

大阪湾から発見された寄生生物が 麻痺性貝毒原因プランクトンのブルーム動態へ与える影響の解明

西谷 豪

東北大学大学院 農学研究科・助教

[研究目的]

麻痺性毒は有毒プランクトンを原因とする自然毒の一種で、それらを摂食して毒化した貝を人が食べると手足や口のしびれ・呼吸困難などを起こし、最悪の場合死に至る。大阪湾では 2002 年に初めて麻痺性貝毒が確認されて以降ほぼ毎年発生しており、特に 2018 年には大阪湾を含めた東部瀬戸内海で大規模に発生し、長期にわたる二枚貝の出荷停止のため漁業に大きな被害を与えた。大阪湾での貝毒原因種はアレキサンドリウム (*Alexandrium catenella*, group1) という渦鞭毛藻であるが、その発生を予測あるいは制御する手段は得られていない。

申請者らはアレキサンドリウム (以下、宿主と記す) に寄生して細胞を破壊するアメーボフリア (*Amoebophrya*) 属という生物 (以下、寄生生物と記す) を 2019 年に大阪湾から見いだした。この発見は日本初である。そこで本研究では、この寄生生物の分類学的位置を DNA で精査し、その正体と種多様性を明らかにし、大阪湾において実際にどの程度の宿主が寄生生物に感染しているか明らかにすることを目的とした。また室内培養においても感染実験を行ない、その感染力を調査した。

[研究方法]

下記の 5 項目について調査・解析を行なった。

① 海水サンプル採取と環境測定、宿主の計数

これまでの大阪環農水研による調査で高頻度に宿主が出現することが明らかにされている大阪湾内の 2 定点 (St.17 と 19 : 図 1) において、大阪環農水研が有する調査船「おおさか」により柱状採水を実施し、水温や塩分等の環境項目を測定した。また、採取した試水中の宿主細胞数密度を顕微鏡により計数した。

② 感染細胞の計数

倒立型蛍光顕微鏡による特殊な励起光を用いて、宿主の細胞内を観察した。寄生生物が感染済みの宿主は細胞内に強い緑色自家蛍光を発するため、容易に識別・計数することが可能であった。

③ 感染した細胞内寄生生物の DNA 解析

顕微鏡下で感染が確認された宿主細胞を一つずつ拾い、DNA 解析用のチューブに入れる。DNA を抽出後、寄生生物の DNA 配列を PCR によって決定した。得られた全ての配列はデータベースにある既存の塩基配列と照合し、寄生生物の種の特定と分子系統解析を行った。

④ 宿主と寄生生物の二者培養実験

宿主と寄生生物の関係性について、現場調査だけでなく室内培養実験においても明らかにした。培養温度 14 度、IMK 培地を用いた。

⑤ 寄生生物が感染する宿主範囲の調査

寄生生物の感染に宿主特異性があるか確認するため、この寄生生物が他の植物プランクトン（珪藻や渦鞭毛藻など）に対し、寄生するのかもしれないのかを 2 者培養実験により確認した。

[結果と考察]

現場調査の結果、寄生生物による寄生率は宿主の細胞密度と非常に密接な関係にあることが判明した。すなわち、現場で宿主が増殖し始めると寄生率が上昇し、その後急激に宿主の細胞密度が減少した。この現象は両定点で同様であり、寄生率は最大で 73% を記録した（図 2）。この結果から、寄生生物は宿主の現場個体群に大きな影響を及ぼしている可能性が示唆された。

また、調査期間内において寄生が認められた宿主を計 10 細胞単離し、遺伝子解析により寄生生物の種を同定した。その結果、大阪湾に存在する寄生生物種は、これまでアメリカと韓国で報告されていたアレキサンドリウムに感染するとされていた寄生生物種とは異なる新規種であることが判明した。

宿主と寄生生物の室内二者培養実験を行なった結果、感染率は最大 99% に達し、ほとんど全ての宿主が殺滅された（図 3、4）。今後は培養の条件を変えて、どのような条件下で寄生が起こりやすいのかを明らかにしていく予定である。

大阪湾から新たに発見された寄生生物がどの程度の宿主に寄生するのかを調査した結果、アレキサンドリウム属であれば他種でも寄生が可能であり、さらに同じ渦鞭毛藻のプロロセントラム属にも寄生が可能であることが判明した。それ以外の渦鞭毛藻やラフィド藻には寄生は確認されなかった。つまり、この寄生生物が有毒な渦鞭毛藻である宿主は殺滅するが、他のほとんどの生物群には影響を及ぼさないことが示唆された。この宿主特異性は将来的に現場海域において生物農薬としての利用を考える上で重要な知見となる。

我々は宿主のブルームが終了した 4 月以降も海水を採取し、同様の調査を継続した。その結果、2020 年 8 月に採取した渦鞭毛藻プロロセントラムの細胞内から、この寄生生物を検出した。このことは宿主のブルーム以外の時期では、この寄生生物が他の渦鞭毛藻に宿主を乗り換えて過ごしている可能性を示している。また、我々は 2018 年に大阪湾の海底から採取した泥からも寄生生物の DNA を検出しており、この寄生生物が海底で冬眠した状態で眠っている可能性も示している。今後、より多くのデータを蓄積していくことで寄生生物の生活史が明らかになり、宿主のブルーム予測や対策に繋がると期待される。

また、本研究を開始した当初は麻痺性貝毒原因プランクトンであるアレキサンドリウムとその寄生生物について調査を行っていたが、大阪湾で 2020 年 10 月に大発生

した有害赤潮渦鞭毛藻カレニア・ミキモトイに寄生する寄生生物を世界で初めて発見・単離することに成功した。この寄生生物はアレキサンドリウムに寄生する寄生生物種とは全く別種であり、その DNA 配列も新規である。今後はカレニアの発生とその寄生生物の関係性も同様に解明していく予定である。

[まとめ]

- ・寄生生物はアレキサンドリウムの現場動態（特に収束）に大きく影響している。
- ・その寄生生物は主に宿主のみを殺滅し、他の生物に影響を及ぼさない。
- ・有害渦鞭毛藻カレニアに寄生する寄生生物を世界で初めて発見した。

[今後の展望]

我々は、海水や底泥中から寄生生物の DNA を検出する手法を確立することに成功しており、今後は大阪湾内多数地点からの底泥サンプルを解析することによって、当該海域における寄生生物種の分布実態を明らかにする。また、寄生生物には多くの種が存在することが判明し、アレキサンドリウムやカレニア・ミキモトイを始めとする他の多くの渦鞭毛藻にも寄生する事実が明らかとなってきた。今後は現場において寄生生物が有害有毒プランクトンに与える影響をさらに調査するとともに、生活史、寄生特異性などの知見を充実させることにより、有害有毒プランクトンの収束時期予測や最大発生密度の予測などに応用していく予定である。

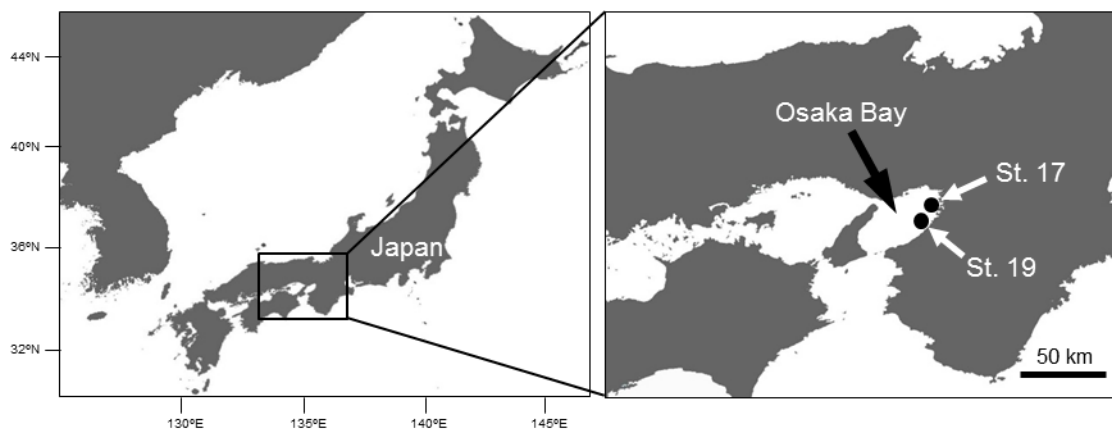


図 1. サンプルング地点

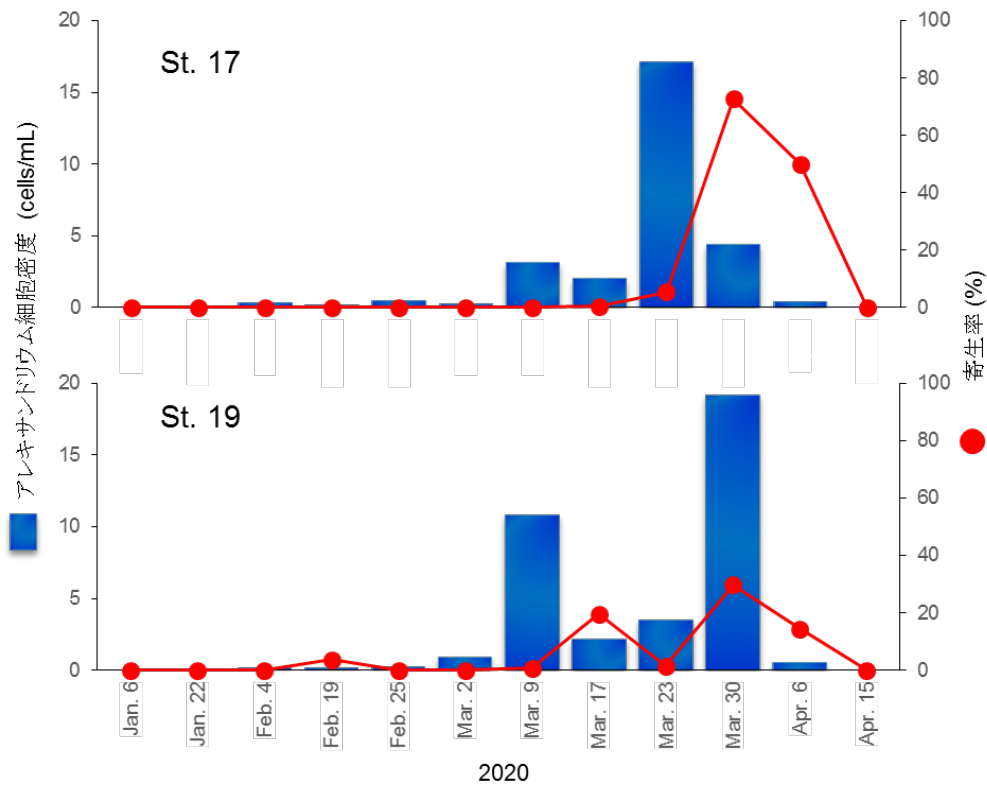


図 2. 両調査地点におけるアレキサンドリウムの細胞密度（棒グラフ：左軸）と寄生生物による寄生率（折れ線グラフ：右軸）の推移

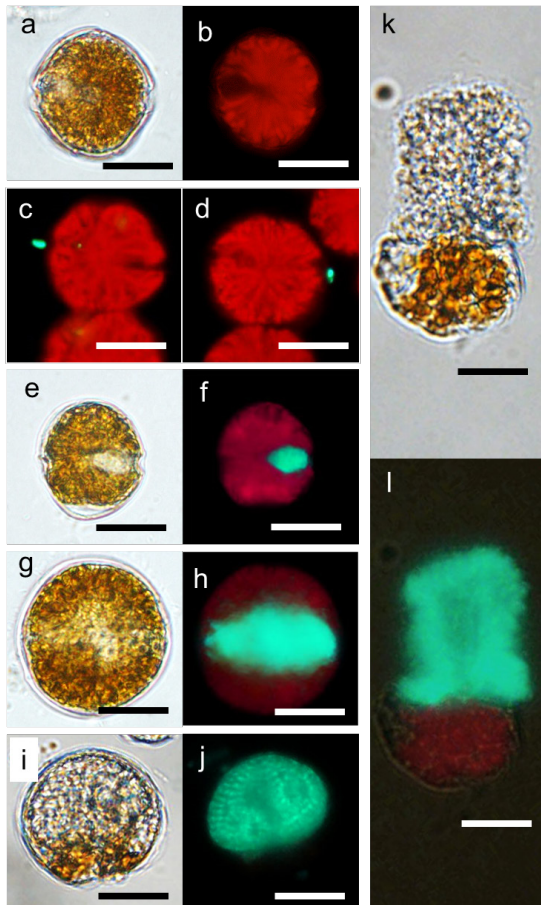


図 3. 有毒渦鞭毛藻アレキサンドリウムへ寄生する寄生生物の一連の過程（室内培養による）。a, b: 非感染細胞、c, d: 寄生生物（緑）がアレキサンドリム（赤は宿主の葉緑体）に付着した様子、e, f: 寄生生物（緑）が宿主の細胞内で増殖（感染初期）、g, h: 感染中期、i, j: 感染後期、k, l: 増殖した寄生生物の塊（緑）が宿主（赤）の細胞を突き破って外に出た瞬間。宿主の細胞内に入り込んだ 1 細胞の寄生生物が 3 日ほどで数百に増殖する。



図 4. 培養開始から 10 日目の室内培養実験の様子。左側のフラスコが寄生生物の添加あり。右側が寄生生物の添加なし。