晴天時及び降雨時における可児川の指標微生物とウイルスの変動特性

岐阜大学　学生会員　○伊吹　卓紘
岐阜大学　正会員　李　富生　山田俊郎　廣岡佳弥子

１．はじめに

水系病原微生物と病原ウイルスによる水系感染症は，衛生設備が十分に整っていない途上国だけでなく，日本を含む先進国でも多発している．水環境中における病原微生物と病原ウイルスは主に糞便に起因するものと考えられるが，現状の大腸菌群や大腸菌といった指標のみによる評価だけでは不十分と考えられる.また，河川などの自然水系における微生物とウイルスは，土地の利用分布や一般水質項目とと複雑に絡み合って,その濃度や動態が変化するので,単純な単相関解析で評価，解明することは難しい.本研究では可児川を対象とし，同河川における晴天時及び降雨時の指標微生物と指標ウイルスの濃度変化に関する水質の調査を行った．その調査結果に主成分分析や重回帰分析などの多変量データ解析を行い，指標微生物と指標ウイルス，そして水質項目がどのように関連しているかを検討した.

２．対象河川と調査項目

木曽川水系の中，指標ウイルスの濃度が比較的高い可児川を対象河川とした.調査は晴天時と降雨時で行った.晴天時は，可児川 18 地点に加え加茂川と新境川に対し 7 回調査を行った.降雨時は 2 回，2012 年 9 月 30 日～10 月 3 日，2013 年 9 月 15～18 日にかけて連続調査を行った．対象とした降雨イベントは 2012 年 9 月 30 日に岐阜県に上陸した台風 17 号に伴う降雨と 2013 年 9 月 15 日に岐阜県に上陸した台風 18 号に伴う降雨とした.採水は降雨の影響によって変化した水位変動に伴って行った.

微生物指標として大腸菌，大腸菌群，一般細菌，従属栄養細菌を培養法により定量した．ウイルス指標として大腸菌ファージの一種である菌体表面吸着ファージと F 特異 RNA ファージを培養法に基づき定量した． 更に，F 特異 RNA ファージの一種である Qβ と MS2 を Real-time PCR 法により測定し，プラーク形成法による検量線に代入して，濃度を定量した．その他の水質項目として，水温，pH, DO, EC, 濁度，UV260，DOC，NH_4^+-N，NO_2^-N，NO_3^-N，微粒子数について測定した.

３．結果と考察

晴天時及び降雨時における指標微生物と指標ウイルス濃度及び一般水質項目の濃度の平均値と範囲を表 1 に示す．降雨時の濃度平均は晴天時に比べて，全ての指標項目において大きくなっていることがわかった. 中でも大腸菌群, 一般細菌, 従属栄養細菌, MS2 が著しく大きくなっていた. MS2 は晴天時に比べ降雨時の平均が 100 倍以上の値を示しているため,可児川流域は動物糞便の影響を大きく受けていることがわかった．各項目の濃度の範囲は，降雨時だけでなく晴天時においても大きいため，水量の増減に関係なく，微生物指標及びウイルス指標は大きく変動していることがわかる.

晴天時及び降雨時の濃度結果に基づき主成分分析をそれぞれ行った.その結果を図 1 に示す. 晴天時において NO_3^-N と 3μm 以上の微粒子数に強い相関があることがわかった．また，降雨水位最大時では大腸菌群と MS2 及び 0.5μm～1.0μm の微粒子数間に強い相関があることがわかった．微生物・ウイルス指標の主成分に注目すると, 第 1 主成分(PC1)において全て正の値をとっていることが読み取れる．つまり PC1 が微生物・ウイルスの総合的な値だといえる．NH_4^+-N は同じ PC1 で大きい正の値を示しており，同項目は微生物・ウイルスの存在濃度への関係性が大きいことが示唆される.

表 1 晴天時及び降雨時の指標微生物と指標ウイルス及び水質項目の存在濃度の平均と範囲

指標項目名（単位）	晴天時		降雨時	
	平均	範囲	平均	範囲
大腸菌群（MPN/100ml）	16100	30～170000	110000	700～2300000
大腸菌（MPN/100ml）	160	2～1100	250	5～1300
一般細菌（CFU/ml）	2730	80～13100	73800	430～833000
従属栄養細菌（CFU/ml）	21900	1000～120000	181000	2770～1170000
菌体表面吸着ファージ（PFU/ml）	1.5	0.02～12	6.5	0.1～41
F 特異RNAファージ（PFU/ml）	1.4	0.02～22.9	9.4	0.02～69
Qβ （eq-PFU/ml）	0.6	0～4.53	1.9	0.0007～33
MS2 （eq-PFU/ml）	6.3	0.003～79.8	719.1	0.01～27386
濁度（NTU）	10.8	0.4～131.5	31.5	2.7～193.5
DOC (mg/l)	1.9	0.8～3.85	5.3	0.83～10.6

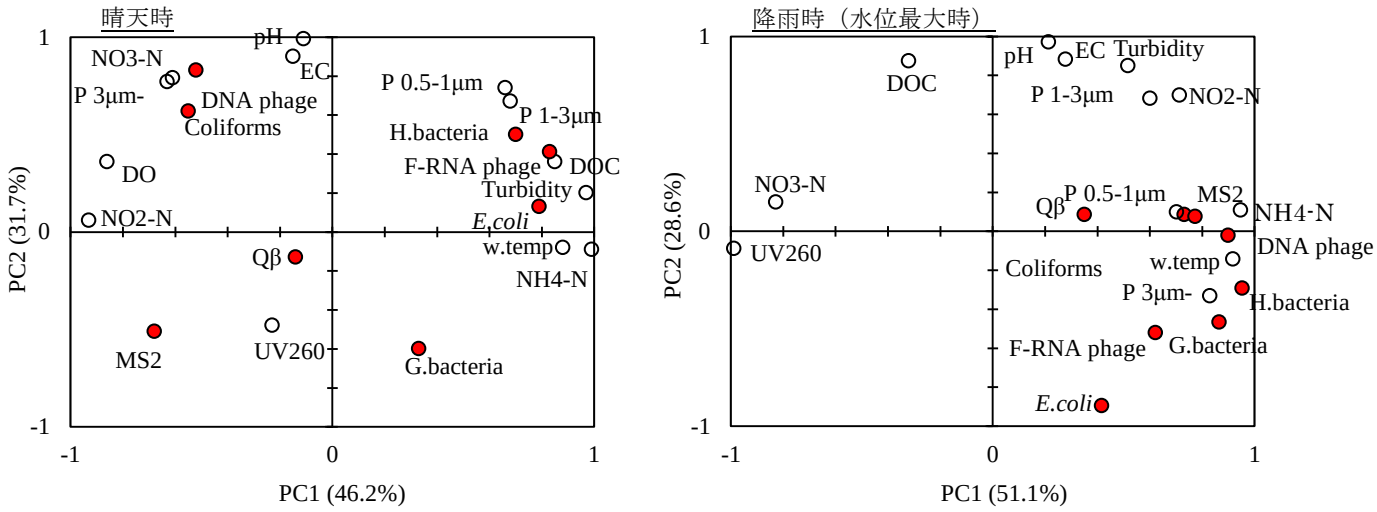

図１ 晴天時及び降雨水位最大時における主成分分析結果

次に，目的変数に晴天時における指標微生物とウイルス，説明変数に各指標項目を用いた重回帰分析の結果を表２に示す．説明変数の選択にはステップワイズ法を用いた．R^2 はモデルの当てはまりの良さを示している．回帰係数は目的変数への影響度を示している．大腸菌群は大腸菌の影響を大きく受けているだけなく，水温の影響も大きく受けていることがわかった．大腸菌は一般細菌のみで予測ができることがわかった．また，一般細菌は大腸菌と従属栄養細菌で精度の高い予測が可能であることが示唆された．従属栄養細菌は一般細菌と大腸菌に大きく影響を受けていた．指標ウイルスにおいては，決定係数の大きいモデルが存在せず，晴天時においてはウイルス指標は他の指標と異なった挙動を呈することが示唆された．

表２ 晴天時における重回帰分析結果（Qβ は未検出データが多いため除外）

目的変数項目名(単位)	採用された説明変数（標準化偏回帰係数）	自由度調整済み R2
大腸菌群(MPN/100ml)	大腸菌(0.74)， 水温(0.49)， 従属栄養細菌(-0.42)， MS2 (0.39)	0.62
大腸菌(MPN/100ml)	一般細菌(0.87)	0.75
一般細菌(CFU/ml)	大腸菌(0.66)， 従属栄養細菌(0.28)	0.78
従属栄養細菌(CFU/ml)	一般細菌(0.53)， 大腸菌(0.41)， F特異(-0.24)， 大腸菌群(-0.18)	0.67
菌体表面吸着ファージ (PFU/ml)	EC (0.39)	0.14
F 特異RNAファージ(PFU/ml)	大腸菌(0.67)， 従属栄養細菌(-0.47)， UV260(-0.23)	0.24
MS2 (eq-PFU/ml)	大腸菌群(0.66)， DOC(-0.40)， 濁度(0.34)	0.41

４．まとめ

晴天時に比べ降雨時ではどの水質項目も平均，変動幅ともに大きくなっていることがわかった．中でも MS2 が著しく大きくなっていることから，同指標は降雨時で集水域から多く流出されることが示唆された．主成分分析の結果から，晴天時では NO_3^-N と 3μm 以上の微粒子数に強い相関があることがわかった．降雨水位最大時では大腸菌群と MS2 及び 0.5μm～1.0μm の微粒子数間に強い相関があることがわかった．また降雨水位最大時の PC1 が正の値をとる NH_4^+-N などの項目は微生物・ウイルス指標項目に関連性があることが示唆された．重回帰分析の結果から晴天時においてウイルス指標は他の指標項目と相関性が非常に小さいことが見出された．

今回の調査において，ウイルス指標と重相関のある項目を解明するにはさらに多くのデータの解析が必要だとわかったが，晴天時に微生物指標と重相関のある項目は見出せた．

【参考文献】

1)笹島康宏，吉村千洋，李富生：土地利用と河川の大腸菌ファージ濃度の関係－岐阜市における事例－，環境工学研究論文集, Vol. 45, pp. 379-387, 2008.
2)斉藤春夏:可児川集水域内における微生物とウイルスの存在密度，岐阜大学卒業論文，2013 年度.
3)原正成：可児川における降雨出水時の指標微生物と指標ウイルスの濃度変化に関する検討，岐阜大学修士論文，2013 年度.