

特集：土壌微生物と農業〔2〕

農薬の環境影響指標生物としての土壌微生物

島根大学農学部環境生物学講座 やま
もと
ひろ
き

はじめに

耕地生態系は人間が食糧を確保するために自然を切り開いて作った人為生態系であり、これを維持していくためには相当の補助エネルギーの投入が必要である。そのうちの一つに農薬や肥料などの化学物質があげられるが、これらの化学物質の開発によって農業生産の向上と安定化、さらには著しい省力化が可能となった。しかしその反面、近年になり、これらの化学物質への過大な依存によって、耕地環境の劣悪化や農業生産現場以外の環境への影響が懸念されるに至っている。このような背景の中で、今日、補助エネルギーの投入量をできるだけ少なくし、自然の力を最大限に利用した伝統農法の精神に近代的技術を組み入れて、耕地生態系を永続的なものにしていこうとする方向、すなわち低投入持続型農業(LISA)の方向が世界的な流れとなっている。一方、最近の環境問題に対する意識の高まりの中では、環境に及ぼす影響の具体的内容を抜きにして、農薬による環境汚染が漠然と口にされ、きわめて微量の農薬が検出されただけで重大な危険が差し迫っているかの印象が持たれる傾向にある。これは農薬についての不十分な理解とともに、環境に対する影響評価方法が十分に確立していないことによるものと思われる。

ここでは、農薬の環境影響をどのように調査し、評価したらよいか、土壌生態系を中心に、欧米あるいは最近我が国で検討されていることについて紹介したい。

I 農薬の安全性評価

過去には、取扱者の中毒事故、魚介類などの有用動植物の被害、食品や環境の汚染などの農薬問題が起きたことは事実であるが、これらに対しては、急性毒性の低い農薬への切り替え、環境中での残留性の著しい農薬の使用禁止、毒性試験、あるいは残留性試験の充実とそれに基づく残留基準などの設定や適正な使用方法の推進など数々の対策が講じられ、成果をあげてきた。前二者の中毒事故と有用動植物の被害は原因から経過、被害の程度が比較的速やかにわかるので、その対策もたてやすく、

年間の事故件数も急減している。一方、後者の環境汚染の場合は、結果が現れるのに長い時間がかかり、また結果がわかってからというのでは大変なことになるので、科学的な評価方法に基づいた影響の予測(リスクアセスメント)とともに、これに基づいた合理的な対策(リスクマネジメント)が欠かせない。

食品残留の問題については、最大18項目にわたる毒性に関する試験のデータを基に安全性の評価が行われ、食品衛生法に基づく残留農薬基準あるいは農薬取締法に基づく農薬登録保留基準値が定められている。さらに、農作物中の残留量が必ずこの基準値以下になるという使用方法が定められており、食品としての安全性は確保されているといえよう。

次に、環境に対する安全性の問題であるが、現在、土壌残留性試験、田面水中での残留試験が登録に際して義務づけられている。さらに、コイ、ミジンコなどの水生生物に対する毒性試験が原則としてすべての農薬について義務づけられており、水系に飛散または流入するおそれのある場所ではその使用が禁止されている農薬もある。このように農薬の環境影響について、科学的判断が可能なものについては一定の試験が行われ、それに基づいた規制あるいは適正な使用方法が推進されているものと考えられる。ところが、農薬は農作物を害する生物を防除する目的で意図して環境に放出される生理活性を持つ物質であり、環境中に放出された農薬は、生物相とそれを取り巻く環境の間で移行と分配を繰り返して分布する。これらの化合物が特定の場所に滞留すると環境汚染につながり、標的としない生物相に過度に分布すると生態系に悪影響がもたらされることになる。もちろん、それぞれの農薬は選択性を持つようにデザインされているから、その農薬に接触した生物すべてが重大な影響を受けるわけではないが、環境中には多種多様の生物が複雑に相互作用を及ぼしながら生息しているので、標的としない生物への直接的あるいは二次的影響は避けられない。このような観点からの、非標的生物に対する農薬の影響に関する研究は枚挙にいとまがないが、それらから得られた結果を統一して農薬の生態系影響を結論づける状態にはまだ至っていない。このことは、農薬が最も頻繁に投入される環境である耕地の土壌生態系にとっても

例外ではない。

II 土壤微生物に対する影響

前述のように、直接土壤に施用される場合はもちろん、茎葉に散布される農薬も二次的に土壤に移行することになる。土壤中には多種多様な微生物が複雑な相互作用を及ぼしながら生息しており、主に分解者として生態系の中で重要な位置を占めている。しかしながら、対象が多様であり、また微小であるために、その研究はいくつかの間接的な方法論に従わざるを得ない。また、これらの方法論はそれぞれ生態学的に困難な問題を内包しており、農薬の負荷による統一的な知見を引き出すには系統的な研究の蓄積がまだまだ少ないといえる。土壤微生物の農薬に対する作用、すなわち農薬の微生物分解といった面についての研究は比較的良好に行われ、貴重な成果が得られてきている。一方、農薬の土壤生態系に及ぼす影響は、近年になってその重要性が意識され、多くの人々によって取り上げられるようになったが、統一的な知見を引き出すには至っていない。土壤中の微生物の認識の仕方としては、土壤中の物質変化の担い手として捉える場合と、土壤生態系の構成員としてとらえる場合の二通りがある。前者の側面については、土壤の肥よ度とも関連するため、また物質変化の内容が比較的明快であるために古くから多くの研究がある。一方、土壤生態系の構成員としての側面については、微生物社会の構造そのものの意義付けが難しく、すべての微生物種を取り上げるのは不可能であるから、非標的微生物として、どのような微生物をどのくらい対象にすればよいのかわからないのが現状であろう。

先にも述べたが、農薬の副次的影響に関する研究例は多いが、十分なリスクアセスメントができる状況にはない。というのは、先にも述べた土壤微生物を扱う方法論に由来することであるが、個々の研究者は個別の項目について個別の方法で研究を行っていて、これらを総合することが困難であるために個々のデータは多いものの統一した知見が得られないからである。土壤環境は巨視的にも微視的にもきわめて不均一であり、そこに生息する微生物相にも大差がある。また、環境条件の少しの変化が微生物相を変化させるので、農薬のインパクトだけを抽出することは非常に困難である。したがって、①どのような微生物相あるいは活性を対象に、②どの程度変化すれば、そして③その影響がどれだけの時間持続すれば、農業上、あるいは環境問題として重大な影響とするのかという点の合意を形成した上で、それぞれの研究者が一定の基準にのっとり試験計画を立てて実施するこ

と、すなわち影響評価方法の確立とそれにのりつたデータの集積が急がれる。さらに、これらのデータを基にして、土壤環境を永続的なものにするための合理的な対策が講ぜられる必要があろう。このような観点から現在提案されている、欧州と日本の、土壤微生物に及ぼす農薬の影響評価試験方法を次に紹介する。

III 土壤微生物に及ぼす農薬の影響評価試験

1 ヨーロッパにおける検討の状況

1973~77年に開かれた非標的土壤微生物に対する農薬の副次的影響を扱った四つのシンポジウムを組織して1978年に第1回の国際ワークショップが西ドイツで開催された。翌1979、1985年に第2、第3回がイギリスで開催されたときのプロシーディングに「Recommended Laboratory Tests for Assessing the Side Effects of Pesticides on Soil Microflora」が提案された。続いて1989年に第4回のワークショップがスイスのバーゼルで開催され、改訂された同じタイトルの試験方法が提案されているので、この概要について述べる。

2 土壤微生物に及ぼす農薬の副次的影響評価のための推奨室内試験（第4回欧州国際ワークショップから）

直接土壤に施用されるか、あるいは容易に土壤に達すると予測される農薬については次に述べる室内試験をすることが望ましい。

(1) 実験条件など

1) 土壤の選択

少なくとも2種類以上の土壤、すなわち微生物が農薬のストレスを比較的受けやすい砂質の土壤と受けにくい粘土質の土壤で、通常の作物栽培が行われているものを選び、理化学的性質を明らかにしておく。また、微生物バイオマスなどの微生物学的に基本的な項目についての測定をしておくこと。

2) 土壤の採取と保存

表層20cmの、ふるいを通すことのできる程度の水分状態の土壤を採取し、植物残渣、礫などを取り除いて2mmのふるいを通す。湿りすぎている場合には、バイオマスに影響を与えるので乾きすぎないように注意し、適度に風乾する。可能な限り、すぐに使用することが望ましいが、やむを得ない場合には好気的條件、2~4°Cで10週間以内に限って保存してもよい。使用前に20°Cで2~14日間置く。保存中には、乾燥、湛水、凍結は避ける。

3) 農薬の処理

無処理区、常用量区、10倍量区を設ける。常用量の計算に当たっては、乾土当たりの重量で換算するが、土壤

の仮比重を1.5とし、表層10 cmに薬剤が均一に分布するものとして計算する。原体を使用することが望ましいが、特別の場合には製剤を用いることも構わない。

(2) 炭素代謝

農薬を処理した後、一定温度で暗条件下に静置する。土壤の水分含量はpF2.0~2.5に調整する。0, 14, 28日後にグルコースを添加して発生する炭酸ガスを測定し基質誘導呼吸量とする。積算炭酸ガス発生量やバイオマス-Cもこの項目の評価にとって有効である。28日後の常用量区のこれらの値が無処理区のそれに比べて15%以上離れている場合には有意差がなくなるか、あるいは100日後まで試験を続行する。

(3) 窒素代謝

有機物を最も多く含む土壤でのみ行えばよい。有機物を100 mg/kg dry soil程度添加してもよい。培養開始0, 7, 14, 21, 28日後に土壤中のアンモニア態、亜硝酸態、硝酸態窒素を定量し、28日後に常用量区の値が無処理区のそれに比べて15%以上離れている場合には硝化活性を測定する。炭素代謝の場合と同じようにさらに試験を続行する。

(4) その他の参考試験

1) デヒドロゲナーゼ活性

この酵素活性は生きた微生物細胞による酸化活性を広く反映するので、農薬の副次的影響のよい指標となる。

2) 有機物の資化性

前述の炭素代謝試験の代わりに行うか、その試験で不可逆的影響があったときに行う。農薬の添加時にルーサン粉末を添加して炭酸ガス発生量を測定する。

3) リターバッグ試験

データの解釈は難しいが、興味ある項目である。麦ワラなどの植物試料をナイロン製のメッシュに包み、土壤中に埋め、経時的に取り出して重量の減少から分解率を求めらる。

4) 硝化活性

硝化作用は少数の種の土壤微生物によって行われる反応であり、窒素代謝のかく乱を詳細に検討する場合に重要である。硫酸アンモニウムを添加して好氣的に培養し、生成してくる硝酸態窒素、残存のアンモニア態窒素を定量し、硝化率を算出する。

5) 共生的窒素固定活性

豆科植物が栽培される農地に農薬が散布される場合には重要であるが、結果の評価に対する標準的な手順が定まっていない。試験はポットを用い、宿主植物と根粒菌両方の農薬に対する反応をみる。収量、窒素固定量の両方を測定することになる。

(5) 影響評価試験にとって不適当な試験

1) 純粋培養試験：平板法による微生物数の計数および純粋分離菌株を用いた培養試験

2) 土壤酵素

3) 非共生的窒素固定

3 我が国における検討の状況

我が国においても土壤生態系に及ぼす農薬の影響に関する問題に対する関心は深く、多くの研究がなされてきているが、研究組織として系統だった論議が行われたのは、1970年代半ばからの文部省科学研究補助金の研究グループによるものであろう。これらの成果は、「有機合成薬剤に対する土壤生物相の応答とその分解能、秋塚昭三代表、1982」、「土壤中の微生物に及ぼす化学物質の影響、特にその影響評価方法に関する研究、達山和紀代表、1988」などに報告されている。筆者らは、これらの研究の成果をふまえ、1992年度の科学研究補助金を受けて「土壤生態系に及ぼす農薬の影響評価方法に関する研究」を組織し、数回のワークショップを持つことによって「農薬の土壤生態系影響評価のための推奨試験」を提案した。特に、この中にはヨーロッパの推奨試験には含まれていない、水田土壤に関する試験が盛り込まれている。これらは日本の誇る水田土壤の微生物生態学に関する膨大な研究の蓄積を基礎に十分な議論を尽くした上で提案された、世界をリードし得るものである。前述のように、土壤微生物に及ぼす農薬の影響に関する研究例はきわめて多いが、対象や方法が異なるために研究相互の比較が困難であった。今後、このような統一試験方法によるデータが蓄積されることを期待したい。

次にその推奨試験の検討の経緯と概要について記す。なお、この提案を行った研究組織の構成メンバーは筆者のほか、佐藤匡（東北大、土壤微生物学）、渡辺巖（三重大、土壤肥料学）、片山新太（名古屋大、土壤学）、犬伏和之（三重大、微生物生態学）、妹尾啓史（東京大、土壤微生物学）、秋塚昭三（名古屋大名誉教授、農業環境科学）、古坂澄石（東北大名誉教授、土壤微生物学）の各氏である。

4 農薬の土壤生態系影響評価のための推奨試験（文部省科学研究補助金研究成果報告書から）

(1) 影響評価にあたって何を対象とするかについての基本的考え方

1) すべての微生物、活性、微生物間の相互関係を対象とすることは不可能（我々が知っているのはごく一部にすぎないし、これだけでも試験することは不可能に近い）である。

2) 土壤微生物に対する知識、経験の比較的浅い研究

者でも精度の高い結果が得られるような対象項目, 方法である必要がある。

3) 単に微生物数を計ることは意味がない。むしろバイオマスをみたほうがよい。

4) 生産現場である耕地の保全を考えるなら, 肥よく度を中心とする生産性に関連する微生物を重要とみなさざるを得ない。土壌中での微生物社会 (種構成など) に対するインパクトも重要であろうが, 現時点では取扱い方 (手法, 評価を含めて) が困難である。

5) 欧米の類似の評価方法に水田は取り上げられていないが, 我が国の水田微生物研究はこれに貢献できるだけの蓄積があるので, 今回, 畑地, 水田の両方について取り上げる。

6) VAM, 根圏微生物, 土壌酵素については保留する。

以上の基本的考え方に基づいて選ばれた評価対象項目は次のとおりである。

- ・畑地 バイオマス, 硝化, 有機物の無機化
- ・水田 窒素の無機化, メタン・炭酸ガス発生, 田面水・土壌表層のクロロフィル量, バイオマス, 非共生的窒素固定

2 試験方法

まず, 土壌の取り扱いの項で土壌の選定, 保存と調製, 前培養について, 農薬の取り扱いの項で薬量, 施用方法について述べた上で, 前述の対象項目のそれぞれについて試験方法が述べられている。紙面の関係で詳細は割愛するが, 前述のヨーロッパのものに比べて特徴的な点は,

- 1) 原体ではなく, 製剤を用いる。
- 2) 前培養後, 農薬を施用して一定期間経過後にそれぞれの項目についてのインキュベーションを始める。したがって, 農薬の影響がどのくらいの期間持続するかについてのデータが得られる。

3) 水田の微生物相に関する項目が付加されている。

3 その他

1) 微生物数計数の問題点

生物個体数をとらえることの一般的な意味, 計測法, 農薬によるこれらの変化の意味など, それぞれの問題点を指摘している。

2) 今後の要検討項目

デヒドロゲナーゼ活性試験, 微量熱量計による微生物活性測定, 特定機能微生物の純粋培養試験, 根圏微生物に関する試験などが今後検討されるべき課題であろう。

3) データの解釈

ここで述べられている試験方法に従って得られるデータを蓄積する中で, それぞれの項目についての変動の範囲, 持続期間などを明らかにし, それを基に影響の評価基準についての一定の見解を出す。

以上, 現在提案されている, 欧州と日本の, 土壌微生物に及ぼす農薬の影響評価試験方法の概要について述べたが, 筆者らが提案しているものについては近いうちに出版を予定しているので詳細はそれを参考にされたい。

なお, EPA は徹底的な議論の末, 1982 年に土壌微生物と農薬の関係についての試験を土壌中での分解に限定して行うようにしたが, これは非標的微生物に対する影響を無視したわけではなく, 適当な評価手順の条件が整った段階でガイドラインの独立した 1 項目に取り上げるものと考えられる。

参 考 文 献

- 1) GERBER, H. R. et al. (1989): Proceedings of the 4th International Workshop in Basel, Switzerland, 19 pp.
- 2) SOMMERVILLE, L. and M. P. GREAVES ed. (1987): Pesticide effects on soil microflora, Taylor & Francis, London, 240 pp.
- 3) 山本広基ら (1993): 平成 4 年度科学研究補助金 (総合研究 B) 研究成果報告書, 62 pp.

人 事 消 息

(7月5日付)

西尾 健氏 (近畿農政局生産流通部農産普及課長) は植物防疫課課長補佐 (総括及び防除班担当) に

(7月6日付)

武政邦夫氏 (大臣官房技術総括審議官) は農林水産技術会議事務局局長に

小林 仁氏 (熱帯農業研究センター所長) は農業研究センター所長に

見沼圭二氏 (農林水産技術会議事務局局長) は熱帯農業研究センター所長に

三輪睿太郎氏 (農林水産技術会議事務局首席研究管理官) は農林水産技術会議事務局研究総務官に

咲花茂樹氏 (農蚕園芸局植物防疫課農薬対策室長) は大

臣官房参事官に

吉村正機氏 (大臣官房参事官) は農蚕園芸局植物防疫課長に

大川義清氏 (農蚕園芸局植物防疫課長) は横浜植物防疫所長に

岩元睦夫氏 (農林水産技術会議事務局研究管理官) は農林水産技術会議事務局首席研究管理官に

千坂英雄氏 (農業研究センター所長) は退職

杉本忠利氏 (農林水産技術会議事務局研究総務官) は退職

柿本靖信氏 (食品流通局企業振興課技術室長) は農蚕園芸局植物防疫課農薬対策室長に

上垣隆夫氏 (横浜植物防疫所長) は退職