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_review.pdf, 審査の要旨

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

学位論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称：博士（水産科学）　　氏名：清　水　武　俊

審査委員	主　査	教　授	和田　哲
	副　査	特任教授	今井　一郎
	副　査	教　授	澤辺　智雄
	副　査	准教授	山口　篤

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，特にかび臭が発生して利水上の大問題となっている。かび臭は我が国のみならず，世界各国の問題でもある。主な原因生物は，藍藻 *Dolichospermum crassum* (Lemmermann) Wacklin, Hoffmann et Komárek である。本種が発生した場合，硫酸銅の散布による殺藻，取水口の水深の変更による原水中のかび臭濃度の低減，および活性炭によるかび臭除去が主要な対策として用いられる。しかし現時点で根本的な解決策はなく，水源での発生制御は難しいのが現状である。

海洋の沿岸生態系で，藻場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や増殖阻害細菌が高密度に生息することが発見された。一方, *D. crassum* の殺藻細菌は研究がなかった。そこで本研究では，*D. crassum* に有効な殺藻細菌を分離し，その特性を調べた。また，貯水池で殺藻細菌や増殖阻害細菌の挙動を調査研究した。さらに，水草帯における殺藻細菌や増殖阻害細菌の生息密度，および水草が *D. crassum* の増殖と生残に与える影響を検討した。水草帯の研究結果を烏原貯水池の結果と比較し，かび臭の原因となるアオコの制御について展望が述べられている。得られた成果は以下のように要約される。

神戸市の水道水源である烏原貯水池で，2010 年 10 月 26 日に *D. crassum* に有効な殺藻細菌を 3 株分離した。いずれの細菌株も，*D. crassum* の栄養細胞だけでなくアキネートを分解する強い活性を示した。細菌株は鞭毛を持ち，運動性を示し，*D. crassum* の粘質鞘に付着後，細胞に接近して溶藻した。*D. crassum* のトリコームは，細菌の群体への侵入とともに収縮した。16S rRNA 遺伝子解析の結果，2 株 (K-12 および K-44) は γ-*Proteobacteria* 綱クロマチウム科の *Rheinheimera texasensis* と同定され，K-28 株は *R. chironomi* と同定された。

D. crassum は，細菌の 1.0×10^2 cells mL^{-1}の初期添加でも数日で溶藻された。また，K-44 株は過酸化水素を産生することが判明し，殺藻に強く関与していると考えられた。

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と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}，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。貯水池では毎年 *D. crassum* のブルームが発生しており，貯水池における殺藻細菌や増殖阻害細菌の存在密度は，*D. crassum* の増殖の抑制には不十分と考えられた。

水草帯が *D. crassum* の増殖と生残に与える影響を調査研究した。水草表面のバイオフィルムや水草帯の湖水中の殺藻細菌数を調べた。琵琶湖南湖の柳が崎の水草帯を選定し，優占種のササバモ (*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) と高密度であった。水草帯の湖水でも，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値（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は，ササバモのバイオフィルムで 20%，水草帯湖水で 54%を占め，烏原貯水池の最高割合の 11%より高かった。以上から，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判明した。

水草帯の湖水における殺藻細菌や増殖阻害細菌のうち，67%の細菌が粒子付着性であった。水草帯の湖水には水草由来の懸濁物が多数浮遊していたことから，これらの細菌の多くは懸濁物に付着生息していると推察された。

ササバモの葉やバイオフィルム，および水草帯の湖水を *D. crassum* の培養に添加したところ，本種は著しく減少したことから，水草表面の細菌が *D. crassum* の増殖を抑制することが明らかになった。一方, 細菌を濾過除去した湖水試料や, ササバモの葉を磨り潰して濾過した試料水を *D. crassum* に添加してもその増殖に影響しなかったことから，ウィルスやササバモのアレロパシーの影響は無いと考えられた。以上から，水草帯には *D. crassum* に対する殺藻細菌が高密度で生息し，水草帯がかび臭の抑制に有効であることが明らかになった。

本研究は，水道事業で被害の深刻なかび臭を産生する *D. crassum* に対する殺藻細菌を初めて分離し，貯水池における *D. crassum* に有効な殺藻細菌の季節変動や，水草由来の殺藻細菌による藍藻ブルームの抑制効果を世界に先駆けて明らかにしている。以上から，かび臭抑制の実用的技術を確立する上で極めて重要な研究であると同時に，湖沼生態系をアオコの発生し難い状態に維持する為に必要なヒントを提供しており，その成果は高く評価できる。よって審査員一同は申請者が博士（水産科学）の学位を授与される資格のあるものと判定した。