

## B-31 各土壌中の線虫分布調査と ネコブ線虫被害との関係調査

○林 恵里香<sup>1\*</sup>・小林 彩乃<sup>1</sup>・青井 透<sup>1</sup>

<sup>1</sup>群馬工業高等専門学校・専攻科環境工学専攻（〒371-0845群馬県前橋市鳥羽町580）

\*E-mail: aoi@cvt.gunma-ct.ac.jp

### 1. はじめに

群馬県の農作物として、高原キャベツ・コンニャク芋・ヤマト芋等が著名であるが、これらの農作物は連作障害を抑止するために、農薬の散布が欠かせない。農薬の散布は、土壌中の生態系を破壊するだけでなく、地下に浸透した農薬が水域に達し、広大な範囲に被害をおよぼすことにつながりかねない。連作障害抑止のために使用される農薬も、一年目は効果があるが、二年目以降は土壌中の生態系に偏りが生じるため、効果が半減するといわれている。そして、土壌はこれらの物質を吸着して、濃縮する性質があるため、長期にわたる農薬散布で土壌中に農薬が蓄積され、土地が不毛になるという可能性も否めない。過剰な農薬散布による農業従事者の人体への影響も危惧される。

そこで、農薬の投与が土壌に与える影響を、地力の指標と言われる線虫を計測することによって推察することを試みた。土壌微小生物相のなかでも、線虫は多種類・多数で、土に最も大きな影響をおよぼす<sup>1)</sup>生物と思われるが、自活性線虫が多い土には植物寄生性線虫が少ないといわれており、自活性線虫の多少で土壌が健全であるかどうか分かるのではないかと考えた。

ところが、病原性のない自活性線虫の生息数については、ほとんど調査がなされていないことがわかった。そこで、本研究室では、独自に場所・使途・施用肥料の異なる土地における線虫の分布を調査したので、報告する。

### 2. 調査方法

#### (1)調査対象

調査対象として、群馬県内の森林、一般の畑、有機農法を採用している長芋畑、本研究室が試作中の土壌改良資材を施用したヤマト芋畑を選定した。森林土壌は、軽井沢町の群馬県側に位置する熊野神社で採取した。この土壌は、滅多に人が足を踏み入れない湿った自然の状態である。一般の畑は、土壌消毒を行っている群馬県嬬恋村の畑の土壌を、主な対象とした。一般の畑には、農薬の他に様々な種類の肥料が施用されているので、畜糞堆肥等有機肥料の線虫数もあわせて調査した。

有機農法を採用している長芋畑（図-1参照）は、群馬県高崎市箕郷町に位置し、長期間土壌消毒を行っておらず、畑に畜糞堆肥およびマルチ材として使用したわらをすきこむことで、長芋を栽培している。また、連作障害が生じやすいヤマト芋畑（図-2参照）では、本研究室開発の土壌改良資材を施用している。



図-1 長芋畑写真



図-2 ヤマト芋畑写真

#### (2)ベルマン法による線虫の抽出手順

線虫の抽出にはベルマン法<sup>2)</sup>を用いた。キムワイプ一枚をはさんだふりいの中に風乾質量10gを量り取った試料を入れ、ガラス管を連結させた三角ロートの中に設置する。試料の厚みの半分よりも下に水面がくるように、管内を精製水で満たす。装置設置期間中に供試土壌が乾燥しないように、三角ロートにパラフィルムをかぶせた。図-3に線虫抽出装置を示した。試料中の線虫は、水の中へ泳ぎ出し、重力によりガラス管底部に堆積する性質がある。線虫の抽出試験開始から二日後、テフロンチューブからガラス管を取り外し、ガラス管底部の2mlほどの線虫を含んだ試料水を取り出す。この時、線虫を分離した試料水を60℃で50秒間熱することで線虫を熱殺し、運動性を消失させた後、顕微鏡で計測した。

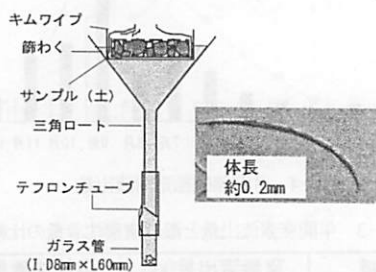


図-3 ベルマン法に基づく線虫抽出装置と抽出された自活性線虫の顕微鏡写真

### (3)線虫の区分方法

熱殺を終えた試料水を、パスツールピペットでスライドグラスに移し、位相差顕微鏡を使用して、線虫を計測する。線虫は主に、自活性線虫・ネコブ線虫・ネグサレ線虫の三種で識別した。見分ける特徴は、体長と太さ、口針である。自活性線虫には口針がなく、他の二種は口針を有している。図-4に二種の寄生性線虫の特徴を示した。

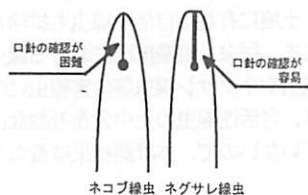


図-4 植物寄生性線虫の頭部の差異

## 3. 調査結果

### (1)調査結果概要

以下に示す(2)~(4)の各試料中の線虫分布を図-5にまとめて示した。また、各試料中の線虫測定結果を表-1、表-2に示した。

### (2)森林土壌における線虫分布

森林土壌では、224頭の自活性線虫が計測された。自然界の土壌には、ネコブ線虫やネグサレ線虫などの植物に寄生する線虫は確認されず、土壌消毒を行っている畑よりも多くの自活性線虫が確認された。線虫の生息場所は、淡水・海水・土壌と多岐にわたっており、生物が生息できる場所ならば、どこにでも存在している。自然界では、圧倒的に自活性線虫の数が多いことは事実であるとされているが、土壌消毒を行っていない畑や植物由来の堆肥は、自然土壌よりもはるかに自活性線虫が多いと思われる。

### (3)群馬県内実地畑における線虫分布

嬬恋村のキャベツ畑では87頭、キャベツ苗畑では134頭、ジャガイモ畑では212頭、レタス畑では101頭の自活性線虫が計測された。キャベツ畑やジャガイモ畑などの土壌消毒を行っている畑は、ネコブ線虫やネグサレ線虫などの植物に寄生する線虫はほとんど確認されず、唯一ネコブ線虫が確認された場所はジャガイモ畑であったが、共通して自活性線虫数が自然界の土壌よりも少なかった。土壌消毒を行うことにより、植物寄生性線虫を排除する一方で、土壌に有益な自活性線虫も減少させてしまっている可能性がある。このことより、土壌生態系を破壊する農薬を散布することなく、植物寄生性線虫の増加を抑制し、自活性線虫の活動を活発にさせる資材が必要であると考えられる。

### (4)市販堆肥および廃菌床中の線虫分布

市販堆肥である樹皮発酵堆肥と畜糞堆肥（発酵とんぼん、グリーン堆肥）の線虫分布を調査した。樹皮発酵堆

肥では、約4000頭の自活性線虫が計測されたが、発酵とんぼんでは自活性線虫は全く検出されず、グリーン堆肥ではわずか20頭しか確認されなかった。畜糞堆肥で線虫がほとんど確認されなかった要因として、畜糞堆肥は製造過程で高温発酵するので、耐熱性のない線虫は死滅したためと考えられる。

表-1に示した廃菌床は、種菌としてパチルス培養液を加えたものである。表層での自活性線虫数は12410頭であるが、表層から20cm、40cmと内部に進行するにつれ、1525頭、1354頭と自活性線虫数は減少した。これは、表層の温度が27℃であるのに対し、内部の温度が55℃にまで達していたことに起因すると思われる。

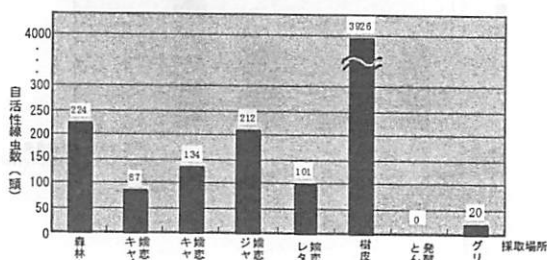


図-5 土壌および堆肥中の自活性線虫数

### (5)有機農法を採用している長芋畑における線虫分布

長芋畑における線虫数を図-6に示す。群馬県高崎市箕郷町のワラを使用した長芋畑では、採取場所による差異はあるものの最少でも490頭と、土壌消毒を行っている畑よりも多くの自活性線虫が確認された。この畑では、長年、長芋を連作しているのだが、連作障害は起きていないとのことであった。ワラには枯草菌(*Bacillus subtilis*、以下パチルス菌と称す)と呼ばれる代表的な土壌細菌の一種が付着しているのだが、このパチルス菌が自活性線虫に何らかの影響を与えていると思われる。

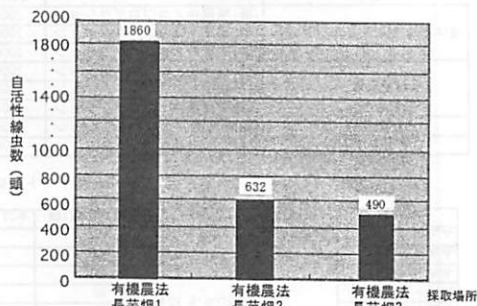


図-6 有機農法を用いた長芋畑の自活性線虫数

### (6)土壌改良資材投入実ヤマト芋畑における線虫分布

本研究では、数年にわたり試作してきたパチルス菌優占化土壌改良資材<sup>3)</sup>を実ヤマト芋畑に投入し、連作障害抑止試験を2006年から行っている。本年度も実ヤマト芋畑に土壌改良資材を投入し、自活性線虫数とネコブ線虫数を継続して計測している。実ヤマト芋畑における線

虫数を図-7に示す。投入量が1t/10a区の自活性線虫は56頭だったが、3t/10a区では608頭もの自活性線虫を計測できた。土壌改良資材投入量の増加に伴う、自活性線虫数の増加傾向がみられる。投入量の増加によって、自活性線虫も増加する要因として、元々土壌改良資材に自活性線虫が多く含まれていること、もしくは、土壌改良資材中のバチルス菌が餌となり、線虫の増殖が促進されたことが考えられる。

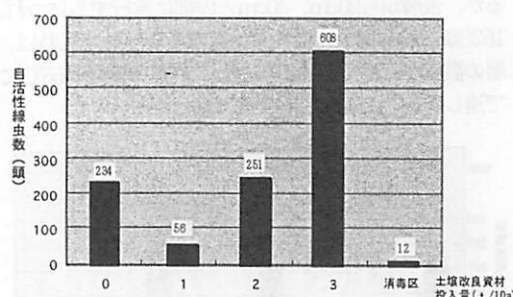


図-7 実ヤマト芋畑の自活性線虫数

#### 4. まとめ

自然界の土壌中（森林）には、自活性線虫が土壌消毒された農地よりも数多く存在することを確認できた。また、手を加えていない自然の土壌よりも、有機農法で作物を栽培している土壌で、より多くの自活性線虫が確認

できた。仮に、連作障害の原因となるネコブ線虫やネグサレ線虫は、自活性線虫が多い場合、生態学的に淘汰されるという作業仮説を考えると、連作障害抑止には土壌消毒を行うのではなく、有機農法や土壌消毒に頼らない肥料の施用が望ましいと思われる。

森林における自活性線虫数が土壌消毒された農地よりも多かった理由として、農地では農作物の連作障害を抑止するために土壌消毒を行い、植物寄生性線虫を排除するとともに、土壌に有益な自活性線虫も排除していることが考えられる。従来、農業部門における線虫の計測数は、ネコブ線虫やネグサレ線虫等の害線虫に限定して検討されており、自活性線虫の土中分布計測数は、ほとんど報告されていないので、本計測結果は貴重な資料と思われる。

謝辞：長芋畑の調査では上村殿、また、ヤマト芋畑での土壌改良資材施用試験では太田市・木村克己殿に御協力願いました。線虫の抽出および観察方法については、群馬県農業技術センターの太田主任研究員と藍澤独立研究員にご指導頂きました。合わせて深く感謝し厚く御礼申し上げます。

#### 参考文献

- 1) 三枝敏郎(1993)センチチュウおもしろ生態とかしい防ぎ方、農文協、pp.37
- 2) 線虫学実験法編集委員会(2004)線虫学実験法、日本線虫学会、pp.87-88
- 3) 吉田智明、小林彩乃、宮里直樹、青井透：バチルス菌優占土壌改良材による実ヤマト芋畑連作障害防止と土壌線虫分布、第44回環境工学研究フォーラム講演集、pp.16-18、2007

問い合わせ先：群馬県環境都市工学科 青井 透 〒371-0845 前橋市鳥羽町580 TEL:027-254-9271, aci@civil.gunma-citac.jp

表-1 各土壌および土壌改良資材原料の線虫数測定結果

| 試料名           | 採取場所            | 測定日       | 自活性線虫数(頭) | ネコブ線虫数(頭) | ネグサレ線虫数(頭) | 備考         |
|---------------|-----------------|-----------|-----------|-----------|------------|------------|
| 森林土壌          | 長野県軽井沢町熊野神社     | 2007.7.2  | 224       | 0         | 0          |            |
| 腐熟キャベツ畑       | 群馬県碓氷村          | 2007.7.2  | 87        | 0         | 0          |            |
| 腐熟キャベツ畑       | 群馬県碓氷村          | 2007.7.2  | 134       | 0         | 0          |            |
| 腐熟ジャガイモ畑      | 群馬県碓氷村          | 2007.7.2  | 212       | 3         | 0          |            |
| 腐熟レタス畑        | 群馬県碓氷村          | 2007.7.2  | 101       | 0         | 0          |            |
| 発酵とんぼふん       | 市販品             | 2007.6.22 | 0         | 0         | 0          | 豚糞他発酵堆肥    |
| 樹皮発酵堆肥        | 市販品             | 2007.6.22 | 3926      | 0         | 0          | 植物発酵堆肥     |
| グリーン堆肥        | 市販品             | 2007.6.22 | 20        | 0         | 0          | 牛糞、豚糞他発酵堆肥 |
| 黒土            | 市販品             | 2007.6.11 | 39        | 0         | 0          | 平均値        |
| 液体バチルスを含んだ廃菌床 | (株)横堀キノコプロダクション | 2008.1.2  | 12410     | 0         | 0          | 表面         |
|               | (株)横堀キノコプロダクション | 2008.1.2  | 1525      | 0         | 0          | 表面から20cm   |
|               | (株)横堀キノコプロダクション | 2008.1.2  | 1354      | 0         | 0          | 表面から40cm   |
|               | (株)横堀キノコプロダクション | 2008.1.2  | 1660      | 0         | 0          | 表面         |
| カブトマット        | (株)横堀キノコプロダクション | 2008.1.2  | 33        | 0         | 0          | 表面から20cm   |
|               | (株)横堀キノコプロダクション | 2008.1.2  | 4         | 0         | 0          | 表面から40cm   |
|               | (株)横堀キノコプロダクション | 2008.4.4  | 61        | 0         | 0          | 土壌改良資材原料   |
|               | (株)横堀キノコプロダクション | 2008.4.4  | 22        | 0         | 0          | 土壌改良資材原料   |

表-2 実ヤマト芋畑および有機農法長芋畑の線虫数測定結果

| 試料名       | 採取場所   | 測定日       | 自活性線虫数(頭) | ネコブ線虫数(頭) | バチルスコロニー数(個)      | 備考                         |
|-----------|--------|-----------|-----------|-----------|-------------------|----------------------------|
| ヤマト芋畑A1   | 群馬県太田市 | 2008.6.23 | 608       | 6         | $2.0 \times 10^7$ | 土壌改良資材3.0 t/10a区(地表から10cm) |
| ヤマト芋畑A1   |        |           | 606       | 4         | $2.0 \times 10^7$ | 土壌改良資材3.0 t/10a区(地表から30cm) |
| ヤマト芋畑B1   |        |           | 251       | 0         | $1.5 \times 10^7$ | 土壌改良資材2.0 t/10a区(地表から10cm) |
| ヤマト芋畑B1'  |        |           | 80        | 0         | $7.5 \times 10^6$ | 土壌改良資材2.0 t/10a区(地表から30cm) |
| ヤマト芋畑C1   |        |           | 56        | 0         | $7.0 \times 10^6$ | 土壌改良資材1.0 t/10a区(地表から10cm) |
| ヤマト芋畑C1'  |        |           | 87        | 0         | $1.1 \times 10^7$ | 土壌改良資材1.0 t/10a区(地表から30cm) |
| ヤマト芋畑F1   |        |           | 12        | 0         | $5.0 \times 10^6$ | 土壌消毒区(地表から10cm)            |
| ヤマト芋畑F1'  |        |           | 6         | 0         | $2.0 \times 10^7$ | 土壌消毒区(地表から30cm)            |
| ヤマト芋畑X1   |        | 2008.6.26 | 234       | 0         | カウント不可            | 土壌改良資材無投入区(地表から10cm)       |
| ヤマト芋畑X1'  |        |           | 200       | 0         | $5.0 \times 10^6$ | 土壌改良資材無投入区(地表から30cm)       |
| ヤマト芋畑X1-1 |        |           | 82        | 0         | $1.0 \times 10^7$ | 土壌改良資材無投入区(地表から10cm)       |
| ヤマト芋畑X1-2 |        | 2008.8.29 | 54        | 0         | $4.5 \times 10^6$ | 土壌改良資材無投入区(地表から10cm)       |
| ヤマト芋畑F    |        |           | 36        | 1         | $1.0 \times 10^7$ | 土壌消毒区(地表から10cm)            |
| ヤマト芋畑B    |        |           | 47        | 0         | $8.0 \times 10^6$ | 土壌改良資材2.0 t/10a区(地表から10cm) |
| ヤマト芋畑D    |        |           | 36        | 0         | $8.5 \times 10^6$ | 土壌改良資材2.0 t/10a区(地表から10cm) |
| 有機農法長芋畑1  | 群馬県碓氷町 | 2007.5.15 | 1660      | 0         | -                 |                            |
| 有機農法長芋畑2  |        |           | 632       | 0         | -                 |                            |
| 有機農法長芋畑3  |        |           | 490       | 0         | -                 |                            |