

(続紙 1)

京都大学	博士 (理学)	氏名	蔡吉 (CAI JI)
論文題目	Ecology and diversity of freshwater picocyanobacteria in Japanese lakes (日本湖沼に生息する淡水性ピコシアノバクテリアの生態と多様性)		
(論文内容の要旨)			
<p>ピコシアノバクテリアは細胞サイズが 2 μm よりも小さい酸素発生型の光合成を行う浮遊性の原核生物の総称であり、湖沼や海洋に広く分布し、水域生態系の一次生産と食物連鎖に重要な機能を果している。淡水性ピコシアノバクテリアには、単細胞型とコロニー型の異なる形態があり、前者は貧栄養湖における重要な一次生産者で、後者は中富栄養湖で普遍的に出現する。しかし、コロニー型は一次生産への貢献が低いため、過去の研究で見落とされることが多く、その生態は未だ解明されていない。一方、淡水性ピコシアノバクテリアは海洋性のものよりも高い多様性を持つと考えられるが、ほとんどの研究が海洋で行われてきたため、その系統分類が未だに把握されていない。本研究では、淡水性ピコシアノバクテリアの単細胞型とコロニー型の生態の違い、および国内の様々な湖沼に生息するピコシアノバクテリアの系統多様性について研究を行った。</p> <p>試水は、琵琶湖において二年間、月二回の頻度で鉛直的に採集した。また、琵琶湖の他に、日本の 8 湖沼より成層期において鉛直的な採水を行った。まずは、顕微鏡計数で琵琶湖に生息する単細胞型とコロニー型のピコシアノバクテリア、そして彼らの潜在的な摂食者の現存量の季節動態を解明した。これらの時系列データは Empirical Dynamic Modeling で解析し、各摂食者がピコシアノバクテリアの現存量の季節変動にどのような影響を与えるのかを調べた。次に、シアノバクテリアの 16S rRNA 遺伝子を増幅できるプライマーを用いて、ピコシアノバクテリアのクローン・ライブラリー法による群集解析を季節的に行った。最後に、16S rRNA 遺伝子とそれに隣接する ITS 領域を増幅できるプライマーを用いて、ロングリードシーケンシング法により、琵琶湖を含む国内 9 湖沼に生息するピコシアノバクテリアの遺伝的多様性を調べた。</p> <p>琵琶湖において、単細胞型とコロニー型のピコシアノバクテリアは、それぞれ異なる時空間的分布を示した。また、時系列解析により摂食者らが両者の季節変動に異なる影響を及ぼすことが明らかとなった。群集解析により、ピコシアノバクテリアの群集組成は季節的かつ経年的に変化すること、および各季節で異なる OTU が優占することも分かった。特に、琵琶湖の冬におけるピコシアノバクテリアの増殖が新たに確認され、これは耐冷性系統が優占的に増殖したものであることが明らかとなった。本研究で調査した他の国内湖沼の多くにおいても、この耐冷性系統が普遍的に存在しかつ優占的であると確認された。また、各湖沼特有の優占的系統も見られた。さらに、ITS 領域の解析により、各ピコシアノバクテリアの系統が異なる地理的分化パターンを示すことが分かった。</p>			

琵琶湖において、ピコシアノバクテリアの単細胞型とコロニー型が様々な摂食者から影響を受けることを明らかにしたことにより、これら二つの形態のピコシアノバクテリアは水域の食物連鎖において異なる生態学的役割を果たすことが示唆される。また、ピコシアノバクテリアに関連する研究は従来、彼らが大量に発生する夏季に行われてきたが、本研究の琵琶湖の結果からは冬季におけるピコシアノバクテリアの生態を研究する重要性が示された。国内9湖沼での研究では、日本に生息する淡水性ピコシアノバクテリアの高い多様性が解明された。特に、本研究ではITS領域を用いることで、ピコシアノバクテリアの系統内多様性とその系統地理に新たな見解をもたらした。本博士論文では、頻度高い現地調査や試料採集が行える湖沼研究の優位性、および淡水性ピコシアノバクテリアの生態と遺伝系統の研究の発展におけるロングリードシーケンシング法の有用性を示した。

(論文審査の結果の要旨)

ピコシアノバクテリアは、世界中の湖沼や海洋に普遍的に生息している光合成色素を持つ細菌であり、貧栄養水域では最も重要な一次生産者である。その現存量は $10^2 \sim 10^5 \text{ cells ml}^{-1}$ と高く、貧栄養水域の植物プランクトン群集において優占的となる。また、ピコシアノバクテリアの細胞サイズは多くの場合 $2 \mu\text{m}$ 以下であり、細胞は球菌や桿菌の形態のため、従来は鞭毛虫や繊毛虫などの細菌食原生生物の摂食者に利用され易いと考えられてきた。しかし、室内実験においてこれらの原生生物に大腸菌などの単離された従属栄養細菌を摂食させた場合と比べ、単離培養のピコシアノバクテリアを摂食させたこれらの原生生物の生産効率は大幅に低い。また、 1 から $2 \mu\text{m}$ の細胞サイズは他の従属栄養細菌と比べて大きく、全ての鞭毛虫や繊毛虫にとって摂食し易いとは言えない。これらのことから、湖沼や海洋においてピコシアノバクテリアの主な摂食者がこれらの原生生物であるかは、未だ統一見解が無かった。本学位論文では、琵琶湖において毎月 2 回の頻度で 2 年間にわたる湖沼調査を行い、得られたデータを最先端の手法により解析した結果、従来は最も重要なピコシアノバクテリアの摂食者として考えられてきた鞭毛虫が琵琶湖ではピコシアノバクテリアの現存量に正の影響を与えている可能性が明らかとなった。この結果は、これまでのピコシアノバクテリアの生態についての定説を覆すもので、ピコシアノバクテリアの現存量が湖沼においてどのようにコントロールされているのかを解明する上で極めて重要な新知見である。

また、通常、ピコシアノバクテリアのブルームは夏季に見られることから、湖沼のピコシアノバクテリアの研究はほとんど全て夏季に行われてきた。本学位論文では、琵琶湖では冬季にもピコシアノバクテリアのブルームが起こることを発見し、さらにこのブルームは耐冷性の系統によるものであることを明らかにした。これらの結果は、冬季におけるピコシアノバクテリアの生態解明の重要性を示唆している。

ピコシアノバクテリアの研究は、従来、その多くが海洋において行われ、湖沼での研究例は限られていた。このため、湖沼にどの系統のシアノバクテリアが生息しているか、湖沼におけるシアノバクテリアの多様性はどうかについて、欧米の湖沼における知見がいくらかあるものの、我が国の湖沼についてはほぼ皆無であった。本学位論文では、我が国の 9 湖沼におけるピコシアノバクテリアの遺伝的多様性を明らかにしただけでなく、琵琶湖の冬季に見られた耐冷性系統が我が国の他湖沼にも広く分布していることを発見した。さらに、各湖沼に特有の優占系統の存在も明らかにした。

本学位論文によって明らかとなった湖沼ピコシアノバクテリアの生態に関する重要な点は、(1) 鞭毛虫はピコシアノバクテリアの現存量を増加させる役割を持つこと、(2) 冬季には我が国の湖沼にも広く分布する耐冷性系統のピコシアノバクテリアがブルームを起こすことがあること、(3) 我が国の各湖沼に特有のピコシアノバクテリ

ア優占系統が存在すること、である。これらはいずれも新奇性と独創性の高い知見であり、世界的な湖沼ピコシアノバクテリアの生態研究に多大な貢献を果たすであろう。

よって、本論文は博士（理学）の学位論文として価値あるものと認める。また、令和3年1月18日、論文内容とそれに関連した事項について試問を行った結果、合格と認めた。

要旨公表可能日： 年 月 日以降