



2024年 3月22日

令和5年度 水質保全研究助成 成果報告会

大阪府立男女共同参画・青少年センター

(ハイブリッド開催)

令和5年度 機構水質浄化研究所の取り組みについて ～カビ臭問題を中心に～

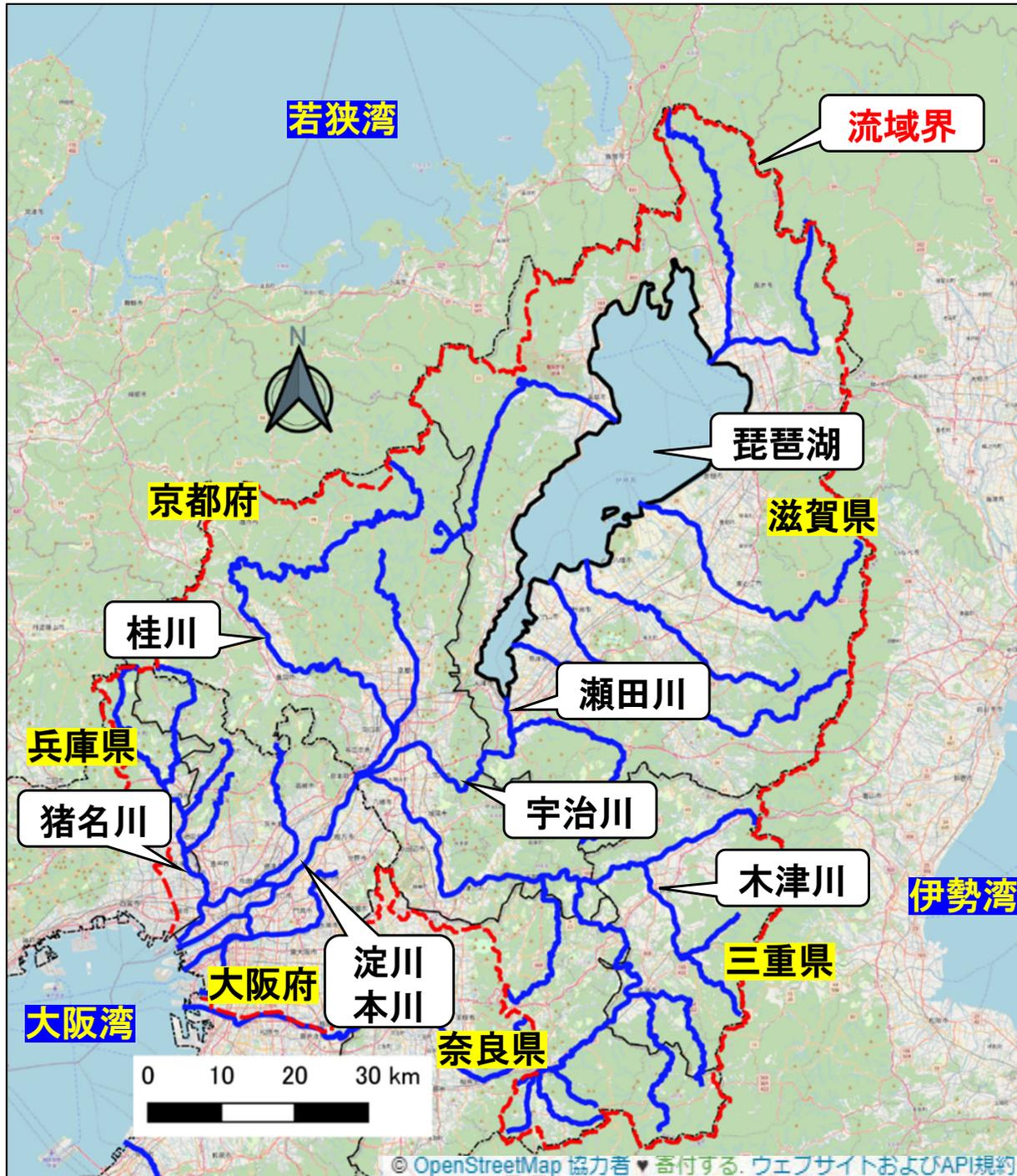
(公財) 琵琶湖・淀川水質保全機構

琵琶湖・淀川水質浄化研究所

類家翔
(ruike@byq.or.jp)

瀬田川洗堰 (2022年4月・宮居氏撮影)

琵琶湖・淀川流域について



総流域面積: 8,240 km²

琵琶湖流域
3,856 km²

桂川流域 1,100 km² 宇治川流域 506 km² 木津川流域 1,596 km²

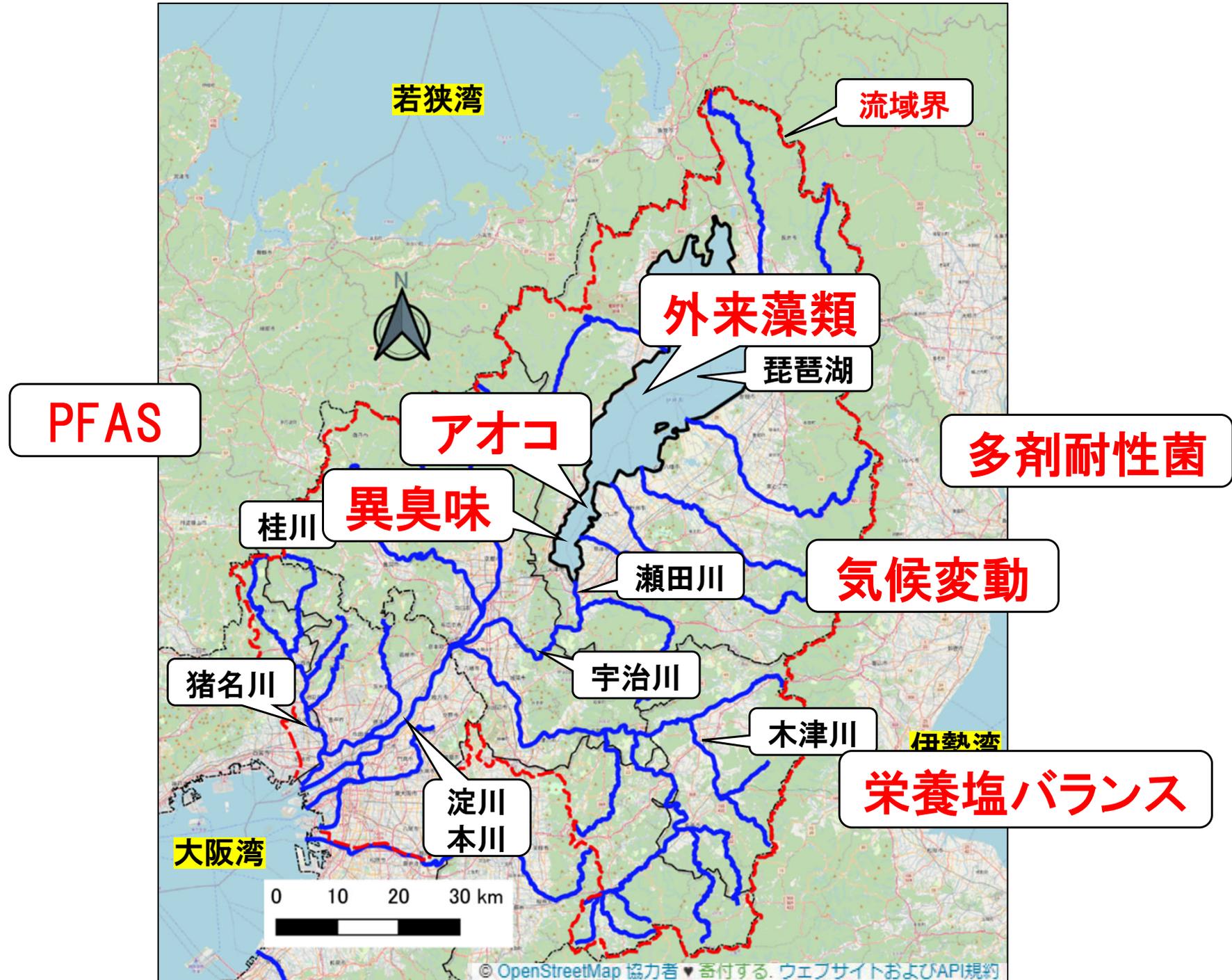
三川合流点

淀川本川流域
807 km²

猪名川流域
383 km²

大阪湾

琵琶湖・淀川流域における様々な課題



令和5年度調査研究

流域全体が取り組むべき課題、自治体を超えて解決することが効率的、有効な課題を対象に、行政が適切な施策を講じるために有用となる調査研究に取り組み、流域全体の水環境保全の向上、また、流域連携の推進に寄与することを目的としている。

さらに、流域の水質・水環境情報や成果を当機構のWeb上に公開するとともに、調査研究成果等は関係府県・機関の施策等に活用してもらえよう学会や研究助成成果報告会等の機会を利用し、研究成果の情報・知見の提供に努めている。

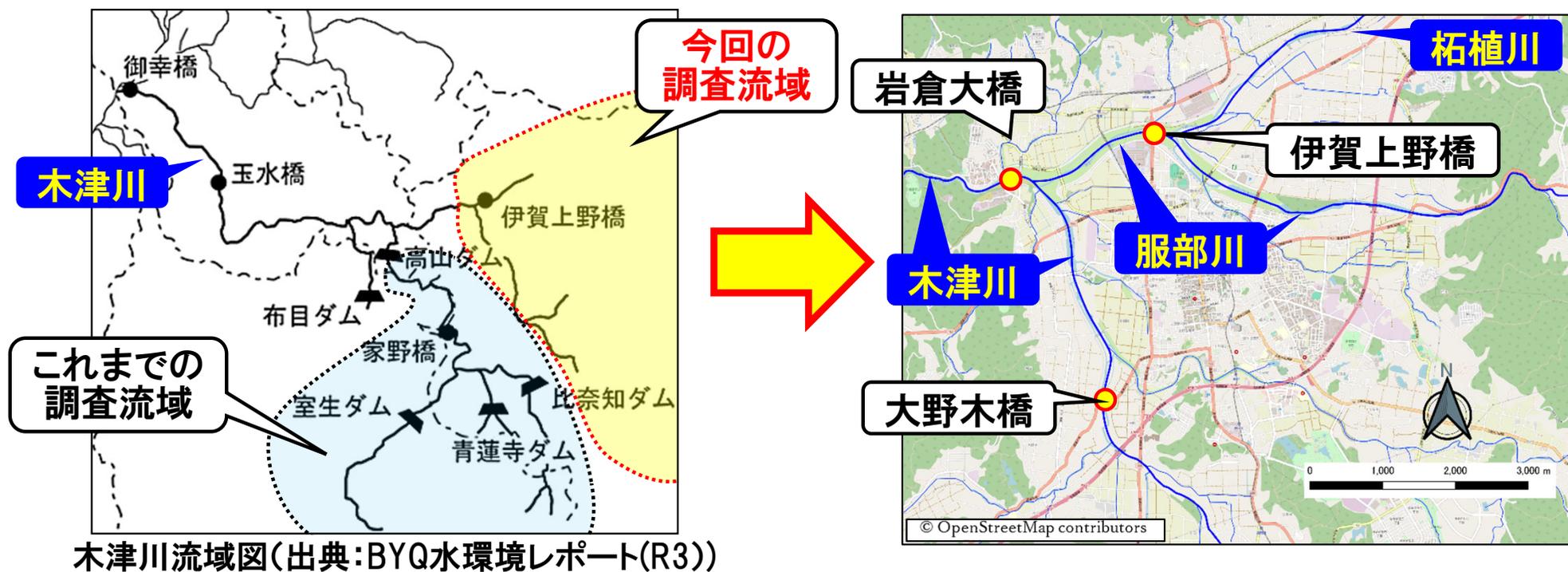
令和5年度の機構研究研究所の取り組み:

- 木津川上流における水質保全のための調査研究（特に伊賀市を含む流域における降雨時負荷量の把握）
- 琵琶湖におけるカビ臭発生要因の推定
- 琵琶湖におけるカビ臭原因藻類を含む糸状藍藻類の生物学的抑制機構の調査（定量的ロングアンプリコンシーケンスによる量的細菌叢分析の試み）
- 琵琶湖・淀川流域内における物質動態に関する情報整理（有機物負荷としての外来藻類の流域内分布状況調査を含む）

木津川上流における水質保全のための調査研究

【調査研究概要】

- 木津川上流域は琵琶湖・淀川流域の最東端に位置しており、特に岩倉峡から上流は広い山林や農地、旧上野市街地を含む伊賀市が存在する。
- また、同市の汚水処理普及率は83.8%であり、公共下水道が19.2%、集落排水施設等が18.4%、合併処理浄化槽等が46.2%と、浄化槽の占める割合が大きい¹⁾。
- したがって、下流に与える影響も含め、同流域の面源・点源負荷特性の把握は重要。
- 令和5年度は木津川上流の伊賀市側の流域を対象に降雨時(又は降雨後)の負荷量調査を実施し、降雨を含めた汚濁負荷特性に関する基礎的知見の取得を進めた。



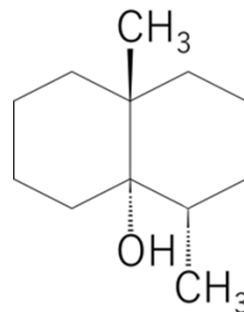
1) 伊賀市, 循環型社会形成推進地域計画目標達成状況報告書(令和3年4月1日～令和4年3月31日), 2023.

琵琶湖におけるカビ臭発生要因の推定

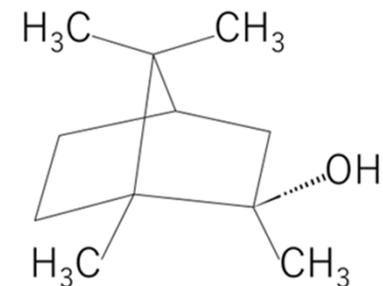
【調査研究概要】

- 報道¹⁾によると、琵琶湖・南湖を水源する京都市水道において、**脱臭のための費用が5億円を超えるほど増加**しており、**滋賀県大津市水道でも費用が増加**している。
- 近年のカビ臭問題は原因物質を生産する藍藻類の増加が原因とみられているが、『**近年のカビ臭原因藍藻増加の理由は特定できていない**』¹⁾。
- 更に、**2021年度の冬季に2-MIBが発生**し、浄水処理に影響を与えた²⁾。
- 琵琶湖の調査データは複数存在するが、**生物を含む現象は決定論的・非線形かつ複雑**であり、**そこから生じる時系列データの解析は困難**³⁾といわれており、**原因特定の難しさの要因の一つ**と考えられる。
- そこで、**時系列データに特化した解析手法**³⁾を用い、琵琶湖・南湖において発生しているカビ臭問題の原因となる植物プランクトンの増殖に対して影響を与えている水質等の要因の推定を進めている。

《Geosmin》



《2-MIB》



最新の観測情報を含めて随時解析を進め、原因究明に努めている

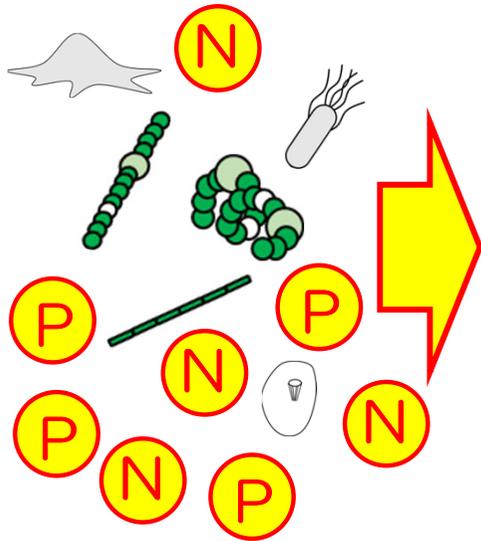
1) 読売新聞オンライン(<https://www.yomiuri.co.jp/local/kansai/news/20230406-OY01T50028/>, 2024年3月現在)

2) 京都府営水道(<https://www.pref.kyoto.jp/koei/20220202syuki.html>, 2024年3月現在) 3) 中山ら, 日本生態学会誌, 65, 241-253, 2015.

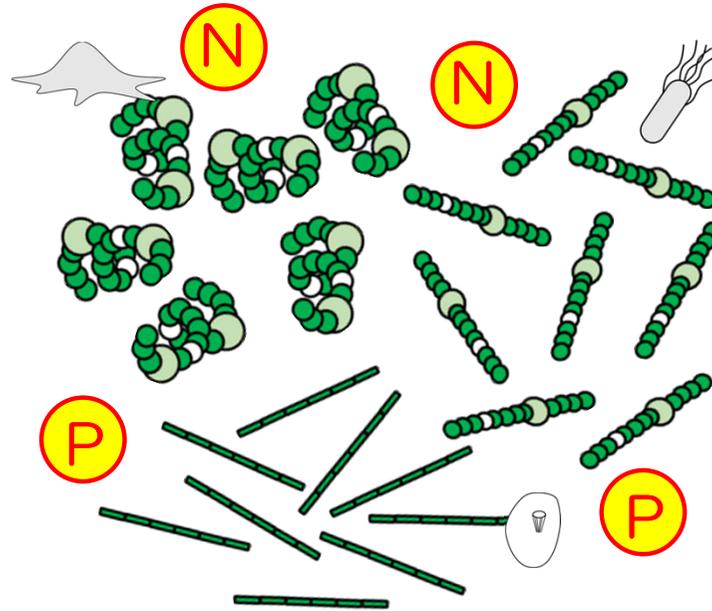
琵琶湖におけるカビ臭原因藻類を含む糸状藍藻類の生物学的抑制機構の調査

【調査研究概要】

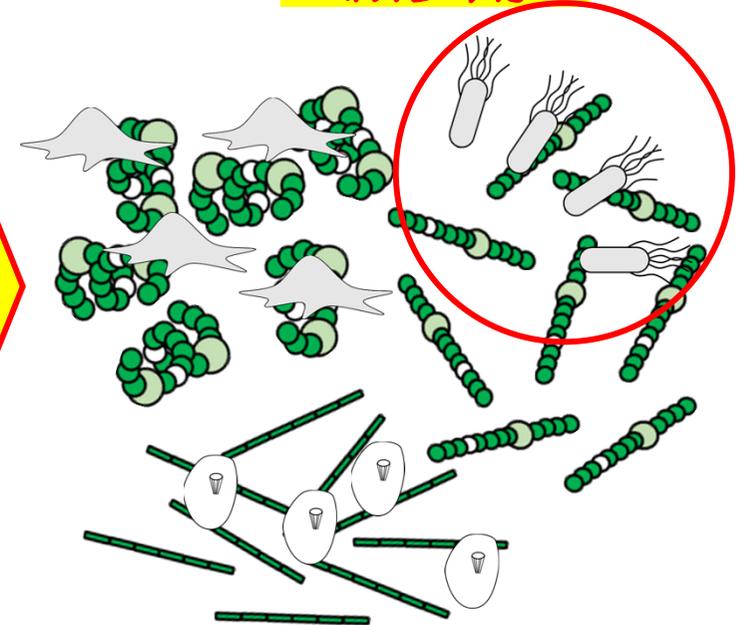
《発生初期》



《増殖期間》



《減少期》



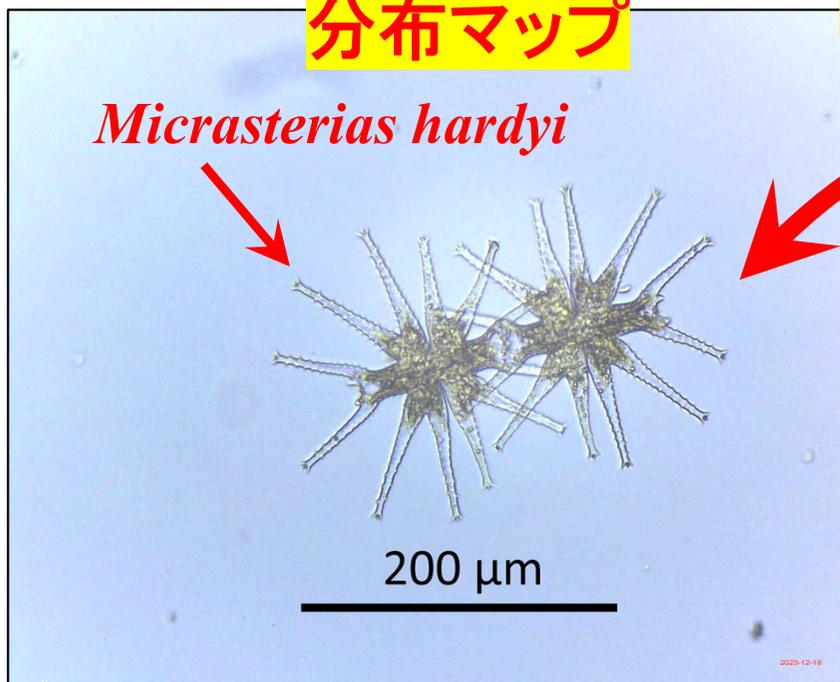
- カビ臭原因藍藻は主として周囲の栄養塩を利用して増殖し、その後、栄養塩減少、捕食者や殺藻細菌などの作用により減少すると考えられる。
- このうち、琵琶湖より単離された殺藻細菌などの作用については室内実験等で検証されているが、実際に琵琶湖にどれだけ存在しているかは不明な点が多い。
- そこで、本年度は試行的に、定量的ロングアンプリコンシーケンス解析による琵琶湖南湖湖岸の細菌叢調査(10月・12月採水)を実施した。

今後、学会等で報告の予定

琵琶湖・淀川流域内における物質動態に関する情報整理

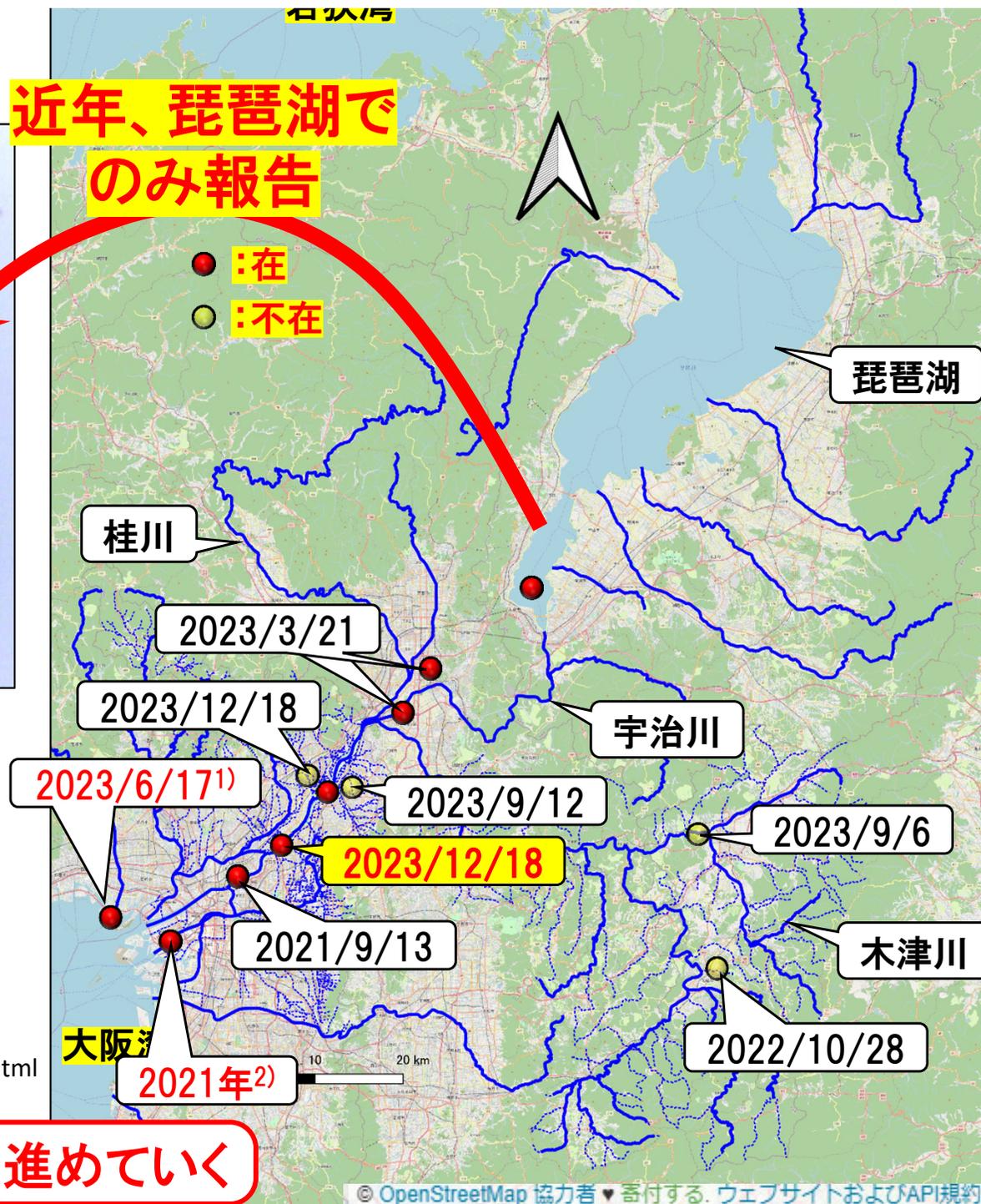
例) *Micrasterias hardyi*

分布マップ



近年、琵琶湖でのみ報告

● : 在
○ : 不在



琵琶湖が下流に対して実際に与える影響推定の一環として、情報収集および採水調査を実施

1) 生きもの好きの語る自然誌 (2024年3月現在)

https://tonysharks.com/Tree_of_life/Eukaryote/Plantae/Streptophyta/Micrasterias_hardyi/Micrasterias_hardyi.html

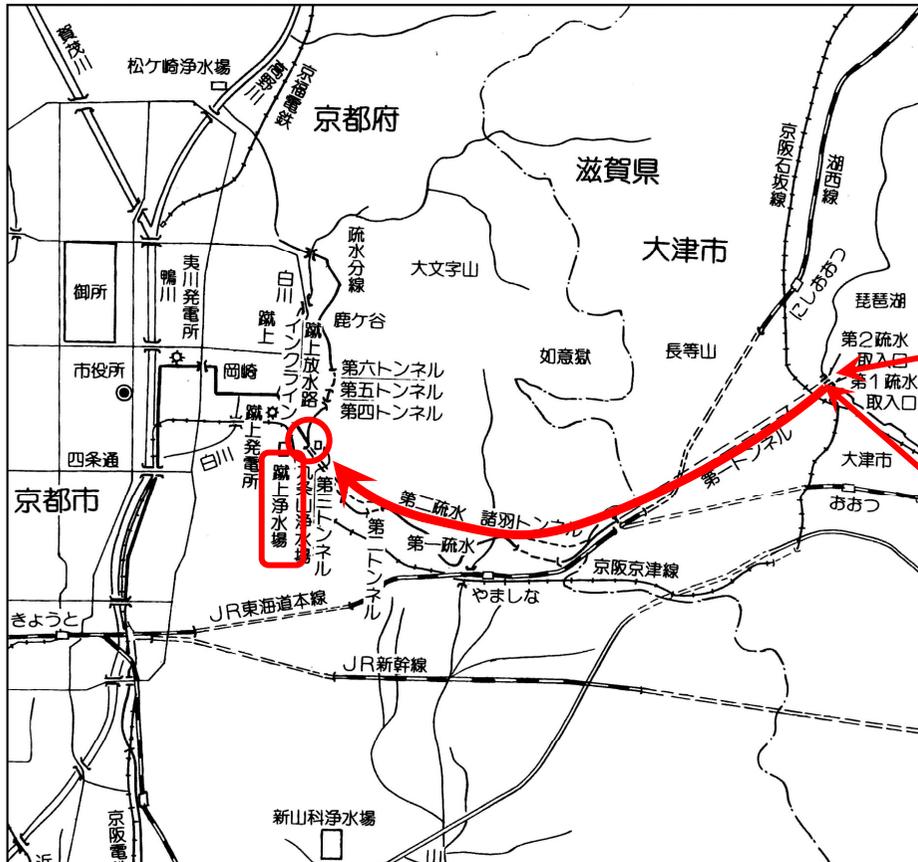
2) ブログ『海遊館日記』 (2024年3月現在)

<https://www.kaiyukan.com/connect/blog/2021/11/post-2202.html>

次年度以降も情報収集・整理を進めていく

カビ臭問題への取り組みについて

琵琶湖疏水および位置関係



←出典：近畿地方建設局・水資源開発公団編「淡海よ永遠に」



京都市上下水道局 粉末活性炭 使用状況

～カビ臭の場合～

京都市上下水道局HP¹⁾の公開情報より、カビ臭除去のため活性炭使用日数を算出

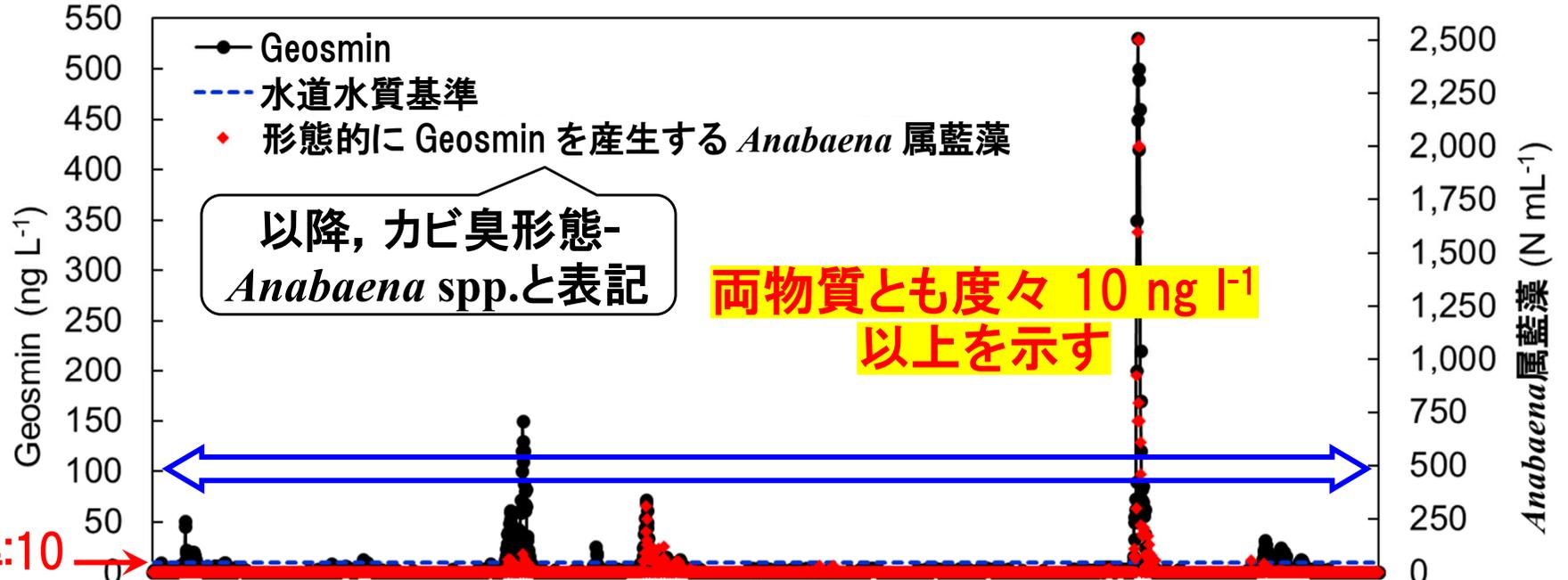
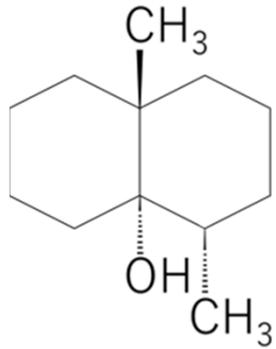
《注入開始日》		《注入停止日》	《日数》
令和 5年 5月 7日	➡	6月 9日	34日
6月 27日	➡	6月 29日	3日
7月 7日	➡	7月 11日	5日
7月 21日	➡	10月 17日	89日
			計 131日程度

上記に生ぐさ臭対策としての使用日数も加わるため、
令和 5年度(3/4 現在)は 160日弱の日数使用

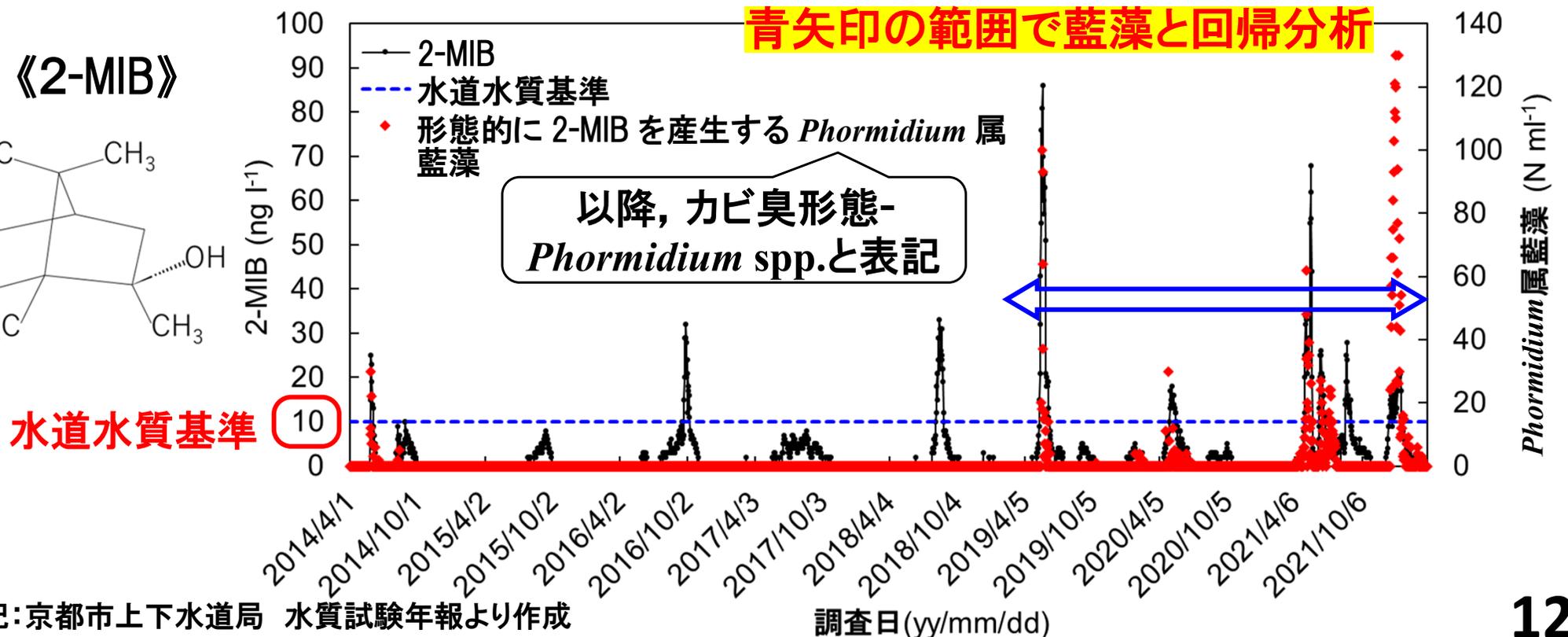
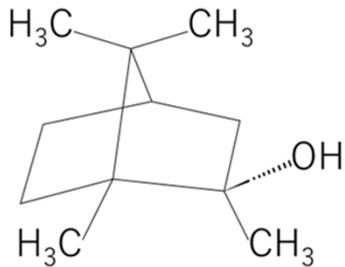
引用:1)京都市上下水道局HP 水道部施設課 <https://www.city.kyoto.lg.jp/suido/category/173-4-5-0-0-0-0-0-0-0.html>
(2024年3月4日現在)

過去の琵琶湖疏水(蹴上浄水場原水)のカビ臭濃度

《Geosmin》



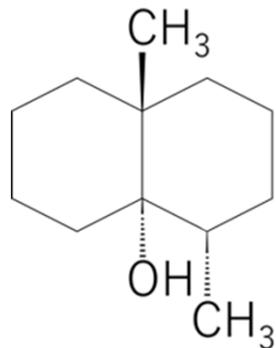
《2-MIB》



琵琶湖のカビ臭物質と主な原因生物の検討

《Geosmin》

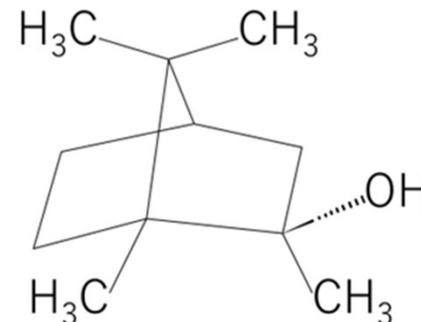
- 放線菌
- 藍藻類
 - *Dolichospermum* 属 (旧: *Anabaena* 属)
 - *Aphanizomenon* 属 等



出典:松本ら, 令和4年度全国会議(水道研究発表会), pp.174-175, 2022.

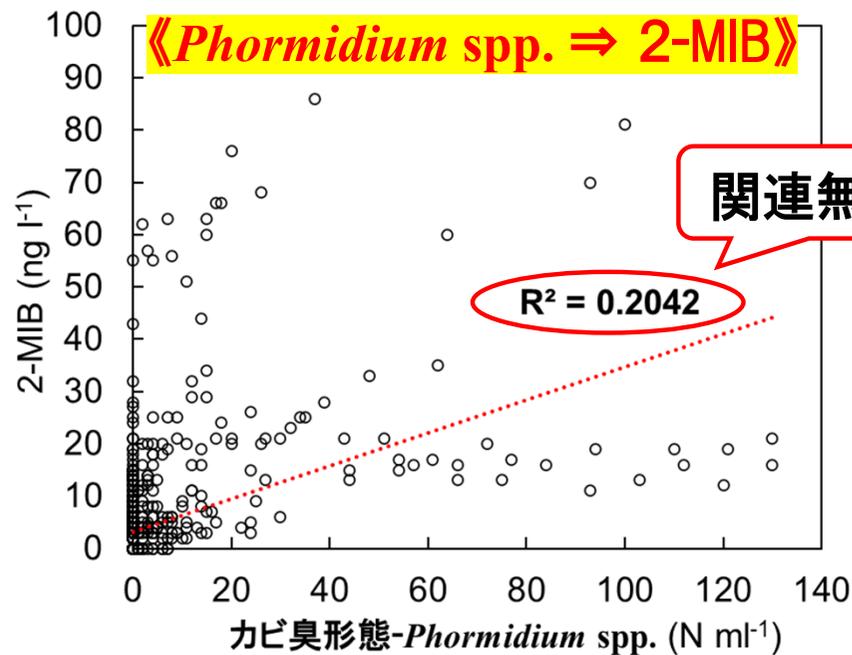
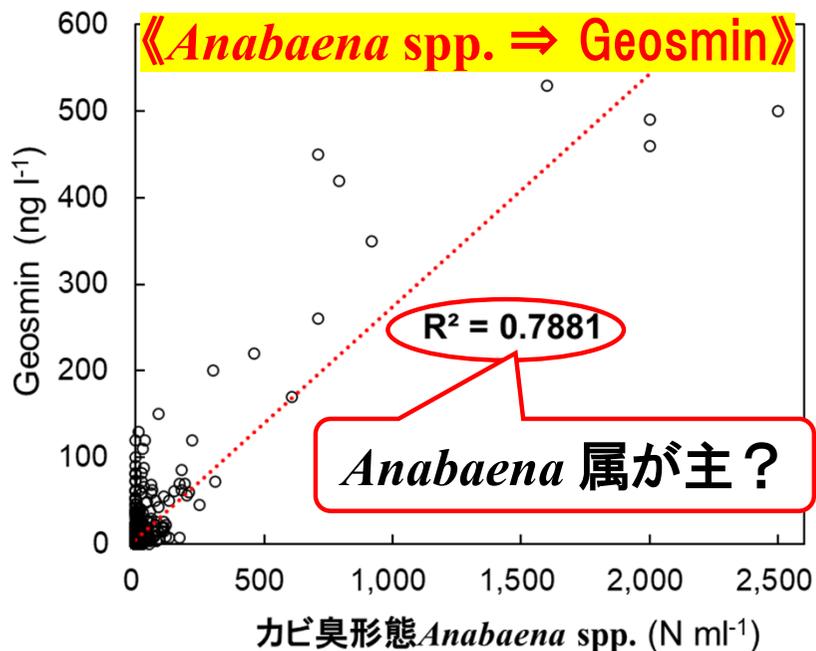
《2-MIB》

- 藍藻類
 - *Microcoleus* 属 (旧: *Phormidium* 属)
 - *Pseudanabaena* 属 (旧: *Oscillatoria* 属・*Phormidium* 属)
 - *Planktothricoides* 属(旧: *Oscillatoria* 属)等



琵琶湖の場合は？

京都市上下水道局 水質試験年報に記載の原水カビ臭濃度および原水中のカビ臭形態藍藻の毎日測定結果から単回帰分析を実施(2014~2021年度分(2-MIBは2019-2021年度)).



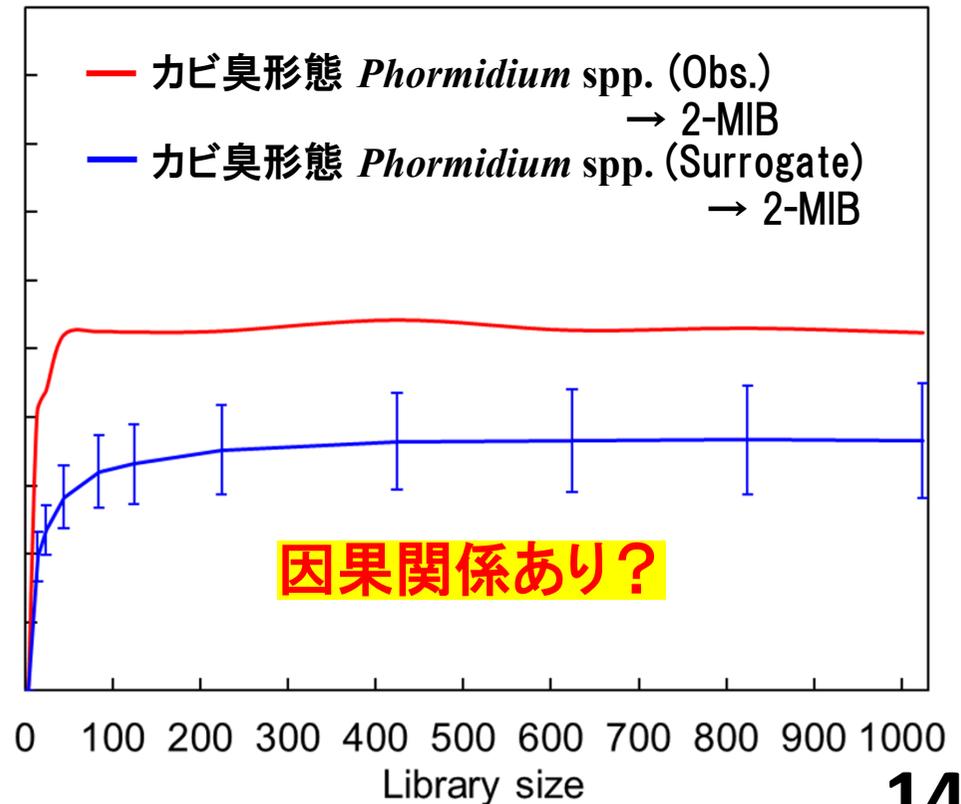
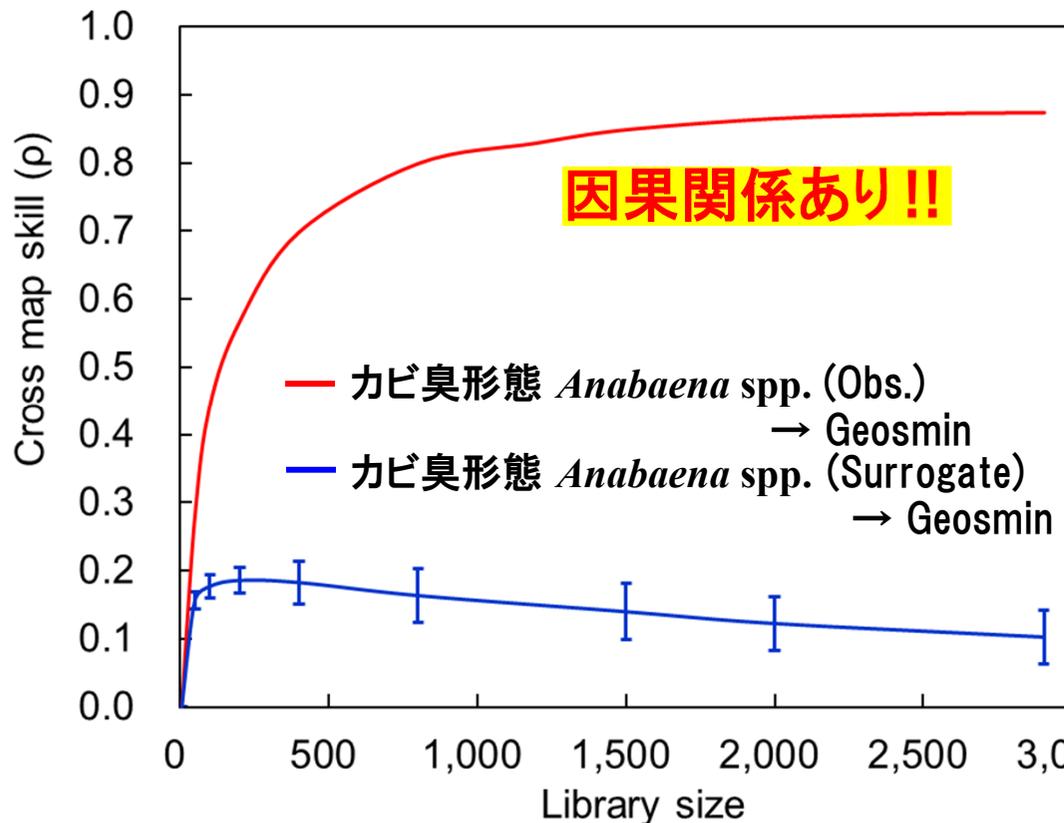
時系列因果推定法による検討

【時系列因果推定法 Convergent cross mapping (CCM) について※】

- CCM は数学理論(力学系の理論)を基にしたモデルフリーの解析方法。
- 自己相関を有し、決定論的かつ非線形性な時系列データに対して有効。
- 使用する時系列データは事前に標準化。
- Library sizeの増加に伴いCross map skill (ρ)が増加⇒因果関係あり。
- 季節性周期の影響等に関する推定の正確性はSurrogateデータで検証。

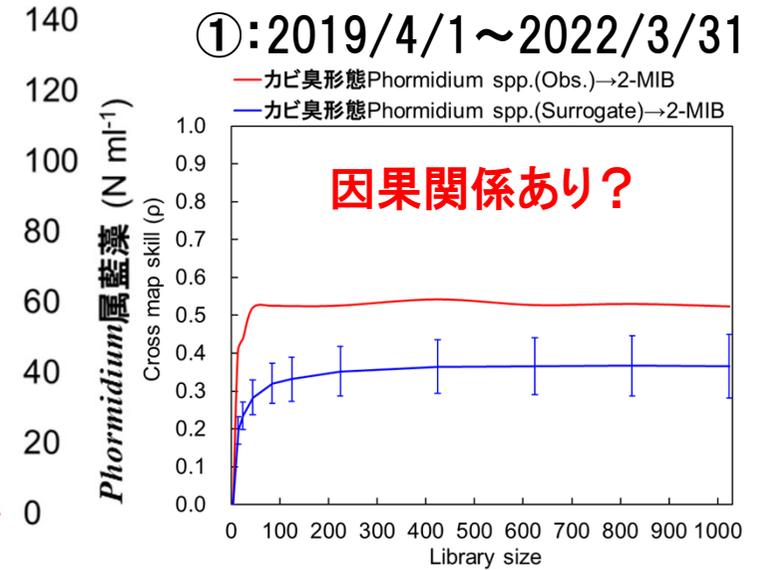
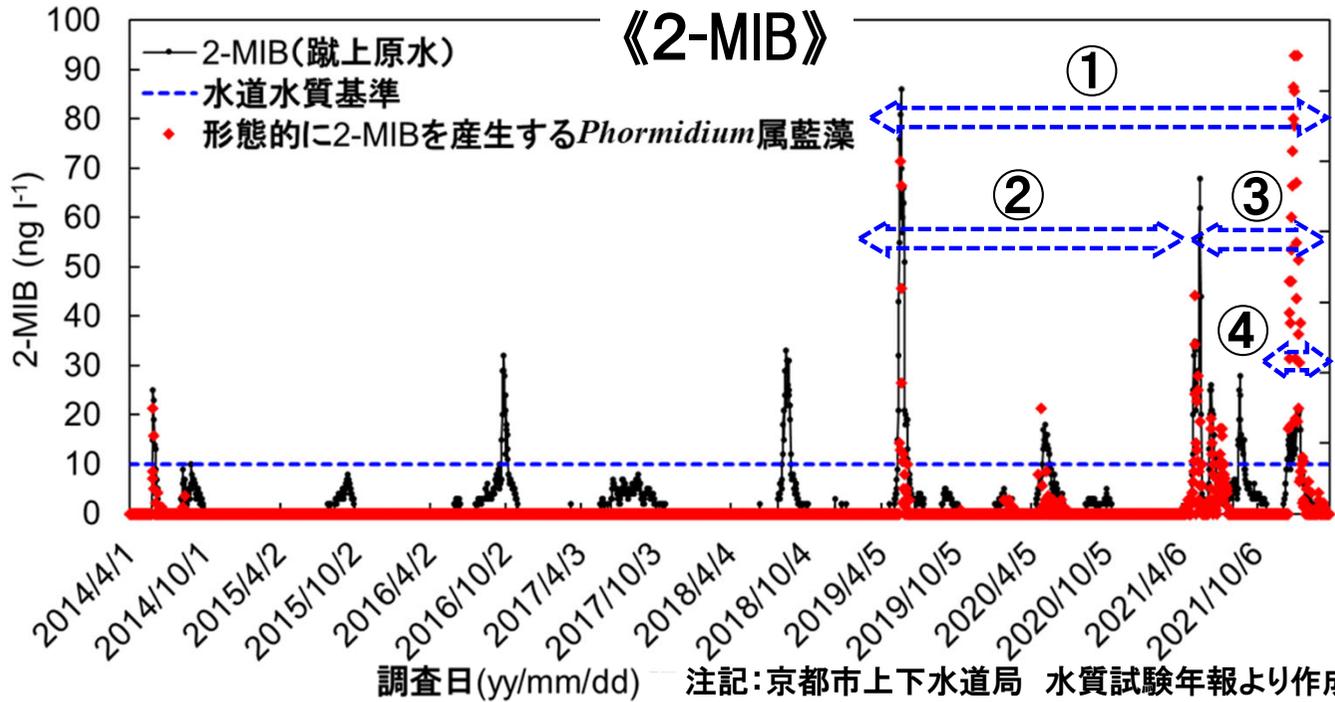
※中山ら, 日本生態学会誌, 65, 241-253, 2015.

《解析結果》



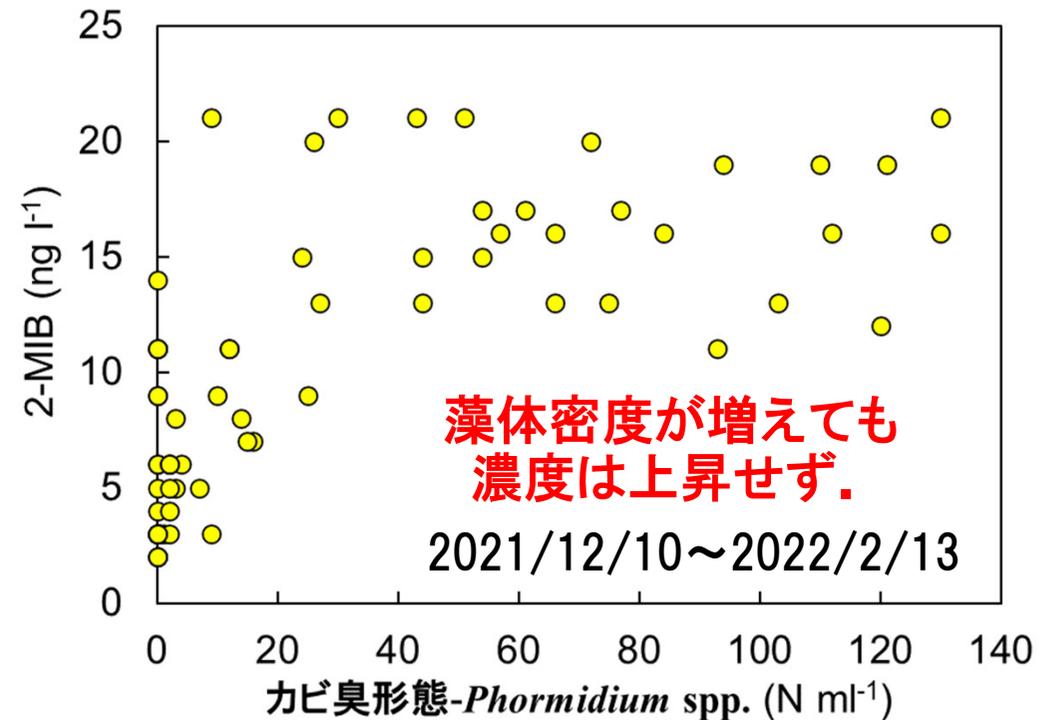
2-MIB～*Phormidium* 属藍藻の詳細検討①

《カビ臭形態-*Phormidium* spp.と2-MIB の関係について、期間を分けてCCMを実施》



2021/12～2022/2の期間を
 除き、因果関係が検出

2-MIB～*Phormidium* 属藍藻の詳細検討②



注記:京都市上下水道局 水質試験年報より作成

《ここから分かること》

2021/12/10～2022/2/13の期間、カビ臭形態-*Phormidium* spp.の増減と2-MIB濃度は対応していなかったと考えられる。

2021/12/10～2022/2/13の期間における 2-MIB について……

- ・可能性①:カビ臭形態-*Phormidium* spp.は原因ではなかった?
- ・可能性②:カビ臭形態-*Phormidium* spp.は原因だったが……

要検討

予定外に知見が得られた!!

要検討

⇒2-MIB産性能が変動した? or 産生種と非産生種が混在して計数された?

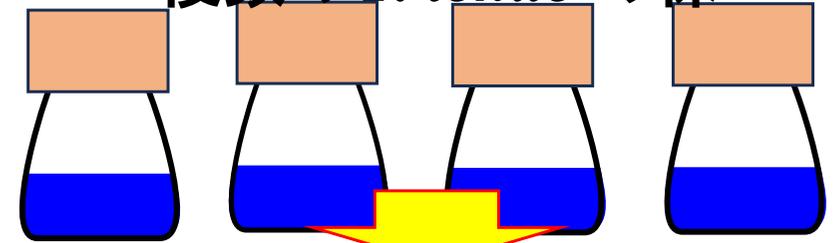
藻体の分解等により水圏に放出された2-MIBが流れ着いた? 等

Phormidium tenue に関する動向



Phormidium tenue
の単離

複数の *P. tenue* の株



遺伝的に異なることが判明!!

《 国内の *Pseudanabaena* 属藍藻の例 》

2-MIB産生藍藻	株の例	左記株の由来	2-MIB産生
<i>Pseudanabaena foetida</i> var. <i>foetida</i>	PTG	琵琶湖(1985) 1,2)	○
<i>P. foetida</i> var. <i>intermedia</i>	NIES-512	名古屋城(1981) 2,3)	○
<i>P. foetida</i> var. <i>subfoetida</i>	NIES-4059	霞ヶ浦(2013) 2,3)	○
<i>P. yagii</i>	NIVA-CYA-111	琵琶湖(1982) 2,4,5)	○
<i>P. cinerea</i>	NIES-4065	小川原湖(2015) 2,3)	○
<i>P. limunetica</i>	PTB	琵琶湖(1985) 1,2)	

出典 1) 竹本ら, 日本水処理生物学会誌, 48 (4), 157-163, 2012.

2) 新山ら, 平成30年度水源地環境技術研究所 所報, 67-71, 2019.

3) 国立環境研究所 微生物系統保存施設, <https://mcc.nies.go.jp/> (R5.3.15 現在)

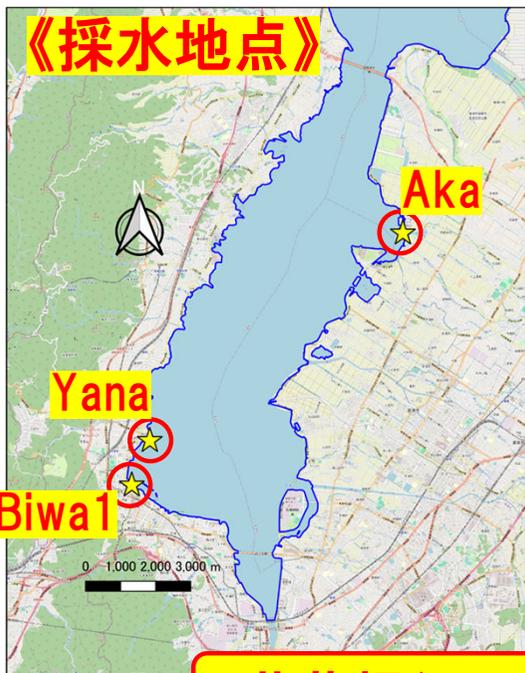
4) 中島ら, 日本水処理生物学会誌, 26 (2), 61-67, 1990.

5) The Norwegian Culture Collection of Algae HP: <https://norcca.scrol.net/strain/niva-cya-111> (R5.3.13 現在)

形態のみによる
判別は困難

現在の琵琶湖にはどの種がどれだけ存在する？

定量的ロングアンプリコンシーケンス解析による細菌叢調査



《目的》

藍藻類を対象とした殺藻・生長阻害細菌を含めた網羅的細菌叢調査と定量の試み。

《方法》

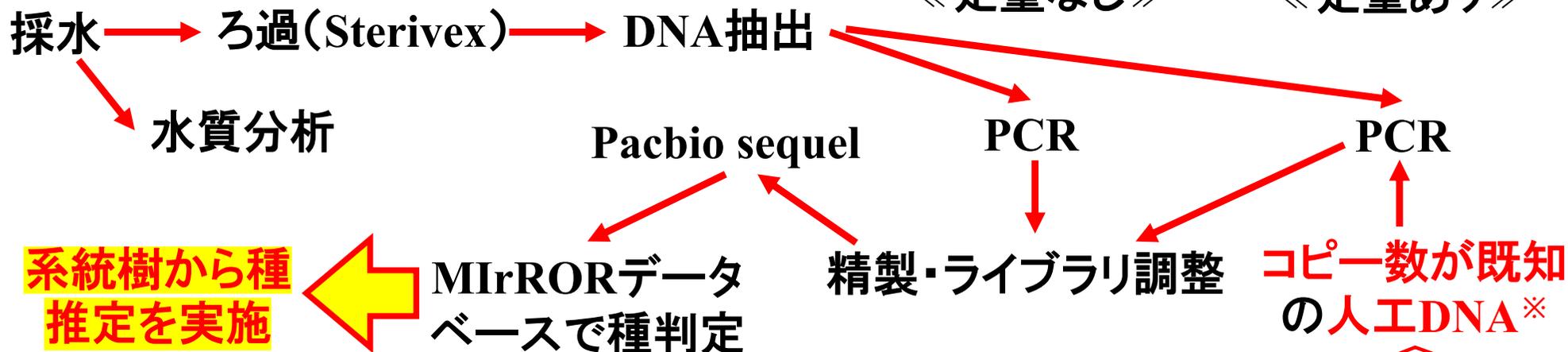
- 左記地点で2023年の10/23および12/20に採水。
- ロングリードシーケンサーを使用(Pacbio sequel IIe)。
- 細菌の16S rRNA遺伝子(V1-V9領域)を対象に、細菌のユニバーサルプライマー(27f・1492r)でPCR。

藍藻類(Cyanobacteria)も対象!!

PCR(16S rRNA遺伝子+タグ付け)

《定量なし》

《定量あり》

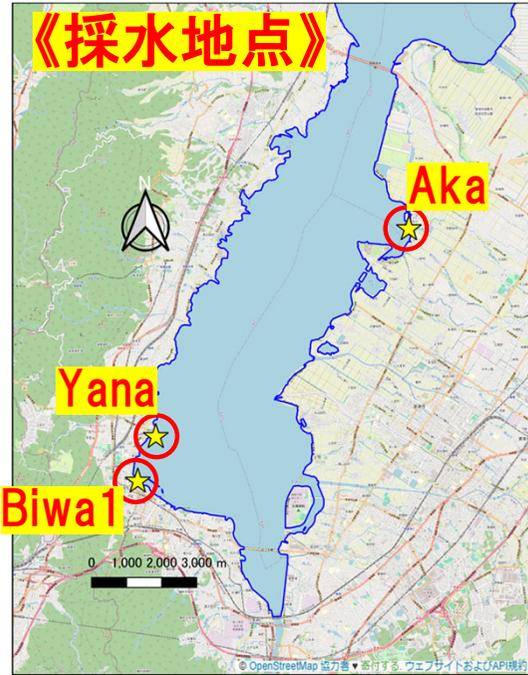


数の多い種が検出されやすい

Pseudanabaena が検出された!!

※ Turlousse et al., *Nucleic Acids Research*, 45 (4), e23, 2017.

細菌叢調査で検出された *Pseudanabaena* 属藍藻



Biwa1 (10/23) ... 定量なし

- Pseudanabaena* sp. ps 1
- Pseudanabaena* sp. ps 2
- Pseudanabaena* sp. ps 3

Yana (10/23) ... 定量なし

- Pseudanabaena* sp. ps 1
- Pseudanabaena* sp. ps 2
- Pseudanabaena* sp. ps 3

Biwa1-c (10/23) ... 定量あり

- Pseudanabaena* sp. ps 4

Yana-c (10/23) ... 定量あり

- Pseudanabaena* sp. ps 4
- Pseudanabaena* sp. ps 5

Biwa1 (12/20) ... 定量なし

- Pseudanabaena* sp. ps 8

Yana (12/20) ... 定量なし

- Pseudanabaena* sp. ps 6
- Pseudanabaena* sp. ps 7

○存在量が多いのは
ps 1 = ps 4 と ps 2 = ps 5.

○ps 3 = ps 8 は10月・12月
ともに存在

《検出された配列間の塩基の差異》

	ps1	ps2	ps3	ps4	ps5	ps6	ps7
10/23採取サンプル ps 1 ~ ps 5	13	46	34	13	0	0	0
12/20採取サンプル ps 6 ~ ps 8	49	57	41	49	57	47	36
	34	46	0	34	46	41	36
							19

0 は同じ配列

系統樹

《10/23》

ps 1 = ps 4 : *P. mucicola*

ps 2 = ps 5 : *P. yagii* ?

《12/20》

ps 6 : *P. limunetica* ?

ps 7 : *Pseudanabaena* sp.

《10/23~12/20》

ps 3 = ps 8 : *P. foetida* ?

—|

0.020

図. 16S rRNA遺伝子の配列による系統樹(Maximum Likelihood method, Kimura 2-parameter model using a discrete Gamma distribution with 5 rate categories and by assuming that a certain fraction of sites are evolutionarily invariable) (only values above 70 are shown) (Bootstrap: 1,000回) **未公表**

Pseudanabaena 属藍藻の増殖特性における種間差

《単離株を用いた培養実験結果》

2-MIB産生藍藻	株番号	低水温	光条件	出典
<i>P. foetida</i> var. <i>foetida</i>	PTG (琵琶湖)		光強度：弱*1 → 強*2 増殖傾向：悪 → 良好	横井ら ¹⁾
<i>P. foetida</i>	1705-12			
<i>P. foetida</i>	1803-12		光強度：弱*1 → 強*3 増殖傾向：良好 → 悪	厚労科研費 報告書 ²⁾ (代表：秋葉道宏)
<i>P. foetida</i> var. <i>intermedia</i>	NIES-512	増殖可 (遅い)	参考 最適 ³⁾ : 26 °C, 2,000 lux (≒ 27 μmol m ⁻² s ⁻¹) 株保存 ⁴⁾ : 15 °C	
<i>P. yagii</i>	NIVA-CYA-111 (琵琶湖)			
<i>P. yagii</i>	GIHE-NHR1 (韓国 北漢江)		参考 ⁵⁾ 温度(°C): 12 → 26…生存可 温度(°C): 26 → 26…黄色化(衰退?)	

詳細なデータ見つからず……

- 出典
- 1) 横井ら, 日本水処理生物学会誌, 56 (3), 47-55, 2020.
 - 2) 厚労科研費 令和3年度報告書(研究代表者:秋葉 道宏), 分担研究報告書3, 2022.
 - 3) 中島ら, 日本水処理生物学会誌, 26 (2), 61-67, 1990.
 - 4) The Norwegian Culture Collection of Algae HP: <https://norcca.scrol.net/strain/niva-cya-111> (R5.3.13 現在)
 - 5) Jeong et al., *microorganisms*, 9 (12), 2486, 2021,.
- *1: 10 μmol m⁻² s⁻¹
*2: 50 μmol m⁻² s⁻¹
*3: 60 μmol m⁻² s⁻¹

***Pseudanabaena yagii* を対象とした増殖・2-MIB産生特性の研究も重要**

まとめ

《琵琶湖疏水(蹴上浄水場原水)》

【2014～2021年度】

- カビ臭形態-*Anabaena* spp. ⇒ Geosmin
- 2021年度を除き、カビ臭形態-*Phormidium* spp. ⇒ 2-MIB

【2021年度における2-MIB】

○2021/12/10～2022/2/13の間、カビ臭形態-*Phormidium* spp. ~~⇒~~ 2-MIB

⇒・原因種が異なる可能性

・カビ臭形態-*Phormidium* spp. は原因だったが.....

2-MIB産性能が変動した可能性、**産生種と非産生種が混在した可能性**、藻体分解等により放出された2-MIBの影響可能性 等が考えられる。

《*Phormidium tenue* に関する動向》

○単離株に対する遺伝子解析より、現在は *Pseudanabaena* 属藍藻として分類

《琵琶湖南湖における *Pseudanabaena* 属藍藻の存在実態》

○*P. mucicola*、*P. yagii* 様藍藻、*P. foetida* 様藍藻、*P. limunetica* 様藍藻、*Pseudanabaena* sp. が存在

○10月・12月の両サンプルより検出されたのは *P. foetida* 様藍藻のみ。

琵琶湖の2-MIB・*Pseudanabaena* 属藍藻の現状に関する知見が徐々に得られてきており、今後もカビ臭問題解決に尽力していく。

謝辞

京都市上下水道局様には、
資料提供や調査方法に関する情報をご提供いただきました。
大阪市水道局様には過去の資料の調査にご尽力いただきました。
国立科学博物館の 辻 研究主幹には、藍藻の遺伝子解析等に関して、
貴重な知見をお教えいただきました。
ここに深く、謝意を表します。