

## 北海道沿岸域における *Alexandrium tamarense* species complex の分子検出法に基づく分布および *Alexandrium* 属未同定種の出現 (資料)

宮園 章<sup>\*1</sup>, 嶋田 宏<sup>2</sup>, 水上卓哉<sup>3</sup>, 本前伸一<sup>4</sup>, 本家一彦<sup>5</sup>, 牧本浩一<sup>6</sup>, 南 護<sup>7</sup>, 朝倉 健<sup>8</sup>, 小林和馬<sup>8</sup>, 佐々木隆浩<sup>9</sup>, 稲村明宏<sup>10</sup>, 一ノ瀬寛之<sup>11</sup>, 金濱博樹<sup>12</sup>, 一ノ尾大介<sup>13</sup>, Wai Mun LUM<sup>14</sup>, 坂本節子<sup>15</sup>

<sup>1</sup> 北海道立総合研究機構水産研究本部中央水産試験場, <sup>2</sup> 北海道立総合研究機構水産研究本部釧路水産試験場,  
<sup>3</sup> 北海道立総合研究機構水産研究本部函館水産試験場, <sup>4</sup> 石狩地区水産技術普及指導所,  
<sup>5</sup> 網走東部地区水産技術普及指導所, <sup>6</sup> 根室地区水産技術普及指導所標津支所,  
<sup>7</sup> 根室地区水産技術普及指導所, <sup>8</sup> 釧路地区水産技術普及指導所, <sup>9</sup> 十勝地区水産技術普及指導所,  
<sup>10</sup> 日高地区水産技術普及指導所静内支所, <sup>11</sup> 胆振地区水産技術普及指導所, <sup>12</sup> 渡島地区水産技術普及指導所,  
<sup>13</sup> 渡島北部地区水産技術普及指導所, <sup>14</sup> 三重大学生物資源学部, <sup>15</sup> 水産研究・教育機構水産技術研究所

Molecular identification using the LAMP method reveals the distribution of the *Alexandrium tamarense* species complex and the presence of unidentified *Alexandrium* spp. in Hokkaido (Note)

AKIRA MIYAZONO<sup>\*1</sup>, HIROSHI SHIMADA<sup>2</sup>, TAKUYA MIZUKAMI<sup>3</sup>, SHINICHI MOTOMAE<sup>4</sup>, KAZUHIKO HONKE<sup>5</sup>, KOUICHI MAKIMOTO<sup>6</sup>, MAMORU MINAMI<sup>7</sup>, KEN ASAKURA<sup>8</sup>, KAZUMA KOBAYASHI<sup>8</sup>, TAKAHIRO SASAKI<sup>9</sup>, AKIHIRO INAMURA<sup>10</sup>, HIROYUKI ICHINOSE<sup>11</sup>, HIROKI KANAHAMA<sup>12</sup>, DAISUKE ICHINOO<sup>13</sup>, WAI MUN LUM<sup>14</sup> and SETSUKO SAKAMOTO<sup>15</sup>

<sup>1</sup> Central Fisheries Research Institute, Hokkaido Research Organization, *Yoichi, Hokkaido 046-8555*,  
<sup>2</sup> Kushiro Fisheries Research Institute, Hokkaido Research Organization, *Kushiro, Hokkaido 085-0027*,  
<sup>3</sup> Hakodate Fisheries Research Institute, Hokkaido Research Organization, *Hakodate, Hokkaido 040-0051*,  
<sup>4</sup> Ishikari Fisheries Technical Guidance Office, Ishikari General Subprefectural Bureau, Hokkaido Government, *Atsuta, Hokkaido 061-3601*,  
<sup>5</sup> Abashiri-Toubu Fisheries Technical Guidance Office, Okhotsk General Subprefectural Bureau, Hokkaido Government, *Abashiri, Hokkaido 093-8585*,  
<sup>6</sup> Shibetsu Fisheries Technical Guidance Office, Nemuro General Subprefectural Bureau, Hokkaido Government, *Shibetsu, Hokkaido 086-1634*,  
<sup>7</sup> Nemuro Fisheries Technical Guidance Office, Nemuro General Subprefectural Bureau, Hokkaido Government, *Nemuro, Hokkaido 087-8588*,  
<sup>8</sup> Kushiro Fisheries Technical Guidance Office, Kushiro General Subprefectural Bureau, Hokkaido Government, *Akkeshi, Hokkaido 088-1118*,  
<sup>9</sup> Tokachi Fisheries Technical Guidance Office, Tokachi General Subprefectural Bureau, Hokkaido Government, *Hiroo, Hokkaido 089-2611*,  
<sup>10</sup> Shizunai Fisheries Technical Guidance Office, Hidaka General Subprefectural Bureau, Hokkaido Government, *Shizunai, Hokkaido 056-0005*,  
<sup>11</sup> Iburi Fisheries Technical Guidance Office, Iburi General Subprefectural Bureau, Hokkaido Government, *Muroran, Hokkaido 051-8558*,  
<sup>12</sup> Oshima Fisheries Technical Guidance Office, Oshima General Subprefectural Bureau, Hokkaido Government, *Hakodate, Hokkaido 041-8558*,  
<sup>13</sup> Oshima-Hokubu Fisheries Technical Guidance Office, Oshima General Subprefectural Bureau, Hokkaido Government, *Mori, Hokkaido 049-2313*,  
<sup>14</sup> Department of Marine Bioresources, Mie University, *Tsu, Mie 514-8507*,  
<sup>15</sup> Fisheries Technology Institute, Japan Fisheries Research and Education Agency, *Hatsukaichi, Hiroshima 739-0452, Japan*

キーワード : *Alexandrium catenella* (Group I), *Alexandrium pacificum* (Group IV), *Alexandrium tamarense* species complex, LAMP法



表1 *Alexandrium tamarense* species complexの分子生物学的検討のためのサンプリング計画（2024年）とLAMP法によるDNA分析に供された試料数

海域	地域	採集場所	月	採集深度 (m)	検鏡に要した試料数	採集機関	検鏡機関	LAMP法に供した試料数	
日本海	石狩湾	浜益	7月~10月	0,10,20,30	16	石狩水指	中央	0	
		余市	8月~10月	0	12	中央	中央	6	
		余市*	2019年8月	0	7	中央	中央	7	
オホーツク海	根室海峡	常呂	6月~7月	0,10,20,30	16	網走東部水指	中央	2	
		沖合	6月, 7月	0,10,20	54	北洋丸・中央	中央	54	
		標津	6月~7月	0,5,10,15	8	根室水指標津	中央	4	
太平洋	太平洋東部	歯舞	5月~8月	0	10	根室水指	中央	2	
		厚岸	5月~8月	0,5,10,13	16	釧路水指	中央	14	
		釧路	5月~8月	0	4	三重大・釧路	釧路	2	
		大津	5月~8月	0	7	十勝水指	中央	4	
		沖合	7月~10月	0	7	北辰丸・中央	中央	6	
		太平洋西部	静内	5月~6月	0,10,20,25	16	日高水指静内	函館	11
			苫小牧	5月~8月	0,12	7	胆振水指	中央	4
	噴火湾	虻田	5月~8月	0,10,20,25	16	胆振水指	函館	9	
		八雲	5月~8月	0	4	三重大・函館	函館	1	
		鹿部	5月~8月	0,10,20,30	16	渡島北部水指	函館	8	
津軽海峡	函館*	2019年7月	0	1	中央	中央	5		
	知内	5月~8月	0,10,20	12	渡島水指	函館	1		

採集機関の水指は水産技術普及指導所を示し、中央・釧路・函館はそれぞれ水産試験場を示す。

\*2019年に中央水試によって採集されたDNA凍結保存サンプル。

出現頻度が高い時期を想定してDNAサンプルを採取し、これに2019年に中央水試で採取した余市前浜と函館のDNAサンプルを追加した(表1の\*)。オホーツク海沖合のDNAサンプルは道総研中央水試が稚内水試所属の北洋丸で行った麻痺性貝毒プランクトンのオホーツク海沖合調査に合わせて6月上旬と7月下旬に採取し、釧路水試所属北辰丸で行った太平洋沖合の7月の*Karenia selliformis*の分布調査で得られたDNAサンプルを利用した(表1, 図1)。集めたDNAサンプルのうち、同時に採取された検鏡用サンプルにAtscの細胞が確認されたものがDNA分析に供された(表1)。

北洋丸では採取した海水1Lを実験室においてニュークリポアフィルター(φ47 mm, 目合5 μm, ワットマン)で濾過したのち、フィルターを折りたたみながら定性濾紙で水気を切り、フィルターに捕集された粒子を1.5 mLマイクロチューブに入れて-40℃以下で凍結保存した。北辰丸では採取した海水500 mLを実験室においてニュークリポアフィルタ(φ47 mm, 目合3 μm, ワットマン)で濾過した。

DNAは5% Chelex懸濁液を使った加熱抽出法(97℃, 20分)で抽出し、LAMP法(牛久保, 2004)による*A.*

*catenella* (Group I) と *A. pacificum* (Group IV) のDNAの有無を検査した。分析の詳細は宮園ら(2024)を参照のこと。

LAMP法で*A. catenella* (Group I) と *A. pacificum* (Group IV) のDNAが検出されなかった25サンプルについてはAtscに属する5種のマルチプレックスqPCR法(坂本, 未発表)を用いてDNA分析を行った。

また、上記の25サンプルにはAtscとして計数された*Alexandrium* 属未同定種(以降, UIA)が存在した可能性があったので、厚岸、標津およびオホーツク沖合の1%ホルマリン固定標本を用いて倒立顕微鏡(Nikon Eclipse Ti-U)を用いた形態観察による種同定を試みた。calcofluor white M2R(シグマアルドリッチ)による蛍光染色と蛍光観察で*Alexandrium* 属を確認し、マイクロピペットでピックアップした1細胞をスライドガラス上に置いてカバーガラスをかけた後、柄付針でカバーガラスを圧迫することで原形質と殻を分離した。殻を用いて高倍率(接眼×10, 対物×40)の位相差観察を行った。図2の灰色で示した頂孔板(Po), 第1頂板(1'), 第3頂板(3'), 第6前帯板(6''), 後縦溝板(sp)の形状や腹孔(vp), 後部接続孔(pap)の有無は種同定の重要な形態的

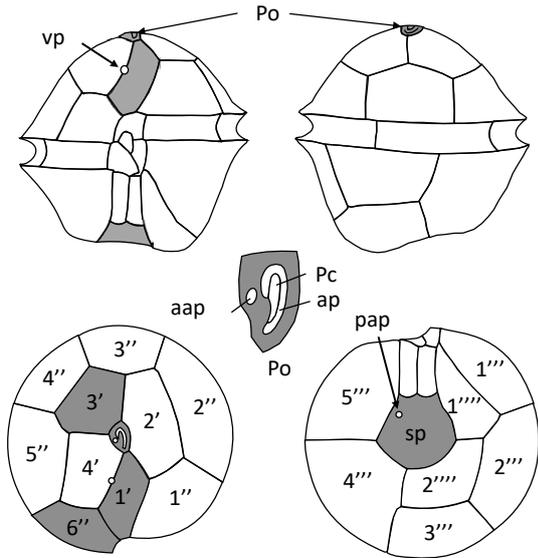


図2 *Alexandrium*属の殻板配列（模式図：宮園 2025から引用）。  
 左上：腹面図，右上：背面図，中央：頂孔板，左下：上面図，右下：下面図，1'~4'：第1~第4頂板，1''~6''：第1~第6前帯板，1'''~5'''：第1~第5後帯板，1''''~2''''：第1~第2底板，aap：前部接続孔，ap：頂孔，Po：頂孔板，pap：後部接続孔，Pc：閉鎖小板，sp：後縦溝板，vp：腹孔。

特徴となる。既知の *Alexandrium* 属の形態的特徴（加賀ら, 2006；Montresor *et al.*, 2004；Brown *et al.*, 2010；Branco *et al.*, 2020；夏池・金森, 2021）を参考にしてUIAの形態観察を行った。さらに，Atscの出現密度が1000細胞 L<sup>-1</sup>を超え，*A. catenella* (Group I)のDNAが検出されたオホーツク海沖合7月の5サンプル(OA10 0 m, O14 20 m, OA03 0 m, O23 0 m, O32 0 m)については，低倍率でAtscと同定された10~50細胞をランダムに選び，高倍率で細胞幅を接眼マイクロメーターで計測したのち，原形質を外した殻を位相差検鏡観察してAtscとUIAを区別し，それぞれの地点におけるこれらの出現割合を求めた。殻を脱ぎかけた細胞が多かったため，細胞長はサイズ確認に用いなかった。

結果

分子分類学的種判別による *A. catenella* (Group I) と *A. pacificum* (Group IV) の分布 LAMP法による分子分類学的種判別の結果を表2に示す。*A. catenella*(Group I)は日本海には出現せず，オホーツク海，根室海峡，太平洋および津軽海峡に出現した。他方，*A. pacificum* (Group

表2 Atsc出現サンプルのLAMP法によるDNA分析結果：2024年北海道沿岸における*A. catenella* (Group I)と*A. pacificum* (Group IV)の出現状況

海 域	地 域	採集場所	5月	6月	7月	8月	備 考
日本海	石狩湾	余市	-	-	□ ×	×	Apは7月16日のみ出現
		余市*	-	-	-	□ ×	Apは8月21日のみ出現
		浜益	-	×	-	-	
オホーツク海	根室海峡	常呂	-	-	-	-	
		沖合	-	○	○ ×	-	
太平洋	太平洋東部	標津	-	○ ×	○ ×	-	
		歯舞	-	○ ×	-	-	
		厚岸	○	○	○ □	○ □ ×	ApはAcと同時に出現
		釧路	-	○ ×	○ □	○ □	ApはAcと同時に出現
	太平洋西部	沖合	-	-	○ □	-	ApはAcと同時に出現
		大津	-	-	○	-	
		静内	○	○	-	-	
		苫小牧	○	○	○	-	ApはAcと同時に出現
噴火湾	虻田	○	○ □	○	×		
	八雲	○	○	-	-		
	鹿部	○	-	○	-		
津軽海峡	函館*	-	○	□	-		
	知内	○	-	-	-		

○： *A. catenella* (Group I)(Ac), □： *A. pacificum* (Group IV)(Ap), ×：未検出, -：未検討  
 \*2019年に採集されたもの。

IV) は日本海の石狩湾と太平洋および津軽海峡に出現し、オホーツク海と根室海峡には出現しなかった。このことから、北海道沿岸における *A. catenella* (Group I) と *A. pacificum* (Group IV) の分布域は従来の貝毒プランクトンモニタリングで得られた認識で間違いないことが確認された。石狩湾における *A. pacificum* (Group IV) の出現を遺伝形質で確認したのは本報告が初めてである。2023年の調査では厚岸、十勝港、知内で両種が同時に出現した(宮園ら, 2024)が、2024年の調査では厚岸、釧路、太平洋沖合および苫小牧で両種が同時に出現した。両種は場所・年度によっては同時出現する可能性があること

が再確認された。

表3にはLAMP法で *A. catenella* (Group I) と *A. pacificum* (Group IV) が未検出と判定されたサンプルのAtscのマルチプレックスqPCR法による分析結果を示した。マルチプレックスqPCR分析では、オホーツク沖合の5サンプル(2024年6月のO14, O33, 7月のO32, OA24, O46)、標津(2024年6月)および余市(2019年6月)から *A. catenella* (Group I) のDNAが検出された。余市(2019年6月)から *A. pacificum* (Group IV) のDNAが検出された。これらのうち、検出濃度が低かったもの(< 100 copies/μL)についてはDNAの痕跡を捉えた可能

表3 LAMP法で*A. catenella* (Group I) と *A. pacificum* (Group IV)のDNAが検出されなかったサンプルについてマルチプレックスqPCR法によるAtsc 5種のDNAを分析した結果

海 域	地 域	Sample No.	検出濃度(copies/μL)				
			<i>A. catenella</i> (Group I)	<i>A. mediterraneum</i> (Group II)	<i>A. tamarensis</i> (Group III)	<i>A. pacificum</i> (Group IV)	<i>A. australiense</i> (Group V)
オホーツク海		O12 (20240604_0)	0	0	0	0	0
		O14 (20240604_0)	16	0	0	0	0
		O32 (20240604_0)	0	0	0	0	0
		O33 (20240604_0)	11	0	0	0	0
		O24 (20240724_0)	±	0	0	0	0
		O32 (20240724_10)	10871	0	0	0	0
		OA24 (20240724_10)	7	0	0	0	0
		O46 (20240725_10)	7	0	0	0	0
	根室海峡	標津 (20240612_10)	85	0	0	0	0
太平洋	太平洋東部	厚岸 (20240606_13)	0	0	0	0	0
		厚岸 (20240801_13)	0	0	0	0	0
	噴火湾	鹿部 (20240723_0)	0	0	0	0	0
		虻田 (20240723_10)	0	0	0	0	0
	虻田 (20240807_20)	0	0	0	0	0	
	虻田 (20240807_25)	0	0	0	0	0	
日本海	石狩湾	余市 (20240809_0)	0	0	0	0	0
		余市 (20240709_0)	0	0	0	0	0
		余市 (20240802_0)	0	0	0	0	0
		余市 (20240814_0)	0	0	0	0	0
		余市 (20190625_0)	9	0	0	8	0
		余市 (20190802_0)	0	0	0	±	0
		余市 (20190820_0)	0	0	0	0	0
		余市 (20190822_0)	0	0	0	0	0
		余市 (20190917_0)	0	0	0	0	0
余市 (20191002_0)	±	0	0	0	0		

2分析以上で<37で検出されたものを陽性と判定。検出濃度 (copies/μL)を記載  
±: 擬陽性 (2分析以上で>37サイクルで検出)

表 4 北日本に出現する *Alexandrium* 属の形態的特徴 (加賀ら, 2006; 夏池・金森, 2021) と未同定の *Alexandrium* 属 (UIA) type 1, type 2 の形態的特徴

種 名	低倍率観察**で確認できる特徴				高倍率観察**で確認できる特徴				引用文献				
	細胞サイズ μm	腹面観	細胞後部の 下端の形状	縦溝の 形状	頂孔板 (Po)	第1頂板 (I)	前部接続孔 (aep)	頂孔 (vp)		後縦溝板 (SP)	後部接続孔 (pap)	第6前溝板 (G)	殻板の 表面構造
<i>A. catanella</i> (Group I) (旧 <i>A. tamarense</i> )	CL:24.5-44.1 CW:24.5-39.2	球形	凹む	下端まで ほぼ平行	腹側を上底 とする台形	頂孔板に点接 前縦溝板に線 接	頂孔の右/ 開口なし	あり	縦溝同じ 五角形	後部縦溝板 の右側	幅広	模様・小孔 無し	加賀ら(2006) Brown <i>et al.</i> (2010)
<i>A. tamutum</i>	CL:16-36.8 CW:24.5-34.3	球形	フラット		小さい 長めの三角	頂孔板に点接 前縦溝板に線 接		あり	横長 ほぼ五角形		幅広	模様・小孔 無し	加賀ら(2006) Montresor <i>et al.</i> (2004) Brown <i>et al.</i> (2010)
<i>A. fragae</i>	CL:18.5-31.8 CW:16.8-25.6	上殻丸み 下殻丸み小	フラット	下端まで ほぼ平行	三角に 近い台形	頂孔板に点接 前縦溝板に線 接	なし	あり	横長 ほぼ五角形		幅狭/ 幅広	下殻に網目 模様あり	加賀ら(2006) Branco <i>et al.</i> (2020)
<i>A. minutum</i>	CL:14.7-28 CW:14.7-29	上殻丸み 下殻丸み小	フラット	下端幅広	三角に 近い台形	頂孔板に点接 前縦溝板に線 接	頂孔の右/ 開口なし	あり	横長 ほぼ五角形		幅狭	網目模様 無し	Montresor <i>et al.</i> (2004) Brown <i>et al.</i> (2010) 夏池・金森 (2021)
<i>A. pacificum</i> (Group IV) (旧 <i>A. catenella</i> )		前後に扁平	凹む	下端幅広	角ばった タイラギ型	頂孔板に点接 前縦溝板に線 接	頂孔の 右に開口	なし	やや扁平 等辺五角形		幅広	模様・小孔 無し	加賀ら(2006)
<i>A. fraterculus</i>		角ばる			角ばった タイラギ型	頂孔板に点接 前縦溝板に線 接	頂孔の 右に開口	あり	大きい	後部縦溝板の ほぼ中央		大きな 小孔あり	加賀ら(2006)
<i>A. insuetum</i>		上殻丸み少下 殻丸み		下端まで ほぼ平行	丸味ある 三角形	頂孔板に 接しない	頂孔の 右に開口	あり	小さい 横長			明瞭な網目 模様あり	加賀ら(2006)
<i>A. ostenferdii</i>	CL:19.0-58.8 CW:29.4-58.8	丸味強い	フラット	下端まで ほぼ平行	特徴的な形状			あり 大きい				模様・小孔 無し	加賀ら(2006) Brown <i>et al.</i> (2010)
<i>A. pseudogonyaulax</i>	CL:22.0-55.0 CW:21.0-63.0	前後に扁平	下に凸 丸味		丸味ある三角 細長い			あり 4'に入らず			幅狭	模様・小孔 無し	加賀ら(2006) Brown <i>et al.</i> (2010)
UIA type 1		球形, やや扁平	凹む	下端まで ほぼ平行	丸味のある 三角形	頂孔板に点接 前縦溝板に面 接	なし	あり	五角形 縦溝同じ	なし	幅狭	模様・小孔 無し	本研究
UIA type 2	OD: 27.5-40.0	球形	フラット	下端 やや幅広	丸味ある 三角形	頂孔板に点接 前縦溝板に面 接	なし/ あり	あり	五角形 縦溝同じ	あり	幅広	模様・小孔 無し	本研究

CL:細胞長, CW:細胞幅, \*: 接眼×10, \*\*: 接眼×10, 対物×10, 対物×40

表5 UIA type 1, UIA type 2, *A. pseudogonyaulax*の出現状況

海 域	地 域	サンプル (年/月/日, 採集層)	Atscの 細胞数 細胞 L <sup>-1</sup>	UIA type 1	UIA type 2	<i>A. pseudo- gonyaulax</i>
オホーツク海	沖合	O12 (2024/6/4, 0 m)	10	×	○	×
		O14 (2024/6/4, 0 m)	30	×	○	×
		O32 (2024/6/4, 0 m)	30	×	○	×
		O33 (2024/6/4, 0 m)	30	×	○	×
		O24 (2024/7/24, 0 m)	40	×	×	○
		O32 (2024/7/24, 10 m)	50	○	×	×
		OA24 (2024/7/24, 10 m)	40	○	×	×
		O46 (2024/7/25, 10 m)	60	○	×	○
	根室海峡	標津 (2024/6/12, 10 m)	10	○	×	×
太平洋	太平洋東部	厚岸 (2024/8/1, 13 m)	320	○	○	×

○：検出，×：非検出

性がある。一方, *A. catenella* (Group I) の細胞当たりのDNA量は51,000~73,000 copies/cellsである(Yarimizu *et al.*, 2021) ことを考慮すれば, O32 (20240724\_10 m) のDNA濃度10,871 copies  $\mu\text{L}^{-1}$  はろ過した海水1 Lあたり2.9~4.2細胞が存在したことになる。LAMP法の分析感度はqPCR法の1/100~1/1,000程度である(坂本, 私信)ため, LAMP法ではネガティブであった可能性がある。また, Atscを厚生する*A. mediterraneum* (Group II), *A. tamarensis* (Group III) および*A. australiense* (Group V) のDNAは検出されなかった。

**UIAの検出と種同定のための形態的特徴** 津軽海峡を除く広域の複数サンプルでDNAを捕集するのに十分な細胞数密度のAtscが検鏡観察されたのに, Atscに属する種のDNAが未検出だったことはAtscに類似したUIAが存在する可能性を示した(表2の×)。UIAの種類を検索するために, 北日本に出現する*Alexandrium*属を形態学的に同定した先行事例として岩手県で報告されている*Alexandrium*属8種の形態的特徴(加賀ら, 2006)と津軽海峡における*A. minutum*の形態的特徴(夏池・金森, 2021)および既往知見(Montresor *et al.*, 2004; Brown *et al.*, 2010)を整理し, 併せて本研究で観察された後述のUIA type 1とUIA type 2の形態的特徴を表4に示した。LAMP法で*A. catenella* (Group I)と*A. pacificum* (Group IV)のDNAが検出されなかった25サンプルのうち, UIAが確認できた10サンプルの観察結果を表5に示した。種同定に至らなかったUIA2種はそれぞれ, UIA type 1, UIA type 2と称する。UIA type 1は7月のオホーツク海沖合, 6月の根室海峡および8月の太平洋東部に出現し, UIA type 2は6月のオホーツク海沖合と8月の太平洋東部に

出現した。*A. pseudogonyaulax*は7月のオホーツク海沖合で検出された。図3~5にUIA type1とUIA type 2および*A. pseudogonyaulax*の顕微鏡写真を示す。観察されたUIA type1とUIA type2は*A. catenella* (Group I)に比べると細胞の色が薄いことが特徴であった。細胞の色が薄いことは*A. minutum*グループ(*A. minutum*, *A. andersonii*, *A. tamutum*)に共通した特徴であることが指摘されている(Brown *et al.*, 2010)。UIA type 1とUIA type 2は小型(20~40  $\mu\text{m}$ )で細胞が丸く, 殻には模様がない。横溝のずれは一巻きなので低倍率の顕微鏡観察では外形による*A. catenella* (Group I)との区別はできない。第1頂板(1')と第4頂板(4')の間には腹孔(vp)があり, これも*A. catenella* (Group I)との区別には使えない。しかし, UIA type 1, UIA type 2の頂孔板(Po)は丸みを帯びた三角形であり, 第一頂板(1')とは点接するという特徴を持った。これは*A. minutum*と*A. tamutum*に共通の特徴である(Montresor *et al.*, 2004; 加賀ら, 2006)。*A. catenella* (Group I)と*A. pacificum* (Group IV)の頂孔板(Po)は第一頂板(1')と接する辺を上辺とする台形あるいはタイラギ型であり, 第一頂板(1')とは線接するため(加賀ら, 2006), これらの種判別の特徴になると判断した。しかし, Hansen *et al.* (2003)の*A. minutum*の形態比較観察では, 頂孔板(Po)と第一頂板(1')との接合が点接するタイプと線接するタイプが報告されており, この形態の違いが両種を区別できる特徴であるかどうかはさらなる検討が必要である。しかしながら, UIA type 1とUIA type 2に共通し, Atscとは異なるこの特徴は北海道沿岸に出現するAtscとUIA type 1, UIA type 2とを区別する形態的特徴として利用できると考えている。*A. minutum*

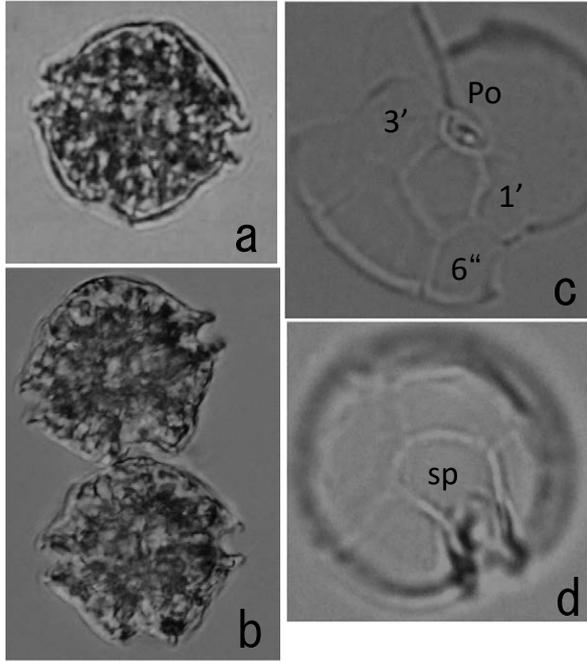


図3 UIA type 1.  
a: 細胞は丸い, 殻に模様なし, b: 2連鎖細胞あり, 殻長25×殻幅25 μm, c: 頂孔板 (Po) は丸味のある三角形, 第1頂板 (1') は頂孔板 (Po) と点接, 第6前帯板 (6'') は縦より横幅が狭いなど *A. minutum* タイプだが, d: 後縦溝板 (sp) の形状は横長ではない. 厚岸2024. 8. 1 深度13 m.

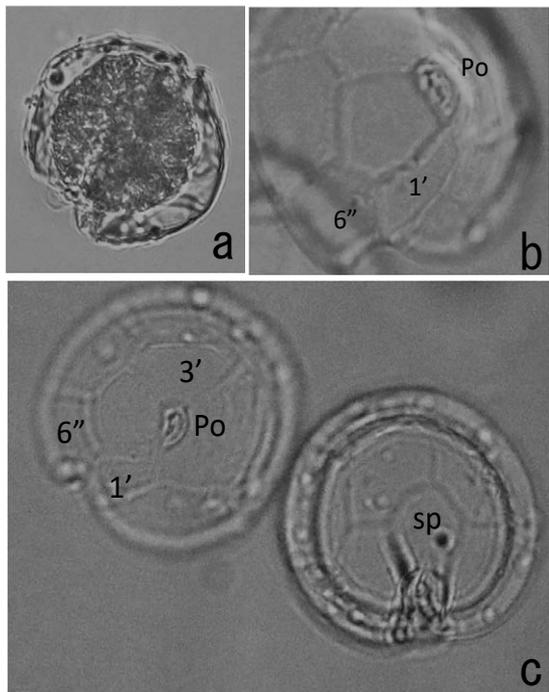


図4 UIA type 2.  
a: 細胞は丸い, 殻に模様なし, 殻長45×殻幅45 μm, b, c: 頂孔板 (Po) は丸味のある三角形, 第1頂板 (1') は頂孔板 (Po) と点接, 第6前帯板 (6'') は縦より横幅が広いなど, *A. tamutum* の特徴を有するが, c: 後縦溝板 (sp) の形状は横長ではない. オホーツク沖合 O12 2024. 6. 4 深度0 m.

の第6前帯板 (6'') は長さに対して幅が狭いのに対して *A. tamutum* はこれが広いという違いがあるため, 第6前帯板 (6'') の形状が両種の判別に利用できる (Montresor *et al.*, 2004; 加賀ら, 2006)。UIA type 1 は第6前帯板 (6'') の幅が狭い *A. minutum* の特徴を, UIA type 2 は第6前帯板 (6'') の幅が広い *A. tamutum* の特徴を持っていた。両種と *A. catenella* (Group I) を区別するもう一つの特徴は後縦溝板 (sp) の縦幅より横幅が広いことであるが (Montresor *et al.*, 2004), UIA type 1, UIA type 2 ともに後縦溝板 (sp) は縦・横の長さが同じくらいで *A. catenella* (Group I) とほとんど変らなかつた (図3, 4)。また, 岩手県に出現する *A. fragae* は下殻に網目模様を有するが, UIA type 1 の下殻には網目模様がなかつた。以上から, UIA type 1 を *A. minutum*, UIA type 2 を *A. tamutum* と同定するには至らなかつた。複数の細胞を観察した中には頂孔板 (Po) と第1頂板 (1') の接合具合が点接が線接か区別が困難な場合があつた。培養株を用いた形態観察によると, *Alexandrium* の頂孔板 (Po) の形は株による変化がある (Hansen *et al.*, 2003; Kim *et al.*, 2017) ので, 天然群の中でも同様の形状変化があれば, *A. catenella* (Group I) と UIA type 1 あるいは UIA type 2 との区別にあいまいさが生じるこ考えられる。また, 第6前帯板 (6'') と後縦溝板 (sp) の形状については顕微鏡観察時の殻の角度が少しずれると形の印象は大きく異なり, 縦・横の長さの違いから UIA type 1 と type 2 を区別することができな

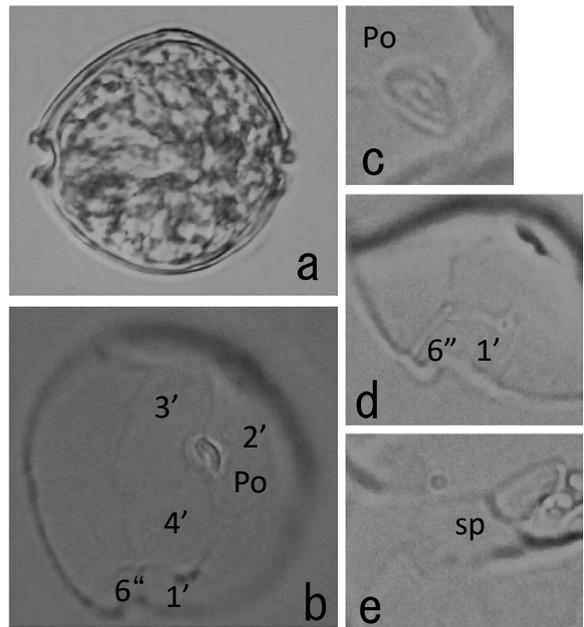


図5 *A. pseudogonyaulax*.  
a: 細胞は丸く扁平, 殻長28×殻幅33 μm, b: 殻に模様無し, b, c, d: 第1頂板 (1') は形状が特徴的で頂孔板 (Po) に接しない, e: 後縦溝板 (sp) は縦横同じ長さ. オホーツク沖合 O24 2024. 7. 24 深度0 m.

い場合があった。このため、UIA type 1 と type 2 を区別せず、UIA type 1/2 として扱うこととした。以上のことから、Atsc と UIA 1/2 の区別は低倍率の光学顕微鏡観察では難しいが、高倍率の光学顕微鏡観察では可能と判断した。*A. pseudogonyaulax* は第一頂板 (1') の形状が特徴的で第一頂板 (1') は頂孔板 (Po) に接しないため、高倍率の光学顕微鏡観察で判別できた (図 5)。

**Atsc の細胞数密度が高いサンプルにおける UIA の出現:**  
 上述の観察ポイントを使って、Atsc を多く含むサンプルにおける UIA の出現状況を確認した。前述のとおり UIA type1 と UIA type 2 は区別せず、ここでは UIA type1/2 と

して扱った。顕微鏡観察で確認された種類は *A. catenella* (Group I) と UIA type 1/2 および *A. pseudogonyaulax* であった (表 6)。図 6 にはそれぞれの形態的特徴による種判別事例を示した。これらのサイズ比較を行ったところ、細胞幅は *A. catenella* (Group I) では 22.5~37.5 μm, UIA type1/2 では 27.5~40 μm, *A. pseudogonyaulax* では 32.5~37.5 μm であり、*A. catenella* (Group I) が若干小さいものの、細胞幅からこれらは区別できないことがわかった (図 7)。3 種類の出現割合は地点によって大きく異なり、OA10, O14, O32 では *A. catenella* (Group I) が 50% 以上を占めたが、O23, OA03 では UIA type 1/2 がそれぞれ、70

表 6 貝毒プランクトンモニタリングでAtscとされた種類の位相差顕微鏡による高倍率 (接眼×10, 対物×40) 観察の結果

海 域	サンプル (年/月/日, 採集層)	Atscの 細胞数*	観察した 細胞数	<i>A. catenella</i>	UIA type 1/2	<i>A. pseudo- gonyaulax</i>
オホーツク海	OA10 (2024/7/24, 0 m)	4780	45	24	17	4
	OA03 (2024/7/24, 0 m)	5620	14	2	11	1
	O14(2024/7/24, 20 m)	2880	15	12	3	0
	O23(2024/7/24, 0 m)	1210	10	3	7	0
	O32(2024/7/24, 0 m)	2480	15	9	6	0

貝毒プランクトンモニタリングでAtscと同定された種類の細胞数\*: 細胞数 L<sup>-1</sup>

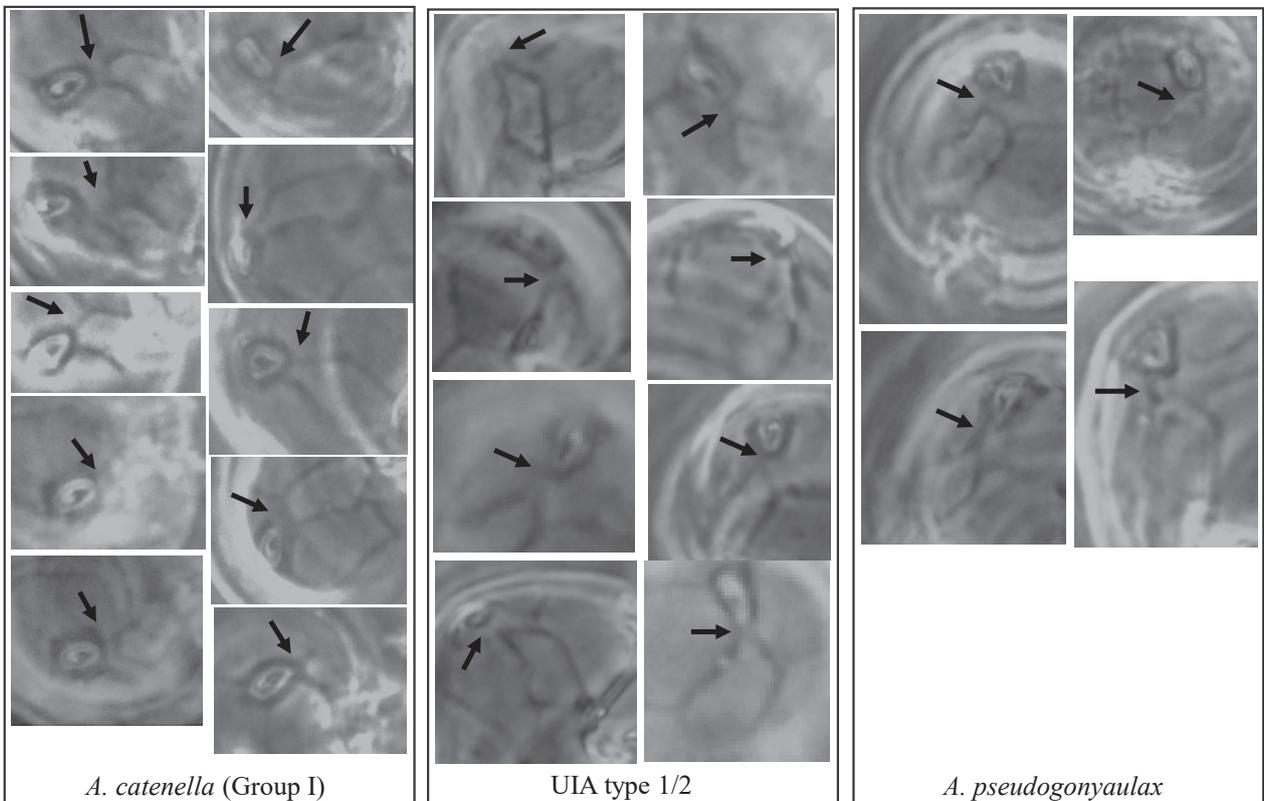


図 6 *A. catenella* (Group I) と UIA type 1/2 の頂孔板 (Po) と第1頂板 (1') の接合の違いおよび *A. pseudogonyaulax* の特徴的な第1頂板 (1') の形を用いて種判別を行った事例。矢印は頂孔板と第1頂板の接合部を示す。  
 オホーツク沖合 OA10 2024. 7. 24 0 m.

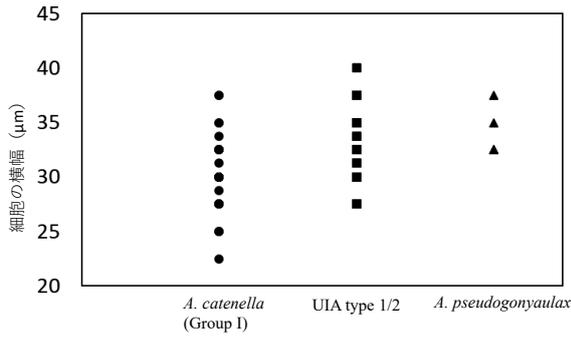


図7 2024年7月, オホーツク海沖合に出現した *A. catenella* (Group I), UIA type 1/2, *A. pseudogonyaulax* のサイズ比較.

%, 80%を占めた (図8)。2024年の沖合モニタリングでは, いずれも Atsc の出現として報告したが, UIA type 1/2 が *A. catenella* (Group I) よりも毒性が低い, あるいは無毒の場合にはオホーツク海における麻痺性貝毒による毒化リスクを高めめに評価していたことになる。

**北海道の貝毒プランクトンモニタリングにおける取り扱い:** 前述の資料にまとめたとおり, Atsc として計数されていたものには UIA type 1/2 が含まれるケースがあり, 出現密度が大きい場合にも UIA type 1/2 が高い割合で出現することがあることがわかった (図8)。このことは, プランクトンの出現密度から麻痺性貝毒の毒化を予測してい

る現在のモニタリングの精度を著しく低くさせることに繋がる。貝毒プランクトンモニタリングでは有毒種が計数の対象となる。岩手県に出現する *A. fragae*, *A. tamutum* には麻痺性貝毒の毒産生能力がないことが確認されている (加賀ら, 2006)。他方, ヨーロッパ, アジア, アフリカに出現する *A. minutum* にはブルームが発生する地域によって無毒株と有毒株が存在し, アイルランドやイタリアのように同じ国内でも無毒株と有毒株が存在している (Lewis *et al.*, 2018)。*A. tamutum* は無毒である (Montresor *et al.*, 2004; Figueroa *et al.*, 2007; Brown *et al.*, 2010)。しかし, 検鏡によるモニタリングで両種を区別するのは困難である (Figueroa *et al.*, 2007)。このため, 北海道に出現する UIA type 1 と UIA type 2 の種類を特定し, それぞれの毒産生性を明らかにした上でモニタリングの対象とするか否かを判断する必要がある。

現在の北海道沿岸の貝毒プランクトンモニタリングにおいては 2024年に *A. catenella* (Group I) ではない *A. minutum* と *A. tamutum* に似た UIA が出現したということまでしかわかっていない。しかし, 紋別沿岸では 2013年から 2018年の間にメタバーコーディング解析によって *A. catenella* (Group I), *A. pacificum* (Group IV), *A. minutum* および *A. tamutum* を含む *Alexandrium* 属の DNA が検出されていることから (Silvever *et al.*, 2019), オホーツク海沿岸域では恐らく *A. catenella* (Group I) に類似した UIA

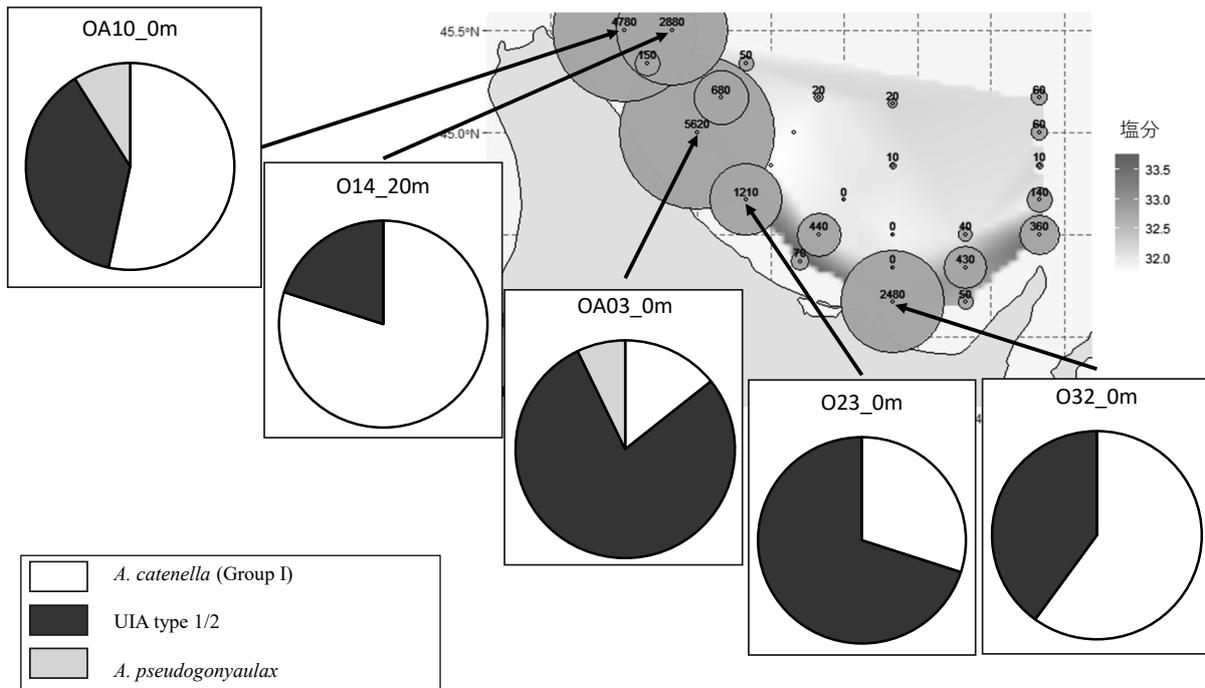


図8 2024年7月のオホーツク海沖合貝毒プランクトンモニタリングでAtscが1000細胞<sup>-1</sup>以上出現したサンプル (OA10 0 m, O14 20 m, OA03 0 m, O23 0 m, O32 0 m) を再検鏡して求めた *A. catenella* (Group I), UIA type 1/2 および *A. pseudogonyaulax* の出現割合。背景のAtscの水平分布図は貝毒プランクトン速報・暖流情報, <https://www.hro.or.jp/fisheries/research/central/section/kankyoku/kaidoku/j12s220000000ddi.html>, 2025/1/21) から引用した。

が出現している可能性が高い。

**UIAの種同定と毒産生性が解明されるまでの提案：**  
北海道に出現する *A. minutum* と *A. tamutum* に似た UIA type1/2 を Atsc として計数することはプランクトンの細胞数密度からの麻痺性貝毒の毒化予測の精度を低下させる可能性がある (図 8)。一方、種同定の精度を上げるために低倍率の光学顕微鏡による計数作業中に出てきた細胞を全て高倍率の個別観察に回すには膨大な作業時間を要することとなる。特に高密度の細胞を含むサンプルでは非現実的である。そこで、UIA の種同定と毒産生性が解明されるまで、下記のスキームを提案する。従来と同様に低倍率で Atsc として計数し、1000 細胞 L<sup>-1</sup> 以上出現した場合には、高倍率観察によってランダムに 10 細胞を観察し、*A. catenella* (Group I)、*A. pacificum* (Group IV) と UIA type 1/2 (A, m/t と称する) とを区別しその割合を Atsc の計数結果に反映させる。

## 謝 辞

DNA サンプル採集に協力いただいた稚内水試所属試験調査船北洋丸、釧路水試所属試験調査船北辰丸の船長はじめ船員の皆様、貴重なご指摘・アドバイスを頂いた水産研究・教育機構水産技術研究所の西村朋宏博士には記してお礼申し上げます。

## 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.
- Brown L, Bresnan E, Graham J, Lacaze JP, Turrell E, Collins C. Distribution, diversity and toxin composition of the genus *Alexandrium* (Dinophyceae) in Scottish waters. *Euro. J. Phycol.* 2010; 45(4): 375-393.
- Figuerola RI, Garcés E, Bravo I. Comparative study of the life cycles of *Alexandrium tamutum* and *Alexandrium minutum* (Gonyaulacales, Dinophyceae) in Culture. *J. Phycol.* 2007; 43: 1039-1053.
- Hansen G, Daugbjerg N, Franco JM. Morphology, toxin composition and LSU rDNA phylogeny of *Alexandrium minutum* (Dinophyceae) from Denmark, with some morphological observations on other European strains. *Harmful Algae* 2003; 2: 317-35.
- John U, Litaker RW, Montresor M, Murray S, Brosnahan ML, Anderson DM. Formal revision of the *Alexandrium tamarense* species complex (Dinophyceae) taxonomy: the introduction of five species with emphasis on molecular-based (rDNA) classification. *Protist* 2014; 165: 779-804.
- 加賀信之助, 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(6): 1068-1076.
- Kim ES, Li Z, Oh SJ, Yoon YH, Shin HH. Morphological identification of *Alexandrium* species (Dinophyceae) from Jinhae-Masan Bay, Korea. *Ocean Sci. j.* 2017; 52(3): 427-437.
- 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. Species boundaries and global biogeography of the *Alexandrium tamarense* complex (Dinophyceae). *J. Phycol.* 2007; 43: 1329-1338.
- 宮園章. 2-6 *Alexandrium* Halim, 1960. 「赤潮大全-漁業被害の防止・軽減に向けて- (今井一郎, 板倉茂, 中山奈津子, 山口峰生監修)」 緑書房, 東京. 2026; 107-115.
- 宮園章, 長井敏, 金康司郎, 正城利紀, 北山安信, 小林和馬, 船木周平, 佐野晃平. 北海道沿岸における麻痺性貝毒原因生物 2 種の分布実態にもとづく名称変更の提案 (資料). 北水試研報 2024; 106: 65-68.
- 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.
- 夏池真史, 金森誠. 津軽海峡における渦鞭毛藻 *Alexandrium minutum* の出現 (短報). 北水試研報 2021; 99: 9-12.
- 夏池真史, 金森誠, 前田高志, 嶋田宏, 坂本節子. 函館湾および噴火湾における有毒渦鞭毛藻 *Alexandrium pacificum* および *A. catenella* (Group I) の 2018 年から 2020 年の出現状況. 日本プランクトン学会報 2022; 69 (1): 1-10.
- 日本水産資源保護協会. 「有毒・有害プランクトン観察手法と分類 (有害・有毒プランクトンの同定研修会テキスト)」 日本水産資源保護協会, 東京. 1997.
- Prud'homme van Reine WF. Report of the Nomenclature Committee for Algae: 15. *Taxon* 2017; 66: 191-192.
- Silver S, Kawakami Y, Kanno N, Hasai H, Shiomoto A, Katakura S, Nagai S. Toxic HAB species from the Sea of Okhotsk detected by a metagenetic approach, seasonality

and environmental drivers. *Harmful Algae* 2019; 87: 101631.

牛久保宏. LAMP 法の原理－遺伝子の簡易・迅速な増幅法－. ウイルス 2004 ; 54(1) : 107-112.

Yarimizu K, Sildever S, Hamamoto Y, Tazawa S, Oilawa H,

Yamaguchi H, Basti L, Mardones JI, Paredes-Mella J, Nagai S. Development of an absolute quantification method for ribosomal RNA gene copy numbers per eukaryotic single cell by digital PCR. *Harmful Algae* 2021; 103: 102008.