

第 234 回雑誌会

(Nov. 4, 2015)

(1) Influence of seawater intrusion on microbial communities in groundwater

Unno, T., Kim, J., Kim, Y., Nguyen, S. G., Guevarra, R. B., Kim, G. P., Lee, J. H. and Sadowsky, M. J.

Science of the Total Environment, **532**, 337-343 (2015).

Reviewed by K. Teranishi

韓国南部に位置する済州島では、海水流入による地下水の塩性化が深刻な問題となっている。地下水の塩性化は、地下水の電気伝導度を測定することによって、海水流入の影響を調査している。しかしながら、海水流入による地下水中の細菌叢への影響は明らかにされていない。そこで本研究では、次世代シーケンサーを用いて細菌叢を解析し、海水流入に伴う地下水中の細菌叢への影響を調査した。試料は、済州島内陸部の海水による影響のない地下水（地下水原水）、沿岸域における灌漑用の地下水（2 地点）、ならびに塩性化が進行している養殖用の地下水と、その近傍の海水とした。採取した試料から細菌の DNA を抽出し、次世代シーケンサーを用いて 16S rRNA の菌叢解析を実施した。得られた細菌の遺伝子配列情報は、遺伝子配列の類似度 97% で分類し、分類単位として Operational Taxonomic Units (OTUs) で表した。得られた OTUs は既存のデータベースと照合し、門、科、属レベルで細菌を同定した。さらに、地下水と海水から共通して検出された OTUs を対象として、クラスター解析を実施し、各地点の細菌叢の類似性を評価した。

各試料中の細菌叢を調査した結果、地下水原水では、地下水中から高頻度で検出される *Mycobacteriaceae* 科が優占して検出された。一方で、養殖用の地下水と海水からは、共通の細菌である *Flavobacteriaceae* 科が優占的に検出された。また、養殖用に使用される地下水からは、海洋細菌である *Parvularculaceae* 科が検出された。これらのことから、異なる地点から採取した試料中の細菌叢を解析することによって、環境域特有な細菌による影響を把握できることが明らかとなった。次に、クラスター分析によって、各試料中の細菌叢の類似性を評価したところ、養殖用の地下水と海水、ならびに地下水原水と灌漑用の地下水は同一のクラスターに形成された。各試料から検出された OTUs の種類を比較したところ、養殖用地下水の OTUs と海水中の OTUs では、6.7% が共通していた。その一方で、地下水原水と灌漑用の地下水からは、海水中の OTUs と共通して検出された OTUs の割合は極めて低かった (1.2%, 0.4%, 0.3%)。また、地下水原水から、灌漑用の地下水と共通した OTUs が多数検出されたのに対し (55.7%, 53.2%)、養殖用の地下水と共通した OTUs の割合は低かった (29.8%)。以上のことから、次世代シーケンサーを用いた遺伝子解析によって、海水流入に伴う地下水中の細菌叢への影響を把握できることが明らかとなった。

(2) Microbiome characterization of MFCs used for the treatment of swine manure

Vilajeliu-Pons, A., Puig, S., Pous, N., Salcedo-Dávila, I., Bañeras, L., Bañeras, D, M., Colprim, J.

Journal of Hazardous Materials, **288**, 60-68 (2015).

Reviewed by T. Hirai

微生物燃料電池 (Microbial fuel cells, MFCs) は、都市下水や工業排水に含まれる有機物や窒素を除去するとともに発電を行うことが可能である。現在、豚糞を原料とした MFCs の知見は、電気・化学的性能の最適化に関する研究に限られており、MFCs によって豚糞を処理した際の微生物群集構造は解析されていない。そこで本研究では、豚糞の上清を原料とし、構造が異なる 2 つの MFC における微生物群集構造を特徴付け、各 MFC の処理能力と発電量の関係を調べた。MFC の装置は、次の 2 通りとした：C-1、硝化と脱窒が異なる場所で行われる MFC；C-2、硝化と脱窒が同時に行われる MFC。運転期間は、150 日間とし、C-1 と C-2 のアノードとカソードの間には、それぞれ陰イオン交換膜と陽イオン交換膜を設置した。また、C-1 のアノード排水は、曝気を行う外部リアクターを経由してカソード区画へ流入させた。C-2 のカソード区画は、リアクターの中央から酸素の供給を行った。アノード、カソード、および外部リアクターで採取したサンプルの微生物群集構造は、PCR-DGGE 法と FISH 法によって解析した。

FISH 法と PCR-DGGE 法によって、C-1 と C-2 のアノードにおける微生物群集構造を解析した結果、有機化合物を分解する *Clostridium disporicum* と発電を行う *Geobacter sulfurreducens* が検出された。その一方で、C-1 と C-2 のカソードで検出された菌は、Bacteroidetes 門、Chloroflexiaceae 門、および Proteobacteria 門に属する独立脱窒菌であり、群集構造に多様性が認められた。C-1 と C-2 における MFC の有機物除去速度は、それぞれ $2.09 \pm 0.76 \text{ kg m}^{-3} \text{ d}^{-1}$ と $2.02 \pm 0.57 \text{ kg m}^{-3} \text{ d}^{-1}$ であった。また、窒素除去速度は、それぞれ $0.16 \pm 0.06 \text{ kg m}^{-3} \text{ d}^{-1}$ と $0.11 \pm 0.05 \text{ kg m}^{-3} \text{ d}^{-1}$ であり、顕著な差は見られなかった。一方で、C-2 のカソードにおける硝化速度 ($1.26 \pm 0.29 \text{ kg m}^{-3} \text{ d}^{-1}$) は、C-1 の外部リアクターにおける硝化速度 ($0.26 \pm 0.06 \text{ kg m}^{-3} \text{ d}^{-1}$) よりも大きかった。しかしながら、C-2 のカソードでは、 $0.31 \pm 0.14 \text{ kg m}^{-3} \text{ d}^{-1}$ の速度で亜硝酸イオンが蓄積されていた。C-1 の外部リアクターと C-2 のカソードにおける亜硝酸酸化細菌の割合は、それぞれ 2~10% と 2% であった。また、C-1 と C-2 の NH_3 濃度は、それぞれ $17 \pm 6 \text{ mg/L}$ と $62 \pm 24 \text{ mg/L}$ であった。これらのことから、C-2 のカソードでは、陽イオン交換膜によって、 NH_3 濃度が増加し、亜硝酸酸化細菌の増殖が阻害されたと考えられる。

(3) Mechanisms for photoinactivation of *Enterococcus faecalis* in seawater

Sassoubre, L. M., Nelson, K. L., Boehm, A. B.

Applied and Environmental Microbiology, **78**, 7776-7785 (2012).

Reviewed by M. Uno

沿岸域におけるふん便汚染の指標細菌として、大腸菌や腸球菌が広く用いられている。しかしながら、水中の指標細菌の生存は、塩分濃度や溶存酸素量、特に日光照射の環境変化に影響を受ける。そのため、昼夜間で指標細菌の細菌数が大きく変動することが報告されている。水中の細菌は日光照射を受けて不活化し、そのプロセスは次の2つに大別される：①UVB(280~320 nm)によるDNAの損傷、②水中の酸素分子が光増感剤の光吸収に伴って変化した活性酸素による、細胞膜の酸化・損傷。しかしながら、各プロセスに焦点をおいて、海水中の腸球菌の動態を調査した研究事例はない。そこで本研究では、*Enterococcus faecalis*を対象として、水中の溶存酸素量の変化による日光不活化の動態を比較した。アメリカカリフォルニア州のビーチで採取した海水を用いて、有酸素または無酸素条件下の試料200 mLを実験槽に貯留させ、*E. faecalis*を接種した。その後、疑似日光を照射し、一定時間ごとの腸球菌数を測定した。また、日光照射による腸球菌の酸化ダメージを確認するために、23S rRNA遺伝子を対象としたqPCR法、細胞膜透過性色素であるプロピジウムモノアジド(PMA)を用いたPMA-qPCR法、および代謝活性のある細胞に由来するATPを定量し生菌数を決定する、生物発光法を用いた。

遮光条件下における腸球菌の不活化率は、有酸素と無酸素実験槽においてそれぞれ、 $-0.008 \text{ m}^2/\text{kJ}$ と $-0.001 \text{ m}^2/\text{kJ}$ であった。その一方で、日光照射条件下における腸球菌の不活化率は、有酸素と無酸素実験槽においてそれぞれ、 $-0.3 \text{ m}^2/\text{kJ}$ と $-0.05 \text{ m}^2/\text{kJ}$ であり、有酸素条件下において有意に増加した($p < 0.05$)。このことから、日光照射による腸球菌の不活化には水中の溶存酸素も寄与していることが示唆された。qPCR法によって腸球菌の計数を行ったところ、有酸素実験槽における腸球菌の生残率は、日光照射量の増加に関わらず一定であった。また、PMA-qPCR法によって腸球菌の計数を行ったところ、腸球菌の生残率は、無酸素条件下と比較して、有酸素条件下において有意に減少した($p < 0.05$)。さらに、生物発光法を用いて腸球菌の計数を行ったところ、有酸素条件下において、日光照射による腸球菌の生残率が最も低下した。以上の結果から、日光照射による腸球菌の不活化は、UV-BによるDNAの直接的な損傷と比較して、水中の酸素を介した細胞膜の損傷による影響を受けやすいことが示唆された。