

環境メタゲノム解析を適用した河川環境の評価

有明高専創造工学科 内田 雅也

株式会社フレッシュ・ウォーター三池 西田 威、丸山 紘、吉田 亮介、石橋 幸介

Masaya Uchida (National Institute of Technology, Ariake College)

Takeru Nishida, Hiroshi Maruyama, Ryosuke Yoshida, Kosuke Ishibashi (Freshwater Miike K.K.)

1. はじめに

河川環境において細菌叢はそれぞれバランスを保ちながら存在し、河川環境の変化によって大きく変動する。この変化は最終的に藻類や魚類などの生物叢に影響を及ぼすと考えられる(図1)が、細菌叢と生物叢の詳細な関連性は不明な点が多い。

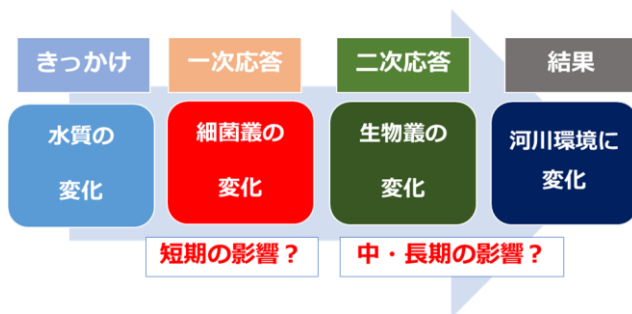


図1 河川環境変化のイメージ

これまでに諏訪川において次世代シーケンサー(NGS)を用いたメタゲノム解析を実施し、細菌叢と藻類叢の挙動について調査を実施している。その結果、細菌類と藻類は *Flavobacterium* 属と *Chaetosphaeridium* 属がキーストーン種である可能性を示唆している。そこで本研究では、変化の著しい河川環境保全に向けた評価手法の確立を目指すために河川の状況を考慮した採水を行うことでキーストーン種となりうる他の細菌族や藻類を探索し変化の著しい河川環境保全に向けた評価手法の確立を目指す。また、河川中の藻類は浄水事業において問題となる異臭や取水口のポンプへの悪影響に対して事前に対策を講じるために顕微鏡下で管理されていた。しかしながら顕微鏡観察による種の同定は経験則によるものが大きく客観的な

評価が難しい。そこで本研究で同定された藻類については分子生物学的手法を応用することによる同定の正確性向上や迅速化も行う。

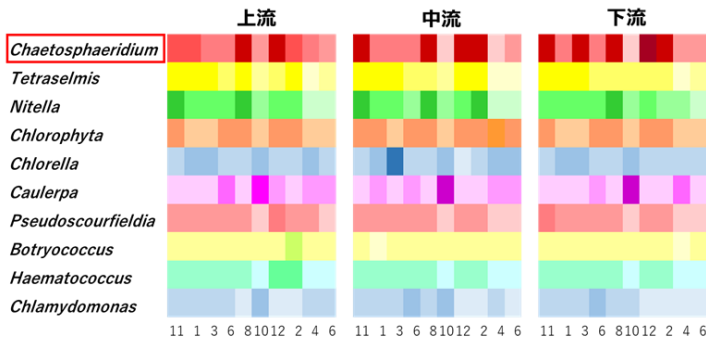
2. 実験方法

諏訪川の上流、中流および下流の3地点で2ヶ月毎に採水を行い、水試料を遠心し、得られた沈殿からゲノムDNA抽出をした。その後、NGSを用いたメタバーコーディング解析により各細菌と藻類の存在について調査した。次いで、得られた細菌叢と藻類叢に関して、マクロによる正準相関分析によって叢間の関連性の強さを表す冗長性係数を算出した。その後、関連性の強い属名を抽出するためマクロによるスパース正準相関分析を行った。これらの数値により細菌叢と藻類叢の関連性について評価した。

3. 結果と考察

今回の調査期間内で各地点、各季節の割合が最も多く検出された細菌類と藻類は *Flavobacterium* 属と *Chaetosphaeridium* 属であった(図2)。このデータを用いて細菌叢と藻類叢の関連性について正準相関分析を実施した結果、冗長性係数を算出した。算出した冗長性係数は、同地点、同採水月の数値より、採水地点及び測定月をずらして解析を行った数値のほうが比較的高い値を示した。このことから、細菌叢の変動は2ヶ月程度の時間を経て、下の流域の藻類叢が応答し、変化することが示唆された。しかし、プログラムの都合上地点を分けて解析する場合は細菌叢と藻類叢それぞれ最大4

(環境DNA分析：藻類上位10種)



(環境DNA分析：細菌類上位10種)

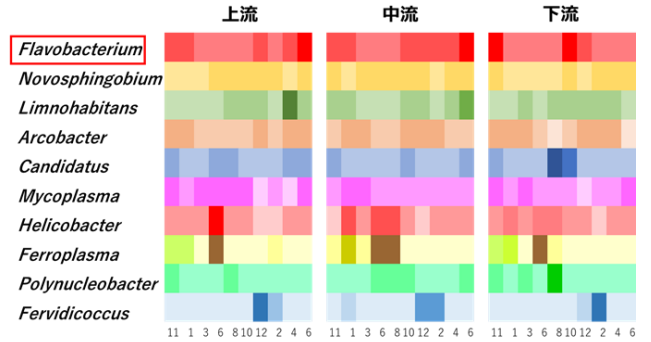


図2 検出された優先種

属しか選ぶことが出来ないことから、本解析において十分なデータ量でないため、高い冗長性係数が算出されたのではと考えた。そこで、関連性の高い属名を理論的に抽出するため、スパース正準相関分析を行い、その結果を表1に示す。その結果、各地点において細菌叢と藻類叢の関連性の高い属名を抽出することができた。これらの属同士は互いに影響を及ぼしあい、片方の存在量に変化が起これるともう片方も変化が起これることが示唆された。また、関連性の高い属名は必ずしも存在割合が属名とは限らないことが分かった。以上のことから、今回抽出した属は存在量が少なく環境に大きな影響を及ぼすキーストーン種であると考えられる。よって、これらの存在割合の変動を各地点で継続的に調査する必要があると考えられた。また、細菌叢と藻類叢の変動が高次の生物叢にどのように影響を及ぼすか調べることで新規河川環境評価法を確立できると考えられた。

4. 今後の予定

本研究において、諏訪川に存在する細菌叢と藻類叢のキーストーン種を同定することが出来た。今後は、これらキーストーン種と採水時の水質データとの関連性を明確化することを実施予定である。水質データとの関連性が明らかとなれば、水質の変化を事前に予測できる可能性があり、河川管理に大きく貢献できると考えられる。さらに本研究で同定できたキーストーン種を用いた河川環境評価手法をより迅速化するためにキーストーン種のPCRによる検出について検討を進める予定である。

【謝辞】

本研究は、有明広域産業技術振興会令和4年度地場産業振興支援研究によりご支援を頂きました。ここに記し心から御礼申し上げます。

表1 スパース正準相関分析結果

細菌叢(地点)	抽出した属名数	割合上位一属	藻類叢(地点)	抽出した属名数	割合上位一属
上流	101	<i>Polynucleobacter</i>	中流	40	<i>Caulerpa</i>
上流	97	<i>Mycoplasma</i>	下流	46	<i>Picocystis</i>
中流	87	<i>Geobacter</i>	下流	15	<i>Nannochloris</i>