

A-5 紫外線増加が植物等に及ぼす影響に関する研究

(1) 植物の紫外線防御機構に関する研究

③ 紫外線増加に対する海藻類の馴化に関する研究

研究代表者

(財)海洋生物環境研究所

能勢健嗣

環境庁 国立環境研究所

(委託先)

(財)海洋生物環境研究所

能勢健嗣・中村幸雄・馬場将輔
山本正之・辻雅明

平成5-7年度合計予算 13,241千円

(平成7年度予算額 3,724千円)

[要旨] この研究は、オゾン層破壊による紫外線増加が海生生物や海洋生態系に与える影響を予測、評価するための基礎的知見の一つとして、海藻類における紫外線耐性や紫外線照射に伴う藻体の紫外線耐性の変化を検討した。明暗周期を設定して明期のみ紫外線を照射する紅藻類の培養実験を通して、漸深帯のタオヤギソウ *C. wrightii* では、短期的影響として照射開始直後～12時間目までに光合成色素と紫外線吸収物質の減少が見られ、長期的影響として第2明期の紫外線照射の経過に従って光合成色素の減少、紫外線吸収物質の増加、成長速度の低下が見られた。一方、飛沫～潮間帯のウップルイノリ *P. pseudolinearis* では、第1明期の紫外線照射開始直後に一時的に低下した成長速度が第3～4明期以降には回復し、ほぼ同時に紫外線防御機構への関与が議論されている紫外線吸収物質含量が上昇傾向を示したことから、紫外線吸収物質の増加による馴化機能の存在の可能性が示唆された。天然群落内に生育する藻体における紫外線吸収物質含量の分布を測定し、漸深帯で草原様群落を形成するタオヤギソウ *C. wrightii* では、基部付近より先端部に近い方において高い濃度で紫外線吸収物質が含まれており、微細環境としての紫外線強度の変化に対応するとともに、分裂組織への防御機構として紫外線吸収物質含量を上昇させている可能性が示唆された。先行して紫外線を照射した海水を培養液とした紅藻類の培養実験を通して、一定期間以上照射した海水では成長速度の低下や紫外線吸収物質含量の増加が見られ、紫外線照射に伴う亜硝酸濃度の上昇と他の未知の海水性状の変化が影響している可能性が示唆された。

[キーワード] 海藻、紫外線、成長、光合成色素、紫外線吸収物質

1. 序

近年、成層圏オゾン層が破壊されて、地表に到達する紫外線量が増加すると予測されている。特にUV-B (280～320nm) と呼ばれる波長域の紫外線量が増加することによる、地球規模での動植物などに対する影響が懸念されている。海洋においても、清澄な海水では80%/m以上の紫外線が透過する^{1) 10)}ことが明らかにされるとともに、南極域の成層圏オゾン濃度の低下が観測さ

れ、この海域における一次生産者の植物プランクトンや比較的低次の消費者を中心に、研究が展開されて来ている^{2) 3) 7) 12) 14) 22)}。

また、亜熱帯～熱帯域では、成層圏のオゾン層が比較的薄いのに加えて、海水が栄養塩に乏しく清澄であることから、紫外線の海洋中における透過率が高く、海洋生物の生育環境として重要であることが指摘されている²⁷⁾。このことから、底生生物中でも、熱帯のサンゴ礁域の底生生物に対する紫外線の影響については、比較的多くの研究がなされ、鉛直分布を制御する要因となっている¹¹⁾と推察されている。海藻類については、UV-Bが光合成に対して阻害作用を有すること^{8) 14) 15) 16)}、鉛直分布を制御する要因となり得る可能性^{16) 28)}などが指摘されている。

一方、ある種のサンゴの抽出物に、320nm付近に吸光度の吸収極大を持つ化学物質(S-320)が含まれている¹⁸⁾ことが以前から知られており、後に3種類のMycosporine様アミノ酸と同定された⁹⁾。この化学物質の濃度が、サンゴの生息水深に伴って低下する傾向を有すること^{4) 6)}が示され、これらの物質の濃度変化と紫外線環境に対する耐性との関係が議論されている。同様に、紫外域に吸光度の吸収極大を持つ物質が、植物プランクトン^{2) 17)}や海藻類^{9) 21) 26)}に含まれることが知られ、南極域の魚類、無脊椎動物、藻類を含む海生生物について行われた探索では、対象種のほぼ90%からMycosporine様アミノ酸が見つかり¹³⁾、紫外線吸収物質が様々な分類群に含まれる可能性が示された。これらの物質は、260～280nm付近に吸収極大を有するものと320～340nm付近に吸収極大を有するものに大別され、この内のいくつかについては構造が決定された^{30) 25) 23)}が、特に、UV-Bとの関係から注目されるのは、320～340nm付近に吸収極大を有する物質群であり、その生理的、生態的機能が議論されている^{19) 20) 29)}。

また、紫外線照射を伴う数種の紅藻類の培養実験を通して、強度の紫外線照射の影響が認められるとともに、種によって影響の度合いに差異があることが明らかにされた³¹⁾。このうち、特に、紫外線照射によって、藻体の紫外線吸収物質含量が増加する種があることが、実験的に確認されたのは初めてであった。このことは、紫外線吸収物質含量の測定結果や、紫外線照射実験の結果にとって、用いた藻体の前歴条件が重要となることを意味している。また、紫外線吸収物質について紫外線耐性に関する生態的機能が議論されていることから、紅藻類の種類によっては、紫外線に対する馴応能力を有する可能性が示唆される。

2. 研究目的

この研究では、オゾン層破壊による紫外線増加が海生生物や海洋生態系に与える影響を予測、評価するための基礎的知見の一つとして、海藻類における紫外線耐性や、紫外線照射に伴う藻体の変化と紫外線耐性の変化との関係について検討することを目的とした。そこで、前歴としての紫外線を経験していない紅藻類の培養藻体を用い、明暗周期を設定して明期のみ紫外線を照射する培養実験を実施し、紫外線照射に伴う経時的な藻体の変化を検討した。そして、この培養実験を通して見られる藻体の変化のうち、特に紫外線吸収物質含量の変化が、天然海域の群落内に生育する藻体にどのように反映されているかを検討するため、天然藻体における紫外線吸収物質含量の分布を測定した。また、紫外線照射に伴って海水の性状が変化し、これが海藻類の生育に影響することが懸念されたため、先行して紫外線を照射しておいた海水を培養液として用い、紅藻類の培養藻体に及ぼす影響を検討した。

3. 研究方法

(1) 紅藻類の生育に及ぼす紫外線照射の経時的影響

培養実験には数種の紅藻類を用いたが、マサゴシバリ科タオヤギソウ *Chrysymenia wrightii* では、柏崎市地先水深5~7mの岩礁で囊果が形成された配偶体を探集し、これから放出された果胞子を可視光のみで培養して得た培養藻体（四分孢子体）を用いた。ウシケノリ科ウップルイノリ *Porphyra pseudolinearis* では、柏崎市地先の潮間帯~飛沫帯で採集した葉状体（配偶体）を起源とし、糸状体（孢子体）として保存培養していた株から殻胞子を採取し、これを可視光のみで培養して得た培養藻体（配偶体）を用いた。

紫外線照射を伴う培養実験には、給気用の下口が付いた石英ガラス製の500ml平底フラスコを用い、培養液としてProvasolliの栄養強化海水²⁴⁾（略称；PES）を満たした。供試材料は、上記のように可視光のみを照射する室内培養で藻体長1cm程度に成長したそれぞれの培養藻体を選別し、スケール入りの写真撮影をした後に、このフラスコ内に収容した。培養実験開始は、暗期のスタートと同時とした。攪拌のための通気量は約140ml/分で、培養液内で藻体が浮遊、旋回する程度に調整した（第1表）。

恒温庫内の可視光は、白色蛍光灯からガラス越しに照射した。紫外線はUV-A~Bの波長域を含むもので、培養庫内の上部に設置した紫外線照射ランプ（UVP社製TL-33型、第1図）によって明期のみ照射した。紫外線強度の測定は、310nmの波長でキャリブレーションされた紫外線強度計（UVP社製UVX-31型、第2図）によって行った。

培養実験のタイムスケジュール（第3図）に従って、逐次、培養中の藻体をサンプリングした。サンプリングにあたっては、所定の培養時間を経過した藻体を取り出し、スケール入りの写真を撮影した後に、分析用試料として-40°Cで凍結保存した。そして、随時、これを解凍して、定法の一つ²¹⁾に従い、エタノールで抽出して紫外域から可視域の吸光スペクトルを測定し、その吸収極大の吸光度から光合成色素含量と紫外線吸収物質含量の変化を推定した。また、スケール入りの写真をもとに、藻体の長さと同面積を測定して成長の指標とし、 $W_t = W_0 \cdot e^{rt}$ （ W_0 は開始時の、 W_t は測定時の藻体長さまたは藻体面積、 e は自然対数の底、 t は培養時数を表す）によって、それぞれ対応する培養時間の成長速度（ r ；%/時）を求めた。また、4段階の温度を設定して、可視光のみを照射した培養実験を、対照実験として実施した（第2表）。

(2) 天然群落に生育する藻体に含まれる紫外線吸収物質の分布

マサゴシバリ科タオヤギソウ *C. wrightii* は、柏崎市地先水深5~8mの岩礁域において草原様の群落を形成するが、ほぼ単一種が密生することから、群落内の下層→中層→上層部では、微細環境として紫外線の強度が段階的および相対的に異なることが想定され、藻体はこれに対応している可能性が指摘される。また、成長様式が頂端成長であり、相対的にもっとも過酷な紫外線環境に分裂組織があることから、何らかの防御機構によって対応している可能性が指摘される。この天然群落の藻体について、部位別の紫外線吸収物質含量を測定した。

1995年7月6日に柏崎沖水深約5mの岩礁の同一群落内で採集した藻体の中から、藻長約28cmの5個体を選び、付着器から5.6cmの長さ（図4）に切り分けて5階層の試料とした（第4図）。これを、一旦、-40°Cで凍結保存し、順次、解凍してエタノールで抽出し、紫外域から可視域にいたる吸光スペクトルを測定して、吸収極大の吸光度から光合成色素含量と紫外線吸収物質含量の分布を

推定した。

(3) 紫外線照射に伴う海水性状の変化の影響に関する実験

紫外線照射を伴う多くの培養実験では、フラスコ内で培養中の藻体に、照射ランプからの紫外線(UV-A~B)を照射したが、この時に海水性状に何らかの変化が生じることが懸念された。ここでは、タオヤギソウ *C. wrightii* を用いて、紫外線照射に伴う海水(培養液)性状の変化の影響について検討した。

紫外線照射海水の作成条件、藻体の培養条件を第3表に示した。紫外線照射海水は、培養に用いるものと同様の石英製500ml平底フラスコにPESを満たし、20°Cに設定した恒温庫内に静置して、一定期間の紫外線照射を行った。なお、照射した紫外線は、UV-A~Bの波長域を含むもので明期のみ照射した(第1図)。紫外線強度の測定は、310nmの波長でキャリブレーションされた紫外線強度計(第2図)によった。

このように、前もって一定の期間、紫外線を照射した海水(培養液)に、1cm程度の長さで成長した藻体を収容し、紫外線を照射せず、可視光のみを照射して、通気攪拌条件で培養を行った。攪拌のための通気量は約140ml/分で、培養液内で藻体が浮遊、巡回する程度とした。培養期間は21日間とし、7日ごとに前もって所定の期間、紫外線を照射した培養液と交換して、同時に藻体長を測定した。なお、培養は0日目の明期開始と同時に開始して、培養液の交換と測定は当該日の明期開始と同時に行い、終了後、直ちに恒温庫内に戻した。培養を終えた藻体を-40°Cで凍結保存し、随時これを解凍してエタノールで抽出し、可視域と紫外域の吸光スペクトルを測定して、吸収極大の吸光度から光合成色素含量と紫外線吸収物質含量の差異を推定した。

また、海水に紫外線を照射した場合、特にPES処方の栄養塩類を添加してから紫外線を照射した場合に、海水中の亜硝酸濃度が特異的に上昇する(第4表;手塚,私信)ことが指摘された。そこで、培養液を事前にUV-B暴露する期間と、PES処方の栄養塩類を添加する時点に関して、5区を設定した培養実験を実施した(第5表)。また、紫外線照射に伴い海水中で濃度が上昇する亜硝酸の影響を検討するため、PES処方に基づいて添加する硝酸ナトリウムを亜硝酸ナトリウムに変更した“亜硝酸改変PES”を用いた培養実験も、あわせて実施した。供試材料には、可視光のみを照射したウップルイノリ *P. pseudolinearis* の培養藻体を用いた。

4. 実験結果

(1) 紅藻類の生育に及ぼす紫外線照射の経時的影響

① マサゴシバリ科タオヤギソウ *C. wrightii*

可視光のみを照射した対照実験の培養結果を第5図と第6表に示した。培養期間を通して、藻体長は、高温側の20、25°C区で低温側の10、15°C区を上回り、14日目以降、各試験区間に有為差が見られた。

次に、明期のみ紫外線を照射する条件下で培養した際の藻体の成長を第6図に示した。なお、実験装置の関係から、同時進行で対照区を設けることはできなかったが、先に実施した対照実験の結果から、可視光のみを照射して20°Cで培養した例を図中に波線で示した。成長率は、培養開始から第1暗期には低い値を示し、第1明期開始とともに高い値を示すが、明期開始から6時間経過後から急激に低下した。続く第2暗期でやや回復するが、第2明期では開始とともに低下し、

以降は低い値で推移した。これにつれて、藻体長は、培養開始から第2暗期までは増加傾向を示したが、以降はほとんど変化しないか、緩やかな低下傾向が見られた。また、可視光のみを照射した対照実験との比較から、第2明期以降に成長の抑制ないし阻害が見られた。

培養の終了した藻体のエタノール抽出物の吸光スペクトルから、クロロフィル含量に対応する664.4nmと紫外線吸収物質含量に対応する321.2nmの吸光度を第7図に示した。クロロフィル含量は、第1暗期を経過した実験区では比較的高い値を示したが、第1明期の開始直後に低下した。そして、それ以降では、大きな変化は見られず、ほぼその低い水準のまま推移する傾向が見られた。紫外線吸収物質含量では、第1暗期経過後には比較的高い値を示し、第1明期開始直後に低下する傾向が見られた。しかし、その後は値が上昇して回復する傾向が見られ、第2明期以降は紫外線照射を開始する以前と同水準か、それを上回る吸光度を示した。

クロロフィル量あたりの紫外線吸収物質質量として、紫外域の各吸収極大の吸光度の664.4nmの吸光度に対する比を求めた(第7表)。紫外線吸収物質含量に対応する321.2nmの値は、第1明期開始から6時間の間に低下し、その後は値が上昇して回復する傾向が見られた。また、第1明期以降は、培養期間あるいは紫外線照射期間の長期化にともなって上昇する傾向が見られた。

②ウシケノリ科ウップルイノリ *P. pseudolinearis*

明期のみ紫外線を照射する条件下で培養した際の藻体の成長を第8図に示した。成長率は、第1暗期でわずかに高い値を示したが、第1明期開始直後に低下した。そして、紫外線照射開始から6時間経過して以降に再び上昇し、これに続く暗期でも比較的高い値を示したが、第2明期とこれに続く暗期ではきわめて低い値となった。その後は、第3明期で高い値を示して以降、不安定ながら、成長率はわずかに高い値を示す傾向があった。これにつれて、藻体面積は第3明期とこれに続く暗期までは不安定に増減したが、第4明期以降は増加する傾向を示した。

培養の終了した藻体のエタノール抽出物の吸光スペクトルから、クロロフィル含量に対応する665.6nmと紫外線吸収物質含量に対応する335.6nmの吸光度を第9図に示した。培養開始後108時間目のサンプリングではいずれの吸光度も特異的に高い値を示したが、これを異常値とすれば、いずれの吸光度も第1明期開始から第3明期とこれに続く暗期にかけて漸減傾向を示した。そして、第4明期以降は、それ以上には低下しないか、わずかに上昇する傾向を示した。

クロロフィル量あたりの紫外線吸収物質質量として、335.6nmの665.6nmに対する吸光度の比を求めた(第10図)。この比は、第1～2明期に低下傾向を示したが、これに続く暗期以降は漸増傾向を示し、実験を終了した180時間目には培養開始時に比べて高い値を示した。

(2)天然群落に生育する藻体に含まれる紫外線吸収物質の分布

タオヤギソウ *C. wrightii* の天然藻体を採集し、付着器から5階層に切り分け、各階層ごとにエタノール抽出物の吸光スペクトルを測定して、吸収極大の吸光度を求めた(第8表)。このうち、618.0nm、664.8nmはそれぞれフィコビルン、クロロフィル含量に対応し、321.2nmは紫外線吸収物質含量に対応すると推定される。

可視域においては全ての階層で同様の各吸収極大が認められたが、紫外域では先端部近くで明瞭に認められる吸収極大が、基部に近いほど不明瞭となる傾向が見られた。特に、特に305.6nmと321.2nmの吸収極大では、第一層に対する第四、五層が有意に高い吸光度を示した。

(3) 紫外線照射に伴う海水性状の変化の影響に関する実験

① 紫外線照射海水の影響

タオヤギソウ *C. wrightii* の培養藻体を用い、事前に一定期間の紫外線照射を行った海水（P E S 培地）を培養液として可視光のみを照射した培養実験結果から、藻体の成長を第11図と第9表に示した。藻体長はいずれの実験区においても増加したが、日増加率は0日間照射海水（紫外線未照射海水）区で最も高く、次いで1日間照射海水区であり、3、7日間照射海水区では極めて低い値であった。21日間の培養終了時において、0、1日間照射海水区と3、7日間照射海水区の間で、藻体長に有意差が認められた。

培養を終了した藻体のエタノール抽出物の吸光スペクトルを測定し、吸収極大の吸光度を求めた（第10表）。このうち、470.4 nm, 618.0 nm, 664.4 nmはそれぞれカロチノイド、フィコビルン、クロロフィル含量に対応し、321.2 nmは紫外線吸収物質含量に対応すると推定される。この吸光スペクトルでは、測定波長域の全般にわたって、紫外線照射海水で培養した藻体が未照射海水で培養した藻体よりも高い吸光度を示し、照射期間が長いほど値も上昇する傾向にあった。

② 亜硝酸の影響

ウップルイノリ *P. pseudolinearis* の培養藻体を用い、培養液に紫外線を照射する期間とP E S 処方の栄養塩類を添加する時点に関して5区を設定した培養実験を実施し、藻体の成長を第11表に示した。9日間の培養期間を通じて、成長率は、0、1日間照射海水区では高い値を、3、6日間照射海水区では低い値を示し、培養液への紫外線照射期間が長期化するのに伴って、成長率が低下する傾向があった。6日間照射海水区のうち、栄養塩を添加してから紫外線を照射した実験区では培養開始当初から成長率が低かったが、紫外線照射後に栄養塩を添加した実験区では培養開始から3日目までは比較的高い成長率を示した。ただし、紫外線照射後に栄養塩を添加した実験区でも、培養期間が進むにつれて、成長率が低下する傾向があった。

紫外線照射に伴い、海水中で上昇する亜硝酸濃度の影響を検討するため、P E S 処方に基づいて添加する硝酸ナトリウムを亜硝酸ナトリウムに変更した“亜硝酸改変P E S”を用いた培養実験を、ウップルイノリ *P. pseudolinearis* の培養藻体を用いて実施した（第12表）。培養期間を通じて、通常処方のP E S 培地の実験区では高い成長率を示し、“亜硝酸改変P E S”培地の実験区では低い成長率を示した。

5. 考察

これまで、数種の紅藻類の紫外線照射実験を通して、強度の紫外線照射の影響が、海藻類の細胞の壊死や脱色、成長速度の低下、光合成色素含量の減少、紫外線吸収物質含量の増加の何れか、あるいはいくつかの組み合わせで認められるが、種によって影響の度合い等に差異があることが明らかにされた³⁾¹⁾。このうち、特に、紫外線照射によって、藻体の紫外線吸収物質含量が増加する種があることが、実験的に確認されたのは、初めてであった。

このことは、種ごとの紫外線吸収物質含量の測定結果や、紫外線照射実験の培養結果にとって、用いた藻体の前歴条件が重要となることを意味している。また、紫外線吸収物質について、紫外線耐性に関する生態的機能が議論されていることから、紅藻類の種類によっては、紫外線に対する馴応能力を有する可能性が示唆された。そこで、紫外線照射開始からどのくらいの時間経過で、このような藻体の変化が現れるのかということと、紫外線吸収物質含量等が1日の昼と夜（24時

間の明暗周期) に対して反応するののかということを検討する必要がある。ここでは、前歴としての紫外線を経験していないタオヤギソウ *C. wrightii* とウップルイノリ *P. pseudolinearis* の培養藻体を、12時間明期12時間暗期の24時間周期を設定した紫外線照射条件下で培養し、経時的にサンプリングして検討した。

この結果から、タオヤギソウ *C. wrightii* における紫外線照射の影響は、短期的には、照射開始直後~12時間目までに、光合成色素と紫外線吸収物質の減少として見られ、長期的には、第2明期の紫外線照射の経過に従って、光合成色素の減少、紫外線吸収物質の増加、成長速度の低下として見られると考えられた。また、光合成色素が、紫外線照射開始直後に減少し、それ以上には減少しないこと、第2明期経過以降は、一次的に減少した紫外線吸収物質が照射以前の水準か、それ以上に増加し、成長速度が明暗周期に反応しなくなることで、注目された。一方、ウップルイノリ *P. pseudolinearis* では、成長速度が第1明期の紫外線照射開始直後に一時的に低下するが、第3~4明期以降には回復し、ほぼ同時に、紫外線防御機構への関与が議論されている紫外線吸収物質含量が増加傾向を示した。このことから、ウップルイノリ *P. pseudolinearis* においては、紫外線吸収物質の増加による馴化機能の存在の可能性が示唆された。

海藻類について、人工光源からの紫外線照射実験や、深所産種の浅所ないしは陸上水槽への移植などによる太陽光紫外線暴露実験で、経時的な試料を検討した例はほとんど無いが、天然に生育している褐藻 *Ecklonia radiata* については、紫外線吸収物質含量の季節変化が検討され、1日当たりの紫外線量の季節変化との関係が論じられている²³⁾。また、海藻・草類や植物プランクトンの光合成などに対する紫外線照射の影響では、1時間以内の一定の照射時間を越えると、光合成が阻害されることが示されている¹⁵⁾。

ここで実験に用いた紅藻タオヤギソウ *C. wrightii* は、柏崎市地先の水深5~8mの岩礁域において、ほぼ単一種が密生する草原様の群落を形成する。このような漸深帯の群落では、群落内の下層→中層→上層部では、自己被陰、相互被陰によって、微細環境としての紫外線強度が段階的および相対的に異なることが想定される。また、紅藻類の多くの種では、成長様式が頂端成長であり、相対的にもっとも過酷な紫外線環境に分裂組織がある。これらのことから、藻体は、何らかの防御機構によって、この微細環境としての紫外線強度に対応している可能性が指摘される。

そこで、柏崎沖水深約5mのタオヤギソウ *C. wrightii* 群落内で藻体を採集し、基部から先端部にかけて層別の試料に切り分け、それぞれに紫外線吸収物質含量を測定した。その結果、基部付近より先端部に近い方において、有意に高い濃度で紫外線吸収物質が含まれることが明らかになった。このことは、紫外線照射に伴って紫外線吸収物質含量が上昇することを明らかにした培養実験結果とあわせて、天然群落内に生育する藻体では、微細環境としての紫外線強度の変化に対応するとともに、分裂組織に対する防御機構として紫外線吸収物質含量を上昇させている可能性が示唆された。

ここで行った培養実験では、フラスコ内で培養中の藻体に、照射ランプからの紫外線を照射した。ところで、水産分野では、殺菌灯などから紫外線を照射して、魚介類の蓄養に用いる海水を殺菌する技術があり、紫外線を照射することによって海水中に過酸化水素が生成され、その酸化作用が殺菌効果を有すると考えられている。そして、紫外線照射を伴う培養実験においても、紫外線照射そのものの影響の他に、このような海水性状の変化が何らかの影響を及ぼすことが懸念される。そこで、事前に一定期間の紫外線照射を行った海水を培養液として培養実験を行い、紫

外線照射に伴う海水性状の変化が及ぼす影響について検討した。この結果から、タオヤギソウ *C. wrightii* の場合は、3日間以上照射した海水で成長速度の低下などの影響が見られ、海水の紫外線照射日数が増加するのに伴って藻体の紫外線吸収物質含量が増加する傾向が見られた。これは、これまで海藻類の紫外線照射に対する反応の一つと考えられていた現象と酷似していた。このことから、紫外線照射に対する海藻類の反応については、紫外線照射の直接的な影響に加えて、海水が介在した反応系の存在も考慮しなければならないと考えられた。

また、海水に紫外線を照射した場合、特に栄養塩類を添加してから紫外線を照射した場合に、海水中の亜硝酸濃度が特異的に上昇する（手塚，私信）ことが指摘された。そこで、亜硝酸塩を添加した海水を培養液とした実験と、紫外線照射前後に栄養塩類を添加した海水を培養液とした実験を、ウップルイノリ *P. pseudolinearis* の培養藻体を用いて実施した。この結果から、紫外線照射海水の成長抑制効果には、亜硝酸濃度の上昇も関与しているが、その他にも未知の海水性状の変化が影響している可能性が示唆された。

このような、紫外線照射による海水性状の変化については、その殺菌効果の利用を除いて、これまでほとんど考慮されてこなかった。しかし、潮間帯タイドプールなどの閉鎖的な水塊に限らず、大型海藻が密生した藻場の中や湾の奥部などでは、静穏時に、相当に停滞性の強い水塊が形成されると考えられる。ここに、オゾン層破壊に伴う紫外線増加が生じれば、特に富栄養的な性格が強い海域においては、海生生物に対する何らかの影響が懸念される。この点からも、紫外線照射による海水性状の変化は、今後、さらに検討されねばならない。

6. まとめ

この研究は、オゾン層破壊による紫外線増加が海生生物や海洋生態系に与える影響を予測、評価するための基礎的知見の一つとして、海藻類における紫外線耐性や紫外線照射に伴う藻体の紫外線耐性の変化を検討した。明暗周期を設定して明期のみ紫外線を照射する紅藻類の培養実験を通して、漸深帯のタオヤギソウ *C. wrightii* では、短期的影響として照射開始直後～12時間目までに光合成色素と紫外線吸収物質の減少が見られ、長期的影響として第2明期の紫外線照射の経過に従って光合成色素の減少、紫外線吸収物質の増加、成長速度の低下が見られた。一方、飛沫～潮間帯のウップルイノリ *P. pseudolinearis* では、第1明期の紫外線照射開始直後に一時的に低下した成長速度が第3～4明期以降には回復し、ほぼ同時に紫外線防御機構への関与が議論されている紫外線吸収物質含量が上昇傾向を示したことから、紫外線吸収物質の増加による馴化機能の存在の可能性が示唆された。天然群落内に生育する藻体における紫外線吸収物質含量の分布を測定し、漸深帯で草原様群落を形成するタオヤギソウ *C. wrightii* では、基部付近より先端部に近い方において高い濃度で紫外線吸収物質が含まれており、微細環境としての紫外線強度の変化に対応するとともに、分裂組織への防御機構として紫外線吸収物質含量を上昇させている可能性が示唆された。先行して紫外線を照射した海水を培養液とした紅藻類の培養実験を通して、一定期間以上照射した海水では成長速度の低下や紫外線吸収物質含量の増加が見られ、紫外線照射に伴う亜硝酸濃度の上昇と他の未知の海水性状の変化が影響している可能性が示唆された。

7. 本研究より得られた成果

海藻類における紫外線耐性や紫外線照射に伴う藻体の紫外線耐性の変化を検討し、ある種の紅

藻類では紫外線吸収物質の増加による馴化機能の存在の可能性を示唆するとともに、天然群落内に生育する藻体では微細環境としての紫外線強度の変化に紫外線吸収物質含量が対応して変化する可能性を示唆した。また、海水に紫外線を照射した場合、亜硝酸濃度の上昇と他の未知の海水性状の変化が生じて、海藻類に影響する可能性を示唆した。

8. 引用文献

- 1) Baker, K. S. and R. C. Smith (1982) Spectral irradiance penetration in natural waters. In *The Role of Solar Ultraviolet Radiation in Marine Ecosystems*. Edited by Calkins, J. pp. 233-246. Plenum Press.
- 2) Bidigare, R. R. (1989) Potential effects of UV-B radiation on marine organisms of the southern ocean: distributions of phytoplankton and krill during austral spring. *Photochem. Photobiol.*, 50 : 469-477.
- 3) Calkins, J. (1980) The ecological significance of solar UV radiation on aquatic organisms. *Nature*, 283 : 563-566.
- 4) Dunlap, W. C., B. E. Chalker, and J. K. Oliver (1986) Bathymetric adaptations of reef-building corals at Davies Reef, Great Barrier Reef, Australia. III. UV-B absorbing compounds. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 104 : 239-248.
- 5) Dunlap, W. C. and B. E. Chalker (1986) Identification and quantitation of near-UV absorbing compounds (S-320) in a hermatypic scleractinian. *Coral Reef*, 5 : 155-159.
- 6) Drollet, J. H., P. Glaziou, and P. M. V. Martin (1993) A study of mucus from the solitary coral *Fungia fungites* (Scleractinia: Fungiidae) in relation to photobiological UV adaptation. *Marine Biology*, 115 : 263-266.
- 7) Ekelund, N. G. A. (1990) Effects of UV-B radiation on growth and motility of four phytoplankton species. *Physiologia Plantarum*, 78 : 590-594.
- 8) Halldal, P. (1964) Ultraviolet action spectra of photosynthesis and photosynthetic inhibition in a green and a red alga. *Physiologia Plantarum*, 17 : 414-421.
- 9) 岩本康三・有賀祐勝 (1973) 藻類における紫外線吸収物質の分布とカワノリの特異性. *Journal of the Tokyo University of Fisheries*, 60 : 43-54.
- 10) Jerlov, N. G. (1950) Ultra-violet radiation in the sea. *Nature*, 166 : 111-112.
- 11) Jokiel, P. L. (1980) Solar ultraviolet radiation and coral reef epifauna. *Science*, 207 : 1069-1071.
- 12) Karentz, D., J. E. Cleaver, and D. L. Michell (1991a) Cell survival characteristics and molecular responses of antarctic phytoplankton to ultraviolet radiation. *J. Phycol.*, 27 : 326-341.

- 13) Karentz, D., F.S. McEuen, M.C. Land, and W.C. Dunlap (1991b) Survey of Mycosporine-like amino acid compounds in Antarctic marine organisms: potential protection from ultraviolet exposure. *Marine Biology*, 108 : 157-166.
- 14) Larkum, A.W.D. and W.F. Wood (1990) The effect of UV-B radiation on photosynthesis and photosystem II of phytoplanktonic and benthic algae and seagrasses. *In Current Research in Photosynthesis*, Vol. II. Edited by Baltscheffsky, M. pp. 385-388. Kluwer Academic Publishers.
- 15) Larkum, A.W.D. and W.F. Wood (1993) The effect of UV-B radiation on photosynthesis and respiration of phytoplankton, benthic macroalgae and seagrass. *Photosynthesis Research*, 36 : 17-23.
- 16) Maegawa, M., M. Kunieda, and W. Kida (1993) The influence of Ultraviolet radiation on the photosynthetic activity of several red algae from different depth. *Jpn. J. Phycol.*, 41 : 207-214.
- 17) Marchant, H. J., A. T. Davidson, and G. J. Kelly (1991) UV-B protecting compounds in the marine alga *Phaeocystis pouchetii* from Antarctica. *Marine Biology*, 109 : 391-395.
- 18) Shibata, K. (1969) Pigments and a UV-absorbing substance in corals and a blue-green alga living in the Great Barrier Reef. *Plant & Cell Physiol.*, 10 : 325-335.
- 19) Sivalingam, P. M., T. Ikawa, Y. Yokohama, and K. Nishizawa (1974) Distribution of a 334 UV-absorbing-substance in algae, with special regard of its possible physiological roles. *Botanica Marina*, 17 : 23-29.
- 20) Sivalingam, P. M., T. Ikawa, and K. Nishizawa (1976) Physiological roles of a substance 334 in algae. *Botanica Marina*, 19 : 9-21.
- 21) Sivalingam, P. M. and K. Nishizawa (1990) Ozone hole and its correlation with the characteristic UV-absorbing substance in marine algae. *Japanese Journal of Phycology*, 38 : 365-370.
- 22) Smith, R. C. and K. S. Baker (1982) Assessment of the influence of enhanced UV-B on marine primary productivity. *In The Role of Solar Ultraviolet Radiation in Marine Ecosystems*. Edited by Calkins, J. pp. 509-537. Plenum Press.
- 23) Takano, S., A. Nakanishi, D. Uemura, and Y. Hirata (1979) Isolation and structure of a 334 nm UV-absorbing substance, porphyra-334 from the red alga *Porphyra tenera* Kjellman. *Chemistry Letters* : 419-420.
- 24) 館脇正和 (1975) 海藻の培養. 海洋科学別冊 5 : pp. 167-172.
- 25) Tsujino, I., K. Yabe, and I. Sekikawa (1980) Isolation and structure of a new amino acid, shinorine from the red alga *Chondrus yendoi* Yamada et Mikami. *Botanica Marina*, 23 : 65-68.

- 26) 辻野勇 (1983) 紫外線吸収物質. 海藻の生化学と利用. 日本水産学会編, pp.78-89. 恒星社厚生閣.
- 27) Walter, C. D., B. E. Chalker, and W. M. Bandaranayake (1988) New sunscreens derived from tropical marine organisms of the great barrier reef, Australia. *The Proceedings of the 6th International Coral Reef Symposium* : 1-9.
- 28) Wood, W. F. (1987) Effect of solar ultra-violet radiation on the kelp *Ecklonia radiata*. *Marine Biology*, 96 : 143-150.
- 29) Wood, W. F. (1989) Photoadaptive responses of the tropical red alga *Eucheuma striatum* Schmitz (Gigartinales) to ultra-violet radiation. *Aquatic Botany*, 33 : 41-51.
- 30) 矢部和夫・辻野勇・斉藤恒行 (1965) 海藻の特殊成分の研究, 第4報カレキグサのホマリンおよびトリゴネリン. 北大水産彙報, 16 : 273-277.
- 31) 山本正之・馬場将輔・辻雅明 (1994) 紫外線増加が海藻類に及ぼす影響の評価に関する研究. 地球環境研究総合推進費平成4年度終了研究成果報告集 (I) : 175-184.

[国際共同研究等の状況] 特になし

[研究発表の状況]

学会等

山本正之・辻雅明・馬場将輔 (1995) UV-B照射がタオヤギソウの成長速度, 光合成色素, 紫外線吸収物質含量に及ぼす経時的影響. 平成7年度日本水産学会春季大会講演要旨集, 210.

第1表 紫外線照射実験の培養条件

対象種	温度	可視光強度*	紫外線強度	光周期	攪拌方法	培養液**
タオヤギソウ	20℃	1050 $\mu\text{W}/\text{cm}^2$	200 $\mu\text{W}/\text{cm}^2$	12L : 12D	通気攪拌	PES
ウップルイノリ	20℃	900 $\mu\text{W}/\text{cm}^2$	230 $\mu\text{W}/\text{cm}^2$	12L : 12D	通気攪拌	PES

* : 白色蛍光灯 ; 1 lx = 0.349 $\mu\text{W}/\text{cm}^2$

** : Provasolliの栄養強化海水 (館脇, 1975)

第2表 可視光のみを照射する対照実験の培養条件

対象種	温度	可視光強度*	光周期	攪拌方法	培養液**
タオヤギソウ	10, 15, 20, 25℃	1050 $\mu\text{W}/\text{cm}^2$	12L : 12D	通気攪拌	PES

* : 白色蛍光灯 ; 1 lx = 0.349 $\mu\text{W}/\text{cm}^2$

** : Provasolliの栄養強化海水 (館脇, 1975)

第3表 紫外線照射海水の作製および藻体の培養の条件

対象種	処理	温度	可視光強度*	紫外線強度	光周期	攪拌方法
タオヤギソウ	照射海水作製	20℃	1050 $\mu\text{W}/\text{cm}^2$	200 $\mu\text{W}/\text{cm}^2$	12L : 12D	静置 通気
	藻体培養時	20℃	1050 $\mu\text{W}/\text{cm}^2$	0 $\mu\text{W}/\text{cm}^2$	12L : 12D	

* : 白色蛍光灯 ; 1 lx = 0.349 $\mu\text{W}/\text{cm}^2$

第4表 紫外線照射に伴う海水中の亜硝酸の増加

実験区	処理	亜硝酸濃度
1	滅菌海水→栄養塩類添加→7日間紫外線照射→→→→→→→→	上昇
2	滅菌海水→→→→→→→→7日間紫外線照射→栄養塩類添加→	-
3	滅菌海水→栄養塩類添加→7日間可視光照射→→→→→→→→	-
4	滅菌海水→→→→→→→→7日間可視光照射→栄養塩類添加→	-

第5表 紫外線照射期間と栄養塩類添加時点に関する照射海水の作製および藻体の培養の条件

処理	紫外線照射期間	栄養塩添加	紫外線強度	可視光強度*	明暗周期
照射海水作製	0日	UV-B照射前	200 $\mu\text{W}/\text{cm}^2$	870 $\mu\text{W}/\text{cm}^2$	12L : 12D
	1	" 前			
	3	" 前			
	6	" 前			
	6	" 後			
藻体**培養時	-	-	0 $\mu\text{W}/\text{cm}^2$	870 $\mu\text{W}/\text{cm}^2$	12L : 12D

* : 白色蛍光灯 ; 1 lx = 0.349 $\mu\text{W}/\text{cm}^2$

** : ウップルイノリ

第6表 可視光のみ照射条件下におけるタオヤギソウの成長

実験区	藻体長日増加率(%/日)					
	0-7日	7-14日	14-21日	21-28日	0-21日	0-28日
10°C	0.74	2.50	1.92	1.53	1.72	1.67
15°C	4.46	3.83	3.80	2.90	4.03	3.74
20°C	6.50	6.01	5.54	3.85	6.02	5.47
25°C	8.67	7.48	3.70	1.36	6.60	5.26

第7表 紫外線を照射したタオヤギソウの664.4nm吸光度に対する紫外域吸収極大吸光度の比

実験区(時間)		波長(nm)					
培養	明期	266.4	279.6	291.6	306.0	321.2	379.2
12	0	—*	—	—	—	1.0	1.1
18	6	1.4	—	—	0.8	0.8	1.0
24	12	1.6	—	1.3	1.1	1.0	1.0
36	12	—	—	—	—	1.1	1.1
48	24	—	—	—	1.5	1.3	1.2
60	24	1.3	1.3	1.3	1.3	1.3	1.0
84	36	1.5	1.4	1.4	1.5	1.4	1.0
108	48	1.7	1.6	1.6	1.7	1.5	1.1
180	84	—	2.3	2.2	2.2	2.0	1.3

* : 極大を認めず。

第8表 タオヤギソウ天然藻体の部位別の吸光スペクトル吸収極大吸光度(OD Subst./湿重量g)

測定部位*	波長(nm)								
	260.4	280.4	290.8	305.6	321.2	416.0	431.6	618.0	664.8
第一層	21.9±5.0**	18.7±4.3	17.8±4.4	15.0±4.2	12.0±3.1	14.8±1.8	15.3±1.9	2.2±0.3	9.4±1.3
第二層	18.9±2.2	17.0±2.2	16.1±2.5	13.9±2.8	11.8±2.3	12.8±1.9	13.2±2.0	2.1±0.3	8.7±1.3
第三層	22.0±3.9	20.3±3.9	19.8±4.2	18.5±4.5	16.2±4.0	14.8±3.8	15.3±4.0	2.5±0.6	10.5±2.6
第四層	22.3±2.1	20.9±2.1	21.1±2.5	20.8±3.0	18.1±2.5	13.8±1.9	14.2±2.1	2.3±0.3	9.7±1.4
第五層	22.8±2.2	21.5±2.5	21.7±2.8	21.3±3.4	18.7±3.1	16.8±3.8	17.4±4.2	2.7±0.6	11.4±2.5

* : 第4図参照

** : 平均値±標準偏差(n=5)

第9表 紫外線照射海水で培養したタオヤギソウの藻体長日増加率

使用海水	日増加率(%)			
	0-7日	7-14日	14-21日	0-21日
0日間照射	3.34	4.15	5.03	4.17
1日間照射	3.88	3.10	3.04	3.34
3日間照射	2.10	1.98	1.78	1.95
7日間照射	1.60	1.08	1.63	1.44

第10表 紫外線照射海水で培養したタオヤギソウの吸光スペクトル吸収極大吸光度

使用海水	265.6nm	305.6nm	321.2nm	432.0nm	471.2nm	618.0nm	664.4nm
0日間照射	23.3*	14.8	14.1	27.1	8.9	3.8	17.3
1日間照射	28.4	20.6	19.5	32.1	10.1	4.6	20.9
3日間照射	32.9	28.2	26.6	33.7	9.9	5.0	22.4
7日間照射	41.9	32.5	30.1	40.0	12.2	5.9	26.6

*:吸光度(OD Subst./湿重量g)

第11表 紫外線照射海水で培養したウップルイノリの藻体面積日増加率

処理区*		藻体面積の日増加率(%/日)			
照射	栄養塩	0-3日目	3-6日目	6-9日目	0-9日目
0日	照射前	27.93**	24.43	16.68	23.01
1日	照射前	31.53	29.18	22.22	27.64
3日	照射前	25.64	23.12	12.32	20.36
6日	照射前	22.14	19.17	15.44	18.92
6日	照射後	28.30	19.00	16.17	21.16

*:詳細は本文参照

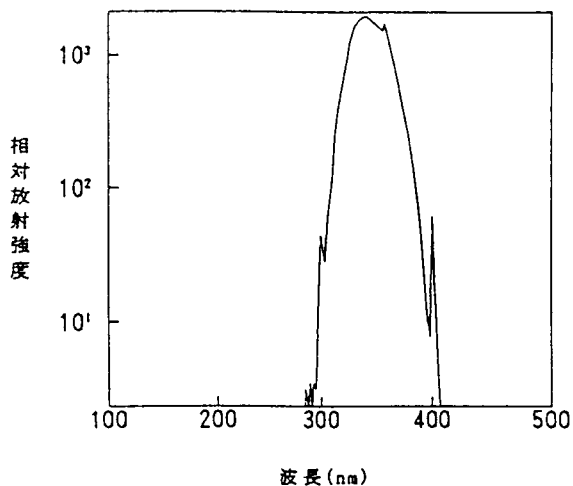
** : 平均値(n=10)から算出

第12表 亜硝酸添加海水で培養したウップルイノリの藻体面積日増加率

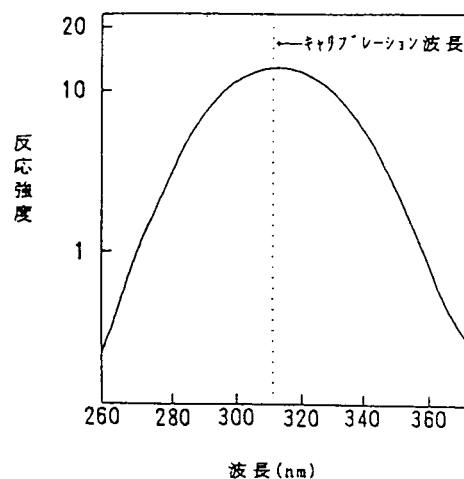
処理区*		藻体面積の日増加率(%/日)			
		0-3日目	3-6日目	6-9日目	0-9日目
硝酸区-1		33.41**	29.23	20.19	27.61
硝酸区-2		31.10	29.30	23.77	28.06
亜硝酸区-1		25.17	19.67	16.96	20.60
亜硝酸区-2		26.05	25.19	14.86	22.04

*:詳細は本文参照

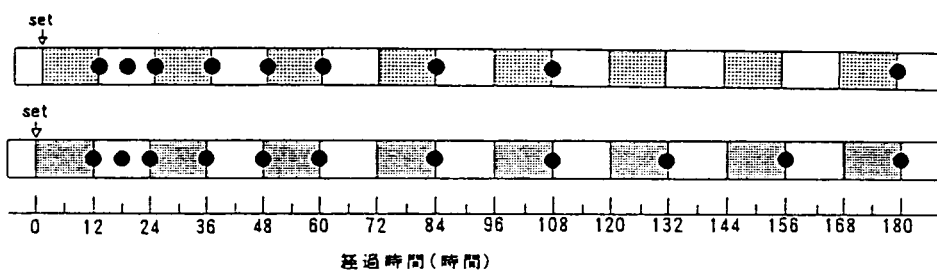
** : 平均値(n=10)から算出



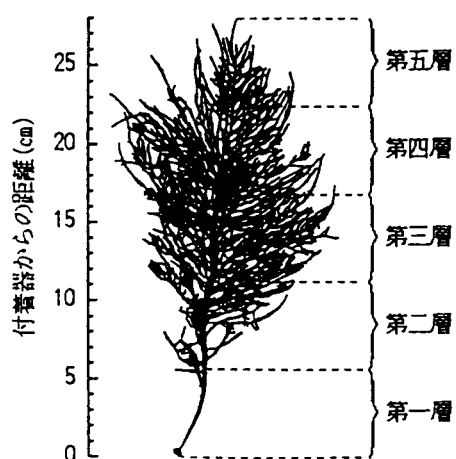
第1図 紫外線照射ランプ (UVP社製, TL-33型) の波長特性



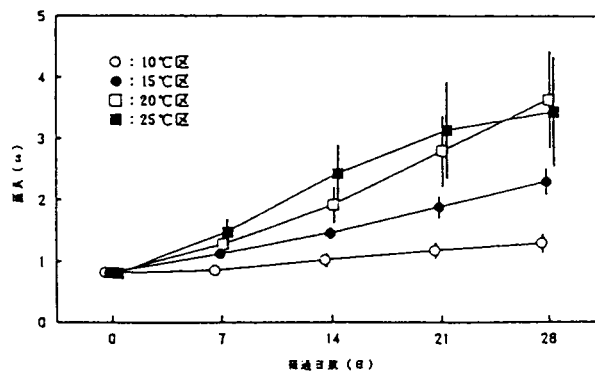
第2図 紫外線強度計 (UVP社製, UVX-31型) の反応特性



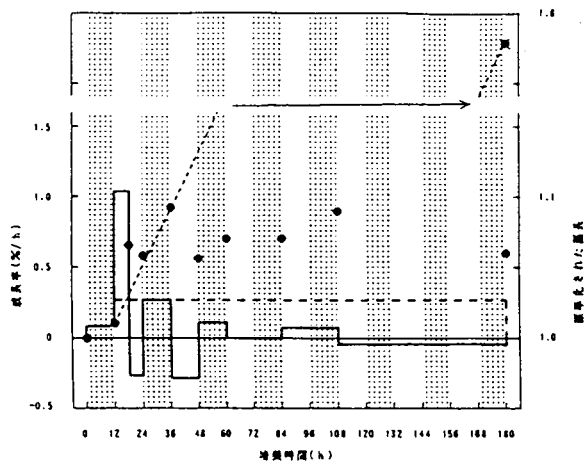
第11図 紫外線照射実験のタイムスケジュール (上; タオヤギソウ, 下; ウップルイノリ。
□; 明期, 〘; 暗期, ●; サンプルング)



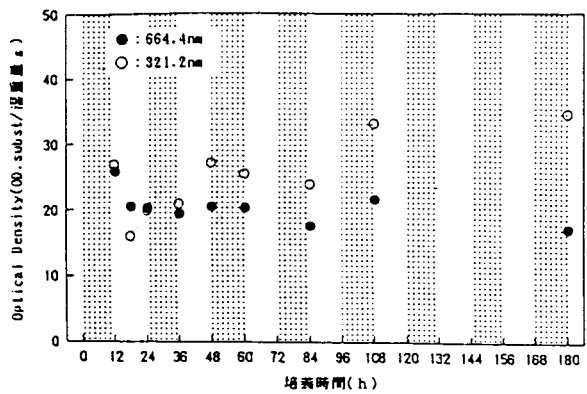
第4図 タオヤギソウ天然藻体の紫外線吸収物質の測定部位



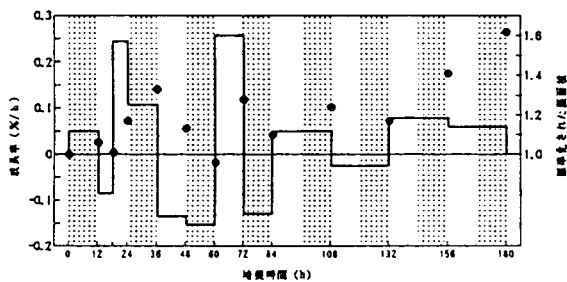
第5図 4温度条件下におけるタオヤギソウの藻体長の経時変化



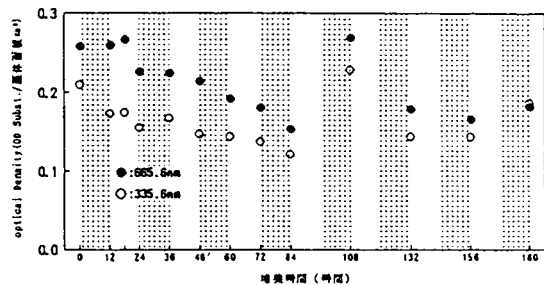
第6図 明期のみ紫外線照射したタオヤギソウの藻体長増加率(折れ線)と標準化された藻体長の経時変化(●)。(□, 明期; ■, 暗期. 以下同様)



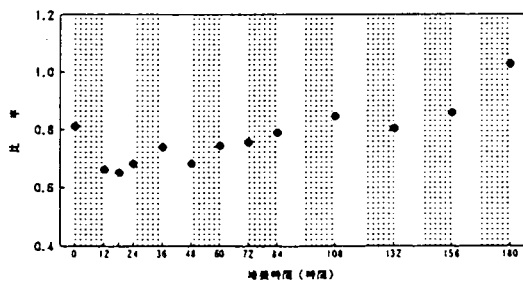
第7図 明期のみ紫外線照射したタオヤギソウのクロロフィル(664.4nm)と紫外線吸収物質(321.2nm)含量の経時変化。



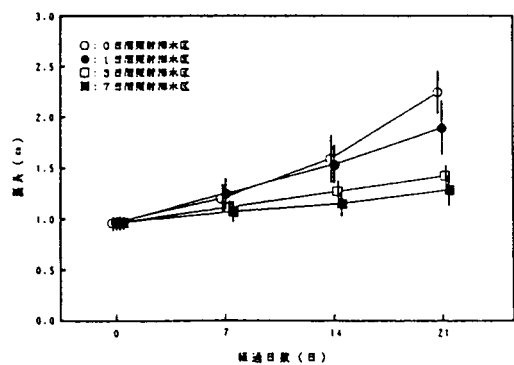
第8図 明期のみ紫外線照射したウップルイノリの藻体面積増加率と標準化された藻体面積の経時変化。



第9図 明期のみ紫外線照射したウップルイノリの665.6nm(クロロフィル含量)と335.6nm(紫外線吸収物質含量)の吸収極大の吸光度の経時変化。



第10図 明期のみ紫外線照射したウップルイノリの665.6nm(クロロフィル含量)に対する335.6nm(紫外線吸収物質含量)の吸収極大吸光度比の経時変化。



第11図 紫外線照射海水で培養したタオヤギソウの藻体長の経時変化。