

## 貝毒蓄積モデルを用いたマガキの毒化予測手法について

高 辻 英 之・川 口 修・高 田 久美代\*

A prediction of PSP in Pacific oysters by a toxin accumulation model

Hideyuki TAKATSUJI, Osamu KAWAGUCHI and Kumiyo TAKATA

### 緒 言

広島湾およびその周辺海域では1992年4月に *Alexandrium tamarense* によってマガキ等の二枚貝からはじめて貝毒が検出され、その後も毎年春季に *A. tamarense* が増殖し、毒化の程度の違いはあるもののほぼ毎年、二枚貝の毒化が起こっている<sup>1)</sup>。食用二枚貝の毒化は食品衛生上のみならず水産養殖生産においても深刻な問題であり、生産・流通業者や自治体は貝毒対策のための検査に莫大なコストを費やしている。そのため、消費者に対する安全性を維持した上で、検査コストの軽減策が求められている。

これまでの調査・研究によって貝毒原因プランクトンの出現密度とマガキの毒化の進行についての関係性が示されており、検査体制の構築や規制解除等の参考とされている<sup>2)</sup>。高田ら (2004) は呉湾において *A. tamarense* と二枚貝の毒化の関係を調査し、マガキの毒化の目安として本種の出現密度が 1 cell/ml を越えると、マガキの毒力が 4 MU/g を越える場合があり、出現密度が 10 cells/ml を越えると全ての場合で 4 MU/g を越えることを報告している。また、出現密度のピークと毒力のピークとの間に 1 週間程度のずれがあることが示されている。Yamamoto *et al.* (2003) は *A. tamarense* の出現密度とマガキの毒化との関係を、2-コンパートメント1-トキシシンモデルを用いて解析し、定期的なモニタリングによって広島湾におけるマガキの毒力のポテンシャルを示すことができるとしている。結論として、時間と費用のかかるバイオアッセイを補完する形の毒化予測法を提唱している。

高田ら (2008) は天然で毒化したマガキを用いてろ過海水飼育による浄化手法を提示しており、その中

で減毒期の中に2つの過程があることを示している。Yamamoto *et al.* (2003) はマガキ体内における毒の保持部位によって排出効率が異なるとして上述のモデル解析をしており、2段階の減毒を再現するモデルとして有用であることを示唆している。

本研究では2-コンパートメント1-トキシシンモデルを基に、マガキの毒化・減毒試験からモデル係数の算出を行なった。さらに、精度の高い実用的な予測手法の開発を目指し、赤繁ら (2005) が示したマガキの生理特性に基づいて、原因生物密度と海域水温をパラメータとしたマガキの貝毒蓄積モデルの構築を試みた。

### 材料と方法

**供試生物** 試験に供したマガキは平成17年に水産海洋技術センターで生産した2倍体で、センター保有筏で2年間、養殖したものをを用いた。貝毒原因生物の *A. tamarense* は広島湾から単離された培養株 AT12e を 15°C で 10L ビニールバックを用いて培養した。ビニールバック内の細胞密度が 3,000 cells/ml を越えてから人為的毒化の試験に供した。AT12e 株の持つ貝毒成分の定量は HPLC 蛍光分析法で行い、各成分の比毒性から細胞あたりの毒力 D (MU/cell) を求めた。

**毒化・減毒試験** マガキの人為的な毒化は2007年6月18日から行った。供試マガキの入った水槽は水温を 14°C で維持し、培養した *A. tamarense* 及び培養珪藻 *Chaetoceros calcitrans* を与えた。毒化試験は 1 kl 円形水槽に 1 kl の濾過海水を満たし、マガキ 250 個体を 4 カゴに分けて水槽中に垂下した。培養した *A. tamarense* 培養液 10 l を 1 日 2 回ずつ、珪藻密度は水槽内密度が 10,000 cells/ml 程度になるように調節しながら 1 日 2 回

\* 広島県立総合技術研究所保健環境センター

与えた。試験開始後7日後,14日後にマガキを取り出し,毒力の測定を行なった。毒化後14日目のマガキを減毒試験に用いた。毒化したマガキを濾過海水中で飼育し,1日後,2日後,3日後,5日後,7日後に10個体ずつ取り上げ,毒力の測定を行なった。毒化試験および減毒試験から得られたマガキの毒の測定は公定法のマウス試験法によりむき身全体の毒力を測定した。

**モデル係数の決定** 基本的な毒の蓄積・排出モデルは2-コンパートメント1-トキシンモデル (Yamamoto *et al.* 2003) に従う。消化管内の毒力を $C_1$  (MU/ind.), 体組織の毒力を $C_2$  (MU/ind.)とした時の微分方程式は以下のとおりとした。

$$dC_1/dt = I - k_1 \cdot C_1 + k_2 \cdot C_2 - E \cdot C_1 \quad (1)$$

$$dC_2/dt = k_1 \cdot C_1 - k_2 \cdot C_2 \quad (2)$$

ここで, $k_1$ は消化管から体組織への毒の移動率 (/h) を, $k_2$ は体組織から消化管への毒の移動率 (/h) を示す。 $I$ は毒の取込速度 (MU/ind./h), $E$ は排出率 (/h) である。

高毒化したマガキを浄化処理すると $I=0$ となり,毒の排出初期は $C_1 \gg C_2$ と想定されるので①式の $C_2$ 項を無視し, $C_1$ について微分方程式を解くと $C_1 = C_{1(0)} \cdot e^{-(k_1+E)t}$ となる。 $C \approx C_1$ であり, $k_1$ はマガキ体内における移動係数なので,総量としては変動しないため,

$$C = C_0 \cdot e^{-Et} \quad (3)$$

となる。一方,毒の排出終期になると $C_1 \ll C_2$ であり,②式の $C_1$ 項は無視できるため,同様にして②式を解くと $C_2 = C_{2(0)} \cdot e^{-k_2 t}$ となる。毒の体外への排出は排出率 $E$ に依存するため

$$C = C_0 \cdot (1 - e^{-k_2 t}) e^{-Et} \quad (4)$$

となる。式③および④に基づき,減毒のカーブから $E$ と $k_2$ を算出した。毒の減衰データは高田ら (2008) を用いた。毒の排出初期は減毒開始から3日目まで,排出後期は減毒4日目以降として計算した。取込速度 $I$ については実測した濾水速度に取込効率 $\alpha$ を乗じることで,モデルと毒力測定結果が最もよく適合するようにした。すなわち

$$I = \alpha \cdot F \cdot P \cdot D \quad (5)$$

ここで, $F$ は濾水速度 (ml/ind./h), $P$ は水槽内の $A. tamarensis$ 密度 (cells/ml), $D$ は細胞毒力 (MU/cell) である。 $F$ は餌料供給後の珪藻細胞数の減少率から求めた。毒化と減毒の過程を①式および②式を用いてモデル化し係数 $\alpha$ 及び $k_1$ の最適値を求めた。

**マガキの毒化予測** 現場海域におけるマガキの濾水速度FR(l/ind./h)は以下の式で求めた (赤繁ら2005)。

$$FR = (0.70 \cdot t - 6.6) \cdot W_d \quad (6)$$

ここで, $t$ は現場水温 (°C), $W_d$ はマガキの乾燥重量 (g/個体)を表す。ここでは個体の湿重量は10gとし乾燥重量はその20%の2gと設定した。取込速度I(MU/ind./h)は取込効率 $\alpha$ ,現場海域の $A. tamarensis$ 密度 (cells/ml),細胞毒性 (MU/cell)を乗じて求めた。

$$I = \alpha \cdot FR / 1000 \cdot P \cdot D \quad (7)$$

上述の試験等により求められた $k_1$ , $k_2$ , $E$ ,及び $D$ を①式および②式に代入し,水温と細胞密度を変数とした1時間ステップの毒の蓄積・排出を再現するモデルを構成した。モデルによる再現性の検討には2008年春季における広島湾北部における $A. tamarensis$ 密度 (cells/ml),5m層水温とマガキの毒力 (MU/g)の測定データを用いた。細胞毒性については13°Cで62.9 $\mu$ MU/cellとし,低温側で高毒化し,高温側で低毒化するように15.3 $\mu$ MU/cell/°C (Yamamoto *et al.* 2003)の変動を与えた。

### 結果と考察

HPLCによる毒成分の定量結果から推定されたAT12e株の毒力は62.9 $\mu$ MU/cellであった。これまで広島湾で報告されている $A. tamarensis$ 培養株の毒力の範囲内で,Yamamoto *et al.* (2003)が用いた細胞毒力 (69~84 $\mu$ MU/cell)とほぼ同様であったため,今回はこの値 (62.9 $\mu$ MU/cell)を細胞毒力としてモデル解析に用いた。

人為的な毒化中のマガキは最高密度133cells/ml,平均密度51.5cells/mlの $A. tamarensis$ に暴露された。マガキの毒力は毒化開始後7日目で17.8MU/ind.,14日目で35.8MU/ind.となった。減毒開始後1日目は25.3MU/ind.,2日目30.3MU/ind.,3日目23.8MU/ind.,5日目21.8MU/ind.,7日目20.9MU/ind.と減毒後,徐々に低下していった (図1,実測値)。

高田ら (2008) のデータから排出率 $E$ は0.0204/h (平

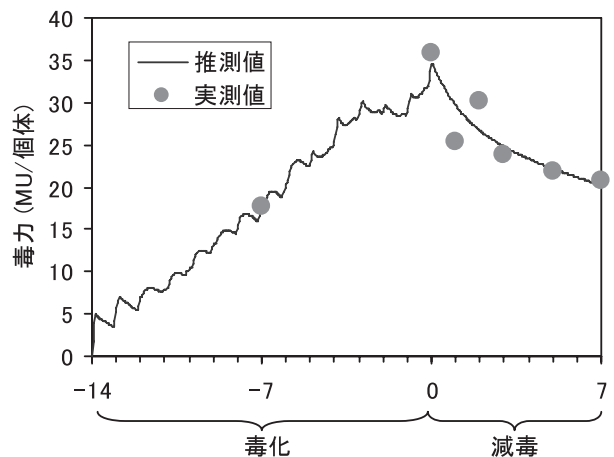


図1. 毒の蓄積・排出のモデル計算結果.

成13年試験), 0.0215/h (平成14年試験) となり, 両者の平均値0.0209/hを今回の解析に用いた。一方, 消化管から体組織への毒の移動率 $k_2$ はそれぞれ, 0.00306/h及び0.00261/hとなった。同様に平均値0.00283/hを今回の解析に用いた。毒化のモデルと実測値が最も適合する $k_1$ は0.0105/h, 取込効率 $\alpha$ は0.328となった。Yamamoto *et al.* (2003)は $k_1/k_2$ 比が4となるようにモデルをチューニングしているが, 今回の結果では $k_1/k_2$ 比は3.72となり, ほぼ近い比率が得られた。各係数を基に, 毒の蓄積・排出の経過を図1に示した。推測値と実測値との重相関係数は0.911, 回帰直線の傾きは0.993となり, 毒の蓄積・排出過程を今回のモデルによって再現できていると思われる。蓄積部位別にみると消化管内の毒力は減毒試験に移行した後, 速やかに減少し, 体組織中の毒力については減毒試験に移行してもすぐには低下せず, ゆっくりと減衰しており, 高田ら (2008) が指摘しているように2段階での減毒過程を再現できた (図2)。

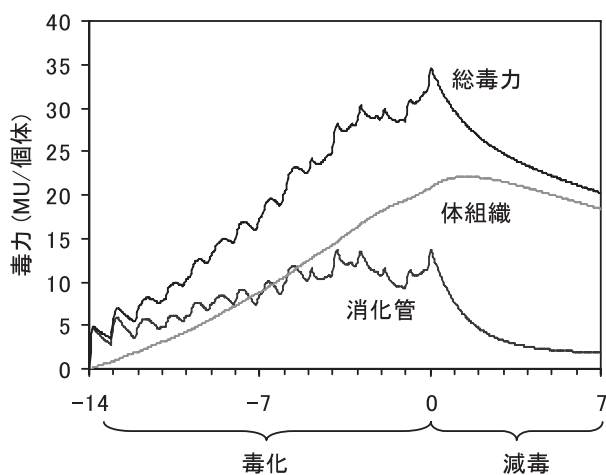


図2. 部位別の蓄積毒力の推移.

今回得られた係数を用いて2008年春季における貝毒発生状況を再現してみたところ, 図3のようになった。毒化初期の本モデルでは, 細胞密度と水温のみで毒力の絶対値を求めることには成功していないが, マガキの毒の蓄積傾向を再現できていると思われる。今後は貝毒の実測値を用いてモデルを補正するなど, 海域の毒化実態をより反映し, より実用性の高い予測手法の構築を目指す必要がある。

### 要 約

貝毒原因渦鞭毛藻 *A. tamarense* を培養し, 餌料生物 *C. calcitrans* とともにマガキに与え, マガキ体内の毒の蓄

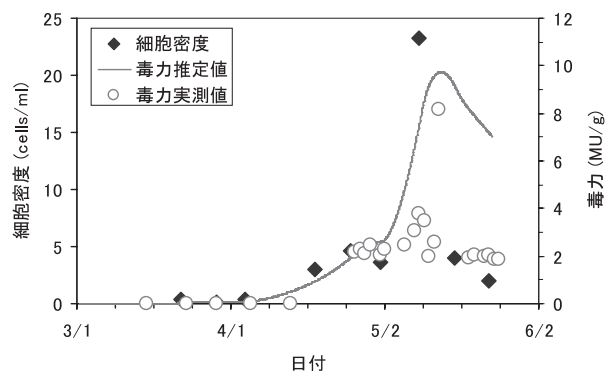


図3. 2008年における *Alexandrium tamarense* の出現密度とマガキの蓄積毒力の推定値と実測値.

積量を調べ, 取り込みと蓄積を2-コンパートメント1-トキシソモデルで再現した。現場水温から予測されるろ水速度を加味することで *A. tamarense* の出現密度から相対的な蓄積毒力が推定できるようになった。毒化の傾向を水温と出現密度の時間変化から推測することで, 貝毒検査とプランクトン調査の間を補う手法として活用できると考えられる。

### 文 献

- 1) 広島県 (2008):平成20年度広島かき生産出荷指針, 広島県農林水産局水産課, 広島, pp17.
- 2) 高田久美代・妹尾正登・東久保靖・高辻英之・高山晴義・小川博美 (2004): マガキ, ホタテガイおよびムラサキイガイにおける麻痺性貝毒の蓄積と減毒の差異. 日本水産学会誌, 70, 598-606.
- 3) Yamamoto, T., K. J. Flynn and H. Takayama (2003): Application of a two-compartment one-toxin model to predict the toxin accumulation in Pacific oysters in Hiroshima Bay, Japan. Fisheries Science, 69, 944-950.
- 4) 高田久美代・高辻英之・妹尾正登 (2008): 麻痺性貝毒により毒化したマガキのろ過海中での蓄積による減毒. 日本水産学会誌, 74, 78-80.
- 5) 赤繁 悟・平田 靖・高山恵介・空本季里恵 (2005): 養殖マガキの酸素消費量および濾過水量の季節変化. 日本水産学会誌, 71, 762-767.