

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 張 小 凡

近年、土壌の石油汚染は頻繁に発生するようになり、石油汚染土壌の生物学的処理技術の実用化が望まれている。本論文は、石油汚染土壌の生物学的浄化の研究を、湾岸戦争で汚染したクウェート国の砂漠土を用いて行ったものであり、6章から成っている。

論文は石油成分のなかで分解が困難とされている多環芳香族化合物の分解除去に焦点をあてて進められている。序論の1章に続き、2章ではクウェートの砂漠土で多環芳香族化合物の分解が遅い原因を調べ、微生物相の貧弱さが原因であると結論づけた。また、石油成分の分解促進資材として、低温炭化炭がこれまで報告されている資材では最も効果が高い資材であることを見出した。

2章の結果、多環芳香族化合物分解菌の添加が浄化処理に有効であると考えられたため、3章では、多環芳香族化合物のモデル物質としてピレンとフェナントレンを選び、これを唯一の炭素源、エネルギー源として生育する菌株を、対象とする土壌中で集積し、PY3およびPH2の2株を取得した。これらの2株は同定試験の結果、*Sphingomonas*属と同定され、この属の菌株がこれまでに人畜に重篤な病気を引き起こしていないことから、土壌添加（バイオオーグメンテーション）試験に使用可能な菌株であると判断した。また、各種の芳香族化合物の分解能力を試験した結果、PY3株がPH2株より多くの種類の多環芳香族化合物を分解することから、土壌添加試験にはPY3株が適していると判断した。

4章では、PY3株の土壌中でのモニタリングのための情報を得るため、この菌株の芳香環の開裂に関与する遺伝子をクローニングし、塩基配列を解読した。解読されたクローンにはメタ開裂に関与すると考えられる6つのORFが含まれていたが、ホモロジー検索の結果、いずれもこれまでに報告された遺伝子と相同性が低く、新規な遺伝子と考えられた。

5章および6章では、石油汚染土のバイオオーグメンテーション試験をPY3株を用いて行っている。試験は、日本における室内試験、クウェート国立科学研究所における室内試験およびクウェート国のブルガン油田の試験地における野外実験の3回行われた。日本における室内試験では、微生物の添加方法が検討され、珪藻土担体に混ぜ込んだ方法で添加した場合、土壌中で生残させることが可能であることが確かめられた。クウェート国立科学研究所での室内試験では、現地で使用可能な資材に混ぜ込んだ条件で生残するか検討され、良好な結果を得た。最終的に野外実験が行われ、添加後、多環芳香族化合物の残存量、微生物の生残菌数が定量的PCR法とコロニー計数法でモニタリングされた。2種の多環芳香族化合物がモニタリングされたが、残存量はPY3株添加土壌は無添加土壌に比べて明らかな減少が認められた。また、同時に行われたPY3株の生残菌数は、約2週間にわたって高いレベルで維持されていた。

以上、本論文は石油汚染土壌の生物的浄化処理の研究を行い、基礎的かつ実用的な成果を得、学術上、応用上貢献するところが少なくない。よって、審査員一同は、本論文が博士（農学）の学位論文として価値あるものと認めた。