

食べる：捕食の関係が作り出す水処理技術の新たな展開

Predator-Prey Relationships in Activated Sludge Lead to New Developments in Wastewater Treatment

佐藤 由也, 稲葉 知大, 青柳 智, 堀 知行, 羽部 浩*
YUYA SATO, TOMOHIRO INABA, TOMO AOYAGI, TOMOYUKI HORI and HIROSHI HABE*

産業技術総合研究所環境管理研究部門 〒305-8569 茨城県つくば市小野川 16-1

* TEL: 029-861-6247

* E-mail: hiroshi.habe@aist.go.jp

Environmental Management Research Institute, National Institute of Advanced Industrial Science and Technology (AIST),
16-1 Onogawa, Tsukuba, Ibaraki 305-8569, Japan

キーワード：活性汚泥，微生物捕食，次世代シーケンサー，共焦点反射顕微鏡法，余剰汚泥減容，膜ファウリング

Key words: activated sludge, microbial predation, high-throughput DNA sequencing, confocal reflection microscopy, excess-sludge reduction, membrane fouling

(原稿受付 2018年3月21日 / 原稿受理 2018年4月8日)

1. はじめに

水不足は21世紀の世界が直面する最も深刻な問題の一つであり、アジアやアフリカを中心に約10億もの人々が安全な水を確保できなくなると言われている。そのため、世界各国では水ビジネスを国家戦略として位置づけ、「安心・安全な水の安定供給」に関する技術開発を推進している。海水を水資源とする技術（海水淡水化）に加え、使用済みの廃水を再び飲料水等へと循環利用する「再生水」に関する技術開発が最重要課題の一つといえる。この水関連市場の成長が最も見込まれる「再生水」分野において、中核となる技術が膜分離活性汚泥法（MBR: Membrane bioreactor）である（図1）。MBRは活性汚泥と処理水との分離を膜により行う水処理再生技術であり、標準活性汚泥法に比べて省スペースで良好な水質が得られるという利点を有するものの、経験則による不安定な運転管理に頼っている点や、膜の閉塞が頻繁に起こる点など、解決すべき課題が多く残されている。

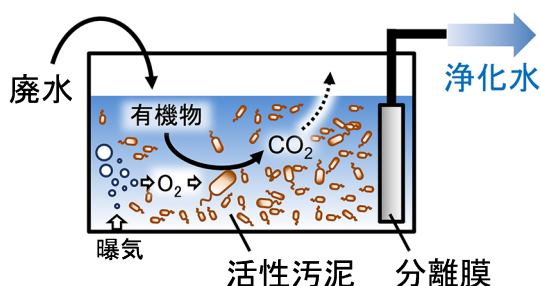


図1. 膜分離活性汚泥法（MBR: Membrane bioreactor）

その原因の一つは、生物学的廃水処理の肝である活性汚泥がブラックボックスとなっている点である。活性汚泥は数千種以上の微生物で構成される複雑な微生物複合体であり、その微生物組成（菌叢）が汚泥の物理的性状や廃水処理性能に大きく影響を与える。一方で、菌叢は環境条件に応じて敏感に変化するため、その維持や制御は難しく、処理システムの不安定性の大きな要因になっている。活性汚泥中では、一般的な原生動物による細菌の捕食に加え、これまで見過ごされてきたが、細菌間での捕食も起きている。このような微生物間での多様な捕食現象が、活性汚泥中の菌叢を大きく変化させ、廃水処理の効率や運転管理に様々な影響を及ぼすと考えられる。しかしながら、複雑な微生物生態系での捕食-被食者の関係や、捕食のメカニズムを高解像度に解析することが技術的に困難であるため、その知見を運転維持管理に反映することができず、実際には現場の運転員の経験則により運転を実施している状況である。

同様に、水処理膜の閉塞（ファウリング）についても、バイオフィームにより膜が閉塞する原因やメカニズムについて、いくつかのモデルは提唱されている。しかしながら、実環境での水処理膜の状態を解析することが技術的に困難であるため、膜閉塞の予知や制御の手法は確立しておらず、膜間差圧を指標とした膜交換時期の予測や、次亜塩素酸を用いた膜洗浄といった画一的な対処しかなされていない。

我々はこれまで、活性汚泥中の菌叢の変化とMBRの処理性能との関係を明らかにし、微生物学的知見に基づいたMBRの高活性維持管理技術の確立を目指してきた¹⁻¹⁰⁾。環境微生物群集の構造や機能を解明するための最先端解析技術（次世代シーケンサーによる微生物種

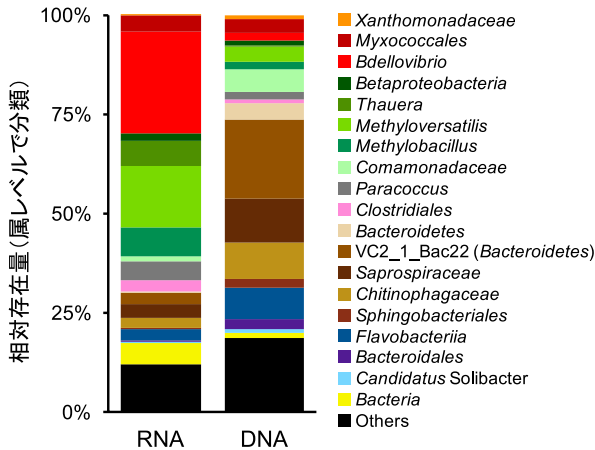


図2. 16S rRNA 遺伝子アンプリコンシーケンスに基づく微生物群集構造。系統解析プログラム QIIME²⁰ を用いて属レベルで系統分類を行った。属レベルの系統分類ができなかった場合は科以上の分類名を記載した。相対存在量が1%以上の分類名を凡例に記載し、それ以外は全て Others に含めた。

の大規模同定法、メタトランスクリプトーム解析法、連続最適化共焦点反射顕微鏡法等)を駆使することで、活性汚泥中での捕食現象の一端を明らかにするとともに、MBR 膜閉塞過程における菌叢の高解像度ダイナミクス追跡およびリアルタイムイメージングに成功したので、最新の研究成果を紹介する。

2. 貧栄養状態の活性汚泥中で起こる捕食現象

～化学工場廃水処理汚泥の例～

本項では、実際の化学工場廃水処理に用いられている活性汚泥中で見出された捕食現象の例を紹介する。近年の次世代シーケンサー技術の発展に伴い、生活廃水の処理を担う一般的な活性汚泥の菌叢は次々と明らかにされている¹¹⁾。一方で、化学工場廃水処理に用いられる活性汚泥の菌叢に関する情報は極めて少ない。これは廃水に含まれる成分が工場ごとに固有であること、また、それら成分が各企業の秘匿情報に当たる場合、外部には出ないことなどによる。しかし、化学工場廃水に含まれる難分解性化合物等を除去できる微生物に関する知見は、環境浄化・修復技術の基盤情報として重要であり、産業上のニーズも高い。我々は、国内某化学メーカーの工場廃水処理に用いられている活性汚泥サンプルを供与いただき、化学分析と大規模な菌叢解析を行うことで、特殊な生育環境を生き抜く微生物群の生存戦略の解明に取り組んだ。

はじめに、活性汚泥に含まれる有機物成分 [TOC (total organic carbon) および COD (chemical oxygen demand)] の分析を行った。TOC は水に含まれる有機態炭素の総量を表し (有機物量の目安)、COD は有機・無機に限らず水中の酸化され得る物質量の目安として用いられている。例えば、実験室で用いる人工下水では、TOC が 1,130 mg/L、COD は 450 mg/L といった値を示す¹⁾。これに対し、本化学工場廃水処理用の活性汚泥サンプルでは、TOC が 633 mg/L、COD は 357 mg/L であった。

TOC/COD 比を見ると、人工下水では TOC/COD の値が約 2.5、化学工場廃水では TOC/COD の値が約 1.8 となっており、後者では有機物成分の割合が低いことが示された。一方、GC-MS 解析を行ったところ、化学工場廃水にはフェノール、*p*-メチルフェノール、インドールといった芳香族化合物が含まれていることが明らかとなった。これらの結果から、本廃水は有機物量が比較的低く、難分解性の芳香族化合物が含まれる特徴的な環境であるといえる。

次に、この環境を生き抜く微生物群を明らかにすべく、次世代シーケンサーを用いた rRNA 遺伝子のアンプリコンシーケンス解析を行った。原核生物 (細菌や古細菌) をターゲットにした 16S rRNA 遺伝子シーケンシングだけでなく、近年当グループで確立したアプローチに基づき¹⁰⁾、真核生物をターゲットにした 18S rRNA 遺伝子シーケンシングも行った。さらに、各構成微生物の存在量だけでなく代謝活性も調べるために、抽出した DNA と RNA それぞれからライブラリーを調製し、シーケンシング解析を行った。得られた配列データを属レベルで分類し、系統学的情報を付した結果を図 2 に示す。まず、RNA を鋳型にした場合と DNA を鋳型にした場合では菌叢が大きく異なり、微生物の存在量比と代謝活性が必ずしも一致しないことが分かる。RNA を鋳型とした 16S rRNA 遺伝子シーケンシング解析の結果では、*Alphaproteobacteria* 綱の *Paracoccus* 属、*Betaproteobacteria* 綱の *Methylobacillus* 属、*Methyloversatilis* 属および *Thauera* 属、*Deltaproteobacteria* 綱の *Bdellovibrio* 属 (注: 最近になって *Proteobacteria* 門内 *Oligoflexia* 綱に細分類された) および *Myxococcales* 属等の細菌の優占化が確認された。*Alpha*- および *Beta*-*proteobacteria* 綱の 4 属には、既知の芳香族化合物分解菌が多数含まれており、本工場廃水処理汚泥の主要構成種として妥当であった。一方、*Deltaproteobacteria* 綱の 2 属には他の細菌を食べることができる「捕食性細菌」が多く存在することが知られている。捕食性細菌とは他の微生物細胞やその生体分子を自身の栄養源として利用できる細菌群のことを指し、これまでに *Alphaproteobacteria* 綱、*Gammaproteobacteria* 綱、*Deltaproteobacteria* 綱、*Chloroflexia* 綱、*Cytophagia* 綱、*Flavobacteriia* 綱、*Sphingobacteriia* 綱を含む多様な分類群に属するものが見つかった¹²⁾。捕食様式についても研究が進められており、例えば生細胞内 (細胞質もしくはペリプラズム) に侵入して細胞内の栄養分を消費するものや、細胞表面に付着しながら細胞内の栄養分を吸い取るもの、溶解酵素を分泌して他細胞の分解産物を利用するものなどが知られている¹³⁾。工場廃水処理汚泥について種レベルの系統解析を行ったところ、最優占種は *Bdellovibrio bacteriovorus* であり、全体の約 25% を占めることが明らかとなった。上述の捕食性細菌には、一般的な低分子有機物を栄養源としても生育できる通性捕食性細菌と、他微生物の捕食によってのみ生育できる偏性捕食性細菌がいるが¹²⁾、本菌は偏性捕食性細菌であり他のグラム陰性細菌を食べることによってのみ生育が可能というユニークな性質を持っている¹⁴⁾。

一方、18S rRNA 遺伝子の解析を行った結果のうち、RNA を鋳型にした場合の主要構成種について上位 5 種

表 1. 18S rRNA 遺伝子アンプリコンシーケンス解析の相対存在量上位 5 種

近縁種	相同性	相対存在量		Phylum (or Class)
		RNA	DNA	
<i>Opisthnecta henneguyi</i>	99%	50.8%	54.5%	<i>Ciliophora</i>
<i>Breviata anathema</i>	99%	22.5%	0.37%	<i>Breviatea</i> (Class)
<i>Spumella</i> sp.	98%	4.4%	2.8%	<i>Chrysoophyceae</i> (Class)
<i>Monochoides</i> sp.	99%	3.9%	12.0%	<i>Nematoda</i>
<i>Anoetus</i> sp.	96%	3.8%	14.2%	<i>Arthropoda</i>

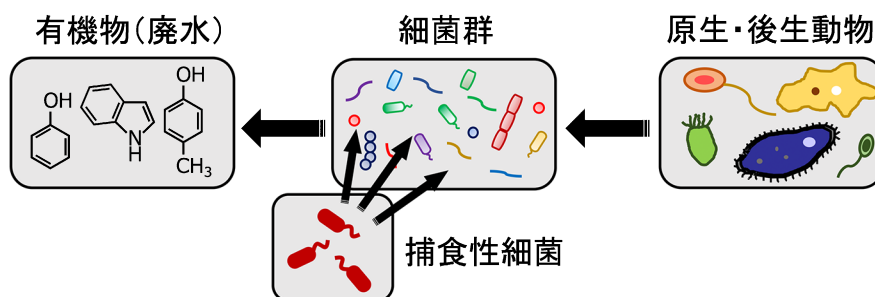


図 3. 活性汚泥中の微生物食物連鎖

を表 1 に示す。上位 3 種は原生動物であり、いずれも細菌群の捕食能を有している。また、残り 2 種は後生動物であり、原生動物を捕食していることが予想される。16S rRNA 遺伝子の解析結果も含めて整理すると、化学工場廃水に含まれる芳香族化合物は、*Alpha-* および *Beta-proteobacteria* 綱に属する分解菌が処理を担い、増殖した細菌群の細胞を *Deltaproteobacteria* 綱の捕食性細菌群および原生動物が捕食し、さらに原生動物群を後生動物群が捕食するという食物連鎖が形成されていると考えられる (図 3)。以上の結果から、有機酸等の代謝し易い成分が少ない、いわゆる貧栄養条件の活性汚泥では、残存する難分解性化合物を資化する微生物や、他の微生物を捕食する微生物が優占化しており、その特徴的な生態系によって効率的な廃水処理がなされていることが明らかとなった。

3. 貧栄養状態を模擬した活性汚泥中で起こる捕食現象

本項では、ラボスケールでの模擬実験で得られた活性汚泥中の捕食現象や、微生物捕食作用を汚泥減容化に利用することを目指したパイロットスケールでの検証実験を紹介する。廃水処理プラントで増えすぎた微生物は「余剰汚泥」として産業廃棄物処理されているが、現在、余剰汚泥は国内産業廃棄物の実に約 20% を占めており、処理に莫大なコストがかかるため大きな問題となっている。そのため、汚泥減容化を目指した様々な技術が提案されてきたが、未だ根本的な解決には至っておらず、新しい技術開発が期待されている。従来、活性汚泥中では「有機物を細菌が利用し、細菌を原生動物が捕食する」という食物連鎖が知られており (図 3)、その食物連鎖を利用した汚泥減容化技術も報告されている。一方、我々は近年、貧栄養条件下では、活性汚泥中に捕食性細菌が一定量存在し、かつ活性化していることを見出して

いる^{1,3)}。そこで、活性汚泥中の捕食現象を再現し、そのメカニズムを解明するため、ラボスケールでの模擬実験に取り組んだ。

実験系はシンプルで、人工下水 (栄養源) の添加有りまたは無しの 2 条件で活性汚泥 1 L の培養を行った。人工下水添加有りの条件では約 2 週間で活性汚泥濃度が 50% 増加したが、添加無しの条件では 28% 減少した。この結果は、貧栄養条件下では捕食による活性汚泥の減容化が誘引されることを示唆している。そこで次世代シーケンサーを用いた微生物群集構造解析を行い、

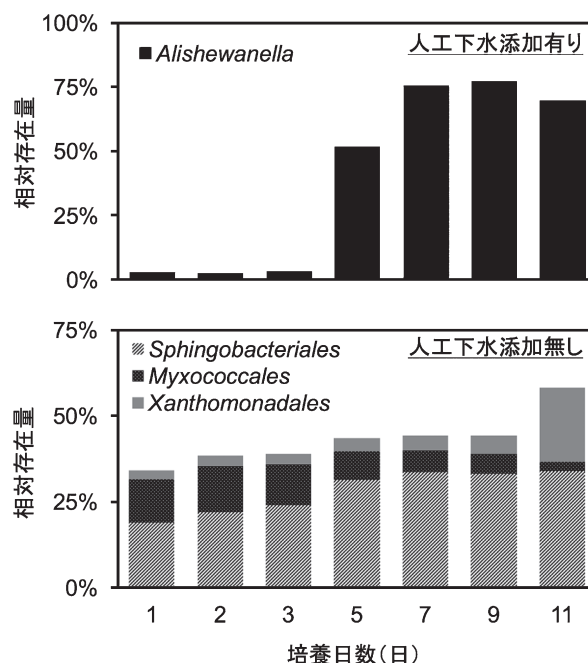


図 4. 人工下水添加有/無条件において活性汚泥中で優占化した微生物分類群

活性汚泥中の細菌群の組成変化を解析した。その結果、人工下水添加有りの条件では *Alishewanella* 属を中心とする従属栄養性細菌群が優化したのに対し、人工下水添加無しでは *Xanthomonadales* 目, *Myxococcales* 目, *Sphingobacteriales* 目等の、捕食性細菌が属する分類群の優占化が観察された (図4)。さらに、メタトランスクリプトーム解析によって両条件における汚泥中の微生物代謝系を俯瞰した。これまでは、ゲノム情報に乏しく多様な微生物が混在する活性汚泥をトランスクリプトーム解析の対象にするのは難しかったが、近年開発された鋳型ゲノム配列に依存しない (*de novo assembly* に基づく) トランスクリプトーム解析手法¹⁵⁾ を応用することで、我々はそれを可能にしている。その結果、原生動物や後生動物を含む真核生物群が、人工下水添加無しの条件で、培養期間中に高活性化していること、また、捕食性細菌群が他の微生物の細胞残渣化合物を巧みに分解・利用して貧栄養条件を生き抜いていることが明らかとなった。

次に、これらの知見をもとに、230 L 容のパイロットスケール MBR を用いた汚泥減容の検証実験を行った。人工下水の処理を約 50 日間続けたところ、MBR 系内の活性汚泥濃度が過度に上昇し (MLSS [mixed liquor suspended solids] > 16,000 mg/L)、有機物除去効率の低下や酸素供給量の不足が観察された。そこで、流入廃水の有機物濃度を半減させリアクター系内を急激に貧栄養条件としたところ、10 日間で MLSS が約 70% 減少し、有機物除去効率の向上と溶存酸素濃度の回復が確認された (図5上)。MLSS 減少期間には、*Lysobacter* 属や *Myxococcales* 目等の捕食性細菌およびその近縁種が増加し (図5下)、最終的には他の汚泥微生物 (*Parapusilimonas* 属等) が優占化することで菌叢が安定化する現象が観察された⁴⁾。本項で記述した一連の事例から、活性汚泥中の捕食現象は適度な環境を設定することで誘引可能であること、さらにはそれが余剰汚泥の減容化技術として利用できる可能性が示された。我々は現在も様々な条件で汚泥減容化実験を試み、効率的に減容化が進む条件の探索を続けている。

4. 水処理膜上のバイオフィーム内部で起こる捕食現象

本項では、連続最適化共焦点反射顕微鏡法を用いた非破壊可視化と rRNA 遺伝子のアンプリコンシーケンス解析の併用により、活性汚泥中ではなく、MBR の分離膜上に堆積するバイオフィーム内部において見出された微生物捕食と膜ファウリングの関係について紹介する。分離膜上へのバイオフィーム形成は膜ファウリングを誘引する主たる要因であると考えられており¹⁶⁾、膜ファウリングの低減や除去、予測などを可能とするために分離膜上での微生物の挙動が研究されている。しかし技術的困難性から、*Pseudomonas aeruginosa* をはじめとするバイオフィームのモデル細菌を用いた研究が主流であり、複数種の微生物によって成り立つ微生物捕食の膜ファウリングへの寄与は見逃されてきた。そこで我々は、前項で示した人工下水を用いて MBR を運転し、バイオフィームの発生した分離膜を、連続最適化共焦点反射顕微鏡法を用いて観察したところ、膜上に多糖類

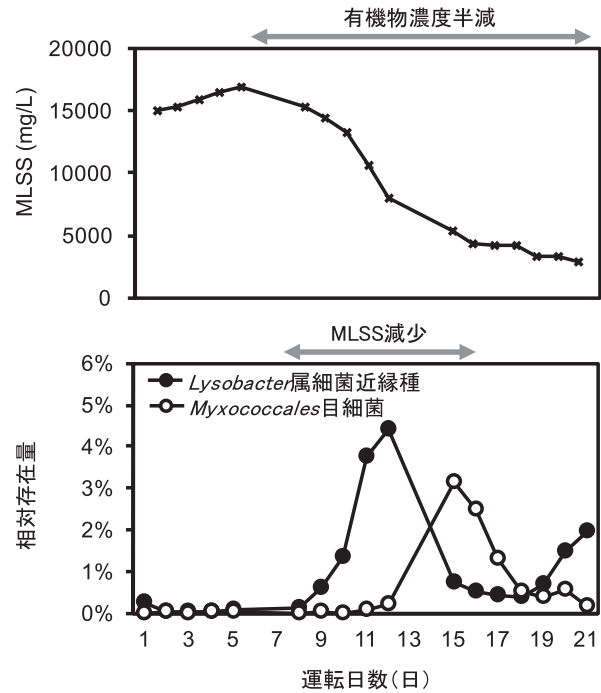


図5. 有機物濃度半減に伴う活性汚泥濃度変化と優占化微生物の存在量変化

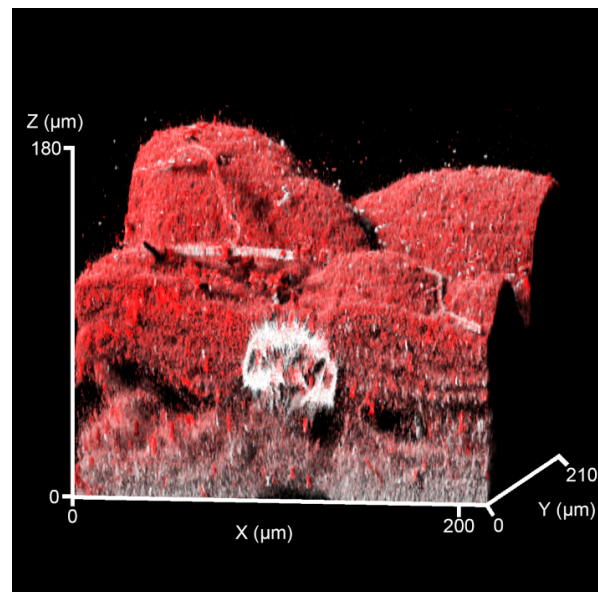


図6. 分離膜上バイオフィームの脂質染色。赤色が脂質、灰色がバイオフィーム全体を示している

の蓄積が認められた⁸⁾。モデル系や実際分離膜上の閉塞物質を解析した研究により、バイオフィームの細胞外マトリクス、すなわち多糖やタンパク質、核酸などの成分は膜ファウリングの進行に重要であることが示されている^{17,18)}。一方で、MBR にかかる有機物負荷率が増加すると、多糖の代わりに脂質が膜上バイオフィームの大部分を占めることが明らかとなった (図6)。このときのバイオフィームを構成する微生物種について、rRNA 遺伝子のアンプリコンシーケンス解析を行うと、*Deltaproteobacteria* 綱が主要な微生物の一群として検

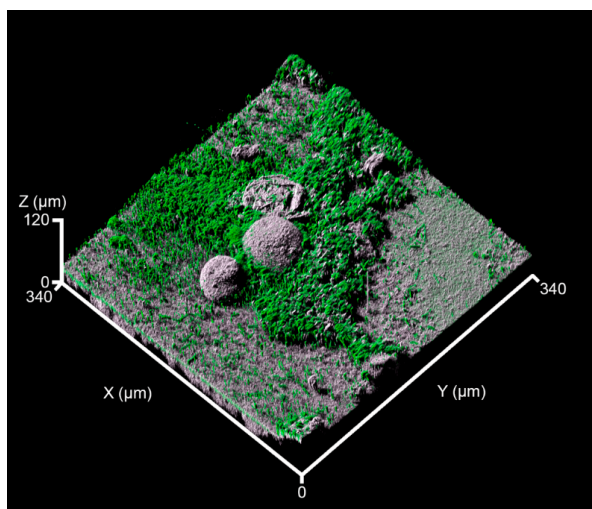


図7. 分離膜上バイオフィームの核酸染色。緑色が細菌及び真菌，灰色が分離膜及びバイオフィーム全体を示している。画像中央の球状構造物が有殻アメーバ様の真核微生物

出された。また、*Deltaproteobacteria* 綱は膜閉塞の指標である膜間差圧が高い値を示した時に膜上で優占化していたため、膜閉塞への関与が疑われた。前述の通り、*Deltaproteobacteria* 綱には捕食性細菌が数多く属しているが、さらなる詳細な解析により偏性捕食性細菌である *Bdellovibrio exovorus* が主要構成種であることが示された。また *B. exovorus* は被食対象の細胞内容物のみを消費し、細胞膜を食べ残す捕食様式を採ることが知られており¹⁹⁾、顕微鏡で観察されたバイオフィーム中の脂質は、*B. exovorus* に捕食された細菌の膜脂質残渣に由来することが強く示唆された⁸⁾。

膜ファウリング進行時の捕食性細菌の増加は、実廃水を用いたラボスケール MBR 処理の実験でも確認されている。養豚場廃水を MBR で処理する際に発生した膜ファウリングの解析では、高有機物負荷による膜閉塞の急速な進行時に、捕食性の粘液細菌である *Enhygromyxa* 属や *Nannocystis* 属が優占化することが確認された⁹⁾。このような研究から、異種細菌間の捕食-被食関係が膜ファウリングを誘引するといった新たな現象も見出された。さらに細菌同士の捕食-被食関係に加え、原生動物や後生動物などによる捕食が膜ファウリングに関与することも明らかになりつつある。具体的には、前述の養豚場廃水処理 MBR の実験で、膜ファウリングが抑えられ安定的に膜分離が行われている期間には、細菌捕食性の繊毛虫や輪形動物が膜上で増加していることが発見され(図7)、膜ファウリングの低減に寄与していることが示唆された¹⁰⁾。加えて、高有機物負荷による膜ファウリング発生時には、繊毛虫を捕食する吸管虫が膜上で優占化することが確認されたことから、細菌捕食性の原生動物を捕食するより上位の捕食者の増加がファウリングの進行に寄与している可能性も見出された。本項で紹介した一連の事例は、細菌や真菌、原生動物、後生動物など多種多様な生物が形成する食物連鎖が膜ファウリングに関与することを強く示唆している。分離膜上をフィールドとした生物群の捕食-被食関係は複雑でその全容は明らかとなっていないが、今後の研究のさらなる進展によ

り、捕食性微生物を利用した膜ファウリング制御技術の開発が期待される。

5. おわりに～環境微生物データベースの構築～

次世代シーケンサーを基盤とした環境微生物群集の高感度解析技術を利用することで、活性汚泥中やバイオフィーム内で起こっている捕食現象のメカニズムの一例を見ることができた。しかしながらこれらの知見は、環境中で起こっている多種多様な捕食現象の一端を垣間見たに過ぎない。全く同じ廃水処理槽の活性汚泥を一つとっても、日々刻々と変化する廃水組成や負荷の違い、季節ごとの水温、槽内における場所の違い等によって、様々なメカニズムで微生物間の捕食が起き、菌叢が変化しているのであろう。我々は、この“食べる”に関する個々の科学的知見を、どうしたら水処理プロセス全体の処理の高効率化や安定的な運転維持管理にフィードバックできるのかを考え、それを実現するための取組みとして「環境微生物データベースプロジェクト」(<https://unit.aist.go.jp/emri/114envmicrob/dbem/index.html>)を推進している。

活性汚泥のある一時点の菌叢をどんなに詳細に解析してもそれは「スナップ写真」を眺めているのと同じで、それ以上の情報は得られない。活性汚泥中の微生物動態の全容解明に少しでも近づくためには、例えば同じ廃水処理槽の活性汚泥について、長期間にわたって経時的に微生物の多様性、存在量、機能情報を解析し、それらを蓄積することで「動画」にしていくことが重要である。プロセス運転データや水質化学分析データ、網羅的な微生物解析データを包括した環境微生物データベースを構築することで、微生物間での捕食が引き起こす菌叢の変遷が廃水処理性能に及ぼす影響について多数の事例を解析できるようになる。解析には人工知能等を導入し、これらビッグデータの情報を整理あるいはパターン化していくことで、環境中の複合微生物を制御する方法が見出せるのではないかと期待している。我々はその第一歩として、‘役に立つ’データベースを構築すべく、9つの自治体が管理する16箇所の都市下水処理場と連携体制を構築し、活性汚泥タンクや消化タンクから月に1回程度の頻度で汚泥試料を採取し網羅的な解析を行っている。気候の多様性に富んだ我が国の特徴を最大限に活かし、北は北海道、南は沖縄県までの様々な地域で稼働する都市下水処理施設を解析の対象とすることで、多様な局面に対応することができる新規廃水処理プロセスの構築や、既存プロセスの改良に向けた技術開発へフィードバックを行うなど、環境バイオテクノロジーの社会実装に向け、革新的な技術の創製を目指していきたい。

謝 辞

本研究成果の一部は、JSPS 科研費事業 16K16233 および JP17H04716 の研究成果である。ここに感謝の意を表する。

文 献

- 1) Sato, Y., et al. 2016. Fine-scale monitoring of shifts in microbial community composition after high organic loading in a pilot-scale membrane bioreactor. *J. Biosci. Bioeng.* 121: 550–556.
- 2) Sato, Y., et al. 2015. Effect of a microbiota activator on accumulated ammonium and microbial community structure in a pilot scale membrane bioreactor. *J. Gen. Appl. Microbiol.* 61: 132–138.
- 3) Sato, Y., et al. 2016. Functional maintenance and structural flexibility of microbial communities perturbed by simulated intense rainfall in a pilot-scale membrane bioreactor. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 100: 6447–6456.
- 4) Sato, Y., et al. 2016. Effects of organic-loading-rate reduction on sludge biomass and microbial community in a deteriorated pilot-scale membrane bioreactor. *Microbes Environ.* 31: 361–364.
- 5) Navarro, R.R., et al. 2016. High-resolution phylogenetic analysis of residual bacterial species of fouled membranes after NaOCl cleaning. *Water Res.* 94: 166–175.
- 6) Navarro, R.R., et al. 2016. High susceptibility of aerobic microbiota in membrane bioreactor sludge towards olive oil as revealed by high-throughput sequencing of 16S rRNA genes. *J. Environ. Chem. Eng.* 4: 4292–4299.
- 7) Sato, Y., et al. 2016. A preliminary diagnostic method for membrane fouling using extracellular proteins secreted in pilot-scale membrane bioreactors. *J. Environ. Biotechnol.* 16: 65–68.
- 8) Inaba, T., et al. 2017. Architecture, component, and microbiome of biofilm involved in the fouling of membrane bioreactors. *NPJ Biofilms Microbiomes.* 3: 5.
- 9) Inaba, T., et al. 2018. Revealing sludge and biofilm microbiomes in membrane bioreactor treating piggery wastewater by non-destructive microscopy and 16S rRNA gene sequencing. *Chem. Eng. J.* 331: 75–83.
- 10) Inaba, T., et al. 2018. Eukaryotic microbiomes of membrane-attached biofilms in membrane bioreactor analyzed by high-throughput sequencing and microscopic analyses. *Microbes Environ.* DOI: 10.1264/jsme2.ME17112
- 11) Griffin, J.S. and G.F. Wells. 2017. Regional synchrony in full-scale activated sludge bioreactors due to deterministic microbial community assembly. *ISME J.* 11: 500–511.
- 12) Pasternak, Z., et al. 2013. By their genes ye shall know them: genomic signatures of predatory bacteria. *ISME J.* 7: 756–769.
- 13) Pérez, J., et al. 2016. Bacterial predation: 75 years and counting! *Environ. Microbiol.* 18: 766–779.
- 14) Rendulic, S., et al. 2004. A predator unmasked: life cycle of *Bdellovibrio bacteriovorus* from a genomic perspective. *Science.* 303: 689–692.
- 15) Grabherr, M.G., et al. 2011. Full-length transcriptome assembly from RNA-Seq data without a reference genome. *Nat. Biotechnol.* 29: 644–652.
- 16) Flemming, H.C. 2002. Biofouling in water systems—cases, causes and countermeasures. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 59: 629–640.
- 17) Vansacker, L., et al. 2014. Biofouling ecology as a means to better understand membrane biofouling. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 98: 8047–8072.
- 18) Vansacker, L., et al. 2014. Biofouling on microfiltration membranes in MBRs: Role of membrane type and microbial community. *J. Membr. Sci.* 453: 394–401.
- 19) Koval, S.F., et al. 2013. *Bdellovibrio exovorus* sp nov., a novel predator of *Caulobacter crescentus*. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 63: 146–151.
- 20) Caporaso, J.G., et al. 2010. QIIME allows analysis of high-throughput community sequencing data. *Nat. Methods.* 7: 335–336.