

海綿内微生物叢に着目した pH 値予測手法の検討

家入 祐也* 町田 光史** 吉江 修* 中尾 洋一***

早稲田大学 情報生産システム研究科*

早稲田大学 理工学術院総合研究所**

早稲田大学 先進理工学部***

1. はじめに

持続可能な開発目標 (SDGs) で掲げられているように、近年、海洋資源の保全・利用のあり方が注目されている。海洋資源の適切な管理には、海洋環境の評価が必要である。そして本評価では、魚類や甲殻類のような指標動物の有無が判断の基準のひとつであった。しかし、図 1 に示すように、移動可能な遊泳性の生物を指標動物とすることは、海洋環境状態の正確な把握に適していない。そこで我々は、非遊泳性の付着性生物種である海綿を新たに指標動物とし、海洋環境状態の把握と予測を目標として研究を進めている。海綿とは、浅場から深海、熱帯地域から北極・南極に至る世界中の海域の海底に付着する無脊椎動物である。地球上のあらゆる海洋環境に適応した 10,000 種以上存在する海綿は、新たな海洋環境指標動物として期待される。

pH 値は、水質を反映する最も重要なパラメータのひとつである [1]。そのため本稿では、海綿内の微生物叢に着目し、海洋環境の値を海綿内微生物叢の組成によって推定する方法の可能性について議論する。この議論のために、山口県牛島近海で採取された海綿サンプルを、pH 値を変化させた統制環境下で飼育し、それぞれの海綿内微生物叢の違いに着目した分析によって、pH 値推定方法を検討した。

2. 関連研究

情報技術によって、海洋環境指標の推定を試みる研究は様々取り組まれている。Wen ら [2] は、半教師あり学習モデルを改良し、複雑な時系列データを推定するための推定モデルを構築した。本モデルの検証にあたり、海洋環境データセットを使用して、海洋環境の時系列的変化の推定を試みている。Deng ら [3] は、Artificial Neural Networks と Support Vector Machine を用いて 30 年分の海洋モニタリングデータを学習することで、水質の推定を試みた。特に本研究と同様に、Liu ら [4] や Huang ら [5] は、機械学習をはじめとした情報技術の活用によって pH 値の推定を試みている。

Examination of pH value prediction focusing on sponge microbiota

* Yuya Ieiri and Osamu Yoshie, Graduate School of Information, Production and Systems, Waseda University.

** Koshi Machida, Waseda Research Institute for Science and Engineering, Waseda University.

*** Youichi Nakao, School of Advanced Science and Engineering, Waseda University.

遊泳性生物種を海洋環境指標動物とした場合



安定した海洋環境モニタリングが難しい

付着性生物種を海洋環境指標動物とした場合



安定した海洋環境モニタリングが可能

図 1: 付着性生物種を指標動物にする利点

以上の研究は、本研究と同様に、pH 値に代表されるような海洋環境指標の推定を情報技術によって実現させることを試みている。従来の研究は採集された海水から得られるデータに基づいて検討されている。その一方で本研究は、海水自体ではなく、非遊泳性の付着性生物種である海綿を指標動物とすることによって、海水の移動や生物の生息域変化に影響されない海洋環境モニタリングを目指している。本研究の遂行に伴い、従来の研究とは異なる、多角的な海洋環境状態の把握が期待される。

3. 実験

2022 年 7 月 10 日に、山口県牛島の水深 5 メートル地点で未同定海綿¹を採集した。その後、海水につけた状態のまま、統制実験環境へ移動させ、3 か月にわたり統制環境で海綿を馴化させた。統制環境実験では、NaOHaq または HClaq を用いて pH 値のみを 8.4, 8.3, 8.1, 7.8, 7.5 に調製した海水と、馴化させた海綿から採集した 5 つの海綿切片をそれぞれプラスチックバッグ中に封入し、同一水槽内で 12 時間維持飼育した。

それぞれの海綿切片サンプルを、組織保存試薬 (RNA Later) とともにエッペンチューブに封入し、一晩冷蔵保存した後、 -20°C で保存することでサンプルを調製した。それぞれのサンプルは、生物技研²のアンプリコンシーケンスサービスを利用して、16SrRNA 遺伝子 V3V4 領域 (410 bp) についてシーケンス解析され (Miseq ; Illumina 社³)、海綿内微生物

¹ 遺伝子解析の結果、最も近いのは Cliona 属の海綿であった。

² <https://gikenbio.com/>

³ <https://jp.illumina.com/>

叢データを得た。本実験により得られたデータによって、pH 値という要素のみを統制的に変化させた際の、同一海綿種内の微生物叢の様子が明らかになった。本稿では、pH 値という海洋環境が変化した際に、同一海綿種内の微生物叢がどのように変化するのか、微生物叢の違いから、pH 値を推定することができないか、について検討した。

4. 結果と考察

統制環境下における海綿サンプルごとにおける微生物叢の違いについて図 2 に示す。図 2 から分かるように、統制要素 (pH 値) の違いによって、その微生物叢は大きく異なりうる事が確認された。これは、海綿内の微生物叢データに基づいた pH 値推定の可能性を示している。

ここで、具体的な pH 値推定の手法の一つとして、海綿内に含まれる微生物種の検出頻度を独立変数として重回帰分析を適用した。その結果として得られた pH 値の推定式は図 3 のようであった。本実験におけるデータ数は、統制環境の数と同様に 5 であるため、本推定式の妥当性については更なる議論が必要ではあるが、海綿内の微生物叢データに基づいた pH 値推定の可能性を示すことは出来た。

本実験で対象とした海綿サンプルを海洋環境指標動物とした場合、海綿内の微生物の種類 (独立変数) は約 2,000 種類であることが判明した。Vittinghoff ら [6] は、回帰分析において、独立変数の種類は総データ数の 1 割程度に抑えるべきだと主張している。このことから、長期的な海綿内の微生物叢データの収集を通じて、影響のある微生物の種類を 20 種程度に厳選することができれば、約 200 個のデータ収集 (2, 3 年にわたるフィールド調査で達成可能) によって、本研究と同様のアプローチで海綿内の微生物叢データに基づいた pH 値推定モデルを構築することが可能であると期待される。

5. まとめ

本研究では、海綿を新たな海洋環境指標動物とした海洋環境モニタリング技術の構築に向けた研究として、海綿内の微生物叢データから海洋環境指標の推定を試みた。海洋環境として pH 値に着目し、pH 値の異なる統制環境での海綿飼育実験を通じて得られたデータをもとに、重回帰分析を行った。結果として、海綿内の微生物叢データに基づいた pH 値推定の可能性を示すことができ、更なる解析に必要なデータサイズについても理解を深めることができた。

今後は、海綿内微生物叢データの収集を通じて、本稿の議論を深めるとともに、pH 値以外の海洋環境指標 (海水温、塩分濃度、溶存酸素など) での統制実験の実施も必要である。さらに、実際の海洋環境は、統制されておらず非常に複雑である。実際の海洋環境の推定には、これら単体の海洋環境指標の推定モデルをどのように組み合わせるべきかに関する議論や、機械学習の適用などが、今後求められる。

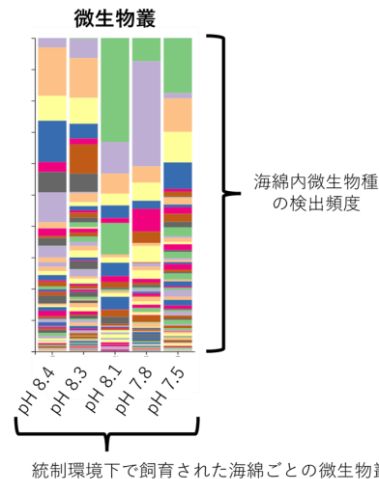


図 2 : 統制環境下における海綿内微生物叢の違い

	Name	Coefficients
0	ASV_002	0.000273
1	ASV_019	0.000078
2	ASV_006	0.000053
3	ASV_013	0.000059
4	ASV_004	0.000046
...
2121	ASV_504	0.000000
2122	ASV_1593	0.000000
2123	ASV_330	0.000000
2124	ASV_2031	0.000000
2125	ASV_1199	0.000000

[2126 rows x 2 columns]
Intercept is 7.041715212124071

重回帰分析の結果
目的変数: pH値
独立変数: 各微生物の検出頻度数
pH値 = 7.04 + 0.000273 × (微生物A) + 0.000078 × (微生物B) + ...

図 3 : 重回帰分析の結果と pH 値の推定式

謝辞

本研究は、文部科学省の「海洋資源利用促進技術開発プログラム/海洋生物ビッグデータ活用技術高度化」による成果である。本統制実験にご協力いただいた、広島大学大学院統合生命科学研究所の青井謙輝准教授に感謝いたします。

参考文献

- [1] Tung, T. M. and Yaseen, Z. M.: A survey on river water quality modelling using artificial intelligence models: 2000–2020. *Journal of Hydrology*, 585, 124670, 2020.
- [2] Wen, J., Yang, J., Jiang, B., Song, H. and Wang, H.: Big data driven marine environment information forecasting: a time series prediction network. *IEEE Transactions on Fuzzy Systems*, Vol.29, No.1, pp.4-18, 2020.
- [3] Deng, T., Chau, K. W. and Duan, H. F.: Machine learning based marine water quality prediction for coastal hydro-environment management. *Journal of Environmental Management*, 284, 112051, 2021.
- [4] Liu, Y., Jia, S., Yu, Y. and Ma, L.: Prediction with coastal environments and marine diesel engine data based on ship intelligent platform. *Applied Nanoscience*, pp.1-5, 2021.
- [5] Huang, H., Feng, R., Zhu, J. and Li, P.: Prediction of pH value by multi-classification in the Weizhou Island area. *Sensors*, Vol.19, No.18, 3875, 2019.
- [6] Vittinghoff, E. and McCulloch, C. E.: Relaxing the rule of ten events per variable in logistic and Cox regression. *American journal of epidemiology*, Vol.165, No.6, pp.710-718, 2007.