

令和 2 年 4 月 28 日

## 海外特別研究員最終報告書

独立行政法人 日本学術振興会 理事長 殿

採用年度 平成 30 年度

受付番号 201860110

氏 名 西村 朋宏

(氏名は必ず自署すること)

海外特別研究員としての派遣期間を終了しましたので、下記のとおり報告いたします。

なお、下記及び別紙記載の内容については相違ありません。

記

1. 用務地（派遣先国名）用務地：ネルソン（国名：ニュージーランド）

2. 研究課題名（和文）※研究課題名は申請時のものと変わらないように記載すること。

底生性魚介類の下痢性貝毒による毒化機構の解明

3. 派遣期間：平成 30 年 4 月 1 日 ～ 令和 2 年 3 月 31 日

4. 受入機関名及び部局名

Cawthron Institute, Coastal and Freshwater Group

5. 所期の目的の遂行状況及び成果…書式任意 **書式任意（A4 判相当 3 ページ以上、英語で記入も可）**

（研究・調査実施状況及びその成果の発表・関係学会への参加状況等）

（注）「6. 研究発表」以降については様式 10—別紙 1～4 に記入の上、併せて提出すること。

# 底生性魚介類の下痢性貝毒による毒化機構の解明

採 用 年 度 平成 30 年度

受 付 番 号 201860110

氏 名 西村 朋宏

## 研究・調査実施状況

### 1. 目的

下痢性貝毒による食中毒は、毒化した二枚貝の摂食に起因し、激しい下痢等の消化器系障害を引き起こす。下痢性貝毒は、浮遊性渦鞭毛藻の *Dinophysis* 属が産生することが知られている。一方で、近年、本毒による毒化事例の報告が無かったアワビなどの藻食性巻貝をはじめとして、肉食性巻貝、ウニ、エビ等の多様な底生性魚介類が本毒により毒化していることが、欧州やアジアの温帯から熱帯海域において相次いで報告されている。これより、様々な底生性魚介類に起因する本食中毒の発生リスクが高まっていることが指摘されている。底生性魚介類は、海底において餌生物を摂食している。その様な摂食生態から考えると、これまでに二枚貝の毒化原因と考えられている浮遊性の *Dinophysis* 属は、底生性魚介類の毒化原因では無いと推測される。これより、本毒を産生する底生性生物を藻食性の底生性魚介類が摂食、さらに食物連鎖を介して、より高次の底生性魚介類へ本毒が蓄積・濃縮しているのではないかと考えられる。底生性の下痢性貝毒産生生物に関しては、これまでに底生性渦鞭毛藻の *Prorocentrum* 属が本毒を産生することが報告されている。本属藻類には数十種の存在が知られている一方で、各種の毒産生能の詳細は不明である。また、本属藻類と前述の *Dinophysis* 属はいずれも渦鞭毛藻綱に属し、いずれも本毒を産生する。これより、申請者は、*Prorocentrum* 属の他にも本毒を産生する底生性渦鞭毛藻種が存在するのではないかと考えた。よって、底生性魚介類の本毒による毒化機構を解明するためには、*Prorocentrum* 属を含めた多様な底生性渦鞭毛藻の毒産生能を網羅的に把握することが重要と考えられた。しかしながら、前述のように下痢性貝毒産生能が明らかになっていない *Prorocentrum* 属の種も多い。さらには、本属藻類以外の様々な底生性渦鞭毛藻の本毒産生能については、検討例がほとんど無い。また、欧州やアジア地域を除く地域における、下痢性貝毒による底生性魚介類の毒化調査の報告例は、ほとんど無い。

そこで本研究では、下痢性貝毒による底生性魚介類の毒化機構を解明するため、これまでに *Prorocentrum* 属および本毒による底生性魚介類の毒化に関する調査例がほとんど無いオセアニア地域において、本属藻類の種組成および分布、ならびに本属藻類をはじめとした様々な微細藻類種の本毒産生能を調査する。さらに、底生性魚介類の毒化状況の調査も行うことを目的とした。

### 2. 研究方法

#### 2.1. サンプリング

2018 年から 2019 年にかけて、オセアニアに位置する 5 か国 (ニュージーランド、ニュージーランド領ケルマディック諸島、ミクロネシア連邦、ソロモン諸島、ニウエ、クック諸島)の熱帯海域から温帯海域に至る 61 地点の沿岸域 (水深 <3–<8 地点)において、シュノーケリング等により海藻試料等を採取した。また、棒温度計を用いて海水温を測定した。さらに、ニュージーランドの亜熱帯海域から温帯海域に至る 26 地点の沿岸域 (水深 <3 地点)より底生性魚介類試料 (巻貝類)を採取した。

#### 2.2. 微細藻類培養株の確立

得られた海藻試料等から海藻付着性微細藻類画分を調製し、倒立顕微鏡下にてパスツールピペットを用いて *Prorocentrum* 属藻類を含む底生性渦鞭毛藻細胞を 1 細胞ずつ 24 穴マイクロプレートに単離した。単離した同細胞の培養には、metals mix SWII 培地、f/2 培地もしくは IMK/2 培地を用い、光強度 90–100  $\mu\text{mol photons/m}^2/\text{s}$ 、明暗周期 12h 明:12h 暗のサイクル、18°Cもしくは 25°Cに設定したグロースチャンバー内で約 1 か月間静置培養した。培養温度については、海藻試料を採取した際の海水温に近い温度を選択した。24 穴マイクロプレートの各穴に含まれる培地は、約 1 か月ごとに新しい培地に交換し、引き続き前述

の培養条件下にて培養した。目視可能な程度の細胞量に達するまで本工程を繰り返した後、それらの細胞が含まれる培養液を約 40 ml の培地を分注した培養ボトルへ植えつぎ、前述の培養条件下にて培養した。

本研究で確立した上述の培養株に加えて、オーストラリアの 3 地点より分離された底生性 *Prorocentrum* 属の 2 種に属する 3 株を、オーストラリアのシドニー工科大学の共同研究グループより入手した。また、*Prorocentrum* 属 8 種に属する 21 株を、コースロン研究所の微細藻類培養株保存施設 (The Cawthron Institute Culture Collection of Micro-algae: CICCIM)より入手した。このうち、底生性種は 3 種 14 株であった。さらに、珪藻、円石藻、クリプト藻、ディクティオカ藻、渦鞭毛藻、ハプト藻 (パブロボ亜綱)およびラフィド藻の 7 綱/28 属/67 種に属する 95 株を CICCIM より入手した。このうち、底生性種は 5 属 18 種 46 株であった。

## 2.3. 分子系統解析

前項にて得られた培養藻体より、DNeasy PowerSoil Kit (キアゲン社製)もしくは BT Chelex 100 Resin (バイオ・ラッド社製)を用いることにより、ゲノム DNA を抽出した。抽出したゲノム DNA を鋳型にして、LSU rDNA D1/D3 領域について PCR 増幅を行い、シーケンシングによりその塩基配列を決定した。解析対象種の塩基配列を GenBank より入手し、本研究で得られた塩基配列と共に、遺伝子解析ソフトウェア Geneious を用いてアライメントを行った。得られたアライメント配列について、遺伝子解析ソフトウェア MEGA 7 を用いて近隣結合法 (neighbor joining method: NJ 法)による分子系統解析を行った。

## 2.4. 下痢性貝毒分析

本研究において確立した *Prorocentrum* 属培養株および共同研究者ならびに CICCIM より入手した様々な微細藻類培養株の定常期における培養株について、培養液中に含まれる細胞数を直接計数法により算出した。その後、培養液を遠心分離することにより、集藻ペレットを調製した。得られた集藻ペレットおよび底生性魚介類試料 (巻貝類)について、コースロン研究所で常用されている手法に従い、下痢性貝毒分析のための毒抽出画分を調製した。得られた毒抽出画分について、コースロン研究所の化学分析チームにより、下痢性貝毒として知られるオカダ酸 (OA)およびディノフィシストキシン 1 (DTX1)を対象とした LC/MS/MS を用いた毒分析を行った。

## 3. 結果

### 3.1. 微細藻類培養株の確立

オセアニアに位置する 5 か国より得られた海藻試料より、*Prorocentrum* 属を主とした微細藻類細胞を約 1,000 細胞単離し、培養株の確立を試みた。その結果、約 350 株のクローン培養株を確立することに成功した。これら培養株について、倒立型顕微鏡を用いてそれぞれの属もしくは種を推定し、分子系統解析に用いる代表株を選抜した。本研究におけるサンプリング地点および *Prorocentrum* 属培養株の確立に成功した地点は図 1 および図 2 に示した。

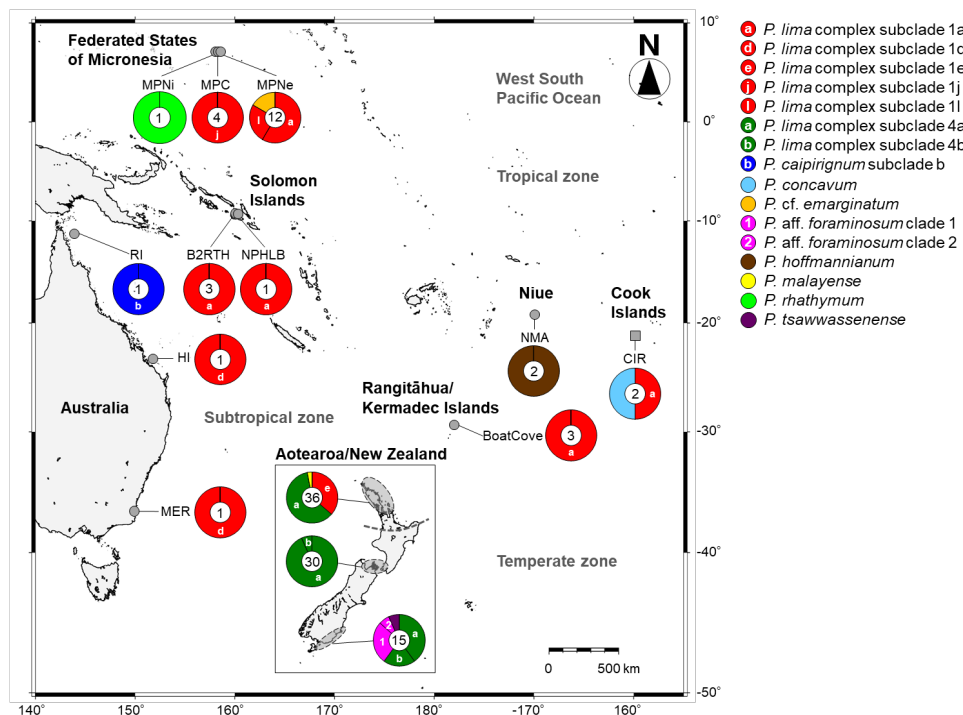


Fig. 1. Summary of the sampling site and geographic distribution of benthic *Prorocentrum* species in coastal areas of five countries in Oceania (Aotearoa/New Zealand, Rangitāhua/Kermadec Islands [a New Zealand territory], Federated States of Micronesia, Solomon Islands, Niue, Cook Islands). Grey symbols represent the sampling sites of clonal strains (circle: the present study, square: the present study and CICCIM).

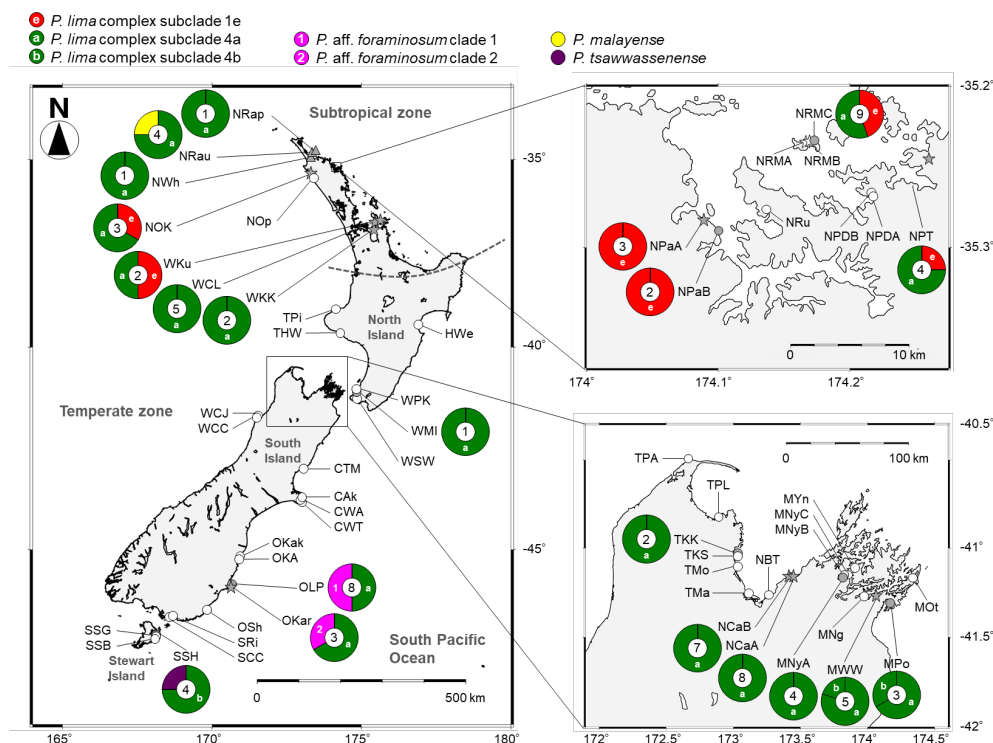


Fig. 2. Summary of the sampling site and geographic distribution of benthic *Prorocentrum* species in coastal areas of Aotearoa/New Zealand. Circles and stars represent the sampling sites (grey: *Prorocentrum* species were found and clonal strains were established, white: *Prorocentrum* species were not found). Stars represent the sampling sites of cat's eye snails (*Lunella smaragda*).

### 3.2. 分子系統解析

*Prorocentrum* 属藻類を主とした微細藻類選抜株について、LSU rDNA D1/D2 領域の塩基配列に基づく分子系統解析を行った。本解析に供試した培養株のうち、代表株の配列を用いて作成した分子系統樹を図 3 に示した。

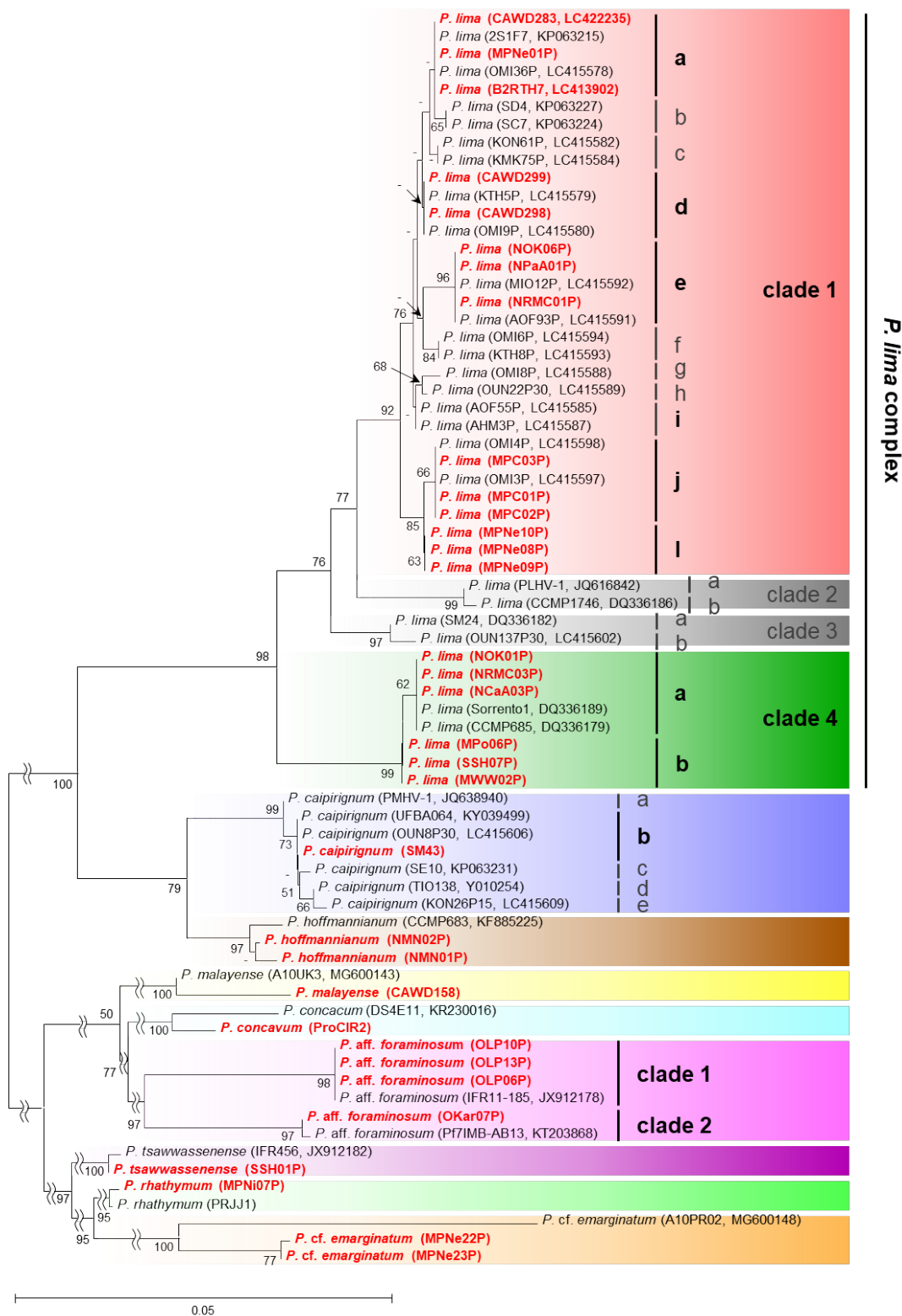


図 3. Neighbor joining (NJ) molecular phylogenetic tree of the representative strains of benthic *Prorocentrum* species isolated from coastal areas of five countries in Oceania, including New Zealand based, on the LSU rDNA D1/D2 sequences (71 sequences, 711 positions). The alignment site corresponded to the 28–655 bp site of a sequence from *P. lima* strain Sorrento 1 (DQ336189). The NJ phylogeny was analyzed using the best-fit model TN93+G model with bootstrap analyses performed with 1,000 replicates. Sequences obtained in the present study are shown in red font. Nodal support represents NJ bootstrap value. Nodal supports that were under 50 are shown as hyphens.

### 3.2.1. ミクロネシア連邦産 *Prorocentrum* 属の分子系統

熱帯海域に位置するミクロネシア連邦の 3 地点 (MPNi、MPC および MPNe)より確立した 17 株の *Prorocentrum* 属培養株について分子系統解析を行った。その結果、解析した培養株は、1 株が *P. rhathymum*、4 株が *P. lima* complex subclade 1j、7 株が *P. lima* complex subclade 1a、3 株が *P. lima* complex subclade 1l および 2 株が *P. cf. emarginatum* に属することが明らかとなった (図 1 および図 3)。このうち、*P.*

*lima* complex subclade 11は世界で初報告となる新規サブクレードであった。また、サンプリングを行った3地点はそれぞれ数 km 程度しか離れていないにもかかわらず、各地点における本属藻類の種/サブクレード組成は異なっていた (図 1)。

### 3.2.2. ソロモン諸島産 *Prorocentrum* 属の分子系統 (Murray et al. 2018; Harmful Algae News No. 61)

熱帯海域に位置するソロモン諸島の2地点 (B2RTH および NPHLB)より確立した4株の *Prorocentrum* 属培養株について分子系統解析を行った。その結果、解析した全ての培養株は、*P. lima* complex subclade 1a に属することが明らかとなった (図 1 および図 3)。

### 3.2.3. ニウエ産 *Prorocentrum* 属の分子系統 (Butler et al. 2019; Harmful Algae News No. 62)

亜熱帯海域に位置するニウエの1地点 (NMA)より確立した2株の *Prorocentrum* 属培養株について分子系統解析を行った。その結果、解析したいずれの培養株も *P. hoffmannianum* に属することが明らかとなった (図 1 および図 3)。

### 3.2.4. クック諸島産 *Prorocentrum* 属の分子系統

亜熱帯海域に位置するクック諸島の1地点 (CIR)より確立した1株の *Prorocentrum* 属培養株および CICCМより入手した1株について分子系統解析を行った。その結果、解析した培養株は、それぞれ *P. lima* complex subclade 1a および *P. concavum* に属することが明らかとなった (図 1 および図 3)。

### 3.2.5. ニュージーランド領ケルマディック諸島産 *Prorocentrum* 属の分子系統 (Rhodes et al. 2019; Harmful Algae News No. 62)

亜熱帯海域に位置するニュージーランド領ケルマディック諸島における1地点 (BoatCove)より確立した3株の *Prorocentrum* 属培養株について分子系統解析を行った。その結果、解析した全ての培養株は、*P. lima* complex subclade 1a に属することが明らかとなった (図 1 および図 3)。

### 3.2.6. オーストラリア産 *Prorocentrum* 属の分子系統

オーストラリアの熱帯海域に位置する1地点 (RI)、亜熱帯海域に位置する1地点 (HI)および温帯海域に位置する1地点 (MER)より確立した3株の *Prorocentrum* 属培養株について分子系統解析を行った。その結果、地点 RI 産株が *P. caipirignum* subclade b に、地点 HI および MER 産株が *P. lima* complex subclade 1d に属することが明らかとなった (図 1 および図 3)。

### 3.2.7. ニュージーランド産 *Prorocentrum* 属の分子系統

ニュージーランドの亜熱帯海域に位置する11地点より確立した36株、温帯海域に位置する10地点より確立した45株の *Prorocentrum* 属培養株について分子系統解析を行った。その結果、亜熱帯海域産36株のうち、12株が *P. lima* complex subclade 1e、23株が *P. lima* complex subclade 4a および1株が *P. malayense* に属することが明らかとなった (図 1–図 3)。また、温帯海域産45株のうち、34株が *P. lima* complex subclade 4a、5株が *P. lima* complex subclade 4b、4株が *P. aff. foraminosum* clade 1、1株が *P. aff. foraminosum* clade 2 および1株が *P. tsawwassenense* に属することが明らかとなった (図 1–図 3)。

本属藻類各種/クレード/サブクレードの分布について検討した結果、それぞれ異なる分布を示すことが示唆された。すなわち、*P. lima* complex subclade 4a は亜熱帯海域から温帯海域にかけて広く分布していた。その一方で、*P. lima* complex subclade 1e および *P. malayense* は亜熱帯海域にのみ、*P. lima* complex subclade 4b、*P. aff. foraminosum* clade 1、*P. aff. foraminosum* clade 2 および *P. tsawwassenense* は温帯海域にのみ分布することが明らかとなった (図 1–図 3)。

### 3.2.8. ニュージーランド産その他の底生性渦鞭毛藻類の分子系統

ニュージーランドの亜熱帯海域および温帯海域より確立した *Prorocentrum* 属以外の底生性渦鞭毛藻の46株について分子系統解析を行った。その結果、31株は *Coolia* 属の3種/クレード (*C. malayensis* clade 1 および clade 4 ならびに *C. canariensis* phylogroup III)に属した。このうち、*C. malayensis* clade 4 は

世界で初報告となる新規クレードであった。また、2 株は *Amphidinium* 属の 1 種 (*A. cf. mootonorum*)、2 株は *Pseudadenoides* 属の 1 種 (*P. kofoidii*)、2 株は *Togula* 属の 1 種 (*T. cf. britannica*) および 9 株は *Thecadinium* 属の 3 種 (*T. kofoidii*, *T. pseudokofoidii* および *Thecadinium* sp.) に属した。これらのうち、*C. malayensis* および *A. cf. mootonorum* を除く 4 属 6 種はニュージーランド初記録種であったことより、これらの培養株を CICCМ に寄託した。

### 3.2.9. ニュージーランド産浮遊性渦鞭毛藻類の分子系統

ニュージーランドの温帯海域より確立した浮遊性渦鞭毛藻の 2 株について分子系統解析を行った。その結果、いずれの株も *Heterocapsa* 属の 1 種 (*H. steinii*) に属した。

## 3.3. 下痢性貝毒分析

### 3.3.1. *Prorocentrum* 属の下痢性貝毒産生能

分子系統解析により明らかとなった底生性 *Prorocentrum* 属 15 種/クレード/サブクレードに属する 111 株のうち、109 株について LC/MS/MS を用いた下痢性貝毒分析を行い、各株の 1 細胞あたりの毒含量 (total OA および total DTX1, pg/cell) を算出した。その結果、*P. concavum*、*P. cf. emarginatum*、*P. malayense*、*P. rhathymum* および *P. tsawwassenense* に属する全ての株は本毒を産生しなかった (図 4A および図 4B)。その一方で、*P. lima* complex subclades 1a、1d、1e、1j、1l、4a および 4b、*P. aff. foraminosum* clades 1 および 2 ならびに *P. hoffmannianum* に属する全ての株は OA を産生した (図 4A)。また、*P. lima* complex subclades 1a、1e、4a および 4b、*P. aff. foraminosum* clades 1 および 2 の株は DTX1 を産生する一方で、*P. lima* complex subclades 1d、1j、1l および *P. hoffmannianum* の株は DTX1 を産生しなかった (図 4B)。本研究では、*P. tsawwassenense* が下痢性貝毒産生能を有していないこと、*P. lima* complex subclades 1l および 4b ならびに *P. aff. foraminosum* clades 1 が本毒産生能を有することを、世界に先駆けて明らかにした。

次に、統計解析を行うために十分な分析試料数であった *P. lima* complex subclades 1a、1e、4a および 4b 株の毒含量について比較したところ、*P. lima* complex 1a、1e、4a の OA 含量は、4b のそれと比較して有意に高かった (Steel-Dwass test,  $p < 0.05$ ) (図 4A)。また、*P. lima* complex subclades 1e および 4b の DTX1 含量は、1a および 4a のそれらと比較して有意に高かった (Steel-Dwass test,  $p < 0.01$ ) (図 4B)。

これら下痢性貝毒を産生する培養株のうち、OA 含量の上位 3 株は、*P. lima* complex subclade 4a の NRMC04P 株 (50.50 pg/cell)、*P. lima* complex subclade 1a の MPNe02P 株 (43.75 pg/cell) および *P. lima* complex subclade 4a の NRMC10P 株 (42.00 pg/cell) であった。また、DTX1 含量の上位 3 株は、*P. aff. foraminosum* clade 2 の OKar07P 株 (130.51 pg/cell)、*P. lima* complex subclade 1e の NOKO06P 株 (24.50 pg/cell) および *P. lima* complex subclade 1e の NPaa01P 株 (23.25 pg/cell) であった。なかでも、*P. aff. foraminosum* clade 2 の OKar07P 株の DTX1 含量は世界最高値であった。

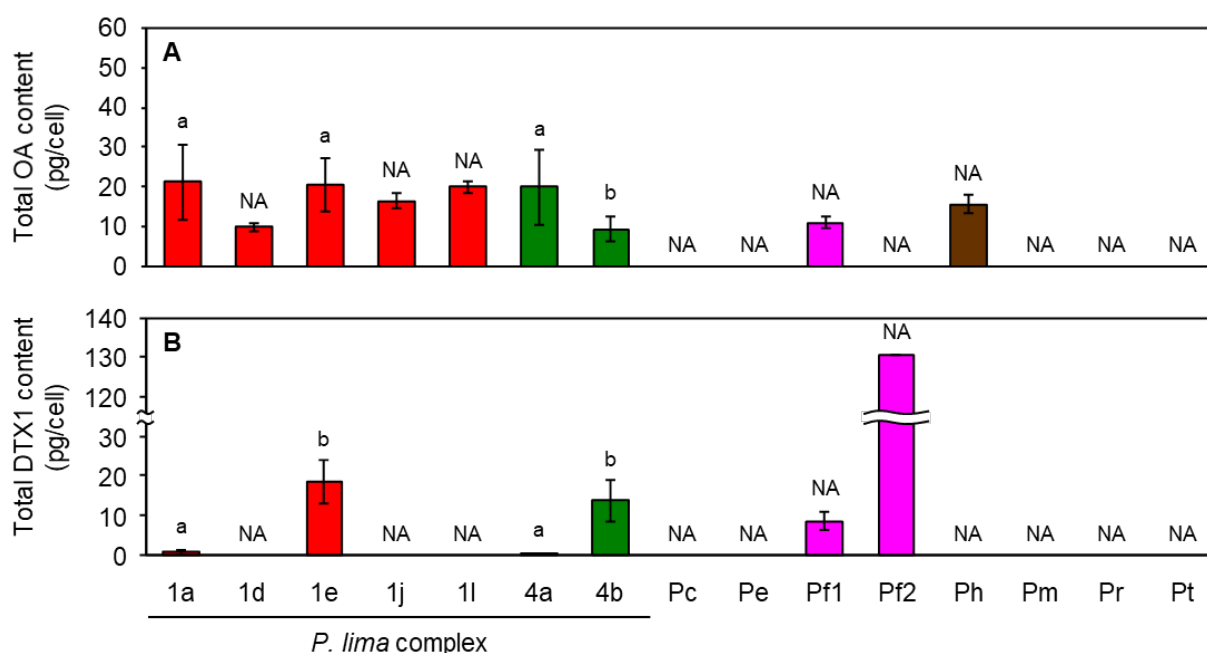


図 4. Comparison of total OA and total DTX1 contents of *Prorocentrum* species/clades/subclades. A: Total OA content. B: Total DTX1 content. Pc: *P. concavum*. Pe: *P. cf. emarginatum*. Pfl: *P. aff. foraminosum* clade 1. Pf2: *P. aff. foraminosum* clade 2. Ph: *P. hoffmannianum*. Pm: *P. malayensis*. Pr: *P. rathymum*. Pt: *P. tsawwassenense*. Different alphabets indicate that a significant difference was observed compared with the others (Steel-Dwass test,  $p < 0.05$  in Fig. 4A and  $p < 0.01$  in Fig. 4B). NA means “data not assessed”, indicating that the species/clade/subclade was eliminated for the nonparametric statistical analysis since its sample size was small (number of strains  $< 4$ ).

### 3.3.2. その他の微細藻類の下痢性貝毒産生

CICCM より入手した浮遊性 *Prorocentrum* 属 5 種に属する 7 株、ならびに 7 綱/28 属/67 種に属する 95 株について、LC/MS/MS を用いた下痢性貝毒分析を行った。その結果、いずれの株からも本毒は検出されなかった。

### 3.3.3. 底生性魚介類の下痢性貝毒の蓄積状況

ニュージーランドの亜熱帯海域から温帯海域に至る 26 地点より 11 種の巻貝類を約 270 個体採取した。これには、海藻の表面等に付着する底生性微細藻類等を摂食する刈り取り食者が 4 種、堆積物を摂食する沈積物食者が 1 種、他の巻貝類等を摂食する捕食者が 6 種含まれた。なかでも、刈り取り食者であるキヤッツアイスネイル (*Lunella smaragda*) は、ほとんどのサンプリング地点から採取することが出来た。また、本種は食用として地元消費されていることより、下痢性貝毒による毒化調査の分析対象種として最適であると考えられた。これより、ニュージーランドにおける底生性魚介類の下痢性貝毒による毒化状況の検討の第一段階として、有毒な *Prorocentrum* 属種の分布が確認された 12 地点 (図 2) より採取した 91 個体のキヤッツアイスネイルについて、LC/MS/MS を用いた毒分析を行った。その結果、いずれの個体からも下痢性貝毒は検出されなかった。

## 4. 本研究のまとめ、考察および今後の展望

本研究では、これまで *Prorocentrum* 属の種組成および分布が不明であったオセアニア地域から、多数の本属藻類培養株を確立し、選抜株について網羅的な分子系統解析を行った。その結果、オセアニア地域の 5 か国から 15 種/クレード/サブクレードが見いだされ、その多様性が高いことが明らかとなった。また、本属藻類各種/クレード/サブクレードの分布について検討した結果、それぞれが異なる分布を示すことが示唆された。すなわち、*P. lima* complex subclade 1a は熱帯海域から亜熱帯海域にかけて、*P. lima* complex subclades 1a および 4a は亜熱帯海域から温帯域にかけて広く分布していた。その一方で、*P. lima* complex subclades 1j および 1l、*P. caipirignum* subclade b、*P. rathymum* および *P. cf. emarginatum* は熱帯海域にのみ、*P. lima* complex subclade 1e、*P. concavum*、*P. hoffmannianum* および *P. malayense* は亜熱帯海域にのみ、*P. lima* complex subclade 4b、*P. aff. foraminosum* clades 1 および 2 ならびに *P. tsawwassenense* は温帯海域にのみ分布することが明らかとなった。今後は、他のオセアニアの国々においても調査を行うことで、オセアニア地域における *Prorocentrum* 属の種組成および分布の全容の解明が期待される。

本研究における 7 綱/29 属/80 種に属する微細藻類 206 株の下痢性貝毒分析の結果、本毒は *Prorocentrum* 属の 3 種 (*P. lima* complex、*P. aff. foraminosum* および *P. hoffmannianum*) のみが産生することが明らかになった。これより、オセアニア地域における、底生性微細藻類が産生する下痢性貝毒に起因する底生性魚介類の毒化リスクを検討するためには、これら 3 種について調査研究を行うことが重要であると考えられた。これら有毒な 3 種は、本研究で調査を行ったオセアニア地域の 5 か国において、熱帯海域から温帯海域にかけて広く分布することが明らかとなった。これより、いずれの地域においても、これら有毒種に起因する底生性魚介類の毒化リスクが存在することが示唆された。また、本研究では、各有毒種が分布する地点を明らかにすることが出来たことより、今後は、これらの地点における各有毒種の発生量・動態調査を行う必要があると考えられた。さらには、各有毒種について、様々な水温や塩分等の条件下で培養試験を行うことで、それらの増殖能および毒産生能を明らかにする必要があると考えられた。

ニュージーランドにおいて、これら有毒な *Prorocentrum* 属種が分布していた地点における、下痢性貝毒による底生性魚介類 (巻貝類) の毒化状況を検討した。その結果、本国の沿岸域に広く分布し食用とされている巻貝 (キヤッツアイスネイル) には、本毒が蓄積していないことが明らかとなった。今後は、同所に

分布する他の巻貝類 (刈り取り食者、沈積物食者や捕食者)についても同様に毒分析を行い、その毒化状況を把握する必要があると考えられた。

ニュージーランドでは、下痢性貝毒による食中毒の発生を防止するために、水揚げされた養殖二枚貝等について、高精度かつ高感度な機器分析 (LC/MS/MS)による貝毒検査が為されている。この機器分析を行う際には、下痢性貝毒 (OA および DTX1)の標準物質が必須となる。現在、この貝毒標準品、とりわけ DTX1 の国際的な需要が高まっており、在庫切れとなる恐れが危惧されている。これより、本国における下痢性貝毒の検査のためにも、DTX1 を主とした貝毒標準品の安定的な供給が求められている。私が所属するコースロン研究所では、これまで本国における DTX1 産生渦鞭毛藻を探索してきたが、その発見には至っていなかった。本研究では、同研究所が長年探し求めてきたDTX1を産生する*Prorocentrum* 属各種を発見すると共に、それらの培養株を確立することに初めて成功した。今後は、本研究で確立した DTX1 産生株のうち、本毒を高産生する培養株を選抜し、その選抜株の大量培養による効率的な DTX1 標準品の製造が本国にて行われることが期待される。

## 成果の発表・関係学会への参加状況

### 1. 学会誌等への発表

本研究において得られた成果を、学術論文 (査読無)として 3 報に纏め発表した。

- 1) Juliette Butler, **Tomohiro Nishimura**, Sam Murray, Lesley Rhodes. (2019) HABs in Paradise revisited. *Harmful Algae News* 62: 18–19.
- 2) Lesley Rhodes, Sam Murray, Tim Harwood, Kirsty Smith, **Tomohiro Nishimura**, Thomas Trnski. (2019) Epiphytic dinoflagellates from Niue, South Pacific Ocean. *Harmful Algae News* 62: 16–17.
- 3) Sam Murray, **Tomohiro Nishimura**, Ron Fyfe, Tim Harwood, Lesley Rhodes. (2018) Sampling for benthic dinoflagellates in the Solomon Islands. *Harmful Algae News* 61: 11–12.

その他にも、派遣期間中に 7 報の学術論文 (査読有)を発表した。

- 1) **Tomohiro Nishimura**\*, Hajime Uchida\*, Toshiyuki Suzuki, Wittaya Tawong, Shota Abe, Shingo Arimitsu, Masao Adachi. (2020) First report on okadaic acid production of a benthic dinoflagellate *Prorocentrum* cf. *fukuyoi* from Japan. *Phycological Research* 68 (1): 30–40. (\* These authors contributed equally to this work)
- 2) Lesley L. Rhodes, Kirsty F. Smith, J. Sam Murray, **Tomohiro Nishimura**, Sarah C. Finch. (2020) Ciguatera Fish Poisoning: The Risk from an Aotearoa/New Zealand Perspective. *Toxins* 12 (1): 50.
- 3) **Tomohiro Nishimura**\*, Hajime Uchida\*, Ryoko Noguchi, Hiroshi Oikawa, Toshiyuki Suzuki, Hiroshi Funaki, Chiho Ihara, Kyoko Hagino, Shingo Arimitsu, Yuta Tanii, Shota Abe, Kana Hashimoto, Katsuya Mimura, Kouki Tanaka, Ippei Yanagida, Masao Adachi. (in press) Abundance of the benthic dinoflagellate *Prorocentrum* and the diversity, distribution, and diarrhetic shellfish toxin productivity of *Prorocentrum lima* complex and *P. caipirignum* in Japan. *Harmful Algae* DOI: 10.1016/j.hal.2019.101687. (\* These authors contributed equally to this work)
- 4) Wittaya Tawong, Pongsanat Pongcharoen, **Tomohiro Nishimura**, Masao Adachi. (2019) Molecular characterizations of Thai *Raphidiopsis raciborskii* (Nostocales, Cyanobacteria) based on 16S rDNA, rbcLX, and cylindrospermopsin synthetase genes. *Plankton and Benthos Research* 14 (4): 211–223.
- 5) Osamu Miura, Misako Urabe, **Tomohiro Nishimura**, Katsuki Nakai, Satoshi Chiba. (2019) Recent lake expansion triggered the radiation of freshwater snails in ancient Lake Biwa. *Evolution Letters* 3 (1): 43–54.
- 6) Alvin P. Monotilla, **Tomohiro Nishimura**, Masao Adachi, Yuta Tanii, Danilo B. Largo, Masanori Hiraoka. (2018) Examination of prezygotic and postzygotic isolating barriers in tropical *Ulva* (Ulvophyceae, Chlorophyta): evidence for ongoing speciation. *Journal of Phycology* 56 (5): 517–532.
- 7) **Tomohiro Nishimura**, Wittaya Tawong, Hiroshi Sakanari, Takuji Ikegami, Keita Uehara, Daiki Inokuchi, Masatoshi Nakamura, Takuya Yoshioka, Shota Abe, Haruo Yamaguchi, Masao Adachi. (2018) Abundance and seasonal population dynamics of the potentially ciguatera-causing dinoflagellate *Gambierdiscus* in Japanese coastal areas between 2007 and 2013. *Plankton and Benthos Research* 13 (2): 46–58.

また、派遣期間中に 1 報の学術論文 (査読無し)を発表した。

- 1) Patricia Tester, Lisa Wickliffe, Jonathan Jossart, Lesley Rhodes, Henrik Enevoldsen, Masao Adachi, **Tomohiro Nishimura**, Francisco Rodriguez, Mireille Chinain, Wayne Litaker. (in press) Global distribution of the genera *Gambierdiscus* and *Fukuyoa*. *Proceedings of the 18th International Conference on Harmful Algae*, Nantes, France 2018.

### 2. 関係学会への参加状況

派遣期間中に、フランスで開催された 18th International Conference on Harmful Algae およびニュージーランドで開催された The 33rd Australasian Society of Phycology and Aquatic Botany meeting の 2 つの国際学会に参加した。国際学会にて 8 件および国内学会にて 7 件の発表を行った。