

## 研究成果

サブテーマ名: 環境修復技術/赤潮等による海洋生物汚染の除去

小テーマ名: アオサ類のアレロパシ-物質の単離・同定及びその利用

サブテーマリーダー 長崎大学水産学部海洋生物機能科学講座、教授、藤田雄二  
 研究従事者 長崎大学水産学部海洋生物機能科学講座、助教授、石橋郁人  
 長崎大学水産学部海洋生物機能科学講座、教授、藤田雄二  
 長崎大学水産学部、教授、原 研治  
 長崎県衛生公害研究所、専門研究員、 石崎修造  
 長崎県衛生公害研究所、衛生化学科長、 川口喜之  
 長崎県衛生公害研究所、研究員、 古賀浩光  
 長崎県衛生公害研究所、研究員、 赤澤貴光

## 研究の概要、新規性及び目標

## 研究の概要

赤潮による漁業被害、特に養殖魚介類に対する被害を軽減防止するための積極的対策には、経済性や生態系への影響等の問題から、実用化されているものは少ない。餌止めや生簀の移動のような、緊急避難的措置がとられているにすぎない。緑色植物門アオサ藻綱アオサ属数種の葉体と有害赤潮プランクトンの渦鞭毛藻やラフィド藻との二藻培養(2種類を混合培養)すると、赤潮プランクトンは短日時に死滅することを見出した。アオサ類にはこれら赤潮プランクトンに対して毒性を示すアレロパシ-物質が含まれることが予想された。本研究ではアオサ類が持つ赤潮プランクトンに対する殺藻メカニズムを解明し、アオサ類と魚介類の混合養殖やアオサ粉末或いは抽出殺藻活性物質の活用による赤潮発生予防・防除のシステムを確立するための基礎的知見をうることを目的とした。

## 研究の独自性・新規性

近年、沿岸海域に繁茂するアオサ類は一部では食用、飼料用などへの利用性が検討されているが、一度繁茂したアオサ類は腐敗し周辺海域を汚染することから害藻とみなされることが多い。代表者らはアオサ類は赤潮を形成する渦鞭毛藻やラフィド藻を死滅させるアレロパシ-物質(殺藻活性物質)を含むことを見出した。有害赤潮プランクトンに対するアオサ類の殺藻活性の研究はこれまでなされていない。アオサのもつ殺藻活性物質を赤潮の予防・防除に役立てるという研究は、環境にやさしい、コストのかからない、技術的にも実現性の高い赤潮対策技術の開発である。本研究ではその基盤的部分を荷う。

研究の目標(各フェーズ毎に数値目標等をあげ、具体的に。)

フェーズ1 : (1) アナアオサ, リボンアオサから殺藻活性物質の抽出

(2) 殺藻活性物質の単離・同定

(3) アナアオサ, リボンアオサの人工採苗法の確立と筏での試験養殖。

フェーズ2 : (1) アナアオサ, リボンアオサから殺藻活性物質の赤潮防除物質としての利用に関する研究(海水環境下での安定性, 有効濃度や共力剤の効果, 残留性や他生物への影響など)。

(2) アナアオサ, リボンアオサの粉末による赤潮防除効果試験。

(3) 殺藻活性物質及びアナアオサ, リボンアオサの粉末による製剤化。

(4) アナアオサ, リボンアオサの人工採苗法による筏での養殖試験。

フェーズ3 : (1) 殺藻活性物質及びアナアオサ, リボンアオサの粉末の製剤による赤潮防除の実用化を継続。

(2) 魚類と海藻の混合養殖による赤潮防除のシステム・実用化を図る。

## 研究の進め方及び進捗状況(目標と対比して)

フェーズ1 : (1) アナアオサ, リボンアオサから殺藻活性物質の抽出、及び(2) 殺藻活性物質の単離・同定に関しては順調に進行し、3種類の活性物質の構造を明らかにした。また、殺藻活性物質として単離したヘキサデカテトラエン酸(HDTA)は天然からは極微量しか得られないため、化学合成を行った。さらに、殺藻活性物質の構造・活性相関に関する基礎的な知見を得た(100%)。 (3) アナアオサ, リボンアオサの人工採苗法の確立と筏での試験養殖に関しては、実施可能である見通しが得られた(80%)。

フェーズ2 : (1) アナアオサ, リボンアオサから殺藻活性物質の海水環境下での安定性, 有効濃度や共力剤の効果, 残留性や他生物への影響など必要な知見を得た(90%)、 (2) アナアオサ, リボンアオサの粉末による赤潮防除効果試験に関しては、実験室内での研究は全て終了した(100%)。 (3) 殺藻活性物質及びアナアオサ, リボンアオサの粉末による製剤化は、製剤化を行なうことができる製薬企業等を見出すことができず、実施していない(50%)。

フェーズ：フィールドテストの前段階として、メソコスムを用いた擬似海域試験に積極的に参加し、見出された技術的問題点について、基礎的検討を行う。

## 主な成果

具体的な成果内容：

### アオサの殺藻活性物質

採集リボンアオサからメタノールでの抽出物の石油エーテル可溶部を酸性～中性画分と塩基性画分に分けた。アカシオモ (*Heterosigma akashiwo*) に対する毒性を指標に、吸着、逆送分配、HPLC 等のクロマトグラフィーによって精製し、それぞれから3種類の殺藻活性物質を単離した。機器分析による構造解析の結果、ヘキサデカテトラエン酸(HDTA)、オクタデカテトラエン酸(ODTA)および  $\gamma$ -リノレン酸の高度不飽和脂肪酸であることが判明した。これらの各種植物性プランクトンに対する毒性が、ラフィド藻や渦鞭毛藻に対しては高活性で、珪藻に対しては低毒性であるなど、プランクトン種間に高い選択性をもつことを確認した。また、殺藻活性物質として単離したヘキサデカテトラエン酸(HDTA)は天然からは極微量しか得られないため、実用化に向けた研究に用いるサンプルを供給する目的で 12 工程からなる HDTA の化学合成ルートを考案しグラムスケールの HDTA 前駆体アルコールの合成にした。C16-C18 系列の 16 種類の脂肪酸、および合成した 12 種類の  $\gamma$ -リノレン酸誘導体の殺藻活性を比較し、生理活性と炭素数には相関がないが、不飽和結合数が高くと活性が増大し、活性発現には少なくとも 2 個以上の二重結合の数が必要であること、ならびに、カルボキシル基末端側に親水性が大きな置換基を持つ両親媒性の構造が必要であることなど、化学構造と活性の関係に関する基礎的な知見を得た。

### アオサ類の人工採苗による養殖

室内で培養したアナアオサとリボンアオサを成熟させ配偶子や遊走子をクレモナ糸に着生させ育苗したものを2～3週間毎に長崎市水産センター(牧島)の魚の養殖筏及び長与町の真珠養殖筏に垂下して、アナアオサとリボンアオサの成育に対する養殖水位と水温の影響を調べた。その結果、人工採苗によるアオサ類の養殖は十分可能であることが分かった。アオサ類と魚介類の混合養殖した場合に、残存する大量のアオサの後処理は依然として解決すべき問題として残っている。

毎月 10 種の海藻サンプルを採取し、不飽和脂肪酸組成及び含有量の季節変動と殺藻活性との相関を調べた。アオサ類(リボンアオサ、アナアオサ)の活性不飽和脂肪酸含量は、5月より7月をピークに増大し、その後減少した。また、月ごとの活性不飽和脂肪酸含量と赤潮プランクトンに対する毒性には、良い相関が見られた。アナアオサとリボンアオサの不飽和脂肪酸組成比にはほとんど差が見られていないが、含有量に関してはリボンアオサの方が2倍程度高いと推定される。

### 他生物への影響

アサリ成貝に対しては、1日後の急性毒性を調べたが、アオサ粉末および  $\gamma$ -リノレン酸のいずれもまったく無毒であった。アサリ稚貝(12-15 mm)にアオサ粉末 1.0 g/L を加え飼育すると1日以内では影響は見られなかったが、3日間無給餌で飼育すると 40%が死滅した。アオサ粉末を食べることが原因と思われ、アオサ粉末をネットに入れて吊るすなど、海底に沈まないような工夫を施せば、アサリに対する毒性は回避できる。一方、 $\gamma$ -リノレン酸(100 mg/L)区の生存率は 100%であった。

次いで、マングローブ・キリフィッシュを代表に、魚類に対する急性毒性を調べた。アオサ粉末(2 g/L)、 $\gamma$ -リノレン酸(10 mg/L、10%DMSO 溶液)、コントロール(DMSO, 1 mL/L)を加え飼育した。赤潮プランクトン *H. akashiwo* に対する LC<sub>50</sub> 量の約2～5倍の高濃度で負荷をかけたが、魚類の生活に悪影響はなかった。また、オニオコゼに対する無毒性も実証した。

動物性プランクトンのワムシやブラインシュリンプに対しても無毒であることを確認した。

### 投与方法等の検討

実海域での赤潮防除剤としては、増殖を抑えることによって効果も期待できる。増殖阻害活性濃度を求めたところ、アオサ粉末による *H. akashiwo* に対する1日後の増殖阻害活性 GI<sub>50</sub> 値は、約 0.04 g/L であり、4時間後の LC<sub>90</sub> 値 1.0 g/L の約1/20 の濃度の低濃度で増殖抑制に効果を示した。 $\gamma$ -リノレン酸の *H. akashiwo* に対する1日後の増殖阻害活性 GI<sub>50</sub> 値は、LC<sub>50</sub> 値の約 1/3(0.8 mg/L)であった。

赤潮プランクトンは海面表層付近に出現することが多く、活性成分を表層付近に留まらせ、徐々に海水中に溶出させる工夫を施すことにより効率的な投与が可能となる。粗目フィルターに入れ、表層に浮かしたアオサ乾燥粉末の殺藻能を、5L ビーカーレベルで調べた。その結果、アオサ粉末自体と同等の殺藻活性を持つことが解り、実海域での投与方法として効果的であることが示唆された。

特許件数:1

論文数:5

口頭発表件数:5

研究成果に関する評価

1 国内外における水準との対比

海藻の殺藻作用に関する報告は数例あるが、殺藻現象に関するものが多く、殺藻活性物質の単離には至っていない。アオサの殺藻活性物質の単離、アオサの種類による殺藻活性、アオサの人工採苗による増殖法、さらにはフィールドでの有効性などに関する研究は国内外のどこでも行われていない。

2 アオサ類の持つアレロパシー物質を赤潮防除に活用

アオサ類の増殖を富栄養化対策に使う試みはあるが、積極的な赤潮発防除対策としてその持つ殺藻作用を活用しようとする研究はない。アオサ類の人工採苗による増殖が確実に出来るようになると、赤潮の予防・防除の効果が計画的に実施できるようになる。

残された課題と対応方針について

実海域における効果の有無、あるいは環境や生物に対する影響に関しては検討中であり、今後は詳細なフィールドテストの継続を共同実施したい。より効果的で環境負荷が少ない投与方法(カプセル化等)とコストダウン(市販品の活用)の検討が必要。さらに、実験室での結果と擬似海域での試験との結果の比較対比、生じた矛盾点の解明。

	JST負担分(千円)							地域負担分(千円)							合計
	H 13	H 14	H 15	H 16	H 17	H 18	小 計	H 13	H 14	H 15	H 16	H 17	H 18	小 計	
人件費	0	0	0	0	0	0	0	0	10,250	10,000	10,000	0	0	30,250	30,250
設備費	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
その他研究費 (消耗品費、 材料費等)	200	6,741	3,420	6,000	5,500	1,750	23,611	0	8,505	7,152	7,152	0	0	22,809	46,420
旅費	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
その他	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
小 計	200	6,741	3,420	6,000	5,500	1,750	23,611	0	18,755	17,152	17,152	0	0	53,059	76,670

代表的な設備名と仕様[既存(事業開始前)の設備含む]

JST負担による設備:

地域負担による設備: GC-MS GC

複数の研究課題に共通した経費については按分する。