

## 琵琶湖に生息する植物プランクトンの寒天質の観察 X-ray imaging of mucilaginous sheath of phytoplankton in Lake Biwa by soft X-ray microscope

<sup>1</sup>一瀬諭,<sup>2</sup>竹本邦子,<sup>3</sup>大東琢治,<sup>4</sup>難波秀利,<sup>2</sup>木原 裕  
S. Ichise<sup>1</sup>, K. Takemoto<sup>2</sup>, T. Ohigashi<sup>3</sup>, H. Namba<sup>4</sup> and H. Kihara<sup>2</sup>

<sup>1</sup>滋賀県琵琶湖環境科学研究センター,<sup>2</sup>関西医科大学,<sup>3</sup>立命館大学総合理工学研究機構,<sup>4</sup>立命館大学  
<sup>1</sup> Lake Biwa Environmental Research Institute, <sup>2</sup> Kansai Medical University, <sup>3</sup> Ritsumeikan University Research  
Organization of Science and Engineering, and <sup>4</sup> Ritsumeikan University

琵琶湖に生息し、寒天質状物質の粘質鞘を持つとされている植物プランクトンの粘質鞘を軟 X 線顕微鏡で観察し、粘質鞘に含まれる難分解性有機物の影響について検討している。今回、細胞周辺部に薄い粘質鞘を持つとされる *Phormidium tenue* と、細胞が寒天質基質内に集まった群体を形成する *Microcystis wesenbergii* を観察したが、*Phormidium tenue* の粘質鞘は X 線像化することができなかった。

The mucilaginous sheath of phytoplankton lived in Lake Biwa was observed with the soft X-ray microscope. It is presumed that the mucilage is one cause for non-biodegradable dissolved organic matters from natural sources. *Phormidium tenue* is a single trichome within the mucilaginous sheath. Nevertheless, the mucilaginous sheath of *Phormidium tenue* has been not identified experimentally by X-rays.

**背景と研究目的：**近年琵琶湖では、BOD (Biochemical Oxygen Demand: 生物化学的酸素要求量) が減少傾向にあるのに対し COD (Chemical Oxygen Demand: 化学的酸素要求量) は漸増傾向を示すという『BOD と COD の乖離現象』現象が問題となっている。これは、微生物にとって難分解性有機物 (難分解性有機物) が増加したからであると考えられている。その原因物質として注目されているのが、植物プランクトンの寒天質状物質 (粘質鞘) である。粘質鞘の容積量を見積ることが求められている。

光学顕微鏡で観察可能な大きさのプランクトンについては、墨汁や着色ラテックスの利用した手法で粘質鞘の容積が求められている [1]。しかし、薄い粘質鞘を持つプランクトンや細胞径が 0.2~2 $\mu$ m のピコプランクトンでは、光学顕微鏡の分解能の限界により粘質鞘を観察することはできない。

我々は、光学顕微鏡で観察することが困難な植物プランクトンの粘質鞘を、生に近い状態で軟 X 線顕微鏡観察を行い、粘質鞘の容積量の見

積りと、粘質鞘に含まれる有機物量の推定を行っている。今回は、細胞が寒天質基質内に集まった群体を形成していることが分かっている *Microcystis wesenbergii* と、細胞周辺部に薄い粘質鞘を持つとされているが、生の状態でその存在が確認されていない *Phormidium tenue* [2] の粘質鞘を軟 X 線顕微鏡で観察し、粘質鞘の確認と容積量の見積りを行った。

**実験：**琵琶湖から分離培養した *P. tenue* と *M. wesenbergii* を試料として用いた。乾燥試料としては、細胞が懸濁している培養液をポリビニルフォルムパールフィルム (PVF) 膜を貼った電子顕微鏡用メッシュ上に滴下し風乾したものを用意した。含水試料としては、細胞が懸濁している培養液を 2 枚のポリイミド薄膜 (厚さ < 350nm) に滴下し、シリコングリースで密封したものを用意した。試料は、準備後直ちに観察を行った。軟 X 線顕微鏡による観察は立命館大学 SR センター軟 X 線顕微鏡ビームライン (BL12) で行った。観察は全て室温で行った。

**結果および考察：** Fig. 1に着色ラテックス球で寒天質を可視化した*M. wesenbergii*の光学顕微鏡写真を示す。細胞径4 - 9  $\mu\text{m}$ の細胞の周りに、ラテックス球で縁取られた大きな粘質体がはっきりと確認できる。次に、着色ラテックスによる寒天質可視化法をX線顕微鏡法に適用した結果をFig. 2に示す。直径5.2- 7.8  $\mu\text{m}$ の球状の細胞と、0.5 $\mu\text{m}$ のラテックス球が確認できる。細胞が歪みのない球状をしていることか、含水状態が保たれていることが分かる。球状の細胞には吸収の高いものと低いものがある。高い吸収を示す細胞は健康な細胞、低い吸収を示す細胞は何らかの理由でダメージを受け細胞内部が空になり細胞壁のみが残った細胞であると推定される。背景には、寒天質基質の一部と思われる不均一な構造が見られるが、粘質鞘の輪郭をラテックス球でトレースさせることは出来なかった。ラテックス球がポリイミド薄膜に付着し寒天質付近に分散出来なかったこと、*M. wesenbergii*の寒天質基質が数十 $\mu\text{m}$ と大きく広がっていたことが原因と考えられる。

Fig. 3に、風乾と含水の*P. tenu.*のX線顕微鏡像を示す。風乾および含水ともに粘質鞘を確認することは出来ない。また、細胞内部に1~2 $\mu\text{m}$ の強い吸収を示す構造が見られる。この構造については、現在検討中である。

**今後の課題：** *P. tenu.*の粘質鞘の存在の有無を明確に調べるため、着色ラテックス法、マイクロCT法で観察したい。

### 参考文献

- 1) 一瀬 諭, 古田世子, 原 良平, 第35回環境保全・公害防止研究発表会要旨集, (2008) 50-51.
- 2) Illustrations of the Japanese Fresh-Water Algae, eds. H. Hirose and T. Yamagishi, Uchida Rokakuho, Tokyo, Japan, 1977.

### キーワード

軟 X 線顕微鏡, *Phormidium tenue*, *Microcystis wesenbergii*, 粘質鞘

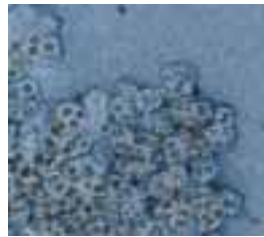


Fig.1 Light microscopic images of *M. wesenbergii*. The cell is spherical with 2.5 - 9.5  $\mu\text{m}$  in diameter. The mucilaginous sheath is revealed by mounting material in blue latex spheres.

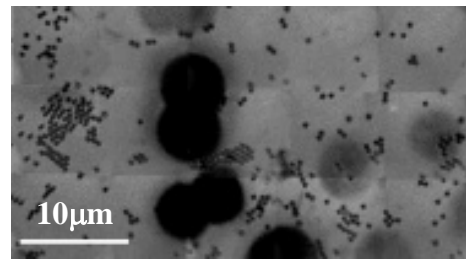


Fig.2 X-ray microscopic images of *M. wesenbergii*. Observed wavelength is 2.3 nm and exposure time is 10 min/field. The mucilaginous sheath is revealed by mounting material in blue latex spheres (0.5  $\mu\text{m}$  in diameter).

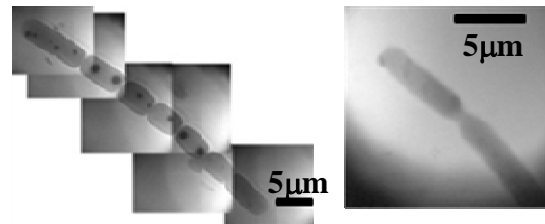


Fig. 3 X-ray microscopic images of *P. tenu.* (A) is dry and (B) is wet. Observed wavelength is 1.9 nm and exposure time is 1 min/field.