

呉湾に発生した *Alexandrium tamarense* の麻痺性貝毒量および 毒成分組成の株間における変異

坂本 節子・小谷 祐一

Variation of Paralytic Shellfish Toxin Contents and Composition in *Alexandrium tamarense* Collected at Kure Bay, Hiroshima Prefecture

Setsuko Sakamoto and Yuichi Kotani

The contents and composition of paralytic shellfish toxins in 20 cultured strains of *Alexandrium tamarense* isolated from Kure Bay on 3 May and 17 May in 1996, were investigated by HPLC fluorometric analysis.

Toxin contents showed 4-fold difference among 19 strains isolated from the same seawater sample of Kure Bay on 3 May. Toxin contents of these strains ranged from 24.6–106.4 fmol/cell. The major toxins were GTX4 and C2 in most strains. The proportion of GTX4 and C2 to total toxins ranged 5.1–48.2 mol% and 36.3–75.6 mol%, respectively. As minor toxins, C1, GTX1, GTX3, GTX2, neoSTX and STX were detected; C1 and GTX3 were detected in all strains, GTX1 in 19 strains, GTX2 in 11 strains, neoSTX in 18 strains and STX in 3 strains, respectively.

Recently, some reports suggested that populations of toxic *Alexandrium* species could be distinguished by their toxin composition. In this study, the toxin composition showed wide variation and successive patterns among the tested strains isolated from the same seawater. This result suggests that it is difficult to distinguish populations only on the basis of the toxin composition.

Key words: paralytic shellfish toxins, *Alexandrium tamarense*, toxin contents, variation of toxin composition, Kure Bay

麻痺性貝毒は、水産物による致死性の食中毒の原因物質の一つとして日本のみならず世界各地で深刻な問題となっている。麻痺性貝毒による二枚貝類の毒化は、貝が *Alexandrium* 属や *Gymnodinium catenatum* などの有毒渦鞭毛藻を摂食することにより引き起こされる。近年、貝毒による被害防止のためのモニタリングシステムが世界各地で整備され、有毒渦鞭毛藻の出現状況に関する基礎的なデータが蓄積されつつある。それらの結果は、有毒渦鞭毛藻の分布が広がりつつあることを示しており、今後さらに貝毒発生海域が拡大することが懸念されている (Hallegraeff 1993, Hallegraeff 1995)。

日本では、麻痺性貝毒による貝の毒化の主要な原因種は *Alexandrium tamarense* および *A. catenella* である。前者は主に北部太平洋沿岸海域に、後者は主に西日本沿岸海域に出現するが、両者が共に出現する海域もある (福代 1985)。広島湾では1992年4月に *A. tamarense* が高密度に増殖し、カキ *Crassostrea gigas* やアサリ *Tapes japonica* が初めて毒化した (Asakawa *et al.* 1993)。その後も、広島湾では毎年春季に *A. tamarense* が大発生し、二枚貝類が毒化している。また、本海域では *A. tamarense* のシストも高密度に分布していたことから、今後も本種による貝毒の発生が予想されている (山口他 1995)。

貝の毒性や毒化に至るまでの時間は、有毒渦鞭毛藻の発生量だけでなく、その毒保持量や毒成分組成によっても影響されると考えられる。*Alexandrium* 属が生産する麻痺性貝毒量は、種や株 (Yentsch *et al.* 1978, Ogata *et al.* 1987a, Oshima *et al.* 1990, Kim *et al.* 1993a), 培養条件 (White 1978, Boyer *et al.* 1987, Ogata *et al.* 1987b, Anderson 1990), 増殖段階 (Kodama *et al.* 1982, Singh *et al.* 1982, Anderson 1990, Kim *et al.* 1993a), 発生海域 (Oshima *et al.* 1982, Kim *et al.* 1993b) などによって異なることが知られている。一方、*Alexandrium* 属のクローン株の毒成分組成は、明暗周期や増殖過程、栄養塩の濃度を問わずほぼ一定であり、安定した形質であることが報告されている (Boyer *et al.* 1987, Anderson 1990, 左子他 1992, Ishida *et al.* 1993, Kim *et al.* 1993a)。また、同じ種でも異なる海域から分離された株では異なる毒成分組成を示すことから、毒成分組成を指標とした個体群識別の可能性が示されている (左子他 1992)。

このことを利用して、水田・山田 (1995) は、呉湾で異なる年に発生した *A. tamarense* をそれらの毒成分組成から2つのタイプに群別できることを報告した。また、左子他 (1992) は、一つの *A. tamarense* のシストから異なる毒成分組成を持つ2株の栄養細胞を分離し、同一海域に異なる個体群が存在する可能性を示した。しかし、これまでに同一海域で出現した *A. tamarense* の株間における毒成分組成の変異について検討

した例は少ない。また、毒成分組成が異なる *A. tamarense* の栄養細胞の、同一海域における存在比は不明である。本研究では、1996年5月に呉湾で採取した海水から分離した20株の *A. tamarense* の麻痺性貝毒量および毒成分組成を分析し、その変異について検討した。

材料と方法

海水試料の採取および *Alexandrium tamarense* の分離と培養

採水海域を Fig. 1 に示す。1996年5月3日および17日に広島県呉湾の定点において採水バケツにより表層海水を採取した。持ち帰った海水から *A. tamarense* の栄養細胞をピペット洗浄法で分離し、滅菌海水で1回、次いで改変 SWM-III 培地 (Chen *et al.* 1969, 伊藤・今井 1987) で3回洗浄した後、1 ml の同培地を入れた24穴の培養プレートに1細胞ずつ移植した。これを15°C、約 $65 \mu\text{mol photon/m}^2/\text{s}$ 、14 h 明期: 10 h 暗期の条件下で培養した。増殖した *A. tamarense* 細胞を分取して10 ml の改変 SWM-III 培地に植え継いで培養株とした。得られた株は細胞の増殖が安定するまで約20日間の周期で植え継ぎを繰り返し、実験の予備培養とした。

麻痺性貝毒の分析

毒の分析に用いた *A. tamarense* 株の一覧を Table 1 に示す。これらの株の増殖が安定したところで培養液1 ml を15 ml の SWM-III 培地に

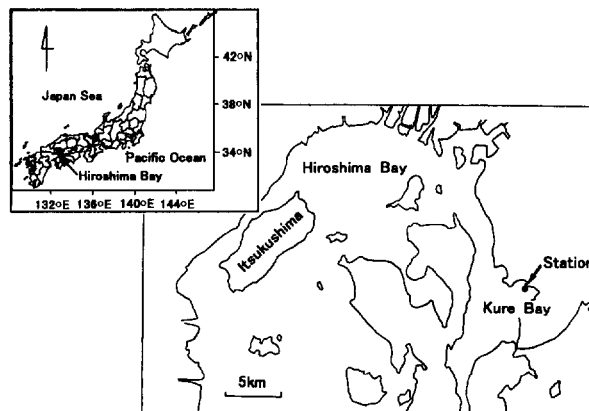


Fig. 1. Location of sampling station at Kure Bay of Hiroshima, Japan.

Table 1. Culture strains of *A. tamarensis* analyzed PSP toxins

Sampling Date	Depth(m)	Culture strains Name	Number
'96.5. 3.	0	TPS40~TPS58	19
'96.5.17.	0	TPS59	1

入った試験管に植え継ぎ、約 65 μ mol photon/m²/s, 15°C, 14 h 明期: 10 h 暗期の条件下で培養した。対数増殖期中期から後期に培養液 0.7 ml を分取して、等量の 5% グルタルアルデヒド溶液を加えて固定した。この固定試料中の *A. tamarensis* 細胞を顕微鏡下で計数して、培養液中の細胞密度を求めた。残りの培養液については、定容した後、遠心分離 (2,500 rpm, 15 min) して細胞を回収し、得られた細胞に 0.5N 酢酸を加えて -20°C で凍結した。これを融解し、冷却しながら超音波で 2 分間細胞を破碎した後、遠心分離 (3,000 rpm, 10 min) した。遠心上清をポアサイズ 0.5 μ m フィルター (サンプレップ-LCR, ミリポア社製) でろ過し、ろ液を HPLC 蛍光分析 (Oshima *et al.* 1989, Oshima 1995) に供した。ただし、N-スルホカルバモイルゴニオトキシン 2 および 3 (C1 および C2) の分析には Inertasil 5C8 カラム (4.6×250 mm) を用いた。

麻痺性貝毒標準品

HPLC 分析に用いた麻痺性貝毒標準品の内、ゴニオトキシン (GTX) 1~4 混液および C1, C2 混液は「貝毒標準品の製造、配布事業」により日本水産資源保護協会から配布されたものを用いた (日本水産資源保護協会 1996)。また、サキシトキシン (STX) およびネオサキシトキシン (neoSTX) の標準品は 1996 年 6 月に大分県猪串湾で毒化したヒオウギガイ *Chlamys nobilis* の中腸腺から常法に従って抽出、精製して調製した。すなわち、抽出した粗毒を Bio-Gel P-2 および Bio-Rex 70 を用いたカラムクロマトグラフィーで分画し (Kotaki *et al.* 1981)、得られた画分を TLC (Kotaki *et al.* 1981) および HPLC 蛍光分析法 (Oshima *et al.* 1989) でモニターしながら STX および neoSTX に相当する画分を得た。また、マウス毒性試験 (安元 1991) により、得られた画分に毒の活性があることを確認し

た。さらに、広島大学生物生産学部においてこれらの有毒画分の毒成分の同定および定量を行った後、各画分を neoSTX および STX の標準品として使用した。

結 果

培養株の増殖

Table 2 に分離した *A. tamarensis* の細胞数と得られた培養株数を示す。1996 年 5 月 3 日に呉湾で採取した海水から分離した 24 細胞の *A. tamarensis* のうち、20 株が増殖した。しかし、5 月 17 日に呉湾で採取した海水から同じ方法で分離した 24 細胞の *A. tamarensis* のうち、増殖したのは 2 株のみであった。得られた株はいずれも改変 SWM-III 培地でよく増殖した。細胞密度は接種後 16~20 日間で約 5,000~16,000 cells/ml まで達した。

細胞あたりの毒量

A. tamarensis の各株における細胞あたりの毒量を Fig. 2 に示す。麻痺性貝毒は、本実験に供

Table 2. Proportion of culturable *A. tamarensis* cells

Sampling Date	Culture Isolate	Culturable cell	Proportion (%)
'96.5. 3.	24	20	83
'96.5.17.	24	2	8

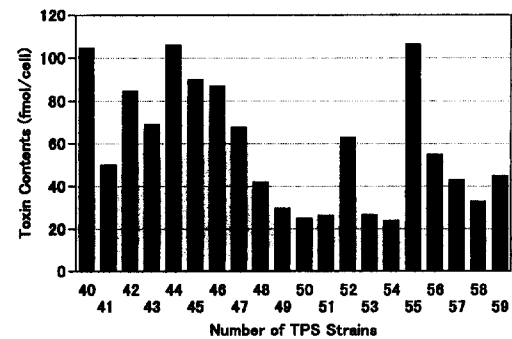


Fig. 2. Toxin contents of cultured *Alexandrium tamarensis* collected at Kure Bay.

The x-axis of graph shows the TPS strain number (name) of *A. tamarensis*. TPS40-TPS58 strains were isolated the same seawater sample on May 3 and TPS59 strain was isolated on May 17.

したすべての *A. tamarensis* 株から検出されたが、その毒量は株によって異なり、24.6 fmol/cell (TPS54 株) から 106.4 fmol/cell (TPS55 株) と、4 倍以上の差が認められた。

Fig. 3 に *A. tamarensis* の細胞あたりの毒量と毒

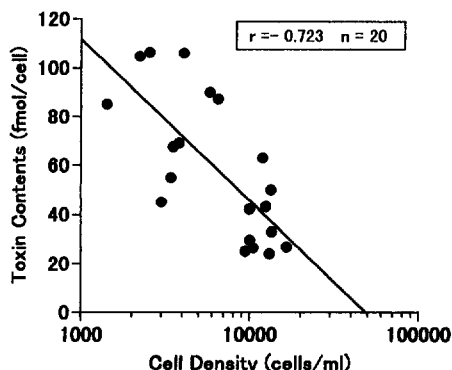


Fig. 3. Correlation between cell density and toxin contents of *Alexandrium tamarensis*.

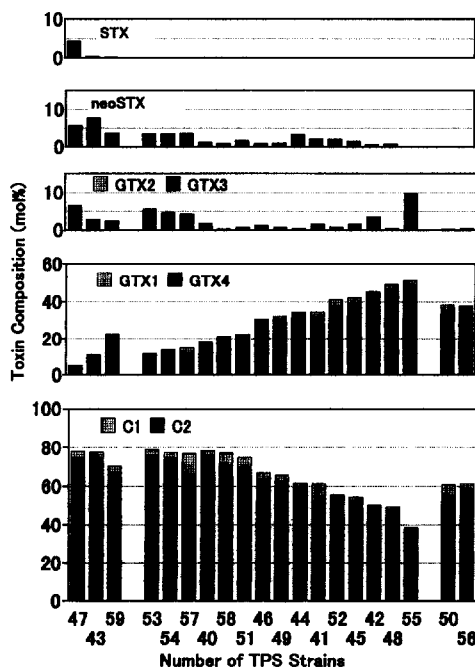


Fig. 4. Toxin composition of cultured *Alexandrium tamarensis*. The strains are arranged according to their characters of toxin composition, the presence of STX and/or neoSTX and the proportion of GTX4 + GTX1. The x-axis of graphs show the TPS strain number (name) of *A. tamarensis*.

の分析に供した培養液の細胞密度の関係を示す。両者の間には $r = -0.723$ で負の相関関係が認められた。すなわち、測定時の培養液の細胞密度が高かった株ほど *A. tamarensis* の細胞あたりの毒量は少ないという傾向を示した。

毒成分組成

呉湾の海水から分離した *A. tamarensis* の毒成分組成を Fig. 4 に示す。また、分析結果の一例として TPS47 株の HPLC 蛍光分析のクロマトグラムを Fig. 5 に示す。各株から検出された毒の主成分は GTX4 および C2 であった。C2 の α 異性体である C1 は、微量ながらすべての株で検出された。また、GTX4 の α 異性体である GTX1 は、TPS47 株を除くすべての株で微量成分として検出された。C2 + C1 および GTX4 + GTX1 の割合はそれぞれ 38.6 ~ 70.9 mol% および 5.1 ~ 51.5 mol% であり、ほとんどの株において C2 +

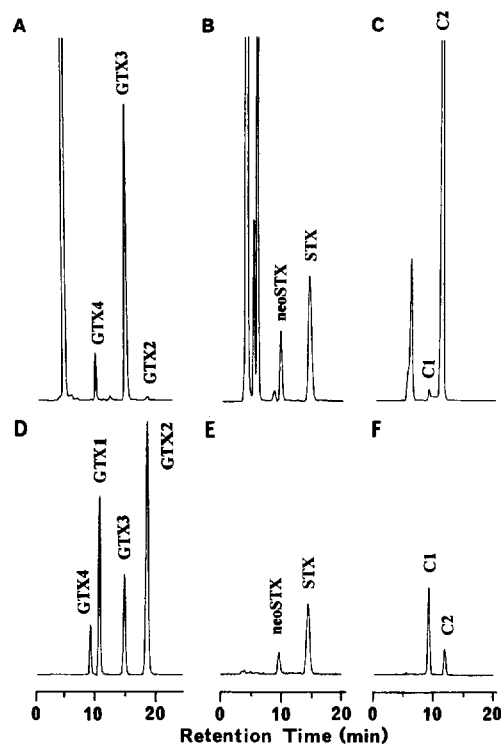


Fig. 5. Chromatograms of HPLC fluorometric analysis on the extract of *Alexandrium tamarensis* (TPS47 strain) isolated from seawater collected at Kure Bay. A, B and C: the extract of *A. tamarensis*, TPS47. D, E and F: standard toxins.

C1の割合がGTX4+GTX1のそれよりも高かった。これら4成分が全毒量に占める割合は、いずれの株においても80%以上を占めていた。GTX3, GTX2, neoSTX および STX は検出された場合でも微量であった。GTX3は0.4~9.5 mol%の範囲ですべての株から検出された。neoSTXはTPS50 および TPS56の2株を除く18株に0.1~7.8 mol%の範囲で検出された。STXはTPS43, TPS47 および TPS59 3株から検出されたが、いずれの株におてもその組成比が5%を超えることはなかった。また、各株の毒成分組成と毒量との関係は認められなかった (Fig. 2 および Fig. 4)。

考 察

培養株の増殖

貝の毒化原因の究明および毒化予知には、その海域に発生する有毒渦鞭毛藻の種や発生量とともに、渦鞭毛藻の増殖特性および毒生産量や毒成分組成等を明らかにする必要がある。

A. tamarensis の増殖は細胞の培養条件や生理的条件などによって影響を受けることが知られている (Anderson *et al.* 1984, Otaga *et al.* 1987b, 阿知波・岩崎 1990, 山本他 1995)。本研究では一定の条件下で *A. tamarensis* 株の分離・培養を試みた。しかし、5月3日に呉湾で採取した海水から分離した *A. tamarensis* 細胞の増殖率は83%であったのに対し、5月17日に採取した海水から分離した細胞のそれは8%であった (Table 2)。

この要因として、これらの株を分離したときの *A. tamarensis* 細胞の生理的状態の差異が考えられる。*A. tamarensis* の栄養細胞は無性的な二分裂によって増殖するが、増殖の盛んな時期に配偶子と思われるやや小型の細胞が出現し、有性生殖して運動性接合子となり、やがてシストを形成する (Anderson *et al.* 1983, 福代・Pholpunthin 1990)。1996年の呉湾における *A. tamarensis* の発生量は、4月末頃から細胞数が急速に増加し始め、5月9日に41 cells/mlのピークに達した後、急速に減少し、5月末には0.5 cells/ml以下まで減少してほとんど観察されな

くなった (広島水産試験場, 私信)。このような発生状況から考えると、5月3日の *A. tamarensis* は増殖初期の細胞であり、分離された細胞は無性的な分裂で増殖している栄養細胞であったと考えられるのに対し、細胞数の減少期にあたる5月17日に分離された細胞の多くは配偶子であった可能性がある。配偶子の増殖能力については不明な点が多いが、このような生活史のステージの変化に伴う細胞の生理的状態の変化が要因と考えられる細胞増殖能力の低下は、赤潮形成生物である *Heterosigma akashiwo* でも観察されている (Nagasaki *et al.* 1996)。

また、浜崎他 (1997) は、異なる年に呉湾で分離された *A. tamarensis* が異なる増殖特性を示したことを報告した。このことは増殖特性の異なる *A. tamarensis* が本海域に存在することを示している。これらの細胞がそれぞれの増殖に適した時期に発生する可能性は高いと考えられる。すなわち、5月17日に分離した細胞の多くが増殖しなかったのは、本研究の培養条件がこれらの細胞の増殖に適していなかったためであるとも考えられる。このことはまた、本研究で得られた *A. tamarensis* 株は似たような増殖特性をもつ株である可能性を示している。

株間における毒量の差

呉湾における *A. tamarensis* の細胞あたりの毒量には、24.1~106.4 fmol/cellの範囲で株によるばらつきが認められ、その差は約4倍であった。Anderson (1990) は北方海域で分離した *Alexandrium* spp. は南方のそれに比べて細胞あたりの毒量が多かったことを報告している。日本沿岸に発生した *A. tamarensis* の毒量について、Oshima *et al.* (1990) は北海道噴火湾の *A. tamarensis* の毒量を35~280 fmol/cell, Kim *et al.* (1993b) は岩手県大船渡湾の *A. tamarensis* の毒量を23.5~61.1 fmol/cellと報告している。呉湾の *A. tamarensis* の毒量は、北方に位置するこれらの海域の *A. tamarensis* と比較してもほぼ同じレベルであったことから、日本沿岸での海域による *A. tamarensis* の細胞あたりの毒量の差はほとんどないと考えられた。

株間における毒成分組成の変異

有毒渦鞭毛藻の毒成分組成は渦鞭毛藻自身の

遺伝的形質であり (Ishida *et al.* 1993), 個体群を識別するための一つの指標となる可能性が示されている (Anderson 1990, 左子他 1992)。本研究では STX や neoSTX などの微量成分が検出されなかった株があったものの, 呉湾の海水から分離した20株の *A. tamarense* によって生産された毒成分の種類はほとんど同じであった。しかし, 毒成分組成は株によって異なった。これらの株のうちのいくつかは STX や neoSTX が検出されなかったという点から他の株と識別することが可能かもしれない。しかし, STX や neoSTX は呉湾産の *A. tamarense* の毒成分の中では微量成分であるため, 分析の精度や検出限界を考慮した上で個体群を識別する指標として扱う必要がある。

Table 3 に1996年5月3日に呉湾の同一海水から分離した19株の *A. tamarense* の平均毒成分組成を示した。Oshima *et al.* (1990) は北海道噴火湾の海水より分離した多数の *A. tamarense* 株を分析し, neoSTX および C1+C2 の組成比がそれぞれ 30.1 ± 8.6 mol% および 24.4 ± 6.9 mol% であったと報告している。これらの値に比べて, 呉湾では neoSTX の組成比は 2.2 ± 2.0 mol% と低く, C1+C2 のそれは 65.8 ± 11.6 mol% と高かった点で, 噴火湾の *A. tamarense* の毒成分組成とは異なった。また, GTX4+GTX1 と C1+C2 が全毒量に占める割合は, 噴火湾の株では約60%

Table 3. Comparison of toxin composition (mol%) of *A. tamarense* collected at Kure Bay and Funka Bay

Toxins	Kure Bay	Funka Bay
GTX4 + GTX1	29.1 ± 13.4	39.5 ± 6.7
GTX3 + GTX2	2.6 ± 2.5	5.0 ± 2.8
dcGTX3	—	0.1 ± 0.1
neoSTX	2.2 ± 2.0	30.1 ± 8.6
STX	0.3 ± 1.0	1.6 ± 1.9
dcSTX	—	0.1 ± 0.1
C1 + C2	65.8 ± 11.6	23.4 ± 6.9
C3 + C4	—	0.2 ± 0.1

The data of Kure Bay show the average and standard deviation of 19 strains collected at May 3, 1996. The data of Funka Bay were modified from Oshima *et al.* (1990). dc: decarbamoyl. —: No data

であったのに対し, 呉湾の株では90%以上を占めた。本研究と Oshima *et al.* (1990) とでは *A. tamarense* の培養条件等が異なるが, 渦鞭毛藻が生産する毒成分組成が安定した形質であるとすれば, これらの毒成分組成の違いから噴火湾と呉湾の *A. tamarense* を異なる個体群として識別できる可能性がある。また, 呉湾の海水から分離された *A. tamarense* 株間における GTX4+GTX1 および C1+C2 の組成比の差は, 噴火湾のそれよりも大きかった。左子他 (1992) は, 天然の同一のシストから異なる毒成分組成を示す *A. tamarense* が出現したことから, 同一海域内に異なる毒成分組成の個体群が存在する可能性を示した。本研究において, 呉湾の *A. tamarense* の毒成分組成が多様であったことは, この海域内で少なくとも2つ以上の, 異なる毒成分組成をもつ個体群が混在していることを意味しているのかもしれない。

この点に関して, 水田・山田 (1995) は, 呉湾で発生した *A. tamarense* が2つのタイプの毒成分組成のパターンを示したことを報告した。タイプ1は GTX4 と neoSTX が多い株で本研究における TPS43 株の組成に相当し, タイプ2は GTX3 が多く neoSTX が少ないタイプで本研究では TPS55 株の組成に相当した。しかしながら, 呉湾にはこれら2つのタイプの中間的な毒成分組成を示す株が多数存在し, これらの株間の主要な毒成分組成の変異は連続的であった。したがって, これらの株を2群に分ける境界は明確ではなく, 同一海域内では毒成分組成をもとにした個体群の識別は非常に困難であると考えられた。

最近, 貝毒発生海域からの貝の移植や, 有毒渦鞭毛藻のシストが混入した船舶のバラスト水が, 有毒渦鞭毛藻の分布の広域化に関与していることが指摘されている (Hallegraeff 1993)。このような渦鞭毛藻の伝播を明らかにするためには, 渦鞭毛藻の個体群を識別することが必要となる。毒成分組成が安定した遺伝的な形質であり, 個体群を識別する指標となれば, 簡易な個体群の識別方法としての利用が期待できる。しかし, 本研究の結果は毒成分組成が同一海域内でも多様であり, 毒成分組成のパターンで個

体群を識別することが困難であることを示している。個体群を識別するには、さらに毒成分組成と遺伝的な変異あるいは増殖特性等との関係を明らかにしていく必要があるだろう。

本研究で分析した *A. tamarense* は一定の培養条件下で得られた株である。したがって、本研究の結果は、呉湾に発生した細胞のうちの、同様の培養条件下で増殖可能であった一部の細胞の毒成分組成を示しているに過ぎない。にもかかわらず、これらの *A. tamarense* 株の中に異なる毒成分組成の株が存在した。浜崎他 (1997) が示したように、本海域には異なる増殖特性をもつ *A. tamarense* が存在する可能性があることから、天然の *A. tamarense* の毒成分組成は本研究で得られた結果よりもさらに多様であると推測される。

また、このように毒成分組成の異なる有毒渦鞭毛藻が出現する海域では、どのような割合でそれらが出現するかによって、それらを餌とする貝に蓄積される毒量や毒成分組成も異なると考えられる。したがって、天然における有毒渦鞭毛藻の毒成分組成の推移を知ることは、貝による毒の蓄積量や蓄積速度等の毒化メカニズムを解明する上で有用な情報となるだろう。

謝 辞

本研究の遂行にあたり、ヒオウギガイ試料を提供していただいた大分県海洋水産研究センターの岩野英樹氏および堤憲太郎氏、麻痺性貝毒標準品の検定をしていただいた広島大学生物生産学部の宮澤啓輔博士および浅川学博士に厚く御礼申し上げます。また、麻痺性貝毒の分析システムの設定に御協力いただいた広島大学生物生産学部の松田治博士および山本民次博士に心より感謝申し上げます。南西海区水産研究所赤潮環境部長の前田昌調博士には本稿の校閲ならびに助言を賜った。ここに記して深謝の意を表す。

文 献

Anderson, D. M. 1990: Toxin variability in *Alexandrium* species. In "Toxic Marine Phytoplankton" (eds. by

- E. Granéli, B. Sundström, L. Edler and D. M. Anderson), Elsevier, Amsterdam, 41-51.
- Anderson, D. M., S. W. Chisholm and C. J. Watras, 1983: Importance of life cycle events in the population dynamics of *Gonyaulax tamarensis*. *Mar. Biol.*, **76**, 179-189.
- Anderson, D. M., D. M. Kulis and B. J. Binder, 1984: Sexuality and cyst formation in the dinoflagellate *Gonyaulax tamarensis*: Cyst yield in batch cultures. *J. Phycol.*, **20**, 418-425.
- Asakawa, M., K. Miyazawa and T. Noguchi, 1993: Studies on paralytic shellfish poison (PSP) toxification of bivalves, in association with appearance of *Alexandrium tamarense*, in Hiroshima Bay, Hiroshima Prefecture. *J. Food Hyg. Soc. Japan*, **34**(1), 50-54.
- 阿知波英明・岩崎英雄, 1990: 有毒渦鞭毛藻 *Alexandrium tamarense* の増殖特性, 藻類, **38**, 51-59.
- Boyer, G. L., J. J. Sullivan, R. J. Andersen, P. J. Harrison and F. J. R. Taylor, 1987: Effects of nutrient limitation on toxin production and composition in the marine dinoflagellate *Protogonyaulax tamarensis*. *Mar. Biol.*, **96**, 123-128.
- Chen, L. C.-M., T. Edelstein and J. McLachlan, 1969: *Bonnemaisonia hamifera* in nature and in culture. *J. Phycol.*, **5**, 211-220.
- 福代康夫, 1985: 分類と分布, 「貝毒プランクトン—生物学と生態学」(福代康夫編), 水産学シリーズ 56, 恒星社厚生閣, 東京, 19-30.
- 福代康夫・P. Pholpunthin, 1990: 渦鞭毛藻綱ベリディニウム目ゴニオラックス科 *Alexandrium tamarense* (Lebour) Balech, 「日本の赤潮生物」, 日本水産資源保護協会, 内田老鶴園, 東京, 94-95.
- Hallegraeff, G. M., 1993: A review of harmful algal blooms and their apparent global increase. *Phycologia*, **32**(2), 79-99.
- Hallegraeff, G. M., 1995: Harmful algal blooms: A global overview. In "Manual on Harmful Marine Microalgae" (eds. by G. M. Hallegraeff, D. M. Anderson and A. D. Cembella), IOC Manuals and Guides No. 33. UNESCO, 1-22.
- 浜崎恒二・堀江美知子・田口 哲, 1997: 広島湾で分離された *Alexandrium tamarense* の増殖特性と毒組成, 1997年度日本海洋学会春季大会講演要旨集, 299.
- Ishida, Y., C.-H. Kim, Y. Sako, N. Hirooka and A. Uchida, 1993: PSP toxin production is chromosome dependent in *Alexandrium* spp. In "Toxic Phytoplankton Blooms in the Sea" (eds. by T. J. Smayda and Shimizu), Elsevier, Amsterdam, 881-887.

- 伊藤克彦・今井一郎, 1987: ラフィド藻. 「赤潮生物研究指針」(日本水産資源保護協会編), 秀和, 東京, 122-130.
- Kim, C.-H., Y. Sako and Y. Ishida, 1993a: Variation of toxin production and composition in axenic cultures of *Alexandrium catenella* and *A. tamarense*. *Nippon Suisan Gakkaishi*, **59**(4), 633-639.
- Kim, C.-H., Y. Sako and Y. Ishida, 1993b: Comparison of toxin composition between populations of *Alexandrium* spp. from geographically distant areas. *Nippon Suisan Gakkaishi*, **59**(4), 641-646.
- Kodama, M., Y. Fukuyo, T. Ogata, T. Igarashi, H. Kamiya and F. Matsuura, 1982: Comparison of toxicities of *Protogonyaulax* cells of various sizes. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, **48**(4), 567-571.
- Kotaki, Y., Y. Oshima and T. Yasumoto, 1981: Analysis of paralytic shellfish toxins of marine snails. *Nippon Suisan Gakkaishi*, **47**, 943-946.
- 水田満里・山田圭一, 1995: 広島県海域における麻痺性貝毒の原因プランクトン *Alexandrium tamarense* の毒成分, 広島県保健環境センター研究報告, **3**, 7-11.
- Nagasaki, K., S. Itakura, I. Imai, S. Nakagiri and M. Yamaguchi, 1996: The disintegration process of a *Heterosigma akashiwo* (Raphidophyceae) red tide in northern Hiroshima Bay, Japan, during the summer of 1994. In "Harmful and Toxic Algal Blooms" (eds. by T. Yasumoto, Y. Oshima and Y. Fukuyo), Intergovernmental Oceanographic Commission of UNESCO, 251-254.
- 日本水産資源保護協会, 1996: 「平成7年度 有害藻類対策支援検討事業 貝毒標準品の製造, 配布事業報告書」
- Ogata, T., M. Kodama and T. Ishimaru, 1987a: Toxin production in the dinoflagellate *Protogonyaulax tamarensis*. *Toxicon*, **25**(9), 923-928.
- Ogata, T., T. Ishimaru and M. Kodama, 1987b: Effect of water temperature and light intensity on growth rate and toxicity change in *Protogonyaulax tamarensis*. *Mar. Biol.*, **95**, 217-220.
- Oshima, Y., 1995: Post-column derivatization HPLC methods for paralytic shellfish poisons. In "Manual on Harmful Marine Microalgae" (eds. by G. M. Hallegraeff, D. M. Anderson and A. D. Cembella), IOC Manuals and Guides No. 33. UNESCO, 81-111.
- Oshima, Y., T. Hayakawa, M. Hashimoto, Y. Kotaki, and T. Yasumoto, 1982: Classification of *Protogonyaulax tamarensis* from northern Japan into three strains by toxin composition. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, **48**(6), 851-854.
- Oshima, Y., K. Sugino and T. Yasumoto, 1989: Latest advances in HPLC analysis of paralytic shellfish toxins. In "Mycotoxins and Phycotoxins '88" (eds. by S. Natori, K. Hashimoto, Y. Ueno), Elsevier, Amsterdam, 319-326.
- Oshima, Y., K. Sugino, H. Itakura, M. Hirota and T. Yasumoto, 1990: Comparative studies on paralytic shellfish toxin profile of dinoflagellates and bivalves. In "Toxic Marine Phytoplankton" (eds. by E. Granéli, B. Sundström, L. Edler and D. M. Anderson), Elsevier, Amsterdam, 391-396.
- 左子芳彦・金昌勲・石田祐三郎, 1992: 麻痺性貝毒の起源—海産渦鞭毛藻 *Alexandrium* 属, 化学と生物, **30**(11), 726-734.
- Singh, H. T., Y. Oshima and T. Yasumoto, 1982: Growth and toxicity of *Protogonyaulax tamarensis* in axenic culture. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, **48**(9), 1341-1343.
- White, A. W., 1978: Salinity effects on growth and toxin content of *Gonyaulax excavata*, a marine dinoflagellate causing paralytic shellfish poisoning. *J. Phycol.*, **14**, 475-479.
- 山口峰生・板倉茂・今井一郎, 1995: 広島湾海底泥における有毒渦鞭毛藻 *Alexandrium tamarense* および *Alexandrium catenella* シストの現存量と水平・鉛直分布, 日本誌, **61**(5), 700-706.
- 山本民次・吉津祐子・樽谷賢治, 1995: 三河湾産有毒渦鞭毛藻 *Alexandrium tamarensis* の増殖に及ぼす水温, 塩分及び光強度の影響, 藻類, **43**, 91-98.
- 安元 健, 1991: 麻痺性貝毒. 「食品衛生検査指針, 理化学編」(厚生省生活衛生局監修), 日本食品衛生協会, 東京, 300-305.
- Yentsch, C. M., B. Dale and J. W. Hurst, 1978: Coexistence of toxic and nontoxic dinoflagellates resembling *Gonyaulax tamarensis* in New England coastal waters (NW Atlantic). *J. Phycol.*, **14**, 330-332.

1997年12月15日受理 (Accepted on December 15, 1997)

南西海区水産研究所業績 A 第69号 (Contribution No. A69 from the Nansei National Fisheries Research Institute)

坂本節子 (科学技術振興事業団特別研究員)・小谷祐一: 南西海区水産研究所 〒739-0452 広島県佐伯郡大野町丸石2-17-5 (S. Sakamoto; Japan Science and Technology Corporation, Domestic Research Fellow, and Y. Kotani: Nansei National Fisheries Research Institute, 2-17-5 Maruishi, Ohno, Saeki, Hiroshima 739-0452, Japan)