(Hemolysins) 및 식균조효소(Opsonins) 등 체액성분과 원시적인 식균작용(Pagocytosis)과 조직거부반응(Graft VS host reaction)이 인정된다.

어류(물고기)는 가장 원시적인 척추동물이나 면역기구를 가지고 특정 병원체에 대항하는 능동면역의 기능수행이 가능한 동물이다.

이러한 물고기 질병의 방어기전이 연구 되기는 1900년 이후라고 생각되며 최초의 방어물질로 증명된 것이 아마 잉어의 혈액속에 존재하는 세균을 응집시키는 응집소라 할 수 있다. 그러나 물고기의 면역에 대하여 체계적인 연구가 수행되기는 1960년 이후이며 주로 생물계의 면역기구 진화과정의 규명측면과 양식어류에 발생하는 질병을 방어하려는 목적으로 현재에도 많은 연구가 이루어지고 있다.

필자는 본고에서 물고기(숙주)가 각종 병원체

에 대응하는 방어기전을 보다 쉽게 이해하고 응용하는데 참고가 될 질병방어기전의 종류, 면역기구의 구조 및 기능, 면역에 관계되는 조건, 각종 어류백신과 사용방법 등에 관하여 기술코져 하였다.

물고기의 질병 방어기전

병원체와 질병 방어기전(면역)은 상대적인 개념으로 이해함이 바람직하다. 예를들면 물고기는 포유동물의 병원체에 대해서 전혀 감수성(susceptibility)이 없으며 반대로 포유동물은 대부분의 물고기 병원체에 대하여 감수성이 없다. 이러한 자연적인 감수성의 차이는 동물의 유전적 인소인과 밀접한 관계가 있다 하겠다.

한편 특정한 병원체가 숙주의 체내에 침입하게 되면 질병을 일으키나 정상적으로는 이 병원체가 숙주의 물리화학적 방어벽을 통과하기 어렵게 되어 있어 이 병에 저항성(resistance)이 부여되는 것이다.

물고기는 점액을 분비하여 피부를 보호하므로 병원체의 침입을 방지할 수 있으며 또한 위 및 장의 강산성 조건이 소화기관으로의 병원체 침입을 방지하게 된다. 이러한 저항성도 질병 방어기전에 중요한 역할을 하는 것이다.

이외에도 자연면역(natural immunity)이란 방어기전이 있는데 이는 특정 병원체에 감염기전이 없어도 날때부터 이 병원체에 대하여 항체를 가

*가축위생연구소

지며 결과적으로 이 질병에 자연면역이 형성된 것이다. 이 자연 면역은 숙주동물의 종(Hostspecies)이 오랜세대 동안 특정 병원체와 함께 투쟁해온 결과라 생각된다.

물고기도 포유동물과 마찬가지로 각종 병원체에 감염되면 체액성 및 세포성 면역으로 방어작용을 나타낸다.

체액성 면역은 IgM항체라는 혈청 단백질이 그리고 세포성 면역은 망상직 계통조직 내피(reticuloendothelial system)의 일부 세포와 탐식세포(phagocytic cells)가 중요한 방어역할을 탐색하고 있다. 이와같이 자연감염되거나 또는 항원의 도입에 의해서 얻어지는 면역을 획득면역(acquired immunity) 또는 활동면역(active immunity)이라 한다. 이러한 면역 원리로 물고기에서도 각종 백신이 사용되어 질병방역에 일익을 담당하고 있다.

그러나 피동면역(passive immunity)은 어류에서 별로 연구된바 없는 것으로 미루어 이의 중요성은 미지수이다.

물고기의 면역기구

각종 물고기는 다양한 자연환경과 생태학적인 조건에서 순환되어 왔으므로 각기 독특하고 다양한 면역기구를 가지고 있다.

즉 온도가 낮은 환경에서 무리지어 살지(群生 또는 群居) 않는 물고기들은 일반적으로 면역기구가 잘 발달되어 있지 않는데 이유인즉 이들은 병원체의 증식이 어려운 비교적 깨끗한 저온환경에서 생활하였기 때문이다. 한편 미생물이 증식하기 좋은 환경에서 무리지어 사는 물고기들은 비교적 면역기구가 잘 발달되어 있다.

물고기의 중요한 면역기관은 신장전구부(anterior 또는 head kidney), 흉선(thymus), 비장, 간 등이나 이들 각 기관의 면역학적인 역할은 별로 알려져 있지 않으며 타 동물의 면역기관에 준하는 기능을 수행하는 것으로 추측하고 있다. 즉 면역반응에 관계되는 세포중 거간세포(stem cell)는 간이나 흉선에서 B림파구 또는 T림파구로 분화되어 체액면역과 세포면역기능을 수행하게 된다(그림1).

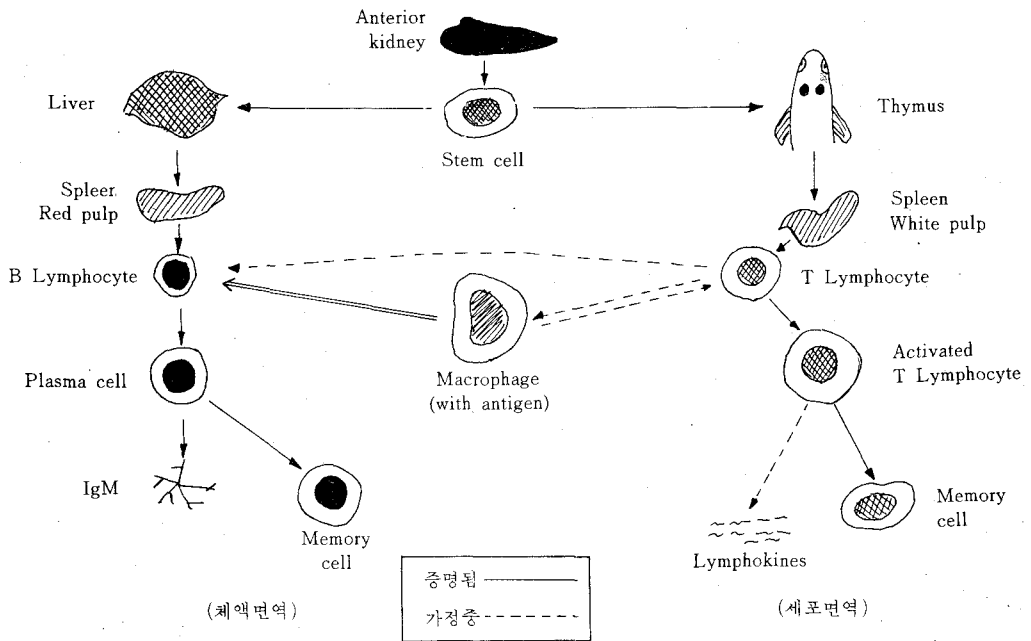


그림 1. 물고기의 면역기구 및 기능

물고기는 림파구, 대식세포(macrophages), 형질세포(plasma cell), 탐식세포(phagocytes) 등 항체를 생산하는데 필요한 각종 세포들은 가지고 있으나 이러한 세포들을 집약해서 수용하는 림파선이 없는것 같다. 그러나 세균 항원을 경구투여 할시 이 항원에 대한 혈중항체가 생산되는 것으로 미루어 물고기의 창자에도 동물의 Peyer's Patches와 유사한 림파조직이 있을 것으로 추측하고 있다.

항원이 체내에 도입되면 대식세포 및 탐식세포에 포착되어 비장의 적색수(red pulp) 또는 간으로 옮겨지며 이들 세포에 의하여 잘 분석된 항원정보를 B림파구에 전달하게 된다.

정보를 받은 B림파구는 분화하여 형질세포(plasma cell)로 전환되고 항체를 생산하는 것이다. 이때 항원의 분석된 정보를 B림파구에 전달하는데 T림파구도 helper cell로 작용하는 것으로 보고되어 있다.

한편 T림파구의 기능과 역할에 대해서는 별로 연구되지 않았으나 포유동물의 T림파구 기능을 일부 가지는듯 하다. 예를들면 물고기의 T림파구도 mitogen이나 유전형질이 다른 세포를 인지하여 반응하며 또한 조직거부반응에 관여하는 것으로 보고되고 있다.

온도와 물고기의 면역반응

물고기의 체온은 외부 환경온도와 같다. 또한 미생물의 번식도 환경의 온도와 밀접한 관계가 있다. 그러므로 병원미생물이 잘 번식하지 못하는 환경조건(7°C이하)에서 서식하는 물고기는 일반적으로 면역항체를 생산하지 않는다.

이와반대로 환경온도가 적당히 높을수록 면역반응의 질은 우수해지고 또한 반응시간이 단축되는 경향이 있다. 예를들면 뱀장어를 16~19°C에서 사육할시 응집항체를 생산하나 7~11°C에서는 응집항체를 생산하지 못한다. 이로운 현상은 온수에 자라는 대부분의 물고기들이 환경온도를 13~15°C로 저하시킬때 면역반응이 정지되거나 현

저히 지연되는 것과 동일하다 하겠다. 잉어의 해파리 정충에 대한 응집항체생성도 수온이 15°C일때 보다 28°C일때 4일간 단축 되었으며, 무지개송어도 수온이 15.5°C일때는 *Aeromonas hydrophila*항원에 대하여 아주 낮은 항체를 접종 4주후에 생산하였다. 그러므로 물고기 질병방역을 위하여 면역을 실시할때는 물고기의 서식 환경온도를 고려하는것이 대단히 중요하다 하겠다.

물고기의 일령과 면역반응

포유동물은 태어날때 면역기구가 잘 발달되어 있지 못하므로 생후 수주일(소동물)에서 수개월(대동물)까지 어미로부터 부여받은 모체이행항체로 질병에 대응하며 모체이행항체가 소실될때 좁은 자체의 면역기능을 충분히 수행할수 있어 각종 질병에 능동적으로 대처할 수 있게 된다.

그러나 물고기는 부화이후 치어에서도 면역기능이 정상적으로 수행되는 것으로 생각된다. 예를들면 체중 0.3g정도의 무지개송어도 *A. hydrophila*(솔방울 병원)사균을 접종할시 3주이후 항체가 형성되며, 체중 1.3g정도의 연어도 *A. Salmonicida*(송어의 질창병원)에 대한 면역항체를 생산할 수 있다.

물고기의 백신

지금까지 개발된 물고기의 백신은 대부분 사균백신으로 불활화한 세균체를 사용하거나 초음파로 파괴한 균체성분을 가장 많이 사용하고 있다.

균체를 불활화하는 방법은 60°C에서 60분간 열처리하는법, 포르말린(0.45%) 처리법 기타 화학제(크로로포름, 석탄산, merthiolate 등)처리법 등이 사용되었으며 면역보강제(Adjuvant)로는 Freund's complete 및 incomplete adjuvant와 Alum 침전균체에 라노린을 첨가한 방법을 시도하고 있다. 이러한 세균백신은 실험실에서는 유효하나 야외 실증시험에서 효과가 만족하지 못한 경우가 많았다. 그러나 연어과의 물고기와 은어에 포르말린 불활화 비브리오백신을 경구면역하

면 상당한 효과가 인정되고 있다.

물고기의 바이러스 질병방제를 위한 백신연구는 아직까지 만족할만한 결과를 얻지 못하고 있는 형편이다. 더구나 사독백신연구 성적은 효과가 없는 것으로 나타나 약독화 생독백신 개발분야에 연구가 집중되고 있다.

지금까지 생독백신의 실험적인 성공사례를 소개하면 미국메기의 Channel catfish바이러스, 잉어의 Spring viremia virus 그리고 무지개송어의 Infectious hematopoietic necrosis(전염성 조혈장기괴사증) 및 Infectious Pancreatic necrosis(전염성 지라 괴사증)바이러스 등을 순화시킨 약독백신 등이 있으며 상당한 면역효과가 있음이 입증되고 있다.

이외에도 잉어, 금붕어, 뱀장어의 아가미, 피부, 지느러미의 상피세포밑에 기생하는 Ichthyophthirius multifiliis(백점충)의 trophozoite(영양형)추출액을 미국메기에 접종하면 100% 감염방어가 성립되므로 기생충성질병의 방역을 위한 백신개발에 밝은 전망을 주고 있다.

백신접종 방법

백신에 의한 진정한 면역효과는 접종항원에 대한 특이항체가 생산되는데 여부에 좌우되기보다는 접종후 실제로 감염방어가 성립되는지에 주의하여야 할 것이다.

물고기는 생리적특성, 사양형태, 주위환경 요인의 다양성 등 타 가축과 비교하여 여러가지 특성이 있으므로 이에 적절한 면역방법이 개발되었으며 이들 방법중 ①체내 접종법, ②음식물과 함께 경구로 투여하는 법, ③고장액에 담구는 법, ④등장액에 담구는 법, ⑤살포법, ⑥음압침지법 등에 대한 장단점을 비교하면 다음과 같다.

체내접종법은 접종부위에 따라 근육내, 복강내, 혈관내, 피하접종 등으로 구분할수 있으며 이들 방법은 모두 가장 효과적이며 면역반응을 유도할수 있는 장점이 있다. 그러나 이 방법은 대규모 집단 양식장에는 사용할수 없으며 또한 어

린 치어에도 적용할수 없는 단점이 있다. 경구투여법은 1942년 송어의 절창병을 방제하기 위하여 처음으로 시도되었으며 현재 집단면역법중 가장 편리한 방법으로 생각된다.

물고기는 비교적 분자량이 큰 물질도 장벽을 통하여 흡수할수 있는 특징이 있다. 즉 탐식세포에 의하여 소화 또는 분해된 중성지방 및 단백질 등이 소화관에서 혈중으로 이행될수 있는 것이다. 이러한 원리로 경구투여된 사균의 활성 항원이 면역기구(신장장구부, 비장, 흉선, 간)에 감지되어 면역항체가 생산되는 것이다. 최근 비브리오균, *Aeromonas*균 등 수종의 세균감염증 방제에 이 방법이 널리 응용되고 있으며 앞으로 다른 접종방법을 병용하여 실시하므로 면역효과를 증진시키기 위한 연구가 진행중이다.

1976년 Amend 등은 물고기에 응용할수 있는 창안적인 백신접종(투여)법을 개발 보고하였다. 즉 무지개송어를 노소나 소금을 녹힌 고장액(1650밀리오스몰)에다 2분간 침지 시켰다가 저장액인 2% 소혈청알부민(BSA)용액에 다시 3분간 침지한바 처리개체의 혈액ml당 0.2mg의 BSA가 흡수된 것을 알수 있었다. 이와같이 고장액에서 항원이 포함된 저장액순으로 침지하는 방법을 고장액 침지법(Hyperosmotic infiltration)이라 하며, 항원이 포함된 고장액에서 저장액으로 침지하는 방법을 침지법 등장액(Iso-osmotic infiltration)이라 한다. 이러한 두가지 방법 모두 송어의 적구병(*Red mouth*병: *Yersinia ruckeri*균이 원인체임)과 비브리오병(*Vibrio anguillarum*균이 원인체임)을 방지하는데 유효하게 응용될수 있다. 이러한 방법으로 기초면역한 송어를 2~3주 후에 추가면역하면 더욱 좋은 면역효과를 기대할수 있다. 이 방법으로 면역된 개체는 혈중에 항체가 검출되지 않으므로 세포면역이 중요한 방어기전으로 작용함을 알수있으나 아직 확실한 증거는 찾지 못하고 있다. 이 고장액침지법을 사용하는데는 여러가지 제약조건이 있다. 특히 각종 담수어들은 염농도가 높은 고장액에 침지할수 없는

종류가 많기 때문에 사용상 주의를 요한다.

1976년에는 Amend 및 Antipa 등이 음압침지법(Vacuum infiltration)을 개발하였다. 이 방법은 항원을 부유시킨 식염수에 물고기를 담근뒤 진공펌프로 급속히 감압하였다가 즉시 대기압으로 환원시키는 방법을 3회 반복하는 방법이며, 총 처리시간은 2~3분정도 소요된다. 이 방법으로 연어를 전염성조혈장기괴사증(IHN)과 비브리오행을 효과적으로 방제할수 있음을 보고하고 있다. 이 음압침지법의 단점은 진공펌프와 진공통이 소요되며 수행기술이 뒷받침 되어야 한다는데 있다. 한편 식염수에 민감한 피래미와 송어류 등은 항원을 증류수 등에 부유한후 음압처리를 수행할수 있다.

이 이외에도 집단 어류면역법중 살포법(spray infusion)이 있다. 이 방법은 물고기를 건져낸후 항원이 포함된 용액을 고압(100파운드/inch²)으로 분사하는 방법이며, 포르마린으로 불활화한 비브리�균 또는 절창병균 등을 벤토나이트입자에 흡착시켜 살포하면 구강투여법보다 면역효과가 좋은 것으로 분석되고 있다. 살포면역법은 여러가지 복합항원을 면역보강제와 혼합하여 사용할수 있으며 또한 집단면역이 가능하므로 어류면역에 신기술로 기여할수 있을 것이다.

면역 지속기간

각종 물고기의 면역반응은 포유동물의 면역반응보다 면역지속기간이 짧은 특징이 있다. 특히 기초면역후의 항체소장속도는 빠르기 때문에 수주일후엔 추가면역을 실시함이 바람직 하며, 때로는 수회에 걸친 추가면역을 실시해야 특정 질병을 방제할수 있다. 예를들면 무지개송어를 15.5°C에서 사육할시 출방울병(운동성 에어로모나스증)을 효과적으로 방제하기 위하여 3~7회에 걸친 추가면역을 실시해야 한다. 최근 각종 어류 질병 방제를 위한 여러가지 백신과 접종방법이 시도되고 있으니 감염방어가 성립되는 면역지속기간에 대해서는 별로 알려진바 없으므로 더욱

연구해야 할 과제라 생각된다.

참 고 문 헌

1. Amed, D. F. (1976) "Prevention and control of viral diseases of salmonids," *F. Fish. Res. Bd. Can.*, 33: 1959-1066.
2. Amend, D. F. and Fender, D. C. 1976. "Uptake of bovine serum albumin by rainbow trout from hyperosmotic solutions: a model for vaccinating fish," *Science*, 192: 793-794.
3. Andersen, D. P. (1974) *Fish immunology*. T. F. H. Publ., Neptune, NJ. p. 239.
4. Anderson, D. P. and Nelson, J. R. (1974) "Comparison of protection in rainbow trout (*Salmo gairdneri*) inoculated with and fed Hagerman redmouth bacterins." *F. Fish. Res. Bd. Can.*, 31: 214-216.
5. Antipa, R. (1976) "Field testing of injected *Vibrio anguillarum* bacterins in pen-reared Pacific salmon," *F. Fish. Res. Bd. Can.*, 33: 1291-1296.
6. Antipa, R. and Amend, D. F. (1977) "Immunization of Pacific salmon: comparison of intraperitoneal injection and hyperosmotic infiltration of *Vibrio anguillarum* and *Aeromonas salmonicida* bacterins," *F. Fish. Res. Bd. Can.*, 34: 203-208.
7. Avtalion, R. R. (1969) "Temperature effect on antibody production and immunological memory in carp (*Cyprinus carpio*) immunized against bovine serum albumin(BSA)," *Immunol.*, 17: 927-931.
8. Avtalion, R. R., Malik, Z., Lefler, E. and Katz, E. (1970) "Temperature effect on immune resistance of fish to pathogens," *Bamidgeh*, 22: 33-38.
9. Avtalion, R. R., Wesis, E., Moalem, T. and Milgram, L. (1975) "Evidence of cooperation of T and B cells of fish," *Isr. F. Med. Sci.*, 11: 1385. (Abst. *Fish Health News*, 6(3): 152; 1977).
10. Barrett, J. T. (1974) *Textbook of immunology*. Second Ed. C. V. Mosby Co., St. Louis, MO. p. 417.
11. Bergman, A. (1911) "En Smittesam ogons jukdom keretomalaci, hos torsk vid sviriges sydkast," *Skand. Vet-Tidscher*.(Cited in Pliszka, 1938.)
12. Boyd, R. F. and Hoerl, B. G. (1977) *Basic medical microbiology*. Little, Brown Co., Boston, MA. p. 191-208.
13. Cisar, J. O. and Fryer, J. L. (1974) "Characterization of anti-*Aeromonas salmonicida* antibodies from coho salmon," *Inf. Immun.*, 9: 236-243.
14. Clem, L. W. (1971) "Phylogeny of immunoglobulin structure and function: IV. Immunoglobulins of the giant grouper, *Epinephelus itaira*," *F. Biol. Chem.*, 246: 9-15.
15. Corbel, M. J. (1975) "The immune response in fish: a review," *F. Fish. Biol.*, 7: 539-560.
16. Cushing, J. E. (1942) "An effect of temperature upon antibody-production in fish," *F. Immunol.*, 45: 123-126.
17. Duff, D. C. B. (1942) "The oral immunization of trout against *Bacterium salmonicida*," *F. Immunol.*, 44: 87-94.
18. Ellis, A. E. (1977) "The leucocytes of fish. A review," *F. Fish. Biol.*, 11: 453-491.

19. Evelyn, T. P. T. (1977) "Immunization of salmonids" *Proc. Inter. Symp. Dis. Cult. Salmonids*. Sponsored by Tavolek Inc., Redmond, WA. p.21.
20. Fender, D. C. and Amend, D. F. (1978) "Hyperosmotic infiltration: Factors influencing uptake of bovine serum albumin by rainbow trout (*Salmo gairdneri*)," *F. Fish Res. Bd. Can.*, 35: 871-874.
21. Frenzel, E. M. and Ambrosius, H. (1971) "Antihapten antibodies in lower vertebrates," *Acta Biol. Med. Ger.*, 26: 165-171.
22. Fryer, J. L., Amend, D. F. Harrell, L. W. Novotny, A. J. Plumb, J. A. Rohovec J.S. and Tebbit, G. L. (1977) *Development of bacterins and vaccines for control of infectious diseases in fish*. Ore. State Univ. Sea Grant Coll. *Prog. Publ.*, No. ORESU-T-77-012, 10.
23. Fryer, J. L., Rohovec, J. S. Tebbit, G. L. McMichael J. S. and Pilcher, K. S. (1976) "Vaccination for control of infectious diseases in Pacific salmon," *Fish. Pathol.*, 10: 155-164.
24. Gould, R. W. (1977) *Development of a new vaccine delivery system for immunizing fish and investigation of the protective antigens in Vibrio anguillarum*. Unpubl. Ph. D. Diss. Ore. State Univ., Corvallis, OR. p. 145.
25. Hara, T., Inoue, K. Morikawa S. and Tashiro, F. (1976) "Vaccination trials for control of furunculosis of salmonids in Japan," *Fish. Pathol.*, 10: 227-235.
26. Heartwell, C. M., III (1975) *Immune response and antibody characterization of the channel catfish (Ictalurus punctatus) to a naturally pathogenic bacterium and virus*. U. S. Fish Wildl. Serv. Tech. Paper, No. 85. p. 34.
27. Heuzroth, H., Resch, E., Richter, R. and Ambrosius, H. (1973) "Studies on antigenic similarity of immunoglobulins," *Acta Biol. Med. Ger.*, 30: 719 and 735.
28. Khalifa, K. A. (1976) *Intracellular antibody formation and role of thymus in two teleosts*. Unpubl. Ph. D. Diss. Colo. State Univ., Fort Collins, CO. p. 92.
29. Khalifa, K. A. and Post, G. (1976) "Immune response of advanced rainbow trout fry to *Aeromonas liquifaciens*," *Prog. Fish-Cult.*, 38: 66-68.
30. Kiyokuni, M. and Egusa, S. (1969) "Immune response in Japanese eel to *Vibrio anguillarum*-1. Effects of temperature on agglutinating antibody production in starved eels," *Bull. Fac. Soc.Sci.Fish.*, 35: 868-874.
31. Klontz, G. W. and Anderson, D. P. (1970) "Oral immunization of salmonids: a review," *In S. F. Snieszko, ed. Symposium on diseases of fishes and shellfishes. Am. Fish. Soc., Spec. Publ.*, No. 5: 16-20.
32. Krantz, G. E., Reddecliff, J. M. and Heist, G. (1964) "Immune response of trout to *Aeromonas salmonicida*. Part 1. Development of agglutinating antibodies and protective immunity," *Prog. Fish-Cult.* 26: 3-10.
33. Marchalonis, J. J. (1971) "Isolation and partial characterization of immunoglobulins of goldfish (*Carassius auratus*) and carp (*Cyprinus carpio*)," *Immunol.*, 20: 161-173.
34. Natvig, J. B. and Kunkel, H. G. (1973) "Human immunoglobulins: classes, subclasses, genetic variants and idiotypes," *Adv. Immunol.*, 16: 1-59.
35. Nybelin, O. (1935) "Uber-agglutininbildung bei Fischen," *Z. Immunit. Forsch.*, 84: 74.
36. Ortiz-Muniz, G. and Sigel, M. M. (1968) "In vitro synthesis of anti-BSA antibodies by fish lymphoid organs," *Bact. Proc.*, M8,p. 66.
37. Paterson, W. D. and Fryer, J. L. (1974) "Immune response of juvenile coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) to *Aeromonas salmonicida* cells administered intraperitoneally in Freund's complete adjuvant," *F. Fish. Res. Bd. Can.*, 31: 1751-1755.
38. Pliszka, F. (1938) "Untersuchungen uber die Agglutinine bei Karpfen. Zentr. Bakteriol. I," *Abt. Orig.*, 143: 262-264.
39. Post, G. (1966) "Serum proteins and antibody production in rainbow trout (*Salmo gairdneri*)," *F. Fish. Res. Bd. Can.*, 23: 1957-1963.
40. Post, G. (1963) *The immune response of rainbow trout (Salmo gairdneri) to Aeromonas hydrophila*. Publ. 63-7. Utah Div. Wildl., Salt Lake City, UT. p. 82.
41. Post, G. (1962) "Immunization-a method of disease control in fish," *U. S. Trout News*, Sept. Oct.: 14-17.
42. Rohovec, J. S., Garrison R. L. and Fryer J. L. (1975) "Immunization of fish for control of vibriosis," *Proc. 3rd U. S. -Fap. Aquacult. Spec. Publ. Reg. Jap. Fish. Res. Lab., Niigato, Japan*. p. 105-112.
43. Ross, A. J. and Klontz, G. W. (1965) "Oral immunization of rainbow trout (*Salmo gairdneri*) against the etiological agent of 'Redmouth Disease'," *J. Fish. Res. Bd. Can.*, 22: 713-719.
44. Schachte, J. H., Jr. (1976) *Studies on the immunization of the channel catfish against two bacterial pathogens*. Ph. D. Diss., Auburn Univ., Auburn, AL. p. 84.
45. Shelton, E. and Smith, M. (1970) "The ultrastructure of carp (*Cyprinus carpio*) immunoglobulin: a tetrameric macroglobulin," *J. Mol. Biol.*, 54: 615-617.
46. Smith, W. W. (1940) "Production of anti-bacterial agglutinins by carp and trout at 10°C," *Proc. Soc. Expt. Biol. Med.*, 45: 726-729.
47. Snieszko, S. F. (1970) "Immunization of fishes: a review," *J. Wildl. Dis.*, 6: 24-30.
48. Snieszko, S. and Friddle, S. B. (1949) "Prophylaxis of furunculosis in brook trout (*Salvelinus fontinalis*) by oral immunization and sulfamerazine," *Prog. Fish-Cult.*, 11: 161-168.
49. Snieszko, S., Piotrowska, W., Kocylowski, B. and Marek, K. (1938) "Badania bakteriologicznej serologiczne nad bakteriami posocznicy karpi," *Rozpr. Biol.*, p. 16: 15.
50. Trump, G. N. (1970) "Goldfish immunoglobulins and antibodies to bovine serum albumin," *J. Immunol.*, 104: 1267-1275.