

Ⅶ-10

蛍光遺伝子プローブ法を用いた下水処理場の微生物動態調査

東京大学工学系研究科 学生員 秋山 隆志

東京大学工学系研究科 正会員 佐藤 弘泰 味埜 俊 松尾 友矩

1.はじめに

栄養塩除去などの高度廃水処理は近年ますますその重要性を増してきているが、そのためには活性汚泥中の複雑な微生物構造を把握することが不可欠である。1990年代に入って、蛍光プローブ法（FISH）が開発され、サンプルそのままの状態（In Situ）で微生物構造が解明できるようになった。この手法を用いた既往の研究では、*Proteobacteria*（紅色細菌）のβサブクラスが最も支配的であり、αサブクラス、グラム陽性高G+C含有群などが比較的大きな割合を占めるということがわかった。

本研究では日本の処理場の様々な活性汚泥を多数調査することにより、日本の活性汚泥中の微生物群を明らかにし、さらにそこに何らかの特徴を見いだすことを目的とした。

2.方法

調査は秋（11月）と冬（2月）の2回行った。処理場は右に示すように、地域、処理方式などの違いにより20箇所を選択した（表1）。輸送に1日以上かかると予想される北海道・沖縄のサンプルなどは、微生物構造をそのまま保存する必要があったが、検討の結果、エタノールを10%混ぜ、5℃程度に冷蔵して輸送した。実験方法は、Amannらが開発した蛍光プローブ法を基本とし、修正した方法を用いた。秋、冬ともに使用したプローブは、ALF（ターゲットは*Proteobacteria* αサブクラス、以下同じ）、BET（β）、GAM（γ）、HGC（グラム陽性高G+C含有群）、CF（*cytophaga-flavobacterium*）の5種類である*1。

3.結果と考察

優占群 *Proteobacteria*は、20処理場中17処理場（秋）、10処理場（冬）で50%以上を占めた。また、19処理場（秋）、14処理場（冬）で40%以上を占めていた。また、その中でもBETは秋・冬とも20中11処理場で最も多い割合を占めた（表2）。したがって、*Proteobacteria*はやはり地域性・処理方式などによらず、活性汚泥中で優占であり、その中でもBETは優占するケースが多いといえる。

気候による違い 例えば気候の寒冷な北海道と温暖な沖縄では微生物構造が大きく違う可能性があるが、結果としてそのような傾向は見られなかった。例えば秋の北海道のABサンプルと埼玉のARサンプル、沖縄のMBサンプルは非常によく似た結果が得られた（図1）。

表1 サンプリングを行った処理場

所在地	処理場名	サンプル名	処理方式	処理規模*
東京	O	O	標準法	大
	S	S-東	〃	
		S-浅	〃	
		S-深	〃	
	NN	NN	AO法	
	NK	NK-標	標準法	
		NK-AO	AO法	
		NK-A2O	A2O法	
	MS	MS	〃	
埼玉	FT	FT	〃	中
	IN	IN	OD法	小
	AU	AU	OD法	
	AR	AR	標準法	
北海道	FK	FK	〃	中
	AB	AB	疑似嫌気法	大
	B	B	OD法	小
沖縄	MB	MB	標準法	小
	K	IG	〃	
	NG	NG	〃	

*処理規模は日平均処理水量で10万m³以上（大）、1万～10万 m³（中）、1万m³未満（小）に分けた

表2 各微生物群の優占順位別処理場数

		1位	2位	3位
秋 (n=20)	ALF	9	11	-
	BET	11	8	1
	GAM	-	1	3
	HGC	-	-	15
	CF	-	-	1
冬 (n=18)	ALF	2	3	9
	BET	11	6	1
	GAM	-	1	4
	HGC	5	8	3
	CF	-	-	1

キーワード:微生物動態、活性汚泥、蛍光遺伝子プローブ法、下水処理場

〒113-8656 文京区本郷 7-3-1 工学系研究科都市工学専攻 TEL:03-3812-2111 ex 6238

水質データとの関連 微生物相と水質データとの間に何らかの相関があるかどうか調べたところ強い相関ではないものの、HGCとNH₄除去率、NO₃流出量との間に、0.64~0.76という正の相関係数が見られた。したがって、窒素除去とHGC占有率との間には一定の関連があるかもしれないということがいえる。

季節間、処理規模による相違 処理規模については、小規模の処理場において、5つの微生物群どれについても全体的に少なく、従ってその合計も少ない、という傾向があった（図2）。従って、本研究では調査されなかった微生物群が比較的多い割合で存在する可能性があるということがいえる。

季節による違いが目立つのは特にALFとHGCである。ALFがすべて減少傾向にあるのに対し、HGCは逆にMSサンプルなどを除けば増加傾向にある（図3）。

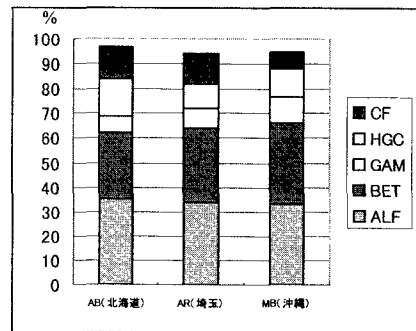
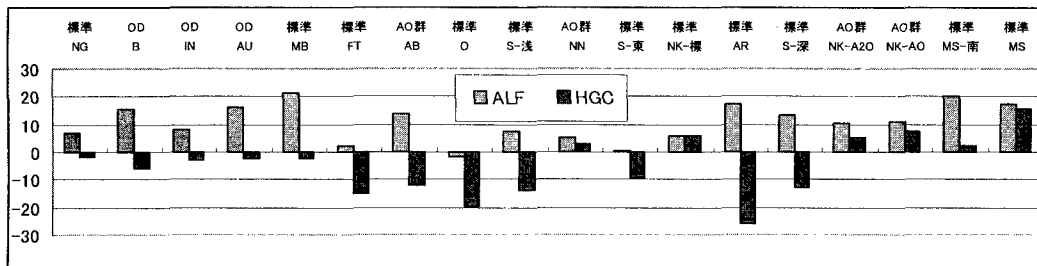
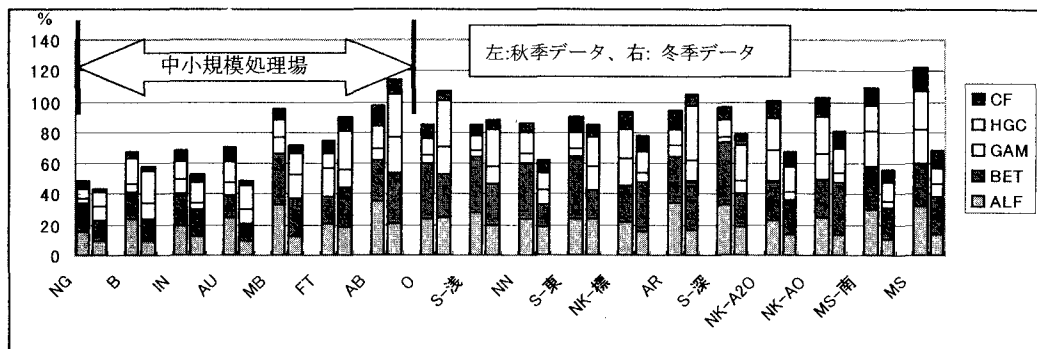


図1 AB、AR、MBの秋のデータ(%)



(上)図2 処理規模による合計値の違い(%), (下)図3 ALFとHGCの(秋)-(冬)のデータ(ポイント)

4. 結論

- (1)日本の処理場でも海外と同じように、*Proteobacteria*が優占で、中でもβ群は優占的である。
- (2)微生物相については地方（気候）による違いは見られなかった
- (3)季節による違いでは秋から冬にかけて、ALFが減少し、HGCが増加するという傾向が見られた。
- (4)水質データと占有率の大小との相関ではHGCと窒素除去との間に弱い相関が見られた。
- (5)小規模の処理場では、全体的に調査した種が少なく、したがってまだ調査していない微生物群が少なからず存在する可能性がある。

参考文献

(1)P.Kämpfer et al. (1996), Microb Ecol vol.32, pp101-121 (2)M.Wagner et al. (1994), Appl. Environ. Microbiol. Vol.60, pp792-800

謝辞

調査にご協力頂いた東京都下水道局、埼玉県下水道公社、日本下水道事業団および各処理場の関係者の方々に深く感謝致します。