

カチオン活性剤による蚕病病原の不活化効果

町井 文子・荒井 昭弘

(福島県蚕業試験場)

The Inactive Effects of the Pathogen of Some Silkworm Diseases with the Cation Active Agents.

Fumiko MACHII and Akihiro ARAKAWA

(Fukushima Sericultural Experiment Station)

1 はじめに

蚕の飼育前の蚕室・蚕具の消毒作業は、重要な担っている。養蚕の消毒薬として最も良く使用される薬剤はホルマリンやピオチノンエースであるが、最近ではホルマリン耐性菌の発現により、従来の薬剤だけでは病原の不活化が困難となっている。そこで、低刺激性の薬剤のスクリーニングは、今後も重要であると考えられる。

今回は逆性石鹼に属する第4級アンモニウム塩あるいはカチオン系界面活性剤（以下カチオン活性剤）を用いて、蚕病病原の不活化を試みた。

2 材料と方法

供試薬剤はA〔E社、成分；メチルドデシルベンジルトリメチルアンモニウムクロライド、メチルドデシルキシレンビス（トリメチルアンモニウムクロライド）10%、ポリオキシエチレンオクチルフェニルエーテル5%〕、B（E社、成分；塩化ジデシルジメチルアンモニウム10a/100ml）、C（S社、成分；塩化ジデシルジメチルアンモニウム10g/100ml）である。

蚕病病原には、蚕病病原性のこうじかび病菌（*Aspergillus flavus* ホルマリン耐性菌）、核多角体病ウイルス（NPV）、細胞質多角体病ウイルス（CPV）、伝染性軟化

病ウイルス（IFV）、濃核病ウイルス（DNV）を用いた。

まず、 10^6 （分生子数/ml）個のこうじかび病菌を接種した直径8mmの円形濾紙を、3種のカチオン活性剤及び消石灰添加カチオン活性剤に10分、30分、60分及び120分間浸漬した。これをL-broth液体培地（ショ糖20g、食塩5g、ペプトン10g、酵母エキス3g/l）で25℃1週間培養し、菌の生育の有無を見た。

次に、 10^6 個/mlから 10^1 個/mlの核多角体（NP）及び細胞質多角体（CP）、 10^{-1} から 10^{-6} のIFV及びDNV感染蚕磨碎液上清を、それぞれの薬剤で10分、30分、及び120分間処理した。これを人工飼料に塗布して、蠶蚕10頭に添食した。1週間後の死亡蚕からlogLD₅₀あるいは-logLD₅₀値を算出して、不活化効果の判定を行った。

また、カチオン活性剤に消石灰を添加した場合の不活化効果を検討した。上記のウイルス液を消石灰1,000倍液を1ml添加したカチオン活性剤に60分間浸漬した。これらを同様に人工飼料に塗布して蠶蚕10頭に添食し、1週間後の死亡蚕数からlogLD₅₀あるいは-logLD₅₀値を算出した。

3 結果及び考察

表1にこうじかび病菌を3種のカチオン活性剤及び消石灰添加カチオン活性剤で所定の時間処理し、L-broth液体培地で培養した結果を示した。いずれの薬剤でも消石灰の

表1 各種薬剤のこうじかび病菌に対する殺菌効果

薬 剤	処 理 時 間											
	10min.			30min.			1 hr			2 hr		
A	±	+	+	±	±	±	-	-	±	-	-	-
B	-	±	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-
C	±	-	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-
消 石 灰	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++
A + 消 石 灰	±	+	+	±	±	±	±	-	-	-	-	-
B + 消 石 灰	±	±	±	-	-	-	-	-	±	-	-	-
C + 消 石 灰	±	±	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-
無 処 理	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++

供試菌；*Aspergillus flavus*

- 菌の生育は認められない ± 菌の生育が僅かに認められる

+ 菌の生育が認められる +++ 非常に多くの菌糸が認められる

A：パコマ® B：アストップ® C：クリアキル®

添加の有無にかかわらず10分間処理では殺菌効果は認められなかった。しかし、時間の経過とともに殺菌効果は高くなり、2時間後には、完全に殺菌された。なお、BとCでは30分間で効果が認められるものと考えられた。

また、消石灰単剤では殺菌効果は全く認められず、消石灰を添加してもカチオン活性剤のこうじかび病菌に対する殺菌効果には影響が認められなかった。

このことから、今回供試したカチオン活性剤のこうじかび病菌に対する殺菌効果は非常に高く、蚕具類の消毒を考える場合に、薬剤液に2時間程度浸漬すれば完全に殺菌できると考えられる。

表2に薬剤処理時間とNPVの不活化の結果を示した。10分間処理では、いずれの薬剤でも不活化効果を認めることはできなかった。しかし処理時間が30分間を経過するとA及びBのlogLD₅₀値が僅かに上昇し、120分間処理を施すとさらに不活化効果は高まった。

またCでは、120分間処理で他の2薬剤と同様の不活化効果を示した。このことから、カチオン活性剤は単剤では10⁶NP/ml以上の高濃度のNPVの不活化は不可能で、ホルマリンを用いた場合よりも不活化効果が劣ることが明らかとなった。

そこで、蚕ウイルスの不活化に有効とされている消石灰を添加することによって不活化の上昇を試みた。

表2 薬剤処理時間とNPVの不活化効果

薬剤	処理時間 (分間)	ウイルス濃度 (NP/ml)						不活化 指数 logLD ₅₀ 値
		10 ⁶	10 ⁵	10 ⁴	10 ³	10 ²	10 ¹	
A	10	10	8	6	4	0	0	3.7
		10	8	7	3	1	0	3.6
	30	10	7	3	1	0	0	4.4
		10	8	2	2	1	0	5.2
	120	10	3	1	0	0	0	5.1
		10	2	2	0	0	0	5.1
B	10	10	7	5	3	0	0	4.0
		10	8	6	5	0	0	3.6
	30	10	8	2	0	0	0	4.5
		10	8	4	1	0	0	4.2
	120	10	4	1	0	0	0	5.0
		10	4	3	2	0	0	4.6
C	10	10	7	5	2	0	0	4.1
		10	8	6	2	1	1	3.8
	30	10	6	3	1	1	1	4.3
		10	8	4	2	1	1	3.9
	120	10	2	0	0	0	0	5.3
		10	2	1	0	0	0	5.2
3% ホルマリン	60	4	2	0	0	0	0	5.9
		3	2	0	0	0	0	6.0
無処理		10	8	6	3	1	1	3.6
		10	9	7	4	2	0	3.4

数値は1週間後の死亡蚕数とLogLD₅₀値

A : パコマ®
B : アストップ®
C : クリアキル®

表3にDNVについての結果を示す。DNVはカチオン活性剤でも不活化されやすく、消石灰を添加することによって不活化指数は0.9以上となり、不活化効果はほぼ完全なものとなった。この場合、いずれの薬剤でも不活化効果が高まることから、カチオン活性剤と消石灰の相乗効果によってDNVが不活化されたと考えられる。

表3 DNVの不活化効果

薬 剤	ウイルス濃度 (NP/ml)						不活化 指数 logLD ₅₀ 値
	10 ¹	10 ²	10 ³	10 ⁴	10 ⁵	10 ⁶	
A	a 4	3	2	2	0	0	2.6
	b 4	2	2	1	1	0	2.5
B	a 10	3	3	2	1	0	3.5
	b 10	5	5	2	0	0	3.7
C	a 2	2	2	2	0	0	2.3
	a 3	2	2	2	1	0	2.3
消 石 灰	a 8	5	2	0	0	0	2.0
	a 8	6	3	1	0	0	2.3
A + 消石灰	a 0	0	0	0	0	0	0.5
	b 1	1	1	1	0	0	0.9
B + 消石灰	a 1	0	0	0	0	0	0.5
	b 1	1	1	1	0	0	0.5
C + 消石灰	a 0	0	0	0	0	0	4.3
	b 0	0	0	0	0	0	4.8
無 処 理	a 8	7	7	4	2	0	4.3
	b 9	8	8	5	3	1	3.9

数値は1週間後の死亡蚕数。被害は認められなかった。
1区10頭2連制。

A : パコマ®
B : アストップ®
C : クリアキル®

NPV, CPV及びIFVについては、いずれの薬剤もカチオン活性剤単剤よりは消石灰を添加した場合のほうが不活化効果は高かったが、消石灰単剤よりは効果が劣った。

以上のことから、カチオン活性剤は、ホルマリン耐性のこうじかび病菌とDNVの不活化に有効であった。しかし、他の蚕ウイルスに関しては、消石灰を添加してもホルマリンと比較して効果が劣った。

引用文献

- 1) 清水 孝夫. 1983. 土壌中の核多角体病ウイルスに対する不活化作用機作. 長野蚕試要報 19 : 58-63.
- 2) 鈴木 繁実, 及川 英雄. 1980. 消石灰による多角体病ウイルス不活化ならびに蚕室土壌面消毒効果. 岩手県蚕試験場要報 5 : 32-38
- 3) 山口 邦友. 1967. 石灰窒素等の浸出液による中腸型多角体病ウイルスの不活化. 埼玉県蚕業試験場研究要報 39 : 161-164.