

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公開特許公報(A)

(11) 特許出願公開番号

特開2004-217576

(P2004-217576A)

(43) 公開日 平成16年8月5日(2004.8.5)

(51) Int. Cl. ⁷	F I	テーマコード (参考)
AO 1 N 65/00	AO 1 N 65/00	4 H O 1 1
AO 1 N 25/02	AO 1 N 65/00	
	AO 1 N 25/02	

審査請求 未請求 請求項の数 10 O L (全 28 頁)

(21) 出願番号	特願2003-7544 (P2003-7544)	(71) 出願人	391055276 宮崎大学長 宮崎県宮崎市学園木花台西1丁目1番地
(22) 出願日	平成15年1月15日 (2003.1.15)	(71) 出願人	000164438 九州電力株式会社 福岡県福岡市中央区渡辺通2丁目1番82号
		(74) 代理人	100082164 弁理士 小堀 益
		(74) 代理人	100105577 弁理士 堤 隆人
		(72) 発明者	松井 隆尚 宮崎県宮崎市希望ヶ丘3丁目39番2号
		(72) 発明者	松下 洋一 宮崎県宮崎市花山手西2丁目31番2号

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 農園芸用抗菌溶液およびその製造方法

(57) 【要約】

【課題】合成抗菌農薬に代わる天然由来の病害防除効果を有する農園芸用抗菌溶液とその製造方法を提供すること。

【解決手段】木酢液とスギの抽出物とを含有する農園芸用抗菌溶液である。この農園芸用抗菌溶液は、スギを有機溶媒で抽出してスギの抽出物を調製し、木酢液と混合することによって製造される。木酢液としては、スギを炭化して得られるスギ木酢液を使用することができる。スギの抽出物としては、スギの材部からの抽出物、または、スギの材部のうち心材部からの抽出物を使用することができる。また、この農園芸用抗菌溶液は塩基によりpHを3～8に中和してもよい。

【選択図】 なし

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

木酢液とスギの抽出物とを含有する農園芸用抗菌溶液。

【請求項 2】

木酢液が、スギを炭化して得られるスギ木酢液である請求項 1 に記載の農園芸用抗菌溶液。

【請求項 3】

スギの抽出物が、スギの材部からの抽出物である請求項 1 または 2 に記載の農園芸用抗菌溶液。

【請求項 4】

スギの抽出物が、スギの材部のうち心材部からの抽出物である請求項 1 ~ 3 のいずれか 1 項に記載の農園芸用抗菌溶液。

10

【請求項 5】

塩基により pH を 3 ~ 8 に中和した請求項 1 ~ 4 のいずれか 1 項に記載の農園芸用抗菌溶液。

【請求項 6】

スギを有機溶媒で抽出してスギの抽出物を調製し、木酢液と混合することを特徴とする農園芸用抗菌溶液の製造方法。

【請求項 7】

木酢液が、スギを炭化して得られるスギ木酢液である請求項 6 に記載の農園芸用抗菌溶液の製造方法。

20

【請求項 8】

スギの材部を有機溶媒で抽出してスギの抽出物を調製する請求項 6 または 7 に記載の農園芸用抗菌溶液の製造方法。

【請求項 9】

スギの材部のうち心材部を有機溶媒で抽出してスギの抽出物を調製する請求項 6 ~ 8 のいずれか 1 項に記載の農園芸用抗菌溶液の製造方法。

【請求項 10】

塩基により pH を 3 ~ 8 に中和する請求項 6 ~ 9 のいずれか 1 項に記載の農園芸用抗菌溶液の製造方法。

30

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】

本発明は、植物の病害の防除に利用可能な農園芸用抗菌溶液とその製造方法に関するものである。

【0002】

【従来技術】

木酢液を農園芸用途の資材として使用することは広く行われている。農作物、樹木、果樹等の発芽促進、生長促進および収穫量の増加の効果があるとされる。

また、木酢液に植物の病害の防除効果があると伝承的に言われているが、学術的に試験して明らかにしている実例は極めて少なく、木酢液の抗菌作用についてはミズナラ木酢液が暗色雪腐病菌の成長抑制を行うとの報告（非特許文献 1 参照）があるのみである。スギから調製された木酢液に関する抗菌作用の報告はない。

40

一方、スギの材部、樹皮部および葉部に存在する精油や樹脂成分が抗菌性を有することは良く知られている。スギ樹脂成分であるフェルギノールがシイタケの生育阻害作用を持つことがわかっているし、一般的な細菌に対して抗菌作用を持つスギのジテルペンが単離されて報告されている。植物病原菌に対する抗菌作用を調べた例は少ないが、スギ樹皮から単離したジテルペンがイネいもち病菌およびリンゴ斑点落葉病菌などの植物病原菌に対して生育阻害作用を有するとして特許出願されている（特許文献 1（発明の名称：ジテルペンキノ化合物）参照、特許文献 2（発明の名称：抗癌作用を有するアビエタン型ジテル

50

ペンキノン化合物およびその製造方法)参照)。ただし、スギの有機溶媒抽出物をそのまま植物病原菌の抗菌剤として利用する例は見あたらない。

【0003】

【特許文献1】

特開2000-344708号公報

【0004】

【特許文献2】

特開2002-193869号公報

【0005】

【非特許文献1】

黒沢隆司ら、「暗色雪腐病菌 (*Racodium therryanum*) に対するミズナラ木酢液の成長抑制効果」日本林学会北海道支部論文集、1996年、44号、p. 216-217

【0006】

【発明が解決しようとする課題】

本発明が解決しようとする課題は、合成抗菌農薬に代わる天然由来の病害防除効果を有する農園芸用抗菌溶液とその製造方法を提供することにある。

【0007】

【課題を解決するための手段】

本発明者らは、上記課題を解決するために、はじめにスギの抽出方法と分画方法を検討し、植物病原性菌に対する作用を調べた。この結果、スギのいずれの部位の抽出物も植物病原性菌に対する抗菌作用があることを確認した。スギの材部のメタノール抽出物やヘキサン抽出物が特に望ましい。次いでスギの抽出物と木酢液とを混合した溶液の製造方法を検討し、幾つかの界面活性剤を用いると、均一溶解溶液または安定な乳化溶液が製造できることを確認した。さらに、得られた溶液の植物病原性菌に対する作用および農作物栽培時の病害防除効果を調べ、スギの抽出物と木酢液をそれぞれ単独で用いるより、抗菌作用が強くなり実用的であることを確かめて、本発明を完成した。

【0008】

すなわち、本発明の農園芸用抗菌溶液は、木酢液とスギの抽出物とを含有することを特徴とする。また、本発明の農園芸用抗菌溶液の製造方法は、スギを有機溶媒で抽出してスギの抽出物を調製し、木酢液と混合することを特徴とする。

【0009】

木酢液としては、スギを炭化して得られるスギ木酢液を使用することができる。スギの抽出物としては、スギの材部からの抽出物、または、スギの材部のうち心材部からの抽出物を使用することができる。また、本発明の農園芸用抗菌溶液は、塩基によりpHを3~8に中和してもよい。

【0010】

【発明の実施の形態】

本発明の農園芸用抗菌溶液は、以下の1および2項に述べる製造方法で製造したスギの抽出物と木酢液を以下の3項の方法で混合して製造される。本発明の農園芸用抗菌溶液の効力の評価は、以下の4項の方法により行った。

【0011】

1. スギの抽出物の調製

スギの各部位は含水率が20%程度以下まで乾燥させてから使用することが好ましい。乾燥した各部位を適当な粉碎器により粉碎し、粉末状とすることが好ましい。粒度が3mm以下であれば効果的に抽出できるが、これより大きいと抽出率が落ちる恐れがある。

【0012】

スギの粉末の抽出には、低~中程度の沸点の有機溶媒が使用できる。極性溶媒であればメタノール、エタノール、アセトンなどを、また非極性溶媒であればヘキサン、エーテルなどを使用できる。これらの溶媒は単独でも使用できるし、あるいは、2種類以上を適当な

10

20

30

40

50

比率で混合して使用することもできる。

【0013】

スギの材部、樹皮部および葉部をメタノールで抽出し、メタノールを留去すると淡褐色から黒褐色の油状またはワックス状のメタノール抽出物が得られる。スギの材部、樹皮部および葉部はできるだけ細かな粉末状にしておく方が抽出効率がよい。抽出方法としては、粉末状にしたスギの各部をメタノールに1~2週間浸漬する方法(浸漬法)、メタノールに浸漬した状態で加温して数時間、数回抽出を繰り返す方法(加温浸漬法)、ソックスレー抽出器を用いて12~48時間程度連続抽出する方法などが用いられる。いずれの方法を用いても抽出率に大きな差は無く、また抽出時間は限定されるものではない。溶媒使用量の点からはソックスレー抽出器が最も少なくて済むメリットがある。また、メタノールに代えて、エタノールを使用して抽出した場合も全く同様の結果となり、一般的な低級アルコールが抽出に使用可能である。

10

【0014】

得られたメタノール抽出物は図1に示す溶媒抽出分画方法で溶媒への溶解度の違いを利用して分画することもできる。ただし、抽出物を植物病原性菌に対する抗菌溶液として用いる観点からは、必ずしも分画操作を必要としない。

【0015】

スギの材部、樹皮部および葉部をヘキサン、オクタン、シクロヘキサン、ベンゼン、トルエンなど比較的極性の低い溶媒で抽出する方法も可能である。例えば、スギ材部をソックスレー抽出器でヘキサンにより抽出したヘキサン抽出物をメタノール抽出物を溶媒抽出分画して得られるトルエン-ヘキサン可溶物と同等の抽出率となる。

20

【0016】

スギの溶媒抽出物およびその溶媒分画物について植物病原性微生物に対する抗菌試験を実施し、いずれのスギの溶媒抽出物およびその溶媒分画物も抗菌作用を有することを確認した。本発明の目的には、いずれのスギの溶媒抽出物およびその溶媒分画物も使用可能である。

【0017】

2. 木酢液の調製

本発明には、どのような材料を用いて炭化調製した木酢液も使用可能である。しかし、未利用資源の利用の観点と製造過程で廃棄物を少なくする観点から、スギを用いるのが望ましい。すなわち、スギの抽出物の調製の試料調製段階で得られた廃棄するスギ屑やスギを溶媒抽出した後の残渣部である溶媒抽出済みのスギなどを木酢液抽出の材料にできる。また、スギの製材時の廃棄物や鋸屑および汚染の少ないスギ建築廃材を原料として使用してもよい。

30

【0018】

スギの炭化は小規模では電気炉を用いて行えるが、大規模に製造する場合は一般的に用いられる炭製造用の炭化炉や炭化装置を用いるとよい。炭化方法は一般的な炭製造条件でよいが、炭化の炉内温度は、木酢液の生成がほぼ完了する300以上、望ましくは400以上とするのがよい。炭化時間は材料の形状や大きさに影響されるので、炭化炉から出る気体を冷却して溶液が留出しなくなる時点を目安とする。冷却して集めた溶液成分を静置して分離する上澄みとして木酢液が得られる。使用材料により得られる溶液の分離時間に差があるので、静置期間は十分長くする方が望ましい。通常数週間から数ヶ月間の間静置する。静置時間の短縮のために、遠心分離を用いることができる。1000~3000rpmで遠心分離すると容易に分離し、上澄みの木酢液を採取できるようになる。得られた木酢液はそのまま用いるか、一度常圧または減圧で蒸留して用いる。成分組成に変動が無いことを、キャピラリーガスクロマトグラフィーで確かめるほうがよい。

40

【0019】

製造した木酢液は植物病原性微生物に対する抗菌試験を実施し、抗菌活性があるのを確認した上で用いるのがよい。木酢液は酸性を示し、そのpHは一般に1.5-3.0を示す。このため、木酢液の添加量によっては抗菌試験に用いる培地が酸性側に傾き、酸性のた

50

めに植物病原性微生物が死滅したり、生育を阻害されたりすることになる。抗菌試験に用いる培地がpH 5.5以下の酸性に傾く場合は、あらかじめ木酢液を適当なアルカリで中和するか、木酢液を添加後培地のpHを5.5以上に調製して、抗菌試験を行う必要がある。

【0020】

3. 木酢液とスギの抽出物との混合による農園芸用抗菌溶液の製造

木酢液は酸性のまま農園芸用抗菌溶液の製造に用いることができる。使用上において溶液が酸性を示すのが好ましく無い場合は、木酢液のpHを水酸化ナトリウム水溶液のような塩基で中和した後、農園芸用抗菌溶液の製造に用いることもできる。この場合、使用する木酢液の量は塩基で中和する前の量に換算して用いることとする。

10

【0021】

木酢液または中和した木酢液にスギの溶媒抽出物またはその溶媒分画物を混合して本発明の農園芸用抗菌溶液を得る。混合割合は重量部で、木酢液または中和した木酢液100部に対して、スギの溶媒抽出物またはその溶媒分画物1~100部、望ましくは2~50部を混合する。スギの溶媒抽出物またはその溶媒分画物5部以上を混合する場合は、混合溶液が静置すると2層に分離し、実際に散布使用するのが困難になると考えられる。このような場合、人体に有害性の低いエタノールや酢酸を溶解補助のために添加することができる。木酢液100部に対する添加量は100部以上望ましくは500部以上を用いれば、混合溶液の2相への分離を防止できる。混合溶液の2相への分離を防止するために、エタノールや酢酸に代え、適当な界面活性剤を用いることができる。木酢液100部に対して界面活性剤5~500部、望ましくは20~200部を用いる。使用する界面活性剤のHLB値は8以上、好ましくは10以上ある方が2相分離を防止する効果が高い。中和した木酢液に対して使用する場合は、界面活性剤の種類はアニオン性界面活性剤、両性イオン性界面活性剤、非イオン性界面活性剤のいずれも用いることができる。しかし、酸性溶液である木酢液を中和せずそのまま用いる場合は、アニオン性界面活性剤は使用できず、両性イオン性界面活性剤または非イオン性界面活性剤を選択する。使用する界面活性剤は、食品、化粧品、医薬品、農薬などに一般的に使用されているものでよいが、安全性の高いものを用いるのが好ましい。例えば、アニオン性界面活性剤としては脂肪酸ナトリウム、胆汁酸ナトリウム、N-アシルサルコシンのナトリウム塩、N-アシルグルタミン酸モノナトリウムおよびジナトリウム塩、ジアルキルスルホコハク酸ナトリウム塩、アルファオレフィンスルホン酸ナトリウム塩、N-メチル-N-アシルタウリンナトリウム塩などが、両性イオン性界面活性剤としてはアルキルベタイン、脂肪酸アミドプロピルベタイン、大豆や卵黄などから得られるレシチンおよびその水素添加物などが、非イオン性界面活性剤としてはポリオキシエチレンアルキルエーテル、脂肪酸ポリエチレングリコール、ポリオキシエチレン-ポリオキシプロピレン共重合体、脂肪酸アルカノールアミド、ソルビタン脂肪酸エステル、ショ糖脂肪酸エステル、ポリグリセリン脂肪酸エステルなどが挙げられる。

20

30

【0022】

界面活性剤を加えて製造した木酢液とスギの抽出物の混合溶液はそのまま保存できるが、必要であれば水で希釈して保存することができる。希釈しない場合はペースト状か相当粘稠な溶液状態になる。水で希釈すると混合溶液の粘性は下がり、溶液は黄褐色から黒褐色を示し、透明または乳濁した状態となる。また、静置すると2相分離することがあるが、使用する前にしばらく振り混ぜると乳化状態に戻り、水で希釈して散布等に用いるのに支障は無い。

40

【0023】

4. 木酢液とスギの抽出物とを含有する農園芸用抗菌溶液の効力の評価

木酢液とスギの抽出物とを含有する本発明の農園芸用抗菌溶液の抗菌活性の評価のため、植物病原性細菌(トマト青枯病菌)および植物病原性カビ(トウガラシ疫病菌、トマト萎凋病菌およびメロン根腐萎凋病菌)を抗菌活性のスクリーニングおよび効果判定に用いた。はじめに、スギの抽出物の抗菌試験を行った。スギ抽出物、殊にスギ材部の抽出物に植

50

物病原性菌に対する抗菌活性があり、最小発育阻止濃度（MIC）にはスギの抽出部位、抽出方法および溶媒分画方法により若干の差異はあるものの、いずれの抽出物もかなりの抗菌活性を有することを明らかにした。また、抗菌活性物質がスギ抽出物に存在することを溶媒抽出分画物の分離精製により証明した。次に、木酢液の抗菌試験により、植物病原性菌に対する抗菌活性を有することを明らかにした。また、木酢液中に存在する主要構成成分について抗菌試験を行い、複数の抗菌活性成分があることを確かめた。最後に、木酢液とスギの抽出物から成る溶液（本発明の農園芸用抗菌溶液）の抗菌試験を行い、木酢液とスギ抽出物をそれぞれ単独で用いるよりも、両者を混合した溶液を用いる方が抗菌効果が高いことを確認した。

【0024】

次いで、木酢液とスギの抽出物とを含有する本発明の農園芸用抗菌溶液の農園芸植物栽培での効果を確認する試験を行った。水耕栽培において、葉菜類の葉面散布で木酢液とスギの抽出物の混合溶液の薬害性が低いことおよび水耕栽培液に混入した植物病原性菌の殺菌ができることを確認した。また、木酢液とスギの抽出物とを含有する本発明の農園芸用抗菌溶液がビニールハウス栽培のキュウリべと病およびキュウリうどんこ病の病害防除に効果があり、殊にキュウリべと病の防除作用については市販農薬（殺菌剤）であるダコニールよりさらに効果が高いことを確かめた。

10

【0025】

以下に実施例を示し、本発明をさらに詳しく説明する。

【0026】

20

【実施例】

実施例 1

樹齢約30年のスギを伐採し、葉、外皮（樹皮）、内皮（韌皮）、辺材、心材にそれぞれに分けて、ウィレー型粉砕機で約3 mm以下に裁断して試料した。外皮および内皮は学術的にはそれぞれ樹皮および韌皮になるが、以降慣用的名称を使用する。

【0027】

スギ間伐材から外皮および内皮を除き、心材と辺材を区別せずに鋸屑状に裁断したものをスギ材（心材・辺材混合材）とした。鋸屑状スギ材は105 の恒温乾燥器で恒量になるまで乾燥した。図1に溶媒抽出分画の方法を示す。乾燥したスギ材300 gを保温型ソックスレー抽出器を用いてメタノール 5.0 dm³ で還流下に12時間連続抽出したのち、減圧下に濃縮し、メタノール抽出物S-2 6.00 gを得た。次いで、メタノール抽出物S-2 6.00 gをメタノール36 cm³ に溶解し、トルエン60 cm³ を加えたのち減圧下室温でメタノールを留去し、析出した褐色沈殿を遠心分離機（H-103N、国産化学（株））を用い2000 rpmの回転数で遠心分離し、トルエン不溶物S-3 3.03 gを得た。上澄みのトルエン溶液にはヘキサン40 cm³ を加え、析出した沈殿を同様に遠心分離して、トルエン-ヘキサン不溶物S-5 0.30 gを得た。更に、上澄みのトルエン-ヘキサン溶液を減圧下濃縮し、トルエン-ヘキサン可溶物S-6 2.67 gを得た。この操作を繰り返し、トルエン-ヘキサン可溶物を集めた。

30

【0028】

全く同じ方法で、スギの葉、外皮、内皮、辺材および心材を抽出した。抽出および分画の結果を表1に示す。

40

【0029】

【表1】

表1 スギの溶媒抽出分画物および樹脂成分の含有量の比較

スギ溶媒抽出分画物 および 樹脂成分	含有量 g/kg スギ					
	葉	外皮	内皮	辺材	心材	辺材・心材
メタノール抽出物 S-2	200	103	266	13.9	68.9	20.1
トルエン不溶物 S-3	112	68.0	241	8.94	34.7	10.1
トルエン-ヘキサン不溶物 S-5	17.8	13.5	1.44	1.70	4.39	4.16
トルエン-ヘキサン可溶物 S-6	58.1	14.2	12.6	2.58	27.3	5.30
フェルギノール	0	0.14	1.14	0.15	4.93	0.52
6,7-デヒドロフェルギノール	0	0.09	0.27	0.02	2.46	0.21
スギオール	0	0	0	0	0.16	0
サンダラコピマリノール	0	0	0	0.34	7.43	0.79
サンダラコピマリナール	0	0	0	0.05	1.16	0.14
β -シトステロール	0	0	0.34	0.12	0.23	0

スギ材のトルエン-ヘキサン可溶物 S-6 5.40 g をシリカゲル 80 g を用い、ヘキサンと酢酸エチルの混合溶媒 (100:0、99:1、97:3、85:15、80:20、50:50、0:10 で順次溶出) でカラムクロマトグラフィーを行った (図 2 参照)。ヘキサン-酢酸エチル (97:3) の分画 1.13 g を再度クロマトグラフィー (シリカゲル 35 g、ヘキサン-酢酸エチル (99:1)) で精製し、サンダラコピマリナール 225 mg とフェルギノール 819 mg とを単離した。ヘキサン-酢酸エチル (85:15) の分画 1.51 g を再度クロマトグラフィー (シリカゲル 35 g、ベンゼン-ジエチルエーテル (75:1)) で精製し、スギオール 117 mg、サンダラコピマリノール 690 mg、およびフィロクラダノール 145 mg を単離した。ヘキサン-酢酸エチル (80:20) の分画 0.40 g を再度クロマトグラフィー (シリカゲル 20 g、ベンゼン-ジエチルエーテル (97:3)) で精製し、 β -シトステロール 36 mg を単離した。単離したテルペノイドは、文献に記載されている各種スペクトルデータと比較して同定した。

【0030】

同様にして、スギの葉、外皮、内皮、辺材および心材のトルエン-ヘキサン可溶部 S-6 から単離した樹脂成分の収率を表 1 に示す。

【0031】

実施例 2

スギ心材を試料とし、ヘキサン抽出法で抽出分画する検討を行った。宮崎県高岡町 (樹齢約 30 年) のスギを伐採し、心材と辺材に切り分けて鋸屑状に粉碎した心材粉末を試料に用いた。鋸屑状スギ材は 105 の恒温乾燥器で恒量になるまで乾燥した。ヘキサン抽出法での抽出は次のように行った。乾燥したスギ材 300 g を保温型ソックスレー抽出器を用いてヘキサン 5.0 dm³ で還流下に 24 時間連続抽出したのち、減圧下に濃縮し、ヘキサン抽出物 3.64 g を得た。乾燥スギ心材 1 kg あたりでは 18.2 g のヘキサン抽出物が得られたことになる。スギ心材のヘキサン抽出物の収量はスギ心材をメタノール抽出後溶媒分画して得られるトルエン-ヘキサン可溶物 S-6 の収量の 3/4 程度であった。

【0032】

実施例 3

植物病原性菌としてトマト青枯病菌 (*Ralstonia solanacearum*)、トウガラシ疫病菌 (*Phytophthora capsici* L.)、トマト萎凋病菌 (*Fusarium oxysporum*) およびメロン根腐萎凋病菌 (*Pythium splendens* Braun) の 4 菌株を用いた。試料はジメチルスルホキシド (DMSO) に溶解し滅菌ろ過して試料溶液とした。試料溶液を滅菌したポテトスクロース寒天培地 (PSA) またはポテトデキストロース寒天培地 (PDA) に一定濃度添加し、試験培地とした。PSA 培地はトマト青枯病菌に対して用い、他の菌株は PDA 培地

10

20

30

40

50

を用いた。試験培地に植物病原性菌を植菌し、30 で7日間静置培養したのち、コロニー形成の有無を判定し、最小発育阻止濃度(MIC)を決定した。

【0033】

4種類の植物病原性菌株に対するスギ材(辺材・心材混合物)とスギ心材の溶媒抽出分画物の抗菌試験結果を表2に示す。

【0034】

【表2】

表2 スギ材の溶媒抽出分画物の抗菌作用

部位	試料 溶媒分画物	MIC / mg cm ⁻³			
		トマト 青枯病菌	トマト 萎凋病菌	トウガラシ 疫病菌	メロン根腐 萎凋病菌
スギ材 (辺材・心材)	S-2	5.00	> 10.00	10.00	> 10.00
	S-3	5.00	5.00	10.00	> 10.00
	S-5	2.50	5.00	5.00	5.00
	S-6	1.25	2.50	5.00	2.50
心材	S-2	10.00	> 10.00	> 10.00	> 10.00
	S-3	5.00	10.00	10.00	10.00
	S-4	2.50	> 10.00	10.00	10.00
	S-5	0.90	0.90	1.79	1.79
	S-6	0.63	2.50	1.25	1.25
心材	ヘキサン抽出物	1.25	2.50	5.00	5.00

10

20

試料としてスギ材およびスギ心材のいずれを用いた場合も、メタノール抽出物S-2から溶媒分画が進むにつれて、MIC値は低くなる傾向にあった。すなわち、高極性成分を多く含むメタノール抽出物S-2やトルエン不溶物S-3に比べて、低極性成分を多く含むトルエン-ヘキサン不溶物S-5およびトルエン-ヘキサン可溶物S-6でMIC値が低くなった。トルエン-ヘキサン可溶物S-6が最も強い抗菌作用を示す分画であり、この分画に含まれる樹脂成分の抗菌作用が強いことを示唆している。

【0035】

また、実施例2の方法で得たスギ心材ヘキサン抽出物のMIC値は、心材トルエン-ヘキサン可溶物S-6と同等かまたは少し大きい。

30

【0036】

実施例4

スギ心材のトルエン-ヘキサン可溶物S-6中の樹脂成分の含有量をカラムクロマトグラフィーで分離して調べ、同時に植物病原性菌への抗菌活性をカラムクロマトグラフィーの各フラクション(Fr)について比較する検討を行った。スギ心材トルエン-ヘキサン可溶物S-6のシリカゲルカラムクロマトグラフィーを行った。ヘキサン、ヘキサン:ベンゼン=4:1-1:1、ベンゼン、ベンゼン:酢酸エチル=9:1-3:1と順次展開溶媒を変化させて溶出させた。溶出した各フラクションについて薄層クロマトグラフィー(TLC)と核磁気共鳴スペクトル測定(¹H-NMR)および赤外分光(IR)測定を

40

【0037】

【表3】

表3 スギ心材ヘキササン抽出物^aのカラムクロマトグラフィー溶出分画の収量とそれらのトマト青枯病菌への抗菌作用

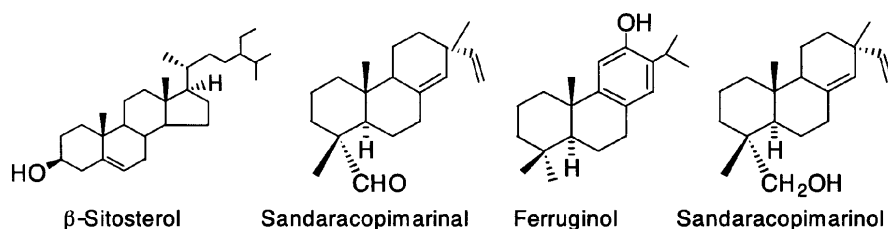
フракション No.	溶出溶媒 ^b	収量 ^c /mg kg ⁻¹	主要含有成分 ^d	MIC/mg cm ⁻³
1-23	H:B (4:1-3:1)	867	炭化水素	> 10.0
24-28	H:B (4:1-3:1)	43	β-シトステロール	5.00
29-43	H:B (4:1-3:1)	203	サンダラコピマリナール	5.00
44-62	H:B (4:1-3:1)	814	フェルギノール	< 0.63
63-77	B	71	不明物混合物	1.25
78-93	B:EA (9:1-6:1)	2308	サンダラコピマリノール	< 0.63
94-99	B:EA (6:1-2:1)	226	不明物	1.25
100-108	B:EA (2:1-0:1)	234	不明物混合物	1.25

a) ヘキササン抽出物の MIC: 1.25 mg cm⁻³

b) H: ヘキササン, B: ベンゼン, EA: 酢酸エチル

c) 乾燥スギ心材 1 kg に基づく収量.

d)



10

20

30

40

カラムクロマトグラフィーの各フラクションを含有する主要成分に基づき8区分し、トマト青枯病菌に対する抗菌試験により抗菌作用を比較した。試料をDMSOに溶解しPSAの固形培地に試料溶液を加えて試験培地とし、青枯病菌を植菌して5日間静置培養後、コロニーの発生の有無を観察して最小発育阻止濃度(MIC)を判定した。結果を表3に示す。Fr. 44-62およびFr. 78-93のMIC値は0.63 mg cm⁻³以下となり、最も抗菌作用が強かった。次いでFr. 63-77、Fr. 94-99およびFr. 100-108の抗菌作用が強い。最も抗菌作用の強いFr. 44-62およびFr. 78-93はフェルギノールとサンダラコピマリノールをそれぞれ主成分とするので、強い抗菌作用は両者に基づくものと考えられる。

【0038】

実施例5

スギ材(辺材・心材混合物)の単離樹脂成分の植物病原性菌に対する抗菌効果を調べた。植物病原性菌としてトマト青枯病菌(*Ralstonia solanacearum*)、トウガラシ疫病菌(*Phytophthora capsici* L.)、トマト萎凋病菌(*Fusarium oxysporum*)およびメロン根腐萎凋病菌(*Pythium splendens*)の4種類を用いた。単離した樹脂成分の評価には、スギ材の主要樹脂成分であるフェルギノール、サンダラコピマリノールおよびサンダラコピマリナールを試験試料とした。試料はいずれもDMSOに溶解し、メンブレンフィルター(孔径0.25マイクロメートル)を用いて滅菌ろ過して試料溶液とした。試料溶液を滅菌したポテトスクロース寒天培地(PSA)またはポテトデキストロース寒天培地(PDA)に一定濃度添加し、試験培地とした。PSA培地をトマト青枯病菌に対して用い、他の菌株についてはPDA培地を用いた。試験培地に植物病原性菌を植菌し、30℃で7日間静置培養したのち、コロニー形成の有無を判定し、最小発育阻止濃度(MIC)を決定した。結果を表4に示す。

【0039】

【表4】

表4 スギ材樹脂成分の植物病原性菌に対する抗菌作用

試料	MIC / mg cm ³			
	トマト 青枯病菌	トマト 萎凋病菌	トウガラシ 疫病菌	メロン根腐 萎凋病菌
フェルギノール	0.90	0.90	1.79	1.79
サンダラコピマリノール	0.63	2.50	1.25	1.25
サンダラコピマリナル	5.00	> 5.00	5.00	> 5.00

フェルギノールとサンダラコピマリノールがいずれの菌に対しても低いMICを示すことがわかった。ただし、スギ材抽出物の抗菌活性はこの2つの化合物のみによるものではないことは、溶媒分画物のいずれもが相当な抗菌活性を有していることから明らかである。

【0040】

実施例6

木酢液の調製を行った。樹齢25年前後の宮崎県産スギ(*Cryptomeria japonica* D. Don)の辺材部分を用いた。スギ辺材を約10×10×100 mm³の細片にし、炭化温度と保持時間を変化させた炭化により、木酢液を調製するのに用いた。試料の含水率は、ケット式赤外水分測定器により重量減少から求めた。試料の炭化は、炉心管出口に冷却浴とリービッヒ冷却器を持つ受け器をつないだ炭化用電気炉装置により行った。シリコニット電気炉TSH-635S(シリコニット高熱工業(株)製)は、約25°傾斜させ出口側を低くした。冷却浴とリービッヒ冷却器には0の冷却水を循環させた。炉心管(50×42×1000 mm)の中央に樹木細片約20 gを詰め、窒素ガスを約20 cm³/minの流速で流しながら、200/hで炭化反応温度まで昇温した後、その炭化反応温度で1時間保持する方法で炭化を行った。炭化反応温度は400-900まで100ごとに变化させた。電気炉を室温まで自然冷却した後、炉心管より炭化物を取り出した。冷却した受け器には褐色の液体を捕集できた。この液体を2週間冷暗所に静置し、上層の木酢液と下層の木タールにそれぞれ分離した。また、炉心管内部には黒褐色油状物として木タールが若干付着していた。これをアセトンで溶解して集めた後、溶媒を減圧下に除去して木タールをさらに得た。受け器に捕集されたものと炉心管内部に残ったものを合わせて、木タールの収量とした。

【0041】

同様の方法でスギ材、心材、葉、外皮、内皮を炭化した。また、スギの抽出物を製造するのに使用したメタノール抽出済みの各部位についても同様に炭化を行った。なお、メタノール抽出済みの各部位の材料は鋸屑状の形態のものを磁製灰分測定用ポートに入れ、炭化炉で炭化した。炭化により得られる木酢液を含む炭化物の物質収支を表5に示す。

【0042】

【表5】

表5 スギおよびメタノール抽出したスギの各部位の炭化による炭化生成物量

樹木	部位	含水率/%	炭化温度/°C	炭化生成物 /% ^a			
				木ガス	木酢液	木タール	炭化物
スギ	辺材	11.0	200	^b	3	1	95
スギ	辺材	11.0	300	-	16	1	78
スギ	辺材	11.0	400	-	35	13	37
スギ	辺材	11.0	500	-	40	12	31
スギ	辺材	11.0	600	-	36	14	29
スギ	辺材	11.0	700	-	39	12	27
スギ	辺材	11.0	800	18	42	13	25
スギ	辺材	11.0	900	-	43	10	25
スギ	心材	10.6	400	-	36	14	37
スギ	心材	10.6	800	-	46	12	30
スギ	外皮	5.3	400	-	25	8	47
スギ	内皮	3.2	400	-	27	10	43
マツ	材	10.0	400	-	46	10	26
カシ	材	10.1	400	-	47	10	25
サクラ	材	10.5	400	-	46	9	25
タケ	材	10.0	400	-	45	7	27
スギ	抽出辺材	2.0	400	-	39	13	33
スギ	抽出外皮	6.9	400	-	28	8	49
スギ	抽出内皮	2.0	400	-	30	11	39

a) 使用した樹木の重量に基づく収率.

b) 未測定.

10

20

30

40

50

得られたスギの木酢液は、キャピラリーガスクロマトグラフィー（GC）による成分分析を行った。次の40種の化合物を分析標品として使用した；メタノール（1）、エタノール（2）、アセトン（3）、酢酸（4）、プロピオン酸（5）、酪酸（6）、吉草酸（7）、クロトン酸（8）、レブリン酸（9）、安息香酸（10）、 γ -ブチロラクトン（11）、2-フルアルデヒド（12）、5-メチル-2-フルアルデヒド（13）、5-ヒドロキシメチル-2-フルアルデヒド（14）、2-アセチルフラン（15）、フルフリルアルコール（16）、テトラヒドロフルフリルアルコール（17）、フェノール（18）、カテコール（19）、*o*-クレゾール（20）、*m*-クレゾール（21）、*p*-クレゾール（22）、4-エチルフェノール（23）、2,5-キシレノール（24）、2,6-キシレノール（25）、3,5-キシレノール（26）、グアイアコール（27）、4-メチルグアイアコール（28）、4-エチルグアイアコール（29）、バニリン（30）、4-アセチルグアイアコール（31）、シリンゴール（32）、4-メチルシリンゴール（33）、4-エチルシリンゴール（34）、4-プロピルシリンゴール（35）、シリンガアルデヒド（36）、4-アセチルシリンゴール（37）、シリンガ酸メチル（38）、シクロテン（39）、マルトール（40）。

【0043】

キャピラリーGC分析は水素炎イオン化検出器（FID）とデータ処理装置クロマトパックC-R4Aを接続したガスクロマトグラフGC-14B（（株）島津製作所製）を使用して行った。テレフタル酸処理ポリエチレングリコール修飾キャピラリーカラムBP-21（0.25 mm I.D. × 25 m、エス・ジー・イー・ジャパン（株）製）、ポリ[ビス（3-シアノプロピル）シロキサン-co-1,4-ビス（ジメチルシリレン）ベンゼン]修飾キャピラリーカラムBPX-70（70%シアノプロピルシロキサン相当、0.25 mm I.D. × 25 m、エス・ジー・イー・ジャパン（株）製）を分析に使用した。木酢液はメンブレンフィルター（0.45 mm）でろ過したのち1 μ lをキャピラリーGC測定に使用した。成分の同定は標品添加法により行い、

また被検成分追加法を利用して定量分析を行った。ほとんどの成分は以下に示す標準分析条件(D)により分析可能であったが、この条件でピーク分離が不十分であった成分については分析条件(E)から(J)により分析した。いずれの分析条件でも検出器温度は300℃、またキャリアーガスはヘリウムを用いた。ただし、酪酸(6)とγ-ブチロラクトン(11)および4-エチルフェノール(23)と3,5-キシレノール(26)は、いずれの分析条件でもお互いに分離できなかったため、それぞれ酪酸(6)および4-エチルフェノール(23)を標品として含量を求めた。

【0044】

(D)標準分析：カラム、BP21；カラム温度、45℃(0-3 min)、45-209℃(4 /min、3-44 min)、209℃(44-50 min)；注入温度、300℃。 10

(E)メタノール(1)の分析：カラム、BP21；カラム温度、40℃(0-5 min)、40-200℃(10 /min、5-21 min)、200℃(21-25 min)；注入温度、150℃。

(F)アセトン(3)の分析：カラム、BP21；カラム温度、45℃(0-5 min)、45-210℃(15 /min、5-16 min)、210℃(16-25 min)；注入温度、120℃；。(G)酢酸(4)、プロピオン酸(5)および2-フルアルデヒド(12)の分析：カラムBP21；カラム温度、105℃(0-10 min)、105-205℃(10 /min、10-20 min)、205℃(20-25 min)；注入温度、300℃。 20

(H)クロトン酸(8)の分析：カラム、BP21；カラム温度、100℃(0-10 min)、100-120℃(2 /min、10-20 min)、120-208℃(8 /min、20-31 min)、208℃(31-35 min)；注入温度、300℃。

(I)フェノール(18)、o-クレゾール(20)の分析：カラム、BPX70；カラム温度、115℃(0-13 min)、115-250℃(15 /min、13-22 min)、250℃(22-25 min)；注入温度、300℃。

(J)カテコール(19)の分析：カラム、BP21；カラム温度、100℃(0-10 min)、100-205℃(15 /min、10-17 min)、205℃(17-30 min)；注入温度、300℃。 30

異なる炭化温度で製造したスギ辺材の木酢液のGC分析結果を表6に示す。また、異なる樹木から400℃の炭化温度で製造した木酢液のGC分析結果を表7に示す。

【0045】

【表6】

表6 スギ辺材から異なる炭化温度で調製した木酢液の成分組成

化合物	含有量/g dm ⁻³				
	炭化温度/°C				
	200	300	400	600	800
Methanol (1)	0.10	10.57	17.29	15.34	14.60
Ethanol (2)	0	0	0	0	0
Acetone (3)	0	0.70	0.37	0.54	0.99
Acetic acid (4)	0.09	41.25	30.91	36.69	35.97
Propionic acid (5)	0	1.42	2.16	2.25	2.16
Butyric acid (6) and/or γ-butyrolactone (11)	0	0.52	1.20	1.09	1.00
Valeric acid (7)	0	0	0.08	0.06	0.04
Crotonic acid (8)	0	0.02	1.94	1.09	1.69
Levulinic acid (9)	0	0	2.06	1.44	1.37
Benzoic acid (10)	0	0	0.02	0.06	0.02
2-Furaldehyde (12)	0	3.09	2.04	1.78	2.19
5-Methyl-2furaldehyde (13)	0	0.51	0.36	0.25	0.36
5-Hydroxymethyl-2-furaldehyde (14)	0	1.26	0.57	0.31	0.43
2-Acetylfuran (15) and/or Tetrahydrofurfuryl alcohol (17)	0	0.45	0	0	0
Furfuryl alcohol (16)	8.72	2.01	0	0	0
Phenol (18)	0	0.02	2.55	1.50	1.16
Pyrocatechol (19)	0	0	2.17	1.88	2.20
<i>o</i> -Cresol (20)	0	0.01	0.03	0.33	0.15
<i>m</i> -Cresol (21)	0	0	0.06	0.33	0.28
<i>p</i> -Cresol (22)	0	0.04	0.25	0.72	0.73
4-Ethylphenol (23) and/or 3,5-Xylenol (26)	0	0	2.09	1.78	0.95
2,5-Xylenol (24)	0	0	0.06	0.04	0.03
2,6-Xylenol (25)	0	0	0	0.02	0.02
Guaiacol (27)	0	0.71	4.08	3.76	3.48
4-Methylguaiacol (28)	0	0.27	2.87	2.60	2.61
4-Ethylguaiacol (29)	0	0.27	0.90	0.62	0.68
Vanillin (30)	0	0.73	0.81	0.46	0.51
4-Acetylguaiacol (31)	0	0.19	0.47	0.15	0.29
Syringol (32)	0	0	0	0	0
4-Methylsyringol (33)	0	0	0	0	0
4-Ethylsyringol (34)	0	0	0	0	0
4-Propylsyringol (35)	0	0	0	0	0
Syringaldehyde (36)	0	0	0	0	0
4-Acetylsyringol (37)	0	0	0	0	0
Methyl Syringate (38)	0	0	0	0	0
Cyclotene (39)	0	0.23	2.78	2.66	2.64
Maltol (40)	0	0.41	0.55	0.38	0.76

10

20

30

【表7】

表7 異なる樹木を 400 °C で炭化して得られた木酢液の成分組成

化合物	含有量 ^a /g dm ⁻³				
	スギ 外皮	マツ 辺材	カシ 辺材	サクラ材	タケ材
Methanol (1)	3.047	7.521	17.876	9.871	30.717
Ethanol (2)	0	0	0.447	0	0
Acetone (3)	9.095	1.637	4.013	2.588	3.085
Acetic acid (4)	20.755	38.216	133.143	88.427	69.160
Propionic acid (5)	1.414	2.634	4.122	5.125	3.451
Butyric acid (6) and/or	0.278	1.170	2.410	0.155	1.967
γ -Butyrolactone (11) and/or Valeric acid (7)	-	1.780	0.106	0.018	0.238
Crotonic acid (8)	0.069	0.002	1.332	5.593	0.107
Levulinic acid (9)	0.555	0.704	0.947	1.366	1.235
Benzoic acid (10)	0.030	0	0.080	0.014	0.380
2-Furaldehyde (12)	-	2.865	5.272	6.576	3.699
5-Methyl-2-furaldehyde (13)	0.144	0.335	1.304	2.325	0.328
5-Hydroxymethyl-2-furaldehyde (14)	0.347	0.236	2.328	2.061	1.170
2-Acetylfuran (15) and/or Tetrahydrofurfuryl alcohol (17)	-	1.694	0.367	0.219	0.525
Furfuryl alcohol (16)	-	0.048	0.102	0.159	0.772
Phenol (18)	1.189	0.240	0.328	0.853	2.715
Pyrocatechol (19)	2.611	1.076	1.579	2.432	2.155
<i>o</i> -Cresol (20)	0.151	0.185	0.141	0.353	0.107
<i>m</i> -Cresol (21)	0.089	0	1.070	0.037	0.138
<i>p</i> -Cresol (22)	0.065	0.431	0.596	0.206	0.360
4-Ethylphenol (23) and/or 3,5-Xylenol (26)	-	0.415	4.055	0.064	0.380
2,5-Xylenol (24)	0.020	0.176	0.020	0.061	0.016
2,6-Xylenol (25)	0	0	0.005	0	0.611
Guaiacol (27)	0.497	1.277	1.824	1.137	1.270
4-Methylguaiacol (28)	0.317	0.838	1.157	0.728	0.261
4-Ethylguaiacol (29)	0.055	0.263	0.543	0.333	0.197
Vanillin (30)	0.031	0.126	0.096	0.165	0.304
4-Acetylguaiacol (31)	0.028	0.253	0.218	0.089	0.073
Syringol (32)	-	0	3.289	4.561	3.958
4-Methylsyringol (33)	0	0	2.103	2.422	0.676
4-Ethylsyringol (34)	0	0	1.060	0.208	0.348
4-Propylsyringol (35)	-	0	0.622	0.231	0.048
Syringaldehyde (36)	0	0	0.492	0.574	0.283
4-Acetylsyringol (37)	0	0	0.162	0.381	0.174
Methyl syringate (38)	0	0	0	0.017	0.101
Cyclotene (39)	0.611	1.748	3.217	2.212	2.323
Maltol (40)	0.874	0.379	1.703	0.910	0.214
合計	42.272	66.249	198.129	142.471	133.546

a) 表中の - は未測定。

実施例 7

スギ辺材木酢液の植物病原性菌に対する抗菌効果を調べた。植物病原性菌としてトマト青枯病菌 (*Ralstonia solanacearum*)、トウガラシ疫病菌 (*Phy*

10

20

30

40

50

tophthora capsici L.)、トマト萎凋病菌 (*Fusarium oxysporum*) およびメロン根腐萎凋病菌 (*Pythium splendens*) の4種類を用いた。スギ辺材木酢液 (pH 2.0) を培地に添加した場合、培地の酸性化による抗菌作用への影響が懸念された。そこで、水酸化ナトリウム水溶液で中和したスギ木酢液 (pH 6.0) も調整した。木酢液は蒸留水で希釈した後、メンブレンフィルター (0.22 μm) で滅菌濾過し試料溶液とした。試料溶液を滅菌したポテトスクロース寒天培地 (PSA) またはポテトデキストロース寒天培地 (PDA) に一定濃度添加し、試験培地とした。試料溶液を添加した濃度ごとに、試験培地 pH を測定した。PSA 培地はトマト青枯病菌 (細菌) に対して用い、他の3種類の菌 (カビ) に対しては PDA 培地を用いた。試験培地に植物病原性菌を植菌し、30 で7日間静置培養したのち、コロニー形成の有無を判定し、最小発育阻止濃度 (MIC) を決定した。 10

【0046】

スギ辺材木酢液の抗菌試験結果を表8に示す。

【0047】

【表8】

表8 400℃で炭化したスギ辺材木酢液の植物病原性菌に対する抗菌活性

植物病原性菌	使用木酢液の pH	MIC/mg cm ⁻³	試験培地の pH ^a
トマト青枯病菌	6.0	5	5.9
	2.0	<5	5.1
トウガラシ疫病菌	6.0	10	5.8
	2.0	5	5.1
トマト萎凋病菌	6.0	20	6.0
	2.0	10	4.9
メロン根腐萎凋病菌	6.0	20	6.0
	2.0	5	5.1

a) MICを示す濃度に木酢液を添加した培地の pH.

中和木酢液 (pH 6.0) の MIC は細菌であるトマト青枯病菌に対して 5 mg cm⁻³ となり、3種類のカビ (トウガラシ疫病菌、トマト萎凋病菌およびメロン根腐萎凋病菌) に対してはそれより2-4倍高い値となった。そのときの試験培地 pH はいずれも 5.8 - 6.0 であった。中和しない元の木酢液 (pH 2.0) の MIC は中和木酢液 (pH 6.0) の MIC の倍希釈の値となった。このときの試験培地の pH は、4.9 - 5.1 であり、中和木酢液 (pH 6.0) の場合に比べ酸性に傾いていた。中和木酢液 (pH 6.0) と元の木酢液 (pH 2.0) との MIC の差は小さいが、試験培地 pH の低下が抗菌効果に寄与したと判断した。 30

【0048】

実施例8

次に、木酢液の主要な構成成分について植物病原菌に対する抗菌効果を調べた。水への溶解性が低い3,5-キシレノールとシリンガアルデヒドはDMSOを溶解補助に使い均一水溶液としたが、他化合物は蒸留水に溶解して溶液とし、pHを7.0に中和した後、メンブレンフィルター (0.22 μm) で滅菌濾過し試料溶液とした。試験水溶液を実施例7と同様の方法で抗菌試験した。結果を表9に示す。 40

【0049】

【表9】

表9 600℃で炭化したスギ辺材木酢液^aの成分組成およびその主要成分の植物病原性菌に対する抗菌作用

試料	木酢液中の成分含有量 /mg cm ⁻³	MIC/mg cm ⁻³			
		トマト青枯病菌	トウガラシ疫病菌	トマト萎凋病菌	メロン根腐萎凋病菌
メタノール(1)	15.34	>5.00	>5.00	>5.00	>5.00
アセトン(3)	0.54	>5.00	>5.00	>5.00	>5.00
酢酸(4)	36.69	5.00	>5.00	>5.00	>5.00
プロピオン酸(5)	2.25	5.00	>5.00	>5.00	>5.00
酪酸(6) ^b	1.09 ^b	>5.00	2.50	>5.00	5.00
γ-ブチロラクトン(11) ^b	1.09 ^b	>5.00	>5.00	>5.00	>5.00
吉草酸(7)	0.06	>5.00	2.50	>5.00	5.00
クロトン酸(8)	1.09	5.00	1.25	>5.00	1.25
レブリン酸(9)	1.44	>5.00	>5.00	>5.00	>5.00
安息香酸(10)	0.06	5.00	0.16	5.00	0.63
2-フルアルデヒド(12)	1.78	1.25	>5.00	5.00	2.50
5-メチル-2-フルアルデヒド(13)	0.31	>5.00	1.25	5.00	2.50
5-ヒドロキシメチル-2-フルアルデヒド(14)	0.25	5.00	>5.00	>5.00	>5.00
2-アセチルフラン(15)	0	>5.00	2.50	5.00	5.00
フルフリルアルコール(16)	0	>5.00	5.00	>5.00	5.00
フェノール(18)	1.50	1.25	1.25	1.25	0.31
ピロカテコール(19)	1.88	0.31	1.25	1.25	0.31
o-クレゾール(20)	0.33	0.31	1.25	1.25	0.63
m-クレゾール(21)	0.33	0.31	0.31	0.63	0.63
p-クレゾール(22)	0.72	0.31	0.31	0.31	0.63
エチルフェノール(23) ^c	1.78 ^b	1.25	0.31	0.63	0.16
2,5-キシレノール(24)	0.04	1.25	1.25	1.25	1.25
2,6-キシレノール(25)	0.02	2.50	2.50	1.25	1.25
3,5-キシレノール(26) ^c	1.78 ^c	0.31	0.31	0.16	0.31
グアイアコール(27)	3.76	1.25	2.50	2.50	1.25
4-メチルグアイアコール(28)	2.60	1.25	1.25	1.25	1.25
4-エチルグアイアコール(29)	0.62	1.25	1.25	1.25	1.25
バニリン(30)	0.46	0.63	2.50	5.00	5.00
4-アセチルグアイアコール(31)	0.15	1.25	2.50	2.50	1.25
シリンゴール(32)	0	1.25	2.50	2.50	2.50
4-メチルシリンゴール(33)	0	1.25	1.25	1.25	1.25
シリンガアルデヒド(36)	0	1.25	2.50	2.50	2.50
シクロテン(39)	2.66	5.00	5.00	5.00	5.00
マルトール(40)	0.38	0.63	2.50	5.00	1.25

a) スギ辺材を600℃、炭化時間1時間で炭化して調製。

b) 酪酸とγ-ブチロラクトンはGC条件で分離できず、酪酸として含有量を定量。

c) エチルフェノールと3,5-キシレノールはGC条件で分離できず、エチルフェノールとして含有量を定量。

スギ材木酢液の構成成分として酢酸とメタノールの含有量は特に多いが、いずれの抗菌性も極めて弱く、木酢液抗菌活性への寄与は小さいと考えられる。また、アルコール類、ケトン類およびカルボン酸類のいずれも抗菌作用は弱かった。

次いで含有量が多いグアイアコール類およびフェノール類は強い抗菌作用を持ち、また青枯病菌と根腐萎凋病菌に対して他の2種の菌に比べて若干高い抗菌作用を持っていた。それらの抗菌活性の強さと豊富な含有量から、スギ材木酢液の抗菌活性に対するグアイアコール類およびフェノール類の寄与が大きいと考えられる。一方、フラン類やシクロテンの抗菌作用はグアイアコール類およびフェノール類に比べるとかなり弱い結果となった。マルトールは青枯病菌と根腐萎凋病菌に対する抗菌作用は強いが、トウガラシ疫病菌とメロン根腐萎凋病菌に対しては弱かった。シリンゴール類はグアイアコール類とほぼ同等の抗菌作用を持っていた。スギ材木酢液にはグアイアコール類しか存在しないが、広葉樹材木酢液およびタケ木酢液はグアイアコール類とシリンゴール類の両方を含み、しかもシリン

10

20

30

40

50

ゴール類の含有量の方が多い。広葉樹材木酢液およびタケ木酢液ではグアイアコール類とシリノール類の両者が抗菌活性に寄与すると推定できる。

【0050】

実施例9

スギ材メタノール抽出物 S - 2 50.0 g、スギ辺材木酢液 100 g、非イオン性界面活性剤としてプルロニック P - 85 (旭電化製) 100 g を混合した後、蒸留水で 1 dm³ に定容して、スギ辺材木酢液 - スギ材メタノール抽出物 S - 2 溶液を調製した。この溶液は褐色透明で均一であり、pH 2.9 を示す酸性溶液であった。

【0051】

スギ辺材木酢液 100 g の pH を 5 mol / l 水酸化ナトリウム水溶液で pH 6.0 に中和した後、スギ材メタノール抽出物 S - 2 50.0 g とプルロニック P - 85 100 g を混合し、蒸留水で稀釈後さらに 5 mol / l 水酸化ナトリウム水溶液で pH 6.0 に調整し、最終的に 1 dm³ に定容してスギ辺材木酢液 - スギ材メタノール抽出物 S - 2 溶液 (pH 6.0) を得た。

【0052】

実施例10

実施例9でプルロニック P - 85 100 g に代え、プルロニック P - 68 200 g を用いた以外は全く同様にスギ辺材木酢液 - スギ材メタノール抽出物 S - 2 溶液を調製した。この溶液は褐色透明で均一であり、pH 3.0 を示す酸性溶液であった。

【0053】

実施例11

スギ材メタノール抽出物 S - 2 10 g、スギ辺材木酢液 10 g、卵黄レシチン 40 g をスパーテルでよく混合した。褐色ペースト状物が得られた。ペースト状物 1.0 g を取り、蒸留水 100 cm³ を加えて超音波洗浄器で混合すると淡黄褐色の乳濁溶液が得られた。ただし、静置すると沈殿が生じるので、使用時に良く混合する必要がある。

【0054】

実施例12

スギ材メタノール抽出物 S - 2 1.0 g、スギ辺材木酢液 50 g を 5 mol / l 水酸化ナトリウム水溶液で pH 7.0 に中和した溶液およびオレイン酸ナトリウム 10 g を混合後、蒸留水で 500 cm³ に稀釈した。溶液は濁りがある淡褐色均一溶液となった。

【0055】

実施例13

スギ材メタノール抽出物 S - 2 0.2 g、カシ木酢液 10 g、非イオン性界面活性剤として Tween 60 10 g を混合した後、蒸留水で 100 cm³ に定容した。褐色均一溶液がえられた。

【0056】

実施例14

スギ材メタノール抽出物 S - 2 に代えて、スギ材トルエン - ヘキサン可溶物 S - 6 を用いた以外は、実施例9と同方法で、スギ辺材木酢液 - スギ材トルエン - ヘキサン可溶物 S - 6 溶液を調製した。溶液は黄土色の濁りのある均一溶液となった。

【0057】

実施例15

スギ材メタノール抽出物 S - 2 に代えて、スギ心材ヘキサン抽出物を用いた以外は、実施例9と同方法で、スギ辺材木酢液 - スギ心材ヘキサン抽出物溶液 (pH 2.9 および pH 6.0) を調製した。濁りのある黄褐色を呈する均一溶液となった。長期間静置すると2相に分離する場合が見られるが、振り混ぜると均一溶液に戻り、採取および稀釈に支障はない。

【0058】

実施例 16

スギ心材ヘキサソ抽出物 5.0 g、タケ木酢液 2.0 g、ブルロニック P-85 (旭電化) 20 g を混合して、黄褐色ペースト状物を得た。蒸留水で 1 dm³ に希釈すると濁りのある均一溶液となり、pH 4.8 を示した。

【0059】

実施例 17

スギ材メタノール抽出物 S-2 0.5 g およびスギ辺材木酢液 1.0 g をエタノール 5 cm³ に希釈し、褐色均一溶液を得た。同様に、エタノールに代えて、メタノール、イソプロパノール、アセトン、酢酸、プロピオン酸およびジメチルスルホキシド (DMSO) を用い、いずれも褐色均一溶液を得た。これらの溶液の pH は 2.5 - 3.2 の範囲を示した。メタノール、イソプロパノール、アセトン、およびジメチルスルホキシド (DMSO) に溶解する場合は、スギ辺材木酢液 1.0 g をあらかじめ 5 mol/l 水酸化ナトリウムで pH 7.0 に中和した溶液をスギ辺材木酢液に代えて使用すると、pH が約 7.0 を示す溶液も調製できた。

10

【0060】

実施例 18

スギ辺材木酢液 200 g、スギ材メタノール抽出物 S-2 100 g およびブルロニック P-85 200 g を実施例 9 と同じ方法で 1 dm³ に定容して、pH 2.7 と pH 6.0 の溶液を得た。また、スギ材メタノール抽出物 S-2 100 g に代えてスギ材ヘキサソ抽出物 100 g を使用して、pH 2.7 と pH 6.0 の溶液を得た。

20

【0061】

実施例 19

実施例 9 で調製したスギ辺材木酢液 - スギ材メタノール抽出物 S-2 溶液 (pH 6.0) を蒸留水で所定濃度に希釈し、ポテトスクロース寒天 (PSA) 培地に添加して試験培地を調製した。これにトマト青枯病菌 (*Ralstonia solanacearum* 8224 株) を植菌して 30 で 7 日間静置培養し、コロニー形成が見られない最低濃度を MIC とした。

【0062】

スギ辺材木酢液 - スギ材メタノール抽出物 S-2 溶液 (pH 6.0) の 78 倍希釈濃度が MIC であった。スギ辺材木酢液 - スギ材メタノール抽出物 S-2 溶液 (pH 6.0) を 78 倍希釈した時の試験培地中の試料濃度は、スギ材メタノール抽出物 S-2 0.63 mg cm⁻³ およびスギ辺材木酢液 1.25 mg cm⁻³ である。すなわち、スギ辺材木酢液 - スギ材メタノール抽出物 S-2 溶液 (pH 6.0) 250 cm³ を栽培使用時に水で 20 dm³ になるように希釈すると、トマト青枯病菌に対する MIC となるスギ辺材木酢液 - スギ材メタノール抽出物 S-2 溶液 (pH 6.0) の希釈溶液が調製できる。この溶液は淡褐色の濁りのある溶液になる。長時間置くと若干褐色油状沈殿が底に生じるので、用時に希釈使用が望ましい。同条件で、スギ材メタノール抽出物 S-2 およびスギ辺材木酢液をそれぞれ単独で使用した場合の MIC は、それぞれ 5.0 mg cm⁻³ および 10.0 mg cm⁻³ であった。両者を組み合わせたスギ辺材木酢液 - スギ材メタノール抽出物 S-2 溶液 (pH 6.0) で抗菌活性が強くなった。

30

40

【0063】

実施例 20

トマト青枯病 (*Ralstonia solanacearum*) の複数の菌株に対する実施例 9 で調製したスギ辺材木酢液 - スギ材メタノール抽出物 S-2 溶液 (pH 6.0) の抗菌活性の変動を調べた。トマト青枯病菌として 8224、AA6001、AA6006、AA9007 および Ku7502-1 の 5 菌株を用いた。供試菌株のトマトに対する病原性試験を茎部に針で菌接種する方法で行い、接種後の経過観察で病原性の強さを判定した (表 10)。

50

【 0 0 6 4 】

【 表 1 0 】

表 10 トマトに対する青枯病菌株の病原性試験^a

供試菌株	トマトへの病原性		
	Run 1	Run 2	Run 3
<i>Ralstonia solanacearum</i> AA6001	+++ ^b	+++	+++
<i>R. solanacearum</i> 8224	++ ^c	++	++
<i>R. solanacearum</i> AA6006	- ^d	± ^e	-
<i>R. solanacearum</i> AA9007	-	±	-
<i>R. solanacearum</i> Ku7502-1	-	-	±

a) 病徴はいずれも接種後 7-14 日間観察により判定.

b) 接種部分の上下が萎凋枯死.

c) 接種部分の上位部が萎凋枯死.

d) 病原性なし.

e) 上位葉にわずかな萎凋が認められる.

10

AA6001 が最も病原性が強く、次いで 8224 株となった。他の菌株の病原性はこれらより低かった。

【 0 0 6 5 】

スギ辺材木酢液 - スギ材メタノール抽出物 S - 2 溶液 (pH 6 . 0) の試料濃度はスギ材メタノール抽出物 S - 2 50 mg cm⁻³ およびスギ辺材木酢液 100 mg cm⁻³ である。酵母エキス - ペプトン寒天培地 (YPA ; 酵母エキス 5 g、ペプトン 10 g、グルコース 5 g、NaCl 5 g および寒天 15 g を水 1 dm³ に溶解調製、pH 7 . 0)、Heart Infusion Agar (HIA) (DIFCO)、および PSA の 3 種類の培地を用いて、連続 2 倍希釈法により MIC を決定した。

20

【 0 0 6 6 】

表 1 1 にトマト青枯病菌に対する最小発育阻止濃度 (MIC) をスギ辺材木酢液 - スギ材メタノール抽出物 S - 2 溶液 (pH 6 . 0) の培地への添加濃度で示す。

【 0 0 6 7 】

【 表 1 1 】

表 11 連続 2 倍希釈法によるスギ辺材木酢液 - スギ材メタノール抽出物 S-2 溶液 (pH 6.0) のトマト青枯病菌 (*R. solanacearum*) に対する最小発育阻止濃度^a

菌株	培地	スギ辺材木酢液 - スギ材メタノール抽出物 S-2 溶液 (pH 6.0) の培地添加濃度						対照
		1/20	1/40	1/80	1/160 ^c	1/320	1/640	
AA6001	YPA, HIA, PSA	- ^b	-	-	-	+ ^b	+	+
8224	YPA, HIA, PSA	-	-	-	-	+	+	+
AA6006	YPA, HIA, PSA	-	-	-	-	+	+	+
AA9007	YPA, HIA, PSA	-	-	-	-	+	+	+
Ku7502-1	YPA, HIA, PSA	-	-	-	-	+	+	+

a) 培地として YPA, HIA および PSA を使用した 5 回の実験結果.

b) - はコロニー形成が見られず, + はコロニー形成が観察された.

c) スギ辺材木酢液 - スギ材メタノール抽出物 S-2 溶液 (pH 6.0) を 1/160 濃度添加したときの試料濃度 (mg cm⁻³) : スギ辺材木酢液 0.63 及び S-2 0.31.

40

いずれの菌株に対しても、スギ辺材木酢液 - スギ材メタノール抽出物 S - 2 溶液 (pH 6 . 0) を 1 / 160 濃度添加した場合が MIC となった。YPA、HIA および PSA のいずれの培地を用いた場合も、A 液の MIC は同一濃度となった。しかし、YPA および PSA を用いた試験培地では時折生育にばらつきが生じ、HIA が最も安定した生育状態を示した。

【 0 0 6 8 】

50

更に詳しく M I C を決定するため、スギ辺材木酢液 - スギ材メタノール抽出物 S - 2 溶液 (p H 6 . 0) の添加濃度を細かく変化させてトマト青枯病菌に対する抗菌試験を行った (表 1 2) 。

【 0 0 6 9 】

【 表 1 2 】

表 12 スギ辺材木酢液 - スギ材メタノール抽出物 S-2 溶液 (pH 6.0) のトマト青枯病菌 (*R. solanacearum*) に対する HIA 培地での最小発育阻止濃度の決定^a

菌株	スギ辺材木酢液 - スギ材メタノール抽出物 S-2 溶液 (pH 6.0) の培地添加濃度										
	1/100	1/120 ^c	1/140	1/160	1/180	1/200	1/220	1/240	1/260	1/280	1/300
AA6001	- ^b	-	-	+ ^b	+	+	+	+	+	+	+
8224	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
AA6006	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
AA9007	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
Ku7502-1	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+

10

a) HIA 培地を用いた 4 回の実験結果。

b) - はコロニー形成が見られず, + はコロニー形成が観察された。

c) スギ辺材木酢液 - スギ材メタノール抽出物 S-2 溶液 (pH 6.0) を 1/120 濃度添加したときの試料濃度 (mg cm⁻³): 木酢液 0.83 及び S-2 0.41。

菌株によって M I C に多少差がみられたが、スギ辺材木酢液 - スギ材メタノール抽出物 S - 2 溶液 (p H 6 . 0) を 1 / 1 2 0 濃度添加したときが M I C となることがわかった。このときの試料濃度は、スギ辺材木酢液 0 . 8 3 m g c m ^{- 3} およびスギ材メタノール抽出物 S - 2 0 . 4 1 m g c m ^{- 3} である。詳しい検討により、実施例 1 8 の予備試験結果より、若干スギ辺材木酢液 - スギ材メタノール抽出物 S - 2 溶液 (p H 6 . 0) の青枯病菌への抗菌作用は強い結果となった。

20

【 0 0 7 0 】

実施例 2 1

水耕養液栽培で一般的に用いられている大塚 A 処方培養液を試験に用いた。すなわち、大塚化学 (株) 製の 大塚ハウス 1 号 (含有成分: 窒素全量 1 0 . 0 %、リン酸 8 . 0 %、加里 2 4 %、苦土 5 %、マンガン 0 . 1 %、ホウ素 0 . 1 %、鉄 0 . 1 8 %) 1 . 5 g と大塚ハウス 2 号 (含有成分: 硝酸性窒素 1 1 . 0 %、石灰 2 3 . 0 %) 1 . 0 g を水 1 リットルに溶解して大塚 A 処方培養液とした。大塚 A 処方培養液に青枯病菌を接種した状態で生菌数をコロニー計数する方法で、実施例 9 で調製したスギ辺材木酢液 - スギ材メタノール抽出物 S - 2 溶液 (p H 2 . 9) の殺菌効果を判定する試験をした。前培養した青枯病菌を初濃度 1 0 ⁶ C F U c m ^{- 3} となるように大塚 A 処方培養液に加え、振盪培養した。2 4、4 8 および 7 2 時間後に溶液を採取し、固体培地に接種して静置培養しコロニー数を計測して生菌数を求めた。スギ辺材木酢液 - スギ材メタノール抽出物 S - 2 溶液 (p H 2 . 9) を 1 / 1 0 0 濃度添加した大塚 A 処方培養液に青枯病菌を接種し、同様に生菌数を調べて比較した。結果を表 1 3 に示す。

30

【 0 0 7 1 】

【 表 1 3 】

表 13 スギ辺材木酢液 - スギ材メタノール抽出物 S-2 溶液 (pH 2.9) を 1/100 濃度添加した大塚 A 処方培養液中での青枯病菌の増殖

スギ辺材木酢液 - スギ材メタノール抽出物 S-2 溶液 (pH 2.9)	青枯病菌の生菌数 (CFU cm ⁻³)			
	0 h	24 h	48 h	72 h
添加 ^{a)}	6×10 ⁶	0	0	0
無添加	3×10 ⁶	1.9×10 ⁷	7×10 ⁸	5×10 ⁸

a) 培養液への添加時の濃度 (mg cm⁻³): スギ辺材木酢液 1.0 及びメタノール抽出物 S-2 溶液 0.5。

40

大塚 A 処方培養液中で青枯病菌は 3 × 1 0 ⁶ C F U c m ^{- 3} から 4 8 時間後に 7 × 1 0 ⁸ C F U c m ^{- 3} まで増殖した。一方、スギ辺材木酢液 - スギ材メタノール抽出物

50

S-2 溶液 (pH 2.9) を 1/100 濃度添加した大塚 A 処方培養液に青枯病菌を接種した場合は時間経過しても生菌数は 0 となり、青枯病菌の増殖が起こらず殺菌的に働いたことがわかった。

【0072】

実施例 22

実施例 21 の水耕栽培で使用する大塚 A 処方培養液に実施例 9 で調製したスギ辺材木酢液 - スギ材メタノール抽出物 S-2 溶液 (pH 2.9) を 1/100 濃度で添加するとトマト青枯病菌の増殖を完全に抑制することが明らかとなった。そこでさらに、スギ辺材木酢液 - スギ材メタノール抽出物 S-2 溶液 (pH 2.9) を水耕栽培で使用することを前提に、培養液に植物を植えた条件下での抗菌効果を調べることにした。

【0073】

25 のファイトトロンに設置した水耕栽培装置 (ホームハイポニカ 401、協和 (株)) にパプリカを定植し、30 日後 (生育前期)、70 日後 (生育中期)、120 日後 (生育後期) に培養液を分取し、濾過滅菌後、供試した。なお、実験期間中、パプリカの培養液中における根の張りもよく、生育は旺盛であった。根の影響を詳細に検討するため、4 つの試験区を設け、トマト青枯病菌 AA6001 株の菌濃度が約 10^7 cfu/ml になるように加え、30 日 で振とう培養後、24 時間毎に 72 時間まで菌数を調べた。その結果を表 14 に示す。

【0074】

【表 14】

表 14 スギ辺材木酢液-スギ材メタノール抽出物 S-2 溶液 (pH 2.9) のトマト青枯病菌に対する抗菌作用に及ぼす水耕栽培で栽培中のパプリカの根の影響

(定植 30 日後)

実験区 ^a	菌数 cfu/ml			
	0 時間	24 時間	48 時間	72 時間
I	3.0×10^7	3.1×10^7	3.7×10^7	9.7×10^7
II	3.0×10^7	4.7×10^8	2.7×10^9	6.4×10^9
III	0	0	0	0
IV	0	0	0	0

(定植 70 日後)

実験区 ^a	菌数 cfu/ml			
	0 時間	24 時間	48 時間	72 時間
I	1.7×10^8	2.8×10^8	3.1×10^8	6.4×10^8
II	8.0×10^7	2.0×10^8	2.1×10^8	4.2×10^8
III	0	0	0	0
IV	0	0	0	0

(定植 120 日後)

実験区 ^a	菌数 cfu/ml			
	0 時間	24 時間	48 時間	72 時間
I	6.7×10^7	7.8×10^7	8.6×10^7	1.0×10^8
II	9.2×10^7	1.1×10^8	1.4×10^8	3.1×10^8
III	0	0	0	0
IV	0	0	0	0

a)

I : 大塚 A 処方培養液

II : パプリカを生育させた大塚 A 処方培養液

III : 大塚 A 処方培養液 + スギ辺材木酢液 - スギ材メタノール抽出物 S-2 溶液 (濃度 1/100)

IV : パプリカを生育させた大塚 A 処方培養液 + スギ辺材木酢液 - スギ材メタノール抽出物 S-2 溶液 (濃度 1/100)

大塚 A 処方培養液およびパプリカを生育させた大塚 A 処方培養液では青枯病菌は増殖していたが、それらにスギ辺材木酢液 - スギ材メタノール抽出物 S-2 溶液 (pH 2.9) を 1/100 濃度で添加した場合はトマト青枯病菌の増殖を完全に抑えており、パプリカ

10

20

30

40

50

を栽培したことによる根の影響は定植30、70、120日後でも認められなかった。

【0075】

実施例23

スギ辺材木酢液に代え、実施例14で調製したスギ辺材木酢液 - スギ心材ヘキササン抽出物溶液 (pH 6.0) または実施例9で調製したスギ辺材木酢液 - スギ材メタノール抽出物 S-2 溶液 (pH 6.0 および pH 2.9) を使用した以外は、実施例7と同様の方法で植物病原性菌に対する抗菌試験を行った。結果を表15に示す。

【0076】

【表15】

表 15 スギ辺材木酢液-スギ心材ヘキササン抽出物溶液とスギ辺材木酢液-スギ材メタノール抽出物 S-2 溶液の植物病原性菌に対する抗菌作用

10

病原菌	スギ辺材木酢液-スギ心材ヘキササン抽出物溶液 (pH 6.0)			スギ辺材木酢液-スギ材メタノール抽出物 S-2 溶液 (pH 6.0)			スギ辺材木酢液-スギ材メタノール抽出物 S-2 溶液 (pH 2.9)		
	MICでの溶液希釈倍率/倍	MICでの成分組成/mg cm ⁻³		MICでの溶液希釈倍率/倍	MICでの成分組成/mg cm ⁻³		MICでの溶液希釈倍率/倍	MICでの成分組成/mg cm ⁻³	
		木酢液	ヘキササン抽出物		木酢液	S-2		木酢液	S-2
トマト青枯病菌	80	1.25	0.63	20	5.00	2.50	25	2.50	2.50
トウモロコシ疫病菌	40	2.50	1.25	>5	>20.0	>10.0	10	10.0	5.00
トマト萎凋病菌	20	5.00	2.50	10	10.0	5.00	20	5.00	2.50
トマト根腐萎凋病菌	10	10.0	5.00	10	10.0	5.00	20	5.00	2.50

20

実施例24

実施例9で調製したスギ辺材木酢液 - スギ材メタノール抽出物 S-2 溶液 (pH 2.9) の利用に関する基礎データ収集のため、葉菜類の葉面処理をした場合の葉菜類生育への影響と障害発生について水耕栽培試験により検討した。試験は次の条件で行った。

【0077】

1 試料溶液

スギ辺材木酢液 - スギ材メタノール抽出物 S-2 溶液 (pH 2.9)

30

2 耕種概要

供試品目：リーフレタス、サラダナ、結球レタス

培養液管理：EC 育苗期 1.2 - 1.5 dS/m、定植後 1.8 - 2.0 dS/m (NFT耕) ; 大塚A処方 80%濃度; pHは全期間 5.5 - 6.5に管理

炭酸ガス濃度：350 ppm

試験区：昼 28 - 夜 20 および 昼 25 - 夜 15

播種：H12年5月12日、定植 H12年5月26日

3 散布処理

散布時期：本葉 4 - 5 枚展開時 (H12年6月5日の夕方)

40

散布濃度：試験溶液の希釈率 100倍 (pH 5.09)、1000倍 (pH 5.16)、2000倍 (pH 5.23) および無処理

散布量：1株あたり 3 - 5 cm³

4 調査項目

調査株数：5株/区 反復無し

生育調査：生体重、葉数、葉長・葉幅 (最大葉)

障害株調査：健全 (0)、微 (1) ; 障害葉が全体の 5%以下、軽 (2) ; 障害葉が全体の 5 - 10% 中 (3) ; 障害葉が全体の 10 - 30%、甚 (4) ; 障害葉が全体の 30%以上、として指数評価する。

【0078】

50

試験結果を表 16 に示す。

【 0 0 7 9 】

【 表 1 6 】

表 16 スギ辺材木酢液-スギ材メタノール抽出物 S-2 溶液 (pH 2.9) の稀釈液葉面散布が葉菜類の生育に及ぼす影響

リーフレタス

処理区	生体重/g	葉数/枚	最大葉/cm		障害発生
			葉長	葉幅	
28-20℃					
100 倍	45.1±1.94	14.8±1.26	20.4±1.38	19.8±4.57	0.5
1000 倍	48.4±9.51	14.6±1.52	22.2±0.90	18.9±2.65	0
2000 倍	43.2±4.05	14.6±0.89	22.5±1.01	17.5±0.95	0
無処理	57.5±6.42	16.4±0.55	21.6±1.40	18.5±0.58	0
25-15℃					
100 倍	40.6±4.92	14.2±2.22	18.6±0.91	16.5±1.08	0.5
1000 倍	37.2±5.86	13.8±1.30	18.3±1.92	15.4±0.88	0
2000 倍	41.2±4.08	15.4±2.07	19.5±2.07	16.4±1.45	0
無処理	45.6±4.72	15.8±0.84	18.1±1.17	17.3±1.02	0

10

サラダナ

処理区	生体重/g	葉数/枚	最大葉/cm		障害発生
			葉長	葉幅	
28-20℃					
100 倍	47.7±10.45	25.6±1.82	18.3±0.35	11.9±1.24	0.2
1000 倍	57.5± 8.18	26.8±1.30	18.5±1.23	12.7±1.05	0
2000 倍	71.9±11.04	29.2±3.70	18.5±0.80	12.7±0.55	0
無処理	74.1± 9.03	28.4±3.13	19.0±0.11	14.1±0.43	0
25-15℃					
100 倍	63.5± 9.73	26.4±1.14	16.7±0.53	11.7±1.13	0.2
1000 倍	69.6±11.84	29.4±2.07	17.1±0.51	12.4±1.22	0
2000 倍	76.3±12.17	31.4±2.79	18.7±0.16	12.6±0.51	0
無処理	76.4±17.68	30.6±3.21	17.5±0.48	12.8±1.53	0

20

結球レタス

処理区	生体重/g	葉数/枚	最大葉/cm		障害発生
			葉長	葉幅	
28-20℃					
100 倍	55.3±3.03	18.6±1.52	17.3±0.97	16.8±0.56	0.4
1000 倍	70.9±10.19	19.6±1.14	17.6±0.33	16.9±1.40	0.2
2000 倍	73.2±16.31	21.2±1.79	18.6±1.47	18.0±1.97	0
無処理	97.4±7.52	21.4±1.95	19.7±1.29	20.1±0.92	0
25-15℃					
100 倍	55.2±5.15	16.2±1.30	17.8±0.79	17.8±0.55	0
1000 倍	62.1±5.02	18.8±0.84	17.4±0.57	17.9±0.97	0
2000 倍	70.8±7.42	21.0±0.71	17.9±0.36	17.9±0.38	0
無処理	65.5±5.65	19.6±1.14	17.7±0.34	17.6±0.63	0

30

40

1000 倍稀釈で軽度の障害発生と生育抑制が見られるが、10000 倍稀釈以上では、散布による影響はほとんど無いと判断された。

【 0 0 8 0 】

実施例 2 5

実施例 1 4 で調製したスギ辺材木酢液 - スギ心材ヘキサソ抽出物溶液 (pH 2.9) のキュウリ各種地上部病害 (べと病、うどんこ病) に対する防除効果を検討するため、次のような試験を行った。

50

【 0 0 8 1 】

1 試料溶液

試験液 A : 実施例 1 5 で調製したスギ辺材木酢液 - スギ心材ヘキサソ抽出物溶液 (p H 2 . 9)

2 耕種概要 (品種・施肥・一般管理)

品種 : シャープ 1 (2 本仕立、台木 : 光パワーゴールド)

定植 : 平成 1 3 年 1 0 月 2 日

施肥その他一般管理は併行に準じた。

3 区制・面積

ビニールハウス内

1 区 3 m² (4 株 8 側枝) 3 反復

4 散布方法

平成 1 3 年 1 1 月 6 日、 1 1 月 1 3 日および 1 1 月 2 0 日の計 3 回散布した。散布には肩掛け噴霧器を用い、 1 0 アール当たり 3 0 0 リットルを散布した。

5 調査月日・方法

調査は、散布開始時 (1 1 月 6 日) 、第 2 回散布時 (1 1 月 1 3 日) 最終散布時 (1 1 月 2 0 日) 、最終散布 1 週間後 (1 1 月 2 7 日) 、最終散布 1 7 日後 (1 2 月 7 日) に行った。散布開始時、第 2 回散布時は上位 3 葉を除くすべての葉、最終散布前、最終散布 1 週間後、最終散布 1 7 日後については上位 1 0 葉を、下記の調査基準により発病程度別に調査し、発病葉率、発病度を算出した。

調査基準 (うどんこ病、べと病)

- 0 : 病斑を認めない
- 1 : 葉にわずかに病斑を認める
- 2 : 葉面の約 1 / 2 に病斑を認める
- 3 : 葉面の約 3 / 4 に病斑を認める
- 4 : 葉のほぼ全面に病斑を認める

発病度 = { (指数 × 発病程度別葉数) / (調査葉数 × 4) } × 1 0 0

表 1 7 に (A) べと病に対する試験結果、表 1 8 に (B) うどんこ病に対する試験結果、表 1 9 に (C) うどんこ病に対する防除価の推移を示す。散布時の p H については 3 0 0 倍希釈で 5 . 0、 5 0 0 倍希釈で 5 . 8 であった。

【 表 1 7 】

10

20

30

表 17 キュウリベと病およびうどんこ病に対するスギ辺材木酢液-スギ心材ヘキサ抽出物溶液 (pH

2.9) (試験液 A) の防除効果

(A) ベと病に対する試験結果

供試薬剤	希釈倍率/倍	区制	11月6日			11月20日			11月27日			12月7日			防除価
			葉数/枚	発病率/%	発病度	葉数/枚	発病率/%	発病度	葉数/枚	発病率/%	発病度	葉数/枚	発病率/%	発病度	
試験液 A	300	I 区	35	8.6	2.1	80	2.5	0.6	80	3.8	1.3	80	3.8	1.3	62.3(65.2)
		II 区	35	5.7	1.4	80	11.3	2.8	80	11.3	2.8	80	11.3	2.8	
		III 区	31	9.7	3.2	80	10.5	3.9	80	10.0	3.8	80	10.0	3.8	
		平均	34	7.9	2.2	80	8.1	2.4	80	8.3	2.6	80	8.3	2.6	
	500	I 区	37	5.4	1.4	80	11.3	3.4	80	11.5	3.8	80	11.5	3.8	52.1(55.1)
		II 区	36	5.6	2.1	80	13.8	4.1	80	13.8	4.1	80	13.8	4.5	
		III 区	29	6.9	2.6	80	6.3	1.9	80	7.5	2.2	80	7.5	2.2	
		平均	32	5.9	2.0	80	10.4	3.1	80	10.8	3.3	80	10.8	3.4	
ダエール 1000	1000	I 区	34	5.9	1.5	80	13.8	3.7	80	3.8	13.8	80	13.8	3.8	39.1(39.1)
		II 区	34	5.9	2.2	80	8.8	2.5	80	8.8	2.5	80	8.8	2.5	
		III 区	33	12.1	3.8	80	20.0	6.3	80	20.0	6.3	80	20.0	6.3	
		平均	34	7.9	2.5	80	14.1	4.2	80	14.1	4.2	80	14.1	4.2	
水		I 区	37	8.1	2.7	80	31.3	13.8	80	33.8	15.3	80	33.8	15.6	0(0)
		II 区	34	5.9	1.5	80	18.8	6.3	80	23.8	7.8	80	23.8	7.8	
		III 区	34	5.9	1.5	80	11.3	3.4	80	12.5	3.8	80	12.5	3.8	
		平均	35	6.7	1.9	80	20.4	7.8	80	23.3	9.0	80	23.3	9.1	
無処理区		I 区	36	5.6	2.1	80	18.8	7.5	80	20.0	8.1	80	20.0	8.1	
		II 区	34	5.9	2.2	80	21.3	6.3	80	21.3	6.9	80	21.3	7.3	
		III 区	20	0	0	64	17.2	7.0	80	13.8	5.6	80	13.8	5.6	
		平均	30	1.4	1.7	75	19.2	6.9	80	18.3	6.9	80	18.3	7.0	

注) 防除価は、最終散布 1 週間後の調査および最終散布時 (括弧書き) の発病率より算出した。

10

20

【表 18】

表 18 キュウリベと病およびうどんこ病に対するスギ辺材木酢液-スギ心材ヘキサ抽出物溶液 (pH

2.9) (試験液 A) の防除効果

(B) うどんこ病に対する試験結果

供試薬剤	希釈倍率/倍	区制	11月6日			11月13日			11月20日			11月27日			12月7日		
			葉数/枚	発病率/%	発病度	葉数/枚	発病率/%	発病度	葉数/枚	発病率/%	発病度	葉数/枚	発病率/%	発病度	葉数/枚	発病率/%	発病度
試験液 A	300	I 区	35	0	0	70	0	0	80	3.8	0.9	80	92.5	37.8	80	100	93.4
		II 区	35	0	0	61	0	0	80	6.3	1.6	80	73.8	28.1	80	100	90.3
		III 区	31	0	0	58	0	0	80	10.5	3.6	80	60.0	22.8	80	100	87.1
		平均	34	0	0	63	0	0	80	6.7	2.0	80	75.4	29.6	80	100	90.3
試験液 A	500	I 区	37	0	0	71	0	0	80	7.5	1.9	80	83.8	40.9	80	100	95.3
		II 区	36	0	0	69	0	0	80	8.8	2.2	80	78.8	33.8	80	100	90.3
		III 区	29	0	0	55	0	0	80	12.5	3.1	80	60.0	22.2	80	100	85.9
		平均	34	0	0	65	0	0	80	9.6	2.4	80	74.2	32.3	80	100	90.5
ダエール 1000	1000	I 区	34	0	0	75	0	0	80	5.0	1.3	80	63.7	26.6	80	82.5	51.3
		II 区	34	0	0	62	0	0	80	2.5	0.6	80	72.5	36.6	80	87.5	72.8
		III 区	33	0	0	59	0	0	80	2.5	0.6	80	36.3	11.9	80	81.3	62.8
		平均	34	0	0	65	0	0	80	3.3	0.8	80	57.5	25.0	80	83.8	62.2
水		I 区	37	0	0	74	4.1	1.0	80	33.8	12.8	80	87.5	65.6	80	100	96.3
		II 区	34	0	0	68	4.4	1.1	80	28.8	10.3	80	98.8	75.3	80	100	99.4
		III 区	34	0	0	66	0	0	80	30.0	9.7	80	96.3	76.6	80	100	92.5
		平均	35	0	0	69	2.9	0.7	80	30.8	10.9	80	94.2	72.5	80	100	96.0
無処理区		I 区	36	0	0	74	1.4	0.3	80	32.5	11.8	80	92.5	69.4	80	100	95.3
		II 区	34	0	0	70	12.9	3.2	80	40.0	20.6	80	97.5	74.4	80	100	95.7
		III 区	20	0	0	37	0	0	64	29.7	9.8	80	66.3	45.0	80	100	90.0
		平均	30	0	0	60	5.5	1.4	77	34.4	14.4	80	85.4	62.9	80	100	95.0

30

40

50

【表 19】

表 19 キュウリべと病およびうどんこ病に対するスギ辺材木酢液－スギ心材ヘキサノ抽出物溶液 (pH

2.9) (試験液 A) の防除効果

(C) キュウリうどんこ病に対する防除価の推移

供試薬剤	稀釈率/倍	11月20日	11月27日	12月7日
試験液 A	300	86.1	52.9	4.9
試験液 A	500	83.3	48.6	4.6
ダコニール 1000	1000	94.4	60.3	34.5
水		24.3	0	0

注) 防除価 = $\{(\text{無処理区の発病度} - \text{各区の発病度}) / \text{無処理区の発病度}\} \times 100$

10

べと病に対しては、試験液 A の 300 倍および 500 倍稀釈液での処理が対照のダコニール 1000 と比較して優れた防除効果を示した。うどんこ病に対しては調査開始時に各区とも発生が見られなかったが、第 2 回調査時に水区および無処理区においてうどんこ病の発生が見られた。試験液 A の 300 倍処理区、500 倍処理区とも最終散布時で発生が見られた。最終散布 1 週間後の調査で徐々に進展していき、最終散布 17 日後の調査においてはすべての調査葉で発病する甚発生であった。うどんこ病に対しては、発生前からの散布でダコニール 1000 と同等の試験液 A の防除効果が認められる。しかし、残効性については今回の試験では 1 ~ 2 週間ではないかと考えられる。なお、今回の調査では試験液 A による薬害らしき症状は全く見あたらなかった。

20

【0082】

【発明の効果】

木酢液とスギの抽出物とを含有する本発明の農園芸用抗菌溶液は、木酢液とスギの抽出物をそれぞれ単独で用いた農園芸用抗菌溶液よりも抗菌作用が強くなるので、植物の病害防除用として非常に有用である。

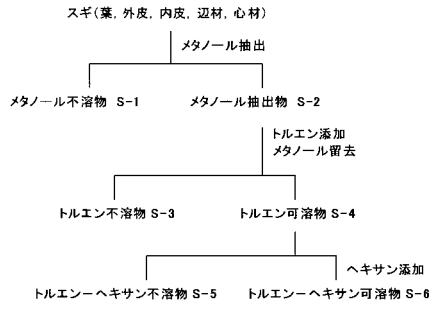
【図面の簡単な説明】

【図 1】スギの溶媒抽出分画方法を示す説明図である。

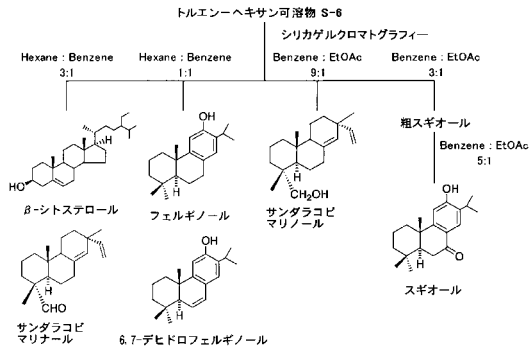
【図 2】スギの樹脂成分の分離方法を示す説明図である。

30

【 図 1 】



【 図 2 】



フロントページの続き

(72)発明者 牟田 信次

福岡県福岡市南区塩原二丁目1番47号 九州電力株式会社内

Fターム(参考) 4H011 AA01 BA01 BA06 BB03 BB05 BB06 BB18 BB22 BC07 DA13

DF06