

猪苗代湖流入河川の大腸菌群数

難波 謙二

要約: 猪苗代湖では大腸菌群数の増加が問題になっている。大腸菌群は本来糞便汚染の指標であるが、土壌等に由来することも知られている。大腸菌群増加の危険の大きさを評価し、対策を講じるために、大腸菌群が何に由来するのかを明らかにすることが必要である。そこで、大腸菌群の由来を推定することを目的に猪苗代湖内および流入河川で大腸菌群の分布密度を計測した。その結果、猪苗代湖の大腸菌群は河川を通じて湖に加入している可能性が示された。特に、河口から 5 km 前後の地域で河川水中の密度が高いこと、また、この地域の土壌にも分布していることから、耕作活動や森林の有機物に由来するものと推定された。大腸菌群増加のメカニズムには河川を通じた加入だけではなく、湖の環境内での生残も関係していると考えられる。水温および濁度と大腸菌群密度との相関から、高水温が大腸菌群の生残を助長することおよび、湖での鉛直的な輸送も含め懸濁物質と大腸菌群分布とが挙動を共にしている可能性が示唆された。

Key Words: 大腸菌群, 猪苗代湖, 糞便汚染

1. はじめに

猪苗代湖湖心で測定された大腸菌群密度は、平成 16 年以前は 100 MPN/100 ml を超えない低い分布密度であったが、平成 17 年度にはこれを超え、平成 18 年度にはさらに上昇し、水質汚濁の環境基準（生活環境項目）で猪苗代湖が該当する A 類型の大腸菌群密度の基準値 1000 MPN/100 ml を超えてしまった（福島県水質年報）。環境省水・大気環境局が平成 19 年 12 月に公表した平成 18 年度公共用水域水質測定結果では、COD 値だけみれば全国湖沼でベスト 4 であるが、大腸菌群密度が基準を満足していないため、「COD でみた水質上位水域ベスト 5」の選定対象外となった（同結果、pp38, 47, 50, 90）。このことを重く受け止めた福島県および「清らかな湖、美しい猪苗代湖の水環境研究協議会（中村玄正会長）」はこの問題を始めとする猪苗代湖の水質等について新たな調査研究および実践活動を開始している。

猪苗代湖では pH の中性化傾向が平成 10 年頃から顕著になってきている。酸性河川の流入によって pH が低く保たれるとともに、溶存物質との反応によってリンが沈殿し、リン酸濃度が低く、また湖内での基礎生産が低く保たれてきたと考えられている（藤田・中村, 2007）。pH の中性化による今後のリン濃度や有機物濃度の上昇も懸念材料となっている。このようなことから流域の住民生活や産業も一体となった水質保全のための実践活動がおこなわれている。

1.1 糞便汚染指標

大腸菌群は水の安全性の指標として日本でも 70 年以上にわたって水道水基準に採用されてきた。水の安全性は重要である。100 年ほど前の時代では現在の先進国でも感染症が主な死亡原因であった。上水道の整備や衛生状態の向上が進んだ現在でも、病原性大腸菌、サルモネラ、コレラ、ノロウイルス、クリプトスポリジウム等による中毒が発生している。

これらの病気は、水に含まれた病原体をヒトが摂取することによって感染・発病する可能性がある水系感染症である。水が飲用等に用いるのに安全であるかどうか確認することを目的に、この水系感染症の病原菌が水の中にどれだけ含まれているかをひとつひとつ調べることは現実的ではない。そこで、糞便で汚染されているときに病原菌が含まれる可能性が高くなることから、糞便による汚染の程度を知る目的、すなわち糞便指標として大腸菌群の計数が提案され、行なわれてきた(清水, 2008)。

現在用いられている糞便汚染指標として、大腸菌群のほか、大腸菌群の 36°C よりも高い 44.5°C で培養計数する糞便性大腸菌群、自然界での分布が少ないと考えられている腸球菌や β -グルクロニダーゼ活性を指標とした大腸菌 (*E. coli*) がある(渡辺ほか, 2005)。これらはいずれも培養によって計数される細菌を指標とするものであるが、化学成分を指標にするという研究も行なわれている。

そもそも糞便汚染指標菌の条件として、温血動物の腸管に存在する非病原菌であり、糞便由来の病原体が存在するとき存在し、糞便汚染がないときには存在しないこと、糞便中に病原菌よりも多く存在し、環境中では病原菌と同様の生残過程を経ることが挙げられる(渡辺ほか, 2005)。また、迅速かつ容易に計測できることも実用上求められる。この操作的な利便性の要求である迅速さや容易さは様々な知見や技術によって進歩する点である。

1.2 ヒトが水を利用する場面と汚染指標

飲用水や生食する食品を水で洗浄するときはもちろん、ヒトの水浴、および水の中で育つ魚介類も、これらを通じてヒトが病原体を

摂取するリスクがあるため、水について基準がある。水道水では、大腸菌が「検出されないこと」という基準がある。なお、この水道水基準は平成 16 年度改正によって、簡便なキットの登場など(堀江ほか, 2007)大腸菌の簡便な培養技術が確立されてきたとして、糞便汚染の指標として信頼性が低い大腸菌群に代えて採用された(日本環境管理学会, 2004)。養殖場については、水産用水基準で大腸菌群数が 1000 MPN/100 ml 以下、生食用カキの養殖場については 70 MPN/100 ml 以下と定められている。水浴場では糞便性大腸菌群の基準が設定されている。米国では淡水の水浴場には大腸菌と腸球菌の基準が設定されている (USEPA, 2004)。なお、2008 年 9 月 11 日の一斉調査では、湖内で最も高い大腸菌群数が計数された小黒川河口で 38 MPN/100 ml であった(林王, 2009)。この値は、USEPA の *E. coli* の基準値 126 MPN/100 ml よりも低い値である。

1.3 大腸菌群

大腸菌群 (Coliform group) の意味は、「大腸菌 (*E. coli*)」およびそれに近い仲間、のような意味と思われる。100 年ほど前に糞便汚染指標として提案され、その後、公衆衛生向上に長い間大きく貢献してきた概念である(難波, 2009)。

大腸菌群の定義は「通性好気性、グラム染色陰性の無芽胞桿菌で、35-36°C での培養でラクトースを分解し、酸とガスを発生する菌」であるが (APHA, 1995)、環境基準で用いられている BGLB 培地を用いた大腸菌群は、「BGLB 培地 (pH 7.2 \pm 0.2) を使った 36°C での培養で 48 時間以内にラクトースを分解してガスと酸を発生する菌」と計数操作で実

質的に定義される。いずれにしても大腸菌群には、*Escherichia coli* (大腸菌)以外に、*Enterobacter*, *Klebsiella*, *Citrobacter*, *Erwinia* 等が含まれる。そして、これらの細菌の中には、もともと、腸管ではなく、河川、地下水、土壌、植物表面等に存在するものがある。実際、人間活動による影響がほとんどないはずの山間地の溪流でも 400 MPN/100 ml が計数されるということも観測されており(金政ほか, 1977), 湖沼・河川等の水環境の糞便汚染指標として大腸菌群を用いることは不適切と考えられてきている(金政ほか, 1977; 小出ほか, 2007; 岩崎ほか, 1999; 高野ほか, 1994)。

この大腸菌群の指標を糞便汚染ではなく、ごく一般的な有機物による汚濁の指標と考えることもできる。しかし、この指標としては一般細菌数や従属栄養細菌数が該当し、より適切であると考えられる。さらに、今挙げた二つの中ではやや低い温度で培養する従属栄養細菌数がより適していると考えられるものの、基準値とするには実際の計数値についての知見が不足しているという議論がある(小出ほか, 2007; 厚生科学審議会 WWW)。今後、水質汚濁の指標としての細菌数について研究とそれをふまえた基準値の議論が必要になるであろう。

1.4 猪苗代湖の大腸菌群問題

大腸菌群密度の増加はヒト、家畜、家禽、野生動物、野鳥のいずれかに由来する糞便汚染が増加しているということを、まず心配しなくてはならない。つまり、これら温血動物への感染症発生の危険が増大しているということをまず考慮した調査が必要である。それには、より糞便汚染指標として適切な指標の

計測を行なうということがまず考えられる。これについては、2008年9月に行なわれた調査で、大腸菌群に対する大腸菌の割合が他の場所で知られている値よりも小さく、糞便汚染以外の大腸菌群が増えていることを示している(林王, 2009)。糞便汚染由来ではないとすると、猪苗代湖で増加した大腸菌群はどのようなものであり、なぜ増加したのだろうか。

大腸菌群数の増加傾向が見られるようになった年は pH の上昇傾向が顕著になった年とほぼ一致していることから、湖内の水質変化と関係していると推測されている(林王, 2009)。つまり、大腸菌群にとって、生存または増殖に適した水質になってきたという機構がはたらいていると考えられる。既に述べた通り、大腸菌群の一部には土壌などを本来の存在環境とするものもある。これら、もともと土壌など自然環境で生活する細菌が、湖の中での長期生残や増殖に適した水質になっているということが考えられる。

また、生残または増殖以外の増加原因として、河川からの加入の増加がある。福島県では、大腸菌群の計数を湖心 0.5 m 深のみではなく、小石ヶ浜水門、高橋川河口付近、天神浜、安積疎水取入口、浜路浜、船津港、青松浜でも継続して行なっている。これによると、平成 10 年頃からいずれの測点でも増加傾向があることが分かる。特に高い計数値が見られるのは北岸の高橋川河口付近および天神浜の 2カ所であり、これらの 2カ所では平成 10 年からほぼ毎年のように 1000 MPN/100 ml を超える値が観測されている。湖南沿岸等その他の測点でも平成 14 年前後から増加傾向が見られる。この大腸菌群数およびその増加傾向から、河川からの大腸菌群の加入がある

とするなら、北岸で流入する河川からであると考えられる。

本研究では、猪苗代湖で増加している大腸菌群のもとが河川から運ばれると推定し、河川上流域のどのあたりから来ているのかをまず明らかにするために、北岸に流入する河川の河川水および河川に隣接する土地の土壌の分析を行なった。

2. 材料と方法

調査は福島県水質年報による過去の知見から猪苗代湖の大腸菌群数が増加する9月から10月初めに湖内および北岸の河川で観測を行った。調査日は、9月4日、17日、24日および10月1日である。これに加えて、12月1日に冬期の観測を行った。

観測地点は猪苗代湖内、北岸の沿岸のほか、北岸に別の河口で流入する水系1と水系2お

よび水系1の本川に合流する湧水由来の水路、水系1で観測を行った。冬期の観測では湖岸および北岸堆積物、水田土壌、水系1および水系2にそれぞれ隣接する2カ所の畑土壌、および森林土壌に含まれる大腸菌群の計数を行なった。

大腸菌群の計数はBGLB培地を用いたMPN法によって行なった。水温、電気伝導度、pHはポータブル水質計(D-54, Horiba)、濁度と*in vivo*クロロフィル*a*蛍光は蛍光光度計(Trilogy, Turner Design)で測定した。濁度は精製カオリン標準液を用いてカオリンの濃度(mg/l)相当で示した。

3. 結果と考察

3.1 猪苗代湖湖心

2008年9月17日には猪苗代湖湖心で鉛直的に観測を行った。10-20mの間に水温躍層

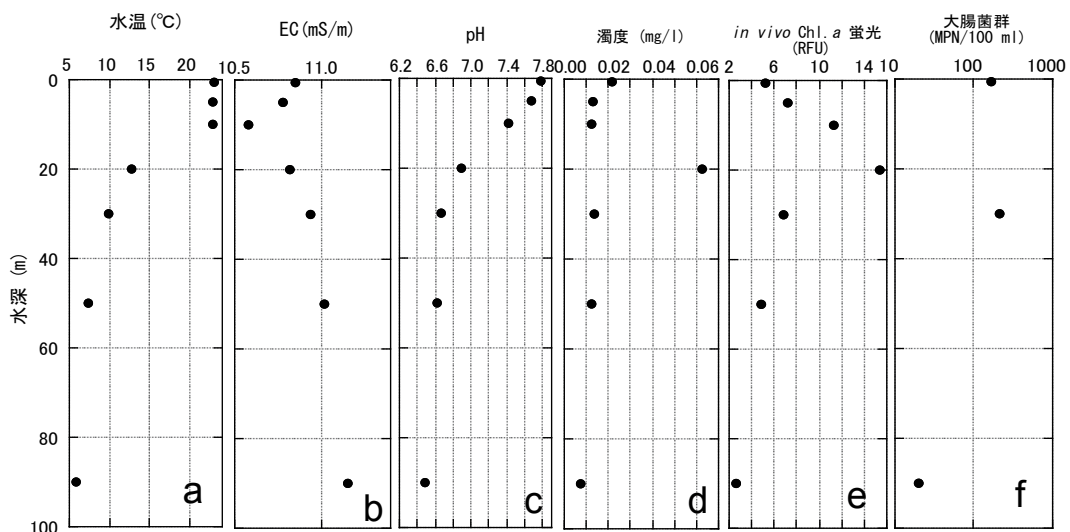


図 1. 2008年12月1日、猪苗代湖湖心での水温(a)、電気伝導度(b)、pH(c)、濁度(d)、*in vivo* クロロフィル蛍光(e)、大腸菌群密度(f)。

があり (図 1 a), 上部混合層では, 比較的高い pH の値を示し, かつ高いクロロフィル蛍光の値が見られることから (図 1 c,e), 光合成が盛んであることが推定される。躍層下部の 20 m 深では濁度およびクロロフィル蛍光が高く (図 1 d,e), この層に高密度のクロロフィル色素を持つ懸濁物が存在していることを示している。このクロロフィル蛍光の極大の由来は明確ではないが, 透明度は 10 m であり, 20 m 深でも光合成は可能であると考えられる。大腸菌群は湖心表層 0.5 m 深で 170 MPN/100 ml, 30 m 深で 220 MPN/100 ml, 90 m 深で 20 MPN/100 ml であった(図 1f)。なお, これより約 2 週間前 9 月 4 日に行なった湖心の観測では 0.5 m 深で 490 MPN/100 ml, 50 m 深では 330 MPN/100 ml であった。表層でも基準値の 1000 MPN/100 ml を超えることはなかった一方, 30, 50 および 100 m 深の躍層下でも大腸菌群が存在していることが分かった。細菌細胞の自然の沈降でこのような分布になるかも知れないが, 日周鉛直移動を行なう動物性プランクトンによる輸送またはその糞粒に付着しての沈降の可能性も考えられる。動物プランクトンと分布の上で関係があるとするなら, 中深層での大腸菌群の生残のメカニズムとも関連する現象を伴っていると予想される。

3.2 流入河川

大腸菌群の計数値は, 水系 1 では, 中流域で最高 4,900 MPN/100 ml が計数された。また, 水系 2 では, 7,800 MPN/100 ml が最高値であった。河口からの距離で見るとこの 2 地点は河口からおよそ 5 km という点で共通した場所にある (図 2)。この 2 地点は地形

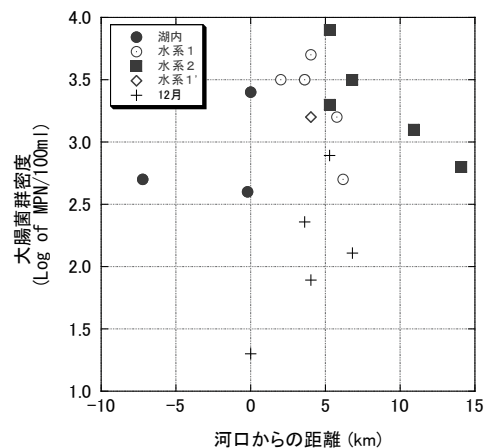


図 2 河口からの距離と大腸菌群密度

も似ており, 付近で林縁が発達すること, 水田は無く, 畑地としての土地利用が盛んであるという共通点がある。12 月の観測でも水系 2 の同じ地点は, 12 月の他の観測点に比べて高い計数値が見られた。これらは, この河口から 5 km という場所が大腸菌群の加入場所になっており, 畑地の土壌または林の樹木に由来する有機物に含まれているということを示唆している。なお, 水系 1 の上流域は森林内の溪流であり人間活動の影響がほとんどないと考えられるが, 大腸菌群密度は 490 MPN/100 ml であった。この場所では樹木の落葉落枝に由来するような有機物に伴った大腸菌群がこの由来なのではないかと考えられる。

3.3 大腸菌群と水温

大腸菌群の計数では 36°C で培養した後増殖した試験管を陽性と判断する。この温度は猪苗代湖の表層や流入河川では見られないくらい高い温度である。水温と大腸菌群密度との関係を見ると, 猪苗代湖内表層を除いた河川水および猪苗代湖の中深層全てのデータを

併せて、水温が高くなるほど高い係数値が表れているように見える(図3)。その一方で9月の湖の表層は22.9-26.4℃の範囲であるが、これらは水温が高いのに大腸菌群密度は高くなっていない。これは、河川に由来した大腸菌群が湖内で増殖するわけではなく、生残しているということを示しているのではないかとと思われる。湖の表層は高水温という点では大腸菌群にとって好適であるが、増殖が可能になるほどの条件は揃っていないと考えられる。また、低温で計数値が低くなっていることから、低温で大腸菌群の死滅速度が速くなるということも考えられるが、本研究で得られた低水温環境は河川の上流部、湖の中深層、12月の観測であり、水温以外の条件も変わってしまう。これらについては、大腸菌群として分離した細菌について培養条件を検討するなどの研究を行なうことで明らかにすることができるであろう。

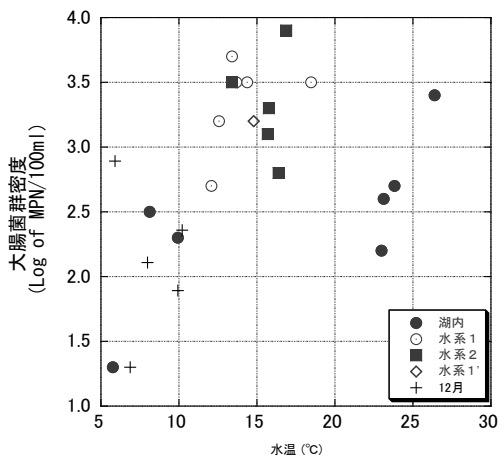


図3 水温と大腸菌群密

3.4 大腸菌群と pH

猪苗代湖では pH の中性化が進行しており、

大腸菌群はこれとほぼ同じ年代に増加している。これらに直接的な因果関係があるなら、pH が高い水に大腸菌群が多いということが観測されると予想される。本研究では pH 5.8 で 20 MPN/100 ml の低い大腸菌群密度がみられた(図4)。この最低 pH と最低大腸菌群密度が見られた試料は湖心 90 m であり、流入源からの距離など pH 以外の要因も低い大腸菌群密度の理由として考慮しなくてはならない。全体としてみると pH と大腸菌群には明瞭な関係は見られなかったと考えるのが妥当と思われる。

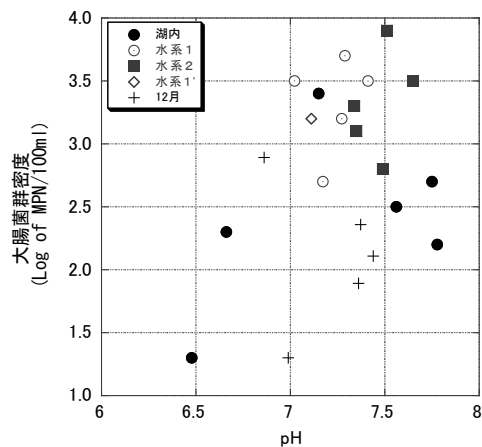


図4 pH と大腸菌群密度

3.5 大腸菌群と濁度およびクロロフィル

大腸菌群と濁度とは正の相関が見られた(図5)。大腸菌群を含む細菌は濁度に寄与する。しかし、ここでの正の相関は細菌が多いため濁度が高くなっているのではなく、濁度の元になるような物質、特に破砕された陸起源の有機物由来の懸濁物がほとんどの場合濁度の重要な構成要素であり、大腸菌群はそのような懸濁物に付着しているのではないかとと思われる。クロロフィル蛍光は水系2で高

い値が見られているが、クロロフィル蛍光と大腸菌群密度とは相関はみられず、大腸菌群密度は微細藻類密度との関連は無いと推定される (図 6)。

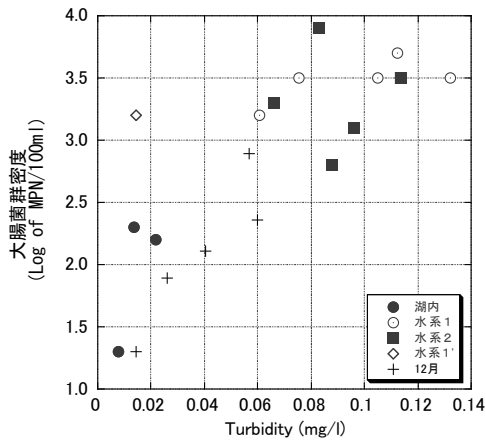


図 5 濁度と大腸菌群密度

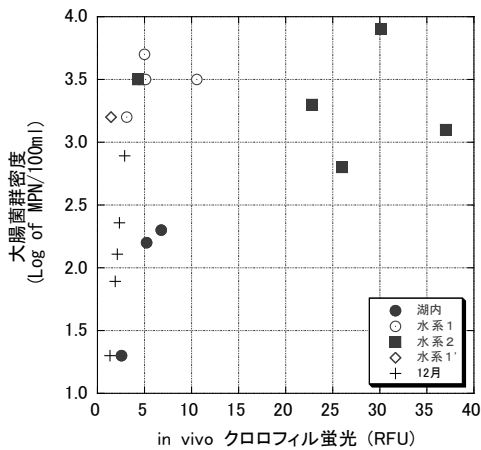


図 6 *in vivo* クロロフィル *a* 蛍光と大腸菌群密度

3.6 土壌中の大腸菌群

2008年12月1日に猪苗代湖周辺の、湖岸堆積物、水田、畑地土壌、森林土壌に含まれる大腸菌群数を測定した。畑地土壌および森林土壌は河口から5 km 前後に位置している。新鮮土壌重量で1 g 当たり的大腸菌群数

は、湖岸堆積物と森林土壌では 33 MPN/g で最も低く、水系2の畑土壌が 15,000 MPN/g で最高であり、水田土壌は 1,100、水系1の畑土壌は 2,300 MPN であった。これらのことから、人間活動の影響がある畑と水田では湖岸堆積物および森林土壌よりも高く、農業活動が大腸菌群の河川への加入に影響していることを示唆する。しかし、近年新たな農業活動が行なわれはじめたということは、今のところ確認されておらず、近年の猪苗代湖の大腸菌群増加が農業活動による加入の増加によるとは考えにくい。このことは河川経由の加入は従来から変わっていない一方で、猪苗代湖内での大腸菌群の生残率もしくは増殖率が上昇したために、猪苗代湖での大腸菌群密度が増加している可能性を示している。

4. まとめ

湖内での大腸菌群の鉛直的な輸送には動物プランクトンが、河川での輸送には懸濁物質が関連している可能性がある。大腸菌群は流入する河川に高密度に含まれており、河川が加入源になっていると考えられる。特に河口から5 km 付近に高密度になっており、この地域での畑土壌にも高密度に含まれていた。このことから、畑の耕作活動が大腸菌群の加入源となっているという可能性はある。森林土壌および水田土壌にも大腸菌群は存在しておりこれらも潜在的な供給源である。しかし、これらは近年新たに生じたものではないので、湖での近年の大腸菌群の増加は生残率の上昇によって起きたものと推定される。

大腸菌群の生残率または死滅率がどのような条件で変化するのは、大腸菌 p 群の分離

株を用いた実験を行なうことで明らかにできると考えられる。本研究で行なった大腸菌群計数から得られた大腸菌群の培養株は現在収集、保存しており、引き続きこの方面での研究を予定している。

4. 引用文献

American Public Health Association

(APHA) (1995) Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 19th ed. APHA.

藤田豊・中村玄正 (2007) 猪苗代湖の水質保全に寄与する酸性河川長瀬川の凝集塊によるリン除去効果. 水環境学会誌 30(4):197-203.

堀江美紀ほか (2007) 水道水における迅速・正確な大腸菌・大腸菌群検査. 用水と廃水 49(7):537-540.

岩崎誠二ほか(1999) 三重県内の河川における大腸菌群の数種の培地による生育比較. 三重県環境科学センター研究報告 19.

金政泰弘ほか (1977) 水質汚染指標菌としての大腸菌群測定に対する検討, *in* 人間生存と自然環境, 東京大学出版会, pp179-188.

小出拓ほか (2007) 腸球菌と大腸菌を指標とした新たなモニタリング手法. 用水と廃水 19(9):761-767

厚生科学審議会, 厚生科学審議会生活環境水道部会水質管理専門委員会

<http://www.mhlw.go.jp/>.

難波謙二 (2009) 1-7 猪苗代湖の大腸菌群問題について. *in* みんなで守る美しい猪

苗代湖の水環境フォーラム. 福島県・日本大学工学部 (学術フロンティア推進事業)・清らかな湖美しい猪苗代湖の水環境研究協議会主催, 平成 21 年 1 月 7 日, 郡山市. pp25-28.

日本環境管理学会 (2004) 水道水質基準ガイドブック改訂 3 版, 丸善, 195p.

林王克明 (2009) 1-2 猪苗代湖及び主要流入河川の水質について, *in* みんなで守る美しい猪苗代湖の水環境フォーラム. 福島県・日本大学工学部 (学術フロンティア推進事業)・清らかな湖美しい猪苗代湖の水環境研究協議会主催, 平成 21 年 1 月 7 日, 郡山市. pp5-8.

清水潮 (2008) 食中毒のリスクと人間社会. 幸書房, 225p.

高野敬志ほか(1994) 沙流川における大腸菌群汚染例について. 北海道衛生研究所報告 44:26-30

USEPA (2004) Recreational water criterion under the Beach Environmental Assessment and Coastal Health Act of 2000.

渡辺一仁ほか (2005) 微生物試験法, *in* 衛生試験法・注解, 日本薬学会編, 金原出版株式会社, pp55-141.