

## 学位論文審査の結果の要旨

氏名	西村 朋宏
審査委員	主査 足立 真佐雄 副査 山口 晴生 副査 多田 邦尚 副査 一見 和彦 副査 鈴木 聡

論文名

本邦産シガテラ原因藻 *Gambierdiscus* 属の種組成ならびに動態解明

### 審査結果の要旨

シガテラとは、毒化魚を摂食すること起因する、世界最大の海産食中毒である。本邦におけるシガテラは、主に亜熱帯域の沖縄において報告されてきた。しかし近年は、温帯域の本州・四国においても散見され、地球温暖化に伴う海水温上昇に伴い、本邦温帯域におけるシガテラの発生増加が懸念されている。本中毒の原因毒は、付着性渦鞭毛藻 *Gambierdiscus* 属により産生され食物連鎖により魚類に濃縮される。これまでに、本邦産本属培養株の分子系統解析が行われた結果、本邦には2つの系統型、すなわち *Gambierdiscus* sp. type 1 が沖縄沿岸域に、*G. sp. type 2* が本州・四国沿岸域に分布することが報告されている。しかし、本解析に用いられた供試株数や調査地点数は少なく、それらの形態学的特徴、毒性に関する知見は殆んど無い。

そこで、本研究では本邦沿岸域における本属藻の種組成を解明した上で、それらの分布状況や毒性を明らかにする。さらに、沿岸域における年間を通じた本藻の動態を明らかにすると同時に、その発生に影響を与え得る現場環境条件について考察する。さらに、本藻有毒各種のモニタリングに資する、特異的検出・定量法を開発しようとした。

本研究により得られた結果は、次のように要約される。

### 1. 分子系統ならびにその分布

北海道から沖縄に至る地点から採取した海藻試料より、本属藻培養株計 248 株を確立し、それらの SSU rDNA に基づいた分子系統解析を行った。その結果、本邦には5種/系統型(*G. cf. australes*、*G. cf. yasumotoi*、*Gambierdiscus* sp. type 1、*G. sp. type 2*、*G. sp. type 3*)が存在することを明らかにした。さらに、本邦各海域における本藻の分布状況について検討した結果、温帯海域では *G. sp. type 2* の占める割合が高い一方で、亜熱帯海域では *G. sp. type 1* および *G. cf. australes* が優占して分布することが明らかとなった、また、*G. sp. type 3* と *G. cf. yasumotoi* は、それぞれ本州と沖縄沿岸域にのみ見られた。

## 2. 形態学的特徴の検討ならびに種同定

*G. cf. australes* 株について走査型電子顕微鏡を用いて形態形質を精査した結果、*G. cf. australes* は、前後圧縮型であること、狭い底板 2'''を有すること、鎧板表面が滑らかであること、頂板 2'が長方形であることから *G. australes* と同定した。

次に、*G. sp. type 1* 株について形態形質を精査した結果、*G. sp. type 1* は、*G. belizeanus* の形態形質を備えていた。その一方で、長方形の頂板 2'を有すること、非対称な前帯板 3''を有することにより、*G. belizeanus* と異なっていた。これより *G. sp. type 1* を *Gambierdiscus scabrosus* として記載した。

## 3. 毒性

マウスバイオアッセイにより、*G. australes* は強い毒性を、*G. scabrosus* と *G. sp. type 3* は毒性を示すことが判明した。一方、*G. sp. type 2* は無毒であることが示唆された。

さらに、これら *G. australes* と *G. scabrosus* の毒性に関する結果と、これらが優占する沖縄においてシガテラがしばしば発生することを考え合わせると、これら 2 種が本邦におけるシガテラの原因藻であることが示唆された。

## 4. 動態と現場環境条件

高知県土佐湾沿岸域の定点において、2007–2013 年にわたり本藻細胞密度を調査すると共に、海水温および塩分を測定した。その結果、本藻細胞密度と海水温との間に有意な正の相関 ( $rs= 0.21, p< 0.001$ )が見られた。また、冬季と春季に比べて、夏季と秋季において細胞密度が高くなることが明らかとなった (Steel-Dwass test,  $p< 0.01$ )。

## 5. 各種/系統型の検出・定量法の確立

有毒な *G. australes*、*G. scabrosus*、*G. sp. type 3* および無毒と思われる *G. sp. type 2* のそれぞれを特異的に検出・定量可能な定量 PCR 法を開発した。現場海藻試料に付着する本属各種の検出・定量を試みた結果、*G. australes*、*G. scabrosus*、*G. sp. type 2* および *G. sp. type 3* が検出され、それぞれの推定細胞数の合計値は、光学顕微鏡による直接計数値とほぼ一致していたことから、本法は高い特異性と精度を持つと考えられた。

本研究は、シガテラの原因藻と考えられる *Gambierdiscus* 属について、本邦沿岸域に分布する種やその組成、さらにはそれらの毒性を明らかにした。また、モデル海域とした高知県土佐湾における年間を通じた動態調査により、本属藻は水温が高くなる夏季および秋季にその細胞密度を増大させることを明らかにした。さらに、本邦にて発生する本属各種の細胞を特異的かつ高精度に検出可能な定量 PCR 法の開発に成功した。今後は、新たに開発した定量 PCR 法を用いて、本邦沿岸全域における本属藻の種組成・分布状況さらにはそれらの動態の解明が期待される。本研究により得られた一連の成果は、本邦沿岸域におけるシガテラ発生の予測、さらにはその対策への礎を築くものと考えられ、極めて高く評価できる。

学位論文公開審査会は平成 26 年 2 月 1 日、愛媛大学農学部において開催され、論文発表と質疑応答が行われた。引き続き学位論文審査会を開いて審査した結果、本論文が博士(農学)の学位を授与するに値するものと審査委員全員一致で判定した。