

## Ecological studies on extremely thermophilic bacteria in various environments

カタリーナ, メイ, ウリアン, ビエネス

<https://hdl.handle.net/2324/1866361>

---

出版情報：九州大学, 2017, 博士（農学）, 課程博士  
バージョン：  
権利関係：やむを得ない事由により本文ファイル非公開（3）

氏 名	KATHRINA MAE ULILANG BIENES
論 文 名	Ecological studies on extremely thermophilic bacteria in various environments (様々な環境下における高度好熱性細菌の生態学的研究)
論文調査委員	主 査 九州大学大学院 農学研究院 教授 酒井 謙二 副 査 九州大学大学院 農学研究院 教授 土居 克実 副 査 九州大学大学院 農学研究院 准教授 田代 幸寛

## 論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

都市下水の活性汚泥処理において排出される余剰汚泥はコンポストの原料として有望であり、効率良くリサイクルすることは循環型社会の形成に資する。鹿児島市においては、この余剰汚泥を他に例を見ない 80-100°C に達する超高温コンポスト化によってリサイクルしている。一般的にコンポスト化過程から分離される細菌は中等度好熱性細菌がほとんどであるのに対し、この超高温コンポストからは、高度好熱性の *Calditerricola* 属や *Thermaerobacter* 属細菌が見いだされ、加えて原料の余剰汚泥からもこれら細菌が分離されている。本研究ではこれら高度好熱性細菌の生態と、希有な超高温堆肥化のプロセスとの関係を明らかにするために、各種分子生物学的手法による各種環境中細菌群集構造の解析と高度好熱性細菌の分離・同定を行った。

まず、*Calditerricola* 属細菌の生態学的分布を明らかにするために、段階希釈後 75°C で集積培養した試料について属特異的 16S rRNA 遺伝子断片を増幅しバンドを検出する、enrichment most probable number (eMPN)-PCR 法を開発し、本法が平板塗抹培養法と比較し、夾雑物や他微生物の影響を受けないこと、検出感度が高いことを示した。本 eMPN-PCR 法を用いて、*Calditerricola* 属細菌が超高温コンポスト中のみならず、原料である余剰汚泥に比較的多数が検出されることを示した。また、農産廃棄物由来コンポストには検出されないのに対し、市内堆積火山灰、2010 年、2011 年桜島噴火時の火山灰などからも *Calditerricola* 属細菌が検出されることを明らかにした。次に、16S rRNA 断片の Denaturing Gradient Gel Electrophoresis (DGGE) 分析を超高温コンポスト、嫌気消化汚泥および桜島火山灰とそれらの 75°C 集積培養液について行い、複数の試料から、*T. marianensis*, *T. composti* および *C. satsumensis* と同一の移動度を示すバンドが検出されることを明らかにした。さらに、次世代シーケンサーを用いて細菌群集構造を解析したところ、75°C の集積後の門構成はすべての試料で共通する 5 門からなっていること、そのうち 9 種の Operational Taxonomy Unit(OTU)が中等度好熱性細菌と近縁で、2 種は高度好熱性細菌 *C. yamamurae* および *Caldicoprobacter faecalis* 近縁であることを明らかにした。上記とは別に、CYS-ジェランガム培地を用いて高度好熱性細菌の分離を試み、火山灰、嫌気消化汚泥、超高温コンポストから *T. composti*、火山灰、嫌気消化汚泥から *C. satsumensis*、火山灰から *T. marianensis* それぞれの近縁菌の分離に成功した。以上の結果からこれら高度好熱性細菌は桜島地下地熱帯を起源とし、火山灰の飛散により拡散した後、下水道を通じて汚泥に集積されコンポスト化過程で増殖したとする仮説を提唱した。加えて、フィリピンマヨン山の火山灰とその 75°C 集積培養液中の細菌について分析し、集積後の主要 OTU が *C. satsumensis* および *Geobacillus toebi* 近縁であることを示した。

以上要するに、本研究は各種環境試料中の高度好熱性細菌の生態学的研究に新しい手法を導入し

て超高温コンポスト化と生態系分布の関連性を明らかにしたものであり、土壤環境微生物学の発展に寄与する価値ある業績である。よって本研究者は博士（農学）の学位を得る資格を有するものと認める。