

2003 年度 実験結果報告書

珪藻プランクトンとホルマリンの結合物が アコヤガイに及ぼす影響実験

天 草 の 海 からホルマリンをなくす会
事 務 局 長 松 本 基 督

2 0 0 4 年 4 月

1. はじめに：

‘60年代後半から‘70年代初頭にかけて「獲る漁業から作り育てる漁業へ」を合言葉に沿岸域の栽培漁業が推奨され、魚類養殖業などが急成長した。

その中でハマチ・タイなど魚種が飼育対象として中心的な存在であったが、①. エサとしてのマイワシの漁獲量の激減による餌料価格の暴騰、②. 生産過剰による魚価の暴落などの理由でトラフグやヒラメなどいわゆる高級魚の養殖生産量が‘90年代ころから急激に拡大した。

トラフグやヒラメの養殖は寄生虫などによる疾病が多く難しいとされていたが、寄生虫駆除に安価で高い効果を発揮する「ホルマリン」を用いた消毒法が広まり、格段に歩留りが高まった。

ホルマリンはホルムアルデヒドの40%水溶液にメタノールを添加したもので、防腐・消毒剤、合成樹脂原料として用いられ、毒物・劇物取締法で劇物に指定されている。

その主成分ホルムアルデヒドは発ガン性が指摘され、「シックハウス症候群」や「化学物質過敏症」を引き起こすことで知られる大変危険な化学物質である。

その消毒法はシートで覆ったイケスに海水で希釈したホルマリンを注ぎ濃度1000ppm程度に調整し、その中で魚を一定時間泳がせて寄生虫を死滅させる「薬浴」が一般的だ。薬浴後のホルマリンはそのまま海に流される。

‘96年に真珠養殖用アコヤガイの全国的な大量死が発生し、その原因究明過程で養殖魚のホルマリン大量使用が発覚した。劇物に指定されている有害物質を食料生産に用いること、使用後に有害物質をそのまま垂れ流すことによる漁場環境への影響などの観点から繰り返しその不正使用が批判され、報道されたが、担当庁である水産庁の不作為的な対応のせいもあって養殖現場における改善はほとんど進まなかった。

‘03年4月、日本一の養殖トラフグ生産県・長崎において県内の過半数のトラフグ養殖業者がホルマリンを使用していたという衝撃的なニュースが全国を駆け巡った。

しかし、問題の影響を最小限にとどめたいとする養殖業界や水産庁・各県の水産部署は過去のホルマリン使用実態の把握、大量使用されてきた海域の受けてきた影響など本質的な問題の解明と事態の改善のすべてを闇に葬り去るような対応に終始した。

つまり、海水やホルマリンを使用したトラフグなどのホルムアルデヒド残留調査を行ない、その分析結果が検出限界未満、あるいは極めて低濃度ということだけを根拠に「食品として安全」として出荷を容認してしまったのだ。

ホルムアルデヒドはタンパク質と強く結合するため、魚の表皮、エラなどに直接接触した、あるいは魚肉に移行したホルムアルデヒドがタンパク質と結合した場合、通常の測定法では検出されない可能性が考えられる。

海水とホルマリンを反応させても速やかに検出されなくなることが確認されている。

このようなことを確認することなく、単にホルマリン使用履歴のある飼育魚からホルムアルデヒドが検出されないことだけを理由に、しかも漁場の水生生物への影響なども一切調査することなく、安全としてしまったのは乱暴としか言いようのない対応である。

2. 実験目的：

アコヤガイのエサである珪藻プランクトンを用いてホルマリンと結合させ、ホルムアルデヒドを除去した上でその結合物をアコヤガイに摂取させてその影響を調べる。
また、トラフグ養殖におけるホルマリン大量使用問題についてホルムアルデヒドさえ検出されなければホルマリンを使用して飼育した養殖魚でも食品安全上問題はなく、環境に及ぼす影響も軽微であるとしてきた水産庁や関係県の対応を検証する。

3. 使用器具、使用薬品

《使用機器・器具類》

1. 遠心分離機：国産 H-100B2 6000RPM 100V 4.5A 250W 50～60Hz
2. 遠沈管用天秤
3. 顕微鏡：OLYMPUS Model: CHT
4. 水質/土壌/食品 分析計：HACH 社(アメリカ)Model:DR-2000 (分光光度計)
5. 電子天秤：OHAUS 社(スイス) Model: LS200 (最大秤量 200g 最小表示 0.1g)
6. 水中ポンプ：GEX 社 Model: WISE PH470 100V 4.2W 吐出量：約 7.2ℓ/分
(エアレーション機能付き)
7. 水中ポンプ：STARPET 社 Model: S-250 EDENIC MINI 100V 4W 吐出量：約 4ℓ/分
8. サーモ&ヒーター：KOTOBUKI 社 セーフティパワーセット 200W
パワーサーモ ET-30 定格消費電力：2W 制御範囲：約 18～34℃ センサー精度：±0.5℃
ヒーター 定格消費電力：200W
9. ガラス器具乾燥機：ZOJIRUSHI「クリアドライ」EY-FA50 (食器乾燥機) 100V 250W
10. ウォーターバス：Masuda BH-12
11. マグネティック・スティーラー：ISUZU SEISAKUSHO
12. 温度コントローラー：Berlin-Steglitz (ドイツ) TP32
13. 吸引装置：東京理科機械 (株) ASPIRATOR A-3S EYELA
14. 水槽 (大)：596 (L) × 292 (W) × 355 (H) (約 60ℓ) 6 個
15. 水槽 (小)：398 (L) × 254 (W) × 280 (H) (約 27ℓ) 2 個
16. 平台スタンド：ヤマナカ 6 台
17. ムッフ：ヤマナカ 10 個
18. クランプ：ヤマナカ 10 個
19. 温度計：5 本 (0～50℃)
20. 電気スタンド：National SQ934B
21. エアレーションポンプ：NISSO CHIKARA α 600A 100V 1.2W 2 台
22. マイクロピペット：NICHIRYO MODEL5000 (200～1000 μℓ) 1 個
23. マイクロピペット：NICHIRYO MODEL5000 (40～200 μℓ) 1 個
24. マクロピペット：SHIBATA-NICHIRYO MODEL5000 (5mℓ) 1 個

- 25. 駒込ピペット：IWAKI 5mℓ 10 本
- 26. 三角フラスコ：500mℓ（フタなし） 10 個 500mℓ（フタ付） 3 個
- 27. 水タンク：アイビーム アクアプール 20ℓ 10 個
- 28. 栓付メスシリンダー：50mℓ 6 個
- 29. メスフラスコ：100mℓ 8 個 500mℓ 2 個
- 30. ビーカー：100mℓ 3 個 200mℓ 1 個
- 31. コニカルビーカー：200mℓ 3 個
- 32. 試験管：フタ付 20 本
- 33. ドライヤー：National EH5603 100V 1200W

《使用薬品》

- 1. 精製水：和光純薬
- 2. ホルマリン：和光純薬 試薬特級 ホルムアルデヒド 37% メタノール 8%
- 3. ホルムアルデヒド測定試薬：ホルムアルデヒド-テストワコー 和光純薬
- 4. 人工海水：(株) ニッソー 「パーフェクト・マリン」

4. 実験方法：

概要：アコヤガイの種苗生産用餌料として広く用いられ、一般海域においてもごく普通に存在し水産生物生産の底辺を担っている珪藻プランクトンの 1 種、キートセロス・グラシリスをホルマリンと結合させて、それをアコヤガイに投与してその影響を調べる。

《予備実験》：アコヤガイに摂取させる珪藻プランクトンはアコヤガイの種苗生産用餌料として広く用いられるキートセロス・グラシリスを使用する。

「アコヤガイ大量斃死原因究明に関する水産庁研究所研究成果報告書」（1998 年 3 月）には「ホルムアルデヒド濃度 5ppm（ホルマリンとして 13.5ppm）にて増殖しない、または死滅した」との結果が報告されている。

また、熊本県水産研究センターの実験ではホルマリンとして 10ppm で対照区の 44%の増殖率となっている。（1996 年 11 月）

なお、ホルマリンが大量に流されてきた海域において晩夏～冬にかけて海が白っぽく濁る現象が各地で報告されてきたが、今回委託研究をお願いした旭川医科大学の吉田先生によって一定濃度のホルマリンをキートセロスに添加して一定時間経過後（54 時間後）に白濁現象が確認された。

そこでアコヤガイ種苗生産の代表的餌料であるキートセロスとモノクリシスを用いて、ホルマリンとして 0、100、300、1000ppm を添加してその後の様子を観察する。

《キートセロスの培養》

熊本県天草郡河浦町にある九州真珠（有）の種苗施設より大量培養（200～300万細胞/ℓ）したキートセロスを分けていただき、それを240cc、ろ過海水4ℓ、プランクトン大量培養用混合液4cc、ケイ酸ナトリウム4ccの割合で梅酒用の広口ビンに入れ、水槽（小—27ℓ）に水を入れサーモ&ヒータをセットして22℃に保ち、電気スタンド（20W）を10～15cmの距離から照射して大量培養を行なった。（照度は測定せず）
攪拌・通気のためエアレーションも行なった。

《アコヤガイの飼育実験》

2002年6月に高知県にて天然採苗され、同年9月に天草郡倉岳町棚底湾に運搬され、同湾にて飼育された2年生アコヤガイ母貝（約38g）10個を60ℓ水槽（大）にて飼育する。入れる前に付着物を貝ソウジ出刃とタワシできれいに落として、総重量を測定する。

使用海水は九州真珠の種苗施設の膜ろ過装置にてろ過されたろ過海水。

これを60ℓ程度入れて、サーモ&ヒータをセットして22℃に保つ。保温効果を上げるために3面に保温マットを張り、海水の気化を防ぐためフタをする。水槽内の温度を均一に保つため、また、酸素供給のために、小型の水中ポンプとエアレーションポンプが一体となったポンプを使用する。

飼育期間は2003年12月7日～2004年1月6日の30日間。

餌料投与は12月11日～24日の14日間。

エサは大量培養したキートセロスを3群に分け、大①水槽：無処理群、大②水槽：熱処理群、大③水槽：ホルマリン処理群とした。

フンなどの排出物は毎日灯油用ポンプで吸い取り、4～6日おきに全換水を行なった。エサの処理方法は以下の通り。

大①水槽：無処理群＝大量培養したキートセロス500ccをそのまま水槽に投与。

大②水槽：熱処理群＝大量培養したキートセロス500ccをウォーターバスにて60℃で60分間加熱して、熱を冷ましてから水槽に投与。（熱処理群は死んだエサを摂取したときの影響を念のために調べる目的で設けた。）

大③水槽：ホルマリン処理群＝大量培養したキートセロス500ccにホルマリン0.15ccをマイクロピペットで採り、ホルマリン濃度約300ppmとして22℃で6日間置いたものを遠心分離にかけ（3500～4000rpmで10～15分間）、上澄みを吸引装置で吸い取ることでホルマリン成分が残留する溶液を除去し、ろ過海水を加えて100ccとして水槽に投与する。遠心分離前と投与前の溶液のホルマリン濃度を測定する。

ホルマリン濃度を300ppm、作成から遠心分離・エサ投与迄の期間を6日間とした理由は11月に行なった予備実験において300、1000ppmに設定したものが54～96時間後に白濁したことを受けてである。

なお、この白濁はホルマリンが大量に流されてきた海域において晩夏～冬にかけて観察される白っぽい海の色の一因とも考えられる。

《ホルマリン濃度の分析》

水質/土壌/食品の分析計であるハック社の DR-2000 を分光光度計として使い、試薬としてホルムアルデヒド・ワコーを用いてホルマリン濃度を測定する。(別紙：ホルムアルデヒド・ワコーの分析試薬に添付の説明書参照)
ホルマリン濃度の測定は大③水槽にて飼育する貝に与えるホルマリン処理群のエサの溶液について行なう。①キートセロスに入れたホルマリン濃度を作成当日、②作成から 6 日後の遠心分離前、③遠心分離してホルマリン成分を吸引・除去してエサとして投与する前について測定する。
濃度が濃い場合は精製水にて 10 倍、100 倍に希釈して行なう。

《組織像観察》

餌料投与の終了後、大①水槽：無処理群、大②水槽：熱処理群、大③水槽：ホルマリン処理群のエサを与えた 3 群、10 個ずつの貝からそれぞれ 3 個ずつを剥いて①全重量、②殻重量、③肉重量を測定した後、外套膜と中腸腺を固定して、切片標本作成を依頼して病理組織像を観察し、エサによる生体への影響を検討する。

固定方法は第 1 次固定液＝20%ホルマリン液（80%ろ過海水）2 日後に同じ固定液に入れ替え、さらにその 2 日後に第 2 次固定液＝エタノール 70%（精製水 30%）に入れ替えて保管。

《白濁確認実験》

精製水、ろ過海水、キートセロス入ろ過海水の 3 種類の液体にホルマリン濃度 300ppm になるように調整して、22℃、25℃、26℃と温度条件を変えて保温して、白濁やゲル状物質の生成について観察を行なった。

5. 実験結果

【予備実験①観察記録】

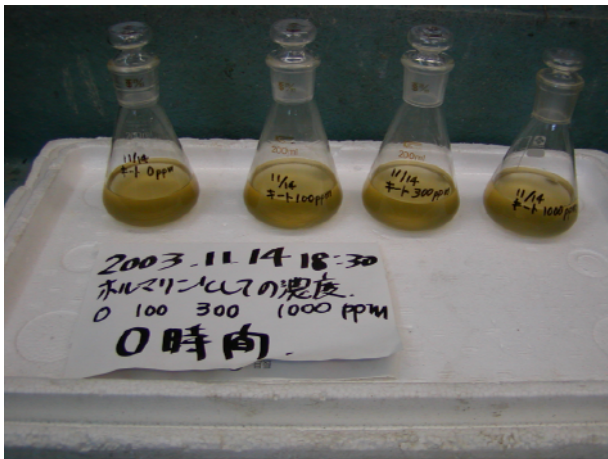
- 11 月 14 日：天草郡河浦町の九州真珠・分室よりキートセロスとモノクリシスを分けていただき、実験場所として借りることにしていた倉岳町・豊玉真珠に実験用の機材や薬品を運搬し、「白濁確認実験」を開始。
ホルマリンとして 0、100、300、1000ppm を添加、その後の変化を確認した。
- 11 月 15 日：キートとモノクリ攪拌。色は白濁していないが、300、1000ppm がややにごった感じ。
- 11 月 16 日：キート：100ppm 沈殿。300ppm うすい白っぽい緑色。1000ppm⇒白濁！
モノクリ：100～1000ppm 白濁はなく、死んで沈殿している。
- 11 月 17 日：キート：100ppm 沈殿。300ppm うすい白っぽい緑色。1000ppm⇒白濁！
顕微鏡で見ると全くばらばらではないが、細胞壁が破壊されている。
（鞭毛は残っている）緑色の色素は残っている。
モノクリ：100～1000ppm 白濁はなく、死んで沈殿している。
顕微鏡で見ると細胞壁の崩れなし。

- 11 月 19 日：キート：100ppm 沈殿、色淡くなる。300ppm・1000ppm とも白濁！
100ppm を顕微鏡で見ると細胞壁が破壊されているものといないものが混在。
モノクリ：100～1000ppm 白濁はなく、死んで沈殿している。上澄みはより透明に。
- 11 月 22 日：キート：100ppm 沈殿、色淡くなる。300ppm・1000ppm とも上澄み透明に。
(沈殿は白濁)⇒数週間後にゲル状物質生成！
モノクリ：1000ppm はより色淡くなる。
予備実験①はこれにて終了。予備実験①は攪拌した後に写真撮影を行なった。

【予備実験②観察記録】

- 11 月 22 日：再度、キートセロスとモノクリシスをいただき、「白濁確認実験②」を開始。
ホルマリンとして 0、100、300、1000ppm を添加、その後の変化を確認することとする。
キート：もともと運動性なく、ホルマリンで死んだのが分かりづらいが、1000ppm ではすでに添加当日から細胞壁が崩れ始めている。
(これがひどく、かつ多くなると白濁？)
モノクリ：1000ppm では回転しながら泳いでいるものがすぐに死んで動かなくなる。
- 11 月 23 日：キートは 300、1000ppm が 24 時間後に茶色から緑色っぽく変色。顕微鏡で見ると、1000ppm は細胞壁が少しだけ「パリン」と割れた感じ。これが変色して見える原因か。
一方、モノクリは 100、300、1000ppm それぞれ沈んでいるが、色は 0 ppm のものと変わらず死んでいるが細胞壁は割れていない。モノクリのほうがアコヤガイ幼生の初期餌料として細胞壁が柔らかく（薄く？）適していると聞いていたが、ホルマリン添加による細胞壁はむしろキートより壊れにくかった。
- 11 月 24 日：キートは 300、1000ppm が 48 時間後の本日、色は緑色のままだが細胞壁はかなり砕けてきている。
モノクリは 100、300、1000ppm とも沈殿しているが、白濁や変色はない。
キート、モノクリ両方の 100ppm の分を 100 倍希釈してパックテスト行い、ホルムアルデヒド濃度で 0.3ppm 程度の値を示す。
- 11 月 25 日：写真撮影～顕微鏡観察。キートの 1000ppm は細胞壁が砕けてかなりばらばらになった。300、1000ppm の緑色がかなり白っぽく濁ってくる。
- 11 月 26 日：キートは 300、1000ppm が明らかに白濁。1000ppm は細胞壁が砕けてばらばらになったものと、「パリン」と割れただけのものが混在していた。
- 11 月 27 日：キートは 300、1000ppm が明らかに白濁。1000ppm は昨日同様、細胞壁が砕けてばらばらになったものと、「パリン」と割れただけのものが混在していた。
- 11 月 29 日：キートの 300、1000ppm はそのまま白濁。⇒ **数週間後にゲル状物質生成！**
予備実験②はこれにて終了。予備実験①は写真撮影前に攪拌したが、予備実験②では攪拌前に写真撮影を行なった。

【予備実験①写真】



キートセロスにホルマリン添加 (0 時間)



キートセロスにホルマリン添加 (47 時間)
300, 1000ppm が白濁



モノクリシスにホルマリン添加 (0 時間)

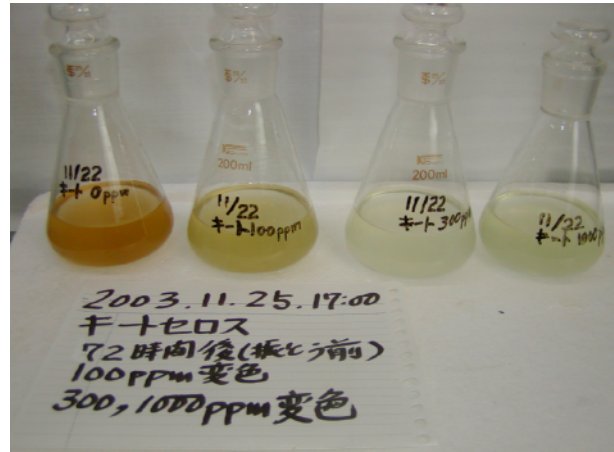


モノクリシスにホルマリン添加 (46 時間)
白濁はない

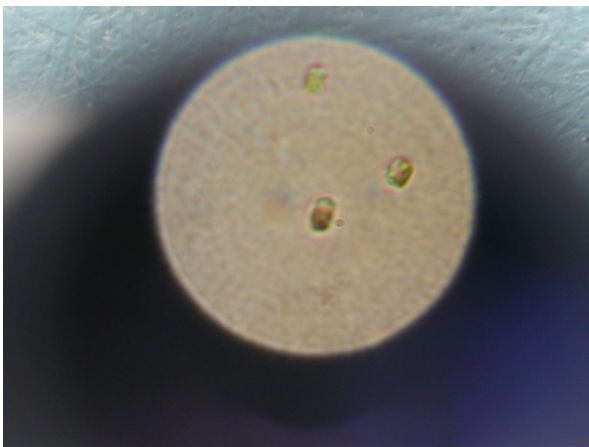
【予備実験②写真】



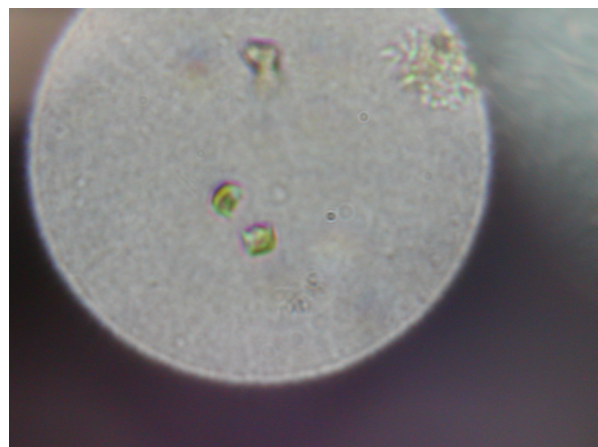
キートセロスにホルマリン添加（0 時間）



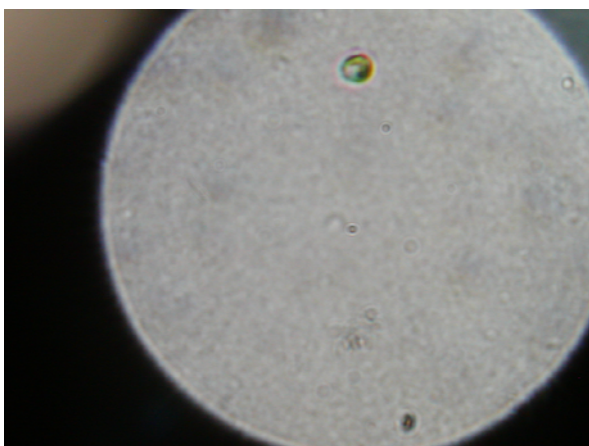
キートセロスにホルマリン添加（72 時間）
300, 1000ppm が白濁



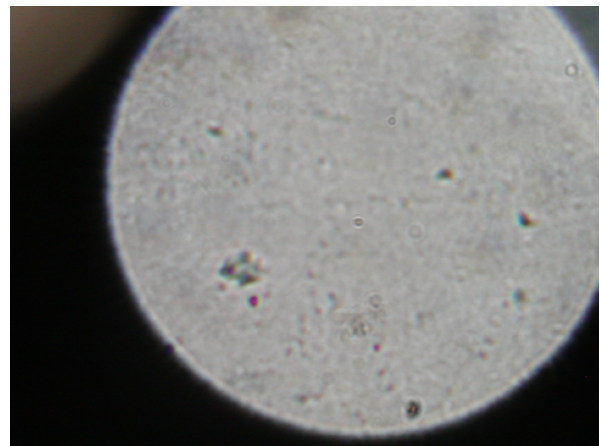
キートセロスー0ppm 0 時間



キートセロスー1000ppm 0 時間



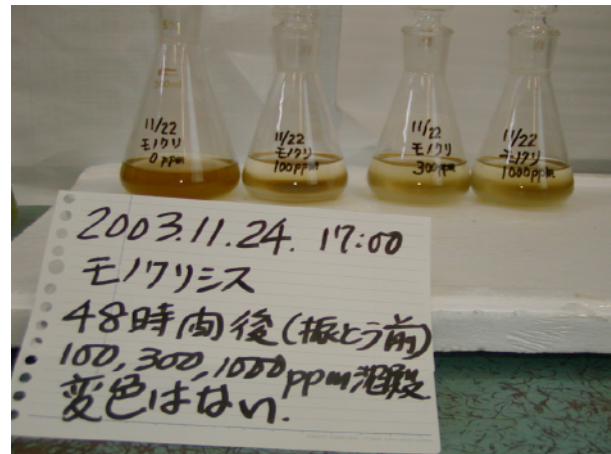
キートセロスー0ppm 72 時間後



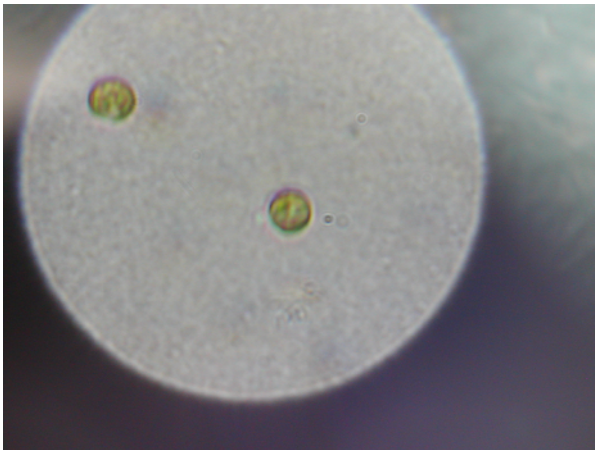
キートセロスー1000ppm 72 時間後
砕け散った細胞片しか見えない



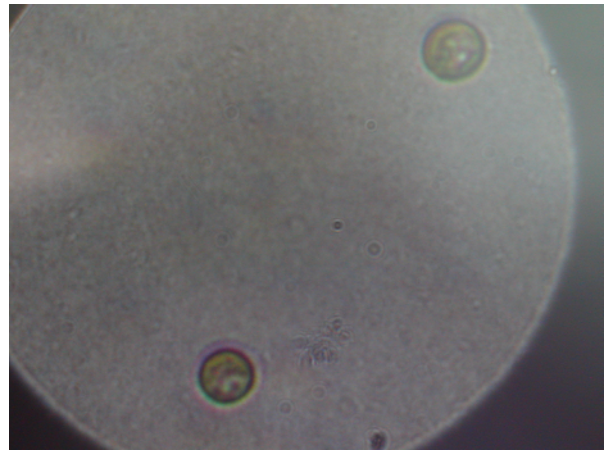
モノクリシスにホルマリン添加 (0 時間)



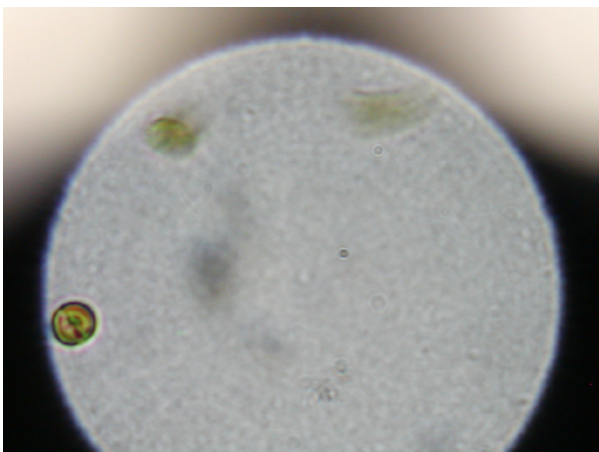
モノクリシスにホルマリン添加 (48 時間)
0ppm 以外は死滅して沈殿



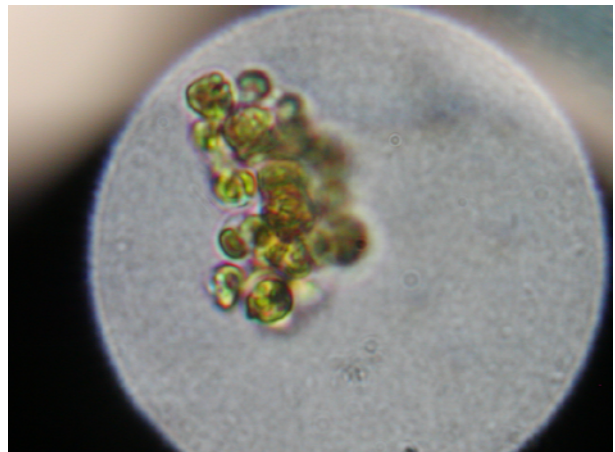
モノクリシスー0ppm 0 時間



モノクリシスー1000ppm 0 時間



モノクリシスー0ppm 48 時間



モノクリシスー1000ppm 48 時間
沈殿してかたまっている
細胞壁は破壊されず

《アコヤガイの飼育実験》

飼育期間：2003 年 12 月 7 日～2004 年 1 月 6 日の 30 日間。

餌料投与：2003 年 12 月 11 日～24 日の 14 日間。

《飼育期間中に観察したこと、気付いたこと》

- ◎ 大①の無処理群の貝が最も開口し、フンの量も多かった。(定量的な測定結果はなし)
- ◎ 11 月に室温にて行なった予備実験の際はキートセロスにホルマリン 300ppm を添加後 4～5 日後に真っ白に濁ったが、水温 22℃に保った今回の実験では白っぽい緑色となった。
- ◎ 大量培養した無処理のキートセロスは茶色っぽい色をしているが 60℃で 60 分加熱処理後は鮮やかな緑色になった。
- ◎ すべての群で斃死は 0。ハサキを延ばし、目視的には差は見られなかった。

2003 年 12 月 7 日 ホルマリン添加実験用アコヤガイ母貝重量測定(g)

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	平均
大①	30.2	34.9	33.6	37.9	40.6	35.8	38.8	45.2	45.0	37.0	37.90
大②	32.1	36.3	37.5	34.4	34.8	48.8	38.2	43.8	38.9	36.0	38.08
大③	30.0	37.2	37.3	37.8	40.5	36.1	38.7	38.0	43.4	43.7	38.27

大①：プランクトン無処理投与分 12 月 7 日の水温＝19.8℃

大②：プランクトン熱処理投与分 12 月 7 日の水温＝20.0℃

大③：プランクトンホルマリン処理投与分 12 月 7 日の水温＝20.2℃

水質チェッカーによる測定結果 (2003・12・18 11:30 測定)

	タンク① (無処理)	タンク② (熱処理)	タンク③ (ホルマリン処理)
pH	7.8	7.9	7.8
電気伝導度 (s/m) Cond	5.2	5.1	4.9
濁度 Turb	気泡で測定不能	気泡で測定不能	気泡で測定不能
溶存酸素 (mg/l) DO	7.4	7.2	6.9
水温 (℃) W. T.	21.7	21.8	21.9
塩分濃度 (%) SAL.	3.4	3.4	3.3
TDS (g/l)	31	31	30
比重 (σ T)	24	24	23
ORT (mV)	239	237	239

《組織像観察のためのサンプル採取および重量測定》

12月25日、12月7日から水槽で飼育していた3群の貝、同じロットでそのまま海で飼っていたものをそれぞれ3個ずつ剥いて外套膜と中腸腺（消化盲嚢）を固定。

3個×4口=12サンプル+3群のフン=15サンプルとなった。

貝肉の状態は目視的にはどれも変わらず。外套膜の立ち上がっており、健康な様子を示していた。ただ、大③ホルマリン処理群の中腸腺の色がややオレンジ色でおかしい？

（大③ホルマリン処理群に1個停止線あり。）

各個体の測定重量は次のとおり。

【海域垂下分】

貝 No	3	4	5	平均
全重量 (g)	41.7	35.9	30.7	36.1
殻重量 (g)	21.3	19.3	14.8	18.5
肉重量 (g)	14.1	15.0	7.5	12.2
肉重量/全重量×100 (%)	33.8	41.8	24.4	33.8

【無処理分】大①水槽

貝 No	3	4	5	平均	飼育開始時
全重量 (g)	34.1	38.6	41.2	38.0	37.4
殻重量 (g)	18.5	18.7	23.9	20.4	
肉重量 (g)	11.4	9.9	12.4	11.2	
肉重量/全重量×100 (%)	33.4	25.6	30.1	29.5	

【熱処理分】大②水槽

貝 No	3	4	5	平均	飼育開始時
全重量 (g)	38.3	36.4	36.7	37.1	35.6
殻重量 (g)	20.9	17.4	19.3	19.2	
肉重量 (g)	13.9	11.7	10.0	11.9	
肉重量/全重量×100 (%)	36.3	32.1	27.2	32.1	

【ホルマリン処理分】大③水槽

貝 No	3	4	5	平均	飼育開始時
全重量 (g)	36.0	38.8	42.4	39.1	38.5
殻重量 (g)	18.1	19.5	21.4	19.7	
肉重量 (g)	14.0	15.0	11.6	13.5	
肉重量/全重量×100 (%)	38.9	38.7	27.4	34.5	

【沖出し時、飼育開始時の貝重量】(g) 2004 年 1 月 6 日

貝 No	①+②	⑥+⑦	⑧～⑩	合計	平均	増加率
大①無処理分・沖出し時	70.0	77.6	132.9	280.5	40.1	5.1
大①無処理分・飼育開始時	65.1	74.6	127.2	266.9	38.1	
大②熱処理分・沖出し時	69.7	87.1	126.3	283.1	40.4	3.3
大②熱処理分・飼育開始時	68.4	87.0	118.7	274.1	39.2	
大③ホルマリン処理分・沖出し時	69.4	80.7	131.5	281.6	40.2	5.4
大③ホルマリン処理分・飼育開始時	67.2	74.8	125.1	267.1	38.2	

飼育開始時に比べて 3～5%の貝重量の増加が見られた。熱処理分がやや劣っているが、ホルマリン処理分は無処理分とほぼ同等の増加率を示した。

《病理組織像観察》

上記実験に供した各群 10 個のアコヤガイの内 3 個ずつを固定したが、その内①無処理群と②ホルマリン処理群の 2 個体ずつを「マリノリサーチ (株)」(三重県桑名市) に切片標本作成を依頼した。それを熊本保健科学大の高橋 徹教授に顕微鏡写真撮影と病理組織像の観察をお願いした。

その結果、「サンプル数が少ないのではっきりと断定はできないが、ホルマリン処理群のエサを食べさせたものでは中腸腺の消化管の内壁が崩れてきている。外套膜については、今回の範囲では特に差は見られない。もし、より長く飼育実験を行なえばより明確に差が出るかもしれないし、血液の酵素活性も調べるべきだろう」とのコメントをいただいた。

《白濁確認実験》

作成日：2003 年 12 月 27 日

精製水、ろ過海水、キートセロス入りろ過海水の 3 種類の液体にホルマリン濃度 300ppm になるように調整。(温度：22℃、25℃)

観察日：2004 年 1 月 7・8 日 (11・12 日目)

精製水、ろ過海水ではいずれの温度でも無色透明のままであった。

キートセロス入りろ過海水の 25℃では真っ白に濁り、22℃では白っぽい緑色であった。

保持温度で色が違って見えるのはなぜか？

顕微鏡観察では緑色に見える 22℃保持分はまだ細胞がかなり形を保っているように見えるのに対して真っ白に濁って見える 25℃保持分では細胞核は少々残っているもののバラバラに飛び散った細胞片の密度が高い。細胞片が乱反射して白く見えるのか？

作成日：2004 年 1 月 8 日

キートセロス入りろ過海水にホルマリン濃度 300ppm になるように調整。(温度：22℃、26℃)
22℃、26℃、いずれも白濁起こらず。

25℃に保ったものは白濁し、26℃ではそうならない。温度による微妙な何かが作用しているようだ。

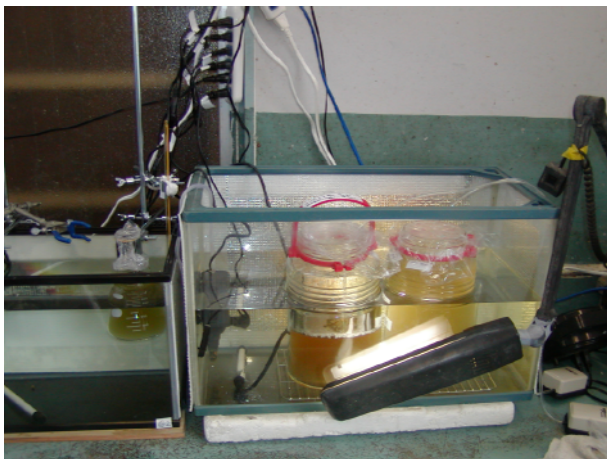
【アコヤガイ飼育実験写真】



飼育実験に用いたアコヤガイと同じもの



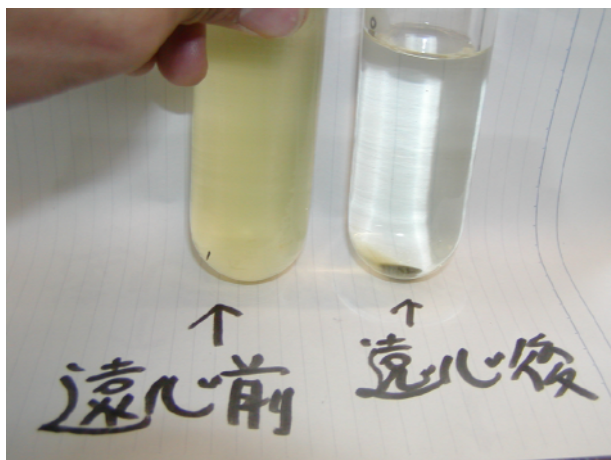
アコヤガイ飼育のようす
手前は熱処理中のキートセロス



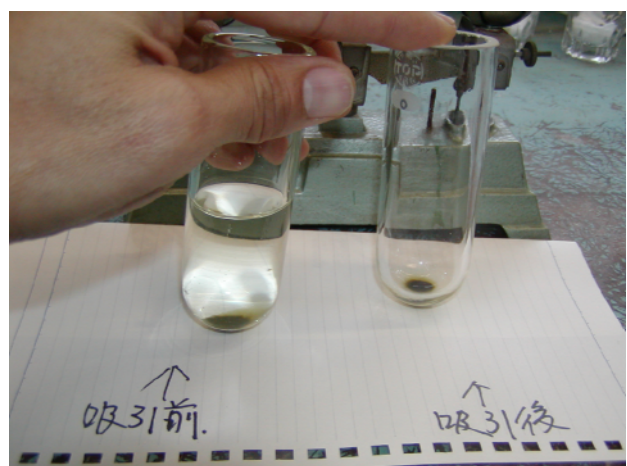
キートセロス大量培養のようす



①無処理、②熱処理、③ホルマリン処理を
したエサ（遠心分離前）

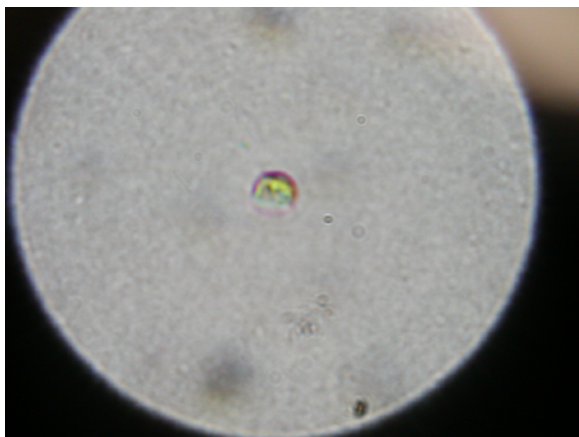


キートセロス遠心分離前後のようす

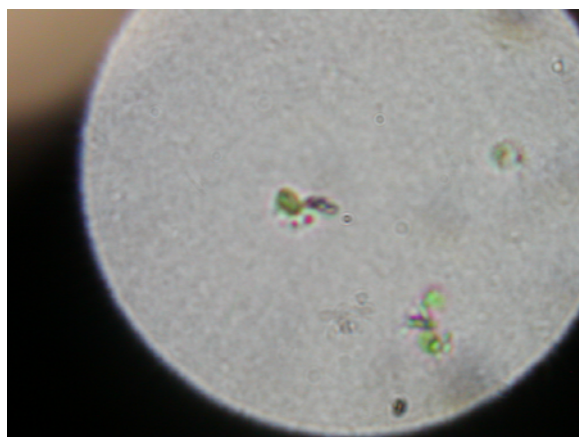


吸引装置にてホルマリン成分を除去

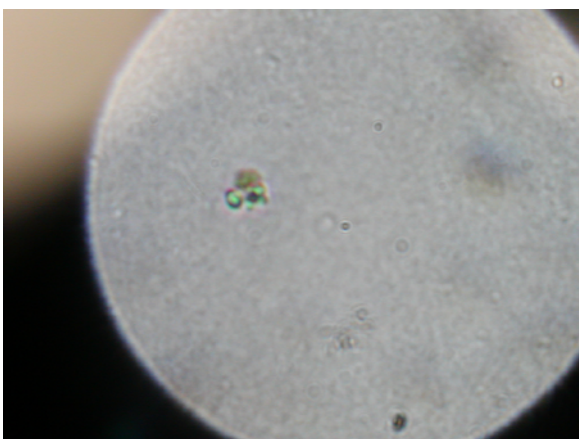
《キートセロス顕微鏡写真》



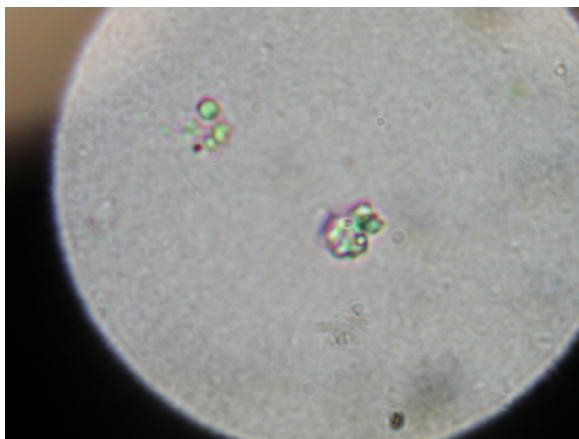
(無処理分－400 倍)



(熱処理分－400 倍)
細胞壁が砕けている



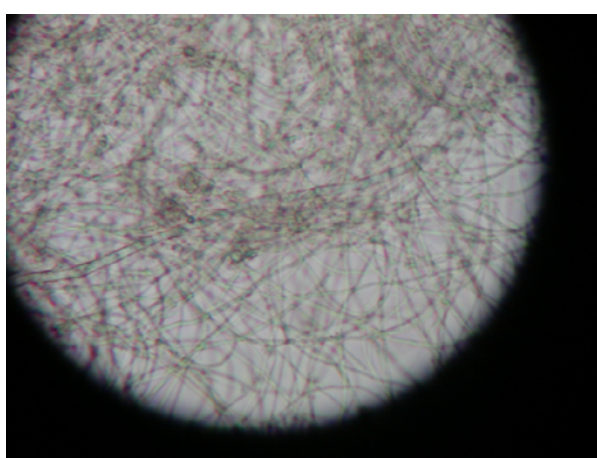
(ホルマリン処理・遠心分離前-400 倍)
細胞壁が砕けている



(ホルマリン処理・遠心分離後-400 倍)
細胞壁が砕けている

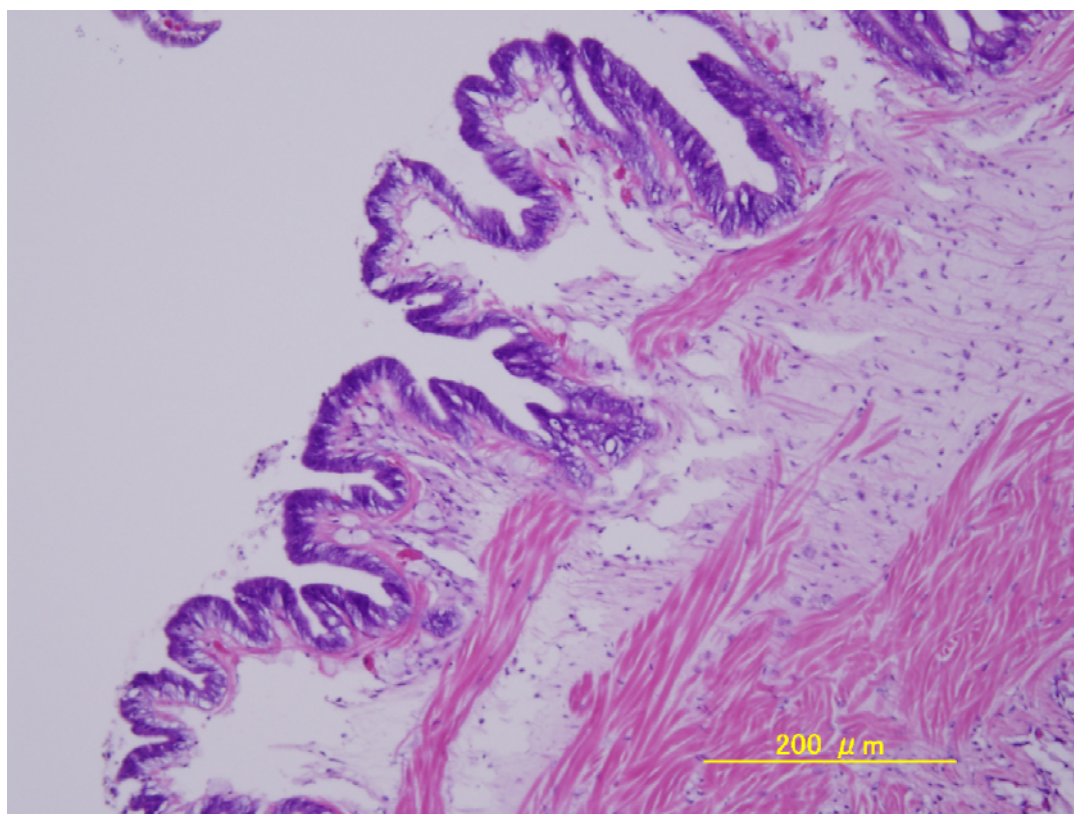


キート+ホルマリンで生成された
ゲル状物質 (白いモヤモヤ)

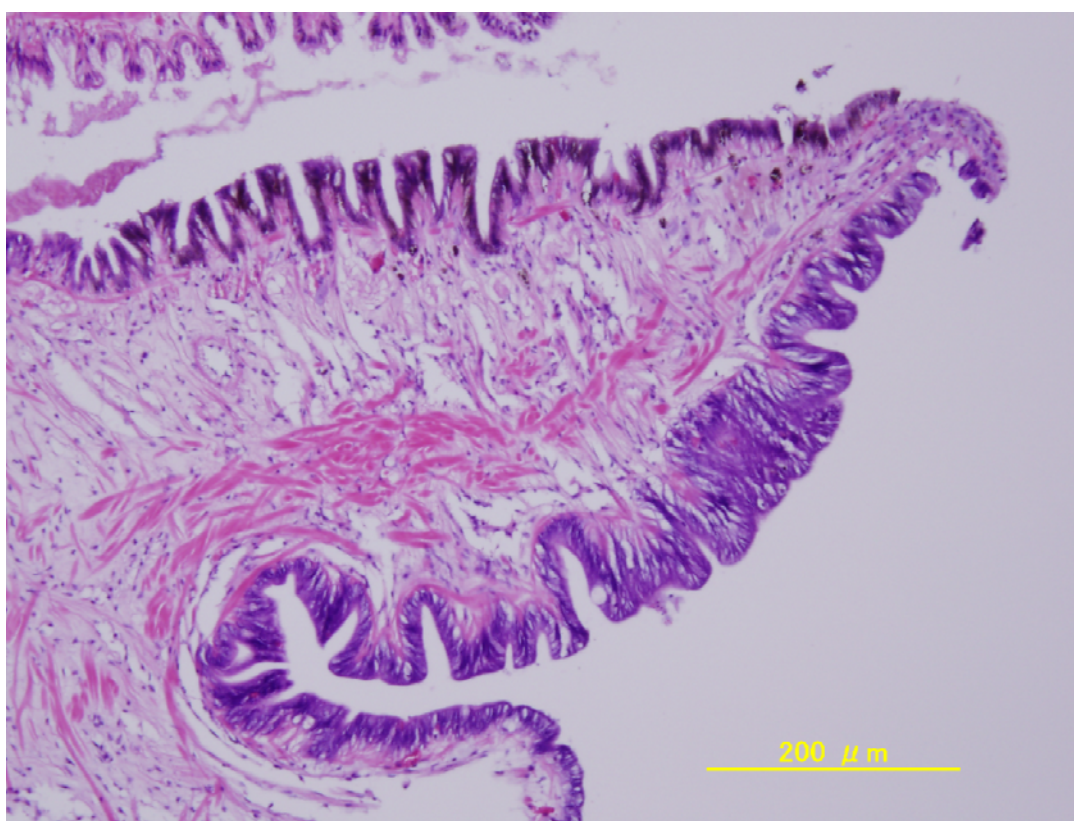


同左 (顕微鏡写真－100 倍)

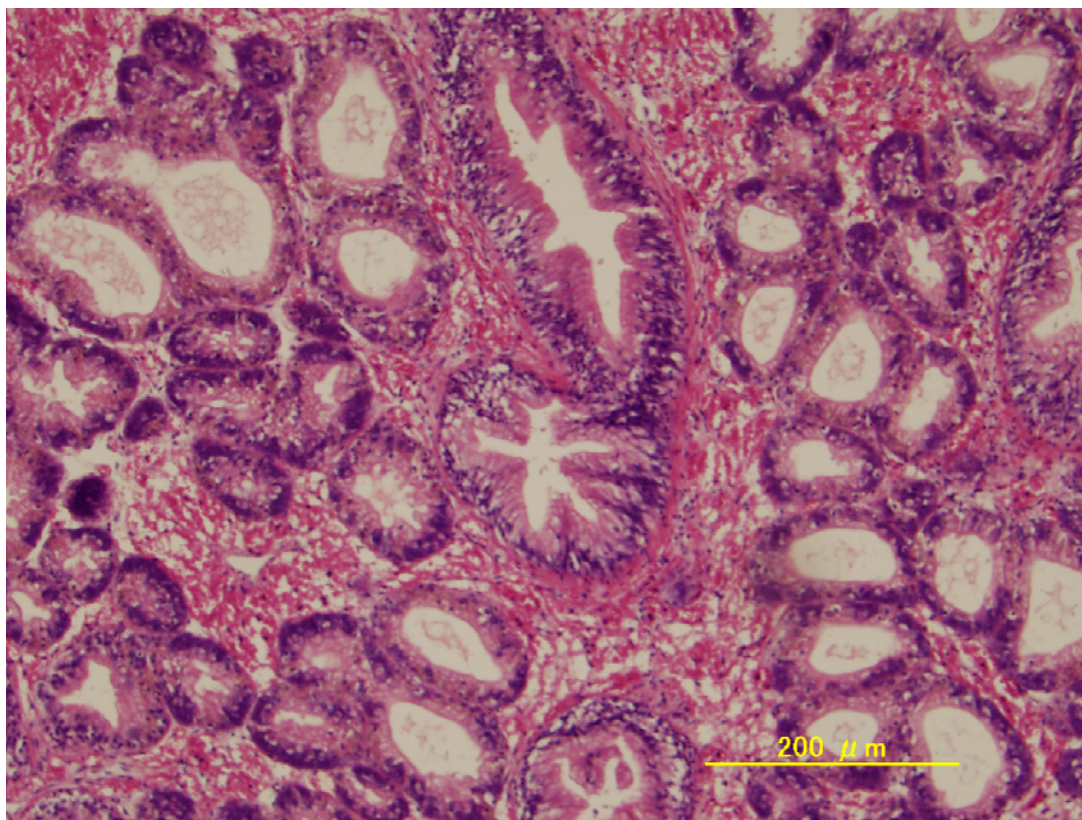
《切片標本写真》



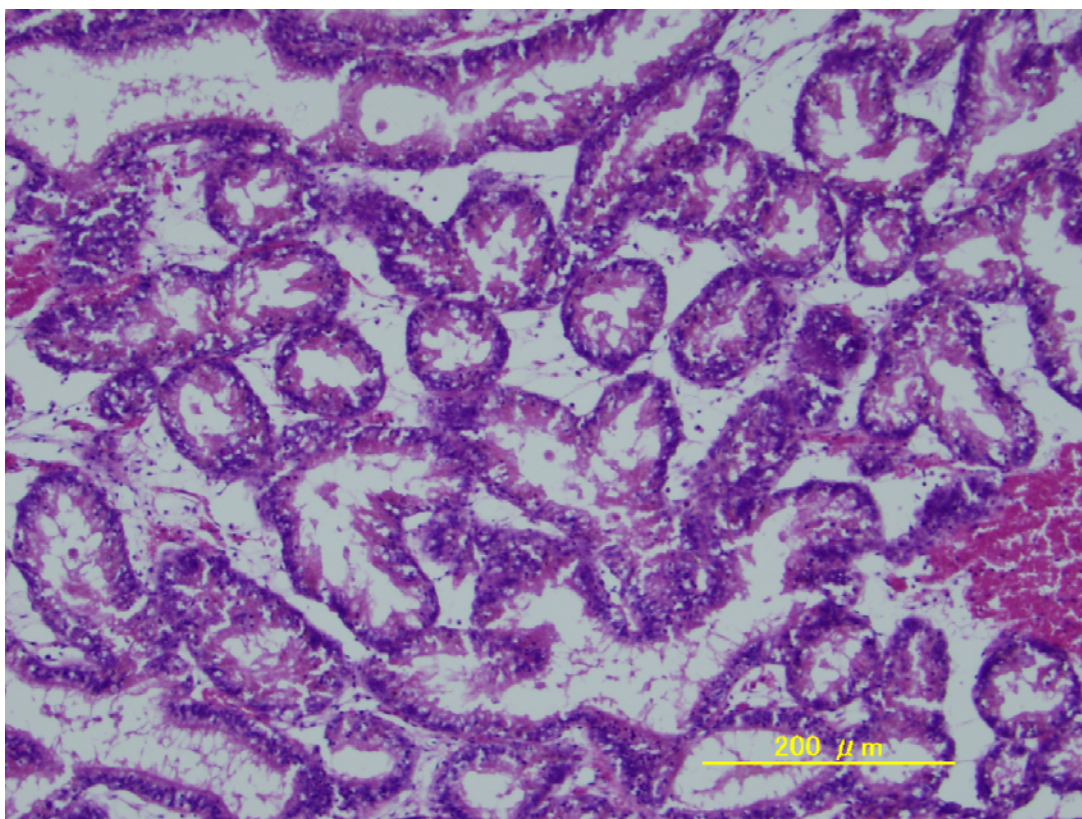
無処理群外套膜のようす



ホルマリン処理群外套膜のようす



無処理群の中腸腺の様子



ホルマリン処理群の中腸腺の様子
消化管の内壁が崩れ、空胞が目立つ

6. 考 察

《病理組織像》

1996 年、アコヤガイの大量死原因究明の過程で明らかになったトラフグなど魚類養殖におけるホルマリン使用問題であるが、私たち「天草の海からホルマリンをなくす会」の活動によって現場での使用実態がたびたび明らかにされた。

2003 年 4 月には我が国最大のトラフグ生産県である長崎県での大々的なホルマリン使用実態が判明したが、ホルマリン使用履歴のある養殖魚や周辺海域からホルムアルデヒドが検出されないことなどを根拠として長崎県が立ち上げた委員会によって「食品として安全だ」という判断が下され、消費者団体などの強い反対の中、出荷が強行されてしまった。

大量に使用され、そのまま海域に放流されたホルマリンは希釈、拡散しながら海水を浮遊するプランクトンなどさまざまな有機物と結合することが考えられるが、これまでホルマリン由来の結合物の毒性や性質についてはほとんど調べられてこなかった。

そこで今回の実験では一般海域にごく普通に存在する珪藻プランクトン・キートセロスを用いて、ホルマリンと結合させてホルムアルデヒド成分を除去したうえでアコヤガイに 2 週間程度摂餌させてその影響を観察した。

その結果、無処理群、熱処理群、ホルマリン処理群において斃死や目視的な貝肉の異常は見られなかった。

しかし、切片標本を作製し病理組織像を観察したところ、外套膜については特に差異は見られなかったが、中腸腺（消化盲嚢）の消化管の内壁が崩れて空胞が目立つものが見られた。サンプル数が 2 個と少なく、しかもそのうちの 1 個だけに顕著な差が見られるということであるため、ホルマリン処理をしたエサを摂取した影響であるとはまだ断言できないが、ホルマリンと餌料プランクトンとの結合物が 2 枚貝の消化機能に及ぼす影響の可能性について示唆するものとして興味深い結果が得られたと思われる。

一般海域で飼育されたアコヤガイにおいても中腸腺の変色（健常貝は緑色っぽいこげ茶色、異常貝はオレンジ色）や直腸にエサが詰まっていない、など消化器系統の変調が報告されている。

《白濁現象》

ホルマリンが大量に流されてきた海域において晩夏～冬にかけて海が白っぽく濁る現象が各地で報告されてきたが、微妙な変化であるため日々海に出ている一部の漁業者にしか認識されておらず、現象解明のための調査・研究は全くなされておらず、ホルマリンとの関連性も明らかではない。

この度の実験においてキートセロスにホルマリンを添加した場合に一定条件の下で白濁現象が起こることを確認した。顕微鏡による観察では細胞の壊れ方によって白濁するか否かが分かれるようであった。バラバラに飛び散った細胞片の密度が高い場合に白濁して見え、細胞片が乱反射して白く見えるものと推察された。

むろん、一般海域の海水中にはキートセロスなどの珪藻プランクトン類に限らず無数の

他の水生生物が存在し、今回の結果をもって海域での白濁現象がキートセロスとホルマリンの結合物によって起きているとはいえない。ただ、水生生物生産の底辺を担っている珪藻プランクトンの 1 種、キートセロスがホルマリンを添加した一定条件下で白濁することが観察されたため、白濁現象の起きている海域での海水を採取してホルマリンとの結合物の有無を確認することが必要である。

7. 結論

海域でごく普通に観察される珪藻プランクトンの 1 種キートセロス・グラシリスにホルマリン処理をしホルムアルデヒド成分を除去してアコヤガイに与えたところ、病理組織像観察によって中腸腺の消化官が損傷を受ける可能性が示唆された。

ホルムアルデヒドが検出されないことをもってホルマリンによる汚染がないとはいえず、ホルマリン由来の結合物がさまざまな生物に悪影響を及ぼす可能性がある。

