

これからの赤潮学

特集「これからの赤潮学」に寄せて

今井 一郎

沿岸域においては、河川が流入するところでは平野が発達することから人口集中が生じ、それに伴って活発な人間活動が営まれる。すなわち、生物としての人間は食物の摂取と排泄を行い、また様々な物を生産消費する。その結果、大規模な廃水の流入によって沿岸水域の富栄養化が著しく進行する傾向がある。この問題は、先進国、途上国を問わず世界に共通するものであり、このような観点から地球環境問題の1つとして位置付けることができる¹⁾。海域の富栄養化により、窒素やリンといった栄養物質が豊富に存在するようになると、この環境変化に敏感に反応して海域の基礎生産者である微細藻類が大量に増殖するようになり、しばしば海が着色するようになる。このような海水の着色現象は「赤潮」と呼ばれる。現場海域で観察された赤潮の例を図1に紹介する。富栄養化した海域で最もポピュラーなのは珪藻赤潮である。夜光虫赤潮は文字通り海を赤く染め、春～秋季に沿岸域で普通に発生する。赤潮の名はこの夜光虫赤潮に由来する。夜光虫は学名(*Noctiluca scintillans*)にあるように、波や生物の遊泳等の刺激によって神秘的なリン光を発する。チャールズ・ダーウィンがビーグル号に乗ってブラジル沖を航行していた時、「リン光で明々と輝いた海は、素晴らしく、最も美しい眺めだった」と日記に書いたとのことである²⁾。コクロディニウム赤潮は、近年、日本だけでなく韓国でも猛威を振るう。韓国沿岸で発生した本種の赤潮が、日本海沿岸の府県にまで運ばれて沿岸の魚介類を斃死させることも、

恒例のことになりつつある³⁾。

有害有毒赤潮の問題は、重要な海の環境問題として国際的にも認識され、政府間海洋学委員会(Intergovernmental Oceanographic Commission: IOC)においてもThe IOC Harmful Algal Bloom Programmeとして取り組まれている。また、海洋研究科学委員会(Scientific Committee on Oceanic Research: SCOR)と政府間海洋学委員会一國連教育科学文化機関(IOC-UNESCO)の共同で、Global Ecology and Oceanography of Harmful Algal Blooms(GEOHAB) Programmeが取り組まれ、赤潮発生機構の解明や予察に向けて取り組むべき研究について研究計画を策定し提供している。さらに、北太平洋(北緯30度以北)に面する6ヵ国で構成される北太平洋海洋科学機構(North Pacific Marine Science Organization: PICES)においてもHarmful Algal Bloom Section(HAB Section)が設置されており、毎年の会合でナショナルレポートが報告され、有害有毒赤潮に関するワークショップやシンポジウム等が持たれている。その他には、各国の有害有毒赤潮の発生事例について共通のデータベースを構築するための努力が為されている⁴⁾。因みにPICESの名称は、北大西洋20ヵ国で構成される海洋探査国際委員会(International Council for the Exploration of the Sea: ICES)を意識して、その北太平洋版(Pacific ICES)とのことである。

わが国では、水産庁や環境省、文部科学省の研究助成がなされてきた。古くは赤潮研究会が組織され、大学や国、自治体の研究者達が活発に活動していた。現在も水産庁の委託事業等が継続されている。これらの成果として、赤潮に関する書籍がかなり多く出版されてきた^{5~23)}。今回の特集は、これまでに取り上げられていなかった新しい研究のアップ

Preface for the special topic of the forefront of studies on harmful algal blooms in Japan

Ichiro Imai / Division of Applied Biosciences, Graduate School of Agriculture, Kyoto University (京都大学大学院農学研究科応用生物科学専攻海洋環境微生物学分野)

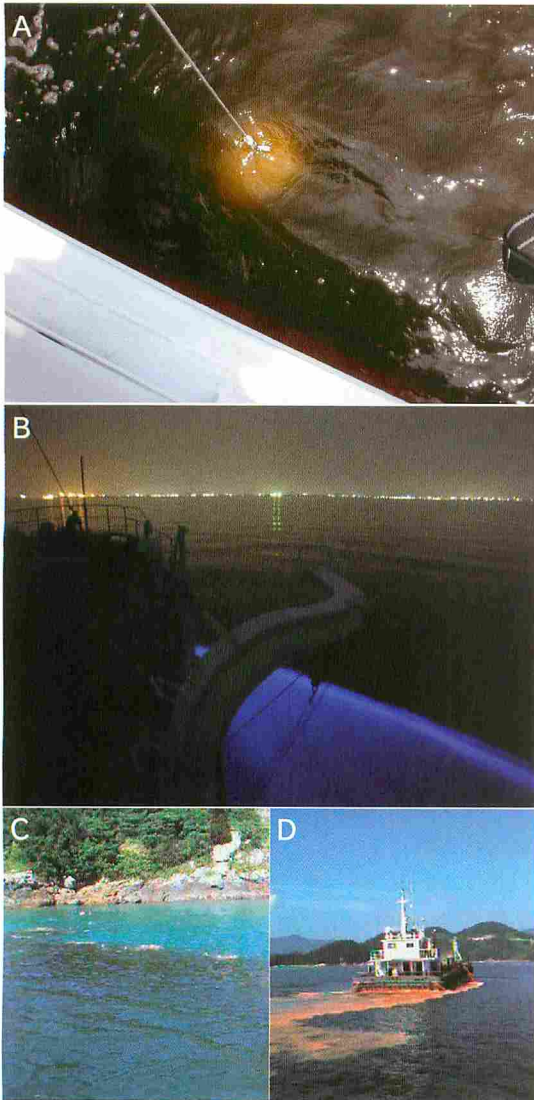


図1 ◆ 日本および韓国で発生した赤潮の写真
 A: 2007年8月6日に大阪湾の淀川河口付近で観察された珪藻赤潮。透明度は約1m。
 B: 2007年6月25日午後8時頃、夜光虫赤潮の発生している伊勢湾を津市方面に向かって航走する勢水丸より観察された夜光虫の発光。波の刺激によって発光する。三重大学田口和典氏の提供による。
 C: 2006年8月7日に韓国麗水市沖で観察された有害渦鞭毛藻クロロディニウム(*Cochlodinium polykrikoides*)赤潮。赤潮水と非赤潮水の境界が明瞭に区別できる。
 D: Cと同じ日に赤潮発生水域で赤潮駆除のために粘土散布を行っていた専用船。養殖業者の要請で出動する。

ローチの結果や、以前に比べて格段に進歩した研究について、気鋭の若手が中心に執筆したものである。赤潮研究の新たな展開に少しでも資することがあれば望外の喜びである。

●引用文献

- 1) 今井一郎: 海を守る一瀬戸内海における富栄養化と有害有毒赤潮の発生。In: 地球環境学のすすめ(京都大学地球環境学研究会編著), 丸善, 東京, pp. 200-216, 2004.
- 2) レイチェル・カースン: われらをめぐる海(日下実男: 訳), 319 pp, 早川書房, 東京, 1977.
- 3) 宮原一隆・氏 良介・山田東也・松井芳房・西川哲也・鬼塚 剛: 2003年9月に日本海山陰沿岸海域で発生した *Cochlodinium polykrikoides* Margalef 赤潮, 日本プランクトン学会報, **52**: 11-18, 2005.
- 4) 今井一郎・板倉 茂・渡辺康憲・石川 輝・福代康夫: PICES 有害有毒微細藻類部門における日本の対応状況, 日本プランクトン学会報, **52**: 50-53, 2005.
- 5) 花岡 資・入江春彦・上野福三・飯塚昭二・岡市友利・岩崎英雄: 内湾赤潮の発生機構, 105 pp, 日本水産資源保護協会, 東京, 1972.
- 6) 柳田友道: 赤潮, 198 pp, 講談社サイエンティフィック, 東京, 1976.
- 7) 岩崎英雄: 赤潮-その発生に関する諸問題-, 126 pp, 海洋出版, 東京, 1976.
- 8) 村上彰男・小野知足・木村知博・宇野史郎: 瀬戸内海の赤潮ハンドブック, 213 pp, 瀬戸内海水産開発協議会, 神戸, 1980.
- 9) 赤潮研究会編集委員会(編): 赤潮に関する近年の知見と研究の問題点, 274 pp, 日本水産資源保護協会, 東京, 1980.
- 10) 日本水産学会(編): 赤潮-発生機構と対策, 143 pp, 恒星社厚生閣, 東京, 1980.
- 11) 日本水産学会(編): 有毒プランクトン-発生・作用機構・毒成分, 135 pp, 恒星社厚生閣, 東京, 1982.
- 12) 福代康夫(編): 貝毒プランクトン-生物学と生態学, 125 pp, 恒星社厚生閣, 東京, 1985.
- 13) 日本水産資源保護協会: 赤潮生物研究指針, 740 pp, 秀和, 東京, 1987.
- 14) 岡市友利(編): 赤潮の科学, 294 pp, 恒星社厚生閣, 東京, 1987.
- 15) 門田 元(編): 淡水赤潮, 290 pp, 恒星社厚生閣, 東京, 1987.
- 16) 福代康夫・高野秀昭・千原光雄・松岡数充(編): 日本の赤潮生物-写真と解説-, 407 pp, 内田老鶴圃, 東京, 1990.
- 17) 瀬戸内海の赤潮プランクトン, 月刊海洋 **24**(1): 1-73, 海洋出版, 東京, 1992.
- 18) 石田祐三郎・菅原 庸(編): 赤潮と微生物-環境にやさしい微生物農業を求めて, 126 pp, 恒星社厚生閣, 東京, 1994.
- 19) 岡市友利(編): 赤潮の科学第二版, 337 pp, 恒星社厚生閣, 東京, 1997.
- 20) 石田祐三郎・本城凡夫・福代康夫・今井一郎(編): 有害・有毒赤潮の発生と予知・予察, 256 pp, 日本水産資源保護協会, 東京, 2000.
- 21) 有害微細藻類, 月刊海洋 **33**(10): 685-749, 海洋出版, 東京, 2001.
- 22) 広石伸互・今井一郎・石丸 隆(編): 有害・有毒藻類ブルームの予防と駆除, 150 pp, 恒星社厚生閣, 東京, 2002.
- 23) 今井一郎・福代康夫・広石伸互(編): 貝毒研究の最先端, 149 pp, 恒星社厚生閣, 東京, 2007.

抗体を用いた有害赤潮生物のモニタリング

白石 智孝・今井 一郎

1 ● はじめに

有害赤潮は世界中の沿岸海域で発生するようになり、その原因生物は珪藻、渦鞭毛藻、ラフィド藻など多種多様である¹⁾。有害赤潮は養殖及び天然魚介類の大量斃死を引き起こし、甚大な漁業被害を与えてきた。赤潮による被害の防除策として、様々な物理的、化学的方法が考えられてきたが、コストや生態系への影響等の問題から実際の赤潮防除に応用された例はほとんどない。近年、赤潮藻を特異的に殺滅する細菌が海水中や海藻表面に高密度に存在することが明らかとなっており^{2,3)}、それらの殺藻細菌を用いた生物学的防除法が注目を浴びているが、未だ実用化には至っていない。したがって、養殖海域で赤潮が発生すると餌止めや生簀の避難といった消極的対策しかとられていないのが現状であり、赤潮の発生をいかに早く把握するかが被害軽減の鍵となっている。赤潮発生の初期過程を把握するためには、赤潮藻のモニタリングを行い、個体群動態を明らかにする必要がある。そして、発生予察を通じた赤潮被害の軽減には赤潮藻と環境要因のモニタリングが不可欠である。

従来の赤潮藻のモニタリングは、現場海水を採水後、海水中の細胞を光学顕微鏡下で観察、同定しながら計数するというものである。観察に用いる試料は1 ml程度で、低密度の時はフィルターを用いた

濾過濃縮の後に観察が行われる場合もある。現場試料中には多種多様なプランクトンが多数存在するため、赤潮藻を見落とすことも多い。また、濾過濃縮は細胞の破損やフィルターへの吸着を引き起こすことがあり、細胞密度を過小評価するケースが多かった。さらに、光学顕微鏡下での赤潮藻の種の同定は、主に形態やサイズ、遊泳様式等を基準に行われてきたが、経験や熟練を必要とする上、光学顕微鏡下では識別不可能な類似種も多く存在するため、正確な同定と計数は困難であった。

我が国では、様々な地域で沿岸漁業や養殖業が営まれている。赤潮藻のモニタリングは日本中の内湾や沿岸域で必要とされており、特に赤潮が発生する時期は各現場で複数の定点を設けて高頻度に行われる。赤潮藻の増殖に適した環境では、赤潮藻は盛んに細胞分裂を繰り返し、急速に個体群を増大させる。さらに、風や潮流によって細胞が集められ突然赤潮が形成されることもある。したがって、赤潮藻を低密度時から正確に同定、計数でき、かつルーチンワークに適用できる簡便、迅速なモニタリング方法が求められている。

2 ● 抗体を用いた有害赤潮生物の検出

形態的に同定が困難な生物を簡易かつ迅速に同定する方法の1つに、抗体を用いた検出法がある。抗体は免疫動物(マウスやラット等)の免疫反応を利用して得られ、目的生物を特異的に認識する抗体を作製することができる。抗体を用いた識別・検出法は特異性が高く、微細藻類や細菌の検出に用いられてきた^{2,4)}。抗体法を用いた有害赤潮藻の識別・検出に関しては、これまでにラフィド藻の *Chattonella* 属⁵⁻⁷⁾、渦鞭毛藻の *Karenia mikimotoi*⁸⁾、*Gyrodinium aureolum*⁹⁾ について報告がなされてき

Monitoring of harmful red tide microalgae using antibody technique

Tomotaka Shiraishi, Ichiro Imai / Graduate School of Agriculture, Kyoto University (京都大学大学院農学研究科)

Keywords: antibody, *Heterocapsa circularisquama*, Indirect fluorescent antibody technique, Monitoring, Overwintering, population dynamics, Red tide



た。それぞれの赤潮藻種に対して特異的な抗体が作製され、その反応特異性が試験された。赤潮藻以外にも、有毒種の *Alexandrium tamarense*¹⁰⁾, *Gymnodinium catenatum*¹¹⁾, *Pfiesteria piscicida*¹²⁾, *Pseudo-nitzschia pungens*¹³⁾ や、Brown tide 形成種の *Aureococcus anophagefferens*^{14, 15)}, 単細胞藍藻 *Synechococcus* spp.¹⁶⁾ など、様々な微細藻類に対して抗体を用いた検出法が報告されている。しかしながら本法を用いて現実に定量的に現場の微細藻類のモニタリングを行った例は *A. anophagefferens* や *Synechococcus* spp. に関する研究を除いてほとんどなく、継続的に現場海域で本法を用いて個体群動態を調べた例は *Synechococcus* spp. に関する研究以外、知る限り皆無である。

抗体を用いて様々な微細藻類を特異的に検出することが可能でありながら現場モニタリングに応用されなかったのは、これまでの抗体法の研究が、現場での継続的なモニタリングを意識していなかったからに他ならない。つまり、抗体を用いた有害藻類のモニタリング方法を確立するためには、採水後の固定や濃縮、集藻から抗体反応、落射蛍光顕微鏡観察に至るまで、確実に対象生物種の細胞を回収し検出できる方法を開発しなければならない。しかし、これまでの報告では、有害種を特異的に認識する抗体を作製し、その種特異性を試験しただけの研究がほとんどである。また、集藻方法として遠心分離によって細胞を捕集した例が多いが、遠心分離では最大でも 50 ml しか処理することができず、低密度時の定量に適していない。さらに、一部の細胞が遠沈管の壁面に吸着されたり、細胞から糸状物を射出して沈降せず上清に懸濁されたままになり、細胞を 100% 回収することができない場合が多い。このように、有害赤潮生物の識別、検出に抗体法が有効であることは示唆されてきたが、現場におけるモニタリングに有効かどうかはほとんど検証されてこなかった。

3 ● 現場モニタリングへの応用

近年、Shiraishi *et al.*¹⁷⁾ はモノクローナル抗体を用いた間接蛍光抗体法による有害赤潮渦鞭毛藻 *Heterocapsa circularisquama* の定量的なモニタリング法を開発し、現場海域においてモニタリングを継続的に行った。

H. circularisquama は、魚類には全く影響を及ぼさず、本来植物プランクトンの捕食者である二枚貝(カキ、アサリ、真珠貝等)を殺してしまうというユニークな特徴を持つ^{18, 19)}。本藻は 1988 年、高知県浦ノ内湾で初めて確認され、以降本藻の赤潮発生は西日本の沿岸域に広く拡大した²⁰⁾。本藻による赤潮は多くの漁業被害を生じさせており、1992 年の三重県英虞湾においては真珠貝を大量斃死させて約 30 億円の被害を引き起こし²¹⁾、1998 年には広島湾において養殖カキに対して約 40 億円にも上る斃死被害を引き起こした²²⁾。本種の大きさは長径 20.0 ~ 28.8 μm (平均 23.9 μm)、短径 13.8 ~ 20.0 μm (平均 17.3 μm)²³⁾ で、他の赤潮藻と比べてサイズが比較的小さく、従来の光学顕微鏡下での観察では現場海水試料中の検出が困難である。また、本種が出現する沿岸域と同じ海域には形態のよく似た類似種が生息するため、光学顕微鏡観察による種の厳密な識別は困難と言える。本種の最終的な同定は、細胞外被の最外層に位置する鱗片(0.2 μm)の形状確認を基にするため、透過型電子顕微鏡観察が必要である²⁴⁾。この同定法は現場では現実的でないため、本種による赤潮のモニタリングにおいて迅速な対応ができない。本種は細胞表面がフィルターに吸着されやすいため、フィルター濾過による濃縮には適さない¹⁷⁾。そのため、これまで現場水域では、赤潮発生時など高密度の時にしか本種を検出、計数できなかった。本種の発生~消滅に至る個体群動態の全貌はほとんど明らかにされていなかった。

H. circularisquama の個体群動態の全貌を明らかにすることを目的として、本種を特異的に識別できるモノクローナル抗体を用いて間接蛍光抗体法によるモニタリングを行った。間接蛍光抗体法の内容の概略は以下の通りである(図 1)。まず、目的藻種(今回は *H. circularisquama*)を抗原とする一次抗体を作製し、その抗体を目的藻種と反応させる。さらに、その一次抗体を抗原として作製された FITC (Fluorescein isothiocyanate) 標識抗体を二次抗体として反応させることで、目的藻種を標識することができる。落射蛍光顕微鏡を用いて青色励起光下で観察すると、抗体が特異的に反応した部分が FITC 由来の緑色の蛍光を発するため、容易に目的藻種を確認することができる。FITC 標識の有無及び形態観察による判断が同時に行えるため、目的藻種の同

定・識別を簡便かつ正確に行うことができる。

培養細胞を用いてモノクローナル抗体の反応特異性を調べ、モニタリングに実際に使用できるか検討した。*H. circularisquama* は鎧板を有する渦鞭毛藻であるが、環境の悪化によってしばしば鎧板を脱ぎ捨て、不動で球形～楕円形のテンポラリーシス

トに変化することが知られている²⁵⁾。抗体は、鎧板を持つ栄養細胞を認識するものと、テンポラリーシスを認識するものを作製し、混合したものを一次抗体として用いた。それぞれの一次抗体を抗原とする FITC 標識抗体を混合して、二次抗体とした。モノクローナル抗体の反応特異性の試験に、*H. circularisquama* 7 株、形態が類似した近縁種を含む渦鞭毛藻 12 種 24 株とラフィド藻 4 種、珪藻 4 種、緑藻 1 種、ユグレナ藻 1 種を用いた。

各培養株をホルムアルデヒドで固定(最終濃度 0.37%)した後に、間接蛍光抗体法に供した。間接蛍光抗体法の概略を図 2 に示す。以下のように藻類細胞にモノクローナル抗体を反応させ、特異性を調べた。まず、Sudan black B で染めた(青灰色に染まる)孔径 3.0 μm のヌクレポアフィルターを濾過器にセットした。固定試料を濾過器に注ぎ、約 1 ml になるまで濾過濃縮した。試料を全て濾過すると、フィルター上に捕集された細胞に他の粒子も附着してしまい、抗体の反応を阻害することがあるため、試料を少し残した。PBS (phosphate-buffered saline (-)) 5 ml を添加して 2 回洗浄した後、再び、試料が 1 ml 程度になるまで濾過した。モノクローナル抗体を添

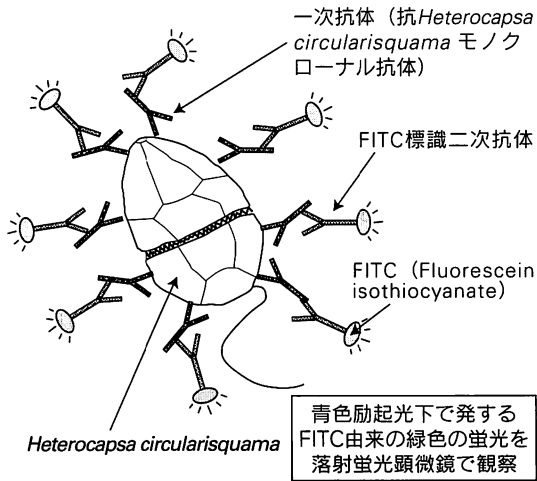


図 1 ◆ 間接蛍光抗体法の原理

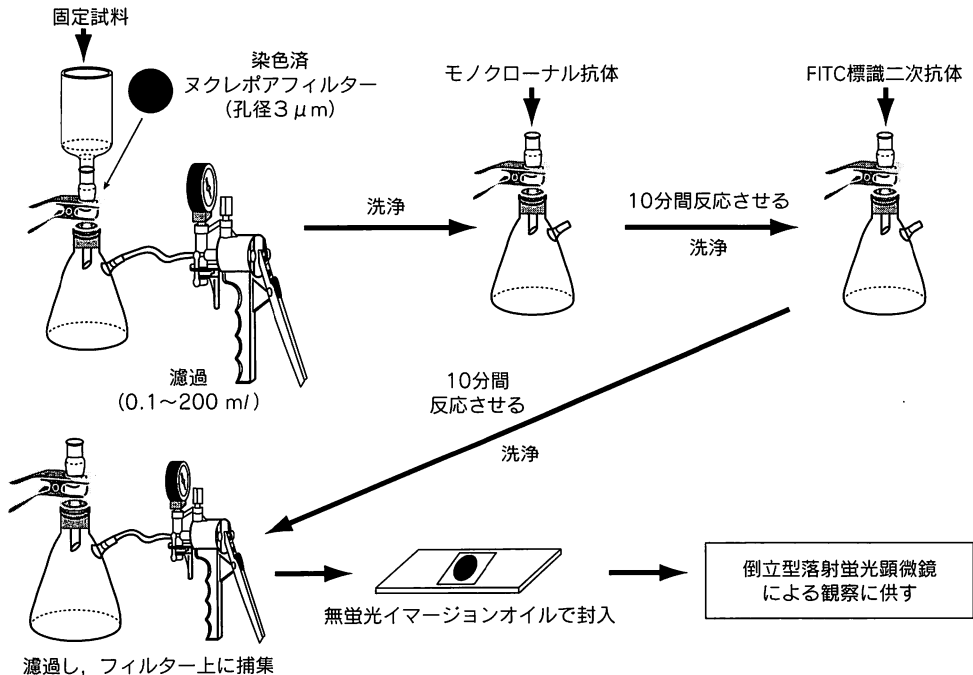


図 2 ◆ モノクローナル抗体を用いた間接蛍光抗体法の概略¹⁷⁾



加し、室温(20～25°C)で10分間反応させた。PBS 5 mlを添加して2回洗浄した後、再び、試料が1 ml程度になるまで濾過した。次に、二次抗体を添加し、室温で10分間反応させた。PBS 5 mlを添加して2回洗浄した後、濾過によりフィルター上に細胞を捕集した。そのフィルターをスライドガラスに載せ、無蛍光イメージングオイルで封入し、落射蛍光顕微鏡を用いて青色励起光下で観察した。本種に対してはブロッキング処理をしなくても細胞の検出、計数に不都合はなかった。

モノクローナル抗体の反応特異性を調べた結果、*H. circularisquama*は7株とも観察した全ての細胞が染色されており、100%陽性であった。栄養細胞とテンポラリーシストのどちらも陽性を示した。その他の種は、*Alexandrium* spp.を除いて全て陰性であった。*H. circularisquama*と*Alexandrium* spp.は鍍板表面上に同じ抗原決定基を有している、あるいは抗原決定基は異なるが、このモノクローナル抗体はどちらの抗原決定基も認識できると考えられる。しかし、*Alexandrium* spp.は*H. circularisquama*よりも明らかにサイズが大きく、形態もより球形に近く、容易に識別できるため、モニタリングには影響しなかった。以上から、本モノクローナル抗体は主に*H. circularisquama*を特異的に認識し、形態的特徴の観察と組み合わせることにより、現場試料におけるモニタリングに有効に用いることができると言える。

次に、本法が実際に現場のモニタリングに応用できるかを検討するため、三重県英虞湾においてモニタリングを行い、個体群動態を調査した。2001年4月～2005年3月まで、英虞湾の赤崎定点(水深8.5 m)で月1～5回の頻度でサンプリングを行った。0 m, 5 m, B-1 m(海底上1 m)層から、各1 l採水し、モノクローナル抗体を用いた間接蛍光抗体法(図2)と、光学顕微鏡を用いた通常の計数法により採水試料中の*H. circularisquama*の細胞密度を調べた。間接蛍光抗体法では、以下の前処理を施した。採水した海水試料をホルムアルデヒドで固定(最終濃度0.37%)し、大きなゴミやプランクトンを取り除くために目合い30 μmのプランクトンネットで固定試料を濾過した。適量(0.1～200 ml)の試料を濾過器に注ぎ、前述の間接蛍光抗体法に供して細胞密度を求めた。1つの試料について3回計数を行い、3回の計数で*H. circularisquama*の細胞が検出され

なかった場合は合計1 lの試料を処理して、観察、計数を行った。光学顕微鏡を用いた従来の計数法では、採水試料1 ml中の*H. circularisquama*の細胞を光学顕微鏡下で観察・計数することにより、その細胞密度を求めた。

間接蛍光抗体法による継続的なモニタリングを行った結果、毎年5月～11月まで*H. circularisquama*細胞が検出され、1.33 cells l^{-1} という低密度時からの*H. circularisquama*の検出が可能であることが判明した(図3)。一方、光学顕微鏡を用いた従来の計数法によるモニタリング結果によると、夏季の高密度時しか細胞を検出できず、 10^3 cells l^{-1} (1 cell ml^{-1})を超える密度の時でも見落とされる傾向があった(図3)。以上から、本法は従来の検出法の約1,000倍の高い感度を持ち、低密度時からの*H. circularisquama*の個体群動態を把握するためには、モノクローナル抗体を用いた間接蛍光抗体法が有効な方法となることが明らかとなった。これまで、様々な有害藻において、1 cell ml^{-1} 未満という低密度時からの個体群動態を報告した例は*Karenia mikimotoi*の研究²⁶⁾以外にはなく、*H. circularisquama*に関しては最初の報告であった。

4 ● 個体群動態の解明

本項では、間接蛍光抗体法を用いたモニタリングによって初めて明らかにされた、*Heterocapsa circularisquama*の個体群動態と越冬に関する知見について紹介する。三重県英虞湾¹⁷⁾と高知県浦ノ内湾²⁷⁾においてモニタリングを行い、個体群の挙動を調査した。

英虞湾での調査項目は前項で述べた通りである。2001年4月～2005年3月の英虞湾赤崎定点における*H. circularisquama*の細胞密度の経時変化を図3に示した。モノクローナル抗体を用いた間接蛍光抗体法によるモニタリング結果によると、2001年は5月14日に初めて*H. circularisquama*細胞が確認された(5 m層で13.3 cells l^{-1} , B-1 m層で6.67 cells l^{-1})。この時の水温はそれぞれ19°C, 18°Cであった。その後、細胞密度は水温の上昇に伴って増加し、2001年は7月23日にB-1 m層で最高値 1.26×10^5 cells l^{-1} を記録した(水温23.2°C)。8月以降、細胞密度は減少し、11月26日に細胞が最後に検出された(6.67 cells l^{-1} , 水温16.4°C)が、12月

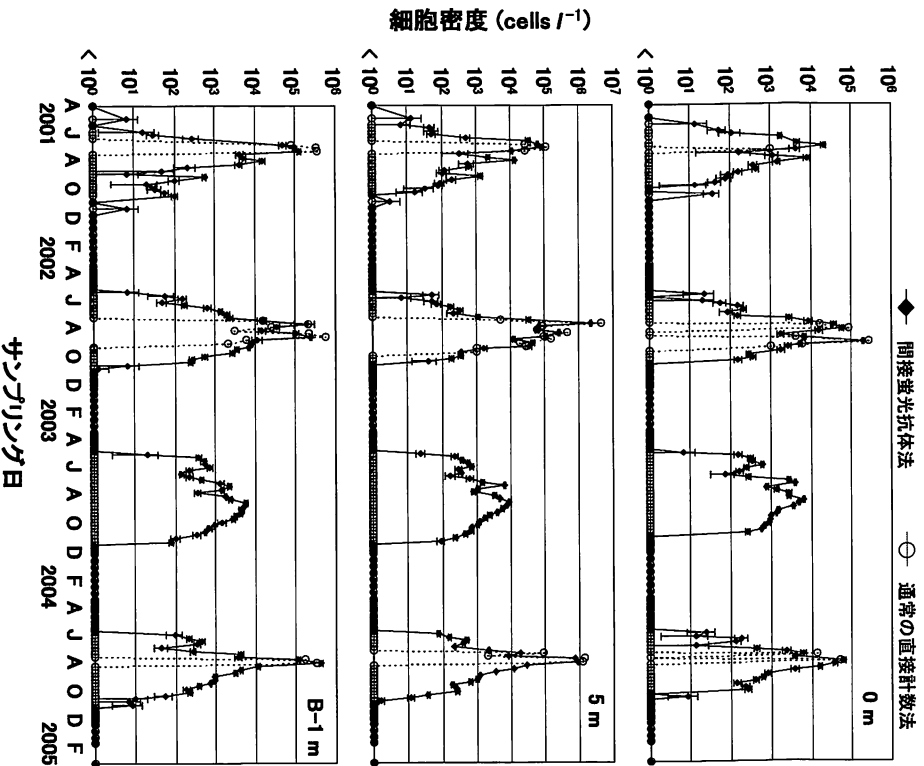


図3 ◆ 三重県英虞湾における *Heterocapsa circularisquama* 細胞密度の経時変化¹⁷⁾

10日以降, 2002年5月まで細胞は検出されなくなつた。2002年も2001年と同様の挙動を示し, 5月27日に初めて細胞が確認され(B-1 m層で6.67 cells l⁻¹, 水温19.1°C), 8月5日に最高値2.33 × 10⁶ cells l⁻¹ (5 m層, 水温29.8°C)を記録した。9月以降, 細胞密度は減少し, 11月11日に細胞が最後に検出された(1.33 cells l⁻¹, 水温15.4°C)が, 11月18日以降, 2003年5月まで細胞は検出されなくなつた。2003年, 2004年も同様の推移を示した。毎年, 12月~4月の低水温期にはこの定点では細胞は一度も検出されなかつた。*H. circularisquama*の細胞密度と水温との間に有意な相関が得られ($P < 0.01$), 水温が高いほど細胞密度が高い傾向が見られた。特に, 水温が25°C以上の時はほぼ本種が検出され, 10°C以下の時には検出されることはなかつた。英虞湾においては, 水温が高い時期には海水中に

*H. circularisquama*が必ず存在すると言える。培養実験による*H. circularisquama*の至適増殖水温は30°Cであり, 10°C以下では増殖できないと報告されている²⁸⁾。英虞湾では夏季の水温が30°C近くまで上昇するため, 夏の英虞湾は明らかに*H. circularisquama*赤潮の発生にとって好適な海域である。一方, 冬季は水温が10°Cを下回ることから, 本種は通年生存できないと考えられる。

高知県浦ノ内湾においては, 2004年2月~2005年11月まで, 2点(St. 1とSt. 5)で月1~2回の頻度でサンプリングを行った。各定点で0 mと2 m層から11ずつ採水し, モノクローナル抗体を用いた間接蛍光抗体法による*H. circularisquama*のモニタリングを行った。得られた細胞密度の経時変化を図4 (Shiraishi *et al.*, in press.²⁹⁾を改訂)に示す。モニタリングを開始した2004年2月3日から*H.*

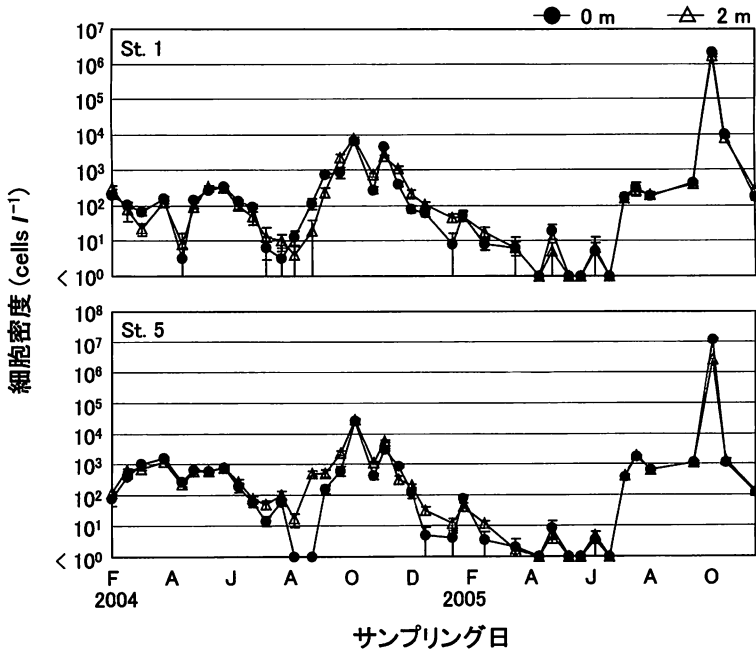


図4 ◆ 高知県浦ノ内湾における *Heterocapsa circularisquama* 細胞密度の経時変化 (Shiraishi et al.²⁷⁾を改訂)

circularisquama 細胞が検出された。St. 1 における細胞密度と水温は、それぞれ 0 m 層で 203 cells l⁻¹, 13.8°C, 2 m 層で 357 cells l⁻¹, 13.8°C であった。St. 5 でも *H. circularisquama* 細胞が検出された (160 ~ 200 cells l⁻¹, 10.5°C)。細胞密度は、2004 年は夏まで低密度で推移した。秋に細胞密度は上昇し、10 月 6 日には St. 5 の 2 m 層で最高 2.80 × 10⁴ cells l⁻¹ を記録 (26.9°C) した。細胞密度は 11 月 5 日以降徐々に減少したが、冬も次の春も低密度ではあるが細胞が検出された。2005 年は冬～夏は低密度で推移し、春や初夏に検出限界以下になることがあった。夏から秋にかけて細胞密度は上昇し、10 月 4 日に赤潮を形成 (St. 5 の 0 m 層で最高細胞密度 1.23 × 10⁷ cells l⁻¹, 26.9°C) した。赤潮はすぐに崩壊し、11 月には細胞密度は各定点で 1.6 × 10³ cells l⁻¹ 以下にまで低下した。浦ノ内湾においては、*H. circularisquama* は周年を通して検出され、冬～春にも継続的に検出された。この冬季の期間、水温は常に 10°C 以上であったことから、この水域は本種にとって生存可能な環境であり、栄養細胞で越冬できると結論される。そして、越冬細胞が翌年の赤潮のシードポピュレーションとなると考えられる。

これまで *H. circularisquama* については、越冬可能な耐久性シストが発見されたことはない。冬に水温が 10°C を下回らない内湾では、浦ノ内湾と同様に栄養細胞で越冬している可能性が考えられる。そのような海域では、個体群動態の把握のために冬季のモニタリングが必要である。前述の英虞湾のような冬に水温が 10°C を下回るような内湾では、本種は越冬できないと推定される。そのような海域では、暖かい海域から本種が移入している可能性が挙げられる。いずれにしても、二枚貝の養殖を行っている海域では本種の調査、監視が必要である。

5 ● おわりに

間接蛍光抗体法は、落射蛍光顕微鏡下で細胞を観察しながら同定、計数を行う定量法である。したがって、対象種に特異的に反応した抗体が発する蛍光を観察するだけでなく、細胞の形態、サイズ、葉緑体が発する自家蛍光等を観察するので、崩壊した細胞や細胞質が漏出した細胞の残骸、非特異的な蛍光を計数対象から排除することができる。前述のように、採水試料中の細胞をフィルター上に濾過捕集することにより、試料を大量に処理でき、低密度から



の検出, 計数を可能とした(1 cell l⁻¹でも検出可)。以上から, 間接蛍光抗体法は高感度かつ高精度であり, *Heterocapsa circularisquama* に対しては有用な現場モニタリング方法であることが実証された。他の有害有毒微細藻類に対しても本法を適用していけば, 個体群動態の把握を可能とし, 赤潮の発生予知につながると期待される。

しかし, 本法は水柱の微細藻類のモニタリングにしか適用できない。底泥試料に対しては, 多量の泥粒子が抗体の藻類への反応を阻害するだけでなく, フィルター上に捕集された多量の泥粒子が落射蛍光顕微鏡観察による対象種の検出を困難にする。また, 対象種が低密度で他の植物プランクトンが多量に存在する試料では, 対象種を検出するために濾過量を多くしなければならないが, フィルター上にはおびただしい量のプランクトンが捕集されるため, 落射蛍光顕微鏡下で対象種を検出, 計数するのはやはり困難であり熟練が必要である。

形態的に同定が困難な生物を簡易かつ迅速に同定する方法には, 免疫学的手法の他に分子生物学的手法が挙げられる。近年, 特異的かつ高感度に有害赤潮生物を検出・定量するために real-time PCR 法が開発されている^{29,30)}。real-time PCR 法は同定と定量が同時に行われ, 種特異性と検出感度が高い。しかし, real-time PCR 法を用いて継続的に有害赤潮藻のモニタリングを実施した例はない。これは, 試料の処理工程が煩雑であることと, 従来の抗体法と同様に, 現場モニタリングへの応用を意識した研究がなされていないことに起因する。また, 従来の光学顕微鏡を用いた計数法では, 低密度時の定量が困難なため, 有害種が低密度の場合, real-time PCR 法によって得られた数値が本当に現場のデータを示しているのかどうかを証明する手立てがなかった。今回紹介したように, *H. circularisquama* に関しては, 現場海水で低密度から検出・定量可能な間接蛍光抗体法が確立されている。したがって, *H. circularisquama* を対象とした real-time PCR 法の技法が開発されれば, 現場における定量結果の正当性を間接蛍光抗体法によって立証できよう。今後, 様々な有害赤潮藻の定量法として, より簡便な real-time PCR 法が研究, 開発されると考えられるが, real-time PCR 法の有効性を確認するためにも, 抗体を用いた高感度定量法が必要である。

●引用文献

- 1) 福代康夫・松岡敏夫・今井一郎・高橋正征・渡辺正孝: 赤潮生物の生物学的特徴, In: 岡市友利 編「赤潮の科学-第2版」, 恒星社厚生閣, 東京, 1997, pp. 43-113.
- 2) Imai, I., T. Sunahara, T. Nishikawa, Y. Hori, R. Kondo and S. Hiroishi: Fluctuations of the red tide flagellates *Chattonella* spp. (Raphidophyceae) and the algalicidal bacterium *Cytophaga* sp. in the Seto Inland Sea, Japan. *Mar. Biol.*, **138**: 1043-1049, 2001.
- 3) Imai, I., D. Fujimaru, T. Nishigaki, M. Kurosaki and H. Sugita: Algicidal bacteria isolated from the surface of seaweeds from the coast of Osaka Bay in the Seto Inland Sea, Japan. *Afr. J. Mar. Sci.*, **28**: 319-323, 2006.
- 4) Vrieling E. G., A. Draaijer, W. J. M. van Zeijl, L. Peperzak, W. W. C. Gieskes and M. Veenhuis: The effect of labeling intensity, estimated by real-time confocal laser scanning microscopy, on flow cytometric appearance and identification of immunochemically labeled marine dinoflagellates. *J. Phycol.*, **29**: 180-188, 1993.
- 5) Hiroishi S., A. Uchida, K. Nagasaki and Y. Ishida: A new method for identification of inter- and intra-species of the red tide alga *Chattonella antiqua* and *Chattonella marina* (Raphidophyceae) by means of monoclonal antibodies. *J. Phycol.*, **24**: 442-444, 1988.
- 6) Uchida A., K. Nagasaki, S. Hiroishi and Y. Ishida: The application of monoclonal antibodies to an identification of *Chattonella marina* and *Chattonella antiqua*. *Nippon Suisan Gakkaishi*, **55**: 721-725, 1989.
- 7) Nagasaki K., A. Uchida, S. Hiroishi and Y. Ishida: An epitope recognized by the monoclonal antibody MR-21 which is reactive with the cell surface of *Chattonella marina* Type II. *Nippon Suisan Gakkaishi*, **57**: 885-890, 1991.
- 8) Nagasaki K., A. Uchida and Y. Ishida: A monoclonal antibody which recognizes the cell surface of red tide alga *Gymnodinium nagasakiense*. *Nippon Suisan Gakkaishi*, **57**: 1211-1214, 1991.
- 9) Vrieling E. G., L. Peperzak, W. W. C. Gieskes and M. Veenhuis: Detection of the ichthyotoxic dinoflagellate *Gyrodinium* (cf.) *aureolum* and morphologically related *Gymnodinium* species using monoclonal antibodies: a specific immunological tool. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **103**: 165-174, 1994.
- 10) Adachi M., Y. Sako and Y. Ishida: The identification of conspecific dinoflagellates *Alexandrium tamarense* from Japan and Thailand by monoclonal antibodies. *Nippon Suisan Gakkaishi*, **59**: 327-332, 1993.
- 11) Mendoza H., V. L. Rodas, S. G. Gil, A. Aguilera and E. Costas: The use of polyclonal antisera and blocking of antibodies in the identification of marine dinoflagellates: species-specific and clone-specific antisera against *Gymnodinium* and *Alexandrium*. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, **186**: 103-115, 1995.
- 12) Lin S., T. N. Feinstein, H. Zhang and E. J. Carpenter: Development of an immunofluorescence technique for detecting *Pfiesteria piscicida*. *Harmful Algae*, **2**: 223-231, 2003.
- 13) Bates S. S., C. Leger, B. A. Keafer and D. M. Anderson: Discrimination between domoic-acid-producing and nontoxic forms of the diatom *Pseudo-nitzschia pungens* using immunofluorescence. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **100**: 185-195, 1993.
- 14) Anderson D. M., B. A. Keafer, D. M. Kulis, R. M. Waters and R. Nuzzi: An immunofluorescent survey of the brown tide chrysophyte *Aureococcus anophagefferens* along the northeast coast of the United States. *J. Plankton Res.*, **15**: 563-580, 1993.
- 15) Caron D. A., M. R. Dennett, D. M. Moran, R. A. Schaffner, D. J. Lonsdale, C. J. Gobler, R. Nuzzi and T. I. McLean: Development and application of a monoclonal-antibody technique for counting *Aureococcus anophagefferens*, an alga causing recurrent brown tides in the mid-Atlantic United States. *Appl. Environ. Microbiol.*, **69**: 5492-5502, 2003.
- 16) Campbell L. and E. J. Carpenter: Characterization of phycoerythrin-containing *Synechococcus* spp. populations by immunofluorescence. *J. Plankton Res.*, **9**: 1167-1181, 1987.



- 17) Shiraishi T., S. Hiroishi, K. Nagai, J. Go, T. Yamamoto and I. Imai: Seasonal distribution of the shellfish-killing dinoflagellate *Heterocapsa circularisquama* in Ago Bay monitored by an indirect fluorescent antibody technique using monoclonal antibodies. *Plankton Benthos Res.*, **2**: 49–62, 2007.
- 18) Nagai K., Y. Matsuyama, T. Uchida, M. Yamaguchi, M. Ishimura, A. Nishimura, S. Akamatsu and T. Honjo: Toxicity and LD₅₀ levels of the red tide dinoflagellate *Heterocapsa circularisquama* on juvenile pearl oysters. *Aquaculture*, **144**: 149–154, 1996.
- 19) Nagai K., Y. Matsuyama, T. Uchida, S. Akamatsu and T. Honjo: Effect of a natural population of the harmful dinoflagellate *Heterocapsa circularisquama* on the survival of the pearl oyster *Pinctada fucata*. *Fisheries Sci.*, **66**: 995–997, 2000.
- 20) Matsuyama Y., T. Uchida, T. Honjo S. E. Shumway: Impacts of the harmful dinoflagellate, *Heterocapsa circularisquama*, on shellfish aquaculture in Japan. *J. Shellfish Res.*, **20**: 1269–1272, 2001.
- 21) 松山幸彦・永井清仁・水口忠久・藤原正嗣・石村美佐・山口峰生・内田卓志・本城凡夫: 1992年に英虞湾において発生した *Heterocapsa* sp. 赤潮発生期の環境特性とアコヤガイ斃死の特徴について. 日本水産学会誌, **61**: 35–41, 1995.
- 22) 本城凡夫: 有害プランクトンによる漁業被害の発生状況とその問題点, In: 石田祐三郎・本城凡夫・福代康夫・今井一郎 編「水産研究叢書 48 有害・有毒赤潮の発生と予知・防除」, 日本水産資源保護協会, 東京, 2000, pp. 4–17.
- 23) Horiguchi T: *Heterocapsa circularisquama* sp. nov. (Peridinales, Dinophyceae): a new marine dinoflagellate causing mass mortality of bivalves in Japan. *Phycol. Res.*, **43**: 129–136, 1995.
- 24) Iwataki M., G. Hansen, T. Sawaguchi, S. Hiroishi and Y. Fukuyo: Investigations of body scales in twelve *Heterocapsa* species (Peridinales, Dinophyceae), including a new species *H. pseudotriquetra* sp. nov. *Phycologia*, **43**: 394–403, 2004.
- 25) Uchida T., S. Toda, Y. Matsuyama, M. Yamaguchi, Y. Kotani and T. Honjo: Interactions between the red tide dinoflagellate *Heterocapsa circularisquama* and *Gymnodinium mikimotoi* in laboratory culture. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, **241**: 285–299, 1999.
- 26) 板倉 茂・今井一郎・伊藤克彦: 広島湾における赤潮渦鞭毛藻 *Gymnodinium nagasakiense* 出現密度の季節変化. 南西水研研報, **23**: 27–33, 1990.
- 27) Shiraishi T., S. Hiroishi, S. Taino, T. Ishikawa, Y. Hayashi, S. Sakamoto, M. Yamaguchi and I. Imai: Identification of overwintering vegetative cells of the bivalve-killing dinoflagellate *Heterocapsa circularisquama* in Uranouchi Inlet, Kochi Prefecture, Japan. *Fisheries Sci. (in press)*.
- 28) Yamaguchi M., S. Itakura, K. Nagasaki, Y. Matsuyama, T. Uchida and I. Imai: Effects of temperature and salinity on the growth of the red tide flagellates *Heterocapsa circularisquama* (Dinophyceae) and *Chattonella verruculosa* (Raphidophyceae). *J. Plankton Res.*, **19**: 1167–1174, 1997.
- 29) Galluzzi L., A. Penna, E. Bertozzini, M. Vila, E. Garces and M. Magnani: Development of a real-time PCR assay for rapid detection and quantification of *Alexandrium minutum* (a Dinoflagellate). *Appl. Environ. Microbiol.*, **70**: 1199–1206, 2004.
- 30) Kamikawa R., J. Asai, T. Miyahara, K. Murata, K. Oyama, S. Yoshimatsu, T. Yoshida and Y. Sako: Application of a real-time PCR assay to a comprehensive method of monitoring harmful algae. *Microbes Environ.*, **21**: 163–173, 2006.

Abstract: Harmful red tides have given serious impacts on fisheries industries especially aquaculture throughout the world. It is essential to grasp the population dynamics of red tide microalgae for forecasting the red tide occurrences and the mitigation of the expected damages. Consecutive monitoring of red tide species is hence important. The conventional monitoring method with light microscopy was difficult for the accurate identification and enumeration in some cases, and was not practical when harmful species was present at low density. Immunological monitoring method using antibody theoretically allows specific detection. However, the antibody technique has hardly been developed for the practical field monitoring. Recently, we demonstrated that an indirect fluorescent antibody technique was feasible for the specific detection and sensitive quantification of bivalve-killing dinoflagellate *Heterocapsa circularisquama*. The cells could be detected and enumerated from densities as low as 1 cell l⁻¹. The population dynamics was clarified as to this species by the antibody technique for the first time in Ago Bay, Mie Prefecture. And further, we found *H. circularisquama* actually overwinter in Uranouchi Inlet, Kochi Prefecture, as vegetative cells in water columns. It is now important to develop the monitoring methods of other harmful algal species using antibody techniques for understanding population dynamics of those species and forecasting the occurrences of red tides.



- 38) Cann-Moisan, C., Caroff, J., Hourmant, A., Videau, C. and F. Rapt: Quantitative analysis of polyamines at trace levels by high-performance liquid -chromatography in high-salt solutions -application to seawater. *Journal of Liquid Chromatography*, **17**: 1413–1417, 1994.
- 39) Lee, C. and N.O.G. Jørgensen: Seasonal cycling of putrescine and amino acids in relation to biological production in a stratified coastal pond. *Biogeochemistry*, **29**: 131–157, 1995.
- 40) Maestrini, S. T., M. Balode, C. Bechemin and I. Purina: Nitrogenous organic substances as potential nitrogen sources, for summer phytoplankton in the gulf of Riga, eastern Baltic Sea. *Plankton Biology and Ecology*, **46**: 8–17, 1999.
- 41) Hwang, D.-F., Y.-H. Lu and T. Noguchi: Effects of exogenous polyamines on growth, toxicity, and Toxin profile of Dinoflagellate *Alexandrium minutum*. *Journal of Food Hygienics Society of Japan*, **44**: 49–53, 2002.
- 42) Parenik, B. and R. M. M. Morel: Amine oxidase of marine phytoplankton. *Applied and Environmental Microbiology*, **57**: 2440–2443, 1991.
- 43) Pantoja, S., Lee, C., Marecek, J. F. and B. P. Palenik: Synthesis and use of fluorescent molecular probes for measuring cell surface enzymatic oxidation of amino acids and amines in seawater. *Analytical Biochemistry*, **211**: 210–218, 1993.
- 44) Feige, J. J. and E. M. Chambaz: Polyamine uptake by bivariate adrenocortical cells. *Biochemica et Biophysica Acta*, **846**: 93–100, 1985.
- 45) Garica-Fernandez, A.J., Rodriguez, R.A., Perez-Pertejo, Y and R. Balana-Fouce: Characterization of putrescine uptake in hamster melanocytic melanoma AMEL-3. *Molecules and Cells*, **21**: 127–135, 2005.
- 46) Bagin, N., Antognoni, F., Tassoni, A and R. Pistocchi: Polyamine binding, transport and compartmentation in plants. *Bulletin of the Polish Academy of science: Biological Science*, **42**: 307–320, 1995.
- 47) Gonzalez, N.S., C. Ceriani and I.D. Algranati: Differential regulation of putrescine uptake in *Trypanosoma cruzi* and other trypanosomatids. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, **188**: 120–128, 1992.
- 48) Nishibori, N., Matuyama, Y., Uchida, T., Moriyama, T., Ogita, Y., Oda, M. and H. Hirota: Spatial and temporal variations in free polyamine distributions in Uranouchi Inlet, Japan. *Marine Chemistry*, **82**: 307–314, 2003.
- 49) Nishibori, N., Yuasa, A., Sakai, M., Fujihata, S., S. Nishio: Free polyamine concentrations in coastal seawater during phytoplankton bloom. *Fisheries Science*, **67**: 79–83, 2001.

Abstract: The distribution patterns of polyamines differ among the taxonomic classes. The major polyamine identified in Raphidophyceae was spermidine, and that of Dinophyceae was norspermine. In *Skeletonema costatum* (Bacillariophyceae) putrescine, spermidine and norspermidine were the major polyamines.

In *Chattonella antiqua* and *Heterosigma akashiwo* (Raphidophyceae), concentrations of spermidine showed a marked increase during the period of exponential growth phase and a linear correlation was observed between the free spermidine content of the cells and the growth rate. The linear correlation was also observed between the content of free norspermidine, the major polyamine in Dinoflagellates, and the growth rate of *Karenia mikimotoi* and *Alexandrium catenella*.

DFMO (DL- α -Difluoromethyl ornithine), the suicide inhibitor of ODC (Ornithine decarboxylase), reduced the maximum growth yields of *C. antiqua* and *H. akashiwo*, *K. mikimotoi* and *A. catenella*, and ODC appears to be the key enzyme in polyamine biosynthesis during the growth of these algae. The maximum growth yields of *C. antiqua* and *H. akashiwo* were reduced by the addition of MGBG (Methylglyoxal bis-guanylhydrazone), which inhibits the conversion of putrescine to spermidine and of spermidine to spermine. The reduced growth yields could be recovered by the addition of spermidine into the medium. It is thought that free spermidine plays a significant role in the growth of *C. antiqua* and *H. akashiwo*.

The decreases in diaminopropane and spermine concentrations were demonstrated during the culture experiments of *K. mikimotoi*, *C. antiqua* and *H. akashiwo* culture. In the *S. costatum* culture, spermine concentration also decreased, but only slightly. These results suggest that the incorporation and oxidative degradation of polyamines were processed by these algae. *C. antiqua* and *H. akashiwo* excreted polyamines, especially spermidine, and *S. costatum* mainly excreted putrescine to the culture medium. Obvious increases of polyamine concentrations were not observed in the medium of *K. mikimotoi*, and the results suggest that *K. mikimotoi* do not excrete polyamines outside the cell.

Thus the polyamines in seawater possibly play an important role in controlling the growth of algae, including HAB species, through affecting cellular polyamine contents.

有害有毒赤潮生物の出現と分類の歴史的経過

今井 一郎

1 ● 有害有毒藻類ブルームとは

富栄養化した沿岸水域において頻繁に発生する赤潮は、水中の微小生物、特に微細藻類の大量増殖や集積の結果生ずる海水の着色現象のことをいう。光合成能力を持つ微細藻類は、基礎生産者として海洋生態系における生物生産の根幹をなす重要な生物群である。しかし種類によっては、増殖や集積の結果赤潮を形成し、人類や海洋生物に悪影響を与えるものが存在する。そのような微細藻は、国際的には“Harmful Algae”（有害有毒藻類）と称され、それらが個体群を増加させる現象は“Harmful Algal Bloom = HAB”（有害有毒藻類ブルーム）と呼ばれる。現在、HAB は表 1 のように 4 つに類型化されている¹⁾。1) は通常無害な生物であるが、大量に増殖・集積する場合があります、赤潮発生後の死滅・分解の過程において、水中の酸素が急激に消費され魚介類を斃死させてしまうことがある。2) の有毒ブルームでは、原因生物自身が強力な毒を保有しており、二枚貝やホヤ類等が餌として有毒微細藻類を摂食することにより、それらの体内に毒が蓄積され、人間がこれらを食べて中毒するというものであり、このような事件は世界中でしばしば起こってきている。また、食物連鎖を介して毒が転送され、トドやペリカン等が斃死したという事件も報じられている。有毒ブルームは、海水が着色するまでに原因生物が増殖しなくても、貝類による毒の蓄積は普通に起こ

Occurrences of harmful algae and historical progress of taxonomy

Ichiro Imai / Division of Applied Biosciences, Graduate School of Agriculture, Kyoto University (京都大学大学院農学研究科応用生物科学専攻海洋環境微生物学分野)

Keywords: diatom, dinoflagellate, harmful algae, raphidophyte, red tide, taxonomy

る。3) に属する有害赤潮は、主に生け簀で飼育されているブリ、カンパチ、マダイ、ヒラメ、トラフグ等の大量斃死を引き起こすことから、養殖漁業者にとって大きな脅威となっている。また、珪藻類は海域の一次生産者として本来は重要な生物群であるが、4) の珪藻赤潮は、ノリの養殖が行われている時期にその養殖海域で、ノリの必要とする栄養塩（特に窒素）を珪藻類が消費し尽くした場合に「ノリの色落ち」を引き起こす。その場合、珪藻類は有害な赤潮生物とされる。珪藻赤潮は魚介類を斃死させるわけではないので、他の鞭毛藻等による魚介類の斃死を伴う有害赤潮と区別する必要がある。一般に漁業被害額は、ノリ養殖の方が魚類養殖よりも大きい場合が多い。

2 ● 沿岸域における赤潮の発生

わが国沿岸域における赤潮の発生件数は、高度経済成長を始めた 1960 年代より海域の著しい富栄養化に伴って急激に増加した。養殖業を含む沿岸漁業の盛んな瀬戸内海における、赤潮発生件数の経年的な変化²⁾を図 1 に示した。当初、瀬戸内海全域において、年間 50 件以下の発生件数であったのが、1970 年代に急激に増加し 1976 年に最高値の 299 件を記録した。1972 年に発生したシャットネラ赤潮により、史上最大の 71 億円にも上る養殖ハマチの斃死被害が起こり（1,420 万尾斃死）、これを契機として「播磨灘赤潮訴訟」が提訴されたのはあまりにも有名な話である。この事件を背景として、1973 年に「瀬戸内海環境保全臨時措置法」が制定され、1978 年には特別措置法として恒久法化された。このような法的整備と 1973 年末に始まったオイルショックの影響により、その後赤潮の発生件数は減少に転じ、1980 年代の後半には年間約 100 件程度にまで

表1 ◆ Harmful algal bloom のタイプ分け¹⁾

- 1) 大量増殖赤潮: 基本的には無害であるが、高密度に達した場合には溶存酸素の欠乏等を引き起こして魚介類を斃死させる。
原因生物: *Gonyaulax polygramma*, *Noctiluca scintillans*, *Trichodesmium erythraeum*, *Scrippsiella trochoidea*
- 2) 有毒ブルーム: 強力な毒を産生し、食物連鎖を通じて人間に害を与えるもの。海水が着色しない低密度の場合でも毒化現象(特に二枚貝で)がしばしば起こる。
原因生物
麻痺性貝毒: *Alexandrium tamarense*, *A. catenella*, *Gymnodinium catenatum* 等
下痢性貝毒: *Dinophysis fortii*, *D. acuminata*, *Prorocentrum lima* 等
記憶喪失性貝毒: *Pseudo-nitzschia multiseries*, *P. australis* 等
神経性貝毒: *Karenia brevis*
シガテラ毒: *Gambierdiscus toxicus*
- 3) 有害赤潮: 人間には無害であるが養殖魚介類を中心に大量斃死被害を与えるもの。
原因生物: *Chattonella antiqua*, *C. marina*, *C. ovata*, *C. verruculosa*, *Heterosigma akashiwo*, *Heterocapsa circularisquama*, *Karenia mikimotoi*, *Cochlodinium polykrikoides*, *Chrysochromulina polylepis* 等
- 4) 珪藻赤潮: 通常は海域の基礎生産者として重要な珪藻類が、海苔養殖の時期に増殖して海水中の栄養塩類を消費し、海苔の品質低下を引き起こして漁業被害を与えるもの。
原因生物: *Eucampia zodiacus*, *Coscinodiscus wailesii*, *Chaetoceros* spp., *Skeletonema costatum*, *Thalassiosira* spp., *Rhizosolenia imbricata* 等

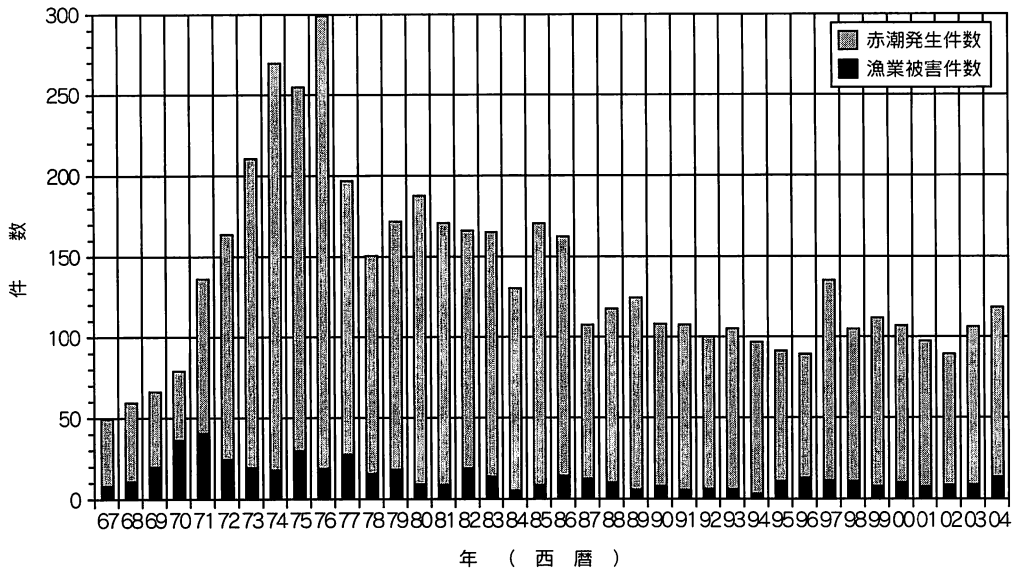


図1 ◆ 瀬戸内海における赤潮発生件数と漁業被害件数の経年推移²⁾

になった。しかしながら、このレベルは維持された状態で現在に至っている。

赤潮の発生が最盛期であった時代には、大阪湾、播磨灘、燧灘、あるいは周防灘のような海域全体を占めてしまう大規模な赤潮の発生も希ではなかったが、近年では赤潮発生の規模と期間が縮小傾向にある。因みに、経済成長の著しい中国では、揚子江河口のはるか沖合において約2万km²(瀬戸内海全域

で約2.3万km²)にも及ぶ超大規模な赤潮が春～初夏に発生するという。

瀬戸内海の赤潮で漁業被害を伴った発生件数は、以前は年間30件を超えることもあったが、近年は年間10件前後で推移している。また、赤潮による漁業被害額は、瀬戸内海全体で年平均20億円弱とされている。



3 ● 有害赤潮藻類

わが国沿岸域で大きな漁業被害を与えている、代表的な有害赤潮生物を図2に示す。ラフィド藻の *Chattonella antiqua*, *C. marina*, *C. ovata* (合わせてシャットネラと称される), *Heterosigma akashiwo* (ヘテロシグマ), 渦鞭毛藻の *Noctiluca scintillans* (夜光虫), *Karenia mikimotoi* (カレニア), *Heterocapsa circularisquama* (ヘテロカプサ), および *Cochlodinium polykrikoides* (コクロディニウム) が重要な有害赤潮生物として挙げられる。最も大きい漁業被害を与えてきたのはシャットネラであり、渦鞭毛藻のカレニアとヘテロカプサがこれに続き、近年はコクロディニウムが台頭してきている²⁾。

シャットネラによる赤潮は1969年に広島湾で初めて発生が確認され、その後1989年までほぼ毎年のように発生して養殖漁業に被害を与え続けてきた。興味深いことにその後は、1億円以上の被害を

与える規模の赤潮は発生しなくなっていたが、2003年夏季に久しぶりにシャットネラ赤潮が播磨灘で発生し、10億円を超える被害を与えた。それ以後、シャットネラ赤潮は復活の様相を呈し、しかもそれまで漁業被害の実績のなかった *Chattonella ovata* による赤潮が新たに発生し³⁾、養殖魚類を斃死させるようになったのは特筆されるべきである。シャットネラは耐久性のあるシストを形成するので⁴⁾、赤潮の発生は非発生の翌年にも継続すると予想され、注意深いモニタリングが必要である。

カレニアによる赤潮は古くから正式に報告されており、1903年に三重県英虞湾、1933年に同五ヶ所湾、そして1957年には山口県徳山湾と、高度経済成長時代以前からである。その後もコンスタントに西日本の各水域で赤潮を引き起こし、魚介類の斃死被害を与え続けている。

ヘテロカプサはユニークな赤潮生物であり、本来捕食者である二枚貝類を逆に殺滅するという特徴

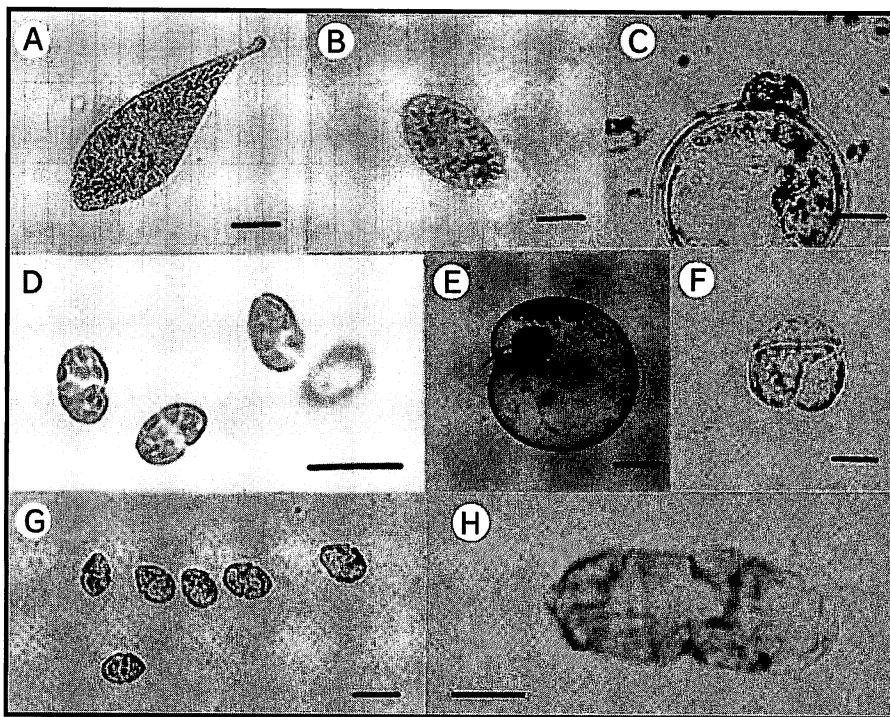


図2 ◆ わが国沿岸域における代表的な有害赤潮藻類。魚類を斃死させるラフィド藻, *Chattonella antiqua*(A), *Chattonella marina*(B), *Chattonella* のシスト(C), *Heterosigma akashiwo*(D): 赤潮渦鞭毛藻 *Noctiluca scintillans*(E, 夜光虫), 魚介類を斃死させる *Karenia mikimotoi*(F), 二枚貝を斃死させる *Heterocapsa circularisquama*(G), 魚介類を斃死させる *Cochlodinium polykrikoides*(H) スケールは, Eが100 μm, その他は20 μm。



を有する⁵⁾。本種は1988年に高知県浦ノ内湾で初めて赤潮の発生が認められ、数億円規模の大量のアサリを斃死させた。翌1989年には博多湾でもアサリを斃死させ、1992年には三重県英虞湾で約30億円に上る斃死被害を真珠貝養殖業に与えた。瀬戸内海では広島湾におけるカキ養殖への被害が著しい。1995年と1997年に赤潮が発生した後、1998年には被害額約40億円にも上る大量のカキが斃死させられた。

コクロディニウムは、1975年に九州南西部の八代海において、赤潮の発生とそれに伴う若干の魚類の斃死被害が初めて認められた。その後も九州沿岸域や太平洋に面した沿岸域で小規模に赤潮を起こしていたが、2000年の夏季には八代海において約40億円にも上る養殖魚の斃死被害を引き起こし⁶⁾、危険な赤潮生物として大きな注目を集めるようになった。本種は、韓国でも1995年に大規模な赤潮によって764億ウォンにも上る養殖魚類の大量斃死被害を招き、以後、粘土散布等の対策を講じているもののほぼ毎年のように斃死被害が起こっている⁷⁾。また、九州や韓国沿岸で発生した本種の赤潮は、対馬暖流に運ばれ日本海沿岸の各地において小規模ながら

赤潮を発生させ、魚介類を斃死させている⁸⁾。本種は今後も嚴重な注意の必要な赤潮生物と言える。

4 ● 有毒藻類

わが国における代表的な有毒藻類を図3に示した。表1に示した有毒ブルームの中で、わが国沿岸において発生が確認されているのは麻痺性貝毒と下痢性貝毒である。

麻痺性貝毒はフグ毒に似た強力な神経毒であり、この毒を生産・保有する微細藻類をカキ、ホタテガイ、ヒオウギガイ、イガイ、アカザラガイ、アサリ等の有用二枚貝類やホヤ類が摂食すると、毒が貝等の体内に蓄積される。このようにして毒化した貝類をヒトが摂食した場合に、麻痺性貝毒中毒に罹患する。原因藻類としては、渦鞭毛藻の *Alexandrium catenella* (図3, E), *A. tamarense*, *Gymnodinium catenatum* (図3, F) が代表的である。麻痺性貝毒は、1980年代前半までは主に北日本の沿岸域で発生していたが、1990年代になる頃より瀬戸内海や九州沿岸域でも頻繁に発生するようになり現在に至っている⁹⁾。麻痺性貝毒の場合は可食部1g当たりの毒量が4MU(マウスユニット)を超えると市場へ

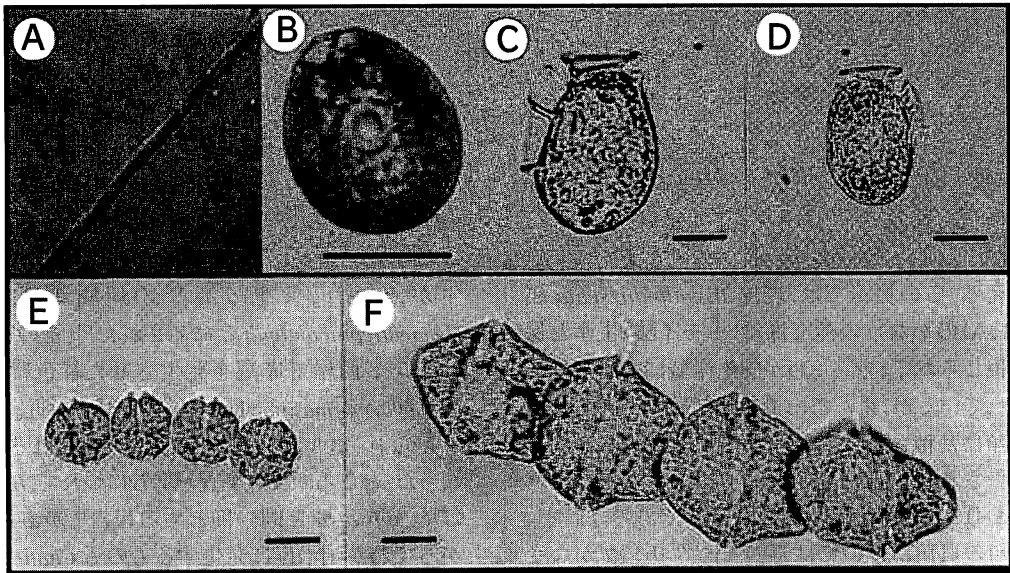


図3 ◆ わが国沿岸域における代表的な有毒藻類。外国で記憶喪失性貝毒の原因となっている珪藻 *Pseudo-nitzschia* sp. (A), 下痢性貝毒を保有する附着性渦鞭毛藻 *Prorocentrum lima* (B), 下痢性貝毒の原因生物とされている渦鞭毛藻 *Dinophysis fortii* (C), *Dinophysis acuminata* (D), 麻痺性貝毒の原因となる渦鞭毛藻 *Alexandrium catenella* (E), *Gymnodinium catenatum* (F)
スケールは全て 20 μ m。



の出荷が自主規制される。今春(2007年)の大阪湾においては *A. tamarense* が大量に発生し、わずか十数個の毒化したアサリの摂食によってヒトが死に至る可能性があるほどまでに高度な毒化が認められた。*Alexandrium* 属や *G. catenatum* は非常に耐久性の高いシストを形成するので、一度発生が確認されると以後もその水域に定着してしまう場合が多いことから、これからも厳重な監視が必要である¹⁰⁾。

下痢性貝毒は、脂溶性の毒に起源を発する下痢性食中毒である。麻痺性貝毒と同様に、二枚貝類等が有毒な微細藻類を摂食して毒化し、それをヒトが摂食すると発症する。原因生物としては、渦鞭毛藻の *Dinophysis fortii* (図3, C), *D. acuminata* (図3, D), および海藻等に付着する渦鞭毛藻(図3, B)等が報告されている。下痢性貝毒は可食部 1g 当たり 0.05 MU が規制値であり、これを超えると出荷の自主規制が行われる。貝毒による出荷の自主規制は、毒化した貝が斃死するわけではないので、被害額の算定がきわめて難しいのが大きな問題点である。下痢性貝毒に関しては、原因生物と言われる *D. fortii* が大量に出現する瀬戸内海においては、貝の毒化がほとんど認められず、毒化と原因生物の対応関係が明快ではない。さらに、これまで *Dinophysis* 属のいかなる種においても培養が不可能であったため、真に *Dinophysis* 属の生物種が毒を生産しているのかといった基本的な研究さえ不可能であった。しかし、2006年秋にコペンハーゲンで開催された国際有毒藻類会議において、*D. acuminata* の培養に成功したというブレイク・スルーの研究報告がなされたことから¹¹⁾、今後の飛躍的な研究の進展が期待される。

その他の貝毒としては、記憶喪失性貝毒が要注意といえる。この貝毒では、珪藻 *Pseudo-nitzschia* 属(図3, A)のかなりの種で毒(ドーモイ酸)生産と保有が報じられている¹²⁾。わが国沿岸域にも有毒種が生息しているが、まだこの毒が規制値を超えるまでに貝類に蓄積されたことはない。しかしながら、分離培養された培養細胞からはドーモイ酸が検出されており¹³⁾、これからも監視が必要であろう。

養殖の貝類については毒のモニタリングがなされ、基準値を超えると出荷が自主規制されるので、通常の小売店から入手した貝類を摂食して貝毒による食中毒が発生することは、まずあり得ない。天然貝の採捕摂食による中毒の発生にも注意を払う

べきであろう。そのためには、十分なモニタリングと情報の開示、および情報の周知が必要である。

5 ● 代表的な有害有毒藻類の分類について

赤潮や貝毒の原因となる微細藻類に関しては、昔から発生していたものもあるが、特に有害赤潮に関しては近年の沿岸域の富栄養化の進展に伴って新たに赤潮を形成し始めた生物種が多い。その場合、これまで報告がないため、赤潮が発生し始めた初期の頃には分類と同定に混乱が生じるのが普通である。わが国沿岸に生息する主要な有害有毒藻類の分類と同定に関して、表2に種名や呼称の歴史的な変遷を取りまとめた。分類学の進歩と展開に伴って、多くの重要種について属名や種名の変更等が普通に認められる。

5-1 ● ラフィド藻とディクティオカ藻

ラフィド藻綱(Raphidophyceae)は、不当毛植物門(Heterokontophyta, 黄色植物門Chromophyta, またはオクロ植物門Ochromphytaとも呼ばれる)に属する比較的小さい分類群の生物であり、緑色鞭毛藻綱(Chloromonadophyceae)と称されることもある。ラフィド藻には沿岸域において赤潮を形成する種が多く、しかもその被害は甚大である。主要な属としては、*Chattonella* 属、*Fibrocapsa* 属、および *Heterosigma* 属がある。

Chattonella 属には7種が記載されており¹⁴⁻¹⁶⁾、そのうち基準種の *C. subsalsa* を除く6種(*C. antiqua*, *C. globosa*, *C. marina*, *C. minima*, *C. ovata*, *C. verruculosa*)が生息すると報じられている。わが国におけるシャットネラ赤潮は1969年に広島湾で発生がみられ、ミドリムシの新属新種として *Hemientreptia antiqua* と命名された¹⁷⁾。その後、本種はインド西岸で赤潮を発生させた緑色鞭毛藻の *Hornellia marina* Subrahmanyam¹⁸⁾ と同一か近縁の種と考えられ、ホルネリアとしばらく呼ばれることになった。ところが文献調査が進むにつれて、*H. marina* は *C. subsalsa* と同一種とする報告¹⁹⁾があり、したがってわが国沿岸に発生するものも *Chattonella* 属に属するのが妥当とされた。

近年、遺伝子を用いた分子的手法が発展し、微細藻類の分類と同定に威力を発揮するようになった。1細胞だけを材料に LSU rDNA の塩基配列を



表2 ◆ わが国沿岸に生息する主要な有害有毒微細藻の分類の歴史的な変遷

種名	呼称あるいは種名の変遷	文献
ラフィド藻(Raphidophyceae)		
<i>Chattonella antiqua</i> (Hada) Ono	ミドリムシ藻 <i>Eutreptiella</i> sp., <i>Hemieutreptia antiqua</i> → 緑色鞭毛藻 <i>Hornellia marina</i> 類似種 → <i>Chattonella antiqua</i>	14, 15, 17~19, 26
<i>Fibrocapsa japonica</i> Toriumi et Takano	<i>Botryococcus</i> sp., <i>Exuviaella</i> sp. → <i>Fibrocapsa japonica</i> → <i>Chattonella japonica</i> が提案される → <i>F. japonica</i>	25~28
<i>Heterosigma akashiwo</i> (Hada) Hada ex Hara et Chihara	渦鞭毛藻 <i>Entomosigma akashiwo</i> → <i>Heterosigma akashiwo</i> → <i>Heterosigma carterae</i> → <i>Heterosigma akashiwo</i> <i>Heterosigma inlandica</i> → <i>Heterosigma akashiwo</i>	29~31, 33, 34
ディクティオカ藻(Dictyochophyceae)		
<i>Dictyocha fibula</i> var. <i>stapedia</i>	球形ホルネリア → ラフィド藻 <i>Chattonella globosa</i> → <i>Dictyocha fibula</i> var. <i>stapedia</i> の骨格のない細胞	16, 20
<i>Pseudochattonella verruculosa</i> (Hara et Chihara) Hosoi-Tanabe et al.	ラフィド藻 <i>Chattonella verruculosa</i> → <i>Pseudochattonella verruculosa</i>	16, 21
渦鞭毛藻(Dinophyceae)		
<i>Alexandrium</i> 属	<i>Gonyaulax</i> 属 → <i>Protogonyaulax</i> 属, <i>Gessnerium</i> 属 → <i>Alexandrium</i> 属	58, 59
<i>Cochlodinium polykrikoides</i> Margalef	<i>Cochlodinium</i> Type-78 Yatsushiro, <i>Cochlodinium heterolobatum</i> 類似種 → <i>Cochlodinium polykrikoides</i>	51, 52
<i>Heterocapsa circularisquama</i> Horiguchi	<i>Heterocapsa</i> sp. → <i>Heterocapsa circularisquama</i>	55, 56
<i>Karenia mikimotoi</i> (Miyake et Kominami ex Oda) Hansen et Moestrup	<i>Gymnodinium</i> Type-65 → <i>Gymnodinium nagasakiense</i> → <i>Gymnodinium mikimotoi</i> → <i>Karenia mikimotoi</i> <i>Gyrodinium aureolum</i> sensu Braarud and Heimdal (1970) → <i>Karenia mikimotoi</i>	39~42 43, 44, 46
<i>Karenia papilionacea</i> Haywood et Steidinger	<i>Karenia brevis</i> (その前は <i>Gymnodinium brevis</i>) とよばれていた種	48
<i>Prorocentrum minimum</i> (Pavillard) Schiller	<i>Prorocentrum maria-lebouriae</i> とよばれる場合もあった	
<i>Takayama cladochroma</i> de Salas et al.	<i>Gymnodinium</i> Type-84-K → <i>Gymnodinium pullchelum</i> → <i>Takayama cladochroma</i>	49, 50
珪藻(Bacillariophyceae)		
<i>Pseudo-nitzschia</i> 属	<i>Nitzschia</i> 属 → <i>Pseudo-nitzschia</i> 属	12, 16
繊毛虫(Ciliophora)		
<i>Myrionecta rubra</i> (Lohman) Jankowski	<i>Mesodinium rubrum</i> → <i>Myrionecta rubra</i>	62

解説し、*C. globosa* が実はディクティオカ藻の1種 *Dictyocha fibula* var. *stapedia* の骨格を持たない形態の細胞であることが明らかになった²⁰⁾。また、*C. verruculosa* においても 18S rDNA の解析と微細構造の観察の結果、ディクティオカ藻に属することが判明し、*Pseudochattonella verruculosa* の学名が新たに提案されている²¹⁾。ディクティオカ藻に属する他の種では、*Dictyocha speculum* がやはり骨格を持たない細胞を持っており、赤潮を形成して魚類を斃死させることが知られている^{22, 23)}。このように、ディクティオカ藻はラフィド藻と混同される傾向が強く、分類に混乱が生じていたが一段落したように思われる。

Fibrocapsa japonica には溶血性の毒があると報じられており、注意が必要である²⁴⁾。本種も正式な種名の記載報告²⁵⁾がなされる前には、瀬戸内

海で赤潮を引き起こした際に *Exuviaella* sp.²⁶⁾ あるいは *Botryococcus* sp.²⁷⁾ と仮称されていた。その後、*Fibrocapsa* 属を *Chattonella* 属に包含するという主張もみられたが²⁸⁾、承認されず現在に至っている。

Heterosigma akashiwo 赤潮は1966年に広島県福山市沖で初めて発生し、渦鞭毛藻の1種として *Entomosigma akashiwo* と命名された²⁹⁾。次に、三重県五ヶ所湾で起こった赤潮の原因生物を羽田は新属新種の *Heterosigma inlandica* と記載報告し、*E. akashiwo* もこの新属に移して *H. akashiwo* と種名を組み替えた³⁰⁾。その後、詳しい形態学的な検討が加えられ、*Heterosigma* 属の2種については形態学的な差がほとんどないとされ、併せて *Heterosigma akashiwo* とするのが妥当と結論された³¹⁾。これに対し Taylor は、米国ウッツホールでなされた鞭毛藻類に関する観察報告³²⁾を根拠に、本種の種名を



Heterosigma carterae (Hulburt) Taylor とすることを主張した³³⁾。しかしながら Thronsdén により、培養株の詳しい精査の結果を基に分類された *H. akashiwo* の呼称が妥当という提案がなされ³⁴⁾、それが受け入れられて現在に至っている。このように、*H. akashiwo* の分類は混迷の歴史を辿った。さらに、本種は過去に *Olisthodiscus luteus* Carter か近縁種として扱われることが多かった。詳しい検討がなされた結果、*O. luteus* は *H. akashiwo* とは全く異なる底生性の別の生物であることが判明した³⁵⁾。以上から、それまで日本各地で赤潮を形成した種、ケンブリッジ・カルチャーセンター (CCAP) ならびにテキサス大学カルチャーコレクション (UTEX) に *O. luteus* という名称で維持されていた藻種は、全て *H. akashiwo* であると結論付けられ、長年の混乱がようやく整理された。

ところで、*Chattonella* 属の主要な 3 種について rDNA を用いた検討がなされた。その結果は驚くべきものであり、*C. antiqua*, *C. marina*, *C. ovata* の 3 種は、rDNA に関しては全く同じ塩基配列を示したという³⁶⁾。これら 3 種は、培養株の観察に基づくならば形態観察による種の識別はさほど困難ではないが、逆に遺伝子の観点からは極めて近縁(ほぼ同種?)な生物ということになる。これらは何れも強い魚毒性を有することから、分子識別が将来可能となることがモニタリングの進展の観点から期待される。

5-2 ● 渦鞭毛藻

渦鞭毛藻類の中では、無殻のギムノディニウム科に属する種に有害有毒なものが比較的多い。特に多くの種を擁する *Gymnodinium* 属と *Gyrodinium* 属は、横溝の段差が細胞長の 1/5 以上か否かという人為的な基準によって分けられてきた。しかし現実には、この境界基準付近の種や境界を跨って段差の変異のある種が存在しており、研究者によって見解が異なる場合もあり、基準は曖昧なままであった。Daugbjerg らは分子的手法を活用し、LSU rDNA の塩基配列を調べ、微細構造や光合成色素等を主たる基準にして分類学的検討を行い、*Gymnodinium* 属と *Gyrodinium* 属を *Akashiwo*, *Gymnodinium*, *Gyrodinium*, *Karenia*, および *Karlodinium* の 5 属に再編整理した^{37, 38)}。この方向で現在、無殻渦鞭毛藻

類の分類が整理されつつある。

Karenia mikimotoi は前述の様に戦前から赤潮発生が報じられている種であるが、1965 年に長崎県大村湾で大規模な赤潮を形成した³⁹⁾時には分類が整理されておらず *Gymnodinium* Type-65 と仮称され、様々な研究が推進され始めた。そして分類学的検討の結果、本種は *Gymnodinium nagasakiense* と命名された⁴⁰⁾。しかしその後、1933年に三重県五ヶ所湾で発生した赤潮の原因生物 (*Gymnodinium mikimotoi*)⁴¹⁾との比較検討が行われた結果、*G. nagasakiense* は *G. mikimotoi* の新参シノニムであるという結論が得られ、本種は *G. mikimotoi* とすることが提案された⁴²⁾。現在は以上のような再編に従い、*Karenia mikimotoi* となっている。

ところで *K. mikimotoi* はコスモポリタン種であり、わが国だけでなくヨーロッパやオーストラリア等の各地で魚類斃死を伴う有害赤潮を形成している。ヨーロッパでは、1966 年にノルウェーにおいて沿岸で養殖しているマスの斃死事件が起こり、その時の赤潮原因生物が *Gyrodinium aureolum* と Braarud and Heimdal によって同定された⁴³⁾。その後この種は特にヨーロッパで繰り返し赤潮を起こし漁業被害を与えるようになり、そして分類学的な検討がなされ、当時 *Gymnodinium nagasakiense* との関係が指摘された⁴⁴⁾。*Gyrodinium aureolum* の原記載⁴⁵⁾は米国ウッツホールから得られた標本を用いてなされており、原記載によく合う培養株がウッツホール近郊から得られたことから、Hansen らは様々な産地の *Gymnodinium mikimotoi* と上述の *G. aureolum* について、形態、遺伝子、光合成色素を中心に分類の比較研究を行った⁴⁶⁾。得られた結果によると、ヨーロッパやオーストラリアの有害種は日本産の *G. mikimotoi* と同種であり、ヨーロッパにおいて赤潮で漁業被害を与え Braarud and Heimdal によって *G. aureolum* と最初に同定され、以後それに従って同定された *G. aureolum* は、*G. mikimotoi* と同一であるというものである。新たに得られた *G. aureolum* は、*G. mikimotoi* とは明らかに異なっている。また、高山らが *Gyrodinium aureolum* ではないかと提唱した和歌山県田辺湾産の株⁴⁷⁾については、別物であると述べられている⁴⁶⁾。

わが国沿岸では、神経性貝毒を生産する *Karenia brevis* と形態の酷似する生物が生息するが、分子的研



究により、別種の *K. papilionacea* であることが判明した⁴⁸⁾。また、1984年に鹿児島湾で有害赤潮を発生させ *Gymnodinium* Type-'84K と仮称された種は⁴⁹⁾、*Gymnodinium pullchelum* を経て現在は *Takayama cladochroma* と呼ばれている⁵⁰⁾。

Cochlodinium polykrikoides は、プエルトリコ沿岸から発見され記載された。日本では、八代海において赤潮を形成し養殖魚類をしばしば斃死させたものは *Cochlodinium* Type-'78 八代型と仮称され⁵¹⁾、熊野灘沿岸で魚類に被害を与えたものは *Cochlodinium heterolobatum* 類似種と仮称されたが⁵²⁾、Yuki and Yoshimatsu によって *C. polykrikoides* と同定された⁵²⁾。分類学的な問題点としては *Cochlodinium catenatum* Okamura との記載の比較があり、記載報告からは両者の相違は確認されておらず、原記載のタイプ産地から試料を得て、分類学的な検討が必要であろう⁵³⁾。またシスト形成⁵⁴⁾についても重要な形質であり、現場観察と室内実験の両方から慎重に検討すべきであろう。

Heterocapsa circularisquama は、赤潮を起こし始めた最初から分類が明らかでなかった。三重県英虞湾で1992年に真珠貝に大被害を与えた頃から *Heterocapsa* sp. と仮称されるようになり⁵⁵⁾、最終的に Horiguchi によって新種として記載がなされた⁵⁶⁾。本種は日本で初めて確認されるより以前に、香港付近から得て固定保存されていた赤潮海水試料の中から確認されており⁵⁷⁾、水産物の移動や船舶のバラスト水、あるいは海流に乗って日本に来たものと想定されている。

麻痺性貝毒の原因となる *Alexandrium* 属については、当初 *Gonyaulax* 属として記載されていたが、*Protogonyaulax* 属や *Gessnerium* 属が使用されるようになった。このような混乱を回避するために、1989年の有毒植物プランクトンの国際会議において、*Alexandrium* 属に統一していくことが決まり現在に至っている^{58, 59)}。

5-3 ● その他の藻類

記憶喪失性貝毒の原因となる *Pseudo-nitzschia* 属の種はわが国沿岸域にも広く分布している。世界で初めて1987年にカナダのプリンスエドワード島でこの貝毒が発生した際には、*Nitzschia pungens* f. *multiseriis* として同定された¹²⁾。その後、このような

連鎖群体を形成する珪藻は、*Pseudo-nitzschia* 属にすることが提案され⁶⁰⁾、現在に至っている。

織毛虫の1種 *Myrionecta rubra* (以前は *Mesodinium rubrum*)⁶²⁾ は、細胞内にクリプト藻を共生させて光合成を行っている信じられてきた。*M. rubra* はクリプト藻の葉緑体だけでなく核をも奪い (karyoklepty), その核によって同時に奪った葉緑体とミトコンドリアの機能を調節させるといった、いわばオルガネラ牧場を営む生活様式であることが報じられている⁶¹⁾。本種によって、養殖のカキの赤変が起こることがあり、その場合、商品価値が下落する。本種は前述したように、これまで培養の不可能であった下痢性貝毒原因プランクトン *Dinophysis* 属の生物種を培養するための餌生物として基本的に重要である¹¹⁾。

6 ● おわりに

沿岸域の富栄養化が進行すると赤潮の発生頻度が高くなるのは、瀬戸内海における歴史が明快に教えてくれる (図1)。赤潮は一般に河口域や沿岸域、港湾のような富栄養環境でよく発生するが、種類によってはごく沿岸よりもやや沖合を発生域として好むものもある。赤潮の発生は、原因種毎に生理生態学的特性が異なり、また発生する海域毎に環境特性が異なるため、発生機構を理解し、モデルを構築して発生予察をするためには、種類別、海域別に調査研究を行う必要がある。それによって初めて、予察や対策のための基礎が確立できる。

赤潮の原因生物は単細胞の微細藻類であり、日常の生活では馴染みがなく、高校を卒業するまでの教育課程で「環境問題としての赤潮」をチラッと習うだけで、微細藻類の生理生態は垣間見ることさえない。各種毎に、極めてユニークな生物特性を有する微細藻類は、生物学的研究の対象として大変魅力的である。例えば、世界最大の漁業被害を与えるシャットネラは、単細胞生物であるにもかかわらず、高等植物でいえば種に相当するシストを形成するし、夏に赤潮を形成する種であるがそのシストは発芽能の獲得のために冬の低温期間を4ヵ月以上必要としており、高等植物に引けを取らない面白い生物的特性を示す。またこのシストは、様々な種において、船舶や水産物の移動に伴って分布域の拡大に大きな役割を果たしている。卒業論文や



修士論文に係わる研究の過程で、出てきた結果を見ながら、時折、「オオ〜ッ!」と学生と共に思わず声を上げることがある。まさに「センス・オブ・ワンダー＝神秘さや不思議さに目をみはる感性」⁶³⁾が刺激された瞬間である。

これまでの日本は、大量生産、大量消費、大量廃棄の社会経済システムを基本に動いてきており、それによって環境破壊や多くの生物の絶滅を招く等、様々な問題が起こっている。これからは、好むと好まざるとに係わらず持続可能な循環型社会を構築しなければ、人類に明日はない。そのような観点から、環境教育は重要な意味を持つであろう。そして環境教育の場として海は格好の場である。潮干狩りや磯遊び、釣り等は、子供の頃からの楽しい思い出として刷り込まれている。海を守ることと環境教育は密接に関連するであろうし、子供の頃から「センス・オブ・ワンダー」を刺激された経験を持つ人は、環境を守る「サポーター」としてこれからの社会で重要な役割を演ずると思われる。

研究は、「群盲、像を撫でるが如し」と考えている。出てくるデータは基本的に断片的であり、時に矛盾と思える場合もある。それらのデータは、初歩的ミスのない限りそれぞれ一片の真理を含んでいるであろう。部分的な知見をジグソーパズルのように組み合わせ、そして「big picture」を理解しようとする。その過程で「センス・オブ・ワンダー」がどれほど問われ、刺激されることであろうか？ 若い人達に、この「オオ〜ッ!」と唸る瞬間を経験して戴きたいものである。そして大きな発見をした時には、背中から頭の天辺に電流が走り、髪の毛が逆立つものである⁶⁴⁾。これは一生の間にそう有るものではないが、研究を一生の生業として目指す人には、努力と精進を経て一度は是非経験して戴きたいと思う。臨済宗中興の祖と称される白隠慧鶴は、その生涯において「大悟数回、小悟数知れず」といわれている。研究の世界となんと似ていることであろうか？！

謝辞

無殻渦鞭毛藻の分類に関して貴重なご助言を戴いた、前広島県水産試験場の高山晴義博士、ならびに水産総合研究センター瀬戸内海区水産研究所赤潮環境部の山口峰生博士に心から感謝申し上げます。

引用文献

- 1) 今井一郎: 赤潮の発生-海からの警告-。遺伝, 54(9): 30-34, 2000.
- 2) Imai, I., M. Yamaguchi and Y. Hori: Eutrophication and occurrences of harmful algal blooms in the Seto Inland Sea, Japan. *Plankton Benthos Res.*, **1**: 71-84, 2006.
- 3) 高辻英之・飯田悦左・高山晴義: 2004年に広島県沿岸で発生した *Chattonella ovata*. 広水研報, **23**: 19-22, 2005.
- 4) Imai, I. and K. Itoh: Cysts of *Chattonella antiqua* and *C. marina* (Raphidophyceae) in sediments of the Inland Sea of Japan. *Bull. Plankton Soc. Jpn.*, **35**: 35-44, 1988.
- 5) Matsuyama, Y., T. Uchida, T. Honjo and S.E. Shumway: Impacts of the harmful dinoflagellate, *Heterocapsa circularisquama*, on shellfish aquaculture in Japan. *J. Shellfish Res.*, **20**: 1269-1272, 2001.
- 6) Kim, D.-I., S. Nagasoe, Y. Oshima, Y.-H. Yoon, N. Imada and T. Honjo: A massive bloom of *Cochlodinium polykrikoides* in the Yatsushiro Sea, Japan in 2000. In: Steidinger, K.A., J.H. Landsberg, C.R. Tomas and G.A. Vargo (eds.), *Harmful Algae 2002*, Florida Fish and Wild Life Conservation Commission and IOC-UNESCO, St. Pete, Florida, pp. 83-85, 2004.
- 7) 金鶴均・裴憲民・李三根・鄭昌洙: 韓国沿岸における有害赤潮の発生と防除対策. In: 有害・有毒藻類ブルームの予防と駆除(広石伸吾・今井一郎・石丸隆編), 恒星社厚生閣, 東京, pp. 134-150, 2002.
- 8) 宮原一隆・氏良介・山田東也・松井芳房・西川哲也・鬼塚剛: 2003年9月に日本海山陰沿岸海域で発生した *Cochlodinium polykrikoides* Margalef 赤潮. 日本プランクトン学会報, **52**: 11-18, 2005.
- 9) 今井一郎・板倉茂: わが国における貝毒発生の歴史的経過と水産業への影響. In: 貝毒研究の最先端-現状と展望(今井一郎・福代康夫・広石伸吾編), 恒星社厚生閣, 東京, pp.9-18, 2007.
- 10) Anderson, D. M.: Physiology and bloom dynamics of toxic *Alexandrium* species, with emphasis on life cycle transition. In: Anderson, D. M., A. D. Cembella and G.M. Hallegraeff (eds.), *Physiological Ecology of Harmful Algal Blooms*, Springer, Berlin, pp. 29-48, 1998.
- 11) Park, M. G., S. Kim, H. S. Kim, G. Myung, Y.G. Kang and W. Yih: First successful culture of the marine dinoflagellate *Dinophysis acuminata*. *Aquat. Microb. Ecol.*, **45**: 101-106, 2006.
- 12) Bates, S. S. and V. L. Trainer: The ecology of harmful diatoms. In: Graneli, E. and J.T. Turner (eds.), *Ecology of Harmful Algae*, Springer, Berlin, pp. 81-93, 2006.
- 13) 小瀧裕一: 記憶喪失性貝毒原因プランクトン-珪藻におけるドゥモイ酸の分布と毒生産機構. 月刊海洋, **33**: 725-731, 2001.
- 14) Ono, C. and H. Takano: *Chattonella antiqua* (Hada) comb. nov., and its occurrence on the Japanese coast. *Bull. Tokai Reg. Fish. Res. Lab.*, **102**: 93-100, 1980.
- 15) 原慶明・千原光雄: 日本産ラフィド藻シャットネラ (*Chattonella*) の微細構造と分類. 藻類, **30**: 47-56, 1982.
- 16) Hara, Y., K. Doi and M. Chihara: Four new species of *Chattonella* (Raphidophyceae, Chromophyta) from Japan. *Jpn. J. Phycol.*, **42**: 407-420, 1994.
- 17) Hada, Y.: The flagellata examined from polluted waters of the Inland Sea, Setonaikai. *Bull. Plankton Soc. Jpn.*, **20**: 112-115, 1974.
- 18) Subrahmanyam, R.: On the life-history and ecology of *Hornellia marina* gen. et sp. nov., (Chloromonadineae), causing green discoloration of the sea and mortality among marine organisms off the Malabar Coast. *Indian J. Fish.*, **1**: 182-203, 1954.
- 19) Hollande, A. and M. Enjumet: Sur une invasion de eaux du port d'Alger par *Chattonella subsalsa* (*Hornellia marina* Sub.) Biecheler. Remarques sur la toxicite de cette Chloromonadine. *Bull. Trav. Publ. Stn. Aquicult. et Peche Castiglione, N. S.* **8**: 273-280, 1957.
- 20) 高野義人・山口晴生・坂本節子・山口峰生: 分子系統学的解析を用いたラフィド藻 *Chattonella globosa* の分類学的再評価. 2006



- 年日本プランクトン学会・日本ベントス学会合同大会講演要旨集, 214, 2006.
- 21) Hosoi-Tanabe, S., D. Honda, S. Fukaya, I. Otake, Y. Inagaki and Y. Sako: Proposal of *Pseudochattonella verruculosa* gen. nov., comb. Nov. (Dictyochophyceae) for a former raphidophycean alga *Chattonella verruculosa*, based on 18S rDNA phylogeny and ultrastructural characteristics. *Phycol. Res.*, **55**: 185–192, 2007.
 - 22) Moestrup, O. and H. A. Thomsen: *Dictyocha speculum* (Silicoflagellata, Dictyochophyceae), studies on armoured and unarmoured stages. *K. Danske Vidensk. Selsk. Biol. Skr.*, **37**: 1–56, 1990.
 - 23) Jochem, F. and B. Babenerd: Naked *Dictyocha speculum*—a new type of phytoplankton bloom in the Western Baltic. *Mar. Biol.*, **103**: 373–379.
 - 24) De Boer, M. K.: Maze of Toxicity: *Fibrocapsa japonica* (Raphidophyceae) in Dutch coastal waters. 205pp., Van Denderen b.v., Groningen, Netherland, 2006.
 - 25) Toriumi, S. and H. Takano: A new genus in Chloromonadophyceae from Atsumi Bay, Japan. *Bull. Tokai Reg. Fish. Res. Lab.*, **76**: 25–35, 1973.
 - 26) 岩崎英雄: 赤潮鞭毛藻に関する研究—VI. 1970年, 備後灘に出現した *Eutreptiella* sp. と *Exuviaella* sp. について. 日本海洋学会誌, **27**: 152–157, 1971.
 - 27) 岡市友利: 浅海の汚染と赤潮の発生. In: 内湾赤潮の発生機構, 日本水産資源保護協会, 東京, pp. 58–76, 1972.
 - 28) Loeblich III, A. R. and K. Fine: Marine chloromonads: More widely distributed in neritic environments than previously thought. *Proc. Biol. Soc. Wash.*, **90**: 388–399, 1977.
 - 29) Hada, Y.: Protozoan plankton of the Inland Sea, Setonaikai I. The Mastigophora. *Bull. Suzugamine Women's Coll. Nat. Sci.*, **13**: 1–26, 1967.
 - 30) Hada, Y.: Protozoan plankton of the Inland Sea, Setonaikai II. The mastigophora and Sarcodina. *Bull. Suzugamine Women's Coll. Nat. Sci.*, **14**: 1–28, 1968.
 - 31) Hara, Y. and M. Chihara: Morphology, ultrastructure and taxonomy of the raphidophycean alga *Heterosigma akashiwo*. *Bot. Mag., Tokyo*, **100**: 151–163, 1987.
 - 32) Hulburt, E.: Flagellates from brackish waters in the vicinity of Woods Hole, Massachusetts. *J. Phycol.*, **1**: 87–94, 1965.
 - 33) Taylor, F. J. R.: The taxonomy of harmful marine phytoplankton. *Gior. Bot. Ital.*, **126**: 209–219, 1992.
 - 34) Throndsen, J.: Note on the taxonomy of *Heterosigma akashiwo* (Raphidophyceae). *Phycologia*, **35**: 367, 1996.
 - 35) Hara, Y., I. Inouye and M. Chihara: Morphology and ultrastructure of *Olisthodiscus luteus* (Raphidophyceae) with special reference to the taxonomy. *Bot. Mag., Tokyo*, **98**: 251–262, 1985.
 - 36) Hosoi-Tanabe, S., I. Otake and Y. Sako: Phylogenetic analysis of noxious red tide flagellates *Chattonella antiqua*, *C. marina*, *C. ovata*, and *C. verruculosa* (Raphidophyceae) based on the rRNA gene family. *Fisheries Sci.*, **72**: 1200–1208, 2006.
 - 37) Daugbjerg, N., G. Hansen, J. Larsen and O. Moestrup: Phylogeny of some of the major genera of dinoflagellates based on ultrastructure and partial LSU rDNA sequence data, including the erection of three new genera of unarmoured dinoflagellates. *Phycologia*, **39**: 302–317, 2000.
 - 38) 高山晴義: 神経性貝毒原因プランクトンの分類・生態. 月刊海洋, **33**: 732–735, 2001.
 - 39) 飯塚昭二・入江晴彦: 1965年夏期大村湾赤潮時の海況とその被害—II. 後期赤潮とその生物学的特徴について. 長崎大学水産学部研究報告, **21**: 67–101, 1966.
 - 40) Takayama, H. and R. Adachi: *Gymnodinium nagasakiense* sp. nov., a red tide forming dinophyte in the adjacent waters of Japan. *Bull. Plankton Soc. Jpn.*, **31**: 7–14, 1984.
 - 41) 尾田方七: *Gymnodinium mikimotoi* Miyake et Kominami n. sp. (MS.)¹⁾の赤潮と硫酸銅の効果. 動物学雑誌, **47**: 35–48, 1935.
 - 42) 高山晴義・松岡數充: *Gymnodinium mikimotoi* Miyake et Kominami ex Oda と *Gymnodinium nagasakiense* Takayama et Adachi の種形質の再評価. 日本プランクトン学会報, **38**: 53–70, 1991.
 - 43) Braarud, T. and B. R. Heimdal: Brown water on the Norwegian coast in autumn 1966. *Nytt. Mag. Bot.*, **17**: 91–97, 1970.
 - 44) Partensky, F., D. Vulot, A. Coute, and A. Sourria: Morphological and nuclear analysis of the bloom-forming dinoflagellates *Gyrodinium* cf. *aureolum* and *Gymnodinium nagasakiense*. *J. Phycol.*, **24**: 408–415, 1988.
 - 45) Hulburt, E. M.: The taxonomy of unarmored Dinophyceae of shallow embayments of Cape Cod, Massachusetts. *Biol. Bull.*, **112**: 196–219, 1957.
 - 46) Hansen, G., N. Daugbjerg and P. Henriksen: Comparative study of *Gymnodinium mikimotoi* and *Gymnodinium aureolum*, comb. nov. (= *Gyrodinium aureolum*) based on morphology, pigment composition, and molecular data. *J. Phycol.*, **36**: 394–410, 2000.
 - 47) 高山晴義・松岡數充・福代康夫: わが国沿岸で採集された無殻渦鞭毛藻 *Gyrodinium aureolum* Hulburt の分類学的検討. 日本プランクトン学会報, **45**: 9–19, 1998.
 - 48) 吉松定昭: 香川県における有毒プランクトン種及び西日本における有毒底生性渦鞭毛藻類種の出現動向. マリントキシン研究会ニュース, **23**: 5–7, 2006.
 - 49) Onoue, Y., K. Nozawa, K. Kumanda, K. Takeda and T. Aramaki: Occurrence of a toxic dinoflagellate, "*Gymnodinium* Type-'84K" in Kagoshima Bay. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.*, **51**: 1567, 1985.
 - 50) De Salas, M. F., C. J. S. Bolch, L. Botes, G. Nash, S. W. Wright and G. M. Hallegraeff: *Takayama* gen. nov. (Gymnodiniales, Dinophyceae), a new genus of unarmored dinoflagellates with sigmoid apical grooves, including the description of two new species. *J. Phycol.*, **39**: 1233–1246, 2003.
 - 51) Onoue, Y., K. Nozawa, K. Kumanda, K. Takeda and T. Aramaki: Toxicity of *Cochlodinium* Type '78 Yatsushiro occurring in Yatsushiro Sea. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.*, **51**: 147, 1985.
 - 52) Yuki, K. and S. Yoshimatsu: Two fish-killing species of *Cochlodinium* from Harima-Nada, Seto Inland Sea, Japan. In: Okaichi, T., D. M. Anderson and T. Nemoto (eds.), Red Tides: Biology, Environmental Science, and Toxicology, Elsevier, New York, pp. 451–454, 1989.
 - 53) 松岡數充・岩滝光儀: 有害無殻渦鞭毛藻 *Cochlodinium polykrikoides* Margalef 研究の現状(総説). 日本プランクトン学会報, **51**: 38–45, 2004.
 - 54) Kim, C.-J., H.-G. Kim, C.-H. Kim and H.-M. Oh: Life cycle of the ichthyotoxic dinoflagellate *Cochlodinium polykrikoides* in Korean coastal waters. *Harmful Algae*, **6**: 104–111, 2007.
 - 55) 松山幸彦・永井清仁・水口忠久・藤原正嗣・石村美佐・山口峰生・内田卓志・本城凡夫: 1992年に英虞湾において発生した *Heterocapsa* sp. 赤潮発生期の環境特性とアコヤガイ斃死の特徴について. 日本水産学会誌, **61**: 35–41, 1995.
 - 56) Horiguchi, T.: *Heterocapsa circularisquama* sp. nov. (Peridinales, Dinophyceae): A new marine dinoflagellate causing mass mortality of bivalves in Japan. *Phycol. Res.*, **43**: 129–136.
 - 57) Iwataki, M., M. W. Wong and Y. Fukuyo: New record of *Heterocapsa circularisquama* (Dinophyceae) from Hong Kong. *Fisheries Sci.*, **68**: 1161–1163, 2002.
 - 58) 福代康夫・P. Pholpunthin: 渦鞭毛藻ペリディニウム目ゴニオラックス科 *Alexandrium tamarense* (Lebour) Balech. In: 日本の赤潮生物(福代康夫・高野秀昭・千原光雄・松岡數充編), 内田老鶴圃, 東京, pp. 94–95, 1990.
 - 59) Balech, E.: The Genus *Alexandrium* Halim (Dinoflagellata). 151 pp., Sherkin Island Marine Station, Sherkin Island, Co. Cork, Ireland, 1995.
 - 60) Hasle, G. R.: *Pseudo-nitzschia* as a genus distinct from *Nitzschia* (Bacillariophyceae). *J. Phycol.*, **30**: 1036–1039, 1994.
 - 61) Johnson, M. D., D. Oldach, C. F. Delwiche and D. K. Stoecker: Retention of transcriptionally active cryptophyte nuclei by the ciliate *Myrionecta rubra*. *Nature*, **445**: 426–428.



62) Krainer, K.-H. and W. Foissner: Revision of the genus *Askenasia* Blochmann, 1895 with proposal of two new species and description of *Rhabdoaskensia minima* n. g., n. sp. (Ciliophora, Cyclotrichida). *J. Protozool.*, **37**: 414-427, 1990.

63) レイチェル・カースン: センス・オブ・ワンダー (上遠恵子 訳・森本二郎 写真). 62 pp, 新潮社, 東京, 1996.

64) 今井一郎: シスト探索類末記. 南西水研ニュース, **37**: 2-3, 1987.

Abstract: Along with serious eutrophication in the 1960s and 1970s, the incidents of red tides markedly increased in frequency and scale in the coastal sea of Japan. In case of the Seto Inland Sea, the maximum incident of 299 was recorded in 1976, but the incident has since exhibited a decreasing trend, reaching about 100 per year in the late 1980s by virtue of regulation by law, and this value has been maintained thereafter so far. The noxious red tide microalgae causing huge fishery damage by fish-kill are *Chattonella antiqua*, *C. marina*, *C. ovata* and *Heterosigma akashiwo* (Raphidophyceae), and *Karenia mikimotoi* and *Cochlodinium polykrikoides* (Dinophyceae). The maximum fishery damage (death of 14.2 million yellowtails) was 7.1 billion yen (ca. US \$60 million) caused by *C. antiqua* in Harima-Nada in 1972. In toxic blooms, the dinoflagellate *Alexandrium tamarense* has newly become dominant in the Seto Inland Sea and Kyushu area in the spring season from 1990s, causing toxicity in short-necked clams and cultured oysters almost every year. As a result of taxonomical examination and discussion, the scientific names of toxic and fish-killing species have been arranged and changed frequently. The change was listed up historically concerning important harmful species for the new comer people of the study field of harmful algal blooms.
