

障害生物およびその代謝産物の発生メカニズムの解明

研究代表者	秋葉 道宏
研究分担者	清水 和哉
研究分担者	西村 修
研究分担者	藤本 尚志
研究分担者	浅田 安廣

厚生労働科学研究費補助金（健康安全・危機管理対策総合研究事業）
気候変動に伴う水道システムの生物障害等リスク評価とその適応性の強化に向けた研究
分担研究報告書

研究課題：障害生物およびその代謝産物の発生メカニズムの解明

研究代表者	秋葉 道宏	国立保健医療科学院 生活環境研究部 特任研究官
研究分担者	清水 和哉	東洋大学 生命科学部 教授
研究分担者	西村 修	東北大学大学院 工学研究科 教授
研究分担者	藤本 尚志	東京農業大学 応用生物科学部 教授
研究分担者	浅田 安廣	京都大学大学院 工学研究科 准教授

研究要旨

気候変動により生じうる環境条件下（温度、光条件、日長）でのカビ臭発生藍藻類の増殖ポテンシャルとカビ臭物質産物産生能の変化やカビ臭発生メカニズムの解明を目的として研究を実施した。本年度は、温度、光強度、日長の変化によるカビ臭物質産生藍藻類のカビ臭物質産生のメカニズムを解明に試みた。得られた結果から、カビ臭発生予測手法の構築に貢献できるバイオマーカー、環境マーカーを見いだすことも試みた。この結果、カビ臭物質産生藍藻類の同属・同種で、異なる株の場合、環境因子への応答は異なるものとなり、増殖に対しては、水温や日長条件が異なる結果を与えやすいことを明らかにした。日長が長期になると藍藻類の増殖に加えて、細胞外 *geosmin* も増加させることを明らかにした。カビ臭物質産生量は、当該カビ臭物質を産生するカビ臭物質産生藍藻類のバイオマスと正の相関関係があることが、本研究成果からも示された。カビ臭物質合成酵素遺伝子の発現量は、増殖期間において定量できるレベルで発現しており、一定レベルの発現をしているとカビ臭物質の産生量が多くなる傾向となった。とくに *geosmin* 合成酵素遺伝子 *geoA* の発現量が高くなる際は、細胞増殖が活発となる点を示すマーカーとなる可能性が見いだされた。

A. 研究目的

我が国の主な水道水源は、表流水であるため気候変動に影響を受けやすいといえる。環境因子では、気温上昇に伴う水温の上昇や光強度、日長の変動は、水源環境中の微生物群集の代謝に影響を与える。とくにカビ臭物質は、水道水質を悪化させる生物由来の障害物質であり、その産生原因生物は、放線菌と藍藻類であり、これら微生物は環境因子の変動に影響を受けやすい二次代謝が発達している。カビ臭物質が、生物由来の物質であることから、産業由来の化学物質による水汚染とは異なり、発生および消失の予測が困難である。

近年のカビ臭物質産生微生物の分子生物学的知見により、培養や顕微鏡による手法に加えて、カビ臭物質産生放線菌¹⁾や藍藻類²⁾の定量手法（早期検出技術に応用可能）が構築された。一方、カビ臭発生にいたる際の環境因子、カビ臭産生藍藻類の挙動、カビ臭物質合成メカニズムについて未解明な点がまだ多くある。これら未解明な点が、カビ臭発生予測を難しいものとしている原因と考えられている。

水源池におけるカビ臭発生予測手法の確立は、持続的な水質管理に極めて重要であると広く認識されている。カビ臭発生予測が可能となると、例えば、カビ臭発生前に粉末活性炭等の準備が可能となる他、粒状活性炭の再生処理の時期策定、等、日常の水道事業の業務遂行に多大に貢献できる。今後の気候変動により、環境

条件、とくに水温や光強度、日長、共存微生物群集、が変化することにより、カビ臭物質藍藻類の個体群数の挙動やそのカビ臭物質産生活性に影響を与え、水源におけるカビ臭の発生頻度が変化するものと予測されている。

水源におけるカビ臭発生の原因生物が藍藻類であることが多いことから、カビ臭物質産生藍藻類のカビ臭物質産生のメカニズムを明らかにすることが必要である。また、環境中の温度や光条件、日長の変化は、微生物群集構造も変動することが、既往研究から推測できるため、微生物群集構造の変化が及ぼすカビ臭物質産生への影響を明らかにすることも重要である。

本研究では、温度、光強度、日長の変化によるカビ臭物質産生藍藻類のカビ臭物質産生のメカニズムを解明することを目的とした。また、カビ臭発生予測手法の構築に貢献できるバイオマーカーや環境マーカーを見いだすことも試みた。

B. 研究方法

1) カビ臭物質産生に及ぼす温度や光強度の影響

供試藍藻類は、国立環境研究所微生物系統保存施設より得た、ジェオスミン産生藍藻類として 2-MIB 産生藍藻類 *Pseudanabaena foetida* NIES-512（名古屋城より分離）、茨城県が霞ヶ浦より分離した *Pseudanabaena foetida* 1705-12、*Pseudanabaena foetida* 1803-12 を用いた。これ

ら藍藻類は CT 培地にて培養を行った。温度影響および光強度影響を解析するために、1) 光強度を $30.0 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ に固定して、培養温度を、 10°C 、 20°C 、 30°C とした実験系と 2) 培養温度を 20°C に固定して、光強度を $10.0 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ 、 $30.0 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ 、 $60.0 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ とした実験系を構築した。どちらの実験系でも明暗周期は 12 h とした。

細胞密度の変化は、クロロフィル a (Chl. a) の変化で解析した。Chl. a はホットメタノール抽出法にて行なった。カビ臭物質合成酵素遺伝子への影響を解析するために、一定の培養期間ごとに、全 RNA を抽出後、ランダムプライマーで cDNA を作成し、2-MIB 合成酵素遺伝子群 (*mtf* 遺伝子と *mtc* 遺伝子) の発現解析を qRT-PCR 法により実施した。使用したプライマーは、表 1 に示した。遺伝子発現量の定量の際には、細胞密度の変化による影響を除くために、16S rRNA 遺伝子を内部標準遺伝子とした標準化を行った。全 RNA 抽出のサンプリングの際に、カビ臭物質 2-MIB の分析のためのサンプリングを実施し、総 2-MIB 濃度および細胞外 2-MIB 濃度を分析した。

2) カビ臭原因物質産生に及ぼす日長の影響

ジェオスミン産生藍藻類として *D. smithii* NIES-824 を用い、CT 培地を用いて、 28°C 、 $60 \mu\text{mol photons}/\text{m}^2/\text{s}$ 、明暗サイクル 12 h : 12 h の条件で培養した。日長の影響解析のために、対数増殖期まで前培養した細胞を初期 Chl. a 濃度は $20 \mu\text{g}/\text{L}$ に調整する様、100 mL の CT 培地に接種し、温度 28°C 、 $60 \mu\text{mol photons}/\text{m}^2/\text{s}$ の条件の下、日長条件を明 16 h : 暗 8 h (長期群)、9 h : 15 h (短期群)、12 h : 12 h (対照群) として実施した。培養は 21 日間行い、サンプルは 3 日ごとに採取した。すべてのグループは 3 連で採取した。採取したサンプルを用いて、Chl. a や *geoA* 遺伝子発現量 (16S rRNA 遺伝子を内部標準遺伝子とした) 定量した。また、溶存有機物濃度 (DOC) 定量し、培養 3 日目に対する DOC 変化 (ΔDOC) を分析した。加えて、総 geosmin 濃度と細胞外 geosmin 濃度を GC-MS を用いて分析した。

C. 研究結果および D. 考察

1) カビ臭物質産生に及ぼす温度の影響

異なる温度条件下での *P. foetida* による総 2-MIB 産生量を図 1 に示す。*P. foetida* 1803-12 および *P. foetida* NIES-512 による総 2-MIB 産生は 30°C で最も高く、それぞれ 16 日目に $610 \text{ ng}/\text{L}$ 、12 日目に $689 \text{ ng}/\text{L}$ に達した。*P. foetida* 1705-12 は 20°C でより高い総 2-MIB を産生し、20 日目に $262 \text{ ng}/\text{L}$ に達した ($p < 0.05$; 図 1)。 10°C における総 2-MIB 濃度は低く、 20°C および 30°C におけるそれとは有意に異なっていた ($p < 0.05$)。これは、低温は 2-MIB 産生に寄与しないという以前の知見と一致する⁵⁾。*P. foetida* による 2-MIB の総産生量は、藍藻の分裂と増殖が最大となる対数増殖期において、異なる温度でより高

い値を示した。*P. foetida* は、より高い温度 (20°C および 30°C) でも高い細胞外 2-MIB 濃度を示した ($p < 0.05$; 図 1B、D、F)。また、細胞外 2-MIB 量は供試藍藻類の増殖期の定常期および死滅期においても高く、それぞれ細胞増殖に伴う 2-MIB 量の増加と死細胞からの 2-MIB の放出によるものであったと考えられた。細胞増殖と総 2-MIB 産生量の相関を解析すると、Chl. a として定量したバイオマスは、異なる温度条件下で総 2-MIB 産生量と正の相関を示した (表 2)。従って、水源におけるカビ臭発生対策は、カビ臭物質産生の原因藍藻類の制御 (増殖抑制) が重要であると提案される。

Chl. a 濃度には、3 つの異なる温度条件下で培養した藍藻類間で有意な差が認められた ($p < 0.05$; 図 2)。*P. foetida* の 3 株はいずれも、 20°C と 30°C で培養した場合の増殖曲線は、ラグ期、対数増殖期、定常期、死滅期を示し、*P. foetida* 1705-12 と 1803-12 の 20°C における最大 Chl. a 濃度は、それぞれ $2,797 \mu\text{g}/\text{L}$ と $3,587 \mu\text{g}/\text{L}$ で、*P. foetida* NIES-512 の最大 Chl. a 濃度は $1,105 \mu\text{g}/\text{L}$ となった。しかし、 10°C では 28 日目でもラグ期と対数増殖期にしか達しておらず、Chl. a 濃度は他の温度と比較して最低値となり、低温によって増殖が遅くなることが示された。以上から、*P. foetida* の増殖には、より高い温度 (20°C および 30°C) が適していることを明らかにした。

カビ臭物質 2-MIB は、ゲラニルニリン酸 (GPP) メチルトランスフェラーゼをコードする遺伝子 (*mtf*) と 2-MIB 生合成のモノテルペンシクラゼの遺伝子 (*mtc*) の 2 つの遺伝子の働きによって合成される。これら遺伝子は、オペロンを形成していると考えられている^{3, 6, 7)}。これら *mtf* 遺伝子と *mtc* 遺伝子の発現レベルは、異なる温度下で有意に異なっていた ($p < 0.05$; 図 3)。一方、この傾向は Chl. a 濃度とは異なり、*P. foetida* 1803-12 および *P. foetida* NIES-512 の *mtf* 遺伝子発現レベルは低温の 10°C で最も高く、*P. foetida* 1705-12 のそれは 30°C で最も高かった。全体として、2-MIB 生産関連遺伝子の発現は低温で高く、総 2-MIB 濃度は *mtf* 遺伝子と *mtc* 遺伝子の発現量とバイオマスによって決定された。本研究結果と既往報告⁸⁾をまとめると、バイオマスの方が遺伝子発現よりも 2-MIB 総産生量を決定する因子であると示され、カビ臭物質産生藍藻類のバイオマスのモニタリングが、カビ臭発生の予測に重要な位置づけであることが提案できる。

2) カビ臭原因物質産生に及ぼす光強度の影響

異なる光強度下で、*P. foetida* が産生した総 2-MIB 濃度は有意に異なっていた ($p < 0.05$; 図 4A、C、E)。*P. foetida* 1705-12、*P. foetida* 1803-12、*P. foetida* NIES-512 の総 2-MIB 濃度が最も高かったのは、20 日目の低照度下 ($10 \mu\text{mol photons}/\text{m}^2/\text{s}$) で、それぞれ $593 \text{ ng}/\text{L}$ 、 $460 \text{ ng}/\text{L}$ 、 $360 \text{ ng}/\text{L}$ であった。総 2-MIB 産生量は光強度と負の相関を示し、 $10 \mu\text{mol photons}/\text{m}^2/\text{s}$ におけ

る3株すべての2-MIB産生量は、他の2つの光強度における産生量と有意に異なっていた ($p < 0.05$)。また、 $10 \mu\text{mol photons/m}^2/\text{s}$ では、3株による細胞外2-MIB産生量がより多く検出された ($p < 0.05$; 図4B、D、F)。このことは、高い光強度が細胞からの2-MIB放出を刺激することを示していると考えられた。バイオマス (Chl. a として分析) は、異なる光強度下で、総2-MIB産生量と正の相関を示した (表2)。

Chl. a 濃度は、3つの光強度下で培養した *P. foetida* 株間で有意な差が認められた ($p < 0.05$; 図5)。低光強度 ($10 \mu\text{mol photons/m}^2/\text{s}$) は、他の2つの光強度に比べて最適な増殖条件であった。*P. foetida* 1705-12、1803-12 および *P. foetida* NIES-512 の $10 \mu\text{mol photons/m}^2/\text{s}$ における最大 Chl. a 濃度は、それぞれ $4, 453 \mu\text{g/L}$ 、 $4331 \mu\text{g/L}$ および $4, 101 \mu\text{g/L}$ であった。高照度下 ($60 \mu\text{mol photons/m}^2/\text{s}$) では3株とも20日で黄変したため、Chl. a 濃度は分析できなかった。

カビ臭物質合成酵素遺伝子 *mtf* 遺伝子と *mtc* 遺伝子の発現レベルは、異なる光強度下で有意に異なっていた ($p < 0.05$; 図5)。*P. foetida* 1705-12 および 1803-12 の *mtf* 遺伝子発現量は、4日目の低光強度 ($10 \mu\text{mol photons/m}^2/\text{s}$) で最も高く、*P. foetida* NIES-512 のそれは16日目の高光強度 ($60 \mu\text{mol photons/m}^2/\text{s}$) で最も高かった。 $30 \mu\text{mol photons/m}^2/\text{s}$ と比較して、低い光強度 ($10 \mu\text{mol photons/m}^2/\text{s}$) でも高い光強度 ($60 \mu\text{mol photons/m}^2/\text{s}$) でも、*P. foetida* の *mtc* 遺伝子発現は低下した。各供試藍藻類における *mtf* 遺伝子の最大発現レベルは、異なる光条件下で異なっていた。特に、*mtc* 遺伝子と *mtf* 遺伝子の最高発現量は異なる光強度であったが、総2-MIB濃度はバイオマスによって決定された。既往研究で、遺伝子発現に対する光の影響は一過性であることが示されており、*Pseudanabaena* sp.において、2-MIB合成に関連する2つの標的遺伝子 (*mtf* と *mtc*) の発現レベルが、低光量では増加し、高光量では減少することが報告されている³⁾

3) カビ臭原因物質産生に及ぼす共存微生物の影響

日長が及ぼすカビ臭物質 geosmin の産生への影響では、対照群が最も高い総 geosmin 産生を示し、次いで短期群が長期群よりも高い傾向を示した (図7)。Chl. a あたりの総 geosmin 産生では、短期群と長期群はほぼ変わらず、対象群が最大となった (図7B)。一方、細胞外 geosmin 濃度は、長期群が最も高くなる傾向であり、次いで対照群、短期群となった (図8A)。また Chl. a あたりの細胞外 geosmin は、短期群と対照群はほぼ変わらないものの、長期群が最大となった (図8B)。培養3日目に対するDOC変化 (ΔDOC ; 図9) と細胞外 geosmin を比較すると、日長が長いと ΔDOC と細胞外 geosmin が高い傾向にあったことから、日長が長期となると geosmin の細胞外への放出が促進される

ことが示された。これは、Chl. a にて増殖をモニタリングしている結果から (図10)、長期群の細胞増殖が早く、培養12日目にして、最大増殖となり、その後、死滅期となっているため、細胞の崩壊や分解によって細胞内の代謝物がより多く放出されているためと考えられた。したがって、細胞を破壊せず無傷に藍藻類細胞を除去することは、ジェオスミンを含む細胞内有機物を放出するリスクを低減できると提案される。

日長条件ごとの *geoA* 遺伝子発現量は、長期群 (L:D = 16 h : 8 h) では15日目まで *geoA* 遺伝子の発現が徐々に減少し、短期群 (L:D = 9 h : 15 h) では発現が徐々に増加していた (図11)。また対照群 (L:D = 12 h : 12 h) では、*geoA* 遺伝子発現量は、増殖に伴い徐々に増加し、最大 Chl. a に到達する前の15日目に発現量が最大となった。短期群 (L:D = 9 h : 15 h) では、最大 *geoA* 遺伝子発現量を示したのは、細胞増殖期の途中であった (15日)。細胞増殖と *geoA* 遺伝子発現量を比較すると *geoA* 遺伝子発現量は、細胞増殖が活発となる際に高くなる傾向にあると考えられた。つまり、*geoA* 遺伝子発現量は、細胞増殖を予測するバイオマーカー候補であると提案される。加えて、geosmin 産生と *geoA* 遺伝子発現量を比較すると、短期群と対照群の *geoA* 遺伝子発現量があることによって、geosmin 産生量が培養後期に高くなっていると考えられた。

平均日照時間は季節によって異なり、例えば、日本における1日の最大の日長時間は、夏季で約14.5時間、冬季で約9.8時間である。カビ臭発生時期も水源に応じて季節によって異なり、日長は重要な影響要因のひとつであることが本研究結果から明らかとなった。

本研究の全期間から、温度、光強度、日長、共存微生物という環境要因におけるカビ臭物質産生への影響を明らかにした。

E. 結論

カビ臭物質産生藍藻類の同属・同種で、異なる株の場合、環境因子への応答は異なるものとなり、増殖に対しては、水温・日長の影響が光強度よりも異なる結果を与えやすいことを明らかにした。どの環境因子の実験においてもカビ臭物質産生量は、供試藍藻類の細胞密度と正の相関関係となった。つまりカビ臭発生予測において、カビ臭産生藍藻類のモニタリングが重要であり、カビ臭発生対策としては、カビ臭物質産生藍藻類の増殖抑制が有効であると考えられた。

カビ臭物質産生に関与する遺伝子群の発現量は、常に定量できる際、カビ臭物質産生量が多くなる傾向にあった。本研究結果から、カビ臭物質 geosmin の合成酵素遺伝子 *geoA* の発現量が高くなる際に、細胞増殖が活発となる点を見極める糸口になる可能性を示した。水源では、同属・同種でも多くの異なる株によって微生物

群集を形成していることが考えられるため、既往研究における分離株を用いた知見を加えることが、カビ臭発生予測法の発展に貢献できる。本研究成果から、カビ臭発生を予測できる環境マーカーとして、カビ臭物質産生藍藻類のバイオマスのみを定量できるカビ臭物質合成遺伝子を用いた qPCR 法による定量が挙げられ、環境マーカーの候補として *geoA* 遺伝子発現量が考えられることを見いだした。

F. 健康危険情報 該当なし

G. 研究発表 1. 論文発表 該当なし

2. 学会発表 Hanchen Miao, Chi Zhang, Ji Zhang, Marie Shimada, Yasuhiro Asada, Yuan Tian, Motoo Utsumi, Zhongfang Lei, Zhenya Zhang, Naoshi Fujimoto, Osamu Nishimura, Michihiro Akiba, Kazuya Shimizu. Regulation of geosmin production in *Dolichosperumu smithii* by the light-dark cycle. 第 58 回日本水環境学会年会 ; 2024.3.6-8 ; 福岡.

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定も含む。）

1. 特許取得
該当なし
2. 実用新案登録
該当なし
3. その他
該当なし

I. 参考文献

- 1) Auffret M., Pilote A., Proulx É., Proulx D., Vandenberg G., and Villemur R. (2011) Establishment of a real-time PCR method for quantification of geosmin-producing *Streptomyces* spp. in recirculating aquaculture systems. *Wat Res* **45**(20), pp.6753-6762.

- 2) Miao, H., Zhang, J., Shen, Q., et al (2022) Development of Rapid PCR Method for the Detection and Quantification of Geosmin-Producing *Dolichosperumum* spp. *Water Air Soil Pollut* **233**: 394
- 3) Wang Z, Xu Y, Shao J, et al (2011) Genes associated with 2-methylisoborneol biosynthesis in cyanobacteria: Isolation, characterization, and expression in response to light. *PLoS One* **6**:1
- 4) Suzuki M.T., Taylor L.T., DeLong E.F. (2000) Quantitative analysis of small-subunit rRNA genes in mixed microbial populations via 5'-nuclease assays. *Appl. Environ. Microbiol.* **66**, pp.4605–4614.
- 5) Kakimoto, M., Ishikawa, T., Miyagi, A., Saito, K., Miyazaki, M., Asaeda, T., Yamaguchi, M., Uchimiya, H., Kawai-Yamada, M. (2014) Culture temperature affects gene expression and metabolic pathways in the 2-methylisoborneol-producing cyanobacterium *Pseudanabaena galeata*. *J. Plant Physiol.* **171**, pp.292–300.
- 6) Komatsu M, Tsuda M, Omura S, Oikawa H, and Ikeda H. (2008) Identification and functional analysis of genes controlling biosynthesis of 2-methylisoborneol. *Proc Natl Acad Sci* **105**, pp.7422–7427
- 7) Giglio S, Chou WKW, Ikeda H, Cane DE, and Monis PT. (2011) Biosynthesis of 2-methylisoborneol in cyanobacteria. *Environ Sci Technol* **45**, pp.992–998
- 8) Shen, Q., Wang, Q., Miao, H., Shimada, M., Utsumi, M., Lei, Z., Zhang, Z., Nishimura, O., Asada, Y., Fujimoto, N., Takanashi, H., Akiba, M., Shimizu, K. (2022) Temperature affects growth, geosmin/2-methylisoborneol production, and gene expression in two cyanobacterial species. *Environ. Sci. Pollut. Res. Int.* **29**, pp.12017–12026.

J. 謝辞

茨城県企業局水質センターおよび嶋田 麻里恵 氏（茨城県企業局水質センター）、一瀬 諭 博士（滋賀県湖環境科学センター）、北村 壽朗 氏（神奈川県企業庁）、藤瀬 大輝 博士（神奈川県川崎市上下水道局）、に感謝いたします。

表 1 本研究で使したプライマー

Target genes	Primers/Probe	Sequence (5' to 3')	Reference
<i>mtf</i>	Mtf-RTF	CGATTGGTCGGTATTAGAGGCT	3
	Mtf-RTR	ATCACGCGGTCA TCAGGCTT	
<i>mtc</i>	Mtcf	CGCTCGCTTTGTGAGTGAGATAG	
	Mtcr	GGCAGTAGAGTGGTGAGGCAGTT	
16S rRNA	16S-RTF	ACGGAGTTAGCCG ATGCTTATTC	4
	16S-RTR	CGAAAGCCTGACGGAGCAATA	
	TM1389BACT2	[FAM]-CTTGTACACACCGCCCGTC- [TAMRA]	
	geoA666F	AAAAGACACATTTGCTGATGGTG	
<i>geoA</i>	geoA774R	ATCACGCGGTCATCAGGCTT	This study
		[FAM]-	
	geoAprobe	TTCACCTTCCTCTTCCACCTCTC- [TAMRA]	
phycocyanin	cpcB36F	GCTTAAATGGCTTACGGGAAACC	This study
	cocB115R	TTTCATTTTGCCAACACCAACTGC	
	cpcBprobe36-115	[FAM]-CAAGCTTTGGGTACTCCTGG- [TAMRA]	

表 2 Chl. a と 2-MIB 濃度との相関 (R)

	<i>P. foetida</i> NIES 512	<i>P. foetida</i> 1704-12	<i>P. foetida</i> 1803-12
10°C	0.91	0.98	0.94
20°C	0.87	0.99	0.99
30°C	0.76	0.88	0.96
10 $\mu\text{mol photons/m}^2/\text{s}$	0.99	0.99	0.99
30 $\mu\text{mol photons/m}^2/\text{s}$	0.87	0.99	0.99
60 $\mu\text{mol photons/m}^2/\text{s}$	0.98	0.91	0.94

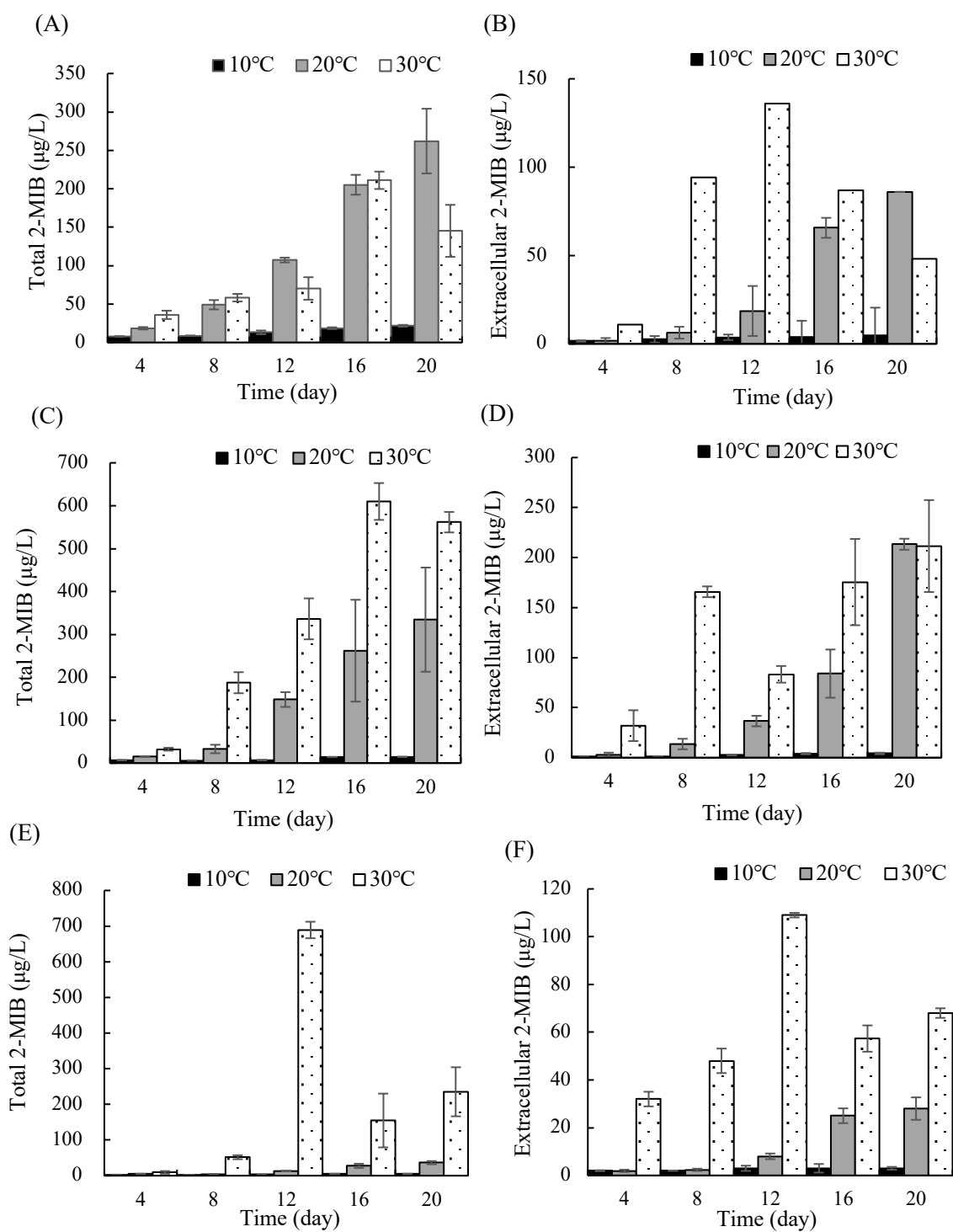
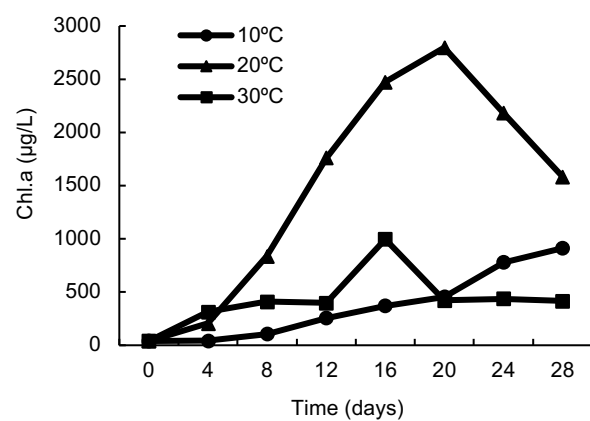
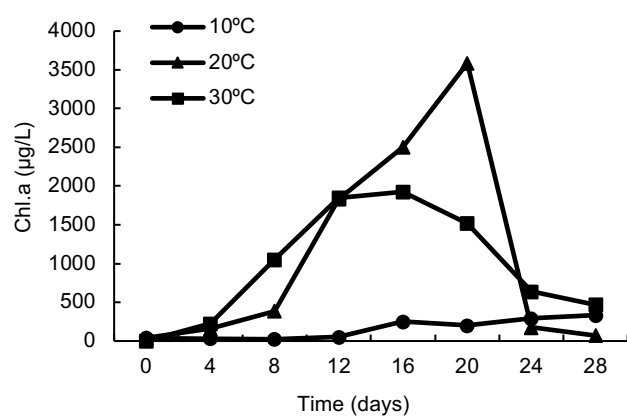


図1 異なる培養温度条件下における 2-MIB 産生特性
 (A), (B), *P. foetida* 1705-12; (C), (D), *P. foetida* 1803-12; (E), (F) *P. foetida* NIES-512.
 総 2-MIB (A), (C), (E)、細胞外 2-MIB (B), (D), (F)

(A)



(B)



(C)

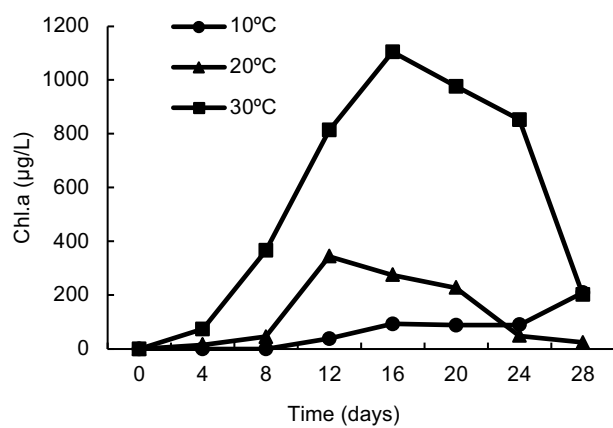


図2 異なる培養温度条件下における増殖特性
(A) *P. foetida* 1705-12, (B) *P. foetida* 1803-12, (C) *P. foetida* NIES-512

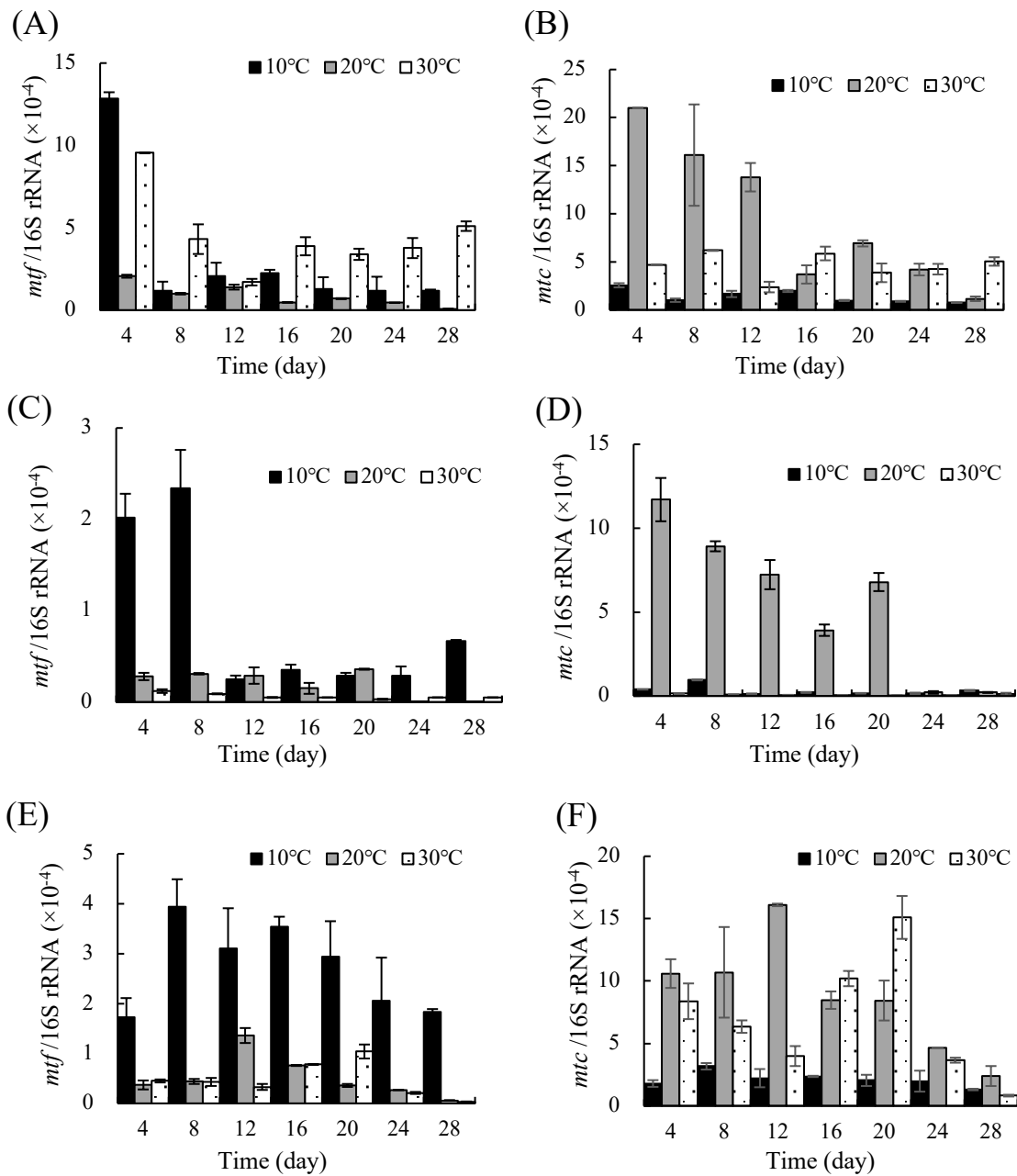


図3 異なる培養温度条件における *mtf* 遺伝子(A), (C), (E)と *mtc* 遺伝子(B), (D), (F)の発現量変化
(A), (B), *P. foetida* 1705-12; (C), (D), *P. foetida* 1803-12; (E), (F), *P. foetida* NIES-512

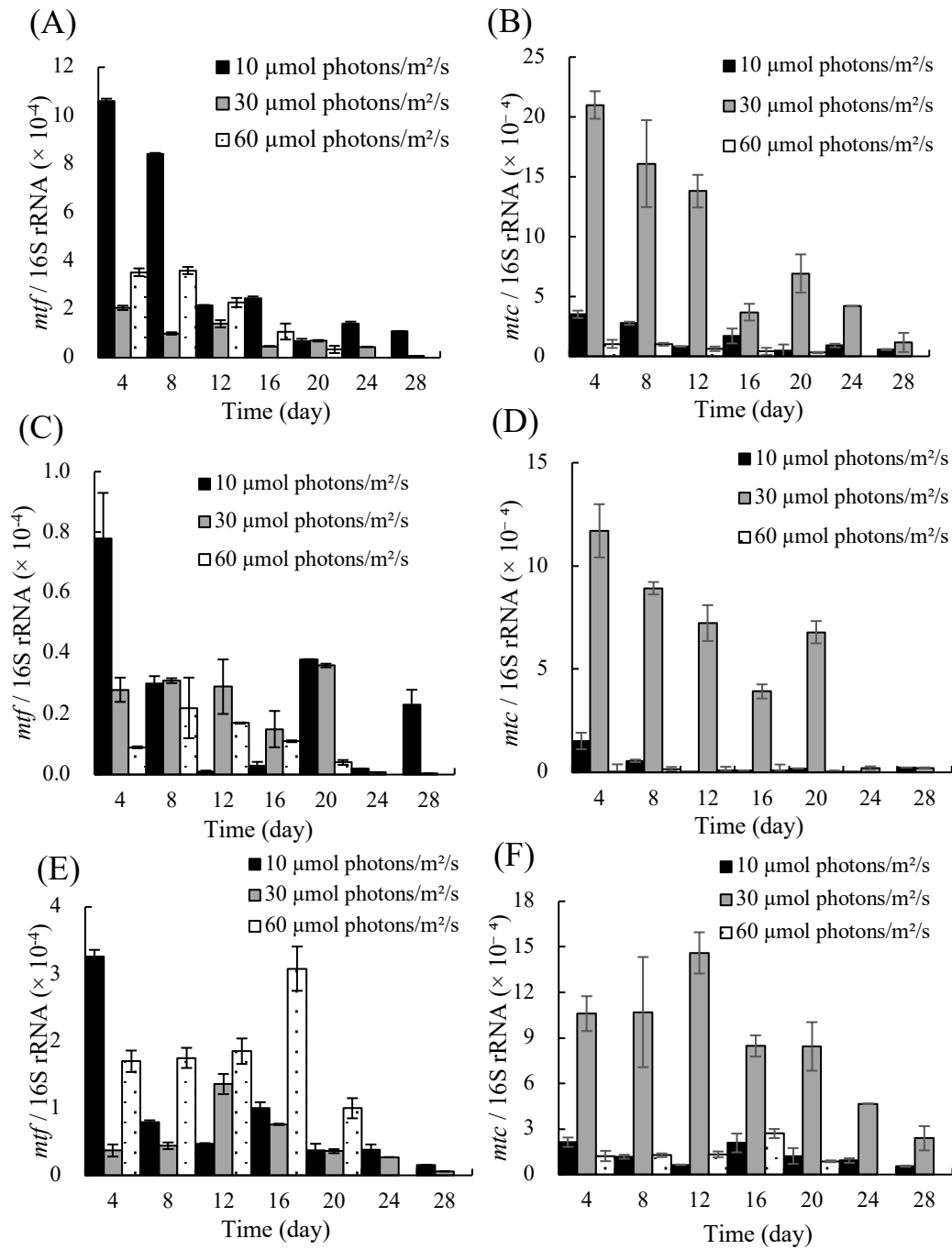


図4 培養光強度条件下における 2-MIB 産生特性
 (A), (B), *P. foetida* 1705-12; (C), (D), *P. foetida* 1803-12; (E), (F) *P. foetida* NIES-512.
 総 2-MIB (A), (C), (E)、細胞内 2-MIB (B), (D), (F)

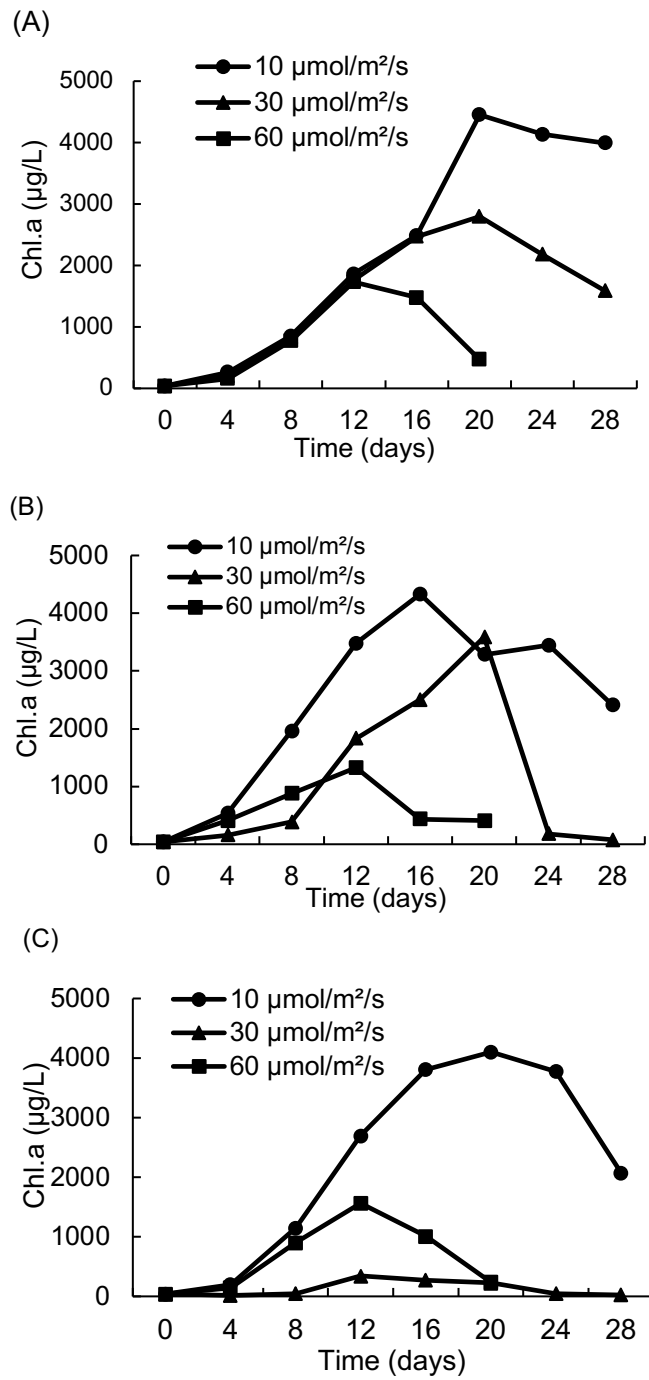


図5 異なる培養光強度条件下における増殖特性
 (A) *P. foetida* 1705-12, (B) *P. foetida* 1803-12, (C) *P. foetida* NIES-512

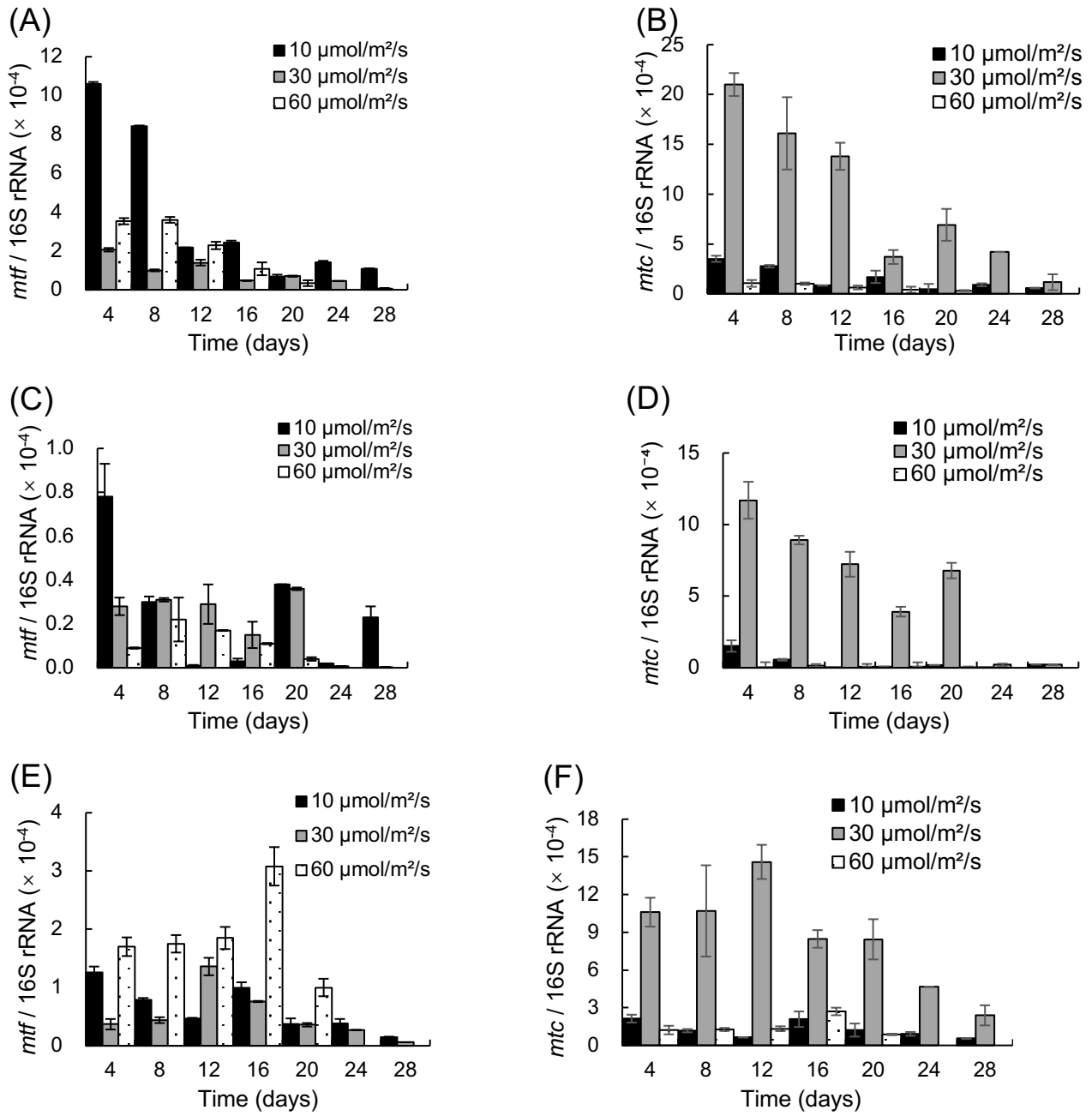


図 6 異なる培養光強度条件下における *mtf* 遺伝子(A), (C), (E)と *mtc* 遺伝子(B), (D), (F)の発現量変化(A), (B), *P. foetida* 1705-12; (C), (D), *P. foetida* 1803-12; (E), (F), *P. foetida* NIES-512

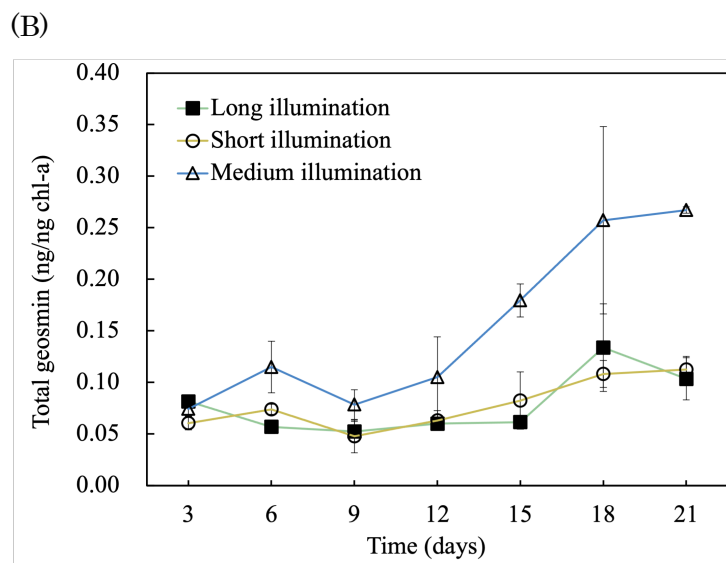
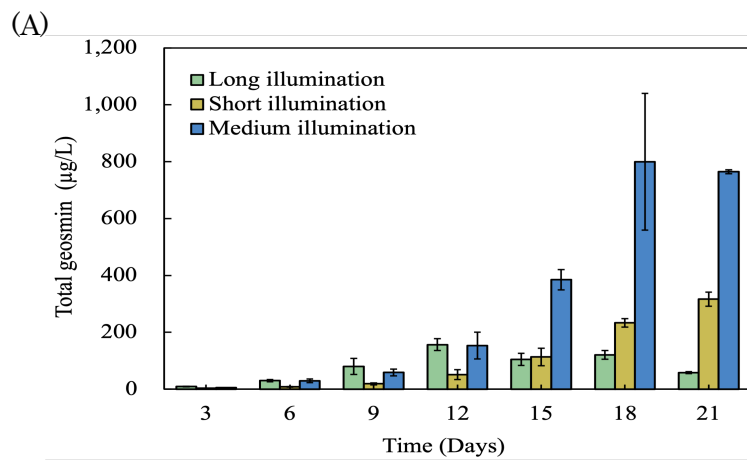
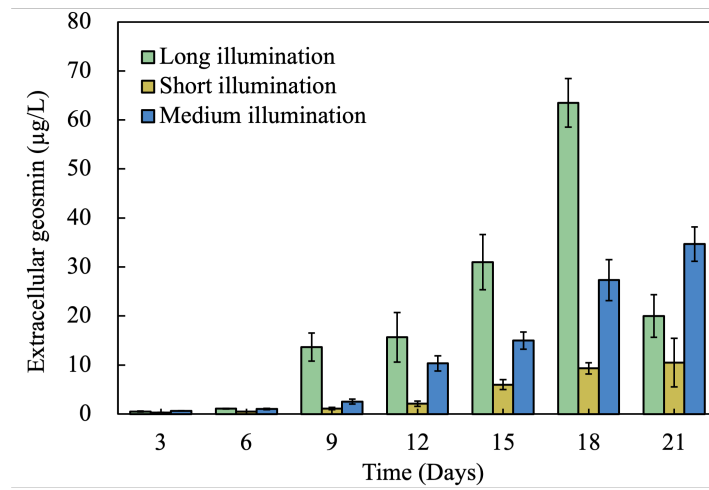


図 7 異なる日長条件における geosmin 産生
(A) 総 geosmin; (B) Chl. a あたりの総 geosmin

(A)



(B)

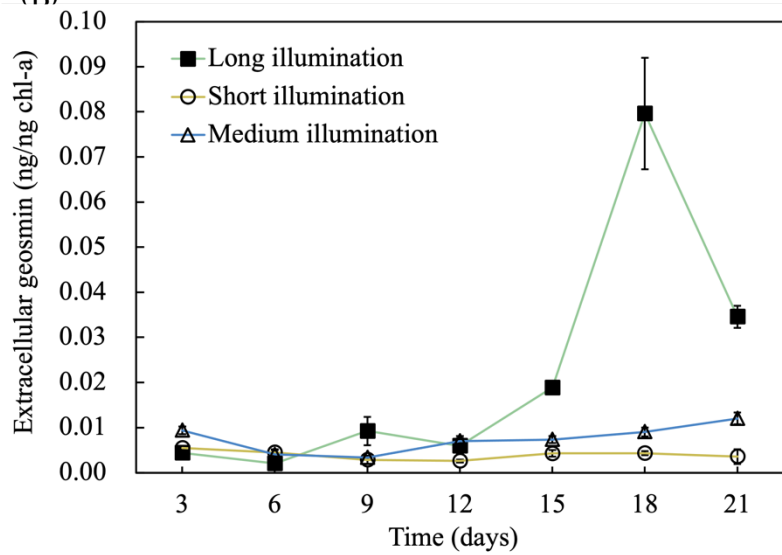


図 8 異なる日長条件における geosmin 産生
(A) 細胞外 geosmin; (B) Chl. a あたりの細胞外 geosmin

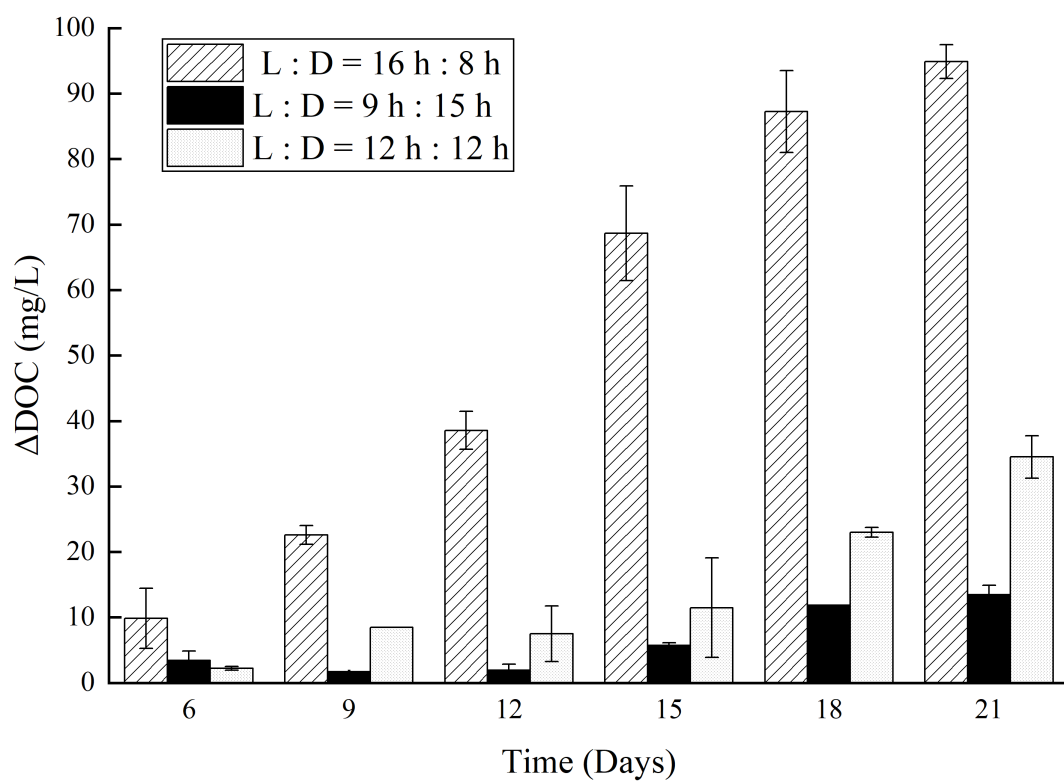


図 9 異なる日長条件における DOC の変化

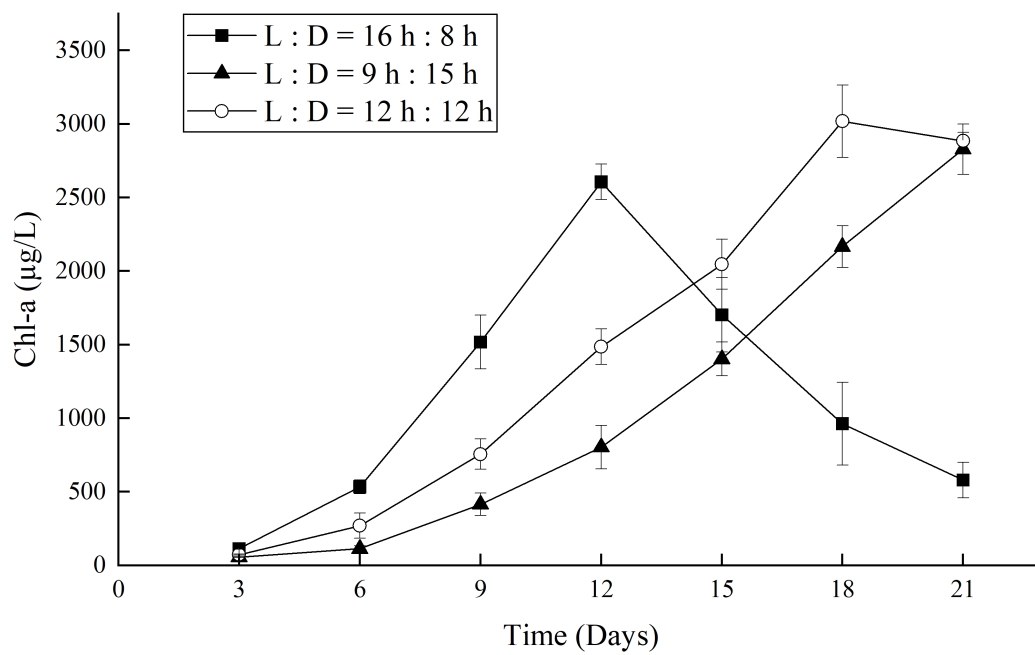


図 10 異なる日長条件における *D. smithii* NIES-824 の増殖特性

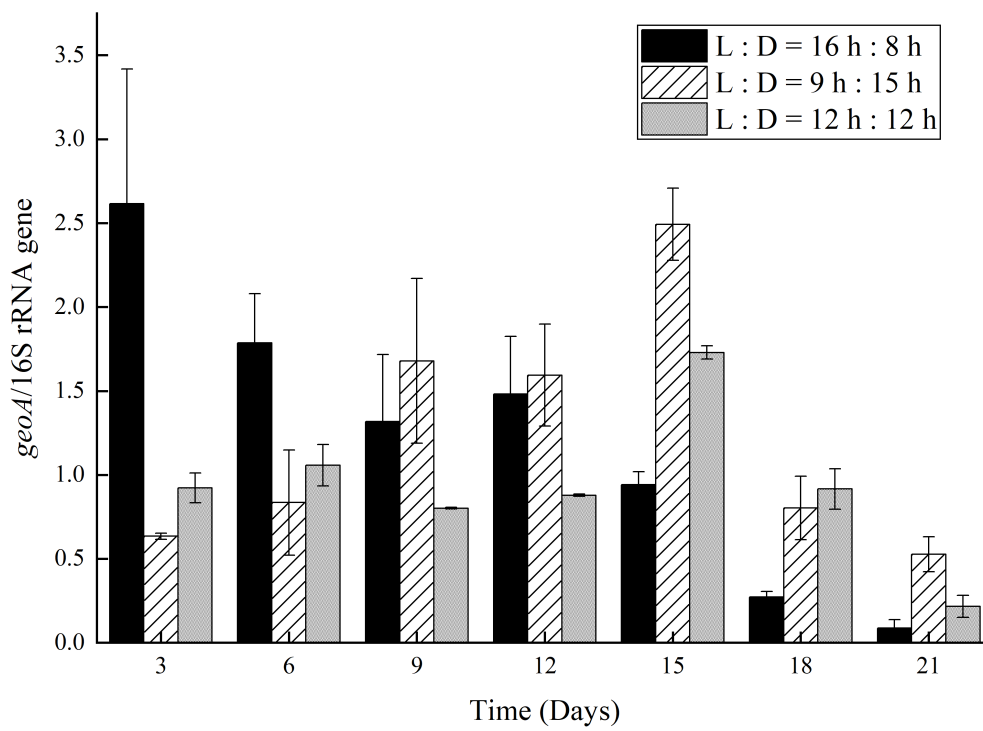


図 11 異なる日長条件における *geoA* 遺伝子発現量の変化