

土壌燻蒸剤は本当に皆殺し剤なのか



国立大学法人 東京農工大学大学院 農学研究院

豊田 剛己

Koki Toyota

1. はじめに

土壌燻蒸剤（＝消毒剤）は我が国の農業においてなくてはならない重要な農薬である。臭化メチルの全廃が確定した今日、主要な消毒剤としてクロルピクリン、1,3-ジクロロプロペン（DD）、ダゾメット（バスアミド）などが挙げられる。消毒剤は病原微生物だけでなく有用微生物も選択性なく殺してしまうため、一部の消費者が嫌悪感を抱いているのも事実で、エコファーマーの認定に際しては土壌消毒剤を使用しないことを条件にしている。

DDの出荷量は年々減っているため、消費者の意向を配慮してか生産者が使用を控えていると考えられる（図1）。しかし、これは非燻蒸タイプの有効な殺線虫剤が増えてきているからであり、殺線虫剤の出荷量総量は必ずしも減っていない。一方、クロルピクリンやダゾメットは出荷量が増える傾向にあり、現代農業が消毒剤を必要としていることがわかる（図2）。

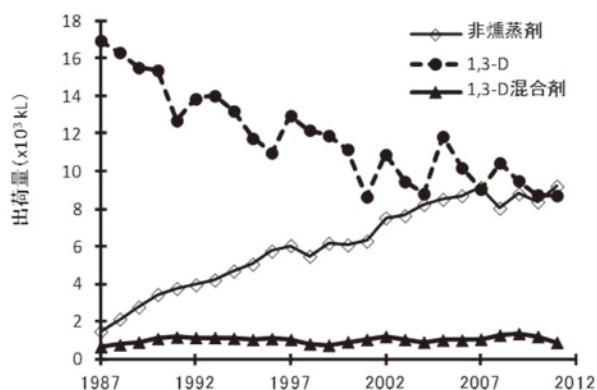


図1 殺線虫剤出荷量の経時的変化（農薬要覧より）
1,3-D:1,3-ジクロロプロペン（DD）
非燻蒸剤はホスチアゼート、カズサホス、オキサミルの総和

2. 消毒剤の土壌微生物に及ぼす影響 —室内試験—

1) 微生物数に及ぼす影響

10年以上も前になるが、“燻蒸剤は皆殺し剤”という表現に影響を受け、本当にそうなのか、農薬ではないがクロロホルムを使って調べてみた。結論から言うと、どうやってもすべての微生物を殺すことはできなかった。1990年代の実験なので希釈平板法を用いて完全に密閉できる室内実験で消毒し、細菌数や糸状菌数を測定したのだが、糸状菌は1%弱、細菌は約5-10%がどれだけ消毒時間を長くしても生き残った（図3；Toyotaら、1996）。特に、細菌に関しては、芽胞を作るバチルス属には全く効かないようで、消毒後の平板培地に生えてくるコロニーは大半がバチルス属菌であった。幸い、バチルス属菌には植物病原菌は知られていないので、消毒剤は大半の植物病原菌を殺すには有効であると結論できるが、すべての微生物を殺す訳ではないことは明らかであった。

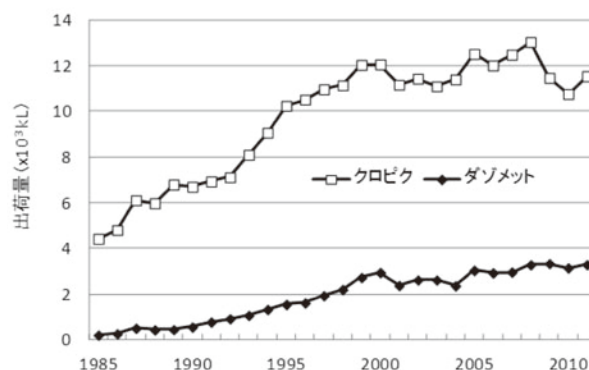


図2 土壌消毒剤クロルピクリンとダゾメット出荷量の経時的変化（農薬要覧より）

一部の微生物が生き残ったので、生き残った微生物がどれくらいの期間で回復してくるのかに興味を持った。結果は、直接顕鏡法で求めた全菌数、希釈平板法で求めた培養可能な細菌数のどちらも消毒終了後2～3週間程度で元通りになった（図4：Toyotaら、1999）。平板に生えてきたコロニーを顕微鏡観察することで簡便にバクテリアのグルーピングをしたところ、中身はかなり違うことがわかった（図5）が、何はともあれ、数の上では数週間という短期間で元通りになったことは衝撃的であった。一方、これで本当に病原菌に対して効くのだろうかという不安も生じた。硝化菌は環境ストレスに弱いことが一般に知られるので、最確値（MPN）法を用いて調べてみた。すると、アンモニア酸化菌は消毒

により全滅し、消毒終了後105日間経ってもまったく回復しなかった。つまり、一部の微生物に対しては壊滅的な影響をもたらすことを再認識できた。

燻蒸タイプの消毒剤はガス状となって土壌孔隙を拡散していくので、粗孔隙には素早く拡散するが、細孔隙への拡散には時間がかかると予想される。つまり、消毒剤に触れると死滅する芽胞形成菌以外の微生物でも、土壌中で消毒剤が届きにくいところに生育していれば生き残ることができるのではないかと考えた。つまり、消毒により死滅しやすい微生物は主に粗孔隙を住み場所に、死滅しにくい微生物は細孔隙が主な住み場所と考えられる。4種類の細菌をオートクレーブ殺菌した土壌に1種類ずつ接種し、2週間培養することで土壌に定着させた。その後、

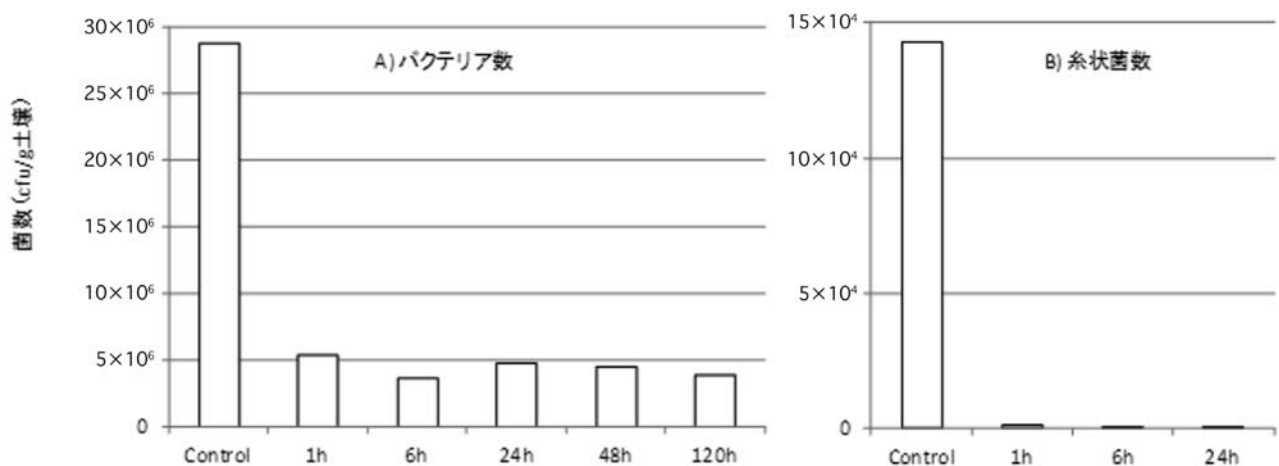


図3 異なる消毒時間がバクテリア数 (A) および糸状菌 (B) に及ぼす影響 (Toyota et al., 1996)

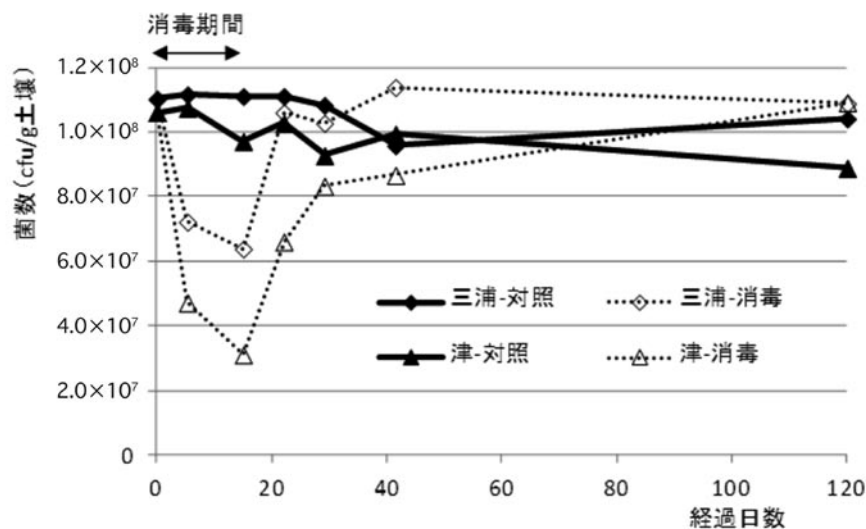


図4 消毒が土壌中（神奈川県三浦土壌、三重県津土壌）のバクテリア数に及ぼす影響 (Toyota et al., 1999)

異なる時間消毒することでどれくらいの細菌数が生き残るかを評価した。その結果、死滅しやすさは用いた菌種毎にかなり違っていたので、微生物の種類毎に土壌中での住み場所が異なることがわかった (Toyota & Kimura, 1996)。植物病原細菌であるトマト青枯病菌は消毒で死滅しやすい、つまり粗孔隙を主な住み場所とするタイプであったのに対し、*Pseudomonas fluorescens* や *P. stutzeri* は死滅しづらく、細孔隙を主な住み場所としていると考えられた。カビやセンチュウに関しては実験していないが、体のサイズが大きい粗孔隙を主な住み場所としていると考えられ、これらの生物も消毒により死滅しやすいタイプの生物である。後述するが、室内試験では消毒剤の殺菌効果は高いが、実際の圃場試験では室内試験のように微生物は死滅しない。その理由は消毒剤が拡散していかないところを住み場所としているからだと考えられる。この点でも消毒剤は皆殺し剤ではないといえる。

2) 線虫数に及ぼす影響

土壌 20g 当たり 20 ～ 200 頭の線虫が生息する 11 種類の土壌を用いて、燻蒸剤による消毒の影響を見たところ、8 土壌で全く検出されなくなった (Fujino ら, 2008)。残りの 3 土壌でも 90 % 以上密度が減少したため、上述のように線虫は消毒で死滅しやすい生物であることが再確認できた。

3) 微生物機能に及ぼす影響

土壌微生物の重要な働きは物質循環機能である。95 ケの異なる基質を含むバイオログプレートを用いて土壌微生物群集機能の評価した (伊藤ら, 2000)。消毒していない対照区の土壌は変動はあるものの 61 ～ 88 ケの基質を資化できた。一方、消毒直後では微生物数が 10 % 以下まで減少した影響もあるが、まったく基質を分解できなくなり、微生物数が回復した 105 日後でも 18 ～ 50 ケとかなり分解能が低下した。

土壌微生物の有機物分解能の指標として、キチンとグルコース分解能に及ぼす影響をクロロピクリンとキルパー (カーバムナトリウム塩) で比較した (Wada and Toyota, 2007)。どちらの薬剤の場合でも、消毒直後の有機物分解能は顕著に低下した。一方、その後の回復度合いは薬剤により異なり、キルパーではグルコース分解能は 4 週間後、キチン分解能は 2 週間後と比較的速やかに回復したのに対し、クロロピクリンの場合には回復まで 10 ～ 12 週間を要した (図 6)。また、グルコース分解に寄与する微生物群は、無処理区ではカビとバクテリアの比率が 1:1 であったのに対し、消毒はバクテリアよりカビに対する殺菌影響が大きいため、消毒処理によりこの比率はかなりバクテリア型となった。キルパー処理では時間の経過とともに回復し、12 週間後では対照区と有意差がなくなったのに対し、クロロピクリン

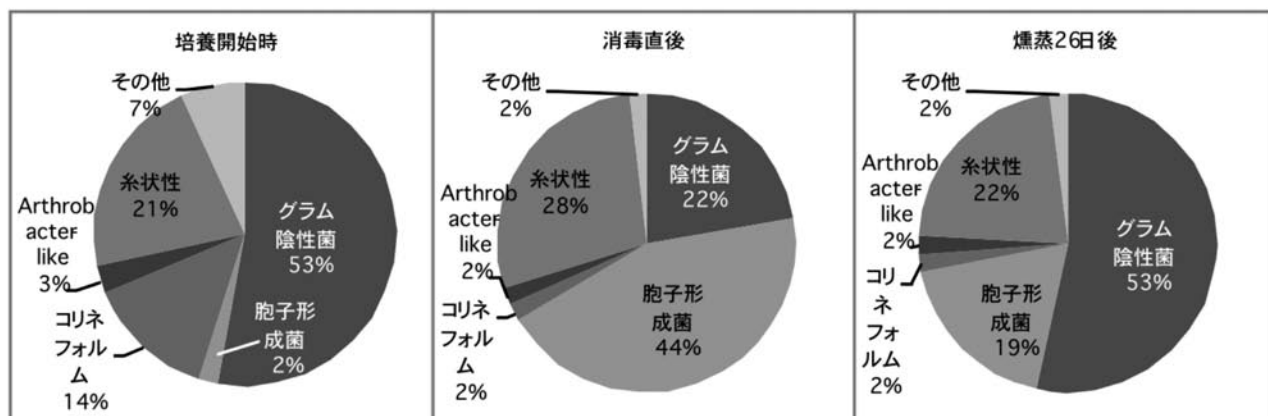


図5 消毒が培養可能な細菌フローラに及ぼす影響 (Toyota et al., 1999)
平板上のコロニーをランダムに 50 株程度鉤菌し、グラム染色と細胞形態に基づきグルーピング

処理の場合には、12週間後もかなりバクテリア型であるなど、カビに対する致死効果がかなり長期にわたって見られた。

ついで、上記実験においてグルコース分解を担う微生物群集構造を推定するために、消毒直後ならびに12週間後の土壤にグルコースを添加し大半のグルコースが分解されたと予想されるさらに2日後に土壤からDNAを抽出し、糸状菌あるいはバクテリア由来のrRNAをPCR増幅し変性剤密度勾配ゲル電気泳動(DGGE)を行った(図7)。消毒直後は、コントロールやキルパー区では多数のバンドが検出され、多くの微生物種がグルコースを分解したと推定されるのに対し、クロルピクリン消毒の場合には化学肥料区では1本、化学肥料+堆肥区でも3本とかなりバンド数が限定されており、クロルピクリン消毒によりグルコース分解菌の大半が死滅したことがわかった。また、消毒12週間後の群集構造も、キルパー区は比較的コントロールと類似していたのに対し、クロルピクリン区は依然としてかなり異なっており、影響が長期にわたって継続すると考えられた。

これらの結果は土壤微生物群集に及ぼす影響は薬剤により異なり、クロルピクリンは非標的微生物に対する影響がより大きくしかも持続するのに対し、キルパーは影響から回復しやすい薬剤であると言えた。

3. 消毒剤の土壤微生物に及ぼす影響

—圃場試験—

各種消毒剤の土壤微生物に及ぼす影響を神奈川県三浦半島に位置する神奈川県農業技術センター三浦半島地区事務所内の淡色黒ボク土圃場にて実施した。処理区は、無処理区と堆肥区、それに消毒区として太陽熱消毒+堆肥区、太陽熱+DD+堆肥区、太陽熱+キルパー区、太陽熱+キルパー+堆肥区の合計6つを設けた。消毒期間中の平均土壤温度は地表下で対照区の30.2℃に対して太陽熱区で37.4℃、15cm深で対照区28.5℃に対して太陽熱区35.5℃と24日間の消毒期間中、約7℃の温度上昇が認められた。この消毒により、三浦地域で問題になっている土壤病害の1つであるメロンホモプシス病の発病率が顕著に低下した。病原菌に対する消毒効果は、太陽熱消毒のみよりDDやキルパーと併用した方が高く、薬剤の効果が確認できた。この時の土壤微生物への影響を、全菌数、培養可能な細菌数、Biologプレートを用いた基質資化性から評価した。室内試験では菌数が約1ケタ低下したが、圃場試験では半減にしかならなかった。これは、閉鎖系の室内試験では消毒剤が揮発してなくなる可能性が極めて小さいのに対し、圃場ではビニールマルチをいくら素早くかけるとしてもその間に一部が大気へと揮発するとともに、下層土にも拡散していくために土壤中の濃度が薄まることが原因と考えられた。とこ

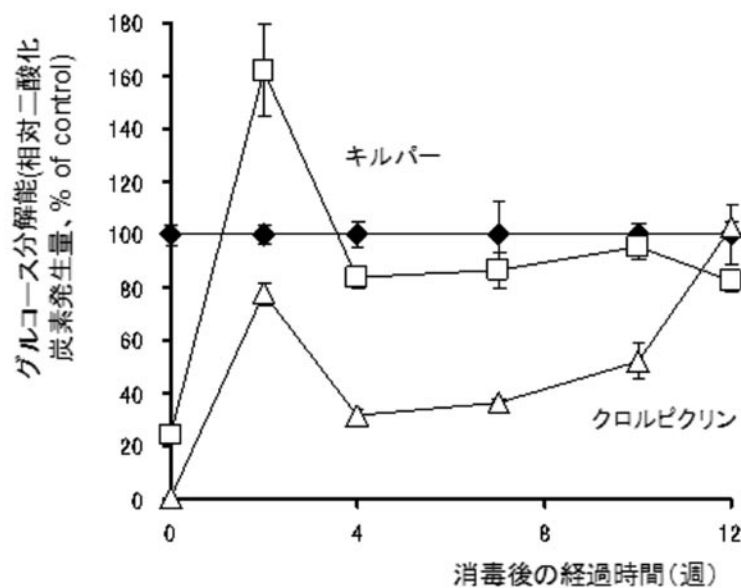


図6 グルコース分解能に及ぼす土壤消毒の影響
(Wada and Toyota, 2007) 未消毒区の分解能を100とした相対活性

ろで、このときの菌数への影響は太陽熱消毒のみと、太陽熱にDDやキルパーを併用した処理区の間で違いはなかった。したがって、化学薬剤を用いない太陽熱消毒であっても、化学薬剤と同程度の影響を土壌微生物に対してもつことがわかった。なお、いずれの消毒区も室内試験と同様、消毒後20～30日後には無処理区との有意差はなくなった。基質資化性は、室内試験では消毒により壊滅的な影響を受けたが、圃場での影響はマイルドであった。基質資化パターンは、無処理区と消毒区との間でわかれ、消毒は菌数を減らすのみでなく、その中身も変化させることが再認識できた。菌数の点では、太陽熱消毒と化学薬剤区との間に顕著な違いはなかったが、基質資化性においては、太陽熱消毒区の影響はより小さく、これは発病抑制能が低かった点と関係していると考えられた。

室内試験では消毒によりアンモニア酸化細菌が全滅し消毒後105日間経っても回復しなかったが、圃場試験でも同様の現象が起きるのか確認した（和田ら、2008）。2年にわたり3圃場でD-D、クロルピクリン、太陽熱消毒の影響を見たところ、いずれの圃場でもDDおよび太陽熱消毒の影響は小さく消毒直後でも1～2桁程度の減少で、その抑制効果も消毒2週間目以降は見られなくなった。ところがクロルピクリンでは、2圃場において4桁以上アンモニア

酸化菌数が減少し、他の消毒よりも影響が大きいという結果になった。しかしその壊滅的な影響は一時的で、2週目以降は無処理区と差がなくなった。室内試験の結果に基づくと、薬剤が確実に土壌中に拡散した場合、アンモニア酸化菌は全滅し他からの持ち込みがない条件下では菌数の回復は見られなかった。一方、圃場では隔々まで消毒効果が行き渡らないこと、また、消毒をしていない外部からの移動、さらには風塵が持ち込まれることなどから、すぐに菌数が回復したと考えられた。一方、土壌機能としてグルコースおよびセルロース分解活性を見たところ、室内試験同様に消毒直後は半減したが、その後回復が見られ、4週間目以降は特に顕著な抑制効果は見られなくなった。これらの微生物機能では、クロルピクリンの抑制効果が顕著に高いわけではなく、DDや太陽熱消毒と同程度であった。

以上、各種消毒剤の土壌微生物への影響は、消毒直後は認められるものの、時間の経過とともに回復し、1作期間終了後にはほぼ無処理区と違いがなくなるケースがほとんどであった。一方、病原菌や線虫に対する効果は高く、効率的に消毒を行うことができれば、標的微生物のみを制御し、非標的微生物への影響はあったとしても一時的であることが確認できた。

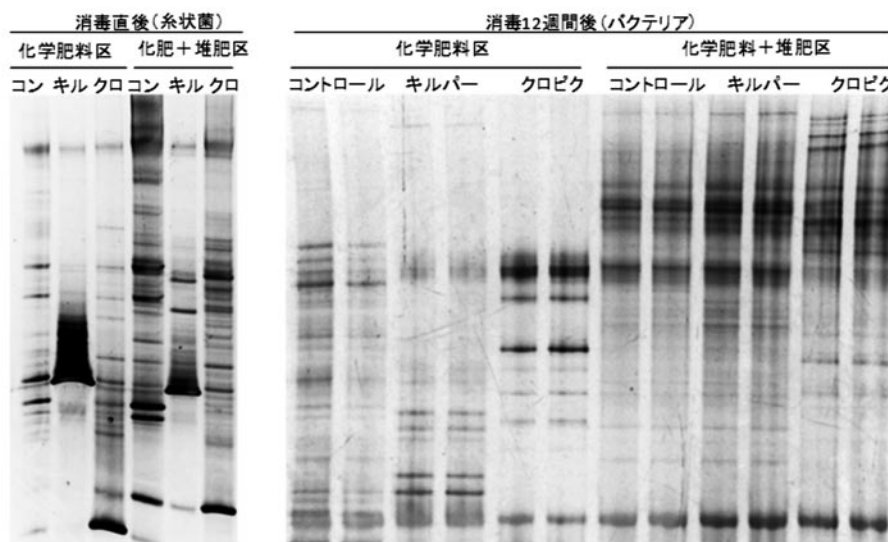


図7 グルコース分解微生物群集構造に及ぼす土壌消毒の影響（和田・豊田、未発表）
消毒直後は18S rRNAを標的にした糸状菌群集構造、消毒12週間後は16S rRNAを標的にしたバクテリア群集構造を評価。

4. おわりに

我が国は単位面積当たりの農薬使用量が世界一である。それが高収量、高品質の作物生産に貢献している反面、不必要にあるいは過度な農薬使用があるのも否めない。消毒剤の土壌微生物への影響は想像以上に軽微であり、しかも一時的であることがわかってきたが、その潜在的な危険性故かヨーロッパには消毒剤の使用が制限されている国もある。農薬の必要性を科学的に診断し必要な圃場にだけ使用できるようにするための土壌診断技術の開発に現在取り組んでいる。

引用文献

- Fujino, C., Wada, S., Konoike, T., Toyota, K., Suga, Y. and Ikeda, I.: Effect of different organic amendments on resistance and resilience of organic matter decomposing ability of soil and role of aggregated soil structure. *Soil Science and Plant Nutrition*, 54, 534–542 (2008)
- 伊藤喜誠・豊田剛己・木村眞人: 各種土壌消毒処理のメロンホモプシス根腐病への効果とそれに伴う土壌微生物群集の変化。日本土壌肥科学雑誌、71 (2) ,154–164 (2000)
- Toyota, K., Ritz, K. and Young, I. M.: Survival of bacterial and fungal populations following chloroform-fumigation: The effect of soil matrix potential and bulk density. *Soil Biology & Biochemistry*, 28, 1545–1547 (1996)
- Toyota, K. and Kimura, M.: Growth of the bacterial wilt pathogen *Pseudomonas solanacearum* introduced into soil colonized by individual soil bacteria. *Soil Biology & Biochemistry*, 28, 1489–1494 (1996)
- Toyota, K., Ritz, K., Kuninaga, S. and Kimura, M.: Impact of fumigation with metam sodium upon soil microbial community structure in two Japanese soils. *Soil Science and Plant Nutrition*, 45, 207–223 (1999)
- Wada, S. and Toyota, K.: Repeated application of farmyard manure enhances resistance and resilience of soil biological functions against soil disinfection. *Biology and Fertility of Soils*, 43(3), 349–356 (2007)
- 和田さと子・藤野智絵・豊田剛己・岡本保: 1,3-ジクロロプロペン、クロルピクリン及び太陽熱による土壌消毒がセルロース分解能及び硝化菌に及ぼす影響。土と微生物, 62, 21–31 (2008)