

赤潮の早期検知と海水からの病原体の検出技術の開発

増養殖環境課 占部 敦史

1 背景・目的

本県の魚類養殖はブリ類 11,350 t (42 経営体)、マダイ 6,188 t (61 経営体) 等を生産する基幹漁業である(2018 年漁業センサス、養殖生産統計)。しかし、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における有害プランクトンの確認に限界がある。餌止めや養殖小割の移動を効果的に実施するため、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。魚病については、病魚から病原体を特定する検査を行い、有効な薬剤使用等を養殖業者に対して指導している。しかし、投薬治療が困難な疾病が増加していることから、魚へ感染する前の病原体を確認・定量する手法を導入することにより、予防に重点を置いた対策への転換が求められている。本事業では、当試験場に導入されたりアルタイム PCR 装置 (BioRad 社 CFX96Touch) を用い、海水中の赤潮プランクトンや病原体の遺伝子を発生初期に検知することにより、赤潮や魚病対策を迅速化することを目的とした。なお、2020 年度は前年度に引き続き、赤潮に重点を置いて事業を実施した。

2 方法

浦ノ内湾及び野見湾において、漁業被害が想定される赤潮プランクトンについて海水中の遺伝子を定量し、細胞密度に換算する遺伝子調査を実施した。遺伝子調査の対象プランクトンは各湾で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 *Karenia mikimotoi* 及び *Chattonella* spp.、野見湾では *K. mikimotoi* 及び *Cochlodinium polykrikoides* とした。サンプリングは、過去の知見から赤潮プランクトンの発生源と推定される海域を定点とし(図 1、2)、遊泳細胞の採取を目的とした 0~10m の柱状採水を行った。柱状採水は前年と同じ方法(谷口・齋田 2020)により行った。

遺伝子調査では柱状採水した 2L の海水を分析に用いた。濾過、DNA 抽出及びリアルタイム PCR によって測定した遺伝子量からの細胞密度への換算は前年と同じ方法で行った(谷口・齋田 2020)。また、遺伝子調査の比較対照として、柱状採水した海水 100mL を 1mL に濃縮し、検鏡によって対象プランクトンの細胞数を計数した。

この手法で集積した、2018 年から 2020 年までの 3 年間ににおける浦ノ内湾の *K. mikimotoi* 及び *Chattonella* spp. に関する遺伝子調査と検鏡による細胞密度を比較した。検鏡では 100mL を濃縮して細胞数を計数しているため、検出限界値が 0.01 cell/mL となる。そのため、検鏡と遺伝子調査の結果を比較する際には、検鏡の検出限界値未満(0.01 cell/mL 未満)と以上(0.01 cell/mL 以上)に分けて両者の関係を調べた。

3 結果と考察

(1) 浦ノ内湾

遺伝子調査で *K. mikimotoi* の遺伝子が初めて検出された日(以下「遺伝子初認日」という。)は中学校前で 2020 年 1 月 22 日、光松で 1 月 6 日であった。検鏡では本種が初めて確認

された日（以下「検鏡初認日」という。）は中学校前で4月2日、光松で4月14日であった。遺伝子調査及び検鏡ともに、細胞密度は両定点で4月以降に増加傾向を示し、6月上旬に最大となった。6月5日～19日には赤潮を形成し、その後減少した（図3）。

Chattonella spp. の遺伝子初認日は中学校前で2020年4月2日、光松で3月19日であり、検鏡初認日は中学校前で5月19日、光松で6月8日であった。遺伝子調査及び検鏡ともに、細胞密度は両定点で6月以降に増加傾向を示し、7月上旬に最大となった。6月19日～7月13日には赤潮を形成し、その後減少した（図4）。8月に再び細胞密度が増加傾向を示したものの、その後すぐ減少に転じた。

（2）野見湾

K. mikimotoi の遺伝子初認日は湾奥ブイ及び馬の背で2020年2月20日で、検鏡初認日は両定点で5月28日であった。遺伝子調査及び検鏡ともに、細胞密度は両定点で5月以降に増加傾向を示したものの、赤潮を形成することなく、8月以降に減少した（図5）。

C. polycrikoides の遺伝子初認日は湾奥ブイ及び馬の背で2月20日で、検鏡初認日は両定点で4月9日であった。遺伝子調査及び検鏡ともに、細胞密度は両定点で2月以降に増加傾向を示したものの、赤潮を形成することなく、6月以降に徐々に減少した（図6）。

（3）まとめ

2020年の調査では、有害プランクトンが検鏡で確認できないような低い細胞密度の時期にも遺伝子調査では検出され、密度の推移も捉えることができた。ここから、遺伝子調査は有害プランクトンが低密度の時期において特に有効な調査手法と考えられた。

2018～2020年の3年間における浦ノ内湾の遺伝子調査及び検鏡の結果を比較したところ、*K. mikimotoi* 及び *Chattonella* spp. とともに、検鏡の検出限界値未満（0.01 cell/mL 未満）では遺伝子量から換算された細胞密度がそれぞれ 0.00～0.52（log 換算：ND～-0.3、 $n=107$ ） cells/mL 及び 0.00～2.63（log 換算：ND～0.4、 $n=166$ ） cells/mL の範囲にあった（図7）。このように、複数年の調査結果からも、遺伝子調査が低密度時期の密度推移を把握するための有効な手段であることが示唆された。また、*K. mikimotoi* 及び *Chattonella* spp. とともに、検鏡の検出限界値以上では検鏡による細胞密度と遺伝子量から換算された細胞密度との間に有意な相関が確認され（Pearson's 相関、*K. mikimotoi*： $n=122$ 、 $r=0.45$ 、 $P<0.001$ 、*Chattonella* spp.： $n=63$ 、 $r=0.73$ 、 $P<0.001$ ；図7）、遺伝子調査は検鏡の検出限界値以上（0.01 cell/mL 以上）においても密度推移を捉えることが可能と考えられた。しかしながら、遺伝子調査から得られた細胞密度は、検鏡から得られた値と比べると低い値を示す傾向があった。この原因として、検鏡の結果が過大評価されていることや、リアルタイム PCR で測定される遺伝子量が PCR 阻害物質により低い値となり、実際の細胞密度よりも過小評価となったことが考えられる。今後は、遺伝子調査及び検鏡の2つのモニタリング手法で高感度の調査を継続し、赤潮の予兆を捉えることにより、予察手法を確立できるものと期待される。

4 引用文献

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」. 86-97.

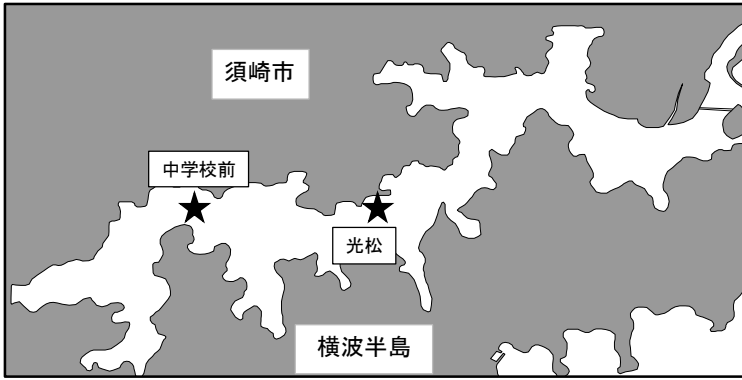


図1 浦ノ内湾における調査定点

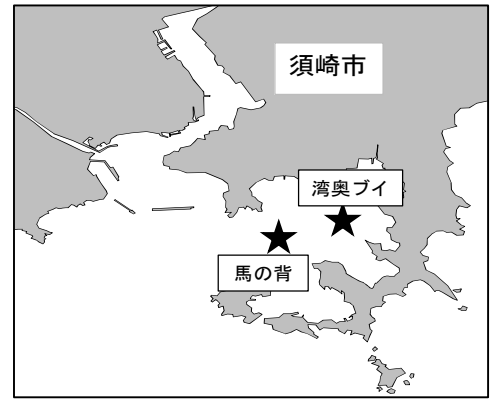


図2 野見湾における調査定点

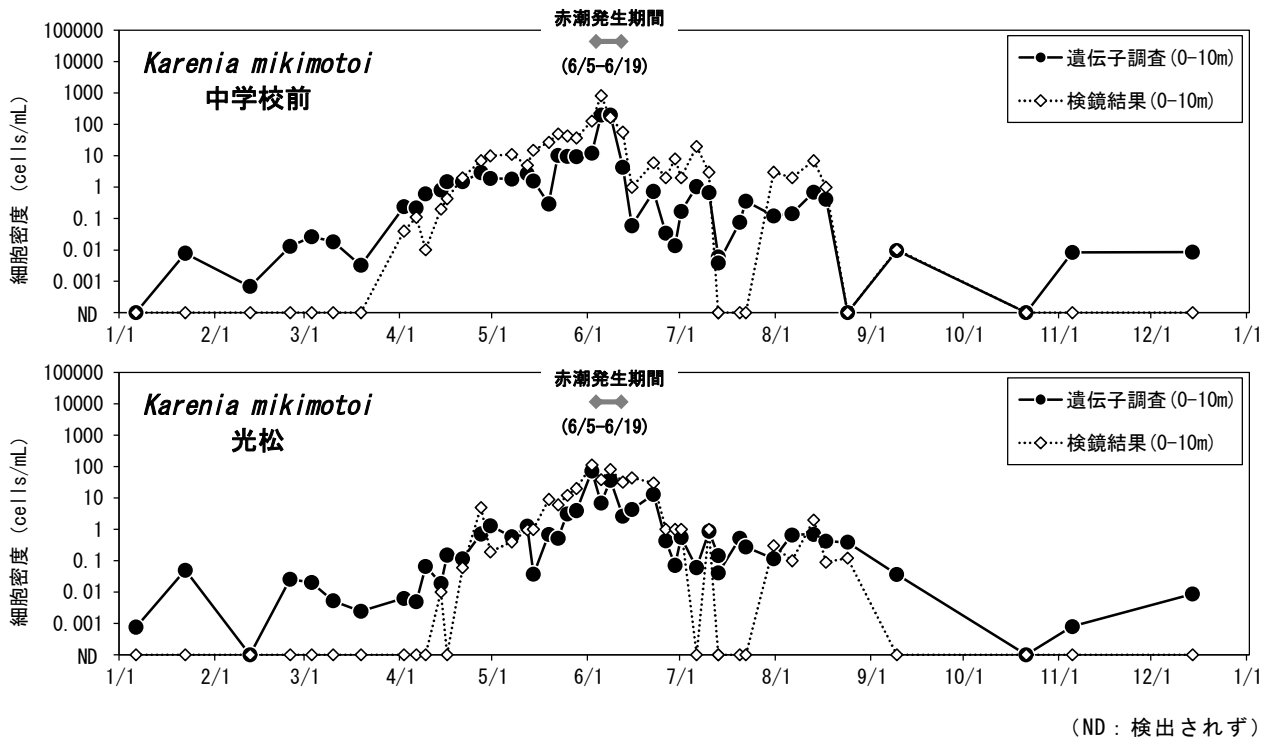
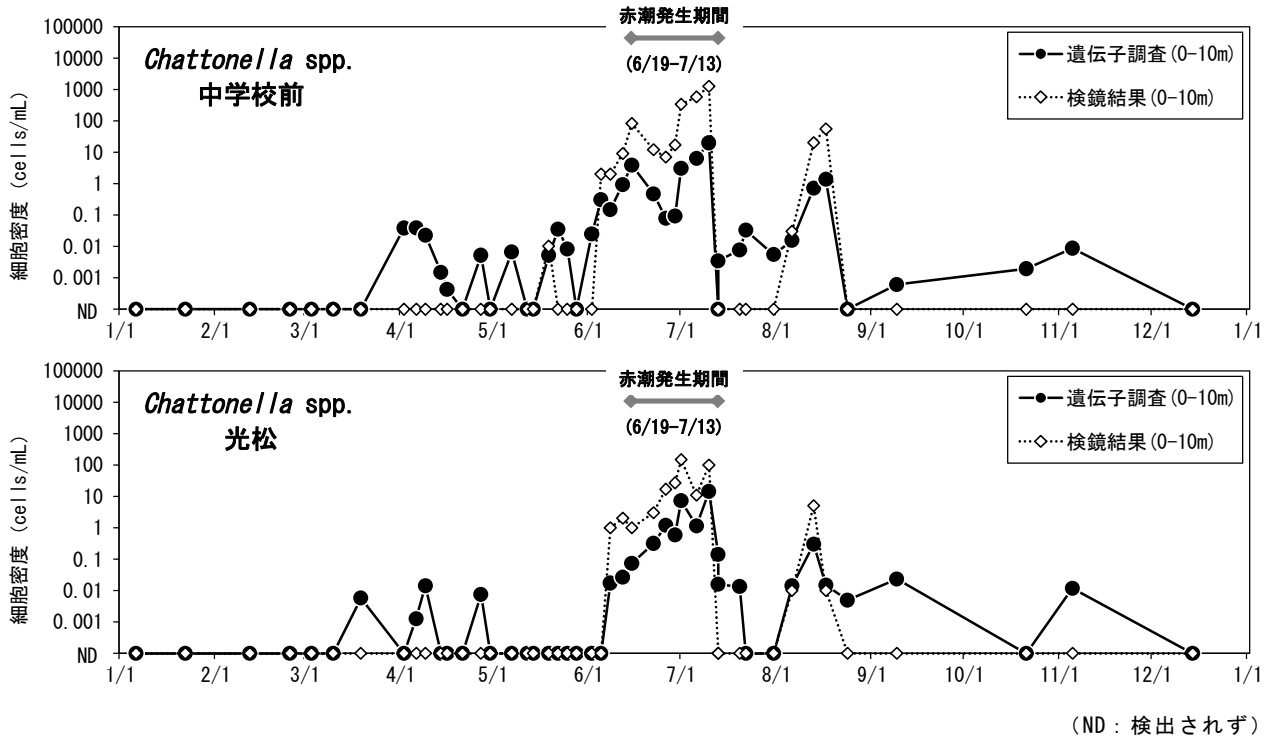
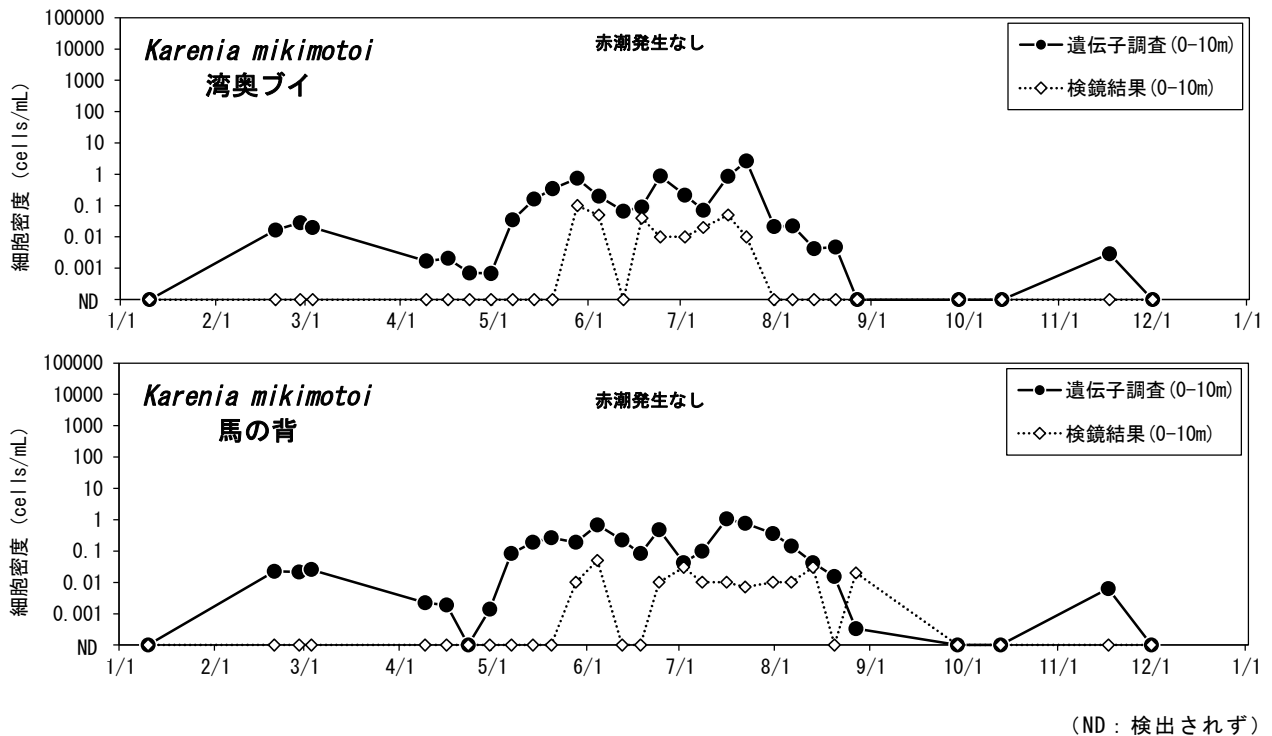


図3 2020年における浦ノ内湾の *K. mikimotoi* の遺伝子調査及び検鏡による細胞密度 (ND: 検出されず)



(ND: 検出されず)

図4 2020年における浦ノ内湾の *Chattonella* spp. の遺伝子調査及び検鏡による細胞密度



(ND: 検出されず)

図5 2020年における野見湾の *K. mikimotoi* の遺伝子調査及び検鏡による細胞密度

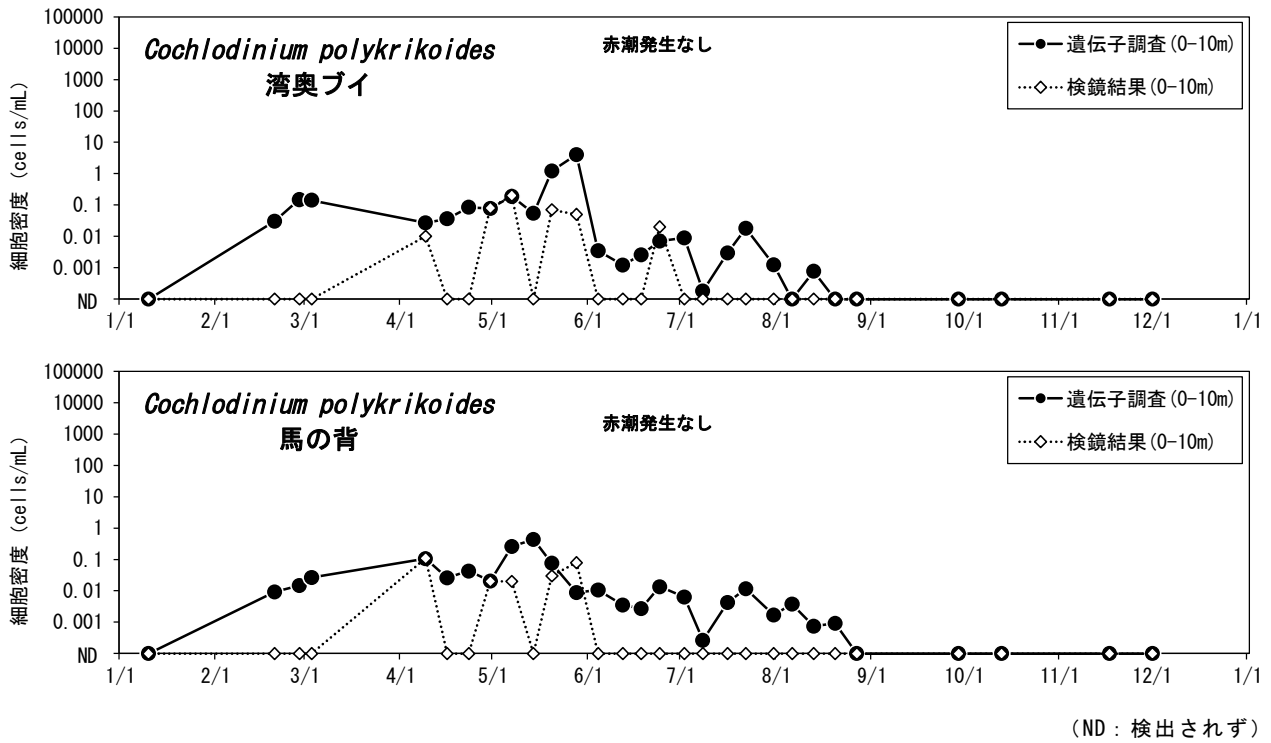


図6 2020年における野見湾の *C. polykrikoides* の遺伝子調査及び検鏡による細胞密度

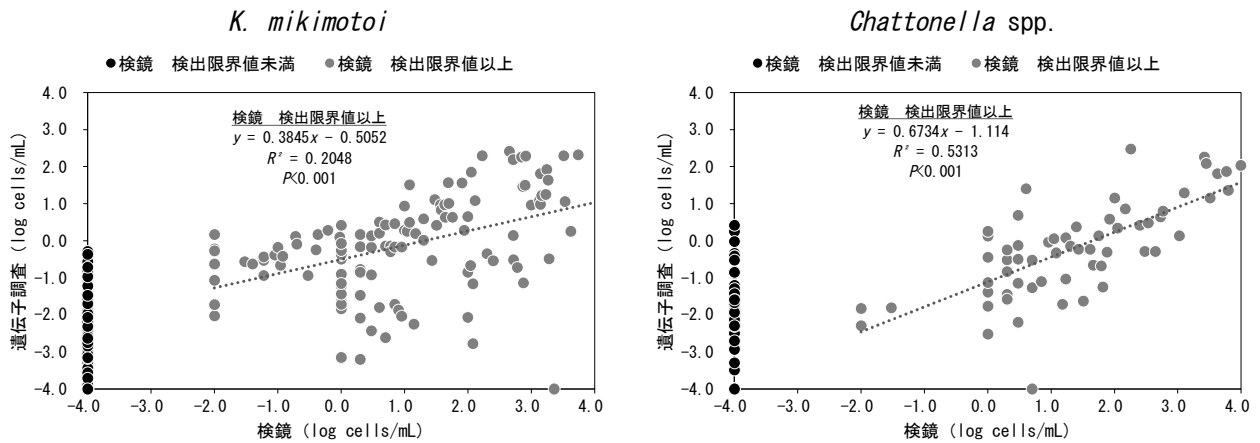


図7 浦ノ内湾における2018~2020年の *K. mikimotoi* 及び *Chattonella* spp. の遺伝子調査結果及び検鏡結果の比較