〈 研究論文 〉

ブラジル産材 *Bagassa guianensis* AUBL. の耐朽性と耐蟻性に対する抽出成分の寄与

湊 和也^{*1}, 瀧本 匠^{*1}, 吉村 剛^{*2}

Contribution of Extractives to Fungal and Termite Resistance
of Brazilian Wood *Bagassa guianensis* AUBL.

Kazuya MINATO^{*1}, Takumi TAKIMOTO^{*1} and Tsuyoshi YOSHIMURA^{*2}

Summary

The heartwood of *Bagassa guianensis* AUBL., which grows widely in South America, is empirically known to be durable against fungal and insects decay. In this study, we evaluated the fungal and termite resistance of *B. guianensis* wood, and conducted the separation of substances having the antifungal and antitermite properties.

As the results, *B. guianensis* wood has excellent durability against both fungi (*Trametes versicolor* (L.:Fr.) PILÁT and *Fomitopsis palustris* (BERK. et CURT.) MURR.) and termite (*Coptotermes formosanus* SHIRAKI). The antifungal components were found in both chloroform and methanol extracts, while most of the strong antitermite activity was observed in the methanol extracts. The methanol extracts were subjected to two-dimensional thin layer chromatography (TLC) on a cellulose plate and were examined for their effects on feeding behavior of termite by a choice test. Some substances having high polarity on a cellulose TLC were found in the portion where was not attacked by termites. The method using a cellulose TLC described here appears to be applicable for separation of antitermite substances from the crude extracts.

要 旨

南米に広く分布する *Bagassa guianensis* AUBL. 材は、経験的に腐朽や虫害に対する抵抗性が強いことが知られている。本研究ではまず最初に、代表的な木材腐朽菌及びシロアリに対する抵抗性を調べた後、抗菌性や抗蟻性を示す成分の分画を目的とした。

その結果、この材がカワラタケ、オオウズラタケのいずれの腐朽菌に対しても強い耐性を持つこと、またイエシロアリに対するかなり強い抗蟻性を有する成分の存在が示唆された。抗菌性を示す成分はクロロホルム及びメタノール抽出物中に多く存在し、一方、抗蟻性は質的にも量的にもメタノール抽出物に含まれる成分で最も強力であることが示された。メタノール抽出物をセルロース TLC プレート上で 2 次元展開し、これを直接シロアリに選択摂食させることにより各成分の忌避性、誘引性を調べた。シロアリが摂食しなかった部分には忌避性の物質が含まれると考えられるが、そこから極性の高い物質が見いだされた。セルロース TLC プレートをを用いたこの方法は新規生物活性物質の分離法となりうると思われる。

*1 京都大学大学院農学研究科

Graduate School of Agriculture, Kyoto University, Kyoto 606-8502

*2 京都大学木質科学研究所

Wood Research Institute, Kyoto University, Uji 611-0011

1. 緒 言

Bagassa guianensis AUBL. はブラジルからギアナにかけて分布するクワ科の樹木で、通称「ガロッチ」と呼ばれている。この樹木は、資源的にも豊富に存在し、虫害や腐朽に対する抵抗性が強いことから、現地では建築物の基礎部分などに用いられている。

木材の虫害の一つであるシロアリに対する抵抗性、すなわち耐蟻性は樹種によって異なり、また同一材でも心材と辺材では抵抗性に差がある。このような耐蟻性を支配する要因として、材の組織構造、比重、硬さなどの物理的・力学的性質およびその材の含む化学成分がある。木材の主要構成成分である、セルロース、ヘミセルロース、リグニンが樹種によって質的・量的に大きな違いはないのに対して、抽出成分は変化に富み、その樹種を特徴づけている。とくに熱帯産材のなかには、抽出成分量が25%以上にも達するものも知られている。

抽出成分のなかでキノイド構造、あるいはキノイド構造をとりやすいフェノール類、ヘテロ環、共役二重結合を持つもの、サポニンなどがシロアリに対して有効であるとされている。実際、耐蟻性の強いチーク (*Tectona grandis* LINN. f.) 材やその他の熱帯材の抽出成分として、テクトキノン、2-ヒドロキシメチルアントラキノン、2-ホルミルアントラキノン、2-カルボキシアントラキノン、ラパコール、ラパコノンなど上記の官能基をもつ物質が分離されている¹⁾。またこのほかセンノキの耐蟻性の原因物質としてサポニンの存在が報告されている²⁾。

一方、腐朽菌に対する抵抗性つまり耐朽性についても、抽出成分は大きく影響を及ぼすことが知られている。フェノール類、トロポノイド、キノイド、スチルベン類および蠟物質、テルペン類などは腐朽菌の成長に対する抑制作用が高い物質として知られている³⁾。実際には、マツ属の心材に含まれるピノシルピン類、ヤマグワ心材中のオキシレスベラトロールなどのスチルベン誘導体、カラマツ心材に見いだされるタキシホリン (*d*-ジスチリン)、ケヤキのケヤキニンなどのフラボノイド化合物、またクリに含まれるタンニンにも顕著な腐朽菌の成長を阻害する作用がある。

熱帯産広葉材の耐蟻性や耐腐朽性に関する研究は多く、*B. guianensis* 材に関してもその報告が見られる^{4,5)}。しかし、これらの性質に最も大きい影響を及ぼすと考えられる抽出成分についての知見はほとんどない。本研究では *B. guianensis* 材に着目し、その耐蟻性及び耐腐朽

性を追試した上で、抽出成分のシロアリ及び腐朽に対する効果を調べることを目的とした。

2. 実 験

2.1 試 料

試料としては *B. guianensis* の心材 (全乾比重0.86) を用いた。溶媒抽出には42~100メッシュの木粉を、また腐朽菌及びシロアリに対するブロック試験には20 mm (T) × 20 mm (R) × 10 mm (L) の形状の試片を用いた。

2.2 抽出物含有量の測定及び逐次抽出

冷水抽出は水中で撈拌しながら2日間、また温水抽出は、環流冷却器のもとで3時間静かに煮沸した後、ガラスフィルター (G3) でろ過して抽出物量を算出した。アルコール・ベンゼン抽出はエタノール:ベンゼン=1:2 (v/v) を用いてソックスレー抽出器で6時間行った。

逐次抽出はソックスレー抽出器を用いて、*n*-ヘキサン、エーテル、クロロホルム、メタノールで順次それぞれ6時間行った。各抽出物を濃縮して質量を測定した後、抗菌性試験及びシロアリ試験に供した。

2.3 ブロック状試片の耐朽性及び耐蟻性試験

2.3.1 耐朽性試験

耐朽性試験はJIS Z-2119にしたがって行った。供試前に60°Cで一晩減圧乾燥を行って絶乾質量を測定した。腐朽菌にはカワラタケ (*Trametes versicolor* (L.: Fr.) PILÁT. [FFPRI 1030]) とオオウズラタケ (*Fomitopsis palustris* (BERK. et CURT) MURR. [FFPRI 0507]) を用いた。石英砂250 gと成長した菌糸体を含む培養液80 gを入れた培養瓶 (底面の外径8~9 cm, 口径6~7 cm, 高さ15~18 cm) に試片を設置し、26±2°C, 70% R.H. で90日間培養した。試験後再び絶乾質量を測定し、試験前後の測定値から質量減少率を求めた。各条件に対して9検体づつを供試した。

2.3.2 耐蟻性試験

耐蟻性試験は木材保存協会規格11-(1)-1992に準じ、イエシロアリ (*Coptotermes formosanus* SHIRAKI) を用いて行った。直径80 mm, 高さ50 mmの亚克力製円筒の一方の筒口を石膏でふさいでその中央に試片を設置し、職蟻150頭、兵蟻15頭を入れた。セットした亚克力円筒を、十分に湿らせた脱脂綿を敷いた容器に入れ、その容器を28±2°C, 85% R.H. の暗室に設置した。30日間シロアリの生存数を計測した。試験前後の絶乾質量からシロアリの摂食量を算出した。各条件に対して3検体づつを供試した。試験中の抽出成分の溶脱量を見るた

めのブランク試験を並行して行った。

対照材としてアカマツ (*Pinus densiflora* SIEB. et ZUCC.) 辺材を用いた。

2.4 溶媒抽出物の抗菌性及びシロアリによる強制摂食試験

2.4.1 抗菌性試験

Mori ら⁶⁾の方法に準じて、各抽出物の抗菌性試験を行った。すなわち、培地として、ぶどう糖 25.0 g, ペプトン 5.0 g, 麦芽抽出物 10.0 g, KH_2PO_4 3.0 g, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 2.0 g, 寒天 20.0 g を蒸留水 1000 ml に溶かしたものをを用いた。この培地を高圧滅菌器で滅菌した後、直径 85 mm のシャーレに 25 ml 流し込み、固まる前に 500 mg/l に希釈した抽出物 25 ml を添加した。別に抽出物の溶媒のみを添加したもの及び全く添加物を含まない培地をコントロールとした。腐朽菌としてカワラタケとオオウズラタケを用い、 $26 \pm 2^\circ\text{C}$ に保たれた室内で十分に成長した菌体を内径 8.41 mm のコルクボーラーで打ち抜き、完全に固まった培地の中央に移植した。各条件に対して 2 検体ずつを供試した。

コントロール培地上で菌糸がシャーレ全体に広がったときに、試験培地上での被覆円の直径を計測した。コントロールでの菌糸の被覆円の直径を G_c 、抽出物を添加した培地上での菌糸の被覆円の直径を G_t とし、Mori らの定義にしたがって、抗菌活性値 (Antifungal activity: AFA) を、

$$\text{AFA} (\%) = \{ 1 - (G_t / G_c) \} \times 100$$

で表した。

2.4.2 シロアリによる強制摂食試験

Yoshimura ら⁷⁾の方法に準じて、2.1 で得られた抽出物をろ紙に含浸してシロアリに摂食させた。すなわち直径 35 mm の滅菌済プラスチック製シャーレにちょうど入る大きさのろ紙 (Whatman Cellulose No. 2) に各溶媒抽出物を、ろ紙に対する添加量が質量で 0.01 %, 0.1 %, 1 %, 10 % (メタノール抽出物のみ) となるよう添加し、シャーレにセットして 60°C で減圧乾燥後、絶乾質量を測定した。コントロール試料として、無処理のろ紙と含浸の際に用いた溶媒のみを含浸させたろ紙を用いた。

ろ紙全体が湿る程度に蒸留水を加え、試験中もときどき蒸留水を補給した。1 個のシャーレに職蟻 18 頭、兵蟻 2 頭を入れた。同一試料で 3 検体を供試し、30 日間シロアリの生存数を計測した。試験後再度絶乾質量を測定し、

シロアリによる摂食量を算出した。

2.5 メタノール抽出物の分画とシロアリ選択摂食試験

メタノール抽出物中に抗菌及び抗蟻成分が含まれることがわかったため、抽出成分を分画して各画分に対するシロアリの摂食行動を調べた。

セルロース TLC プレート上でメタノール抽出物を 2 次元展開し、そのプレートをそのままシロアリに摂食させるという方法で選択試験を行った。まず、2-ブタノール: 酢酸: 水 = 14: 1: 5 (v/v) を溶媒として展開した後、直角方向に 10 % 酢酸で 2 回展開を行った。プレートは 50 mm × 50 mm とし、直径 90 mm のシャーレに 20 メッシュを通過した砂 30 g, 蒸留水 50 ml を加え、その上にプレートをのせ、イエシロアリの職蟻 200 頭を直接プレートに触れないように投入した。

3. 結果と考察

3.1 各種溶媒による抽出

冷水、温水、アルコール・ベンゼン混合溶媒を単独で用いた場合の抽出量はそれぞれ 4.71, 9.62, 7.69 % であった。

逐次抽出を行った場合の各溶媒ごとの抽出物の収率を表 1 に示す。n-ヘキサン抽出物は無色で半透明、その他の抽出物は黄色を呈した。

表 1 *Bagassa guianensis* 心材の逐次抽出物量
Table 1 Yields of extracts from *Bagassa guianensis* heartwood by consecutive extractions

抽出溶媒 Solvent for extraction	抽出物量 (%) * Yield of extracts
n-ヘキサン n-Hexane	0.12
エーテル Ether	0.09
クロロホルム Chloroform	0.21
メタノール Methanol	10.14

* Percentage of extracts by the weight of *B. guianensis* heartwood

3.2 耐朽性及び耐蟻性

3.2.1 耐朽性

カワラタケ、オオウズラタケのいずれの腐朽菌に供し

た場合も、90日間の腐朽試験後、試片は全体に菌糸に覆われた。しかし試験後の試験体の質量は、カワラタケで平均値及びその95%信頼区間が $0.89 \pm 0.29\%$ 、オオウズラタケで $1.26 \pm 0.21\%$ の増加を示した。これは試片内部に菌糸が浸入したものの、材そのものはほとんど攻撃されることはなかったためと考えられる。これにより *B. guianensis* 心材が高い耐朽性を持つことが確認された。

3.2.2 耐蟻性

B. guianensis 心材とアカマツ辺材について、イエシロアリ職蟻の死虫率を飼育日数に対してプロットしたのが図1である。*B. guianensis* ではアカマツによって飼育した場合や飢餓状態に比べてきわめて短期間で死虫率が増大し、かなり強い殺蟻性をもつ成分が含まれていることが示唆された。また試験後の *B. guianensis* 心材には試片が摂食された痕が見られず、ブランク試験により抽出物の溶脱量を補正したところ、摂食によると考えられる質量減少はほとんど認められなかった。このことから *B. guianensis* 心材はほとんどシロアリの攻撃を受けなかったと考えられる。既報⁴⁾でも *B. guianensis* 心材のシロアリ試験後の質量減少率は0%とされており、本実験でもこのことが確認された。

3.3 溶媒抽出成分の抗菌性及び殺蟻性

3.3.1 抗菌性に対する抽出成分の影響

抽出物を溶かすための溶媒として、*n*-ヘキサン抽出物についてはアセトン、それ以外の抽出物についてはメタノールを用いた。したがって、コントロールとしてアセトンのみ及びメタノールのみを培地に添加したものを調製した。

表2には各抽出物の抗菌活性値を示した。腐朽菌の成長はカワラタケよりもオオウズラタケで速かった。アセトンのみではオオウズラタケで5日、カワラタケで7日、メタノールのみの場合、オオウズラタケで7日、カワラタケで9日で菌糸がシャーレ全面に広がった。ヘキサン抽出物はオオウズラタケ、カワラタケのいずれの菌糸の広がりも阻止しなかった。一方、エーテル抽出物、クロロホルム抽出物、メタノール抽出物の中にはいずれの腐朽菌の成長をも顕著に阻害する成分が含まれていることが示唆された。

表2 腐朽菌に対する抽出物の抗菌活性
Table 2 Antifungal activity (AFA: %) of the extractives from *Bagassa guianensis* heartwood

抽出溶媒 Solvent for extraction	抗菌活性値 (AFA: %)	
	カワラタケ <i>Trametes versicolor</i>	オオウズラタケ <i>Fomitopsis palustris</i>
<i>n</i> -ヘキサン <i>n</i> -Hexane	— 0.53	13.4
エーテル Ether	53.3	70.1
クロロホルム Chloroform	64.4	82.7
メタノール Methanol	54.7	70.0

図1 イエシロアリによる木材ブロックを用いた強制食害試験

Fig.1 Mortality of workers of *Coptotermes formosanus* fed on wood blocks

- *Bagassa guianensis* heartwood (抽出前)
(Before extraction)
- アカマツ辺材
Pinus densiflora sapwood
- 絶食
Starvation

3.3.2 シロアリに対する抽出成分の影響

図2から図5には、各種溶媒抽出物を添加したろ紙を餌として飼育した場合のイエシロアリ職蟻の死虫率の推移を抽出溶媒ごとに示した。これらの図から、いずれの画分にも0.01%及び0.1%添加では死虫率曲線を大きく変化させるような成分は見いだされなかった。一方、クロロホルム抽出物及びメタノール抽出物を1%添加した場合、飼育の初期に、死虫率曲線の立ち上がりが見られた。また、メタノール抽出物が材中で10%以上あった

図2 *Bagassa guianensis* 心材の *n*-ヘキサン抽出物で処理したろ紙を摂食したイエシロアリ職蟻の死虫率の推移
 Fig.2 Mortality of workers of *Coptotermes formosanus* fed on filter papers treated with *n*-hexane extracts of *Bagassa guianensis* heartwood

図3 *Bagassa guianensis* 心材のエーテル抽出物で処理したろ紙を摂食したイエシロアリ職蟻の死虫率の推移
 Fig.3 Mortality of workers of *Coptotermes formosanus* fed on filter papers treated with ether extracts of *Bagassa guianensis* heartwood

図4 *Bagassa guianensis* 心材のクロロホルム抽出物で処理したろ紙を摂食したイエシロアリ職蟻の死虫率の推移
Fig. 4 Mortality of workers of *Coptotermes formosanus* fed on filter papers treated with chloroform extracts of *Bagassa guianensis* heartwood

図5 *Bagassa guianensis* 心材のメタノール抽出物で処理したろ紙を摂食したイエシロアリ職蟻の死虫率の推移
Fig. 5 Mortality of workers of *Coptotermes formosanus* fed on filter papers treated with methanol extracts of *Bagassa guianensis* heartwood

ことを考慮して、メタノール抽出物をろ紙に対して10%添加した試験では死虫率はさらに急激に増大した。なお、無添加のろ紙と溶媒のみを添加したろ紙についての比較から、溶媒の影響はほとんどなかった。表1に示した木材中における各抽出物の存在比率を考慮すると、*B. guianensis* 心材の殺蟻性に最も大きく寄与する成分は、そのほとんどが、最も多量に含まれるメタノール抽出物中に存在するといえる。

シロアリの生存数を飼育日数に対してプロットしたグラフから、シロアリの飼育期間中の延べ生存数を算出し、ろ紙の質量減少量を延べ生存数で除して、1頭あたり1日の見かけの摂食量を求めた(図6)。この図から、メタノール抽出物を10%添加したろ紙はほとんど摂食されていないことがわかる。一方、メタノール抽出物を0.1%添加したろ紙の摂食量は無添加のろ紙よりも明らかに大きく、忌避性を凌駕する誘引物質が含まれている可能性を示す。

Yoshimuraら⁷⁾によると、殺蟻性が高いことで知られるヒノキチオール(β -ツヤブリシン)を用いた試験では濃度1%の場合、4日間ですべてのシロアリが死滅し

図6 イエシロアリ職蟻1頭あたりの抽出物処理ろ紙摂食量
Fig. 6 Amount of ingestion of filter papers treated with extracts from *B. guianensis* heartwood (by one worker of *C. formosanus*)

図7 無添加(左)及びメタノール抽出物を2次元展開したセルロースTLC(右)を用いたイエシロアリ職蟻による選択摂食試験における食害の状況(12日後)

Fig. 7 Example of a choice feeding test by workers of *Coptotermes formosanus* using cellulose TLC plates on which methanol extracts were two-dimensionally developed (right) and untreated (left) (after 12 days)

注: 展開溶媒 水平方向 2-ブタノール: 酢酸: 水=14:1:5 (v/v)
垂直方向 10% 酢酸 (w/v) で2回

Note: Developing solvents

Vertical direction: 2-buthanol:acetic acid:water=14:1:5 (v/v)

Perpendicular direction: Two times with 10% acetic acid (w/v)

た。本実験の中で最も殺蟻性が強いメタノール抽出物でも10%添加試料ですべてのシロアリが死滅するのに15日を要した。このことから*B. guianensis*心材に含まれる殺蟻成分はヒノキチオールほどには強くないようである。

3.3.3 メタノール抽出物の分画とシロアリの摂食行動

試験開始後2日目に、一部の成分が展開した部分が選択的に摂食された。これはメタノール抽出物中にシロアリに対する誘引性の物質も含まれているためと考えられる。このことは、3.3.2で述べたように、メタノール抽出物を0.1%添加した場合、摂食量が無添加よりもむしろ大きいこととの関連性を示唆する。

試験開始後12日目のTLCプレートを図7に示す。無添加のセルロースプレートは全体がほぼ均等に摂食されたが、メタノール抽出物を展開したプレートでは摂食されない部分（写真で白色の部分）が残った。このプレートからシロアリが摂食しなかった部分を採取し、*n*-ブタノール：酢酸：水=1:1:1を溶媒として溶出した。溶出液を濃縮し、シリカゲルTLCで展開させたところ、主としてメタノール抽出物の中でもかなり極性の高い成分が見い出された。さらにヘキサノール抽出物、エーテル抽出物、クロロホルム抽出物と比較すると、メタノール抽出物から他の抽出物とオーバーラップする部分を除いたものであることがわかった。

4. 結 論

*B. guianensis*材について、カワラタケ、オオウズラタケのいずれの腐朽菌に対しても強い抵抗性が確認された。またイエシロアリを用いた試験でも、かなり強い抗蟻性成分が存在することが示唆された。

各種の溶媒による逐次抽出物のなかで、クロロホルム及びメタノール抽出物が高い抗菌活性を示した。イエシ

ロアリに対しては、メタノール抽出物中に、量的にも質的にも最も抗蟻活性の高い成分が含まれていることが示された。メタノール抽出物をセルロースTLCプレート上で2次元展開し、これを直接シロアリに選択摂食させることにより各成分の忌避性、誘引性を調べた。非摂食部には忌避性の成分が含まれると考えられ、この部分には極性の高い物質が存在することが確認された。セルロースTLCプレートを用いたこの方法は、展開溶媒の適切な選択により、新規生物活性物質の分離法となりうる。今後、このような物質のさらに明確な分画とその同定が必要と考えられる。

謝 辞

耐朽性、耐蟻性の試験にご協力いただいた、京都大学木質科学研究所、今村祐嗣教授及び角田邦夫助教授、また化学分析で多くの示唆を与えていただいた京都大学大学院農学研究科、中坪文明教授に感謝の意を表します。

参考文献

- 1) W. Sanderman, H. H. Dietrichs: Holz als Roh- und Werkstoff, **15**, 281-297 (1957)
- 2) 近藤民雄, 黒鳥四郎, 手島睦子, 住本昌之: 木材学会誌, **9**, 125-129 (1963).
- 3) A. B. Anderson: Tappi, **45** (1), 40A-62A (1962).
- 4) Tsunoda, K.: Wood Res., **77**, 18-27 (1990).
- 5) Chuduff, M.: "Tropical Timbers of the World", Agriculture handbook No. 607, U.S.D.A., Forest Service, 1984, p. 24.
- 6) Mori, M. et al.: Holz als Roh- und Werkstoff, **53**, 81-82 (1995).
- 7) Yoshimura, T. et al.: Jpn. J. Environ. Entomol. Zool., **7** (2), 72-78 (1995).

(1999. 1. 25 受理)