

# 貝毒安全対策事業 (2)

## 毒化原因調査 (餌料調査)

### (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)

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。本調査はホタテガイの餌料となりうると思われる海水中のデトライタスが下痢性貝毒を有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3に環境調査および検体採取月日を示した。

表3 環境調査及び検体採取月日

調 査	月 日
第 1 回 調 査	5 月 21 日
第 2 回 調 査	6 月 19 日
第 3 回 調 査	7 月 23 日
第 4 回 調 査	8 月 20 日
第 5 回 調 査	9 月 17 日

### 2. 調査地点

バクテリア調査地点と同様。

### 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

トラップを海中に設置し、海中懸濁物の採取を行なった。採取した検体は15μmのネットでろ過し、通過したものを定温遠心分離機(3000rpm、20分間、0℃)で脱水した。一部を顕微鏡観察用検体として採取し、5%グルタルアルデヒドで固定し、さらに一部を含水率測定用に採取した。含水率は検体の一部を約110℃で乾燥し、その前後の重量変化を測定して求めた。残りの検体は大部分をHPLC用検体として冷凍保存し、一部を毒力一次スクリーニング用の検体としてそれぞれ重量を測定した。

### (4) 顕微鏡観察

15μm以下の検体の組成を顕微鏡で観察し、その組成をCR法により示した。

### (5) 毒力一次スクリーニング

検体に90%メタノールを加え、乳鉢で磨砕し抽出を行なった後、遠沈してその上澄液をとった。この液について酵素免疫抗体法(宇部興産製、DSPチェック)により下痢性貝毒の毒性検査を行なった。さらにこれにより陰性となった検体は、1mlを分取し、蒸発乾固した後に90%メタノール0.1mlに溶解し、これを蒸留水により45%濃度に希釈して再度酵素免疫抗体法により毒性試験を行なった。

### (6) 毒成分分析

試料全量に30mlのアセトンを加え、超音波破碎後、2000rpm、10分間、遠心分離し上澄みを得た。同様にアセトンでもう一度、最後に80%含水メタノールで1回抽出した。

全抽出液の1/2を2mlの0.2%酢酸含有80%含水メタノールに溶解し、2mlの石油エーテルで2回脱脂した。次に2mlのジクロロメタンで2回、下痢性貝毒を抽出した。

その画分の1/5に0.2%アダム/メタノール溶液を0.2ml加え、25℃、暗所で1.5時間反応させた。反応物は常法にしたがってSep-Pakシリカカートリッジでクリーンアップした。これを0.1mlのメタノールに溶解し1mlをHPLCで分析した。最終的には試料全体の1/1000を分析したことになる。

## II 結 果

### 1. 環境調査及びプランクトン調査

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参照。

### 2. 顕微鏡観察

顕微鏡による観察結果を表4に示した。検体はいずれも生物分解物およびその他の不定形の粒子が主体であり、そのほかに微細な珪藻類がやや多くみられた。8月20日の検体には渦鞭毛藻綱ペリディニウム目のごくわずかに出現した。

表4 顕微鏡観察結果

検体		1回目	2回目	3回目	4回目	5回目
採取月日		5/21	6/19	7/23	8/20	9/17
観察	珪藻綱 羽状目	C	C	C	C	C
	珪藻綱 中心目	C	C	C	C	C
結果	渦鞭毛藻綱 ペリディニウム目	—	—	—	—	—
	生物分解物、その他	cc	cc	cc	cc	cc

凡例： cc; 非常に多い、 c; 多い、 r; 少ない、 rr; 非常に少ない、 —; 出現しない

### 3. 毒力一次スクリーニング

検体の毒力を酵素免疫抗体法により検査した結果を表5に示した。6月19日の検体のみ陽性を示し、他は陰性であった。

表5 餌料調査のサンプル採取量および一次スクリーニング結果

検体採取月日	DSP-チェック用検体重量 (乾重, g)	HPLC用検体重量 (乾重, g)	DCP-チェック 判定結果
5月21日	0.21	2.13	陰性
6月19日	0.83	2.63	陽性
7月23日	0.34	2.36	陰性
8月20日	0.34	1.79	陰性
9月17日	0.39	2.06	陰性

検体採取月日      DSP-チェック用検体重量      HPLC用検体重量      DSP-チェック

### 4. 毒成分分析

ほぼ全ての試料にオカダ酸(OA)、ジノフィシトキシン1(DTX<sub>1</sub>)に相当するピークが認められるが、OA同様のピークはアダム溶液そのものに起因している可能性が強い。またDTX<sub>1</sub>にしてもその含有量は非常に少なく、これらのデータだけでは即断できない。表6にはDTX<sub>1</sub>の定量値のみを示した。

表6 デトライタスの毒成分析結果

コード	採取月日	重量 (g)	DTX <sub>1</sub> (ng/g)	DTX <sub>1</sub> 含量 (pg/g)
A	May. 21'90	9.54	0.99	104
B	Jun. 19'90	12.81	0.09	7
C	Jul. 23'90	10.79	0.34	32
D	Aug. 20'90	9.27	0.23	25
E	Sep. 17'90	11.65	0.25	21

### III 考 察

現在のところDTX<sub>1</sub>の存在が示唆されたに留まる。その由来が微小プランクトン、ホタテガイのふん、あるいは懸濁物に付着したバクテリアのいずれにあるのかは解析不能であった。