

岩手大学

○大村達夫

大沼正郎

後藤和也

(1)はじめに 既に、海水濃度がふん便性指標細菌の生存に影響を及ぼすことは明らかにしてきたが、ここでは、海水に含まれるNaClが、指標細菌(大腸菌群、E.Coli、腸球菌)の生存にどのような影響を示すか調べた。

(2)実験方法および材料 300ml容三角フラスコに、人工下水200mlを取り、その中にNaClを0ppm, 2.5×10^4 ppm, 5×10^4 ppm, 10×10^4 ppmとなるように添加し、そこで、純粋培養によって得られた大腸菌群、E.Coli、腸球菌を接種した。そして、この三角フラスコを振とう培養器中で20℃に保った。三角フラスコ内の細菌数は毎日測定され、大腸菌群がデスオキシコレート培地を用いた平板法、E.Coliは大腸菌群と同じ培地を用いた高温培養による平板法、腸球菌はM-Enterococcus培地を用いた平板法で測定された。人工下水は、グルコース、グルタミン酸ソーダ、 NH_4Cl 、その他栄養塩類を含んでおり、BODが約100ppmになるように調整されている。また、実験は、各細菌ごとに同じNaCl濃度で3回ずつ行われた。

(3)実験結果および考察 図-1に大腸菌群の3回の実験を行ったうちの1つの生存曲線を示す。残りの2回の実験も同様な生存曲線が得られた。これらの生存曲線より、NaCl濃度が 2.5×10^4 ppm以下の場合は増殖することがわかり、その最大増殖比はNaCl 0ppmの場合、平均値で21.6、 2.5×10^4 ppmの場合3.8であった。これらの平均値の間に有意差の検定を行ったところ、有意水準5%で有意の差が認められなかった。すなわち、海水に含まれるNaCl濃度は、実験の 2.5×10^4 ppmに最も近いので、海水中のNaClの濃度レベル以下では十分な栄養分があれば、大腸菌群は十分増殖することができ、その増殖の程度もあまり変わらないことがわかった。一方、NaCl濃度が 5×10^4 ppm, 10×10^4 ppmでは、大腸菌群は増殖できず、すぐ対数的に死滅していくことがわかった。そして、その死滅速度係数の平均値は、 5×10^4 ppmで0.591(1/日)、 10×10^4 ppmで0.623であった。これらの値の間に有意差は見られず、NaCl濃度が 5×10^4 ppm以上では、大腸菌群は同じような速度で死滅するものと思われる。以上より、NaCl濃度が 2.5×10^4 ppmと 5×10^4 ppmの間で、大腸菌群の生存状況に大きな変化が生ずることが明らかになった。

図-2に、E.Coliの1つの生存曲線を示す。残りの2つの生存曲線もほぼ同じ形を示した。これらの生存曲線より、E.Coliも大腸菌群とはほぼ同じ生存曲線を示した。すなわち、NaCl濃度が0ppm, 2.5×10^4 ppmでは増殖を示し

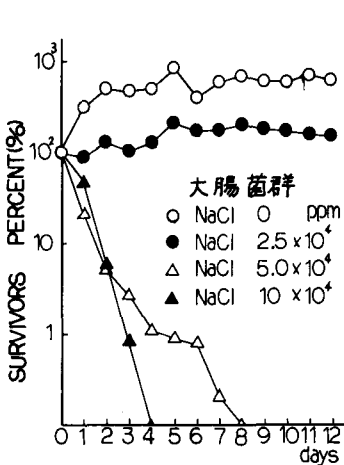


図-1 大腸菌群の生存曲線

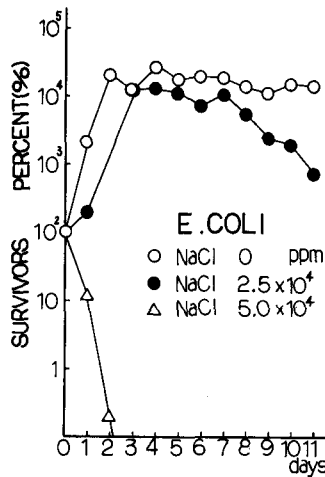


図-2 E.Coliの生存曲線

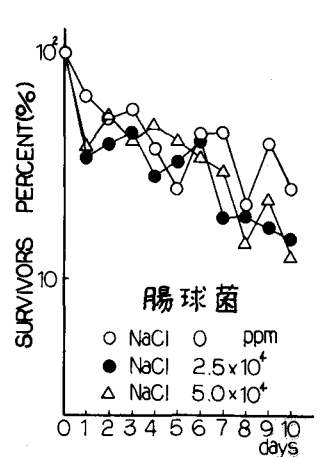


図-3 腸球菌の生存曲線

5×10^4 ppm ではすぐに対数的に死滅した。しかし、*E. Coli* の最大増殖比は、大腸菌群に較べて非常に大きく、その平均値は 0 ppm で 412, 2.5×10^4 ppm で 111 となり、大腸菌群のそれの 20 倍以上となった。これは、*E. Coli* の場合、初期接種後の菌数が大腸菌群の菌数の 100 分の 1 程度であったことも影響したかもしれない。また、 5×10^4 ppm の場合の死滅速度係数も平均値で 1.435 (1/日) と大腸菌群のそれに較べて大きな値となった。やはり、*E. Coli* の生存曲線も大腸菌群の生存曲線と同様に NaCl 濃度が、 2.5×10^4 ppm と 5×10^4 ppm の間で大きく変化することが観測された。

図-3に、腸球菌の1つの生存曲線を示す。残りの2回の実験もほぼ同様な生存曲線が得られた。これらの生存曲線より、どのNaCl濃度においても増殖は観測されず、すぐに対数的に死滅した。また、その死滅速度係数は、NaCl濃度が0 ppm で 0.096 (1/日)、 2.5×10^4 ppm で 0.090 (1/日)、 5×10^4 ppm で 0.105 (1/日) を平均値でそれぞれ示した。これらの死滅速度係数の間で、有意差検定を行なった結果、有意差は見られず、腸球菌はこれらのNaCl濃度において、栄養状態が十分であっても、増殖はせず、かつその死滅状況も変わらないことがわかった。したがって、腸球菌は、かなり限られた環境でしか増殖できないものと思われるが、死滅速度係数は大腸菌群や*E. Coli*のNaCl濃度 5.0×10^4 ppmの場合に較べると非常に小さく、NaClに対する生存力は強いものと思われる。

以上の結果より、大腸菌群および*E. Coli*は、海水に含まれるNaCl濃度内において、栄養条件が十分整えば、増殖することができるが、腸球菌は増殖することが出来ない。したがって、有機物汚染の進んだ海域において、大腸菌群や*E. Coli*は増殖する可能性があり、指標細菌として疑問であり、その点、腸球菌は増殖せず生存力も強いので指標細菌として優れているものと考えられる。

次に、*E. Coli*についてNaCl濃度 5×10^4 ppmの荷酷な状態を繰返し受けた場合の生存状況を観察するために次のような実験を行なった。実験方法は同じであるが、実験期間を2日間とし、2日目にまだ生存している*E. Coli*を乳糖ビオン培地中で増殖させた後、この*E. Coli*を接種して同様な実験を開始することにし、この操作を5回繰返した。その結果を図-4に示す。この図より、第1回から第5回に実験が進むにつれて、すぐに、対数的に死滅していたものが、増殖してから死滅する傾向に変わっていくことがわかる。このような現象を明らかにするために、IMViCテストを行ない菌型が変化しているかどうか調べた。その結果を表-1に示す。この結果より、第1回と第2回においては、*E. Coli* II型であったものが、第3回においては、中間型といわれる*E. freundii* I型となり、第4回、第5回には*E. freundii* II型と菌型が変化したことがわかった。すなわち、*E. Coli*は荷酷な状態を繰返し受けることにより、その荷酷な条件に適応できるように、菌型が変化していくものと思われる。したがって、例えば海湾に*E. Coli*が放出された場合、潮汐などの繰返しにより、河口近くで長く滞留するうちに菌型が変化し、その環境にも適応できるような細菌となる可能性があり、はたしてそのような場合、指標細菌として適するかどうか疑問であり、今後検討していきたい。

(4)まとめ 大腸菌群と腸球菌は、海水に含まれるNaCl濃度内では、栄養状態がよければ増殖するが、腸球菌は増殖せず、生存力もすぐれている。*E. Coli*にとりて荷酷な条件を繰返し受けさせた所、その菌型に変化が見られた。最後に、実験に際し、御協力をいただいた当時若大生、浅利、真下両君に感謝します。

参考文献 (1) 松本、大村、下水協、Vol.13, No.141, 1976

表-1 IMVIC TEST

TEST	第1回	第2回	第3回	第4回	第5回
インドール	1 2 3	---	---	---	+++ +++ +++
メチルレッド	1 2 3	+++ +++ +++	+++ +++ +++	+++ +++ +++	+++ +++ +++
ノーグース プロス カウエル	1 2 3	---	---	---	---
クエン酸 ナトリウム	1 2 3	---	+++ +++ +++	+++ +++ +++	+++ +++ +++

図-4 *E. Coli*の耐久試験

