

スポンジ担体付着汚泥の初期形成期間における *Bacteria* および *Eukarya* の菌叢遷移

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菌叢の変化についての知見は乏しい。

魚返らは、下水処理 DHS のスタートアップ時におけ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* の菌叢遷移を、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°C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。

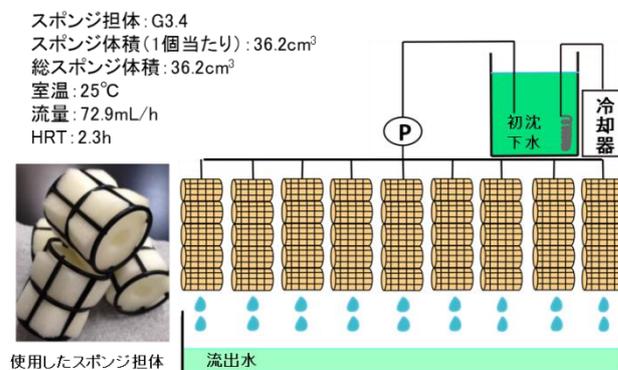


図-1 実験装置概略

3. 結果と考察

3.1 門レベルにおける汚泥菌叢の遷移

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。汚泥菌叢は植種汚泥から 83 日目にかけて劇的に変化した後、徐々に変化を続け、228 日目からは、ほぼ安定する傾向がみられた。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、徐々に変化を続けた。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* の値は植種汚泥時に 8.1 程度であったが、83 日目では 7.0 程度に低下した。その後、徐々に増加する傾向を示した。No.1 は 228 日目、No.3

は 181 日目, No.5 は 137 日目に植種汚泥と同程度の値となった。

Eukarya の値は植種汚泥時に 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。*Bacteria*, *Eukarya* 共に, スポンジ担体の位置に限らず, 同様の变化傾向を示した。

3.3 PCoA 解析の結果

例として No.1 汚泥の *Bacteria* と *Eukarya* の PCoA 解析の結果を図-5 に示す。図から, 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, 連続的に遷移している。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菌叢が 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 *Bacteria* と *Eukarya* の菌叢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* の汚泥の菌叢は同様の遷移を示し, 植種汚泥から 83 日目にかけて劇的に変化し, 228 日目から徐々に安定することが判明した。また多様性も同様に 83 日目に一度, 値が低下した後, 徐々に増加することがわかった。また, PCoA 解析の結果も, 連続的な菌叢遷移裏付けている。最終的には植種した活性汚泥とは全く異なった菌叢を形成することが分かった。

なお, すべての解析結果で見られた, 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世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, スポンジ担体汚泥の初期形成期間における被食・捕食作用と菌叢の遷移, 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, 用水と排水, 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

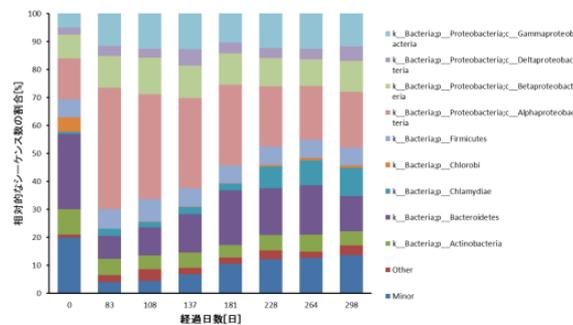


図-2 *Bacteria* の門レベルにおける汚泥菌叢の遷移

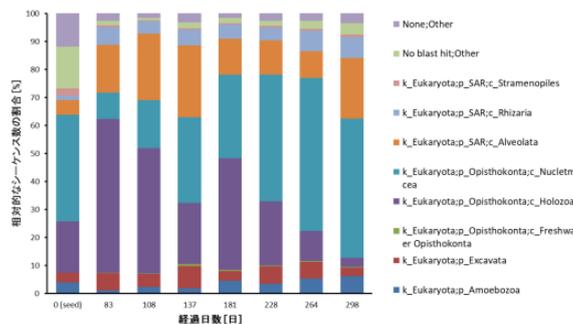


図-3 *Eukarya* の門レベルにおける汚泥菌叢の遷移

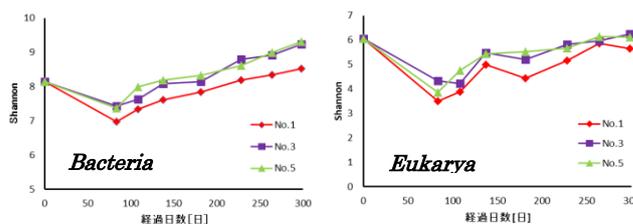


図-4 Shannon による多様性評価

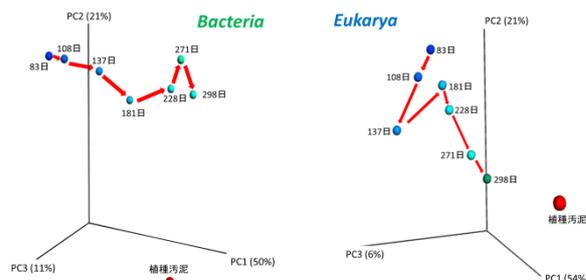


図-5 PCoA 解析の結果