

## 蚕室蚕具消毒剤としてのV-118剤 の効果ならびに蚕への影響

鈴木繁実・及川英雄

ホルマリンの蚕室蚕具消毒剤としての使用は、1905年前後と考えられている<sup>1)</sup>。以来今日まで使用されてきているが、ホルマリンは強い刺激臭があり、作業上大きな苦痛となっている。また累年大量に使用されてきたため、県内においてもホルマリン抵抗性こうじかび病菌が出現し、消毒効果の低下が指摘されてきている。<sup>2)</sup>

このような背景からホルマリンに代る新しい蚕室蚕具消毒剤の開発が切望されてきた。

そこで、この度開発されたV-118剤の蚕室蚕具消毒剤として効果ならびに蚕への影響等について検討したので、その概要を報告する。

なお、本試験は1976年度全国蚕業試験場運営協議会の依頼試験<sup>3)</sup>として行なったものである。

### 1. 材料および方法

#### (1) 供試薬剤

V-118剤（東北共同化学工業KK製）を供試した。その組成はジクロール酢酸および近縁化合物を30%含有し、pH 2.62～2.22の無色透明の液体で、弱い刺激臭がある。

対照薬剤としてホルマリンを使用した。

#### (2) 供試病原

糸状菌は県内の稚蚕共同飼育所のじんあいから分離したこうじかび病菌と、発病蚕から分離した*Beauveria bassiana*菌、緑きょう病菌および黒きょう病菌を用いた。なお対照菌として農林省蚕糸試験場硬化病研究室から分与されたこうじかび病菌（S-85号株）および*B. bassiana*菌（32号株）を用いた。

ウイルスは養蚕農家で発病した蚕から部分精製した核多角体病ウイルス（以下NPVとする）と農林省蚕糸試験場ウイルス病研究室から分与されたウイルス性軟化病ウイルス（以下FVとする）である。

なお、詳細な試験方法についてはそれぞれの試験結果の項目の中で説明することとする。

### 2. 結果および考察

#### I 病原糸状菌に対する殺菌試験

##### (1) 供試菌の選択試験

供試薬剤V-118剤に対して最も抵抗性の強い菌株を最低阻止濃度法によって選択し、以下の試験に用いた。すなわち県内の稚蚕共同飼育所のじんあいから分離したこうじかび病菌15菌株と養蚕農家の発病蚕から分離した*B. bassiana*菌2菌株を、V-118剤添加ツアペック寒天培地で30℃10日間培養し生育程度から各菌株の最低生育阻止濃度（MIC）を調査した（第1表）。

こうじかび病菌はV-118剤濃度0.05%ではいずれも発育が認められたが、0.1%では僅かに発育の認められたものが4菌株で、他は発育が認められず、また0.2%以上の高濃度区では、全ての菌株は発育しなかった。

第1表 V-118剤添加ツアベック寒天培地におけるこうじかび病菌、  
*B.bassiana* 菌の生育

供試菌	菌株No.	V-118剤添加濃度						
		0.05%	0.1%	0.2%	0.3%	0.5%	1.0%	無添加
こうじかび病菌	1	++	-	-	-	-	-	++
	3	++	-	-	-	-	-	++
	26	++	-	-	-	-	-	++
	42	++	-	-	-	-	-	++
	48	++	±	-	-	-	-	++
	52	++	-	-	-	-	-	++
	64	++	-	-	-	-	-	++
	66	++	-	-	-	-	-	++
	108	++	-	-	-	-	-	++
	140	++	±	-	-	-	-	++
	511	+	-	-	-	-	-	++
	512	++	±	-	-	-	-	++
	513	++	±	-	-	-	-	++
	514	++	-	-	-	-	-	++
	515	+	-	-	-	-	-	++
	*S-85	++	-	-	-	-	-	++
<i>B.bassiana</i> 菌	B-1	+	-	-	-	-	-	+
	B-2	±	-	-	-	-	-	+
	* 32	±	-	-	-	-	-	+

備考) - : 発育なし、 ± : 僅かに発育

+ ~ ++ : + の数に比例して発育がよいことを示す

\* : 対照菌株

*B.bassiana* 菌は 0.05 % でも発育が悪く、 0.1 % では発育しなかった。この結果から V-118 剤に対して最も抵抗性の強い菌株として、こうじかび病菌 140 号株および、 *B.bassiana* 菌 B-1 株を選択し、以下の試験に供試した。

## (2) 分生胞子浸漬殺菌試験

V-118 剤のこうじかび病菌、 *B.bassiana* 菌の分生胞子殺菌効果を調べた。

Tween-40 の 0.05 % 添加滅菌水に分生胞子を入れ、 ホモジナイザーで攪拌した胞子懸濁液 (クリーン) と、 同液にエビオス粉末 2 % を含む胞子懸濁液 (アンクリーン) をつくった。

各々の液に径 6 mm の円形濾紙を入れ、 胞子を吸着させた後とりだして陰乾した。この胞子吸着濾紙を所定濃度の薬液に一定時間浸漬した後、 蚕蛹煎汁寒天培地に置床し、 30℃・10日間培養し、 菌の生育の有無により殺菌効果を検討した (第2表)。

こうじかび病菌に対して、 クリーン条件下では V-118 剤の 30 倍・10 分以上で完全に殺菌し、 40 倍でも 20 分以上で殺菌した。アンクリーン条件下では 20 倍・10 分以上、 30 倍・40 倍の 20 分以上で殺菌効果がみられた。

*B.bassiana* 菌に対して、 V-118 剤は 40 倍・10 分以上で完全に発芽発育を抑えた。また同様に *B.bassiana* 菌 (B-3 号株)、 緑きょう病菌および黒きょう病菌の分生胞子に対する殺菌効果を検討した (第3表)。

第2表 分生胞子浸漬殺菌試験(その1)

条件	供試菌	処理時間	供試薬剤・濃度				
			V-118剤			ホルマリン 3%	水
			20倍	30倍	40倍		
クリーン	こうじかび病菌 140	10分	- - -	- - -	- - -	# # #	# # #
		20	- - -	- - -	- - -	# # #	# # #
		30	- - -	- - -	- - -	# # #	# # #
		60	- - -	- - -	- - -	# # #	# # #
	こうじかび病菌 S-85	10	- - -	- - -	+	# # #	# # #
		20	- - -	- - -	- - -	# # #	# # #
		30	- - -	- - -	- - -	# # #	# # #
		60	- - -	- - -	- - -	# # #	# # #
アンクリーン	B.bassiana菌 B-1	10	- - -	- - -	- - -	- - -	# # +
		20	- - -	- - -	- - -	- - -	# # #
		30	- - -	- - -	- - -	- - -	# # #
		60	- - -	- - -	- - -	- - -	# # #
	B.bassiana菌 32	10	- - -	- - -	- - -	- - -	# # #
		20	- - -	- - -	- - -	- - -	# # #
		30	- - -	- - -	- - -	- - -	# # #
		60	- - -	- - -	- - -	- - -	# # #
アントクリーン	こうじかび病菌 140	10	- - -	# # -	# # #	# # #	# # #
		20	- - -	- - -	- - -	# # #	# # #
		30	- - -	- - -	- - -	# # #	# # #
		60	- - -	- - -	- - -	# # #	# # #
	こうじかび病菌 S-85	10	- - -	# # -	# # -	# # #	# # #
		20	- - -	- - -	- - -	# # #	# # #
		30	- - -	- - -	- - -	# # #	# # #
		60	- - -	- - -	- - -	# # #	# # #
クリーン	B.bassiana菌 B-1	10	- - -	- - -	- - -	- - -	# # #
		20	- - -	- - -	- - -	- - -	# # #
		30	- - -	- - -	- - -	- - -	# # #
		60	- - -	- - -	- - -	- - -	# # #
	B.bassiana菌 32	10	- - -	- - -	- - -	- - -	# # #
		20	- - -	- - -	- - -	- - -	- - -
		30	- - -	- - -	- - -	- - -	- - -
		60	- - -	- - -	- - -	- - -	# # #

備考) - : 発育なし、+ ~ # : 発育の程度を示す。

第3表 分生胞子浸漬殺菌試験(その2)

条件	供試菌	処理時間	供試薬剤・濃度				
			V-118剤			ホルマリン 3%	水
			20倍	30倍	40倍		
クリーン	B.bassiana菌 (B-3)	10分	- - -	- - -	- - -	- - -	# # #
		30	- - -	- - -	- - -	- - -	# # #
クリーン	緑きょう病菌	10	- - -	- - -	- - -	- - -	# # #
		30	- - -	- - -	- - -	- - -	# # #
クリーン	黒きょう病菌	10	- - -	- - -	- - -	- - -	# # #
		30	- - -	- - -	- - -	- - -	# # #
アンクリーン	B.bassiana菌 (B-3)	10	- - -	- - -	- - -	- - -	# # #
		30	- - -	- - -	- - -	- - -	# # #
アンクリーン	緑きょう病菌	10	- - -	- - -	- - -	- - -	# # #
		30	- - -	- - -	- - -	- - -	# # #
アンクリーン	黒きょう病菌	10	- - -	- - -	- - -	- - -	# # #
		30	- - -	- - -	- - -	- - -	# # #

備考) - : 発育なし、# : 発育旺盛

V-118剤の40倍液10分間の浸漬処理で、3菌種を完全に殺菌し、ホルマリンと同等の効果が認められた。

### (3) 材内侵入こうじかび病菌の浸漬殺菌試験

こうじかび病菌を接種し、30℃・22日間培養した竹材片を所定濃度の検定液中に10分間および30分間浸漬し、2日間滅菌シャーレに納めて陰乾した後、蚕蛹煎汁寒天培地に移し、30℃・7日間培養し、材内からの菌の発育の有無を調べた(第4表)。

第4表 材内侵入こうじかび病菌の浸漬殺菌効果

薬剤・濃度	処理時間	S-85		140	
		10分	30分	10分	30分
V-118剤	20倍	+++	++-	+±-	+-
	30倍	+++	+++	+++	++
	40倍	+++	+++	+++	++
ホルマリン	3%	++	++	++	++
水		++	++	++	++

備考) : - : 発育なし  
± : 僅かに発育  
+ : 材片切口の一方のみ発育  
++ : 材片切口の両方から発育  
++ : 材片の3~4方から発育

V-118剤の20倍・10分および30分処理で発芽・発育を抑制したが完全ではなかった。ホルマリンより強い抑制効果が得られた。

## II 病原ウイルスに対する不活化試験

### (1) 病原浸漬不活化試験

病原ウイルス( $NP10^7/ml$ 、 $FV10^{-2}$ )と薬液を等量混合し、23~25℃の定温器内に所定時間(途中3~4回振とう)保った後、ただちに10倍段階希釈し、この希釈液を桑葉に塗布、陰乾後蟻蚕(春蚕期:支135号×日134号、夏蚕期:春月×宝鐘、1区20頭2連制)に経口接種した。24時間後普通桑にきりかえ、12~14日間飼育・調査し、死亡蚕数からBEHRENS-KARBER法によりLD<sub>50</sub>を求めた(第5表)。

第5表 NP V、F Vに対する浸漬不活化効果

病原	処理時間 連制	薬剤・最終濃度	LD <sub>50</sub>						備考	
			10分		30分		60分			
			I	II	I	II	I	II		
$NP10^7/ml$	V-118剤	20倍	≥6.5	≥6.5	≥6.5	≥6.5	≥6.5	≥6.5	LD <sub>50</sub> (log)	
		30倍	≥6.5	≥6.5	≥6.5	≥6.5	≥6.5	≥6.5		
		40倍	≥6.1	≥6.0	≥6.5	≥6.5	≥6.5	≥6.5		
	ホルマリン	3%	≥6.5	≥6.5	≥6.5	≥6.5	≥6.5	≥6.5		
	水		≤3.2	≤3.55						
$FV10^{-2}$	V-118剤	20倍	≤2.5	≤2.5	≤2.5	≤2.5	≤2.5	≤2.5	LD <sub>50</sub> (-log)	
		30倍	≤2.5	≤2.5	≤2.5	≤2.5	≤2.5	≤2.5		
	ホルマリン	3%	≤2.5	≤2.5	≤2.5	≤2.5	≤2.5	≤2.5		
	水		≥5.75	≥5.45						
-	V-118剤	20倍	0%						発病率	
		30倍	0%							
	ホルマリン	3%	0%							
	水		0%							

注) 76年春蚕期に実施した(供試蚕品種 支135号×日134号)

但し、V-118剤40倍区は夏蚕期(供試蚕品種 春月×宝鐘)に実施した

V-118剤の20倍、30倍液の10分、30分、60分処理はNPV、FVに対して高い不活化効果が認められ、40倍液の30分、60分処理でもNPVに対し高い不活化効果がえられた。

この効果はホルマリン3%液の10分処理よりまさり、30分および60分処理と同等であった。またV-118剤の蚕に対する薬害は認められなかった。

### Ⅲ 蚕室散布消毒試験

予め、蚕室内にこうじかび病菌接種濾紙、NPを浸みこませた濾紙およびFVを含む蚕ぶんをそれぞれ室内の天井・中段・床の3ヶ所に配置して、V-118剤10倍液を $2\ell/3.3m^2$ 散布した。36時間後によりだして消毒効果を検討した。

(1) こうじかび病菌：140およびS-85菌株の1:1の分生胞子懸濁液に径6mmの円形濾紙を浸漬し風乾後薄紙に包み供試した。消毒36時間後に回収し、ツアペック寒天培地に濾紙を置床し、27°C・10日間培養して生育状況を調査した(第6表)。

V-118剤

はホルマリンと同様の効果を示し、供試した2菌株に対して完全な殺菌効果が認められた。

(2) NP：滅菌濾紙(東洋

第6表 蚕室消毒によるこうじかび病菌の殺菌効果

菌株 設置場所	140			S-85		
	天井	中段	床	天井	中段	床
V-118剤 10倍	---	---	---	---	---	---
ホルマリン 3%	---	---	---	---	---	---
無散布	++	++	++	++	++	++

備考) - : 発育なし      ++ : 発育旺盛  
散布量 :  $2\ell/3.3m^2$

Na1、(径9cm)にNP $10^7/ml$ を1ml滴下し室内で24時間風乾した後、蚕室内に配置して散布消毒した。36時間後に回収し、ハサミで細断し滅菌水9mlを加え、乳鉢で磨碎した後、ガーゼで濾過し濾液を桑葉に塗布し陰乾後蟻蚕に添食した。

(3) FV：滅菌乾燥蚕ぶん2gをガーゼに包み、FV $10^{-3}$ 希釈液に浸漬、24時間風乾後、同様に処理し回収した。蚕ぶん1に対し滅菌水9の割合で混合磨碎した。これを3,000 rpm・10分間遠心分離し、上清を桑葉に塗布、陰乾後蟻蚕に添食した。

その結果、NPVに対しては、V-118剤はホルマリンとほぼ同等の消毒効果が得られたが、FVに対して、ホルマリンよりやや効果が劣る傾向を示した。

第7表 蚕室消毒によるNPV、FVの不活化効果(死亡率)

病原 設置場所	NP ( $10^6/ml$ )			FV ( $10^{-2}$ )		
	天井	中段	床	天井	中段	床
V-118剤 10倍	1%	0%	1%	17%	14%	15%
ホルマリン 3%	1	0	0	欠調	18	0
無散布	100			56		

備考) 死亡率は2連制(1区50頭)の平均値  
供試蚕品種:秋光×竜白  
散布量:  $2\ell/3.3m^2$

しかし無消毒区の死亡率が56%と低いことから、再検討する必要があろう。これはF

V罹病蚕の排出した蚕ふんを供試したのでなく、滅菌蚕ふんをFV希釀液に浸漬したことによるものと考えられる。

#### V カイコへの薬害検定試験

##### (1) 蚕卵への影響

V-118剤10倍液に催青容器(木枠)を10分間浸漬消毒し、4日間無菌室内で陰乾してから散種を25℃の恒温器で催青し、その孵化歩合を調査した。

試験規模は1区0.39の2連制で、供試蚕品種は秋光×竜白である。

第8表に示されたよう

に、V-118剤では催青死卵が多発し、初発3日孵化歩合が20~30%台にとどまった。対照薬剤のホルマリンに比べ著しく蚕卵に影響を及ぼした。

このことは、催青容器

の乾燥が気流の停滞した無菌室内で行なったことと、催青場所が恒温器内という狭く密閉した場所で行なったため、V-118剤が催青容器(木枠)内により多く残存したためと考えられる。がいすれにせよ、V-118剤は蚕卵に対して悪影響が認められるので、密閉した条件下にある催青室では使用しないことが望まれる。

##### (2) 散布消毒室での蚕児飼育試験

V-118剤10倍液を散布消毒(3.3m<sup>2</sup>当り2ℓ)した蚕室で蚕児を飼育し、その影響を検討した。消毒3日後に蟻量0.59(秋光×竜白)を掃立、1~3齢は防乾紙育、4齢起に1000頭に整理し以後条桑育で飼育した。

第9表 V-118剤散布消毒蚕室での蚕児飼育成績

供試頭数	減蚕歩合 (4~5齢)	結繭蚕数	死ごもり数	化蛹歩合 (対4齢起蚕)	経過日数 (全齢)	繭質(1頭当り)		
						繭重	繭層重	繭層歩合
1,000頭	1.1 %	989頭	13頭	96.9 %	23日19時	1.89g	44.8cg	23.7 %

備考) 敷布量 2ℓ/3.3m<sup>2</sup>

供試蚕品種 秋光×竜白

1~3齢 防乾紙育、4~5齢 条桑育

V-118剤10倍液を3.3m<sup>2</sup>当り2ℓ散布消毒した蚕室で蚕を飼育した結果、虫質、繭質に対して影響が認められなかった。

また消毒後の蚕室開放直後でも、刺激臭がほとんど感じられなかった。

#### V 各種用材に対する腐食・変色試験

各種用材をV-118剤・10倍液および20倍液に、室温下で2日間浸漬した後、とりだし2日後に腐食、変色程度を判定した。

第10表 各種用材に対する腐食・変色

用 材	V-118剤・10倍		V-118剤・20倍	
	腐 食	変 色	腐 食	変 色
鉄	+	卅	+	卅
ト タ ン	+	卅	+	卅
ブ リ キ	+ (切断面)	+ 突出	+ (切断面)	+ 突出
シ ン チ ュ ウ	-	+ (全体が脱色・白色化)	-	+ (全体が脱色・白色化)
銅	-	-	-	-
アルミニウム	廿 (切断面)	-	+ (切断面)	-
木 織	-	-	-	-
化繊(ポリエスチル)	-	-	-	-

備考) - : 影響がみられない

+ ~ 廿 : + の数に比例して、腐植・変色の程度が大きくなる

第10表のように、V-118剤は供試した金属のうち銅を除いた鉄、トタン、ブリキ、シンチュウ、アルミニウムに腐食あるいは変色をひきおこした。このことから現在の蚕室の構造、施設および蚕具の状況からみて、実用化には問題であり、防鏽剤の添加利用又は薬剤の改良を図る必要がある。

### 3. 摘 要

ジクロール酢酸を主成分とするV-118剤の蚕室蚕具消毒剤としての効果および蚕に対する影響等について検討し、次の結果を得た。

#### 1. 糸状菌に対する効果

- (1) 浸漬による分生胞子殺菌試験では、こうじかび病菌には20倍液10分、*B. bassiana*菌、緑きょう病菌、および黒きょう病菌には40倍液10分で殺菌効果が認められた。
- (2) 材内侵入こうじかび病菌の浸漬殺菌試験では、20倍液の30分処理でも効果が認められなかつた。
- (3) 敷布消毒試験では、10倍液の2ℓ/3.3m<sup>2</sup>の散布で、こうじかび病菌に対する消毒効果が認められた。

#### 2. ウイルスに対する効果

- (1) N P V および F V は、30倍液10分間の浸漬処理により不活化された。
- (2) 敷布消毒試験では、10倍液の2ℓ/3.3m<sup>2</sup>の散布でN P V に対してはホルマリンとほぼ同等の効果が認められた。

#### 3. 蚕への影響

浸漬消毒した催青容器を供用し、催青による蚕卵への影響を調べたところ、死卵が多発し、悪影響がみられたが、消毒蚕室内での飼育では、虫質・繭質に全く影響が認められなかつた。

#### 4. 各種用材への影響

鉄、トタン、ブリキ、シンチュウ、アルミニウムに対して腐食あるいは変色をひきおこしたが、木綿、化繊には影響がなかつた。

### 文 献

1. 站沢千尋(1969)：蚕糸科学と技術 8(6) 64～67

2. 及川英雄・高木武人・鈴木繁実(1971)：岩手蚕試年報、18、283～299
3. 1976年度全国蚕業試験場運営協議会依頼試験成績検討会資料