

閉会の挨拶 企画責任者 野口玉雄 (長大水)

## 1. シャットネラの活性酸素を介した魚毒性発現機構

小田達也・金 大景・石松 惇・  
橋 勝康・村松 毅 (長大水)

【目的】シャットネラによる赤潮は現在もなお頻発しているが、その魚毒性発現機構については未だ多くの点不明である。これまでの研究により、シャットネラが活性酸素を産生放出する事、また、活性酸素産生活性が低いシャットネラ株はブリに対しても低毒性であることを見出している。本研究では、シャットネラの活性酸素産生機構およびその魚毒性発現における関与について検討した。

【方法】シャットネラの活性酸素産生は主に化学発光により測定した。実験魚として、体重 600 g 前後のブリを用いた。シャットネラ細胞浮游液を攪拌により物理的刺激を与えた後、遠心により上清を得、これをシャットネラ細胞表層の glycolyx (glyx) を含む無細胞系とした。また、この上清を濃縮凍結乾燥後、常法に従いラットに免疫して特異的抗血清を調製した。

【結果】シャットネラの glyx は物理的刺激の他、魚粘液物質やレクチン添加によっても容易に脱落した。シャットネラ glyx を含む無細胞系に NADPH を添加すると、著しい化学発光が誘導され、その活性は白血球膜酵素である NADPH oxidase の特異的阻害剤である diphenyleneiodonium (DPI) により濃度依存的に阻害された。従って、シャットネラ glyx には NADPH oxidase 様の活性酸素産生系が存在すると推定された。シャットネラ無細胞系で免疫して得た抗血清はシャットネラ表層に特異的に反応した。さらに、本抗血清はシャットネラ暴露後のブリ鰓組織表層と特異的に反応することが間接蛍光法により観察された。以上より、シャットネラ細胞が魚鰓を通過する際、鰓粘液物質との接触により離脱した glyx の一部が鰓表層に付着し、その場で活性酸素を持続的に産生することにより、鰓組織に傷害を与え、魚毒性を発現する可能性が示唆された。

## 2. 二枚貝の *Gymnodinium catenatum* 給餌による毒代謝の解明

高谷智裕 (長大生研)

【目的】近年、九州沿岸海域では *Gymnodinium catenatum* によるアサリ、カキ、ヒオウギガイなどの

二枚貝への PSP (麻痺性貝毒) 毒化が頻発している。アサリは他の二枚貝に比べて毒化の程度が低く、比較的短期間で無毒化するため、この貝における毒の蓄積・代謝・排泄機構に興味を持たれた。本研究では、この点を解明する目的で、アサリに培養藻体を給餌し、毒の動態を検討した。

【方法】長崎市多良川河口で採取した無毒アサリを 1 週間程度新鮮な海水で順化後、10 個体ずつ 12 区に分け、それぞれ 1 L のろ過海水を満たした飼育水槽に収容した。一方、熊本県宮野河内湾から単離した *G. catenatum* を 21°C で大量培養し、ろ過により得た藻体を 1 区あたり 400 万細胞 (アサリ 1 個体あたり平均 40 万細胞) の割合で各区の飼育水槽に給餌した。給餌 0.5 時間から 168 時間 (7 日) 後にかけて経時的に 1 区ずつアサリを取り上げるとともに、飼育水槽中の藻体残渣、ふんおよび海水を採取し、それぞれについて既報の HPLC 法により含有毒量と毒成分を調べた。

【結果】アサリは給餌後約 12 時間でほぼ全ての藻体を摂食した。それと平行してアサリ中の毒量も 12 時間まで上昇したが、その後下降に転じ 72 時間までに最大毒蓄積時の約 20%、168 時間後までには約 6% に減少した。毒蓄積率は低く、12 時間後で給餌毒量の約 10% しか蓄積が見られなかった。餌として用いた *G. catenatum* の毒成分は C1, 2 (PX1, 2) および GTX5, 6 の低毒性 4 成分から成っており、給餌後 1 時間まではアサリ中にも同様の 4 成分のみが認められたが、3 時間以降になると貝体内で変換して生じたと思われる dcGTX2, 3, dcSTX や GTX2, 3 などの成分が出現した。また、C2 や GTX5, 6 の蓄積に比べ C1 の蓄積量が著しく高く、アサリが C1 を蓄積しやすいか、或いはアサリ体内で C2 から C1 への変換が起こっていることが示唆された。一方、擬ふんを含むふんの毒量は、最大でも給餌毒量の 2% 程度で、毒組成は藻体のそれとほぼ同様であった。これに対し、飼育海水中の毒量は、給餌 12 時間後給餌毒量の約 23% まで急増し、その後も次第に増加した。毒成分は C1, 2 および dcGTX2, 3 から成り、GTX5, 6 は全く検出されなかった。以上の結果から、アサリは摂餌直後からふんとは別に海水中へ毒を比較的短期間で大量に排泄していることが示唆された。貝への蓄積毒量 (モル) は比較的低かったが、低毒性成分が高毒性成分へ変換することにより毒力 (MU) としては計算上 5 倍以上になる場合もあった。減毒過程では

主として C1, 2 が排泄されるが、時間の経過とともにアサリ中で変換されたデカルバモイル体の排泄も増加する傾向が見られた。

### 3. 周防灘における有害赤潮生物による毒化と斃死状況

田森裕茂・岩野英樹（大分海水研セ）・  
馬場俊典（山口水研セ）・  
神蘭真人・江崎恭志（福岡水海技セ）

山口、福岡および大分の3県は、西部瀬戸内海の周防灘で1976年から有害赤潮生物のモニタリングを実施してきた。今回、これまでの結果を共同して整理し、周防灘における赤潮発生状況の変化と近年新たに発生するようになった有害赤潮生物による漁業被害の状況をとりまとめたので報告する。また、麻痺性貝毒（PSP）原因種の出現と貝の毒化について周防灘における近年の知見と状況を紹介する。

#### 1. 周防灘における赤潮発生状況の変化と近年新たに発生するようになった有害赤潮生物による漁業被害

周防灘の赤潮発生件数は、1976年から1980年まで45件/年前後であったが、以後漸減し、近年は20件/年前後と半減している。これは各県の海域に共通してみられる傾向である。この間の栄養塩量の変化を大分県海域の例でみると、PINが1982年以降顕著に減少しているのに対して、PO<sub>4</sub>-Pはほぼ横這いか緩やかな減少傾向で推移しており、DINの減少が赤潮発生件数減少の一因になっていると考えられる。

このように水質環境が変化する中、赤潮構成種の変化をみると、①発生件数の顕著な減少がみられる種として珪藻類、*Ceratium* 属および *Chattonella* 属が、②緩やかな減少傾向にある種として *Gymnodinium mikimotoi* と *Heterosigma akashiwo* があげられる。一方、③ *Gonyaulax polygramma*, *Heterocapsa circularisquama* および *Chattonella verruculosa* の赤潮が近年新たに発生するようになっており、今後注意すべき種となっている。これら3種による赤潮の発生と被害の概要は以下のとおりである。

- *G. polygramma* : 1993年から各県の海域で12件発生。8, 9月から10月にかけての発生が多い。高密度かつ長期に継続することが多いが、被害例は1件と少ない。
- *H. circularisquama* : 1997年から山口県・福岡県の海域で8月から9月に5件発生。継続日

数は3~17日。被害例は2件で、このとき10<sup>4</sup> cells/mlの密度が1週間以上続いている。

- *C. verruculosa* : 1993年6月9~15日に山口県徳山市戸田地先で発生。薄く着色する程度の密度で、養殖のハマチとマダイが斃死。

#### 2. 周防灘における麻痺性貝毒原因種の出現と毒化の状況

##### 1) 徳山湾における *Alexandrium catenella* の出現と貝の毒化

本種は徳山湾で過去数回高密度になったが、プランクトンの出現期間が短かったこと等によって、本種の出現と貝の毒化との関係等は十分に検討されていなかった。

しかし1997年5月下旬に本種遊泳細胞が最高43,000 cells/mlに達したとき、アサリ、マガキ、ムラサキイガイにPSPが検出された（馬場ら（1999）、坂本ら（1999））。このとき馬場らは詳細な現地調査を行い、徳山湾における本種の好適環境条件は水温17.2~22.2°C、塩分24.95~32.62であることを示した。さらに彼らは、アサリ可食部のPSP量と遊泳細胞の出現密度の推移を検討し、①10 cells/ml以上の密度が数週間継続したり、10<sup>2</sup> cells/ml以上に急激に増加するとアサリが毒化する可能性があること、②10<sup>3</sup> cells/ml以上になると規制値を超える可能性があること、③毒化したアサリのPSP量が検出限界以下になるには遊泳細胞の消滅後2~3週間を要することを示唆した。

##### 2) 周防灘における *Gymnodinium catenatum* の発生と貝の毒化

本種は、1996年に周防灘中央部で局所的に低密度かつ短期の出現があったものの（馬場私信）、その後出現することなく経過していた。しかし1999年12月1日に大分県海域で229 cells/Lの遊泳細胞が確認され、ついで12月8日には福岡県海域で、また、翌年1月6日には山口県防府市の沿岸でも遊泳細胞が確認された。最も出現量の多かった大分県海域では、出現のピークは12月中旬に観察され、最高1,076 cells/Lを記録した。その後水温の降下に伴って出現密度は減少したが、翌年2月上旬まで低密度の出現が継続した。また、大分県海域で養殖されていたマガキ可食部から12月上旬に2.2 MU/gのPSPが検出された。このとき本種以外にPSPの原因となる種は発見されておらず、この毒化は本種によるものと考えられる。

上記2種の他に *A. tamarense* の出現が山口県・