

過酸化水素の *Gymnodinium nagasakiense* と魚類に対する毒性

宮崎 照雄・倉田 恵吉・宮崎 武弥・安達 六郎
三重大学生物資源学部

Toxic Effects of Hydrogen Peroxide on *Gymnodinium nagasakiense* and Fishes

Teruo MIYAZAKI, Keikichi KURATA, Takeya MIYAZAKI
and Rokuro ADACHI
Faculty of Bioresources, Mie University

Summary

Porous granules of calcium silicate could absorb hydrogen peroxide (H_2O_2) solution and release it in water. In the author's preliminary investigation in August, 1988, the sprinkled, H_2O_2 -laden porous granules of calcium silicate acted destructively against *Gymnodinium nagasakiense* in sea water. We, therefore, thought that this method would be applicable to remove the "red tide" occurring in fish-culturing fields. This study evaluated the toxic effects of H_2O_2 on *G. nagasakiense* *in vitro*, and on fishes such as yellowtail, red sea bream, striped jack and carp. As the result, H_2O_2 laden in porous granules could destroy *G. nagasakiense* at concentrations as low as 4.5 and 6 mg/l within 30 min. In toxic studies on fishes, although yellowtail, red sea bream and striped jack were treated by 3-min exposure to concentrations of H_2O_2 as high as 300, 900 or 1500 mg/l in a bath, no mortality occurred among them in 5 to 10 days post exposure. But yellowtail that were exposed to H_2O_2 at 900 mg/l, and red sea bream exposed to 300 and 1500 mg/l of H_2O_2 showed slight anemia due to methemoglobinemia. In the case of carp, they were treated by the long-term immersion of H_2O_2 . The median lethal dose in 48 hr (LD_{50-48h}) of carp that were exposed to H_2O_2 alone was 42 mg/l. The LD_{50-48h} in carp treated with H_2O_2 laden in porous granules of calcium silicate was 69 mg/l. The result in the study on carp suggested that the combination of H_2O_2 and calcium silicate reduced the toxicity of H_2O_2 to the fish.

Key words: H_2O_2 , Destruction, *G. nagasakiense*, Toxicity to fish.

過酸化水素水の水中散布による赤潮などの異常増殖プランクトンの駆除は1979年に特許申請がなされており、かなり以前からその効果が注目されていた。また、最近、種々の薬剤による *Chattonella marina* などの赤潮プランクトンの駆除に関する研究が行なわれ¹⁻²⁾、過酸化水素

が最も実用的であり、過酸化水素のアレロパシー活性はOHフリーラジカルによると考えられている³⁾。しかし、過酸化水素水の水域散布に関しては、過酸化水素水の比重が、普通物扱いである6%製剤でも1.022であり、そのまま淡水域や海域(比重:1.018~1.020)に散布したのでは高比重のため沈降して拡散しない。そのため、過酸化水素水を海水や淡水で微妙に比重を調整して海面散

布する方法が検討されている³⁾。筆者らは多孔質珪酸カルシウム顆粒の過酸化水素水の保持特性に着目し、過酸化水素の効果的散布方法に利用することを考案した。過酸化水素水を吸収させた本顆粒を水中投入した場合、本顆粒が水中を沈降する際、吸収した過酸化水素が分解して酸素ガスを放出し、孔間に吸収された過酸化水素の放出と拡散を起こした。また、大型水槽(9m×3m×1m水深)で本方法を試みた結果、過酸化水素の良好な水中拡散がみとめられた(宮崎ら、未発表)。このように本方法は過酸化水素の水中拡散を容易にするのが特徴である。また、筆者らは1988年8月に三重県南島町の内湾で発生した *Gymnodinium nagasakiense* による赤潮に対して30%過酸化水素水担持多孔質珪酸カルシウム顆粒の散布により、当該赤潮の部分的消失を認めた。こうした予備実験の結果から、養殖魚場での赤潮発生時、本方法を緊急避難として用いることを考えた。そのためには、赤潮プランクトンに対する障害効果と魚類に対する安全性の確認が必要である。本研究では、その基礎的研究として多孔質珪酸カルシウム顆粒に担持させた過酸化水素による *G. nagasakiense* の破壊効果を *in vitro* 実験で検討した。また、赤潮の発生水域で重要な養殖魚種であるブリ、マダイ、シマアジなどについて過酸化水素の毒性および安全性を検討した。

材料および方法

過酸化水素水の保持剤としての多孔質珪酸カルシウム顆粒は小野田エー・エル・シー株式会社製造の粒径3~5mm (Fig. 1) および粒径2~3mm を用いた。本顆粒は空隙率65~75%、かさ比重0.5~0.6g/cm³と軽く、自重の約1~2倍の吸水性を有する物性を持つ。本顆粒の化学成分はTable 1に示したように有害物質は全く含まない。過酸化水素水は30%製剤(和光純薬工業)と6%製剤(片山化学工業研究所)を用いた。

1. *Gymnodinium nagasakiense* に対する毒性実験

1988年8月三重県南島町で、また、1989年8月三重県南勢町の内湾で自然発生した *G. nagasakiense* を用い、200ml水量のガラスフラスコまたは250ml水量のガラスシリンダーに収容して実験に供した。実験のための過酸化水素濃度は0~150mg/lに適宜設定し、過酸化水素

単独、あるいは多孔質珪酸カルシウム顆粒に吸収させて投与した。保持剤としての多孔質珪酸カルシウム顆粒は1gで1mlの過酸化水素水を吸収することから、本実験では所定濃度の過酸化水素水を蒸留水で1mlに希釈し、1gの多孔質珪酸カルシウム顆粒(粒径2~3mm)に吸収させてすみやかに投入した。過酸化水素の効果判定には、プランクトンの運動性、運動停止および細胞崩壊を指標とした。

2. 魚類に対する毒性および安全性実験

実験魚としては三重県下の養殖漁場で飼育されているブリ、マダイ、シマアジを用いた。これらの海産魚は狭い水槽で長期飼育が不可能なため、過酸化水素の高濃度短時間薬浴による急性毒性試験を行なった。処理後、生簀網で飼育して外見異常や斃死を観察し、その毒性および安全性を判断した。また、過酸化水素が魚類の赤血球のヘモグロビン鉄とフェントン反応を起こしてメトヘモグロビン血症を発現させることから血液性状も調べた。毒性実験はブリ(平均体重1500g)、マダイ(平均体重800g)、シマアジ(平均体重250g)について水温21~24°Cの条件で行なった。予備実験の結果、ブリは1500mg/lの3分間薬浴で顕著なメトヘモグロビン血症を起こして斃死したので、過酸化水素濃度300と900mg/lの3分間薬浴処理とした。マダイについては過酸化水素濃度300と1500mg/lの3分間薬浴とした。シマアジは過酸化水素濃度300mg/lの3分間薬浴とした。処理後、海面に設置した3m³の生簀網に収容して5~10日間投餌飼育した。血液性状の検査は処理直後から10日目に魚の動脈球かキュービエー氏管より採血し、総赤血球数(クレイアダムス社、ブラッドカウンター)、ヘマトクリット値(毛細管法)、ヘモグロビン量(クレイアダムス社、アキュスタットシステム)を測定し、平均赤血球ヘモグロビン量、平均赤血球容積、平均赤血球ヘモグロビン濃度を算定した。

また、コイは小型水槽で長期飼育が可能であるため、過酸化水素単独での毒性と多孔質珪酸カルシウム顆粒に担持させた過酸化水素の毒性の比較検討はコイを用いて行なった。実験は各5尾のコイ(体重20~30g)を50lのパンライト水槽(水温20°C)に収容し、過酸化水素濃度を0, 22.5, 30, 45, 60, 75, 90mg/lに設定し、48時間の斃死および外見異常を観察した。過酸化水素水

は30%製剤を用い、所定濃度を単独あるいは多孔質珪酸カルシウム顆粒（粒径 3~5 mm）30 g に吸収させて投入した。

結 果

1. *G. nagasakiense* に対する毒性

第1回実験は、1988年8月三重県南島町の内湾で自然発生した *G. nagasakiense* を用い、200 ml の *G. nagasakiense* を含む海水（2100個体/ml）に所定濃度の過酸化水素水および多孔質珪酸カルシウム顆粒に吸収させた過酸化水素水の投入1時間後、浮遊している当該プランクトン細胞を観察した。その結果、過酸化水素水単独投入実験区では過酸化水素濃度 9, 15, 18, 37.5, 45, 60, 75, 150 mg/l では100%細胞破壊が起こり、破壊細胞がフラスコ底で糊状に沈澱していた。それに対して無投薬対照区では全数遊泳状態を呈していた。多孔質珪酸カルシウム顆粒に吸収させた過酸化水素水投入実験区では、濃度 9, 30 mg/l とともに100%細胞破壊が起こっていた。

第2回実験は、1989年8月三重県南勢町の内湾で自然発生した *G. nagasakiense* を用い、250 ml の *G. nagasakiense* を含む海水に過酸化水素濃度 0, 3, 6, 9, 15, 30 mg/l で過酸化水素水を多孔質珪酸カルシウム顆粒に吸収させて投入し、経時的（15, 30, 60分後）にそのプランクトン細胞数を測定した。その結果は Table 2 にまとめた通り、無投薬対照区では不動細胞がほとんど見られなかった。それに対して、過酸化水素濃度 3 mg/l 投入区では15分後に細胞膨化を呈する不動障害細胞が出現し、経時的に増加した。6 mg/l 投入区では15分後に大半が細胞膨化を呈する不動障害細胞となり、30分後には遊泳細胞がほとんど見られなくなった。9, 15 mg/l 投入区では15分後に少数が遊泳状態を呈するのみで、大半が細胞膨

Table 2. Destructive effects on *Gymnodinium nagasakiense* by H₂O₂ laden in porous granules of calcium silicate

H ₂ O ₂ (mg/l)	Time progress (min)	Number of the cells (cells/ml)	
		swimming	standstill-burst
0	15	12300	0
	30	12500	0
	60	6250	50
3	15	7140	3360
	30	5770	4630
	60	5010	5790
6	15	2580	11320
	30	90	10710
	60	0	10300
9	15	90	10510
	30	0	10700
	60	0	10300
15	15	90	11110
	30	0	10100
	60	0	10500
30	15	0	11600
	30	0	9700
	60	0	9600

Water volume treated: 250 ml, Porous granules used: 1g

化を呈する不動障害細胞となり、30分後には全て破壊を伴った不動障害細胞となった。30 mg/l 投入区では15分後に全て破壊を伴った不動障害細胞となっていた (Table 2)。

第3回実験は、第2回実験に引き続き、低濃度の過酸化水素の駆除効果について検討した。前日に海域から採水して 30 l の水槽に一晩放置した *G. nagasakiense* を利用し、朝に処理実験に供した。250 ml の当該プランク

Table 1. Chemical component of porous granules of calcium silicate used in the study

substances	SiO ₂	CaO	Al ₂ O ₃	Fe ₂ O ₃	MgO	Ig-Ioss	Total
content (%)	54.7	25.2	2.7	1.5	0.3	14.5	98.9
substances	Cd	Pb	Cr	As	Total-Hg	Cyanide	PCB
analysis*	ND ¹	ND ²	ND ³	ND ⁴	ND ⁵	ND ⁶	ND ⁷

1: <0.005 ppm 2: <0.02 3: <0.04 4: <0.01 5: <0.0005 6: <0.01 7: <0.0005

* following the method in Notification No. 13 of the Environment Agency

トンを含む海水に過酸化水素濃度 0, 1.5, 3, 4.5, 6, 7.5 mg/l で過酸化水素水を多孔質珪酸カルシウム顆粒に吸収させて投入し, 経時的 (15, 30, 60分後) にそのプランクトン細胞数を測定した。本実験は2回繰り返した。本実験は水槽に一晩放置したものを利用したためか, 無投薬対照区でも不動細胞が少数ながら見られた。それに対して, 過酸化水素濃度 1.5 mg/l 投入区では60分後も大半の細胞は遊泳状態であるが, 15分後に細胞膨化を呈する不動障害細胞も多数出現し, 経時的に増加した。過酸化水素濃度 3, 4.5, 6, 7.5 mg/l 投入区ではともに15分後には細胞膨化を呈する不動障害細胞が遊泳細胞をはるかに上回る数で出現し, 遊泳細胞が経時的に激減した (Table 3)。

以上の実験結果に基づき, 過酸化水素 3, 30 mg/l 水溶液中における *G. nagasakiense* の変化を経時的に顕微鏡観察した。3 mg/l 過酸化水素接触直後, そのプランクトン細胞は動きを速めるが, 徐々に緩慢な動きになり, 縦鞭毛がスクリュエ運動から振幅運動に代わり, さらに丸まったり, 屈伸運動をするようになり前進遊泳がまず

できなくなった。その後, 縦鞭毛が脱落し, 横鞭毛の運動も緩慢になり, そのため細胞は緩慢な旋回運動しかできなくなった。10分後には横鞭毛も運動停止し, 細胞は不動になるとともに徐々に膨化し, 体内の葉緑体も膨化して球形化し始めた (Fig. 2)。45分後には細胞は顕著に膨化し, 細胞膜の一部が破壊され, 細胞質および葉緑体が破壊口から噴出して細胞破裂を起こした。また, 過酸化水素 30 mg/l 水溶液での実験では, *G. nagasakiense* は処理直後に運動を停止し, 膨化, 細胞膜の破壊, 細胞質および葉緑体の噴出を起こし, ほぼ5分以内に破裂した (Fig. 3)。

2. 魚類に対する毒性および安全性

ブリでは過酸化水素濃度 900 mg/l 薬浴処理直後の採血に際して赤血球のメトヘモグロビン化による血液の茶褐色の変色が見られた。そのため10日間の飼育を行ない期間中における異常を観察したが, 斃死など異常は見られなかった。また, 過酸化水素濃度 300 mg/l 処理魚ではほとんど異常は起こらなかった。過酸化水素濃度 300

Table 3. Destructive effects on *Gymnodinium nagasakiense* by H₂O₂ ladan in porous granules of calcium silicate at low concentrations

H ₂ O ₂ (mg/l)	Time progress (min)	Number of the cells (cells/ml)			
		First trial		Second Trial	
		swimming	standstill-burst	swimming	standstill-burst
0	15	25160	340	21240	150
	30	24750	850	24350	350
	60	22090	410	18100	890
1.5	15	20970	3230	17160	1750
	30	18290	5710	14840	2060
	60	17440	2560	12010	590
3	15	13710	11090	7040	9160
	30	8330	11870	6240	8960
	60	4650	15750	5500	8400
4.5	15	4350	16150	5500	11100
	30	1690	17520	7580	9730
	60	1410	16790	1360	12240
6	15	3340	18560	5180	14020
	30	870	19530	3550	15150
	60	270	17830	0	16100
7.5	15	3160	14440	190	10710
	30	660	11040	190	10710
	60	0	11500	0	9600

Table 4. Hematological data of yellowtail exposed to hydrogen peroxide

H ₂ O ₂ (mg/l)	Days after exposure* ¹	Hematological data (mean and standrd deviation of five fish)					
		RBC	Hb	Ht	MCH	MCV	MCHC
0		346* ²	12.4	50.5	36.2	146.7	24.7
		31.9* ³	0.8	3.9	3.7	15.8	0.9
300	0	350	12.6	48.7	35.8	139.1	25.8
		24.5	1.2	4.1	1.4	3.8	1.0
	3	382	12.9	50.0	34.0	130.7	26.0
		43.2	1.1	6.4	1.2	5.4	1.1
	7	376	14.3	54.0	38.1	143.9	26.6
		26.0	0.8	5.3	1.3	10.7	2.0
10	390	14.8	53.0	38.0	135.7	28.0	
	12.4	0.6	1.8	1.5	2.4	0.7	
900	0	406	14.4	57.6	35.5	142.2	25.0
		40.2	1.1	5.1	1.8	5.2	1.6
	3	301	12.5	43.7	42.2	146.9	28.8
		33.8	1.6	2.4	8.5	19.1	4.5
	7	337	11.4	43.4	33.7	128.9	26.2
		13.5	1.1	2.7	3.0	8.9	2.0
10	369	12.1	48.9	32.7	132.4	24.8	
	13.9	1.1	3.0	2.2	5.7	1.8	

*¹: for 3 minutes in a bath at 21–24°C *²: mean, *³: standard deviation

RBC: red blood cell count ($\times 10^4$ cells/ml), Hb: hemoglobin (g/dl) Ht: hematocrit (%), MCH: mean corpuscular hemoglobin ($\gamma\gamma$) MCV: mean corpuscular volume (μ^3) MCHC: mean corpuscular hemoglobin concentration (%)

mg/l 処理魚では処理直後、3日、7日、10日後の血液検査で血液性状に特に異常は見られなかった (Table 4)。過酸化水素濃度 900 mg/l 処理魚では、3日後の血液検査で、軽度の貧血が認められたが、7日、10日後の血液検査では貧血は回復していた (Table 4)。

マダイでは過酸化水素濃度 1500 mg/l 処理魚でも、処理直後に軽度のメトヘモグロビン血症が見られただけであったので、5日間の飼育期間を設定して異常を観察した。その結果、5日間の飼育期間中に斃死や異常は見られなかった。5日後の血液検査では5尾中2尾にのみ軽微な貧血が認められた (Table 5)。過酸化水素濃度 300 mg/l 処理魚では、処理後1日目の血液検査で5尾中3尾に軽微な貧血が見られたが、5日間の飼育期間中に斃死など異常は起こらなかった。

シマアジの過酸化水素濃度 300 mg/l 処理魚では、5日間の飼育期間中に斃死など異常は見られなかった。ま

た、処理1日後に血液性状を検討したが、特に異常値は認められなかった。(Table 6)。

コイでは、過酸化水素水単独投入により、45 mg/l 以上の濃度で処理された供試魚は短時間で鰓の壊死と顕著なメトヘモグロビン血症を起こして斃死した。その結果、過酸化水素単独投与での48時間半数致死濃度 (LD₅₀) は 42 mg/l と算定された。それに対して、多孔質珪酸カルシウム顆粒に吸収させて過酸化水素水を投与した実験では、24時間 LD₅₀ は 75 mg/l、48時間 LD₅₀ は 69 mg/l と算定された。この実験区では、高濃度の過酸化水素により斃死した魚は鰓の顕著な壊死を主徴としており、メトヘモグロビン血症は軽微であった。コイに対する過酸化水素の毒性は、過酸化水素単独投与より多孔質珪酸カルシウム顆粒担持過酸化水素投与のほうが軽減された。

Table 5. Hematological data of red sea bream exposed to hydrogen peroxide

H ₂ O ₂ (mg/l)	Days after exposure	Fish	Hematological data					
			RBC	Hb	Ht	MCH	MCV	MCHC
0		1	315	7.8	35.7	24.8	113.3	21.8
		2	300	8.0	37.1	26.7	123.7	21.6
		mean	308	7.9	36.4	35.7	118.5	21.7
		S. D.	10.6	0.1	1.0	1.3	7.3	0.2
300	1	1	245	7.0	32.9	28.6	134.3	21.3
		2	245	6.0	33.8	24.5	138.0	17.8
		3	275	7.2	36.6	26.2	133.1	19.7
		4	335	8.4	41.4	25.1	123.6	20.3
		5	300	8.2	39.4	27.3	131.3	20.8
	mean	280	7.4	36.8	26.3	132.1	20.0	
	S. D.	38.4	1.0	3.6	1.7	5.3	1.4	
1500	5	1	305	7.4	30.6	24.3	100.4	24.2
		2	320	6.2	24.7	19.4	77.2	25.1
		3	288	7.0	30.4	24.3	105.6	23.0
		4	350	9.5	43.7	27.1	124.9	21.7
		5	250	6.4	28.6	25.6	114.4	22.4
	mean	303	7.3	31.6	24.1	104.5	23.3	
	S. D.	37.2	1.3	7.2	2.9	17.9	1.4	

S. D.: standard deviation

Table 6. Hematological data of striped jack exposed to hydrogen peroxide

H ₂ O ₂ (mg/l)	Days after exposure	Fish	Hematological data					
			RBC	Hb	Ht	MCH	MCV	MCHC
0		1	410	12.0	45.7	29.3	111.5	26.3
		2	390	9.4	39.1	24.1	110.3	24.0
		mean	400	10.7	42.4	26.7	105.9	25.1
		S. D.	14.1	1.8	4.7	3.7	7.9	1.6
300	1	1	425	10.5	38.6	24.7	90.8	27.2
		2	445	11.0	38.6	24.7	86.7	28.5
		3	425	9.6	38.0	22.6	89.4	25.3
		4	460	11.9	49.3	25.9	107.2	24.1
		mean	439	10.8	41.1	24.5	93.5	26.3
	S. D.	17.0	1.0	5.5	1.4	9.2	1.9	

S. D.: standard deviation

考 察

本実験の結果から、多孔質珪酸カルシウム顆粒に吸収させた過酸化水素は、濃度 3~6 mg/l、15~30分で *G. nagasakiense* の鞭毛運動を障害してプランクトン細胞を

沈降させ、さらに破壊に至る細胞障害を惹き起こすことがわかった。村田ら¹⁾は *Chattonella marina* の駆除には過酸化水素濃度 15 mg/l が有効であることを報告している。これらのことから、*G. nagasakiense* および *C. marina* による赤潮の駆除に際して、過酸化水素水の水域散布によって当該赤潮プランクトンを有効に駆除する

ためには、棲息層に 3~15 mg/l の過酸化水素濃度を短時間作り出せばよいといえる。

本研究では養殖の対象となっているブリ、マダイ、シマアジについて高濃度過酸化水素の急性毒性と安全性を検討した。本実験での過酸化水素の設定濃度 300~1500 mg/l は前述の赤潮プランクトン駆除有効濃度よりはるかに高い値であった。また、6%過酸化水素水 12l を 12 Kg の多孔質珪酸カルシウム顆粒に吸収させて水中投入するような大量投入の場合には、直後（1分後）に過酸化水素の最大濃度 110 mg/l が生じるが（宮崎ら、未発表）、この濃度よりも実験設定濃度は高い値であった。ただし、過酸化水素水担持多孔質珪酸カルシウム顆粒の散布では、そのような高濃度は出現しない。本実験の結果、ブリ、マダイ、シマアジは高濃度過酸化水素短時間曝露では、メトヘモグロビン血症による貧血を起こすが、斃死に至る異常を起こすことはないと判断された。また、コイ、ブリ、マダイおよびトラフグは投入された多孔質珪酸カルシウム顆粒を誤食することはなかったため、誤食の問題は起こらないと判断された。

水域に過酸化水素を散布する際、他の動植物にも影響が出ると考えられる。過酸化水素の毒性の研究では、アイゴの24時間 LD₅₀ は 224 mg/l、シマハゼの24時間 LD₅₀ は 155 mg/l、マアジの24時間 LD₅₀ は 89 mg/l³⁾、クロダイの半数孵化濃度は 35 mg/l 以上、30日齢のクロダイ仔魚と18日齢のマダイ仔魚の48時間 LD₅₀ は 7.9 mg/l、クルマエビの15日齢の48時間 LD₅₀ は 11.6 mg/l、アサリの96時間 LD₅₀ は 35 mg/l、アオサの50%細胞障害率（48時間）は 14.4 mg/l（千葉；未発表）などが明

らかになっている。これらのデータから、*C. marina* に対する過酸化水素の駆除有効濃度では有害な生物も見受けられる。しかし、これらのデータはいずれも長時間曝露実験での結果であり、通常、短時間曝露実験では薬物の安全性は高まる傾向がある。今後は、広い範囲の水棲生物に対する過酸化水素の安全性、過酸化水素を吸収させた多孔質珪酸カルシウム顆粒の効率的な利用および配布後の回収の方法についての検討が必要である。

本研究を進めるにあたり、多孔質珪酸カルシウム顆粒の供与を賜った小野田エー・エル・シー株式会社、ならびに過酸化水素に関する資料の提供を賜った片山化学工業研究所に深謝する。

文 献

- 1) 村田寿, 境正, 延東真, 黒木暁, 木村正雄, 九万田一巳, *Chattonella marina* 赤潮除去剤の検討——特に過酸化水素と高度不飽和脂肪酸から発生するフリーラジカルの除去能. 日本水産学会誌, 55 (6): 1075-1082 (1989).
- 2) 鹿児島県水産試験場, 4-漁場環境保全技術開発総合試験, (1)内湾における漁場環境の総合的保全技術の開発(C). 昭和62年度赤潮対策技術開発試験報告所, 104 pp (1988).
- 3) 鹿児島県水産試験場, 4-漁場環境保全技術開発総合試験, (1)低酸素水域の発生防止技術の開発及びシャットネラ赤潮の防除技術の開発. 昭和63年度赤潮対策技術開発試験報告書, 106 pp (1989).

Explanations of Figures

- Fig. 1. Porous granules of calcium silicate sizing from 3 to 5 mm.
- Fig. 2. *Gymnodinium nagasakiense* in 10 min after exposure to 3 mg/l of hydrogen peroxide. All cells were swollen and contained swollen chloroplasts. $\times 200$.
- Fig. 3. *Gymnodinium nagasakiense* in 2 min after exposure to 30 mg/l of hydrogen peroxide. All cells were swollen containing their swollen chloroplasts and had been burst. $\times 200$.

