

(論文内容の要旨)

河床の石や堆積物の表面は、微生物と有機物の複合体であるバイオフィーム(生物膜)によって覆われている。バイオフィームは、河川生態系の物質循環の制御のうえで重要な役割を果たしている。しかし、バイオフィームを構成する細菌群集の組成の時空間変動や、それを規定する要因については不明の点が多い。本研究では、琵琶湖集水域の河川において、バイオフィーム中の細菌の16S rRNA 遺伝子を採取し、それを、変性剤濃度勾配ゲル電気泳動法(DGGE 法)を用いて解析することで、主に種(または属)レベルに相当する操作的分類単位での細菌群集組成の縦断変化と季節変動を調べた。また、蛍光現場交雑法(FISH法)により、高次系統分類群(門または亜門)レベルでの細菌群集組成を定量的に評価した。以上の結果を、河川環境変数の計測結果とあわせて統計解析することにより、群集組成の変動に影響を及ぼす因子について考察を加えた。主な内容は以下のとおりである。

1. 琵琶湖集水域において、河川生態系に対する人為的影響の度合いが大きく異なる2河川(野洲川、安曇川)を選び、石面バイオフィームの細菌群集組成の縦断変化を調べた。調査は夏季の平水時に実施した。DGGE 法によって得られたバンドパターンの空間変動を統計的に解析した結果、野洲川においては、上流と下流で、細菌群集組成が大きく異なることが明らかになった。一方、安曇川ではそのような顕著な空間変動パターンは検出されなかった。野洲川における群集変動を説明する要因として、石面付着物の窒素安定同位体比(人為的窒素負荷の程度を表す指標)と溶存態有機炭素濃度が選択された。以上の結果から、人為的な栄養物質や有機物の負荷が、河川における石面バイオフィームの細菌群集組成の縦断変動パターンを規定する重要な要因であることが示唆された。一方、FISH法による高次系統分類群レベルでの群集組成の定量的解析の結果、野洲川、安曇川ともに、全流程において *Alphaproteobacteria* と *Betaproteobacteria* が優占することが明らかになった。つまり、いずれの河川においても、汚濁の程度に関わらず、限られた高次系統分類群に属する細菌種やクローンが広く分布していたことが示された。

2. 栄養環境が大きく異なる8河川において、石面バイオフィームおよび堆積物中に存在する細菌群集組成の季節変動を調べた。その結果、石面バイオフィーム、堆積物中のいずれにおいても、夏季と冬季では、細菌群集組成が顕著に異なることが明らかになった。統計解析の結果、水温の変動が、細菌群集組成の変動を支配する要因である可能性を示唆した。

以上の結果を総合し、河川生態系における河床のバイオフィーム細菌群集組成の規定要因について考察を加えた。本研究は、河川生態系における、バイオフィームを構成する細菌群集組成の空間的および季節的な変動の有意な部分が、栄養条件および水温という内在的環境因子の変動によって説明できるということを示した。この結果は、集水域における人間活動の増大や、気候変動に伴う河川水温の上昇に対する河川生態系の応答を理解するうえで、重要な意義を有する。

(論文審査の結果の要旨)

本研究は、河床に存在する石の表面に発達するバイオフィルムを構成する細菌群集組成の空間的および季節的な変動を解析したものである。バイオフィルムは、河川における様々な物質代謝の制御のうえで重要な役割を果たすことから、その機能面に関する研究は従来から多く行われてきた。しかし、バイオフィルムの重要な構成員である細菌群集の多様性や群集組成の変動、およびそれらを規定する要因についての知見は乏しい。本研究の骨子は、近年開発された分子生物的な手法を用いることで、バイオフィルム中の細菌群集組成の変動を調べ、それを、河川の環境要因と比較検討することにより、群集組成を規定する因子の抽出を試みたという点にある。第1章においては、バイオフィルムの機能や、細菌群集の多様性に関する先行研究が紹介されている。環境中の細菌群集のDNAを抽出し、その遺伝子情報を解析する手法(非培養法)の原理や適用例が概説されたのち、本研究の目的とアプローチが述べられている。第2章には、琵琶湖に流入する大型河川である野洲川と安曇川におけるバイオフィルム細菌群集組成の縦断変動と、それに影響を及ぼす要因が報告されている。本研究の特徴は、河川規模は類似しているが流域人口が大きく異なる2河川間で、細菌群集組成の縦断変動を比較することで、人為影響が細菌群集組成に及ぼす影響の解析を行った点にある。調査の結果、人為影響の強い野洲川では、上流と下流において、細菌群集が大きく異なったのに対し、人為影響の小さい安曇川では、顕著な縦断変化が見られないことが明らかになった。野洲川中流域における細菌群集組成の急激な変化の原因を考察するために、環境要因と群集組成の関係を統計的に解析した。その結果、石面付着物の窒素安定同位体比(人為的窒素負荷の程度を表す指標)と、河川水中の溶存有機炭素濃度が、群集組成の変動と密接に関わっていることが示された。以上から、中流域における人為負荷が、細菌群集組成に大きな影響を与えた可能性が指摘された。一方、高次系統分類群のレベルでみると、いずれの調査地点でも、その分類群組成に大きな差はなかった。第3章においては、琵琶湖集水域の8河川を選び、石面バイオフィルムおよび堆積物中の細菌群集組成の季節変動が解析された。その結果、石面および堆積物のいずれにおいても、夏季と冬季では大きく細菌群集組成が異なることが明らかになった。これは、季節依存的に出現する細菌種の存在によって説明された。さらに、水温が直接的ないしは間接的に細菌群集組成に影響を及ぼす可能性が考察された。第4章においては、以上の結果をふまえた総合討論がなされている。

本研究は、河川環境におけるバイオフィルム細菌群集組成の、空間・季節的な変動を解析した先駆的な研究として評価することができる。河川のような開放的な生態系において、細菌群集組成の変動のかなりの部分が、内在的な要因(栄養濃度、水温)の変動によって説明できることを示したのは、新しい知見である。この成果は、流域における人間活動の増大や、気候変動に対する河川生態系の応答を理解するうえで意義があると判断された。よって、本論文は博士(理学)の学位論文として価値のあるものと認める。また、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。