

( 続紙 1 )

京都大学	博士 ( 理学 )	氏名	岡崎 友輔
論文題目	Ecology of bacterioplankton specific to the oxygenated hypolimnia of deep freshwater lakes (大水深淡水湖の有酸素深水層に特有な細菌の生態解明)		
(論文内容の要旨)			
<p>海洋や湖沼の水中には多くの細菌が生息し、水域の物質循環や生態系において重要な役割を担っている。近年、海洋や湖沼の表層および深海においては、優占する細菌系統の存在が世界的に明らかになりつつあり、その生理・生態的な特徴づけや、生態系内における機能の解明が進められている。しかし、湖沼の深層、とりわけ全循環する大水深淡水湖で見られる有酸素深水層においては、生息する細菌系統に関する知見がほとんど無く、細菌を介した物質循環プロセスに関してもほぼ未解明である。本研究では、大水深淡水湖の有酸素深水層に生息する細菌系統について統一的な知見を得ることを目的とした網羅的な調査を実施した。</p> <p>まず、琵琶湖の有酸素深水層においてCL500-11 系統の細菌が優占することを明らかにし、その時空間的な分布を、<b>catalyzed reporter deposition fluorescence in situ hybridization (CARD-FISH)</b>法によって追跡した (Chapter 2)。次に、16S rRNA 遺伝子アンプリコンシーケンスにより、琵琶湖沖における細菌群集組成を網羅的に調査し、深水層に出現する細菌系統の全体像を把握するとともに、表水層の細菌群集との比較を行った(Chapter 3)。最後に、琵琶湖で得た結果を他の湖で検証するため、日本全国の10の大水深淡水湖において調査を行い、CARD-FISH およびアンプリコンシーケンスを用いて表水層から深水層にかけて細菌群集組成を明らかにした(Chapter 4)。その結果、Chapter 2 ではChloroflexi 門に属する CL500-11 系統の細菌の優占が琵琶湖全域の深水層で見られ、その現存量が全細菌比の最大16.5%に及ぶことを明らかにした。Chapter 3 では、琵琶湖の水中に生息する細菌群集の全体像を初めて明らかにし、深水層には CL500-11の他に、表水層ではほとんど見られない、Planctomycetes門やThaumarchaeota門などに属する細菌系統が生息することを明らかにした。一方表水層では、従来の研究で知られていたとおり、Proteobacteria、Actinobacteria、Bacteroidetes門に属する細菌群が優占していた。この結果により、琵琶湖の有酸素深水層には、表水層と門レベルで異なる細菌群集が存在することが示された。さらに Chapter 4では、琵琶湖で見つかったこれらの深水層特異的な細菌系統が、他の大水深淡水湖の深水層でも優占することを明らかにした。また、アンプリコンシーケンスで得られた塩基配列を1塩基レベルの違いに基づき分類する手法(oligotyping)により、全水層にかけて優占してい</p>			

た、既知の優占的な淡水性細菌系統（acI-B1、acI-A7 など）についても、深度や湖ごとに異なる亜集団が存在することを明らかにした。

本研究により有酸素深水層に特異的な細菌系統群の存在が一般性をもって示された。この結果は、有酸素深水層の生態系および物質循環が表水層とは異なる独自の細菌群集によって駆動されていることを示唆している。

(続紙 2)

(論文審査の結果の要旨)

湖沼沖帯における細菌の生態学的役割についての研究は、主に植物プランクトンの一次生産が活発な表水層において行われてきた。また、近年の分子生物学的技術の発展により、湖沼の表水層において優占する細菌系統の存在が世界的に明らかになりつつあり、その生理・生態的な特徴づけや、生態系内における機能の解明が進められている。

一方、水温成層が形成される十分な水深を持つ湖沼では、太陽光が届かない深水層の容積は表水層のそれと比べてはるかに大きく、深水層には窒素やリンなどの栄養塩類が高濃度で存在していることから、その生物地球化学的重要性はかねてより指摘されてきた。貧・中栄養湖沼では、水温成層が十分に発達している時期においても深水層は好氣的となる。このような有酸素の深水層をもつ湖沼は世界各地に多くあるが、有酸素深水層に生息する細菌系統の生態に関する情報は、従来ほぼ皆無であった。申請者は、これまでほとんど注目されて来なかった湖沼の有酸素深水層に生息する細菌の生態に着目し、主に琵琶湖における細菌群集組成の動態を季節的かつ鉛直的に研究した。

申請者の研究で特に優れているのは、有酸素深水層における細菌系統の季節的出現パターンや優占度を、世界に先駆けて明らかにしたことである。申請者は、国内10湖沼の表水層から深水層にかけて鉛直的に試水を採集することにより、湖沼に生息する細菌系統の鉛直的分布や優占度を解明した。重要な知見として、細菌群集組成は、湖沼の表水層と深水層とでは異なること、表水層あるいは深水層のみに生息する細菌系統を特定したこと、および表水層と深水層の両方で生息する細菌系統も特定したことが挙げられる。さらに琵琶湖では、沖帯の試水を毎月、鉛直的に採集する詳細な調査により、細菌系統の鉛直的・季節的出現パターンや優占度を時空間的に解明した。その中でも、琵琶湖を含む国内の数湖沼の有酸素深水層において優占するChloroflexi門のCL500-11 系統の細菌については、今後、生産速度や死滅速度、餌資源となる有機物の特定など、生態学的知見の収集へとつながる端緒を得ている。CL500-11 系統の細菌以外にも、表水層ではほとんど見られないPlanctomycetes門やThaumarchaeota門などに属する細菌系統 (CL500-3、CL500-15、CL500-37、MG1など) が生息することを明らかにしたことは、深水層の物質循環が表水層とは大きく異なることを示唆しており、興味深い。さらに申請者は、国内10湖沼から得られた細菌群集組成の違いをさらに明確にすべく、アンプリコンシーケンスで得られた塩基配列を1塩基レベルの違いに基づき分類する手法 (oligotyping) によりデータの解像度を高めた。その結果、先行研究ですでに報告のある湖沼で優占する細菌系統についても、深度や湖ごとに異なる亜集団が存在することを明らかにした。これら細菌亜集団のデータは世

界的にまだ限られており、我が国以外の湖沼でもデータの収集が待たれる。

申請者の研究成果は、湖沼有酸素深水層の生態系および物質循環が表水層とは異なる独自の細菌群集によって駆動されていることを示唆している。有酸素深水層に焦点を当てた申請者の研究は独創的かつ先駆的であり、申請者の研究を契機としたさらなる研究の発展が期待される。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、平成30年1月11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