

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 25 年 4 月 26 日現在

機関番号： 14101
 研究種目： 基盤研究 (C)
 研究期間： 2010 ～ 2012
 課題番号： 22580197
 研究課題名 (和文) 温帯海域におけるシガテラ中毒原因底生性有毒渦鞭毛藻の
 生理生態学的研究
 研究課題名 (英文) Ecological and physiological studies on benthic toxic
 dinoflagellates in temperate coastal waters
 研究代表者
 石川 輝 (ISHIKAWA AKIRA)
 三重大学・大学院生物資源学研究科・准教授
 研究者番号： 00273350

研究成果の概要 (和文)：三重県英虞湾浜島に調査点を設け、海藻類に付着する渦鞭毛藻 *Gambierdiscus* sp. の出現調査を行った。その結果、夏季から秋季にかけて本種の現存量は多くなる一方で冬季にもわずかながら出現するという、周年にわたる季節消長を明らかにした。さらに同調査点から得た細胞株を用いて、その増殖と生残に及ぼす水温の影響を室内培養実験により調べた。その結果により現場における本種の出現機構を説明することができた。

研究成果の概要 (英文)：In a seaweed bed of Ago Bay, central part of Japan, cell abundance (density of the cells attached to macroalgae) of *Gambierdiscus* sp. was monitored monthly. The abundance of *Gambierdiscus* sp. increased in warmer season (especially from August to October). On the other hand, although the cell density was very low, they also occurred even in the cold season (from January to March). The results of growth and survival experiments, using the *Gambierdiscus* sp. strains isolated from Ago Bay, against temperatures in the laboratory well explained the seasonal changes in abundance of this species in the bay.

交付決定額

(金額単位：円)

| | 直接経費 | 間接経費 | 合計 |
|---------|-----------|-----------|-----------|
| 2010 年度 | 1,500,000 | 450,000 | 1,950,000 |
| 2011 年度 | 1,100,000 | 330,000 | 1,430,000 |
| 2012 年度 | 900,000 | 270,000 | 1,170,000 |
| 年度 | | | |
| 年度 | | | |
| 総計 | 3,500,000 | 1,050,000 | 4,550,000 |

研究分野：農学

科研費の分科・細目：水産学・水産学一般

キーワード：有害藻類

1. 研究開始当初の背景

Gambierdiscus 属は熱帯・亜熱帯海域に生息する底生性の渦鞭毛藻であり、一般的に海藻に付着して生活をしている。*Gambierdiscus* 属の中のいくつかの種は有毒種で、食物連鎖の中でそれらの種の産生した毒を蓄積した魚類

を喫食すると“シガテラ”という食中毒を発症する。シガテラは熱帯・亜熱帯地域で多発しているが、近年、温帯域である和歌山県(2007年)や三重県(2008年)沿岸で捕獲された魚類(イシガキダイ)を原因とするシガテラが発生した。この事実は、シガテラの原因藻

類である底生性の渦鞭毛藻 *Gambierdiscus* 属が温帯域である紀伊半島沿岸においても広く分布していることを示すものである。しかし、紀伊半島だけでなく本州の他の海域においても本属の出現状況に関する情報はほとんどないのが現状であった。近年のシガテラ中毒被害発生事例を考えると、温帯域におけるシガテラリスクを評価することが極めて重要であり、そのためには生息している *Gambierdiscus* 属の現存量を明らかにすることはもちろん、その生理的特徴や生態的特徴を明らかにすることが急務であった。

2. 研究の目的

本研究課題では、紀伊半島に位置する三重県の沿岸部において、本来、熱帯・亜熱帯性種である *Gambierdiscus* 属の出現状況を季節を追って調査した。さらに、その季節消長を説明するため、調査点より単離して得た *Gambierdiscus* 属株を用いた室内培養実験によって細胞の増殖に及ぼす水温の影響を調べた。

本研究課題は、以上の調査・実験により得られた成果を基に本州各地におけるシガテラ中毒のリスクを評価する基盤として温帯海域に生息する底生性有毒渦鞭毛藻 *Gambierdiscus* 属の生理・生態学的特徴を解明することを目的とした。

3. 研究の方法

(1) 季節消長調査

既に本属の出現が確認されていた三重県英虞湾の湾口部に近い志摩市浜島町地先の岩礁帯藻場（石川，倉島 2010:本報告書「主な発表論文等，雑誌論文⑤」に調査定点（水深約 1-2 m）を設け、2008 年 11 月から 2011 年 3 月まで基本的に毎月 1 回の頻度で調査を行った。この調査地点において、水温を測定するとともに、シュノーケリングにより潜水し、複数種の大型海藻を採取した。海藻は採取後、水面下で直ちにチャック付きのビニール袋へ収容した。その後、藻体をビニール袋に入った海水と共に広口ポリ瓶に入れ、実験室に持ち帰り中性ホルマリンを加えた。実験室では、海藻と海水の入ったポリ瓶を 250 回激しく振盪して、藻体表面についている附着

物を剥離させた後、ポリ瓶の中身を全てザル容器の上に流し出した。ザルを通り抜けた全ての海水を、ナイロンメッシュの篩を用いて分画し、20-200 μm の粒子画分を得た。この画分の粒子をホルマリン濾過海水で 3-50 mL に定容して、カルコフルオール染色を施した後、*Gambierdiscus* 属の計数に供した。検鏡は UV 励起光下で行った。ザルの上に残った藻体についてはその湿重量を測定し、得られた *Gambierdiscus* 属の計数値を藻体 1 g 湿重量当たりの付着密度 (cells g^{-1} macroalga wet weight; 以下 cells g^{-1} と表記する) に換算した。

(2) 栄養細胞の増殖に及ぼす水温の影響を調べる培養実験

実験で使用した *Gambierdiscus* 属株（4 株）は 2009 年 10 月に英虞湾湾口部の浜島より単離したものである。まず、増殖に及ぼす温度の影響を調べるために 7 段階の温度条件 (10、15、20、25、30、32、35 $^{\circ}\text{C}$) 下で、培養実験を行った。培地は f/2 培地を用い、塩分 30、光強度 150 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 、12hL:12hD の明暗周期を設定した。4 株の細胞をそれぞれマルチウエルに接種し、各温度条件における細胞数の増加を検鏡により毎日追跡した。得られた増殖曲線から対数増殖期について比増殖速度を求め、最終的に 1 日当たりの分裂速度 (divisions day^{-1}) を算出した。

4. 研究成果

(1) 季節消長

英虞湾に出現した本属細胞は形態学的には *Gambierdiscus toxicus* に酷似していた。しかし、LSUrDNA (D8-D10) 領域を対象とした遺伝子解析の結果、既報の系統とは異なる種であることが明らかとなったので、本研究課題では *Gambierdiscus* sp. として扱った。

2008 年 11 月から 2011 年 3 月にかけての現場調査の結果、*Gambierdiscus* sp. は春季には極めて少なく、時として検出限界以下になる場合もあったが、水温が 20-30 $^{\circ}\text{C}$ に上昇する夏季から秋季 (7-11 月) にかけて海藻への付着密度が高く (採取された海藻類全体における平均付着密度が 2-11 cells g^{-1}) なることが明らかとなった (図 1)。一方、水温が約 11 $^{\circ}\text{C}$ 近くまで低下する冬季においても、

Gambierdiscus sp.は、細胞数は少ないもののその出現が確認された。以上のことは、*Gambierdiscus* sp.が本海域において周年にわたり個体群を維持していることを示唆している。

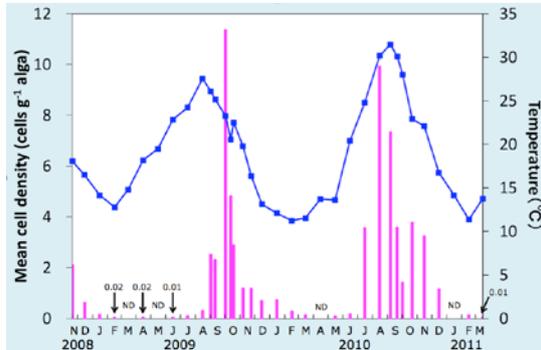


図 1. 英虞湾浜島における *Gambierdiscus* sp.の海藻類に対する平均付着密度（赤棒）と水温（青線）の季節変化. ND は検出限界以下を示す.

なお、調査期間中に記録された *Gambierdiscus* sp.の最大付着密度は 2009 年 10 月 1 日に得られた褐藻綱ヒバマタ目のウミトラノオにおける $31.9 \text{ cells g}^{-1}$ であった。この付着密度は古くからシガテラが発生している沖縄・奄美地方において報告された *Gambierdiscus* 属のそれと同等である。

(2) 増殖に及ぼす水温の影響

英虞湾・浜島産 *Gambierdiscus* sp.の増殖(図 2)は、 20°C から 30°C で良好であった ($>0.1 \text{ divisions day}^{-1}$)。最大分裂速度は 30°C で得られた ($0.2 \text{ divisions day}^{-1}$)。この結果は、現場において水温が $20\text{--}30^{\circ}\text{C}$ 程度となる夏季から秋季にかけて海藻への付着密度が高くなることを説明するものである。一方、 10°C 、 15°C 、 35°C では増殖しなかった。ただし、 10°C および 15°C では、細胞はこれらの温度で行った 2 週間の実験期間中、生残していたことが確認された。この結果を受けて別に行った本種の低温耐性を調べる培養実験では、いくつかの細胞は 10°C において約 90 日間生残可能であることが明らかとなった。*Gambierdiscus* 属は本来、熱帯・亜熱帯性の渦鞭毛藻であるが、この結果は、英虞湾産の *Gambierdiscus* sp.は低水温に対して強い耐性を有し、従って水温

が 11°C 近くなる英虞湾の冬季においても長期間にわたって生残できることを示している。つまり、現場調査で冬季に見られた細胞は、越冬細胞としての役割を果たしているということであり、それにより本種は英虞湾に土着することが可能になるものと考えられた。

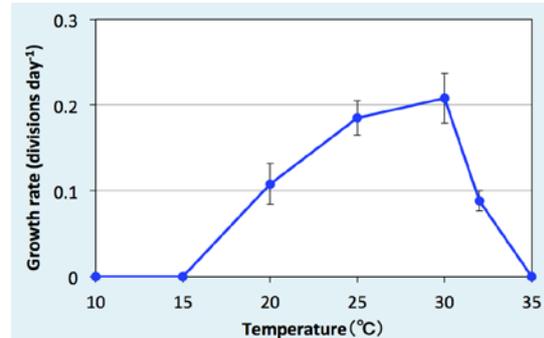


図 2. 英虞湾産 *Gambierdiscus* sp.の各水温に対する増殖速度(4 株の平均値). 縦棒は標準誤差を示す.

(3) まとめ

本研究課題により、英虞湾という温帯海域における *Gambierdiscus* sp.の季節消長が初めて明らかとなった。その中では、本種が周年にわたり出現していたことが判明した。培養実験により明らかとなった温度に対する本種の増殖の応答は、温帯域に生息する種というよりもむしろ熱帯・亜熱帯域に生息する種で一般にみられるものであった。その一方で、本種は低温に対しても強い生残耐性を持つことが示された。つまりその広い温度適応と耐性が、生理的には熱帯・亜熱帯性種のそれに近い本種が温帯域である同湾に定着することを可能にさせているものと解釈された。

以上、本研究課題で明らかにした *Gambierdiscus* sp.の出現機構は、温帯海域における将来のシガテラ中毒発生の予知・予防を行う上での基礎的な知見として大きく貢献するものと期待される。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 7 件)

① Ishii, K., Ishikawa, A., Imai, I. (2012) Newly identified resting stage cells of diatoms from sediments collected in Ago Bay, central part of Japan. *Plankton and Benthos Research*, 7: 1-7, 査読有

② Ishikawa, A., Kitami, S., Ishii, K., Nakamura, T., Imai, I. (2011) Resting stage cells of diatoms in deep waters in Kumano-Nada, central part of Japan. *Plankton and Benthos Research*, 6: 206-209, 査読有

③ 石川 輝, 今井一郎 (2011) 鞭毛藻類の生活史とその戦略の多様性. *日本プランクトン学会報*, 58: 60-64, 査読有

④ 畑山裕城, 石川 輝, 夏池真史, 武市有未, 鯨坂哲朗, 澤山茂樹, 今井一郎 (2011) 日本海若狭湾西部において見出された底生渦鞭毛藻 *Gambierdiscus* 属. *日本水産学会誌*, 77: 685-687, 査読有

⑤ 石川 輝, 倉島 彰 (2010) 英虞湾における底生性有毒渦鞭毛藻 *Gambierdiscus toxicus* の出現. *水産海洋研究*, 74: 13-19, 査読有

[学会発表] (計 3 4 件)

① Ishikawa, A., Takeichi, Y., Takayama, T. "Effect of temperature on the growth and survival of the benthic dinoflagellate *Gambierdiscus* sp. isolated from temperate coastal waters of Japan." 15回有害有毒植物プランクトン国際会議、韓国、2012年11月2日

② Ishikawa, A., Takeichi, Y., Sakamoto, S., Yamaguchi, M. "Year-round occurrence of the benthic dinoflagellate *Gambierdiscus* sp. in temperate coastal waters of Japan." 北大西洋海洋科学機構 (PICES) 2011 年次会合, ロシア・ハバロフスク, 2011 年 10 月 18 日

③ 武市有未, 石川 輝, 英虞湾における底生性渦鞭毛藻 *Gambierdiscus* sp. の増殖と生残に与える温度の影響. 日本ベントス学会・日本プランクトン学会合同大会, 高知大学, 高知市, 2011 年 9 月 17 日

④ 石川 輝, 三重県英虞湾における *Gambierdiscus* sp. の出現動態. 沖縄県健康バイオテクノロジー研究開発センター主催・微細藻類の生理活性物質, 遺伝子解析, 関連生物現象に関するミニシンポジウム, 沖

縄, うるま市, 2010 年 12 月 13 日

⑤ Ishikawa, A., Takeichi, Y., Sakamoto, S., Yamaguchi, M. "Seasonal change on abundance of the benthic dinoflagellate *Gambierdiscus* sp. In temperate coastal waters of Japan." 14 回有害有毒植物プランクトン国際会議、ギリシャ、2010 年 11 月 5 日

⑥ 武市有未, 坂本節子, 山口峰生, 石川 輝, 三重県英虞湾における底生性渦鞭毛藻 *Gambierdiscus* sp. の出現動態. 日本プランクトン学会・日本ベントス学会合同大会, 東京大学大気海洋研究所, 柏市, 2010 年 10 月 10 日

⑦ 畑山裕城, 夏池真史, 澤山茂樹, 武市有未, 石川 輝, 今井一郎, 日本海若狭湾西部における底生性渦鞭毛藻 *Gambierdiscus* 属の確認. 日本水産学会秋季大会, 京都大学, 京都市, 2010 年 9 月 23 日

6. 研究組織

(1) 研究代表者

石川 輝 (ISHIKAWA AKIRA)

三重大学・大学院生物資源学研究所・准教授

研究者番号 : 00273350