

平成22年 6月10日現在

研究種目：若手研究（B）  
 研究期間：2007～2009  
 課題番号：19710069  
 研究課題名（和文） 水質浄化システム（人工湿地）における糞便性大腸菌群除去効果の解明  
 －原生動物の捕食  
 研究課題名（英文） Research of the mechanism of fecal coliform bacteria removal in the  
 water purification system (constructed wetland) - predation of protozoa  
 研究代表者  
 井上 暁子（小濱 暁子）（INOUE AKIKO （KOHAMA AKIKO））  
 東北工業大学・工学部・准教授  
 研究者番号：70337195

研究成果の概要（和文）：人工湿地を利用した水質浄化システムにおける糞便性大腸菌群の除去機構を、原生動物の捕食効果に着目して明らかにすることを目的とした。

浄化対象は、宮城県北部に位置する伊豆沼周辺の水鳥給餌池水とし、3年間の経時的な水質および微生物相変化、とくに水鳥飛来の有無による原生動物や糞便性大腸菌相の動態を把握した。また、池水中の大腸菌群の由来を確認するため、オナガガモやハクチョウの糞から大腸菌を分離した。池水中において観察された原生動物は *Halteria* sp. や *Bursalia* sp. など遊泳性の繊毛虫類が多かった。一方、原生動物による糞便性大腸菌の捕食効果について、定量的に明らかにはならなかった。

研究成果の概要（英文）：The objective of this study is to clear the mechanism of fecal coliform bacteria removal in the water purification system (constructed wetland) by predation of protozoa. Seasonal variation of water quality and microfauna in the constructed feeding pond of lake Izunuma were monitored for three years. The effect of waterfowl on the density of coliform bacteria was determined. *Escherichia coli* was isolated from feces of pintail and swan. A lot of species of protozoa were observed in the pond water, *Halteria* sp., *Bursalia* sp., etc. However, the effect of protozoa to the fate of fecal coliform bacteria was not evaluated.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	1,200,000	0	1,200,000
2008年度	1,100,000	330,000	1,430,000
2009年度	1,000,000	300,000	1,300,000
年度			
年度			
総計	3,300,000	630,000	3,930,000

研究分野：複合新領域

科研費の分科・細目：環境学・環境技術・環境材料

キーワード：水質汚濁、水質浄化、水生植物、生態工学、湿地、微生物、大腸菌群、原生動物

## 1. 研究開始当初の背景

人工湿地（Constructed Wetland）は、基本

的には造成地に植栽を行い、植物の吸収や微生物代謝、土壌への吸着作用などを利用して種々の廃水に含まれた汚濁物質の除去を目的

とした施設である。多くは解放系であることから、実廃水処理への適用に対し衛生面が大きな課題となる。これまで、人工湿地における病原性生物除去に関する報告はいくつかあるが、その機構は物理的作用だけでは説明されず、未解明な点が多い。湿地における廃水処理過程において、土壤中、とくに植物根茎付近において、大腸菌群を含む細菌が原生動物によって捕食されていると考えられる。しかし、自然環境中における大腸菌と原生動物の関係を調べた研究は少ない。

## 2. 研究の目的

原生動物の捕食効果に着目し、人工湿地を利用した水質浄化システムにおける糞便性大腸菌群の除去機構を明らかにすることを目的とした。

## 3. 研究の方法

人工湿地として、宮城県伊豆沼にある浄化システムに着目した。沼への人為的な餌の投入や排泄物による汚濁を防止することを目的として、伊豆沼・内沼サンクチュアリセンターの前に湖面積0.5haの給餌池が1990年に建設され、近年は毎年10月から3月までおよそ2,000羽の水鳥に給餌が行われている。浄化田は、休耕田に作られた流路長200mの水路に水生植物マコモを植栽し、流入した給餌池の水を通過させた後、伊豆沼に排出させるシステムである。この浄化システムを利用し、人工湿地における原生動物による糞便性大腸菌群の捕食効果について検討する。

(1) 給餌池や伊豆沼の水質調査を2007年5月から2010年3月まで約2週間に一度行い、大腸菌群数、とくに病原性をもつ可能性のある糞便性大腸菌や原生動物種数の経月変化を明らかにする。

(2) 給餌池、浄化田の入り口、出口等や、浄化田に生育するマコモなどの水生植物根茎付近の大腸菌群数や原生動物数の調査を行う。さらに、検出された細菌や原生動物の分離を試みる。

(3) 分離した大腸菌や原生動物を用い、実験室内において被-捕食実験を行い、原生動物の捕食が大腸菌群に及ぼす影響を定量的に明らかにする。

(4) 植生浄化実験装置における大腸菌群の動態

室内及び現地において、水生植物マコモによる植生浄化実験を行うため、大型容器を用いた実験装置を設計および作製する。実験槽内における大腸菌群および原生動物の動態を把握する。

## 4. 研究成果

(1) 給餌池主池における水質調査

水鳥の総入込数は、2007年度が約90,000羽であったが、2008年度、2009年度は給餌活動が自粛されたため、約15,000羽であった。

### ① 有機物濃度

図1に、調査期間中における給餌池の有機物(COD)濃度変化を示した。CODは、2007年11月以降上昇傾向を示し、とくに12月から翌年2月の増加が著しかった。一方、水鳥の入込が少ない2008年、2009年は2007年と比較すると著しい変化は見られなかった。その要因として、2007年は水鳥が多く入込んだため、排泄物や残餌、さらに水面の攪乱による底質の巻き上げが著しかったが、2008年、2009年は入込が少なかったため、その影響が小さかったと推察された。また、夏季の増加は、藻類の増殖によるものと考えられた。

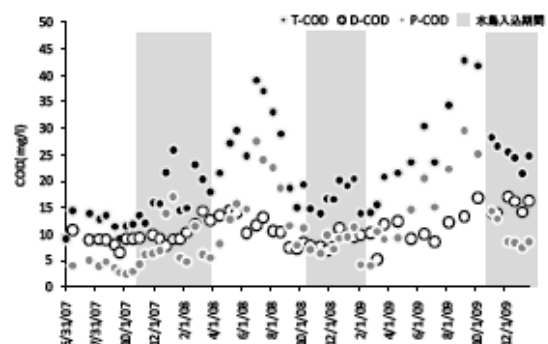


図1 調査期間中における給餌池の有機物濃度(COD)変化

### ② 大腸菌群数

図2に、調査期間中における給餌池の大腸菌群数変化を示した。大腸菌群数は、調査期間中0~10<sup>3</sup>CFU/mlで推移した。糞便性大腸菌群の排出源になると考えられる水鳥の総入込数が約90,000羽であった2007年度は一時的に大腸菌群数の増加がみられたのに対し、2008年度、2009年度は増加がみられなかった。このことから、水鳥の入込が大腸菌群数に及ぼす影響が示された。一方、全菌数は調

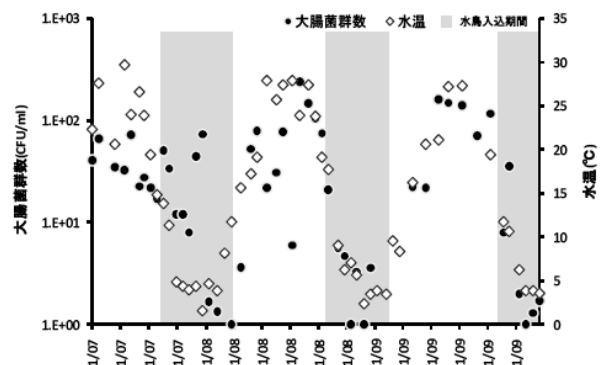


図2 調査期間中における給餌池の大腸菌群数変化

査期間を通じてほぼ $10^6 \sim 10^7$  cells/mlであり、給餌池水中の大腸菌群数の割合は1%にも満たないことが示唆された。

### ③ 給餌池および伊豆沼で観察された原生動物

調査期間中、池水中においては遊泳性の繊毛虫類が多く観察された。*Codonella* sp.、*Coleps* sp.、*Prorodon* sp.、*Frontonia* sp.、*Halteria* sp.、*Strombidium* sp.、*Storobilidium* sp.、*Vorticella* sp.、*Scyphidia* sp.、*Stentor* sp.、*Bursaria* sp.、*Didinium* sp.、*Cinetochilum* sp.、*Actinobolina* sp.、*Bursellopsis* sp.、*Sketosia* sp.、*Amphileptus* sp.などであった。

出現原生動物種数は冬季の方が夏季より多い傾向にあった。また、個体密度は $10^0 \sim 10^2$  cells/mlのオーダーにあった。一方、これらの分離培養を試みたが、培養には至らなかった。

#### (2) 水鳥糞便からの大腸菌の分離

伊豆沼近辺に飛来していたオオハクチョウおよびオナガガモの糞から大腸菌(*Escherichia coli*)を分離した。*Clostridium* spなどの存在も確認された。

また、給餌池水調査により大腸菌群として検出したされた細菌種は、*Enterobacter* sp.、*Klebsiella* sp.、*Pantoea* sp.、*Aeromonas* sp.、*Endophytic* sp.、*Rahnella* sp.、*Pseudoalteromonas* sp.、*Hafnia* sp.、*Serratia* sp.、*Buttiauxella* sp.、*Pseudomonas* sp.などであった。

(3) 原生動物の分離した大腸菌で増殖させることができなかった。このため、今後、自然環境中からの原生動物の分離・培養手法に関するより詳細な検討が必要であることが示された。

#### (4) 植生浄化実験装置における大腸菌群の動態

##### ① 室内実験装置

室内に大型容器(1100mm×670mm×490mm)を2基設置し、1基には伊豆沼畔の池より採取したマコモを10株入れ、もう1基にはマコモを入れない系を作成した。給餌池の水質を模した人工池水を連続的に流入させ、水質や微生物相に及ぼす影響について調べた。マコモが存在する系において、窒素、リンの除去効果が示された。また、大腸菌群はマコモ根茎1g(湿潤重量)から約 $10^3$ 個検出された。

##### ② 屋外実験装置

給餌池畔に大型容器(1100mm×670mm×490mm)を2基設置し、給餌池からの水をソ

ーラーポンプにより揚水することを試みた。1基には伊豆沼畔の池より採取したマコモを10株入れ、もう1基にはマコモを入れずに給餌池の水を入れ、回分実験により水質や微生物相に及ぼす影響について調べた。その結果、マコモが存在する系では、マコモがない系よりも原生動物や後生動物などの栄養段階における高次の生物が多く観察され、水生植物の存在により大腸菌群の捕食者が多く保持される可能性が示された。

以上、本研究により得られた成果として、とくに水鳥が水環境に及ぼす影響が示された。近年水鳥による伝染病の媒介が懸念されているため、国内だけでなく国外において有用な知見となり得ると考えられる。また、湿地における原生動物に関する情報は少ないため、データベースとなる可能性がある。一方、原生動物による糞便性大腸菌群の捕食の可能性は示されたが、捕食速度を定量的に明らかにすることはできなかった。

この数年、日本国内において畜舎排水や廃棄物処分場排水などの実排水処理を目的とした人工湿地が建設され始めている。今後は、このような湿地における微生物相に関する調査なども行い、病原性微生物の消長を把握することが必要になると考えられ、本研究の成果も参考になると考えられる。

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計2件)

- ① 有田康一、小浜暁子、江成敬次郎、嶋田哲郎、進東健太郎、藤本泰文、光合成色素分析による水環境の生態学的評価法の確立を目指す基礎研究 2、宮城県公衆衛生学会会誌、査読無、vol. 42、2010、p. 8
- ② 有田康一、小浜暁子、江成敬次郎、藤田光則、嶋田哲郎、進東健太郎、光合成色素分析による水環境の生態学的評価法の確立を目指す基礎研究(平成19年度助成研究報告)、公衆衛生情報みやぎ2009年4月号(財団法人宮城県公衆衛生協会)、査読無、No. 388、2009、p. 14-18

[学会発表] (計11件)

- ① 佐藤歩、小浜暁子、有田康一、江成敬次郎、嶋田哲郎、水鳥給餌池における大腸菌群数に関する研究、平成21年度土木学会東北支部技術研究発表会、2010. 3. 6、日本大学工学部

- ② 有田康一、佐藤歩、小浜暁子、江成敬次郎、嶋田哲郎・藤本泰文・進東健太郎、伊豆沼畔の造成池におけるクロロフィル a の変動 2、平成 21 年度土木学会東北支部技術研究発表会、2010. 3. 6、日本大学工学部
- ③ 瀬谷明寛、小浜暁子、有田康一、江成敬次郎、佐藤歩、嶋田哲郎、水生植物(マコモ)による水質への負荷に関する考察、第 4 回伊豆沼・内沼研究集会、2010. 2. 7、宮城県伊豆沼・内沼サンクチュアリセンター
- ④ 佐藤歩、高橋正太、小浜暁子、有田康一、江成敬次郎、嶋田哲郎、水鳥給餌池における 3 年間の水質変動 ー大腸菌群数に関する考察一、第 4 回伊豆沼・内沼研究集会、2010. 2. 7、宮城県伊豆沼・内沼サンクチュアリセンター
- ⑤ 加藤卓、有田康一、小浜暁子、江成敬次郎、佐藤歩、嶋田哲郎、水鳥給餌池における 3 年間の水質変動 ークロロフィル a に関する考察一、第 4 回伊豆沼・内沼研究集会、2010. 2. 7、宮城県伊豆沼・内沼サンクチュアリセンター
- ⑥ 小浜暁子、有田康一、江成敬次郎、藤田光則、伊豆沼畔における水鳥給餌池の水質変動特性、第 43 回水環境学会、2009. 3. 16、山口大学
- ⑦ Akiko KOHAMA-INOUE, Koichi ARITA, Keijiro ENARI, and Mitsunori FUJITA, Seasonal Variation of Water Quality in the Constructed Feeding Pond in Lake Izunuma, 11th International Conference on Wetland Systems for Water Pollution Control -2008, 2008. 11. 5-6, インド、インドール
- ⑧ 有田康一、小浜暁子、江成敬次郎、藤田光則、嶋田哲郎、進東健太郎、光合成色素分析による水環境の生態学的評価法の確立を目指す基礎研究、第 44 回宮城県公衆衛生学会学術総会、2008. 7. 11、宮城・エル・パーク仙台
- ⑨ 小浜暁子、有田康一、藤田光則、江成敬次郎、伊豆沼給餌池における水質の時季的変動に関する基礎的研究、第 42 回日本水環境学会年会、2008. 3. 19、名古屋大学
- ⑩ 小浜暁子、有田康一、藤田光則、江成敬次郎、伊豆沼給餌池における大腸菌群数の変動、土木学会東北支部 平成 19 年度技術研究発表会、2008. 3. 8、岩手大学

- ⑪ 小浜暁子、有田康一、藤田光則、江成敬次郎、伊豆沼給餌池における水質及び微生物相の基礎的調査、日本水処理生物学会 第 44 回大会、2007. 11. 16、富山国際会議場

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

井上 暁子 (小濱 暁子)  
(INOUE AKIKO (KOHAMA AKIKO))  
東北工業大学・工学部・准教授  
研究者番号：70337195

### (2) 連携研究者

江成 敬次郎 (ENARI KEIJIRO)  
東北工業大学・工学部・教授  
研究者番号：20094922

有田 康一 (ARITA KOICHI)  
東北工業大学・工学部・嘱託助手  
研究者番号：50458197

### (3) 研究協力者

嶋田 哲郎 (SHIMADA TETSUO)  
財団法人宮城県伊豆沼・内沼環境保全財団・主任研究員  
研究者番号：30538723

藤田 光則 (FUJITA MITSUNORI)  
株式会社ユーベック