PR0164

国内成層型湖沼における微生物多様性の時空間変動

○平山耕太郎[1]、砂村倫成[1]、石水浩喜[1]、大音周平[1]、板井啓明[1]
（[1]東大・理・地惑）

水圏のバクテリア種組成解析は、次世代シーケンサーの普及により、種組成と時空間の解像度が飛躍的に増加した。その結果、群集組成データは物理化学データと近い時空間分解能で得られるようになったが、両者の関係解析は、水温、pH、DO、塩分、栄養塩などに限定された事例が多い (例えば Javad S. et al., 2021)。本研究では、温度成層が形成される国内 9 湖沼の季節別サンプリングから取得した 16S rRNA 遺伝子配列に基づき、バクテリア群集の α 多様性 (絶対的多様性, 種数等) と、湖盆間および湖盆内での β 多様性 (群間での相対的多様性) を評価した。また、これらの多様性指数と生物必須微量元素を含む物理化学データとの関係性を統計解析した。

2021 年 3-4 月、6 月、8 月に長野県の中綱湖、木崎湖、福島県の桧原湖、小野川湖、山梨県の山中湖、河口湖、西湖、精進湖、本栖湖で湖水を採取した。湖水は深度別に採水し、DNA 解析用試料は表水層と深水層の両方から採取した。16S rRNA 遺伝子配列は、現地で水試料中の粒子をカートリッジフィルター (Sterivex-GP ϕ0.22 μm) 上に濾過濃縮した試料を用いた。濾過した試料に現場で RNAlater™ (Thermo Fisher Scientific) を添加後、冷蔵して実験室に持ち帰り冷凍保存した。フィルター上に濾過濃縮された粒子中の DNA を SDS 溶菌後、シリカメンブレン法により抽出。精製 (DNeasy, QIAGEN) し、SSU rRNA 遺伝子の v4,v5 領域を PCR により増幅後、index 配列とアダプター配列を付与し、ライブラリーを作成した。PCR 産物は次世代シーケンサー (300PE, MiSeq イルミナ社) により両端300base の DNA 配列を取得し、得られた配列に対し、Qiime2-DADA2 パイプラインにより Amplicon Sequence Variant (ASV：種に相当)を取得し、SILVA v1.3.2 により分類を行った後、R を用いた解析を実施した。湖水中の元素濃度は、石水 (2022, 東京大学修士論文) での計測値を解析に用いた。

バクテリアを系統分類した結果、各試料の大半は上位 7 門 (Proteobacteria、Bacteroidetes、Actinobacteria、Cyanobacteria、Verrucomicrobia、Planctomycetes、Chloroflexi) で占められていた（83-100%）。ASV を基に α 多様性指数 (Chao1、Shannon) を計算した結果、Chao1 は 219.4±72.7、Shannon は平均 3.976±0.451 の値であった。裏磐梯湖沼群では、各 α 多様性指標値が仁科三湖、富士五湖に比べ有意に異なり、多様性が高いことが示された。各 α 多様性指数と各環境・化学パラメーターについてピアソン相関係数を計算した結果、Rb と正の相関 ($p < 0.01$)、Sb および DO と負の相関が認められた ($p < 0.01$) 。湖水化学成分に対する主成分分析の結果、(1) Rb と Sb は地質の違いを反映していること、(2) 地質の影響と直交する因子はアルカリ度や pH であること、が明らかになった。

ASV を基に β 多様性指数 (Bray-curis 距離) を計算した結果、表層と深層間の Bray-curis 距離は、春季は平均で 0.323、夏季は平均 0.870 であり、成層発達に伴う両層間での β 多様性増加が示された。この傾向は、多次元尺度法 (MDS) 解析とも整合的であった。湖水化学組成データベースに関して、各パラメーターに関してサンプル間でのユーグリッド距離を計算し、両者の間で Mantel-test を実施した結果、β 多様性と pH との間に有意な相関が認められた ($r = 0.18$, $p = 0.0072$, 9999 runs)。本研究の結果から、バクテリア群集が湖盆間・湖盆内で多様性を有し、それらが湖水の物質循環と関係している可能性が示唆された。

Spatio-temporal variation of bacterial community in thermally stratified Japanese lakes

*K. Hirayama[1], M. Sunamura[1], H. Ishimizu[1], S. Oto[1], Y. Takahashi[1] and T. Itai[1] ([1]Dept. Earth & Planetary Sci. Univ. Tokyo)