富士五湖における大腸菌群の季節変動

田 中 正 二 郎 (山梨県衛生公害研究所)
金 丸 佳 郎 (")
笠 井 和 平 (")

Seasonal variation of Coliforms in Five Lakes at the North Foot of Mt. Fuji
Shojiro TANAKA, Yoshiro KANAMARU and Kazuhira KASAI
(Yamanashi Institute for Public Health)

1. は じ め に

河川、湖沼などの公共水域の水質汚濁は近年急速に進んできた。それと共に汚濁原因、汚濁物質が物理学的、化学的および生物学的に多方面から調査されてきている。生物学的方法の一つである大腸菌群も水質の汚濁指標として重視されている。大腸菌群の検出は、その存在により糞便汚染の可能性すなわち消化器系伝染病病原体に汚染されている可能性が推定されることによる。しかし現行の水質試験における大腸菌群の定義およびその試験方法からは必ずしも糞便由来の大腸菌群だけではなく、自然界にも広く分布する菌種も多く含まれ、その証明をもって糞便汚染の指標とすることは出来ない。そこで糞便による直接の汚染を推定するという本来の意味から糞便性大腸菌群や腸球菌の検出が重視されるようになってきた。

我々は1971年以来毎月、富士五湖の水質試験を実施し¹⁻⁵⁾、その一部として大腸菌群の定量を行ってきた。1975年4月から1977年3月まで、大腸菌群の定量と同時に糞便性大腸菌群の検出定量をEC培地で高温培養で行なった。また分離細菌の菌型分類をも行ない富士五湖の水質の汚染状態について若干の知見を得たので報告する。

2. 調 査 方 法

1) 富士五湖の概要

調査した五湖は富士箱根国立公園の中にあり、富士山の北麓(山梨県側)に山中湖からはじまって西方に河口湖、西湖、精進湖および本栖湖と位置している。湖の成因は富士山の熔岩流による堰止めである。湖盆形態は、面積が山中湖からそれぞれ6.5, 6.1, 2.1, 0.65および

4.9km²、最大水深は13.2, 15.4, 66.5, 11.2および126.0m、湖容量は0.06, 0.06, 0.072, 0.0024および0.32km³である。湖に流入する河川は一級、二級合わせて17河川あるが、ほとんど平常時は水が流れていない。湖からの流出河川は山中湖からの一級河川である相模川(桂川)のみである。

2) 採水と試験方法

試料は1975年4年より1977年3月まで毎月1回、各湖の湖心で表面水を約100ml滅菌ビンに採水した。河口湖については特に生活排水の流入が考えられる湖東部の副湖心(船津沖)を加えた。

大腸菌群の定量は乳糖ブイヨン発酵管培地(LB培地)で最確数法により行なった。すなわちLB培地5本ずつ、検水量10mlから連続3濃度希釈で培養を行ない、以下衛生試験法⁶⁾による確定試験まで行なった(図の中では、これをLBと略称する)。

糞便性大腸菌群は、LB培地で陽性となったもののそれぞれ一白金耳をEC培地発酵管に移植し、44.5°C水浴中で24時間培養した。EC培地で混濁、ガス産生したものをEMB寒天培地に画線し、44.5°Cフラン器で24時間培養後、出現した集落で乳糖分解菌を糞便性大腸菌群陽性とし最確数を求めた(図の中では、これをECと略称する)。

また、EMB寒天培地上の集落を釣菌し、IMViC試験を行ない菌型分類を行なった。

使用した培地は、乳糖ブイヨン培地、EMB培地、EC培地、LIM培地、ブドウ糖磷酸ペプトン培地およびシモンズ・クエン酸ナトリウム培地であり、すべて市販のものを使用法により用いた。

3. 結 果

図1 大腸菌群と糞便性大腸菌群の月別変化(1)

図2 大腸菌群と糞便性大腸菌群の月別変化(2)

1) 大腸菌群の定量結果を図1, 2に示した。河口湖は他の湖と比較する場合、湖心の結果で行ない、船津沖の結果は後にとり上げた。

大腸菌群は本栖湖および西湖を除いて他の湖では年間を通して検出された。水温が上昇し、また観光客も増加する¹⁻³⁾、夏季には、いずれの湖でも大腸菌群は増加し、本栖湖、西湖においても検出された。

大腸菌群数を水質汚濁に係る環境基準(湖沼)⁷⁾の類型AAとAの境となる50MPN/100mlで各湖をみると、本栖湖は年間通してそれ以下であった。精進湖は1975年5月、7～12月と1976年4月、7～10月に50MPN/100ml(以下/100mlは省略する)以上で、その最高は1975年8, 9, 10月の540MPNであった。西湖は1975年8月と1976年6, 7月に50MPNをこえた。透明度、その他の化学的指標によると、西湖は本栖湖について汚濁が少ないと報告¹⁻⁴⁾されているが、大腸菌群が検出された月が本栖湖では2年間に9か月に対し、西湖では13か月検出され、50MPN以上検出された月も13か月あった。河口湖では1975年4月、7～11月と1976年5月、7, 8月、10, 11月に50MPN以上で検出され、その最高は1975

年10月220MPN、1976年8月の350MPNであった。年間で春から秋にかけての半年間は50MPN以上検出され、精進湖とはほぼ同様であった。山中湖は50MPNをこえたのは、2年間で1975年4月の70MPNのみで、本栖湖、西湖と同じであった。しかし大腸菌群が検出された月は、2年間で19か月と本栖湖の7か月、西湖の13か月と比べ多くの月に検出され、1975年11, 12月と1976年1～3月、12月と冬季にも検出され、精進湖、河口湖と同傾向である。

河口湖の船津沖では50MPN以上となった月が1975年では4月、7～12月、1976年1月、3～12月と2年間で18か月あり、その最高は同年8月の1,600MPNと環境基準類型Aの基準値1,000MPNをこえる高い値であった。また、河口湖の湖心、精進湖と比べても船津沖では1975年12月から1976年3月までの冬季においても50MPN以上で検出され、汚染がいかに進んでいるかがわかる。

2) 糞便性大腸菌群の結果を図1, 2に示した。大腸菌群数と比べると約1/10低い値であり、検出される月数も少なくなる。

各湖でみていくと、本栖湖では2年間で1975年8月に

7 MPN 検出されただけであった。精進湖では1975年5月、7～11月、1976年3～9月と13か月に検出され、その値も1975年8月に49MPN、11月には70MPN と高い値であった。西湖では1975年7、8月、1976年6、8、9月と夏季に検出され、最高は各8月に13MPNであった。河口湖は1975年6月、8～11月、1976年1月、4～10月と13か月検出され、その月数は精進湖と同じであった。しかし1975年には精進湖では70MPN から2MPN と変動が大きいのにに対し、河口湖では17MPN から5MPN とその変動は小さかった。山中湖では1975年5、8、9月、1976年5、6、11月と6か月検出されたが、その値は1975年8月13MPN、1976年6月5MPN で他の4か月

も2MPN といずれも低い値であった。1975年には8月にピークがあるのに対し、1976年には6月にピークがあり、夏季の7～9月に検出されなかったのは本栖湖を除いた他の湖と異なり特徴的であった。河口湖の船津沖では、1975年4月、1976年11月と1977年1、3月に検出されなかっただけで、2年間に18か月も検出された。またその値も精進湖の70MPN が最高値であったのに対し、船津沖では1975年7、8月に130MPN、9月240MPN、1976年8月には350MPN と極めて高い値であった。

3) 大腸菌群についての IMViC 試験の結果を図3、4、5に示した。*Escherichia coli* I, II, III型、*Citrobacter freundii* I, II 型および *Klebsiella aerogenes* の

図3 大腸菌群の菌型分布 (1)

6種が分離された。各湖とも夏季に *C. fre.* 属が優占し、他の季節には出現する菌種の割合に優劣がなくなる傾向がみられた。

各湖別にみると、本栖湖では1975年に *E. coli* I, II, *C. fre.* I, II と4種分離され、*E. coli* は37%、*C. fre.* が63%であった。1976年には *E. coli* III, *C. fre.* I, II と

3種分離され、年間で *E. coli* は7%、*C. fre.* I, II 合わせて93%と *C. fre.* が優占した。西湖では1975年に *E. coli* II, III, *C. fre.* I, II および *K. aero.* の5種分離され、*C. fre.* が74%と優占種であった。1976年には、*E. coli* I, II, III, *C. fre.* I, II と分離され前年同様に *C. fre.* が85%と優占した。1975年9月には *C. fre.* よ

図4 大腸菌群の菌型分布 (2)

図5 大腸菌群の菌型分布 (3)

り *E. coli* の方が優勢し、他の湖にはみられないことであった。河口湖では1975, 76年に *C. fre.* が優勢しそれぞれ76%, 91%で、特に夏季に顕著である。*C. fre.* I と II でみても、*C. fre.* I は夏季に優勢となり、*C. fre.* II は他の季節にその割合が大となる傾向がみられ、このことは精進湖においてもみられた。また *E. coli* II は3月に高い割合で検出され、他の湖においても特に1976年3月に同様の傾向がみられた。精進湖においても *C. fre.* が優勢し、1975年87%, 1976年には91%であった。季節的な特徴は河口湖の湖心と同じようであった。山中湖では1975年 *E. coli* I, II, III, *C. fre.* I, II, *K. aero.* と6種分離され、*C. fre.* が66%と優勢し、ついて *E. coli* I が16%, *K. aero.* 11%と MPN では小さいが年間での占める割合は *E. coli* I, *K. aer.* 共に他の湖と比較し高い割合であった。また1976年では *C. fre.* が80%と優勢し、*E. coli* が20%分離され、*K. aero.* は分離されなかった。この年は他の湖では優勢する *C. freo.* でも *C. fre.* I が優勢するのに対して、山中湖では *C. fre.* I が24%, *C. fre.* II が56%と *C. fre.* II が優勢した。河口湖の

船津沖では、1975, 76年共に *C. fre.* が優勢種であった。1975年には河口湖湖心、精進湖でみられた *C. fre.* I, II の季節的な変化はみられず、*C. fre.* I が各季節で優勢し、年間でその割合は70%であり *C. fre.* II はわずかに4%であった。1976年には他の湖と同様に *C. fre.* II が夏季以外の季節にその割合を高くする傾向がみられ、*C. fre.* II は年間で20%検出された。また1975年には *E. coli* II が本栖湖で29%と高い割合で検出されたのは、各湖共に数%であるのに対し、船津沖では20%検出された。

4) 糞便性大腸菌群についての IMViC 試験の結果を図6, 7, 8に示した。分離された菌種は *E. coli* I, II, *C. fre.* I, II の4種だけであった。また大腸菌群では *C. fre.* が優勢するのに対し、本栖湖、西湖以外の湖では *E. coli* が優勢種であった。季節的には夏季に *C. fre.* が優勢し、大腸菌群の場合と同様の傾向があった。

年ごとに各湖をみると、本栖湖では1975年8月にのみ検出され、*E. coli* I は28%で72%は *C. fre.* I で占められた。西湖では1975年には *E. coli* I 18%, *C. fre.*

図6 糞便性大腸菌群の菌型分布(1)

図7 糞便性大腸菌群の菌型分布(2)

図8 糞便性大腸菌群の菌型分布(3)

I が82%, 1976年では *E. coli* I は11%, *C. fre.* I, II がそれぞれ42%, 47%と、兩年共に *C. fre.* が80%以上を占めた。河口湖の湖心では1975年 *E. coli* I は64%, *E. coli* II 2%, *C. fre.* 34%と *E. coli* I が優占した。1976年は *E. coli* I 41%, *C. fre.* I 59%と *C. fre.* がやや高い割合となった。精進湖は1975年 *E. coli* I が71%, *C. fre.* I が28%と *E. coli* I が優占し、1976年は *E. coli* I 47%, *C. fre.* I 49%, *C. fre.* II 4%と河口湖の湖心と同様に *C. fre.* が高い割合となった。山中湖では1975年には *E. coli* I が88%, *C. fre.* I が12%と *E. coli* I

が優占し、1976年には *E. coli* I, *C. fre.* は共に50%と *C. fre.* の割合が前年より高くなってきている。河口湖の船津沖では、1975年に *E. coli* I が68%, *E. coli* II が3%, *C. fre.* I が29%, *E. coli* が優占した。1976年に *E. coli* I, II それぞれ57%, 1%, *C. fre.* I, II がそれぞれ39%, 3%と、他の湖と異なり *E. coli* I が優占した。

5) IMViC 試験の結果を2年間まとめ、大腸菌群は図9、糞便性大腸菌群は図10に示した。図9で明らかにように、大腸菌群では *C. fre.* が各湖共に80%以上を占

図9 大腸菌群の菌型別比率

め、*E. coli* は10~20%である。優占する *C. fre.* において *C. fre.* II/*C. fre.* I の値をみると、本栖湖0.48, 精進湖0.24, 西湖0.28, 河口湖湖心0.52, 船津沖0.15, 山中湖0.91となり、*C. fre.* II の割合の高いのは山中湖で、河口湖湖心、本栖湖、西湖、精進湖、河口湖船津沖の順に *C. fre.* I の割合が高くなる。糞便性大腸菌群の図10をみると、*E. coli* と *C. fre.* が優占するのは本栖湖、西湖であり、*E. coli* と *C. fre.* は本栖湖でそれぞれ29%, 71%, 西湖では14%, 86%で

あった。他の湖では *E. coli* が *C. fre.* より優占し、*E. coli* は山中湖では76%, 河口湖湖心、河口湖船津沖および精進湖では *E. coli* は約60%の割合であった。分離された *E. coli* は河口湖湖心、船津沖で *E. coli* II が1.5%分離されただけで、他の湖では *E. coli* I のみであった。*C. fre.* は本栖湖、河口湖湖心で *C. fre.* I のみ分離され、他の湖では *C. fre.* II も分離され、河口湖船津沖、精進湖で約2%, 山中湖で8%と少ないが、西湖で27.6%と高い割合で分離された。

図10 糞便性大腸菌群の菌型別比率

4. 考 察

大腸菌群に占める糞便性大腸菌群の割合が高ければ、その水環境が糞便により直接汚染されている可能性が高いといえる。この観点からの調査は河川については多くの報告^{8,9)}がなされている。そこで富士五湖について図11, 12にその比率を示した。注目すべきことは、富栄養湖であり^{1,2,4)}大腸菌群数も多い精進湖において糞便性大腸菌群の占める割合が低く、河口湖の船津沖では、他の湖より長期間に糞便性大腸菌群が検出され、その割合も高い。このことは精進湖の大腸菌群による汚染は糞便による汚染より、他の原因によるものと考えられる。これに対し、河口湖の船津沖では湖岸の旅館などの観光施設からの排水が流入するための糞便による汚染が大きいと考えられる。そこで大腸菌群と糞便性大腸菌群の相関をみ

ると図13のようになり、相関係数は精進湖で0.68, 河口湖の湖心では0.64, 河口湖船津沖では0.81となり、船津沖で高い相関がみられた。図11, 12で貧栄養湖である本栖湖および西湖, 中栄養湖の山中湖⁴⁾において、大腸菌群に占める糞便性大腸菌群の割合が高い月がみられる。このような現象を河川について村瀬⁹⁾は、大腸菌群MPNに対し糞便性大腸菌群MPNの相対値が大きいため、その比が大きくなるため、流量のきわめて少ない清浄な河川の場合、大腸菌群対糞便性大腸菌群の比の値で早急に水質の判定は危険であると指摘している。湖の場合、貧栄養湖および中栄養湖において同様のことがいえると考えられる。

大腸菌群のIMViC試験の結果をみると、各湖共に年平均ではC. fre. が優占するが、季節的には夏季より春季, 秋季に多種の菌種が分離された。このことは河口湖

図11 大腸菌群に占める糞便性大腸菌群の割合(1)

において金子ら¹⁰⁾の報告にもみられる。またそれによると、河口湖では *K. aero.* が優占種であったが、我々の調査では *C. fre.* が優占種であった。このような優占種の季節的な特徴はいろいろな報告^{9,11,12)}にあるように水温の影響が考えられ、菌種による各水温の適合性といったことが考えられる。富士五湖において水温の高い状態で増殖する大腸菌群に属する菌種は *C. fre.* であると考えられる。

精進湖、河口湖の船津沖の大腸菌群、糞便性大腸菌群の非超過確率を表わしたのが図14である。ただし検出されなかった月が除かれるので多少高めの値である。大腸菌群において環境基準類 AA の基準 50MPN 以下は、精進湖で年間の40%で、河口湖の船津沖ではわずかに 6%

にすぎない。また類型 A の基準 1,000MPN でみると、精進湖では年間の95%がそれ以下であるが、河口湖船津沖では年間85%がそれ以下であり、年のうちほぼ 2 か月の 15%は類型 A 型をも満足し得ないといえる。75%非超過確率の値は精進湖で200MPN、河口湖船津沖で 650MPN と 50MPN のそれぞれ 4 倍、13倍の高い値を示した。糞便性大腸菌群の非超過確率を大腸菌群の環境基準類型の基準値に照らしてみると、類型 AA の基準値 50MPN 以下は精進湖で年間の 91%，河口湖船津沖では 62%となり、精進湖はほとんど類型 AA を満足するが、河口湖船津沖では糞便性大腸菌群においても年間のうち40%は AA 型をも満足しない月があることが知れる。70%非超過確率の値は精進湖で20MPN、河口湖船津沖では90MP

図12 大腸菌群に占める糞便性大腸菌群の割合(2)

図13 大腸菌群と糞便性大腸菌群の相関関係

図14 大腸菌群および糞便性大腸菌群の非超過確率

Nと船津沖の値は類型AAの基準50MPNより高い値であった。

以上富士五湖の大腸菌群、糞便性大腸菌群のMPNの値およびその細菌の構成種から各湖をみてきたが、糞便性大腸菌群を含めての大腸菌群については、多くの問題点が指摘されている。たとえば大腸菌群数に影響を与える諸条件として水温、pH、SSとの関係⁸⁾や、湖沼のもつ特性として春、秋の水の循環による影響、動物プランクトンの細菌捕食¹⁰⁾といったことなどさまざまな因子が考えられる。これらの諸条件をも含めてさらに深く調査していけば金子ら¹⁰⁾も述べているように、生態学的、湖沼学的意義をもつ指標となり得る。またEC培地を用いての高温培養法によっても大腸菌群を完全に糞便性と非糞便性とに分別することは困難であり、今回の調査においても、*C. fre.*が本栖湖、西湖で70~80%、その他の湖で30~40%とかなり高い割合で検出された。しかし同じ上野の報告⁸⁾にあるように自然水を対象に、糞便汚染の度合を相対的にとらえる場合には、きわめて有効であるといえる。

今回は湖の表面水、月1回採水の2年間の調査ではあったが、各湖の大腸菌群とくに糞便性大腸菌群の分布状態、糞便による汚染の度合がある程度知れたことは、糞

便汚染の指標としての衛生学的意義を不充分ながら達成し得たものとする。

5. 要 約

富士五湖（本栖湖、西湖、精進湖、河口湖、山中湖）の大腸菌群および糞便性大腸菌群の定量を1975年4月から1977年3月まで月1回の採水で行ない、その数および構成種から各湖を検討した。

1) 本栖湖、西湖では夏季の一時期に大腸菌群、糞便性大腸菌群が検出、増加がみられた。

2) 山中湖では、大腸菌群は年間を通して検出されるが、その値は小さく、糞便性大腸菌群は春季から秋季に一時的に検出された。

3) 精進湖、河口湖では年間を通して大腸菌群が検出されその数も多い。糞便性大腸菌群は一時期に検出されない月もあるが、かなりの月に検出された。また河口湖の船津沖では大腸菌群、糞便性大腸菌群ともに年間を通して検出され、その値も高い値であった。

4) 精進湖、河口湖とくに船津沖は富栄養化した湖であるが、大腸菌群、糞便性大腸菌群の相関は、精進湖で相関係数0.68、船津沖では0.81と船津沖において高い相関がみられ、船津沖での糞便による高い汚染が推定され

た。

5) 細菌の構成種では、大腸菌群での IMViC 試験から各湖とも *E. coli* より *C. fre.* が優占し、季節変動では夏季には *C. fre.* が多数を占め、春季、秋季には多種の菌が分離された。

6) EC 培地による高温培養法はかならずしも *E. coli* のみを分離するとはいえないが、相対的にみて *E. coli* を多く分離するという意味からは有効な方法といえる。

参 考 文 献

- 1) 環境庁：国立公園湖沼水質調査報告書（1972）
- 2) 山梨県：富士五湖水質調査報告書（1973）
- 3) 笠井和平他：富士五湖の水質と富栄養化（Ⅰ）．用水と廃水，18， 6， 695—711（1976）
- 4) 笠井和平他：富士五湖の水質と富栄養化（Ⅱ）．用水と廃水，18， 7， 861—876（1976）
- 5) 中島郁子他：富士五湖表面水の年変化について．山梨県立衛生研究所年報，17， 86—95（1973）
- 6) 日本薬学会編：衛生試験法法解． 36—38， 金原出版（1973）
- 7) 水質汚濁に係る環境基準について：昭和46年12月28日，環境庁告示第59号
- 8) 上野英世：大腸菌群の周辺．用水と廃水，19， 5， 555—565（1977）
- 9) 村瀬秀也，加藤邦夫，下川洪平：河川水中の大腸菌群について．用水と廃水，19， 5， 567—574（1977）
- 10) 金子光美，山本哲也：湖水中における大腸菌群の分布について．日本水処理生物学会誌，12， 2， 15—20（1976）
- 11) 杉木昭典：水質汚濁—現象と防止対策． 581， 技報堂，（1974）
- 12) Sagar M.Goyal, Charles P.Gerba, and Joseph L.Melnick : Occurrence and distribution of bacterial indicators and pathogens in canal communities along the Texas Coast. Applied and Environmental Microbiology, 34, 2, 139—149（1977）