

学位論文要旨

小川原湖における 2-MIB 産生シアノバクテリアの出現に関する
研究

Study on the emergence of 2-MIB producing cyanobacteria in Lake
Ogawara

北里大学大学院獣医学系研究科
動物資源科学専攻 博士後期課程

静 一徳

Kazunori Shizuka

指導教授 樽屋 啓之

緒 論

シアノバクテリアの一部はカビ臭（2-メチルイソボルネオール：2-MIB）を産生し，河川・湖沼や養殖場での水産物への着臭被害を引き起こす。青森県の小川原湖においても，2008 年以降カビ臭が頻繁に発生し，ヤマトシジミ等の漁獲物にカビ臭が付着して商品価値が低下するという深刻な問題が生じており，関係者からは 2-MIB 発生の予測，抑制対策が強く求められている。

そこで本研究は，小川原湖における 2-MIB の発生予測と抑制対策に資するため，第 1 章では 2-MIB 発生と水質との関係を明らかにした。さらに第 2 章では，2-MIB 発生に関係する水質の年変動について，気象等の影響を解析した。これらの章より，気象等から水質，2-MIB 発生に至る一連の関連を見出し，2-MIB 発生の予測に資する知見を得た。また第 3 章では，さらに定量的予測および増殖抑制対策に繋げるため，分子生態学的手法を用いて 2-MIB 産生シアノバクテリアの遺伝子レベルでの組成解析を行い，その量的な動態把握の上で必要な観点とその手法を考察した。

第 1 章 2-MIB 発生時および 2-MIB 産生シアノバクテリア出現時の水質の特徴

本章では，2-MIB 発生時の水質の特徴を明らかにするため，長期観測データを用いて，2-MIB 発生の有無と各種水質との関係を調べ，以下の事実を明らかにした。まず，湖水中の 2-MIB 発生と，2-MIB 産生シアノバクテリアとして報告されている *Pseudanabaena* 様シアノバクテリア（Musty odor producing *Pseudanabaena*-like cyanobacteria：MOPPL-シアノバクテリア）出現年と時期について調

べたところ，これらは概ね対応したことから，MOPPL-シアノバクテリアが小川原湖において 2-MIB を産生していると推察した。次に，水質と 2-MIB 発生の関係について，4 月～9 月の各種水質の平均値と秋以降の 2-MIB 発生の有無について分析したところ，全窒素濃度（TN），無機態窒素濃度（DIN）が低く，全リン濃度（TP），塩分が高い年に，2-MIB の発生確率が高いことを明らかにした。

第 2 章 2-MIB 発生に関係する水質の変動要因

第 1 章で 2-MIB 発生と複数の水質項目との間に関係があることを示したが，本章では，それらの関係のうち，TN，DIN，塩分の長期的変動には，4 月の河川流入量（融雪水量）と塩淡水界面深度，TP の長期的変動には塩淡水界面深度が関係することを見出した。融雪水量が TN，DIN，塩分に及ぼす影響を明らかにするため，一般化加法モデルを用いた統計的因果推論を実施した。その結果，融雪水量と湖水の TN，DIN の間に見られた関係は主に偽相関であり，因果ではなかった。すなわち，融雪水量に影響する冬季の気温等が，湖面の結氷等を通じて湖内の窒素循環に作用し，両者に見かけ上の関係を生じさせていることが示唆された。一方，融雪水量と塩分との関係については，結氷等を通じた塩分循環への作用の他，融雪水による直接的な塩分希釈作用が推察された。

以上の章の論考に基づき，小川原湖において 2008 年から 2-MIB 産生シアノバクテリアが増殖した原因として，海水の侵入による塩淡水界面の上昇とともに，温暖な冬季の気候による湖面結氷や融雪水の減少等が小川原湖の水質に作用し，2-MIB 産生シアノバクテリアの増殖に好適な低 TN・DIN，高 TP・塩分として顕れる水質環境が形成

されたことが明らかになった (Shizuka et al. 2020. Journal of Environmental Quality, *in press*)。

第3章 分子生態学的手法に基づく 2-MIB 産生糸状シアノバクテリアの組成解析

本章では、小川原湖における 2-MIB 産生シアノバクテリアの動態解明に資するため、MOPPL-シアノバクテリアに含まれる 2-MIB 産生シアノバクテリアを精査した。小川原湖と接続湖沼の湖水から、MOPPL-シアノバクテリアを 8 株単離し、それらの 16S rRNA 遺伝子配列解析を実施した。その結果、全ての株が *Pseudanabaena* であったが、2-MIB 合成酵素遺伝子を標的とした PCR を実施した結果、5 株のみから 2-MIB 遺伝子が検出された。また、2-MIB 産生シアノバクテリア密度 (2-MIB 遺伝子を標的としたリアルタイム PCR により検出) を MOPPL-シアノバクテリア密度で回帰すると、前者は後者の約 8%であり、変動の 58%が説明された。したがって、検鏡法による計数値には、2-MIB 非産生シアノバクテリアが多く含まれており、その割合が定量値に大きく影響すると考えられた。

小川原湖に出現する 2-MIB 産生シアノバクテリアの組成を明らかにするため、2-MIB 発生時に湖内 9 か所より水試料を採取し、2-MIB 合成酵素遺伝子を標的としたアンプリコンシーケンス解析を実施した。その結果、*Pseudanabaena* の 2-MIB 合成酵素遺伝子配列と類似性の高い 2 つの OTU (OTU-1, OTU-2) が検出された。各定点における OTU 割合については、OTU-1 が 9 割以上を占め、OTU-1 と OTU-2 の存在割合には空間的変動が認められた。また、各 OTU の最近似株の形態学的特徴が 2 株間で異なったことから、2017 年の小川原湖

には、2-MIB 産生シアノバクテリアとして、増殖特性の異なる *Pseudanabaena* の 2 株が存在していたと考えられた。本章の成果は、分子生態学的手法を用いて、2-MIB 産生シアノバクテリアの動態を株レベルで把握することの可能性と重要性を強く示唆した画期的なものである（Shizuka et al. 2020. *Aquaculture Science*, *in press*）。

第 4 章 総合討論

本研究は、小川原湖における 2-MIB の発生予測と抑制対策に資するため、1) 2-MIB 産生シアノバクテリアが出現する水質の特徴、2) その変動要因、3) 小川原湖に出現する 2-MIB 産生シアノバクテリアの特徴、を一連のものとして解明したものである。本研究より、小川原湖の 2-MIB の発生に関係する水質の形成には、塩淡水界面水深や冬季気象が影響を及ぼすことを明らかにした。また、分子生態学的手法を取り入れることより、従来は同一の生態学的特徴を持っていると見なされていた小川原湖の 2-MIB 産生シアノバクテリアが、複数株の *Pseudanabaena* より構成されていることをつきとめるとともに、世界に先駆けて、その定量的評価を行った。これらの成果は、2-MIB 発生の要因解明や出現対策を行うにあたり、株レベルで動態を把握することの重要性を示した。今後、本研究を進展させることにより、水資源の保全と改善、高品質な水産物の安定確保につながることを期待される。