

## 微細藻バイオマスから凝集沈殿法によって活性汚泥をつくる試み

### IV. 活性フロック中の原生動物について

田邊幾之助・稲吉勝文

(応用微生物学研究室)

昭和61年8月10日 受理

## A Contribution to the Formation of an Activated Sludge by the Chemical Flocculation Using an Algal Biomass

### IV. On the Protozoa in the Flocculated Algal-Biomass

Ikunosuke TANABE and Katsuhumi INAYOSHI

(Laboratory of Applied Microbiology)

#### 緒 言

家庭下水の活性汚泥中の原生動物についての知見は従来から数多く認められる。そのなかから、例えば、須藤らの報告<sup>4)</sup>によると、出現頻度の高い原生動物としては縁毛類の *Vorticella*, *Epistylis*, *Opercularia*, 下毛類の *Aspidisca*, 全毛類の *Litonotus*, 鞭毛虫類の *Bodo*, *Pleuromonas*, 根足虫類の *Amoeba*, *Vahlkampfia* などをあげ、とくに縁毛類と下毛類は著しいとしている。また、洞沢は家庭下水の活性汚泥中に固着性有柄繊毛虫類および匍匐性繊毛虫類が優先種であることと処理水質の良好であることには相関性があると報告している。一方、CURDS らは活性汚泥から分離した原生動物の食性を検討し、捕食者被食者間にも相関性があると指摘しており<sup>1,2)</sup>、また、須藤らはとくに *Vorticella microstoma* の増殖と被食細菌種との間に密接な関連があることを見出し、それぞれの捕食者の分布・遷移と被食者のそれとが相関性を有しているものと推定している<sup>3)</sup>。

凝集沈殿法によって微細藻バイオマスから活性フロックを形成し、これに焼酎蒸留廃液を連続的に流下することによって活性汚泥をつくる研究を行なって来たが<sup>5)</sup>、この連続処理実験に並行して微生物学的な研究も行なっている。とくに、原生動物の出現と遷移は活性汚泥微生物中、直接検鏡で確かめることができるし、活性汚泥微生物間の食物連鎖の集約されたものとも考えることができるので、連続処理実験でこれら原生動物相と処理効率、活性フロックの活性汚泥化の進捗状況および細菌相との間の法則性を見出すことを目的に観察を行なった。また、この際、興味ある原生動物の挙動が認められたのでこれらも合せ報告する。

#### 材料と方法

前報<sup>5)</sup>と同様の方法で、微細藻バイオマス (algal biomass) または微細藻バイオマスと活性汚泥細菌 *Alcaligenes* sp. No. 4, *Acinetobacter* sp. No. 1, *Coryneform bacteria* No. 25d の各培養との混合懸濁液 (mixed algal-biomass) を凝集沈殿によってそれぞれ活性フロック A (flocculated algal-biomass A) および活性フロック B (flocculated algal-biomass B) とし、これに焼酎蒸留廃液 COD 289 ppm を COD 負荷量をそれぞれ 0.103 および 0.098 kg/m<sup>3</sup>/day で、水量負荷は 0.356 および 0.340 m<sup>3</sup>/m<sup>3</sup>/day で流下し連続処理を行なった。この間、経時的に活性フロックをサンプリングし、実験に供した。

#### 結果と考察

##### 1. 連続処理中の活性フロックの原生動物相

焼酎蒸留廃液の連続処理実験の経過は Fig. 1 に示した。図中 0 時は PAC (polyaluminium chloride) による凝集沈殿で形成したばかりの活性フロックで、連続処理実験 A は微細藻バイオマスのみで凝集沈殿した活性フロック A、同じく、連続処理実験 B は微細藻バイオマスに分離した焼酎蒸留廃液の活性汚泥細菌の代表株を凝集沈殿時に組込んだものである。焼酎蒸留廃液の処理能は連続処理実験 A および B ではともに 1 日目に COD 除去率は 90% をこえて良好であった。この良好な状態での原生動物相も 3 日目には固着性繊毛虫の *Vorticella* (Photo 1a) および匍匐性繊毛虫類 (Photo 1c, 1d) の増殖が目立った。ところが、その後通気管のトラブルで通気量が 3 分の 1 量に減少し、7 日目から低下しはじめた処理能は 10 日目には除

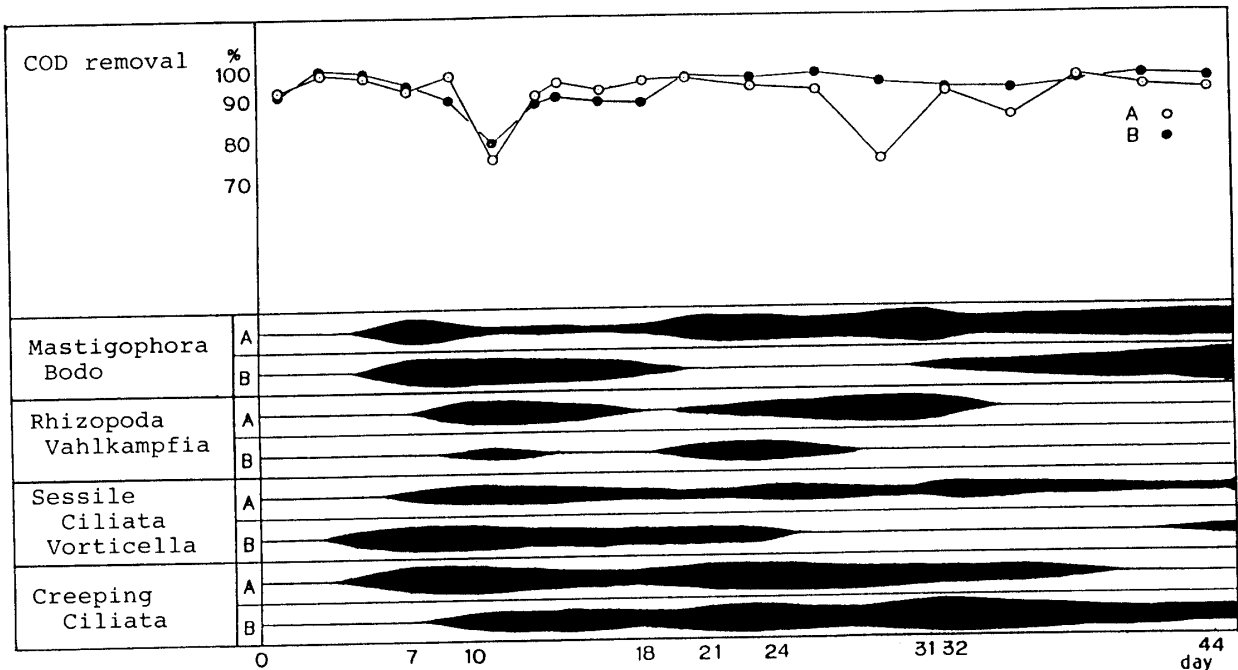


Fig. 1. Succession of protozoan fauna and COD-removal in the experimental continuous-treatment.

去率が70%台に減少するとともに *Vahlkampfia* (Photo 1a) がとくに連続処理実験 A で急激に増加した。しかし、これも通気量の回復とともに減少した。さらに、連続処理実験 A では26日～29日目に、処理条件の変化なしに、再び処理能が減少した。この時の原生動物相は鞭毛虫類の *Bodo* (Photo 1b) および根足虫類の *Vahlkampfia* が急激な増加を見せるとともに固着性繊毛虫類の *Vorticella* が抑制を受けているように見えた。しかし、匍匐性の繊毛虫類である *Uronema* (Photo 1c) および *Colpidium* なども高い出現頻度を示した。一方、連続処理実験 B では、同じ時期に匍匐性繊毛虫類が優先種となり、*Vorticella*、*Bodo* および *Vahlkampfia* などはいずれも出現頻度が低下したが、活性フロクの処理能には全く変化は認められず、相変わらず COD 除去率は良好であった。ここで、以上の原生動物相の揺動の原因として考えられることは、①食性にもとづく食物摂取における競合と②次項で示す捕食者・被食者 (prey-predator) の関係に近いものなどであるが、さらに、原生動物の増殖は食物としての細菌類の供給に大きく依存しているのでこれにもとづく個々の原生動物の増減のリズムもあるはずである。したがって、揺動はこれらの事象の集約されたものと見るができる。例えば、食性について細菌種の嗜好から見て、*Bodo* と匍匐性繊毛虫の関係より

は *Bodo* と *Vorticella* の関係の方がより競合性が高いのではないと思われる。また、活性フロクの処理能と *Vahlkampfia* の増減とに関係を見出すにしても、いずれが原因で、いずれが結果かは推測の域を出ない。さらに、*Vorticella* の盛んな摂食行動にともなって、多量の食物残渣を排泄するが (Photo 1a)、この食物残渣の運命が処理能に大きな影響をもたらすであろうと推測はできる。しかし、現段階ではいずれも情報不足で推測はできても明言はできない。

## 2. 原生動物の挙動について

連続処理実験で原生動物相の観察中、Fig. 1 に示すように *Vahlkampfia* の増加と *Vorticella* の減少とは多少の関連性が認められ、また、*Vahlkampfia* が増加した時には変形した *Vorticella* が多数認められるし (Photo 2m)、*Vahlkampfia* は大型 *Amoeba* のような摂食行動はあまり見せないことに注目し、*Vahlkampfia* の挙動を中心に2～3の観察結果を得た。

通常、*Vorticella* は盛んに細菌を捕食し、食胞の形で細胞内で消化吸収した後、残渣を再びボール状の形で開口部より外に排泄している (Photo 1a)。この *Vorticella* を *Vahlkampfia* が襲撃することが観察された (Photo 2a)。繊毛虫は細胞口が唯一の急所のように *Vahlkampfia* は *Vorticella* の細胞口に突きささるように入突する (Photo 2a-2c)。この場合は攻撃に失

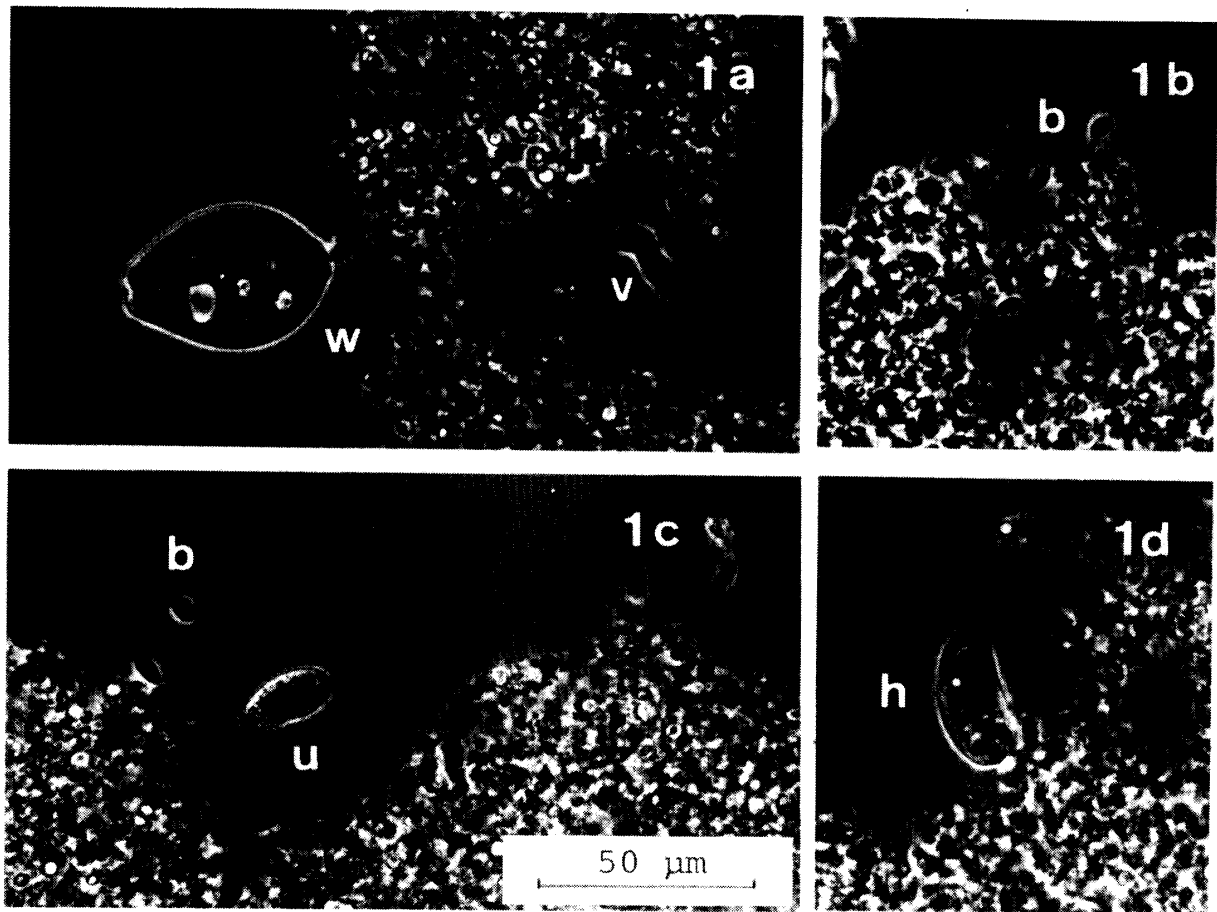


Photo 1. Protozoa in the flocculated algal-biomass.  
 1a, *Vorticella* (w) discharging many fecal balls and *Vahlkampfia* (v).  
 1b, *Bodo* (b) standing in a floc.  
 1c, *Uronema* (u) and *Bodo* (b).  
 1d, A creeping ciliata.

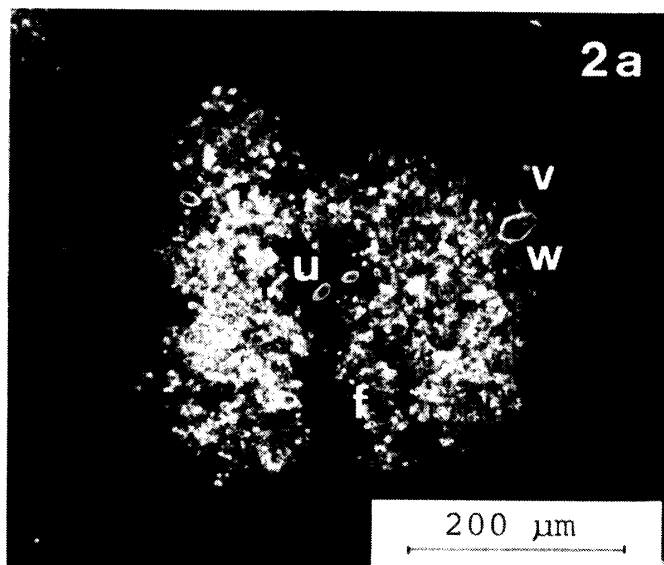
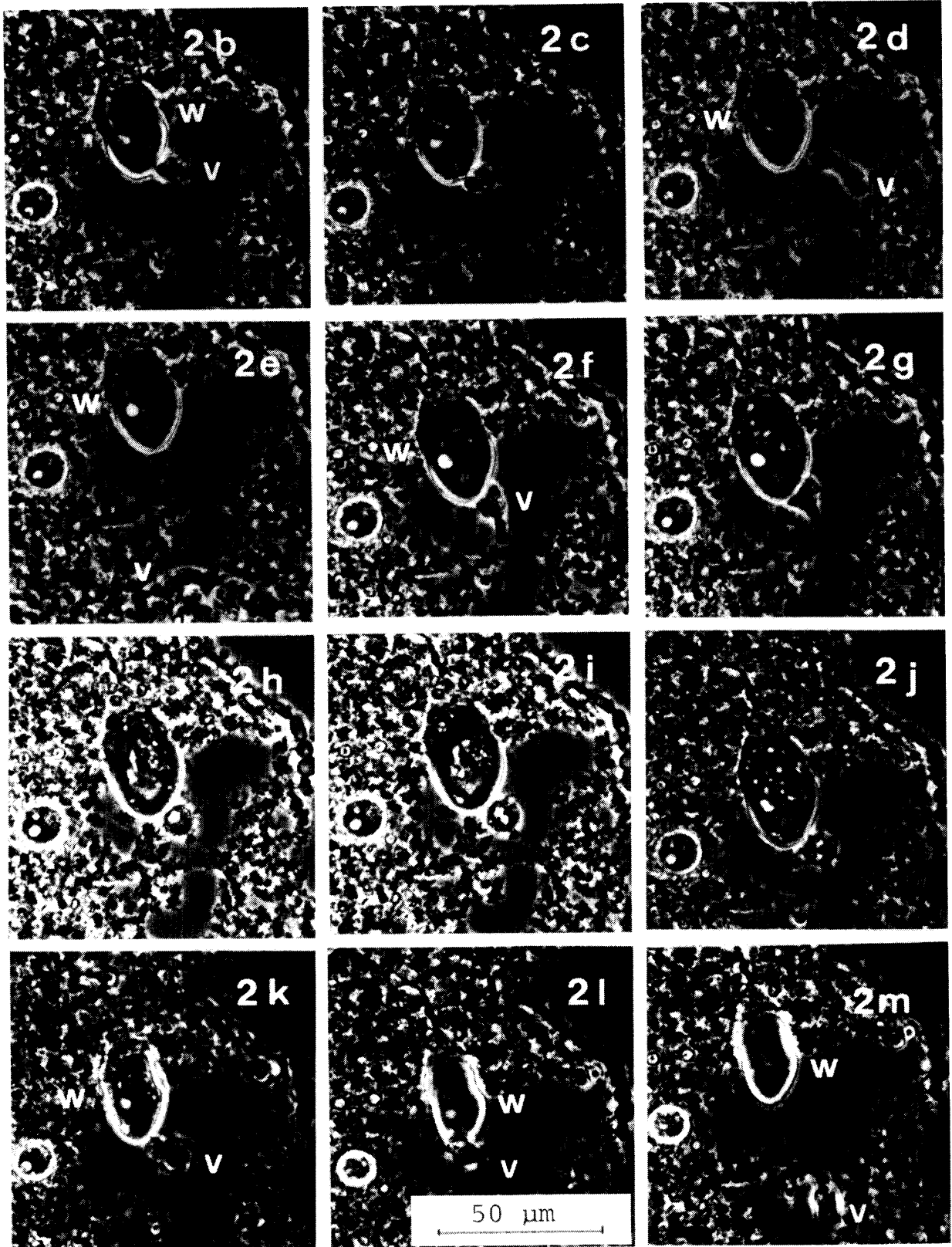
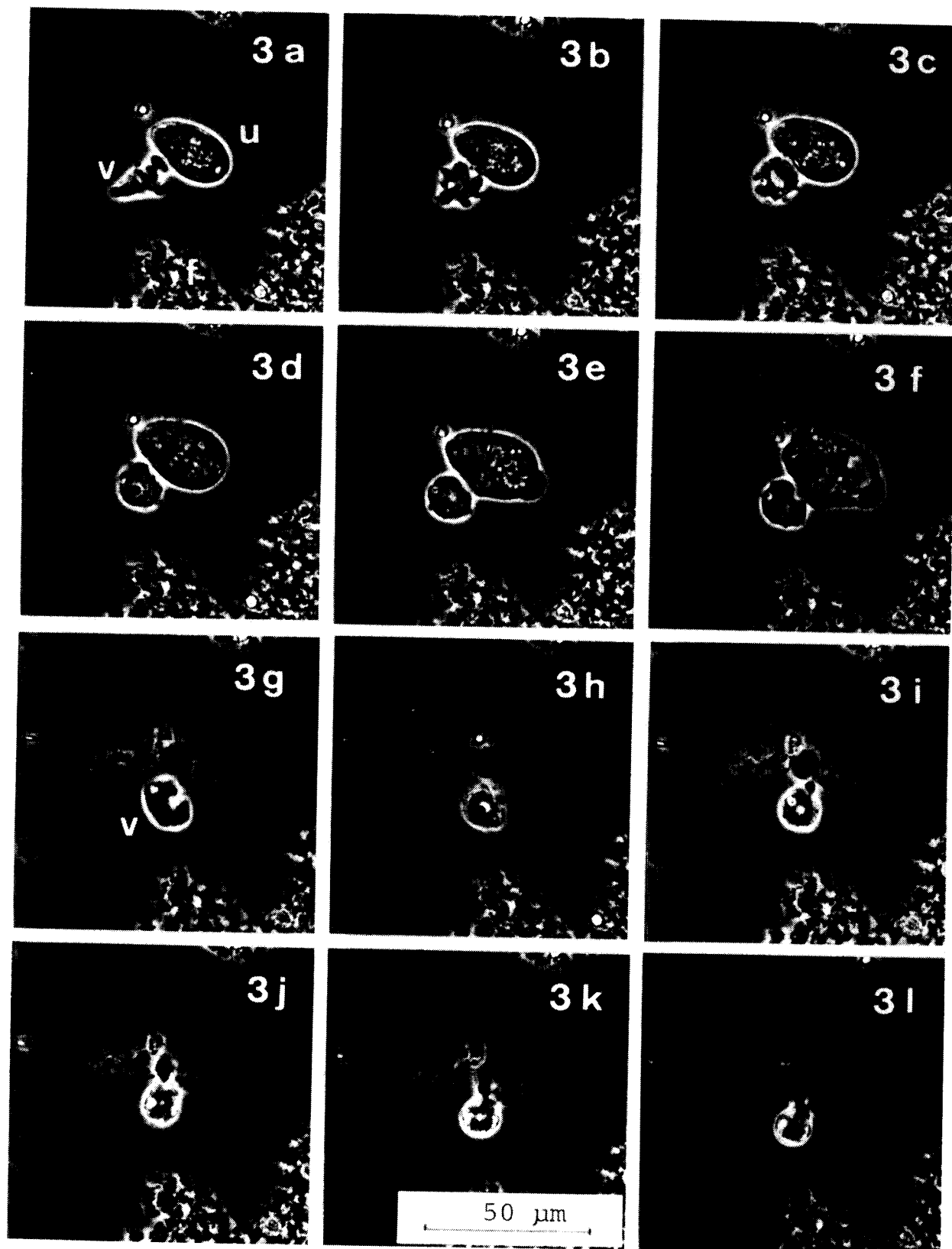


Photo 2.  
 Attack of *Vahlkampfia* (v) on *Vorticella* (w).  
 2a-2c, *Vahlkampfia* just falling on *Vorticella* fixed in a floc.  
 2d-2e, *Vahlkampfia* failed in the first attack.  
 2f-2g, The second attack of *Vahlkampfia* on *Vorticella*.  
 2h-2j, *Vahlkampfia* has succeeded in attack on *Vorticella* through the cytostome and made herself round into a ball or a star-like confit to promote digestion of food.  
 2k-2m, A striking deformation of *Vorticella*.  
 2m, *Vahlkampfia* looking for a new food.





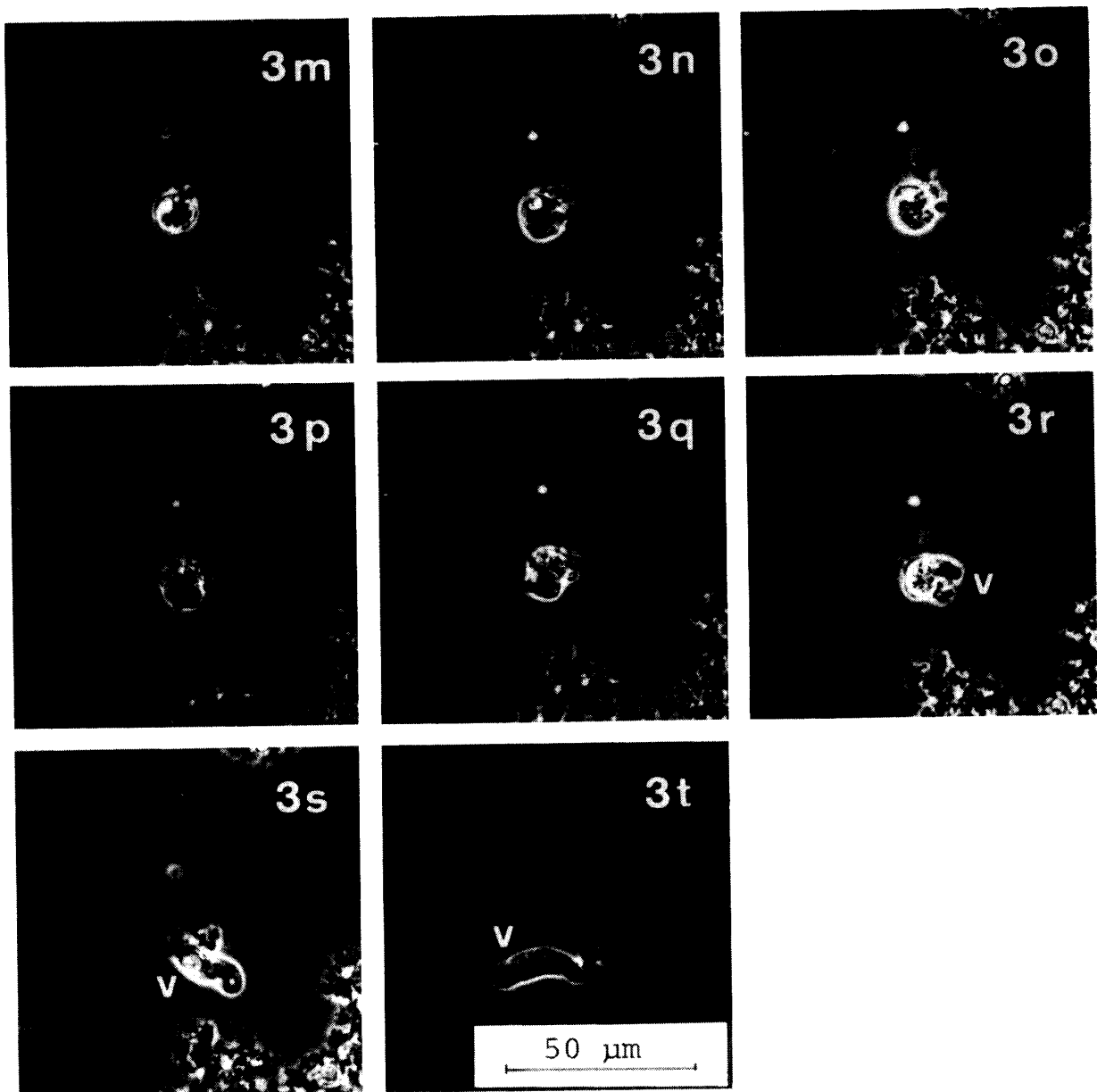


Photo 3. Attack of *Vahlkampfia* (v) on *Uronema* (u).

- 3a, *Vahlkampfia* just falling on *Uronema* through the cytostome.  
 3b-3c, *Vahlkampfia* making herself round into a ball or a star-like confit.  
 3c-3d, Several vacuoles going on and off.  
 3e-3f, Leakage of cytoplasm of *Uronema*.  
 3g, *Uronema* cell broke down and left a food vacuole, full of food.  
 3h-3o, *Vahlkampfia* sucking up a food vacuole of *Uronema*.  
 3m-3q, *Vahlkampfia* again making herself round into a ball to promote digestion of food.  
 3r-3t, *Vahlkampfia* going to look for a new food, 32 minutes after falling on *Uronema*.

敗したらしく、しばらくして *Vorticella* から離れ (Photo 2d, 2e), 2細胞長程度の距離をあたかも様子をうかがうかのように円を描きながら、機を見て再び襲撃した (Photo 2f, 2g). このような襲撃を何度もくり返したが、この間、*Vorticella* の細胞中では液胞が激しく点滅し大きな変化がおきたことを暗示している (Photo 2g-2j). この度重なる襲撃で *Vorticella* は次第に形にひずみが生じ、よく観察される変形した *Vorticella* の外観を呈した (Photo 2k-2m). このことは、*Vahlkampfia* の増殖と *Vorticella* の変形との因果関係を示し、捕食者・被食者に近い関係が存在し、襲撃された *Vorticella* は変形した後は摂食行動を見せず、死滅ではないにしてもそれに近い状態になっていることが明らかとなった。

Photo 3a-3t は匍匐性繊毛虫の *Uronema* に対する *Vahlkampfia* の襲撃で、上述の *Vahlkampfia* の摂食行動を証明するのにさらに明確な結果であった。一連の写真は十分な摂食行動により少し動きのなくなった *Uronema* に対するもので、*Vahlkampfia* は *Uronema* の細胞口に突入し、細胞口に栓をするように固着した (Photo 3a-3c). 同時に、*Uronema* の細胞中では液胞の点滅がはげしく細胞内の秩序がかなり乱れていることを示した (Photo 3c, 3d). 間もなく、*Uronema* の身体の一部から細胞質の漏洩がはじまり (Photo 3e, 3f), 続いて、一瞬の間に *Uronema* の細胞が崩壊消失してしまった (Photo 3g). ところが、*Vahlkampfia* はその場に残った *Uronema* の食胞をすぐさまするように摂食した (Photo 3h-3o). *Vahlkampfia* は食胞、すなわち *Uronema* が細菌を摂食し、胞として包み消化しはじめている食物塊を体内にとり込むとすぐ、ボールか金平糖のように丸くなり静止、消化に専念していることを示している (Photo 3m-3q). やがて、消化が終了すると食物残渣の一部を後部に付着させたまま (Photo 3r, 3s), 元通りのアメーバ型となり移動をはじめた (Photo 3t). この間、32分間の出来事であった。*Vahlkampfia* のこの挙動は *Uronema* の細胞口を閉じただけではなく、*Uronema* 中に細胞口を通じて溶解酵素の入った胞を押し込み、このことによって *Uronema* を崩壊させてしまったものと思われた。これは *Vorticella* でたびたび襲撃をく

り返したにもかかわらず崩壊させ得なかったことから、細胞口を閉じるだけでは必ずしも被食者の崩壊にはつながらないと判断できるからである。

以上の結果から、活性汚泥の原生動物は被食者である細菌相との関係からの検討だけでは不十分で、原生動物間の横の直接的な関係も重要であることが示された。

## 要 約

PAC (polyaluminium chloride) による凝集沈殿法で微細藻バイオマスから形成した活性フロックに COD 289 ppm の焼酎蒸留廃液を COD 負荷量  $0.1 \text{ kg} / \text{m}^3 / \text{day}$  で流下、連続処理実験を44日間にわたって行なった。この間、原生動物相の動態を観察した。

処理については、通気不足および原生動物相の揺動にともない、COD 除去率が一時的に70%まで低下したが、全体を通して見れば COD 除去率はほぼ90%以上であった。また、原生動物相の揺動には明確な法則性は見出せなかった。この処理実験中、*Vahlkampfia* は特異な摂食行動を見せ、*Vorticella* を変形させたり、*Uronema* を崩壊消失させ、その食胞を捕食などが観察できた。これによって原生動物相互にも捕食者・被食者の関係が存在することが確かめられた。

## 文 献

- 1) Coler, R. A. and Gunner, H. B. : Microbiol Populations as Determinants in Protozoan Succession. *Water Research*, **3**, 149-156 (1969)
- 2) Curds, C. R. and Cockburn, A. : Protozoa in Biological Sewage-Treatment Process I. A Survey of the Protozoan Fauna of British Percolating Filters and Activated-Sludge Plants. *Water Research*, **4**, 225-236 (1970)
- 3) Sudo, R. and Aiba, S. : Food Habit of Vorticellidae Isolated from Activated Sludge. 日本生態学会誌, **21** (3・4), 140-146 (1971)
- 4) 須藤隆一・大越芳男: 活性汚泥生物の季節的变化. 水処理技術, **5** (2), 43-49 (1964)
- 5) 田邊幾之助・今村光宏・当直樹: 微細藻バイオマスから凝集沈殿法によって活性汚泥をつくる試み, I. 微細藻バイオマスの培養と凝集沈殿による活性フロック形成について, II. 活性フロックによる連続処理実験. 用水と廃水, **28** (7), 691-699 (I); **28** (9), 903-908 (II) (1986)

### Summary

During the period of 44 days, experimental continuous-treatments were carried out by adding, at a COD-loading of  $0.10\text{kg}/\text{m}^3/\text{day}$ , the Shôchû-distiller's slops with COD-concentration of 289 ppm to the flocculated algal-biomass formed by the chemical flocculation with PAC (polyaluminium chloride), and succession of protozoan fauna was observed in the flocculated algal-biomass.

A transient decline of COD-removal from the slops was noted to have been brought forth on account of the trouble of insufficient aeration in the aeration-tank as well as of the unexpected fluctuation of protozoan fauna, but the removal of 90% of the total COD added during this period was confirmed. An evident relationship among the fluctuations of protozoan fauna in the flocculated algal-biomass could not be found. Through the period of experimental continuous-treatment, the existence of a kind of phagocytosis of *Vahlkampfia* which gives birth to the deformation of *Vorticella*, making a break-down of *Uronema* to take its food-vacuole as food was observed. Consequently, it was ascertained that there was a sort of prey-predator relationship even among protozoa.