

氏名	明 石 竹 弘
授与した学位	博 士
専攻分野の名称	農 学
学位授与番号	博甲第2276号
学位授与の日付	平成13年 9月30日
学位授与の要件	自然科学研究科生産開発科学専攻 (学位規則第4条第1項該当)
学位論文の題目	有害化学物質の生態毒性とバイオレメディエーションに関する研究 -白色腐朽菌を用いたベンタクロロフェノールの生分解と毒性評価を中心として-
論文審査委員	教授 青山 勳 教授 松本英明 教授 河合富佐子

### 学 位 論 文 内 容 の 要 旨

有害化学物質による環境汚染を修復する技術として、白色腐朽菌を用いたバイオレメディエーションに関する研究と共に、環境中に存在する有害化学物質の毒性をバイオアッセイによって評価する試みを行った。

岡山県内の河川水域の表流水及び底質で採取した試料から、有機物質の抽出、濃縮を行い、供試生物に藻類 *Selenastrum capricornutum* 及び甲殻類 *Daphnia magna* を用いて、それぞれ72時間後の増殖阻害率、24時間後の遊泳阻害率と死亡率をエンドポイントとする生態毒性評価を行った。供試濃度は原水の30~40倍に濃縮して試験を行った。表流水における毒性試験の結果、甲殻類の死亡率が50%以上であった試料は1試料もなく、藻類の増殖阻害率が50%を超えた試料数は少数であったが、全ての表流水で10%以上の阻害率が検出された。

白色腐朽菌 *Phanerochaete chrysosporium* の増殖及び細胞外分泌蛋白質に及ぼす重金属の影響を評価した。菌体増殖に対して亜鉛は重要な必須因子であり、カドミウムは1meqから増殖に阻害影響を及ぼした。また、カドミウム1meqまでは細胞外分泌蛋白質量に影響を及ぼさなかった。球状の生菌体に対するカドミウムの吸着特性を解析した結果、最大吸着量を示すpHは6であり、Freundlichの吸着等温式に良く適合した。カドミウム存在下でPCPの生分解実験を行った結果、1meqまではPCPの分解能力が保持されていたが、10meqでは分解能力が失われていた。

*P.chrysosporium* をおがくずに培養して、PCP添加土壤に植種を行い、PCPの生分解と同時に、生分解試料の生態毒性評価を行った。菌植種区のみ添加した栄養成分がアンモニアに分解されたため、pHが上昇して多量のPCPが水抽出溶液中に溶出してきた。レタス *Lactuca sativa* 種子を用いた毒性試験の植種区において、PCPの分解が進行しても逆に、高い毒性が検出された。この原因の一つとして、土壤中の水分に多量のPCPが溶解していることが示唆され、機器分析の評価だけでは、環境評価を行うにあたり不十分であり、バイオアッセイによる毒性評価の有用性を示した。

## 論文審査結果の要旨

近年、我国のみならず、先進諸国において、有害化学物質による環境汚染は、年々進んでおり、人類を含むあらゆる生命体に対して重要な影響を与える可能性が危惧されている。本研究はこのような状況を踏まえて、有害化学物質による環境汚染を浄化する技術システムの一つとして、研究が行われたものである。本研究では、白色腐朽菌を用いて、有機化学物質による土壌の汚染を直接的に浄化するバイオレメディエーションに関する研究と共に、有害化学物質による生態毒性をバイオアッセイによって、評価する試みがなされている。

本編では、まず岡山県内の環境汚染の実態を知るために、県内河川水域の表流水及び底質を採取し、それらの毒性を藻類及び甲殻類を用いて調べられた。その結果、両生物に対して、すべての30～40倍濃縮した表流水で10%以上の阻害率が得られた。河川が何らかの化学物質によって既に汚染されている実態が明らかにされた。

第3章では、白色腐朽菌(*Phaenerochaete chrysosporium*)の増殖及び細胞外分泌蛋白質の生成に及ぼす重金属の影響が評価された。本菌は亜鉛に対し強い耐性を示し、銅、マンガンに対しても10meq間での濃度に対しては増殖阻害を起こさなかった。カドミウムに対しては、1meq以上の濃度で増殖阻害が見られたが、比較的高濃度においても、菌体の増殖が認められた。重金属汚染が起こっている土壌に対しても、バイオレメディエーションの適応が可能なことを示した。

またこれらの菌体への濃縮は、pHが6の時最大になり、pHの現象と共に、濃縮量は緩やかに減少することを明らかにした。

第4章では、本菌をPenntachlorophenol (PCP) の生分解に利用すべく、その分解特性が検討された。その結果PCPの中間生成物としてPCAの生成が確認された。カドミウムの共存下においては、その濃度が10meq以上になると本菌のPCP分解能力は失われた。

第5章では、本菌によるPCPの分解過程における毒性がバイオアッセイによって評価された。PCPの分解によって、毒性は低下したが、同時に培地に栄養成分が添加されていると、培地の分解によりアンモニアが生成され、これが未分解のPCPの溶解度を高め、逆に毒性が強められることもあることが明らかにされた。

本研究の成果は、主として、白色腐朽菌を用いてPCPの分解特性に及ぼす環境条件の影響を明らかにした。このことにより、バイオレメディエーションに適用する際の問題点、課題を明確にし、実用化への道を明らかにしたことは、博士(農学)の学位授与に値するものと判断した。