

水環境の底質における大腸菌の消長とその影響因子

山形大学大学院農学研究科	非会員	〇	盧 敏
岩手大学大学院連合農学研究科	学生会員		米田 一路
山形大学農学部	正会員		西山 正晃
山形大学農学部	正会員		渡部 徹

1. はじめに

大腸菌は温血動物の腸管内に多数存在する一方で、水環境中では長期間生存できず増殖もしないことから、ふん便汚染の指標細菌として利用されている。ところが近年、熱帯や温帯の土壌や有機物の豊富な土壌において、大腸菌は長期間生存でき、増殖さえ可能であることが報告されるようになり¹⁾、河川、湖沼、海岸等の底質が病原性や薬剤耐性を有する大腸菌の潜在的な貯蔵庫として疑われている²⁾。これらの底質では様々な物理化学的因子が複雑に作用しており、どの因子が大腸菌の生存と増殖に影響を与えているのかは十分に調べられていない。その影響因子を明らかにするため、本研究では、代表的な水環境から採取した底質に大腸菌を人為的に添加し、その消長を評価する室内実験を行った。

2. 方法

山形県庄内地方の河川、池、海岸の計8地点（図1）から、エクスマンバージ採泥器で底質を採取した。採取した底質は、2mmメッシュのふるいで小石等の異物を取り除いた後、実験室に持ち帰り、4°Cで24時間静置した。上澄みを除去した底質をポリプロピレン製チューブ18個にそれぞれ約10gずつ分注し、約10⁶CFU/gの濃度になるように大腸菌標準株（NBRC3301株）を添加した後、最長28日間に渡って20°Cで静置する実験に供した。実験開始直後と1、3、7、14、28日目に、底質が入ったチューブを3個取り出し、それぞれの大腸菌濃度をメンブレンフィルター法で測定した。すなわち、約10gの底質にリン酸緩衝液40mlを加え、約5分間激しく攪拌した後、約5～90分間静置した。静置後の上澄み0.01～5mLをメンブレンフィルター（孔径0.45μm、ADVANTEC）に通水し、そのフィルターをChromocult Coliform培地（MERCK）の上で24時間、37°Cで培養した。培養後、フィルター上に生育した青色コロニーを大腸菌として計数した。もともとの底質中にも大腸菌（これを野生株とする）が存在するため、大腸菌を添加しない条件でも同様の手順で28日間の室内実験を行った。また、実験に用いた底質試料の物理化学的性質として、実験開始時のpH、強熱減量、水分量を分析した。

以上の室内実験の結果をもとに、Chickの法則に従い、大腸菌の死滅速度³⁾を最小二乗法で計算した。さらに、得られた死滅速度と底質の物理化学的性質の関係を明らかにするために相関分析を行った。

3. 結果及び考察

表1に実験開始時の底質及び上層水の物理化学的性質を



図1 サンプルング地点

キーワード：大腸菌，死滅速度，物理化学的性質，水環境

住所：山形県鶴岡市若葉町 1-23, Tel: 0235-28-2907, luhuan990423@gmail.com

表 1 実験開始時の底質と上層水の物理化学的性質および底質に大腸菌の野生株と添加株の死滅速度

地点	種類	底質				上層水		大腸菌の死滅速度(day ⁻¹)	
		pH	水分量 (%)	強熱減量 (%)	大腸菌濃度 (CFU/g)	塩分濃度 (%)	大腸菌濃度 (CFU/100ml)	野生株のみ	標準株添加時
No.1	海岸	7.9	21.1	0.81	18.7	3.0	3.7	0.01	0.71
No.2	河川	6.7	23.9	0.26	39.6	0.0	58.7	0.00	0.53
No.3	河川	6.4	19.9	1.4	60.1	2.5	40.0	0.02	0.50
No.4	河川	6.8	20.3	2.0	102.0	0.0	107.7	0.00	0.47
No.5	河川	7.3	1.20	2.2	44.9	0.0	415.0	0.00	0.26
No.6	池	6.0	57.7	8.5	108.4	0.0	24.0	0.01	0.28
No.7	池	6.9	90.9	18.1	51.2	0.0	7.0	0.01	0.26
No.8	池	6.8	84.3	18.4	57.4	0.0	150.0	0.02	0.22

示す。pH はすべての底質試料でほぼ中性（6.0～7.9）であった。

水分量と強熱減量は、海岸（21.1%と0.81%）と河川（16.3%と1.47%）よりも池（77.6%と15.0%）の地点で高かった。池での比較的高い強熱減量は、渡り鳥のふん便と落葉落枝等が閉鎖的環境で長期間蓄積していたためと推測される。No.8では、さらに牧場からの排水が流入することも確認された。塩分は、海岸であるNo.1（3.0%）と感潮域に位置するNo.3（2.5%）の上層水でのみ検出された。上層水の大腸菌の濃度は、No.5を除く全地点でA類型の環境基準値⁴⁾以下であり、大腸菌による汚染はほとんどなかった。No.5では農業排水が流入しており、さらにサンプリング前日に出水があった影響で大腸菌濃度が一時的に上昇したのかもしれない。底質中に存在した野生株の濃度は、海岸で18.7 CFU/g、河川で平均61.5 CFU/g、池で平均72.3 CFU/gであった。

表1には、室内実験で得られた大腸菌の死滅速度も示したが、底質中にもともと存在していた大腸菌（野生株）濃度は、どの底質でも28日間ほとんど変わらず、死滅速度はほぼ0であった。一方で、標準株添加時の大腸菌の死滅速度は、海岸で0.71、河川で0.44 day⁻¹（平均）、池で0.25 day⁻¹（平均）であった。このことから、底質中にもともと存在した野生株は、添加した大腸菌標準株に比べて底質環境によく適応していた可能性が高い。

表2には、底質と上層水の各物理化学的性質と大腸菌の死滅速度の相関係数を示す。死滅速度は、底質の強熱減量と有意な負の相関（r=-0.72）があった。このことは、有機物が豊富に含まれる底質で大腸菌が長期間生存できる過去の研究を支持する結果であり⁵⁾、生活排水、農業・畜産排水が流入する水環境（特に湖沼のような閉鎖性水域）では大腸菌の長期生存に注意する必要がある。上層水の塩分濃度と死滅速度との強い正の相関から、塩分が大腸菌の早い死滅をもたらすことが分かった。この結果は先行研究と一致している⁶⁾。

4. まとめ

本研究で調査した水域は大腸菌濃度が低かったが、湖沼のように有機物が豊富に含まれる閉鎖性水域では、底質における大腸菌の長期生存に注意が必要である。今後は、本研究で分析した底質とは異なる河川、池、海岸の底質を対象に、同様の室内実験を行い、底質における大腸菌の消長とその影響因子をより明確にすることを目指す。

謝辞：この研究の一部は、科学研究費補助金（22J20064）の支援を受けた。

参考文献 1) Byappanahalli and Fujioka, *Water Science and Technology*, 38(12),1998. 2) Salam et al., *Journal of Contaminant Hydrology*, 2021. 3) Chick, *The Journal of Hygiene* 8,92-158,1908. 4) 環境省水・大気環境局水環境課 5) van Elsas et al., *ISME J*, 5, 173-183,2011. 6) A. F. Carlucci and David Pramer. *Applied microbiology*. 8. 247-50. 1960.

表 2 底質と上層水の物理化学的性質と大腸菌の死滅速度との相関関係

物理化学的性質	相関係数
底質の pH	0.43
底質の水分量(%)	-0.57
底質の強熱減量(%)	-0.72*
上層水の塩分濃度(%)	0.74*

*p<0.05