



Title	Biodegradation of Persistent Pesticides by Immobilized Microbial Consortia for Use in Paddy Fields
Author(s)	Anchana, Pattanasupong
Citation	大阪大学, 2004, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/44793
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

氏名	アンチャナ パタナスボン Anchana Pattanasupong
博士の専攻分野の名称	博士(薬学)
学位記番号	第 18649 号
学位授与年月日	平成 16 年 3 月 25 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当 薬学研究科生命情報環境科学専攻
学位論文名	Biodegradation of Persistent Pesticides by Immobilized Microbial Consortia for Use in Paddy Fields (水田で使用される難分解性農薬の固定化微生物複合系による分解)
論文審査委員	(主査) 教授 宮本 和久 (副査) 教授 田中 慶一 教授 那須 正夫 教授 西原 力

論文内容の要旨

近代的農業が盛んになるにつれ稻作に大量の農薬が使用されるようになり、これらによる健康被害や生態系への悪影響が懸念されている。本研究では、これらの農薬の中でも難分解性の carbendazim (MBC) と 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) に注目した。MBC は殺菌剤として、2,4-D は除草剤として世界的に多く使用されており、環境水中からも非常に高い頻度で検出されている。また、MBC と 2,4-D は内分泌かく乱物質である可能性が指摘されており、環境生物への影響が懸念されている。したがって、これらの農薬による環境汚染は、今後大きな問題となると考えられ、主要な排出源である水田からの流出を抑制する方法を開発する必要がある。そこで本研究では、水田流出水中に含まれるこれらの農薬を微生物を用いて浄化することを目的として、以下の検討を行った。

まず最初に、微生物複合系の取得とその農薬分解能についての評価を行った。水田から採取した土壤の懸濁液をポリエステル製担体を充填したカラム型リアクターに添加し、MBC と 2,4-D を炭素源として連続的に供給し、培養を行ったところ、MBC と 2,4-D の分解能を持った微生物複合系を得ることができた。そこで、バッチ培養法を用いて、得られた微生物複合系の農薬分解能の評価を行ったところ、水に対する溶解度の約半分の濃度である $20 \mu M$ の MBC と $2 mM$ の 2,4-D をそれぞれ 10 日間、3 日間で分解することができた。次に、バッチ培養における微生物複合系の群集構造の変化を DGGE 法により調べたところ、農薬を添加後、初期のバンドと異なるいくつかのバンドが観察され、本微生物複合系では複数のバクテリアが共同して農薬を分解していると考えられた。このように、MBC と 2,4-D に対して分解能を持った微生物複合系を得ることに成功した。

続いて、微生物複合系の固定化に適した担体の選抜を、バッチ培養法での農薬の分解能を指標に行った結果、ヘチマ繊維を担体として用いた場合が最も高い分解能を示し、MBC は 5.5 日で、2,4-D は 1.5 日で完全に分解された。次に、農薬の分解生成物の毒性を、OECD の環境毒性評価法の一つに採用されているミジンコ類急性遊泳阻害試験法により検討したところ、これらの農薬は微生物複合系によりほとんど毒性がない程度まで分解されていることがわかった。

次に、水田での将来の応用を考え、環境中の様々な因子の影響を調べた。まず、稻作を行う一般的な pH、温度の条件下では、これらの農薬は本微生物複合系により分解できた。また、水田では肥料の散布が行われるが、これによ

りリン酸態リン ($\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$) とアンモニア性窒素 ($\text{NH}_4^+\text{-N}$) の濃度が変化すると考えられる。そこで、実際の水田流出水処理のモデルとなる小型リアクターを製作し、水田での応用に向けた連続処理における環境条件の影響について調べた。微生物複合系を固定化したヘチマ繊維をリアクターに充填して MBC と 2,4-D を連続的に供給し、それぞれの環境条件を変化させた。 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 濃度が低い条件が長時間続いた場合、MBC の分解は良好であったが、2,4-D の分解能は低下した。そこで、 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 濃度を上げたところ分解能はすぐに回復した。また、低濃度の $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$ では農薬分解能は急激に低下したが、リン酸濃度を上げると分解能は徐々に回復した。窒素、リン源については稻作で用いられる肥料により十分供給されると考えられる。また、水田流出水の流量も農薬分解に影響を与える因子となる。そこで、流出水流量の影響について検討を行ったところ、リアクター容量の 10 倍量の流出水を 1 日で処理できることがわかった。最後に、本微生物複合系の保存性を検討したところ、凍結乾燥、4°Cでの低温保存のいずれの方法においても 6 ヶ月間は農薬分解能を低下させることなく保存が可能であることがわかった。これは本微生物共生系の将来の実用化を考えた場合、非常に有利な特徴といえる。

このように、今後、水田流出水の処理システムを設計していく上で、重要な情報を得ることができた。東南アジア諸国においては、水田で使用されている農薬による環境汚染が深刻な問題となりつつある。本研究は、これらの問題に対する解決策を見つけるためのモデル研究としても有用であると考えられる。

論文審査の結果の要旨

近年、殺菌剤や除草剤などの農薬が大量使用されており、直接あるいは間接的な健康被害が懸念されている。タイ王国からの留学生である Anchana Pattanasupong 君は、農薬による環境汚染を抑制するための方策として、水田流出水中に含まれる農薬の微生物分解について検討し、興味ある知見を得た。

まず、難分解性農薬である carbendazim (MBC) と 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) に注目し、両者を同時に分解可能な微生物複合系を水田土壤から得ることに成功した。環境中での農薬濃度が最大に達すると考えられる散布時を想定した条件下で実験し、得られた微生物複合系が、2,4-D を 3 日間、MBC を 10 日間で分解しうることを示した。

次いで、微生物複合系を担体に固定化し、実環境中への応用を容易にすることを試みた。生分解性担体であるヘチマ繊維に固定化された微生物複合系が、最も高い分解能を示し、MBC を 5.5 日で、2,4-D を 1.5 日で完全に分解することを明らかにした。また、このときの農薬分解生成物の毒性を OECD 環境毒性評価法で調べ、ほとんど毒性が認められない程度まで分解されていることを確かめた。

さらに、様々な環境因子の影響を調べ、稻作を行う一般的な pH、温度の条件下では、これらの農薬は本微生物複合系により分解できることを示した。肥料の散布により濃度が変動するリンおよび窒素の影響についても、バッチ培養および連続培養実験を行い詳細に検討している。また、凍結乾燥、低温保存などの簡便保存法によって、本微生物複合系の農薬分解能を 6 ヶ月間維持しうることを確かめた。

以上の知見は、水田流出水中の農薬処理システムを構築する上で有用であり、発展途上国における環境問題の解決に寄与するものと考えられ、博士（薬学）の学位授与に値すると認める。