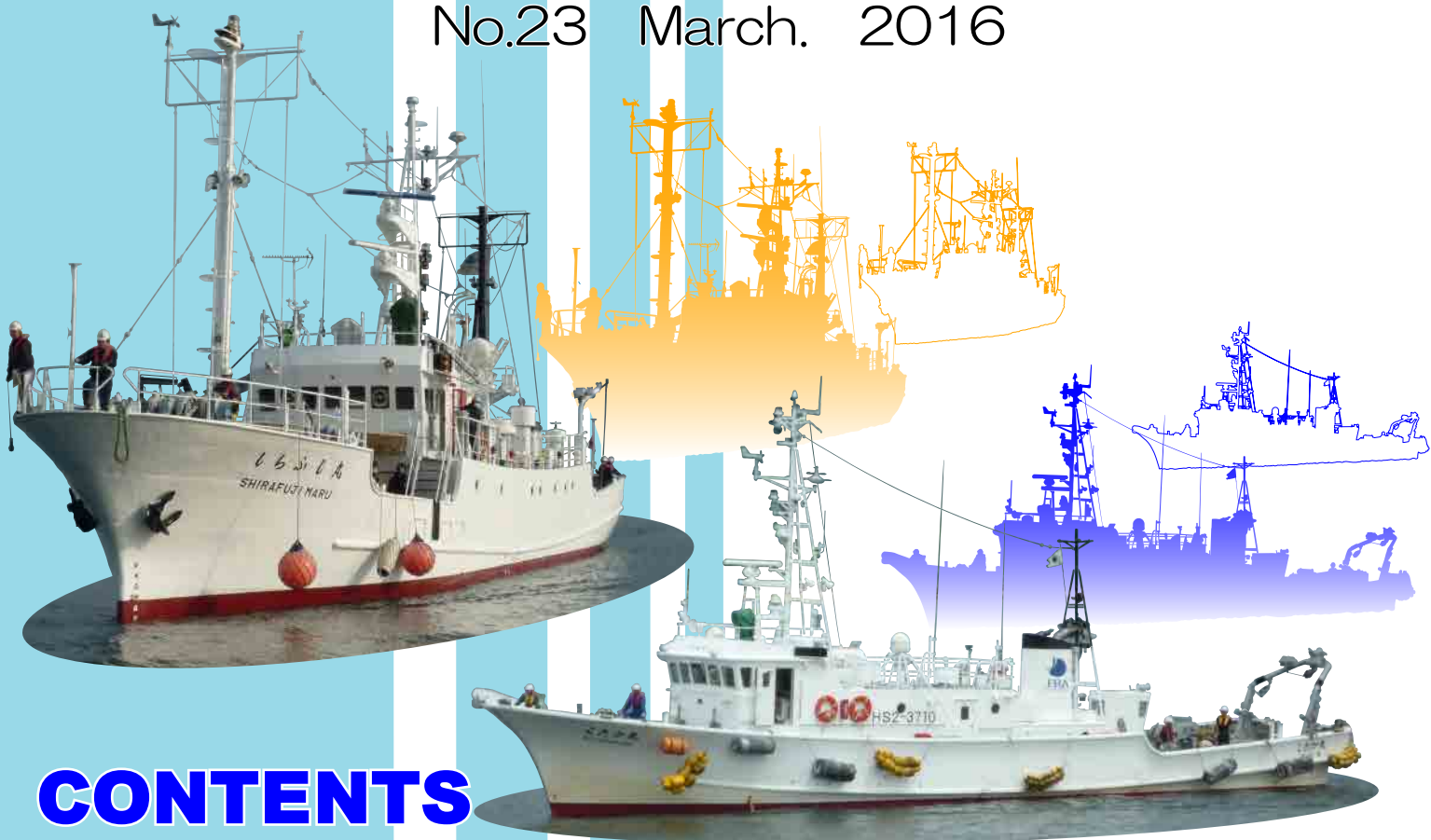


瀬戸内通信

No.23 March. 2016



CONTENTS

調査船調査特集

- 02 瀬戸内海区水産研究所による調査船調査の現状と展望
- 04 「しらふじ丸」・「こたか丸」に搭載されている多項目水質計の溶存酸素センサーと栄養塩研究への応用
- 06 生物群集を切り抜くーこたか丸による着底トロール調査ー
- 08 植物プランクトンの遊泳 vs. 海水中の乱れによる混合
- 10 水産資源研究と調査船

研究技術紹介

- 12 クルマエビに感染した病原ウイルス量を測定するには？
～nested PCR とreal-time PCRとの比較～

トピックス

- 14 漁師さんの海底ゴミ削減にかける思い

イベント報告

- 15 平成27年度研究所一般公開を開催しました
- 15 第6回瀬戸内海水産フォーラムを開催しました

編集 瀬戸内海区水産研究所



国立研究開発法人
水産総合研究センター

調査船調査特集

瀬戸内海区水産研究所による調査船調査の現状と展望

こたに ゆういち
小谷 祐一



はじめに

瀬戸内海における海洋モニタリング調査は、1972年に開始されたとのことです。すでに40年以上の歴史があります。この間に蓄積された水温・塩分等の調査結果は、漁海況予報、漁業資源や海域環境の長期的な変動特性の解明等に活用されてきました。また、このような海洋モニタリング調査は、地球温暖化の影響把握や水産海洋に関する科学的知見の充実にも資する重要な情報をもたらします。すなわち、調査船は、海の環境と水産生物に関する調査研究に欠かすことのできない重要な手段であることは間違いありません。ただし、海洋モニタリング調査は、広い海域で継続することによってその本来の役割を果たします。そのため、今後も関係府県との連携協力のもとに調査を継続し、得られたデータ等の共有と活用を図る必要があります。しかし、近年、調査に関わる予算や人員等に加え、調査船そのものが削減される傾向にあります。このことは非常な危機感を持って受けとめられ、これまでも多くの提言や指摘がなされています。

ご承知のように、1960年代からの高度経済成長期に悪化した瀬戸内海の水質は、瀬戸内海環境保全特別措置法や水質総量規制制度等による取り組みによって、1980年代以降に改善が進みました。一方、1980年代をピークに漁獲量が減少するとともに、赤潮による漁業被害もあとを絶たず、漁業生産は永く低迷しています。また近年、ノリの色落ちや養殖カキの生育不良が発生するようになり、さらに地球温暖化が瀬戸内海の生態系や漁業生産に与える影響も懸念されています。これらの現象の発生機構や地球温暖化の影響を解明し、効果的な対策を検討するためには、これまでに得られた調査データの解析を進めるとともに、さらに科学的な調査を進める必要があります。

さて、平成26年8月に調査船「こたか丸」が当研究所に配備され、現在、この「こたか丸」と「しらふじ丸」の2隻の調査船を有しています。

今後もこの2隻の調査船を活用して、瀬戸内海及び九州等の沿岸海域における海洋環境、水産資源及び環境保全等に関する調査研究を進めていく必要があります。さらに、関係府県との連携や役割分担を行いつつ、必要な機器や装備等を充実し、「しらふじ丸」と「こたか丸」の特性を活かした調査を実施していかなければなりません。そこで、「瀬戸内通信」では2号にわたって特集を組み、この2隻の調査船の現状と課題について各分野から報告し、当研究所における調査船調査の展望について考察することに致しました。



しらふじ丸

しらふじ丸の現状と課題

現在の「しらふじ丸」(総トン数:138トン、最大搭載人員:22名、乗組員数:13人)は、南西海区水産研究所所属の「しらふじ丸Ⅱ世」として、昭和58年に三菱造船所(山口県下関市)で建造されました。その後、平成10年の組織改正により、「しらふじ丸」は瀬戸内海区水産研究所の所属となったのです。本船は、定期的な短期の調査航海に加え、時には1週間以上の長期の調査航海も実施しています。すなわち、瀬戸内海域では、主に「貝類漁場環境調査」、「有害有毒プランクトン

調査」、「カタクチイワシ卵稚仔調査」、「サワラ卵稚仔分布量調査」、「広島湾底質調査」、「アサリ浮遊幼生調査」等の定期的な調査に従事してきました。また、長期航海としては、「土佐湾海洋環境調査」、「黒潮開発利用調査」、「日本海富山湾深層水有効利用調査」や「トカラ海峡周辺域黒潮環境調査」等も実施しました。「有害・有毒プランクトンのシスト調査」では、瀬戸内海、九州沿岸、東京湾や琉球海域での実績があり、また近年は有明海・八代海で毎年の調査を実施しています。

しかしながら、本船はすでに船齢 33 年（竣工：昭和 58 年 3 月）が過ぎ、現状は船体や航海計器等にも不具合や損耗が発生し、航海の安全面や衛生面での問題も懸念されています。また、各種観測機器の故障や装備の老朽化による不具合が発生し、調査への影響も出始めています。そこで、瀬戸内特措法改正等に係る社会的要請に応えるため、また第 4 期中長期計画における課題への的確な対応を図るため、本船の調査航海の安全と調査能力の維持が必要であると考えています。



こたか丸

こたか丸の現状と課題

震災復興支援の一環として平成 23 年 10 月から福島県に派遣されていた「こたか丸」（総トン数：59 トン、最大搭載人員：6 名、乗組員数：4 人、竣工：平成 7 年 3 月）は、福島県沿岸における海洋調査や水産資源調査等に従事していましたが、無事にその役目を終え、平成 26 年 7 月末をもって水産総合研究センターに返還されました。その「こたか丸」ですが、同年 8 月 1 日付けで当研究所への配置となり、大勢の職員の出迎えを受けるなか、8 月 23 日に無事に当研究所廿日

市庁舎の棧橋に着岸致しました。現在、広島港内の出島東 1 号岸壁をその定繫港とし、平成 27 年度より本格的に瀬戸内海での調査航海を開始しています。その機動性を活かしての「化学物質汚染実態調査」、「広島湾有害赤潮調査」や「イカナゴ親魚分布調査」、トロール装備を活用した「着底トロール調査」や「マダイ若齢魚分布調査」等で、その持ち味を発揮しています。来年度も瀬戸内海を中心に 70 日以上各種調査を実施する予定となっており、その活躍が期待されます。

さいごに

1970 年代から続けられてきた調査船調査で得られたデータは、瀬戸内海における漁場環境や水産資源の評価と施策の検討に極めて重要な役割を果たしており、今後も広域かつ高頻度の海洋調査や水産資源調査が求められています。すなわち、平成 24 年 10 月に出された「瀬戸内海における今後の目指すべき将来像と環境保全・再生の在り方について」の答申では、環境保全・再生の基本的な考え方として、きめ細やかな水質管理や底質環境の改善等に加え、科学的データの蓄積が挙げられています。また、平成 27 年 10 月に公布された改正「瀬戸内海環境保全特別措置法」においても、瀬戸内海における栄養塩類の実態及び水産資源への影響、その適切な管理に関する調査研究が求められています。さらに、当研究所では、第 4 期中長期計画において、瀬戸内海における重要魚種の資源管理、海洋環境や藻場・干潟に関する調査研究に、また赤潮・貝毒や有害化学物質に関する調査研究や技術開発に取り組むことになっており、調査船による調査の充実が必要になっています。

そのようななか、残念ながら、瀬戸内海に面する多くの試験研究機関では、定線調査の継続に加え、調査船の維持すらも困難な状況が生じており、海洋環境モニタリング調査や水産資源調査等における当研究所の調査船に対する期待と役割が益々大きくなっています。今後も、瀬戸内海における水産業の振興のため、調査船による調査を精力的に行い、その成果を発信するよう努めて参りますので、皆様のご支援とご指導を賜りますようどうかよろしくお願い致します。

（瀬戸内海区水産研究所長）

調査船調査特集

「しらふじ丸」・「こたか丸」に搭載されている多項目水質計の溶存酸素センサーと栄養塩研究への応用

あべ かずお
阿部 和雄



近年調査船による海洋観測では多項目水質計を垂下して、鉛直的に水深・水温・塩分・濁度・光量子・電気伝導度・蛍光強度・溶存酸素等の測定が行われています。「しらふじ丸」と「こたか丸」では、浅海域対応としてケーブル付直読式機器の導入により効率的な調査が行われています。採用された機材の酸素センサーは優れた性能を有しており、信頼度の高いデータを得ることが可能です。これを用いた研究成果の一部を紹介します。

海水中の酸素を測る

海水中の溶存酸素量は、大気からの溶け込みや植物プランクトン等の光合成による供給と、生物による呼吸を含む有機物の分解による消費のバランスにより決定されます。このように生物生産活動と密接に結びついている溶存酸素は、海洋観測項目としては重要なパラメーターの一つです。海水中の溶存酸素濃度の測定法は、基本的には採水後ウインクラー法と呼ばれる実験室内での滴定による定量が一般に行われています。近年、現場海中での多項目水質計の発達により、ガルバニ電池式溶存酸素センサーを搭載した機材も現れ現場観測も行われてきました。しかしながらこの方法では電極の反応に時間を要し、鉛直的に連続するデータの取得が難しいという難点がありました。すなわち遅い応答速度の為、水中センサー部を一定時間測定水深で保持する必要がありました。さらに、電極膜のメンテナンスが煩雑であり、また硫化物の影響を受ける等の理由で実際の海洋観測では実用的ではない側面もありました。

光学式センサー

この難点を克服した方法が光学式（燐光）の溶存酸素センサーです。この方法では、発光ダイオードの光で励起された蛍光物質より発せられる燐光が、検出膜に透過してきた酸素により消光される現象を利用して溶存酸素濃度を算出

します。すなわち、酸素濃度が高いほど消光現象が強くなるため検出器で検出される燐光が少なくなります。「しらふじ丸」および「こたか丸」に搭載されている光学式センサーは高速応答 0.4 秒であり、0.5m/秒の降下速度でも鉛直的に高精度で測定が可能なものです。これにより作業時間の大幅な短縮により詳細（密）な溶存酸素の鉛直分布が取得できるようになりました。

栄養塩動態との関係は

水中の生物生産活動に密接に関連する物質として栄養塩類（硝酸・亜硝酸・アンモニア・リン酸・ケイ酸）も挙げられます。海洋の全有機物量の約 90%を占める植物プランクトンは生物生産の土台を支えています。一般に水中の窒素（硝酸・亜硝酸・アンモニア）、リン酸を取り込んで太陽光の力を借り光合成を行い、有機物を生成します。また、ケイ酸は珪藻等の外殻の形成に利用されます。その後生成された有機物はやがてバクテリアにより分解され無機化されることにより、再生産に利用されることとなります。この分解・無機化過程では溶存酸素が消費され、酸素の補給がなければ水中の酸素濃度は減少します。この際、栄養塩の再生量が多いときには同時に消費される酸素の量も多くなります。図1は「しらふじ丸」による調査結果の一例ですが、瀬戸内海西部の伊予灘において夏場に水温躍層が発達し底層付近に冷水ドーム

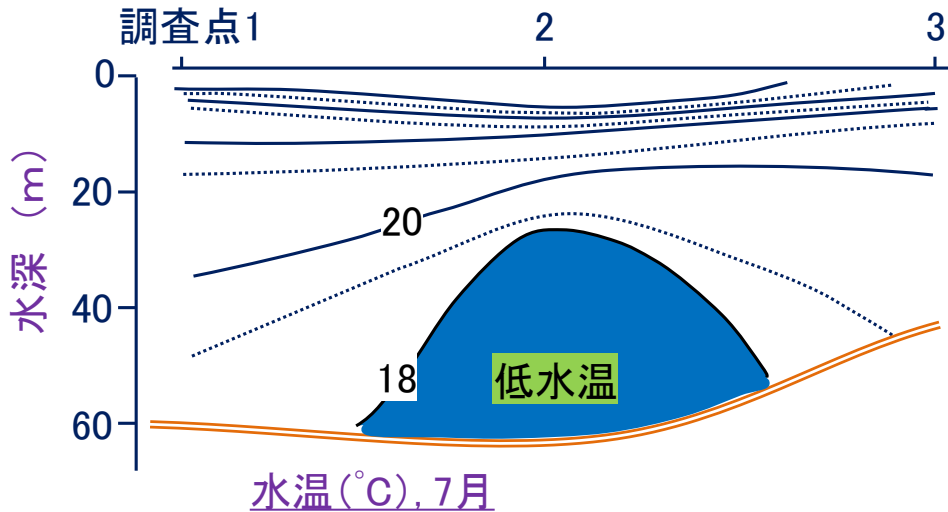


図1 夏季伊予灘で観測された底層付近の冷水塊

が形成され、一時的に水が隔離された状態を示しました。隔離され淀んだドーム内では、春季(4月)から夏季(7月)にかけて栄養塩濃度の増加、および溶存酸素濃度の減少が観測されました。図2はこの期間の底層水中のケイ酸と見かけの酸素消費量をプロットしたものです。よい直線関係が得られ、ケイ酸濃度の増加は酸素消費を伴うことが示され、有機物の分解が関連することを意味します。ケイ酸濃度の増加は主に珪藻の外殻の溶解に起因するものと考えられますので、珪藻の死後表面を保護していた有機物層の細菌による破壊直後に溶解が促進

されたものと思われます。

おわりに

以上酸素センサーによる溶存酸素測定に関連した研究の一例を示しましたが、溶存酸素測定に限らず、新しい機材があれば誰でもすぐに精度の高いデータを得られるわけではありません。機材の測定原理の理解、および適正なメンテナンスと正しい使用方法によりデータの品質が保たれることは言うまでもありません。

(生産環境部 環境動態グループ 主幹研究員)

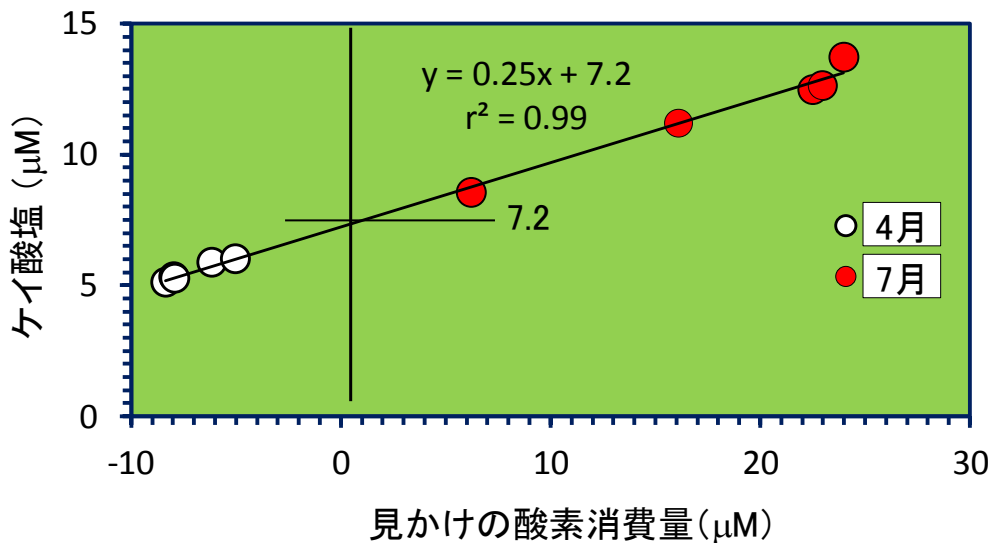


図2 春季(4月)から夏季(7月)の伊予灘底層水中のケイ酸塩と見かけの酸素消費量の関係

調査船調査特集

生物群集を切り抜く

—こたか丸による着底トロール調査—



やまもと けいすけ
山本 圭介

2014年8月に瀬戸内海区水産研究所の新たな研究戦力として漁業調査船こたか丸が配備されました。こたか丸は水産総合研究センターの保有する調査船の中では最小クラスの船舶ですが、着底トロール調査に特化するという優れた特徴を備えています。同年11月の試験航海を経て、2015年5月から本格的な着底トロール調査が開始されました。新しく開始された「マダイ若齢魚分布調査」の結果について限定的ですが紹介いたします。

着底トロール調査とは

こたか丸が得意とする着底トロール調査は、底生魚類の資源状態を調べる手法として世界で60年以上の実績を持つ標準的な調査方法です。具体的には、海底に接地させたトロール網を調査船で牽引することにより、海底の生物群集を無作為に切り抜いて採集し、直接的に標本

を調べる方法です(図1-2)。着底トロール調査を実施することで、群集を構成する種毎の漁獲尾数と漁獲重量、体長組成などの基本的なデータが得られます。さらに、採集された生物標本の年齢形質(耳石、鱗)、生殖腺熟度、胃内容物を調べることにより、成長・成熟、性比、食性(どんな生物を餌としているか)などの生物

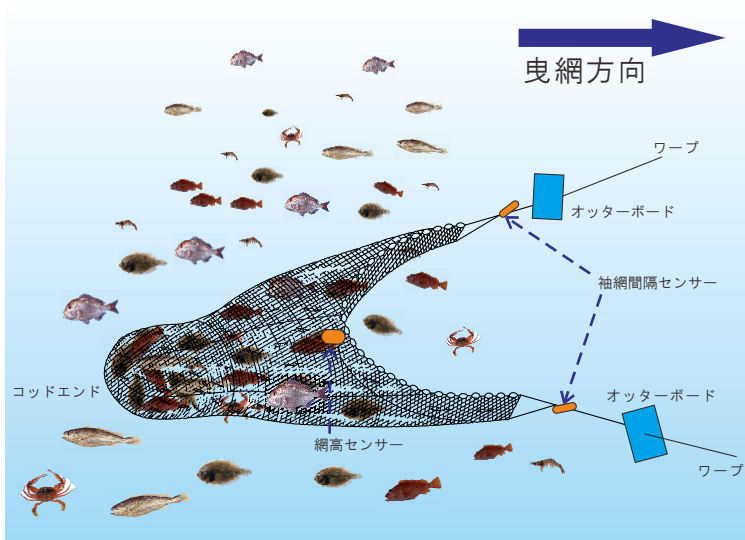


図1

オッターボード：水の抵抗を受けてトロール網を左右に開く装置。

ワープ：網を牽引するワイヤーロープ。

袖網間隔センサー、網高センサー：トロール網の開口幅・高さ、海底からの位置をモニターする曳網監視装置を構成するセンサーのひとつ。

コッドエンド：漁獲物を收容する部分。トロール網図は日本漁具・漁法図説(金田1989)を改変。

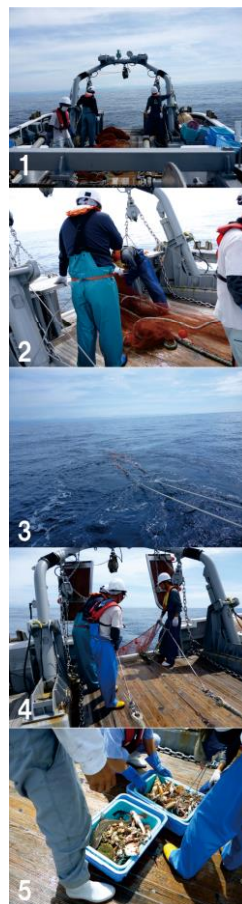


図2

1. 調査開始直前
2. 投網
3. トロール網が展開中
4. 揚網
5. 採集物

※写真はすべて土佐湾の調査より

学的データを得ることができます。また、同時に採集される水深や水温と塩分の鉛直分布、位置情報などの環境データからは、どんな種がどんな環境（水深、水温、塩分）に分布しているか、分布域と環境との関係を知ることができます。

これらのデータを蓄積することで、資源変動、種組成や分布域の季節的・経年的な変動および種間関係など、水産資源の持続的利用や生態系保全に役立つ重要な情報を得ることができます。

マダイ若齢魚分布調査について

瀬戸内海では、2000年代からマダイの若齢魚（0歳、1歳）の漁獲量に著しい減少が観察されています。この原因として、消費志向の変化に影響された水揚げ調整や、温暖化などの気候変動の影響によるマダイ若齢魚の分布変化

などが疑われています。前者ではマダイ若齢魚の春季から秋季にかけての生育場である砂泥域において漁業と独立した漁獲データを収集し、年齢組成を調査する必要があります。また、後者では季節ごとに底生魚類群集の種組成や種ごとの分布状況を調査し、魚种群集の季節変化に関する情報を収集する必要があります。しかし、現状では、どちらの情報についても知見の蓄積が十分とは言えません。そこで、瀬戸内海区水産研究所では、2015年よりこたか丸を使用した「マダイ若齢魚分布調査」を実施しています。

2015年のマダイ若齢魚分布調査では70種以上（魚類、甲殻類、軟体動物、棘皮動物およびその他の分類群）の生物が採集されました。図3に採集された生物の一部を示します。

（生産環境部 資源動態グループ 主任研究員）

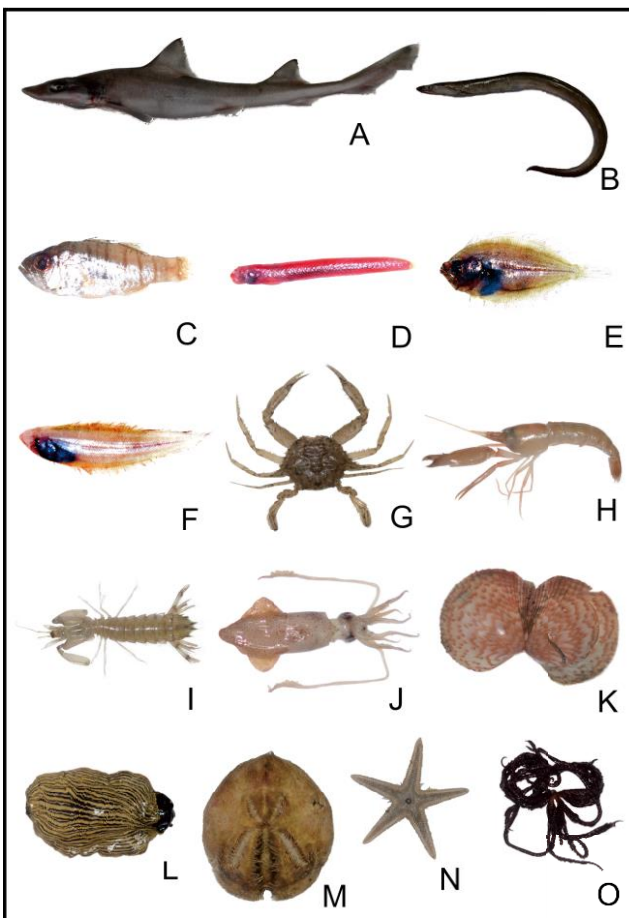


図3

- A. ホシザメ(ドチザメ科), 全長 287.1mm。
- B. ハモ(ハモ科), 肛門前長 148.8mm。
- C. テンジクダイ(テンジクダイ科), 全長 59.2mm。
- D. アカウオ(ハゼ科), 全長 107.7mm。
- E. タマガンゾウビラメ(ヒラメ科), 全長 227.5mm。
- F. イヌノシタ(イヌノシタ科), 全長 157.1mm。
- G. ヒメガザミ(ワタリガニ科), 甲幅 20.6mm。
- H. テナガテッポウエビ(テッポウエビ科), 頭胸甲長 11.6mm。
- I. スジオシャコ(シャコ科), 頭胸甲長 13.1mm。
- J. ヒメジンドウイカ(ヤリイカ科), 外套長 93.3mm。
- K. トリガイ(ザルガイ科), 殻長 32.7mm。
- L. ウミウシの仲間(タテジマウミウシ科), 全重 15.1g。
- M. オカメブンブク(ヒラタブンブク科), 全重 3.9g, 2015年調査の最優占種(1平方mあたり31個体)。
- N. モミジガイ(モミジガイ科), 全重 1.7g。
- O. ウミシダの仲間, 全重 1.8g。

調査船調査特集

植物プランクトンの遊泳 vs. 海水中の乱れによる混合

おにつか 剛
鬼塚 剛



海の中には多種多様な植物プランクトンが存在しており、有害な種類の植物プランクトンが大増殖して赤潮を形成すると漁業被害を起こすことがあります。有害赤潮の原因となる植物プランクトンの中には、鞭毛（べんもう）を持ち自ら泳ぐことができる種類がいます。私たちは漁業調査船しらふじ丸によって、鞭毛を持つ植物プランクトン（鞭毛藻）の遊泳とそれに影響する海水中の乱れの観測を行いました。

植物プランクトンの遊泳と海水中の乱れによる混合の関係

鞭毛藻の多くは、昼間に上昇し、夜間に下降する鉛直移動を行います。鉛直移動によって、昼間に表層で光を受けて光合成を行い、夜間に下層の栄養塩を取り込むことで、遊泳能力を持たない他の植物プランクトンとの増殖競争を有利に進めることができます。一方、海域では海上風、月や太陽の引力などの影響を受けて流れが生じており、海水中の流れの乱れが大きくなると、結果として海水の混合をもたらします。鞭毛藻が赤潮を形成するには、鞭毛藻の遊泳能力が海水中の乱れによる混合（乱流混合）を上回る必要があります（図1）。

八代海で実施した昼夜連続観測

私たちは2013年から2015年までの3年間にわたり有害赤潮が頻発する夏季に、九州西部に位置する八代海においてしらふじ丸による調査を行いました。各調査では、まず、八代海全域を探索し、鞭毛藻が多く存在する海域を絞り込み、昼夜連続観測を実施する定点を決めました。この定点において、鞭毛藻がどの深度にいるかを調べるための深度別の採水および顕微鏡観察、観測機器を用いた海水中的流れや乱れの強さ等の測定を24時間または48時間連続で2~4時間おきに実施しました。3年間にわたる調査によって、有害な鞭毛藻であるコク

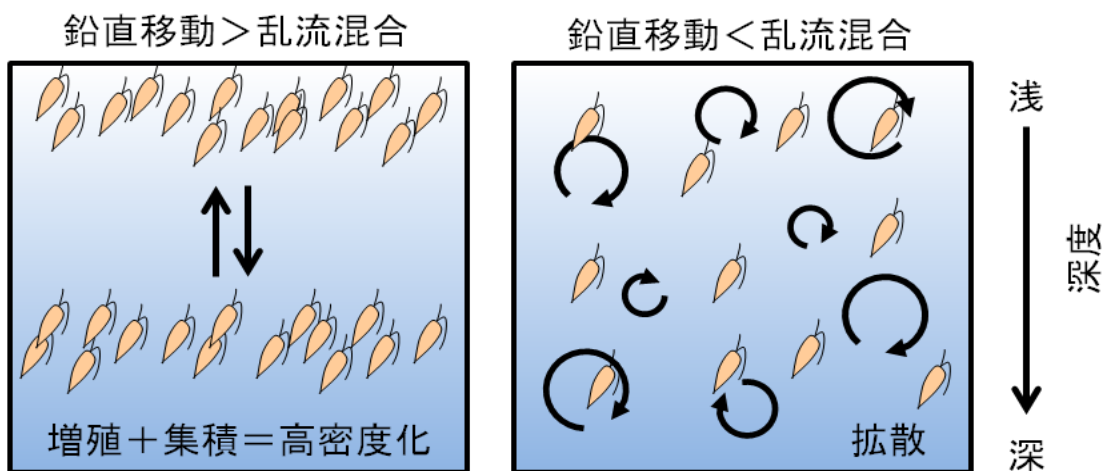


図1 鞭毛藻の鉛直移動と乱流混合のイメージ。鉛直移動可能な条件では「増殖+集積」によって急激な密度増加が実現します。一方、乱流混合が大きい場合、鞭毛藻は鉛直移動できず拡散してしまいます。その結果、表層で光を十分に受けられないため増殖は遅くなり、特定の深度への集積も起こりません。



写真1 採水作業と船内での顕微鏡観察の様子

ロディニウム・ポリクリコイデスやカレニア・ミキモトイの鉛直移動特性と乱流混合の関係について貴重なデータを得ることができました。現在詳細な解析を行っており、近いうちにそれらを報告することができると思います。

おわりに

私たちの調査は、様々な観測機器を使用し昼夜連続で行うため、それに対応した設備と人員

が必要です。一方、赤潮のような植物プランクトンの大増殖の多くは、大型の調査船では観測が難しい比較的水深の浅い沿岸域で発生します。喫水（船の最下面から水面までの距離）が小さく沿岸域での観測に適したしらふじ丸は、赤潮調査になくってはならない存在となっています。

（環境保全研究センター

有害・有毒藻類グループ長）



写真2 観測機器を投入している様子

調査船調査特集

水産資源研究と調査船

いしだ みのる
石田 実



太平洋のイワシ類から始まり、現在の瀬戸内海のサワラにいたるまで海産魚類資源を担当しています。これまで調査船に乗る多くの機会に恵まれてきました。当研究所のしらふじ丸によるサワラ調査については、2012年3月発行の「瀬戸内通信」第12号に「瀬戸内海系群のサワラの産卵調査」と題して寄稿しましたので、今回はこれ以外の調査についてその一端をご紹介します。

太平洋での調査船調査

瀬戸内海区水産研究所に勤務する以前、太平洋のマイワシなどのイワシ類の資源を担当していました。その研究のために乗船した当センターの俊鷹丸、蒼鷹丸、水産大学の天鷹丸は大きさが数百トン、乗組員は23～30人で、太平洋沖合の調査に威力を発揮しました。20年以上前は日本近海にマイワシが大変多く生息しており、その主産卵場であった九州南方から、四国沖、紀伊半島沖の太平洋におけるマイワシ魚群と卵仔稚魚の分布を調査する必要があったのです。航走中は魚群探知機を作動させ、調査定点に到着すると水温塩分計を1千メートルまで下ろして観測し、続いて大型のプランクトンネットで卵仔稚魚を採集しました(写真1)。



写真1. 調査船で採集したマイワシ卵

外海では海況によっては波浪、うねりが高いことがあり、大型の調査船と言えども安全を保つために作業は一層慎重に行う必要があります。産卵期が終わるまでに広い海域の調査を完了しなければならないので、乗組員、調査員とも4時間ごとの3交代で24時間、航走と調査を継続しました。

また、マイワシ太平洋系群の資源減少後も産卵場が形成されていた土佐湾で、流し刺網による親魚の漁獲調査も行いました。魚群探知機でマイワシ魚群を探索し、日没後、集魚灯により船の近くに群れを集め、長さ30メートル、高さ10メートル程度の流し刺網で漁獲しました。この調査は、しらふじ丸でも何度か行いましたが、乗組員総出の網揚げ作業となりました(写真2)。



写真2. しらふじ丸で流し刺網によるマイワシ親魚の採集

土佐湾ではイワシ類などを対象にした大規模な網漁業がないため、漁獲物から成熟した親魚を手に入れることができず、研究のためには船を出して採集するほかありませんでした。もっとも、マイワシの産卵場が継続していたのは、漁獲されずに資源が守られていたことが大きな理由と考えられています。このほかにも、こたか丸でウルメイワシの釣り調査や稚魚調査も行いました。

漁船による調査

現在は、毎年5月に行っている、しらふじ丸による瀬戸内海のサワラ産卵調査のほかに、冬季に紀伊水道と伊予灘でサワラ釣りの漁船を用船し、普段の操業同様に曳縄や延縄で漁獲したサワラに標識を付けて再放流し、回遊経路の調査を実施しています。なぜこの時期に調査するかと言いますと、サワラは「鱒」とも書くように、瀬戸内海では、5月、6月を中心に産卵のために来遊する魚群を流し刺網で多く漁獲するのですが、この漁法では網に絡まったサワラは生きた状態で水揚げされません。一方、秋から冬は相対的に水温の高い紀伊水道や伊予灘から豊後水道に回遊するサワラを主に釣りで漁獲します。漁船は数トン、漁業者は通常1人です。サワラは釣り上げた時は生きていますが、水から上げるとすぐに弱り、釣り上げてから標識を付けて海に逃がす作業を1分程度で完了しないと死んでしまいます。この調査は、サワラの分布場所と深さに合わせた漁具を選択して確実に漁獲するだけでなく、船上に釣り上

げる時の手際の良さが必要で、熟練した漁業者の協力がないと不可能です（写真3）。

このように漁獲を伴う調査には漁船の活用が有効ですが、一方、海洋環境やプランクトン、魚卵仔稚の採集を行うには限界があるのも事実です。というのは、一般に漁船には汎用の巻き上げ機や滑車が装備されておらず、プランクトンネットを曳いたり、重量のある水温塩分計や採水器などの観測機材を上げ下ろししたりすることが困難だからです。専門の調査船による調査をすべて漁船で肩代わりすることは出来ません。

調査船の今後

海洋生物は陸上生物と異なり、多くの場合、全体の数を直接数えることが出来ません。さらに、環境の変動や漁獲により数量が大きく変動することがあります。例えば、この30年間で、瀬戸内海のサワラは20倍以上、太平洋のマイワシは100倍以上も増減しました。一方、海洋生物資源は地下資源とは異なり、適切に漁獲すればいつまでも利用する事が可能です。しかしそのためには、海洋環境と資源生物の実態を把握することが必要であることは言うまでもありません。漁獲対象生物についての情報は漁獲統計資料や漁獲物の解析でかなりの部分を知ることが出来ますが、もちろん、それだけでは不十分です。直接目に見えない海の中の様子をどれだけ正確に知るかが研究の鍵で、ここに調査船による調査を継続する意味があります。水産研究に欠くことの出来ない水産研究所の調査船は、代船建造のたびに最新の調査機材を装備するとともに、様々な改良を加え、より安全で効率よく作業が出来ることを目指していると聞いています。また、乗組員の居住環境も研究にとって大変重要です。待遇の向上により優秀な人材が集まり、士気向上により精度の良い調査が一層確実なものとなるからです。

（増養殖部 主幹研究員）



写真3. 漁船に釣り上げたサワラ

研究技術紹介

クormaエビに感染した病原ウイルス量を測定するには？

～nested PCR と real-time PCR との比較～

あべ ひろみ
阿部 啓美

PCR法によりウイルスフリー親エビ選別による予防対策が行われるようになってきました。私たちは、クormaエビに感染した病原ウイルスを検知するために、nested PCR法とreal-time PCR法という2種類の方法を用いて行っています。ウイルスに感染したクormaエビ試料を測定した場合、どのような条件（試料量の差異、ウイルス量の差異）で、どちらの手法が感度よく検出できるのか比較しました。

はじめに

日本には、死亡率の高いホワイトスポットウイルス病/急性ウイルス血症というウイルス病が存在します。親エビから子エビへ病原ウイルスが伝播するリスクがあるため、ウイルス疾病の防除には、ウイルスを保持していない親クormaエビを種苗生産にもちいることが有効です。ウイルスに感染していないクormaエビを見つけるために、私たちは二つのPCR法を用いて検査しています。

nested PCR法による検査

国際獣疫事務局 (OIE) のマニュアルでは、ホワイトスポットウイルスの検出は表1の条件でPCR法を2回行う (nested-PCR) ことになっています。プライマーセットと対象DNAの配列がマッチングすれば、2回目のPCR (2nd PCR) 反応後の電気泳動像では一本のきれいなバンドが検出されますが、多様な長さの増幅断片が複数本検出されたり、ウイルス遺伝子を持っていない陰性試料であっても、陽性と判断されたりすることもあります (図1、2nd PCR)。その場合は、既存のウイルスの遺伝子情報を参考にして、

ウイルス遺伝子を検出できる別の場所 (領域) に新たなプライマーセットを作成することで、一本の増幅断片を検出できるようになりました (図1、条件1)。PCR反応の熱変性、アニーリング、伸長の3工程のうちアニーリングと伸長の2工程を同時に同温度で行う条件2でも、条件1の結果と同等に検出可能です。短時間で結果を判定でき、検査効率の向上に貢献できます。

PCR反応は、使用する試薬の種類、DNA量 (ウイルス量) に影響を受けやすく、また抽出する組織の種類や量の多少によりPCR阻害作用が生じて、検出感度が変化する場合があります。そこでDNAを抽出する検査部位の量を変化させて、偽陰性の発生状況を3種の試薬 (Ex Taq、KOD FX、Emerald Amp Master Mix) を用いて検討しました。血リンパ液の採取は生きたまま行い、エラの採取は死亡個体から採取しています。Ex Taqでは、すべての場合で検出感度が低く、偽陰性が生じたことから阻害作用の影響を受

表1 nested PCRとreal-time PCR条件

手法	項目	PCR		増幅産物 サイズ bp	アニーリング		伸長		サイクル (回)	PCR反応 時間
		1st	2nd		温度 (°C)	時間 (秒)	温度 (°C)	時間 (秒)		
nested PCR	OIE	1st	F1 R1	1447	55	60	72	60-120	40	4-5時間
		2nd	F2 R2	941	55	60	72	60-120	40	4-5時間
	条件1	1st	F1 R1	1447	55	30	72	30	30	2時間
		2nd	F2v2 R2v2	501	55	30	72	30	25	1時間30分
	条件2	1st	F1 R1	1447	59	58	-	-	30	1時間
		2nd	F2v2 R2v2	501	59	28	-	-	25	35分
real-time PCR		qF1 qR1	120	60	30	-	-	45	1時間	

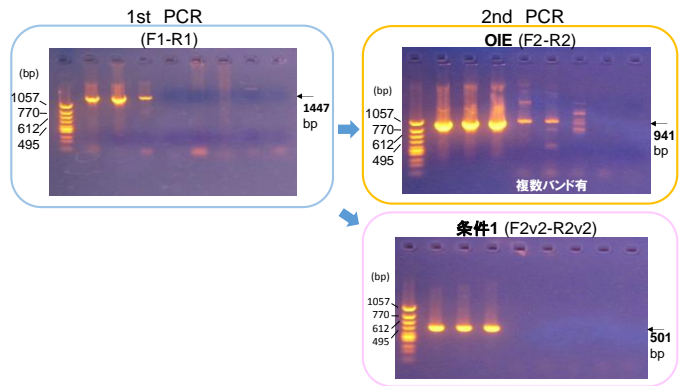


図1 各プライマーセットを用いたPCRの電気泳動像

けやすいと考えられました。それに対して KOD FX では、10mg の組織からの DNA 抽出液を用いても検出感度低下はほぼ見られず、100mg のエラからの DNA 抽出液を使用した場合のみ偽陰性が確認されました。Emerald Amp Master Mix を使用するとエラにおいて検出感度低下は認められませんでした (表 2)。このような現象は、対象のサンプルによって変化すると考えられるため、予備実験が必要です。

表 2 ウイルス量、組織量の違いによる
検出感度の違い

PCR法	nested PCR						real-time PCR	
	TaKaRa Ex Taq		TOYOBO KOD FX		TaKaRa Emerald Amp Master Mix		Thermo Scientific DyNAmo Color Flash	
ウイルス量	多	少	多	少	多	少	多	少
組織量	多	x	x	x	x	○	○	○
エラ	少	△	x	○	○	○	○	○
血リンパ	多	○	△	○	○	-	-	○
	少	○	○	○	○	-	-	○

陰性の組織から抽出したDNAに既知濃度の陽性試料を混合した時のPCR検出の成否を表す
○検出可、△混在、×検出不可
- 検査せず

反応液中にどのくらいのウイルス遺伝子が含まれていれば nested PCR 法で検出可能なのか検出限界を調べました。その結果、PCR に使用する溶液中 (20 μl) に 1000 個以上ウイルス遺伝子が存在すれば 1st PCR で、10 個以上なら 2nd PCR で検出可能でした (図 2)。PCR によって増幅した DNA 量は増幅前の試料中のウイルス DNA 量に比例するため、数段階の既知濃度のウイルス遺伝子試料も同時に PCR 法を行うことでウイルス DNA 量を概算することが可能です。

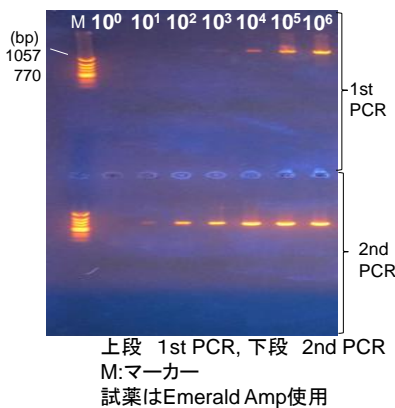


図 2 nested PCR 測定限界濃度

real-time PCR による検査

定量性に優れている PCR 法として real-time PCR という方法があります。名前のとおりリアルタイムに遺伝子の増幅量を計測することが可能な機器を利用した手法です。増幅産物は nested PCR よりやや短く、100bp 程度が一般的です。実験条件は表 1

に示したように、nested PCR と比較すると短時間で結果を出すことが可能です。本法の検出限界は 1 反応あたり 100 個でした。組織量に依存する阻害作用による検出感度の低下や部位による差はなく、エビのエラサンプルの場合は組織量 100mg からの DNA 抽出液を用いた場合でも検出感度の低下を起さずウイルス検査が可能でした (表 2)。

表 3 nested PCR と real-time PCR 比較

機能	nested PCR	real-time PCR
簡便性	△	◎
結果がでるまでの迅速度	○	◎
定量性	△	◎
感度	◎	○
組織量の多い試料	△	○
ウイルス量の多い試料	△	○

最後に

real-time PCR は、PCR 反応後の電気泳動が不要であることから、簡便で迅速に結果を出すことができ、定量的な分析を行うことができます (表 3)。一方で nested PCR はウイルス遺伝子の高感度な検出が可能です (図 3)。ただし、適した試料量と試薬を選択しなければ疑陰性に成り得ることを念頭に置いて、検査を行わなければなりません。また、ウイルス量を測定するには、他にも簡易で高感度な LAMP 法、リアルタイム LAMP 法という方法もあり、より低濃度でのウイルスを検知できるようになることが期待されています。そして、このような研究蓄積によって、いつまでも食卓にクルマエビが並ぶように願っています。

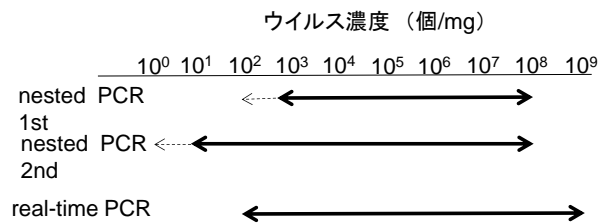


図 3 検出法ごとの検体のウイルス濃度



(海産無脊椎動物研究センター

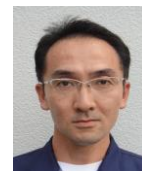
甲殻類グループ 研究等支援職員)

トピックス

われら瀬戸内 Fisher man !

漁師さんの海底ゴミ削減にかける想い

～広島県 因島市漁業協同組合 立花 勇さん～



おおた けんご
太田 健吾

瀬戸内海は、美味しい魚をはじめ、私たちの生活に欠かせないたくさんの海の幸を育てています。しかし、近年は適正に処理されずに投棄される廃棄物によって海が汚れ、漁業に深刻な影響が及んでいることが大きな社会問題となっています。このため、近年では岡山県をはじめ、瀬戸内海の各地で海底に堆積したゴミを回収する活動が行われています。

水産総合研究センター瀬戸内海区水産研究所が高級魚のトラフグやオニオコゼの放流調査を実施している広島県下では、尾道市と地元の漁業者が一体となり、海底ゴミの回収に取り組んでいます。尾道市因島土生町の因島市漁業協同組合に所属する立花 勇さんもそのメンバーのひとりであり、小型底曳き網漁でイヌノシタやガザミなどの獲物を追う傍ら、当所の放流調査や海底ゴミの回収にも積極的に取り組んでいます(図1)。

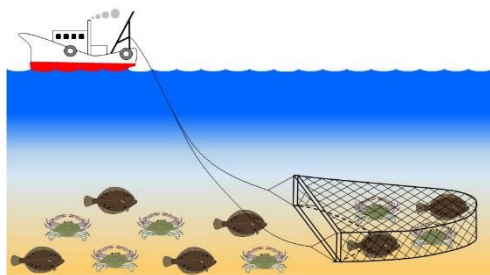


図1 小型底曳き網による漁法

底曳き網にかかるゴミは、ビニール、プラスチック、ペットボトル、空き缶など実に様々であり、これらは分別して専用の網袋に詰め、港に設置されたゴミステーションに集められた後、清掃センターで処分されます(写真1、2)。



写真1 回収した空き缶やビニール



写真2 袋詰めされた大量のゴミ

尾道市によると、事業を開始した平成 20 年度当初はゴミの回収量が 2.94 トンと最も多く、以降は漸次減少傾向にあるそうです(図2)。

一方、立花さんは「ゴミの回収量は漁業者数、操業回数の多寡によって変化する。何より大切なのは回収の手間を惜しまないこと。個人プレーではなく、できるだけ多くの漁業者と行政が一体となり、みんなが共通の認識をもって取り組むこと。」と、漁師さんならではの目線でこの問題に取り組んでいます。私たちも協力してみんなの海を汚さないようにしましょう。

(増養殖部 資源増殖グループ長)

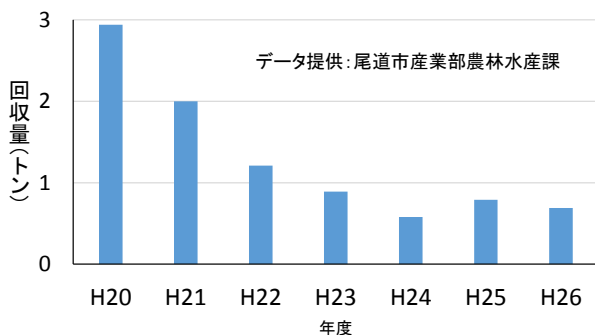


図2 尾道市における海底ゴミ回収量の推移



因島市漁業協同組合 立花 勇 氏

イベント報告

平成27年度研究所一般公開を開催しました

うめき かずよし
梅木 和義

瀬戸内海区水産研究所では、研究活動や成果を一般の方々に楽しみながら知っていただくことを目的に、毎年1回一般公開を開催しています。今年度は平成27年9月5日(土)に「もっと知りたい! 瀬戸内海2015」をキャッチフレーズに開催しました。

初めての9月開催ということで少々不安はありましたが、409名の方にお越しいただきました。今回は、昨年公開できなかった漁業調査船しらふじ丸を公開したこと、また、初めての試みとなる研究所内ツアーを行い、普段お見せできない研究室や実験室を見学していただくなど、変化ももたせてみました。そのほかの各展示コーナーも多くの人で賑わい、見て、知って、触れて、研究所を身近に感じて

いただけたのではないかと思います。ご来場の皆様、ならびに一般公開開催にご協力くださいました皆様、誠にありがとうございました。今後ともよろしくお願いたします。

(業務推進部 業務推進課 情報係長)



第6回瀬戸内海水産フォーラムを開催しました

きたむら しょうじ
北村 章二

瀬戸内海を対象海域とする12府県で構成する瀬戸内海ブロック水産試験場場長会と瀬戸内海区水産研究所の共催による「第6回瀬戸内海水産フォーラム」を平成27年10月24日(土)に広島市内のRCC文化センターで開催しました。

このフォーラムは、平成17年より隔年で開催しているシンポジウムで、これまでは漁場環境関係のテーマが多かったのですが、今回は「瀬戸内の海の

幸をよりおいしく! 一魚に付加価値を与えブランド化する技術展開」をテーマとしました。これは、最近魚介類の生産から販売に至る段階で何らかの一工夫を加え、他産地のものと差別化する、いわゆるブランド化が各地で盛んになってきたことをとらえたものです。

当日は、瀬戸内の海の幸を対象に各地で取り組まれている技術開発や販売戦略について6題の講演があり、その後の総合討論では活発な意見交換が行われました。

漁業関係者、行政機関、民間企業等を含め、72名の方々にご参加いただき盛会となりました。お越しいただいた皆様には御礼申し上げます。なお、来年は当所の最新成果をご紹介する「研究成果発表会」を開催いたしますので、こちらにも是非ご参加下さい。

(業務推進部長)



表紙の解説

今号の主役である漁業調査船「しらふじ丸（写真左）」と「こたか丸（写真右）」です。

しらふじ丸の写真は、調査航海を終え入港する際のもので（平成26年2月撮影）。こたか丸の写真は、初めて当所桟橋に入港する際のもので（平成26年8月撮影）。

（業務推進部 業務推進課 情報係長 梅木和義）



編集後記

瀬戸内通信23号をお届けいたします。今号は調査船調査特集として、しらふじ丸とこたか丸が行っている調査とともに、そこから得られたデータがどのように水産研究・水産業に役立っているかをご紹介します。なお、4月から水産総合研究センターは水産大学校と統合し水産研究・教育機構として新しくスタートを切ることになりました。

本誌は年に2回、当研究所の研究成果などを発信する目的で発行しております。記事の内容に関するご質問や編集方針についてのご要望などございましたら、下記までご連絡をお願いいたします。

（業務推進部 業務推進課長 吉田勝俊）

Hatsukaichi Main Station

Momoshima Laboratory

Hakatajima Laboratory

Yashima Laboratory

瀬戸内通信

第23号
平成28年3月発行

編 集 委 員	北村 章二	吉田 勝俊	辻野 睦	外丸 裕司
	太田 健吾	小島 大輔	基 修司	梅木 和義
発 行	国立研究開発法人水産総合研究センター			
編 集	国立研究開発法人水産総合研究センター 瀬戸内海区水産研究所			
	〒739-0452 広島県廿日市市丸石 2-17-5			
	TEL. 0829-55-0666 (代) FAX. 0829-54-1216			
	E-mail: www-feis@fra.affrc.go.jp			
	URL http://feis.fra.affrc.go.jp			