

鳥取県環境学術研究等振興事業費補助金研究実績報告書（環境部門）

研究期間（2年目/3年間）

研究者 又は 研究代表者	氏名	(ふりがな) ふくま みき 福間 三喜
	所属研究機関 部局・職	鳥取大学・大学院工学研究科・化学・生物応用工学専攻・助教 電話番号 0857-31-5274 電子メール fukuma@bio.tottori-u.ac.jp
研究課題名	富栄養化湖沼における自然植生及び微生物ニッチを活性化させた環境改善	
研究結果	<p>本年度得られた研究結果の具体的なデータ等については、添付資料に示した。それを以下に要約する。</p> <p>1. 鳥取県湖山池水質浄化実験水路にすでに設置してある担体充填ヨシ植栽水路、ヨシのみ植栽水路、および担体のみ充填水路の他に、今年度新たにヨシと担体を組み合わせた水路を製作して（水路4）、合計4本の水路の水質浄化性能を比較検証した。新たに製作した水路4は、ヨシをあらかじめ植栽しヨシが生育したのち水没部分に担体を敷き詰める方法であり、これまでのヨシと担体を組み合わせた水路1とは、ヨシ根圏部分と担体充填部分の位置が逆である。この新型の水路4は既存の湖岸植生帯を容易に改変できる利点があると判断した。これらの水路の概要を図に示した。</p> <div style="text-align: center;"> <p> <水路1> 担体 (Nextone a) を充填+ヨシを植栽 <水路2> 自然に自生するヨシを再現 <水路3> 担体のみ 水面より高く充填 (Porous a) 2014年10月より運転 <水路4> ヨシ植栽水路に担体を充填 (Porous a) 2015年4月ヨシ植栽 同8月担体充填 </p> <p> ← 湖水の流れ ■ 底泥 ■ 湖水 ○ 担体 </p> </div> <p>研究方法は、まず、定期的に水質浄化性能を把握するための水質分析を行い、次に春・夏・秋・冬の各季節に各水路の入り口付近及び出口付近から、水路内土壌や付着物を採取し、そこから菌体DNAを抽出し、窒素及びリンの水質浄化に関与する特定菌体の存在をPCRにより調べる作業を行って、その存在の相対的量を把握した。さらに、同じDNAを用いてクローニング法により各水路内の菌叢の状態を把握した。ただし水路4に関しては、菌体の付着が完成したと思われる秋以降について行った。</p> <p>2. 各水路の水質浄化性能は、全窒素については水路1が最も良く、次いで水路4、水路2、水路3の順であった。全リンの除去性能は水路4が最も良く、次いで水路1、水路3、水路2の順であった。またCOD除去性能は水路4が最も良く、次いで水路1、水路3、水路2の順であった。全体的にやはりこれまでと同様にヨシと担体を組み合わせた水路1と水路4は高い水質浄化性能を維持し続けたが、新たに製作した水路4は特にCOD除去に優れていた。水路2は担体がないために、ヨシが生育し、その根圏が発達している期間のみ浄化性能が高かった。また水路3は年間を通して変動が少ない安定した除去をしており、特にCOD除去に優れていた。</p> <p>3. 水質浄化に関与する菌体のPCRによる確認とその存在量の比較を水路間と季節間で行った。調べた菌種は、窒素除去に係る硝化古細菌、硝化菌、脱窒菌、アナモックス菌、およびリン除</p>	

	<p>去に関係するリン蓄積細菌である。結果は、菌体の存在量に関しては各水路共に硝化古細菌と脱窒菌は年間を通じて豊富に存在した。次いで硝化細菌が多く存在した。ただし水路3については、これらの菌体量は夏以降に増大した。アナモックス菌は全体的に見て非常に少なかったが、水路3では増大していった。したがって、さらにアナモックス菌の蓄積が進めば、窒素除去性能の向上が期待でき、この水路の特徴としてとらえることができ他の水質浄化装置としての応用も期待できる。季節で見ると、各菌体共に秋期が豊富であり、菌叢のバランスが取れていた。春期は水路間で違いが生じたが製作後日数が短いものもあり経過観測が必要と判断した。一方、夏期は秋期に比べて少なかった。夏の菌体量が少ないのは、溶存酸素濃度の低下に伴い生育できる菌が限られていることで、菌叢に偏りが生じ、硫化水素などの生育阻害物質の生成も影響していると思われる。また各水路共に冬期は多いものと少ないものに分かれ、硝化古細菌と脱窒菌は冬でも豊富に存在したが、硝化菌とリン蓄積細菌は冬ほとんど存在しなくなった。一方、これまで確認できなかったアナモックス菌の存在がすべての水路にて徐々に確認できるようになり、特に水路3でその増大が顕著であった。これはおそらく高塩分化を行ってから3年が経過したことにより湖内環境が塩分に慣れ、落ち着きを取り戻したことによるものと思われる。このように、水質浄化に関与する菌体の量的なバランスは季節によって変化したが、水路全体で見ると水路1の水質浄化菌の菌種間の量的バランスが、年間を通して他の水路よりも安定していた。さらに、水路3は菌体の付着に関して他の水路とはやや異なる結果を示した。</p> <p>4. 各水路内の幅広い菌叢の状態を把握するためクローニング法を行って冬・春・夏・秋における菌叢集団の特徴を調べた。その結果、多くの菌叢が酸素の少ない環境下で生育する難培養性のものであった。1年を通してProteobacteria門細菌が多く、他にBacteroidetes門、Chloroflexi門、Nitrospirae門など多彩であった。また、各水路からは脱窒を行うRhodobacteraceae科の菌体、硝化反応を行うNitrospira属の菌体など窒素除去に関する多くの菌体を確認できた。さらに水路ごとの菌叢の違いを確認することができ、水路1, 3, 4の担体がある水路からは、油汚染土壌の浄化細菌が数種類見出されたことから、有機物分解に関与する菌叢が多く存在していると考えられる。これが担体のある水路でCOD除去が比較的良好である裏付けとなると思われる。</p> <p>水路4は秋の解析データのみであるが、水路1に比べて明らかに好気性細菌の存在が多かった。このことから水路内は好気性環境を多く保っていると推測された。これは水路上面が解放されているため酸素の供給が多くできるためである。除去性能などを考慮すると、水路4の性能が良かったことから、水路4の菌叢のバランスが良かったと推測される。</p>
<p>研究成果</p>	<p>[本年度の研究結果および成果の具体的なデータ等については、添付資料に示した。]</p> <p>1. 新たに製作した担体とヨシを組み合わせた水路4は、高い水質浄化性能を示し、さらにこれまでの水路1よりもCODの除去に優れていた。各水路における春、夏、秋および冬の水質浄化に関与する菌体の相対的な量が把握できた。各水路共に、硝化と脱窒及びリン蓄積に関与する菌叢が確認でき、それらの存在量は秋期が最も豊富であった。一方、夏期は他の季節に比べて少なかった。また冬の水路からは、硝化古細菌と脱窒菌が豊富に存在していた。このことから、冬期においても窒素の硝化・脱窒が起こっていると推察された。また、実際に、水質分析からも窒素除去の現象が起きており、その裏付けが取れたと思われる。また各水路とも窒素除去細菌は豊富に検出されたが、結果の1. で述べたように窒素除去性能は水路1と水路4が明らかに他の水路よりも性能が良かったことと考え合わせると、菌叢集団の能力を發揮させるための菌体にとっての良好な環境状態(ニッチ)を創出することが必要と思われた。PCRの結果から、水路1の水質浄化菌の菌体種間の量的バランスが、年間を通して他の水路よりも安定していたことは、その裏付けと考えられる。水路3は硝化、脱窒菌さらにはアナモックス菌の付着が多くヨシがないところでの窒素除去方法として期待が持てる結果となった。期間が短い、水路4の性能が良かったことから、水路4の菌叢のバランスを今後追跡していく必要がある。</p> <p>2. 各水路の菌叢解析ができ、各水路とも多彩であったが、窒素除去細菌は豊富に検出された。先の1. での窒素除去性能は水路1と水路4が明らかに他の水路よりも性能が良かったことと考え合わせると、菌叢集団の能力を發揮させるための良好な環境状態としてヨシと担体を組み合わせることは非常に良い方策であることが改めて証明された。また担体充填された水路からは有機物分解菌の存在が多く観察されたことから担体はCOD除去に効果があると立証された。</p>

次年度研究計画	[次年度の研究計画について簡潔に記すこと] 1. 水路4が良好な性能を発揮し始めたので、年間を通した性能試験データを集める。 2. 菌叢解析には、季節間の違いや水路間の違いなど、まだデータの蓄積が必用であり、より多くのデータを統計的にまとめる。 3. 実行可能な水路の構築を目指し、そのための菌叢集団のあり方（ニッチの保持と共存のための方策）を明らかにし、それを実現するための環境条件を明らかにする。 4. 以上のことを総合して、自然生態系を生かし、それを積極的に活用した閉鎖性水域の環境改善に向けた方策を提言する。	
報告責任者	所属・職氏名	研究・国際協力部研究協力課・課員・朝野弘昭 0857-31-5494 ken-jyosei@adm.tottori-u.ac.jp

- 注1) 表題には、環境部門、地域部門、北東アジア学術交流部門のいずれかを記載すること。
- 2) 「研究期間（ 年目/ 年間）」及び「次年度研究計画」は、環境部門のみ記載すること。
- 3) 研究者の知的財産権などに関する内容等で、非公開としたい部分は、罫線で囲うなど明確にし、その理由を記すこと。
- 4) 研究実績のサマリーを併せて提出すること。

富栄養化湖沼における自然植生及び微生物ニッチを活性化させた環境改善

鳥取大学・大学院工学研究科

化学・生物応用工学専攻

福間三喜

湖山池をはじめとする閉鎖性水域の富栄養化が大きな社会問題となっている。これまでに私は自然生態系を生かした水質浄化法に着目し、担体充填とヨシ植栽を組み合わせることにより湖山池の水質汚濁物質を高速度で除去できることを見出した。その水路での性能評価から、根圏微生物や担体付着微生物の活性も非常に大きいことがわかったが、その水質浄化細菌の把握と菌叢解析には至っていない。そこで、水質汚濁物質の除去と浄化にかかわる微生物との相関関係を明らかにするための菌体の特定と菌叢解析を行った。

次に、湖岸すべてにヨシ植栽帯が設置できるわけではない。石積み護岸など様々な湖岸を形成している。そしてそこには湖岸特有の環境微生物が形成されていると考えられる(生態学的地位:ニッチという)。このような湖岸での水質浄化を一層進めるためには、それら微生物ニッチを有効に引き出し活性化させることが次のステップとして求められる。そこで、本研究で次に行ったこととして、微生物ニッチの保持に有効な方策の提示のための水路の試作や操作方法の解明に取り組んだ。以下にそれらの研究結果の概要を示す。

1. 鳥取県湖山池水質浄化実験水路にてすでに設置してある水路に、これまでの知見をもとに、新たに改良型の水路を製作してその浄化性能を試験検討した(水路4)。その新型の水路4は、ヨシ植栽水路の上面の通水部分に多孔性担体を充填した水路であり、担体とヨシを組み合わせた水路の中ではより好気性部分が多く、より多くの菌叢を保持できると考えた。その水質浄化性能を他の水路と同様にして追跡した。その結果、新たに製作した水路の浄化性能は、期間が短い極めて優れた浄化性能を発揮した。
2. 各水路の水質浄化性能の裏付けを得るために、水質浄化に関与する菌叢解析を行った。その方法は、水質浄化特性を試験しつつ、春・夏・秋・冬の各季節に菌体を採取し、そこからDNAを抽出し、窒素及びリンの水質浄化に関与する特定菌体の存在をPCRにより調べる作業を行って、その存在の相対的量を把握した。さらに得られたDNAからクローニング法により、より広範囲の菌叢集団の解析を行った。
3. まず、各水路共に、硝化と脱窒及びリン蓄積に関与する菌叢が確認でき、それらの存在量は秋期最も豊富であり、夏期は秋期に比べて少なかった。また、各水路とも窒素除去細菌は豊富に検出されたが、窒素除去性能は担体とヨシを組み合わせた水路が明らかに他の水路よりも性能が良かったことと考え合わせると、菌叢集団の能力を発揮させるための菌体にとっての良好な環境状態(ニッチ)を創出するためには担体とヨシ根圏をうまくからめることが重要であると分かった。PCRの結果から、担体とヨシを組み合わせた水路の水質浄化菌の菌体種間の量的バランスが、年間を通して他の水路よりも安定していたことは、その裏付けと考えられる。
4. 各水路内の菌叢の状態を把握するため各水路においてはクローニング法を行って冬、春・夏・秋における菌叢集団の特徴を調べた。その結果、多くの菌叢が酸素の少ない環境下で生育する難培養性のものであったが季節ごとにまた水路ごとに特徴のある菌叢集団が得られた。特に、各水路からは脱窒を行う *Rhodobacteraceae* 科の菌体、硝化反応を行う *Nitrospira* 属の菌体など窒素除去に

関する多くの菌体を確認できた。さらにその中で水路ごとに菌叢の違いを確認することができた、担体がある水路からは、油汚染土壌の浄化細菌が数種類見出されたことから、有機物分解に関与する菌叢が多く存在していると考えられる。水路 4 は秋の解析データのみであるが、水路 1 に比べて明らかに好気性細菌の存在が多かった。このことから水路 4 内は好気性環境を多く保っていると推測され、このことが COD の除去に有効に働いたと思われた。