

## 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24年 5月31日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究（A）

研究期間：2009～2011

課題番号：21255009

研究課題名（和文）東南アジアにおける有毒微細藻類の発生と海洋生物の毒化機構

研究課題名（英文）Occurrence of toxic microalgae and toxin contamination mechanisms in marine organisms in Southeast Asia

研究代表者

福代 康夫（FUKUYO YASUWO）

東京大学・アジア生物資源環境研究センター・教授

研究者番号：70095511

研究成果の概要（和文）：

東南アジア各国において、濾過食性二枚貝に記憶喪失性毒の蓄積が認められ、その毒生産微細藻類を探索した結果、*Pseudo-nitzschia*属など複数の珪藻種が疑われたが、確定するには至らなかった。麻痺性貝毒原因種は*Pyrodinium bahamense*が継続して広い海域で発生し、中毒事件を引き起こしているほか、*Alexandrium*属の種が散発している状況が確認された。シガテラ原因底生性渦鞭毛藻も広い海域で発生しており、その広域化機構が今後の大きな研究課題と考えられた。

研究成果の概要（英文）：

Accumulation of toxins responsible for amnesic shellfish poisonings in filter feeding bivalves was widely observed in Southeast Asia countries. Some diatoms were strongly suspected as causative agents, especially those belonging to the genus *Pseudo-nitzschia*, but recurrence of the toxins in shellfish could not be detected and then confirmation of the causative species was not finalized. *Pyrodinium bahamense* bloomed in wide areas intermittently, causing poisoning cases in several countries. In addition *Alexandrium* spp. were also detected as the causative organisms of paralytic shellfish poisoning. Benthic dinoflagellates causing ciguatera fish poisoning were found in wide areas and study on their distribution expansion mechanisms is considered as urgently necessary.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	16,400,000	4,920,000	21,320,000
2010年度	12,400,000	3,720,000	16,120,000
2011年度	8,700,000	2,610,000	11,310,000
年度			
年度			
総計	29,500,000	11,250,000	48,750,000

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：有毒微細藻類、東南アジア、貝毒、食中毒、シガテラ、水産資源利用

## 1. 研究開始当初の背景

東南アジアにおいては、魚貝類を毒化させ、毒化した魚貝類を喫食した人間に中毒事件を引き起こす有毒微細藻類の発生が頻化・長期化・広域化の傾向にあり、環境・公衆衛生

および水産資源利用の面からも大きな問題となっていた。しかしながら東南アジア各国では研究基盤が弱く、有毒微細藻類の生物生態学と、それらの生産する毒の化学的解析と毒化魚貝類への対策は進んでいなかった。

ただ、わが国で学位を取得した若手研究者が帰国して活発な活動を始めており、申請者が IOC/WESTPAC などの活動を通じて形成した研究ネットワークに参加してきて、より一層深化した国際的な共同研究ネットワークが形成される下地ができつつあった。

特にベトナムのニャチャン市近郊のニャフー湾における定期調査において、記憶喪失性貝中毒の原因毒が二枚貝 *Spondylus versicolor* とプランクトン試料から同時に検出されたことから、同貝毒原因藻類の探索が東南アジアの研究者の関心事になって申請者を中心に国際共同研究が行われた。

また、フィリピン、マレーシアなどで麻痺性貝毒が長期にわたり発生し、徐々に広域化の傾向も見せていたこと、さらに 2000 年代になって東南アジア域で散発するようになったシガテラ魚毒についても、その発生や広域化の機構解明が研究者の強い関心事となっていた。

## 2. 研究の目的

上記のような状況を踏まえ、これまでに継続してきた国際共同研究活動を進展させ、ベトナムやフィリピンで行う海外の現場調査に分子生物学的手法を導入し、麻痺性貝毒や記憶喪失性貝毒の原因となる浮遊性有毒微細藻類のみならずシガテラなどの原因となる底生性有毒微細藻類も対象に加え、それらの発生状況と広域化の現状を明らかにすることを目的とした。また、これらの現地共同調査においては、わが国の研究者がリーダーシップをとるだけでなく、東南アジア共同研究ネットワーク内の現地若手研究者をわが国に招聘して、各技術を指導することにより調査研究技術の標準化を図り、同地域の国際的有毒微細藻類共同研究の基礎を築くことも大きな目的のひとつとした。

## 3. 研究の方法

記憶喪失性貝毒については研究代表者がベトナムに赴き、海外共同研究者とともにニャフー湾で二枚貝とプランクトン中の毒の分析方法を標準化し、さらに現地研究者に依頼して周年にわたり毒量について調査を行うこととした。また、マレーシアにおいて原因珪藻種の同定技術の標準化を目的とした技術検討会を開催した。

麻痺性貝毒については主にフィリピンのルソン島やレイテ島において、貝やプランクトンの継続的な調査を実施した。さらに、シガテラ魚毒原因種についてフィリピン、マレーシアとインドネシアにおいて調査を行った。調査技法と調査の進め方については以下のようにした。

(1) 各地で発生している有毒種を、従来より行われている顕微鏡下における形態確認

のみならず、プランクトン中の毒を ELISA キットにより検出する方法で、よりの確迅速に有毒種の発生を検知するようにした。この方法で検出したプランクトン中の有毒種については、固定試料として保存するとともに、培養株の作成を各国の分担研究者と共同で行った。

(2) それらの形態、生理生態の特徴、産生毒およびその組成、遺伝子塩基配列などを調べ、各地の発生株の生物学的特性の比較を行うようにした。

(3) これらの結果をもとに、有毒種、およびその地域系群の広域化の現状を把握するとともに、その機構について考察するようにした。

(4) 本研究で取り扱う有毒渦鞭毛藻類の中には培養株の作成・維持が困難である種も含まれるので、原因渦鞭毛藻類の固定試料と培養株の維持・管理および研究を研究代表者の研究室において行う体制を確立した。

(5) さらに、研究代表者は海外研究協力者と打ち合わせて、若手研究者を日本へ招聘して、研究力の育成に努めた。

これらの調査に加え、東南アジア各国にいる海外共同研究者に依頼して、有毒微細藻類の発生と貝類の毒化、ならびに中毒事件の発生に関する情報を、今までの共同研究で確立した情報ネットワークで交換して共有するようにし、有毒微細藻類による問題の発生を早期に的確に捉えられるようにした。そして、問題が発生した場合には、記憶喪失性貝毒、麻痺性貝毒とシガテラ魚毒についてはその重要性和緊急性に鑑み、共同調査を実施するようにした。

## 4. 研究成果

記憶喪失性貝毒については、ベトナムのニャフー湾において集中的に調査を行った。二枚貝 *Spondylus versicolor* に蓄積した貝毒物質のドーモイ酸の量と、それを生産していると考えられる *Pseudo-nitzschia* 属の珪藻が含まれるプランクトン画分のドーモイ酸量の定期的観測を、研究協力者のベトナム海洋研究所の Dao Viet Ha 博士に依頼して行った。後者は検出されないことがほとんどであったが、2009年7月20日のプランクトン試料から微量検出され、同時に前者も一週間後に急増して数週間高い毒性が継続した。この7月20日に発生していた珪藻は、透過型電子顕微鏡による観察から *P. pungens* と同定され、以前確認されていたニャフー湾に発生する毒生産種と目される *P. caciantha* とは異なる種が毒を生産している可能性があると考えられた。ただ、このときに作製した *P. pungens* の培養株からは毒生産能力は確認されなかった。7-8月の貝類毒化現象の確認以降も定期観測を継続した

が、プランクトンと二枚貝に時折微量の毒が確認されただけで、顕著な毒量発現・蓄積はなかった。2010年も同様な調査を、海域が悪天候で調査継続が困難となった9月末まで継続した。二枚貝*S. versicolor*のドーモイ酸は0-65 $\mu\text{g/g}$ の間で大きく変化し、3、6、9月の3回ピークが見られたが、プランクトン画分には8月末にしか検出できなかった。この原因としては、採集して分析できた*Spondylus*個体数が少なく、個体間のばらつきが大きく影響したと考えられ、プランクトン画分にごく微量のドーモイ酸が見られた8-9月も含めて新たな毒化はなかったと思われた。また、同時期にもプランクトン試料中に毒生産の可能性のある*Pseudo-nitzschia*属珪藻が認められなかった。2011年も荒天で調査ができなかった9-12月を除き、ほぼ週に1回ドーモイ酸量の調査を行ったが、通常最も高い毒性を示す*Spondylus*属の二枚貝ならびにプランクトン試料に毒性が認められなかった。このため、*Pseudo-nitzschia*属珪藻の毒生産性に関する確認が2011年度はできなかった。なお、調査期間中に毒検出方法としてELISAによる比色分析法を開発し使用した。また、マレーシアやインドネシア、タイで発生する有毒珪藻の含まれる資料を集め、種の同定について作業を始めたが、まだ培養株を作成できないため有毒種の確定に至らなかった。

麻痺性毒に関しては、有毒渦鞭毛藻*Pyrodinium bahamense*によって生産された麻痺性毒の貝への蓄積と、その貝による食中毒事件が多発するフィリピンで、水産資源局のJuan Relox Jr.氏と共に、有毒種の広域化の様態を探るため試料と情報の交換ならびに共有を開始した。2009年はミンダナオ島沿岸の従来有毒種の発生が報告されていなかった海域で、1名の死者を含む8名の中毒事件が起きていた。また、フィリピン中部の太平洋に面するマタリナオ湾でも2010年3月に同様の中毒事件が起こった。

シガテラ魚毒による中毒は東南アジア域では2011年度は確認されなかったが、フィリピン、インドネシア、マレーシアなど調査試料を海外研究協力者から入手できた海域から原因微細藻*Gambierdiscus*の種が発見できた。しかし、これらの試料中の種と*G. toxicus*との異同については、*G. toxicus*のタイプ試料が得られなかったため確認できなかった。これらの試料中には*Ostreopsis ovata*, *O. lenticularis*, *O. siamensis*, *Prorocentrum lima*などの底生性種が多数発見され、これらの種の正確な同定と毒生産能を含めた生理学的解析が必要と考えられた。特に、シガテラ中毒の症状の地域による差異が、

*Ostreopsis*属や*Prorocentrum*属の種の作る毒による影響とも考えられ、本研究で作成した培養株の継続的保存と利用が重要と考えられた。

この他、北部ベトナムのハイフォン市に近い沿岸域で、ハプト藻の*Phaeocystis*の一種による大規模赤潮、さらにヤコウチュウ*Noctiluca scintillans*の赤潮発生が確認され、魚類斃死も見られた。これらについては現在水質環境の状態を確認中であるが、近隣の中国沿岸水域の富栄養化が発生に大きく関係しているものと考えられた。

## 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 16 件)

- ① Le, T. T., Nguyen, V. N. and Fukuyo, Y., *Dinophysis* (Dinophyceae) in Vietnamese waters, Coastal Marine Science, 35, 73-77, 2012, 査読あり.
- ② Romero, M. L. J., Kotaki, Y., Relox, J. Jr., Kundholm, N., Takata, Y., Kodama, M. and Fukuyo Y., Two new ASP toxin production types in strains of *Nitzschia navis-varingica* from the Philippines. Coastal Marine Science, 査読有, 35 巻, 2012, 67-69.
- ③ Thoha, H., Kotaki, Y., Panggabean, L., Lundholm, N., Ogawa, H., Lim, P. T., Takata, Y., Kodama, M. and Fukuyo, Y., Screening of diatoms that produce ASP toxins in Southernmost Asian waters. Coastal Marine Science, 査読有, 35 巻, 2012, 34-38.
- ④ Montojo, U., Romero, M. L. J., Borja, V. M., Cayme, M. F., Sato, S., Kodama, M. and Fukuyo, Y., Vulnerability of tropical shellfishes against PSP contamination during bloom of *Pyrodinium bahamense* var. *compressum*. Coastal Marine Science, 査読有, 35 巻, 2012, 64-66.
- ⑤ Furio, E. F., Azanza, R., Fukuyo, Y. and Matsuoka, K., Review of geographical distribution of dinoflagellate cysts in Southeast Asian coasts. Coastal Marine Science, 査読有, 35 巻, 2012, 20-33.
- ⑥ Dao, V. H., Nguyen, T. D., Nguyen, T. H., Takata, Y., Sato, S., Kodama, M. and Fukuyo Y., High individual variation in the toxicity of three species of marine puffer in Vietnam. Coastal Marine Science, 査読有, 35 巻, 2012, 1-6.

- ⑦ Dao, V.H., Omura, T., Takata, Y., Pham, X.K, Fukuyo, Y. and Kodama, M., *Pseudo-nitzschia* species, a possible causative organisms of domoic acid in *Spondylus versicolor* collected from Nha Phu Bay, Khanh Hoa Province, Vietnam. Coastal Marine Science, 査読有, 35 卷, 2012, 7-10.
- ⑧ 大村卓朗・福代康夫 海産微細藻類による各種被害とその研究動向, 水産振興, 査読無, 2012, 529 号, 1-65.
- ⑨ 福代康夫・大村卓朗 バラスト水による生物移動の生態系や社会活動への影響 KANRIN, 査読有, 39 卷, 2012, 2-7.
- ⑩ 福代康夫・大村卓朗・長濱幸生 IMO による船舶由来の水生生物多様性攪乱に対する対策とその実施困難性 -環境対策における科学技術の限界と、実効性を増すための社会的な取り決め-, 日本海洋政策学会誌, 査読有, 1 卷, 2011, 78-79.
- ⑪ 大村卓朗・福代康夫 大型船舶のバラスト水により越境移動する海洋生物対策とその課題, 用水と排水, 査読無, 53 卷, 2011, 796-802.
- ⑫ Yap-Dejeto, L.G., Omura, T., Nagahama Y. and Fukuyo, Y., Observations of eleven *Pseudo-nitzschia* species in Tokyo Bay, Japan, La mer, 査読有, 48 卷, 2010, 1-16.
- ⑬ Omura, T., Yap-Dejeto, L.G., Cobacha, M., Cinco, G. and Fukuyo, Y., *Pseudo-nitzschia* species in San Pedro Bay, Leyte Philippines, Proceeding of the 13th International Conference on Harmful Algae, 査読有, 2010, 6-7.
- ⑭ Yap-Dejeto, L.G., Omura, T., Cinco, G., Cobacha, M. and Fukuyo, Y. Evaluation of sampling protocols to detect and quantify the diatom *Pseudo-nitzschia* in San Pedro Bay, Philippines, J. Nature Studies, 査読有, 8 卷, 2010, 123-128.
- ⑮ Dao, V.H., Takata, Y., Omura, T., Nguyen, T.D., Nguyen, T.H., Sato, S., Fukuyo, Y. and Kodama, M. Domoic acid in small-sized plankton in Nha Phu Bay, Khanh Hoa Province, Vietnam, La mer, 査読有, 46 卷, 2009, 117-120.
- ⑯ Dao, V.H., Takata, Y., Omura, T., Sato, S., Fukuyo, Y. and Kodama, M. Seasonal variation of domoic acid in a bivalve *Spondylus versicolor* in association with that in plankton samples in Nha Phu Bay, Khanh Hoa, Vietnam, Fish. Sci., 査読有, 75 卷,

2009, 507-512.

[学会発表] (計 13 件)

- ① Fukuyo, Y. and Dao, V.H. Harmful algal blooms in Asia during 2001-2010. International Workshop on Investigation and Research of Marine Natural Resources and Environment, September 16, 2011, Vietnamese Academy of Science and Technology, Hanoi, Vietnam
- ② Omura, T. and Fukuyo, Y. Ciguatera causative species in main land of Japan. The 6th Asia-Pacific Phycology Forum 2011 (APPF2011), October 13, 2011. Yeosu, Korea.
- ③ 大村卓朗, ニノ倉彰一, 長濱幸生, 福代康夫 堆積物捕集装置を用いたバラスト水による生物移動量の把握, 日本水産学会 秋季大会, 2010年9月24日, 京都.
- ④ 大村卓朗, 長濱幸生, 福代康夫 本州におけるシガテラ原因生物の *Gambierdiscus* について 日本水産学会 秋季大会, 2010年9月24日, 京都.
- ⑤ Dao V.H., Omura, T., Takata, Y., Ky, P.X., Nguyen, T.H., Fukuyo, Y. and Kodama, M. *Pseudo-nitzschia cacciantha*, a possible causative organism of domoic acid in *Spondylus vesicolor* from Nha Phu Bay, Vietnam, Horiba International Conference "New Direction of Ocean Research in the Western Pacific", 2010年10月26-29日, 東京大学 大気海洋研究所, 柏, 千葉
- ⑥ Matsuoka, K., Lim. P.T., Iwataki, M., Omura T., and Fukuyo, Y. Unarmored harmful dinoflagellate *Cochlodinium* in Southeast Asia, Horiba International Conference "New Direction of Ocean Research in the Western Pacific", 2010年10月26-29日, 東京大学 大気海洋研究所, 柏, 千葉.
- ⑦ Omura, T., Iwataki, M., Borja, V.M., Thoha, H., Yap-Dejeto, L.G., Nagahama, Y. and Fukuyo, Y., Harmful microalgae in Southeast Asia, Horiba International Conference "New Direction of Ocean Research in the Western Pacific", 2010年10月26-29日, 東京大学 大気海洋研究所, 柏, 千葉
- ⑧ Dao, V.H., Omura, T., Takata, Y., Ky, P.X., Nguyen, T.H., Fukuyo, Y. and Kodama, M. *Pseudo-nitzschia cacciantha*, a possible causative organism of domoic acid accumulated in *Spondylus vesicolor* in Nha Phu Bay,

Khanh Hoa Province, Vietnam, 14th International Conference on Harmful Algae, 2010年11月1-5日, クレタ, ギリシャ.

- ⑨ 大村卓朗, 長濱幸生, 福代康夫, 本州の *Gambierdiscus* の生理生態, 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, 2010年12月13日, 沖縄健康バイオテクノロジー研究開発センター. 沖縄.
- ⑩ Omura T. and Fukuyo, Y. Benthic dinoflagellates in Japan, International symposium on subtropical benthic/toxic dinoflagellates, 2011年3月31日, Gyeongsang National University, 韓国.
- ⑪ 大村卓朗, 長濱幸生, 高田義宜, 福代康夫, 児玉正昭, 佐藤 繁, Le, T.T., Nguyen, V.N. ベトナム ハイホン沿岸で発生した *Alexandrium*, 日本水産学会秋季大会, 2009年10月2日, 岩手.
- ⑫ 大村卓朗, Yap-Dejeto, L.G., Cobacha, M., Cinco, G. 福代康夫, フィリピン San Pedro 湾の *Pseudo-nitzschia* spp. 一東南アジアにおける有毒有害プランクトンの発生 そのVI一, 日本水産学会春季大会, 2009年3月28日, 東京海洋大学, 東京.
- ⑬ 大村卓朗・長濱幸生・福代康夫, シガテラ原因生物に関する最新の研究, 平成21年度 漁場環境保全関係研究開発推進特別部会 赤潮・貝毒部会, 2009年12月10日, 広島国際会議場, 広島.

[図書] (計3件)

- ① Fukuyo, Y. Kodama, M. Omura, T. Coastal Marine Science in Southeast Asia, TERAPUB, 315pp
- ② Fukuyo, Y. and Dao, V.H. Proceedings of the International Workshop on Investigation and Research of Marine Natural Resources and Environment, Publishing House for Science and Technology, Hanoi, (2011), 430pp.
- ③ 福代康夫・大村卓朗 その他 ずかんプランクトン、技術評論社 (2011) 136pp.

[産業財産権]

○出願状況 (計0件)  
なし

○取得状況 (計0件)  
なし

[その他]  
なし

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

福代 康夫 (FUKUYO YASUWO)  
東京大学・アジア生物資源環境研究センター・教授  
研究者番号: 70095511

### (2) 研究分担者

大村 卓朗 (OOMURA TAKUO)  
東京大学・アジア生物資源環境研究センター・特任助教授  
研究者番号: 80507880

### (3) 連携研究者

なし