

氏 名	よこ 横 かわ 川 た 太 いち 一
学位(専攻分野)	博 士 (理 学)
学 位 記 番 号	理 博 第 2849 号
学位授与の日付	平 成 16 年 11 月 24 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	理 学 研 究 科 生 物 科 学 専 攻
学位論文題目	Growth and grazing mortality of phylogenetically distinct bacterial groups in estuarine and coastal marine environments (汽水域および沿岸海洋域における細菌系統分類群の増殖と捕食による死亡)
論文調査委員	(主 査) 教 授 永 田 俊 教 授 北 山 兼 弘 教 授 戸 部 博

論 文 内 容 の 要 旨

従属栄養性細菌群集は、水圏における多くの生物地球化学的過程に関与しているが、従来の研究においては、その方法的制限により、細菌群集全体が一つの機能群として捉えられてきた。そのため、細菌群集を構成する個々の分類群の動態、とりわけその増殖と死亡に関しては知見が少ない。本研究では、各系統分類群の増殖速度、生産速度および捕食による死亡速度を測定する新しい方法を考案し、従属栄養性細菌群集の系統分類群組成の支配要因を明らかにする事を目的とした。

まず、各系統分類群の増殖速度、生産速度および捕食速度を見積もるうえで重要な、Fluorescence *in situ* hybridization (FISH) 法の画像処理システムの改良を行い、本研究の目的に必要な精度を満たすデータを迅速に取得することを可能にした。

次に、汽水域において、主要系統分類群の増殖速度および生産速度を FISH 法と希釈培養法を組み合わせた新たな方法により求めた。その結果、細菌群集内には様々な活性状態の系統分類群が存在することを明らかにした。alpha-proteobacteria および gamma-proteobacteria は湾口部および湾奥部において高い増殖速度を示していた。一方、beta-proteobacteria は湾奥部において高い増殖速度を示した。この結果は湾奥部において beta-proteobacteria が優占しているという現象をよく説明したが、他の系統群については、増殖速度と優占度の間に有意な相関が見られなかった。各系統分類群の生物量と生産速度の関係から、湾口部における細菌群集組成はトップダウン要因に、一方、湾奥部における細菌群集組成はボトムアップ要因にそれぞれ強く支配されている傾向がみられた。

西部北太平洋沿岸域において、細菌の主要系統分類群の増殖速度と環境因子との関係から、増殖速度の変動要因を検討した。重回帰分析の結果、alpha-proteobacteria の増殖速度の変動の有意な部分がクロロフィル a 濃度と水温によって説明できた。一方、gamma-proteobacteria と *Cytophaga-Flavobacter* cluster の増殖速度の変動の説明変数としては、それぞれ水温およびクロロフィル a 濃度の一方のみが有意であった。つまり、増殖の制限要因が系統分類群間で異なっていた。また、優占群である alpha-proteobacteria は必ずしも速くは増殖していないということが示された。むしろ非優占群の方が速く増殖する傾向がみられた。この関係から、優占度は増殖速度では説明できないと考えられる。そこで細菌群集組成に影響を与える要因として捕食について検討した。その結果、捕食圧は主要系統分類群間で有意な差がないことが明らかになった。つまり alpha-proteobacteria の優占は捕食回避では説明出来なかった。増殖速度が比較的遅い alpha-proteobacteria が優占する機構として、ウイルス感染にみられるような増殖速度依存性の細菌死亡プロセスが重要である可能性を指摘した。

以上の研究から得られた、各系統分類群の優占度と増殖速度の関係から、沿岸・汽水域に存在する主要系統分類群は、以下の3つの特性を持つグループに分類できるという仮説を提案した。1) 速い増殖速度を示すが、現存量の少ない系統分類群 (gamma-proteobacteria, *Cytophaga-Flavobacter* cluster), 2) 比較的遅い増殖速度を示すが、優占する系統分類群 (alpha-proteobacteria), 3) 増殖速度が遅く、現存量も少ない系統分類群 (beta-proteobacteria)。このように、生態学的特性が異なる各系統分類群の動態を把握することは、水域において従属栄養性細菌が関与する生物地球化学的過程を理解す

る上で非常に有用であると考えられる。

論文審査の結果の要旨

本研究は、汽水・沿岸環境における従属栄養性細菌群集の増殖速度と捕食死滅率を、細菌系統分類群の組成に着目して解析した点に大きな特色がある。天然水域に生息する細菌の大部分は、平板培地上に増殖せず、従って、通常の細菌分類学的な解析に供することができない。そのため、従来の研究では、従属栄養性細菌群集をひとつの「ブラックボックス」として扱い、細菌群集全体としての増殖や生産・被食プロセスを解析するという方法がとられてきた。このアプローチでは、細菌群集組成の変動や、多様性の維持機構についての情報を得ることができない。申請者は、近年発展がめざましい、分子生物学的な細菌群集解析手法のひとつである、蛍光現場交雑法（FISH法）を応用することで、現場環境に生息する個々の細菌系統分類群のそれぞれが、どのような増殖・死滅特性を有するのかを定量的に調べる新しい方法を考案した。この方法を、アメリカ東海岸の汽水環境、および、我が国の太平洋沿岸海域において適用することで、細菌群集組成の決定機構に関する重要な知見をえることに成功した。特に、以下の成果が評価される。

1. 群集を構成する主要系統群は、それぞれ異なる増殖速度を有すること、また、環境要因（水温、塩分、クロロフィル濃度）に対する増殖速度の依存性が、系統群間で異なること、が明らかになった。特に、 β プロテオバクテリアの増殖速度が、淡水域で高く、海水域で低いという結果は、この細菌系統分類群が、淡水環境に適応していることを示唆しており興味深い。一方、海水域で常に優占する α プロテオバクテリアは、非優占グループに比べて、より活発に増殖しているとは限らなかった。むしろ、稀少グループである γ プロテオバクテリアや、サイトファーガ・フラボバクテリア・グループのほうに、増殖速度が高い場合が多かった。この結果から、細菌系統分類群によって死滅速度が異なることが示唆された。

2. 細菌系統分類群によって、死滅速度が異なるという仮説を検証する目的で、優占グループと非優占グループ間で、捕食死滅率を比較する実験をおこなった。その結果、予想に反し、グループ間での捕食死滅率の違いは検出されなかった。このことから、申請者は、捕食以外の要因（ウイルス感染など）が、細菌群集組成の決定機構として重要ではないかと推察している。

本研究においては、高次レベルでの系統分類群の識別がなされた。そのため、個体群レベルでの増殖・死滅特性については、検討の余地が残された。しかし、申請者が開発した手法は、原理的には、個体群レベルでの増殖・死滅特性の解析にも応用が可能であり、その方面での、今後の発展が大いに期待される。

以上の審査の結果、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、論文内容とそれに関連した試問の結果合格と認めた。