

ムラサキイガイの足糸付着誘引物質

誌名	日本水産學會誌
ISSN	00215392
著者	衛藤, 英男 村山, 伸子 石川, 良市
巻/号	62巻5号
掲載ページ	p. 796-799
発行年月	1996年9月

ムラサキイガイの足糸付着誘引物質

衛藤英男, 村山伸子, 石川良市, 兀下伸二, 伊奈和夫

(1995年9月1日受付)

Attachment-promoting Substances of the Blue Mussel, *Mytilus edulis galloprovincialis**1Hideo Etoh,*2 Nobuko Murayama,*2 Ryoichi Ishikawa,*2
Shinji Hageshita,*2 and Kazuo Ina*2

Search for substances that promote attachment of marine sessile organisms using the blue mussel, *Mytilus edulis galloprovincialis*, is not only important in aquaculture, but also provides information on the modes of action of repellents. Curcumin, BHT, and their derivatives were found to be attachment promoting for *M. edulis galloprovincialis*. Metal chelates were active. Compounds capable of forming chelated structure may be active because of the presence of free metals in sea water. Some of these active compounds also showed antioxidant activity.

キーワード: ムラサキイガイ, 足糸付着誘引物質, BHT, クルクミン

日本人は、古来より海藻や魚類などを糧とし海からの恩恵を受けてきたが、現在では、人口増加、海洋汚染、水産物の乱獲などにより、その枯渇が問題となってきた。そのため、人工魚礁を海中に敷設し、仔稚魚の資源量を回復させる事業が盛んとなった。しかし、コンクリート、プラスチック、鉄や古タイヤなどを用いた人工魚礁では、藻類が付着、繁殖し、魚礁としての機能を発揮するまでには、少なくとも3~4年の歳月が必要である。そこで、魚礁用構築物に初期付着生物の付着・発育促進作用を持つ物質を塗布する事などにより、効果的に水産物を増殖する試みが広く行われている。すなわち、1)藻類の付着促進のための魚礁表面の粗処理、2)光ファイバーによる藻類の成長に欠かせない太陽光の照射、3)魚礁材料表面への藻類の胞子の付着処理、4)付着生物の付着誘引および発育促進物質の利用、5)藻食動物の忌避のための化学物質の塗布、などの方法である。

日本においては、のり養殖業などが盛んなことから藻類の付着についての研究が活発に行われている。¹⁾ 海藻などの増殖促進には、肥料、カルシウム・鉄などの金属、植物ホルモン、ステロイド・高級アルコール、有機酸およびそれらの誘導体などが用いられている。しかし、ムラサキイガイ、フジツボ、カキなどの動物種に対する付着誘引物質の研究は少ない。

著者らは、海水中に塩化ビニル板（ブチラール樹脂と

各種化合物との混合物を塗布）を沈める浸漬試験法²⁾での観察によって、安息香酸およびコウジ酸にムラサキイガイの付着誘引を認めた。また、付着誘引物質を簡便に探索するため、ムラサキイガイの忌避試験法を改良し、足糸付着誘引物質検索法を確立した。³⁾ この実験法を用いて、安息香酸のナトリウムおよびカリウム塩およびコウジ酸のマグネシウムおよびカルシウム錯体が、安息香酸およびコウジ酸と比べて強い足糸付着誘引活性を示すことが分かった。

今回、この試験法を用いて、さらに足糸付着誘引活性物質を検索したので報告する。

実験方法

被検動物 本試験には、静岡市用宗港および清水市清水港で採取し、本学農学部附属魚類餌料実験実習施設にて飼育した殻長1.5~2.0 cmのムラサキイガイを用いた。

アッセイ法³⁾ Webron®板（特種製紙株式会社製、厚さ1.5 mm）をメタノールを含ませたキムワイプで汚れや油分を拭いとった。この板に鉛筆で同心円になるように直径4.5 cmの内円と7.2 cmの外円を描き、図1のように8等分した。実験結果の判定をより確実にするため、中心に直径2.0 cmの円を描き、くり抜いた。次に、サンプルを約2 mlのメタノールに溶解し、脱脂綿

*1 海洋付着生物に対する付着誘引物質に関する研究II (I; 文献3)。

*2 静岡大学農学部応用生物化学科 (Department of Applied Biological Chemistry, Faculty of Agriculture, Shizuoka University, 836 Ohya, Shizuoka 422, Japan).

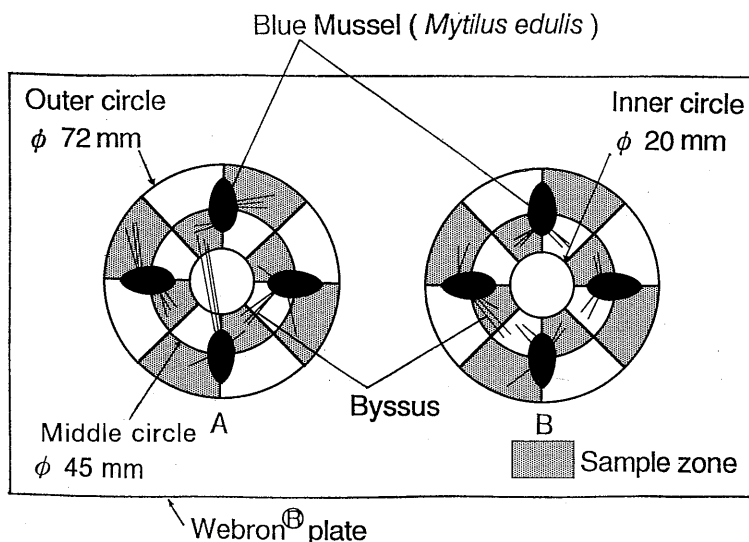


Fig. 1. The assay plate for assaying attachment-promoting activity. (A) The sample has attachment-promoting activity. (B) sample has no attachment-promoting activity.

(直径約 3 mm) を用いて、16 のゾーン中に交互 8 個に塗った。ムラサキガイ 4 個体をゴム片 (約 5 mm の立方体) によって図 1 のように固定した。なお、ゴムの接着位置の影響を考えて、左右それぞれ 2 個体ずつとした。溶媒が揮散後、試験板を海水の流入する水槽内に浸漬し、暗所で 3 時間放置した。その後、水槽から引き上げ、足糸の付着位置と本数を数え、判定した。

判定法 2 個体を一組として、付着した全ての足糸のうち、サンプルを塗ったところに付着した足糸数をパーセントで表わした。図 1B の場合、足糸数の合計が 20 本で、サンプルゾーンにある足糸数が 11 本なので 55% となるのに対して、図 1A では 100% となる。そこで、サンプルゾーンになにも塗布しない場合 (コントロール) のパーセント (50% 前後) 以上であれば誘引活性があると判断した。

結果および考察

すでに報告したように³⁾ コウジ酸の金属錯体に活性がみられたことから、金属キレート化合物一般に誘引活性がみられるか否かを検討した。クルクミン (1)、4H-クルクミン (2)、インジゴカーミン (3)、アリザリン (4)、プルプリン (5)、8-キノリノール (6)、ジチゾン (7) およびエリクロムブラック T (8) について検討した。1.0 $\mu\text{mol}/\text{cm}^2$ でこれらの化合物のうち 1, 2 および 3 に足糸付着誘引活性がみられ、その他の化合物にはこの濃度で活性がみられなかった。

すでにムラサキガイを用いた足糸付着忌避試験によ

って、パラアルキルフェノール類が忌避活性を持つことを報告し、⁴⁾ パラアルキルフェノール類の活性の発現には、アルキル鎖の長さ (炭素数 7~9) および枝分かれが重要であることを明らかにしたが、その際、フェノールのオルト位に嵩高い置換基 (*tert*-ブチル基) が付くと、活性がなくなることが分かった。⁵⁾ この結果から、オルト位に嵩高い基を持つフェノール類は付着忌避活性を示さないだけでなく、忌避の逆の足糸付着誘引活性を有していると考えられた。そこで、オルト位に *tert*-ブチル基を有する化合物として、2,6-ジ-*tert*-ブチル-4-メチルフェノール (BHT, 9)、2,6-ジ-*tert*-ブチル-4-ヒドロキシアニソール (10)、2,4,6-トリ-*tert*-ブチルフェノール (11)、2,6-ジ-*tert*-ブチルフェノール (12)、3,5-ジ-*tert*-ブチルトルエン (13)、および 2,6-ジ-*tert*-ブチル- α -(3,5-ジ-*tert*-ブチル-4-オキシ-2,5-シクロヘキサジエン-1-イリデン)- α -トリロキシ、フリーラジカル (ガルビノキシル) (14) を選び、これらの化合物の付着誘引活性を調べた。その結果、足糸付着誘引活性は、金属キレート能をもつ化合物 1, 2、および 3 より弱い、BHT (9)、化合物 10、および 14 にそれぞれ、28, 28、および 14 $\mu\text{mol}/\text{cm}^2$ で活性がみられた。しかし、同じ濃度で化合物 11, 12, 13 には活性はみられなかった。

活性のみられた上記の化合物のうちクルクミンおよび BHT は抗酸化作用が有するので、抗酸化剤に活性を期待し、 α -トコフェロール (15) について効果を調べた。その結果、1.0 $\mu\text{mol}/\text{cm}^2$ で活性がみられた。

以上の結果、今回活性のみられた中でクルクミン、ク

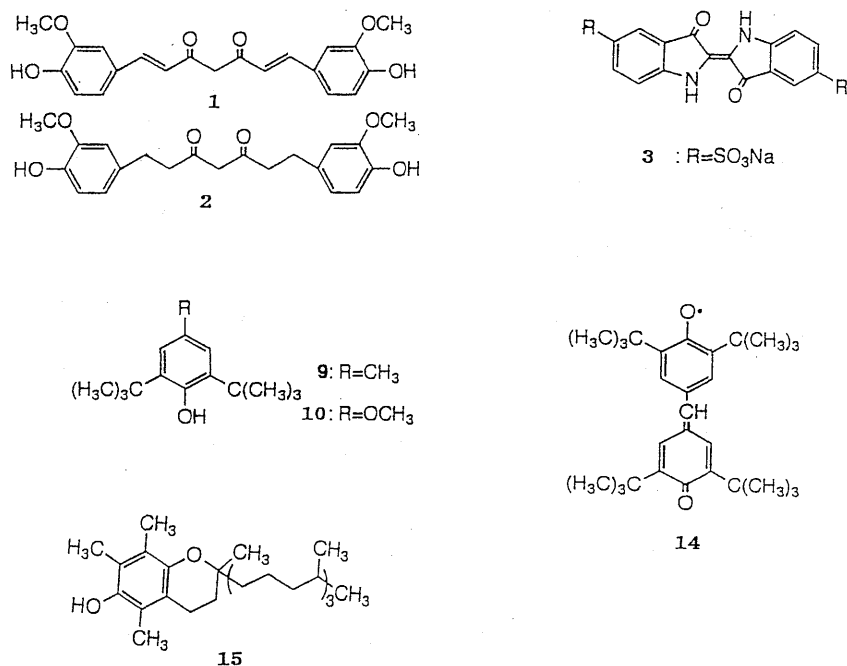


Fig. 2. Attaching attractants for the blue mussel, *Mytilus edulis*.

Table 1. Attaching attractive activity for the blue mussel, *Mytilus edulis*

Compound ^a	Sample amount $\mu\text{mol}/\text{cm}^2$	Attaching (%)	Activity
Curcumin (1)	1.0	87+ 9 ^a	(+)
Curcumin Mg chelate (1-Mg)	1.0	94+ 8	(+)
4H-curcumin (2)	1.0	76+13	(+)
Indigocarmine (3)	1.0	89+ 2	(+)
α -Tocopherol (15)	1.0	75+12	(+)
2,6-Di- <i>tert</i> -butyl- α -(3,5-di- <i>tert</i> -butyl-4-oxo-2,5-cyclohexadiene-1-ylidene- <i>p</i> -toloxy, free radical (Galvinoxyl) (14)	14	100+ 0	(-)
	7.0	81+ 0	(+)
	3.5	83+23	(-)
BHT (9)	28	77+ 8	(+)
	14	76+19	(-)
3,5-Di- <i>tert</i> -butyl-4-hydroxyanisole (10)	28	87+15	(+)
	14	77+25	(-)
Control		44+19	(-)

^a Standard deviation, number of trials 4-18

* : Attractive activity — : Not attractive activity

ルクミン Mg 錯体, 4H-クルクミン, インジゴカーミン, α -トコフェロールは $1.0 \mu\text{mol}/\text{cm}^2$ で付着誘引を示し, 前報のコウジ酸, 安息香酸より 3~44 倍強い活性であった。クルクミンは, コウジ酸が金属錯体で誘引活性が上昇した (コウジ酸で $40 \mu\text{mol}/\text{cm}^2$ 以上, マグネシウム錯体で $5 \mu\text{mol}/\text{cm}^2$, カルシウム錯体では $39 \mu\text{mol}/\text{cm}^2$ で活性がみられた³⁾ように, 金属が誘引に重要で

あり, また錯体の構造も活性の強さに影響を及ぼしていることが考えられた。BHT および α -トコフェロールについては, BHT およびトコフェロール類縁体の γ -トコトリエノールが, *Phragmatopoma californica* および *Coryne uchidai* (hydrozoa) の幼生の変態をそれぞれ誘起することが報告されている。^{6,7)} 活性を示す濃度は, 幼生の着定・変態物質と比較すると 10 倍から 100 倍と高い

が、生物の化学刺激との関係を知るうえでも情報を与えてくれるものと思われる。また、これらの変態活性の発現にはラジカルが関与していると報告されている⁸⁾ことに関連して、安定なラジカルであるカルピノキシルに誘引活性がみられたことも興味深いことと思われる。

ムラサキイガイを用いて、その成体を誘引する物質を探索することは、栽培漁業へ寄与するだけでなく、付着忌避物質の活性発現機構の解明に重要と思われる。また、近年産業廃棄物の再利用が重要な課題となっているが、動物種の誘引物質をそれらに混ぜて海産物の増殖に用いることも考えられ、今後このような研究がますます盛んになるものと思われる。

文 献

- 1) 大貝政治, 松井敏夫, 小野浩市朗, 辻中浩司, 小田中博: 海産微細藻類4種の増殖に及ぼすカルボン酸とその塩の影響, 日水誌, 59, 647-652 (1993).
- 2) R. Takasawa, H. Etoh, A. Yagi, K. Sakata, and K. Ina: Nonylphenols as promising antifouling agents found by a simple bioassay method using the blue mussel, *Mytilus edulis*, *Agric. Biol. Chem.*, 54, 1607-1610 (1990).
- 3) H. Etoh, N. Murayama, N. Watanabe, R. Takasawa, W. Miki, and K. Ina: A method for assaying substances that promote attachment of marine sessile organisms using the blue mussel, *Mytilus edulis*, *J. Mar. Biotechnol.*, 2, 55-57 (1994).
- 4) R. Takasawa, C. Ogura, N. Watanabe, H. Etoh, K. Sakata, and K. Ina: An efficient laboratory matching and screening method for antifouling substances using the blue mussel, *Mytilus edulis*, and antimicrobial assay, *Agric. Biol. Chem.*, 56, 1208-1211 (1992).
- 5) H. Etoh, N. Ban, J. Fujiyoshi, N. Murayama, K. Sugiyama, N. Watanabe, K. Sakata, K. Ina, H. Miyoshi, and H. Iwamura: Quantitative analysis of the antimicrobial activity and membrane-perturbation potency of antifouling *para*-substituted alkylphenols, *Biosci. Biotech. Biochem.*, 58, 467-469 (1994).
- 6) R. A. Jensen and D. E. Morse: Chemically induced metamorphosis of polychaete larvae in both the laboratory and ocean environment, *J. Chem. Ecol.*, 16, 911-930 (1990).
- 7) T. Kato, A. S. Kumanireng, I. Ichinose, Y. Kitahara, Y. Kakinuma, M. Nishihira, and M. Kato: Active components of *Sargassum tortile* effecting the settlement of swimming larvae of *Coryne Uchidai*, *Experientia*, 31, 433-434 (1975).
- 8) L. Chevolut, J-C. Cochard, and J-C. Yvin: Chemical induction of larval metamorphosis of *Pecten maximus* with a note on the nature of naturally occurring triggering substances, *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 74, 83-89 (1991).