

遺伝子解析を活用した河川水中の大腸菌起源推定の試み

石井裕一・増田龍彦・木瀬晴美

【要約】次世代シーケンサーを用いた遺伝子解析により、河川水中の大腸菌の起源推定を試行した。由来不明株が半数程度以上になる等、問題点はあるものの、目的とするヒト・ウシ・ブタ・ニワトリ由来の大腸菌を検出することができた。集水域の土地利用や大腸菌数の検査結果等と併せることにより、大腸菌の起源を推定し得ると考えられた。

【目的】

東京都内の河川では下水道の普及等により水質改善が進み、BOD 環境基準達成率はほぼ 100%となっている。その一方で、ふん便汚染の指標である大腸菌群数については基準値を超過する河川が散見され、その原因究明が課題となっている。多様な発生源からの大腸菌の混入が予想される河川においては、遺伝子解析による起源推定が有効であると考えられる。本報では、河川の水質改善に資する基礎的知見の集積を目的とし、遺伝子解析による大腸菌の起源推定を試行した結果を報告する。

【方法】

多摩地域の山地一丘陵地を流れる多摩川の支川（A 河川および B 河川）を調査対象河川とした。A 河川の集水域は上流が山地であり川沿いには温泉施設や僅かながら住宅が点在しており、中～下流域では市街地と畑地が中心となっている。B 河川は全域が丘陵地であり、集水域の土地利用は市街地、畑地、畜産業等となっている。両河川の集水域では分流式下水道が整備されており、下水道普及率はほぼ 100%となっているが、一部浄化槽を利用している家屋等がある。各河川において、環境基準点を含む 3 地点の測定点を設け採水を行った。

大腸菌の遺伝子解析については Gomi らの方法¹⁾に準拠し、次世代シーケンサーによる解析を行った。大腸菌の起源をヒト・ウシ・ブタ・ニワトリに分類し、各河川における発生源の推定を試みた。

【結果の概要】

A 河川における各調査地点の大腸菌数とその起源の割合を図 1 に示す。全体として由来不明株が多くなっているものの（44.4～65.0%）、目的としたヒト・ウシ・ブタ・ニワトリ由来の大腸菌を検出することができた。a1 および a2 地点ではヒト由来の大腸菌が検出され、各採水地点の上流部にある民家からの排水の影響が示唆された。a2 地点ではウシ由来の大腸菌も検出されているが、現地踏査によりウシあるいは堆肥置場等は上流部に存在しないことが確認されており、この地域の山地に生息するニホンカモシカ等の偶蹄目等、他の動物由来の大腸菌の誤同定の可能性が考えられた。環境基準点である a3 ではニワトリ由来の大腸菌が 30%を占め、河川近傍の養鶏場からの排水が影響している可能性が考えられた。

一方、図 2 に示した B 河川では、b1 ではニワトリ由来の大腸菌が確認され、40%以上を占めていた。b2 では上流の浄化槽利用家屋に起因すると考えられるヒト由来の大腸菌も検出された。最下流の b3 では、ニワトリ由来の大腸菌は非検出であった。この地点では大腸菌数が増大しており、b2 経由の流入に加え、集水域の養豚場や浄化槽利用家屋等からの排水と推察される大腸菌の混入が水質に影響を及ぼしているものと考えられた。

遺伝子解析の結果、集水域の土地利用や河川水中の大腸菌数等の情報と併せることで、大腸菌の起源を推定し得る有益なデータを得ることができた。更なるデータ蓄積により、精度の向上が期待される。

【参考文献】

- 1) Gomi R. et al. : Fecal Source Tracking in Water by Next-Generation Sequencing Technologies Using Host-Specific *Escherichia coli* Genetic Markers, *Envir. Sci. Tech.* 48, pp.9616-9623 (2014)

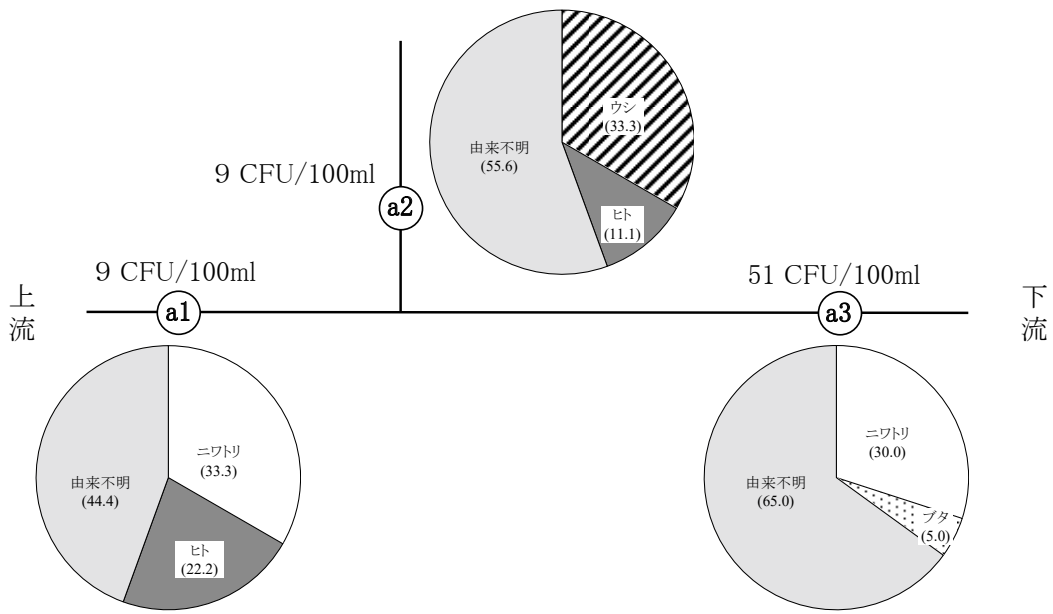


図1 A河川の各調査地点における大腸菌数と推定された大腸菌の起源

上流域で検出されたヒトやウシ由来の大腸菌は下流域では非検出であった。a1 および a2 より下流で養鶏場排水等に起因するニワトリ由来の大腸菌の混入が示唆された。

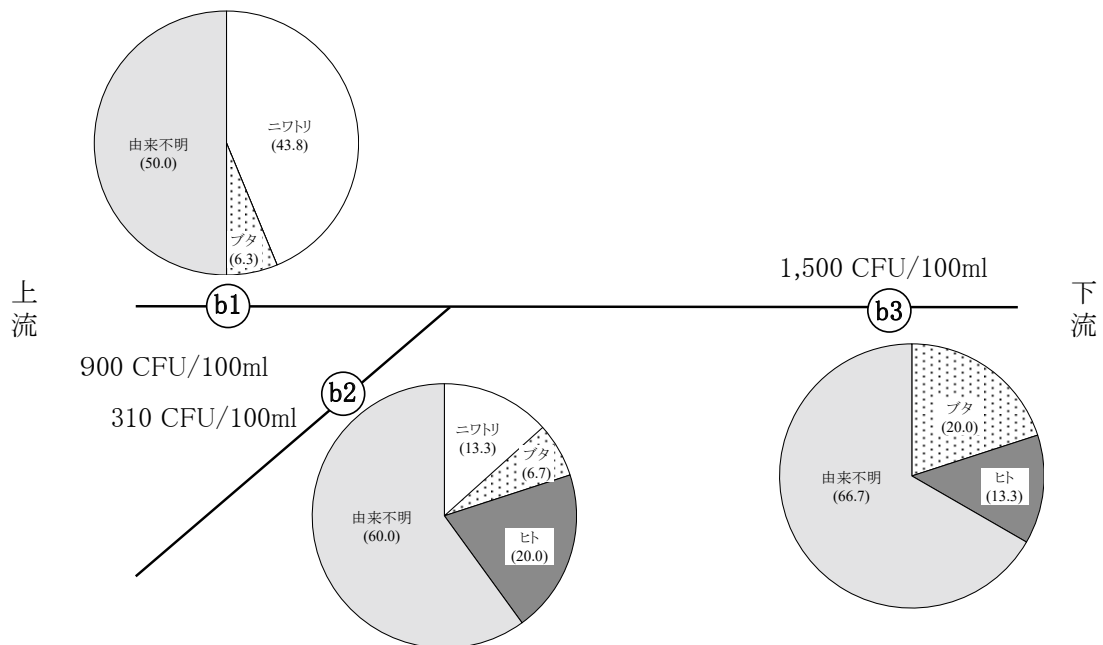


図2 B河川の各調査地点における大腸菌数と推定された大腸菌の起源

b1 で検出されたニワトリ由来の大腸菌は下流域では非検出であった。b2 を経由するヒト・ブタ由来の大腸菌に加え、その下流側でも養豚場や浄化槽利用家屋等からの大腸菌の混入が示唆された。