

学 位 論 文 要 旨	
氏 名	シャロン・ノナト・ヌナル
題 目	石油分解細菌コンソーシアムを用いた石油汚染海洋環境の微生物修復 (Bioremediation of oil-contaminated seawater and sediment by an oil-degrading bacterial consortium)
<p>本研究は重油汚染された環境に対して、微生物を用いて環境修復を行うことを目的としている。はじめに、フィリピンのギマラス島沖で起こった重油汚染事故後、1年から2年にかけて、汚染事故の起こった場所の周辺から重油分解菌の分離を試みた。現場から18菌を分離し16S rRNA遺伝子の解析を行った結果、これらのほとんどは、Gamma-proteobacteria と Alpha-proteobacteriaに属することを明らかにした。そして、それらは <i>n</i>-alkanes と重油を唯一の炭素源として利用できるが、ほとんどの菌が phenanthrene は利用できないことを明らかにした。また、重油分解の代表的な属としては <i>Pseudomonas aeruginosa</i>、<i>Marinobacter mobilis</i>、<i>Halomonas sp.</i> および <i>Gaetbulibacter sp.</i> であることを示した。次に、これらをココナッツ殻粉末に固定したり、アルギン酸に固定する、いわゆる担体固定による重油分解手法を検討した。その結果、室内実験においては、free-living と凝集化したものよりも、上記の担体に固定化した方がより高い重油分解能を示すことを明らかにした。さらに、現場海水においても上記の担体固定化した分解菌の効果を確認した。すなわち、ココナッツ殻粉末に固定したもの、糲殻に固定したもの、アルギン酸に固定したものが、free-living や自然海水よりも重油分解能が高いことを明らかにした。また、60日の現場分解実験において、ココナッツ殻粉末や糲殻に固定化したのは非固定よりも高い分解能を示し、走査顕微鏡観察においても固定化されている様子を確認した。とりわけ、この固定化した担体を用いることによって、aliphatic と aromatic の画分における高い分解結果が得られた。さらに、低温においても、固定化した担体の分解菌の菌数は維持され分解能も維持されることを確認した。</p> <p>次に、上記の固定化した分解菌に無機塩を添加した場合の重油汚染底泥における炭化水素の分解過程と細菌相の変化を調べた。具体的には、60日間の重油分解物、重油分解菌の菌数変化および菌相変化を調べた。その結果、栄養塩と分解菌の添加は分解促進効果を示した。すなわち、上記の条件では原油炭化水素の68.9%を分解し、その期間は分解菌と従属栄養細菌の菌数を維持することを明らかにした。同時にPCR-DGGE法を用いて、上記の栄養塩と分解菌の添加実験の分解過程における分解菌の菌相の変化を調べた。その結果、担体固定は分解菌の維持に効果を示すことを明らかにした。さらに、栄養塩の添加は分解菌の増殖と炭化水素の分解能を促進することを明らかにした。すなわち、上記の細菌相の見地から、担体固定による分解菌の残存性と増殖が重油分解を促進することを確認した。</p>	