

小川原湖における糸状藍藻類の発生メカニズムの解明と対策の検討事業

静一徳・眞家永光¹

目 的

形態的な特徴に乏しい異臭産生糸状藍藻類のモニタリング手法を確立し、小川原湖で異臭被害の原因となる糸状藍藻類の発生メカニズムを解明するとともに対策を検討する。

材料と方法

1. 糸状藍藻類モニタリング

(1) 調査月日

2018年4月～2019年3月（2019年1月～2月は結氷のため中止）に各月1回

(2) 採水場所・水深（図1）

湖南：0m、5m、湖中央：0m、5m、10m、湖北：0m、5m、姉沼：0m、内沼：0m

2017年10月11日のみ：内沼、姉沼を除く9地点の0m

(3) 調査体制

内水面研究所、北里大学

(4) 調査内容

各定点において表層はボトルを沈め、水面下10cmより湖水を直接採水し、水深5m、10mはバンドーン採水器により採水した。サンプルを冷蔵下で研究所に搬送後、1%ルゴール液で固定した。糸状藍藻はガス胞による浮上により沈殿濃縮が難しかったため、未濃縮サンプルを計数に供した。外部形態として、2-MIB産生能の報告がある *Pseudanabaena galeata*、*P. catenata*、*P. cinerea*、*P. yagii*、*P. foetida*に近い形態、すなわちトリコーム（糸状体）が真直ぐかやや曲がり、細胞隔壁部がくびれ、細胞幅が $1.6\mu\text{m}$ ～ $2.8\mu\text{m}$ 、細胞の長さが幅より長い特徴を有する *Pseudanabaena* を計数対象とした。湖水中の糸状体密度を、 $100\mu\text{m}$ の糸状体1本を1 unit とした、units/mLで算出した。

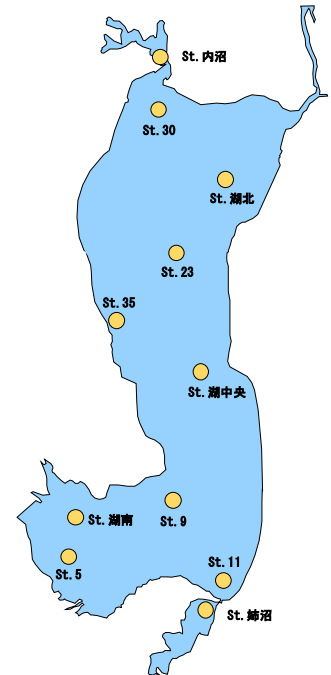


図1. 調査定点図

2. 簡便なモニタリング技術の検討：DNA分析によるモニタリング技術の開発

2-MIB産生シアノバクテリアの特異的定量技術開発のため、2-MIB合成酵素遺伝子を標的としたリアルタイムPCR（プローブ法）による定量手法を検討した。シアノバクテリアの2-MIB合成酵素遺伝子を標的とした既存のプライマーとプローブ（CRTf、CRT_r、Ctaq）¹⁾を使用した。

プライマーの特異性検討には、小川原湖から単離された糸状シアノバクテリア5株²⁾を使用した。5株の内訳は、2-MIB合成酵素遺伝子を有し墨汁臭を産生する *Pseudanabaena* 属の1株（*Pseudanabaena* sp. AIFI-4株）に加え、墨汁臭を産生しない4株：16S rRNAのV3-V4領域配列により *Pseudanabaena* 属と推定された2株、*Limnnothrix* 属と推定された1株、*Planktothrix* 属と推定された1株である。これらの抽出DNAについて、上記プライマー¹⁾を使用し、PCR酵素に Platinum® DNA Taq polymerase (Invitrogen,

¹ 北里大学獣医学部

発表誌：Shizuka, K., M. Ikenaga, J. Murase, N. Nakayama, N. Matsuya, W. Kakino, H. Taruya, & N. Maie (2020) Diversity of 2-MIB-producing cyanobacteria in Lake Ogawara: Microscopic and molecular ecological approaches. *Aquaculture Science*, 68, 9-23.

Carlsbad, CA) を用いて PCR を実施した。2%アガロースゲル電気泳動により増幅の有無を確認した。

検鏡値に含まれる 2-MIB 産生株の割合を検討するため、2017 年 1 月～10 月のサンプルについて、リアルタイム PCR による 2-MIB 産生株の定量を行った。定量は検量線法で行った。標準サンプルとして、抽出に供した糸状体数が既知の *Pseudanabaena* sp. AIFI-4 株の抽出 DNA を使用した。

結果と考察

1. 糸状藍藻類モニタリング

2018 年 4 月～2019 年 3 月（1 月、2 月は結氷のため中止）に月 1 回のモニタリングを行った結果、計数対象の *Pseudanabaena* は検出されなかった。

2. 簡便なモニタリング技術の検討～リアルタイム PCR によるモニタリング技術の開発

糸状シアノバクテリア 5 株を対象に、2-MIB 合成酵素遺伝子を標的とした既存プライマーによる PCR を行った結果、2-MIB 産生能を持つ 1 株 (*Pseudanabaena* sp. AIFI-4) のみで、期待される 249bp 前後の増幅産物が確認され（図 2）、当プライマーが 2-MIB 産生シアノバクテリアを特異的に検出することが確認された。

2017 年 1 月～10 月の湖水サンプルについて、リアルタイム PCR による 2-MIB 産生シアノバクテリアの定量値 (*Pseudanabaena* sp. AIFI-4 の 100 μ m 糸状体密度換算) と、検鏡による *Pseudanabaena* 密度を比較した（図 3）。両手法における定量値は、地点間の大小関係は大まかには合致したが ($r^2 = 0.584$)、リアルタイム PCR による定量値は検鏡値の約 8% であった (リアルタイム PCR 値 = 0.0806 × 検鏡値 - 1.26)。このことから、小川原湖には 2-MIB を産生しない *Pseudanabaena* も存在し、検鏡値には 2-MIB を産生しない *Pseudanabaena* が多量に含まれていたと推察され、リアルタイム PCR によるモニタリングの必要性が支持された。

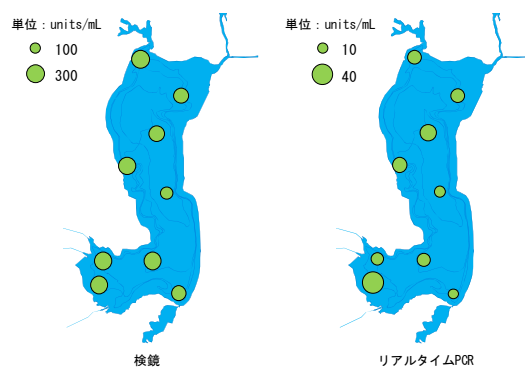
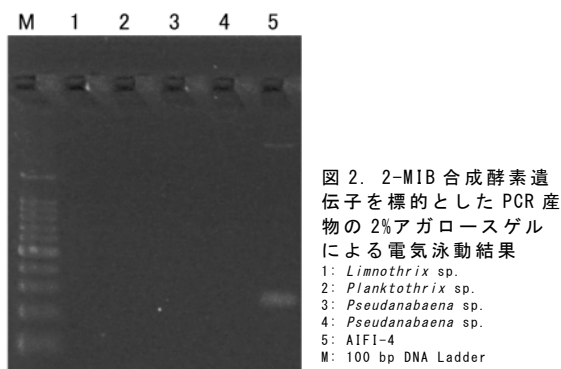


図 3. 定量手法別の *Pseudanabaena* 分布状況 (2017 年 10 月 11 日)

謝 辞

調査においては小川原湖漁業協同組合に多大な協力をいただきました。この場を借りて御礼申し上げます。

参考文献

- 1) Wang, Z., G. Song, J. Shao, W. Tan, Y. Li and R. Li (2016) Establishment and field applications of real-time PCR methods for the quantification of potential MIB-producing cyanobacteria in aquatic systems. *Journal of applied phycology*, 28, 325-333.
- 2) 静一徳・眞家永光 (2021) 小川原湖における糸状藍藻類の発生メカニズムの解明と対策の検討事業. 平成 29 年度青森県産業技術センター内水面研究所事業報告, 89-92.