

《短報》

土壤燻蒸処理による殺線虫剤の減衰および土壤微生物に及ぼす影響

佐藤一弘*・植竹恒夫**・加藤 剛*

Influence of Soil Fumigation on Nematicide Decomposition
and Microbial Community in Soils

Kazuhiro SATO, Tsuneo UETAKE and Takeshi KATO

本県施設栽培における土壤病害の防除では、非選択性の燻蒸剤と線虫防除を目的とした有機リン系の選択性剤の併用がみられる。燻蒸剤は土壤中の生物相に大きな影響を与えることが知られている(和田・豊田, 2009)。筆者らは有機リン系殺線虫剤ホスチアゼートの土壤中での減衰が土壤有機物量に影響されることを報告した(佐藤・加藤, 2009)。一方同じ有機リン系殺線虫剤であるカズサホスはその減衰が土壤有機物量に影響されにくいことを見いだした(加藤ら, 未発表)。両剤は土壤中での減衰が比較的緩やかであり、キュウリなどの栽培期間中に安定した薬効を示すが、薬剤の種類と土壤有機物量や生物相で減衰が異なるとすると、線虫への薬効や後作物への土壤残留など様々に影響する可能性がある。また、カズサホス、ホスチアゼートそのものの土壤微生物相への影響については Wada らの報告があるが(Wada *et al.*, 2008)、燻蒸剤が土壤中の両剤へ与える影響に関する報告は見あたらない。

そこで、本研究では非選択性の燻蒸剤と選択性の殺線虫剤を併用する場合の燻蒸剤による土壤微生物への影響が殺線虫剤ホスチアゼートとカズサホスの両剤の土壤中での減衰に及ぼす影響についての調査結果を報告する。

本研究は農林総合研究センター・新たな研究需要創出事業「土壤農薬の残留評価」(2013)で実施された。

材料および方法

1 試験の概略

園芸研究所の施設土壤(褐色低地土斑紋あり)を採取し5Lポリ容器(深さ26cm, 直径18cm)に充填した後、土壤燻蒸剤として1,3-ジクロロプロペンを用い、同剤3mlを15cm深に灌注し直ちにポリフィルムで容器上部および容器全体を被覆し、ビニルハウス内で静置した。1ヶ月後被覆を外しさらに2週間放置後、低温室(8°C)にて被覆をして試験まで保管した。薬剤を施用しない区も同様に管理した。燻蒸処理区、無処理区の2土壤を供試し、平板培地法で好気性細菌、糸状菌、放線菌の菌数をカウントした。また、ホスチアゼート及びカズサホス標準品それぞれ100mgをほ場容水量50%調整土壤100gに添加しポリエチレンラップで覆い25°C恒温室に暗黒条件で保管培養した。一定間隔で両薬剤の土壤残存量を測定した。

2 ホスチアゼート、カズサホス分析条件

厚生労働省の食品の農薬残留試験法(厚労省, 2005)を参考に、抽出・精製法およびガスクロマトグラフ質量分析計による定量法を設定した。

(1)抽出・精製方法

土壤に当量の水を加えて膨潤後アセトン100mlで振盪抽出し、濾過後アセトンを留去した。10%の塩水100mlを加えヘキサン/酢酸エチル(4:1)50ml×2回に液液分配し溶媒層を分取した。無水硫酸ナトリウムと1PS濾紙で脱水した。濃縮し空気乾固してヘキサン約5mlに溶解後、以下の方法で精製した。シリカゲ

*農産物安全・土壤担当, **種苗センター

ルミニカラムを用い、ヘキサンで予洗後試料を投入、10%ジエチルエーテル/ヘキサン 10ml で洗浄、20%ジエチルエーテル/ヘキサン 10ml でカズサホスを溶出回収、30%ジエチルエーテル/ヘキサン 10ml で洗浄、20%アセトン/ヘキサン 10ml でホスチアゼートを溶出回収した。濃縮、空気乾固し適量の0.1%ポリエチレングリコール入りアセトンで定容しガスクロマグラフ質量分析計（以下、GCMS）用試料とした。

(2)GCMS 分析条件

GCMS: Agilent5973, カラム: HP-5MS (0.25mm × 30m 0.25μm), キャリアガス: ヘリウム
 オープン昇温: 50°C (1分) -25°C/分-125°C-10°C/分-300°C (8分)

注入法: パルスドスプリットレス, ガラスインサート, 注入口温度 250°C, 1.0ml/min コンスタントフロー
 MSD 検出器イオン源温度: 230°C, イオン化法: EI, 電圧: 70eV, チューニング標準物質: DFTPP

ホスチアゼート I: 定量イオン (195m/z), 確認イオン(283m/z), リテンションタイム (14.57分)

ホスチアゼート II: 定量イオン, 確認イオンは I と同, リテンションタイム(14.62分)

カズサホス: 定量イオン (159m/z), 確認イオン (158m/z), リテンションタイム (11.14分)

3 土壌微生物調査法

(1) 使用培地

a 土壌好気性細菌

希釈平板法 YG 培地 28°C

YG 培地: 酵母エキス 1.0g, グルコース 1.0g, K₂HPO₄ 0.2g, MgSO₄·7H₂O 0.2g, 寒天 15.0g, 蒸留水 1000ml, pH6.8

b 土壌糸状菌

希釈平板法 ローゼベンガル寒天培地 23~28°C

ローゼベンガル寒天培地(Martin 培地): K₂HPO₄ 1.02g, MgSO₄·7H₂O 0.5g, ペプトン 5.0g, グルコース 10.0g, ローゼベンガル 0.033g, 寒天 20g, 蒸留水 1000ml, pH6.8

水 300ml に 1g のローゼベンガルを培地 100ml に 1ml 加える。オートクレーブ殺菌後、42~45°C に冷却し、ミリポアフィルターで滅菌したストレプトマイシン 30μg/ml を加える。

(2) 調査方法

500ml 三角フラスコに土壌 30g に水道水 270ml を

加え 10 分間振とう後、滅菌水に段階希釈後 10⁴~10⁶ 倍液 0.5ml を培地に塗抹処理。暗条件 25°C で 5 日間培養し、菌そうの形態により、糸状菌、細菌、放線菌に分類しカウントした。

結果および考察

1 土壌中での減衰

図 1, 2 に土壌中でのカズサホスおよびホスチアゼートの減衰の推移を示した。カズサホスの減衰はホスチアゼートに比べ鈍い傾向が見られた。

1,3-ジクロロプロペンによる燻蒸処理の影響は、ホスチアゼート培養後 14 日目までは差がなかったが、56 日目には、無処理区が処理区より有意に減衰した。一方、カズサホスは処理の有無による減衰の差は見られなかった。

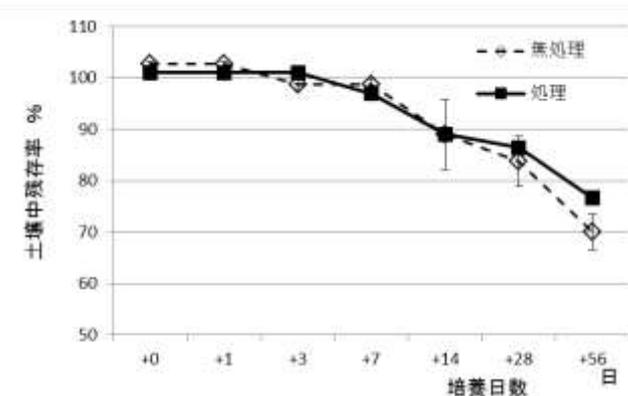


図 1 1,3-ジクロロプロペン処理の有無と土壌中ホスチアゼート減衰への影響

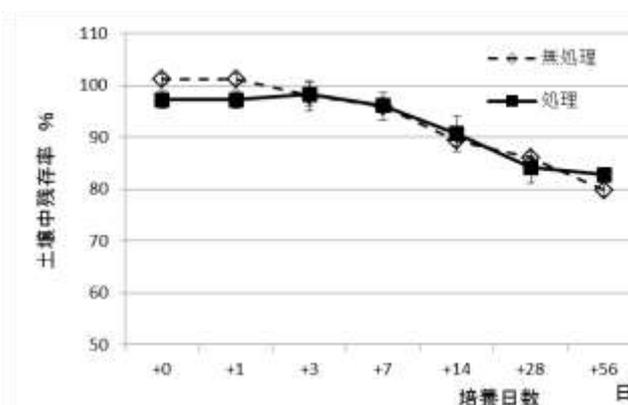


図 2 1,3-ジクロロプロペン処理の有無と土壌中カズサホス減衰への影響

2 土壤微生物への影響

各微生物の培養状況を図 3, 4 に、菌数のデータを表 1 に示した。燻蒸処理によりいずれの菌も減少し、特に放線菌類が最も減少した。



図 3 YG 培地での細菌, 放線菌 (10⁵ 希釈培地)
上: 燻蒸処理 下: 無処理

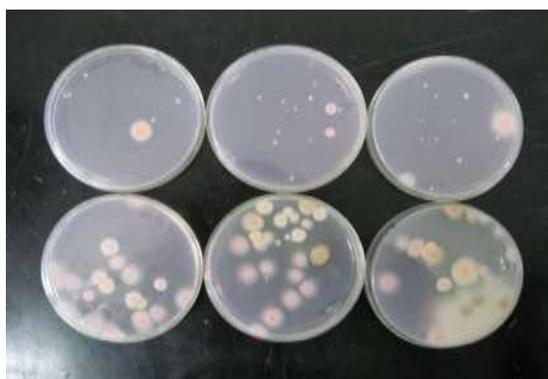


図 4 ローズベナル培地での糸状菌 (10⁵ 希釈培地)
上: 燻蒸処理 下: 無処理

表 1 1,3-ジクロロプロペン燻蒸処理による菌数の変化

	無処理(a)	処理(b)	b/a
糸状菌 (×10 ⁵ cfu/g土壌)	44	24	0.55
細菌 (×10 ⁶ cfu/g土壌)	38	23	0.61
放線菌 (×10 ⁵ cfu/g土壌)	23	6	0.26

3 まとめ

1,3-ジクロロプロペンによる土壌燻蒸処理により土壌中の糸状菌, 放線菌, 細菌いずれも減少し特に放線菌の減少が著しかった。ホスチアゼートの土壌中減衰は燻蒸処理により劣ったが、カズサホスでは処理の差はなかった。筆者らは、土壌中の有機物量 (有機物連

用と無施用の差) がホスチアゼートの減衰を増加し、カズサホスでは変わらなかった結果を得ている。また、施設キュウリ栽培土壌中での両剤の減衰推移の調査結果では、カズサホスの減衰はホスチアゼートよりも遅い (佐藤ら, 未発表)。これは土壌中の有機物量や微生物相にカズサホスが影響を受けにくいことと関連があると考えられる。一方, Wada ら (2008) によるとカズサホスはホスチアゼートに比べて土壤微生物への影響を及ぼすとされている。また一方で長期間, カズサホス又はホスチアゼートを連用した土壌ではこれらの分解菌の集積が起こり線虫への防除効果が薄れるが, 滅菌により線虫防除効果が回復する報告もある (日野ら, 2010)。今回使用した土壌は同一の殺線虫剤連用土壌では無いため, 燻蒸処理がホスチアゼートではその分解菌へ影響し, 減衰が遅れた可能性がある。同じく連用していない土壌ではカズサホスは微生物, 有機物にその減衰が影響されにくいと考えられた。

引用文献

- 日野沙友里・The Thiri Maung・豊田剛己 (2010) : 殺線虫剤ホスチアゼートの enhanced biodegradation. 土と微生物 64(2), 141
- 佐藤一弘・加藤剛 (2009) : 殺線虫剤ホスチアゼートの土壌中での分解に及ぼす有機物施用および気温推移の影響. 埼玉農総研研報 9, 46-48
- Wada S.andToyota K (2008) : Effect of Three Organophosphorous Nematicides on Non-target Nematodes and Soil Microbial Community. Microbes Environ 23, 331-336
- 和田さと子・豊田剛己 (2009) : 殺線虫剤が非標的生物である自活性線虫および微生物群集に及ぼす影響. 土と微生物 63(1), 18-25
- 厚生労働省 (2005) : 食品に残留する農薬, 飼料添加物又は動物医薬品の成分である物質の試験法 (平成 17 年 1 月 24 日付け食安発第 0124001 号厚生労働省医薬食品局食品安全部長通知)