



Title	和歌山県下芳養湾における海水中およびアオサに付着する赤潮藻殺藻細菌の分布
Author(s)	今井, 一郎; Imai, Ichiro; 岡本, 悟 他
Citation	北海道大学水産科学研究彙報, 62(1), 21-28
Issue Date	2012-03-28
Doc URL	<a href="https://hdl.handle.net/2115/49096">https://hdl.handle.net/2115/49096</a>
Type	departmental bulletin paper
File Information	21-28.pdf



## 和歌山県下芳養湾における海水中およびアオサに付着する赤潮藻殺藻細菌の分布

今井 一郎<sup>1)</sup>・岡本 悟<sup>2)</sup>・西垣 友和<sup>3)</sup>・吉永 郁生<sup>4)</sup>・竹内 照文<sup>5)</sup>

(2011年12月28日受付, 2012年1月27日受理)

### Distribution of algicidal bacteria against red tide phytoplankton in seawater and on the surface of the green alga *Ulva pertusa* in Shimo-Haya Bay, Wakayama Prefecture

Ichiro IMAI<sup>1)</sup>, Satoru OKAMOTO<sup>2)</sup>, Tomokazu NISHIGAKI<sup>3)</sup>, Ikuo YOSHINAGA<sup>4)</sup> and Terufumi TAKEUCHI<sup>5)</sup>

#### Abstract

Seasonal fluctuations of algicidal bacteria were investigated with the microplate MPN method in surface seawater and on the surface of the green alga *Ulva pertusa* in cage culture for poly-culture at the stations in Shimo-Haya Bay, Wakayama Prefecture. Target red tide species were three raphidophytes of *Chattonella antiqua*, *Heterosigma akashivo* and *Fibrocapsa japonica*, and two dinoflagellates of *Karenia mikimotoi* and *Heterocapsa circularisquama*. In seawater, most part of killer microorganisms was substantially algicidal bacteria, and the most abundant killer bacteria were killers for *Karenia mikimotoi* and followed by killers for *Fibrocapsa japonica*. The maximum value was  $2.2 \times 10^4$  MPN ml<sup>-1</sup> for *K. mikimotoi* killers. On the surface of *U. pertusa*, *K. mikimotoi* killers were also most abundantly detected with a maximum value of  $1.1 \times 10^6$  MPN g<sup>-1</sup> (wet weight) and *F. japonica* killers also showed a high value of  $1.9 \times 10^5$  MPN g<sup>-1</sup> (wet weight). Isolation of killer bacteria after colony formation and co-culture experiments, *K. mikimotoi* killers and *F. japonica* killers also displayed high abundances, and other killers such as *C. antiqua* killers were detected with rather high values of  $10^4 \sim 10^5$  cells g<sup>-1</sup> (wet weight). Poly-culture of seaweeds and fishes is not only environment friendly in aquaculture but also useful sources for preventing harmful red tides in the coastal sea.

**Key words** : Red tide, Prevention, Killer bacteria, Algicidal bacteria, *Ulva pertusa*, Seaweeds, Poly-culture

#### 緒 言

有害赤潮によって与えられる漁業被害は年平均約17億円以上にも達し、現在も被害状況は深刻である。例えば2000年夏季には、八代海において40億円にも上る養殖魚の斃死被害が渦鞭毛藻の1種 *Cochlodinium polykrikoides* の赤潮によって生じた。また2009年と2010年には引き続いて同じく八代海において、ラフィド藻のシャットネラ (*Chattonella antiqua*) を原因とする赤潮により、29億円と53億円にも上る大被害が養殖ブリを中心に与えられた事実は記憶に新しい(鬼塚ら, 2011)。このような背景から、赤潮の被害を抑制する或いは未然に防止する対策技術の開発が待望されており、多くの試みが成されてきたが、実用化さ

れているものは殆ど無いのが現状である(代田, 1992; 坂田, 2000; Imai et al., 2006a)。

最近、環境にやさしい生物学的な赤潮防除対策技術が、関係者の注目を集めている。それは、細菌、ウイルス、寄生性の原生動物、無害な植物プランクトン(特に珪藻類)等、もともと自然の海水中に普通に生息している微生物を有効利用する方法であり、将来の実用化に期待が寄せられてきている(今井, 1995, 1998, 1999, 2002, 2007; 長崎, 1998; 今井・吉永, 2002; Salomon and Imai, 2006)。

これらの中で赤潮プランクトンを殺滅する殺藻細菌については、生態がかなり解明され、沿岸域での存在と赤潮の消滅における役割の重要性が認知されてきている(Imai et al., 1998a, 2001; Yoshinaga et al., 1998; 今井, 2011a)。しかし

<sup>1)</sup> 北海道大学大学院水産科学研究院海洋生物資源科学部門海洋生物学分野浮遊生物学領域  
(E-mail: imai1ro@fish.hokudai.ac.jp)

(Plankton Laboratory, Division of Marine Bioresource and Environmental Science, Graduate School of Fisheries Sciences, Hokkaido University)

<sup>2)</sup> 山口県農林水産振興部  
(Fisheries Promotion Division, Yamaguchi Prefecture)

<sup>3)</sup> 京都府農林水産技術センター海洋センター  
(Fisheries Technology Department, Kyoto Prefectural Agriculture, Forestry and Fisheries Technology Center)

<sup>4)</sup> 京都大学大学院農学研究科応用生物学専攻  
(Division of Applied Biosciences, Graduate School of Agriculture, Kyoto University)

<sup>5)</sup> 和歌山県農林水産総合技術センター水産試験場  
(Fisheries Experimental Station, Wakayama Research Center of Agriculture, Forestry and Fisheries)

ながら、それにもかかわらず分離した殺藻細菌を実際に大量培養し、海に散布するといった実用化に向けての検討は、細菌の持つ負のイメージや生態系への影響が不明である事等に鑑み、頓挫している状況にあると言える。

ところで我々のごく最近、潮間帯域の藻場に生息するアオサ、マクサ、ホンダワラ等の大型海藻類の表面に湿重1gあたり $10^5 \sim 10^6$ 個もの殺藻細菌が付着している事実を発見し (Imai et al., 2002; 今井, 2002), 主なものとしては $\alpha$ -Proteobacteria,  $\gamma$ -Proteobacteria, および Bacteroides 門に属する細菌が生息する事を明らかにした (Imai et al., 2006b)。本研究では、和歌山県田辺湾の支湾である下芳養湾を対象水域に実施した海藻と魚類の複合養殖において、海藻表面

に付着する殺藻細菌や海水中の殺藻細菌の季節的変動について報告し、殺藻細菌を用いた赤潮の発生予防について可能性を論ずる。

#### 材料および方法

2002年10月より2003年3月までは原則として月に1回、それ以降は4月、6月、8月および10月にサンプリングを行った。対象水域は和歌山県田辺市の田辺湾北部に位置する支湾の下芳養湾である (Fig. 1)。和歌山県農林水産総合技術センター水産試験場増養殖研究所 (現在は廃止) の前に魚類養殖の生け簀を設置し (Fig. 1の Stn. 1), マダイを放養

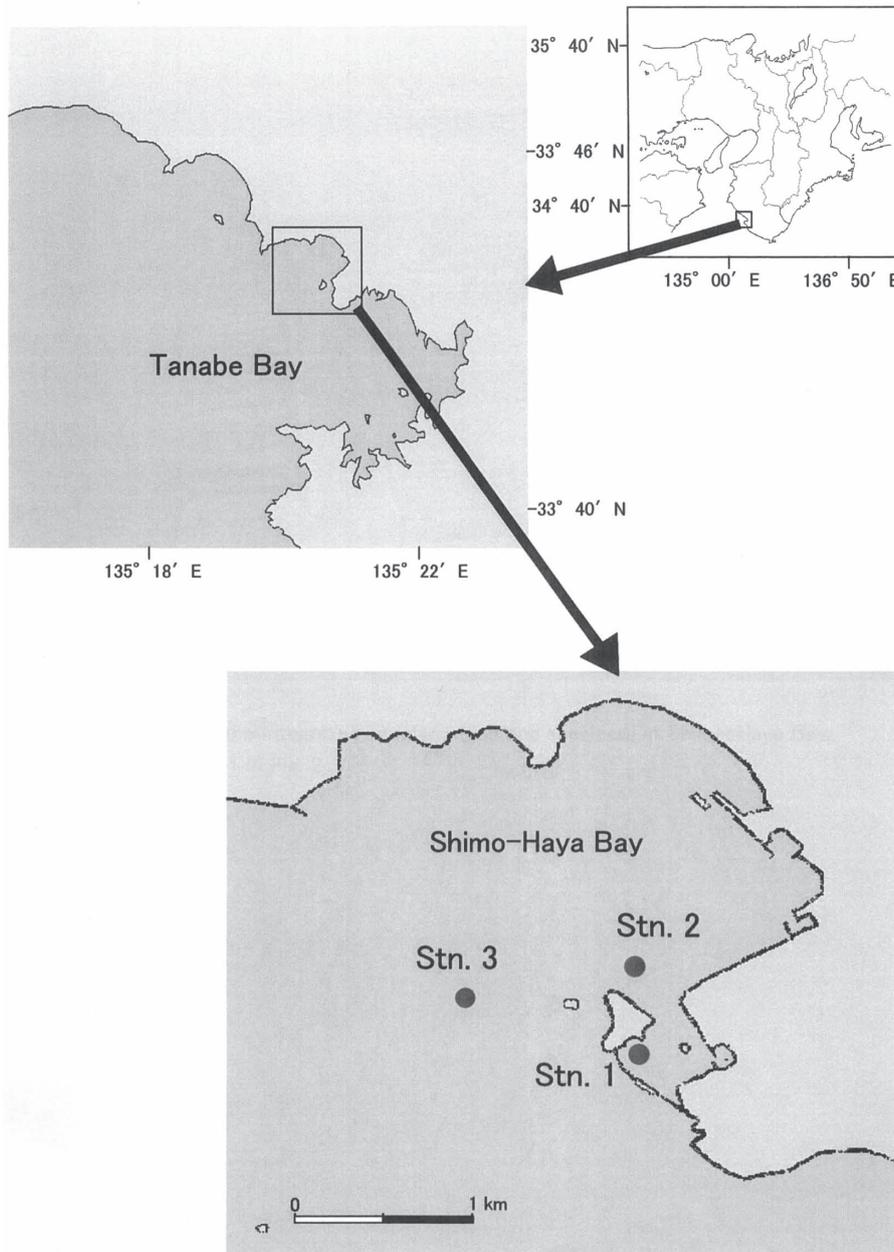


Fig. 1. Location of the sampling stations (Stns. 1-3) in Shimo-Haya Bay, branch of Tanabe Bay, Wakayama Prefecture.

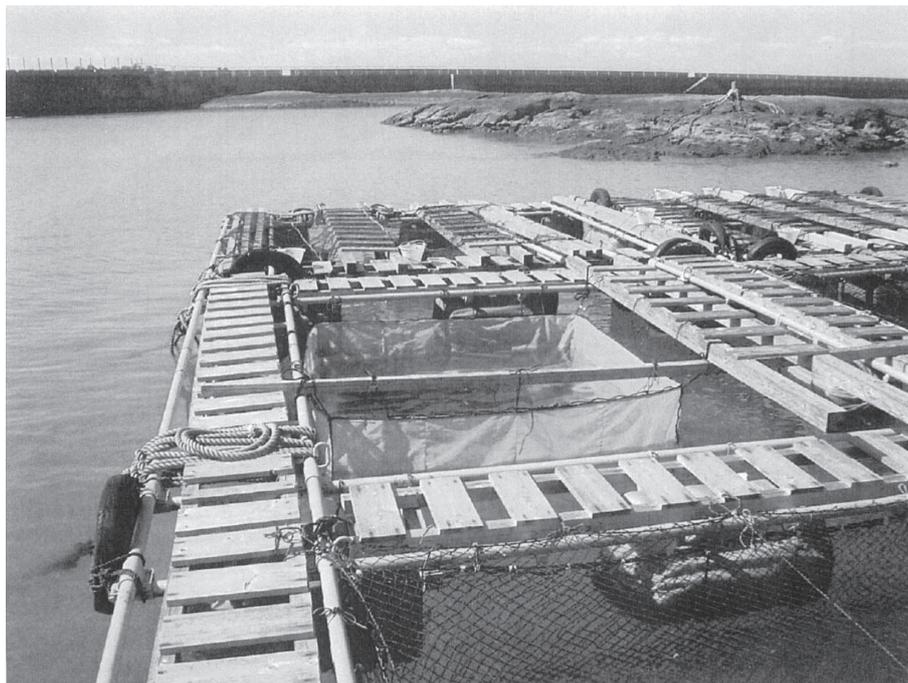


Fig. 2. Photograph of the fishing farm at Stn. 1 located in Shimo-Haya Bay.

飼育すると同時に、緑藻のアオサ (*Ulva pertusa*) を栽培した (Fig. 2) (和歌山県, 2003)。アオサはネットに收容し、生け簀の表面に浮かべて成長させた。この生け簀の中から採水を行い、同時にアオサを採集した。また、この生け簀の約 500 m 沖合に設置した地点、およびさらに約 1 km 沖合の地点から表層の海水試料を得た。サンプリングの際に用いたガラス製メディウム瓶は、全て 121°C、20 分間のオートクレーグ滅菌処理を施したものである。サンプリングの終了後、クーラーボックスに試料を收容し冷やして研究室に直ちに持ち帰り (約 5~6 時間を要した)、殺菌細菌の計数のための処理を行った。

殺菌細菌の計数は、原則としてマイクロプレート MPN 法 (Imai et al., 1998b) によった (Fig. 3)。ガラス瓶中の海水試料は約 30 回手で振った。海藻試料は 100 回、強く手で振って細菌を海藻表面から剥離させた。海水試料、および海藻から剥離させた試料は、共に孔径 1  $\mu\text{m}$  のニューレポアーフィルターで濾過して、細菌よりも大きい生物やデトライトを除去した。濾過した試料を  $10^0$  希釈とし、滅菌海水を用いて順次 10 倍希釈を行った。対象赤潮生物であるラフィド藻の *Chattonella antiqua*, *Heterosigma akashiwo*, *Fibrocapsa japonica*, 渦鞭毛藻の *Karenia mikimotoi*, *Heterocapsa circularisquama* を前培養しておき、新しい培養液 (改変 SWM-3: Chen et al., 1969; 今井, 2000) で適宜希釈して、48 ウェル組織培養用マイクロプレートの各ウェルに予め 0.5 ml ずつ接種した後、それらのウェルに各希釈段階の試料を 0.5 ml ずつ接種した。実験試料は、各希釈段階で 5 ウェルずつに接種した。またコントロールとして、希釈試料を接種する代わりに希釈用滅菌海水を接種したウェルを設けた。

蒸発防止のため、メンディングテープを用いてマイクロプレートを密封した後、温度 22°C、光強度約 100  $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{sec}^{-1}$ 、明暗周期 14 hL : 10 hD の条件下で培養を行った。適宜マイクロプレートの各ウェルの観察を、倒立型落射蛍光顕微鏡を用いて行い、大部分の赤潮プランクトンが死滅したウェルを陽性として記録した。各希釈段階における陽性ウェル数の組み合わせから、最確数 (MPN) 表を参照して MPN (Most Probable Number) を算出し、実験試料中の殺菌細菌密度を求めた。また、海藻試料については湿重量を計測し、滅菌海水に剥離させた殺菌細菌密度を元に、海藻 1 g 当たりの殺菌細菌密度を算出した。なお、2003 年 4, 6, 8 月の試料については、マイクロプレート MPN 法による殺菌細菌の計数を *K. mikimotoi* と *F. japonica* についてのみ実施した。

2003 年 4, 6, 8, 10 月の海水と海藻の試料については、試料を適宜希釈後、ST10<sup>-1</sup> 寒天平板培地 (Ishida et al., 1986) に塗抹して従属栄養細菌にコロニーを形成させた後、各サンプルのコロニー (20~30 程度) を分離して各細菌株を ST10<sup>-1</sup> 液体培地 (Ishida et al., 1986) 中で増殖させた。上記 5 種の赤潮生物の培養をマイクロプレートのウェル中に收容した後、各細菌の液体培養少量を白金耳によって無菌的に接種し、分離した各細菌の各赤潮プランクトンに対する殺菌能の有無を検討した。

#### 結果および考察

2002 年 10 月~2003 年 8 月の期間の、和歌山県農林水産総合技術センター水産試験場増養殖研究所の前の魚類養殖

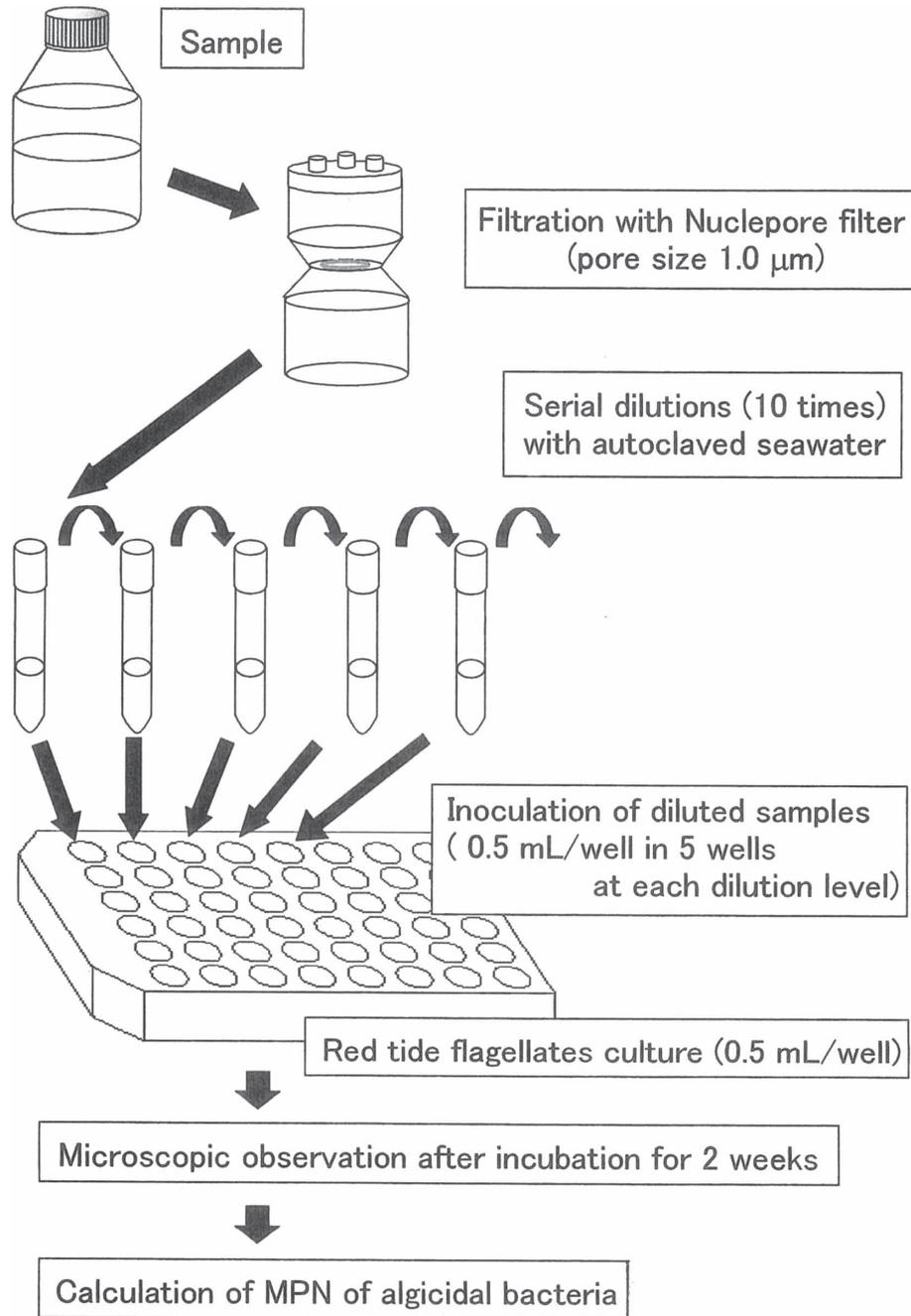


Fig. 3. Procedure of the microplate MPN method for enumeration of algicidal bacteria.

の生け簀 (Stn. 1), この生け簀の沖合い約 500 m に設置した生け簀 (Stn. 2), ならびにさらに約 1 km 沖合の地点 (Stn. 3) の海水中から, マイクロプレート MPN 法によって検出計数された殺藻細菌の密度を Fig. 4 に示した。2002 年 10 月頃までは, 最も海岸に近い Stn. 1 にてより多くの殺藻細菌が検出されたが, 冬季になるにつれて各地点間での計数値の差は小さくなった。検出される殺藻細菌の密度は, 全体的には養殖生け簀の Stn. 1 で最も値が高く, 沖合の Stn. 3 で最も少ない傾向が認められた。ちなみに海水中の全細菌数は, Stn. 1 では  $4.9 \times 10^5 \sim 2.4 \times 10^6$  cells ml<sup>-1</sup>, Stn. 2 で  $6.7 \times$

$10^5 \sim 2.6 \times 10^6$  cells ml<sup>-1</sup>, Stn. 3 においては  $4.4 \times 10^5 \sim 4.4 \times 10^6$  cells ml<sup>-1</sup> で推移した。

対象とした赤潮生物 (ラフィド藻 3 種と渦鞭毛藻 2 種) とそれらの各種に対する殺藻細菌の密度の変動を見ると, 大変に興味深い特徴的な傾向が認められた。すなわち, *K. mikimotoi* 殺藻細菌 (*K. mikimotoi*-killer = Km-killer) が, 何れの地点においても常に最も高い密度で検出され, その値も最大値は Stn. 1 で  $2.2 \times 10^4$  MPN ml<sup>-1</sup> を示した。その次に殺藻細菌に殺滅されやすかった赤潮生物はラフィド藻の *F. japonica* で, Fj-killer (*F. japonica*-killer) の最大値は  $1.4 \times 10^2$

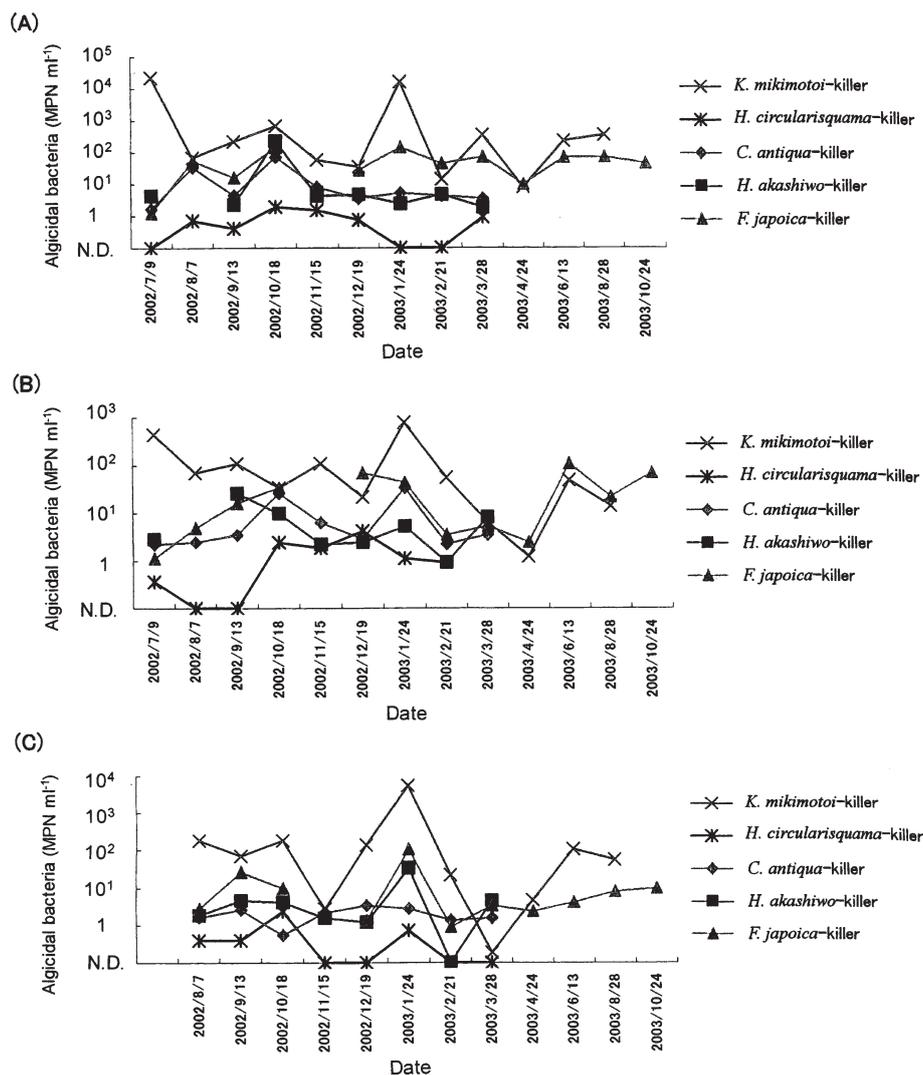


Fig. 4. Seasonal fluctuations of algicidal bacteria (enumerated with the microplate MPN method) in surface seawater at the stations in Shimo-Haya Bay. (A) Stn. 1, (B) Stn. 2, (C) Stn. 3

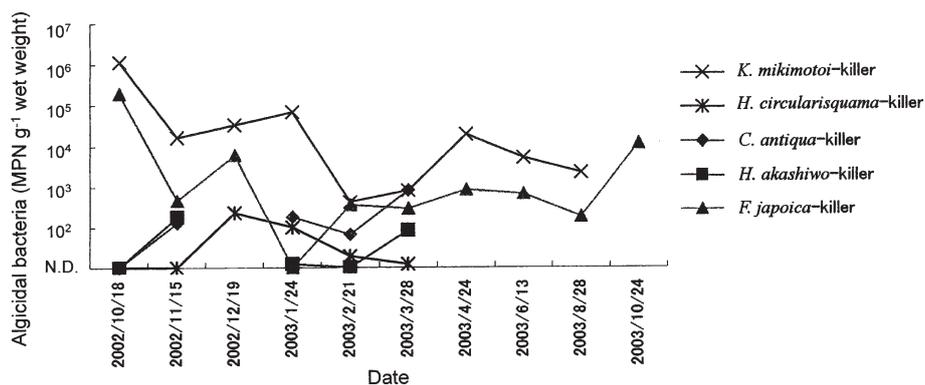


Fig. 5. Seasonal fluctuations of algicidal bacteria (enumerated with the microplate MPN method) on the surface of the green alga *Ulva pertusa* cultivated in a cage at the Stn. 1 in Shimo-Haya Bay.

MPN ml<sup>-1</sup>であった。赤潮ラフィド藻の *C. antiqua* と *H. akashiwo* の殺菌細菌 (*C. antiqua*-killer = Ca-killer と *H. akashiwo*-killer = Ha-killer) は同程度の密度であり、最大で

10<sup>2</sup> MPN ml<sup>-1</sup> (Stn. 1) 程度の値であった。また、二枚貝を斃死させる渦鞭毛藻 *H. circularisquama* に対する殺菌細菌 (*H. circularisquama*-killer = Hc-killer) は常に低密度で未検出の場

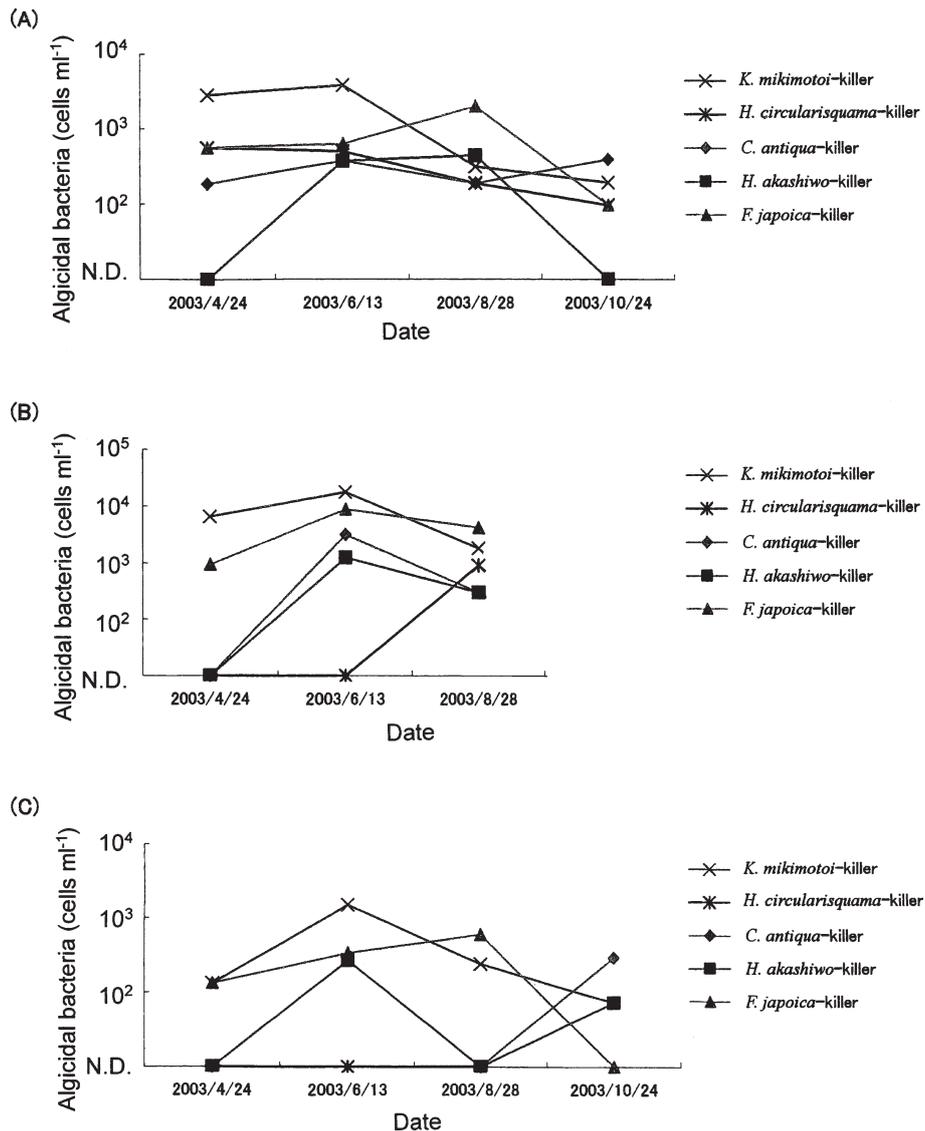


Fig. 6. Fluctuations of algicidal bacteria in surface seawater at the stations in Shimo-Haya Bay during the period of April to October in 2003. Enumeration was made with co-culturing experiment using bacterial strains formed colonies on nutrient agar plate and red tide plankton. (A) Stn. 1, (B) Stn. 2, (C) Stn. 3

合も認められ、本種が鋳板を有していることによって殺藻細菌に対する強い抵抗性を発揮しているものと推察される(今井, 1997; 今井ら, 1999)。Km-killer に関しては、過去(1990~1992年夏季)に田辺湾の海水においてMPN法によって計数された例があり、その時の密度の範囲はおおよそ $10^1 \sim 10^4$  MPN ml<sup>-1</sup>と報じられており(Yoshinaga et al., 1995)、今回の研究結果はこの報告のやや高い部分に相当するようである。

緑藻のアオサがStn. 1の生け簀に投入され、養殖が開始されたのは2002年10月以降である。アオサの表面に付着していた殺藻細菌の密度についても、対象赤潮生物種に関しては、海水中の場合と同様の傾向が観察された(Fig. 5)。すなわち、Km-killerが常に最も多く、次いでFj-killerであった。前者は最高で $1.1 \times 10^6$  MPN g<sup>-1</sup> (湿重)と極めて高い値

を示し、後者は最大 $1.9 \times 10^5$  MPN g<sup>-1</sup> (湿重)の値でこれに次いだ。共に2002年10月に得られた値である。他の赤潮生物に関しては、殺藻細菌は1~2桁程度低い密度の値であった。

殺藻細菌の検出にマイクロプレートMPN法を用いた場合、殺藻細菌の阻害微生物の存在により、実際の数よりも過小評価になる可能性が指摘されている(Imai et al., 1998b)。この点を考慮し、海水中の細菌やアオサ表面の細菌を対象として寒天平板培地上にコロニーを形成させて分離し、各々のコロニーが持つ殺藻能を上記5種の赤潮プランクトンについて二者培養試験により検討した結果をFig. 6とTable 1に示した(海水は2003年4, 6, 8, 10月の調査結果、アオサは8月まで)。何れの定点の海水においてもKm-killerとFj-killerが多く分離されていた。また計数値も両方

Table 1. Fluctuations of algicidal bacteria ( $\times 10^5$  cells  $g^{-1}$  wet weight) on the surface of the green alga *Ulva pertusa* cultivated in a cage at the Stn. 1 in Shimo-Haya Bay during the period of April to August in 2003. Enumeration was made with co-culturing experiment using bacterial strains formed colonies on nutrient agar plate and five species of red tide plankton.

Target red tide plankton species	April 24	June 13	August 28
<i>Karenia mikimotoi</i>	3.51	7.98	1.13
<i>Heterocapsa circularisquama</i>	1.87	< 0.28	0.57
<i>Chattonella antiqua</i>	0.94	0.86	0.38
<i>Heterosigma akashiwo</i>	0.47	< 0.28	0.19
<i>Fibrocapsa japonica</i>	1.64	2.28	1.70
* Total algicidal bacteria	4.91	9.12	2.46
Total colony forming bacteria	7.01	11.4	7.56

\*Number of bacteria that killed at least one species of red tide phytoplankton. Some bacteria killed two or more plankton species.

法共に類似したものであった。アオサからも Km-killer と Fj-killer が多いという計数結果が得られた (Table 1)。アオサに付着していた殺菌細菌の密度は、湿重 1 g 当たり  $10^5 \sim 10^6$  のオーダーの高い値を示した。また Ca-killer や Ha-killer, Hc-killer においても、マイクロプレート MPN 法に比べて相当に高い値で検出され、湿重 1 g 当たり  $10^4 \sim 10^5$  cells のオーダーの密度で計数値が得られている。従って、コロニーを分離して二者培養試験を行う方法で、より正確な殺菌細菌の生息密度を把握できるものと考えられる。

殺菌細菌の増減を見ると、赤潮の発生する海域では赤潮の発生後期から消滅直後に増加する事が、*H. akashiwo* 赤潮で確認されている (Imai et al., 1998a; Kim et al., 1998; Yoshinaga et al., 1998; 今井, 2011b)。2003 年 1 月には、冬季であるが殺菌細菌密度が比較的高く検出された。またその他の季節においても、Km-killer が相対的に多く推移していた (Figs. 4, 5)。この水域においては、研究期間を通じて研究対象とした赤潮プランクトンによる赤潮は発生しなかった。このことより、比較的高い密度の殺菌細菌の起源は、赤潮の発生とは別のものであることが明らかである。

以上得られた結果から、沿岸海水中の殺菌細菌と海藻 (アオサ) 表面の殺菌細菌が殺滅する赤潮生物種が *K. mikimotoi* と *F. japonica* である点で一致していたことより、沿岸の高密度の殺菌細菌の供給源は海藻表面である可能性が強く示唆された。このことは、人為的に海藻と魚介類を混合養殖することによって、養殖場に殺菌細菌供給源を設けることができることを示している。今回設置された混合養殖の規模はたった 1 つの養殖生け簀であり、周辺海域に殺菌細菌を大量に供給できる規模でないことは明らかである。この付近の沿岸には天然の海藻群落も存在しており、それらを合計した規模は相当のものになるはずであり、今回得られた海水中の殺菌細菌について得られた計数結果の実質部分は、下芳養湾沿岸周辺の藻場の起源であると推定される。しかしながら、魚類と混合養殖したアオサの表面には概ね  $10^5 \sim 10^6$  cells  $g^{-1}$  (湿重) の殺菌細菌が付着生息している事実

が明らかとなった。今後の課題としては、混合養殖する海藻類の種類と規模の見積もりがあげられ、養殖場周辺の流動状況の把握を通じて最適な混合養殖の実施法と場所を決めていくことが重要であろう。さらに今回、沿岸水中とアオサの表面に多くの殺菌細菌を見出し分離したが、これらの殺菌細菌と、現場海水中で赤潮が発生～消滅した時に出現して働く殺菌細菌が同じグループのメンバーなのか全く異なるのかについて明らかにする事が、将来の重要な研究課題である。

今回我々が見出したアオサ表面への殺菌細菌の大量付着現象は、大型藻類と魚類の複合養殖という現場技術の応用を通じて、赤潮の発生予防技術の開発に道を拓くものと期待される (今井, 2002)。すなわち現場で波浪等により、継続的に殺菌細菌が大型藻類の表面から海水中へ剥離供給されることによって、常に赤潮予防体制が整うと位置付けられる。いわば、植物プランクトンの異常増殖を防ぐという意味で、海の「恒常性機能」を強化することになると考えられる。さらに、養殖漁場において餌料や魚類の排泄物として負荷される栄養塩の吸収を海藻が行うことにより、環境修復機能も期待できる (平田, 1999; 和歌山県, 2003)。このように魚介類と海藻の複合養殖を通じて赤潮の発生予防が可能になれば、環境にやさしい究極の対策技術となり、我国のみならず、世界中の有害赤潮による魚介類の斃死被害に悩む海面魚類養殖に、計り知れない恩恵を与えるものと期待される。

## 謝 辞

本研究において、混合養殖場の設置や、サンプリング等に全面的なご協力を戴いた和歌山県農林水産総合技術センター水産試験場増養殖研究所 (当時) の関係職員の方々に、心から感謝申し上げます。また本研究の遂行に際し、貴重なご助言を賜った京都大学名誉教授の中原紘之博士に厚くお礼を申し上げます。本研究は、日本生命財団環境問題研

究助成を受けており、記して感謝の意を表します。

## 文 献

- Chen, L.C.M., Edelman, T. and McLachlan, J. (1969) *Bonnemaisonia hamifera* Hariot in nature and in culture. *J. Phycol.*, **5**, 211-220.
- 平田八郎 (1999) 養殖魚介類への飼料化. pp. 106-117. 能登谷正浩 (編), アオサの利用と環境修復, 成山堂書店, 東京.
- 今井一郎 (1995) 珪藻類を用いたシャットネラ赤潮の生態学的防除の可能性. 月刊海洋, **27**, 603-612.
- 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.
- 今井一郎 (1998) 赤潮の生物的防除の可能性. 日本海水学会誌, **52**, 216-227.
- 今井一郎 (1999) 微生物を用いた赤潮の防除. 化学工業, **50**, 668-676.
- 今井一郎 (2000) 赤潮微細藻類の計数と無菌培養法. pp. 85-90. 石田祐三郎・杉田治男 (編), 海洋環境アセスメントのための微生物実験法, 恒星社厚生閣, 東京.
- 今井一郎 (2002) 大型藻類と魚類の混合養殖による赤潮の発生予防. pp. 19-29. 広石伸互・今井一郎・石丸 隆 (編), 有害有毒藻類ブルームの予防と駆除, 恒星社厚生閣, 東京.
- 今井一郎 (2007) 微生物による赤潮防除. pp. 110-123. 藤井建夫・杉田治男・左子芳彦 (編), 微生物の利用と制御一食の安全から環境保全まで一, 恒星社厚生閣, 東京.
- 今井一郎 (2011a) 有害有毒赤潮の生物学 (13) 赤潮プランクトンを殺滅する細菌. 海洋と生物, **33**, 97-103.
- 今井一郎 (2011b) 有害有毒赤潮の生物学 (17) 現場海域における殺藻細菌と赤潮プランクトンの関係-I. 海洋と生物, **33**, 457-466.
- 今井一郎・吉永都生 (2002) 赤潮の予防と駆除. pp. 881-888. 今中忠行・加藤千明・加藤暢夫・倉根隆一郎・西山 徹・矢木修身 (編), 微生物利用の大展開, エヌ・ティー・エス, 東京.
- 今井一郎・中桐 栄・牧 輝弥 (1999) *Heterocapsa circularisquama* と海洋細菌との関係. 日本プランクトン学会報, **46**, 172-177.
- Imai, I., Kim, M.C., Nagasaki, K., Itakura, S. and Ishida, Y. (1998a) Relationships between dynamics of red tide-causing raphidophycean flagellates and algicidal micro-organisms in the coastal sea of Japan. *Phycol. Res.*, **46**, 139-146.
- Imai, I., Kim, M.C., Nagasaki, K., Itakura, S. and Ishida, Y. (1998b) Detection and enumeration of microorganisms that are lethal to harmful phytoplankton in coastal waters. *Plankton Biol. Ecol.*, **45**, 19-29.
- Imai, I., Sunahara, T., Nishikawa, T., Hori, Y., Kondo, R. and Hiroishi, S. (2001) Fluctuations of the red tide flagellates *Chattonella* spp. (Raphidophyceae) and algicidal bacterium *Cytophaga* sp. in the Seto Inland Sea. *Mar. Biol.*, **138**, 1043-1049.
- Imai, I., Fujimaru, D. and Nishigaki, T. (2002) Co-culture of fish with macroalgae and associated bacteria: A possible mitigation strategy for noxious red tides in enclosed coastal sea. *Fish. Sci.*, **68** (Supplement), 493-496.
- Imai, I., Yamaguchi, M. and Hori, Y. (2006a) Eutrophication and occurrences of harmful algal blooms in the Seto Inland Sea. *Plankton Benthos Res.*, **1**, 71-84.
- Imai, I., Fujimaru, D., Nishigaki, T., Kurosaki, M. and Sugita, H. (2006b) Algicidal bacteria isolated from the surface of seaweeds from the coast of Osaka Bay in the Seto Inland sea, Japan. *Afr. J. Mar. Sci.*, **28**, 319-323.
- Ishida, Y., Eguchi, M. and Kadota, H. (1986) Existence of obligately oligotrophic bacteria as a dominant population in the South China Sea and the West Pacific Ocean. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **30**, 197-203.
- Kim, M.C., Yoshinaga, I., Imai, I., Nagasaki, K., Itakura, S. and Ishida, Y. (1998) A close relationship between algicidal bacteria and termination of *Heterosigma akashiwo* (Raphidophyceae) blooms in Hiroshima Bay, Japan. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **170**, 25-32.
- Mayali, X. and Doucette, G. (2002) Microbial community interactions and population dynamics of an algicidal bacterium active against *Karenia brevis* (Dinophyceae). *Harmful Algae*, **1**, 277-293.
- 長崎慶三 (1998) 殺藻性ウイルスによる赤潮防除の可能性. *Microb. Environ.*, **13**, 109-113.
- 鬼塚 剛・青木一弘・清水 学・松山幸彦・木元克則・松尾 斉・未代勇樹・西 広海・田原義雄・櫻田清成 (2011) 2010年夏季に八代海で発生した *Chattonella antiqua* 赤潮の短期変動—南部海域における出現特性—. 水産海洋研究, **75**, 143-153.
- 坂田泰造 (2000) 有害有害プランクトン発生防除の対策—微生物による防除. pp. 215-235. 石田祐三郎・本城凡夫・福代康夫・今井一郎 (編), 有害・有毒赤潮の発生と予知・防除, 日本水産資源保護協会, 東京.
- Salomon, P.S. and Imai, I. (2006) Pathogens of harmful microalgae. pp. 271-282. Granéli, E. and Turner, J.T. (eds.), *Ecology of harmful algae*, Springer-Verlag, Berlin.
- 代田昭彦 (1992) 赤潮の対策研究と技術開発試験の経緯と展望. 月刊海洋, **24**, 3-16.
- 和歌山県農林水産総合技術センター水産試験場増養殖研究所 (2003) 平成 14 年度海面養殖業ゼロエミッション推進対策調査事業報告書 (複合増殖実証試験), 和歌山.
- Yoshinaga, I., Kawai, T., Takeuchi, T. and Ishida, Y. (1995) Distribution and fluctuation of bacteria inhibiting the growth of a marine red tide phytoplankton *Gymnodinium nagasakiense* in Tanabe Bay (Wakayama Pref., Japan). *Fish. Sci.*, **61**, 780-786.
- Yoshinaga, I., Kim, M.C., Katanozaka, N., Imai, I., Uchida, A. and Ishida, Y. (1998) Population structure of algicidal marine bacteria targeting the red tide forming alga *Heterosigma akashiwo* (Raphidophyceae), determined by restriction fragment length polymorphism analysis of the bacterial 16S ribosomal RNA genes. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **170**, 33-44.