

河川および下水処理水を通じたサンゴ礁への陸域微生物の流入とサンゴへの感染の実態評価

Importation of terrestrial microorganisms into corals and coral reef environment through rivers and sewage effluent

琉球大学熱帯生物圏研究センター 助教 伊藤通浩

(研究計画ないし研究手法の概略)

【目的】

サンゴ礁は世界的に衰退の一途を辿っている。その要因の一つとして陸域の土壌や栄養塩のサンゴ礁への流入が挙げられる。加えて、近年、人畜の腸内細菌や土壌真菌と同一種とみなされる微生物がサンゴの病原菌であることが示され、陸域を起源とする微生物のサンゴ礁への悪影響が懸念されるようになった。一方で、サンゴ礁に実際に流入した陸域起源微生物のサンゴへの感染を示した例はなく、その悪影響は推測の段階である。そこで、本研究では、i) どのような微生物が実際に河川や下水処理水を通じてサンゴ礁に流入しているのか、ii) それらの中に当該海域のサンゴに感染した微生物が見出されるか、iii) 特にサンゴの病変部に陸域起源微生物が感染しているか、を検証することを目的として、サンゴ礁と、当該海域に流入する河川の流域および下水処理水の微生物の分布と動態を評価する。

【研究手法の概略】

1) 対象フィールドとその特徴 (図1)

沖縄県本部町渡久地港地先の海域に着目した。沖縄島、瀬底島および離礁群に囲まれた遮蔽的な海域の中の離礁「ナガゾネ」を主要モニタリング定点に選定した。本離礁は付近に下水処理場(本部町浄化センター)の放流水と2つの河川(満名川・大小堀川)の流入があり、陸域の影響に常時曝されている。サンゴ礁海域に流入した陸域起源の微生物群がサンゴに定着するか否かを検証するのに好適である。併せて、本部町浄化センターの放水口付近、および満名川・大小堀川の河口域を定点とした。

また、海域の対照定点として、瀬底島南西の「瀬底南」を選定した。本定点は東シナ海の外洋に面した開放的環境に位置する。沿岸には河川の流入がなく、陸域の影響が比較的軽微である。

2) 対象フィールドからのサンプル採取とサンプル処理

「ナガゾネ」地点およびその周辺海域からは、2017年6月、2018年3月および2018年4月の計3回、琉球大学瀬底研究施設の船「ユーフィリア」に乗船し海水サンプルを採取した。当初、2017年秋季および冬季でのサンプリングを計画していたが、2017年秋季から冬季にかけては台風の襲来等により本部町沿岸域の天候および海況がサンプリングに不適な日が多数であり、2回目のサンプル採取が2018年3月まで遅延した。海水のサンプリングにあわせ、海水採取の翌日に、沖縄県本部町浄化センターの協力のもと、当該浄化センターの放流水を採取した。採取対象のサンゴは、ナガゾネ地点において優占し、病変を伴う群体を容易に取得できるエダコモンサンゴとした。河川の微生物叢は降雨により大きく変化すると予想されたことから、河川水の採取は、晴天時(2018年3月)と降雨時

(2018年4月)に行った。



図1 対象フィールドとその特徴.

3) 先端DNAシーケンサーを用いた微生物群集の高解像度種組成解析

下記の手順により実施した。i) 16S rRNA遺伝子V5-V6領域を、各サンプル由来のメタゲノムDNAをPCRの鋳型に、784Fおよび1061Rのユニバーサルプライマーセットをプライマーに用いてPCR増幅した。ii) 増幅産物を、琉球大学が所有する先端DNAシーケンサーMiSeqにより塩基配列解析した。iii) 各配列の由来菌種を公知データベースにより推定するとともに、各配列のサンプル別頻度を求めた。

(実験調査によって得られた新しい知見)

ナガゾネ海域から採取したエダコモンサンゴの健全枝組織中に存在する細菌群の菌種組成の代表例を図2に示した。一つの色は一つの細菌の種に相当するOTU (Operational taxonomic unit)を表す。本サンプルにおいても、サンゴ共生細菌として報告がある*Endozoicomonas*属細菌に近縁なOTUが優占していた。一方で、ヒトやその他動物の常在菌および病原菌として知られる*Neisseria*属細菌に近縁なOTUが各サンプルとも10-15%の頻度で存在していた。申請者は以前にも本海域の別種のサンゴの共生細菌叢を解析してきたが、今回初めて*Neisseria*属細菌に近縁なOTUを見出した。これらはエダコモンサンゴの見た目健全な枝を解析したものであるが、ごく近隣には病変を伴ったエダコモンサンゴ群体が棲息していた。本OTUが病変を伴うサンゴ組織から検出されるか否かを検討する必要がある。

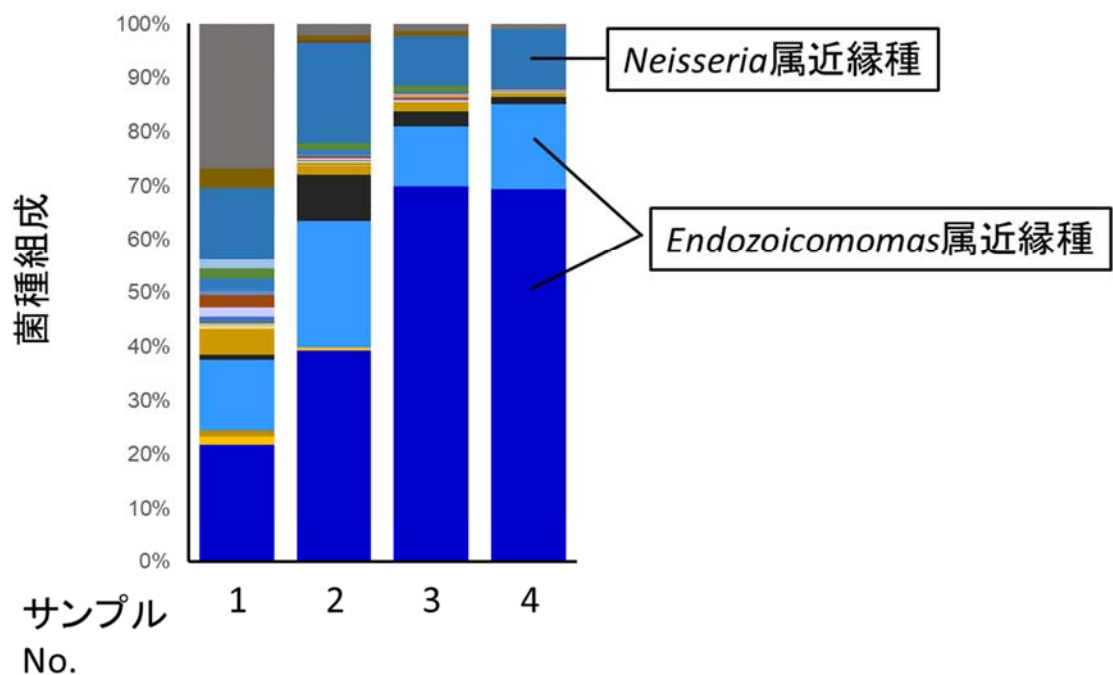


図2 ナガゾネにおけるエダコモンサンゴ組織中の細菌叢

病変を伴うエダコモンサンゴの組織共在細菌叢、下水処理水および河川水等の陸域由来の微生物群、それらが流入する周辺海域の細菌叢については現在解析中である。

(発表論文)

2018年7月の日本微生物生態学会沖縄大会の市民公開シンポジウムにて発表予定である。