

令和 6 年 5 月 14 日現在

機関番号：14101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2023

課題番号：20K06181

研究課題名(和文) 麻痺性貝毒原因渦鞭毛藻アレキサンドリウム・タマレンセの個体群形成機構の解明

研究課題名(英文) Studies on the mechanism for the formation of vegetative cell population of the toxic dinoflagellate *Alexandrium tamarense* (Dinophyceae)

研究代表者

石川 輝 (Ishikawa, Akira)

三重大学・生物資源学研究所・教授

研究者番号：00273350

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：三重県松阪港内において、2020年1月/2月から2021年7月にかけて有毒渦鞭毛藻アレキサンドリウム・タマレンセ(現在の種名はカテナラ)の現場海底からの発芽量をPETチャンバーを用いて季節的に実測するとともに、栄養細胞の季節消長を調べた。現場海底上におけるシストは兩年とも冬季から春季にかけての低温期に発芽した。また、栄養細胞も冬季から春季にかけて水柱中で増殖した。このことから、底泥中のシストは個体群形成のタネとしての役割を確かに果たしていることが明らかとなった。また、室内でのシストの発芽実験と栄養細胞の培養実験から、水温が本種の個体群動態を制御する主な要因となっていることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

アレキサンドリウム・タマレンセは、国内外において二枚貝類の毒化を引き起こす有毒渦鞭毛藻であるため、その個体群形成機構を解明することは水産学的に重要な課題である。本研究課題で取り組んだ研究手法により、栄養細胞群増殖のタネとなるシストの現場における発芽と栄養細胞の増殖において温度が大きく関わっていることを示し得た。このことは、各海域における本種の個体群形成機構を解明するために重要な基礎的知見となるものであり、また本種の増殖を予知する上でも大きく貢献するものである。

研究成果の概要(英文)：Temporal changes in the in situ germination flux of cysts and the abundance of vegetative cells of *Alexandrium tamarense* (present name, *A. catenella*) were investigated in Matsusaka Port, located in Ise Bay from January/February 2020 to July 2021. The in situ germination flux was measured using 'plankton Emergence Trap Chamber (PET Chamber)'.

The cysts germinated on the in situ sea bottom from winter to spring in 2020 and 2021, when the bottom sediment temperature was low. The vegetative cells built a population from winter to spring in the water column. From these results, it was concluded that cysts actually play an important role as seeds to form a vegetative population. Furthermore, based on the incubation experiments on cyst germination and vegetative growth in the laboratory, it was suggested that temperature is a crucial factor in controlling the population dynamics of *A. tamarense*.

研究分野：浮遊生物学

キーワード：有毒渦鞭毛藻 アレキサンドリウム・タマレンセ シスト 発芽 栄養細胞 個体群形成 伊勢湾

1. 研究開始当初の背景

アレキサンドリウム・タマレンセ [*Alexandrium tamarense*] (現在名はアレキサンドリウム・カテネラ [*A. catenella*])であるが、ここでは旧名のまま使用する)は麻痺性貝毒を産生する“有毒渦鞭毛藻”であり、国内外において広く二枚貝類の毒化を引き起こす極めて危険な生物である。本種はその生活史の一時期に海底上で生残するステージである“シスト”を形成するので、プランクトンとして遊泳している栄養細胞の個体群形成機構を解明するためには初期細胞群発生のタネとなるシストの発芽動態について把握することが必須である。

これまで、本種シストの発芽については室内培養実験に基づいてそのメカニズムが詳細に解明されてきた。しかし、発芽に影響を及ぼす水温や光強度、溶存酸素といった様々な環境要因が刻々と変化する現場の海底から、実際にいつ、どの程度発芽しているのか、という点については現場の環境を室内で再現することが不可能なために全くわかっていない。本種の個体群形成機構を詳細に解明し、水柱中における本種の発生を予知するためには、この点を明らかにすることが早急な課題である。

2. 研究の目的

伊勢湾では、これまでアレキサンドリウム・タマレンセによるアサリの毒化が度々発生している。そこで同湾を研究対象海域として、現場海底上における発芽細胞を直接捕らえるために研究代表者が以前開発した器具 (Plankton Emergence Trap/Chamber: PET チャンバー) を用いて、本種シストの現場海底からの発芽量を実測する。また、本種の栄養細胞群集の季節消長を追跡する。さらに、栄養細胞の増殖とシストの発芽に及ぼす温度 (増殖においては塩分も) の影響についても調べる。本研究課題は、以上の調査・実験により得られた結果を基に、アレキサンドリウム・タマレンセの個体群形成機構とそれを制御する環境要因を解明することを目的とする。

3. 研究の方法

(1) 現場調査

調査は、三重県松阪港内 (伊勢湾の西側に位置する) に停泊中の三重大学大学院生物資源学研究科附属練習船「勢水丸」をプラットフォームとして利用し (停泊場所の水深は約 7 m)、そのデッキ上で 2020 年 1 月より 2021 年 7 月までの 1 年 7 ヶ月にわたり、月に 1~2 回の頻度で、海洋観測、シスト発芽実測調査ならびに採水を行った (シスト発芽実測調査は 2020 年 2 月から月 1 回)。採水は北原式採水器を用いて行い、水柱中 0 m、2 m、4 m ならびに B-1m (海底から 1m 上) の各層から試水を得た。シスト発芽実測調査では、PET チャンバー (上述) を 4~5 本海底に設置した。この PET チャンバーは設置してから 24 時間後に回収した。得られた PET チャンバー内の試水と水柱中の試水はホルマリンで固定して、実験室に持ち帰り検鏡に供した。水柱中に出現した栄養細胞数は水柱積算値 (cells m^{-2}) とした。また、チャンバー内に出現した発芽細胞数は、1 日当たりの発芽細胞フラックス ($\text{cells m}^{-2} \text{day}^{-1}$) に換算した。

(2) 室内実験

勢水丸により 2021 年 5 月に伊勢湾の中央部において採取した海底泥を用いて、6 段階の温度条件 (5, 7, 10, 15, 20, 25°C) におけるシストの発芽可能温度域と発芽適温を終点希釈法 (MPN 法) による培養実験で調べた。IMK 培地入りの培養海水 (塩分 30) には GeO_2 を添加し、光強度 $100 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 、12hL:12hD の明暗周期のもとで実験を行った。

また、2021 年 4 月に伊勢湾 (三重県津市白塚港) から単離して作成したアレキサンドリウム・タマレンセ株を、7 段階の温度条件 (5, 7, 10, 15, 20, 25, 30°C) で培養した。培地には IMK 培地を用い、塩分 30、光強度 $100 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 、12hL:12hD の明暗周期を設定した。細胞の増殖は、24 時間おきに顕微鏡下で細胞数を計数することで追跡した。各温度条件下において得られた増殖

曲線から対数増殖期について比増殖速度 (day^{-1}) を求めた。なお、最大増殖速度を示した温度の下、6段階の塩分条件 (10, 15, 20, 25, 30, 35) で培養し、同様に各塩分条件下における比増殖速度 (day^{-1}) を求めた。

4. 研究成果

(1) 現場におけるシストの発芽と栄養細胞季節消長

現場シスト発芽実測調査を行った結果、発芽細胞は2020年2~4月と2021年1~4月の期間でみられた(図1)。発芽細胞フラックスは前者の期間で78~311 $\text{cells m}^{-2} \text{day}^{-1}$ 、後者の期間で124~560 $\text{cells m}^{-2} \text{day}^{-1}$ で変化した。それぞれの期間における最大発芽フラックスは、3月と4月に記録された。これら発芽細胞がみられたときの海底泥温度は9~15°Cの範囲にあった(図2)。

水柱中における栄養細胞は2020年と2021年ともに1~5月にかけて出現し、水柱積算栄養細胞数はそれぞれ $4.3 \times 10^4 \sim 7.1 \times 10^5 \text{ cells m}^{-2}$ と $7.8 \times 10^4 \sim 1.6 \times 10^6 \text{ cells m}^{-2}$ の範囲にあった(図3)。

なお、栄養細胞が出現した期間の水柱水温(図2)と塩分(図は省略)はそれぞれ8~21°Cと20~32の範囲にあった。

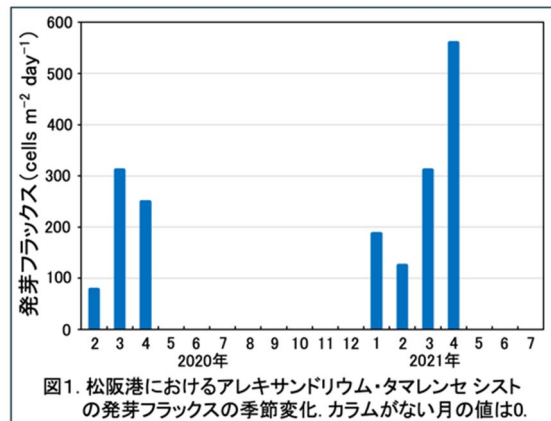


図1. 松阪港におけるアレキサンドリウム・タマレンセシストの発芽フラックスの季節変化。カラムがない月の値は0。

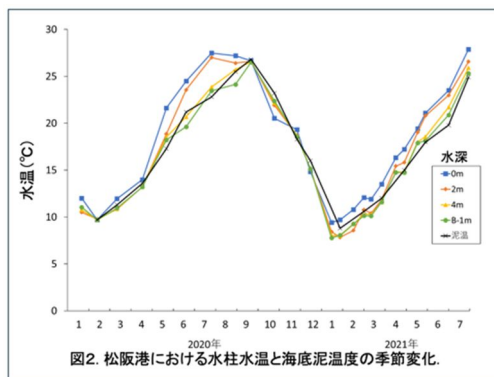


図2. 松阪港における水柱水温と海底泥温度の季節変化。

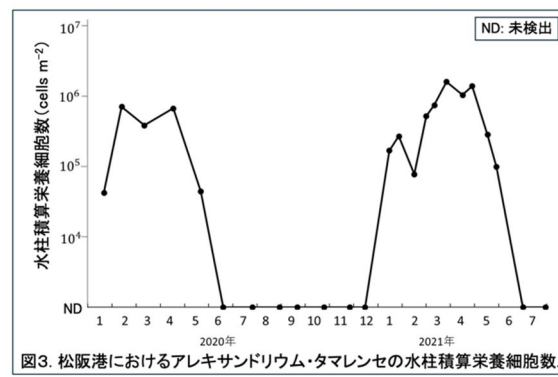


図3. 松阪港におけるアレキサンドリウム・タマレンセの水柱積算栄養細胞数。

(2) 増殖とシストの発芽に及ぼす環境要因の影響

発芽実験の結果、シストは7~20°Cで発芽可能であり、また発芽の最適温度は15°Cであることが明らかとなった(図4)。栄養細胞の増殖実験では、伊勢湾産本種は7~25°Cで増殖可能であるが、10~20°Cで0.2 day^{-1} 以上の比較的高い比増殖速度を示すことが判明した(図5)。なお、最大の比増殖速度は15°Cで得られたことから、15°Cにおける6段階の塩分間での増殖速度を調べた結果、すべての塩分で増殖可能であったが、塩分20以上で0.2 day^{-1} 前後の比較的高い比増殖速度を示すことがわかった(図は省略)。この塩分20以上という値は、本調査地点で周年にわたり記録される一般的な値である。

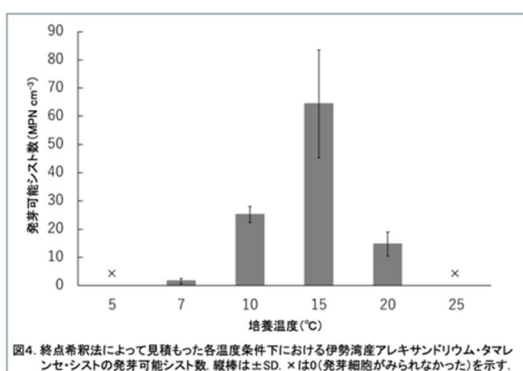


図4. 終点希釈法によって見積もった各温度条件下における伊勢湾産アレキサンドリウム・タマレンセシストの発芽可能シスト数。縦棒は±SD。×(20(発芽細胞がみられなかった))を示す。

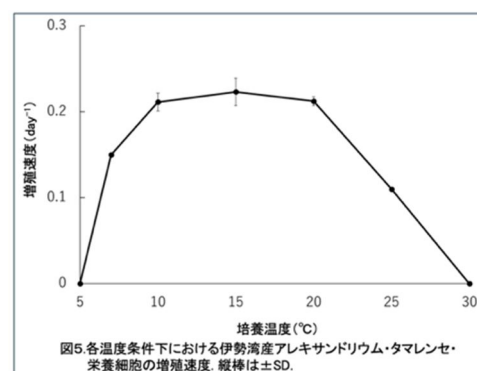


図5. 各温度条件下における伊勢湾産アレキサンドリウム・タマレンセ栄養細胞の増殖速度。縦棒は±SD。

(3) 個体群形成機構

室内のシスト発芽実験で明らかとなった発芽可能温度範囲は7~20°Cであり、2020年と2021年ともに現場海底温度がその範囲内にある9~15°Cで海底泥上において実際にシストの発芽が起こっていることが確認された。また、栄養細胞は両年とも1月から現場水柱中で増殖し始め、5月にかけて出現した。この期間の水温(8~21°C)は室内実験において比較的高い比増殖速度を示す温度域(10~20°C)とほぼ一致した。一方、この期間の塩分(20~32)は他の時期と特に異なることはなかった。これらのことは、海底泥中のシストは発芽可能な底泥温度になると発芽して発芽細胞を水柱中に供給しており、水柱中に供給されたそれら発芽細胞は、増殖に適した冬季から春季にかけての水温下で個体群を形成したことを示している。すなわち、海底泥中のシストは確かに個体群形成のタネとしての役割を果たしていることが明らかになると同時に、水温が本種の個体群動態を制御する主な要因となっていることが示唆された。以上のように、本研究課題によってアレキサンドリウム・タマレンセの個体群形成機構が解明された。この成果は、本種の出現を予測する上で現場の海底泥温度と水温を監視していくことが重要であることを示すものである。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計7件（うち査読付論文 7件/うち国際共著 2件/うちオープンアクセス 5件）

| | |
|---|-----------------------|
| 1. 著者名 Ishikawa, A., Takei, Y., Ishii, K., Yamaguchi, M. | 4. 巻 17 |
| 2. 論文標題 Population dynamics of <i>Chattonella</i> (Raphidophyceae), causative flagellates of noxious red tides in Ago Bay, central Japan, with an emphasis on cyst germination | 5. 発行年 2022年 |
| 3. 雑誌名 Plankton and Benthos Research | 6. 最初と最後の頁 383-392 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3800/pbr.17.383 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である) | 国際共著 - |
| 1. 著者名 Ishii, K., Matsuoka, K., Imai, I., Ishikawa, A. | 4. 巻 9 |
| 2. 論文標題 Life cycle strategies of the centric diatoms in a shallow embayment revealed by the plankton emergence trap/chamber (PET chamber) experiments | 5. 発行年 2022年 |
| 3. 雑誌名 Frontiers in Marine Science | 6. 最初と最後の頁 1-15 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fmars.2022.889633 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である) | 国際共著 - |
| 1. 著者名 Mertens K.N., Carbonell-Moore M.C., Chomerat N., Bilien G., Boulben S., Guillou L., Romac S., Probert I., Ishikawa A., Nezan E. | 4. 巻 62 |
| 2. 論文標題 Morpho-molecular analysis of podolampadacean dinoflagellates (Dinophyceae), with the description of two new genera | 5. 発行年 2023年 |
| 3. 雑誌名 Phycologia | 6. 最初と最後の頁 117-135 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/00318884.2022.2158281 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 該当する |
| 1. 著者名 Maki, T., Lee, K.C., Pointing, S.B., Watanabe, K., Aoki, K., Archer, S.D.J., Lacap-Bugler, D.C., Ishikawa, A. | 4. 巻 791 |
| 2. 論文標題 Desert and anthropogenic mixing dust deposition influences microbial communities in surface waters of the western Pacific Ocean | 5. 発行年 2021年 |
| 3. 雑誌名 Science of the Total Environment | 6. 最初と最後の頁 148026 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.scitotenv.2021.148026 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である) | 国際共著 該当する |

| | |
|--|----------------------|
| 1. 著者名 Nishitani, G., Shiromoto, M., Sato-Okoshi, W., Ishikawa, A. | 4. 巻 99 |
| 2. 論文標題 Molecular approach for analysis of in situ feeding by the dinoflagellate <i>Noctiluca scintillans</i> | 5. 発行年 2020年 |
| 3. 雑誌名 Harmful Algae | 6. 最初と最後の頁 101928 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.hal.2020.101928 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である) | 国際共著 - |

〔学会発表〕 計8件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件)

| |
|---|
| 1. 発表者名 Ishikawa, A., Ogawa, K. |
| 2. 発表標題 A new sampling device to measure resuspension flux of dinoflagellate cysts from bottom sediments in coastal waters |
| 3. 学会等名 20th International Conference of Harmful Algae (国際学会) |
| 4. 発表年 2023年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 石川 輝, 鯖瀬紘大, 小川清宏 |
| 2. 発表標題 海底からの再懸濁粒子捕捉装置の開発: 植物プランクトンのシスト/休眠期細胞の再懸濁フラックス測定を目指して |
| 3. 学会等名 2023年日本ベントス学会・日本プランクトン学会合同大会 |
| 4. 発表年 2023年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 湯口真実, 蒲原聡, 西谷豪, 坂本節子, 石川輝 |
| 2. 発表標題 三河湾におけるヘテロカプサ (<i>Heterocapsa circularisquama</i>) の越冬の可能性について |
| 3. 学会等名 令和5年度日本水産学会春季大会 |
| 4. 発表年 2023年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 Muhammad Izzat Nugraha・石川 輝・大越和加・西谷 豪 |
| 2. 発表標題 Genetic analysis of the red tide dinoflagellate, <i>Noctiluca scintillans</i> , from Jakarta Bay, Indonesia |
| 3. 学会等名 日本プランクトン学会・日本ベントス学会合同大会 |
| 4. 発表年 2021年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 Muhammad Izzat Nugraha・石川 輝・大越和加・西谷 豪 |
| 2. 発表標題 Phylogenetic analysis of red and green <i>Noctiluca scintillans</i> from Jakarta Bay, Indonesia |
| 3. 学会等名 日本水産学会東北支部大会 |
| 4. 発表年 2021年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 城本将臣・Young-Ok Kim・北辻さほ・高坂祐樹・田中雅幸・山崎康裕・長副聡・山本圭吾・大越和加・石川輝・西谷豪 |
| 2. 発表標題 赤潮原因種である海産渦鞭毛藻 <i>Noctiluca scintillans</i> の日本・韓国沿岸域における遺伝的多様性 |
| 3. 学会等名 日本プランクトン学会・日本ベントス学会合同大会 |
| 4. 発表年 2020年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 城本将臣・石川輝・Young-Ok Kim・北辻さほ・高坂祐樹・田中雅幸・山崎康裕・長副聡・山本圭吾・Muhammad Izzat Nugraha・大越和加・西谷豪 |
| 2. 発表標題 日本および韓国沿岸域における赤潮プランクトン夜光虫の遺伝的多様性に関する研究 |
| 3. 学会等名 日本水産学会東北支部大会 |
| 4. 発表年 2020年 |

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

| | 氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号) | 所属研究機関・部局・職 (機関番号) | 備考 |
|-----------|--|--|----|
| 研究 分担者 | 松岡 数充 (Matsuoka Kazumi) (00047416) | 地方独立行政法人大阪市博物館機構(大阪市立美術館、大阪市立自然史博物館、大阪市立東洋陶磁美術館、大阪・大阪市立自然史博物館・外来研究員 (84433) | |

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

| 共同研究相手国 | 相手方研究機関 |
|---------|---------|
|---------|---------|