

氏名	Yilin Qian		
学位の種類	博士（環境学）		
学位記番号	博 甲 第 10158 号		
学位授与年月日	令和 3 年 12 月 31 日		
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当		
審査研究科	生命環境科学研究科		
学位論文題目	Elucidation of Dynamics of Prokaryotic and Eukaryotic Microbial Community during Cyanobacterial Bloom (藍藻類ブルームにおける原核・真核微生物群集の動態解明)		
主査	筑波大学准教授	博士（農学）	清水 和哉
副査	筑波大学教授	博士（農学）	張 振亜
副査	筑波大学教授	博士（理学）	内海 真生
副査	筑波大学准教授	工学博士	雷 中方

論 文 の 要 旨

世界各地の富栄養化した淡水域では、有毒な藍藻類のブルームが頻繁に発生しており、*Microcystis* spp.が主構成藍藻類となっている事例が多い。これら *Microcystis* spp.の一部の株は、二次代謝物として有毒なミクロシスチン（MC）を産生することが知られている。この MC を特異的に分解する細菌とそれらが保有する MC 分解酵素遺伝子群（*mlrA - mlrF*）が報告され、MC 初発分解酵素遺伝子である *mlrA* 遺伝子と MC 濃度の相関関係の一端が実験室レベルでは明らかにされている。近年、MC 分解酵素遺伝子群を保持しない MC 分解菌が報告されてきた。しかしながら、各遺伝子型の MC 分解菌の MC 分解への寄与の割合は未解明である。ブルーム発生を抑制することに貢献する藍藻類捕食者は、MC による毒性影響を受けて増殖阻害を呈し、特定の藍藻類捕食者の個体群数を変化させていることが報告されている。実験室・野外レベルともに、特定の藍藻類捕食者における MC 毒性影響の報告がなされているが、MC による藍藻類捕食者群集への影響に関する網羅的解析の知見は、ほとんど報告されておらず、MC による藍藻類捕食者群集の挙動は明らかになっていない。藍藻類ブルームの消長を理解するためには、藍藻類捕食者を含む真核微生物群集の動態や MC 分解菌を含む原核微生物群集の動態の知見が重要である。著者は、この理解を深めることにより、ブルームの初期段階で藍藻類の増殖や MC 産生を抑制する効率的な藍藻類ブルーム抑制システムの構築に貢献できると提案している。

これら研究課題に対し、著者は、野外の調査池に発生する藍藻類ブルームを解析対象として、次世代シーケンサーを用いて 16S rRNA 遺伝子配列をもとにした原核微生物群集構造と 18S rRNA 遺伝子配列をもとにした真核微生物群集構造の変化を明らかにしている。また著者は、環境因子および環境水中の MC 分解菌の *mlrA* 遺伝子量、総 MC 濃度、環境水中の MC 産生藍藻類の MC 合成酵素遺伝子である *mcyB* 遺伝子量、原核微生物と真核微生物の群集構造の相関関係を解析し、MC 濃度に対して応答する特定の原核微生物群と真核微生物群をつきとめ、環境水から抽出した総 DNA 中の *mlrA* 遺伝子量と MC 濃度は負の相関関係にあることを解明した。著者は、本論文を 4 章により構成している。

第 1 章では、藍藻類ブルームの問題、藍藻類の MC 合成機構や MC の毒性、MC 分解菌、MC 検出法、原核微生物群集と真核生物群集の相互作用に関する文献を紹介し、本論文の課題を明確にしている。

第2章では、総MC濃度と環境水中のMC分解菌 *mlrA* 遺伝子量およびMC産生藍藻類の *mcyB* 遺伝子量と環境因子との関係解析を実施している。その結果、著者は、環境水から抽出した総DNA中の *mlrA* 遺伝子量とMC濃度との間に負の相関関係があることをつきとめ、MC分解に伴って得られるエネルギーを増殖に利用することでMC分解菌が増殖することを明らかにした。また調査池において、MC分解酵素遺伝子群を保有していないMC分解菌もMC分解に寄与するものの、MC分解酵素遺伝子群を保有するMC分解菌がMC分解を主に担っていることを解明した。

第3章では、調査池のモニタリング期間中の原核微生物群集構造と真核微生物群集構造の変化を解析するとともに、第2章で得た解析データとの関係解析を実施している。その結果、著者は、調査池のモニタリング期間中の主構成藍藻類は *Microcystis* spp. であり、主要なMC産生者であったことを明らかにした。また環境水から抽出した総DNA中のMC初発分解酵素遺伝子である *mlrA* 遺伝子量が、MCに応答して増加している藍藻類ブルーム中期において、*Terrimonas* sp. と環境水の総DNA中の *mlrA* 遺伝子量との間に強い正の相関関係が見出され、新たなMC分解菌であると示している。また著者は、Bacteroidetes と Sphingobacteriales が、環境水の総DNA中の *mlrA* 遺伝子量との間に正の相関関係を見出し、調査池における主要なMC分解菌は、これらの細菌群に属することを明らかにした。真核微生物群集解析の結果から著者は、MC濃度が最大となる前に主要な捕食者である phyllopoda や copepoda、rotifer の存在量が減少することを見出し、MCの捕食者に対する毒性影響が、藍藻類の捕食圧を抑制させる原因であり、この抑制によりブルーム形成とMC濃度の増大に至ることを解明した。真核微生物群集では、小型の phyllopoda に分類される *Bosmina longirostris* が優占となり、*Microcystis* spp. との間に正の相関関係がみられ、総MC濃度とは負の相関関係を示した。このため著者は、本調査地域では *B. longirostris* が *Microcystis* spp. の主要な捕食者であると述べている。

第4章では、主要な結果に基づいて本論文を総括するとともに、本研究の今後の課題についても言及している。

審 査 の 要 旨

本論文で著者は、藍藻類ブルームにおける有毒物質ミクロシスチン (MC) の分解およびMC産生藍藻類の捕食に関与する微生物群を解明することを目的として、研究を行った。その結果、著者は、Bacteroidetes と Sphingobacteriales に分類される細菌群がMC分解を担い、MC分解酵素遺伝子群を保有するMC分解菌が、調査池における主要なMC分解菌群であることを明らかにした。また著者は、phyllopoda や copepoda、rotifer がMC産生藍藻類捕食者であることを明らかにし、とくに小型の phyllopoda に分類される *Bosmina longirostris* がMC産生藍藻類の主要な捕食者であることを解明した。加えて著者は、MC濃度と環境水から抽出した総DNA中のMC初発分解酵素遺伝子である *mlrA* 遺伝子量との間に負の相関関係があることをつきとめ、環境水から抽出した総DNA中の *mlrA* 遺伝子量をモニタリングすることでMC分解活性の予測手法の構築に寄与する知見を得た。そして著者は、有毒藍藻類捕食者の網羅的解析から、藍藻類捕食者の相対的存在量が減少することで、捕食圧が抑制され、ブルーム形成とMC濃度の増大に至ることを解明した。

以上の知見は、淡水環境において原核微生物と真核微生物の活用による藍藻類ブルームの制御技術への応用に資する有益な情報を提供し、富栄養化による藍藻類ブルームが課題となっている、上水の水源池や内水面養殖業、等への社会実装につながると高く評価された。

令和3年11月12日、学位論文審査委員会において、審査委員全員出席のもとに論文の審査および最終試験を行い、本論文について著者に説明を求め、関連事項について質疑応答を行った。その結果、審査委員全員によって合格と判断された。

よって、著者は博士（環境学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものとして認める。