

### III. 生物

#### 8. 細菌

(記：相崎守弘、高村典子)

霞ヶ浦における全菌数は 1983 年まで、生菌数は 1993 年まで測定された。採水は滅菌したハイロート採水器を用い 0.5m の水深で採水した。

全菌数は蛍光色素であるアクリジンオレンジで染色後、蛍光顕微鏡を用いて計数した。フィルターは 1982 年までは 0.4 $\mu$ m のヌクレオポアフィルターを用いたが、その後は 0.2 $\mu$ m のフィルターを使用した。

生菌数は 1982 年までは 1/10 普通寒天培地による混釈法により、寒天上に形成されるコロニー数を計数したが、その後は 1/10 ブイヨン培地を用いた MPN 法で計数した。MPN 法は液体培地を用い、同一希釈で 5 本の培地に接種し、何本生えたかによって確率的に数を算出する方法である。液体培地を用いるため、混釈法に比べて少し高い菌数が得られる。なお、全菌数の計数は地点 3 と 9 の 2 地点で、1996 年 6 月から再開した。採水は全長 2m 内径 5cm のカラム採水器を用い、試水は 100ml のポリビンに入れ、早急にグルタルアルデヒド溶液で最終濃度が 1% になるように固定し、冷蔵保存した。これらの計数は、以下の方法で、全て 2 週間以内に行った。(1) 細菌はフィルター上に均一に濾過するために、1-10ml の試水に、孔径が 0.1 $\mu$ m のメンブレンフィルターで濾過した蒸留水を加えた後、予めズダンブラック B で染色した、直径が 25mm で孔径が 0.2 $\mu$ m のヌクレオポアフィルターで濾過する。(2) このフィルターの全域を覆うように、2-3 滴の DAPI (4' 6-diamidino-2-phenylindole) 溶液を落とし、2-3 分後、余分な DAPI 溶液を取り除く。(3) このフィルターをスライドガラスの上におき、エマルジョンオイルでマウントする。(4) フィルターは、U-励起システムの蛍光顕微鏡 (オリンパス BH2-RFC) で検鏡し、接眼レンズに入れた格子状のグリッド内の青紫に光る粒を計数した。1 サンプル当たり 1000 細胞以上を計数することにより、1ml 当たりの細胞数として換算した。