

## 周防灘における海洋細菌の粒子径組成と現存量

今井 一郎

### Size Distribution and Biomass of Bacteria in Suō-Nada, Western Seto Inland Sea

Ichiro IMAI

The size distribution and biomass of bacteria were investigated in Suō-Nada, western Seto Inland Sea, in May, July and October 1982. Bacterial cell volumes were measured by microcomputer-assisted image analysis of the fluorescent cells in epifluorescence microphotographs.

The size (equivalent spherical diameter) of bacteria ranged from 0.2 to 1.0  $\mu\text{m}$ . More than 70% of them belonged to the size fraction between 0.4 and 0.7  $\mu\text{m}$ . The mean cell volume of bacteria in different samples varied in a range between 0.041 and 0.126  $\mu\text{m}^3$ , with an average of 0.098  $\mu\text{m}^3$ . The mean volume in the samples taken from the depths appeared to be smaller than those from the surface.

Number of bacteria ranged from 0.45 to  $3.03 \times 10^{12}$  cells  $\cdot \text{m}^{-3}$ , and the amount of carbon from 3.8 to 25.5 mgC  $\cdot \text{m}^{-3}$ . Concentrations were higher in coastal areas than offshore. Horizontal distribution of bacterial biomass expressed as carbon under 1 m<sup>2</sup> water column revealed a tendency to be more abundant in proportion to depth, with the range from 0.09 to 0.44 gC  $\cdot \text{m}^{-2}$ . Total biomass in Suō-Nada was estimated to be 677 ton carbon per area.

従属栄養細菌を中心とする海洋細菌は、海洋において有機物を分解・無機化し、栄養塩再生者としての役割を演じる一方、有機物を栄養源として増殖することにより、粒状態有機物の生産者として重要な役割を演じている。海洋の低次生物生産過程の従来の図式の中で細菌は、分解者としての役割が強調され、生産者としての側面は見過されてきた。

近年、従属栄養性微小鞭毛虫類を中心とした10 $\mu\text{m}$ 以下の大きさの微小原生動物が、細菌を捕食し (HAAS and WEBB 1979, FENCHEL 1982a), しかも沿岸水中に約 $10^3$  cells  $\cdot \text{ml}^{-1}$ 以上の密度で存在すること (FENCHEL 1982b, SHERR and SHERR 1983, 今井・伊藤1984) が明らかにされた。また、海洋細菌が微小原生動物を通じて食物連鎖に参入し、低次生産系において重要な位置を占めているという指摘もなされている (AZAM *et al.* 1983)。

海洋の低次生産系における細菌の役割を明らかにするには、まずその現存量を正確に把握することが重要である。最近の落射蛍光顕微鏡と染色技術の発達により、細菌の直接計数の精度は非常に高くなった (HOBBIE *et al.* 1977, BOWDEN 1977) が、食物連鎖系に組み込みその役割を評価

するためには、細胞数の把握のみでは不十分であり、炭素等の物質で把握することが必要である。そこで、瀬戸内海西部に位置する周防灘を対象水域として、海洋細菌の直接計数を行ない、画像解析によって平均体積を求め、海水中の細菌の現存量を算出したので報告する。

本研究は科学技術庁科学技術振興調整費による「海洋生物資源の生産能力と海洋環境に関する研究」の一部として実施したものである。

## 材料および方法

1982年5月下旬、7月中旬および10月中旬の3回、Fig. 1に示した周防灘の定点(St.)において、パンドーン採水器により各層採水を行ない、同時に水温、塩分(TS 水質モニター、鶴見精器モデル1を使用)を測定した。採水層は各St.とも0、5、10、20、……B-1m(海底から1m上層)である。なお、Sts. 6, 10, 11, 13, 15ならびに16では2m層からも採水した。採水試料はねじ口試験管に収容して、グルタルアルデヒドで固定(最終濃度0.5%)し、冷蔵保存した。

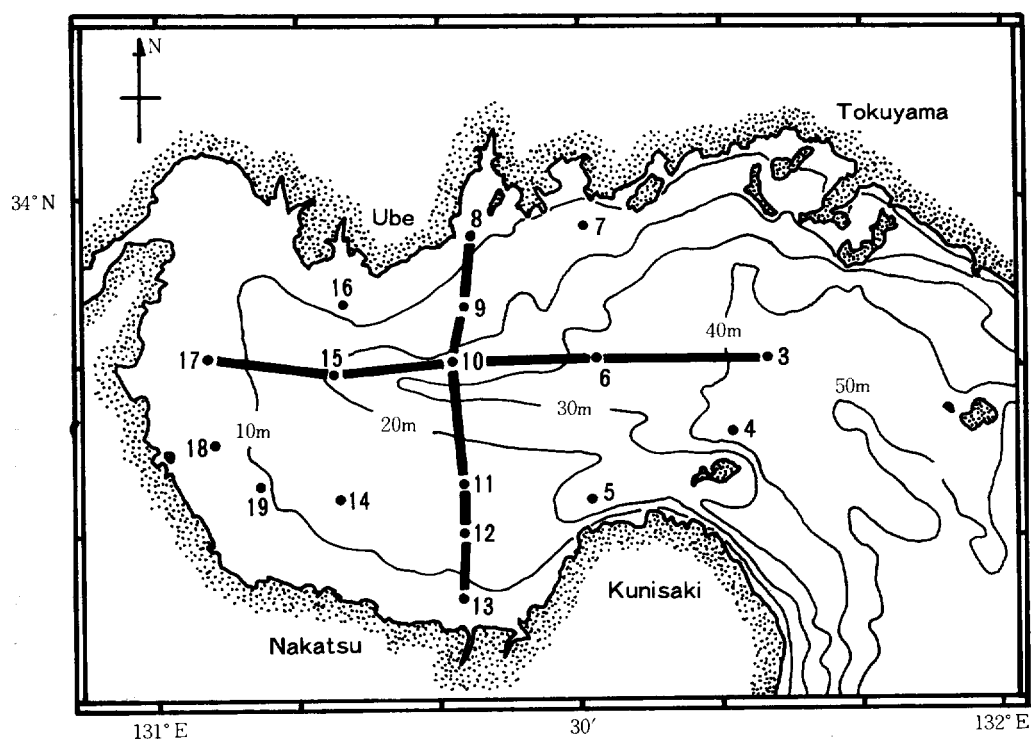


Fig. 1. Location of sampling stations in Suō-Nada, western Seto Inland Sea, with isodepth contours. East-West and North-South sections are shown by solid lines.

### 1. 細菌体積の測定

Sts. 3, 10, 11, 13 および17から採水した試料を用いて、細菌体積を測定した。各試料を、450°C 1時間熱処理した試験管にそれぞれ5-10mlとり、蛍光染料 4'6-diamidino-2-phenylindole

(DAPI) (PORTER and FEIG 1980) を最終濃度  $0.5 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$  になるように加えた。5 分間以上染色した後、Sudan black B で染めた孔径  $0.2 \mu\text{m}$  の Nuclepore フィルター (ZIMMERMANN *et al.* 1978) 上に試料をろ過捕集し、無蛍光イマージョンオイルでフィルターを封入して検鏡、撮影用の標本とした。これらの標本はオリンパス落射蛍光顕微鏡 (BH 2-RFL 型) で検鏡し、カラーズライド用フィルム (Kodak Ektachrome 400) を用いて撮影を行ない、スライド標本を作成した。Hewlett Packard 社製マイクロコンピューター (9845 B 型) に接続したグラフィック・タブレット (同社 9111 A 型、精度  $0.1\text{mm}$ ) 上に、このスライド標本を投影機で 9,200 倍に拡大投影し、青色に見える細菌像の幅 (W) と面積 (S) の測定を行なった。W は、細菌像の幅の 2 点 (Fig. 2) をスタイラスペンで指示し、マイクロコンピューターでその座標を読み取って 2 点間の距離として、また S は、細菌像の輪郭をなぞり、台形公式による近似積分を用いて算出した。拡大倍率は、対物マイクロメーターを撮影したスライド標本を、同様に拡大投影して決定した。種々の形態の細菌の体積 (V) は、測定値と等しい W と S を持つカプセル体 (円柱の両側に半球がついたもの) に変換し (Fig. 2)、次式に従って計算を行なった。

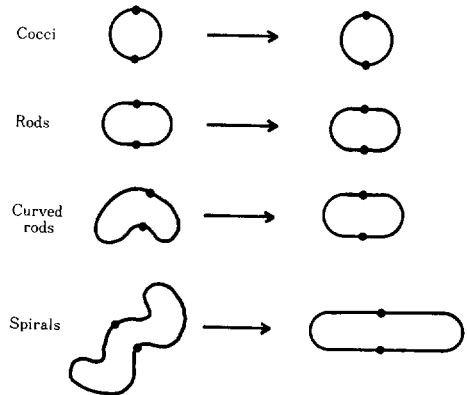


Fig. 2. Theoretical scheme for the calculation of bacterial cell volumes of different forms. Each type of cell form (left) is converted into the cylinder shape with hemispherical caps (right) having the same width and area as the original.

$$V = \frac{\pi WS}{4} + \frac{\pi W^3}{6} - \frac{\pi^2 W^3}{16}$$

なお、V の測定には、各々の試料について 50—80 細胞を用いた。

## 2. 現存量の測定

(i) 細菌数 各試料の  $0.3\text{--}1.0\text{ml}$  を試験管 (前述の熱処理済) にとり、除菌海水で  $2.7\text{ml}$  に希釈したものに  $5.0 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$  の DAPI 溶液  $0.3\text{ml}$  を加えて 5 分間以上染色した。以後の計数用標本は前述の手順に従って作成した。細菌数は、落射蛍光顕微鏡下で接眼格子 ( $10 \times 10$ ) 内に見える細菌を 10 視野以上、合計 200 細胞以上計数することによって求めた。染色に使用した除菌海水や DAPI 溶液は、孔径  $0.22 \mu\text{m}$  の Millipore フィルターでろ過し、グルタルアルデヒドを加えた (最終濃度  $0.5\%$ ) 後に冷蔵保存したものであり、計数時には必ず細菌混入の有無を確認した。

(ii) 炭素量への変換 各調査期における灘の平均細菌体積は、前述の 5 定点の平均体積の平均値をもってあてた。細菌体積を炭素量に変換するには、この値に変換係数  $0.087 \text{gC}\cdot\text{cm}^{-3}$  (FERGUSON and RUBLEE 1976) を乗じることによって細菌 1 細胞あたりの炭素含量を求め、これに細菌密度を乗じて炭素量としての現存量を算出した。

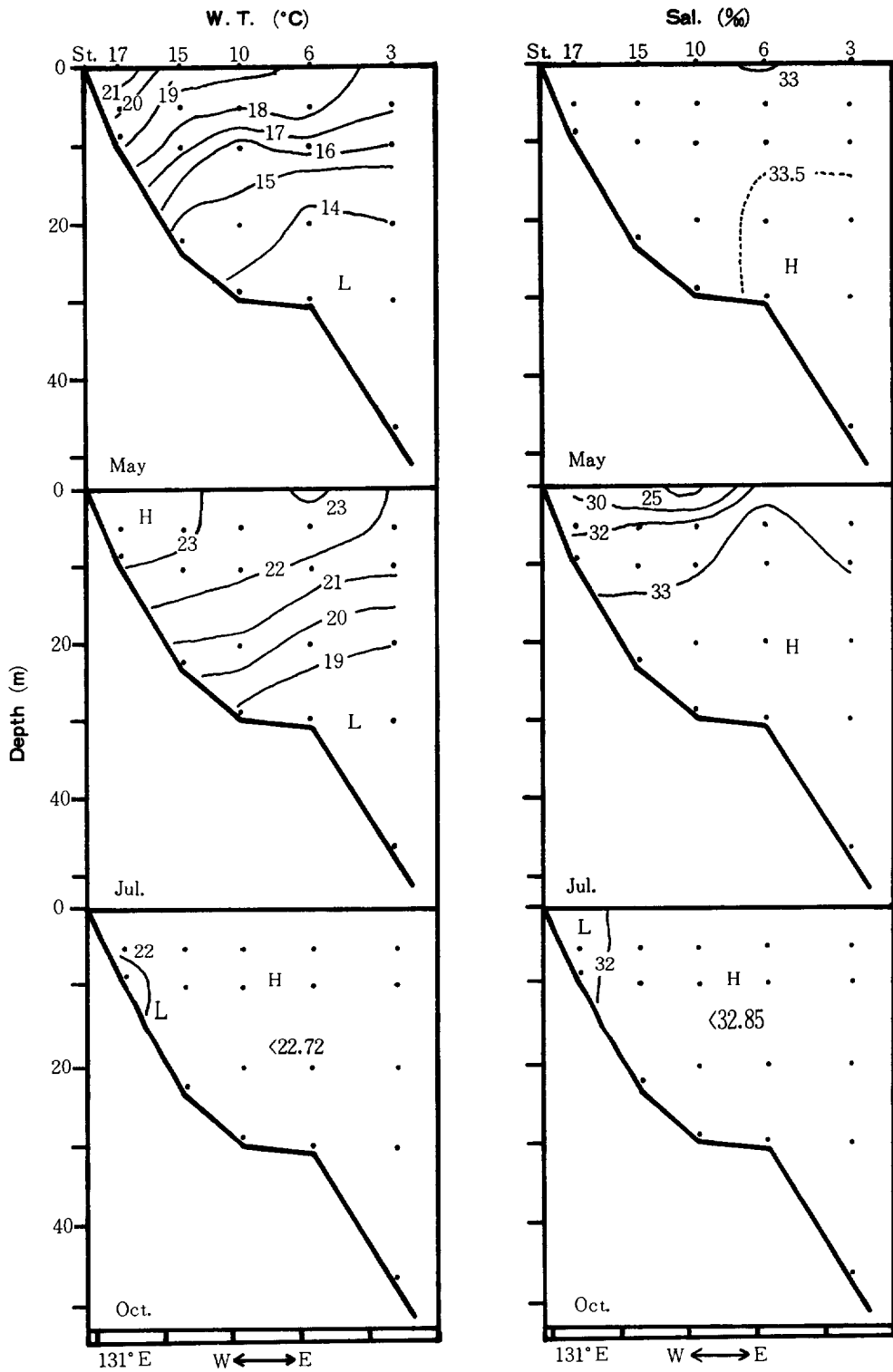


Fig. 3. Profiles of temperature and salinity along the East-West section.

## 結 果

各調査期における周防灘の東西・南北断面 (Fig. 1 の太い線) での水温と塩分の鉛直分布を Figs. 3 と 4 に示した。5月の水温は13.7—22.1°C, 7月には18.0—24.7°Cの範囲にあり, 水温躍層は10—20m深に存在していた。両月の水温は灘の南部と西部沿岸域で高く, 北部と東部水域で低い傾向を示した。10月では, 灘全体に22°C前後であった。

塩分は, 5月で約33%とほぼ一様であり, 7月には降雨の影響で5m層までの上層において著しく低下し, 10月には再び全域的にほぼ一様 (32%) になった。

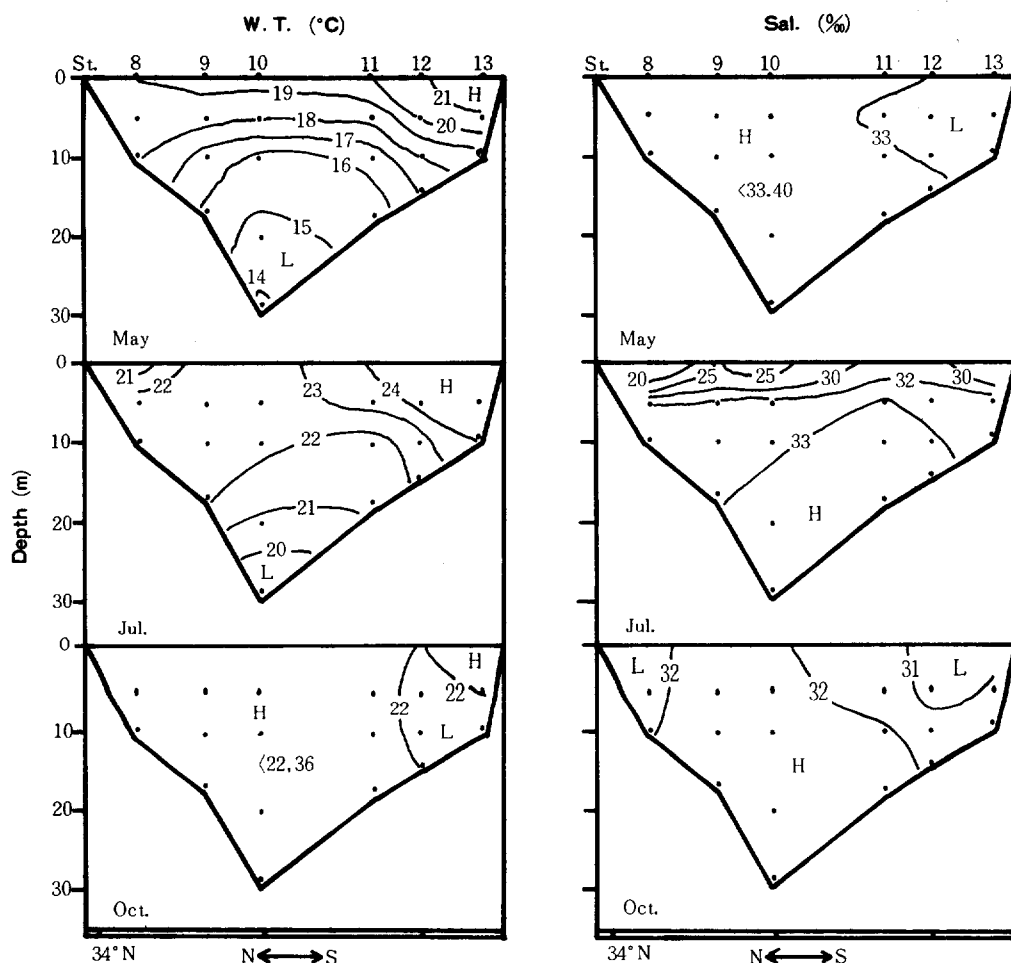


Fig. 4. Profiles of temperature and salinity along the North-South section.

### 1. 細菌の体積

DAPI 染色を施した細菌の蛍光顕微鏡写真の1例を Fig. 5 に示した。細菌は青く輝き輪郭が

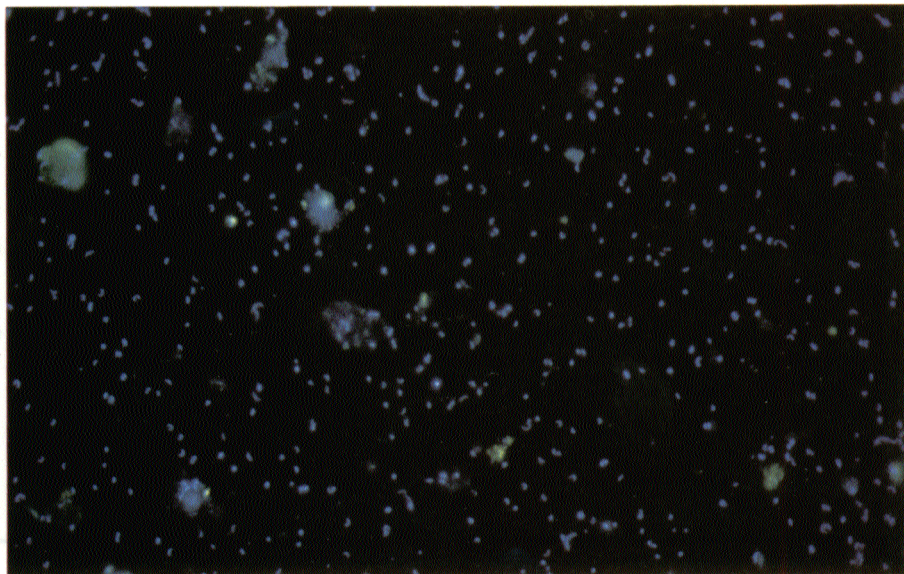


Fig. 5. An epifluorescence microphotograph of DAPI-stained bacteria in a sample collected in Suō-Nada. Bacteria are seen as blue spots with clear outlines.  $\times 1250$ .

はっきりしているの、黄色や不定形に見える他の粒子と容易に識別できた。

細菌の体積を求める前に、5種類の形態の異なる細菌を選び、それらの体積を各々10回ずつ繰り返し測定することによって、測定値の変動を調べた。変動係数 (C. V.) は各々7.3, 10.3, 8.5, 7.4 および 4.8% とほぼ約10%以下であった。

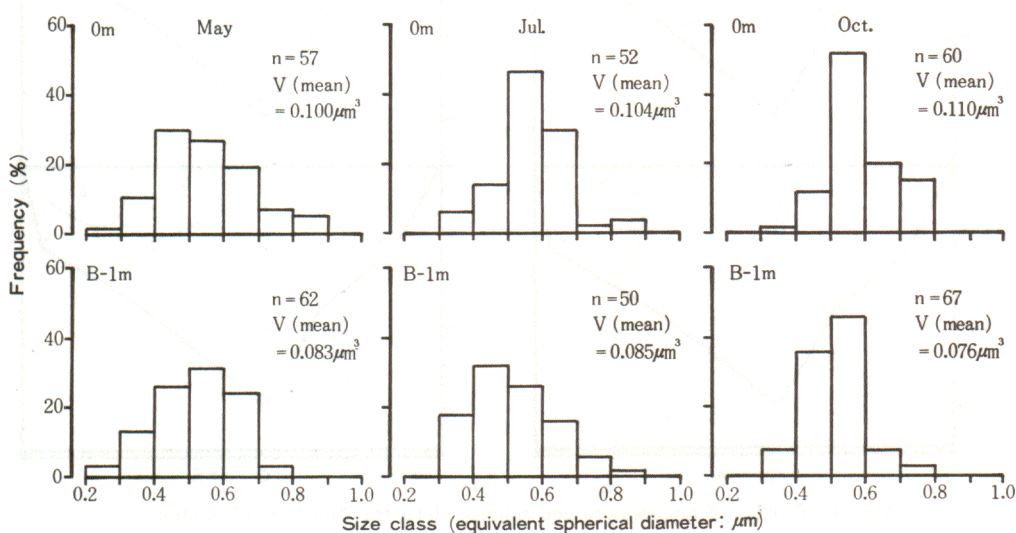


Fig. 6. Size frequency distribution of bacteria at 0m and B-1m (1m above the bottom) at St. 10 in Suō-Nada. Bacterial cell volumes were determined by microcomputer-assisted image analysis of the fluorescent cells in epifluorescence microphotographs. Percentage of the total number of bacteria in each size class is shown by histogram.

St. 10 の 0m と B-1m における細菌の粒子径分布を Fig. 6 に示した。細菌の粒子径は球形換算値で直径 0.2-1.0  $\mu\text{m}$  の間にすべてあり、特に 0.4-0.7  $\mu\text{m}$  のものが大部分で、全細菌数の 74-90% を占めた。それに対し、0.4  $\mu\text{m}$  以下の細菌は少なく 2-18% にすぎなかった。ただ、5月の St. 3, 20m 層の細菌は 0.4  $\mu\text{m}$  以下のものが全体の 45% を占めた。

次に、周防灘の東部、中央部、西部に位置する Sts. 3, 10 および 17 の各層の試料中の平均細菌体積を Table 1 に示す。平均体積は、0.041-0.126  $\mu\text{m}^3$  の範囲であり、表層で大きい値を示す傾向があった。地理的あるいは季節的な平均細菌体積の変化よりも、鉛直的な変化の方が大きいようである。

## 2. 現存量

3 回の調査における細菌数の最小値と最大値は Table 2 に示したようにそれぞれ、 $0.45 \times 10^{12}$  と  $3.03 \times 10^{12} \text{ cells} \cdot \text{m}^{-3}$  であり、炭素量ではそれぞれ、 $3.8$  と  $25.5 \text{ mgC} \cdot \text{m}^{-3}$  であった。各調査期での平均細菌数および炭素量は、季節によってそれほど変化しないようである。

灘の東西・南北断面における細菌数および炭素量の鉛直分布を Figs. 7 と 8 に示した。

東西断面では、豊後水道からの外海系水の影響を受けると思われる灘東部で少なく、陸地に近い西部沿岸域で多く分布した。7月の St. 17 を除けば、分布の鉛直変動はさほど大きくない。また南北断面における分布は、全般に北部および南部沿岸水域で多く、外海系水の流入する灘中央部で少ない傾向が認められた。混合期(10月)には、南部沿岸域の底層部に他と比べて多くの細菌が存在していた。

水柱における細菌数および炭素量の平均密度の水平分布を Fig. 9 に示す。分布は季節的にやや変化するものの、全般的には灘東部-中央部で低密度、西部と南部沿岸域で高密度であった。ただ、豊前沖の St. 19 は 5 月と 10 月に低密度であり、他の沿岸域と違う様相をみせた。

Table 1. Mean bacterial cell volume ( $\mu\text{m}^3$ ) in the samples collected at three stations in Suō-Nada, western Seto Inland Sea.

Station and depth	May	Jul.	Oct.	
St. 3	0m	—	0.124	0.115
	5m	0.115	0.116	0.108
	10m	0.110	0.101	0.105
	20m	0.041	0.078	0.073
	30m	0.053	0.090	0.086
B-1m #	—	0.086	0.085	
St. 10	0m	0.100	0.104	0.110
	5m	0.112	0.096	0.093
	10m	0.082	0.096	0.090
	20m	0.094	0.095	0.084
	B-1m	0.083	0.085	0.076
St. 17	0m	0.102	0.126	0.111
	5m	0.116	0.106	0.097
	B-1m	0.088	0.090	0.087

# : 1m above the bottom

Table 2. Bacterial number and carbon in Suō-Nada, western Seto Inland Sea.

Date	Number ( $\times 10^{12} \text{ cells} \cdot \text{m}^{-3}$ )			Carbon ( $\text{mgC} \cdot \text{m}^{-3}$ )				
	Min.	Max.	Mean	Min.	Max.	Mean		
May	0.61	—	2.58	1.24	4.8	—	20.4	9.85
Jul.	0.47	—	2.79	1.34	4.3	—	25.5	12.30
Oct.	0.45	—	3.03	1.48	3.8	—	25.4	12.44
Mean			1.36					11.53

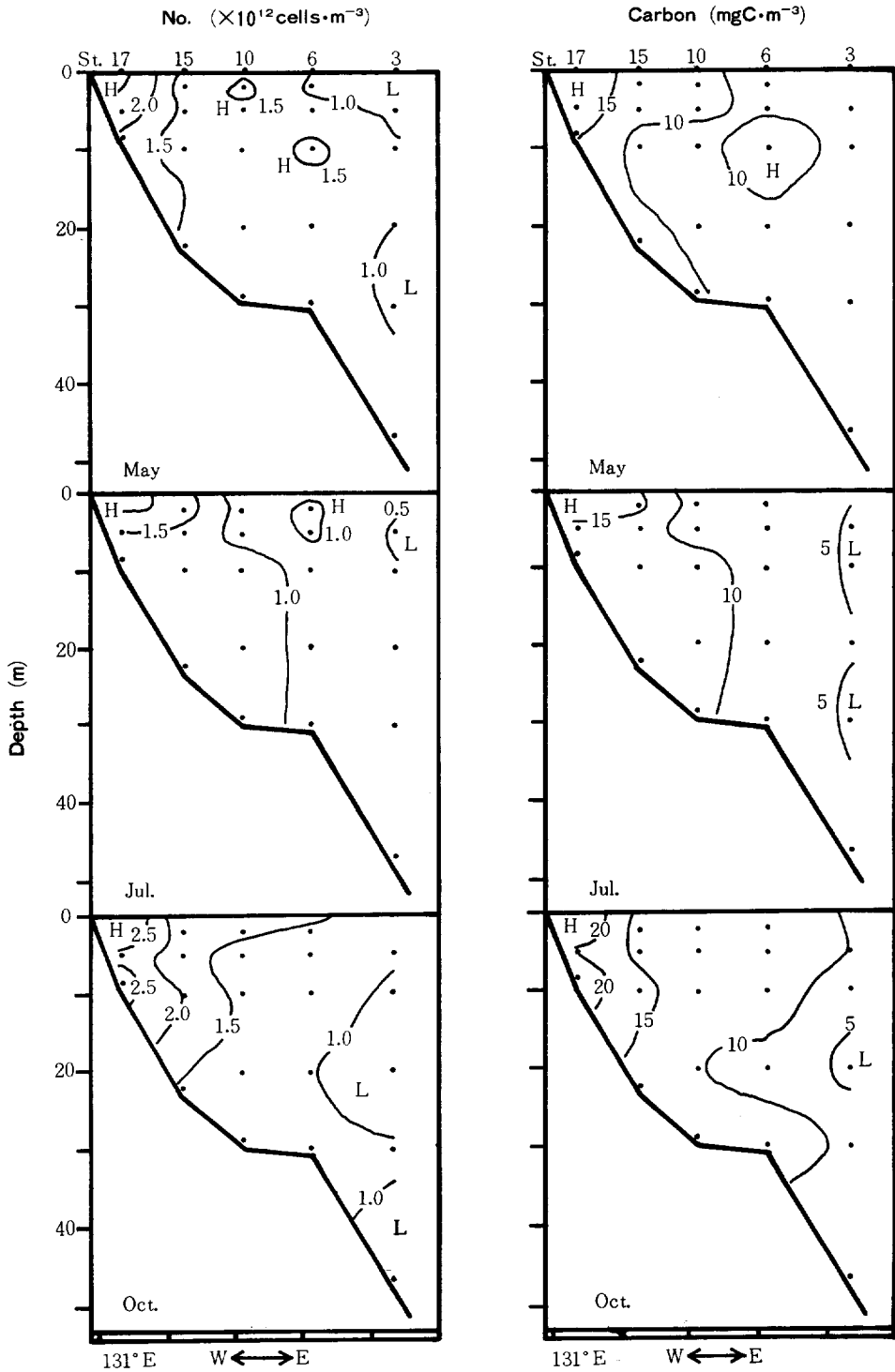


Fig. 7. Distribution of the bacterial cell number and the amount of carbon along the East-West section.



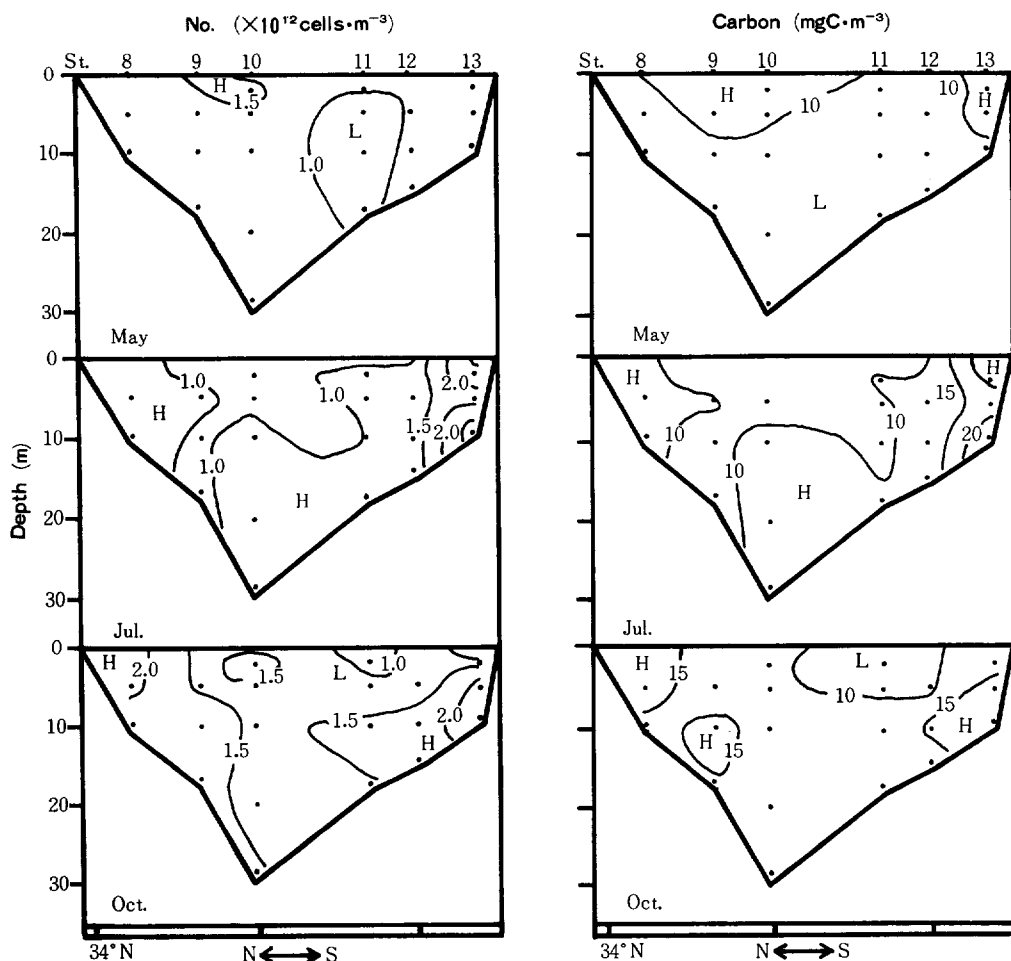


Fig. 8. Distribution of the bacterial cell number and the amount of carbon along the North-South section.

Table 3. Mean cell volume, cell number and biomass of bacteria in Suō-Nada, western Seto Inland Sea.

Date	Mean cell volume ( $\mu\text{m}^3$ )	Number ( $\times 10^{13}$ cells·m $^{-2}$ )	Biomass (carbon)	
			Water column (gC·m $^{-2}$ )	Areal total (ton C)
May	0.091 (n = 1096) #	2.57	0.204	632
Jul.	0.105 (n = 1175)	2.38	0.218	676
Oct.	0.098 (n = 1252)	2.72	0.233	722
Mean	0.098 (n = 3523)	2.56	0.218	677

# : The number of bacteria used for size determination

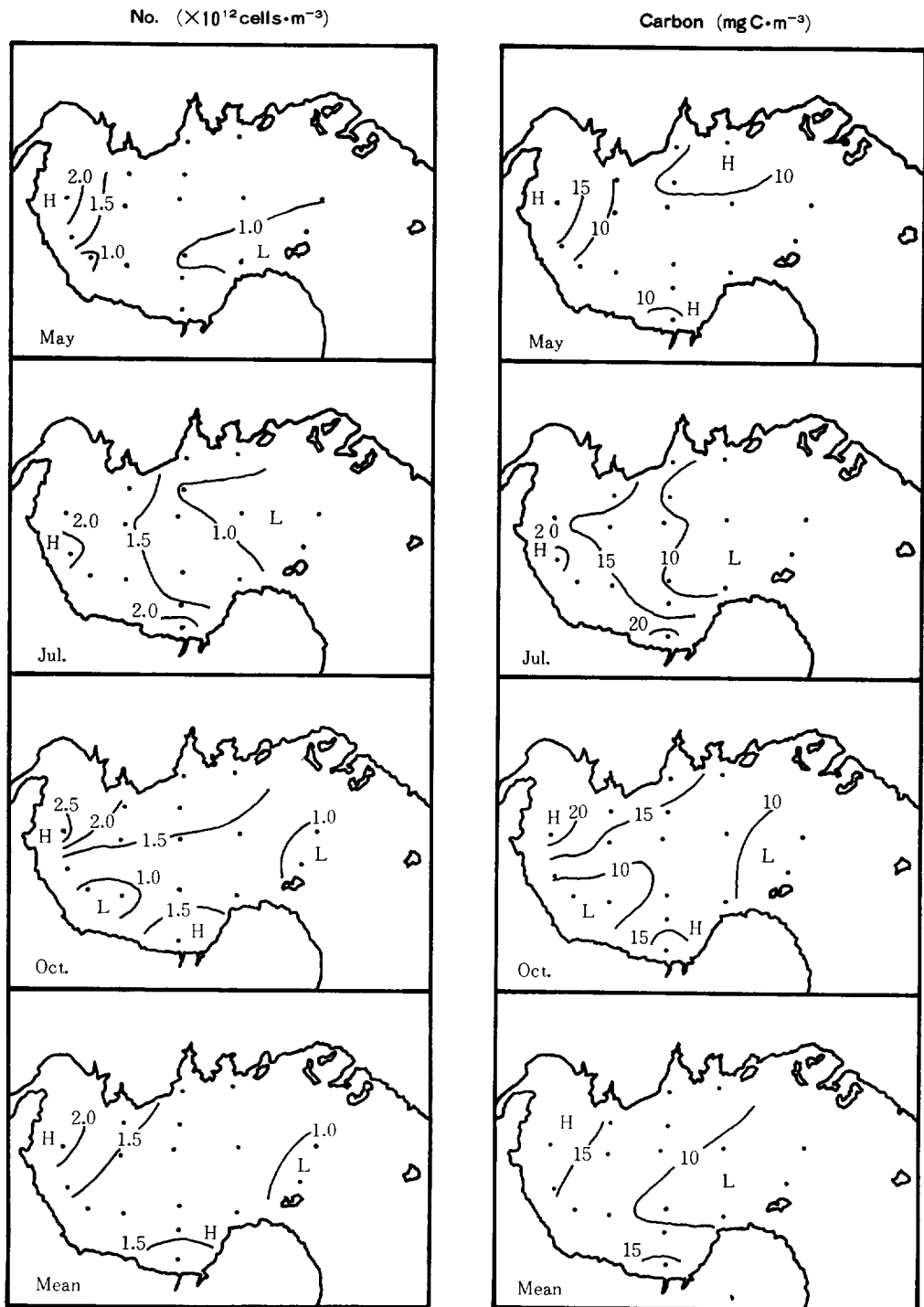


Fig. 9. Horizontal distribution of mean cell number and carbon of bacteria in water column.

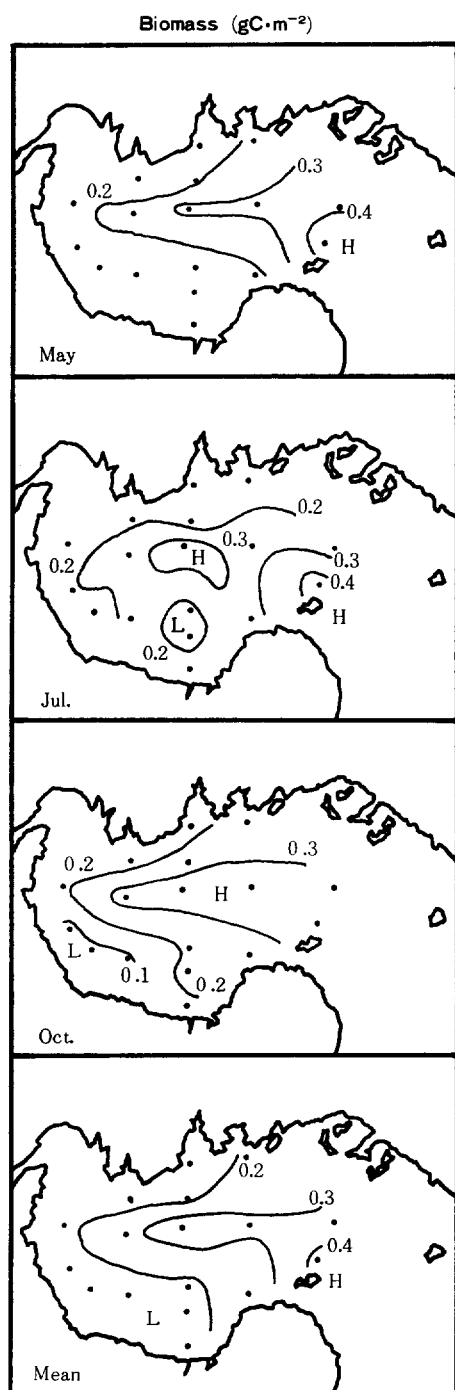


Fig. 10. Horizontal distribution of bacterial biomass in the amount of carbon under one square meter of water column.

単位面積あたりの細菌現存量 (Fig. 10) は、各時期とも若干の変動はあるが全体として水深に対応して変化し、沿岸域で少なく ( $0.1\text{-}0.2\text{gC}\cdot\text{m}^{-2}$ )、東部—中央部で多かった ( $0.2\text{-}0.4\text{gC}\cdot\text{m}^{-2}$ )。

周防灘における細菌の平均体積、細菌数および炭素量を、とりまとめて Table 3 に示した。3回の調査における各平均値はそれぞれ、 $0.098\ \mu\text{m}^3$ 、 $2.56 \times 10^{13}\ \text{cells}\cdot\text{m}^{-2}$  および  $0.218\text{gC}\cdot\text{m}^{-2}$  であった。周防灘の面積を  $3,100\text{km}^2$  (村上1976) とすると、灘全体の細菌現存量は炭素量にして約 677 トンと試算された。

## 考 察

海洋細菌の現存量の測定には、全細菌数と平均体積を組み合わせた方法が一般に広く用いられている (PEDRÓS-ALIÓ and BROCK 1982, RHEINHEIMER and SCHMALJOHANN 1983)。体積を算出する基礎となる細菌粒径の測定には、走査型電子顕微鏡 (SEM) (KRAMBECK *et al.* 1981) と蛍光顕微鏡 (FUHRMAN 1981) が主に使用されてきた。ただ SEM の場合、試料の脱水処理過程で細胞の収縮が起り、これが過小評価の原因になるという指摘がある (FUHRMAN 1981)。それに対し、蛍光顕微鏡による粒径測定は、SEM に比べ試料の前処理も簡単で、問題点も少なく、より正確なものとなるはずである。しかし、顕微鏡による高倍率でのマイクロメーターを用いた細菌細胞サイズの測定では、わずかな読み取り誤作でも体積換算では大きな誤差として反映され、正確な値を得るのがきわめて困難であるばかりか、多大な時間と労力も要求される。

これらの問題を解決するため、SEM 像を撮影し拡大した後、コンピューターを用いて体積を測定したり (KRAMBECK *et al.* 1981)、Acridine

Orange (AO) 染色を施した細菌の蛍光顕微鏡写真を画像解析装置にかけてサイズを測定する方法 (MAEDA and TAGA 1983) が採用されてきた。

本研究における細菌体積の測定法は、細菌試料の染色に DAPI を、また画像解析に蛍光顕微鏡カラースライド写真標本を用いたことに特徴がある。これまで一般的に用いられてきた AO 染色や白黒写真では、海水中にかなり多量に存在し細菌とサイズの近い小形の藍藻 (JOHNSON and SIEBURTH 1979) を細菌と区別することは非常に困難 (RHEINHEIMER and SCHMALJOHANN 1983) であるが、本報の方法では藍藻が橙色に見えて識別が容易である。また、試料中の細菌の粒子径分布も詳細に把握でき、種々の水域における細菌群の粒子径組成の相違等を、より高い精度で比較検討することもできよう。

他水域における細菌の平均体積については、 $0.06 \mu\text{m}^3$  (ZIMMERMANN 1977) から  $0.159 \mu\text{m}^3$  (PEDRÓS-ALIÓ and BROCK 1982) の範囲での報告がある。周防灘の各試料で得られた細菌の平均体積は  $0.041\text{--}0.126 \mu\text{m}^3$  の範囲にあり、全体の平均値は  $0.098 \mu\text{m}^3$  (球形換算直径  $0.57 \mu\text{m}$ ) であり、諸水域の測定値に近いものである。

VAN Es and MEYER-REIL (1982) は、自然水域における全細菌数の分布の特徴を総説し、河口域で  $5.0 \times 10^{12} \text{ cells} \cdot \text{m}^{-3}$  以上、沿岸域で  $1.0\text{--}5.0 \times 10^{12} \text{ cells} \cdot \text{m}^{-3}$ 、沖合で  $0.5\text{--}1.0 \times 10^{12} \text{ cells} \cdot \text{m}^{-3}$  と述べている。周防灘における全細菌数は  $0.45\text{--}3.03 \times 10^{12}$  (平均  $1.36 \times 10^{12} \text{ cells} \cdot \text{m}^{-3}$ ) であり、上述の区分に従うと、東部海域を除くほとんどの水域が沿岸域の範囲に属することになる。

水域の低次生産系における細菌の重要性を、細菌と植物プランクトンの現存量比によって評価したものがあつた。これによると、富栄養湖において細菌現存量は植物現存量の約10% (PEDRÓS-ALIÓ and BROCK 1982) と報告された例があり、一方湧昇域では細菌現存量が植物プランクトンのそれを上回る場合 (WATSON 1978) もある。周防灘における7月と10月の平均細菌現存量は各々  $12.30$  と  $12.44 \text{ mgC} \cdot \text{m}^{-3}$  であり (Table 2)、同時期に山口・安楽 (1984) が測定した植物プランクトン現存量 ( $51.6$  と  $69.6 \text{ mgC} \cdot \text{m}^{-3}$ ) の23.8%と17.9% (平均20.4%) を占めることになる。細菌は植物プランクトンよりもサイズが小さく、生体量あたりの代謝が大きいため当然 P/B 比が大きいはずである。したがって生産量の面からみると、植物プランクトンに対する比率は現存量の場合 (20.4%) よりも大きくなると推定され、低次生産過程において細菌は量的に相当重要な部分を占めていると考えられる。今後、さらに食物連鎖系への細菌の参入過程を、室内および野外を通じて明らかにしていくことが重要である。

## 摘 要

周防灘において1982年5月、7月および10月の3回、海洋細菌の粒子径組成と現存量について調査し、以下の知見を得た。

1. 細菌の粒子径は球形換算にして、直径  $0.2\text{--}1.0 \mu\text{m}$  の範囲にあり、その中で  $0.4\text{--}0.7 \mu\text{m}$  のものが全体の74—90%を占め、 $0.4 \mu\text{m}$  より小さいものは18%以下であつた。灘全体における細菌の平均粒径は  $0.57 \mu\text{m}$  である。

## 海洋細菌の粒子径と現存量

2. 各試料の細菌の平均体積は  $0.041-0.126 \mu\text{m}^3$  の範囲にあり、5月、7月および10月の体積は平均値でそれぞれ  $0.091$ 、 $0.105$  ならびに  $0.098 \mu\text{m}^3$  であった。3回の測定値を平均した灘全体の細菌の平均体積は  $0.098 \mu\text{m}^3$  である。

3. 細菌数は  $0.45-3.03 \times 10^{12} \text{cells} \cdot \text{m}^{-3}$ 、炭素量は  $3.8-25.5 \text{mgC} \cdot \text{m}^{-3}$  の範囲にあり、灘全体の平均値はそれぞれ、 $1.36 \times 10^{12} \text{cells} \cdot \text{m}^{-3}$  および  $11.53 \text{mgC} \cdot \text{m}^{-3}$  であった。細菌密度は一様でなく、灘東部から中央部水域にかけて少なく、沿岸水域に多く分布した。

4.  $1 \text{m}^2$ あたりの現存量は水深と対応し、沿岸域で少なく、東部—中央水域に多い。全域の平均現存量は  $0.218 \text{gC} \cdot \text{m}^{-2}$  であり、灘全体にして約677トン C と試算した。

5. 7月と10月の細菌の平均現存量が、植物プランクトンの約20%に相当したことは、細菌が海洋の低次生産の中で重要な位置を占めていることを示唆している。

## 謝 辞

本研究を進めるにあたり、画像解析法の開発に多大な御協力をいただいた南西海区水産研究所内海資源部の石岡清英、岸田達の両氏に心から感謝の意を表する。また、採水等の海上作業において御協力いただいた山口県内海水産試験場調査船みどり、および南西海区水産研究所調査船しらふじ丸の乗組員各位に厚く御礼申し上げる。さらに、本稿に対して懇切かつ有益な御指導と御助言を賜った京都大学農学部水産学科石田祐三郎教授、南西海区水産研究所赤潮部長安楽正照博士ならびに赤潮生物研究室長伊藤克彦博士に記して深謝する。

## 引用文献

- AZAM, F., T. FENCHEL, J. G. FIELD, J. S. GRAY, L. A. MEYER-REIL and F. THINGSTAD, 1983: The ecological role of water-column microbes in the sea. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **10**, 257-263.
- BOWDEN, W. B., 1977: Comparison of two direct-count techniques for enumerating aquatic bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.*, **33**, 1229-1232.
- VAN ES, F. B. and L. A. MEYER-REIL, 1982: Biomass and metabolic activity of heterotrophic marine bacteria. In "Advances in microbial ecology" vol. 6. ed. K. C. MARSHALL, Plenum Press, New York/London, 111-170.
- FENCHEL, T., 1982a: Ecology of heterotrophic microflagellates. I. Some important forms and their functional morphology. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **8**, 211-223.
- FENCHEL, T., 1982b: Ecology of heterotrophic microflagellates. IV. Quantitative occurrence and importance as bacterial consumers. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **9**, 35-42.
- FERGUSON, R. L. and P. RUBLEE, 1976: Contribution of bacteria to standing crop of coastal plankton. *Limnol. Oceanogr.*, **21**, 141-145.
- FUHRMAN, J. A., 1981: Influence of method on the apparent size distribution of bacterioplankton cells: Epifluorescence microscopy compared to scanning electron microscopy. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **5**, 103-106.

- HAAS, L. W. and K. WEBB, 1979: Nutritional mode of several non-pigmented microflagellates from the York River estuary, Virginia. *J. exp. mar. Biol. Ecol.*, **39**, 125-134.
- HOBBIE, J. E., R. J. DALEY and S. JASPER, 1977: Use of nucleopore filters for counting bacteria by fluorescence microscopy. *Appl. Environ. Microbiol.*, **33**, 1225-1228.
- 今井一郎・伊藤克彦, 1984: 1983年5月周防灘における従属栄養性微小鞭毛虫類の分布. *南西水研報*, (17), 219-233.
- JOHNSON, P. W. and J. McN. SIEBURTH, 1979: Chroococcoid cyanobacteria in the sea: A ubiquitous and diverse phototrophic biomass. *Limnol. Oceanogr.*, **24**, 928-935.
- KRAMBECK, C., H. J. KRAMBECK and J. OVERBECK, 1981: Microcomputer-assisted biomass determination of plankton bacteria on scanning electron micrographs. *Appl. Environ. Microbiol.*, **42**, 142-149.
- MAEDA, M. and N. TAGA, 1983: Comparison of cell size of bacteria from four marine localities. *La mer*, **21**, 207-210.
- 村上彰男, 1976: 瀬戸内海の海域生態と漁場, フジ・テクノシステム, 東京, 415p.
- PEDRÓS-ALIÓ, C. and T. D. BROCK, 1982: Assessing biomass and production of bacteria in eutrophic Lake Mendota, Wisconsin. *Appl. Environ. Microbiol.*, **44**, 203-218.
- PORTER, K. G. and Y. S. FEIG, 1980: The use of DAPI for identifying and counting aquatic microflora. *Limnol. Oceanogr.*, **25**, 943-948.
- RHEINHEIMER, G. and R. SCHMALJOHANN, 1983: Investigations on the influence of coastal upwelling and polluted rivers on the microflora of the northern Atlantic off Portugal. I. Size and composition of the bacterial population. *Bot. Mar.*, **26**, 137-152.
- SHERR, B. and E. SHERR, 1983: Enumeration of heterotrophic microprotozoa by epifluorescence microscopy. *Est. Coast. Shelf Sci.*, **16**, 1-7.
- WATSON, S. W. 1978: Role of bacteria in an upwelling ecosystem. In "Upwelling ecosystems" eds. R. BOJE and M. TOMCZAK, Springer-Verlag, Berlin/Heidelberg, 139-154.
- 山口峰生・安楽正照, 1984: 瀬戸内海西部周防灘における基礎生産について. *南西水研報*, (17), 135-149.
- ZIMMERMANN, R., 1977: Estimation of bacterial number and biomass by epifluorescence microscopy and scanning electron microscopy. In "Microbial ecology of a brackish water environment" Ecological studies 25, ed. G. RHEINHEIMER, Springer-Verlag, Berlin/Heidelberg/New York, 103-120.
- ZIMMERMANN, R., R. ITURRIAGA and J. BECKER-BIRCK, 1978: Simultaneous determination of the total number of aquatic bacteria and the number thereof involved in respiration. *Appl. Environ. Microbiol.*, **36**, 926-935.