

## 審査の結果の要旨

論文提出者氏名 安藤 義浩

本研究は、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であり、5章より構成されている。

第1章は緒論であり、本研究の行われた背景について述べ、本研究の目的と意義を明らかにしている。

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ている。探索する亜熱帯汽水土壌については、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種類の土壌をサンプリングしている。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したものを使用している。

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ている。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ている。

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、かつ大きかったと述べている。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を明らかにしている。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と述べている。

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ている。単離した微生物自身の分解能を正確に測定するため、海洋性底泥のかわりに人工海洋性底泥を調製し、分解実験で使用している。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ている。

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

添加している。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、分解能を調べている。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、系統関係を調べている。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ている。

その結果、プレート培養により主に3種類の微生物を単離している。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を明らかにしている。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と述べている。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と述べている。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と述べている。以上より、添加した微生物が底泥中で働いていることを確認している。

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を確認している。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ている。

その結果、この微生物は実際の海洋性底泥を単独で効率よく分解することを明らかにしている。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を明らかにしている。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%であったと述べている。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と述べている。

第5章は結論であり、本研究を要約して得られた研究成果をまとめている。

このように本論文では、亜熱帯汽水土壌を利用して海洋性底泥を分解できることを明らかにしている。さらにこの土壌の中からこの分解に関わる微生物を単離・同定し、この微生物が単独で海洋性底泥を分解できることを明らかにしている。

よって本論文は博士 (工学) の学位請求論文として合格と認められる。