

令和元年6月24日現在

機関番号：12401

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2015～2018

課題番号：15K14038

研究課題名(和文)カビ臭産出関連遺伝子の分析を用いた次世代型貯水池カビ臭対策技術の開発

研究課題名(英文) New monitoring system of 2MIB production rate of cyanobacteria using the genes occurrence analysis to develop a counter measure against the musty odor problems of reservoirs

研究代表者

浅枝 隆 (ASAEDA, TAKASHI)

埼玉大学・理工学研究科・教授

研究者番号：40134332

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、新しい貯水池カビ臭対策の開発のために、カビ臭を産出するシアノバクテリアを用い、カビ臭物質の2MIBを生産する上で必要となるGPPMT及びMIBS遺伝子の発現頻度から、対象とするシアノバクテリアに対する2MIB産出環境の条件を評価する技術の開発を行った。その結果、2MIB生産量とこれらの遺伝子の発現頻度との間には高い正の相関があること、これまで経験的に開発された方法である、干し上げでは、土壌の乾燥に伴ってこれらの遺伝子発現性が減少すること、水中窒素濃度と共に発現頻度が上昇すること、また、曝気循環を模擬した実験において、発現量と2MIB生産量との間の一致が示され、有効性が確認された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

貯水池のカビ臭問題には、的確な対策がなく、例年、多額の予算がカビ臭除去のための活性炭処理の費用として費やされている。貯水池に発生するアオコは、リン濃度が高い間は、カビ臭を発生しないミクロキスティス属が主流になるのに対し、水質対策が進み、流入水のリン濃度が低下すると、シュードアナベナなどのカビ臭物質を生産する種に変化することが経験的に知られており、今後、より深刻な問題になることが予想されている。そうした中、近年、カビ臭を生産する過程で必要になる遺伝子が発見され、それを用いた分析が可能になった。本研究では、その手法を、これまでの対策に適用、その有効性を示し、新しい対策の開発のための手法を得た。

研究成果の概要(英文)：The understanding of the environmental condition to generate musty odor was conducted for Cyanobacteria, Pseudoanabaena galeata, which generates musty odor, by analyzing GPPT and MIBS genes occurrence, in order to elucidate a new counter-treatment system against musty odor problems of water in reservoirs. There was a high correlation between these genes occurrence and the 2MIB production rate. It indicates the availability of the occurrence to predict the 2MIB production rate. Then, the method was applied to confirm the empirically developed methods. The genes occurrence in cyanobacteria cells was decreased under the draw up bottom sediment of a reservoir, confirming the effectiveness of this counter-treatment. With increasing nitrogen concentration of water, the occurrence became larger, indicating the possible 2MIB generation in nitrogen rich water. The developed method is available to instantaneously understand the 2MIB production rate of cyanobacteria.

研究分野：河川、湖沼生態工学

キーワード：シアノバクテリア カビ臭 2MIB 水質改善技術 貯水池異種味障害 曝気循環 干し上げ対策 シュードアナベナ

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

1. 研究開始当初の背景

貯水池のカビ臭被害は毎年 200 万人に及んでおり、貯水池管理における大きな問題である。貯水池において発生するカビ臭は、ある種のシアノバクテリア (藍藻) や放線菌によって産出される、ジメチルイソボルネオール(2 MIB)やジェオスミンが原因である。この問題は、毎年、確実にいくつかの貯水池で生じており、一旦、こうした物質が発生すると、活性炭によるカビ臭物質の除去が必要になることから、多額な処理費用を必要とする。

シアノバクテリアによるカビ臭の産出量は、水温の上昇と共に増加することが知られており、また、貯水池内のシアノバクテリアも、リン濃度の低下に伴って、カビ臭を発生するシアノバクテリアに遷移することが知られている。そのため、今後、温暖化の進行や、河川の浄化に伴って、問題が深刻化すると考えられている。

カビ臭対策としては、現在は、曝気循環によるシアノバクテリアの細胞数自体を減少させることが行われている。しかし、これには多額の費用を要し、管理に移行したダムでは大きな経済的負担になっている。こうした状況の下、新しい対策の開発が求められている。ところが、開発に当たって必要となる、短期間のカビ臭産出能を評価することが不可能であり、効率的な開発ができないでいた。

2. 研究の目的

カビ臭対策技術の開発は、これまで現場で様々な方法を試行し、実際に発生するカビ臭を測定することで行われてきた。しかし、それには複雑に変化する環境下で行う必要があり、また、カビ臭物質は揮発性でその濃度は時間とともに変化することから、シアノバクテリアのカビ臭を産出し難くする環境の把握は、これまで把握できないでいた。そうした中、近年、カビ臭を発生させる物質の生成に関係する遺伝子が特定され、この発現頻度によって、カビ臭の発生量が予測できる可能性が指摘されてきている。本研究では、異なる環境の下で、この仕組みを利用し、カビ臭物質の生産に適した環境を把握する手法の開発を主たる目的としている。

3. 研究の方法

カビ臭物質を産出する関連遺伝子が単離されているシアノバクテリア *Pseudoanabaena galeata* に対し、RT-PCR を用いた遺伝子の発現頻度解析法を用

いてカビ臭物質の産出能を解析した。まず、実験室内において、該当する遺伝子、GPPMT 及び MIBS の発現頻度と 2 MIB の濃度を測定、これらに密接な相関関係があることを確認した。次に、干し上げを模擬した異なる土壌水分の状態、異なる栄養塩濃度や明暗の環境を再現し、シアノバクテリアを培養、細胞濃度、OD₇₃₀ 値、最大量子効率 Fv/Fm 値、クロロフィル及びカロテノイド濃度等と共に、細胞中の 2 MIB 濃度、該当する遺伝子の発現頻度を測定、より多量のカビ臭物質を産出する外部環境要因を解明した。

4. 研究成果

利用可能性を示す一例として、干し上げの効果を確かめた結果を示す。実験では、ピーカー中の土壌が乾燥していくのに伴って、土壌中のシアノバクテリアの産出

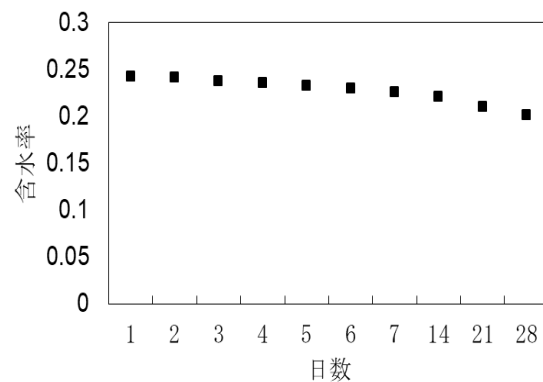


図 1 実験中の土壌中の含水量の時間変化

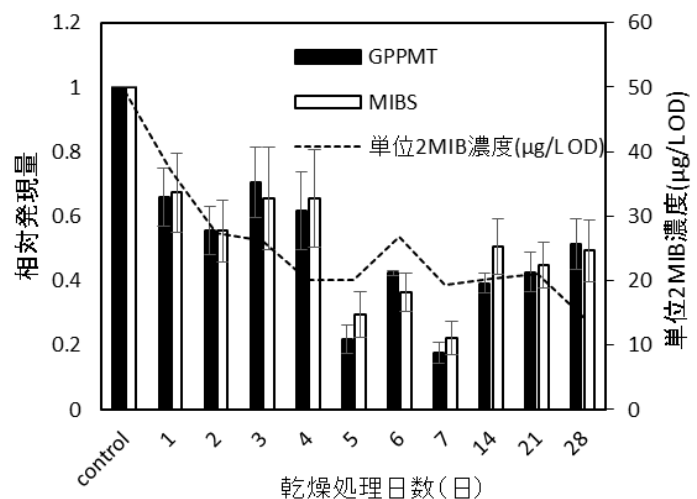


図 2 乾燥処理の時間経過と 2 MIB の生産量との関係

る単位細胞あたりの2 MIB 濃度、対象となる遺伝子である GPPMT と MIBS の時間的変化を求めた。土壌中の含水率は図 1 に示されるように徐々に減少した。その下で、図 2 に示されるように、乾燥の進行と共に、2 MIB の生産量が低下していることが確認される。これは、これまで経験的に得られてきた干し上げ法の有効性を示す結果である。

2 MIB の生産には、GPPMT と MIBS の両方の遺伝子が必要である。図 3 に示されるように、これらの間には極めて高い相関がみられる。また、これらの遺伝子発現頻度と 2 MIB の産出量との間には高い正の相関がみられる。このこ

とは、これらの遺伝子の発現頻度を用いることで、その時点の 2 MIB 産出量の予測が可能であることを示している。

なお、曝気循環等の他の対策に対する確認実験においても、概ね、同様な結果が得られた。以上の結果より、これらの遺伝子の発現頻度を用いることで、環境が変化する中での 2 MIB 産出量の把握が可能になった。

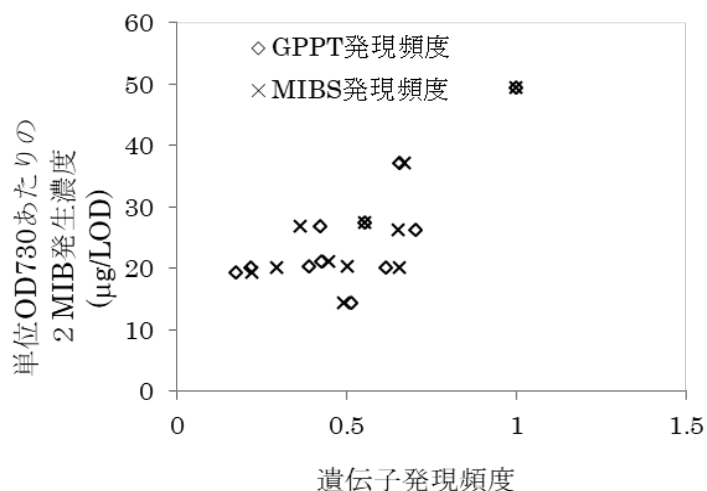


図 3 個々の遺伝子の発現頻度と 2 MIB 産出量との関係

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 3 件)

A.H.D. Lakmail, T.Asaeda, M. H. Rashid

Effects of elevated pressure on *Pseudoanabaena galeata* Bocher in varying light and dark, *Environmental Science and Pollution research*, Vol.25, pp.21224-21232, 2018
DOI 10.1007/s11356-018-2218-5

A.H.D. Lakmail, T.Asaeda

Buoyancy limitation of filamentous cyanobacteria under prolonged pressure due to the gas vesicle collapse, *Environmental Management*, Vol.60, pp.293-303, 2017. DOI 10.1007/s00267-017-0875-7

A.H.D. Lakmail, T.Asaeda, K.Tanaka, K.Atsuzawa, Y.Kaneko, H.Nishida, S.Inada

An alternative method to improve the settleability of gas-vacuolated cyanobacteria by collapsing gas vesicles, *Water Science and Technology*, Vol.16, pp.1552-1560, 2016.

DOI 10.2166/ws.2016.068

〔学会発表〕(計 5 件)

A.H.D. Lakmail, Y.Shiganami, T.Yoshida, M.Kawai-Yamada, T.Asaeda

Alteration of 2-methylisoborneol synthesis in *Pseudoanabaena galeata* due to high pressure and darkness in deep water, *International Environmental Engineering Conference*, Busan Korea, 2015.

A.H.D. Lakmail, T.Asaeda, Y.Kaneko

Potential effects of UV-A radiation on scum forming cyanobacterium *Microcystis aeruginosa*, 7th EAFES International Congress, Daegu Korea, 2016.

A.H.D. Lakmail, T.Asaeda, Y.Kaneko

An eco-friendly method for controlling cyanobacterial blooms in lakes and reservoirs, 7th International Conference on Water Resources and Environment Research, Kyoto, Japan, 2016.

A.H.D. Lakmail, T.Asaeda

Hydrostatic pressure induced variations of 2-methylisoborneol and pigments in filamentous cyanobacterium: *Pseudoanabaena galeata*, 第 80 回日本陸水学会 函館, 2015 .

A.H.D. Lakmail, K.Tanaka, K.Atsuzawa, Y.Kaneko, T.Asaeda

Pressure induced adverse effects on buoyancy regulation of freshwater cyanobacteria: *Pseudoanabaena galeata* and *Microcystis aeruginosa*, 第 19 回応用生

態工学講演会、郡山、2015 .

6 . 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：山口 雅利

ローマ字氏名：YAMAGUCHI MASATOSHI

所属研究機関名：埼玉大学

部局名：理工学研究科

職名：准教授

研究者番号（8桁）：20373376

(2)研究協力者

研究協力者氏名：

ローマ字氏名：

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。