

## 学位論文審査結果の要旨

|   |  |
|---|--|
| 学位申請者<br>氏 名  | Sharon Nonato Nuñal  |
| 審査委員  | 主査 鹿児島 大学 教授 前田 広人   |
|   | 副査 鹿児島 大学 教授 小山 次朗   |
|   | 副査 鹿児島 大学 准教授 吉川 毅   |
|   | 副査 鹿児島 大学 教授 野呂 忠秀   |
|   | 副査 鹿児島 大学 教授 境 雅夫  |
| 審査協力者   |  |
| 題 目   | Bioremediation of oil-contaminated seawater and sediment by an oil-degrading bacterial consortium<br>(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) |
| <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ของギマラス島沖で起こった重油汚染事故後 1 年目から 2 年目にかけて、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、<math>\gamma</math>-Proteobacteria と <math>\alpha</math>-Proteobacteria に属することを明らかにした。そして、それらは <i>n</i>-アルカンと重油を唯一の炭素源として利用できるが、ほとんどの菌がフェナントレンを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菌種として <i>Pseudomonas aeruginosa</i>、<i>Marinobacter mobilis</i>、<i>Halomonas</i> sp. および <i>Gaetbulibacter</i> sp. が挙げられることを示した。次に、これらをココナッツ殻粉末や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 の細菌細胞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。</p> |  |

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、籾殻に固定したもの、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籾殻に固定したのは非固定よりも高い分解能を示し、走査型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、脂肪族炭化水素と芳香族炭化水素の両画分に対する高い分解結果が得られた。さらに、低温においても、担体に固定化された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。

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。

本学位論文は、石油汚染環境に対するバイオレメディエーションの一手法として、生物資材に固定化した石油分解細菌を用いた点で新奇性が高い。固定化によって、石油分解細菌を現場海域、とくに潮間帯底質に長期間とどめることが可能となる。固定化資材としてココナッツ殻や籾殻粉末を用いることは、環境への負荷の低減に加え、農産廃棄物の有効利用もつながる。また、マイクロコスム実験における底泥中の微生物群集動態解析ならびに固定化微生物の石油分解能から、固定化石油分解細菌の優位性も明らかにしている。以上のことから、本研究は、固定化石油分解細菌を用いたバイオレメディエーション技術の実用化を目指す上での重要な知見と評価される。