初期発育期のエゾバフンウニ、特に浮遊幼生に対する紫外線照射の影響

矢部 和夫, 小野寺小百合, 牧野 愛, 鈴木 稔, 籠島 賢二

(1997年2月25日受付)

The Effects of Ultraviolet Irradiation on Larvae and Early Juveniles
of the Sea Urchin, *Strongylocentrotus intermedius*Kazuo Yabe,*¹ Sayuri Onodera,*¹ Megumi Makino,*²
Minoru Suzuki,*² and Kenji Kagoshima*³

Planktonic larvae and just settled juveniles of the sea urchin, *Strongylocentrotus intermedius*, were irradiated with various quantities of UV rays, and the effects 24 hrs after keeping them under a condition 10 L:14 D at 16°C (larvae) or 17°C (juveniles) were observed. The results showed that blastula and pluteus larvae were seriously damaged by irradiation of UV-B (280-320 nm) and UV-A (320-400 nm). A critical dose of damaging UV (DUV) which induced more than 30% morphologically abnormal larvae was 0.01 kJ/m² for blastula and 4-armed larvae. It gradually increased to 0.05 and 0.08 kJ/m² as the stage advanced to the 6-armed and 8-armed stages, respectively. No effects were observed for juveniles after 24 hrs of irradiation of 0.7 kJ/m² DUV, but all the juveniles which received more than 0.2 kJ/m² died within 1 month. It was suggested that the reproduction of the sea urchin might be affected by sun light in shallow water, since a maximum of the mean daily amount of DUV was reported to be 0.7 kJ/m² in July, 1994, in Sapporo.

キーワード: エゾバフンウニ, 初期発育段階, 紫外線照射, DUV

近年, クロロフルオロカーボン (CFC) 等による成層圏オゾン層の破壊が進み, 太陽から地上に到達する紫外線の量は増加しつつあり, その生態系への影響が懸念されている。^{1,2)} 特に成層圏オゾン層の破壊に伴い増加するとされる中・長波長域の紫外線 (280-320 nm: UV-B, 320-400 nm: UV-A) は, 生体への悪影響が大きいと言われており,³⁾ 多くの陸上動植物に対する影響が調べられている。⁴⁻⁸⁾ しかし, 海洋生物に対する影響については, 太陽からの紫外線の海中での測定が困難であったため, これまでの報告は陸上生物に比べ少ない。⁹⁻¹²⁾ 近年, 太陽からの紫外線を海中で測定できる機器の開発が行われ, その測定が可能になった結果, 太陽光中の紫外線, 特に UV-A および UV-B は透明度の高い海域においては, 水深 35-50 m 付近まで達することが明らかになっている。¹³⁾

北海道漁業における重要沿岸資源のひとつであるエゾバフンウニ *Strongylocentrotus intermedius* は, 受精後,

浮遊幼生期をへて, 稚ウニへと変態し着底する。エゾバフンウニの初期発育段階において, 浮遊期間は北海道沿岸の海域では1ヵ月半以上にわたり, 特に六腕期に移行するまでの減耗がきわめて高い。¹⁴⁾ これらの初期発育期に与える紫外線 (UV-A および UV-B) の影響を量的に評価することは, 資源の変動要因の把握に重要であると考えられる。そこで, 札幌における UV-B 日積算値の月平均値の最大値の DUV 値 (0.7 kJ/m²) を基準^{15,16)}とした条件で, エゾバフンウニ幼生と着底直後の稚ウニに紫外線を照射し, その影響を調べた。

材料および方法

エゾバフンウニの幼生は, 北海道栽培漁業振興公社 (鹿部事業所) 並びに小樽水族館で, 1996年3月から11月までの間に, 人工種苗の生産過程で得た健全な個体を用いた。幼生と稚ウニは実験に供するまでの間, 自然光周期下で四腕期, 六腕期, 八腕期前期までは 17°C,

*¹ 北海道東海大学工学部海洋開発工学科 (Department of Marine Sciences and Technology, School of Engineering, Hokkaido Tokai University, Minami-sawa, Minami, Sapporo 005-8601, Japan).

*² 北海道大学大学院地球環境科学研究科物質環境科学専攻 (Division of Material Science, Graduate School of Environmental Earth Science, Hokkaido University, Kita, Sapporo 060-0810, Japan).

*³ 小樽水族館公社 (Otaru Aquarium, Syukutsu, Otaru 047-0047, Japan).

八腕期後期から変態期は16°Cに調整した天然海水(32.65~33.77%)中で飼育した。海水は0.2 μm のメンブランフィルターで濾過後、90°Cまで加熱滅菌し恒温室で10°Cまで冷却した後、それぞれの飼育水温に加熱して使用した。浮遊期幼生の餌料には人工液体培地で培養した *Chaetoceros gracilis*¹⁷⁾を餌として与えた。稚ウニへの変態期前後の餌料にはアワビモ *Uvella lens*¹⁸⁾を使用した。

20 mlの濾過海水を入れたベトリ皿(径5 cm)に、浮遊期胚期、四腕期、六腕期、八腕期の各成長段階の幼生および変態直後の稚ウニを30個体入れ、市販のポリ塩化ビニリデンシートを被せ直上20 cmに設置した東芝製健康線ランプ(FL-20E)と20ワットの白色蛍光灯2本の光を照射した。Fig. 1に健康線ランプの200~400 nmのスペクトルを20 cm離れた位置からスペクトロラジオメータ(PGD-25C, 日本分光株式会社製)で測定した結果を示した。対照区は、健康線ランプを消灯して白色蛍光灯のみを照射した試料とした。アクションスペクトルとして、米国政府産業衛生学会議(ACGIH)が定めた紫外光の波長別許容被曝基準を表すDamping-UV (Fig. 2)を使用した。アクションスペクトルの波長別強度を健康線ランプの波長別照射エネルギー値に乗じてUV-Bの波長範囲の280~320 nmまでを波長積分した値をDUV値として用いた。^{15,16)}このDUV値が0.01, 0.03, 0.05, 0.08, 0.1, 0.2, 0.3および0.7 kJ/m²となる時間を求め照射時間とした(Table 1)。幼生は温度変化による発生異常が起きやすいので、紫外線照射時の温度管理を厳密におこない、幼生については17°C、稚ウニについては16°Cの $\pm 0.2^\circ\text{C}$ 以内に収めた。照射後、それぞれの飼育水温で24時間(L:D=10:14)経過した後、顕微鏡を使用して正常、異常および死亡個体を判別した。幼生についてはせん毛運動により遊泳している個体を正常、遊泳はしているが外形が歪ん

Fig. 1. Spectral properties of UV radiation from a sunlamp (Toshiba FL-20E), measured at a distance of 20 cm.

Fig. 2. Action spectrum of Damaging UV (DUV, Japan Meteorological Agency, 1996).

Table 1. Amounts of damaging UV (DUV) value calculated from the wavelength specific intensity of a sunlamp (Toshiba FL-20E) (Fig. 1), multiplied by the action spectrum of damaging UV (DUV, Fig. 2) and integrated with different lengths of irradiation time. The irradiation intensity was measured at a distance of 20 cm

Amounts of DUV (kJ/m ²)	Irradiation time
0.01	1'20"
0.03	3'45"
0.05	6'15"
0.08	9'30"
0.10	12'30"
0.20	25'00"
0.30	37'30"
0.70	87'00"

で骨片が外部に露出している個体を異常、外形のいかに拘らずせん毛運動が認められず静止している個体を死亡と判定した。稚ウニについても器底での運動状況に着目し判定した。実験は各ステージ、各照射量について4回づつ行った。

結 果

健康線ランプからの紫外線と白色蛍光灯の光を照射後24時間以内の異常および死亡個体の出現率をTable 2に示した。30%以上が異常個体となったDUV照射量は、胚期および四腕期では0.01 kJ/m²で、六腕期では0.05 kJ/m²、八腕期では0.08 kJ/m²であった。全ての個体が異常となったDUV値は胚期0.03 kJ/m²、四腕期0.08 kJ/m²、六腕期0.10 kJ/m²、八腕期0.30 kJ/m²であった。紫外線照射後24時間までに死亡する

Table 2. Rates of the appearance of abnormal and dead individuals of larval and juvenile sea urchins, *S. intermedius*, 24 hours after the irradiation of various doses of DUV. Each value is an averaged percentage of 4 replicates

UV Irradiation dose (kJ/m ²)	Blastula		4-armed		6-armed		8-armed		Juvenile sea urchin	
	Abnormal and dead (%)	Mortality (%)	Abnormal and dead (%)	Mortality (%)	Abnormal and dead (%)	Mortality (%)	Abnormal and dead (%)	Mortality (%)	Abnormal and dead (%)	Mortality (%)
0.00(Control)	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
0.01	38.5	0.0	30.0	0.0	5.9	0.0	1.5	0.0	0.0	0.0
0.03	100.0	0.0	66.7	0.0	12.3	0.0	11.8	0.0	0.0	0.0
0.05	100.0	9.6	88.8	4.4	30.9	0.0	24.6	0.0	0.0	0.0
0.08	100.0	15.7	100.0	5.9	85.7	0.0	50.0	0.0	0.0	0.0
0.10	100.0	56.6	100.0	8.2	100.0	1.4	72.5	0.0	0.0	0.0
0.20	100.0	98.1	100.0	14.9	100.0	2.2	98.6	1.4	0.0	0.0
0.30	100.0	100.0	100.0	21.1	100.0	5.0	100.0	3.3	0.0	0.0
0.70	100.0	100.0	100.0	53.0	100.0	7.7	100.0	6.3	0.0	0.0

個体の割合も、DUV 値の照射量とともに増加したが、同じレベルの照射量では成長段階が進むにしたがって、減少する傾向にあることが分かった。すなわち、異常個体の発生率および死亡率に見られる DUV に対する耐性は胞胚期、四腕期、六腕期、八腕期の順に大きくなることが分かった。異常が認められた胞胚期幼生は 24 時間以内に全て死亡し、四腕期および六腕期の幼生も、紫外線照射後、数日間の飼育で全て死亡した。紫外線照射した八腕期の幼生で、大部分が正常な稚ウニに変態できたのは DUV 値が 0.08 kJ/m² 以下であった。

アワビモ上で着底・変態した稚ウニに紫外線照射を行ったところ、24 時間以内の観察では、外見上異常な個体は認められず、すべての個体の生存が確認できた (Table 2)。しかし、紫外線照射後 1 ヶ月目の観察では、DUV 値が 0.20 kJ/m² 以上ではすべての個体が死亡した。なお、対照区の稚ウニは全てが正常に成長した。

考 察

これまでにバフンウニの精子、卵および胚に与える紫外線の影響を調べた生理学的研究は多くなされているが、¹⁹⁻²⁵⁾ オゾン層破壊にともない増加する太陽からの紫外線、特に生物への影響が大きい UV-B の現実の照射量を視野においた報告は少ない。エゾバフンウニの卵は受精後約 2 日目にはブルテウス幼生となる。幼生は発育にともない四腕期、六腕期、八腕期を経た後、変態して底生生活に移行する。浮遊期間は、北海道沿岸の海域では 1 ヶ月半以上の長期におよび、人工種苗の生産過程では水温 18°C 前後で約 3 週間である。浮遊期間中の

減耗はきわめて高く、とくに六腕期に移行するまでが大きく、¹⁴⁾ さらに稚ウニは夏季に 50% 以上が減耗することもあると報告されている。¹⁴⁾ これらの減耗に関して、浮遊期および着底後の運動能力が小さい稚ウニ期は、外部環境要因の変動に対する抵抗力が極めて低いと考えられる。²⁶⁾ 日照時間が長く、照度が強い時期に浅海域において初期減耗期を過ごすエゾバフンウニ幼生にとって、近年の太陽からの紫外線 (UV-A と UV-B) 増加の影響は特に懸念される。

健康線ランプの照射実験は最大 10 mm の海水層を通して行われたため、被検動物の実際の紫外線受光量は若干少ないと考えられる。しかし、異常状態を呈したエゾバフンウニ幼生は数日間は浮遊して生活することが出来るものもいたが、すべての個体が死亡することが確認された。30% 以上に異常が発生する DUV 値は、胞胚期および四腕期では 0.01 kJ/m²、六腕期では 0.05 kJ/m²、八腕期では 0.08 kJ/m² であった。地上での測定値 (0.7 kJ/m²) を基準に設定した本実験の照射量は、UV-A および UV-B が現実数 10 m の深さに到達する¹³⁾ ことから、数メートルの浅海域では十分に浮遊幼生に有効な範囲にあったものと考えられることができる。したがって、本実験の結果は、胞胚期および四腕期のエゾバフンウニは自然条件下で太陽の紫外線、特に UV-A、B の影響を強く受ける可能性を示している。その後変態に至るまでの浮遊幼生期、さらに稚ウニに変態し底生生活に入ってから、太陽からの紫外線の影響は海域の透明度が高い夏季には稚ウニの減耗要因のひとつになる可能性が示唆される。

現在のオゾン層が 10% 減少するとそれに伴い太陽か

ら地上に到達する紫外線の量は現在の約3倍に、20%減少すると約10倍に達すると予測されている。³⁾気象庁によると、札幌における1990年から1995年までの太陽からの紫外線量は、DUVの時別値でその最大値は54.4 mW/m² (1992年8月22日)¹⁵⁾である。これを一分間に概算すると3.26 J/m²となる。距離20 cmはなれた位置での健康線ランプからのDUV値の積算値は一分間で7.5~10 J/m²と太陽からの紫外線量の約3倍近い値なので、今回の実験で照射したDUV値は太陽紫外線量の増加が海洋生物に与える影響を検出出来るものと考えられる。しかし、本実験のデーターはあくまでも実験室でのことなので、現場において太陽からの紫外線が、どの位の海水の層を通過したら、どの位減衰するか等のより詳しい測定が急がれる。

謝 辞

本実験への助言および各種スペクトルの測定を行っていただきました、北海道東海大学工学部生物工学科・竹内裕一教授に心より御礼申し上げます。また、エゾバフンウニの浮遊幼生を提供して下さいました北海道栽培漁業振興公社の関係各位に心よりお礼申し上げます。なお、本論文の校閲をお願いした北海道大学山田寿郎名誉教授に心よりお礼申し上げます。

文 献

- 1) M. Blumthaler and W. Ambach: Indication of increasing solar ultraviolet-B radiation flux in Alpine Regions. *Science*, **248**, 206-208 (1990).
- 2) J. Scotto, G. Cotton, F. Urbach, D. Berger, and T. Fears: Biologically effective ultraviolet radiation. Surface measurements in the United States, 1974 to 1985. *Science*, **239**, 762-764 (1988).
- 3) 佐々木政子: 太陽放射中のUV-B, UV-Aの測定と評価. 東海大学開発技術研究所研究報告書. **14**, 584-588 (1993).
- 4) J. Ros and M. Tevini: Interaction of UV-radiation and IAA during growth of seedlings and hypocotyl segments of sunflower. *J. Plant Physiol.*, **146**, 295-302 (1995).
- 5) J. H. Sullivan and A. H. Teramura: The effects of ultraviolet-B radiation on loblolly pine. 1. Growth, photosynthesis and pigment production in greenhouse-grown seedling. *Physiol. Plant.*, **77**, 202-207 (1989).
- 6) J. H. Sullivan and A. H. Teramura: The effects of ultraviolet-B radiation on loblolly pine. 2. Growth of field-grown seedlings. *Tree*, **6**, 115-120 (1992).
- 7) 竹内裕一: オゾン層を守る。(環境庁「オゾン層保護検討会」編), 日本放送出版協会, 東京, 1987, pp. 48-57.
- 8) A. H. Teramura: Effects of ultraviolet-B radiation on the growth and yield of crop plants. *Physiol. Plant.*, **58**, 415-427 (1983).
- 9) Y. Takeuchi, S. Ikeda, and H. Kasahara: Dependence on wavelength and temperature of growth inhibition induced by UV-B irradiation. *Plant Cell Physiol.*, **34**, 913-917 (1993).
- 10) H. Shibata, K. Baba, and H. Ochiai: Near-UV irradiation induces shock proteins in *Anacystis nidulans* R-2; Possible role of active oxygen. *Plant Cell Physiol.*, **32**, 771-776 (1991).
- 11) P. M. Sivalingam and K. Nisizawa: Ozone hole and its correlation with the characteristic UV-absorbing substance in marine algae. *Jpn. J. Phycol.*, **38**, 365-370 (1990).
- 12) M. Maegawa, M. Kunieda, and W. Kida: The influence of ultraviolet radiation on the photosynthetic activity of several red algae from different depths. *Jpn. J. Phycol.*, **41**, 207-214 (1993).
- 13) S. Taguchi, H. Saito, and H. Kasai: Enhanced photosynthetic rate of natural phytoplankton assemblages in the absence of ultraviolet radiation in Akkeshi Bay, Japan. *Bull. Plankton Soc. Jap.*, **41**, 143-159 (1994).
- 14) 吾妻行雄: 北のさかなたち, 北日本海洋センター, 札幌, 1992, pp. 324-333.
- 15) Japan Meteorological Agency: Annual Report on Monitoring the Ozone Layer, No. 5 Observation Results for 1993. Japan Meteorological Agency, (1994).
- 16) Japan Meteorological Agency: Annual report of ozone layer monitoring: 1995. Japan Meteorological Agency, (1996).
- 17) 北海道栽培漁業振興公社: 技術開発試験調査事業実施結果. 育てる漁業, 北海道栽培漁業振興公社, **250**, 1-7 (1994).
- 18) 名畑進一: アワビモの栽培技術. 育てる漁業, 北海道栽培漁業振興公社, **238**, 1-11 (1994).
- 19) Y. Ejima and T. Shiroya: Photoreactivation associated with morphological abnormality in sea urchin embryos induced by ultraviolet-irradiated sperm. *Photochemistry and Photobiology*, **35**, 175-180 (1982).
- 20) Y. Ejima and T. Shiroya: Photoreactivation associated with chromosomal abnormality in sea urchin eggs fertilized with ultraviolet-irradiated sperm. *Photochemistry and Photobiology*, **36**, 37-41 (1982).
- 21) Y. Ejima, M. Ikenaga, and T. Shiroya: Action spectrum for photoreactivation of ultraviolet-induced morphological abnormality in sea urchin eggs. *Photochemistry and Photobiology*, **40**, 461-464 (1984).
- 22) T. Shiroya, D. McElroy, and B. Sutherland: An action spectrum of photoreactivating enzyme from sea urchin eggs. *Photochemistry and Photobiology*, **40**, 749-751 (1984).
- 23) Y. Akimoto and T. Shiroya: Photoreversibility of UV-induced thymine dimers and abnormal morphogenesis in sea urchin embryos. *Photochemistry and Photobiology*, **45**, 403-406 (1987).
- 24) Y. Akimoto and T. Shiroya: Photoreversal of abnormal morphogenesis in sea-urchin embryos caused by UV-irradiation. *Photochemistry and Photobiology*, **45**, 407-412 (1987).
- 25) Y. Akimoto and T. Shiroya: Changes in the protein complement following UV irradiation and their photoreversal in sea urchin (*Hemicentrotus pulcherrimus*) embryos. *Photochemistry and Photobiology*, **45**, 809-814 (1987).
- 26) 水島敏博: 日本海のウニ漁業と資源の変動. 育てる漁業, 北海道栽培漁業振興公社, **243**, 2-12 (1993).