

学 位 論 文 題 名

Study on Allelochemicals from Coralline
Red Algae in Isoyake Areas

(磯焼け海域における紅藻サンゴモのアレロケミカルスに関する研究)

学位論文内容の要旨

【緒言】一般に沿岸岩礁域は、コンブ類やホンダワラ類などの大型海藻が繁茂した「藻場」と呼ばれる豊かな生態系を形成している。しかし、近年この藻場が衰退して、その跡に紅藻無節サンゴモ（石灰藻）の優占群落が見られる磯焼け現象が、北海道南西部や三陸海岸を中心に今世紀初頭から全国各地で観測されている。世界各地でも数多く報告されており"Coralline flats"、"Barren grounds"、"Sea desert"、"Open space"等と呼ばれている。磯焼け地帯には何も生息していないわけではなく、そこには共通に紅藻無節サンゴモ類が一面に広がり、また無数のウニを見ることができる。磯焼け現象は、有用海藻や魚介類の減少を招き、沿岸漁業の生産を著しく低下させるため社会的にも問題になり、長年にわたり調査・研究が行われてきた。現在までに海水温の上昇、藻食動物による食害、サンゴモの表層細胞の剥離、大きな時化、貧栄養、鉄イオン不足等、磯焼け現象の持続・発生要因に関わるいくつかの説が提唱されている。

本研究では上記の要因以外に他感作用物質（アレロケミカルス）の関与を想定して、化学生態学的な視点から磯焼け現象を解明することを目的とした。そこで、ウニとサンゴモ、コンブとサンゴモ間に働くアレロケミカルスに着目し、(1)「なぜキタムラサキウニは磯焼け海域に偏集するのか」、また、(2)「なぜコンブ群落は磯焼け海域でも低海水温の年に回復するのか」の二つの課題に関与する化学物質を探索した。

【結果】(1)の解明にあたり、ウニ幼生の誘引及び着底・変態に関するアレロケミカルスをサンゴモより探索した。サンゴモ類がウニ幼生の着底・変態を誘起することは知られており、二種の化合物（エイコサペンタエン酸及びジプロモメタン）が着底・変態誘起物質として報告されている。しかし、これらの化学物質により磯焼け海域におけるウニ幼生の着底・変態誘起を説明するには無理があり、他の活性物質の存在が示唆された。そこで、サンゴモからウニ幼生の着底・変態誘起物質の探索を行った。

実験方法は、海水を満たした腰高シャーレに藻体又は抽出物を入れ、そこに着底直前の八腕後期プルテウス幼生を投入し幼生の状態を経時的に観測した。その結果、無節サンゴモと有節サンゴモのピリヒバがウニ幼生の着底・変態を誘起することが分かった。また、海藻を培養した海水でも活性が見られ、アレロケミカルスの存在が明らかになった。そこで、比較的採集の容易なピリヒバを用いて活性物質のスクリーニングを行った。北海道忍路湾で採集したピリヒバ（湿重量1.6 kg）をメタノールで抽出し、減圧濃縮後水とブタノー

ルで分配した。さらにブタノール層を減圧乾固した後、ヘキサンとメタノールで分配した。最も活性の強いメタノール層を生物試験を指標に、各種クロマトグラフィーを用いて分離を行い、6種の活性物質を得た。これらの活性物質を各種スペクトルを用いて解析した結果、スルホキノボシルモノアシルグリセロール(SQMG)、モノガラクトシルジアシルグリセロール(MGDG)、ジガラクトシルモノアシルグリセロール(DGMG)等のグリセロ糖脂質と同定した。これらのグリセロ糖脂質について最小活性濃度を調べた結果、SQMGは $8.7 \times 10^{-6} \text{M}$ 、MGDGは $6.8 \times 10^{-6} \text{M}$ 、DGMGは $1.5 \times 10^{-5} \text{M}$ の濃度で変態を誘起した。また、MGMGは $2.0 \times 10^{-5} \text{M}$ で変態中間まで誘起したが完全な変態は見られなかった。いずれの化合物も高濃度では毒性を示した。DGDGとSQDGはそれぞれ $1.5 \times 10^{-5} \text{M}$ と $6.0 \times 10^{-6} \text{M}$ で着底することが確認された。このようにウニ幼生の着底・変態誘起物質として紅藻有節サンゴモのピリヒバから6種類のグリセロ糖脂質を同定することができた。

さらに、サンゴモはウニ幼生の着底・変態を誘起するだけでなく、幼生を誘引する作用もあるのではないかと考え、ウニ幼生の誘引効果を調べた。実験方法は大型のスチロールケースに小さなトレーを敷き詰め、そこに活性炭処理した滅菌ろ過海水を入れ、片側のトレーにピリヒバを置いた。スチロールケースの中心に八腕後期プルテウス幼生を散布し、暗所、 15°C で静置して36時間後に各トレー内のウニ幼生を観測した。その結果、ピリヒバ周辺に多くのウニ幼生が集まり、かつ変態していることが分かった。この結果からピリヒバには幼生を誘引させる効果があることが明らかになった。さらに、着底・変態を誘起する6種類のグリセロ糖脂質についても同様な実験を試みた。海藻の代わりに片側のトレーに化合物を染み込ませたろ紙を、反対側には対照区としてろ紙のみを置いて誘引効果を調べた。その結果、着底・変態を強く誘起したSQMG、DGMG、MGDG、MGMGにウニ幼生が誘引されていることが明らかになった。しかしSQDGやDGDGには誘引を示す有意な差は確認されなかった。

このように、有節サンゴモのピリヒバからアレロケミカルスとしてグリセロ糖脂質を同定した。これらのグリセロ糖脂質はウニ幼生を誘引し、さらに着底・変態を誘起することが明らかになった。これらのグリセロ糖脂質のうちSQDG、DGDG、MGDGはエゾバフンウニの摂餌誘引刺激物質であることが知られている。また、磯焼け地帯の優占種である無節サンゴモからも6種のグリセロ糖脂質を確認した。このように、グリセロ糖脂質がウニを蛸集させる一因であることを明らかにした。

さらに(2)の現象をアレロケミカルスの視点から明らかにするために、サンゴモのコンブ配偶体に対する生長阻害に着目した。現在までにサンゴモとコンブ配偶体との二藻培養の実験から、サンゴモが高温でコンブの初期発生を抑制すること、及びアレロケミカルスの存在が示唆されていた。そこで、ウニ幼生に対して活性を示した6種類のグリセロ糖脂質についてコンブ配偶体の生長阻害活性を調べた。その結果、MGDGがコンブ配偶体の生長を完全に阻害することが明らかになった。また、DGDG、MGMG、SQDGにおいても配偶体の生長を強く抑制した。このように、グリセロ糖脂質はウニ幼生の誘引及び着底・変態を誘起するだけでなく、コンブ配偶体の生長も抑制することが明らかになった。

【まとめ】以上のことから、紅藻サンゴモはウニに対するアレロケミカルス（浮遊幼生に対する誘引作用、着底・変態誘起作用、ウニ成体に対する摂食刺激作用）及びコンブに対するアレロケミカルス（コンブ配偶体に対する生長抑制作用）を放出していることが明らかになった。これらの現象に関わる化学物質としてグリセロ糖脂質を同定した。

本研究において、海の砂漠とも呼ばれる磯焼けの海底でも、そこに棲息する生物種間における関係が食物連鎖ばかりでなく、種々の生物活性を発現する化学物質（ケミカルシグナル）を介して成り立っていることが明らかになった。このように、アレロケミカルスが磯焼け現象の持続に大きく関与している可能性は十分に考えられる。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 高 杉 光 雄
副 査 教 授 長 谷 部 清
副 査 教 授 市 村 輝 宣 (理学部)
副 査 助 教 授 鈴 木 稔

学 位 論 文 題 名

Study on Allelochemicals from Coralline Red Algae in Isoyake Areas

(磯焼け海域における紅藻サンゴモのアレロケミカルスに関する研究)

一般に沿岸岩礁域は、コンブ類やホンダワラ類などの大型海藻が繁茂した「藻場」と呼ばれる豊かな生態系を形成している。しかし、近年この藻場が衰退して、その跡に紅藻無節サンゴモ（石灰藻）の優占群落が見られる磯焼け現象が、北海道南西部や三陸海岸を中心に今世紀初頭から全国各地で観測されている。磯焼け現象は、世界各地でも数多く報告されており"Coralline flats"、"Barren grounds"、"Sea desert"、"Open space"等と呼ばれている。

磯焼けは、有用海藻や魚介類の減少を招き、沿岸漁業の生産を著しく低下させるため社会的にも問題になっている。磯焼け現象の発生あるいは持続要因として現在までに海水温の上昇、藻食動物による食害、サンゴモの表層細胞の剥離、時化、貧栄養、鉄イオン不足などの説が提唱されている。

本申請者は、上記の要因以外に他感作用物質（アレロケミカルス）の関与を想定して、磯焼け海域における紅藻サンゴモ、ホソメコンブなどの大型海藻類およびウニなどの藻食性捕食者の三者間の相互作用をアレロケミカルスの視点から明らかにすることを目的として研究を行った。すなわち、(1)「なぜキタムラサキウニは磯焼け海域に蟄集するのか」、また、(2)「なぜコンブ群落は磯焼け海域でも低海水温の年に回復するのか」の二つの課題に関与する化学物質を探索した。

(1)の解明にあたり、先ずウニ幼生の誘引及び着底・変態に関するアレロケミカルスをサンゴモより探索した。北海道忍路湾で採集した有節サンゴモのピリヒバをメタノールで抽出し、減圧濃縮後、水とブタノールで分配した。さらにブタノール層を減圧乾固した後、ヘキサンとメタノールで分配した。最も活性の強いメタノール層を生物試験を指標として、各種クロマトグラフィーを用いて分離を行い、6種の活性物質を得た。これらの活性物質を各種スペクトルを用いて解析した結果、スルホキノボシルモノアシルグリセロール(SQMG)、モノガラクトシルジアシルグリセロール(MGDG)、ジガラクトシルモノアシル

グリセロール(DGMG)等のグリセロ糖脂質と同定した。これら6種のグリセロ糖脂質の存在は、磯焼け地帯の優占種である無節サンゴモのエゾイシゴロモからも確認された。

さらに、サンゴモはウニ幼生の着底・変態を誘起するだけでなく、浮遊幼生を誘引する作用もあるのではないかと考え、ウニ幼生に対する誘引効果を調べた。その結果、サンゴモ周辺に多くのウニ幼生が集まり、かつ変態していることが分かった。さらに、着底・変態を誘起した6種類のグリセロ糖脂質についても同様な実験を試みたところ、着底・変態を強く誘起したSQMG、DGMG、MGDG、MGMGにウニ幼生が誘引されていることを明らかにした。サンゴモから得られたウニ幼生を誘引し、さらに着底・変態を誘起するグリセロ糖脂質のうちSQDG、DGDG、MGDGは、エゾバフンウニの摂餌誘引刺激物質であることが知られている。

さらに(2)の現象をアレロケミカルの視点から明らかにするために、サンゴモのコンブ配偶体に対する生長阻害に着目した。現在までにサンゴモとコンブ配偶体との二藻培養の実験から、サンゴモが高温でコンブの初期発生を抑制すること、及びアレロケミカルの存在が示唆されていた。そこで、ウニ幼生に対して活性を示した6種類のグリセロ糖脂質についてコンブ配偶体の生長阻害活性を調べた。その結果、MGDGがコンブ配偶体の生長を完全に阻害することが明らかになった。また、DGDG、MGMG、SQDGにおいても配偶体の生長を強く抑制した。このように、グリセロ糖脂質はウニ幼生の誘引及び着底・変態を誘起するだけでなく、コンブ配偶体の生長も抑制することが明らかになった。

本研究は、磯焼け海域における紅藻サンゴモ、ホソメコンブなどの大型海藻類およびウニなどの捕食者の三者間の相互作用がアレロケミカルスを媒介として成り立っていることを明らかにした。すなわち、紅藻サンゴモは、コンブ配偶体の初期発生を抑制する物質を放出して磯焼け地帯へのコンブの入植を阻害するだけでなく、ウニ幼生を誘引し、着底・変態を誘起する物質（グリセロ糖脂質）を分泌し、さらにこの物質はウニ稚仔や成体の摂食刺激物質でもあるためにウニをサンゴモの群落に蟄集させ、その摂食圧によって磯焼け状態を持続させていることを明らかにした。

本研究において、海の砂漠とも呼ばれる磯焼けの海底でも、そこに棲息する生物種間における関係が食物連鎖ばかりでなく、種々の生物活性を発現する化学物質（ケミカルシグナル）を介して成り立っていることが明らかになった。これらの成果は、磯焼け現象解明のための今後の研究に大きく寄与することが期待される。

審査員一同は、これらの成果を高く評価するとともに、研究者、研究指導者としても誠実且つ熱心であることなども併せ、申請者が博士（地球環境科学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものと判定した。