

氏 名	にし むら よう こ 西 村 洋 子
学位(専攻分野)	博 士 (理 学)
学 位 記 番 号	理 博 第 3058 号
学位授与の日付	平 成 18 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	理 学 研 究 科 生 物 科 学 専 攻
学位論文題目	Variations and controls of different subgroups of bacterioplankton in Lake Biwa (琵琶湖の浮遊性細菌を構成する亜集団の変動と支配)
論文調査委員	(主 査) 教 授 永 田 俊 助 教 授 村 上 哲 明 教 授 北 山 兼 弘

論 文 内 容 の 要 旨

浮遊性細菌は、沖帯生態系の物質循環や食物網において重要な役割を果たしている。従来、浮遊性細菌の動態に関する研究は、細菌全体を均一な形質を持った集団として扱ってきた。近年、浮遊性細菌の生理特性や系統分類群組成に関する研究の進展にともない、浮遊細菌を構成する亜集団の存在やその多様性に関する理解が急速に深まっている。しかし、環境中での個々の亜集団の動態やその支配要因については知見が乏しい。本研究は、浮遊性細菌の亜集団の分布特性を環境要因と関連付けて解析することで、個々の亜集団の生態特性を明らかにすることを目的とした。研究は、中栄養大型淡水湖である琵琶湖において実施した。その結果、以下のことが明らかになった。

1. <核酸含有量により分割された細菌亜集団の動態と支配>フローサイトメトリーを用いた解析の結果、琵琶湖においては、浮遊性細菌を、低核酸含有集団 (LNA)、高核酸含有集団 (HNA) および超高核酸含有集団 (VHNA) の 3 亜集団に分離できることが明かになった。湖盆規模での時空間分布の調査の結果、成層期には、VHNA と HNA の出現頻度が深度と共に増加するのになら、LNA は深度と共に減少するという顕著な鉛直分布パターンが見出された。環境要因との相関解析の結果、VHNA の出現頻度が溶存態無機リン濃度と強い正の相関を示すことが明らかになった。栄養添加実験の結果から、核酸含有量の高い亜集団 (VHNA, HNA) は LNA に比べて、リン制限になりやすいことが示された。以上から、核酸含有量により分割された亜集団の動態の支配要因として、リンの利用性が重要であると結論付けた。

2. <球桿菌および糸状細菌の系統分類群組成の季節変化>蛍光現場交雑法 (FISH 法) と蛍光顕微画像解析法を組み合わせ、浮遊性細菌を形態 (球桿菌と糸状細菌) と系統分類群的な所属というふたつの側面から亜集団に分割し、各亜集団の季節変化を調べた。球桿菌を構成する系統分類群としては、 α プロテオバクテリア、 β プロテオバクテリア、サイトファーガ/フラボバクテリア クラスタ (CF クラスタ)、アクチノバクテリアの 4 グループが検出された。 α プロテオバクテリアは、調査期間中常に優占していた。この結果は、淡水では一般的に β プロテオバクテリアが優占するという従来の知見と大きく異なるものであり、細菌の生物地理分布を考えるうえで重要な知見である。一方、環境要因との相関関係の解析から、各グループの生態特性について考察を加えた。その結果、CF クラスタと β プロテオバクテリアは「富栄養型」、アクチノバクテリアは「貧栄養型」であることを示唆した。一方、糸状菌では、 α プロテオバクテリアと、CF クラスタの 2 グループのみが検出された。したがって、上位系統分類群レベルにおいて、糸状菌は球桿菌にくらべて多様性が低いことが明らかになった。糸状菌の出現パターンから、この亜集団が、富栄養で捕食圧の高い環境下で高い競争力を有すると推察した。

以上の結果を総合し、琵琶湖沖帯においては、栄養状態 (ボトムアップ支配要因) と捕食圧 (トップダウン支配要因) という 2 つの環境要因の勾配に沿って、個々の亜集団が特徴的な適応範囲を示すことを示唆した。

論文審査の結果の要旨

浮遊性細菌は沖帯生態系における主要な構成員であり、その炭素消費は一次生産の50%にも達する。従来、湖生態系の研究においては、浮遊性細菌全体を均一な形質を持った集団として扱ってきた。つまり、生態系モデルにおいて、浮遊性細菌はひとつのブラックボックスとして扱われており、ボックス内部での動態や相互作用は無視されてきた。近年、光学的な手法や分子生物学的な手法の導入により、環境中の細菌細胞の特性（系統分類群、生理特性、形態）を、1細胞毎に解析することが可能になってきている。その結果、自然環境中の細菌集団が、さまざまな形質をもった不均一集団であることが明らかになり始めている。しかし、このような方法により分割された個々の亜集団が、どのような生態特性を有するのかについては、まだ知見がきわめて限られている。また、生態系モデルの構築においてどのような亜集団分割が有効であるのかも明らかになっていない。このような背景をふまえ、本論文では、中栄養大型淡水湖である琵琶湖主湖盆において、浮遊性細菌の亜集団の動態とその支配要因を追及した点に大きな特色がある。具体的には、個々の細胞の系統分類的な所属と表現型（核酸含有量、形態）の違いを、1細胞検出技術であるフローサイトメトリー法と蛍光顕微画像解析法により解析し、亜集団の分割を行っている。

＜核酸含有量による亜集団分割＞湖盆規模での時空間分布の観測結果と栄養添加実験の結果から、核酸含有量の高い亜集団が、低い亜集団に比べて、より強いリン制限を受けているという新しい現象を見出した。これは、海洋における先行研究が、細菌亜集団の存在比の変化を有機炭素の利用性に関連づけているのと大きく異なっている。このことから、一般に、有機炭素による制限が強い海洋と異なり、琵琶湖のような厳しいリン制限環境では、リンが細菌亜集団組成の規定要因になるという可能性を議論している。

＜系統分類群と形態による亜集団分割＞主要系統分類群としては、 α プロテオバクテリア、 β プロテオバクテリア、サイトファーガ／フラボバクテリア クラスター（CF クラスター）、アクチノバクテリアの4グループが存在することを明かにした。また、それぞれの亜集団の季節変化を環境要因と関連づけて解析した結果から、個々の亜集団の生態特性の違いを抽出することに成功した。顕著な結果は以下のとおりである。1) α プロテオバクテリアが、調査期間中常に優占していた。このことから、この系統群は広い環境幅において競争力の高い亜集団であると示唆された。この結果は、淡水では一般的に β プロテオバクテリアが優占するという先行研究の結論と大きく異なるものであり、細菌の生物地理学の観点からも興味深い発見である。2) CF クラスターと β プロテオバクテリアは「富栄養型」、アクチノバクテリアは「貧栄養型」であることが示唆された。一方、細胞形態という観点からは、糸状細菌の出現が、栄養状態と捕食圧というふたつの要因による共支配を受けている可能性を示唆した。

上記の研究成果は、大型淡水湖生態系における浮遊性細菌群集の動態と支配に関する理解の深化に大きく貢献するものであると判断された。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。