

大腸菌ファージの感潮河川における 24時間調査

東京大学工学部 ○浅田 素之 神子 直之 関谷 毅史
土佐 光司 唐沢 祥嗣 大垣 眞一郎

1. はじめに

ウイルスに対応する新しい水質指標として、大腸菌を宿主とするウイルス、大腸菌ファージが注目されている。大腸菌ファージを指標として実用化するためには、その自然水系中における消長と生態に関する研究の蓄積が必要である。本研究は、神奈川県のある感潮河川において、大腸菌ファージについての24時間調査を行なったものである。

2. 調査の方法

採水は、神奈川県のある河川の、河口から約2300m上流のL橋の上流側中央直下、河口とみなせるN橋下流側中央直下、河口近くのP海水浴場の3ヶ所で、夏期に一日を通じ、2時間ごとに12回（午前4時～翌朝4時）行ない、表層水を対象試料とした。採水地点を図1に示す。測定項目は流況、電気伝導率、SS、および大腸菌ファージ濃度である。

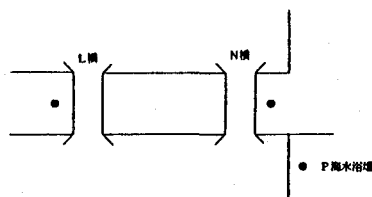


図1 採水地点（●で示す）

大腸菌ファージ測定の際、試料を、 $0.45\mu\text{m}$ ミリポアフィルターで濾過して濾液と固形物に分離し、固形物に吸着している大腸菌ファージは、 $\text{pH}9.5$ の3%ビーフェキストラクト中でフィルターごと1分間攪拌することによって誘出する。こうして、濾液中、および固形物に付着している大腸菌ファージを別々に測定し、合計したものを最終的なファージ濃度とした。

宿主菌の大腸菌は3種、*E. coli* B株、*E. coli* C株、*E. coli* K12F⁺A/ λ 株を用い、*E. coli* K12F⁺A/ λ 株のみ、RNA分解酵素添加、無添加の2種のプレートを作成、都合4種の大腸菌ファージを測定した。それらを便宜的に、B株を宿主とするものをBファージ、C株を宿主とするものをCファージ、K12F⁺A/ λ 株を宿主としRNA分解酵素添加プレート上で増殖可能なFDNAファージ、RNA分解酵素無添加プレートの計数からFDNAファージの計数を引いたものをFRNAファージと呼ぶことにする。

培地組成、定量方法等は、既報¹⁾の通りの培地、二層寒天法で行なった。

調査方法の詳細は神子らの論文²⁾を参照されたい。

3. 調査の結果

3.1. 流況、電気伝導度、およびSS濃度の変化

図2に、河川上流のL橋での水深、流速、流量の時間変動を示す。単位は無視して相対値で表わしている。調査当日の満潮が午前6時と午後7時、干潮が正午と午前1時であった。潮が満ちるのに伴って水深は増加し、逆に流速・流量は減少している。塩水くさびの効果と思われる。感潮域において河川の流量は潮汐に大きく依存している。

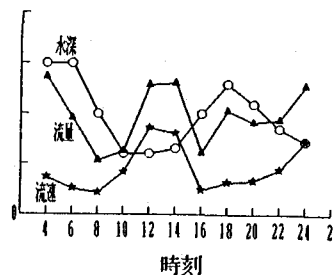


図2 L橋での流況

図3に、SSおよび電気伝導率の時間変動を示す。調査当日は、午後2時頃から雨が降り始め、午後10時にはかなりまとまった雨となった。午後10時以降、降雨の影響とおもわれるSSの増大がみられる。電気伝導率について、P海水浴場では40～50 mS/cm、L橋・N橋では表層水から採水したので電気伝導率は小さく0～5 mS/cmである。特にL橋では1日を通じてほぼ0であり海水の混入はほとんどない。N橋では潮汐の影響により多少変動している程度であり、海水の混入は割合少ないようである。

3. 2. 各種大腸菌ファージの存在量

各採水地点における4種の大腸菌ファージ濃度の概況を表1に示す。濃度を平均する際に幾何学的平均値を用いた。各大腸菌ファージ濃度とも、L橋・N橋で $10 \sim 10^2$ PFU/mlのオーダーである。P海水浴場では検出限界(1 PFU/ml)以下の試料が多くFDNAファージ・FRNAファージの平均値は求められなかったためND (Not Detected)と表示した。L橋およびN橋では4種類のファージがほぼ同じだけ含まれているが、P海水浴場だけは、BファージとCファージの濃度が高く、FDNAファージ・FRNAファージが少ない。FDNAファージ・FRNAファージは、Bファージ、Cファージに比べて海水中で減少する割合が大きいと考えられる。

表1 大腸菌ファージ濃度の概況

	L 橋	N 橋	P 海水浴場
FDNAファージ	1.6×10^2	5.9×10	ND
FRNAファージ	7.2×10	4.7×10	ND
Bファージ	2.1×10^2	1.1×10^2	2.3注 ¹
Cファージ	1.7×10^2	6.1×10	5.6

単位 (PFU/ml)

3. 3. 大腸菌ファージの時間変動

各大腸菌ファージ濃度の時間変動を表したのが図4である。縦軸はファージ濃度の対数をとっており、検出限界以下のデータはNDで表わしている。大腸菌ファージ濃度への降水の影響が大きいと思われるので、採水日を雨の降っていない前半、降雨の影響する後半に分けて議論する。

採水日前半に、L橋ではファージ濃度変化はあまり見られない。N橋では潮汐の影響を受けたとみられる濃度変化を示しており、午前10時頃に各ファージ濃度が最低値をとっている。3. 1の流況のところで述べたように河川への海水の混入は少ない。にもかかわらずファージ濃度が図4のような動きを見せるのは海水による希釈ではなく流速・流量の影響で、SS分に付着したファージが流れの遅いときには沈降してしまう、等の理由が考えられる。

採水日後半には降水、SSの増加によると思われるファージ濃度の増大がみられる。

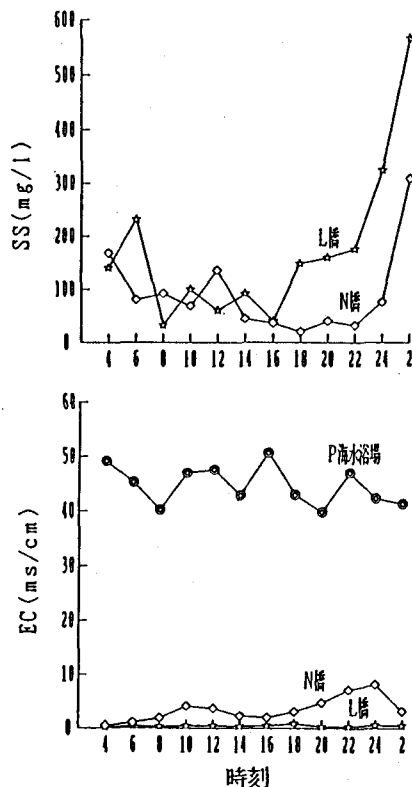


図3 SS、電気伝導率の時間変動
(上がSS、下が電気伝導率)

注) 12個のサンプル中NDが1個含まれている。それを除いた11個のデータの平均をとった。

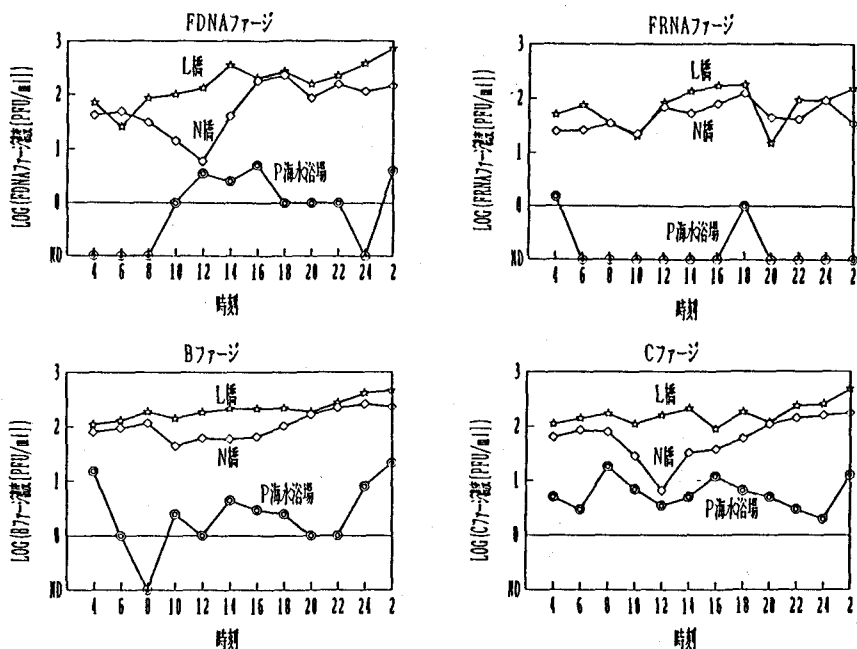


図4 各大腸菌ファージ濃度の時間変動

3. 4. 海水による希釈の影響

大腸菌ファージ濃度に対する海水希釈の影響を考える。河川水が全く含まれていない海水の電気伝導率を52.2、大腸菌ファージ濃度を0と仮定した。各サンプルの電気伝導率をもとに海水による希釈前の見かけのファージ濃度を計算した。希釈を考慮した見かけのCファージ濃度の時間変動を図5に示す。図4の右下の図と比較すると、P海水浴場におけるCファージのオーダーが1つ上がり、河川域のファージ濃度と大差なくなるのがわかる。海水浴場のファージ濃度は河川のファージ濃度が海水で希釈されることによって決まってくるとおもわれる。

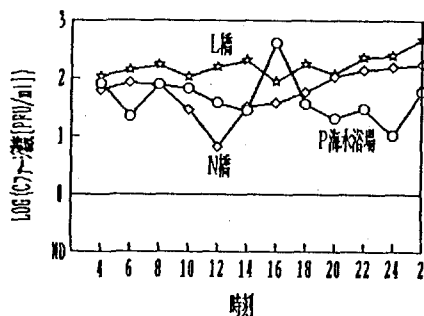


図5 希釈を考慮したCファージ濃度の時間変動

参考文献

- ¹⁾ 大垣他(1989)：生活環境水中に存在する大腸菌ファージの定量、浄化槽研究、Vol.1, No.1, p20
- ²⁾ 神子他(1991)：感潮域における大腸菌ファージの挙動、第27回衛生工学研究討論会講演集