

赤潮及び魚病の被害軽減に向けた監視体制強化

Ⅲ 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 11,000 t (44 経営体)、マダイ 7,800 t (65 経営体) の養殖生産がある (2023 年漁業センサス、2023 年農林水産省 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) サンプリ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 *Margalefidinium polykrikoides* (旧 *Cochlodinium polykrikoides*) 及び *K. mikimotoi* 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 μ 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 (BioRad 社 CFX96Touch) を用いて対象プランクトンの遺伝子量を測定した後、細胞密度へと変換した。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、原則、対象プランクトンが低密度期から最盛期となる時期 (主に 1–8 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、2023 年 1 月から両定点で検出された。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。検鏡による計数値から算出した細胞密度 (以下「検鏡値」という。) 及び遺伝子量から算出した推定細胞密度は、1 月～5 月までは 0.1 cells/mL 未満の低密度で推移したが、7 月に入って急激な増加がみられて 7 月 31 日に赤潮 (基準値: 100 cells/mL) となった。その後、遺伝子量及び検鏡値は減少に転じ、10 月中旬以降は未検出となった。

K. mikimotoi の遺伝子は、2022 年から継続して検出されており (上村 2024)、中学校前サンプルの検鏡においても遊泳細胞が確認されていた。しかしながら、2 月上旬から 3 月下旬頃までは両手法ともに未検出となった。その後、遺伝子量は 4 月上旬、検鏡値は 5 月中下旬頃から増加し始め、5 月中旬から 6 月中旬頃まではおおそ横ばいで推移した。そして、6 月下旬から 7 月上旬にかけて急激に増加し、7 月 6 日に赤潮 (基準値: 1,000 cells/mL) を形成した。10 月中旬以降は、*Chattonella* spp. と同様に遺伝子及び検鏡値ともに未検出となった。

(2) 野見湾

M. 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。

M. polycrikoides の遺伝子は、2022 年から両定点で継続して検出されていた (上村 2024)。また、遺伝子量は 2 月中旬頃から増加し、検鏡では遊泳細胞が 3 月中旬頃から継続して確認され始めた。その後、遺伝子量・検鏡値は徐々に増加して 4 月 3 日に赤潮 (基準値: 100 cells/mL) を形成した。その後、遺伝子量は 4 月下旬に急激に減少し、6 月下旬以降には再び増殖傾向を示したが、検鏡値は未検出のままとなった。

K. mikimotoi の遺伝子は 2022 年から両定点で微量検出されており (上村 2024)、検鏡では本種の遊泳細胞が 6 月に初めて確認された。遺伝子量は、湾奥ブイで 6 月上旬、馬の背では 7 月中旬に上昇傾向を示し、ほぼ同時期に検鏡値も増加した。7 月下旬から 8 月上旬にかけて、両手法でピークがみられたが、赤潮を形成することはなかった。

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。特に *M. polycrikoides* 及び *K. mikimotoi* は、検鏡で確認される以前から、対象種遺伝子の増加を感度高く検知することができている。

本年は、浦ノ内湾における *Chattonella* spp. の遊泳細胞が 1～6 月に全く検出されず、推定細胞密度は低値で推移した。本藻は栄養塩濃度や水温等の環境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)。例えば、本藻赤潮が 6 月下旬に発生した 2021 年及び 6 月中旬に発生した 2022 年は、それぞれ同時期の湾奥における底層水温が 22℃に達していた。同藻赤潮の発生が 7 月下旬と遅かった本年も、6 月中旬には湾奥の底層水温は 22℃を上回っており、発芽に好適な水温条件は満たされていたものと推察される。しかしながら、本年は 6 月上旬に *Heterocapsa circularisquama* 赤潮、7 月上旬には *K. mikimotoi* 赤潮が発生しており、

Chattonella spp. にとっても好適な増殖機会と捉えられる時期にこれら競合種が出現したことで、同藻の増殖が阻害された可能性がある。*K. mikimotoi* も 4 月中旬以降、増殖傾向を示していたが、*H. circularisquama* 赤潮が発生した 6 月以降、増殖が停滞しているように捉えられる(図 4)。

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、例年、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る。一方で、本年の浦ノ内湾では 2 月～4 月に両手法で未検出となった。このことは、赤潮の起源となる種集団(シードポピュレーション)が少なかったことを示し、本年の同種赤潮の形成時期が例年より遅かった要因の一つとして考えられた。

野見湾における *M. polycrikoides* の遺伝子量は、3 月に増加を開始して 4 月に赤潮を形成しており、これは昨年と同様の傾向であった。2020 年以降、本種の遺伝子量及び検鏡値のピークは 4 月あるいは 5 月に確認されていることから、これらの期間に同種赤潮が発生する可能性が高いと考えられる。一方、検鏡で全く検出されない 7 月にも高い推定細胞密度を検出する例が確認されている。

以上を踏まえると、遺伝子量解析による高感度な調査は、赤潮発生リスクを時系列で評価するにあたり、非常に適した手法であると考えられる。とりわけ、検鏡で検出されないような低密度期においても、高感度に増殖の傾向を捉えることができる *M. polycrikoides* 及び *K. mikimotoi* では、赤潮発生を予測する一手法として活用できる可能性が高い。今後は、複数年にわたる遺伝子量推移のデータから、赤潮発生リスクの判断する条件や閾値等を抽出・設定することが重要となる。

5 引用文献

- 上村 海斗(2024)．令和 4 年度高知県水産試験場事業報告書「海水中の遺伝子量調査による赤潮早期検知」．P153～158.
- 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)．シャットネラ赤潮の生物学. 株式会社 生物研究社、東京.
- 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.
- 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.
- 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.

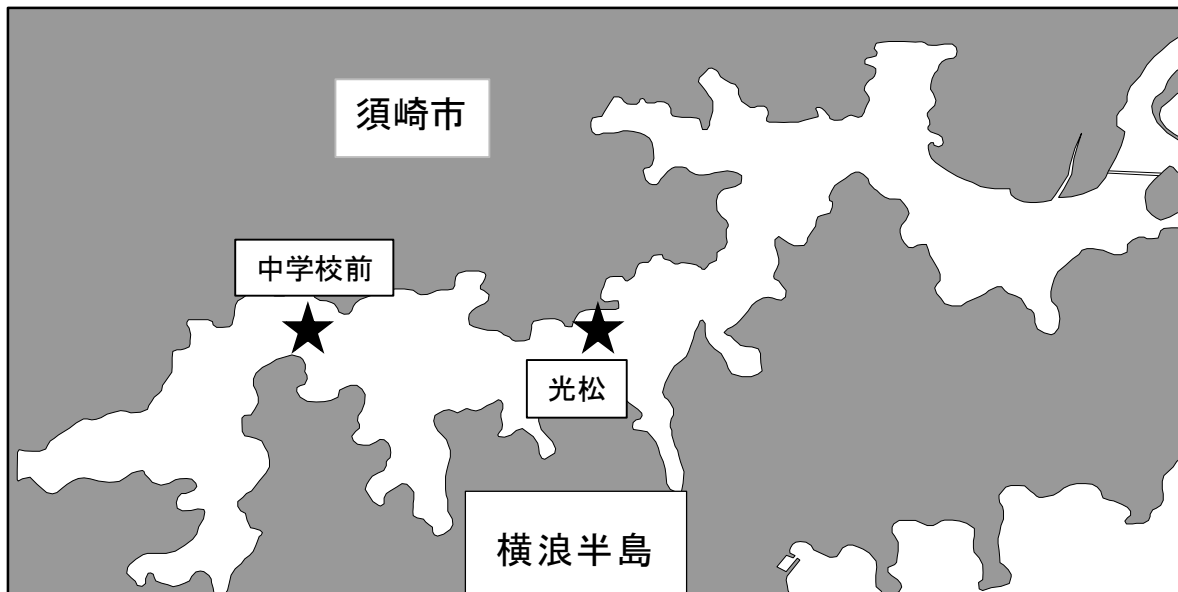


図 1 浦ノ内湾における調査定点

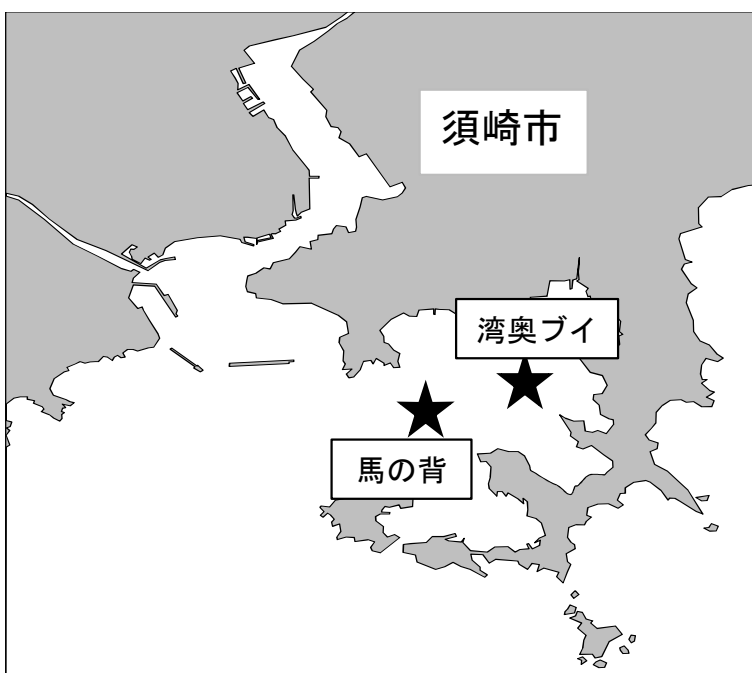


図 2 野見湾における調査定点

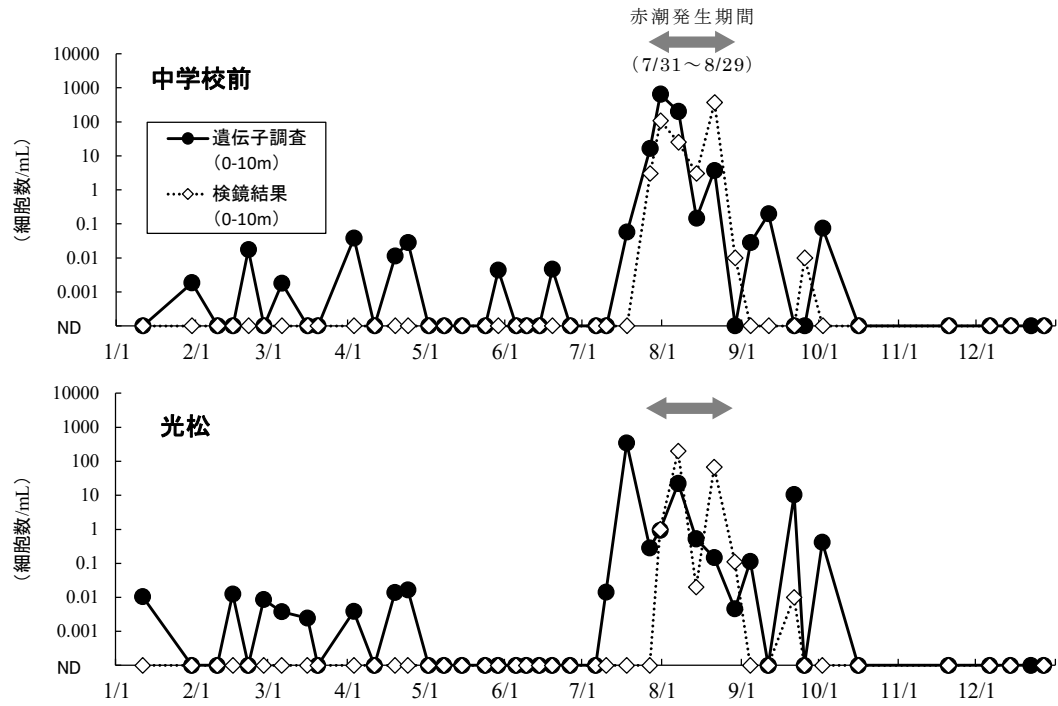


図3 2023年の浦ノ内湾における *Chattonella* spp. の遺伝子検出状況

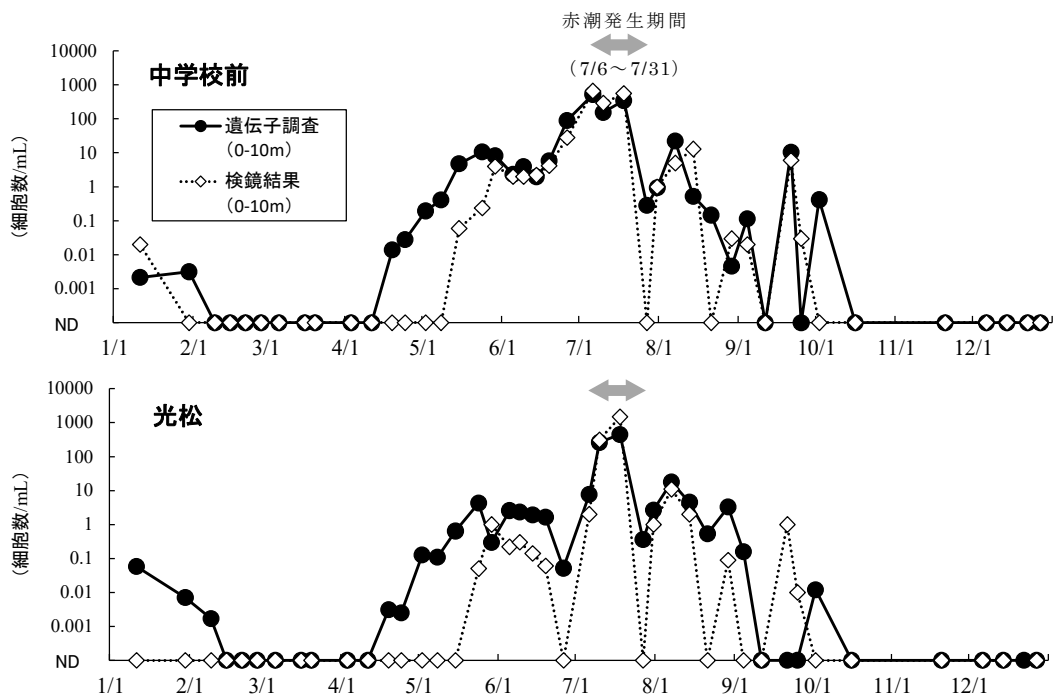


図4 2023年の浦ノ内湾における *K. mikimotoi* の遺伝子検出状況

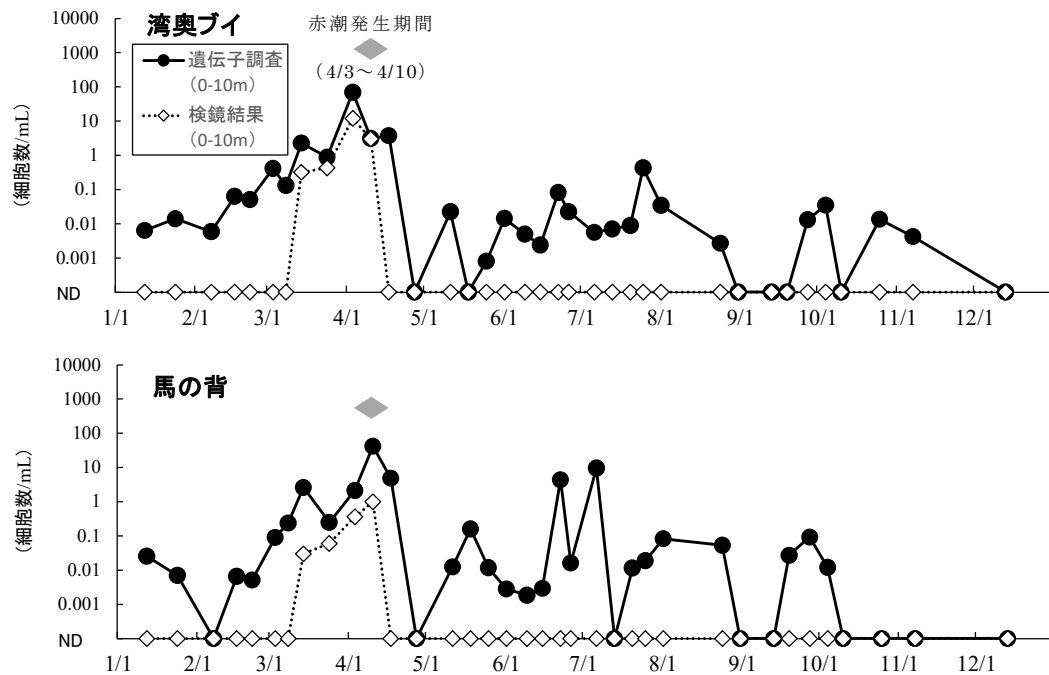


図5 2023年の野見湾における *M. polycrikoides* の遺伝子検出状況

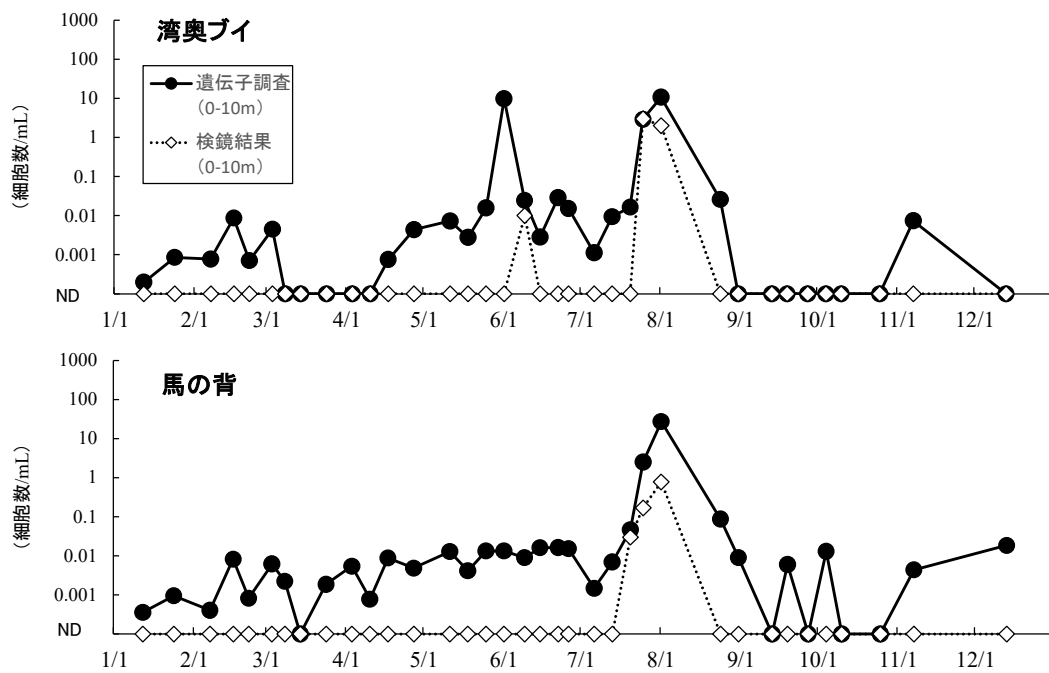


図6 2023年の野見湾における *K. mikimotoi* の遺伝子検出状況