

各種農薬の土壌微生物に及ぼす影響*

達山和紀**・山本広基**・江川 宏**・坂本 積**

Kadzunori TATSUYAMA, Hiroki YAMAMOTO, Hiroshi EGAWA,
and Tsumoru SAKAMOTO

Effects of Agricultural Chemicals on Non-Target
Microorganisms

緒 言

圃場に施用された農薬は、使用目的、施用される作物の部位の如何に拘らず、いずれは地表に落下し、土壌微生物相に対して何らかの影響を及ぼすものと考えられ、土壌環境の保全上注目される場所である。しかし、その研究は個々の農薬について個別的になされたものが多く、また、実験の条件が異なるために、結果の比較が困難な場合が多い。^{9), 11), 16), 19)}そこで筆者らはこれまで多用されて来た種々の農薬のうちから28種類を選んで同一条件下での室内試験を行い、これらの農薬の土壌糸状菌、細菌に及ぼす影響について基礎的な実験を行った。

1. 供試農薬の土壌糸状菌、細菌に対する抗菌性

農薬は土壌殺菌剤を除外し、除草剤、殺虫剤の中から選んで供試した。そこでまず、土壌から分離される糸状菌、細菌に対する供試農薬の抗菌性を調査した。

実験材料および方法

農薬は第1表に示される28種類のいずれも工業原体を供試した。細菌の分離には土壌浸出液加用 PSA、糸状菌の分離にはこれにローズベンガル、ストレプトマイシンの所定量を加え、それぞれに供試化合物アセトン溶液の稀釈懸濁液を所定の濃度になるように混入した培地を用い、常法によって分離される培地上の土壌糸状菌、細菌のコロニー数を測定した。培養は28°Cで行い、コロニー数の測定は3日間培養したのちに行った。土壌は島根大学農学部圃場 (Silty loam, 有機物含量: 2.3%, 最大容水量: 40%, pH: 5.6) から採取して使用した。

* 本研究は文部省科学研究費特別研究環境科学(1)による補助金によって行われた。

** 島根大学農学部, 耕地環境保全学研究室
Fac. of Agric., Shimane Univ., Matsue 690, JAPAN

実験結果

農薬を混入した培地上のコロニー数が対照区の1/2以下となった場合を農薬による生育阻害とみなした。第1表に示すとおり、供試した農薬のうち PCP を混入した培地上において土壌微生物の生育阻害がもっとも著しく、10ppm の供試濃度で細菌、糸状菌のいずれの生育も阻害された。また、NIP, disulfoton も細菌、糸状菌の生育を強く阻害し、MO, MPP は細菌の生育に対してのみ強い阻害を示した。前述のとおり、農薬は土壌殺菌剤を除外して供試されたが、土壌微生物に対して生育阻害を示すものが多く、供試農薬のうち16種は 100ppm の濃度で細菌のコロニー形成を阻害し、1,000ppm ではさらに9種の農薬で阻害が認められた。また、糸状菌に対しては 100ppm で10種の農薬が、1,000ppm ではさらに9種の農薬がコロニーの形成を阻害した。一方、低濃度の CAT, DCMU, MCC, パラコート を混入した培地上で細菌コロニー数の増加がみられたが、その数は対照区の倍数以下に止まった。

2. 農薬混入土壌中の微生物数の経時的変動

前項では、供試農薬の土壌微生物に及ぼす影響を培地上において調査したが、土壌中においては個々の農薬の挙動が異なるので、微生物に及ぼす影響も当然異なるものと考えられる。そこで、供試農薬のうち前項の実験で土壌糸状菌、細菌に対する生育阻害の著しかった PCP 他6種類の農薬と、比較的影響の少なかった CAT および PHC についてこれを土壌に混入し、混入土壌中の微生物数の変動を経時的に調査した。

実験材料および方法

農薬は土壌中の分散を良くするために水和剤、乳剤な

ど市販の製剤を使用した。前項の実験と同様に島根大学圃場から採取した風乾土壌を、塩ビ製の容器に入れて、クロマト用噴霧器を用いて薬液を散布し、土壌水分が最大容水量の50%となるように混合して調整した。供試濃度は2段階とし、常用散布時の落下薬量が地表下3cmまで均一に分散した場合の土壌中の濃度を低い濃度、常用散布濃度の薬液のみによって土壌水分が調整された場合の濃度を高い濃度とし、それぞれ散布液の濃度、散布量を計算して土壌に混入した。処理土壌は滅菌したワッセルマン試験管に6g宛充填し、アルミホイルで覆って25°Cの定温室中で保存した。細菌の分離はアルブミン寒天培地、糸状菌は土壌浸出液を加えたローゼンガル・ストレプトマイシン・PSA培地を用いて行い、28°Cで培養し、細菌数は5日目、糸状菌数は3日目に調査した。

実験結果

第2表に示すとおり、一般に土壌中の糸状菌数は農薬の混入によって減少したが、細菌数は農薬の種類、供試濃度、経過日数によって著しく変動し、減少または増加した。PCP, DCPAは培地上と同様に土壌中においても微生物数に及ぼす影響が大きく、64日目(高濃度区)まで糸状菌、細菌数の回復がみられなかった。PCP混入土壌の糸状菌数は低濃度区においても実験期間中、対照区を下まわって推移した。一方、糸状菌の減少がみとめられたベンチオカーブ混入土壌で細菌数は著しく増加し、64日目(高濃度区)においても対照区の約2倍のコロニー数が測定さ

Table 1. Effects of agricultural chemicals on the colony formation of soil microorganisms

Chemicals			Fungi	Bacteria	Chemicals			Fungi	Bacteria	
Herbicides	2, 4-D		+		++	Herbicides	linuron	++	++	
	2, 4-PA		+++		++		benthiocarb	++	++	
	MCP		++		++		MCC	++	++	
	NIP		+++		+++		DBN	-	+	
	MO		-		+++		bromacil	-	+	
	atrazyn		-		+		paraquat	+	+	
	propazyne		-		-		Insecticides	MPP	-	+++
	prometryne		-		++			diazinon	+	++
	ametryne		+		+			dimethoate	-	+
	symetryne		+		+			disulfoton	+++	+++
	CAT		-		-			DEP	+	++
	PCP		+++		+++			MIPC	+	+
DCPA		++		++	PHC	++	-			
DCMU		+		++	NAC	++	++			

The effects were determined by colony counts of total fungi and bacteria isolated from the soil using selected media containing the chemicals. The number of colonies on the media containing 10 (+++), 100 (++) , and 1,000 ppm (+) of the chemicals decreased to 50 % and less of controls without the chemicals.

Table 2. Effects* of agricultural chemicals on microbial populations, as determined by soil dilution plates

Chemicals ²⁾	Fungi						Bacteria					
	2* ³⁾	4	8	16	32	64	2	4	8	16	32	64
MCP (W. P.)	H ▽	▽	▽	▽			△		△	▽		
	L △	△		▽		▽			▲	▽		
NIP (E. C.)	H ▽	▽			△			△	▲		△	
	L ▽	▽	△				▲	△	▲			△
PCP (W. C.)	H ▼	▼	▼	▼	▼	▼	▼	▼	▼	▼	▼	▼
	L ▼	▼	▼	▼	▼	▼	△	▼	△	▼	▼	▼
DCPA (E. C.)	H ▼	▼	▼	▼	▼	▼	△	▼	△	▼	▼	▼
	L ▼	▼	▼	▼	▼	▼	△	▼	△	▼	▼	▼
benthiocarb (E. C.)	H ▽	▽	▼	▽	▼	▼	△	▽	▲	△	▲	△
	L ▽	▽	▼	▽	▼	▼	△	▽	▲	△	▲	△
CAT (W. P.)	H ▽	▽	▽				△		△		▽	
	L ▽	▽	▽				△		△		▽	
linuron (W. P.)	H ▽	▽	▽	▽	▽		△	▽	▲	△	△	△
	L ▽	▽	▽	▽	▽		△	▽	▲	△	△	△
MPP (E. C.)	H ▽	▽		▽	▽	▽	△		▲	▲	△	
	L ▽	▽		▽	▽	▽	△		▽	▽	△	▽
PHC (E. C.)	H ▽	▽					△		△		▽	
	L ▽	▽					△		△		▽	

¹⁾ * Percentages of controls without the chemicals:
 ▲; 250 % and more, △; 150 to 250 %,
 ▼; 25 to 75 %, ▼; less than 25 %.

²⁾ * Formulations on the market: (W. P.); Wetttable powder, (E. C.); Emulsifiable concentrate, (W. C.); Water soluble concentrate.
 H: High dosage; Air dried soil were moistend with dilute chemicals of agricultural practice to the desired water content (50 % of the saturated water capacity).

L: Low dosage; The application rate were calculated relatively to that of the practical dosage mixed with 3 cm of soil column from the land surface.

³⁾ * Days after the application.

れた。このような傾向は NIP 混入土壌でも認められた。細菌数の増加は低濃度の MCP, PCP, DCPA, CAT, linuron, PHC の各混入区、高濃度の MPP 区においても一時的に認められ、農薬混入による土壌細菌の対応は極めて複雑であると考えられた。

3. 農薬混入土壌中における糸状菌の種類数の変動

前項においては農薬の土壤微生物数に及ぼす影響を調査したが、土壌生態系を維持するにあたって微生物の種類が豊富なことが要件の一つであると考えられるので、供試農薬の混入による土壌微生物の種類数の変動についても検討し、今回は糸状菌について経時的な調査を行った。

実験材料および方法

前項の糸状菌数の調査にあわせて色調、形状等によって異種と判断されたコロニーから糸状菌を鈎菌し、PSA 培地で保存したのち、常法により属名を同定するとともに種類数の変動を経時的に記録した。

実験結果

各供試土壌から分離された糸状菌は85種が区別されたが、*Penicillium* 属菌がもっとも多く、ついで *Aspergillus*, *Fusarium*, *Trichoderma* 属の菌が多数を占め、他に12属の糸状菌が同定された。第3表に各区の土壌から分離された糸状菌の種類数を経時的に示した。PCP, DCPA の混入は土壌中の糸状菌数を著しく減少させるので(第2表)、分離される糸状菌の種類も少なく、高濃度区的全期間の合計は対照区の41種類に対してそれぞれ10種類及び9種類に激減した。PCP高濃度区から分離された糸状菌の内訳は、2日目の4種は *Chaetomium* 属菌2種、未同定菌の2種、であった。また、4日目は *Chaetomium* 1, *Cladosporium* 1, 未同定1の計3種、32日目は *Mucor* 1, *Penicillium* 1 の計2種、64日目は *Penicillium* 1, *Aspergillus* 1 の計2種であった。また、DCPA 高濃度区から分離された糸状菌の内訳は16日目が *Cladosporium* 1, *Fusarium* 3 の計4

種、32日目が *Aspergillus* 1, *Fusarium* 1, 未同定2の計4種、64日目が *Aspergillus* 1, *Rhizopus* 1, *Fusarium* 1 の計3種で DCPA 混入土壌からは常に *Fusarium* 属菌が分離された。第3表に示すとおり、供試農薬の土壌への混入はいずれも糸状菌の種類数を減少させ、その減少は長期に及ぶものと考えられた。

考 察

除草剤の散布は、その施用量が適当であれば土壤微生物相への重大な影響は無いとされているが、一方においてはなお無視できない問題として多くの関心が寄せられている。土壤の微生物相は土壤の性状や気象条件など多くの要因に支配されているので、農薬の土壤微生物相に及ぼす影響の調査は比較が困難であり、同じ農薬を散布した圃場で逆の成績が得られることも少なくない。そこで、本研究においては、これまで我が国で多用された除草剤および土壌施用の例が多い殺虫剤の中から28種類の農薬を選び、同一条件下での室内試験によって土壤微生物に及ぼす影響を調査した。第1表に示すとおり、供試した農薬は土壌糸状菌、細菌の培地上でのコロニー形成を阻害するものが多く、100ppm の濃度で細菌に対しては16種の農薬が、また、糸状菌に対しては10種の農薬が阻害を示した。比較的に抗菌性が弱いと考えられた農薬はトリアジン系除草剤、DBN, bromacil, dimethoate,

Table 3. Number of species of fungi isolated from the soil treated with agricultural chemicals

Chemicals*		Days after the application						Total number of species isolated
		0	2	4	8	16	32	
MCP	H	14	8	10	7	10	9	29
	L	11	10	8	14	12	10	35
NIP	H	10	15	10	13	10	13	32
	L	17	12	7	16	9	10	34
PCP	H	4	3	0	0	2	2	10
	L	6	9	10	11	11	9	20
DCPA	H	0	0	0	4	4	3	9
	L	11	12	8	16	9	10	33
benthiocarb	H	11	11	6	9	9	7	34
	L	11	16	13	14	13	11	32
CAT	H	19	16	13	12	15	11	42
	L	9	11	12	10	9	7	31
linuron	H	10	14	11	8	11	10	33
	L	10	10	8	13	13	10	36
MPP	H	13	8	12	12	9	9	34
	L	10	7	8	12	13	12	32
PHC	H	11	9	13	14	13	10	39
	L	8	12	7	12	11	8	27
Control		12	15	17	15	15	15	41

*Formulations on the market were used. See table 2.
Dosage : See table 2.

PHC などであったが、トリアジン系の prometryne は細菌に対して強い抗菌性を示した。土壤に散布された農薬は土壤粒子への吸着や微生物による分解などによって抗菌力が弱まり、また、個々の農薬の物理化学的性質の違いによって、土壤生物に及ぼす影響は極めて複雑とならざるを得ない。今回の実験では農薬ごとの圃場における実用濃度を規準に2段階の濃度で土壤に混入し、土壤中の微生物数および種類数の変動を調査した。第2表に示すとおり、土壤中の微生物数は農薬混入の影響を受け、その影響は長期に及んだが、第1表に示された各農薬の抗菌性から予測される結果とは必ずしも一致しなかった。特に細菌数は農薬の種類や供試濃度、調査の時期によって増加または減少し、複雑な変動を示した。第3表に示される微生物(糸状菌)の種類⁵⁾の減少は、供試農薬の抗菌性、特に個々の微生物に対する抗菌性の差と、それが微生物相互間の安定した関係に何らかの影響を及ぼすことによるものであり、土壤微生物相の具体的な変化を示すものであるが、個々の農薬による影響を分析するには至らなかった。しかし、DCPA 処理土壤(高濃度区)における *Fusarium* 属菌の動向は、土壤病害との関連^{1),5),10),13)}についての検討の必要性を示唆するものと考えられた。

以上の結果は室内試験によって得られたものであるのでそのまま圃場での問題として考察することは困難であるが、土壤微生物相への影響は土壤殺菌を目的とする農薬に限らず、除草剤、殺虫剤などの施用によってもおこり得ることを示すものと考えられた。

摘 要

20種の除草剤と8種の殺虫剤を供試し、室内試験によって土壤微生物に及ぼす影響を調査した。これらの農薬の原体を混入した培地で土壤微生物の分離を行ったが、NIP, PCP, disulfoton は10ppmの濃度で糸状菌、細菌のコロニー形成を阻害した。また100ppmでは供試農薬のうち10種が糸状菌コロニーの形成を、16種が細菌コロニーの形成を阻害した。MCP 他6種の農薬については市販製剤を供試して土壤に混入し、土壤微生物に及ぼす影響を経時的に調査した。農薬混入土壤中の糸状菌数は対照区に比較して減少する傾向がみられたが、細菌数は広い範囲で変動した。これらの農薬の土壤中における微生物に及ぼす影響と、培地上で示される抗菌性との間の関連性は一定しなかった。土壤中の糸状菌の種類⁵⁾の数は、供試農薬の混入によって長期にわたって減少した。

引用文献

- Altman, J. and M. Ross : Plant Dis. Rep. **51** : 86-88, 1967.
- Atlas, R. M., D. Pramer and R. Bartha : Soil Biol. Biochem. **10** : 231-239, 1977.
- Audas, L. J. The Physiology and Biochemistry of Herbicides. pp. 163-206, Academic press, New York, 1964.
- Balicka, N. and Z. Krezel : Weed Res. **9** : 37-42, 1969.
- Breazeale, F. W. and N. D. Camper : Appl. Microbiol. **19** : 379-380, 1970.
- Camper, N. D., E. A. Moherek and J. Huffman : Weed Res. **13** : 231-233, 1973.
- Huber, D. M., C. I. Seely and R. D. Watson : Plant Dis. Rep. **51** : 86-88, 1967.
- Johnen B. G. and E. A. Drew : Soil Sci. **123** : 319-324, 1977.
- Kaiser, P., J. J. Pochon, and R. Cassini : Residue Rev. **32** : 211-233, 1970.
- Katan, J. and Y. Eshel : Phytopathol. **64** : 1186-1191, 1974.
- Padenkov, K. P. and A. S. Andrew : Khim. Sel'sk. Khoz. **12** : 848-850, 1974.
- Percich J. A. and J. L. Lockwood : Can. J. Microbiol. **24** : 1145-1152, 1978.
- Percich, J. A. and J. L. Lockwood : Phytopathol. **65** : 154-159, 1975.
- Richardson, L. T. : Can. J. Plant Sci. **50** : 594-596, 1970.
- Rodriguez-Kabana R., E. A. Curl and H. H. Funderbruck, Jr. : Phytopathol. **57** : 911-915, 1967.
- Roslycky, E. B. : Can. J. Microbiol. **23** : 426-433, 1977.
- 高井康雄・北沢右三・梁昌述・和田秀徳 : 日本土肥学雑誌**48**(3) : 74-78, 1977.
- Tu, C. M. and W. B. Bollen : Weed Res. **8** : 38-45, 1969.
- Ulasevych, E. I., I. W. Weselowsky and Y. P. Manko : Microbiol. Zh-Akad. Nauk Ukr. RSR **32** : 497-502, 1970.

Summary

Effects of 20 species of herbicides and 8 species of insecticides (technical products) on microorganisms were tested under laboratory conditions. Soil microorganisms were isolated by plate dilution methods using selective media containing the chemicals in various concentrations. NIP, PCP and disulfoton had influence on colony formation of soil fungi and bacteria on the plate agar containing these chemicals up to 10 ppm. The colony formation of soil fungi was affected by 10 chemicals among the 28 at 100 ppm, and that of soil bacteria was affected by 16 chemicals. Changes in soil microorganisms as influenced by MCP and other 6 species were investigated by colony counts of total fungi and bacteria from soil treated with the chemicals (formulation on the market). Samples were taken at intervals from the test tubes in which the chemicals-treated soil were incubated. Bacterial populations in the chemicals-treated soil showed a wide variety of the changes, however, the populations of fungi in the soil decreased under that in non-treated soil. There was no clear correlation between the antibiosis of the chemicals tested on the media and the effects of those on microbial populations in the soil except PCP and DCPA. Species of fungi isolated from the chemicals-treated soil decreased in number during the incubation period.