

RF-066 個体群分子タイピングによる有毒微細藻類の人為的グローバル化の実体解明手法の開発

(2) 人間活動による有毒微細藻類の海域間移動の直接的な検証

独立行政法人水産総合研究センター瀬戸内海区水産研究所

赤潮環境部

有毒プランクトン研究室

松山幸彦・山口早苗

平成18～19年度合計予算額	5,847千円
(うち、平成19年度予算額)	3,348千円)
※上記の合計予算額には、間接経費	1,349千円を含む

[要旨] 国内の2海域から入手したマガキ種苗から、珪藻類の他に麻痺性貝毒の原因となる有毒渦鞭毛藻の一種 *Alexandrium tamarense* 等、渦鞭毛藻類を中心とした有毒微細藻類が付着して輸送されてきたのを確認した。マガキ種苗が付着したコレクター1枚から、A海域産の種苗では貝殻外側の部分に最大42細胞、貝殻内部からの排出物には最大720細胞の *A. tamarense* の出現（遊泳細胞）を確認した。B海域産の種苗からは、貝殻外側の部分に120細胞、貝殻内部からの排出物には1,488細胞の *A. tamarense* の出現（遊泳細胞）を確認した。いずれの養殖海域でも日常的に莫大な量の種苗を国内の養殖産地へ供給しており、これによって移動している有毒微細藻の総量は、数百万リットルの現場海水に相当するインパクトであると試算された。マガキ種苗に餌として取り込まれた有毒微細藻等は、一部がマガキの体内での消化を免れ、糞として排出された後に速やかに栄養細胞に復帰していることが明らかとなった。

活魚輸送車による有毒微細藻輸送の可能性を調査したところ、全38試料（13県）のうち、25試料から微細藻を生きた状態で検出した。微細藻の種類は珪藻18種、渦鞭毛藻22種、その他4種であった。このうち、有毒微細藻として、5種が含まれていた。活魚輸送車は産地から市場へと毎日のように海域間を移動していること、産地と都市をネットワーク状に移動している。国内で活魚運搬車によって海域間を輸送されている海水量の試算は困難であるが、少なくとも西日本のB海域に隣接した市場に持ち込まれる海水の量は年間数万トンに達すると試算される。

本サブテーマにおいては、国内の経済活動、特に水産物の輸送に伴って海域間を飛び越えて輸送されている有毒微細藻の実態把握を行った。マガキ種苗の輸送や活魚運搬車など一部の経済活動に注目したが、これらの人間活動によって運ばれる有毒微細藻の量は生物多様性を考えるうえで無視できないほど膨大であると判断され、今後監視体制の強化が必要であろう。

[キーワード] 有毒微細藻、人為的輸送、種苗、活魚運搬車、マガキ

1. はじめに

海洋における一次生産者である植物プランクトン（微細藻）はおよそ2万種類が知られている。その殆どは無害な生物であるものの、一部は生物に対する毒素を産生し、魚介類の鰓に傷害を与えて被害を与えたり、あるいは毒素そのものが高次の生物に濃縮され、それを食したヒトや海産ほ乳類などに中毒を引き起こす現象が問題となっている^{1), 2), 3)}。前者については「赤潮」、後者に

については「貝毒」と便宜的に呼び分けて調査研究が行われている。近年はこれら有毒微細藻の大発生をHarmful Algal Bloom (HAB) と総称するようになってきた²⁾。

近年世界中でHABの拡大がクローズアップされるようになり、その要因として富栄養化^{2),4)}、温暖化による水温の上昇⁵⁾、ダムの建設⁶⁾、地理的に隔離された有毒微細藻の人為的輸送による分布拡大⁷⁾などが指摘されている。陸上植物では外来種の侵入による植生の変動が古くから知られ、海産生物でも付着生物などにおいて認識されているものの⁸⁾、海産微細藻の分野ではこうした外来種の侵入による生物相の変動(種の遷移)はほとんど知られていない。有毒微細藻については本来沿岸性、内湾性が強く、地理的にかけ離れた海域まで分布を拡大することは困難と言われていたが、本邦沿岸でも、それまで分布が全く知られていなかった新しい有毒微細藻が突然大発生し、主に養殖業や沿岸生態系に害作用を及ぼす例が頻出するようになった⁹⁾。

微細藻類は浮遊性の生物(プランクトン)であるため、通常海流の移動に伴って分布を拡大している。ただ近年日本沿岸で急速に認められるようになった新しい有毒微細藻類の出現を海流の移動だけで説明することは困難であり、バラスト水などの人間活動の影響なども示唆されているが、学術的な研究例はほとんどない。

2. 研究目的

HABの中でも、特に人の健康や海洋生態系の攪乱に大きな影響を及ぼす有毒微細藻の拡大について知見の蓄積が不十分である。近年人為的活動による有毒微細藻の分布拡大については、船舶のバラスト水による移送が問題視されている⁷⁾。これに基づき、国際海事機関(IMO)が「船舶バラスト水及び沈殿物の管制及び管理のための国際条約」を示して国際的な枠組みで管理に乗り出している。船舶のバラスト水は膨大であるが、暗所での長時間に及ぶ輸送であるために、すべての有毒微細藻が生残したままで移送される訳ではない。また移送経路も不明確で、分布拡大に及ぼす影響については必ずしも明確にされているとは言えない。その一方で、水産種苗の移植や養殖魚介類の産地間輸送さらには木材や海砂の運搬等を介した有毒微細藻類の人為的移送については、海域から海域へ直接的、かつ短時間で輸送が行われ、その頻度も非常に高く、人為的輸送の主要なルートと考えられる。しかし過去にこれら経済活動におよぶ海域間輸送については室内試験で模擬的に調べられたものを除き^{10),11),12)}、ほとんど実態が把握されていない。従って、それらの人為的活動による影響をモニタリングするためにも、移送ルートの解明と迅速簡便かつ正確にできるシステムの整備が急務となっている。

本課題では水産種苗や養殖魚介類の移送の現場においてモニタリングを行い、サンプルの収集方法、有毒微細藻の濃縮・検出について調査を行って、これら人為的活動による有毒微細藻分布海域間移送の実情について解析を行った。

3. 研究方法

(1) マガキ種苗による有毒微細藻の移送の実態把握

国内の貝類養殖業はホタテガイとマガキが主流であるが、特にマガキにおいては養殖用の種苗を全面的もしくは一部を他海域産のものに依存した養殖形態となっており、日常的に莫大な種苗が海域間を輸送されている。主たるマガキ種苗の供給地は北日本のA海域と西日本のB海域であり、例えばA海域産の種苗は西日本海域まで、1,000km以上も運ばれている例がある。



図1 北日本のA海域より輸送されてきたマガキ種苗の写真

そこで、2006年3月と2007年4月に北日本のA海域から西日本のB海域まで、総移動距離1,280kmを2昼夜かけてトレーラーで輸送されてきたマガキ種苗（図1）を入手して試験に用いた。種苗はホタテガイの殻に殻高2～18mm程度のマガキ種苗が100～250個体前後付着した状態であった。以後、1枚のホタテガイ殻を1コレクターと呼称する。処理の概要を図2に示す。このコレクターの外側と、種苗の内部から出現する有毒微細藻を分けて検出するため、コレクター30枚を無作為に選別し、滅菌海水で殻表面をブラッシングした。得られた沈殿物の一部を有毒微細藻が存在する20～150 μ m画分を十分に滅菌海水で洗浄しながら分画し、さらに滅菌海水に懸濁して、15℃、18時間静置した。処理サンプルの上清を20 μ mのプランクトンネットで濃縮し、有毒微細藻の出現について顕微鏡下で観察・計数を行った。コレクターの内部（マガキ体内）から出現する有毒微細藻を検出するため、上述のブラッシングが終了したコレクターを水道水で5分間十分に洗浄した。なお水道水洗浄前にフジツボ幼生による影響を最小限にするために、コレクター表面に付着しているフジツボ（殆どがシロスジフジツボ）をラジオペンチで潰して除去した。水道水洗浄後、目相2cmのナイロンネットに30枚のコレクターを収容し、20Lのろ過海水（GF/C）に2～4時間浸潤したのちにコレクターを取り上げ、得られた排出液をそのまま一晩静置した後、20 μ mのプランクトンネットで適宜濃縮して出現した有毒微細藻等を検鏡した。

さらに、2006年5月上旬に西日本のB海域で畜養され、図3に示したように隣県のC海域への出荷されるマガキ種苗（5～38mm程度のマガキ種苗が40個体前後付着）を入手し、トラック輸送を想定し、滅菌海水を含ませたキムタオルで包んだ状態で暗所にて一晩静置し、上述と同様の操作を行って有毒微細藻等の出現について調査を行った。

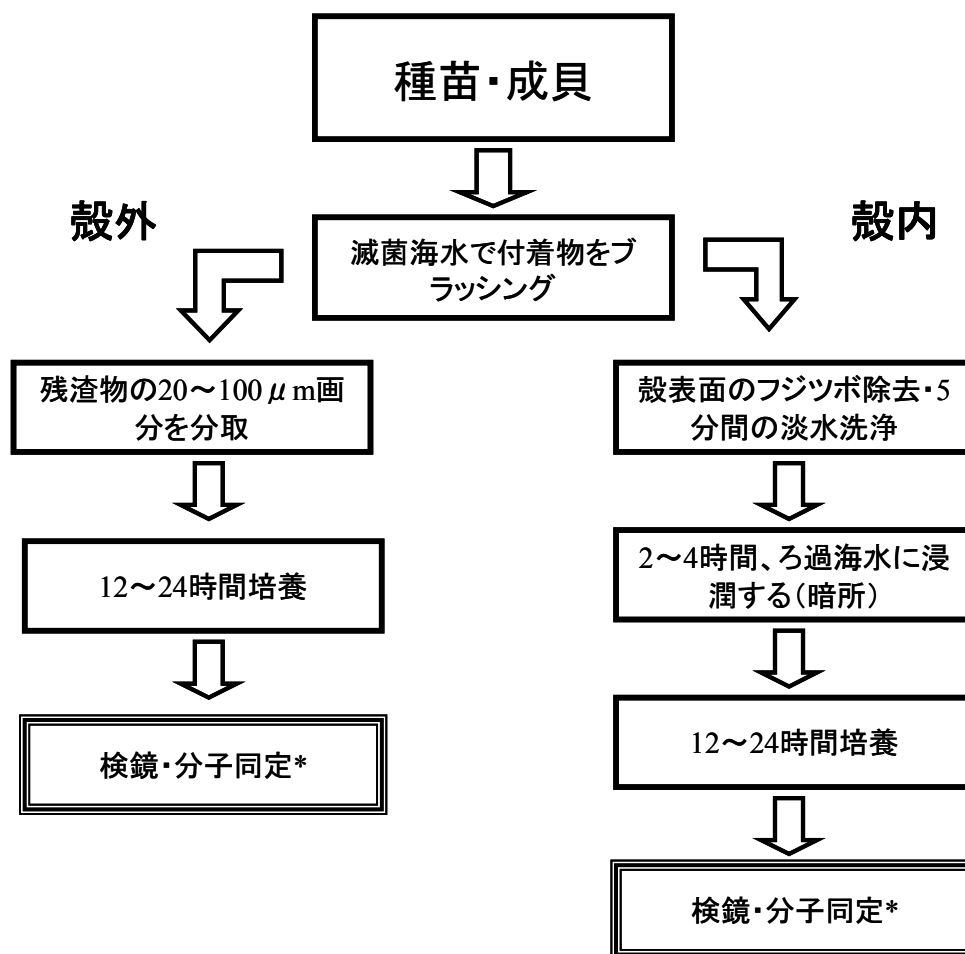


図2 二枚貝種苗からの有毒微細藻の検出マニュアル図

さらに遊泳細胞以外の輸送の可能性を調べるため、マガキ種苗の貝殻内外から得られた沈殿物の20~100 μ m画分を分取し、プリムリン染色法¹³⁾によってシストの検出を試みた。

本種苗には殻高20~41 mm (平均殻高29.5 mm) の比較的大型の種苗が含まれていた。貝の体内でどのような形で微細藻が生残しているのか検討するため、6個体を生きたままコレクターから剥離させ、貝殻外側を水道水流水下で十分にブラッシングして付着物を除去後、ろ過海水中に収容して0、2、4、6時間毎に飼育水と排出物を回収して培養を行い、有毒微細藻の出現を経時的・定量的に計数した。



図3 B海域からC海域へ車で輸送されているマガキ種苗（小規模な輸送）

（2）活魚運搬車による養殖魚介類の海域間輸送の実態把握

本調査は西日本のB海域に隣接する1中央卸売市場において実施した。西日本各地から出荷用の活魚運搬車が夜間（23～3時）に到着することから、競りのために荷受け業者に引き渡される際に、輸送に用いられた海水2～5Lを事業者の了承の上で採取し、直ちに研究室に持ち帰った。調査は2006年8月、11月、2007年1月、6月、8月、10月の計6回実施した。海水は15 μ mのプランクトンネット等で適宜濃縮し、有毒微細藻等の有無について顕微鏡下で検鏡・計数した。

4. 結果・考察

（1）マガキ種苗による有毒微細藻の移送の実態把握

1) 2006年3月入手のA海域産マガキ種苗

A海域から入手したマガキから各種の微細藻を検出した。貝殻外側は無毒の珪藻類（*Melosira* sp.）が主体であったものの、麻痺性貝毒の原因となる有毒渦鞭毛藻の一種*Alexandrium tamarense*が付着して輸送されてきたのを確認した（図4）。表1に示したように、入手したコレクター1枚から、貝殻外側の部分に6.1細胞の*A. tamarense*の出現（遊泳細胞）を確認した。種の査定は分類の指標となる鎧板の形態的特徴に基づいて実施した。同時に、分子同定法であるLAMP法¹⁴⁾でも種の同定を行い、形態的特徴から*A. tamarense*と判定された細胞が、*A. tamarense*であることを確認した。また種苗の内部（マガキ稚貝の体内）からの微細藻の出現はより顕著で、コレクター1枚あたりで、貝殻内部からの排出物には21細胞の*A. tamarense*の出現（遊泳細胞）を確認した。*A. tamarense*以外に渦鞭毛藻*Heterocapsa* sp. が1,800細胞、渦鞭毛藻*Scrippsiella trochoidea*が288細胞が貝殻内部から確認された。なお種苗が畜養されていた海域の*A. tamarense*密度は不明であるが、近傍の海域での現場出現密度は200～800細胞/L程度であった。*A. tamarense*をトレーサー

とみなし、さらに付着して運ばれた*A. tamarense*が100%検出できていると仮定した場合、コレクター1枚あたり0.034~0.135 L相当の現場海水が運ばれていると計算された。なお、貝殻内外からの*A. tamarense*/*A. catenella*様シストは検出されなかった。

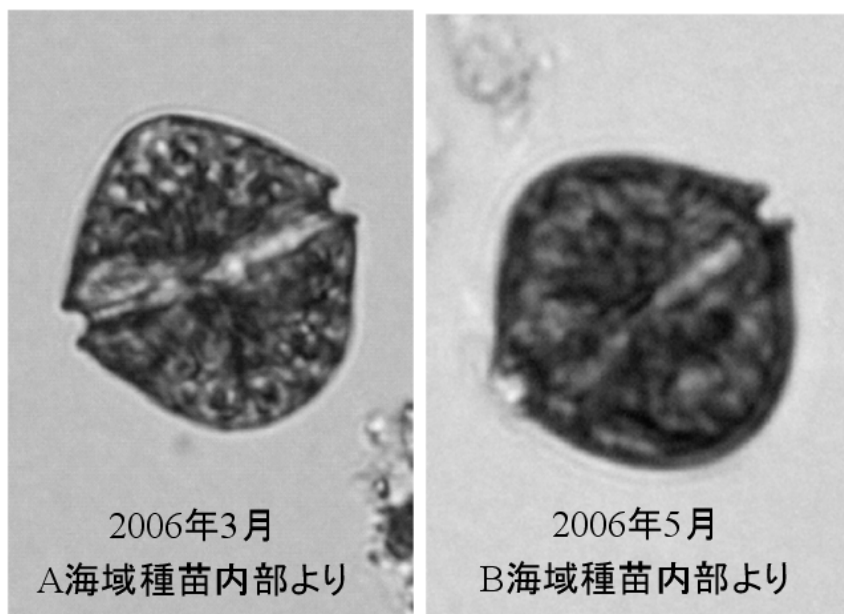


図4 それぞれの海域から輸送されてきたマガキ種苗から検出された有毒微細藻*Alexandrium tamarense*

表1 2006年3月にA海域より輸送されてきたマガキ種苗（1コレクター）から検出された有毒微細藻*Alexandrium tamarense*の細胞数

付着部位	細胞数	%
貝殻外側	6.1	22.5
貝殻内側	21.0	77.5
合計	27.1	100

2) 2007年3月入手のA海域産マガキ種苗

2007年にA海域から入手したマガキからも各種の微細藻を検出した。2006年同様に麻痺性貝毒の原因となる有毒渦鞭毛藻の一種*Alexandrium tamarense*が付着して輸送されてきたのを確認した。表2に示したように、入手したコレクター1枚から、貝殻外側の部分に42細胞の*A. tamarense*の出現（遊泳細胞）を確認した。また2006年同様に種苗の内部（マガキ稚貝の体内）からの微細藻の出現はより顕著で、コレクター1枚あたりで、貝殻内部からの排出物には720細胞の*A. tamarense*の出現（遊泳細胞）を確認した。*A. tamarense*以外に貝殻内部から渦鞭毛藻*Heterocapsa* sp. が141細胞、渦鞭毛藻*Heterocapsa triquetra*が1,590細胞検出された。なお種苗が畜養されていた海域の*A. tamarense*現場出現密度は10,110細胞/Lであった。*A. tamarense*をトレーサーとみなした場合、コレクター1枚あたり0.075 L相当の現場海水が運ばれていると計算された。なお、貝殻内外

からの*A. tamarense*/*A. catenella*様シストは検出されなかった。

表2 2007年4月にA海域より輸送されてきたマガキ種苗（1コレクター）から検出された有毒微細藻*Alexandrium tamarense*の細胞数

付着部位	細胞数	%
貝殻外側	42	5.5
貝殻内側	720	94.5
合計	762	100

3) 2006年5月入手のB海域産マガキ種苗

2006年5月にB湾内から入手して一晩空中で静置されたマガキ種苗の計数結果を表3に示す。A海域から移送されてきた種苗同様、マガキ種苗より種々の微細藻や動物プランクトンを検出した。また有毒微細藻の*A. tamarense*についてもA海域産のものと同様に検出した（図4）。表3に示したように、実験に用いたコレクター1枚から、貝殻外側の部分に120細胞、貝殻内部からの排出物には1,488細胞の*A. tamarense*の出現（遊泳細胞）が確認された。種苗が畜養されていたB海域の現場海域における*A. tamarense*の出現密度は1,190 cells/Lであった。*A. tamarense*をトレーサーとみなすと、コレクター1枚に1.35L相当の現場海水が含まれている計算となった。

表3 2006年5月にB海域で採取されたマガキ種苗（1コレクター）から検出された有毒微細藻*Alexandrium tamarense*の細胞数

付着部位	細胞数	%
貝殻外側	120	7.5
貝殻内側	1,488	92.5
合計	1,608	100

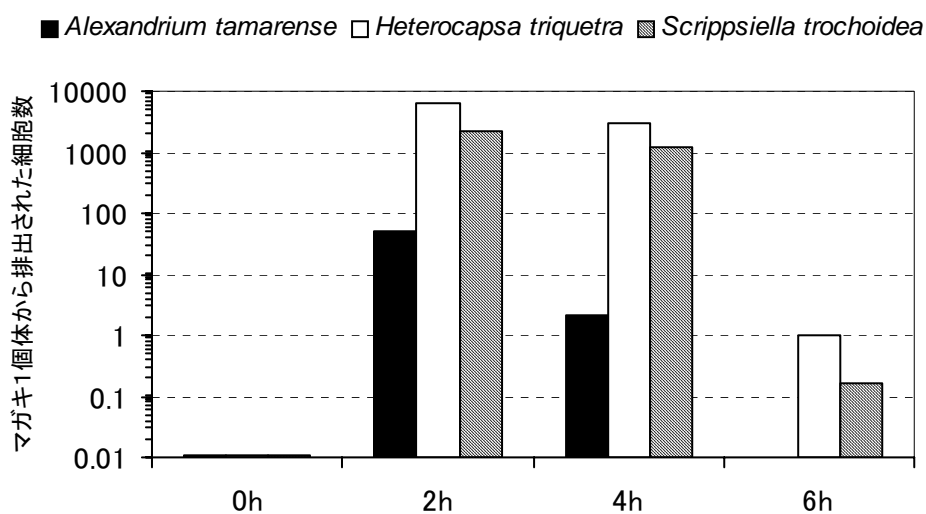


図5 B海域で採取されたマガキ種苗（平均殻高29.5 mm）から経時的に排出される微細藻類細胞。飼育6時間で有毒微細藻の*Alexandrium tamarense*は検出されなくなり、他の渦鞭毛藻も検出率が3桁減少する。

図5にコレクターから生きたまま剥離された種苗から経時的に排出される微細藻類（渦鞭毛藻類）の細胞数を示した。ろ過海水に浸潤し、開殻後数分以内に回収した（0時間）排出物中に微細藻類は検出されなかった。このことは、貝殻空隙部分に含まれる海水中に微細藻類がほとんど存在していないことを示す。その後、2～6時間にかけて多くの微細藻類が検出された（有毒微細藻の*Alexandrium tamarense*については6時間目には検出されず）。累計の検出率は、*A. tamarense*で52.3細胞、*Heterocapsa triquetra*は9,411細胞、*S. trochoidea*は3,350細胞出現した。最も検出率の高い*H. triquetra*と*S. trochoidea*については、6時間まで検出されたが、6時間後に排出される細胞数は2時間後に排出される細胞数と比較して3桁の減少であった。いずれの実験区でも微細藻類は採取した糞から遊泳細胞の形態で出現することが判明した（図6）。従って、マガキ種苗に餌として取り込まれた有毒微細藻等の一部は、マガキの体内でテンポラリーシストなどの形態で消化を免れ、糞として排出された後に速やかに栄養細胞に回復していることが明らかとなった。

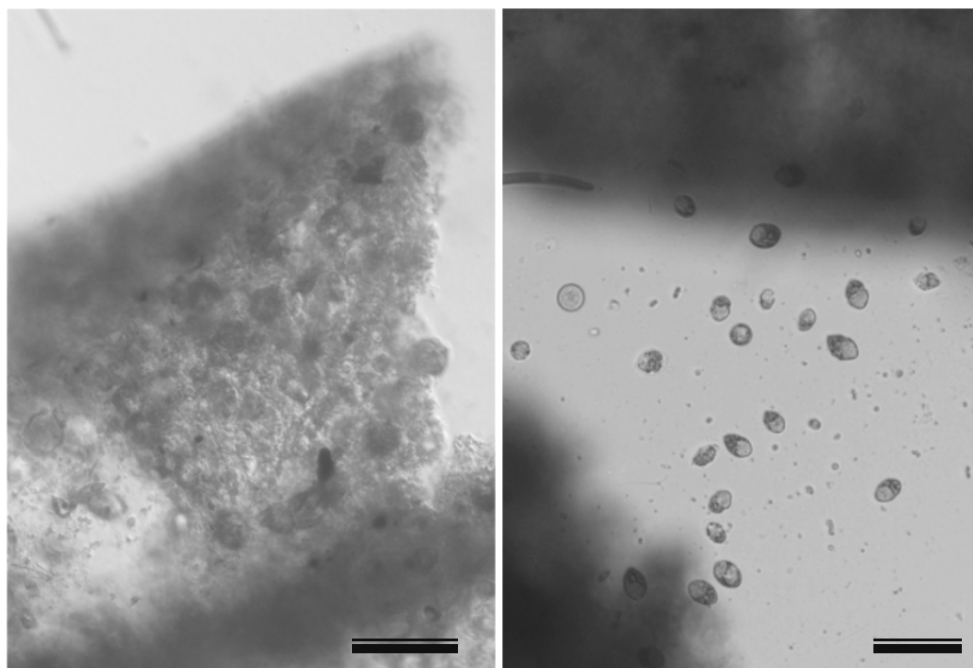


図6 B海域で採取されたマガキ種苗（平均殻高29.5 mm）から排出された糞の顕微鏡映像。糞中には褐色球形状のテンポラリーシストが多数観察される（左）。培養とともに糞の形が崩れ、微細藻類が元の遊泳細胞として復活してくる（右）。スケールバーは50 μ m。

貝殻外部においても若干有毒微細藻を検出したが、その存在形態については密度が低いために調べることはできなかった。貝殻表面には海藻類やフジツボなど、有毒微細藻類を直接取り込めるような生物はほとんど存在しない。おそらく貝殻表面から検出される微細藻も、一度マガキの

体内に取り込まれて体外に排泄された糞由来ではないかと推察されるが、引き続き検討は必要である。

本サブテーマでは、A海域から持ち込まれた種苗を2回、B海域から持ち出される種苗を1回、計3回の調査を実施した。この3回の調査結果で得られた有毒微細藻 (*A. tamarense*) の検出率と現場海域における本種の出現密度から推察すると、平均的にコレクター1枚あたり約0.5 L程度の現場海水に相当する有毒微細藻が生きたまま運ばれている計算となる。いずれの養殖海域でも常時数百万枚以上の種苗を他産地へ供給していることから、これによって移送されている有毒微細藻の量は数百万トン以上の現場海水を海域を飛び越えて輸送しているインパクトに匹敵するほどの莫大である。

一般的に *A. tamarense* の輸送は耐久性の高い休眠孢子 (シスト) の形態が主流であると想定されてきた^{7), 12)}。しかしながら本研究課題の調査ではマガキ種苗からシストを検出することはできず、種苗による輸送が栄養細胞の形態で行われていることが明らかとなった。しかもそれらの多くが海水が存在しない環境で最大2昼夜を経過しているのも拘わらず、消化管内を通過して排出された糞の中から見いだされることから、影響は深刻である。マガキ種苗に付着していた小型のムラサキイガイ (*Mytilus galloprovincialis*) の排泄物からも有毒微細藻 *A. tamarense* を検出しており、マガキ種苗に留まらず、他の二枚貝でも普遍的に起きている可能性がある。今後さらに他の貝類についても輸送の実態を把握するためにも、モニタリングに必要な操作・処理法を確立する必要がある。

本課題では検体をろ過海水中で培養を行い、顕微鏡下で有毒微細藻の検出を行った。本方法は特殊な装置を必要とせず簡便であるだけでなく、運ばれてきた有毒微細藻の「生死」判別も可能である。ただし有毒微細藻の検出には12時間以上の培養期間が必要であるとともに、培養条件等によって検出率が変動する可能性がある。本研究の過程で、ろ過海水での培養中にコレクターに付着していたフジツボからもたらされる多量の幼生のバイオタービュレーション

(bioturbation) により、本来遊泳すべき有毒微細藻が運動性を失って球形化したり捕食されたりして過小評価を引き起こすことが分かった。このように、培養法のネックは試料の状態や操作法の僅かな違いによって検出率が変動する可能性があることである。

バラスト水による有害微生物のモニタリングにおいても、試水中に含まれる微生物の「生死」が重要な判断指標となる¹⁵⁾。国際海事機関 (IMO) が示した「船舶バラスト水及び沈殿物の管制及び管理のための国際条約案」の規則 D-2 バラスト水排出 (performance) 基準には、「最小サイズ50 μm 以上の生物については、1 m^3 当たり生存可能数10 未満、また、最小サイズ50 μm 未満で10 μm 以上の生物については、1 mL当たり生存可能数10 未満の排出としなければならない」と記載されており、微細藻類を含むプランクトンの生死判別は顕微鏡下での観察 (あるいは減少率) に基づいて判断されている。二枚貝種苗の移送に伴う有毒微細藻のモニタリングについても、生死判定が重要であり、培養法を基本とすべきである。有毒微細藻の検出において分子生物学的手法の適応が有力なツールとなることが期待されているが¹⁶⁾、マガキ種苗の場合は有毒微細藻が殻内部にほぼ局在していることから、軟体部を個体毎に剥離させ、さらに微細藻が局在していると判断される中腸腺部分を実態顕微鏡下で切り出してから有毒微細藻のDNAを抽出するという、極めて煩雑な処理を行う必要が生じた。二枚貝中腸腺内部からの有毒微細藻の検出はPCR阻害物質の存在などで計量的に把握することが困難であることが近年報告されている¹⁶⁾。また、分子生物学的

手法の最大のネックは有毒微細藻の生死を判別できない（場合によっては死骸でも検出される）ことから、今現在存在している技術で、生きた有毒微細藻のみを正確にかつ定量的に検出することは困難である。今回多検体の試料から定量的に有毒微細藻の検出を試みるために主に古典的な顕微鏡観察による検出を行い、この手法でも良好な結果を得ることができた。しかし、分類学的知識に乏しい技術者であっても培養に依らずに簡便に検出できる簡易同定法（リアルタイムPCR）などの分子生物学的検出手法についても、今後は培養法と併用しながら影響の把握を行う必要があり、そのためにも貝類組織からの有毒微細藻の効率的なDNA抽出法の確立、微細藻類の生死判別を可能とする分子生物学的検出技術の開発に関する基礎的研究が必要である。

（２） 活魚運搬車による養殖魚介類の海域間輸送の実態把握

B海域に隣接した1中央卸売市場において採取した全38試料（13海域）を調査したところ、25試料から微細藻を検出した。微細藻の種類は珪藻18種、渦鞭毛藻22種、その他4種であった。このうち、有毒微細藻として、*Dinophysis acuminata*、*D. fortii*、*D. caudata*、*Lingulodinium polyedrum*（図5）、*Pseudo-nitzschia* spp. が含まれていた。赤潮原因種である *Chattonella marina*、*C. ovata*、*Cochlodinium polykrikoides*、*Akashiwo sanguinea*、*Prorocentrum*属、*Ceratium*属、*Coscinodiscus wailesii*、*Eucampia zodiacus*なども検出された。微細藻のみならず、動物プランクトン（繊毛虫、カイアシ類、フジツボ幼生、ゴカイ幼生、二枚貝幼生、線虫など）なども生きた個体が観察された。2006年11月にD県から運ばれた活魚輸送車（積載海水量3トン）の場合（図7）、1台で *D. fortii* を1万細胞、*C. polykrikoides* を2万細胞、*A. sanguinea* を188万細胞運んできた計算となった。この時期市場周辺の海域にこれら微細藻は検出されなかったこと、いずれの有害・有毒微細藻もシスト形成せず海域への定着性が高くないことを考慮すると、これらの人為的輸送によるインパクトも無視できないものであると判断される。図8に示したように、輸送されてきた海水は、出荷用の魚介類を取り上げた後、未処理のまま市場地先の海域に放水されていた。

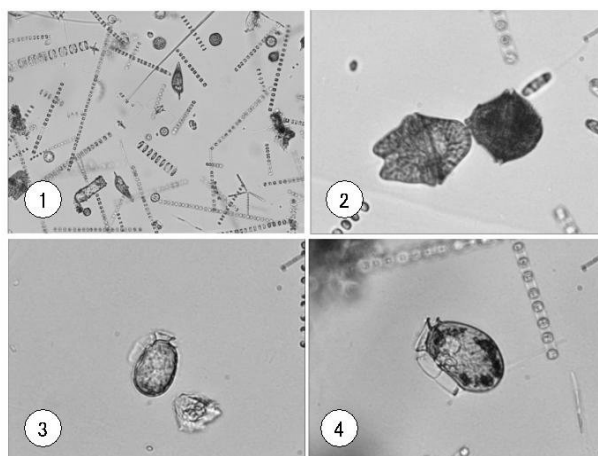


図7 活魚運搬車によって移送されてきた有毒微細藻。1. 濃縮試水。珪藻類など、多種類の微細藻が検出される、2. *Akashiwo sanguinea*（左）および *Lingulodinium polyedrum*（右）、3. 渦鞭毛藻 *Dinophysis acuminata*、4. 渦鞭毛藻 *D. fortii*

表4 活魚運搬車から得られた海水中に検出された有害・有毒微細藻類

Dinophyceae	Bacillariophyceae	Other taxa
<i>Akashiwo sanguinea</i> <i>Cochlodinium polykrikoides</i> <i>Dinophysis acuminata</i> <i>Dinophysis fortii</i> <i>Dinophysis caudate</i> <i>Dinophysis rotundata</i> <i>Karenia mikimotoi</i> <i>Lingulodinium polyedrum</i> <i>Gonyaulax polygramma</i> <i>Protoceratium reticulatum</i>	<i>Coscinodiscus wailesii</i> <i>Rhizosolenia imbricata</i> <i>Eucampia zodiacus</i> <i>Pseudo-nitzschia</i> spp.	<i>Chattonella marina</i> <i>Chattonella ovata</i> <i>Heterosigma akashiwo</i>



図8 活魚運搬車で移送され、数m先の漁港内に排水される他地域の海水（調査中に撮影）

活魚輸送車は刺身など生の魚食文化のある日本独特の輸送形態である。1中央卸売市場での活魚運搬車の日あたりの入荷台数は把握できていないが、少なくとも調査時は2～10トンの活魚運搬車が十数台往来しており、6回の調査の平均で日あたり少なくとも100トン程度の海水が地域間輸送されている計算となった。市場は年間330日程度運営されているため、年間あたりで少なくとも3万トン以上の海水が輸送されている計算となる。従来活魚運搬車による有毒微細藻の輸送は把

握されていなかったため、3-(1)同様に今後調査手法の確立を目指す必要がある。

活魚運搬車の飼育水は、魚介類の体表粘液や排泄物の影響で強く白濁し、異臭も激しかった。しかしながら、試水中に含まれる微細藻類のかなりの割合が生残し、渦鞭毛藻などは十分な遊泳力を保っていることには驚かされた。活魚運搬車の試水中に見いだされた微細藻類の分離培養を試みたところ、通常の海水中から分離培養するのと何ら変わらず培養株を作り出すことに成功することから、条件さえ整えば流出した他海域の海水中でも十分に生育・定着する能力があると判断される。マガキ種苗の場合、生きたまま運ばれてくる微細藻類は付着珪藻や渦鞭毛藻など特定の生物群に限られる傾向が認められる。有害微細藻である *Cochlodinium polykrikoides* や *Heterosigma akashiwo* などについては、移送元の海域に存在したとしても、運ばれてきたマガキの体内から生きた状態で検出することは無かった。従って、これら無殻の微細藻は貝の体内で生残する能力は有殻のものと比較するとほとんど無いと推察される。その一方、活魚運搬車の場合、マガキなどの二枚貝で検出されない無殻の有害微細藻類 (*Chattonella marina*, *C. ovata*, *C. polykrikoides*, *Heterosigma akashiwo*, *Karenia mikimotoi*) についても生きたまま検出されるため、その影響は無視できない。これら有害微細藻は赤潮の原因となる生物が多く含まれ³⁾、過去30年間、ハマチ、ブリ、マダイ養殖業の発展とともに日本沿岸域に分布域を急速に拡大した有害微生物群である。これら生物群の分布拡大の原因は主に富栄養化による沿岸域の水質変化が大きく影響したと考えられているが³⁾、人為的輸送の影響が無かったかどうか検証が必要である。

5. 本研究により得られた成果

(1) 科学的意義

二枚貝種苗、特にマガキ種苗による輸送を、実際の人間活動の中で定量的に明らかにした。有毒微細藻が従来考えられていたシストなど耐久性のあるステージではなく、ほとんどが遊泳細胞などの形態で生きたまま海域間を輸送されていたことは新しい知見である。今年になって米国の研究グループも有毒微細藻の遊泳細胞が二枚貝によって輸送されることを報告しており¹⁷⁾、この分野における国際的な研究体制の進展が期待される。また有毒微細藻が、二枚貝種苗の体内に濃縮され、消化を免れて生きたまま糞とともに排出されていることも新しい知見である。今後有毒微細藻がどのようなメカニズムで消化を二枚貝による消化を免れているのか把握することが必要で、これらの成果により有毒微細藻類防除の可能性も拓かれるであろう。

これまで海域間の輸送ルートとして全く認知されていなかった活魚運搬車による移送を明らかにした。調査した活魚運搬車の65%が未ろ過の現場海水を運んでおり、その中の有毒微細藻の大半が生残していたことから、有毒微細藻の新たな輸送ルートとして注目される。二枚貝種苗同様、活魚運搬車による年間輸送量は調査した中央卸売市場だけで数万トンに達するなど膨大である。

(2) 地球環境政策への貢献

養殖用二枚貝種苗の海域間輸送については、国際獣疫事務局 (OIE) が定めた国際条約で指定されている病原微生物 (パーキンサス症やハプロスポリジウム症など) が検出された場合のみ規制を受ける。これ以外に規制を行うような法律は存在せず、国境や海域を越えて二枚貝種苗が取引されている実態があり、これらの移送を通じて病原微生物のみならず、本サブテーマで示したような有害微細藻類などが運ばれてきている可能性が高い。今後有毒微細藻などを基準とした防疫体

制についても働きかけが必要であろう。本サブテーマの成果について、水産庁や自治体の試験研究機関の情報交換の場である平成19年度東北ブロック水産業関係研究開発推進会議海区水産業部会員毒研究分科会において発表した。その結果として、①貝毒発生海域からの二枚貝種苗輸送が有毒プランクトンの移動も伴う危険性をアピールすべき、②他の原因（船舶バラスト水・活魚トラックなど）による有毒プランクトン輸送もあり、貝毒発生海域の拡大要因が不明な中で水産種苗の移動だけを制限することは困難、③①のアピールは種ガキ産業に大きな影響を及ぼす、④移出側は貝毒情報を提供しているので受け入れ側の情報収集とリスク判断が必要、⑤試験研究機関の立場からは少なくとも有毒プランクトンの出現状況をしっかり把握し種苗輸送をひかえる時期を明示することで対応すべき等の意見が出された。

二枚貝種苗による有毒微細藻の移動は実際の経済活動にインパクトを与える恐れが強いため、今後関係省庁や自治体、生産者団体とも慎重な協議を行い、得られた成果を持って実情を公表するとともに、防疫体制を整え、さらには生物多様性の保全のために必要となるモニタリング体制の整備に勤めて行きたい。また養殖用種苗が国境を越えて売買されている実態もあり、国際共同研究を通して監視体制の整備に貢献して行きたい。

活魚運搬車についてはこれまで有毒微細藻の輸送ルートとして全く認識されていなかったので、早急な対策が必要である。活魚運搬車から得られた海水中の微細藻の検出率は65%程度であった。検出されない海水は明らかにろ過海水であると判断されるものがほとんどで、遠方から市場に到着した活魚運搬車ほどろ過海水を使用している頻度が高い傾向が認められた。これは長時間の輸送による水質悪化を防ぐために、清純な砂ろ過海水などを水槽へ注入して運搬しているものと推察される。このように、現状でもろ過海水を使用している事業者が認められることから、活魚運搬車による有毒微細藻の移送への対策として、ろ過海水の使用を呼びかけることが政策的に有効だと思われる。今後関係省庁や自治体、生産者団体とも協議を行い、ろ過海水などへの切替などによって人為的輸送のリスクを低減することを呼びかけて行きたい。

6. 引用文献

- (1) Shumway SE (1990). A review of the effects of algal blooms on shellfish and aquaculture. J. World Aquaculture Soc., 21: 65-104.
- (2) Hallegraeff GM (1993). A review of harmful algal blooms and their apparent global increase. Phycologia, 32: 79-99.
- (3) Honjo T (1994). The biology and prediction of representative red tides associated with fish kills in Japan. Rev. Fish. Sci., 2: 225-253.
- (4) 岡市友利 (1995). 日本の赤潮研究とその国際的役割. 学術月報, 48(2): 134-139.
- (5) 松山幸彦 (2003). 有害渦鞭毛藻*Heterocapsa circularisquama*に関する生理生態学的研究 I *H. circularisquama*赤潮の発生および分布拡大機構に影響する環境要因等の解明. 水産総合研究センター研究報告, 7: 24-105.
- (6) Humborg C, Ittekkot V, Cociasu A, and Bodungen BV (1997). Effect of Danube River Dam on Black Sea biogeochemistry and ecosystem structure. Nature, 386(6623): 385-388.
- (7) Hallegraeff GM (1998). Transport of toxic dinoflagellates via ships' ballast water: bioeconomic risk assessment and efficacy of possible ballast water management strategies. Mar. Ecol. Prog. Ser., 168:

297-309.

- (8) 荒川好満 (1980). 日本近海における海産付着動物の移入について. 付着生物研究, 2(1): 29-37.
- (9) 松山幸彦・永井清仁・水口忠久・藤原正嗣・石村美佐・山口峰生・内田卓志・本城凡夫(1995). 1992年に英虞湾において発生した*Heterocapsa* sp.赤潮発生期の環境特性とアコヤガイ斃死の特徴について. 日水誌, 61(1): 35-41.
- (10) Yamaguchi M, Itakura S, Imai I, and Ishida Y (1995) A rapid and precise technique for enumeration of resting cysts of *Alexandrium* spp. (Dinophyceae) in natural sediments. *Phycologia*, 34(3): 207-214.
- (11) Scarratt AM, Scarratt DJ, and Scarratt MG (1993). Survival of live *Alexandrium tamarense* cells in mussel and scallop spat under simulated transfer conditions. *J. Shellfish Res.*, 12(2): 383-388.
- (12) 古畑和哉, 柿野 純, 深山義文, 福与康夫 (1996). チョウセンハマグリ殻内に混入した有毒渦鞭毛藻*Alexandrium*属シストの簡便な除去方法について. 日水誌, 62: 813-814.
- (13) Honjo T, Imada N, Ohshima Y, Maema Y, Nagai K, Matsuyama Y, and Uchida T (1998). Potential transfer of *Heterocapsa circularisquama* with pearl oyster consignments. in "Harmful Algae" (ed. by Reguera B., Blanco J., Fernandez M. L., and Wyatt T.), Xunta de Galicia and IOC of UNESCO, Paris, 224-226.
- (14) 長井 敏・板倉 茂・西谷 豪・吉田 誠・松山幸彦. LAMP法による毒渦鞭毛藻*Alexandrium*属の簡便・迅速な遺伝子増幅法の開発. 2007年度日本水産学会春季大会講演要旨集, p242.
- (15) IMO (2005) Procedure for approval of ballast water management systems that make use of active substances (G9), Resolution MEPC.126(53)..
- (16) Galluzzia L, Pennac A, Bertozzinia E, Giacobbed M-G, Vilae M, Garcése E, Priolif S, and Magnanig M (2005) Development of a qualitative PCR method for the *Alexandrium* spp. (Dinophyceae) detection in contaminated mussels (*Mytilus galloprovincialis*). *Harmful Algae*, 4(6), 973-983.
- (17) Hégaret H, Shumway SE, Wikfors GH, Pate S and Burkholder JM (2008) Potencial transport of harmful algae through relocation of bivalve mollusks, *Mar Ecol Prog Ser*, in press.

7. 国際共同研究等の状況

なし

8. 研究成果の発表状況

(1) 誌上発表

<論文(査読あり)>

なし

<その他誌上発表(査読なし)>

- 1) 独立行政法人水産総合研究センター東北区水産研究所, 平成19年度東北ブロック水産業関係研究開発推進会議海区水産部会・分科会報告書, 40-43 (2008)
「二枚貝種苗に伴う貝毒プランクトンの移動について(松山幸彦)」

(2) 口頭発表(学会)

なし

(3) 出願特許

なし

(4) シンポジウム、セミナーの開催（主催のもの）

なし

(5) マスコミ等への公表・報道等

なし

(6) その他

なし