

スポンジ担体付着汚泥の初期形成期間における微生物群集構造の遷移

木更津工業高等専門学校 学生会員 ○加藤莉奈 正会員 大久保努 上村繁樹
東北大学 正会員 竹村泰幸 久保田健吾

1. はじめに

我々は、途上国に適した下水処理装置として下降流スポンジ懸垂（DHS：Down-flow Hanging Sponge）法の研究を行っている。DHS はリアクター上部より下水を自然流下させる間に、スポンジ内外に付着させた微生物により浄化する方式であり、高濃度に汚泥を保持できることから処理効率が高く、エアレーションが不要なため経済的であり、バルキングや汚泥浮上が発生せず、維持管理が容易などの理由から、途上国での下水処理技術として適している。現在まで、下水処理以外にも、栄養塩除去、亜硝酸型硝化、嫌気性アンモニア酸化、バイオメタルの生成などに適応した研究が行われている¹⁾。しかしながら、現在のところ、下水を処理するDHSのスポンジ担体付着汚泥の初期形成期間における微生物群集構造の変化についての知見は乏しい。

魚返らは、下水を処理するスポンジ担体付着汚泥の顕微鏡観察を行い、原生、後生動物と糸状性細菌の被食・捕食の関係について報告した²⁾。本研究では、同サンプルを用いて、*Bacteria* と *Eukarya* の微生物群集構造の遷移を、次世代シーケンサーを用いて解析した結果を報告する。

2. 実験方法

実験装置図を図-1に示す。運転条件をHRT=2.3h、実験温度 25℃とし、袖ヶ浦終末処理場の初沈下水を供給した。任意の間隔でデバイスを1つずつ取り外し、5つ垂直に連結させたスポンジ担体の上部（No.1）、中部（No.3）、下部（No.5）の付着汚泥を採取した。各サンプルをMiSeq（Illumina 社）によってシーケンス解析を行った。本研究で用いたプライマーは *Bacteria* では 515f-806rmix、*Eukarya* では 1380f、1389f-EukB である。

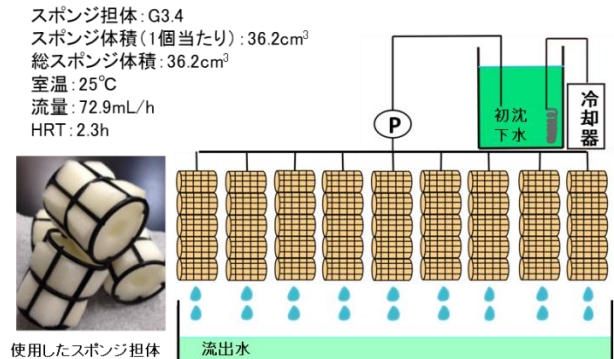


図-1 実験装置概略

3. 結果と考察

3.1 門レベルにおける汚泥の微生物群集構造の遷移

No.1 汚泥の *Bacteria* の結果を図-2に示す。なお、*Proteobacteria* 門のみ、綱レベルの内訳を示した。汚泥の微生物群集構造は植種汚泥から83日目にかけて急変した後、徐々に植種汚泥とは全く異なった微生物群集構造へと変化を続けた。この傾向は、*Alphaproteobacteria* 綱において最も顕著であった。

次に、No.1 汚泥の *Eukarya* の結果を図-3に示す。SAR 門と *Opisthokonta* 門については、綱レベルの内訳を示した。*Bacteria* と同様、植種汚泥から83日にかけて劇的に変化した後、植種汚泥とは全く異なった微生物群集構造となった。これは、*Nucleotmycea* 綱や *Holozoa* 綱の経時変化で最も顕著であった。*Bacteria*、*Eukarya* 共に、No.3、No.5の汚泥サンプルについても同様の結果であった。

3.2 Shannon による多様性評価

No.1、No.3、No.5 汚泥の多様性評価の指標となるShannonの*Bacteria*と*Eukarya*の結果を図-4に示す。*Bacteria*の値は汚泥植種時に8.1程度であったが、83日目では7.0程度に低下した後、増加し続ける傾向を示した。*Eukarya*の値は汚泥植種時に6.0程度で、83日目では3.5から4.3程度に低下した。その後、徐々に増加

し、全汚泥サンプルが 228 日目に植種汚泥と同程度の値となった後も、増加する傾向が見られた。 *Bacteria*, *Eukarya* 共に、No.1 が最も多様性が低く、No.3 と No.5 がほぼ同程度であった。 No.1 は、有機物等の濃度が最も高い下水を受け入れていたことが原因と考えられる。

3.3 PCoA 解析の結果

Bacteria と *Eukarya* の PCoA 解析の結果を図-5 に示す。図から、 *Bacteria* は、植種汚泥のみかけ離れた位置にプロットされているが、No.1 から No.5 のスポンジ担体付着汚泥は、経過日数に伴って、ほぼ連続的に遷移していることがわかる。同様の傾向は、 *Eukarya* についても見られた。以上のように、PCoA 解析の結果からも、スポンジ担体付着汚泥の微生物群集構造が 298 日の間で徐々に遷移する様子が伺えた。

4. 結論

本研究では、スポンジ担体付着汚泥の初期形成期間における微生物群集構造の遷移を解析するために小規模模擬実験装置による連続実験を行った。

門レベルの結果から、 *Bacteria* と *Eukarya* の汚泥の微生物群集構造は同様の遷移を示した。植種汚泥から 83 日目にかけて急変し、その後、徐々に変化を続けることがわかった。多様性も同様に、83 日目に一度、値が低下した後、増加傾向を示し、植種汚泥の値を超えても増加し続けることが判明した。PCoA 解析の結果も、 *Bacteria*, *Eukarya* 共に、連続的な微生物群集構造の遷移を裏付けている。

すべての結果から、最終的には植種した活性汚泥とは全く異なった微生物群集構造を形成することが分かった。また、植種汚泥から 83 日目にかけての急激な遷移は、スポンジ担体内に留まった汚泥が、流入下水により希釈され、下水中の菌叢に影響を受けたことが原因であると考えられる。

魚返らは、汚泥内での原生生物および後生生物による糸状性細菌の被食-捕食作用を示唆した²⁾。今後は、スポンジ担体付着汚泥の初期形成期間における被食-捕食作用と微生物群集構造の遷移、多様性の変化との関係性を調査していく予定である。

5. 参考文献

1) 上村繁樹, 大久保努 (2017) DHS を用いた排水処

理技術の開発と今後の課題, 用水と廃水, 59 (7), pp.42-53.

2) 魚返沙紀, 中村亮太, 大久保努, 上村繁樹, 松林未理, 島田祐輔, 久保田健吾 (2016) 下水処理 DHS のスタートアップ時における菌叢変化の解析, 土木学会第 43 回関東支部技術研究発表会

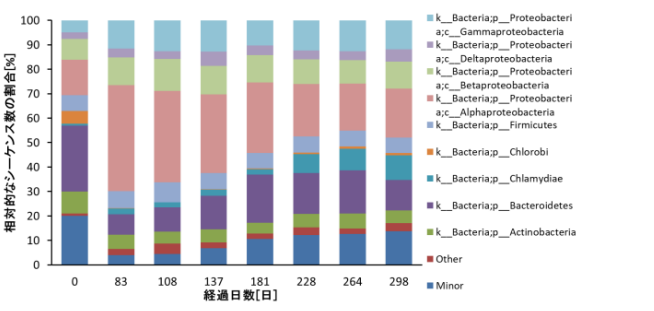


図-2 *Bacteria* の門レベルにおける汚泥の微生物群集構造の遷移

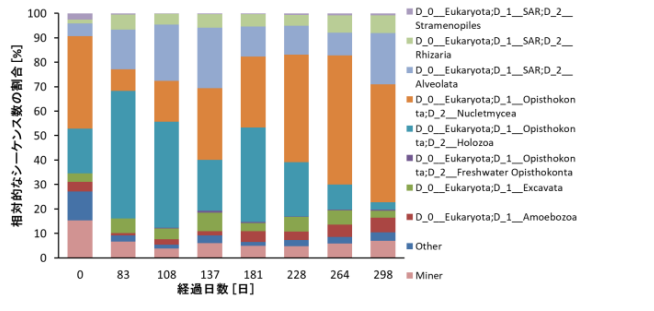


図-3 *Eukarya* の門レベルにおける汚泥の微生物群集構造の遷移

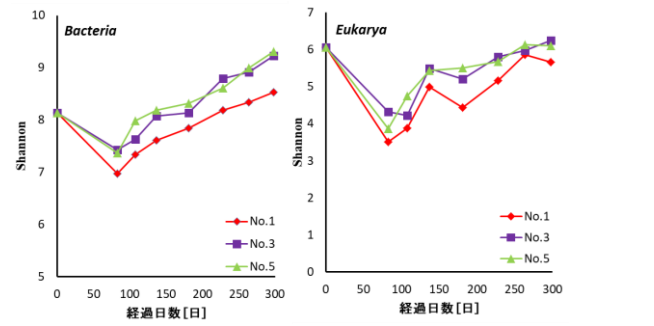


図-4 Shannon による多様性評価

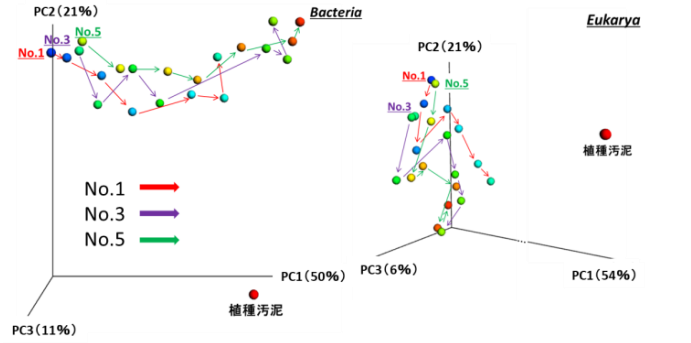


図-5 PCoA 解析の結果