

多摩川の表流水および河床付着層に 生息する細菌群集の存在状態の解析

1 9 9 3 年

森 川 和 子

東京農工大学一般教育部助教授

目 次

1. はじめに	1
2. 材料と方法	1
2-1 調査地点	
2-2 試料の採取方法	
2-3 細菌数の計数	
2-4 水質分析	
3. 結果および考察	2
3-1 1991年3月6日の調査結果	
3-2 1991年5月31日の調査結果	
3-3 1992年1月10日の調査結果	
I. 染色技術に関して	
II. 河川の地点による相違	
引用文献	5
表	7
図	12

目 次

1. はじめに	1
2. 材料と方法	1
2-1 調査地点	
2-2 試料の採取方法	
2-3 細菌数の計数	
2-4 水質分析	
3. 結果および考察	2
3-1 1991年3月6日の調査結果	
3-2 1991年5月31日の調査結果	
3-3 1992年1月10日の調査結果	
I. 染色技術に関して	
II. 河川の地点による相違	
引用文献	5
表	7
図	12

1. はじめに

河川に生息している細菌群集が、分裂可能な生きている状態にあるのか、あるいは活性が低い休眠状態あるいは死につつまる状態なのかは、自然界の細菌群集の生態を考える上で重要な問題点の一つである。細菌は形態が単純であるため、形態だけを観察することからその生理状態を推測することは難しい。多くの場合、その生理活性から働きを推測するわけであるが、それがその場の一部の細菌によるものなのか、あるいは群集全体の活性が上がったのかは不明である。

本研究は、多摩川における表流水と河床付着層の細菌群集の動態を、水界の細菌群集の計数にしばしば用いられている(8、9)アクリジンオレンジ染色による染色性の違いをもとに、細菌群集の生理状態から考察しようとしたものである。AO染色粒子の計数に際しては、測定値の客観性を高めるため、画像解析システムの導入を試みた。

2. 材料と方法

2-1 調査地点

本研究期間中に3回の調査を行った。調査地点は図1に記号で示した。第1回は1991年3月6日、多摩川は政橋下流右岸(E)において河川水と河床付着層のサンプルを採取した。第2回は1991年5月31日、日原鍾乳洞上流地点(A)・海沢橋下右岸(B)・御岳橋下流右岸(C)・河辺左岸(D)で同様試料を採取した。第3回は1992年1月10日、氷川大橋上流左岸〔1〕・海沢橋下右岸〔2〕・御岳橋下流左岸〔3〕・和田橋上流右岸〔4〕・河辺左岸〔5〕・羽村堰上流〔6〕の6地点で試料を採取した。

2-2 試料の採取方法

河川水はそのまま滅菌ポリビンに採取した。河床付着層サンプルは $5 \times 5 \text{ cm}^2$ の試料を、前報にしたがって採取した(4)。

2-3 細菌数の計数

・生菌数の測定：1/2PYG寒天平板を用いて、段階希釈をほどこした試料0.1mlを平面塗抹後、20°Cで新たなコロニーが生じなくなるまで培養して得た。詳細は前報に示した(4)。

・染色法による細菌数の計数：生菌数を得た試料10mlにグルタルアルデヒド(25%)0.5mlを加えて固定後、冷蔵庫に保存した。この試料をHOBIEらの方法(2)に従って、アクリジンオレンジ(AO)(0.01%)で染色後、蛍光顕微鏡を用いて計数した。また、蛍光顕微鏡の視野でみられた画像をビデオカメラで取り込み画像解析装置(nexusQube)で解析、計数した。この詳細については陸水学雑誌に報告した(5)。

2 - 4 水質分析

河川水について、水温、pH、DOC、NH₄-N、NO₃-N、NO₂-N、PO₄-P、TPの値を測定した。また、付着層サンプルについては乾重量とクロロフィル量を測定した。測定方法の詳細は前報に示した(4)。

3. 結果および考察

3 - 1 1991年3月6日の調査結果

多摩川中流域是政橋下流右岸において、採取した河床付着層サンプルをもとに画像処理装置(nexusQube)をもちいてAO染色した細菌粒子の計数を試みた。手続きの詳細は陸水学会誌に報告した(5)。これをもとに、河床付着層および河川水の細菌群集の数を計数した結果を表1に示したが、

肉眼で計数した値に対して画像解析による計数値はいずれのサンプルでも約86%であった。画像処理におけるノイズは常に問題となるが、本報の方法は細菌群集を濾過したフィルターの口径から考えて理論上ありえない大きさの粒子のみを棄却して用いた。それにもかかわらず、肉眼の計数値の方が大きな値を示したということは、これまでも述べられているように(10)AO染色によって染色される粒子の中に非細菌性粒子のあることが示唆される。この点については新たな実験計画が立てられる必要がある。

次に、画像処理により測定したAO染色粒子の顕微鏡画面における面積を、段階毎の粒子数分布で図2に示した。図2から明らかなように、河川水を構成するAO染色粒子と、河床付着層を構成するAO染色性粒子の構成に大きな差はみられない。このことから、河川水と河床付着層のAO染色性粒子の構成には相違がないことが明らかである。同様に、AO染色性粒子の最大長、および円にたいする形を表わす形状係数からも、河川水と河床付着層の区別はできなかった。これらの事実が、河川という環境に普遍的なものなのか、あるいは河川の上流域、中流域と言うような地点の差によるものであるのかを明らかにするために、次の調査を行った。

3 - 2 1991年5月31日の調査結果

第1回の調査結果をふまえて、多摩川に流入する日原川鍾乳洞上流(地点A)、海沢橋下右岸(地点B)、御岳橋下流右岸(地点C)、河辺左岸(地点D)の4地点で調査を行った。表2に地点毎の粒子面積を、第1回の調査で得られた是政橋(地点E)の値も加えて示した。なお、日原川のサンプルについては、この画像処理のプログラムでは処理できず、画像処理の限界が示された。すなわちプログラムを開発したサンプルの状態に近い標本の計数は処理できるが、画面の性質が異なると(微細藻類との関係、非細菌性粒子の量など)同一の方法で計数できないことがあることが明らかとなった。

次に、地点毎にAO染色性粒子の中で、赤橙色の占める割合を表3に示した。このデータから明らかなように、河川水と河床付着層の細菌群集はAO染色に関しては、上流域と中流域では異なっ

1. はじめに

河川に生息している細菌群集が、分裂可能な生きている状態にあるのか、あるいは活性が低い休眠状態あるいは死につつまる状態なのかは、自然界の細菌群集の生態を考える上で重要な問題点の一つである。細菌は形態が単純であるため、形態だけを観察することからその生理状態を推測することは難しい。多くの場合、その生理活性から働きを推測するわけであるが、それがその場の一部の細菌によるものなのか、あるいは群集全体の活性が上がったのかは不明である。

本研究は、多摩川における表流水と河床付着層の細菌群集の動態を、水界の細菌群集の計数にしばしば用いられている（8、9）アクリジンオレンジ染色による染色性の違いをもとに、細菌群集の生理状態から考察しようとしたものである。AO染色粒子の計数に際しては、測定値の客観性を高めるため、画像解析システムの導入を試みた。

2. 材料と方法

2-1 調査地点

本研究期間中に3回の調査を行った。調査地点は図1に記号で示した。第1回は1991年3月6日、多摩川は政橋下流右岸（E）において河川水と河床付着層のサンプルを採取した。第2回は1991年5月31日、日原鍾乳洞上流地点（A）・海沢橋下右岸（B）・御岳橋下流右岸（C）・河辺左岸（D）で同様試料を採取した。第3回は1992年1月10日、氷川大橋上流左岸〔1）・海沢橋下右岸〔2）・御岳橋下流左岸〔3）・和田橋上流右岸〔4）・河辺左岸〔5）・羽村堰上流〔6〕の6地点で試料を採取した。

2-2 試料の採取方法

河川水はそのまま滅菌ポリビンに採取した。河床付着層サンプルは5×5 cm²の試料を、前報にしたがって採取した（4）。

2-3 細菌数の計数

・生菌数の測定：1/2 P Y G 寒天平板を用いて、段階希釈をほどこした試料0.1 mlを平面塗抹後、20℃で新たなコロニーが生じなくなるまで培養して得た。詳細は前報に示した（4）。

・染色法による細菌数の計数：生菌数を得た試料10 mlにグルタルアルデヒド（25%）0.5 mlを加えて固定後、冷蔵庫に保存した。この試料をHOBBIEらの方法（2）に従って、アクリジンオレンジ（AO）（0.01%）で染色後、蛍光顕微鏡を用いて計数した。また、蛍光顕微鏡の視野でみられた画像をビデオカメラで取り込み画像解析装置（nexusQube）で解析、計数した。この詳細については陸水学雑誌に報告した（5）。

2 - 4 水質分析

河川水について、水温、pH、DOC、 $\text{NH}_4\text{-N}$ 、 $\text{NO}_3\text{-N}$ 、 $\text{NO}_2\text{-N}$ 、 $\text{PO}_4\text{-P}$ 、TPの値を測定した。また、付着層サンプルについては乾重量とクロロフィル量を測定した。測定方法の詳細は前報に示した(4)。

3. 結果および考察

3 - 1 1991年3月6日の調査結果

多摩川中流域是政橋下流右岸において、採取した河床付着層サンプルをもとに画像処理装置(nexusQube)をもちいてAO染色した細菌粒子の計数を試みた。手続きの詳細は陸水学会誌に報告した(5)。これをもとに、河床付着層および河川水の細菌群集の数を計数した結果を表1に示したが、

肉眼で計数した値に対して画像解析による計数値はいずれのサンプルでも約86%であった。画像処理におけるノイズは常に問題となるが、本報の方法は細菌群集を濾過したフィルターの口径から考えて理論上ありえない大きさの粒子のみを棄却して用いた。それにもかかわらず、肉眼の計数値の方が大きな値を示したということは、これまでも述べられているように(10)AO染色によって染色される粒子の中に非細菌性粒子のあることが示唆される。この点については新たな実験計画が立てられる必要がある。

次に、画像処理により測定したAO染色粒子の顕微鏡画面における面積を、段階毎の粒子数分布で図2に示した。図2から明らかなように、河川水を構成するAO染色粒子と、河床付着層を構成するAO染色性粒子の構成に大きな差はみられない。このことから、河川水と河床付着層のAO染色性粒子の構成には相違がないことが明らかである。同様に、AO染色性粒子の最大長、および円にたいする形を表わす形状係数からも、河川水と河床付着層の区別はできなかった。これらの事実が、河川という環境に普遍的なものなのか、あるいは河川の上流域、中流域と言うような地点の差によるものであるのかを明らかにするために、次の調査を行った。

3 - 2 1991年5月31日の調査結果

第1回の調査結果をふまえて、多摩川に流入する日原川鍾乳洞上流(地点A)、海沢橋下右岸(地点B)、御岳橋下流右岸(地点C)、河辺左岸(地点D)の4地点で調査を行った。表2に地点毎の粒子面積を、第1回の調査で得られた是政橋(地点E)の値も加えて示した。なお、日原川のサンプルについては、この画像処理のプログラムでは処理できず、画像処理の限界が示された。すなわちプログラムを開発したサンプルの状態に近い標本の計数は処理できるが、画面の性質が異なると(微細藻類との関係、非細菌性粒子の量など)同一の方法で計数できないことがあることが明らかとなった。

次に、地点毎にAO染色性粒子の中で、赤橙色の占める割合を表3に示した。このデータから明らかなように、河川水と河床付着層の細菌群集はAO染色に関しては、上流域と中流域では異なっ

おり上流域では河川水に赤橙色の粒子が多く、中流域になると両者の区別がなくなった。この事から、河川水を流れていく細菌群集には、河床付着層の細菌群集が剝離して徐々に混ざっていくことが示唆された。これらの点を明らかにするため次の調査を行った。

3-3 1992年1月10日の調査結果

AO染色をほどこした細菌群集を肉眼で計数する場合、得られたデータの客観性に問題がある(6)。また、多数の試料を処理するには多大の労力を要する。これらの点を改善するため、顕微鏡画像をビデオカメラで取り込み、画像処理技術を用いることによって細菌の計数を行う試みがなされるようになった(7、11、12)。画像処理技術を用いると多くの顕微画像を客観的に計数する事ができ、AO染色の問題点や生物学的意義についての知見が増すことが期待される。1992年1月の調査では、上流の氷川大橋から中流域にいたる6地点における試料をもとに、AO染色の問題点に関する検討を行い、採取地点による細菌群集の相違を検討した。

I. 染色技術に関して

A. フィルターの保存方法の検討

多量の試料を処理する場合、AO染色の保存性が問題になるが、AO染色した試料をフィルターで濾過後、そのまま冷蔵庫で保存して経時的に計数した。結果を赤橙色と緑色の粒子数と粒子面積で表4に示した。フィルターで濾過後2週間にわたり計数したが、その間粒子数も粒子面積にも大きな変動は見られなかった。同様な実験は異なる試料についても行ったが、結果は変わらなかった。このことから、AO染色後濾過したフィルターを冷蔵庫で保存すれば、2週間は数や粒子の大きさに変化がないことが明らかになった。

次に保存方法の一環として、イマージョンオイルの影響を調べた。AO染色をした試料をフィルターで濾過後、イマージョンオイルで封入してスライドガラスに載せたまま保存した結果を表5に示した。11日間保存した場合、粒子数は赤橙色も緑色も大きく減少したが、粒子面積は赤橙色も緑色も大きく増大しており、イマージョンオイルによる影響が示唆された。これは異なる試料についても同様な傾向であり、イマージョンオイルで封入したものを、数日後に計数することは危険であるといえる。

B. 分散に用いるソニック処理の検討

以上の保存方法の検討結果をもとに、付着層サンプルの分散に用いているソニック処理の処理時間の影響について調べた(表6)。その結果、処理時間が増すにつれて、粒子数は赤橙色も緑色も増加した。これに対して、粒子面積は赤橙色も緑色も減少したが、ソニックの影響は特に緑色の粒子に大きく現れていた。

C. 河川サンプルを採取後の保存日数の検討

調査日に直ちに計数を行えない場合、どれくらい保存して良いのかを検討した。河床付着層から採取したサンプルを固定後冷蔵庫で保存して、計数するまでの経過日数と、AO染色粒子数の変動を図3に示した。横軸には保存日数を、縦軸に粒子数をとった。はじめの10日間は、赤橙色も緑色も粒子数の変動は僅かであったが、その後減少し始め、1ヵ月で採取日の約7割になった。しかし、その値は9ヵ月経っても変動しなかった。

サンプルの保存日数の差によるAO染色粒子数の変動を、さらに粒子面積の階級値ごとに見ると(図4)、最初のサンプルには $0.0\text{--}0.1\mu\text{m}^2$ 付近の階級の粒子数が多かったものが、17日以降はこれらの階級の値が減少し、その後このパターンがほぼ維持された。70%の減少の多くの部分は、小さい粒子数の減少によるところが大きいことを示しており、真の細菌数の計数も10ヵ月後でもよいことになる。

II. 河川の地点による相違

A. 採取地点による細菌群集の違いの検討

多摩川上流域による6地点の河川水と河床付着層のAO染色粒子を計数した。表7に示したように、河川水中の赤橙色のAO染色粒子面積は $0.3\mu\text{m}^2$ 前後で、緑色の粒子面積は $0.06\mu\text{m}^2$ 前後であった。これに対して、河床付着層の赤橙色の粒子面積は $0.6\mu\text{m}^2$ 前後で、緑色の粒子面積は $0.12\mu\text{m}^2$ 前後となり、河川水中の粒子の約2倍の大きさであった。すなわち、どちらの色の粒子も付着層の方がより大きな細菌群集から成り立っていたことが明らかである。

B. AO染色粒子と環境要因の関係

1992年1月の調査の6地点の環境要因を図5に示した。水温、PH、DOC、亜硝酸態窒素、硝酸態窒素、アンモニア態窒素、磷の値をppmの単位で示した。これら環境要因と、粒子数との相関係数を表8-1、-2に示した。付着層については、赤橙色の粒子数とDOCの値に有意の相関が認められ、河川水中の緑色の粒子数については、亜硝酸態窒素との間に有意の相関が認められた。同時に測定した生菌数については、付着層でTDPと有意の相関が認められた。

さらに、DOCと粒子面積階級ごとの相関を計算してみると(表9)、付着層の赤橙色の粒子数に関しては、 $0.3\text{--}0.4\mu\text{m}^2$ の階級から $0.8\text{--}0.9\mu\text{m}^2$ の階級で99%以上の確率で有意な相関が認められた。この値は、全赤橙色粒子数との相関よりも高く、これらの階級値の粒子が従属栄養細菌細胞である可能性が高い。同様に粒子の最大長でも $0.75\text{--}1.00\mu\text{m}$ の階級に強い相関が認められた。これに対して、河川水中の赤橙色の粒子数に関しては、有意の相関は示したものはなかった。この結果は、以前に多摩川是政付近で得られた付着層の生菌数と環境要因との関係と一致しており(未発表)、付着層細菌群集はその場の水質の影響を強く受けていることが明らかとなった。

以上、河川のサンプルに関するAO染色の計数を、画像解析装置を用いて行った結果

1. 水界の試料は10ヵ月保存しても約70%の菌数が保たれていること

2. AO染色したフィルターはそのままの状態です2週間は変化しないこと
3. ソニック処理によって緑色の粒子の方が大きな影響を受けること
4. 多摩川上流域においては、河川水中の細菌の方が河床付着層の細菌よりも小さいこと、そして付着層の細菌は、 $0.3\mu\text{m}^2$ 以上の大きさのものが河川水中のDOCの影響を受けていることが明らかになった。この様に、画像処理を行うことによってAO染色粒子の性質がより明らかになり、自然界の細菌群集の計数の内容が一步深められた事になる。しかし、ビデオカメラで画像を取り込むに際して、機械の感度値の差により画像が異なるという大きな問題があった。従って得られた値はあくまでも相対的なものである。

最近、McFETERSら(3)は、大腸菌を用いて培養の時期によりAOの染色性が異なり、対数増殖期の細胞は赤橙色に、定常期の細胞は緑色に染色されること、しかしこれは大腸菌を培養する培養基組成により異なり、栄養倍地で培養すると培養時期に応じて赤橙色から緑色に変化するが、合成培地による培養では赤橙色のままであること、定常期に緑色になったものを同じ条件で植え継ぐと緑色であるが、ミリQ水に植え継ぐと6分後から赤橙色の細胞が増えてくること等、大腸菌の純粋培養におけるAO染色性の違いが培養時期、培養条件により異なることを報告している。従って、今回得られたこのような赤橙色と緑色の差は、DALEYら(1)が述べたように単純に細菌の生理状態を反映しているとは言えない。当初目的とした細菌群集の存在状態をこれだけで云々する事はできないが、固定法や染色法など条件を一定にするならば、自然界に生息している細菌群集をこのような方法で観察計数することによって、生息環境との関連の一面を明らかにできる可能性があると考えられる。また、画像処理を行うことによって、計数値の客観性が増し、細菌と非生物の粒子をこの計測値をもとに分別することが一部可能になった。今後さらにデータの蓄積が必要であろう。

引用文献

1. DALEY, R. J., and J. E. HOBBIE(1975): Direct counts of aquatic (bacteria by a modified) epifluorescence technique. *Limnol. Oceanogr.*, 20: 875-882.
2. HOBBIE, J. E., R. J. DALEY, and S. JASPER(1977): Use of nuclepore filters for counting bacteria by fluorescence microscopy. *Appl. Environ. Microbiol.*, 33(5): 1225-1228.
3. McFETERS, G. A., A. SINGH, S. BYUN, P. R. CALLIS, and S. WILLIAMS(1991): Acridine orange staining reaction as an index of physiological activity in *Escherichia coli*. *J. Microbiol. Methods*. 13:87-97.
4. 森川和子(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。陸水学雑誌、45(1):69-78.

5. 森川和子、杉立年弘 (1992):画像解析システムを用いたアクリジンオレンジ染色による河川細菌群集の計数。陸水学雑誌、53(2):167-172.
6. NAGATA, T., T.SOMEYA, T.KONDA, T.YAMAMOTO, K.MORIKAWA, M.FUKUI, N.KURODA, K.TAKAHASHI, S.OH, M.MORI, S.ARAKI, and K.KATO(1989): Intercalibration of the acridine orange direct count method of aquatic bacteria. Bull. Jpn. Soc. Microb. Ecol., 4(2):89-99.
7. 岡野正豪、都城幹典、齊藤元也 (1990):画像処理による土壤中の微生物の識別。土と微生物、35:35-37.
8. OSGOOD, P.M., and C.W.BOYLEN(1990): Seasonal variations in bacterial communities in Adirondack Streams exhibiting pH gradients. Microb. Ecol., 20:211-230.
9. PEDERSON, K., and S.EKENDAHL(1990): Distribution and activity of bacteria in deep granitic groundwaters of Southeastern Sweden. Microb. Ecol., 20:37-52.
10. PORTER, K.G., and Y.S. FEIG(1980): The use of DAPI for identifying and counting aquatic microflora. Limnol. Oceanogr., 25(5):943-948.
11. SIERACKI, M.E., P.W. JOHNSON, and J.M. SIEBURTH (1985): Detection, enumeration, and sizing of planktonic bacteria by image-analyzed epifluorescence microscopy. Appl. Environ. Microbiol. 49(4):799-810.
12. SINGH, A., F.YU, and G.A.McFETERS(1990): Rapid detection of chlorine-induced bacterial injury by the direct viable count method using image analysis. Appl. Environ. Microbiol. 56(2):389-394.

表1 画像処理による計数値と肉眼による計数値の比較

	河川水	付着層 1	付着層 2
肉眼	880	1035	1194
画像処理	745(84.7%)	898(86.8%)	1029(86.2%)

表2 地点ごとの粒子の面積

	菌数	河川水		付着層	
		R	G	R	G
海沢	3.4×10^6	0.154	0.035	0.554	0.091
御岳	4.0×10^6	0.176	0.044	0.542	0.048
河辺	(1.2×10^6)	0.409	0.122	0.459	0.051
是政	1.9×10^7	0.592	0.115	0.562	0.123

表3 地点によるAO染色粒子中のRの割合 R/(R+G)%

	河川水	付着層
海沢(B)	62.3	30.5
御岳(C)	41.3	31.5
河辺(D)	59.7	32.3
是政(E)	42.9	44.7

表4 AO染色した試料を濾過後、フィルター(0.2 μm nuclepore)をそのまま冷蔵庫で保存した結果

保存日数	R	粒子数			面積 (μm^2)	
		G	R / (R+G)	R	G	
S 1	1 day	78.6	10.8	87.9%	0.676	0.145
	3	95.5	17.6	84.4	0.623	0.127
	7	85.9	13.0	86.9	0.635	0.116
	14	90.3	6.5	93.3	0.683	0.135
S 2	0	127.1	29.7	81.1	0.632	0.128
	1	129.6	12.3	91.3	0.666	0.138
	3	149.3	19.2	88.6	0.658	0.106
	7	131.8	14.1	90.3	0.654	0.138
	14	128.2	10.9	92.2	0.695	0.122

表5 AO染色を施した試料をフィルター(0.2 μm nuclepore)濾過後イマージョンオイルで封入して保存した結果

保存日数		粒子数			面積 (μm^2)	
		R	G	R / (R+G)	R	G
S1	0 day	203.9	49.4	80.5%	0.189	0.063
	11	55.0	24.2	69.4	0.489	0.096
S2	0	133.7	46.7	74.1	0.254	0.060
	12	109.5	9.13	92.3	0.387	-

表6 AO染色粒子数に及ぼすソニック処理時間の影響

処理時間	粒子数			面積 (μm^2)	
	R	G	R / (R+G)	R	G
0min	81.5	3.22	96.2%	0.723	0.300
1	93.8	4.38	95.5	0.689	0.127
2	97.1	4.56	95.5	0.626	0.125
3	107.4	3.25	97.1	0.589	0.084
5	113.8	6.00	95.0	0.586	0.055

表7 多摩川上流域における調査地点毎の河川水および河床付着層のAO染色粒子面積の平均値 (μm^2)

調査地点	河川水		付着層	
	R	G	R	G
1	0.353	0.055	0.632	0.171
2	0.330	0.056	0.758	0.130
3	0.347	0.096	0.523	0.111
4	0.336	0.059	0.567	0.115
5	0.189	0.063	0.587	0.116
6	0.254	0.060	-	-

表 8 - 1 環境要因と河床付着層の菌数との相関

	R	G	R + G	生菌数
WT	-0.213	-0.215	-0.218	0.034
pH	0.065	-0.404	0.016	0.015
DOC	0.953*	0.828	0.959*	0.898
NO2-N	0.145	0.006	0.133	0.196
NO3-N	-0.284	-0.767	-0.341	-0.556
NH4-N	-0.445	-0.720	-0.483	-0.749
PO4-P	0.207	0.645	0.258	0.626
TDP	0.513	0.675	0.540	0.941*

表 8 - 2 環境要因と河川水中の菌数との相関

	R	G	R + G	生菌数
WT	0.805	0.285	0.743	-0.444
pH	0.715	0.582	0.729	-0.116
DOC	-0.025	-0.031	-0.028	0.157
NO2-N	0.455	0.955**	0.588	-0.432
NO3-N	0.560	0.375	0.554	-0.406
NH4-N	0.241	0.544	0.319	-0.594
PO4-P	-0.491	-0.164	-0.450	0.662
TDP	-0.007	0.365	0.071	0.474

表9 DOCとAO染色で赤橙色を示した粒子との区分毎の相関係数

	付着層の粒子数 とDOC	河川水中の粒子数 とDOC
RA 0.0-0.1	0.855	0.477
RA 0.1-0.2	0.906	-0.127
RA 0.2-0.3	0.913	-0.530
RA 0.3-0.4	0.978**	-0.498
RA 0.4-0.5	0.978**	-0.714
RA 0.5-0.6	0.973**	-0.491
RA 0.6-0.7	0.965**	-0.541
RA 0.7-0.8	0.970**	-0.634
RA 0.8-0.9	0.961**	-0.638
RA 0.9-1.0	0.926	-0.503
RA 1.0-1.1	0.978**	-0.818
RA 1.1-1.2	0.878	-0.480
RA 1.2-1.3	0.938*	-0.426
RA 1.3-1.4	0.964**	-0.812
RA 1.4-1.5	0.908	-0.759
RA 1.5-1.6	0.891	-0.589
RA 1.6-1.7	0.861	-0.661
RA 1.7-1.8	0.959*	0.629
RA 1.8-1.9	0.940*	-0.629
RA 1.9-2.0	0.824	-0.984
RL 0.00-0.25	0.849	0.478
RL 0.25-0.50	0.881	0.309
RL 0.50-0.75	0.915	-0.368
RL 0.75-1.00	0.973**	-0.578
RL 1.00-1.25	0.967**	-0.496
RL 1.25-1.50	0.972**	-0.849

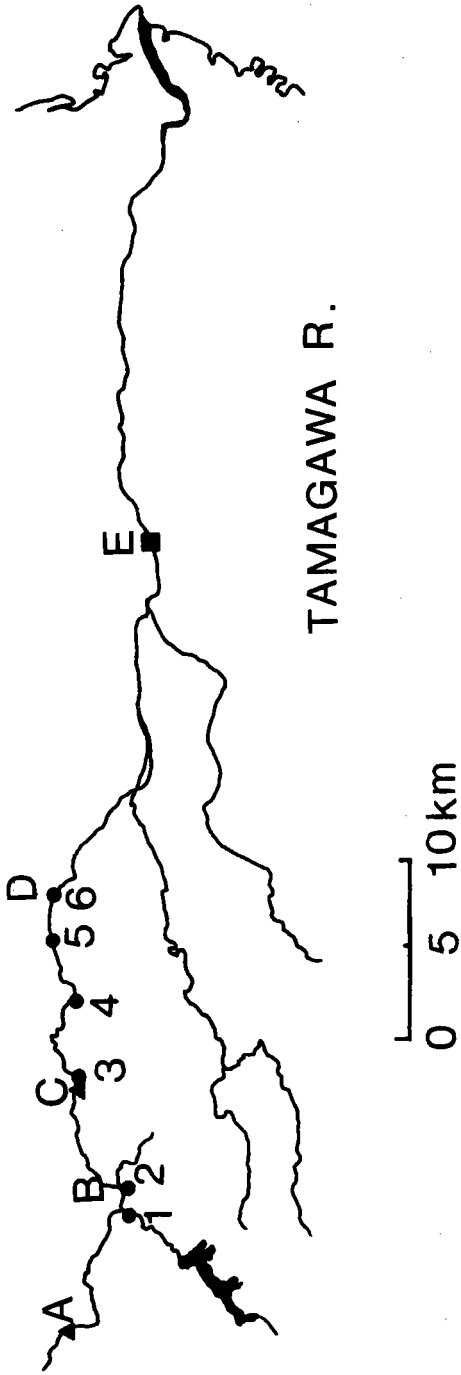


図1 多摩川における調査地点

a : 河川水

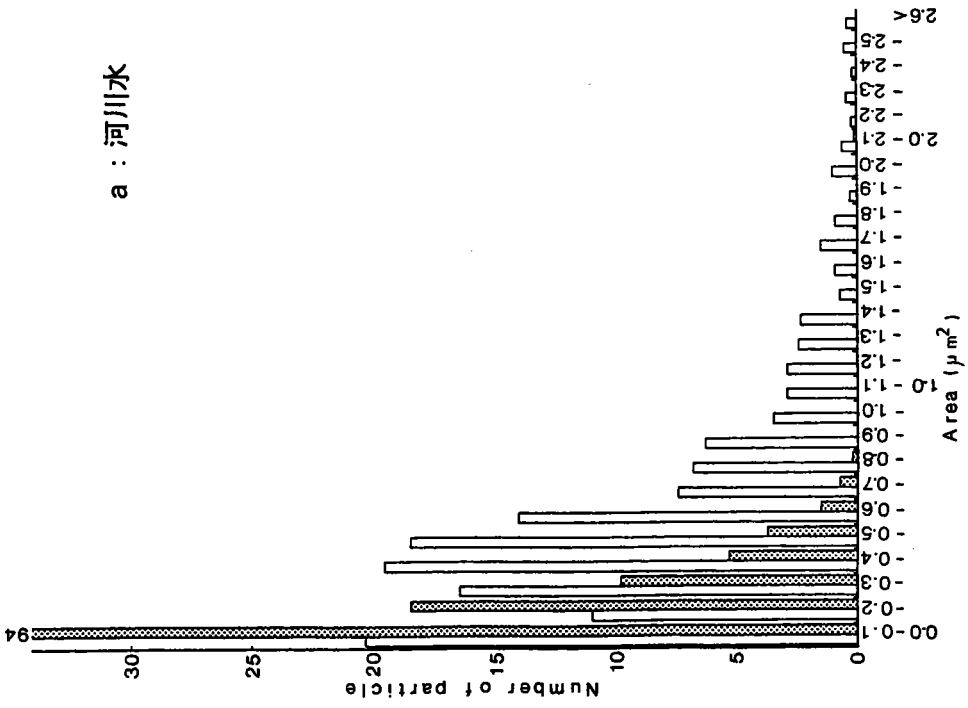


図2 画像処理により測定したアクリリジン染色粒子の顕微鏡画面における粒子面積

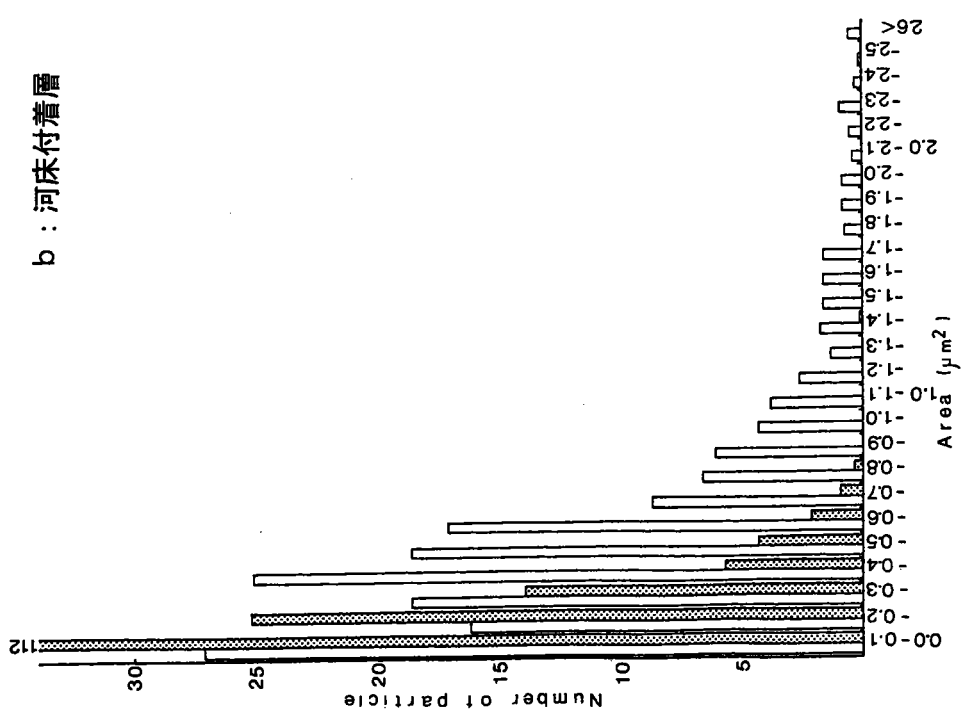
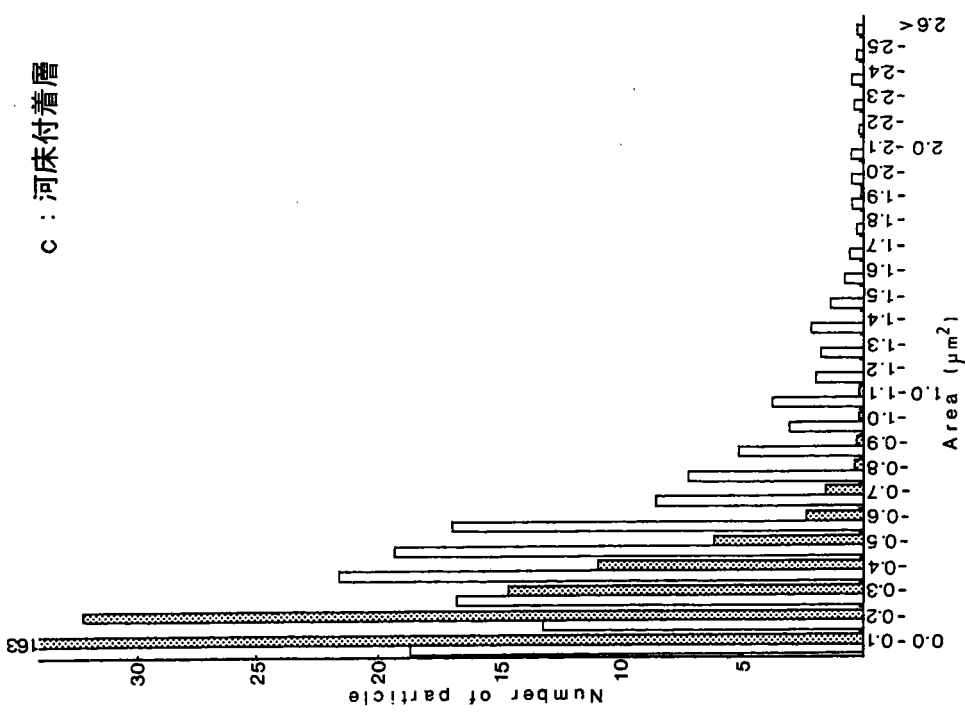


図 2 画像処理により測定したアクリジンオン染色粒子の顕微鏡画面における粒子面積

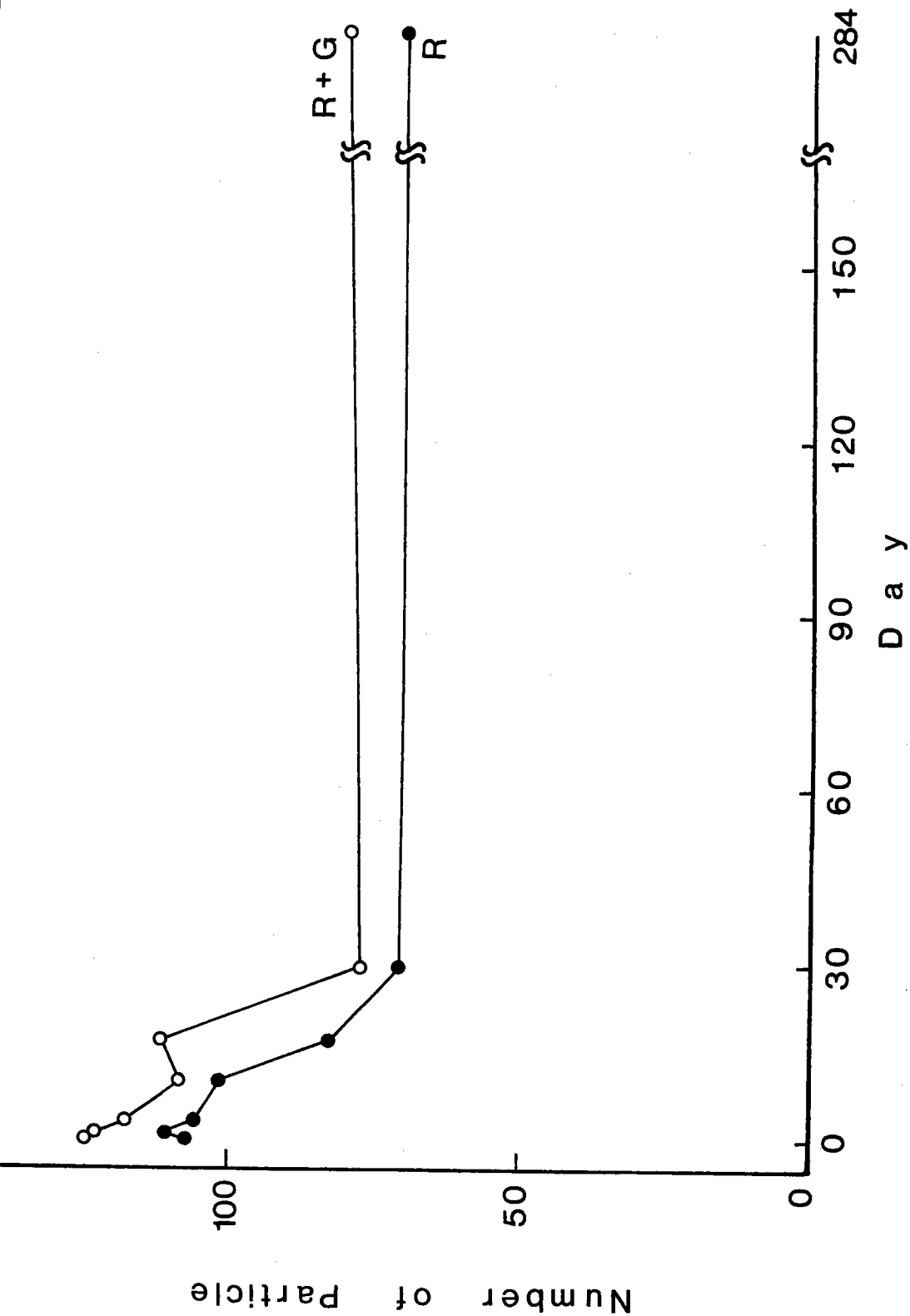


図3 試料を計数するまでの経過日数とアクリジンオンレンジ染色粒子数

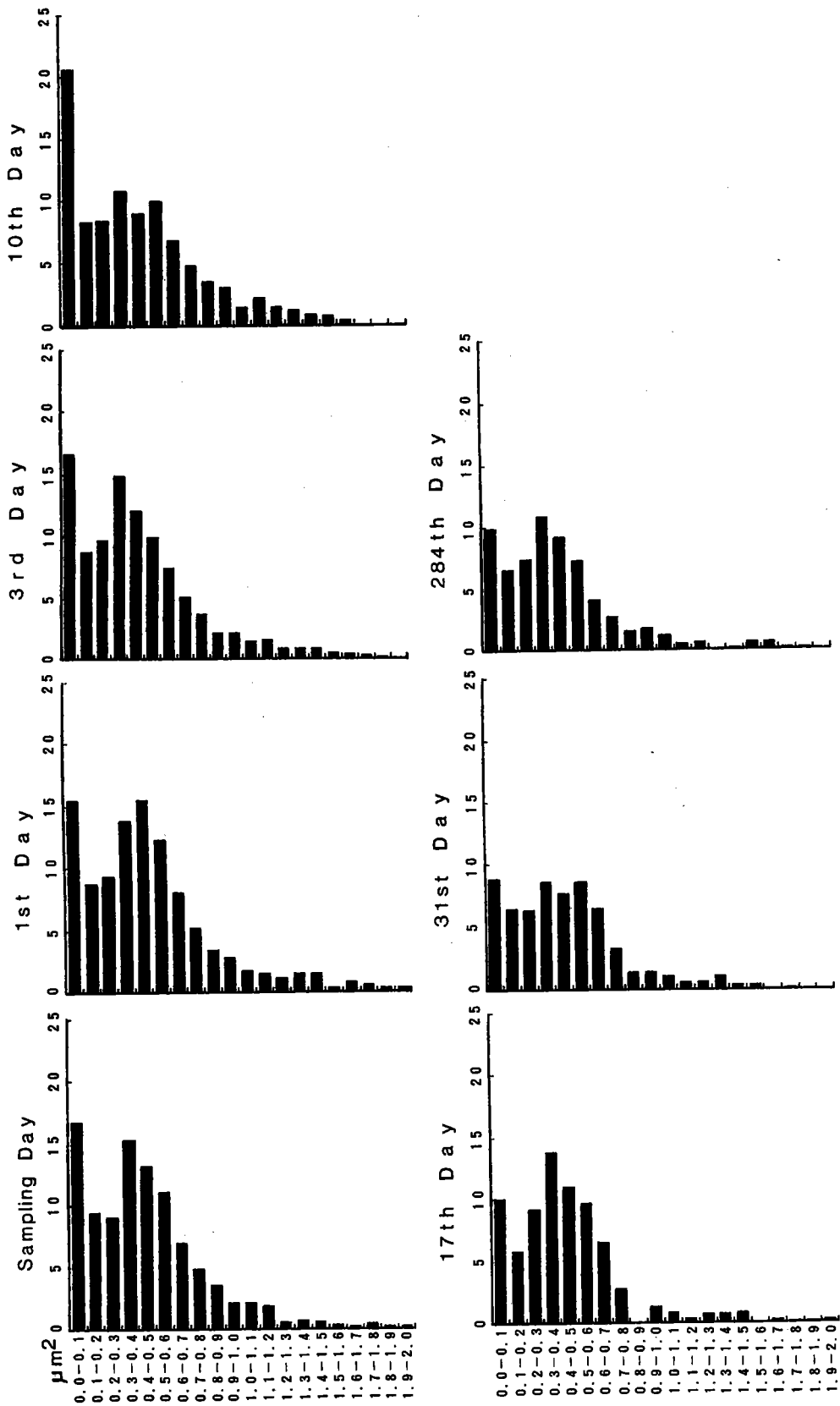


図4 河床付着層から採取したサンプルを固定後冷蔵庫で保存して
計数するまでの時間の差によるAOC染色粒子面積の頻度分布

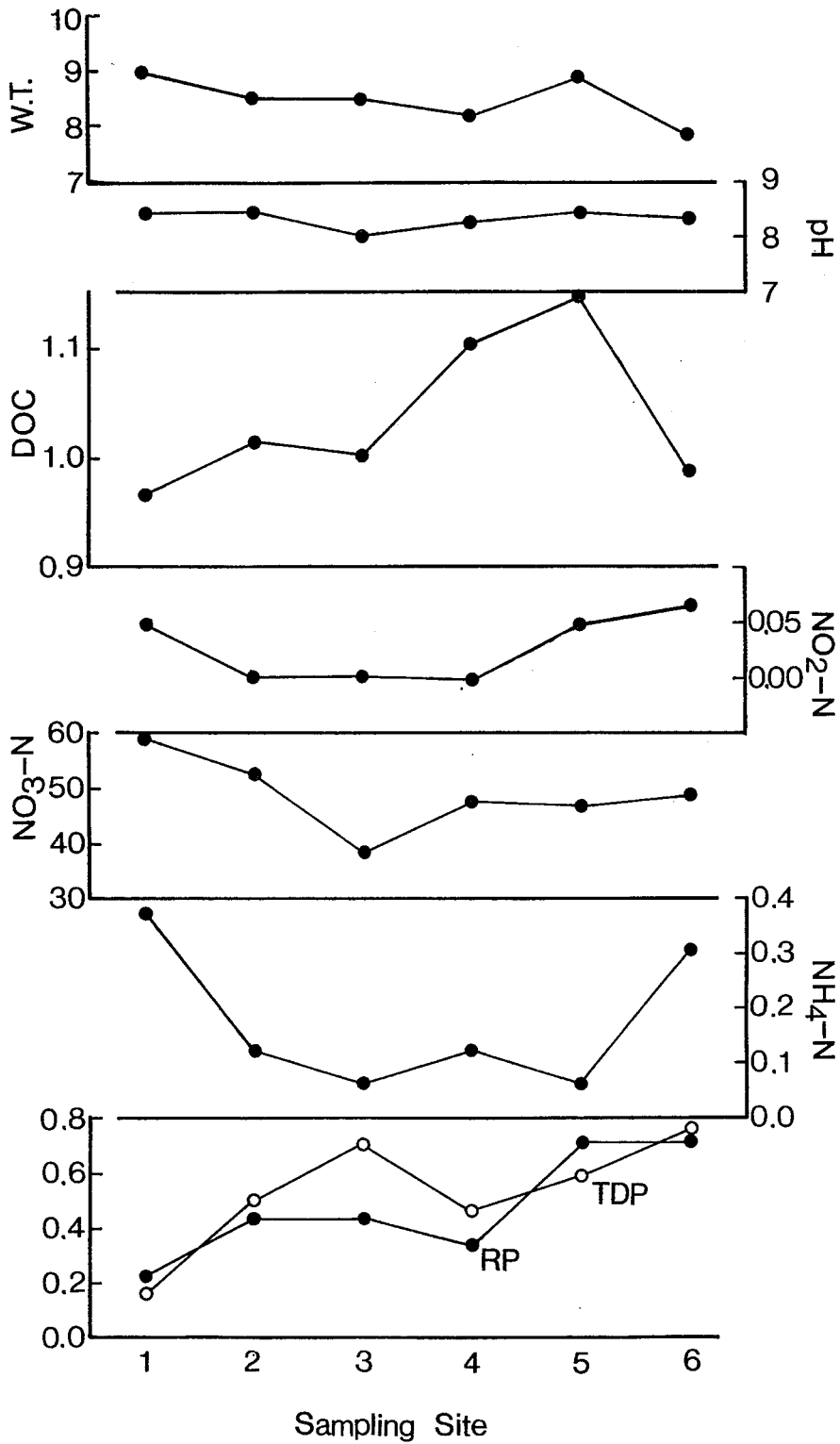


図5 1992年1月の調査における各地点の環境要因 (ppm)