

A-5 紫外線増加が生態系に及ぼす影響に関する研究

(1) 紫外線増加が森林生態系に及ぼす影響に関する研究

研究代表者 農林水産省 林野庁 森林総合研究所 岡野通明

農林水産省 林野庁 森林総合研究所

森林環境部 森林災害研究室 岡野通明・吉武 孝・中村幸一  
気象研究室 大谷義一

(委託先) 茨城大学農学部 兒玉 治・長谷川守文・鈴木宗典  
久池井豊・松田真菜

千葉大学園芸学部 今 久一・松岡延浩・青島史子  
岩見洋一

神戸女子大学家政学部 橋本 徹・松好紀子・栄谷直美  
米原良子

平成8～10年度予算額 44,574千円

(平成10年度予算額 14,483千円)

[要旨] 単木並びに小群落に対する短期・長期照射試験を主体とした研究から紫外線量増加による林木の被害や生長減少を同定し、紫外線影響の基礎的データを検討した。感受性樹種の実生稚苗ではUV-B照射により可視的に観察可能な形態形成の変化や生長阻害が発現し、自然界で測定される程度のUV-B強度でさえも著しい可視害から枯死に至る個体も認められた。一般に強いUV-B照射によっては生長阻害が引き起こされるが、UV-Bがまったく与えられない環境下でも生長阻害が発現し、適度なUV-B付与によって樹木の生長が促進されることがいくつもの樹種で認められた。このことはUV-Bが一概に有害な紫外線であると断定することは出来ず、与えられるUV-Bの強度との植物の感受性によって、有害であったり生長の昂進作用をもつことがあると示唆される。また樹木において初めて紫外線により細胞内のDNAにシクロブタン型ピリミジン二量体(CPD)やピリミジン(6-4)光産物(6-4PP)の形成を引き起こされていることがあきらかになった。

UV-B照射によるストレスを定量化するため、樹木の二次代謝系に着目し、アカエゾマツとブナに蓄積したストレス化合物の単離・同定を行った。UV-B照射後の試料を供試したフラボノイド系色素やファイトアレキシンの分析等から、UV-B感受性の評価し、また紫外線ストレスの定量化を試みた。供試した樹種においてkaempferol-3-glucosideがUV-B照射強度に伴って増加することから、これをストレス物質として同定した。草本性植物では同様の物質がUV-Bによるストレスによって生成される二次代謝産物であることが確認されている。供試した樹種すべてにおいてkaempferol-3-glucosideは認められ、この同定によって紫外線ストレスを数値化する試みが行われようとしている。高度別の紫外線の詳細な測定を行い、高山亜高山で強いUV-B環境を定量的に明らかにするとともに、紫外線強度予測のためのモデルを構築し、緯度別あるいは高度別の森林生態系への紫外線影響のハザードマップを作成を試みた。

[キーワード] オゾン層破壊, UV-B, 森林生態系, 樹木ストレス,

## 1. はじめに

極地方オゾンホール、北半球高中緯度におけるオゾン量減少等が顕在化している。オゾン層破壊によって起こされる紫外線量の増加は、植物等の生産、生長あるいは増殖に影響を及ぼすと予想されている。生態系に対する影響についてはさらに調査研究の推進が求められている。紫外線増加が地球生態系に及ぼす影響評価から、防御機構あるいは対策の視点に立った新たな展開への過渡期にある。

農作物、植物プランクトン、海藻類に及ぼす紫外線の影響評価とその作用機構の解明が行なわれており、植物への紫外線増加の影響が解明されつつある。植物生産に対する影響評価や防御機構・対策についてはグローバルな生態系攪乱や食料問題等に直接結びつくために緊急の課題であり、将来にわたる紫外線影響評価は重要であるとされている。

植物等に及ぼす紫外線の影響評価とその作用機構は解明されつつあるが、森林群落あるいは生態系等レベルの影響評価については研究例が少ない。樹木あるいは森林生態系の紫外線影響に関する知見は少なく、その蓄積が急務であると考えられる。膨大なバイオマスを占め環境変化に対する高い緩衝能を保持する各地の森林が衰退することへの懸念があり、影響評価や対策に関する研究が重要視されている。

本研究では、森林生態系が対象となっていることに特色がある。紫外線影響については単木単樹種に関して現在、知見が蓄積されつつあるが、森林は群落あるいはさらに大きな生態系としての影響評価が必要である。防御機構に関しては植物内性レベルが注目されてきたが、生態学的な防御機構の発現にも注目し、緯度高度による紫外線環境の測定および予測等を盛り込んだ。

UV-B が森林植生に及ぼす生態学的影響に関しては、単木並びに小群落に対する短期・長期照射試験を主体とした研究から紫外線量増加による林木の被害や生長減少を同定し、紫外線影響の基礎的データを検討した。

UV-B による樹木のストレスの定量化に関しては、紫外線照射試験後の試料を供試したフラボノイド系色素やファイトアレキシンの分析等から、UV-B 感受性の評価し、また紫外線ストレスの定量化を試みた。主要な樹種の感受性や耐性を二次代謝産物の分析により評価できる手法の開発や、群落としての影響評価への基礎データとして UV-B 感受性を定量化するための端緒とした。

UV-B による森林生態系への影響の分布に関しては、高度別の紫外線の詳細な測定を行い高山亜高山の紫外線環境を明らかにするとともに、紫外線強度予測のためのモデルを構築し、緯度別あるいは高度別の森林生態系への紫外線影響のハザードマップを作成を試みた。

## 2. UV-B が森林植生に及ぼす生態学的影響について

森林生態系へのB領域紫外線(以下 UV-B)量増加による長期的な影響の評価に関する検討を行った。特に、次世代の森林を担う稚樹・幼樹等の下層植生の反応に着目しながら、森林の更新・更生機構への影響を観点に置く。影響調査には紫外線照射実験を実施した。紫外線照射による林木への影響については知見が少ないが、本プロジェクト第2フェーズでは代表的な樹種での可視的あるいは定性的な影響発現が認められた。ここでは主にアカエゾマツとブナの幼苗と稚苗をそれぞれ長期・短期のUV-B照射試験に供試し、生態系の次世代を構成する幼木に達するまでの初期生育期の稼ぎ(成長量)にUV-Bがどの様に影響するかを検討した。また成長量に直接影響すると思われる光合成について測定を行ない、ブナの光合成量に及ぼすUV-B曝露の影響を調査した。

また UV-B は細胞内の DNA にシクロブタン型ピリミジン二量体 (CPD) やピリミジン (6-4) 光産物 (6-4PP) の形成を引き起こし種々の有害な効果を生物に与えることが分かっているが、地球環境の保全上もっとも重要な植物である林木については全く知見がない。数種の樹木の DNA について CPD と 6-4PP の生成について分析した。

(1) 紫外線照射による樹木の実生稚苗の生育量への影響

人工光型人工気象室内に設置した紫外線照射装置を用いて、実生苗への UV-B 照射試験を行った。人工光源は蛍光灯とレフランプを合せて使い、F40UVB ランプを使用して B 領域紫外線を付加させた。日長は明期/暗期を 13/11 時間、昼温/夜温は 25/20℃とした。UV-B は明期の 12 時間照射した。照射強度は UV-B 付加量で、対照区の 0.15Wm<sup>-2</sup> から最も強い処理区の 1.20Wm<sup>-2</sup> の間に設定した。供試植物の種子はパーミキュライトのポットに播種され、標準水耕液を用いた液耕法で栽培された。

Fig. 1 にアカエゾマツ稚苗、Fig. 2 にブナ稚苗の成長諸量を示した。UV-B 照射強度の増大に従い樹高や葉長が減少したが、乾物重は UV-B を付加させた区で対照区より大きかった。

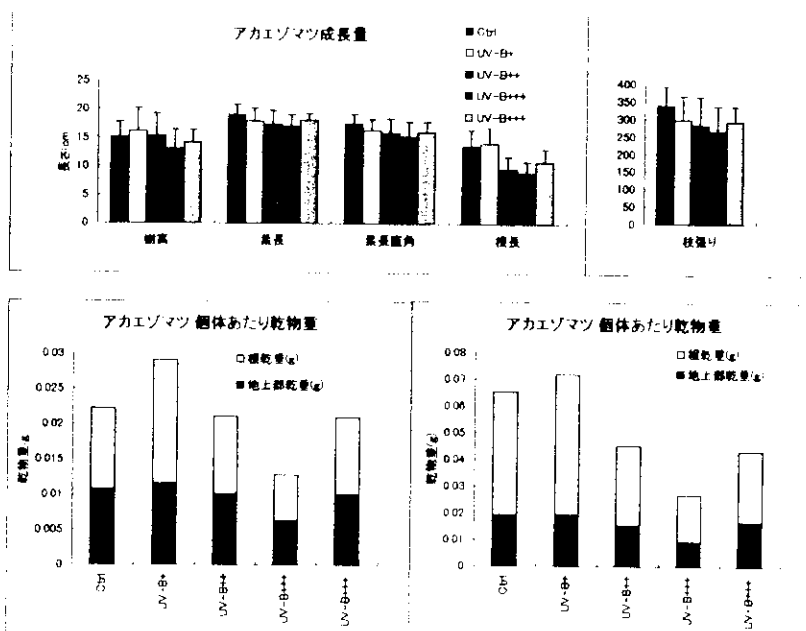


Fig. 1 UV-B 照射によるアカエゾマツ稚苗の成長諸量の変化の例

また自然光型人工気象室内に設置した紫外線照射装置を用いて、ブナとアカエゾマツ実生苗への UV-B 照射試験を行った。ブナでは強い UV-B 照射による成長阻害が認められたが (UV-B+++ : 1.5w/m<sup>2</sup>)、UV-B の照射を受けない対照区 (Ctrl: 0w/m<sup>2</sup>) でも成長量は減少し、適度の UV-B を付与した区 (UV-B+ : 0.3w/m<sup>2</sup>, UV-B++ : 0.9w/m<sup>2</sup>) で増加した (Fig. 3)。アカエゾマツでも同様の傾向が見られた (Fig. 4)。前者の人工光型人工気象室でも同様の結果が得られている。UV-B 照射により引き起こされる成長阻害はこれら感受性樹種であっても、過度の曝露を受けた場合にのみ発現すると思われる。

光合成速度は概ね UV-B 照射強度に従って減少するとみられたが、両者の関係に一定の傾向が表れないこともあった (Fig. 5)。

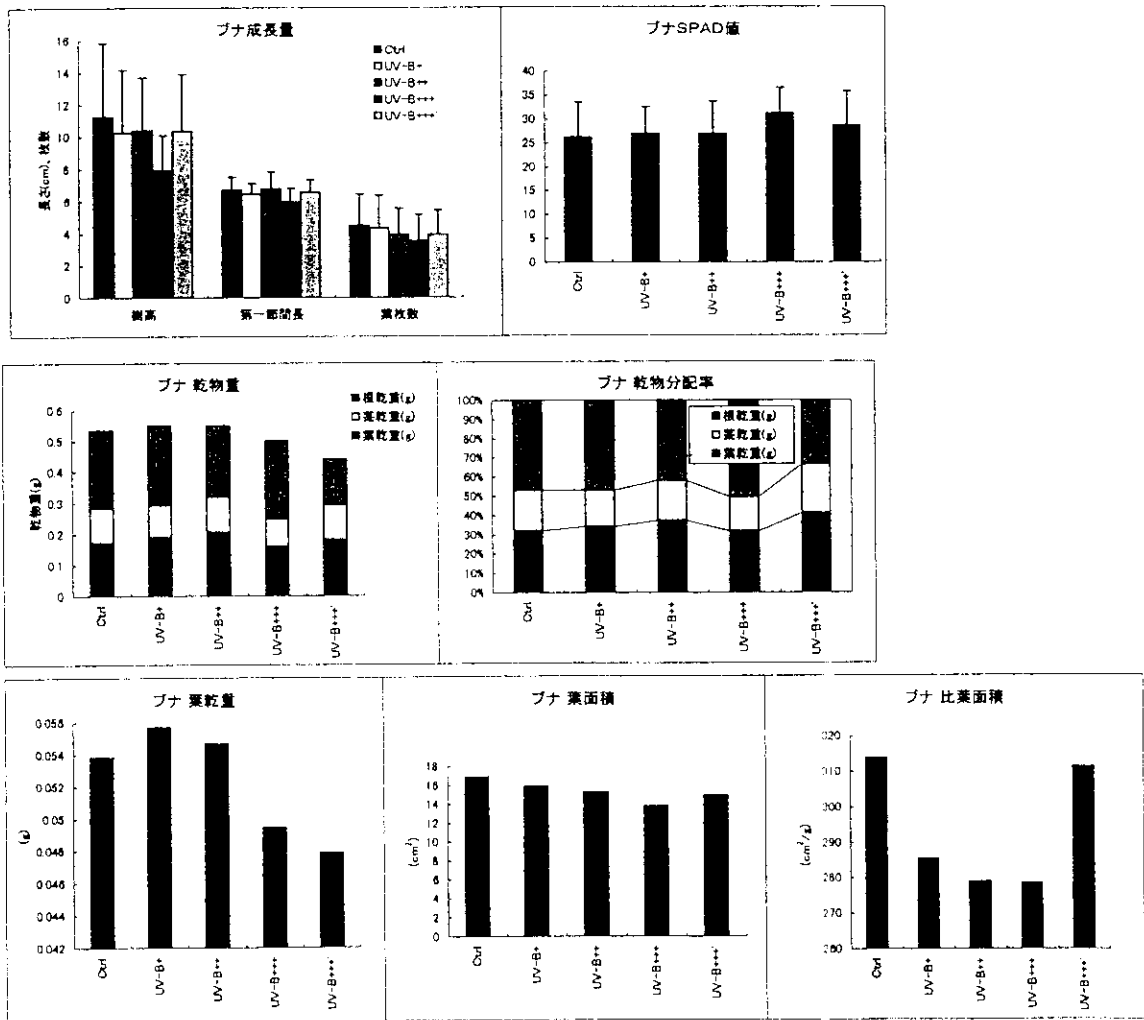


Fig. 2 UV-B 照射によるブナ稚苗の成長諸量の変化の例

## (2) 紫外線照射による樹木の幼苗の生育量への影響

屋外に設置した紫外線照射装置を用いて、樹木幼苗への UV-B 照射試験を行った。照射区により 15,000J/m<sup>2</sup>から 100,000J/m<sup>2</sup>の付加量を設定した。照射時間は日出 1 時間後から日没 1 時間前までとした。ポット植え土耕のトドマツ、アカエゾマツ、ブナの幼苗を供試し、1994 年晩夏から連続的に照射した。96 年春期には供試植物ポットの床替えを行った。

Fig. 6 に 94 年から 96 年までの 2 年間の相対成長率を示した。ブナ、アカエゾマツでは UV-B 照射により伸長成長が抑制されている。また枝張りでは、最も強い照射区を除いて、照射による促進が見られた。

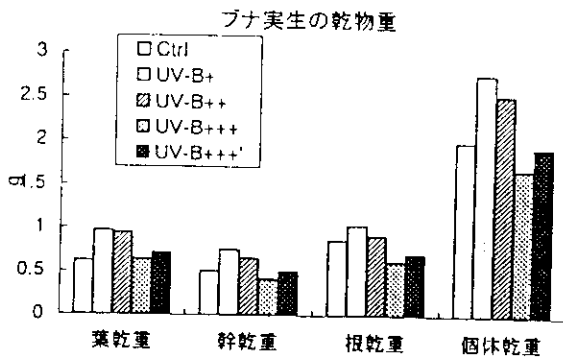


Fig. 3 自然光型人工気象室内の UV-B 照射によるブナ稚苗の成長量の変化の例

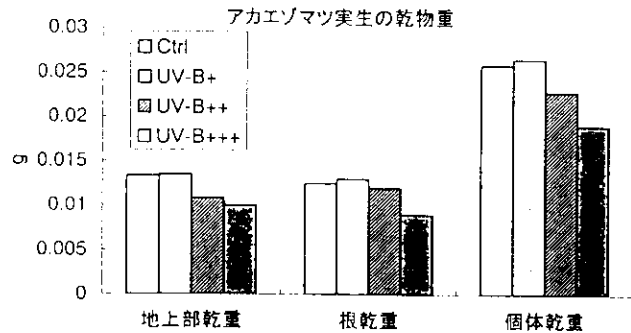


Fig. 4 自然光型人工気象室内の UV-B 照射によるアカエゾマツ稚苗の成長量の変化の例

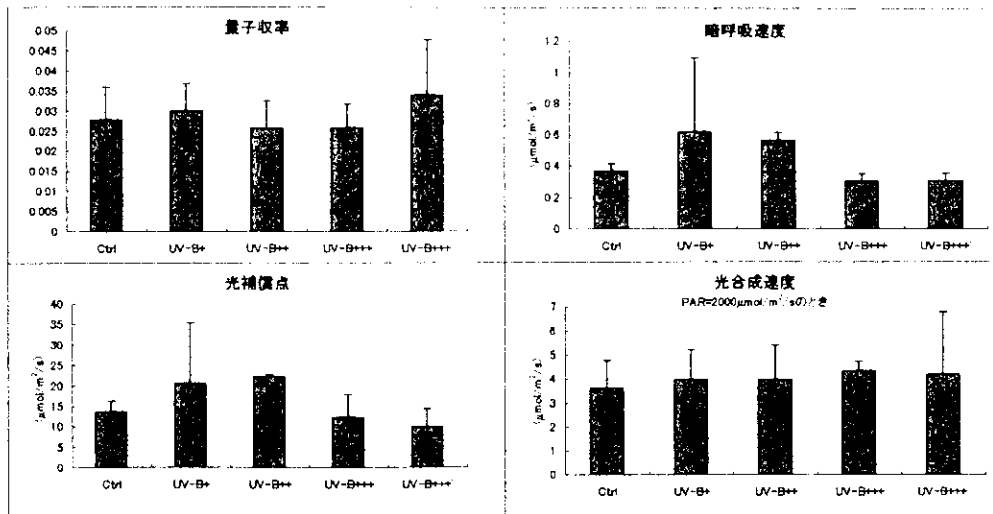


Fig. 5 ブナ稚苗の量子収率、光補償点、暗呼吸速度、光合成速度の測定例

96年度まではブナ、アカエゾマツでは UV-B 照射により伸長成長が抑制される傾向があるとみられたが、97年度ではその傾向は明確にならなくなった。これはブナでは年間成長量と UV-B 照射との関係が一定でなかったこと、アカエゾマツでは年間樹高成長が UV-B 照射強度の大きな区で増加したこと等に起因する。ブナ幼苗について、成長量に直接関与すると考えられる光合成の測定を行ったが、処理強度に伴う光合成量各パラメータの変化の傾向は一定でなく、各区のこの1年間の年間成長量と光合成量との関係も一定ではなかった。

Cetyltrimethylammonium bromide (CTAB) および 1.4 M 食塩等を含む pH 7.4 の Tris-HCl 緩衝液中で磨砕抽出し、抽出液に Isoamyl alcohol を含む Chloroform を加えて二液層抽出分画を行い、その上層から冷 IsoproH で DNA、RNA 混合物を沈殿させた。この混合物を RNase 処理して DNA を得た。収率は 0.2- 0.3 mg/ gFW であった。

損傷 DNA として CPD と 6-4PP を ELISA 法 (Mori, T. et al. 1991) <sup>2)</sup> によって測定した。試験 DNA および UV 照射 Freiburg 標準サケ DNA を、同じ ELISA プレートを用い、各 well 当たり 4 つの異なる投与量で試験を行い、異なる DNA 投与量から得られる吸光度を総合して、CPD の場合は 20 ng/well、6-4PP の場合には 200 ng/well の DNA 当たりの吸光度を求め、これに、1 absorbance unit を与えるのに必要な Freiburg 標準サケ DNA の量を掛けた値 (test DNA 中の損傷量と同じ量の損傷をもつ標準サケ DNA の量) を損傷量として表示した。FrDNA 1 ng に含まれる CPD または 6-4PP の量を 1 FrDNA 単位と定義すれば、表示した損傷量は FrDNA 単位で示されていることになる。また、データの相互比較を容易にするため、test DNA 1 ng/well 当たりの損傷量を損傷指標 (Damage index) として表示した。

CPD および 6-4PP のモノクロナル抗体は金沢大薬学部二階堂 修教授から、UV 照射標準サケ DNA は Freiburg 大生物学部 Wellmann 教授からそれぞれ提供された。

#### ① 分析結果と考察

各試験葉から 1 回抽出した DNA を数回にわたり ELISA によって CPD および 6-4PP を調べた結果をそれぞれ Table 1 および Table 2 に示す。樹種によって損傷 DNA の量は異なったが、UV-B 付加照射をしない対照区でも CPD および 6-4PP が検出された。付加照射によってこれらの損傷産物は増加した (UV-B+区)。クロマツでは、UV-B をもっと強くすると (UV-B++) CPD は更に増加した。しかし、ブナやアカエゾマツでは CPD も 6-4PP も、UV-B を付加しない対照区以下に検出量が低下した。クロマツの 6-4PP でも程度は少ないが同じ傾向が認められた。トウヒの 6-4PP では弱い UV-B でも対照区以下のレベルになった。

クロマツでは他の樹種に比べ、CPD も 6-4PP もともに少なかった。これは UV-B 抵抗性が強いことを示唆する。

すべての樹種において 6-4PP/CPD 比は、FrDNA における 6-4PP/CPD 比より小さかった。6-4PP の Dewar 型への変換が盛んなことによると思われる。

各樹種とも 1 例の分析結果であり、確認の実験が必要であるが、次のような結論が暫定的に引き出される。すなわち、UV-B 非付加区でも UV-B による DNA 損傷が蓄積されている。UV-B 付加照射によって DNA 損傷量は増加するが、さらに強い UV-B を照射すると逆に損傷の検出量が減少する。この損傷検出量低下の原因は不明である。

### 3. UV-B による樹木のストレスの定量化について

ここでは UV-B が森林樹木の二次代謝系にどのような影響を及ぼすか明らかにし、樹木の UV-B によるストレスの定量化を行うことを目的として、UV-B 照射により感受性樹種のアカエゾマツ及びブナに蓄積したストレス化合物の単離・同定を行った。

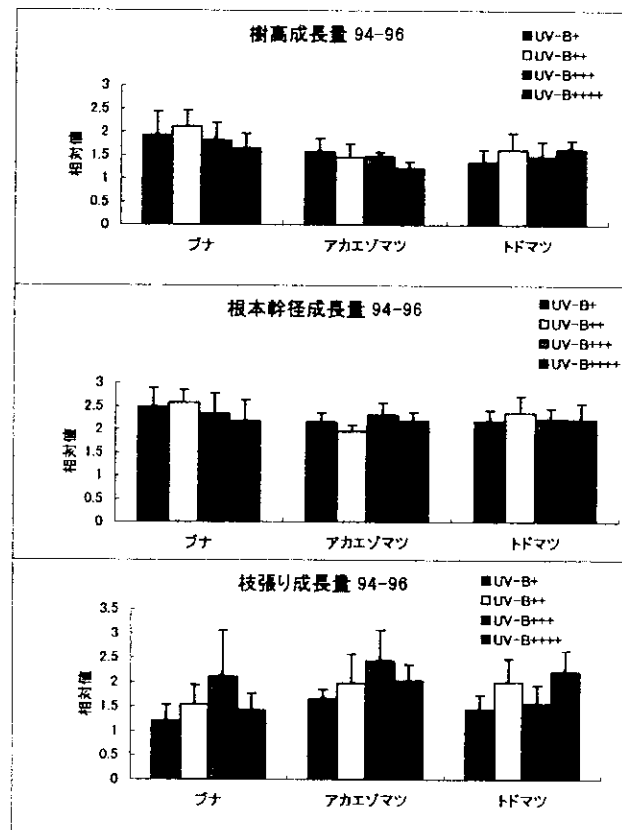


Fig. 6 プナ、アカエゾマツ、トドマツ幼苗の相対成長率(1994-1996)

単木並びに小群落に対する短期・長期照射試験を主体とした研究から紫外線量増加による林木の被害や生長減少を同定し、紫外線影響の基礎的データを検討した。以上のように感受性樹種の実生稚苗では UV-B 照射により可視的に観察可能な形態形成の変化や生長阻害が発現し、自然界で測定される程度の UV-B 強度でさえも著しい可視害から枯死に至る個体も認められた。

一般に強い UV-B 照射によっては生長阻害が引き起こされるが、UV-B がまったく与えられない環境下でも生長阻害が発現し、適度な UV-B 付与によって樹木の生長が促進されることがいくつもの樹種で認められた。このことは UV-B が一概に有害な紫外線であると断定することは出来ず、与えられる UV-B の強度との植物の感受性によって、有害であったり生長の促進作用をもつことがあると示唆される。

しかし樹種別のドーズレスポンスについては著しく異なるように見受けられ、樹木に普遍的な反応曲線などを得ることは困難であった。樹木では樹種別の反応を観察するには多様性に過ぎ、容易な他のストレス定量化手法の確率を待たなければならないと考えられる。

今まで知見のあった草本性に比較して、樹木の生長では UV-B に促進的あるいは阻害的に反応しやすい植物であることが認められた。

### (3) UV-B による樹木葉の遺伝子損傷の分析

森林総合研究所内の人工気象室内においてブナ、アカエゾマツ、エゾマツ、クロマツ、トウヒの稚苗に UV-B 照射を行い、遺伝子損傷の分析を行った。

DNA の抽出はほぼ Doyle and Doyle (1990)<sup>1)</sup>に従って行った。凍結した葉片を 2%

表1 人工光線下で生育している幼樹葉組織のCPD形成に及ぼすUVB付加照射の影響

アカエゾマツ				
Exp. No.	Cont	UVB+	UVB++	FrDNA
	(FrDNA unit)			(ng for 1 AU*)
981120M	0.25	0.34	0.10	2.0
981202M	0.15	0.36	0.071	1.2
981207Y	0.30	0.40	0.088	2.5
981208Y	0.23	0.25	0.049	1.9
Average	0.233	0.338	0.077	
損傷指標**(x100)	1.17	1.69	0.385	

エゾマツ				
Exp. No.	Cont	UVB+	UVB++	FrDNA
	(FrDNA unit)			(ng for 1 AU*)
981112M	0.42	0.42	0.49	3.8
981215Ma	0.50	0.66	0.66	5.0
b	0.60	0.70	0.70	5.0
981120Y	0.15	-----	0.23	0.9
981208Y	0.19	0.25	0.29	1.9
981209Y	0.38	0.48	0.51	1.9
Average	0.373	0.502	0.480	
損傷指標(x100)	1.87	2.5	2.40	

クロマツ				
Exp. No.	Cont	UVB+	UVB++	FrDNA
	(FrDNA unit)			(ng for 1 AU*)
981120M	0.14	0.18	0.50	2.0
981127M	0.06	0.06	0.66	12
981202M	-0.036	0.036	0.62	12
981117Y	0.04	0.12	0.09	5.0
981209Y	0.012	0.028	0.17	2.0
Average	0.0432	0.079	0.408	
損傷指標(x100)	0.216	0.395	2.04	

トウヒ				
Exp. No.	Cont	UVB+	UVB++	FrDNA
	(FrDNA unit)			(ng for 1 AU*)
981112M	0.36	0.42	-----	2.0
981127M	0.68	0.50	-----	2.0
981120Y	0.18	0.22	-----	1.2
981207Y	0.085	0.13	-----	1.7 (corrected)
Average	0.326	0.318	-----	
損傷指標(x100)	1.63	1.59	-----	

ブナ				
Exp. No.	Cont	UVB+++	FrDNA	
	(Absorbance at 25 ng DNA/well)			(ng for 1 AU*)
980930Y 初生葉	0.060	0.034		
第一葉	0.91	0.0		

中央の3コラムは20 ng 試験DNAに含まれるCPDの量をFrDNA unitで表したもの

\*1 absorbance unit に必要な FrDNA (フライブルク標準サケDNA) の ng 量

\*\*試験DNA 1 ng 中の CPD の量をFrDNA unitで表したもの



表2 人工光線下で生育している幼樹葉組織の6-4PP形成に及ぼすUVB 付加照射の影響

アカエゾマツ				
Exp. No.	Cont	UVB <sup>+</sup>	UVB <sup>++</sup>	FrDNA*
	(FrDNA unit)			(ng for 1 AU)
981127M	0.81	1.1	0	31
981202M	1.5	1.9	0.51	28.5
981208Y	0.94	1.26	0.065	32.5
Average	1.08	1.42	0.192	
損傷指標**(x100)	0.54	0.71	0.096	

エゾマツ				
981202M	0.057	0.26	0.40	28.5
981215M-2	0.80	1.0	0.75	50
981208Y	0.88	0.88	1.12	35
981209Y	0.44	0.52	0.93	37
Average	0.544	0.665	0.80	
損傷指標 (x100)	0.196	0.240	0.289	

クロマツ				
981209Y	-0.12	0.23	0.13	39
損傷指標 (x100)	-0.047	0.090	0.051	

トウヒ				
981127M	2.3	1.4	—	31
損傷指標 (x100)	0.71	0.43		

中央の3コラムは200 ng 試験DNAに含まれる6-4PPの量 (FrDNA unit)

\* 1 absorbance unit に必要な FrDNA (フライブルク標準サケDNA) のng 量

\*\*試験 DNA 1 ng 中の6-4PPの量 (FrDNA unit)

UV-B を照射することで kaempferol-3-glucoside が蓄積することを見いだされ、UV-B による森林樹木ならびにその生態系に対する影響評価方法の確立のための基礎的資料を得ることを目的に、kaempferol-3-glucoside を森林樹木に対する UV-B ストレス定量化の指標物質として、さらに詳細な実験を行った。アカエゾマツおよびブナ以外の樹木についても UV-B ストレスの影響を調べ、人工光型人工気象室および自然光型人工気象室において、UV-B 照射量と kaempferol-3-glucoside の蓄積量の関係を詳細に比較研究した。

(1) 樹木のストレス化合物の単離・同定

植物試料はアカエゾマツ (*Picea glehnii*) 及びブナ (*Fagus crenata* Blume) を用いた。種子をバーミキュライトに播種し、発芽後は標準水耕液をもちいて液耕した。発芽直後から紫外線の照射を森林総合研究所内の人工光型人工気象室で行った。人工光源として蛍光灯とレフランプを使用した。UV-B 照射区は、UV-B ランプ (Q-panel Lab Products 社製 UV-B313) にセルロースアセテートフィルムを被膜し、対照区にはランプにルミラーフィルムを被膜した。フィルムは劣化による出力低下を防ぐために毎週交換した。人工気象室内の温度は、6時から18時までを23℃、18時から翌朝6時までを18℃に設定し、湿度は75±7%に設定した。UV-B 照射強度は、UV-B 照射区が1.20 W/m<sup>2</sup>に設定した。対照区は0.15 W/m<sup>2</sup>に設定した。UV-A 照射強度は、UV-B 照射区・対照区ともに9.2 W/m<sup>2</sup>に設定した。

2ヶ月間照射を行ったところ、アカエゾマツ・ブナともに脱色がみられ、ブナには形態の異常も認められた。

[UV-B 照射樹木幼苗に蓄積するストレス化合物の分析]

UV-B を照射した樹木幼苗 (100mg) に70%のメタノール (1500 μl) と海砂を加え、乳鉢を用いて磨砕し抽出液を得た。次に抽出液を10,000×g、30分間遠心し上清を得た。上清をHPLCを用いて分析した。カラムはイナトシル ODS-3V (4.6×250mm) を使用し、アセトニトリル:0.01%酢酸水溶液=2:8から10:0までGradientさせた。流速は1ml/minに設定し320nmの吸光度を測定した。

アカエゾマツ、ブナともに対照区に比べてUV-B照射区に特異的に増加するピークが認められ、これをストレス化合物とした (Fig. 7)。

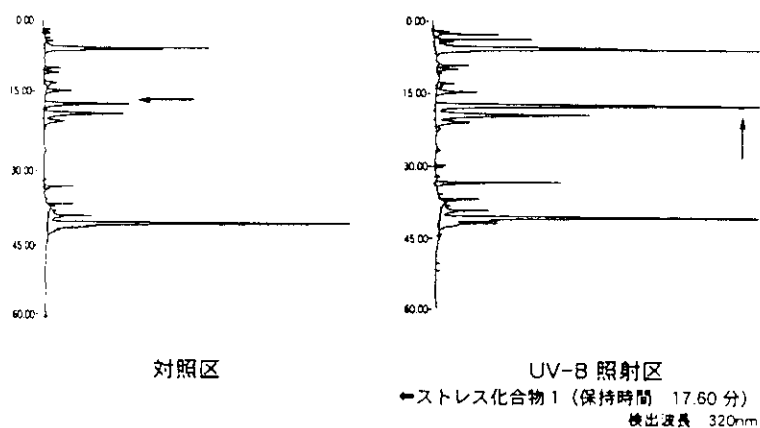


Fig. 7 UV-B を照射したアカエゾマツ稚苗 HPLC の結果

①ストレス化合物の単離法

UV-B 照射アカエゾマツ幼苗の地上部 (11.8g) を乳鉢と海砂を用いて70%メタノール130 ml 中で磨砕し抽出を行った。メタノール抽出液を酢酸エチルに転溶後、酸性画分と塩基性画分に分画した。HPLC 分析を行ったところ酸性画分より、ストレス化合物が確認された。薄層シリカゲルクロマトグラフィー、分別沈殿及び液体クロマトグラフィーを用いてストレス化合物 (5.4mg) を単離

した。同様に UV-B 照射ブナ葉 (5.0g) を乳鉢と海砂を用いて 70%メタノール 130 ml 中で磨砕し抽出を行った。メタノール抽出液を酢酸エチルに転溶後、酸性画分と塩基性画分に分画した。HPLC 分析を行ったところ酸性画分より、ストレス化合物が確認された。薄層シリカゲルクロマトグラフィ及び液体クロマトグラフィを用いてストレス化合物 (1 mg) を単離した。

## ②ストレス化合物の各種スペクトル解析

アカエゾマツから抽出精製したストレス化合物 I の  $^1\text{H-NMR}$ 、 $^{13}\text{C-NMR}$ 、LC-FAB/MS、2D-NMR (COSY, C-H COSY, HMBC) の測定を行った。これらのスペクトル解析の結果を元に文献から、ストレス化合物は kaempferol-3-glucoside であることが推定された (Fig. 8)

同様に、ブナから抽出精製したストレス化合物も kaempferol-3-glucoside であることが推定された。以上の結果より、アカエゾマツとブナのストレス化合物は kaempferol-3-glucoside であることが推定された。

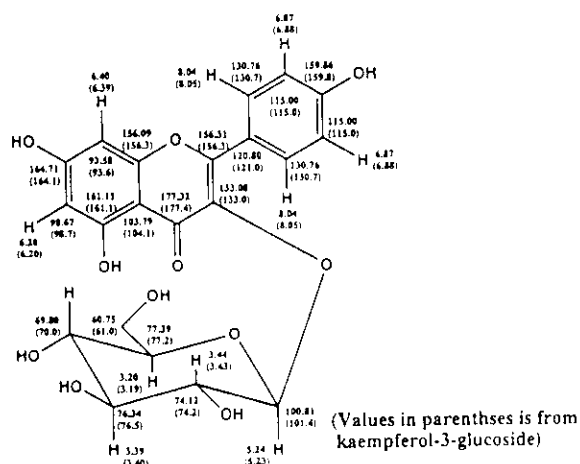


Fig. 8 ストレス化合物の推定構造

## (2) UV-B 照射樹木稚苗に含まれるストレス物質 kaempferol-3-glucoside の定量

アカマツ (*Pinus densiflora* Sieb. et Zucc)、エゾマツ (*Picea jezoensis* Carr)、カラマツ (*Larix leptolepis* Murray)、クロマツ (*Pinus thunbergii* Parl)、シラベ (*Abies veitchii* Lindl)、トウヒ (*Picea jezoensis* Carr. var. *hondoensis* Rehd)を用いた。種子をパーミキュライトに播種し、樹木類は標準水耕液を用いて液耕した。

播種直後より人工光型人工気象室と自然光型人工気象室で UV-B の照射を行った。前者の人工気象内の昼/夜温度は、23°C/18°Cに設定した。湿度は 75±7%に設定した。UV-B 照射強度は対照区では 0.13W/m<sup>2</sup>、UV-B+区では 0.42W/m<sup>2</sup>、UV-B++区では 1.04W/m<sup>2</sup> に設定した。

自然光型人工気象室では昼/夜温度は、23°C/18°Cに設定した。湿度は 75±7%に設定した。UV-B 照射強度は対照区では 0W/m<sup>2</sup>、UV-B+区では 0.2W/m<sup>2</sup>、UV-B++区では 0.7W/m<sup>2</sup>、UV-B+++区では 1.2W/m<sup>2</sup>

に設定した。

①Kaempferol-3-glucoside の定量法

各樹木幼苗の地上部 (1g) を 30ml のアセトンで一晩放置した。アセトンを濃縮、乾固させた後、粗抽出物を 10ml の 70%メタノールで溶解して Sep-pak<sup>®</sup> Light C18 Cartridges (Waters 社製) でず通しさせた後、液体クロマトグラフィーで kaempferol-3-glucoside を定量した。液体クロマトグラフィーは逆相 HPLC カラム (GL Science 社製 ODS-3V (4.6×250mm)) を使用し、溶出溶媒はアセトニトリル : 0.01%酢酸水溶液 = 2 : 8 (V/V) で溶出した。流速は 1ml/min に設定し、350nm の吸光度で測定した。

対照区および UV-B 照射区の樹木幼苗の地上部から粗抽出液を得た。液体クロマトグラフィーにおいて、350nm の波長で検出した kaempferol-3-glucoside の定量結果を Table 3, 4 に示した。人工光型人工気象室および自然光型人工気象室どちらにおいても実験に供した全ての樹木幼苗の kaempferol-3-glucoside の蓄積が、UV-B 照射を行うことで対照区に比べて増加した。さらに、同じ UV-B 照射区でも UV-B 照射強度が強いほど増加した。このことから、kaempferol-3-glucoside の蓄積量は UV-B 照射によって増す傾向が認められた。

Table 3 人工光型人工気象室における樹木幼苗の kaempferol-3-glucoside の蓄積量 (μg/mg (新鮮重))

実験区	アカマツ	エゾマツ	カラマツ	クロマツ	シラベ	トウヒ
対照区	0.66	0.27	1.81	0.28	0.06	0.9
UV-B+区	0.90	0.65	2.61	0.45	0.12	1.03
UV-B++区	0.93	0.78	3.76	0.64	0.16	1.90

Table 4 自然光型人工気象室における樹木幼苗の kaempferol-3-glucoside の蓄積量 (μg/mg (新鮮重))

実験区	2ヶ月		6ヶ月	
	アカマツ	カラマツ	アカマツ	カラマツ
対照区	0.31	1.48	0.29	0.32
UV-B+区	0.57	2.92	0.43	0.59
UV-B++区	0.91	3.04	0.60	1.16
UV-B+++区	0.83	2.95	0.75	1.08

ここで供試した樹種すべてにおいて、UV-B 照射強度に伴って kaempferol-3-glucoside の蓄積が認められた。草本性植物では種によって UV-B 照射にともなう二次代謝産物は異なることが知られているが、樹木では kaempferol-3-glucoside が共通に認められる UV-B のストレス物質である可能性が示唆された。今後さらに分析を行い、樹木に普遍的な UV-B 照射による二次代謝産物であることが示されれば、kaempferol-3-glucoside を指標とする UV-B 曝露量の数値化が可能となるであろう。

#### 4. UV-Bによる森林生態系への影響の分布について

ここでは高度別の紫外線の詳細な測定を行い高山亜高山の紫外線環境を明らかにするとともに、紫外線強度予測のためのモデルを構築し、緯度別あるいは高度別の森林生態系への紫外線影響のハザードマップを作成を試みた。

##### (1) 高山亜高山の紫外線環境

オゾン層破壊による紫外線増加が動植物に及ぼす影響が懸念されている。日本では、森林は主に高山、亜高山帯に分布しているが、実際に高山、亜高山帯でUV-B測定をし、標高の小さい場所と比較した例は少ない。本研究では、陸上生態系の主要な構成をなしている森林生態系に、UV-Bが与える影響を調べるための一環として標高の異なる2点でUV-B測定を行い、それらの値の比較を行った。

##### ①. 研究方法

岐阜県丹生川村の乗鞍岳の支峰摩利支天岳山頂にある文部省国立天文台乗鞍コロナ観測所（以下乗鞍岳：標高 2876 m）を高地での測定地とし、茨城県稲敷郡農林水産省森林総合研究所（以下森林総研：標高 24 m）を低地での測定地として設定した。乗鞍岳での測定は、1997年8月1日～1997年10月20日と、1998年8月21日～1998年10月14日の期間に連続して行った。森林総研では、1997年8月から連続して放射測定を行っている。乗鞍岳と森林総研における放射量の比較をするため、森林総研でのデータは、乗鞍岳での測定日と同じ日、あるいは同時期のデータを用いた。

全天UV-Bの測定にはB領域紫外線計（280～315 nmの放射量の波長積算値を出力）を、全天日射量の測定には全天日射計を使用し、データロガーに1分あるいは5分毎の瞬間値を収録した。森林総研と乗鞍岳ではそれぞれ同型式の放射計を用いた。

また、冬期～春期における山岳地での観測として1997年2月24、25日、1998年3月8日にそれぞれ八ヶ岳（標高約2200 m）、高峰高原（標高約2000 m）で行った。使用した測器は上記のものと同様の測器である。また、八ヶ岳ではスペクトル（LI-1800；LI-COR）を測定した。

##### ② 高山亜高山の紫外線環境の観測結果

Fig. 9に、晴天時の太陽天頂角（SZA）と全天UV-Bの瞬間値（UV-B）／全天日射の瞬間値（S）の相関を示した。SZAが増加するのに伴い、太陽放射が通過する大気の距離が増加し、短波長であるUV-Bが散乱・吸収されやすくなるため、UV-B/Sが減少している。森林総研よりも乗鞍岳で大きい値を示していることも、大気の厚さに関係していると考えられる。

2月～3月でも同様に山岳地で森林総研よりも大きい値を示した（Fig. 10）。使用した森林総研でのデータは1998年3月1日～3月10日である。Fig. 11に曇天時のSZAとUV-B/Sの関係を示す。雲によるUV-B、Sの散乱・吸収の影響が大きいため、森林総研と乗鞍岳の間で差は見られなかった。しかし、曇天時でもSZAの増加に伴いUV-B/Sは減少傾向にあった。また、晴天時のUV-B/Sの値と比較して曇天時のUV-B/Sの値は1.2～1.6倍であった。

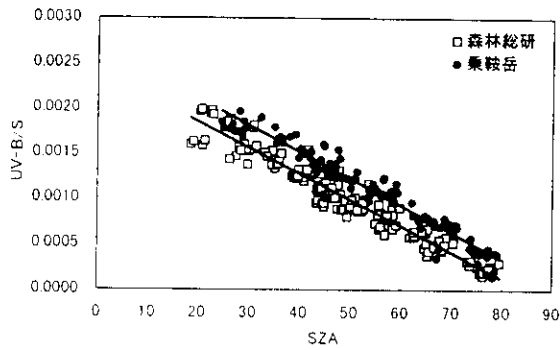


Fig. 9 乗鞍岳と森林総研における晴天時の太陽天頂角(SZA)と全天日射量に対する全天紫外線量の相関(8-10月)

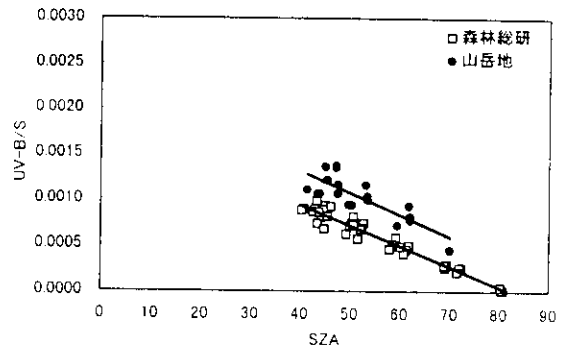


Fig. 10 山岳地(乗鞍岳、八ヶ岳、高峰高原)と森林総研における晴天時の太陽天頂角(SZA)と全天日射量に対する全天紫外線量の相関(2-3月)

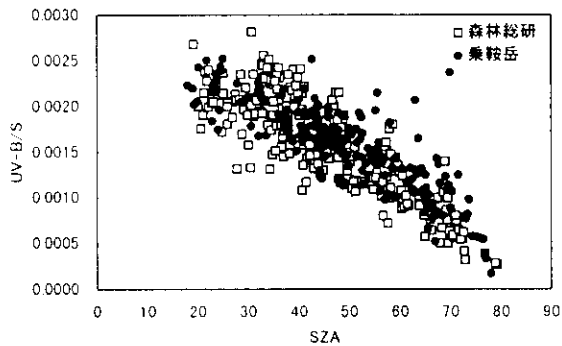


Fig. 11 乗鞍岳と森林総研における曇天時の太陽天頂角(SZA)と全天日射量に対する全天紫外線量の相関(8-10月)

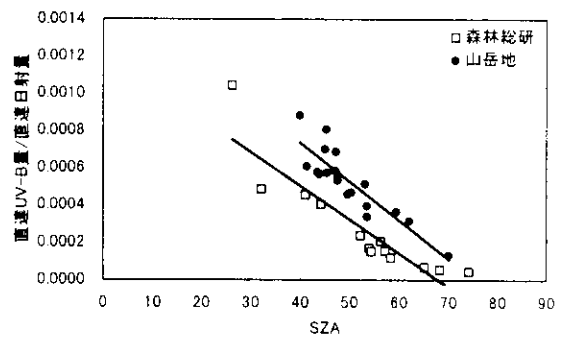


Fig. 12 山岳地(乗鞍岳、八ヶ岳、高峰高原)と森林総研における曇天時の太陽天頂角(SZA)と全天日射量に対する全天紫外線量の相関(2-3月)

Fig. 12 に晴天時の直達 UV-B 量/直達日射量、Fig. 13 に晴天時の散乱 UV-B 量/散乱日射量を示す。使用したデータは、森林総研が 1997 年 6 月~11 月、山岳地のデータは、乗鞍岳の 9 月、八ヶ岳、高峰高原である。X 軸は SZA である。どちらの図でも森林総研よりも山岳地で大きい値を示しており、山岳地では森林総研と比較して直達、散乱とも日射量よりも UV-B 量の増加が大きいことが示されている。また、直達 UV-B 量/直達日射量の値は散乱 UV-B 量/散乱日射量の値の 1/10 程度になっており、直達日射と散乱日射に含まれる UV-B の割合が異なっていることが示されている。これが晴天日と比較して曇天日の UV-B 量が日射量に対して相対的に大きい原因と考えられる。

Fig. 14 に 1997 年 2 月 21 日(森林総研)、1997 年 2 月 24 日(八ヶ岳)に測定したスペクトルの相対的な強度を示す。Y 軸は八ヶ岳と森林総研の比を示しており、値が大きいほど八ヶ岳での

強度が相対的に大きいことを示している。300~850 nm の全波長で八ヶ岳で大きい強度を示し、特に UV-B 域では波長が短くなるに従い、八ヶ岳での強度が相対的に大きくなった。

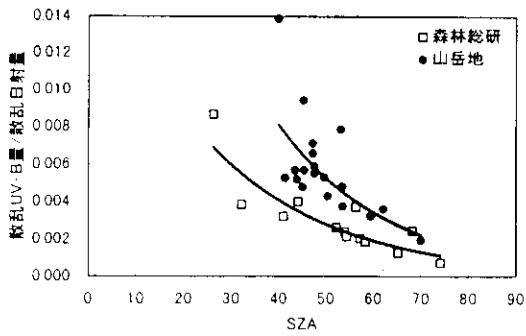


Fig. 13 山岳地(乗鞍岳、八ヶ岳、高峰高原)と森林総研における晴天時の太陽天頂角(SZA)と散乱日射量に対する散乱紫外線量の相関

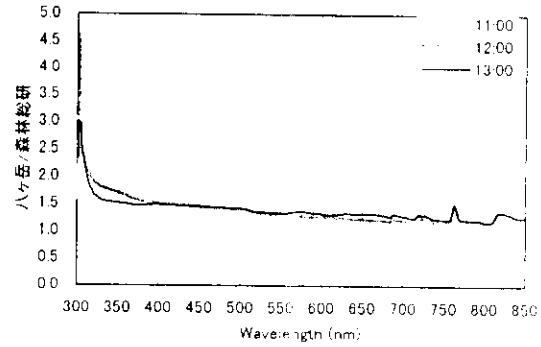


Fig. 14 八ヶ岳と森林総研におけるスペクトルの相対的な強度

### ③ 考察

#### [太陽天頂角と放射量]

晴天時に同じ太陽天頂角 (SZA) が森林総研と乗鞍岳に与えられた場合、つまり、森林総研と乗鞍岳に同程度の大気外日射量を与えられたとき、全天日射量 (S)、全天 B 領域紫外放射量 (UV-B) ともに乗鞍岳で大きい値を得た (Fig. 15, 16)。

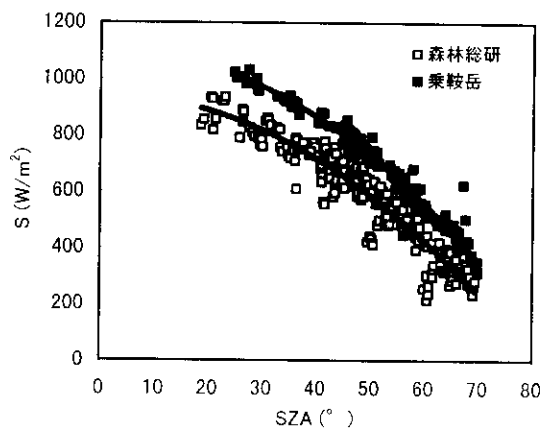


Fig. 15 全天日射量(S)と太陽天頂角(SZA)の関係 (晴天時)

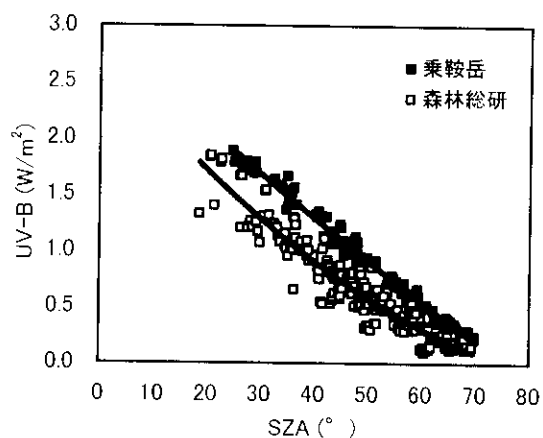


Fig. 16 UV-B と SZA の関係とその回帰曲線 (晴天時)

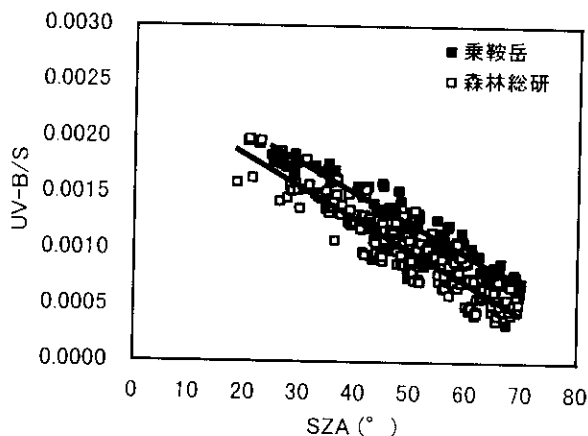


Fig. 17 UV-B/S と SZA の関係とその回帰直線  
(晴天時)

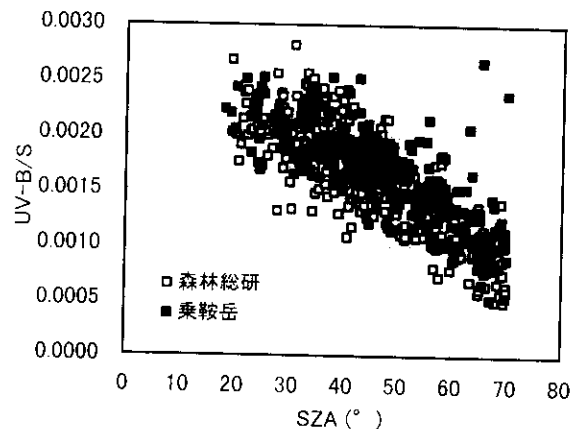


Fig. 18 UV-B/S と SZA の関係(曇天時)

Fig. 17 に晴天時の  $S$  に対する UV-B の割合 ( $UV-B/S$ ) を SZA ごとに示す。SZA が同じとき、乗鞍岳の方が森林総研よりも大きい値を示しており、 $S$  に対する UV-B の割合は乗鞍岳の方が大きいことが示されている。森林総研と乗鞍岳で同じ SZA を得た場合、乗鞍岳で UV-B が大きい値を示すのは、単純に  $S$  の絶対量が森林総研よりも大きいためだけではなく、 $S$  に対する相対量も大きいためであると考えられる。

Fig. 18 に曇天時の  $UV-B/S$  と SZA の関係を示す。曇天時には、SZA や標高による影響のほか、雲による UV-B、 $S$  の散乱・吸収の影響が大きいため、森林総研と乗鞍岳の間で  $UV-B/S$  について差は見られなかった。しかし、晴天時と同様に、曇天時でも SZA の増加に伴い  $UV-B/S$  は減少傾向にあり、SZA が  $UV-B/S$  に与える影響は大きかった。また、曇天時と晴天時で SZA が同じとき、曇天時の  $UV-B/S$  は晴天時における  $UV-B/S$  の値の 1.2~1.6 倍を示し、晴天時における  $S$  よりも曇天時における  $S$  の方が UV-B を相対的に多く含んでいた。

[放射量の日積算値の月平均値]

・晴天日の日積算値

森林総研と乗鞍岳における大気外の全天日射量の日積算値 ( $S_0$ ) を計算によってそれぞれ求め、両地点において測定された  $S$  日積算値/ $S_0 \times 100$  を計算した。その値が、森林総研については 47.5 %以上、乗鞍岳については 57.0 %以上を示した日を晴天日とした。

Fig. 19 に 8 月から 10 月のそれぞれの月について晴天日のみの  $S$  日積算値の月平均値、UV-B 日積算値の月平均値、UV-B 日積算値/ $S$  日積算値の月平均値の森林総研に対する乗鞍岳の比を示す。どの項目についても値は 1 以上を示し、森林総研よりも乗鞍岳で相対的に大きい値を示した。

・測定全期間中の日積算値

8 月から 10 月のそれぞれの月について  $S$  日積算値の月平均値と UV-B 日積算値の月平均値、UV-B 日積算値/ $S$  日積算値の月平均値の森林総研に対する乗鞍岳の割合を Fig. 20 に示す。 $S$  日積算



値の月平均値は森林総研と乗鞍岳で同程度（1 前後）であるのに対し、UV-B 日積算値の月平均値と UV-B 日積算値 / S 日積算値の月平均値は乗鞍岳の方が大きい（1 以上）ことが示されている。8 月、9 月、10 月とも、UV-B 日積算値 / S 日積算値の月平均値については 5 % あるいは 1 % の危険率で森林総研よりも乗鞍岳の方が有意に大きく、S 日積算値に対する UV-B 日積算値の割合の月平均値は 8 月から 10 月の間については森林総研よりも乗鞍岳で大きい値を示すことが明らかになった。つまり、乗鞍岳では、曇天日や雨天日など晴天日以外の日も含む月平均値で見た場合、S 日積算値と UV-B 日積算値には有意な差がなくても、S 日積算値に対する UV-B 日積算値の割合には差があった。

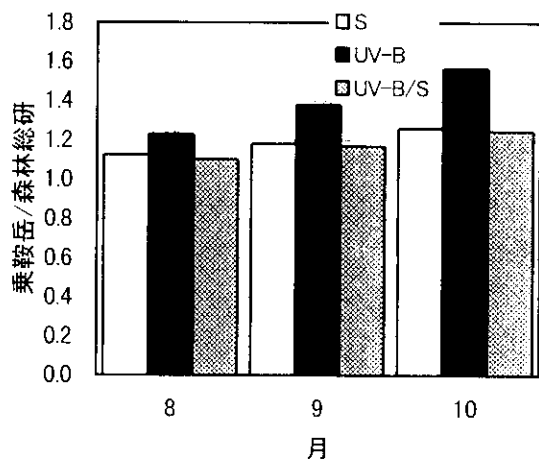


Fig. 19 1997, 1998 年の晴天日についての S 日射積算値、UV-B 日積算値、UV-B 日積算値 / S 日射積算値の月平均値の森林総研に対する乗鞍岳の割合

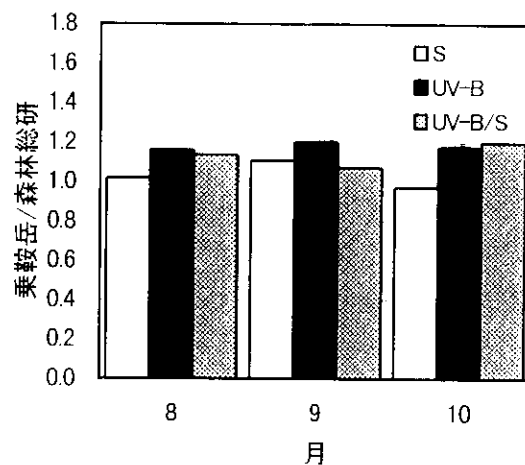


Fig. 20 1997, 1998 年の全測定日についての S 日射積算値、UV-B 日積算値、UV-B 日積算値 / S 日射積算値の月平均値の森林総研に対する乗鞍岳の割合

晴天時では、山岳地では太陽放射の通過する距離が短いため、全天日射量、全天 UV-B 量とも森林総研での値よりも大きかった。特に UV-B は大気に散乱・吸収される量が少ないため、UV-B/S の値が森林総研での値よりも大きかった。曇天時は雲による太陽放射の散乱・吸収の影響が大きいため、UV-B/S の値は森林総研と乗鞍岳の間で差は見られなかった。しかし、その値は晴天のときの値よりも大きかった。また、散乱日射と直達日射では、それぞれに含まれる UV-B 量が異なり、散乱日射に含まれる UV-B 量が相対的に多いため、曇天日に UV-B/S が増加したと考えられる。

八ヶ岳と森林総研では、波長の長い 850 nm においても八ヶ岳の方が森林総研での値よりも大きい値を示したが、波長の短い UV-B 域では波長が短くなるのに伴い増加傾向が見られた。

標高が大きくなると UV-B が大きくなる、という一般論を定量的に確認することができた。瞬間値で見た場合、標高の小さいところと比較して標高の大きいところでは太陽天頂角が同じ場合、S に対する UV-B の割合は晴天時には大きいことが示され、その値は、曇天時と比較して小さい値を示した。日積算値においても晴天日のみの場合、S 日積算値の月平均値、UV-B 日積算値の月平均

値、UV-B 日積算値/S 日積算値の月平均値はいずれも乗鞍岳で有意に大きかった。曇天日や雨天日など、すべての日を含む場合は、S 日積算値の月平均値、UV-B 日積算値の月平均値には 2 地点で差は見られなかったが、UV-B 日積算値/S 日積算値の月平均値は、晴天日のみの月平均値のみではなく、曇天日や雨天日など、すべての日を含む月平均値においても乗鞍岳で有意に大きかった。

## (2) 紫外線強度予測モデルの構築と、森林生態系への紫外線影響のハザードマップ試作

ここでの研究目的は、詳細な B 領域紫放射 (UV-B) 観測を行い、UV-B の緯度別高度別予測のためのモデルを構築し、森林生態系への UV-B 影響のハザードマップを作成することである。

そのためまず最初は、緯度や高度等が異なる各地において直達・散乱 UV-B の多くの観測データを蓄積することである。次に、それらのデータに基づく UV-B 予測モデルを作成し、そのモデルに既存のオゾンやエアロゾルデータを加味した全国 UV-B メッシュ図を作成する事である。最終段階として UV-B メッシュ図と森林分布図を重ね合わせ、森林への UV-B 影響が数値化された段階でハザードマップが完成することになる。

第 1 段階として 1996 年より主に乗鞍岳で UV-B を観測しデータの蓄積を始めた。1997 年からそれらのデータを参考に UV-B 予測モデルの構築を始め、現時点までに快晴日の全国 UV-B メッシュ図を作成した。以下に観測と結果の概要を述べる。詳細は発表資料に記載されている。

### ① モデル構築のための紫外線観測

初年度 (1996) は乗鞍岳大黒岳山頂 (標高 2772m) において UV-B 観測 (MS-210D, MS 330-B; 英弘精機) を行い、不定期に合計 11 日間のデータを得た。ここでは直達放射を遮ることにより散乱 UV-B 放射の観測を行うと共にスペクトロラジオメータ (LI-1800; LICOR) によりスペクトル観測も行った。1997 年と 1998 年は文部省国立天文台乗鞍岳コロナ観測所 (標高 2876m) に紫外線計 (MS-210D) を夏期の期間 (8 月から 10 月) 設置し連続観測を行った。また、森林総合研究所では 1996 年より継続的に UV-B 観測 (MS-210D) を行っている。不定期ではあるが 1997 年秋から松戸で快晴日を中心に簡易紫外線計 (MS-3301) で直達・散乱 UV-B を観測した。その他条件の異なる地点 (赤城山、浅間山、伊豆下田等) でも観測した。いずれの場合も日射量をあわせて観測している。

1996 年 10 月 22 日に乗鞍岳大黒岳山頂と山麓で観測された直達・散乱 UV-B の日変化を Fig. 21 に示した。山頂の方が UV-B が多いこと、直達放射を遮ったところで矩形状に値が小さくなっていることが分かる。観測方法に示した各地点においてこのようなデータが蓄積されている。

Fig. 22 に 1997 年と 1998 年の晴天時に乗鞍岳と森林総研で観測された全天 UV-B の瞬間値を太陽天頂角 (SZA) に対して示した。観測期間の 8 月から 10 月で乗鞍岳の最大値が約  $2 \text{ Wm}^{-2}$  に近い値が得られることと、森林総研より平均的に約  $0.5 \text{ Wm}^{-2}$  程度多くなっていることが分かる。

Fig. 23 に 8 月から 10 月のそれぞれの月について、晴天日のみの日射量日積算値の月平均値、UV-B 日積算値の月平均値、UV-B 日積算値/日射量日積算値の月平均値の、森林総研に対する乗鞍岳の比を示した。Fig. 23 において、どの項目についても値は 1 以上を示し、森林総研よりも乗鞍岳で相対的に大きい値を示すことが分かる。特に、UV-B の比は大きく、季節が進むに従って、乗鞍岳で大きくなっている。曇天日についてもこのようなデータが得られているが、2 カ年の結果であ

り、標高の高いところにおける気候学的特徴をつかむにはさらに観測期間を増やすことが望ましい。

② 快晴日のUV-Bの予測

直達UV-Bはランバート・ベールの式によって求められる。ここで用いたモデル計算にはレーリー散乱、オゾンによる吸収、エアロゾルによる消散を考慮した。オゾン量は館野の季節変化を正弦曲線で近似して用いた。エアロゾルの影響は直達UV-Bの観測から得られる混濁係数(Fig. 24の×印)と日射に対する既知の傾向を参考に図5の正弦曲線近似で与えた。散乱UV-B(D)は次式を仮定し、各係数は散乱UV-Bの観測値とあうように与えた。

$$D(W_m - 2) = a \cdot B_0 \cdot \exp(-g \cdot n / \cos(\theta)^y)$$

$$a = 0.105 \cdot \beta + 0.117 - 0.0107z, \quad g = 2.52, \quad y = 1.1$$

B<sub>0</sub>: 大気外UV-B, z: 標高, n: オゾン, β: 混濁係数, θ: 太陽天頂角、

このような計算方法で得られた松戸における全天・直達・散乱UV-BをFig. 25, 26に示す。このような計算を日本全国について国土数値データを使い、500mメッシュの晴天日のUV-B分布図(Fig. 27)が得られ、これを紫外線影響ハザードマップ試作の端緒とした。

まだ多くの仮定や近似を使っているが、現時点で全国の快晴日のUV-Bメッシュ図を作成するところまで到達した。今後の課題として条件の異なるさまざまなUV-B観測を行い、仮定や近似を取り除いていくこと、特に、大気境界層や海岸と内陸のエアロゾル影響などを明らかにする必要がある。また、曇天日あるいは気候学的な積算UV-Bについての予測モデルを開発する事、標高等に伴う波長別の特徴を明らかにし、生物学的影響量についても同様のメッシュ図を作ることが必要である。

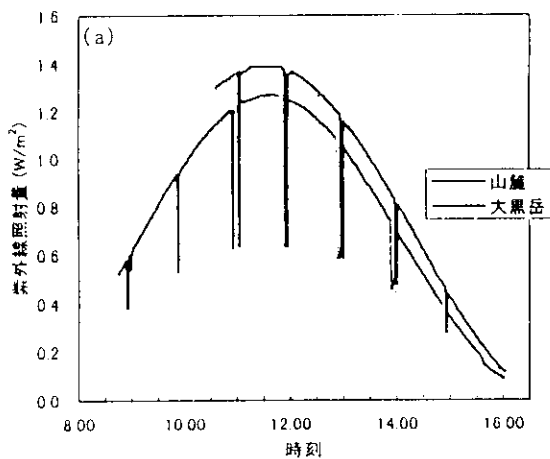


Fig. 21 1996年10月22日、乗鞍大黒岳と山麓で観測された直達・散乱UV-B

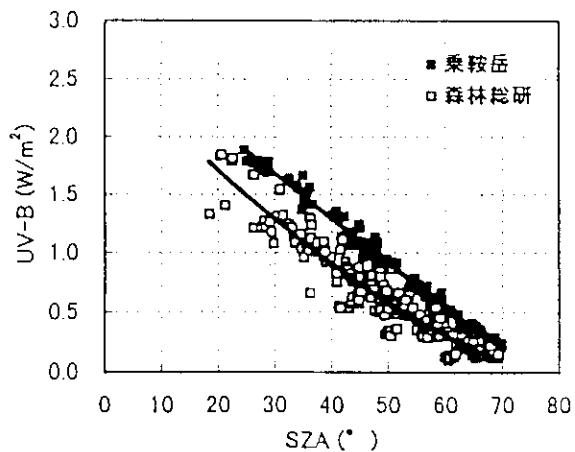


Fig. 22 1997年と1998年のそれぞれ8月から10月の晴天日のUV-Bと太陽天頂角(SZA)の関係

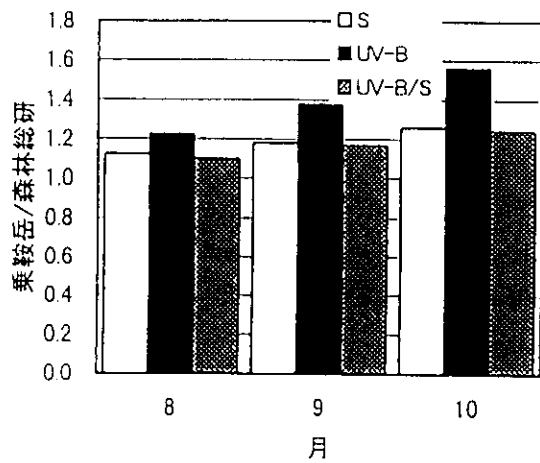


Fig. 23 1997年と1998年の晴天日についての日射量日積算値(S)、UV-B日積算値、UV-B日積算値/日射量日積算値の森林総研に対する乗鞍岳の割合。

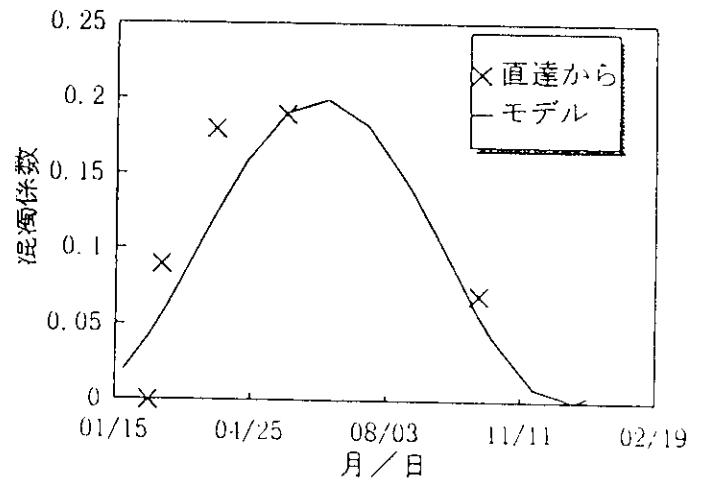


Fig. 24 混濁係数の季節変化

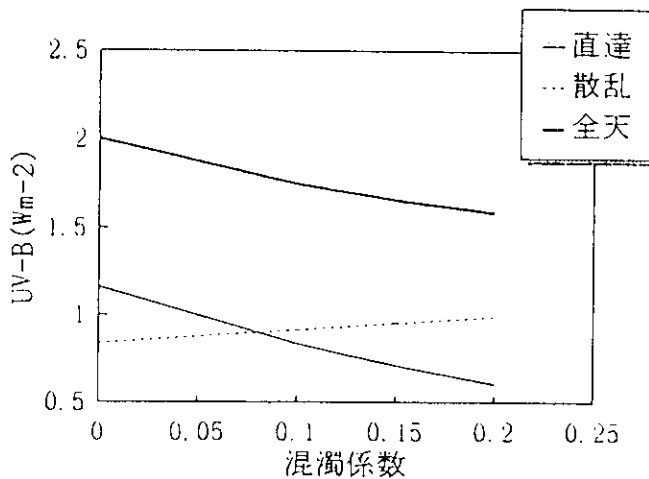


Fig. 25 松戸南中時の混濁係数に伴うUV-B変化

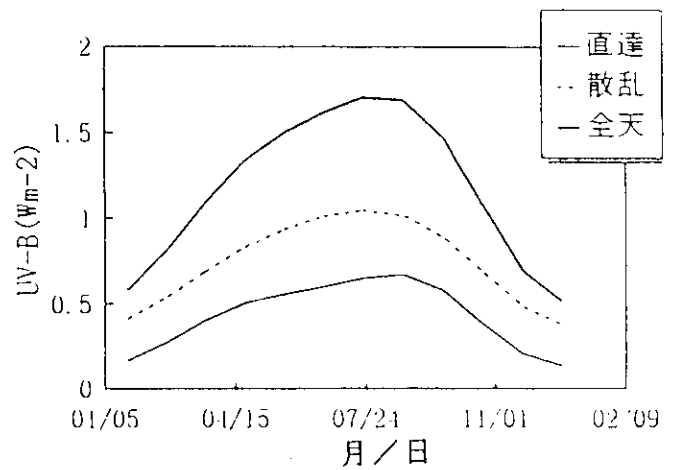


Fig. 26 松戸市南中時のUV-B季節変化

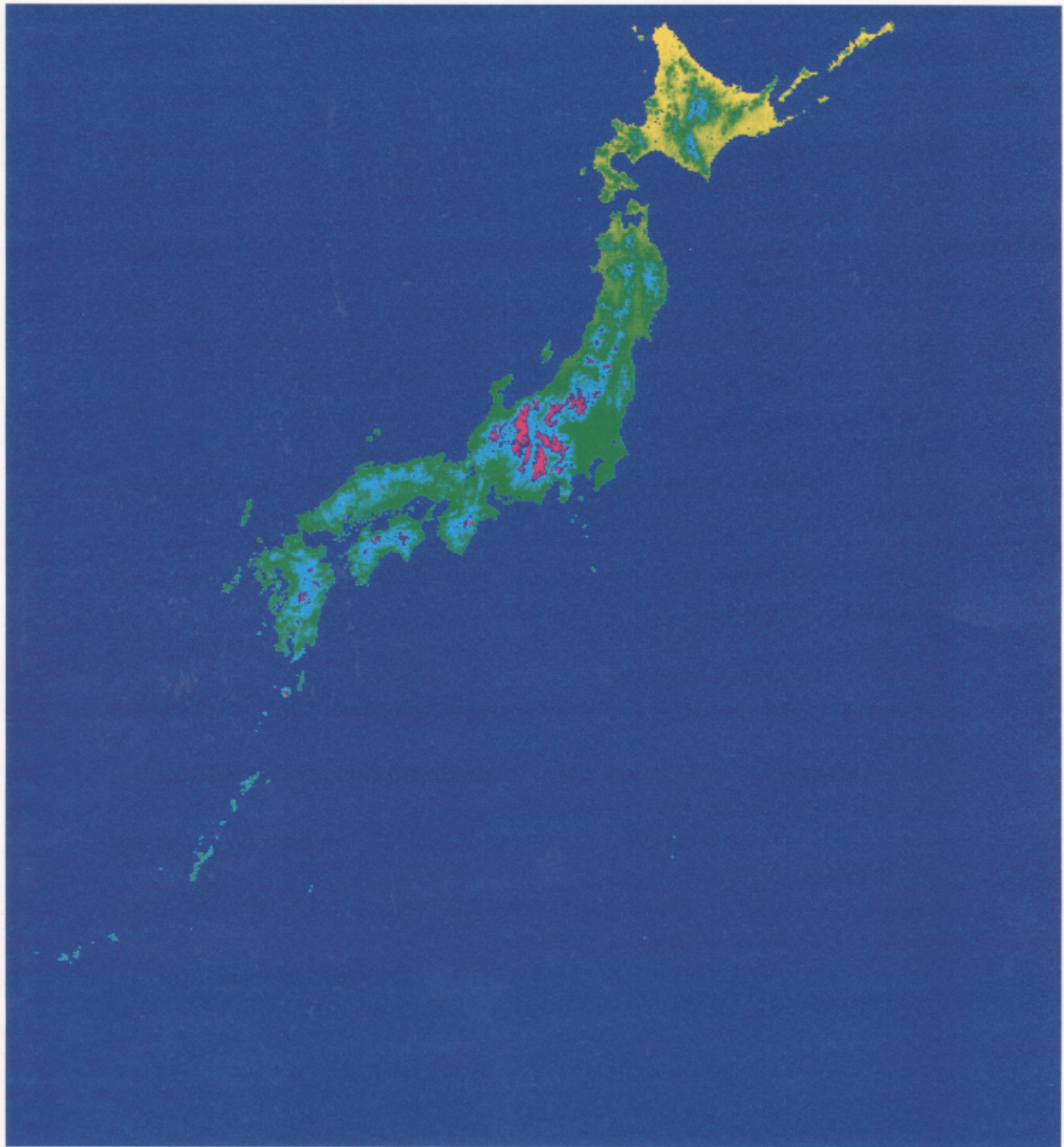


Fig. 27 モデルから得られた全国の快晴日のUV-Bメッシュ図

## 5. 引用文献

- 1) Doyle, J. F. and Doyle, J. L. (1990): Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus* 12, 13-15
- 2) Mori, T., M. Nakane, T. Hattori, T. Matsunaga, M. Ihara, and O. Nikaido (1991): Simultaneous establishment of monoclonal antibodies specific for either cyclobutane pyrimidine dimer or (6-4) photoproduct from the same mouse immunized with ultraviolet-irradiated DNA. *Photochem. Photobiol.* 54, 225-232

## 6. 研究成果の発表状況

- 中村幸一・岡野通明・吉武孝・大谷義一(1997):紫外線の増加がアカエゾマツとブナの幼苗に与える影響について. 日本林学会論文集、第108号、281-282
- Hada, M., S. Tsurumi, M. Suzuki, E. Wellmann, and T. Hashimoto (1996): Involvement and non-involvement of pyrimidine dimer formation in UV-B effects on *Sorghum bicolor* seedlings. *J. Plant. Physiol.* 148: 92-99
- Hada, M., T. Hashimoto, O. Nikaido, and M. Shin (1998): UV-B-induced DNA damage and its photorepair in nuclei and chloroplasts of *Spinacia oleracea* L. *Photochem. Photobiol.* 68:319-322
- 鈴木宗典ら. (1997). UV-B 照射アカエゾマツ幼苗に増加する二次代謝産物の単離・同定. 日本農芸化学会関東支部会平成9年度支部大会 講演要旨集
- 今久・青島史子・松岡延浩・岡野通明(1999): 快晴時の全国メッシュ UV-B 分布図の試作、日本農業気象学会 1999 年度全国大会発表予定。
- 今久・松岡延浩・青島史子(1998): 直達 B 領域紫外線の波長別積算値の予測式について、関東の農業気象、第24号、32-33.
- 青島史子・岡野通明・今久・松岡延浩 (1998): 標高の異なる2点での UV-B 観測、日本農業気象学会 1998 年度全国大会講演要旨、332-333.
- 今久・青島史子・松岡延浩 (1998): 散乱 B 領域紫外線量の推定、日本農業気象学会 1998 年度全国大会講演要旨、330-331.
- 青島史子・今久・岡野通明・松岡延浩(1997): 乗鞍岳山頂と山麓における紫外線の比較、日本農業気象学会 1997 年度全国大会講演要旨、212-213.
- 青島史子 (1997): 乗鞍岳山頂付近における紫外線の特性、千葉大学園芸学部卒業論文、p34.
- 青島史子 (1999): 標高の異なる2地点における UV-B の比較、千葉大学自然科学研究科修士論文、p42.
- 篠原幸太 (1999): 松戸市における直達及び散乱 B 領域紫放射の観測、千葉大学園芸学部緑地気象学研究室卒業論文集、p1-26.