

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 松本 えみ子

有機塩素系農薬のディルドリンおよびエンドリン（ドリ系農薬）は、殺虫剤として広範に使用されたが、強い毒性を示し化学的に安定で土壌残留性が高いため、1970年代に農薬登録が失効し、その後使用が禁止された。しかしながら、過去に農耕地で使用されたドリ系農薬は、登録失効後30年以上経過した現在においても、農地表層土壌に残留しキュウリ等の農作物に混入し、深刻な問題を起している。このような低濃度ではあるが広範囲に分布している残留実態を前に、浄化対策の適用が急務となっている。

本論文はドリ系農薬汚染土壌のバイオレメディエーション技術の開発を試みるため、基礎的研究を進めたもので、5章より成っている。第1章の序論に続く第2章ではドリ系農薬が土壌中でどのような速度で分解されるか、いくつかの地点で採取した非汚染土を用いて試験した。その結果、東京都三鷹市で採取された森林土壌が著しく高い分解力を示すことを見出した。次に、この森林土壌の細菌相をドリ系農薬分解過程においてPCR-DGGE法で経時的に分析したところ、細菌相の大きな変化は観察されなかった。これは、分解活性がみられた土壌においても、分解菌は必ずしも集積されていないことを意味しており、分解菌を分離するには集積培養が必要であると考えられた。

第3章では、ドリ系農薬分解菌の選択的な培養基質としていくつかの構造類似物質を用いて集積培養を試みた。その結果、1,2-エポキシクロヘキサン（ECH）を基質として集積培養した細菌群がドリ系農薬に対して高い分解能を示した。ECH培養菌群の構成をPCR-DGGE法によって解析した結果、*Burkholderia*属、*Cupriavidus*属、および*Alcaligenes*属に分類される菌種が優占していることが明らかとなった。

第4章では、ドリ系農薬分解微生物を集積培養から純粋分離することを試みた。その結果、ドリ系農薬分解菌群の主要構成菌である*Burkholderia*属菌、*Cupriavidus*属菌、および*Alcaligenes*属菌の3菌種、すべての分離に成功した。この3種の主要構成菌のうち、ドリ系農薬分解活性は2菌種（*Burkholderia*属菌MED-7株および*Cupriavidus*属菌MED-5株）に認められた。ECHおよびドリ系農薬を炭素源として添加して14日間培養を行った条件において、MED-7株およびMED-5株は、ディルドリンを49%および38%、エンドリンを51%および40%も分解する能力を示した。この結果は、過去に報告されたドリ系農薬分解菌と比べても非常に高いものであった。さらに、MED-7株とMED-5株は、ドリ系農薬のみを炭素源とする条件下においても分解能を発揮することが明らかとなった。これらの分解菌は、ドリ系農薬を炭素源とすることができる細菌として初めて見出されたものである。一方、MED-7株とMED-5株は生育菌体

だけでなく、休止菌体においてもドリソ系農薬分解活性を示した。さらに興味深いことに、MED-7株とMED-5株の培養上清にも高いドリソ系農薬分解活性が認められた。最後に、MED-7株とMED-5株の詳細な分類性状を調べた結果、MED-7株は *Burkholderia terrae*, MED-5株は *Cupriavidus necator* と同定された。これら2種には、これまでにドリソ系農薬に対する分解能は報告されておらず、本結果はそれぞれの菌種において新しい知見を与えるものであった。

以上、本論文はドリソ系農薬汚染土壌のバイオリメディエーション技術の開発を目指し研究を行ったものであり、審査委員一同は学術上、応用上価値あるものと認め、博士（農学）の学位論文として十分な内容を含むものと認めた。