

令和元年6月7日現在

機関番号：16401

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2015～2018

課題番号：15H04535

研究課題名(和文) シガテラの発生機構解明を目指して - 水深10m以深に発生する原因藻の生理・生態

研究課題名(英文) Study on physiology and ecology of *Gambierdiscus* occurred in deep water (> 10 m depth) in order to clarify a mechanism of ciguatera outbreaks in Japan

研究代表者

足立 真佐雄 (Adachi, Masao)

高知大学・教育研究部自然科学系農学部門・教授

研究者番号：70274363

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 12,700,000円

研究成果の概要(和文)：シガテラは、海産魚類に起因する食中毒であり、沿岸表層(水深0～3 m)におけるその原因生物 *Gambierdiscus* 属の種組成や発生状況が検討されてきた。本研究は、これまでに検討例の無い10～30 m地点に発生する本属藻に注目しその生理・生態を検討した。まず、水深30 m地点より本属培養株を確立しこれを *G. silvae* と同定した。次に本種は強いマウス毒性を示すこと、さらに本種の至適増殖水温・塩分・光条件を解明した。さらに本種は本邦沿岸域の表層から深い層まで幅広く分布・発生することを解明した。また、メタ18S解析によりこれまでに報告が無い本属新奇種が本邦沿岸域に存在することを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、これまで未検討であった本邦沿岸における水深10～30 m層に存在するシガテラ原因藻 *Gambierdiscus* 属に注目し、太平洋からは初報告となる *Gambierdiscus silvae* を見出した。さらに、本種の生理・生態を解明し、本種が本邦におけるシガテラ発生に深く関与している可能性を指摘した。また、本研究では次世代シーケンサーを活用することにより、本邦沿岸域にて発生する *Gambierdiscus* 属の群集組成を網羅的に明らかにすることに成功し、これまでに報告の無い新奇種を見出した。本研究により得られた結果は、沿岸魚類の毒化予察やシガテラへの対策法の策定にも役立つものと期待される。

研究成果の概要(英文)：Toxic dinoflagellates genus *Gambierdiscus* are the causative agents of ciguatera fish poisoning. It has been analyzed that occurrences and cell densities of *Gambierdiscus* species in shallow waters of Japanese coastal areas. However, those in deeper waters has not been analyzed yet. This study assessed the occurrences in the deeper waters (> 10 m depth). A strain of *Gambierdiscus* was isolated from a deep water (30 m depth). The strain was identified as *G. silvae* based on the morphological features as well as the phylogenetic position. The strain showed mouse toxicities. The optimal temperature, salinity, and light intensity for *G. silvae* was 25 °C, 30 PSU, and 115 micromol photons/m²/s. It was clarified that the species distributed from shallow waters to deep waters in the areas by using qPCR assay. Finally, using meta-analysis based on 18S rDNA V8/V9 sequences, *Gambierdiscus* species including *G. silvae* as well as a novel clade/species were found in the Japanese coastal areas.

研究分野：海洋環境微生物学

キーワード：シガテラ 有毒渦鞭毛藻 地球温暖化

様式 C-19、F-19-1、Z-19、CK-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

シガテラ(Ciguatera Food Poisoning: CFP)は、海産魚類に起因する食中毒の1種であり、熱帯・亜熱帯域にて年間5~50万人もの中毒被害をもたらす、世界最大規模の海産食中毒として知られている(Fleming et al. 1998)。本中毒は、近年地球温暖化の進行と共に、本邦も含めた‘温帯域’への広域化や、それらの地域における発生頻度の上昇が懸念されている(Dickey and Plakas 2010)。本中毒の原因生物は、付着性有毒渦鞭毛藻 *Gambierdiscus* 属と考えられており、これまでに海外では沿岸表層(水深0~3 m)から採取された試料を用いて、その種組成や増殖特性が検討されてきた(Chinain et al. 1999; Skinner et al. 2013)。本邦においても、沿岸表層における調査により、本属藻の1種 *Gambierdiscus toxicus* と2つの系統型 (*Gambierdiscus* sp. type 1 および同 type 2)が報告されたが(Kuno et al. 2010; 石川・倉島 2010; 畑島ら 2011)、分析試料数が少ないことから、その種組成の解明には至っていない。さらに、沿岸の水深3 m以深における本属藻の発生状況については、国内では全く調べられておらず、海外においても殆ど調べられていない。僅かに行われた海外の研究では、水深10~15 mの層よりも0~3 m層に本属藻が多いことが報告されている(Richlen and Lobel 2011; Xu et al. 2014)。また、近年海外の沿岸表層から分離された本属藻の水温・塩分・光強度に関する増殖特性が検討され、種によりその特性は異なることが報告されたが(Kibler et al. 2012)、国内株に関する検討は殆ど行われていない。このような状況の下、著者らは本邦沿岸における表層(水深0~3 m)より多くの本属株を分離し、それらの種同定を試みた。さらに、これらの株の増殖に及ぼす光強度の影響を検討した。その結果、これらの株は約 $10 \mu\text{mol photons/m}^2/\text{s}$ の極めて弱い光条件下でも増殖し、これらの増殖至適光強度は $192\text{--}427 \mu\text{mol photons/m}^2/\text{s}$ であることを明らかにした。これらの光強度は、晴天時に土佐湾沿岸域において求めた光減衰曲線に基づくと、水深13~21 mの光強度に相当する。本結果は、これまで本邦沿岸域にて全く調査が行われてこなかった水深10~30 mの海底において、*Gambierdiscus* 属藻類が発生する可能性を示唆するものである。

また、これらの報告に関連して、国内におけるシガテラ原因魚種として知られているバラハタやイシガキダイは、その棲息水深がそれぞれ3~250 mと3~135 mとされ、成熟個体は水深10 m以深に多いことが報告されている(FishBase: <http://www.fishbase.org/search.php>)。以上のことから、これまで調査されてきた本邦沿岸の水深0~3 m層よりも、10~30 m層においてシガテラ原因藻が高密度で発生している可能性と、これらがイシガキダイ等を毒化させている可能性が考えられた。

2. 研究の目的

熱帯・亜熱帯域における海産食中毒「シガテラ」は、底生性渦鞭毛藻 *Gambierdiscus* 属により引き起こされるとされ、温暖化の進行と共に、本邦でもその発生が懸念されている。これまでに、本邦沿岸の表層0~3 mにおいて本属藻が発生することが報告されてきたが、より深い~30 m層における発生調査は全く行われていない。著者らは、本邦表層より分離した本属藻を用いて培養試験を行うことにより、それらは沿岸の水深10~30 m地点にて観測される弱光条件下にて活発に増殖可能であることを解明した。また、シガテラにより毒化する大型魚類が通常棲息する10~30 m層にて、表層に比べより多くの本属藻が発生することも見出した。そこで本研究は、シガテラ発生機構の全容解明を目指し、10~30 m地点に発生する本属藻に注目し、その生理・生態を網羅的に解明しようとした。

3. 研究の方法

1) *Gambierdiscus* 属の発生状況ならびに本属藻の単離・培養株の確立

高知県幡多郡大月町沿岸定点にて、表層、水深10 m、20 mおよび30 mから、3ヶ月に1回程度スキューバダイビングにより海藻試料を採取する。これにより得た試料より、Nishimura et al. (2013)により報告された手法に従って付着している微細藻画分を調製し、これらに含まれる *Gambierdiscus* 属藻を観察・計数する。また試料採取時に、船上から光量子計による光量子束密度(以後、光強度と呼ぶ)を測定することにより、鉛直的な光強度分布を明らかにすると同時に、それぞれの深度から海水試料も同時に採取し、水温および塩分を測定する。また、沖縄市沖縄本島東海岸の表層、水深10 m、20 mおよび30 mにおいて、海藻試料を定期的に採取して、これらを研究室に送付した後、上記と同様に本属藻の観察・計数を行う。上記の方法により調製した微細藻画分を顕微鏡の下にて観察し、これに含まれる *Gambierdiscus* 属細胞をガラスキャピラリーにより単離する。単離した細胞を、IMK/2培地中にて、25℃、塩分35、光強度 $90\text{--}100 \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 、明暗周期12:12時間の条件(Yoshimatsu et al. 2014)の下で培養することにより、深い水深に由来する培養株を確立する。

2) 形態学的特徴および分子系統学的解析に基づいた本属藻の種同定

前述した1)において確立した *Gambierdiscus* 属培養株を用いて、それらの細胞の大きさや、その外殻殻板の微細な形態学的特徴について、Nishimura et al. (2014)により報告された方法に従い、光学顕微鏡ならびに走査型電子顕微鏡(SEM)を用いて精査する。また、本邦沿岸域の表層には、*Gambierdiscus* sp. type 2 や同 type 3 のように、既報種とは系統的には明確に分岐している一方で、形態的には区別できない隠蔽種と考えられるものも存在しており、新たに分離した株についても、上記した形態学的特徴の検討に加えて、Nishimura et al. (2013)の方法に従って分子系統解析を実施することにより、総合的に種同定を行う。

3) 本属藻の毒性の検討

1)により確立した *Gambierdiscus* 属培養株を、1)で述べた条件の下でガラスシャーレ内にて培養し、これにより得られた藻体から Nishimura et al. (2013)の方法に従って毒成分を抽出した後、マウスを用いた毒性試験によりそれらの毒性を解明する。

4) 各種環境条件(水温・塩分・光強度)が本属藻の増殖に及ぼす影響評価

これまでに、本邦沿岸域の表層にて発生する *Gambierdiscus* 属藻の増殖に及ぼす水温ならびに塩分の影響(Yoshimatsu et al. 2014)、あるいは光強度の影響(Yoshimatsu et al. 2016)について明らかにされている。そこで、これらにより報告された手法に従って、まず1)にて確立した深い水深より得られた *Gambierdiscus* 属の株を、種々の培地においてそれぞれ培養し、最も良好な増殖が見られる培地を選抜する。さらに、水温 10~35 における6段階ならびに塩分 20~40 における5段階の組み合わせ条件下にて、ステップワイズ法を用いて本株を段階的に馴致させながら培養し、最大細胞収量が得られる水温・塩分条件を求める。また、光強度可変型恒温培養装置(山口 2017)を用い、3~1,500 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ の範囲における12段階の光条件の下で本株を培養し、それぞれにおける増殖速度を求め、これらに基づき各種の光応答曲線を求める。得られた結果に基づきその増殖至適光強度を解明する。

5) 次世代シーケンサーを用いた本属藻の網羅的群集組成の解明

まず、Kohli et al. (2014)らにより報告された方法に従い、上記1)にて述べた深い水深および表層からそれぞれ調製した微細藻類画分を用いて、これらに含まれる微細藻のゲノム DNA を抽出する。これらを鋳型として用い、Small subunit ribosomal RNA 遺伝子(SSU rDNA)可変領域をPCR増幅させ、次世代シーケンサーを用いたシーケンスを行うことにより配列を決定する。さらに、それらの網羅的系統解析を行うことにより、本属藻を含む付着性微細藻類の群集組成解析を行う。この際、深い水深に由来する試料における群集組成と、表層に由来する試料のそれとを比較することにより、本邦沿岸域に分布する本属藻の組成を明らかにする。

6) 定量PCRによる本属藻を特異的に定量可能な手法の開発と本法を用いたその動態解析

付着性有毒渦鞭毛藻 *Ostreopsis* 属の隠蔽種も含めた各種を高精度に検出可能な定量PCR法(Hariganeya et al. 2013)を応用することにより、深い深度に棲息する *Gambierdiscus* 属を特異的に検出する手法を開発する。これにより確立した定量PCR法を用いて、表層から水深30m地点より3ヶ月に1回程度採取した現場試料に含まれる当該種の発生量を求めることにより、その動態を解明する。同時に、それぞれの試料が採取された現場環境条件(水温、塩分、光強度)について検討することにより、当該種がどのような環境条件の下で発生するのか解析する。

4. 研究成果

1) *Gambierdiscus* 属の発生状況ならびに本属藻の単離・培養株の確立

高知県幡多郡大月町沿岸の水深3m、15mおよび30mの各地点ならびに沖縄県うるま市中城湾沿岸の水深3m、10m、20mおよび30mの各地点において、海藻試料を定期的に採取して、本属藻の観察・計数を行った。その結果、*Gambierdiscus* spp.の深度別平均細胞密度は、高知県の各地点(水深3m地点、水深15m地点および水深30m地点)ではそれぞれ0、0.058および0.71 cells/g fw algae、沖縄県の各地点(水深3m地点、水深10m地点、水深20m地点および水深30m地点)ではそれぞれ0.3、0.54、2.81および1.1 cells/g fw algaeであった。よって、最大細胞密度は高知県幡多郡大月町では水深30m地点より、沖縄県うるま市中城湾では水深20m地点より採取した試料からそれぞれ検出された。

また、沖縄県うるま市中城湾沿岸の水深30m地点より採取した海藻試料より調製した微細藻画分を顕微鏡の下にて観察し、これに含まれる *Gambierdiscus* 属細胞をガラスキャピラリーにより単離し、単離した細胞をIMK/2培地中にて、25℃、塩分35、光強度90-100 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 、明暗周期12:12時間の条件(Yoshimatsu et al. 2014)の下で培養した。その結果、*Gambierdiscus* sp. d0HHG1株を確立することが出来た。

2) 形態学的特徴および分子系統学的位置に基づいた本属藻の種同定

前述した1)において確立した *Gambierdiscus* sp. d0HHG1株の細胞の大きさや、その外殻鍍板の微細な形態学的特徴について、Nishimura et al. (2014)により報告された方法に従い、光学顕微鏡ならびに走査型電子顕微鏡(SEM)を用いて精査した。まず、LM観察に基づく細胞の大きさを検討した結果、depth(D)は $59.0 \pm 8.7 \mu\text{m}$ 、width(W)は $54.2 \pm 8.4 \mu\text{m}$ 、Length(L)は $36.3 \pm 4.6 \mu\text{m}$ であった。次に、*Gambierdiscus* sp. d0HHG1株のSEM観察に基づく鍍板微細構造の観察を行い、Fraga and Rodrigues (2014)の記載した *Gambierdiscus silvae* の形態形質と比較した。その結果、*Gambierdiscus* sp. d0HHG1株は、上殻側から見た細胞形状が円形であること(次ページ Fig. 1A)、鍍板表面が滑らかで多数の小孔があること(Fig. 1)、幅の広い2''''を有すること(Length $33.0 \pm 4.57 \mu\text{m}$ 、Width $25.1 \pm 3.26 \mu\text{m}$ 、ratio of Length to Width 1.32 ± 0.15)、斧型の2'を有すること(Fig. 1A)、前後圧縮型の細胞形状を有すること(Fig. 1C)、おおよそ三角形のPoを有すること(Fig. 1D)等をはじめとして、本株の形態は *G. silvae* の形質とほぼ一致したため、本株を *Gambierdiscus silvae* と同定した。本結果は、SSU rDNA配列に基づく分子系統解析により得られた結果によっても支持された。

3) 本邦産 *Gambierdiscus silvae* 株の毒性

2)により同定した *Gambierdiscus silvae* d0HHG1株を、1)で述べた条件の下でガラスシャーレ内にて培養し、これにより得られた藻体から Nishimura et al. (2013)の方法に従って毒成

分を抽出した後、マウスを用いた腹腔内投与試験によりその毒性を検討した。その結果、投与 24 時間後に本株はシガトキシン類を含む可能性を有するジクロロメタン画分 (dichloromethane soluble fraction: DSF) における毒性およびマイトキシシン類を含む可能性を有する MSF 毒性のいずれも示した。それぞれの毒性値は、DSF 毒性については *Gambierdiscus australes* S080911_1 株に次ぐ強い毒性 (207×10^{-4} MU/1,000 cells) を示し、含水メタノール画分 (aqueous methanol soluble fraction: MSF) における毒性については *Gambierdiscus australes* S080911_1 株、*Gambierdiscus scabrosus* KW070411_1 株や *Gambierdiscus* sp. type 3 W111G 株と同等の強い毒性 (67×10^{-4} MU/1,000 cells) を示した。

4) 各種環境条件(水温・塩分・光強度)が本属藻の増殖に及ぼす影響

Gambierdiscus silvae dOHHG1 株を水温 10~35 における 6 段階ならびに塩分 20~40 における 5 段階の組み合わせ条件下にて、ステップワイズ法を用いて段階的に馴致させながら培養し、それぞれの培養系における細胞収量を求めた。その結果、最大細胞収量は水温 25 の塩分 30 PSU の試験区にて得られた。また、水温 20 の塩分 35 PSU および水温 25 の塩分 35 PSU の各条件においても良好な増殖が認められたが、水温 25 の塩分 25 PSU および 40 PSU と水温 30 の塩分 30 PSU および 35 PSU では、良好に増殖しなかった。また、光強度可変型恒温培養装置(山口 2017)を用い、3~1,500 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ の範囲における 12 段階の光条件の下で *Gambierdiscus silvae* dOHHG1 株を培養し、その増殖速度を求めこれに基づきその光応答曲線を求めた。その結果、本株は光強度 0.00、5.00 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ の試験区では増殖せず、11.2~610 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ の範囲で増殖した (Fig. 2)。また、得られた光強度および増殖速度を回帰曲線にあてはめ、その増殖至適光強度 (I_m)、最大増殖速度の 80% 以上を与える増殖好適光強度 (I_{opt}) をそれぞれ求めた結果、増殖至適光強度 (I_m) は 115 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 、増殖好適光強度 (I_{opt}) は 46~299 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ とそれぞれ求めた。

5) 次世代シーケンサーを用いた本属藻の網羅的群集組成の解明

まず、高知県沿岸の各地点からそれぞれ調製した微細藻類画分を用いて、これらに含まれる微細藻のゲノム DNA を抽出した。これらを鋳型として用い、Small subunit ribosomal RNA 遺伝子 (SSU rDNA) V8/V9 領域を PCR 増幅させ、次世代シーケンサー MiSeq を用いてシーケンスを行うことにより配列を決定した。さらに、それらの網羅的系統解析を行うことにより、本属藻を含む付着性微細藻類の群集組成解析を試みた。その結果、これまでに発生が報告されている本属藻 6 種/系統型に加えて、これまでに報告の無い *Gambierdiscus* 属新奇系統型である *Gambierdiscus* sp. type 7 を見出した。さらに、これらの新奇系統型も含めて、高知県沿岸域の水深 3 m 地点と 30 m 地点における本属藻の群集組成を求め比較した結果、その組成は異なることが判明した。

6) 定量 PCR による本属藻を特異的に定量可能な手法の開発と本法を用いたその動態解析

付着性有毒渦鞭毛藻 *Ostreopsis* 属の隠蔽種も含めた各種を高精度に検出可能な定量 PCR 法 (Hariganeya et al. 2013) を応用することにより、深い深度から分離した *Gambierdiscus silvae*

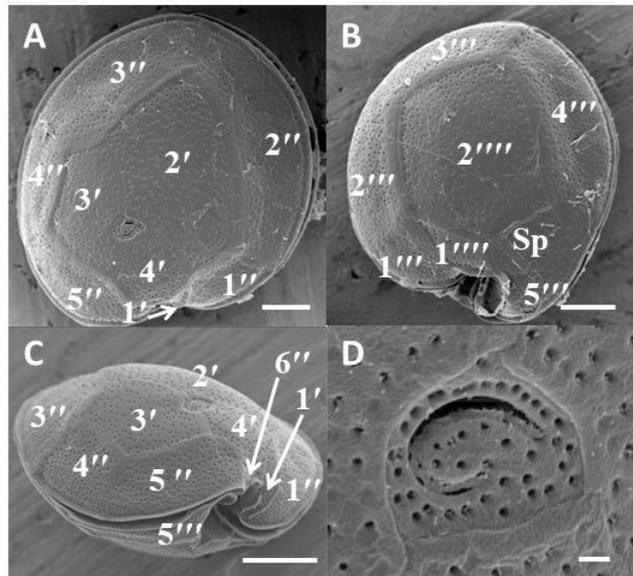


Fig. 1 本邦産 *Gambierdiscus silvae* dOHHG1 株の電子顕微鏡写真
A: 上殻, B: 下殻, C: 正面から見た側面, D: Poプレート
スケールバーはA, BおよびCが10 μm , Dが1 μm

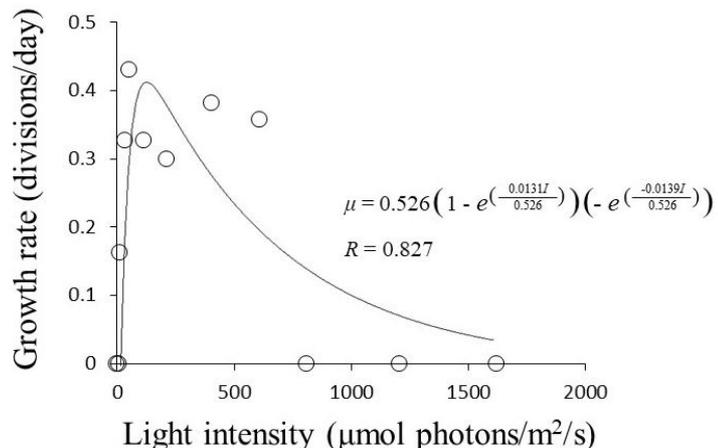


Fig. 2 水深30 m地点より得た *Gambierdiscus silvae* dOHHG1 株の増殖速度と培養光強度との関係

を特異的に検出する手法を開発しようとした。まず、2)にて得られた本属藻の DNA 配列の中で、本種に特異的な DNA 配列を検索し、これに特異的に結合するプローブ・プライマーセットを設計し、これを用いてリアルタイム PCR を行うことにより本種の培養細胞ならびに現場海域由来の細胞内に含まれる rDNA のコピー数を求めた結果、その 1 細胞当たりのコピー数は $904,690 \pm 364,362$ copies cell⁻¹ であることが明らかになった。これにより確立した定量 PCR 法ならびに Nishimura et al. (2016) により開発された本属他種 / 系統型を検出する定量 PCR 法を用いて、沖縄県うるま市中城湾ならびに高知県幡多郡大月町における表層 ~ 30 m 地点において 3 ヶ月に 1 回程度採取した現場試料に含まれる *G. silvae* をはじめとする本属各種の発生量を求めることにより、それらの動態を解明した。その結果、*G. silvae* は沖縄県において浅い水深にも見られるものの、深い水深において優占して発生すること (Fig. 3)、さらに高知県において表層より水深 15 m 地点においてより高密度にて発生して優占することが明らかになった。同時に、それぞれの試料が採取された現場環境条件 (水温、塩分、光強度) について検討することにより、*G. silvae* がどのような環境条件の下で発生するのか解析した。その結果、本種は 20 ~ 25 のやや水温が低い条件でかつ光強度が $300 \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ の低光強度の条件の下で、比較的高密度にて発生することが明らかとなった。

以上の結果から、*G. silvae* は深い地点 (水深 10 m 以深) の環境条件に適応しながら本層にて活発に増殖・発生し、また強い毒性を有することから、本層における魚類の毒化原因種として重要であると推察された。また、次世代シーケンサーを用いた網羅的系統解析を行うことにより、本邦沿岸域ではこれまでに発生が報告されている本属藻 6 種 / 系統型に加えて、これまでに報告の無い *Gambierdiscus* 属新奇系統型である *Gambierdiscus* sp. type 7 を見出すことに成功した。

今後は、シガテラ原因生物として考えられている有毒な *Gambierdiscus* 属のブルームを予測するためにも、本研究においてその存在が明らかになった系統型である *Gambierdiscus* sp. type 7 の分離株を確立し、その毒性、発生条件や毒生産条件等を明らかにすると同時に、有毒なものについては、それを特異的に検出・定量可能な定量

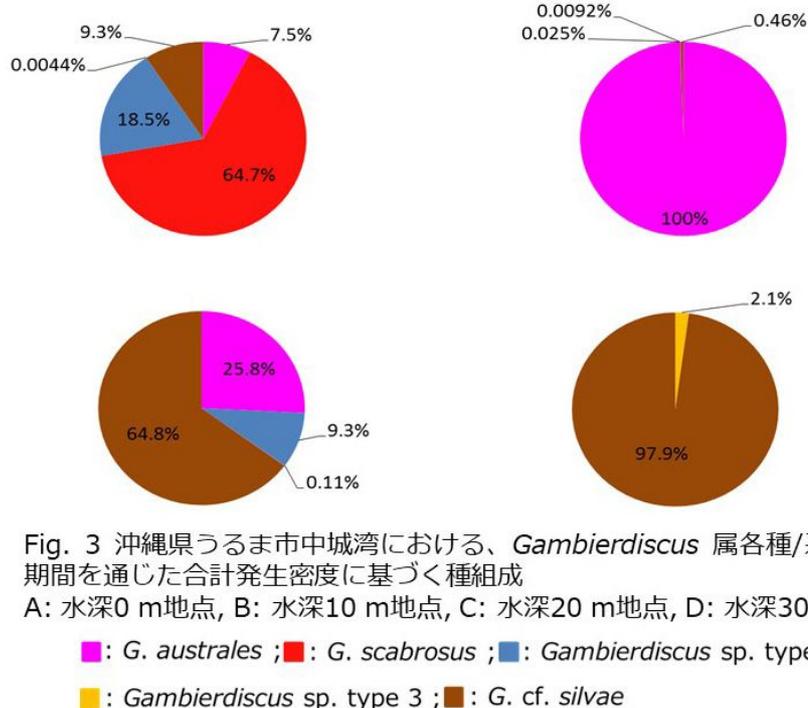


Fig. 3 沖縄県うるま市中城湾における、*Gambierdiscus* 属各種 / 系統型の期間を通じた合計発生密度に基づく種組成
A: 水深 0 m 地点, B: 水深 10 m 地点, C: 水深 20 m 地点, D: 水深 30 m 地点

■: *G. australes* ; ■: *G. scabrosus* ; ■: *Gambierdiscus* sp. type 2
■: *Gambierdiscus* sp. type 3 ; ■: *G. cf. silvae*

PCR 法を開発し、本邦沿岸域における本属藻類の発生状況を網羅的に明らかにする必要がある。それにより、本邦沿岸域におけるシガテラ発生メカニズムの一端の解明、さらにはその発生予測技術の開発が期待される。

< 引用文献 >

Chinain et al. *J Phycol* 35, 1282-1296 (1999); Dickey and Plakas *Toxicon* 56, 123-136 (2010); Fleming et al. *Harmful algae*, pp. 245-248 (1998); Fraga and Rodriguez *Protist* 165, 839-853 (2014); Hariganeya et al. *PLoS ONE* 8, e57627 (2013); 畑島ら *Nippon Suisan Gakkaishi* 77, 685-687 (2011); 石川・倉島 *Bull Jpn Soc Fish Oceanogr* 74, 13-19 (2010); Kibler et al. *Harmful Algae* 19, 1-14 (2012); Kohli et al. *Environ. Microbiol.* 16, 467-485 (2014); Kuno et al. *Phycol Res* 58, 44-52 (2010); Nishimura et al. *PLoS ONE* 8, e60882 (2013); Nishimura et al. *J Phycol* 50, 506-514 (2014); Richlen & Lobel *Mar Ecol Prog Ser* 421, 51-66 (2011); Skinner et al. *Mal Poll Bull* 77, 210-219 (2013); Xu et al. *Harmful Algae* 34, 56-68 (2014); 山口 *日本プランクトン学会報* 64, 35-39 (2017); Yoshimatsu et al. *Harmful Algae* 36, 29-37 (2014); Yoshimatsu et al. *Harmful Algae* 60, 107-115 (2016)

5 . 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 5 件)

Tomohiro Nishimura, Wittaya Tawong, Hiroshi Sakanari, Takuji Ikegami, Keita Uehara, Daiki Inokuchi, Masatoshi Nakamura, Takuya Yoshioka, Shota Abe, Haruo Yamaguchi, Masao Adachi (2018) Abundance and seasonal population dynamics of the

potentially ciguatera-causing dinoflagellate *Gambierdiscus* in Japanese coastal areas between 2007 and 2013. *Plankton and Benthos Research*, 査読有, 13(2): 46–58. DOI: <https://doi.org/10.3800/pbr.13.46>

Yihua Lyu, Mindy L. Richlen, Taylor R. Sehein, Mireille Chinain, Masao Adachi, Tomohiro Nishimura, Yixiao Xu, Michael L. Parsons, Tyler B. Smith, Tianling Zheng, Donald M. Anderson (2017) LSU rDNA based RFLP assays for the routine identification of *Gambierdiscus* species. *Harmful Algae*, 査読有, 66, 20-28. DOI: 10.1016/j.hal.2017.04.009

Francesco Pisapia, William C. Holland, D. Ransom Hardison, R. Wayne Litaker, Santiago Fraga, Tomohiro Nishimura, Masao Adachi, Lam Nguyen-Ngoc, Veronique Sechet, Zouher Amzil, Christine Herrenknecht, Philipp Hess (2016) Toxicity screening of 13 *Gambierdiscus* strains using neuro-2a and erythrocyte lysis bioassays. *Harmful Algae*, 査読有, 63, 173-183. DOI: 10.1016/j.hal.2017.02.005

Takamichi Yoshimatsu, Chaoyu Tie, Haruo Yamaguchi, Hiroshi Funaki, Chiho Honma, Kouki Tanaka, Masao Adachi (2016) The effects of light intensity on the growth of Japanese *Gambierdiscus* spp. (Dinophyceae). *Harmful Algae*, 査読有, 60, 107-115. DOI: 10.1016/j.hal.2016.10.009

Tomohiro Nishimura, Naohito Hariganeya, Wittaya Tawong, Hiroshi Sakanari, Haruo Yamaguchi, Masao Adachi (2016) Quantitative PCR assay for detection and enumeration of ciguatera-causing dinoflagellate *Gambierdiscus* spp. (Gonyaulacales) in coastal areas of Japan. *Harmful Algae*, 査読有, 52, 11-22. DOI: 10.1016/j.hal.2015.11.018

[学会発表](計7件)

Hiroshi Funaki. 他8名、足立真佐雄、The first report of occurrence of *Gambierdiscus silvae* in the coastal areas of Japan, The 18th International Conference on Harmful Algae, 2018

舩木紘、他6名、足立真佐雄、シガテラ原因藻 *Gambierdiscus silvae* の本邦沿岸域からの初報告、平成30年度日本水産学会春季大会、2018

Hiroshi Funaki 他8名、足立真佐雄、Vertical and horizontal species composition of ciguatera-causing dinoflagellate *Gambierdiscus* spp. (Gonyaulacales) in southern coastal areas of Japan, International Symposium "Fisheries Science for Future Generations" The Japanese Society of Fisheries Science, 2017

舩木紘、他6名、足立真佐雄、本邦沿岸域の表層にて発生する *Gambierdiscus* 属有毒2種の高光強度条件下における増殖応答、平成29年度日本水産学会春季大会、2017

Masao Adachi et al. 他計12名、*Gambierdiscus* species composition at sites deeper than 15 m in Japanese coastal waters and the evaluation of the effect of irradiance on the growth of a dominant species at the sites, 17th International Conference on Harmful Algae, 2016

吉井将太、他9名、足立真佐雄、定量PCR法による有光層中部におけるシガテラ原因藻 *Gambierdiscus* 属の種組成の検討、平成28年度日本水産学会春季大会、2016

木本菜月、他5名、足立真佐雄、水深30mより分離した *Gambierdiscus* cf. *silvae* の増殖に及ぼす光強度の影響、平成27年度日本水産学会秋季大会、2015

[図書](計1件)

『有害有毒プランクトンの科学』今井一郎、山口峰生、松岡数充(編) "付着性有毒渦鞭毛藻類の生態"の章、324-333, 2016、恒星社厚生閣。著者：足立真佐雄

[産業財産権]

該当無し

[その他]

該当無し

6. 研究組織

(1) 研究分担者

研究分担者氏名：大西浩平、ローマ字氏名：**Ohnishi Kouhei**

所属研究機関名：高知大学、

部局名：教育研究部総合科学系

職名：教授、研究者番号(8桁)：50211800

(2) 研究協力者

研究協力者氏名：田中幸記、ローマ字氏名：**Tanaka Koki**

研究協力者氏名：柳田一平、ローマ字氏名：**Yanagida Ippei**