

特集：土壤微生物と農業〔4〕

ピレスロイド光学異性体の微生物分解

住友化学工業株式会社生物環境科学研究所 ^さ ^か ^た ^の ^い
坂 田 信 以

はじめに

ピレスロイドとは、除虫菊の殺虫成分であるエステル化合物の総称であるが、分子内に不斉炭素有し、殺虫効力が異性体により異なることはよく知られている。また、天然品の化学構造が解明されるとともに、分子全体の安定性を増強した安価な合成品が見いだされ、家庭用防疫剤としてだけでなく、農業用としての用途も開発されている。このため、環境中での安全性評価にあたり、土壌中での分解性について多くの研究がなされ、また、土壌微生物が分解に大きく関与することが明らかにされている。本稿では、ピレスロイド光学異性体の土壌における分解や、土壌微生物による分解に関する事例を中心に紹介する。また、ピレスロイド以外の農薬の異性体の土壌及び土壌微生物による分解性についても簡単に述べる。

I ピレスロイド異性体の土壌中での分解

^{14}C 標識したピレスロイドを使用した土壌中での多くの分解研究より、ピレスロイドは土壌中でエステル加水分解、フェニル環の水酸化、ジフェニルエーテル結合の開裂、シアノ基の加水分解などを経て、二酸化炭素まで分解されることがわかっている。各異性体とも土壌中で同様の分解経路を示すが、分解速度及び分解物の生成量

は異性体間で異なることが報告されている。図-1に本稿で取り上げる合成ピレスロイドとエステル加水分解物の構造を示す。

まず、幾何異性体については、例えばエステルの酸側に菊酸のジクロルビニル誘導体 (DCVA) 構造を有するサイパーメスリン (ROBERTS and STANDEN, 1977; SAKATA et al., 1986) は、畑土壌中ではトランス異性体がシス異性体よりも速く分解する。分解物の生成量については、分解の速いトランス異性体からはエステル加水分解物と二酸化炭素が多く生成し、分解の遅いシス異性体ではエステル結合を保持した分解物の割合が多く、異性体間で差が認められる。土壌中でのサイパーメスリンのトランス/シス異性化は認められない。パーメスリンについても、畑土壌及び湛水土壤中ではトランス異性体はシス異性体より速く分解する (KAUFMAN et al., 1977; JORDAN and KAUFMAN, 1986)。

光学異性体について土壌中での分解性を比較検討した報告は少ない。(2*RS*, α *RS*)-フェンバレレートには4種類の光学異性体が存在するが、ラセミ体を畑土壌に添加すると、(2*R*, α *S*)異性体が一番速く分解する。また、4異性体のうち殺虫活性の高い(2*S*, α *S*)異性体を畑土壌に添加すると、ラセミ体で添加した場合よりも分解は速く、また、異性化は認められない。これより LEE et al.

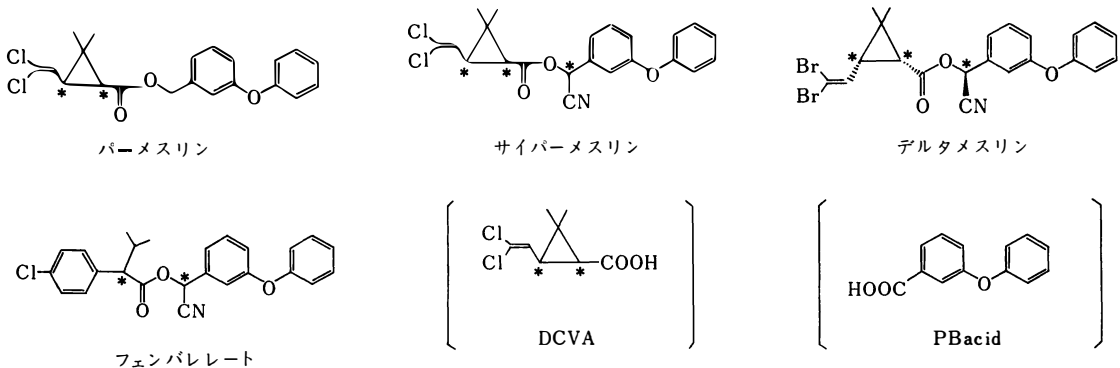


図-1 合成ピレスロイドの化学構造
〔 〕 : エステル加水分解物
* : 不斉炭素原子

(1987) は、ラセミ体を散布するよりも殺虫活性の高い異性体だけを散布するほうが、散布量を減らせるだけでなく、環境への影響が少ないと考察している。また、SAKATA et al. (1992a) の報告によると、フェンバレレート及び(1RS, トランス・シス)-パーメスリンの4種類の光学異性体、(1RS, トランス・シス, α R)-サイパーメスリン及び(1R, シス, α S)-デルタメスリンの8種類の光学異性体の畑土壌での分解速度は異性体間で差がみられ、トランス異性体はシス異性体より、また α S 異性体は α R 異性体より速く分解する。図-2 にサイパーメスリンの8種類の光学異性体の土壌中での減衰を示す。土壌中ではシス/トランス, α S/ α R の異性化は認められていない。また、いずれの異性体についても、土壌中での主分解経路は二酸化炭素にいたるエステル加水分解であることが示唆されているが、分解物の生成量には異性体間で差が認められている。分解の速いトランスあるいは α S 異性体を添加した土壌では二酸化炭素とエステル加水分解物が多く生成し、分解の遅いシスあるいは α R 異性体を添加した土壌ではエステル結合を保持した分解物が多

く検出されている。

また、土壌中に検出されるエステル加水分解物、DCVA (SAKATA et al., 1992a) 及び PBacid (TOPP and AKHTAR, 1990) は土壌中で二酸化炭素まで無機化することが確認されており、微生物による分解が示唆されている。DCVA についてはトランス/シス, 1R/1S の異性化は土壌中では認められていない。

II ピレスロイド異性体の土壌微生物による分解

ピレスロイドの土壌中での分解に土壌微生物が関与していることは、滅菌土壌ではほとんど分解しないこと、また、土壌培養液中での分解研究などからも明らかである。しかし、土壌より単離した微生物による分解の報告は少ない。最近では、KHAN et al. (1988) が、土壌より単離した *Bacillus* 属細菌がデルタメスリンを単一炭素源として生育し、培養液中にはエステル加水分解物が主分解物として生成することを報告している。また、サイパーメスリン添加土壌及びフェンバレレート添加土壌から単離した *Bacillus* 属細菌はサイパーメスリン、フェンバレレート (40 ppm) を14日間の培養で分解する (RANGASWAMY et al., 1992)。これまでの知見によると土壌微生物による分解では、土壌中での分解をよく反映した結果が得られている。しかし、土壌中で検出される分解物の中には、土壌より単離した微生物による分解では検出されないものもある。このことは、生成した分解物が速やかにさらに分解を受けるため、検出されない可能性のあることを示唆している。

幾何異性体の微生物分解については、土壌中での分解と同様にトランス異性体がシス異性体よりも速く分解することが報告されている。MALONEY et al. (1988) のパーメスリンを中心とした報告によると、パーメスリン (Tween 80 添加) で集積培養した土壌懸濁培養液では、トランス異性体がシス異性体よりも速く分解し、培養液中にはエステル加水分解物が検出される。この土壌懸濁培養液は他のピレスロイド (フェンバレレート, フルバリネート, ファスタック, デルタメスリン) にも分解活性を示すものの、分解速度はパーメスリンが半減期5日以内と最も速い。この集積培養液から単離した3株の細菌 (*Bacillus cereus*, *Pseudomonas fluorescens*,

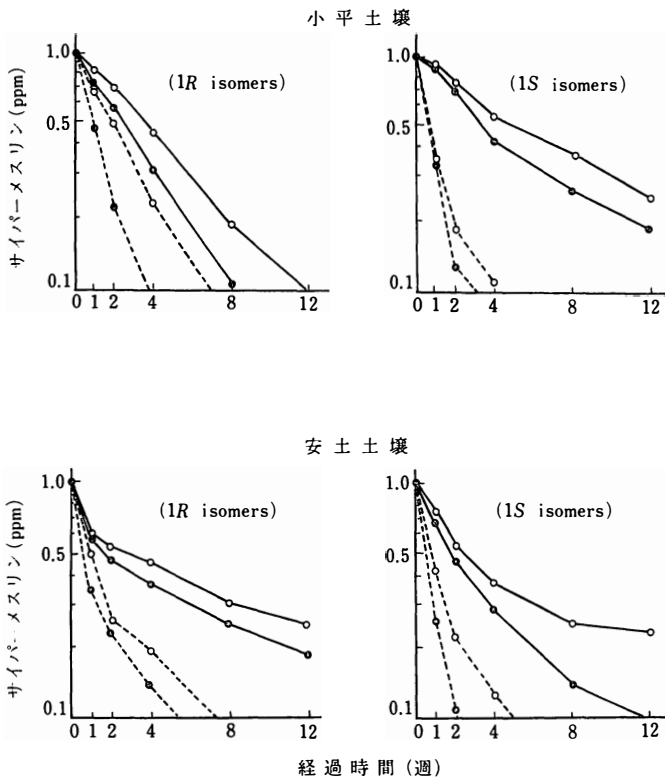


図-2 サイパーメスリン光学異性体の土壌中での減衰
 ●---●, trans, α S; ○---○, trans, α R; ●—●, cis, α S;
 ○—○, cis, α R.

Achromo-bacter 属細菌) は、トランス異性体をシス異性体よりも速く分解するが、パーメスリンを単一炭素源として利用することはできず、分解は Tween 80 をエネルギー源とするコメタボリズムである。また、培養液中に検出されるエステル加水分解物 PBacid は微生物の作用によりさらに 4' 位の水酸化物に変換する。TOPP and AKHTAR (1990) は土壤より単離した *Pseudomonas* 属細菌が、PBacid をフェノールを経て二酸化炭素まで分解することを報告している。エステル結合を保持した分解物はパーメスリンの微生物分解では検出されていない。*Bacillus* 属の好熱性細菌についても同様の結果が得られており (MALONEY et al., 1992), 比較的高温でピレスロイドが環境に放出される可能性のある場面での分解処理への利用が期待されている。

光学異性体については微生物及び微生物より抽出した粗酵素による分解に関する報告がある (SAKATA et al., 1992b)。2 種類の日本の土壤から単離した 103 株の細菌を、サイパーメスリンとフェンバレレートの各光学異性体を基質として栄養液体培地で培養すると、101 菌株が加水分解活性を示し、このうち 96 菌株は程度の差はあるが、いずれもサイパーメスリンの (1R, シス, α S), (1R, トランス, α S), (1S, トランス, α S) の 3 異性体を他の 5 異性体より速く分解し、また、フェンバレレートの (2R, α S) の異性体を他の 3 異性体より速く分解する。しかし、エステル結合を保持した分解物は培養液中には検出されていない。*Bacillus* 属の細菌 3 菌株及び *Pseudomonas* 属の細菌 1 菌株については、粗酵素による分解も検討されている。菌体を超音波破碎した粗酵素抽出液のゲル滲過フラクションについて加水分解活性を調べると、サイパーメスリンについては (1R, トランス, α S) と (1R, トランス, α R) 異性体を速く加水分解するピーク、 α S 異性体を選択的に分解し、特に (トランス, α S) 異性体を速く加水分解するピークが主活性ピークとして認められている。フェンバレレートについては、2S 異性体を加水分解するピーク、(2R, α S) 異性体を選択的に加水分解するピークが主活性ピークとして認められている。また、各ピークの相対的な酵素活性は菌により異なっている。図-3 に *Bacillus* 属細菌のゲル滲過フラクションの光学異性体加水分解活性を示す。この報告より土壤中にはピレスロイド加水分解活性を有する微生物が多数存在し、各菌には光学異性体について基質特異性の異なる複数のピレスロイド加水分解酵素が存在することが示唆される。また、土壤中での化合物や異性体間の分解速度の差は、これらの酵素活性及び基質特異性に支配されると考えられる。

III ピレスロイド以外の農薬 (異性体) の分解性

微生物による異性体の分解性に関する報告は、ピレスロイド以外の農薬についても少なく、ここでは土壤中での異性体の分解性に関する研究も含めて紹介する。図-4 に不斉原子を有する各化合物の構造を示す。

まず、フェノキシ系除草剤については、土壤中での分解過程で分解物の異性化が起こることが報告されている。除草剤 (RS)-Fluazifop-butyl は土壤中で分解し、主分解物として脱ブチル体 (RS)-Fluazifop を生じる。(R)-Fluazifop-butyl を添加した土壤では (R)-Fluazifop が検出され、(S)-Fluazifop-butyl を添加した土壤では (RS)-Fluazifop が検出される。(RS)-Fluazifop の生成量は、(S)-Fluazifop-butyl 添加 6 時間後で添加量の約 80 % (S 異性体: 約 70 %, R 異性体: 約 10 %), 7 日後で約 45 % (S 異性体: 約 5 %, R 異性体: 約 40 %) である。(S)-Fluazifop の減少に伴い (R)-Fluazifop が増加すること、また、Fluazifop-butyl は土壤中では異性化しないことから、土壤中での Fluazifop の S \rightarrow R 異性化が起こると考えられている。滅菌土壤では Fluazifop の異性化は認められないことから、土壤微生物の異性化への関与が示唆されている (BEWICK, 1986)。同様に除草剤 Diclofop-methyl と Fenoxaprop-ethyl についても、親化合物の異性化は土壤中では認められないが、分解物の S \rightarrow R 異性化が起こることが報告されている (WINK and LULEY, 1988)。

有機リン系殺虫剤サリチオンの R 光学異性体と S 光学異性体についても、土壤中では異性化は起こらない。分解速度は S 異性体のほうが R 異性体より 1.5~1.7 倍速い。滅菌土壤にラセミ体を添加しても R/S 異性体比は変化しないことから、光学異性体による分解速度の差に土壤微生物が関与することが示唆されている (Itoh, 1991a)。また、土壤より単離した *Agrobacterium* 属及び *Acinetobacter* 属の細菌 4 菌株による光学異性体の分解性に関する報告 (Itoh, 1991b) では、2 菌株は土壤中での分解と同様に S 異性体を R 異性体より速く分解するが、他の 2 菌株では異性体間で分解速度に顕著な差は認められない。分解様式も菌株により異なり、光学異性体により代謝様式が異なる菌株 (P-O-アリアル及び P-O-アラルキル結合の開裂反応と脱メチル化反応) と差のない菌株が報告されている。

有機塩素系殺虫剤リンデン (ヘキサクロロシクロヘキサンの γ 異性体: γ -HCH) は弱い好気的条件下で *Pseudomonas aeruginosa* により強力な発癌性物質である α

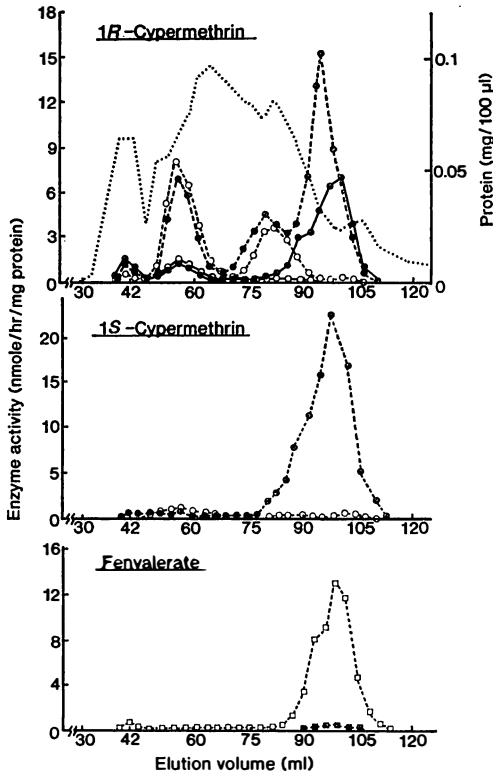


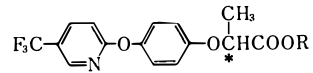
図-3 無細胞抽出液ゲル透過画分のピレスロイド加水分解活性 (*Bacillus* 属細菌)

●●●, *trans*, αS; ○○○, *trans*, αR; ●●●, *cis*, αS;
 ○○○, *cis*, αR; ■■■, 2S, αS; ■■■, 2S, αR;
 □□□, 2R, αS; □□□, 2R, αR; …… Protein.

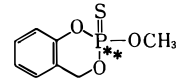
異性体に変換されることが報告されている (ENGST et al., 1979). NAGASAWA et al. (1993) の *Pseudomonas paucimobilis* UT26 による分解では α 異性体への異性化は報告されていない。また、γ-HCH からはペンタクロロシクロヘキサンの γ 異性体 (γ-PCCH), α-HCH からは α-PCCH が分解物として生成するが、β-HCH は分解せず、異性体により分解様式は異なることが報告されている。

おわりに

土壤微生物が土壤中での農薬の分解に大きく関与することから、近年多くの研究がなされ、土壤懸濁培養液、単離菌、分解酵素、分解系プラスミドなどへと研究は展開している。土壤微生物による農薬の分解研究は、生分解性や土壤中での分解メカニズムを明らかにするだけでなく、有害な分解物の生成の有無などに関する情報を得るためにも重要である。土壤中で検出される分解物が微生物分解では検出されない例も報告されており、土壤より単離した微生物による分解がどの程度実際の土壤中で



R = n-butyl : fluzafop-butyl
 R = H : fluzafop
 * : 不斉炭素原子



サリチオン

** 不斉リン原子

図-4 Fluzafop-butyl とサリチオンの化学構造

の分解を反映しているかを明らかにするためには、今後も多く基礎研究が必要と思われる。ピレスロイドを含め、異性体の微生物分解に関する研究はまだ少ない。分子内に不斉原子を有し、光学異性体が存在する化合物については、各異性体の土壤中での挙動や土壤微生物による分解を比較検討することが必要である。特に、異性体により効力が異なる薬剤については、活性成分の異性化、ラセミ体と活性異性体の分解様式の差などを明らかにすることも重要である。

引用文献

- 1) BEWICK, D. W. (1986) : Pestic. Sci. 17: 349~356.
- 2) ENGST, R. et al. (1979) : Bull. Environ. Contam. Toxicol. 22: 699~707.
- 3) ITOH, K. (1991a) : J. Pesticide Sci. 16: 35~40.
- 4) ——— (1991b) : *ibid.* 16: 85~91.
- 5) JORDAN, E.G. and D.D. KAUFMAN (1986) : J. Agric. Food Chem. 34: 880~884.
- 6) KAUFMAN, D. D. et al. (1977) : ACS Symp. Ser. 42: 147~161.
- 7) KHAN, S. U. et al. (1988) : J. Agric. Food Chem. 36: 636~638.
- 8) LEE, P. W. et al. (1987) : *ibid.* 35: 384~387.
- 9) MALONEY, S. E. et al. (1988) : Appl. Environ. Microbiol. 54(11): 2874~2876.
- 10) ——— et al. (1992) : Arch. Microbiol. 158: 282~286.
- 11) NAGASAWA, S. et al. (1993) : Chemosphere 26: 1187~1201.
- 12) ROBERTS, T. R. and M. E. STANDEN (1977) : Pestic. Sci. 8: 305~319.
- 13) RANGASWAMY, V. and K. VENKATESWARLU (1992) : Bull. Environ. Contam. Toxicol. 49: 797~804.
- 14) SAKATA, S. et al. (1986) : J. Pesticide Sci. 11: 71~79.
- 15) ——— et al. (1992a) : *ibid.* 17: 169~180.
- 16) ——— et al. (1992b) : *ibid.* 17: 181~189.
- 17) TOPP, E. and M. H. AKHTAR (1990) : Can. J. Microbiol. 36: 495~499.
- 18) WINK, O. and U. LULEY (1988) : Pestic. Sci. 22: 31~40.