

[自主研究]

浮遊細菌の構成種から見た埼玉県内河川の水質特性評価

渡邊圭司 池田和弘 柿本貴志 見島伊織 高橋基之

1 目的

淡水圏の浮遊細菌には、世界中の湖沼や河川で普遍的に見られる系統群が存在し、これらは淡水圏の物質循環において重要な役割を担っているものと考えられている。浮遊細菌の構成種は、物理化学的な環境パラメーター（例えばpH、水温、クロロフィルa濃度や有機物濃度など）に敏感に反応し、その組成が変化するため、新たな河川水質特性評価指標としてその有効性が期待される。

本研究では、河川における浮遊細菌の構成種の把握、および河川水質特性との関連性を明らかにし、新たな水質指標としての可能性を探ることを目的としている。昨年度までは、埼玉県内の10河川、15地点および1河川について隔月で採取した試料から、ろ過によるサイズ分画を取り入れた培養法により、浮遊細菌を検出してその種組成を調べた。本年度は、未ろ過試料について、次世代シーケンサーを用いた浮遊細菌を含む全細菌の網羅的菌叢解析を行った。また、これまでの研究成果を踏まえ、河川から検出される細菌の特徴と水質との関係性について考察した。

2 方法

埼玉県内河川から採取した河川水16試料について、200 mL程度を、直径47mm、孔径0.1 μmのポリカーボネート製メンブレンフィルター（Millipore）でろ過し、細菌をフィルター上に捕集した。フィルターを、ピンセットを用いて8つ折りにし、土壌細菌DNA抽出キット（FastDNA SPIN Kit for Soil, MP-Biomedicals）に入れ、付属のマニュアル従って細菌のDNAを抽出した。得られたDNAの濃度は、Qubitフルオロメーター（Invitrogen）を用いて測定を行った。16S rRNA遺伝子のV1-V2領域を対象として、次世代シーケンサーMiSeq（Illumina）による菌叢解析を行った。

3 結果

次世代シーケンサーによる埼玉県内河川水（下水処理水を含む）の細菌叢解析の結果を図1に示した。全ての試料で、Proteobacteria門、Bacteroidetes門、Actinobacteria門およびFirmicutes門の4門で、全リード数のおよそ90%以上を占めていた。畜舎排水の影響を受けていると考えられる試料では、Firmicutes門（特に*Clostridium*属）の全リード数に占める割合が高くなっていた。下水処理水の試料では、河川試料で

はほとんど検出されない特定の*Pseudomonas*属、*Undibacterium*属および*Flavobacterium*属に近縁なリードが多く含まれていた。河川水試料では、*Flavobacterium*属、*Limnohabitans*属、*Polynucleobacter*属、*Rhodoluna*属、IRD18C08クラスター、PRD01a001Bクラスター、acIクラスターに近縁なリードが多く含まれていた。

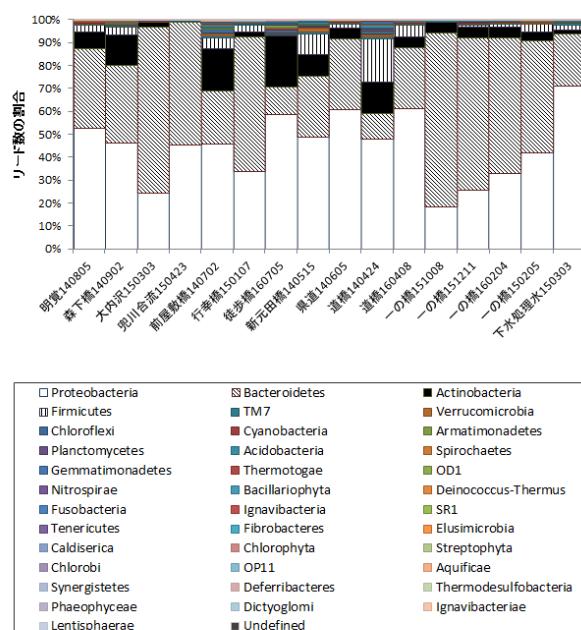


図1 次世代シーケンサーによる河川細菌叢の解析結果

4 まとめと今後の予定

自然界の淡水圏に存在する浮遊細菌は、単一の細胞で水の中を浮遊しているため、細胞のサイズが極めて小さい（0.7 μm以下）ことが特徴の1つである。一方、畜産排水や下水処理水など人為的な汚濁に関わる細菌の多くは、細胞のサイズが大きい凝集性を持つなどの特徴を有する。本研究結果は、全細菌を対象とした菌叢解析を行うことで、いくつかの細菌種が人為的汚濁の影響の指標となり得ることを示唆していた。本研究では定性的な解析を行ってきたが、今後はこれらの指標細菌の定量評価を行う予定である。