

河川における窒素化合物の代謝に 関与する細菌の分布

小原 玲子

Distribution of Bacteria Relateing to Metabolism Nitrogen Compounds in Rivers

Reiko KOHARA

緒 言

水中に生息するバクテリア等によって有機物が無機物へと分解され、河川の自浄作用が行なわれ浄化の一環をなしていることは既に知られている。そこで本研究は、それらのバクテリアのうち窒素化合物の代謝に関与する細菌群、つまり、脱アミノ細菌、脱窒細菌および硝酸塩還元細菌について現存量を求めると同時に、それらの環境下での窒素の分布状態や汚染の目安となる BOD の分布状態をも併わせて検討した。また、それらの間にはどのような関連性があるかについても検討したのでここに報告する。

方 法

調査対象には非常に汚濁が進行していると考えられる名古屋市内河川と、比較的汚濁の少ない矢作川上・中流部を選んだ。

名古屋市内河川は堀川（3地点）、山崎川（4地点）および天白川（2地点）の3河川9地点とした。また、矢作川については上流部および中流部（国が定めた生活環境基準制定の分類に従った。）で17地点とした。

調査時期としては、名古屋市内河川は1976年6月、8月および12月に実施し、矢作川については1976年11月および1977年4月、7月に実施した。

次に測定方法については以下に述べるとおりである。

(1) 水質の測定法

BOD：1ℓのポリビンに採水したものをアイスボックス中に保管して実験室に持ち帰り、東芝ベックマン社製のフィールドラボDOメーターで測定。それらを20°C暗室にて5日間放置したものを再度測定。

NO₂-N：Bendschneider & Robinson (1952) の方法により測定。

NO₃-N：Wood, Armstrong & Richards (1967) のカドミウム・銅カラムを用い、NO₃-NをNO₂-Nに還元しNO₂-Nとして測定。

NH₄-N：Newell (1967)・Sagi (1966) のインドフェノール・靑法で定量。

(2) 微生物の測定法

試料の採水においてはよどみなく流れている地点を選び、表層より約10cmの深さにおいて、あらかじめ滅菌しておいた綿栓付試験管（径18mm）に7分目程度採水した。それらを4°C以下

に保ったアイスボックスに入れ実験室に持ち帰り迅やかに培養した。

培養培地¹⁾については、カジトン5.0g, 肉エキス3.0g, リン酸2水素カリウム0.1g, 硝酸カリウム0.5g (各1ℓあたり)とし、pH7.0に調製したものを使用した。

培養法は5連4段階によるMPN法で、20°C 2週間嫌気培養した。

以上の方法により3種類の細菌を培養し、次の方法で判定した後MPN表より算出した。

- (1) 脱窒細菌：ダーラム発酵管の気泡の有無により判定。
- (2) 脱アミノ細菌：インドフェノール法 (NH₄-N の測定法) により測定。
- (3) 硝酸塩還元細菌：GR試薬により NO₂-N を測定。

結果および考察

窒素化合物の代謝に関与する細菌群の現存量を把握すると同時に、そのような水中での環境を知る意味から BOD および全溶存無機態窒素とその組成分 (NH₄, NO₂, NO₃) の割合についての分布をも調べた。その結果は図1から図2のようになる。

- (1) BOD と T.inorg.N (NH₄, NO₂, NO₃) の分布

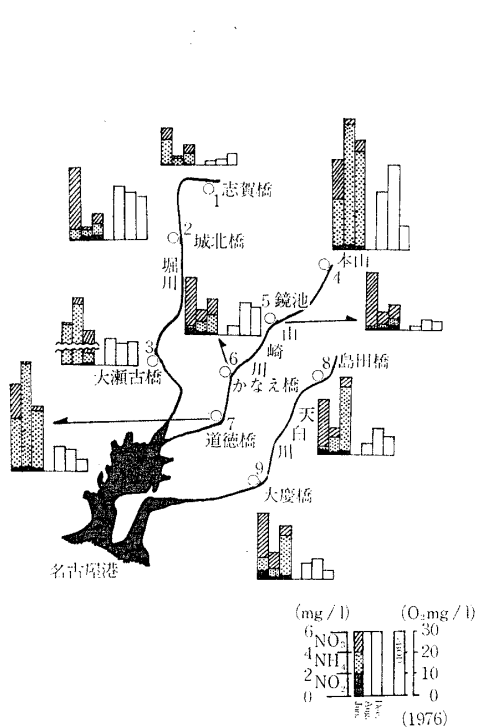


図1 N (NH₄, NO₂, NO₃) とBODの分布 一名古屋市内河川一

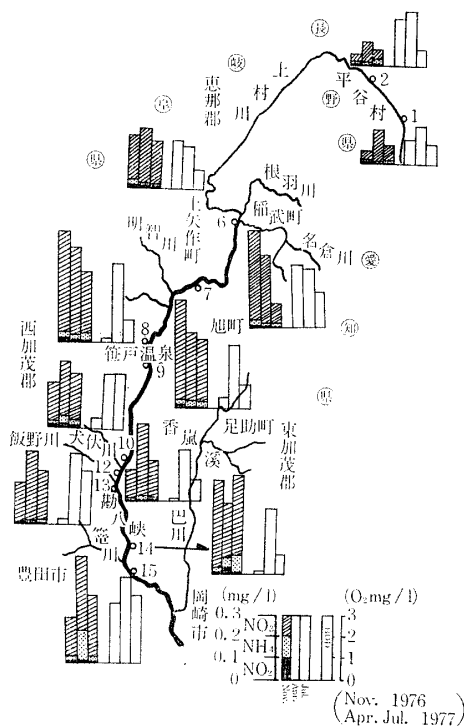


図2 N (NH₄, NO₂, NO₃) とBODの分布 一矢作川上中流部一

名古屋市内河川の場合 (図1) は、全溶存無機態窒素は最大値で st.3 の8月31ppm 以上もあり、最低値においても st.1 の8月0.82ppm とかなり高い値であることがわかった。月別による変動についてはさほど顕著な傾向は認められず、しいて言うならば一部を除いて6月・12月・8月の順に高く、常に高い値が保たれていることがわかった。このような高い値を示している実態は、一部を除いて NH₄-N の量によって決定されていることが明らかである。しかし、一般に最も少ない NO₂-N の最低値が0.047ppm であり絶対量としてはこれもまた非常に高い値である。このような汚濁の現況は BOD 値によっても認められ、月別に関係なく (最

高 $38\text{mg}/\ell$ で平均的には $15\sim 20\text{mg}/\ell$) 有機的な汚濁が進んでいる河川であるといえよう。

次に矢作川上・中流部の場合(図2)は、前述の名古屋市内河川に比べ BOD, 全溶存無機態窒素量は最高でそれぞれ $3.9\text{mg}/\ell$, $0.493\text{mg}/\ell$ と非常に低く、 $1/10\sim 1/100$ 以下であることがわかる。全溶存無機態窒素の中で占める割合は、名古屋市は $\text{NH}_4\text{-N}$ が最も多かったのに対し、矢作川においては $\text{NO}_3\text{-N}$ が最も多く、次に $\text{NH}_4\text{-N}$, そして $\text{NO}_2\text{-N}$ という順に多く認められた。これは通常の河川の状態である。BOD については、4月・7月に高い値が認められ、地点別に見た場合上流部においてもかなり高い値が測定された。この点については上流部に牧場やゴルフ場等が多く、畜舎排出等による有機的汚染が原因して高い測定結果を得たものと推定される。

以上のような水中の有機物や窒素の分布下で、窒素化合物の代謝に関与する細菌群の現存量を検討したので以下に述べる。

(2) 脱アミノ細菌の分布

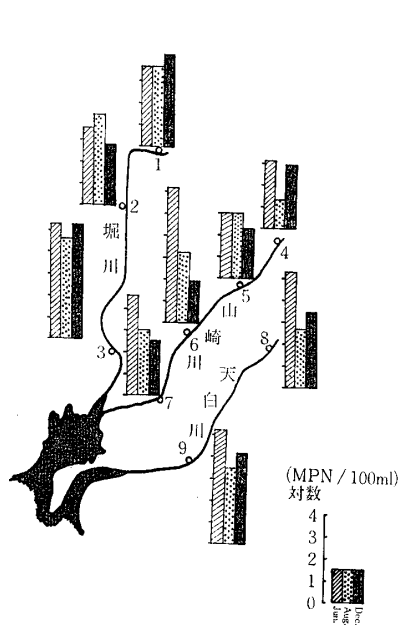


図3 脱アミノ細菌の分布
—名古屋市内河川—

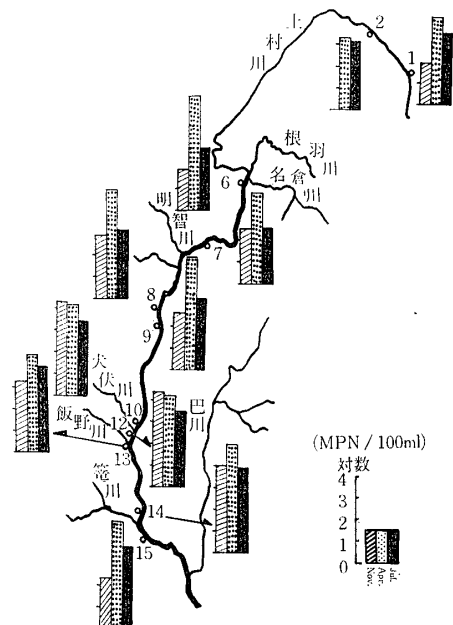


図4 脱アミノ細菌の分布
—矢作川上中流部—

水中でのアンモニアの分解過程に関連する脱アミノ細菌の分布は図3と図4に示すとおりである。典型的な都市河川の様相を保ち、有機的原因による汚濁源をもつ名古屋市内の場合は、比較的多くの現存量が得られた。すなわち、st.1, st.3, st.4, st.7, st.8およびst.9においては、一部を除いていずれの月にも $10^4\sim 10^5\text{MPN}/100\text{ml}$ のオーダーが得られた。また、この地点での $\text{NH}_4\text{-N}$ は1地点を除いてすべて1ppm以上であった。6月においては、st.1 (1.87ppm), st.3 (19.0ppm), st.4 (4.49ppm), st.7 (5.40ppm), st.8 (0.19ppm) およびst.9 (1.26ppm) であり8月・12月においても同様の傾向で非常に高い値を示し、窒素源の多さを物語っている。このように脱アミノ細菌の現存量と $\text{NH}_4\text{-N}$ の間には一種の関連性が考えられる。つまり、特に $\text{NH}_4\text{-N}$ が1.0ppmをこえる場合は脱アミノ細菌の現存量が急激に増大し、それ以下の場合は $1/10\sim 1/100$ に少なくなっていることが明らかとなった。

矢作川については、中流部の一部を除いて4月に現存量のピークを得た。このことは上流部に牧場が多いという地域環境にも関連しているのではないかと推測される。また11月の $\text{NH}_4\text{-}$

Nの量が比較的少なく、高いと考えられる地点は st.5 (0.04ppm), st.6, st.7, st.8, st.9 の0.03ppm とst.17の0.10ppm である。そこでの脱アミノ細菌は特に高い現存量をもっているわけでもなく、むしろ st.10 (0.003ppm) や st.12 (0.003ppm) で高く 10^4 MPN/100ml のオーダーが測定された。つまり、名古屋市内河川のような明確な関連性は認められないが、 $\text{NH}_4\text{-N}$ が増加すれば脱アミノ細菌も増加する傾向にあるということは今回の調査で認められた。しかし、脱アミノ細菌によるアンモニアの生成が前述の結果なのか、その逆に $\text{NH}_4\text{-N}$ が多量に存在するために生成反応を促すのかは今回の調査では判明できなかった。この点については今後の問題である。

(3) 脱窒細菌の分布

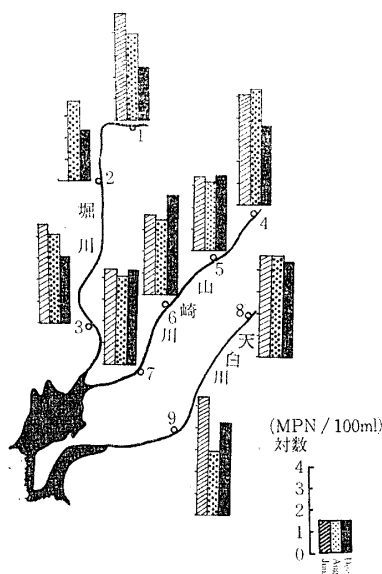


図5 脱窒細菌の分布
—名古屋市内河川—

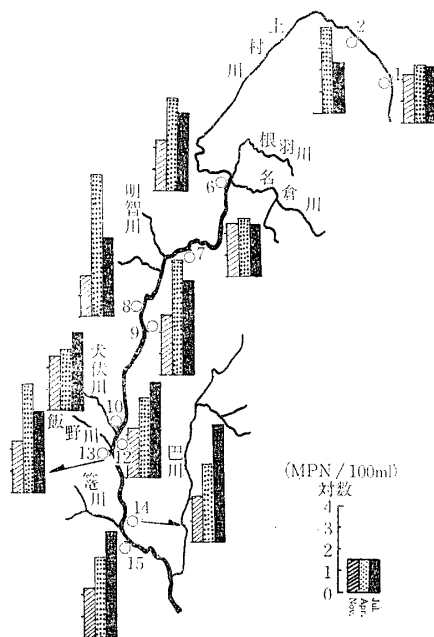


図6 脱窒細菌の分布 —矢作川上中流部—

都市河川に多くみられる無酸素状態での河川の浄化の一環として窒素化合物の脱窒作用が起り、分解が進行する。そこでこの脱窒細菌の分布を調べ、溶存の窒素化合物の分布とを比較しその関連性を検討した。一方、ほぼ溶存酸素が飽和状態での河川における脱窒細菌の現存量はどのくらいであるかを知るために矢作川について調査した。それらの結果は図5と図6のとおりである。

名古屋市内の場合は、6月に st.3, st.6, st.7, st.8 および st.9 で $10^4 \sim 10^6$ MPN/100ml と多くの脱窒細菌の分布がみられた。8月には st.2, st.3 において 10^4 MPN/100mlであり、その他の地点では比較的現存量は少なかった。12月は st.6, st.7, st.8, st.9 で 10^4 MPN/100mlであった。現存量からみると全体的には堀川、天白川および山崎川の下流部において高い値が認められた。またこの時の溶存酸素を考えた場合、必ずしも酸素量だけに関係しているとはいえないことが認められた。また、前述の地点で特に溶存窒素が高い所は必ず脱窒細菌が多く出現しているかという点必ずしもそのような結果は認められなかった。この点については今後さらに検討してゆきたい。

矢作川については、上流部の st.9 までは4月にピークをもち、7月・11月の順に現存量が多く認められたのに対し、中流部になるとパターンが変わり7月・4月・11月の順に高い現存量を得た。そこで溶存酸素について検討してみると上流部の st.9 までは過飽和の所ほど脱窒

細菌が多く、中流部では溶存酸素がむしろ60%程度の所にピークが出ているという st. 9 を界にして興味深い結果が得られた。

(4) 硝酸塩還元細菌の分布

名古屋市内河川の硝酸塩還元細菌は、調査対象とした山崎川・天白川では検出されず、堀川でのみ検出されたので、矢作川の結果のみ図に示すことにした。また、堀川での細菌数のオーダーは $10^4 \sim 10^5$ MPN/100 ml と非常に多い現存量を得た。名古屋市の場合、河川によって非常に顕著な相違があることがわかった。

矢作川については比較的多くの現存量を得た。オーダーとしては $10^1 \sim 10^3$ MPN/100 ml であった。つまり溶存の無機態窒素の大半が硝酸で占められていることにも起因するのではないかと推定される。11月の結果で $\text{NO}_2\text{-N}$ が通常河川より高いと思われる 0.04ppm 以上を検出した地点は st. 4~st. 9, st. 14-1 および st. 16 である。また $\text{NO}_3\text{-N}$ がかなり高い値と思われる 0.4 ppm 以上の地点は st. 7~st. 9, st. 14-1 および st. 17

であった。これに対し硝酸塩還元細菌が比較的多く出現しているのは st. 8 と st. 10 で 10^2 MPN/100ml である。4月の結果においては $\text{NO}_2\text{-N}$ が 0.04ppm をこえた地点は st. 5, st. 8, st. 9, st. 14-1 および st. 15 であり、 $\text{NO}_3\text{-N}$ が 0.4ppm 以上の所は st. 5 および st. 8 であった。硝酸塩還元細菌について 10^2 MPN/100ml が測定された所は st. 1 および st. 11 であった。さらに7月の結果では $\text{NO}_2\text{-N}$ に関しては st. 4, st. 8~st. 10, st. 14-1 および st. 15 において 0.04ppm 以上であった。 $\text{NO}_3\text{-N}$ では全般的にかなり値が低く最高でも st. 8 の 0.319ppm であった。ところが硝酸塩還元細菌の現存量は7月が最も多く、すべての地点で 10^2 MPN/100ml をこえ st. 1~st. 4, st. 6, st. 7, st. 9 および st. 17 で 10^3 MPN/100ml を示していた。すなわち、上述のように特に $\text{NO}_2\text{-N}$ や $\text{NO}_3\text{-N}$ と脱窒細菌の分布においては明らかな関係は認められなかった。

以上、脱アミノ細菌、脱窒細菌および硝酸塩還元細菌の分布と窒素の関連性について、名古屋市内河川と矢作川について試みたが、統計的な処理を行なってみた結果では殆んどが良い相関係数は求められなかった。すなわち細菌数の対数と溶存の各態の窒素の相関係数の中で最も高かったのは $\text{NH}_4\text{-N}$ と脱窒細菌および全溶存無機態窒素と脱窒細菌であったが、それらの値でも 0.5 にすぎなかった。しかし $\text{NH}_4\text{-N}$ が 1.0ppm 以上の場合は脱アミノ細菌の現存量は非常に多く認められることがわかった。

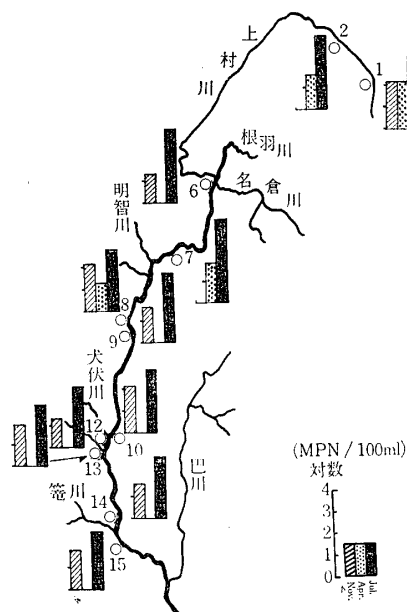


図7 硝酸塩還元細菌の分布
—矢作川上中流部—

要 約

1. 有機的な汚濁の進んだ河川と比較的汚濁の少ない河川における溶存無機態窒素 ($\text{NH}_4\text{-N}$, $\text{NO}_2\text{-N}$, $\text{NO}_3\text{-N}$) と BOD の分布を調べた。
2. 上記の環境下における脱アミノ細菌、脱窒細菌、硝酸塩還元細菌の現存量の分布を調べた。
3. 脱アミノ細菌は $\text{NH}_4\text{-N}$ が 1.0ppm 以上の場合は非常に多くの現存量が認められた。
4. 各態の窒素と窒素化合物の代謝に関与する細菌の間には明らかな相関は得られなかった。

5. 酸素が飽和に近い矢作川上流部においても脱窒細菌はかなり多い現存量を得た.

最後にこの研究を行なうにあたり，一連の河川に関する調査の機会を与えてくださっている名古屋女子大学教授広正義先生に深く感謝します．また，この実験を行なうにあたり御指導いただいた同大学講師八木明彦先生に感謝します．

参 考 文 献

- 1) 陸水生物生産測定方法論研究会：陸水生物生産研究法，287—300（1969）