

夏季の英虞湾における有害赤潮渦鞭毛藻 *Heterocapsa circularisquama* 殺藻微生物の変動

今井 一郎・中桐 栄・永井 清仁・長崎 慶三・板倉 茂・山口 峰生

Fluctuations of algicidal microorganisms against the harmful dinoflagellate *Heterocapsa circularisquama* in Ago Bay, Mie Prefecture, Japan

Ichiro Imai, Sakae Nakagiri, Kiyohito Nagai, Keizo Nagasaki,
Shigeru Itakura and Mineo Yamaguchi

In Ago Bay, Mie Prefecture, red tides of the harmful dinoflagellate *Heterocapsa circularisquama* have recurrently occurred since 1992 and have caused mass mortality of pearl oysters (to do substantial damage to pearl industry). Studies on killer microorganisms against *H. circularisquama* were carried out for water samples collected in Ago Bay in summer using the newly developed microplate MPN method.

A comparison was made on the numbers of killer microorganisms against *Chattonella antiqua*, *Heterosigma akashiwo*, *Gymnodinium mikimotoi*, and *H. circularisquama* using a water sample collected on 16 August 1994, when a red tide of *H. circularisquama* was observed. The water sample contained *H. circularisquama* at a density of about 8000 cells · ml⁻¹. Killer microorganisms against all the four algal species were scarce (< 1 · ml⁻¹).

Temporal fluctuations of algicidal microorganisms against *H. circularisquama* and *C. antiqua* (Raphidophyceae) were investigated during the summer of 1995 to elucidate effects of those microorganisms on *H. circularisquama* red tides. Killer microorganisms against *H. circularisquama* were scarce (< 1 · ml⁻¹) during the summer of 1995, although vegetative cells of *H. circularisquama* appeared at rather high density (1493 cells · ml⁻¹). (Stn. K3W). Killer microorganisms against *C. antiqua* were also scarce (maximum 1.52 · ml⁻¹).

Red tides of *H. circularisquama* tend to last 1 month or more. It is suggested that the scarcity of killer microorganisms against *H. circularisquama* in the coastal seas such as Ago Bay presumably contribute to maintain red tides of this species for rather long period.

Key words: red tide, *Heterocapsa circularisquama*, algicidal bacteria, viruses, Ago Bay

我が国沿岸水域においてこれまでに頻繁に赤潮を形成し、養殖魚類の大量斃死等の漁業被害を与えてきた代表的な赤潮生物としては、ラフィド藻の *Chattonella antiqua* (Hada) Ono, *Chattonella marina* (Subrahmanyam) Hara et Chihara, *Heterosigma akashiwo* (Hada) Hada ex Hara et Chihara, 渦鞭毛藻の *Gymnodinium mikimotoi* Miyake et Kominami ex Oda 等が挙げられる。しかしな

がら、近年西日本を中心に、真珠貝やアサリ、カキ等の二枚貝類を大量に斃死させてこれらの養殖漁業に大被害を与える、従来のもとは異なるタイプの赤潮（原因生物は渦鞭毛藻の1種 *Heterocapsa circularisquama* Horiguchi）が起こるようになってきた（山本・田中 1990, Horiguchi 1995, 松山ほか 1995, 1997, Matsuyama *et al.* 1997, Nagai *et al.* 1996）。また、これまで発生が

確認されていなかった海域で、本種は突然赤潮を形成して被害を与えた。例えば 1997年9月に、福井県小浜湾において赤潮を引き起こし真珠貝に被害を与えたことは記憶に新しいところである。以上のように、本種による赤潮被害は増加傾向にあることから、赤潮の発生や消滅の機構に関する研究成果の蓄積が待たれている。

赤潮の発生～消滅の過程においては、種々の要因が影響を及ぼしている。しかしながら海域における赤潮生物に対して、細菌やウイルス等の微生物が与える影響に関しては、研究が少ないのが現状である。特に海産の鞭毛藻類に関しては培養の困難なものが多く、また淡水産の藍藻や緑藻においては有効に使用できる寒天重層法 (Safferman and Morris 1963, 山本 1978) が殆ど適用できず (長崎・今井 1994), 研究は大変に困難な状況にあったといえる。しかし近年、これらの固相培養の困難な (寒天培地上で増殖できない) 海産の鞭毛藻に対して殺藻作用を発揮する微生物の検出・計数法 (マイクロプレート MPN 法) が考案された (Imai *et al.* 1998)。

本研究においては、まず、*H. circularisquama* 赤潮が発生している海水を用いて、本種ならびに他の3種の赤潮生物 (*C. antiqua*, *H. akashiwo*, *G. mikimotoi*) に対する当該海水試料中の殺藻微生物による殺藻作用をマイクロプレート MPN 法によって比較した。次に、*H. circularisquama* が1992年に大発生して真珠貝が大量斃死し、その後も頻りに赤潮が発生している三重県の英虞湾を対象に、マイクロプレート MPN 法を用いて *H. circularisquama* を殺滅する微生物の検出・計数を行い、本藻と殺藻微生物の関係を調べた。

材料および方法

供試生物

本研究で用いた *H. circularisquama* のクローン株 (HA92-1) は、1992年12月に三重県英虞湾の海水から、マイクロピペット洗浄法により分離されたものである。本藻の細胞内には細菌が存在しており (Horiguchi 1995), 洗浄によっても

細菌は除去できないので、本クローン株は厳密な意味において無菌培養ではない。本クローン培養株の細胞内細菌は、僅かずつではあるが培養中に細胞外へと放出される。しかし、本藻が良好に増殖している培養の中では $10^5 \sim 10^6$ 細胞・ ml^{-1} 程度の密度でしか遊離・浮遊しておらず、また種々の細菌用培地中で増殖できず、分離も不可能であった (牧・今井 1997)*¹。他に用いた有害赤潮鞭毛藻は、*C. antiqua* (NIES-1株, 環境庁国立環境研究所より分譲された無菌クローン株), *H. akashiwo* (893株, 1989年3月の広島湾海底泥より分離された1個のシストから発芽した細胞から確立した無菌培養株, Imai *et al.* 1993b), および *G. mikimotoi* (G303株, 1985年夏季に周防灘より分離した無菌クローン株, Yamaguchi 1992) である。

H. circularisquama 赤潮海水中の殺藻微生物の計数

1994年8月16日に、Fig. 1に示した英虞湾の鵜方地先の定点 Stn. U (水深約 1.5 m, 水温 30°C) において *H. circularisquama* の赤潮 (細胞密度約 8000細胞 ml^{-1}) が観察された。その海水試料を三重県水産技術センターより冷蔵送付してもらい、マイクロプレート MPN 法 (Fig. 2) を用いて、*H. circularisquama*, *C. antiqua*, *G. mikimotoi*, ならびに *H. akashiwo* を対象に殺藻微生物の検出・計数を行った。

改変 SWM-3 培養液 (Chen *et al.* 1969, 伊藤・今井 1987) 中で良好に増殖した上記4種の赤潮鞭毛藻の前培養を、新しい培養液で5倍に希釈し、その 0.5 ml ずつを組織培養用マイクロプレート (48ウェル, Costar 社製) の各ウェルに接種した。

本研究のための試水は、冷蔵送付により採取の翌日午前中に入手し、直ちに以下の処理を行った。細菌およびそれ以下のサイズの微生物を得るために、孔径 0.8 μm の Nuclepore filter を用いて試水を濾過した。この濾過試水を 10^0 液とした。滅菌海水を用いて順次10倍希釈し、各希釈段階試料を各々の赤潮鞭毛藻が接種されているマイクロプレートの各ウェルに 0.5 ml ずつ接

*¹ 牧 輝弥・今井一郎, 1997: 有害渦鞭毛藻 *Heterocapsa circularisquama* の増殖と細胞内細菌の変動. 平成9年度日本水産学会秋季大会講演要旨集, p. 100.

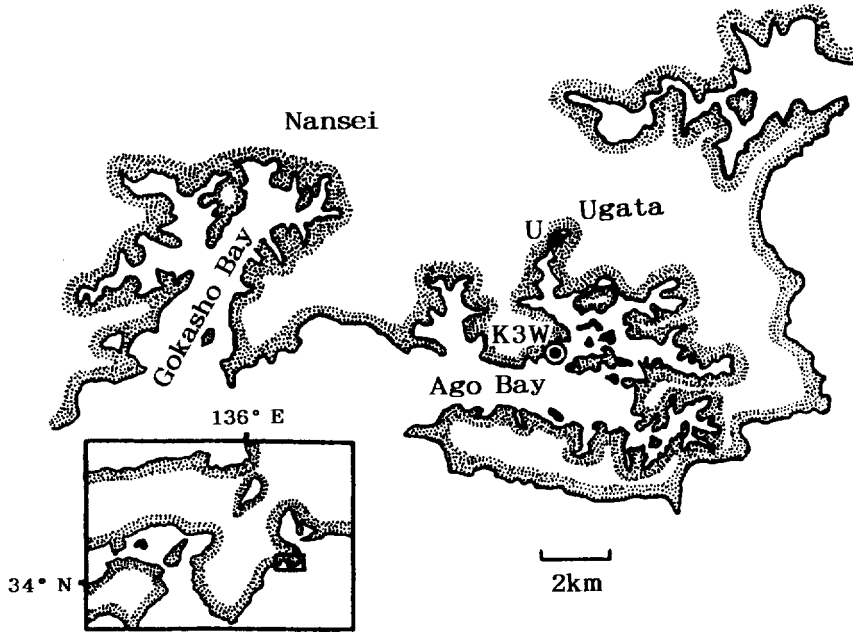


Fig. 1. Location of the sampling stations (Stns. U and K3W) in Ago Bay, Mie Prefecture.

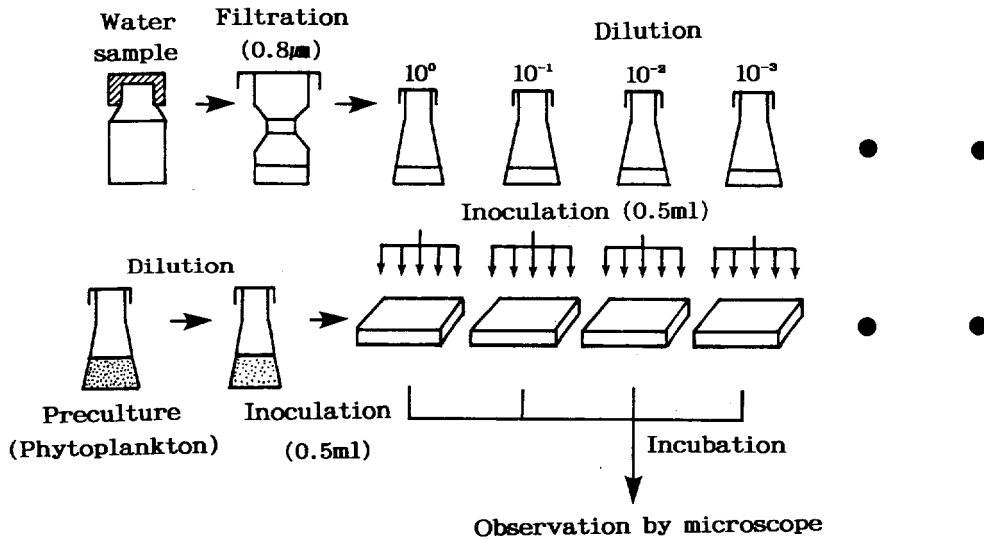


Fig. 2. Procedures of the microplate MPN method for the enumeration of killer microorganisms that are lethal to red tide flagellates in seawater samples.

種した。各希釈段階について1枚のマイクロプレートを用い、*H. circularisquama* においては4枚 (10⁰~10⁻³ 希釈)、他の鞭毛藻では3枚のマイクロプレート (10⁰~10⁻² 希釈) を実験に用い

た。培養温度は 22°C、光条件は、光強度約 50 μmol·m⁻²·sec⁻¹、明暗周期 14 hL: 10 hD とした。コントロールとして、0.8 μm 濾過試水をオートクレーブして各々の赤潮鞭毛藻に加えて培養し

たものを設定した。本実験の開始時における細胞密度は、*C. antiqua* で5100細胞・ ml^{-1} 、*H. akashiwo* で52000細胞・ ml^{-1} 、*G. mikimotoi* で3300細胞・ ml^{-1} 、*H. circularisquama* では28000細胞・ ml^{-1} であった。培養開始後、5、10、15、および18日目に倒立顕微鏡を用いて観察を行い、各ウェル中の鞭毛藻の死滅/生存の様子を記録した。*C. antiqua*、*H. akashiwo*、*G. mikimotoi* においては、各ウェルの中で細胞の大部分(99%以上)が死滅したもの(細胞が破裂)を陽性とした。*H. circularisquama* では上記3種のようにほぼ完全に死滅してしまう事が殆ど無かったので、ウェルの中の細胞の大部分(約80%程度以上)が死滅し、あるいは運動が停止してテンポラリーリスト(内田・板倉 1995) 状になった場合を陽性とした(Fig. 3)。各希釈段階における陽性数の組合せから、コンピューターを用いて殺藻微生物の最確数の計算を行った(西原他 1986, Koch 1994)。

夏季の英虞湾海水中的殺藻微生物の計数

1995年7月3日、24日、8月7日、21日、9月4日、18日の計6回、Fig. 1に示した英虞湾の定点 Stn. K3W(水深約22 m) から表層水を取得、マイクロプレートMPN法(Fig. 2)により、*H. circularisquama* に対する殺藻微生物の計数を行った。同時に比較対照として、*C. antiqua* 殺藻微生物の計数も実施した。

試水は、三重県のみきもと真珠研究所より冷

蔵送付によって試料採取の翌日午前中までに入手した。実験の手順は既述した通りである。本実験においては、孔径0.8 μm および0.2 μm のNuclepore filter を用いて試水を濾過し、2通りの粒子径画分を調製した。孔径0.8 μm の濾過試水は細菌とウイルスを、孔径0.2 μm のものはウイルスを主対象として調製した。培養温度は22°C、光条件は、光強度90~120 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{sec}^{-1}$ 、明暗周期14 hL:10 hDである。この培養条件下で、本種は良好に増殖できる(Yamaguchi *et al.* 1997)。実験開始時における *H. circularisquama* の細胞密度は概ね $1\times 10^4\sim 5\times 10^4\cdot\text{ml}^{-1}$ 程度であった。培養開始後5日間隔で15日目まで倒立顕微鏡を用いて観察を行い、各ウェル中の *H. circularisquama* の死滅/生存の様子を記録した。各希釈段階における陽性数の組合せから、殺藻微生物の最確数を求めた。

結果および考察

H. circularisquama 赤潮海水中的殺藻微生物の計数

1994年8月16日の Stn. U における *H. circularisquama* の赤潮海水試料(細胞密度約8000細胞・ ml^{-1})中に存在した *C. antiqua*、*G. mikimotoi*、*H. akashiwo*、ならびに *H. circularisquama* に対する殺藻微生物をマイクロプレートMPN法を用いて計数した結果をFig. 4に示した。

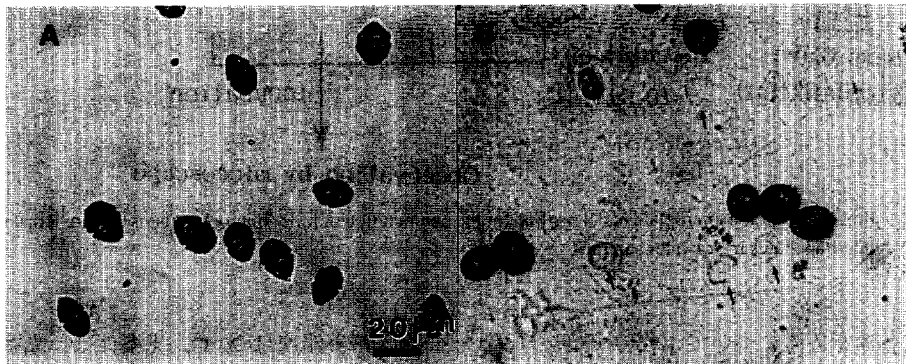


Fig. 3. Microscopic observations on algicidal activity of killer microorganisms against *Heterocapsa circularisquama*. A: Live cells of *H. circularisquama*. B: Deformed cells of *H. circularisquama* to spherical form that was caused by algicidal microorganisms in seawater sample. Empty thecae (arrows) are also visible.

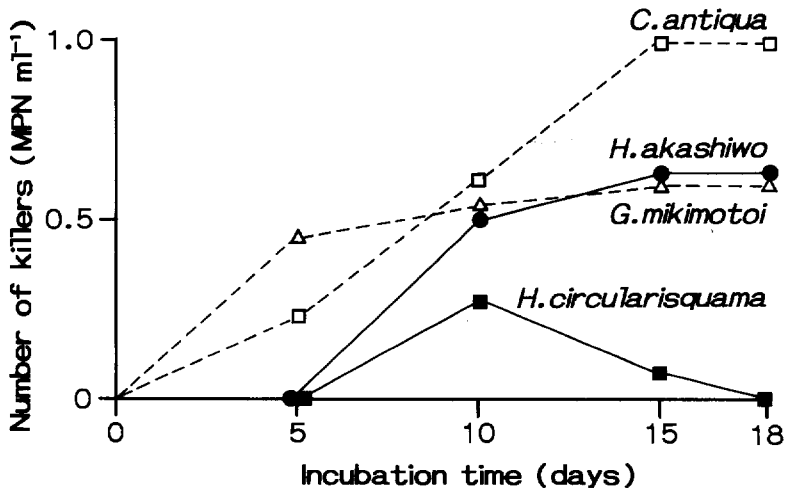


Fig. 4. Temporal changes in the numbers (MPNs) of killer microorganisms against *Chattonella antiqua*, *Heterosigma akashiwo*, *Gymnodinium mikimotoi*, and *Heterocapsa circularisquama* in the surface water sample collected at Stn.U on 16 August 1994 in Ago Bay, Mie Prefecture, Japan. The water sample contained *H. circularisquama* as the most dominant red tide organism at a density of about 8000 cells · ml⁻¹.

C. antiqua, *G. mikimotoi*, *H. akashiwo* に対して陽性を示したウェル数は、マイクロプレートの培養日数の経過と共に順調に増加し、15日目以降殺藻微生物の計数値 (MPN) は安定した。殺藻作用を受けたこれら3種の赤潮鞭毛藻の細胞は破裂し (Imai *et al.* 1991, 1993a, 1995), 組織培養容器のウェル中の細胞はほぼ完全に死滅した。この結果より、殺藻陽性のウェルはそのまま殺藻陽性を維持しており、殺藻微生物の計数値が安定して得られたと考えられる。これら3種に対する殺藻微生物の密度はそれぞれ、0.98, 0.63, 0.60 · ml⁻¹ と算出された。

一方、*H. circularisquama* に対する殺藻微生物の計数値は、培養開始後10日目に最大値 (0.28 · ml⁻¹) を示した後、減少し始めて18日目には計数値は0となった。本藻の場合、上記の3種の赤潮生物のようにマイクロプレートの陽性ウェル中の細胞がほぼ完全に死滅してしまうことはなく、殺藻微生物による殺藻作用が起こった場合でも、遊泳している栄養細胞が少数ながら観察された。また、同様の陽性ウェルの中にテンポラリーシスト状のものがかなり観察された (Fig. 3)。これらテンポラリーシスト (内田・板

倉 1995) 状のものは殺藻微生物の作用に抵抗性を持っているものと考えられる。そしてこれらが生き残り、ウェル中の殺藻微生物が他の微生物に駆逐された後に再度通常の遊泳細胞に変化して増殖した結果、殺藻微生物の計数値が減少した (陽性のウェルが減少した) のものと考えられる。従って、マイクロプレートMPN法を用いて *H. circularisquama* に対する殺藻微生物の計数を行う場合、少なくとも数日毎に接種培養しているマイクロプレートの観察を行い、殺藻陽性ウェル数の最大となった時点の計数値を得るように努力する必要がある。

1994年夏季の英虞湾における *H. circularisquama* は、8月上旬から100細胞 · ml⁻¹ を超え、8月中旬には最大密度28500細胞 · ml⁻¹ を記録する赤潮を形成し、9月中旬まで続いた (西村他 1995)。Fig. 4の結果を見ると、8月16日のStn. Uの試水中にはどの赤潮生物に対しても殺藻微生物はごく低い密度でしか存在せず、卓越した殺藻微生物も認められなかった。*H. akashiwo* 赤潮の場合、赤潮の末期には *H. akashiwo* を特異的に殺滅する殺藻微生物が海水中に卓越する (Imai *et al.* 1998, Kim *et al.* in press)。また *G. mikimotoi* が卓

越した赤潮海中には、*G. mikimotoi* に特異的に作用する殺藻微生物が *C. antiqua* 殺藻微生物よりも1桁も多く存在していた（今井・長崎 1995）。今回の試水は8月16日に採取されており、赤潮の最盛期のものと判断される。*H. circularisquama* に対して特異的に殺藻作用を發揮する微生物が多数存在すると予想されたが、*H. circularisquama* 殺藻微生物は少なかった。この結果より *H. circularisquama* 赤潮の場合、それを制御する微生物がもともと海水中に殆ど存在していない可能性が考えられる。

夏季の英虞湾海水中の *H. circularisquama* 殺藻微生物の変動

マイクロプレート MPN 法を用いて、1995年夏季の英虞湾の定点 Stn. K3W 表層から得た試水中の *H. circularisquama* 殺藻微生物（ $0.8\ \mu\text{m}$ の濾過試水）を計数した結果を Fig. 5 に示した。対照として、*C. antiqua* 殺藻微生物を同時に計数した結果も示した。*H. circularisquama* 殺藻微生物は、研究期間中 $1\ \text{ml}^{-1}$ 以下の低密度で推移し、*C. antiqua* 殺藻微生物よりも常に少なかった。しかし両者の変動パターンは類似していた。また、 $0.2\ \mu\text{m}$ 以下の粒子径画分試水からは、殺藻微生物の存在を示す結果は1度も得られなかった。このことは、今回の英虞湾の試水中にこれら2種の赤潮鞭毛藻（*C. antiqua* と *H. circularisquama*）を殺藻するウイルスが存在していた可能性は殆ど無いことを示唆している。しかしながらウイルスに関しては、方法論上の問題（採水試料の濃縮や濾過処理等）やウイルス自身の特性の問題（ホストレンジや感染力等）があるので、今後さらに検討する必要がある。

英虞湾の定点 Stn. K3W における *H. circularisquama* の細胞密度（各調査時の各層の計数値の最高値）の変動を見ると、7月3日に $1\ \text{細胞}\cdot\text{ml}^{-1}$ とごく低濃度ながら検出され、7月24日には最大値 $1493\ \text{細胞}\cdot\text{ml}^{-1}$ を記録した（Fig. 5）。その後減少し、8月21日以降検出されなくなった。神谷他（1996）によると、1995年の英虞湾における *H. circularisquama* 細胞密度は7月10日以降急激に増加し、7月17日に最高 $5920\ \text{細胞}\cdot\text{ml}^{-1}$ に達した後減少したことから、この年

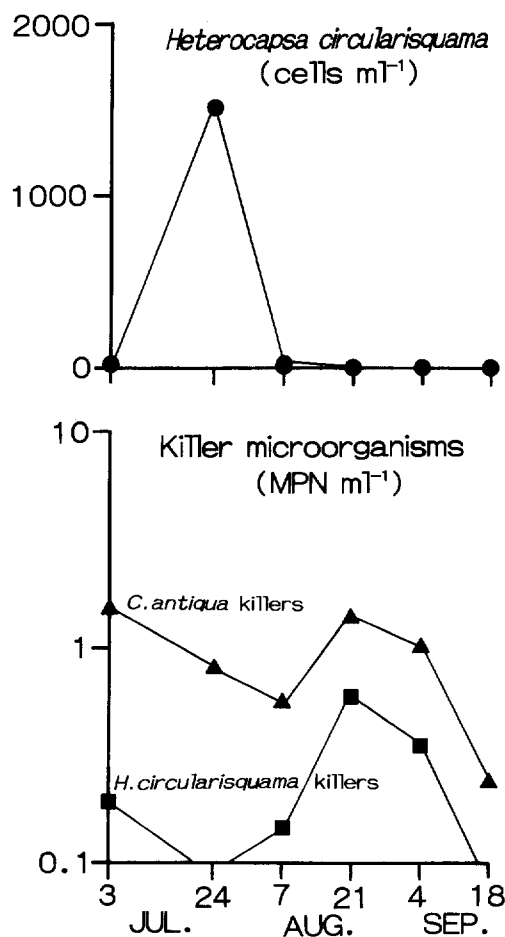


Fig. 5. Fluctuations in maximum cell densities of *Heterocapsa circularisquama* (upper) and killer microorganisms against *H. circularisquama* and *Chattonella antiqua* in surface water (lower) at Stn. K3W in the summer of 1995. Killer microorganisms were enumerated by the microplate MPN method.

は赤潮発生年とされている。

沿岸海域において形成された赤潮は、急速に消滅する事例がしばしば観察され、特に *H. akashiwo* 赤潮では著しい現象として報告されている（Honjo *et al.* 1978, Nagasaki *et al.* 1994b）。このような急激な赤潮の消滅は、殺藻細菌や殺藻ウイルス等の殺藻微生物によって引き起こされていることが示唆されており（Sakata 1990, Imai *et al.* 1991, 1993a, Fukami *et al.* 1992, Mitsutani *et al.* 1992, 今井 1994, 石田 1994, Nagasaki *et al.* 1994a, Yoshinaga *et al.* 1995）、実際に赤潮

の最盛期～末期にそのような殺藻微生物が卓越する事が報じられている (Imai *et al.* 1998, Kim *et al.* in press)。一方, *H. circularisquama* の赤潮は一度形成されると長期間継続する場合が多い (西村他 1995, 松山他 1995, 1997)。今回得られた結果を総合的に考察すると, *H. circularisquama* に対して有効に作用する殺藻微生物が現場海水中に殆ど存在していない事が, その一因となっていると考えられる。また, 分離された殺藻細菌 (接触攻撃型殺藻細菌: *C. antiqua* をホストとして分離) の攻撃に対して *H. circularisquama* は抵抗性を示すこと (今井 1997) や, 有力な捕食者と考えられる有鐘纖毛虫の仲間である *Favella taraikaensis* に対して本種は 10^3 細胞・ ml^{-1} 以上の濃度で致死作用を示すこと (Kamiyama 1997) 等も報じられている。このように, *H. circularisquama* はその増殖や生存を抑制する (攻撃や捕食によって) 生物に対して強い抵抗性を持っている可能性がある。今後, *H. circularisquama* に対して有効に殺藻作用を発揮することのできる殺藻細菌や殺藻ウイルスを探索・分離する事は, 本種の赤潮防除に向けての将来の重要な研究課題と言える。

摘 要

三重県英虞湾においては, 有害渦鞭毛藻 *Heterocapsa circularisquama* の赤潮がほぼ毎年発生している。英虞湾における *H. circularisquama* 赤潮の消滅過程の解明と防除技術の基礎の確立を目指して, 本藻に対する殺藻微生物の生態をマイクロプレート MPN 法を用いて調べた。

1994年8月16日に約 8000 細胞・ ml^{-1} の濃度で *H. circularisquama* が卓越する赤潮の試水を得て, *Chattonella antiqua*, *Heterosigma akashiwo*, *Gymnodinium mikimotoi*, ならびに *H. circularisquama* の4種について殺藻微生物を計数した結果, いずれも $1 \cdot \text{ml}^{-1}$ 以下の低い計数値を得た。赤潮の主体であった *H. circularisquama* に対する殺藻微生物は著しく少なく, 赤潮生物の急激な減少と殺藻微生物の増加が見られる *H. akashiwo* 赤潮の場合とは全く異なるパターンであった。

1995年7月3日～9月18日の間, 計6回, 英虞湾の1定点 (Stn. K3W) より表層の試水を得て *H. circularisquama* と *C. antiqua* に対する殺藻微生物の動態を調べた。孔径 $0.8 \mu\text{m}$ の濾過試水中には *H. circularisquama* 殺藻微生物が $1 \cdot \text{ml}^{-1}$ 以下の低密度でしか存在しなかった。*C. antiqua* に対する殺藻微生物も同様の変動パターンを示したが, 常にやや多めに推移した。孔径 $0.2 \mu\text{m}$ の濾過試水中には両者の殺藻微生物は全く検出されなかった。

H. circularisquama 赤潮は1ヶ月以上もの長期間継続する場合が多いが, 本研究の結果は, *H. circularisquama* に対して有効に作用する殺藻微生物が英虞湾海水中に少ない事を示唆している。

謝 辞

有害渦鞭毛藻 *Heterocapsa circularisquama* のクローン培養を分譲していただいた, 水産庁南海区水産研究所赤潮環境部の内田卓志博士ならびに松山幸彦研究員に深甚なる感謝の意を表します。1994年8月16日の英虞湾の試水を採取・送付して戴いた三重県水産技術センターの西村昭史氏に心から感謝致します。本研究は, 環境庁の国立機関公害防止等試験研究費「渦鞭毛藻・ラフィド藻等による新型赤潮の発生機構と予測技術の開発に関する研究」, 水産庁赤潮対策事業の海洋微生物活用技術開発試験研究費, ならびに文部省科学研究費補助金 (Nos. 06304019, 07406010) によった。記して感謝の意を表します。

文 献

- Chen, L. C. M., T. Edlstein and J. McLachlan, 1969: *Bonnemaisonia hamifera* Hariot in nature and in culture. *J. Phycol.* **5**, 211-220.
- Fukami, K., A. Yuzawa, T. Nishijima and Y. Hata, 1992: Isolation and properties of a bacterium inhibiting the growth of *Gymnodinium nagasakiense*. *Nippon Suisan Gakkaishi*, **58**, 1073-1077.
- Honjo, T., T. Shimouse and T. Hanaoka, 1978: A red tide occurred at the Hakozaki Fishing Port, Hakata Bay, in 1973 — The growth process and the chlorophyll con-

- tent. *Bull. Plankton Soc. Japan*, **25**, 7-12.
- Horiguchi, T., 1995: *Heterocapsa circularisquama* sp. nov. (Peridinales, Dinophyceae): A new marine dinoflagellate causing mass mortality of bivalves in Japan. *Phycol. Res.*, **43**, 129-136.
- 今井一郎, 1994: 細菌による海産真核微細藻類の殺滅. 防菌防黴, **22**, 485-491.
- 今井一郎, 1997: 直接接触攻撃型殺藻細菌による海産植物プランクトンの殺藻様式. 日本プランクトン学会報, **44**, 3-9.
- Imai, I., Y. Ishida and Y. Hata, 1993a: Killing of marine phytoplankton by a gliding bacterium *Cytophaga* sp., isolated from the coastal sea of Japan. *Mar. Biol.*, **116**, 527-532.
- Imai, I., Y. Ishida, K. Sakaguchi and Y. Hata, 1995: Algicidal marine bacteria isolated from northern Hiroshima Bay, Japan. *Fisheries Sci.* **61**, 624-632.
- Imai, I., Y. Ishida, S. Sawayama and Y. Hata, 1991: Isolation of a marine gliding bacterium that kills *Chattonella antiqua* (Raphidophyceae). *Nippon Suisan Gakkaishi*, **57**, 1409.
- Imai, I., S. Itakura and K. Itoh, 1993b: Cysts of the red tide flagellate *Heterosigma akashiwo*, Raphidophyceae, found in bottom sediments of northern Hiroshima Bay, Japan. *Nippon Suisan Gakkaishi*, **59**, 1669-1673.
- Imai, I., M. C. Kim, K. Nagasaki, S. Itakura and Y. Ishida, 1998: Detection and enumeration of microorganisms that are lethal to harmful phytoplankton in coastal waters. *Plankton Biol. Ecol.*, **45**, 19-29.
- 今井一郎・長崎慶三, 1995: 沿岸環境中に存在する殺藻微生物の計数法の検討. 渦鞭毛藻・ラフィド藻等新型赤潮の発生機構と予測技術の開発に関する研究, 平成6年度研究報告書. 南海海区水産研究所, 35-44.
- 石田祐三郎, 1994: 赤潮藻の微生物学的防除に関する現状と将来. 赤潮と微生物—環境に優しい微生物農業を求めて—, 石田祐三郎・菅原庸編, 恒星社厚生閣, 9-21.
- 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, 122-130.
- 神谷直明・小林智彦・清水康弘, 1996: 海域特性による赤潮被害防止技術開発試験-I 英虞湾の環境特性と *Heterocapsa circularisquama* の生理生態. 平成7年度三重県水産技術センター事業報告, 114-118.
- Kamiyama, T., 1997: Growth and grazing responses of tintinnid ciliates feeding on the toxic dinoflagellate *Heterocapsa circularisquama*. *Mar. Biol.*, **128**, 509-515.
- Kim, M. C., I. Yoshinaga, I. Imai, K. Nagasaki, S. Itakura, A. Uchida and Y. Ishida, 1998: A close relationship between algicidal bacteria and termination of *Heterosigma akashiwo* (Raphidophyceae) bloom in Hiroshima Bay, Japan. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, (in press).
- Koch, A. L., 1994: Growth measurement. In "Methods for general and molecular bacteriology" (eds. Gerhardt, P., R. G. E. Murray, W. S. Wood and N. R. Krieg), Am. Soc. Microbiol., Washington, 248-277.
- 松山幸彦・木村淳・藤井斉・高山晴義・内田卓志, 1997: 1995年広島湾西部で発生した *Heterocapsa circularisquama* 赤潮の発生状況と漁業被害の概要. 南西水研研報, **30**, 189-207.
- 松山幸彦・永井清仁・水口忠久・藤原正嗣・石村美佐・山口峰生・内田卓志・本城凡夫, 1995: 1992年に英虞湾において発生した *Heterocapsa* sp. 赤潮発生期の環境特性とアコヤガイ斃死の特徴について. 日本水産学会誌, **61**, 35-41.
- Matsuyama, Y., T. Uchida, and T. Honjo, 1997: Toxic effects of the dinoflagellate *Heterocapsa circularisquama* on clearance rate of the blue mussel *Mytilus galloprovincialis*. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **146**, 73-80.
- Mitsutani, A., K. Takesue, M. Kirita and Y. Ishida, 1992: Lysis of *Skeletonema costatum* by *Cytophaga* sp. isolated from the coastal water of the Ariake Sea. *Nippon Suisan Gakkaishi*, **58**, 2159-2167.
- Nagai, K., Y. Matsuyama, T. Uchida, M. Yamaguchi, M. Ishimura, A. Nishimura, S. Akamatsu and T. Honjo, 1996: Toxicity and LD₅₀ levels of the red tide dinoflagellate *Heterocapsa circularisquama* on juvenile pearl oysters. *Aquaculture*, **144**, 149-154.
- Nagasaki, K., M. Ando, I. Imai, S. Itakura, and Y. Ishida, 1994a: Virus-like particles in *Heterosigma akashiwo* (Raphidophyceae): a possible red tide disintegration mechanism. *Mar. Biol.* **119**, 307-312.
- Nagasaki, K., M. Ando, S. Itakura, I. Imai, and Y. Ishida, 1994b: Viral mortality in the final stage of *Heterosigma akashiwo* (Raphidophyceae) red tide. *J. Plankton Res.* **16**, 1595-1599.
- 長崎慶三・今井一郎, 1994: 海産微細鞭毛藻類の固相培養. 日本微生物生態学会報, **9**, 37-43.
- 西原力・蔵野憲秀・篠田純男, 1986: マイクロコンピュータによる最確数の計算. 衛生化学, **32**, 226-228.
- 西村昭史・杜多哲・小林智彦・井上美佐, 1995: 海域特性による赤潮被害防止技術開発試験英虞湾および五ヶ所湾赤潮共同調査. 平成6年度三重県水産技術センター事業報告, 123-128.
- Safferman, R. S. and M. E. Morris, 1963: Algal virus: Isolation. *Science*, **140**, 679-680.
- Sakata, T., 1990: Occurrence of marine *Saprospira* sp.

- possessing algicidal activity for diatoms. *Nippon Suisan Gakkaishi*, **56**, 1165.
- 内田卓志・板倉 茂, 1995: *Heterocapsa circularisquama* の底生期細胞について. 渦鞭毛藻・ラフィド藻等新型赤潮の発生機構と予測技術の開発に関する研究, 平成6年度研究報告書. 南西海区水産研究所, 19-22.
- Yamaguchi, M., 1992: DNA synthesis and the cell cycle in the noxious red-tide dinoflagellate *Gymnodinium nagasakiense*. *Mar. Biol.*, **112**, 191-198.
- Yamaguchi, M., S. Itakura, K. Nagasaki, Y. Matsuyama, T. Uchida and I. Imai, 1997: Effects of temperature and salinity on the growth of the red tide flagellates *Heterocapsa circularisquama* (Dinophyceae) and *Chattonella verruculosa* (Raphidophyceae). *J. Plankton Res.*, **19**, 1167-1174.
- 山本千裕・田中義興, 1990: 福岡湾で発生した2種類の有害赤潮プランクトンについて. 福岡水試研報, **16**, 43-44.
- 山本鎔子, 1978: 寒天重層法による湖沼中のラン藻溶解性生物因子の測定. 日本陸水学雑誌, **39**, 9-14.
- Yoshinaga, I., T. Kawai, T. Takeuchi and Y. Ishida, 1995: Distribution and fluctuation of bacteria inhibiting the growth of a marine red tide phytoplankton *Gymnodinium mikimotoi* in Tanabe Bay (Wakayama Pref., Japan). *Fisheries Sci.*, **61**, 780-786.

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70号 (Contribution No. A 70 from the Nansei National Fisheries Research Institute)

今井一郎・中桐 栄: 京都大学大学院農学研究科応用生物科学専攻海洋環境微生物学研究室 〒606-8502 京都市左京区北白川追分町 (I. Imai and S. Nakagiri: Laboratory of Marine Environmental Microbiology, Graduate School of Agriculture, Kyoto University, Kitashirakawa, Sakyou, Kyoto 606-8502, Japan)

永井清仁: ミキモト真珠研究所 〒517-0403 三重県志摩郡浜島町大字迫子933 (K. Nagai: Mikimoto Pearl Research Laboratory, Hazako, Hamajima, Shima, Mie 517-0403, Japan)

長崎慶三・板倉 茂・山口峰生: 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 (K. Nagasaki, S. Itakura and M. Yamaguchi: Red Tide Research Division, Nansei National Fisheries Research Institute, 2-17-5 Maruishi, Ohno, Saeki, Hiroshima 739-0452, Japan)