

湖沼のカビ臭原因菌の生態学的多様性に着目した発生予測と ファージレメディエーション事業

静 一徳・池永 誠¹・中山 奈津子²・眞家 永光³

目 的

湖沼で水産物の異臭着臭を引き起こす 2-MIB 産生シアノバクテリアによる漁業被害軽減のため、2-MIB 産生シアノバクテリアの株レベルの動態解明、定量的予察モデル開発、ファージによる増殖抑制技術（ファージレメディエーション）開発を行う。

材料と方法

1. 2-MIB 産生シアノバクテリアの動態解明

(1) 研究体制

内水面研究所：湖水サンプリング、水質測定、単離株確立、定量解析

北里大学：湖水サンプリング、水質測定、栄養塩分析、溶存有機物の蛍光組成分析

鹿児島大学：プライマー設計、菌叢解析、定量解析

(2) 研究方法

小川原湖の湖水からピペット洗浄法により 2-MIB 産生 *Pseudanabaena* 様糸状シアノバクテリアを単離する。小川原湖からの単離株、他機関からの分譲株の 2-MIB 合成関連遺伝子配列をシーケンスしデータベースを拡充する。拡充したデータベースを元に 2-MIB 産生シアノバクテリアを株レベルで識別可能なプライマーを設計する。設計したプライマーを用いた分子生態学的手法により小川原湖における 2-MIB 産生シアノバクテリアの株レベルの中長期的時系列を明らかにする。

2. 定量的予察モデル開発

(1) 研究体制

内水面研究所：水質測定、微生物群集解析、定量解析、予察モデル開発

北里大学：水質測定、栄養塩分析、溶存有機物の光学特性分析

鹿児島大学：菌叢解析、定量解析

(2) 研究方法

環境データ、2-MIB 産生シアノバクテリアの湖水中密度データの統計解析により、湖水中 2-MIB 産生シアノバクテリア密度の定量的予察モデルを開発する。

3. ファージによる防除技術開発

(1) 研究体制

内水面研究所：湖水・底泥サンプリング

北里大学：湖水・底泥サンプリング

水産教育・研究機構：ファージ分離・精製・性状解析

(2) 研究方法

¹ 鹿児島大学学術研究院農水産獣医学域農学系

² 国立研究開発法人水産研究・教育機構水産技術研究所

³ 北里大学獣医学部

異なる時期、地点より採取した湖水、底質から 2-MIB 産生シアノバクテリアに感染するファージを分離・精製する。分離したファージについてゲノム解析を実施する。感染培養試験によりファージ感染が 2-MIB 産生シアノバクテリアの増殖に及ぼす影響を評価する。小川原湖内の底質中の 2-MIB 産生シアノバクテリア密度の高い区域の探索を行う。

結果と考察

1. 2-MIB 産生シアノバクテリアの動態解明：データベース拡充、プライマー設計

2-MIB 構成遺伝子 (cnbA, mic, mtf, cnbB) の配列を精査し、2-MIB 産生種の網羅的菌叢解析を行うためのプライマー設計を試みた結果、cnbB と mic の両方で菌叢解析を行うプライマーが設計可能であった。配列多様性の比較から cnbB に決定し、2 種類のプライマーセットを設計した。小川原湖の環境 DNA で PCR を行った結果、目的の位置に増幅産物が確認され、菌叢解析に適用可能と判断した。2 種類のプライマーセットを用いたアンプリコンシーケンス解析により最終的なプライマーセットを決定した。また 2-MIB 産生 *Pseudanabaena* に特異的な定量 PCR プライマーセットを 3 種類設計した。PCR を行い特異性や増幅効率から、最終的なプライマーセットを決定した。

2. 定量的予察モデル開発：データ拡充、微生物群集解析

湖水の各形態窒素・リン濃度、クロロフィル濃度、フィコシアニン濃度、溶存有機態炭素濃度、溶存有機物の光学特性に関するデータを蓄積した。真核微生物群集組成把握のため 18S rRNA 遺伝子のアンプリコンシーケンス解析を行った。16S rRNA 遺伝子のアンプリコンシーケンス解析データから植物プランクトン群集組成を算出し、2-MIB 産生 *Pseudanabaena* との関係を解析した。2-MIB 産生 *Pseudanabaena* が検出されたサンプルとされなかったサンプルでは群集組成が異なり、2-MIB 産生 *Pseudanabaena* が検出されたサンプルでは *Planktothrix* 等の糸状シアノバクテリアの割合が高い傾向にあった。

3. バクテリアファージによる増殖抑制技術開発（ファージレメディエーション）：ファージコレクションの拡充、ファージ密度の高い区域の探索

6 月に湖内 17 地点でエクマンバージ採泥器により採泥し、サンプルを水産技術研究所に送付した。

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。本研究は JSPS 科研費 22H02479 の助成を受けて行った。