

令和元年9月2日現在

機関番号：82617

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2018

課題番号：15K00574

研究課題名(和文) 淡水域でカビ臭問題を引き起こすプセウドアナベナ属についての統合的研究

研究課題名(英文) Taxonomic study of Pseudanabaena, cyanobacteria which producing 2-MIB

研究代表者

辻 彰洋 (Tuji, Akihiro)

独立行政法人国立科学博物館・植物研究部・研究主幹

研究者番号：40356267

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：日本各地の湖沼からプセウドアナベナ(Pseudanabaena)属種を分離培養し、分類学的検討を行った結果、2-MIBを産する3種5分類群を見いだした。いずれも私たちが発見命名したものである。これらは16S rRNA, rbcL遺伝子においても多様であった。Pseudanabaena属の分類群を区別するのにITS領域の立体構造が有用であった。これらの2-MIB産生種は、その形態的特徴(サイズや色)が多様で、非産生種と形態的特徴で区別することは出来なかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

藍藻類(シアノバクテリア)のプセウドアナベナ属は、カビ臭物質(2-MIB)を産生するため、水道水や2枚貝のカビ臭問題を引き起こす。本研究では、この2-MIBを産生する本邦のプセウドアナベナ属藍藻の分類学的検討を行い、3種5分類群を記載した。日本から見つかった2-MIB産生種はすべて新分類群であった。従来カビ臭の産生/非産生の判別形質として用いられてきた方法はいずれも使えないことが判明した。私たちの今回の研究は、今後のカビ臭問題解決のための基盤となる研究であると考えている。

研究成果の概要(英文)：Pseudanabaena strains were isolated from Japanese Lakes, ponds and reservoirs. After the taxonomic treatment, we newly described three new species including five taxa. The genes of 16S rRNA and rbcL were varied in these taxa. The secondary structures of the ITS regions of the rRNA operon, was useful for distinguishing the Pseudanabaena taxa. It was difficult to distinguish these strains by morphological characters.

研究分野：微細藻類の分類

キーワード：プセウドアナベナ 2-MIB カビ臭

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

2-メチルイソボルネオール(2-MIB)によるカビ臭を産生するピコサイズの糸状藍藻(シアノバクテリア)は従来 *Phormidium tenue* 1種として同定されてきた。この仲間は、中栄養～富栄養湖では、通年で観察され、時に生物量でも優占する一時生産者の重要な要素である。また、水道水のカビ臭問題の原因生物として重要であるため、水温・光量とカビ臭の生成量との関係や形態との比較など、様々な応用的研究がなされ、多数の論文が発表されている。この不快な湖水のカビ臭は観光被害を引き起こすこともある。また、近年に青森県の小川原湖や北海道の網走湖などでのシジミのカビ臭による出荷停止が生じるなど、水産上の被害も発生し、問題生物と物質循環の両面で湖沼関係のモニタリング対象生物としての重要性が更に高まった。

Phormidium tenue については、株によりカビ臭のするものとならないものが存在し、含有色素によって区別できるとされていた(中村 1987)。また、近年の分類学の進歩により、*Phormidium tenue* とされてきたものが、プセウドアナベナ(*Pseudanabaena*) 属の複数種を含むことが分かってきた(森井他 1982)。本間隆満氏は木村・田中(2012)において、含有色素による区別は不正確であるとして、本属類似群の10種のうち、4種がカビ臭産生の可能性があり、細胞長と細胞直径比(LW ratio)により区別可能とした。この分類は、現在多くのダム湖で検討されている。しかし、本間氏がカビ臭産生種とした *P. galeata* や *P. catenata* について原産地であるヨーロッパから培養株を取り寄せ検討した結果、それらはカビ臭を産生しなかった。ヨーロッパの藍藻研究の一人者である Jiří Komárek 氏(私信)によれば、ヨーロッパで研究されている本属株はカビ臭を産生しないとのことで、本間氏がカビ臭を産生する日本産種の同定に用いた種名の多くは誤同定の可能性が高い。また、培養株を継続的に観察したところ、細胞長は株内変異が大きく、LW ratio は、分類形質としては、使えないことが分かった。これらの事から過去の本属の分類研究は根本的に見直す必要があると考えられた。研究開始当初は、日本で2-MIBを産生する *Pseudanabaena* は私たちが当時発見していた新種(*P. foetida*) 一種であるという仮説を持っていた。

2. 研究の目的

本研究課題では、本邦の様々な水域から本属の株を集め、分類体系の再構築と合わせ、このカビ臭産生種が単一であるという作業仮説を検証しようとした。

本属の分類、特に2-MIB産出種に関する情報は混乱しており、諸説が混在している。その原因の一つとして、ダム湖・自然淡水湖沼・汽水湖沼を網羅的に調査した研究がなかったことが上げられる。本研究では、カビ臭問題が発生している陸水域から、網羅的に *Pseudanabaena* 属株を分離し、遺伝子解析や形態測定によって、本属の実態を明らかにする。

その上で、これらの株について、原記載やヨーロッパ産の培養株と比較することで、正しく同定を行うと共に、従来の手法(含有色素による区別、細胞長と細胞直径比(L/W ratio)による区別)も含めて、カビ臭産生種の判別形質を明らかにする。

3. 研究の方法

本邦の様々な水域から本属の株を集め、形態観察および遺伝子解析からプセウドアナベナ(*Pseudanabaena*)属の分類体系を再構築した。また、2-MIB 産生に関する遺伝子やカビ臭産生種の判別形質についても解析を行った。

4. 研究成果

日本各地の湖沼からプセウドアナベナ(*Pseudanabaena*)属種を分離培養し、分類学的検討を行った結果、2-MIB を産する次の3種5分類群を見いだした。いずれも私たちが発見命名した物である。

Pseudanabaena foetida var. *foetida* Niiyama, Tuji et Ichise 2016

P. foetida var. *subfoetida* (Niiyama et Tuji) Tuji et Niiyama 2016

P. foetida var. *intermedia* Tuji et Niiyama 2016

P. yagii Tuji et Niiyama 2018

P. cinerea Tuji et Niiyama 2018

Pseudanabaena 属の分類群を区別するのに ITS 領域の立体構造が有用であった。研究当初の作業仮説では、本邦の2-MIB を産する *Pseudanabaena* 属種は1種類と考えていたが、研究の結果、遺伝的にも多様性のある3種が見つかった。これらの2-MIB 産生種は、その形態的特徴(サイズや色)が多様で、非産生種と形態的特徴で区別することは出来なかった。従来、含有色素や細胞サイズにより区別できるという論文が存在したが、私たちの結果はそれらの論文の結論を否定するものであった。

これらの種の2-MIB に関する gene cluster を形成する4遺伝子を調べたところ、産生種では4遺伝子共に系統関係を反映していたが、非産生種では水平伝播を示唆する結果が得られた。本研究の結果、本邦の2-MIB を産する *Pseudanabaena* 属種については、ほぼ網羅出来たと考えている。しかし、非産生種については、既存種の実態が不明なこともあり、分類学的検討が不十分なままである。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計5件)

Niiyama Y, Tuji A, Takemoto K, Ichise S (2016) *Pseudanabaena foetida* sp. nov. and *P. subfoetida* sp. nov. (Cyanophyta/ Cyanobacteria) producing 2-methylisoborneol

from Japan. FOTTEA 16: 1-11.

Tuji A, Nakagawa M, Sato M, Yamaguchi H (2018) A new planktonic diatom, *Craticula pseudocitrus* sp. nov., Naviculales, Bacillariophyceae found in Lake Kasumigaura, Japan. Bull Natl Mus Nat Sci, Ser B, 44: 15-22.

Tuji A, Niiyama Y (2016) The identity and phylogeny of *Pseudanabaena* strain, NIES-512, producing 2-methylisoborneol (2-MIB). Bull Natl Mus Nat Sci, Ser B, 42: 1-7.

Tuji A, Niiyama Y (2018b) Two new *Pseudanabaena* (Cyanobacteria, Synechococcales) species from Japan, *Pseudanabaena cinerea* and *Pseudanabaena yagii*, which produce 2-methylisoborneol. Phycol Res doi:10.1111/pre.12327.

辻彰洋, 新山優子 (2018) *Pseudanabaena* 属(シアノバクテリア)の分類とカビ臭産生の判別形質.

〔学会発表〕(計9件)

新山優子・辻彰洋, 2019. 藍藻類の分類: 多面的手法を用いた琵琶湖産藍藻の分類. 日本藻類学会第43回大会公開シンポジウム. 京都, 講演要旨集 S2.

新山優子・辻彰洋. 2017. 2-methylisoborneol(2-MIB)を産生する *Pseudanabaena* 属の新種, *P. cinerea* と *P. yagii*. 日本藻類学会第41回大会, 高知, P51.

辻彰洋. 2017. ダム湖における同定上の問題を抱える植物プランクトンについて. 2017年日本プランクトン学会・日本ベントス学会合同大会, 彦根, PO25

山口晴代・片岡剛文・辻彰洋・中川恵・河地正伸. 2017. 霞ヶ浦で見られるシアノバクテリアの16S rRNA 遺伝子アンプリコンによる群集構造解析. 日本藻類学会第41回大会, 高知, p. 80.

辻彰洋・新山優子. 2016. カビ臭(2-MIB)産生 *プセウドアナバエナ* 属の新規系統と産生遺伝子. 2016年度日本ベントス学会・日本プランクトン学会合同大会熊本.. 要旨集, p. B09PM03.

山口晴代・片岡剛文・辻彰洋・中川恵・河地正伸. 2016. 霞ヶ浦で見られるシアノバクテリアの16S rRNA 遺伝子アンプリコンによる群集構造解析. 日本藻類学会

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

○出願状況(なし)

○取得状況(なし)

〔その他〕

ホームページ等

「ダム湖のプランクトン」

<https://www.kahaku.go.jp/research/db/botany/dam/>

「HABs 有害有毒藻類ブルーム」

<https://www.kahaku.go.jp/research/db/botany/habs/>

「浮遊性藍藻データベース」

<https://www.kahaku.go.jp/research/db/botany/aoko/>

6 . 研究組織

(1) 研究分担者

なし

(2) 研究協力者

研究分担者氏名：新山優子

ローマ字氏名：Yuko Niiyama

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。