

養殖海域の環境 DNA による魚病早期発見技術の開発

— 増養殖部 —

1. はじめに

宮崎県の海面漁業養殖業生産額は約 322 億円で、そのうち漁業は約 229 億円、海面養殖業は約 93 億円を占めています（図 1）。海面養殖業魚種別生産額をみると、ブリ類が全体の 83%、マダイが 10%を占めており、本県のブリ類養殖業が地域経済において重要な基幹産業であるといえます（図 1）。

しかし、重要な基幹産業である海面養殖業は、常に安定生産できるものではありません。このことには、主に 2 つの要因が関わっています。

1 つ目は赤潮です。本県で発生する赤潮は種類によって季節性があり、海況の影響によって発生するものが比較的多いため、定期的なモニタリングを実施し、関係漁協に状況を共有することによって赤潮による被害を未然に防ぐ・最小限に抑えることができます。

2 つ目は魚病です。魚病は年間を通して発生しており、本県の養殖業に多大な被害をもたらしています。被害を最小限に抑えるためには迅速な診断が必要ですが、診断には生簀内の病魚を採取する必要があるため、手間と労力がかかります。更に、診断結果は採取した病魚の鮮度に大きく左右されるため、正確な診断をするためにはスピード感をもって対応する必要があります。一方、近年、環境水中の遺伝子を分析することで、細菌等の種類等がわかる「環境 DNA」技術の発展が著しく、この技術を活用することで、魚病の早期発見が期待されています。

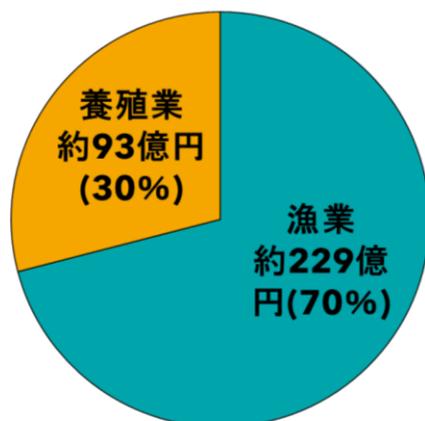
そこで本稿では、本県の基幹産業である海面養殖業が安心かつ安全に生産できるものにしていくために水産試験場で開発した新たな魚病早期発見技術について、ご紹介いたします。

2. 魚病診断について

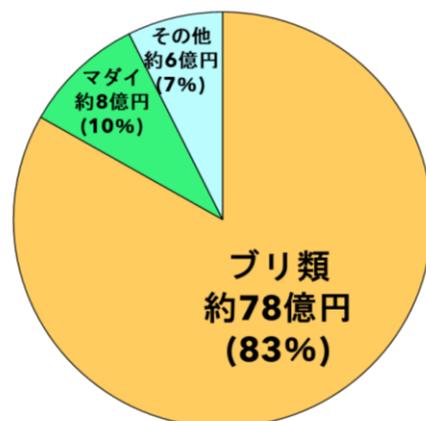
まずは、通常の魚病診断の流れと、新たに開発した環境 DNA による魚病早期発見技術の違いについてご説明します。通常の魚病診断では、基本的に病魚（検体）を診て診断します。検体を解剖し、患部や腎臓、脳などの患部から細菌を培養すると、約 1 日～2 日間程度培養期間が必要となります。次に分離細菌を抗血清や PCR を用いて検査し、原因細菌の特定を行います。これに半日程度必要となります。水産試験場は原因細菌を特定後、水産用医薬品使用についてやその他に必要な対応の指導を行います。このように、通常の魚病診断では、検体到着から結果判明まで、最低でも 2 日～3 日間程度時間が必要です（図 2）。

一方、環境 DNA による魚病早期発見技術では、養殖生簀内の海水を分析します。まず、生簀網内で採水した海水をフィルターでろ過し、DNA 抽出キットを用いて、フィルター上に捕集された物質の DNA を抽出します。そ

【宮崎県海面漁業生産額】



【宮崎県海面養殖業魚種別生産額】



出典：令和 2 年度宮崎水産白書

図 1. 宮崎県海面漁業生産額、海面養殖業魚種別生産額

して、抽出したDNAをリアルタイムPCRという特定の遺伝子量を定量する方法を用いることで、採水した海水から目的とする病原細菌を検出するとともに、採水した海水中にどれくらいの量の病原細菌が存在するかを調べることができます。環境DNAによる魚病早期発見技術では検体到着から結果判明まで最短1日で行うことができ、通常の魚病診断と比較して、迅速に関係漁業者に魚病発生情報をお伝えすることができます(図2)。



図2.魚病検査手法

3. リアルタイムPCRの分析結果について

つづいて、環境DNAによる魚病早期発見技術について、その分析結果の一例をご紹介します。

リアルタイムPCRは、あらかじめ濃度が明らかとなっている遺伝子サンプル(陽性対照)をものさしとしながら、海水からDNA抽出された分析サンプルに目的とする病原細菌遺伝子がどのくらい存在するかを比較定量できる機械です。

リアルタイムPCRを用いた分析の結果、サンプルが陰性だった場合、図3の縦軸の示す蛍光強度は、ほぼ0付近で維持します(図3 実線)。図3のように示されていると、測定したサンプルは、「特定の病原菌が検出されなかった、または、検出限界以下であった」ということが言えます。

一方で、サンプルが陽性だった場合、その蛍光強度は横軸に示すサイクル数の増加に比例して蛍光強度が増え、既知の遺伝子量(陽性対照)と比較することで、病原細菌の遺伝子量を把握することができます(図4 破線)。つまり、図4の★では、「特定の病原菌が検出され、その遺伝子量は海水1L中に 10^4 コピー以上 10^5 コピー以下の遺伝子コピー数が確認できた」ということが言えます。

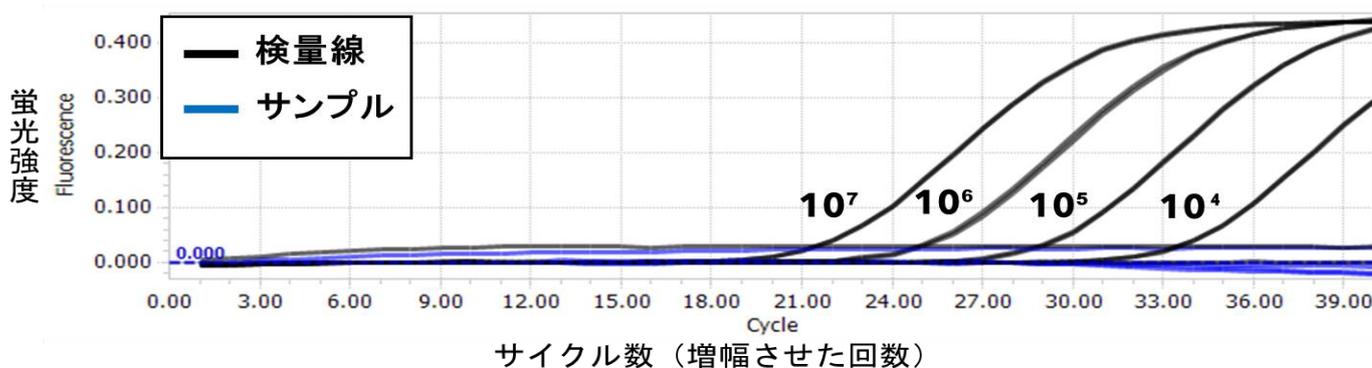


図3.海水サンプルの病原菌遺伝子検出結果(陰性例)

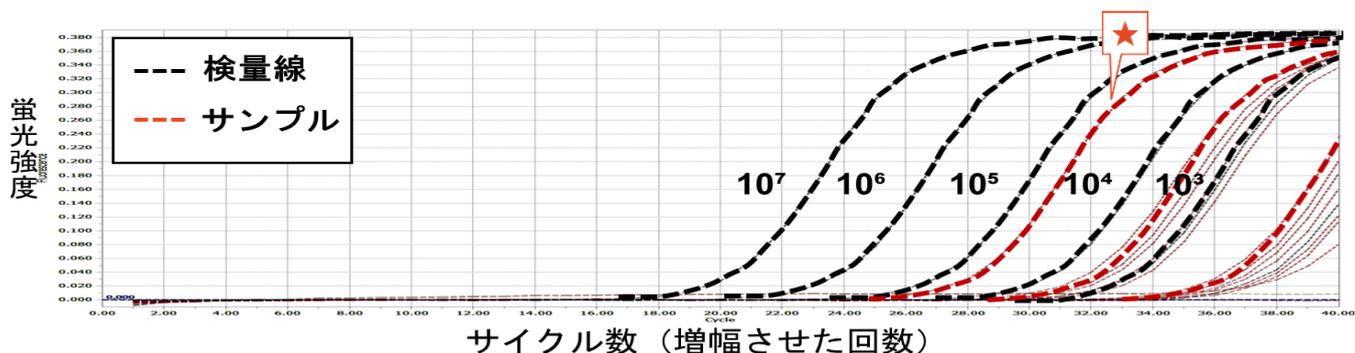


図4.海水サンプルの病原菌遺伝子検出結果(陽性例)

4. 環境DNAを活用した魚病診断のメリット

環境DNAを活用した魚病診断のメリットについてご紹介します(図5)。普段、生簀内の魚は、餌やりの時以外は生簀の中層を泳いでいます。したがって、水面から魚の症状を把握することは困難です。しかし、環境DNAを活用すると、海水中の病原菌の有無により、魚を直接採取しなくても病気の発生状況を迅速に把握することができます。また、検出された病気を養殖業者にお伝えすることで、より効率的な初動対応が可能となり、魚病被害の軽減が期待できます。更に、生け簀の底に沈んだ死亡魚の回収が困難な場合においても、海水をサンプリングすることで魚病診断が可能のため、検体の採取の簡素化に寄与し、採取者の負担軽減にもつながります。

このように環境DNAを活用して魚病診断をすることは、通常の魚病診断と比較して、検体を採取する必要がなく、また、早期に病気を検出し、その病原菌に対して早期の段階で対応することができるため、診断の迅速化と検体採取の簡素化に寄与していると考えられます。



図5.環境DNAを活用した魚病診断と通常の魚病診断の比較

5. 課題と展望

最後に、この技術における課題を述べます。課題は大きく2つあると考えます。一つ目は、病原細菌によって遺伝子検出頻度に違いがあることです。採水する海水中に病原細菌が均一に位置する場合は安定的な検出頻度・遺伝子量を得ることができます。しかし、病原細菌に付着性があるなどして、採水する海水中に均一に存在しにくい場合は分析結果が安定しない可能性があります。また、養殖場の海水の交換が早く、早期に遺伝子が拡散するといった可能性もあります。このため、検出精度を更に高めるため、できるだけ飼育魚又はへい死魚に接近した形での採水が必要と考えられます。

2つ目は、ろ過や抽出工程の自動化です。今後、環境DNA技術による魚病早期発見技術が実装され、モニタリン

グ体制を整備した場合、現在の研究段階と比べ検査サンプル処理数が大幅に増加すると考えられます。一方、魚病の早期発見として活用するためには、可能な限り早く分析する必要があり、一連の作業の自動化が必要です。

環境DNAを活用した魚病早期発見技術を更に高いレベルで確立することで、本技術が養殖場で幅広く活用され、養殖場での魚病対策強化と本県養殖業の更なる成長産業化に繋がりたいと考えています。