下水越流水が東横堀川の水質に及ぼす影響と雨水貯留管供用による改善効果の細菌叢を指標にした評価

松井 一彰¹・横山 雄一²・亀井 訓平³・中口 譲⁴・
江口 充⁵・谷口 亮人⁶・竹原 幸生⁷・麓 隆行⁸

¹正会員 近畿大学准教授 理工学部社会環境工学科 (〒577-8502 東大阪市小若江3-4-1)
E-mail: kmatsui@civileng.kindai.ac.jp

²非会員 近畿大学学部学生 (当時) 理工学部社会環境工学科 (〒577-8502 東大阪市小若江3-4-1)
E-mail: yokoyama-y86wi@kkr.milt.go.jp

³非会員 近畿大学学部学生 (当時) 理工学部社会環境工学科 (〒577-8502 東大阪市小若江3-4-1)
E-mail: kun-kamei@chuoh-c.co.jp

⁴非会員 近畿大学教授 理工学部理学科化学コース (〒577-8502 東大阪市小若江3-4-1)
E-mail: nakaguch@chem.kindai.ac.jp

⁵非会員 近畿大学教授 農学部水産学科 (〒631-8505 奈良市中町3327-204)
E-mail: eguchi@nara.kindai.ac.jp

⁶非会員 近畿大学講師 農学部水産学科 (〒631-8505 奈良市中町3327-204)
E-mail: htrakito@nara.kindai.ac.jp

⁷正会員 近畿大学教授 理工学部社会環境工学科 (〒577-8502 東大阪市小若江3-4-1)
E-mail: takehara@civileng.kindai.ac.jp

⁸正会員 近畿大学准教授 理工学部社会環境工学科 (〒577-8502 東大阪市小若江3-4-1)
E-mail: fumoto@civileng.kindai.ac.jp

合流式下水道越流水 (Combined Sewer Overflow: CSO) が都市河川に及ぼす影響と、大規模雨水貯留管 (平成の太閤下水) の供用による改善効果の評価を目的に、降雨時の東横堀川 (大阪市) にて細菌叢を指標とした水質調査を実施した。東堀橋地点では、4.0 mm/hを越える降雨時にCSOが原因と思われる懸濁態物質濃度の上昇と、それに伴う細菌叢の変化が確認された。しかしこのとき確認された河川中の細菌叢は、下水処理場で入手した処理前下水の細菌叢とは異なるものであった。雨水貯留管供用後も降雨時に河川水の電気伝導度が増加したが、それに伴った河川中の細菌叢の変化は確認されなかった。雨水貯留管の供用は、CSO流入を抑制することで、河川水質の改善や河川微生物群集攪乱の緩和に効果があると考えられた。

Key Words : combined sewer overflow, stormwater storage pipe, bacterial community composition, urban river

1. はじめに

大阪市内を流れる東横堀川・道頓堀川は、淀川水系の下流部に位置する人工的な開削運河である。大川の天神橋付近を起点に約 3 km 南流した東横堀川 (川幅約 20 m) は、上大和橋付近で道頓堀川と名を変えて約 2.5 km 西流した後に木津川へ合流する。道頓堀川の川幅は、深里橋を境に東側が約 30 m、西側が約 50 m である。急激

な都市化に伴って、1970 年頃には BOD の年平均値が 20 mg/L を超過するほど汚濁がすすんだ両河川であったが、排出規制や下水道整備、さらには河川水を入れ替える水門操作や河川底泥浚渫などの事業が次々と進められ、2010 年から 2014 年までの 5 年間には、環境基準法に定める環境基準の B 類型基準値 (3.0 mg/L) を通年で下回るまでに BOD 値が改善している¹⁾。

感潮域であることを利用した水門操作では、上げ潮時

に上流側の東横堀川水門を開け、BOD の年平均値が 0.8 mg/L (2013 年) と比較的水の清浄な大川の水を取り入れて、水質の向上を図っている。他方、下げ潮時には東横堀川の水門を閉めて、BOD の年平均値が 3.2 mg/L (2013 年) と汚濁度合いが相対的に高い寝屋川からの水が流入しないようにすると同時に、下流側の道頓堀川水門を開けて河川に滞留した水を排出している^{1),2),3)}。このように、両河川では水の流れが一方向でかつ一時的にしか発生しておらず、水の滞留期間が長いのが特徴である。さらに現在でも、市域面積の約 10% を水面が占める「水の都」大阪のシンボル河川として、東横堀川および道頓堀川の賑わい創出に向けた水辺整備が進められている。まちづくり活動の一環として、景観を含めた親水空間を創出するためにも、今後さらなる水質改善が求められている⁴⁾。

現在の東横堀川や道頓堀川の水質に悪影響を及ぼす原因として、合流式下水道越流水 (Combined Sewer Overflow: CSO) が指摘されている。古くから下水道整備が進められた都市域では、雨水と汚水を単一管渠で下水処理場へ送る合流式下水道が採用されている場合が多く、大阪市でも市域の約 97% が合流式で整備されている⁵⁾。分流式下水道と比較すると、合流式下水道は安価でかつ市街地のノンポイント汚濁負荷抑制効果を有するという利点がある。しかし雨量が一定量を超えると、雨水と共に未処理の汚水が公共用水域へ排出されてしまうため、水質や公衆衛生面への影響が懸念されてきた (図-1)。東横堀川と道頓堀川には、合流式下水道の雨水吐き口が 28 カ所あり (図-2)、年間 85 回程度ある降雨の中で 70 回ほど CSO が発生していたと推定されている⁴⁾。また CSO 吐き口周辺に限定的ながらも、CSO が東横堀川と道頓堀川の水質に無視できない影響を及ぼしているとの研究報告もある⁶⁾。そこで 2015 年 3 月末より、「平成の太閤下水」の愛称を持つ雨水地下貯留管 (北浜逢阪貯留管) の供用が開始され、10 年に一度の大雨時でも CSO を発生させない対策が始まった⁷⁾。

図-1 雨水吐き口から東横堀川への流入
(本町橋上より 2014 年 7 月 13 日 9 時 50 分頃撮影)

CSO が河川に及ぼす影響としては、大量に流入する有機物の分解に伴う水中酸素の欠乏、あるいは糞便性微生物や病原性微生物による衛生面での問題などが指摘されている⁸⁾。しかし CSO 中の有機物や微生物の流入が、都市河川中の微生物群集にどの程度の影響を及ぼすかについては、ほとんど明らかになっていない。また次世代シーケンサーを用いた微生物群集解析、特に細菌叢解析の普及に伴って、下水中に含まれる細菌叢と糞便中の細菌叢が大きく異なる事も解明されつつあり⁹⁾、CSO 発生と糞便性微生物の検出が必ずしも結びつかない事も明らかになってきた。次世代シーケンサーを用いた細菌叢解析は、河川細菌叢の解析にも利用されており¹⁰⁾、CSO の河川微生物群集への影響を評価する手法としても有効だと考えられる。

そこで本研究では、北浜逢阪貯留管の供用前後で降雨時の東横堀川の水質と細菌叢を比較することから、CSO が東横堀川の水質や微生物群集に与えていた影響と、貯留管供用の河川水質に対する改善効果について考察した。

2. 方法

(1) 調査地点と採水時の測定

東横堀川に架かる本町橋または東堀橋にて (図-2)、北浜逢阪貯留管 (平成の太閤下水) 供用前の降雨時に 4 回 (2014 年 7 月 13-14 日, 2014 年 9 月 24-25 日, 2015 年 1 月 14-16 日, 2015 年 3 月 3-4 日) と、貯留管供用後の降雨時に 2 回 (2015 年 5 月 12 日, 2015 年 7 月 16-17 日) の調査を実施した。東横堀川の上流は阪神高速道路経路になっており、降雨時には河川中に立つ各橋脚柱に設置された雨どいより、路面排水が流れ込むのが特徴である (図-3)。採水調査は、国土交通省より提供されている X バンド MP レーダー雨量情報 (XRAIN: <http://www.river.go.jp/>) を用いて降雨と雨量を予測しながら、1 時間～数時間の間隔で実施した。1 時間当たりの降雨量は、気象庁から公表された大阪市における数値を用いた¹¹⁾。河川水中の電気伝導度と溶存酸素濃度 (DO) は、携帯用マルチ水質測定器 (Multi 3420, WTW) を用い、水温と pH はポータブル型 pH メータ (D-71, HORIBA) を用いて計測した。試料水は橋の中央からロープをつけたバケツを用いて採水し、保冷剤を入れたクーラボックスにて実験室に持ち帰って分析に用いた。また 2016 年 1 月 13 日に、東横堀川や道頓堀川への流域を担当している津守下水処理場にて、処理前下水のスポットサンプリングを実施し、細菌叢の比較対象とした。

(2) 水質分析

水質指標の項目として、懸濁態炭素濃度 (POC)、懸

濁態窒素濃度 (PN), 全リン濃度 (TP), 溶存態炭素濃度 (DOC), 硝酸性窒素および亜硝酸性窒素濃度 ($(\text{NO}_3+\text{NO}_2)\text{-N}$), 細菌数をそれぞれ測定した. POC と PN は, 試料水 10ml 中の懸濁粒子を GF/F ガラスフィルター (GE Healthcare) 上に汙過捕集後, 元素分析装置 (JM10, J-SCIENCE) を用いて定量した. TP は, ペルオキシ二硫酸カリウムを用いた高压分解法を施した試料水を, 比色定量法にて測定した¹²⁾. DOC は, GF/F ガラスフィルターで汉過した試料水を, 湿式酸化方式全有機炭素計 (TOC-Vw, SHIMADZU) にて測定した. $(\text{NO}_3+\text{NO}_2)\text{-N}$ は, 採水後に -25°C で保存していた試料水を室温解凍し, 超純水 (ミリ Q 水) で適宜希釈したものを, 栄養塩自動分析装置 (AACS-II, BRAN+LUEBBE) を用いた比色定量法にて測定した¹³⁾. 細菌数は, 試料水を実験室に持ち帰って直ぐに蛍光染色剤 SYBR Green I を用いた蛍光顕微鏡法¹⁴⁾にて計数した.

図-2 採水地点と雨水吐き口⁴⁾および北浜逢阪貯留管の位置 (国土地理院淡色地図 (20 万) を加工して使用)

図-3 東横堀川その上部を通る阪神高速道路 (東堀橋上付近にて 2014 年 11 月 26 日 11 時頃撮影)

(3) 次世代シーケンサーによる細菌叢の解析

持ち帰った試料水 100 ml 中に含まれる細菌叢を, 0.2 μm ポリカーボネートフィルター (ADVANTEC) 上に汉過捕集した. 市販の ISOIL for Beads Beating (ニッポン・ジーン) 付属の Beads tube にフィルターを入れ, 400 μl のクロロホルム (和光純薬) を加えてフィルターを溶解させた後, 製品のマニュアルに従って DNA を抽出した.

次世代シーケンサー (Miseq, Illumina) を用いた細菌叢解析用の DNA サンプル調整は, Illumina 社の公式プロトコールに準じて行った. まず 1 チューブにつき 2 ng から 3 ng の抽出 DNA を鋳型 DNA として加え, 16S リボソーム RNA 遺伝子の V3-V4 領域を含む約 460 bp を, プライマー V3V4_F (5'-ACACTCTTTCCCTACACGACGCTCTTCCGATCTCTCTACGGGNGGCWGCAG-3') と V3V4_R (5'-GTGACTGGAGTTCAGACGTGTGCTCTTCCGATCTGACTACHVGGGTATCTAATCC-3') を使用して, TaKaRa ExTaq HS (タカラバイオ) を用いた PCR にて増幅した. PCR 反応は, 95°C で 2 分の後, 95°C で 30 秒, 55°C で 30 秒, 72°C で 30 秒を 25 サイクル行い, 72°C で 5 分を実施した. 得られた PCR 産物を磁気ビーズ (AMPureXP, Beckman-Coulter) にて精製後, インデックス配列付加 PCR の鋳型 DNA として用いた. PCR 反応は 95°C で 2 分の後, 95°C で 30 秒, 55°C で 30 秒, 72°C で 30 秒を 8 サイクル行い, 72°C で 5 分を実施した. 増幅産物を磁気ビーズにて精製し, 等量混合したサンプルを, 株式会社ファスマック所有の Miseq システム (Illumina) にて解析した. 得られた塩基配列データの処理には QIIME ver 1.9.0 を用いた.

経時的な細菌叢の変遷を示すため, キメラ除去された OTU に対して, サンプル数あたりのリード数の統一 (希釈化) をおこない, 得られた OTU を用いて, Bray-Curtis 指数を利用した非計量多次元尺度構成法 (non-metric multidimensional scaling: NMDS) にて図示化した. NMDS の解析は, 東樹 (2016) の手順に沿って, 統計解析プログラム R の vegan パッケージを用いて実施した¹⁵⁾.

3. 結果と考察

(1) 降雨時における東横堀川水質の変化

本町橋では夏季の降雨時に, 貯留管供用前に 2 回と供用後に 1 回の調査を実施した (図-4). 本町橋は, 雨水吐き口が橋のほぼ真横にあり, 吐き口からの流入水を目視で確認できる. 2014 年 7 月 13 日午前 9 時 30 分頃より始まった強い降雨時には, 雨水吐き口からの流入が確認された (図-1). 別の吐き口でも, 短時間降雨で 5.5 mm/h, 長雨の場合には 3.5 mm/h (総降雨量 8.5 mm) の降雨の際に CSO が発生したとの報告がある¹⁶⁾. 2014 年 7 月 13 日午前 10 時~11 時の降水量は 4.0 mm/h だが, 降

図4 本町橋における降雨時の降水量と測定水質項目の変化

り始めの数十分間に強い雨が降ったこともあり、雨水吐き口からの流入が生じたと考えられる。しかし 2014 年 7 月 13-14 日の観測では、各測定水質項目に大きな変動はみられず、CSO による河川水質への影響は小さかった。また 2014 年 9 月 24-25 日の観測時には、最大 25 mm/h の降雨を挟んだ調査を実施したが、降雨時の $[\text{NO}_3+\text{NO}_2]\text{-N}$ 量が約 2 倍に増加した以外は、各測定水質項目に変化はみられなかった。別の研究グループの調査でも、降雨時に路面排水由来と考えられる $[\text{NO}_3+\text{NO}_2]\text{-N}$ 濃度上昇が確認されており⁹⁾、本研究でも同じ現象が生じていたと推察される。

貯留管供用後の 2015 年 7 月 16-17 日の観測では、7 月 17 日 3 時に、6.0 mm/h を越える降雨を観測した。しかし、各水質項目の測定値は、降雨前の 7 月 16 日 20 時の値からほとんど変化しなかった。また 7 月 17 日の 9 時頃から翌日にかけては、台風 11 号の影響によって 8.0 mm/h を越える強い雨が連続的に降り、河川水の電気伝導度が

図5 東堀橋における降雨時の降水量と測定水質項目の変化（右端に下水の測定結果を示した）

が上昇した。電気伝導度が上昇した要因としては、海からの塩水の侵入や、上流河川水の取り込みなども考えられる。しかし電気伝導度が上昇した時間帯は、大潮の下げ潮～干潮時であるために下流からの海水の侵入は無く、また上流の水門も閉じられていた。このことから、雨水吐き口または東横堀川の上部に建設されている高速道路からの、溶存電解質を含む流出水の流入が予想された。その一方で、炭素、窒素、リンの懸濁態および溶存態物質の測定値には大きな変動がみられず（図-4）、流入した水の河川水質への影響は小さかった。このように本町橋地点では、貯留管供用前後での河川水質項目の測定値の変動に、顕著な違いは見られなかった。台風による大雨時にも河川水質がほとんど変動していないことから、貯留管供用は、河川水質の安定化に効果があると考えられる。

東堀橋では、貯留管供用時期を跨いで約 2 ヶ月毎に降雨時の採水調査を実施した（図-5）。東堀橋近辺は雨水

図-6 本町橋にて採水した河川水中の細菌叢（細菌綱ごとの相対存在量，右端は下水中の細菌叢）

吐き口が多く^{4),5)}，東横堀川でも特にCSOの影響が大きい場所だと予想される。貯留管の供用前である2015年1月14-16日の降雨時調査では，雨量が4.0 mm/hを越えて雨脚がさらに強まった1月15日の10時頃に電気伝導度が増加し，水中の懸濁態物質濃度（POC, PN, TP）も上昇した。23時間後の採水では，PNを除いて電気伝導度，POC, TPともそれぞれ降雨前の数値近くまで減少していることから，1月15日10時頃にCSOが起こった可能性が高い。

また夕方から明け方まで断続的に雨が降り続いた2015年3月3-4日の調査でも，降雨時に電気伝導度の減少がみられた。このときは水中の懸濁態物質濃度等に変動はみられなかったが，CSOが発生した可能性はある。貯留管供用後の2015年5月12日の調査では，台風6号に伴う降雨時に電気伝導度の増加が確認された。POCやPNのような懸濁態物質濃度にも少し変化がみられたが，TP濃度には変化が見られなかったことや，降雨の時間と濃度上昇の時間にずれがあることから，2015年1月14-15日の調査で見られたようなCSOによる変化ではないと推測される。これまでの報告によると，下流の水門より約2.5km上流の道頓堀川下大和橋では，水質に対する潮汐の影響がほとんどみられていない¹⁷⁾。この事より，下大和橋のさらに400m上流の東横堀橋地点における電気伝導度の上昇は，海水の侵入に起因しないと考えられる。そのため2015年7月16-17日の本町橋での観察と同様に，高速道路や雨水吐き口からの，溶存電解質を含む雨水流れ込みが，電気伝導度に影響していた可能性が高い。

(2) 降雨時における東横堀川細菌叢の変遷

本町橋および東堀橋における綱レベルでの細菌叢を，図-6および図-7に示した。本町橋における細菌叢は，降雨や貯留管の供用前後に依らず，Alphaproteobacteria, Betaproteobacteria, Actinobacteriaが過半数を占め，次に

図-7 東堀橋にて採水した河川水中の細菌叢（細菌綱ごとの相対存在量，右端は下水中の細菌叢）

図-8 非計量多次元尺度構成法（NMDS）にて示した本町橋と東堀橋における河川水中の細菌叢の変遷

Gammaproteobacteria, Synechococcophycidae, Acidimicrobiaが数%ずつを占めるという構成であった。また採水時期によって，出現した細菌の分類綱に違い（例えば2015年7月16-17日にはSaprospiraeが見られる等）があり，NMDSによる平面図にはその違いが現れている（図-8）。降雨時のCSOに伴った細菌叢の変化は見られなかったが，貯留管供用前の2014年の7月と9月の調査においては，降雨の数時間後に細菌叢が変化する様子が見られた。このとき下水中に見られるOTU8やOTU13のような細菌の割合が増加していたことから，下水由来の細菌が河川に流れ込んでいた可能性が高い（表-1）。また米国ウィスコンシン州の下水調査においても，OTU13と同じMoraxellaceae科の細菌が優占分類群として報告されており^{9),18)}，他国においても，下水中にて本分類群が優占している可能性がある。

優占していたBetaproteobacteriaやActinobacteriaは，淡水域の主たる細菌綱としてよく観察されるため¹⁹⁾，本町橋付近の河川水は，淡水域の一般的な細菌叢を持つと考

えられる。他方、比較対象として入手した下水中では、Epsilonproteobacteria と Gammaproteobacteria が優占し、Clostridia や Fusobacteriia が数%ずつを占める細菌叢がみられた(図-6, 表-1)。Clostridiaは糞便に、Fusobacteriiaは下水に関連した報告例が多いグループである^{9, 18)}。このように、降雨の数時間後に下水由来と考えられる分類群の割合が増加したが、本町橋付近の河川水の細菌叢と下水の細菌叢は明らかに異なっていた。貯留管供用前の本町橋では、降雨時に雨水吐き口からの流入水が目視確認されていたものの(図-1)、河川の細菌叢に対する影響は小さかったといえる。その理由として、雨水吐き口の少ない本町橋付近では^{4, 5)}、河川水に対するCSOの量が少なく、貯留管供用前においても、その影響が小さかったためだと考えられる。

貯留管供用後の2015年7月16-17日の調査では、台風11号によって8.0 mm/hを越える降雨がもたらされた。7月17日の正午以降には、電気伝導度の増加や目視による河川水の濁りが確認され(図-4)、OTU8やOTU13の割合も少し増加していたが、河川中の細菌叢は、降雨や

CSOによって攪乱されていないことがわかる(図-8)。

東堀橋においては、本町橋とは違って、採水時期ごとに細菌叢の特徴が異なっていた(図-7)。まず貯留管供用前の2015年1月14-16日の調査では、降雨前と降雨から3時間までの細菌叢がBacilliとGammaproteobacteriaで全体の70%以上を占めており、Flavobacteriia, Betaproteobacteria, Actinobacteria, Clostridiaが数%ずつを占めていた(図-7, 表-1)。しかし、降雨によって電気伝導度が増加した1月15日午前9時の採水では、Alphaproteobacteria, Betaproteobacteria, Actinobacteriaが過半数を占める細菌叢へと急激に変化した。さらにそれから2時間が経つと、降雨前と同じBacilliとGammaproteobacteriaが優占する細菌叢に戻った。降雨前と降雨後の細菌叢が類似していることから、先行降雨の影響も予想されたが、調査4日前の2015年1月10日から1月13日までは降雨が観測されていない。

降雨によって河川水中の細菌叢が急激に変化する現象は、2015年3月3-4日の降雨時調査でも観察された。この時期の降雨前および降雨から2時間までの細菌叢は、

表-1 河川水中および下水中より検出された主なOTUの割合

本町橋																				
OTU 番号	2014年7月13-14日				2014年9月24-25日				2015年7月16-17日							下水	綱	目	科	属
	10:00	13:00	17:00	10:00	10:00	23:00	0:00	13:00	20:00	3:00	11:00	12:00	14:00	18:00						
1	8.4%	8.1%	5.5%	2.3%	5.1%	4.2%	8.8%	1.6%	1.5%	1.2%	0.9%	0.9%	0.7%	0.8%	0.0%	Alphaproteobacteria	Rhizobiales			
2	3.9%	2.9%	2.5%	4.6%	2.4%	5.4%	4.3%	6.2%	3.2%	2.2%	2.3%	3.3%	3.1%	2.6%	0.1%	Alphaproteobacteria	Sphingomonadales	Sphingomonadaceae	Novosphingobium	
3	2.5%	2.1%	2.1%	3.3%	3.0%	5.2%	4.8%	5.2%	6.6%	4.3%	3.3%	2.1%	2.1%	2.1%	0.0%	Betaproteobacteria	Burkholderiales	Comamonadaceae		
4	2.1%	1.6%	2.4%	2.3%	2.0%	3.6%	3.6%	4.4%	5.5%	3.5%	3.0%	3.5%	4.5%	3.0%	0.3%	Betaproteobacteria	Burkholderiales	Comamonadaceae		
5	2.5%	2.8%	2.9%	2.2%	2.1%	2.0%	2.4%	1.0%	2.0%	2.5%	2.7%	2.1%	1.3%	2.4%	0.0%	Acidimicrobia	Acidimicrobiales	C111		
6	0.5%	1.2%	1.3%	1.0%	2.4%	1.7%	1.2%	1.1%	4.6%	6.1%	5.0%	3.9%	3.2%	3.8%	0.0%	Actinobacteria	Actinomycetales	ACK-M1		
7	2.8%	3.2%	1.9%	0.5%	2.4%	2.1%	2.2%	0.7%	1.4%	1.7%	1.2%	1.5%	1.5%	2.1%	0.0%	Synechococcophycideae	Synechococcales	Synechococcaceae	Synechococcus	
8	0.5%	0.6%	1.1%	7.4%	0.1%	0.1%	0.1%	2.8%	0%	0%	0.1%	0.9%	1.8%	0.9%	3.0%	Flavobacteriia	Flavobacteriales	[Weeksellaceae]	Cloacibacterium	
9	4.9%	4.0%	2.4%	2.4%	0.7%	1.0%	1.6%	0.4%	0.4%	0.4%	0.3%	0.5%	0.4%	0.5%	0.0%	Alphaproteobacteria	Rhizobiales			
10	2.3%	2.4%	2.9%	1.6%	0.8%	1.6%	1.4%	1.1%	2.1%	1.9%	1.4%	1.0%	1.0%	1.2%	0.0%	Betaproteobacteria	Burkholderiales	Oxalobacteraceae	Polynucleobacter	
11	0.8%	1.4%	1.7%	1.3%	1.6%	2.4%	1.8%	1.6%	1.8%	2.1%	1.7%	1.3%	1.1%	1.2%	0.0%	Actinobacteria	Actinomycetales	ACK-M1		
12	0.1%	0.2%	0.2%	0.2%	2.0%	1.5%	1.0%	1.0%	3.8%	4.8%	3.9%	3.4%	2.8%	3.1%	0.0%	Actinobacteria	Actinomycetales	ACK-M1		
13	0.1%	0.1%	0.3%	3.1%	0%	0%	0%	2.6%	0%	0.3%	0.5%	1.0%	2.5%	0.7%	10.2%	Gammaproteobacteria	Pseudomonadales	Moraxellaceae	Acinetobacter	
14	0%	0%	0.2%	0.2%	0.1%	0%	0%	0.9%	0%	0%	0%	0.3%	0.5%	0.2%	14.2%	Epsilonproteobacteria	Campylobacterales	Campylobacteraceae	Arcobacter	
15	0%	0%	0.2%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0.3%	0.4%	0.1%	9.3%	Epsilonproteobacteria	Campylobacterales	Campylobacteraceae	Arcobacter	
16	0%	0%	0.1%	0.3%	0%	0%	0%	0.7%	0%	0%	0%	0.1%	0.2%	0.1%	4.4%	Gammaproteobacteria	Aeromonadales	Aeromonadaceae	Tolomonas	
17	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	4.5%	Fusobacteriia	Fusobacteriales			
18	0.0%	0.0%	0.2%	0.5%	0.0%	0.0%	0.0%	0.3%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.4%	Clostridia	Clostridiales	Lachnospiraceae		
19	0.0%	0.0%	0.1%	0.2%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.3%	0.0%	0.0%	0.0%	0.1%	0.0%	0.4%	Bacteroidia	Bacteroidales	Bacteroidaceae	Bacteroides	
183027 198473 203886 251445 47117 202820 172122 196028 103224 105011 110287 92946 98707 94412 116690															リード数					

東堀橋																									
OTU 番号	2015年1月14-16日						2015年3月3-4日						2015年5月12日								下水	綱	目	科	属
	23:00	7:00	8:00	9:00	11:00	8:00	15:00	20:00	22:00	23:00	0:00	10:00	10:00	13:00	14:00	15:00	18:00	19:00							
20	0.5%	0.4%	52.0%	0%	26.4%	35.0%	0%	0%	15.3%	12.5%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	Gamma	Pseudomonadales	Moraxellaceae	
21	10.8%	41.8%	3.6%	0%	5.0%	5.1%	0.1%	0.1%	24.3%	11.8%	0.1%	0.1%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	Gamma	Pseudomonadales	Moraxellaceae	Acinetobacter
22	0%	0%	0%	10.5%	0%	0%	15.8%	10.6%	0.1%	0.1%	9.9%	6.5%	2.0%	1.4%	2.1%	2.0%	2.4%	1.6%	0%	0%	0%	Chloroplast	Stramenopiles		
23	0%	0%	0%	7.3%	0%	0%	5.6%	6.8%	0.1%	0.1%	6.5%	6.7%	4.8%	5.4%	6.6%	5.9%	6.5%	6.4%	0%	0%	0%	Actinobacteria	Actinomycetales	ACK-M1	
24	0%	0%	0%	4.7%	0%	0%	5.1%	5.6%	0.1%	0.1%	5.6%	5.8%	8.4%	9.7%	6.7%	5.5%	6.4%	7.3%	0%	0%	0%	Betaproteobacteria	Burkholderiales	Comamonadaceae	Limnochabitans
25	0%	0%	0%	0%	19.2%	2.7%	0%	0%	12.2%	5.9%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	Bacilli	Bacillales	[Exiguobacteraceae]	Exiguobacterium
26	0%	0%	0%	2.3%	0%	0%	2.7%	2.8%	0.1%	0.3%	3.1%	3.4%	2.5%	2.6%	2.3%	2.1%	2.0%	2.4%	0%	0%	0%	Betaproteobacteria	Burkholderiales	Oxalobacteraceae	Polynucleobacter
27	0%	0%	0%	2.2%	0%	0%	2.3%	2.1%	0%	0%	2.6%	2.5%	2.1%	2.3%	3.4%	3.4%	3.0%	2.7%	0%	0%	0%	[Saprosirales]	[Saprosirales]	Chitinophagaceae	Sediminibacterium
28	0.1%	0%	0%	2.1%	0%	0%	2.8%	1.9%	0.1%	1.0%	2.0%	1.4%	2.7%	1.3%	2.4%	2.0%	1.5%	3.1%	0.1%	0%	0%	Alphaproteobacteria	Rhodobacterales	Rhodobacteraceae	Rhodobacter
29	0%	0%	0%	1.8%	0%	0%	1.2%	1.6%	0%	0%	2.1%	2.2%	2.1%	1.7%	1.9%	2.0%	2.6%	2.1%	0%	0%	0%	Cytophagia	Cytophagales	Cytophagaceae	
30	0%	0%	0%	2.0%	0%	0%	1.5%	1.5%	0%	0%	1.9%	2.0%	1.0%	1.6%	1.8%	2.5%	2.4%	1.5%	0%	0%	0%	Syngnathia	Sphingobacterales		
14	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0.1%	0%	14.2%	0%	0%	Epsilonproteobacteria	Campylobacterales	Campylobacteraceae	Arcobacter
13	0%	0%	0%	0%	0.1%	0%	0%	0%	0%	0.1%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0.1%	0%	10.2%	0%	0%	Gammaproteobacteria	Pseudomonadales	Moraxellaceae	Acinetobacter
15	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	9.3%	0%	0%	Epsilonproteobacteria	Campylobacterales	Campylobacteraceae	Arcobacter
31	0.4%	0.4%	0.2%	0.4%	0.1%	0.2%	0.5%	0.6%	0.6%	2.8%	0.6%	0.5%	1.9%	1.0%	0.7%	0.5%	0.8%	1.0%	0%	0%	0%	Actinobacteria	Actinomycetales	Microbacteriaceae	
32	0%	0%	0%	0.1%	0%	0%	0.1%	0.1%	0.1%	0%	0.1%	0.1%	2.3%	1.9%	1.7%	1.9%	1.8%	1.7%	0.1%	0%	0%	Alphaproteobacteria	Sphingomonadales	Sphingomonadaceae	Novosphingobium
33	1.7%	0%	0.3%	0%	0.2%	0.9%	0%	0%	5.8%	3.0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	Flavobacteriia	Flavobacterales	Flavobacteriaceae	Flavobacterium
16	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	4.4%	0%	0%	Gammaproteobacteria	Aeromonadales	Aeromonadaceae	Tolmonas
17	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	4.5%	0%	0%	Fusobacteriia	Fusobacteriales		
8	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0.1%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	3.0%	0%	0%	Flavobacteriia	Flavobacterales	[Weeksellaceae]	Cloacibacterium
18	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0.4%	0%	0%	Clostridia	Clostridiales	Lachnospiraceae	
19	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0.4%	0%	0%	Bacteridia	Bacteroidales	Bacteroidaceae	Bacteroides
40688 123263 28183 53482 163937 94422 217764 293232 110702 2820 101915 96941 108714 27705 71339 71922 84290 73258 116690																					リード数				

Alphaproteobacteria, Betaproteobacteria, Actinobacteria が過半数を占めていたが、降雨から 4 時間経過した 22 時には、Bacilli と Gammaproteobacteria が優占する細菌叢を示した。Bacilli と Gammaproteobacteria の優占は 23 時でも観察されたが、0 時には降雨前と同じく Alphaproteobacteria, Betaproteobacteria, Actinobacteria が過半数を占める細菌叢に戻っていた。雨水吐き口の多い東横堀橋付近では^{4), 5)}、河川水に対する CSO の量が本町橋付近よりも多くなる。このため、貯留管供用前の 2015 年 1 月 14-16 日および 3 月 3-4 日に見られた一過性の細菌叢変化は、CSO が原因であると考えられる。

しかし、貯留管供用前の東横堀橋で実施したこれら 2 回の調査では、降雨時に変化した細菌叢と下水中の細菌叢は大きく異なっており、下水由来と考えられる分類群も検出されなかった(図-8, 表-1)。この理由として、降雨初期に流出する CSO (ファーストフラッシュ) では、晴天時に下水管内に堆積した汚濁物が主に排出されるため、長時間下水管内に滞留していた堆積物中にて、下水とは異なる細菌叢が、発達していた可能性が考えられる。また別の理由としては、降雨時の合流式下水道には、道路や緑地のような場所からも大量の雨水が入ってくるため、CSO に大量混入した雨水由来の細菌叢が今回のデータに反映された可能性もある。今回も 2015 年 1 月の調査においては、Moraxellaceae 科が優占する細菌叢が、Betaproteobacteria や Actinobacteria が優占する淡水域の一般的な細菌叢に一時的へと変化したことから、主に下水以外の雨水が河川に流れ込んだと考えられる。一方、2015 年 3 月の調査では、Betaproteobacteria や Actinobacteria が優占する淡水域の一般的な細菌叢が、Moraxellaceae 科や Bacilli の優占した細菌叢へと一時的に変化した。Moraxellaceae 科が優占する水の由来としては下水が、Bacilli の由来としては土壌環境が予想されたが、文献調査からは Bacilli と Moraxellaceae 科の両者が優占する水域の特徴を確認出来なかった²⁰⁾。

今回の降雨時細菌叢調査においては、水中の細菌叢が 1-2 時間の間に大きく変化する様子を捉えることができた(図-8)。本研究では、流入した CSO の細菌叢を直接回収して調べられなかったが、河川に流れ込む CSO が下水のみでは無い事と、CSO による河川微生物群集への影響が一過性であることが、細菌叢の変遷より明らかになった。降雨前の河川水中の細菌叢が、2015 年の 1 月と 3 月では大きく異なっていたため、河川中の細菌叢が連続的に遷移している可能性も考えられたが、今回の調査では明らかに出来なかった。

降雨時に CSO 以外の水が河川に流入する可能性としては、東横堀川の上に建設されている阪神高速道路からの雨水流入が考えられる(図-3)。本町橋でも、東堀橋と同じように高速道路から雨水が流入するが、東堀橋に

て見られたような一過性の細菌叢の変化は見られなかった(図-6, 8)。このことから、高速道路からの雨水流入が東横堀川の細菌叢に及ぼす影響は、小さいと考えられる。また、貯留管供用後の 2015 年 5 月 12 日には、6.0 mm/h を越える雨量が計測され、降雨による電気伝導度の増加や、目視による水の濁りも確認されたにも関わらず、貯留管供用前に見られたような細菌叢の変化は観察されなかった。高速道路からの流入雨水の影響が大きいならば、2015 年 5 月や 2015 年 7 月の調査においても、降雨に合わせて細菌叢が変化するはずであるが、そのような変化は見られなかった。よって、貯留管供用前に東横堀橋地点にて観察された一過性の細菌叢変化は、高速道路からの流入ではなく CSO に起因しており、雨水貯留管の供用によってその影響が抑えられたと考えられる。

また雨水貯留管供用後は、本町橋でも東堀橋でも Alphaproteobacteria, Betaproteobacteria, Actinobacteria が過半数を占める淡水域の一般的な細菌叢が観察されるようになった。以上のことから、貯留管供用によって貯留管供用前に見られた場所毎の細菌叢のパッチ構造が解消され、東横堀川全体が、同じ細菌叢を持つ 1 つの水域へと変化したことが推測される。

4. 結論

CSO が都市河川に及ぼす影響と、大規模雨水貯留管(平成の太閤下水)の供用による改善効果の評価を目的に、降雨時の東横堀川(大阪市)にて、細菌叢を指標とした水質調査を実施した。本研究で得られた結果を以下に示す。

- (1) 北浜逢阪貯留管供用前の東横堀川の本町橋地点では、4.0 mm/h の降雨時に雨水吐き口からの流入が確認され、降雨後には下水由来の細菌分類群の割合も増加した。しかし、河川水質や細菌叢への影響は小さく、本町橋地点に流入した CSO 量は、河川水量の量に対して少ないことが推測された。
- (2) 北浜逢阪貯留管供用前の東横堀川の東堀橋地点では、4.0 mm/h を越える降雨時に、CSO が原因と思われる電気伝導度や懸濁態物質濃度の増加と、細菌叢の変化が確認された。しかし変化した細菌叢は約 1-2 時間で変化前の細菌叢に戻り、CSO による河川水質や細菌叢への影響は一過性であった。
- (3) 降雨の前後で変化した河川水中の細菌叢は、下水の細菌叢とは異なっていた。晴天時に下水管内に堆積した汚濁物中にて異なる細菌叢が発達していた可能性と、CSO には大量の雨水も混入するため、混入した雨水由来の細菌叢が優占していた可能性が考えられる。
- (4) 貯留管建設前後の本町橋と東横堀橋の細菌叢の比

較より、東横堀川上部の高速道路からの雨水流入が河川の細菌叢に及ぼす影響は、ほとんどみられなかった。

- (5) 降雨時に測定した水質項目の変化からは、貯留管供用の効果を明確に示せなかった。しかし細菌叢の解析では、貯留管供用後は、台風に伴う大雨時でも河川中の細菌叢が攪乱されないことが示された。さらに東横堀橋地点では、貯留管供用前に見られていた CSO に起因する一時的な細菌叢の変化が、貯留管供用後には見られなくなった。

よって北浜逢阪貯留管の供用は、東横堀川への CSO 流入を抑制することで、河川水質の改善や河川微生物群集攪乱の緩和に効果があることを示している。

謝辞：本研究を進めるにあたり、大阪市建設局、大阪市立環境科学研究所、大阪府環境河川課・環境保全課・環境農林水産総合研究所の方々には貴重なご助言を賜りました。また本研究は公益信託下水道振興基金と近畿大学 21 世紀研究開発奨励金 (KD06) の助成を受けて実施しました。深く感謝いたします。

参考文献

- 1) 大阪府：公共用水域の水質等調査結果, <http://www.pref.osaka.lg.jp/kankyohozen/osaka-wan/kokyo-status.html> (2016 年 10 月確認)
- 2) 中谷祐介, 今福大智, 根井大輝, 岡田浩明, 西田修三：東横堀川における貧酸素化抑制に向けた水質浄化運転の評価検討, 土木学会論文集 B1 (水工学), Vol. 72, pp.I_973-I_978, 2016.
- 3) 財団法人琵琶湖・淀川水質保全機構：東横堀川・道頓堀川, 琵琶湖・淀川 里の川をめぐる～ちょっと大人の散策ブック～, 財団法人 琵琶湖・淀川水質保全機構, 2011.
- 4) 稲垣勝伸：大規模貯留管による合流式下水道改善, 下水道協会誌, Vol. 50, pp. 15-18, 2013.
- 5) 臼田利之：道頓堀川の水質保全に大きな力を発揮 平成の太閤下水を建設するー北浜逢阪貯留管築造工事ー, 土木施工, Vol. 52, pp. 36-39, 2011.
- 6) 中谷祐介, 今福大智, 根井大輝, 西田修三：都市河川における雨天時汚濁負荷の実態と水質・底質への影響, 土木学会論文集 B1 (水工学), Vol. 71, pp.I_1183-I_1188, 2015.
- 7) 松本広司：透き通った道頓堀川をめざしてー大阪市における水質改善の取組ー, 下水道協会誌, Vol. 52, pp. 42-45, 2015.
- 8) Passerat, J., Ouattara, N. K., Mauchel, J.-M., Rocher, V. and Servais, P. : Impact of an intense combined sewer over-flow event on the microbiological water quality of the Seine River, *Water Research*, Vol. 45, pp. 893-903, 2011.
- 9) McLellan, S. L., Huse, S. M., Mueller-Spitz, S. R., Andreishcheva, E. N. and Sogin, M. L. : Diversity and population structure of sewage-derived microorganisms in wastewater treatment plant influent, *Environmental Microbiology*, Vol. 12, pp. 378-392, 2010.
- 10) Staley, C., Unno, T., Gould, T. J., Jarvis, B., Phillips, J., Cotner, J. B. and Sadowsky, M. J. : Application of Illumina next-generation sequencing to characterize the bacterial community of the Upper Mississippi River, *Journal of Applied Microbiology*, Vol. 115, pp. 1147-1158, 2013.
- 11) 国土交通省 気象庁：過去の気象情報検索, <http://www.data.jma.go.jp/obd/stats/etrn/index.php> (2016 年 10 月確認)
- 12) 厚生省生活衛生局水道環境部：上水試験方法 1985 年度版, pp. 350-359, 日本水道協会, 1986.
- 13) 中口譲, 山口善敬, 西村崇, 秦野善行, 今中麻幸代, 有井康博：淀川水系における富栄養化関連物質の挙動とその季節変化, 地球化学, Vol. 39, pp. 173-182, 2005.
- 14) Matsui, K., Ishii, N., Honjo, M. and Kawabata, Z. : Use of the SYBR Green I fluorescent dye and a centrifugal filter device for rapid determination of dissolved DNA concentration in fresh water, *Aquatic Microbial Ecology*, Vol. 36, pp. 99-105, 2004.
- 15) 東樹宏和：生態学フィールド調査法シリーズ 5 DNA 情報で生態系を読み解く, pp. 101-126, 共立出版, 2016.
- 16) 吉田達朗：下水道雨水吐き口からの東横堀川・道頓堀川への雨天時排出汚濁負荷量測定結果, 下水道業務論文集, No. 26, pp. 112-119, 2007.
- 17) 入江政安, 西田修三：東横堀川の水質変動特性と水質管理についての調査解析, 水工学論文集, Vol. 51, pp. 1129-1134, 2007.
- 18) Shanks, O. C., Newton, R. J., Kelty, C. A., Huse, S. M., Sogin, M. L. and McLellan, S. L. : Comparison of the microbial community structures of untreated wastewaters from different geographic locales, *Applied and Environmental Microbiology*, Vol. 79, pp. 2906-2913, 2013.
- 19) Madigan, M., Martinko, J., Bender, K., Buckley, D. and Stahl, D. : *Brock Biology of Microorganisms*, 14th edition, pp. 637-654, Pearson, 2015.
- 20) Newton, R. J., Jones, S. E., Eiler, A., McMahon, K. D. and Bertilsson, S. : A guide to the natural history of freshwater lake bacteria, *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, Vol. 75, pp. 14-49, 2011.

(2016. 10. 31 受付)

**BACTERIAL COMMUNITY COMPOSITION MONITORING FOR THE IMPACT
OF COMBINED SEWER OVER-FLOW INTO HIGASHIYOKOBORI-GAWA
WATERWAY, AND ITS REMEDIAL EFFECTS
BY BUILDING A STORMWATER STORAGE PIPE**

**Kazuaki MATSUI, Yuichi YOKOYAMA, Kunpei KAMEI, Yuzuru NAKAGUCHI,
Mitsuru EGUCHI, Akito TANIGUCHI, Kohsei TAKEHARA and Takayuki FUMOTO**

We explored the impact of combined sewer overflow (CSO) on the water quality of an urban river. We characterized the bacterial community of the Higashiyokobori-gawa waterway using next-generation DNA sequencing (Illumina Miseq). We examined bacterial 16S rRNA gene amplicons during rainfall periods. When rainfall exceeded 4 mm/h at our experimental site on the waterway, the bacterial community composition in the river water exhibited transient changes attributable to the CSO. The bacterial community composition in the waterway differed greatly from those in sewage, suggesting that the CSO had been diluted with bulk rainwater prior to discharge into the river. After a newly constructed stormwater storage pipe called Heisei-no-Taikougesui was commissioned, we found no changes in the bacterial community in river water even when rainfall exceeded 8 mm/h. This indicates that the storage pipe effectively prevented CSO discharge into the waterway. We suggest that bacterial community composition analysis is useful when evaluating/monitoring water quality.