

## 論文の内容の要旨

論文題目 亜熱帯汽水土壌微生物による海洋性底泥の分解

氏名 安藤 義浩

内湾などの水の出入りが少ない閉鎖性水域において発生する赤潮は対策が急がれる環境問題のひとつである。赤潮が発生すると、魚介類が多量に死滅し甚大な被害となる。赤潮の発生する原因は、水域のリン、窒素などの栄養塩類過多による富栄養化である。

富栄養化の発生要因として、閉鎖性水域に流れ込む栄養塩類を多量に含んだ工業排水、生活排水が考えられるが、最近発生要因として注目されるようになったのが、養殖で過剰に与えられた餌、魚介類の排出物・死骸が長年にわたり海底に蓄積された結果形成された海洋性底泥である。底泥から栄養塩類が上層水に溶出し、富栄養化を引き起こす要因となることが明らかになったからである。

海洋性底泥のこれまでの処理方法には、浚渫、覆土、建築資材としての再利用などがあるが、浚渫では埋めたて地のスペースの問題、覆土では栄養塩類の再溶出の問題、再利用では処理に多大なエネルギーを使わなければならないという問題があり、新たな処理方法が切望されている。

そこで、本研究では、海洋性底泥を微生物の力を利用し効率よく迅速に分解することに関する研究を行った。すなわち、海洋性底泥を効率よく分解する微生物を探索し、その微生物を同定することを試みた。探索する微生物として、マングローブの生育する亜熱帯汽水域土壌中の微生物に着目した。

第1章は緒論であり、海洋性底泥について概説し、次に、これまでの海洋性底泥の処理方法を述べ、そして、理想的な海洋性底泥の処理の流れを提示し、微生物を利用した処理方法を紹介した。さらに、マングローブの生育する亜熱帯汽水土壌微生物が、探索する微生物として最適であることをマングローブ周辺の生態系の観点から説明し、本研究を行う上でこの微生物に期待される性質について述べた。

第2章では、海洋性底泥の分解を効率的に行う亜熱帯汽水土壌の探索を行った。探索する亜熱帯汽水土壌は、マングローブの生育する沖縄県西表島の2地点において4種類の土壌のサンプリングを行った。海洋性底泥は、赤潮の被害に毎年見舞われている三重県英虞湾でサンプリングを行ったものを使用した。

通気性向上のため、海洋性底泥にもみがらを加え、さらに亜熱帯汽水土壌を添加した試料を、60℃に設定した恒温槽中で好氣的に反応させることによって分解実験を行った。二酸化炭素発生速度を指標として、亜熱帯汽水土壌による底泥の分解能を測定した。

その結果、船浦港周辺でサンプリングを行った1種類の土壌を添加したバッチの二酸化炭素発生速度のピークが、他の3つのバッチを用いた時のピークよりも早く現われ、かつ大きかった。したがって、この土壌は、海洋性底泥を効率よく迅速に分解することが明らかとなった。すなわち、この土壌中に底泥中で有機物を効率的に分解する微生物が存在することが示唆された。

第3章では、第2章で海洋性底泥の分解能が高いことが確認された亜熱帯汽水土壌から、分解に関与する微生物の単離を試みた。単離した微生物自身の分解能を正確に測定するため、人工海洋性底泥を調製し、海洋性底泥のかわりに分解実験で使用した。人工海洋性底泥を調製するにあたり、前もって海洋性底泥の成分を調べた。

土壌からプレート培養によって微生物を単離し、それぞれの微生物を人工海洋性底泥に添加した。これらのバッチを用いて第2章と同様の条件で分解実験を行い、分解能を調べた。さらに、分解能の高かった微生物について、その微生物の 16S rRNA 遺伝子の一部 (194bp、V3 領域) の塩基配列を決定し、系統関係を調べた。また、Denaturing Gradient Gel Electrophoresis (DGGE) を用いて、単離した微生物が底泥中で機能していることを確認した。

その結果、プレート培養により主に3種類の微生物が単離された。これらをそれぞれ人工海洋性底泥に添加したところ、その中の1つの微生物が底泥を効率よく迅速に分解することが明らかとなった。系統関係解析の結果から、この微生物は *Bacillus* 属であること、特に *Bacillus fumarioli* および *Bacillus* 属の uncultured bacterium と最も相同性が高いことが示唆された。また、DGGE の結果、分解のピーク時に採取した試料から特徴的なバンドが現われた。そこで、このバンドの塩基配列 (16S rRNA 遺伝子の一部、V3 領域) を決定したところ、添加した微生物の塩基配列と完全に一致した。よって、添加した微生物が底泥中で働いていることが確認された。

第4章では、第3章で発見した人工海洋性底泥を効率よく分解する微生物を実際の海洋性底泥に応用し、分解能を示すかどうか確認した。また、この微生物を同定するため、形態観察、グラム染色、胞子の有無、胞子の形および胞子のうの膨らみの観察、カタラーゼ活性のテスト、GC 含量測定、16S rRNA 遺伝子の全塩基配列 (約 1500 bp) を決定し系統解析を行った。

その結果、この微生物は実際の海洋性底泥を効率よく分解することが明らかとなった。そして、同定試験の結果、この微生物は *Bacillus* 属であり、*Bacillus fumarioli* と最も相同性が高いことが分かった。また、この微生物の GC 含量が 37.4%であったのに対し、*Bacillus fumarioli* の基準株の GC 含量は 40.7%であり、その差は 3.3 mol%であった。このことから、この微生物は *Bacillus fumarioli* ではなく、新種の可能性があることが示唆された。

第5章は結論であり、本研究から得られた結果をまとめた。