

令和 6 年 6 月 19 日現在

機関番号：82723

研究種目：基盤研究(B)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21H01445

研究課題名（和文）底質細菌群集は次世代の海岸環境指標になり得るか？ - 広帯域バイオセンシングの提案 -

研究課題名（英文）Can sedimentary bacterial communities be a next-generation coastal environmental indicator?

研究代表者

八木 宏 (YAGI, HIROSHI)

防衛大学校（総合教育学群、人文社会科学群、応用科学群、電気情報学群及びシステム工学群）・システム工学群・教授

研究者番号：80201820

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 13,400,000 円

研究成果の概要（和文）：日本沿岸の77箇所（北海道、鹿島灘・九十九里、有明海）から採取された底質（全330試料）に対し、本研究グループが提案している底質細菌群集DNA解析を適用し、底質細菌群集の「地域性」「空間構造」「時間変動性」を明らかにした。底質中の細菌群集は、解析対象範囲を変えること（zooming）によって全体像から細部構造まで階層的にその違いを表現できる多様性を持っており、広帯域型バイオセンサーとして必要な性能を有していることを確認した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

気候変動の海岸・沿岸環境への影響を把握するために、定量的でわかりやすい環境モニタリング手法が必要となっており、場の環境や物質循環に深く結びついた底質細菌群集のDNA解析に基づく新たな海岸・沿岸環境モニタリング手法を本研究課題では提案している。細菌相のモニタリングが実用化できれば、従来の物理・化学分析だけでは把握できなかった多様な海底環境の特徴や変化が検出可能な次世代型の高感度センサーとなる。

研究成果の概要（英文）：We applied the proposed DNA analysis of benthic bacterial communities to 330 sediment samples collected from 77 sites along the coast of Japan (Hokkaido, Kashima-Nada/Kujukuri, Ariake Sea) to clarify the "regional characteristics," "spatial structure," and "temporal variability" of the benthic bacterial communities. We confirmed that the bacterial community in the bottom sediment has the diversity to express the differences hierarchically from the whole image to the detailed structure by changing the range of analysis "zooming", and that it has the performance required for a broadband biosensor.

研究分野：海岸工学

キーワード：底質 細菌群集 沿岸域 DNA解析 環境指標 バイオセンシング 広帯域 気候変動

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

1. 研究開始当初の背景

2019年に発表されたIPCCの海洋・雪氷圏特別報告書では、21世紀中の海洋の水温上昇、酸性化の進行はほぼ確実とされた。強大な台風や集中豪雨などの増加も指摘されており、海面上昇による砂浜消失に加え、多様な沿岸環境への影響が懸念される。一方、海岸を所管する4省庁からは、温暖化予測に基づく適切な防衛水準の設定や順応的な砂浜管理とともに、「海岸環境モニタリングの強化」が示され、定量的でわかりやすい海岸環境モニタリング手法が必要となっている。底質中の細菌群集はその場の環境や物質循環に深く結びついていることから、本研究グループでは底質細菌群集のDNA解析に基づく新たな沿岸環境モニタリング手法を提案している（Sakami and Udagawa, 2021）。細菌相のモニタリングが実用化できれば、従来の物理・化学分析だけでは把握できなかった多様な海底環境の特徴や変化を検出できる高感度なセンサーとなる大きなポテンシャルがある。

2. 研究の目的

海岸・沿岸域の新たな環境指標として底質細菌群集DNA解析の適用をすすめる上で、その基礎となる底質細菌群集の「地域性」「空間構造」「時間変動性」などの基本情報が不足しており、また海岸・沿岸環境に適した細菌群集解析法の確立も課題である。そこで本研究では、対象域・期間の拡張や手法の高度化を通じて、底質細菌群集の広帯域型バイオセンサーとしての可能性を検討することを目的とした。

3. 研究の方法

(1) 対象海域及び現地調査

調査対象地点は、幅広く試料を採取するため北海道海域6エリア（太平洋沿岸、オホーツク海沿岸、留萌沿岸、古平漁港周辺、美国漁港周辺、寿都湾周辺）、本州海域2エリア（鹿島灘及び九十九里沿岸）、九州海域1エリア（有明海）における合計77地点とした（水域の内訳は、海岸域：37地点、沖合域：21地点、河口海域：1地点、河川：1地点、漁港：9地点、内湾域：8地点、図-1及び表-1参照）。全地点において表層堆積物（厚さ2cm、246試料）を採取するとともに、一部の地点では表層および底層水の採取、水質計による鉛直観測（水温、塩分、溶存酸素、クロロフィル、濁度等）を行った。なお、解析には本課題に先行して実施した科研費基盤研究B(17H03317)等において採取した試料(84試料)も併せて解析に用いている。

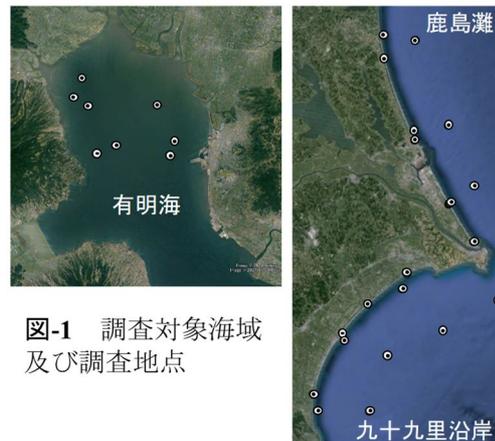


表-1 調査地点の種類と地点数

水域 \ 海域	Hokkaido (2021~2023)	Kashima & Kujyukuri (2017~2023)	Ariake sea (2023)
river(河川)	1	0	0
port(漁港)	9	0	0
inner bay(内湾域)	0	0	8
estuary(河口域)	1	0	0
offshore(沖合域)	8	13	0
nearshore(浅海域)	6	5	0
foreshore(前浜域)	18	8	0

(): Survey year

図-1 調査対象海域及び調査地点

(2) 環境項目の計測

調査地点の環境特性を把握するために、全地点の堆積物試料に対してクロロフィル *a* (Chl. *a*)、フェオ色素、有機炭素および窒素、安定炭素および窒素同位体比 (^{13}C , ^{15}N)、粒度組成、酸揮発性硫化物 (AVS) の計測を行った。また、一部の堆積物及び水試料については、溶存態無機栄養塩及び易分解性タンパク質の分析を実施した。

(3) 底質細菌群集組成の解析

各調査地点の堆積物試料から DNA を抽出し、次世代シーケンサーを用いて 16S rRNA 遺伝子 (V1-V2 領域) を対象としたアンプリコンシーケンス解析を実施した。また、得られた配列情報を元に、PICRUST2 を用いて予測メタゲノム解析を実施した。さらに、nMDS 解析を実施し、地点間の細菌叢および機能性の類似性を評価した。

(4) 底質細菌群集の炭素源資化(分解)能実験

底質細菌群集の炭素源資化特性を把握するために、北海道古平漁港の底泥試料について、底質から剥離した微生物を 31 種類の炭素源が収容されている 96 ウェルプレートに接種して各資化能を測定し、水温依存性及び季節変動の特徴を調べた。

4. 研究成果

(1) 対象海域の環境項目の基本特性

北海道海域調査地点における環境項目の基本的な特徴として、細粒成分、含水率、有機炭素量、Chl. *a*、AVS が漁港内で相対的に高く、海岸で低い傾向を示した。寿都湾や太平洋沿岸の海岸では、堆積物の ^{13}C や ^{15}N とともに直上水の塩分が低く、C/N モル比が高いことから、陸上有機物が寄与している可能性が大きい。また、寿都漁港内や沖合の堆積物では、 ^{13}C が -20‰ 付近の値を示していたことから、海洋植物プランクトン起源の有機物の寄与が大きいと考えられる。一方、鹿島灘・九十九里海域調査地点の特徴としては、鹿島灘より九十九里の方が全有機物量(強熱減量で測定)及び Chl. *a* 量が多い傾向があり、これは水深 10m 帯・水深 30m 及前浜域それぞれで共通していた。Chl. *a* 量は変動が大きいものの、水深 10 m 帯より水深 30 m 帯の方が 2~4 倍程度多いこと、また九十九里沿岸では 2019 年前後で有意に増加したことが特徴であった。Chl. *a* 量は生きた微細藻類の量を反映することから、海底表面の底生微細藻類の寄与が大きいと推定される。

(2) 底質細菌群集の沿岸域における特徴と広帯域型バイオセンサーとしての性能

空間構造や水域・海域間差の解像性：採取した 77 地点における全 330 試料から、170053 個の分類単位(種に相当)が検出された。全試料の細菌群集組成に対して nMDS 解析を行った結果、水域、すなわち海岸・浅海域、沖合、河口域、河川、内湾、漁港、により組成に違いがみられた。詳細を把握するために、対象水域を海岸・浅海域に絞り nMDS 解析を行った結果、海域(北海道、鹿島灘・九十九里)による違い、さらに同じ海域内でもエリア(北海道の寿都湾、オホーツク海沿岸、太平洋沿岸)による違いがあることがわかった。一方、対象海域を鹿島灘・九十九里海域に絞ると、水深帯(10m, 30m)による違い、さらに水深 10m 帯は鹿島灘と九十九里沿岸に明瞭な差異が存在するのに対し、水深 30m 帯は細菌群集組成の変動幅が大きくエリア間の差は小さい等の空間構造の詳細が示された。以上の結果は、底質中の細菌群集組成が海域、エリア、水域、水深帯によってそれぞれ固有の性質を持っていることを示している。このように底質中の細菌群集は、解析対象範囲を変えること(zooming)で全体像から細部構造まで階層的に違いを表現できる多様性(大容量データ)を持っており、広帯域型バイオセンサーとして必要な広いダイナミックレンジと高い解像度を有していることが確認された。

細菌群集組成の特徴： 全 330 試料の細菌群集組成をクラスター解析した結果，水域・海域ごとに底質細菌群集の組成の違いが明瞭に示された．有機物含量が高く還元的環境と推測される有明海湾奥部および漁港（北海道）においては，嫌気性細菌が多く属する Chloroflexi 門 Anaerolineae 綱や Proteobacteria 門 Deltaproteobacteria 綱が占める割合が高かった．一方，海岸・浅海域では好気性細菌が多く属する Actidobacteria 門や Proteobacteria 門，Alphaproteobacteria 綱の割合が高く，底質の酸化還元状態が細菌群集組成から推察された．また，細菌の分類群情報から推定された各細菌群集が持つ機能性についても，群集組成と同様に海域，エリア，水域，水深帯によって異なった特徴を示しており，代謝機能についてもその場による特徴を持つことが示唆された．

細菌群集組成による環境特性・変化の検出： 有明海湾奥部において 8 月（貧酸素水塊発達期）と 10 月（貧酸素水塊解消期）に採取した底質試料の比較から，対象エリアの環境変化を抽出することを試みた．8 月と 10 月に各 8 地点（図-1 参照）の底質細菌群集組成を合わせてクラスター解析を行ったところ，有明海湾奥部は，細菌群集組成の変化が大きい西岸海域（4 地点），組成変化が小さい筑後川河口前面と沖合海域（2 地点），組成変化が中程度の大きさを示す東岸海域（2 地点）の 3 グループに分類された．この結果は，これまで有明海で指摘されてきた湾奥部の環境構造（西岸と東岸の相違や筑後川の影響など）と整合しており，貧酸素水塊の発達・解消という環境変化に対する底質細菌群集の応答から各調査地点の環境特性やその変化が検出されることを示している．さらに鹿島灘・九十九里海域について 6 年間（2017～2022 年）にわたり継続的に採取された試料を解析し，細菌群集組成の経年変化や年間変動の把握を行った結果，細菌群集組成の変化の大きい年や季節変動の存在を確認し，細菌群集組成の時間変動から沿岸域の環境変化を検出できる可能性を示した．

（3）底質細菌群集の炭素源資化(分解)特性

漁港域について底質細菌群集の炭素源資化(分解)特性の詳細を明らかにすることを試みた．古平漁港内の 3 地点(漁港中央部，港口側北，港口側南)の底泥を用いて水温による炭素源資化活性への影響を評価したところ，港口側北，港口側南の 2 地点において 20℃ で有意に高い代謝活性が認められたのに対して，漁港中央部では 5℃ と 20℃ の差が小さかった．この結果は比較的狭い範囲(同じ漁港内)でも資化に関与する細菌群集の水温に対する生理的特性が空間的に異なる事を示唆している．また，季節変動については，港内よりも港口で変動が大きかったものの，地点間の資化性には高い類似性が認められた事から，港口の底泥中に含まれた資化に関わる細菌群集は変動しながらも，港内からの影響を常に受けていた可能性が示された．

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 宇田川 徹
2. 発表標題 有機物からみた浅海漁場の海底環境と其の変化 開放性砂浜海域：鹿島灘～九十九里の例
3. 学会等名 2021年日本ベントス学会・日本プランクトン学会合同大会
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	宇田川 徹 (UDAGAWA Toru) (00443391)	国立研究開発法人水産研究・教育機構・水産技術研究所(神栖)・主任研究員 (82708)	
研究分担者	大橋 正臣 (OHASHI MASAOMI) (70724988)	東海大学・生物学部・准教授 (32644)	
研究分担者	梶原 瑠美子 (KAJIHARA RUMIKO) (40702014)	国立研究開発法人土木研究所・土木研究所(寒地土木研究所)・研究員 (82114)	
研究分担者	稲葉 信晴 (INABA NOBUHARU) (20896253)	国立研究開発法人土木研究所・土木研究所(寒地土木研究所)・研究員 (82114)	

6. 研究組織（つづき）

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	伊藤 真奈 (ITO MANA) (60735900)	国立研究開発法人水産研究・教育機構・水産技術研究所(廿日市)・研究員 (82708)	
研究分担者	中村 隆志 (NAKAMURA TAKASHI) (20513641)	東京工業大学・環境・社会理工学院・准教授 (12608)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関