

北海道オホーツク海沿岸における麻痺性貝毒の発生予測に関する生物海洋学的研究（学位論文）

嶋田 宏

北海道立総合研究機構中央水産試験場

Biological Oceanographic Study on Method for Predicting the Occurrence of Paralytic Shellfish Toxin along the Okhotsk Sea Coast off Hokkaido

HIROSHI SHIMADA

Central Fisheries Institute, Hokkaido Research Organization, Yoichi, Hokkaido 046–8555, Japan

The scallop fishery along the Okhotsk Sea coast of Hokkaido is known as “sowing culture”, harvesting after three years of scallop seed sowing on the fisheries grounds, and is one of the largest bivalve fisheries (catch slightly less than 300 thousand tons per year) in the world. However, the scallop fishery has experienced economic damage due to incidental occurrence of paralytic shellfish toxin accumulation by shellfish (PST) caused by the toxic dinoflagellate *Alexandrium tamarense* in summer once every several years. An intensive PST occurrence recorded in summer 2002 stopped the scallop fishing for more than one month, leading to a steep fall in the scallop market value and serious economic losses. To minimize economic damage due to PST occurrence caused by *A. tamarense*, the transportation mechanism of water mass contaminated *A. tamarense* from the oceanic area to the scallop fishing ground along the coastal area was revealed and a method for predicting the occurrence of PST was established in the present study.

Seasonal changes in occurrences of vegetative cells of *A. tamarense* and PST toxicity were researched along the coast of Hokkaido during 2005 – 2006. Vegetative cells occurred in the Okhotsk Sea and the Pacific coast (cold current area affected by the East Sakhalin Current and the Oyashio) but not detected in the Sea of Japan and the Tsugaru Strait (warm current area affected by the Tsushima Warm Current and the Tsugaru Warm Current). Occurrences of PST over the quarantine level (4 MU g⁻¹ scallop whole meat) were recorded in Funka Bay during blooms of *A. tamarense* (> 10² cells L⁻¹) were observed.

Horizontal distribution of resting cysts of toxic *Alexandrium* spp. was investigated around Hokkaido during 1999 – 2000. Resting cysts of *A. tamarense* were widely distributed in the Okhotsk Sea and the Pacific Ocean. Regarding the relationship between past PST occurrences and cyst abundance in the sediment of each area, positive correlations were found between the frequencies of PST occurrence years and the cyst abundances and between the annual maximum PST toxicities and the cyst abundances. Therefore the cyst abundance implies important information about the past PST occurrences (frequency and magnitude) of each area. The occurrences of vegetative cells of *A. tamarense* during 2005 – 2006 (above mentioned) were considered to reflect the cyst abundance of each area. However the occurrences of vegetative cells and cyst abundance in the Okhotsk Sea off Hokkaido, showed that despite the low occurrences of vegetative cells in the coastal area, large cyst abundances were found on the continental shelf from Hokkaido to Sakhalin. Thus the oceanic area of the Okhotsk Sea off Hokkaido was considered to have a high potential for initiation of *A. tamarense* blooms.

Spatial distribution of vegetative cells of *A. tamarense* was examined in the Okhotsk Sea off Hokkaido in summer during 2002 – 2007. The vegetative cells frequently occurred in the surface low salinity water (LSW, salinity < 32.5) in the oceanic area and rarely appeared in the Soya Warm Current water (SWC, salinity > 33.6) along the coastal area and the dichothermal water (DTW, temperature < 2 °C) below 30 m deep in the oceanic area. Nutrient concentrations were respectively higher in the DTW than the LSW and the SWC. Despite the low nutrient concentrations of the LSW, *A. tamarense* can be considered to utilize nutrients originating from the DTW just below the LSW due to the effects of diel vertical migration. A continuous diatom bloom

was observed along the front area between the LSW and the SWC where a belt – shaped upwelling area occurred with higher nutrient concentrations. Bloom of *A. tamarensis* tended to be found in the LSW just outside the front area, because of interspecific competition with the diatom bloom. Lower DIP concentration of the SWC is supposed to restrict formation of a *A. tamarensis* bloom in addition to the absence of the DTW with higher DIP concentration below the SWC. Therefore environmental conditions of the SWC were concluded to be severe for bloom formation of *A. tamarensis*. Regarding the interannual relationship between the abundance of *A. tamarensis* in summer and the relative frequency of each water mass in spring and summer, the abundance tended to be higher in years when higher frequencies were recorded of the SWC in spring and of the LSW in summer. The results suggest that warming by the SWC in spring prompts germination of *A. tamarensis* cysts in the sediment and domination of the LSW in summer gives optimum medium for bloom formation of *A. tamarensis*.

Toxin profiles of 103 culture strains of *A. tamarensis* isolated from sediment or seawater samples collected from the coast of Hokkaido and Aniva Bay (southern Sakhalin) were analyzed using HPLC during 2005 – 2009. As a result of cluster analysis of the toxin profiles of culture strains, 101 culture strains were classified in the same cluster, producing C – toxin – 2, gonyautoxin – 4, gonyautoxin – 3 and neosaxitoxin as dominant toxin components excluding two culture strains. The toxin profiles of the 101 culture strains were almost the same as past reports on toxin profiles of *A. tamarensis* from Japan and Sakhalin. Cellular toxin contents of culture strains varied from 1 to 1128 fmol cell⁻¹, and were inversely proportional to cell densities. As a result of the estimations if a bloom of *A. tamarensis* (cellular toxin content: 10³ fmol cell⁻¹, cell density: 10² cells L⁻¹) was fed on by scallops (filtration rate: 10² L day⁻¹, accumulation ratio of toxin: 35 %), toxification rate of scallop is calculated as 0.4 MU g⁻¹ digestive diverticula day⁻¹. Result of the estimation suggests that scallop become toxic over the self – imposed quarantine level (20 MU g⁻¹ digestive diverticula) after 50 days from the initial occurrence of a *A. tamarensis* bloom, scientifically proving the empirical data, “Bloom of *A. tamarensis* exceeding ca. 10² cells L⁻¹ causes shellfish toxification over the quarantine level”.

To clarify the transportation mechanism of *A. tamarensis* in the Okhotsk Sea coast off Hokkaido, area – wide sampling in the oceanic area, time – series monitoring in the coastal area and current velocity measurements of the SWC using ADCP were conducted in 2004, 2007 and 2008. These surveys were organized based on the hypothetical scenario, “PST occurrence is caused by the inflow of LSW contaminated with *A. tamarensis* to the scallop fishing ground at the temporal weakening of SWC indexed by the decrease of the sea – level difference (SLD) between Wakkanai and Abashiri”. It was revealed that *A. tamarensis* blooms appeared in the coastal fishing ground simultaneously with the weakening of SWC indexed by the SLD. Retrospective analysis on time – series relationship between the weakening of SWC and the PST toxicity in PST occurrence years also elucidated that the toxicity increased just after the weakening of SWC. Therefore the hypothetical scenario was verified, and a method for predicting the occurrence of PST was constructed as follows;

- (1) Sampling in the oceanic area in June (before PST occurrence) and July (during annual peak of PST occurrence) to monitor horizontal distribution of *A. tamarensis*.
- (2) Monitoring of the weakening of SWC indexed by the SLD using internet.
- (3) If *A. tamarensis* bloom (> 10² cells L⁻¹) has been found in the oceanic area, and the weakening of SWC is observed, warning of potential PST occurrence within a few weeks should be provided.

Semi – realtime data of the prediction method is available to the public for controlling shipping plan of scallop since 2009. The prediction method gives high cost effectiveness since the essential part of prediction can be simply constructed with the twice a year sampling in the oceanic area and the monitoring of SLD.

The present study provides important information about feeding environment of main fishery resources, not only scallop but also fish such as salmon, since the high contrast structure and dynamics of water masses has been revealed by biological oceanographic studies in the Okhotsk Sea off Hokkaido, focusing on *A. tamarensis* as a biological tracer. Recently, it had been reported that warm – water, non – armored flagellates causing harmful red tides have been detected for the first time in the coast of the Sea of Japan and the Tsugaru Strait of Hokkaido. Once a harmful red tide appears in the scallop fishing ground, serious damage may occur to the scallop fishery. Therefore monitoring of non – armored red tide flagellates is necessary to start in addition to armored harmful dinoflagellates such as *A. tamarensis* in northern Japan, since the northward expansion of warm – water harmful flagellates is increasingly possible due to ocean warming in the future.

キーワード：オホーツク海, 表層低塩分水, 宗谷暖流, 麻痺性貝毒, 予測

目次

第1章 序論(麻痺性貝毒に関する既往知見ならびに課題)	第3節 結果および考察
第1節 世界における麻痺性貝毒の発生	4-3-1 北海道沖オホーツク海～アニワ湾産 <i>A. tamarense</i> の毒性
第2節 日本における麻痺性貝毒の発生と原因生物	4-3-2 その他の海域(噴火湾～厚岸沖太平洋) 産 <i>A. tamarense</i> の毒性
第3節 北海道における麻痺性貝毒の発生とホタテガイ漁業との関わり	4-3-3 クラスタ分析による <i>A. tamarense</i> 培養株 の毒成分組成の分類
1-3-1 噴火湾	4-3-4 細胞密度および細胞毒量の関係
1-3-2 オホーツク海	4-3-5 <i>A. tamarense</i> の毒性に基づいたホタテガイ 毒化の試算
1-3-3 その他の海域	4-3-5-a 平均的細胞毒量の <i>A. tamarense</i> の出現 を想定したホタテガイ毒化の試算
第4節 本研究の目的および本論文の構成	4-3-5-b <i>A. tamarense</i> 高毒株の出現を想定した ホタテガイ毒化の試算
第2章 北海道周辺の海洋環境, <i>Alexandrium tamarense</i> 栄 養細胞の出現状況ならびに有毒 <i>Alexandrium</i> 属シス トの水平分布	4-3-5-c <i>A. tamarense</i> 超高毒株の存在を仮定し たホタテガイ毒化の試算
第1節 各海域の海洋環境の季節変化	4-3-6 <i>A. tamarense</i> の細胞毒量, 細胞密度および ホタテガイの毒化速度の関係
2-1-1 海流系によって大別される4つの海域	第5章 夏季北海道オホーツク海沿岸の地まきホタテガ イ漁場における麻痺性貝毒の発生予測
2-1-2 道東太平洋(親潮域)	第1節 はじめに
2-1-3 道南太平洋(親潮・沿岸親潮・津軽暖流混 合域)	第2節 材料および方法
2-1-4 日本海	第3節 結果および考察
2-1-5 オホーツク海	5-3-1 沿岸～沖合域における物理環境および <i>A. tamarense</i> 栄養細胞の分布
第2節 海域別の <i>A. tamarense</i> 栄養細胞の出現状況なら びに麻痺性貝毒の発生状況	5-3-2 沿岸定点における物理環境および <i>A. tamarense</i> 栄養細胞の分布動態ならびに地 まきホタテガイの麻痺性毒性値の変動
2-2-1 はじめに	5-3-3 沿岸定点における宗谷暖流の流況
2-2-2 材料および方法	5-3-4 レトロスペクティブ解析による貝毒発生 機構仮説の検証
2-2-3 結果および考察	5-3-5 麻痺性貝毒発生予測手法の運用
2-2-3-a 海域別表面水温の季節変化	5-3-5-a 麻痺性貝毒発生予測手法のフローなら びに運用実績
2-2-3-b 海域別表面塩分の季節変化	5-3-5-b 水塊構造の分析による <i>A. tamarense</i> プ ルームの発生予測
2-2-3-c 海域別の <i>A. tamarense</i> 出現状況ならび に麻痺性貝毒による二枚貝の毒化状況	5-3-5-c 天文潮位および気圧配置等の天文・気 象情報を用いた宗谷暖流弱勢の予測
第3節 有毒 <i>Alexandrium</i> 属シストの水平分布	第6章 総合考察
2-3-1 はじめに	第1節 北海道オホーツク海沿岸における麻痺性貝毒 の発生予測に関する研究の生物海洋学的意義
2-3-2 材料および方法	第2節 北海道オホーツク海沿岸における麻痺性貝毒 の発生予測に関する研究の社会科学的意義
2-3-3 結果および考察	第3節 残された課題と今後の展望
2-3-3-a 北海道全域における有毒 <i>Alexandrium</i> 属シストの水平分布	要約
2-3-3-b 内湾域等における有毒 <i>Alexandrium</i> 属 シストの水平分布	Summary
2-3-3-c シスト密度と底質の関係	謝辞
2-3-3-d 海域別のシスト分布と麻痺性貝毒の発 生履歴の関係	引用文献
第3章 夏季北海道沖オホーツク海における <i>Alexandrium</i> <i>tamarense</i> 栄養細胞の空間分布	
第1節 はじめに	
第2節 材料および方法	
第3節 結果および考察	
3-3-1 水塊構造と <i>A. tamarense</i> 栄養細胞の空間分布	
3-3-2 栄養塩ならびにChl- <i>a</i> 濃度の空間分布	
3-3-3 海洋環境と <i>A. tamarense</i> 空間分布の模式化	
第4章 北海道およびサハリン南部アニワ湾産 <i>A. tamarense</i> 栄養細胞の毒性	
第1節 はじめに	
第2節 材料および方法	

第1章 序論(麻痺性貝毒に関する既往知見ならびに課題)

第1節 世界における麻痺性貝毒の発生

麻痺性貝毒は、*Alexandrium*属等の有毒渦鞭毛藻が産生する毒成分が二枚貝類等に蓄積されることで、以下に述べるように発生する現象である (Hallegraeff 1995)。麻痺性貝毒成分 (Paralytic Shellfish Toxin, 以下タイトルを除いてPSTと略記する) を蓄積した魚介類にはフグ毒と似た神経毒であるゴニオトキシン (Gonyautoxin, GTX) 群, サキシトキシン (Saxitoxin, STX) 等の複数の毒成分が含まれ (Oshima 1995), ヒトが喫食すると神経細胞のナトリウムチャンネルが阻害されて麻痺症状を呈し, 重症の場合は死にいたる (Hille 1975, Acres and Gray 1978)。麻痺性貝毒によって毒化した貝類等の喫食による中毒事故は死亡例を含めて多く, 古くは1793年カナダのブリティッシュコロンビアにおける中毒事例をはじめ (Dale and Yentsh 1978), ロシア極東でも1945年にベーリング

海西岸で死亡例が記録されている (Orlova et al. 2002)。麻痺性貝毒の発生海域は近年拡大傾向にあるため (例えば Hallegraeff 2004, Fig. 1), 食品安全の観点から国際的に問題となっている。麻痺性貝毒による中毒事故を未然に防止するためには, 有毒渦鞭毛藻の出現状況と貝類等の毒性値の定期的監視が不可欠である。このような定期的監視が公的に行われている国々では, 基準値を超える貝類の毒化が確認されると, 出荷規制によって計画的な漁獲と流通が困難となるため, 例えば単価下落といった経済的損失が生じる。このように麻痺性貝毒は, 食品安全および漁業経営といった社会的側面において, 極めて人類と関わりの深い汎世界的な現象である。

第2節 日本における麻痺性貝毒の発生と原因生物

我が国における麻痺性貝毒は, 1948年愛知県豊橋市におけるアサリ *Ruditapes philippinarum* (Adams & Reeve) の喫食による中毒事件が初めての記録である (野口 2003)。全国的な発生状況を概観すると (今井・板倉

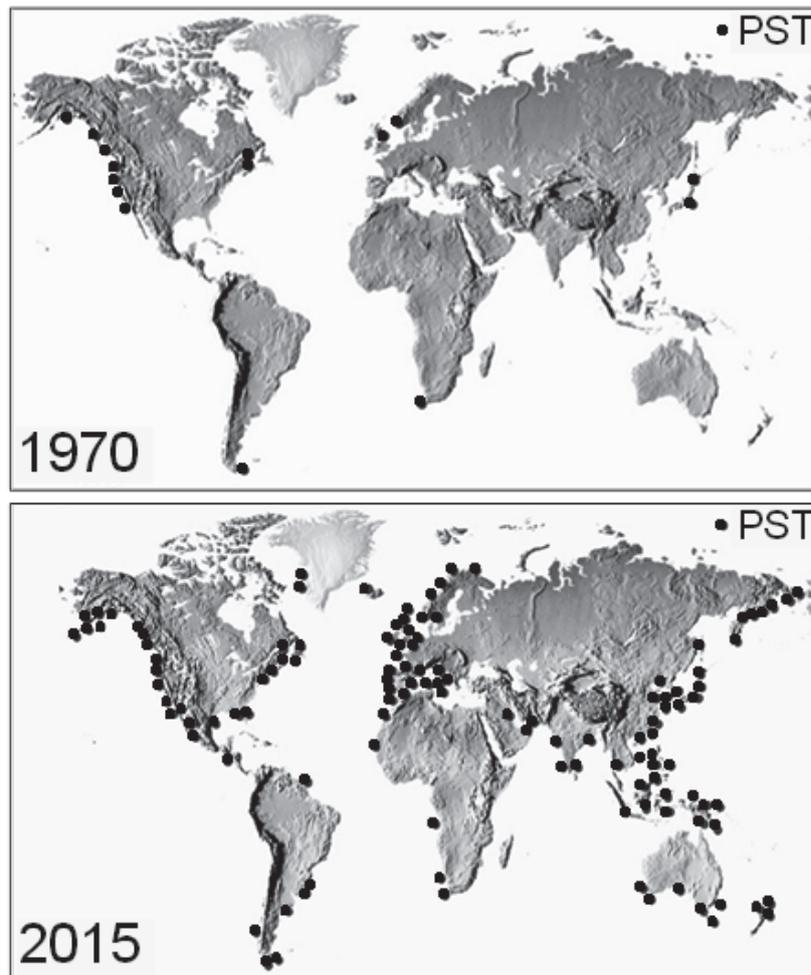


Fig. 1 Global distribution of PST accumulation by shellfish reported in 1970 and 2015 (modified from http://www.whoi.edu/cms/images/PSP_worldmap_1970_2015_422437.jpg, last visited Aug. 24/ 2016).

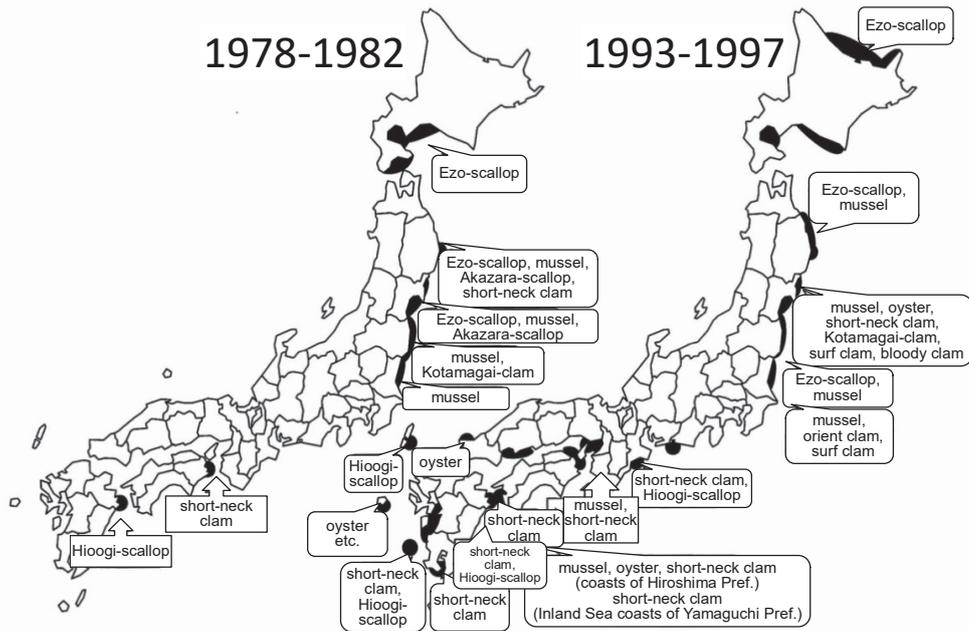


Fig. 2 Occurrence areas of PST accumulation by shellfish in Japan during 1978 – 1982 (left) and 1993 – 1997 (right), with the information about shellfish species of PST contamination over the quarantine level (4 MU g^{-1} meat) (modified from Imai and Itakura 2007).

2007, Fig. 2), 1980年前後は東北以北に集中していたのに対し、1993年以降は急速に西日本へ拡大していることが分かる。この麻痺性貝毒発生域の拡大は、特に有毒渦鞭毛藻 *Alexandrium tamarense* (Labour) Balech によるものであることが分かっている (今井・板倉 2007)。本種を含む *Alexandrium* 属は形態学的に酷似した有毒種を多く含む分類群で、光合成を行いながらも溶存態有機物を摂取することができる、混合栄養性の渦鞭毛藻である (Anderson et al. 2012)。近年有毒 *Alexandrium* 属の形態／分子分類が再検討され、従来「*A. catenella* – *tamarense* グループ」に含まれていた日本産 *A. tamarense* は「*A. fundyense* (北米クレード)」と呼ぶべきとの説が提唱されているが (John et al. 2014a, b), 本稿においては *A. tamarense* と表記する。*A. tamarense* は北日本を含む北太平洋亜寒帯域沿岸に広く分布することが知られており (福代 1985, Nagai et al. 2007, Natsuike et al. 2013, 夏池・今井 2016), 現在我が国において最も注意深く監視すべき有毒渦鞭毛藻のひとつである。上記「*A. catenella* – *tamarense* グループ」のうち *A. catenella* は種名の廃棄が提案されたものの (John et al. 2014b), 論議を経て *A. fundyense* のシノニムとして種名が残ることとなっている (Fraga et al. 2015, Reine 2017)。我が国において *A. catenella* は *A. tamarense* よりも温暖な環境に出現し (福代 1985), 毒成分組成も異なることが知られていることから (加賀ほか 2006), 本稿においては別種として扱う。麻痺性貝毒の原因となる有毒渦鞭毛藻には他に

A. minutum, *A. tamiyavanichii*, *Gymnodinium catenatum*, *Pyrodinium bahamense* ver. *compressum* 等が知られるが (今井・板倉 2007), 我が国においては、これらを原因とする PSP 発生頻度は *A. tamarense* に比べれば格段に低い。

第3節 北海道における麻痺性貝毒の発生とホタテガイ漁業との関わり

1-3-1 噴火湾

北海道南西部太平洋側に位置する噴火湾は年間約10万トンを生産する我が国最大のホタテガイ *Mizuhopecten yessoensis* (Jay) の養殖漁場として知られる (嶋田ほか 2000, Kosaka and Ito 2006)。本海域では1978年に初めて、養殖ホタテガイから出荷自主規制値 (4 MU g^{-1} 可食部) を超える PST が検出された (西浜 1982)。以後1991年まで噴火湾では毎年のように麻痺性貝毒による出荷規制措置が講じられ、経済損失をもたらすようになった (Fig. 3)。原因種は1988年秋季 (原因種は *A. catenella*, Noguchi et al. 1990) を除いて全て *A. tamarense* であり、本種の出現状況がその年の麻痺性貝毒の発生状況をほぼ決定していた (嶋田 2000b)。すなわち北海道においては、*A. tamarense* 出現予測は麻痺性貝毒の発生予測とほぼ同義である。麻痺性貝毒の発生予測が成功すればホタテガイ等二枚貝漁業の麻痺性貝毒による経済損失を最小限に抑えることができることから、その社会科学的意義は極めて大きい。

A. tamarense は有性生殖で形成されたシスト (休眠接

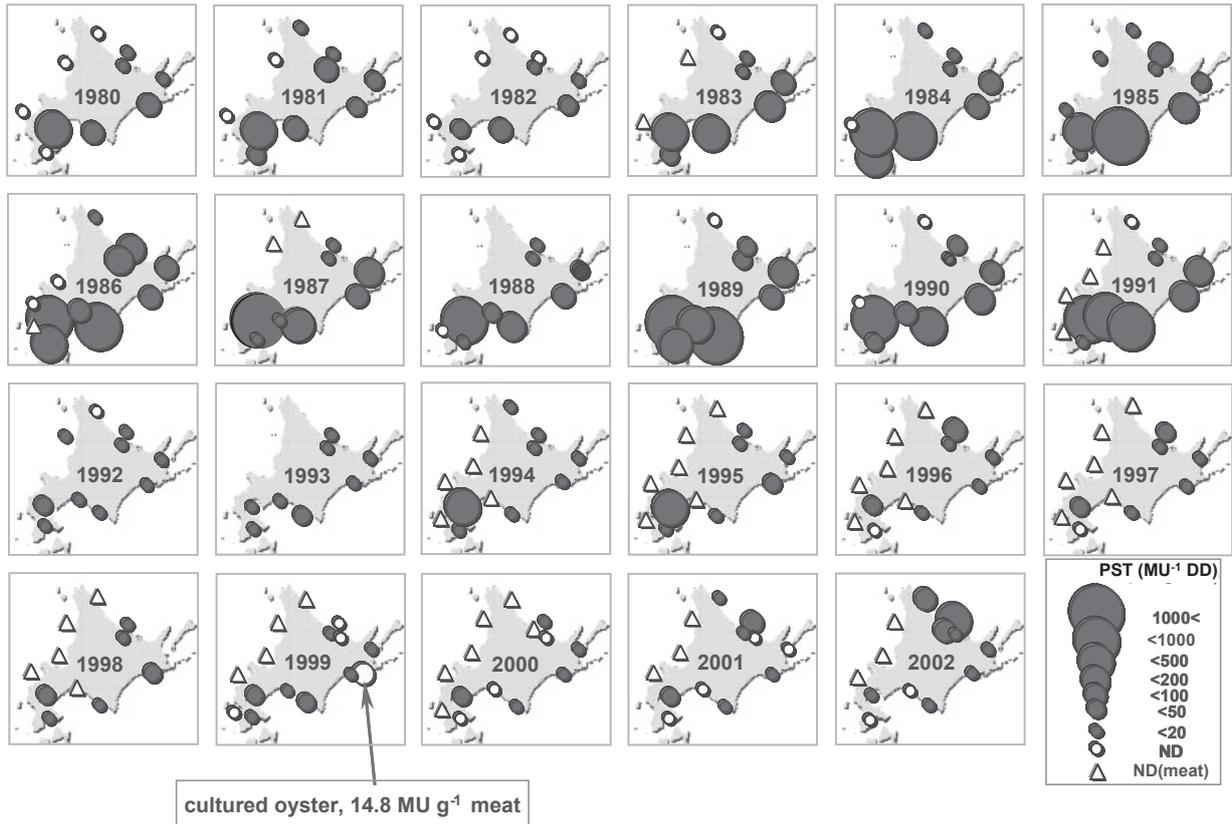


Fig.3 Diagram showing the annual variation of PST accumulation by scallop around Hokkaido during 1980–2002 (modified from Shimada and Miyazono 2005, data source: Hokkaido Prefecture). Sizes of circles indicate annual maximum PST toxicity (MU g^{-1} digestive diverticula or whole meat of scallops).

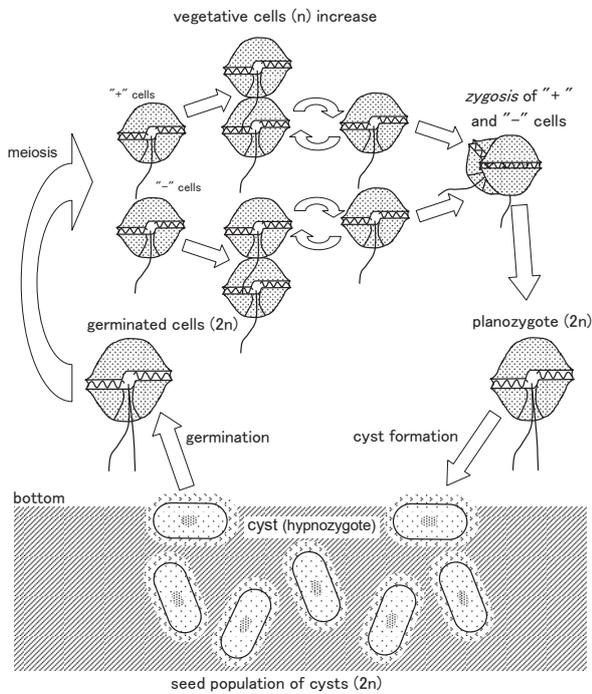


Fig.4 A schematic diagram showing the life cycle of *A. tamarense* (modified from Yoshimatsu 1992).

合子，核相 $2n$ ）から発芽して発芽細胞（核相 $2n$ ）を生じ、その後減数分裂して無性的に栄養細胞（核相 n ）が分裂増殖，再び有性生殖により運動性接合子（核相 $2n$ ）を生じてシストとなり沈降，底質中で休眠するという生活環をもつことが知られている（吉松 1992, Fig. 4）。本種シストは，発芽可能な状態に成熟するための「内因性休眠期間」を経た後，発芽に必要な温度範囲（ $5 - 21^{\circ}\text{C}$ ）の下で活発に発芽し（Perez et al. 1998, Itakura and Yamaguchi 2005），100年を超えて発芽能を保持することも知られている（Miyazono et al. 2012）。このような生理生態学的特性から，噴火湾では*A. tamarense*は内因性休眠期間を経た後の春季から夏季にシストから発芽し，栄養細胞が増殖してブルームを形成してきたことが示唆されている（宮園 2015）。

噴火湾における*A. tamarense*ブルーム（ $\geq 1000 \text{ cells/L}$ ）の発生環境は水温 $5 - 11^{\circ}\text{C}$ ，塩分33以下であり（Shimada et al. 1996, 嶋田 2000b），これは主にオホーツク海を起源とする沿岸親潮が冬季から春季に噴火湾に流入した後に昇温中の環境と考えられる。北海道においては，麻痺性貝毒はオホーツク海から太平洋沿岸の寒流（東カラフト海流および沿岸親潮）域でのみ発生するのに

対し、対馬暖流が卓越する日本海沿岸では全く発生しない (Shimada and Miyazono 2005, Fig. 3, 磯田・岸 2003, Fig. 5)。このことは、北海道では *A. tamarense* の出現が寒流の影響を受ける海域に限られていることを示す。

1-3-2 オホーツク海

北海道オホーツク海沿岸は世界的なホタテガイの好漁場として知られる (Kosaka and Ito 2006)。本海域のホタ

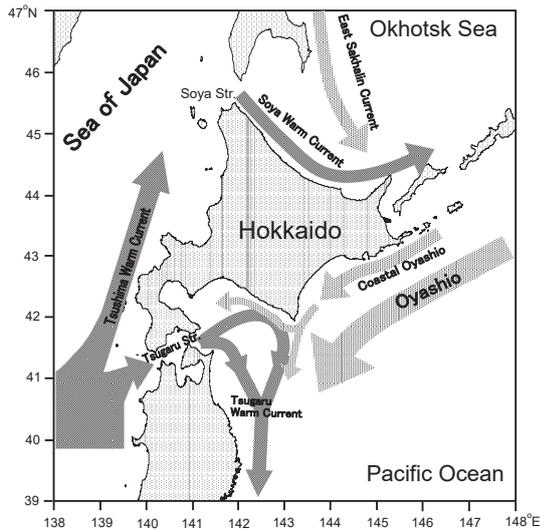


Fig. 5 Schematic paths of the warm currents (Tsushima, Soya and Tsugaru Warm Currents) and the cold currents (East Sakhalin Current, Coastal Oyashio and Oyashio) around Hokkaido (modified from Isoda and Kishi 2003).

テガイは外海の海底に稚貝を放流して3年後に回収する「地まき」という方法で漁獲される (西浜 1994a)。本海域では1985年に初めて出荷自主規制値を超えるPSTが検出されて以来、およそ4年に1度の頻度で麻痺性貝毒が発生し、経済損失をもたらしてきた (西浜 1994b, Shimada and Miyazono 2005, Shimada et al. 2012)。特に2002年夏季は網走沿岸で高毒化し (最高毒性値: 454 MU g^{-1} 中腸腺)、漁獲の最盛期に一ヶ月以上にわたり生鮮および加工向けホタテガイの水揚げが完全にストップして大きな経済損失をもたらした (Shimada et al. 2012, 嶋田ほか 2016, Fig. 6)。

本海域のホタテガイ漁獲量および漁獲金額の年変動をみると、2002年の高毒化の翌年に漁獲量の増加に反して金額は減少していることから (Fig. 7)、単価の暴落が多大な損失をもたらしたことが分かる (嶋田ほか 2016)。このような損失を最小限に抑えるために、本海域における *A. tamarense* 出現予測すなわち麻痺性貝毒の発生予測手法の開発が急務となった (嶋田ほか 2016)。本海域の麻痺性貝毒は、沖合表層で増殖した *A. tamarense* が、通常は対馬暖流を起源とする宗谷暖流で覆われる沿岸のホタテガイ漁場に輸送されるためと推測されていたが (Nishihama et al. 1993, 西浜 1994b)、そのメカニズムは不明であった。

夏季北海道沖オホーツク海には、沿岸には対馬暖流を起源とする宗谷暖流水 (SWC)、沖合表層にはオホーツク海表層低塩分水 (LSW) がそれぞれ分布する (青田 1975)。また宗谷暖流の流速は稚内網走間の水位差と正

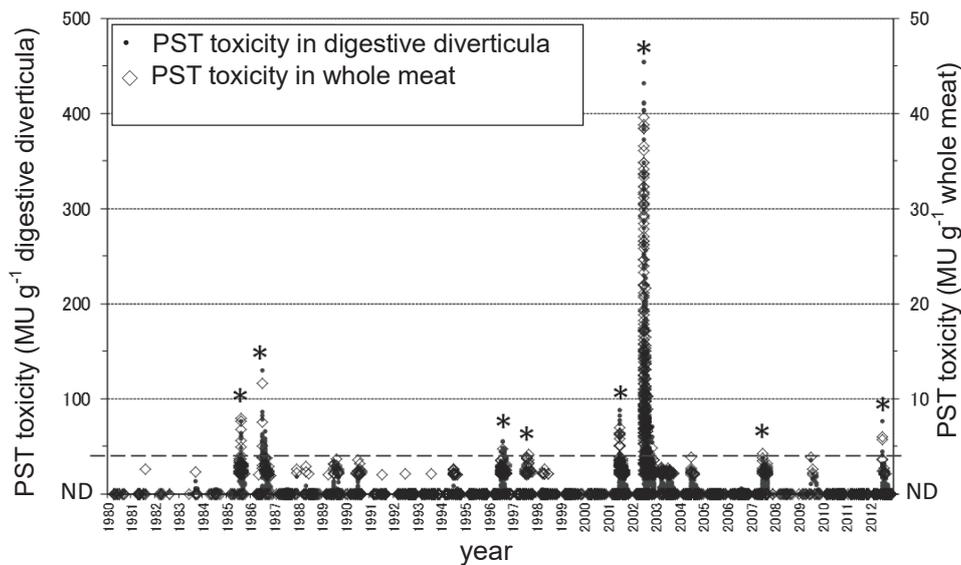


Fig. 6 PST toxicity in whole meat of scallop along the Okhotsk Sea coast of Hokkaido during 1980 – 2012 (modified from Shimada et al. 2016, data source: Hokkaido Government). Broken line indicates quarantine level of PST toxicity (4 MU g^{-1} meat). Toxicity value of “ND” means “not detected (toxicity $< 2 \text{ MU g}^{-1}$)”.

*: PST toxicity over quarantine level

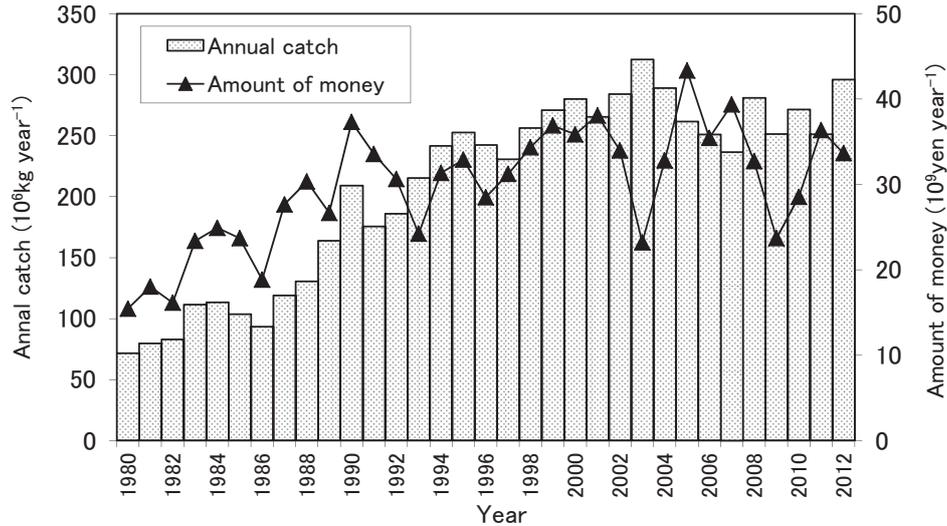


Fig. 7 Changes in annual catch and monetary amount of the scallop fisheries along the Okhotsk Sea coastal area of Hokkaido during 1980–2012 (modified from Shimada et al. 2016).

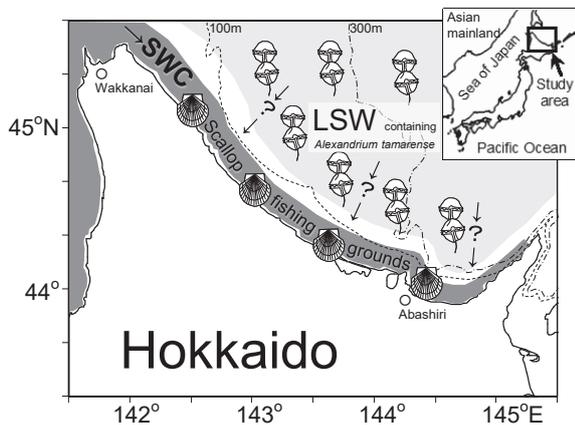


Fig. 8 Schematic path of the Soya Warm Current (SWC, salinity ≥ 33.6) and location of the scallop fishing grounds and the low salinity water (LSW, salinity ≤ 32.5) contained *Alexandrium tamarense* in summer (modified from Shimada et al. 2012). The present study examined the appropriateness of the hypothetical scenario, “PST occurrence is caused by the inflow of LSW to the scallop fishing ground at the temporal weakening of SWC”.

の相関があること、すなわち宗谷暖流は日本海とオホーツク海の水位差によって駆動されていることが示唆されていた (青田1975)。これらの既往知見から、沖合表層で増殖した*A. tamarense*の沿岸への輸送およびホタテガイの毒化は、日本海とオホーツク海の水位差が減少して、ホタテガイ漁場を覆っている宗谷暖流が一時的に弱勢となったときに起こるといふ仮説シナリオが想定される (Fig. 8)。この仮説シナリオを検証するためには、本海域の海洋環境ならびに沖合の*A. tamarense*シストおよび栄養細胞の分布、栄養細胞の毒性、沿岸定点における宗

谷暖流の勢力と*A. tamarense*栄養細胞の分布動態との関係を総合的に解明する必要があると考えられる。

1-3-3 その他の海域

1-3-1で述べたとおり、北海道における*A. tamarense*栄養細胞の出現および麻痺性貝毒の発生は寒流の影響のある海域 (日本海沿岸を除く海域) に限られて記録されている (Shimada and Miyazono 2005, Fig. 3)。本種はチャクチ海およびカムチャツカ半島沿岸といった寒帯および亜寒帯域において分布が確認されており (Orlova et al. 2007, Natsuike et al. 2013)、噴火湾では5–11℃前後でブルームを形成する冷水種であることを考慮すると (Shimada et al. 1996, 嶋田2000b)、これまで北海道日本海沿岸で*A. tamarense*の出現記録がないことは、亜寒帯域においても温暖かつ貧栄養な暖流域は本種の増殖条件が整わないことを示唆する (例えば 西浜1982, 西浜1994b)。北海道オホーツク海沿岸を稚内から網走の方向に流れる宗谷暖流は対馬暖流を起源とする海流であることから (磯田・岸2003, Fig. 5)、対馬暖流と同様に、*A. tamarense*の増殖に適さない環境であると推測される。なぜ暖流域が*A. tamarense*の増殖に適さないのかという問題を解明するためには、寒流域と暖流域双方における本種の分布と水温、塩分ならびに栄養塩環境についての詳細な分析が必要である。しかしながら、この問題は本研究の主題から外れるため、本稿においては指摘にとどめ、将来の課題としたい。我が国において*A. tamarense*よりも温暖な環境に出現する*A. catenella*等の有毒種は、将来的に北海道周辺の暖流域における出現が想定されるため、日本海沿岸をはじめとする暖流域における有毒種の監視は重要である。

第4節 本研究の目的および本論文の構成

本研究は、以上の序論を踏まえて、北海道オホーツク海沿岸の地まきホタテガイ漁場における麻痺性貝毒原因種 *A. tamarense* の出現メカニズムを生物海洋学的に解明し、麻痺性貝毒の発生予測手法を構築して、貝毒発生によるホタテガイ漁業の経済損失を低減することを目的として行われたものである。本論文では、第2章において、本研究の基礎となる北海道周辺の外洋／沿岸域の海洋環境ならびに麻痺性貝毒原因種 *A. tamarense* の栄養細胞およびシストの分布状況について整理する。第3章では、本研究の主たるフィールドであるオホーツク海に目を移し、*A. tamarense* 栄養細胞の空間分布を水塊構造および栄養塩環境を含めて詳述する。第4章では、貝類によるPSTの蓄積に関わる、北海道沿岸およびサハリン南部アニワ湾産 *A. tamarense* の海域別／培養株別の毒性について述べる。第5章では、オホーツク海沿岸における麻痺性貝毒の発生予測手法とその運用について詳説する。最後に第6章では、本研究の意義ならびに将来展望について総括する。

第2章 北海道周辺の海洋環境, *Alexandrium tamarense* 栄養細胞の出現状況ならびに有毒 *Alexandrium* 属シストの水平分布

第1節 各海域の海洋環境の季節変化

2-1-1 海流系によって大別される4つの海域

北海道周辺海域は太平洋とその縁辺海である日本海およびオホーツク海に囲まれ、寒流（親潮・沿岸親潮・東カラフト寒流）および暖流（対馬・津軽・宗谷暖流）の影響を受けるため（Fig. 9）、海域別の水塊構造の季節

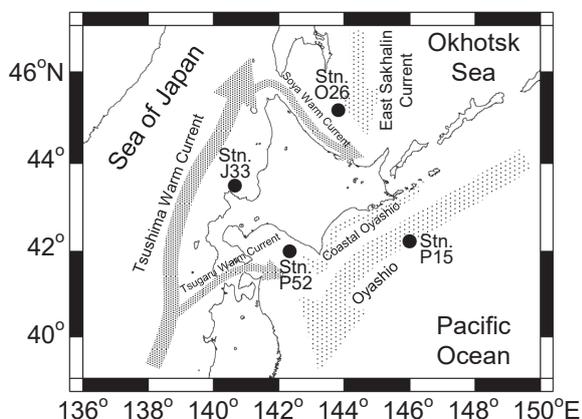


Fig.9 Map showing schematic paths of the ocean currents (modified from Isoda and Kishi (2003)) and the four monitoring stations in each sea area around Hokkaido (modified from Shimada et al. 2012).

変化は極めてユニークである。それぞれの海域は、道東太平洋は親潮、道南太平洋は親潮／沿岸親潮および津軽暖流、日本海は対馬暖流、オホーツク海は東カラフト海流および宗谷暖流の影響を受ける海域というように、海流系によって4海域に大別することができる（田中ほか 2003, 嶋田ほか 2012）。本研究の主たるフィールドであるオホーツク海は、沿岸に日本海を起源とする高温／高塩分の宗谷暖流、沖合に低温／低塩分の東カラフト海流がそれぞれ流れ、極めてコントラストの高い水塊構造が特徴であるが、その環境特性を理解するためには他海域との比較が必須である。そこで第2章第1節では、太平洋（道東および道南太平洋）、日本海およびオホーツク海において北海道立総合研究機構水産研究本部（以下、道水試と略称）が定期的実施しているCTD（Seabird Electronics, SBE-911plus）を用いた水温、塩分の観測例を順に示し、海域別の環境特性について述べる。

2-1-2 道東太平洋（親潮域）

Stn.P15 (42°15.1' N, 145°59.8' E, Fig. 9) における水温塩分の鉛直分布の季節変化をみると、100m以浅の表層を除いてほぼ周年にわたり低温な親潮（ $\leq 5^{\circ}\text{C}$ ）が卓越する海域であることが分かる（嶋田ほか 2012, Fig. 10）。年により夏～秋季に表層で北上暖水の影響がみられるが、顕著な水温／塩分躍層の発達はまだで、混合層深度が極めて深いのが特徴である。

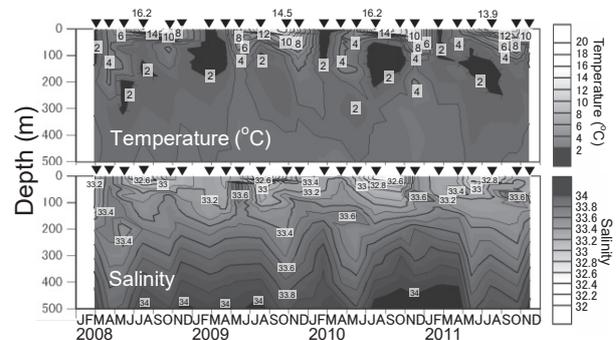


Fig.10 Seasonal changes in vertical profiles of water temperature (upper) and salinity (lower) at Doto area of the North Pacific (Stn. P15) during 2008 - 2011 (modified from Shimada et al. 2012).

2-1-3 道南太平洋（親潮・沿岸親潮・津軽暖流混合域）

Stn.P52 (42°00.1' N, 142°19.8' E, Fig. 9) における水温塩分の鉛直分布の季節変化をみると、季節変化は親潮域と似るが、春季表層の低温・低塩分化（沿岸親潮の流入）、夏～秋季表層の高温・高塩分化（津軽暖流の流入）、すなわち表層における水塊交代が特徴であることが分かる（嶋田ほか 2012, Fig. 11）。また、夏～秋季は成層が

強まり、混合層深度は道東太平洋よりも浅いのが特徴である。噴火湾は本海域の西端に位置し、同様の水塊交代が生じることが知られている(大谷・木戸 1980, 嶋田 2000a)。

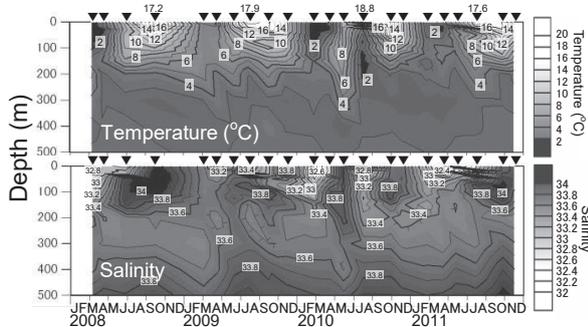


Fig.11 Seasonal changes in vertical profiles of water temperature (upper) and salinity (lower) at Donan area of the North Pacific (Stn. P52) during 2008 – 2011 (modified from Shimada et al. 2012).

2-1-4 日本海

Stn.J33 (43°30.1' N, 140°39.8' E, Fig. 9)における水温塩分の鉛直分布の季節変化をみると、ほぼ周年にわたって150m以浅を対馬暖流水(水温 $\geq 6^{\circ}\text{C}$), 300m以深を日本海固有水(水温 $\leq 2^{\circ}\text{C}$, 塩分 ≈ 34)が占めることが分かる(嶋田ほか 2012, Fig. 12)。日本海は浅い海峡(シル部の海底水深: 対馬海峡・津軽海峡130m/宗谷海峡55m)で太平洋/オホーツク海と接続するため表層を除き閉鎖的環境であり、近年温暖化傾向が著しい海域である(田中 2002)。北海道オホーツク海沿岸を帯状に流れる宗谷暖流水は日本海表層の水が湧昇・混合して(Nakata et al. 1999), 日本海とオホーツク海の水位差を駆動力としてオホーツク海に流出したジェット流であることが知られている(青田 1975, Mitsudera et al. 2011)。

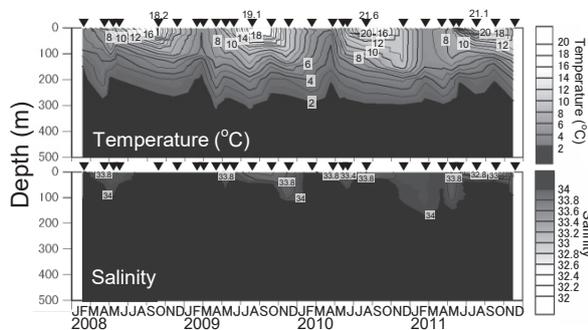


Fig.12 Seasonal changes in vertical profiles of water temperature (upper) and salinity (lower) at the northern Japan Sea (Stn. J33) during 2008 – 2011 (modified from Shimada et al. 2012).

2-1-5 オホーツク海

Stn.O26 (45°10.1' N, 143°49.8' E, Fig. 9)における水温塩分の鉛直分布の季節変化をみると、20m以浅は表層低塩分水($>2^{\circ}\text{C}$), 50m以深は 2°C 以下の中冷水がそれぞれ占める、他3海域と比較して極めて特徴的な水塊構造であることが分かる(嶋田ほか 2012, Fig. 13)。沖合定点では稚内から網走の方向に沿岸を流れる宗谷暖流水(塩分 ≥ 33.6)は全く観測されない。本海域は表層低塩分水の直下に中冷水が存在するため混合層深度が極めて浅く、冬季結水する季節海域である(田中ほか 2003)。冬季沖合の船舶観測例はないが、TRBM-ADCP(耐トロール海底設置型ドップラー流速計)を用いた観測によれば、東カラフト海流は冬季(1月)に最も卓越し、夏季(7月)に最も弱勢であることが分かっている(Mizuta et al. 2010)。対馬暖流を起源として北海道オホーツク海沿岸を帯状に流れる宗谷暖流は夏~秋季(6-10月)に最も卓越し、冬季(1-2月)に最も弱勢であることが分かっている(Fukamachi et al. 2008)。

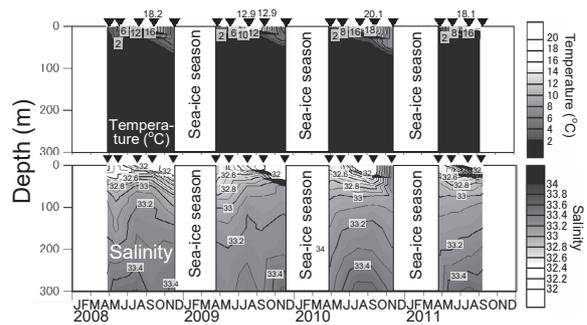


Fig.13 Seasonal changes in vertical profiles of water temperature (upper) and salinity (lower) at the southern Okhotsk Sea (Stn. O26) during 2008 – 2011 (modified from Shimada et al. 2012).

第2節 海域別の*A. tamarensis*栄養細胞の出現状況ならびに麻痺性貝毒の発生状況

2-2-1 はじめに

北海道沿岸における貝毒プランクトンの監視は、1980年代に噴火湾、日本海およびオホーツク海沿岸のホタテガイ漁場において開始された(西浜1985, 2000)。2005年4月に厚岸産マガキから生鮮出荷自主規制値を超えるPSTが検出されて以降は、ホタテガイ以外の貝類漁場における調査を拡充して監視が継続されている(嶋田ほか 2007)。第2章第2節では、2005-2006年の調査で明らかとなった*A. tamarensis*出現状況ならびに麻痺性貝毒の発生状況を、海域別の環境特性と併せて整理する。

2-2-2 材料および方法

水温、塩分の観測および海水試料の採集は、2005年4月から2006年12月まで、19海域の21定点において (Fig. 14)、海水期を除いて周年原則として各定点毎月1-2回行った。水温、塩分の観測はメモリーSTD (アレック, AST-1000) を用いて行った。海水試料は表面から底層まで最大8層の採集深度から1 Lを採集、最終濃度約2%の中性ホルマリンで固定し、沈殿法または20 μmプランクトンネットを用いて1 mLまで濃縮した。このうち0.1 mLを計数用試料として有殻渦鞭毛藻の外部形態観察に必要なカルコフロー染色 (Fritz

and Triemer 1985) を施し、落射蛍光顕微鏡を用いて紫外線励起下で*A. tamarense*栄養細胞を計数した。*A. tamarense*栄養細胞の形態観察による同定はBalech (1995) に従って行った。

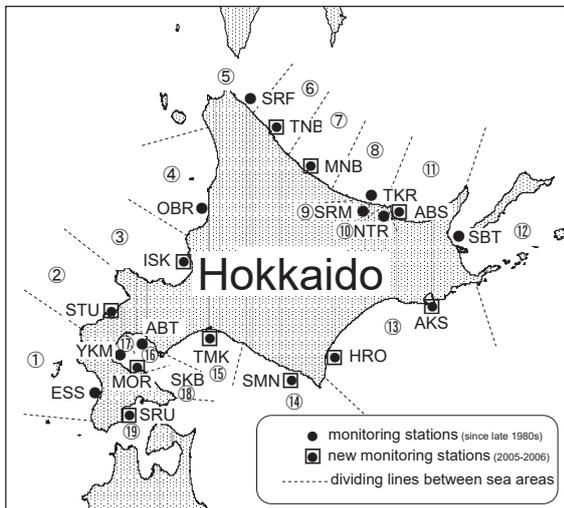


Fig.14 Map showing location of the 21 stations (closed circles) and 19 sea areas (divided by broken lines) for monitoring of *Alexandrium tamarense* around Hokkaido during 2005 – 2006 (modified from Shimada et al. 2007).

Abbreviations; ESS: Esashi, STU: Suttsu, ISK: Ishikari, OBR: Obira, SRF: Sarufutsu, TNB: Tonbetsu, MNB: Monbetsu, TKR: Tokoro, SRM: Lake Saroma, NTR: Lake Notoro, ABS: Abashiri, SBT: Shibetsu, AKS: Akkeshi, HRO: Hiroo, SMN: Samani, TMK: Tomakomai, ABT: Abuta, YKM: Yakumo, MOR: Mori, SKB: Shikabe, SRU: Shiriuchi

2-2-3 結果および考察

2-2-3-a 海域別表面水温の季節変化

北海道沿岸定点における海域別表面水温の季節変化のイソプレットをFig. 15に示す。冬季の最低水温をみると、暖流域の日本海南部および津軽海峡沿岸では5℃以上であるのに対し、寒流域の道東太平洋および根室海峡では冬季0℃前後と低い。夏季の最高水温についても同

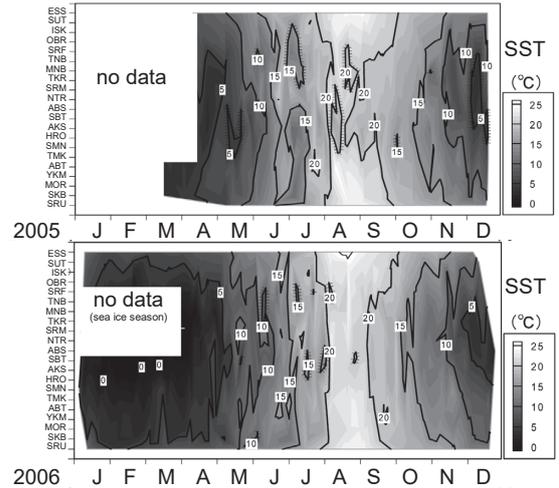


Fig.15 Isoplets showing seasonal change of sea surface temperature (SST) at the 21 monitoring stations around Hokkaido during 2005 – 2006 (modified from Shimada et al. 2007). For location of each monitoring station, see Fig. 14.

Abbreviations; ESS: Esashi, STU: Suttsu, ISK: Ishikari, OBR: Obira, SRF: Sarufutsu, TNB: Tonbetsu, MNB: Monbetsu, TKR: Tokoro, SRM: Lake Saroma, NTR: Lake Notoro, ABS: Abashiri, SBT: Shibetsu, AKS: Akkeshi, HRO: Hiroo, SMN: Samani, TMK: Tomakomai, ABT: Abuta, YKM: Yakumo, MOR: Mori, SKB: Shikabe, SRU: Shiriuchi

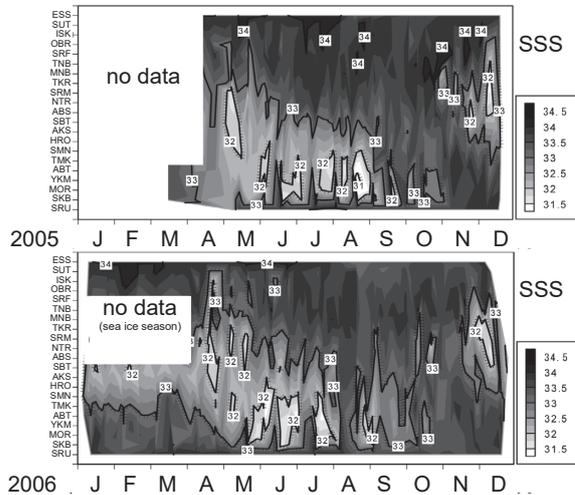


Fig.16 Isoplets showing seasonal change of sea surface salinity (SSS) at the 21 monitoring stations around Hokkaido during 2005 – 2006 (modified from Shimada et al 2007). For location of each monitoring station, see Fig. 14.

Abbreviations; ESS: Esashi, STU: Suttsu, ISK: Ishikari, OBR: Obira, SRF: Sarufutsu, TNB: Tonbetsu, MNB: Monbetsu, TKR: Tokoro, SRM: Lake Saroma, NTR: Lake Notoro, ABS: Abashiri, SBT: Shibetsu, AKS: Akkeshi, HRO: Hiroo, SMN: Samani, TMK: Tomakomai, ABT: Abuta, YKM: Yakumo, MOR: Mori, SKB: Shikabe, SRU: Shiriuchi

様の傾向が認められ、暖流域では23-25℃であるのに対し、寒流域ではこれよりも4-5℃低めである。寒・暖流の混合域である道南太平洋および噴火湾沿岸の表面水温は暖流域と寒流域のほぼ中間、オホーツク海沿岸の表面水温（冬季の海水期は欠測）は日本海北部より若干低めで推移していた。海域別の沿岸定点における表面水温の季節変化は、前節で述べた外洋域と傾向において概ね一

致していることから、沿岸定点における水温も、基本的に海流系に支配されて変動するものと推察される。

2-2-3-b 海域別表面塩分の季節変化

北海道沿岸定点における海域別表面塩分の季節変化のイソプレットをFig. 16に示す。暖流域（日本海）では周年にわたって概ね高塩分（33.5≦）であるのに対し、寒流

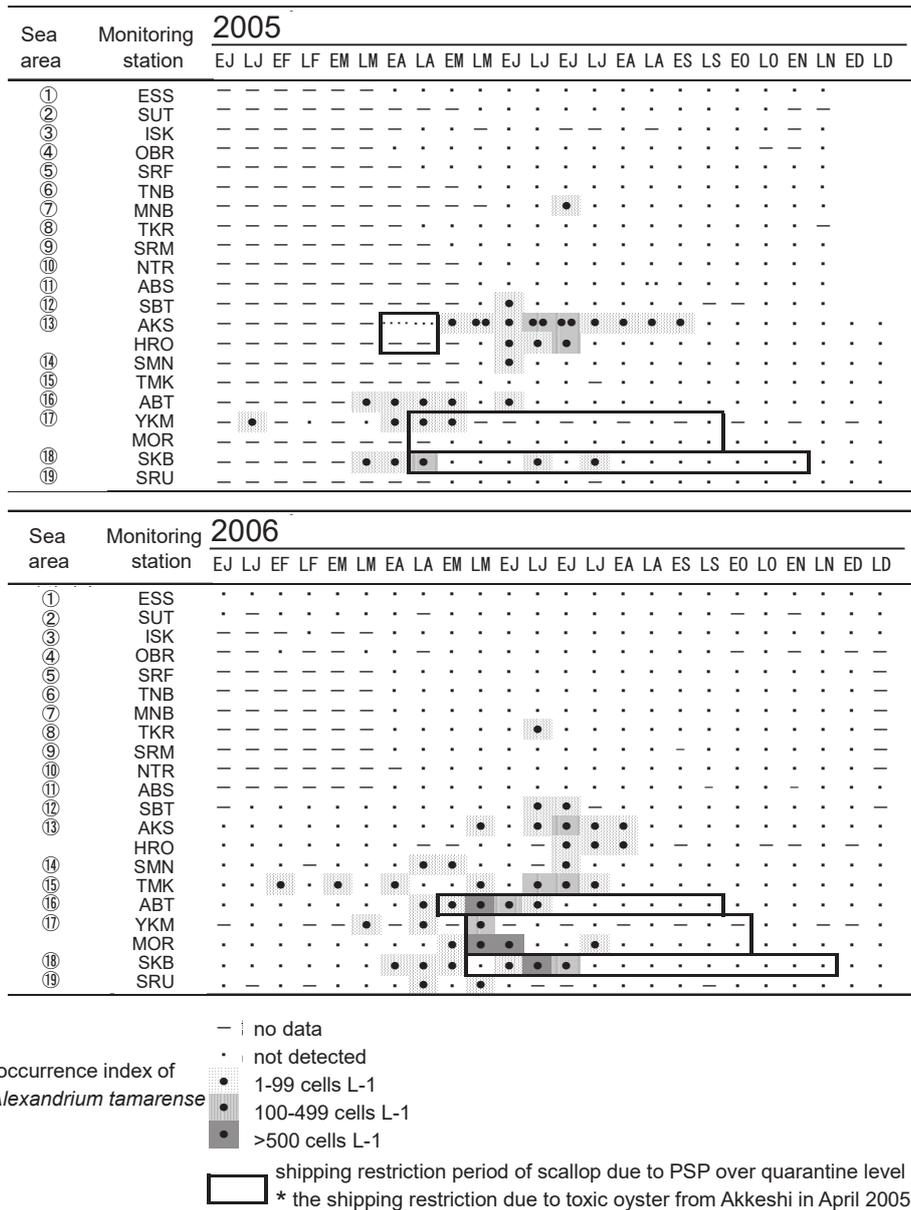


Fig. 17 Diagrams showing occurrences of *Alexandrium tamarense* (closed circles with shade) and shipment restrictions (rectangular frames) due to detecting PST from scallop (excluding the PST detection from oyster in April 2005) exceeding the quarantine level (4 MU g⁻¹ meat) at the 21 monitoring stations around Hokkaido during 2005 – 2006 (modified from Shimada et al. 2007).

For location of sea areas of circled numbers (①②③...) and each station, see Fig. 14.

Abbreviations of monitoring stations; ESS: Esashi, STU: Suttu, ISK: Ishikari, OBR: Obira, SRF: Sarufutsu, TNB: Tonbetsu, MNB: Monbetsu, TKR: Tokoro, SRM: Lake Saroma, NTR: Lake Notoro, ABS: Abashiri, SBT: Shibetsu, AKS: Akkeshi, HRO: Hiroo, SMN: Samani, TMK: Tomakomai, ABT: Abuta, YKM: Yakumo, MOR: Mori, SKB: Shikabe, SRU: Shiriuchi
 Abbreviations of sampling seasons; EJ LJ EF LF...: early January late January early February late February...

域（太平洋からオホーツク海）では概ね低塩分（ ≤ 33.0 ）である。寒流（東カラフト海流および沿岸親潮）は一般に冬季～春季に強勢だが（Mizuta et al. 2010, 嶋田ほか2012），寒流が弱勢となる夏季から秋季に塩分が上昇する場合があります，この傾向は例年表層で津軽暖流水（塩分 ≥ 33.6 ）の卓越が観測される道南太平洋および噴火湾沿岸で顕著である。夏～秋季（6-10月）オホーツク海沿岸の表面塩分が日本海と同等に高塩分であることは，宗谷暖流の卓越を示すものである。この宗谷暖流の卓越は，前節で触れたとおり，本海域の沿岸域のみ観測される特異的な現象である。一方，11月以降の本海域における低塩分化は，東カラフト海流の卓越を示すものと推察される。

2-2-3-c 海域別の*A. tamarense*出現状況ならびに麻痺性貝毒による二枚貝の毒化状況

北海道沿岸定点における*A. tamarense*の月別最高出現数およびPSPによる出荷自主規制期間をFig. 17に示す。*A. tamarense*は主に春～夏季に太平洋～オホーツク海沿岸に出現することが明らかとなった。*A. tamarense*の出現に伴う出荷自主規制値を超える毒化は，*A. tamarense*が概ね100 cells L⁻¹を超えて出現したとき発生することが示された。既往の調査結果（嶋田2000b）と併せて2005-2006年の沿岸定点における2年間の詳細な調査結果をまとめると，北海道におけるPSP発生は，*A. tamarense*を原因種とするホタテガイのPSPによる毒化とほぼ同義で

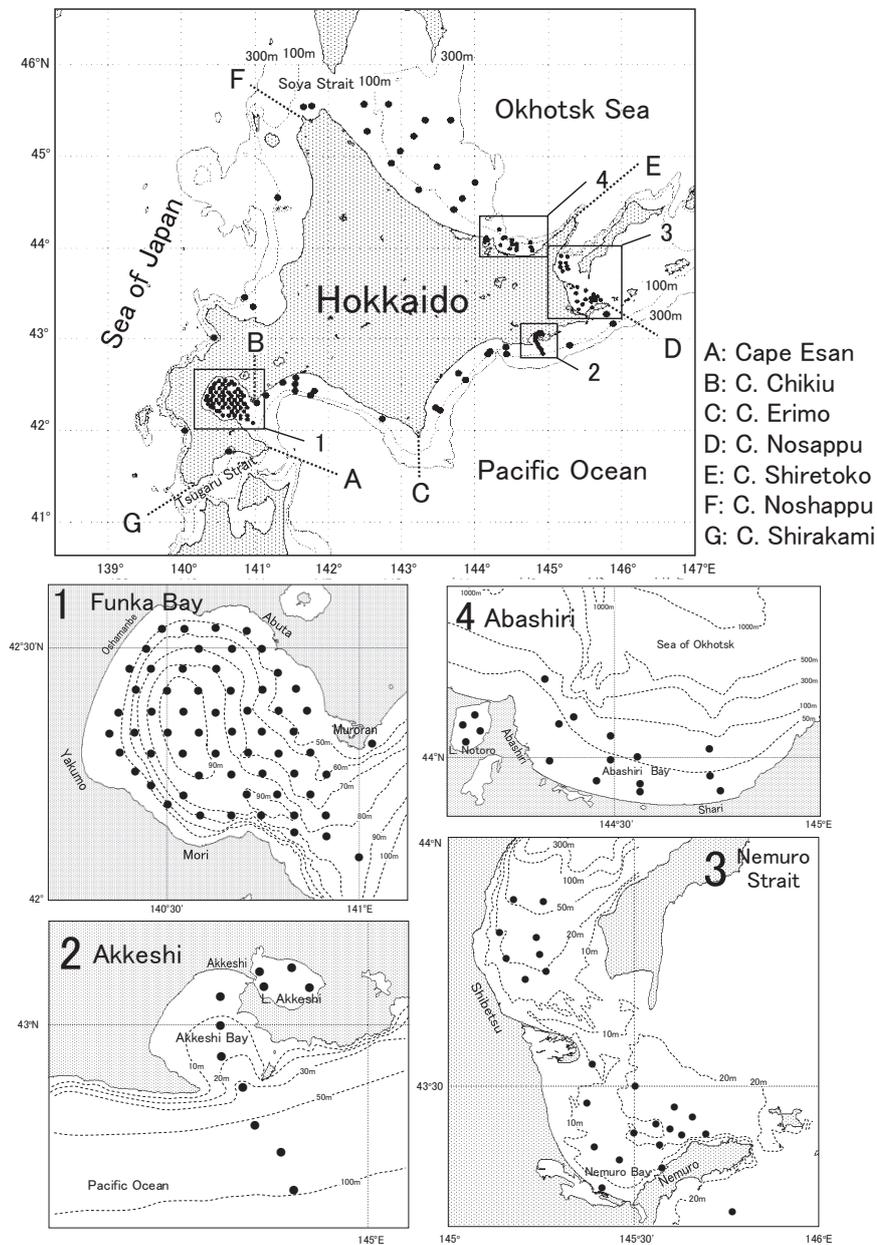


Fig. 18 Maps showing the sampling stations of bottom sediments for counting resting cysts of toxic *Alexandrium* spp. in each area around Hokkaido (modified from Shimada and Miyazono 2005).

あると結論することができる。

第3節 有毒*Alexandrium*属シストの水平分布

2-3-1 はじめに

1-3-1で述べたように、*Alexandrium tamarense*はシストを形成する渦鞭毛藻であり、その発芽能は100年を超えて維持されることから (Miyazono et al. 2012), シストの分布は海域における本種の出現記録ならびに潜在的なブルーム形成能力の指標として極めて重要である (例えば Anderson et al. 1995)。第2章第3節では、北海道周辺海域における有毒*Alexandrium*属シスト (以下「シスト」と略記) の水平分布について述べ、前節で示した*A. tamarense*出現状況ならびに麻痺性貝毒の発生状況との関連を考察する。

2-3-2 材料および方法

シスト調査は、1999-2000年に北海道周辺海域の152定点 (オホーツク海は32定点) において行った (Fig. 18)。シスト検鏡用の底泥試料として、スミスマッキンタイヤ型/TFO柱状/エクマンバージ採泥器を用いて各定点の表層泥 (0-3 cm) を採取した。冷蔵保存

して持ち帰った底泥試料は、肉眼の分解能を0.1 mmとみなして、粒状物が少ない/多い試料をそれぞれ「泥」/「砂礫」として肉眼観察結果を記録し、0.3-0.5 gを秤量して蒸留水に懸濁させた。この懸濁試料に超音波洗浄処理を施し、10-100 μm の画分をプランクトンネットを用いて篩い分けて、プリムリン染色による直接計数法 (Yamaguchi et al. 1995) に従って、湿泥1gあたりのシスト数を求めた。

2-3-3 結果および考察

2-3-3-a 北海道全域における有毒*Alexandrium*属シストの水平分布

北海道全域におけるシストの分布を概観すると、最高密度が 10^3 cysts g^{-1} wet sedimentを超える海域はオホーツク海および噴火湾であることが目立つ (Fig. 19)。第2章第1節で示した各海域の海洋環境との関係を見ると、シストは寒流 (親潮, 沿岸親潮, 東カラフト海流) の影響を受ける海域 (噴火湾, 道東・道南太平洋, オホーツク海) のみに分布し、暖流域 (対馬暖流および津軽暖流) には出現しないことが明らかとなった。噴火湾および各海域の底泥試料を珪藻増殖阻害剤 GeO_2 を添加した

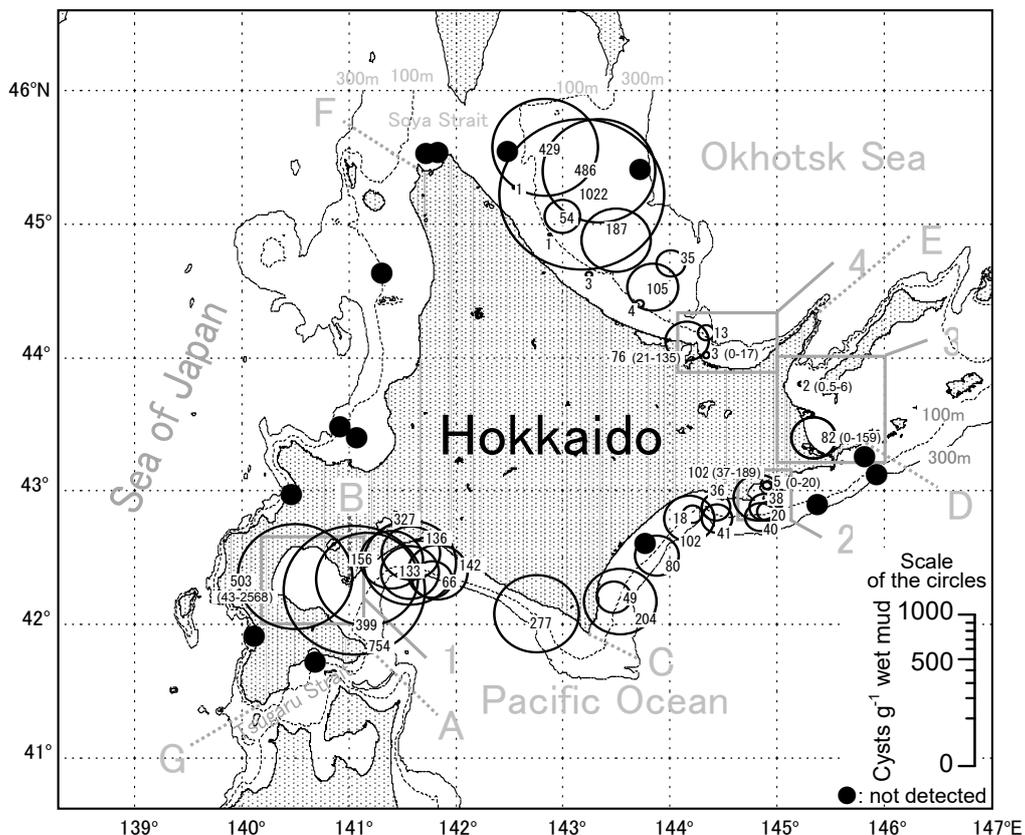


Fig. 19 Horizontal distribution of toxic *Alexandrium* spp. resting cysts around Hokkaido. Black spots “●” indicate “not detected”. Numbers in parentheses are the range of cyst concentrations at the sampling stations in small area (modified from Shimada and Miyazono 2005).

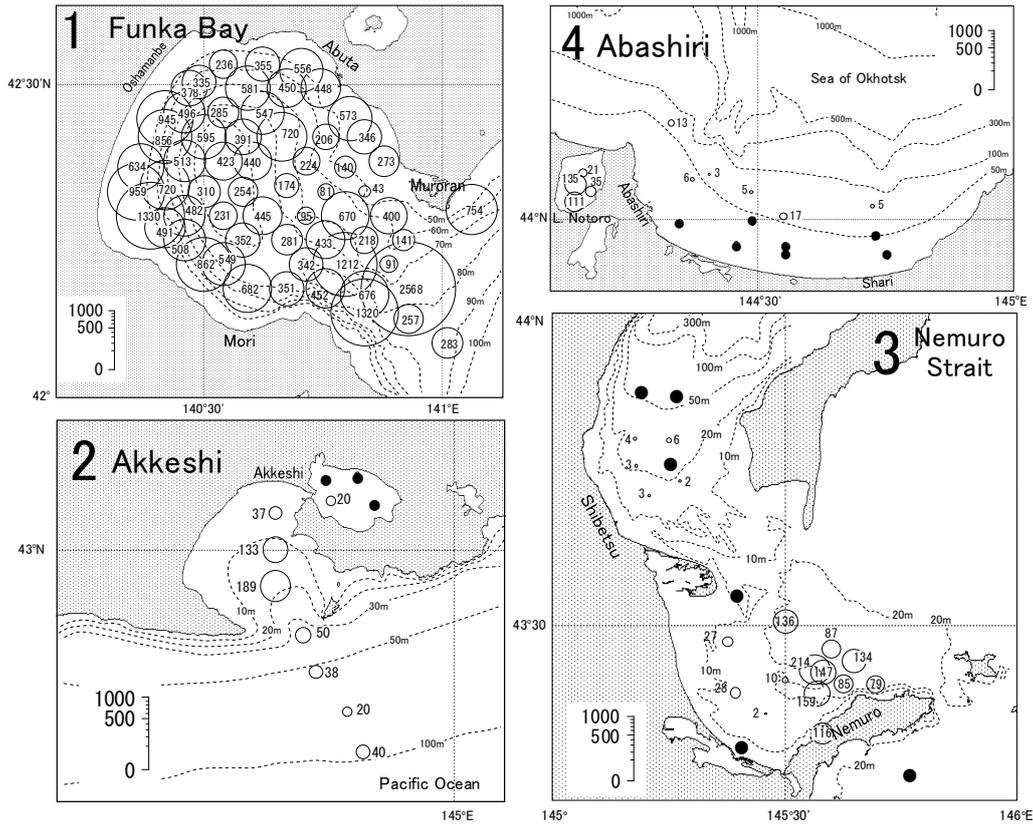


Fig. 20 Horizontal distribution of toxic *Alexandrium* spp. resting cysts in the four regions in the coast of Hokkaido. Black spots “●” indicate “not detected” (modified from Shimada and Miyazono 2005). Numbers are cysts g⁻¹ bottom wet sediment.

濾過海水に懸濁させて温度10℃、明暗周期14L:10Dの条件で培養したところ、発芽した*Alexandrium*属の細胞は全て*A. tamarense*と同定された (Shimada and Miyazono 2005, Shimada et al. 2011)。従って、1988年に噴火湾で*A. catenella*の出現記録があるものの、北海道周辺海域に分布する有毒*Alexandrium*シストの多くは*A. tamarense*であると推察される。

2-3-3-b 内湾域等における有毒*Alexandrium*属シストの水平分布

内湾域等における詳細なシストの分布をみると、一様にシスト多いのは噴火湾であるが、能取湖や厚岸湖といった海跡湖にも相当量のシストが存在することが明らかとなった (Fig. 20)。一方網走沿岸ではシストはごく沿岸には存在せず、沖合に分布することが明らかとなった。噴火湾、厚岸湾および根室海峡では、シストは湾口部に相対的に多い傾向が認められた。この傾向は、北海道沿岸では*A. tamarense*ブルームが主にフロント域で発生してきたことを示すものと考えられる。

2-3-3-c シスト密度と底質の関係

採集された底質の肉眼観察による「泥」または「砂礫」

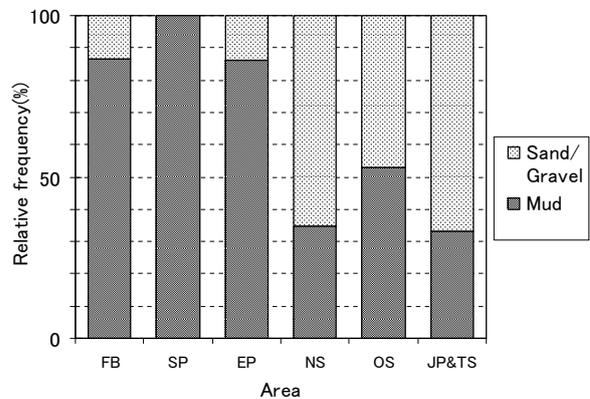


Fig. 21 Sediment composition (relative frequency of “Mud” or “Sand/Gravel”) in each area around Hokkaido (modified from Shimada and Miyazono 2005).

For location of each area, see Fig. 18.

Abbreviations; FB: Funka Bay, SP: Donan area of north Pacific, EP: Doto area of north Pacific, NS: Nemuro Strait, OS: Sea of Okhotsk, JP&TS: Sea of Japan and Tsugaru Strait

の判別結果をFig. 21に示す。「泥」は太平洋沿岸で頻度が高く、「砂礫」は根室海峡、日本海および津軽海峡で頻度が高かった。これは、潮流の速い海峡部や冬季荒天が続く日本海沿岸では、本研究で用いたようなシンプル

な道具で採集可能な100m以浅の場所に、沈降速度の遅い泥分が集積しにくいことを示すものであろう。

底質とシスト密度の関係をみると、シストは泥に多く、砂や礫には少ないことが明らかとなった (Fig. 22)。これはYamaguchi et al. (1996, 2002) による瀬戸内海における既往知見と同様の傾向である。シストの粒径はシルト～極細砂 (粒径63 μm 未満～粒径125 μm) の範囲にあるため、シストの物性が泥場への沈降、集積に寄与しているものと推察される。

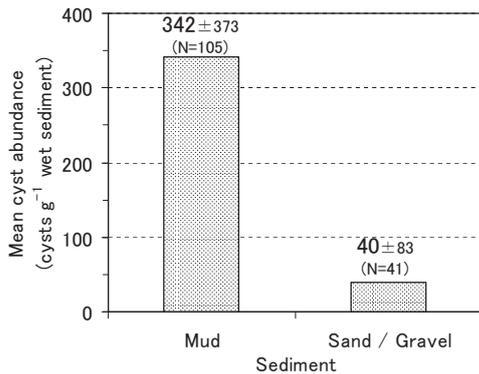


Fig. 22 Comparison of the mean cyst abundance (cysts g⁻¹ wet sediment, \pm SD) between the two sediment groups (modified from Shimada and Miyazono 2005), “Mud” and “Sand/Gravel” in the present study, excluding the data for the Sea of Japan and the Tsugaru Strait where cysts were not detected. There was a significant difference between the two groups (t -test, $p < 0.01$).

2-3-3-d 海域別のシスト分布と麻痺性貝毒の発生履歴の関係

海域別の平均シスト密度と、麻痺性貝毒発生年の頻度 (1980-2000年に出荷自主規制値を超える毒性値を記録した年の頻度) ならびに平均年間最高PST毒性値 (1980-2000年の各年に記録された最高毒性値の21年間平均値) との関係を見ると、双方ともに有意な正の相関が認められた (Fig. 23)。このことは、各海域のシスト密度が *A. tamarense* ブルームの発生頻度と発生規模の履歴であることを意味する。オホーツク海は平均シスト密度と麻痺性貝毒発生年の頻度こそ低めであるが、沖合陸棚のシスト密度の最高値は10³ cysts g⁻¹ wet sediment以上と極めて高いことから、本海域沖合は大規模な *A. tamarense* ブルームが高頻度で発生した海域であると推察される。本節で示した1999-2000年のシスト分布 (Shimada and Miyazono 2005) と、前節で述べた2005-2006年における海域別の *A. tamarense* 栄養細胞の出現状況ならびに麻痺性貝毒の発生状況 (嶋田ほか 2007) がよく似ていることは、海域別のシスト密度が *A. tamarense* ブルームと麻

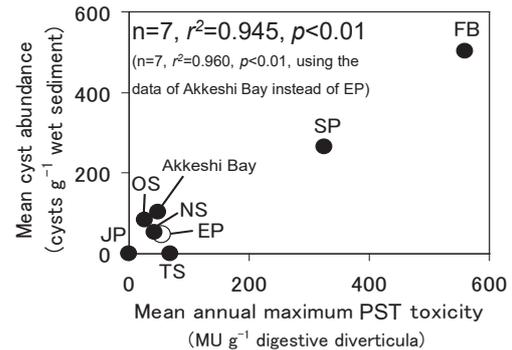
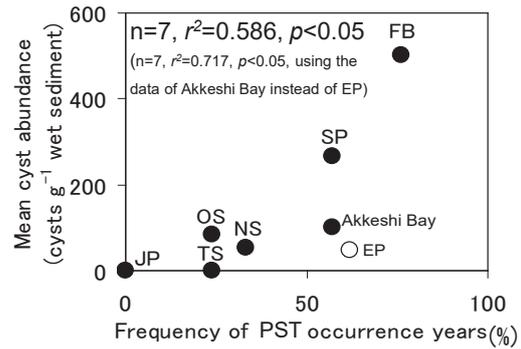


Fig. 23 Relationships among the mean cyst abundance, the frequency of PSP occurrence years (%), above and the mean annual maximum PST toxicity (MU g⁻¹ digestive diverticula of scallop), below in 1980-2000 (modified from Shimada and Miyazono 2005). Abbreviations; FB: Funka Bay, SP: Donan area of north Pacific, EP: Doto area of north Pacific, NS: Nemuro Strait, OS: Sea of Okhotsk, JP&TS: Sea of Japan and Tsugaru Strait

痺性貝毒発生の将来的な発生リスクを指標することを意味するものであろう。

第3章 夏季北海道沖オホーツク海における *Alexandrium tamarense* 栄養細胞の空間分布

第1節 はじめに

1-3-2で述べたとおり、夏季北海道オホーツク海沿岸の地まきホタテガイ漁場では数年に1回の頻度で麻痺性貝毒が発生し、経済損失をもたらしてきた。本海域の麻痺性貝毒は沖合表層の *A. tamarense* を含んだ水塊が沿岸に流入するために発生すると推測されていたものの (Nishihama et al. 1993, 西浜1994b)、本海域の詳細な水塊構造および *A. tamarense* の空間分布については不明のままであった。第3章では、北海道沖オホーツク海における *A. tamarense* 栄養細胞の分布と水塊構造の関係を詳述し、本海域の物理/化学/生物環境の模式的整理を試みる。

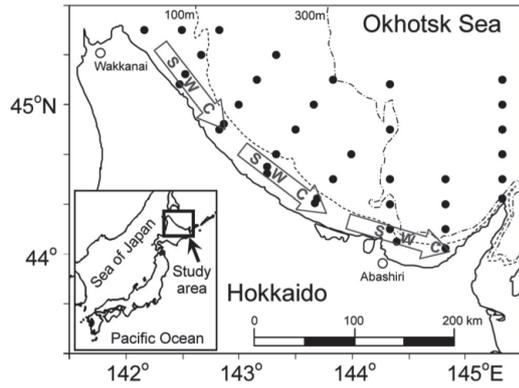


Fig. 24 Map showing 37 sampling stations (●) in the Okhotsk Sea off Hokkaido. Open arrows indicate schematic path of the Soya Warm Current (modified from Shimada et al. 2010).

第2節 材料および方法

調査は、2002–2007各年の7月下旬 (*A. tamarensis*の例年の分布盛期) に37定点で行った (Fig. 24)。各定点でバケツおよびナンゼン採水器を用いて深度0–40 mについて10 m毎5層の採水を行い、同時にCTD (Seabird, SBE-11) を用いて水温・塩分の観測を行った。各定点の採集深度から得られた海水試料のうち500 mLを *A. tamarensis* 計数用として最終濃度約1%の中性ホルマリンで固定し、実験室に持ち帰った。また、各定点でバケツ採水した表面海水試料については、230 mLを直ちにガラス繊維濾紙 (Whatman GF/F) を用いて濾過し、捕集物が付着した濾紙をアルミ фольドで遮光のうえ–20°Cで凍結保存、暗所冷蔵下で90%アセトン10 mLに6時

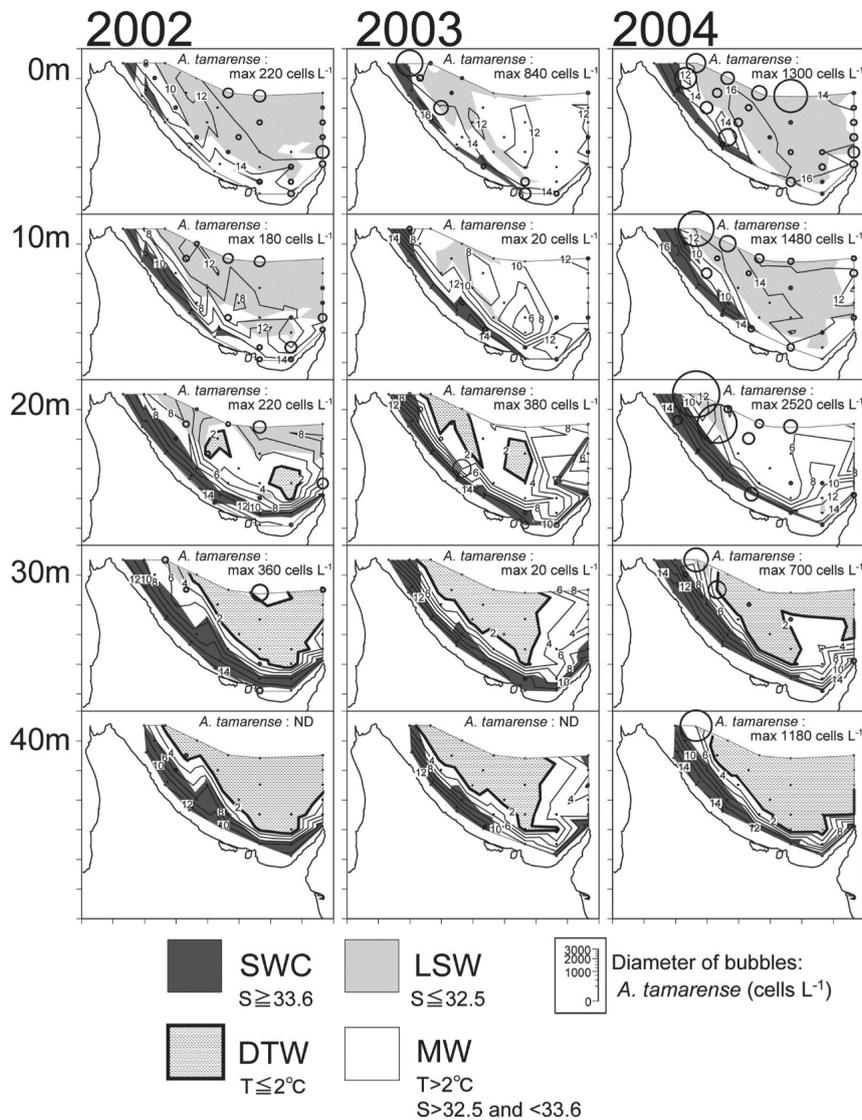


Fig. 25 Spatial distribution of water temperature (contours), water masses (shades) and cell density of *Alexandrium tamarensis* (bubbles) in July 2002–2004 (modified from Shimada et al. 2010). Abbreviations of water masses; SWC: Soya Warm Current (salinity ≥ 33.6). LSW: Surface low salinity water (salinity ≤ 32.5). MW: Mixed water (water temperature $> 2^\circ\text{C}$, salinity > 32.5 and < 33.6). DTW: Dichothermal water (water temperature $\leq 2^\circ\text{C}$).

間浸漬抽出の後、蛍光光度計 (Turner Design, 10-AU) を用い、Holm-Hansen et al. (1965) の方法に従ってクロロフィルa濃度を分析した。さらに、2004-2007年に得られた各海水試料については、30 mLを凍結保存して持ち帰り、オートアナライザー (Bran+Luebbe, Autoanalyzer II) を用いて栄養塩 (NO₃-NおよびPO₄-P) 濃度を分析した。

各定点で得られた*A. tamarensis*計数用の海水試料500 mLは、最終濃度約2%の中性ホルマリンで固定して実験室に持ち帰り、沈殿法によって1 mLまで濃縮した。このうち0.1 mLを計数用試料として有殻渦鞭毛藻の外部形態観察に必要なカルコフロー染色 (Fritz and Triemer 1985) を施し、落射蛍光顕微鏡を用いて紫外線励起下で

*A. tamarensis*栄養細胞を計数した。*A. tamarensis*栄養細胞の形態観察による同定はBalech (1995) に従って行った。

第3節 結果および考察

3-3-1 水塊構造と*A. tamarensis*栄養細胞の空間分布

Fig. 25および26に年別、深度別の水温、塩分および*A. tamarensis*栄養細胞の水平分布を示す。水塊の空間分布をみると、何れの年においても沿岸に宗谷暖流水 (SWC)、沖合に表層低塩分水 (LSW)、30m以深に中冷水 (DTW)、宗谷暖流と表層低塩分水のフロント域の西側に冷水帯 (湧昇域)がそれぞれ分布することが分かる。*A. tamarensis*は表層低塩分水に多く出現し、宗谷暖流水

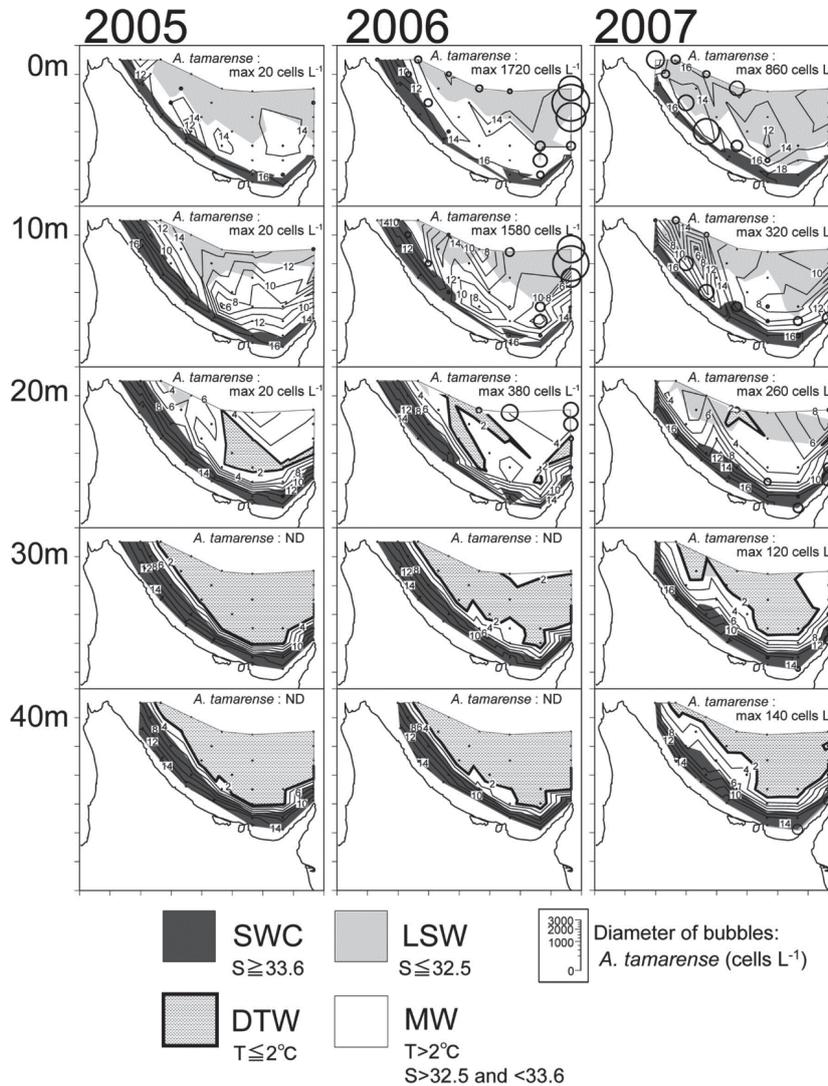


Fig. 26 Spatial distribution of water temperature (contours), water masses (shades) and cell density of *Alexandrium tamarensis* (bubbles) in July 2005-2007 (modified from Shimada et al. 2010). Abbreviations of water masses; SWC: Soya Warm Current (salinity ≥ 33.6). LSW: Surface low - salinity water (salinity ≤ 32.5). MW: Mixed water (water temperature > 2°C, salinity > 32.5 and < 33.6). DTW: Dichothermal water (water temperature ≤ 2°C).

および中冷水における出現はまれであった。

*A. tamarense*出現数の年変動をみると、多くの年で 10^2 cells L⁻¹を超えるブルームが出現するが、2005年のように出現が極めて低水準のケースのあることが明らかとな

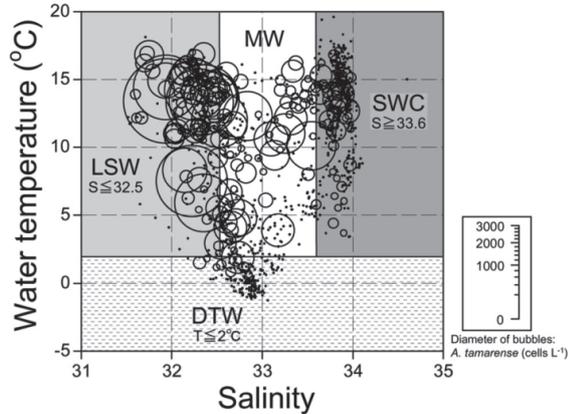


Fig. 27 Cell density of *Alexandrium tamarense* (bubbles) superimposed on the temperature – salinity diagram in the Okhotsk Sea off Hokkaido based on data during 2002–2007 (modified from Shimada et al. 2010). Screentones indicate the range of temperature and salinity of the four water masses.

った。*A. tamarense*ブルームは主に宗谷暖流と表層低塩分水のフロント域付近に出現することも明らかとなった。

水塊別の*A. tamarense*栄養細胞の出現状況をT-Sダイアグラム上のバブル図としてFig. 27に示す。3-1-2で示したとおり、*A. tamarense*は表層低塩分水 (LSW) に多く宗谷暖流水 (SWC) と中冷水 (DTW) ではまれであることが分かる。

水塊別の*A. tamarense*栄養細胞の出現状況をTable 1にまとめて示す。*A. tamarense*栄養細胞は表層低塩分水 (LSW) に最も多く出現する一方、宗谷暖流水 (SWC) と中冷水 (DTW) ではまれであり、混合水 (MW) にも相当量の出現が認められることが明らかとなった。

3-3-2 栄養塩ならびにChl-*a*濃度の空間分布

Fig. 28に年別、深度別の硝酸態窒素 (NO₃-N) 濃度および*A. tamarense*栄養細胞の水平分布を示す。NO₃-N濃度は、表面では宗谷暖流 (SWC) と表層低塩分水 (LSW) のフロント (湧昇)域を除いて2 μM以下と低めであるのに対し、沖合30 m以深の中冷水 (DTW) では10 μM以上と高濃度であることが極めて特徴的であった。フロント域における5 μM前後の値は、栄養塩の湧昇が

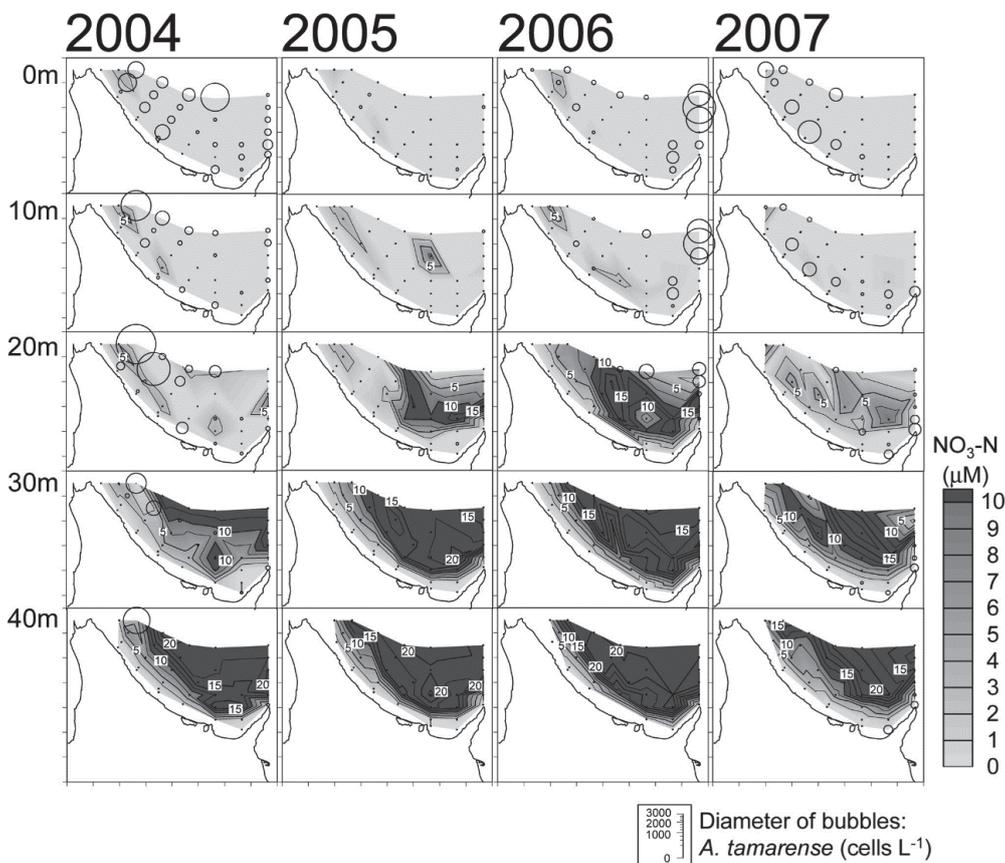


Fig. 28 Spatial and vertical distribution of NO₃ – N concentration (contours) and cell density of *Alexandrium tamarense* (bubbles) in July 2004–2007 (modified from Shimada et al. 2010).

あることを示すものである。*A. tamarensis*はフロント域のやや沖合でブルームを形成する傾向が認められた。

Fig. 29に年別、深度別のリン酸態リン (PO₄-P) 濃

Table 1 Cell density of *Alexandrium tamarensis* in each water mass in the Okhotsk Sea off Hokkaido during 2002 – 2007 (modified from Shimada et al. 2010). Abbreviations of water masses are following:
 SWC: Soya Warm Current (salinity ≥ 33.6)
 LSW: Surface low – salinity water (salinity ≤ 32.5)
 MW: Mixed water (water temperature >2 °C, salinity > 32.5 and <33.6)
 DTW: Dichothermal water (water temperature ≤2°C)

Water mass	Number of samples	Cell density of <i>A. tamarensis</i> (cells L ⁻¹ , mean ± SD)
SWC	312	7.4 ± 27.7
LSW	182	114.0 ± 342.1
MW	262	40.8 ± 127.5
DTW	183	3.7 ± 29.2

度および*A. tamarensis*栄養細胞の水平分布を示す。PO₄-P濃度は、表面では宗谷暖流 (SWC) と表層低塩分水 (LSW) のフロント (湧昇) 域を除いて0.3μM前後と低めであるのに対し、沖合30 m以深の中冷水 (DTW) では1 μM以上と高濃度であることが特徴で、空間分布のパターンはNO₃-N濃度とほぼ同様であった。

水塊別の栄養塩濃度をまとめてTable 2に示す。中冷水 (DTW) はNO₃-N, PO₄-Pともに極めて高濃度であるのが特徴である。宗谷暖流水 (SWC) および表層低塩分水 (LSW) は中冷水と比較してはるかに低栄養塩であ

Table 2 Nutrient concentrations in each water mass observed in the Okhotsk Sea off Hokkaido during 2004 – 2007 (modified from Shimada et al. 2010).

Water mass	Number of samples	Nutrient concentrations	
		NO ₃ -N (μM, mean ± SD)	PO ₄ -P (μM, mean ± SD)
SWC	225	1.52 ± 2.41	0.26 ± 0.22
LSW	120	0.21 ± 0.86	0.35 ± 0.15
MW	156	3.51 ± 4.55	0.59 ± 0.37
DTW	125	15.79 ± 4.53	1.55 ± 0.29

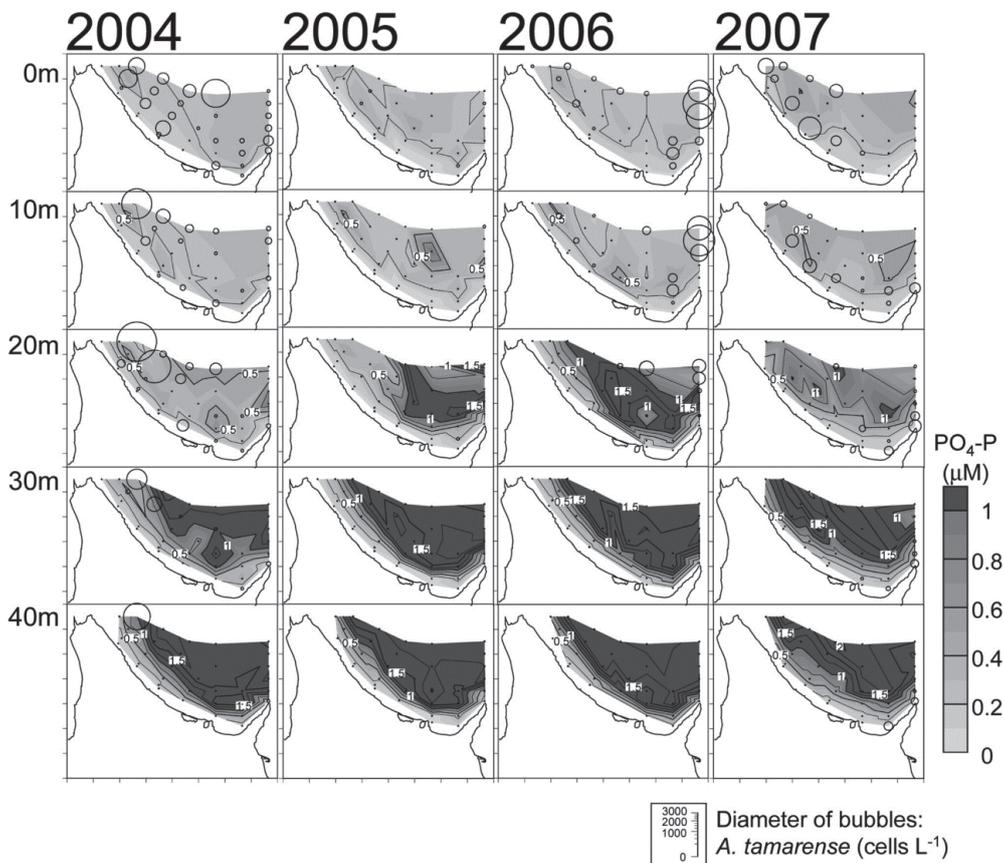


Fig. 29 Spatial and vertical distribution of PO₄-P concentration (contours) and cell density of *Alexandrium tamarensis* (bubbles) in July 2004–2007 (modified from Shimada et al. 2010).

るが、 $\text{NO}_3\text{-N}$ は宗谷暖流水で比較的高濃度であるのに対し、 $\text{PO}_4\text{-P}$ は表層低塩分水で比較的高濃度であることが特徴である。Yamamoto and Tarutani (1999) は *A. tamarense* 栄養細胞の増殖を律速するときの $\text{PO}_4\text{-P}$ 濃度を $0.12 \mu\text{M}$ と報告しているが、本研究においてこの濃度を下回る値は、宗谷暖流水において25%の頻度で観察された(Shimada et al. 2010)。このことは、宗谷暖流水(ひいては対馬暖流水)においては低DIP(溶存無機リン)濃度が *A. tamarense* の増殖を律速するケースが多いことを示唆するものであろう。一方、表層低塩分水におけるDIP濃度は宗谷暖流水と比較して1.35倍高めであり、*A. tamarense* の増殖を律速するケースはほとんど観察されなかった。表層低塩分水におけるDIN(溶存無機窒素)濃度は低いものの、日周鉛直移動によって深みの栄養塩を利用可能と考えられていることと(MacIntyre et al. 1997, Lewis et al. 2006)、*A. tamarense* はアミノ酸等のDON(溶存有機窒素)を利用できることから(Ogata et al. 1996)、表層低塩分水における低DIN濃度は本種の増殖を律速する要因とはならないと推察される。

表面におけるクロロフィルa濃度と *Alexandrium tamarense* 栄養細胞の水平分布をFig. 30に示す。クロロフィルa濃度は宗谷暖流(SWC)と表層低塩分水(LSW)のフロント(湧昇)域で $0.5 \mu\text{g L}^{-1}$ 以上と高く、優占種は何れの年も珪藻(優占種: *Thalassiosira* spp. および *Chaetoceros* spp.) であることから、フロント域では湧昇によって底層から有光層に栄養塩が供給されるために夏

季においても珪藻ブルームが持続していることが明らかとなった。板倉(2000)は、一般に珪藻の休眠期細胞は湧昇によって有光層に達することで季節を問わず増殖可能であると述べており、本フロント域における持続的な珪藻ブルームは湧昇によるイベントであると考えられる。一方、*A. tamarense* ブルームはフロント域の珪藻ブルームを避けるようにやや沖合に出現する傾向があることから(2004および2006年)、本海域において *A. tamarense* は栄養塩の豊富な湧昇域を好むものの、珪藻と競合しているものと推察された(Shimada et al. 2010)。我が国沿岸において *A. tamarense* は珪藻ブルームの終結後に増殖することが知られており(例えば 嶋田 2000a, Itakura et al. 2002)、本研究においても、*A. tamarense* と珪藻は栄養塩をめぐる競合関係にあるために空間分布において棲み分けていることが示唆された。

3-3-3 海洋環境と *A. tamarense* 空間分布の模式化

本海域における生物海洋学的調査によって明らかとなった物理/化学/生物海洋環境ならびに *A. tamarense* 栄養細胞の空間分布模式図をFig. 31に示す。*A. tamarense* の主分布域は表層低塩分水(LSW)であり、高温かつ低DIPを特徴とする宗谷暖流水(SWC)および低温の中冷水(DTW)には *A. tamarense* はまれであることが明らかとなった。表層低塩分水は低DINであるが、わずかな日周鉛直移動によって中冷水との混合水(MW)に達してDINを補給可能であることから、*A. tamarense* の増殖に好

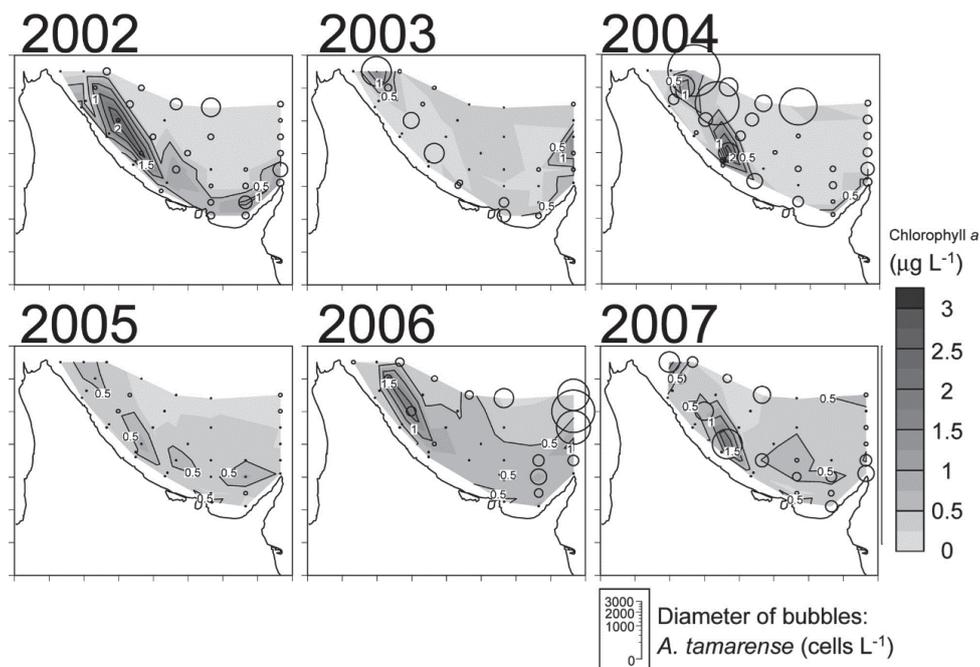


Fig. 30 Horizontal distribution of sea surface chlorophyll *a* concentration (contours) and maximum cell density of *Alexandrium tamarense* (bubbles) at each station in July 2002–2007 (modified from Shimada et al. 2010).

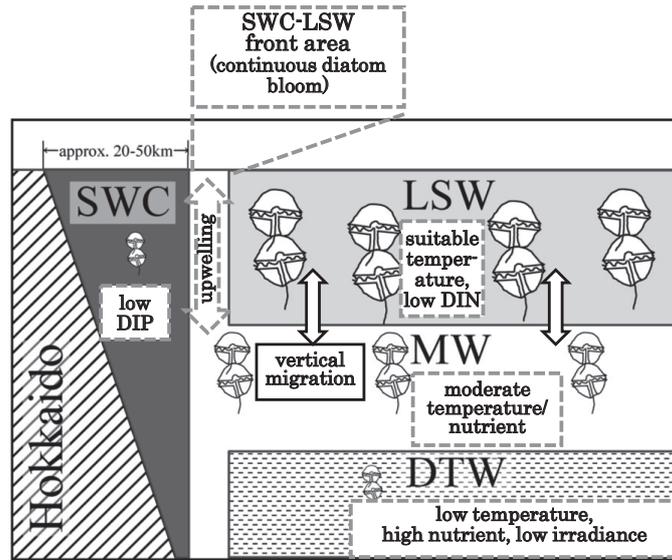


Fig. 31 Schematic diagram of spatial distribution of water masses, front area with upwelling and abundance of *Alexandrium tamarense* in vertical section in the Okhotsk Sea off Hokkaido. Icon size of *A. tamarense* indicates relative abundance (modified from Shimada et al. 2010).

適な環境であると推察された。一方、宗谷暖流／表層低塩分水のフロント（湧昇）域には、すでに衛星および沿岸観測から示唆されていた持続的珪藻ブルームの存在（例えば Mustapha et al. 2009, 工藤ほか 2011）が多年にわたり確認され、*A. tamarense*ブルームは、珪藻ブルームのやや沖合の表層低塩分水に出現することが明らかとなった。以上、多年にわたる詳細な調査によって、*A. tamarense*を含んだ表層低塩分水の沿岸への流入が麻痺性貝毒発生の直接原因と推察される結果を得た。

第4章 北海道およびサハリン南部アニワ湾産 *A. tamarense* 栄養細胞の毒性

第1節 はじめに

麻痺性貝毒は二枚貝等が原因生物を摂食して体内に毒成分を蓄積する現象であるため、その発生予測のためには、*A. tamarense*シスト、栄養細胞の分布に関する情報だけでなく、現場に出現する本種栄養細胞の毒性に関する情報が不可欠である。第4章では、北海道およびサハリン南部のアニワ湾産 *A. tamarense* 栄養細胞の毒性について述べる。また、本種のコホテガイへの給餌試験結果（木村ほか 2009）に基づいて、現場における *A. tamarense* の出現状況とコホテガイの毒化に関して試算する。

第2節 材料および方法

培養株を得るための試料として、2005–2009年に噴火湾、苫小牧、浦河、厚岸、オホーツク海およびアニワ湾

の6海域（Fig. 32）で採集した底泥試料のほか、噴火湾については2006年5月に採集した海水試料を用いた。シストを発芽させるために底泥試料2–3 gをプランクトンネットを用いて10–100 μm の画分を篩い分け、珪藻増殖阻害剤 GeO_2 を添加（最終濃度2 mg L^{-1} ）した濾過海水に懸濁させて6穴マルチウェルプレートに10 mLずつ収容し、温度10 $^{\circ}\text{C}$ 、明暗周期14L:10Dで2週間培養した。発芽（または海水試料から単離）した *A. tamarense* はSWIIm培地（Sako et al. 1990）で洗浄、1 mLの培地を分注した48穴マルチウェルプレートに1細胞ずつ収容し、前述と同様の温度、光条件で2週間培養して、クローン

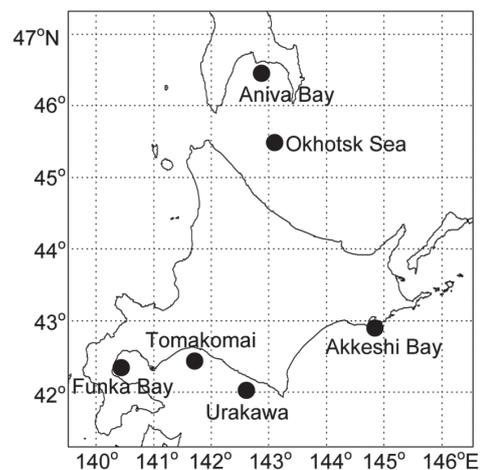


Fig. 32 Map showing the six sampling areas in Hokkaido and southern Sakhalin (modified from Shimada et al. 2011).

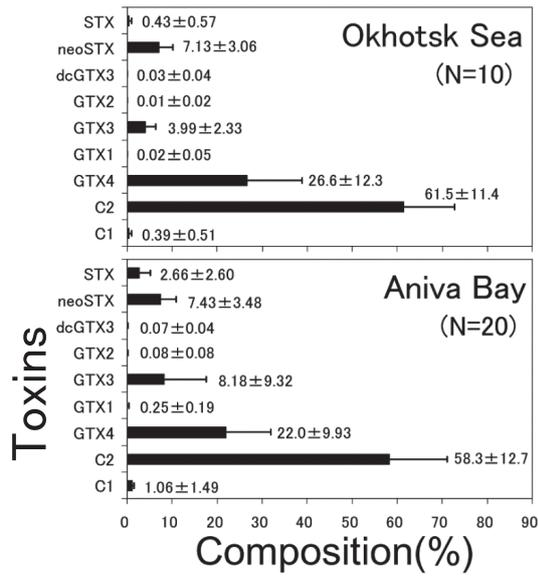


Fig. 33 Average composition of PST (mean±standard deviation) in the culture strains of *Alexandrium tamarense* obtained from the Okhotsk Sea and Aniva Bay (modified from Shimada et al. 2011). Error bars indicate standard deviation, “N” mean number of culture strains. Abbreviations and specific toxicity (MU μM^{-1}) of toxin components are as follows; STX: saxitoxin (2483), neoSTX: neosaxitoxin (2295), dcGTX3: decarbamoyl gonyautoxin - 3 (1872), GTX2: gonyautoxin - 2 (892), GTX3: gonyautoxin - 3 (1584), GTX1: gonyautoxin - 1 (2468), GTX4: gonyautoxin - 4 (1803), C2: C - toxin - 2 (239), C1: C - toxin - 1 (15)

培養株を確立した。確立した各培養株は10 mLの培地を分注した試験管に移し、同様の条件でさらに2週間培養して、増殖が定常状態に達した培養株 ($10^2 - 10^4$ cells mL^{-1}) を毒成分分析用の試料とした。試料10 mLを450 Gで10分間遠心分離して上澄を除去し、最終濃度0.5 Mの酢酸で固定後、凍結保存した。同時に試料0.1mLについて倒立顕微鏡を用いて*A. tamarense*細胞数を計数した。高速液体クロマトグラフ (日立製作所, L-6000一式) による毒成分分析は、分析直前に遠心式フィルター (Millipore, Ultrafree C3GC) を用いて高分子画分を除いた試料について、Oshima (1995) の方法に従って行った。

第3節 結果および考察

4-3-1 オホーツク海およびアニワ湾産*A. tamarense*の毒成分組成

オホーツク海およびアニワ湾産*A. tamarense*培養株の毒成分組成をFig. 33に示す。主成分はともにC - toxin - 2 (以下C2と略記する), gonyautoxin - 4 (以下GTX4と略記する), gonyautoxin - 3 (以下GTX3と略記する), neosaxitoxin (以下neoSTXと略記する)であった。

4-3-2 その他の海域 (噴火湾~厚岸沖太平洋) 産*A. tamarense*の毒成分組成

噴火湾, 苫小牧, 浦河, 厚岸産*A. tamarense*培養株の毒成分組成をFig. 34に示す。主成分はオホーツク海お

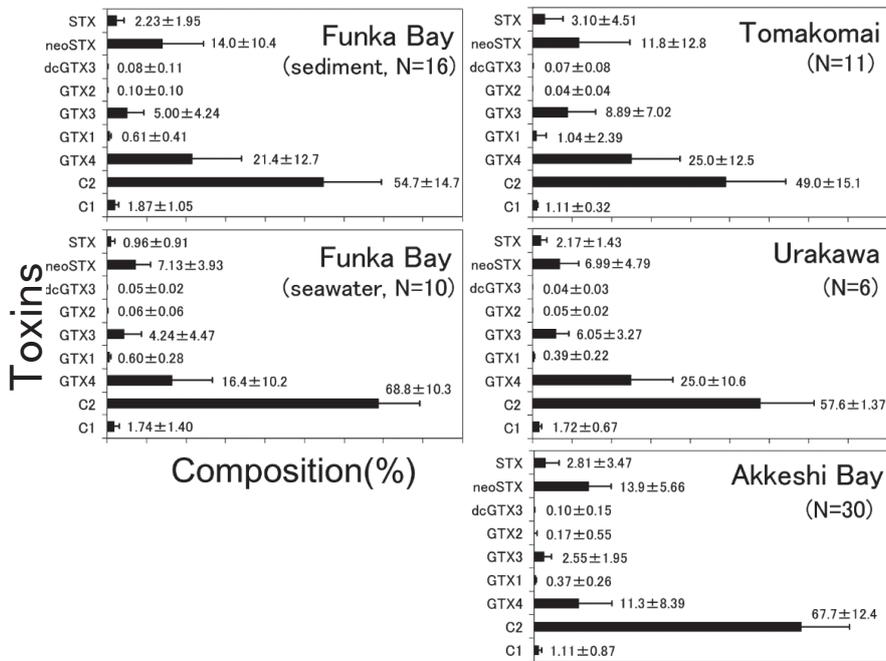


Fig. 34 Average composition of PST (mean±standard deviation) in the culture strains of *Alexandrium tamarense* obtained from the four sampling areas (modified from Shimada et al. 2011). Error bars indicate standard deviation, “N” mean number of culture strains. Results of the culture strains obtained from bottom sediment and seawater in Funka Bay are described separately. Abbreviations and specific toxicity of toxin components are shown in Fig. 33.

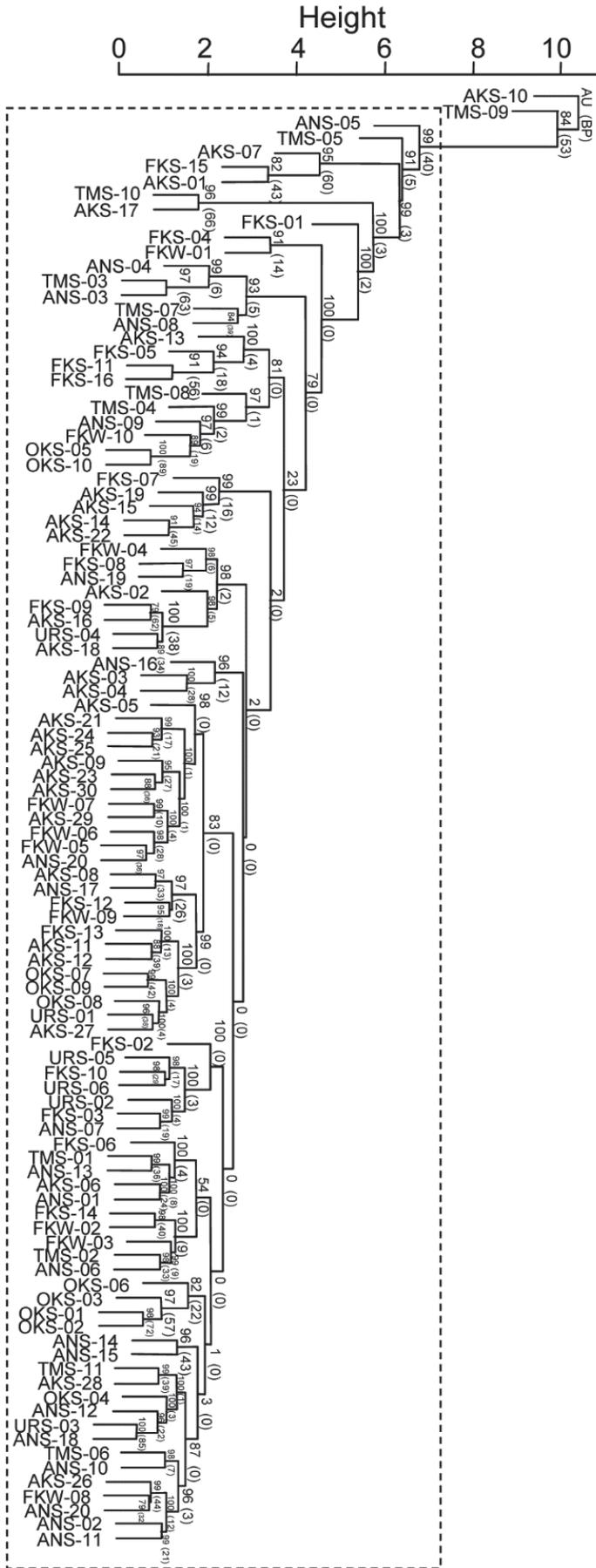


Fig.35 Result of cluster analysis of the PST compositions of the 103 culture strains (modified from Shimada et al. 2011). Clusters with approximately unbiased p - values larger than 95% are highlighted by a broken - line rectangle, which are strongly supported by the data. “AU” and “(BP)” on the edges of the clustering mean approximately unbiased p - values and bootstrap probabilities (number of resamplings=1,000). “Height” on the scale on the top indicates branch length of the dendrogram.

よびアニワ湾産同様にC2, GTX4, GTX3, neoSTXであった。

4-3-3 クラスタ分析による *A. tamarense* 培養株の毒成分組成の分類

全103培養株の毒成分組成のマルチスケールブツストラップ法 (Shimodaira 2002) によるクラスタ分析結果をFig. 35に示す。厚岸および苫小牧産の2株を除く101株は同一クラスタを形成し、これらは毒成分組成において同一グループに分類されることが明らかとなった。

同一クラスタに分類された101株の平均毒成分組成と、例外的と判別された2株の毒成分組成をFig. 36に示す。101株の平均毒成分組成は既報のサハリン南部 (Orlova et al. 2007), 岩手県 (加賀ほか 2006), 広島湾 (Asakawa et al. 2005) 各地産株と4種の毒成分 (C2, GTX4, neoSTXおよびGTX3) を主成分とする点で類似し

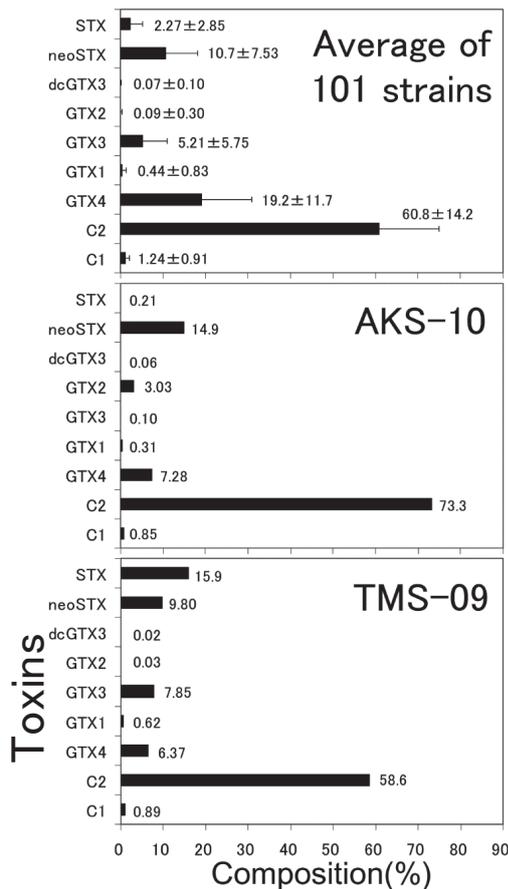


Fig. 36 Compositions of PST of the 101 culture strains in the clusters highlighted by the rectangle in Fig. 35 on average (mean±standard deviation) and 2 culture strains (AKS-10 and TMS-09) outside the clusters (modified from Shimada et al. 2011). Abbreviations and specific toxicity of toxin components are shown in Fig. 33.

ていた。このことは、日本産 *A. tamarense* は遺伝的に異なる複数の個体群から構成されるものの (Nagai et al. 2007), 毒成分組成は概ね類似することを示唆する。例外的と判別された厚岸産株はGTX3が少なくGTX2が多い点で、苫小牧産株はSTXが多い点で、それぞれ平均的毒組成と異なったが、いずれもC2を主成分とする点では類似していた。

4-3-4 細胞密度および細胞毒量の関係

毒成分分析に供した試料の *A. tamarense* 細胞密度と細胞毒量の関係をFig. 37に示す。細胞毒量は1-1128 fmol cell⁻¹ (平均細胞毒量187 fmol cell⁻¹) の範囲で変動し、*A. tamarense* 細胞密度と細胞毒量の間には反比例の関係 ($y = 9942.2x^{-0.448}$) があることが明らかとなった (スピアマン順位相関係数 $r_s = 0.539, p < 0.01$)。分析に供した各試料の細胞密度は単離から4週間後の値であり、各培養株のおおよその増殖速度を反映していると考えられる。Ogata et al. (1987) は *Protogonyaulax tamarensis* (= *A. tamarense*) の細胞毒量は増殖速度が高いほど低下することを報告しており、本研究における *A. tamarense* 培養株の細胞毒量が、細胞密度が高いほど低いことは、この報告と一致していると考えられる。Fig. 37に示された回帰式 $y = 9942.2 x^{-0.448}$ に、天然でしばしば観察されるような細胞密度、たとえば 10^3 cells L⁻¹ をあてはめると、約 10^4 fmol cell⁻¹ という極めて高い細胞毒量の「超高毒株」の存在が予想される。しかしながら、この外挿的仮説の検証のためには、天然の *A. tamarense* 栄養細胞について細胞毒量データの蓄積が必要である。

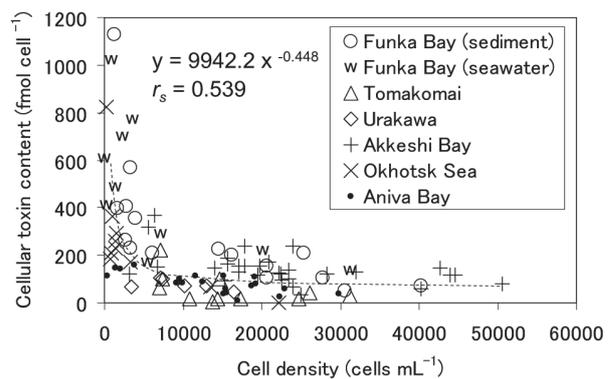


Fig. 37 Relationship between the cell density (cells mL⁻¹) and the cellular toxin content (fmol cell⁻¹) of the culture strains of *Alexandrium tamarense* (modified from Shimada et al. 2011). Scatter diagram is plotted using different symbols to distinguish among the sources of the samples. Regression equation of curve fitting with Spearman's rank correlation coefficient (r_s) is described on the left side of the diagram.

4-3-5 A. tamarensisの毒性に基づいたホタテガイ毒化の試算

4-3-5-a 平均的細胞毒量のA. tamarensisの出現を想定したホタテガイ毒化の試算

Shimada et al. (2011) が示した平均的細胞毒量 10^2 fmol cells⁻¹のA. tamarensisが 10^3 cells L⁻¹の密度で継続的に分布し、水温10℃における体重100 gのホタテガイ1個体の濾水量を 10^2 L day⁻¹ (蔵田ほか1991) とすると、1日にホタテガイ1個体が摂取する毒量は次のようになる。

$$10^2 \times 10^3 \times 10^2 = 10^7 \text{ fmol day}^{-1}$$

毒の中腸腺への蓄積率を35% (木村ほか2009) と仮定すると、1日に中腸腺に蓄積される毒量は次のとおり見積もられる。

$$10^7 \times 0.35 \text{ fmol day}^{-1}$$

Shimada et al. (2011) が示した101株の平均毒組成を仮定して、成分別の比毒性 (Ohshima 1995) に基づいてモル毒量をマウス毒力に換算 ($\times 0.8 \times 10^6$) とすると、一日に中腸腺に蓄積される毒量のマウス毒力は次のとおりである。

$$10 \times 0.35 \times 0.8 \text{ MU day}^{-1}$$

体重100 gのホタテガイ1個体の中腸腺を7 g (嶋田ほか2000) とすると、1日に中腸腺1 gに蓄積されるマウス毒力 (毒化速度) は次のとおり求められる。

$$\begin{aligned} 10 \times 0.35 \times 0.8 / 7 \\ = 0.4 \text{ MU g}^{-1} \text{ digestive diverticula day}^{-1} \dots \textcircled{1} \end{aligned}$$

①の試算結果は、平均的毒性のA. tamarensisが継続的に 10^3 cells L⁻¹出現している場合、ホタテガイ1個体が北海道における生鮮ホタテガイの出荷自粛基準値 (20 MU g⁻¹ 中腸腺) を超える毒を蓄積するために $20 / 0.4 = 50$ 日を要することを意味する。しかしながら現場において 10^2 cells L⁻¹レベルのA. tamarensis出現によって毒化する事例が多いことは (嶋田ほか 2007)、現場に出現するA. tamarensisの細胞毒量がより高いことを示唆する。従って、過去の毒化事例および将来の毒化予測のためには、以下に述べるような高毒株の出現を想定した試算が必要と考えられる。

4-3-5-b A. tamarensis高毒株の出現を想定したホタテガイ毒化の試算

Shimada et al. (2011) が存在を確認した細胞毒量 10^3 fmol cell⁻¹のA. tamarensis高毒株の 10^3 cells L⁻¹のブルーム出現を仮定すると、4-3-5-aと同様の手順によって、1日に中腸腺1 gに蓄積されるマウス毒力 (毒化速度) は次のとおり求められる。

$$\begin{aligned} 10^2 \times 0.35 \times 0.8 / 7 \\ = 4 \text{ MU g}^{-1} \text{ digestive diverticula day}^{-1} \dots \textcircled{2} \end{aligned}$$

②の試算結果は、ホタテガイは高毒株のブルーム出現からわずか5日でも出荷自粛基準値 (20 MU g⁻¹ 中腸腺) を超えて毒化する可能性を示唆する。一方で、既知の高毒株のブルーム出現を仮定してもなお、西浜 (1982) が示した1979年噴火湾の養殖ホタテガイ漁場における35 MU g⁻¹ 中腸腺 day⁻¹の毒化速度には及ばないことも意味している。

4-3-5-c A. tamarensis超高毒株の存在を仮定したホタテガイ毒化の試算

西浜 (1982) が報告した高毒化事例を説明するために、Shimada et al. (2011) が言及した超高毒株の存在を仮定して試算を行ってみる。細胞毒量 10^4 fmol cell⁻¹のA. tamarensisが 10^3 cells L⁻¹のブルーム出現を仮定すると、4-3-5-aと同様の手順によって、1日に中腸腺1 gに蓄積されるマウス毒力 (毒化速度) は次のとおり求められる。

$$\begin{aligned} 10^3 \times 0.35 \times 0.8 / 7 \\ = 40 \text{ MU g}^{-1} \text{ digestive diverticula day}^{-1} \dots \textcircled{3} \end{aligned}$$

③の試算結果は、西浜 (1982) が報告した毒化速度35 MU g⁻¹ 中腸腺 day⁻¹とほぼ同様の値であり、このとき現場において超高毒株が継続的に出現していた可能性がある。この事例ではホタテガイの生息水温は約8℃であり、低温下で緩やかに増殖したA. tamarensisブルームが高毒化に関与したと推測される。現場で単離されたA. tamarensis栄養細胞から 10^4 fmol cell⁻¹の細胞毒量が検出された記録はないが、今後もこのような高毒化事例が起こることを想定しつつ、注意深く監視を継続することが重要と考えられる。

4-3-6 A. tamarensisの細胞毒量、細胞密度およびホタテガイの毒化速度の関係

4-3-5-a, b, cに示したとおり、既往知見に基づいて

Table 3 Estimated accumulation velocity of PST (MU g⁻¹ digestive diverticula day⁻¹) in a scallop under each cell density and cellular toxin content of *Alexandrium tamarense*. Applied parameters used for calculation of the accumulation rate of PST are following:

Filtration rate by a scallop (at 10 °C, body weight: 100 g): 10² L day⁻¹ (Kurata et al. 1991)

PSP accumulation / *A. tamarense* ingestion ratio by scallop: 35 % (Kimura et al. 2009)

Weight of digestive diverticula of a scallop (body weight: 100 g): 7 g (Shimada et al. 2000)

Conversion factor of toxicity from “fmol” to “mouse unit” based on the average toxin composition and relative toxicity of each toxin component reported by Shimada et al. (2011) and Oshima (1995): x 0.8 x 10⁻⁶

Cellular toxin content of <i>A. tamarense</i> (fmol cell ⁻¹)	Cell density of <i>A. tamarense</i> (cells L ⁻¹)		
	10 ²	10 ³	10 ⁴
* 10 ²	0.04	0.4	4
** 10 ³	0.4	4	40
*** 10 ⁴	4	40	400

(MU g⁻¹ digestive diverticula day⁻¹)

* average cellular toxin content of *A. tamarense* (cf. Fig. 37)

** high cellular toxin content of *A. tamarense* (cf. Fig. 37)

*** calculated cellular toxin content of *A. tamarense* at the cell density of 10³ cells L⁻¹ using the regression equation (cf. Fig. 37)

水温10℃における体重100 gのホタテガイ1個体（中腸腺重量7 g）の濾水量を100 L day⁻¹と仮定すれば、細胞毒量別、細胞密度別に、ホタテガイの毒化速度（MU g⁻¹中腸腺 day⁻¹）を概算することができる（Table 3）。この概算結果は「細胞毒量10³ fmol cell⁻¹の高毒株が10² cells L⁻¹で出現すれば、ホタテガイの毒性値は50日で出荷自粛基準値20 MU g⁻¹中腸腺を超える（20÷0.4 = 50日）」という高毒株の低密度出現時の毒化を想定した、危機管理のためのガイドラインを示すものである。同時に、この結果は、2-2-4で示された「毒化を警戒すべき*A. tamarense*細胞密度は10² cells L⁻¹」という経験的事実に科学的根拠を与えるものである。一方、ホタテガイの濾水量は水温15℃では10℃の3-4倍に急増することが知られていることから（蔵田ほか1991）、ホタテガイの毒化速度は、*A. tamarense*の細胞毒量と細胞密度だけでなく、水温によって変化すると考えられる。生物の代謝と温度の関係は、温度が10℃上昇したときの生化学反応量の増加を指標するQ₁₀ valueを用いて説明され、多くの生物と同様に、二枚貝類においてもQ₁₀ valueは一般に2前後の値をとることが知られている（Jørgensen 1990）。しかしながら、ホタテガイを含むイタヤガイ科二枚貝類においては、Q₁₀ valueは2-3の値にとどまるのに対して濾水量は5-6倍に急増する種が含まれることから（Lu and Blake 1997）、温度変化に対する濾過捕食能力の応答が極めて

敏感な生物であるといえる。従って、実際にホタテガイの毒化速度を見積もる際、Table 3の概算結果は、ホタテガイの生息水温による濾水量の変動に従って、少なくとも3-4倍の範囲で変動することに留意すべきであろう。

第5章 夏季北海道オホーツク海沿岸の地まきホタテガイ漁場における麻痺性貝毒の発生予測

第1節 はじめに

1-3-2で述べたとおり、本海域の麻痺性貝毒は、沖合表層で増殖した*A. tamarense*が、通常は対馬暖流を起源とする宗谷暖流で覆われる沿岸のホタテガイ漁場に輸送されるためと推測されていたが（Nishihama et al. 1993, 西浜1994b）、そのメカニズムは不明のままであった。第5章では、本海域における*A. tamarense*の空間分布と宗谷暖流の流況の関係に着目した麻痺性貝毒の発生予測手法の構築について詳説する。

地まきホタテガイ漁場における麻痺性貝毒の発生機構に関する仮説の概略図をFig. 38に示す。(a)は宗谷暖流が稚内から網走の方向に沿岸を順調に流れている場合、(b)は宗谷暖流が弱勢となった場合をそれぞれ示す。宗谷暖流は日本海とオホーツク海の水位差で駆動され、その流速と流量は稚内と網走の水位差（以下SLDと略記する）と相関があることが知られている（青田 1975,

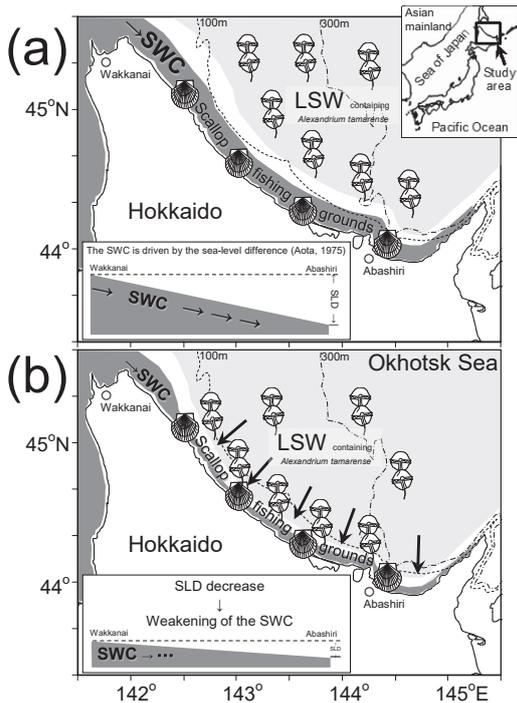


Fig. 38 Schematic path of the Soya Warm Current (salinity ≥ 33.6) and location of the scallop fishing grounds and the low salinity water (salinity ≤ 32.5) containing *Alexandrium tamarense* in summer by the hypothetical scenario, “PST occurrence is caused by the inflow of LSW to the scallop fishing ground at the temporal weakening of SWC indexed by the decrease of the sea – level difference (SLD) between Wakkanai and Abashiri” (modified from Shimada et al. 2012).

(a) usual condition, (b) PST occurrence

Fukamachi et al. 2008). SLDが減少して宗谷暖流が弱勢となると、沖合の表層低塩分水が沿岸に流入すると推測される。夏季の表層低塩分水には*Alexandrium tamarense*が含まれているため (Shimada et al. 2010), 表層低塩分水が沿岸へ流入すると、地まきホタテガイ漁場へ*A. tamarense*が供給され、ホタテガイが毒化すると推測される。この仮説に基づき、沖合および沿岸における*A. tamarense*の分布調査および流況調査、ならびに麻痺性毒性値とSLDのレトロスペクティブ解析を行うことによって、麻痺性貝毒の発生予測手法の開発を試みた。

第2節 材料および方法

調査定点をFig. 39に示す。*A. tamarense*空間分布調査は37定点 (●), 地まきホタテガイ漁場における*A. tamarense*分布動態調査は3定点 (Stn. T, N, A: ■), 宗谷暖流流況調査は2定点 (Stn. S, H: ▲) をそれぞれ設定した。

*A. tamarense*の広域的な空間分布調査は2004年7月、

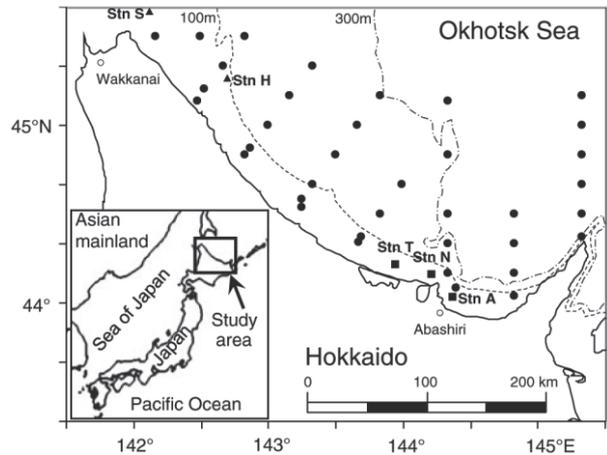


Fig. 39 Map showing the 37 oceanic sampling stations (●), 3 coastal sampling stations (■; Stn. T, N and A) and 2 stations (▲; Stn. S and H) for observation of the Soya Warm Current using the bottom – mounted ADCP (modified from Shimada et al. 2012).

2007年6月および7月、2008年6月に行った。6月は37定点のうち28定点でCTD (Seabird Electronics, SBE-911plus) を用いた水温、塩分の観測およびバケツを用いた表面採水を行い、7月は37定点で水温、塩分の観測およびナンゼン採水器を用いた深度40 mまで10 m毎5層 (0, 10, 20, 30, 40 m) の採水を行った。各定点で得られた海水試料500 mLは最終濃度約2%の中性フォルマリンで固定して実験室に持ち帰り、沈殿法によって1 mLまで濃縮した。このうち0.1 mLを*A. tamarense*計数用試料として有殻渦鞭毛藻の外部形態観察に必要なカルコフロー染色 (Fritz and Triemer 1985) を施し、落射蛍光顕微鏡を用いて紫外線励起下で*A. tamarense*栄養細胞を計数した。*A. tamarense*栄養細胞の形態観察による同定はBalech (1995) に従って行った。

地まきホタテガイ漁場における*A. tamarense*分布動態調査は2004, 2007および2008各年の6-7月に各定点毎月2-3回の頻度で行った。各調査ではメモリーSTD (アレック, AST-1000) を用いた水温、塩分の観測およびバンドン採水器を用いた深度40mまたは50mまで最大7層、各500 mLの深度別採水を行った。調査期間中はStn.Nに深度0-50 mに最大3個のデータロガー (Onset, TBI32-05+37) を設置して、水温の連続観測を行った。*A. tamarense*計数用試料の固定、濃縮、検鏡の手順は前述同様に行った。*A. tamarense*の分布動態と麻痺性毒性値の関係を解析するために、北海道庁および漁業協同組合によって実施された、網走 (雄武~斜里) 沿岸における生鮮ホタテガイの毒性値検査結果を用いた。解析に際しては、毒性値上昇前の1番目と2番目のSLD低下を「顕著な宗谷暖流弱勢」と定義したうえで、SLD低下と毒性

値上昇の時系列における関係を調べた。

宗谷暖流流況調査は*A. tamarense*分布動態調査と同時期に、2004年はStn.H、2007および2008年はStn.Sにおいて、耐トロール海底設置型超音波ドップラー流向流速計 (TRBM-ADCP, ADCP本体: RD Instruments, WH-Sentinel 200 kHz, 海底設置マウント: Flotation Technologies, AL-200) を用いて流向流速プロファイルの観測を行った。宗谷暖流流況解析のためのSLDデータは、気象庁が公開している標高 (TP) 基準の値 (<http://www.data.jma.go.jp/kaiyou/db/tide/genbo/index.php>, 2016年12月1日) を用いて算出した。宗谷暖流流況解析に際しては、流向流速およびSLDの1時間毎の時系列データから24時間タイドキラーフィルター (Hanawa and Mitsudera 1985) を用いて潮汐成分を除去したデータを用いた。SLDと宗谷暖流流況の相関解析に際しては、SLDに対応する流向流速データを1時間ずつ遅らせて R^2 値が最大となる時間差においてラグ相関を求めた。

麻痺性毒性値とSLDのレトロスペクティブ解析は、上述の北海道庁および漁業協同組合による毒性値検査および気象庁公開のデータを用いて行った。

第3節 結果および考察

5-3-1 沿岸～沖合域における物理環境および*A. tamarense*栄養細胞の分布

*A. tamarense*空間分布調査で明らかとなった本種栄養細胞の水平分布をFig. 40に示す。本種は宗谷暖流外側の表層低塩分水 (LSW) に主に出現し、沿岸の宗谷暖流水 (SWC) にはほとんど出現しないことが確認された。また2007年の結果から、7月に*A. tamarense*ブルーム ($> 10^2$ cells L^{-1}) が出現した年には、すでに6月からブルームが始まっていたことも分かった。一方*A. tamarense*出現の年変動をみると、2008年のようにほとんど出現しない年もあることが明らかとなった。

5-3-2 沿岸定点における物理環境および*A. tamarense*栄養細胞の分布動態ならびに地まきホタテガイの麻痺性毒性値の変動

2004年の沿岸定点におけるデータロガーによる水温の時系列変化、現場調査時における水温、塩分および*A. tamarense*の鉛直分布の変動、ならびにホタテガイの麻痺性毒性値の変動をFig. 41に示す。*A. tamarense*は7月中旬の水温と塩分の低下直後に多く出現した。毒性値は*A. tamarense*出現とほぼ同時に上昇しはじめ、生鮮出荷自粛レベル (3 MU g^{-1} 可食部以上 4 MU g^{-1} 可食部未満) に達した。これらの現象は、宗谷暖流の一時的弱勢時に*A. tamarense*を含んだ沖合の表層低塩分水が沿岸に流入

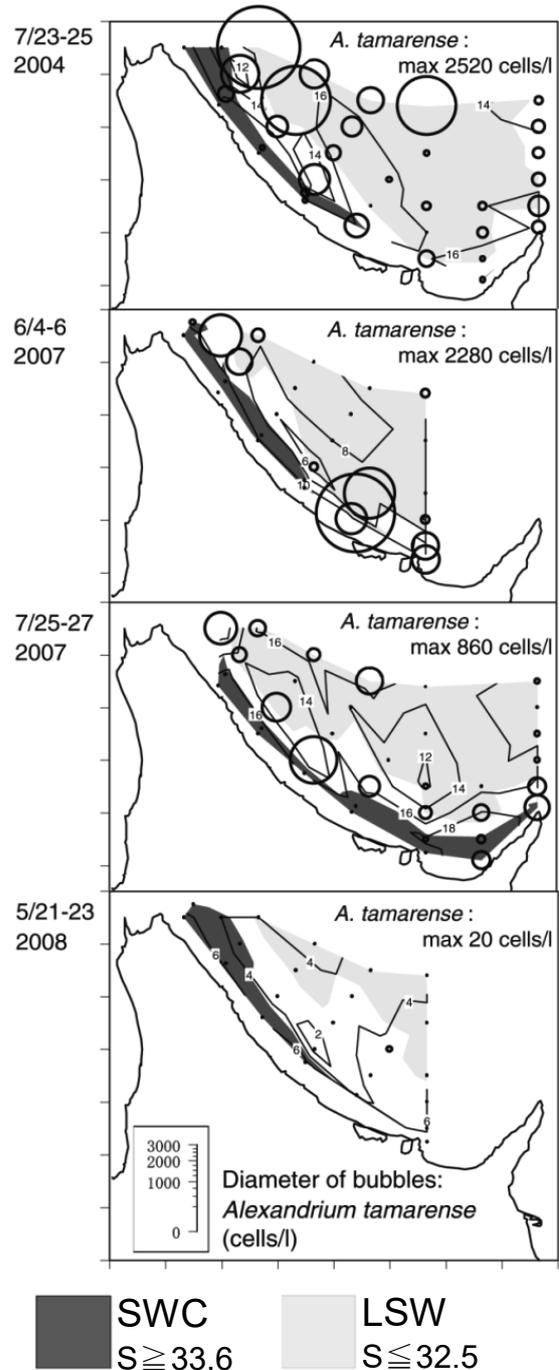


Fig. 40 Horizontal distribution of water temperature (contours), water masses (shades) on sea surface and cell densities of *Alexandrium tamarense* (bubbles) in the oceanic area during each sampling period (modified from Shimada et al. 2012). Cell densities are the maximum value at each station.

するとの仮説 (Fig. 38) を支持する結果と考えられた。

同様に、2007年の結果をFig. 42に示す。*A. tamarense*は7月上旬の水温および塩分低下の直後に多く出現し、ほぼ同時に麻痺性毒性値は上昇しはじめ、生鮮出荷自主規制値 (4 MU g^{-1} 可食部) に達した。これらの現象は、

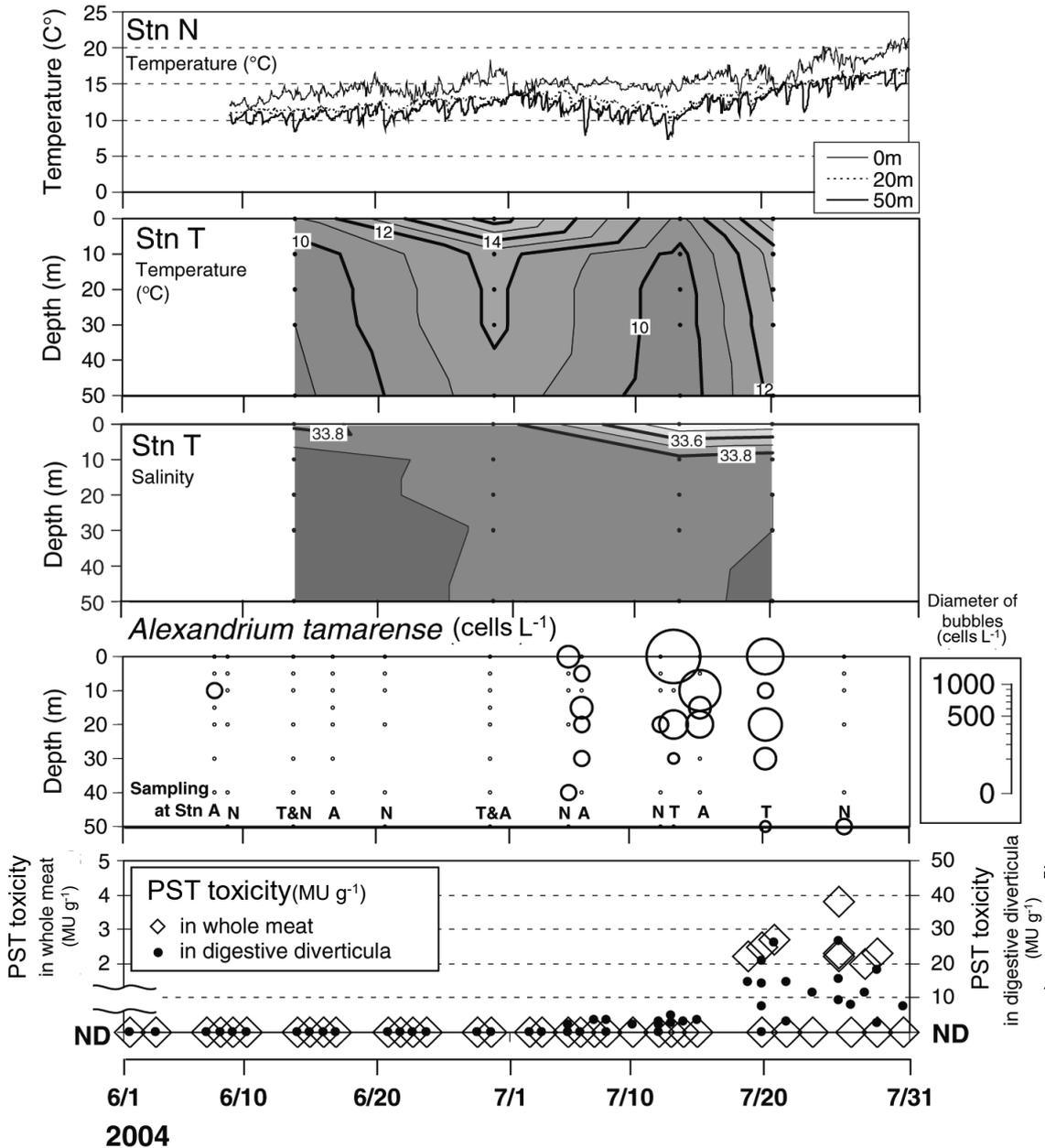


Fig. 41 Temporal changes in water – temperature at Stn N (line), vertical distribution of water temperature and salinity (contours) at Stn T, cell densities of *Alexandrium tamarensis* (bubbles) at each station and PST toxicity of scallop along the coast off Abashiri (two axes scatterplot) during June – July 2004 (modified from Shimada et al. 2012). Toxicity value of “ND” means “not detected (toxicity < 2 MU g⁻¹)”

2004年のケースと同様に、宗谷暖流の一時的弱勢時に *A. tamarensis* を含んだ沖合の表層低塩分水が沿岸に流入するとの仮説 (Fig. 38) を支持する結果と考えられた。

同様に、2008年の結果をFig. 43に示す。*A. tamarensis* は調査期間を通じてほとんど出現せず、7月中旬の水溫低下の後も出現しなかった。毒性値も上昇しなかった。本年は沖合の *A. tamarensis* の出現が極めて少なかったため (Fig. 40)、宗谷暖流が弱勢となって沖合の表層低塩分水が沿岸に流入しても、*A. tamarensis* は沿岸に出現し

なかったものと考えられる。

5-3-3 沿岸定点における宗谷暖流の流況

2004年の流況調査で得られた深度別の流向流速の時系列変化および海岸線 (140°) 方向の平均流速とSLDの時系列変化における関係をFig. 44に示す。海岸線方向の平均流速すなわち宗谷暖流の流速とSLDの間には高い相関が認められた。6-7月の麻痺性毒性値上昇前の1番目と2番目の水位差低下 (黒矢印↓) を「顕著な宗谷暖流

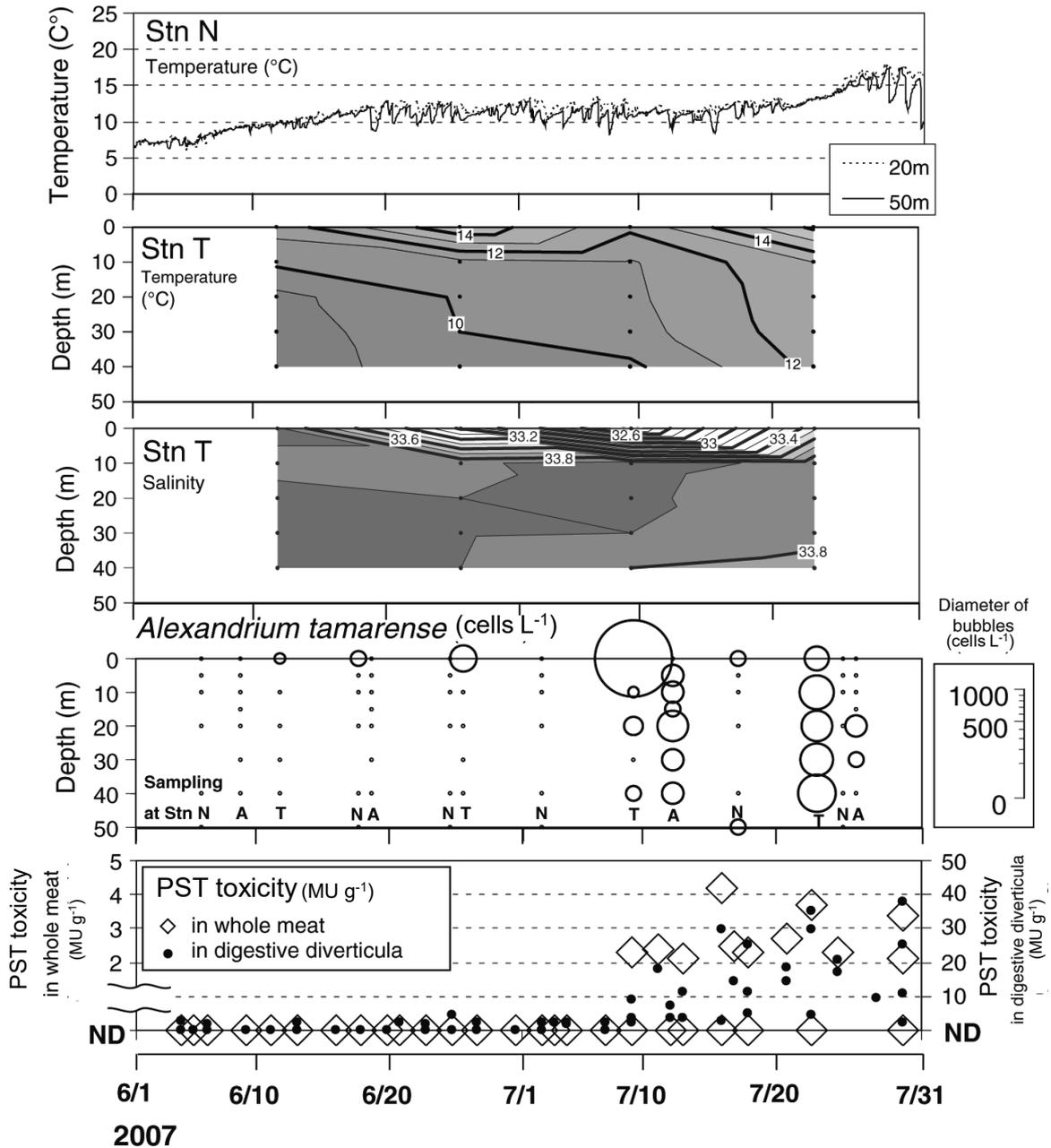


Fig. 42 Temporal changes in water – temperature at Stn N (line), vertical distribution of water temperature and salinity (contours) at Stn T, cell densities of *Alexandrium tamarensis* (bubbles) at each station and PST toxicity of scallop along the coast off Abashiri (two axes scatterplot) during June – July 2007 (modified from Shimada et al. 2012). Toxicity value of “ND” means “not detected (toxicity < 2 MU g⁻¹)”

弱勢」と定義したうえで、沿岸定点における*A. tamarensis* 分布動態調査の結果 (Fig. 41) と併せてみると、7月中旬の*A. tamarensis*出現と良く一致することが明らかとなった。これらの流況データは、分布動態調査の結果と併せて、Fig. 38に示した仮説を強く支持する結果である。

同様に、2007年の流況調査で得られた結果をFig. 45に示す。2004年の結果と同様に、宗谷暖流の流速とSLDの間には高い相関が認められた。沿岸定点における*A. tamarensis*分布動態調査の結果 (Fig. 42) と併せてみ

ると、7月上旬の「顕著な宗谷暖流弱勢」は*A. tamarensis*出現と良く一致していたことが明らかとなった。これらの流況データは、2004年の結果と併せて、Fig. 38に示した仮説を強く支持する結果であろう。

同様に、2008年の流況調査で得られた結果をFig. 46に示す。2004および2007年の結果と同様に、宗谷暖流の流速とSLDの間には高い相関が認められた。2008年は6月中旬および下旬に宗谷暖流が弱勢となったものの、沖合に*A. tamarensis*が極めて少なかったため (Fig. 40)、沖

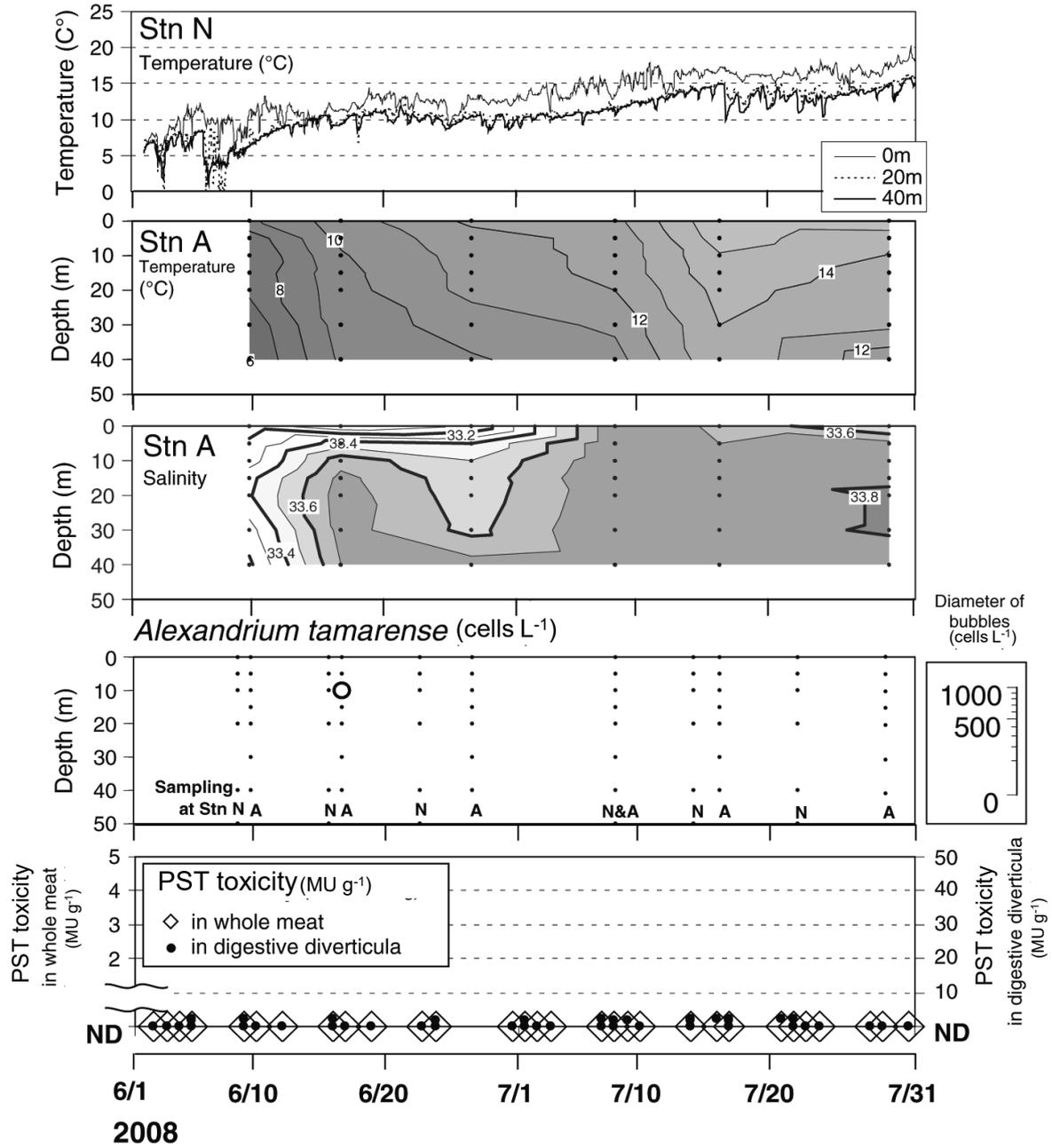


Fig. 43 Temporal changes in water – temperature at Stn N (line), vertical distribution of water temperature and salinity (contours) at Stn A, cell densities of *Alexandrium tamarense* (bubbles) at each station and PST toxicity of scallop along the coast off Abashiri (two axes scatterplot) during June – July 2008 (modified from Shimada et al. 2012). Toxicity value of “ND” means “not detected (toxicity < 2 MU g⁻¹)”

合の表層低塩分水が沿岸に流入しても、*A. tamarense*は沿岸に出現しなかったものと考えられる。

5-3-4 レトロスペクティブ解析による貝毒発生機構仮説の検証

本研究開始以前に生鮮出荷自主規制値を超える麻痺性毒性値が検出された年（1996, 2001, 2002年）についてのSLDおよび麻痺性毒性値の時系列変化をFig. 47に示す。「顕著な宗谷暖流弱勢」は1996年については7月上旬、

2001年については6月下旬から7月上旬、2002年については6月中旬から下旬に認められ、毒性値の上昇は「顕著な宗谷暖流弱勢」の約1-3週間後に起こったことが確かめられた。以上のレトロスペクティブ解析結果は、「宗谷暖流の一時的弱勢時に*A. tamarense*を含んだ沖合の表層低塩分水が沿岸に流入する」との仮説を強く支持するものである。

さらに、5-5-1に図示した以外の年も含め、本海域の麻痺性貝毒発生に関連する3つのイベントすなわち「顕

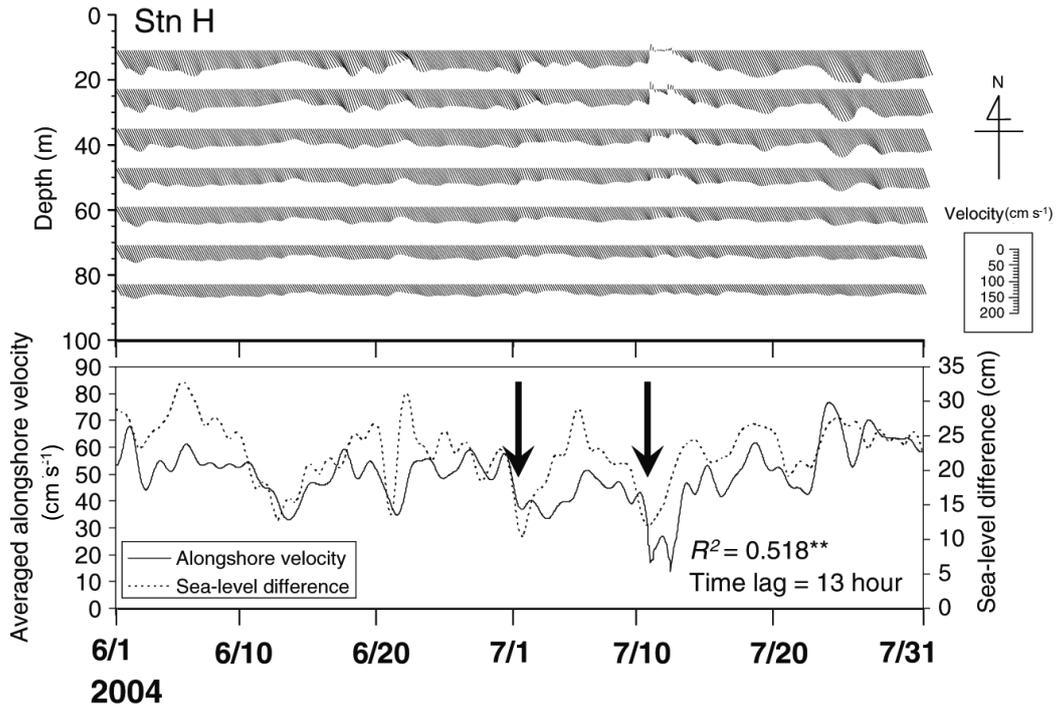


Fig. 44 Temporal changes in current profile in seven layers (vector plot) at Stn H (depth of layer: 11, 23, 35, 47, 59, 71 and 83 m, thickness of layer: 4 m), alongshore velocity (solid line, average of seven layers) and the sea – level difference (dashed line) with maximum R – square of time lag correlation during June – July 2004 (R – square with two asterisk means significant correlation, $p < 0.01$) (modified from Shimada et al. 2012). The arrows indicate obvious decreases of the sea – level difference. Obvious decrease of the sea – level difference is defined as the minimum and second minimum peaks of the sea – level difference after June before increase of PST toxicity.

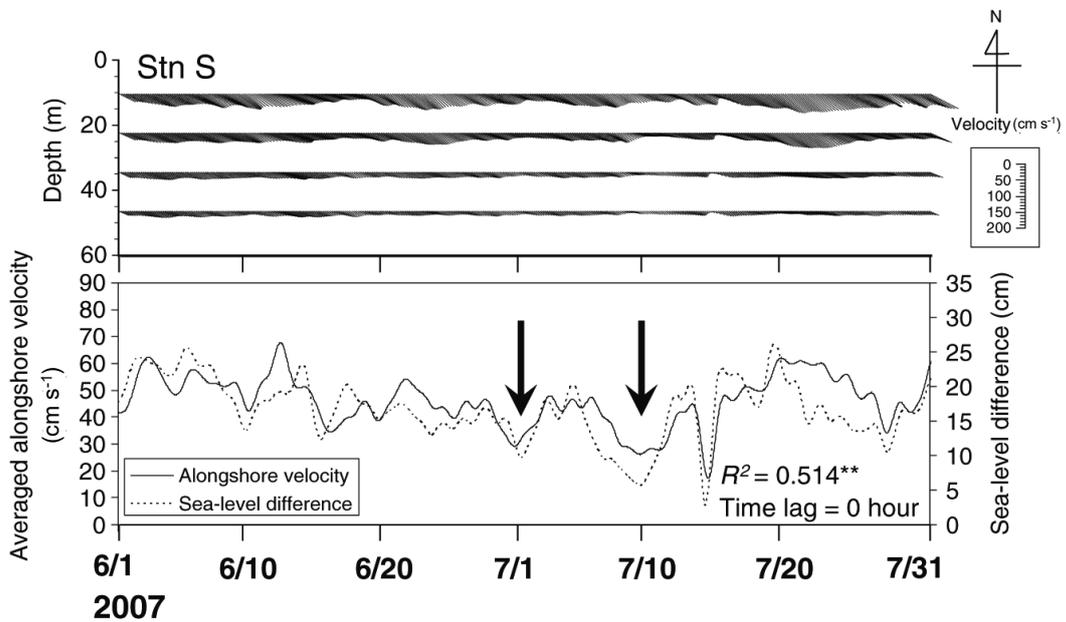


Fig. 45 Temporal changes in current profile in four layers (vector plot) at Stn S (depth of layer: 10, 22, 34 and 46 m, thickness of layer: 2 m), alongshore velocity (solid line, average of seven layers) and the sea – level difference (dashed line) with maximum R – square of time lag correlation during June – July 2007 (R – square with two asterisk means significant correlation, $p < 0.01$) (modified from Shimada et al. 2012). The arrows indicate obvious decreases of the sea – level difference. Obvious decrease of the sea – level difference is defined as the minimum and second minimum peaks of the sea – level difference after June before increase of PST toxicity.

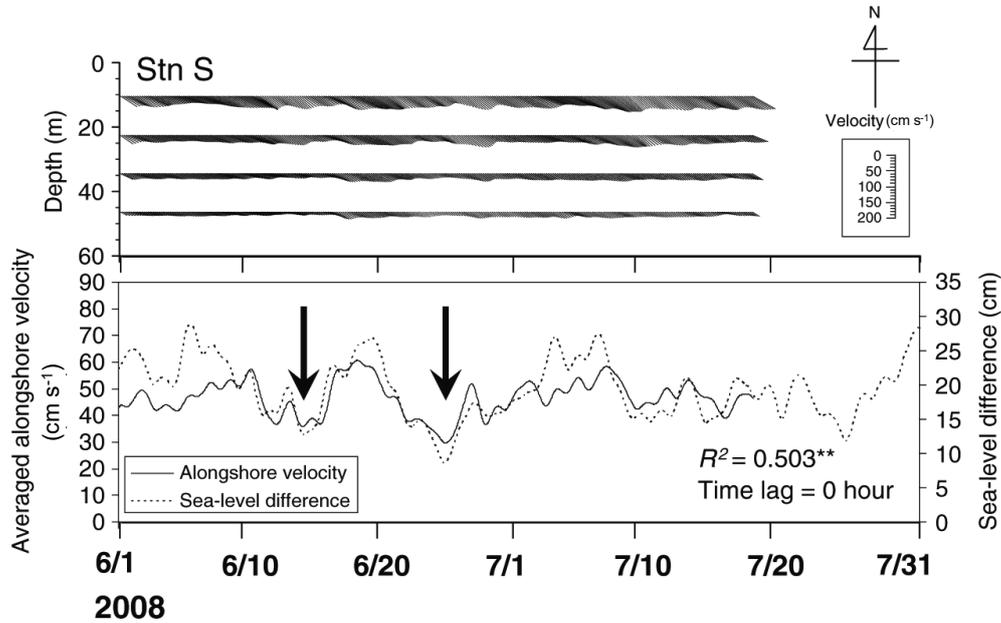


Fig. 46 Temporal changes in current profile in four layers (vector plot) at Stn S (depth of layer: 10, 22, 34 and 46 m, thickness of layer: 2 m), alongshore velocity (solid line, average of seven layers) and the sea – level difference (dashed line) with maximum R – square of time lag correlation during June – July 2008 (R – square with two asterisk means significant correlation, $p < 0.01$) (modified from Shimada et al. 2012). The arrows indicate obvious decreases of the sea – level difference after June before increase of PST toxicity.

Table 4 Dates of three events related to the occurrence of paralytic shellfish toxin (PST) in 1996 – 2003, 2005 and 2006 (modified from Shimada et al. 2012)

Year	Date of events related to PST occurrence (month / day)		
	Obvious decrease of the sea-level difference ^a	First detection of PST toxicity in whole meat of scallop	Peak of PST toxicity in whole meat of scallop
1996 ^b	7/8 and 10	7/15	8/6
1997 ^b	6/28 and 29	7/22	8/25
1998	6/3 and 21	7/24	7/24 and 27
1999	6/7 and 22	not detected	not observed
2000	no data	not detected	not observed
2001 ^b	6/21 and 7/2	7/12	7/19
2002 ^b	6/10 and 24	7/1	7/8
2003	6/10 and 7/15	3/26 ^c	7/28
2005	6/30 and 7/27	not detected	not observed
2006	6/3 and 7/3	not detected	not observed

^a Obvious decrease of the sea – level difference is defined as the minimum and second minimum peaks after June before increase of PST toxicity

^b PSP occurrence year (maximum PST toxicity ≥ 4 MU g⁻¹)

^c Detected toxicity in scallop probably due to residual toxin accumulated in 2002 summer

Table 5 Operating results of the prediction method of PST occurrence after 2009 (modified from Shimada et al. 2016). Values in the parentheses indicate cell density (cells L⁻¹) of *Alexandrium tamarense*.

Year	Bloom occurrence of <i>A. tamarense</i> ($\geq 10^2$ cells L ⁻¹) (max. cell density of <i>A. tamarense</i>)		Date of events related to PST occurrence and the prediction flowchart (month / day)			
	late May - early June	late July	Obvious decrease of the sea-level difference*	First detection of PST toxicity ≥ 20 MU g ⁻¹ digestive diverticula or ≥ 3 MU g ⁻¹ in whole meat of scallop	Warning of PST occurrence	Shipping restriction of scallop due to PST
2009	no	yes (460)	6/29 and 7/14	7/22	7/24	no
2010	no	yes (240)	6/20 and 7/5	no	no**	no
2011	no	yes (550)	6/23 and 7/19	no	no**	no
2012	yes (230)	yes (1760)	6/11 and 28	7/23	6/15	7/24
2013	yes (340)	no	6/3 and 16	no	no***	no
2014	yes (160)	yes (7160)	6/21 and 7/27	7/29	6/20	no

* Obvious decrease of the sea-level difference is defined as the minimum and second minimum peaks after June before increase of PST toxicity

** Low PST risks have been expected because *A. tamarense* blooms occurred only in far offshore area in late July

*** No *A. tamarense* bloom has been observed in late July

著な宗谷暖流弱勢」,「軟体部麻痺性毒性値の初検出」,「軟体部麻痺性毒性値のピーク」の発生日をまとめて Table 4に示す。毒性値が上昇した年においては全てこれら3つのイベントは数週間おきに順に発生していた事実が確かめられ,「宗谷暖流の一時的弱勢時に *A. tamarense*を含んだ沖合の表層低塩分水が沿岸に流入」した結果として麻痺性貝毒が発生することが検証された。広域調査が行われていない2001年以前の沖合における *A. tamarense*の出現状況は不明だが,少なくとも毒性値の上昇が認められた1996-1998年および2001年については, *A. tamarense*ブルームが出現していた可能性が高い。

5-3-5 麻痺性貝毒発生予測手法の運用

5-3-5-a 麻痺性貝毒発生予測手法のフローならびに運用実績

以上の現場調査およびレトロスペクティブ解析によって検証された,「SLD減少によって指標される宗谷暖流の弱勢時に, *A. tamarense*栄養細胞を含んだ表層低塩分水が沿岸に流入して,ホタテガイが毒化する」という仮説に基づき,年2回の *A. tamarense*広域分布調査とインターネット(気象庁HP)を利用したSLD(=宗谷暖流勢力)の監視を組み合わせた麻痺性貝毒の発生予測手法を構築した(Fig. 48)。本予測手法は2009年以降運用され,広域分布調査およびSLD等の情報は適宜「オホーツク海貝毒プランクトン速報」および「宗谷暖流情報」として

公開されている。

2009-2014年の麻痺性貝毒の発生予測手法の運用実績をTable 5に示す。予測は概ね的中するものの, *A. tamarense*空間分布調査の時空間的粗さのために予測精度に問題が残っている。今後は *A. tamarense*空間分布調査の精度向上(調査頻度,定点数および採集深度の追加)を検討するとともに,以降に示すような本海域の環境特性を考慮した精度向上を試みる必要がある。

5-3-5-b 水塊構造の分析による *A. tamarense*ブルームの発生予測

まず本海域沖合における *A. tamarense*ブルームの形成条件について考えてみる。嶋田ほか(2009)は夏季オホーツク海表層における *A. tamarense*存在量と春季の水塊構造の年変動における関係を解析し,夏季の *A. tamarense*存在量は,春季に宗谷暖流が卓越傾向の「温暖年」(2002, 2004, 2007, 2009年)に多く,春季に宗谷暖流が弱勢で中冷水が卓越傾向にある「寒冷年」(2003, 2005, 2006, 2008年)には少ない(ただし *A. tamarense*ブルームが知床半島沖に偏在した2006年は例外的である)ことを見出した(Fig. 49)。このことは,本海域の底泥中に含まれるシストは宗谷暖流の卓越による温度刺激によって発芽,増殖している可能性を示唆する。春季の本海域陸棚上においては,高比重の宗谷暖流水は海底付近を潜流として流れ(田中ほか2003),底泥の昇温に有効であると推察さ

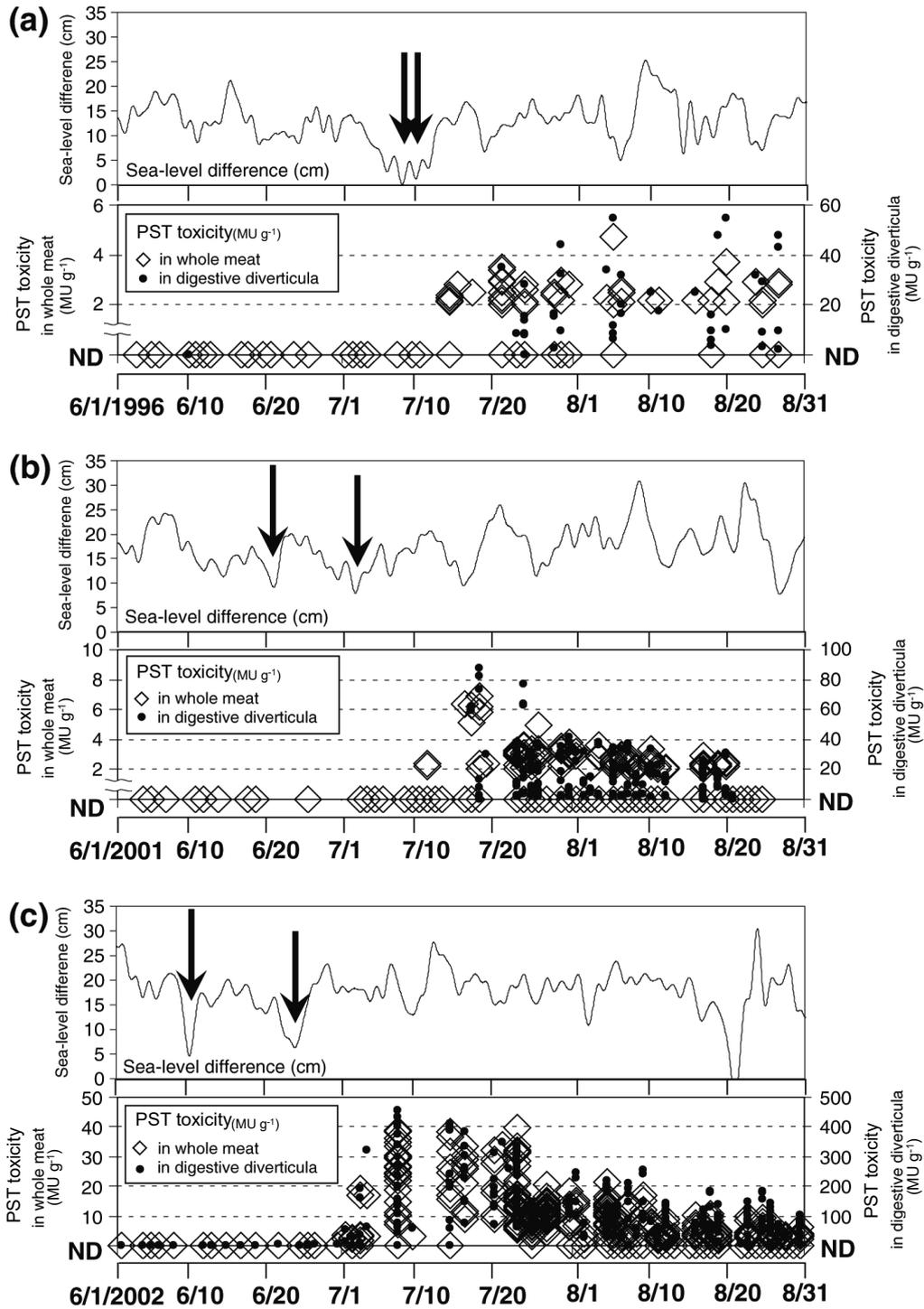


Fig. 47 Temporal changes in the sea – level difference and PST toxicity during June – August of 1996 (a), 2001 (b) and 2002 (c) (modified from Shimada et al. 2012). The arrows indicate obvious decreases of the sea – level difference. Obvious decrease of the sea – level difference is defined as the minimum and second minimum peaks of the sea – level difference after June before increase of PST toxicity. Toxicity value of “ND” means “not detected (toxicity < 2 MU g⁻¹)”.

れる。春季の本海域30 m以深の海底は水温2°C以下の中冷水で覆われているため、本種シストの発芽適水温である5–21°C (Anderson 1998) に達するためには、宗谷暖流の卓越に伴う昇温が重要であると推察される。一方 Shimada et al. (2010) は、夏季の*A. tamarensis*存在量は本

海域沖合で表層低塩分水が卓越傾向にある年に多いことを明らかにした (Fig. 49)。これらのことは、本海域の*A. tamarensis*は春季の宗谷暖流の卓越を第1の必要条件とし、夏季の表層低塩分水の卓越を第2の必要条件としてブルームを形成することを示唆する。すなわち、春季に

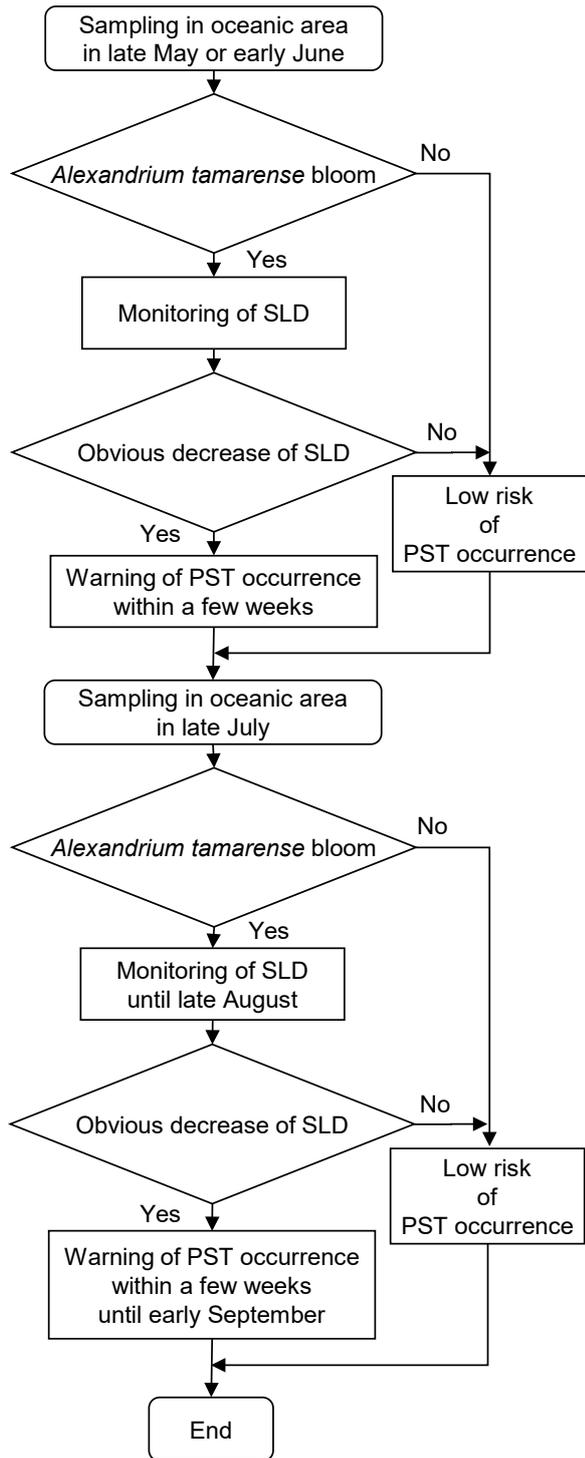


Fig. 48 Flowchart of prediction of PST occurrence in the Okhotsk Sea coast off Hokkaido concluded by the present study (modified from Shimada et al. 2012). SLD: sea level difference between Wakkanai and Abashiri

シストから発芽して緩やかに増殖した*A. tamarensis*は夏季に表層低塩分水でブルームを形成すると推察される。従って予測精度向上のためには、春季および夏季の本海域沖合の水塊構造を分析して宗谷暖流および表層低塩分

水の卓越状況を把握することが有効と考えられる。関連して、ブルーム形成に寄与するであろうシストは、北海道からアニワ湾にかけての陸棚域に概ね $10^2 - 10^3$ cysts g^{-1} wet sediment存在することが分かっている (Shimada and Miyazono 2005, Orlova et al. 2007, Motylkova and Mogilnikova 私信)。温暖年の春季は宗谷暖流の影響が及ばないロシア海域においても大気/日照による昇温が見込まれるため、湾中央水深が50 m前後と浅いアニワ湾においてはシストの発芽が活発に起こると推察される。実際、温暖年の2004年にはアニワ湾沿岸で5-7月に*A. tamarensis*ブルームが発生し、最高細胞密度は 3×10^3 cells L^{-1} に達したことが報告されている (Mogilnikova et al. 2007)。一方、夏季アニワ湾の表層には平均的な表層低塩分水よりも低塩分の水塊が形成され、この水塊は宗谷暖流とのフロント域に沿って輸送されることも知られている (Oguma et al. 2011)。2004年のようなフロント域付近の*A. tamarensis*ブルームはアニワ湾を起源として発生した可能性もあるため、衛星画像等を利用して、アニワ湾方面からフロント域への水塊輸送を監視することも、予測精度向上のために有効と考えられる。一方、温暖年の昇温期には生物イベントが早めに起こるため、年2回の広域分布調査では*A. tamarensis*ブルームのピークを捉えることができない場合がある。例えば2002年の高毒化事例では、毒化実態に見合った*A. tamarensis*ブルームが記録されていない。この年の*A. tamarensis*ブルームは恐らく例年より早めにピークを迎え、6月下旬の宗谷暖流弱勢とともに沿岸に流入して7月上旬にホタテガイの高毒化をもたらした後、7月下旬にはおおむね終息していたものと推測される。予測精度向上のためには、このような温暖/寒冷年による生物イベントの遅速を考慮しながら、広域分布調査等を柔軟に実施することも有効と考えられる。また、2004年および2006年のように濃密なブルームが出現しても、出荷自主規制値を超える毒化に到らない場合もある。2004年は宗谷暖流弱勢に伴う毒性値上昇が認められたものの、わずかに出荷自主規制値に及ばなかったケースである (Fig. 41)。これに対し2006年は、ブルームがホタテガイ漁場のない東側に偏って出現したため (Fig. 26)、毒性値の上昇が認められなかったケースである (Table 4)。このように、毒化の条件としての*A. tamarensis*ブルームの出現とホタテガイの毒化のパターンは多様であるため、予測精度向上のためには、春~夏季の水塊構造ならびに夏季の*A. tamarensis*ブルームの出現状況を総合的に考慮する必要がある。

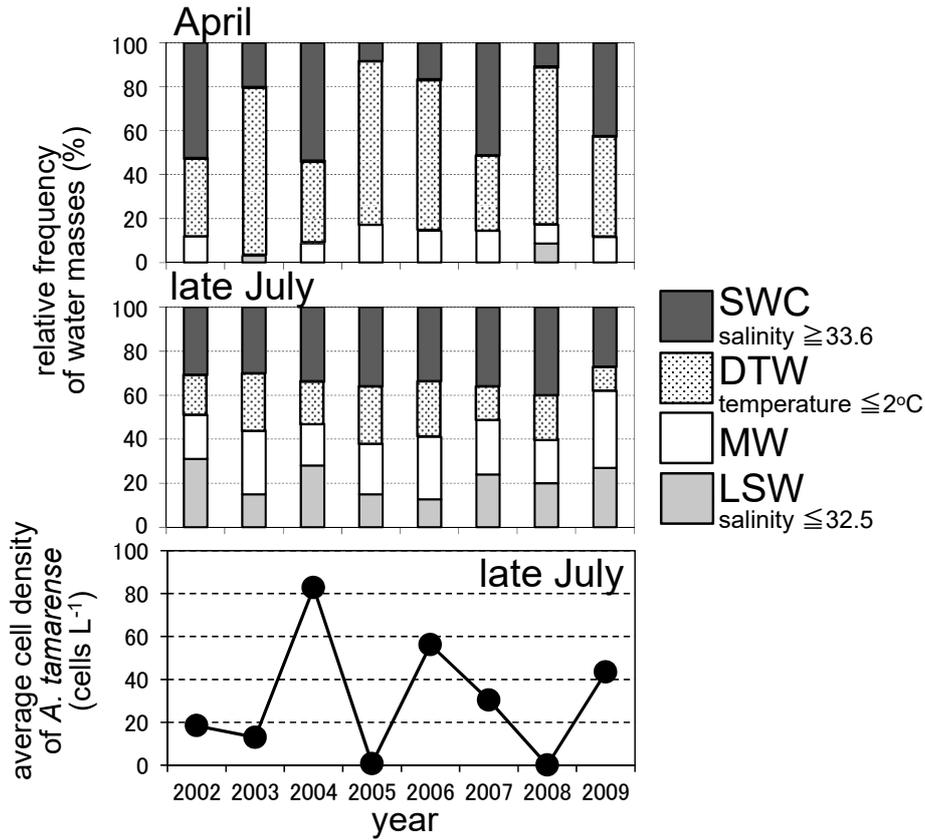


Fig. 49 Annual changes in relative frequency of water masses in April (above) and late July (middle) and average cell density of *A. tamarensis* in the 0 – 20 m depth layer at sampling stations in the Okhotsk Sea off Hokkaido in late July (below) during 2002 – 2009 (modified from Shimada et al. 2009, 2010). Relative frequencies of water masses (%) were calculated using the temperature and salinity at five standard layers (0, 10, 20, 30 and 50 m depth) of each station (see Fig. 39). Abbreviations of water masses are following, SWC: Soya Warm Current water (salinity ≥ 33.6), DTW: Dichothermal water (water temperature $\leq 2^{\circ}\text{C}$), MW: Mixed water (water temperature $> 2^{\circ}\text{C}$, salinity > 32.5 and < 33.6), LSW: Surface low – salinity water (salinity ≤ 32.5).
 *: PST toxicity over quarantine level

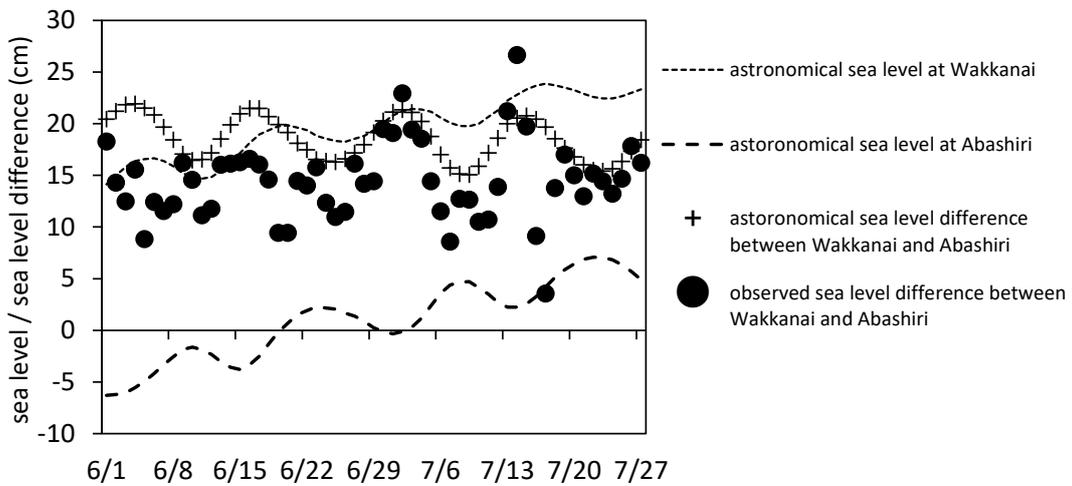


Fig. 50 Astronomical sea level at Wakkanai and Abashiri and astronomical / observed sea level difference between Wakkanai and Abashiri during June – July 2015 (modified from Shimada et al. 2016, data source: <http://www.data.jma.go.jp/gmd/kaiyou/db/tide/sokuho/index.php>, last visited 1 December 2016).

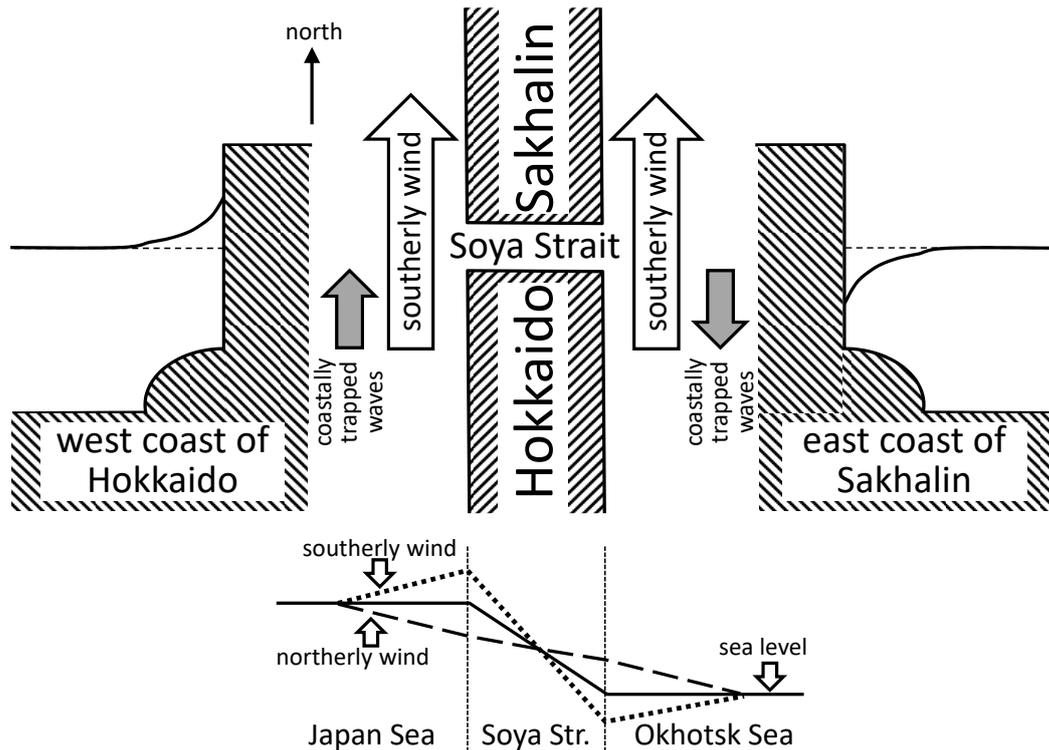


Fig. 51 Diagram showing the generation mechanism of the subinertial variations in the Soya Warm Current by wind-generated coastsly trapped waves (modified from Ebuchi et al. (2009)).

5-3-5-c 天文潮位および気圧配置等の天文・気象情報を用いた宗谷暖流弱勢の予測

次いで、本海域沿岸における宗谷暖流弱勢すなわちSLD減少の予測について考えてみる。予測精度向上に利用可能な、最も一般的な物理現象は天文潮位である。インターネット等で公開されている稚内と網走の天文潮位を利用すれば、SLDの予測値を計算することができる (Fig. 50)。また、宗谷海峡周辺における海面の流況データ (<http://www.woc.lowtem.hokudai.ac.jp/hf-radar/print.html#latest>, 2016年12月1日)も、宗谷暖流の流況把握に有用である。さらに、次に示すとおり、風による宗谷暖流の流況変動 (Ebuchi et al. 2009)を考慮することが有効と考えられる。

Ebuchi et al. (2009)は、HFレーダーおよびADCPを用いた宗谷暖流の直接測流結果と過去30年間あまりの風、流況および海面水位の応答関係を解析し、南よりの風が1-2日間続くと北海道日本海沿岸の水位は上昇するのに対し、サハリン東岸オホーツク海の水位は低下するために、SLDは増加し、宗谷暖流が強勢となること明らかにした (Fig. 51)。同様の原理によって、北寄りの風が続くと北海道日本海沿岸の水位は低下し、サハリン東岸オホーツク海の水位は上昇するために、SLDは減少し、宗谷暖流が弱勢となることも示している。従って、SLD減少すなわち宗谷暖流の弱勢は、気圧配置等の気象情報が

ら北よりの風が吹くことが予測できれば予測可能であると考えられる。

PSPによる出荷自主規制措置または出荷自粛が講じられた2002, 2004, 2007各年の宗谷暖流弱勢直前3日間の気圧配置をFig. 52に示す。いずれのケースも、オホーツク海高気圧の停滞または北海道東岸における低気圧発達という、宗谷海峡付近で北よりの風が続きやすい気圧配置であることが分かる。稚内における風向風速の観測記録をみると (<http://www.data.jma.go.jp/obd/stats/etm/index.php>, 2016年12月1日), Fig. 52に示した9日のうち6日が北よりの風であり、このうち4日については日平均風速 6 m s^{-1} を超える強風が記録されている。以上から、広域分布調査によってオホーツク海沖合に*A. tamarense*ブルーム ($> 10^2 \text{ cells L}^{-1}$)が確認されている年には、気圧配置等を参考情報として北よりの風の持続を予測しながら、麻痺性貝毒の発生予測手法を運用することが精度向上に有効と考えられる。

第6章 総合考察

第1節 北海道オホーツク海沿岸における麻痺性貝毒の発生予測に関する研究の生物海洋学的意義

本研究によって、植物プランクトンである*A. tamarense*をトレーサーとして、北海道オホーツク海沿岸/沖合の

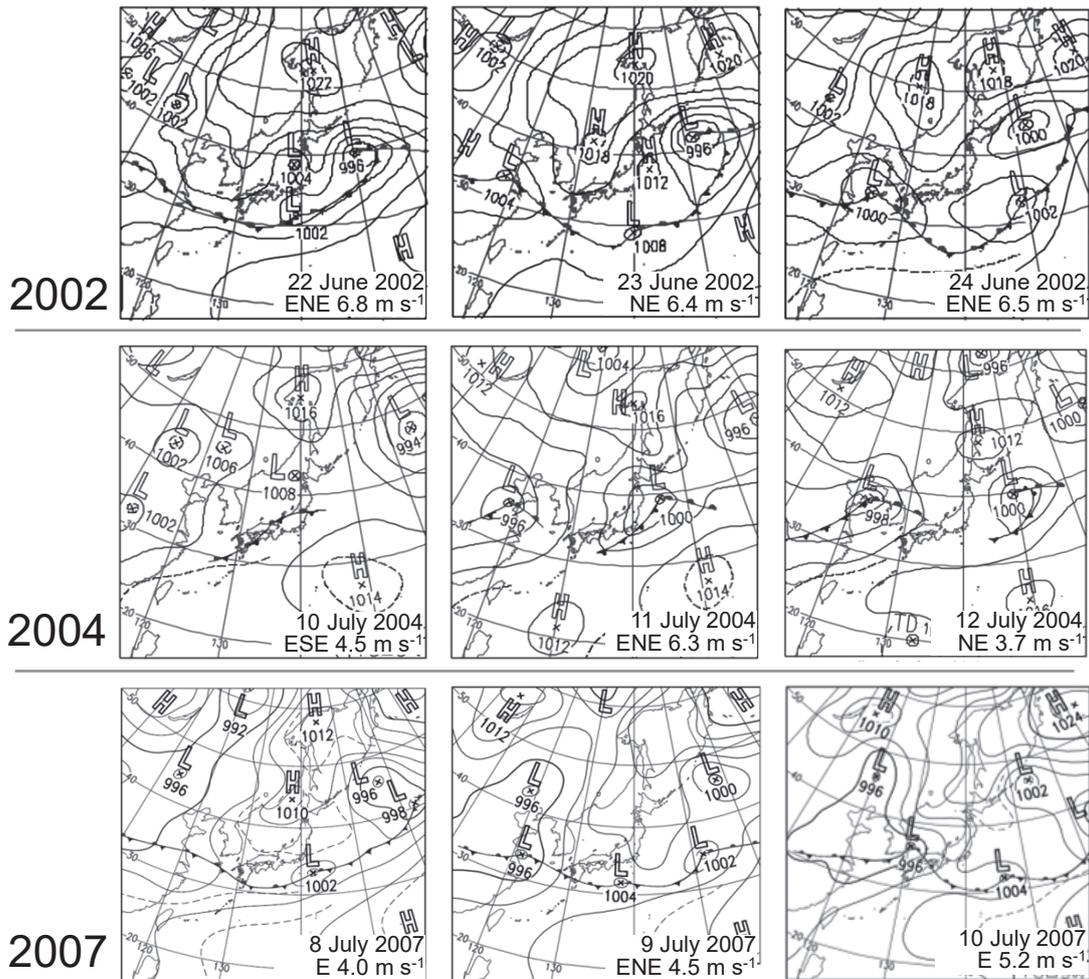


Fig. 52 Charts showing the pressure patterns during three days just before the weakening of the SWC in 2002, 2004 and 2007 (modified from <http://www.data.jma.go.jp/fcd/yoho/hibiten/>, last visited 1 December 2016). Wind directions of daily maximum wind speeds and average wind speeds at Wakkanai (data source: <http://www.data.jma.go.jp/obd/stats/ctrn/index.php>) are shown at bottom of the charts.

高コントラストな物理/化学/生物環境が総合的に解明された。本海域の動物プランクトンについても、沖合(低塩分水/中冷水/中層水)の大型カイアシ類優占種は *Metridia okhotensis* および *Neocalanus flemingeri* であるのに対し、宗谷暖流域では *Neocalanus plumchrus* および *Metridia pacifica* であり、明瞭に異なることが明らかとなっている (Asami et al. 2007, 嶋田ほか2012, 嶋田2016)。本研究で明らかとなった本海域の高コントラストな環境は、生物海洋学的に極めて興味深く、ホタテガイやサケなどの漁獲対象種の生態研究においても、餌料環境に関連した重要な情報である。例えば宗谷暖流/表層低塩分水フロント域が夏季においても植物プランクトンの豊富な湧昇域であることが明らかとなったことは、本海域の地まきホタテガイ漁場が極めて豊富な餌料環境にあることを示すものである。

一方、北海道からサハリンにかけての陸棚域に

A. tamarensis シストが大量に存在することが明らかとなり、北海道沖オホーツク海は噴火湾と並んで *A. tamarensis* 出現リスクの高い海域であることが判明した。春季に温暖かつ夏季に表層低塩分水が卓越傾向にある年に *A. tamarensis* 現存量は増加する傾向が認められたことから、本海域の *A. tamarensis* シストは宗谷暖流または大気/日照による加温によって発芽/増殖する可能性が示唆された。アニワ湾でも *A. tamarensis* ブルーム発生が報告されていることから (Mogilnikova et al. 2007)、本海域沖合の *A. tamarensis* ブルームは、アニワ湾をはじめとしたロシア海域を含む海域を発生源として北海道沿岸に來遊する可能性があることを示唆するものである。今後はブルーム発生/來遊のメカニズム解明のために、国際共同研究の推進が望まれる。

他方、*A. tamarensis* の単離培養およびホタテガイへの給餌飼育実験によって、*A. tamarensis* の毒性とホタテガイ

イの毒化に関する実証データが得られ、現場における毒化の実態が推定可能となった。これまで経験的に知られてきた、生鮮出荷自主規制値を超える毒化を警戒すべき *A. tamarense* 出現数 (10^2 cells L⁻¹) を実験的に検証したことは、毒化リスクを考慮しながら *A. tamarense* の監視を行ううえで極めて意義深いことと言えるだろう。

本研究によって構築された麻痺性貝毒の発生予測手法は、*A. tamarense* シストの発芽からブルーム形成までのプロセスを考慮せずに予測可能であるため、調査船による *A. tamarense* 広域分布調査とインターネットを用いた SLD モニタリングのみの「単純・低コスト」で予測可能であることが特長である。これに対して、他海域（米国メイン湾および噴火湾）における一般的な麻痺性貝毒の発生予測は、シスト発芽からブルーム形成までの時空間プロセスを考慮（シスト／栄養細胞の分布動態調査結果に基づき数値モデル等で計算）する必要がある（McGillicuddy et al. 2003, 2005, Anderson et al. 2005, Keafer et al. 2005, Stock et al. 2005, He et al. 2008, Jin and Hoagland 2008, Li et al. 2009, 宮園 2015）。

第2節 北海道オホーツク海沿岸における麻痺性貝毒の発生予測に関する研究の社会科学的意義

本研究の成果は、単純・低コストな生物海洋学的調査によって本海域の地まきホタテガイ漁業の経済損失抑制に貢献するものであり、社会科学的にも意義深いものである。麻痺性貝毒の発生予測手法の運用によって得られたデータは「オホーツク海貝毒プランクトン速報」および「宗谷暖流情報」として公的機関および漁業協同組合連合会等に速報され（<http://www.hro.or.jp/list/fisheries/research/central/section/kankyoku/kaidoku/j12s-22000000ddi.html>, 2016年12月1日）、地まきホタテガイの計画的漁獲および流通に活用されている（嶋田ほか 2016）。麻痺性貝毒の発生予測手法の運用によって、沖合 *A. tamarense* ブルームおよび宗谷暖流弱勢の確認から生鮮出荷自主規制値を超える PST 検出までの2-3週間のうちに集中漁獲すれば、経済損失を最小限に抑制することができると考えられる。例えば Jin and Hoagland (2008) は、北米メイン湾におけるオオノガイ、ムラサキイガイおよびホンビノスガイ漁業を例に、麻痺性貝毒の発生予測は毒化直前の集中漁獲に効果的であることを示唆している。本研究のケースでは、網走地方（雄武-斜里）沿岸における地まきホタテガイ年間漁獲量15万トンの実質4ヶ月程度（操業日数約120日）での漁獲（一日あたり漁獲努力：1250トン/日）を仮定すると、麻痺性貝毒発生直前の2週（14日）間の漁獲量は、努力量1x（通常どおり）/1.5x/2xの漁獲努力によってそれぞれ1.75万/2.63万

／3.5万トンと見積もることができる。従って、麻痺性貝毒発生直前の2週間に漁獲努力を1.5xに増大すれば、PSP発生予測手法による経済損失抑制効果として、少なくとも年間漁獲量15万トンのうち5%にあたる0.75万トン（単価130円/キロとして9.75億円）を担保できると試算される。

第3節 残された課題と今後の展望

最後に、残された課題と今後の展望について考えてみる。まず *A. tamarense* シストおよび栄養細胞の分布に関しては、ロシア海域（例えばアニワ湾）のデータが不足している。シストについてはアニワ湾に600-700 cysts g⁻¹ wet sediment（2003年調査結果、Motylkova未発表）分布していることが分かっているが、シスト密度の経年変動および水平分布に関する記録はない。栄養細胞については、道水試およびSakhNIRO（サハリン漁業海洋学研究所）が共同で2007年7月下旬に浜頓別-アニワ岬を横断調査した結果、*A. tamarense* 栄養細胞はアニワ岬側のロシア海域で高密度に出現したことが分かっているが（Mogilnikova 未発表）、その後はロシア海域における *A. tamarense* 栄養細胞の分布に関する情報はない。今後はMogilnikova et al. (2007) のような *Alexandrium* 等有毒種分布に関する文献情報のほか、有毒種出現に関するインターネットによる最新情報の公開が望まれる。我が国のオホーツク海域においても、*A. tamarense* シストの分布については、前回調査（Shimada and Miyazono 2005, 1999-2000年調査実施）から15年余りが経過している。オホーツク海沖合（2009年5月27日Stn.O14）のシスト密度はほぼ同様（393±81cysts g⁻¹ wet sediment）であることが分かっているが（山口峰生、私信）、*A. tamarense* 増殖の潜在能評価のためには定期的（例えば5年毎）かつ広域的に調査を行う必要がある。

次いで *A. tamarense* の毒性に関しては、本種の毒成分組成は遺伝形質であることが知られているものの（Sako et al. 1990）、日本産 *A. tamarense* 株別の毒性と遺伝の関係については知見が乏しい。毒成分組成および細胞毒量は、第4章に詳述したとおり、PSP発生予測のために極めて重要な情報である。Gu et al. (2013) は中国沿岸産 *Alexandrium* 数種の単離培養株について形態／分子分類および毒成分組成を明らかにしているが、日本産 *Alexandrium* についても、超高毒株（ 10^4 fmol cell⁻¹）が天然海域に実在するか等を含めて、総合的に明らかにする必要がある。特にオホーツク海のように寒冷な海域には増殖速度の遅い高毒株が存在する可能性があるため、株別の細胞毒量に関する情報の蓄積が望まれる。

麻痺性貝毒の発生予測に関しては、2002年のオホーツ

ク海沿岸における地まきホタテガイの高毒化 (454 MU g^{-1} - 中腸腺)が、どのような細胞毒量の*A. tamarens*ブルームがどのような規模で地まきホタテガイ漁場に流入してホタテガイが毒化したのか、という問題が残っている。近年、プランクトンの分布動態が数値モデルを用いた粒子追跡実験によって説明されるようになってきた (例えばOnitsuka et al. 2010)。北海道沖オホーツク海についてもごく最近、海水の存在を仮定したサブメソスケールモデル「北海道周辺高解像度モデル」が開発され (黒田ほか2016)、2002年の観測データをこのモデルに同化、再解析したうえで、*A. tamarens*の粒子追跡実験を行う必要がある (現状では2003年以降の観測データしか同化されていない)。モデルを用いた粒子追跡実験によって、例えば宗谷暖流外側のフロント域に集積した濃密な*A. tamarens*ブルームがサブメソスケールの沈降渦とともにホタテガイの生息する海底に達するというような現象を再現できれば、将来的な高毒化の予測につながる可能性がある。フロント域の沈降渦は宗谷暖流の順圧不安定 (Ohshima and Wakatsuchi 1990) および日周潮 (有田ほか 2015) によって生じることが示唆されていることから、フロント域の流況をより高精度で再現可能なモデルの構築が望まれる。一方、本海域の*A. tamarens*ブルームは運動性接合子の形成を伴って濃密に出現するケースがあることから (Fig. 53)、有性生殖およびシスト形成に伴う生物学的な海底への沈降が高毒化に関与している可能性も想定される。しかしながらこのメカニズムを解明するためには、半数体 (単相) の栄養細胞と倍数体で大型の運動性接合子を区別して計数しながら本種ブルームの鉛直分布の時系列変化を追跡する必要がある、今後の課題である。

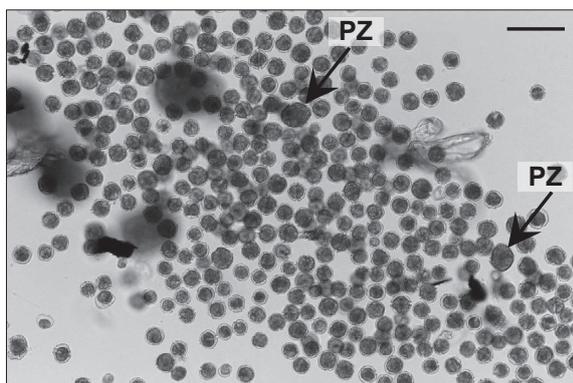


Fig. 53 Microphotograph showing the dense bloom of *A. tamarens* (42,160 cells L^{-1}) collected from Okhotsk Sea (44°50.1' N, 144°19.8' E) on 23 July 2015. Arrows indicate planozygotes (PZ). Scale bar: 100 μ m age toxin composition and relative toxicity of each toxin component reported by Shimada et al. (2011) and Oshima (1995): $\times 0.8 \times 10^{-6}$

最後に、有害有毒プランクトンの監視の将来展望について考えてみる。まず分類に関しては、分子分類に基づいた種名や分類体系の混乱が予想される。例えばJohn et al. (2014a, b) による「日本産*A. tamarens* および*A. catenella*は同種*A. fundyense* (北米クレード)であり、*A. catenella*の種名は破棄されるべき」という提案に対して、論議を経て、*A. catenella*は*A. fundyense*のシノニムとして種名が残ることとなった経緯がある (Fraga et al. 2015, Reine 2017)。今後は「何を同定したのか」という形態/分子分類に関する情報を正確に記録するために、分子分類技術の整備と普及が急務となるだろう。

我が国において*A. catenella*は、*A. tamarens*よりも温暖な環境に出現し (福代1985)、毒成分組成も異なることが知られていることから (加賀ほか2006)、我が国においては当面、*A. tamarens*とは区別して監視すべきである。1988年秋季噴火湾に出現した*A. catenella*ブルーム (Noguchi et al. 1990) は、近年の温暖化傾向と相まって、北海道沿岸で再び発生する可能性がある。温暖化傾向が著しい日本海はもとより、2015年春季以降顕著な親潮の弱勢が持続している北海道沖太平洋においても (http://www.data.jma.go.jp/gmd/kaiyou/data/db/kaikyo/oyashio/oyashio_area.html, 2016年8月29日)、*A. catenella*等の暖水性有毒*Alexandrium*属の出現に注意すべきであろう。暖水性有毒*Alexandrium*属の同定に際しては、複数種を同時に検出可能な分子生物学的手法 (Nagai 2011) を利用することが有効である。

一方、近年の温暖化傾向を背景として、北日本においても有害赤潮発生のリスクが高まっている。例えば最近、2014年夏季に北海道日本海沿岸において有害ラフィド藻 *Chatonella marina* および有害渦鞭毛藻 *Cochlodinium polykrikoides* の出現が北日本で初めて確認され (Shimada et al. 2016)、翌2015年の秋季には函館湾で渦鞭毛藻 *Karenia mikimotoi* による有害赤潮が北日本で初めて記録されている (嶋田ほか2016)。万一、ホタテガイやサケといった重要漁業対象種の漁場において有害赤潮が大規模に発生すれば甚大な被害が予想される。これまで北日本においては固定海水を用いた貝毒原因種等の有殻種の監視が主に行われてきたが、多くが無殻種である有害赤潮原因種の監視を早急に開始すべきであろう。無殻種の観察には原則として生鮮海水試料を用いる必要があるが (夏池ほか2012)、船舶を用いた広域調査または遠隔地で採集された海水試料は鮮度保持が困難であるため、脆弱な無殻種の保存に有効な、新たな固定剤の開発が待たれる。北日本における有害赤潮原因種の監視に際しては、暖水性有毒有害プランクトンの自然/人為的な分布北上を視野に入れつつ、直接検鏡/分子分類技術 (real-

time PCR; Coyne et al. 2005), LAMP法; 牛久保 2004, Nagai 2013等)の整備および普及が急務と考えられる。

これまで我が国における有害有毒プランクトン研究は「北日本は貝毒、西日本は赤潮がメイン」という暗黙の分担を前提に産学官一体となって発展してきた。本論文にとりまとめる機会を得た一連の研究は、このような時流のなかで、主に船舶調査によって行われたものである。しかしながら温暖化を背景とする有害赤潮原因種の分布北上が現実となったいま、北日本の有害有毒プランクトン研究は転機を迎えている。近い将来、北日本各地の水産試験場等による地道なモニタリングによって、暖水性有害有毒種の出現確認が相次ぐことは想像に難くない。北日本において未記録の*Alexandrium tamiyavanichi*や*Gymnodinium catenatum*といった暖水性有毒種についても、将来的に出現が確認される可能性がある。我が国における海洋モニタリングに関する予算は近年減少の一途をたどっているが(全国水産試験場長会, 水産総合研究センター 2009, <http://www.jfa.maff.go.jp/j/koho/pr/pamph/pdf/monitaringu.pdf>, 2016年11月10日), 予算の削減が有害有毒種の出現確認を遅らせ、思わぬ中毒事例や経済損失の発生につながる可能性があることを我々は認識すべきである。プランクトン研究を通じて、船舶調査の重要性を積極的に発信し、海洋モニタリング推進の一助とすることが重要である。

要 約

北海道オホーツク海沿岸におけるホタテガイ漁業は、稚貝を天然海域に放流して3年後に回収する「地まき」という方法で行われ、年間30万トン弱を生産する世界有数の二枚貝漁業である。しかしながら本海域では数年に一度の頻度で夏季に有毒渦鞭毛藻*Alexandrium tamarense*を原因種とする麻痺性貝毒が発生して経済損失をもたらしてきた。特に高毒化した2002年は例年の漁獲最盛期に1ヶ月余りにわたって漁獲がストップして単価の暴落を招き、深刻な経済損失が生じた。本研究は、本海域沿岸のホタテガイ漁場における麻痺性貝毒原因種*A. tamarense*の出現メカニズムを解明し、麻痺性貝毒の発生予測手法を構築して、貝毒発生によるホタテガイ漁業の経済損失を低減することを目的として行われたものである。

北海道沿岸における麻痺性貝毒原因種*A. tamarense*栄養細胞の出現および麻痺性貝毒の発生状況を2005–2006年に調べた。その結果、本種はオホーツク海から太平洋沿岸すなわち寒流(東カラフト海流および親潮)の影響のある海域にのみ出現し、日本海から津軽海峡すなわち

暖流域(対馬暖流および津軽暖流域)には出現しないことが確認された。調査期間中に出荷自主規制値(4MU g^{-1} 可食部)を超えて毒化した海域は噴火湾であり、*A. tamarense*栄養細胞が概ね 10^2 cells L^{-1} を超えて出現すると、ホタテガイが規制値を超えて毒化することが確認された。

北海道周辺における有毒*Alexandrium*属シストの分布を1999–2000年に調べた。その結果、シストはオホーツク海から太平洋に広く分布することが明らかとなった。過去の海域別の麻痺性貝毒の発生頻度および年間最高毒性値と、海域別のシスト密度の関係をみると、それぞれ有意な正の相関が認められた。このことから、海域別のシスト密度は過去の麻痺性貝毒の発生頻度/規模が記録された重要な情報であることが明らかとなった。また、前述の2005–2006年における*A. tamarense*栄養細胞の出現は、海域別のシスト密度を反映した結果であると推察された。栄養細胞とシストの分布を併せてみると、オホーツク海沿岸における*A. tamarense*の出現はわずかであるものの、北海道とサハリンを結ぶ陸棚域にはシストが濃密に分布していることから、オホーツク海沖合は潜在的に*A. tamarense*の出現リスクの高い海域であると推察された。

夏季北海道沖オホーツク海における*A. tamarense*栄養細胞の空間分布を2002–2007年に調べた。その結果、*A. tamarense*は沖合の表層低塩分水(塩分 ≤ 32.5)に多く出現し、沿岸の宗谷暖流水(塩分 ≥ 33.6)および沖合30 m以深の中冷水(水温 $\leq 2^{\circ}C$)にはほとんど出現しないことが明らかとなった。水塊別の栄養塩濃度は中冷水において極めて高いことが確認された。表層低塩分水の栄養塩濃度は低いものの、直下に中冷水から供給された豊富な栄養塩が存在するために、*A. tamarense*はわずかな日周鉛直移動によって栄養塩を利用可能であると推察された。一方、表層低塩分水と宗谷暖流のフロント域では湧昇が観察され、深みから有光層に供給された栄養塩に起因する珪藻ブルームの持続的発生が確認された。*A. tamarense*はこの珪藻ブルームのやや沖合でブルーム($\geq 10^2$ cells L^{-1})を形成する傾向が認められ、これは珪藻との競合の結果であると推察された。宗谷暖流水の栄養塩濃度は*A. tamarense*の増殖に必要なDIPにおいて特に低く、直下に中冷水も存在しないことから、本種の増殖には適さない環境であると推察された。夏季の*A. tamarense*存在量と春季から夏季の水塊構造の年変動における関係をみると、存在量は春季に宗谷暖流が卓越傾向かつ夏季に表層低塩分水が卓越傾向の年に多い傾向が認められ、本種は春季のシスト発芽には宗谷暖流による加温が、夏季の栄養細胞増殖の空間として表層低塩分

水をそれぞれ必要とすることが示唆された。

北海道沿岸およびサハリン南部アニワ湾で採集した底泥または海水試料から単離した*A. tamarense*培養株の毒成分組成を2005–2009年に調べた。全103培養株の毒成分を高速度液体クロマトグラフを用いて分析し、得られた毒成分組成をクラスター解析した結果、2株を除く101株がC-toxin-2, gonyautoxin-4, gonyautoxin-3, neosaxitoxinを主成分とする同一クラスターに分類された。上記101株の毒組成は既報の日本産およびサハリン産株とほぼ一致することが明らかとなった。各培養株の細胞毒量は $1-1128 \text{ fmol cell}^{-1}$ の範囲で変動し、細胞密度と細胞毒量との間には反比例の関係があることが明らかとなった。現場において細胞毒量 $10^3 \text{ fmol cell}^{-1}$ の*A. tamarense*が $10^2 \text{ cells L}^{-1}$ の細胞密度で継続的に出現し、体重 10^2 g (中腸腺7 g)のホタテガイの水温 $10 \text{ }^\circ\text{C}$ における濾水率を 10^2 L day^{-1} 、毒の蓄積率を35%と仮定すると、毒化速度は 0.4 MU g^{-1} 中腸腺 day^{-1} と見積もられた。これは50日で出荷自粛規制値 (20 MU g^{-1} 中腸腺)に毒化することを示し、「*A. tamarense*が概ね $10^2 \text{ cells L}^{-1}$ を超えて出現すると規制値を超えて毒化する」という経験的事実を科学的に裏付けるものと考えられた。

「稚内–網走間の水位差減少によって指標される宗谷暖流の弱勢時に、*A. tamarense*栄養細胞を含んだ表層塩分水が沿岸に流入して、ホタテガイが毒化する」との仮説に基づき、沖合および沿岸における*A. tamarense*分布調査ならびにADCPを用いた宗谷暖流の流況調査を2004, 2007および2008年に行い、*A. tamarense*の出現メカニズムの解明を試みた。その結果、*A. tamarense*は宗谷暖流の弱勢時に沿岸のホタテガイ漁場に出現することが確認され、宗谷暖流の弱勢は稚内–網走間の水位差減少と同調することが確認された。さらに過去の麻痺性貝毒発生年について宗谷暖流弱勢と麻痺性毒性値の変動を解析したところ、暖流弱勢の直後に毒性値が上昇することが確認された。以上の生物海洋学的調査および解析によって仮説は検証され、次の手順からなる麻痺性貝毒発生予測手法を構築した。

- (1) 例年の毒化時期前 (6月) および毒化盛期 (7月) に船舶調査によって本海域沖合の*A. tamarense*の水平分布を把握する。
- (2) インターネット公開されている潮位データを用いて宗谷暖流勢力 (稚内–網走間水位差)を監視する。
- (3) 調査によって沖合に*A. tamarense*ブルーム ($\geq 10^2 \text{ cells L}^{-1}$) が確認されていて、宗谷暖流弱勢が観測された場合、数週間以内の麻痺性貝毒発生を注意喚起する。

本予測手法は2009年以降運用され、「オホーツク海貝毒プランクトン速報」/「宗谷暖流情報」として公開され、ホタテガイの計画的出荷に活用されている。本予測手法は年2回の船舶調査と水位差の監視のみのシンプルな構成で運用されるため、費用対効果が高いのが特長である。

本研究は*A. tamarense*をトレーサーとして北海道沖オホーツク海の高コントラストな環境を生物海洋学的に解明したものであり、ホタテガイのみならずサケ等の重要魚種の生態研究においても餌料環境に関連した重要な情報を与えるものである。最近、北海道日本海および津軽海峡沿岸で暖水性有害赤潮原因藻の初記録が相次いでいる。万一、有害赤潮が北日本のホタテガイ漁場で発生すれば、甚大な被害が発生することは間違いない。今後は北日本においても温暖化による暖水性有害種の分布拡大が予想されることから、既往の*A. tamarense*をはじめとする有殻渦鞭毛藻の監視に加えて、有害赤潮の原因となる無殻鞭毛藻の監視を開始することが必要と考えられる。

謝 辞

本論文のとりまとめにあたり、終始懇切なるご指導を賜った北海道大学水産科学研究院特任教授 今井一郎博士に深甚なる感謝の意を表します。北海道大学水産科学研究院教授 和田哲博士、同 准教授 磯田豊博士、同 准教授 山口篤博士ならびに北里大学海洋生命科学部教授 山口峰生博士には、本論文をご校閲いただき、貴重なコメントを賜りました。ここに衷心より御礼申し上げます。また、北海道大学名誉教授 箕田高博士、同 元教授 志賀直信博士、滋賀県立大学教授 伴修平博士には、水産学部在学時に自然観察ならびに科学的思考の基礎をご教授戴きました。深く御礼申し上げます。北海道大学低温科学研究所准教授 深町康博士には、ADCPを用いた宗谷暖流の観測ならびにデータ処理について格別のご協力を賜り、深く御礼申し上げます。

北海道における貝毒研究の基礎を築かれた、元栽培漁業総合センター場長 故 西浜雄二博士には、オホーツク海の麻痺性貝毒発生について重要なヒントを遺して戴きました。ここに深く御礼申し上げます。元中央水産試験場副場長 水島敏博氏、元中央水産試験場海洋環境部長 田中伊織氏、元稚内水産試験場場長 吉田英雄博士、元中央水産試験場場長 鳥澤雅博氏には、本論文に関する一連の研究開始にご尽力戴きました。また、元中央水産試験場場長 野俣洋氏、元中央水産試験場資源管理部長 中明幸広氏ならびに部員一同、釧路水産試験場場長 宮園章博士、中央水産試験場企画調整部長 木村稔博士

ならびに同 加工利用部三上加奈子氏, 網走水産試験場 浅見大樹博士, 食品加工研究センター 澤田真由美氏, 原子力環境センター 栗林貴範博士の各位には, 一連の研究推進に終始ご協力戴きました。ここに記して感謝の意を表します。現場調査に全面的協力を戴いた中央水産試験場試験調査船 おやしお丸 (2010年用途廃止), 稚内水産試験場試験調査船 北洋丸, 釧路水産試験場試験調査船 北辰丸, 函館水産試験場試験調査船 金星丸の船長ならびに乗組員各位および乗船調査員各位に深謝いたします。

網走沿岸の地まきホタテガイ漁場における海洋観測に際しては, 網走漁業協同組合, 常呂漁業協同組合, 網走東部地区水産技術普及指導所ならびにさけます内水面水産試験場の職員各位に大変お世話になりました。ここに記して御礼申し上げます。また, サハリン漁業海洋学研究所研究員 Mrs. Tatyana Alexandrovna Mogilnikova ならびに Mrs. Irina Victorovna Motylkova には, 中央水産試験場での研修を通じて, アニワ湾等ロシア海域における有害有毒プランクトンの分布に関する貴重な情報を戴きました。感謝の意を表するとともに, 国際共同研究の発展を祈念申し上げます。

最後に, 現場調査や趣味に明け暮れて何かと落ち着かぬ自分に, 腰を据えて論文をとりまとめる機会を与えてくれた家族, 嶋田覚子, 嶋田湧, 嶋田演に感謝します。

引用文献

- Acres J, Gray J. Paralytic shellfish poisoning. *CMA Journal* 1978; **119**: 1195 – 1197.
- Anderson DM, Fukuyo Y, Matsuoka K. 11. Cyst methodologies In: Manual on Harmful Marine Microalgae, (Hallegraeff G, Anderson DM, Cembella AD eds), UNESCO, Paris, 1995; 229 – 249.
- Anderson DM. Physiology and bloom dynamics of toxic *Alexandrium* species, with emphasis on life cycle transitions In: Physiological Ecology of Harmful Algal Blooms, NATO ASI Series Vol. G41, (Anderson DM, Cembella AD, Hallegraeff GM eds), Springer – Verlag, Berlin, 1998; 29 – 48.
- Anderson DM, Keafer BA, McGillicuddy Jr DJ, Mickelson MJ, Keay KE, Libby PS, Manning JP, Mayo CA, Whittaker DK, Hickey JM, He R, Lynch DR, Smith KW. Initial observations of the 2005 *Alexandrium fundyense* bloom in southern New England: general patterns and mechanisms. *Deep – Sea Res II* 2005; **52**: 2856–2876.
- Anderson DM, Alpermann TJ, Cembella AD, Collos Y, Masseret E, Montresor M. The globally distributed genus *Alexandrium*: multifaceted roles in marine ecosystems and impacts on human health. *Harmful Algae* 2012; **14**: 10 – 35.
- 青田昌秋. 宗谷暖流の研究. *低温科学* 1975; **A33**: 151 – 172.
- 有田駿, 磯田豊, 工藤勲, 宮園章, 伊田智喜. 宗谷暖流域における日周潮流と順圧不安定波の相互作用. *沿岸海洋研究* 2015; **52**: 183–195.
- Asakawa M, Takayama H, Beppu R, Miyazawa K. Occurrence of paralytic shellfish poison (PSP) – producing dinoflagellate *Alexandrium tamarense* in Hiroshima Bay, Hiroshima Prefecture, Japan, during 1993–2004 and its PSP profiles. *J Food Hyg Soc Jpn* 2005; **46**: 246–250.
- Asami H, Shimada H, Sawada M, Sato H, Miyakoshi Y, Ando D, Fujiwara M, Nagata M. Influence of physical parameters on zooplankton variability during early ocean life of juvenile chum salmon in the coastal waters of eastern Hokkaido, Okhotsk Sea. *NPAFC Bull* 2007; **4**: 211 – 221.
- Balech E. The genus *Alexandrium* Halim (Dinoflagellata). Sherkin Island Marine Station, Shelkin Island, Co Cork, Ireland, 1995; 151 pp.
- Coyne KJ, Handy SM, Demir E, Whereat EB, Hutchins DA, Portune KJ, Doblin MA, Cary SC. Improved quantitative real – time PCR assays for enumeration of harmful algal species in field samples using an exogenous DNA reference standard. *Limnol Oceanogr Methods* 2005; **3**: 381 – 391.
- Dale B, Yentsh CM. Red tide and paralytic shellfish poisoning. *Oceanus* 1978; **21**:41 – 49.
- Ebuchi N, Fukamachi Y, Ohshima KI, Wakatsuchi M. Subinertial and seasonal variations in the Soya Warm Current revealed by HF ocean radars, coastal tide gauges, and bottom – mounted ADCP. *J Oceanogr* 2009; **65**: 31 – 43.
- Fraga S, Sampedro N, Larsen J, Moestrup Ø, Calado AJ. Arguments against the proposal 2302 by John & al. to reject the name *Gonyaulax catenella* (*Alexandrium catenella*). *Taxon* 2015; **64**: 634–635.
- Fritz L, Triemer RE. A rapid simple technique utilizing calcofluor white M2R for the visualization of dinoflagellate thecal plates. *J Phycol* 1985; **21**: 662 – 664.
- Fukamachi Y, Tanaka I, Ohshima KI, Ebuchi N, Mizuta G,

- Yoshida H, Takayanagi S, Wakatsuchi M. Volume transport of the Soya Warm Current revealed by bottom-mounted ADCP and ocean-radar measurement. *J Oceanogr* 2008; **64**: 385–392.
- 福代康夫. II. 貝毒プランクトンの生物学 2. 分類と分布, 貝毒プランクトン—生物学と生態学 (福代康夫編), 恒星社厚生閣, 東京. 1985; 19–30.
- Gu H, Zeng N, Liu T, Yang W, Muller A, Krock B. Morphology, toxicity, and phylogeny of *Alexandrium* (Dinophyceae) species along the coast of China. *Harmful Algae* 2013; **27**: 68–81.
- Hallegraeff G. I. Harmful algal blooms: A global overview. In: Manual on Harmful Marine Microalgae, (Hallegraeff G, Anderson DM, Cembella AD eds), UNESCO, Paris. 1995; 1–22.
- Hallegraeff G. I. Harmful algal blooms: A global overview. In: Manual on Harmful Marine Microalgae (Second revised edition), (Hallegraeff G, Anderson DM, Cembella AD eds), UNESCO, Paris. 2004; 25–49.
- Hanawa K, Mitsudera F. On the data processing of daily mean values of oceanographical data. — Note on the daily mean sea-level data —. *Bull Coastal Oceanogr* 1985; **23**: 79–87.
- He R, McGillicuddy DJ, Keafer BA, Anderson DM. Historic 2005 toxic bloom of *Alexandrium fundyense* in the western Gulf of Maine: 2. Coupled biophysical numerical modeling. *J Geophys Res – Oceans* 2008; **113**: C07040, doi:10.1029/2007JC004602.
- Hille B. The receptor for tetrodotoxin and saxitoxin. *Biophys J* 1975; **15**: 615–619.
- Holm-Hansen O., Lorenzen CJ, Holmes RW, Strickland JDH. Fluorometric determination of chlorophyll. *J Cons Con. Int Explor Mer* 1965; **30**: 3–15.
- 今井一郎, 板倉茂. 1. わが国における貝毒発生の歴史的経過と水産業への影響. 貝毒研究の最先端—現状と展望 (今井一郎, 福代康夫, 広石伸互編), 恒星社厚生閣, 東京. 2007; 9–18.
- 磯田豊, 岸道郎. シンポジウム「沿岸親潮」のまとめ. *沿岸海洋研究* 2003; **41**: 1–3.
- 板倉茂. 沿岸性浮遊珪藻類の休眠期細胞に関する生理生態学的研究. *瀬戸内水研報* 2000; **2**: 67–130.
- Itakura S, Yamaguchi M, Yoshida M, Fukuyo Y. The seasonal occurrence of *Alexandrium tamarense* (Dinophyceae) vegetative cells in Hiroshima Bay, Japan. *Fish Sci* 2002; **68**: 77–86.
- Itakura S, Yamaguchi M. Morphological and physiological differences between the cysts of *Alexandrium catenella* and *A. tamarense* (Dinophyceae) in the Seto Inland Sea, Japan. *Plankton Biol Ecol* 2005; **52**: 85–91.
- Jin D, Hoagland P (2008) The value of harmful algal bloom predictions to the nearshore commercial shellfish fishery in the Gulf of Maine. *Harmful Algae* **7**: 772–781.
- John U, Litaker RW, Montresor M, Murray S, Brosnahan ML, Anderson DM. Formal revision of the *Alexandrium tamarense* species complex (Dinophyceae) taxonomy: the introduction of five species with emphasis on molecular-based (rDNA) classification. *Protist* 2014a; **165**: 779–804.
- John U, Litaker RW, Montresor M, Murray S, Brosnahan ML, Anderson DM. Proposal to reject the name *Gonyaulax catenella* (*Alexandrium catenella*) (Dinophyceae). *Taxon* 2014b; **63**: 932–933.
- Jørgensen CB. Beat frequency of lateral cilia and pumping rates. In: Bivalve Filter Feeding, Hydrodynamics, Bioenergetics, Physiology and Ecology, (Jørgensen CB ed), Olsen & Olsen, Fredensborg. 1990; 55–57.
- 加賀新之助, 関口勝司, 吉田誠, 緒方武比古. 岩手県沿岸に出現する *Alexandrium* 属とその毒生産能. *日本水産学会誌* 2006; **72**: 1068–1076.
- Keafer BA, Churchill JH, McGillicuddy DJ, Anderson DM. Bloom development and transport of toxic *Alexandrium fundyense* populations within a coastal plume in the Gulf of Maine. *Deep-Sea Res II* 2005; **52**: 2674–2697.
- 工藤勲, Frolan A, 高田兵衛, 小林直人. オホーツク海沿岸域の海洋構造と生物生産. *沿岸海洋研究* 2011; **49**: 13–21.
- 木村稔, 嶋田宏, 三上加奈子. 給餌飼育で毒化したホタテガイの麻痺性貝毒組成の変化. 平成20年度東北ブロック水産業関係試験研究推進会議海区水産業部会・分科会報告書. 2009; 26–27.
- Kosaka Y, Ito H. Chapter 22 Japan. In: *Scallops: Biology, Ecology and Aquaculture*, (Shumway SE, Parsons GJ eds), Elsevier, Amsterdam. 2006; 1093–1141.
- 蔵田護, 干川裕, 西浜雄二. サロマ湖における垂下養成ホタテガイの摂餌量. *北水試研報* 1991; **37**: 37–57.
- 黒田寛, 戸谷夕子, 和川拓, 桑田晃, 瀬藤聡. 北海道周辺高解像度海洋モデルの構築—オホーツク海が太平洋の低次生態系に与える影響評価に向けて—. *低温科学* 2016; **74**: 115–125.
- Lewis NI, Xu W, Jericho SK, Kreuzer HJ, Jericho MH, Cembella AD. Swimming speed of three species of *Alexandrium* (Dinophyceae) as determined by digital

- in-line holography. *Phycologia* 2006; **45**: 61–70.
- Li Y, He R, McGillicuddy DJ, Anderson DM, Keafer BA. Investigation of the 2006 *Alexandrium fundyense* bloom in the Gulf of Maine: in situ observations and numerical modeling. *Cont Shelf Res* 2009; **29**: 2069–2082.
- Lu YT, Blake NJ. Clearance and ingestion rates of *Isochrysis galbana* by larval and juvenile bay scallops, *Argopecten irradians concentricus* (Say). *J Shellfish Res* 1997; **18**: 419–423.
- McGillicuddy DJ, Anderson DM, Lynch DR, Townsend DW. Mechanisms regulating large-scale seasonal fluctuations in *Alexandrium fundyense* populations in the Gulf of Maine: results from a physical-biological model. *Deep-Sea Res II* 2005; **52**: 2698–2714.
- McGillicuddy DJ, Signell RP, Stock CA, Keafer BA, Keller MD, Hetland RD, Anderson DM. A mechanism for offshore initiation of harmful algal blooms in the coastal Gulf of Maine. *J Plankton Res* 2003; **25**: 1131–1138.
- MacIntyre JG, Cullen JJ, Cembella AD. Vertical migration, nutrition and toxicity in the dinoflagellate *Alexandrium tamarense*. *Mar Ecol Prog Ser* 1997; **148**: 201–216.
- Mitsudera H, Uchimoto K, Nakamura T. Rotating Stratified Barotropic Flow over Topography: Mechanisms of the cold belt formation off the Soya Warm Current along the northeastern coast of Hokkaido. *J Phys Oceanogr* 2011; **41**: 2120–2136.
- Miyazono A, Nagai S, Kudo I, Tanizawa K. Viability of *Alexandrium tamarense* cysts in the sediment of Funka Bay, Hokkaido, Japan: Over a hundred year survival times for cysts. *Harmful Algae* 2012; **16**: 81–88.
- 宮園章. 北海道、噴火湾における麻痺性貝毒原因プランクトン *Alexandrium tamarense* の生理生態学的研究 (学位論文). *北水試研報* 2015; **87**: 1–70.
- Mizuta G, Fukamachi Y, Ohshima KI. Structure and seasonal variability of the East Sakhalin Current. *J Phys Oceanogr* 2010; **33**: 2430–2445.
- Mogilnikova TA, Motylkova IV, Konvalova NV. Development of common toxic phytoplankton species and contents of phytotoxins in tissues of scallop *Mizuhopecten yessoensis* (Jay) in the coastal Sakhalin waters. *Trans SakhNIRO* 2007; **9**: 207–222 (in Russian).
- Mustapha MA, Saitoh S-I, T. Lihan T. Satellite-measured seasonal variations in primary production in the scallop-farming region of the Okhotsk Sea. *ICES J Mar Sci* 2009; **66**: doi: 10.1093/icesjms/fsp142.
- Nagai S, Lian C, Yamaguchi S, Hamaguchi M, Matsuyama Y, Itakura S, Shimada H, Kaga S, Yamauchi H, Sonda Y, Nishikawa T, Kim CH, Hogetsu T. Microsatellite markers reveal population genetic structure of the toxic dinoflagellate *Alexandrium tamarense* (Dinophyceae) in Japanese coastal waters. *J Phycol* 2007; **43**: 43–54.
- Nagai S. Development of a multiplex PCR assay for simultaneous detection of six *Alexandrium* species (Dinophyceae). *J Phycol* 2011; **43**: 703–708.
- Nagai S. Species-specific detection of six *Alexandrium tamarense* species from single vegetative cells by a loop-mediated isothermal amplification method. *DNA Testing* 2013; **5**: 33–46.
- Nakata A, Tanaka I, Yagi H, Watanabe T, Kantakov GA, Samatov AD. Formation of high-density water (over 26.8 sigma-t) near the La Perouse Strait (the Soya Strait). *PICES Sci Rep* 1999; **12**: 145–147.
- 夏池真史, 金森誠, 馬場勝寿, 山口篤, 今井一郎. 噴火湾における球形シャットネラ *Chattonella globosa* の初報告. *北大水産彙報* 2012; **62**: 9–13.
- Natsuike M, Nagai S, Matsuno K, Saito R, Tsukazaki C, Yamaguchi A, Imai I. Abundance and distribution of toxic *Alexandrium tamarense* resting cysts in the sediments of the Chukchi Sea and the eastern Bering Sea. *Harmful Algae* 2013; **27**: 52–59.
- 夏池真史, 今井一郎. 4–5 *Alexandrium tamarense* species complex 北米クレードの北半球高緯度域における分布. 有害有毒プランクトンの科学 (今井一郎, 山口峰生, 松岡数充編), 恒星社厚生閣, 東京. 2016; 310–315.
- 西浜雄二. 第10章 貝の毒化. 噴火湾とホタテガイ養殖. 噴火湾西部ほたて漁業総合対策協議会・噴火湾東部漁業振興対策協議会. 1982; 97–127.
- 西浜雄二. III. 貝毒プランクトンの生態学 5. 北海道, 貝毒プランクトン-生物学と生態学 (福代康夫編), 恒星社厚生閣, 東京. 1985; 47–58.
- Nishihama Y. Seasonal abundance of *Protogonyaulax* sp. causing paralytic shellfish poisoning in Funka Bay. In: Proceeding of North Pacific Aquaculture Symposium (Melteff BR, Neve RA eds). Alaska Sea Grant Publication, Anchorage. 1982; 319–327.
- Nishihama Y, Tada K, Miyazono A. Occurrence of toxic dinoflagellate, *Alexandrium tamarense*, in Lake Saroma. *Bull Plankton Soc Japan* 1993; **39**: 171–173.
- 西浜雄二. 第3章 オホーツクのホタテ漁業史. オホーツクのホタテ漁業, 北海道大学図書刊行会, 札幌. 1994a; 47–67.

- 西浜雄二. 第8章 貝毒. オホーツクのホタテ漁業, 北海道大学図書刊行会, 札幌. 1994b; 169–190.
- 西浜雄二. 1–2 その他海域. 北海道沿岸における貝毒の研究(貝毒プロジェクト報告書), 北海道立水産試験場技術資料, 余市. 2000; 31–36.
- Noguchi T, Asakawa M, Arakawa O, Fukuyo Y, Nishio S, Tanno K, Hashimoto K. First occurrence of *Alexandrium catenella* in Funka Bay, Hokkaido, along with its unique toxin composition. In: Toxic Marine Phytoplankton (Graneli E, Sundstrom B, Edler L, Anderson DM eds), Elsevier Science Publishing, New York, 1990; 493–498.
- 野口玉雄. マリントキシンの(総説). 日本水産学会誌 2003; 69: 895–909.
- Ogata T, Ishimaru T, Kodama M. Effect of water temperature and light intensity on growth rate and toxicity change in *Protogonyaulax tamarensis*. *Mar Biol* 1987; 95: 217–220.
- Ogata T, Koike K, Nomura S, Kodama S. Utilization of organic substances for growth and toxin production by *Alexandrium tamarensis*. In: Yasumoto T, Oshima Y, Fukuyo Y (eds) Harmful and Toxic Algal Blooms. UNESCO, Sendai, 1996; 343–346.
- Oguma S, Ono T, Watanabe YW, Kasai H, Watanabe S, Nomura D, Mitsudera H. Flux of low salinity water from Aniva Bay (Sakhalin Island) to the southern Okhotsk Sea. *Est Coast Shelf Sci* 2011; 91: 24–32.
- 大谷清隆, 木戸和男. 噴火湾の海洋構造. 北大水産彙報 1980; 31: 84–114.
- Onitsuka G, Miyahara K, Hirose N, Watanabe S, Semura H, Hori R, Nishikawa T, Miyaji K, Yamaguchi M. Large-scale transport of *Cochlodinium polykrikoides* blooms by the Tsushima Warm Current in the southwest Sea of Japan. *Harmful Algae* 2010; 9: 390–397.
- Orlova TY, Kononova GV, Stonik IV, Selina MS, Morozova TV, Shevchenko OG. Harmful algal blooms on the eastern coast of Russia. *PICES Scientific Report* 2002; 23: 47–73.
- Orlova TY, Selina MS, Lilly EL, Kulis DM, Anderson DM. Morphogenetic and toxin composition variability of *Alexandrium tamarensis* (Dinophyceae) from the east coast of Russia. *Phycologia* 2007; 46: 534–548.
- Oshima KI, Wakatsuchi M. A numerical study of barotropic instability associated with the Soya Warm Current in the Sea of Okhotsk. *J Phys Oceanogr* 1990; 20: 570–584.
- Oshima Y. Post-Column derivatization HPLC methods for Paralytic Shellfish Poisons. In: Manual on Harmful Marine Microalgae, (Hallegraeff G, Anderson DM, Cembella AD eds), UNESCO, Paris. 1995; 81–94.
- Perez CC, Roy S, Levasseur M, Anderson DM. Control of germination of *Alexandrium tamarensis* (Dinophyceae) cysts from the lower St. Lawrence estuary (Canada). *J Phycol* 1998; 34: 242–249.
- Reine WFP. Report of the Nomenclature Committee for Algae: 15. *Taxon* 2017; 66: 191–192.
- Sako Y, Kim CH, Ninomiya H, Adachi M, Ishida Y. Isozyme and cross analysis of mating populations in the *Alexandrium catenella / tamarensis* species complex. In: Toxic Marine Phytoplankton (Graneli E, Sundstrom B, Edler L, Anderson DM eds), Elsevier Science Publishing, New York, 1990; 320–323.
- Shimada H, Mizushima T, Hayashi T. Spatial distribution of *Alexandrium tamarensis* in Funka Bay, southwestern Hokkaido, Japan. In: Harmful and Toxic Algal Blooms (Yasumoto, T., Y. Oshima Y, Fukuyo Y eds), Intergovernmental Oceanographic Commission of UNESCO, Sendai, 1996; 219–221.
- 嶋田宏. 噴火湾における植物プランクトン組成の季節変化. 沿岸海洋研究 2000a; 38: 15–22.
- 嶋田宏. 1–1 噴火湾. 北海道沿岸における貝毒の研究(貝毒プロジェクト報告書), 北海道立水産試験場技術資料, 余市. 2000b, 11–30.
- 嶋田宏, 西田芳則, 伊藤義三, 水島敏博. 噴火湾八雲沿岸における養殖ホタテガイの成長, 生残と漁場環境要因の関係. 北水試研報 2000; 58: 49–62.
- Shimada H, Miyazono A. Horizontal distribution of toxic *Alexandrium* spp. (Dinophyceae) resting cysts around Hokkaido, Japan. *Plankton Biol Ecol* 2005; 52: 76–84.
- 嶋田宏, 馬場勝寿, 菅原理恵子, 宮園章, 清川進, 品田晃良. 北海道沿岸の麻痺性貝毒プランクトン出現カレンダー – 2005および2006年の拡大調査結果から – . 北水試だより 2007; 74: 18–22.
- 嶋田宏, 澤田真由美, 栗林貴範, 中多章文, 宮園章, 浅見大樹. 夏季北海道沖オホーツク海における有毒渦鞭毛藻 *Alexandrium tamarensis* の現存量の経年変動要因. 平成21年度日本水産学会春季大会講演要旨集. 2009; 250.
- Shimada H, Sawada M, Kuribayashi T, Nakata A, Miyazono A, Asami H. Spatial distribution of the toxic dinoflagellate *Alexandrium tamarensis* in summer in the Okhotsk Sea off Hokkaido, Japan. *Plankton Benthos Res* 2010; 5:

- 1–10.
- Shimada H, Motylkova IV, Mogilnikova TA, Mikami K, Kimura M. Toxin profile of *Alexandrium tamarense* (Dinophyceae) from Hokkaido, northern Japan and southern Sakhalin, eastern Russia. *Plankton Benthos Res* 2011; **6**: 35–41.
- Shimada H, Sawada M, Tanaka I, Asami H, Fukamachi Y. A method for predicting the occurrence of paralytic shellfish poisoning along the coast of Hokkaido in the Okhotsk Sea in summer. *Fish Sci* 2012; **78**: 865–877.
- 嶋田宏, 坂口健司, 森泰雄, 渡野邊雅道, 板谷和彦, 浅見大樹. 北海道周辺4海域(道東・道南太平洋, 北部日本海および南部オホーツク海)における動物プランクトンバイオマスおよび種組成の季節変化と年変動. *日本プランクトン学会報* 2012; **59**: 63–81.
- 嶋田宏, 澤田真由美, 浅見大樹, 田中伊織, 深町康. 4–4 北海道オホーツク海沿岸における有毒渦鞭毛藻 *Alexandrium tamarense* の出現予察. 有害有毒プランクトンの科学 (今井一郎, 山口峰生, 松岡數充編), 恒星社厚生閣, 東京. 2016; 299–309.
- Shimada H, Sakamoto S, Yamaguchi M, Imai I. First record of two warm-water HAB species *Chattonella marina* (Raphidophyceae) and *Cochlodinium polykrikoides* (Dinophyceae) on the west coast of Hokkaido, northern Japan in summer 2014. *Regional Studies in Marine Science* 2016; **7**: 111–117.
- 嶋田宏. 北海道周辺海域における植物・動物プランクトンの変動. *水産海洋研究* 2016; **80**: 155–156.
- 嶋田宏, 金森誠, 吉田秀嗣, 今井一郎. 2015年秋季北海道函館湾における渦鞭毛藻 *Karenia mikimotoi* による有害赤潮の初記録. *日本水産学会誌* 2016; **82**: 934–938.
- Shimodaira H. An approximately unbiased test of phylogenetic tree selection. *Syst Biol* 2002; **51**: 492–508.
- Stock CA, McGillicuddy Jr DJ, Solow AR, Anderson DM. Evaluating hypotheses for the initiation and development of *Alexandrium fundyense* blooms in the western Gulf of Maine using a coupled physical–biological model. *Deep-Sea Res II*. 2005; **52**: 2715–2744.
- 田中伊織. 北海道西岸における20世紀の沿岸水温およびニシン漁獲量の変遷. *北水試研報* 2002; **62**: 41–55.
- 田中伊織, 中多章文, 宮園章. 北海道の海. 新北のさかなたち (水島敏博, 鳥澤雅監修, 上田吉幸, 前田圭司, 嶋田宏, 鷹見達也編), 北海道新聞社, 札幌. 2003; 440–445.
- 牛久保宏. LAMP法の原理 – 遺伝子の簡易・迅速な増幅法 –. *ウイルス* 2004; **54**: 107–112.
- Yamaguchi M, Itakura S, Imai I, Ishida Y. A rapid and precise technique for enumeration of resting cysts of *Alexandrium* spp. (Dinophyceae) in natural sediments. *Phycologia* 1995; **34**: 207–214.
- Yamaguchi M, Itakura S, Nagasaki K, Imai I. Distribution and abundance of resting cysts of the toxic dinoflagellates *Alexandrium tamarense* and *A. catenella* in sediments of the eastern Seto Inland Sea. In: Harmful and Toxic Algal Blooms (Yasumoto, T., Y. Oshima Y, Fukuyo Y eds), Intergovernmental Oceanographic Commission of UNESCO, Sendai, 1996; 177–180.
- Yamaguchi, M, Itakura S, Nagasaki K, Kotani Y. Distribution and abundance of resting cysts of the toxic *Alexandrium* spp. (Dinophyceae) in sediments of the western Seto Inland Sea, Japan. *Fish Sci* 2002; **68**: 1012–1019.
- Yamamoto T, Tarutani K. Growth and phosphate uptake kinetics of the toxic dinoflagellate *Alexandrium tamarense* from Hiroshima Bay in the Seto Inland Sea, Japan. *Phycol Res* 1999; **47**: 27–32.
- 吉松定昭. 瀬戸内海における赤潮生物特に渦鞭毛藻類 *Alexandrium* 属2種, ラフィド藻類3種の生活史に関する研究. *香川県赤潮研究所研究報告* 1992; **4**: 1–90.
- 全国水産試験場長会, 水産総合研究センター. 調査船を用いた水産海洋調査の必要性和近年の問題点. 2009; 1–4.