

特集：土壌微生物と農薬〔3〕

農薬連用土壌における微生物相の変動

名古屋大学農学部土壌生物化学講座 か
片
山
新
太

はじめに

土壌は食糧生産の場であると同時に物質循環を完結させる場でもある。すなわち、土壌中ではあらゆる物質が長い年月の間に分解され、環境が安定に保たれている。農耕地で作物保護のために散布される殺虫剤・殺菌剤・除草剤などの農薬も、その大部分は最終的に土壌に入り分解される。農薬は主に土壌微生物の働きによって分解を受けるが、その一方で土壌微生物相は農薬によって影響を受け変化している。農薬、特に土壌に混和して病害虫や雑草から作物をまもるために用いられる農薬は、その薬効のために、土壌中にある一定期間残留することが必要である。しかし、土壌生態系に対する影響を最小限にするためには、できるだけ早く分解してくれたほうが都合がよい。したがって、薬効に必要な期間が過ぎた後には速やかに分解されるような化合物が最も都合がよいことになる。農薬は、作物生産量の維持のために、毎年または毎作同じ薬剤が使われる場合も多くみられる。農薬を連用すると、農薬の土壌中での分解速度が変化したり、分解菌や耐性菌が集積する場合は観察され問題となっている場合もある。ここでは農薬の連用が土壌中の微生物相に及ぼす影響に関し、農薬分解速度の変化、農薬分解菌及び耐性菌数の変化とその機構、菌数変化に影響する主な因子を中心に概説する。

I 土壌微生物相に及ぼす農薬の影響

過去、農薬の土壌微生物に及ぼす影響（非標的微生物への影響）に関する数多くの研究が行われてきており、その中には微生物相に対する影響を調べた研究も多く含まれている。一般微生物及び線虫などの微生物相、あるいは土壌呼吸、有機物（セルロース）分解、アンモニア化成、硝酸化成、脱窒及び窒素固定等の活性が対象とされた（ANDERSON, 1978; SOMMERVILLE and GREAVES, 1987; 佐藤, 1990）。微生物相に関する研究は、微生物数を追跡したものがほとんどである。土壌中の細菌数、放線菌数、糸状菌数の変化を調べた研究はかなり多いが、その多くは微生物数の一例として測定されたものである。ま

た農薬の影響は土壌条件をはじめとする様々な因子によって変化し、同じ薬剤でも一定の結果が得られていない。そのため、薬剤の種類と影響の現れ方の統一的な関連性を引き出すには至っていない（佐藤, 1978）。しかし、殺菌剤は、その性質から土壌微生物相に対し影響が出やすいことは間違いない。殺菌性のある農薬を土壌に添加すると、まず感受性微生物群が死滅し、耐性微生物群が主要となる。その中で農薬を資化できる微生物群がその菌数を増すと考えられている（GUENZI, 1974）。一方、殺虫剤及び除草剤ではかなりの高濃度のときのみ影響が現れ、通常の施用濃度では影響は出ないか、出ても非常に小さいのが普通である（WAINWRIGHT, 1978）。

一般微生物数の変化だけでなく、微生物相の内容まで調べた研究は少ない。SATO (1983, 85, 87) は、グリシン還流土壌に PCP を添加した際の細菌相を分類学的性質及び PCP 耐性度でグループ分けし、PCP 添加によって細菌相が単純化し、耐性菌が増加すること、その菌相がかなり長い間維持されることを明らかにした。TORSTESSON (1984) は、ペノミルとカルベンダジムを秋から冬にかけて繰り返し施用したところ、葉(わら)分解に関与する糸状菌相が変化したと報告した。グリホサートを連続施用すると細菌数が増加し、糸状菌数や放線菌数は変わらなかったが、糸状菌の種類は変化した（WARDLE and PARKINSON, 1990）という報告もある。しかしながら、農薬、特に連用した場合の一般微生物相の内容に及ぼす影響に関する知見はまだまだ少なく、今後の研究が待たれるところである。

II 農薬連用による農薬分解速度の変化

農薬を土壌に連用した際の分解速度の変化は、大きく三つのパターンに分けられ、それには分解菌数の変化が深く関連していることが知られている。第一のタイプは、農薬を連用することによって土壌の農薬分解速度が高まる場合である。2,4-ジクロロフェノキシ酢酸 (2,4-D) の分解を還流土壌を用いて調べたところ、2,4-D の施用歴がない処女土壌では分解が起こるまでに長い時間がかかった（誘導期間または馴致期間）が、一たび分解が始まった後は新しく 2,4-D を加えても馴致期間なく速やかに分解が進んだ（AUDUS, 1950）。同様に連用によって

分解速度が高まる農薬として、MCPA, PCP, dalapon, ベンチオカーブ等が報告されている(欽塚, 1988)。PCP 及びベンチオカーブでは畑水分条件(好気性)、湛水条件(嫌気性)両方の土壌で分解速度の高まりが観察されている(渡辺・林, 1970; MIKESSELL and BOYD, 1986; DUAH-YENTUMI and KUWATSUKA, 1980, 82; MOON and KUWATSUKA, 1985 a, b, c)。多くの場合、分解微生物はこれらの農薬を炭素源またはエネルギー源として利用・増殖することが可能である。分解菌数の増加の結果、分解速度が高まるものと考えられている(ALEXANDER, 1981)。農薬の繰り返し施用により分解活性が高まりすぎて、当初は有効であった農薬が効かなくなるという問題も生じている。2,4-Dなどのフェノキシ系除草剤、EPTC等のチオカーバメート系除草剤、また殺虫剤カボフランなどの例が報告されている(KEARNEY and KELLOG, 1985; 山田, 1990)。

第二のタイプでは、農薬を連用しても土壌の農薬分解速度は変化しない。この場合、処女土壌でも馴致期間なく速やかに分解が起こる場合が多い(ただし分解速度は速いものから非常に遅いものまで存在する)。モリネートの分解はこのタイプである(IMAI and KUWATSUKA, 1986a, b)。分解微生物はこれらの農薬を炭素源・エネルギー源として利用できない場合が多い。土壌中に存在する炭素源・エネルギー源を徐々に(定常的に)利用して生存しているため、分解菌数の増加はみられない。

第三のタイプでは、農薬を連用すると分解速度が遅くなるものである。クロロタロニルがその例に挙げられる(KATAYAMA et al., 1991a, b)。この場合、分解菌数は変化しないか増加する傾向にあるので、土壌中の分解菌の分解活性が低下したのは、連用による土壌環境の変化によると考えられる。

III 農薬連用による分解菌数変化に関連する諸因子

多くの因子があるが、ここでは重要と考えられる三つを紹介する。

1 土壌微生物によるエネルギー源としての農薬の利用

農薬が微生物によって分解される際に、農薬が微生物にとってエネルギー源になる場合とならない場合で代謝パターン、すなわち微生物数の増殖パターンを二つのタイプに分けることができる(表-1)。

第一のタイプでは、微生物は農薬をエネルギー源として用いる。例えば2,4-Dは *Alcaligenes* sp. 等の分解菌によってまず2,4-dichlorophenolと glyoxylic acid に分解され、さらに、2,4-dichlorophenol は芳香環裂解反応

表-1 農薬の微生物による代謝の一般的分類*

A. 酵素的	
1. 微生物が分解によってエネルギーを得るもの	好気性条件における無機化 嫌気性条件における脱塩素反応
2. 微生物が分解によってエネルギーを得ないもの	基質特異性が低い酵素による分解 モノオキシゲナーゼ、加水分解酵素等 農薬類似化合物を代謝する酵素による分解 合成反応 ラッカーゼ等による重縮合反応 メチル化反応等による無毒化反応
B. 非酵素的	
微生物の働きにより pH, 温度等の環境が変化し、その結果間接的に農薬が分解される場合	

* 分解菌の増殖との関係は本文を参照のこと。

によってコハク酸へ変換され TCA サイクルに入り炭酸ガスにまで分解される(ROCHKIND-DUBINSKY et al., 1987)。分解菌は2,4-Dを唯一の炭素源及びエネルギー源として増殖できる。土壌中でも2,4-Dの連用により分解菌数が増加し分解速度が高まった(FOURNIER, 1981)。ただし、土壌中では微生物は農薬だけを利用するのではなく、通常(農薬のないとき)は土壌中に存在する農薬以外の栄養源(糖など)を利用していていると考えられる。

第二のタイプは、農薬がエネルギー源にならない場合である。この場合、分解にはエネルギー源として他の有機物が必要となる。“co-metabolism”(ALEXANDER, 1981)または“incidental metabolism”(MATSUMURA and KRISHNA, 1982)と呼ばれるタイプである。一般に存在する基質特異性の低い酵素群(例えば monooxygenase やエステル加水分解酵素)により変換される場合や、農薬に構造的に似た化合物によって特異的な酵素が誘導される場合がこのタイプに含まれる。また、農薬自身をまたは他の化合物とともに重縮合する場合もある。この第二のタイプの菌の純粋培養系では中間代謝物が蓄積する場合が多いが、土壌中では、他の微生物がその代謝産物を分解するため、実際に代謝産物が蓄積することはほとんどない(BOLLAG, 1990)。土壌中に存在する他の微生物よりも、このタイプの菌に対して農薬の連用が有利に働くということはないので、一般にこのような菌は集積しない。しかし、構造類似のエネルギーとして利用できる化合物を連用してやると、その化合物を分解する微生物を集積することが可能である。diphenylmethane を用いて DDT 分解菌を土壌中で誘導・集積をさせた例がある(ROCHKIND-DUBINSKY et al., 1987)。また、グルコースのような基質を用いても、基質特異性の低い分解酵素を持つ

分解菌であれば増やすことができる (MATSUMURA and KRISHNA, 1982)。

2 土壌中での農薬の微生物への有効性

農薬をエネルギーとして利用・分解する微生物は、農薬濃度がある程度高くないと分解できないし増殖もできないことが知られている (SCHMIT et al., 1985a, b)。2,4-dichlorophenol の場合、濃度が 1 mg/l のときはエネルギーを得るタイプの分解菌が分解し増殖するが、濃度が 0.01mg/l のときは、エネルギーを得ないタイプの分解菌が分解し、増殖は認められなかった (山崎・瀬戸, 1992)。

土壌中では、農薬の大部分は土壌に吸着して存在する (欽塚, 1981) ので、微生物にとって利用可能な農薬濃度はかなり低いと考えられる。したがって、吸着の強い農薬では微生物相も変化しにくいと思われる。パラコートは土壌に強く吸着する農薬の典型的な例であるが、13年間パラコートを連用した土壌と隣接する無施用土壌の間で、耐性菌数、分解菌数に差がなかった (KATAYAMA and KUWATSUKA, 1992)。

3 殺菌性のある農薬による感受性微生物の死滅

殺菌剤や抗生物質が土壌に添加されると耐性微生物が土壌中に優先してくる (佐藤, 1990)。耐性微生物の耐性メカニズムには、合成反応による殺菌性の低下 (例えば PCP や水銀のメチル化, SUZUKI, 1983; 外村ら, 1978) を始めとし、様々なものが含まれるが、いずれの場合も耐性微生物にとってエネルギー源とはならない。しかし、土壌中に存在する合成反応系を持たない感受性微生物が死ぬために、その死骸を養分として耐性微生物の増殖が起こると考えられる。

IV 長期連用による土壌微生物の適応

天然に存在しない人工有機化合物である農薬を分解する微生物は、突然変異や自然界で起こっている遺伝子組み替え (形質転換, 接合, 形質導入, WELLINGTON and VAN ELSAS, 1992) により、新しく分解酵素系を獲得し、農薬の存在する環境に適応したものと考えられている (KEARNEY and KELLOG, 1985; CHAUDHRY and CHAPALAMADUGU, 1991)。したがって、農薬の長期連用は、もともと土壌微生物にはなかった分解酵素系や耐性機構が出現してくる可能性を高めるものと考えられる。現に、GOLOVLEVAら (1982) は、これまでは微生物による分解には他の有機物を必要としていた DDT を、唯一の炭素源・エネルギー源として分解できる *Pseudomonas aeruginosa* を、高濃度 DDT で長期間汚染された土壌から単離した。ストレプトマイシン, クロラムフェニコール, テトラサイクリン

等の多種類の抗生物質に対する耐性菌の環境中からの単離 (三橋, 1980) も、抗生物質の存在する環境に適応した新微生物が出現したことを示している。これらの分解系や耐性は、しばしばプラスミドにコードされている (CHAUDHRY and CHAPALAMADUGU, 1991; GOLOVLEVA, 1982; 三橋, 1980)。農薬長期連用土壌では、プラスミドの微生物間での伝播の可能性が高くなるものと想像される。

おわりに

以上、農薬連用土壌中の微生物相の変動について、農薬の分解菌及び耐性菌数の変化を中心に紹介した。土壌中の微生物相に及ぼす農薬の影響、特に連用した際の影響については、まだまだ研究が十分に進んでいないのが現状である。この原因は、通常用いられている寒天平板培養法では全微生物数・全微生物相を計測できない点にあると思われる (山本ら, 1993)。農薬連用土壌における微生物相の変動を明らかにすることは、農薬の薬効を効果的に発揮させるとともに、土壌肥沃度及び生態系への影響を最小限にとどめるために、非常に重要な研究である。この分野の今後の発展を期待したい。

引用文献

- ALEXANDER, M. (1981) : Science 211 : 132~138.
- ANDERSON, J. P. (1978) : Pesticide Microbiology : Microbiological Aspects of Pesticide Behavior in the Environment. ed. by I. R. HILL and S. J. L. WRIGHT, Academic press, London, p. 313~533.
- AUDUS, L. J. (1950) : Nature 166 : 365~367.
- BOLLAG, J.-M. and S.-Y. LIU (1990) : Pesticide in the soil environment, SSSA book series No. 2, ed. by H. H. CHENG, SSSA Inc., Madison, Wisconsin USA, p. 169~211.
- CHAUDHRY, G. R. and S. CHAPALAMADUGU (1991) : Microbiological Reviews 55 : 59~79.
- DUAH-YENTUMI, S. and S. KUWATSUKA (1980) : Soil Sci. Plant Nutr. 26 : 541~549.
- (1982) : ibid. 28 : 19~26.
- FOURNIER, J. C. et al. (1981) : Chemosphere 10 : 977~984.
- GOLOVLEVA, L. A. et al. (1982) : Mikrobiologia 51 : 973~978.
- GUENZI, W. D. et al. (1974) : Pesticides in soil and water, SSSA Inc., Madison, Wisconsin, USA, 562pp.
- IMAI, Y. and S. KUWATSUKA (1986a) : J. Pesticide Sci. 11 : 57~63.
- (1986b) : ibid. 11 : 111~117.
- KATAYAMA, A. et al. (1991a) : ibid. 16 : 233~238.
- et al. (1991b) : ibid. 16 : 239~245.
- KATAYAMA, A. and S. KUWATSUKA (1992) : ibid. 17 : 137~139.
- KEARNEY, P. C. and S. T. KELLOG (1985) : Pure & Appl. Chem. 57 : 389~403.
- 欽塚昭三 (1981) : 土壌の吸着現象—基礎と応用—, 日本土壌肥料学会編, 博友社, 東京, p. 129~160.
- (1988) : 第6回農薬環境科学研究会講演要旨集, p. 63~70.
- MATSUMURA, F. and M. KRISHNA (1982) : Biodegradation of pesticides, Plenum Press, New York/

- London, 312pp.
- 20) MIKESSELL, M. D. and S. A. BOYD (1986): Appl. Environ. Microbiol. 52: 861~865.
- 21) 三橋進 (1980): 微生物の生態8 極限環境の微生物, 微生物生態研究会編, 学会出版センター, 東京, p. 89~120.
- 22) MOON, Y.-H. and S. KUWATSUKA (1985a): J. Pesticide Sci. 10: 513~521.
- 23) ——— and ——— (1985b): ibid. 10: 523~528.
- 24) ——— and ——— (1985c): ibid. 10: 541~547.
- 25) ROCHKIND-DUBINSKY, M. L. et al. (1987): Microbiological decomposition of chlorinated aromatic compounds, Marcel Dekker, Inc., New York/Basel, 315pp.
- 26) 佐藤 匡 (1978): 微生物の生態5 環境汚染をめぐる, 微生物生態研究会編, 学会出版センター, 東京, p. 39~64.
- 27) ——— (1989): 植物防疫 44: 27~31.
- 28) Sato, K. (1983): Plant and Soil 75: 417~426.
- 29) ——— (1985): J. Gen. Appl. Microbiol. 31: 197~200.
- 30) ——— (1987): Plant and Soil 100: 333~343.
- 31) SCHMITT, S. K. et al. (1985a): J. Theor. Microbiol. 114: 1~8.
- 32) ——— et al. (1985b): Appl. Environ. Microbiol. 50: 323~331.
- 33) SOMMERVILLE, L. and M. P. GREAVES (1987): Pesticide Effects on Soil Microflora, Taylor & Francis, London, 240pp.
- 34) SUZUKI, T. (1983): J. Pesticide Sci. 8: 419~428.
- 35) 外村健三ら (1978): 微生物の生態5 環境汚染をめぐる, 微生物生態研究会編, 学会出版センター, 東京, p. 23~38.
- 36) WAINWRIGHT, M. (1978): J. Soil Sci. 29: 287~298.
- 37) 渡辺巖, 林周二 (1970): 日本土壤肥料学雑誌 43: 119~122.
- 38) Wellington, E. M. H. and J. D. van Elsas (1992): Genetic interactions among microorganisms in the natural environment, Pergamon Press, Oxford/New York/Seoul/Tokyo, 303pp.
- 39) 山田忠男 (1990): 植物防疫 44: 62~66.
- 40) 山本広基ら (1993): 土壤生態系に及ぼす農薬の影響評価方法に関する研究, 平成4年度化学研究補助金研究成果報告書, p. 39~47.
- 41) 山崎彰子, 瀬戸昌之 (1992): 第8回日本微生物生態学会講演要旨集, p. 27.

人事消息

○横浜植物防疫所

(3月25日付)

潮新一郎氏 (門司植物防疫所鹿児島支所防疫管理官) は成田支所業務第三課長に 伊藤久也氏 (成田支所業務第三課長) は成田支所業務第二課長に

(3月31日付)

岩本紀代史氏 (総務部会計課課長補佐) は (生物系特定産業技術研究推進機構総務部経理課長) に

(4月1日付)

小林栄作氏 (農蚕園芸局植物防疫課課長補佐 (庶務班担当) は総務部長に 藤松男氏 (成田支所業務第二課長) は東京支所次長に 田中健市氏 (成田支所業務第二課防疫管理官) は成田支所業務第二課長に 鶴田賢治氏 (調査研究部害虫課害虫第1係長) は業務部国内課防疫管理官業務部国内課付派遣職員 (スリランカ国農業省へ) に 直江康博氏 (業務部国内第一課第1係長) は新潟支所秋田出張所防疫管理官に 小島雅春氏 (東京支所国際第1係長) は成田支所業務第二課防疫管理官に 村垣茂氏 (成田支所業務第一課調査係長) は成田支所業務第三課防疫管理官に 渡邊秋雄氏 (成田支所業務第三課携帯品第3係長) は成田支所羽田出張所防疫管理官に 和光光雄氏 (東京支所大井出張所防疫管理官) は札幌支所釧路出張所長に 新國忠氏 (札幌支所防疫管理官) は札幌支所小樽出張所長に 佐藤輝男氏 (札幌支所小樽出張所長) は札幌支所苫小牧出張所長に 石谷義明氏 (名古屋植防西部出張所防疫管理官) は塩釜支所釜石出張所長に 黒澤正夫氏 (成田支所業務第二課防疫管理官) は塩釜支所小名浜出張所長に 竹知孝典氏 (業務部国内課防疫管理官) は業務部国際第一課防疫管理官に 福沢系司氏 (成田支所業務第二課防疫管理官) は業務部国際第一課防疫管理官に 村岡力氏 (業務部国際第一課防疫管理官) は調査研究部企画調整課防疫管理官に 時広五朗氏 (東京支所防疫管理官) は調査研究部企画調整課防疫管理官に 早瀬猛氏 (札幌支所苫小牧出張所長) は札幌支所防疫管理官に 山辺順孝氏 (札幌支所釧路出張所長) は塩釜支所防疫管理官に 小林進氏 (成田支所業務第一課防

疫管理官) は新潟支所防疫管理官に 鎌倉正好氏 (東京支所晴海出張所防疫管理官) は成田支所業務第一課防疫管理官に 元島俊治氏 (業務部国際第二課防疫管理官) は成田支所業務第二課防疫管理官に 中島三康氏 (塩釜支所小名浜出張所長) は成田支所業務第二課防疫管理官に 伊藤喜美男氏 (塩釜支所防疫管理官) は東京支所防疫管理官に 坂浦昭男氏 (業務部国際第一課防疫管理官) は東京支所晴海出張所防疫管理官に 戸上隆氏 (成田支所業務第三課防疫管理官) は東京支所大井出張所防疫管理官に 森田利夫氏 (業務部長) は門司植物防疫所長に 井尻美智子氏 (調査研究部企画調整課統計資料係長) は農薬検査所検査第一部企画調整課検査管理官に 中山宏基氏 (成田支所業務第二課貨物第4係長) は新潟支所防疫管理官に 鈴木光男氏 (本牧出張所長) は業務部国際第三課長に 染谷均氏 (横須賀出張所長) は業務部国際第二課防疫管理官に 堀内義久氏 (新潟支所防疫管理官) は業務部国際第三課防疫管理官に 濱砂武久氏 (業務部国際第一課防疫管理官) は業務部国際第三課防疫管理官に 村木寛志氏 (本牧出張所防疫管理官) は業務部国際第三課防疫管理官に 中野満夫氏 (塩釜支所釜石出張所長) は名古屋植物防疫所四日市出張所長に

○名古屋植物防疫所

(3月25日付)

橋本満成氏 (清水支所御前崎出張所長) は清水支所田子の浦出張所長に 藤原史郎氏 (清水支所防疫管理官) は清水支所御前崎出張所長に 宮本岩夫氏 (清水支所田子の浦出張所長) は清水支所防疫管理官に

(3月31日付)

村上良治氏 (小牧出張所長) は退職 新名輝彦氏 (伏木支所金沢出張所) は退職

(4月1日付)

宮井尚彦氏 (国際課輸入第1係長) は蒲郡出張所長に 島田正博氏 (国内課輸出係長) は南部出張所長に 木戸悦昌氏 (伏木支所国内係長) は衣浦出張所防疫管理官に 小倉明弘氏 (伏木支所国際係長) は小牧出

(33ページへ続く)