チリの赤潮による貝毒調査と海洋環境被害の緩和策の提示

所属：　広島大学　研究科　DEC 国際連携機構

助成対象者：鎗水京子

共同研究者：丸山史人・藤吉奏

概要

チリ南部メトリ湾は魚貝の養殖で知られるが、ドウモイ酸を産生する有毒藻類 *Pseudo-nitzschia* 属のブルームによる汚染リスクが懸念されている。ドウモイ酸は二枚貝に蓄積し、摂取者に胃腸・神経症状を引き起こす可能性がある。本研究では 2019～2023 年に隔週で海中のドウモイ酸濃度測定とアンプリコン解析による *Pseudo-nitzschia* 種の同定を行った。結果、ドウモイ酸は細胞密度に関係なく散発的に検出され、毒性の高い *P. australis* と *P. multiseries* の存在が確認された。これにより、顕微鏡による細胞密度モニタリングのみでは汚染予測が不十分であることが示唆された。メトリ湾の安全管理には、種同定と毒性評価を含む統合的モニタリングが不可欠であり、早期警戒と持続可能な養殖の維持に寄与する。

abstract

Metrí Bay in southern Chile is renowned for scallop aquaculture but faces growing concern over harmful algal blooms of the diatom genus *Pseudo-nitzschia*, which can produce domoic acid—a neurotoxin that accumulates in bivalves and poses serious health risks to humans. This study conducted biweekly sampling from 2019 to 2023 to assess domoic acid contamination and identify *Pseudo-nitzschia* species by sequencing. Domoic acid was detected sporadically throughout the year, independent of cell density. Notably, the known toxin-producing species *P. australis* and *P. multiseries* were frequently identified. These findings suggest that monitoring cell density alone is insufficient to predict toxic events. An integrated approach combining toxin analysis and species-level identification is essential for early warning and to safeguard public health and the sustainability of local aquaculture.

【研究の背景と目的】

チリ産の魚介類は、日本の食卓においても重要な輸入食材として欠かせない存在となっている。特にチリ南部沿岸域では、貝類およびサケの養殖業が経済的に重要な役割を担っている。しかし近年、この地域では有害藻類ブルーム（有害赤潮）による漁業・養殖業への被害が深刻化しており、社会的な懸念が高まっている。中でも、*Pseudo-nitzschia* 属(珪藻)が産生する神経毒ドウモイ酸は､二枚貝に蓄積されることで食物連鎖を通じてヒトや海洋生物に摂取され、記憶障害などの深刻な健康被害を引き起こすことが知られている。このため、*Pseudo-nitzschia* 属によるブルームの発生メカニズムを解明し、リスクの予測手法を確立することが急務である。こうした有害赤潮は、気候変動や海洋環境の変化を背景に、世界的に頻発化および大規模化の傾向を示しており、特に世界第 2 位の生産量を誇るチリのサケ養殖業に深刻な影響を及ぼしている。本研究では、チリ沿岸に設置された 14 カ所のモニタリング地点の中でも、とりわけサケ養殖が集中するケジョン地域に着目し、*Pseudo-nitzschia* 属による赤潮および貝毒汚染のリスク評価を目的とした現地調査を実施した。調査では、LC-MS/MS（液体クロマトグラフ-タンデム質量分析計）を用いて海中のドウモイ酸の有無を分析するとともに、光学顕微鏡観察および 18S rRNA に基づくアンプリコン解析（メタバーコーディング）により、有害藻類の種組成を特定した。さらに、これらの生物学的データと気象・海洋環境情報を統合し、*Pseudo-nitzschia* 属ブルームの発生要因解明を試みた。

【ケジョン地域における調査結果（貝毒非検出)】

2019 年から 2023 年にかけて、チリ南部ケジョン地域の沿岸において隔週で採水を実施し、採取した海水は直ちにろ過および冷凍保存を行い毒素分解を防ぐ処理を施した。本研究では、これら 4 年間にわたる冷凍海水サンプルを用い、ドウモイ酸を含む 15 種類の親油性貝毒について、LC-MS/MS による定量分析をチリの協力研究機関にて実施した。分析手法は、Braña-Magdalena ら[1]による方法を基に、チリの協力研究者 Norambuena[2]によってその高い再現性と精度が確認されたプロトコルを採用した。また、内部標準物質およびブランク試料を用いることで、分析法の信頼性と検出感度の妥当性をあらためて確認し、測定に用いた。

調査期間中に採取されたケジョン地区の全サンプルに対して光学顕微鏡観察を行った結果、*Pseudo-nitzschia* 属の出現が繰り返し確認された。しかしながら、LC-MS/MS による分析では、ドウモイ酸を含むすべての親油性貝毒が検出限界以下であり、明確な貝毒汚染

は確認されなかった。なお、先行研究においても、*Pseudo-nitzschia* 属の出現が必ずしも毒素産生を伴うとは限らないことが報告されており[3]、本調査結果もこの傾向と一致する。一方で、不検出は存在の否定ではなく、痕跡レベルの存在の可能性も考慮する必要がある。将来的なリスク評価には、高感度分析手法と長期的モニタリング体制が重要である。

【メトリ湾における長期モニタリング（2019～2023年）】

ケジョン地域において貝毒が検出されなかったことを踏まえ、本研究では、ケジョンに最も近いサンプリング地点であるメトリ湾において、同時期（2019～2023年）に採取・保存された海水サンプルを用いて、補完的なドウモイ酸の分析を実施した。メトリ湾は、ムール貝の養殖が盛んな海域であり、国際的にも広く輸出されている。しかしながら、これまで同海域では、ドウモイ酸の定量的記録報告はなかった。ケジョン地域のサンプルと異なる点として、メトリ湾では採水後すぐにろ過を行わず、海水をそのまま凍結保存し、分析直前に解凍した海水をろ過した。そのうえで、ろ過紙に残った粒子相（プランクトン等に由来する細胞内または付着態の貝毒）と、ろ過紙を通過した浮遊型（海水中に遊離した貝毒）の2種類のサンプルに分別した点が挙げられる。

【ドウモイ酸の検出と季節変動】

2019～2023年の期間中にメトリ湾で採取された海水サンプル67検体のうち、11検体（約16%）から遊離型ドウモイ酸が検出された。検出濃度はいずれも比較的低く、最大でも110 ng/mLにとどまった。さらに、検出時期に明瞭な季節的傾向は見られず、夏季・冬季を問わず不規則に検出された。また、*Pseudo-nitzschia* 属の細胞が光学顕微鏡下で多数観察された時期であっても、ドウモイ酸が検出限界以下となるケースが多く、逆に毒素が検出された際に *Pseudo-nitzschia* の増殖が確認されない事例も存在した。先行研究でも、同属の細胞密度とドウモイ酸蓄積量との間に乖離が生じることが報告されており[3]、ブルームが発生したとしても必ずしも高濃度の毒素蓄積と結びつくわけではないことが示唆されている。したがって、*Pseudo-nitzschia* 属の細胞数の観測だけに依存するのではなく、毒素濃度そのものの定量測定を組み合わせたモニタリングが重要である事が明らかになった。

【*Pseudo-nitzschia* 属の種多様性と出現動態】

メトリ湾における *Pseudo-nitzschia* 属の出現は、これまでの光学顕微鏡観察によって繰り返し確認されていたが、本研究ではさらに18S rRNAに基づくメタバーコーディングを適用し、種レベルでの多様性を明らかにした。

その結果、同地域からは *P. calliantha*、*P. delicatissima*、*P. australis*、*P. multiseries*

の 4 種が同定された。これらはいずれも有害藻類として知られる種であり、特に *P. australis* および *P. multiseries* は、強いドウモイ酸産生能を有することが知られている。メトリ湾における *P. australis* および *P. multiseries* の検出頻度は低かったものの、両種の存在が確認されたことは、当該海域における潜在的な毒性リスクの存在を示している。一方で、*P. calliantha* および *P. delicatissima* の配列は高頻度で検出され、メトリ湾における優占種であることが明らかとなった。

Pseudo-nitzschia 属は形態的に類似種が多く、従来の光学顕微鏡法のみでは種の識別が困難な場合がある。本研究では、分子生物学的手法を併用することで、種多様性をより正確に把握でき、有害種の監視体制強化に資する重要な成果となった。

【*Pseudo-nitzschia* 属とプランクトン群集の関連性】

Pseudo-nitzschia 属の出現動態を理解するため、本研究では、同時期に収集されたプランクトン群集全体のデータを用いて、種間ネットワーク解析(Empirical Dynamic Modeling)を実施した。その結果、特に *P. delicatissima* グループの細胞密度と、他の植物プランクトンである *Tripos horridus*、*Gymnodinium* 属、*Pleurosigma* 属との間に有意な相関関係が認められた。これらの関係は単なる共存ではなく、競合や抑制といった相互作用を含む可能性があり、*Pseudo-nitzschia* 属の異常増殖は、群集内の種間ダイナミクスによって制御されている可能性が示唆された。

こうした藻類―藻類間のネットワーク構造に着目した解析は、近年の研究において注目されており、長期的データに基づく統計モデルを通じて、有害種の出現予測に活用されつつある。本研究の知見は、*Pseudo-nitzschia* 属ブルームの発生が、単純な環境変化だけでなく、生態系全体の相互作用に依存していることを示唆する重要な証拠といえる。

【*Pseudo-nitzschia* 属と環境要因との関連性】

メトリ湾における水温、塩分、栄養塩などの海洋環境パラメータを同時にモニタリングした結果、2019～2023 年の観測期間中、Pseudo-nitzschia 属の出現は散発的であるものの、表層水温が 15～18℃程度に達する南半球の夏季に細胞数が増加する傾向が、スピアマンの順位相関解析により確認された。一般的に、高水温期には植物プランクトンの増殖が促進されるとされており、本研究の結果もその傾向を支持するものである。メトリ湾における *Pseudo-nitzschia* 属の出現も、季節的な水温変化と連動している可能性が高い。

【結論と考察】

これまで基礎的なデータの蓄積が不十分であったメトリ湾において、海水中のドウモイ

酸濃度を定量的に評価するとともに、毒性を有する *Pseudo-nitzschia* 属の種を分子系統解析により初めて同定したことは、当該地域における有害藻類研究の進展に大きく貢献する成果であるといえる。

Pseudo-nitzschia 属は、これまでに世界中で少なくとも 26 種以上がドウモイ酸産生能を有すると報告されており、その毒性と出現動態の理解は、海洋生態系および水産業におけるリスク管理において極めて重要である。本研究では、その中でも特に高い毒性を有することで知られる *P. australis* および *P. multiseries* がメトリ湾において分子系統解析により同定され、同地域にも主要毒性種が分布していることが明らかとなった。これにより、メトリ湾においても将来的に有害赤潮やブルームの発生リスクが潜在的に存在することが示唆される。

本研究では、*Pseudo-nitzschia* 属の細胞密度と環境中のドウモイ酸濃度との間に明確な相関が認められなかった。このことは、細胞数のみを指標としたモニタリングによる毒性リスク評価には限界があることを示しており、実際の毒素濃度の直接測定が不可欠であることが再確認された。また、ドウモイ酸の検出時期と *Pseudo-nitzschia* 属の出現時期が一致しなかったことから、ドウモイ酸は他地域から流入した可能性があると考えられる。メトリ湾には、表層に亜南極表層水（SAAW)、中層に赤道亜表層水（ESSW）という特徴的な水塊が存在している。湾内の塩分・水温プロファイルの解析により、ドウモイ酸が検出された時期に、湾外から高塩分の中層水が一時的に流入していた兆候が確認された。このことから、検出された毒素は、海流や湧昇流により湾外から移流してきた可能性が示唆される。こうした現象は他地域でも報告されており、沿岸湧昇によって有害種や毒素が拡散する例が知られている。したがって、メトリ湾では局所的なプランクトン動態に加え、広域的な海洋循環や水塊変動も考慮した総合的な理解が求められる。

また、複合的なデータ解析を通じて、*Pseudo-nitzschia* 属の出現が他の植物プランクトン群との相関関係にあること、さらにその細胞密度が水温と統計的に有意な関係を持つことが明らかとなった。これらの知見は、有害藻類の発生メカニズムを理解するうえで、単一因子に依存しない、生態系全体の相互作用を考慮したアプローチの重要性を示し総合的なモニタリングの必要性を示している。

社会的意義としては、本研究がチリの協力研究機関に対して、持続可能な沿岸養殖業の運営に資する科学的根拠を提供した点が挙げられる。チリ南部では、記憶喪失性貝毒(ASP)による過去の大規模被害事例は限られているが、2016 年には隣接海域で渦鞭毛藻由来の有

害赤潮が発生し、サケ養殖業を中心に甚大な経済損失が報告された。こうした教訓を踏まえ、有害プランクトンに対する常時監視体制の確立と、複数の毒性因子を考慮した包括的なリスク評価体制の構築が急務である。

【ドウモイ酸分析法の特徴と限界】

本研究で採用したドウモイ酸および15種類の親油性貝毒を分析するLC-MS/MS法は、特異性が高く、高感度で毒素を検出できる手法であり、既に確立・検証済みの方法である。対象とした貝毒は、海水ろ過によって粒子相と浮遊相に分け、それぞれを抽出・精製して分析を行った。ドウモイ酸が粒子相由来か浮遊相由来かを分別することにより、毒素がその場で産生されたものであるのか、あるいは既に海中に放出され移流されたものであるのかを推定できる利点がある。一方で、LC-MS/MS法には一定の科学的限界があることにも留意が必要である。「不検出」と判定された場合でも、毒素が完全に存在しないとは限らず、検出限界未満の微量が残存している可能性は否定できない。本研究では検出下限の精度向上に努めたものの、極微量の毒素を完全に把握するには限界があり、特にケジョン地域の全サンプルでドウモイ酸が検出限界以下だったことからも、今後はさらに高感度・高精度な分析手法の導入が求められる。

【謝辞】

広域的な有害藻類問題に対して国際的に協力し、知見を共有することは、地球環境問題に取り組む上で極めて重要である。住友電工グループ社会貢献基金からの学術研究助成により、本研究は現地フィールド調査から先端分析に至るまで、包括的に展開することが可能となった。本助成に深く感謝の意を表するとともに、本研究成果がチリのみならず、世界各地における赤潮被害の軽減に資することを期待する。今後も、産学官および国際的な連携を継続し、科学的知見の深化とその社会実装（予測技術の開発や現場モニタリング体制の構築）に努めていく所存である。

【引用文献】

[1] Braña-Magdalena, et al (2014). doi: 10.5740/jaoacint.sgebrana

[2] Norambuena-Subiabre, et al (2024). https://doi.org/10.1016/j.hal.2024.102608

[3] Trefault, et al (2011). https://doi.org/10.1016/j.Toxicon.2011.07.006

【本助成に関わる成果物】

これらの得られた研究結果をまとめて国内外の学会で発表する予定である。また、
国際誌への投稿を予定している。