

山地森林流域における地下水流動プロセスと微生物動態の関係

生命環境科学研究科 持続環境学専攻

氏名：杉山 歩 (学籍番号：201730313)

論文概要

本研究は、地下水流動系を明らかにするための新たなトレーサーとして環境中の微生物 DNA の有用性を検証することを大きな目的とした。既存の水文トレーサーは、地下水の涵養域や滞留時間を推定する上で有用であるが、地下水の流動経路に関する直接的な情報を得ることは難しい。また、水の混合等の過程により、履歴情報のシグナルが不明瞭になるという問題も存在する。一方で、微生物はあらゆる水圏環境に生息し、その分布が周辺環境と深く関係することから、地下水が流動過程においてどのような環境を通過してきたか、すなわち、地下水の流動経路について、検出された微生物の特徴をもとに評価できる可能性がある。しかしながら、地下水中の微生物動態を地下水流動プロセスと関連付けている研究は少なく、その関係についての理解はいまだ十分とはいえない。そこで、本研究では、水文プロセスに関わる基礎情報を取得可能な山地森林流域を対象に、環境中の微生物の時空間分布を評価し、地下水流動プロセスと微生物動態の関係を明らかにすることを目的とした。

研究対象地域は、福島県伊達郡川俣町の森林小流域である。流域面積は 0.045 km^2 で、基盤地質は花崗岩類である。地質構成は、上部から表層土、強風化花崗岩、風化花崗岩である。対象地には計 7 本の観測井が設置されており、下流部に湧水が位置することから時空間的なデータの取得が可能な流域である。水文観測および環境パラメータの現地観測を行い、主要無機溶存成分、酸素・水素安定同位体比、六フッ化硫黄 (SF_6) 濃度、微生物数とその群集構成の解析を行った。Total direct counts (TDC) 法を用いて微生物数を計数し、16S rRNA 遺伝子を対象に次世代シーケンス (Next-generation sequencing; NGS) 法を用いた遺伝子解析により微生物群集構成を解析した。さらに、遺伝子解析結果を用いて微生物群集の多様性解析を行った。観測期間は、2016 年 8 月から 2018 年 8 月である。

水文観測結果から対象流域では、降水量の増加に伴い地下水位が上昇し、湧出量が増加する傾向がみられた。地下水および湧水の DO は、 $1.6 \sim 12.1 \text{ mg/L}$ であり、水温の変化は、湧水で最も大きく $8.0 \sim 13.6^\circ\text{C}$ であった。 SF_6 濃度から推定した地下水および湧水の滞留時間は、 $0.7 \sim 28.8$ 年であり、特に尾根部の地下水は、 $6.9 \sim 28.8$ 年と広い変動幅を示した。地下水および湧水中の微生物数は、 $10^3 \sim 10^6 \text{ cells/mL}$ であり、時空間的にオーダーレベルで変動がみられた。次世代シーケンス法を用いた遺伝子解析に

より、10,071 ~ 37,547 の遺伝子配列を読み取り、1,395 ~ 9,485 の OTU (operational taxonomic unit) が検出された。一般的に表層環境や土壌環境から検出される *Proteobacteria* 門や *Acidobacteria* 門が優占していた一方で、絶対嫌気性の微生物を含む *Chloroflexi* 門や *Firmicutes* 門に含まれる嫌気性かつ好熱性の微生物も検出された。従って、微生物数の変動や微生物群集の特徴は、地下水中の微生物動態の解釈に地下水の流動を考慮する必要性を示していると考えられた。

地下水中の微生物群集構成は、斜面上方から下部に向かう地下水の流動方向に高い群集の類似性を示し、中でも *Comamonadaceae* 科や *Oxalobacteraceae* 科の微生物が対象地の地下水流動を代表しているものと考えられた。降雨時には、降雨流出応答に対応し群集の類似性が変化する傾向がみられた。深層からの地下水の寄与が大きくなることで尾根部の地下水の滞留時間が 26.3 年と特に長い傾向を示した時期において、当該地下水中の微生物数は減少し、さらに嫌気性かつ中温性もしくは好熱性の *Geothrix* 属や *Caloramator* 属が検出された。このことは、地形的流域界を越える広域的な地下水流動が寄与している可能性を地下水の滞留時間の分布に加えて微生物情報が示しているものと考えられる。また、流動域においては、地下水位が高いとき微生物数が多い傾向が示されており、地下水位が上昇することにより土壌水の正圧化等が生じ、それまで地下水に含まれていなかった微生物が地下水に混入することにより地下水中の微生物数が増加したものと考えられる。このとき、当該地下水から *Hymenobacter* 属を含む土壌微生物が共通して検出されたことは、地下水流動プロセスの変化に伴う土壌水の寄与を支持するものである。従って、地下水中の微生物数の変化は地下水流動プロセスの変化のシグナル、群集構成は地下水流動プロセス自体を反映するものと考えられる。微生物群集をその類似性によって評価し、各 Cluster を特徴づける分類群を解析することで地下水の流動経路を評価できる可能性が示された。微生物動態と地下水流動プロセスの関係をフィールドにおいて詳細に評価した点に本研究の独自性があり、既存の水文トレーサーに微生物解析を加えることにより、地下水流動系の主要構成要素である地下水の起源、流動経路に関する情報を得られる可能性が示された。

キーワード：滞留時間、微生物数、次世代シーケンス解析、微生物 DNA トレーサー、地下水流動プロセス