

「森の生物資源シイタケの生育と人と環境」

宮崎大学農学部 水光 正仁



〔目的〕 森の生物資源であるシイタケ (*Lentinus edodes*) は、食糧資源として、また食文化の面からも日本の伝統的食品として重要となっている。拮抗する微生物の多数存在する自然のなかで、シイタケ菌の安定した繁殖、また生産量の向上のため、長年にわたって害虫や害菌の侵入を防ぐ工夫が行われ、最近ではシイタケの安定栽培が確立されてきた。シイタケの種菌を植え付けた原木 (ほだ木) の伏せ込み地にドクダミ (*Houttunia cordata*) が生育していると、シイタケ子実体の発育が抑制されるという報告があった。これは、ドクダミがシイタケ菌に対して何らかのアレルパジーを及ぼしているものと考えられた。

ドクダミは別名十薬と呼ばれ、古くから、民間で和漢薬として利尿、緩下薬のため利用されている。新鮮な葉や汁液は吹き出物や虫刺されに、全草の煎汁は急性化膿炎症、眼病、痔疾やいろいろな皮膚炎に効果があるとされている。また、殺虫効果、抗カビ性、抗菌性を有することも明らかにされている。ドクダミの抗菌活性に関する研究報告より、ドクダミ中の揮発性成分である 3-oxododecanal が影響を与えていると示唆された。

3-oxododecanal は、きわめて不安定で、重合により不活性化することが知られており、抗菌活性実験において、 NaHSO_3 付加体やセミカルバジド付加体を用いて実験を行っていたが、その後セミカルバジド塩酸塩自体がすでに抗菌活性を示すことがあきらかとなった。そこで、ドクダミ抽出精製過程におけるエーテル可溶のにおいの成分と、3-oxododecanal 合成過程におけるエーテル中の生成物とが、pH の変化による溶液の色、におい、反応状態などがきわめて酷似していたため、エーテル溶液中にて -20°C で保存するなどの工夫をして、ドクダミから揮発性成分を分離・精製し、その化学構造の検討、および 3-oxododecanal 合成物と比較をおこない、気化法によりシイタケ菌の生長阻害実験が行われた。その結果、この揮発性成分は、シイタケ子実体を抑制する作用があることが確認され、GC-MS 等で構造決定を行った結果、この物質は炭素鎖が 12 でアルデヒド基とケトン基を持つ 3-oxododecanal であることが同定された。また、この揮発性成分はシイタケ菌はもちろんのこといくつかの微生物に対しても抗菌作用を示すことが確認されている。そこで本研究では、ドクダミの揮発性抗菌活性物質とその近縁化合物が、シイタケ菌系生育阻害活性にどう関与するか検討を行った。

〔方法〕 3-oxododecanal と、3-oxododecanal と構造が類似し炭素鎖が 11 の 3-oxoundecanal (C-11)、炭素鎖が 14 の 3-oxotetradecanal (C-14)、炭素鎖が 16 の 3-Oxohexadecanal (C-16) の 4 つの化合物を Claisen 縮合を用いて合成した (図 1)。

3-oxododecanal の合成は、図 2 のように、過酸化物質を除いたジエチルエーテルに金属ナトリウムを加えてアルカリ性にし、この中にギ酸エチルと 2-undecanone を徐々に加え、低

温を保って約10時間反応させた。反応終了後、エーテル抽出と中和反応を繰り返して精製し黄色油状の生成物を得た。C-11の合成には2-undecanoneの代わりに2-decanoneを、C-14の合成には2-tridecanoneを、C-16の合成には2-pentadecanoneを用いて同様の方法で行った。目的の化合物の構造決定は、核磁器共鳴装置(NMR)、質量分析装置(GC-MS)、顕微赤外分光光度計(FT-IR)を用いて行い、これらの試験化合物のシイタケ菌(ヤクルト春秋5号)に対する菌糸生長阻害活性は菌糸伸長測定法を用いて調べた。PSA培地を作製し、シャーレに分注した後、この中心に種菌を植え付けて、十分に培養した。これを、直径4mmのコルクボーラーで打ち抜き、中心を打ち抜いた試験観察用の培地に継代した。この継代した培地のすみには試験物質の入れ物をおき、この中に、合成した試験物質をエタノールを溶媒として加えた。そして、気化した試験物質によるシイタケ菌の菌糸生長阻害は阻害率をもとに測定した。サンプルは、エタノールを溶媒に1つの試験化合物につき16mg, 4.8mg, 1.6mgを含む3種類を用意した。

〔結果および考察〕 合成した化合物をNMR, GC-MS, FT-IRで分析した結果、3-oxododecanalには原料物質である2-undecanoneには存在しない7.9ppmと13ppmの吸収ピークが示された。同様に他の合成化合物にも原料物質には存在しない吸収ピークが示され、目的物の存在が確認された。図3に示したように、合成した4つの試験化合物3-oxoundecanal (C-11)、3-oxododecanal (C-12)、3-oxotetradecanal (C-14)、3-oxohexadodecanal (C-16)の濃度変化に伴うシイタケ菌の阻害率から、各試験化合物とも1.6mgではシイタケ菌に阻害作用を示さなかった。しかし、4.8mgでは、C-11では51.0%、C-12では66.0%という強い阻害活性を示した。また、16mgではC-11で56.7%、C-12では42.8%と、4.8mgの実験結果同様、強い阻害活性を示した。C-14とC-16は、16mgではシイタケ菌に対し阻害活性は認められなかった。

また、各試験化合物16mg/200 μ l EtOH濃度におけるシイタケ菌の阻害率を調べた。この結果から、ドクダミが発する3-oxododecanal (C-12)、または炭素鎖が12以下でこれと近縁な化合物C-11、C-10、C-9はシイタケ菌に対して阻害活性を持つことが明らかになった。しかし、炭素鎖が12を越えるC-14とC-16はシイタケ菌に対して阻害活性を持たなかった。

以上のことから、ドクダミは炭素鎖が12個の3-oxododecanalの構造をもって、効率よく外部の微生物の侵入を防ぐ、防御機構を持っていることが判明した。

今後この抗菌物質の作用機構を解明することにより、森の生物間の制御機構を解明したい。

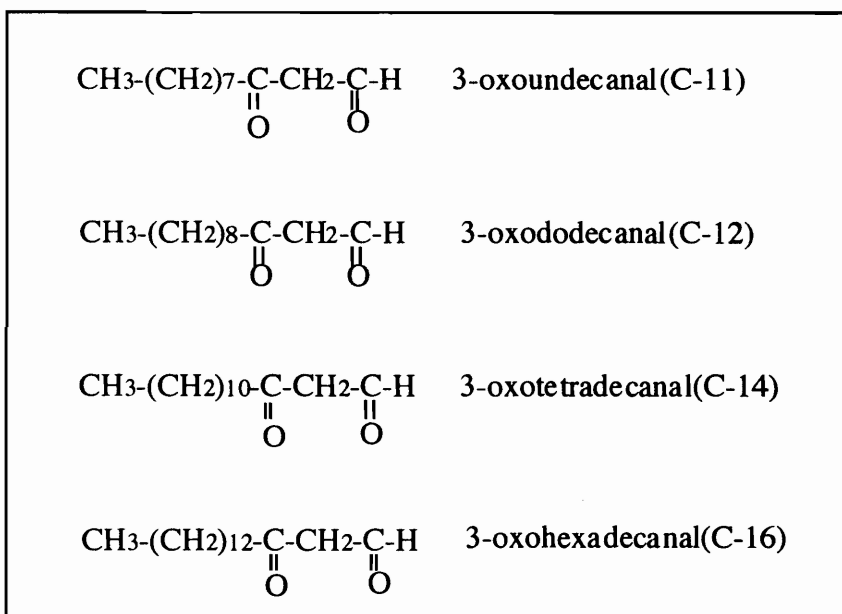


図1 合成した化合物と構造

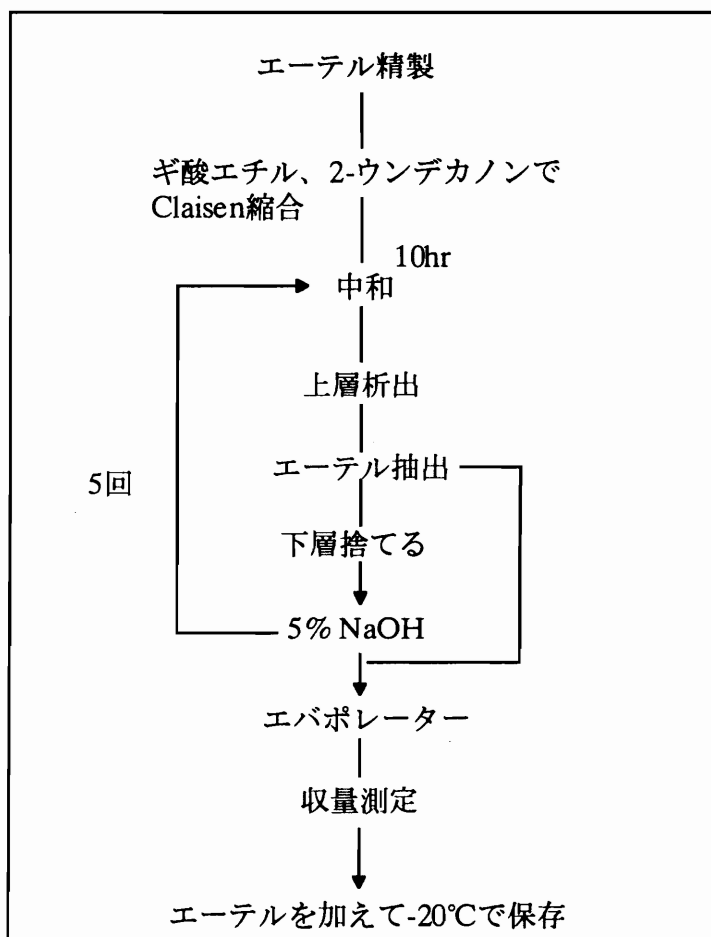


図2 3-oxododecanalの合成反応

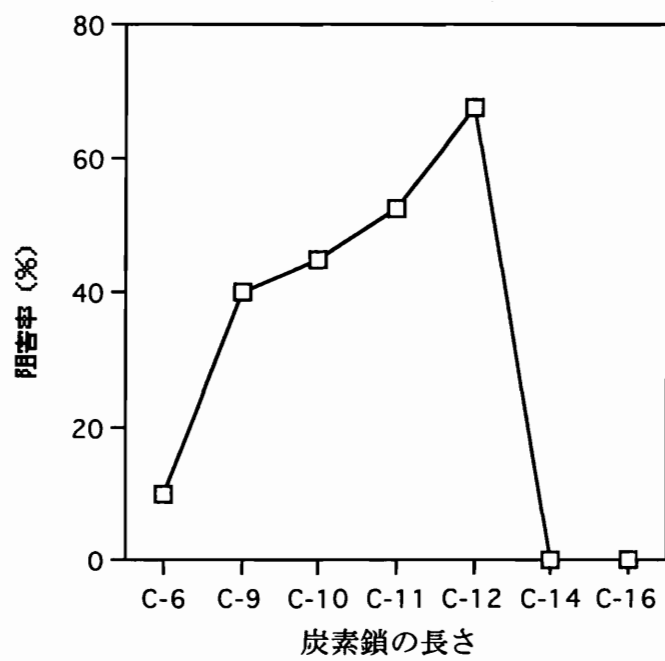


図3 試験化合物16mg/200ml濃度における各阻害率