

シチズンサイエンスのチカラ ～市民とともに日本全国の山の健康状態を調査～

福井県立大学 生物資源学部 助教

牧野 奏佳香

京都大学フィールド科学教育研究センター 教授

徳地 直子

大坂産業大学 准教授

赤石 大輔

京都大学フィールド科学教育研究センター 研究員

駒井 幸雄

1. シチズンサイエンスとは

シチズンサイエンスとは、一般市民によって行われる科学的活動のことであり、学術専門家や研究機関と協働で行われることが多い¹⁾。学術専門家や研究機関と一般市民、公共団体、企業等が共に科学研究に取り組むことで、その幅や可能性を広げることが期待できる。日本では高度経済成長期前後から行われ始め、近年生態学分野などで多く用いられている^{2~4)}。

従来、多くの科学研究は専門家のみによって行われてきた。しかし、市民の力を借りることで専門家だけでは知ることが難しい現地の情報や長期・広域のビッグデータを集めることができ^{5~7)}、科学研究の発展に繋がる。市民にとってもシチズンサイエンスは、科学に触れる機会や科学研究に貢献する充実感、学習の楽しみなどを得る機会となる⁸⁾。専門家と市民のよい関係性・枠組みを作っていくことができれば、科学や社会で好循環が生まれ、両者の発展に繋がると期待される。

2. 市民とともに日本全国の山の健康状態を調査

京都大学フィールド科学教育研究センター(京大フィールド研)は、株式会社モンベル((株)モンベル)と協働で2022年に『山の健康診断プロジェクト』(図1)を実施した。これは市民参加型のプロジェクトで、日本全国の参加者に山地溪流水の採取を依頼し、水質結果を基に山の健康状態を検討したものである。

森林には様々な物質が大気から降下し、あるいは母岩から風化して、森林内で循環した後川に流れ出る。そのため、森林の状態(例:大気汚染や攪乱の影響、地域の特性等)を広域で知る手法として、山地溪流水水質を調査することは有効であり効率的である。

しかし、広範囲の山地溪流水水質調査には膨大な時間と労力がかかるため、全国レベルの調査は過去に数例しかない^{9~11)}。そのうち木平ら¹¹⁾が2003年に行った調査が最も新しく、地点数も1,278点と飛び抜けて多い。この調査では、専門家の指導の下、わずか11人の参加者によって採水が行われたが、日本全国というスケールを考えるとこれは一般的には達成困難な偉業である。山の健康診断プロジェクトでも、木平ら¹¹⁾の調査とほぼ同じ地点にて再調査を行ったが、一人当たりの労力と時間を抑えるとともに、科学研究を多くの方々と共有するためにも、今回は市民に参加を呼びかけて採水を実施した。



図1 山の健康診断プロジェクトのロゴ

京大フィールド研と(株)モンベルは、持続可能な社会の発展に寄与することを目的として包括連携協定を結んでおり、山の健康診断プロジェクトでも協働で参加者募集を行った。(株)モンベルはアウトドア用品を製造販売するメーカーで、全国に約 100 万人のクラブ会員が所属する。そのため、一般の方に加えてモンベルクラブ会員にも参加を募ることで、山や自然に親しむ多くの市民にアプローチすることができた。最終的には、日本全国から 629 名の方にご参加いただき、1,428 点のサンプルをお送りいただいた。

3. 調査の精度確保と方法

まず、専門家でない方でも問題なく採水できるか確認するために、事前にモンベル社員に同一地点で採水をお願いし、結果の精度を確認した。そのうえで、採水の手順に間違いや参加者間での相違が生じないよう、分かりやすい手順の説明書と採水キットの内容を熟考し、採水方法の説明動画をホームページ¹²⁾に掲載するとともにイラストを用いたマニュアルを参加者全員に配布した。調査期間中のお問い合わせにはなるべく即日、1 件 1 件丁寧な対応を心掛けた。

採水期間は 2022 年 6～11 月で、採水する地点は木平ら¹¹⁾の調査地点とほぼ同じ地点に加えて、新規地点も可とした。ただし、採水は上流に農地や家屋等の人工物がない安全な場所にて、前日から雨の降っていない日に行うように依頼した。これは、渓流水水質が雨によって著しく影響を受ける¹³⁾ためである。採水された渓流水は、0.45 μm のディスクフィルターで濾過した後、ボトルに入れて京大フィールド研までご返送いただいた。到着したサンプルは、京大フィールド研にて化学分析を行い、渓流水水質分布を明らかにした。調査の流れの詳細は図 2 の通りである。

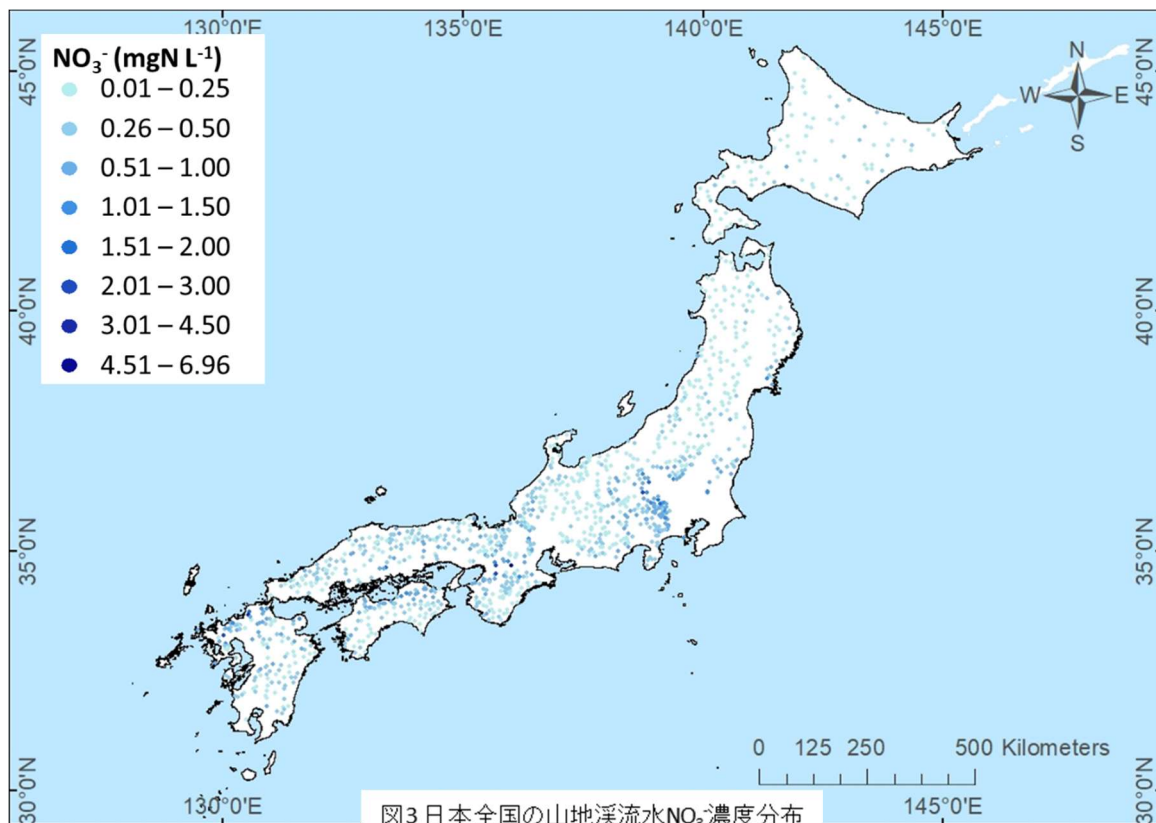


4. 日本全国の山地系流水水質の分布と山の健康状態

窒素(N)は植物の成長にとって最も重要な物質の一つである。そこで、まずは N の主な流出形態である硝酸態窒素(NO_3^-)濃度に着目した。一般的に、森林では N は不足しており河川への流出量は少ない¹⁴⁾。しかし、化石燃料の燃焼等によって森林の要求量以上の N が大気から降下すると、森林が N 飽和状態に

なって、土壌の酸性化や生物多様性の低下、河川への NO_3^- 流出を引き起こす。さらに、気候、植生、土壌、地質などの地域の特性や、森林伐採等の攪乱によっても水質は変化する。そのため、山地溪流水の水質は山の状態を測る有効な指標と言える。

山地溪流水 NO_3^- 濃度は、日本全国の約 80% の地点で 0.5mg N L^{-1} 以下の低い値であった。一方、東京や大阪、福岡等の都市部の周辺では高い傾向にあり、森林の N 飽和の目安である 1.0mg N L^{-1} を超える高濃度地点も見られた(図 3)¹⁵⁾。これは、都市で排出された多量の N 酸化物が風に乗って周辺の山々に運ばれたためと考えられ、山の状態に注意が必要と考えられる。しかし、アジア大陸から冬の北西季節風によって N 酸化物がもたらされる日本海側では、溪流水 NO_3^- 濃度は低い水準であった。一方、香川や愛媛北西部、大分の国東半島では、大きな都市が周辺にないにもかかわらず溪流水 NO_3^- 濃度が N 飽和目安の 1.0mg N L^{-1} を超える高濃度地点が見られた。このように、大気からの N 降下量と溪流水 NO_3^- 濃度が必ずしも対応しない原因は未解明だが、高濃度地域が瀬戸内海沿いに集中していることは興味深い。また、森林の N 状態に影響を及ぼす環境要因は大気からの N 降下量以外にも存在すると考えられ、今後他の水質項目も合わせて解析を進める予定である。



5. 山地溪流水水質の河川や海への影響

前章で述べたように、都市部周辺や四国・北九州の瀬戸内海沿いでは、山地溪流水 NO_3^- 濃度が高い地域が存在した。 1.0mg N L^{-1} を超える溪流水 NO_3^- 濃度は、環境省の定める全 N 濃度の最も緩い区分である農業用水・工業用水・水産用水の基準値、『 1.0mg N L^{-1} 以下』¹⁶⁾すら上回り、森林溪流中の生態系に影響を及ぼしている。加えて、森林溪流は流れ下って中流河川、河口、海まで繋がっており、N を含め多くの物質が下流へ輸送されるため、影響は流域全体に及ぶ。水中では、水産的にも重要なウナギ、スズキ、アユなどが、その一生の中で海から川へ遡る、海に下る、あるいは行き来して生活するため、これらの回遊を通して森や海的环境はお互いに影響を及ぼし合う。

さらに、中下流域の土地利用も流域の水質・生態系に影響を及ぼす。大分県国東半島の N 飽和状態と考えられる森林の下流域で行われた先行研究では、伝統的な農業・灌漑システムであるため池や水田を通して N が脱窒^{*1)}と生物利用によって減少し、加えて農耕地や水田、住宅地から肥料や、土砂粒子、人間活動に由来するリンが供給されて、レッドフィールド比^{*2)}に近い理想的な栄養塩濃度比の水が海に供給され¹⁷⁾、河口域での微細藻類やそれを食する魚類等の生物生産力が高いことが報告されている^{18~20)}。

以上のことから、森林溪流から河川、海までの生産性にとって森林からの N 供給は重要な意味を持ち、上流から下流までの生態系の適正な管理のためには中下流域での土地利用も含めた流域単位で包括的に栄養塩状態の調査・研究を行う必要がある。まずは、本プロジェクトにより山の健康状態・下流域の生態系保全に役立つ情報を抽出した後、中流・下流域も含めた包括的研究・環境保全にシチズンサイエンスで取り組めたらと考えている。

6. シチズンサイエンスを実施しての感想

市民の方々と共に行ったシチズンサイエンス『山の健康診断プロジェクト』では、日本全国から 629 名もの方にご参加いただき、1,428 点もの山地溪流水サンプルを得ることができた。その結果、図 3 に示したような日本全国の山地溪流水水質分布が明らかになり、山の状態の解明を何歩も進めることができた。この成果は、ご参加いただいた市民の方々のおかげであり、シチズンサイエンスの賜物である。

採水期間中は運営スタッフも、採水キットの準備や発送、サンプルボトルの保管、水質分析と、目まぐるしい日々であったが、広範囲に何地点も採水に出向いて下さった熱心な方々や、コメント・メール・お電話にて「楽しかった」や「新たなプロジェクトがあればまた参加したい」などのお言葉を下さった方々に励まされて乗り切ることができた。当初、シチズンサイエンスの効果として、広域のビッグデータの取得や市民の方々への科学に触れる機会の提供は予想していたが、運営スタッフ側が参加者からのお言葉で力をいただくことは想定外であった。さらに、採水期間終了後の 2023 年 3 月に行った結果報告会では、農業や環境調査、行政等、参加者の各ご専門からの視点でご意見をもらって、非常に活気ある会となった。まとめると、筆者ら専門家と全国の市民が共に取り組んだこの山の健康診断プロジェクトを通じて、「シチズンサイエンスとは、社会と科学が相互に作用して発展していくこと」であるということ、身をもって理解できたように思う。

用語

*1) 脱窒: NO_3^- が生物の作用によって還元されて N に変わり、大気中へ放散されること

*2) レッドフィールド比: 魚介類の餌として重要なケイ藻の細胞中の栄養塩濃度比

謝辞

山の健康診断プロジェクトは、以下の方々のご協力を得て実施することができました。一般の参加者の方々には現地にて山地溪流水の採取にご協力いただきました。株式会社モンベル様にはプロジェクトの準備から広報、進行に至るまで、様々にご協力いただきました。株式会社堀場アドバンスドテクノ様、株式会社堀場テクノサービス様にはサンプル分析にご協力いただきました。心より御礼申し上げます。また、本プロジェクトは、科学研究費助成事業(15H04515, 19H03012, 22H02385, 23K05316)、戦略的国際共同研究プログラム JPMJSC19C3、総合地球環境学研究所(No.RIHN 14200156)の助成を受けて行われました。

引用文献

- 1) 小堀洋美, 2022. 市民科学のすすめ:「自分ごと」「みんなごと」で科学・教育・社会を変える. 文一総合出版, 東京.
- 2) Kadoya, T., Ishii, H.S., Kikuchi, R., Suda, S., Washitani, I., 2009. Using monitoring data gathered by volunteers to predict the potential distribution of the invasive alien bumblebee *Bombus terrestris*. *Biological Conservation* 142(5), 1011-1017.
- 3) Kobori, H., Dickinson, J.L., Washitani, I., Sakurai, R., Amano, T., Komatsu, N., Kitamura, W., Takagawa, S., Koyama, K., Ogawara, T., Miller-Rushing, A.J., 2016. Citizen science: a new approach to advance ecology, education, and conservation. *Ecological Research* 31, 1-19.
- 4) 佐橋玄記, 丸山緑, 有賀望, 森田健太郎, 岡本康寿, 向井徹, 水本寛基, 植田和俊, 藤井和也, 渡辺恵三, 大熊一正, 荒木仁志, 2020. 市民参加型調査で集めた位置情報付き生物写真にサンプリングバイアスは存在するか? —市民と専門家の遡河性サケマス関連撮影データの比較から—. *保全生態学研究* 25(2), 307-315.
- 5) Cohn, J.P., 2008. Citizen science: Can volunteers do real research? *BioScience* 58(3), 192-197. doi:org/10.1641/B580303
- 6) Silvertown, J., 2009. A new dawn for citizen science. *Trends in Ecology and Evolution* 24(9), 467-471.
- 7) Dickinson, J.L., Zuckerberg, B., Bonter, D.N., 2010. Citizen science as an ecological research tool: challenges and benefits. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* 41, 149-172. doi:org/10.1146/annurev-ecolsys-102209-144636
- 8) 林和弘, 2015. オープンな情報流通が促進するシチズンサイエンス(市民科学)の可能性. *科学技術動向* 150, 21-25.
- 9) 広瀬顕, 岩坪五郎, 堤利夫, 1988. 森林流出水の水質についての広域的考察(1). *京都大学農学部演習林報告* 60, 162-173.
- 10) 戸田浩人, 笹賀一郎, 佐藤冬樹, 柴田英昭, 野村睦, 市川一, 藤戸永志, 鷹西俊和, 清和研二, 塚原初男, 飯田俊彰, 谷口憲男, 中田誠, 桑原繁, 内田武次, 春田泰次, 井上淳, 八木久義, 塚越剛史, 蔵治光一郎, 二田美穂, 小野裕, 鈴木道代, 今泉保二, 山口法雄, 竹中千里, 万木豊, 川那辺三郎, 安藤信, 中西麻美, 西村和雄, 山崎理正, 長山泰秀, 土肥奈都子, 片桐成夫, 小藤隆一, 新村義昭, 井上章二, 江崎次夫, 河野修一, 藤久正文, 岩松功, 今安清光, 中村誠司, 塚本次郎, 野上寛五郎, 榎木勉, 2000. 全国大学演習林における溪流水質. *日本林學會誌* 82(3), 308-312.
- 11) 木平英一, 新藤純子, 吉岡崇仁, 戸田任重, 2006. わが国の溪流水質の広域調査. *日本水文科学会誌* 36(3), 145-149.
- 12) 山の健康診断プロジェクト, 2022. 山の健康診断プロジェクトの HP. <https://fserc.kyoto-u.ac.jp/wp/yamaken/>
- 13) Rusjan, S., Brilly, M., & Mikoš, M., 2008. Flushing of nitrate from a forested watershed: An insight into hydrological nitrate mobilization mechanisms through seasonal high-frequency stream nitrate dynamics. *Journal of Hydrology*, 354(1-4), 187-202.
- 14) Aber, J. D., Magill, A., Boone, R., Melillo, J. M., & Steudler, P., 1993. Plant and soil responses to chronic nitrogen additions at the Harvard Forest, Massachusetts. *Ecological Applications*, 3(1), 156-166.
- 15) Makino, S., Tokuchi, N., Akaishi, D., Koyama, L. A., Komai, Y., Itaya, Y., Maung, N. L., Ishimaru, K., Oda, T., Shibata, R., & Numamoto, S., 2024. Citizen-participatory nationwide survey of mountain

-
- streamwater chemistry in Japan in 2022: Comparison of nitrate concentrations with the 2003 survey. Ecological Research.
- 16) 環境省, 2016. 生活環境の保全に関する環境基準(湖沼). <https://www.env.go.jp/kijun/wt2-1-2.html> (■イ参照)
 - 17) Sugimoto, R. Kasai, A., Tait, D. R., Rihei, T., Hirai, T., Asai, K., Tamura, Y., Yamashita, Y., 2021. Traditional land use effects on the magnitude and stoichiometry of nutrients exported from watersheds to coastal seas. *Nutrient Cycling in Agroecosystems*, 119, 7–21.
 - 18) Yokoyama, H., Fu, J., Tamura, Y., Yamashita, Y., 2019. Spatial dietary shift of the intertidal snail *Batillaria multiformis*: stable isotope and gut content analyses. *Plankton and Benthos Research*, 14, 86–96.
 - 19) Yokoyama, H., Rihei, T., Sugimoto, R., 2019. Linkage between watershed and estuary estimated from the stable isotope analysis of the intertidal snail, *Batillaria multiformis*. *Plankton Benthos Res* 14, 97–104.
 - 20) 原田真実, 久米学, 望岡典隆, 田村勇司, 神崎東子, 橋口峻也, 笠井亮秀, 山下洋, 2018. 大分県国東半島・宇佐地域の伊呂波川と桂川に設置したウナギ石倉かごにより採集されたニホンウナギと水生動物群集. *日本水産学会誌*, 84, 45–53.

大阪湾における薬剤耐性遺伝子の存在実態および その水平伝播に寄与する海洋プラスチック

京都大学大学院 地球環境学堂 研究員
李 文驕

1. はじめに

プラスチックごみ、排水由来の抗生物質や薬剤耐性菌などの新興汚染物質は海洋環境および生態系に悪影響を与えている。近年、プラスチックに関する高吸着性や長距離移動性などの研究が進み、新たな知見が創出されている。一方、海洋プラスチックは生物膜の形成により排水由来の薬剤耐性菌のキャリアとして、海洋環境中に拡散することが予想されているが、十分な調査研究がされず不明のままである。その課題を突破するには、排水の受け皿である大阪湾における海水および海洋プラスチック試料に着目し、総合的に薬剤耐性遺伝子 (Antibiotic resistance genes, ARGs) の存在実態を調査する必要がある。また、遺伝子組み換えやリアルタイム PCR などの分子生物学的手法を用いて、可動遺伝因子 (Mobile genetic elements, MGEs) を定量することで、海洋プラスチックによる ARGs 水平伝播への寄与の解明も不可欠である。さらに、プラスチックは材質によって吸着特性が異なるため、薬剤耐性の拡散への促進効果にも差が生じると考えられる。本研究は、大阪湾の汽水域と海域における薬剤耐性遺伝子の存在実態の把握およびその水平伝播に寄与する海洋プラスチック試料を材質別で検討することを主目的とした。

2. 研究方法

2. 1 海水および海洋プラスチック試料の採取

2022 年 10 月 15 日および 2023 年 10 月 30 日に、大阪湾において広範囲で表層海水および海洋プラスチック試料を採取するため、高速船による現地調査を 2 回実施した。具体的に、大阪湾を 5 つに区分し、各区域において揚水ポンプより表層海水試料を採取した。同地点の海洋プラスチック試料については、目開き 300 μm のプラクトンネット二つを用い、船の左右に固定して低速 (10 km/時) の定速走行条件で 20 分間採取を行った。採取後、速やかに PBS バッファーよりネット中のプラスチックを洗い出して回収した。調査地点と様子を図 1 に示す。



調査地点 プラスチック試料の採取

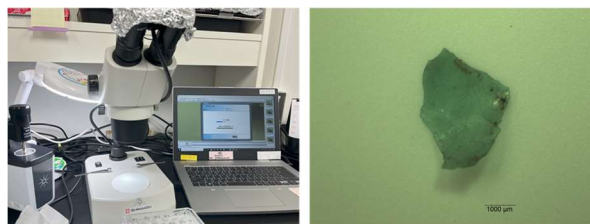
図 1 調査地点および様子

2. 2 海水およびプラスチック試料の前処理

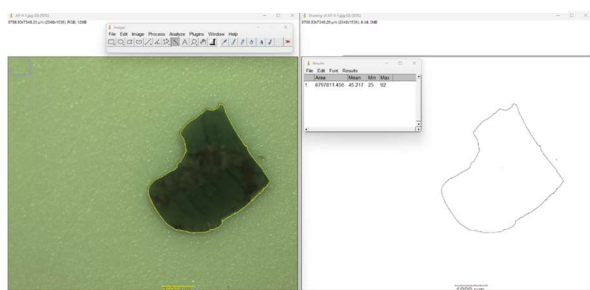
海水試料はろ過法 (0.2 μm オムニポアメンブレン、メルク) を用いてクリーンベンチ内でろ過を行った。DNA 抽出にろ紙を -20°C で冷凍保存した。プラスチック試料については、プラクトンネットから一粒ずつ取り出し、PBS バッファーを用いて超音波より表面の生物膜を剥離した。生物膜剥離済みのプラスチックに番号を振付け、材質判定までに室温で保管した。生物膜溶液を DNA 抽出のために -20°C で冷凍保存した。

2. 3 プラスチックの材質同定および面積の計算

プラスチック試料の成分の同定には FTIR-ATR (Cary630, Agilent) と共に Agilent Micro Lab FTIR ソフトウェアのライブラリを使用した。得られた試料の IR スペクトルをライブラリ中の IR スペクトルと比較して、ヒット率が最も高く、0.6 を超えるものを結果として採用した。プラスチック試料の画像撮影に実体顕微鏡 (BA210LED、島津理科製) とハロゲン三眼の専用デジタルカメラ (Moticam5) を用いた。撮影した画像を ImageJ に用いて面積を計測し、得られた面積の 2 倍を各プラスチック試料の表面積とした。プラスチック試料の観察および画像撮影の様子および面積計測方法を図 2 で示す。



カメラ付き実体顕微鏡によるプラスチックの画像撮影



ImageJ によるプラスチック表面積の計測

図 2 プラスチック試料の撮影および表面積計測

2. 4 DNA 抽出および対象遺伝子の定量

ろ過法より海水から捕集した細菌は NucleoSpin Soil (タカラバイオ) を用いて DNA 抽出を行った。プラスチック試料から剥離した生物膜溶液はプラスチックの材質同定結果に基づき、同定できた試料を混合し、NucleoSpin Water (タカラバイオ) を用いて生物膜を回収した。その後、海水試料と同じ手順で DNA を抽出・精製した (NucleoSpin Soil, タカラバイオ)。本研究では、テトラサイクリン耐性遺伝子 3 種 (*tet A*, *tet G*, *tet M*)、スルホンアミド耐性遺伝子 2 種 (*sul 1*, *sul 2*) と共に、ARGs 水平伝播ポテンシャルのマーカーとして代表的な MGEs のクラス 1 インテグロン-インテグラーゼ (*intl 1*)、全細菌数を表す 16S rDNA 遺伝子の全 7 種類の遺伝子を定量した。遺伝子の定量はインターカレーター法 (TB Green Premix Ex Taq, タカラバイオ) を用いてリアルタイム PCR 装置 (Thermal Cycler Real Time TP850, タカラバイオ) で分析を行った。ARGs & MGEs の検量線は、TA クローニング手法 (Mighty TA-cloning Kit, タカラバイオ) を用い、形質転換した対象遺伝子を持つ大腸菌 DNA を段階希釈したものを用いた。本研究では、「薬剤耐性遺伝子定量指標」を薬剤耐性を持たせた大腸菌 DNA に基づき計算した ARGs コピー数 (絶対存在量) とした。また、「水平伝播評価指標」を ARGs と 16S rDNA 遺伝子の比 (相対存在量)、MGEs (*intl 1*) コピー数 (絶対・相対存在量) と合わせて定義づけた。

3. 結果と考察

3. 1 大阪湾における薬剤耐性遺伝子の存在実態

大阪湾における 5 地点で 2022 年 (左) と 2023 年 (右) に採取した海水中のテトラサイクリン耐性遺伝子 (*tet A*, *tet G*, *tet M*) およびスルホンアミド耐性遺伝子 (*sul 1*, *sul 2*) の絶対存在量を図 3 に示す。同地点で 2 回採取した海水中 ARGs の絶対存在量は類似する結果が示された。汽水域である地点 A (淀川河口部) では、最も高い存在量を示し、塩分の高い地点 D (明石海峡大橋付近) および地点 E (関西空港付近海域) より $10^1 \sim 10^2$ も高かった。このような結果は、大量の ARGs が河川水や排水を通して大阪湾に流入したことを示唆している。また、対象とした ARGs の内、いずれの地点においても *tet A*, *sul 1* および *sul 2* のほうがより多く存在した。全体的に、海水中 ARGs 絶対存在量は汽水域から海域まで減少している傾向を示し

た。海水中の栄養塩や塩分濃度などの環境因子が微生物の成長に働きかけ、薬剤耐性菌の増殖を抑制した可能性があると考えられる。

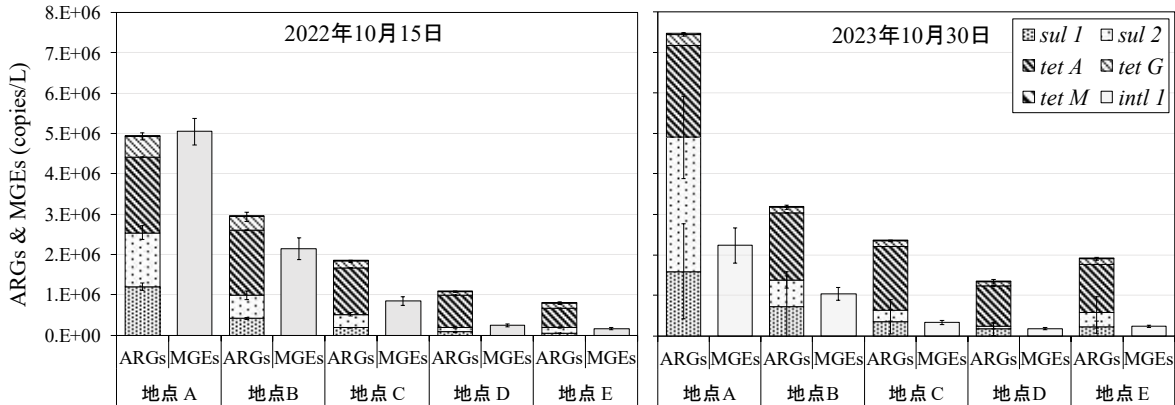


図 3 海水中 ARG および MGEs の絶対存在量(平均値±標準偏差; n = 3)

3. 2 薬剤耐性の水平伝播に寄与する海洋プラスチック

薬剤耐性の水平伝播ポテンシャルを表す指標の一つとして、2023 年の試料における 5 種 ARGs および 1 種 MGEs が 16S rDNA (全細菌数)との比(相対存在量)を図 4 に示す。全体的に、各地点の海水においては ARGs 相対存在量の変化が見られず、ほぼ同程度の水平伝播ポテンシャルを有することが示唆された。それに反して、プラスチック生物膜における ARGs の相対存在量(特に *sul 2*)は地点 A と比べ、地点 D、E で高い値を示した。海水と比べて同地点のプラスチック生物膜中の ARGs が約 $10^1 \sim 10^3$ 倍高い相対存在量を示した。MGEs (*intl 1*) について、海水とプラスチックが河口部(地点 A)でほぼ同じ伝播ポテンシャルを持つ一方、地点 B、C、E ではプラスチックのほうが $10^1 \sim 10^2$ 倍も高い水平伝播ポテンシャルを有した。2022 年の試料も類似した結果(省略)を示したため、プラスチックが比較的に高い水平伝播ポテンシャルを有することが再度確認できた。以上の結果から、プラスチックは細菌のキャリアとして大阪湾に流入し、薬剤耐性の水平伝播に大きく寄与していることが明らかになった。

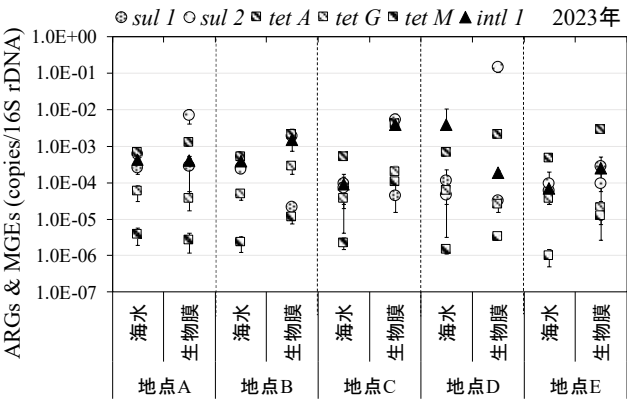


図 4 海水およびプラスチック生物膜中 ARGs & MGEs の相対存在量(平均値±標準偏差; n = 3)

3. 3 材質別プラスチックの存在量および薬剤耐性水平伝播への寄与率

FTIR-ATR を用いたプラスチック材質の同定結果を表 1 に示す。大阪湾における 300 μm 以上の海洋プラスチックの材質は主に PE (ポリエチレン)、PP (ポリプロピレン) とわずかの PS (ポリスチレン) であった。地点 C の海洋プラスチック存在量はほかの地点より多かったが、地点 E では最

表 1 各地点におけるプラスチックの材質別存在量				
	総個数	PE	PP	PS
地点 A	35	18	9	8
地点 B	68	46	17	5
地点 C	92	79	12	1
地点 D	31	21	10	0
地点 E	8	8	0	0

少の8個であった。地点Aと地点Dの材質別プラスチックにおける表面積ベースでのARGおよびMGEsの絶対(上)および相対(下)存在量を図4に示す。材質が異なるプラスチックのARGs絶対存在量はほぼ同程度で大幅な差が見られなかったが、PPプラスチックのほうがやや高い存在量を示した。PPプラスチックの高いARGs絶対存在量の原因を解明するにはさらなるの検討が必要である。本研究ではプラスチックの材質のみ観点から評価したが、プラスチックの表面の形状や形態の違いが生物膜の形成に影響を及ぼす可能性も考えられる。また、プラスチックの劣化度合などが表面の生物膜の形成や細菌の増殖

にも大きく左右する可能性がある。一方、地点Aと地点DのプラスチックにおけるARGsの水平伝播ポテンシャル(相対存在量)について、材質別での有意差が見られなかった。したがって、材質が異なるプラスチックは大阪湾における薬剤耐性の水平伝播にほぼ同程度に寄与していることが示唆された。

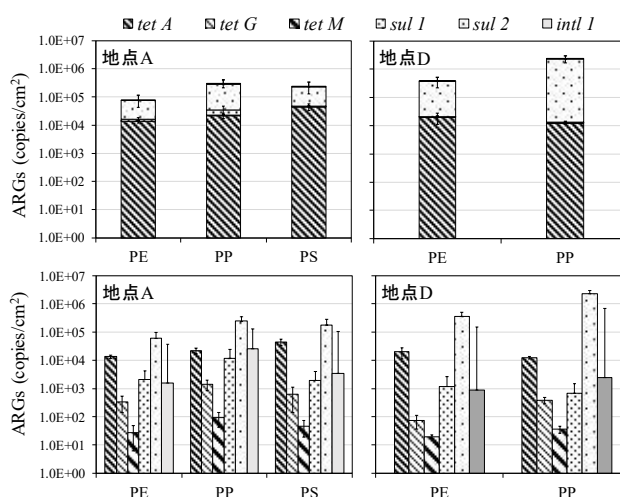


図5 地点Aと地点Dの材質別プラスチックにおけるARGs & MGEsの絶対・相対存在量(平均値±標準偏差; n = 3)

4. 結論

本研究は、大阪湾の汽水域と海域における薬剤耐性遺伝子(ARGs)の存在実態の把握およびその水平伝播に寄与する海洋プラスチック試料を材質別で検討することを主目的に、調査および定量分析を実施した。以下に、得られた主な知見を述べる。

- 大阪湾において、2022年および2023年で採取した5地点のすべての海水試料から、対象としたテトラサイクリン耐性遺伝子(*tet A*, *tet G*, *tetM*)およびスルホンアミド耐性遺伝子(*sul 1*, *sul 2*)を検出した。地点A(淀川河口部)から中心部(地点E)にわたって、ARGsの絶対存在量が減少していた。
- 海水における薬剤耐性水平伝播ポテンシャルは河口部から中心部にわたって緩やかに低下した。一方、プラスチック試料は海水より比較的に高いARGs相対存在量を有することで薬剤耐性の水平伝播に大きく寄与するが明らかになった。海洋プラスチックのキャリア効果が確認できた。
- 5地点で採集したプラスチックの材質同定結果から、大阪湾に存在する300 μm以上の海洋プラスチックの半分以上はPE(ポリエチレン)であることが明らかになった。PP(ポリプロピレン)およびPS(ポリスチレン)も検出された。
- PE, PP, PSの3種類のプラスチック試料から検出されたARGsおよびMGEsの絶対存在量には差異が見られた。3種のうち、PPプラスチック試料の対象遺伝子絶対存在量が最も高かった。一方、薬剤耐性水平伝播への寄与率を表すARGs相対存在量については、材質別プラスチック間に有意差が見られなかった。PPプラスチックのやや高いARGs絶対存在量は材質のみならず、プラスチックの形状や劣化による表面形態の変化も起因していると推測できる。

謝辞

本研究は、令和4年度および令和5年度「大阪湾圏域の海域環境再生・創造に関する研究助成制度」の助成を受けて実施した。関係各位に厚く御礼を申し上げます。