

## N-6 バチルス菌優占余剰汚泥と浄水汚泥・ケナフ破碎物から 製造した連作障害抑止型土壤改良材

群馬高専/専攻科環境工学専攻 ○青井 透 竹渕和範

### 1.はじめに

枯草菌(*Bacillus subtilis*: 以下バチルス菌と称す)は、代表的な土壌細菌の1つであり、脱臭作用があることが知られているので、下水処理施設や畜産関係で主に臭気の低減を目的に利用促進が進んでいる。また微生物殺菌剤としても機能することから、連作障害を発生させる病原菌に対する拮抗菌として用いる生物防除法としても、利用されはじめている。さらにし尿処理や下水処理などの生活排水処理施設でバチルス菌が優占種となると、臭気発生が抑えられ沈降性が改善される等の利点が確認され、シリカ(Si)やマグネシウム(Mg)などの鉱物質を添加して、意図的にバチルス菌を優占化する運転方法(新活性汚泥技術研究会)が普及しつつある。

高原キャベツ(写真1)で有名な群馬県吾妻郡嬬恋村に位置する、西吾妻衛生施設組合し尿処理施設では、バチルス菌を優占化する新活性汚泥法を、独自に長野県伊那中央衛生センターより導入し、安定した運転を継続しており、余剰汚泥を乾燥汚泥(汚泥肥料)として生産している<sup>1)</sup>。嬬恋村の高原キャベツは夏期首都圏のキャベツの7割をまかぬ大キャベツ産地であるが、根こぶ病による連作障害が発生しており、土壌殺菌を行うため農薬の使用量は増加の傾向にある。群馬県赤城山北西麓では特産のコンニャクの生産も盛んであるが、同様に根腐病による連作障害が発生しており、農薬の大量使用により農民の健康被害も心配されており、土壌中の生態系は壊滅的な状況と思われる。

微生物殺菌剤として販売されているバチルス製剤(出光石油のボトキラーや明治製菓のインプレッショング水和剤)は、高価なためにあまり普及していないが、西吾妻衛生施設組合の乾燥汚泥と、県内で大量に発生する急速ろ過浄水汚泥(Siを含むシルト・粘土質が主成分だがAlが含まれるので、農地にいれるリンを吸収する)を混合醸酵させ、乾燥汚泥からリンを補いバチルス菌数の多い醸酵物を製造すれば、安価な連作障害抑止型土壤改良材として、キャベツやコンニャクの農地に利用できる可能性が高いと考え、本研究室では検討を行っている<sup>2)3)</sup>。西吾妻乾燥汚泥と浄水汚泥の配合比を変化させた醸酵物では、高温醸酵(55℃)の場合バチルス菌以外が優占種となったが、生ゴミ処理機(写真2)で中温醸酵させるとバチルス菌がそのまま優占化を維持し $10^6$ 個/g程度の菌数となり、溶解性リン濃度が上昇することは既に発表している<sup>3)</sup>。この検討においてバチルス菌が稻ワラに付着する(納豆菌)性質があることより、分解しやすいセルロース分を加えると、さらにバチルス菌濃度が高まる可能性があると考え、乾燥汚泥・浄水汚泥に加えてケナフ破碎物等を加えて付加価値の高い醸酵物製造を試みたので報告する。

写真1 嬌恋村のキャベツ畠(05-4/24)

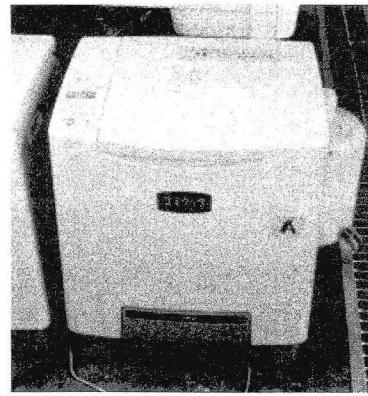


写真2 土壌改良材製造に用いた  
生ゴミ処理機

## 2. 調査及び実験方法

実際に連作障害が発生している嬬恋村のキャベツ畑や、赤城山西麓の子持村コンニャク畑の畠土を採取し、また原料となる西吾妻乾燥汚泥や浄水汚泥等についてもバチルス菌濃度を測定した。バチルス菌の培養には信州大学入江教授の方法(平板寒天培地法)<sup>2)</sup>を使用した。次にホームセンター等で市販されている培養土や堆肥類を各種購入し、それぞれの製品に含まれるバチルス菌濃度を測定した。

さらに西吾妻衛生施設組合し尿処理施設乾燥汚泥、群馬県県央第一浄水場自然乾燥汚泥、ケナフ破碎物と衛生施設組合の収集区内で製造される焼酎粕を用い、配合を変化させて生ゴミ処理機での回分醸酵を行い、バチルス菌コロニー数を計測した。寒天培地に発生したバチルス菌コロニーについては、単離を繰り返し行い、東京農工大学細見研究室の協力により、コロニーとバチルス種別との関係も検討した。

### 3. 結果及び考察

原料に用いた各試料の栄養塩と灰分含量を表1に示し、前回の検討で実施した西吾妻乾燥汚泥と浄水汚泥混合醸酵物のバチルスコロニー数を表2に示した。乾燥汚泥と浄水汚泥だけの混合醸酵では、

バチルスコロニー数は $7 \times 10^6$ 個/g程度であり、

連作障害が防止できるとされる耕作土中のバチルス濃度 $10^7$ 個/g<sup>4)</sup>に届いていない。一般的な土壤には $10^8$ 個/gの微生物が存在しているので、 $10^7$ は1つの目安になる。

**3.1 実際の農地・原料中のバチルスコロニー数** 嬌恋村キャベツ畑のバチルス菌数は、どの場所でも $<10^4$ 個/gであり、土壤殺菌が十分なされていることを示唆した。コンニャク畑のバチルス菌数は $10^5$ 程度で、少ないとと思われた浄水汚泥と同等であった。市販の黒土の中にはバチルス菌が優占種のものがあり、その濃度は $10^6$ から $10^7$ 個/gと高い値を示した。

**3.2 市販培養土及び堆肥中のバチルスコロニー数** ホームセンターで各種の素材を購入し、測定した結果を表4に示した。堆肥類の中でバチルスコロニーが高い数値を示したものは殆どみられず、培養土を含めて流通している多くの素材は、バチルス菌濃度が $10^5$ 個/g程度と低いことがわかつた。本研究室の検討でも、高温のペール缶で醸酵させた場合には、開始時大量に含まれていたはずのバチルス菌が減少し、他の高温菌が優占種となってしまったので、市販の堆肥にもバチルス菌があまり含まれていない理由は、醸酵温度が高温(畜糞をいれて醸酵させれば自動的に高温となる)であるために、他の菌が優占となつてい

表4 市販各種培養土と堆肥のバチルス菌数計測一覧

No.	区分	試料	n	$\times 10^5$	特記事項	備考	単価
1	培養土	プランター培養土	2.5	7	ピートモス、パーク堆肥、焼成粒土 腐葉土細粒50%+緩効性肥料50g	ホームセンター	28
2		種まき培土	1.2	5		種苗メーカー製	28
3		花と野菜培養土	8.5	5		ホームセンター	29
4		良質粉碎黒土		<5		ホームセンター	22
5		プランターの土		<5		ホームセンター	40
6	堆肥類	野菜俱楽部	1.4	7	ボカシ発酵有機質・臭気有り	ホームセンター	52
7		ファームグリーン堆肥	1.2	5	牛ふん、豚ふん、もみがら、くん炭入り	ホームセンター	78
8		牛ふん堆肥	3	5	N0.71%, P0.97%, K0.92%	ホームセンター	35
9		有機質肥料堆肥		<5	樹皮、鶏糞	ホームセンター	40
10		し尿処理コンポスト	1.2	5	ウッドチップを循環担体にキルン型醸酵	脱窒素法処理施設	10

注記:単価は購入価格を2リットル=1kgと換算して計算したもので円/kg、バチルス測定は群馬高専

表1 各原料の肥料成分・有機物無機物組成

試料名	成分				
	%	%	%	%	%
し尿汚泥	5.4	4.4	0.59	70.6	29.5
上水汚泥	0.2	0.3	0.37	9.6	90.4
焼酎糟	9.7	1	0.4	90.6	9.4

注記:VSは有機物、Ashは灰分

表2 各試料の配合とバチルスコロニー計測数

試料	原料配合	バチルスコロニー
RUN8 A	西吾1:淨水1	$7 \times 10^6$
RUN9 B	西吾2:淨水1	$6 \times 10^6$
RUN11 C	西吾1:淨水2	$4 \times 10^5$
RUN12 D	西吾2.5:ケナフ1	$5 \times 10^6$

注記:コロニー数は乾燥1g当り個数

表3 実際の農地土壤や各原料中バチルスコロニー計測例

No.	試料名	バチルス数	備考
1	上水汚泥	$5 \times 10^5$	県央第一浄水場
2	西吾妻乾燥汚泥	$1 \times 10^7$	乾燥ケー
3	西吾妻生活汚泥	$1 \times 10^8$	脱水汚泥
4	コンニャク畑	$5 \times 10^5$	子持村
5	キャベツ畑1	$<10^4$	北軽井沢
6	キャベツ畑2	$<10^4$	嬬恋村姥ヶ原1
7	キャベツ畑3	$<10^4$	嬬恋村姥ヶ原2
8	キャベツ畑4	$<10^4$	嬬恋村田代
9	黒土1	$7 \times 10^7$	ホームセンター
10	黒土2	$3 \times 10^6$	ホームセンター
11	ため池底泥浚渫物1	$1.5 \times 10^6$	高専内BOX泥
12	ため池底泥浚渫物2	$2.5 \times 10^6$	高専内水路泥

注記:バチルス数は乾燥1g当り、測定は群馬高専衛生工学研究室

るためと推測され、バチルス菌優占の醸酵物を得るためにには、温度管理を含めて特別の配慮が必要なことがわかる。

### 3.3 ケナフを含む醸酵物のバチルス濃度

ケナフ全茎破碎物をオートクレーブ処理し、各配合比で醸酵を継続した場合の、経過日数とバチルス菌計測数の一例を表5に示した。焼酎粕を加えると醸酵温度が高くなり長期間維持されるが、その場合にはバチルスコロニー数は減少した。ケナフを加えたNo.A,Bでは、西吾妻乾燥ケーキ投入量が減少したにもかかわらず、バチルスコロニー数は $10^8$ に増加し、ケナフのような易分解性のセルロース繊維を加える

と、バチルスコロニー数が増加し、 $10^8$ 個/gレベルの利用可能な濃度に増加することがわかった。

**3.4 コロニー形状と抗菌作用** 写真3は東京農工大学細見教授の協力(16SrDNA部分塩基配列(約500塩基)の解析を行い菌種を推定する)によりすすめている、菌種を推定したバチルス属のコロニー写真である。現在作業を継続中であるが、コロニーの形態からバチルスの菌種が推定できると、効果が予測できるので好都合である。例えば中央の*B.thuringiensis*は、センチュウ(例えば県内尾島町の名産ヤマトイモはネコブセンチュウの被害あり)の殺菌力が強いことがわかっている。

写真4は、平板培地での培養中に混入した各種カビに対する各バチルスの抗菌効果をとらえたものである。カビの菌糸はこれらのコロニーには達せず、コロニーの周りだけ空間が開けており、強い抗菌作用があることがわかる。

## 4.まとめ

バチルス菌優占の、連作障害抑止型土壤改良材開発に関する最新の知見をまとめて示した。抗菌力があり、リン飢餓をおこさずシルト粘土分に富んだこの土壤改良材は、高機能な素材になりうる条件を満たしており、継続して利用技術の開発をすすめる予定である。

## 謝辞

本研究の一部は、群馬県産官学協同研究トライ補助(平成16年度)及び産官学連携推進補助(平成17年度)、新活性汚泥技術研究会研究助成(平成17年度)により実施した。またバチルス菌の特定には東京農工大学化学システム工学科細見研究室の協力によるものである。最近のバチルス種類および水質分析は本研究室岸分析主任の貢献が大きい。合わせて厚くお礼申し上げる。

## 参考文献

- 1)西吾妻衛生施設組合(2005)バチルス属優占化技術で臭気の無いし尿処理手法確立、環境施設、No.100,pp88-95
- 2)青井 透(2005)有用枯草菌(バチルス菌)優占し尿汚泥と上水汚泥を混合発酵した微生物殺菌剤型土壤改良材の開発、環境施設、No.100,pp58-64
- 3)竹瀬和範、青井 透、川端優史(2005)バチルス菌優占余剰汚泥と浄水汚泥を原料とした連作障害抑制型土壤改良剤の開発、日本下水道協会、第42回下水道研究発表会講演集、pp513-515
- 4)<http://www.geocities.jp/aoiyamanonaka/farm/bacillus.htm>

表5 原料の組成とバチルス菌の経日変化

No.	原料の配合(Dry Kg)			経過日数とバチルス数(コロニー/g)			
	西吾	浄水	ケナフ	焼酎粕	6日	12日	23日
A	5	5	0.55		$4 \times 10^6$	$8 \times 10^6$	$1.1 \times 10^8$
B	2.5	7.5	0.55		$4 \times 10^7$	$1 \times 10^8$	$1.4 \times 10^8$
C	2	6	0.45	2.5	$1 \times 10^6$	$1 \times 10^6$	$7 \times 10^7$
D	1	6	0.55	3	$5 \times 10^6$	$2 \times 10^5$	$< 10^5$
				計測日	7/19	7/25	8/5

注記:西吾は乾燥ケーキ、浄水は浄水汚泥、ケナフは全茎オートクレープ

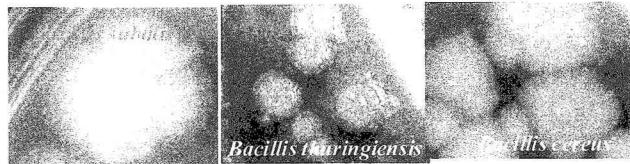


写真3 単離された各バチルスコロニーの形  
(バチルスの同定は東京農工大学細見研究室で行った)

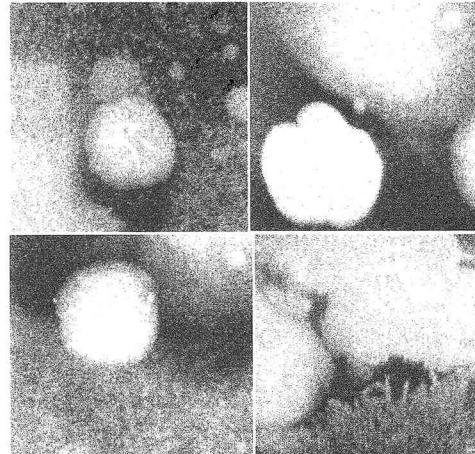


写真4 培地に発生したカビに対するバチルスの抗菌作用