

近畿大学理工学部 学生員 ○横山 雄一
近畿大学理工学部 亀井 訓平
近畿大学理工学部 正会員 松井 一彰

1. はじめに

道頓堀川・東横堀川は大阪市街地を流れるシンボル河川である。高度成長期の 1960 年～1970 年代には、BOD の年平均値が 20～30mg/L を推移するほど水質汚濁がすすんだ河川であったが、公害対策基本法（のちの環境基本法）を通じた国を挙げての改善策や、水門操作による水質管理が功を奏して BOD 値も 2～3mg/L 前後にまで下がり、大阪府の定めた基準値内にて水質が維持されている¹⁾。

しかし大阪市域の下水のほとんどは合流式で整備されており、現在でも短時間に強い雨が降ると、雨水とともに汚水が流れ込んで水質汚濁を引き起こしてしまう。その対策のひとつとして大阪市では、下水の河川への越流を防ぐために「北浜逢坂貯留管」の建設を進めている。そこで、貯留管建設前後での水質改善効果を評価する目的で、微生物学的な項目を含む貯留管完成前の河川環境を把握するための水質調査を 21 ヶ月間にわたって実施したのでここに報告する。

2. 実験方法

2-1 採水地点



図1 道頓堀川・東横堀川の調査地点

調査は、2013 年 4 月から 2014 年 12 月にかけて、月に 1 回 6 地点で実施した(図 1)。ロープをつけたバケツを用いて河川水を橋の上より採水し、実験室に持ち帰って各種分析にもちいた。溶存酸素(DO)量と導電率は水質測定器(Multi 3420, セントラル科学)を用いて、また pH と水温はハンディ pH メーター

(D-52, HORIBA) を用いて、現場にて測定した。

2-2 変性剤濃度勾配ゲル電気泳動法(DGGE 法)による細菌の群集構造の解析

全ての細菌が持っているが、塩基配列が種によって異なる 16S リボソーム RNA 遺伝子を指標として、細菌群集構造の解析をおこなった。回収した細菌から ISOIL for Beads Beating (ニッポンジーン, Japan) を用いて全 DNA を抽出し、その中に含まれる各細菌の 16S リボソーム RNA 遺伝子を、PCR 法によって増幅した。その後、変性剤濃度勾配ゲル電気泳動法(DGGE 法)にて、増幅した遺伝子を細菌種毎に分離し、サンプル毎に得られた電気泳動パターンを細菌の群集構造データとして、非計量多次元尺度法を用いた比較をおこなった。

2-2 河川水の分析方法

・全細菌数：採水した水 1ml を蛍光染料である SYBR Green I (200 倍希釈) 20μl にて 10 分間染色し、落射蛍光顕微鏡(BX51 システム顕微鏡, OLYMPUS 社)を用いて顕微鏡下で計数した。

・全リン(TP)量：採水した水 25ml に 5ml のペルオキシニ硫酸カリウム溶液を加えてオートクレイブ分解し、上澄み 15ml に 0.2ml のアスコルビン酸溶液と 1ml のモリブデン酸アンモニウム溶液を加えて、分光光度計 OD₈₈₀ の値を測定した。

・懸濁態有機炭素(POC)および懸濁態有機窒素(PON)量：採水した水を GF/F フィルターでろ過して懸濁物を回収し、塩酸燻蒸処理を施して乾燥させたフィルターを CHN コーダー(マイクロコーダー JM-10, J-SCIENCE GROUP 製)を用いて測定した。

・溶存態有機炭素(DOC)量：GF/F フィルターでろ過したサンプル水を、TOC アナライザー(TOC-Vw, 島津製作所)を用いて測定した。

本概要では、全細菌数、TP 量、POC 量、PON 量、細菌群集構造の 5 項目を示した。全細菌数は、いずれのサンプリング地点においても $2.0 \times 10^6 \sim 8.0 \times 10^6 \text{ cells/ml}$ の間で推移していた。この値は他の河川で観察された細菌数とほぼ同数である²⁾。

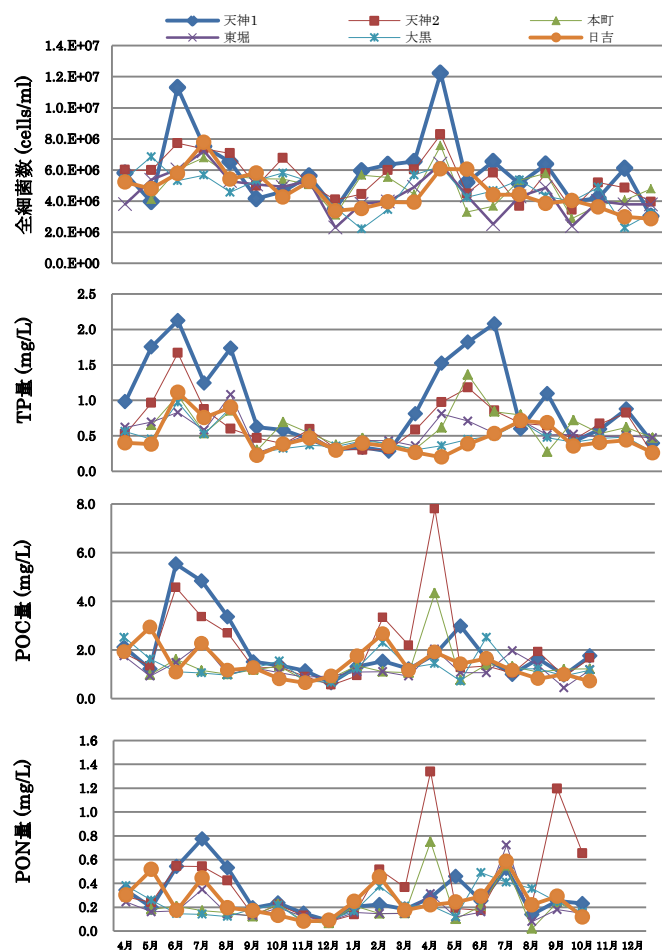


図 2. 2013 年 4 月～2014 年 12 月における各採水地点毎の全細菌数、TP 量、POC 量、PON 量の変遷。

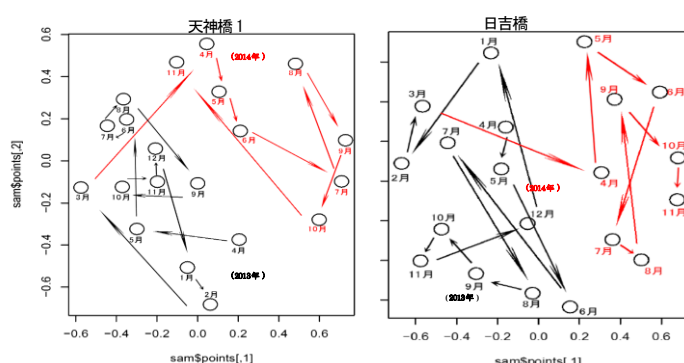


図 3. 非計量多次元尺度法を用いた天神橋 1 地点と日吉橋地点における細菌群集における構造の 変遷。矢印は翌月の群集構造への方向を示す。

2013 年 4 月～2014 年 3 月（黒字の月と矢印）

2014 年 4 月～2014 年 11 月（赤字の月と矢印）

しかし天神橋 1（土佐堀川入り口）の地点においては、2013 年の 6 月と 2014 年の 4 月に細菌数が $1.2 \times 10^7 \text{ cells/ml}$ となり、前月の 2 倍に急増していた。このとき細菌数の増加と共に、TP 量、POC 量、PON 量も前月より増加していたが、細菌数と各栄養塩項目間にほとんど相関は見られなかった（相関係数 <0.2 ）。このことから、栄養塩の増加によって同地点の細菌数が増えるのではなく、細菌数と栄養塩量が高い外来の水が流れ込んでいた可能性が考えられる。

次に各地点での細菌群集構造の変遷をみるために、16SrRNA 遺伝子を対象とした DGGE 解析を実施した。図 3 では、非計量多次元尺度法にて図表化した天神橋 1 の地点と日吉橋の地点における細菌群集構造の月ごとの変化を示しているが、どちらの月においても細菌群集は月ごとに刻々と変化していることがわかる。また日本においては、特徴だった生物相が季節毎に現れることが多いが、道頓堀川・東横堀川では、栄養塩濃度も含めて一年を通じて変化が小さく、季節的な変動パターンは観察されなかった。

ここには示していない溶存酸素量や水温のような物理的な測定項目については季節的な周期性がみられたが、栄養塩濃度、細菌数、細菌群集については周期性が見られなかった。このことより、季節的な変遷が見られる他の多くの湖沼や海洋の微生物群集とは異なり、道頓堀川・東横堀川では、季節によらず細菌群集が年間を通じて絶えず変わっている様子が伺える。この変遷が不定期に流入する越流下水に起因するかどうかについては、貯留管完成後の細菌数や細菌群集構造の変化を、引き続き追跡調査することによって明らかにできると思われる。

参考文献

1. 大阪市市政 大阪市の川・海の水質・底質（大阪市内公共用水域測定結果）
<http://www.city.osaka.lg.jp/kankyo/page/0000193076.html>
2. 中村寛治, 濱谷美希, 相澤瑛美, 阿部晋太郎, 山口猛（2008）広瀬川河川中に生息する細菌群集構造の季節変動. 環境工学研究論文集 45: 415-422.