ネコブセンチュウに対するシンナミック アルデヒド (桂皮精油) の殺線虫性

石橋 信義・久保 浩幸 (佐賀大学農学部)

Nematicidal effect of cinnamic aldehyde on root-knot nematode, *Meloidogyne incognita*. Nobuyoshi ISHIBASHI and Hiroyuki KUBO (Department of Horticultural Science, Saga University, Saga 840)

Cinnamic aldehyde exhibited a remarkable nematicidal activity against infective juveniles of *Meloidogyne incognita*. LC_{50} was 10ppm for 24 hr in water following 24 hr immersion in the solution at 25°C. The empirical formula was $Y = -0.7808 + 5.6788X$, where Y was the probit of mortality and X was the log dosage (ppm). When the dose exceeded 30ppm for 24hr no larvae survived. However a larger dose was required for the soil application, ca. 2g per 10ℓ soil to reduce the damage caused by root-knot nematodes. On the other hand, the number of free-living nematodes, especially rhabditid nematodes, increased conspicuously soon after soil application of the chemical at the rate of 1-2g/10ℓ. This chemical is recommended as a soil fumigant for small areas, as it is highly volatile.

桂皮油は古くから健胃薬と駆風薬として漢方で用いられ、また芳香料としても広く親しまれている。桂皮精油の主成分シンナミックアルデヒドは医薬としての種々の生理的作用 (八木ら, 1983) ばかりでなく、抗菌作用も認められており (岡崎・大島, 1952)、農業においても種々の病原糸状菌にたいして著しい抗菌作用が知られている (大塚ら, 1983)。土壌施用においては抗菌物質を産生する *Trichoderma* 菌の増殖を促進するとも言われており (鈴木・設楽, 未発表)、結果的に *Fusarium* 菌や *Pythium* 菌の繁殖を抑制するのではないかと考えられている。本薬剤の滅菌土壌を用いた実験では効果が明瞭でないといわれるのはこの所以かも知れない。近年、土壌病害を対象とした桂皮精油の施用でネコブセンチュウの被害も少なくなることが認められるようになり、試験研究機関でも検討されたが、まだ確定的な評価は得られていない (中園, 葭原未発表)。評価の違いは土壌の滅菌・非滅菌など実験条件の差によるものと思われる。本研究はこのようなことを念頭においてネコブセンチュウに対するシンナミックアルデヒドの殺線虫効果あるいは防除効果を検討した。本文に先立ち、シンナミックアルデヒドの原体を提供していただいたアビオン化学研究所五月女清氏に謝意を表する。

材 料 と 方 法

サツマイモネコブセンチュウ *Meloidogyne incognita* の

ゴールの着生したトマトの根を切り刻み、2%アンチホルミン中でホモブレンダー (15,000r.p.m) を用いて磨砕し、500メッシュでろ過して卵を集めた。これを卵懸濁液として、使用するときまで約10°Cに保藏した。孵化幼虫を使用するときは径2cmのリング状に切断し、水面 (水深2~3mm) 上に静置したキムワイブ紙上に、濃縮した卵懸濁液を入れ、25°Cにて孵化させ、孵化後24時間以内の幼虫を用いた。シンナミックアルデヒドは純度98.6%の原体を使用した。本品の水に対する飽和溶解度は25°Cで1,428ppmとされているので、 LC_{50} の測定には飽和液を希釈して用いた。

LC_{50} の測定: 予備実験で致死量は50ppm以下とみられたので、5ppmから30ppmまで6段階の濃度を設けた。線虫は約100頭を10ml遠沈管にとり、各濃度のシンナミックアルデヒド水溶液で3回洗浄後、所定濃度の薬液を入れたマイクロベトリ皿に移し、25°Cで24時間保った。処理時間には洗浄時間 (約15分) を含めた。24時間後薬液中で線虫の運動性を調査し、直ちに水洗して水に移し、6時間と24時間後に再び幼虫の運動性を調査した。この結果から水洗後24時間のものを LC_{50} とした。

幼虫の加害性: トマト幼苗を蒸気滅菌ローム質土壌 (500ml) で生育させ、0~30ppmのシンナミックアルデヒドに24時間浸漬した幼虫100頭をトマトの根元に接種した。その後23~25°Cでトマトを生育させ、30日後にゴール着生数を調査した。

土壌処理：オートクレーブで蒸気滅菌したローム質土壌 10ℓ にシンナミックアルデヒドの成分として 2.64 g, 3.96 g, 5.28 g (それぞれ市販品アピオンTM-66粉剤の 4, 6, 8 g に相当) を混和し、直ちに10個のポット (800ml) に分け、各ポットにネコブセンチュウの卵約 4,000個を混和し、ビニールでポット全体を密封して、20~23℃に置いた。土壌水分は約30%に保った。4日後トマト幼苗を定植し、40日後にゴール着生数を調査した。

非滅菌土壌としては佐賀県畑作試験場から供与されたネコブセンチュウ (*M. incognita* と思われる) 高密度土壌 (埴土) と上記壤土 (*M. incognita* 土壌) を半々に混合した土壌 10ℓ にシンナミックアルデヒド 1.32 g, 2.64 g, 5.28 g を中心部に注入し、土壌水分は約30%にして密封し、20~25℃に置いた。4日後、ポット10個に分け、トマト幼苗を植え、30日後にゴール着生数を調査した。土壌線虫への影響をみるため、処理4日後と、そ

Fig. 1. Effect of cinnamic aldehyde on *Meloidogyne incognita* 2nd-stage juveniles treated for 24 hr at 25°C. Observations were at 0, 6, and 24 hr after returned to distilled water.

のまま密封して34日後にベールマン濾斗法 (50 g) でネコブセンチュウ幼虫、その他植物寄生性、自活性線虫を調査した。反覆は各処理とも 4 反覆で結果は t 検定または Duncan の多重検定で解析した。

結 果

1. **LC₅₀：**30ppm以上の濃度では24時間処理後水に戻して24時間も蘇生する線虫はいなかった。5 から15ppmの範囲では処理後水に戻して運動性を回復する線虫が増加した (Fig. 1)。水に戻して24時間後の運動性で生死を判定すると、LC₅₀ は 10ppm となった (Fig. 2)。

2. **幼虫の加害性：**トマトのゴールを線虫 1 頭当りに 1

Fig. 2. Showing lethal concentration 50% of cinnamic aldehyde on *Meloidogyne incognita* 2nd-stage juveniles. Figuration was made from the investigation 24 hr after returned to water following the treatment for 24 hr at 25°C.

Table 1. Nematicidal effect of cinnamic aldehyde on infective 2nd-stage juveniles of root-knot nematode, *Meloidogyne incognita*. Nematodes were immersed in the solution for 24 hr at 25°C, then inoculated on tomato seedlings in steam-sterilized soil. Galls on the roots were investigated 30 days after inoculation.

Dose (ppm) of cinnamic aldehyde	% Survival ¹⁾	% Gall formation ²⁾ (No. of galls/No. of inoculum)×100
0	100.0	28.4±3.1 a ³⁾
5	94.2±2.5	25.6±4.3 ab
10	64.4±2.9	15.3±7.7 b
15	23.0±3.8	0 c
20	8.7±2.5	0 c
25	0.5±0.8	0 c
30	0	0 c

¹⁾ Investigated 24 hr after returned to water following the treatment with cinnamic aldehyde.

²⁾ Ratio of the number of galls to the juveniles inoculated.

³⁾ Values within a column followed by the same letter are not significantly different (P=0.05).

Table 2. Effect of soil-fumigation by cinnamic aldehyde on gall formation of root-knot nematode, *Meloidogyne incognita*, on tomato. Steam-sterilized loamy soils containing *M. incognita*, eggs at the rate 5/ml soil were mixed with cinnamic aldehyde and tightly sealed for 4 days at 20-23°C. Soil moisture was kept at 30% (W/W). Tomato seedlings were planted 4 days after fumigation, and harvested 40 days later.

Dose of cinnamic aldehyde (g/10 ℓ soil)	No. of galls/plant
0	196.9±55.3 a ¹⁾
2.64	10.2±16.8 b
3.96	1.8± 4.4 b
5.28	0 c

¹⁾ The same letters within a column are not significantly different (P=0.05) according to Duncan's multiple-range test.

Table 3. Effect of soil fumigation with cinnamic aldehyde on nematodes. Fumigation was secured by tight seal during the period of 4 or 34 days at 20-25°C with constant soil moisture (30%, W/W). Nematodes were extracted by Baermann funnel method with 4 replicates.

Fumigation period (days)	Nematodes/50 g	Dose (g) of cinnamic aldehyde/10 ℓ soil			
		0	1.32	2.64	5.28
4	root-knot nematodes	131.3±41.1 a ¹⁾	7.3± 6.7 b	2.0± 1.4 c	0.5± 1.0 c
	free-living nematodes	139.8±53.8 a	377.7±136.2 b	156.8±36.4 a	64.5±23.2 c
34	root-knot nematodes	12.0± 7.2 a	2.0± 0.7 b	0.3± 0.4 b	0
	free-living nematodes	106.8±38.9 a	187.5± 37.1 b c	166.3±29.7 a	117.8±86.4 c

¹⁾ Values within a row followed by the same letter are not significantly different (P=0.05) according to Duncan's multiple-range test.

個形成されたと仮定し、接種幼虫数に対するゴール数を百分比で表してゴール形成率とすると、対照区で28.4%、5 ppm浸漬処理区で25.6%と有意差なく、10ppmで15%と有意に減少し、15ppm以上ではゴール着生はなかった (Table 1)。ほぼ上記LC₅₀の結果と一致すると思われる。

3. 土壌処理 (1)滅菌土壌；土壌800mlに卵約4,000個を接種した対照区では、平均197のゴールが着生していた。10 ℓ 当り2.64 g 処理区では平均10, 3.96 g 処理区では2.2, 5.28 g 処理区にはゴール形成はみられなかった (Table 2)。

(2)非滅菌土壌；容器を密閉して土壌をシンナミックアルデヒドで4日、34日間燻蒸した場合 (Table 3) の土壌中のネコブセンチュウと自活性線虫の密度変化を第3表に示す。1.32 g/10 ℓ の施用区でネコブセンチュウは明らかに減少した。興味あることは自活性線虫 (Rhabditida 目線虫) がこの区で急激に増加したことである。5.28g/10 ℓ 施用区では自活性線虫も減少した。34日間処理は対照区のネコブセンチュウも減少したが、処理区は有意に対照区より少なかった。自活性線虫はやはり処理

区で多くなる傾向があったが、処理4日後ほど顕著ではなかった。ゴール着生の調査は、実験期間中に対照区が疫病 (*Phytophthora*) で全滅し、1.32 g 区も15日以内に30%は枯死したため断念した。34日後においても2.64 g, 5.28 g 区は疫病による枯死株はなく、両区ともネコブセンチュウによるゴール着生はなかった。

考 察

シンナミックアルデヒドはネコブセンチュウに対し顕著な殺卵性、殺幼虫性が報告されているが (MAHAJAN et al. 1985), これらは500ppmという高濃度で試験され、本研究では先に報告したネコブセンチュウのバイオアッセイ法に従い (近藤・石橋, 1984), 24時間処理後水に戻して24時間後の運動性で生死を判定し、LC₅₀=10ppmが得られた。接触型殺線虫剤は水に戻すと運動性を回復するため、オキサミルやメソミルもきわめて高濃度でしか殺線虫効果は得られない。桂皮精油には接触型薬剤ほどの可逆性はみられない。それは蛋白質の角質化を主な作用機作とするためであろう。しかしながら、*in vitro* ではきわめて低濃度で効果があるにも拘わらず、土壌施

用では多量に投入しなければならない。おそらく本実験で行ったほどの施用量は実際ではないと思われる。揮発性が高く土壌に長く残留しない、分解や吸着も大きい、しかしこれらの特性を生かした施用法が考えられる。即ち、苗床や施設ハウス内で燻蒸剤として用いることは可能であろう。その量は土壌10ℓに2g程度が必要である。この量でもネコブセンチュウを激減させることはできないが、代って、自活性線虫が急激に増加した。これはきわめて興味深いし、このこと自体でも線虫防除にはなり得る。経験的にも、植物寄生線虫の密度が低下したとき、自活性線虫を多量に投入すると、植物寄生線虫の回復は著しく遅延する。シンナミックアルデヒドは生薬であり多量に使用しても農薬公害の危惧はない。本来植物自体の防御物質とも言われている。しかし経済的な施用

量を考慮すれば、小面積の燻蒸効果をねらうか、自活性線虫の増殖を促す方策として、他の燻蒸剤クロールピクリンやD-D剤等の施用後に使用することが考えられる。

引用文献

- 1) 近藤栄造・石橋信義(1984) *Japanese J. Nematol.* 14: 8-14.
- 2) MAHAJAN, R., P. SINGH, and K. L. BAJAJ (1985). *Revue Nematol.* 8: 161-164.
- 3) 岡崎寛蔵・大島莊一 (1952). *Yakugaku Zasshi* 72: 1131.
- 4) 大塚利一郎・木曾 皓・野村良邦 (1983) 九州病害虫研究会報 29: 48-51.
- 5) 八木晟・野原稔弘・西岡五夫・江田昭英・永井博茂・野田寛治・徳淵信能 (1980) *Proc Symp. WAKAN-YAKU* 13: 72-78.

(1987年5月1日 受領)