

海洋生物工学科 2003 年研究業績

A. 研究発表

1. 論文

- (1) Mechanism of thermotolerance induction by split-dose hyperthermia in *Deinococcus radiodurans* DNA repair deficient mutants

Kazuki Harada, Mami Ando, Tomoko Fujimura-Ito, Mika Kasahara-Imamura, Yoshihiko Sako, Aritsune Uchida, Yuzaburo Ishida, Hajime Kadota, Takeo Ohnishi and Bevan E. B. Moseley

International Journal of Molecular Medicine, 12, 741-747 (2003)

We examined the phenomenon of thermotolerance induction in the radioresistant prokaryote, *Deinococcus radiodurans*, which was initially exposed to 30 min at 52°C followed by various intervals up to 6h at 30°C in TGY medium and then re-exposed to 52°C for various periods, i.e., split-dose hyperthermia. This thermotolerance induction was analyzed in DNA repair deficient mutants and the wild-type strain MR₁. We conclude that proteins synthesized during the interexposure intervals, i.e., the products of the *uvsD* and *recA* genes contribute to the induction of thermotolerance in *D. radiodurans*.

- (2) 5' -nuclease PCR assay of gliding bacteria that kill *Skeletonema costatum* in seawater

Toshimichi Maeda, Makoto Sasaki, Mu You, Shin-ya Ohsugi, Atushi Mitsutani, Manabu Furushita and Tsuneo Shiba

Microbes and Environment, 18, 188-195 (2003)

A 5'-nuclease PCR assay, targeting 16S rRNA, was developed to detect a group of gliding bacteria that digest *Skeletonema costatum* cells. The detection limit was 15 molecules of the target DNA in one reaction mixture. The assay is so strict that the probe did not hybridize to DNA fragment with one nucleotide mismatch, even though the amount of DNA fragments was increased to the order of 10¹⁰ molecules. The assay was applied to DNA extracted from natural seawater of Yoshimi Bay, Hibiki-nada Sea, Japan, during the period from August 1998 to February 1999. A positive result was obtained only for a seawater sample of September 1998. Among 30 PCR clones obtained from the

5'-nuclease PCR product of the positive sample, 25 positive clones were identical in the structure of the probe region, whereas negative clones had one nucleotide mismatch or deletion. The results indicate that the assay detects only the target sequence even in natural seawater DNA.

- (3) Utilization of a particle gun DNA introduction system for the analysis of *cis*-regulatory elements controlling the spatial expression pattern of the arylsulfatase gene (*HpArs*) in sea urchin embryos.

Manabu Kurita, Hisato Kondoh, Keiko Mitsunaga-Nakatsubo, Taishin Shimotori, Naoki Sakamoto, Takashi Yamamoto, Hiraku Shimada and Koji Akasaka
Development Genes and Evolution. 213: 44-49, 2003

We applied a particle gun method to introduce DNA into fertilized sea urchin eggs for the analysis of *cis*-regulatory elements responsible for spatial gene expression during development. We introduced *HpArs* (sea urchin arylsulfatase gene) into the fertilized eggs and obtained high expression levels of the fusion genes. Using this assay system, we demonstrated that a fragment of *HpArs* (-3,484 to 4,636) is sufficient for aboral ectoderm-specific expression, and that the region in the first intron from +406 to +1,993 contains the control elements responsible for the repression of the *HpArs* promoter activity in secondary mesenchyme cells.

- (4) Purification and partial characterization of a dipeptidyl peptidase from *Prevotella intermedia*

Y. Shibata, Y. Miwa, K. Hirai, and S. Fujimura
Oral Microbiology and Immunology, 18, 196-198 (2003)

A peptidase hydrolyzed X-Pro-*p*-nitroanilide was purified from the cell extract of *Prevotella intermedia* ATCC 25611 by ion-exchange chromatography and hydrophobic interaction chromatography. The purified enzyme exhibited a molecular size of 74 kDa from sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis and the maximum enzyme activity was found that between pH 7.0 and pH 7.5. This peptidase was a serine enzyme and hydrolyzed Lys-Pro-*p*-nitroanilide, Arg-Pro-*p*-nitroanilide, and Ala-Pro-*p*-nitroanilide, but Lys-Ala-*p*-nitroanilide was not split. The enzyme may be classified as a dipeptidyl peptidase IV.

- (5) Taxonomic notes on marine algae from Malaysia. XI. Four species of *Rhodophyceae*
Yukimasa Yamagishi, Michio Masuda, Tsuyoshi Abe, Shinya Uwai, Kazuhiro Kogame,
Shigeo Kawaguchi and Siew Moi Phang
Botanica Marina, 46, 534–547 (2003)

In order to elucidate the precise taxonomic status of a red alga *Hypnea cornuta* (Kützinger) J. Agardh var. *stellulifera* J. Agardh (Hypneaceae, Gigartinales) from Malaysia, its morphological features are described herein, and its chloroplast-encoded *rbcL* sequence is compared to that of the type variety and additional species of the genus. Descriptions are also provided for three species of the Ceramiales that are newly recorded from Malaysia. These include *Heterosiphonia crispella* (C. Agardh) Wynne, *Laurencia pygmaea* Weber-van Bosse and *L. majuscula* (Harvey).

- (6) The analysis of immune responses of a novel CC-chemokine gene from Japanese flounder *Paralichthys olivaceus*
Tomoya Kono, Riichi Kusuda, Eijiro Kawahara and Masahiro Sakai
Vaccine, 21, 446–457 (2003)

A novel CC-chemokine gene was isolated from the Japanese flounder *Paralichthys olivaceus* by expressed sequence tag analysis. The function of this CC-chemokine gene was studied by DNA injection. To investigate the immune responses to the CC-chemokine, a plasmid construct containing the novel CC-chemokine protein expressed in serum on 1, 3 and 5 days after plasmid injection were estimated by ELISA. CC-chemokine gene injection increased the migration of phagocytic cells. Macrophage functions such as production of superoxide anion and phagocytosis were also stimulated by this gene injection. Thus, this gene from Japanese flounder has functional similarities to that of a mammalian CC-chemokine gene.

- (7) Differences of low water temperature tolerance among clonal lines in silver crucian carp (*Carassius langsdorfii*)
Kenji Sakamoto, Masamichi Nakajima and Nobuhiko Taniguchi
Fish Genet. Breed. Sci., 33, 49–54 (2003)

The low water temperature tolerance traits of two clonal lines of silver crucian carp (SCC01-1 and SCC01-2) were investigated. Individual juvenile fish were exposed to low

water temperature stress at $4 \pm 1^\circ\text{C}$, and the time (minutes after start) of death was recorded. For both clonal lines, the times of death varied with the growth and rearing water temperature. The time of death was measured, and estimated the environmental and genetic variances of low water temperature tolerance at the second exposure experiment using four clonal lines: SCC00-4, SCC00-6, SCC00-7 and SCC00-9. The genetic and environmental variances of the time were calculated as 65714.16 and 4786.30, respectively. The broad sense heritability of the time was calculated as 0.932. This result indicated that the trait of low water temperature tolerance has high genetic variability in the silver crucian carp.

(8) Differences of seawater tolerance among clonal lines in silver crucian carp (*Carassius langsdorffii*)

Kenji Sakamoto, Masamichi Nakajima and Nobuhiko Taniguchi

Fish Genet. Breed. Sci., **33**, 55-60 (2003)

The seawater tolerance traits of two clonal lines of silver crucian carp (SCC01-1 and SCC01-2) were investigated. Individual juvenile fish were exposed to seawater stress at 20 ppt, and time (minutes after the start) of death was recorded. For both clonal lines, the times of death varied with the growth and rearing salinity. The time of death was measured, and estimated the environmental and genetic variances of seawater tolerance at the second exposure experiment using four clonal lines: SCC00-7, SCC00-8, SCC00-10 and SCC00-11. The genetic and environmental variances of the time were calculated as 93531.53 and 6092.60, respectively. The broad sense heritability of the time was calculated as 0.939. This result indicated that the trait of seawater tolerance has high genetic variability in the silver crucian carp.

(9) DNA polymorphism in the growth hormone gene and its association with body size in feminized seedings of Japanese Flounder, *Paralichthys olivaceus*

Hiroshi Shimidzu and Eiji Okimasu

Annu. Rep. Fac. Life Sci. Biotechnol. Fukuyama Univ., **2**, 17-27 (2003)

Variation within the growth hormone and its association with growth trait in Japanese flounder, *Paralichthys olivaceus*, was investigated. Based on microsatellite analysis, it was demonstrated that the distinct genetic divergence was not observed within the feminized seeding. Polymorphism of various lengths were also detected by the digestion of the polymerase chain reaction (PCR) – amplified growth hormone gene fragment with

Sau3AI restriction enzyme. To study the possible association between variation in the growth hormone gene fragment and body weight, 60 individuals of the feminized seedlings of three various size (large, medium, and small weight) were selected and the entire genetic structure of the growth hormone was analyzed. Significant heterogeneity of the growth hormone with haplotype and genotype frequencies was detected among the different-sized groups.

- (10) An infectious marker in intestine and kidney of Japanese flounder challenged with *Edwardsiella tarda*.

Takayuki Ashida, Satomi Tsukahara and Eiji Okimasu

Rept. Res. Inst. Marine Biores. Fukuyama Univ., 14, 1-7 (2003)

We examined the heat shock protein (hsp) 60 expression level by western blot analysis in the Japanese flounder tissues on the edwardsiellosis induced with *Edwardsiella tarda*. In the intestine, when fish were infected with this pathogen, the hsp 60 expression level showed significantly ($p < 0.05$) lower than non-infected fish (control). In kidney, the expression levels in the infected fishes were significantly ($p < 0.05$) higher than the control after infection. The hsp 60 synthesis are different depended on the tissue and the measurement of the level might be shown on a biomarker of infectious stress.

2. 報文

3. 口頭発表

- (1) Effect of immobilized algicidal bacteria against harmful algae

Hiroataka Kitaguchi, Atsushi Mitsutani, and Yuzaburo Ishida

MBC 2003 (combined meeting of the 6th International Marine Biotechnology Conference and the 5th Asia-Pacific Marine Biotechnology Conference), Chiba and Tokyo, Japan, (2003-9)

Based on the concept of applying bacteria that can kill microalgae to regulate harmful algal blooms (HABs), many algicidal bacteria have been isolated from various coastal waters. At present, clarification of the algicidal mechanism is in progress, but the method of practical application is not yet established. Here we have examined some properties of algicidal bacteria entrapped in gel matrix to evaluate the possibility for application. It is expected that there is the unique feature in this method, that is, the obtained beads can act

as not only the algicide but also the cradle of algicidal bacteria.

(2) Characterisation of Ci-GnRHLP gene which codes GnRH-like peptide in ascidian.

Katsumi Takamura

INTERNATIONAL UROCHORDATE MEETING 2003, Carry le Rouet, France (2003-10)

In ascidian, neurosecretion system for neurotransmitter and neurohormone has been not studied enough. We have cloned and analysed several genes coding neurotransmitter synthesis enzymes and neurohormone precursors using PCR methods and EST analysis in *Ciona intestinalis*. In those studies, we found a precursor gene in which GnRH-like peptides were coded. GnRH is a key peptide for the control of releasing Gonadotropin and is composed of 10 amino acids conserved in any vertebrates. This gene, Ci-GnRHLP (*Ciona* GnRH-like peptides) is 1082 bp long and its ORF (open reading frame) codes 729 amino acids. We can find a hydrophobic region at N-terminal end, GnRH-like amino acid sequences, followed by three amino acids GRR or GKR which seem to be a protease recognition site, and GnRH-associated peptide (GAP) at C-terminal end in protein precursor coded by this ORF, as other vertebrate GnRH precursor. Interestingly, this GnRH precursor in *Ciona* contains three GnRH-like amino acid sequences, while those in vertebrate contain only one GnRH peptide sequence. RT-PCR analysis showed that this RNA product existed preferentially in adult neural complex. Additionally, two cDNAs, which might play a role in GnRH peptide maturation, were isolated from neural complex cDNA library. One coded a glutamyl-peptide cyclotransferase and another coded a peptidyl-glycine alpha-amidating monooxygenase. Although expression of these genes in adult neural complex is only indirect evidence, matured and functional GnRH peptides may be produced from Ci-GnRHLP protein by these enzymes. To confirm this possibility, we prepared antiserum against synthetic Ci-GnRH peptide. Preliminary experiment with this antiserum showed that some immunostained cells were located in papillae of tadpole larvae and in adult neural complex. Now we attempt to analyse maturation process and function of Ci-GnRH peptide by immunoblot analysis.

(3) 細菌由来の高分子物質による珪藻殺藻メカニズム

松原充代、満谷淳、北口博隆、石田祐三郎

平成 15 年度日本水産学会中国・四国支部大会(岡山) (2003-10)

(4) カタユウレイボヤの GnRH 様ペプチド前駆体遺伝子とその関連遺伝子の単離と解析

高村克美、寺門潔、西方敬人

我々は、カタユウレイボヤ成体脳神経節より、GnRH 様ペプチドをコードしていると思われる遺伝子を単離した。この内部には 10 個のアミノ酸からなる GnRH 様配列が 3 個含まれ、そのうち 7 つのアミノ酸は脊椎動物のものと共通であった。この配列の直後にはペプチドの成熟に必要な切断部位が存在し、N 末と C 末の修飾に必要な酵素も脳神経節から単離できている。よってこれらのペプチドが実際に切り出され機能している可能性が示唆される。さらに特異的抗体による発現パターンも報告する。

(5) 紅藻スサビノリのリン酸飢餓状態で発現誘導されるリン酸結合タンパク質遺伝子の解析

矢野陽子、山岸幸正、中田篤男、三輪泰彦

第 26 回日本分子生物学会（神戸）、要旨集、p 541 (2003-12)

大型海藻の環境適応機構の分子レベルでの研究は全く皆無である。そこで紅藻スサビノリを研究対象としてリン酸飢餓に対する応答・適応機構の解明を目指した。我々は、これまでにリン酸を含まない合成培地(-Pi)で培養したスサビノリ葉状体において大量に誘導合成される 32 kDa のタンパク質を検出した。そこでこのタンパク質の機能を解析するために -Pi で培養した葉状体から硫酸分画、ゲル濾過カラムクロマトグラフィー、限外濾過法により 32 kDa のタンパク質を均一なタンパク質まで精製した。精製タンパク質の N 末端のアミノ酸配列をもとに合成した degenerate primer を用いて 3' -RACE を行い、cDNA の部分クローンを得た。さらにオリゴキャップ法を用いて cDNA の 5' 末端を決定した結果、完全長 cDNA は、全体で 1,231 bp の長さで 323 アミノ酸残基からなる ORF をコードしていた。ホモロジー検索の結果、323 アミノ酸残基からなるタンパク質は海洋のシアノバクテリアや大腸菌のリン酸結合タンパク質とそれぞれ高い相同性を示した。またリン酸と相互作用する大腸菌のリン酸結合タンパク質のいくつかのアミノ酸はスサビノリのものほとんど一致していた。そこで³²P 正リン酸と精製タンパク質の相互作用をゲル濾過カラムクロマトグラフィーによって解析した結果、タンパク質溶出画分に放射能活性が検出されたことから 32 kDa のタンパク質がリン酸結合タンパク質(PBP)であると結論した。ノーザン解析とウェスタン解析の結果、PBP 遺伝子はリン酸飢餓に応答して発現誘導されることが明らかになった。λEMBL3 のスサビノリゲノムライブラリーから単離し、取得したクローンをを用いて解析した結果、PBP 遺伝子上流領域の構造が明らかになった。

(6) 紅藻スサビノリのリン酸飢餓状態で誘導合成されるアルカリ性ホスファターゼの解析

吉水正則、山岸幸正、中田篤男、三輪泰彦

第 26 回日本分子生物学会（神戸）、要旨集、p 541（2003-12）

大型海藻のリン酸環境の応答・適応機構は不明な点が多い。そこで大型海藻の一つである紅藻スサビノリのリン酸飢餓の環境変化に適応した遺伝子発現の調節機構の解明を目指した。我々は、これまでにリン酸を含まない合成培地(-Pi)で培養したスサビノリ葉状体において pH8 付近に至適 pH をもつアルカリ性ホスファターゼ(ALP)を見出した。そこで-Pi で培養した葉状体から硫酸分画、ゲル濾過カラムクロマトグラフィー、限外濾過法により均一なタンパク質まで精製した結果、ALP が 76 kDa のポリペプチドで、しかも二量体を形成していることが明らかになった。精製 ALP の N 末端のアミノ酸配列から、76 kDa のポリペプチドをコードする cDNA の部分クローンを取得した。次にオリゴキャップ法を用いて cDNA の 5' 末端を決定した結果、完全長 cDNA は、全体で 2,294 bp の長さで 705 アミノ酸残基 (75,159 Da) からなる ORF をコードしていた。推定上のプロセッシング部位のアミノ酸配列と精製 ALP の N 末端のものと完全に一致したことから成熟型は 658 アミノ酸残基 (70,570 Da) からなることが示唆された。この推定アミノ酸配列はアカパンカビのアルカリ性ホスファターゼと相同性を示した。次に cDNA プロブを用いてノーザン解析を行った結果、リン酸飢餓条件下で特異的に約 2,600 base の ALP 転写産物の誘導合成がみられた。さらにλEMBL3 のスサビノリゲノムライブラリーから単離し、取得したクローンをを用いて解析した結果、ALP 遺伝子上流領域の構造が明らかになった。大腸菌内で発現させた成熟型の His-Tag 融合タンパク質は、酵素活性をもっていなかった。現在、スサビノリの精製 ALP を用いて化学的な分析を進めている。

(7) 紅藻スサビノリのリン酸トランスポーターホモログ遺伝子の構造と発現

三輪泰彦、岸田将義、山岸幸正、中田篤男

第 26 回日本分子生物学会（神戸）、要旨集、p 541（2003-12）

海水中での環境リン酸濃度が極めて低いために大型海藻は恒常的に飢餓状態にある。海藻はこのような環境下でも生存できるしくみをもつことが予想される。そこで大型海藻の栄養環境の応答・適応機構を理解するために紅藻スサビノリのリン酸飢餓状態に対する適応機構を分子レベルで解明することを目指した。これまでにリン酸飢餓に応答して発現するアルカリ性ホスファターゼとリン酸結合タンパク質の遺伝子をそれぞれ単離しており、新たにリン酸トランスポーターホモ

ログ遺伝子を単離したので報告する。degenerate プライマーを用いた 3'-RACE 法でアルカリ性ホスファターゼ (ALP) 遺伝子をクローニングする過程でリン酸飢餓条件によって特異的に増幅される 1.8 kb の DNA 断片を検出した。1.8 kb の断片の塩基配列を決定し、さらにオリゴキャップ法により cDNA の 5' 末端を決定した結果、全長 2,020 bp からなる cDNA は、615 アミノ酸残基からなる ORF をコードしていた (65,288 Da)。ホモロジー検索の結果、この推定アミノ酸配列はアカパンカビの 12 回膜貫通型のリン酸トランスポーターと相同性 (Identity, 31.8%) を示した。次に cDNA プロブを用いてノーザン解析を行った結果、リン酸飢餓条件下で特異的に約 2,600 base の転写産物の誘導合成がみられた。さらに EMBL3 のスサビノリゲノムライブラリーから単離し、取得したクローンを用いてゲノム遺伝子の構造を解析した結果、リン酸トランスポーターホモログ (PiTR) 構造遺伝子内に 1 つのイントロン (323 bp) が存在し、その上流領域の構造も明らかになった。現在、N 末端と C 末端の疎水性領域を欠失した DNA 断片を大腸菌内で発現させ、精製した組換えタンパク質 (207 アミノ酸残基) に対する抗体を作製中である。

(8) 紅藻イバラノリ属 *Hypnea* の分類と系統

山岸幸正、増田道夫

日本藻類学会第 28 回大会 (札幌)、要旨集、p 68 (2004-3)

紅藻イバラノリ属 *Hypnea* (スギノリ目、イバラノリ科) は世界で約 50 種、日本では 12 種が認められている。日本およびマレーシア各地から採集した標本の形態学的観察を行い、さらに *rbcL* 塩基配列をもとに本属の分子系統学的解析を行った結果、西太平洋域で未報告であるいくつかの種の存在が確認できた。特に以下の 2 つの新種について詳しく報告する：(1) 和名フサゲイバラ。本州日本海沿岸に分布し、明瞭な主軸を持ち、分枝回数が少なく (第 3-5 位)、周軸細胞はしばしば細くなり、藻体全体に垂直方向に真っ直ぐな不定枝を密に形成する。台湾の *H. boergesenii* と形態が似るが、本種は枝の出る角度が広く、不定枝が細長いなどの特徴で区別できる。*rbcL* 塩基配列は属内の他種と 27-87 bp 異なり、分子系統樹ではイバラノリを含む主軸の明瞭な種からなるクレードに含まれた。

(2) 北海道南部から本州日本海沿岸に分布し、明瞭な主軸を持ち、第 5-7 位の分枝がみられ、非常に細長くなる不定枝を密に形成し、しばしばクチクラが厚くなる。*rbcL* 塩基配列において属内の他種と 45-103 bp 異なり、分子系統樹ではホシガタイバラ・大西洋の *H. musciformis*・ヒモイバラ・スジイバラノリからなるクレードに含まれた。本種は *H. musciformis* と単系統となったが、後者がカギ状枝を形成するのに対して前者にはカギ状枝はみられない。

(9) 経肛門投与したアジュバント添加 *Edwardsiella tarda* 粗リポ多糖に対するマダイの免疫応答

河原栄二郎, 緑川真知子, 北吉直子, 楠田理一

日本水産学会 2003 年度年会 (東京)、講演要旨集、P. 134 (2003-4)

E. tarda 粗リポ多糖にアジュバントを添加してマダイに経肛門投与し、抗体価と補体活性、腸管と頭腎白血球の殺菌活性について調べた。抗体価はアジュバント添加および無添加のリポ多糖の経肛門投与区よりもリポ多糖および *E. tarda* ホルマリン賦活化菌体の腹腔内接種区で高い値となった。補体活性はアジュバント添加リポ多糖の経肛門投与区で高くなった。腸管および頭腎白血球の殺菌活性はいずれの経肛門投与区および腹腔内接種区ともに対照区よりも高い傾向を示した。

(10) Antibody level and growth of cultured sea bass (*Dicentrarchus labrax*, L.) immunized with a commercial vaccine against vibriosis

Iolanda Viale, Giulia Angelucci, Riichi Kusuda and Fulvio Salati

11th International Conference on Diseases of Fish and Shellfish, St Julians, Malta, Book of Abstracts, p. 214 (2003-9)

The aim of this one-year study was first to verify the influence of vaccination on growth performances and, second, to demonstrate the real protection induced by a commercial vaccine to vibriosis in sea-cages and land-based basins cultured seawater fish. For the experiment were used juveniles of sea bass: 5 g fish cultured in an off-shore sea-cage, and 4 g subjects cultured in an in-shore sea cage. The fish were vaccinated against vibriosis using a commercial preparation by immersion method. The results of this study show that there was a significant increase of antibody titers in immunized fish when compared to the controls. Moreover, although vibriosis spreads every year in the farms chosen, including during the trials' year, no disease outbreaks were observed in immunized fish. About Zootechnical performance, little difference on body weight's increase was recorded in immunized fish when compared to the controls, however this difference was not significant.

(11) Immune response of sea bream (*Sparus aurata*, L.) to *Enterococcus seriolicida* antigens

Fulvio Salati, Giulia Angelucci, Iolanda Viale and Riichi Kusuda

11th International Conference on Diseases of Fish and Shellfish, St Julians, Malta, Book of Abstracts, p. 216 (2003-9)

In order to improve knowledge on the vaccine against *Enterococcus seriolicida*, the immune response of sea bream to three antigenic preparations were studied. From *E. seriolicida* strain, formalin-killed cells (FKC), whole membrane extracts (WME) and protein M (PM), preparations were obtained. Twenty-five fish each group were injected i. p. three times every twenty days with the three antigenic preparations and controls with sterile PBS. The results show that FKC and PM preparations increased antibody titers after injection when compared to control, while the WME preparation showed toxicity to sea bream. Particularly, FKC and PM preparations induced a progressive increase of titer after the second immunization. *In vitro* phagocytic activity and phagocytosis index of the total blood were higher after the third injection in immunized fish than in controls.

(12) マダイの免疫機能に及ぼすフコイダン投与の影響

河原栄二郎, 上野麻由佳, 北吉直子, 楠田理一

平成15年度日本魚病学会大会, 下関, 講演要旨集, p. 22 (2003-10)

マダイの免疫機能に及ぼすフコイダンの経口投与の影響について検討した。マダイにオキナワモズクあるいはヒバマタ由来のフコイダンを飼料に添加して与え、頭腎および腸管白血球の貪食能と殺菌能を調べた。また、オキナワモズク由来フコイダンを投与後に *Edwardsiella tarda* ホルマリン賦活化菌体を腹腔内接種し、頭腎および腸管の抗体産生細胞数と血中抗体価を求めた。頭臓および腸管白血球の貪食能は高くなる傾向を示した。頭腎白血球の殺菌能はヒバマタ由来フコイダンで高くなる傾向を示したが、腸管白血球の殺菌能はいずれでも差異は認められなかった。オキナワモズク由来フコイダン投与後の抗体産生細胞数と抗体価は高い価を示した。

(13) ブリおよびシマアジから分離された *Mycobacterium* 属細菌の分子系統学的解析

杉浦秀博, 川合研児, 楠田理一, 大嶋俊一郎

平成15年度日本魚病学会大会, 下関, 講演要旨集, p. 31 (2003-10)

ブリ由来の *Mycobacterium* sp. ATCC 株の3株、シマアジ由来株の2株と *M. marinum* ATCC 株の16srRNA、IST1 および *gyrB* の塩基配列を比較して系統解析した。ブリとシマアジ由来の5株の塩基配列は3領域ともすべて同一であり、*M. marinum* に近く、高い相同性を示した。しかし、*M. marinum* とブリ由来の ATCC 株との相対類似度は最も高い株でも67.7%となり、ブリ由来の *Mycobacterium* sp. は *M. marinum* とは異なる種と分類するのが妥当と考えられる。

- (14) Antigenic preparations to immunize sea bass, *Dicentrarchus labrax* L., against *Flexibacter marinus* infection
Fulvio Salati, Carla Cubadda, Iolanda Viale and Riichi Kusuda
International Aquaculture Conference 2003, Verona, Italy, Book of Abstracts, p. 88 (2003-10)

In order to obtain an effective vaccine against myxobacteriosis, three antigens were prepared from *F. marinus* strain isolated from diseased sea bass. In this study, formalin-killed whole cells (FKC), culture filtrate and crude lipopolysaccharide (LPS) preparations were obtained. The antigens were injected i.p. twice into the sea bass and the immune response mechanisms of the fish to the preparations were studied. The results show that the antigen preparations increased antibody titer after the first injection when compared to control sea bass. Moreover, LPS and FKC preparations stimulated secondary response. *In vitro* phagocytic activity and phagocytic index of the total blood were significantly higher in the crude LPS immunized sea bass when compared to the controls.

- (15) アユにおける冷水病菌 *Flavobacterium psychrophilum* 粗リポ多糖浸漬ワクチンの感染防御効果
水戸 鼓, 村田 守, 難波洋平, 河原栄二郎
平成 15 年度日本水産学会中国・四国支部大会, 岡山, 講演要旨集, p. 21 (2003-10)

- (16) 冷水病菌の粗リポ多糖に浸漬したアユの免疫応答
河原栄二郎, 楠田理一, 水戸 鼓, 難波洋平
平成 15 年度日本水産学会中国・四国支部大会, 岡山, 講演要旨集, p. 22 (2003-10)

- (17) 赤腐れ病原菌遊走子の遊走性および発芽能に及ぼすノリ細胞壁成分の影響
河原栄二郎, 川崎武仁, 楠田理一, 杉野博之, 檜東裕子
平成 15 年度日本水産学会中国・四国支部大会, 岡山, 講演要旨集, p. 22 (2003-10)

- (18) 西日本各地のブリおよび海南島のカンパチから分離された類結節症原因菌の血清型と遺伝子型
河原栄二郎, 後藤敬太, 楠田理一

平成 15 年度日本水産学会中国・四国支部大会, 岡山, 講演要旨集, p. 23
(2003-10)

(19) マダイ白血球機能に及ぼす *Edwardsiella tarda* 菌体成分および菌体外産生物質の影響

河原栄二郎, 岩本恵美, 楠田理一

平成 15 年度日本水産学会中国・四国支部大会, 岡山, 講演要旨集, p. 23
(2003-10)

(20) オニオコゼ種苗生産における卵収容密度の検討

藤木渉・渡部洋輔・鈴木久英・伏見浩

日本水産学会 2003 年度年会 (東京)、講演要旨集、P. 148 (2003-4)

【目的】オニオコゼの種苗生産は、確立された段階に達したとは言えず、他の魚種と同様に骨格異常の発生を克服しなければならない課題も残されている。ここでは、健苗育成技術を開発するための基礎として 1 L 容水槽への最適卵収容密度を明らかにする。

【方法】1 m³容ポリカーボネイト水槽にふ化前日の受精卵を 5000, 10000, 15000, 20000, および 25000 粒ずつ収容し、孵化仔魚を着底稚魚まで飼育した。飼育には各密度ごとに 2 水槽ずつ用いた。飼育水中にナンノクロロプシスを 4×10^5 cells/ml となるよう適宜添加し、L 型ワムシを孵化仔魚が開口する前日の 1 日齢から 13 日齢飼育水中に 5 個体/ml となるように添加した。アルテミアは 5 日齢から給餌し、配合飼料を 14 日齢から与えた。生残尾数の測定を夜間の柱状サンプリングにより、仔魚の開口時と 5 日齢ごとに 15 日齢まで行なった。5 日齢毎に 15 日齢まで各水槽 30 個体の全長と体長を測定した。

【結果】15 日齢までの各収容密度区の生残曲線は指数関数で表された。着底が 14 日齢から始まったため各飼育区の着底取り上げ尾数から生残率と全減少係数を求めた。収容密度と全減少係数との間には正の二次関数があてはまり、収容密度 16,000 尾/m³のときに全減少係数は最低となり、0.0648/日であった。変態期に入る直前には、収容密度と平均全長の間には負の二次曲線があてはまり、平均全長の最大は収容密度 15,000 尾/m³で達成された。以上から、最高の生残と最大の成長は 15,000 尾/m³で達成され、この密度が今後の飼育試験の最適収容密度と考えられた。

(21) 飼育条件下におけるブリ仔魚の骨格系の形成過程

工藤雅之・友田努・山下和哉・鈴木久英・伏見浩

日本水産学会 2003 年度年会 (東京)、講演要旨集、P. 148 (2003-4)

【目的】ブリの苗育成技術の開発を行うための基礎として、飼育条件下におけるブリ仔魚の骨格系の形成過程を詳細に明らかにする。

【方法】2001年に日本栽培漁業協会屋島事業場が行ったブリ種苗生産試験から標本を採取した。0～40日齢の標本に二重染色法を施し、描画装置付き実体顕微鏡を用いて観察し、骨格系の詳細な記載を行った。

【結果】 孵化直後の仔魚（全長3mm前後）は骨要素が見られない。2日齢（全長3.8mm前後）にメッケル軟骨、耳殻、梁軟骨および擬鎖骨原基が出現する。3日齢（全長3.9mm前後）に開口し、摂餌を開始する。7日齢（全長5mm前後）に卵黄の吸収が終了し、顎骨が発達して摂餌が活発になる。第一神経弓門の原基が出現し、神経頭蓋の形成が進む。14日齢（全長6.7mm前後）に、神経弓門と血管弓門が定数に達する。神経弓門は頭部側より骨化し、下尾骨が出現する。神経頭蓋と内臓頭蓋が骨化し始める。16日齢（全長6.8mm前後）には上擬鎖骨と後頭骨が関節し、不完全神経間棘、神経間棘および血管間棘が出現する。脊索末端が上屈を開始し、下尾骨の形成が進む。17日齢（全長7.5mm前後）に、腰帯、神経間棘および血管間棘が出現し、椎体が分節し始める。脊索末端の上屈が完了し、尾部骨格が骨化し始める。19日齢（全長8mm前後）に、血管弓門は尾部側から骨化し始め、神経棘と血管棘の伸長が進み、不完全神経間棘、背鰭担鰭骨および尾鰭鰭条が出現する。27日齢（全長15mm前後）に肋骨が出現し、ほぼ全ての骨要素が出揃った。各鰭の鰭条数が定数に達する。40日齢（全長20mm前後）には、仔魚膜が無くなり、各鰭の鰭条も伸張する。しかし、各骨要素の骨化は不十分であり、相対的に頭部が大きく、仔魚から稚魚への変態期であると思われる。

（22）飼育条件下におけるトラフグ稚魚の相対成長

鈴木久英・小野司・脇山嘉透・伏見浩

日本水産学会 2003年度年会（東京）、講演要旨集、P.148（2003-4）

【目的】 トラフグの未成魚の養成試験に関する報告はあるものの、仔稚魚期の相対成長についての報告はない。本研究ではトラフグの相対成長について検討し今後の飼育管理に反映させるため発育段階の区分を行った。

【方法】 ホルモン処理による産卵誘発により得られた卵から得たふ化仔魚を2002年5月10日～7月14日の65日間飼育した。L型ワムシ、アルテミア、冷凍コペポーダおよび配合飼料を給餌した。孵化直後および孵化後2日齢から30日齢まで2日おき、35日齢から65日齢まで5日毎にサンプリングを行った。マイクロメーターを用いて全長、標準体長、頭長、躯幹長および尾部長を0.01mmまで測定した。

【結果】 全長に対する頭部、躯幹部、尾部の相対成長式は頭部では全長6.33mm(22

日齢)と 19.38mm(50 日齢)、躯幹部では全長 8.91mm(30 日齢)と 21.32mm(50 日齢)、尾部では全長 6.84mm(24 日齢)と 10.61mm(35 日齢)に屈曲点がみられた。これらの屈曲点を組み合わせて発育の内容が同じ期間を判別し、発育段階を 5 段階に区分した。全長に対する頭部、躯幹部、尾部の相対成長の優先順位は頭部、躯幹部、尾部の順であった、これは他魚種の報告にある優先順位摂餌関連部位(頭部)、遊泳関連部位(尾部)、消化関連部位(躯幹部)の順と異なっていた。これは 6 日齢時に尾部長の平均が他の部位よりも大きく孵化直後からある程度の遊泳能力を有しているためと考えられた。

(23) 最適収容密度で飼育したヒラメの初期形態形成

石川 健・岡田貴之・鈴木久英・伏見浩

日本水産学会 2003 年度年会(東京)、講演要旨集、P.149 (2003-4)

【目的】相対成長の特性によって区分された発育段階における外部形態及び骨格形成の特徴を明らかにする。

【方法】これまでの飼育実験で明らかにされた最適収容密度(20,000 個体/m³)でふ化仔魚を収容し、水温 18℃で稚魚まで育成した。この飼育過程から標本採取を行い 5~10%の淡水ホルマリンで固定した後に相対成長の測定、外部形態の記載、骨格形成過程の記載を行った。骨格形成過程と外部形態の記載は描画装置付き生物顕微鏡を用いてスケッチした。

【結果】仔稚魚の発育段階は、体各部位の全長に対する成長様式の同一性を基準にしてふ化から着底に至るまでの発育過程は 8 段階に区分された。各発育段階の外部形態の特徴と骨格形成過程は次のように特徴付けられた。ステージ 1 では(TL4mm)尾部長の優成長がみられ、胸鰭の形成、開口が観察された。ステージ 2 では(TL6mm)腸管は発達して回転し、背鰭伸長鰭条の原基が現れた。ステージ 3 では(TL7mm)背鰭鰭条が 3 条出現し、頭長の優成長がみられた。神経、血管弓門が前方より出現し、下尾骨原基が現れた。ステージ 4 では(TL8mm)脊索末端が上屈し、尾鰭鰭条が形成された。眼球移動が始まり、上顎長の優成長がみられた。ステージ 5 では(TL10mm)眼球が正中線上に達し、神経、血管間棘が全体に出現した。ステージ 6 では(TL11mm)尾鰭、背鰭、臀鰭、椎体の分節が完了した。ステージ 7 では(TL14mm)鼻孔は 2 孔となり、眼球は正中線上を通過した。伸長鰭条は消失し、胸鰭鰭条の形成が開始された。ステージ 8 では(TL16mm)胸鰭鰭条、椎体の硬骨化が完了し、稚魚ステージに到達した。

(24) 最適収容密度で飼育したヒラメの相対成長

石川 健・岡田貴之・鈴木久英・伏見浩

【目的】ヒラメの健苗育成技術を確立するため、ふ化仔魚から稚魚までの発育過程の区分とそれらの特徴を明らかにする。

【方法】これまでの飼育実験で明らかにされた最適収容密度(20,000 個体/m³)でふ化仔魚を収容し、水温 18°Cで稚魚まで育成した。この飼育過程から 5 日齢ごとに標本採取を行い 5~10%の淡水ホルマリンで固定した。全長、体長、頭長、躯幹長、尾部長、体高、および上顎長を測定した。全長に対する各部位の相対成長を調べ、複相アロメトリーの場合には屈曲点を算出した。

【結果】全長に対する相対成長はすべて複相アロメトリーを示した。はじめに尾部(TL4mmまでの間)と体高(TL10mmまでの間)の優成長が生じ、次に頭部と上顎の優成長(TL6~10mmの間)が生じた。すなわち、まず遊泳機能が、ついで摂餌機能が発達した。体各部位の全長に対する成長様式の同一性を基準にしてふ化から着底に至るまでの発育過程を 10 段階に区分した。これらの発育段階と外部形態形成過程との関連は次報で検討する。

(25) ヒラメ仔稚魚の飼育条件下における摂餌リズム

岡田貴之・石川健・鈴木久英・伏見浩

日本水産学会 2003 年度年会（東京）、講演要旨集、P. 149（2003-4）

【目的】ヒラメの摂餌が不活発な時には生物餌料が飼育水中に長時間留まり、生物餌料自身の代謝によって栄養価が低下してしまう恐れがある。また、ヒラメの摂餌が活発な時には餌料不足が生じている恐れもある。そこで、ヒラメ仔魚の摂餌リズムと排泄速度を明らかにし、より合理的な生物餌料の給餌方法を明らかにすることを目的とした。

【方法】30 l 容ポリカーボネイト製アルテミアふ化槽にヒラメ仔魚を 500 尾収容した。照明は午前 7 時に点灯し、午後 7 時に消灯した。収容翌日の午前 7、10 時および午後 3 時頃に生物餌料を給餌した。午前 7 時から 30 分毎にヒラメ仔魚を 10 尾取り出し、消化管内容物を検鏡した。この調査を消灯 2 時間後の午後 9 時までに行い、翌朝午前 7 時に再開して午前 9 時に終了した。また、摂餌量が最大に達したと判断された時にヒラメ仔魚 100 尾を別の同型水槽に収容した。ここからも 30 分毎にヒラメ仔魚 10 尾を取り出し、摂餌量を調べた。この調査は収容した仔魚がいなくなるまで行った。これらの一連の実験を 11-12、15-16、20-21、25-26、30-31、および 35-36 日齢時に行った。

【結果】ヒラメ仔魚は照明を行っている期間中を通じて摂餌した。消灯 2 時間後の午後 9 時には全ての日齢で消化管内容物は認められなかった。摂餌量には全ての日

齢を通じて複数回のピークが認められた。最も顕著な特徴は、点灯 2 時間後と午後 5-6 時に摂餌量のピークが現れることであった。10 日齢のヒラメ仔魚にもこの特徴が認められることから、このような摂餌リズムはヒラメ固有のものと考えられる。実際の種苗生産においても、このような摂餌リズムに応じた照明管理と給餌管理が重要と思われる。

(26) オニオコゼの飼料効率に及ぼす水温の影響

鈴木久英・中司陽一・伏見浩

日本水産学会 2003 年度年会（東京）、講演要旨集、P. 157 (2003-4)

【目的】 オニオコゼは、瀬戸内地域の地域特産魚種として養殖対象種として注目されている。本研究ではオニオコゼの養殖のための基礎として水温が飼料転換効率に与える影響を周年飼育結果からしようとした。

【方法】 100 l パンライト水槽を飼育に用い、本研究室で生産したオニオコゼ 1 歳魚と 2 歳魚の流水飼育を行なった。オニオコゼ 1 歳魚（平均全長 10.89cm、平均体重 26.05g）を一水槽あたり 5, 10, 15, および 20 尾、2 歳魚（平均全長 17.43cm、平均体重 115.49g）を一水槽あたり 1, 3, 6, 9 尾収容し、市販配合飼料を与えて飼育した。各試験区に 2 水槽ずつを用いた。毎日の摂餌量、水温、pH を計測し、10 日毎に全長と体重を測定した。

【結果】 本報告では、2002 年 10 月 1 日～11 月 31 日の水温低下が飼料転換効率に及ぼす影響を検討した結果を報告する。この期間の飼育水温の旬別平均は 20.74℃であった。オニオコゼ 1 歳魚の飼料転換効率にはこの期間中に明瞭な差は見られなかった。飼料効率には飼育密度による差が見られ、一水槽あたり 10 尾がもっとも高く、それより密度が低くても高くても低くなった。オニオコゼ 2 歳魚の飼料転換効率は飼育水温の低下とともに減少し、水温約 20℃以下になると飼料転換効率は負となった。飼育密度による飼料効率の差異は認められなかった。

(27) Stocking Effectiveness of Kuruma Prawn, *Penaeus japonicus*

Hiroshi Fushimi

Symposium, JSPS International Workshop on the Effectiveness of Stock Enhancement. (Iloilo, The Philippines) (2003-8)

The effect of the releasing operation of the hatchery raised Kuruma prawn postlarvae in the Lake Hamana, located in Shizuoka prefecture, central Pacific coast of Japan, should be explained with relation to the life history. fundamental technology of stock enhancement program of the Kuruma prawn and its process to promotion of fisheries

established at the end of the 1970's in the lake Hamana. Since then, the program has been continued by the Hamana fishermen's cooperative association and has already of 20 years history.

(28) Role of Aquaculture in Fisheries Production

Hiroshi Fushimi

1st Seminar of Afro-Japanese Institute of Ocean Science and Technology (Tunis)
(2003-9)

I should make a brief over view of global production from capture fisheries and aquaculture, and present state of hatchery-technology in Japan as a basis of aquaculture. According to FAO statistics, global production from capture fisheries and aquaculture and fish supply is currently the highest on record and remains very significant for global food security, providing more than 15 percent of total animal protein supplies. Unfortunately, in this statistics, there should be some uncertainly about China production. Global capture fisheries for the world returned to the level of the early 1990s, reaching about 77 to 78 million tones. Aquaculture production has contributed to increase markedly. These increasing rates of aquaculture in diverse environments made the difference from each other. Role of fisheries production should be different from developed and under developing countries. However supply of animal protein has the main role of this production, there is the role of supplying functional food such as HUFA. Sometimes, aquaculture production has also important role for getting foreign currency. From the viewpoint of socio-economics, fisheries production has many different roles depending on the conditions of a country. In some cases, it is essential to improve the infrastructure on post harvest, transportation, selling apparatus, and etc. for the promotion of domestic consumption from fish supply as animal protein. So, the objective of the development of fisheries products should be dependent on the conditions of a country themselves.

The hatchery-technology has main role for the improvement of aquaculture production. From the viewpoint of sustainable use of fisheries resources, the aquaculture industries should be dependent on hatchery-raised juveniles for their production. The hatchery-technology is making steady progress in Japan. Recently, the technological development for seed production in Japan shifted its focus from quantity to quality. The quality of health and adaptability in hatchery-raised seed were the most important issues to determine the effectiveness of stock enhancement and aquaculture

(29) Status and future challenges of marine fish larviculture in Japan

Hiroshi Fushimi

R&D/SOM Meeting "Larval Fish Asia" (Bangkok) (2003-9)

(30) クロマグロの養成 -日本のクロマグロと地中海のクロマグロ-

伏見 浩

松浦市マグロ養殖部会 (松浦市) (2003-6)

(31) ギンブナにおける高水温耐性形質の尾鰭細胞による形質評価

阪本憲司、中嶋正道、谷口順彦

日本水産学会2003年度年会(東京)、講演要旨集、P.123 (2003-4)

水温は魚類の棲息域や成長を支配する重要な要因の一つである。高水温耐性は夏季の水温上昇による斃死の緩和などに繋がる重要な形質であり育種目標となる。よって高水温耐性形質を容易に判別することができれば有効な選択育種の指標となる。そのためには形質の適切かつ効果的な評価法の開発が望まれる。本研究は、魚を殺すことなく、より簡易的に高水温耐性形質を評価する方法として尾鰭細胞を用いた形質評価法の開発を目的とする。

高水温耐性実験：ギンブナ仔魚(クローン10系統)を簡易濾過槽を施した60L容ガラス製水槽に收容し、20℃あるいは25℃に設定した恒温室内で飼育した。高水温耐性実験は、水温36.5℃あるいは40℃に置かれた供試魚が死亡するまでの経過時間を測定した。

尾鰭由来初代培養細胞の高水温耐性評価：尾鰭由来初代培養細胞をディッシュから分散させ、直ちにL15培地を加えて37、40および43℃で1~4時間インキュベートした。放冷後、トリパンブルーで処理し細胞の生死判別を行った。

尾鰭細胞の調製と高水温耐性評価：尾鰭の一部を採取し、リン酸緩衝液で洗浄後、0.25%トリプシンで処理した後、L15培地を加え43℃、2時間インキュベートした。放冷後、トリパンブルーで処理し細胞の生死判別を行った。

高水温耐性度が比較的強いクローン系統では尾鰭由来初代培養細胞および採取直後の尾鰭細胞においても高水温耐性度が比較的高く、生体と細胞の耐性度に関連性を見出した。また、クローン3系統の成長に伴う生体の高水温耐性度の変化と尾鰭細胞の高水温耐性度の変化を比較した結果、両者に関連性がみられた。尾鰭細胞による形質評価法をヒラメに応用したところ、生体と尾鰭細胞の高水温耐性度に関連がみられた。これらの結果から、尾鰭細胞による高水温耐性形質の評価が可能であることが示された。

(32) ヒラメの非特異的免疫機構に対する植物発酵産物の効果

芦田貴行、沖増英治、竹井祥人、高垣正博、松浦新吾郎、加藤征史郎
日本水産学会2003年度年会（東京）、講演要旨集、P.132（2003-4）

これまでに我々が行った試験では、植物発酵産物（fermented vegetable product: FVP）の経口投与により、マウスの抗腫瘍性や、術後のヒトNK細胞活性を高められる事を報告してきた。そこで本研究では、FVPのヒラメ非特異的な免疫機構に対する効果について検討した。

FVPの*in vitro*の添加効果は、カゼインで誘導したヒラメ腹腔内滲出白血球を用いて、その貪食能をオプソニン化したZymosan Aの取り込みによって、細菌能については白血球のPMA(Phorbol-12-myristate 13-acetate)刺激による O_2^- 産生をCyt. C還元法によって評価した。また、常法によって調整した血清は、補体活性とリゾチーム活性を測定した。

*in vitro*下にFVPで前処置した腹腔内滲出白血球では、貪食能とPMA刺激による O_2^- 産生能が高くなる傾向を示した。FVPを4週間経口投与したヒラメでは、白血球の貪食能と殺菌能が対照区と比較して有意($p < 0.05$)に高い値を示した。また、FVPを経口投与したヒラメ血清の補体活性は、高くなる傾向を示し、リゾチーム活性も対照区と比較して有意($p < 0.05$)に高い値を示した。これらのことからFVPは、ヒラメの非特異的な免疫機構を活性化する効果をもつことが示唆された。したがって、FVPの経口投与は、ヒラメの初期感染症に対する対策として有効と推察された。

B. 総説

- (1) 海洋微生物を利用した赤潮防除技術の開発に向けて
北口博隆・長崎慶三・満谷 淳
月刊海洋号外, 35, 160-166 (2003)

「環境にやさしい」赤潮対策として、生物的防除法が注目されている。自然生態系における赤潮の発生・消滅の過程に関与する生物的因子（細菌やウイルス）の作用を拡大利用することで、人為的に赤潮原因藻のブルームを制御するというのが生物的赤潮防除の基本的考えであり、もともと環境中に存在する生物的因子を用いることで、「異物」を作用させるよりも環境へのインパクトが少ないことが期待される。そのような観点から、現在までに海洋から赤潮原因藻を殺滅する細菌・ウイルスが多数分離されてきた。本稿では、生物的赤潮防除の中でも、細菌、ウイルスによる赤潮防除対策の開発の現状、特に海洋への生物的因子の散布技術に関する最近の知見について概説した。

C. 著書

(1) 微生物による赤潮藻類の殺藻

加藤純一・李 宣沃・大竹久夫・満谷 淳

環境修復と有用物質生産—環境問題へのバイオテクノロジーの利用—、シーエムシー出版、東京、pp. 55-61 (2003)

海洋において発生し、養殖業に多大な被害を及ぼす赤潮が消滅する際に、赤潮藻類を殺滅する細菌が貢献している可能性が示唆されている。著者らは、有明海から分離した *Pseudoalteromonas* 属細菌 A28 株の殺藻作用にプロテアーゼが関与していることをつきとめ、同菌の細胞から殺藻性プロテアーゼを分離精製した。また、大腸菌と A28 株の双方で形質転換が可能なシャトルベクターを構築し、殺藻細菌において遺伝子操作を行う道を開いた。

(2) Microorganisms associated with the occurrence of algal red tides (harmful algal blooms)

Atsushi Mitsutani and Yuzaburo Ishida

In "Red Tides" (ed. by T. Okaichi), Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands, pp. 232-257 (2003)

There have been numerous studies of algal red-tide outbreaks and disintegrations, from various viewpoints. It is well known that red-tide outbreaks are caused by eutrophication linked to pollution and human changes. Several physical factors such as temperature, salinity, wind and wave are also involved in the outbreaks. Another factor that affects the outbreaks or disintegration of red tide is the interaction of red-tide algae and their associated microorganisms. In this chapter, we discuss the ecological roll of microorganisms that promote the growth of red-tide algae, and then discuss the contribution of microorganisms that are pathogenic to red-tide algae on the disintegration of red tide.

D. その他

(1) 二枚貝の斃死原因赤潮藻 *Heterocapsa* の赤潮形成阻止のための分子生態学的研究

石田祐三郎

科学研究費補助金（基盤研究 B, 平成 11-14 年度）研究成果報告書（2003-3）

- (2) 微生物の生態研究についての雑感
石田祐三郎
日本微生物生態学会誌, 18(2), 31-32 (2003-6)

- (3) 特別寄稿: 研究のルーツを探る
石田祐三郎
極限環境微生物学会誌, 2(2), 1-3 (2003-11)

- (4) ヒラメのエドワジェラ感染症用ワクチンに関する研究
河原栄二郎
福山大学生命工学部報告書, pp. 46 (2003-2)