

## A-5 紫外線増加が植物に及ぼす影響に関する研究

### (4) 紫外線の植物への影響の作用機構に関する研究

研究代表者 国立環境研究所 近藤 矩朗

環境庁 国立環境研究所

地域環境研究グループ 新生生物評価研究チーム 近藤矩朗・佐治 光

生物圏環境部 環境植物研究室 大政謙次・清水英幸

平成2-4年度合計予算額 32,969千円

【要旨】オゾン層破壊により増加するUV-Bの植物への影響の作用機構を検討するために、キュウリの芽生えを用いてUV-B照射の室内実験を行った。UV-Bはキュウリの第一葉の成長を阻害し、葉面に可視障害を生じた。成長阻害の程度は1日あたりのUV照射時間に影響されず、ほぼ一定であった。UV-Bによる成長阻害の作用スペクトルを得るために、第一葉が展開を始めた時期に、大型スペクトログラフを用いて280nmから320nmの範囲で10nm間隔で単色光紫外線照射を行い、波長ごとの影響の程度を比較した。照射時間は一日4時間とし、その前後は4時間ずつ白色光を照射し、3日間照射を繰り返した。第一葉の成長は280、290、300nmの単色光により顕著に抑制され、これらの単色光の強度が高い場合には葉に顕著な障害は生じ、3日後には萎れた。各波長毎の光強度と成長阻害率との関係から、25%成長阻害の作用スペクトルが得られた。280と290nmの紫外光は他の波長と比べて強い成長阻害効果を有し、320nmでは阻害効果は認められなかった。単色光紫外線照射と同時に可視光を照射したところ、300nmによる成長阻害は軽減されたが、290nmによる阻害は回復しなかった。これらの結果は、オゾン層破壊により著しく増加すると予測されている290~300nmの紫外線は強い成長阻害効果を有しており、紫外線と同時に強い可視光が照射される自然環境においても強く阻害される可能性があることが明らかになった。

【キーワード】可視障害、キュウリ芽生え、作用スペクトル、成長阻害

#### 1. 序

成層圏オゾン層の破壊により地上に到達する紫外線が増大すると予測されている。特に290nmから315nmの波長をもつUV-B領域の紫外線が著しく増加すると考えられている。そうなれば、増加した紫外線は生物の生理機能を支えている生体物質を破壊する作用をもっている<sup>1)</sup>ことから、植物や生態系に極めて有害な影響をもたらすのではないかと懸念されている。UV-Bは核酸や光合成装置に損傷を与える<sup>2, 3, 4)</sup>ことが知られており、その結果、植物の生理機能に障害を引き起こすものと思われる。UV-Bはキュウリの子葉<sup>5)</sup>など、種々の植物の成長を阻害することが報告されているが、その一方で植物はUV-Bの害作用から免れるための防御機構を有している。

しかしながら、UV-Bによる植物の成長阻害の作用機構は十分には解明されておらず、植物の成長阻害に関する作用スペクトルについても、一般化した作用スペクトルが提案されている<sup>6)</sup>

ものの、実際の作用スペクトルは明らかになっていない。

## 2. 研究目的

本研究は、成層圏オゾン層破壊により増加する紫外線が植物に与える影響についてについて、詳細な知見を得るために、UV-Bによって引き起こされる植物の成長阻害の作用スペクトルを明らかにすることを主な目的とする。このような作用スペクトルが明らかになれば、これに基づいて紫外線増加の植物への影響を予測することや、紫外線の植物への影響の仕組みを推定することが可能になる。

## 3. 研究方法

### 1 UV-B照射のキュウリ第一葉に対する影響

キュウリ (*Cucumis sativus* L. cv. Hokushin) は温度を $25 \pm 0.5^\circ\text{C}$ 、相対湿度を $70 \pm 5\%$ に制御した自然光ガラス室にて7から10日間育成された。第一葉が展開を始める前に植物は人工光型グロースチャンバーに移された。グロースチャンバーは、日長が12時間で温度が明期 $20^\circ\text{C}$ 、暗期 $15^\circ\text{C}$ にプログラム制御された。明期の照明はメタルハロゲンランプ (三菱 BOC ランプ) により与えられ、植物の第一葉における光強度 (PPFD) は約 $340 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ であった。UV-B照射は3本の東芝健康線用蛍光灯 (FL 20SE) を植物の上方40cmに設置することにより与えられた。健康線用蛍光灯の290nmより短い波長を除くため、厚さ0.10mmのポリ塩化ビニルシート (カッティングシート 000C、中川ケミカル) をフィルターとして用いた。UV-B照射 (約 $10 \mu\text{W cm}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) は実験により明期のあいだ中に行われた。ある実験ではUV-B照射は明期の中間に1.5あるいは4.0時間、あるいは11.5時間行われた。第一葉の成長として、葉面積成長と生重量・乾燥重量成長が測定された。葉面積は葉面積計 (Model AAM-7、林電工) を用いて測定された。乾燥重量は生重量測定後 $70^\circ\text{C}$ で4日間葉を乾燥してから測定された。

### 2 UV-Bによる第一葉の成長阻害に関する作用スペクトル

キュウリは上に述べたのと同様に自然光型ガラス室で1週間育成された後、昼 $20^\circ\text{C}$ 、夜 $15^\circ\text{C}$ に設定されたガラス室に移して2日間育成された。第一葉が展開を始める頃に、植物は岡崎の基礎生物学研究所に搬入され、温度 $19.5$ から $21.5^\circ\text{C}$ に制御された栽培室で育成された。明期は12時間として、7~8本の40W白色蛍光灯により照明が与えられた。光強度は約 $200 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ であった。12時間の明期の中間の4時間、キュウリを大型スペクトログラフの照射箱に移し、第一葉に紫外線の単色光照射が与えられた。照射した単色光の波長は、280、290、300、310、320nmの5波長であり、対照として単色光照射時間のあいだ暗所に置いたものを設けた。各波長の単色光は段階的に強度を落として、4つの強度の照射区を設けた。各条件に植物1個体ずつ設置して約 $20^\circ\text{C}$ で単色光照射を行った。照射は3日間同様に行われた。第一葉は毎日紫外線照射前に写真を撮り、後日葉面積を測定した。

次に、単色光紫外線照射と同時に可視光を照射する実験を行った。単色光は290nmと300nmの波長の紫外線として、単色光照射と同時に可視光を照射する実験区と白色光を照射しない実験区を設定した。可視光は2台のキセノンランプの光をそれぞれ4本のガラスのファイバーを通して分岐して第一葉の上方から与えられた。光強度は $500 \sim 600 \mu\text{mol s}^{-1}$ になるように調節された。この光

には360nm以下の波長の紫外線は含まれていなかった。対照としては単色光照射時に可視光のみを照射したものと、暗所に置いたものを設定した。単色光照射の時間や温度等の条件は上の実験と同様にした。

UV-Bと可視光の強度の波長分布はスペクトロラジオメーター (Photol MCPD-1000、大塚電子) を用いて測定された。

#### 4. 実験結果

##### 1 UV-B照射のキュウリ第一葉に対する影響

人工光型グロースチャンバーにおいて1日あたり明期のあいだUV-Bを照射した実験では第一葉の成長の阻害が見られ、葉の周辺部を中心に可視障害(クロロシス)が認められた(表1)。しかし、25°Cで照射した場合には成長阻害は見られなかった。次に、1日あたりの照射時間を1.5、4.0、11.5時間として、それぞれの影響を比較した。照射時間1.5時間でも成長阻害が見られ(図1)、11.5時間まで阻害の程度に大きな差は認められなかった。しかし、実験によっては4.0時間照射では阻害が見られない場合もあった。一方、可視障害は1.5時間照射では認められず、照射時間が長いほど影響が顕著になる傾向があった。また、データは示さないがクロロフィル蛍光に基づく光合成活性は4.0および11.5時間のUV-B照射により阻害された。

表1 異なる温度条件におけるUV-B照射のキュウリ第一葉の成長に対する影響

Treatment	fr. wt. (g)	dry wt. (mg)
Exp. 1 (20/15°C)		
Control	0.92 ± 0.12	123 ± 15
UV-B irradiation (7 days)	0.61 ± 0.08	82 ± 11
Exp. 2 (25°C)		
Control	1.30 ± 0.17	274 ± 41
UV-B irradiation (13 days)	1.28 ± 0.22	253 ± 43

数値は15試料の平均値 ± SD

##### 2 UV-Bによる第一葉の成長阻害に関する作用スペクトル

基礎生物学研究所における3日の育成期間のあいだ、第一葉の葉面積はほぼ直線的に増加した。280~310nmの単色光紫外線照射は葉面積成長を阻害した。単色光の強度が高いほど阻害の程度が大きくなる傾向があった(図2、290nmの場合を示す。)。成長阻害効果は、特に280nmと290nmの波長で顕著であった。320nmの単色光照射の場合は光強度にかかわらず阻害効果は認められなかった。280nmと290nmの紫外線は、本実験における最も高い強度において顕著な可視障害を引き起こした。照射1日後に表面の光沢化、水浸状症状等が見られ、その後第一葉は枯死した。各波長の単色光照射による成長阻害と光強度との関係を図示し(図3)、この図から、25%の成長阻害を引き起こす光強度を各波長について求め、この光強度の逆数を波長に対してプロットしたのが作用

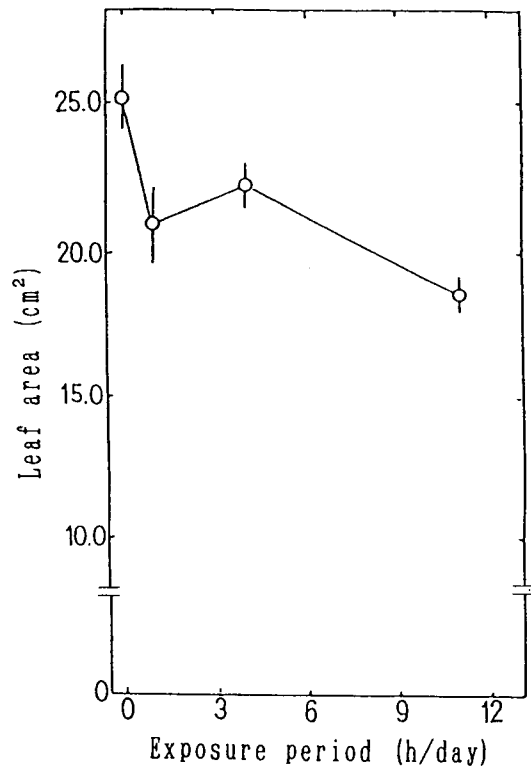


図1 UV-B照射時間のキュウリ第一葉の成長に対する影響

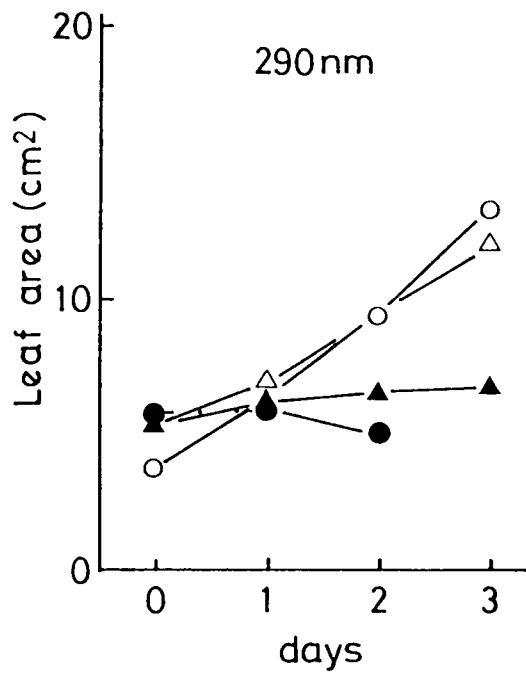


図2 種々の強度の単色光紫外線 (290nm) 照射のキュウリ第一葉の成長に対する影響  
 ○: 対照、△:  $1.3 \times 10^{12}$ 、▲:  $9.4 \times 10^{12}$ 、●:  $6.5 \times 10^{13}$  photons/cm<sup>2</sup>/s

スペクトルである(図4)。この図から、単位量子数あたりの相対的阻害効果を波長間で比較することができる。280nmと290nmの紫外線が300nm以上の波長の紫外線と比較して、顕著な阻害効果をもっていることが明らかとなった。

次に、単色光照射と同時に可視光を照射したときの単色光紫外線の影響を調べた。単色光の波長は290nmと300nmとした。300nmの紫外線による成長阻害は可視光によりかなり軽減されたが、290nmの波長による成長阻害は本実験で照射された紫外線のあらゆる強度において可視光によっては軽減されなかった(図5)。

## 5. 考察

UV-B照射により多くの植物種の成長を低下させることが知られており<sup>7)</sup>、地表面に到達するUV-B量が増加すれば、植物や生態系が悪影響を被ものと考えられている。そこで、オゾン層破壊によるUV-B放射量の増加の影響を正確に予測しようとするならば、植物に対するUV-Bの影響に関する作用スペクトルは不可欠である。最近、TakeuchiらはUV-Bによるキュウリ子葉の成長阻害の程度や性質が波長によって異なることを報告した<sup>8)</sup>。しかしながら、UV-Bによる成長阻害の作用スペクトルはいまだに報告されていなかった。本研究では、キュウリ第一葉の成長阻害に関する作用スペクトルを得ることができた。この作用スペクトルから、290nmの紫外線は300nmや310nmの紫外線に比べて、極めて大きな阻害効果をもつことが明らかとなった。この結果はTakeuchiらによって報告された結果と矛盾しないものであった。

同じ植物種でも様々な要因によって紫外線に対する感受性が異なる。植物の生育期間中に与えられた可視光の強さやUV-Bに曝された前歴などが植物のUV-Bに対する感受性を決める重要な要因であることや、照射される可視光の強度が高いほど紫外線の阻害効果を緩和する効果が大きいことが報告されている<sup>9, 10)</sup>。そこで、本研究では、可視光を単色光紫外線と同時に照射したときに、単色光紫外線の阻害効果が影響されるかどうかについて検討した。同時に照射した可視光により300nmの紫外線による成長阻害は緩和されたが、290nmによる成長阻害は影響を受けなかった。成層圏オゾン層の破壊によって290nmから300nmの紫外線の増加が特に大きいと予測されていることから、オゾン層の減少により植物や生態系はかなり深刻な損傷を受ける可能性があることが本研究の結果から予想される。しかし、植物の紫外線に対する感受性は植物種や生育段階さらには様々な環境条件によっても異なるので、この結果を一般に当てはめることができるかどうかは今後の課題である。

UV-B照射により植物には様々な生理的変化が生じる。例えば、成長速度や光合成活性<sup>11)</sup>、DNA損傷<sup>4)</sup>や光化学系IIの損傷<sup>3)</sup>、タンパク質組成の変化<sup>12)</sup>、クロロフィル合成の阻害<sup>7)</sup>、遺伝子発現の変化<sup>13, 14)</sup>などが報告されている。しかしながら、UV-Bによる植物の成長阻害は光合成活性の低下によっていると思われるものの、UV-Bの影響の作用機構はいまだに明らかではない。本実験で得られた作用スペクトルは微生物のDNA損傷のもの<sup>15)</sup>に似ていた。この結果はUV-B照射によって引き起こされる植物の成長阻害にDNA損傷が関与している可能性を示唆している。また、UV-Bの阻害影響に活性酸素が関与している可能性も指摘されている<sup>14, 16)</sup>。

本研究で示されたように、UV-B照射時間が長いほど成長阻害が増加するとは限らない(図1)。この結果はキュウリ第一葉において何らかの障害の修復機構、防御機構が作用していることを示唆している。防御機構の一つとして、UV-Bが標的物質に到達するのを抑制する機構が

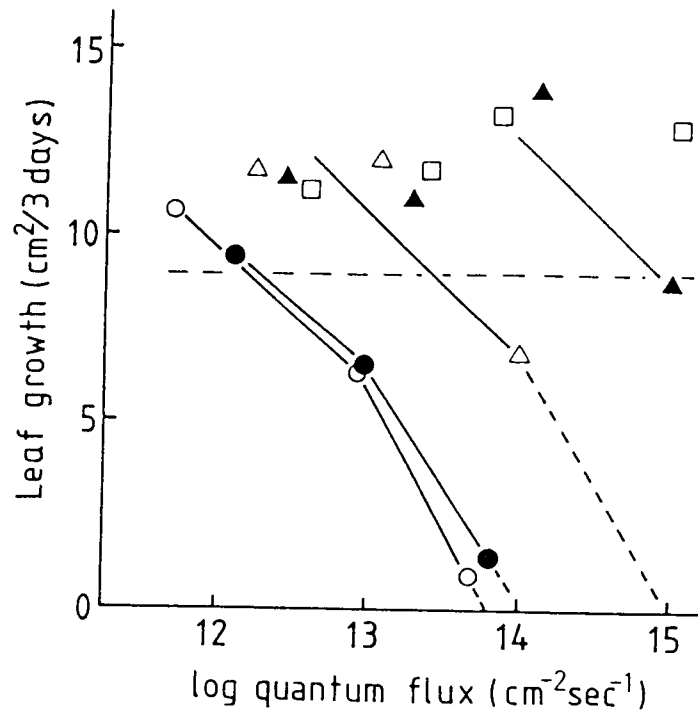


図3 キュウリ第一葉の成長に対する種々の波長の紫外線の強度の影響  
 ○ : 280nm、● : 290nm、△ : 300nm、▲ : 310nm、□ : 320nm

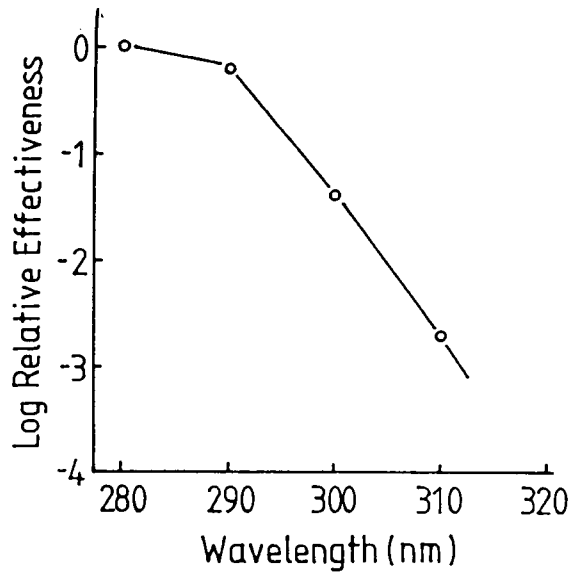


図4 UV-Bによるキュウリ第一葉の成長阻害に関する作用スペクトル

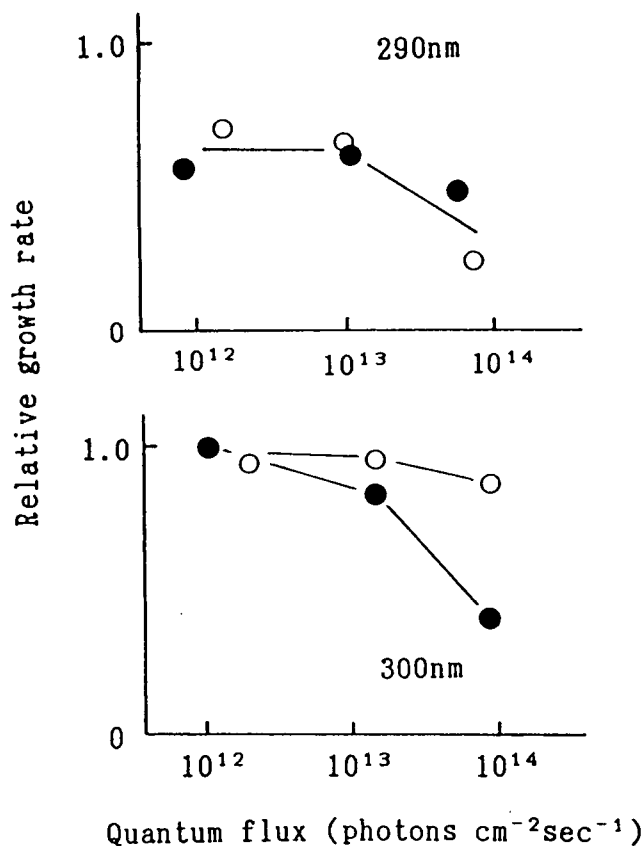


図5 単色光と同時に与えられた可視光の紫外線による成長阻害に対する影響  
○：可視光照射、●：対照（－可視光）

考えられる。紫外線吸収物質であるフラボノイドがUV-B照射により植物葉の表皮組織に蓄積することが知られている<sup>17)</sup>。さらに、UV-B照射が酸素ストレスの防御機構に関与している酵素をコードしている遺伝子の発現を誘導することも報告されている<sup>14)</sup>。これら種々の防御機構や修復機構が作動することによってこれまで植物はUV-Bによる障害を免れてきたものと思われる。

## 6. まとめ

キュウリの第一葉の成長はUV-B照射によって阻害された。この阻害は光合成活性の抑制によって引き起こされた可能性がある。しかし、UV-Bによる成長阻害効果は照射時間が長くなってもあまり影響されず、キュウリ第一葉において障害の修復あるいは防御効果が働いていることが示唆された。したがって、成層圏オゾン層の破壊により増加する紫外線の植物への影響を予測する際には、この点についても考慮する必要がある。

本研究でキュウリ第一葉の成長に対するUV-Bの影響に関する作用スペクトルが得られた。この作用スペクトルは微生物のDNA損傷について得られている作用スペクトルによく似ており、植物の成長阻害にもDNA損傷が関与している可能性が示された。一方で、紫外線による障害に活性酸

素が関与している可能性も指摘されており、光合成阻害も含めていずれが成長阻害の主な原因であるかは今後さらに検討を進める必要がある。また、290nmの紫外線による成長阻害は300nmの場合とは異なり、可視光照射によって軽減されなかったことは、オゾン層破壊により増加する紫外線の影響はかなり深刻である可能性があり、今後さらに詳細な検討が必要であろう。

#### 7. 本研究により得られた成果

UV-B照射によりキュウリ第一葉の成長が阻害されることが明らかになった。このUV-Bの作用は、照射時間が長くなっても阻害程度があまり変わらなかったことから、キュウリ第一葉では障害と同時に修復あるいは防御機構が働いていることが示唆された。

オゾン層破壊の影響を予測するためには、UV-Bの影響の作用スペクトルが不可欠である。また、作用スペクトルが得られればUV-B作用の仕組みを推定することも可能である。本実験において、キュウリ第一葉の成長阻害に関する作用スペクトルを得ることができた。この作用スペクトルによれば、オゾン層破壊により増加すると予測されている290nm~300nmの紫外線は強い成長阻害効果を有しており、将来、オゾン層破壊により植物の成長に影響が現れる可能性が示唆された。また、この作用スペクトルは微生物のDNA損傷の作用スペクトルと似ており、UV-Bによる植物の成長阻害にDNA損傷が関与している可能性が示唆された。

#### 8. 参考文献

- 1) Caldwell, M. M. ; *Encyclopedia of Plant Physiology, New Series, Vol. 12A*, O. L. Lange, P. S. Nobel, C. B. Osmond, H. Ziegler, Eds. ; Springer Verlag, Berlin, 1981; pp169-197.
- 2) Pang, Q., Hays, J. B. (1991); *Plant Physiol.* 95, 536-543.
- 3) Nedunchezian, N., Kulandaieleu, G. ; *Physiol. Plant.* 81, 558-562.
- 4) Quate, F. E., Sutherland, B. M., Sutherland, J. C. (1992); *Nature* 358, 576-578.
- 5) Takeuchi, Y., Akizuki, M., Shimizu, H., et al. (1989); *Physiol. Plant.* 76, 425-430.
- 6) Caldwell, M. M. ; *Photophysiology*, A. C. Giese, Ed. ; Academic Press, New York, 1971; pp 131-177.
- 7) Teramura, A. H. (1983); *Physiol. Plant.* 58, 415-427.
- 8) Takeuchi, Y., Ikeda, S., Kasahara, H. (1993); *Plant Cell Physiol.* 34, 913-917.
- 9) Teramura, A. H. ; *Stratospheric Ozone Reduction, Splar Ultraviolet Radiation and plant Life, NATO ASI Series, Vol 68*, R. C. Worrest, M. M. Caldwell, Eds. ; Springer-Verlag, Berlin Heidelberg New York Tokyo, 1986; pp 327-343.
- 10) Mirecki, R. M., Teramura, A. H. (1984); *Plant Physiol.* 74, 475-480.
- 11) Noorudeen, A. M., Kulandaivelu, G. (1982); *Physiol. Plant.* 55, 161-166.
- 12) Nedunchezian, N., Annamalaiathan, K., Kulandaivelu, G. (1992); *Physiol. Plant.* 85, 503-506.
- 13) Jordan, B. R., Chow, W. S., Strid, A., Anderson, J. M. (1991); *FEBS Lett.* 284, 5-8.
- 14) Strid, A. (1993); *Plant Cell Physiol.* 34, 949-953.
- 15) Peak, M. J., Peak, J. G. (1983); *Physiol. Plant.* 58, 367-372.
- 16) Shibata, H., Baba, K., Ochiai, H. (1991); *Plant Cell Physiol.* 32, 771-776.



17) Hahlbrock, K. Scheel, D. (1989) ; *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 40, 347-369.

[国際共同研究等の状況] 特に無し。

[研究発表の状況]

学会発表

近藤矩朗、清水英幸 (1992) : 紫外線増加による植物の成長阻害とその作用スペクトル。  
第33回大気汚染学会 (大阪)

近藤矩朗、清水英幸、渡辺正勝、久保田守 (1993) : 紫外線によるキュウリ第一葉の成長  
阻害とその作用スペクトル。日本植物生理学会1993年度年会 (金沢)

論文発表

Hashimoto, T., Kondo, N. and Tezuka, T. : Harmful and beneficial effects of solar UV  
light on plant growth. In *Frontiers of Photobiology*, A. Shima et al. Eds;  
Elsevier Science Publishers, 1993; pp551-554.

Kondo, N., Shimizu, H., Watanabe, M. and Kubota, M. (1994) : Action spectrum for growth  
inhibition of cucumber first leaves caused by UV-B irradiation. *Plant Cell  
Physiol.*, submitted.