

## 解 説

# 発電所冷却水路系における汚損対策の現状と 遺伝子解析技術によるフジツボ類幼生の定量的検出

遠藤紀之<sup>\* §</sup>

## Current Status of Antifouling Measures at Power Plants and Quantitative Detection of Barnacle Larvae Using Genetic Analysis Techniques

Noriyuki Endo<sup>\* §</sup>

キーワード：発電所冷却水路系, 防汚, フジツボ, 幼生, 定量的検出, 生化学的手法

### まえがき

我が国の発電電力量構成比の約7割を占める火力・原子力発電所では、発電設備の冷却に大量の海水が使用されている（電気事業連合会, 2023）。海水を取り入れる取水口からは、海水と共に魚類や動植物プランクトンなどの様々な海生生物が侵入する。フジツボ類を含む付着生物の幼生が侵入し冷却水路系内で付着・成長した場合には、後述する様々な障害を引き起こす要因となる。本解説では、発電所における代表的な汚損生物とされるフジツボ類について、その基本的生態や発電所における被害とその対策方法について概説する。また、付着による被害を低減することを目的としたフジツボ類幼生の出現動態観測手法について、前半では従来からの手法ならびに抗原抗体反応を用いた手法について概略を解説し、後半では遺伝子解析技術を用いた手法について詳述する。

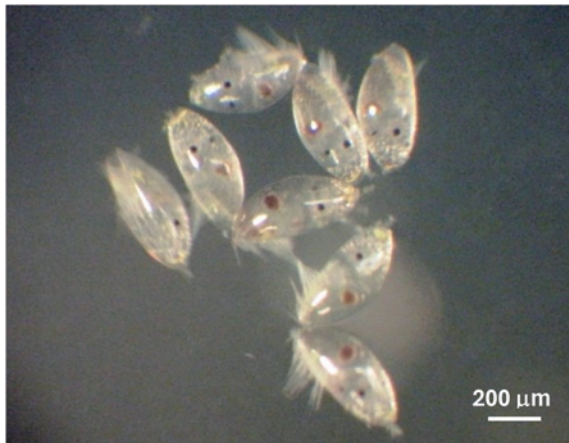
### フジツボ類の生活史

フジツボ類は、その形態から貝類の仲間と思われがちであるが、エビやカニが属する甲殻類の一種である。北極海から南極海まで地球上の全ての海域に生息が認められ、潮間帯から数千メートルを超える深海域まで広く分布している。低塩分の河口域にも生息するが、淡水のみに生息する種は無く全て海生種である（山口ら, 2017）。これらのフジツボ種は天然護岸や人工海中構造物などの基盤上に強固に付着し、固着生活を送る。フジツボ類の成体は基本的には自ら移動することはできないが、その生殖は近接する個体との交尾によって行われる。受精卵は成体の外套腔内で孵化し、孵化直後のノープリウス第1期幼生は短期間で脱皮してノープリウス第2期幼生となる。その後の浮遊生活で主に植物プランクトンを含む懸濁態粒子を摂食して成長・脱皮を繰り返しノープリウス第6期幼生になり、6回目の脱皮によりキブリス幼生、すなわち付着期幼生（第1図）に変態する（山口, 1986 ; 加戸, 2006）。キブリス幼生に変態す

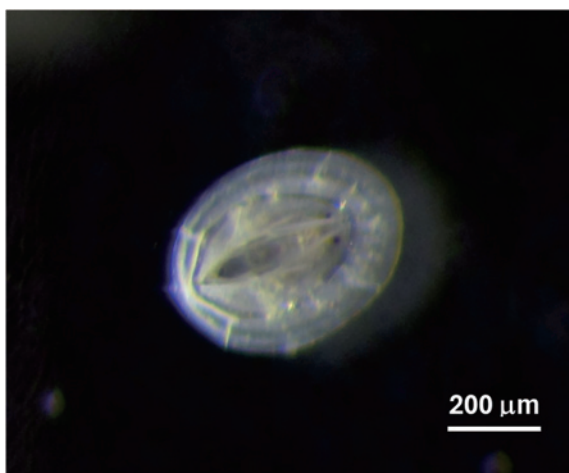
（2024年11月18日受付, 2025年1月7日受理）

\* 公益財団法人海洋生物環境研究所 中央研究所（〒299-5105 千葉県夷隅郡御宿町岩和田300番地）

§ E-mail: n-endo@kaiseiken.or.jp



第1図 タテジマフジツボのキプリス幼生



第2図 タテジマフジツボの幼稚体

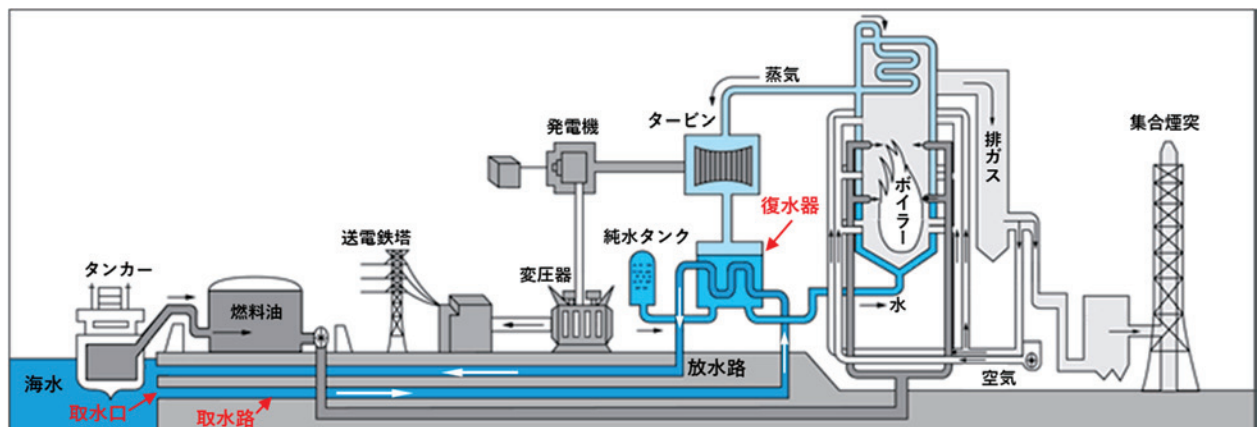
るまでの期間は飼育下では5～10日間程度であるが、実海域では2週間前後と考えられている（吉村ら，2006；野方，2014）。キプリス幼生は付着場所選択と付着・変態に特化した幼生であり、摂餌を行わずに好適な付着場所を探索する（Aldred and Clare, 2008）。キプリス幼生の体前部に多数存在する油細胞がキプリス幼生の主なエネルギー

源となっており、無摂餌にも関わらず3週間以上生存する場合もある（加戸ら，1991；Yorise, 2018）。付着場所を決定すると、体の前方に備わった第1触角先端の付着器官からセメント物質を放出し、基板へ固着し変態脱皮して幼稚体（第2図）となる（遠藤ら，2017）。その後、幼稚体は植物プランクトン等を餌として成長する。

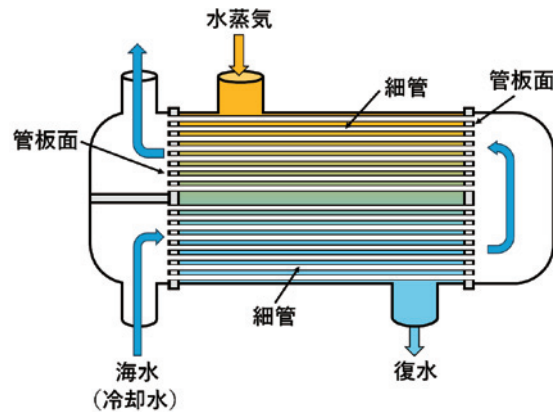
### 発電所におけるフジツボ類付着による被害と対策技術

一般的な火力発電所の冷却水路系の概略図を第3図に示す。また、タービンを回転させた水蒸気を冷却する復水器の概略を第4図に示す。取水口から侵入したフジツボ類の幼生は、冷却水路系内のあらゆる場所で付着・成長し、様々なトラブルの要因となる。取水路に付着した場合には、流路断面積の縮小や表面粗度の増加による乱流の発生、流量の低下やポンプ負荷の増大を引き起こす。また復水器等の多管式熱交換器の管板面や細管内に付着した場合（第5図）には、流量の低下や細管の閉塞・腐食の要因となり、大きな損害に繋がる場合もある。また細管内には付着しなくとも、取水路等で付着・成長した個体が脱落し細管を塞ぐ場合があり、同様に流量低下や閉塞等の要因となる（野方，2014）。

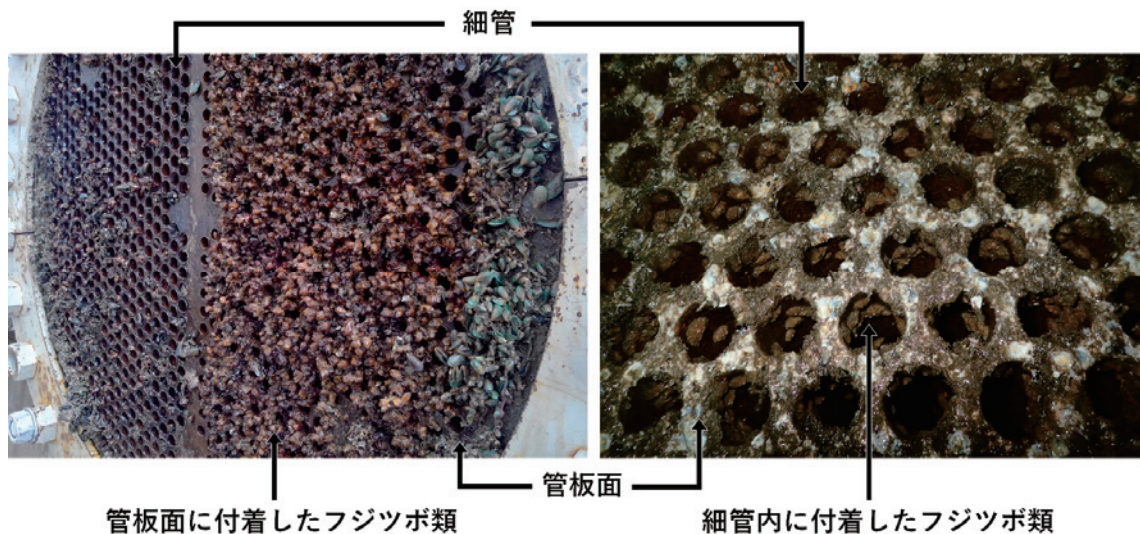
近年建設された発電所では、フジツボ類を含む各種の生物付着を防ぐことを目的として冷却水路系内の流速を高く保つ設計を採用していることが多い（坂口・野方，2014）。しかしながら曲管部や分岐箇所等では流速の遅い部分が生じ、生物が付着する場合がある。特にフジツボ類は比較的流れの早い環境下においても付着可能であることが



第3図 一般的な火力発電所の仕組み（電気事業連合会の図を改変，  
<https://www.fepc.or.jp/enterprise/hatsuden/fire/kiryoku/index.html>，2024年10月31日アクセス）



第4図 復水器の構造概略図



第5図 復水器等の多管式熱交換器におけるフジツボ類付着の一例  
(左：管板面における付着，右：細管内における付着)

知られており、模擬配管等を用いた試験結果では、同じ付着生物であるムラサキイガイ *Mytilus galloprovincialis* は  $0.8\text{m/s}$  を超えた流速下においては付着が認められない一方、フジツボ類は  $1.3\text{m/s}$  の流速下でも付着が認められる（坂口・野方，2014）。若狭湾沿岸や沖縄本島沿岸に立地する発電所の冷却水路系内においては、多数付着する二枚貝類と壁面などの基盤との間にはフジツボ類が存在しており、このフジツボ類を足掛かりとして二枚貝類の多層状付着が形成されていることが報告されている（山下・神谷，2006）。上記以外の発電所においても、塊状に多数付着したイガイ類と壁面の間にはフジツボ類の付着が認められる場合があり、これらの事例ではフジツボ類の付着がイガイ類の付着量を増大させている可能性が示唆される。

フジツボ類等の付着生物による汚損対策は、“付着抑制・防止”と“除去”に大別される（杉本ら，

2014）。発電所において付着を抑制・防止するために広く用いられている対策としては、防汚塗料の使用が挙げられる。防汚塗料としては、亜酸化銅を主剤とした防汚剤を含む亜酸化銅系塗料と、シリコンゴムを主成分としたシリコン系塗料があり、後者の使用例が多い（勝山，2014）。亜酸化銅系の防汚塗料は多くの生物種に対して防汚効果が認められ、また比較的安価であることなどから、船底防汚塗料などとしても広く用いられている。しかしながら塗膜から溶出した銅は環境中に残留するため、船舶の往来が多い閉鎖的な海域などでは銅イオン濃度が上昇することによる環境汚染が懸念されている（米原，2000；滑川・永井，2010）。一部の発電所においては、周辺の海域環境、特に海藻類への配慮から、亜酸化銅系の塗料を使用しない方針をとっている例もある。

シリコン系の防汚塗料は、低表面エネルギー、塗膜の平滑性、低摩擦性、弾性などの特徴を有し、

生物が付着しても脱落し易いよう設計がなされている（高橋，2010）。このような特徴から，シリコン系の防汚塗料は流速の速い壁面では優れた防汚効果を示す一方，流速が遅くなる箇所では効果が低下する場合がある。また塗料単価が高価であり，塗装工程が複雑である場合が多いなどの欠点も有している（坂口，2003；Yebra *et al.*, 2004；増田，2011）。何れのタイプの防汚塗料においても，その防汚性能・耐久性は施工の状況により設計通りとはならない場合があり，想定しているような効果が得られないことがある（岩瀬嘉之，私信）。また構造や運用上の問題から塗装を行うことができない箇所や機器もあり，防汚塗料の使用のみで冷却水路系内全ての汚損対策を完遂することは難しい。

防汚塗料以外の付着抑制・防止技術として広く利用されているのは薬剤注入である。発電所においては，海水を電気分解することで生成した次亜塩素酸ナトリウム（次亜塩素酸ソーダ）を取水口から注入する方法が一般的である（原・野方，2020）。古田ら（2016）は模擬管路実験設備を用いた通水試験を実施し，塩素注入による生物付着防除効果を評価している。この結果では，0.03～0.04mg/Lの塩素濃度によって各種生物の付着量は有意に減少し，二枚貝類で0.08mg/L，フジツボ類では0.17mg/Lの塩素濃度で付着は完全に防止されている。ただし，ほとんどの発電所では地元自治体との取り決め等により「放水口における残留塩素濃度をゼロ（検出限界未満）」とする運用がなされており，付着を完全に防止する濃度での注入は困難である場合が多い。しかしながら適切な管理の下に一定以上の濃度での注入を行うことができれば，付着を完全に防止することは難しいとしても，付着量を大幅に低減できる可能性がある。発電所において現実的に注入可能な塩素濃度では付着生物幼生に対する致死的效果はなく，付着量の低減は付着生物幼生の付着行動の抑制により得られるとされる（古田ら，2012）。したがって，何らかの事由により塩素注入が停止したタイミングで壁面等に付着した付着生物幼生は，その後塩素注入を再開したとしても致死的影响を受けることなく生存する。特にフジツボ類は，固着後は一般的には自ら移動することができないため，塩素注入が停止したタイミングで付着した個体はその場で成長を続けることになる（イガイ類は付着後も移動することができる）。そのため，

付着生物によるトラブル発生の可能性を最小限とするためには，メンテナンス等による海水電解装置の停止のタイミングは，可能な限り付着生物幼生の出現・付着盛期を避けるのが望ましい。また一般的な海水電解装置では，冬季の低水温下で電解効率が極端に低下することが知られているが（平形，1986），海水温が低下している時期に出現・付着する寒冷性のフジツボ種も存在するため（山内ら，2007；加戸ら，2009），これらの種が出現するの可否かを把握したうえで対応策を検討する必要がある。

付着抑制・防止以外の対策として実施される“除去”は，既に付着した生物を主に機械的に除去する方法である。取水路や循環水管などでは人の手や重機を用いての掻き落としや高圧ジェット洗浄が行われているほか，清掃ロボットによる付着生物の除去が行われている発電所もある（坂口，2003）。また重要な機器である復水器においては，ブラシ打ちやジェット洗浄等による細管内の清掃が実施されているほか，スポンジボールによる細管内洗浄が行われている場合が多い（勝山，2014）。ブラシ打ちや高圧ジェット洗浄では，発電設備の停止中等に作業員が復水器の水室内に入り作業を行う必要があるが，スポンジボール洗浄は運転中においても連続的な洗浄を行えることが特徴である（杉本ら，2014）。スポンジボールにより，細管内に形成された一般的な生物皮膜が除去できるほか，一定間隔での定期的な洗浄を行うことでフジツボ類の付着も防止できるとされている（岩井，1994）。ただし，過剰なスポンジボール洗浄は細管の保護皮膜の剥奪等による腐食発生の要因となり，特にカーボランダムボール，すなわち標準のスポンジボールの表面に研磨材を付着させた研磨ボールの過度な使用は摩擦作用による細管の損傷を引き起こす（佐藤ら，1970）。したがって，スポンジボール洗浄は必要最低限の頻度で利用することが復水器の性能を維持するうえでは好ましい。しかしながら洗浄の頻度を低く設定しすぎた場合，その間に侵入したフジツボ類の幼生が細管内に付着し，スポンジボール洗浄のみでは除去することが困難な大きさまで成長する場合がある。加戸ら（1991）は，火力発電所の復水器細管と同質のアルミニウム黄銅管を用いた模擬配管試験（モデルコンデンサー試験）を実施し，管内に付着したタテジマフジツボ *Amphibalanus amphitrite* のスポンジボールによる剥離状況を調

査している。アルミニウム黄銅管内部に付着したタテジマフジツボは、殻長2～3mmの個体ではカーボランダムボールを用いなければ完全に除去することはできず、また殻長が5mm以上に成長したフジツボはカーボランダムボールを用いても完全な除去は困難であった。上記の試験結果、ならびにフジツボ類の成長速度を考慮し、フジツボ類の出現時期には週に2度以上（1度にボール3個）のボール洗浄が必要であるとしている。

ここまでに紹介した薬剤注入等の“付着抑制・防止”とスポンジボール洗浄などの“除去”の何れの対策においても、前述のように、最大限の効果を得るためにはフジツボ類幼生の出現時期ならびに付着盛期を把握することが極めて重要となる。発電所において問題となるフジツボ種は、発電所の立地環境、取水水深等の状況によって異なる。またフジツボ類幼生の出現時期・付着盛期は種によって異なるが、同一の種であったとしても海域によって異なる場合や、海洋環境の変化等により年変動する場合がある（野方・遠藤, 2012; 濱田, 2017）。したがって、効果的な防汚対策を講じることを目的とした幼生の動態把握においては、問題となるフジツボ種幼生の出現状況を、細やかに、かつ継続的に観測する必要がある。

### 付着生物幼生の出現動態の観測手法

フジツボ類幼生の野外動態を観測する手法として、付着板調査やプランクトンサンプル分析などが従来から行われてきた。一般的な付着板調査では、30cm四方程度の塩化ビニル板等が付着板として用いられる（梶原, 1986）。これを取水口付近等に垂下し、一定期間後に引き揚げ顕微鏡下で観察することで付着成長したフジツボ類を検出・定量する。顕微鏡による付着板の観察では、一定以上の大きさにまで成長した個体でないと正確な種判定が難しい場合が多く、付着板の浸漬から観察までには一定の期間が必要となる。したがって、付着板上にフジツボ類が検出された時期と、実際にフジツボ類幼生が海域に出現した時期にはタイムラグが生じることになる。またフジツボ類が一定以上の大きさまでに成長していたとしても、形態観察のみから正確な種判定を行うためには知識と経験が必要であり、また多数付着したフジツボ類の種判定には時間と労力を必要とする。プランクトンサンプル分析では、取水口付近等において

プランクトンネットを用いてプランクトンを採集し、顕微鏡下でフジツボ類の幼生を検出・定量する。取水口に侵入するフジツボ類幼生をタイムラグ無く検出・定量することができるため、防汚対策の効率化において有用な調査方法の1つである。しかしながら、多種多様なプランクトンが混在するサンプル中からフジツボ類幼生を検出する作業には時間と労力を要するほか、幼生の形態識別による種判定には極めて高度な知識が必要となる。近年になり、免疫（抗原抗体）反応（太田ら, 2012）、または遺伝子解析技術（遠藤・野方, 2009; Endo *et al.*, 2010; 野方・遠藤, 2012; 野方ら, 2015）を利用したプランクトンサンプル中におけるフジツボ類幼生検出技術が開発され、実用化されている。一般的に、抗原検査キットは抗原抗体反応によって、またPCR検査は遺伝子解析技術を利用してウイルス等を検出するものであり、インフルエンザウイルスや新型コロナウイルス等による感染症診断技術と上記フジツボ類幼生の検出技術における基本的な検出原理はそれぞれ同様である。開発されたフジツボ類幼生検出技術では、何れも顕微鏡観察を行うことなくフジツボ類幼生の種特異的な検出を行うことが可能であり、作業者の知識と経験によらない結果を得ることができる。また分析に要する時間と労力も顕微鏡観察と比較し大幅に軽減できることから、発電所における継続的な観測や、多数のサンプルを処理する手法として適している。

### 抗原抗体反応を用いたフジツボ類幼生の検出

抗原抗体反応を用いたフジツボ類幼生の検出手法では、フジツボ類（アカフジツボ *Megabalanus rosa*）キブリス幼生をマウス腹腔内に直接導入することで免疫化を行い、作製したハイブリドーマ細胞から得られたモノクローナル抗体が用いられている。このモノクローナル抗体は、アカフジツボキブリス幼生の特定の組織（胸肢基部組織）に対して特異的に反応する（太田ら, 2012）。この特性を利用し、プランクトンサンプル中からアカフジツボの幼生を特異的に検出するキット（イムノセンシングキット）が開発され、販売されている。分析手順としては、プランクトンサンプルを破碎（ホモジナイズ）し、得られた抽出液をキットの所定の箇所に滴下するのみである。プランクトンサンプル中にアカフジツボ幼生が存在してい

た場合には、キットの判定ラインが赤色に発色する。これによりプランクトンサンプル中におけるアカフジツボ幼生の存在の有無が確認できるほか、専用の検出定量リーダーを用いることで、アカフジツボ幼生の定量化も可能となっている。本キットを用いた分析は簡便であり、現場での観測手法として優れた技術である。フジツボ類以外の汚損生物に対しては、ムラサキイガイ、ミドリイガイ *Perna viridis*、およびベニクダウミヒドラ *Tubularia mesembryanthemum* のイムノセンシングキットが開発されている（太田ら，2012）。ただし現在のところ、フジツボ類で検出可能な種はアカフジツボ1種のみである。発電所によってはアカフジツボ以外の種が問題となる場合も多いが、本技術で使用する特異的抗体の調整は容易ではなく、検出対象とするフジツボ種を新たに追加するためには高度に専門的な技術と、専用の機器・設備が必要となる。

### 遺伝子解析技術を用いた フジツボ類幼生の検出定量

#### 検出定量原理と分析方法概略

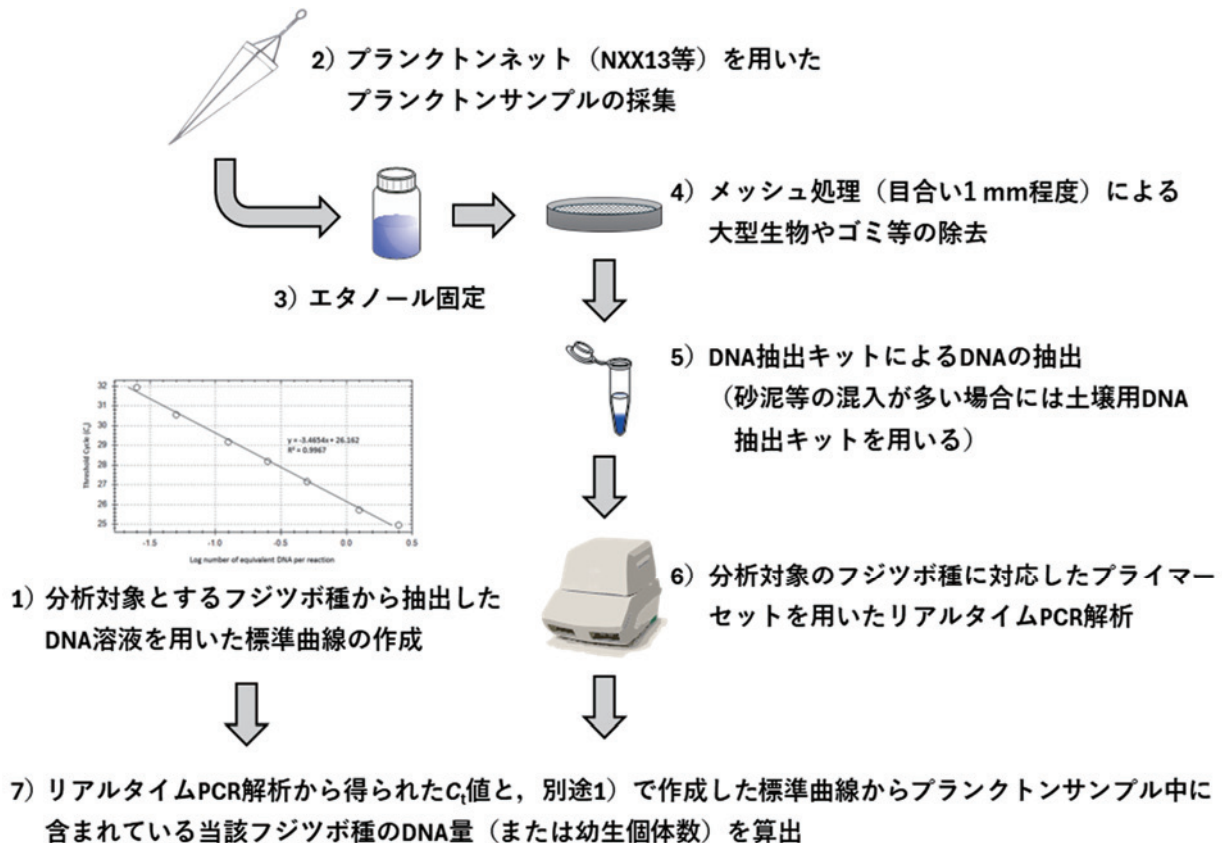
本節で紹介する遺伝子解析技術を用いたフジツボ類幼生の検出では、リアルタイムPCR法が用いられている。PCRはPolymerase Chain Reaction（ポリメラーゼ連鎖反応）の略であり、遺伝子の一部をDNAポリメラーゼによって高速に増幅させる手法である。PCR反応では増幅対象とする塩基配列を鋳型としてその5' および3' 末端にそれぞれ相補的な配列を有する20bp前後の短い一対のDNA断片をプライマーとして用いるが、DNAポリメラーゼによるDNAの合成は、鋳型DNAにプライマーセットが相補的に結合していなければ進行しない。したがって、検出対象とするフジツボ種由来のDNAに特異的なプライマーセットをPCR反応に用いれば、他の生物種のDNAが混在したサンプル中における当該フジツボ種の存在を、DNA増幅の有無によって判定することができる。また、PCR反応によってDNAが一定量の閾値までに増幅するために必要となる反応のサイクル数は、初期の鋳型DNA量が多いほど少なくなる。既知量の鋳型DNAが含まれる標準サンプルを用いて、初期鋳型DNA量と、反応によって増幅したDNA量が閾値に達するまでのサイクル数（threshold cycle:  $C_t$  値）をプロットした標準曲線を作成すれば、 $C_t$  値から

初期鋳型DNA量を算出することが可能になる。リアルタイムPCR法は上記の原理に基づいたものであり、PCR反応におけるDNAの増幅量を経時的にモニターし解析を行うことで、サンプル中に存在する特定のDNAの量を測定する手法である。リアルタイムPCR法によるフジツボ類幼生の検出定量では、検出対象とするフジツボ種に特異的な一対のリアルタイムPCR用プライマーが使用される。第1表に、リアルタイムPCR解析用プライマーセットが設計されているフジツボ種のうち国内での生息が認められている種のみを示す。国内の発電所冷却水路系内において付着が認められる主なフジツボ種としては、タテジマフジツボ、サラサフジツボ *A. reticulatus*、アメリカフジツボ *A. eburneus*、ヨーロッパフジツボ *A. improvisus*、シロスジフジツボ *Fistulobalanus albicostatus*、ドロフジツボ *F. kondakovi*、サンカクフジツボ *Balanus trigonus*、アカフジツボ、ココポーマアカフジツボ *M. coccopoma*、オオアカフジツボ *M. volcano*、ミネフジツボ *B. rostratus*、チシマフジツボ *Semibalanus cariosus*、およびクロフジツボ *Tetraclita japonica* などがあげられ（野方，2014）、発電所における付着状況に応じた分析を実施することが可能となっている。

リアルタイムPCR法によるフジツボ類幼生の検出定量手法の概略を第6図と以下に示す。1) 分析に先立ち、分析対象とするフジツボ種の成体から抽出した濃度既知のDNA溶液を用いて、リアルタイムPCR解析に用いる標準曲線を作成する。2) 発電所取水口や海水流路等において、プランクトンネット（NXX13等）を用いてプランクトンサンプルを採集する。3) 採集したプランクトンサンプルは直ちにエタノールで固定し、低温で保管して実験室に持ち帰る。4) 続いて、サンプルをやや粗めのナイロンメッシュ（目合い1mm程度）等で濾過し、大型の生物やゴミ等を除去する。この処理により、同種成体の組織片（死骸）等の混入も防ぐことができる。5) DNA抽出には市販のDNA抽出キットが使用可能である。特に砂泥等の混入が多いプランクトンサンプルにおいては、土壌からのDNA抽出用キットを使用することが好ましい（野方・原，2020）。6) プランクトンサンプルから抽出したDNA溶液を、分析対象とするフジツボ種に対応したプライマーセットを用いたリアルタイムPCR解析に供し、 $C_t$  値を得る。7) 得られた $C_t$  値と、別途1) で作成した標準曲線から、

第1表 リアルタイムPCR用プライマーセットが設計されているフジツボの種名とその分布域（野方・原，2020の表を改変，並び順は山口，1986による）

| 種           | 分布域                     | 出典                        |
|-------------|-------------------------|---------------------------|
| イワフジツボ      | 北海道，本州，四国，九州            | Endo <i>et al.</i> (2010) |
| クロフジツボ      | 津軽海峡～台湾北部               | Endo <i>et al.</i> (2010) |
| チシマフジツボ     | 銚子以北，津軽海峡以北             | Endo <i>et al.</i> (2010) |
| ハナフジツボ      | 東北以北                    | 野方・遠藤 (2012)              |
| ミネフジツボ      | 本州以北                    | Endo <i>et al.</i> (2010) |
| サンカクフジツボ    | 本州以南                    | Endo <i>et al.</i> (2010) |
| タテジマフジツボ    | 本州以南                    | Endo <i>et al.</i> (2010) |
| アメリカフジツボ    | 本州以南                    | 遠藤・野方 (2009)              |
| ヨーロッパフジツボ   | 本州以南                    | 遠藤・野方 (2009)              |
| サラサフジツボ     | 本州以南                    | Endo <i>et al.</i> (2010) |
| シロスジフジツボ    | 本州以南                    | Endo <i>et al.</i> (2010) |
| ドロフジツボ      | 東京湾以南                   | Endo <i>et al.</i> (2010) |
| ナンオウフジツボ    | 日本海中部～北海道江差，東北太平洋岸      | 野方ら (2015)                |
| アカフジツボ      | 本州以南～八重山諸島              | Endo <i>et al.</i> (2010) |
| オオアカフジツボ    | 房総以南太平洋側，栗島以南日本海側，八重山諸島 | Endo <i>et al.</i> (2010) |
| ココポーマアカフジツボ | 三陸以南～九州南部               | Endo <i>et al.</i> (2010) |



第6図 リアルタイムPCR法によるフジツボ類幼生の検出定量手法の工程（Endo and Nogata, 2018の図を改変）

プランクトンサンプル中に含まれている当該フジツボ種のDNA量を算出する。幼生1個体あたりに含まれるDNA量を測定しておくことで、算出されたDNA量から幼生数を推定することができる。または、任意の個体数の幼生から抽出したDNA溶液を用いて作成した標準曲線を作成することで、リアルタイムPCR解析により得られた $C_t$ 値から直接幼生数を算出することもできる。

幼生1個体あたりに含まれるDNA量は幼生の発生段階によって異なることが報告されている(Endo *et al.*, 2010)。採集されたプランクトンサンプル中には各発生段階の幼生が含まれている場合が多いと考えられ、したがってDNA量(または $C_t$ 値)から推定される幼生数には、実際にサンプル中に含まれている幼生個体数との誤差が生じることになる。ただし実海域における調査では、付着盛期の幼生出現数は、その前後の期間の数十倍から数百倍以上であることが報告されており(野方・遠藤, 2012)、幼生の発生段階に起因する上記の誤差は、付着時期の予測においては問題にならない範囲である。詳細については既報(Endo *et al.*, 2010; 野方・遠藤, 2012)を参照されたい。

リアルタイムPCR法による幼生の検出定量技術では、新たに生物種を分析対象とすることが比較的容易であるという特徴がある。実際に、本稿で紹介したフジツボ種の他にも、ムラサキイガイ、ミドリイガイ、およびキタノムラサキイガイ *M. trossulus* (野方・遠藤, 2012)、ならびにカワヒバリガイ *Limnoperna fortunei* (Endo *et al.*, 2009)等の汚損性二枚貝類や、アコヤガイ(福澄ら, 2013)、マガキ(Bott and Giblot-Ducray, 2012)、およびアサリ(Quinteiro *et al.*, 2011)等の水産有用種に対応したリアルタイムPCR用プライマーも設計・公開されている。分析に用いるプライマーセットは、適当な遺伝子領域の塩基配列情報から任意に設計が可能である。プライマーセットの設計に必要な塩基配列情報は、分析対象とする生物種から抽出したDNAを解析する方法以外にも、GenBank<sup>\*1</sup>、DDBJ<sup>\*2</sup>、GenomeNet<sup>\*3</sup>といった国際的なデータベースから入手することもできる。第1表に示すフジツボ類幼生検出に用いるリアルタイムPCR用プライマーは、何れもミトコンドリア

DNAにコードされている12SリボソームRNA(12SrRNA)遺伝子領域に基づいて設計されている。一般的に、細胞あたりに含まれるミトコンドリアDNA量は核DNA量と比較して数百倍程度多く、リアルタイムPCR法によるDNAの検出が容易である等の特徴を有する。また、前述のデータベース上にはフジツボ種を含む多様な生物種に由来するミトコンドリアDNAの塩基配列情報が蓄積されており、種特異的なプライマーセットの設計が比較的容易であるという利点もある。適切な遺伝子領域の設定とプライマーセットの設計には一定の知識と試行錯誤が必要になるが、設計を補助するプログラムも多数開発されており、例えばPrimer3<sup>\*4</sup>等はweb上から利用可能である。具体的なプライマーセットの設計方法等に関しては良書が各社より発刊されているため、これらの専門書を参照されたい。

## 発電所における実施例

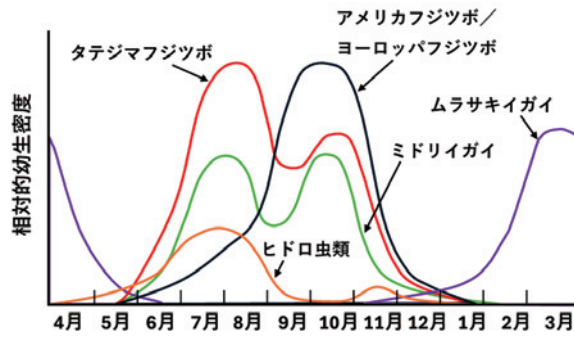
濱田(2012)は、伊勢湾奥部に位置する知多火力発電所においてプランクトンサンプルを採集し、遺伝子解析技術を用いた手法によりフジツボ類とイガイ類の幼生の出現状況を調査している。本海域では、フジツボ類とミドリイガイは夏季から秋季に、またムラサキイガイについては冬季から春季にかけて幼生が出現していた。また、5月と12月～1月には付着生物幼生の出現が最小となることから、この期間においては復水器細管のボール洗浄回数や薬剤注入量を低減することができるとしている。さらに伊勢湾内6ヶ所の火力発電所取水口において同様の調査を実施し、伊勢湾における付着生物幼生密度の季節変動を示している(濱田, 2017)(第7図)。当該調査においては、付着生物幼生の出現時期は、各発電所間では明瞭な差は認められない一方で、年によって変動することが確認されている。また、この付着生物幼生出現時期の年変動は、海水温の年変動(春季と秋季に海水温が20℃に達する時期の差異)と相関性を示すことが明らかとされている。また柳原・塩崎(2016)は、西条発電所前面海域におけるタテジマフジツボ幼生の出現状況を、同様に遺伝子解析技術を用いた解析によって調査している。当該

\*1 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>, 2024年10月31日アクセス

\*2 <https://www.ddbj.nig.ac.jp/index.html>, 2024年10月31日アクセス

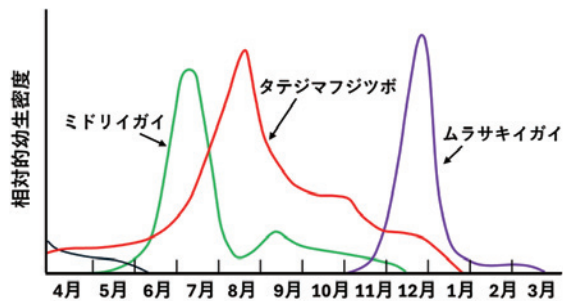
\*3 <https://www.genome.jp/>, 2024年10月31日アクセス

\*4 <https://sourceforge.net/projects/primer3/>, 2024年10月31日アクセス



第7図 伊勢湾における付着生物幼生密度の季節変化 (濱田, 2017の図を改変)

海域において、タデジマフジツボ幼生は4月から翌年1月までの長期間にわたって出現し、その出現盛期は7月から9月であること、また同時に実施された付着板調査の結果から、幼生の付着は5月から12月の期間に生じ、その付着盛期は8月であったと報告している。本調査ではミドリイガイとムラサキイガイについても同様の調査がなされており、これらの結果を基に西条発電所前海域における生物付着幼生密度の季節変動が示されている(第8図)。その他、新地発電所周辺海域におけるフジツボ類とムラサキイガイ幼生の出現動態を同



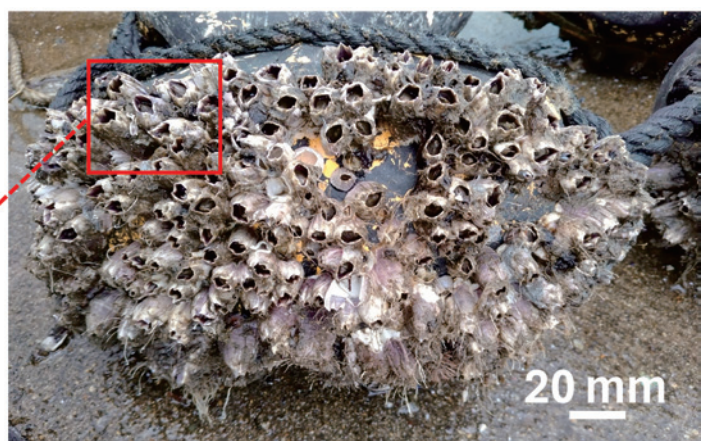
第8図 西条発電所前海域における付着生物幼生密度の季節変化 (柳原・塩崎, 2016の図を改変)

様の手法によって明らかにし、得られた情報を基に海水電解による次亜塩素酸ソーダの注入量を適正化することで、付着生物による被害を大幅に抑えることができた事例もある(武内成典, 私信)。

#### 外来種への適用

外来種の国内への侵入・定着による生態系等への影響について各所で議論がなされているが、外来種は発電所の保守・運用においても大きな問題となり得る。例えば、発電所冷却水路系内における主要な汚損生物であるムラサキイガイとミドリイガイは何れも外来種であるが(大谷, 2002)、これらが与えている経済的損失は多大なものである(渡邊・野方, 2014)。フジツボ類においては、キタアメリカフジツボ *B. glandula* (Kado, 2003)、ココポーマアカフジツボ (Yamaguchi *et al.*, 2009)、ナンオウフジツボ *Perforatus perforatus* (野方ら, 2015) 等が、比較的近年になり国内への侵入と定着が認められた外来種である(第9図)。これらの外来種は、何れも船舶の運航に伴い国内に侵入した可能性が示唆されているが(Yamaguchi *et al.*, 2009; 大谷, 2002; 劉・渡辺, 2002; 石田ら, 2005; 加戸, 2017)、気候変動に伴う海洋環境の変化により、これまでは侵入したとしても定着し得なかった場所に新たな外来種が定着する可能性も考えられる。こうした場合にも遺伝子解析技術を利用すれば、付着生物相の変化に柔軟に対応することができる。

特に侵入・定着からの期間が短い外来種は、その存在が広くは知られていない場合もあり、形態観察のみでは他の種と混同される可能性がある。実際に、ココポーマアカフジツボの国内への侵入



第9図 ブイに付着したナンオウフジツボ (2021年11月、新潟県北蒲原郡聖籠町で撮影)

は1970年代後半と推測されているが、国内での生息が初めて報告されたのは2009年である (Yamaguchi *et al.*, 2009 ; 山口, 2014)。これは、ココポーマアカフジツボは国内各所で採集されていたにも関わらず、その侵入が認識されていなかったために、形態的に類似しているアカフジツボと誤って同定されていたことによる (山口, 2014)。特にフジツボ類の周殻は波などに浸食され摩耗し易く、周殻の色・形状のみからの種同定では誤りが生じやすい。蓋板は種による形態差が比較的大きいため種同定の際に一般的に利用されるが (加戸, 2018)、蓋板の観察からの種同定には一定の知識と経験が必要とされるほか、蓋板を用いても種同定が難しい場合もある。例えば、種不明のフジツボ成体 (または幼生) から抽出したDNA溶液を、各フジツボ種に対応したプライマーセットを用いたリアルタイムPCR解析にそれぞれ供することで、各反応系におけるDNAの増幅の有無から種を同定することができる。一般的なサーマルサイクラーによるDNAの増幅とアガロースゲル電気泳動によりDNAの増幅を確認する方法も採ることもできるが、電気泳動の作業が不要であるリアルタイムPCR法の方が短時間で分析が可能である。このように本節で解説した遺伝子解析技術を用いた手法を適用すれば、種特異的なプライマーセットが設計されている必要はあるが、形態観察からの種同定が困難であるような場合においても適正な種判定を行うことができる。

## おわりに

発電所の安定運用において付着生物対策は極めて重要であるが、生物付着による被害を完全に防ぐ技術は未だ存在しない。既存技術を最大限に活かす手法の提案には、付着生物の生態の把握は必須であり、また生態の把握から得られる知見は、さらに効果的な新規対策技術の開発の一助にもなる。近年においては、鉱物資源の利用に向けた海洋開発や、洋上風力発電をはじめとした海洋の利用が積極的に進められているが、これらの活動においても、付着生物に係る諸問題は避けては通れないものと推察される。本稿では遺伝子解析技術を用いたフジツボ類幼生の検出定量技術を主に解説したが、特に遺伝子解析技術の発展には目覚ましいものがある。新たな技術も積極的に取り入れることで、発電所の保守運用に関わる生物の生態

についての理解と防汚対策がより深まることが期待される。

## 謝 辞

公益財団法人海洋生物環境研究所 顧問 加戸隆介 博士 (北里大学名誉教授) ならびに古谷 研博士 (東京大学名誉教授) には、本解説を査読いただくとともに、取り纏めるにあつたものの有益な助言を賜った。中部電力株式会社 電力技術研究所 濱田 稔 氏, 株式会社四国総合研究所 化学バイオ技術部 柳原 哲 氏ならびに塩崎景子 氏, 相馬共同火力発電株式会社 新地発電所 技術グループ 武内成典 氏, アークサーダジャパン株式会社 岩瀬嘉之 氏からは、貴重な意見を頂いた。株式会社洋行 福田祐司 氏からは写真を提供いただいた。ここに記して感謝の意を表す。

## 引用文献

- Aldred, N. and Clare, A.S. (2008). The adhesive strategies of cyprids and development of barnacle-resistant marine coatings. *Biofouling*, **24**, 351–363.
- Bott, N.J. and Giblot-Ducray, D. (2012). Development of a qPCR assay for the Pacific Oyster, *Crassostrea gigas*. *SARDI research report series*, **641**, 1324–2083.
- 電気事業連合会 (2023). 電気事業のデータベース (FEPC INFOBASE). <https://www.fepec.or.jp/library/data/infobase/index.html>. (2024年10月11日アクセス)
- 遠藤健斗, Wong Yue Him, 野方靖行, 小黒-岡野美枝子, 岡野桂樹 (2017). フジツボのキプリス幼生と幼生セメントの生物学—アカフジツボの最近の研究から. 日本マリンエンジニアリング学会誌, **52**, 19–24.
- 遠藤紀之・野方靖行 (2009). 10種の汚損性フジツボ種幼生のリアルタイムPCRによる定量的検出. 電力中央研究所報告, **V08012**.
- Endo, N. and Nogata, Y. (2018). A quantitative detection method for barnacle larvae using the qPCR technique. In “Barnacles: recent progress in biology and antifouling” (eds. Kado, R., Mimura, H. and Endo, N.), NOVA Science Publishers, New York, 175–187.

- Endo, N., Sato, K., Matsumura, K., Yoshimura, E., Odaka, Y. and Nogata, Y. (2010). Species-specific detection and quantification of common barnacle larvae from the Japanese coast using quantitative real-time PCR. *Biofouling*, **26**, 901-911.
- Endo, N., Sato, K. and Nogata, Y. (2009). Molecular based method for the detection and quantification of larvae of the golden mussel *Limnoperna fortunei* using real-time PCR. *Plankton and Benthos Res.*, **4**, 125-128.
- 福澄賢二・浜口昌巳・小池美紀・吉岡 武 (2013). モノクローナル抗体法及びリアルタイムPCR法によるアコヤガイ浮遊幼生の同定. 福岡水海技セ研報, **23**, 27-32.
- 古田岳志・野方靖行・石井晴人 (2016). 模擬管路を用いた付着生物に対する塩素注入効果の評価. 火力原子力発電, **67**, 24-32.
- 古田岳志・野方靖行・菊池弘太郎 (2012). 薬剤による付着生物防除ーフジツボおよびイガイ類幼生に対する塩素の影響ー. 電力中央研究所報告, **V11009**.
- 濱田 稔 (2012). 伊勢湾奥部における付着生物浮遊幼生の出現種および季節変動. 中部電力株式会社 技術開発ニュース, **147**, 31-32.
- 濱田 稔 (2017). 伊勢湾における付着生物幼生の出現と環境要因との関係解明 火力発電所における付着生物対策実施時期の最適化. 中部電力株式会社 技術開発ニュース, **156**, 25-26.
- 原 猛也・野方靖行 (2020). 発電所における海生生物対策技術とその適用 [3] 海水電解装置による防汚. 火力原子力発電, **71**, 758-766.
- 平形 薫 (1986). 電解法における問題点と最近の進歩. 電気化学協会海生生物汚損対策懇談会セミナー「クロリネーションの過去と現在」予稿集, 43-51.
- 石田 惣・岩崎敬二・栗原康裕 (2005). ムラサキイガイの初侵入年代と分布拡大過程ー古川田 溝氏の標本による推断. *VENUS*, **64**, 151-159.
- 岩井純夫 (1994). スポンジボール洗浄装置. 「復水器工学ハンドブック」(川辺允志・荒木道郎・藤井 哲・清水 潮編), 愛智出版, 東京, 392-401.
- Kado, R. (2003). Invasion of Japanese shores by the NE Pacific barnacle *Balanus glandula* and its ecological and biogeographical impact. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **149**, 199-206.
- 加戸隆介 (2006). フジツボの生活史と初期生態. 「フジツボ類の最新学」(日本付着生物学会編), 恒星社厚生閣, 東京, 93-111.
- 加戸隆介 (2017). 北日本に侵入・定着した新しい移入フジツボ2種の特徴と分布拡大. 日本マリンエンジニアリング学会誌, **52**, 1-8.
- 加戸隆介 (2018). 「フジツボ」(後編)ー不思議な体の造りとその理由ー. 海生研ニュース, **139**, 7-9.
- 加戸隆介・勝山一郎・小南寛彦・橋高二郎 (1991). アルミニウム黄銅復水器管に付着したフジツボによる粒界腐食の形成過程とその対策. 材料と環境, **40**, 89-95.
- 加戸隆介・鈴木潤也・鈴木祐二・難波信由・小河久朗 (2009). 陸奥湾におけるミネフジツボの繁殖・幼生分布・付着・初期成長. 日水誌, **75**, 432-442.
- 梶原 武 (1986). 7. 付着動物の調査法. 「付着生物研究法ー種類査定・調査法ー」(付着生物研究会編), 恒星社厚生閣, 東京, 141-156.
- 勝山一郎 (2014). 海生生物対策技術(防汚対策), 5・1 防汚対策の基礎知識. 「発電所海水設備の汚損対策ハンドブック」(火力原子力発電技術協会編), 恒星社厚生閣, 東京, 108-111.
- 劉海金・渡辺幸彦 (2002). ミドリイガイの生物学的知見. 海生研研報, **4**, 67-75.
- 米原洋一 (2000). 防汚塗料の最近の動向. 日本海水学会誌, **54**, 7-12.
- 増田 宏 (2011). 船体塗装による生物越境移動の防止船体塗装による生物越境移動の防止ーシリコーン系防汚塗料と水中清掃についてー. 日本マリンエンジニアリング学会誌, **46**, 119-124.
- 滑川啓介・永井則安 (2010). 防汚塗料に関する規制動向. 日本マリンエンジニアリング学会誌, **45**, 91-96.
- 野方靖行 (2014). 3・7フジツボ類. 「発電所海水設備の汚損対策ハンドブック」(火力原子力発電技術協会編), 恒星社厚生閣, 東京, 56-61.

- 野方靖行・遠藤紀之 (2012). 遺伝情報を用いた付着生物幼生の動態観測. 電力中央研究所報告, **V11031**.
- 野方靖行・原 猛也 (2020). 海洋付着生物の検出技術. 火力原子力発電, **71**, 381-387.
- 野方靖行・吉村えり奈・佐藤加奈・加戸隆介・岡野桂樹 (2015). 新規外来フジツボ *Perforatus perforatus* の日本への侵入確認およびリアルタイムPCR法を用いた検出方法について. *Sessile Organisms*, **32**, 1-6.
- 太田真紀・中木 舞・神谷享子・山下桂司・柳川敏治・川端豊喜 (2012). 海産付着動物幼生の迅速検出・定量システムに関する研究開発. 日本マリンエンジニアリング学会誌, **47**, 670-674.
- 大谷道夫 (2002). 日本における移入付着動物の出現状況, 最近の動向. *Sessile Organisms*, **19**, 69-92.
- Quinteiro, J., Pérez-Diéguez, L., Sánchez, A., Perez-Martín, R.I., Sotelo, C.G. and Rey-Méndez, M. (2011). Quantification of Manila clam *Ruditapes philippinarum* (Adams & Reeve, 1850) larvae based on SYBR Green real-time polymerase chain reaction. *J. Shellfish Res.*, **30**, 791-796.
- 坂口 勇 (2003). 発電所の汚損生物対策技術の展望. *Sessile Organisms*, **20**, 15-19.
- 坂口 勇・野方靖行 (2014). 海生生物対策技術(防汚対策), 5・10 流速や高水温による付着防止. 「発電所海水設備の汚損対策ハンドブック」(火力原子力発電技術協会編), 恒星社厚生閣, 東京, 154-159.
- 佐藤史郎・永田公二・小木曾昭夫 (1970). 復水器官の腐食におよぼすスポンジボール洗浄の影響—1—清浄海水による腐食について. 住友軽金属技報, **11**, 187-206.
- 杉本正昭・藤田義彦・船橋信之 (2014). 4・4 海水設備の保守・管理の概要. 「発電所海水設備の汚損対策ハンドブック」(火力原子力発電技術協会編), 恒星社厚生閣, 東京, 102-105.
- 高橋一暢 (2010). 環境に優しい船底防汚塗料の現状と展望. 日本マリンエンジニアリング学会誌, **45**, 118-123.
- 渡邊幸彦・野方靖行 (2014). 3・5 イガイ類. 「発電所海水設備の汚損対策ハンドブック」(火力原子力発電技術協会編). 恒星社厚生閣, 東京, 48-53.
- 山口寿之 (1986). 5. フジツボ類. 「付着生物研究法—種類査定・調査法—」(付着生物研究会編). 恒星社厚生閣, 東京, 107-122.
- 山口寿之 (2014). 外来種ココポーマアカフジツボの国内分布. *Sessile Organisms*, **31**, 15-23.
- 山口寿之・久恒義之・周藤拓歩 (2017). フジツボ類. 「新・付着生物研究法—主要な付着生物の種類査定—」(日本付着生物学会編), 恒星社厚生閣, 東京, 142-170.
- Yamaguchi, T., Prabowo, R.E., Ohshiro, Y., Shimono, T., Jones, D., Kawai, H., Otani, M., Oshino, A., Inagawa, S., Akaya, T. and Tamura, I. (2009). The introduction to Japan of the Titan barnacle, *Megabalanus coccopoma* (Darwin, 1854) (Cirripedia: Balanomorpha) and the role of shipping in its translocation. *Biofouling*, **25**, 325-333.
- 山下桂司・神谷享子 (2006). 発電所とフジツボ. 「フジツボ類の最新学」(日本付着生物学会編), 恒星社厚生閣, 東京, 209-224.
- 山内 束・田中克彦・太齋彰浩・阿部 靖・佐藤雅典・横濱康繼・大越健嗣 (2007). 宮城県志津川湾におけるミネフジツボの個体群動態. *Sessile Organisms*, **24**, 1-8.
- 柳原 哲・塩崎景子 (2016). 西条発電所周辺海域における付着生物の発生状況. 四国電力株式会社 株式会社四国総合研究所 研究期報, **104**, 11-18.
- Yebrá, D.M., Kiil, S. and Dam-Johansen, K. (2004). Antifouling technology—Past, present and future steps towards efficient and environmentally friendly antifouling coatings. *Progress in Organic Coatings*, **50**, 75-104.
- 吉村えり奈・野方靖行・坂口 勇 (2006). フジツボ幼生の簡便な飼育方法について. *Sessile Organisms*, **23**, 39-42.
- Yorisue, T. (2018). Diverse larval dispersal and settlement strategies in thoracican barnacles. In "Barnacles: recent progress in biology and antifouling" (eds. Kado, R., Mimura, H. and Endo, N.), NOVA Science Publishers, New York, 49-68.