

氏名	なか がわ さとし 中 川 聡
学位(専攻分野)	博 士 (農 学)
学位記番号	農 博 第 1460 号
学位授与の日付	平成 17 年 3 月 23 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当
研究科・専攻	農学研究科応用生物科学専攻
学位論文題目	Microbial community in a backarc hydrothermal system in the Mid-Okinawa Trough: impacts of geophysicochemical heterogeneity. (中部沖縄トラフ伊平屋北における熱水孔環境微生物群集: 特異地球化学的プロセスと物理条件の影響)
論文調査委員	(主査) 教授 左子芳彦 教授 中原紘之 教授 平田 孝

論 文 内 容 の 要 旨

深海底熱水孔環境は、噴出する高温かつ還元的な熱水と低温かつ酸化的な周辺海水の相互作用によって、温度・pH・流体化学組成などが極めてダイナミックに変動する複雑な環境である。現場では、極めて多様な環境条件に対応した局所的な微生物群集が形成され、それぞれの群集が特有の生理活性を有していると予想される。しかし、熱水孔環境優占微生物の多くは培養困難とされ、各微生物種の分布や活動、物質循環への寄与、地球化学プロセスとの相互作用はほとんど解明されていない。本研究は、「希釈培養法による各微生物種の生息量および生理機能解析」と「分子生物学的手法による微生物群集構造解析」を相補的に用いることにより、熱水孔環境における、(1)微生物群集と地球物理化学プロセスの相互作用、(2)微生物の空間分布・活動・多様性・生理機能に与える現場の物理化学的条件の影響を解析したものである。

主な内容は以下の通りである。

第 1 章においては、深海底熱水孔環境に関する研究背景について広く論述し、本研究の目的・特徴を明確にしている。

第 2 章においては、チムニー構造物や噴出熱水を解析した結果、次の知見を得た。

- (1) チムニーにおける微生物活動は、構造物表層域ほど活発であり、群集の多様性も高い。
- (2) チムニー構造物表層における微生物群集は、常温～超好熱性微生物の混合群集であるのに対し、内部の微生物群集は主に(超)好熱菌からなり、チムニー内部の温度勾配に対応した微生物群集構造のシフトが認められる。
- (3) 隣接したチムニーおよび噴出熱水中の微生物群集構造に有意な差があることを見出した。噴出熱水の端成分化学組成分析の結果、噴出熱水は海底下で気液二相分離を起こし、様々な化学組成変化を生じていた。メタン生成菌が特異的に優占する熱水噴出孔には、メタン生成菌の生育基質となるガス成分の濃縮が認められた。

以上の結果、現場の微生物群集は温度に加え、熱水成分やそれを規定する地球化学プロセスおよび海底下の水理構造に多大な影響を受けていると結論づけた。本研究により初めて明らかにされた熱水孔環境微生物群集の Intra-field heterogeneity は、今後世界各地の深海底熱水活動域における微生物学的調査を行う際に見過ごすことのできない観点であると考察している。

第 3 章においては、熱水噴出孔周辺環境に拡がる化学合成微生物群集(特に *epsilon-Proteobacteria*) の分布・生息量・生理機能を解析した結果、以下に述べる知見を得た。

- (1) *epsilon-Proteobacteria* の分布は、噴出孔を極大に広範囲にわたり、周辺海水中では特に熱水ブルームの内部に多い。
- (2) 噴出孔周辺における現場培養実験の結果、*epsilon-Proteobacteria* が微生物群集発達初期過程においても一次生産者として重要な役割を果たしていることが示唆された。
- (3) 培養困難な優占微生物 *epsilon-Proteobacteria* の定量的かつ網羅的な培養に成功し、それらが多様なエネルギー獲得機構を有することを明らかにした。多様なエネルギー基質利用能は、これらの微生物が広範囲に伝播し、niche を獲得することに貢献すると考えられる。

これらの結果に基づき、噴出孔域を極大として主に *epsilon-Proteobacteria* による活発な一次生産の場が広がっており、その増殖特性から本微生物群は現場における S, H₂, N の生物地球化学的フラックスに非常に重要な役割を担っていると結論づけた。加えて、本研究を通じて得られた現場の優占微生物分離株は、熱水孔環境微生物の活動を現場レベルで直接的に測定する手法の開発に大きく寄与するツールとなると考察している。

第4章においては、本研究を通じて得られた新規微生物の詳細な生理学的・分類学的特性を解析した結果、次の知見を得た。

- (1) 深海底熱水孔環境からの好気性（超）好熱菌の獲得は、これまで極めて嫌気的かつ還元的と考えられてきた現場環境中の微生物活動に新たな知見をもたらした。
- (2) 難培養性とされてきた化学合成微生物の増殖特性を解析した結果、それらは硝酸を用いて嫌気的に水素を酸化する能力を共通して有することを明らかにした。その生息量や増殖速度、エネルギー代謝の解析結果に基づき、それら化学合成微生物は現場生態系における C だけでなく、S, H₂, N の物質循環を考える上で非常に重要であると考察している。

論文審査の結果の要旨

深海底熱水活動域では、従来地質学や生物学など様々な分野の研究が断片的に行われてきた。本論文は、多角的アプローチを用いて熱水孔環境微生物の生態に迫り、微生物学・地球化学・地質学的知見を有機的に体系化した研究である。

評価すべき点は以下の通りである。

- (1) 微生物の空間分布や活動が、現場の温度に強く支配されていることを明確に見出した。さらに、隣接した3つの熱水噴出孔に有意に異なる微生物群集が存在していることを明らかにした。微生物群集の差異は、海底下の気液二層分離と水理構造といった地球化学・地質学の側面から説明できることを明らかにした。微生物群集の空間変動の解析を通じて、微生物活動に与える現場の地球科学的因子の影響を初めて具体的かつ定量的に明らかにし、地球深部の微生物活動と熱水循環系の発達に関連を見出した点が画期的である。
- (2) 世界各地の深海底熱水孔環境で優占することが知られていたが、難培養性であるためこれまで生理学的知見の無かった *epsilon-Proteobacteria* の網羅的な分離・培養に成功した。さらに選択性の低い希釈培養条件を設定することにより、そのポピュレーションを初めて定量することに成功した。その結果本微生物群が、熱水噴出孔近傍および熱水ブルーム内部に多く生息していることを見出した。
- (3) 分離した *epsilon-Proteobacteria* を用いて、そのエネルギー獲得系を網羅的に解析している。過去の研究では本微生物は全てが微好気性硫黄酸化細菌であると考えられていたが、その多くが水素を電子供与体、硝酸イオンを電子受容体として化学合成独立栄養的に増殖することを明らかにした。本研究を通じて解明された *epsilon-Proteobacteria* の多様なエネルギー獲得系は、それだけで重要かつ新たな知見であるが、今後の深海底熱水孔環境における微生物生態学の発展、特に現場環境中における生物地球化学的な物質循環の解明に大きな貢献をもたらすことは間違いない。
- (4) 本研究を通じて深海底熱水孔より分離された新規微生物群の詳細な増殖特性および化学分類学的特徴を明らかにしている。これまでに熱水孔環境においては全く知られていなかった増殖特性を有するものも多く、現場における微生物活動の解明に向けた非常に貴重な知見である。

以上のように、本論文は深海底熱水孔における熱水孔環境微生物群集の生態を培養法と分子生物学手法により解明し多くの知見を示したものであり、海洋微生物学、極限環境微生物学および微生物生態学の分野に寄与するところが大きい。

よって、本論文は博士（農学）の学位論文として価値あるものと認める。

なお、平成17年1月19日、論文並びにそれに関連した分野にわたり試問した結果、博士（農学）の学位を授与される学力が十分あるものと認めた。