海の微生物

清水 潮

1. はじめに

海辺で何気なく手の平にすくう水の中にも恐らく10億を越す微生物が数えられるだろう。このような多数の、また多種多様な海の微生物は、海洋の物質循環に深く関わっており、その意味で、地球環境の維持に大きく貢献している。また、プランクトン、底棲生物から魚に至るまで、海に住む多くの動植物は微生物と緊密な相互作用を営み、海の生態系の維持にも微生物は最も重要な位置を占めている。

図1 南極海の海洋細菌の数

T C : 顕微鏡で数えた細菌数,

P C : 培養基上に発育した細菌数, 温度は培養温度

2. 海洋細菌の分布・数

図1に示したのは、南極海の海水中の細菌数を調べた結果である¹⁾。このように、顕微鏡で直接に観察する

と、外洋の海水中にも $10^4 \sim 10^5$ /ml程度の細菌は数えられる。その数は沿岸海水や海底堆積の中ではさらに2～3桁高くなる。

一方、培養基の上にコロニーを作らせて細菌の数を数えると、顕微鏡で数えられる細菌より4～5桁下回るという結果が外洋では得られる。栄養の豊富な沿岸域の海水でも、その中にみられる細菌のうちで培養できるものは、たかだか0.1～0.01%程度である。海洋微生物の研究者が直面している、古くて、また新しい問題は、濃密に存在する細菌の大部分が培養できず、したがってその実体が掴めないという厳しい現実である。

この大きなギャップの説明として、2つの考え方があった。ひとつは、海洋の極度に低栄養な環境に住む細菌の大部分は、いわゆる低栄養細菌と称される特別なグループであり、海水よりも1万倍も栄養の濃い人工的な培養基の中では到底増殖できないというものである。もう一つは、海洋の細菌は日常的に低栄養の環境にさらされ、飢餓状態の中で形態的にも生理的にも特別な状態にある。したがって、いきなり高濃度の培地に移すと言うショックを与えさなければ、それらは本来、海洋細菌用の培養基に増殖しうるものだ、という考え方である^{2,3)}。さらに第三の考え方として、海洋の大部分の細菌は飢餓状態の中で、徐々に死につくという見方がなりたつ。海洋の細菌は他の動植物に付着したり、体内、とくに動物の腸内に入ったりする希な機会に急激に増殖し、その後海の中に放り出されると、飢餓状態から徐々に増殖能力を失い、いずれは死滅の運命をたどると言うものである。

実際にはこの三つの考え方のそれぞれに対応する微生物が海洋中に存在するだろうけれども、その比率については、現在のところまだ分からない。近年分子遺伝学の

Marine Microorganisms

筆者紹介 USIO SIMIDU

Faculty of Applied Biological Science, Hiroshima University

広島大学生物生産学部 教授, 農学博士

筆者は、海洋微生物生態学が専門で、国際微生物生態学委員会の委員長も務めておられる。趣味は、囲碁とテニスである。

本稿では、海洋微生物研究の最近のトピックスを交え、海の微生物の特質について分かり易く解説して頂いた。

手法の発達は目ざましく、ようやく微生物生態学の分野にも応用できるような状態になってきた。今後、“見えるが培養できない”海洋細菌についても、分子遺伝学の面からの新しいアプローチが大きな成果をあげることが期待される。方法も結果もまだ十分説得的ではないが、その方向での萌芽的な研究もすでに現れている^{4,5)}。

3. 海洋細菌の種類

3.1 海洋細菌とは

海洋細菌とは何か、またそれは陸の細菌とどう違うかという議論は、海洋微生物学の歴史とともに続いてきた。しかし、ここでは、海洋の様々な環境に生活している細菌をすべて海洋細菌と呼ぶことにしよう。このような意味での海洋細菌と陸生細菌との関係を図にすると図2のようになる。つまり、海洋にはそこにだけ住み、元来陸には見られない細菌が多いけれども、陸にも海にも共通して見られる種類もある。

図2 海洋細菌と陸生細菌

3.2 海だけにいる細菌

元来海にだけに見られる細菌の代表的なものとして、ビブリオ科の細菌、アルテロモナス属の細菌をあげることができる。ビブリオ科の細菌の中にはコレラ菌、腸炎ビブリオを始めとして、人、魚介の病原菌も多いけれども、大部分は非病原菌である。この科の細菌は海水中にも多いが、とくに動物プランクトン、魚の表面や腸内にも多く、海産魚の腸管は殆どビブリオで占められる⁶⁾。

アルテロモナス属も海洋には多い細菌で、この属の中には様々な生理活性物質をつくるものが多く、その意味では注目される。

発光細菌は一つの例を別としてすべて海洋細菌である。その中で、これも一つの例（アルテロモナス・ハネタイ）を除いてビブリオ科細菌に限られている。何故そうなのかはなぜだが、永遠に暗い深海の環境が関係しているのかも知れない。塚本は海洋の異なる水深からとった細菌について、リボソームRNAの解析による系統進化の研究を行っているが、その結果⁷⁾によると、200—800m層からとったビブリオ科細菌には、系統的には発光細菌に属するものが圧倒的に多い。

塚本らの研究ではまた、同じプセウドモナス属に含められている細菌についても、海洋のものと陸のものでは系統進化の面では、大きく離れていることが分かった⁸⁾。このことは、海の細菌の中には進化の道筋でかなり遠い過去に陸の同族と分かれたものがあるだろうことを暗示している。

海だけに見られる細菌として注目すべきものに好気性光合成細菌があげられる。光合成を営む細菌は前世紀から多くの種類が発見されているが、従来知られているものは（らん藻は別として）すべて嫌気性の細菌であった。原島ら⁹⁾は海洋細菌の中にバクテリオクロロフィルaをもつものを発見し、これは芝・清水によってエリトロバクターと名付けられた¹⁰⁾。芝らはさらに多くの種類の好気性光合成細菌を海洋から分離し、その分布の広いこと、また、これらの菌が実際に好氣的に光合成を行うことを確かめている¹¹⁾。

4. 海洋細菌の特性

4.1 好塩性

海洋の細菌の大部分は食塩にして2.5～3%の塩濃度を好み、殆ど食塩のない環境では増殖しない。このような「低度の」好塩性をもつことは、海洋細菌の基本的な特性とされてきた。最近、海洋細菌による栄養素の取り込みなど、エネルギー論に関係する生理に海水中のNaClが深く関わっていることが明らかにされた^{12,13)}。このような好塩性をもつ海洋細菌は、系統進化の上からも、陸上の細菌とは違いことが示唆されている。

一方、海洋細菌の中には、増殖に特別な塩分を必要とせず、陸上細菌用の培養基に普通に増殖するものも多くいることも事実である。好塩性をもつものだけを真の(?)海洋細菌とすることは無理がある。

4.2 低温性

よく言われるように海の95%以上は5℃以下の低温であり、したがって、海洋の細菌の多くがそのような低温で増殖する。Moritaらは0～10℃の範囲だけで増殖し、10℃を越えると暑さで死滅してしまう細菌を発見しているが(図3)¹⁴⁾恒常的に0℃に近い深海の環境ではこのような細菌も決して例外的なものではないだろう。

一方、海の表層に住む細菌の中には20～30℃の温度を好むものも多くまた、海底の温泉、熱水湧昇域では85℃以上の高温に好んで増殖する、いわゆる好熱細菌も普通にみられる。細菌が果たして250℃で増殖するだろうかという議論が振ったのも、湧昇域からのそのような細菌の発見¹⁵⁾が端緒であった。この面でも海洋細

図3 南極から得られた低温細菌の増殖と温度との関係
(増殖は80時間培養したのちに調べた)

菌一即低温細菌と単純には捉えきれない。

4.3 好圧性

陸上の細菌の多くは200～500気圧 (2,000～5,000mの水深に相当する) で死滅する。しかし深海に生息している細菌は、その現場の高圧に耐性をもっているばかりでなく、圧力を好み、常圧では逆に増殖できないものもある。このような細菌は従来研究するすべもなかったから、深海でそれらが大部分を占めるのかどうかも分からなかった。しかし、この10年以來、米国で、ついではわが国でも、深海から、その場の圧力を維持したままで試料をとる高圧採水器の開発が進み、この面での研究も今後急速に進むことが期待される。

5. 海洋細菌の共生・寄生

海洋のあらゆる生物は身の回りの、1ml当り1億にも達する数の微生物に囲まれて生活している。したがって、微生物とさまざまな形の関わりあいを日常的にもたざるを得ない。多くの生物の表面にはスライムの形で濃密に微生物が寄生している。これらの体内への侵襲を防ぐために、生物はそれぞれ防護組織をつくり、あるいは抗生物質を分泌して対抗している。また、ときには微生物を自分の体内に積極的に取り込み、共生のかたちで自己の生活に利用するものも多い。

共生

海洋の多くの生物、とくにカイメン、ホヤ、ユムシなどの無脊椎動物に共生微生物が多く発見されている。カイメンの体内のらん藻、細菌の共生については詳細な研究がWilkinsonらによってなされている¹⁶⁻¹⁸⁾。らん藻は、カイメンの体色にも寄与し、また、光合成産物をカイメンに与えている。共生しているらん藻は残念ながら培養には成功していない。

最も古くから知られ、研究されてきた共生の例としては、発光魚、発光イカの発光器官の中の発光細菌があげられるだろう。不思議なことに、発光魚と発光細菌の間には、一定の対応関係があり、それぞれの種の魚は、数ある発光細菌の中から、特定の一種だけを選んで発光器官の中に住み着かせている。このような特定の細菌種が発光器官の中にどのようにして入り込み、また、なぜその種だけが発光器官のなかで増殖できるのかということは、まだなぞである。

ある種の発光魚では、発光器官の中の細菌 (らしいもの) の分離培養ができないため、細菌種の同定ができなかった。米国のHaygoodたちはヒカリキンメダイ科の発光魚の発光器官からDNAを抽出し、発光細菌の発光に関与する遺伝子との相同性を調べた。その結果、発光器官のDNAの中に、今まで魚の共生菌としては知られていなかった発光細菌**ビブリオ・ハーヴェイ**の発光遺伝子とほぼ相同なもののあることが分かった¹⁹⁾。

海洋での微生物—動物共生の新しいトピックとしては、海底の熱水湧昇域の動物の例があげられよう。70年代の終り、人々に大きな衝撃を与えた湧昇域の動物群集は、海底から供給される無機物を同化する細菌によって支えられていることが直ちに推測され、証明された²⁰⁾。また、そこにいるチューブワーム、シロウリガイなどがそのような細菌を体内に住まわせて、それが作る有機物を利用していることも明らかになった^{21,22)}。細菌を共生させている動物もつぎつぎに新しい種類が発見され、一方、細菌の種類も、初めに注目されたイオウ細菌のほかにメタン酸化細菌、硝化細菌など、いままでは、動物の共生微生物としては誰も思いつかなかった種類の存在も明かにされてきている。²³⁾

海洋の独立栄養細菌は、従来研究の進まない分野であったけれども、海底熱水湧昇域にこれらの細菌が発見されたのをきっかけにして、遺伝子レベルでの研究を含めて、興味ある成果も多く出されるようになってきた。海洋環境での窒素、イオウ、二酸化炭素、メタンの循環にたいする細菌の果たす役割の面からも将来の研究の進展が期待される。

6. 海洋細菌の活性

6.1 有機物分解

陸から海に持ち込まれる有機物、あるいは海の中で生産される有機物の殆どを微生物は分解する。難分解性と言われるセルロース・キチン・寒天・アルギン酸のような有機物も海の中では比較的速やかに分解されるし、石油に含まれる多種類の炭水化物も、また、自然にはなかった農薬、洗剤なども、いずれは分解され、消失する。

陸上では難分解性の有機物の分解にカビが大きな役割を果たしているが、海ではカビは少なく有機物を分解するのは殆ど細菌の仕事である。

とは言っても、それぞれの有機物がすべての海洋細菌によって分解されるわけではなく、生態系での微生物の仕事には分業があり、たとえば、セルロースや寒天の分解はキトファーガと呼ばれる種類の細菌に、また、キチンの分解はビブリオ科の細菌にとくに目立つ性質である。けれどもセルロースの分解はキトファーガに限られているわけではなく、また、キチンを分解するのはビブリオだけではない。さらに、同じビブリオの中でも、キチンなどの高分子を分解するのは海の表層付近に住むものが多く、中層、深層のビブリオは表層で分解を免れた僅かの種類の有機物を利用していると言うように、海の深さに応じた分業体制も発達しているように思われる²⁴⁾。

6.2 活性物質の産生

海洋細菌の種類はおそらく数十万種は越えると思われるが、かれらはそれぞれ異なる環境の中で他種の生物との競争、拮抗、寄生、共生など複雑な相互関係を営んでおり、その中で、様々な生理活性物質をつくっている。近年これについての研究が急速に進んでいる。ここではその幾つかをのトピックをいくつか紹介しよう。

抗菌物質など

陸に比べて海には放線菌は少なく、その分布は主として沿岸海域の海底堆積に限られている。しかし、海洋でも放線菌、菌類は抗菌性物質をつくる微生物として深索が進められてきた²⁵⁾。一方、これとならんで放線菌以外の細菌のつくる抗菌物質も報告されている。この中には海にふさわしく、分子の中に臭素を含んでいるものもある²⁶⁾。抗菌物質をつくる細菌の分布についてはNairらの研究があり²⁷⁾、相模湾、駿河湾などの海水、プランクトンから分離した細菌では平均8%のものが抗菌物質をつくった。これらの細菌の多くはアルテロモナスに属する細菌であると思われる。

海洋にはまたウイルスを殺す細菌が多いことも注目される²⁸⁾。亀井ら^{29,30)}は北海道の養魚場、河口、沿岸海域の水と堆積から採った細菌約1500株について魚類病原ウイルスを不活性化させる細菌のスクリーニングを行い、37%の高率で抗ウイルス活性菌を得ている。かれらはさらにプセウドモナス属の細菌の産生する抗ウイルス物質の分離・精製を行い、分子式および一部アミノ酸構造を明かにしている³¹⁾。

海洋には細菌の数を上回るウイルス粒子が浮遊しているというショッキングな事実が近年明らかにされた^{32,33)}。海洋には抗ウイルス細菌が際だって多いことも

或はこれと関係があるのかも知れない。

抗藻細菌

石尾らは³⁴⁾渦べん毛藻シャトネラを殺す細菌(ビブリオ種)を有明海の底泥から分離している。この細菌から抽出した物質は微量でシャトネラの細胞を溶かす。ただこの物質は魚に対しても毒性があり、赤潮防除のために用いるにはなお研究が必要である。

最近、海洋の微細藻類に対して阻害作用をもつ細菌が次々に発見されている。澤山ら³⁵⁾は緑藻(クラミドモナス)および赤潮べん毛藻(アレキサンドリウム)のライフサイクルの一環、すなわち雌雄の配偶子の接合を阻害する物質をつくる細菌を分離している。この物質を精製し、化学構造の決定を行った結果、バキルス・プレヴィイスの一菌株から分離されたDNA合成阻害剤 edeine A1と同一のものであった³⁶⁾。また、坂田は珪藻(カエトケロス)を殺す細菌を発見している³⁷⁾。この菌はグラム陰性のラセン菌でサブロスピラ属に同定されるという。深見ら(未発表)もまた赤潮藻類を殺す海洋細菌を発見している。

酵素阻害剤

酵素阻害剤は高等動物から微生物まで広い範囲の生物がもっているが、しかし、これを多量に生産するのは微生物でもごく僅かの種類に限られている。今田ら³⁸⁾は沿岸海域から分離した細菌約3000株についてプロテアーゼインヒビター産生のスクリーニングを行い、3株の産生菌を見つけた。インヒビターを特に強く産生するアルテロモナス属細菌について、抽出と精製を行い、2種類のインヒビター(マリノスタチンおよびモナスタチン)が得られた。分子量の小さいマリノスタチンについてはアミノ酸配列も決定された³⁹⁾。陸上生物のプロテアーゼインヒビターはそれをもつ生物の種類に関わらずアミノ酸組成に類似性が見られ、同一の祖先型に由来することをうかがわせる。しかしマリノスタチンのアミノ酸組成は陸上生物のものとの共通性を全くもたず、進化の面での異なる起源を示唆している。

今田はアミラーゼインヒビターをつくる細菌のスクリーニングも行い、5000株余りの海洋細菌について試験して1株の産生菌を得ることができた⁴⁰⁾。この細菌はストレプトコッカス・コルコルシに近い放線菌である。

毒素・薬理活性物質

海洋の動植物が極めて数多くの、また、様々な生理活性物質をつくることは以前から知られている。近年になって、このような生理活性物質、とくに毒素の類が、細菌によってつくられているという例が、つぎつぎに現れてきた。

これらの中で最もよく研究されてきたものはフグ毒

(テトロドトキシン)である⁴¹⁻⁴⁴⁾。フグ毒は広い範囲の細菌種によってつくられることが明らかになっている。フグを始めとしてフグ毒をもつ数多くの動物は、細菌によってつくられる毒を海洋の食物連鎖を通して蓄積・濃縮するものと考えられる。

世界的にはフグ毒以上に高い関心をもたれている麻痺性貝毒についても、これをつくる細菌が児玉らによって発見され、注目を集めている⁴⁵⁾。ただ、麻痺性貝毒については、従来から渦べん毛藻アレキサンドリウム属の植物プランクトンがこの毒を生産し、プランクトンを食べる貝類がそれを体内に蓄積するというのが定説となっている。無菌で飼育した渦べん毛藻がこの毒をつくるという実験もあり、細菌もこの毒をつくるとしても、生態系でのその寄与についてはまだ不明である。

貝毒の一種ネオスルガトキシン・プロスルガトキシンについても、毒化パイから分離した、コリネ型細菌がこの毒をつくったということを小管らは報告している⁴⁶⁾。軟体サンゴの一種バリトア(イワスナギンチャクの仲間)のつくる毒素バリトキシンは極めて強い毒力で有名である。これについても、Mooreら⁴⁷⁾はバリトアから分離したビブリオ種の細菌がこの毒素をつくったと述べている。さらにStierleらは⁴⁸⁾はバーミダ海域のカイメンから分離したマイクロコッカス属の細菌がカイメンのもつジケトピペラジンのひとつをつくることを報告している。

付着の促進・阻害物質

船、あるいはさまざまな水中構造物への貝、フジツボ、などの付着による被害は有史以来、海洋における人の活動を妨げてきた厄介な問題である。水中での個体表面への動植物の付着に先だって、それを誘引する微生物皮膜の形成があり^{49,50)}、またさらにそれに先だって、水中の高分子有機物の付着があると言われてきた。細菌の生産するタンパク質、メラノイジン物質、Dopa, GABA(γ-アミノ酪酸)など、さまざまな物質が貝、フジツボ、その他の動物幼生の基盤への定着を誘引することについては多くの報告がある⁵¹⁾。

一方、Makiたちはフジツボの界面への付着をある種の細菌のつくるフィルムが阻害することを示している^{52,53)}。われわれも(Chutiwanら、未発表)フジツボ幼生を阻害する細菌のスクリーニングを行ってきた。サンゴ礁からとった細菌の培養にたいするフジツボ幼生の挙動を調べると、細菌の中には、1)フジツボ幼生を誘引するもの、2)幼生が忌避するもの、3)無関心なもの、の3種類のあることが分かった。細菌のフジツボ幼生に対する作用は複雑で、同一種の細菌でもある種のフジツボを阻害しながら、別の種のフジツボには促進的に

働くなどの現象がみられる。

引用文献

- 1) Simidu, U., Kogure, K., Fukami, K. & Imada, C., *Mem. Natl. Inst. Polar Res., Spec. Issue*, **40**, p. 405-412 (1986).
- 2) Novitsky, J. A. & Morita, R. Y., *Appl. Environ. Microbiol.*, **33**, p.635-641 (1977)
- 3) Morita, R. Y. : Starvation-survival: the normal mode of most bacteria in the ocean. in 4th International Symposium on Microbial Ecology. 1986. Ljubljana: Slovene Society for Microbiology.
- 4) Giovannoni, S., Britschgi, T. B., Moyer, C. L. & Field, K. G., *Nature*, **345**, p. 60-63 (1990).
- 5) Fuhrman, J. A., McCallum, K. & Davis, A. A., *Nature*, **356**, p. 148-149 (1992).
- 6) Aiso, K., Simidu, U. & Hasuo, K., *J. Gen. Microbiol.*, **52**, p. 361-364.
- 7) Kita-Tsukamoto, K., Study on classification and identification of marine bacteria, mainly of the family *Vibrionaceae*. (1981) University of Tokyo:
- 8) Kita-Tsukamoto, K., Oyaizu, H., Nanba, K. & Simidu, U., *Int. J. Syst. Bacteriol.* in press, (1993).
- 9) Harashima, K., Shiba, T., Totsuka, T., Simidu, U. & Taga, N., *Agric. Biol. Chem.*, **42**, p. 1627-1628 (1978).
- 10) Shiba, T. & Simidu, U., *Int. J. Syst. Bacteriol.*, **32**, p. 211-217 (1982).
- 11) Harashima, K., Shiba, T. & Murata, N. : ed. *Aerobic Photosynthetic Bacteria*. 1989, Jap. Sci. Soc. Press & Springer-Verlag : Tokyo. 167.
- 12) Tokuda, H. & Unemoto, T., *J. Bacteriol.*, **156**, p. 636-643 (1983).
- 13) Tokuda, H. & Kogure, K., *J. Gen. Microbiol.*, **135**, p. 703-709 (1989).
- 14) Morita, R. Y., *Bacteriol. Rev.*, **39**, p. 144-167 (1975).
- 15) Baross, J. A. & Deming, J. W., *Nature*, **303**, p. 423 (1983).
- 16) Wilkinson, C. R., *Marine Biology*, **49**, p. 161-167 (1978).
- 17) Wilkinson, C. R., *Marine Biology*, **49**, p. 169-176 (1978).
- 18) Wilkinson, C. R., *Marine Biology*, **49**, p. 177-185 (1978).
- 19) Haygood, M. G. & Cohn, D. H., *Gene*, **45**, p. 203-209 (1986).

- 20) Ruby, E. G. & Morin, J. G., *Deep-Sea Research*, **25**, p. 161-167 (1978).
- 21) Jannasch, H. W. & Nelson, D. C., in Current perspectives in microbial ecology, M. J. Klug and C. A. Reddy, Editor. 1984, American Society for Microbiology: p. 170-176.
- 22) Tuttle, J. H., *Biol. soc. Wash. Bull.*, No. 6, p. 335-343 (1985).
- 23) Schmaljohann, R. & Flugel, H. J., *Sarsia*, **72**, p. 91-98 (1987).
- 24) Simidu, U. & Tsukamoto, K., *Appl. Environ. Microbiol.*, **50**, p. 781-790 (1985).
- 25) 岡見吉郎, in 海洋微生物とバイオテクノロジー, 清水 潮編, 1991, 技報堂出版: 東京. pp. 281-296.
- 26) Andersen, R. J., Wolfe, M. S. & Faulkner, N. J., *Marine Biology*, **27**, p. 281-285 (1974).
- 27) Nair, S. & Simidu, U., *Appl. Environ. Microbiol.*, **53**, p. 2957-2962 (1987).
- 28) 絵面良男, in 海洋微生物とバイオテクノロジー, 清水 潮編, 1991, 技報堂出版: 東京. pp. 198-208.
- 29) Kamei, Y., Yoshimizu, M., Ezura, Y. & Kimura, T., *Microbiol. Immunol.*, **32**, p. 67-73 (1988a).
- 30) Kamei, Y., Yoshimizu, M., Ezura, Y. & Kimura, T., *Nippon Suisan Gakkaishi*, **53**, p. 2179-2185 (1988b).
- 31) Kamei, Y., Yoshimizu, M., Ezura, Y. & Kimura, T., *J. Aquatic Animal Health*, **2**, p. 21-29 (1990).
- 32) Bergh, O., Borsheim, K. Y., Bratbak, G. & Heldal, M., *Nature*, **340**, p. 467-468 (1989).
- 33) Proctor, L. M. & Fuhrman, J. A., *Nature*, **343**, p. 60-62 (1990).
- 34) Ishio, S., Nishimoto, T. & Nakagawa, H., *Nippon Suisan Gakkaishi*, **54**, p. 1175-1181 (1988).
- 35) Sawayama, S., Sako, Y. & Ishida, Y., *Nippon Suisan Gakkaishi*, **56**, p. 1847-1852 (1990).
- 36) Sawayama, S., Sako, Y., Ishida, Y., Niimura, K., Abe, A. & Hiroishi, S., *Nippon Suisan Gakkaishi*, **57**, p. 307-314 (1991).
- 37) Sakata, T., *Nippon Suisan Gakkaishi*, **56**, p. 1165 (1990).
- 38) Imada, C., Simidu, U. & Taga, N., *Nippon Suisan Gakkaishi*, **51**, p. 799-803 (1985).
- 39) Imada, C., Hara, S., Maeda, M. & Simidu, U., *Nippon Suisan Gakkaishi*, **52**, p. 1455-1459 (1986).
- 40) Imada, C. & Simidu, U., *Nippon Suisan Gakkaishi*, **54**, p. 1839-1845 (1988).
- 41) Yasumoto, T., Yasumura, D., Yotsu, M., Michishita, T., Endo, A. & Kotaki, Y., *Agric. Biol. Chem.*, **50**, p. 793-795 (1986).
- 42) Noguchi, T., Jeon, J.-K., Arakawa, O., Sugita, H. Y., Deguchi, Y. Y., Shida, Y. & Hashimoto, K., *J. Biochem.*, **99**, p. 311-314 (1986).
- 43) Simidu, U., Noguchi, T., Huang, D. -F., Y. Shida & Hashimoto, K., *Appl. Environ. Microbiol.*, **53**, p. 1714-1715 (1987).
- 44) Do, H. -K., Tetrodotoxin-producing bacteria and the mechanism of toxin accumulation in marine environments. (1989) The University of Tokyo.
- 45) Kodama, M., Ogata, T. & Sato, S., in Red Tide. Biology, Environmental Science and Toxicology, T. Okaichi, D. M. Anderson, and T. Nemote, Editor. 1989, Elsevier: p. 363-366.
- 46) Kosuge, T., Tsuji, K., Hirai, K. & Fukuyama, T., *Cem. Pharm. Bull.*, **33**, p. 3059-3061 (1985).
- 47) Moore, R. E., Helfrich, P. & Patterson, G. M. L., *Oceanus*, **25**, p. 54-63 (1982).
- 48) Stierle, A. C., Cardellina, J. H. & Singleton, F. L., *Experientia*, **44**, p. 1021 (1988).
- 49) Meadows, P. S. & Williams, G. B., *Nature, Lond.*, **198**, p. 610-611 (1963).
- 50) Brancato, M. S. & Woollacott, R. M., *Mar. Biol.*, **71**, p. 51-56 (1982).
- 51) Colwell, R. R.: Biotechnology in the marine sciences. in 10th annual MIT Sea Grant Lecture. 1982. Massachusetts Institute of Technology.
- 52) Maki, J. S., Rittschof, D., Costlow, J. D. & Mitchell, R., *Mar. Biol.*, **97**, p. 199-206 (1988).
- 53) Maki, J. S., Samuelson, M. -U., Szewzyk, U., Yule, A. B., Kjelleberg, S., Costlow, J. D. & Mitchell, R., *Bull. Mar. Sci.*, **46**, p. 499-511 (1990).

(平成4年8月17日受理)