

# 貝毒安全対策事業 (1)

## 毒化原因調査 (バクテリア調査)

### 新種プランクトン等による貝類毒化機構解明調査

#### (プランクトン付着・体内共生バクテリア調査)

#### (要 約)

中村 靖人・山中 崇裕・対馬 誠 (青森県水産増殖センター)

安元 健 (東北大学農学部)

財団法人 日本食品分析センター (青森県再委託)

下痢性貝毒によるホタテガイの毒化は *Dinophysis fortii* を主とする既知の毒化原因のみでは説明できず、プランクトン以外の毒化原因が存在する可能性がある。本調査は海水、底泥、ホタテガイ、*D.fortii*の中に存在するバクテリアが下痢性貝毒を生成しているか否かを調査する目的で実施した。

### I 調査方法

#### 1. 調査時期

表1に環境調査および検体採取月日を示した。

表1 環境調査および検体採取月日

調査月日 検体	5	6		7		8	9	10	合 計
	21	4	19	9	23	20	17	1	
海 水	○	○	○	○	○	○	○	○	8
底 泥			○		○				2
ホタテガイ	○	○	○		○	○	○		6
<i>D.fortii</i>	○		○	○	○				4

## 2. 調査地点

図1に環境調査および検体採取を行なった地点を示した。

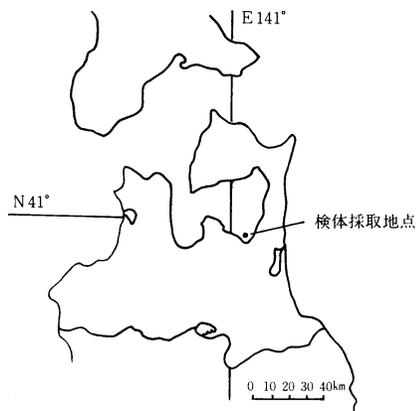


図1 検体採取地点

## 3. 調査項目および方法

### (1) 環境調査

#### 海況

水温：0、5、10、20、30、海底上2mについて棒状水温計を用いて測定

塩分：0、5、10、20、30、海底上2mについて、バンドン採水器を用いて採水し、実験室に搬入後オートラボ塩分計を用いて測定（表示は実用塩分）

### (2) プランクトン調査

0、5、10、20、30、海底上2mについて、バンドン採水器を用いて1ℓポリ瓶に採水、グルタルアルデヒドを用いて5%濃度で固定、シリンダーによる沈殿濃縮法で最終的に5mlに濃縮後、その中の1mlを *Dinophysis* 属について検鏡した。出現数は海水1ℓあたりの細胞数で示した。

### (3) 検体採取および処理

#### ① 海水

水深20mからポンプを使用して10ℓポリタンクに採水し、氷蔵した。

#### ② 底泥

エックマンバージ採泥器により採泥し、表層から約1cmを分取した。採取した底泥は、100mlポリビンに収容し、氷蔵した。

#### ③ ホタテガイ

水深20m層に垂下養殖されたホタテガイを採取し、氷蔵した。

#### ④ *D.fortii*

水深20m層からポンプを使用して採水し、100μmおよび40μmのネットで順次ろ過し、40μmのネットに残ったプランクトンを採取して氷蔵した。この中からガラスキャピラリーを使用

して*D.fortii*のみ100細胞を分取し、滅菌ろ過海水1ml中に入れた。

\*採取したサンプルは、冷蔵（5℃）状態で財団法人日本食品分析センターに送付した。

#### (4) 培養及び分析方法

培地：マリン寒天培地（MA）、システィン加マリン寒天培地（CYMA）、マリンプロス（MB）、海水ペプトン（SP）の5種を用いた。

生菌数測定：MAを用いた塗抹平板培養により、好気下および嫌気下で培養を行い、それぞれの生菌数を求めた。

毒素産生試験：嫌気下の混合培養、およびそこから純粋培養された菌の嫌気培養を行った。

試験液調合：混合培養上澄液、混合培養菌体、菌体を含む分離菌培養液の3種の試料について行った。抽出は酢酸酸性溶液とクロロホルムの分配で行ない、クロロホルム層を試験に供した。

判定：宇部興産製DSP検出キット（DSP-チェック）を用い、オカダ酸（OA）換算量で示した。この場合、培養液1mlに含まれる菌体中のOAの検出限界は、0.25ng/ml、分離菌培養の検出限界は、1.25ng/mlであった。

## II 結 果

### 1. 環境調査及びプランクトン調査結果

環境調査及びプランクトン調査結果については赤潮防止対策事業結果を参照。

### 2. 培養及び毒成分分析

生菌数の測定結果を表2に示した。海水の生菌数は7月以降に増加し、9月に最高となり、10月にはやや減少した。中腸腺でも夏季に増加する傾向はあるが、8月の測定値が低く、季節との関係は見出し得なかった。底泥の生菌数は $10^4 \sim 10^6 / \text{g}$ の範囲にあった。プランクトンの菌数の変動は少なかった。嫌気培養での菌数は海水と底泥では、好気下のそれより少ない傾向があったが、他の試料では明確な相違は認められなかった。

供試した何れの試料もDSPチェックによる試験では陰性であり、毒素産生能は認められなかった。

## III 考 察

全検体が陰性を示したことから、本年度の二枚貝の毒化が低かった事実との関連が示唆される。毒化の著しい時期、地域で集中して試料を採取し、好气的条件で分離培養を行う必要がある。

表2 生菌数測定結果

採 取	試 料*	培 養 条 件	
		好 気	嫌 気
5 / 21	海水	70	10
	ホタテガイ	$4.5 \times 10^3$	$1.4 \times 10^3$
	プランクトン	$6.9 \times 10^3$	$9.3 \times 10^3$
6 / 4	海水	50	<10
	ホタテガイ	$4.1 \times 10^3$	$2.3 \times 10^3$
6 / 4	海水	50	20
6 / 19	底泥	$5.3 \times 10^4$	$2.4 \times 10^4$
	ホタテガイ	$6.4 \times 10^4$	$9.3 \times 10^4$
	プランクトン	$1.0 \times 10^2$	<100
7 / 9	海水	70	$1.8 \times 10^2$
	プランクトン	$1.0 \times 10^3$	$9.0 \times 10^2$
7 / 23	海水	$3.0 \times 10^3$	$2.3 \times 10^3$
	底泥	$4.0 \times 10^5$	$7.9 \times 10^4$
	ホタテガイ	$1.3 \times 10^5$	$3.7 \times 10^6$
	プランクトン	$1.1 \times 10^3$	<100
8 / 20	海水	$7.4 \times 10^3$	60
	ホタテガイ	$1.4 \times 10^3$	$2.8 \times 10^3$
9 / 17	海水	$1.2 \times 10^4$	70
	ホタテガイ	$4.4 \times 10^5$	$2.2 \times 10^5$
10 / 1	海水	$6.2 \times 10^3$	10

\* 各試料の生菌数の単位は、海水 1 ml 当り、底泥は湿重 1 g 当り、ホタテガイは中腸腺 1 g 当り、プランクトンは100セル当りとした。