

水中細菌の分離方法についての一提案

名城大学理工学部土木工学科 正会員 ○ 深谷 実
名古屋市下水道局施設管理部 正会員 加藤三千夫

1. はじめに： 現在水域水質を評価する指標の一つとしてある水中細菌試験は、主に水質の汚濁の程度を知る目的で実施されているが、我々はこれとは別の観点から、すなわち水中細菌の有する水質浄化能に着目して、水質浄化に直接関与している水中細菌の選択的分離方法を検討した。さらに、この手法を用いて河川水を調査し、興味ある知見を得たので報告する。

2. 研究方法： a, 河川水の水質を極力変えずに固定する方法を検討し、b, この方法によって分離できた細菌種の河川水中での増殖能を確認した。c, 次に、4種の河川水に対し普通寒天培地とここで検討した培地とを用いて水中細菌を分離し、この培地の有効性を検討した。

3. 研究結果および考察： a, 河川水の固定は、まず全体の20%の河川水で寒天濃度 5%の寒天液（水温約85℃）を作り、これと残りの80%の河川水（水温約40℃）とを混合し、全体として寒天濃度 1%で河川水を固定し培地とすることができた（以下この培地を直接培地と呼ぶ）。直接培地で分離した細菌を、普通寒天培地のそれと比較してみたところ、この培地上に形成されるコロニーの大きさは、肉眼による判別が可能なまでに48時間程度の培養を行う必要があり、またその大きさは普通寒天培地よりはるかに小さかった。次に普通寒天培地と比較して直接培地に出現するコロニーの種類数は明らかに少ない傾向が見られた。これらのことは、河川水中の栄養源のみで増殖可能な細菌の存在を示すと同時に、普通寒天培地のような高栄養下でなければ増殖できない細菌も水中に存在していることを示していると言える。 b, 普通寒天培地ならびに直接培地にそれぞれ出現したコロニーを形態別に分類し、各々についてもとの河川水を用いた増殖試験を実施した結果、図-1を得た。まず、普通寒天培地より分離された細菌10種(A~J)のうち、6種(B, C, D, H, I, J)は河川水中で増殖できなかった。それに対して直接培地から分離された7種(A~E)の細菌は、2種(E, J)が一時的に減少する傾向を示したものの、その後は増殖傾向に転じており、結果としてすべての細菌が12時間以内に増殖することが確認された。すなわち、直接培地にコロニーを形成する細菌種はすべてのものがもとの河川水中で増殖を繰り返し、結果として河川水の浄化に関与している細菌種であることが窺える。以上のことから、水域水中に存在し、かつその水質浄化に直接関与している水中細菌を選択的に分離する方法として、この直接培地を用いる方法が有効であると考えられる。 c, 普通寒天培地と直接培地の2種類の培地を同時に用いて、4種の河川水を調査した結果、まず各河川の汚濁状態は図-2のごとく、木曽川が水質的にもっとも良好であり、以下庄内川中流、庄内川下流、堀川の順に水質が悪化している。つぎに水中細菌試験の結果を図-3に示した。すなわち河川水中細菌数は、普通寒天培地による試験では、木曽川および庄内川中流の2か所が約1200個/cc、庄内川下流、堀川ではそれぞれ68000個/cc、63000個/ccであった。これに対して直接培地では、木曽川10個/cc、庄内川中流は16個/cc、庄内川下流、堀川ではそれぞれ60個/cc、33個/ccと極端に少ない値を示した。この両培地の細菌数の比をみると木曽川、庄内川中流の比較的水質の良好な地点ではその値が0.8%、1.3%であるのに対して汚濁のより進んだ庄内川下流および堀川の2地点ではその値は0.09%、0.05%と、明らかに小さな値となっている。

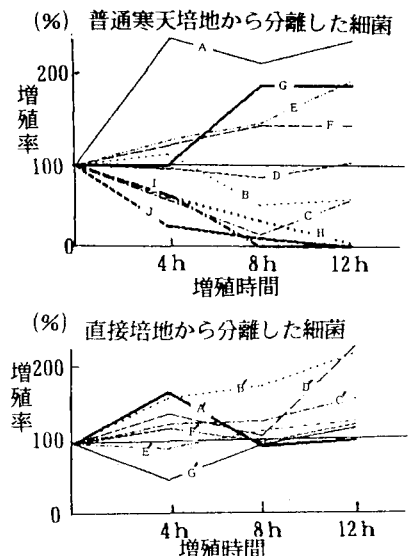


図-1 河川水による水中細菌の増殖

このことは、河川水の汚濁に伴って、普通寒天培地でのみ増殖可能な細菌の割合、すなわちその河川水中では増殖できず、結果として水処理に直接関与しない細菌の割合が増加していることがわかる。続いて各培地に形成されたコロニーを形態的に分類し、各種類ごとの個数分布を調べた結果を図-4に示した。まず、普通寒天培地におけるコロニーの種類数は庄内川中流10種、木曽川、堀川いずれも7種、庄内川下流6種となっており、水質との間に明確な相関を見出すことは出来ない。それに対して直接培地では、木曽川、庄内川中流では各4種、庄内川下流3種、堀川2種と、河川水の汚濁度が増加するにつれて直接培地に出現する種類数は減少する傾向が認められた。次に、直接培地における種類別個数分布をみると木曽川の場合、コロニー全体の約90%が2種類の細菌によって占められているのに対し、汚濁度の高い庄内川下流、堀川では90%以上が1種類の細菌で占められていることがわかる。つまり汚濁の進行した河川では、直接培地に出現する細菌は種類が少なく、ほぼ1種類であることがわかった。このことから汚濁度の低い河川では、そこで増殖できる細菌の種類は、汚濁した河川に比較して多い傾向にあり、また、逆に汚濁した河川においては増殖できる細菌の種類は限られてくるものと推察される。以上のことは河川水について直接培地および普通寒天培地の2種類の培地を用いて細菌試験を行ない、これを比較することによって、河川水中に混在する多数の細菌を数的、種類のにも明らかにし、『ただ単に河川水中に存在する細菌』と、『その水中で増殖し水質浄化に関与している細菌』とに分別評価しえたものと考えられる。

4. 結論： 河川水中細菌を分離する培地として、極力河川水の水質状態を保った形で固定することを検討した結果、1%の寒天を用いて、直接河川水を固定する方法（直接培地法）を確立した。この直接培地によって分離された各種水中細菌は、そのすべてが、もとの河川水中において増殖可能であることが確認された。このことから直接培地は、水中細菌のうち、その水中で増殖し、結果として水質の浄化の主体をなしている細菌を選択的に分離できる培地であるといえる。次に直接培地と普通寒天培地の2種の培地を同時に用いて河川水中の細菌を分離することによって、各河川の汚濁に対応した水中細菌の存在を従来の汚濁度指標としてでなく、水質浄化に関わる細菌の動態としてもとらえることができた。すなわち、汚濁度の高い河川水は、汚濁度の比較的低い河川水に比べ、そこに存在する水中細菌のうち、水質の浄化に関与する細菌の種類数は少なく、また数の上からも、普通寒天培地で確認された全体数との比率においてその割合は極めて小さいことが分かった。このことは、汚濁した河川水中

では、実際に水質の浄化に関与して働く細菌の割合が少ないことを示している。これに対して比較的水質の良い木曽川は水中に存在する全細菌数に対して水処理に関与する細菌数の割合は、汚濁した河川に比較してはるかに多く、その種類も多いことがわかった。このように直接培地を用いた水中細菌の分離とその検討は、今まで不可能とされていた水質浄化に直接関わる水中細菌を明らかにすることができ、また従来の普通寒天培地による細菌試験と比較して用いることにより、その水域水中における水中細菌の水質浄化への対応状態を知りうるという点において十分評価されうるものであると考えられる。

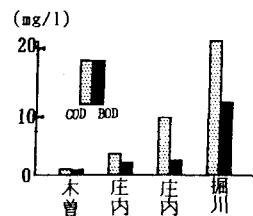


図-2 河川水質値

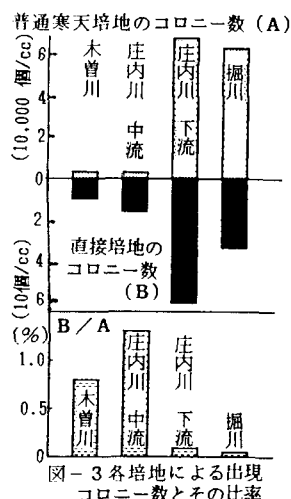


図-3 各培地による出現コロニー数とその比率

各河川における細菌の種類別百分率 (普通寒天培地)				
	木曽川 (%)	庄内川 (中流) (%)	庄内川 (下流) (%)	堀川 (%)
A	2.3	2.2		
B	5.8	14.0	1.6	11.3
C	3.7			
D		76.8	59.0	50.0
E		5.5		8.6
F		2.3		
G		1.0	3.0	2.7
H	0.6	1.0	0.5	2.7
I		2.3	2.6	2.7
J				
K	9.8	9.8	4.3	22.0

各河川における細菌の種類別百分率 (直接培地)				
	木曽川 (%)	庄内川 (中流) (%)	庄内川 (下流) (%)	堀川 (%)
A	41.0	5.4	0.7	
B	2.7	0.6		
C		15.0	6.3	5.6
D	47.0	79.0	93.0	94.3
E	9.0			

図-4 各河川における細菌の種類別百分率