

Pyrogallic acid が *Microcystis* の脂肪酸組成に及ぼす影響

東北大学工学部 学正会員 ○遠藤史章

東北大学大学院工学研究科 正会員 武田文彦, 塩入万里子

千葉信男, 野村宗弘, 中野和典, 西村修

1. はじめに

近年, 水域における富栄養化が微細藻類の異常増殖を引き起こし, 生態系に与える影響が懸念されている. その対策として大型水生植物の持つアレロパシーが注目されている. アレロパシーは植物体が放出する物質によって他種または自らが影響を受ける作用¹⁾であり, アレロパシー物質は生物由来のものであるため環境に与える負荷が少ないと考えられる. このアレロパシーによる微細藻類への増殖抑制効果には種特異性が認められており²⁾, 藻類の選択的制御も可能ではないかと期待されるが, なぜ種特異性があるのかは明らかになっていない.

Liら³⁾の研究においてヨシから抽出された物質により増殖抑制を受ける藻類では脂肪酸組成に変化が生じる一方で, 増殖抑制を受けない藻類では変化がないことが示された. この現象は藻類の脂肪酸組成からアレロパシーの種特異性を解明できる可能性を示唆する. しかしアレロパシー物質による増殖抑制に伴う脂肪酸組成の変化を測定した例は少なく, 知見が不足している. そこで本研究ではPyrogallic acid(PA)による光合成阻害に伴うアレロパシー効果が*Microcystis aeruginosa*の脂肪酸組成に与える影響を解析した.

2. 実験方法

(1) 供試藻類

藍藻類 *Microcystis aeruginosa* (NIES-87)を用いた. 滅菌したシリコン栓付き 200ml 三角フラスコ内のCB培地で照度 5000lx, 明暗 12時間周期, 25°C, 90rpm 回転振盪の条件で培養を行った.

(2) バイオアッセイ手法

シリコン栓付き三角フラスコに蒸留水 1L あたり Bicine500mgを溶かし 121°C, 15分のオートクレーブ滅菌を行い, pHを 9.0 に調整した. バイオアッセイ手法は塩入ら⁴⁾の方法に基づき, PA添加系とPA無添加系 (対照系) の各試験水に*M.aeruginosa*の細胞を 50 万cells/mlとなるように接種し, PA添加系では 0.5mg/lとなるように加えた. 塩入ら⁴⁾の研究ではこれらの条件でPAが*M.aeruginosa*に対する光合成阻害を生じることを明らかにしている. 各試験水を照度 5,000lx, 25°C, 90rpm回転振盪で 12 時間培養を行った後に顕微鏡により細胞数を測定し, 各系の比増殖速度(day^{-1})を算出した.

(2) 脂肪酸分析

前培養液及びバイオアッセイ終了時の培養液をろ過して得た細胞を凍結乾燥させ, Mfilingeら⁶⁾の方法を用いて脂質の抽出, 誘導体化を行い, キャピラリーカラム (VARIAN, Inc. CP-Select CB for FAME, 0.25mm, 100m) を装填したガスクロマトグラフィー (島津製作所 GC-17A) で分析を行った. 標準物質としてスペルコ社製の spelco37, PUFA-3 を用いてリテンションタイムにより脂肪酸の同定を行い, ピーク面積より各脂肪酸の割合を計算した.

3. 実験結果及び考察

(1) Pyrogallic acid による *M.aeruginosa* 増殖抑制

バイオアッセイの結果を図 1 に示す. 比増殖速度はPA無添加に比べPA添加系で有意に低下した ($p < 0.05$). PA無添加系で塩入ら⁴⁾による最大比増殖速度 $\mu_{\max}(0.807 \pm 0.173 \text{day}^{-1}, n=3)$ と同等であることを確認したことから ($p > 0.05$), *M.aeruginosa* は光合成阻害を受けたことにより比増殖速度が低下したと考えられる.

キーワード: アレロパシー, 脂肪酸, *Microcystis aeruginosa*

連絡先 〒980-8579 宮城県仙台市青葉区荒巻字青葉6-6-06

東北大学大学院工学研究科土木工学専攻環境生態工学研究室 TEL:022-795-7473 FAX:022-795-7471

(2)Pyrogallic acid が *M.aeruginosa* の脂肪酸組成に与える影響

バイオアッセイ開始時とバイオアッセイ後のPA無添加系の脂肪酸組成を比較すると、16:0 と18:0 の飽和脂肪酸の割合が増加していることが確認された。脂肪酸合成の経路としては炭素数及び不飽和結合の低次のものから作られることがわかっている⁶⁾、PA無添加で16:0の割合の増加が大きいのは、図2に示すように他の脂肪酸を合成するのに必要となる16:0が培養時間内に合成されたためであることがわかる。

バイオアッセイ開始時とPA添加系を比較すると、脂肪酸組成はほとんど変化していない。PAによる増殖阻害はグルコースを添加することで回復することがわかっている⁴⁾。グルコースは脂肪酸合成の基質となるアセチルCoAの生産に関わっているため⁷⁾、PAの添加によって新たな脂肪酸の合成が妨げられたことにより、脂肪酸組成が変化しなかったものと考えられる。そして、新たな脂肪酸が作られなかったことにより細胞の複製が妨げられることが増殖抑制として現れたと考えられる。

4. まとめ

Pyrogallic acid(PA)の光合成阻害が *Microcystis aeruginosa* の脂肪酸組成に及ぼす影響について、PA無添加の場合は脂肪酸合成により飽和脂肪酸の割合が増加したが、PA添加により新たな脂肪酸の合成ができず、組成が変化しなくなることが示された。

参考文献

- 1)沼田真編, 生態学辞典, 築地書館.
- 2)中井ほか(2000),水環境学会誌, **23**(11), pp726-730
- 3) Li ほか(2005),Applied and Environmental Microbiology,pp6545-6553
- 4)塩入ほか(2008),環境工学研究論文集,**45**, pp157-162
- 5)Piorreck ほか(1984),Phytochemistry**23**(2),pp207-216
- 6)Cohen ほか(1993),Phytochemistry,**34**(4),pp973-978
- 7)Blotta ほか(2003),Journal of Lipid Research,**44**, pp1559-1565

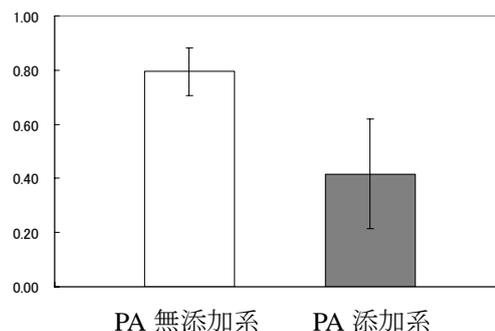


図 1.Pyrogallic acid が *Microcystis aeruginosa* の比増殖速度に及ぼす影響

表 1.Pyrogallic acid が *Microcystis aeruginosa* の脂肪酸組成に与える影響

脂肪酸	バイオアッセイ	PA 無添加系	PA 添加系
	開始時(n=1) t=0h	(n=3) t=12h	(n=3) t=12h
16:0	62.1	69.3±2.9	63.8±4.6
18:0	0	3.3±3.9	0.7±1.3
18:1n9	2.7	1.7±1.6	1.8±1.6
18:2n6	9.3	8.5±1.8	9.4±0.3
18:3n6	8.0	5.5±0.8	7.3±0.3*
18:3n3	9.7	6.8±1.0	9.1±0.7*
18:4n3	8.2	4.9±0.6	7.9±1.1*

単位：% of total fatty acids, *PA無添加と有意差あり

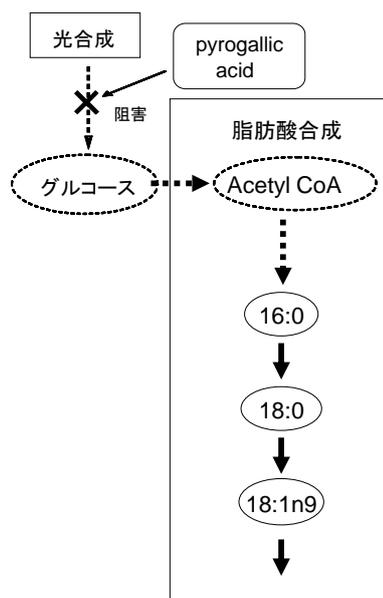


図 2.Pyrogallic acid が *Microcystis aeruginosa* の脂肪酸合成に与える影響の推定図
(文献 4,6,7 を基に作成)