

演題番号：E9

飼育下のバンドウイルカにおける非侵襲的な呼吸器細菌叢解析法の確立

○星 英之¹⁾，福原優香¹⁾，寺山弘樹²⁾，石川 創³⁾，浅木裕志³⁾

¹⁾ 大阪公大現シス ²⁾ 日本ドルフィンセンター ³⁾ 大阪海洋研

1. はじめに：飼育下の鯨類の死因のうち52.5%が呼吸器疾患との報告がある(寺沢ら，2005)。そこで、飼育下のバンドウイルカ(*Tursiops truncatus*)を対象として非侵襲的な呼吸器細菌叢解析法の確立を試みた。

2. 材料及び方法：臨床的に異常が認められない11頭のバンドウイルカの噴気を検体として、サンプリング方法と呼吸器細菌叢を調べた。ペトリ皿を噴気孔上部に設置することで噴気を5回ほど採取し、ペトリ皿に1 mlの保存液(テクノスルガ・ラボ)を加えてセルスクレーパーで混和した後、保存容器に戻して常温で保管した。サンプリングの翌日、保存液200 µlをMORA-EXTRACT(コスモ・バイオ)のプロトコルに従ってDNAを抽出後、-20°Cで保存し、噴気サンプルとした。また、飼育水の細菌叢を調べる目的で、飼育されているプールの表層水を、使い捨てピッカーを用いて1 L採取し、フィルターユニット(Sterivex GV, 孔径0.22 µm, Millipore)に通してフィルター上に細菌を濃縮後、DNA抽出を行い飼育水サンプルとした。噴気サンプル及び飼育水サンプルを鋳型として16S rRNA遺伝子のV3-V4領域を増幅し次世代シーケンサーを用いて配列を取得した。得られた遺伝子配列は

QIIME2 version 2020.2を用いて細菌叢を解析し、β多様性をWeighted Unifrac法で解析した。

3. 結果：噴気サンプル及び飼育水サンプルの細菌叢のβ多様性をWeighted Unifrac法を用いて解析したところ、噴気サンプルのグループと飼育水サンプルに分布が分かれた。噴気サンプルの細菌叢では、*Proteobacteria*門41.6%、*Bacteroidetes*門35.2%と2種類の門が多く検出され、続いて*Firmicutes*も多く検出された。

4. 考察および結語：先行研究でも本研究と同様に呼吸器細菌叢から*Proteobacteria*門及び*Bacteroidetes*門が高い割合で検出されていることから、ペトリ皿を用いたサンプリングによって、非侵襲的に呼吸器細菌叢を解析できることが確認された。飼育下の鯨類の多くは、受診動作訓練として「噴気を出す」トレーニングを受けているため、定期健康診断として本研究の呼吸器細菌叢検査を導入することが可能である。