

Studies on PSP Production in the Toxic Dinoflagellates *Alexandrium catenella* and *Gymnodinium catenatum*, and Intoxication Profile of the Short-necked Clam Fed with the Dinoflagellates

(有毒渦鞭毛藻 *Alexandrium catenella* および *Gymnodinium catenatum* における PSP の産生とそれらを給餌されたアサリの毒化様式に関する研究)

長崎大学大学院生産科学研究科 MOHAMAD SAMSUR

麻痺性貝毒 (PSP) 産生渦鞭毛藻による二枚貝の毒化は、近年地球規模の問題となってきた。九州沿岸海域でも、*Alexandrium catenella* (*Ac*) および *Gymnodinium catenatum* (*Gc*) が例年発生し、アサリやカキ、ムラサキイガイ、ヒオウギガイなどの食用二枚貝を毒化させ、水産上ならびに食品衛生上の問題となっている。本研究では、渦鞭毛藻／二枚貝における PSP の産生・蓄積・代謝・排泄機構の解明に資するため、*Ac* および *Gc* の増殖と毒産生に及ぼす環境要因 (温度および光波長) の影響について調べるとともに、アサリ *Tapes japonica* に *Ac* と *Gc* を給餌し、その後の PSP の動態について検討した。

まず、*Ac* と *Gc* が産生する PSP の組成について調べた。2000 年 2 月および 1998 年 1 月に熊本県宮野河内湾でそれぞれ採取された *Ac* と *Gc* のクローン株を試料とし、培地に SWM-3 を用い、温度 18℃、光強度 30 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ 、明暗周期 12L/12D の基本条件下で大量培養を行った。藻体から毒を抽出し、HPLC-蛍光分析に供したところ、*Ac* の産生する毒は C2 および gonyautoxin (GTX) 4 を主成分とし、その他副成分として C1、C3、C4、GTX1、GTX5、GTX6 を含むことがわかった。一方、*Gc* の毒は C1、C2 が全体の 9 割以上を占め、その他には少量の GTX6 を含むのみであった (第 I 章)。

次に、*Gc* の増殖や毒産生に及ぼす培養温度の影響について検討した。前述のクローン株につき、基本条件下、温度のみ 5 段階に変えて培養を行い、経時的に藻体と培地を分離・採集して、HPLC 蛍光分析により毒量ならびに毒組成を調べた。その結果、まず、増殖速度については、21℃と 18℃で比較的速く、ともに培養 18 日目に最大細胞数 5,000 cells/ml 前後を記録したのに対し、15℃と 12℃では遅く、22 日目に細胞数が最大 (それぞれ 1,800 および 3,200 cells/ml) となった。24℃では増殖が悪く、16 日目以降は細胞数が減少した。一方、藻体内の毒量は、温度が低いほど多かったのに対し、培地中の毒量では逆の傾向がみられた。他方、毒組成に関しては、藻体内、培地中ともに温度の影響をあまり受けず、前者は C1,2 と GTX5,6、後者は C1,2 と decarbamoylGTX2,3 から成っていた (第 II 章)。

次いで、*Ac* および *Gc* の増殖や毒産生に及ぼす光波長の影響を調べた。前述のクローン株を用い、白色、青色および赤色光を同強度 ($60 \mu \text{mol/m}^2/\text{s}$) で照射する 3 群 (それぞれ W、B、R) を設定し、他は基本条件と同条件で 30 日間培養した。その結果、*Ac*、*Gc* ともに W と B はよく増殖し、最大細胞密度はそれぞれ 4,200–4,500 および 2,500 cells/ml 程度に達したが、R では増殖が悪く、同密度は *Ac* で W、B の 3 割、*Gc* で 7 割程度に留まった。一方、産生毒量については、*Ac* の場合 1 細胞当たりでは 10 日目に R が、1 培養単位 (培養液 200 ml) 当たりでは 10 日目に R、20 および 30 日目に B が他よりも顕著に高かった。*Gc* の場合、1 細胞当たり、1 培養単位当たりともに培養初期に W、対数増殖期に B が他よりも高く、R は総じて低い値を示す傾向があった。毒組成に関しては、培養日数によるばらつきが大きく、光波長による顕著な差異は認められなかった (第 III 章)。

次に、アサリに対して *Ac* 培養細胞を一度だけ大量給餌し、その後の PSP の蓄積、変換、排泄等について検討した。アサリは、給餌された *Ac* 細胞 (4×10^7 cells) の 99% 以上を摂取し、12 時間後に蓄積毒量が最大 (185 nmol/10 clams) となった。この時の毒蓄積率は 23% で、一旦蓄積された毒はその後急速に減少し、168 時間 (7 日) 後にはほとんどが消失した。アサリの毒組成は、0.5 時間後でも明らかに *Ac* とは異なり、C1+2 の割合が顕著に高かった。これとは対照的に、アサリから排泄された糞の毒は GTX1+4 の割合が高かった。一方、C1 と C2 の組成比の逆転、*Ac* 藻体には見られない carbamate 体 (STX, neoSTX, GTX2, 3) および decarbamoyl 体 (dcSTX, dcGTX2, 3) の出現といった貝体内における成分変換に起因すると考えられる毒組成の変化も認められた。アサリおよび飼育水槽中の残渣 (*Ac* の残存細胞と糞) の毒の総和は次第に減少し、最終的には供給した毒の 1% しか検出されなかった (第 IV 章)。

一方、アサリに *Gc* 培養細胞 (4×10^6 cells) を給餌した場合も、アサリは 12 時間後までにほとんどを摂取し、投与量の 16% に相当する毒を蓄積したが、一旦蓄積した毒はその後急速に減少した。毒組成についても、*Ac* 給餌の場合同様、C1 に対する C2 の割合の逆転やデカルバモイル体およびカルバメート体の出現が認められた (第 V 章)。

以上、本研究により、*Ac* と *Gc* の増殖と毒産生に及ぼす温度や光波長の影響の一端を明らかにするとともに、それらをアサリが摂食した場合の毒の蓄積・排泄様式や毒変換に関し、種々の重要な知見を得ることができた。