

## 夏の陸奥湾活ほたてがい提供促進事業

高坂祐樹・扇田いずみ

### 目 的

本県陸奥湾のホタテガイにおいて、下痢性貝毒が発生した場合の出荷自主規制措置は、観光シーズンの夏場に講じられることが多く、単価の高い活貝提供機会を低減し、漁家所得が喪失することになる。

下痢性貝毒の検査法は EU では 2015 年から、国内も近年中に機器分析に移行し、本県産ホタテガイについては現行のマウス試験より出荷自主規制期間の短縮が見込まれるが、導入に先立って県内の検査体制の整備が必要である。また、計画的な活貝出荷促進のために、毒化予測の技術開発が求められている。

このため、機器分析移行に向けたデータの蓄積や毒化予測手法を開発し、観光シーズンである夏季の陸奥湾活ホタテガイの提供機会の拡大を図る。

なお、本研究の一部は(独)水産総合研究センター中央水産研究所と青森県環境保健センターとの共同研究である『貝毒発生に関する新たなモニタリング手法の開発』の一環で実施した。

### 材料と方法

#### 1. 調査回数

年間 34 回。平成 25 年 4 月から平成 26 年 3 月の貝類生息環境プランクトン等調査事業調査時に実施した(本誌 160-182 頁)。

#### 2. 調査場所

貝毒モニタリング定点(図 1)

#### 3. 調査方法

##### (1) プランクトン出現密度(野内及び野辺地のみ)

貝毒原因プランクトンとその餌生物の同定、計数を行った。バンドーン採水器(離合社製)にて 0, 10, 20, 海底上 2m からそれぞれ 1L 採水し研究所に持ち帰った。2 日以内にフィルター(Whatman Nulcepore Track-Etch Membrane 47mm 5  $\mu$ m)で全量ろ過し、フィルター上に残った懸濁物を駒込ピペットで吸い取り 5mL に定容した。定容後固定せずに光学顕微鏡で 1mL プランクトン計数板(離合社製)に分取し *Dinophysis* 属及び *Myrionecta rubra*、*Protoceratium reticulatum*、*Alexandrium* 属、*Gymnodinium catenatum* を計数し、観察数を 5 倍して 1L 当たりの出現密度とした。

##### (2) ホタテガイの下痢成分の毒量

当研究所における主たる分析はプランクトンの毒量であるが、それに先立ち分析法の確立を行う必要があることから、今年度は他機関における分析で毒量を知ることができるホタテガイについて分析を行った。ホタテガイ下痢性貝毒成分の分析法は、独立行政法人水産総合研究センター中央水産研究所で開発した下痢性貝毒成分の蛍光 HPLC カラムスイッチング法(以下、HPLC 原法)を基本とした。分析条件やホタテガイの前処理及び標準品の精製などは HPLC 原法のとおりとしたが、実用性を高めるためにカラムのセミマイクロ化や流量の調整など一部改良を施した(以下、HPLC 法)。

HPLC 法の実用性を検証するため他法と比較を行った。青森県で実施した平成 23、24 年度陸奥湾養殖ホタテガイステップアップ事業(以下、ステップアップ事業)の保存サンプル及び簡易測定キットの結果を使用した。また、前述の共同研究の一環で LC/MS/MS 分析を行い HPLC 法との比較に使用した。



図 1. 陸奥湾における貝毒モニタリング定点  
(●: 一般定点 ○: 臨時定点).

## 結果と考察

### 1. プランクトン出現密度

#### (1) プランクトン濃縮方法の比較

今回実施したフィルターろ過法(以下、新法)で採取されたプランクトン出現密度の実用性を検証するために、これまで貝毒のモニタリングで実施してきた 25%グルタルアルデヒド溶液固定静置沈殿法(以下、従来法)と比較した。両法における *D. fortii* 及び *D. acuminata* の出現密度を図 2-1, 2-2 に示した。

両種ともバラツキはあるものの従来法と新法で傾向が一致し、新法はプランクトン出現密度を把握するための実用的な方法であると考えられた。考えられる誤差要因として、静置沈殿法は他の懸濁物への付着等により沈殿しないことによる過小評価、フィルター法は濾紙上から採取しきれない分の過小評価などが考えられる。それぞれの誤差要因があるものの両法における差異は少ないと考えられる。また、従来法は野内定点が水深別に 5 層、野辺地定点は 6 層採取するのにに対し、新法は両定点とも 4 層と少ないが、図 2 を見る限りでは、層の削減に伴う誤差は見受けられず、4 層でもプランクトンの出現傾向を十分に把握できると考えられた。

陸奥湾の下痢性貝毒の主要原因種である *D. fortii* の餌生物で *M. rubra* は貝毒発生予測の観点で重要な要素であるが、グルタルアルデヒドなどによる固定ができないため、従来法では観察することができない。それに対し新法は固定しないため、本種の同定、計数が可能であり、貝毒発生予測を行うために有効な濃縮方法であるといえる。

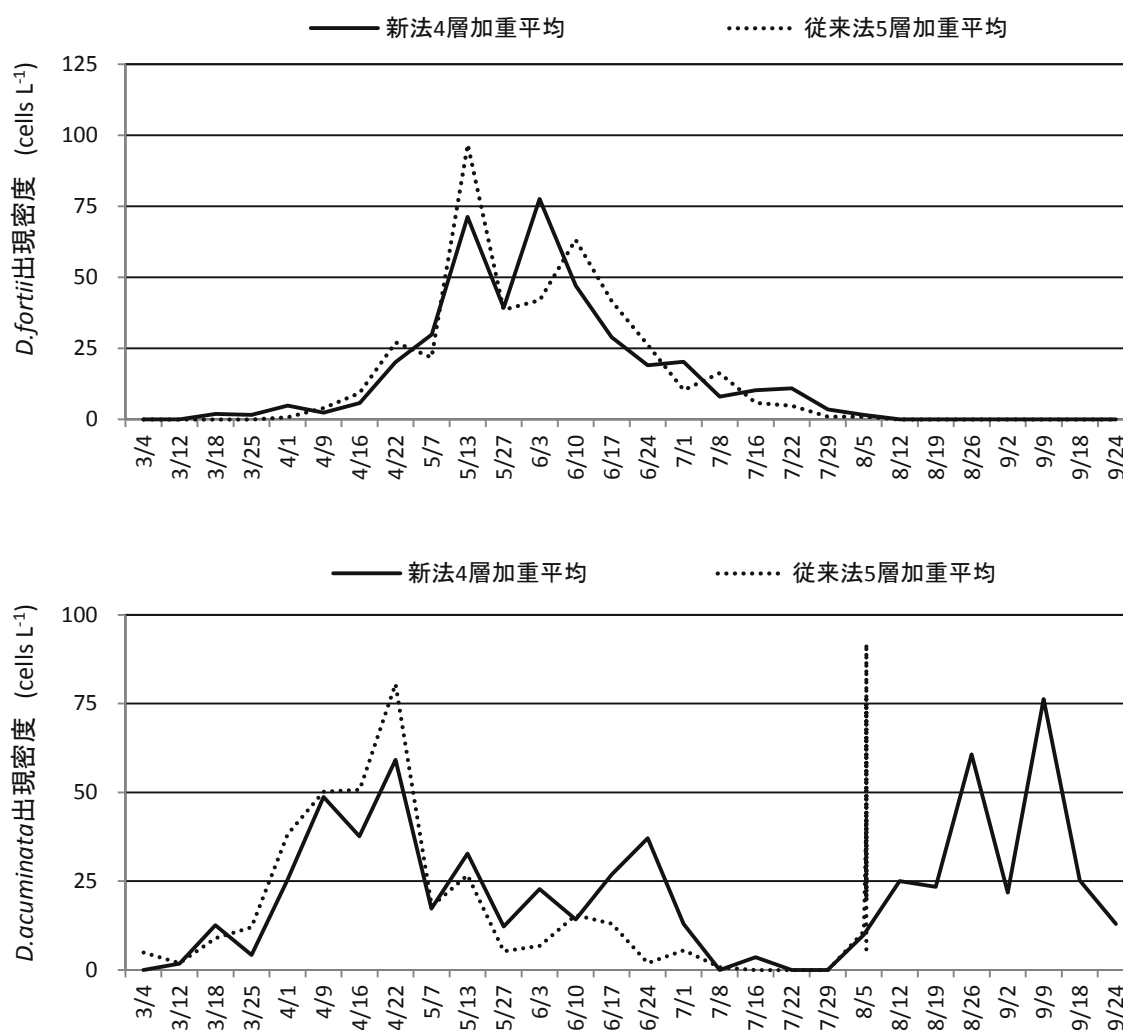


図 2-1. 従来法及び新法の *D. fortii* 及び *D. acuminata* の出現密度 (野内定点:平成 25 年) .

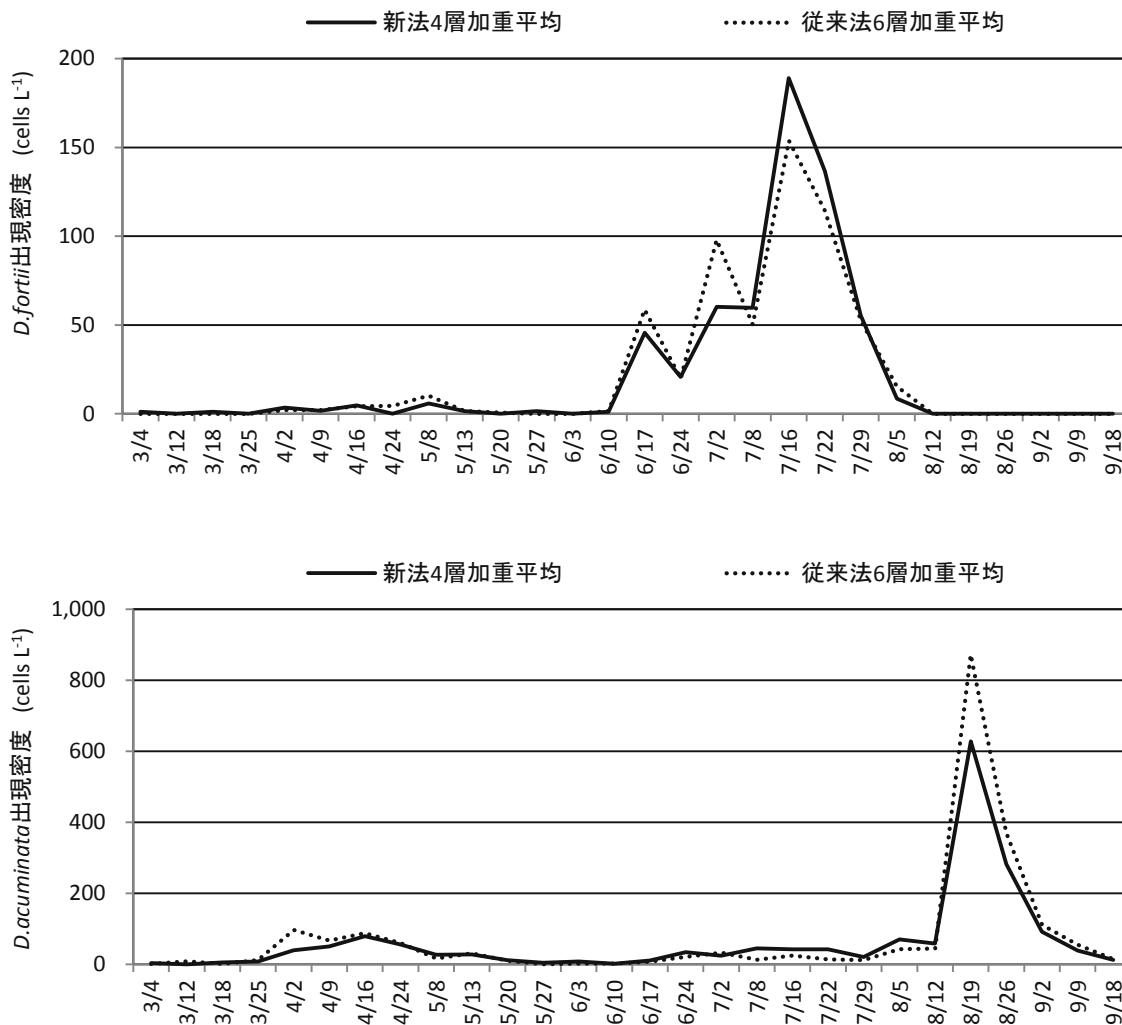


図 2-2. 従来法及び新法の *D. fortii* 及び *D. acuminata* の出現密度 (野辺地定点:平成 25 年) .

(2) *M. rubra* の出現密度

野内定点及び野辺地定点における *M. rubra* と *D. fortii*、*D. acuminata* の出現密度を図 3 に示した。餌生物である *M. rubra* が 3 月中旬から 4 月のはじめにかけてピークをなし、それに追隨してやや遅れて *D. acuminata* が増加し、4 月中旬から下旬にピークを形成した。*D. acuminata* 出現中も低密度ながら *M. rubra* の出現が見られたが、*D. fortii* の出現、増加に伴い *M. rubra* は消失した。*M. rubra* は *D. fortii* 及び *D. acuminata* 両種の餌生物として知られており、図 3 のような関係は捕食と被捕食の関係を示していると推察された。また、*D. acuminata* が出現しても *M. rubra* は低密度で残っているが、*D. fortii* 出現後に *M. rubra* はほぼ消失していることから *D. fortii* のほうが捕食圧は高いと考えられた。

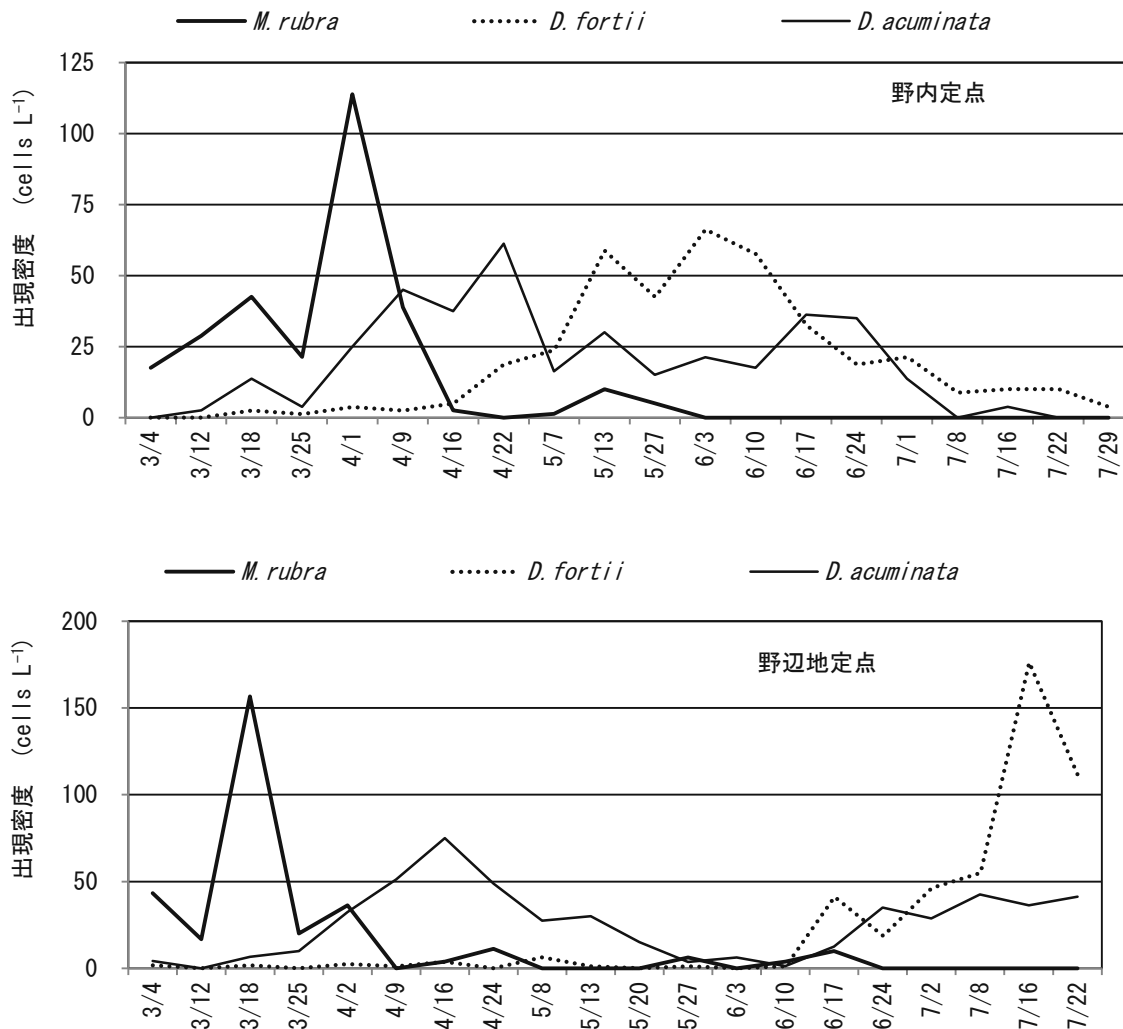


図3. *M. rubra*と*D. fortii*、*D. acuminata*の出現密度（平成25年）.

## 2. ホタテガイの下痢成分の毒量

近年で高毒化した平成23年のホタテガイ中腸腺試料をもとに高精度分析法として海外では公定法に採用されているLC/MS/MS法とHPLC法、ステップアップ事業において実用性を確認した簡易測定キットを用いたPP2A法を用いて分析した結果を図4に示した。LC/MS/MS法は中央水産研究所で開発した加水分解を行わない一斉分析法を使用しており、エステル型毒成分についてはDTX3のみを対象としている。そのため、加水分解した他の2法に比べDTX3以外のエステル型毒成分が含まれていないため毒量が低くなる傾向がある。このことを加味すると、3法とも非常に良く一致しており、当研究所で改良したHPLC法で下痢成分の分析が可能であると考えられた。分析で使用したHPLC機器は旧型で分析精度に限界があるため、今後機器更新を行い、より高精度な分析手法の確立を行う予定である。

LC/MS/MS法とHPLC法の関係を図5に示した。韓国で公定法として採用したLC/MS/MS法と今回改良を行ったHPLC法は決定係数が0.92と高く、HPLC法でも高い精度で分析することができると考えられた。

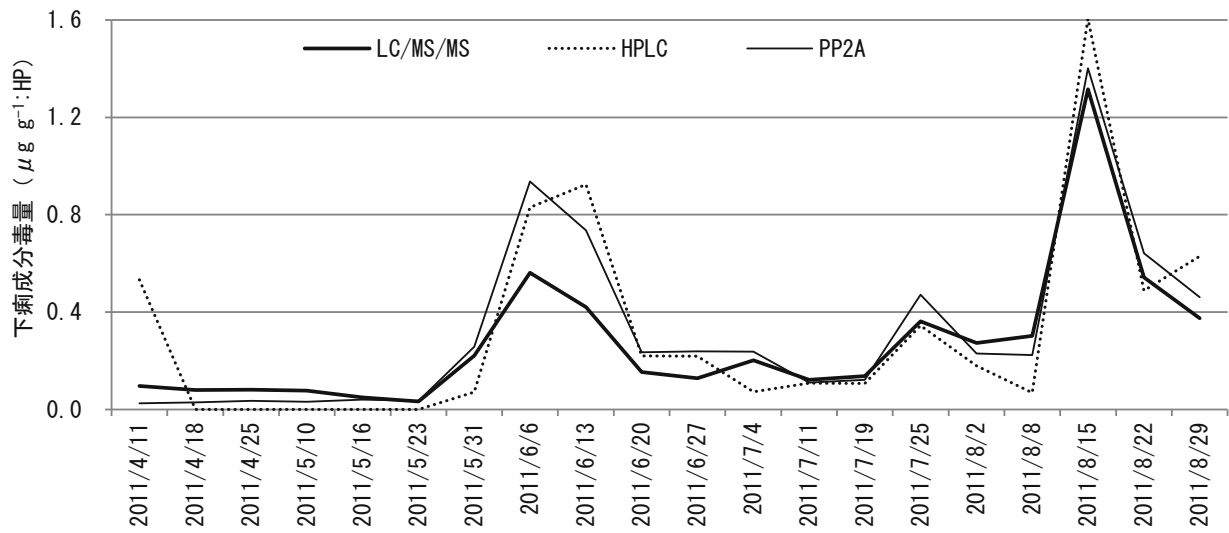


図 4. 分析手法別ホタテガイの下痢成分毒量(平成 23 年).

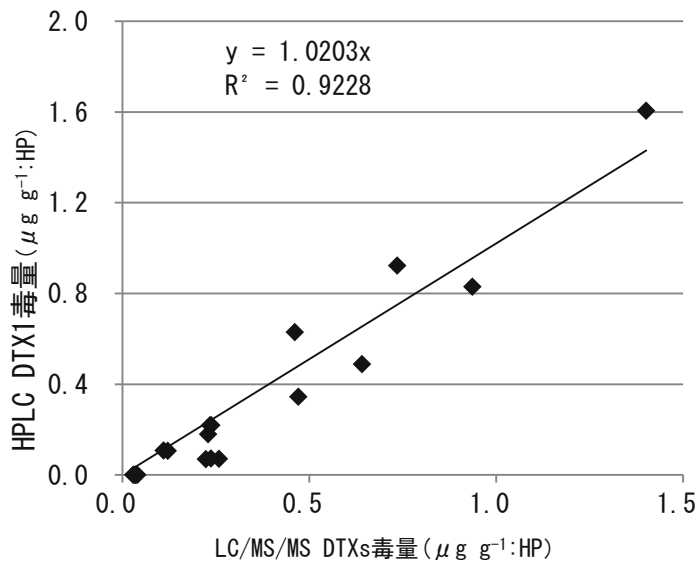


図 5. LC/MS/MS と HPLC のホタテガイの下痢成分毒量(平成 23 年).