

博士学位論文審査報告書

申請者氏名	殷 安齐 (いん あんさい)
学位の種類	博士 (環境科学)
論文題目	Dinoflagellates from Hainan Island: Potential threat for transporting harmful algae from Hainan to Japan
論文審査委員会 委員長	滋賀県立大学環境科学研究科 教授 伴 修平 印
委員	滋賀県立大学環境科学研究科 教授 浦部美佐子 印
委員	滋賀県立大学環境科学研究科 准教授 田辺 (細井) 祥子 印

論文の内容の要旨

海産微細藻類のなかには、魚介類や人間に対して毒となる物質を生産するものがある。また、極端に増殖する（ブルームと呼ぶ）ことによって、いわゆる赤潮を形成することで様々な環境被害を与える。これら微細藻類のブルームを特に有害藻類ブルーム（HAB）と呼ぶ。渦鞭毛藻類はこれまでに2500種以上が報告されており、このうち76種が有毒あるいは有害種として知られる。これらの多くがHABを形成し、世界中で大きな水産被害あるいは健康被害を与えてきた。

海南省は、中国の最南端、南シナ海に位置する熱帯の島である。中国本土の香港、青島、隣国のベトナムなどではHABによる大きな被害が報告され、渦鞭毛藻類に関する多くの研究が存在する。しかし、海南省における渦鞭毛藻類あるいはHABに関する研究は、いくつかのHABイベントが報告されているにもかかわらずほとんど存在しない。

一方で、1988年以降、日本では海南島周辺海域で捕獲されるカンパチ幼魚を輸入し、これを海面養殖することが盛んに行われてきた。幼魚の輸入は熱帯性植物プランクトンの日本への移入を許す可能性がある。現在、カンパチの海面養殖は、日本全体の67.3%が鹿児島県で、14.6%が宮崎県、7.4%が高知県でそれぞれ行われている。また、海南島周辺の海流は中国沿岸に沿って北上し、黒潮と合流して日本南東沿岸を通過する。地球温暖化によって、これまで定着することのなかった熱帯種が日本近海でも生息可能となる可能性が懸念されている。これら水産活動あるいは地球温暖化によって、これまで出現することのなかった新種の熱帯産微細藻類が日本近海で増殖し、HABイベントを形成する可能性が危惧される。

本研究では、1) 海南島周辺海域に出現する渦鞭毛藻類を記載し、そして2) 海南島と鹿児島湾のプランクトン試料と海底堆積物試料を比較することで、日本への新種の熱帯産渦鞭毛藻類種の侵入・定着の可能性を調べることを目的とした。論文は4章で構成される。まず第1章で研究の背景と目的を述べた後、第2章では、海南島周辺の11地点からHAB形成種を含む渦鞭毛藻類を網羅的に同定し、海南省における渦鞭毛藻類出現種リストを作成した。続く第3章では、これに加えてカンパチの海面養殖が盛んな鹿児島湾（鹿児島県）と浦ノ内湾（高知県）で試水を採取し、同様に渦鞭毛藻類の出現種リストを作成した。これら中国と日本の渦鞭毛藻類出現種リストを比較し、双方で出現する種を抽出した。そし

て、第4章では海南省と鹿児島湾からそれぞれ採取した海底堆積物から網羅的に DNA を抽出し、メタゲノム解析することで双方に共通に出現する植物プランクトン種を同定した。これらの結果を総合して、海南島周辺海域から熱帯産渦鞭毛藻類が日本へ侵入・定着している可能性について議論した。

第2章：海南島周辺海域における渦鞭毛藻類出現種リストを作成するため、それぞれ異なる環境の11地点から採水し、目合い10- μm のプランクトンネットで渦鞭毛藻類を採集した。これらは光学顕微鏡を使って観察し、形態分類によって11属37種の渦鞭毛藻類を同定した。このうち12種が有害藻類種であり、調査した11地点のうち10地点から採集された。出現した渦鞭毛藻類の種組成から地点間の類似度を計算したところ、大きく2つのグループに分類できた。一つは養殖施設など富栄養化の進んだ7地点、いま一つは自然の残された沿岸の3地点であった。前者地点での総出現種数は37種であったのに対して、後者では4種であり、人為的富栄養化の進んだ地点で渦鞭毛藻類の多様性は高かった。また、西海岸より東海岸で多様性の高い傾向がみられた。海南島東岸沿いには複雑な海流系が依存し、これが東海岸での多様性に寄与しているかもしれない。

第3章：一方、鹿児島湾（鹿児島県）と浦ノ内湾（高知県）においても渦鞭毛藻類を採集し、8属27種を同定した。これらのうち13種が海南省から同定されたものと同種であった。過去に報告された文献と比較する事によって、これら共通種の多くが本邦において2000年以降の比較的最近になってから出現報告のあることが分かった。

第4章：プランクトンの採集はいずれの地点でも夏と冬に行われたが、それ以外の季節に出現する種については見逃している可能性がある。そこで、海南島沿岸と鹿児島湾のそれぞれ1地点より海底堆積物を採取し、これより抽出されたDNA断片を比較する事でこの不足情報を補填した。渦鞭毛藻類を含む多くの植物プランクトンは生活史の一部に休眠シストを持つ。これらは海底へ沈降し蓄積されるため、当該海域に定着した微細藻類を季節にかかわらず抽出することが可能である。ここでは葉緑体遺伝子の一つである *psbA* を用い、全植物プランクトン群集について解析した。両地点から抽出したDNA断片を比較する事によって種組成の類似性を比較した。メタゲノム解析の結果、全部で35種が両地点で共通に出現した。これは鹿児島湾から同定された全植物プランクトン種数61種の57%に相当した。残念ながら、本解析において渦鞭毛藻類はほとんど同定されなかったが、赤潮形成種であるラフィド藻類の一種 *Heterosigma carterae* は両地点から認められ、本邦での報告はやはり2000年以降であった。

これらの結果を総合して、本研究は中国海南省周辺海域における有害藻類ブルームの潜在的脅威、および海南省から日本への熱帯産有害藻類の人為的輸送の可能性を示唆した。

論文の審査結果の要旨

有害藻類の時空間分布に関する情報は、それらが公衆衛生上のみならず、水産上あるいは景観上の被害を招くため、多くの海域で集積されることが重要である。しかし、分類学を専門とする研究者は減少傾向にあり、種毎の地理的分布を詳細に把握することが難しい現状にある。中国海南省の周辺海域もそんな渦鞭毛藻類の分布に関する空白地域の一つであった。

本論文は、これまで全く知られていなかった中国海南省の周辺海域に出現する渦鞭毛藻類を網羅的に調べ、その出現種について詳細な記述を行い、そのリストを作成した。光学顕微鏡による解析によって、11属37種の渦鞭毛藻類を同定し、そのうち12種が有害種であることを明らかにした。これら有害種は調査した11地点のうち10地点から採集され、8種の有毒種と4種の赤潮形成種を含み、海南省において渦鞭毛藻によるHABの潜在的な脅威の存在することを示唆することができた。本研究は、すでに知られている周辺海域に出現する渦鞭毛藻類種と比較する事によって、南シナ海における有害種を含む渦鞭毛藻類の地理的分布に関する知見の蓄積に重要な役割を果たすものと期待できる。

一方、鹿児島湾と浦ノ内湾から採集された渦鞭毛藻類との比較では、13種が海南島周辺海域より採集されたものと同種であることを示すことができた。近年、人間活動あるいは地球温暖化による海水温の上昇によって、これまで日本近海には生息しなかった熱帯種の越境移入が危惧されている。本研究で得られた両地点での共通種が海南省から運ばれてきたものかどうかは不明のままである。しかし、日本において、これら海南島との共通種の多くが2000年以降という比較的新しい時期に報告されていることは、近年になって盛んになってきたカンパチ幼魚の輸入など人為影響の可能性を強く示唆していて興味深い。これまでも、本邦における新手の南方種の出現報告はあったが、本研究のように包括的に比較検討した研究はまだほとんど存在しない。

海底堆積物からDNAを抽出することによって、植物プランクトンの種組成を再現する方法は、顕微鏡観察ではほとんど不可能だったが、近年になって盛んに行われるようになったメタゲノム解析によって、いよいよ実用化レベルになってきたと云える。本研究でも多くの種を同定することができ、渦鞭毛藻類以外の微細藻類について、35種が海南省と鹿児島湾で共通に出現することを明らかにした。今後は、同一種内の個体群レベルで比較するための遺伝子配列部位を特定する必要がある。以下に示した参考論文は有害種の一つについてこれを検討したものである。

Yin A, Li H W, Liu Z Y, Ban S, Tanabe S, Hosoi K. 2010. SYBR Green real-time fluorescence quantitative PCR detection of *Prorocentrum lima*. Chinese Journal of Tropical Crops, 31: 2147-2152.

以上のことを総合し、審査委員会は本論文が博士（環境科学）の学位を授与するに値するものと認めた。