

裏磐梯桧原湖北部の水質と大腸菌群

難波謙二・丸山瑠美（福島大学・共生システム理工学類）

要 旨

桧原湖の夏季の水温成層期では、温度躍層で化学成分の鉛直分布に大きな変化があり、光の影響も加わって、植物プランクトンが躍層内で高い分布密度になる鉛直分布がクロロフィル *a* 濃度のデータからみられた。また、湖内の大腸菌群の鉛直分布もクロロフィル *a* 濃度や懸濁物質濃度とほぼ一致した。流入河川の大腸菌群数は、湖内の値より高かったが、今回の調査では人為的な影響は確認できなかった。大腸菌群の種組成は、湖内、流入河川ともに、*Enterobacter cloacae* が優占した。大腸菌は、全ての観測点で検出されたが、湖内、流入河川ともに <100 MPN/100 mL であった。

I. はじめに

日本の水質汚濁の環境基準では、糞便汚染指標菌である大腸菌群が採用されている。大腸菌群とは、「グラム染色陰性、無芽胞の桿菌で、ラクトースを分解して酸と気体を生成する好気性又は通性嫌気性の菌」と定義される (JIS, 2001)。環境基準では 36°C で培養するが、44.5°C で増殖するものを温血動物の糞便に由来するもののみであるとして糞便性大腸菌として区別する方法もある (水口, 2007)。大腸菌群とは、このような条件で増殖可能な細菌群であり、単一の微生物群ではない。近年では、より簡便な方法が確立され、腸内細菌科 (Enterobacteriaceae) が持つ β -D-ガラクトシダーゼ活性を指標として検出する方法も国際的に標準的手法となっている (ISO, 2012)。いずれにせよ、必ずしも糞便性の菌を検出しているとは限らないとの議論はあるが、糞便汚染指標菌として、大腸菌や腸球菌などと共に現在でも各国で利用されている指標菌である (WHO, 1999; UNEP, 2010 など)。

このような大腸菌群が、2006 年に猪苗代湖で環境基準値 (A 類型, 1000 MPN/100 mL 以下) を超えてしまった (福島県水質年報)。2005 年までは、「COD (Chemical Oxygen Demand ; 化学的酸素要求量) でみた水質上位水域ベスト 5」で一位、二位を誇る湖が、COD 値だけではベスト 4 であ

るにもかかわらず、選定外となったのである (福島県水質年報)。猪苗代湖は、酸性河川の流入によって pH が低く保たれ、溶存物質との反応によってリンが沈着し、リン酸濃度が低く、湖内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)。このため、1998 年以降の pH の中性化傾向は、大腸菌群数の上昇と関連していると考えられている。林王 (2009) は、大腸菌群に対する大腸菌の割合が比較小さいことから、糞便汚染以外の大腸菌群の割合が増えているとした。小野ほか (2010a, 2010b)、小野 (2011)、小野・難波 (2011) は、猪苗代湖の流入河川と湖心での大腸菌群の構成種が異なることを示した。湖心では、*Enterobacter cloacae* が主要な種であり、流入河川は湖心より様々な種が見られること、環境基準値を超える原因は、*E. cloacae* の数が多いことに起因することを明らかにした。

本研究対象である桧原湖は、猪苗代湖の上流域に位置し、磐梯高原に形成された裏磐梯三湖の一つで、最も表面積が広い湖である。この桧原湖の水質は、国立環境研究所のデータベース (<http://www.nies.go.jp/igreen/index.html>) で公開されている。このデータから、桧原湖の大腸菌群数は、環境基準値 (A 類型, 1000 MPN/100 mL 以下) を観測開始以来頻繁に超えていることがわかる。そこで、筆者らはこの原因を探るために、湖内だ

けでなく流入河川も対象とし、大腸菌群の種構成を調査すると共に、その水質についての調査も行った。

桧原湖を対象とした研究は、1904年（田中、1904）から始まるが、調査のほとんどは夏季に限定され、通年を通じた調査は Satoh et al. (1993) の物理化学的なパラメーター調査だけである。本研究では、通年に渡って物理化学生物学的パラメーター及び大腸菌群の調査を行った。

II. 調査地および調査方法

1. 観測地点及び観測日

観測地点を図1に示す。流入河川の観測地点は、集落がない大川入川(⑧)、集落がある会津川(⑥⑦)、長井川(⑨⑩)、早稲沢(⑪⑫)では集落を挟んだ上流と下流で行った。湖内では、会津川河口(③)と湖心の4ヶ所で行った。これまで行われてきた桧原湖の陸水学的な研究は夏季に限定されていた(Satoh et al., 1993)が、本研究では通

年にわたり観測を行った。観測日および観測地点(図2-1の図中の番号)は、2012年2月21日：①～③；5月13日：①～⑤；7月31日および11月16日：①～⑫で採水を行った。採水は、表層水はバケツで行い、表層以外は6リットルバンドン採水器(離合社、東京)で採水した。

2. 水質測定

水質測定は、多項目水質計HYDROLAB(DS5X, 環境システム株式会社、尼崎市)を用いて、連続的に水温、pH、電気伝導度(Electrical conductivity, EC)、酸化還元電位(Oxidation - reduction potential, ORP)、濁度、クロロフィルa濃度、溶解酸素(Dissolved oxygen, DO)を測定し、採水試料は、pH・ECメーター(D-54, HORIBA, 京都)とORPメーター(RM-20, DKK・TOA, 東京)を用いて、水温、pH、RpH、電気伝導度(Electrical Conductivity, EC)、酸化還元電位(Oxidation - reduction Potential, ORP)を測定した。透明度は、白色円板を水中に沈めて測定した。



図1. 桧原湖 湖内・河川観測点

持ち帰った採水試料は、蛍光光度計 (Trilogy, Turner Design, Sunnyvale CA) を用いて濁度を、クロロフィル *a* 濃度は GF/F 濾過後、N,N-ジメチルホルムアミド抽出により測定した。硝酸態窒素、亜硝酸態窒素、アンモニア態窒素、リン酸態リン、溶存ケイ素は、比色法により分光光度計 (SmartSpecPlus, BIO-RAD ; U-1800, HITACHI) で測定した。懸濁物質量は、懸濁物質 (Suspended solid: SS) 及び揮発性懸濁物質 (Volatile SS: VSS) として測定した。TOC-V (島津製作所, 京都) を用いて、無機態炭素 (Inorganic carbon, IC) と、濾液の酸添加曝気後の燃焼による不揮発性有機炭素 (Non-purgeable organic carbon, NPOC) を溶存有機態炭素 (Dissolved organic carbon, DOC) として測定した。

なお、本稿における結果は、多項目水質計の結果の一部のみ掲載する。

3. 菌数の測定

大腸菌群数の計数には、水質の環境基準に関する省令に基づく BGLB 発酵管法 (環境庁, 1971) で行い、Colilert® (IDEXX Laboratories) を用いて大腸菌群数および大腸菌数の計数を行った。これは酵素活性を指標とした方法である (ISO, 2012)。

4. 種の同定

BGLB 培地での計数で得られた大腸菌群陽性の最高希釈の管から BGLB 固形培地で細菌を単離し、再度、BGLB 発酵管で陽性と確認したものを供試した。1 地点につき最大 5 株を API 20 E (シスメックス・バイオメリュー, 東京) で同定した。

III. 結果と考察

1. 水質

湖内の 7 月の観測では 6-9 m 付近に水温躍層が認められた (図 3-1b)。これに伴い、pH は表層から底層に向かって低くなる傾向がみられた (図 2)。水温躍層の影響は、DO でも認められ、水温躍層以浅で高い値を示し、深水層では水深が大きくな

るほど急激に減少していた (図 3)。水温躍層以浅では、光と栄養塩が十分にあり光合成が活発に行われるが、深層では植物プランクトン自身により光がさえぎられ、また、沈降してくる有機物の分解により微生物群集の酸素消費が活発になったことが寄与していると考えられる。これらの水温躍層の影響は、クロロフィル *a* 濃度でも確認出来る (図 4)。7 月は、ごく表層ではクロロフィル *a* 濃度は低いが、これは栄養塩が欠乏したためと考えられ、水温躍層内に極大層が形成されていた。これは植物プランクトンの分布密度が高いことを意味する。11 月のクロロフィル *a* 濃度の結果では、5 月、7 月に比較して高い値を示した。表層を比較すると、11 月は 5 月の 2.6 倍、7 月の 4.7 倍である。11 月には水温躍層は無くなっていた (図 2)。このため、表面水温が下がることによって高い栄養塩濃度の高い深層の水が表層に運ばれ、光合成が活発になったためと考えられる。なお、糠塚島北岸の水深 2 m, 3 m で特に高い値を示した。これは、採水を行った棧橋に微細藻類が増殖していたため、この影響が反映された可能性もある。

流入河川の水温や水質についてはデータを示さないが、それらの傾向を湖水との関連を含めて、述べる。水温は 7 月、11 月共に下流よりも上流の方が低い傾向であったが、7 月の水温は共に湖内の水温躍層以浅の水温に匹敵し、11 月は上流の方が湖内の水温より若干低い程度であった。pH は、早稲沢は下流の方が若干高い傾向が見られたが、会津川および長井川はほぼ同じ値を示した。11 月は湖内より若干高い傾向であるが、7 月は湖内の鉛直プロファイルの変動の範囲であった。流入河川のクロロフィル *a* 濃度は、7 月よりも 11 月の方が全体的に低い傾向であった。これは、11 月は水温が 7 月よりも低かったため微細藻類が繁殖しにくい環境であったためと考えられる。

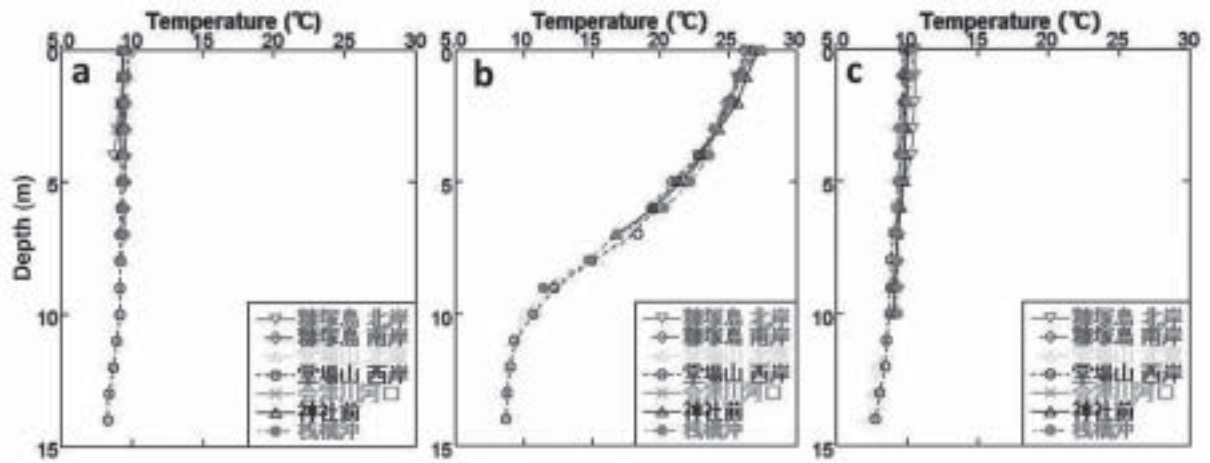


図 2. 水温の鉛直分布
(a) 5月 (b) 7月 (c) 11月

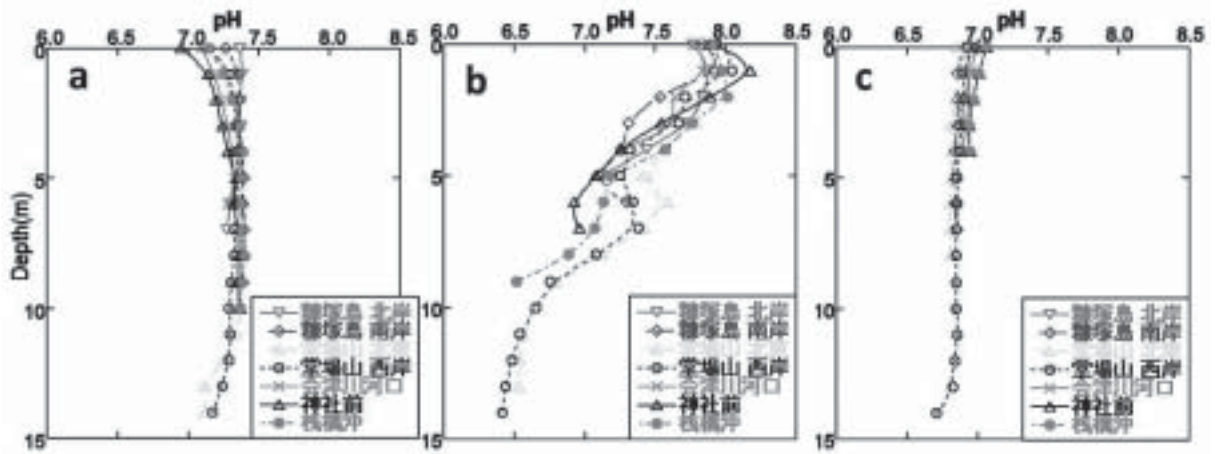


図 3. pH の鉛直分布
(a) 5月 (b) 7月 (c) 11月

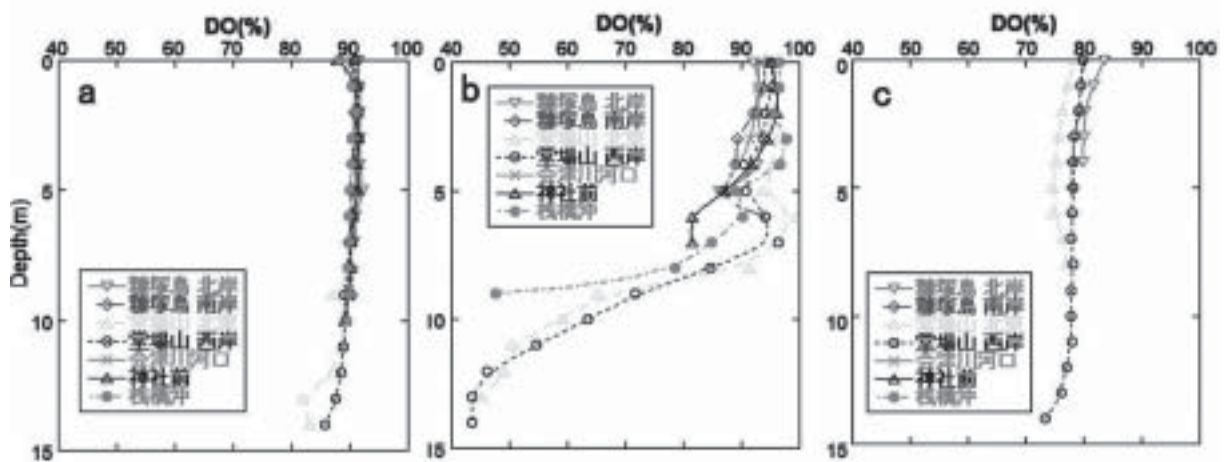


図 4. DO の鉛直分布
(a) 5月 (b) 7月 (c) 11月：糠塚島南岸，会津川河口，神社前，棧橋沖はデータ無し。

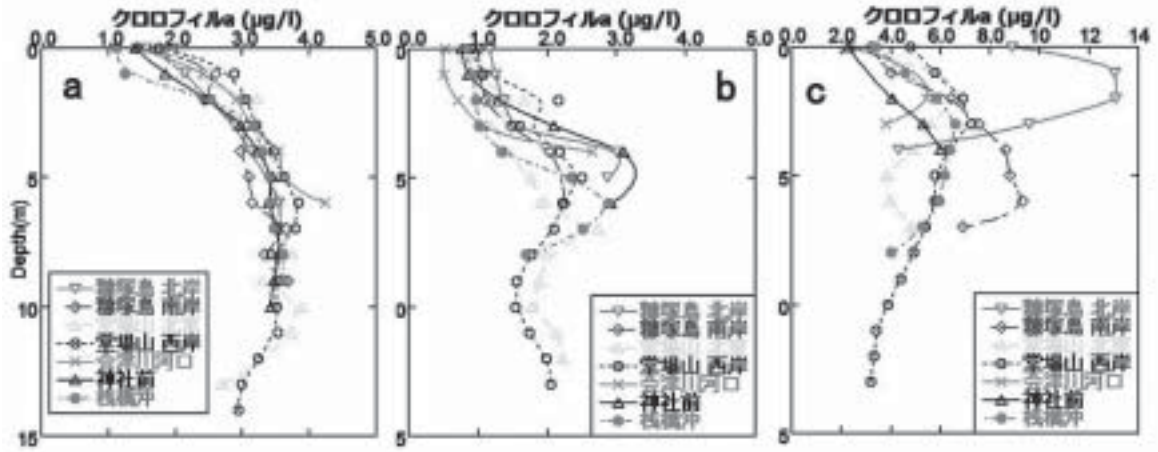


図 5. クロロフィル a 濃度の鉛直分布
(a) 5月 (b) 7月 (c) 11月

表 1. 湖心および流入河川の大腸菌群 (Coliform) 数 (MPN/100 mL)
-, 試料無し; N.D. 不検出.

地点	深度	2月	5月	7月	11月	
湖心	柳塚島北岸	表層	1.07×10^2	2.70×10^2	4.53×10^2	78.1
		5.5 m	-	N.D.	3.28×10^3	32.7
	柳塚島南岸	表層	N.D.	N.D.	19.8	23.0
		6 m	N.D.	18.2	3.28×10^3	21.1
	堂場山北東	表層	-	N.D.	N.D.	23.0
		5 m	-	-	44.6	12.7
		9.5 m	-	N.D.	-	1.06×10^3
	堂場山西岸	表層	-	N.D.	1.07×10^2	48.9
		5 m	-	-	-	32.7
		12.5 m	-	N.D.	N.D.	32.7
	会津川河口	表層	2.70×10^2	N.D.	1.07×10^2	21.8
		3 m	-	N.D.	7.81×10^2	32.7
流入河川	会津川	上流	-	-	3.27×10^3	32.7
		下流	-	-	3.28×10^3	1.27×10^2
	大川入川	上流	-	-	2.30×10^3	32.7
		下流	-	-	2.18×10^3	78.1
	長井川	上流	-	-	4.89×10^3	48.9
		下流	-	-	1.27×10^3	4.53×10^2
早稲沢	上流	-	-	3.27×10^3	1.27×10^2	
	下流	-	-	-	-	

表 3. 湖心および流入河川の大腸菌 (*Escherichia coli*) 数 (MPN/100 mL)
-, 試料無し; N.D. 不検出.

地点	深度	2月	5月	7月	11月	
湖心	柳塚島北岸	表層	<1.0	<1.0	22.2	<1.0
		5.5 m	-	<1.0	63.7	<1.0
	柳塚島南岸	表層	4.1	<1.0	51.2	2.0
		6 m	1.0	1.0	48.5	<1.0
	堂場山北東	表層	-	1.0	<1.0	<1.0
		5 m	-	-	1.0	1.0
		9.5 m	-	<1.0	-	1.0
	堂場山西岸	表層	-	<1.0	<1.0	<1.0
		5 m	-	-	-	<1.0
		12.5 m	-	<1.0	2.0	4.1
	会津川河口	表層	63.2	<1.0	<1.0	<1.0
		3 m	-	<1.0	46.7	<1.0
流入河川	会津川	上流	-	-	32.7	<1.0
		下流	-	-	50.4	6.3
	大川入川	上流	-	-	43.2	<1.0
		下流	-	-	90.8	2.0
	長井川	上流	-	-	71.7	1.0
		下流	-	-	75.4	1.0
早稲沢	上流	-	-	48.9	1.0	
	下流	-	-	-	-	

表 2. 松原湖湖内および流入河川の各採水点における大腸菌群の出現種

表中の数字は、MPN の計数値に最高希積から出現数割合を乗じた値の常用対数値。

採水日 (YYMMDD)	<i>Aeromonas hydrophila/caviae/sobria</i>	<i>Buttiauxella agrestis</i>	<i>Citrobacter braakii</i>	<i>Citrobacter freundii</i>	<i>Citrobacter youngae</i>	<i>Enterobacter aerogenes</i>	<i>Enterobacter amnigenus 1</i>	<i>Enterobacter amnigenus 2</i>	<i>Enterobacter asburiae</i>	<i>Enterobacter cancerogenus</i>	<i>Enterobacter cloacae</i>	<i>Enterobacter sakazakii</i>	<i>Escherichia coli 1</i>	<i>Escherichia vulneris</i>	<i>Hafnia alvei 1</i>	<i>Klebsiella oxytoca</i>	<i>Klebsiella pneumoniae ssp. pneumoniae</i>	<i>Pantoea spp. 2</i>	<i>Raoultella ornithinolytica</i>	<i>Raoultella terrigena</i>	<i>Salmonella choleraesuis ssp. arizonae</i>	<i>Serratia liquefaciens</i>	<i>Serratia fonticola</i>
松原湖内																							
糠塚島 北岸 1m 120221													1.7			1.4	1.4						
糠塚島 南岸 0m 120221																							
糠塚島 南岸 2.5m 120221																							
会津川河口 0m 120221								2.4															
糠塚島 北岸 0m 120515								2.4															
糠塚島 北岸 7m 120515																							
糠塚島 南岸 0m 120515																							
糠塚島 南岸 8m 120515												1.3											
会津川河口 0m 120515																							
会津川河口 5m 120515																							
堂場山 北東 0m 120515																							
堂場山 北東 10m 120515																							
堂場山 西岸 0m 120515																							
堂場山 西岸 13m 120515																							
糠塚島 北岸 0m 120731									2.1		2.4						2.1						
糠塚島 北岸 4.5m 120731								3.2	2.9		2.9												
糠塚島 南岸 0m 120731				1.3																			
糠塚島 南岸 5.5m 120731											3.2		3.2										
会津川河口 0m 120731		1.4	1.4																	1.4			1.4
会津川河口 3m 120731											2.4		2.7										
堂場山 北東 0m 120731																							
堂場山 北東 11.5m 120731											1.6												
堂場山 西岸 0m 120731								1.6				1.6											1.6
堂場山 西岸 12m 120731																							
糠塚島 北岸 0m 121116											1.9												
糠塚島 北岸 4m 121116																							
糠塚島 南岸 0m 121116							0.9				1.4												
糠塚島 南岸 6m 121116													0.8	0.8			0.8						
会津川河口 0m 121116																1.0							1.0
会津川河口 3m 121116								1.5					1.5										
堂場山 北東 0m 121116																	1.4						
堂場山 北東 5m 121116																	1.1						
堂場山 北東 9m 121116		1.3									1.3		1.3			1.3			1.3				
堂場山 西岸 0m 121116								1.4	1.4														
堂場山 西岸 5m 121116								0.9									0.9			0.9			0.9
堂場山 西岸 13m 121116								1.2								1.2							
流入河川																							
会津川上流 120731				2.0		2.0		2.0															
会津川下流 120731							3.0						3.0							3.0			
大川入川 120731									2.9														
長井川上流 120731													2.7			2.7				2.7			
長井川下流 120731				3.4									3.4										
早稲沢上流 120731					2.8			2.5		2.5													
早稲沢下流 120731										2.5													
会津川上流 121116													1.0		1.0								1.0
会津川下流 121116							1.9	1.6															
大川入川 121116								1.5															
長井川上流 121116					1.4						1.7												
長井川下流 121116								1.2									1.5						
早稲沢上流 121116											2.2						2.5						
早稲沢下流 121116											1.9						1.6						

また、栄養塩および炭素量に関しては、流入河川と湖内で、ほぼ変わらない変動幅を示した。このことから、流入河川の影響は桧原湖の水質にほとんど影響しないと考えられる。

2. 大腸菌群数

湖内では、7月の観測で、糠塚島北岸・南岸で環境基準（A 類型、1000 MPN/100 mL 以下）を超過した（表 1）。この深度は、クロロフィル *a* 濃度極大値（図 5）の深度とほぼ一致し、また、SS 濃度でも、比較的高い値を示した深度（データは示さない）と一致した。このことから、懸濁粒子に大腸菌群が付着し増殖や移動した可能性や有機物濃度によって大腸菌群数が増減する可能性が考えられる。流入河川の値は湖内よりも高い値を示した（表 1）が、環境基準を超えたのは、7月の大川入川、早瀬沢上流、会津川下流、長井川の上下流だけであった。今回の結果では、下流の値が上流域や集落の無い大川入川の値より常に高い値を示すことは無かったため、集落の存在と関係する人間活動の影響があるとはいえない。

3. 大腸菌群の同定

最も検出頻度が高い種は、湖内および流入河川ともに *Enterobacter cloacae* であった（表 2）。これは猪苗代湖心の優占種でもある（小野, 2011）。湖内では、*E. asburiae*, *E. amnigenus* 2, *Escherichia coli* 1, *Klebsiella oxytoca* が次いで多く検出された。流入河川でも、*E. amnigenus* 2, *E. coli* 1, *K. oxytoca* が多く検出され、湖内と流入河川での種構成は似ている。*Enterobacter* 属は、ヒトの便や呼吸器からも検出されるが、「本来、土壌や下水に生息する」と考えられている（吉田, 2007）。この *E. cloacae* も自然環境中でもよく検出されることが知られている種である（小野ほか, 2010a; 小野ほか, 2010b）。*E. coli* の中にもヒトや他の温血動物の消化管由来の株と自然由来のものがあり、簡単には糞便汚染と決定づけることはできないと考えられる（難波・小野, 2012）。

4. 大腸菌数

4回の観測を通して値に差はあるがすべての観測点で *E. coli* が出現した（表 3）。2月の会津河口の結果を除いて、湖内および流入河川ともに、7月方が高い数値の傾向であった。湖内ではクロロフィル *a* 濃度の極大値に比較的高い値があり、大腸菌群の動態に似ている。大腸菌は動物の腸内常在菌の一つであることを考慮すると、水温が高い方が増殖しやすいために高い数値を示したと考えられる。また、今回の調査結果で最も高い値は、湖内では2月の会津河口の 88.2 MPN/100 mL で、流入河川では7月の長井川上流の 90.8 MPN/100 mL であった。この値は、淡水の浴場やプールの水質基準で大腸菌を用いている中で国際的に最も厳しい米国の基準 126 cfu/100 mL（EPA, 1986）を下回る値である。

IV. おわりに

裏磐梯三湖の中で最も表面積が広い桧原湖の大腸菌群数は、観測開始以来、頻繁に環境基準値（A 類型、1000 MPN/100 mL 以下）を超えていた。この要因を探るために、集落の影響がある流入河川、影響の無い流入河川、および湖内に関して、物理化学生物学的パラメーター及び大腸菌群の通年調査を通して行った。この結果、湖内の大腸菌群の動態が特に夏期の成層期には明瞭に物理化学的要因の影響を受けていることが明らかになった。また、河川の大腸菌群数の動態への集落の存在に関連した人間活動の影響は見られなかった。大腸菌群の種組成に着目すると、湖内と流入河川の組成は似ており、優占種はともに *Enterobacter cloacae* であった。この種は、ヒトからも検出されるが、「本来、土壌や下水に生息する」と考えられている。これらを考慮すると桧原湖の大腸菌群は、人為的影響には由来しない大腸菌群であろう。大腸菌は、全ての観測点から計数されたが、その値は低い。大腸菌は温血動物の腸管の常在菌であり、病原性を持つものは大腸菌の

種の中のごく一部である。今後、自然由来の可能性も視野に入れて大腸菌の由来を探索したいと考えている。

謝辞

本研究を推進するにあたり、桧原漁業共同組合に試料採集の便宜を図って頂きました。心から感謝申し上げます。

引用文献

EPA (1986) Ambient water quality criteria for bacteria - 1986, EPA4405-84-002, Januart 1986.

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.

福島県生活環境部水・大気環境課 (2011) 資料 14 平成 23 年度 猪苗代湖の水質測定結果等. in 平成 23 年度環境等調査測定結果, 平成 24 年 7 月, 福島県, 139-146.

ISO (2012) International standard, Water quality — Enumeration of *Escherichia coli* and coliform bacteria— Part 2: Most probable number method, ISO 9308-2.

JIS (2001) 用水・排水中の大腸菌群試験方法, JIS K 0350-20-10 (JIWA/JSA).

水口康雄 (2007) 細菌学 各論 8. 環境と微生物, In 戸田新細菌学 改訂 33 版, 南山堂, 東京, 531-562.

難波謙二・小野結夏子 (2012) 裏磐梯毘沙門沼の大腸菌群. In 裏磐梯五色沼湖沼群の環境調査中間報告書, 福島大学, 69-72.

小野公嗣 (2011) 猪苗代湖に出現する大腸菌群とその由来. 平成 22 年度福島大学共生システム理工学研究科修士論文.

小野公嗣・難波謙二 (2011) 猪苗代湖とその流入河川の大腸菌群のグループ分け. In 大都市圏廃棄物の持続循環型産業システム体系の構築 平成 22 年度報告書. 福島大学. 76-81.

小野公嗣・難波謙二・船橋泉光 (2010a) 猪苗代湖流入河川の大腸菌群数. In 大都市圏廃棄物の持続循環型産業システム体系の構築 平成 21 年度報告書. 福島大学, 70-75.

小野公嗣・難波謙二・船橋泉光 (2010b) 猪苗代湖流入河川の大腸菌群は糞便に由来するのか. In 人間—自然環境系における環境保全と環境維持システム構築に関する基礎的研究. 生命・環境学系研究グループ. 25-31.

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, 5-8.

UNEP (2010) Consultation meeting for the finalization and approval of criteria and standards for bathing waters along with beach profiles, Athens, Greece, 8-9 November 2010, WHO/UNEP Meeting, EUDHP1003944/6.2.

吉田眞一 (2007) 細菌学 各論 10. 腸内細菌科の細菌, In 戸田新細菌学 改訂 33 版, 南山堂, 東京, 531-562.

WHO (1999) Health-based monitoring of recreational waters: The feasibility of a new approach (The 'Annapolis protocol'), Protection of the human environment water, sanitation and health series, WHO/SDE/WSH/99.1, Genova.