

## 津軽海峡における渦鞭毛藻 *Alexandrium minutum* の出現 (短報)

夏池真史\*, 金森 誠

北海道立総合研究機構函館水産試験場

Occurrences of dinoflagellate *Alexandrium minutum* in Tsugaru Strait (Short Paper)

MASAFUMI NATSUIKE and MAKOTO KANAMORI

Hakodate Fisheries Research Institute, Hokkaido Research Organization, *Hakodate, Hokkaido 040-0051, Japan*

In June 2020, small globular *Alexandrium* species were observed in offshore Shiriuchi and Hakodate Port in southern Hokkaido in Tsugaru Strait. The characteristics of the specimens are triangle-shaped apical pore complex with presence of ventral pore on suture 1' and 4', narrower precingular 6'' plate than wide, wider posterior sulcal plate than long, and smooth epitheca and hypotheca. From these morphological features, the specimens are identified as *A. minutum*, a potential paralytic shellfish toxin-producing species. The cells of *A. minutum* were detected at maximum cell density reaching 420 cells L<sup>-1</sup> in offshore Shiriuchi, and 460 cells L<sup>-1</sup> in Hakodate Port in June, but were not detected in July and August. Paralytic shellfish toxins from *A. minutum* were not detected in bivalves from the Tsugaru Strait.

キーワード: *Alexandrium minutum*, 津軽海峡, 麻痺性貝毒, 有毒プランクトン

渦鞭毛藻綱 (Class Dinophyceae) の1種である *Alexandrium minutum* は、細胞長17~29 µm, ほぼ球形から卵形の形状をしている。本種は、種名の由来がラテン語の「微小」であるように、*Alexandrium* 属の中では小型種である。本種は世界中の温帯~熱帯域を中心に分布し (Lewis *et al.*, 2018), 国内では三重県, 東京湾, 岩手県および香川県で出現が報告されている (Yuki, 1994; 水尾・鳥海, 2005; 加賀ら, 2006; 結城・吉松, 2012)。本種は麻痺性貝毒産生種であり, ヨーロッパやニュージーランドなどでしばしば二枚貝の高毒化を引き起こしている (Lewis *et al.*, 2018)。本種には麻痺性貝毒成分産生能がない無毒株の存在も知られている (Lewis *et al.*, 2018; Lilly *et al.*, 2005)。岩手県と東京湾から単離された *A. minutum* 株において毒産生能は報告されておらず (Lilly *et al.*, 2005; 加賀ら, 2006), 本邦において毒性を有する *A. minutum* が存在するかどうかは明らかではない。2020年6月に津軽海峡内の知内沖および函館港内において, 形態学的に *A. minutum* と同定される細胞が出現した。北海道における本種の出現に関する既往知見はないことから, 同定の根拠となった形態学的特徴と出現状況について報告

する。

### 試料及び方法

**試料** 津軽海峡内北海道沿岸の知内沖定点 (Fig. 1) において, 2020年6月17, 18日と7月9日および8月19日に, バンドン採水器を用いて深度0, 10, 20 m層から海水を採取した (Table 1)。また, 函館水産試験場前の函館港内の水深約8 mの岸壁 (Fig. 1) から2020年6月18, 22日と7月22日, 8月11日にバンドン採水器を用いて深度0, 5 m層から海水を採取した。採水と同時に多項目水質計 (AST-200-PKまたはRINKO Profiler ASTD102, JFEアドバンテック) によって水温および塩分の鉛直分布を測定した。

**方法** 実験室に持ち帰った後に海水試料1 Lないし500 mLを目合い20 µmのプランクトンネットで10 mLにろ過濃縮し, 終濃度1%のグルタルアルデヒドで固定した。固定試料1 mLを1.8 cm×2.3 cmの型枠を施したチャンバー型スライドガラスに滴下し, 鍍板を染色するための蛍光増白剤 (WhitexBB, 住友化学) を終濃度0.01%になるよう添加した。この試料を倒立型落射蛍光顕微鏡 (Eclipse Ti-

S, ニコン) を用いてUV励起光下で対物レンズの倍率60倍で観察した。A. *minutum*様の細胞が検出された場合, UV励起光下で本種同定の際の根拠となる鑑板(頂孔板, 第1頂板(1')と第4頂板(4')縫合線上の腹孔, 第6前帯板(6''), 後縦溝板)の形態を観察した。これらを顕微鏡に付属のデジタルCCDカメラ(DS-Ri1, ニコン)で撮影した。また, 腹面観から細胞の長さや幅が分かるようにピントを合わせて同様に顕微鏡写真を撮影した。得られた顕微鏡写真から画像解析ソフト(ImageJ)を用いて細胞長および細胞幅を計測した。

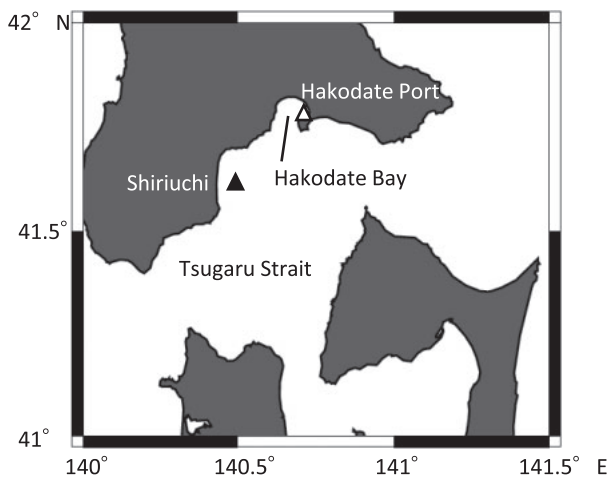


Fig.1 Map showing two sampling stations in the northern coast of Tsugaru Strait, Japan. Open and closed triangles indicate the sampling stations in Hakodate Port and offshore Shiriuchi, southern Hokkaido, respectively.

## 結果

**種同定** 細胞はほぼ球形で(Fig. 2A), 腹面観から測定した細胞長は23~28  $\mu\text{m}$ , 細胞幅24~29  $\mu\text{m}$ であった( $n = 14$ )。細胞長に対する細胞幅の比は0.92~1.1の範囲であり, 細胞長が細胞幅よりも長い細胞( $n=4$ )と細胞幅が細胞長よりも長い細胞( $n=10$ )が存在した。頂孔板(APC)は, ほぼ三角形で接続孔がなく(Fig. 2B), 1'と4'の縫合線上に腹孔が認められた(Fig. 2C)。さらに, 6''は縦に長く(Fig. 2C), 後縦溝板は横長で接続孔がなかった(Fig. 2D)。また, 下殻に網目模様はなかった(Fig. 2D)。以上の形態学的特徴から, 本種をA. *minutum*と同定した(Montresor *et al.*, 2004; Lilly *et al.*, 2005; Branco *et al.*, 2020)。

**出現状況** 知内沖において, A. *minutum*は2020年6月17日に深度0 mで270 cells  $\text{L}^{-1}$ 検出され, 翌6月18日に420 cells  $\text{L}^{-1}$ 出現したが, 7月9日および8月19日の調査では

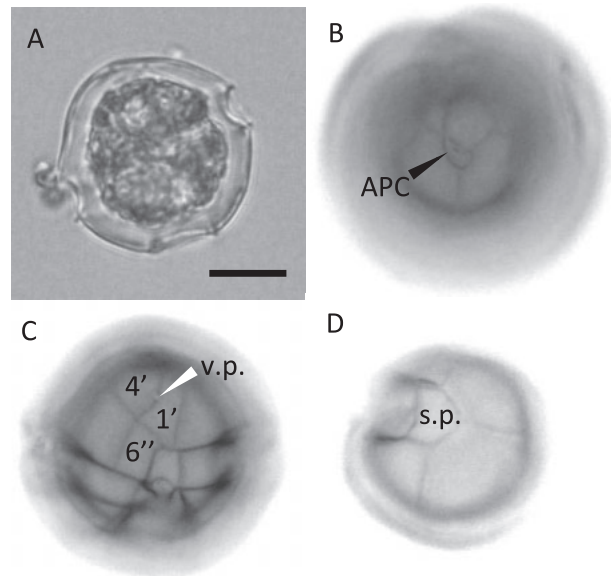


Fig.2 Microphotographs of *Alexandrium minutum* collected from offshore Shiriuchi, Tsugaru Strait in Hokkaido, Japan. Ventral view under an inverted light microscope (A). Apical view (B), ventral view (C), and antapical view (D) under an inverted epifluorescent microscope. A scale bar (black line) indicates 10  $\mu\text{m}$ . The black and white arrows indicate apical structure complex (APC) and ventral pore (v.p.) between 1' and 4', respectively; s.p. sulcal plate. All inverted microphotographs are inverted to right and left, and all fluorescent microphotographs are reversed negative/positive using a computer software (JTrim).

検出されなかった(Table 1)。函館港内において, A. *minutum*は2020年6月18日に400 cells  $\text{L}^{-1}$ 検出され, 6月22日に460 cells  $\text{L}^{-1}$ 出現したが, 7月22日および8月11日の調査では検出されなかった(Table 1)。A. *minutum*が出現した2020年6月に, 知内沖および函館港において, その他の*Alexandrium*属としてA. *tamarensis* species complex(1'と4'の縫合線上に腹孔が存在する旧A. *tamarensis*タイプ)が最大90 cells  $\text{L}^{-1}$ 検出された(Table 1)。また, 7月に函館港内においてA. *tamarensis* species complex(腹孔が存在する旧A. *tamarensis*タイプと腹孔が存在しない旧A. *catenella*タイプ), A. *insuetum*およびA. *pseudogonyaulax*が出現した。A. *minutum*が検出されたとき, 水温は12.9~15.7 $^{\circ}\text{C}$ , 塩分は32.87~34.02の範囲であった(Table 1)。

**Table 1** Summary of sampling location, date, water depth (m), water temperature (°C), cell density of *Alexandrium minutum* (cells L<sup>-1</sup>), and cell density of the other *Alexandrium* species (cells L<sup>-1</sup>) detected during the sampling period. \*At complex indicates *A. tamarense* species complex, and +/-v.p. indicate the presence/absence of the ventral pore between the 1' and 4'.

Station	Date	Depth (m)	Water temperature (°C)	Salinity	Cell density of <i>Alexandrium</i> spp. (cells L <sup>-1</sup> )				
					<i>A. minutum</i>	At complex (+v.p.)*	At complex (-v.p.)*	<i>A. insuatum</i>	<i>A. pseudogonyaulax</i>
Shiriuchi	2020/6/17	0	15.0	33.78	270	70	0	0	0
Shiriuchi	2020/6/17	10	12.9	34.02	30	90	0	0	0
Shiriuchi	2020/6/17	20	12.3	34.08	0	10	0	0	0
Shiriuchi	2020/6/18	0	15.3	33.75	420	40	0	0	0
Shiriuchi	2020/6/18	10	12.5	34.07	0	20	0	0	0
Shiriuchi	2020/6/18	20	11.4	34.13	0	0	0	0	0
Shiriuchi	2020/7/9	0	18.0	33.73	0	0	0	0	0
Shiriuchi	2020/7/9	10	16.6	33.89	0	0	0	0	0
Shiriuchi	2020/7/9	20	15.4	34.04	0	0	0	0	0
Shiriuchi	2020/8/19	0	22.4	33.72	0	0	0	0	0
Shiriuchi	2020/8/19	10	22.0	33.78	0	0	0	0	0
Shiriuchi	2020/8/19	20	21.6	33.85	0	0	0	0	0
Hakodate Port	2020/6/18	0	15.6	32.87	400	80	0	0	0
Hakodate Port	2020/6/18	5	14.0	33.62	100	40	0	0	0
Hakodate Port	2020/6/22	0	15.7	33.70	460	40	0	0	0
Hakodate Port	2020/6/22	5	15.1	33.74	60	0	0	0	0
Hakodate Port	2020/7/22	0	21.3	33.40	0	80	180	160	20
Hakodate Port	2020/7/22	5	19.5	33.64	0	0	0	0	0
Hakodate Port	2020/8/11	0	21.1	33.46	0	0	0	0	0
Hakodate Port	2020/8/11	5	20.5	33.59	0	0	0	0	0

考 察

*Alexandrium minutum*の出現は、三重県の矢湾において国内で初めて確認されて以降 (Yuki, 1994), 東京湾や岩手県大船渡湾, 香川県屋島湾から報告されている (水尾・鳥海, 2005; 加賀ら, 2006; 結城・吉松, 2012)。本報告は北海道における本種の初記録であり, 本種の本邦における分布北限の記録となる。本種は大西洋側ではヨーロッパ沿岸を中心にスウェーデン沿岸など比較的高緯度まで分布することが知られている (Lewis *et al.*, 2018)。他方, 太平洋側では, 日本海のピョートル大帝湾やオホーツク海のアニワ湾の海底堆積物から*A. minutum*のシストが確認されているもの (Orlova *et al.*, 2004), 我々の知る限り, 本種の栄養細胞の出現は北海道以北では知られておらず, 北海道は太平洋岸における本種の分布の北限に近い。なお, 最近の分子系統学的な研究によって, これまで*A. minutum*とされてきた下殻全体に網目模様が存在する集団は, 遺伝的に*A. minutum*と異なる独立したクレードを形成するため, *A. fragae*として新種記載された (Branco *et al.*, 2020)。国内の三重県の矢湾や香川県屋島湾において*A.*

*minutum*とされていた細胞の一部や岩手県産の*A. minutum*とされていた株では下殻に網目模様の存在が報告されており (Yuki, 1994; 加賀ら, 2006; 結城・吉松, 2012), これらは*A. fragae*に該当すると考えられる。本研究で知内沖および函館港内で出現が確認された細胞には下殻に網目模様はなく, 全て*A. minutum*同定された。さらに分子系統学的な解析によって, *A. minutum*は台湾やニュージーランドに分布するPacific cladeと, ヨーロッパとオーストラリアなどに分布するGlobal cladeに分かれることが知られており, 形態学的に両クレードを分類することは困難とされている (Lilly *et al.*, 2005)。双方のクレードの株の大部分で麻痺性貝毒成分産生能が報告されているが, 一部の株で麻痺性貝毒産生能がないことが報告されている (Lilly *et al.*, 2005; Lewis *et al.*, 2018)。道南に出現した*A. minutum*の分子生物学的なクレードと毒性の有無を明らかにすることは, 本種による貝毒の発生リスクを評価する上で, 今後の課題となろう。

地中海のアドリア海北部において, *A. minutum*の細胞密度の増加とムラサキガイの毒化の関係が調べられている (Honsell *et al.*, 1996)。それによると, 本種が480 cells

L<sup>-1</sup>出現したときに、毒量は検出限界以下 (<0.3 µg STXeq g<sup>-1</sup>) であり、2,320 cells L<sup>-1</sup>に増加したときに1.3 µg STXeq g<sup>-1</sup>に達した。1 MUを0.2 µg STXとして換算すると(村上・野口, 2000), 0.3 µg STXeq g<sup>-1</sup>と1.3 µg STXeq g<sup>-1</sup>は、それぞれ1.5 MU g<sup>-1</sup>と6.5 MU g<sup>-1</sup>に相当し、*A. minutum*が2,320 cells L<sup>-1</sup>出現したときに、本邦における出荷自主規制値(4 MU g<sup>-1</sup>)を超えて毒化したことになる。本研究で*A. minutum*は知内沖において6月に最大420 cells L<sup>-1</sup>、函館港で最大460 cells L<sup>-1</sup>出現しており、この密度はアドリア海においてムラサキイガイの毒化が確認されたときの約5分の1である。本種が出現した期間、津軽海峡において検査された養殖ホタテガイから出荷自主規制値(4 MU g<sup>-1</sup>)を超える麻痺性貝毒は検出されなかった(北海道庁ホームページ<http://www.pref.hokkaido.lg.jp/sr/ske/contents/kaidokujyouhou/kiseijyouhou.htm>, 2020年8月11日閲覧)が、その理由は、出現していた*A. minutum*が無毒株であった可能性と有毒株であったとしても細胞密度が低かったため二枚貝の毒化に至らなかった可能性とが考えられる。麻痺性貝毒の蓄積量には二枚貝の種間で差があることから(村上・野口, 2000), 本種の出現状況と二枚貝の毒化に関する知見を蓄積し、北海道における本種の出現量と二枚貝毒化の関係を検討することが必要であろう。本種の出現が確認された水温および塩分の範囲は、これまでに世界各地で本種の増殖が確認されている範囲内(水温12℃から30℃以上、塩分11~46)であり(Lewis *et al.*, 2018), 津軽海峡内で増殖が可能であった可能性が高い。他方、増殖可能な水温および塩分の範囲内であったにも関わらず7, 8月には津軽海峡内で本種は出現しなかったことから、水温や塩分以外にも本種の出現に重要な環境条件が存在すると考えられる。津軽海峡における本種の季節消長や本種の増殖に好適な環境条件を明らかにするためには本種の出現状況と環境条件に関する知見の蓄積が必要であろう。

本研究によって北海道南部における*A. minutum*の出現が明らかとなった。麻痺性貝毒産生種である*A. minutum*について分布動態および毒性を明らかにすることは、本種による貝毒発生リスクを把握する上で今後重要な課題と言える。また、本研究では*A. minutum*と同時に、形態が似る*A. tamarense* species complexも出現していることから(Table 1), モニタリングの際には慎重な同定が要求される。

## 謝 辞

調査にご協力いただいた上磯郡漁業協同組合ならびに渡島地区水産技術普及指導所に厚く御礼申し上げます。

## 引用文献

- Branco S, Oliveira MMM, Salgueiro F, Vilar MCP, Azevedo SMFO, Menezes M. Morphology and molecular phylogeny of a new PST-producing dinoflagellate species: *Alexandrium fragae* sp. nov. (Gonyaulacales, dinophyceae). *Harmful Algae* 2020; 95: 101793.
- Honsell G, Poletti R, Pompei M, Sidari L, Milandri A, Casadei C, Viviani R. *Alexandrium minutum* Halim and PSP contamination in the northern Adriatic Sea (Mediterranean Sea). In: Yasumoto T, Oshima Y, Fukuyo Y(eds). Harmful and toxic algal blooms. UNESCO, Paris, France. 1996: 77-80.
- 加賀新之助, 関口勝司, 吉田誠, 緒方武比古. 岩手県沿岸に出現する*Alexandrium*属とその毒生産能. 日本水産学会誌2006; 72: 1068-1076.
- Lewis AM, Coates LN, Turner AD, Percy L, Lewis J. A review of the global distribution of *Alexandrium minutum* (Dinophyceae) and comments on ecology and associated paralytic shellfish toxin profiles, with a focus on northern Europe. *J. Phycol.* 2018; 54: 581-598.
- Lilly EL, Halanych KM, Anderson DM. Phylogeny, biogeography, and species boundaries within the *Alexandrium minutum* group. *Harmful Algae* 2005; 4: 1004-1020.
- 水尾寛己, 鳥海三郎. 東京湾で観察された、渦鞭毛藻 *Alexandrium minutum* Halim. 横浜市環境科学研究所報 2005; 30: 20-23.
- Montresor M, John U, Beran A, Medlin LK. *Alexandrium tamutum* sp. nov. (Dinophyceae): A new nontoxic species in the genus *Alexandrium*. *J. Phycol.* 2004; 40: 398-411.
- 村上りつ子, 野口玉雄. 麻痺性貝毒—最近の知見を中心に—. 食品衛生学雑誌2000; 41: 1-10.
- Orlova TY, Morozova TV, Gribble KE, Kulis DM, Anderson M. Dinoflagellate cysts in recent marine sediments from the east coast of Russia. *Bot. Mar.* 2004; 47: 184-201.
- Yuki K. First report of *Alexandrium minutum* Halim (Dinophyceae) from Japan. *Jpn. J. Phycol.* 1994; 42: 425-430.
- 結城勝久, 吉松定昭. 屋島湾における渦鞭毛藻*Alexandrium minutum* Halimと*Alexandrium ostenfeldii* (Paulsen) Balech et Tangenの出現. 香川県赤潮研究所研究報告 2012; 8: 1-6.