

# 走査電子顕微鏡による付着性微生物群集の発達の観察

石 田 典 子

## Community Development of Periphyton Studied by Scanning Electron Microscopy

Noriko ISHIDA

### Abstract

Microbial succession in periphyton community on artificial substrata immersed in the heavily polluted region of Tenpakugawa River was observed by using a scanning electron microscopy.

Bacteria and fungi settled on the plate soon after immersion, and pennate diatoms were found after a few days. *Nitzschia palea*, which lay horizontally on the plate, was the dominant species in the early stage of the succession, whereas *Gomphonema angustatum*, which formed the dendritic colony, appeared late. Successive colonization by *Nitzschia palea* was found on the dendritic colonial form of *Gomphonema*, and finally *Stigeoclonium lubricum*, filamentous green alga, achieved its dominance. This stratified structure seems to allow the high density of microorganisms in a thin layer.

### はじめに

都市河川の河床に発達する付着物は、その中に細菌、菌類、藻類及び原生動物などを多量に含んでいる。そのような付着性微生物群集はかなり短時間で増殖、剝離をくりかえすことが知られており<sup>1)</sup>、動的な状態にあると考えられるが、その構造の経時的变化に関する報告は比較的少ない。

走査電子顕微鏡は、内部をかく乱することなく、微細な表面構造を観察することができるため、近年様々な基質の付着性微生物の観察に利用されている。<sup>2)~5)</sup>

本研究では、走査電子顕微鏡を用いて、河川水中に浸漬した人工基層上の付着物の発達過程を連続して観察し、付着性微生物群集の動態について調べた。

### 方 法

観察には、表面をやすりでけずった塩ビ板(6×1.5 cm)上に発達した付着物を試料として用いた。塩ビ板はブロックに固定したステンレススチール製の枠にはめこみ、1984年5月中旬から6月中旬にかけて名古屋市東部の天白川中流域に浸漬した。塩ビ板は2日ないし3日おきに

回収し、小片に切断した。

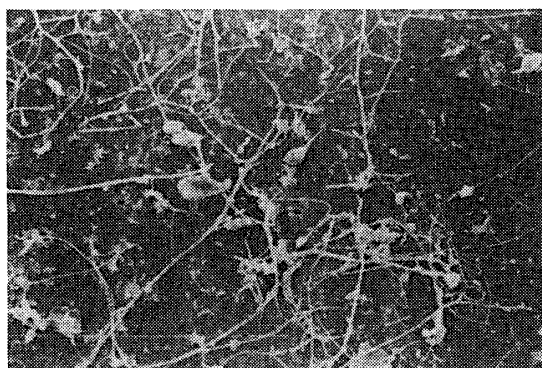
走査電子顕微鏡による観察のための試料は、Peal and Shimpの方法<sup>6)</sup>にほぼ従って作製した。固定は、塩ビ板のまま、2%グルタルアルデヒド溶液(0.1 M カコジル酸緩衝液)中で行った。純水で洗浄後、エチルアルコール系列(10, 25, 50, 70 およびほぼ100%溶液)にそれぞれ10分間ずつ浸して脱水した。つぎにアミルアセテートに2ないし3時間浸して置換し、そののち臨界点乾燥装置(日立 HCP-2)を用いて乾燥した。乾燥した試料は、試料台に両面テープで固定し、金を蒸着した。観察は、明石 ALPHA 9 走査電子顕微鏡を用いて行った。

なお、珪藻の種は、試料の1部を酸処理して作製した標本を用い、光学顕微鏡下で検鏡して同定した。

## 結 果

浸漬後2日目の塩ビ板の裏面には、細菌及び菌類の定着が認められた。(Fig. 1 a) 裏面には、浸漬時間の経過に従って、細菌や菌類が著しく増殖した。(Fig. 1 b)

塩ビ板の表面には、浸漬後直ちにデトリタスが集積し、細菌や菌類の定着が認められるほか、珪藻の付着も早くから確認された。(Fig. 2 a) 浸漬後4日目には、Fig. 2 b)に示すように、珪藻が多数認められた。この時の珪藻の優占種は *Nitzschia palea* であり、基層表面に水平に横たわる状態で付着している。浸漬後8日目から10日目にかけて、柄を持ち樹枝状の群落を形成する *Gomphonema angustatum* が著しく増殖し、優占種の交代がおこった。Fig. 2 c)は、10日目の状態を示す。この時は *Gomphonema angustatum* が優占しているが、その群落の下部には直立して付着する *Nitzschia palea* など他の珪藻が同時にみられ、層状の構造が認められる。またこの時には一部分で緑藻の *Stigeoclonium lubricum* の侵入が認められた。12日目の状態を Fig. 2 d)に示す。 *Stigeoclonium lubricum* の増殖に従い、その糸状体によって珪藻群落が被覆される様子が観察される。こののち降雨による増水の影響で、付着物に剥離がおこり、14日目にはほとんど *Stigeoclonium lubricum* の群落はみられなかった。この時には Fig. 2 e)にみられるような密な樹枝状の群落を形成している *Gomphonema angustatum* が優占していた。またこの時の群落には、10日目群落にくらべて、他種の珪藻や細菌などの付着がめだった。21日目の状態を Fig. 2 f)に示す。 *Stigeoclonium lubricum* の糸状体には多量の細菌が付着し、また菌類も豊富に認められた。若い段階の *Stigeoclonium lubricum* の糸状体には細菌の付着があ



a) After 2 days of immersion. (×1000)

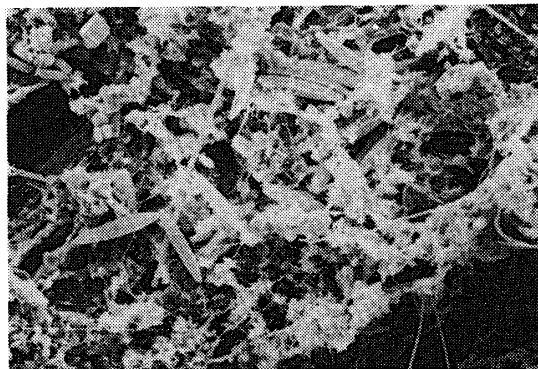


b) After 12 days of immersion. (×1000)

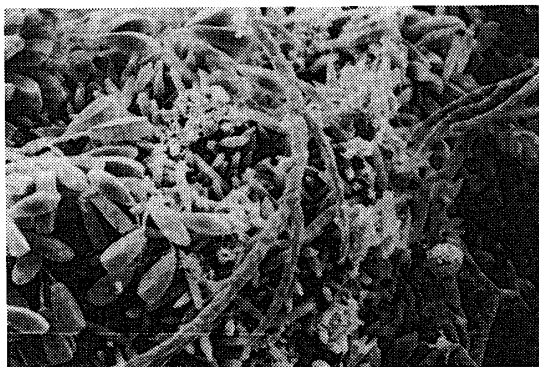
Fig. 1 Colonization of bacteria and fungi on the under surface of artificial substrata.



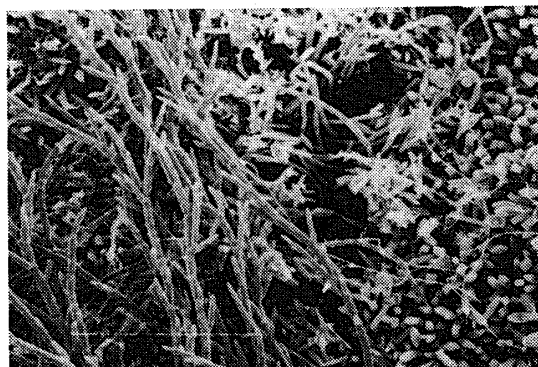
a) Adhesion of detritus and pennate diatoms.  
After 2 days of immersion. ( $\times 1000$ )



b) Colonization by *Nitzschia palea* lying horizontally among the detritus.  
After 4 days of immersion. ( $\times 1000$ )



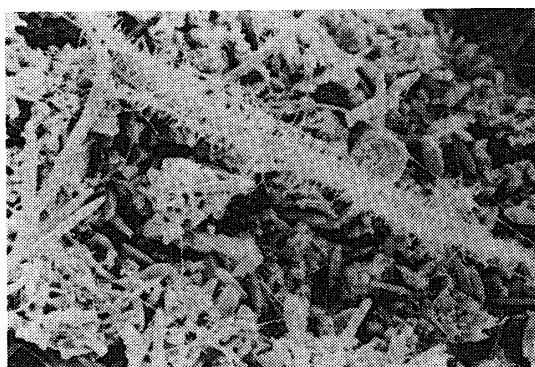
c) Dendritic colonial form of *Gomphonema angustatum* appeared late in the sequence of diatoms colonization.  
After 10 days of immersion. ( $\times 700$ )



d) Colonization by filamentous green alga, *Stigeoclonium lubricum*.  
After 12 days of immersion. ( $\times 400$ )



e) Dendritic colonial form of *Gomphonema angustatum* after the exfoliation of periphyton.  
After 14 days of immersion. ( $\times 1000$ )



f) Epiphytic bacteria increased with time of immersion, and flat-lying diatoms were found on the dendritic colonies.  
After 21 days of immersion. ( $\times 700$ )

Fig. 2 Community development on the upper surface of artificial substrata.

まり見られないことから、この種類の細菌は細胞の老化に関係して増殖するものと考えられる。Fig. 2 f)にみられるように、*Gomphonema angustatum* の樹枝状の群落の上には水平に付着する珪藻が認められた。この時には、*Nitzschia palea* と *Navicula minuscula* が比較的多く出現していた。こののち再び増水の影響により付着物の剥離がおこると、Fig. 2 e)にみられるような *Gomphonema angustatum* の群落があらわれ、部分的に *Stigeoclonium lubricum* の群落が剥離したと思われる跡がみられた。さらに浸漬時間の経過に従って Fig. 2 f)に近い状態が観察された。

## 考 察

Paul<sup>7)</sup>は初期の細菌の定着は続いておこる生物のためには必ずしも必要ではないことを観察している。一方、Jordan と Staley<sup>8)</sup>は、細菌は付着性微生物群集の遷移初期の主な構成者であることを、また相崎<sup>9)</sup>は、河川の付着膜はある程度細菌が付着したのち藻類や原生動物が増殖を始めて形成されていくことを、報告している。本研究の結果からも細菌や菌類が初期に多量に付着してくることが確認された。また、基層表面に浸漬後直ちに顕著なデトリタスの集積がみられ同時に珪藻の定着も認められることから、有機汚濁の進んでいる河川では豊富な懸濁物の堆積の影響で初期の付着膜形成が極めて速やかに進むものと考えられる。

Hudon と Bourget<sup>4)</sup>は下干潮帯に設置したプラスチックパネル上の付着珪藻群集の長時間にわたる遷移について、優占種が初期の水平状態で付着するものから、密度が高くなると直立状態で付着するものへと時間とともに変わることを見出し、後者は光及び限定された空間の利用に適していることを指適している。また、Cundell と Mitchell<sup>3)</sup>も浸漬した木材に付着する藻類群集について同様な遷移が認められることを報告している。天白川の付着性微生物群集の付着過程についての先の報告<sup>10)</sup>でも、*Nitzschia palea*, *Gomphonema angustatum* そして *Stigeoclonium lubricum* という優占種の交代が認められており、今回の結果にみられたような遷移がこの河川系においてはくりかえしおこっていると考えられる。珪藻優占種が水平に付着するものから直立するもの、ついで柄を持ち上方へ展開する群落を形成するものへと移り、さらに糸状の藻類が優占する現象は、付着性微生物群集の遷移が空間及び光の利用という物理的要因に基本的に影響されることを示唆するものと考えられる。

走査電子顕微鏡のための試料中には原生動物などの小動物はみられなかったが、採集直後の未固定の試料中では繊毛虫類、輪虫類、イトミミズ及び小型のユスリカなどが認められる。これらの小動物は試料作製中及び観察の際に破壊されたものと考えられる。

走査電子顕微鏡は観察可能な倍率の幅が広く、また立体構造をそのまま観察できることから、微生物生態学的研究等において有効な手段を与えると考えられる。

## 摘 要

走査電子顕微鏡を用いて、天白川の汚濁の進んだ流域に浸漬した人工基層上に発達する付着性微生物群集の遷移を観察した。

細菌及び菌類は浸漬後直ちに基層に付着し、また羽状型の珪藻がかなり初期から認められた。基層表面に水平に横たわって付着する *Nitzschia palea* が遷移の初期に優先するが、層の発達に伴って樹枝状の群落を形成する *Gomphonema angustatum* が優先した。さらに時間の経過に従って、樹枝状の群落の上に水平に付着する珪藻が認められる。最終的には糸状の緑藻 *Stigeoclonium lubricum* が優占した。

このような層状構造によって高密度な微生物群集が薄い層の中に維持されると考えられる。

#### 参 考 文 献

- 1) Aizaki, M. : Jap. J. Ecol., 28, 123~134 (1978)
- 2) 相崎守弘 : 用水と廃水, 19, 41~45 (1977)
- 3) Cundell, A.M. and R. Mitchell : Int. Biodeterior. Bull., 13, 67~73 (1977)
- 4) Hudon, C. and E. Bourget : Can. J. Fish. Aquat. Sci., 38, 1371~1384 (1981)
- 5) Sieburth, J.M. and C.D. Thomas : J. Phycol., 9, 46~50 (1973)
- 6) Paerl, H.W. and S.L. Shimp : Limnol. Oceanogr., 18, 802~805 (1973)
- 7) Paul, Jr., R.W. et al. : Trans. Amer. Micros. Soc., 96, 506~519 (1977)
- 8) Jordan, T.L. and J.T. Staley : Microbial. Ecol., 2, 241~251 (1976)
- 9) 相崎守弘 : 陸水雑, 41, 225~234 (1980)
- 10) 石田典子 : 水野寿彦教授退官記念誌, 173~177 (1984)