

原著論文

バフンウニ種苗生産時に発生する 棘抜け症防除に関する研究

野口浩介^{*1}・金井欣也^{*2}

Studies on preventive measures against winter spine-detachment-disease
(Togenukesyo) in rearing of sea urchin *Hemicentrotus pulcherrimus*

Kohsuke NOGUCHI, Kinya KANAI

To establish preventive measures against Togenukesho, a disease that causes massmortality of juvenile *Hemicentrotus pulcherrimus* when the temperature of sea water is low and that is a barrier to the mass production of juveniles, the taxonomic position and pathogenicity of a causal bacterium, the TG-1 strain, which was isolated from diseased animals, and the temperature at which the strain grows were investigated. Homology search of the 16S rRNA gene showed that the TG-1 strain could be considered to be a bacterium of the genus *Oleispira* or a related species. The TG-1 strain was found to be pathogenic to *Hemicentrotus pulcherrimus* and to form bacterial clumps, which resulted in decline in the growth ability, when the temperature was 20°C or higher. Analysis of previous cases of culture of juvenile *Hemicentrotus pulcherrimus* suggested that damage by the disease can be mitigated by raising the temperature of the culture water to 20°C or higher. Culture in UV-irradiated sea water is also considered to be effective in preventing the entry of the causal bacterium.

キーワード：バフンウニ，種苗生産，低水温期，棘抜け症防除
2013年4月3日受付 2015年6月4日受理

佐賀県栽培漁業センター（現佐賀県玄海水産振興センター）では1979年からバフンウニ *Hemicentrotus pulcherrimus* の種苗生産に着手し、順調な生産を続けていた。ところが、1976年に開始した（伊東ら1985）アカウニ *Pseudocentrotus depressus* の種苗生産において、1981年に殻皮表面の黒斑形成、脱棘などを病徴とする大量死が発生するようになると（真崎ら1988）、バフンウニの稚ウニにも棘抜け症状を伴う死亡が発生した（川原ら1995）。

川原ら（1995）は、低水温期に発生するこのアカウニとバフンウニの疾病（後に棘抜け症と仮称、金井2006）の原因が同様の疾病である可能性を示したものの、バフンウニでは大量死が起こらず、種苗生産上問題にならな

かったため、バフンウニの棘抜け症に関してはほとんど検討されずにいた。バフンウニの種苗生産は1987年から公益社団法人佐賀県栽培漁業協会（以下栽培協会）に徐々に技術移転され、2001年以降量産規模での種苗生産が可能となり、棘抜け症が問題になることはなかった。ところが、2008年に生産中のバフンウニに黒紫斑形成と脱棘を伴う大量死が発生した。この棘抜け症状を伴う大量死は、その後毎年発生し、種苗量産の大きな障害となっている。

棘抜け症の病因については、川原ら（1993a）や真崎（1994）の研究から、発症したアカウニを滅菌海水に漬けて作製した浸漬海水に起病力があること、浸漬海水を孔径0.45μmのメンブレンフィルターで濾過するとその

*1 佐賀県生産振興部水産課
〒840-8570 佐賀市城内1丁目59号
Saga Prefectural Fisheries Division, 59, 1 Jonai, Saga 840-8570, JAPAN
noguchi-kousuke@pref.saga.lg.jp

*2 長崎大学水産学部

起病力が失われること、および病変部の透過型電顕像に多数の長桿菌が観察されることから、細菌性疾患ではないかと考えられた。加えて金井は、ウニの殻抽出液を成分とする寒天培地（ウニ培地）を用いて罹病アカウニから屈曲性に富むグラム陰性桿菌を分離し、疾病の再現試験および病変部の免疫組織化学観察から本菌が原因細菌であると推定した（金井 2006）。

アカウニの棘抜け症の防除方法に関しては、罹病個体の浸漬海水を用いた感染試験および量産飼育試験において、浸漬海水や飼育水を 16°C 以上に加温するか紫外線を照射することで、発病を予防したり罹病個体の症状を軽減させることを示した（川原ら 1993a, 川原ら 1993b）。なお、本病発生盛期の水温は 12°C 前後であり、加温に伴う燃油コストを少しでも削減するため、現在、種苗生産現場では飼育水を 16°C に加温する防除方法が用いられている。

本研究では、バフンウニの棘抜け症の防除方法を確立するため、まず罹病バフンウニから分離された棘抜け症原因菌と思われる細菌の分類学的位置を検討するとともに、PCR による疾病診断方法を開発した。さらに、分離株の病原性と増殖温度を検討し、種苗生産現場における飼育水の加温および紫外線照射による防除方法について量産規模での現場データを解析した。

材料と方法

ウニ培地の作製 滅菌海水 200mL を徐々に加えながら乳鉢で正常バフンウニ殻 25g をすり潰して粗抽出液を得た。冷却遠心（7,000×g, 30 分, 4°C）を 2 回繰り返して残渣を除き、孔径 3.0, 0.8, 0.45μm のメンブレンフィルターで順に濾過してウニ抽出液とした。寒天を 3% 添加した海水 200mL を 121°C で 15 分間滅菌し、約 50°C まで冷ましてからウニ抽出液全量を加えて混合し、滅菌シャーレに流し固めた。

細菌分離 2012 年 1 月に栽培協会で種苗生産飼育中のバフンウニに棘抜け症とみられる黒紫斑のある個体（殻長 5-10mm）が多数みられ、大量死が発生した。そこで、黒紫斑のある衰弱個体（図 1）から原因菌の分離を試みた。まず、発症ウニを 0.1% 塩化ベンザルコニウムに 30 秒間ずつ 3 回浸漬した後、滅菌海水で洗浄した。その後、黒紫斑部分をピンセットで潰してウニ培地に塗抹し、13°C で 3 日間培養した後、平板上の特徴的なコロニーを複数釣菌し、それぞれ純粋分離を行った。その後、単離培養できた株をそれぞれ 13°C および 22°C で培養し、13°C のみで増殖した TG 群の代表株を TG-1 株、22°C でも増殖した NTG 群の代表株を NTG-1 株とした。

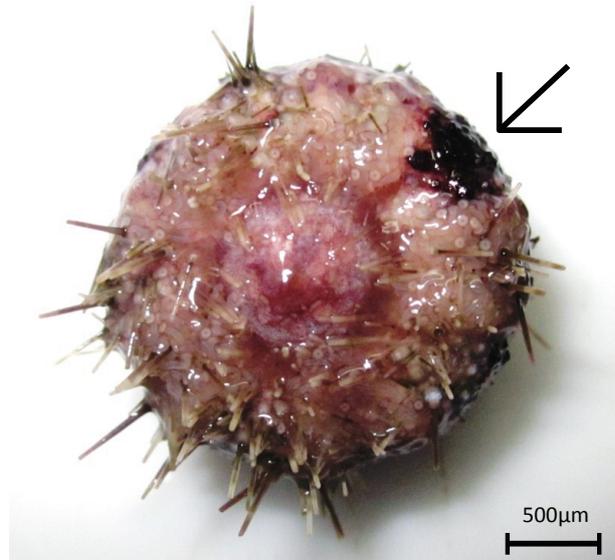


図 1. 黒紫斑がみられる罹病バフンウニウニ口器側矢印部に黒紫斑がある

分離菌の 16S rRNA 遺伝子解析 TG-1 株と NTG-1 株の 16S rRNA 遺伝子の塩基配列を独立行政法人水産総合研究センター増養殖研究所上浦庁舎に委託して決定した。得られた配列について GenBank のデータベースで BLAST 検索を行い、菌種を推定した。また、金井（未発表）が分離したアカウニの棘抜け症原因菌 NUF615 株の 16S rRNA 遺伝子の塩基配列との相同性についても検討した。

PCR による棘抜け症原因菌の同定 特異的プライマーとして、アカウニ棘抜け症原因菌 NUF615 株の 16S rRNA 遺伝子の塩基配列から金井（未発表）が設計した UNI16S-460（5'-GTACTTAATACTTGCTAGCTG-3'）と UNI16S-1440R（5'-GCAAGCTAGGTTAAGCTATC-3'）を用いた。鋳型 DNA として、TG-1 株を TE Buffer 50μL に菌体を適量懸濁させ 100°C で 10 分処理したものを 3 検体作り、それぞれ遠心分離（12,000×g）した上澄みを菌体試料 1~3 とした。PCR は 50μL の反応液（鋳型 DNA 1μL, TAKARA Premix Taq 25μL, 各プライマー 0.5μL, 蒸留水 23μL）中で、まず 95°C で 10 分間加熱後、94°C で 30 秒、53°C で 1 分、72°C で 30 秒を 1 サイクルとして 35 サイクル行い、さらに 72°C で 5 分間反応させた。PCR 産物は 1.5% アガロース -TAE（40mM Tris-酢酸, 1mM EDTA, pH8.0）ゲル電気泳動の後、エチジウムブロマイドで染色し、UV 照射下で観察した。陽性対照として、当センター保存のアカウニ棘抜け症原因菌 NUF615 株由来の核酸抽出液を使用した。また、陰性対照には滅菌蒸留水を使用した。

PCR による棘抜け症ウニからの原因菌の検出 黒紫斑が形成された発症ウニ 3 個体を用いて、黒紫斑形成および非形成殻部からの DNA 抽出を行った。すなわち、0.1g のウニ殻試料に 2 倍量の TE Buffer を入れ、100°C で 10 分処理し、遠心分離 (12,000×g) した上澄みを試料とし、ウニ 1~3 の黒紫斑形成部を試料 1~3、非形成部を試料 4~6、(1 と 4、2 と 5、3 と 6 は同一ウニ由来試料) とした。PCR 反応液および条件は、菌体試料と同様の方法で行った。

分離菌の病原性試験 棘抜け症状が全く見られない種苗生産飼育中のバフンウニ (殻長 3-5mm) を用いて、TG-1 株の病原性を調べた。ウニ培地で 13°C、4 日間培養した TG-1 株を 10^{4.5} cells/ml の濃度になるように滅菌海水に懸濁し、バフンウニ 60 個体を 13°C で 24 時間浸漬して攻撃した。攻撃後、滅菌海水を入れた 3 個の 1L ビーカーに 20 個体ずつ収容し、発病と死亡状況を 10 日間観察した。対照区として、滅菌海水に同条件で浸漬し

表 1. 2011 年度のバフンウニ種苗生産における棘抜け症への対応と生産結果

飼育群 No.	No.1	No.2	No.3	No.4	試験区 No.5
水槽数	2	2	3	1	1
水槽規模 (m ³)	10	10	10	10	0.1
飼育開始時平均稚ウニ数 (万個 / 水槽)	14.45	14.6	14.4	15.8	0.1
飼育水の加温	+	+	+	-	-
紫外線照射海水飼育	-	+	+	-	+
棘抜け症発生	+	+	+	+	-
疾病発生日	1/13	1/16	1/19	1/10	-
発生時の水温 (°C)	14	16	16	13.5	-
発生後の加温対応水温 (°C) ^{*1}	16	17→20 ^{*2}	22	-	-
取り上げ数量 (万個)	0	13.1	6.85	0	0.1

*1 加温により症状がなくなった場合は徐々に降温、再び発症した場合はその都度 22°C まで加温

*2 発生時に 17°C に加温したが、死亡が継続したため 20°C へ加温

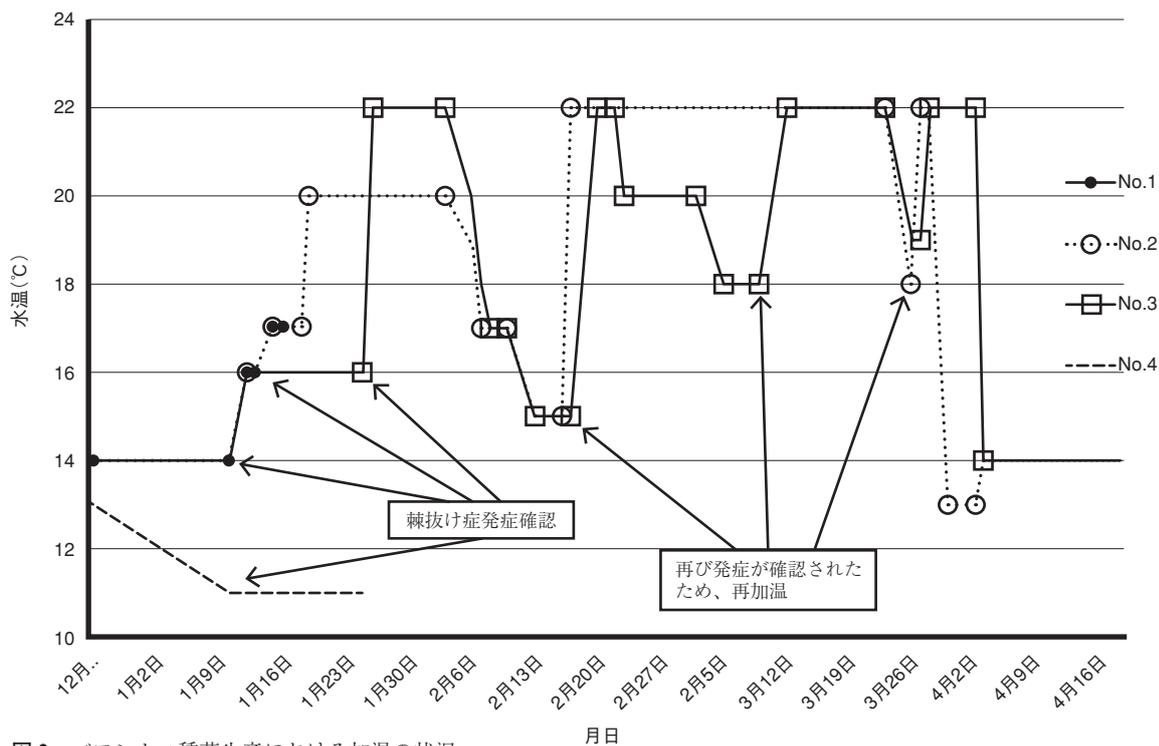


図 2. バフンウニ種苗生産における加温の状況

たバフンウニ 60 個体を用いた。死亡個体を毎日回収して計数した。また付着力が弱く、脱棘した瀕死個体からウニ培地を用いて細菌分離を行った。その後、棘抜け症原因菌様の細菌を純粋培養し 13°C および 22°C で培養するとともに、特異的プライマーを用いた PCR によって、TG-1 株か否か検討した。

培養温度別の分離菌の形状 TG-1 株をウニ液体培地（寒天を含まないウニ培地）に接種し、13、16、20、22、25°C で培養した。5 日後に遠心分離（12,000×g、10 分、4°C）で集菌後、細菌の形状および運動性を顕微鏡下で観察した。

種苗生産規模での飼育水の加温および紫外線照射の効果

2011 年度のバフンウニ種苗生産において棘抜け症対策として飼育水の加温および紫外線照射海水（NPH-1 株式会社日本フォトサイエンス社製）を用いた飼育が行われた。この量産飼育による疾病の発生状況および生産結果を解析した。飼育環境条件の詳細を表 1 および図 2 に示した。No.1 から No.3 の飼育群では、自然水温が 13°C となった 12 月 26 日から飼育水を 14°C に加温して飼育を行い、No.4 は試験終了まで自然水温で飼育を行った。

棘抜け症が発生した際には、No.1 は 16°C に、No.2 は 17°C に、No.3 は 22°C にそれぞれ加温し、その後は棘抜け症の発生状況に応じて適宜飼育水温を上下させながら飼育を継続した。なお、No.2 と No.3 では、飼育水の加温に加え、2012 年 1 月 16 日から紫外線照射海水による飼育を行った。種苗生産飼育には 10m³ FRP 製水槽を用いており、棘抜け症発生前の 1 月 6 日時点での稚ウニ数量は 1 水槽当たり約 12 万個体から 17.6 万個体であった。また、紫外線照射海水の効果を検証するために、小試験水槽 No.5（0.1m³ 容量）を設置し、自然水温下で紫外線照射海水を用いて飼育試験を行った。なお、No.5 に収容した稚ウニは No.1~4 の供試ウニよりも約 1ヶ月後に採苗されたものを、当初から加温および紫外線殺菌海水で飼育していた棘抜け症未発生群である。

結果

細菌分離 罹病バフンウニから分離して培養 3 日目に平板培地を直接顕微鏡観察したところ、アカウニ棘抜け症原因菌の様に薄く広がる特徴的コロニーが確認された（図 3）。このコロニーを単離して得られた TG-1 株を検鏡したところ、幅が 0.2-0.4μm、長さが 5-10μm の糸屑様の桿菌が観察された（図 4）。また、NTG-1 株はコロニー形状が TG-1 株に類似していた（図 5）。なお、平板培地上では 22°C でも増殖し、13°C および 16°C において TG-1 株よりも増殖が速い傾向にあった。

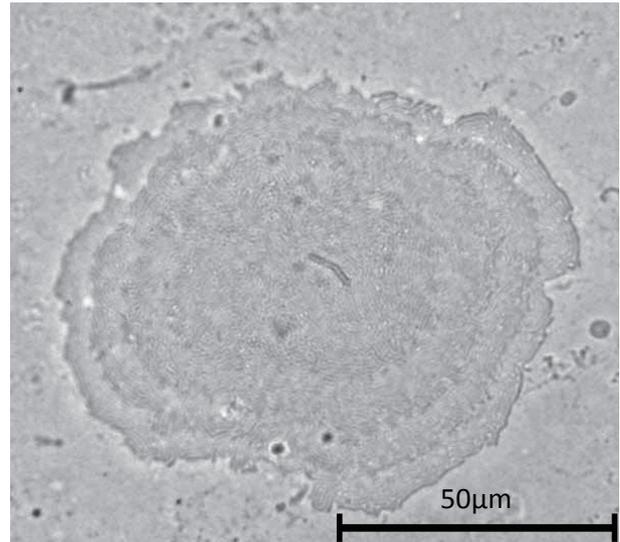


図 3. ウニ培地上に発育した棘抜け症原因菌 TG-1 株のコロニー

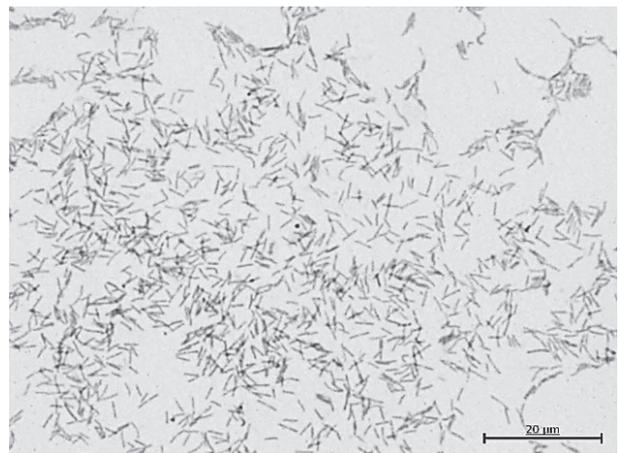


図 4. 棘抜け症原因菌 TG-1 株

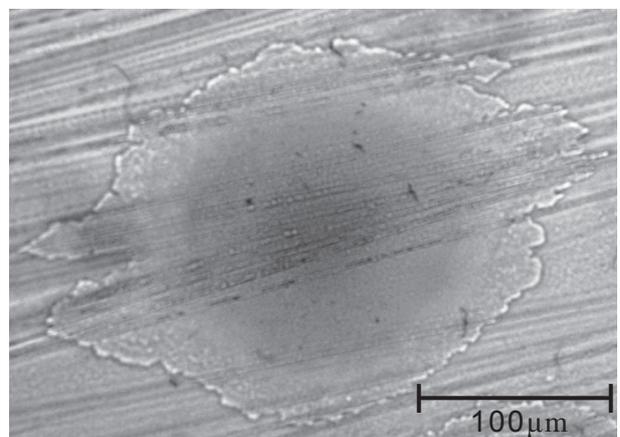


図 5. 培地上の NTG-1 株のコロニー

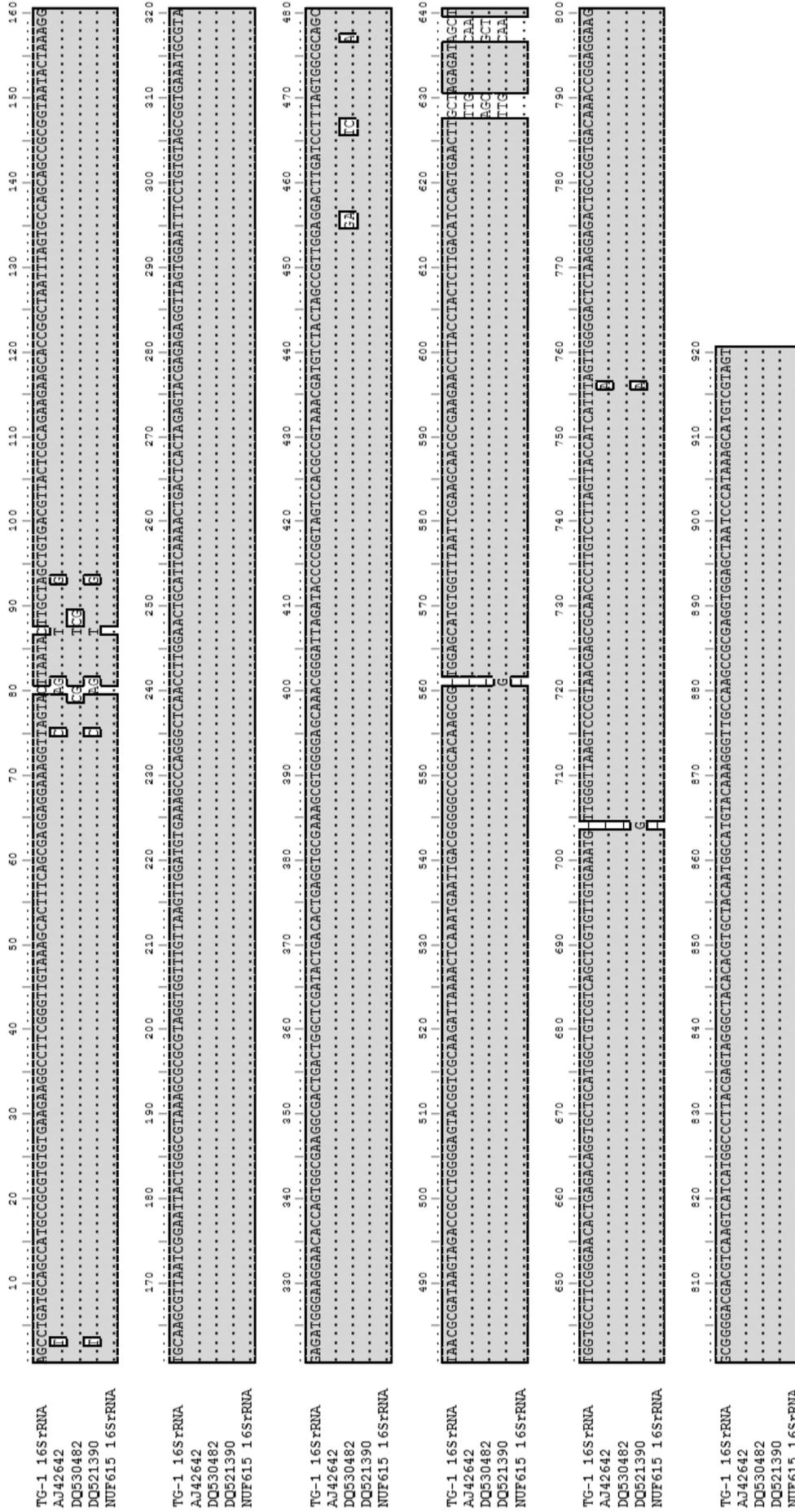


図 6. 棘抜け症原因菌 TG-1 株の 16S rRNA 遺伝子の相同性解析
 AJ426420, *Oleispira antarctica*; DQ530482, *Oleispira* sp.; DQ521390, *Oleispira* sp.; NUF615, アカウニ棘抜け症原因菌株

分離菌の 16S rRNA 遺伝子の相同性解析 TG-1 株の 16S rRNA 遺伝子 918 塩基対について解析を行った結果、*Oleispira antarctica* (AJ426420) と 98.6% と最も高い相同性を示した。相同性が高かった 3 配列およびアカウニの棘抜け症原因菌 NFU615 株とのアライメントを図 6 に示した。この 3 配列は全て *Oleispira* 属の細菌のものであった。なお、図 6 に示したように 80-100 と 620-635 の配列間には変異が比較的多く見られた。また、アカウニ由来の NFU615 株とは 918 塩基対が同じ配列であった。

次に NTG-1 株の 16S rRNA の 1473 塩基対の塩基配列を決定し、得られた配列について GenBank のデータベースで BLAST 検索を行い、菌種を推定したところ、未同定の深海由来の菌 (AB013825) と 96% の配列類似性を示した。

PCR による棘抜け症原因菌の同定 PCR 産物のゲル電気泳動結果を図 7 に示した。TG-1 株の菌体試料 1~3 および陽性対照 (NFU615 株) では、1,000bp 付近に明瞭なバンドが出現した。

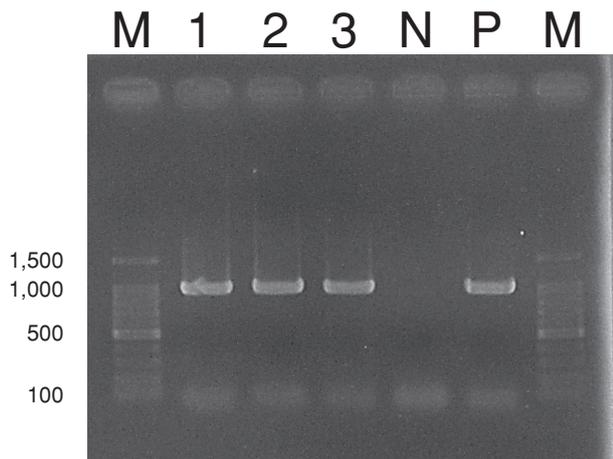


図 7. 特異的プライマーを用いた棘抜け症原因菌の検出
M, マーカー; 1-3, TG-1 株; N, 陰性対照; P, 陽性対照 (NFU615 株)

PCR による発症ウニからの棘抜け症原因菌の検出

PCR 産物のゲル電気泳動結果を図 8 に示した。黒紫斑形成部試料からはいずれも明瞭なバンドが出現したが、非形成部においては、試料 4 に薄いバンドが出現したものの、試料 5, 6 には出現せず、発症ウニであっても黒紫斑非形成部からは原因菌が検出できないことが判明した。

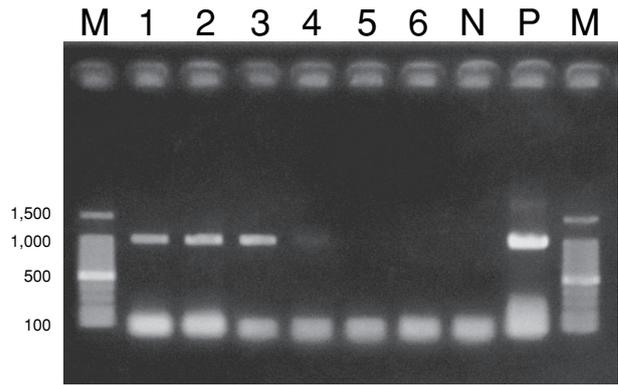


図 8. 特異的プライマーを用いた発症ウニ殻からの棘抜け症原因菌の検出
M, マーカー; 1, ウニ 1 黒紫斑部; 2, ウニ 2 黒紫斑部; 3, ウニ 3 黒紫斑部; 4, ウニ 1 黒紫斑非形成部; 5, ウニ 2 黒紫斑非形成部; 6, ウニ 3 黒紫斑非形成部; N, 陰性対照; P, 陽性対照 (NFU615 株)

分離菌の病原性試験 攻撃後の生残数の変化を図 9 に示した。浸漬攻撃 3 試験区の 10 日目の生残数は、それぞれ 9, 10, 12 個体であり、平均生残率は 51.6% となった。一方、対照区の生残数はそれぞれ 18, 19, 19 個体で平均生残率は 93.3% となった ($p < 0.01$, χ^2 検定)。浸漬攻撃区で死亡した 29 個体のうち、瀕死状態であった 10

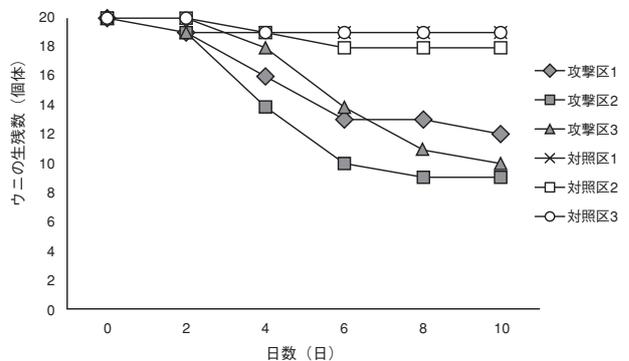


図 9. TG-1 株の病原性試験におけるバフンウニの生残

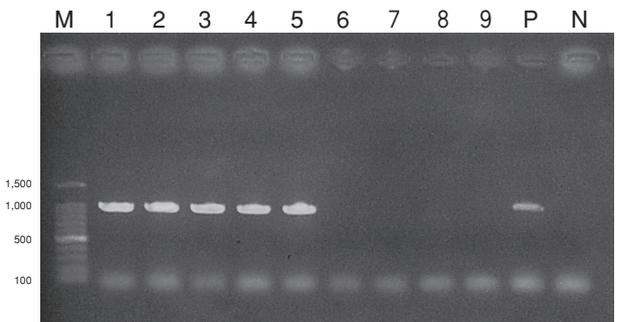


図 10. 棘抜け症感染試験死亡個体から分離された菌の PCR 確定診断
M, マーカー; 1-9, 分離菌; N, 陰性対照; P, 陽性対照 (NFU615 株)

個体から菌分離を行ったところ、9個体から棘抜け症原因菌様の細菌が分離された。なお、非分離の1個体は、雑菌が多く増殖し、純粋培養が出来なかった。そこで、9個体からの分離菌株について、特異的プライマーを用いてPCR診断したところ、図10に示したように5株から1,000bp付近にバンドが検出された。また、対照区で死亡した4個体からも原因菌様のコロニーを形成する細菌が分離されたが、PCR診断では陰性となり、死亡原因は不明であった。PCR陰性となった試験区および対照区からの分離菌株を22°Cで培養したところ、コロニーが形成された。

培養温度別の分離菌の形状 13°Cと22°Cで培養したTG-1株の状態を図11に示した。13°Cと16°Cでは多くの菌が運動する様子が観察されたが、20°C以上では菌体が集塊を形成し、運動性を失っている様子が観察された。

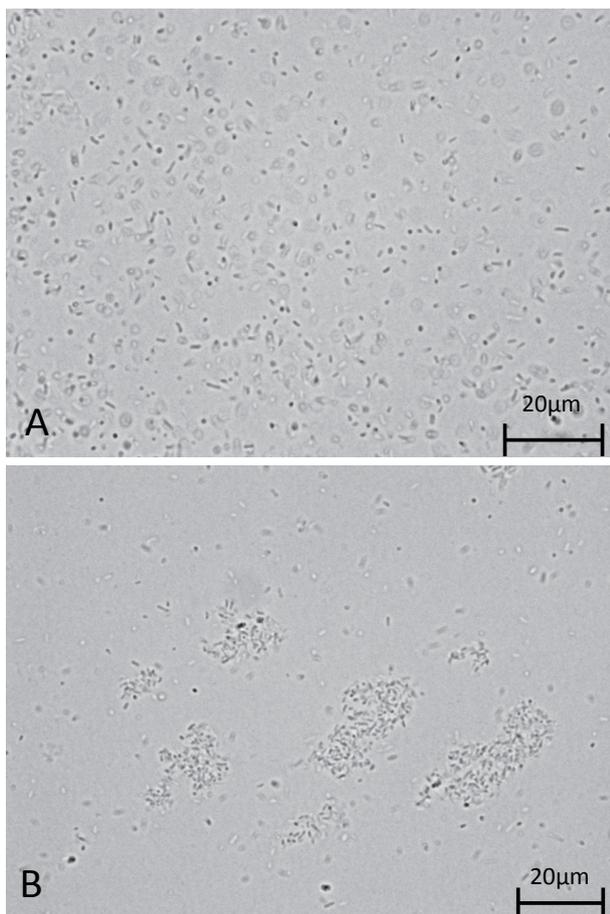


図11. 培養温度別 TG-1 株の形状
A, 13°C培養; B, 22°C培養

種苗生産規模での飼育水の加温および紫外線照射の効果
棘抜け症の発生状況および種苗生産結果を表1に示し

た。

No.1 飼育群は2012年1月13日に棘抜け症が確認され16°Cに加温したが、急激に棘抜け症が広まって大量死が発生したため、4日後の1月17日に全稚ウニを処分した。

No.2 飼育群では、棘抜け症を確認した日に17°Cに加温したが、発症個体および死亡個体が継続して観察されたため、20°Cまで加温したところ、発症個体が減少した。その後は徐々に加温調節を17°C、15°Cと下げて飼育したところ、2月17日に水温15°Cで再び発症が確認されたため、20°Cへ加温したところ、順調に飼育でき、1水槽当たり13.1万個生産できた。

No.3 飼育群では、棘抜け症発生後すぐに22°Cまで加温した結果、速やかに症状が軽減した。その後は徐々に加温を下げて飼育したところ、2月18日に水温15°Cで再び発症が確認されたため、22°Cへ加温したところ、速やかに症状が治まり、その後も水温を下げると発症が確認されたものの、その都度加温することで、1水槽当たり6.85万個生産できた。

No.4 飼育群では、1月10日に棘抜け症が確認され、急激に棘抜け症が広まって大量死亡が発生したため、1月24日に処分した。なお、No.4 飼育群は加温施設のない飼育水槽で飼育しており、本症初認時の水温は13.5°Cであった。

紫外線照射海水を用いて飼育試験を行った小試験水槽No.5 (0.1m³容量)では、棘抜け症は発症せず紫外線照射による防除効果がみられた。

考 察

罹病バフンウニより分離された棘抜け症原因菌 TG-1 株はアカウニの棘抜け症原因菌 (NFU615 株) の 16S rRNA 遺伝子と塩基配列が一致し、両者は同種の細菌であろうと考えられる。また、TG-1 株は 16S rRNA 遺伝子の塩基配列において *Oleispira antarctica* と 98.6% という高い相同性を示したが、*O. antarctica* の最適増殖温度は 2-4°C であり (Yakimov *et al.* 2003)、アカウニ棘抜け症原因菌の 14-16°C と大きく異なる (岡山ら 2013)。以上のことから、TG-1 株の最適増殖温度を検討していないが、*O. antarctica* とは別種であるが同属の細菌あるいはその近縁種と推定される。なお、本菌の分類学的位置についてはさらに検討が必要である。また、ウニ類における低水温期の疾病としては、エゾバフンウニにおける *Vibrio* 属の細菌に起因する疾病が報告されているが (Tajima *et al.* 1998)、棘抜け症とは異なる疾病であると考えられる。

原因菌の分離および感染試験において、ウニ培地上でのコロニー形状が類似している細菌が分離された。そこで、菌種を推定したところ、NTG-1 株は未同定の深海由来の菌 (AB013825) と 96% の配列類似性を示し、*Shewanella* 属である可能性が高いという結果が得られた。

NTG 群は、22°C 条件下でも増殖することや、PCR に使用した UNI16S-460F と UNI16S-1440R のプライマーでは検出されないため、TG 群と区別可能と思われる。感染試験攻撃区の瀬死ウニ 9 個体中 4 個体からは、NTG 群が攻撃菌よりも優位に分離され、TG-1 株による壊死病巣に、増殖が TG-1 株より速いと想定される NTG 群による菌交代が起こった可能性がある。しかしながら、感染試験対照区の死亡ウニからも NTG 群が分離されたことから、NTG 群がウニに対して病原性を有している可能性も否定できず、今後の検討課題である。

罹病ウニ殻から原因細菌の DNA を抽出することで、棘抜け症の診断が可能であった。しかしながら、罹病個体であっても、黒紫斑殻部以外の殻部からは検出されず、検査試料には黒紫斑殻部を選択すべきことが示唆された。

本研究により培養温度が菌体に及ぼす影響が一部明らかになった。すなわち、TG-1 株は 20°C 以上では菌塊を形成した。棘抜け症原因菌は高水温期に菌塊を形成して、増殖力が低下するのではないかと考えられる。

本報のバフンウニ種苗生産の解析から、飼育水を 16°C に加温しても防除効果がみられず、症状を改善させるには 20°C 以上の加温が必要であった。その後、飼育水温を徐々に低下させると、15°C 前後で再び発症することが明らかとなった。今後、各温度における増殖試験や菌塊を形成した菌が適温条件になった際の増殖の有無など詳細に検討する必要がある。

また、加温せずに紫外線照射海水でのみ飼育した No.5 飼育群では棘抜け症は発症しなかった。種苗生産における飼育水の紫外線照射は、クロアワビ筋萎縮症の防除に効果がみられ（柴田ら 1999, 柴田ら 2000）、細菌やウイルス性疾病の予防にも効果があると報告されている（木村ら 1976）。また、エゾバフンウニの斑点病原因菌 *Flexibacter* sp. においても、紫外線による殺菌効果が報告されており（田島ら 1998）、棘抜け症においても紫外線照射海水による飼育が有効ではないかと考えられる。しかし、No.2, 3 飼育群では、棘抜け症が発症した。これは、紫外線照射海水による飼育を開始する以前に原因菌が侵入していたと考えられ、防除体制の構築には飼育開始時からの紫外線照射が必要であることが示唆された。

現在、天然海域では棘抜け症が発生していないが、2002 年頃には天然海域で養殖アカウニが大量死した事例もある。天然海域の棘抜け症原因菌の存在量やその季節変動が、その海域から取水している種苗生産施設の棘抜け症発生に大きく影響していると考えられる。今後、原因菌を飼育水から検出する方法を開発することで、本症の発生予測ができるのではないかと考えている。また、棘抜け症の予防に効果がみられた紫外線照射に関して、棘抜け症原因菌を死滅させる紫外線照射量を検討するこ

とで、種苗生産規模での棘抜け症防除方法の確立を目指していきたい。

文 献

- 伊東義信・山田徹・有吉敏和・野田進治・伊藤史郎（1985）ウニ類（アカウニ、バフンウニ、ムラサキウニ）の種苗生産の現状と問題点。佐賀県栽培漁業センター事業報告書 昭和 55～58 年度，79-96。
- 金井欣也（2006）新魚病図鑑（小川和夫・畑井喜司雄編），緑書房，東京，275 p.
- 川原逸朗・後藤政則・真崎邦彦（1993a）種苗生産過程にみられるアカウニ稚ウニの大量斃死を防ぐ飼育方法の検討－I（予報）．佐裁セ研報，2，45-50。
- 川原逸朗・後藤政則・真崎邦彦・野口弘三（1993b）種苗生産過程にみられるアカウニ稚ウニの大量斃死を防ぐ飼育方法の検討－II（予報）．佐裁セ研報，2，51-55。
- 川原逸朗・後藤政則・野口弘三（1995）罹病バフンウニ浸漬海水によるアカウニ稚ウニへの感染実験．佐裁セ研報，4，109-110。
- 木村喬久・吉水守・田島研一・絵面良男・坂井稔（1976）養魚用水の紫外線殺菌について－I．魚病原因菌ならびに養魚水中生存菌の紫外線感受性について．日水試，42，207-211。
- 真崎邦彦（1994）棘抜け症（仮称）に罹病したアカウニ稚ウニの病変部位から観察された細菌について．佐裁セ研報，3，105-106。
- 真崎邦彦・野口弘三・金丸彦一郎（1988）アカウニの種苗生産過程における稚ウニの大量斃死について．西海区ブロック藻類・介類研究会報，5，45-59。
- 岡山英史・藤崎博・青戸泉（2013）アカウニ種苗生産時に発生する棘抜け症防除に関する研究．佐玄水振セ研報，6，25-30。
- 柴田利治・中本崇・永島孝之・渡辺健二・入江英男（1999）アワビ種苗生産について．福岡県栽培漁業公社平成 9 年度業務報告書，30-35。
- 柴田利治・中本崇・永島孝之・渡辺健二・入江英男（2000）紫外線照射海水を用いたクロアワビ種苗生産について．福岡県栽培漁業公社平成 10 年度業務報告書，30-35。
- 田島研一・平野敬洋・藤本さおり・伊藤慎悟・絵面良男（1998）エゾバフンウニ *Strongylocentrotus intermedius* の斑点病の防除法．日水試，64，65-68。
- Tajima K., Takeuchi K., Iqbal M. M., Nakano K., Shimizu M., Ezura Y. (1998) Studies on a bacterial disease of sea urchin *Strongylocentrotus intermedius* occurring at low water temperatures. *Fisheries Sci.*, 64, 918-920.
- Yakimov, M. M., Giuliano L., Gentile G., Crisafi E., Chernikova T. N., Abraham W. R., Lünsdorf H., Timmis K. N., Golyshin P. N. (2003) *Oleispira antarctica* gen. nov., sp. nov., a novel hydrocarbonoclastic marine bacterium isolated from Antarctic coastal sea water. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 53, 779-785.