HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	かび臭を産生する有害藍藻Dolichospermum crassumの細菌を用いた制御に関する研究［論文内容及び審査の要旨］
Author(s)	清水, 武俊
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(水産科学)
Dissertation Number	甲第13091号
Issue Date	2018-03-22
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/69981
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Taketoshi_Shimizu_abstract.pdf, 論文内容の要旨

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

学位論文内容の要旨

博士の専攻分野の名称：博士（水産科学）　　氏名：清　水　武　俊

学 位 論 文 題 目

かび臭を産生する有害藍藻 *Dolichospermum crassum* の細菌を用いた制御に関する研究

水道水源の貯水池や湖沼では，富栄養化に伴って，藍藻類が増殖し，かび臭の発生が利水上の大きな問題となっている。また，かび臭の発生は国内のみならず，世界各国の問題でもある。その主な原因となっているのは藍藻類の *Dolichospermum crassum* (Lemmermann) Wacklin, Hoffmann et Komárek (syn.: *Anabaena crassa* (Lemmermann) Komárková-Legnová et Cronberg) である。本種が発生した場合，対策として硫酸銅の散布による殺藻や，取水口の水深の変更による原水中のかび臭濃度の低減，粒状活性炭や粉末活性炭の投入によるかび臭除去が主なものである。しかし現時点では根本的な解決策がなく，水源で発生を抑制するのは難しいのが現状である。

海洋では，海藻やアマモ場に生育する植物体表面のバイオフィルム中に，赤潮プランクトンを殺滅する殺藻細菌が高密度に生息することが発見され報告されている。そのため，藻場やアマモ場を造成することが，環境修復を行うだけでなく，有害なプランクトンの発生を未然に防ぐ手段として注目されている。一方，*D. crassum* に対して殺藻細菌の報告例はこれまでなかった。なお貯水池では，*D. crassum* が発生し減少する際に，多数の細菌が付着し分解していく様子がこれまで神戸市の日常検査の中で観察されていた。また，*D. crassum* が減少する際，動物プランクトンや原生動物，鞭毛虫など，他の生物による明らかな捕食は確認されていないことから，貯水池の *D. crassum* の増殖や死滅において，細菌が大きく影響しているものと考えられた。そこで，*D. crassum* に対する殺藻細菌を分離し，その特性を調べるとともに，貯水池における挙動を調べた。さらに，水草帯における殺藻細菌の生息密度や水草が *D. crassum* の増殖と生残に与える影響について検討し，烏原貯水池における研究結果と比較した。

1. 烏原貯水池から分離された *Dolichospermum crassum* に対する殺藻細菌の特性

神戸市の水道水源である烏原貯水池から，*D. crassum* に対する殺藻細菌を 2010 年 10 月 26 日に 3 株 (K-12, 28 および 44 株) 分離した。この時の貯水池表層水中における殺藻細菌数は 2.5×10^2 CFU mL^{-1} で，従属栄養細菌に占める割合は 6%であった。これらは，*D. crassum* の栄養細胞だけでなく，アキネートも分解する強い活性を有していた。殺藻細菌はいずれも鞭毛を持ち，運動性を示し，*D. crassum* の粘質鞘に付着後，徐々に細胞に接近して溶藻した。また *D. crassum* のトリコームは，細菌の侵入とともに収縮が観察された。細菌の付着状況や収縮等の形態変化は，貯水池における *D. crassum* の増減を予測する上で重要な情報と考えられる。16S rRNA 遺伝子の解析の結果，2 株 (K-12 および K-44) は

Gammaproteobacteria 綱クロマチウム科の *Rheinheimera texasensis* と同定された。また K-28 株は *R. chironomi* と同定された。

D. crassum の溶藻に必要な細菌の初期添加量を調べたところ，1.0×10^2 cells mL^{-1} でも数日で溶藻した。また，*D. crassum* に溶藻した培養濾液を添加しても，溶藻やトリコームの収縮などは観察されず，直接細菌が接触することが溶藻に必要と考えられた。さらに K-44 株について，Prussian blue 生成試験を実施した結果，本株は過酸化水素を産生することが明らかになった。

2. 烏原貯水池における *D. crassum* に対する殺藻細菌および増殖阻害細菌の季節変動

烏原貯水池において，2013 年 5 月から 2014 年 10 月にかけて殺藻細菌および増殖阻害細菌の季節変動を調査した。殺藻細菌は調査期間中，0–2.5×10^2 CFU mL^{-1} の間で検出された。一方，増殖阻害細菌は，0–2.2×10^2 CFU mL^{-1} の間で変動した。これらの変動は，*D. crassum* の増減と概ね一致しており，*D. crassum* 数がピークとなった 2013 年 9 月 3 日に，殺藻細菌および増殖阻害細菌数の合計は 3.4×10^2 CFU mL^{-1} と最高値を示した。また，従属栄養細菌に占める殺藻細菌および増殖阻害細菌数の割合は調査期間中，1–11%であった。しかしながら，貯水池では毎年 *D. crassum* のブルームが発生していることから，貯水池における殺藻細菌や増殖阻害細菌の数は *D. crassum* の増殖を抑制するには不十分であると考えられた。

3. 水草が *D. crassum* の増殖と生残に与える影響

水草が *D. crassum* の増殖と生残に与える影響を調査研究した。まず，水草表面のバイオフィルムや水草帯の湖水における殺藻細菌密度を調べた。調査の対象水域として琵琶湖南湖の柳が崎の水草帯を選定し，水草はササバモ (*Potamogeton malayanus* Miq.) を用いた。ササバモ表面のバイオフィルム中の殺藻細菌と増殖阻害細菌の総数は，6.4×10^6 CFU g^{-1} (wet) と非常に高密度であった。また，水草帯の湖水においても，3.1×10^3 CFU mL^{-1} と高い値であり，水草が殺藻細菌や増殖阻害細菌の供給源となっているものと考えられた。また，この値は，烏原貯水池におけるモニタリング期間中の最高数 (3.4×10^2 CFU mL^{-1}) を大きく上回っていた。なお，従属栄養細菌に占めるこれらの細菌の割合についても，ササバモのバイオフィルムで 20%，水草帯湖水で 54%となり，烏原貯水池におけるモニタリング期間中の最高割合 (11%) に比較して高かった。したがって，水草や水草帯湖水中では，殺藻細菌や増殖阻害細菌が生息密度だけでなく，全細菌に占める割合も高いことが明らかになった。

水草帯の湖水における殺藻細菌や増殖阻害細菌は 67%が粒子付着性であった。水草帯の湖水には，水草由来と見られるバイオフィルム状の懸濁物が多数浮遊しているのが観察されたことから，これらの細菌は懸濁物に付着して生息していると推察された。

次にササバモの葉の切片やバイオフィルム，および水草帯の湖水を *D. crassum* に添加したところ，本種は著しく減少したことから，水草の表面に生息する殺藻細菌が *D. crassum* の増殖を抑制することが明らかになった。一方，湖水から細菌を濾過除去した試料水や，ササバモの葉を磨り潰した後に，濾過した試料水を *D. crassum* に添加してもその増殖に影響はしなかったことから，ウィルスやササバモ由来のアレロパシー物質による影響はほとんどないものと考えられた。以上の結果から，水草帯には *D. crassum* に対する殺藻細菌が高密度で生息し，水草帯の存在がかび臭の発生を抑制するのに有効であることが明らかになった。