

| | | | |
|---------------|---|----|-------|
| 研究分野 | 7 被災以降の漁場環境を把握し、安全・安心な養殖生産を促進 | 部名 | 漁場保全部 |
| 研究課題名 | (1) 貝毒原因プランクトン出現状況モニタリング体制の整備 | | |
| 予算区分 | 県単（水産物品質管理推進事業・漁場保全総合対策事業）国庫（貝毒の安全性の確保） | | |
| 試験研究実施年度・研究期間 | 平成 18 年度～平成 25 年度 | | |
| 担当 | （主）加賀 新之助 （副）内記公明・渡邊志穂 | | |
| 協力・分担関係 | 沿岸地区単協、県漁連、北里大学海洋生命科学部 | | |

<目的>

本県では、チリ地震津波（昭和 35 年）の翌年に、大船渡湾産アカザラガイにより死者 1 名を含む 20 人の麻痺性貝毒による中毒事故が起きている。この教訓を踏まえ中毒未然防止のため、貝毒監視体制が整備されてきたが、貝類養殖の経営安定を図るため、技術の進歩に応じた対応が求められている。

そこで、近年、貝毒原因プランクトンの増殖予測指標を用いた毒化予測の研究や貝毒簡易測定法の開発が進められていることから、原因プランクトン研究と併せて簡易測定法を活用した毒化予測技術を開発し、貝類の計画的生産に資する。

さらに、毒化予測技術の確立と普及により、貝毒による食中毒の未然防止と養殖業への影響を緩和するものである。

<試験研究方法>

1 春～夏に出現する麻痺性貝毒原因プランクトン増殖予測指標及び簡易測定法を用いた毒化予測技術開発

(1) 定点調査（県単：漁場保全総合対策事業費）

前年度に引き続き設置した大船渡湾清水漁場内の貝毒調査用養殖筏を定点とした（図 1）。

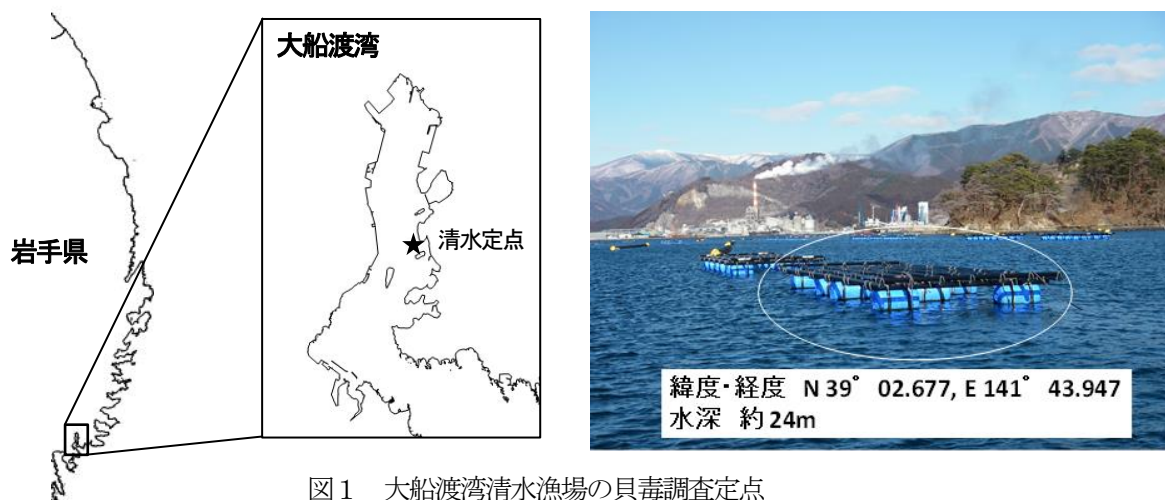


図 1 大船渡湾清水漁場の貝毒調査定点

(地図の背景図には国土地理院の基盤地図情報を使用した)

(2) 麻痺性貝毒原因プランクトン調査（県単：漁場保全総合対策事業費）

ア 麻痺性貝毒原因プランクトンの調査

4～3月まで週 1 回を原則として合計 45 回行った。現場海水は、表層～底層まで 2m 毎にバンドーン採水器を用いて採取した。各海水 500 mL を、研究室に持ち帰り、孔径 20 μ m のネットを用いて重力ろ過法により約 5 mL に濃縮した。次に、濃縮試料の一部を光学顕微鏡下で観察し、麻痺性貝毒原因プランクトンのアレキサンドリウム・タマレンセを計数した。

イ 増殖予測指標を用いた情報提供

麻痺性貝毒原因プランクトンのアレキサンドリウム・タマレンセは、type1 と type2 が存在し type1 が

確認されてから約2週間後に大増殖することが明らかになっている。type1 を指標として増殖予測する場合のフローを図2に示した。

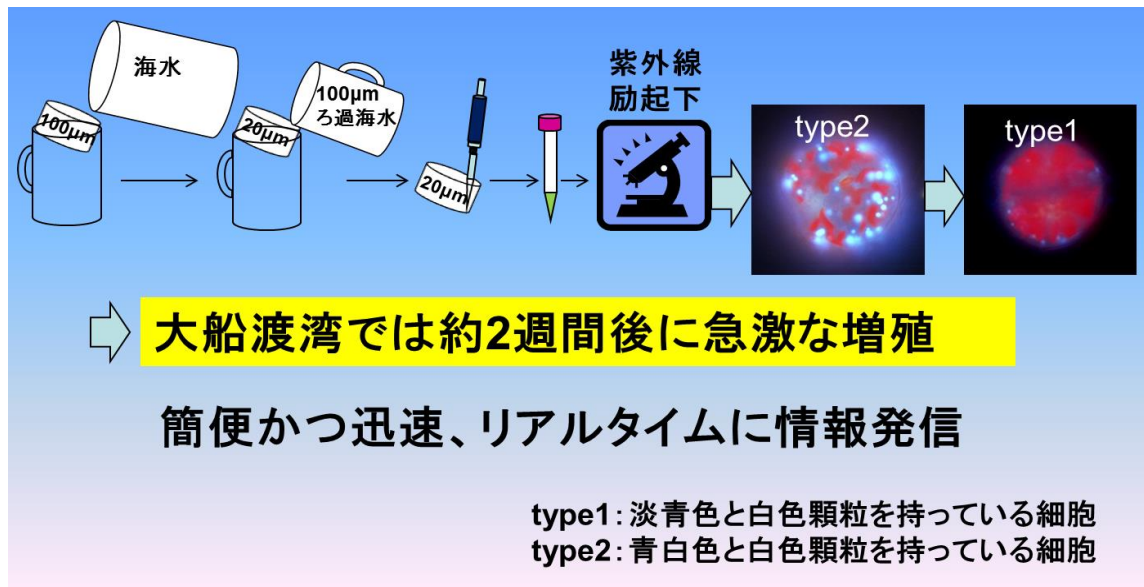


図2 アレキサンドリウム・タマレンセの増殖予測指標を用いた予測手法

フィールドにおいては、タマレンセの数が海水1 L当たり 100 細胞未満と少ない時には type2 が優占し、増殖開始の1週間前には type1 が優占する。さらに増殖開始から約1週間後に再び type2 が優占し急激な増殖となる。そこで、毎週サンプリングされた海水の検鏡による type1 の出現状況をもとに、増殖に関する注意情報を関係者に提供した。増殖予測指標の詳細は、平成 22 年度(2010)岩手県水産技術センター年報(p26-29)を参照されたい。

(3) 貝毒調査 (国庫：貝毒の安全性の確保、県単：水産物品質管理推進事業)

ア 簡易測定法を用いた毒化予測

今年度は、前年度に準備したホタテガイ中腸腺の麻痺性貝毒抽出液を用いて、貝毒上昇期の2月4日、2月12日及び2月26日の3回、麻痺性貝毒検査キット「SKit」による簡易測定分析(ELISA)と機器分析(HPLC)検査を実施した。なお、麻痺性貝毒成分であるサキシトキシン及びデカルバモイルサキシトキシンのHPLC検査は、行っていない。また、ELISA検査のサンプル希釈倍率は、100倍で実施した。

イ 毒性減衰時期の予測

アレキサンドリウム・タマレンセの出現状況を勘案し、毒化が想定されるホタテガイを4～5月及び9～2月に採取した。麻痺性貝毒の検査は、中腸腺を用いた。4～5月は、機器分析(HPLC)による検査を行い、得られた毒量を Oshima (1995)に従って公定法の毒性値(MU/g)に換算した。なお、麻痺性貝毒成分であるサキシトキシン及びデカルバモイルサキシトキシンの分析は行っていない。9～2月は、公定法による検査とした。詳細は、「平成 25 年度 (2013) 漁場保全総合対策事業 貝毒原因プランクトン出現状況のモニタリング 平成 26 年 3 月 岩手県水産技術センター」の報告書を参照されたい。

毒性減衰時期の予測式は、昭和 57 年重要貝類等毒化点検調査(水産庁漁業公害調査委託費)で開発した以下の式を用いた。

$$y=106 \times \log x - 127.6$$

x: ホタテガイ中腸腺の最高毒性

y: ホタテガイ中腸腺の最高毒性から国の監視強化の基準値(20 MU/g 中腸腺)に減衰するまでの日数

2 秋～冬に出現する麻痺性貝毒原因プランクトンの増殖予測指標の探索

今年度は、フィールドや室内試験で観察された麻痺性貝毒原因プランクトン(アレキサンドリウム・カテナラ)の増殖予測指標を探索するに当たり、これまでの知見を整理した。

3 下痢性貝毒原因プランクトン増殖および麻痺性貝毒原因プランクトン消滅予測技術開発

上述した麻痺性貝毒原因プランクトン調査時に、多項目水質計による水温、海水密度、溶存酸素を測定するとともに、表層～底層 22m まで 2 m 毎(12 層)に採取した海水中の亜硝酸態窒素+硝酸態窒素及びクロロフィル *a* を測定し環境データと下痢性貝毒原因プランクトンの増殖、麻痺性貝毒原因プランクトンの消滅時期との関係を検討した。

<結果の概要・要約>

1 春～夏に出現する麻痺性貝毒原因プランクトン増殖予測指標及び簡易測定法を用いた毒化予測技術開発

(1) 麻痺性貝毒原因プランクトン調査

ア 麻痺性貝毒原因プランクトンの情報提供

図3に平成25年度大船渡湾清水定点における麻痺性貝毒原因プランクトンのアレキサンドリウム・タマレンセの鉛直分布の時系列変化を示す。アレキサンドリウム・タマレンセは、4～7月及び1～3月に出現し、その最高出現数は4月中旬の海水1L当たり78,560細胞であった。関係者への出現状況に関する情報提供は、4～3月まで週1回、合計38回行った。

イ 増殖予測指標を用いた情報提供

アレキサンドリウム・タマレンセの増殖予測指標は調査開始日の4月2日に type 1 が 75%、type2 が 25% 認められ、「今後増加する可能性がある」との情報提供を関係者に行った。その結果、4月2日から2週間後の4月15日には、今年度の最高出現数が確認され精度の高い予測となった。

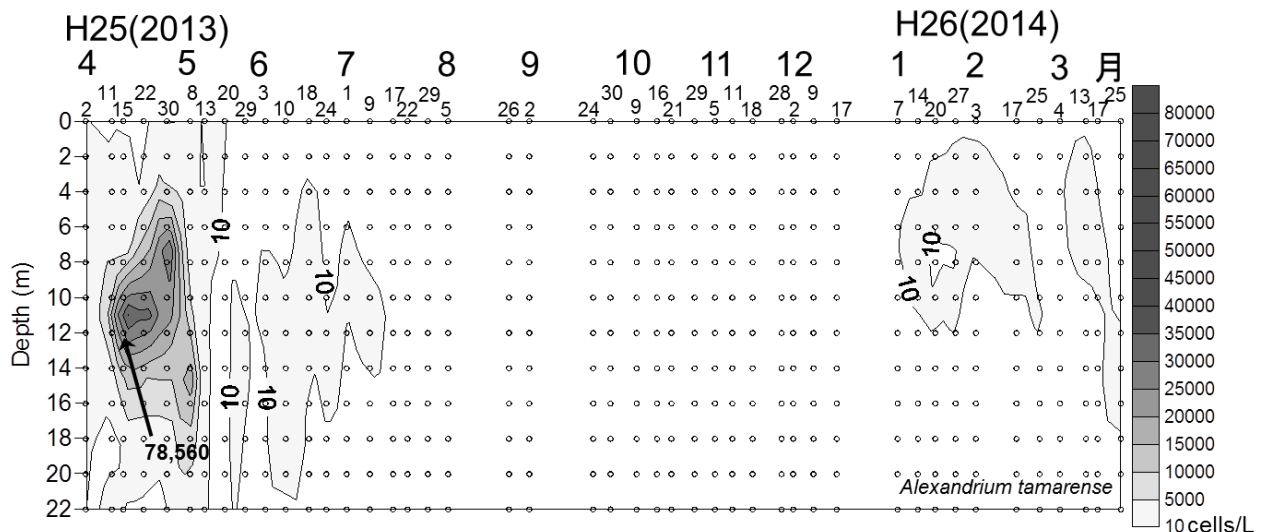


図3 平成 25 年度大船渡湾清水定点における麻痺性貝毒原因プランクトン(アレキサンドリウム・タマレンセ)の鉛直分布の時系列変化

(2) 貝毒調査

ア 簡易測定法を用いた毒化予測

平成 25 年 2 月 4 日の調査開始日には、簡易分析(ELISA)で 22.5 nmol/g 中腸腺、機器分析(HPLC)で 25.0 nmol/g 中腸腺(29 MU/g 中腸腺)のホタテガイ中腸腺の麻痺性貝毒が検出され、国の監視強化の基準値(20MU/g 中腸腺)を超えていた。2月12日には、ELISA で 31.5 nmol/g 中腸腺、HPLC で 28.4 nmol/g 中腸腺(37 MU/g 中腸腺)であった。その後、アレキサンドリウム・タマレンセの増加に伴い、2月26日には、ELISA で 83.6 nmol/g 中腸腺、HPLC で 62.8 nmol/g 中腸腺(85.4 MU/g)と毒量の上昇が認められた。これらにより国の監視強化の基準値である 20 MU/g 中腸腺付近では、ホタテガイ中腸腺の毒量確認は、ELISA 検査により可能であると考えられた。

イ 毒性減衰時期の予測

ホタテガイ中腸腺の毒性は、5月13日に4,647 MU/g 中腸腺(HPLC 毒量からマウス毒性値に換算)の最高

毒性を記録した(図4)。そこで、最高毒性の値を予測式に代入したところ、国の監視強化の基準値に減衰するまでの日数は、 $y=106 \times \log(4,647) - 127.6 = 261$ (日)と算出された。すなわち、2月上旬までの約9ヶ月の間は、国の監視強化の基準値を超える毒性が確認されると予測された。実測値は、1月27日に20 MU/g 中腸腺(マウス毒性値)まで低下し(図4)、予測式の有効性が期待されるが、HPLCで分析できなかった麻痺性貝毒成分を考慮すると、さらなる検証を要する。

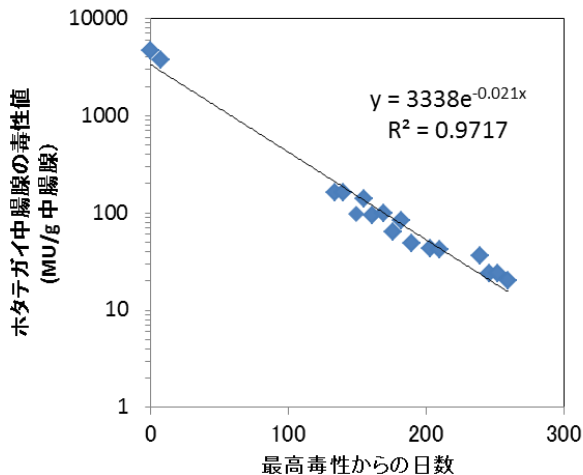


図4 ホタテガイ中腸腺麻痺性貝毒の毒性減衰時期(実測値)

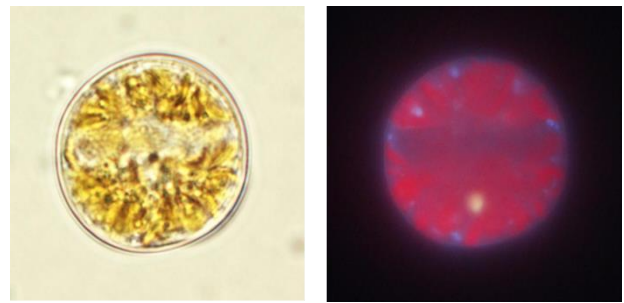


図5 2008年7月23日に大船渡湾清水定点(図1)の表層2mで採取したアレキサンドリウム・カテネラ(左:光学写真、右:紫外線励起光下写真)

2 秋～冬に出現する麻痺性貝毒原因プランクトン(アレキサンドリウム・カテネラ)の増殖予測指標の探索 (1) フィールド試験

アレキサンドリウム・カテネラに関して、紫外線(UV)励起光下で、生細胞を観察した文献は筆者が知る限り見当たらない。図5は、2008年7月23日に大船渡湾清水定点の表層2mで採取したアレキサンドリウム・カテネラ(生細胞)で、左は光学顕微鏡下、右はUV励起光下で撮影した同一細胞の写真である。図5(写真右)に示したように、UV励起光下で蛍光色調の異なる球状(写真の粒状の部分)の自家蛍光顆粒の存在を認めた。これらの顆粒は、アレキサンドリウム・タマレンセの自家蛍光顆粒と同様に、淡青色及び白色顆粒であった。また、淡青色の顆粒は、葉緑体に隣接して分布し、白色顆粒は細胞の下殻に分布しており、これらの特徴もアレキサンドリウム・タマレンセと同様であり、引き続き増殖予測指標の探索に向け、知見の収集に努める必要がある。

(2) 培養株における知見

アレキサンドリウム属がリソソーム様顆粒と青白色自家蛍光顆粒を有するとする篠原らの報告「平成20年度日本水産学会春季大会 有毒渦鞭毛藻アレキサンドリウム・タマレンセの自家蛍光顆粒に関する研究」を参照されたい。

3 下痢性貝毒原因プランクトン増殖及び麻痺性貝毒原因プランクトン消滅予測技術開発

4月以降の水温上昇に伴いアレキサンドリウム・タマレンセが対数増殖した(図6)。4月2日～30日の対数増殖期には、酸素が上昇下降を繰り返しながら徐々に低下し(図7)、4月2日～11日にかけて、植物プランクトンの急激な減少(目安:クロロフィルaの低下)(図8)が観察された。一方、5月8日～27日の消滅時には、対数増殖期に比べ、明瞭な栄養塩の枯渇(目安:1 $\mu\text{mol/L}$ 未満)が認められた(図8)。

下痢性貝毒原因プランクトンのディノフィシス・フォルティの初期出現は、栄養塩の枯渇と同時に観察された(図9)。これらの傾向に基づき、海況情報と併せて貝毒原因プランクトン情報としてタマレンセの消滅予測及びフォルティの増殖前予測を、グラフ化のうえ、関係者にリアルタイムに提供した。

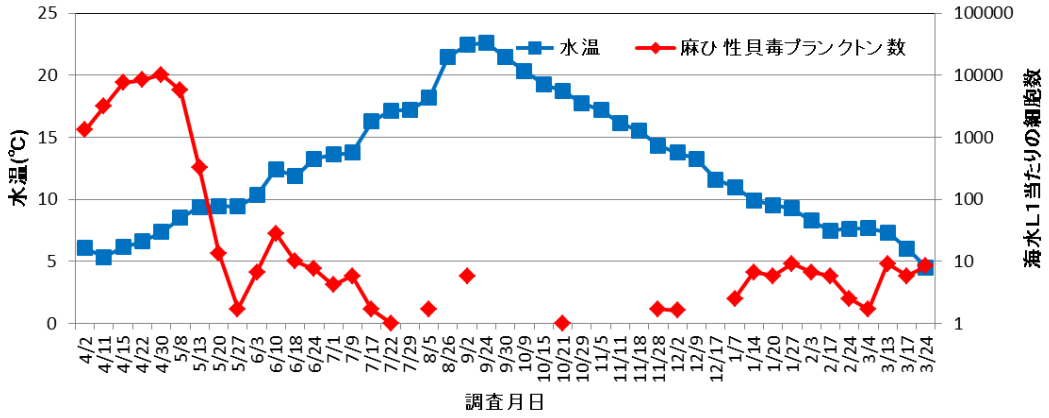


図6 麻痺性貝毒原因プランクトンの出現状況と水温の動向(12層平均)

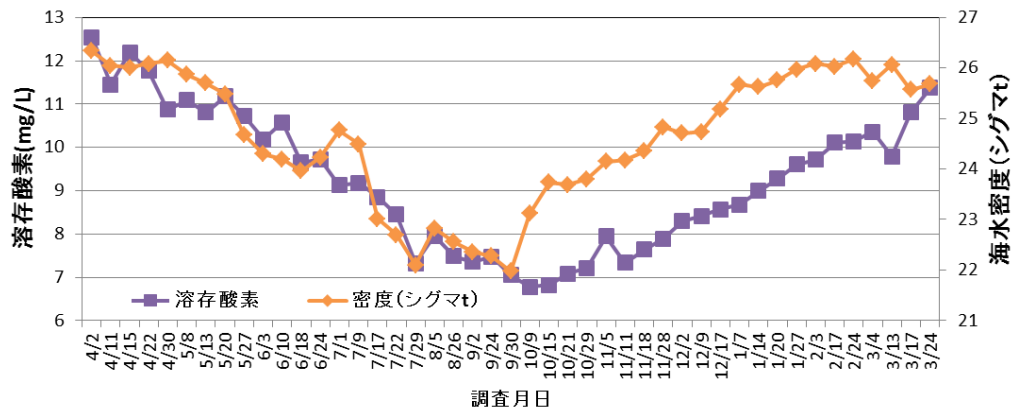


図7 溶存酸素と密度の動向(12層平均)

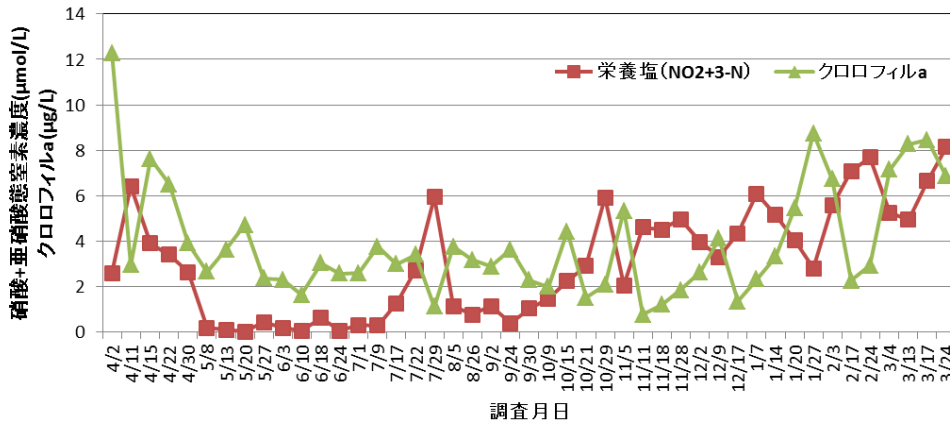


図8 栄養塩 (NO2+3-N) 及びクロロフィルaの動向(12層平均)

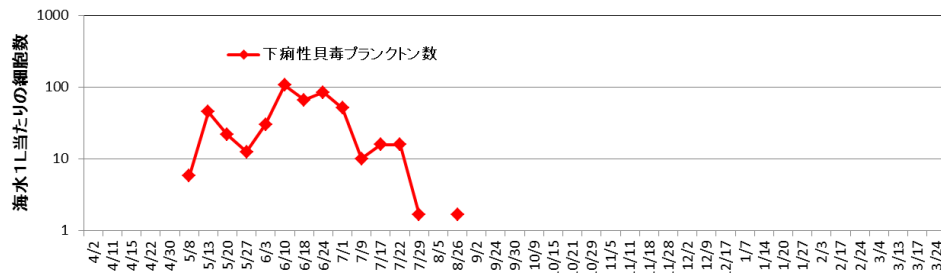


図9 下痢性貝毒原因プランクトンの出現状況

＜今後の問題点＞

- 1 春～夏に出現する麻痺性貝毒原因プランクトン増殖予測指標及び簡易測定法を用いた毒化予測技術開発
問題点：アレキサンドリウム・タマレンセの増殖予測は可能となったものの、ホタテガイの毒化と消滅時期の予測が確立されていない。また、ホタテガイ中腸腺の毒量が高い時期の毒量の定量化において、機器分析と ELISA の結果に差が認められた。
対応：ホタテガイにおいて、簡易測定法を用い、国の監視強化の基準値（20 MU/g 中腸腺）を超える時期、及び下回る時期の予測を引き続き検討する。簡易測定法を用いるにあたり、毒抽出液の希釈倍率について検討を加えるほか、並行して、機器分析による定量評価を実施する。
- 2 秋～冬に出現する麻痺性貝毒原因プランクトンの増殖予測指標の探索
問題点：カテナラは UV 励起光下でタマレンセと同様の自家蛍光顆粒を持っていたが、フィールドや室内試験でその変化が確認できなかった。
対応：引き続きフィールドや室内試験で自家蛍光顆粒の変化を確認するとともに、来年度から実施予定の貝毒検査新技術開発事業（国庫）において、自家蛍光顆粒に関係した増殖予測指標の探索を行う。
- 3 下痢性貝毒原因プランクトン増殖予測および麻痺性貝毒原因プランクトン消滅予測
問題点：通常の採水器では、各層から採水するため、現場での採水作業（現在、0～22m まで 2m ごとの 12 回の採水）とプランクトン検査（12 検体）の負担が大きく、情報提供に時間が必要である。
対応：ホースを用いて表層から底層の海水をまとめて採水する方法へ改善し、現場作業（1 回の採水）及びプランクトン検査（1 検体）の負担を軽減するとともに処理時間の短縮による迅速な情報提供を行う。

＜結果の発表・活用状況等＞

- 1 研究成果
「平成 25 年度 推進会議 水産研究開発成果情報 東日本大震災後の岩手県沿岸における麻痺性貝毒による貝類の毒化 岩手県水産技術センター」
「リエゾン I 研究シーズ集 2013 海水の柱状採水を用いた貝毒プランクトン発生予測」
- 2 学会等発表
平成 25 年度 日本水産学会春季大会
「下痢性貝毒原因種 *Dinophysis fortii* の毒量と毒組成：自然群集と同一起源培養株の比較 神山孝史（水研セ東北水研）・鈴木敏之・長井敏（水研セ中央水研）・高田芳博（秋田水振セ）・高坂祐樹（青森産技セ）・加賀新之助（岩手水技セ）・奥村裕（水研セ東北水研）」
平成 25 年度 日本水産学会春季大会
「東日本大震災後の岩手県大船渡湾における渦鞭毛藻シスト水平分布 池田有里（北里大海洋）・加賀新之助・内記公明（岩手水技セ）・小檜山篤志・山田雄一郎・緒方武比古（北里大海洋）・松岡數充（長大環シナ・セ）」
北里大学海洋生命科学部・岩手県水産技術センター公開合同セミナー（第 3 回）
震災後 3 年、海はどう変わったのか？～よみがえる環境と生物～ 2014. 3. 2
「大船渡湾における麻痺性貝毒原因渦鞭毛藻シストの分布 緒方武比古・池田有里（北里大海洋）・加賀新之助・内記公明（岩手水技セ）・小檜山篤志・山田雄一郎（北里大海洋）・松岡數充（長大環シナ・セ）」
平成 25 年度東北マリンサイエンス拠点形成事業（海洋生態系の調査研究）全体会議 2013. 6. 8
「大船渡湾における環境およびプランクトン群集組成の震災前後の変化 山田雄一郎（北里大海洋）・加賀新之助（岩手水技セ）」
- 3 研究報告等：課題解決のための既往文献等
平成 25 年度（2013）漁場保全総合対策事業 貝毒原因プランクトン出現状況のモニタリング 平成 26 年 3 月 岩手県水産技術センター報告書

4 活用状況等

プランクトンの調査結果については、調査終了後に直ちに、県水産振興課、県漁連、関係漁協等に情報提供し、的確な貝毒の監視および安全な貝類の流通に活用されている。また、研究結果に基づき、自家消費者に向けても情報を提供し注意を促すとともに、生産者による貝毒検査と毒化に伴う二枚貝の出荷自主規制措置により有効に活用された。