

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. 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）

(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

昨年度開発した網羅的菌叢解析を行うためのプライマーにより、小川原湖における 2-MIB 産生 *Pseudanabaena* の菌株組成の中長期時系列を取得した結果、環境条件による主要菌の競争が動的変化を引き起こし、特定の菌株が増減することで菌叢分布に年次変動が生じることを明らかにした。

2. 定量的予察モデル開発

2-MIB 産生 *Pseudanabaena* の *cnbB* 遺伝子を標的として開発した定量 PCR 用プライマーにて、中長期サンプルの定量を行った結果、2-MIB 産生シアノバクテリアの *mic* 遺伝子を標的とした既存のプライマー¹⁾ とほぼ同等の定量値が得られ、小川原湖における主要な 2-MIB 産生種が *Pseudanabaena* であること、両プライマーによる定量値の妥当性が支持され、定量的予察モデル開発に資する信頼性の高いデータセットが得られた。

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）

小川原湖の湖水および底泥中に 2-MIB 産生 *Pseudanabaena* に感染するファージが存在することを確認した。2-MIB 産生 *Pseudanabaena* の培養株の中にファージが溶原化している株が存在することを確認した。また、オゾンナノバブル処理にて物理刺激を与え、溶原化サイクルへの誘導を試みたが、感染確認には至らなかった。手法確立には課題が残されたが、本研究により、2-MIB 産生 *Pseudanabaena* に感染するファージは確認されたことから、ファージ感染を利用した制御の可能性が示された。

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。

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.