

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 元永 圭

自然環境に放出された農薬の多くは、単一微生物の生育基質として完全に無機化されることは少なく、cometabolism により分解される場合が多いと考えられる。しかし、従来の cometabolism に関する研究は、単離菌を用いた純粋培養系のものがほとんどであり、貧栄養な土壤環境における cometabolism 分解の規制因子に関する研究は見出すことができない。本論文は、cometabolism による分解が示唆されている殺菌剤 TPN (tetrachloroisophthalonitrile) を対象物質とし、土壤中での cometabolism 分解に影響する因子の解明を目的として行われた研究である。

第1章および第2章には、緒言および実験方法の概要が記されている。

第3章では、まず、土壤中での TPN 分解様式について明らかにしている。すなわち、TPN 1分子から1塩素イオンが脱離するまで分解が急速に進行した後、塩素イオンの放出が緩やかになり、脱塩素化された代謝物が残留したことから、TPN は土壤中では完全には無機化されないことを示した。

次に、反復投与した際の分解について検討し、初回処理 TPN がほぼ消失した後に再投与した場合も、再投与された TPN の分解が抑制される結果を得た。反復投与により土壤中での分解が抑制される農薬の例は今回の TPN が初めてである。再投与後は土壤呼吸量も抑制されたことから、土壤呼吸量と TPN 分解の関係を検討したところ、両者に正の相関を認めた。土壤呼吸量は土壤溶液中の有機物量と正の関係があることが知られている。従って、先の相関から、土壤溶液中の有機物量が TPN cometabolism 分解の規制要因の一つであると推定した。一般に cometabolism 分解が進むためには、被分解物の他に生育基質が必要であることから、貧栄養な土壤中では、土壤溶液中の有機物量が生育基質量を反映していると推定された。

続いて、TPN 再投与により土壤呼吸量が抑制される原因について検討した。まず、TPN の主要代謝物である TPN-OH (4-hydroxy-2,3,5-trichloroisophthalonitrile) を合成し、検出・定量法を確立した。TPN 処理後の土壤では TPN-OH 量が経時的に増加し、TPN 再投与により蓄積する結果を得た。また、TPN-OH の前処理により土壤呼吸量は抑制され、かつ TPN 分解も抑制された。さらに、TPN-OH は、毒性は TPN より低いが土壤残留性は高く土壤吸着力が低いことを示した。以上より、TPN 反復投与により土壤呼吸量が抑制された原因は、TPN の主要代謝物である TPN-OH が土壤に蓄積し土壤溶液中での濃度が高く維持される結果、土壤微生物の活動が阻害されたためと推察した。さらにこの阻害が、溶存有機物量の低下、ひいては cometabolism 分解の低下を招いたことを推察している。また、圃場環境下では、水溶性の高い TPN-OH が下方浸透することも示した。

圃場における既往の研究から、TPN は連用にともない分解速度が低下し連用14年目には分解能が完全に失われるものの、連用17年目には再び分解されていたことが示されている。

第4章では、分解能が回復した土壌と TPN 投与歴のない対照土壌を比較し、TPN 分解微生物について検討している。分解能回復土壌に TPN を投与したところ、TPN 1分子に対して1塩素イオンが生じたことから、回復した分解能も完全無機化ではないことが示された。この土壌から単離した分解菌には TPN 分解にともなう菌体増殖が認められなかったことから、本菌は構成的に発現している酵素により TPN を cometabolism 分解すると推定した。また、対照土壌では分解能力が低い多種類の分解微生物が存在するが、分解能が一旦消失後に回復した土壌では、今回単離した分解能力の高い微生物のみが認められ、分解菌数も約4倍であった。以上の結果から、連用に伴う土壌の TPN 分解能の推移は、cometabolism 分解に関与する土壌微生物相が「多種類の低分解能微生物集団」から「1種類の高分解能微生物集団」へ変化することで土壌中における cometabolism 速度が変化したためと推定された。既往の研究例では、土壌中での農薬分解速度が連用により高まる理由として、農薬を生育基質として利用する微生物の集積が示されているが、本研究では、cometabolism 分解微生物相の変化により分解速度が高まる例を初めて示した。

第5章では総合考察を加えている。

以上、本論文は、殺菌剤 TPN を対象物質とし、土壌中における農薬の cometabolism 分解に対して土壌中の溶存有機物量ならびに cometabolism 分解微生物相が影響することを示すとともに、代謝産物による土壌系での物質代謝の攪乱が cometabolism 分解に影響する可能性について論じたものであり、学術上、応用上、貢献するところが少なくない。よって、審査委員一同は、本論文が博士（農学）の学位論文として価値あるものと判断した。