

# 赤潮及び魚病の被害軽減に向けた監視体制強化 IV 海水中の遺伝子量調査による赤潮早期検知

増養殖環境課 上村 海斗

## 1 背景・目的

県内ではぶり類 11,350 t (42 経営体)、マダイ 6,188 t (61 経営体) の養殖生産がある (2018 年漁業センサス、養殖生産統計) が、赤潮及び魚病が甚大な被害を与えている。赤潮プランクトンの検出については、光学顕微鏡を用いた形態観察に基づく直接計数が主流であり、その結果に応じて注意喚起を行っている。しかし、この手法では発生初期段階である低密度時期の確認が困難であることから、赤潮対策である餌止めや養殖小割の移動を効果的に行うため、より早い段階での赤潮プランクトンの確認と養殖業者への注意喚起が求められている。

本事業では、リアルタイム PCR 装置 (BioRad 社 CFX96Touch) を用い、海水中の赤潮プランクトンを発生初期に検知することにより、赤潮対策の初動対策を強化することを目的とした。

## 2 方法

### (1) サンプルング及び遺伝子量解析

2017 年度に作製したスタンダードサンプルを用いて、漁業被害が想定される赤潮プランクトンについて浦ノ内湾及び野見湾で遺伝子の定量を行った。対象プランクトンは過去に大きな漁業被害をもたらした種とし、浦ノ内湾では *Chattonella* spp. 及び *Karenia mikimotoi*、野見湾では *Cochlodinium polykrikoides* 及び *K. mikimotoi* とした。サンプルングは、過去の知見から赤潮プランクトンの発生源と想定される定点を設けて (図 1、2)、遊泳細胞の採取を目的とした 0-10 m の柱状採水により実施した。柱状採水は、既報 (谷口・齋田 2020) に準じて行った。

得られた海水サンプルのうち、1~2 L を孔径 5.0  $\mu$ m のメンブレンフィルターで濃縮ろ過し、フィルターから DNA 抽出キット (QIAGEN 社製 DNeasy Plant Mini Kit) で DNA 抽出を行い、リアルタイム PCR 装置を用いて対象プランクトンの遺伝子量 (細胞数換算) を解析した。また、比較のため同サンプルを濃縮・検鏡しプランクトン密度を測定した。

調査頻度は、例年の傾向からその年に検鏡で初めて対象プランクトンが確認されると想定される時期 (主に 4~8 月) は月に 2~4 回、その他の時期は月 1 回とした。

## 3 結果

### (1) 浦ノ内湾

*Chattonella* spp. 及び *K. mikimotoi* の検鏡・遺伝子量解析の結果をそれぞれ図 3、4 に示す。*Chattonella* spp. の遺伝子は、2022 年 3 月から両定点で継続して検出された。濃縮検鏡 (海水 100 mL を濃縮) おいて、中学校前では 4 月以降、光松では 5 月以降に本種の栄養細胞が検出された。遺伝子量及び検鏡による計数值 (以下「検鏡値」という。) は、5 月まではおおよそ横ばいで推移したが、6 月以降は急激に増殖し、6 月 17 日に赤潮 (基準値: 100 cells/mL) を形成した。その後、遺伝子量及び検鏡値は減少に転じたものの、8 月中旬以降再び増殖し、赤潮は

8月24日まで継続した。9月以降は、遺伝子量及び検鏡値が急激に減少した。遺伝子量から算出した推定細胞密度は1 cell/mL未満で推移し、検鏡では未検出となった。

*K. mikimotoi* の遺伝子は、2021年から継続して検出されており、検鏡においても遊泳細胞が確認されていた。両検出法から得られた値は、2月下旬まではおおよそ横ばいで推移していたが、遺伝子量は3月上旬から増加傾向を示し、その2~4週間後に検鏡値においても増加傾向がみられた。5月6日に1回目の赤潮（基準値：1,000 cells/mL）を形成し、5月20日に終息した。その後も増減を繰り返して2回目（6月2日~6月30日）、3回目（7月22日~8月19日）の赤潮を形成した。9月以降、*K. mikimotoi* の遺伝子量及び検鏡値は *Chattonella* spp. 同様に減少に転じたものの、検鏡における遊泳細胞は冬季にも検出された。

## （2）野見湾

*C. polycrikoides* 及び *K. mikimotoi* の検鏡・遺伝子量解析の結果をそれぞれ図5、6に示す。

*C. polycrikoides* の遺伝子は、2021年から両定点で継続して検出されていた。また、検鏡では本種の遊泳細胞が2022年1月下旬から確認され始めた。3月以降、徐々に増殖して4月24日に赤潮（基準値：1,000 cells/mL）を形成した。その後、5月4日のピーク以降減少に転じ、赤潮は終息した。6月下旬に再び増殖傾向を示したが、赤潮形成には至らなかった。8月中旬以降、遺伝子量及び検鏡値は未検出であった。

*K. mikimotoi* の遺伝子は前年度から両定点で検出されており、検鏡では本種の遊泳細胞が3月下旬に初めて確認された。遺伝子量は、4月中旬以降に増加傾向を示したが、検鏡値は5月下旬まで検出（0.1 cell/mL未満）と未検出を繰り返し、明確な増殖傾向を示さなかった。6月以降は急激に増殖し、10 cells/mLを上回ったが赤潮形成には至らなかった。8月中旬以降の遺伝子量から算出した推定細胞密度は1 cell/mL未満の低密度で推移し、検鏡ではほとんど検出されなかった。

## 4 考察

これまでの調査結果から、遺伝子量解析は海水100mLを用いた濃縮検鏡でも確認できないような低密度期の細胞を検出できており、非常に感度の高い手法であると言える。占部（2021）は検鏡の検出限界以下においても遺伝子調査で密度推移を捉えることが可能と報告しており、本年もこれを支持する結果となった。

本年も、浦ノ内湾では *Chattonella* spp. の遺伝子及び遊泳細胞が1~3月にはほとんど検出されず、低い値で推移した。本種は水温等の条件が悪化するとシストを形成し、休眠状態となって底泥に堆積することが知られている（今井 2012）。また、休眠細胞の発芽頻度は、水温18℃未満では少なく、20℃を超えると増大し、22℃で最大となることが報告されている（今井 1990）。浦ノ内湾における3月の底層平均水温（過去10年平均）は13.5℃であり、シスト発芽に不適な環境であることがうかがえる。このため、低水温期である冬季（1~3月）には、遊泳細胞が水柱に存在しないことが示唆され、このことが浦ノ内湾における検鏡及び遺伝子量調査で冬季に本種が検出されない原因と考えられた。一方、赤潮が発生した6月の底層平均水温（過去10年平均）は21.5℃であり、シストの発芽には非常に適した環境であったと考えられる。2020~

2022年における本種の遺伝子量及び栄養細胞は、6月に入って急激に増加しており、好条件下でシストから発芽した大量の栄養細胞が水柱へ供給されたことを裏付けるものと推察された。これらのことから、底層水温の連続データが *Chattonella* spp. の赤潮発生を予測するための環境因子として有用であると考えられた。

浦ノ内湾及び野見湾における *K. mikimotoi* の遺伝子量及び検鏡値は、昨年と同様に秋から冬にかけて値が低下するものの、周年にわたり検出された。本種はシストを形成しないことが示唆されており (Honjo et al. 1991)、これまでの調査においても海水中の遺伝子は周年検出されていることから、本海域では年間を通して遊泳細胞として存在していると考えられた。2019～2021年度の浦ノ内湾における冬季(12～3月)の本種の遺伝子量と、水産試験場地先の表層水温について相関分析を行ったところ有意な相関がみられなかったことから、表層水温が増殖に関与している可能性は低いと結論付けた(上村 2023)。そこで、表層以外の連続水温データを取得するため、本年から湾内養殖漁場に水温ロガー(HOBO MX2201)を5層(0.5 m, 2 m, 5 m, 10 m, B-1 m)に設置している。しかし、一部のロガーについては水没や記録中断等が発生し、欠測となった。これは、当該ロガーが電池交換に対応した型式であるため、長期間水中に設置したことにより浸水したものと考えられる。今後、ロガーの型式を再検討して、中層及び底層の連続データを蓄積し、遺伝子量及び検鏡データと併せて解析することが、高精度な赤潮動態予測につながるものと期待される。

## 5 引用文献

- 上村 海斗 (2023) . 令和3年度高知県水産試験場事業報告書「赤潮の早期検知と海水からの病原体の検出技術の開発」. P107～113.
- 今井 一郎 (1990) . 有害赤潮ラフィド藻 *Chattonella* のシストに関する生理生態的研究. 南西水研研報, No. 23, 63-166.
- 今井 一郎 (2012) . シェットネラ赤潮の生物学. 株式会社 生物研究社、東京.
- 宮村 和良 (2016) . 有害有毒プランクトンの科学. 3-3 *Karenia mikimotoi* の赤潮動態と発生予察・対策. 株式会社 恒星厚生閣. 東京. P191～200.
- 谷口 越則、齋田 尚希 (2020) . 令和元年度高知県水産試験場事業報告書「赤潮の早期検知と海水からの病原体の検出技術の開発」. P86～97.
- Tsuneo Honjo, Mineo Yamaguti, Osamu Nakamura, Shigeya Yamamoto, Akira Ouchi, Kouichi Ohwada (1991) . A Relationship between Winter Water Temperature and the Timing of Summer *Gymnodinium nagasakiense* Red Tides in Gokasho Bay. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 57(9), 1679-1682.
- 占部 敦史 (2021) . 令和2年度高知県水産試験場事業報告書「赤潮の早期検知と海水からの病原体の検出技術の開発」. P86～90.

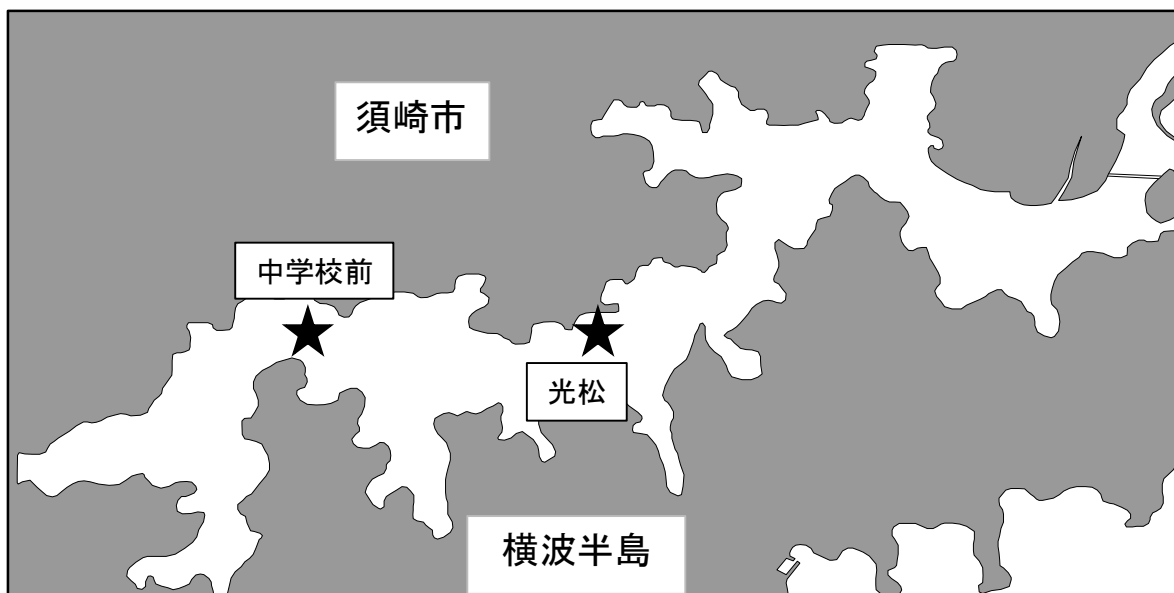


図1 浦ノ内湾における調査定点

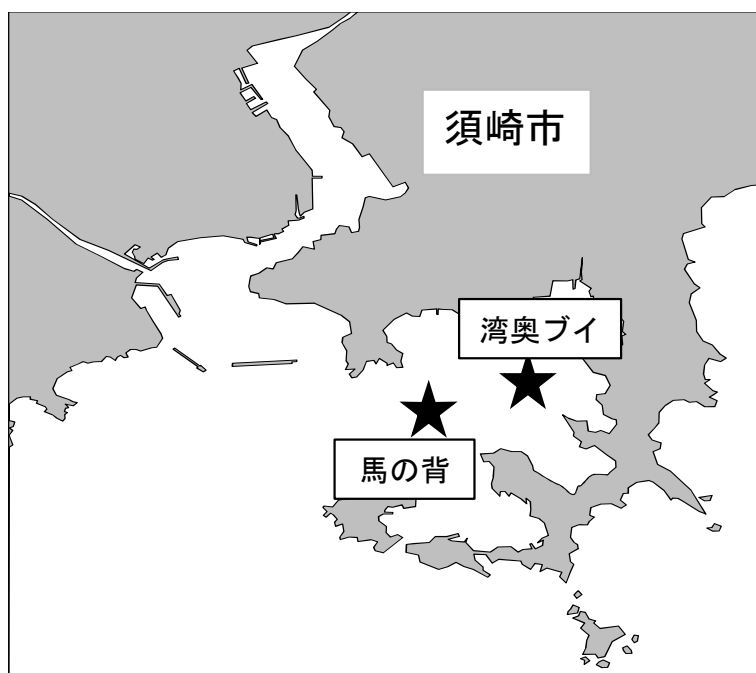


図2 野見湾における調査定点

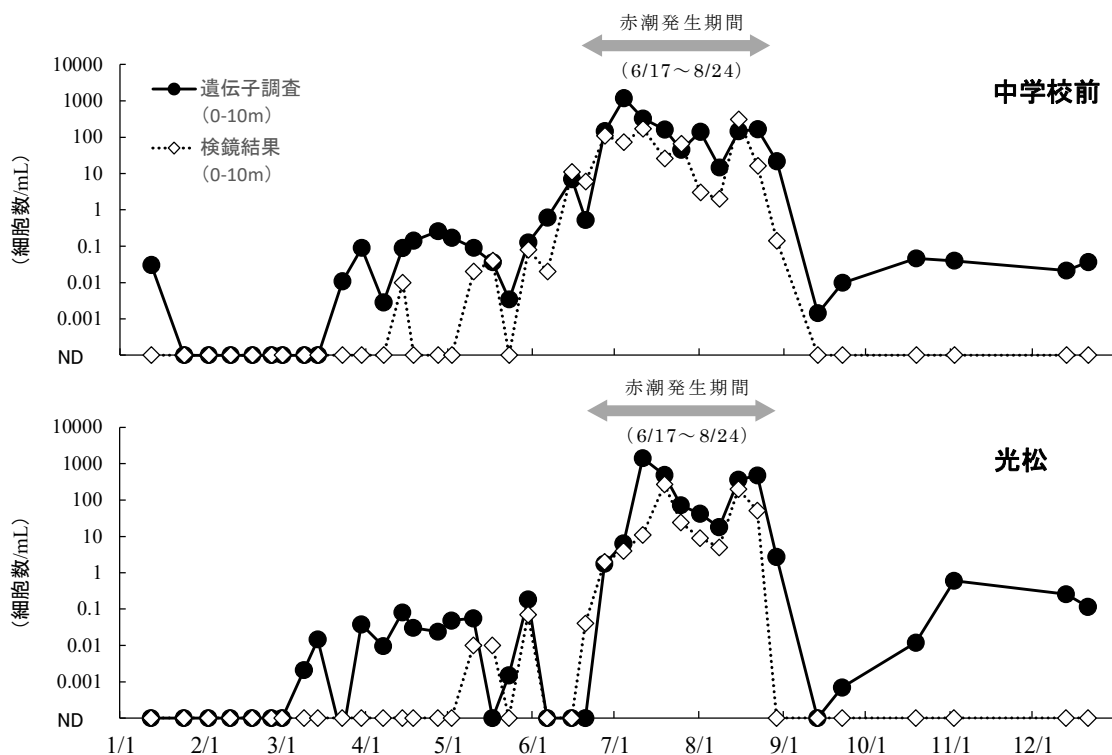


図3 2022年の浦ノ内湾における *Chattonella* spp. の遺伝子検出状況

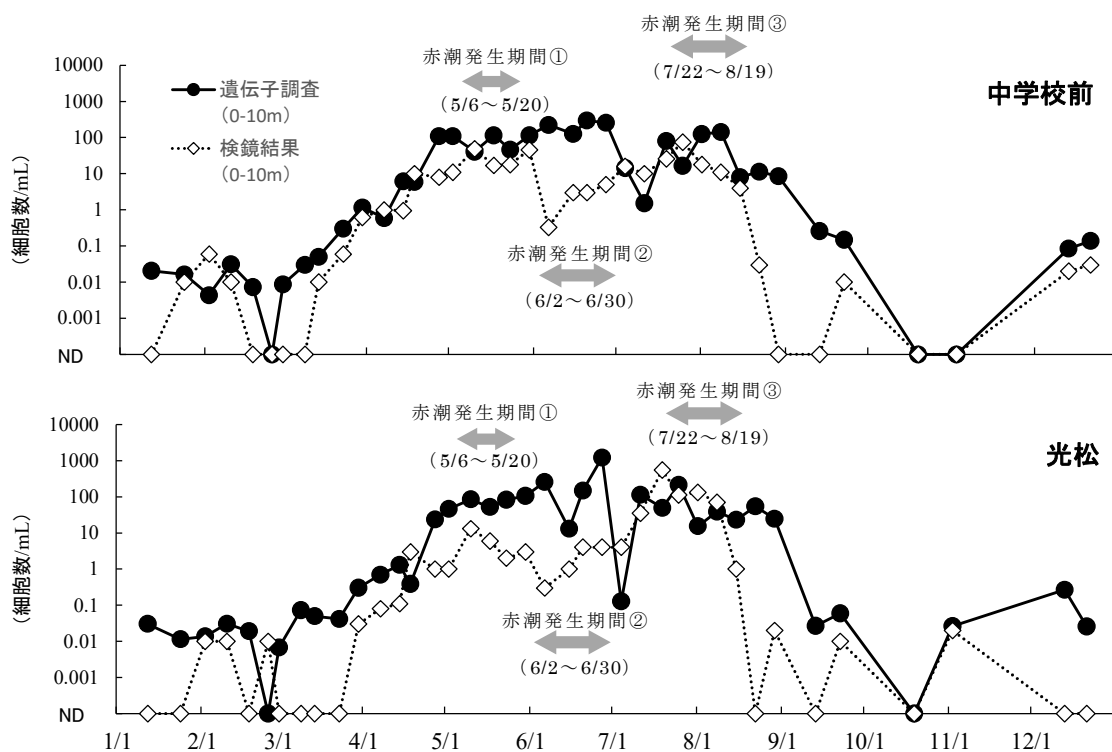


図4 2022年の浦ノ内湾における *K. mikimotoi* の遺伝子検出状況

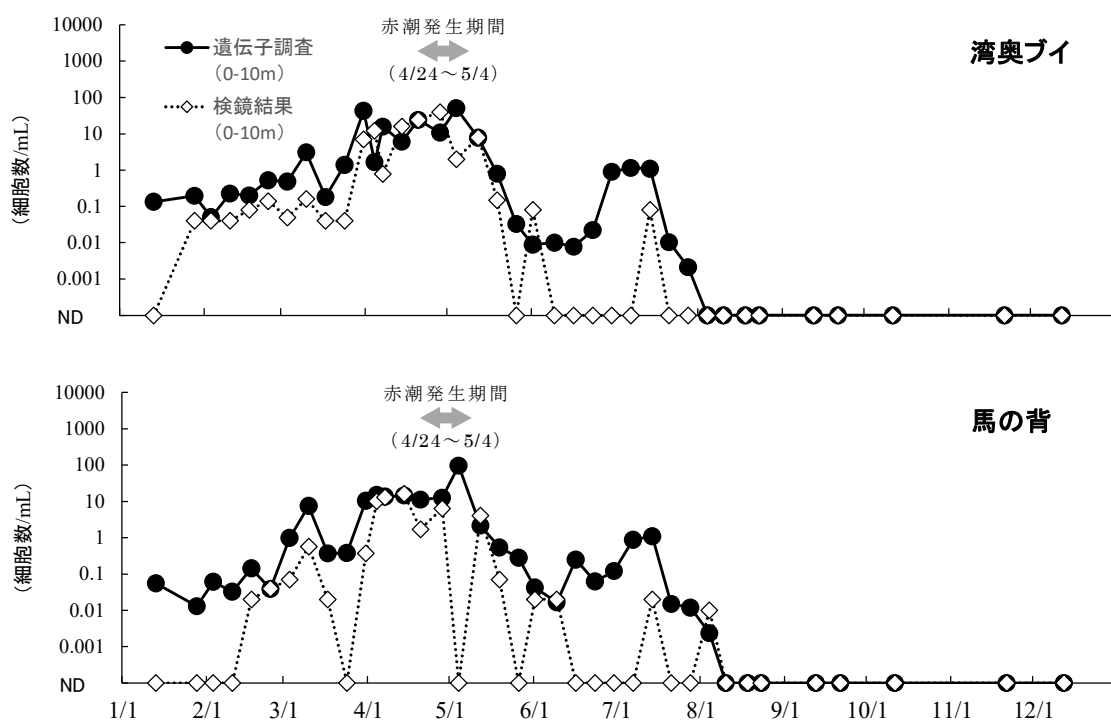


図5 2022年の野見湾における *C. polycrikoides* の遺伝子検出状況

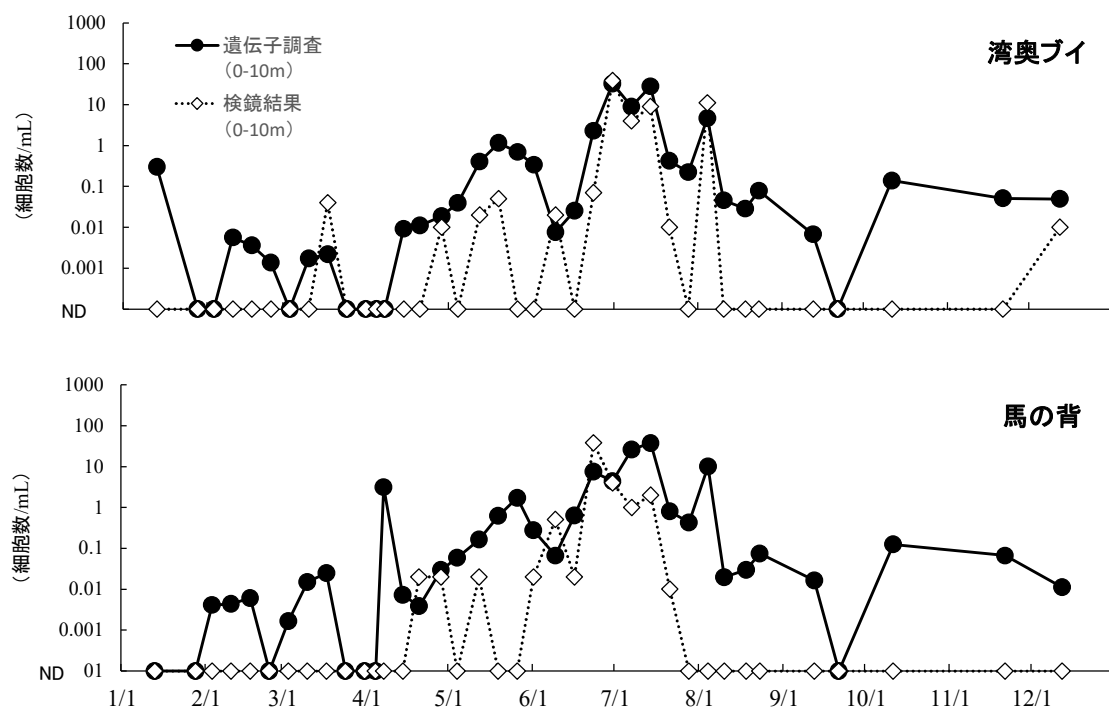


図6 2022年の野見湾における *K. mikimotoi* の遺伝子検出状況