

小川原湖産水産物の安全・安心確保対策事業

静一徳

目 的

リアルタイム PCR による異臭産生糸状藍藻のモニタリングを実施し、関係者へ情報提供するとともに、発生に関係する水質等を調査する。

材料と方法

(1) 調査月日

2019年4月～2021年3月

(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

2021年1月～2月は結氷のため、小川原湖の湖南部では沼崎栈橋、湖中央部では定点近傍の西岸で採水した。また姉沼、内沼は2020年12月～2021年2月は結氷のため調査は実施しなかった。

(3) 調査体制

内水面研究所、北里大学

(4) 調査頻度

基本的に月1回、増殖が確認された場合は各月1回～2回追加した。追加調査は0mのみとした。

(5) 調査内容

各定点において、表層はボトルで水面下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、当日中に各サンプル400mlを0.22 μm Sterivex® filter (EMD Millipore Corp., USA)で濾過した。濾過したフィルターサンプルはDNA抽出まで-20℃で冷凍保存した。

(6) 分析方法

DNA抽出はDNeasy® PowerSoil Pro Kit (QIAGEN, Germany)で行った。抽出したDNA溶液は-80℃で冷凍保存した。シアノバクテリアの2-MIB合成酵素遺伝子(2-MIBシクラーゼ遺伝子)のTaqMan® qPCRのため開発されたプライマーとプローブ(CRTf、CRTr、Ctaq)¹⁾を使用した。TaqMan® qPCRは、マスターミックスとして2020年1月まではTaqMan® Universal PCR Master Mix (Applied Biosystems)、2020年2月以降はTaqPath™ qPCR Master Mix, CG (Applied Biosystems)、機器としてStepOne™リアルタイムPCRシステム (Applied Biosystems®)を使用した。定量は検量線法で行った。小川原湖では*Pseudanabaena*以外の2-MIB産生シアノバクテリアは確認されていないため、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²⁾の抽出DNAを使用し、*Pseudanabaena* sp. AIFI-4株の100 μm糸状体の本数として定量した。濾過湖水量等から湖水1 mLあたりの糸状体密度(本/mL)を算出した。

(7) 結果報告

結果は調査から原則2日以内に関係者へ報告した。

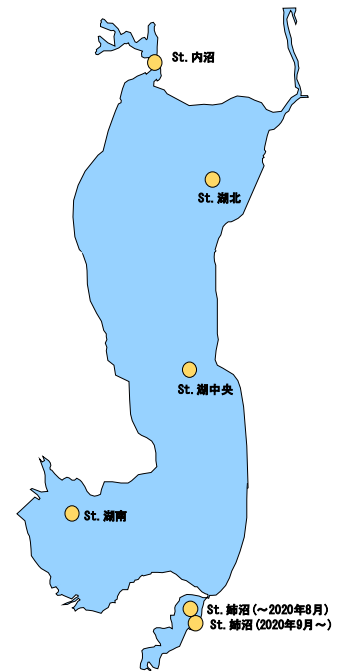


図1. 調査定点図

結果と考察

2019年4月～2021年3月に計30回のモニタリングを実施した。

2019年は小川原湖、内沼での出現はいずれの月も0本/mLであった。姉沼では0本/mL～2本/mLの出現がみられたが、大規模な出現は確認されなかった。

2020年は小川原湖、内沼で大規模な出現が確認された。小川原湖では7月まではいずれの定点でも0本/mLであったが、8月中旬に3本/mL～22本/mL、特に湖南部では0mで22本/mL、5mで13本/mLと他定点と比較して多く出現した。その後12月上旬まで増加し0m平均で2527本/mLに達した。12月中旬以降は急激に減少した。結氷の影響で、2021年1月の湖南部、湖中央部の岸で採水したサンプルでは、湖南部で3本/mL、湖中央部で8本/mLであった。2021年3月には0本/mL～1本/mLでわずかに確認されるのみであった。内沼では小川原湖より遅れて増加する傾向を示した。9月上旬まで0本/mLであり、9月中旬に1本/mL出現した後増加に転じ、12月中旬に最大の270本/mLに達した。姉沼では0本/mL～5本/mLで大規模な出現は確認されなかった。

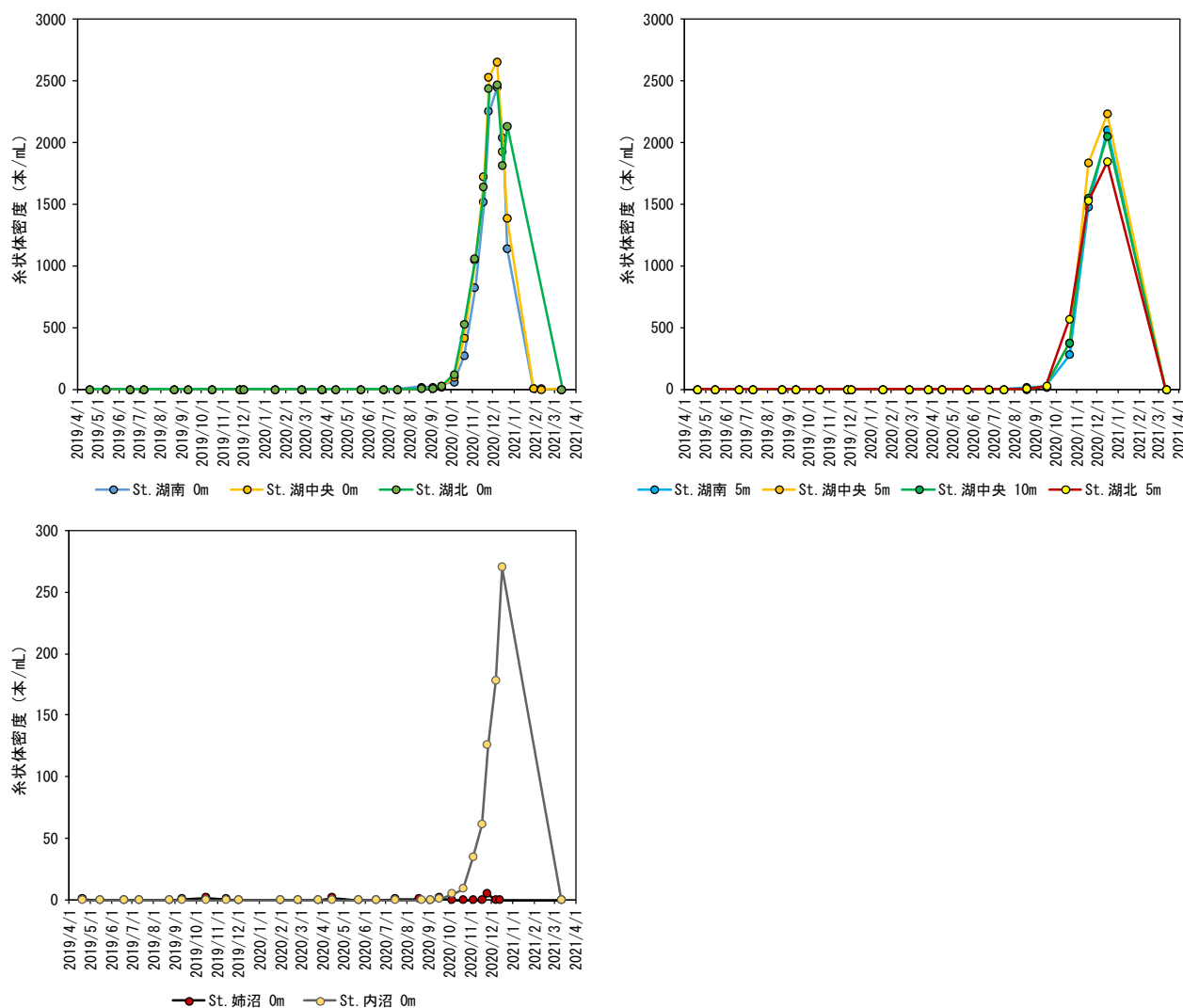


図 1. 2-MIB 産生シアノバクテリア糸状体密度 (*Pseudanabaena* sp. AIFI-4 株換算)

謝 辞

調査においては小川原湖漁業協同組合、北里大学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) Shizuka, K., M. Ikenaga, J. Murase, N. Nakayama, N. Matsuya, W. Kakino, H. Taruya and N. Maie (2020) Diversity of 2-MIB-Producing cyanobacteria in Lake Ogawara: microscopic and molecular ecological approaches. *Aquaculture science*, 68, 9-23.