HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	農薬耐性植物を利用するファイトレメディエーション
Author(s)	横田, 祐司; 石崎, 紘三; 星野, 保 他
Description	第9回衛生工学シンポジウム（平成13年11月1日（木）-2日（金） 北海道大学学術交流会館） . 5 リスク評価と環境修復 . P5-8
Citation	衛生工学シンポジウム論文集, 9, 256-259
Issue Date	2001-11-01
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/7182
Type	departmental bulletin paper
File Information	9-5-8_p256-259.pdf

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

5－8

農薬耐性植物を利用するファイトレメディエーション

○横田祐司、石崎紘三、星野保（産業技術総合研究所）
前田智雄（植物情報物質研究センター）

1. はじめに

近年、地下水や土壌汚染の浄化方法としてバイオレメディエーションの技術開発が急速に進んでいる。バイオレメディエーションには汚染現場に生息している土着微生物を活性化させるために酸素や栄養塩等を供給するバイオスティミュレーションと、汚染物質分解能を有する微生物を大量に地下水や土壌に添加するバイオオーギュメンテーションの２種類がある。しかし、これらの方法にも栄養塩や外部の微生物を大量に注入することから、パブリックアクセプタンス（ＰＡ）やコストの面で問題が残っている。

一方、最近では植物が有する環境汚染物質を蓄積・分解する能力を利用するファイトレメディエーションが注目されている。ファイトレメディエーションは植物とその根圏微生物の総合的利用による浄化技術であり、バイオレメディエーションの欠点を補い、しかも緑化と汚染浄化が同時にできることから米国では実施例が急速に増えている。現在、重金属をはじめ有機溶剤、多環芳香族炭化水素、石油、農薬などの有機物の吸収、浄化に対しての知見が多く得られて来ている。

汚染物質を効率的に除去するためには、優れた除去能を有する植物を見い出すことは重要な課題である。重金属を濃縮する植物は多数発見されてきているが、他の汚染物質についてはさほど多くはない。最近では、遺伝子操作による汚染物質の除去能を付加または増強した植物を利用する研究も行われている。ファイトレメディエーションで利用される植物の条件としては①優れた除去能を有する、②面積当たりのバイオマスが多い、③根系が土壌深部まで伸びる、④遺伝子組換えが容易、等が考えられる。

本研究では、これらの条件を満たす植物としてトウモロコシに着目した。トウモロコシは、世界的に広く用いられているトリアジン系除草剤のアトラジンやシマジンを体内で不活性化することが明らかになっている。アトラジンは環境ホルモンの一つとして認知されており、土壌、地下水、飲料水からも検出され、特に米国やヨーロッパ各地で深刻な環境問題となっている。

本報告では、トウモロコシによるファイトレメディエーションの一例として、トリアジン系のアトラジンやシマジンおよびジアジン系のベンタゾンをモデル汚染物質として、それらの土壌中での動態について検討した。併せてトウモロコシ中でのアトラジンの代謝についても考察を加えた。

2. 実験

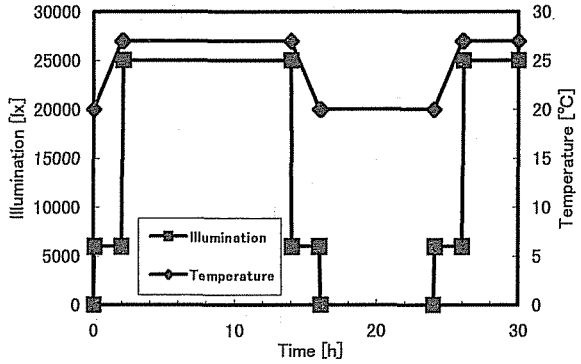
2.1 トウモロコシ土壌栽培

トウモロコシの品種はマドンナを使用した。アクセスライン製の自動給水鉢（５号）に畑地土壌 500g（含水比約 50%）を入れて５粒播種した。所定量のモデル汚染物質を含んだ土壌を均一になるように混合し、トウモロコシを植えないコントロール系とトウモロコシを植えた系を用いた。給水には、液体肥料の（株）村上物産製ハイポネックスの 150 倍希釈液を用いた。

2.2 トウモロコシ水耕栽培

使用した液体培地は、ハイポネックス 150 倍希釈液で、ゲザフリムを 60mg/l（アトラジン濃度で 28.5mg/l）の割合で添加した。栽培容器は、３リットル容のプラスチックボトルで、トウモロコシは蓋の部分を貫通して茎、葉部が外に出た状態で成長するようにした。

トウモロコシの土壌及び水耕栽培は東京理化製小型植物培養装置 FLI-301NH で行った。照度と温度条件の日間サイクルは図－1に示す通りである。夜間から昼間へおよび昼間から夜間への移行の際に低照度と遷移的に温度変化する2時間の中間状態を設けた。



図－1 照度と温度の日間サイクル

2.3 分析用試料の調整方法

土壌から汚染物質を抽出する方法は前報[1]と同じである。

トウモロコシからの抽出方法は、三角フラスコにシェイキングミルで粉砕した植物試料 10g、純水 20ml、アセトン 80ml、酢酸 5ml を加え、270rpm、20min 往復縦振とうした。その後、3,000rpm、10min で遠心分離し、上澄み液を濾過した後 HPLC 分析に供した。

2.4 分析方法

土壌から抽出した試料の分析は、ガスクロマトグラフィー（島津製作所製 GC-17A）で行った。分析条件は前報[1]と同じである。

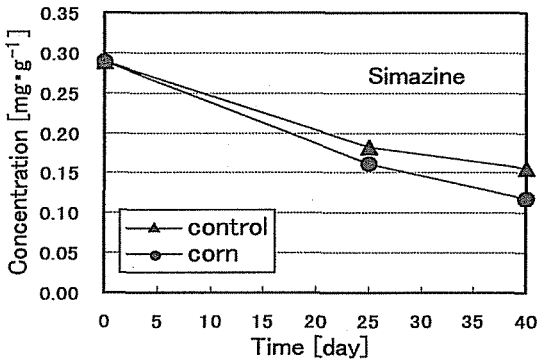
トウモロコシから抽出した試料の分析は、HPLC（東ソー製）で行った。カラムには TSKgel OApak-A（7.8mm I.D.×30cm）（東ソー）を用い、分析条件はカラム温度 40℃、移動相 50mM $Na_2B_4O_7$+84mM KH_2PO_4（pH8.0）/CH_3OH（アトラジン：50/50）、(2-ヒドロキシアトラジン、アトラジン-デスイソプロピル-2-ヒドロキシ：80/20)、(アトラジン-デスエチル-デスイソプロピル：60/40)、流速 1.0ml/min、検出は UV で行った。

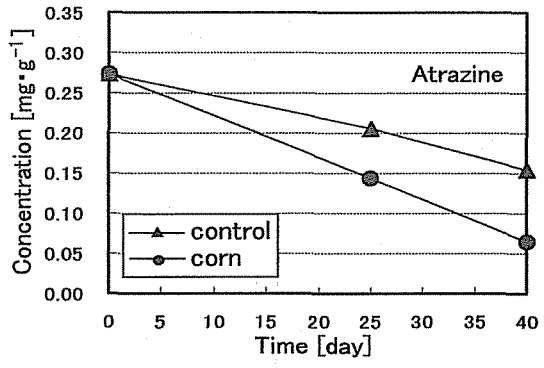
3. 実験結果と考察

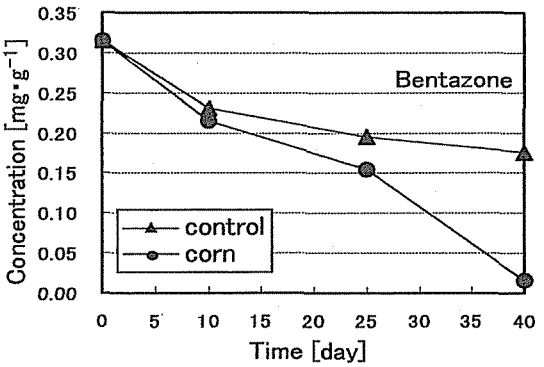
3.1 土壌中の汚染物質の挙動

所定量の汚染物質を加えて調整した土壌を使ってトウモロコシを生育させた場合の土壌中汚染物質濃度の測定結果を図－2に示した。

トウモロコシの生育と共に各汚染物質の濃度は減少することがわかる。トウモロコシを植えていないコントロールにおいても





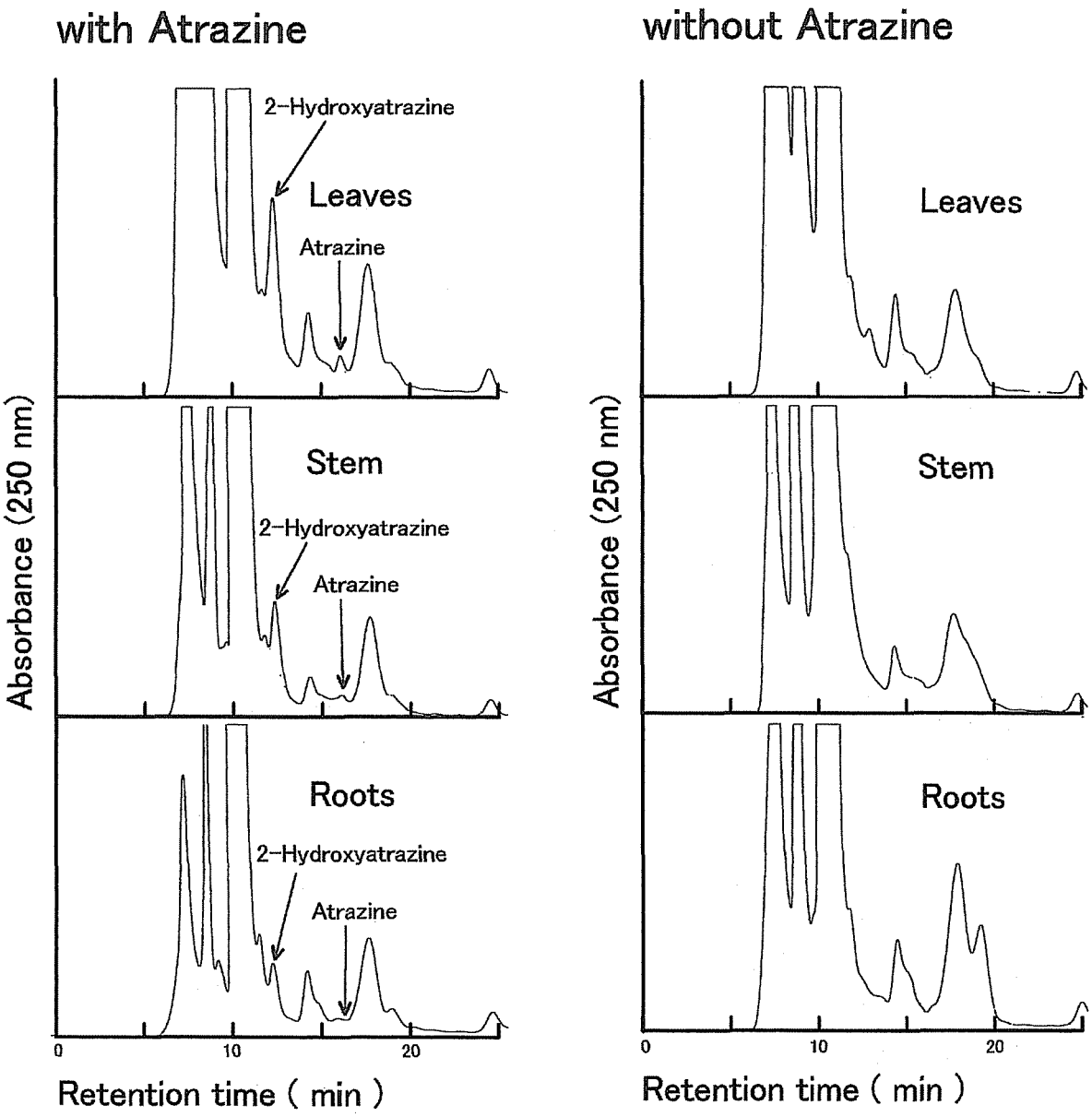


図－2 土壌中の汚染物質濃度

時間の経過と共に濃度は減少傾向にあるが、これは主に土壌吸着や土壌微生物による分解が原因と考えられる。また、汚染物質の減少量の多さはベンタゾン＞アトラジン＞シマジンとなっているが、この順番は各物質の水溶解度の大きさの順番とも一致する。トウモロコシは水中に溶解している農薬をそのまま吸収することが確認されていることから[1]、減少量の違いは主に水溶解度に影響されていると考えられる。

3.2 トウモロコシ中でのアトラジンの代謝

トウモロコシ中でのアトラジンやシマジンの代謝に関する報告例[2) 3)]のほとんどが播種後 1～2 週間のトウモロコシ幼苗を使ったものであるが、本実験では水耕栽培で播種後 50 日のトウモロコシ中（高さ約 60cm）でのアトラジンの代謝について検討した。トウモロコシ各部位におけるアトラジンと主要な代謝物の一つである 2-ヒド



図－3　トウモロコシ各部位における抽出物の HPLC クロマトグラム

ロキシアトラジンの分析結果を図－3に示した。また、比較としてアトラジンを含まない水耕栽培で得たトウモロコシの分析結果も同図に示した。

アトラジンを含む水耕栽培で生育したトウモロコシでは、各部位においてアトラジンと代謝物の 2-ヒドロキシアトラジンを検出した。アトラジンと 2-ヒドロキシアトラジンの各部位での残存量は葉＞茎＞根の順であった。また、図－3とは別の分析条件において代謝物のアトラジン-デスイソプロピル-2-ヒドロキシとアトラジン-デスエチル-デスイソプロピルを検出した。アトラジンとこれらの代謝物は、分析において移動相の水相とメタノールの割合を変えた場合でも標準物質のHPLCの保持時間と一致したことから、これらの物質の存在は明らかである。なお、これらの物質の定量結果の一例を示すと、トウモロコシの葉では植物体1g 当たり、アトラジン 0.04mg、2-ヒドロキシアトラジン 0.17mg、アトラジン-デスイソプロピル-2-ヒドロキシ 0.05mg、アトラジン-デスエチル-デスイソプロピル 0.04mg が含有されていた。

これらの分析結果から播種後 50 日のトウモロコシでは、水中から吸収されたアトラジンのうち、約3％はトウモロコシ中に残っており、約 17%は 2-ヒドロキシアトラジンをはじめとする代謝物質としてトウモロコシ中に存在していた。残りは今回は検出できなかった代謝物質として残留しているか、または高次に代謝されて植物体外に排出されたものと考えられる。いずれにせよ吸収されたアトラジンのほとんどはトウモロコシ中で速やかに代謝されていることを確認した。

4．まとめ

トウモロコシによるファイトレメディエーションの一例として、トリアジン系およびジアジン系除草剤をモデル汚染物質とし、土壌中での各物質の動態について検討した。また、トウモロコシ中でのアトラジンの代謝について考察した。

その結果、以下の知見を得た。

①土壌中の汚染物質はトウモロコシによる吸収・代謝作用により減少することを確認した。また、その減少速度は汚染物質の水溶解度に大きく影響されることがわかった。

②トウモロコシに吸収されたアトラジンのほとんどは速やかに代謝されていることを確認した。

参考文献

1）横田祐司、田中重信、石崎紘三、角田英男 “農薬汚染土壌の植生による浄化技術の研究”、第8回衛生工学シンポジウム論文集、(2000)

2）Robert H. Hamilton, Donald E. Moreland, “Simazine: Degradation by Corn Seedlings”, SCIENCE, 135, 373-374 (1962)

3）M.Raveton, P.Ravanel, M.Kaouadji, J. Bastide, and M.Tissut, ”The Chemical Transformation of Atrazine in Corn Seedlings”, PESTICIDE BIOCHEMISTRY AND PHYSIOLOGY, 58, 199-208 (1997)