

C) O_2 レベルに及ぼす細胞内 NADPH および $NADP^+$ レベルの影響

細胞内 NADPH 量は、Student t-test を実施したところ有意差はなかったが、平均値は強毒株で高かった (図 17)。また、GA 投与について有意な影響は認められなかった。一方、細胞内 $NADP^+$ 量は、有意差はなかったが、強毒株で平均値は高かった。弱毒株では GA 存在下で $NADP^+$ 量が有意に減少した。これらの結果から、NADPH および $NADP^+$ は魚毒性と関与し、カルビン回路の活性に制御される可能性が示唆された。

D) NADPH オキシダーゼの定量と複合体解析

ウェスタンブロッティング法で強毒株および弱毒株の NOX を検出し、発現量を解析した結果、分子量 130 kDa と 20 kDa の位置にバンドが検出された (図 18)。ヒトや植物の NOX の分子サイズは約 100 kDa であることから (Pierre 2002)、130 kDa のバンドが NOX だと推定された。このバンドの強度は、強毒株と弱毒株間で同程度であった。

また、Clear Native-PAGE でタンパク質複合体解析を行ったところ、両株ともに約 450 kDa と約 200 kDa の位置に NOX が検出された (図 19)。また、穏和な界面活性剤である β -dodecyl maltoside の濃度を上げていくと、高分子のバンドが薄くなり、低分子のバンドが濃くなった。したがって、*C. marina* の NOX は細胞内で他のタンパク質と複合体を形成していることが示唆された。

E) 魚毒性に及ぼす光合成阻害剤投与の影響

DCMU を投与して 1 日間培養した *C. antiqua* (DCMU 投与区) の O_2 レベルは培養液 (陽性対象区) の 4 分の 1 程度であった (図 20)。マダイ稚魚に曝露した結果、陽性対象区および DCMU 投与区、ともに直後に O_2 レベルが大きく上昇したが、陽性対象区ではほとんどのマダイが 2 時間以内に横臥したのに対し、DCMU 投与区では 6 時間後まで全ての個体が生残した (図 21)。なお、予備的に、曝露直前に DCMU を投与してマダイに *C. antiqua* を曝露したところ、マダイは陽性対象区と同様にすぐに横臥した。以上のことから、*C. antiqua* の魚毒因子は光合成産物である可能性が高く、ある程度時間をかけて生産あるいは蓄積されと考えられた。一方で、これまでに、はキサントシンオキシダーゼを用いて人工的に O_2 を産生して魚に曝露してもへい死しないこと (Marshall et al. 2003) や SOD で細胞外 O_2 を消去しても魚は死ぬことが報告されている (小田・山口 2013)。同様に、本研究からも O_2 は直接的な魚毒因子ではないことと考えられた。しかしながら、光合成が薬剤で止められるというシチュエーションは実環境では通常起こりえないので、 O_2 が魚毒因子でなくても、魚毒性指標としては利用可能と現時点では考えている。

F) 現場における O_2 レベルを用いた魚毒性計測

5 つの調査点における *Chattonella* 赤潮海水の O_2 レベルは、ポンプ採水をした龍ヶ岳南で最も低く (2,775 FLU)、細胞密度が最高であった龍ヶ岳 (3,648,402 FLU) で最も高かった (図 21)。曝露後、ブリは龍ヶ岳および龍ヶ岳南 (ポンプ) の海水中で 2 尾ともそれぞれ 1 時間以内および 4 時間以内にへい死し、御所浦および湯ノ口の海水中ではそれぞれ 6 時間後と 8 時

間後に1尾がへい死し、もう1尾は8時間後まで生残した。薄井の海水では2尾とも生残した。2017年にも瀬戸内海区水産研究所と鹿児島県水産技術開発センターが同様の調査を実施した(矢野ら 2018)ので、その際のデータと今回のデータを比較した。2017年における *Chattonella* の細胞密度は $102 \text{ cells mL}^{-1}$ と低かったが、 O_2 レベルは 1,623,761 FLU で細胞密度当たりのレベルが今回より3~17倍高かった。結果として、ブリは2尾とも3時間以内にへい死した。薄井と龍ヶ岳南のデータを除いて、魚毒性とレベルあるいは細胞密度との関係を見た結果を図21に示す。明確に O_2 レベルの方が魚毒性と相関が高いことが分かった。後日、へい死個体の鰓組織解析を実施した結果、2017年と同様、二次鰓弁の損傷や付近の粘液付着が確認された(図22)。そのため、2017年と今回でそれほどへい死機構に差はなかったと考えられる。本実験の結果から、現場においても、人為的な刺激を与えなければ、 O_2 レベルは *Chattonella* 赤潮の魚毒性指標となることが明らかとなった。今後、本指標がどのような場面で利用できて、利用できないかを検討していく必要がある。

4) 分析化学的手法を用いた魚毒性診断技術の開発

ア. LC/MS/MS による魚毒成分探索

既知の毒性成分であるギムノシン、アンフィジノール、パリトキシン、カーロトキシンは *K. mikimotoi*, *H. circularisquama*, *C. ovata*, *C. marina*, *C. antiqua*, *A. leei* より採取したメタノール抽出液から検出されなかった。2018年に *H. circularisquama* のノンターゲット分析から見出された強毒株特異的な MS スペクトルについて、多数の株を用いて検討した。しかしながら、*H. circularisquama* 試料について、当該化合物と毒性(ワムシに対する毒性)に相関は認められなかった。また、LC/PDA 分析の結果より、溶血活性を示す光活性化ポルフィリン化合物についても検出を試みたが、強毒株および弱毒株間で有意な差は見られなかった(図23)。次に、*K. mikimotoi* のアセトン抽出液について毒性の異なる3株を LC/PDA/QTOF 分析した結果、魚毒性の強い IMR4 株が特に多く含有し、ブロード状に溶出する化合物を検出した(図24)。次年度以降、さらなる検討を進めたい。

イ. 魚毒性と糖含有量の関係把握

対数増殖期の *Chattonella* 11株の糖含量は $12 \sim 27 \text{ ng-sugar/}\mu\text{g-cell pellet}$ の範囲にあった(図25)。特に魚毒性との相関は認められなかった。今後、総含有量だけでなく組成などにも注目して解析を実施したいと考えている。

5) 養殖魚の赤潮によるへい死の確定診断技術の開発

C. marina 強毒株(Ago03)、魚毒性を有する *A. leei* 株および *A. tamarense* 株に曝露して瀕死状態(横臥)となったマダイ稚魚の鰓組織画像を図26に示す。ヘマトキシリン・エオジン染色像を観察した結果、*C. marina* に曝露されて横臥したマダイでは浮腫や細胞浸潤が認められたのに対し、*A. leei* や *A. tamarense* の場合、上皮細胞の剥離が顕著で、*A. leei* 細胞および *A.*

tamarense 細胞の二次鰓弁間への付着が認められた。PAS+アルシアンブルー染色を行って光学顕微鏡下で観察した結果、*Chattonella* の場合、粘液は大きな塊を形成して二次鰓弁の先端部を覆っていたのに対し、*Alexandrium* 二種の場合、二次鰓弁の外側だけでなく、間にも多く認められた。以上の結果より、*Chattonella* と *Alexandrium* 二種の間では曝露された鰓組織の性状は大きく異なることが明らかとなった。

引用文献

- Cho K, Kasaoka T, Ueno M, Basti L, Yamasaki Y, Kim D-K, Oda T. Haemolytic activity and reactive oxygen species production of four harmful algal bloom species. *Eur. J. Phycol.* 2017; **52**: 311-319.
- Hashida SN, Kawai-Yamada M. Inter-organelle NAD metabolism underpinning light responsive NADP dynamics in plants. *Front. Plant Sci.* 2019; **10**: 960.
- Ishikawa Y, Miyagi A, Ishikawa T, Nagano M, Yamaguchi M, Hihara Y, Kaneko Y, Kawai-Yamada M. One of the NAD kinase, *sll1415*, is required for the glucose metabolism of *Synechocystis* sp. PCC 6803. *Plant J.* 2019; **98**: 654-666.
- Jenkinson IR, Shikata T, Honjo T. Modified ichthyoviscometer shows high viscosity in *Chattonella* culture. *Harmful Algae News* 2007; **35**: 1-5.
- Kim D, Sato Y, Oda T, Muramatsu T, Matsuyama Y, Honjo T. Specific toxic effect of dinoflagellate *Heterocapsa circularisquama* on the rotifer *Brachionus plicatilis*. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 2000; **64**: 2719-2722.
- Kim D, Li W, Matsuyama Y, Cho K, Yamasaki Y, Takeshita S, Yamaguchi K, Oda T. Extremely high level of reactive oxygen species (ROS) production in a newly isolated strain of the dinoflagellate *Karenia mikimotoi*. *Eur. J. Phycol.* 2019; **54**: 632-640.
- Kim D, Li W, Matsuyama Y, Matsuo A, Yagi M, Cho K, Yamasaki Y, Takeshita S, Yamaguchi K, Oda T. Strain-dependent lethal effects on abalone and haemolytic activities of the dinoflagellate *Karenia mikimotoi*. *Aquaculture* 2020; **20**: 734953 (in press).
- Ma MW, Wang J, Dhandapani KM, Wang R, Brann DW. NADPH oxidases in traumatic brain injury—Promising therapeutic targets? *Redox Biol.* 2018; **16**: 285-293.
- Marshall JA, Nichols PD, Hamilton B, Lewis RJ, Hallegraeff GM. Ichthyotoxicity of *Chattonella marina* (Raphidophyceae) to damselfish (*Acanthochromis polycaanthus*): the synergistic role of reactive oxygen species and free fatty acids. *Harmful Algae* 2003; **2**: 273-281.
- Nagai K, Honjo T, Go J, Yamashita H, Oh SJ. Detecting the shellfish killer *Heterocapsa circularisquama* (Dinophyceae) by measuring bivalve valve activity with a Hall element sensor. *Aquaculture* 2006; **255**: 395-401.
- Oda T, Sato Y, Kim D, Muramatsu T, Matsuyama Y, Honjo T. Hemolytic activity of *Heterocapsa*

circularisquama (dinophyceae) and its possible involvement in shellfish toxicity. *J. Phycol.*

2001; **37**: 509-516.

小田達也, 山口健一. シャトネラ属有害プランクトンの毒性発現機構の解明. 平成24年度
漁場環境・生物多様性保全総合対策委託事業「赤潮・貧酸素水塊漁業被害防止対策事業」
報告書. 長崎. 2013 ; 18-24.

Pierre VV. The superoxide-generating NADPH oxidase: structural aspects and activation mechanism.

Cell. Mol. Life Sci. 2002; **59**: 1428-1459.

紫加田知幸, 北辻さほ, 坂本節子, 内田肇, 及川寛, 鈴木敏之, 山崎康裕, 内山郁夫, 成瀬
清, 亀井保博, 西出浩世, 安斎賢, 西山佳孝, 西槇俊之. 2) 有害赤潮の防除および漁
業被害軽減のための技術開発. 平成30年度漁場環境・改善推進事業「赤潮被害防止対
策技術の開発」報告書, 赤潮共同研究機関, 広島. 2019 ; 225-252.

Shikata T, Takahashi F, Nishide H, Shigenobu S, Kamei Y, Sakamoto S, Yuasa K, Nishiyama Y,
Yamasaki Y, Uchiyama I. RNA-seq analysis reveals genes related to photoreception, nutrient
uptake, and toxicity in a noxious red-tide raphidophyte *Chattonella antiqua*. *Front. Microb.*
2019; **10**: 1764.

矢野浩一, 中島広樹, 宮田翔也, 西広海. 赤潮総合対策調査事業－Ⅲ（赤潮被害防止対策調
査事業）. 平成29年度鹿児島県水産技術開発センター事業報告書, 2018 ; 1-11.

Zou Y, Yamasaki Y, Matsuyama Y, Yamaguchi K, Honjo T, Oda T. Possible involvement of hemolytic
activity in the contact-dependent lethal effects of the dinoflagellate *Karenia mikimotoi* on the
rotifer *Brachionus plicatilis*. *Harmful Algae* 2010; **9**: 367-373.

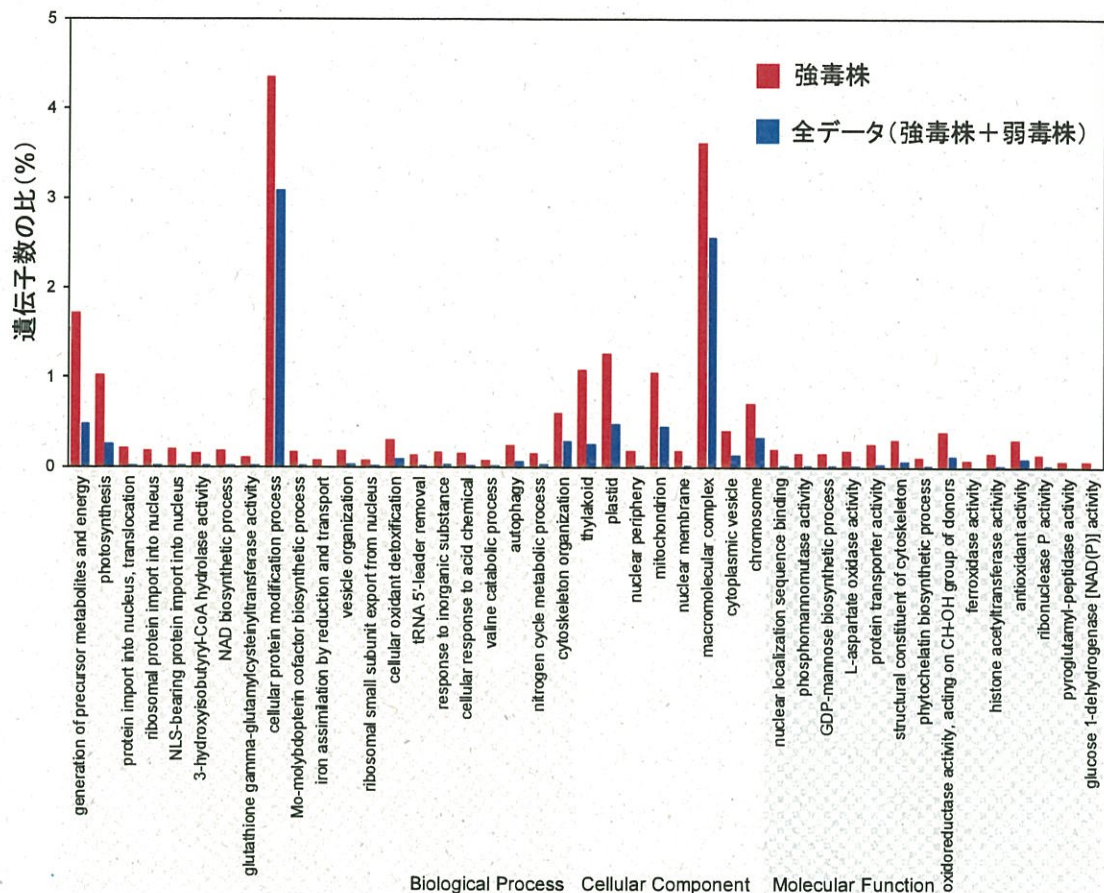


図 1. 強毒株および全データにおける遺伝子の機能別分類.

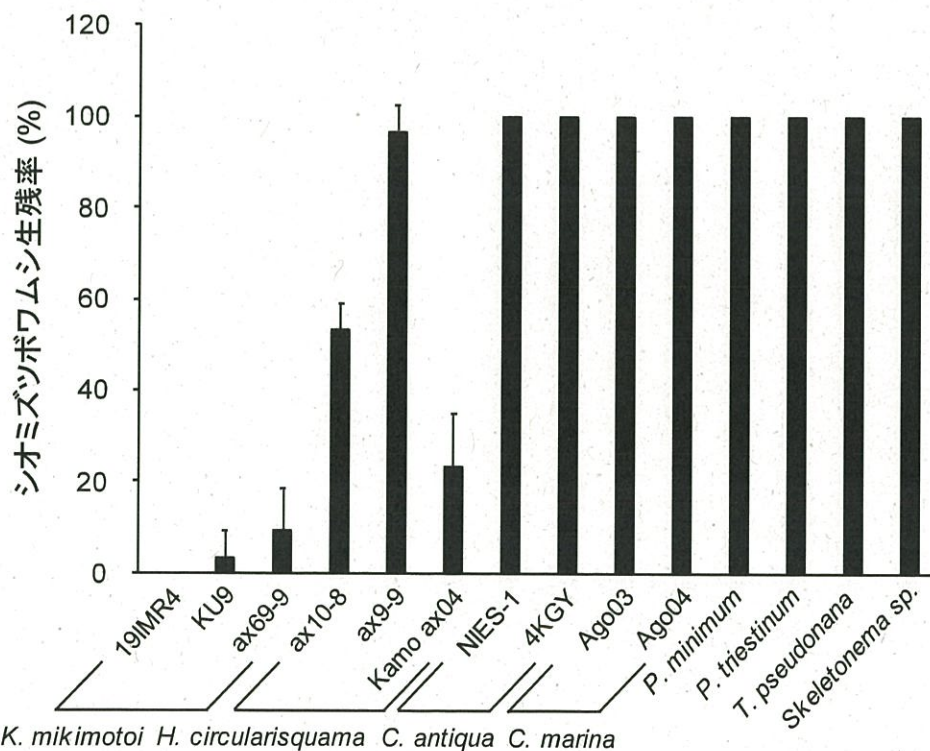


図 2. 14 株の植物プランクトンを 6 時間曝露したシオミズツボワムシの生残率.

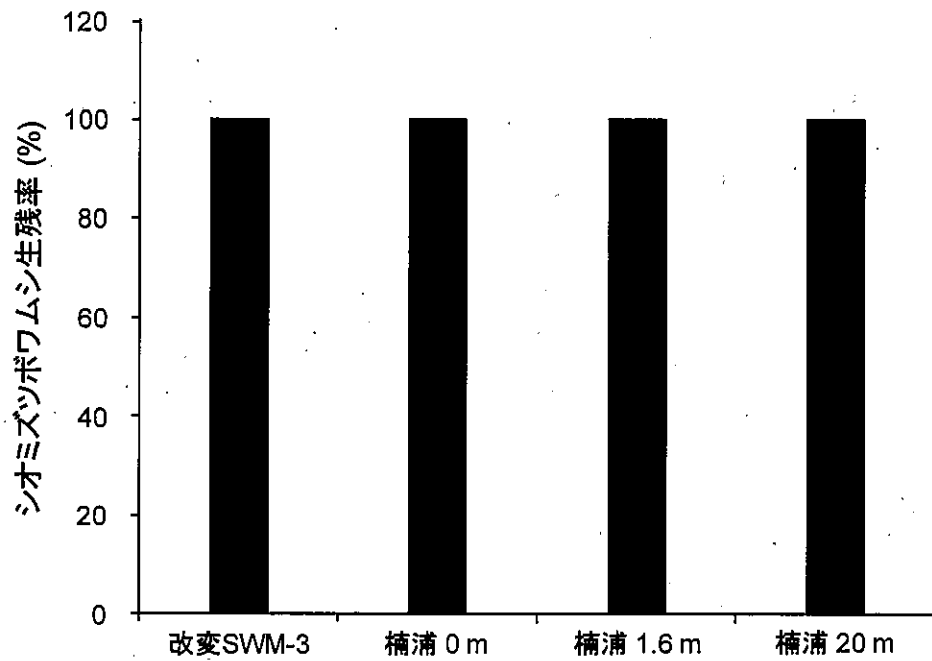


図3. 楠浦湾で8月25日に採取した *Chattonella antiqua* 細胞を6時間曝露したシオミズツボワムシの生残率.

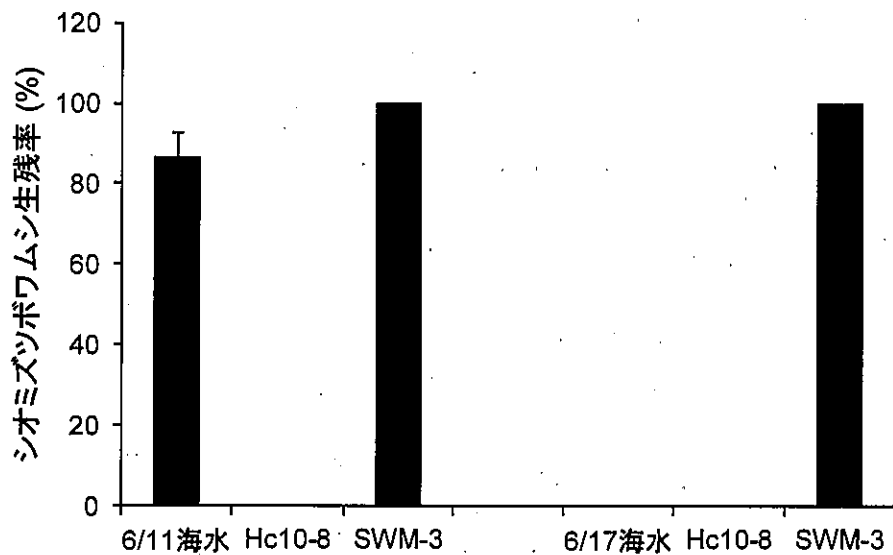


図4. 楠浦湾で6月11日および6月17日に採取した *Karenia mikimotoi* 細胞を8時間曝露したシオミズツボワムシの生残率.

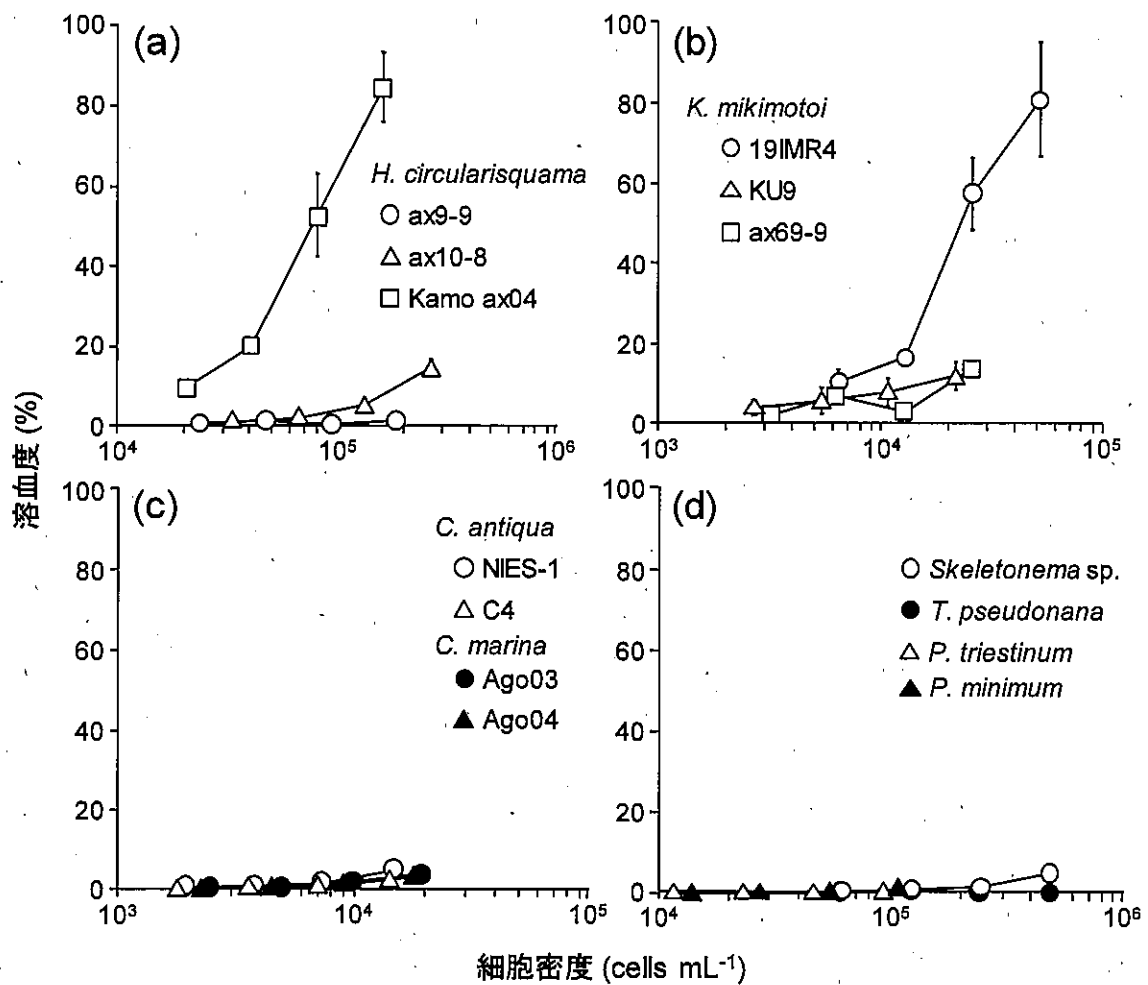


図 5.14 株の植物プランクトンの溶血活性； 3 株の *Heterocapsa circularisquama* (a), 3 株の *Karenia mikimotoi*, (b), 2 株の *Chattonella antiqua*, 2 株の *C. marina* (c), および *Skeletonema* sp., *Thalassiosira pseudonana*, *Prorocentrum triestinum*, *P. minimum* (d) .

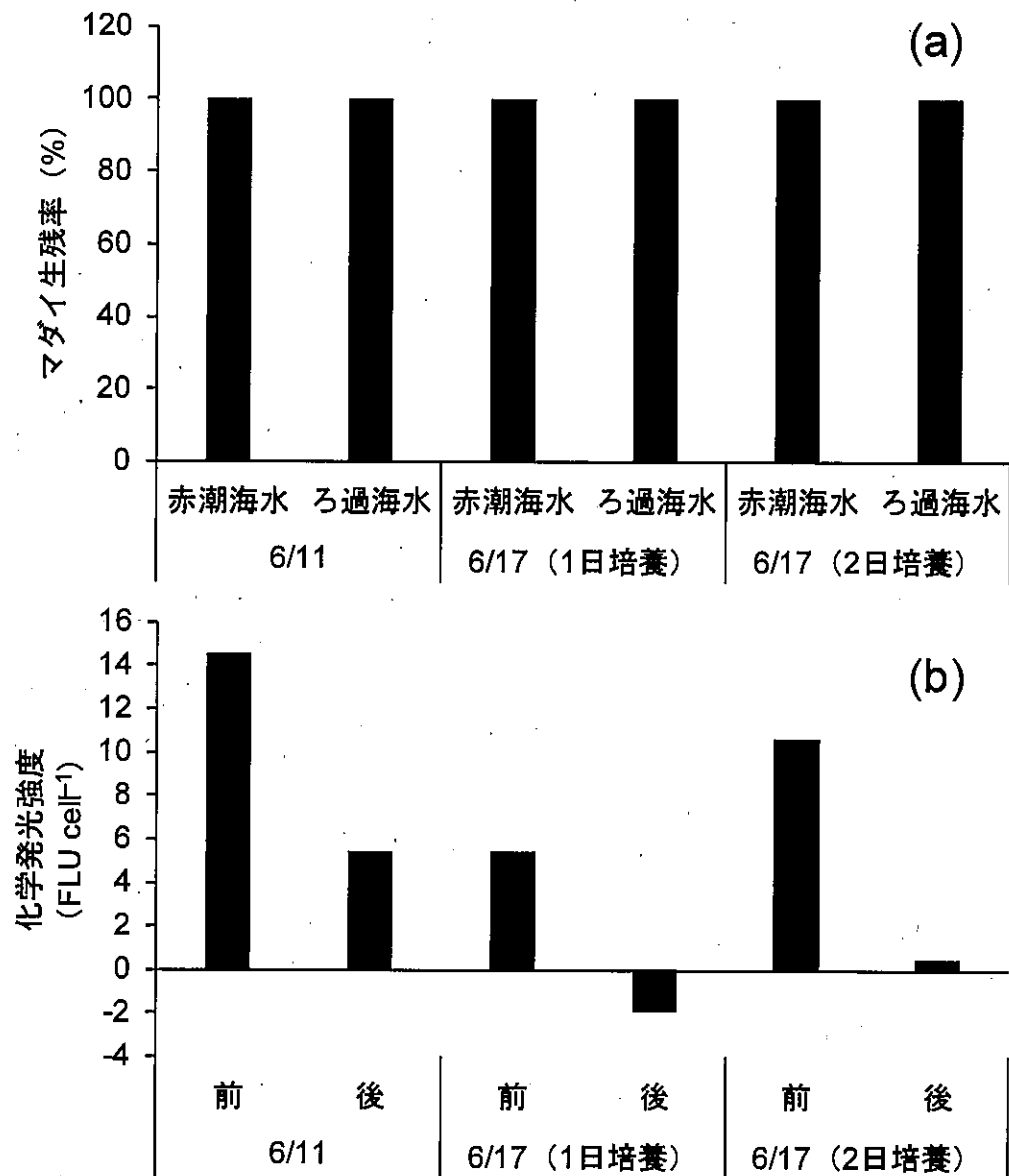


図6. 楠浦湾で6月11日および6月17日に採取した *Karenia mikimotoi* 細胞を6時間曝露したマダイ稚魚の生残率(a), および曝露前後における細胞あたりの O_2 産生レベル(b).

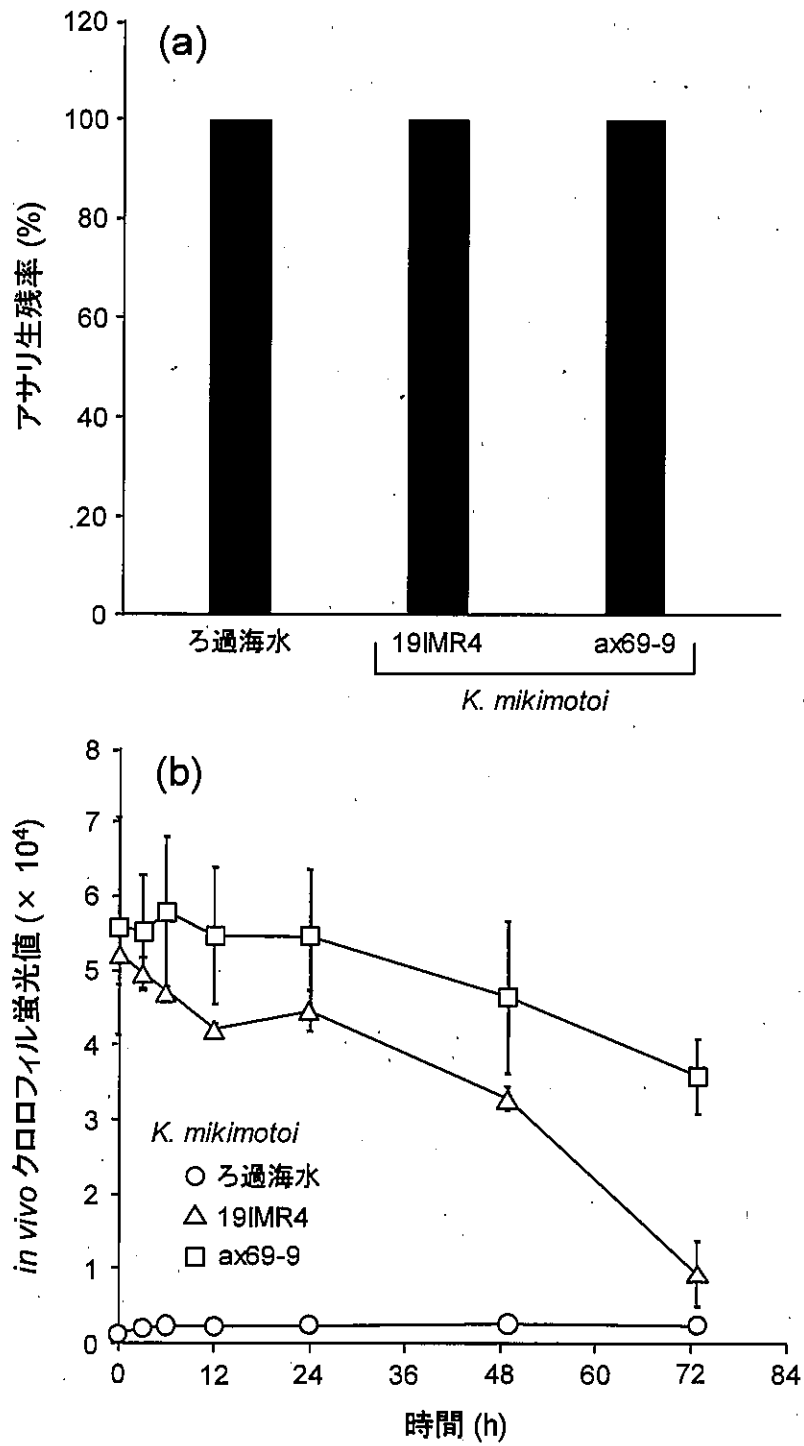


図 7.2 株の *Karenia mikimotoi* を 72 時間曝露したアサリの生残率 (a) および試験水中の *in vivo* クロロフィル蛍光値の経時変化 (b) .

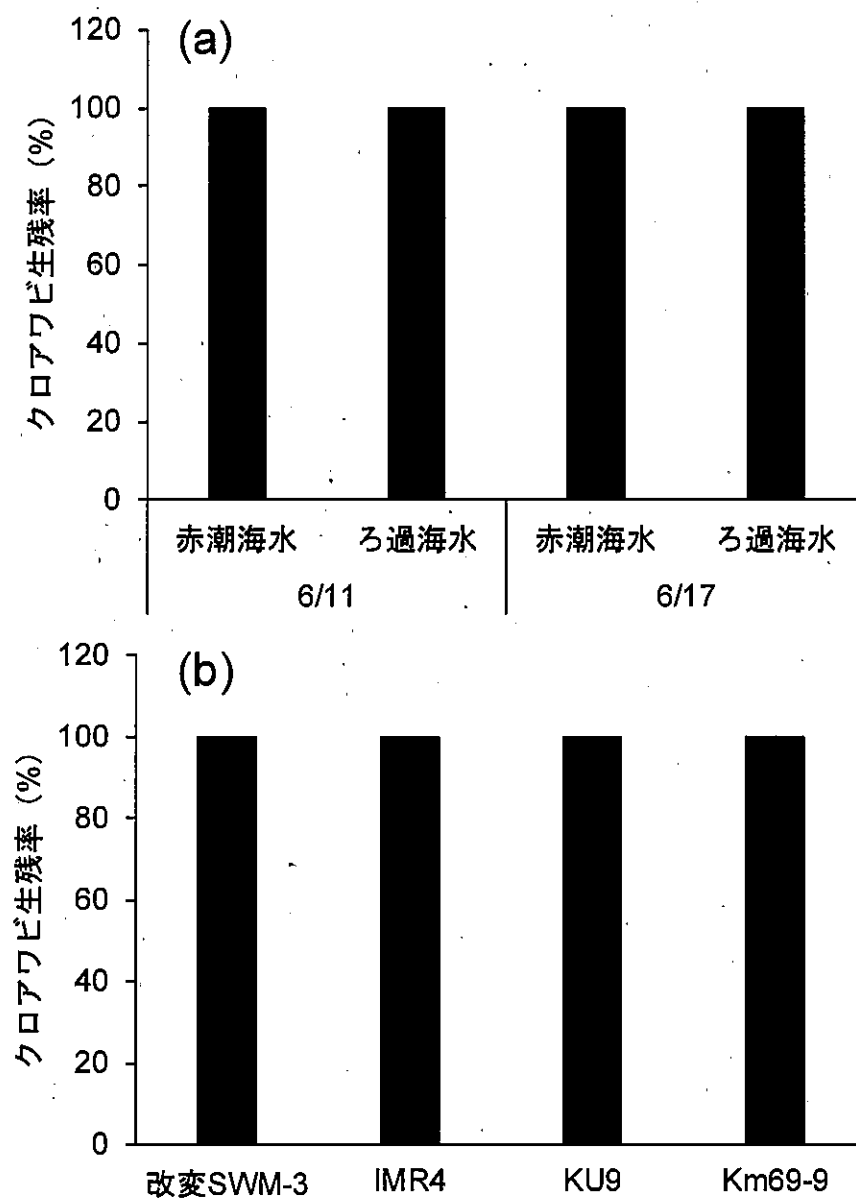


図 8. 楠浦湾で 6 月 11 日および 6 月 17 日に採取した *Karentia mikimotoi* 細胞を 24 時間曝露したクロアワビ稚貝の生残率 (a), および培養株を曝露したクロアワビ稚貝の生残率 (b).

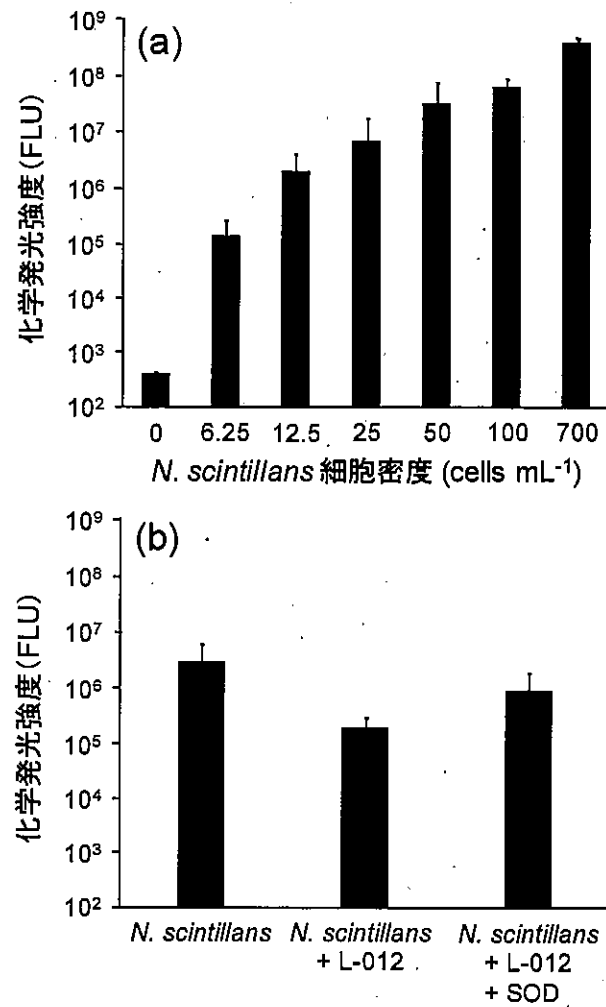


図 9. *Noctiluca scintillans* の細胞密度依存的な生物発光 (a) および化学発光試薬共存下の生物発光 (b) .

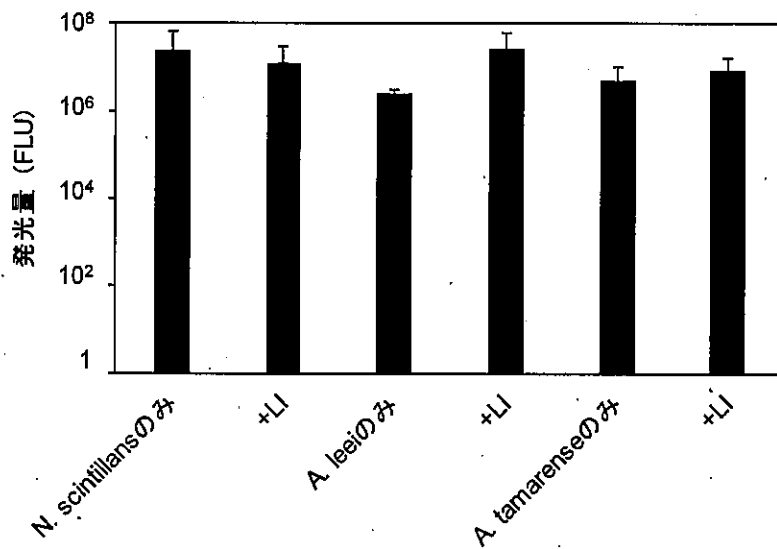


図 10. *Noctiluca scintillans*, *Alexandrium leei*, *A. tamarense* の培養液および各培養液にルシフェラーゼ阻害剤 (LI) を添加した後の化学発光強度.

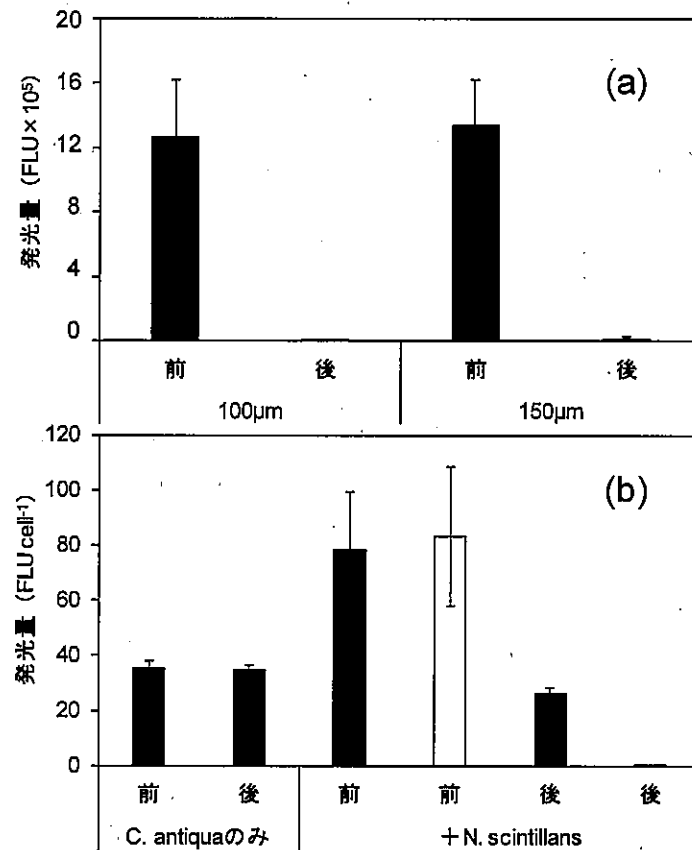


図 11. *Noctiluca scintillans* を目合い 100 μm , 150 μm のふるいによる除去後のろ液の化学発光強度 (a), *Chattonella antiqua* 培養液のみあるいは *C. antiqua* と *N. scintillans* の混合液におけるろ過前後の発光量 ; L-012 の添加あり (黒), 添加なし (白) (b).

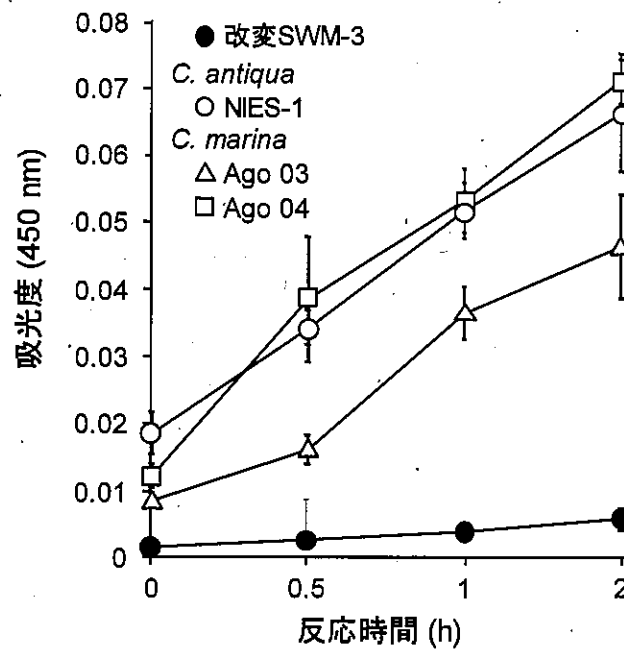


図 12. 吸光法を用いた *Chattonella* 属 3 株における経時的な O_2 の検出.

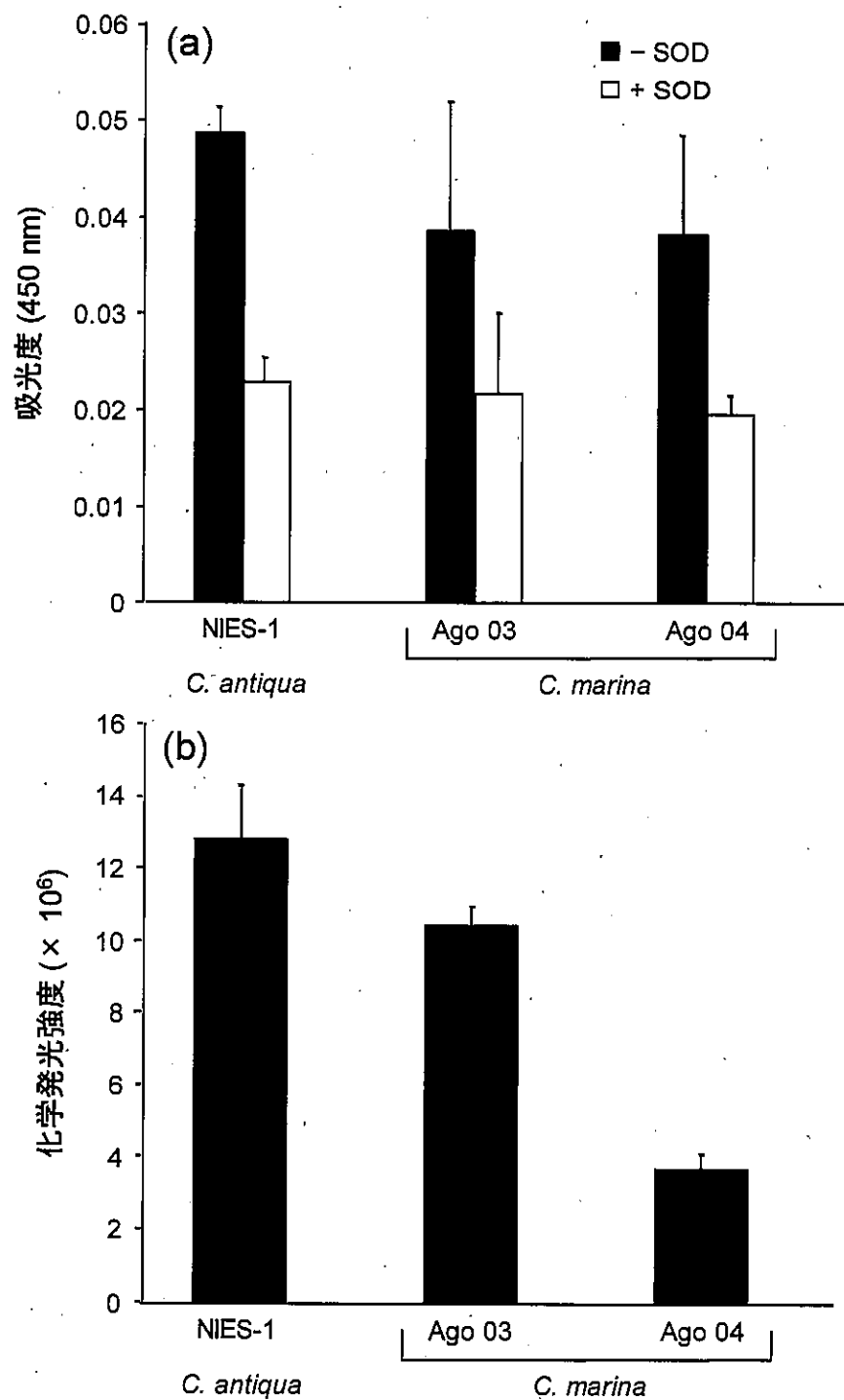


図 13. 吸光法 (a) および化学発光法 (b) を用いた *Chattonella* 属 3 株における O_2^- の検出.

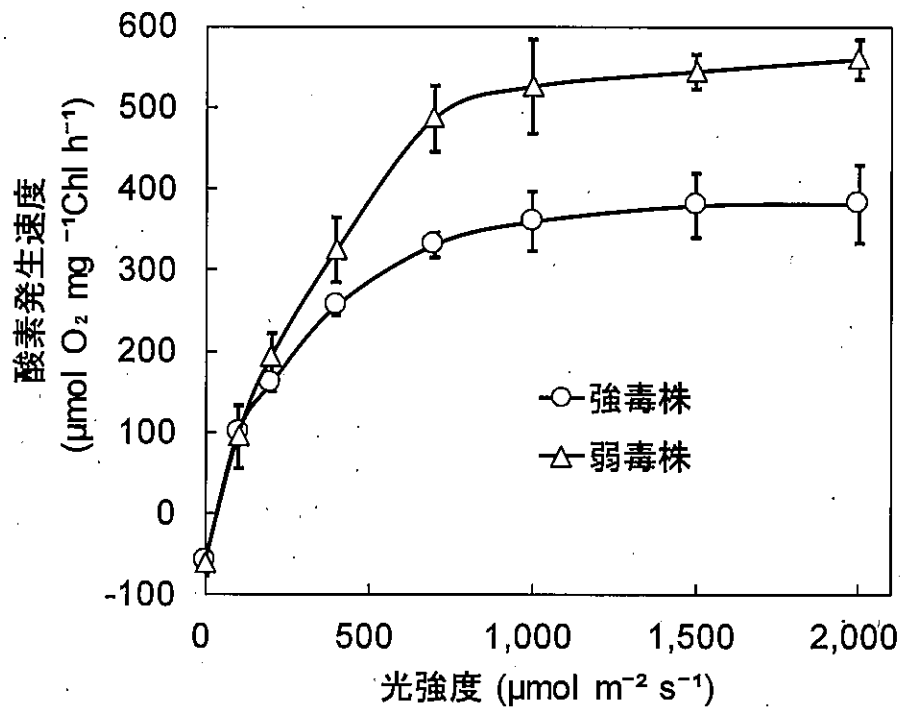


図 14. 異なる光強度における *Chattonella marina* の強弱毒株の Net 光合成活性.

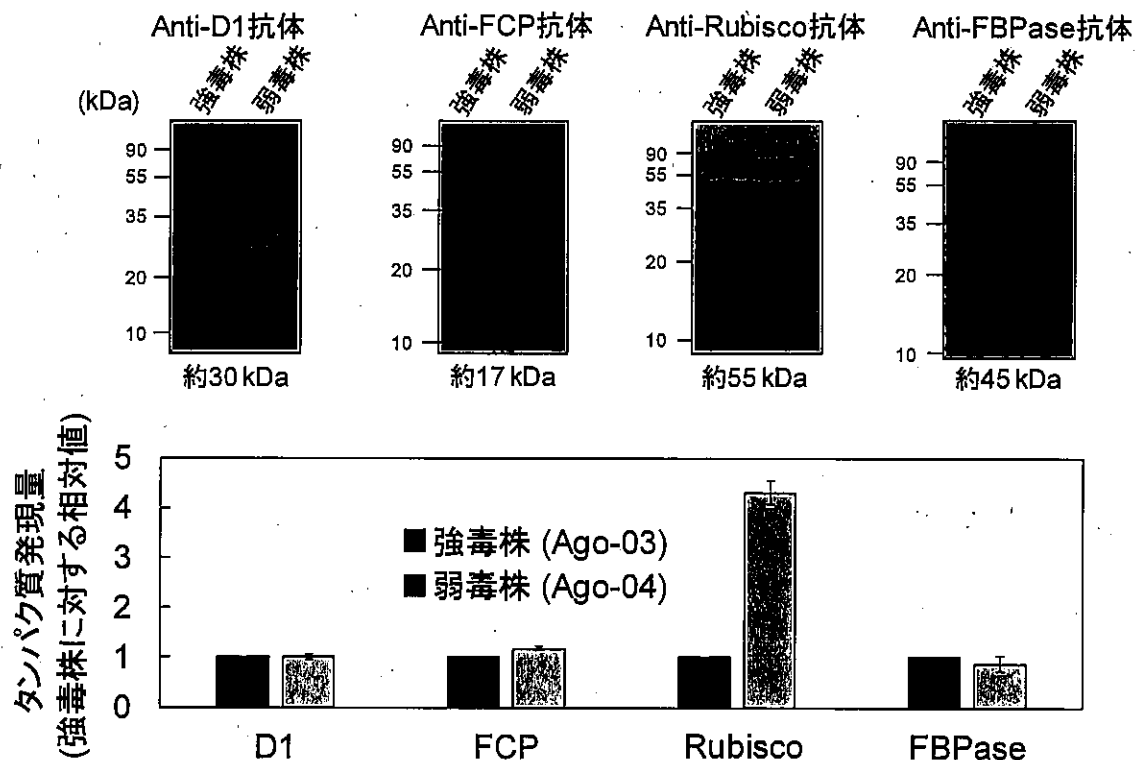


図 15. *C. marina* 強・弱毒株における光合成タンパク質のウェスタンブロッティング解析結果.

それぞれ 1 レーンあたり 2.5 μg のタンパク質を泳動.

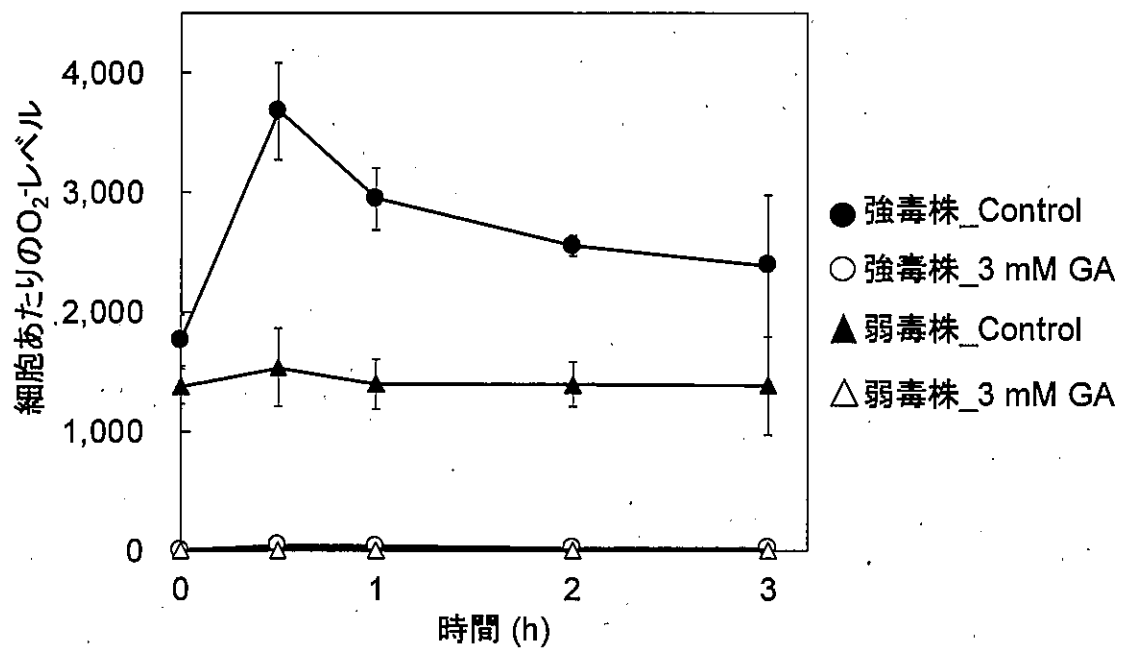


図 16. グリコールアルデヒド存在下での *C. marina* 強弱毒株の O_2 レベルの測定

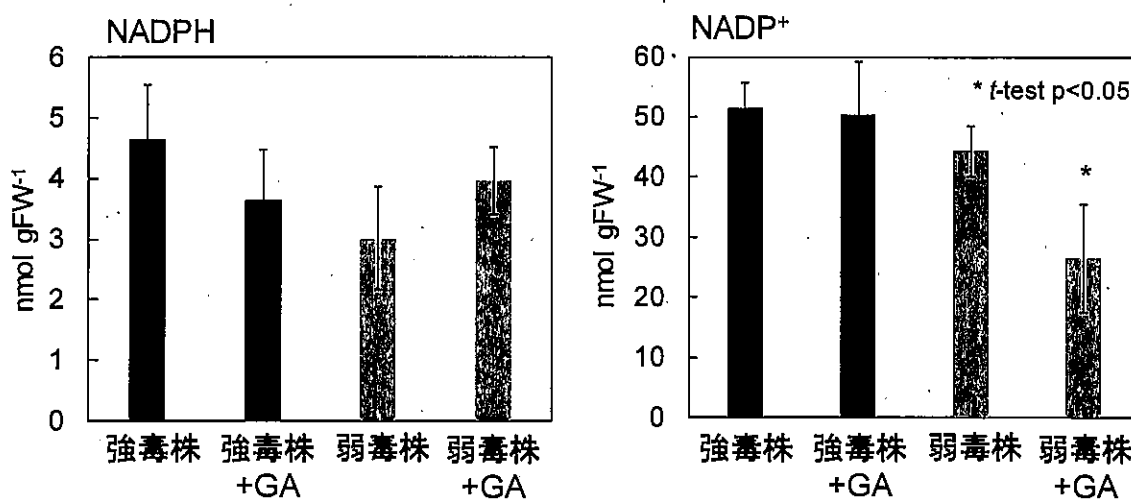


図 17. *C. marina* の強弱毒株における NADPH および NADP⁺ 量.

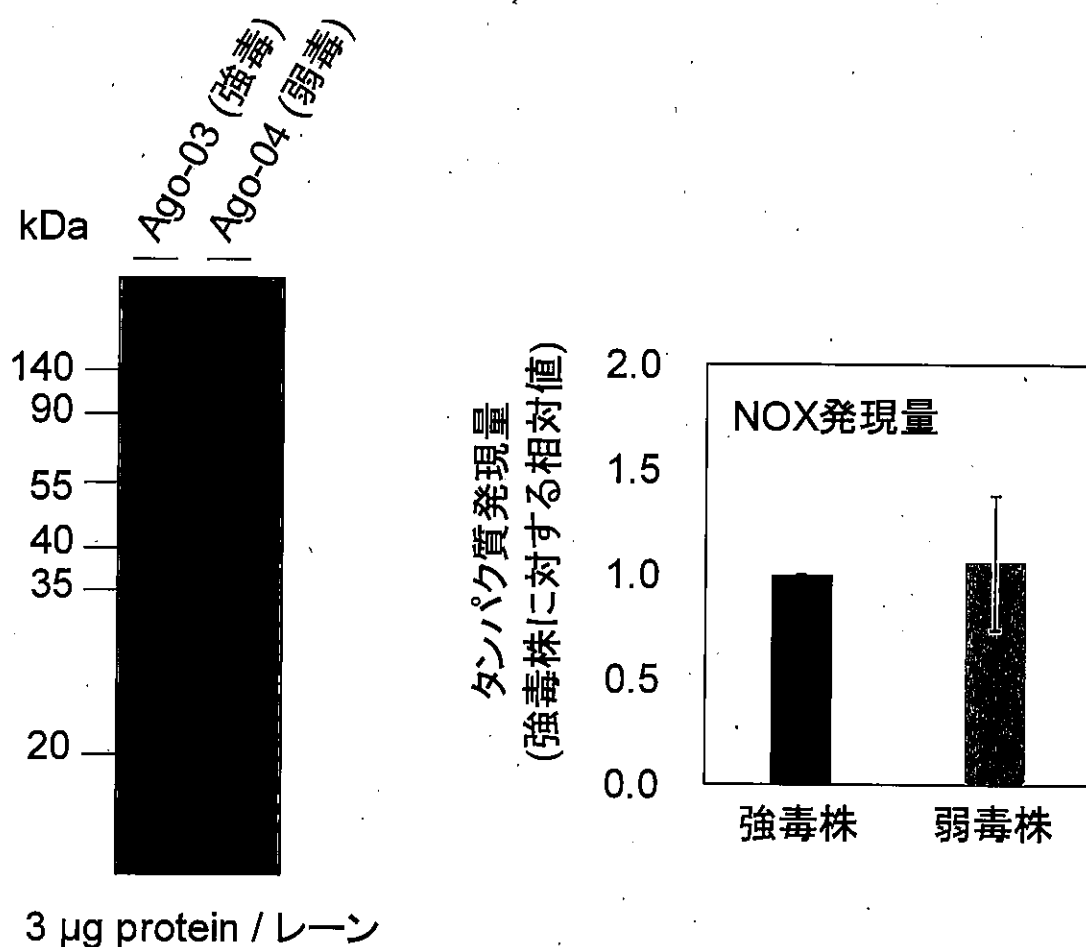


図 18. *C. marina* 強・弱毒株における NADPH オキシダーゼの検出とバンド定量.

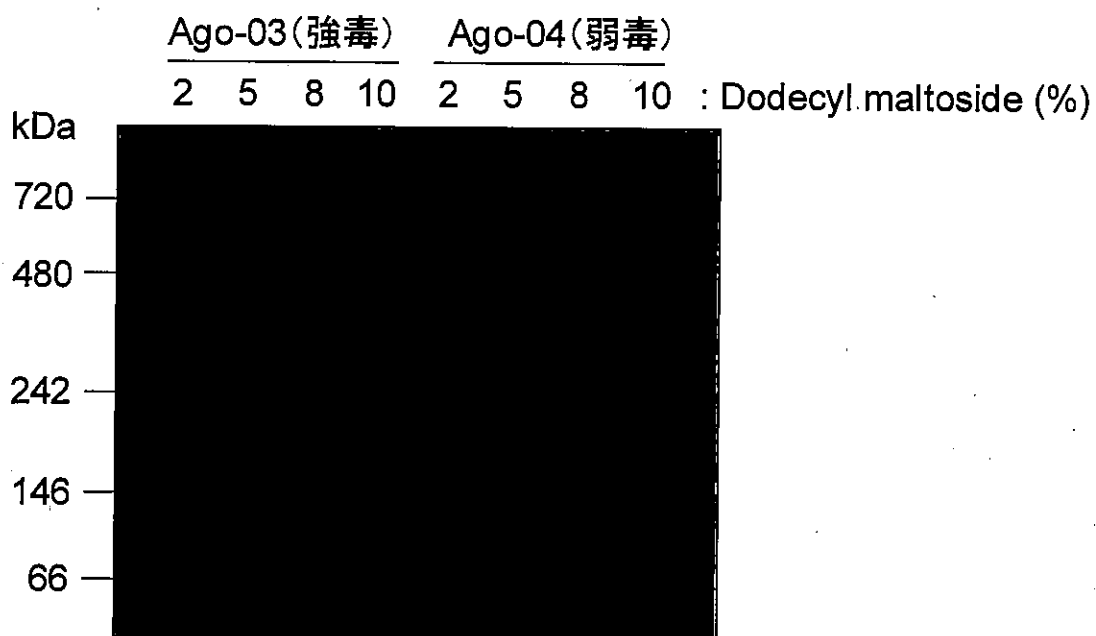


図 19. Clear Native-PAGE で分離した NADPH オキシダーゼの検出.

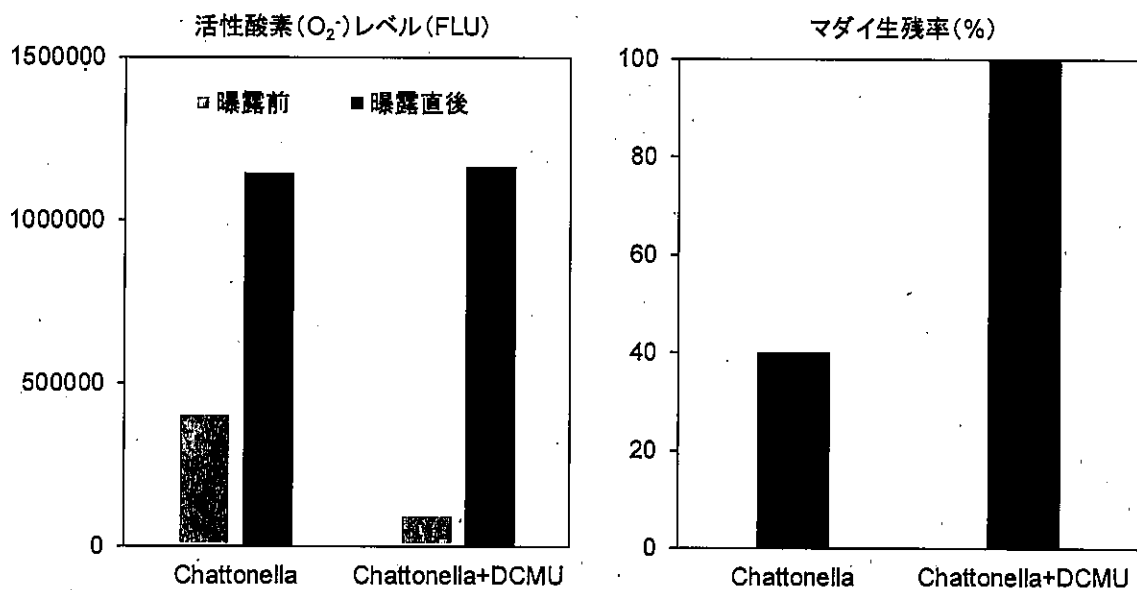


図 20. O_2^- レベルおよび魚毒性に及ぼす DCMU の影響.

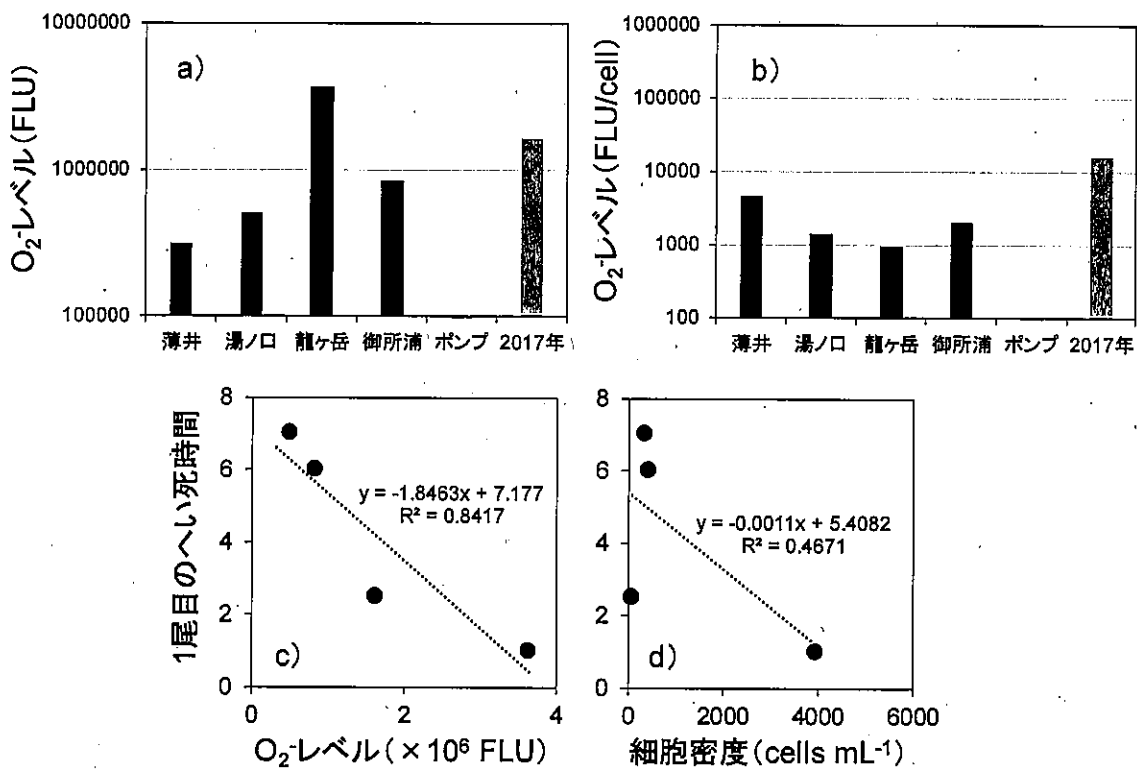


図 21. 現場における O_2^- レベルと魚毒性との関係. 各調査点における O_2^- レベル (a), 細胞あたりの O_2^- レベル (b), O_2^- レベルあるいは細胞密度 (c) と 1 尾目のへい死時間の関係 (d).

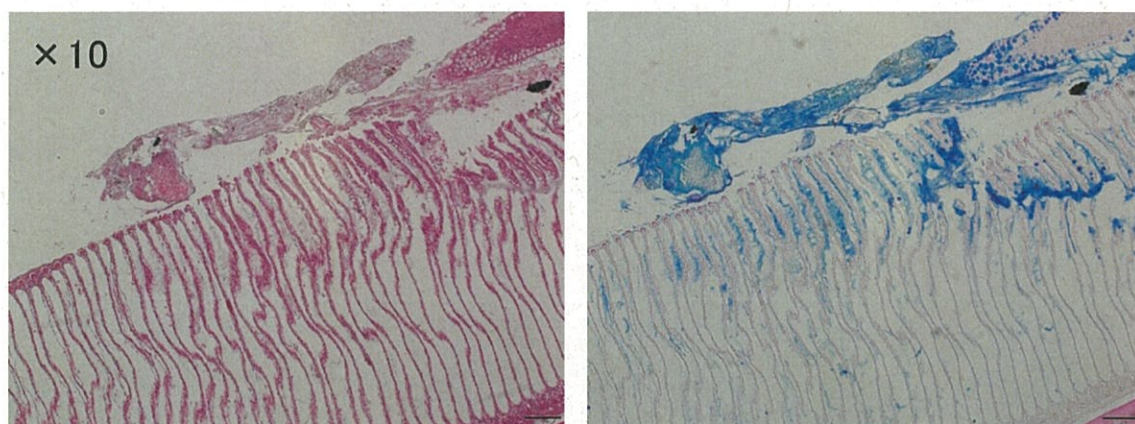


図 22. 現場赤潮海水（龍ヶ岳）を曝露後へい死したブリの鰓画像. 右：HE 染色，左：アルシアンブルー+PAS 染色.

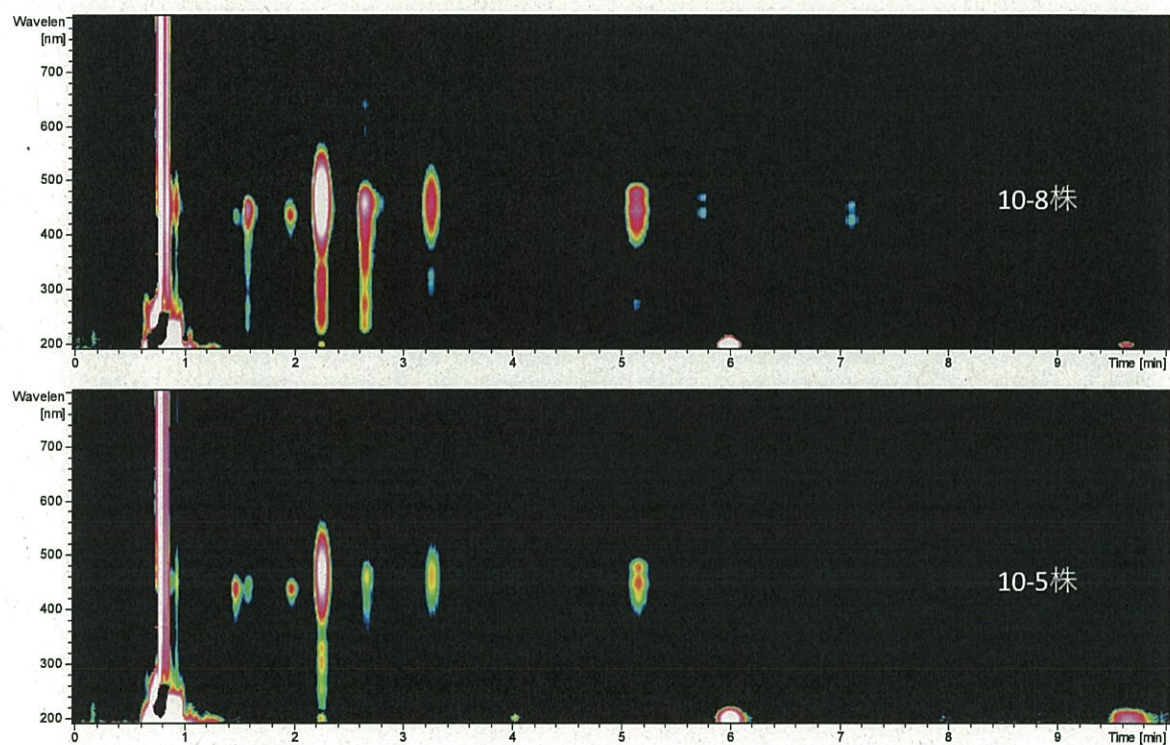


図 23. *H. circularisquama* のメタノール抽出物の色素分析結果.

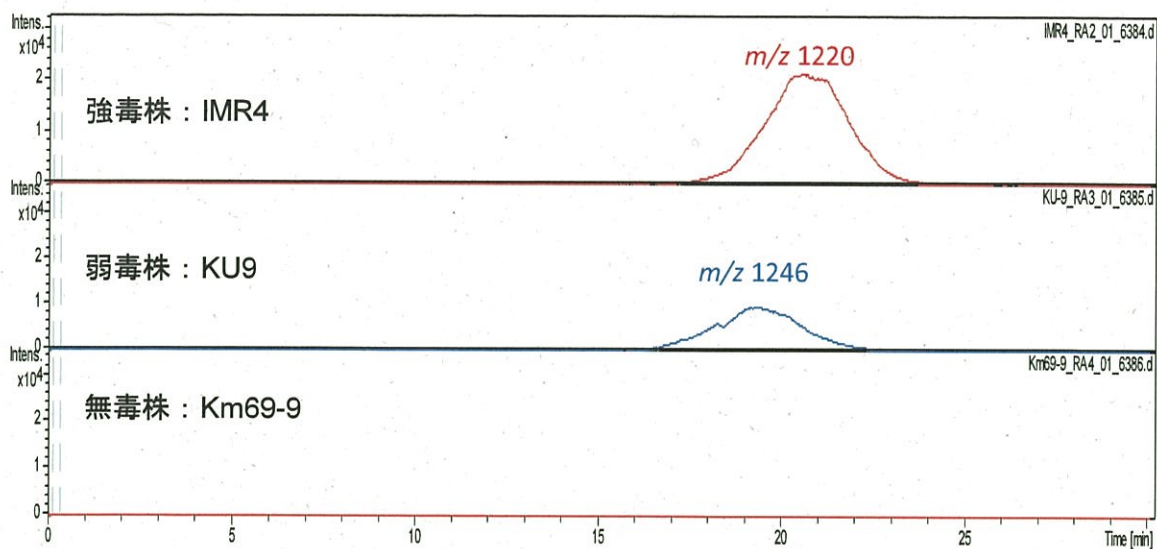


図 24. *K. mikimotoi* のアセトン抽出液のノンターゲット分析結果.

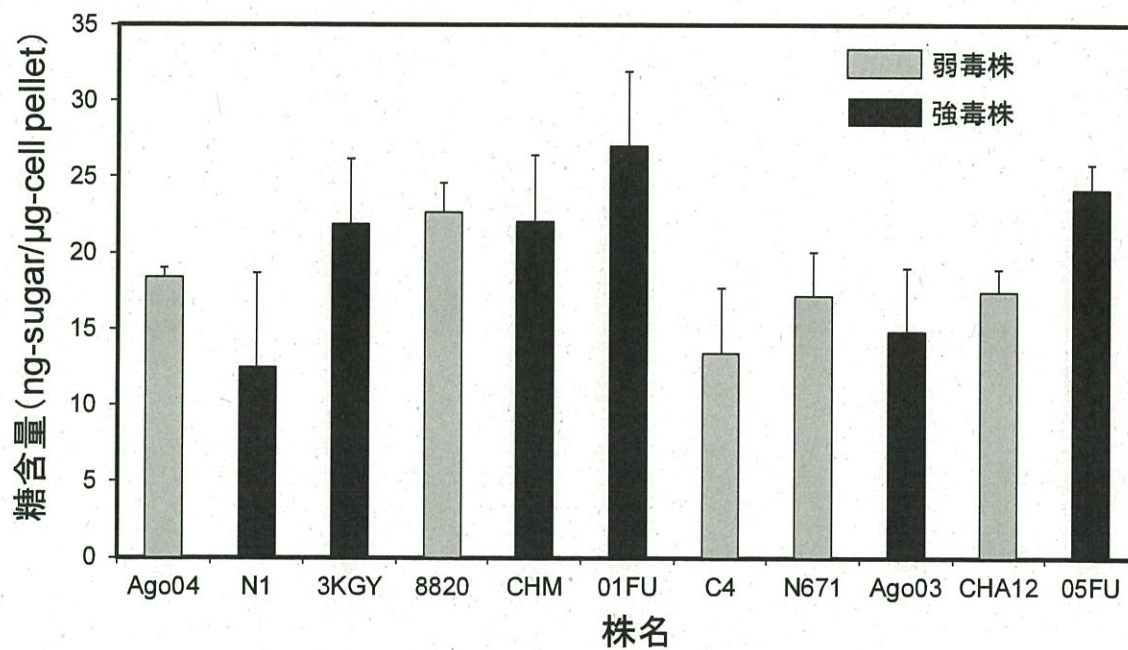


図 25. *Chattonella* の糖含量の株間比較.

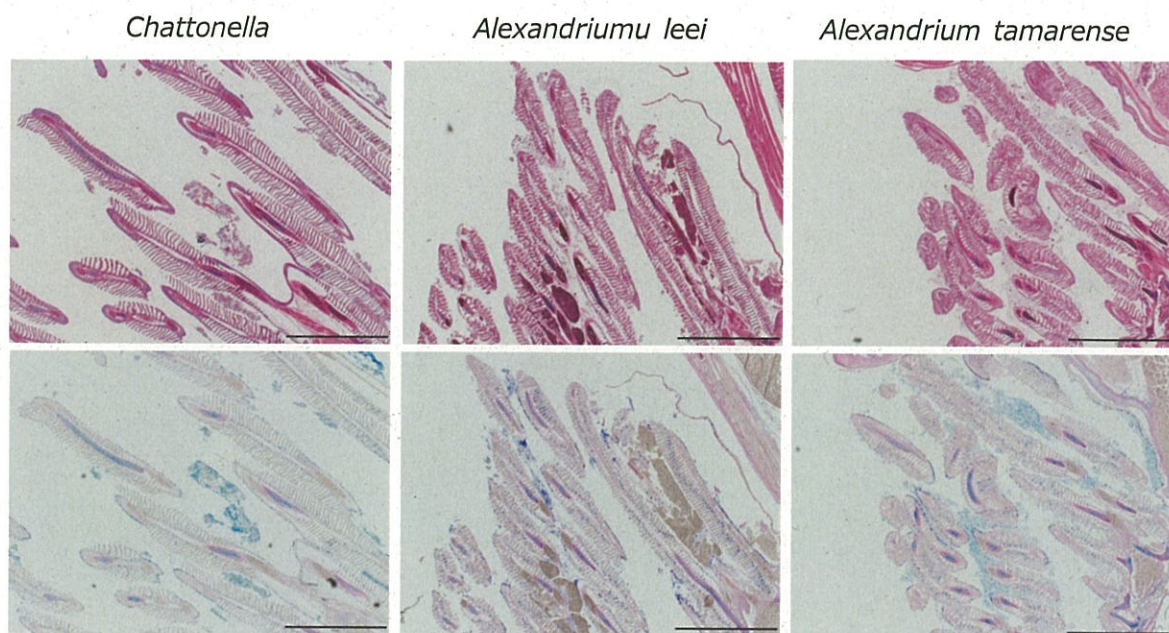


図 26. スーパーオキシドレベルおよび光合成活性に及ぼす栄養塩の影響。スケールバーは 1 mm.

2) 有害赤潮の防除および漁業被害軽減のための技術開発

イ. 生簀等の魚介類を守る技術開発と実証

① ウイルス等微生物による赤潮防除法の確立と現場実証

水産研究・教育機構瀬戸内海区水産研究所

中山奈津子, 浜口昌己

三重県水産研究所

増田 健, 藤原正嗣, 栗山功, 矢野央樹, 西川次寿

三重県水産研究所鈴鹿水産研究室

勝田孝司

愛知県水産試験場

湯口真実, 松村貴晴, 蒲原聡, 松井紀子, 天野禎也

1 全体計画

(1) 目的

有害赤潮原因藻 *Heterocapsa circularisquama* (以下, ヘテロカプサ) は, 1988 年に高知県浦ノ内湾で初めて確認されてから急速に分布を拡大し, 西日本ならびに中部や, 近年では, 新潟県においても同種による赤潮被害が確認されている。そのため, その防除・軽減対策の開発・実現は喫緊の課題である。近年, ヘテロカプサ発生海域にはそれらを特異的に死滅させるウイルス (HcRNAV) が存在し, 赤潮終息時期の海底泥表層に高密度に存在することが確認された。2011 年に, 予備試験的に行ったヘテロカプサ赤潮海水への底泥接種試験 (閉鎖系) では, 底泥接種によるヘテロカプサ細胞密度の減少とウイルス力価の上昇が見られた。そのため, 前事業課題では, 本技術の実用化を目指し, 様々な検討実験及び半開放系での現場実証試験を行い, ウイルスを含む海底泥投入の効果を実証するに至った。本課題では, 赤潮が発生した海域からウイルスを含む底泥を採取し, それを同じ海域で翌年以降の赤潮発生時に散布するという, 土着の生物を利用した赤潮防除法について, 効果的かつ効率的な手法に改善するとともに, 本手法の現場適用を目指す。

2 平成 31 年度計画及び結果

(1) 目的

「全体計画と同じ」

(2) 試験等の方法

1) ヘテロカプサ赤潮発生状況と HcRNAV 密度の推移及び海況

三重県英虞湾立神定点 (34°17'38"N-136°50'6"E), 愛知県三河湾 BT 定点 (34°48'165"N-137°13'175"E) および新潟県佐渡市加茂湖の原黒定点 (St2; 38°04'3"N-138°26'2"E), 潟上 (St6; 38°04'7"N-138.44°0"E), カキ殻工場前 (St7; 38°05'9"N-138°44'5"2E) について, 三重県水産研究所, 愛知県水産試験場および新潟県水産海洋研究所佐渡水産技術センターの協力をいただき, 月 1~2 回の頻度で海水及び海底泥を採取した (図 1)。ヘテロカプサは直接検鏡にて, HcRNAV の密度はリアルタイム PCR 法 (Nakayama and Hamaguchi 2016) にて定量した。リアルタイム PCR 法は, 海水試料 10 mL

から HcRNAV を PEG 沈殿法により濃縮し、RNeasy® Plant Mini Kit (Qiagen, Valencia, CA, USA) を用いて全 RNA を抽出し、ReverTra Ace® qPCR RT Master Mix with gDNA remover (Toyobo Co. Ltd., Life Science Department, Osaka, Japan) により cDNA を作製したのち、HcRNAV 特異的プライマー(表 1)を用いて定量した。底泥については、RNA PowerSoil® Total RNA Isolation Kit (MO BIO Laboratories, Inc., Japan) を用いて全 RNA を抽出したのち、上述した海水と同様の手順で実施した。

2) ヘテロカブサ赤潮防除法の現場試験

天然のヘテロカブサ個体群を対象に、これまで3回に渡って現場実証試験を行ってきた。今年度は、加茂湖にて、6月にヘテロカブサの初認があったため現場で試験を実施することとした。作業手順は以下のとおりである。底質散布前日に、2018年11月に採取し冷凍保存した底質約5kg(湿重)を室温で自然解凍した。散布当日、調査船かもこ丸上で、バケツに加茂湖湖水を約5L汲み入れ、解凍した底質を加えてよくかき混ぜた。かもこ丸で定点まで行き、St. 2, 6, 7の3カ所にて、かもこ丸でゆっくり動きながら、底質を流し入れた。底質散布は、2019年7月30日、8月16日、9月25日に行った。底質散布の評価に関しては、ヘテロカブサおよびHcRNAV密度変化を7~10月まで月2~3回モニタリングし、ウイルスの特性や過去のデータと比較することで行った。ヘテロカブサは直接検鏡で、HcRNAV はリアルタイムPCRにて定量した。

3) ヘテロカブサウイルス HcRNAV の多様性に関する研究

< NGS 解析による HcRNAV 多様性の変化 >

新潟県加茂湖では、2009年にヘテロカブサ赤潮が発生して以来、同種の出現が毎年確認されている。これまでの結果から、ヘテロカブサとそれらに感染するウイルスには、感染の組み合わせが少なくとも3タイプ存在することが明らかになっており(Nakayama et al. 2013)、毎年のモニタリング結果から、感染タイプは変化していることが示唆されている。そのため、2018年には、新潟県加茂湖および愛知県三河湾の底質試料からRNA PowerSoil® Total RNA Isolation Kit を用いて全 RNA を抽出し、HcRNAV の ORF2 全領域を標的としたサブクローニングによる系統解析を行い、HcRNAV の多様性を評価した。今年度は、同抽出液を用いて、次世代シーケンサーIllumina high-seq2500 (北海道システムサイエンス;札幌)を用いたメタバーコーディング解析を実施し、サブクローニングの結果と比較することにより、HcRNAV の多様性を評価した。試料は、2018年10月16日加茂湖より、8月9日三河湾より採取した底質を供することとし、昨年度に実施したサブクローニングによる多様性解析に用いたcDNA試料を用いた。

(3) 結果及び考察

1) ヘテロカブサ赤潮発生状況と HcRNAV 密度の推移及び海況

水温・塩分や溶存酸素については、立神定点の5~10月では、6月中旬~7月下旬に、水温が低めで推移したのち、再び高めとなった。水温が高い時期には、黒潮の大蛇行の影響で黒潮由来の高水温の海水の流入がしばしばみられ、気温は高めであった。塩分は、表層は、6月中旬から6月下旬及び9月下旬~10月上旬に平年よりも低下した。前者は6月中旬の雨、

後者は梅雨による雨の影響であると考えられる。底層では平年並みで推移した。溶存酸素は、表層では平年並みに推移した。底層では貧酸素状態がみられたのは 8 月下旬のみであり 3 mg/L 以下の貧酸素状態の期間は短かった。

愛知県三河湾では、5~10 月において、水温は、5 月は平年より高め、6 月は気温の低下に伴い、一時的に平年を下回った。7 月は長雨の影響により、低めで推移した。8 月以降は平年よりも高い状態が続いた。底層では、9 月に外海由来の海水が侵入し平年を下回った他は、概ね高く推移した。塩分は表層で 7~9 月に平年を下回り、底層も降雨の影響で低い値が見られた。溶存酸素は、平年並みに推移した。9 月には底層において外海からの水塊の進入が見られ、湾口付近で底層の溶存酸素の回復が見られたが、観測点まではその影響が及ばなかった。加茂湖原黒定点の 6~10 月では、水温は 20.8 ~ 30.6℃、塩分は 7 月上旬に 21.8 および 9 月上旬に 24.4 と表層では降雨の影響によって低下した時期はあったものの 3 m 以深は 30 前後で安定していた。溶存酸素は、6~9 月上旬まで、底層において 4 mg/L を下回る低い値が恒常的に見られた他、6 m 層においても 4 mg/L を下回る値が見られた (図 2)。

2019 年 5 ~ 11 月の観測時期のヘテロカプサ発生状況について、三重県英虞湾立神定点では検出されず、愛知県三河湾では 7 月 9 日に最高細胞密度 78 cells/mL が確認された。新潟県加茂湖では、ヘテロカプサの初認は 6 月 7 日と例年より早く、細胞密度は約 1 cell/mL であった (図 3)。その後、8 月 6 日まで加茂湖全域で細胞密度の増加が見られ、最高細胞密度は 8 月 6 日 St.2 湖央で 977 cells/mL、St.3 湖口で 919 cells/mL であった。ヘテロカプサは一旦終息し、9 月 18 日に St.1 湖奥で 73 cells/mL、St.2 湖央で 112 cells/mL、St.3 湖口で 20 cells/mL 程度まで増加が認められたが、高密度化することなく、終息した。

リアルタイム PCR 法による HcRNAV 定量結果について、2019 年の英虞湾立神定点および愛知県三河湾 BT 地点の海水からは HcRNAV は検出されなかった。底質中の密度は、英虞湾立神定点では調査期間を通して低く、最大でも 7 月上旬の 1334 copies/g であり、昨年度より半減した (図 4)。愛知県三河湾の底質中の HcRNAV 密度は、2019 年も高めで、9 月のみ 1440 copies/g と低い値であったが、他の月は期間中 100,000 copies/g 前後であった。海水中には HcRNAV は検出されなかったこと、底質中の HcRNAV 密度が大きく増減していないことから、昨年までのヘテロカプサ発生時に増加した HcRNAV が底質中に蓄積されているものと考えられた。加茂湖では、ヘテロカプサの細胞密度の推移に同調して海水の中に HcRNAV の増殖が認められ、底質においても高密度で検出された (図 4)。

また、2019 年は、加茂湖湖水中で、シャットネラ属、カレニア・ミキモトイが観察された。シャットネラ属はシストを形成するため、今後も発生する可能性があり、これらとの共存あるいは競合関係も視野に入れる必要があるであろう。

2) ヘテロカプサ赤潮防除法の現場試験

2011 年及び 2016 年の天然ヘテロカプサ個体群への底質接種試験では、ヘテロカプサが高密度化した際にウイルスを含む底質を接種することにより、同種の衰退を促進することを実証した。2018 年には、ヘテロカプサ発生初期の海水を用いて同様の試験を実施することにより、同種赤潮の拡大抑制への底質接種効果について検証した。それらの結果、いずれの場合も、HcRNAV を含む底質の接種が、ヘテロカプサ密度の減少を促進することが認められた。今年度は、加茂湖にて 6 月上旬にヘテロカプサの初認があったため、新潟県、佐渡市、