

陸水生物の水質指標性と汚染除去能に関する研究 (4)

Studies on the pollution-indicator of water and the decontamination ability by fresh water organisms (4)

- | | | |
|-------|---|--------|
| 代表研究者 | 富山医科薬科大学医学部教授
Prof., Faculty of Med., Toyama Medical & Pharmaceutical Univ.
Kenichi KONISHI | 小西 健一 |
| 協同研究者 | 糸魚川生協姫川病院長
Direct., Coop. Himekawa Hospital of Itoigawa
Masao WATANABE | 渡辺 正男 |
| | 金沢大学医療技術短期大学部教授
Prof., College of Bio-Medical Tech., Kanazawa Univ.
Takayoshi YAMAGISHI | 山岸 高由 |
| | 富山医科薬科大学医学部助教授
Assoc. Prof., Faculty of Med.,
Toyama Medical & Pharmaceutical Univ.
Kiyoshi KAMIMURA | 上村 清 |
| | 富山医科薬科大学医学部講師
Assist. Prof., Faculty of Med.,
Toyama Medical & Pharmaceutical Univ.
Kenichi SAKAMATO | 坂本 憲市 |
| | 富山医科薬科大学医学部助手
Res. Assist., Faculty of Med.,
Toyama Medical & Pharmaceutical Univ.
Koichiro KAWAI | 河合 幸一郎 |
| | 富山大学教育学部教授
Prof., Dept. of Education, Toyama Univ.
Susumu TANAKA | 田中 晋 |
| | 富山県立技術短期大学助教授
Assoc. Prof., Junior Tech. College of Toyama Pref.
Ikuko YASUDA | 安田 郁子 |
| | 富山県衛生研究所主任研究員
Chief Res., Toyama Pref. Inst. of Health
Mamoru WATANABE | 渡辺 護 |
| | 富山県衛生研究所主任研究員
Chief Res., Toyama Pref. Inst. of Health
Yoko IYAMA | 井山 洋子 |
| | 富山県薬事研究所主任研究員
Chief Res., Toyama Pharmaceutical Research Inst
Yoshihiro KUBO | 久保 義博 |

国立公害研究所生物環境部室長
Chief, Environmental Biology Div., Nat. Inst.
for Environmental Studies
Masayuki YASUNO

安野正之

国立公害研究所生物環境部研究員
Res., Environmental Biology Div., Nat. Inst. for Environmental Studies
Toshio IWAKUMA

岩熊敏夫

国立公害研究所生物環境部研究員
Res., Environmental Biology Div., Nat. Inst. for Environmental Studies
Takayuki HANASATO

花里孝幸

前富山医科薬科大学医学部助手
Ex-Res. Assist., Faculty of Med.,
Toyama Medical & Pharmaceutical Univ.
Kimie SAITO

斎藤君枝

Some of physical and chemical values, such as BOD and COD etc., and the number of coliforms have been used as the pollution indicators. These indicators provide the information of water quality at a certain moment, but do not show the average quality for a relatively long period. Therefore, it is necessary to have the biological indicator system on the basis of correlation of bacteria, algae, non-biting midges, benthos and fishes.

From 1984 to 1987, the distribution, frequency and ecology of the above-mentioned organisms were observed at 6 to 9 stations in the Oyabe-river, 6 in the Jinzu-river, 15 in the Matsu- and Itachi-river system (aforementioned in Toyama-ken), 8 in Lakes Fuji-goko (Yamanashi-ken), 8 in the Kiso-river (Gifu- and Aichi-ken), and 7 in the Muko-river (Hyogo-ken).

Comparative studies on the 3 species of bacteria led us to a conclusion that the number of *Clostridium perfringens* is a better pollution indicator than those of coliforms and enterococci. Because *C. perfringens* can not grow in the sludge whereas coliforms and enterococci can grow. Some of coliforms are aquatic, but all of *C. perfringens* are sourced from human and animal's intestine. No difference of the number of *C. perfringens* was observed between in the clear and turbid water. In contrast, the numbers of coliforms and enterococci in turbid water were definitely greater than those in clear water. In addition, some of *C. perfringens* were resistant to chlorination, because most of them survived in the spore form in polluted water. Finally, *C. perfringens* is a more suitable indicator for polluted water without undergoing any artificial treatments such as chlorination and mixing, whereas coliforms is a proper indicator for assessing an effect of chlorination.

On the other hand, adult chironomids emerging from the bottom sample were examined to correctly identify the species. It was proved that 16 chironomid species can be the indicators for 3 different grades of water pollution. The expression of pollution degree by an index P ($P=m+n+q$, m : the number of *C. perfringens* in 100 ml of water by \log_{10} , n : the number of coliforms by \log_{10} , q : the pollution grade indicated by detected chironomid species showed in Table 1) have been done for all researching waters for 4 years.

The numerical expression of pollution degree was not successful on the basis of the algae, benthos and fishes. Also we could not find any means for decontamination of the polluted water.

研究目的

今日の我が国の主要河川や湖沼では、地域開発に伴う水質の汚染の進行が問題となっている。従

来、水質汚染の指標としては、BODやCODなどの理化学的指標値および大腸菌群数が用いられているが、これらは当該水域の、ある時点における

水質の情報を提供するのみで、比較的長期間にわたる平均的な水質を表現する生物学的指標との総合が必要である。近年、水生昆虫を含む底棲動物の指標的意義が報告されたが、これら生物の生態学的知見が不十分であるために理化学的指標値との関連が説明されていない。一方、これら水域には多種の節足動物などが棲息し、その種と汚染度に相関があることが認められている。最近になってユスリカ類が水質指標として、他の生物群に期待できない鋭敏度と特異度を示すことが明らかにされてきた。他方、ウエルシュ菌は糞便由来性であり、表層水と深層水の間には差がなく、かくはんや塩素などの物理化学的影響を受けにくいことから、大腸菌群よりも指標菌として優れていることが示唆されている。

これらのことから、この研究は富山県内外の河川、湖沼における細菌（大腸菌群、腸球菌、ウエルシュ菌）、藻類、ユスリカを含む水生昆虫、および淡水魚の分布、生態を観察し、理化学的指標値を含めて相互の関連性を検索し、指数または指標図を得ることによって、総括的かつ立体的な汚染指標体系を確立しようとするものである。さらに得られた知見から上記生物の相互作用による水の浄化について試験管内および実地における実験を行おうとした。

研究経過

第1年度（昭和59年度）

富山県西部を流れる小矢部川に6、県中央部を流れる神通川に6、富山市内を流れる松川-いちち川に15、海水対照として水橋海岸および氷見海岸に各1、湖沼対照として山梨県富士五湖に12定点を設定し、5~6月および9~10月に試料を採取して検索した。（検索方法は日産科学振興財団第11回報告書 pp.396-404 参照。）被検対象はウエルシュ菌、腸球菌、大腸菌群の数、ユスリカ、藻類、底生動物および淡水魚の種の分布と頻度、BOD、NH₃-N、NO₂-N、NO₃-N、PO₄-Pである。この5月には小矢部川の表流水を湿式灰化、底質、藻類およびユスリカは110℃、4時間で乾燥し、その粉末を灰化しこれらの元素分解液の元素分析を行った。また神通川では春~秋の月別変

動、早朝~夕方の時差別変動、川の流れの中心と岸辺の差などを3種細菌数で測定した。また消毒の影響をみるため、鍛冶川についても細菌数の測定を行った。

第2年度（昭和60年度）

小矢部川の上流に3定点を追加し、神通川に6、松川-いちち川に15、富山湾に2、富士五湖に12の定点をおき、3種細菌指標（ウエルシュ菌、腸球菌、大腸菌群）と5種の理化学的指標値の関連を中心にして、第1年度同様に検索した。また、ユスリカの種の分布と頻度についても観察した。

第3年度（昭和61年度）

再び小矢部川を6定点とし、神通川、松川-いちち川、富士五湖は第1年度と同じ定点において、3種細菌数、BODを含む5種理化学指標値、ユスリカの種の分布とその頻度を測定した。これらの検索は太平洋側に注ぐ河川として、木曾川-飛騨川の8定点についても行った。また富士五湖および木曾川水系では藻類および水生昆虫についての検索も行った。一方、過去3~4年間（助成第1年度の前年度を含む）の結果の集積から、ウエルシュ菌数、大腸菌群数およびユスリカの種の分布を用いて指数化することを試みた。

第4年度（昭和62年度）

この実験結果が太平洋側に注ぐ河川にも適用しうるか否かを検するため、木曾川と新たに設けられた武庫川（兵庫県）の7定点について測定した。

実験室内実験としては水中のウエルシュ菌の生態として、芽胞化および食中毒に関係するエンテロトキシン産生性を検した。しかし河川水の浄化に働く細菌群を特定するには至らなかった。

研究成果

1) 指標細菌の検出法

指標細菌として従来水質検査に用いられている大腸菌群、岡山大学で取り上げられた腸球菌および私達の教室で取り上げたウエルシュ菌の3菌種とした。ウエルシュ菌は嫌気性菌であるため、指標菌としてあまり用いられていないが、この菌の検出培地としてTS培地 (Tryptose sulfite

agar), TSN 培地 (Tryptose sulfite neomycin agar), KM-Nagler 培地 (Kanamycin added Nagler agar) および MFCP 培地 (Membrane filter *C. perfringens* medium) の 4 培地を比較検討し, TS 培地と MFCP 培地の菌検出率が最も高かったので, 以下すべての実験に MFCP 培地を用いた。大腸菌群には *M-Coliform* 培地, 腸球菌には *M-Enterococcus* 培地を用いた。以下菌数は membrane filter 法による水 100 ml 中の菌数を \log_{10} で表す。

2) 3 種細菌の指標性

富山県西部を流れる小矢部川の 3 年間の成績をみると, ウエルシュ菌は上流 -0.03 ± 0.2 , 中流 2.3 ± 0.2 , 下流 3.2 ± 0.2 であった。これに対して大腸菌群は上流 1.3 ± 0.2 , 中流 3.2 ± 0.7 , 下流 3.6 ± 0.5 , 腸球菌はそれぞれ 1.6 ± 0.9 , 3.1 ± 1.4 , 3.4 ± 1.5 であって, 上流から下流への菌数の増加度は平均でウエルシュ菌 3.2, 大腸菌群 2.3, 腸球菌 1.8 であってウエルシュ菌の増加度が最大 ($p < 0.05$), 鋭敏なことを示している点で指標性の高いことが実証された。

ここで, 基本に立ち返って 3 種指標菌のある定点における日の出から日没に至る時差変動をみたが, 3 菌種とも有意の変動を示さなかった。またある定点の, ある時間における日別変動を 10 日間観察したが, 有意の変動はみられなかった。1 年間を通しての月別変動をみると 3 種菌数ともに夏季に増加した。しかしウエルシュ菌の増加度が最も小さく, 安定していることから本菌の指標性が他の菌種より優れていることを示している。また雨の前後における混濁の影響を観察したところ, ウエルシュ菌は $1.8 \pm 0.5 \rightarrow 1.7 \pm 0.5$ で有意の差は認められず, 大腸菌群は $3.3 \pm 0.4 \rightarrow 4.5 \pm 0.3$ と有意に増加 ($p < 0.01$) し, 腸球菌は $2.3 \pm 0.3 \rightarrow 3.8 \pm 0.2$ と明らかに増加した ($p < 0.01$)。すなわち, ウエルシュ菌の指標性は雨の影響を受けないことが指摘された。

岐阜県飛騨地方から富山県中部を流れて富士湾に注ぐ神通川ではウエルシュ菌は中流点 1.6 ± 0.1 , 下流点では 2.0 ± 0.1 , 大腸菌群は $2.0 \pm 0.4 \rightarrow 2.3 \pm 0.1$, 腸球菌は $1.5 \pm 0.4 \rightarrow 1.7 \pm 0.4$ であって

ウエルシュ菌は下流で明らかに増加し ($p < 0.05$), 他の 2 菌種は下流で増加するものの, 有意の差は認められなかった。

富山市内を流れる松川-いたち川ではウエルシュ菌は上流で 2.6 ± 0.2 , 最下流では 3.4 ± 0.2 と下流に行くに従って増加した ($p < 0.05$) が, 大腸菌群は $3.9 \pm 0.6 \rightarrow 4.1 \pm 0.5$, 腸球菌では $3.7 \pm 0.7 \rightarrow 3.4 \pm 0.6$ と変化がみられなかった。

ここで興味ある知見は, 污水处理場の排水の合流点における菌数である。污水处理場の上流ではウエルシュ菌 2.8 ± 0.2 , 大腸菌群 4.2 ± 0.2 , 腸球菌 2.8 ± 0.5 であるのに対し, 污水处理場排水の合流点ではウエルシュ菌は 4.0 ± 0.6 と増加し, 大腸菌群は 1.7 ± 0.8 , 腸球菌は 2.7 ± 1.0 と著減し, その下流ではウエルシュ菌 3.4 ± 0.2 , 大腸菌群 4.1 ± 0.5 , 腸球菌 3.4 ± 0.6 と旧に復する菌数を示した。そこで富山市郊外の小河川である鍛冶川の浄水場において検出したところ, ウエルシュ菌は上流で 2.0 ± 0.1 , 合流点で 2.7 ± 0 , 下流で 2.7 ± 0.2 と増加するのに反し, 大腸菌群は上流で 3.9 ± 0.1 が合流点では 0.3 ± 0.1 と激減し, 下流では 3.9 ± 0.1 と旧に復し, 腸球菌もそれぞれ 2.9 ± 0.1 , 1.4 ± 0.2 , 2.8 ± 0.2 と明らかに污水处理場排水の影響を受けている成績が得られた。すなわち, このことは大腸菌群および腸球菌が塩素によって消毒されるのに反して, ウエルシュ菌は塩素消毒の影響を受けにくいことを示している。河川水に次亜塩素酸ナトリウムを加えて検したところ, ウエルシュ菌は処理前 1.5 ± 0.1 , 1 ppm 15 分処理後 1.3 ± 0.1 とあまり変わらないのに反し, 大腸菌群は 3.5 ± 0.1 が検出限界以下に, 腸球菌も 3.3 ± 0.2 が 0.3 ± 0.1 に激減し, 大腸菌群および腸球菌が塩素消毒されるのに反して, ウエルシュ菌は塩素の影響をあまり受けないことが実証された。ウエルシュ菌の塩素抵抗性と芽胞の関係を検べるため, 10 株の保存株の処理前の菌数 8.4 ± 0.4 を塩素濃度 700 ppm, 25°C, 15 分間の処理後の菌数は 5.0 ± 0.8 となり, 同じ培養液を用いて 75°C, 15 分熱処理後の菌数は 6.3 ± 1.0 であって, 塩素消毒後の細菌数とほぼ同じであり, このことは塩素処理後生存するウエルシュ菌のほとんどが芽胞の形で生

残していることを示したものである。

富士五湖中4湖は閉鎖湖水であり、流量の多い河川の対照として選んだ。その成績からいえることは河口湖と山中湖のごとく人家や旅館の多い所では大腸菌群と腸球菌はかなり検出されているが、その程度は小矢部川の上流第2定点ほどであった。しかしその両湖でもウエルシュ菌の菌数は少ない。湖岸にほとんど人家がなく、魚の養殖が行われている精進湖では大腸菌群数および腸球菌数は前2湖と差がなかったが、ウエルシュ菌は検出限界以下であった。最も汚染の少ないといわれる本栖湖ではウエルシュ菌は限界以下であり、大腸菌群および腸球菌の数も著しく小であった。これらのことはウエルシュ菌が人の生活環境における汚染を示す指標として優れていることを指摘している。

これらのことが太平洋側に注ぐ河川でも見られるかを検討するため、木曾川(岐阜・愛知県両県)と武庫川(兵庫県)の検索を行った。木曾川では上流→下流を比較するとウエルシュ菌は検出限界以下→1.5, 大腸菌群は1.4→2.4, 腸球菌は0.8→2.7であって、ウエルシュ菌の感度が最もよいという成績は得られなかった。一方武庫川ではウエルシュ菌 $0.8 \pm 0.2 \rightarrow 2.1 \pm 0.2$, 大腸菌群 $3.6 \pm 0.1 \rightarrow 5.2 \pm 0.1$, 腸球菌 $3.4 \pm 0.1 \rightarrow 4.3 \pm 0.1$ の成績が得られ、富山県内で得られた知見とよく一致した。

3) ユスリカの種の指標性

上述の3種細菌数の検索と同時に河川、湖沼の砂泥を採取し、得られた幼虫を羽化させ、その雄成虫でユスリカの種を同定し、その分布を検した。同定された種数は70種であって総括的に見ると種と水質の間に密接な関係があることが観察された(表略)。特に表1に示す16種のユスリカに指標性が認められた。

しかしながら、第1報において指摘したごとく、ユスリカ幼虫の分布は水質条件とともに他の物理的な条件をも反映するとみられ、瀬にのみ、淵にのみ、瀬と淵の両方に生息する種や流速 1.5 m/sec 以上の早瀬にのみみられる種があることが観察された。これらを勘案した上で前記の指標

表1. 水質指標性を代表するユスリカの種

貧栄養水域 (指数 1)	<i>Pentaneura divisa</i> <i>Polypedilum pedestre</i> <i>Polypedilum tamagohanum</i> <i>Polypedilum hirosshimaense</i> <i>Nilothauma brayi</i>
中栄養水域 (指数 2)	<i>Polypedilum convictum</i> <i>Paracladopelma tylus</i> <i>Polypedilum parviacumen</i> <i>Polypedilum aviceps</i> <i>Cryptochironomus albofasciatus</i>
富栄養水域 (指数 3)	<i>Tanytarsus takahashii</i> <i>Limnophyes tamakitanoides</i> <i>Chironomus kitensis</i> <i>Chironomus yoshimatsui</i> <i>Rheotanytarsus kyotoensis</i> <i>Polypedilum japonicum</i>

種16種を選別した。

4) 藻類および底生動物

第1年度に小矢部川、松川-いたち川、第3年度に富士五湖と木曾川について検索した結果、水質と優占種に関する関係があることは認められたが、水質指標の軸となるものは見出し得なかった。

5) 淡水魚

第1年度に小矢部川で検索したのみで、その結果から水質と魚種の間にある関係があることが窺い知られたが、すべての観察年度の、すべての定点で行ったのではないゆえ、一つの河川の淡水魚の生態を知るに留まった。

6) 理化学的指標

BOD, $\text{NH}_3\text{-N}$, $\text{NO}_2\text{-N}$, $\text{NO}_3\text{-N}$, および $\text{PO}_4\text{-P}$ は各定点での細菌、ユスリカ採取時に採水、計測したが生物学的指標とよく相関する定点とあまり相関しない定点が一つの河川についても混在することが分かった。

7) 総括と指数化

これらを総括すると理化学的指標値は一河川の上流から下流へかけてある傾向を示さず、その時、その点での汚染度を示すのみであり、生物学的指標との併用は不可避である。しかし以上に述べてきたごとく、ウエルシュ菌、大腸菌群および

腸球菌の数、ユスリカ、藻類、底生動物および、淡水魚の分布に水の汚染指標性を認めた。

ことに3種被検細菌中ウエルシュ菌は鋭敏度において他の2細菌より優れ、塩素消毒の影響を受けず、雨などによる混濁の影響を受けないことから、最も指標性が高いといえる。大腸菌群は腐生植物に由来するものも含まれ、また腸球菌とともに塩素消毒により殺菌され、混濁の影響を受けやすい。したがって細菌を指標とする場合、ヒト由来性であるウエルシュ菌によってヒトの生活環境による汚染度を示し、ヒト由来性のみでない大腸菌群数によって消毒の効果を表示することが望ましいと考えられる。

共同研究者の一人の河合は多摩川、太田川および本研究の諸河川、湖沼を含めて4亜科157種のユスリカを同定しているが、そのうち表1のごとく、16種の指標種を選び出した。これによってユスリカの種による水の汚染指標を簡略化する。

そこで第3年度に試みた指数化をこの3~4年間に検索した河川、湖沼について検した。ウエルシュ菌 10^m 、大腸菌群 10^n 、ユスリカの指標種の存否により1, 2, 3 (q) で表すと汚染指標値 $P=m+n+q$ となる。以下各河川の上流と下流の P を示す。(平均を以て表し、標準偏差は省略)。小矢部川では1.9→8.7と汚染が進み、神通川(これのみ中流→下流)では5.3→6.8とあまり変化せず、松川-いたち川では8.6→10.2とともともと汚染された川であることを示している。富山県内河川の対照として選ばれた木曾川では2.4→6.4、武庫川では5.4→9.1と汚染の進行がみられた。富士五湖

(西湖を除く)では最も清澄な本栖湖2.4、魚の養殖が行われている精進湖4.4、山中湖4.6、河口湖6.1と人の生活の影響が強くていることが確かめられた。

今後の課題と発展

この指数値 P が我が国のどこにおいても用いられるか否かが重要であり、多摩川、淀川を含む4~5の河川で検索したい。できれば姉妹大学であるハサヌディン大学と提携してセレベス(インドネシア)でも用いられるか否かを検討したい。

しかしながら、この研究から学問的には興味ある知見を得たし、さらに追及する予定であるが、行政面に応用するためには各地に嫌気性菌を培養しうる設備を要し、またユスリカの種の同定のできる熟練した技術者の養成が必要である。

発表論文

- 1) 小西健一, 他: 陸水生物の水質指標性と汚染除去能に関する研究(1). 日産科学振興財団報告書, 11, 395-405 (1984).
- 2) 小西健一, 他: 陸水生物の水質指標性と汚染除去能に関する研究(2). 日産科学振興財団報告書, 12, 272-282 (1985).
- 3) 小西健一, 山岸高由: ウエルシュ菌—その生態と水質指標性. 環境科学研究報告集, B283 R20, 115-127 (1986).
- 4) Kawai, K., Yamagishi, T. and Konishi, K.: Indicateness of water quality of chironomid larvae in inland waters (陸水学雑誌に投稿予定).
- 5) 久保義博, 山岸高由, 小西健一: ウエルシュ菌の水質指標性に関する研究(日細菌誌に投稿予定).
- 6) 小西健一, 山岸高由, 河合幸一郎, 久保義博: ウエルシュ菌及び大腸菌群の数とユスリカの種の分布による水の汚染度の指数化(十全医学会誌に投稿予定).