

## 省農薬による桑白紋羽病防除技術の確立 —木酢液による防除—

WATANABE Shigeru・WATANABE Yasumitsu・OHNO Hideo

渡辺 茂・渡辺 泰光・大野 秀夫

木酢液は製炭の際に得られる副産物の一つであり、木材の燃焼によって発生する煙が冷却されて得られる。木酢液は従来、医薬原料、食品添加用、工業原料、媒染原料、脱臭剤原料など幅広く利用されてきたが、近年では、作物の生長促進や病害虫防除などに利用されている<sup>(2)</sup>。

木酢液による病害防除や木酢液の植物病原菌に及ぼす影響について、野原らは、木酢液がスギなどの針葉樹稚苗の立枯病の防除に効果があったことを報告し<sup>(4)</sup>、寺下らは、木酢液が白紋羽病菌に対して抗菌作用を示したことを報告している<sup>(3)</sup>。

従来、白紋羽病の防除には主にクロールピクリン剤等の化学農薬を使用してきたが、人畜に毒性が高いことや土壤生態系に及ぼす影響が大きいことなどにより、より安全な防除法が求められている。そこで、天然物由来の木酢液の病害防除効果に注目し、木酢液の白紋羽病防除への有効性を検討した。なお、本研究の一部は、日本蚕糸学会関東支部第43回大会において発表した。

### 材 料 と 方 法

白紋羽病菌は神奈川県愛川町の桑園の罹病株から分離したものを作試した。また、木酢液はコナラから採取したもの（黒炭がま、鳴谷地林業製）で、比重1.02, pH 2.6~3.2のものを作試した。

#### 1. 木酢液の白紋羽病菌の生育に及ぼす影響

移植用の菌片として、PDA培地で培養した菌叢周辺を径4mmのコルクボーラーで打ち抜いたディスクを用い、5連制で以下の実験を行った。木酢液はpH 2.6のものを使用した。

##### (1) 木酢液添加培地での菌の生育

1/50~1/400濃度になるように木酢液を添加したPDA培地に供試菌を移植し、25℃で7日間培養後の菌叢の直径を測定した。

##### (2) pHを5.6に保持した木酢液添加培地での菌の生育

1/400濃度以上に木酢液を含むPDA培地は、pH 4.7以下となる。そこで、pHの影響を除いた木酢液添加培地での菌の生育を調査した。すなわち、1/25~1/400濃度になるように木酢液をPDA培地に添加後、NaOH(10Nおよび1N)水溶液で菌の生育に適したPDA培地のpH値である5.6に保持した。この培地に供試菌を移植し、25℃で7日間培養後の菌叢の直径を測定した。

##### (3) 培地のpHと菌の生育

1/50~1/400濃度の木酢液添加PDA培地のpH値は4.0~4.7に低下するので、このpH値が菌の生育に及ぼす影響を調査した。すなわち、HCl(10Nおよび1N)でpH 4.0~4.7に調整したPDA培地に供試菌を移植し、25℃で7日間培養後の菌叢の直径を測定した。

#### 2. 木酢液浸漬および土壤灌注による殺菌・生育阻害効果

木酢液の白紋羽病防除への利用については、木酢液浸漬による感染桑苗の消毒および木酢液灌注に

よる土壤消毒が考えられる。そこで、これらの防除法に対する木酢液の有効性を検討するため、室内で以下の方法により試験を行った。

#### (1) 木酢液浸漬による菌培養桑枝切片の殺菌効果

高圧滅菌した桑枝切片（直径3mm、長さ2cm）に供試菌を接種し、25℃で30日間培養した。この培養切片を濃度の異なる木酢液に所定時間浸漬後、蒸留水で軽く洗浄してからPDA培地上に置いた。25℃で7日間保持した後、切片からの菌糸の発生の有無を調査し、木酢液の殺菌効果を検討した。木酢液はpH 2.6のものを使用した。

#### (2) 土壤における木酢液の殺菌効果

1mmの篩であるた無殺菌風乾細土（沖積層壤土、最大容水量51.4%）100gを入れた直径4cm、高さ11cmのガラス瓶を用意し、そこに供試菌を25℃で10日間培養した桑枝切片を土壤表面から切片の上端が4cmの深さになるように埋没した。その上から木酢液を30ml（最大容水量の60%）注ぎ、アルミ箔で蓋をして25℃に保った。10日後、切片を取り出してPDA培地上に置き、25℃で10日間保持した後、菌糸の発生の有無を調査した。木酢液はpH 3.0のものを使用した。

#### (3) 土壤における木酢液の菌生育阻害効果

直径9cm、高さ6cmの腰高シャーレを用い、岡部ら(1)の方法に準じ菌の生育阻害効果を検討した。すなわち、シャーレにPDA培地を注ぎ、供試菌を移植し、25℃で底部の培地全面に菌叢が広がるまで培養した後、2mmの篩であるた無殺菌風乾細土（沖積層壤土、最大容水量53.5%）250gを入れ、その上から木酢液を80ml（最大容水量の60%）注ぎ、25℃に保った。10日後、ガラス壁に沿って伸長する菌糸の長さを測定した。木酢液はpH 3.2のものを使用した。

### 3. ポット試験

木酢液浸漬による感染桑苗の消毒効果および木酢液灌注による菌汚染土壤の消毒効果を検討するため、以下の方法により試験を行った。供試した桑苗は一ノ瀬および、しんいちのせの中苗である。土壤は当所桑園（沖積層壤土）から採取し、ポットは1/2,000aのものを用いた。

#### (1) 木酢液浸漬による感染桑苗の消毒効果と浸漬処理が桑の生育に及ぼす影響

供試菌を培養したふすまを5%（重量比）混入した土壤に桑苗の根部を10日間埋め込み、菌糸の着生が根部に十分認められる程度に感染させた。抜き取った苗の根部の土を水で軽く落として、木酢原液に所定時間浸漬してからポットに植え付けた。6か月後にポットから桑を抜き取り、根部の菌糸の着生の有無を調査した。さらに、菌糸の着生が認められなかった桑に対しては、根部を個別にビニール袋に入れて1か月間保湿し、菌糸の発生の有無を再調査した。対照にはチオファネートメチル水和剤（トップシンM）500倍液に10分間浸漬した苗を用いた。また、健全苗に同様にして木酢原液浸漬処理を行い、植え付け4か月後に枝条長を測定し、木酢液浸漬処理が桑の生育に及ぼす影響を調査した。木酢液はpH 3.0のものを使用した。

#### (2) 木酢液灌注による菌汚染土壤の消毒効果

供試菌を培養したふすまを1%（重量比）混入して汚染土壤を作り、そこに木酢液3lを灌注し、10日後に健全桑苗を植え付けた。植え付け50日後に桑を抜き取り、根部の菌糸着生程度を調査した。木酢液はpH 2.6のものを使用した。

## 結果と考察

### 1. 木酢液の白紋羽病菌の生育に及ぼす影響

木酢液添加培地での菌の生育阻害を第1図に示した。木酢液1/400濃度での菌の生育阻害率は約35%、1/200濃度では約60%、1/100濃度では100%の阻害がみられ、木酢液は白紋羽病菌に対して抗菌作用を示した。

この生育阻害効果は、木酢液の成分の作用による効果と、木酢液が強酸性であることから単にpHの作用による効果の両者が考えられる。そこで、前者について検討するため、pHを5.6に保持してpHの作用を除いた木酢液添加培地での菌の生育阻害を調査した結果(第2図)、阻害率は木酢液1/200濃度で約35%、1/100濃度で約50%、1/50濃度で約75%であった。100%の生育阻害がみられたのは1/25濃度であり、pHの作用を除くことで木酢液の阻害効果に低下が認められた。

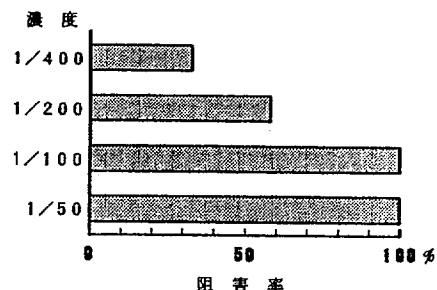
次に、pHの作用による生育阻害を調査した結果(第3図)、阻害率は木酢液1/100濃度に相当するpH4.4では約35%、1/50濃度に相当するpH4.0でも約50%であり、pHの作用による阻害効果は、pHの作用を除いた木酢液の阻害効果(第2図)よりも低かった。

これらのことから、木酢液の白紋羽病菌に対する抗菌作用は木酢液の成分とpHがともに作用しており、さらに、その作用はpHよりも成分によるところが大きいと思われた。

### 2. 木酢液浸漬および土壤灌注による殺菌・生育阻害効果

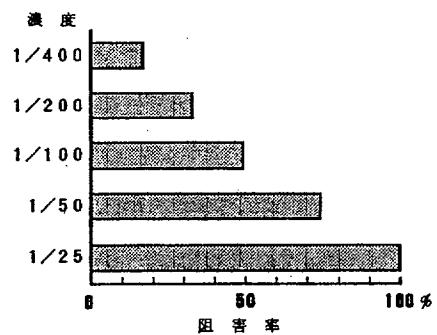
#### (1) 木酢液浸漬による菌培養桑枝切片の殺菌効果

菌を培養した桑枝切片を木酢液に浸漬した場合の殺菌効果を第1表に示した。原液30分および60分浸漬区と2~10倍液の30~90分区では、供試切片数のうち、殺菌切片数の割合は1/2以下であり、殺菌効果が認められなかった。原液90分区ではすべての切片が殺菌され、完全な殺菌効果が認められた。このことから、木酢液は原液90分浸漬で組織内部に侵入した菌糸に対して殺菌力があり、木酢液浸漬による苗木消毒への有効性が示唆された。



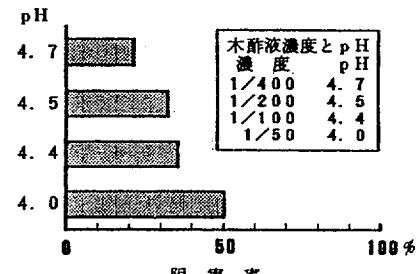
第1図 木酢液添加培地での菌の生育阻害効果

注：阻害率(%) = (1 - 木酢液添加PDA培地での菌糸伸長量 / PDA培地での菌糸伸長量) × 100



第2図 pH 5.6に保持した木酢液添加培地での菌の生育阻害効果

注：阻害率(%) = (1 - 木酢液添加PDA培地での菌糸伸長量 / PDA培地での菌糸伸長量) × 100



第3図 培地pHによる菌の生育阻害効果

注：阻害率(%) = (1 - pH調整PDA培地での菌糸伸長量 / PDA培地での菌糸伸長量) × 100

第1表 木酢液浸漬による菌培養桑枝切片の殺菌効果

浸漬時間 (分)	木酢液濃度				対照 (水)
	原液	2倍	5倍	10倍	
30	0/8	0/8	0/8	0/8	0/8
60	4/8	2/8	0/8	0/8	0/8
90	8/8	2/8	0/8	0/8	0/8

注 1. 殺菌効果は、殺菌切片数／供試切片数

2. 培地上で25℃、7日間保持

## (2) 土壤における木酢液の殺菌効果

木酢液の土壤灌注による殺菌効果を第2表に示した。木酢5～20倍液灌注区での菌糸の発生は、供試桑枝切片3個のうち、2個以上であったが、原液および2倍液区ではすべての切片から菌糸が発生せず、殺菌効果が認められた。

## (3) 土壤における木酢液の菌生育阻害効果

木酢液の土壤灌注による菌の生育阻害効果を第3表に示した。木酢50倍液灌注区では、蒸留水を灌注した対照区と同程度に菌糸が伸長したが、5～20倍液区では、対照を100とした場合の菌糸の伸長指数が30以下となり、菌糸の伸長が抑制され、原液区で完全に伸長が阻害された。

第2表および第3表の結果から、土壤においても、木酢液に白紋羽病菌に対する殺菌・生育阻害効果のあることが明らかとなった。

## 3. ポット試験

## (1) 木酢液浸漬による感染桑苗の消毒効果と浸漬処理が桑の生育に及ぼす影響

第2表 木酢液土壤灌注による殺菌効果

木酢液濃度	供試 切片数	菌糸発生 切片数
原液	3	0
2倍	3	0
5倍	3	3
10倍	3	3
20倍	3	2
対照(水)	3	3

注・培地上で25℃、10日間保持。

第3表 木酢液土壤灌注による菌生育阻害効果

木酢液濃度	菌糸伸長量( mm )	指 数
原液	0.0	0.0
5倍	8.2	18.9
10倍	9.7	22.4
20倍	11.8	27.3
50倍	36.9	85.2
対照(水)	43.3	100.0

- 注 1. 25℃、10日間保持・2連制。  
 2. 菌糸の伸長量は腰高シャーレ1個につき、4か所で測定した平均値。  
 3. 対照は土壤表面(シャーレ底面からの高さ: 38mm)を越えて伸長。

木酢原液浸漬による感染桑苗の消毒効果を第4表に示した。0.5時間浸漬区では、植え付け6か月後の抜き取り直後の調査で供試本数5本のうち、2本の桑の根部に菌糸の着生が認められ、1か月の保湿後の調査では、さらに3本の根部から菌糸が発生した。1時間区では、根部に菌糸の着生が認められず、保湿後の調査では3本の根部から菌糸が発生した。2時間区および6時間区では、抜き取り直後の調査で、5本のうち4本に菌糸の着生が認められず、保湿後の調査では菌糸の発生はみられなかった。4時間区、16時間区及びトップシンM区では、全ての苗が消毒された。

次に、木酢原液浸漬処理が桑の生育に及ぼす影響を第4図に示した。2時間区と6時間区は無浸漬区と同程度に生育し、悪影響は受けなかった。16時間区では、無浸漬区の枝条長の7割程度と劣ったが、著しい生育の低下とはならなかった。

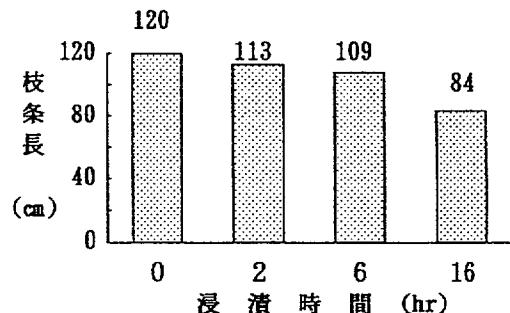
これらのことから、木酢原液2~16時間浸漬による消毒効果は比較的高く、また、桑への著しい生育阻害も認められず、良好な結果を得た。本試験では、菌糸が根部に明瞭に着生している苗を用いて消毒の効果を調査したが、実際には感染の疑いのある苗が防除対象になると考えられるので、木酢原液2~16時間浸漬で消毒可能と思われる。

第4表 木酢原液浸漬による感染桑苗の消毒効果

浸漬時間 (hr)	供試 本数	発病 本数
0.5	5	5
1	5	3
2	5	1
4	5	0
6	5	1
16	5	0
対照(トップシンM)	5	0
対照(無浸漬)	5	5

注1. 供試桑苗：一ノ瀬(中苗)。

2. 植え付け6か月後に抜き取り、発病を調査。



第4図 木酢原液浸漬処理が桑の生育に及ぼす影響

注1. 供試桑苗：一ノ瀬(中苗)。

2. 4月下旬植え付け、8月下旬に調査。

3. 1区3ポットの平均。

## (2) 木酢液灌注による菌汚染土壤の消毒効果

木酢液灌注による土壤消毒効果を第5表に示す。

木酢液灌注60日後(桑苗植え付け50日後)の調査の結果、5倍液灌注区では根部に菌糸の着生が全く認められなかった。10倍液区でも菌糸の着生は認められなかったが、土壤中に菌糸束が存在したポットが3個のうち、1個みられた。20倍液区では供試した苗3本のうち、2本に感染がみられた。第2表および第3表のとおり、土壤で殺菌に有効な木酢液の濃度は、原液及び2倍液で

第5表 木酢液灌注による菌汚染土壤の消毒効果

木酢液濃度 (倍)	供試 本数	感染程度別本数		
		-	+	++
5	3	3	0	0
10	3	3	0	0
20	3	1	2	0
無処理	3	0	0	3

注1. 供試桑苗：しんいちのせ(中苗)。

2. 桑苗を1/2000aポットに植え付け50日後

に抜き取り根部の菌糸着生程度を調査。

-：菌糸の着生なし、+～++：菌糸着生

量少～多。

あり、5～20倍液では菌の生育を阻害するにとどまった。この結果を踏まえると、ポット試験における5倍液および10倍液区での効果は殺菌ではなく、静菌的阻害と考えられた。のことから、木酢5倍液および10倍液灌注区では菌に対する生育阻害効果が少なくとも60日間持続したものと思われた。

以上のように、本報の供試木酢液は白紋羽病菌に対して抗菌作用を示すことが確認され、さらに感染桑苗の消毒剤として利用できるものと考えられた。また、土壤においても、殺菌および生育阻害効果があったことから、土壤消毒への利用の可能性が示唆された。

木酢液は約200種類の化合物を含んでいるものもあるといわれており、その抗菌作用を解明するのは困難と思われる。本報では、木酢液の白紋羽病菌に対する抗菌作用はpHと含有成分が共に作用しているが、その作用はpHよりむしろ成分によるところが大きいと思われた。木酢液はその10～20%が有機化合物であり、その主成分は酢酸である。寺下らは、木酢液を中和すると、その殺菌力が大きく減少すること、木酢液と酢酸の揮発性成分による生育阻害が類似していることから、その抗菌作用には、酸性物質が大きく関与しているとしている<sup>(3)</sup>。また、木酢液は酸性性分、中性成分、フェノール成分、塩基性成分、カルボニル成分の5つに分けられ、この5成分のうち、フェノール成分に殺菌作用の強い物質が含まれているとされている<sup>(6)</sup>。木酢液は炭材や炭がまによって成分の組成が異なることが知られており、今後、病害防除の効果をより安定で確かなものにするためには、有効な木酢液を限定する必要がある。そのためにも、抗菌物質の成分を明らかにすることが大切であろう。

高圧滅菌した桑枝で白紋羽病菌を培養し、その培養切片を感染組織に見立てて行った木酢液浸漬による殺菌効果試験の結果から、苗木消毒に有効な濃度と浸漬時間を求めた。この培養切片を用いる方法は、三枝らが苗木消毒剤の室内検定に用いているが、三枝らの試験では培養切片の殺菌効果と苗木消毒効果の関連性が明らかにされていない<sup>(5)</sup>。本報では、木酢原液だけを苗木の消毒試験に用いて浸漬時間を検討したが、その結果は培養切片で検討した浸漬時間の結果とほぼ一致した。のことから、菌培養桑枝切片を用いる方法は、苗木浸漬消毒剤の簡易な検定法として有効と推察された。

木酢原液浸漬処理が桑の生育に及ぼす影響については、予備試験では、24時間浸漬した苗に著しい生育阻害や枯死が認められ、本報では、最長浸漬の16時間で若干の生育阻害が認められたことから、苗木消毒の木酢原液浸漬時間は16時間以内とすべきである。

本報の室内実験の結果では、土壤表面から深さ4～6cmにある桑枝で培養した白紋羽病菌に対しては著しい殺菌効果を示した。しかし、その効果の及ぶ深さについては検討されていない。土壤の面積当たりの木酢液の処理量や効果の持続期間などの検討を含め、今後さらに、木酢液の土壤消毒剤としての有効性について、多方面から検討する必要がある。

## 摘要

木酢液(炭材:コナラ、黒炭がまにより採取、比重1.02, pH 2.6～3.2)の白紋羽病菌に及ぼす影響と白紋羽病防除への利用を検討したところ、次の結果を得た。

1. 木酢液を添加した培地で白紋羽病菌を培養したところ、木酢液1/100濃度で菌の生育が完全に阻害され、木酢液が白紋羽病菌に対して抗菌作用を示すことが確認された。その菌生育阻害効果について、pHの作用を除いた木酢液の阻害効果とpHの作用による阻害効果を比較したところ、

pH の作用を除いた木酢液の阻害効果の方が高かった。

2. 白紋羽病菌を培養した桑枝切片を木酢液に浸漬したところ、原液に 90 分間浸漬することで殺菌効果があった。
3. 白紋羽病菌を培養した桑枝切片を埋めた土壤に木酢液を灌注したところ、原液および 2 倍液で殺菌効果があった。また、木酢液を灌注した土壤での白紋羽病菌の生育を調査したところ、菌の生育は原液で完全に阻害され、5 ~ 20 倍液でも抑制された。
4. 白紋羽病菌に十分に感染した桑苗根部を木酢原液に浸漬してポットに植え付けたところ、2~16 時間浸漬で消毒効果が認められた。なお、この浸漬時間では木酢液による桑の生長阻害はほとんど認められなかった。
5. ポットに白紋羽病菌に汚染された土壤を入れ、木酢液を灌注したところ、5 ~ 10 倍液で少なくとも 60 日間の菌生育阻害効果が認められた。

#### 文 献

- (1) 岡部光波・高橋智美・矢島昌江(1959)：土壤殺菌剤に関する研究(第1報)－桑紋羽病防除薬剤の室内検定、群蚕要報、42, 27—38.
- (2) 岸本定吉(1991)：木酢・炭で減農薬－使い方とつくり方－, p.14, 農文協, 東京.
- (3) 寺下隆喜代・陳野好之(1957)：植物病原菌に及ぼす木酢液の影響、林業試験場研究報告、96, 129—144.
- (4) 野原勇太・陳野好之(1957)：針葉樹稚苗の立枯病防除に関する研究(第I報)－特に木酢液の効力について－、林業試験場研究報告、96, 105—128.
- (5) 三枝隆夫・四方 久(1978)：クワ白紋羽病の防除薬剤について、蚕糸研究、107, 120—132.
- (6) 谷田貝光克・山家義人・雲林院源治(1991)：簡易炭化法と炭化生産物の新しい利用, pp. 43—87, 林業科学技術振興所, 東京.