

揖斐川流域を対象とした河床堆積物中の微生物群集構造解析評価

岐阜大学大学院 非会員 ○李 杰鋒 学生会員 小林 慎也
 岐阜大学流域圏科学研究センター 非会員 廣岡 佳弥子 正会員 李 富生

1. はじめに

河川には様々な微生物が存在し、河川水質と密な関係を有している。河川水相での浮遊微生物は河川流域からの流入水に含まれる微生物の混入によりその種と密度が変化するのに対して、堆積物中に生息している微生物は堆積物が常に河川水と接しているため、流下過程での河川水質（有機炭素濃度、窒素やリンなどの栄養塩ならびに有毒有害物）の変化の影響をより強くうけており、その組成や群集構造が変化すると考えられる。しかし、対象流域においてこのような報告がないため、流下過程でのこれらがどのように変化しているかはわかっていない。

本研究では揖斐川流域を対象とし、PCR-DGGE法を用いて河床堆積物中の微生物群集構造の解析を行い、それらの流下過程での変化を評価した。

2. 対象流域および方法

2.1 対象流域

揖斐川流域（岐阜県）を調査対象とし、河床堆積物中の微生物群集構造の評価を行った（図1）。揖斐川は流域面積1,840 km²、流路延長約121 kmにおよぶ中部地方の主要河川のひとつである（国土交通省木曽川上流事務所URL：<http://www.cbr.mlit.go.jp/kisojyo/index.html>）。調査地点は本川上に7地点（上流域：St. A, St. D~St. G, 中流域：St. H, 下流域：St. I）、上流主要支川に2地点（St. B, St. C）の計9地点とした。なお、St. A~St. Cの3地点は徳山ダムの上流に位置し、St. D~St. Gの4地点はダム放流口からダムの下流約3km以内に位置している。

2.2 調査および分析方法

調査は2009年9月と11月に行い、各地点の現地水質項目として、河床堆積物の直上水相のpH、電気伝導度（EC）、溶存酸素濃度（DO）、酸化還元電位（ORP）の測定を行った（表1）。河床堆積物の採取は塩化ビニル製円筒管（直径0.3 m、高さ0.4 m）を用いて行った。円筒管を河床に固定し、その管内で堆積物を攪乱させ浮遊させることで濃度が均一の混合液を採取した。その際に採取地点の流速（0.5 m/s以下）と水深（0.4 m以

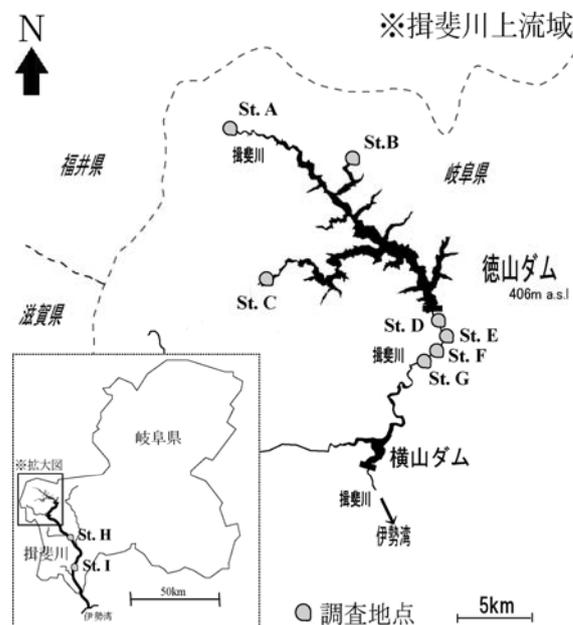


図1 対象流域と調査地点

下）も測定した。採取した水相での試料水は実験室に持ち帰り、溶存態有機物（DOC）と紫外吸光度（260nm）の分析も行った。河床堆積物の混合液は、約10mLを遠心分離によって固液分離し、沈降物をDNA抽出に供した。DNA抽出物をテンプレートとして真正細菌の16s-rRNA遺伝子を対象としたユニバーサルプライマーセット（gc341f-907r）¹⁾を用いてPCRを行い、PCR産物を変性剤濃度勾配ゲル電気泳動法（DGGE）に供した¹⁾。DGGEの条件は変性剤濃度勾配を20%~50%、電圧を160V、泳動時間を10時間とした。

3. 結果および考察

各調査地点における水温、pH、EC、DO、ORP及びDOCの値を表1に示す。9月と11月の両調査の水温は9.3~10°C、pHは7.16~9.3、ECは6.46~10.3mS/m、DOは12.9~14.03mg/Lの範囲であり、両月の調査において流下方向における調査地点間での各水質項目の値の差は小さかった。それに対し、DOCは、9月のダム上流3地点（St. A - St. C）で値が小さくダム下流4地点（St. D - St. G）で高かった。11月は上流から下流までの全地点でほぼ同じの値を示し、明確な変化が見られなかった。

表1 調査地点の河口からの距離と主な基礎水質 (# : 河口からの距離, DOC は各月の平均値, — : 測定せず)

調査地点	距離#	2009年9月						2009年11月					
		水温 °C	pH	DO mg/L	EC mS/m	ORP mV	DOC mg/L	水温 °C	pH	DO mg/L	EC mS/m	ORP mV	DOC mg/L
St. A	109	14.3	8.02	9.22	6.72	211	0.512	9.60	7.30	12.9	6.46	220	0.512
St. B	106	18.8	7.90	7.86	10.5	204	0.359	—	—	—	—	—	—
St. C	110	19.2	7.72	7.72	7.88	199	0.355	—	—	—	—	—	—
St. D	94	16.4	7.04	9.42	7.04	253	0.756	9.90	7.20	14.0	7.52	258	0.672
St. E	93	16.4	7.02	8.50	6.93	267	0.735	10.0	7.24	14.0	7.30	233	0.662
St. F	92	16.6	7.02	8.42	6.93	227	0.705	10.0	7.48	13.3	7.29	280	0.651
St. G	91	17.2	6.72	7.74	7.07	212	0.742	9.80	7.16	13.7	7.25	227	0.643
St. H	54	—	—	—	—	—	—	10.0	9.26	13.7	7.93	198	0.538
St. I	27	—	—	—	—	—	—	9.30	7.36	12.9	10.3	227	0.628

図2と図3に9月と11月の河床堆積物のPCR-DGGE結果を示す。9月でa, b, c, dおよびeで印されたように, 同種のバンドが全地点に現われた(図2)。また, 11月で, 上流域で現れたfとgのバンドはSt. HとSt. Iにも現れ, h, iおよびjのバンドは読み取ることができなかった。この中流と下流に位置する両地点St. HとSt. Iのレーン内で明らかにバンドの増幅量に差が見られ, 目立っているf, gなどの数本のバンドはこれらの両地点で優占してきている微生物種を表していることが考えられる。すなわち, 上流に比べて中流と下流の河床堆積物の微生物相は単純になりつつあることが示唆された。

全体的には今回の調査地点における河床堆積物のバンドパターンがほぼ類似し, 上流と下流で僅かに異なる特有のバンドの存在が示された。今後は, 他の時期の堆積物に対する微生物群集構造解析を行うとともに, 特有のバンドについて詳細な解析が必要である。水質との関係については, ここに示す水質データのみで評価はできないが, 表1に示されているように, 基礎水質項目も上流と下流で有意な差はなかった。

沼田ら²⁾は揖斐川上流のSt. A~St. Gの河床材の生物膜について, 本研究と同様にPCR-DGGEを行い, 調査地点による微生物群集構造の差が小さいことを示している。

4. おわりに

本研究では, 揖斐川流域を対象とし, PCR-DGGE法を用いて河床堆積物中の微生物群集構造の解析を行った。ダムを含む上流域では微生物群集に有意な差は見られなかったが, 上流に比べて中流と下流の河床堆積物の微生物相は単純になっていることが示唆された。

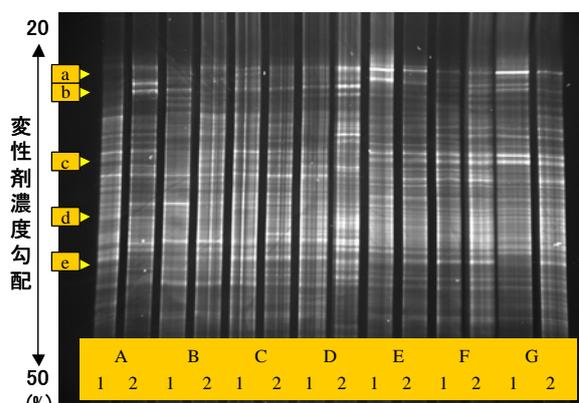


図2 DGGEバンドパターンの変化(9月)

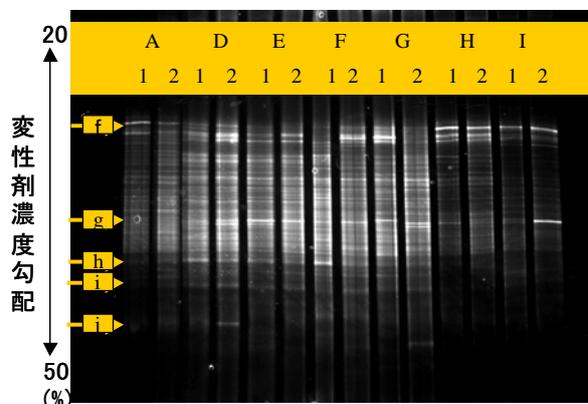


図3 DGGEバンドパターンの変化(11月)

【参考文献】

- 1) Weiburg W.G., Bams S.M., Pelletier D.A. and Lane D.J.: 16S Ribosomal DNA Amplification for Phylogenetic Study, *Journal of Bacteriology*, Vol. 173, pp. 697-703, 1991
- 2) 沼田高明, 廣岡佳弥子, 李富生, 平成21年度土木学会中部支部研究発表会要旨集(投稿中).

謝辞

本研究はふるさとぎふ再生公募事業(岐阜県)の一環として行い, (独)水資源機構からの協力を頂いた。ここに記して謝意を示す。