

# 下痢性貝毒を保有する微小プランクトンの 探索に関する研究

(研究課題番号 12660170)

平成12年度～13年度科学研究費補助金（基盤研究（C）（2））  
研究 成 果 報 告 書



平成14年3月

研究代表者 今 井 一 郎  
(京都大学大学院農学研究科)

## は し が き

近年、我が国の貝類養殖はますます盛んになり、特に東北や北海道の沿岸域においてはホタテガイやマガキ等の貝類生産が漁業生産の中で重要な位置を占めるようになってきている。しかしながら昭和50年代に入ると、ホタテガイ等の貝類の毒化と、毒化した貝を人が食べることによって起こる中毒事件の発生によって、貝類養殖は出荷規制を余儀なくされる等の重大な問題に直面するようになってきている。

我が国において実際に発生する重要な貝毒としては、麻痺性貝毒と下痢性貝毒がある。麻痺性貝毒は原因生物が特定されており、因果関係は明瞭である。一方、下痢性貝毒の原因生物は、渦鞭毛藻に属するプランクトン性の *Dinophysis* 属と底生性の *Prorocentrum* 属が知られている。*Prorocentrum* 属に関しては *P. lima* が分離培養され毒の生産が明らかにされているが、*Dinophysis* 属については培養が何れの種においても成功しておらず、生物学的な知見は乏しいのが現状である。また現場においても、*Dinophysis* 属の発生が見られるのに貝の毒化が起こらなかつたり、逆に *Dinophysis* 属の発生が見られないのに貝が毒化したりするケースが起きている。このことから、下痢性貝毒に関しては発生機構を含めて未だ謎が多い。

近年、*Dinophysis* 属の有毒種の幾つかについて、光合成を行うと同時に餌生物の摂食を行う混合栄養性の生物であることが報告された。本研究においては、下痢性貝毒を保有する未発見の微小生物が海域に生息し、それらを混合栄養性の *Dinophysis* 属が摂食して、二次的に毒化するという作業仮説を設定した。この説に拠れば、例えば瀬戸内海等の西日本海域においても有毒の *Dinophysis* 属が大量に生息するにもかかわらず下痢性貝毒の発生が殆ど起こらない事等が、合理的に説明可能になる。本研究では、下痢性貝毒の発生する海域より多くの微小プランクトンの分離培養を行い、毒の保有を簡便な ELISA 法を用いてスクリーニングした。また、海水試料をサイズ分けして、同様に ELISA 法により、海水中の微小プランクトン全体の毒の保有について検討を加えた。本報告書ではそれらの成果について報告する。

## 研究成果の概要

二枚貝が毒化する下痢性貝毒 (DSP) は、公衆衛生のみならず、出荷が規制されることから水産上の大問題でもある。DSP の原因生物としては渦鞭毛藻 *Dinophysis* 属の 9 種が知られるが、原因藻の発生と貝の毒化が必ずしも対応せず、下痢性貝毒の発生機構は不明な点が多い。近年、*Dinophysis* 属の数種について餌生物の捕食が報じられたことから、毒成分を含有する何らかの微小生物を *Dinophysis* 属が摂食して二次的に毒化するという仮説が立てられる。

ホタテガイの毒化が頻繁な青森県陸奥湾を対象に、青森県水産増殖センターの協力で、海水試料 (表層水と 20m 層の海水) を入手した。マイクロプレートを用いて限界希釈法により、微小藻類 (ピコプランクトン及びナノプランクトン) を多数分離培養した。得られた分離株について、毒保有の有無を、ELISA 法でスクリーニングした。陸奥湾からの分離株 163 株について調べた結果、4 株で陽性反応が得られた。以上から、ELISA 法は簡便な DSP 毒のスクリーニング法であることが判った。陽性の藻株に関しては、LCMS 等によって、DSP 毒保有の最終的な確認を将来行う必要がある。

次に、海水中の *Dinophysis* 属の細胞数を計数すると同時に、海水試料を孔径  $5\mu\text{m}$  の Nuclepore filter を用いて濾過し、濾液画分中の微小粒子をガラス繊維濾紙 (GF/F) 上に捕集して、同様に ELISA 法を用いて DSP 毒量を測定した。その結果、ホタテガイが規制値以上に毒化した時期 (公定法のマウスアッセイによる) の 1 週間前から、また毒化期間中、及び規制値以下へと毒レベルが減少した後の暫くの期間に、微小プランクトン粒子画分の中に DSP 毒が検出された。*D. fortii* 発生と貝の毒化との対応関係は、研究期間中では良い時と無関係と判断される時があった。他の *D. acuminata* の場合は、その発生量とホタテガイの毒化との対応関係が認められなかった。以上得られた結果から、これまで *Dinophysis* 属の計数が現場機関のモニター項目であったが、海水中のプランクトン粒子を全てフィルター上に捕集し、ELISA 法を用いて DSP 毒をモニターする事の有効性が示唆された。

## 研究組織

研究代表者 : 今井一郎 (京都大学大学院農学研究科 助教授)  
研究分担者 : 中原紘之 (京都大学大学院農学研究科 教授)

## 研究経費

平成10年度 : 2,700 千円  
平成11年度 : 800 千円  
計 : 3,500 千円

## 研究発表

### (1) 学会誌・書籍等

- 1) 今井一郎 (2000) 赤潮の発生 - 海からの警告 -. 遺伝 **54** (9) : 30-34.
- 2) 今井一郎・山口峰生・小谷祐一 (2000) 有害有毒プランクトンの生態. 月刊海洋/号外 No.23, 148 - 160.
- 3) Imai, I. and G. Nishitani (2000) Attachment of picophytoplankton to the cell surface of the toxic dinoflagellates *Dinophysis acuminata* and *D. fortii*. *Phycologia* **39** : 456-459.
- 4) 今井一郎 (2001) 沿岸海洋の富栄養化と赤潮の拡大. 海と環境 - 海が変わると地球が変わる (日本海洋学会編), pp.203-211. 講談社, 東京.

### (2) 口頭発表

- 1) 杉岡 光・西谷 豪・三津谷 正・濱野米一・今井一郎 (2000) 青森県陸奥湾における下痢性貝毒原因プランクトンディノフィシス属と小型プランクトンの動態. 平成 12 年度日本水産学会春季大会, 平成 12 年 4 月, 東京.
- 2) 西谷 豪・今井一郎 (2000) 有毒渦鞭毛藻 *Dinophysis* 属の栄養様式に関する考察. 平成 12 年度日本水産学会秋季大会, 平成 12 年 9 月, 福井.
- 3) Imai, I., H. Sugioka, G. Nishitani, T. Mitsuya and Y. Hamano (2001) Monitoring of DSP toxins in small-sized plankton fraction of seawater collected in Mutsu Bay, Japan, by ELISA method : Relation with toxin contamination of scallop. *The 5th International Conference on the Environmental Management of Enclosed Coastal Seas (EMECS 2001)*, 2001, November, Kobe, Japan.