

腸球菌群の分類と高塩分濃度下における挙動について

岩手大学工学部 学生員 ○ 橋本義春
 正 員 大村達夫
 正 員 大沼正郎

(1)はじめに 既に我々は、海洋における糞便性汚染の指標細菌としては、大腸菌群よりも腸球菌群の方が優れているという結果を得た。ここでは、腸球菌群を4つの種に分類し、各々の種の高塩分濃度下における生存試験と適応試験を行い、その特性を調べた。

(2)実験方法及び材料 EF培地で腸球菌群を下水より選択分離し、糖類分解能とゼラチン液化能によって、表-1に示されるような4つの菌型に分類した。分離された菌株は、全てAC培地で純培養され、以下の試験に供された。

表1 糖分解及びゼラチン液化による腸球菌の分類

菌型	糖 類				ゼラチン 液化
	アラビノース	ソルビト	メリビオース	マンニト	
<i>S. faecalis</i>	—	+	—	+	—
<i>S. faecalis</i> var. <i>liquefaciens</i>	—	+	—	+	+
<i>S. faecium</i>	+	—	+	+	—
<i>S. durans</i>	—	—	+	—	—

2-1 生存試験 300 ml 容の三角フラスコに、BODが 100 ppm に調整された人工下水を 200 ml 入れ、さらに濃度が 5×10^4 ppm となる様に NaCl を添加した。このフラスコは純培養によって得られた菌株が接種され、20℃で試験期間中振とう培養器内に置かれた。フラスコ内の細菌数は、EF培地を用いた平板法で毎日測定された。また、2日ごとに糖類分解能及びゼラチン液化能による菌型の確認を行った。

2-2 適応試験 純培養菌株を、生存試験で述べた NaCl 濃度 5×10^4 ppm という条件下に繰返し置く事により、その時の生存状況がどの様に变化し、適応してゆくかを調べた。人工下水や測定方法は、生存試験と同様であるが、1回の培養期間を3日とした。つまり、3日目に生存している菌をAC培地中で増殖させ、この菌を接種菌として同様の試験操作を、5回繰返した。菌数の測定は、0, 1, 3日目ごとに行った。また菌型の確認は、1, 3日目ごとに行った。

(3)実験結果と考察 3-1 生存試験結果 図1-1に *S. faecalis* var. *liquefaciens* の生存曲線を示す。本菌は、4～7日程度の lag time を持ち、その後対数的に死滅する傾向が見られる。また、図1-2, 1-3に *S. faecium* と *S. durans* の生存曲線を示す。*S. faecium* は、lag time を持たずすみやかに死滅し、5日以降その死滅が急激であった。*S. durans* は、2日程度の lag time を持つが、初期においてその死滅は、*S. faecium* と同様な傾向を示した。この3つの菌型を比較すると、接種5日後では *S. faecalis* var. *liquefaciens* の 40% 程度の菌数が生き残っている。

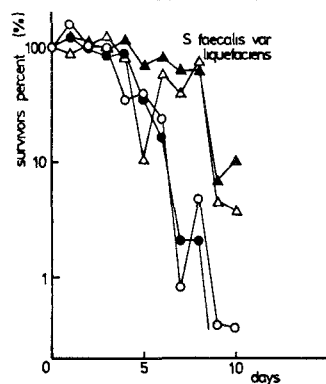


図 1-1 *S. faecalis* var. *liquefaciens* の生存曲線

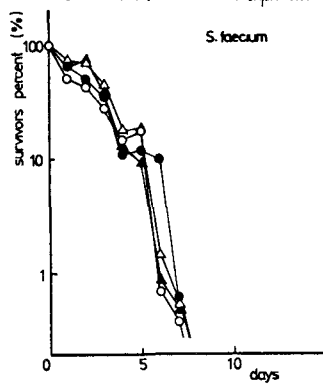


図 1-2 *S. faecium* の生存曲線

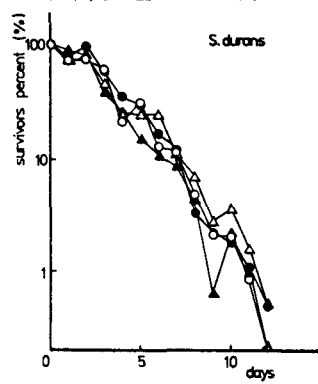


図 1-3 *S. durans* の生存曲線

るのに対し、*S. faecium*では10～20%、*S. durans*では20～30%であった。また10日後では、*S. faecalis* var. *liquefaciens*と*S. durans*の数の菌数が生き残っていたのに対し、*S. faecium*は5日目以降急激に死滅し、8日目ではほとんど全ての菌数が死滅した。以上の結果、*S. faecalis* var. *liquefaciens*の生存能力が最も強く、*S. faecium*と*S. durans*は同様にすみやかに死滅する事から、もし海水中で*S. faecium*と*S. durans*が検出された場合、この生存試験に限れば、その海域は比較的近い時点で汚染されたものと推定される。糖類分解能及びセラチン液化能によって行われた菌型の確認では、試験終了時まで各菌種とも菌型が変わるような事はなかった。

3-2 適応試験結果

図2-1に*S. faecalis* var. *liquefaciens*の適応試験の結果を示す。前述の生存試験の結果より、本菌は、NaClに対する適応能力があると思われたが、その様な傾向が図2-1においても見られた。すなわち、回を重ねるごとに、3日目の生存菌数が、初期の菌数と同等かあるいはそれ以上である事が認められた。図2-2に*S. faecium*の適応試験の結果を示す。本菌は、第1,2回で死滅していたものが、第3回ではあまり死滅しない様になり、第4,5回では逆に増殖する傾向が見られた。平行して行った菌型の確認では、菌型が変わる様な事はなかった。この事から、*S. faecium*は、何度も繰返し同一条件下に置かれると、菌型が変わる事なく与えられた条件に適応する様になる事がわかった。図2-3に*S. durans*の適応試験の結果を示す。本菌は、第1回目ではゆっくりと死滅した。これは、生存試験において示された2日程程度のlag timeと対応している様に思われる。しかし第2～5回と実験が進むにつれ、急激に死滅する様になった。菌型も実験期間中変わらなかった事から、*S. durans*は全く適応能力を持たない事がわかった。以上の試験結果から、海水中ではすみやかに死滅していた*S. faecium*が、もし感潮河川や河口付近で繰返し海水の影響を受ける様な場合、しだいにその適応能力を増し、最後には増殖する可能性さえ持っている事がわかった。また同様に、*S. faecalis* var. *liquefaciens*は、海水中での生存能力はもとより強く、まわりの環境条件が変わってもその条件に適応性を示し、長く生存する可能性を持つ。これに対し、*S. durans*は適応能力がなく、この様な条件下では急激に死滅する様になる。従って、海水中で*S. durans*が検出された場合、その汚染は比較的最近のものであると推定される。一方、*S. faecalis* var. *liquefaciens*や*S. faecium*は、適応性を持っているため、ずっと以前の汚染を表わすことになるかもしれない。腸球菌群は、その菌型によって生存特性が違ふ事から、汚染指標として用いる場合、十分注意する必要がある。

(4) まひね *腸球菌*は、その菌型によって生存特性の違ふ事がわかった。*S. faecium*は、強い適応能力を持っており、一方、*S. durans*は適応能力を全く持っていない。*S. faecalis* var. *liquefaciens*はもとより強い生存能力を持っている事がわかった。

謝辞 実験に際し、御協力をいただいた中坪秀彰、坂井公広両君に心より感謝いたします。

また本研究は、文部省科研費、奨励研究(A)の援助を受けた事を付記する。

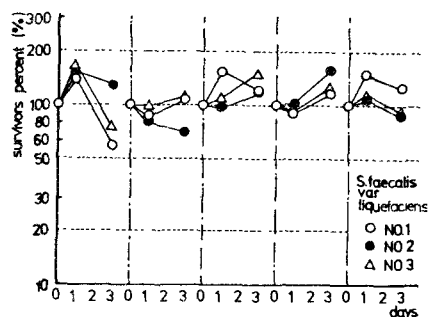


図2-1 *S. faecalis* var. *liquefaciens*の適応試験

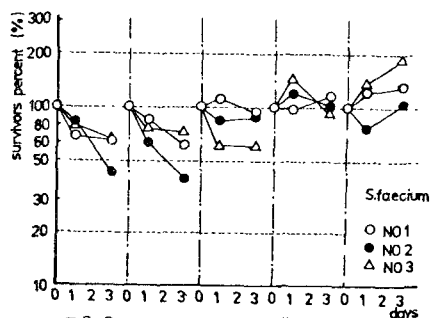


図2-2 *S. faecium*の適応試験

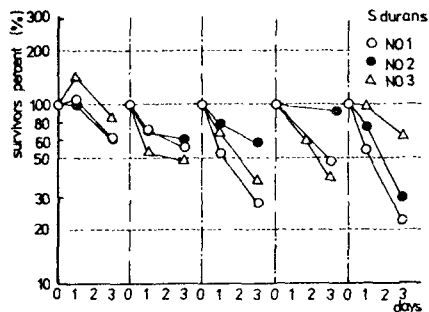


図2-3 *S. durans*の適応試験