

微生物の生態

—相互作用をめぐって

(2)

微生物生態研究会 編

微生物の生態 (2)

—相互作用をめぐって

微生物生態研究会 編

東京大学出版会
学術書刊行基金

はじめに

微生物生態研究会の第2回シンポジウム「相互作用をめぐって」の記録を各界のご援助を得て成書とすることことができたことは、研究会として喜びにたえない。会の成立と第1回シンポジウムまでの経緯のあらましは『微生物の生態1——方法論をめぐって』のまえがきに記されている。

第1回の企画は、会を成立させるために努力してきた人々によってなされた。その中心的存在であった植村定治郎教授を失ったのは、第3回シンポジウム終了後の1974年4月であった。このことは、微生物生態研究会にとおしてのみならず、日本の微生物学界にとっても大きな損失といわなければならない。第2回以降の企画、編集は年ごとに選ばれる企画委員会が行なうこととした。

微生物学の一分野として生態学が成立するか否かは議論の多いところであり、本シリーズの主題に“学”的字の付されていないのも、その内容にいかなるものが盛りこまれるかの限定がさだかでないからといえよう。しかしながら、工業的技術の躍進的発展は、皮肉にもその発展に対する呪詛を生みだすような人類環境の劣悪化をまねいている。そのことは逆に、環境の劣悪化に対処する生物の諸能力に対する期待を生みだし、その能力が多方面にわたることが明らかにされている微生物に対して、その期待はとくに大きい。

したがって、当面は微生物を利用して封廻する技術の開発が重点となろうが、次の段階では微生物の行動を十分明らかにし、その運動の法則からより洗練された技術への改良を行なうことが微生物学者に課せられた大きな問題であることは、十分認識されているように見受けられる。つねに強調される

ところであるが、微生物の検索技術は、対象にともなう改变を要求している。このことは、医学あるいは工学のように、確立された分野における研究者の援助なしにできるものではない。それ故、これらの分野の研究者も興味のある現象を素材として討論することの有効性は論ずるまでもない。

こうした観点から、企画委員会としてはいくつかの考えられるテーマのなかから「相互作用」を選択した。そして、内容としては、単に微生物相互の関係ということよりも、それとトロフィックレベルを異にする生物との関係に多くの時間がさかれる結果となった。それは、微生物とくに細菌の相互の識別が現段階では技術的にきわめて困難な状況にあり、それについて論じ難かったためである。そのため、パネル討論として識別の問題をとり上げた。

個々の論文については、理解を容易にするために企画委員会から著者にお願いをして加筆あるいは改変を加えた点が少なくない。諸事多忙な著者が心よく加筆していただいたことにお礼を申上げたい。パネル討論は比較的忠実な記録である。したがって、なかにはやや理解し難い点があると思われるが、それは逆に臨場感をもたらし、しかもそこに現在の生物学教育、とくに細菌学教育のもつ弱点が見いだせるのではないかと考えている。

本書の刊行にあたっては、昭和49年度文部省科学研究費補助金（研究成果刊行費）の交付を受けた。

微生物生態研究会

目 次

はじめに

微生物生態系における細菌・原生動物関係

須藤 隆一

1 はじめに	1
2 活性汚泥の微生物相	2
3 原生動物の増殖速度と環境条件	4
4 原生動物の食性	7
5 原生動物の細菌摂食特性	9
6 連続培養による細菌・原生動物関係	14
7 おわりに	17
文 献	18

酵母と乳酸菌の相互関係

百瀬 洋夫

1 はじめに	21
2 乳酸菌との混合培養時にみられる酵母の死滅について ..	23
3 乳酸菌による酵母の凝集現象について	26
3-1 乳酸菌および酵母の種と凝集の関係	26
3-2 凝集機構の推定	27

3-3 細胞表面の帶電状態と凝集	28
文 献	34

湖沼における細菌と藻類の量的関係

桜井 善雄

1 はじめに	35
2 湖水中の細菌量	35
3 湖水中の細菌量と藻類量の関係	39
4 湖水中における細菌と藻類による粒子状有機物の生産	41
5 動物プランクトンの餌としての細菌と藻類	47
6 藻類の“水の華”形成と従属栄養細菌の役割	48
文 献	50

魚類消化管内のミクロフローラ形成について

瀬 良 洋・石 田 祐三郎

1 はじめに	53
2 カワハギの腸内のミクロフローラ	57
3 マダイの消化管ミクロフローラ	59
3-1 餌成分の影響	59
3-2 摂食後のフローラの変化	61

4 細菌の淘汰に関する消化管内の環境因子と 消化管内優勢菌の特性	64
5 おわりに	68
文 献	69

海産魚類およびプランクトンの微生物相

清 水 潮

1 はじめに	71
2 海洋微生物の同定	73
3 海産魚の微生物相	74
3-1 海産魚と <i>Vibrio, Aeromonas</i>	76
4 海洋プランクトンの微生物相	80
4-1 植物プランクトンと微生物	80
4-2 動・植物プランクトンの微生物相の組成	81
4-3 プランクトンと <i>Vibrio, Aeromonas</i>	82
4-4 発光細菌	83
5 おわりに	84
文 献	85

糸状菌と高等植物の相互関係

—土壤伝染性植物病原菌を中心として—	宇井 格生
1 はじめ	87
2 植物寄生菌類の生態的地位	88
3 土壤中における病原菌の行動	90
3-1 休眠と耐久生存	90
3-2 休眠の打破(賦活)	90
3-3 寄生的コロナライゼーション, 腐生的コロナライゼーション	92
4 寄生性の分化と共生	94
4-1 未分化寄生菌	94
4-2 分化寄生菌	95
5 <i>Rhizoctonia solani</i> , <i>Fusarium solani</i> f. <i>phaseoli</i> と 植物との相互関係	96
6 共生菌としての <i>Rhizoctonia</i> 属菌類	101
文 献	102

細菌の変動の場としてみた環流土壤

佐藤 匠

1 土壤中における微生物の変動	105
2 環流土壤	106

3 環流土壤の微生物的過程	109
3-1 生化学的反応からみた環流土壤	109
3-2 環流土壤における細菌の変動	112
3-3 環流土壤の細菌相の変化	116
4 環流土壤と土壤微生物の生態	120
文 献	123

活性汚泥処理における基質と細菌フローラの動態

三 上 栄一

1 はじめに	125
2 基質の変化に対する活性汚泥の適応	129
2-1 基質酸化能の特徴と変化	129
2-2 細菌フローラの特徴とその変化	130
3 基質負荷量の変動に対する活性汚泥の適応	131
3-1 基質酸化能の特徴と変化	131
3-2 細菌フローラの特徴とその変化	133
4 活性汚泥細菌フローラにみられる優占菌と 優占率の特徴	137
5 今後の問題	142
文 献	144

腸管内微生物相互作用の実験系としての無菌動物

佐々木 正五

1はじめに	147
2感染防御の研究のための実験系	149
2-1 抗生物質の応用	149
2-2 腸管結紉法	152
2-3 無菌動物の応用	153
2-4 拮抗現象の理解	154
3共存の機構を追究するための実験系	157
4共存、拮抗における胆汁酸の役割	159
5外来菌の排除と常在菌叢の安定性	161
文 献	163

(パネル討論)

生態研究における微生物の識別	165
----------------------	-----

第一回、第三回、第四回（微生物生態シンポジウム）プログラム	211
-------------------------------------	-----

著者紹介	215
------------	-----

微生物生態系における細菌・原生動物関係

須藤 隆一*

1 はじめに

都市下水および産業廃水の処理に広く利用されている活性汚泥¹⁾は、細菌、菌類、原生動物、微小後生動物などからなる典型的な微生物生態系である。活性汚泥法は、このような複雑な微生物群集を利用したプロセスであるから、人為的に微生物相を制御することはかなり困難であった。

しかしながら、最近、廃水の浄化に最も貢献している微生物群集の構成を十分調査し、その結果から、有益な生物の増殖を促進し、障害となる生物の増殖を阻止するには、活性汚泥法をいかに操作したらよいかの手がかりの得られる研究の必要性が強調されている²⁾。このためには、浄化に関与する微生物の生態学的相互作用の法則性を把握することからはじめなければならない。

廃水処理の目的は、廃水中の有機質を酸化分解し、しかも生成するバイオマス(余剰汚泥)ができるだけ減少させることにある。活性汚泥の中には、種種の栄養レベルの微生物が存在するが、上記の目的を達成するためには、廃水中の有機質を細菌が摂取し、この細菌を原生動物が摂食するという食物連鎖に注目しなければならないと考えられる。

* 国立公害研究所

活性汚泥に生息する原生動物は、分離、培養、保存などがきわめて難しいために、それらの原生動物の生態学的特性についてはあまりわかっていない。したがって、実験室で得られた細菌・原生動物関係の知見は少ないが、本稿では原生動物の細菌に対する捕食作用を中心にまとめてみることにする。

2 活性汚泥の微生物相

活性汚泥中には種々の原生動物が出現するが、質的にも量的にも多く認められるのがせん毛虫類である。活性汚泥の原生動物相については多くの報告があるが、須藤ら³⁾の調査結果を例示してみる。表1に示したように、活性汚泥に出現した原生動物は、せん毛虫類34属、べん毛虫類10属、吸管虫類3属、根足虫類3属の計50属であり、出現頻度の高いものは、*Vorticella*, *Epistylis*, *Opercularia*, *Aspidisca*などである。また、有柄せん毛虫類(固着性)およびほふく性せん毛虫類が優占種の場合には、処理水質がきわめて良好であるといわれている^{3,4)}。Curds ら⁵⁾は、イギリスの活性汚泥について分類学的に詳細な調査を行ない、活性汚泥の重要な原生動物は、*Aspidisca costata*, *Vorticella convallaria*, *Vorticella microstoma*, *Trachelophyllum pusillum*, *Opercularia coarctata*, *Vorticella alba*, *Carchesium polypinum*, *Euplotes moebiusi*, *Vorticella fromenteli*であるとしている。

活性汚泥中に存在する原生動物の個体数は、エアレーションタンク(曝気槽)の活性汚泥混合液1ml中一般に1,000~10,000前後であることが多い。

一方、細菌の研究には分離、培養など多くの煩雑な操作を伴うので、活性汚泥の細菌相に関する詳細な研究はなされていない。しかし、糸状体や集落を形成するものについては検鏡のみで確認できるものもある。これには、活性汚泥につねに認められるものとして、*Zoogloea ramigera*, *Sphaerotilus natans*がある。

*Zoogloea*はフロックを形成する細菌として注目されてきたもので、桿菌がゼラチン物質に包まれて、指状、樹状あるいは雲状に増殖する。*Sphaerotilus*は、桿菌が透明なさやの中に並んだ糸状体を形成し、これが異常に増殖すると活

性汚泥の沈降性が極めて悪くなる。このほかに活性汚泥に多量に出現する細菌は、*Achromobacter*, *Alcaligenes*, *Bacillus*, *Flavobacterium*, *Micrococcus*, *Pseudomonas*などである²⁾。なお、活性汚泥中の細菌数は、エアレーションタンク混合液 1 ml 中 $10^8 \sim 10^9$ 程度である。

活性汚泥には、藻類類、不完全菌類、輪虫類、線虫類、貧毛類なども認められるが、特殊な場合以外はこれらが優占種になることはない。

表1 活性汚泥に出現する原生動物

生物名		出現頻度	生物名	出現頻度	
緑毛類	<i>Vorticella</i>	94	全毛類	<i>Trachelocerca</i>	3
	<i>Epistyliis</i>	53		<i>Trachelis</i>	4
	<i>Opercularia</i>	41		<i>Chilodonella</i>	20
	<i>Carchesium</i>	15		<i>Uronema</i>	16
	<i>Zoothamnium</i>	8		<i>Leucophrys</i>	1
	<i>Pixidium</i>	4		<i>Chaenea</i>	1
	<i>Vaginocola</i>	1		<i>Pleuronema</i>	1
下毛類	<i>Oxytricha</i>	3		<i>Chinetochilum</i>	2
	<i>Styloynchia</i>	2		<i>Tetralymena</i>	4
	<i>Aspidisca</i>	55	ベん毛虫類	<i>Bodo</i>	74
	<i>Euploea</i>	3		<i>Oikomonas</i>	15
異毛類	<i>Stentor</i>	1		<i>Peranema</i>	6
	<i>Metopus</i>	1		<i>Petalomonas</i>	24
少毛類	<i>Halteria</i>	5		<i>Pleuromonas</i>	44
	<i>Strobilidium</i>	1		<i>Chilomonas</i>	24
全毛類	<i>Colpidium</i>	17		<i>Monas</i>	2
	<i>Paramecium</i>	5		<i>Bicosoeca</i>	1
	<i>Holophrya</i>	3		<i>Entosiphon</i>	3
	<i>Amphileptus</i>	3		<i>Euglena</i>	2
	<i>Glaucoma</i>	3	吸管虫類	<i>Podophrya</i>	18
	<i>Litonotus</i>	41		<i>Tokophrya</i>	34
	<i>Dexiotrichides</i>	9		<i>Acineta</i>	14
	<i>Delepius</i>	9	根足虫類	<i>Vahlkampfia</i>	54
	<i>Desteria</i>	2		<i>Amoeba</i>	55
	<i>Loxophyllum</i>	21		<i>Arcella</i>	24

活性汚泥法が開発された当初は、原生動物が増殖すると処理効率が低下するのではないかと、これらを殺滅させる方法が検討されたほどであるが、現在では、良好な処理水を得るために原生動物の存在がどうしても必要であると認識されるようになった。しかしながら、処理水質の向上に対する原生動物の役割は明確にされていない。

現在の段階では、原生動物が可溶性の有機質も摂取する、原生動物が細菌を摂取することによって細菌が活性化される、原生動物の排泄物を細菌が利用する、原生動物が細菌をフロック化させる、などが原生動物の役割として推定できる。表2⁶⁾は、実験的に原生動物の存在する活性汚泥と存在しない活性汚泥とをつくり、それぞれの処理水質を比較したものである。本表によって、活性汚泥中に原生動物が存在すると処理水質が著しく良好になるということが容易に理解できるであろう。

表2 原生動物が存在する活性汚泥と存在しない活性汚泥の処理水質の比較

分析項目	原生動物が存在しない活性汚泥	原生動物が存在する活性汚泥
OD(600 nm)	0.95~1.42	0.23~0.34
生菌数(10 ⁶ /ml)	292~422	90~121
30分沈殿後の浮遊物質(mg/l)	86~118	26~34
COD(mg/l)	198~254	124~142
4 hr 過マンガン酸カリ消費量(mg/l)	83~106	52~70
有機性窒素(mg/l)	14~21	7~10

3 原生動物の増殖速度と環境条件

微生物の増殖速度は、空間、栄養およびほかの生物が制限的な効果を及ぼさない場合は次のように示すことができる*。

$$\frac{dN}{dt} = \mu N \quad (1)$$

式(1)を積分すると、次のようになる。

* 使用記号については本文末(p. 18)に一括して示す。

$$\ln \frac{N}{N_0} = \mu t \quad (2)$$

比増殖速度 μ と生物が 2 倍に増える時間 t_g との関係は、次のようになる。

$$t_g = \frac{\ln 2}{\mu} = \frac{0.693}{\mu} \quad (3)$$

原生動物は接合あるいはオートガミーなど複雑な有性生殖をとることもあるが、通常は無性的に 2 分裂によって増殖する。活性汚泥で重要な原生動物である Vorticellidae の生物は、2 分裂した結果 “telotroch” という自由遊泳性の娘細胞が形成され、これから柄が形成されて成体となる。Vorticella microstoma を活性汚泥細菌を食物源として培養した結果^{7,8)}によれば、食物源が十分な場合 2 分裂による増殖のみが観察され、異型接合は認められなかった。

活性汚泥から分離した原生動物の増殖速度^{7,8)}を表 3 に示した。この結果は、ほとんどの場合、それぞれの原生動物が優占種の活性汚泥から分離した汚泥細菌を食物源としたときに得られたものである。後述するように、原生動物の増殖速度は食物源とする細菌の種類に依存するが、ここに示した増殖速度は 20°C における最高の増殖速度(内的自然増加率)に近いものと考えられる。表 3 に示した 9 種のうち、最も増殖速度が高いのは、Colpidium campylum, Vorticella microstoma, Opercularia sp. で、Aspidisca costata および Aspidisca lynceus の約 3 倍である。一般に、これらの原生動物の増殖速度は、細菌の 1/3~1/10

表 3 原生物の増殖速度(20°C)

種 類		増殖速度	
		t_g (hr)	μ (day ⁻¹)
Aspidisca costata	strain S	13.6	1.2
Aspidisca lynceus	strain M	12.4	1.3
Vorticella microstoma	strain S	* 5.0	3.3
Vorticella convallaria	strain M	7.6	2.2
Carchesium polypinum	strain SH	9.3	1.8
Opercularia sp.	strain MO	5.0	3.3
Epistylis plicatilis	strain SH	10.2	1.6
Colpidium campylum	strain S	4.7	3.6
Paramecium caudatum	strain MO	12.0	1.4

あるいはそれ以下である。

微生物の増殖速度におよぼす温度の影響は、一般に次に示したアレニウスの式に表わすことができる。

$$\log \mu = -\frac{\Delta E}{2.303RT} + a \quad (4)$$

汚泥細菌を食物源として、*Vorticella microstoma* の比増殖速度に及ぼす3~37°Cの温度の影響を式(4)に従ってプロットした結果を図1⁷⁾に示した。増殖に対する最適温度は25°Cであり($\mu=4.7 \text{ day}^{-1}$)、活性化エネルギーは、 $\Delta E=18,300 \text{ cal/mole}$ である。 3°C でも増殖が認められたが($\mu=0.5 \text{ day}^{-1}$)、 35°C 以上ではシストを形成するかあるいは奇形となって死滅した。このほか、原生動物の増殖に対する活性化エネルギーとしては、*Aspidisca costata* 13,800 cal/mole, *Paramecium caudatum* 20,500 cal/mole⁹⁾, *Paramecium aurelia* 23,000 cal/mole¹⁰⁾, *Tetrahymena pyriformis* 9,000~18,000 cal/mole¹¹⁾という結果が得られている。

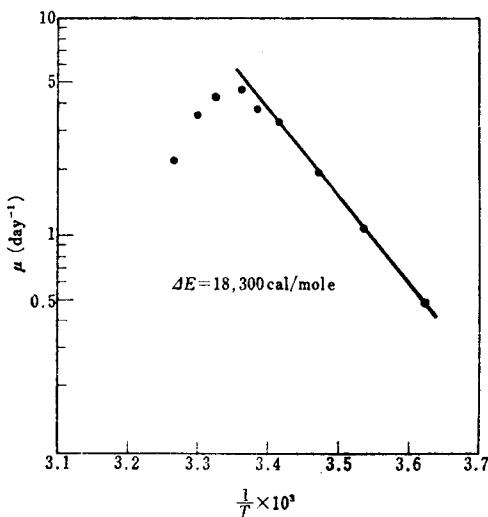


図1 *Vorticella microstoma* の比増殖速度に及ぼす温度の影響

活性汚泥に生息する原生動物の増殖におよぼす pH の影響についてもほとんど報告されていないが、*Vorticella microstoma* の場合、pH が 8.0 以上になると増殖が認められなくなる。この原生動物の最適 pH は 6.5~7.5 である¹²⁾。したがって、細菌の生産物によって pH が中性付近からはずれると原生動物が増殖できなくなる。

重金属は、きわめて低濃度であっても、原生動物の増殖速度に顕著な影響をおよぼすことが観察されている¹³⁾。たとえば *Vorticella microstoma* の比増殖速度が 50% 低下する濃度(ILm=median inhibitory limit)は、Cu 0.25 mg/l, Cr 0.35 mg/l, Cd 0.49 mg/l, Zn 0.90 mg/l である。細菌の増殖に対しては、この程度の重金属濃度ではまったく影響をおよぼさない。このため、活性汚泥が低濃度の重金属に接触した場合、原生動物が斃死し、細菌のみが増殖することが予想できる。

以上、環境条件として温度、pH、重金属についてふれたが、細菌に比較して原生動物は物理化学的な環境変化に著しく感受性が高いといえる。したがって、活性汚泥のように主として細菌と原生動物から構成されている微生物生態系の場合、環境条件の変化によって原生動物が耐忍できなくなると、細菌のみの増殖がおこりうる。

4 原生動物の食性

Coler ら¹⁴⁾は、12 種の細菌を使って *Colpoda* sp. の食性を検討し、細菌を 2 つのグループに分類している。すなわち、この原生動物の増殖を促進する細菌 (*Aerobacter aerogenes*, *Escherichia coli* など) と、ほとんど食物源にならない細菌 (*Arthrobacter*) である。Curds ら¹⁵⁾は、活性汚泥から分離した 6 種の原生動物の食性を検討している。その結果、細菌は毒性をもつもの、好適でないもの、好適なものに分けられ、原生動物の種類によって細菌の類別が異なることを示している。

須藤ら¹⁶⁾が 15 種の細菌を使って、*Vorticella microstoma* の増殖におよぼす細菌の種類の影響を検討した結果を表 4 に示した。15 種の細菌の中で、*Pseu-*