

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年5月25日現在

機関番号：17601

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2009～2011

課題番号：21580311

研究課題名（和文） 環境に優しい線虫防除技術の開発に関する基礎研究

研究課題名（英文） Basic research on the development of the nematode control using the environment-friendly technology

研究代表者

御手洗 正文（MITARAI MASAFUMI）

宮崎大学・農学部・教授

研究者番号：60094083

研究成果の概要（和文）：本研究は、環境に優しい線虫防除技術の開発を行うことを目的として、植物由来エッセンスの殺線虫効果を検証した。その結果、①ショウガ（6-gingerol、Shogaol）、②ユリ科植物（Diallyl Sulfde, allyl Isothiocyanate）、③杉類（Hinokitiol）、④月桃（Eugenol）、⑤ペパーミントのエッセンスには、強い殺線虫効果があることが明らかになった。

研究成果の概要（英文）：The purpose of this research is to develop the new nematode controlling method with the environment-friendly technology using the plants origin essences. The controlling effect of the nematode using plants ingredient was verified. Consequently, the following result was clarified that ①Ginger(6-gingerol,Shogaol), ②Lilium(Diallyl Sulfde, allyl Isothiocyanate), ③Japanese cedar(Hinokitiol), ④Shell ginger(Eugenol) and ⑤peppermint have strong murder capability to kill nematode.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,900,000	570,000	2,470,000
2010年度	800,000	240,000	1,040,000
2011年度	1,000,000	300,000	1,300,000
年度			
年度			
総計	3,700,000	1,110,000	4,810,000

研究分野：農学

科研費の分科・細目：農業工学・農業環境工学

キーワード：寄生線虫 線虫被害 線虫防除 植物寄生 植物エッセンス 不動化率 生物的防除

## 1. 研究開始当初の背景

日本の園芸・野菜栽培では、播種・移植前にD-D、クロルピリン、臭化メチルなどによる線虫防除が必須となっている。しかし、これらの農薬は急性毒性が強く、発ガン性、地下水汚染、オゾン層の破壊、食品への残留性ならびに抵抗性強化促進による病害虫の大量発生が国際的な社会問題となっている。特に、基幹消毒剤であった臭化メチルは、オゾン層保護を目的にモントリオール議定書の

締結により全廃することが決定され、その生産と使用は禁止された。そのため、農家は危機の状態に立たされている。日本農業においては、臭化メチルの代替技術の確立が緊急課題として取り組まれ、耕種的防除、生物農薬、対抗植物、太陽熱、抵抗性品種、物理的防除法などが研究されてきた。しかし、有効な線虫防除手段が見つからず、農家は大きな被害を受け、経営が難しくなっているのが現状である。世界の農業においても、環境に優しく、人畜無害で、効果的な線虫防除法を確

立することが強く望まれている。

## 2. 研究の目的

本研究の目的は、農薬による線虫防除法の代替技術として、数種類の植物エッセンスの線虫への作用特性を解明し、「環境に優しく、人畜無害で、土壌残留性のない線虫防除法技術を確立」することである。特に非常に強い殺線虫力を発揮する植物エッセンスを 2005～2008 年に見出したことから、これらの効能を検証し、主成分の確定と殺線虫機能の解明を行う。具体的には、数種類のユリ科植物のエッセンスに含有される Diallyl Sulfide、allyl Isothiocyanate、Galanthamine、Lycorine ならびにショウガのエッセンス成分である 6-gingerol、Shogaol とハッカのエッセンスの効能を再検証し、主成分の確定と殺線虫機能の解明を行う。

また、効果的な植物探索をさらに進め、それらの植物エッセンスの線虫防除法の確認、作物への影響、土壌中での施用効果の検証を行い、農薬による線虫防除法の代替技術としての実用性を検証する。

## 3. 研究の方法

(1) 薬学分野で用いられる 6 種類の植物エッセンス抽出法（水蒸気蒸留法、直接蒸留法、パーコレーション法、揮発性溶剤法、圧搾法、冷浸法、エタノール溶媒抽出法）をもとに、日本の自然界に育つ香辛植物、昆虫の食害植物、刺激植物、毒素含有植物のエッセンスを抽出し、高い殺線虫能力を発揮する植物エッセンスを見出すために、水中の線虫に対する処理効果ならびに土壌中に生息する線虫への処理効果を 25℃ の環境条件で行う。

## 4. 研究成果

近年の化学的線虫防除法は、処理後急速に線虫密度が増加するリサージェンス現象やオゾン層の破壊などの環境への負荷が指摘されている。さらには、人体や家畜に対する悪影響があるため、将来的にはこれらを用いない線虫制御技術が望まれている。そこで本研究では、線虫に対する環境保全型防除法の開発を行うため、植物の力を生かした植物由来エッセンスの殺線虫効果を検証した。

(1) 生姜のエッセンスに含有される 6-gingerol、Shogaol について、圧搾法により抽出したエッセンスの殺線虫効果を調査した。調査は、線虫を含む水 1 ml に規定量を処理し、その後 24 時間ごとに生存頭数を確認した。また、土壌中の線虫に対する防除法効果は、土壌 20g に対する殺線虫効果を処理濃度を変えて検証した。その結果、6-gingerol、Shogaol は、植物寄生性線虫への強い殺生力が認められた。また、殺線虫効

果が発揮されるこれらの濃度限界は 100ppm 程度であることが明らかになった(図 1)。

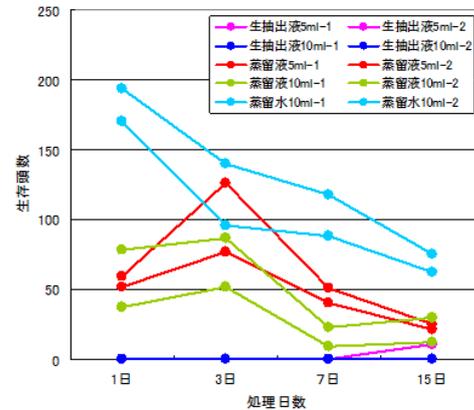
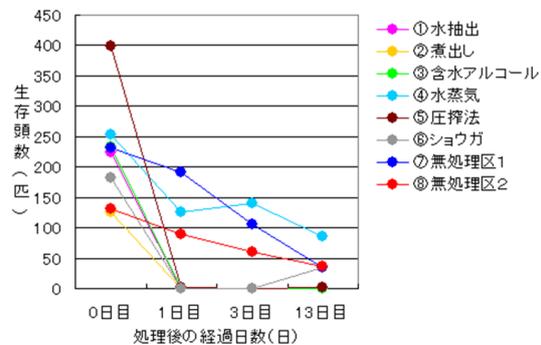


図 1. 線虫生存頭数の推移(水中)

(2) ユリ科植物のエッセンスに含有される Diallyl Sulfide、allyl Isothiocyanate、Lycorine、Galanthamine 等の殺線虫効果を検証した。その結果、以下の事が明らかになった。

1) 水中の線虫に対する防除法効果について基礎試験を実施した結果、ユリ科植物のエッセンスに含有される Lycorine は線虫防除法に有効であり、特に濃度 10% 処理区、20% 処理区では 100% の線虫不動化率を示し、高い殺線



虫効果があることが確認された(図 2)。

図 2. 線虫生存頭数の推移(水中)

2) ユリ科植物のエッセンスに含有される Lycorine を用いて、土壌中の線虫に対する防除法効果を調査した結果、0.25ml/20g 処理区でほぼ 100% の線虫死亡率を示した。そこで、さらに処理量を減らして効果を確認したところ、0.10ml/20g 処理区、0.05ml/20g 処理区、0.025ml/20g 処理区でも高い殺線虫効果がみられた。これらの結果より、ユリ科植物のエッセンスが殺線虫効果を示す限界処理量は、0.010 ml ～0.025 ml/20g の間にある

と推定された。一方、溶媒希釈水溶液の濃度1%処理区での死亡率は98%と高い値を示したため、さらに低濃度のところに殺線虫限界濃度がある可能性もあるが、濃度1%前後が殺線虫力を十分に発揮できる限界と考えられた。また、エッセンス抽出方法としては、溶媒抽出法と圧搾法が最も適していることが分かった(図3)。

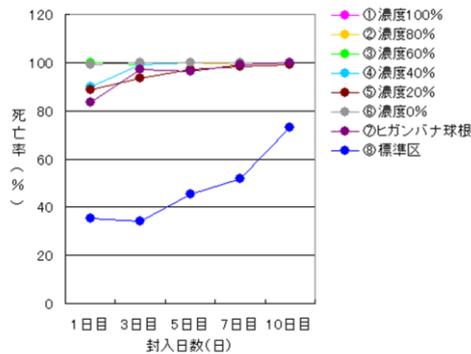


図3. 土壌処理後の線虫死亡率推移(土壌中)

(3) 杉類のエッセンスに含有されるヒノキチオール(殺線虫)の殺線虫効果を調査した。その結果、以下のことが明らかになった。

1) ヒノキチオールを線虫抽出液(3ml)に処理し、一定期間ごとに線虫生存頭数を確認した結果、濃度1%処理区と0.5%処理区で処理後7日目に100%の線虫不動化率を示した。また、その他の処理区でも、線虫不動化率は98%を超え、高い殺線虫効果があることが確認された(図4)。

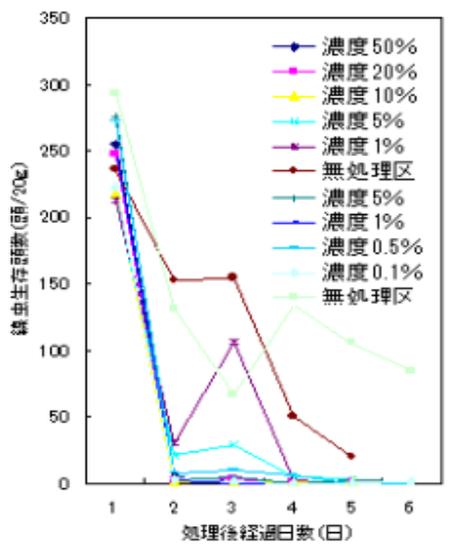


図4 線虫生存頭数の推移(水中)

2) 線虫が生息している土壌20gに対して、ヒノキチオールの処理量を変えて注入し、その後一定期間ごとに線虫生存頭数を確認し

た結果、最も処理量が少ない0.25ml処理区でも、処理後9日目で線虫死亡率が89%を示した。0.50ml処理区では、処理後3日目まで線虫死亡率が54%と低い値を示したが、その後9日目に86%に達した。0.75ml処理区では、処理後5日目まで線虫死亡率70%であったが7日目から上昇し9日目に95%となった。しかし、最も処理量が多い1.50ml処理区でも線虫死亡率は91%であり、100%に達することはなかった(図5)。

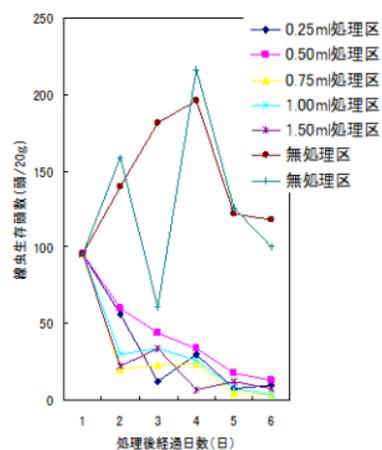


図5 線虫生存頭数の推移(土壌処理)

(5) 北海道で防虫スプレーとして使用され、0.04%で腸管出血性大腸菌O157を完全死滅させるとの報告があるペパーミント精油の殺線虫効果を調査した。その結果、以下のことが明らかになった。

1) ネコブセンチュウによる被害が見られた根域土壌から線虫を抽出し、水中で生息している状態の線虫に対する殺線虫能力を調査した。濃度10%実験区、20%実験区では処理後5日目以降に100%の線虫不動化率を示した。濃度1%実験区と濃度5%実験区

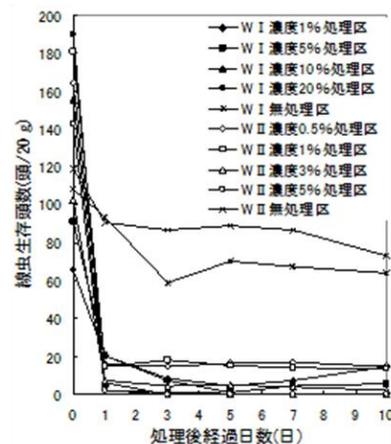


図6 線虫生存頭数の推移(水中)

では処理後5日目に90%以上の線虫不動化率

を示したが、7日目以降に線虫の生存頭数が若干ではあるが増加した(図6)。

2) 水中の線虫に対する防除効果試験で確認された精油の殺線虫効果が、土壌中の線虫に対しても有効であるのかを砂壌土 20g を用いて調査した。ペパーミント処理区では、投入量 0.5ml と 0.25ml において死亡率 100% を示し、0.025ml 処理区でも、それぞれ 95%、90% を示した。D-D 処理区では処理量に関係なく常に線虫死亡率 100% を示した。以上の結果から、砂壌土 (含水比 12.8%) において、ペパーミントには D-D と同程度の殺線虫効果があることが判明した(図7)。

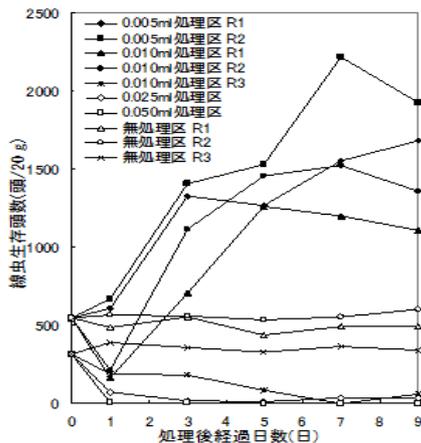


図7 線虫生存頭数の推移(土壌処理)

なお、ペパーミント処理量が少ない場合(植物寄生性線虫が生息している土壌 20g に対して 0.005 ml 処理)は、線虫卵の孵化促進効果があることが認められた。また、0.010 ml 処理区 R1・R2 でも、生存頭数が処理後3日目より増加し、線虫卵の孵化を促進する効果が確認された。一方、0.010 ml 処理区 R3 では線虫生存頭数が減少し、殺線虫効果が確認されたことから、線虫卵の孵化促進効果と殺線虫効果の境界は、植物寄生性線虫が生息している土壌 20g に対して 0.010 ml 処理であることが確認された。このことから、線虫の有効な殺線虫効果を表す限界処理量は 0.010~0.025 ml / 20g であると推定される。

(6) 沖縄では「月桃」とよばれる植物が自生しており、防虫効果、消臭効果、鎮静効果を有している。月桃のエッセンスに含有されるオイゲノールの殺線虫効果を調査した。その結果、以下のことが明らかになった。

1) 線虫抽出液 2.0ml 中にオイゲノール 3.0% 水溶液を 1.0ml、0.5ml、0.25ml、0.01ml 処理し、処理後 1, 3, 5, 7 日目に線虫生存頭数をカウントした結果、線虫不動化率は処理後 7

日目にオイゲノール水溶液 1.0%、0.5% 濃度処理区とともに約 100% となり、0.25%、0.10% 濃度処理区では、それぞれ約 78%、65% を示した。

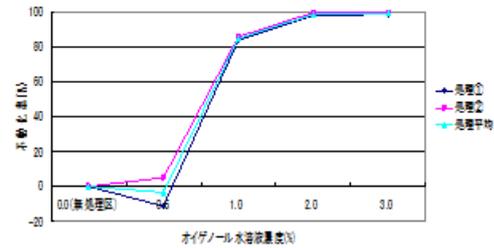


図8 線虫不動化率の推移(土壌処理)

2) 供試土壌 20g 中に、オイゲノール 3.0% 水溶液を 5.0ml、3.3ml、1.7ml、0.83ml 処理し、恒温装置内 (25 °C) で 7 日間保存し、処理後 7 日目の線虫生存頭数をカウントした結果、線虫不動化率は、処理後 7 日目にオイゲノール水溶液濃度 3.0% 処理区、2.0% 処理区とともに約 99%、1.0% 処理区で約 85% を示した。

また、オイゲノール水溶液とオイゲノール原液の効果を比較すると、オイゲノール水溶液は、濃度によって効果にバラツキがあるが、原液よりも強い殺線虫力を有した。また、オイゲノール原液は、処理量に関わらず安定した効果を示したが、水溶液よりも殺線虫力は弱いと考えられた。

## 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計 1 件)

(1) 御手洗正文、センダン材・葉の熱水抽出物およびセンダン材・葉木酢液の殺線虫作用の研究、平成 20 年度共同研究成果報告書、査読無、p1-17、2009

〔学会発表〕(計 2 件)

(1) 細山田明佳, 安里耕, 御手洗正文, 木下統, 植物エッセンスによる線虫防除に関する基礎的研究、農業機械学会、2010 年 9 月 15 日、松山市

(2) 横山誠輝・川辺万里子・御手洗正文・木下統, 植物由来成分を用いた線虫防除に関する基礎研究、農業機械学会九州支部、2011 年 8 月 26 日、那覇市

## 6. 研究組織

(1) 研究代表者

御手洗 正文 (MITARAI MASAFUMI)

宮崎大学・農学部・教授

研究者番号：60094083