

微生物叢解析による干潟底泥中の微生物機能と底質環境特性

沿岸域環境科学教育研究センター 教授 滝川 清
熊本大学 大学院自然科学研究科 中野 光暁
北京大学 教授 湯 岳琴
熊本大学大学院自然科学研究科 准教授 森村 茂
熊本大学大学院自然科学研究科 教授 木田 建次
大学院先導機構 特任助教 増田 龍哉

研究の目的：有明海は九州西部に位置しており、我国の干潟総面積の約 40%に及ぶ広大な干潟が発達した大型閉鎖性内湾である。その干潟には多種多様な生物が生息し、食物連鎖を通じた物質循環がバランス良く効率的に行なわれることで高い浄化機能を有している。なかでも、微生物は自然環境における重要な分解者であり、好氣的環境と嫌氣的環境が複雑に変化する干潟においては、好気・嫌気性の微生物が協力して有機物を分解することで浄化機能に寄与していると考えられる。しかしながら干潟に生息する微生物叢に関する知見は殆ど得られていない。本研究は、干潟底泥中の微生物叢の分析手法を開発するとともに、粒度組成が異なる 2 つの自然河口干潟を対象に、季節変化および標高差の異なる干潟底泥の微生物叢を解析し、干潟に生息する微生物叢の機能と干潟環境特性を明らかにすることを目的としている。

研究内容：(1) 調査対象干潟及び調査内容：白川河口干潟（砂質）及び緑川河口干潟（泥質）において、潮上帯付近（上部）と潮間帯（下部）のそれぞれ 2 箇所、2008 年 5 月と 9 月に調査を行った。調査内容は、微生物、地盤高、底質（粒度組成、強熱減量、酸化還元電位）、水温、pH、塩分濃度で、微生物と強熱減量は表層 5 cm の底泥を採取し、クーラーボックスで氷冷したものを試験室に持ち帰った後、分析を行なった。白川河口の上部はハクセンシオマネキ、下部はハマグリが生息している場所で、中央粒径が約 0.15mm の砂質干潟である。緑川河口の上部はチゴガニ、下部はヤマトオサガニやムツゴロウが生息している場所で、中央粒径が約 0.02mm の泥質干潟である。酸化還元電位から判断して、白川河口は緑川河口と比較して好氣的であり、有機物濃度は低いことが確認できた。(2) 微生物叢分析方法と分析結果：干潟底泥中の微生物叢を把握するために、クローン解析により分析を行った。干潟底泥サンプルから Fast DNA SPIN Kit for Soil (Q-BIO gene 社) を用いて DNA を抽出し、全 Bacteria の 16S rRNA 遺伝子に対するプライマー (Eu27F/Eu518R) を用いて PCR (Polymerase Chain Reaction) を行った。得られた 16S rRNA 遺伝子断片を大腸菌にクローン化し、遺伝子ライブラリーを構築した。16S rRNA 遺伝子ライブラリーの中から、1 サンプルにつき約 20 クローンを任意に選択し、塩基配列を決定した。得られた塩基配列をデータベースに照合することで、生息する微生物の種類を同定した結果、*Alphaproteobacteria* 門は上部で、*Gammaproteobacteria* 門は下部で多く見られた。両干潟の下部、白川と緑川では緑川で嫌氣的細菌が優占していることが明らかになった。嫌気性細菌で硫黄代謝において重要なはたらきをする硫酸還元菌に着目すると、白川河口の上部では硫酸還元菌の近縁種は見られなかった。しかし、白川河口の下部、および緑川河口の上部と下部では硫酸還元菌の近縁種が検出された。硫酸還元菌は嫌気性細菌であるので、好氣的な白川河口の標高の高いサンプルでは数が少なく今回のクローン解析では検出できなかったと考えられる。緑川と白川と比較すると、緑川において硫酸還元菌に近縁な微生物が多く検出された。

主要な結論：(1) 干潟底泥中の微生物叢の分析方法を初めて開発するとともに、(2) 砂質干潟である白川の河口干潟は泥質干潟である緑川河口の干潟と比較して、好氣的な環境であり、有機物濃度は低いことが確認できた。(3) クローン解析により微生物叢を比較した結果、上部と下部では下部で、白川と緑川では緑川で嫌氣的細菌が優占していることが明らかになった。また、硫酸還元菌については、泥質干潟である緑川で多く検出された。今後も調査を継続し、季節変化等も明らかにする予定である。