

VII-44

大型一年生褐藻アカモクのアレロパシーに関する基礎的研究

東北大学工学部 学生員○武田文彦
東北大学工学研究科 正 員 千葉信男
東北大学工学研究科 正 員 西村 修

1. はじめに

内湾・沿岸域の富栄養化の進行に伴い赤潮が発生し、それにより魚類の斃死などの水産被害や景観の悪化、悪臭の発生などの様々な悪影響を引き起こし、深刻な環境問題となっている¹⁾。したがって赤潮の原因となる植物プランクトン、とりわけ赤潮藻類の増殖に必要な窒素やリンといった栄養塩を系外へ除去したり、増殖を抑制できる物質などを利用することにより赤潮の発生を抑制する必要がある²⁾。

多くの植物、微生物等には周囲の生物の生長を促進・阻害する効果（アレロパシー作用）を有することが知られている²³⁾。アレロパシー（allelopathy）とは「微生物を含む全ての植物の間にみられる生化学的相互作用」³⁾のことで、Molischにより定義された⁴⁾。このアレロパシーに関して、陸上の植物や微生物による作用についての研究は古くから行われており、農業や林業、園芸などに反映されているものの⁵⁾、水生植物に関する研究は極めて少ない。しかし、大型水生植物の代謝産物が赤潮や水の華の構成種となる植物プランクトンの増殖を抑制する効果を有することがわかってきており^{6) 9)}、植物プランクトンの異常増殖に対してその発生を抑制する可能性が考えられる。一方、沿岸域に群生している大型一年生褐藻アカモク（*Sargassum horneri*）が放出する代謝産物は珪藻 *Skeletonema costatum* やラフィド藻 *Chattonella antiqua* といった赤潮藻類に対して増殖抑制効果を有することが明らかにされている¹⁾。海域において実際に生理活性物質による増殖抑制効果が作用しているかどうかはその作用をもたらす物質による評価を行うべきであり、そのためにはアカモクの生理活性物質がどのような物質であるかを同定して明らかにする必要があるが、物質が全く未知のまま同定することは困難である。しかし分画を行うことにより物質の特性に基づく分離が可能となり、微細藻類増殖抑制効果を有する物質を同定する足がかりとなる。そこでアカモクの代謝する生理活性物質による赤潮藻類の増殖抑制効果に着目し、室内実験によりアカモクから抽出した生理活性物質が珪藻 *S. costatum* の増殖に与える影響を検討した。

2. 実験方法

(a) *S. horneri* の生理活性物質の分画実験

実験に用いたアカモクは2001年11月に宮城県の大森湾において採取した。このアカモクを暗所で28日間アセトン浸漬抽出を行い、抽出液を減圧濃縮後、エーテルと水で分配して脂溶性と水溶性画分を得た。

脂溶性部には5%水酸化ナトリウム溶液を加え、35%塩酸で酸性にした後、エーテル抽出して酸性部（A）を得た。脂溶性部から酸性部を抽出した残りのものは、塩基成分がほとんどないため、これを中性部（N）とした。一方、水溶性部は活性炭カラムに吸着後、水、メタノール、及びメタノール/水/アンモニア（8:1:1）で逐次溶出し、水溶性活性炭通過部（WP）、水溶性メタノール溶出部（WM）、及び水溶性メタノール/アンモニア溶出部（WMA）とした。この分画のフローをFig.1に示す。

これらの画分を固体物質のみが残るまで減圧濃縮して得たものは-30℃の冷凍庫内で冷凍保存した。

また、本実験ではアカモクの生理活性物質による増殖抑制効果を受ける微細藻類として珪藻 *Skeletonema costatum* を用いた。本藻類は国立環境研究所より分譲され、実験室内の恒温槽内で f/2 培地で単藻培養したものを実験に用いた。培養に用いた海水は2001年12月に仙台新港より採水した。

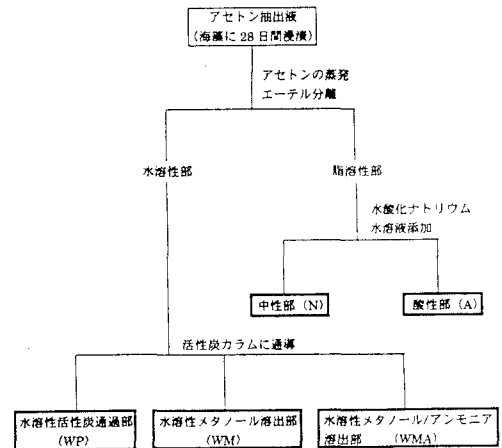


Fig.1 アカモクのアセトン抽出液の分画

(b) *S. horneri* の生理活性物質が *S. costatum* の増殖に与える影響

既往の研究から、微細藻類の増殖抑制や海藻に対する

摂食阻害を示す画分は没食子酸などのポリフェノール化合物が含まれている可能性の高い水溶性画分であることが多いことから、実験 (a) で得られた WM, WMA 画分の物質を *S.costatum* の培養液に溶かし、*S.costatum* の増殖に対する影響を調べた。まず、滅菌済みの栓付き 200ml 三角フラスコ中のろ過滅菌海水 100ml に *S.costatum* を個体数が約 $10^4 \text{ cells} \cdot \text{ml}^{-1}$ となるように接種し、栄養塩として $\text{NO}_3\text{-N}$ (NaNO_3) 2mg/l, $\text{PO}_4\text{-P}$ (KH_2PO_4) 0.2mg/l を添加して恒温槽内に設置した。培養は温度 20℃、照度 5000lux で明 12 時間、暗 12 時間の周期で行った。

実験開始から 2 日目に、*S.costatum* が対数増殖期に入ったことを確認した後、培養液中に WM, WMA 画分の物質を添加した。濃度は WM 200mg/l, WMA 200mg/l, WMA 1000mg/l, WM と WMA を 100mg/l ずつ、となるように添加し、恒温槽内で同様に培養した。実験開始から毎日サンプリングを行い、*S.costatum* の個体数 ($\text{cells} \cdot \text{ml}^{-1}$) を直接検鏡により測定した。

3. 実験結果

Table 1 にアカモクのアセトン抽出により得られたアカモク 1kg-wet 当たりの各画分の収量を示した。なお水溶性部の分画の際に、アカモクの色素と思われる物質が沈殿しており、その沈殿物が水に溶けて WP のうち無色透明なものと同色になったものが得られた。この色がついたものは WP 色つきとして採取した。

WM, WMA を添加して培養を行った結果、WM 200mg/l, WMA 200mg/l, WMA 1000mg/l, WM と WMA を 100mg/l ずつ、のいずれの培養条件においても *S.costatum* に対する顕著な増殖抑制効果が見られた (Fig.2)。WM と WMA を 100mg/l ずつ添加した系では WM200mg/l 添加した系や WMA200mg/l 添加した系に匹敵する抑制効果を示し、WMA1000mg/l 添加した系では添加してから 4 日後に *S.costatum* が死滅したことを確認した。またこれらの系では培養液中にフロックが形成され、顕微鏡観察によりそのフロックは *S.costatum* の遺骸もしくは珪酸質の殻が凝集してできたものであることを確認した。実験終了時 WM200mg/l 添加した系でのフロックの大きさは 3~5mm ほどであったのに対し、それ以外での添加系では 1mm 程度であるなど凝集効果に大きな差異が見られた。

Table 1 アカモクより抽出された各画分の収量
単位: mg/アカモク 1kg-wet

WP	WP 色つき	WM	WMA	A	N
14817	3832.2	230.8	572.7	23.2	141.1

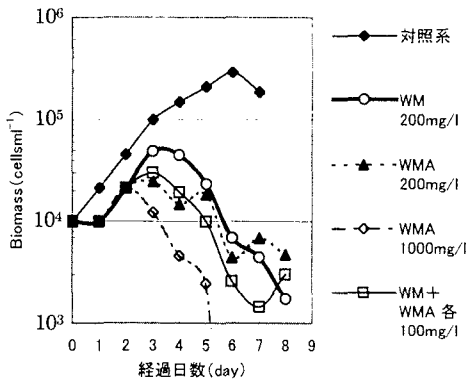


Fig.2 WM, WMA を添加した際の *S.costatum* 個体数の推移

4. まとめ

大型一年生褐藻アカモクの藻体よりアセトン抽出して得られた各画分の物質のうち、ポリフェノール化合物が含まれている可能性の高い水溶性メタノール溶出部 (WM)、及び水溶性メタノール/アンモニア溶出部 (WMA) を添加することにより、赤潮藻類の一種である珪藻 *Skeletonema costatum* の増殖を抑制するアレロパシー効果が見られた。また WM 画分は殺藻効果のみならず強い凝集効果を有していることが明らかになった。

5. 謝辞

アカモクより生理活性物質を抽出・分画するにあたり東北大学大学院農学研究科教授谷口和也先生及び同大学学生川島亜希子氏よりご指導を頂いた。ここに深く感謝の意を表します。

参考文献

- 1) 梶浦建樹 (1999) 大型海藻アカモクの水質浄化機能の評価。
- 2) 平田八郎, 末松裕幸, 川口智司 (1986) 赤潮生物の繁殖抑制に関する試み, 水産増殖, 34 (1), pp.61-68.
- 3) Elroy.L.R. [八巻敏雄, 安田環, 藤井善晴共訳] (1980) アレロパシー, 学会出版センター, pp.221-225.
- 4) Molisch,H. (1937) Der Einfluss einer Pflanze auf die andere: Allelopathine. , Fischer, Jena.
- 5) 中井智司, 井上豊, 細見正明, 村上昭彦 (1998) ホザキノフサモが放出したアレロパシー物質による藍藻類 (*Microcystis aeruginosa*) の増殖抑制, 日本水処理生物学会誌, 34 (3), pp.159-170.
- 6) 谷口和也, 蔵多一哉, 鈴木稔 (1991) 褐藻ツルアラメのポリフェノール化合物によるエゾアワビに対する摂食阻害作用, 日本水産学会誌, 57(11), pp.2065-2071.