

総説

有害有毒赤潮藻の消滅に関わる海洋微生物の殺藻戦略

石田祐三郎*, 満谷 淳*

Algicidal Marine Microorganisms Associated with Disintegration of Harmful Algal Blooms

Yuzaburo Ishida* and Atsushi Mitsutani*

Rep. Res. Inst. Mar. Biores., Fukuyama Univ., (9), 39-50 (1998)

It is well known that red tide outbreaks are ultimately caused by eutrophication linked to pollution and human changes. Several physical factors such as temperature, salinity, waves depending on the season and sea areas are also involved in the outbreaks. The mechanism of algal red tide outbreaks is so complex that forecasting the occurrence of a harmful algal bloom is not yet possible. One major reason for this is that an algal growth is usually associated with other microorganisms such as viruses or bacteria. In recent years, many studies have been conducted on algal-viral or algal-bacterial interactions, and it is found that algicidal viruses and algicidal bacteria are widely distributed in eutrophic lakes or coastal waters and that their abundance is correlated well with that of red tide causing algae. These results suggest the possibility that algicidal microorganisms contribute to the disintegration of red tides. The prevention of harmful algal red tides by using algicidal microorganisms originally isolated from natural coastal waters as a bioremediator is thought to be a useful technique, because it is expected that these microorganisms hardly disturb the ecological balance of the natural environment. However, it has been very difficult to find an effective way to apply such microorganisms in an open system, e.g., a marine environment. It is necessary to elucidate the ecology of algicidal microorganisms to establish effective application methods based on their ecology.

Key words: red tides, algicidal microorganisms, bioremediation

1960年代から瀬戸内海において著しい漁業被害をもたらしてきた有害有毒赤潮の発生は、人間活動のもたらす海洋汚染に由来する富栄養化が原因の一つであることは周知のことである。むろん、赤潮の発生

* 海洋生物工学科 (Department of Marine Biotechnology, Fukuyama University, Fukuyama 729-0292).

は富栄養化だけによるのではなく、水温、塩分や気象状況なども重要な要因である¹⁾。しかし、それらの研究によっても、なおかつ不明な要因があり、赤潮発生および消滅の予測を不確かなものとしている。その不明な要因の主な部分が細菌やウイルスなどの微生物の作用と推定される²⁾。ここでは、赤潮消滅に関する微生物の殺藻戦略について、その概要を紹介する。

しばしば、赤潮は、ある日突然消滅する^{3, 4)}。この突然の消滅の主な原因は、炭酸ガス、硝酸などの窒素化合物、リン酸、鉄、ビタミンなどの減少による化学的要因や、強風、波浪などの物理的要因が挙げられているが、近年、赤潮消滅時に赤潮藻を殺滅するウイルス、細菌などの微生物の存在が明らかにされ、研究が急速に進展した。

1. 殺藻ウイルス

淡水性ラン藻を溶菌するシアノファージに関する研究は Safferman と Morris⁵⁾ によって始められ、*Lyngbya* 属、*Plectonema* 属と *Phormidium* 属に感染する Podoviride 科 *Cyanopodovirus* 属の LPP-1 や LPP-2⁶⁾、*Synechococcus* 属と *Microcystis* 属に感染する SM グループ⁷⁾、*Anacystis* 属と *Synechococcus* 属に感染する AS グループ⁸⁾、*Anabaena* 属と *Nostoc* 属に感染する A グループ、N グループおよび AN グループ⁹⁾などが分離された。

一方、真核藻類のウイルスについては、まず、電子顕微鏡観察によって渦鞭毛藻 *Gyrodinium resplendens*¹⁰⁾、クリプト藻 *Cryptomonas* sp.、ハプト藻 *Hymenomonas carterae*、プラシノ藻 *Micromonas pusilla*¹¹⁾、緑藻 *Chlorella* sp. NC64A¹²⁾などの微細藻類の細胞の核または細胞質にウイルス様粒子 (Virus like particles; VLPs) が確認された。このほか、多細胞の海産藻類についても観察されている^{13, 14)}。

これらの知見とは別に、海洋において遊離のウイルス様粒子 (VLPs) が高密度に存在することが、Torrella と Morita¹⁵⁾によって初めて報告された。しかし、注目されることなく10年が過ぎたが、Berghら¹⁶⁾による富栄養湖や沿岸海域からの $10^6 \sim 10^8/m^l$ のウイルス粒子の検出が契機となり、Suttleら¹⁷⁾は多量の海水を濃縮することによって、感染性のあるウイルスを検出することに成功し、さらに、珪藻、クリプト藻、プラシノ藻などの真核性植物プランクトンに感染するウイルスを分離した¹⁸⁾。以後、赤潮藻である黄色鞭毛藻 *Aureococcus anophagefferens*¹⁹⁾、ハプト藻 *Emiliania huxleyi*²⁰⁾、*Chrysochromulina* spp.²¹⁾、*Phaeocystis pouchetii*²²⁾、ラフィド藻 *Heterosigma akashiwo*²³⁾に感染するウイルスがつぎつぎと検出された。

Bratbakら²⁴⁾は、ノルウェー国ベルゲンの南20kmの Raunefjorden 近くの湾に設置したメソコスムに発生した *E. huxleyi* 赤潮の消滅時に、大型の VLPs (六方晶形, 180nm 径) の数が $1 \sim 2 \times 10^{10}/l$ と最大に達すること、および藻体内にも形態学的に類似の VLPs が高密度に分布することを観察した。とくに、栄養塩非制限下や、低濃度の窒素のもとでは、この VLPs による *E. huxleyi* の死滅率が 25~100%にも達した。米国ナラガンセット湾に発生した Brown tide の原因藻 *A. anophagefferens* に感染する VLPs は尾部を持つ正二十面体のウイルスであった¹⁹⁾。北海沿岸の泡発生の原因藻 *P. pouchetii* に感染するウイルス PpV は、放出数 350~600 で潜伏期が 12~18h であった²²⁾。Nagasakiら²⁵⁾は、電子顕微鏡観察によって北部の広島湾に発生する赤潮藻 *H. akashiwo* の消滅時の一部の細胞内に高密度の VLPs を観察した。その形態は 165~185nm 径の尾部を欠く正二十面体で、キャプシッド内に電子密度の高い円形のコアを持っている^{26, 27)}。さらに、分離した *H. akashiwo* に感染したウイルス (HaV) の 14 クローンが、

その赤潮試料のウイルスと形態的に同じで、*H. akashiwo* に特異的に感染したが²⁸⁾、これらクローンの感染性と宿主側のウイルス感受性が水温や生理的状态に左右される可能性があり、両者の関係は複雑であることが示された^{29, 30)}。

近年、この分野の研究者が増加してきたにもかかわらず、まだ、ウイルスによる赤潮の消滅のメカニズムは明らかにされていない。恐らく、これらウイルスは溶原化ウイルスとして何らかの引き金があるものと推定される。

Table 1. Host specificities of cyanobacteria lytic gliding bacteria isolated from Lake Suwa by using *Microcystis aeruginosa* NIES-99 as a host in 1986.⁴¹⁾

Host organism	Lytic bacteria									
	LS-12	LS-13	LS-14	LS-15	LS-16	LS-17	LS-18	LS-19	LS-20	LS-21
Cyanobacteria										
Nostocales										
<i>Anabaena cylindrica</i> M-1 (IAM)	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
<i>A. affinis</i> NIES-72 (Lake Kasumigaura)	-	-	-	-	-	-	-	-	±	±
<i>A. variabilis</i> ATCC 29413	-	-	+	+	+	+	-	-	-	+
<i>Cylindrospermum licheniforme</i> ATCC 29412	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Plectonema boryanum</i> M-101 (IAM)	+	±	+	±	+	+	±	±	+	+
<i>Phormidium tenue</i> (Lake Biwa)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Chroococcales										
<i>Synechococcus</i> sp. ATCC 27344	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Microcystis aeruginosa</i> NIES-99 (Lake Suwa)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>M. aeruginosa</i> NIES-44 (Lake Kasumigaura)	-	+	+	±	+	+	+	+	+	+
<i>M. viridis</i> NIES-102 (Lake Kasumigaura)	-	+	+	±	+	+	±	+	+	+
<i>M. viridis</i> NIES-103 (Lake Kasumigaura)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>M. wesenbergii</i> NIES-108 (Lake Kasumigaura)	-	-	+	±	+	-	+	+	-	+
Green Algae										
<i>Chlorella pyrenoidosa</i> C-28 (IAM)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Chlamydomonas reinhardtii</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Bacteria										
<i>Escherichia coli</i> IFO 3366	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6051	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>B. megaterium</i> ATCC 19213	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Micrococcus lysodeikticus</i> ATCC 4698	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Results were read after 14 days of incubation. Lytic activity in each test noted as: +, good lysis; ±, weak lysis or growth inhibition; -, no lysis.

2. 細菌による赤潮の消滅

シアノファージと同様, ラン藻を殺滅する滑走細菌の研究は, 淡水域で活発に行われていた^{31, 32)}. 滑走細菌によるラン藻殺滅機作は2つのタイプに分かれる. 1つは細菌が直接ラン藻に接触して溶藻するもので, ほかの1つは細菌が放出する溶藻物質によってラン藻を分解するものである. Daft と Stewart^{33, 34)}がスコットランドの湖水や汚水から分離した子実体を形成しない粘液細菌 CP-1 株は, ラン藻に直接接触して溶藻するタイプの細菌である. また, Shilo³¹⁾ がイスラエルの養殖池から分離した子実体を形成しない粘液細菌 FP-1 株も直接ラン藻分解型であった. 一方, 米国で Stewart と Brown³⁵⁾が分離した *Myxobacter* 44 株, Burnham ら^{36, 37)}が分離した *Myxococcus fulvus* BG02 株, それに Yamamoto と Suzuki³⁸⁾ が諏訪湖から分離した *M. fulvus* S-1-8 株は細胞外に排泄したリゾチーム様の酵素によりラン藻を溶藻する. しかし, 溶藻に関わる酵素が分離精製されたのは, Mitsutani ら³⁹⁾が琵琶湖から分離した *Lysobacter* sp. LB-1 株の生産するアルカリ性セリンプロテアーゼ⁴⁰⁾のみである. 前者3株の溶藻宿主範囲は比較的広いが, 後者の LB-1 株は, 当時琵琶湖でブルームを形成していた *Anabaena solitaria* を含む Nostocales 科のラン藻を特異的に溶藻する. 一方, 満谷ら⁴¹⁾が *Microcystis aeruginosa* ブルームのが頻発する

諏訪湖から分離した滑走細菌は, *M. aeruginosa* を含む Chroococcales 科のラン藻を特異的に溶藻する (Table 1). 野外調査において, 上記いずれの場合にもラン藻溶藻細菌の密度の増減とラン藻の増減との間に, 相関関係が観察されたので (Fig. 1), 恐らくこれらの溶藻細菌がラン藻のブルームの消滅に関わっていると推定される. しかし, まだ不明の点もある. すなわち, 培養実験においてこれら細菌がラン藻を溶藻するためには, 10^6 cells/m³以上の細胞密度が必要であるが^{42, 43)}, 培養計数法で測定した現場水中の溶藻細菌の密度はその 1/100 から 1/1000 と極めて低い. 恐らく, 計数法に問題があるものと推定される. なお, 淡水性真核微細藻類に対する溶藻細菌の報告は, Geither⁴⁴⁾の滑走細菌 *Polyangium parasiticum* による緑藻の溶藻と Gromov と Kamkaeva⁴⁵⁾の *Bdellovibrio* sp.による *Chlorella vulgaris* の溶藻のみである.

海洋におけるラン藻や真核生物の植物プランクトンに対する微生物による溶藻・殺滅については, 古くから, 養殖生物の餌料としてタンク培養されている珪藻類や緑藻類がしばしば突然消滅する現象から, 微生物の関与の可能性が推定されていた. そうした中で, Baker と Herson⁴⁶⁾ は初めて, カキ幼生の餌料である *Thalassiosira pseudonana* の突発的の死滅の原因が海洋細菌 *Pseudomonas* sp.によることを明らかにした. その後, 坂田のグループ⁴⁷⁻⁵⁰⁾が, 真珠稚貝育成用の餌料としての珪藻 *Chaetoceros calcitrans* の溶

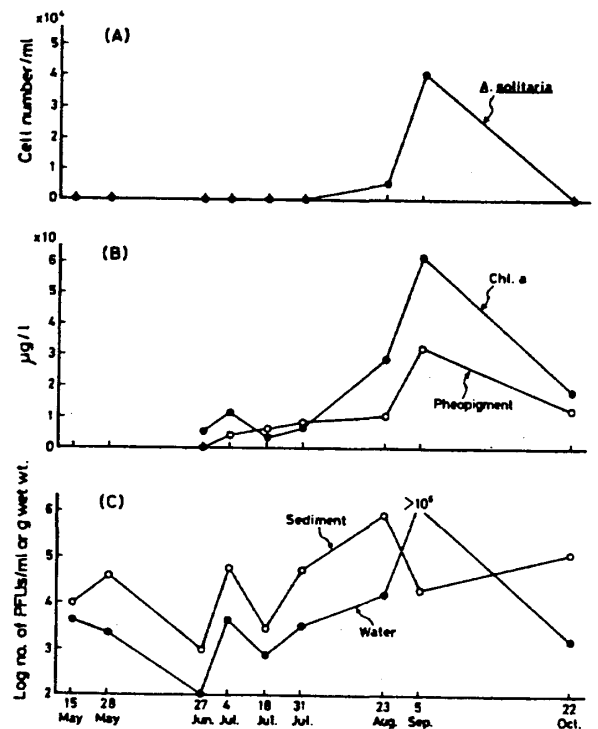


Fig. 1. Seasonal changes of the abundance of cyanobacteria and cyanobacteria lytic microbes at Yabase station in Southern Lake Biwa in 1985³⁹⁾.

(A) cell number of *Anabaena solitaria*, (B) concentrations of chlorophyll-a and pheopigment, (C) number of cyanobacteria lytic microbes

藻に滑走細菌である *Saprospira* spp., *Vitreosilla* sp., *Cytophaga* sp., それに真核粘菌類の *Labyrinthula* sp.やアメーバがかかわっていることを示した。これら微生物による溶藻は珪藻への直接の接触によるものである。なお、栄養要求性を調べると、*Saprospira* spp.は、ペプトン、グルタミン酸、グリシン、 α -ケトグルタル酸、リンゴ酸などの存在下では珪藻なしでよく増殖し、珪藻を加えても溶藻しない⁵¹⁾。

一方、赤潮藻を対象にした殺藻細菌については、石尾ら⁵²⁾が、渦鞭毛藻の赤潮が発生していない有明海や博多湾から渦鞭毛藻を殺藻する細菌を分離し、*Vibrio alginifestus* と命名したのが最初である。しかしながら、この細菌が生産する作用物質 (DGI) の詳細は明らかにされていない。赤潮の消滅は、しばしば劇的に急激に起こる。従来、雨や風によるとされていた赤潮消滅の原因が、微生物の殺滅作用によるとの前提のもとに、農林水産庁の委託事業として、平成2年から7大学および1水産研究所によって殺藻細

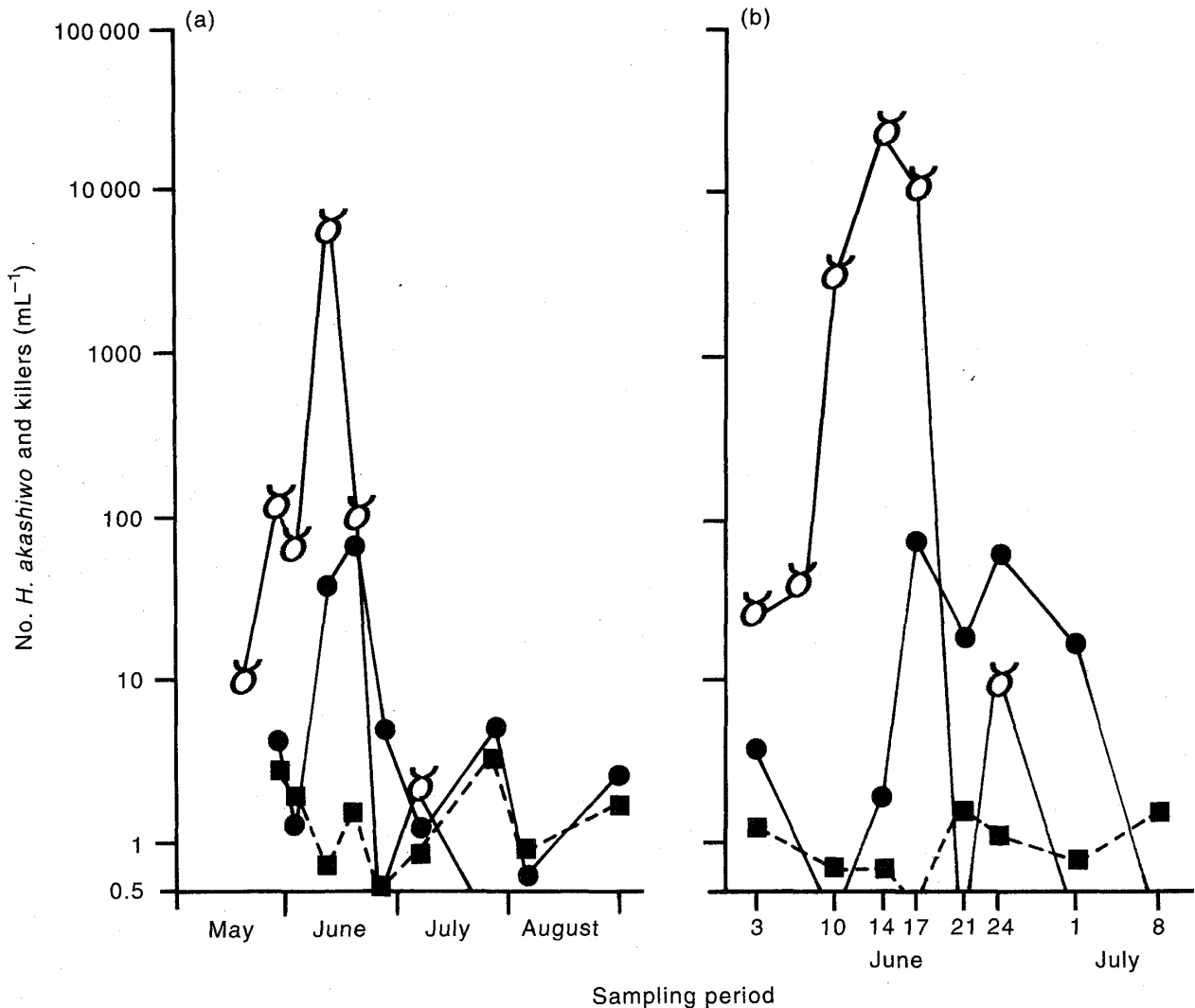


Fig. 2. Fluctuations in densities of *Heterosigma akashiwo* (O), H-killers (●, algicidal microorganisms against *H. akashiwo*) and C-killers (■, algicidal microorganisms against *Chattonella antiqua*) in the waters collected at (a) St. 1 in northern Hiroshima Bay from 28 May to 31 August in 1992 and at (b) St. M from 3 June to 8 July in 1993⁶²⁾.

菌・ウイルスの研究が始められた。その結果、五ヶ所湾⁵³⁾、田辺湾⁵⁴⁻⁵⁶⁾と浦の内湾⁵⁷⁻⁵⁹⁾からそれぞれ渦鞭毛藻 *Gymnodinium mikimotoi* を殺藻する細菌が、広島湾⁶⁰⁻⁶⁴⁾と播磨灘^{65, 66)}からラフィド藻 *H. akashiwo* と *Chattonella antiqua* を殺藻する細菌が、有明海^{43, 67)}、三河湾⁶⁸⁾および鹿児島湾⁴⁷⁻⁵⁰⁾から珪藻を溶藻する細菌が多数分離された。

広島湾における1992年から4年間の *H. akashiwo* 赤潮の発生・消滅過程の観察によると、赤潮の発生に伴って *H. akashiwo* を殺藻する細菌数が増加し、赤潮の消滅時に最大に達した (Fig. 2)。一方、その期間、同じラフィド藻であるが赤潮を形成しなかった *C. antiqua* を殺藻する細菌については、その数が極めて少なく、殺藻細菌の出現は特定の赤潮の消滅と密接に関係していることが推定された^{62, 63)}。さらに、その過程で分離された殺藻細菌 223 株の 16S rDNA の RFLP (restriction fragment length polymorphism) パターンを3種の制限酵素によって調べると、リボタイプとして17に分けられた。その内、赤潮消滅時には3種のリボタイプ (B, C, D) が優勢であった。この傾向は大阪湾においても同様であった。なお、このリボタイプはいずれも γ -プロテオバクテリア群に属する新種であった⁶⁴⁾。

田辺湾においても *G. mikimotoi* 赤潮の消滅時における *G. mikimotoi* 殺藻細菌の増加が報告された⁵⁵⁾。分離した殺藻細菌の中で最も活性が高かった E401 株は *Alteromonas* 属に属する新種であった。また、E401 株が細胞外に放出する殺藻物質は、タンパク質で、*G. mikimotoi* の藻体またはその培養濾液の存在下においてのみ生産され、*G. mikimotoi* などの渦鞭毛藻のみを殺藻した⁵⁴⁾。

有明海における珪藻 *S. costatum* の赤潮と *S. costatum* 殺藻細菌の間にも密接な関係が確認されている。すなわち、夏季の *S. costatum* 赤潮の発生時には *S. costatum* 殺藻細菌が $3.8 \times 10^4/\text{ml}$ と増加したが、冬季の *Chaetoceros* spp. などの珪藻赤潮の発生時には、*S. costatum* 殺藻細菌は $10^3/\text{ml}$ 以下であった (Fig. 3)⁴³⁾。これらの結果は、特定種の赤潮時には特定の殺藻細菌が増加し、赤潮の消滅に関わっている可能性が高いことを示している。珪藻赤潮を溶藻する細菌のうち、とりわけ活性の高い A25 株および A28 株はいずれも *Pseudoalteromonas* 属であった。

このような赤潮藻類の消滅と殺藻細菌の増加の相関関係は、前述のラン藻と殺藻細菌の場合と同様に、定量的に多少の問題がある。無菌培養の赤潮藻を完全に殺藻するのに必要な細菌数は藻体細胞数の約 10~100 倍必要であるにもかかわらず、赤潮現場海域では、逆に藻体細胞数に対する殺藻細菌数の割合は 1/10

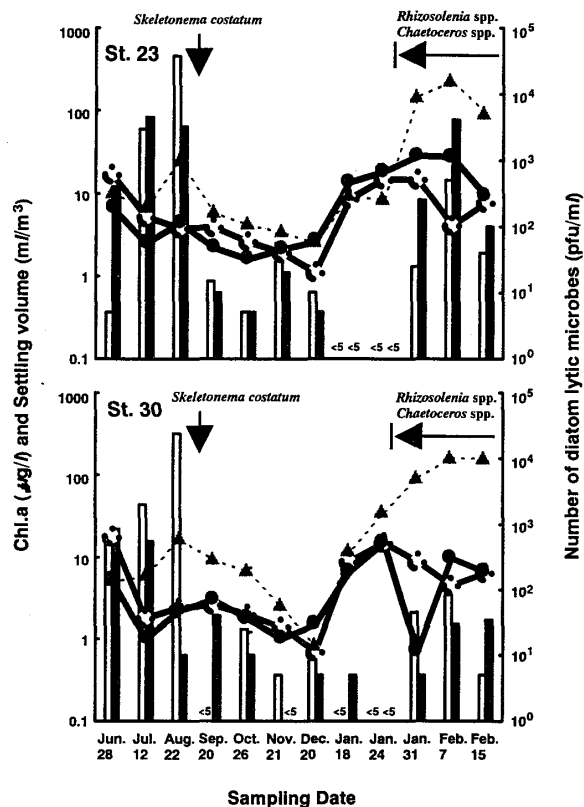


Fig. 3. Changes of the abundance of algae and diatom lytic microbes at stations 23 and 30 during sampling period from June, 1994 to February, 1995⁴³⁾.

○, concentration of chlorophyll-a in surface water; ●, concentration of chlorophyll-a in bottom water; ▲, settling volume; □, number of diatom lytic microbes in surface water; ■, number of diatom lytic microbes in bottom water; arrow indicates the occurrence of red tide by diatoms and its dominant species.

～1/100 と極めて少ない^{43, 55, 58}). 恐らく, 計数法に問題があるものと推定される。すなわち, 珪藻を除く赤潮藻は, 寒天平板培養に増殖できないことから, 通常, 液体培養 (計数には MPN 法) が用いられる。したがって, 試験管の中に殺藻細菌のほか, 殺藻を妨げる細菌や, 藻類の増殖を促進する細菌が存在する可能性が高い⁶⁹). そのために, 見掛け上の殺藻細菌数が少なくなると推定される。分離計数法に更なる工夫が必要である。

赤潮藻を殺藻する微生物は, 海洋に常在し, 赤潮の発生とともに増加し, ある閾値に達した時点で殺藻作用を及ぼすものと推定される。赤潮発生を人為的に抑制するためには, まず, 殺藻細菌の生態と殺藻の機作を解明することが先決であろう。出来ることなら, 当該赤潮藻を特異的に殺藻し, しかも接触による溶藻・殺藻機能を持つ細菌を選抜し, 細菌の藻類認識機構を明らかにすることが望ましい。このような研究の積み重ねによって, 海洋のような開放流動性の環境における効果的な赤潮駆除技術の開発への道も, 開けてくるものと思われる。

上記の殺藻による赤潮の除去法のほか, 赤潮藻の休眠細胞形成を阻止する細菌の研究も行われている。渦鞭毛藻等は雌雄接合によって休眠細胞を形成し, 翌年の赤潮形成のシードポピュレーションとなる。したがって, 細菌によってシスト形成を阻害することは, 永い目で見れば赤潮発生阻止の有効な方法であろう。Sawayamaらおよび沢山⁷⁰⁻⁷⁵)は, 2種類の細菌から各々1種類の雌雄接合阻害物質を分離精製した。淡水から分離された *Bacillus brevis* NT4株が産生する阻害物質は分子量754のオリゴペプチド (構造決定) で, *A. catenella*の接合を64 μ Mの濃度で阻害した。海洋性の *Alteromonas* sp. MB1が産生する阻害物質はレクチン様蛋白質 (700Da) で, *A. catenella*の接合を0.0007%で完全に阻止した。このようなシスト形成を阻止する研究は, 長期的には有効な方法と期待されるが, 後続の研究はない。

文 献

- 1) 柳哲雄, 遠藤拓郎, 西島敏隆, 畑幸彦, 門谷茂, 岡市友利: 赤潮発生の物理・化学環境, 「赤潮の科学」(岡市友利編), 恒星社厚生閣, 東京, 1987, pp.149-210.
- 2) Y. Ishida and A. Mitsutani: Microorganisms associated with the occurrences of algal red tides (harmful algal blooms). In "Red Tides" (ed. by T. Okaichi), in press.
- 3) T. Honjo, T. Shimouse, and T. Hanaoka: A red tide occurred at the Hakozaki Fishing Port, Hakata Bay, in 1973. The growth process and the chlorophyll content. *Bull. Plankt. Soc. Japan.*, 25, 7-12 (1978).
- 4) M.S. Han, K. Furuya, and T. Nemoto: Species-specific photosynthesis of red tide phytoplankton in Tokyo Bay. In "Red Tides: Biology, environmental science, and toxicology" (eds. Okaichi, T., Anderson, D.M., and Nemoto, T.), Elsevier Sci. Publ., New York, 1989, pp.213-216.
- 5) R.S. Safferman and M.E. Morris: Algal virus: Isolation. *Science*, 140, 679-680 (1963).
- 6) R.S. Safferman, R.E. Cannon, P.R. Desjardins, B.V. Gromov, R. Haslkorn, L.A. Sherman, and M. Shilo: Classification and nomenclature of viruses of cyanobacter. *Intervirology*, 19, 61-66 (1983).
- 7) R.S. Safferman, I.R. Schneider, R.L. Steere, M.E. Morris, and T.O. Diener: Phycovirus SM-1: A virus infecting unicellular blue-green algae. *Virology*, 37, 386-395 (1969).
- 8) R.S. Safferman, R.S., T.O. Diener, P.R. Desjardins, and M.E. Morris: Isolation and

- characterization of AS-1, a phycovirus infecting the blue-green algae, *Anacystis nidlans* and *Synechococcus cedrorum*. *Virology*, 47, 105-113 (1972).
- 9) N.T. Hu, T. Thiel, T. H. Giddings, Jr., and C.P. Wolk : New *Anabaena* and *Nostoc* cyanophages from sewage settling ponds. *Virology*, 114, 236-246 (1981).
 - 10) S. Franka : On the presence of virus-like particles in the dinoflagellate *Gyrodinium resplendens* (Hulbert), *Protistologica*, 12, 425-430 (1976).
 - 11) R.N. Pienaar : Virus-like particles in three species of phytoplankton from San Juan Island, Washington. *Phycologia*, 15, 185-190 (1976).
 - 12) W. Reisser, B. Becker, and T. Klein : Studies on ultrastructure and host range of a *Chlorella* attacking virus. *Protoplasma*, 135, 162-165 (1986).
 - 13) J.L. Van Etten, L.C. Lane, and R.H. Meints : Viruses and virus-like particles of eucaryotic algae. *Microbiol. Rev.*, 55, 586-620 (1991).
 - 14) 山田 隆, 竹原 淳 : 真核性藻類ウイルスの分子生物学, 蛋白質・核酸・酵素, 37, 2161-2171 (1992).
 - 15) F. Torrella and R.Y. Morita : Evidence by electron micrographs for a high incidence of bacteriophage particles in the waters of Yaquina Bay, Oregon: Ecological and taxonomical implications. *Appl. Environ. Microbiol.*, 37, 774-778 (1979).
 - 16) O. Bergh, K.Y. Borsheim, G. Bratbak, and M. Heldal : High abundance of viruses found in aquatic environments. *Nature*, 340, 467-468 (1989).
 - 17) C.A. Suttle, A.M. Chan, and M.T. Cottrell : Infection of phytoplankton by viruses and reduction of primary productivity. *Nature*, 347, 467-469 (1990).
 - 18) M.T. Cottrell and C.A. Suttle : Wide-spread occurrence and clonal variation in viruses which cause lysis of a cosmopolitan, eucaryotic marine phytoplankter, *Micromonas pusilla*. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 78, 1-9 (1991).
 - 19) K.L.D. Milligan and E.M. Cosper : Isolation of virus capable of lysing the brown tide microalga, *Aureococcus anophagefferens*. *Science*, 266, 805-807 (1994).
 - 20) G. Bratbak, G., W. Willson, and M. Heldal: Viral control *Emiliania huxleyi* blooms?. *J. Mar. Syst.*, 9, 75-81 (1996).
 - 21) C.A. Suttle and A.M. Chan : Viruses infecting the marine Prymnesiophyte *Chrysochromulina* spp.: isolation, preliminary characterization and natural abundance. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 118, 275-282 (1995).
 - 22) A. Jacobsen, G. Bratbak, and M. Heldal : Isolation and characterization of a virus infecting *Phaeocystis pouchetii* (Haptophyceae), *J. Phycol.*, 32, 923-927 (1996).
 - 23) K. Nagasaki and M. Yamaguchi : Isolation of a virus infectious to the harmful bloom causing microalga *Heterosigma akashiwo* (Raphidophyceae). *Aquat. Microb. Ecol.*, 13, 135-140 (1997).
 - 24) G. Bratbak, J.K. Egge, and M. Heldal : Viral mortality of the marine alga *Emiliania huxleyi* (Haptophyceae) and termination of algal blooms. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 93, 39-48 (1993).
 - 25) K. Nagasaki, M. Ando, S. Itakura, I. Imai, and Y. Ishida : Viral mortality in the final stage of *Heterosigma akashiwo* (Raphidophyceae) red tide. *J. Plankton Res.*, 16, 1595-1599 (1994).

- 26) K. Nagasaki, M. Ando, I. Imai, S. Itakura, and Y. Ishida : Virus-like particles in *Heterosigma akashiwo* (Raphidophyceae): a possible red tide disintegration mechanism. *Mar. Biol.*, 119, 307-312 (1994).
- 27) K. Nagasaki, I. Imai, S. Itakura, M. Ando, and Y. Ishida : Viral infection in *Heterosigma akashiwo* (Raphidophyceae): a possible termination mechanism of the noxious red tide. In "Harmful Marine Algal Blooms" (eds. Lassus, P., F. Arzul, E. Erard-Le Denn, P. Gentien, and C. Marcaillou-Le Baut) Lavoisier Publishing Inc., Paris, 1995, pp.639-644.
- 28) K. Nagasaki and M. Yamaguchi : Isolation of a virus infectious to the harmful bloom causing microalga *Heterosigma akashiwo* (Raphidophyceae). *Aquat. Microb. Ecol.*, 13, 135-140 (1997).
- 29) K. Nagasaki and M. Yamaguchi : Intra-species host specificity of HaV (*Heterosigma akashiwo* virus) clones. *Aquat. Microb. Ecol.*, 14, 109-112 (1998).
- 30) K. Nagasaki and M. Yamaguchi : Effect of temperature on the algicidal activity and the stability of HaV (*Heterosigma akashiwo* virus). *Aquat. Microb. Ecol.*, 15, 211-216 (1998).
- 31) M. Shilo : Lysis of blue-green algae by Myxobacter. *J. Bacteriol.*, 104, 453-461 (1970).
- 32) J.R. Stewart and R.M. Brown : *Cytophaga* that kills and lyses algae. *Science*, 164, 1523-1524 (1969).
- 33) M.J. Daft and W.D.P. Stewart : Bacterial pathogens of freshwater blue-green algae. *New Phytol.*, 70, 819-829 (1971).
- 34) M.J. Daft and W.D.P. Stewart : Light and electron microscope observations on algal lysis by bacterium CP-1. *New Phytol.*, 72, 799-808 (1973).
- 35) J.R. Stewart and R.M. Brown : Algicidal non-fruiting myxobacteria with high G+C ratios. *Arch. Mikrobiol.*, 80, 176-190 (1971).
- 36) J.C. Burnham, J.C., S.A. Collart, and M.J. Daft : Myxococcal predation of the cyanobacterium *Phormidium luridum* in aqueous environments. *Arch. Microbiol.*, 137, 220-225 (1984).
- 37) M.J. Daft, M.J., J.C. Burnham, and Y. Yamamoto : Lysis of *Phormidium luridum* by *Myxococcus fulvus* in continuous flow cultures. *J. Appl. Bacteriol.*, 59, 73-80 (1985).
- 38) Y. Yamamoto and K. Suzuki : Distribution and algal-lysing activity of fruiting myxobacteria in Lake Suwa. *J. Phycol.*, 26, 457-462 (1990).
- 39) A. Mitsutani, A. Uchida, and Y. Ishida : Occurrence of blue-green algae and algal lytic bacteria in Lake Biwa. *Bull. Jap. Soc. Microbial Ecol.*, 2, 21-28 (1987).
- 40) 満谷 淳, 武居 薫 : 藍藻溶解細菌 *Lysobacter* sp. LB-1 株の産生するプロテアーゼの精製とその性状について. 水大研報, 41, 65-75 (1993).
- 41) 満谷 淳, 内田有恆, 石田祐三郎 : 諏訪湖から単離した藍藻溶解性滑走細菌の宿主特異性について. 水大研報, 42, 185-193 (1994).
- 42) P.C. Fraleigh and J.C. Burnham : Myxococcal predation on cyanobacterial populations: nutrient effects. *Limnol. Oceanogr.*, 33, 476-483 (1988).
- 43) 満谷 淳 : 湖沼及び沿岸海域に分布する微細藻類溶解性細菌に関する生理生態学的研究. 水大研報, 45, 165-257 (1997).

- 44) L. Geither : Uber *Polyangium parasiticum*, eine submerse, parasistische Myxobacteriaceae. *Arch. Protistenkunde*, 50, 6-88 (1924).
- 45) B.V. Gromov and K.A. Kamkaeva : Electron microscope examination of *Bdellovibrio chlorellavorus* parasitism on cells of the green alga *Chlorella vulgaris*. *Tsitologiya*, 14, 256-260 (1972).
- 46) K.H. Baker and D.S. Herson : Interactions between the diatom *Thalassiosira pseudonanna* and an associated pseudomonad in a mariculture system. *Appl. Environ. Microbiol.*, 35, 791-796 (1978).
- 47) T. Sakata : Occurrence of marine *Saprospira* sp. possessing algicidal activity for diatoms. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 56, 1165 (1990).
- 48) T. Sakata, Y. Fujita, and H. Yasumoto : Plaque formation by algicidal *Saprospira* sp. on a lawn of *Chaetoceros ceratosporum*. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 57, 1147-1152 (1991).
- 49) T. Sakata and H. Yasumoto : Colony formation by algicidal *Saprospira* sp. on marine agar plates. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 57, 2139-2143 (1992).
- 50) T. Sakata and K. Iwamoto : Isolation of marine algicidal microorganisms on diatom double layer agar plates. *Fish. Sci.*, 61, 173-174 (1995).
- 51) 坂田泰造 : 海洋環境における珪藻殺藻細菌の検索と殺藻機構. マリンバイオテクノロジーによる赤潮被害防止技術開発試験報告書, 水産庁, 東京, 1994, pp. 111-119.
- 52) S. Ishio, R.E. Mangidaan, M. Kawahara, and H. Nakagawa : A bacterium hostile to flagellates: identification of species and characters. In "Red Tides: biology, environmental science, and Toxicology" (eds. Okaichi, T., Anderson, D.M., and Nemoto, T.), Elsevier Sci. Publ., New York, 1989, pp. 205-208.
- 53) 菅原 庸, 西村昭史, 石村美佐, 小林智彦 : 五ヶ所湾における赤潮発生と細菌相及び環境要因との関係. マリンバイオテクノロジーによる赤潮被害防止技術開発試験報告書, 水産庁, 東京, 1995, pp. 135-153.
- 54) I. Yoshinaga, T. Kawai, and Y. Ishida : Lysis of *Gymnodinium nagasakiense* by marine bacteria : Harmful Marine Algal Bloom (eds. Lassus, P., G. Arzul, E. Erard, P. Gentien, and C. Marcaillou) Lavoisier publishing, Paris, 1995, pp. 687-692.
- 55) I. Yoshinaga, T. Kawai, T. Takeuchi, and Y. Ishida : Distribution and fluctuation of bacteria inhibiting the growth of a marine red tide phytoplankton *Gymnodinium mikimotoi* in Tanabe Bay (Wakayama Pref., Japan). *Fish. Sci.*, 61, 780-786 (1995).
- 56) I. Yoshinaga, T. Kawai, and Y. Ishida : Analysis of algicidal ranges of the bacteria killing the marine dinoflagellate *Gymnodinium mikimotoi* isolated from Tanabe Bay, Wakayama Pref., Japan. *Fish. Sci.*, 63, 94-98 (1997).
- 57) K. Fukami, T. Nishijima, H. Murata, S. Doi, and Y. Hata : Distribution of bacteria influential on the development and the decay of *Gymnodinium nagasakiense* red tide and their effects on algal growth. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 57, 2321-2326 (1991).
- 58) K. Fukami, A. Yuzawa, T. Nishijima, and Y. Hata : Isolation and properties of a bacterium

- inhibiting the growth of *Gymnodinium nagasakiense*. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 58, 1073-1077 (1992).
- 59) K. Fukami, K. Sakaguchi, M. Kanou, and T. Nishijima : Effect of bacterial assemblages on the succession of blooming phytoplankton from *Skeletonema costatum* to *Heterosigma akashiwo*. In "Harmful and Toxic Algal Blooms" (eds. Yasumoto, T., Y. Oshima, and Y. Fukuyo) IOC-UNESCO, Paris, 1996, pp.335-338.
- 60) I. Imai, I., Y. Ishida, K. Sakaguchi, and Y. Hata : Algicidal marine bacteria isolated from northern Hiroshima Bay, Japan. *Fish. Sci.*, 61, 628-636 (1995).
- 61) I. Imai, M. Kim, K. Nagasaki, S. Itakura, and Y. Ishida : Detection and enumeration of microorganisms that are lethal to harmful phytoplankton in coastal waters. *Plankton Biol. Ecol.*, 45, 19-29 (1998).
- 62) I. Imai, M. Kim, K. Nagasaki, S. Itakura, and Y. Ishida : Relationships between dynamics of red tide-causing raphidophycean flagellates and algicidal micro-organisms in the coastal sea of Japan. *Phycol. Res.*, 46, 139-146 (1998).
- 63) M. Kim, I. Yoshinaga, I. Imai, K. Nagasaki, S. Itakura, and Y. Ishida : A close relationship between algicidal bacteria and termination of *Heterosigma akashiwo* (Raphidophyceae) bloom in Hiroshima Bay, Japan. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 170, 25-32 (1998).
- 64) I. Yoshinaga, M. Kim, N. Katanozaka, I. Imai, A. Uchida, and Y. Ishida : 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 (1998).
- 65) I. Imai, Y. Ishida, S. Sawayama, and Y. Hata : Isolation of a marine gliding bacterium that kills *Chattonella antiqua* (Raphidophyceae). *Nippon Suisan Gakkaishi*, 57, 1409 (1991).
- 66) I. Imai, Y. Ishida, and Y. Hata : Killing of marine phytoplankton by a gliding bacterium *Cytophaga* sp., isolated from the coastal sea of Japan. *Mar. Biol.*, 116, 527-532 (1993).
- 67) A. Mitsutani, K. Takesue, M. Kirita, and Y. Ishida : Lysis of *Skeletonema costatum* by *Cytophaga* sp. isolated from the coastal water of the Ariake Sea. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 58, 2159-2167 (1992).
- 68) 工藤盛徳, 嵯峨直恆, 熊澤修造, 成瀬修一, 水島 毅, 林 繁一 : 三河湾におけるのり養殖漁場現場海水の AGP 試験及び赤潮生物成長阻害物質の作用機序の解明. マリンバイオテクノロジーによる赤潮被害防止技術開発試験報告書, 水産庁, 東京, 1994, pp. 96-110.
- 69) 菅原 庸 : 赤潮殺藻細菌の保存方法と現場散布法の開発. 海洋微生物活用技術開発試験報告書, 水産庁, 東京, 1995, pp. 87-97.
- 70) S. Sawayama, Y. Sako, and Y. Ishida : Mating inhibitor from *Alcaligenes* sp. against a toxic dinoflagellate *Alexandrium catenella*. In "Current Topics in Marine Biotechnology" (eds. S. Miyachi, I. Karube, and Y. Ishida), Fuji Technol. Press, Tokyo, 1989, pp. 181-184.
- 71) S. Sawayama, Y. Sako, and Y. Ishida : Bacterial inhibitor for the mating reaction in *Chlamydomonas reinhardtii* and *Alexandrium catenella*. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 56, 1847

1852 (1990).

- 72) S. Sawayama, Y. Sako, Y. Ishida, K. Niinuma, A. Abe, and S. Hiroishi : Purification and structure determination of the bacterial mating inhibitor for *Chlamydomonas reinhardtii* and *Alexandrium catenella*. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 57, 307-314 (1991).
- 73) S. Sawayama, Y. Sako, and Y. Ishida : New inhibitor for mating reaction of *Alexandrium catenella* produced by marine *Alteromonas* sp. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 59, 291-294 (1993).
- 74) S. Sawayama, Y. Sako, and Y. Ishida : Inhibitory effects of Concanavalin A and Tunicamycin on sexual attachment of *Alexandrium catenella* (Dinophyceae). *J. Phycol.*, 29, 189-190 (1993).
- 75) 沢山茂樹 : 真正細菌による *Alexandrium* 接合阻害. 赤潮と微生物—環境にやさ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, 東京, 1994, pp.89-96.