

論文の内容の要旨

氏名：藤井 貴 敏

博士の専攻分野の名称：博士(理学)

論文題名：キノプロファイル法を用いた微生物叢解析による底質環境評価手法の構築

微生物は地球上において生物量として優占し、その代謝を介して有機物を無機物へ変換する能力が、生態系における物質循環過程の1つを構成していると言える。そのため、微生物群集の環境評価指標としての重要性は理解されているが、その多様性の時空間分布および変動要因に関する普遍的な知見は少ない。一般的に微生物を生物指標に用いるのは大腸菌群と一般細菌であるが、これは腸管系病原微生物汚染についての指標でしかない。従来用いられてきた環境汚染の原因や浄化能を把握する方法として、特定の微生物を追跡するFISH法、定量PCR法などの遺伝子学的手法がある。これらの手法は標的とする微生物種の塩基配列情報が必要であり、その情報が他の微生物に共通な特徴を持つ場合には正確な定量は不可能である。また、環境変化によって微生物種が変化する場合には追跡が困難となる。このように、実際の環境にはあらゆる汚濁物質が存在し、微生物種の変化も生じることが予想されるため、特定の微生物種を指標とした環境モニタリングでは環境リスクに対応した十分な評価とは言えない。

特定の微生物に限定しない生物指標としての微生物群集は未知なる構造の化学物質に対しても生理活性によって組成が変化し、環境変化との対応関係が明確で、生息分布が普遍的である点で有効である。

本論文では、環境との対応関係が分かりやすく、分布が普遍的な微生物を用いた評価を行い、化学的な指標と生物指標の双方から水環境を評価し、総合的な底質環境評価手法について提示する。微生物叢解析手法は環境中の微生物量(活性)、微生物叢を同時に解析できる表現型のバイオマーカーであるキノプロファイル法を採用した。

本論文は6章から構成される。各章の内容を以下に示す。

1章は序章として、微生物叢解析による底質環境評価の有用性を述べ、本論文の背景である既往の環境評価手法の問題点および不足している知見について述べている。本論文ではキノプロファイル法によって、以下の項目について明らかにすることを目的とする。1)自然環境下におけるキノン量、キノン種の割合と汚濁状況の関係性を評価。2)人為的な環境負荷が特定のキノン種に及ぼす影響を評価。3)底生生物(ベントス)の分布と微生物叢の関係性を評価。これら3つに焦点を当て、キノプロファイルに基づく様々な環境下における微生物叢と化学的・物理的に評価した汚濁状況を関連付けることで、微生物叢解析による底質環境評価手法を提示する。

2章は瀬戸内海の底質と微生物叢の関係について述べている。干潟では好氣的・嫌氣的な条件によって異なる生物反応を経て、物質循環に寄与している。したがって、生息する微生物の種類、その割合は環境条件によって大きく異なる。この環境条件は様々な因子が複雑に影響するものであると考えられるが、底質中に蓄積された水質や海流の影響などの情報と微生物叢は非常に深く関連していると予想される。そのため、瀬戸内海の4干潟の合計35地点サンプリングを行い、底質と微生物叢の関係について評価した。その結果、調査した35地点は強熱減量(IL)、礫含有率、砂含有率が支配する4つのクラスターに分類され、各クラスターの堆積物の物理化学的パラメータはキノン量およびキノン組成を決める因子であることが明らかになった。好気性菌と嫌気性菌の割合を示すユビキノン(UQ)/メナキノン(MK)モル比はヘドロの状態を示すILおよび酸化還元電位(ORP)と強い相関が認められた。このことから、UQ/MKモル比は底質の汚濁状況を把握する指標となることが示唆される結果となった。

3章は中海の底質と微生物叢の関係について述べている。中海は干潟のように干満の差で底質が干出せず、強固な塩分成層が形成されているため、底層水の貧酸素化が生じやすい特徴を有する。そのため、底質の有機物汚濁が干潟よりも進行している中海で2章と同様に底質と微生物叢の関係について評価した。その結果、中海では観測地点、時期を問わず、そのほとんどでMK量がUQ量を上回っており、中海湖底は嫌気

性菌が優占する環境であることが明らかになった。全キノン量は、外海水の流入する境水道から離れるにしたがって多くなる傾向があり、中海南東部の米子湾周辺が最も多い。中海の全キノン量はUQ/MKモル比、ORP、IL、含水率、キノン種数およびキノンの均一性指標(EQ)に対して有意な相関が認められた。中海ではMK類が優占する環境であるため、ILおよび全キノン量が高い地点はUQ/MKモル比を下げ、ORPは負の値を示す傾向にあることが明らかになった。

4章は水質変化と微生物叢の関係について述べている。特定の汚濁物質に対する微生物叢変化を知ることには、汚濁物質や汚濁源を特定することも可能となるため、水質と微生物叢の関係を評価した。調査対象は農業集落排水処理施設の処理水流入河川とした。その結果、放流先の用水路の放流先の用水路の水質に対して強い影響を及ぼした農業集落排水処理水の水質は溶存態窒素濃度と溶存態リン濃度で、平均値としてそれぞれ放流先の用水路よりも7.33 mg/L(8.7倍)、1.83 mg/L(17倍)高い値を示した。DTN、DTPと強い相関を示したキノン種はUQ-8、MK-8であった。このことから、栄養塩濃度が高い農業集落排水処理水放流による影響は用水路内の微生物叢を変化させ、特に脱窒菌の増加に寄与していることが明らかになった。

5章はベントスと微生物叢の関係について述べている。ベントスと微生物は相互に作用することで自然浄化に寄与していると考えられるが、自然環境中のベントスと微生物の関係について評価した事例は少ない。そのため、瀬戸内海のベントスと微生物叢の特徴を評価した結果、ベントスの個体数、種数、多様性指標はキノン量、種数、多様性と有意な相関が認められた。このことから、微生物が豊富な地点であるほど、ベントスにとって良好な環境であり、微生物が他の生物に利用可能な物質に変換することで干潟の物質循環に寄与していることが示唆される結果となった。一方で、ベントス個体数、種数、多様性指標は底質のILおよびORPと有意な相関が認められなかった。そのため、微生物はベントスおよび底質の物理化学的パラメータのどちらとも関係が認められ、ベントスが生息できない底質環境も評価することが可能であることが明らかになった。

6章は本研究で得られた結果を総括し、今後の展望について述べている。本論文では底質の微生物叢は過去の人為的な環境負荷や水質の変動を反映した評価が可能であることが示唆される結果となった。今後は調査の頻度を上げ、詳細なデータを蓄積することにより、微生物叢解析が様々な環境下における汚濁度を評価する手法の一つになることが期待される。