

- A-5 紫外線の増加が植物等に及ぼす影響に関する研究
(2) 紫外線増加が動物プランクトンに及ぼす影響の評価に関する研究

研究代表者 北海道区水産研究所海洋環境部生物環境研究室 齊藤宏明

水産庁北海道区水産研究所

海洋環境部生物環境研究室 田口哲・葛西広海

(委託先)

広島大学生物生産学部 上 真一

東京大学海洋研究所 津田 敦

平成5—7年度合計予算額 38、417千円
(平成7年度予算額 13、517千円)

[要旨]

オゾン層破壊に伴う太陽紫外線増加が、海洋生態系で優占する植食者である動物プランクトンに与える影響を評価するために、動物プランクトン群集で優占する橈脚類を用いて太陽紫外線および紫外線灯を用いた照射実験を行った。橈脚類は鉛直分布特性によって、常に表層に分布する終生表層分布性と、昼は深層に分布し夜間表層に鉛直移動する日周鉛直移動性の2つのタイプに分けることができる。そこで、それぞれのタイプについて紫外線の影響を調べた。

冷水性日周鉛直移動性橈脚類の*Paracalanus sp.*の孵化率は、紫外線ドースの増加と共に反シグモイド型の低下を示した。紫外線の孵化率への影響は産卵直後の卵で、産卵されてから時間が経過した卵に比べて大きかった。また、同じドースを与えた場合、紫外線放射量を高くし照射時間を短くした場合に比べて、低い放射量で照射時間を長くした場合の方が、孵化率の低下が著しかった。冷水性日周鉛直移動性の*Acartia omorii*雌成体の生残率はドースの増加に伴って低下したが、紫外線の影響は*Paracalanus sp.*の孵化率低下がみられるよりも大きなドースでみられた。暖水性日周鉛直移動性橈脚類の*Calanus sinicus*の孵化率および生残率に及ぼす太陽紫外線の影響は、瀬戸内海において1月、4月、6月に調べた。1月には紫外線の影響はみられなかったが、4月および6月には孵化率および成体雌の生残率の低下がみられた。また、ドースが高い場合ほど、孵化した動物の奇形率が高かった。

日周鉛直移動性橈脚類に対し、温帯性終生表層分布性の、*Pontella rostraticauda*と*Pontellopsis tenuicauda*、および亜熱帯性終生表層分布性の*Labidocera madurae*には、現在のレベルの太陽紫外線放射量による孵化率や生残率の低下はみられなかった。*P. rostraticauda*および*P. tenuicauda*と日周鉛直移動性の*Calanus sinicus*についてカロチノイド系色素およびマイコスポリン様アミノ酸含量を調べたところ、終生表層分布性の2種は、日周鉛直移動性の*C. sinicus*に比べて体重あたりの含量が4~17倍多かった。これらのことから、紫外線の強い海洋表層の環境に分布する橈脚類は、紫外線吸収物質等を持つことによって紫外線による悪影響を防ぐ機構を獲得していることが明らかになった。

本研究によって、オゾン層の破壊に伴う紫外線の増加は、紫外線防御機構が未発達な日周鉛

直移動性橈脚類に影響を与え、特に、日周鉛直移動による紫外線の弱い深層への移動という能動的な紫外線忌避行動をとれない卵の、孵化や正常な発生を妨げることによって再生産に大きな影響を与えることが予想される。このことは、動物プランクトンの種組成、生産率および種間関係を変化させることにつながるため、紫外線放射量の増加は、今まで長時間かかって築き上げられてきた海洋生態系の大きな擾乱要因となることが予想される。

1. はじめに

成層圏オゾン層の破壊による、地球上に到達する太陽紫外線放射量の増大は、陸上生物ばかりではなく、地球表面の約7割を占める海洋に生息する生物にも重大な影響を与えることが危惧されている。海水は有害な太陽紫外線を減衰させる性質を持つが、一般に海洋の生物は陸上生物が持つような、厚い膜や皮膚といった紫外線防御機構はあまり発達していない。海洋低次生態系の主要な構成者であるプランクトンは、遊泳力が微弱であり、不適な光環境から逃れる能力が小さいので、紫外線に曝される危険性が高い。もし紫外線がプランクトンに及ぼす影響が大きければ、今まで長時間をかけて築き上げられた海洋生態系が攪乱されることになる。

動物プランクトンは、海洋生態系で最も優占する植食者（2次生産者）であり、植物プランクトンを捕食することによって海洋の基礎生産を制御する要因の1つとなっている。同時に、植物プランクトンによって光合成された有機物を魚類等の上位栄養段階に位置する生物が利用できるように大型化する役割を担っている。本研究では、今後予測される太陽紫外線の増大が、動物プランクトンにどのような影響をもたらすのかを解明することを目的とした。そのために、海洋の動物プランクトンのうち現存量で最も卓越する分類群である橈脚類を材料として実験調査を行った。実験に用いた橈脚類は北海道沿岸で採集される冷水性種、瀬戸内海沿岸で採集される暖水性（あるいは温帯性）種、ハワイ沿岸で採集される亜熱帯性種の広範囲に及んだ。橈脚類は、その鉛直分布様式から、日周鉛直移動性(vertical migrator)あるいは終生表層生息性(neuston)に分けて実験を行った。紫外線に対するこれら橈脚類の反応は、主として成体雌の生残率、産卵速度及び卵の孵化率を基準とした。また紫外線の光源としては、太陽光あるいは実験室内での人工照明を使用した。さらにこれらの橈脚類に含まれている紫外線防御物質と考えられるカロチノイド系色素量、マイコスポリン様アミノ酸含量を測定し、相互に比較した。

2. 日周鉛直移動性橈脚類に及ぼす UV-B の影響

日周鉛直移動性橈脚類は全世界の海洋に分布し、その成体や発育の進んだ幼体(コペポディド期)は、昼は深層に分布し、夜間表層に分布するという、日周鉛直移動を行う。従って、日周鉛直移動を行う橈脚類に与える紫外線の直接の影響は少ないと云える。しかしながら、日周鉛直移動は個体群のすべてが均一に行うものではなく、一部の個体は昼でも表層に留まるため、個体群の一部には紫外線の直接の影響が及ぶと考えられる。また、日周鉛直移動性の橈脚類であっても、卵やノープリウス期の幼体は、遊泳力がないか、あっても微弱であるため日周鉛直移動を行えず、その分布水深は水柱の鉛直物理構造に依存する。紫外線が強まる春季から秋季には、表層に密度躍層が形成されるため、これらの動物が表層に留まり、強い紫外線に曝されること予測される。日周鉛直移動性橈脚類は、橈脚類群集の中で優占するグループである。従って、紫外線が動物プランクトンに与える影響を把握するためには、まず、日周鉛直移動性

橈脚類が紫外線によってどのような影響を受けるかを明らかにする必要がある。

2-(1). 紫外線が冷水性日周鉛直移動性橈脚類に与える影響

2-(1)-a. *Paracalanus* sp. の孵化率に与える影響

北海道周辺において夏季から秋季に優占する日周鉛直移動性橈脚類である *Paracalanus* sp. の孵化率に与える紫外線の影響を、紫外線灯を用いた室内実験および太陽紫外線を用いた現場実験によって調べた。

[方法]

ドースと孵化率の関係

室内実験に用いた *Paracalanus* sp. は釧路港にて、0.33 mm 目合いの網地を取り付けた口径 45 cm のリングネットを曳網することによって採集した。採集した動物は研究室に持ち帰り、採集後 3 時間以内に実体顕微鏡下で *Paracalanus* sp. 雌成体を取り出し、ガラス繊維濾紙 (GF/F) で濾過した現場海水を満たした 15 ml のヴァイアルに移し、暗条件下、10°C にて次の朝まで飼育した。産卵された卵は 20~25 個を、0.2 μm の孔径のニュークレポアフィルターで濾過した現場海水を満たした 100 ml の石英瓶に入れ、10°C で 3 日間インキュベートし、孵化率を調べた。紫外線の光源には東芝健康線灯 FL20S・E を用い、白色蛍光灯による可視光とともに 12L:12D の周期で照射した。UV-B 放射量は、International Light 社の UV-B センサー SUD240/UVB/W で測定し、紫外線灯からの距離および neutral density filter を用いて調節した。紫外線灯から放射される光には、地表にはほとんど到達しない、290 nm 以下の波長の紫外線も含まれるため、カットニングシート®で覆うことによって 290 nm 以下の紫外線を取り除いた条件でも実験を行った。また、ルミラー®で覆うことによって 315 nm 以下の紫外線を取り除いた石英瓶を、コントロールとした。

ドース率と孵化率の関係

現場で産卵された卵は密度躍層の深度と風などによる鉛直混合により、ある卵は弱い紫外線に長い間曝され、またある卵は短期間表層付近に分布することによって強い紫外線に短かい時間曝されるというように、UV-B の影響を異なるドース率で受けると考えられる。そこで、同じドースを与えた場合に、ドース率の変化が孵化率に与える影響を調べた。*Paracalanus* sp. の卵に、259 mJ cm⁻² のドースを加え、UV-B 放射量と照射時間を変えて孵化率を調べた。石英瓶はすべてカットニングシート®で覆うことによって 290 nm 以下の紫外線を取り除いた。可視光の光周期は 12L:12D とし、UV-B は可視光を照射している時間帯にのみ照射した。孵化率は卵の飼育をはじめて 3 日後に調べた。

紫外線を照射する産卵からの経過時間と孵化率の関係

産み出された卵は時間と共に細胞分裂を続けるため、紫外線が与える影響は産卵後の経過時間によって変化する可能性があると考えられる。そこで、同じドース、ドース率の UV-B を、生み出されてからの経過時間が異なる卵に加えて孵化率に与える影響を調べた。*Paracalanus* sp. 雌は、濾過海水を満たした 15 ml のヴァイアル瓶で 4 時間飼育し、その間に生み出された

卵を実験に用いた。すなわち、得られた卵は産卵後最大4時間経過した卵と云える。これらの卵は濾過海水を満たした100 mlの石英瓶に移し、6時間にわたって $12 \mu\text{W cm}^{-2}$ のUV-Bを照射することによって 259 mJ cm^{-2} のドースを加えた。ただし、UV-Bを照射し始める時間を、石英瓶毎に6時間ずつ、最大24時間ずらすことによって、産卵からの経過時間を変えてドースを加えた。この実験期間中には常に可視光を照射した。卵を石英瓶に移して3日後に孵化率を調べた。

太陽紫外線が橈脚類孵化率へ与える影響

太陽紫外線が孵化率へ与える影響は、1994年10月9～10日に厚岸湾において調べた。10月8日の夜、プランクトンネットを用いて採集したプランクトンから、*Paracalanus* sp.の雌を实体顕微鏡下で取り出し、1個体ずつ15ml容量の濾過海水を満たしたヴァイアル瓶に入れ、6時間暗条件で産卵させた。得られた卵は100ml容量の濾過海水を満たした石英瓶に15～20個ずつ入れ、表面海水を流した浅い水槽中で48時間インキュベートした。石英瓶は水槽に横にした状態で設置し、水面は石英瓶よりもわずかに高くした。UV-B照射量はUV-Bをカットするルミラシート®で石英瓶を覆う時間を変えることによって変化させた。空中紫外線放射量はInternational light社のUV-BセンサーSUD240/UVB/Wを用いて測定した。同時に空中光合成有効放射量(PAR)も、Li-Cor社のコサイン光量子センサーLI-190SAを用いて測定した。

[結果]

ドースと孵化率の関係

石英瓶をカットシート®で覆わずに実験を行った場合、*Paracalanus* sp.の孵化率はドースの増加とともに反シグモイド型の減少傾向を示し、1日あたりのUV-Bのドースが 101 mJ cm^{-2} 達すると、孵化は完全に阻害された(Fig. 1A)。孵化率(H: %)と $17.7 \sim 101 \text{ mJ cm}^{-2}$ の範囲のドースとの間には、

$$\text{Ln}[(100-H+1)/(H+1)] = 0.103 \times [\text{UV-B}] - 5.50 \quad (1)$$

で示される有意な関係(F-test, $p < 0.001$)がみられた。この式から推定される50%の孵化阻害が見られる紫外線量は 53 mJ cm^{-2} であった。

石英瓶をカットシート®で覆うことによって290 nm以下の紫外線を取り除いた場合にも、*Paracalanus* sp.の孵化率はドースの増加とともに反シグモイド型減少傾向を示したが、290 nm以下の紫外線を取り除かなかった場合に比べて、同じドースであっても孵化率は高かった(Fig. 1B)。しかし、1日あたりのドースが 151 mJ cm^{-2} に達すると、孵化は完全に阻害された。孵化率と $30 \sim 151 \text{ mJ cm}^{-2}$ の範囲のドースとの間には、

$$\text{Ln}[(100-H+1)/(H+1)] = 0.0502 \times [\text{UV-B}] - 4.90 \quad (2)$$

の式で示される有意な関係(F-test, $p < 0.005$)がみられ、この式から推定される50%の孵化阻害が見られる紫外線量は 98 mJ cm^{-2} と、290 nm以下の紫外線を取り除かなかった場合に比べて高かった。

ドース率と孵化率の関係

孵化率はドースがおなじであってもドース率が低い、すなわち、短時間強い紫外線を照射さ

れるよりも、長い時間弱い紫外線にさらされる場合により減少した (Fig. 2)。

紫外線を照射する産卵からの経過時間と孵化率の関係

紫外線による孵化の阻害は、産卵からの経過時間が短いほど高かった (Fig. 3)。

太陽紫外線が橈脚類孵化率へ与える影響

観測期間中の表面水温は15.5~16.0°Cの範囲で推移した。観測期間中は晴れている時間が長かったものの、多少雲の影響もみられた。*Paracalanus* sp. の孵化率は多少変動があるものの、ドースの増加とともに低下した (Fig. 4)。ドースの孵化率との関係は

$$\ln[(100-H+1)/(H+1)] = 0.0379 \times [\text{UV-B}] - 4.03 \quad (3)$$

の式で表された (F-test, $p < 0.005$)。この式から推定される、50%孵化阻害がみられる太陽紫外線Bのドースは106 mJ cm²であり、紫外線灯を用いた室内実験における、カットニングシート[®]によって290 nm以下を除いた場合 (Fig. 1B) よりもわずかに強かった。

2-(1)-b. *Acartia omorii*成体雌の生残率に与える影響

北海道周辺海域で周年優占する日周鉛直移動性橈脚類の*Acartia omorii*成体雌に紫外線が与える影響を明らかにするため、紫外線灯を用いた照射実験を行い、その生残率を調べた。

[方法]

*Acartia omorii*は釧路港でプランクトンネットを用いて採集し、採集後3時間以内に成体雌を実体顕微鏡下で取り出した。得られた*Acartia omorii*成体雌は20個体ずつ、濾過海水とともに、餌として珪藻の*Thalassiosira weissflogii*を加えた1.2lの石英瓶に移した。採集翌日から12L:12Dの光周期で可視光および紫外線 (Toshiba F120S・E) を照射した。石英瓶をルミラーシート[®]で覆うことによってUV-Bを取り除いてコントロールとした。飼育温度は10°Cであり、明期におけるインキュベーター内の可視光放射量は140 μE m⁻² s⁻¹であった。生残率は毎朝、暗期が終了する前に調べ、同時に海水を交換した。実験は最大10日間続けたが、全個体が死亡した場合にはそこで終了した。UV-B放射量は、International light社のUV-BセンサーSUD240/UVB/Wを用いて測定した。1日あたりのドースは30から864 mJ cm²であった。

[結果]

1日あたりのドースが56 mJ cm²以下の場合、コントロールと実験瓶の間で生残率に違いはみられなかった (Fig. 5)。しかし、108 mJ cm²以上の場合には照射日数が増えるに従って生残率は低下し、ドースを多く与えるほど、生残率は急速に低下した。この結果を、ドースの増加に対する生残率として示したのがFig. 6である。生残率の低下は全ドース量と一定の関係があるわけではなく、全ドース量が同じであっても、1日あたりのドースが少ない場合ほど大きく低下する傾向がみられた。

2-(2). 紫外線が暖水性日周鉛直移動性橈脚類 *Calanus sinicus* に与える影響

2-(2)-a. 成体雌の生残率、産卵速度、卵の孵化率に及ぼす太陽紫外線の影響

[方法]

Calanus sinicus 成体雌を 1994 年 1 月、4 月、6 月に瀬戸内海でそれぞれ採集し、3 個体を 500 ml 容ソーダガラス瓶 10 本に、あるいは 800 ml 容石英ガラス瓶 5 本に收容した。ここで用いた石英ガラス瓶は UV-B 及び UV-A をほぼ完全に通す性質を有しており、ソーダガラス瓶は UV-B をほぼ完全に遮断するが、UV-A を約 90 % 遮断する性質を持つものである。飼育海水は現場表層海水をグラスファイバー濾紙 (Whatman GF/C) で濾過したものに、あらかじめ培養しておいた (F/2 培地、水温: 20°C、光周期: 12 L-12 D) 珪藻類 *Thalassiosira weissflogii* を十分量 (約 10^4 cells ml⁻¹ 以上) 加えたものとした。ガラス瓶は密閉し、太陽光の当たる甲板上の発砲スチロール製コンテナに並べた。実験期間中は発砲スチロール容器内に現場の表層海水を流して飼育水温を一定に (1 月: 12.9 °C、4 月: 13.9 °C、6 月: 21.8 °C) 保った。ソーダガラス瓶 5 本は黒いビニールシートで覆い暗瓶 (Dark) とした。また、ソーダガラス瓶 5 本は直接太陽光の下 (Light-UV) に、石英ガラス瓶は直接太陽光の下 (Light+UV) にそれぞれ 5 日間置いた。飼育瓶を 2-3 時間間隔で回転させて、飼育海水中の餌粒子が均一分布するように攪拌した。毎日夕方死亡した成体を取り除き、産出卵を目合い 40 µm の篩で回収し、それらを濾過海水約 30 ml の入った 40 ml 容のプラスチック製容器に收容し、室内 (約 20 °C) で約 40 時間放置して孵化させた。追加実験として、1995 年 6 月 (水温: 19.1 °C) 及び 10 月に (水温: 23.1 °C) の午前 0 時から日の出前までに産出された 0-6 時間齢の *C. sinicus* の卵を、それぞれ 28-44 個卵ずつ上記と同様の光条件下で孵化させた。太陽光照射は各実験日の日の出から日没までとし、空中紫外線放射量は International Light 社の紫外線計 SUD240/UVB/W で測定した。

[結果]

実験を行った 1 月、4 月、6 月の UV-B 放射照度の日間最高値はそれぞれ 5.4, 25.3, 39.6 µW cm⁻² であり、日間 UV-B 放射積算量の最大値はそれぞれ 0.06, 0.39, 0.66 J cm⁻² d⁻¹ であった。

1 月の実験では、いずれの光条件下でも期間中の成体雌の生残率は 87 % 以上であった。産卵速度は Dark で常に高く、Light-UV では 1 日目の結果が他と比べて非常に低かったものの、その後次第に増大して一定の値となった。卵の孵化率は経過日数の増大に従い次第に低下したが、4 日目までは光条件間で大きな差はなかった。以上のことから、1 月では本種の成体雌の生残率、産卵速度、卵の孵化率に対する UV-B の悪影響はなかったものと思われる。

4 月の実験では (Fig. 7)、成体雌の生残率が Light+UV で大きく低下した。また 4 日目には Light-UV でもわずかの低下が見られた。産卵速度は同一条件での瓶間での変動が大きかったが、常に Dark で高く、Light-UV、Light+UV の順に低下した。卵の孵化率は、Dark では常に高く (平均 90%)、Light-UV 及び Light+UV では共に低く、平均孵化率はそれぞれ 31、20% であった。どの実験日においても Dark と Light-UV 及び Dark と Light+UV との間にそれぞれ有意な (t-test, P<0.005) 差が見られた。6 月の実験では、成体雌の生残率は 1 日目に Light+UV で大きな低下が見られ、また 5 日目には Light-UV で低下が見られた。産卵速度は各光条件内での変動が大きかったため、各条件間での有意な差はなかった。卵の孵化

率は実験日ごとの変動が大きく、1日目と3日目の孵化率はDarkとLight-UV及びDarkとLight+UVとの間にそれぞれ有意な($p < 0.01$ 及び $P < 0.005$, t-検定)差が見られた。しかしその他の日では各光条件間での有意な孵化率の差は観察されなかったことから、実験日の1日あたりのドースと孵化率との関係が示唆された。以上のように4月と6月の実験では、*C. sinicus*の成体雌の生残率と卵の孵化率にUV-Bの悪影響が明瞭に観察された。

1995年6月及び10月の追加実験の結果も加えて、*C. sinicus*の卵の孵化率と太陽紫外線による1日あたりのドースとの関係をFig. 8に図示した。UV-Bの1日あたりのドースが $0.2 \text{ J cm}^{-2} \text{ d}^{-1}$ 以下では、Darkの孵化率に対する相対孵化率は76%以上であり、 $0.3 \text{ J cm}^{-2} \text{ d}^{-1}$ 以上ではほとんどの場合23%以下であった。したがって、 $0.2\text{--}0.3 \text{ J cm}^{-2} \text{ d}^{-1}$ の範囲のドースが孵化率の良否を決定する閾値になっていると思われる。

2-(2)-b. 卵の孵化率に及ぼす人工UV-Bの影響

[方法]

1995年5月に広島県呉市の音戸の瀬戸において*Calanus sinicus*成体雌を採集し、2-3時間以内に東広島市の広島大学生物生産学部の研究室に持ち帰った後、 $14\text{--}16^\circ\text{C}$ の恒温室で産卵させた。産出後6時間以内の二細胞期から桑実期の卵を濾過海水10-15mlの入った直径約1.5cm、高さ約18cmの石英製試験管12本に、それぞれ31-50卵ずつ収容した。紫外線ランプ(東芝ライテックス社製FL 20 S・Eランプの外側をカットニングシート[®]で包み290nm以下の波長をカットした)からの距離を変えることにより作出した12の異なるUV-B放射量(0, 0.1, 0.3, 0.5, 0.8, 1.0, 3.5, 5.5, 8.0, 15, 20, $35 \mu\text{W cm}^{-2}$)条件で12時間照射実験を行った。実験期間中の水温は約 14°C であった。UV-B照射実験終了後卵を回収し、約36時間暗黒条件下に放置し、中性ホルマリンで固定した。後日これらのサンプルを顕微鏡で観察し、未孵化卵、正常発生ノープリウスならびに奇形ノープリウスの3者に分類して計数した。

また紫外線灯と蛍光灯を同時に照射して上述と同様の実験を行い、可視光の存在により紫外線が及ぼす影響がどの様に変化するのかを調査した。蛍光灯はSANYO社製FL SS・W/37を使用した。使用したランプの波長特性はOpto Research社製分光放射計MSR-7000により測定した。

[結果]

紫外線ランプのみを照射した場合、放射量の増大につれて*C. sinicus*の卵の孵化率は急激に低下した(Fig. 9)。この時の孵化率の低下は指数関数的であるので、孵化率(H:%)とUV-B放射量([UV-B], $\mu\text{W cm}^{-2}$)との関係は

$$H = 72.5 e^{-0.09[\text{UV-B}]} \quad (4)$$

の式で表された。またこの時の孵化ノープリウスを顕微鏡で詳しく観察すると奇形個体が見られた。奇形個体は正常個体よりも体長が短く、そのため全体的に丸みを帯びていた。さらに付属肢は短く、節の数が減少して、その先端は丸く瘤のようになっていた。また刺毛数も減少し、刺毛どうしが相互に接着していた。中には完全に付属肢を欠落した個体も見られた。奇形率はUV-B放射量の増加に伴い急激に増加し(Fig. 9)、UV-B放射照度が $15 \mu\text{W cm}^{-2}$ 以上で孵

化したノープリウスは全て奇形であった。奇形率 (M) と放射量との関係は

$$M = -5.6 + 87.9 (1 - e^{-0.4[UV-B]}) \quad (5)$$

の式で表された。

紫外線ランプと蛍光灯を同時に照射した実験では、孵化率は UV-B 放射量の増加に伴いわずかに低下したのみで (Fig. 10)、UV-B 放射量が $35 \mu W cm^{-2}$ の場合に孵化率が最低 (平均: 51%) となった。孵化率 (H: %) と紫外線放射量の指数的回帰曲線は

$$H = 76.5 e^{-0.01[UV-B]} \quad (6)$$

であった。この時にも孵化ノープリウスに奇形が観察されたが、奇形率は最大でも約 20% 程度であった (Fig. 10)。奇形率と紫外線放射量の関係は

$$M = 5.9 + 12.3 (1 - e^{-0.4[UV-B]}) \quad (7)$$

で示された。

3. 終生表層性橈脚類に及ぼす UV-B の影響

3-(1). 温帯性橈脚類 *Pontella rostraticauda*, *Pontellopsis tenuicauda* の成体雌の生残率、産卵速度、卵の孵化率に及ぼす太陽紫外線の影響

[方法]

1994 年 9 月に採集した *Pontella rostraticauda* 及び *Pontellopsis tenuicauda* の成体雌を 3 個体ずつ瓶中に収容し、*C. sinicus* の場合と同様の方法で実験した。ただし、これら 2 種の橈脚類は、主として橈脚類コペポダイト、ノープリウス及び有鐘繊毛虫類などを捕食する肉食傾向の強い雑食者であるので、飼育海水として現場海水を目合い $200 \mu m$ の篩を通過し $100 \mu m$ の篩で濾し取るにより得られた微小動物プランクトンを、現場海水中の密度の約 10 倍に濃縮したものを使用し、毎日新しく調整して交換した。この餌海中には、主として橈脚類ノープリウスとコペポダイトが存在し、実験期間中の平均餌密度は $793 \text{ indiv. l}^{-1}$ であった。このときの飼育水温は $26.7^\circ C$ であった。

[結果]

期間中の UV-B 放射量の日間最高値及び日間放射積算量は安定しており、それらの最高値はそれぞれ $22.5 \mu W cm^{-2}$ 及び $0.36 J cm^{-2} d^{-1}$ であった。*Pontella rostraticauda* の生残率は、どの光条件においても実験日数の経過につれて低下したが、Light+UV での生残率が比較的高かった (Fig. 11)。産卵速度はいずれの光条件下でも 2 日目には急激に低下した。これは高密度の微小動物プランクトンの飼育海水を使用したにもかかわらず、成体雌が捕食しなかったことを示すものである。卵の孵化率はどの光条件でも低かったが、これは本種の卵が内因性休眠卵となっているためであろうと思われた。各光条件間での孵化率の差はなかったため、本種の生残、産卵速度、卵の孵化率に対しては、現在のレベルの太陽紫外線量は悪影響を及ぼさないものと思われる。

Pontellopsis tenuicauda の生残率は、前種と同様にいずれの光条件においても次第に低下したが、Light-UV での生残率が比較的高かった。産卵速度も前種と同様に 2 日目には急激に低下した。孵化率はどの光条件でも 3 日目までは高い値を示した (Fig. 12)。4 日目に

Light+UV での孵化率の低下が見られたが、これは主として孵化実験に供した卵数の少ないことに原因していると思われ、UV-B の影響ではないと思われる。以上の結果から、温帯生終生表層性橈脚類に対して現在のレベルの太陽紫外線量は悪影響を及ぼさないものと思われる。

3-(2). 亜熱帯性橈脚類 *Labidocera madurae* 卵の孵化率に及ぼす太陽紫外線の影響

[方法]

1994年7月29～30日に、オアフ島東岸に位置するココナツ島で、その礁湖で優占する橈脚類 *Labidocera madurae* の孵化率に与える太陽紫外線の影響を調べた。夜間、光に蟻集する動物プランクトンを0.5 mm目合いの篩で採集し、直ちに成体雌を選び出して、50 mlの濾過海水を満たしたヴァイアル中で6～8時間飼育した。生み出された卵は次の日出前に、濾過海水を満たした250 ml容量の石英瓶中に50個ずつ入れて、表面海水を流した水槽中で48時間インキュベートした。その時の水温は27.0～29.0℃であった。UV-Bドースはルミラー®で覆う時間によって変化させた。コントロール瓶は、終日ルミラー®で覆った。同時に黒いビニール袋で覆った暗瓶も用意し孵化率を調べた。与えたドースは、水深15cmに設置したBiospherical Instruments社の水中分光紫外線計PUV500によって得られた、305 nmの測定値から計算した。

[結果]

Labidocera madurae の孵化率はコントロール、暗瓶および実験瓶の間で違いがみられなかったことから、現在のレベルの太陽紫外線放射量では影響を受けないことが明らかとなった。

4. 分布様式の異なる橈脚類のカロチノイド系色素とマイコスポリン様アミノ酸含量の比較

海洋生物の紫外線防御物質として知られているカロチノイド系色素およびマイコスポリン様アミノ酸を、瀬戸内海における日周鉛直移動性橈脚類および終生表層生息性橈脚類のそれぞれについて測定した。

[方法]

昼間は水深数 10 m に分布する *C. sinicus* 成体雌を 1995 年 3 月に、常に海表に棲息する *Pontella rostraticauda* と *Pontellopsis tenuicauda* の成体雌を 1994 年 9 月にそれぞれ採集した。サンプルは採集後、直ちに少量の蒸留水で洗浄し、30 個体ずつ 8 ml 容の凍結保存用クリオバイアルに入れ、分析まで -20 °C で冷凍保存した。後日、この冷凍サンプルのホモジェネートに 4 ml のメタノール、アセトン、あるいは蒸留水を加え、それぞれの溶媒中で体構成成分を抽出した。抽出時間はメタノール及びアセトンでは -20 °C で 2 時間、蒸留水では 8 °C で 2 時間であった。これらの抽出液を 10,000 g で 10 分間遠心分離し、その上澄液の 250 - 850 nm の範囲における吸光度を日立社製分光光度計 (220 A) により測定した。

[結果]

その結果、メタノール抽出液では吸収極大が 310 nm と 470 nm の 2 箇所で見られ (Fig. 13)、アセトン抽出液では 470 nm にのみ見られ、蒸留水抽出液では 310 nm のみに見られた。こ

これらの事実より 470 nm に吸収極大を有する物質は脂溶性であり、3 種の橈脚類に共通してみられるカロチノイド系色素であると推定された。310 nm に吸収極大を示す物質は水溶性であり、紫外線吸収物質として海洋生物中に広く存在しているマイコスポリン様アミノ酸のうちマイコスポリン様グリシンであると考えられた (Karentz et al., 1991)。470 nm と 310 nm での吸光値を各橈脚類のサンプル炭素重量で除することにより、単位炭素重量当たりの吸光値が得られる (Fig. 14)。単位炭素当たりのカロチノイド系色素は *Pontellopsis tenuicauda* で最高であり、*C. sinicus* の色素量の 17.4 倍、*Pontella rostraticauda* では *C. sinicus* の 7.4 倍であった。マイコスポリン様アミノ酸含量は *Pontellopsis tenuicauda* で、*C. sinicus* の含量の 7.4 倍、*Pontella rostraticauda* では *C. sinicus* の 4.2 倍であった。

5. 論議

5-(1). 橈脚類に対する UV-B の影響

日周鉛直移動性橈脚類と終生表層性橈脚類では、UV-B に対する耐性が大きく異なった。後者の成体雌の生残率、産卵速度、卵の孵化率に対する UV-B の悪影響はなかったため、現在のレベルでの天然照射量ではこの仲間に対する問題はないであろうと判断される。UV-B に対する耐性のメカニズムとして、*Pontella rostraticauda*、*Pontellopsis tenuicauda* において見られたように、これらの仲間は UV-B 吸収物質であるマイコスポリン様アミノ酸を体内に高濃度に含有することが明かとなった。またこれらの動物はカロチノイド系色素も併せて多く含有しており、比較的高いエネルギーを有する青色光を吸収することにより、光動力作用による生体への影響を緩和していることが考えられる (Mathews and Siström, 1959)。*Labidocera madurae* は、亜寒帯域・温帯域よりも強い紫外線が放射する亜熱帯域の、ごく浅い礁湖に適応した種である。*L. madurae* の卵の紫外線防御物質に関する知見はないが、この卵は、濃い緑色を呈し、非常に粘着質に富んでいる。この色素や、卵膜が紫外線防御機構に関連していることが示唆される。

一方、日周鉛直移動性橈脚類は成体雌の生残率、卵の孵化率に対して UV-B による影響を顕著に受けた。例えば、*Paracalanus* sp. は太陽紫外線または 290 nm 以下の波長を取り除いた人口光源による紫外線に曝された場合にはともに、約 $0.1 \text{ J cm}^{-2} \text{ d}^{-1}$ のドースによって孵化率は約 50% にまで低下する。この種が優占する北海道周辺海域の秋季における紫外線日間積算放射量は、 $0.2\text{--}0.3 \text{ J cm}^{-2} \text{ d}^{-1}$ であるから、なんらかのメカニズムで卵が海表面にトラップされることがあれば、この期間に産出される卵は個体群の再生産に結びつかないことになる。また、瀬戸内海で優占する *Calanus sinicus* の孵化率は 1 日あたりのドースが $0.2\text{--}0.3 \text{ J cm}^{-2} \text{ d}^{-1}$ 以上になると非常に低下した。孵化率の阻害がみられるドースは、より小型の *Paracalanus* sp. よりも高いものの、このレベルの日間積算量は瀬戸内海では 4 月から 9 月の期間の晴天日には普通に観測されることから、*Paracalanus* sp. の卵と同様に *C. sinicus* の再生産も現在のレベルの太陽紫外線によって影響を受けていると考えられる。

C. sinicus はマイコスポリン様アミノ酸をほとんど含有しないことから、この仲間が UV-B に対して脆弱なのは紫外線吸収物質を持たないことに原因していると思われる。また UV-B を除いた可視光条件下でも、*C. sinicus* の成体雌の生残率、卵の孵化率は影響を受けた。これ

は本種にはカロチノイド系色素の沈着が極めて少なく、体が透明なために主として青色光による光動力作用を受けて、核酸やタンパク質が損傷を受けたためではないかと考えられる。

これまで、マイコスポリン様アミノ酸は海洋生物の渦鞭毛藻類 (Carreto et al., 1990)、サンゴ虫類 (Dunlap et al., 1986)、魚類及び多くの無脊椎動物 (Karentz et al., 1991) で発見されている。これまで報告されている 8 種類のマイコスポリン様アミノ酸のうち、今回橈脚類に発見された 310 nm に吸収極大を有するのは、Karentz et al. (1991) によればマイコスポリン様グリシンであるとされている。この物質が橈脚類の UV-B 耐性に重要な働きをしていることが今回の研究で初めて明らかにされた。

人工の UV-B 照明のみを *C. sinicus* の卵に照射した場合には、照度の増大により孵化率は急激に低下し、さらに孵化したノープリウスの奇形率が急激に上昇した。奇形個体は正常に泳泳することができないので、いずれは死亡するものと思われる。UV-B 照射と蛍光灯による可視光照射を同時に行った場合は、孵化率、奇形率共に回復する現象が観察され、これは可視光による光回復であろうと考えられる。同様な現象はオタマジャクシや魚類において報告されている (Worrest et al., 1975; Setrow et al., 1989)。このような光回復が原因と考えられる現象は、*Paracalanus* sp. の孵化率においてもみられた。1日あたりのドースを $259 \text{ mJ cm}^{-2} \text{ d}^{-1}$ 、照射時間を 6 時間として行った実験では、孵化率は平均 44%であった (Fig. 2)。この実験の際には残りの 18 時間のうち 6 時間のみ可視光を照射し、12 時間は暗条件で行っている。一方、24 時間可視光を照射する一方、6 時間のみ $259 \text{ mJ cm}^{-2} \text{ d}^{-1}$ のドースを加えた紫外線を照射する産卵からの経過時間に関する実験では (Fig. 3)、孵化率は経過時間によって変化するものの 56-87%であった。後者の実験においては、可視光をより長く照射することによる光回復が孵化率を高くしていたのだと考えられる。また、孵化率に与える影響はドースが同じであってもドース率が低い、すなわち紫外線にさらされる時間が長い方が大きかった。卵発生における光回復機構および作用スペクトルの解明は今後の課題であるが、このことは、光回復が紫外線を照射されない環境でより効率よく働くことを示唆する。

Acartia omorii 成体雌への照射実験では、全ドース量が同じであっても、より長い時間にわたって照射された場合に生残率の低下が大きかった (Fig. 6)。この原因としては、細胞数が少ない卵とは異なり、*A. omorii* 成体雌のように多くの細胞・組織・器官からなる生物が紫外線照射によって死亡する場合は、遺伝子損傷による分裂・発生の失敗というよりは、生命を維持する機構の損傷や不全が引き起こされ、その結果としての死亡というかたちで紫外線の影響がでるのに時間がかかるためであると考えられる。

本研究によって、紫外線が動物プランクトンに与える影響は、基本的に、発生初期ほど、またサイズの小さい動物ほど受けやすいことが明らかになった。しかし、強い紫外線に常に曝される環境に適応した種は、紫外線吸収色素等の紫外線防御機構を持つことによって、この関係が当てはまらないことが明らかになった。逆に言えば、海水という紫外線防御機構をもつ生態系において、多くの生物は、日周鉛直移動等によって紫外線の弱い表層をさける分布形式を獲得することによって、色素を保持するといった紫外線防御に対するコストを支払う必要性が低いと云える。一方、一部の種は、紫外線防御機構を獲得することによって、他の生物にとって不適な環境である海洋表層にそのニッチを見いだしたのだと考えられる。

5-(2). UV-B の増大が海洋生態系に及ぼす影響の予測

本研究によって、動物プランクトンのうち日周鉛直移動性橈脚類では、紫外線によってその孵化率が低下し、また奇形率が増大し、成体でも生残率が低下することが明らかになった。しかし、日周鉛直移動性橈脚類の成体や発育の進んだ幼体であるコペポディト期の個体は、日中はモデルで予想される紫外線の到達深度よりも深い層に分布するため、現在の紫外線環境において紫外線によって生残率が低下することは少ないと考えられる。一方、成体に比べて紫外線の影響を受けやすい卵や、ノープリウス期の幼体は遊泳能力が乏しいため、淡水の流入や、水温上昇に伴う密度躍層の形成によって表層に留まることがあれば、現在のレベルの紫外線によっても生残率の低下等の影響がおきていると考えられる。これらに対して、終生表層生息性の橈脚類は現在のレベルの紫外線によっては影響を受けない。しかし、現時点より紫外線放射量が増大し、またより短波長の放射量が増大した場合、影響を受けないかどうかは、今後の研究を待たなくてはならない。

これらのことから、今後、オゾンホール拡大等によって地表に到達する紫外線放射量が増大し、また可視光やUV-Aに対してより短波長のUV-B放射量の割合が増大する場合には、以下のような変化が起こる可能性があるとして予想される。

①日周鉛直移動性橈脚類の再生産率の低下による個体群密度の低下

②紫外線到達深度が深くなり、日周鉛直移動性橈脚類にとっての好適な環境が、植物プランクトンの少ない深層へ移ることによる、個体群密度の低下

③現在優占する日周鉛直移動性橈脚類から終生表層生息性橈脚類等、紫外線防御機構の発達した動物への遷移

④終生表層生息性橈脚類の許容範囲を超えた紫外線放射による、終生表層生息性動物プランクトンの消滅

これらの変化が引き起こされた場合、海洋生態系の激変はもちろん、海洋のもつ二酸化炭素吸収能力の低下や漁業生産の低下といった、陸上生態系を含めた地球環境および人間の経済活動にも影響が及ぶであろう。今後は、紫外線が動物プランクトンや海洋生態系に与える影響を監視するとともに、複雑な相互関係によって均衡している現在の海洋生態系のどの部分がより紫外線の影響を受けやすく、影響が早期に現れるのかを明らかにするとともに、そのような部分の監視を行い、また海洋生態系の変化の予兆をより早く確認することによって、その対処手法を開発する必要があるであろう。

6. 引用文献

- Carreto, J. I., M. O. Carignan, G. Daleo and S. G. De Marco (1990): Occurrence of mycosporine-like amino acids in the red-tide dinoflagellate *Alexandrium excavatum*: UV-photoprotective compounds? *J. Plankton Res.*, 12: 909-921.
- Damkaer, D. M. and Dey, D. B. (1982): Nomograms for biologically effective UV. *In* The role of solar ultraviolet radiation in marine ecosystems. Edited by Calkins, J. pp205-211. Nato Conference Series IV, Plenum Press, New York.

- Dunlap, W. C., B. E. Chalker and J. K. Oliver (1986): Bathymetric adaptations of reef-building corals at Davis Reef, Great Barrier Reef, Australia. III. UV-B absorbing compounds. *J. exp. mar. Biol. Ecol.*, 104: 239-248.
- Karenz, D., F. S. McEuen, M. C. Land and W. C. Dunlap (1991): Survey of mycosporine-like amino acid compound in Antarctic marine organisms: potential protection from ultraviolet exposure. *Mar. Biol.*, 108: 157-166.
- Mathews, M. M. and W. R. Sistrom (1959): Function of carotenoid pigments in non-photosynthetic bacteria. *Nature*, 184: 1892-1893.
- Setlow, R. B., A. D. Woodhead and E. Grist (1989): Animal model for ultraviolet radiation-induced melanoma: Platyfish-swordtail hybrid. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 86: 8922-8926.
- Smith, R. C. and Baker, K. (1981): Optical properties of the clearest natural waters. *Appl. Opt.*, 20: 177-184.
- Worrest, R. C. and D. J. Kimeldorf (1975): Photoreactivation of potentially lethal, UV-induced damage to boreal toad (*Bufo boreas boreas*) tadpoles. *Life Sci.*, 17: 1545-1550.

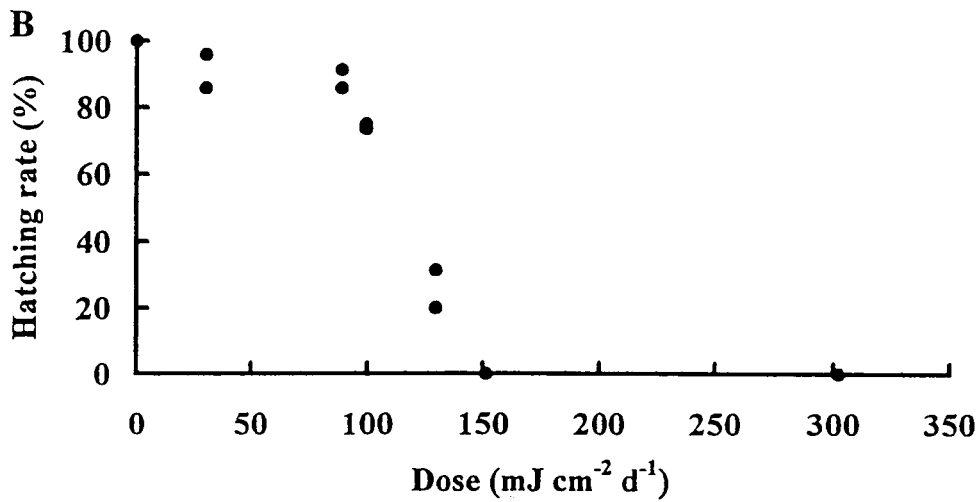
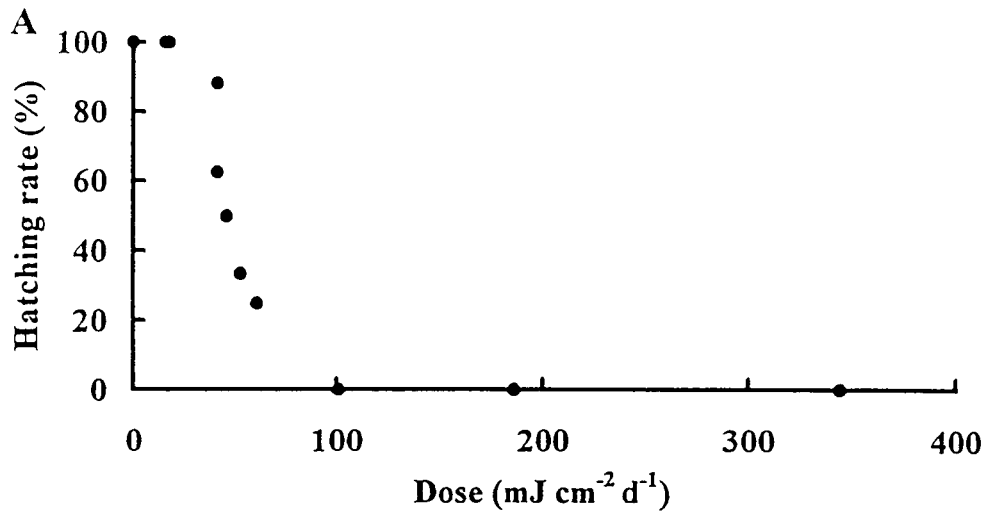


Fig. 1. *Paracalanus* sp. の孵化率とUV-Bドースの関係。A) 紫外線灯からの紫外線を直接照射した場合、B) カッティングシートで覆い、290 nm以下の紫外線を除いた場合。

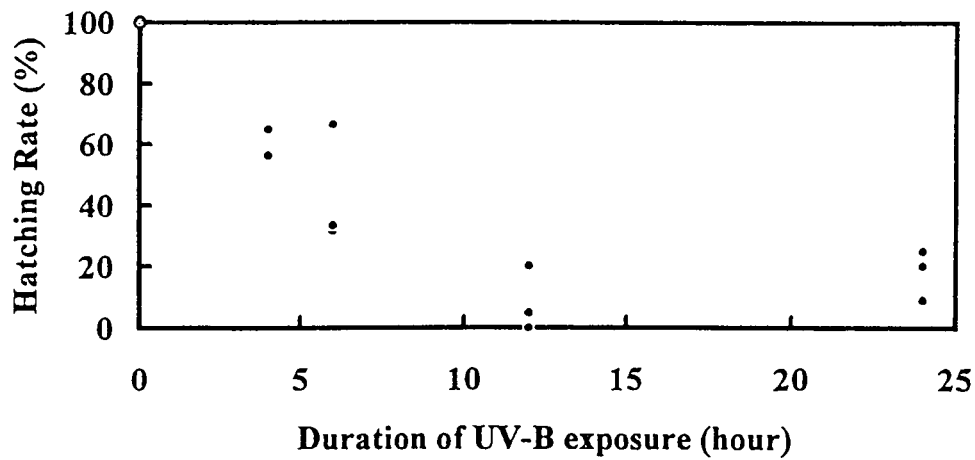


Fig. 2. UV-Bドース (259 mJ/cm²) を変えずにドース率を変えた場合の孵化率。横軸は紫外線照射時間。

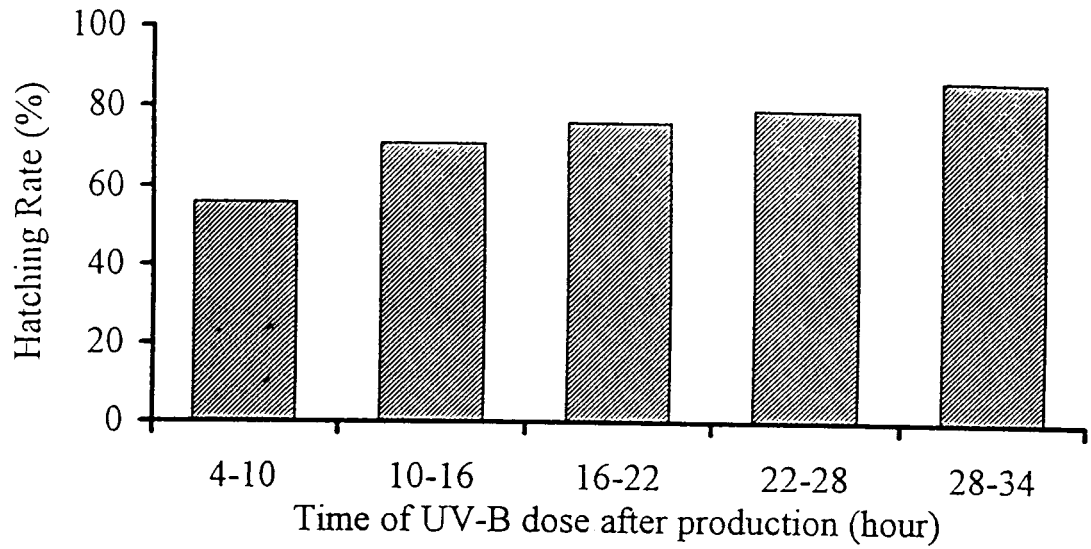


Fig. 3. 紫外線を照射する産卵からの経過時間と孵化率の関係

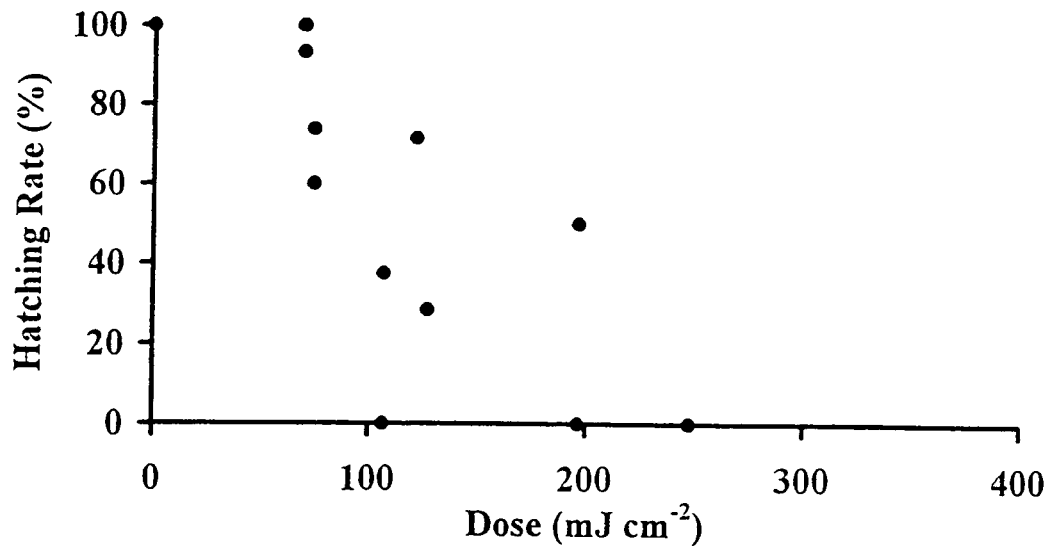


Fig. 4. 太陽紫外線ドースと*Paracalanus* sp. 孵化率の関係

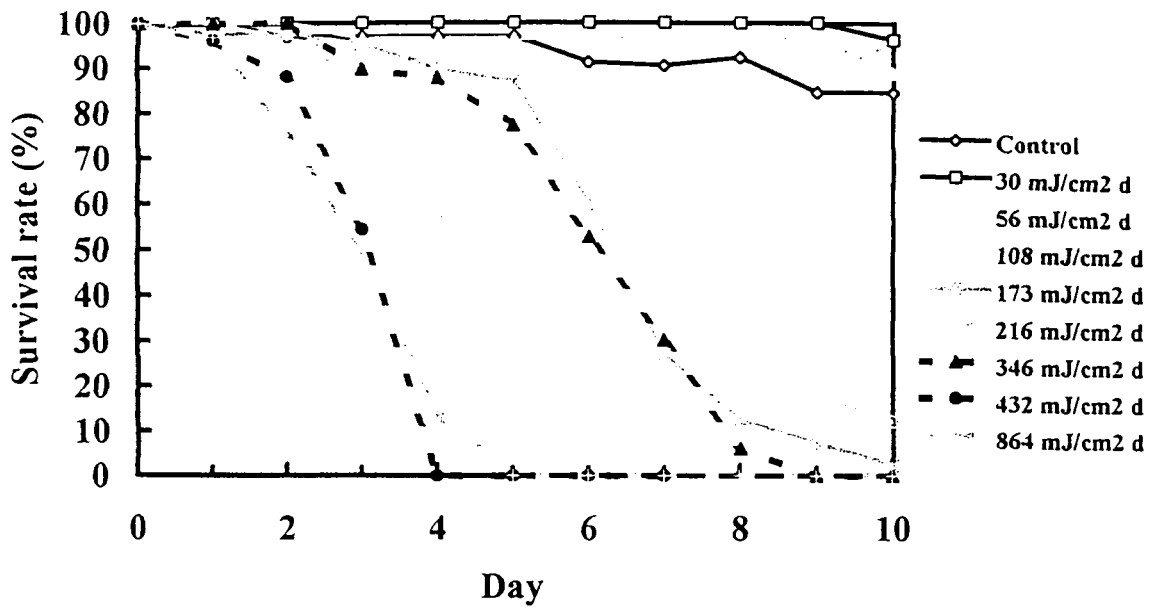


Fig. 5. 紫外線照射経過日数と *Acartia omorii* 雌成体の生残率の関係

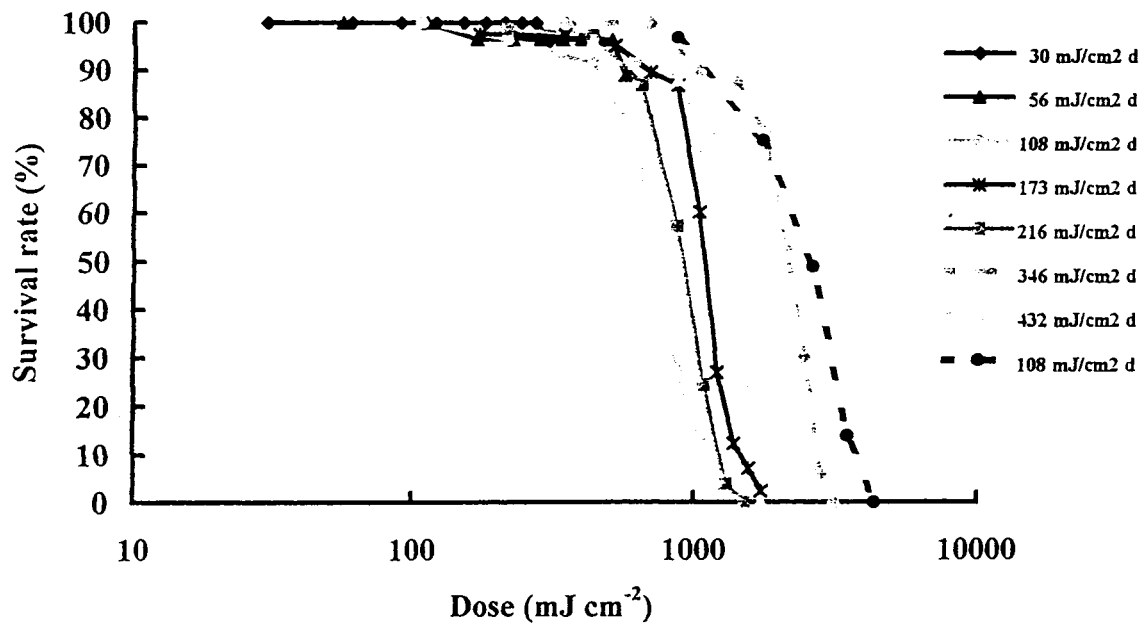


Fig. 6. 全ドース量に対する *Acartia omorii* 雌成体の生残率の関係

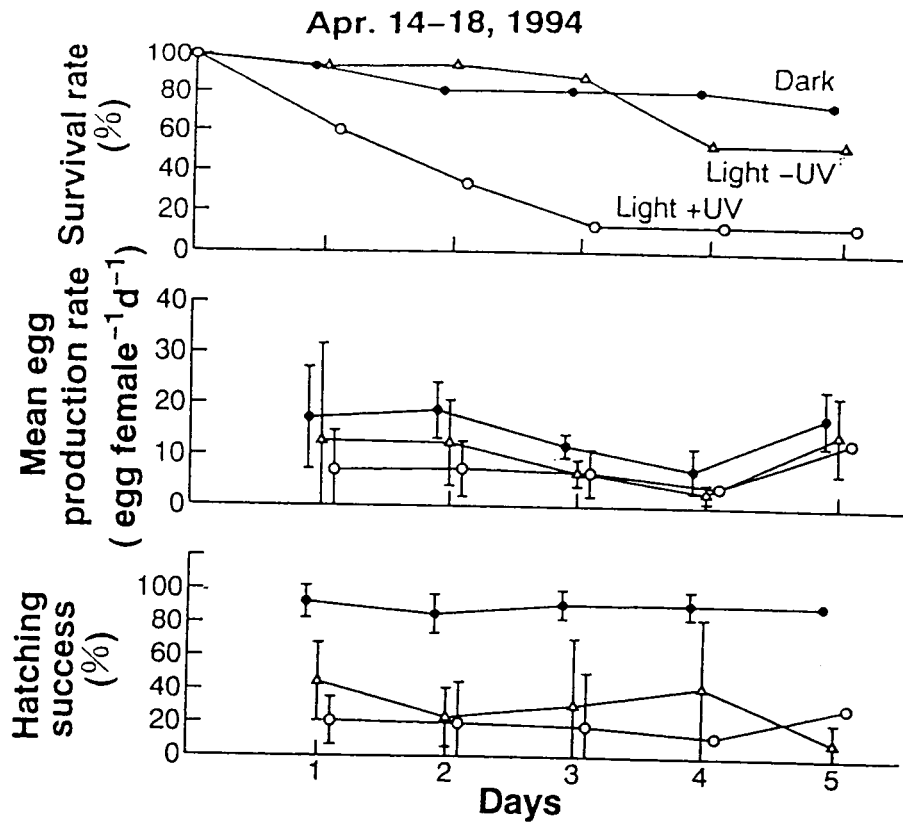


Fig. 7. *Calanus sinicus* の成体雌の成残率、産卵速度、卵の孵化率に及ぼす太陽紫外線の影響 (1994年4月)。

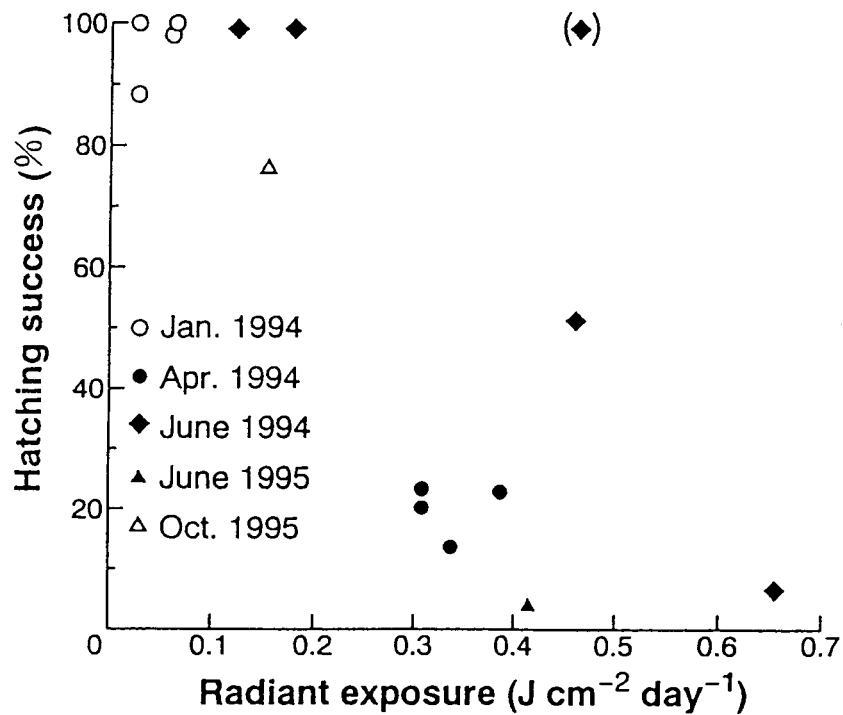


Fig. 8. *Calanus sinicus* の卵の孵化率 (Dark での孵化率に対する相対孵化率で示す) と UV-B 日間照射積算量との関係。

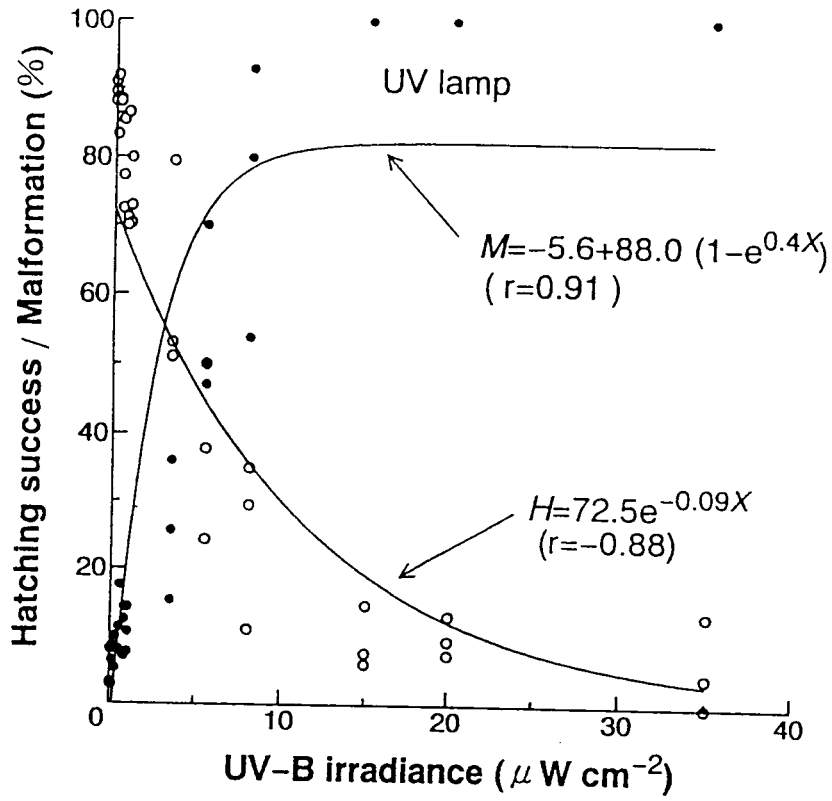


Fig. 9. *Calanus sinicus* の卵の孵化率に及ぼす紫外線灯照射の影響。孵化ノプリウスの奇形率も示す。

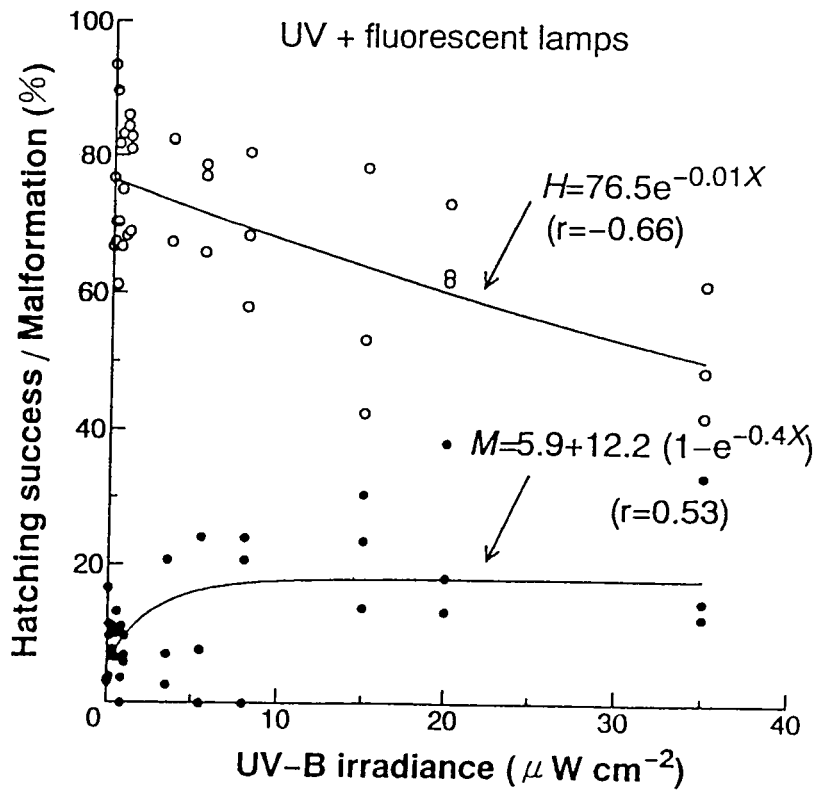


Fig. 10. *Calanus sinicus* の卵の孵化率に及ぼす紫外線灯と蛍光灯の同時照射の影響。孵化ノプリウスの奇形率も示す。

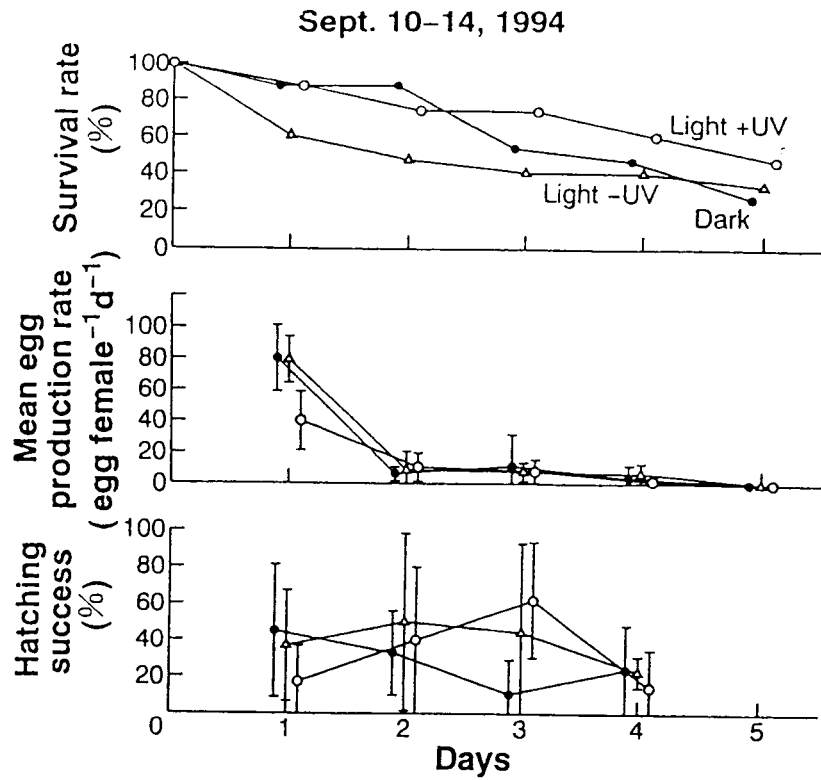


Fig. 11. *Pontella rostraticauda* の成体雌の成残率、産卵速度、卵の孵化率に及ぼす天然 UV-B の影響。

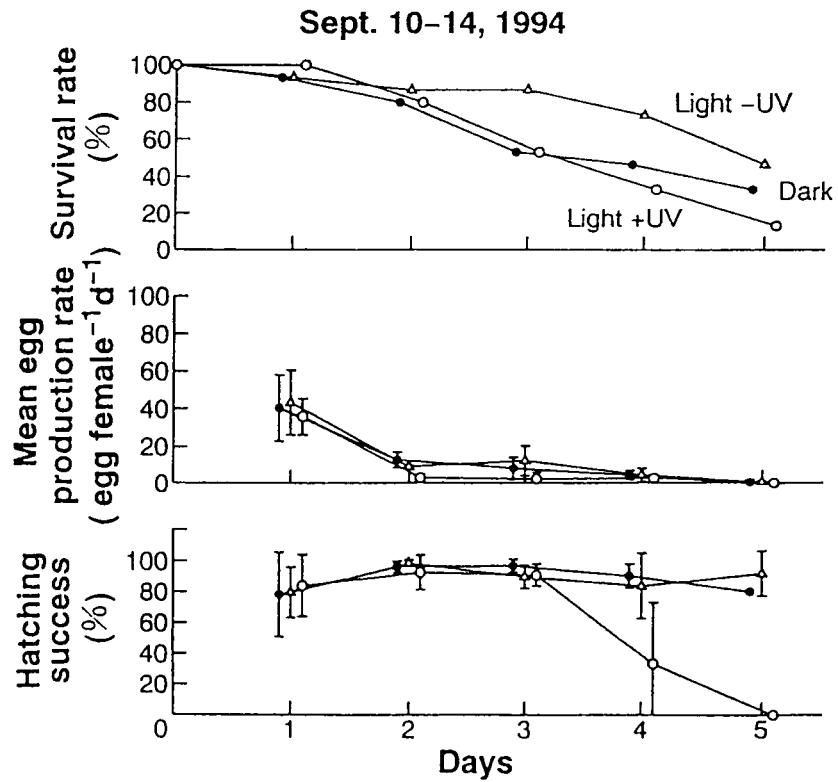


Fig. 12. *Pontellopsis tenuicauda* 成体雌の成残率、産卵速度、卵の孵化率に及ぼす天然 UV-B の影響。

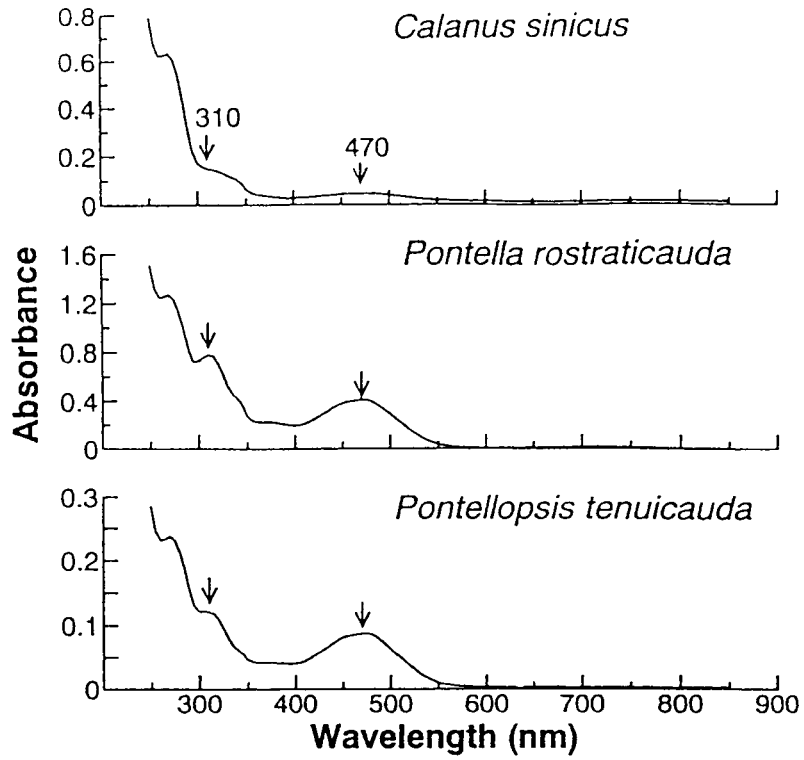


Fig. 13. *Calanus sinicus*, *Pontella rostraticauda*, *Pontellopsis tenuicauda* のメタノール抽出液の吸光スペクトル。

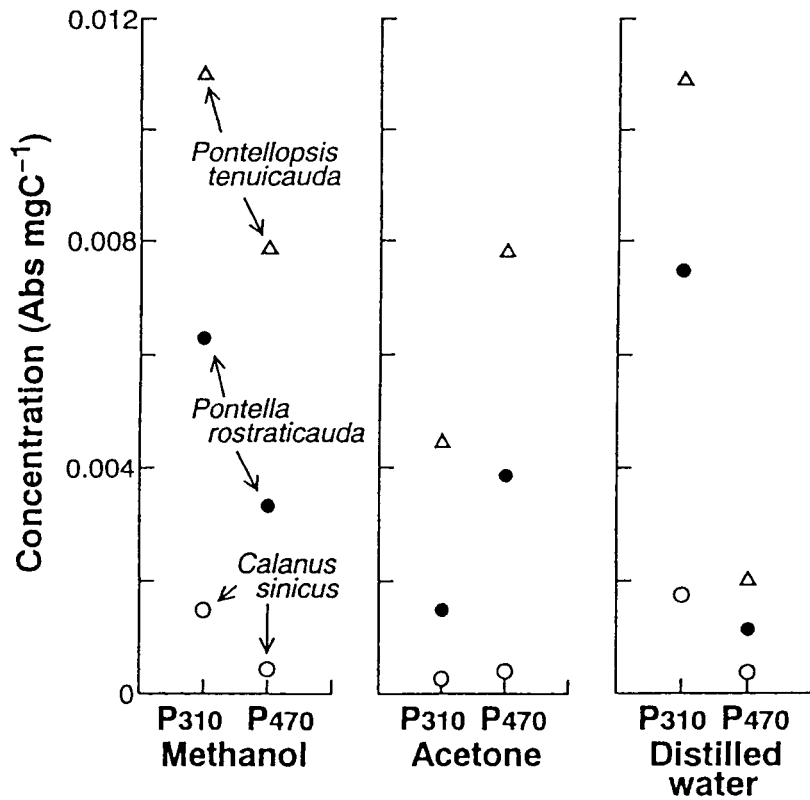


Fig. 14. *Calanus sinicus*, *Pontella rostraticauda*, *Pontellopsis tenuicauda* のメタノール、アセトン、蒸留水抽出液の波長 310 nm, 470 nm における単位炭素重量当たりの吸光度の比較。