

多摩川における表流水および付着層の 細菌群集の動態に関する研究

1 9 8 7 年

森 川 和 子

東京農工大学一般教育部助手

目 次

1. はじめに	1
2. 方 法	1
3. 結 果	2
1. 是政の水質	2
2. 是政における河床の石面付着層の現存量及びクロロフィル量	2
3. 是政における表流水の細菌密度の変化	2
4. 是政における河床の石面付着層の細菌数の変化	3
5. 多摩川海沢地域と是政地域の比較	3
6. 是政および海沢における石面付着層のクロロフィル量と細菌数の関係	3
7. 是政における石面付着層の細菌フロラ	4
8. 表流水中での細菌の増殖について	4
引用文献	5

多摩川における表流水および付着層の 細菌群集の動態に関する研究

1. はじめに

河川は、河床の石の上を絶えず表流水が流れ去っていく開放系である。それにもかかわらず、河床の石面にはかなり安定した付着層が形成され、種々の生物の棲み家となっている。多摩川上流の海沢地域において、この石面付着層と表流水に生息する細菌群集の動態に関する調査を行った。その結果、石面付着層に生息している細菌群集は、その場に生息する藻類によって量的・質的に規定されていることが明らかになった。それに対して、表流水を流れしていく細菌群集は、量的には流量の変動の影響を受け、質的にはその場の石面付着層の細菌群集とは異なり独立していることが明らかにされた（森川、1984・1987）。この調査結果に基づいて、表流水を流れしていく細菌と、河床の石面付着に生息している細菌の関係を解析するため、中流域での同様な調査を行うのが、本研究の第1の目的である。さらに、付着層での細菌の増殖は明らかにされたが（森川、1988），表流水中での細菌の増殖について実験的に明らかにすることを第2の目的とした。

2. 方 法

- 調査地点：多摩川は政橋下流の右岸を主な調査地点とした。調査地点は大丸堰から1.5km下流にあたり、河川形態では渕にあたる。
- 調査時間：各調査は、午前11時から正午に行った。
- 採水及び付着層の採取：森川（1984）に準じて行った。
- 細菌計数：生菌数は1/2 PYG（ペプトン・1%，イーストエキス・0.5%，グルコース・0.25%，寒天・1.5%）による平面塗抹法で、20°Cでコロニーが新たに生じなくなるまで（約40日間）培養後、コロニー数を計数して得た。

全菌数はアクリジンオレンジ染色をした標本を蛍光顕微鏡（オリエンパス・落射型）で観察、計数した（Hobbie, 1977）。

呼吸活性細菌は、2-(*p*-iodophenyl)-3-(*p*-nitrophenyl)-5-phenyl tetrazolium chloride (INT) を還元して、菌体内にフォルマザンを形成する細菌数を顕微鏡で計数して得た（Tabor and Neihof, 1982）。

大腸菌群数は、デソキシコレート培地で、常法に従って37°C 24時間培養してえた。

- 付着層量の測定：採取した付着量は、表流水に懸濁後、一定量をグラスフィルターでろ別し、乾燥量及びクロロフィル量（クロロフィルa+フェオフィチンa）を測定した（森川、1984）。
- 水質分析：表流水について、水温、pH、DO、BOD、DOC、NH₄-N、NO₃-N、PO₄-P、Total-Pの値を測定した（森川、1984）。

- ・細菌フロラの決定：1986年4月9日，是政において採取した石面付着層のサンプルを1/2 PYG平板に平面塗抹後，20℃で培養した。平板に生じたコロニーから計211コを釣菌し，分離純粹培養後，213菌株を得た。これらについて，森川（1987）に従って属レベルでの同定を行い，是政における石面付着の細菌フロラとした。
- ・表流水中の細菌の分裂の推定：1986年8月28・29日に，日原川河口から3.5kmの地点：1，日原川河口：2，小河内ダム下流5kmの地点：3，海沢橋下流：4，川井-御岳間：5，万年橋下流：6，調布橋上流：7，多摩川橋上流：8，羽村堰上流：9，羽村堰下流：10，陸橋下流：11の11地点で表流水を採水後，水温・pH・DO・DOC・全菌数・呼吸活性細菌数を測定した。

3. 結 果

1. 是政の水質

是政における表流水の水質の経年変化を図1及び2に示した。水温・気温は夏に高く，冬に低い季節変化を示したが，冬期には水温が気温を上まわった。pHの変動は小さく，年間を通じてpH8前後のアルカリ性であった。DOは，夏期には過飽和となり，冬期には100%以下に下った。逆にBOD, DOCの値は夏期に低く，冬期に高い傾向にあった。NO₃-Nは4ppm前後では一定の値を示した。NH₄-NはBOD, DOCと同様の変動パターンを示した。PO₄-PはTDPの値とほぼ等しく，変動パターンはBOD, DOCのそれに等しかった。クロロフィル量は10～40μg·l⁻¹で変動した。

2. 是政における河床の石面付着層の現存量及びクロロフィル量

図3に，是政における河床の石面付着層の乾量の年変化を示した。乾量の値は10mg·cm⁻²を中心とし変動した。最大値は8月1日に得られた39.99mg·cm⁻²，最小値は6月11日に得られた2.224mg·cm⁻²であった。図4に是政における河床石面付着層のクロロフィル量の年変化を示した。クロロフィル量は最大値44.85μg·cm⁻²（8月1日），最小値2.28μg·cm⁻²の間で変動した。クロロフィル量の変動パターンは，乾量の変動パターンと一致せず，是政の河床の石面付着層には，光合成を行なう藻類以外の生物及び非生物が混在していることが示唆された。

3. 是政における表流水の細菌密度の変化

表流水中の細菌密度の変化を図5に示した。アクリジンオレンジで染色して計数した全細菌数は，最高 1.1×10^7 cell·cm⁻³，最低 3.1×10^6 cell·cm⁻³で，変動の巾が小さい。特に4月から12月までの各サンプリング時の変動は小さく，7月2日の増水時の値も他と変わらない。これに対して呼吸活性細菌数の変動はやや大きく，7月2日の増水時を除くと，全菌数に対する呼吸活性細菌数の割合が水温に比例している。1/2 PYG平板で計数された生菌数は，呼吸活性細菌数の20～90%

を示していた。6月11日の呼吸活性細菌数が7.9%と他とかけ離れていた。屎尿廃水混入の指標とされるデソキシコレート培地に計数された大腸菌群数は $28 \sim 750 \text{ cell} \cdot \text{cm}^{-3}$ で生菌数の0.001%前後であった。

4. 是政における河床の石面付着層の細菌数の変化

是政橋右岸の河床（大きな川の流れからは渕にあたる）の石面付着層の 1 cm^2 当りの細菌数の変化を図6に示した。全菌数の変動は、表流水中の全菌数の密度変化の巾より大きく変動したが、他の方法で測定した菌数の変動よりは小さい。他と比較して小さい値が5月、6月にある。呼吸活性細菌数は全菌数の5.17%から44.4%で表流水中ににおけるその割合より高かったが、表流水中ににおける両者の割合の変化が水温とほど比例していたのに対して、季節による全菌数に対する呼吸活性細菌数の割合の変動は小さく、それを左右する要因は明らかではない。 $1/2 \text{ PYG}$ 平板による生菌数は、調査開始当初を除くと、呼吸活性細菌数と同じで、時にはこれを上まわることもあった。全菌数に対する $1/2 \text{ PYG}$ 平板による生菌数の割合は、表流水でそれの値より高い。大腸菌群数は 1 cm^2 当たり $10^3 \sim 10^4 \text{ cell}$ で、全菌数に対する割合は、表流水中ににおけるそれより1桁小さかった。

5. 多摩川海沢地域と是政地域の比較

図7に多摩川海沢地域と是政地域における水質分析及び細菌数の比較を示した。値はそれぞれの項目の最大値を1981年から1982年に海沢でえた値を1として比較した数値で示してある。 NH_4-P , PO_4-P は海沢において測定限界以下であったので図のような表示を行った。各項目の単位は必ずしも単順な割算で比較できるものではないので、棒グラフの長さはおまかに目安でしかない。最高気温は両地点ではほど等しかったが、水温は是政の方が高い。pHは両地点で等しく、流速は是政の方がはるかに遅く $1/10$ 以下である。DOに差はないが、BOD, NO_3-N , DOCはいずれも是政の値が海沢の5~8倍になっている。石面付着層の乾重量は是政の方が8倍以上大きかったが、付着層のクロロフィル量は3倍程度で、付着層には活性の高い藻類以外のものがあった事が示唆される。これらの数値に比較して、表流水中の細菌密度は異常に高く、24.7倍であった。石面付着層の細菌数は他の環境要因の数値の比とはほど等しいことから、上流域海沢から中流域是政に至る表流水の流下の過程で、是政で得られた細菌密度の増加分が総て系内で分裂増殖したとは考えにくく、系外からの流入によって増えた割合が非常に高い事が示唆される。

6. 是政および海沢における石面付着層のクロロフィル量と細菌数の関係

図8, 9に是政および海沢（森川, 1984）におけるクロロフィル量と細菌数の関係を示した。海沢において、石面付着層のクロロフィル量と細菌数の間に $r = 0.868$ の高い相関が認められ、石面付着層の細菌数は、付着層のクロロフィル量によって規定されていることが明らかにされた。しかし是政における両者の関係はサンプルによって異なり、この地域の石面付着層の細菌数を規定する要因

としてクロロフィル量を考えることはできなかった。また、今回測定した他の環境因子との相関も認められていないので、石面付着層の細菌数を規定する要因は限定されていない。

7. 是政における石面付着層の細菌フロラ

表1に、是政における石面付着層の細菌フロラを示した。自然界の細菌が寒天平板上にコロニーを形成する時間には、種々の要因によるバラツキがある。本調査ではコロニー形成時の異なる4つの細菌グループを分離同定し、その合計値をもって是政のフロラとした。各グループの性格については、分析が十分行なわれていないので別の機会に報告する。コロニー増殖曲線が持つ性質から、合算された事によって比較的早い時期にコロニーを形成する細菌グループと、遅れてコロニーを形成するグループの数が過大評価されている。検出された属は、海沢における結果(森川、1987)と大きな差はないが、未同定の細菌株の割合が多い。また、海沢のフロラと比較して放線菌・イーストの割合が高い。年間を通じてのフロラの検討は、今回できなかつたが、生菌数を計数した平板の観察からは、季節による変化は認められなかつた。

8. 表流水中の細菌の増殖について

水温が最も上昇する8月末に、多摩川上流域の11地点で表流水中の全菌数および呼吸活性細菌数を計数した。表2に各地点の全菌数、呼吸活性細菌数、全菌数に対する呼吸活性細菌数の割合、水温、pH、DOC、DOの値を示した。当初の予定では、数km放れた地点で流下してくる表流水の採水を考えたが、技術的にむずかしく、予備実験の段階でチェック方法にも疑問が残った。そこで、流下に伴なう細菌の変化を、呼吸活性細菌の割合の変化という形でとらえてみた。全菌数に対する呼吸活性細菌数の割合は1.5~3%から13.0%にあったが、この割合と、表流水のDOCの値の間に $r = 0.753$ で有意の相関がある事が明らかになった。この事は、表流水中の有機物濃度が高くなると、呼吸活性細菌の割合が高くなる事を示している。調査地点のような上流域では、細菌の増殖に用いられる有機物がたりなくて菌数が少ないのでだろうか。DOCに比例した細菌数の増加の内容についてさらに検討される必要がある。

以上、河川を流れていく表流水で検出される細菌群集と、河床の石面付着層に生息している細菌群集の性格はかなり異っている。水質分析の結果からも、是政地域は上流域海沢に比べて有機物濃度が高く、生息している細菌も多くなっており、細菌の生息環境としてより複雑になっていると言えよう。

引　用　文　献

- 森川(1984)：多摩川上流域における好気性従属栄養細菌数の季節変動とそれの環境要因との関係について；Jap. J. Limnol. 45, 1, 69-78.
- 森川(1987)：Characteristics of Generic Composition of Aerobic Heterotrophic Bacteria in Periphyton at an Oligotrophic Region in the Tamagawa River ; Jpn. J. Limnol., 48, 1, 55-65.
- 森川(1988)：Differences in Plating Efficiency of Bacteria from River Epilithon Sampled from Upper and Lower Surfaces of Artificial Substrata ; Microb. Ecol., 15, 2, 217-228.
- HOBBIE, J. E. DALEY, and S. JASPER(1977) : Use of Nuclepore Filters for Counting Bacteria by Fluorescence Microscopy ; Appl. Environ. Microb., 35, 5, 1225-1228.
- TABOR, P. S., and R. A. NEIHOF : Improved Method for Determination of Respiring Individual Microorganism in Natural Waters ; Appl. Environ. Microb., 43, 6, 1249-1255.

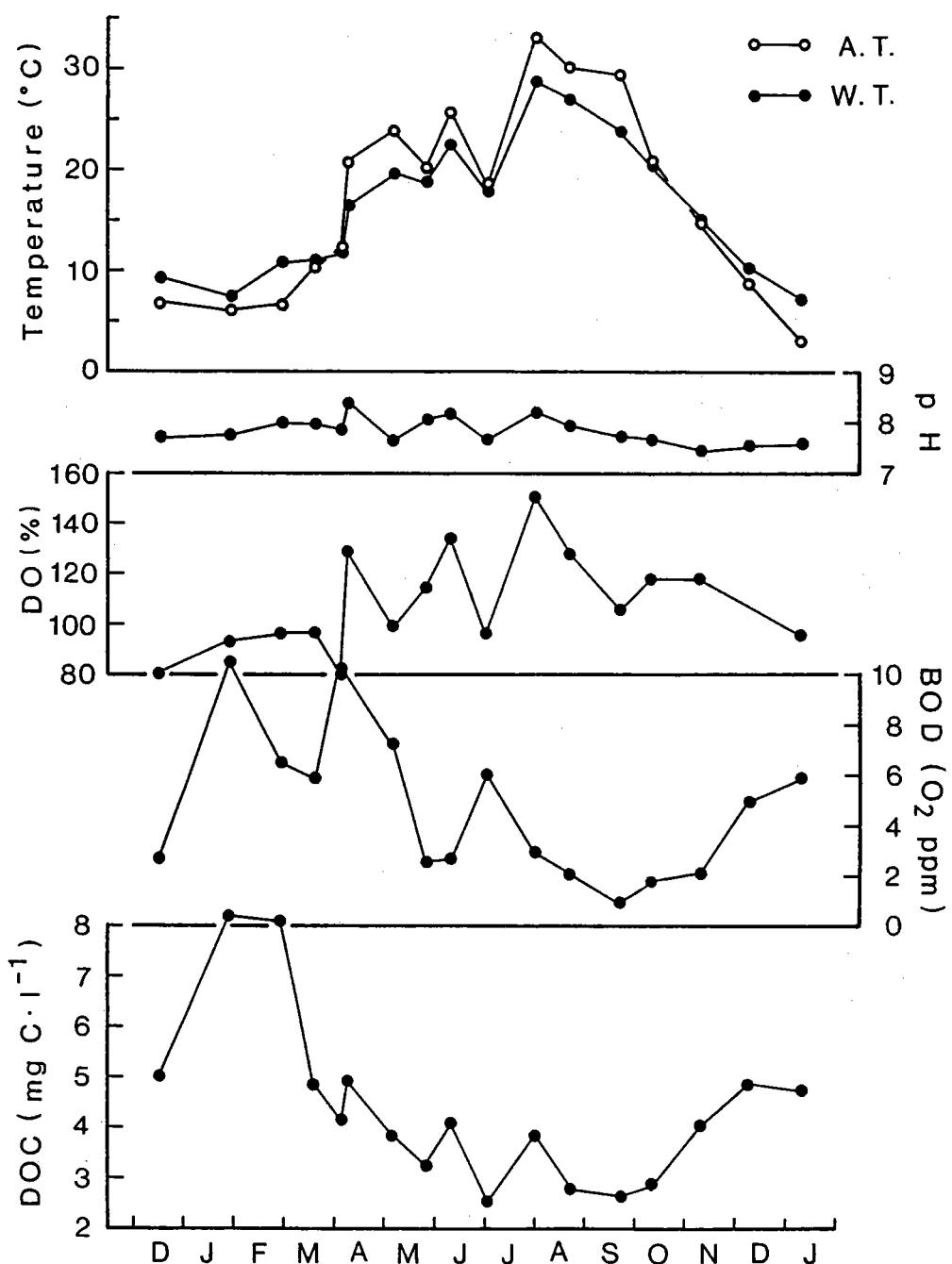


図1 多摩川是政橋下流における気温・水温, pH, DO, BOD, DOCの変化
(1985年12月～1987年1月)

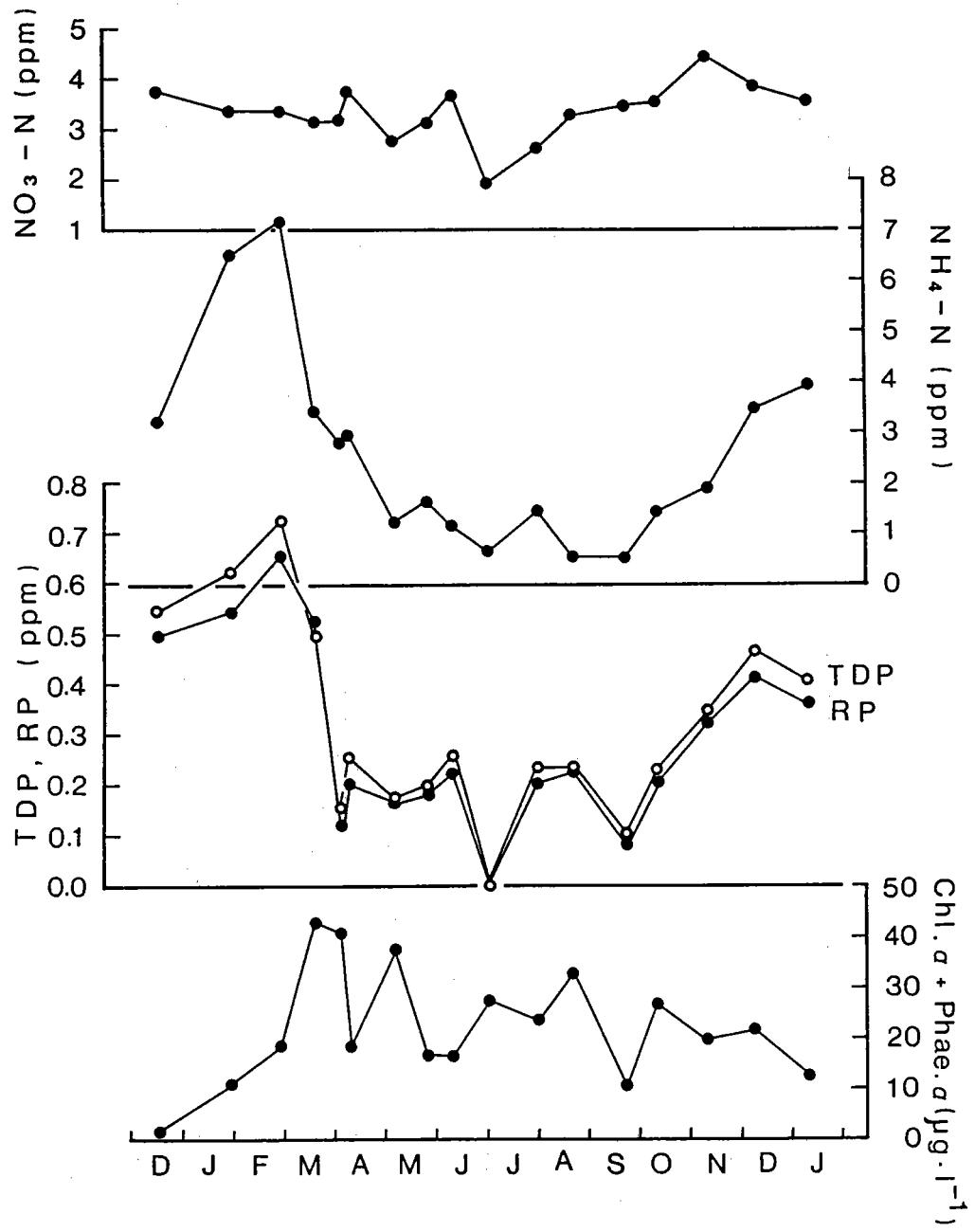


図2 多摩川是政橋下流における NO_3-N , NH_4-N , TDP, RP, Chl.a + Phae.a の変化(1985年12月～1987年1月)

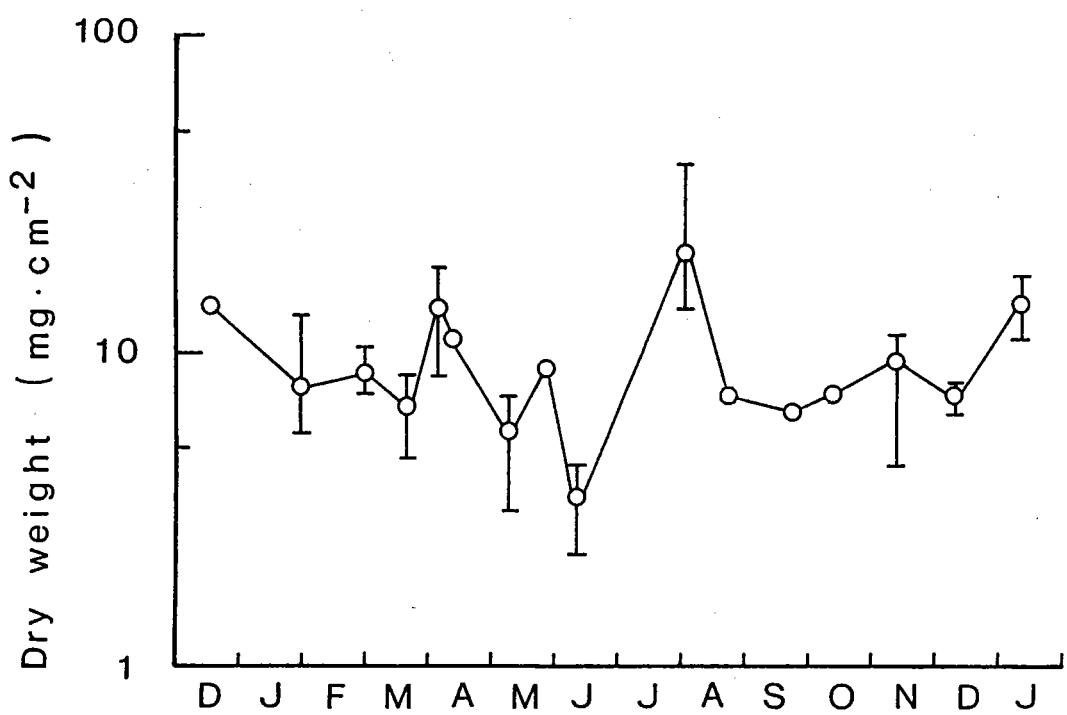


図3 多摩川是政橋下流の河床の石面付着層の乾量の変化
(1985年12月～1987年1月)

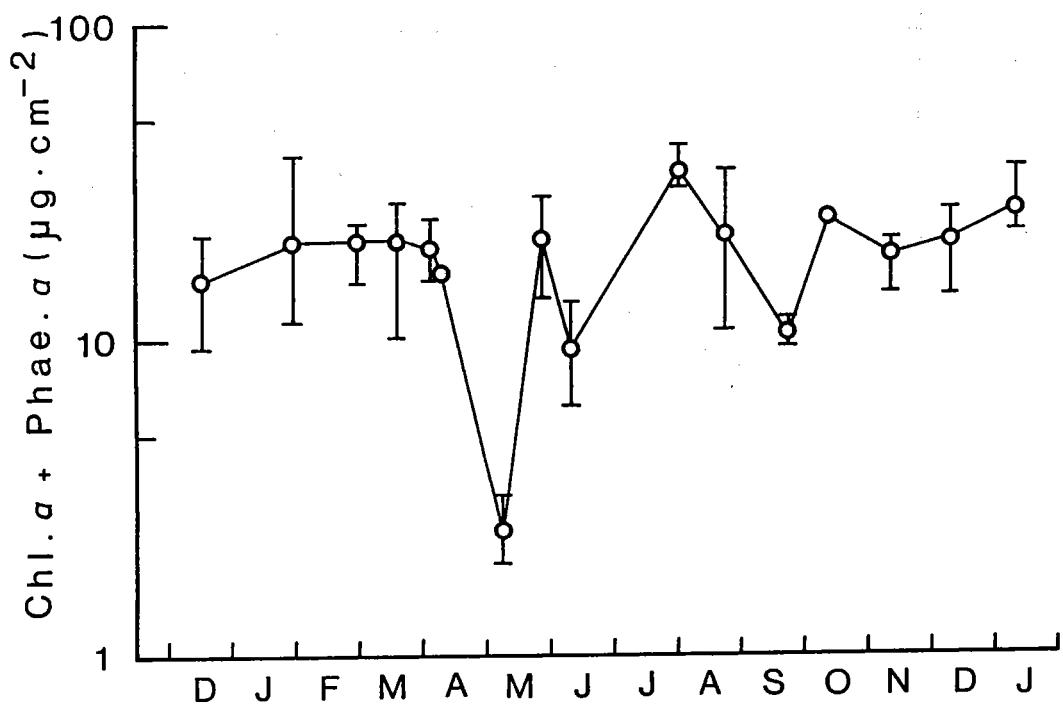


図4 多摩川是政橋下流の河床石面付着層におけるクロロフィル量の変化
(1985年12月～1987年1月)

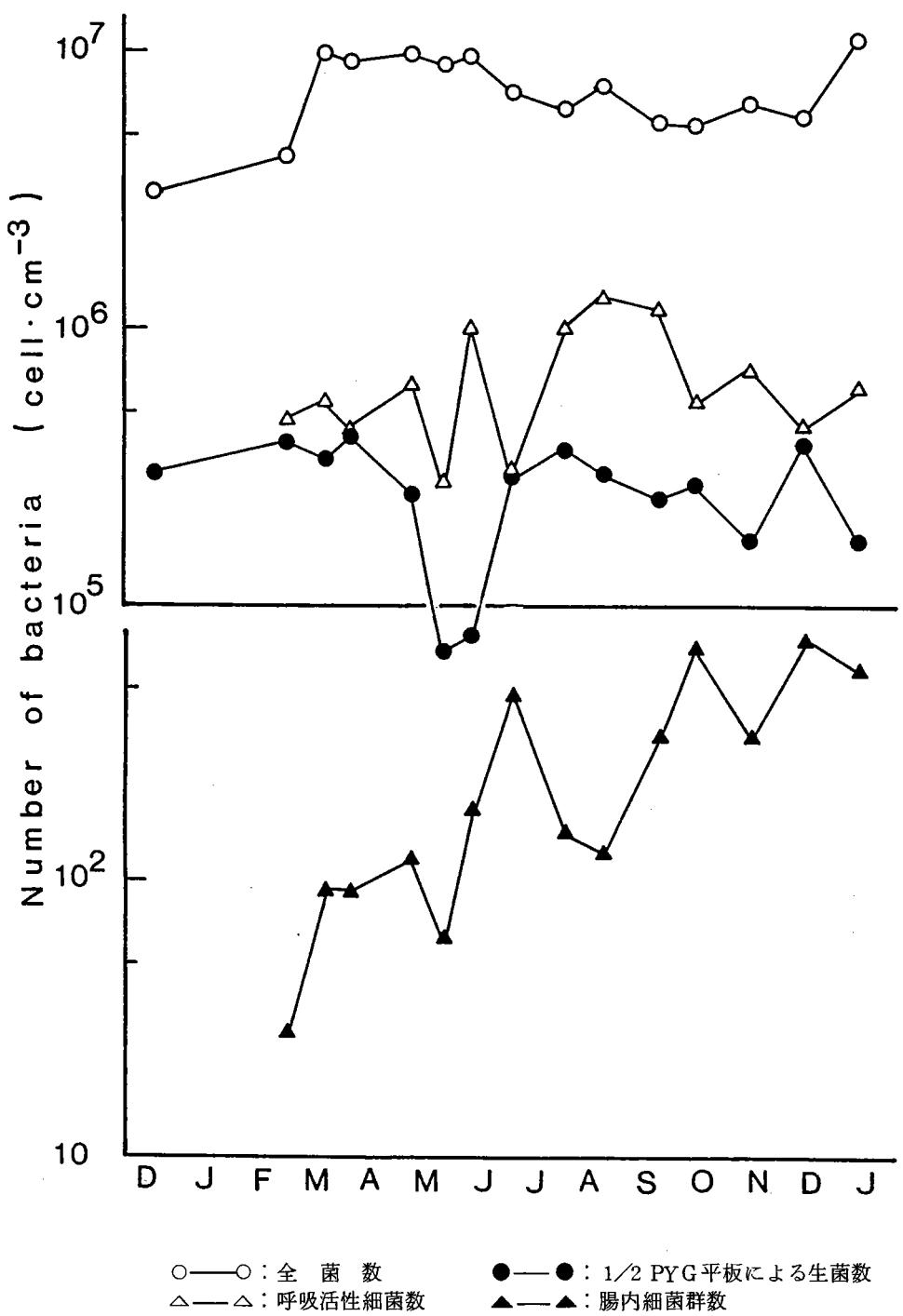
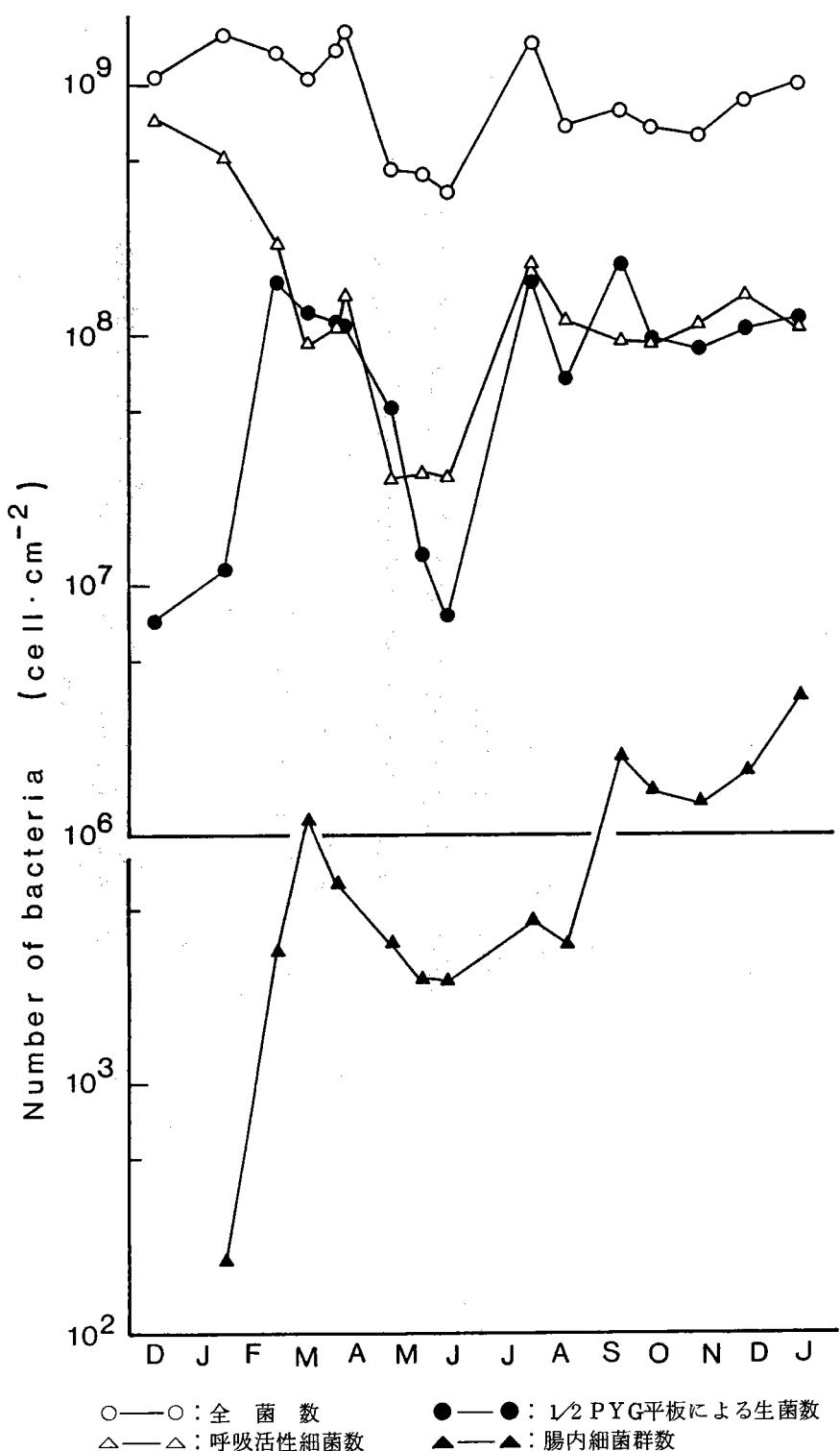


図5 多摩川是政橋下流における表流水中の細菌密度の変化
(1985年12月～1987年1月)



○—○:全菌数 ●—●:1/2 PYG平板による生菌数

△—△:呼吸活性細菌数 ▲—▲:腸内細菌群数

図6 多摩川是政橋下流右岸の河床石面付着層における細菌数の変化

(1985年12月～1987年1月)

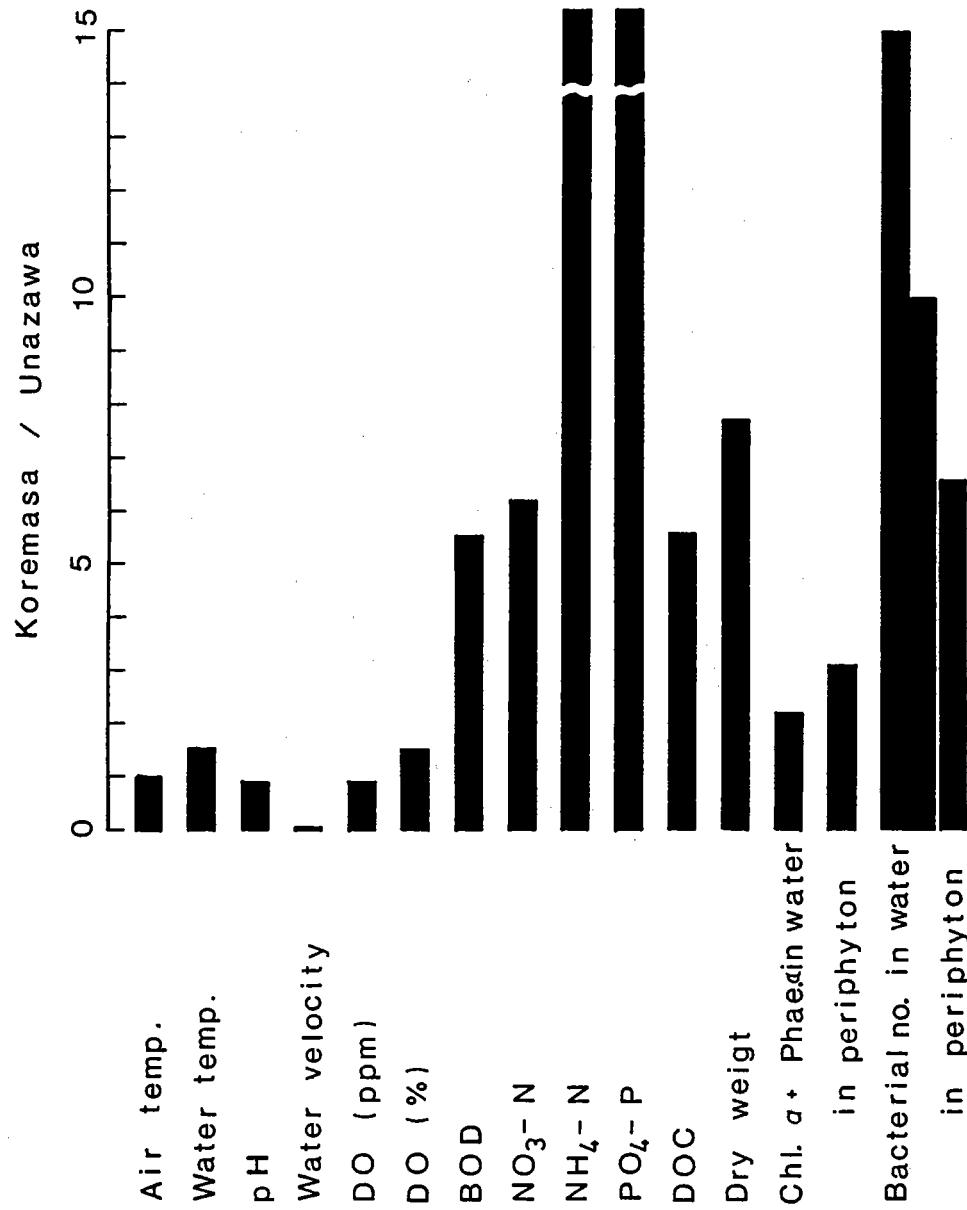


図 7 多摩川海沢地域と是政地域の比較

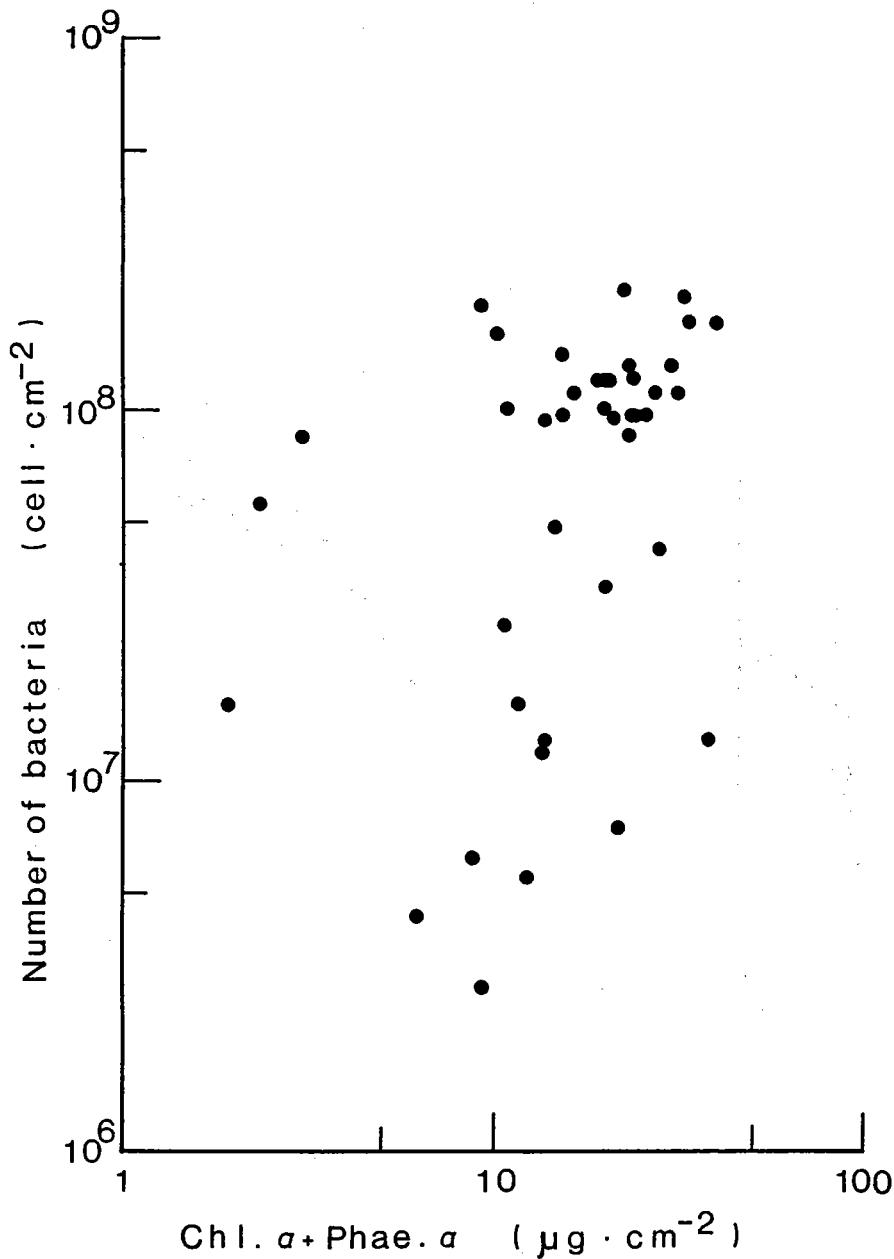


図 8 多摩川是政橋下流における石面付着層のクロロフィル量と細菌数の関係

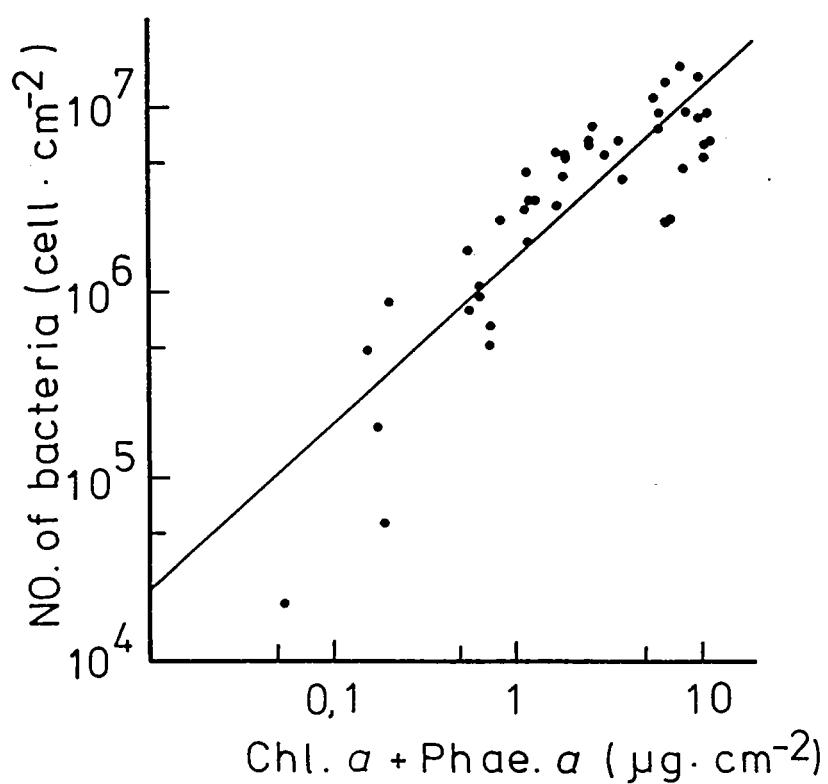


図 10 多摩川における調査地点

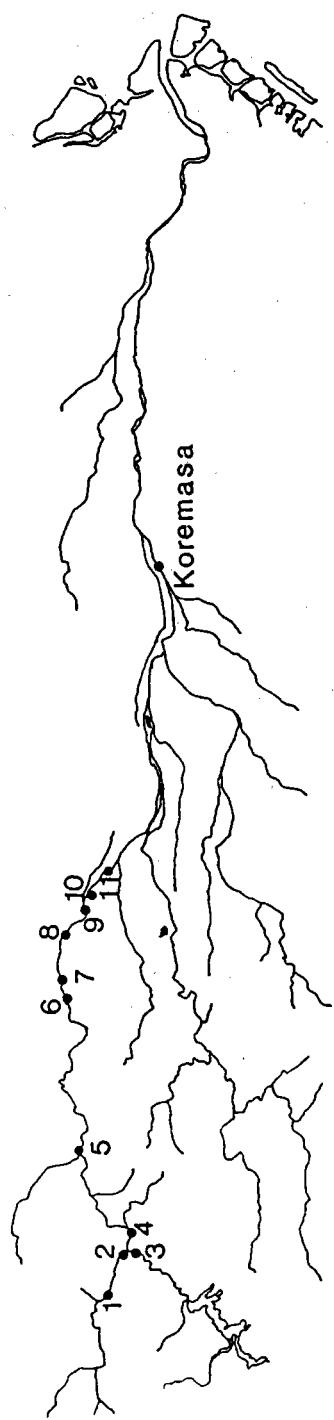


表1 多摩川是政橋下流における石面付着層の
細菌フロラ(1986年4月9日)

Cytophaga	2.3	%
Pseudomonas	1.4	
Pseudomonas(OX-)	3.8	
Xanthomonas	0.5	
Flavobacterium	15.0	
Aeromonas	1.9	
Alcaligenes	0.5	
Enterobacterium	3.3	
Moraxella	5.6	
Acinetobacter	3.8	
Caulobacter	1.9	
Micrococcus	5.6	
Staphylococcus	0.9	
Streptococcus	1.9	
Corynebacterium	2.3	
Arthrobacter	0.9	
Bacillus	8.5	
Lactobacillus	2.8	
Actinomycetales	2.8	
Yeast	4.7	
not identified	16.9	
no growth	8.9	
Moraxella(Fa)	0.9	
Acinetobacter(Fa)	2.8	
Total number	213	
Shannon's index	2.780	

表2 多摩川の11地点における表流水中の呼吸活性細菌数と全菌数

調査地点	水温	pH	DOC·mg C/1	DO · ppm	全菌数 (T)	呼吸活性細菌数 (R)	R/T
1.	17.8	7.5	0.396	8.56	2.0 × 10 ⁵	9.5 × 10 ³	4.75%
2.	18.9	7.6	0.376	8.54	2.6 × 10 ⁵	2.0 × 10 ⁴	7.69
3.	23.5	7.3	0.494	7.89	4.8 × 10 ⁵	3.3 × 10 ⁴	6.88
4.	21.0	7.7	0.894	8.32	3.2 × 10 ⁵	2.4 × 10 ⁴	7.50
5.	15.8	7.4	0.618	9.82	3.5 × 10 ⁵	2.2 × 10 ⁴	6.29
6.	18.0	7.5	0.384	9.14	3.5 × 10 ⁵	9.9 × 10 ³	2.83
7.	18.9	7.8	0.346	9.15	4.5 × 10 ⁵	6.9 × 10 ³	1.53
8.	21.3	7.6	0.421	8.85	5.2 × 10 ⁵	1.1 × 10 ⁴	2.12
9.	21.6	8.0	0.515	8.60	5.1 × 10 ⁵	1.3 × 10 ⁴	2.55
10.	21.8	7.8	0.561	8.36	6.4 × 10 ⁵	1.5 × 10 ⁴	2.34
11.	25.0	7.8	1.074	7.58	1.0 × 10 ⁶	1.3 × 10 ⁵	13.0