国立公害研究所研究報告 第10号

Research Report from the National Institute for Environmental Studies No. 10, 1979.

R-10-'79

NES

陸上他物口(19-3-3-5) 新烈開始, 即111-2 改善仁的(19-3-5) 新烈開始, 即111-2 (19-1-5) 新烈用力, 即111-2 (19-1-5) 新闻, 即11-2 (19-1-5) 新闻, 19-1 (19-1-5) 新聞, 19-1 (19-

Buditas varienting and analysis of an equilibrication of an equilibrication of a second second and the second second second and the second second

THE NATIONAL INSTITUTE FOR ENVIRONMENTAL STUDIES 環境庁 国立公害研究所 人間の生産活動が著しく増大し、それに伴って消費生活が拡大して、いろいろな物質が大気中に 放出されるようになった。その一部が人間の健康を脅かし、さらに人間の環境に存在する動植物の 生存や繁殖に悪影響を与えている。そのうちでとくに二酸化硫黄の害が注目されてきたが、近年は さらに二酸化窒素や光化学スモッグなど、多くの物質が単独ないし複合でさまざまな健康影響を引 き起こしていることが知られてきた。

国立公害研究所において昭和51年度より開始された特別研究「陸上植物による大気汚染環境の 評価と改善に関する基礎的研究」は、大気汚染の植物影響を解明して、緑地帯や公園樹木あるいは 各家庭の鑑賞植物を大気汚染の害から守るための生活環境基準の必要性を検討し、植物を利用した 大気汚染環境評価法の開発、さらに植物を利用した大気汚染環境改善の手法を確立することを目的 として、昭和53年度までの3か年計画で実施された。昭和53年には、研究成果の一部をまとめ た中間報告書を刊行し、関係各位より研究のすすめ方について有益なご助言をいただいた。今回、 過去3か年間の研究成果を総括して、本研究計画が目的とした課題がどこまで解明されたか、残さ れた問題点は何かを浮きばりにすることを試みた。

複雑多岐にわたる大気汚染が種々な動植物に与える影響の全貌を明らかにするには、多くの年月 をかけて膨大な実験と観察を続ける必要がある。当研究計画の発足にあたっては、さしあたり二酸 化硫黄と二酸化窒素の両物質をとりあげ、それらが単体として特定の植物に与える影響の観察と解 析を試みた。今後、さらにオゾン等の他の大気汚染物質を含め、それらの単独あるいは複合での影 響を解明すべく実験計画がすすめられている。

この研究に研究所内外の多くのかたがたからご協力とご援助をいただいたことを深謝するととも に、この報告書が各方面で活用されること、さらに当研究所における今後の研究に対するきたんな きご批判を期待する次第である。

> 国立公害研究所長 佐 々 学

昭和54年12月

序

目

次

.

序(佐々 学)

.

Ι.	特別 に卧	研究「陸上植物による大気汚染環境の評価と改善 する基礎的研究」の研究成果の総括	1
Π.	論	文	
	1.	亜硫酸イオンの水溶性クロロフィルタンパク質に及ぼす影響 菅原 淳・内田節子・滝本道明	35
	2.	二酸化硫黄暴露による植物の蒸散変化のアブサイシン酸による制御と 気孔開度に及ぼす亜硫酸イオンとpHの影響 近藤矩朗・丸田一成・菅原 淳・藤伊 正	49
	3.	植物における亜硫酸酸化活性	61
	4.	近藤矩朗・秋山洋子・藤原 誠・菅原 淳・岩城英夫 二酸化硫黄毒性防御へのスーパーオキシド ジスムターゼの関与について … 田中 浄・菅原 淳	77
	5.	二酸化硫黄暴露によるホウレンソウ葉の光合成色素分解と脂質過酸化 反応に対する活性酸素の関与	87
	6.	島崎研一郎・秤 尚 ・官原 岸 ホウレンソウ葉の酸素交換反応とクロロフィルけい光の誘導期現象に 及ぼす二酸化硫黄 (SO ₂)暴露の影響	101
	7.	島崎研一郎・伊藤久仁子・官原 淳 二酸化硫黄暴露による光合成電子伝達系の阻害部位について 島崎研一郎・菅原 淳	111
	8.	ホウレンソウ,ソラマメおよびトウモロコシ葉中の,マグネシウムに	
		よって活性化される膜結合ATPアーゼに及ぼすアブサイシン酸とカリ ウムイオンの影響 小蟋五子・近時短期・菅原 涼	123
	9.	「「幅鉄」・20線足切。音原 存 ヒマワリにおける SO2吸収と SO2ドースとの関係	131
	10.	ドマワリ個体群によるSO2吸収量の推定 ホ英壺・戸塚	139
	11.	赤外カラー航空写真による植物活性の生態調査に関する基礎的研究(1) 数種の樹木における葉の反射率比およびバイバンド比と光合成機能	
•		との関係	159
	12.	大気汚染地域におけるセイタカアワダチソウ群落の乾物生長と大気浄 化機能に関する野外調査 古川昭雄・松岡義浩・戸塚 績	177

13.	植物による大気汚染ガス収着機構の解析	
	(1) SO₂の局所収着と可視害発現との関係	211
	大政謙次・安保文彰	
14.	植物による大気汚染ガス収着機構の解析	
	(2)環境制御装置内植物のNO2およびO3収着速度の同時測定法について…	227
	大政謙次・安保文彰・船田 周・相賀一郎	
15.	植物による大気汚染ガス収着機構の解析	
	(3)NO ₂ , O ₃ あるいはNO ₂ +O ₃ 暴露下における収着について	245
	大政謙次・安保文彰・名取俊樹・戸塚 績	
16.	汚染ガスに被暴した植物の葉温パターンの計測	259
	大政謙次・安保文彰・橋本 康・相賀一郎	
17.	画像処理による植物の大気汚染害の評価	269
	大政謙次・安保文彰・橋本 康・相賀一郎	
18.	人工光ガスキャビネット内のC2~C5鎖状炭化水素の分析	275
	松本 茂・秋元 肇	
19.	大気汚染ガス暴露のためのグロースキャビネット(Ⅱ)	
	NO₂, O₃複合系における反応生成物の問題について	283
	松本 茂・大政謙次・相賀一郎	
20.	制御温室におけるヒマワリの生長の季節的変動について	289
	藤沼康実・町田 孝・戸塚 績・相賀一郎	

Ⅲ.総説および解説

1.	二酸化硫黄の植物に及ぼす生理生化学的影響	299
	菅原 淳	
2.	SO2 毒性に対する植物の防御機構	309
	近藤矩朗	
3.	植物の生長に及ぼす二酸化硫黄の影響	317
	戸塚 績	
4.	高等植物の光合成に対する SO₂の影響	333
	古川昭雄	
5.	高等植物による大気二酸化窒素 (NO2)の吸収と代謝	343
	米山忠克	
6.	植物 土壌系への酸性雨の影響について	351
	荒井邦夫・戸塚 績	
7.	植物群落の汚染ガス収着機能	
	── 現象の解析とそのモデル化	367
	大政謙次	

Ⅳ. その他

1. 国立公害研究所植物実験施設における実験材料植物の育成方法について …… 387 藤沼康実・町田 孝・相賀一郎

— II —

Contents

Pref	ace Manabu SASA	
I.	Outlines of the research project "Studies on evaluation and amelioration of air pollution by plants" Tsumugu TOTSUKA	1
II.	Articles	
1.	Effects of sulfite ions on water-soluble chlorophyll proteins Kiyoshi SUGAHARA, Setsuko UCHIDA and Michiaki TAKIMOTO	35
2.	Abscisic acid-dependent changes in transpiration rate with SO ₂ furnigation and the effects of sulfite and pH on stomatal	
	aperture Noriaki KONDO, Issey MARUTA, Kiyoshi SUGAHARA and Tadashi FUJII	49
3.	Sulfite oxidizing activities in plants Noriaki KONDO, Yoko AKIYAMA, Makoto FUJIWARA, Kiyoshi SUGAHARA and Hideo IWAKI	61
4.	Role of superoxide dismutase in the defense against SO_2 toxicity and induction of superoxide dismutase with SO_2^-	
	fumigation	77
5.	Active oxygen participation in chlorophyll destruction and lipid peroxidation in SO ₂ -fumigated leaves of spinach Ken-ichiro SHIMAZAKI, Takeshi SAKAKI and	87
6	Kiyoshi SUGAHARA Effects of SO ₂ fumigation on the rate of O_2 exchange and	
	the chlorophyll fluorescence induction in spinach leaves	101
7.	Inhibition site of SO ₂ in electron transport system in chloroplasts by fumigation of lettuce plants Ken-ichiro SHIMAZAKI and Kiyoshi SUGAHARA	111
8.	Effects of abscisic acid and K ⁺ ion on Mg-activated, membrane- bound ATPase of spinach, broad bean and corn leaves Hamako OBATA-SASAMOTO, Noriaki KONDO and	123
9.	Kiyoshi SUGAHARA SO ₂ absorption rate of sunflower leaves in relation to SO ₂ dose Tsumugu TOTSUKA and Toshiki NATORI	131

C

ś

, : ,

10. Estimation of SO ₂ absorption rate of sunflower population	Э
Hideyuki SHIMIZU and Tsumugu TOTSUKA	
11. Remote sensing of the physiological function of plants by	
infrared color aerial photography (1)	
Relations between leaf reflectivity ratio, bi-band ratio and	
photosynthetic function of leaves in several woody plants	Э
Masatoshi AOKI, Kazutoshi YABUKI and Tsumugu TOTSUKA	
12. Field studies on the dry matter growth of golden rod plant	
community and the physiological activity of plant community	
as a sink of air pollutant in air polluted area	7
Akio FURUKAWA, Yoshihiro MATSUOKA and	
Tsumugu TOTSUKA	
13 Analysis of air pollutant sorption by plants	
(1) Relation between local SO ₂ sorption and soute	
visible leaf injury	1
	1
Kenji UMASA and Fumiaki ABO	
14. Analysis of air pollutant sorption by plants	
(2). A method for simultaneous measurement of NO ₂ and O ₃ sorptions	
by plants in environmental control chamber	7
Kenji OMASA, Fumiaki ABO, Shu FUNADA and	
Ichiro AIGA	
15. Analysis of air pollutant sorption by plants	
(3). Sorption under fumigation with NO ₂ , O ₃ or NO ₂ + O ₃ $\cdots 24$	5
Kenii OMASA, Fumiaki ABO, Toshiki NATORI and	
Tsumugu TOTSUKA	
16. Measurement of thermal pattern of plant leaves under fumigation	
with air pollutant	а
Kenii OMASA, Fumiaki ABO, Yasushi HASHIMOTO and	5
Ichiro AIGA	
17 Evaluation of air nollution injury to plants by image processing	Ω
Kenii OMASA Fumiaki ABO Vasushi HASHIMOTO and	9
Ichiro AICA	
18 Analysis or low malecular weight alightatic hydrogerhons	
10. Analysis of low-molecular-weight apphatic hydrocarbons $(C - C)$ in the plant growth ophinets	5
(C ₂ - C ₅) in the plant growth cabinets with the second	J
10. Crowth ashingt for air pollutants are furnication (II)	
17. Growin cabinet for an ponutants gas futingation (11)	<u>^</u>
Some problems of reaction products in NO ₂ - O ₃ system	3
Singeru MATSUMUTU, Kenji UMASA and Ichiro AlGA	~
20. Seasonal changes in growth of sunflower in phytotron greenhouse	y
rasumi FUJINUMA, Takasni MACHIDA, Tsumugu TUTSUKA	
and Ichiro AIGA	

.

– iv –

.

III. Reviews

1.	Physiological and biochemical effects of sulfur dioxide on plants	299
	Kiyoshi SUGAHARA	
2.	Physiological responses involved in defense against SO ₂	
	phytotoxicity	309
	Noriaki KONDO	
3.	Effects of sulfur dioxide on plant growth	317
	Tsumugu TOTSUKA	
4.	Effect of SO ₂ on photosynthesis in higher plants	333
	Akio FURUKAWA	
5.	Absorption and metabolism of atmospheric NO ₂ in higher plants	343
	Tadakatsu YONEYAMA	
6.	Effects of acid precipitation on plants and soils	351
	Kunio ARAI and Tsumugu TOTSUKA	
7.	Sorption of air pollutants by plant communities – Analysis and	
	modeling of phenomena	367
	Kenji OMASA	
IV.	Miscellaneous	

1.	Outline of the culture method of plant materials in the	
	NIES phytotron	387
	Yasumi FUJINUMA, Takashi MACHIDA and Ichiro AIGA	

i

国立公害研究所研究報告 第10号 (R-10-79) Research Report from the National Institute for Environmental Studies No. 10, 1979

Ι

特別研究「陸上植物による大気汚染環境の評価と改善に関する基礎的研究」の 研究成果の総括

戸塚 績

Outlines of the research project "Studies on evaluation and amelioration of air pollution by plants"

Tsumugu TOTSUKA¹

人間の生活環境における大気汚染質の濃度は極低濃度であり、その生物への慢性的 影響については、ほとんど未知の研究分野である。これらは各種大気汚染に関する生 活環境基準値設定のためにも、早急に究明されねばならない。また、大気環境の悪化 は年々広域に拡大されつつあり、適切な環境評価法の確立は焦びの急である。そこで、 本特別研究では、大気汚染質を含む環境条件を長期間再現し、各種大気汚染質に対する 陸上植物の感受性、抵抗性を生理生化学的ならびに生態学的観点から解析し、その結 果をもとに(I)、大気汚染にかかわる生活環境許容基準設定のための基礎資料の収集、 (II)、局所的ならびに広域の大気汚染度を数量的に評価できる植物指標の開発、さら に植物の汚染物質吸収能を測定することにより、(II)、エアーフィルターとしての植 物の環境改善機能を評価することを目的として、生物環境部生理生化学研究室、陸生 生物生態研究室、ならびに技術部生物施設管理室との共同研究として下記の5課題を 設定し、おもに当研究所に設置された植物環境制御施設(ファイトトロン)を利用し て、昭和51年度より昭和53年度までの3か年間にわたり実施された。

課題 1) 大気汚染質に対する植物の抵抗性に関する生理生化学的研究

- 2) 大気汚染質に対する植物の抵抗性に関する生態学的研究
- 3) 植物指標による大気汚染環境の評価法の研究
- 4) 陸上植物群落による大気汚染環境改善の方法に関する研究
- 5) 暴露キャビネットにおける大気汚染ガス濃度制御方法および植物生体 計測手法の開発に関する研究(昭和52年度より研究開始)

 プロジェクトリーダー 国立公害研究所 生物環境部

 Project leader Division of Environmental Biology, The National Institute for Environmental Studies, Tsukubagakuen, Ibaraki 305

- 1 -

それぞれの研究課題では、主として二酸化硫黄(SO₂)と二酸化窒素(NO₂)を研 究対象として、それぞれの単一汚染ガスの植物影響を検討することから出発した。さ らに、最終年度にはオゾンの単一ガスおよびNO₂,SO₂との混合ガスの植物影響につ いて二、三の実験を試みた。一方、これらの汚染ガス暴露実験に使用される実験施設 の性能試験および実験植物の制御環境下での生育反応についても検討を試みた。これ らの室内実験に加えて、都市域の野外条件下において、植物の種々な生理機能に及ぼ す大気汚染の影響について野外調査を実施した。

|本特別研究を開始した当時,大気汚染の植物影響に関する研究は,概して高濃度に よる急性障害に主眼がおかれていた。我々の生活環境において観測されるような極低 濃度ガスの慢性影響については、この実験を可能とする実験施設が国の内外を通じて これまで建設されていなかったという事情もあって、研究報告がほとんど見当たらな かった。そこで、当研究所に建設された低濃度大気汚染質による長期暴露実験を可能 とする植物実験施設を利用して、植物に対する大気汚染の慢性影響に関する基礎的知 見収集のための特別研究を組織した。実験を開始した当初は、実験施設の性能や植物 に対する反応の特性などを検証したり、これまでの高濃度大気汚染の植物影響に関す る知見の確認などに時間を費やした。また、低濃度ガスに対する植物の反応を高精度 に測定することの困難さなどのために、3年間にえられた大気汚染の慢性影響に関す る知見は必らずしも十分得られたとはいえない。しかし、この研究成果はいずれも本 研究目的に有益な情報を提供しえたと確信している。また、将来、陸域生態系に及ぼ す大気汚染の影響を検討するための基礎資料となり、自然環境アセスメント手法の確 立に寄与しうるものと信じている。本特別研究は大気汚染の植物影響に関する研究プ ロジェクトの第1期計画と位置付けられており、昭和54年度から複合大気汚染の植物 影響を研究対象とした特別研究に引継がれた。

本研究による研究成果の一部は、昭和52年度に国立公害研究所特別研究成果報告第 2号(R-2-78)「陸上植物による大気汚染環境の評価と改善に関する基礎的研究 一昭和51/52年度研究報告」として刊行された。ここでは、本研究がめざしたそれぞ れの研究目的ごとに過去3か年にわたる研究成果を整理し、どこまで解明され、残さ れた問題点は何かを明らかにすることを試みた。終わりに口頭および印刷による研究 発表を一覧としてまとめ、本文中にその番号を引用した。また、本報告書では、研究 成果の報文だけでなく研究担当者の専門分野に関する知見を解説および総説としてま とめ、本研究成果の意義を強調するとともに、社会的ニーズに対応した諸問題を解決 する上に必要な知識の収集をはかった。なお、本文の終わりにまとめられている研究 発表一覧の No. 105 ~ 127 の論文は英語論文集としてまとめられ、別冊で刊行され る。以下に本研究がめざした研究目的ごとに研究成果の概要をのべる。

I. 環境基準検討のための基礎資料

大気汚染に対する植物の抵抗性は、これまで主として比較的高濃度暴露の際に発現する可視障害 を指標として論じられてきた。しかし、大気中の汚染ガス濃度が低下してくると感受性の特に高い 植物を除いて可視障害の発現はほとんど見られない。しかし、たとえ低濃度でも長期間暴露されて いると植物の生長が阻害されることが知られている(本報告書 III – 3 参照)。植物の生長への影響 を指標とした植物の抵抗性の順位は、可視障害発現を基準とした場合と必ずしも一致しないといわ れている。そこで、本研究では、感受性の高い植物を使って可視障害発現に至る生理作用、障害発 現に対する植物の防御機構を研究して、大気汚染質に対する植物の抵抗性に関与している要因の解

- 2 -

明につとめた。それに関連して、葉面の可視障害度の評価法の開発を手がけた。一方、比較的低濃 度の汚染ガス暴露による植物の光合成活性、植物生長の変化を測定し、植物の保護にかかわる環境 基準検討のための基礎資料をえた。

1. 二酸化硫黄による植物の可視障害の発現とその機作

a) 可視障害の評価について

二酸化硫黄暴露による植物の急性障害は、一般に高濃度、短時間暴露処理により、主として葉面 に可視障害として発現する。同程度の可視障害発現をもたらすSO2濃度は、植物のSO2抵抗性の差 異によって50倍ものひらきがある(本報告書 II-3 参照)。同一植物でも、生育条件や生育段階に よって、可視障害の発現状態が変化する(82)。例えば、ヒマワリでは同一葉位でも生育段階の低 い個体ほど可視障害の発現が顕著である。また、葉位別では、老葉の方が若葉や壮葉に比して顕著 である。また、同一の葉面でもSO2による可視障害の発現は局在している(99)。このような葉令 による差異や障害部の局在性は、葉面における気孔開閉機能の差異によるようである(99)。また、 可視障害発現に対するSO2抵抗性に関する種間差異も、主として葉のSO2吸収能の差異によること が多くの草本植物を使った実験で確かめられた(115)。

SO₂による葉面における可視障害の発現は、汚染ガスや植物の種類によって、植物色素の分解と 葉肉細胞の破壊による特徴ある斑点状の壊死として現れる。これらの可視障害の評価は、障害部面 積の評価と症状の識別に区分される。従来は肉眼による観察と評価が最も一般的であった。障害部 の面積評価では、クロロフィル含有量をもとにした定量的評価法が報告されているが、多数の標品 をこの方法で処理することは、大変な労力を必要とする。そこで、多量のサンプル処理を可能とす る自動計測手法の開発がのぞまれていた。また,可視症状の差異を認識する手法は何ら提案されて いない。本研究では、これらの問題を解決すべく画像処理手法による評価法の開発を試みた(本報 告書 II – 17参照)。O3およびSO2による被害葉を複写台に固定して、クロロフィルの吸収帯に近い 約670 nmに中心波長をもつ干渉フィルターをカメラに装着して撮影し、えられたネガフィルムを 画像処理装置を用いて解析した。その結果、ネガフィルムの濃度平均値とクロロフィル含量との間 に正の相関関係が認められた。また、濃度平均値と濃度値ヒストグラムを使ってSO。被害葉とO。 被害葉の画像を比較した結果,健全葉と03被害 葉の 濃度ヒストグラムは正規分布曲線に類似して いたが、O3被害葉は健全葉に比べ、極大値の濃度値が低かった。一方、SO2被害葉では、健全葉 の極大値に近い濃度値に極大値と、全面に壊死の発現した葉でえられる濃度ヒストグラムの極大値 と二つの極大値をもつ二項曲線を示した。この結果は、汚染ガスの種類により発現する可視障害の 特徴を定量的に識別できる可能性を示唆している。

一方,植物の葉温が葉の蒸散量によって変化することが知られている。蒸散量は周囲の気温,湿 度,光条件,風速等によって変化する。しかし,一定の物理的環境条件下では,葉の気孔開度を示

- 3 -

す一つの指標になりうる(99)。そこで、葉温変化のパターンを解析することにより、大気汚染ガ スによる植物被害の経時的変化や植物の活力度の判定等に興味ある知見がえられることが期待され る。実際に、一定環境条件下で、SO2暴露された植物の葉面温度の経時変化を計測し、葉面温度変 化のパターンと葉の可視障害発現のパターンとの間に高い相関関係が認められた。今後、葉温を変 動させる諸要因との関係を解明し、野外条件下における植物の可視障害度や活力度を評価する手法 の開発をめざすつもりである。

b) 二酸化硫黄による可視障害発現の機作

SO2を暴露したとき、葉の白化、壊死などとして発現する可視障害を経時的に観察すると、葉面 上に水浸状斑点ができ、その部分の緑色が消えていくのがわかる。すなわち、まず細胞の膜機能が 破壊され、さらにクロロフィルが分解される。特にクロロフィルαが分解され易く、クロロフィル bの分解に先立って分解される(6,7,9,11,16,107、本報告書Ⅱ-5)。 膜の破壊の指標とし て脂質の過酸化生成物であるマロンダイアルデヒド(MDA)を取り上げ。MDA 生成とクロロフィ ル分解の機作について調べた。SO。被害には活性酸素が関与すること、特にクロロフィルαの分解 にO₂・ 脂質の過酸化に¹O₂が関与していることが明らかになった(11, 16, 107、本報告書Ⅱ-5)。 クロロフィル分解における〇ヶ、関与の機作に関しては少なくとも三つの機作が考えられる。第一に **有機溶媒で抽出した色素系で見られるような、亜硫酸によるΩ√ 生成の促進である。第二にΩ√ を** 消去する酵素スーパーオキシドジスムターゼ(SOD)の不活性化であり、この結果O₂-量は増大 する。SO3暴露によって、クロロフィル分解開始前に SOD 活性が低下することが、本研究におい て初めて見出された(16.107、本報告書Ⅱ-5)。第三に葉緑体のタンパク構造がSO₂暴露によっ て損傷を受けてクロロフィルが亜硫酸あるいは〇、の攻撃を受け易くなることである。実際、タン パク質に結合したクロロフィルは亜硫酸による分解を受けにくい(13)。 この機作の可能性を探 るため、亜硫酸によるタンパク質分解酵素の活性化、あるいはタンパク質分解酵素の阻害物質の不 活性化などの面から現在検討している。また、SO2の長期間暴露により SOD 活性の増大が見られ た(14、108、本報告書II-4)。このことはSO 暴露によってO。⁻の生成が促進されることを示 唆し、第一の可能性を支持している。いずれにせよ、現在のところ、上記の三つの機作が同時に進 行していると考えるのが妥当と思われる。MDA生成に関与している'O₂はO₂'から生成されると 考えられており、MDA 生成の増加はO₂ 生産増大の結果と考えられる。

オゾン (O_3) 暴露によってもクロロフィル分解が起こり、この場合にも O_2^- が関与していること が明らかになった (16)。しかし、 O_3 によるクロロフィル分解開始がSO₂の場合と比較してかなり 長時間を要するため、 O_3 とSO₂の機作は異なると思われる。

- 4 -

c) SO₂毒性に対する植物の防御機構

大気汚染物質に対する植物の抵抗性を決めている主要因は種々の生理機能,生化学反応であり (本報告書 II = 2 & 照),大気汚染物質の植物影響および抵抗性の機作を解明するためには,生理お よび生化学レベルでの研究が必要であった。大気中の SO₂は葉の気孔を通って植物に吸収されるの で,SO₂に対する植物の第一番目の防壁は気孔である。すなわち,気孔が閉じると SO₂による被害 は著しく軽減される。しかし,気孔は光合成,蒸散などをつかさどっており,その開閉は状況に応 じて巧みに制御されなければならない。第一防壁を突破して葉内に侵入した SO₂には,第二,第三 の生化学的防御機構が待ち構えている(68)。SO₂の影響は,pH低下,重亜硫酸あるいは亜硫酸イ オン,O₂⁻などの影響に分けて考えられる(15)ので,pH緩衝能,亜硫酸の無毒化機構,O₂⁻の消 去機能などを抵抗性を決める要因として取り上げ検討した。

植物ホルモンの一種であるアブサイシン酸(ABA)を多く含む植物が、高濃度 SO₂に対して強い抵抗性を示すことが明らかになり(1)、さらに、ABAを多く含む植物はSO₂暴露により、す早く気孔を閉じ、SO₂の侵入を防いでいることが示された(3,4,8,15,69)。一方、C₄植物であるトウモロコシ、ソルガムはABA含有量が少ないにもかかわらず、SO₂に対し、す早く気孔を閉じて強い抵抗性を示した(109、本報告書 II - 2)。SO₂の気孔への影響および ABA の関与の 機作を理解するために実験を継続しており、既に ABA 関与の気孔閉孔運動は、SO₂による pH 低下に起因していることを示唆するデータを得ている(109、本報告書 II - 2)。ABAの作用機作は現在のところ不明であり、気孔開閉運動における ABA の役割を明らかにする目的で、ATP アーゼに対する ABA の影響についても検討している(本報告書 II - 8)。

高濃度SO₂暴露により葉内には、かなりのH⁺が生成されるにもかかわらず、pHがほとんど低下 しないことを既に報告した(73)が、典型的な植物被害であるクロロフィル分解がpH低下よりも むしろ活性酸素によると思われる(11,16,本報告書Ⅱ-5)ので、この問題については、これ以 上追求しなかった。

SO₂に暴露された植物体には多量の硫酸塩が蓄積する(本報告書 $\Pi - 9$)。硫酸イオンは亜硫酸 イオンに比べると植物に対する毒性は極めて弱く、亜硫酸の酸化速度が抵抗性に関係している。亜 硫酸を酸化する活性がSO₂の無毒化機構の一つであると考えられるので、植物における亜硫酸酸化 活性を探索した。亜硫酸の共存下でチトクロムCの還元を促進する低分子物質が見出され、特に箱 根大涌谷の硫気孔近辺に生育する植物に活性が高かった(12,70,110,本報告書 $\Pi - 3$)。また、 亜硫酸の酸化を触媒する高分子物質も見出され、いくつかの植物において、この活性と抵抗性との 間に関連のあることが示された(110、本報告書 $\Pi - 3$)。低分子物質の同定、高分子物質の生化 学的性質などが今後に残された研究課題である。

 SO_2 による植物被害が O_2^- , 1O_2 などの活性酸素によることが明らかになり(11, 16, 107, 本報 告書 II - 5), 活性酸素の消去機能もまた、 SO_2 に対する抵抗性を決める主要因子であることが示 唆された。¹ O₂ は O₂⁻ から生成されるので O₂⁻ の消去機能が重要であり、葉緑体中のスーパーオキ シドジスムターゼ(SOD)がこの役割を担っている。 SOD活性と SO₂に対する抵抗性の間に相関 関係が存在することが明らかになった(14, 108,本報告書 II – 4)。

ここに述べた種々の生理活性は植物にもともと備わっているものであるが、SO₂に接触することによって、これらの活性は増大するように思われる。SO₂によるSODの誘導が明らかになり(14, 108、本報告書 I = 4)、また、場合によりABAの増加も認められた(1)が、他の種々の活性についても詳細な研究が要求される。

以上述べてきた知見をもとに、SO2障害から植物を保護するための手法、あるいは多くの植物に ついてSO2抵抗性の強弱を判定するための簡便な方法が開発されるかどうかが問題である。例えば、 葉中のABA活性や亜硫酸酸化活性、あるいはスーパーオキシドジスムターゼ(SOD)活性を調べ ることにより高抵抗性を判定できるのではないかと考えている。

2. 植物の光合成・生長に及ぼす汚染ガスの影響

a) 二酸化硫黄の植物影響

植物の乾物生長を支配する主要な生理機能である光合成機能(CO₂吸収能)に対するSO₂の阻害 作用は、葉に可視障害が発現しなくとも、SO₂暴露後ただちに現れる(83)。ヒマワリの壮葉では、 人工照明(約40 klx)下で、0.5 ppm SO₂暴露により、光合成機能が正常値の10%低下するのに約 60分の暴露時間を要する。しかし、1.0 ppm SO₂ではそれが15分に短縮され、1.5 ppm SO₂では5 分となる。このことは、SO₂による光合成阻害効果の増加は直線的でなく、指数関数的であるとい える。文献83の図7の資料をもとに、ヒマワリの光合成速度が10%抑制されるSO₂濃度(*C*: ppm) とSO₂ドース(Y;濃度×時間(ppm・day))との関係を求めた結果、壮葉では、

 $\log Y = 1.26 \log C + \log 9.6 \times 10^{-3}$

となった。この式に、SO₂の環境基準値C = 0.04 ppmを代入すると、Y = 0.55 (ppm・d)となる。 したがって、0.04 ppmのSO₂濃度で連続暴露して、光合成機能を10%低下させるに要する日数は、 0.55÷0.04 = 14日となる。この値は、同一葉を連続光照射のもとで14日間暴露後に光合成活性が 10%低下することを意味する。ヒマワリの葉では1枚の葉の寿命が2~3週間あり、しかも、高い 光合成機能を維持しうる期間も10~15日間ある。それゆえ、0.04 ppm SO₂という現在の環境基準 濃度でも、ヒマワリと同程度のSO₂感受性をもつ植物の葉は、平均して数%程度の光合成機能の障 害をうけることになろう。植物の生長には、光合成機能の数%低下が、ただちに乾物生長の数%低 下をもたらすとは限らない。それゆえ、植物の乾物生長に及ぼす低濃度 SO₂の影響を明らかにする には、実際に種々のSO₂濃度のもとで植物を長期間育成し、その結果をもとに、環境基準値に近い 極低濃度のSO₂の影響を外そう法で求める以外に方法がないとおもわれる。そこで、0.05 ppm と

- 6 -

0.1 ppmの2段階のSO,濃度による連続暴露実験でヒマワリの生長変化を測定した(114,41)。 人工光型グロースキャビネット(14時間明期(35 klx、25℃)/10時間暗期(20℃)、湿度75%)に 播種1週間後から、5週間SO2暴露処理をした。その結果、ヒマワリの乾物生長量は、0.05、0.1 ppm SO。いずれの処理でも影響をうけなかった。しかし、播種後3~5週における葉面積と葉乾 重は、0.1 ppm処理で対照区より大きくなった。またこの時期における、相対生長率は 0.1 ppm処 理区でも対照区のそれと差がなかったが、葉の光合成効率を示す指標は対照区のそれの約75%にま で低下していた。また,植物の草丈がSO₂処理により抑制されたり,花芽形成の抑制,枯死葉量の 増加する傾向がみられた。次に、野外では日中の一時期SO2濃度が比較的上昇するが、日平均値で は環境基準値以下になることがしばしば観測されてきた。そこで14時間明期(35 klx)の2時間だ け、最高0.2 ppmと0.3 ppmのSO2濃度に設定して、残りの12時間はSO2濃度のゆるやかな上昇と 下降変化を与え,10時間暗期は 0 ppm に設定して上述と同じ生育条件下でヒマワリを5 週間 SO₂処 理した(41)。その結果、日平均SO2濃度は0.05 ppmと0.1 ppmとなり、前回と同様なSO2濃度 であった。しかしいずれのSO2処理区でも明瞭な影響はみられなかったが、植物の草丈はSO2処理 によって著しく抑制された。前回の実験結果と比較検討した結果,0.1 ppm 程度の SO2処理では、 ヒマワリの乾物生長にはほとんど影響を与えないが、植物の草丈は顕著に抑制されること、同化産 物の分配等に若干の変化をもたらすこと、またSO2の一定濃度暴露と周期的濃度変化を与えた処理 とで、葉の光合成効率への影響に若干の差異がみられることが判明した。したがって葉の光合成能 は 0.1 ppm 程度の SO₂処理によって若干阻害されるようであるが, 生長過程においてその低下を補 償するような生理的機能の適応なり、植物の体制的変化が介在しているように思われる。

前に述べたように、SO₂に対する植物の抵抗性の順位は葉面の可視障害発現を指標とした場合と 生長障害を指標とした場合で異なる。本報告書 II = 3 で論じられているように、植物の生長過程に は光合成、呼吸、吸水と蒸散、栄養塩類の吸収、同化産物と貯蔵物質の転流などの生理機能や、新 生器官の形成に関与する同化産物や貯蔵物質の利用機構などが複雑にからみあっている。SO₂の毒 作用が生長過程のどの部分に影響するかによって植物の反応は異なってくる。それによって生長を 指標とした SO₂抵抗性が変化することになる。葉のSO₂吸収能が低いこと(気孔開閉運動が敏感な こと)、葉内における亜硫酸酸化活性が強いこと、細胞内の pH緩衝能が高いこと、SO₂に暴露され ても光合成機能が低下しにくいこと、葉内に形成された SO₄²⁻が他器官にすみやかに転流し、葉肉 細胞に SO₄²⁻が蓄積されにくいこと、新葉の展開速度が速いこと、SO₂に暴露されて新生の同化器 官(葉)が形成される重量の、生長した植物個体重量の増加に占める割合が茎などの非同化器官の それより大きくなり、しかもうすい葉を形成しうることなどの性質がSO₂暴露による生長阻害をう けにくくするのではないかと思われる。本報告書 II = 3 に数種の植物について、SO₂ドース(SO₂ 濃度×時間)と生長との関係が論じられているので参照されたい。

次に植物が集団の状態にあるとき,SO₂暴露が群落光合成にどのような影響を与えるかをヒマワ

- 7 -

リ個体でえられた単葉の光合成速度とSO2濃度,照度との関係(83)をもとに数学モデル式を開発 し,個体群の葉量を示す葉面積指数,SO2濃度,照度を変化させて群落光合成速度へのSO2暴露の 影響を検討した(113)。その結果,0.2 ppm SO2暴露では、ヒマワリ個体群の単位土地面積当た りの光合成速度は、いずれの照度条件でもほとんど影響をうけなかった。ヒマワリ個体群の葉面積 指数は通常4(4m²葉面積/m²地面)程度である。この葉面積指数で照度70 klx,0.8 ppm SO₂, 60分間暴露で群落光合成速度は約10%低下した。光合成速度の低下は葉面積指数が減少する(葉量 が少なくなる)につれて増大するが、葉面積指数が4以上ではほぼ一定の値を示した。これらの経 過から明らかなように、植物は粗な集団で生活しているときの方が、密な集団で生活しているとき に比較してSO2暴露による光合成能の低下が顕著であるといえよう。

光合成は植物の生長を支えるだけでなく、気孔の開閉運動などの生理機能を支配する極めて重要 な機能である。SO₂の炭酸ガス吸収に対する影響について、生理生化学的研究が古くから進められ てきた。その結果、SO2暴露により速やかに炭酸ガス吸収が阻害されること、SO2を大気中より除 くと炭酸ガス吸収速度が回復することなどが知られている(18, 19, 83, 93, 112)。この現象を説 明するSO。の作用機作として以下に述べるようなものが考えられる。第一にSO2により気孔の孔辺 細胞表面の湿面のpHが低下し,炭酸ガスの溶解度が減少すること,第二に細胞膜および葉緑体膜 を通る炭酸ガスの吸収および移動の阻害,第三に炭酸ガス固定に必要な ATP, NADPH を生成す る光合成電子伝達系の阻害、第四に炭酸固定系の阻害、などである。第四の機作に関しては、抽出 液中の炭酸固定経路の種々の酵素活性について研究され、亜硫酸による酵素活性阻害が認められて いる。しかし、光合成電子伝達系に対するSO2の影響に関してはほとんど報告がなかった。光合成 による酸素発生に対するSO₂の影響を調べると、炭酸ガス吸収と同様に酸素発生も減少し、SO₂暴 露停止により徐々に回復したが,1時間暴露の場合,完全には回復しなかった(本報告書Ⅱ-6)。 クロロフィルから発せられるけい光の収率も減少するが、30分暴露では、暴露停止後徐々に回復し、 |4時間後にはほぼ完全に回復したが、1時間暴露の場合,完全には回復しなかった(本報告書Ⅱ-6)。クロロフィルから発せられるけい光の収率の実験結果は、30分暴露では、暴露により光合成 の電子伝達系が可逆的な阻害を受け、暴露が長時間になると不可逆的な損傷を受けることを示して いる。これらの結果は、SO2による炭酸ガス吸収の減少を電子伝達系阻害の面からも説明できるこ とを示唆している。

 SO_2 による電子伝達系の不可逆的な阻害を調べるために、暴露葉から葉緑体を単離して阻害部位 を研究した結果、光化学系 II が特異的に阻害されていることが明らかになり(2,3,5,6,9, 10,72,76)、さらに、その阻害部位は系 II の反応中心あるいはそのごく近傍であることが示された (10、本報告書 II – 7)。このように SO₂による電子伝達系阻害が極めて特異的であることは、SO₂ 毒性の特異性が高いことを示唆しているが、植物に吸収された SO₂がどのような形で作用するかは 今後の問題である。

b) 二酸化窒素の植物影響

植物の生長に及ぼす二酸化窒素(NO₂)の影響について、ヒマワリを4 ppmと8 ppmのNO₂で2 日間処理した結果、葉に可視障害が発現した。暴露植物の地上部乾重量は、4 ppm区で無処理植物 の値の86%.8 ppm区で80%に低下していた(78)。また0.1,0.5,1.0 ppmの3段階のNO₂濃度 で24日間連続暴露した結果、処理区の葉、茎、根を含めた個体乾重量は、対照区の値のそれぞれ84、 83、74%と、1.0 ppm NO₂濃度区で顕著な低下を示した(78)。これらの乾重量の値とNO₂ドース (ppm×d)との間に逆の相関関係が認められた(NO₂ドース20 ppm・dで20%の乾物生長量の低 下)。このことは、低濃度NO₂でも長期間暴露によりNO₂ドースが増大すれば、植物の乾物生長に 対して何らかの抑制効果をもっていることを意味している。ヒマワリを使った別の実験で0.1 ppm NO₂、10日間暴露処理により乾物生長が抑制されていたが、暴露10~15日間では、生長率が無処理 植物の値より大きくなった。このことは、後で述べられているようにヒマワリでは、NO₂暴露に対 してある種の適応機能をもっていることを示唆する。それゆえ、NO₂濃度が極低濃度であれば、植 物の種類によっては適応作用により、乾物生長が促進される可能性も考えられる。これに関連して、 本報告書 II - 5にNO₂が植物に利用される過程および植物の生長を阻害する場合について解説され ているので参照されたい。

植物に対するNO2の影響を数種の植物について比較してみた。例えば、アオジソ、フダンソウ、 アサガオ.ホウレンソウ.インゲンマメおよびトウモロコシの6種の草本植物を,1.0 ppm NO2で 14日間連続暴露した(80)。その結果、6種とも個体重の増加が抑制された(対照区の値の73~83 %)。しかし、葉面積の増加はNO2暴露によりアオジソやアサガオでは阻害をうけたが、インゲン マメやトウモロコシでは促進がみられた。植物個体重の増加が抑制された種では,葉中の(硝酸態 + 亜硝酸態) 窒素濃度が概して高くなる傾向がみられた。一方、木本植物では、1 ppm NO2で2か 月間暴露処理した結果(85)によると、個体乾重量の増加を指標として、トウカエデがNO2暴露に より最も被害をうけ、キョウチクトウ、サクラ、イチョウ、スズカケノキ、イタリアポプラなどは 被害が軽微であった。カイズカイブキでは葉のわずかな黄変がみられたにすぎなかった。植物体の 窒素含量の増加は感受性の高い種で、全窒素およびアンモニア態窒素濃度が比較的高く、逆にカイ ヅカイブキ、クロマツなど、抵抗性のある植物では、両窒素形態ともその濃度が低かった(85)。 NO2の植物影響にこのような種間差異がみられるのは、一つには植物のNO2吸収能力の差異が関係 している。例えばトマトやヒマワリは同程度のNO2吸収能をもつが、トウモロコシでは前者の約½ と¼である(37)。これは主として気孔開閉反応の差異による(40)。また、同一植物でも、気孔運 動の日周性によって吸収力が変化する(90)。例えば,ヒマワリ幼植物を使って,1日のうちで暴 露開始時期を変えて、NO₂4ppmで3時間暴露し、植物葉中のNO₂⁻含量を測定した(90)。 その 結果、昼間から夕方にかけて集積するが、夜間ではわるい。これは植物の気孔開閉の日周性に応じ てNO2⁻を集積していることを示す。夜間にNO2の吸収の少ないことは、¹⁵NO2吸収実験からも確 認できた (90)。

一方、植物のNO₂抵抗性を左右する要因として、葉身の亜硝酸還元酵素活性の強さが関与していることが認められた。植物に吸収されたNO₂の一部は、亜硝酸イオン(NO₂⁻)になる。NO₂⁻の集積は植物の生理作用(光合成,呼吸など)に阻害的に作用するので、すみやかな除去が必要である。ここでは亜硝酸還元酵素(NiR)が作用するが、その活性が低いと、体内に亜硝酸が集積しやすく、葉に障害をもたらす。この酵素活性が植物の種類によって異なるばかりでなく、体内の硝酸や亜硝酸によって誘導されたり、光により活性化されたりする(90)。

しかし、NO₂暴露による可視障害の発現は、NO₂⁻の集積量ですべての場合を説明できるわけで はない。例えば、NiR 活性の高いホウレンソウについて、NO₂ 8 ppmで6時間処理すると、暗条件 下ではNO₂⁻が集積され、葉に特異な光沢ができていたが、明条件下ではNO₂⁻の集積がみられな いにもかかわらず、暗条件の時と同様の光沢を認めた(88)。

以上に述べたように、NO₂に対する抵抗性は植物の種類によって著しく異なる。それゆえ、植物の生長に及ぼすNO₂の影響を評価するためには、抵抗性の種間差異をもたらす諸要因ならびに植物の生長および物質生産に及ぼすNO₂の影響の機作を解明する必要があろう。

c) 複合汚染の植物影響

比較的高濃度のSO₂にヒマワリが暴露されると、葉面に可視障害が発現することはすでに述べた。 ここでは、NO₂やO₃の単一および混合ガスによる可視障害の発現を検討した結果を述べる。O₃ では5時間連続暴露の場合、ヒマワリでは 0.4 ppm O₃ 以上ではじめて可視障害が発現した。また、 NO₂ では可視障害の発現に 0.6 ppm以上の濃度が必要であった。しかし、それぞれ 0.2 ppm の O₃ と NO₂ との混合ガスによる5時間暴露では、全葉面積の10%に可視障害が発現した(未発表)。 このことはO₃ + NO₂ 混合ガスが両ガスの害作用を倍加することを示している。混合ガスによるそ のような害作用の相乗効果は可視障害ばかりでなく、光合成機能への影響でも認められた (35,95)。 すなわち、0.2 ppmのSO₂、O₃、あるいはNO₂の単一ガスでは2時間暴露しても光合成への阻害 効果は認められなかったが、NO₂/O₃や、SO₂/O₃混合ガス暴露により、光合成機能が著しく 低下することが認められた。野外では、複数の大気汚染物質の共存していることが常態である。し たがって、野外条件下における大気汚染の植物影響を評価する場合、単一汚染ガスの阻害効果をも とに評価すると、過小評価することになりかねない。今後は、混合ガス暴露の植物の光合成、生長 への影響を実験的に明らかにし、変動する気象条件のもとで複合大気汚染の植物影響を予測・評価 できる数学モデルの開発をすすめる必要がある。

Ⅱ.環境評価のための植物指標の開発

大気汚染物質に対する感受性の高い植物を指標として、その葉面に現れる可視障害度から環境を

- 10 -

評価する方法がある。しかしながら,現段階では,可視障害度を定量的に評価することの困難さ, 指標植物の感受性の個体差,生育条件による障害発現状態の変動などかなりの問題点が残されてい る。環境評価のための植物指標の適性として,次の4点を満たすことが必要ではないかと考える。

1) 特定な環境変動に対する特異的な反応であること。

2) 環境変動に対して敏感に反応すること。

- 3) 環境変化と植物の反応との関係を数量的には握できること。
- 4) 長期間継続して反応し、環境変化の積算的効果を評価できること。

本研究では、比較的狭い地域あるいは局所的な環境を高精度に評価しうる植物指標として、再現性 のある定量的表現可能な生理的反応を指標とする方法、植物の葉の汚染ガス吸収・蓄積能に基づく 評価法および容易に育成可能な、個体差の少ない、高感受性の指標植物の開発をめざして研究を行 った。一方、広域にわたる環境評価法として、航空写真を利用したリモートセンシングがある。し かし、この方法は、まだ開発途上にあり、多くの問題点が未解決である。特に、大気汚染に対する 植物の反応を航空写真上から読みとる技術が確立されていない。そこで、本研究では大気汚染の植 物影響を評価し、なおかつ、その資料から大気汚染状態を評価しうる手法の開発をめざして、赤外 カラー写真を利用して植物の活性度と葉面光反射特性の変化に関する基礎資料の収集をはかった。

二酸化硫黄による生理・生化学活性の変化

大気汚染物質による植物の可視障害が現れる前に、汚染状況および植物への影響の程度を知ることは汚染の早期発見および対策上からも重要である。SO2の生理生化学レベルでの影響を研究している過程で、可視障害が現れる前にいくつかの生理生化学反応の変動が認められた。可視障害としてはクロロフィルの分解が最も典型的なもので、クロロフィルを定量することによって汚染状況をは握することも可能と思われる。このような色素分解が起こる前に、光合成電子伝達反応の光化学系IIの阻害が起こる(2,3,6,9,71,76,105)こと、また、クロロフィルから発せられるけい光の収率が減少する(72,本報告書II-6)ことが認められた。これらの活性は極めて再現性よく定量的に測定できる利点がある。また、低濃度のSO2暴露により、ポプラのスーパーオキシドジスムターゼ(SOD)の顕著な誘導が認められた(14,108,本報告書II-4)。低濃度SO2で数倍の活性増加が見られたことから、大気汚染の生化学的評価法としてはかなり有望と思われる。SO2暴露によって、場合によりアブサイシン酸(ABA)が増加したり(1)、エチレンおよびエタン生成が促進されるが、ABAやエチレンは他の環境要因でも著しく変動するため、エタンの方が評価のためには有望であるように思われる。電子伝達阻害、けい光収率減少、SOD活性増大、エタン生成促進なども、大気汚染あるいはSO2の有効な評価法となるためには、他の要因の影響を十分に検討する必要がある。

- 11 -

2. 二酸化硫黄に対する感受性イネ品種のスクリーニング

複合大気汚染を構成する特定の汚染ガスに特異的に反応する指標植物を検索し、その性質を調べ、 大気汚染環境を定量的に評価する手法の開発をめざし、 蘚苔類植物やイネ、アサガオなどの利用を 検討した。イネは遺伝的に系統化されており、日本各地の気候条件下で栽培され、しかもその方法 も比較的容易なことから、指標植物として最適とみなし、日本在来のイネの品種の中から感受性の 高い品種を選抜した。さらに、その種子を突然変異誘起剤で処理し、一段と高感受性品種を作成す ることにつとめた。

その一環として、当初、日本在来稲数百品種のO₃、SO₂およびNO₂に対する感受性を調査した (75、124、125)。その結果、SO₂およびO₃に対しては可視障害が非常に現れ易い品種が見出され たが、NO₂に対してはどの品種も抵抗性が強い傾向にあった。興味あることは、SO₂に弱い品種は 必ずしもO₃に対して同様でなく、逆にO₃に対して弱い品種は、必ずしもSO₂に対して弱くない品 種が存在することであった。これは、O₃障害とSO₂障害の機作は異なっていることを示している と同時に、特定の汚染ガスに特異的に反応する品種が存在することを示唆している。

次に、在来稲品種を突然変異誘起剤で処理して、更に大気汚染物質に感受性を示す突然変異出現 の可能性についてしらべた。その結果SO₂に対して可視障害が非常に発現しやすい、10倍程度の高 感受性系統を見出した。また、大気汚染ガス感受性を遺伝学でいう形質として取扱うことは興味あ ることである。在来稲でSO₂に対して非常に弱い系統L0 182に数種類の抵抗性品種を交配し、感 受性、のF₂における分離を調査した。その結果、3:1の分離を示す場合と、1:2:1に分離す る場合が認められた(125)。

今後は、高感受性系統が野外条件下でどのような反応を示すかを調べ、前述の指標植物としての 適性を満足するかどうかを検討する必要がある。日常生活において大気汚染環境のモニタリングと して、指標植物を利用する場合には、例えば自動給水装置のついた鉢植えの指標植物を配置して生 育させ、その植物の葉面に特徴的な可視障害が現れているかどうか観察する方法も利用できよう。

3. 植物の汚染ガス吸収能に基づく環境指標

a) SO₂汚染環境の評価について

二酸化硫黄を含む空気中におかれた植物の葉が二酸化硫黄を体内にとりこみ、その大部分を無機 態の硫酸塩の形で葉内に蓄積することが知られている(本報告書II-9参照)。この性質を利用し てSO₂大気汚染状態を推定する試みも二,三なされている。しかし、これまでの研究では、植物の ガス吸収とそれを左右する諸要因との関係を検討した知見がわずかである。植物のガス吸収能をも とにした環境指標を確立するためには、SO₂ドースとガス吸収速度との関係を明確にすべきである。

以上の点を考慮して、植物のガス吸収能およびそれに基づく環境評価法を検討した(本報告書Ⅱ -9,13,14参照)。植物の汚染ガス吸収能は、植物のエアーフィルターとしての利用を考える上に

- 12 -

基本的な資料となる。これについて、本文の第Ⅲ章に詳細に論じられているので、ここでは簡単に 述べるにとどめたい。

ヒマワリでは、SO₂ドース (ppm・d) が1~1.5 ppm・d当たりまで、葉中硫黄増加速度 (SO₂ 吸収速度) がSO₂ドースの増加とともにほぼ直線的に増大する (本報告書 II -9 参照)。その増加 速度は、6×10⁻⁵ モルSO₂/dm²葉面/ppm・dと計算された。例えば、大気中 SO₂濃度を 0.05 ppm とすると、ヒマワリのSO₂吸収速度は、3×10⁻⁶ mol SO₂/dm²葉面/dとなり、0.1 ppm SO₂では、6×10⁻⁶ mol SO₂/dm²/dとなる。しかし; この吸収速度を維持しうる期間は、0.05 ppm SO₂では20~30日間 (1~1.5 ppm・d = 0.05 ppm = 20~30d), 0.1 ppm では10~15日間 ということになる。一方、植物の汚染ガス吸収速度は葉の蒸散速度と密接な関係がある (本報告書 II -13, 15)。気孔開度を示す一つの指標である、単位飽差当たりの蒸散量に対する葉の単位汚染 ガス濃度当たりの汚染ガス吸収速度 (q/w) は植物種、光条件、ガス濃度に関係なく一定の値を とる。すなわち、NO₂に対して 1.4×10⁻³ mmHg・ppm⁻¹、O₃: 1.5×10⁻³、SO₂: 1.8×10⁻³ であった。したがって植物のガス吸収速度 (F、mgガス/dm²葉面/hr) は次式で算出される。

$$F = T \, \mathbf{r} \times \mathbf{q} \,/\, \mathbf{w}' \times C \tag{1}$$

ここで、*T*_rは葉の蒸散速度(mgH₂O/dm²葉面/hr/mmHg)、*C*は空気中の汚染ガス濃度 (ppm)である。植物の蒸散量は、照度、気温、湿度などによって変化するが、気孔開度は主とし て照度によって支配されている。ヒマワリのSO₂吸収速度を調べた結果では気温20~30℃、湿度60 ~80%の条件下では主として照度によって律速されていた(本報告書 II – 9)。それゆえ、この範 囲の気温、湿度では気孔開度は変化していないと思われる。一方、気孔開度は汚染ガス濃度の影響 をうける(本報告書 II – 13, 14)。しかし、SO₂が0.1 ppm まで、ヒマワリ葉のガス吸収速度とガ ス濃度との間に直線関係が成立する(本報告書 II – 9)ので、この程度のガス濃度では気孔開度は ほとんど影響をうけないものとおもわれる。したがって、比較的低濃度のSO₂環境下ではある一定 の気象条件下では*T*_r = 一定とみなせる。それゆえ、葉中硫黄増加量を測定することにより、その 値をその気象環境下における植物の蒸散速度 *T*_r および *q*/*w*'で割れば、植物の生育していた環境 大気中のSO₂濃度を推定できることになろう。

以上に述べた方法とは別に、野外において葉中硫黄増加量の経時変化を測定した結果からSO₂大 気汚染度を推定するとすれば、次の手順をとればよいであろう。すなわち、ある一定のSO₂汚染環 境下で、ある特定な植物種の葉中硫黄増加量を暴露期間を変えて測定し、その増加速度を算出する。 この値と空気中SO₂濃度との間の比例係数を求める。次にSO₂汚染データの欠落している地点で、 同一植物を育成し、その葉中硫黄増加速度を求め、その値を前述の比例係数で割って、その地点の SO₂汚染度を推定する。 b) NO2汚染環境の評価について

植物による二酸化窒素の吸収については、本報告書 II-5にみられるように、低濃度NO₂の場合、 植物体内に吸収されたNO₂が無機態の形で葉に集積されることは少なく、すみやかに有機態に変換 される。したがって、SO₂に暴露されたとき葉中硫黄含有量が増加するように、NO₂暴露された葉 の窒素含有量が増加しうるということは期待できない。一方、植物体が吸収したNO₂の全量を算出 してNO₂汚染度との関係を求める方法も考えられる。植物が吸収したNO₂量を推定する方法には、 本報告書 II-5 にまとめられているように、4 種類の方法がある。すなわち、

一定のNO2濃度に保たれたグロースキャビネットに植物を設置したときのキャビネット内のNO2濃度の減少量から計算する。

 ロ) NO₂に暴露された植物の窒素含量と対照植物のそれとの差し引で窒素の増加量を算出する(80)。
 ハ) 植物に吸収された窒素のうち、NO₂以外の起源の窒素をアイソトープ法で標識して推定し、全 窒素量からその量を差し引き、残りをNO₂起源の窒素として計算(89,116)する。

ニ) $NO_2 - N & E r / 15 N & C \mit R \mit$

最後に、植物体に吸収された NO₂が代謝され、特殊な化合物が形成される可能性がある。例えば、NO₂に暴露されたクロマツの葉やウメノキゴケで、アンモニヤ態+アミノ態の窒素量(A)と亜硝酸態+硝酸態の窒素量(B)とに分けて分析した結果、B / A 比と NO_x汚染環境との間の関連性を暗示する結果がえられている(42)。特異な代謝産物を指標とした NO₂汚染指標の開発が NO₂環境評価にとって不可欠ではないかと思われる。

4. 葉面の光反射特性を利用した広域環境評価法の開発

ヒマワリのSO2暴露による急性障害に伴って、葉面光反射特性が変化する。被暴葉と正常葉との 差スペクトルのパターンの経時変化を調べてみると、ある時期ではクロロフィルが、他の時期では カロチノイドが光反射スペクトルを変化させる主役を演じていることが推測できた(74)。自然環 境下での低濃度SO2による障害発現のメカニズムが急性障害発現の場合と基本的には同じであると 考えられるので、クロロフィルの反射特性を示す400 nm あるいは700 nmの反射量とカロチノイド の反射特性を示す530~550 nmの反射量との比を、ある時間的間隔を置いて測定すれば、植物の 樹種間差なく、汚染度を評価することが可能ではないかと推察される。

クスノキ,サンゴジュ,キョウチクトウについて、個葉の光反射スペクトルと植物の活力度の一 指標と考えられる葉のクロロフィル含量との関係を調べた(本報告書Ⅱ-11参照)。その結果 800 nmと 630 nm における葉面光反射率の比(R 800 / R 630)とクロロフィル量との間に正の相関関 係が認められた。この直線関係は葉の水分量が顕著に低下してもほとんど変化しなかった。葉面を 撮影した赤外カラー写真(ボジフィルム)で 620 nm (R) と 550 nm (G)の透過光量を測定し、 その値の比(R / G)とクロロフィル含量との関係を調べた結果,推定標準誤差約10%の精度で葉 のクロロフィル含量を推定できた。葉のクロロフィル含量は、植物の光合成活性と密接な関係があ る。大気汚染地域に生育する植物では葉中クロロフィル量が健全葉に比較して減少しているので、 赤外カラー写真によって葉のクロロフィル含量を推定し、植物の生理的活性度の広域的変化を評価 できるものと考えられる。さらに、植物の活性度が大気汚染ガス暴露によってどのように変化する かを実験的に明らかにすれば、赤外カラー航空写真から判読された植物の活性度の変化をもとに、 被験植物の生育している地域の大気汚染度の推定も可能ではないかと思われる。リモートセンシン グによる環境評価法の確立は今後の重要な研究課題である。

Ⅲ、植物の大気汚染環境浄化機能について

植物が大気汚染ガスに暴露されると、体内に吸収される汚染ガスにより、葉面に可視障害が発現 したり、生理的機能が障害を受けたりすることは、古くThomasら(1937)の先駆的な研究業績 によって、よく認められている。したがって、植物それ自体は大気汚染ガスを体内に取込むために 被害をうけながらも、大気汚染環境を改善しているといえる。しかし、汚染大気に対する抵抗性の 低い植物では、顕著な障害をうけて生活力が減退して枯死することもありうる。街路樹や緑地帯の 植物をエアーフィルターとして利用する場合には、汚染ガス吸収能が高く、しかも障害をうけにく い植物を選定することがのぞましい。本研究では、植物の汚染ガス吸収能を律速する要因や、植物 の種類によるガス吸収速度の差異を検討するとともに、緑地帯のように植物が集団の状態で生活し ているときのガス吸収能をヒマワリ個体群を用いて検討し、植物個体群の大気浄化機能を検討した。

1. 植物個体による大気汚染ガスの吸収

a) ガス拡散理論に基づく植物のガス吸収速度の測定

植物は大気中の二酸化炭素(CO₂)を葉から取込み、炭水化物を合成している。このとき葉の CO₂吸収速度は、大気および植物のガス吸収面でのCO₂濃度とその間のガス拡散抵抗によって支配 されていることが生産生態学や農業気象学の分野で解明されてきた。そこで植物による大気汚染ガ スの吸収について、CO₂吸収の場合と同様な手法を適用して、汚染ガス吸収速度を支配している要 因を検討した。得られた結果の代表例として、ヒマワリによるNO₂の吸収について述べると、単位

濃度当たりのNO2吸収速度とガス拡散に関する葉面境界層抵抗と気孔抵抗との合計値に対応する単 位水蒸気飽差当たり蒸散速度との間に直線的関係が認められた(102)。これは一定濃度の汚染ガ スを一定流量でガスキャビネットに供給し、キャビネット内のガス濃度が十分定常になった後、10 個体のヒマワリを搬入し、その後のキャビネット内のガス濃度変化から単位時間当たりガス収着速 度(表面における吸着と吸収の合計を意味する)を測定したものである。このような方法で測定し たガス収着量のうち、大部分は体内に吸収されているとみなせるので(後述)、「収着」という言葉 の代わりに一般に呼びならわされている「吸収」を使うことにする。単位水蒸気飽差あたり蒸散速 度に対する汚染ガス吸収速度の比を、暴露した汚染ガス濃度に対してプロットした結果、直線関係 が得られた。この直線関係はNO2ばかりでなくSO2, O3などの単一ガスやNO2+O3混合ガスの 場合でも認められた(99,57,102)。ヒマワリについてこの直線のこう配(q/w',単位はmmHg・ ppm⁻¹)を測定した結果, NO₂に対して 1.4×10⁻³, O₃: 1.5×10⁻³, SO₂: 1.8×10⁻³ となり, NO2やO3に対してほぼ同様な値がえられたが、SO2に対して若干高かった。これらの値の差異は、 主としてそれぞれのガスー空気間の相互分子拡散係数の差異に由来するといえるようである(相互 分子拡散係数はNO₂>O₃>SO₂)(102)。実際に上記の直線のこう配の値を吸収されるガス分子 数に換算すると、SO2吸収能に対する相対値は、NO2 1.08 倍、O3 1.11 倍と、SO2の値よりいず れも高い値となり,分子拡散係数の低い SO。分子がNO。分子に比較して植物体内へ吸収されにく いことを示している。NO₂の値については、ヒマ、アサガオ、キュウリ、トマト、トウモロコシに ついてほぼ同様な値がえられている(36)。

植物の蒸散速度やCO₂吸収速度など,水蒸気やCO₂のガス拡散速度の計算には、フイックの拡散 の法則をもとにして、ガス濃度のこう配とガス拡散経路における拡散抵抗よりなるモデル式が適用 されうる。植物による汚染ガスの吸収についても同様なモデル式を適用して検討した(99)。この 場合、ガス濃度のこう配は大気中ガス濃度と葉の気孔底界面における濃度との差とし、拡散抵抗は 葉面境界層抵抗と気孔抵抗とよりなるとした。上に述べたNO₂、O₃、SO₂における*q/w*の値は、 *q/w*を求めるモデル式において、気孔底界面におけるガス濃度を0と仮定して得られる理論値 と一致していた(99,102)。このことはNO₂、O₃、SO₂については、体内に吸収されたガスが速 やかに代謝されたり、転流されたりするために気孔底界面におけるガス濃度が0となり、ガス吸収 速度が気孔抵抗を含めた気相中での拡散過程にのみ支配されることを示している。しかし、NO ガ スについては、気孔底界面におけるガス濃度が葉の周辺空気のガス濃度の90%以上と推定された (66)。このことは植物体内に吸収された NOを処理する代謝機能が十分作用せず、植物の NO 吸収 速度が気相中でのガス拡散過程に加えて、植物の NO 代謝機能の有無に支配されることを示してい る。

以上に述べたように、植物の汚染ガス吸収速度は、葉の蒸散速度と密接な関係がある。それゆえ、 ガス吸収能が未知な植物の蒸散速度を測定し、本文のII-3で述べた直線のこう配(q/w)と(1)

- 16 -

式を用いて、その植物の汚染ガス吸収速度を推定できる。植物の蒸散量は葉面の気孔開度を支配する照度、気温、湿度などによって著しく変化するとともに、葉の生理的状態によっても変化する。 室内実験で、照度33 klx、気温30°C、湿度50%、NO₂約1 ppm で2 時間暴露したときにえられた蒸 散速度(mgH₂O/dm²/hr/mmHg飽差)は、ヒマワリ 144、トマト90、ヒマ92、アサガオ70、 キュウリ63、トウモロコシ53で、ほぼ50~150の範囲であった。そこで、植物の蒸散速度を 100 mgH₂O/dm²/hr/mmHgと仮定して、東京の日中における平均的気象条件下における植物葉 面の汚染ガス吸収速度(F, mgガス/dm²葉面/hr)を(1)式から算出してみると、0.1 ppm SO₂の場合

> $F_{so_2} = 1.8 \times 10^{-3} \times 0.1 \times 100$ = 1.8 × 10⁻² mg SO₂ / dm² / hr

0.1 ppm NO2の場合

 $F_{NO2} = 1.4 \times 10^{-3} \times 0.1 \times 100$ = 1.4 × 10⁻² mg NO₂ / dm² / hr

0.1 ppm O₃の場合

 $F_{03} = 1.5 \times 10^{-3} \times 0.1 \times 100$ = 1.5 × 10⁻² mgO₃/dm²/hr となる。

b) 汚染ガスドースとガス吸収能との関係

前節で述べた方法にしたがって、汚染ガス濃度と暴露時間を変えて、植物によるガス吸収量を測定し、汚染ガスドース (ppm・hr) との関係を検討した。SO₂では、2ppm・hrのドースまでSO₂ 濃度に無関係に同一の直線関係がえられた (0.32mgSO₂/dm²/hr/ppmSO₂)。しかし、それ 以上にドースが増加するにつれて、高濃度暴露の場合、吸収量が飽和する傾向を示した。このよう な関係は、NO₂やO₃の場合にもみられる。この変化は高濃度暴露では、暴露時間の経過とともに 気孔開度が減少し、葉面のガス拡散抵抗が増大するためである。

上に述べた関係はいずれも短時間暴露の実験で得られた結果である。そこで、その結果をSO₂に 関して比較的長時間の連続暴露実験によって得られた結果と比較検討した(本報告書 II - 9 参照)。 自然光型制御温室(昼/夜温25/20°C、湿度75%)で4~7週間育成したヒマワリを人工光型グロー スキャビネットに設置し、14時間明期(照度約30 klx、25°C)/10時間暗期(20°C)、湿度75%一定 として、SO₂濃度を0.05 ppmで15日間、0.1 ppmで11日間、0.3 ppmで10日間、0.5 ppmで6日 間暴露した。それらの暴露期間中各4回、暴露植物を各10個体サンプリングして、葉中硫黄含有量

- 17 -

を測定し、対照植物の値との差から葉中硫黄増加量を求めた。その結果、0.5 ppmでは、暴露開始 後8日ころからほぼ飽和した値を示しているが、0.3 ppmと0.5 ppmでは、暴露開始直後から葉の SO2取込み量が急激に増加し、その後次第に飽和値に近づく傾向を示した。

一方,葉中硫黄増加量とSO₂ドース(ppm×day)との関係を求めた結果,SO₂ドースが0.5 ppm・d 付近までは、葉のSO₂取り込み量がSO₂濃度に無関係にほぼ直線的に増加した(そのこう 配は1mgS/dm²/0.5 ppm・d = 4 mg SO₂/dm²/d/ppm SO₂であった)。このことは、0.5 ppm SO₂暴露では1日間、0.3 ppmでは1.7日間、0.1 ppmでは5日間、葉のSO₂取込み速度が 一定で、しかも、その値は暴露したSO₂濃度に比例して増加することを示す。

植物による SO₂の吸収は,暗所では 0 に近いので,上に述べた 4 mg SO₂/dm²/d/ppm SO₂ を14時間明期中の値と仮定すると、単位時間暴露実験で得られた SO₂収着速度の値(0.32 mg SO₂ / dm² / hr / ppm SO₂) と近似している。したがって、前節で述べた方法で 測定された吸収速度と 葉中硫黄増加量とは、植物の葉の成長が無視し得る期間内においては、ほぼ等しいといえよう。

c) 汚染ガス吸収速度の種間差異

前述のように、植物の汚染ガス吸収速度が葉面におけるガス拡散抵抗(葉面境界層抵抗と気孔抵抗)によって主として律速される。実際に数種植物について、一定濃度のNO2をガス暴露実験用キャビネット内に供給し、キャビネット内のガス濃度が定常値に達した後、実験植物を搬入し、その後のキャビネット内のガス濃度変化から植物のガス吸収速度を測定し、単位ガス濃度当たりのNO2 吸収速度に換算した値を、短水蒸気飽差当たりの蒸散速度に対してプロットした結果、ほぼ同一の 回帰直線上に位置付けられた(37,40)。このことは、植物の種類によるNO2吸収速度の差異は、 同一環境条件下における植物葉面境界層抵抗と気孔抵抗の差異に基づくといえる。

NO₂吸収速度(mg NO₂/dm²/hr/ppm NO₂)の種間差異については、照度33 klx, 30 °C, 湿度50%,約1ppm NO₂で2時間暴露で測定された値は、ヒマワリ0.29,トマト0.17,ヒマ0.12, アサガオ0.10,キュウリ0.08,トウモロコシ0.07 であった。ヒマワリのNO₂吸収速度は、¹⁵Nを 利用した2週間連続暴露実験でも同様な値が得られている(116)。植物体によるNO₂吸収量を対 照植物の体内窒素量との差し引きで求めた結果、1.0ppm NO₂で14日間(14時間日長)暴露した場 合,ホウレンソウで2.6 mg NO₂/dm²葉面/d/ppm NO₂,同様にアサガオ(品種スカーレット), トウモロコシでそれぞれ0.9 と 0.3 であった(80)。また、木本植物では、1 ppm NO₂で30日間暴 露のときのNO₂吸収速度(mg NO₂/dm²葉面/d/ppm NO₂)は、サクラ1.9、トウカエデ 0.6、 アメリカスズカケノキ 0.2、キョウチクトウ 0.05 であった(85)。これらの結果を比較すると、木 本植物の方が草本植物よりNO₂吸収能が低いようである。

一方、ヒマワリでは、SO₂やO₃の吸収速度もNO₂吸収速度と同様、葉面境界層抵抗や気孔抵抗の指標である蒸散速度と高い相関関係があった。それゆえ、上に述べた各種植物についても、SO₂

- 18 -

およびO₃吸収速度と蒸散速度との間には、NO₂の場合と同様の関係が成立するのではないかと推 察される。

2. ヒマワリ個体群による SO₂の吸収

これまでは植物個体を対象として、その葉面積当たりの汚染ガス吸収能について述べた。しかし、 野外条件下では、街路樹や公園樹木のように孤立して生育するばかりでなく、野生植物は一般に集 団を構成して生活している場合が多い。そこで、植物が集団を構成した時、どの程度の汚染ガスを 吸収しうるかを、ヒマワリ個体群を用いて検討した。植物のガス吸収能は、気温20~30℃、湿度60 ~80%の条件下では、主として照度によって律速されることがヒマワリ個体を使った実験で明らか となった(本報告書Ⅱ-9参照)。そこで、ヒマワリ個体群のSO2吸収能についても、光条件と SO2濃度との関係を検討した(本報告書Ⅱ-10参照)。

自然光型制御温室(昼/夜温:25/20℃,相対湿度:70%)で育成した鉢植えのヒマワリを,2 日間SO₂ガス暴露処理(濃度は0.1~0.5 ppmまで0.1 ppmきざみで5段階)した。暴露実験用 グロースキャビネットと対照実験用グロースキャビネットに、それぞれ56個体の植物を方形(茎間 22×25cm)に配置した。暴露処理終了後、ヒマワリ個体群の内部に位置する24個体をサンプリング し、床面より20 cmごとに、植物を層別に刈取った。各層の葉面積および器官別の乾重量および硫 黄含有量を測定した。暴露処理区と対照区の値の差から硫黄増加量を求めた。その結果,葉中硫黄 含有量は、SO2暴露処理によって植物集団の各層で増加するが、その程度は上層に位置する葉ほど 高く、しかも暴露時のSO2濃度の増加とともにその値が大きくなる傾向がみられた。そこで、各層 の葉のうけている照度と葉中硫黄増加量との関係を整理し、この結果をもとに、ヒマワリ個体群の 単位土地面積当たりに吸収されるSO2量を求める数式を導いた。この数学モデルを用いて、個体群 上の照度,葉面積指数(個体群の全葉面積が占有土地面積の何倍に相当するかを示す値), SO2 濃 度を種々に変化させて,単位土地面積当たりのSO₂吸収量の変化を算出した。通常のヒマワリ個体 群では、葉面積指数(LAI)は,4程度である。LAI =4では,単位土地面積当たりの SO₂吸収 速度は、いずれの照度でもSO₂濃度が0.2 ppm付近まではほぼ直線的に増加する。また、日中の平 均照度が40 klx(東京の夏季における晴天日の日平均照度に相当)付近で、SO2吸収能がほぼ飽和 する。例えばSO2濃度 0.1 ppm では約 0.9 mg S /dm²地面/d となる。 SO2濃度 が 0.05 ppm と なれば、SO2吸収速度はこの値の½となることを意味している。

以上の結果をもとに、ヒマワリ個体群のSO₂除去機能を検討してみよう。SO₂濃度0.05 ppmのときヒマワリ個体群(LAI = 4)のSO₂吸収速度は約0.5 mgS/dm²地面/d = 100mgSO₂/m²地面/dとなる。0.05 ppmSO₂を含む空気1m³中のSO₂量は0.05×10⁻⁶×10³1SO₂/m³ = 0.143 mgSO₂/m³である。前述のヒマワリ個体群による1日当たり地面1m²当たりのSO₂吸収量(100 mgSO₂)を含む空気柱(底面積1m²)の高さは、100÷0.143 = 700mとなる。このことは、

ヒマワリ個体群では、自己の占有している地表面上 700 m までの空気中に含まれる SO₂量を 1日が かりで吸収しうる。

一方、ヒマワリ葉による NO₂の吸収能は前に述べたように、SO₂吸収能の 1.4/1.8 = 0.8 倍である。そこで、ヒマワリ群落(LAI = 4)のNO₂吸収能をNO₂の空気中濃度が 0.05 ppmのとき、SO₂吸収能の値をもとに $100 \times 0.8 = 80$ mg NO₂/m²地面/dと仮定してもよいだろう。昭和53年版環境白書によると、都市域における大気中 NO₂濃度は約 0.03 ppm である。植物の NO₂ガス吸収速度はガス濃度と比例関係にある(102)ので、0.03 ppm NO₂におけるヒマワリ個体群の NO₂吸収速度は

 $80 \times \frac{0.03}{0.05} = 48 \text{ mg NO}_2 / \text{m}^2$ 地面/d

となる。このことは都市域に生育する1haのヒマワリ個体群は1日に 480gのNO2を吸収しうるこ とを意味している。昭和53年版建設白書によると、昭和52年度の一般国道における午前7時〜午後 7時までの12時間の自動車通行量は6048台となっている(同白書資58より)。そこで、1日当たり の通行量を6000台と仮定しよう。乗用自動車のNOx排出量に関する53年度規制では 0.25g NOx/ kmとなっている。そこで、一般国道における1日の自動車通行量6000台をすべて乗用自動車と仮 定すると、1kmの道路を通行する際に排出されるNOx量を53年規制に基づいて算出すると、6000 × 0.25 = 1500g NO_x/d/kmとなる。自動車から排出される NO_xの大部分は NO であるが,空気 中に放出されたあと次第に酸化されてNO₂に変わることも知られている。そこで、自動車から排出 されるNO_xの全量をNO₂とみなして,排出全量をヒマワリ群落に吸収させるとすれば,1500÷48 ×10³ = 31250m²のヒマワリ群落を必要とする。この面積は、道路の両側に幅15m強の葉面積指数 が4(全葉面積が群落の占有している地表面積の4倍あること)のヒマワリ群落によるグリーンベ ルトに相当する。実際には、夜間の自動車通行台数が無視されており、しかも通行する自動車には、 乗用自動車以外にディーゼルエンジンを使った貨物自動車やバスなどが含まれている。そのために 上記の計算に用いたNOx排出量の推定値は過小評価されていると思われる。一方、自動車から排出 されたNOがNO2に変化するのに要する時間が問題となる。植物のNO吸収能はNO2のそれと比較 して著しく低い(66)ので,NO→NO₂への変換速度が植物のNOェ除去機能に影響する。また,排 出されたNO_xの一部が風によって道路から吹き払われる量もかなり多いとおもわれるので、実際に エアーフィルターとしてのグリーンベルトの規模を検討する場合には,上に述べた諸要因を考慮す る必要があろう。

以上に述べたように、植物集団は比較的多量の汚染ガスを吸収する性質をもつので、ガス吸収能 が高く、しかも汚染ガスを吸収しても植物の生活に障害を受けにくく、新葉を展開する期間の長い 植物を利用すれば、エアーフィルターとしての効果はかなり大きいものといえよう。今後、大気汚 染環境浄化に有効な植物種の選定およびその植物群落を用いたモデル実験による解析を通じて、街 路樹や緑地帯の最適配置といった大気汚染環境浄化のための環境保全計画への適用を考えてみたい。

ガス暴露実験技術の開発

本研究所に当初設置された大気汚染ガス暴露実験施設はSO₂,NO₂などの単一ガス暴露実験用で あったが、その一部の施設はSO₂,NO₂、O₃、CO₂、炭化水素の複合ガス暴露実験用に改造され た。これらの実験装置では、これまで述べてきた大気汚染の植物影響に関する実験と並行して、ガ スキャビネット内での単一汚染ガスの挙動あるいは、その濃度制御技術の改良、さらに2種以上の 汚染ガスの混合によって生ずる反応生成物の問題について検討を加えた。

一方,これまで生物環境制御施設で使用される実験材料植物の制御環境下における育成方法が確 立されていなかった。そこで実験目的に応じた材料植物の供給を可能とすべく,各種植物の生長に 対する最適温度域の検討や温度条件に対応した生育制御方法の確立をめざした。

1. ガスキャビネットにおけるガス濃度制御に関する問題点

本研究所に設置されている大気汚染の植物影響調査のためのガスキャビネット(96,97,103) は、光、温湿度および風速等、植物の生長を支配する環境要因が制御されるとともに、各種の大気 汚染ガスがそれぞれ一定濃度および任意のプログラムコントロールされた濃度条件に維持される。 また、キャビネット内で二次的に生成される反応生成物を除去するために、換気回数を280回/hr まで高められるように設計されている。ガスキャビネットでは内部での汚染ガスの反応等による組 成変化あるいは、反応生成物の挙動等をは握して実験結果の信頼性を高める必要がある。しかし、 これまで報告されている植物のガス暴露実験では、このような観点からの検討はほとんどなされて いない。そこで本研究では、まずはじめに、NO₂の濃度を一定に制御したキャビネット内部で光化 学反応により発生する NO の量を調べた(96)。その結果、キャビネットの換気量が10回程度の場 合、蓄積する NO の量はNO₂(0.3 ppmの場合)の12%程度となるが 280回/hrの換気を行うこと により1%以下になることが明らかにされた。また、この実験結果は NO 発生量を一定値とした完 全混合モデルを用いたシミュレーション値とよく一致した。

次に、NO₂とO₃の混合暴露を行う場合、反応により生じる高次の窒素酸化物が、ケミルミネッセンス方式のNO_x分析計(Thermo Electron Corporation, Model 14 D)にどのように影響するかについて検討した(本報告書 II – 19)。NO_x分析計のコンバーターによる変換特性を調べた結果、NO₂とO₃の反応により生成したNO_xはSUS, Mo.およびCのいずれのコンバーターでもNOに変換された。反応で生成したNO_xはテフロン管に収着され易いことが明らかとなった。これらの結果からサンプリング配管を長くすれば、キャビネット内での反応で二次的に生成したNO_xはテフロン管で除去されるが、NO_x分析計をNO₂センサーとして使用する場合、この点を注意する必要がある。また、これらの高次酸化物は、キャビネットの換気数を増すことによりキャビネット外部へ排

- 21 - .

出することが出来る。

次に、SO₂の濃度を定値に制御する場合に起こる問題点について調べた(96)。高温高湿度条件 において植物にSO₂を暴露する場合、水蒸気にSO₂が取込まれ、硫酸ミストが生成される可能性が 考えられた。冷却除湿コイルを使用せずに電気ヒーターと加湿器のみで温湿度を制御した場合、キ ャビネット内部のSO₂濃度と湿度の関係を調査した結果、50~80%RHの範囲では、硫酸ミストの 発生は無視できると判断された。高湿度の場合または冷却除湿コイルを作動させた場合には、キャ ビネット内でSO₂が消失するため、一定のSO₂濃度を維持させるために大量のSO₂をキャビネット 内に導入せねばならない。このような場合のSO₂の消失は、キャビネット内壁または配管内に結露 した水や冷却除湿コイル表面の水膜に溶解し、系外へ排出されるためと考えられた。これらの現象 は、SO₂濃度制御の外乱として作用する。

次に、キャビネットに取入れる外気は、活性炭フィルターおよび二酸化マンガンフィルターによ り浄化されている。しかし、これらのフィルターの炭化水素除去能力について懸念される点が多い ので、外気とキャビネット内空気中に含まれる種々の低級鎖状炭化水素を分析し、その濃度を求め た(本報告書Ⅱ-18)。その結果、これらのフィルターは炭化水素除去能力がないことが確認され た。しかし、現状では、最も高濃度で存在するエチレンについても10ppb前後の濃度であり、NO₂ +O₃による混合ガス暴露実験を行う場合に生ずる光化学反応の基質として考慮する必要はないと 考えられた。しかし、エチレンについては、極微量でそれ自体植物の異常生長の原因になるので、 今後その濃度については充分モニターする必要があるだろう。

2. ファイトトロンにおける実験植物の育成管理について

この特別研究において、数十種類の植物をファイトトロン自然光室で育成し、供給した。

その過程で、種々の問題に出合った。大気汚染ガス暴露の影響を調査する場合に、野外の植物と 実験室で育成した植物では影響が異なる。同一品種であっても影響の個体差が非常に大きい場合が ある。また同一品種が生育時期により影響が出現したり、しなかったりするということなどである。 これらの問題は実験結果の再現性をなくす原因となり、また結果の解釈をあいまいなものにする。 そこでまず最初に、ヒマワリのように同一品種内で形質的に大きな差異がある植物種については、 育種的操作によって均質な実験材料植物の育成を試みた。同時に、人工環境下における植物の生育 動態に及ぼす複合環境要因の影響を解析した(100,本報告書Ⅱ-20,Ⅳ-1)。

光強度,相対湿度,および風速等の環境要因を一定条件に維持した人工環境下で,ヒマワリの生 長に及ぼす温度の影響を調べた(52,100)。乾物生長,伸長生長は日中,夜間を通じて25℃~30℃ の場合に極大値をとり,葉数や花蕾の分化に対しては30℃~35℃で極大値を示した。20/15℃(昼 温/夜温)で生育させた場合は,葉数が少なくなり,一枚の葉面積は増加するが,節間が短かくな り全体として矮小化し,しかも、乾物生長量が減少する。この原因の一つは生育初期段階での低い 相対生長率にあることが明らかになった。この知見をもとに人工光室で実験植物を育成する際の温 度条件を設定している。今後の問題として,環境要因により生育状態を異にする植物の組織学的差 異を検討することにより,汚染ガス暴露の影響の変異を調査する必要がある。

次に、ファイトトロン温室におけるヒマワリ生長の季節変動を調査した(59,64,104,本報告 書Ⅱ-20)。その結果、温湿度を一定条件に維持した場合、同一の生育期間でも夏期では冬期の4 倍以上の乾物生長量を示した。生育初期では、放射量の増加に伴い相対生長率が顕著に大きくなる が、生育中・後期では放射量に無関係にほぼ一定値となった。乾物生長量の増分の各器官への分配 率は、生育初期では放射量の増加に伴い同化器官への分配率が高くなるが、生育中・後期では逆に 非同化器官、特に茎への分配率が高くなった。これらの結果から、乾物生長に対する放射量の影響 は、生育初期に大きく、高受光量の場合には、相対生長率が高くなると共に葉の形成を促進し、生 育中・後期の乾物生産量に大きく影響することが明らかになった。

また放射量と植物の乾物生長との関係では、自然光室における光合成有効波長域におけるエネル ギー量と乾物生長量との間に直線関係が成立した。さらに、陽光ランプによる人工光の場合でも、 上述と同一の直線の延長線上に位置することが認められた。

一方,植物の生長は土壌環境により大きな影響をうけるので,人工培土を用いて施肥条件,潅水 条件等を一定として実験植物を栽培した(本報告書Ⅳ-1)。今後も各種の実験植物について生育 に対する最適条件を求め、大気汚染ガス暴露実験における材料植物の不均一性に由来する実験結果 のばらつきが起こらないように努める。

本文をまとめるに当たり、生物環境部生理生化学研究室近藤矩朗室長に第1, II章の一部を,技 術部生物施設管理室相賀一郎室長に第II章の一部と第IV章を執筆していただいた。

終わりに当たり、本特別研究を推進する上に多くの大学関係者,試験研究機関の研究者のかたが たの御協力をいただいた。ここに記して深く感謝の意を表する次第である。

研究組織

1. 研究担当者

- 1. 生物環境部 菅原 淳
 - 生物環境部 生理生化学研究室

近藤矩朗・田中 浄・島崎研一郎・榊 剛

生物環境部 陸生生物生態研究室

戸塚 績・古川昭雄・米山忠克・可知直毅・名取俊樹・清水英幸

2. 技術部 生物施設管理室

相賀一郎・大政謙次・安保文彰・藤沼康実・松本 茂・町田 孝

2. 研究協力者

- 1. 浅田浩二(京都大学食糧科学研究所; 611 宇治市五ヶ庄)
- 2. 船田 周・橋本 康 (愛媛大学農学部; 790松山市樽味3-5-7)
- 3. 岩城英夫・藤伊 正・小幡浜子・丸田一成(筑波大学生物科学系; 305 新治郡桜村)
- 4. 秋山洋子・磯田 統・加地正和(筑波大学環境科学研究科; 305新治郡桜村)
- 5. 小林善親(理化学研究所; 351 埼玉県和光市広沢, 現職: 鹿児島大学)
- 6. 西村光雄(九州大学理学部;812福岡市東区箱崎6-10-1)
- 7. 野本宣夫・荒川市郎(茨城大学理学部(農学部); 310水戸市渡里町)
- 8. 大村 武·奥 達雄·佐藤 光 (九州大学農学部;812福岡市東区箱崎)
- 白鳥孝治*・松岡義浩・森川昌記・高崎 強・松丸恒夫(千葉県農業試験場公害研究室; 280-02千葉市大膳野町,*現職:千葉県公害研究所)
- 10. 篠崎光夫(神奈川県公害センター大気科; 254平塚市豊原町2-14)
- 11. 滝本道明・岡田光正・内田節子・伊藤久仁子(東邦大学理学部; 274船橋市三山町 542)
- 12. 辰己修三·村上仁士(筑波大学農林学系; 305新治郡桜村)
- 田崎忠良*・牛島忠広・佐藤秋生**(東京農工大学農学部;183府中市幸町、*現在、東 邦大学理学部、**現在、電力中央研究所 生物環境技術研究所)
- 14. 矢吹万寿·青木正敏(大阪府立大学農学部;591堺市百舌鳥梅町)
- 15. 矢崎仁也・石塚茂樹・橋本 明・早川直水(日大農獣医学部;154世田谷区下馬)
- 16. 山田晃弘·藤原 誠(東京大学教養学部;153 目黒区駒場)
- 17. 山本幸男・穂積和夫・笹川英夫・小池敦夫(名古屋大学農学部;464名古屋市千種区不老 町)

研究発表

(講 演)

- (1)近藤矩朗・菅原 淳:大気汚染ガス暴露による植物の葉中のアブサイシン酸量の変動.日本
 生物環境調節学会,松江. (51.10)
- (2) 島崎研一郎・菅原 淳:光合成電子伝達反応におよぼす亜硫酸ガスの影響。日本生物環境調 節学会.松江. (51, 10)
- (3) 菅原 淳・近藤矩朗・島崎研一郎:亜硫酸ガスの植物影響に関する生理生化学的研究.国立 公害研究所大型研究施設竣工記念講演会およびシンポジウム,筑波.(52.2)
- (4)近藤矩朗・菅原 淳:亜硫酸ガス暴露による植物の蒸散変化とアブサイシン酸、日本植物生
 理学会、大阪、(52.4)
- (5) 島崎研一郎・菅原 淳: SO2の葉緑体に及ぼす影響. 日本植物生理学会, 大阪. (52.4)

- (6) 島崎研一郎・菅原 淳: SO2の光合成色素と電子伝達におよぼす影響,日本植物学会,福岡.(52.10)
- (7) 菅原 淳・近藤矩朗・島崎研一郎:二酸化イオウに対する植物の抵抗性と植物影響の作用機 序について、日本生物環境調節学会、筑波. (52.10)
- (8)近藤矩朗・菅原 淳:植物のSO₂に対する抵抗性とアブサイシン酸との関連について、大気 汚染研究全国協議会大会,福岡. (52.11)
- (9) 島崎研一郎・菅原 淳:植物のSO₂による可視障害の発現と光合成電子伝達反応の阻害につ いて、大気汚染研究全国協議会大会,福岡. (52.11)
- (10) 島崎研一郎・菅原 淳: SO2暴露葉から単離した葉緑体の電子伝達反応の阻害部位、日本植物学会第43回会, 千葉.
 (53.9)
- (11) 島崎研一郎・榊 剛・菅原 淳: SO₂暴露による光合成色素の分解について. 日本植物学 会第43回大会,千葉. (53.9)
- (12)近藤矩朗・秋山洋子・菅原 淳: SO₂ガスに対する植物の抵抗性に関する研究 亜硫酸酸 化活性について、日本生物環境調節学会、香川. (53.10)
- (13) 菅原 淳・内田節子・滝本道明:水溶性クロロフィル蛋白の光転換反応に及ぼす亜硫酸イオンの影響、日本植物生理学会、名古屋、(54.4)
- (14) 田中 净・菅原 淳: SO₂毒性防御へのスーパーオキシドジスムターゼの関与. 日本植物生
 理学会,名古屋. (54.4)^{*}
- (15) 近藤矩朗: SO2毒性に対する植物の防御機構. 国立公害研究所研究発表会, 筑波. (54.5)
- (16) 榊 剛・島崎研一郎・近藤矩朗:大気汚染ガスによる植物の光合成色素の分解について.大気汚染学会第20回大会、神戸. (54.11)
- (17)古川昭雄・戸塚 績:高等植物に対する亜硫酸ガスの影響.1) SO₂による不可視障害の評価法について、日本生物環境調節学会,松江.(51.10)
- (18) 戸塚 績・古川昭雄:高等植物に対する亜硫酸ガスの影響.2) ヒマワリの光合成・気孔開 度に及ぼす影響.日本生物環境調節学会,松江.(51.10)
- (19)古川昭雄・戸塚 績:高等植物の光合成に及ぼす亜硫酸ガスの影響.1. ヒマワリの光合成 速度・気孔開度・吸収速度に及ばすSO2の影響 葉位による差異 日本植物学会第41 回大会,富山.(51.10)
- (20) 戸塚 績・古川昭雄: 亜硫酸ガスによる植物の不可視障害の評価法について、国立公害研究 所大型研究施設竣工記念講演会およびシンポジウム, 筑波. (52.2)
- (21) 戸塚 績・名取俊樹:ヒマワリによる SO₂の吸収蓄積に関する一考察. 第24回日本生態学会, 広島. (52.4)
- (22) 戸塚 績・名取俊樹:植物のSO2吸収速度の測定とそれのSO2汚染指標への適用について、

日本生物環境調節学会,筑波.(52.10)

- (23) 古川昭雄・戸塚 續:ヒマワリ葉の水分収支に対する亜硫酸ガスの影響. 日本生物環境調節 学会, 筑波. (52.10)
- (24) 戸塚 績・米山忠克・佐藤秋生・牛島忠広:ヒマワリとインゲンマメの乾物生長におよぼす NO₂暴露の影響.日本植物学会第42回大会,福岡. (52.10)
- (25) 戸塚 績・米山忠克・名取俊樹・滝本道明:NO2暴露によるヒマワリの乾物生長変化とNO2 吸収について、日本生態学会第25回大会、福岡、(53、4)
- (26)清水英幸・古川昭雄・名取俊樹・戸塚 績:低濃度SO₂長期暴露によるヒマワリの生長への 影響.日本生態学会第25回大会,福岡. (53.4)
- (27)小池敦夫・古川昭雄・戸塚 績:ポプラ葉の光合成,呼吸に対するSO₂の影響.CO₂効果
 日本林学会第89回大会,東京.(53.4)
- (28)橋本 明・米山忠克・戸塚 績・矢崎仁也:土壌によるNO2の吸収について(その1)日本
 土壌肥料学会,東京.(53.4)
- (29)米山忠克・戸塚 績:植物によるNO2の吸収とその体内変化.国立公害研,研究発表会,筑 波.(53.4)
- (30)米山忠克・戸塚 績・松丸恒夫・白鳥孝治:植物による二酸化窒素の吸収とその体内変化. 大気汚染学会第19回大会,札幌. (53.9)
- (31) 清水英幸・戸塚 績:ヒマワリ個体群による二酸化イオウの吸収について.日本生物環境調 節学会第16回大会,香川.(53.10)
- (32) 名取俊樹・古川昭雄・戸塚 績:ヒマワリの光合成・呼収に対するSO₂の影響,日本生物環 境調節学会第16回大会,香川. (53. 10)
- (33) 古川昭雄・名取俊樹・戸塚 績:ヒマワリ葉の光合成速度に及ぼすSO₂, NO₂, O₃の複合
 影響.日本生物環境調節学会第16回大会,香川. (53. 10)
- (34) 戸塚 績・古川昭雄:ヒマワリ群落の光合成におよぼすSO2の影響に関する試算.日本生態 学会第26回大会,横浜.(54.3)
- (35) 古川昭雄・名取俊樹・戸塚 績:ヒマワリ葉の光合成速度に及ぼすSO₂, NO₂, O₃の複合
 影響 --- 経時的変化. 日本生態学会第26回大会, 横浜. (54.3)
- (36) 名取俊樹・古川昭雄・大政謙次・安保文彰・戸塚 績:数種植物のNO2吸収について、日本 生態学会第26回大会、横浜 (54.3)
- (37) 戸塚 績:植物の大気汚染環境浄化機能について、国立公害研究所研究発表会、筑波. (54.5)
- (38)米山忠克・加地正和・戸塚 績:植物による¹⁵NO2の吸収と代謝.理工学における同位元素 研究発表会,東京.(54.6)

- (39) 戸塚 績:大気汚染に対する植物の反応、日本学術会議「都市の自然環境シンポジウム」, 東京. (54.6)
- (40) 名取俊樹・大政謙次・安保文彰・戸塚 績:ガス拡散モデルによるガス吸収能の評価につい て. II. 各種植物におけるNO2吸収の予測について、大気汚染学会第20回大会、神戸. (54, 11)
- (41) 清水英幸・戸塚 績:ヒマワリの生長におよぼす低濃度SO2暴露の影響 SO2濃度が一定の場合と周期的変化がある場合、大気汚染学会第20回大会、神戸. (54.11)
- (42) 相原敬次・篠崎光夫・戸塚 績:指標植物によるNO_x環境評価の可能性について、大気汚染 学会第20回大会,神戸.(54.11)
- (43) 青木正敏・矢吹万寿・戸塚 績:赤外カラー航空写真による植物活性の生態調査に関する基礎研究(1).葉の光反射特性とクロロフィル含量との関係,(2).バイバンド比と樹木葉の光合成機能の関係.計測自動制御学会第5回リモートセンシングシンポジウム,東京.
 (54,11)
- (44)相賀一郎・大政謙次・寺島貞二郎・額田正己:低濃度大気汚染ガス暴露実験用グロースキャビネットの基礎研究. I.低濃度ガス制御のための諸条件について.日本生物環境調節学会,松江.(51.10)
- (45) 大政謙次・相賀一郎:低濃度大気汚染ガス暴露実験用グロースキャビネットの基礎研究。Ⅱ.単一ガスの基本的制御方法について、日本生物環境調節学会、松江、(51, 10)
- (46) 大政謙次・相賀一郎:植物実験用グロースキャビネットにおける低濃度大気汚染ガス制御.
 Ⅰ.低濃度ガス制御のための空調プロセスと基本的ガス制御について.冷凍協会,東京.
 (51, 11)
- (47) 額田正己・唐木 正・相賀一郎・大政謙次:ppb濃度域を対象とした二酸化硫黄,二酸化窒 素濃度自動制御装置について、分析化学会大会、奈良. (52.6)
- (48) 大政謙次・安保文彰:植物による大気汚染物質の収着に関する研究——SO2の局所収着速度 と可視障害発現との関係——:農業気象学会関東支部会、甲府. (52.10)
- (49) 大政謙次・安保文彰: SO2暴露に伴う植物葉面の各部位における障害について. 日本生物環 境調節学会, 筑波. (52.10)
- (50) 安保文彰・大政謙次・戸塚 績:ヒマワリのSO2収着機構と収着量の予測について、日本生物環境調節学会, 筑波. (52.10)
- (51) 相賀一郎・大政謙次・松本 茂・額田正己: 複合汚染ガス暴露用グロースキャビネットの設計. 日本生物環境調節学会, 筑波. (52, 10)
- (52)藤沼康実・町田 孝・戸塚 續・相賀一郎:制御環境におけるヒマワリの生長.——栄養生長 期におよぼす温度・光条件の相互影響について-----日本生物環境調節学会,筑波.(52.

10)

- (53) 大政謙次・安保文彰・相賀一郎・橋本 康:汚染ガスに暴露された植物葉面情報のディジタ ル画像処理(I). 計測自動制御学会第17回学術講演会,東京. (53,8)
- (54) 大政謙次・安保文彰:環境調節装置による植物への汚染ガスの影響の解析. 大気汚染学会第 19回大会,札幌. (53.9)
- (55)大政謙次:新しい農業気象気象研究施設;国立公害研究所植物実験施設.農業気象学会関東 支部会,筑波. (53.10)
- (56) 大政謙次・安保文彰・相賀一郎・橋本 康:汚染ガスに暴露された植物の画像処理(I). 生物環境調節学会第16回大会,香川、(53.10)
- (57) 安保文彰・大政謙次・戸塚 績: 複合汚染ガスの植物による収着について, 生物環境調節学 会第16回大会, 香川. (53. 10)
- (58)相賀一郎・大政謙次・松本 茂・安保文彰:低濃度大気汚染ガス暴露用グロースキャビネットの基礎研究 II. 生物環境調節学会第16回大会,香川. (53.10)
- (59)藤沼康実・町田 孝・戸塚 績・相賀一郎:制御環境下でのヒマワリの生長;制御温室での 生長の季節的変動について、生物環境調節学会第16回大会,香川. (53.10)
- (60)相賀一郎:植物環境の計測評価と環境指標植物の開発、国立公害研究所研究発表会、筑波、(54.5)
- (61) 大政謙次・安保文彰・相賀一郎・橋本 康:汚染ガスに暴露された植物葉面情報のディジタ ル画像処理(Ⅱ). 計測自動制御学会,長野. (54.8)
- (62) 大政謙次・安保文彰・橋本 康・相賀一郎:画像処理による汚染ガスに被暴した植物に発現 する可視害の評価 生物環境調節学会,広島. (54.10)
- (63) 安保文彰・大政謙次・名取俊樹・戸塚 績:ヒマワリ群落による汚染ガス吸収に関するモデ ルとシミュレーション、生物環境調節学会、広島、(54、10)
- (64)藤沼康実・清水 明・町田 孝・相賀一郎:制御環境下でのヒマワリの生長:環境要因の微 小変化が生長におよぼす影響について.生物環境調節学会第17回大会,広島.(54,10)
- (65) 大政謙次・安保文彰・相賀一郎:ディジタル画像処理による可視害の評価に関する研究(1). 大気汚染学会,神戸. (54.11)
- (66) 安保文彰・大政謙次・名取俊樹・戸塚 績:ガス拡散モデルによる植物のガス吸収能の評価 について I. 大気汚染学会、神戸. (54.11)

(67) Kondo, N. and K. Sugahara 1978. Changes in transpiration rate of SO₂-resistant and -sensitive plants with SO₂ fumigation and the participation of abscisic acid. Plant & Cell Physiol. 19 (3):365-373

⁽印刷)

- (68) 近藤矩朗・菅原 淳(1978):二酸化イオウに対する植物の抵抗性に関する研究(1) 二酸化イオウ吸収から障害発現への過程における植物の防御機構.国立公害研究所特別研 究成果報告,第2号,15-16.
- (69) 近藤矩朗・菅原 淳(1978):二酸化イオウに対する植物の抵抗性に関する研究(2) 二酸化イオウ暴露による植物の蒸散変化とアブサイシン酸量との関連について、国立公害 研究所特別研究成果報告,第2号,17-22.
- (70)近藤矩朗・菅原 淳(1978):二酸化イオウに対する植物の抵抗性に関する研究(4) 植物における亜硫酸酸化反応について、国立公害研究所特別研究成果報告、第2号、29-34、
- (71) 島崎研一郎・菅原 淳(1978):二酸化イオウの植物影響の作用機序に関する研究(1)---光合成電子伝達反応阻害とクロロフィル分解との関連について、国立公害研究所特別研究 成果報告、第2号、35-45.
- (72) 島崎研一郎・菅原 淳・岡田光正・滝本道明(1978):二酸化イオウの植物影響の作用機序 に関する研究(2) ---- 光合成電子伝達反応の阻害機構および葉緑体反応の指標性につい て、国立公害研究所特別研究成果報告,第2号,47-56.
- (73) 菅原 淳・近藤矩朗・滝本道明(1978):二酸化イオウに対する植物の抵抗性に関する研究
 (3) 二酸化イオウ暴露による植物細胞液のpH変化について、国立公害研究所特別研究成果報告、第2号、25-28.
- (74) 篠崎光夫・村上仁士・辰己修三・菅原 淳(1978):各種植物における葉面光反射スペクト ルの測定、国立公害研究所特別研究成果報告,第2号,127-134
- (75) 大村 武・佐藤 光・菅原 淳(1978):二酸化イオウに対するイネの抵抗性についての品 種間差異.国立公害研究所特別研究成果報告,第2号,135-144.
- (76) Shimazaki, K. and K. Sugahara. 1979. Specific inhibition of photosystem II activity in chloroplasts by fumigation of spinach leaves with SO₂. Plant & Cell Physiol. 20(5): 947-955
- (77) 戸塚 績・古川昭雄・名取俊樹・小川 潔(1977):足尾精錬所の周辺に生育する植物の葉 内水溶性硫酸塩量について、「植物群落の物質代謝による環境保全に関する基礎的研究」 論文集、(門司正三編)、104 p., 19 - 23.
- (78) 戸塚 績・米山忠克・名取俊樹・滝本道明(1978):高等植物の生長におよぼす二酸化窒素 の影響(1) ---- NO2暴露によるヒマワリの乾物生長変化とNO2吸収について、国立公害 研究所特別研究成果報告,第2号,67-76.
- (79) 戸塚 積・佐藤秋生・米山忠克・牛島忠広(1978):高等植物の生長におよぼす二酸化窒素の影響(2)→-ヒマワリとインゲンマメの乾物生長におよぼすNO₂暴露の影響,国立公害研究所特別研究成果報告,第2号,77-87.
- (80) 戸塚 績・米山忠克・名取俊樹・藤沼康実(1978):高等植物の生長におよぼす二酸化窒素の影響(3)----NO2暴露に対する草本植物の感受性および窒素濃度変化の種間差異.国立公害研究所特別研究成果報告,第2号,89-94.
- (81) 白鳥孝治・森川昌記・高崎 強・戸塚 績(1978):二酸化イオウ暴露によるインゲンマメ 被害葉の光合成速度の変化についての予備実験.国立公害研究所特別研究成果報告,第2 号,113-118.
- (82) 戸塚 績・荒川市郎・野本宣夫・田崎忠良(1978):二酸化イオウ暴露によるヒマワリ葉の 可視害徴発現についての観察、国立公害研究所特別研究成果報告,第2号,119-125.
- (83) 古川昭雄・戸塚 績(1978):ヒマワリ葉の光合成,気孔開度におよぼす二酸化イオウの影響.国立公害研究所特別研究成果報告,第2号,57-66.
- (84) 古川昭雄・清水英幸・藤沼康実・戸塚 績(1978):都市域の野外条件下における大気汚染 質の植物影響に関する予備調査.国立公害研究所特別研究成果報告,第2号,145-163.
- (85)米山忠克・戸塚 績・石塚茂樹・藤沼康実・矢崎仁也(1978):高等植物の生長におよぼす 二酸化窒素の影響(4) → 数種木本植物の生長および植物体窒素濃度におよぼすNO2暴 露の影響。国立公害研究所特別研究成果報告,第2号,95~102.
- (86)米山忠克・笹川英夫・戸塚 績・山本幸男(1978):高等植物の生長におよぼす二酸化窒素の影響(5)----草本植物による¹⁵NO₂の吸収,亜硝酸の蓄積,亜硝酸還元酵素活性の変化.国立公害研究所特別研究成果報告,第2号,103-111.
- (87)米山忠克・橋本 明・戸塚 績(1978):土壌溶液中の亜硝酸の定量についての二,三の考 察.日本土壌肥料学雑誌、49,248-249.
- (88) Yoneyama, T. and H. Sasakawa. 1979. Transformation of atmospheric NO₂ absorbed in spinach leaves. Plant & Cell Physiol. 20 (1): 263-266
- (89) Matsumaru, T., T. Yoneyama, T. Totsuka and K. Shiratori. 1979. Absorption of atmospheric NO₂ by plants and soils (I). Quantitative estimation of absorbed NO₂ in plants by ¹⁵N method. Soil Sci. Plant Nutr. 25(2): 225-265
- (90) Yoneyama, T., H. Sasakawa, S. Ishizuka and T. Totsuka. 1979. Absorption of atmospheric NO₂ by plants and soils (II). Nitrite reductase activity and diurnal changes of NO₂ absorption by plants. Soil Sci. Plant Nutr. 25(2): 267-275
- (91) Yoneyama, T., T. Totsuka, A. Hashimoto and J. Yazaki. 1979. Absorption of atmospheric NO₂ by plants and soils (III). Changes in the concentration in inorganic nitrogen in the soil fumigated with NO₂: the effect of water conditions. Soil Sci. Plant Nutr. 25(3): 337-347
- (92) Yoneyama, T., A. Hashimoto and T. Totsuka. 1979. Absorption of atmospheric NO₂ by plants and soils
 (IV). Two routes of nitrogen uptake by plants from atmospheric NO₂: Direct incorporation into aerial plant parts and uptake by roots after absorption into the soil. Soil Sci. Plant Nutr. 25 (in press)
- (93) Furukawa, A., A. Koike, K. Hozumi and T. Totsuka. 1979. The effect of SO₂ on photosynthesis in poplar leaves at various CO₂ concentrations. Jap. J. For. Soc. 61: 351-356

- (94) Furukawa, A., O. Isoda, H. Iwaki and T. Totsuka. 1979. Interspecific difference of SO₂ effect on transpiration. Environ. Contr. in Biol. 17(3 - 4): 153-159
- (95) Furukawa, A. and T. Totsuka. 1979. Effect of NO₂, SO₂ and O₃ alone and in combinations on net photosynthesis in sunflower. Environ. Contr. In Biol. 17(3 4): 161-166
- (96)相賀一郎・大政謙次・安保文彰(1978):大気汚染ガス暴露のためのグロースキャビネット. 国立公害研究所特別研究成果報告,第2号,193-210.
- (97)相賀一郎・大政謙次・松本 茂(1978):複合汚染実験設備の設計.国立公害研究所特別研 究成果報告,第2号,211-216.
- (98) 大政謙次・安保文彰・船田 周・相賀一郎(1978): 汚染ガスに暴露された植物の生体計測. 国立公害研究所特別研究成果報告,第2号,165-182.
- (99) 大政謙次・安保文彰(1978):植物による大気汚染物質の収着に関する研究(I) ---- SO₂ の局所収着と可視障害発現との関係.農業気象,34(2),51-58.
- (100)藤沼康実・町田 孝・戸塚 績・相賀一郎(1978):制御環境下でのヒマワリの生長と環境 要因との関係一栄養生長におよぼす温度要因の影響.国立公害研究所特別研究成果報告, 第2号,183-191.
- (101) 大政謙次・安保文彰・相賀一郎(1979):環境制御装置内植物のNO₂およびO₃ 収着速度の 同時測定法について、農業気象、35,31-40.
- (102)大政謙次・安保文彰・名取俊樹・戸塚 續(1979):植物による大気汚染物質の収着に関する研究(Ⅱ)――NO₂, O₃あるいはNO₂+O₃暴露下における収着について.農業気象, 35, 77-83.
- (103)相賀一郎・大政謙次・小林雄一(1980):国立公害研究所植物実験用環境調節施設.最新空 調設備・空調方式実例集(経営開発センタ編),印刷中.
- (104)藤沼康実・町田 孝・戸塚 績・相賀一郎:ファイトトロンにおけるヒマワリの生長の季節 変動、生物環境調節(投稿中).
- (105) Shimazaki, K. and K. Sugahara. 1980. Specific inhibition of photosystem II activity in chloroplasts by fumigation of spinach leaves with SO₂. Research report from the National Institute for Environmental Studies, No. 11 (in press)
- (106) Shimazaki, K. and K. Sugahara. 1980. Inhibition site in electron transport system in chloroplasts by fumigation of lettuce leaves with SO₂. Research Report from the National Institute for Environmental Studies, No. 11 (in press)
- (107)Shimazaki, K., T. Sakaki and K. Sugahara. 1980. Active oxygen participation in chlorophyll destruction and lipid peroxidation in SO₂ fumigated spinach leaves. Research Report from the National Institute for Environmental Studies, No. 11 (in press)
- (108) Tanaka, K. and K. Sugahara. 1980. Role of superoxide dismutase in the defense against SO₂ toxicity and induction of superoxide dismutase biosynthesis with SO₂ fumigation. Research Report from the National Institute for Environmental Studies, No. 11 (in press)

- (109) Kondo, N., I. Maruta and K. Sugahara. 1980. Abscisic acid-dependent changes in transpiration rate with SO₂ fumigation and the effects of sulfite and pH on stomatal aperture. Research Report from the National Institute for Environmental Studies, No. 11 (in press)
- (110) Kondo, N., Y. Akiyama, M. Fujiwara and K. Sugahara. 1980. Sulfite oxidizing activities in plants. Research Report from the National Institute for Environemtnal Studies, No. 11 (in press)
- (111) Oku, T., K. Shimazaki and K. Sugahara. 1980. Resistance of spruce seedlings to sulfur dioxide fumigation. Research Report from the National Institute for Environmental Studies, No. 11 (in press)
- (112) Furukawa, A., T. Natori and T. Totsuka. 1980. The effect of SO₂ on net photosynthesis in sunflower leaf. Research Report from the National Institute for Environmental Studies, No. 11 (in press)
- (113) Totsuka, T. 1980. A model for estimating SO₂ effects on canopy photosynthesis in sunflower plants. Research Report from the National Institute for Environmental Studies, No. 11 (in press)
- (114) Shimizu, H., A. Furukawa and T. Totsuka. 1980. Effects of low concentrations of SO₂ on the growth of sunflower. Research Report from the National Institute for Environmental Studies, No. 11 (in press)
- (115) Furukawa, A., O. Isoda, H. Iwaki and T. Totsuka. 1980. Interspecific difference in resistance to sulfur dioxide. Research Report from the National Institute for Environmental Studies, No. 11 (in press)
- (116) Yoneyama, T., T. Totsuka, N. Hayakawa and J. Yazaki. 1980. Absorption of atmospheric NO₂ by plants and soils (V). Day and night NO₂-fumigation effect on the plant growth and estimation of the amount of NO₂-nitrogen absorbed by plants. Research Report from the National Institute for Environmental Studies, No. 11 (in press)
- (117) Kaji, M., T. Yoneyama, T. Totsuka and H. Iwaki. 1980. Absorption of atmospheric NO₂ by plants and soils (VI). Transformation of NO₂ absorbed in the leaves and transfer of the nitrogen through the plants. Research Report from the National Institute for Environmental Studies, No. 11 (in press)
- (118) Aoki, M., K. Yabuki and T. Totsuka. 1980. Remote sensing of the physiological function of plants by infrared color aerial photography (1). Relations between leaf reflectivity radio, bi-band ratio and photosynthetic function of leaves in several woody plants. Research Report from the National Institute for Environmental Studies, No. 11 (in press)
- (119) Omasa, K., F. Abo, Y. Hashimoto and I. Aiga. 1980. Measurement of thermal pattern of plant leaf under fumigation with air pollutant. Research Report from the National Institute for Environmental Studies, No. 11 (in press)
- (120) Omasa, K., F. Abo, Y. Hashimoto and I. Aiga. 1980. Evaluation of air pollution injury to plants by image processing. Research Report from the National Institute for Environmental Studies, No. 11 (in press)
- (121)Omasa, K. and F. Abo. 1980. Analysis of air pollutant sorption by plants (1). Relation between local SO₂ absorption and acute visible leaf injury. Research Report from the National Institute for Environmental Studies, No. 11 (in press)
- (122)Omasa, K., F. Abo, S. Funada and I. Aiga. 1980. Analysis of air pollutant sorption by plants (2). A method for simultaneous measurement of NO₂ and O₃ sorptions by plants in environmental control chamber. Research Report from the National Institute for Environmental Studies, No. 11 (in press)
- (123) Omasa, K., F. Abo, T. Natori and T. Totsuka. 1980. Analysis of air pollutant sorption by plants (3). Sorption under fumigation with NO₂, O₃ or NO₂ + O₃. Research Report from the National Institute for Environmental Studies, No. 11 (in press)

- 32 -

- (124) Fujinuma, Y. and I. Aiga. 1980. Screening some specific strains from rice, *Oryza sativa L., as an indicator* for air pollution. Research Report from the National Institute for Environmental Studies, No. 11 (in press)
- (125) Ohmura, T., H. Satoh, Y. Fujinuma and I. Aiga. 1980. Inheritance of SO₂ sensitivity in rice, *Oryza sativa* L. Research Report from the National Institute for Environmental Studies, No. 11 (in press)
- (126) Sugahara, K., S. Uchida and M. Takimoto. 1980. Effects of sulfite ions on water soluble chlorophyll proteins. Research report from the National Institute for Environmental Studies, No. 11 (in press)
- (127)Yoneyama, T., T. Yasuda, J. Yazaki and T. Totsuka. 1980. Absorption of atmospheric NO₂ by plants and soils (VII). NO₂ absorption by plants; re-evaluation of the air-soil-root route. Research Report from the National Institute for Environmental Studies, No. 11 (in press)

国立公害研究所研究報告 第10号 (R-10-'79)

Research Report from the National Institute for Environmental Studies No. 10, 1979

II - 1

亜硫酸イオンの水溶性クロロフィルタンパク質に及ぼす影響

菅原 淳¹• 内田節子²• 滝本道明²

Effects of sulfite ions on water-soluble chlorophyll proteins

Kiyoshi SUGAHARA¹, Setsuko UCHIDA² and Michiaki TAKIMOTO²

要 旨

植物の二酸化硫黄(SO₂)による障害発現に際して起こるクロロフィル分解の過程 とその機構を解明するために、水溶性クロロフィルタンパク質の特性を利用した実験 系を組み、研究を行った。

色素タンパク質複合体である水溶性クロロフィルタンパク質においては、有機溶媒 系でみられたような光と酸素の存在下での亜硫酸イオンによるクロロフィル分解の促 進は見られなかった。これは色素がタンパク質と結合することによって安定化されて いるためと思われる。再構成したクロロフィルαタンパク質およびクロロフィライド αタンパク質について、亜硫酸イオン存在下における色素分解を比較すると、クロロ フィライド αタンパク質の方がやや亜硫酸イオンに対して敏感であることが示された。

一方, 亜硫酸イオンは光照射下で, 水溶性クロロフィルタンパク質のタンパク部分 に不可逆的な変化を与えることによって, このタンパク質の特性である光転換反応を 阻害することが示された。このとき, 光と同時に光を吸収する色素が必要であること から, この光転換反応の阻害の機構は, 色素によって吸収された光のエネルギーによ りアポタンパクが形態変化を起こし, 亜硫酸イオンが作用できる状態になるためで, その作用機作は, 光転換に重要な構造である S-S 結合を亜硫酸イオンが解裂させる ことによると考えられる。生体内でも亜硫酸イオンによってこのような S-S 結合の 解裂が行われているため, 葉緑体ラメラ構造の破壊や生理機能の低下が誘起されるこ とが示唆された。

緒言

二酸化硫黄(SO2)は生物に害を及ぼす主要な大気汚染物質であることが知られており、その植

gakuen, Ibaraki 305 2. Faculty of Science, Toho University, Funabashi, Chiba 274

^{1.} 国立公害研究所 生物環境部

^{2.} 東邦大学 理学部

^{1.} Division of Environmental Biology, The National Institute for Environmental Studies, Tsukuba-

物影響に関しては、古くから数多くの研究が行われて来ている(4,13)。植物に SO₂を暴露する と、顕著な障害として葉のクロロフィルの分解による可視障害が発現するが、このときの SO₂によ る光合成色素の分解の過程や機構については、まだ解明されない点が多く、当研究所においても研 究が遂行されており、新たな知見が得られている(9,10)。

SO₂は気孔を通じて植物体に取り込まれ、細胞質に溶解して水素イオン(H⁺)と亜硫酸イオン(HSO₃、SO₂²⁻)を生じ、これらのイオンが細胞生理機能にさまざまな影響を与えていると考えられる。

クロロフィル分解に及ぼす亜硫酸イオンの影響については、PeiserとYang(7)の有機溶媒中 の実験があり、亜硫酸イオンと光によってクロロフィルの分解が促進されることが報告されている。 しかし植物体内ではクロロフィルは葉緑体のラメラ構造の中にタンパク質や脂質と結合した状態で 組み込まれており、有機溶媒中での反応がそのまま生体内で起こっているとは考えにくい。

そこで、より生体内に近い状態を in vitro で再現し亜硫酸イオンの影響を見るモデル実験を行う ことを目的として、シロザの葉から得られる水溶性クロロフィルタンパク質(12)を選択し、タン パク質と結合した状態における色素あるいはそのタンパク質部分に対する亜硫酸イオンの影響を、 水溶性クロロフィルタンパク質特有の性質を利用した実験系を組むことにより解明しようと試みた。 この物質を選択した理由としては次の特性が挙げられる:1)水に不溶性のクロロフィルがタンパ ク質と結合した状態で水溶性となり非常に安定である。2)光照射によって、668 nm に吸収極大 を持つクロロフィルタンパク質(CP 668)から743 nm に吸収極大を持つクロロフィルタンパク質 (CP 743)に光転換する。3)色素部分をメチルエチルケトン処理で除いて得られるアポタンパク に、クロロフィルやその誘導体を再び結合させることにより、元の水溶性クロロフィルタンパク質 と同じ活性を持つ色素タンパク質を再構成できる。

本研究においては、まず有機溶媒中での亜硫酸イオンによるクロロフィル分解を確認し、続いて 水溶性クロロフィルタンパク質を用いて色素タンパク質複合体における色素の分解に及ぼす亜硫酸 イオンの影響を調べ、同時にクロロフィルの分解過程の一つとして考えられるクロロフィライド経 由の分解をクロロフィライド a タンパク質を調製して調べた。さらに、亜硫酸イオンによってシロ ザの水溶性クロロフィルタンパク質の光転換が阻害されることが示されたので、亜硫酸イオンのタ ンパク部分に対する作用機作をいろいろな条件を設定して調べた。

材料と方法

植物材料

シロザ(Chenopodium album)の葉を国立公害研究所周辺および習志野市の東邦大学周辺より 採集し、水溶性クロロフィルタンパク質の抽出精製に用いた。

ホウレンソウ(Spinacia oleracea L.)はファイトトロン温室で生育させたものを使用し、ク

ロロフィルαの抽出精製を行った。

茶(Thea sinensis L. var. Sayamamidori)の新芽を茨城県岩井市の県立農業大学校園芸部ほ場より5月初旬に採集し、クロロフィラーゼの抽出精製に使用した。

分光測定

クロロフィル *a*, クロロフィライド *a* および水溶性クロロフィルタンパク質の吸収スペクトル, および光転換反応等はすべてキャリー17 DX 型分光光度計を用いて測定した。

クロロフィルαの単離精製

クロロフィルαはホウレンソウより抽出し、Perkins と Roberts の方法(8)により、粉糖のカラムを用いて精製した。

クロロフィラーゼの調製

茶の新芽 300gを氷冷の 0.05 Mリン酸緩衝液 (pH 7.2) 中でミキサーを用いて破砕し、数層の ガーゼで沪過した。沪液を-15℃に冷したアセトンに滴下し、生じた沈殿を風乾後デシケータに入 れて低温で保存する。この乾燥粉末1gに対して、0.05 Mリン酸緩衝液 (pH 7.2) 10ml を加え て1時間撹拌抽出後、15,000×gで15分間遠心分離して、得られた上清液をクロロフィラーゼ標品 として使用した。

クロロフィライドaの調製

精製したクロロフィルαにクロロフィラーゼを作用させて、クロロフィライドαに変換させ単離 した。反応混液組成は次の通り:0.01 Mリン酸緩衝液 (pH 7.2)、50%アセトン、クロロフィル αおよびクロロフィラーゼ標品。反応は30℃で10分間行い、アセトンを終濃度70%になるように加 えて反応を止める。この混液に等容量のn-ヘキサンを加え、振とう後1,000×g15分間遠心分離 する。この操作で未変化のクロロフィルαはn-ヘキサン層に移り、生じたクロロフィライドαは 水層に残っている。エチルエーテルを水層に加えてクロロフィライドをエーテル層に移し、エチル エーテルをロータリーエバポレータで蒸発させて、得られたクロロフィライドをエチルアルコール に溶解して使用した。クロロフィライドαの確認はペーパークロマトグラフ分析により行った。

水溶性クロロフィルタンパク質の抽出精製

高宮・薬師寺(11)の方法に従って、シロザの葉より水溶性クロロフィルタンパク質を抽出精製 した。精製は、硫安分画、DEAE セルロースカラム、Amberite CG 50カラム、ついでセファデッ クスG - 100カラムの順に行った。

クロロフィルaタンパク質およびクロロフィライドaタンパク質の再構成

村田ら(5)の方法により、水溶性クロロフィルタンパク質から調製したアポタンパクにクロロ フィルαおよびクロロフィライドαを結合させて水溶性色素タンパク質を再構成した。

水溶性クロロフィルタンパク質中のクロロフィルの定量

精製した水溶性クロロフィルタンパク質溶液を分液ロート中で4倍容のメチルエチルケトンと共

- 37 -

に振り、色素をメチルエチルケトン層に移す。この操作を色素が完全に抽出されるまで繰返す。メ チルエチルケトン抽出液を無水硫酸ソーダで脱水した後、ロータリーエバポレータを用いてメチル エチルケトンを蒸発させ、色素を80%アセトンに溶解して一定量とし、Mackinneyの方法(2)に よりクロロフィルα、bの量を定量した。こうして求めた水溶性クロロフィルタンパク質原液中の クロロフィル量と668 nmの吸光度から、原液のクロロフィル吸光係数を求め、この係数を使用し て簡便的にクロロフィルタンパク質の濃度も測定した。

結 果

有機溶媒中のクロロフィルαおよびクロロフィライドαの分解に及ぼす亜硫酸イオンの影響

Peiserと Yang (7) は、クロロフィルが有機溶媒(76%エチルアルコール)中で、光と酸素と . 亜硫酸イオンの存在下で分解されることを示し、その機作を研究しているが、クロロフィルの分解 がタンパク質と結合した状態ではどのように進行するのかを研究する対照として、彼等の実験系に おけるクロロフィル分解の過程を追試した。



- 図1 有機溶媒中での光照射に伴うクロロフィルαの吸収スペクトル変化。反応混液4ml中にグリシン緩衝液(pH 4.1), 0.02M; NaHSO₃、2×10⁻³M; エチルアルコール、76%; クロロフィルα、吸光度0.3~0.4 相当量を含む。 光照射は白色光(プロジェクターランプ, 300W, 500001x)を1分間ずつ 照射した。(A)対照(-NaHSO₃)(B)+NaHSO₃,図中の数字は合計の照 射時間。
- Fig. 1 Changes in absorption spectrum of chlorophyll a in organic solvent by illumination. Reaction mixture, in 4 ml, contained: glycine buffer (pH 4.1), 0.02M; NaHSO₃, 2×10⁻³ M; ethanol, 76%; chlorophyll a, equivalent to 0.3-0.4 of absorbance at 663 nm. The illumination was carried out using 300W of projector lamp at 50,000 lx for 1 min, repeatedly. (A) Control (-NaHSO₃), (B) + NaHSO₃. The number in figures shows total illumination times.



- 図2 有機溶媒中での光照射に伴うクロロフィライドαの吸収スペクトル変化。反応混液は図1の説明にある通り、ただしクロロフィルαの代りにクロロフィ ライドαが加えられている。他の条件はすべて同じ。(A) 対照(-NaHSO₃) (B) + NaHSO₃。
- Fig. 2 Changes in absorption spectrum of chlorophyllide a in organic solvent by illumination. Reaction conditions are the same as in Fig. 1 except that chlorophyllide a was added to the reaction mixture instead of chlorophyll a. (A) Control (-NaHSO₃), (B) + NaHSO₃.

図1は白色光を1分間照射するごとに起こる663 nmの吸光度の減少を経時的に測定したもので ある。対照でもクロロフィルαの光分解が起こっているが、亜硫酸イオンの存在する系では吸光度 の減少は著しく、最初の1分間の光照射により約80%が分解されている。

図2に見られるように、クロロフィライドαについての吸収スペクトルの変化も、クロロフィル αの場合と同様であり、明らかに亜硫酸イオンの存在によってクロロフィライドαの分解が促進さ れた。両者の分解速度はほぼ同程度であった。

水溶性クロロフィルタンパク質の色素部分に及ぼす亜硫酸イオンの影響

上述のように、有機溶媒中で光と酸素があれば、クロロフィルαおよびクロロフィライド αの分 解が亜硫酸イオンによって促進されることが確認されたので、さらにこの現象をより in vivo に近 い状態、すなわちタンパク質と結合した状態で調べた。

水溶性クロロフィルタンパク質からアポタンパク質を調製し、これに色素を結合させ、光転換反応活性のあるクロロフィルαタンパク質およびクロロフィライドαタンパク質を再構成した。両者を1分間光照射して光転換させた後、亜硫酸イオンを加えて、有機溶媒中と同様に1分間光照射ごとに 668 nm と 743 nm における吸光度を測定した。

図3にクロロフィルαタンパク質の3回照射(合計3分間)後の吸収スペクトル変化を示した。 668 nm と743 nm における吸光度は、亜硫酸イオンの存在の有無にかかわらずほとんど変化なく、 有機溶媒中で見られたような吸光度減少の促進は見られなかった。

一方、クロロフィライド α タンパク質については、図 4 に見られるように、対照で 3 分間の光照 射により両方のピークの減少がみられた。しかし、亜硫酸イオン存在下では 668 nm における吸光 度減少はなく、743 nm における吸光度の減少のみが認められた。

いずれにせよ、色素がタンパク質と結合した状態では、有機溶媒系での20倍の濃度の亜硫酸イオン(2×10⁻³Mに対して4×10⁻²M)を用いても、分解の促進がみられないばかりか、分解自体もあまり起こらなかった。



- 図3 光照射に伴うクロロフィルαタンパク質の吸収スペクトルの変化。反応混液 4 ml 中にグリシン緩衝液,0.07 M; NaHSO₃,4×10⁻² M; 光転換後のク ロロフィルαタンパク質,吸光度0.05~0.1 相当量を含む。光照射条件は 図1におけると同じ。(A)対照(-NaHSO₃)(B)+NaHSO₃。実線は1分 間照射後(光転換させるため),点線は3分間照射後の吸収スペクトルを示 す。
- Fig. 3 Changes in absorption spectrum of reconstituted chlorophyll a-protein in aqueous medium by illumination. Reaction mixture, in 4 ml, contained: glycine buffer (pH 4.1), 0.07M; NaHSO₃, 4×10⁻²M; illuminated form of chlorophyll a-protein, equivalent to 0.05-0.1 of absorbance at 743 nm. The illumination was the same as in Fig. 1. (A) Control (-NaHSO₃), (B) + NaHSO₃.
 -----, after 3 min illumination.

水溶性クロロフィルタンパク質の光転換反応に及ぼす亜硫酸イオンの影響

以上の実験では、光転換反応後の二つのピークについて色素部分に対する亜硫酸イオンの影響を 見たのであるが、光転換前の色素タンパク質についての影響はどうかを調べた。暗所で調製したク ロロフィルαタンパク質およびクロロフィライドαタンパク質を、あらかじめ亜硫酸イオンを加え た反応混液中に入れ、1分間の光照射ごとに吸収スペクトルを測定した。その結果を図5に示して



- 図4 光照射に伴うクロロフィライド αタンパク質の吸収スペクトルの変化。反応 混液中のクロロフィル αタンパク質がクロロフィライド αタンパク質に代わ った以外はすべて図3 における条件と同じ。(A) 対照 (B) + Na HSO₃。
- Fig. 4 Changes in absorption spectrum of reconstituted chlorophyllide a-protein in aqueous medium by illumination. Reaction conditions are the same as in Fig. 3 except that chlorophyllide a-protein was used instead of chlorophyll a-protein. (A) Control (-NaHSO₂), (B) + NaHSO₂.



- 図5 亜硫酸イオンによる色素タンパク質の光転換反応阻害。(A) クロロフィル a タンパク質 (B) クロロフィライド a タンパク質。反応条件は図3における場合 と同じ。実線,光照射前;点線,2分照射後。
- Fig. 5 Inhibition of photoconversion in chlorophyll protein by sulfite. (A) Chlorophyll aprotein, (B) Chlorophyllide a-protein. Reaction mixtures are the same as in Fig. 3. ______, before illumination (dark form); ----, after 2 min illumination.

いる。これからわかるように、亜硫酸イオンによって光転換反応が阻害され、743 nmの新たなピ ークが出現しない。また、668 nmの吸光度はクロロフィルαタンパク質についてはほとんど変化 せず、クロロフィライドαタンパク質でもわずかな減少が見られる程度である。従って、転換反応 以前の色素タンパク質においては亜硫酸イオンの存在によって色素の分解が引き起こされないけれ ども、タンパク部分に何らかの変化が起こり、光転換反応が阻害されることが考えられる。

光転換反応阻害における色素タンパク質と亜硫酸イオンの濃度関係

図6は、再構成色素タンパク質の光転換反応に及ぼす亜硫酸イオン濃度の影響を示している。クロロフィルαタンパク質では 3×10^{-4} Mから阻害が見られ、 6×10^{-2} Mでは完全に光転換反応は抑えられた。クロロフィライドαタンパク質では、 10^{-3} Mの亜硫酸イオン濃度で光転換反応は完全に阻害された。クロロフィライドαタンパク質の濃度が高いにもかかわらず、薄い亜硫酸濃度で阻害された。再構成前の水溶性クロロフィルタンパク質でも、 10^{-3} Mを過ぎると阻害が現れ、 10^{-2} Mあたりで完全に阻害された(データ非表示)。

図7は、水溶性クロロフィルタンパク質そのものの光転換反応阻害を、三段階の亜硫酸イオン濃度について、色素タンパク質の濃度を変えて調べた結果を示している。低濃度の亜硫酸イオン(7.1×10⁻³M)の場合には、クロロフィルタンパク質の濃度に無関係に影響は見られず、一方、高濃度



図6 再構成色素タンパク質の光転換反応に及ぼす亜硫酸イオン濃度の影響。反応 は0.05 M リン酸緩衝液 (pH 7.2) 中で行った。 −0−0−. クロロフィル a タンパク質 (0.18 mg/l)。 −Δ−Δ−. クロロフィライド a タンパク質 (0.57 mg/l)。

Fig. 6 Effect of sulfite concentration on photoconversion of reconstituted chlorophyll proteins. Reaction was carried out in 0.05 M phosphate buffer, pH 7.2. -0-0-, chlorophyll *a*-protein (0.18 mg chlorophyll/1); -△-△-, chlorophyllide *a*-protein (0.57 mg chlorophyllide/1).



- 図7 水溶性クロロフィルタンパク質の光転換反応に及ぼす亜硫酸イオンと色素タンパク質の濃度関係。反応は0.05Mリン酸緩衝液(pH 7.2)中で行った。 亜硫酸イオン濃度:-O-, 7.1×10⁻³M;-△-, 1.4×10⁻²M;-□-, 7.1×10⁻²M。
- Fig. 7 Relationship between concentrations of sulfite and original chlorophyll protein in inhibition of its photoconversion. Reaction was carried out in 0.05 M phosphate buffer, pH 7.2. Sulfite concentration: -0-, 7.1×10⁻³M; -△-, 1.4×10⁻²M; -□-, 7.1×10⁻²M.

(7.1×10⁻²M)の場合には、用いたクロロフィルタンパク質の濃度範囲では完全阻害が見られた。 しかしその中間濃度(1.4×10⁻²M)の場合には、1.0 mg/lのクロロフィルタンパク質濃度を境 にして、低い濃度では完全阻害が、高い濃度ではほぼ直線的にタンパク質の濃度に依存して阻害が 軽減された。この結果は、亜硫酸イオンがタンパク質分子のあるグループ、例えばS-Sグループな どと互に結合して作用していることを示唆している。

亜硫酸イオン除去によるクロロフィルタンパク質の光転換反応阻害の回復について

クロロフィルタンパク質の光転換反応が阻害された系から、硫安分画によってタンパク質を沈殿 させ、新たな緩衝液に溶解して亜硫酸イオンを除去した後、光照射してみたが光転換反応阻害は回 復しなかった。また透析によって亜硫酸イオンを除去した場合も、光転換反応は起こらなかった。 このことは、この阻害が不可逆的であることを示している。

亜硫酸イオンによるクロロフィルタンパク質の光転換反応阻害の光依存性

光転換反応を十分阻害する濃度の亜硫酸イオンをCP 668に加え、暗所で30分間インキュベート した後、硫安分画あるいは透析によって亜硫酸イオンを除き光照射すると、光転換反応は全く阻害 されなかった。また、亜硫酸イオンで暗処理した色素タンパク質のアポタンパクを分離して、クロ

- 43 -

ロフィルαタンパク質を再構成した場合も、その光転換反応は阻害されていなかった。このことから、亜硫酸イオンによる光転換反応の阻害には光が必要であることが明らかになった。

亜硫酸イオンによる光転換反応阻害におけるアポタンパクの変化

亜硫酸イオンと光によって、CP 668のアポタンパクに変化が起こっているかどうかを調べた。 光転換反応が阻害された CP 668より 亜硫酸イオンを除去した後、アポタンパクを分離し、新たに クロロフィル a を結合させ、クロロフィル a タンパク質を再構成した。その吸収スペクトルは元の CP 668と同様であったが、光照射しても光転換反応を起こさなかった。このことは、色素とタン パク質の再結合には支障はないが、光転換反応は阻害するような構造変化が、アポタンパク内で起 こっていることを示している。

アボタンパクの状態での暗所および光照射下における亜硫酸イオンの影響

CP 668から単離したアポタンパクに光転換反応を十分阻害する濃度の亜硫酸イオンを加え,暗 所および光照射下で10分間インキュベートした。亜硫酸イオンを硫安分画または透析で除いた後, これらのアポタンパクよりクロロフィルαタンパク質を再構成したが、光照射には関係なく共に光 転換活性を示し、亜硫酸イオンの影響は見られなかった。しかし、アポタンパクが可視光線を吸収 しないために阻害が起こらなかった可能性もあるので、紫外線を照射してみたが、やはり光転換反 応は阻害されなかった。この結果は、亜硫酸イオン存在下での光転換反応阻害には、光のエネルギ ーを吸収する色素がタンパク質と結合していなければならないことを示している。

考 察

今回、色素タンパク複合体である水溶性クロロフィルタンパク質を用いて、水溶液系でのクロロ フィル分解に及ぼす亜硫酸イオンの影響を調べたが、有機溶媒系における遊離のクロロフィルにつ いて見られたような速い色素の分解はみられなかった。クロロフィルがタンパク質と結合すること により、安定化されているものと考えられる。

再構成したクロロフィルαタンパク質とクロロフィライドαタンパク質について, 亜硫酸イオン 存在下における吸光度減少を比較すると, クロロフィライドαタンパク質の方がやや亜硫酸イオン に対して敏感であるといえる。亜硫酸イオンによりクロロフィル分解酵素であるクロロフィラーゼ が活性化され, クロロフィルがクロロフィライドに変換され分解されて行くという可能性が報告さ れているが(3), 今回の結果からは、この可能性について論じることは困難である。

一方, 亜硫酸イオンが水溶性クロロフィルタンパク質の特性である光転換反応を阻害することが示されたが、この阻害について種々の条件で検討を加えた結果が図8に模式化されまとめられている。



- 図8 水溶性クロロフィルタンパク質の光転換反応に及ぼす亜硫酸イオンの影響の 模式図。○, アポタンパク質;③, 変性アポタンパク質;ぷ, クロロフィル a+b;::, クロロフィルa;▲▲, 亜硫酸イオン; , 透析または硫安分 画;(L), 光照射;(D), 暗処理;(-), 光転換阻害;(+), 光転換活性あ り。
- Fig. 8 Schematic diagram of effect of sulfite ion on photoconversion of water-soluble chlorophyll protein. ○, apoprotein; ③, denaturated apoprotein; ::, chlorophyll a+b; ::, chlorophyll a; ▲▲, sulfite ions; 7, dialysis or ammonium sulfate fractionation; (L), illumination; (D), dark treatment; (-), inactive in photoconversion; (+), active in photoconversion.

この図に基づくと、亜硫酸イオンが光転換反応を阻害するためには光が必要であることが明らか である(図中、1、3項)。そして、いったん光転換反応が阻害された CP 668は亜硫酸イオンを除 いても光転換活性を回復することはなく(図中、2項)、さらにそのアポタンパクより再構成した 色素タンパク質も光転換を起こさない(図中、4)ことから、亜硫酸イオンと光によってアポタン パク部分に不可逆的な変化が引き起こされていると考えられる。また、アポタンパクだけの状態で は亜硫酸イオンや光の影響はなく(図中、5項)、光のエネルギーを吸収する色素も光転換反応阻 害には必要であることが明らかである。これらの事実を総合すると、色素の吸収した光エネルギー によって、色素と結合しているタンパク部分に形態変化が生じ、亜硫酸イオンが作用できる状態に なり、亜硫酸イオンがタンパク部分に不可逆的な変化を与えて光転換反応を阻害すると推論できる。

では、亜硫酸イオンの作用機作はどうなっているのだろうか。今までの研究で、水溶性クロロフ ィルタンパク質の光転換反応を阻害する試薬として報告されている中に、S-S試薬として知られる β-メルカプトエタノールやジチオスレイトールなどがある(6)。そして、SH試薬であるN-エ チルマレイミドやタークロロマーキュリベンゾエイトなどは阻害剤として作用しない(6)。一方, 亜硫酸イオンは下記のような反応で,タンパク質のS-S結合を切ることが報告されている(4)。

$RSSR + SO_3^2 \rightleftharpoons RS^- + RSSO_3^-$

したがって本実験における亜硫酸イオンの場合も、前述のS-S試薬と同じように、光転換反応に必要なアポタンパクのS-S結合を解裂することにより阻害を引き起こすと推論できる。また、図6および図7にみられる光転換反応阻害における亜硫酸イオンと色素タンパク質の濃度関係から、亜硫酸イオンがタンパク質分子中のあるグループと互に結合して作用していることが考えられるので、あるグループをS-S結合と考えれば、さきの推論を裏付ける結果となる。その時阻害効果を示す亜硫酸イオン濃度は10⁻³~10⁻²Mと示されたが、この濃度はSO₂暴露時に植物体内で十分起こり得る濃度である(1)。

かくして、今回のモデル実験により、SO2暴露を受けた葉内で、生じた亜硫酸イオンによってタンパク質のS-S結合の解裂が行われ、葉緑体ラメラ構造の破壊や生理機能の低下が誘起されている ことが示唆された。

引用文献

- Kondo, N. and K. Sugahara. 1978. Changes in transpiration rate of SO₂ -resistant and -sensitive plants with SO₂ fumigation and the participation of abscisic acid. Plant & Cell Physiol. 19: 365-373
- 2. Mackinney, G. 1941. Absorption of light by chlorophyll solutions. J. Biol. Chem. 140: 315-322
- 3. Malhotra, S. S. 1977. Effects of aqueous sulphur dioxide on chlorophyll destruction in *Pinus contorta*. New Phytol. 78: 101-109
- 4. Mudd, J. B. 1975. Sulfur dioxide. In *Responses of Plants to Air Pollution*. (Edit. by J. B. Mudd and T. T. Kozlowski), p. 9-22. Academic Press, New York
- Murata, T., Y. Okada, K. Uchino and E. Yakushiji. 1967. Reconstitution of the photo-sensitive form of Chenopodium chlorophyll protein from its apoprotein. In Comparative Biochemistry and Biophysics of Photosynthesis. (Edit. by K.Shibata, A. Takamiya, A. T. Jagendorf and R. C. Fuller), p.222-228. Univ. Tokyo Press, Tokyo
- 6. Oku, T. and G. Tomita. 1975. The reversible photoconversion of *Chenopodium* chlorophyll protein and its control by the apoprotein structure. Plant & Cell Physiol. 16: 1009-1016
- Peiser, G. D. and S. F. Yang. 1977. Chlorophyll destruction by the bisulfite-oxygen system. Plant Physiol. 60: 277-281
- 8. Perkins, H. J. and D. A. Roberts. 1962. Purification of chlorophylls, pheophytins and pheophorbides for specific activity determinations. Biochim. Biophys. Acta 58: 486-498
- 9. 島崎研一郎・菅原 淳, 1978.二酸化イオウの植物影響の作用機序に関する研究(1). 光合成電子伝達 反応阻害とクロロフィル分解との関連について. 陸上植物による大気汚染環境の評価と改善に関する基礎 的研究. 昭和51/52年度研究報告. 国立公害研究所特別研究成果報告 R-2-78 p.35-46
- 10. 島崎研一郎・榊 剛・菅原 淳, 1979.二酸化硫黄暴露によるホウレンソウ葉の光合成色素分解と脂質 過酸化反応に対する活性酸素の関与. 陸上植物による大気汚染環境の評価と改善に関する基礎的研究. 昭 和51/53年度特別研究報告、国立公害研究所研究報告 第10号, p.87-100

- 46 -

- 11. Takamiya, A. 1971. Chlorophyll-protein complexes. In *Method in Enzymology 23 A*. (Edit. by A. San Pietro), p.603-613. Academic Press, New York
- 12. Yakushiji, E., K. Uchino, Y. Sugimura, I. Shiratori and F. Takamiya. Isolation of water-soluble chlorophyll protein from the leaves of *Chenopodium album*. Biochim. Biophys. Acta 75: 293-297
- 13. 米丸忠太郎, 1927. 亜硫酸ガスの植物に及ぼす障害作物について、農事試験報告 47:1-102

Summary

To clarify the mechanisms and processes of chlorophyll destruction on appearance of visible symptoms in SO_2 -injured plants, the model experiments were carried out by utilizing the peculiar properties of a water-soluble chlorophyll protein from *Chenopodium album*.

The acceleration of chlorophyll destruction by sulfite ions under aerobic and illuminated conditions, reported previously in the organic solvent system, was not observed in the state of pigmentprotein complex, that is the water-soluble chlorophyll protein, in aqueous media even in the 20 times of sulfite concentration. This indicates that pigments are stabilized by combining with protein molecules.

On the comparison of pigment destruction in the presence of sulfite ions between the reconstituted chlorophyll *a*- and chlorophyllide *a*- proteins, the former was a little sensitive to sulfite ions.

On the other hand, it was demonstrated that photoconversion of water-soluble chlorophyll protein was inhibited by the denaturation of protein moiety caused by sulfite ions in the light. In addition, it was shown that the pigment absorbing the light energy was necessary to connect with protein moiety for the inhibition of photoconversion.

From these results, the inhibition processes of the photoconversion are inferred that the conformational changes of apoprotein molecules were induced by light energy absorbed with pigments and allowed sulfite ions to attack the apoprotein molecules. The mechanism of the sulfite action on the apoprotein is the breakdown of disulfide bonds in proteins which are important structure for the function of photoconvertibility.

From the model experiments, it is suggested that the breakdown of disulfide bonds occurred and induced the damages of chloroplast lamellae or physiological functions in the SO_2 -injured plant tissues.

Key words: Chlorophyll protein-Breakdown of disulfide bond-Effect of sulfite-Pigment-protein complex-Sulfite ions-Water-soluble chlorophyll protein.

国立公害研究所研究報告 第10号 (R-10-'79) Research Report from the National Institute for Environmental Studies No. 10, 1979

II - 2

二酸化硫黄暴露による植物の蒸散変化のアブサイシン酸による制御と 気孔開度に及ぼす亜硫酸イオンと pH の影響

近藤矩朗¹• 丸田一成²• 菅原 淳¹• 藤伊 正²

Abscisic acid-dependent changes in transpiration rate with SO₂ fumigation and the effects of sulfite and pH on stomatal aperture

Noriaki KONDO¹, Issey MARUTA², Kiyoshi SUGAHARA¹ and Tadashi FUJII²

要 旨

アブサイシン酸(ABA)を極めて多量に含むイネ(日本晴)は二酸化硫黄(SO₂) 暴露開始後、急激に蒸散速度が低下し、 5 分後には77%減少し、その後幾分回復した 後、一定レベルを保った。イネに次いで多量のABAを含むハトムギ、タバコ(Nicotiana tabacum L. cv. Samsun)は、それぞれ暴露開始後20分、30分で50%減少し た。幾分ABA含有量の少ないコムギ、タバコ(N. tabacum L. Samsun NN) は暴 露開始後、それぞれ20分、30分で35%、45%減少した。 ABA 含有量の少ないソラマ メ、タバコ(N. glutinosa L.) では暴露開始直後、蒸散速度はわずかに増加し、そ れぞれ、20分、40分後から徐々に減少し始めた。トウモロコシ、ソルガムは ABA 含 有量が.極めて少ないにもかかわらず、SO2暴露により顕著な蒸散低下を示し、暴露 開始後それぞれ20分、40分で35%、50%減少した。ABA を多量に含む落花生の葉に 0.04 M 亜硫酸ナトリウムまたは 0.04 N 塩酸を塗ると亜硫酸ナトリウムの場合は、蒸 留水を塗った場合と同様の蒸散変化を示し、塩酸の場合には顕著な蒸散の抑制が認め られた。ABA 含有量の少ないダイコンの葉の場合には塩酸も亜硫酸ナトリウムも全 く影響を与えなかったが、あらかじめ3×10⁻⁴M ABA を塗っておくと塩酸により蒸 散の減少が見られた。亜硫酸ナトリウムはこの場合にも影響を示さなかった。ソラマ メから得た表皮切片の気孔開度に及ぼす pH の影響を調べると、培養液に ABA を加 えない場合には pH 3.0 から7.0 の範囲で開度は全く変化せず、10⁻⁷M ABA を加え

1. 国立公害研究所 生物環境部

- 1. Division of Environmental Biology, The National Institute for Environmental Studies, Tsukubagakuen, Ibaraki 305
- 2. Institute of Biological Science, The University of Tsukuba, Sakura-mura, Ibaraki 305

^{2.} 筑波大学 生物科学

ておくとpH 4.0 で極めて顕著な開度減少が見られた。亜硫酸塩は ABA を与えない 場合に、わずかに開度増加を引き起こし、ABA 存在下では気孔開度に全く影響を与 えなかった。

緒 营

二酸化硫黄(SO₂)暴露による植物の被害は、少なくとも部分的には気孔を通してのSO₂ガスの 吸収に支配されている。葉面上の気孔の数や気孔の開度はSO₂に対する植物の感受性を決める重要 な因子である。しかしながら、気孔のこれらの特徴は必ずしもSO₂に対する抵抗性との間に相関を 示さない(2)。最近、私たちは抵抗性を示す植物の蒸散速度はSO₂暴露によって直ちに減少する が感受性の植物の蒸散速度は、ある潜伏期の後あるいはわずかに増加した後、徐々に減少すること を見出した(5,6)。私たちは既に、多量のABAを含む葉の蒸散速度はSO₂暴露により直ちに減 少することを示した。これらの結果はABAが、SO₂暴露時に、植物が気孔を閉ざして、SO₂被害 を免れるための支配因子であることを示唆している。ABAが気孔を閉じさせることは知られてい るので、SO₂はABAの気孔阻害作用を増幅しているか、あるいは気孔のABAに対する感受性を 高めているものと思われる。気孔を通して植物の葉に取り込まれたSO₂は孔辺細胞の湿表面や細胞 液中に溶け、亜硫酸または重亜硫酸イオンとなり、水素イオンを生じる。したがって、SO₂が気孔 運動に及ぼす影響は亜硫酸または重亜硫酸イオンの影響あるいはpH低下に起因しているものと思われる。

気孔運動は種々の代謝反応に依存している(7,8)。気孔運動に関与している代謝過程を明ら かにするために、最近、単離孔辺細胞を作るための便利な方法が開発された。すなわち、表皮切片 から葉肉細胞や孔辺細胞以外の表皮細胞を除くためのローリング法(1)および音波処理法(4) である。本研究では、ソラマメ、3種のタバコおよび5種のイネ科植物を用いて、SO₂暴露による 蒸散速度変化と葉中のABA 含有量を調べ、2種の植物を除きSO₂暴露に対する気孔反応にABA が関与していることを確認した。更に、SO₂暴露に伴う気孔運動を *in vitro*で研究するために、ソ ラマメの葉から剥いだ表皮切片の気孔開度に及ぼす pH と 亜硫酸イオンの影響および ABA の影響 について研究した。

材料および方法

植物材料:イネ (Oryza sativa L. cv. Nihonbare), ハトムギ (Coix Ma-yuen Roman) お よびコムギ (Triticum aestivum L. cv. Norin No. 61) は環境を制御したガラス室の中で, 自然 光下25±0.5℃, 相対湿度70±5%で約8週間育成した。トウモロコシ(Zea mays L. cv. Yellow Dent-corn), ソルガム (Sorghum vulgare Rers.), ソラマメ (Vicia faba L. cv. Otafuku), 落花生 (Arachis hypogaea L. cv. Chibahandachi) およびダイコン (Raphanus sativus L. cv. Minowase) は上記と同じ条件下でそれぞれ約4,6,6-7,8および4週間育成した。タバコ (*Nicotiana tabacum* L. cv. Samsun と Samsun NN および *N. glutinosa* L.) は温度が20から28 \mathbb{C} に維持された温室の中で約3か月間育成された。

SO₂暴露および蒸散速度測定:ガラス室で栽培した植物を、SO₂暴露用のグロースキャビネット (170×230×190 cm)へ移し、約30,000 lxの光照射下で25±0.5℃、相対湿度75±3%の条件 で2時間前処理した。光は熱線吸収フィルターを通した24個の陽光ランプにより得られた。SO₂暴 露は2.0±0.08 ppm (moles/moles) 濃度で行った。蒸散速度は鉢植え植物の重量の減少速度に より測定した。鉢は土壌表面からの蒸発の影響を防ぐためにビニールシートで覆われた。

ABAの抽出および定量:約3から5gの葉を切り取り、すばやく重さを測り、20 mg/l ブチル ヒドロキシトルエンを含む氷冷のメタノールー酢酸エチルー酢酸(50:50:1、v/v)60 ml に浸 し、ホモゲナイザーにて磨砕した。一晩4℃にて放置した後、7,000×gで10分間遠心した。上清 を40℃で濃縮して有機溶媒を除いた。50 mlの水を加えてpH 2.5 で*n*- ヘキサン、次いでpH 9.0 でジクロルメタンで洗い、pH2.5 に戻してジクロルメタンにて抽出した。このジクロルメタン層を濃縮 乾固した後、少量の酢酸エチルに溶かし、20×20 cm²のシリカゲル 60F 254のプレートに点着した。 cis- trans ABA の標準試料も点着し、トルエンー酢酸エチルー酢酸(40:5:2・v/v)にて展 開した。展開後、紫外線ランプを用いて ABA の位置を決め、相当する部分をかき取り水飽和の酢 酸エチルで溶出した。溶出物を濃縮乾固しジアゾメタンでメチル化した。メチル化試料を乾固した 後、0.2 mlの酢酸エチルに溶かし、ECD 付きガスクロマトグラフ(日立163)で分析した。試料 1 μ lを、1% XE 60を液相とする充填剤を詰めた 2mのガラスカラムに注入した。キャリアガスは 流速50 ml/minの窒素ガス、オーブン温度は 200℃、検出器と注入部の温度は 240℃とした。 ABA はピークの面積から定量した。各試料は3度測定した。表1の値は2 試料の平均値である。

表皮切片の調整と音波処理:ガラス室で栽培したソラマメをグロースキャビネットの中で、光照 射下、25℃で2から4時間前処理してから葉を切り取り、裏面の表皮を剥ぎ取った。表皮切片を10 mM KC1と0.1 mM CaCl₂からなる溶液に入れ、音波破砕機(A 350G、Ultrasonic)を用いて 2分間音波処理した。顕微鏡観察により葉肉細胞の付着がないことを確かめた。

表皮切片における気孔開度の測定: 音波処理した表皮切片を10 mM KCl と 0.1 mM CaCl₂ を含 む緩衝液10 ml に入れ、約40,000 lx の光照射下、25 °C で 1.5 から20時間培養し、顕微鏡写真を撮 り、気孔開度を測定した。培養液には目的に応じて ABA や亜硫酸ナトリウムが加えられた。緩衝 液は Mcllvaine の緩衝液, MES 緩衝液およびその他の緩衝液が用いられた。図および表に示され ている値は約30から50個の気孔の平均開度である。

結 果

SO2暴露による蒸散速度の変化:図1にSO2暴露によるタバコの蒸散速度の変化を示す。

N. tabacum L. cv. Samsun と Samsun NNの蒸散速度は暴露開始後10分以内に急速に減少し始 め30分後にはそれぞれ暴露前のレベルの50および55%に達した。その後極めてゆっくり減少し続け た。N. glutinosa L. は暴露開始後わずかに蒸散速度が増大し40分後から徐々に減少した。図2に ソラマメと5種のイネ科植物のSO2暴露による蒸散速度の変化を示す。イネの蒸散速度は、暴露開 始後5分で始めの速度の23%にまで低下した。その後わずかに回復した後一定レベルを保った。ハ トムギとトウモロコシの蒸散速度も暴露後直ちに減少し20分後には暴露前のレベルのそれぞれ50お よび65%に達し、その後一定の速度を保った。コムギの蒸散速度も20分後に30%ほど減少した。1 時間そのレベルを保持した後、再び減少し始めた。ソルガムの場合には、蒸散速度はSO2暴露開始



- 図1 SO₂暴露によるタバコの蒸散変化。3種のタバコ (N. tabacum L. cv. Samsun; -●-, Samsun NN; -O-, N. glutinosa; -△-)を暴露前に2
 時間グロースキャビネットの中で条件適応させた。矢印で示した0時間に2.0 ppm SO₂を流入した。
- Fig. 1 Changes in transpiration rate of tobacco plants with SO₂ fumigation. Tobacco (*N. tabacum* L. cv. Samsun; --•-, and Samsun NN; --•-, and *N. glutinosa*; ----) plants were preconditioned for about 2 hr in the growth cabinet prior to 2.0 ppm SO₂ fumigation. SO₂ gas was introduced into the cabinet at 0 time indicated by the arrow.





Fig. 2 Changes in transpiration rate of Gramineae and broad bean with SO₂ fumigation. SO₂ fumigation was performed in the same manner as described in the legend to Fig. 1.

表1 供試植物の葉のABA含有量 Table 1 ABA content in leaves of test plants

	<u>,</u>	ABA content ⁸ (ng/g fr. wt)
Tobacco		
N. tabacum L. Samsun		283
N. tabacum L. Samsun NN		120
N. glutinosa L.		12
Rice		530
Aldav		269
Wheat		177
Corn		3
Sorghum		18
Broad bean		42

各試料は3回測定された。

a 2 試料の平均値

Each sample was measured three times.

^a Average of two samples.

後10分以内に減少し始め、40分後に暴露前のレベルの50%に達した。ソラマメは暴露開始後20分間 わずかに蒸散速度の増加が見られ、その後、次第に減少した。

植物の葉のABA含有量:表1に供試植物の葉に含まれるABA量を示す。含有量はイネで最も高かった。N. tabacum L. cv. Samsun とハトムギは次に高かった。N. tabacum L. cv. Samsun NN とコムギの含有量はN. tabacum L. cv. Samsun とハトムギの半分程度であり、N. glutinosa L. とソラマメの含有量は低かった。トウモロコシの含有量は極めて低く、ゾルガムも同様に含有量が少なかった。トウモロコシとソルガムの場合を除き、今回の実験もSO2暴露による気孔開度減



- 図3 HClとNa₂SO₃処理の落花生(A)とダイコン(B)の蒸散速度に及ぼす影響。0.04 N HCl(O), 0.04 M Na₂SO₃(●)および脱イオン水(●)を 0時間(A)あるいは120min(B)に葉面に塗った。ダイコンの場合には、 3×10⁻⁴M ABAを0時間に塗った(B)。
- Fig. 3 Effects of foliar application of HCl and Na₂SO₃ on the transpiration rate of peanut (A) and radish (B). 0.04N HCl (☉), 0.04M Na₂SO₃ (☉) and deionized water (☉) were exogenously applied with fingers to leaves at 0 time (A) or at 120 min (B). In the case of radish, 3×10⁻⁴ M ABA was applied at 0 time (B).

少の速さおよび大きさは ABA の葉中含有量によって支配されていることを示している。

 Na_2SO_3 とHCl 処理の蒸散速度に及ぼす影響: Na_2SO_3 とHCl の葉面処理の蒸散速度に及ぼす 影響を落花生とダイコンを用いて検討した。落花生の葉は大量のABAを含有しており、ダイコン は少量のABAしか含んでいないことは以前に報告した(5,6)。蒸散速度が安定したのち、0.04 M Na_2SO_3 , 0.04 N HCl あるいは脱イオン水を葉面に処理し、蒸散測定を継続した。水を塗る だけで落花生の小葉対は幾分閉じて蒸散速度が減少したが、その後徐々に回復した。 Na_2SO_3 処理 した落花生の蒸散速度の変化は水処理の場合と同じ時間経過をたどった。一方、HCl 処理により水 処理レベルの70%まで蒸散速度は低下した(図3A)。ダイコンの場合には、いずれの処理でも蒸 散変化は認められなかったが、あらかじめABA 処理することにより、HCl 処理で蒸散が減少す るようになった(図3B)。

音波処理した表皮切片における気孔開度に及ぼす亜硫酸とpHの影響:図4に気孔開度に及ぼす 亜硫酸の影響を示す。培養液にABAを加えていない場合には、亜硫酸濃度10⁻⁵から10⁻³Mの範囲 で気孔開度の若干の増加が見られた。10⁻⁷MのABA存在下では亜硫酸の促進効果は認められなか



- 図4 表皮切片の気孔開度に及ぼす亜硫酸の影響。ソラマメの葉から剥ぎ取り,音 波処理した表皮切片を10mM KCl、0.1mM CaCl₂ および種々の濃度の Na₂SO₃を含んだ10mM MES 緩衝液の10mlに入れ10⁻⁷Mの ABA 存在下 (-○-)あるいは非存在下(-●-)における気孔開度を測定した。各点に標 準誤差の範囲を示した。
- Fig. 4 Effects of sulfite on the stomatal aperture size in the epidermal strips. Sonicated epidermal strips peeled from broad bean leaves were placed in 10 ml of 10 mM MES buffer (pH 6.0) containing 10 mM KCl, 0.1 mM CaCl₂ and various concentrations of Na₂SO₃ in the presence (----) or absence (----) of 10⁻⁷ M ABA. After 1.5 to 2.0 hr incubation at 25° C under about 40,000 lux, stomata were photographed and the aperture size was measured. Vertical bars represent the standard errors.



- 図5 表皮切片の気孔開度に及ぼす pHの影響。音波処理したソラマメの表皮切片を 10mM KCl と 0.1 mM CaCl₂を含む ½ Mcllvaineの緩衝液に入れ、10⁻⁷ M ABA 存在下(-〇-)および非存在下(-●-)における気孔開度を測定した。
- Fig. 5 Effects of pH on the stomatal aperture size in the epidermal strips. Sonicated epidermal strips peeled from broad bean leaves were placed in 10 ml of a tenth strength of McIlvaine's buffer with different pH containing 10 mM KCl and 0.1 mM CaCl₂ in the presence (-0--) or absence (-0--) of 10⁻⁷M ABA. Incubation and measurement of stomatal aperture size were performed as described in the legend to Fig. 4. Vertical bars represent the standard errors.

った。次に、気孔開度に及ぼす pH の影響を調べ、結果を図5 に示す。 % 強度の Mcllvaine 緩衝液 に ABA を加えない場合は、pH 3.0 から7.0 の範囲で気孔開度に有意な差は認められなかった。 $10^{-7}M$ ABAの存在下では、酸性領域で気孔開度が減少し pH 4.0 で最小値を示した。pH 4.5 と 7.0 で他の緩衝液を用いた場合も同様の結果が得られた(表 2)。 pH 4.5 において ABAの効果の 濃度依存性を調べた結果を図6 に示す。 $10^{-8}M$ 以上で明らかな阻害効果を示し、 $10^{-8}M$ では顕著な 開度減少が見られた。pH 7.0 の場合でも、 $10^{-8}M$ 以上の濃度で ABA は明らかな気孔開度減少を 引き起こすので、pH の低下は ABA の作用を増幅しているように思われる。

表2 表皮切片の気孔開度に及ぼす緩衝液の影響

Table 2 Effects of different buffers on the stomatal aperture size in the epidermal strips

Buffer ^a		Stomatal ape	Stomatal aperture (µm) ^b		
	pH	-ABA	+10" M ABA		
McIlvaine	4.5	9.57 ± 0.48(52)	5.99 ± 0.37(51)		
McIlvaine	7.0	10.73 ± 0.56(46)	11.68 ± 0.31(49)		
Glycine-NaCl-HCl	4.5	$10.02 \pm 0.39(48)$	6.55 ± 0.25(47)		
Tris-maleate	7.0	9.85 ± 0.37(48)	10.63 ± 0.33(45)		

a %濃度の緩衝液を用いた。

b 各値に標準誤差を示した。かっこ内の数字は測定した気孔の数を示す。

^a A tenth strength of each buffer used.

^b Each value with standard error. Figures in parentheses representing the number of stomata measured.



- 図6 表皮切片の pH 4.5 における気孔開度に及ぼす ABA の濃度の影響。 pH は % McIlvaineの緩衝液を用いて調節した。
- Fig. 6 Effects of ABA concentration on the stomatal aperture size in the epidermal strips at pH 4.5. The pH was adjusted with a tenth strength of McIlvaine's buffer.

考 察

私たちは既にABA含有量の高い植物の蒸散速度はSO₂暴露によって直ちに、迅速にそして大き く減少することを報告した(5,6)。3種のタバコ属植物および5種のイネ科植物を用いた本研究 において、C₃植物においてのみ同様の結果を得たが、トウモロコシとソルガムのC₄植物では異な る結果を得た。このような例外がC₄植物に限定されるものかどうかは今後の問題である。

SO₂の植物への影響を亜硫酸あるいは重亜硫酸の影響と酸としての影響とに分けて考えることが できる。Na₂SO₃を葉面処理しても落花生やダイコンの蒸散速度に影響を与えなかったが、HCl を 処理した場合には落花生の蒸散速度は減少した。また、あらかじめABA処理したダイコンの蒸散 速度もHCl処理により低下した。これらの結果から、ABAに依存したSO₂暴露による蒸散速度低 下は孔辺細胞の表面あるいは孔辺細胞の細胞液のpHが低下した結果であることが示唆された。本 研究では見られなかったが、培養液のpHが低いと気孔開度が増大するという報告がある(3,10)。 また、SO₂暴露により気孔が開くことが時々観察された(図1と2,5,6,11)。SO₂による気孔開孔運 動は孔辺細胞周辺のpH低下によって説明できるかもしれない。本研究では、ABAを培養液に加 えない条件で亜硫酸はわずかに気孔開度を増大した。SO₂による気孔開孔はこの亜硫酸の作用によ っても説明されるかもしれない。

中性 pH 領域でも ABA の濃度が高ければ気孔を閉じさせることができるので,培養液の pH の 低下に伴い気孔閉孔に必要な ABA 濃度が下がるように思われる。 ABA の活性化の機能を明らか にするためには、その前に ABA の気孔閉孔作用の機構を明らかにする必要があるが、 pH に 依存 した ABA の活性化の機構として pH の低下に伴う孔辺細胞への ABA の吸収の増加が考えられる。 培養液の pH が低いと培養細胞が大量のインドール - 3- 酢酸を吸収することは、すでに報告され ている(9)。しかし、このような機構が植物の中で実際に働いているかどうかを知るためには、 SO2暴露した葉の中でABA が葉肉細胞や表皮の周辺細胞から孔辺細胞に移動するかどうかを調べ なければならない。

リンゴ酸生成が気孔開孔に重要な役割を果たしていることは知られている。また PEP カルボキ シラーゼはリンゴ酸生成を支配する酵素であるが、亜硫酸がトウモロコシの PEP カルボキシラー ゼ活性を阻害することが報告されている(12)。従って、SO2 暴露によるトウモロコシの蒸散速度 減少は亜硫酸による PEP カルボキシラーゼ阻害の結果かもしれない。他の植物の PEP カルボキ シラーゼに対する亜硫酸の影響についての報告が少ないので、種々の植物の PEP カルボキシラー ゼに対する亜硫酸の影響を調べるのは興味深い仕事であろう。

引用文献

1. Allaway, W. G. and T. C. Hsiao. 1973. Preparation of rolled epidermis of Vicia faba L. so that stomata are the only viable cells: analysis of guard cell potassium by flame photometry. Aust. J. Biol. Sci. 26: 309-318

- 58 -

- Bell, J. N. B. and C. H. Mudd, 1976. Sulphur dioxide resistance in plants: a case study of Lolium perenne. In Effects of Air Pollutions on Plants. (Edit. by T. A. Mansfield), p. 87-103. Cambridge University Press
- 3. Dittrich, P., M. Mayer and M. Meusel. 1979. Proton-stimulated opening of stomata in relation to chloride uptake by guard cells. Planta 144: 305-309
- 4. Durbin, R. D. and A. Graniti. 1975. A simple technique for obtaining functionally isolated guard cells in epidermal strips of Vicia faba. ibid. 126: 285-288
- Kondo, N. and K. Sugahara. 1978. Changes in transpiration rate of SO₂ -resistant and -sensitive plants with SO₂ fumigation and the participation of abscisic acid. Plant & Cell Physiol. 19: 365-373
- 6. 近藤矩朗・菅原 淳. 1978. 二酸化イオウに対する植物の抵抗性に関する研究(2). 二酸化イオウ暴 露による植物の蒸散変化とアブサイシン酸量との関連について、陸上植物による大気汚染環境の評価と改 善に関する基礎的研究,昭和51/52年度研究報告,国立公害研究所特別研究成果報告 R-2-78, p.66-78
- 7. Ogawa, T., H. Ishikawa, K. Shimada and K. Shibata. 1978. Synergistic action of red and blue light and action spectra for malate formation in guard cells of *Vicia faba* L. Planta 14: 61-65
- 8. Raschke, K. 1975. Stomatal action. Ann. Rev. Plant Physiol. 26: 309-340
- 9. Rubery, P. H. 1978. Hydrogen ion dependence of carrier-mediated auxin uptake by suspension-cultured crown gall cells. Planta 142: 203-206
- 10. Squire, G. R. and T. A. Mansfield. 1972. A simple method of isolating stomata on detached epidermis by low pH treatment: observation of the importance of the subsidiary cells. New Phytol. 71: 1033-1043
- 11. Unsworth, M. H., P. V. Biscoe and H. R. Pinckney. 1972. Stomatal responses to sulphur dioxide. Nature 239: 458-459
- 12. Ziegler, I. 1973. Effects of sulphite on phosphoenolpyruvate carboxylase and malate formation in extracts of Zea mays. Phytochem. 12: 1027-1030

Summary

Transpiration rate of rice plant which contained extremely large amount of abscisic acid (ABA) decreased rapidly with 2.0 ppm SO₂ fumigation, reached 20% of the initial level after 5 min exposure, then recovered slightly and thereafter remained constant. SO₂ fumigation of alday and tobacco (Nicotiana tabacum L. Samsun) which have a lower ABA content showed a 50% decrease in transpiration rate. Similarily, rates for wheat and tobacco (N. tabacum L. Samsun NN) which contained even smaller amounts of ABA than alday and tobacco (Samsun) decreased by 35 and 45%, respectively, 30 min after the beginning of the fumigation. In the cases of broad bean and tobacco (N. glutinosa L.) with low ABA contents, the rates slightly increased immediately after the start of the fumigation and began to decrease gradually 20 and 40 min later, respectively. The transpiration rates of corn and sorghum, in spite of their extremely low ABA contents, pronouncedly decreased with SO_2 fumigation and reached 65 and 50% of the initial levels after 20 and 40 min exposure, respectively. Foliar application of 0.04 N HCl to peanut leaves remarkably depressed the transpiration rate, while the application of 0.04 M Na₂SO₃ decreased the rate only to the same level as water treatment. Foliar application of either HCl or Na₂SO₃ to radish leaves exerted no change in the transpiration rate. When 3×10⁻⁴ M ABA was applied to radish leaves prior to HCl and Na₂SO₃ treatment, the transpiration rate of radish was decreased by HCl application, but not by Na₂SO₃. The stomatal aperture size of sonicated epidermal strips peeled from broad bean leaves was identical in a pH range of 3.0 to 7.0 in the medium. Addition of 10⁻⁷ M ABA to the medium decreased the aperture size in the acidic region of pH with a minimal value at pH 4.0. Na₂SO₃ produced a slight increase in the aperture size in the absence of ABA, but showed no effect in the presence of ABA.

Key words: Abscisic acid -pH-Stomata-Sulfite-Sulfur dioxide-Transpiration

国立公害研究所研究報告 第10号 (R-10-, 79) Research Report from the National Institute for Environmental Studies No. 10, 1979

II − 3

植物における亜硫酸酸化活性

近藤矩朗¹• 秋山洋子²• 藤原 誠³• 菅原 淳¹• 岩城英夫⁴

Sulfite oxidizing activities in plants

Noriaki KONDO¹, Yoko AKIYAMA², Makoto FUJIWARA³, Kiyoshi SUGAHARA¹ and Hideo IWAKI⁴

要 旨

種々の植物の葉からの抽出物中に、亜硫酸によるチトクロムcの還元を媒介する低分 子物質と、チトクロムやその他の試薬の添加なしに亜硫酸酸化を触媒する高分子物質 が存在することを見出した。低分子活性物質は箱根大涌谷に生育するアセビ、ノリウ ツギ、サラサドウダンおよびガラス室栽培のインゲン、トウゴマにおいて高い活性を示 した。この物質は熱およびトリプシン処理によって影響を受けず、負に荷電していた。 部分精製したこの物質は単独でチトクロムcを還元し、亜硫酸はこの還元を促進した。 高分子活性物質はセファデックスG-200を用いたゲル沪過により、分子量的に2種 類以上の物質が存在することが認められた。分子量が小さい方の高分子活性物質はイ オン交換クロマトグラフィーにより、幾分正に荷電していることが示された。また、 この物質は熱処理により失活した。これら高分子物質により減少した亜硫酸のほとん どが硫酸に変わっていることをイオンクロマトグラフィーにより確認した。これらの 活性と二酸化硫黄(SO₂)に対する植物の抵抗性との関係を調べるため、被害の評価 - 法としてクロロフィルαとりの比の減少をとり、吸収されたSO₂当たりの被害とこれ らの活性との比較を試みた。

緒言

SO2暴露による典型的な植物の可視害徴はクロロシスやネクロシスである。可視障害の大きさは 植物の種類によって著しく異なり、この差違は気孔を通してのSO2吸収速度によっていると考えら

1. 国立公害研究所 生物環境部

- 4. 筑波大学 生物科学
- 1. Division of Environmental Biology, The National Institute for Environmental Studies, Tsukubagakuen, Ibaraki 305
- 2. The Graduate School of Environmental Science, The University of Tsukuba, Sakura-mura, Ibaraki 305
- 3. College of General Education, University of Tokyo, Meguro-ku, Tokyo 153
- 4. Institute of Biological Science, The University of Tsukuba, Sakura-mura, Ibaraki 305

^{2.} 筑波大学 環境科学

^{3.} 東京大学 教養学部

れてきた(18, 19)。最近, SO2暴露の際,気孔をす早く閉じSO2吸収を少なくする植物はSO2に 対して強い抵抗性を示すことが明らかになった(11, 12)。更に、SO2に対する植物の抵抗性がい くつかの生化学的要因によって支配されている可能性が指摘された(3)。植物に吸収されたSO2 は亜硫酸イオンになり、代謝されてシスチン、グルタチオン等になる。また、植物を³⁵SO2に暴露 すると植物中の³⁵Sの大部分は硫酸として存在した(21)。硫酸は亜硫酸と比較して植物に対して 30倍も低毒性であることが報告されている(20)。また、最近、植物中における亜硫酸酸化と亜硫 酸イオンに対する抵抗性との間に相関があることが報告された(14)。

亜硫酸の硫酸への空気酸化は金属イオン,紫外線照射,色素,酵素等によって開始される(1)。 動物の肝臓に亜硫酸酸化酵素が存在しており、SO₂に対する動物の抵抗性と密接な関係があること が報告されている(4,5)。また,亜硫酸は光照射下の葉緑体中で電子伝達反応を通して酸化され た(1)。植物のミトコンドリア中にも亜硫酸酸化活性が存在する(2,16,17)が、活性物質の性 質については十分な検討がなされていない。

本研究では、亜硫酸酸化活性を有する物質を種々の植物を用いて調べた。亜硫酸によるチトクロム c の還元を触媒する活性を分光学的に、亜硫酸を減少させる活性を亜硫酸と DTNB との反応により測定した。更に、これらの活性とSO₂に対する植物の抵抗性との関連についても検討した。

材料および方法

植物材料:アセビ (Pieris japonica D. Don), リョウブ (Clethra barbinervis Sieb. et. Zucc), ノリウツギ (Hydrangea paniculata Sieb.) およびサラサドウダン (Enkianthus campanulatus Nichols) は箱根大涌谷にて採取し、-20℃に凍結保存した。落花生 (Arachis hypoganea L. cv. Chibahandachi), トマト (Lycopersicon esculentum Mill cv. Fukuju No. 2), ヒマワリ (Helianthus annuus L. var. Russian Marmoth), 青ジソ (Perilla frutescens Britt, var. Crispa Decaisne), トウゴマ (Ricinus communis L.), インゲン (Phaseolus vulgaris L. cv. Shin-edogawa および Master peace) およびソラマメ (Vicia faba L. cv. Otafuku) は環境を 制御したガラス室の中で、 25 ± 0.5 ℃, 相対湿度70±5%で自然光のもとで栽培した。ホウレンソ ウ (Spinacia oleracea L. cv. Newasia) は20±0.5℃で栽培した。培養土はバーミキュライト, ピートモス, パーライト, 小砂利 (2:2:1:1) から成っていた。肥料として、8g/1のマグ ネシアライム、4g/1のマグアンプKを初めに与え、1g/1のハイポネックスを週2回与えた。

試料調整:切り取った葉5gに0.1 mMの EDTA を含む0.1 Mのカリウム - リン酸緩衝液(pH 7.8)45 mlを加え磨砕した。2層のガーゼを通して沪過した沪液を7,000×gで10分間遠心して 得た上清を試料として用いた。

SO2暴露: ガラス室で栽培した植物をガス暴露用グロースキャビネット(170×230×190 cm) に移し、温度25±0.5℃(ホウレンソウの場合は20±0.5℃),相対湿度75±3%,照度25,000か ら 35,0001xのもとで1時間から3時間条件適応させた後に、SO2ガスに暴露した。 光源は24個の 陽光ランプを用いた。キャビネット内の風速は0.22m/sであった。

チトクロム c の還元による亜硫酸酸化活性の測定: 亜硫酸酸化活性の測定のため還元型チトクロ ム c の生成を分光学的に観察した。 4×10^{-5} M チトクロム c, 10^{-4} M の EDTA, 0.1 M のトリス – 塩酸緩衝液 (pH 8.5) と試料よりなる反応混液 2.9 mlを30分から40分間室温に放置し, その後 3 ×10⁻³Mの亜硫酸ナトリウムを 0.1 ml 加えて 550 nm の吸光度の変化を測定した。活性は 亜硫酸の 添加後 1 分での吸光度の増加速度から求めた。

DTNBによる亜硫酸の定量:植物抽出物が外から加えた亜硫酸を減少させる能力を測定するために、DTNBによる亜硫酸の定量を行った(9)。試料、 10^{-4} Mの亜硫酸ナトリウム、 10^{-4} Mの EDTA、0.1 Mのトリス-塩酸緩衝液(pH 8.5)からなる反応混液3mlを25℃で数分から30分間培養し、その後、反応混液1mlを取り、6.25×10⁻⁵MのDTNB、2.5×10⁻⁵Mのカリウム-リン酸緩衝液(pH 7.0)からなる反応混液4mlに加え、数分後に412nmの吸光度を記録した。5×10⁻⁵MのDTNBにより、 3.5×10^{-5} Mの濃度までの亜硫酸の直線的な検量線が得られた。

熱処理およびトリプシン処理:植物葉からの抽出物を96℃で10分間加熱した後,直ちに氷で冷やし、7,000×gで10分間遠心して上清を使用した。また、1mlの抽出物を1mg/mlのトリプシンと共に37℃で3時間反応させた。

セファデックスG - 25およびG - 200 によるゲル沪過:切り取った10gの葉を0.1 mMのEDTA を含む0.1 Mのカリウム - リン酸緩衝液(pH 7.8)40mlに浸し磨砕した後,2層のガーゼで沪 過し7,000×gで10分間遠心した。上清を凍結乾燥して0.1 Mのカリウム - リン酸緩衝液(pH 6.0)3mlに溶かしセファデックスG - 25あるいはG - 200カラム(2.2×32cmあるいは1.9× 44cm)により分画した。

イオン交換クロマトグラフィー:アセトン抽出物あるいはゲル沪過により得られた活性画分を集めて DEAE あるいは CM セルロースを充填したカラム (3×12cm) に載せた。 0.05 M あるいは 0.005 Mのカリウム - リン酸緩衝液 (pH 6.0) に塩化ナトリウムの濃度勾配を作って溶出した。

イオンクロマトグラフィー:部分精製した活性物質によって亜硫酸がどんな物質になるかを調べるためイオンクロマトグラフを用いた。試料を亜硫酸,1.0mMのEDTAおよび緩衝液からなる反,応混液に加えて反応させ、反応液の一部をイオンクロマトグラフに注入した。0.003M重炭酸ナトリウムと 0.0024M炭酸ナトリウムからなる溶液を用いて 97.5 ml / hr の流速で溶出した。 亜硫酸 と硫酸の保持時間はそれぞれ13分,17分だった。

金属の測定:葉抽出物のゲル沪過画分中の数種の金属は原子吸光光度計を用いて測定した。

クロロフィルαとりの定量:植物を0.5から1.5ppmSO2に3時間暴露し,更に6時間,光の下に 放置した。葉から打ち抜いた20から25枚のディスクを80%アセトン中で磨砕し,7,500×gで10分 間遠心した。上清のクロロフィルαとりを分光学的に測定した。図10の場合にはホウレンソウを 2.0 ppm SO₂に暴露し、1.5 時間ごとに葉から10枚のディスクを打ち抜いて抽出した。

葉中の硫黄含有量の測定:植物を0.5から1.5ppm SO₂に3時間暴露した後,直ちに葉を切り取 り70℃で数日乾燥した。乾燥葉を乳鉢を用いて粉砕し、硫黄含有量をけい光X線分析計を用いて測 定した。

結 果

亜硫酸によるチトクロム *c* 還元を触媒する活性:植物抽出物の亜硫酸酸化活性をチトクロム *c* の 還元によって測定した。表1に示したように、大気中のSO₂濃度が高い箱根大涌谷に生育するアセ ビ、ノリウツギ、サラサドウダンおよびガラス室栽培のトウゴマ、インゲンに高い活性が見られた。 一方、ホウレンソウ、ソラマメの活性は極めて弱かった。

抽出物に加えた亜硫酸の減少:インゲン抽出物に与えた亜硫酸の減少の経過を図1に示す。亜硫

表1 亜硫酸によるチトクロム c の還元を触媒する活性。表中の植物の種類は上か ら、アセビ、リョウブ、ノリウツギ、サラサドウダン、トマト、ホウレンソ ウ、ヒマワリ、青ジソ、落花生、トウゴマ、インゲン、ソラマメ。

Table 1 Activity catalyzing cytochrome c reduction caused by sulfite.

10 ³ △A _{5 50} /min/mg fr.wt		
Exp. 1 ^a	Exp. 2 ^b	
36.0	67.0	
1.0		
12.0		
11.5		
1.5	1.0	
	0.0	
1.1		
1.4		
	0.2	
	1.6	
	12.0	
	15.2	

a 亜硫酸濃度、10μM

^b 亜硫酸濃度, 100 μM

^a Sulfite concentration, 10µM.

^b Sulfite concentration, 100µM.



- 図1 インゲン抽出物に与えた亜硫酸の減少。インゲン抽出物 0.5 ml を反応混液 2.5 ml に加え、室温にて反応させた。経時的に 1.0 mlの反応液をDTNBを 含む緩衝液 4.0 ml に加え、412 nmの吸光度を測定した。
- Fig. 1 Decrease in sulfite exogenously applied to kidney bean extract. The extract from kidney bean of 0.5 ml was incubated in a test tube containing reaction mixture with a final volume of 3.0 ml at room temperature. After the various durations of time, 1.0 ml of the incubation mixture was taken into a test tube containing 4.0 ml of buffer with DTNB, and then absorbance at 412 nm was read in a spectrophotometer.

表2 チトクロム c 還元による亜硫酸酸化活性と亜硫酸を減少させる活性の比較

 Table 2
 The comparison between cytochrome c-linked sulfite oxidizing activity and the ability to decrease exogenous sulfite in the extract from test plants

	Cyt c reduced	Sulfite decreased	
	(n moles/min/mg fr.wt)		
Tomato	0.11	0.002	
Broad bean	0.00	0.014	
Spinach	0.00	0.020	
Peanut	0.56	0.024	
Castor bean	0.88	0.041	
Kidney bean	1.16	0.027	

酸濃度は反応時間と共にほぼ直線的に減少した。亜硫酸の減少速度を算出するために、反応開始後 10分と30分における濃度の差を求めた。亜硫酸の減少速度とチトクロム c の還元速度の比較を表 2 に示した。亜硫酸を減少させる活性はトウゴマで高く、トマト、ソラマメで低かった。亜硫酸減少 活性とチトクロム c 還元による亜硫酸酸化活性を比較すると、トマト、ホウレンソウ、ソラマメで

- 65 -

はどちらの活性も弱く、トウゴマはいずれの活性も高かった。しかしながら、この二つの活性の間 には必ずしも顕著な平行関係はなかった。

亜硫酸酸化活性物質のゲル沪過:トウゴマ抽出物をセファデックスG-25で分画すると、亜硫酸 を減少させる活性を持つ画分とチトクロム c の還元を触媒する活性を持つ画分とは分離した(図2)。



- 図2 亜硫酸酸化活性物質のゲル沪過。トウゴマ抽出物をセファデックスG-25の カラム(2.2×32cm)にて分画した。チトクロムc還元を触媒する活性 (-O-)と亜硫酸を減少する活性(-●-)とを測定した。
- Fig. 2 Gel filtration of the substances with sulfite oxidizing activities. The extract from castor bean leaves was applied to a Sephadex G-25 column $(2.2 \times 32 \text{ cm})$ and 5 ml fraction each was collected. Cytochrome *c*-linked sulfite oxidizing activity (-0-) and the ability to decrease sulfite exogenously applied (-0-) were determined.

前者はボイドボリュームに位置し,後者は低分子量領域にあった。各分画中の金属を原子吸光光度 計により測定した。図3にマンガンと鉄のパターンを示している。鉄の大きなピークとマンガンの 小さなピークがボイドボリュームに見られた。一方、チトクロム c の還元を触媒する活性を有する 低分子領域には、鉄、マンガンだけでなく、マグネシウム、鋼、コバルト、モリブデンもまた見出 されなかった。

亜硫酸酸化活性物質の生化学的性質:インゲン抽出物におけるチトクロム c 還元による亜硫酸酸 化活性は pH 8.0 と 8.5 の間に至適 pH を持った(図 4)。他の植物からの抽出物もまた同じ至 適 pH を示した。熱処理,トリプシン処理のいずれもこの活性に影響を与えなかった(表 3)。この活



- 図3 セファデックスG 25を用いたゲル沪過分画中の重金属。鉄(--●--) お よびマンガン(--○--)の濃度は原子吸光光度計を用いて測定した。チト クロム c 還元を触媒する亜硫酸酸化活性(-----) も測定した。
- Fig. 3 Determination of heavy metals in the fractions obtained by gel filtration using Sephadex G-25. The concentrations of Fe (-..-) and Mn (-o-) were determined with an atomic absorption spectrophotometer. Cytochrome c-linked sulfite oxidizing activity (-) was also determined.



- 図4 チトクロム c 還元による亜硫酸酸化活性の pH 依存性。インゲンの2 栽培品 種(新江戸川; -○-, マスターピース; -●-)の抽出物0.5mlを反応混液 に加えた。0.1 Mカリウム - リン酸(pH 6.0 から8.0) と0.1 Mトリス -塩酸(pH 7.5 から9.0)を用いて pH を調節した。
- Fig. 4 pH dependence of cytochrome c-linked sulfite oxidizing activity. The extracts from two cultivars (Shinedogawa, -o- and Master peace, -●-) of kidney bean, 0.05 ml each, was added to reaction mixture. The pH was adjusted with 0.1 M potassium phosphate (pH 6.0 to 8.0) and with 0.1 M Tris-HCl (pH 7.5 to 9.0).

表3 チトクロム c 還元による亜硫酸酸化活性に及ぼす熱処理とトリプシン処理の 影響

	$10^3 \Delta A_{550}/min/mg fr.wt$				
	Heat treatment (min)		Trypsin treatment (h)		
	0	10	0	3	
Kidney bean					
Shinedogawa	14.4	14.4	8.9	8.3	
Master peace	17.4	11.0	-	-	
Castor bean	9.8	9.3	10.0	8.2	

Table 3 Effect of heat and trypsin treatments on cytochrome c-linked sulfite oxidizing activity



- 図5 チトクロム c 還元による亜硫酸酸化活性のイオン交換クロマトグラフィー。 トウゴマ葉10gからのアセトン抽出物を遠心してタンパク質を除き、濃縮し てアセトンを除いた。濃縮物をDEAE セルロースを充てんしたカラムを用い て分画した。
- Fig. 5 Ion exchange column chromatography of cytochrome c-lined sulfite oxidizing activity. Acetone extract from 10 g of castor bean leaves was centrifuged, concentrated to remove acetone, loaded onto a column packed with DEAE cellulose, and then eluted by a gradient of NaCl in 0.05 M potassium phosphate buffer (pH 6.0).

性物質は図2に示したようにゲル沪過分画の低分子量領域に溶出され、DEAEセルロースを用いた イオン交換クロマトグラフィーにおいて0.85MのNaClで溶出された(図5)。また、CMセルロー スには吸着されなかった。この物質は亜硫酸を加えることなしに単独でも著しくチトクロム c を還 元し、亜硫酸は還元を促進した(図6)。亜硫酸による還元速度は次第に減少し、亜硫酸の再添加


- 図6 活性物質および亜硫酸によるチトクロム c 還元の経過。図5 における DEAE セルロースによる活性画分を集め、10ml に濃縮して試料とした。50 µl の試 料を0 min に反応液2.85ml に加え、3 mMの亜硫酸0.1 ml を31 min および 更に39 min に加えた。
- Fig. 6 Time course of cytochrome c reduction induced by the active substance and enhanced by sulfite. Fractions with cytochrome c-linked sulfite oxidizing activity on DEAE cellulose column chromatography (Fig. 5) were combined and concentrated to 10 ml. Fifty μ l of the sample was added to 2.85 ml of reaction mixture at 0 time, and 0.1 ml of 3 mM sulfite added to the mixture at 31 min followed by an another addition of sulfite at 39 min.

によっても還元速度は回復しなかった。

次に、亜硫酸を減少させる活性物質をセファデックスG - 200を用いて分画すると、ボイドボリ ュームとその少し後の部分にピークが現れた(図7)。後のピークの方が活性が大きく、この山の 画分をCMセルロースを用いて精製した。活性物質は0.1 Mの NaCl で溶出された(図8)。この物 質は、DEAE セルロースには吸着しなかった。ゲル沪過により得た活性物質を熱処理、トリプシン 処理した結果を表4に示す。熱処理により失活したが、トリプシン処理には影響を受けなかった。

亜硫酸を減少する活性物質により生成された物質の同定:トウゴマ葉10gからの抽出物を凍結乾燥し、0.005Mのカリウム-リン酸緩衝液(pH 6.0)に対して透析して内液を試料として用いた。 試料0.2mlと0.3mMの亜硫酸ナトリウムを含む0.1Mのトリス-塩酸緩衝液(pH 8.5)の3mlを 25℃に35分間置き、イオンクロマトグラフを用いて分析した。図9に示すように、亜硫酸のほとん ど全てが硫酸に変わっていた。

吸収したSO2に対する植物の抵抗性の評価:SO2に対する植物の抵抗性にどのような生化学的要



- 図7 亜硫酸を減少する活性物質のゲル沪過。トウゴマ葉5gからの抽出物をセフ ァデックスG-200カラム(1.9×44 cm)を用いてゲル沪過した。
- Fig. 7 Gel filtration of the substances able to decrease sulfite. Extract from 5 g of castor bean leaves was loaded onto a Sephadex G-200 column (1.9×44 cm). Five ml fraction each was collected and assayed.



- 図8 亜硫酸を減少する活性物質のイオン交換クロマトグラフィー。図8の No.13 から18までの画分を集め CMセルロースを充てんしたカラムを用いて分画し た。0.005 Mのカリウム - リン酸緩衝液(pH 6.0)の塩化ナトリウム濃度 こう配により溶出した。
- Fig. 8 Ion exchange column chromatography of the substances able to decrease sulfite. Fractions of No. 13 to 18 in Fig. 7 were combined and loaded onto a CM cellulose column. Elution was performed with a linear gradient of NaCl made up in 0.005 M potassium phosphate buffer (pH 6.0).

	Treatment period	$-10^2 \Delta A_{412}/\text{min/mg fr. wt}$
Heat treatment	0	1.45
••	20 min	0.00
Trypsin treatment	0	1.93
1.) For an and a	3 h	1.70

表4 亜硫酸を減少させる活性に及ぼす熱処理およびトリプシン処理の影響 Table 4 Effect of heat and trypsin treatments on the activity to decrease sulfite.



- 図9 亜硫酸(A)および活性物質による亜硫酸代謝産物(C)のイオンクロマト グラフィー。トウゴマ葉10gからの抽出物を凍結乾燥した後,透析して内液 0.2 mlを0.3 mMの亜硫酸ナトリウムを含む0.1 Mのトリス-塩酸緩衝液3 ml 中で25℃,35分間反応し,イオンクロマトグラフィーにて分析した。B は亜 硫酸を加えない場合のチャート。
- Fig. 9. Ion chromatography of sulfite (A) and the products (C) transformed from sulfite by the substances able to decrease sulfite. Extract from 10 g of castor bean leaves was lyophilized and dialyzed against 0.005 M potassium phosphate buffer (pH 6.0). Dialysate was made up to 10 ml with same buffer. Three ml of 0.1 M Tris-HCl buffer (pH 8.5) containing 0.3 mM sodium sulfite and 0.2 ml of sample was incubated at 25° C for 35 min, and then injected into an ion chromatograph. Middle line (B) represents the chromatogram obtained by the mixture containing sample but not sulfite.

- 71 -

因が関与しているかを知るためには、被害の評価のための適当な指標が必要である。光照射下で、 SO₂に暴露すると、葉のクロロフィルαはクロロフィルbより容易に分解した(図10)。すなわち、 植物被害が進行するにつれてクロロフィルαとbの比が減少した。被害はSO₂の吸収速度に依存す るので、SO₂に対する抵抗性の生化学的機構を研究するためには、SO₂による被害をSO₂の吸収量



図10 SO₂暴露によるクロロフィル*a*および*b*含有量の変化。ホウレンソウを2.0 ppm SO₂に暴露し、1.5時間毎に葉から10枚のディスクを打ち抜いた。

Fig. 10 Changes in chlorophyll a and b contents caused by SO₂ fumigation. Spinach plants were exposed to 2.0 ppm SO₂. At 1.5 hr interval, 10 discs were excised from the leaves.

に基づいて補正しなければならない。クロロフィルa/b比の減少とSO2吸収による硫黄含有量の 増加の比を,吸収したSO2に対する植物の感受性の指標として使用してみた。表5に示すように、 トウゴマは抵抗性が強く、ホウレンソウ、ソラマメ、落花生は感受性が高かった。この結果は、 SO2吸収量が極めて少なく可視被害が現れない落花生を除くと、可視障害の情況とおおむね一致し ていた。

考 察

植物をSO₂に暴露すると,吸収されたSO₂は細胞の湿表面および細胞質中で亜硫酸,重亜硫酸とな り,硫酸に酸化された後,硫黄含有化合物に代謝される。パーオキシダーゼ(6,10,22),チトク ロムオキシダーゼ(6)およびフェレドキシン - NADP 還元酵素(15)が亜硫酸を酸化すること が報告されている。植物中で亜硫酸酸化を触媒する他の物質の性質についての報告はほとんどない。 本研究は植物における亜硫酸酸化活性の性質について研究することを目的とした。亜硫酸によるチ トクロム c の還元を触媒する物質は種々の植物の葉に見出された。この物質は熱処理,トリプシン 処理に影響されないこと、ゲル沪過や透析により示されたように、低分子であることなどから、 非タンパク質性であると思われる。この物質はイオン交換セルロースへの吸着の性質から、 負に荷電していることが明らかになった。部分精製したこの物質は亜硫酸が存在しなく てもチトクロムcを還元した。チトクロム還元物質(CRS)が植物中に存在することが既に報告

表5 SO2暴露した植物中の硫黄含有量の増加とクロロフィルα/b比の変化

Table 5 Increase in sulfur content and change in chlorophyll a/b ratio in plant leaves exposed to SO₂

	SO ₂ conc.	Sulfur cont.	Increase in	Chl a/b ratio	% decrease	% decrease	in ratio
	(ppm)	(mgS/g d.w.)	sulfur (mgS/g d.w	.)	in ratio	sultur in	crease
Tomato	0,0	19.09 ± 0.47^{a}		3.13 ± 0.02			(5) ^b
	1.0	20.51 ± 0.88	1.43	3.05 ± 0.07	2.6	1.9	(5)
Broad bean	0.0	3.74 ± 0,17		3.14 ± 0.05			(5)
	1.0	5.38 ± 1.64	1.64	2.68 ± 0.06	14.4	8.8	(5)
Spinach	0.0	6.11 ± 0.10		3.37 ± 0.04			(6)
-+	1.0	8.45 ± 0.18	2.34	2.95 ± 0.04	12.5	5.3	(6)
Peanut	0.0	4.26 ± 0.04		3.70 ± 0.04			(6)
	1.5	4.98 ± 0.02	0.72	3.49 ± 0.05	5.6	7.7	(6)
Castor bean	0.0	11.66 ± 0.27		3.60 ± 0.06			(5)
	0.5	15.85 ± 0.29	4.20	3.70 ± 0.07	- 2.8	- 0.7	(5)
Kidney bean	0.0	3.12 ± 0.04		3.40 ± 0.02			(5)
	1.0	6.22 ± 0.07	3.10	3.07 ± 0.04	9.6	3.1	(5)

a 標準誤差

^b カッコ内の数字は植物個体数を示す。

^a Standard error.

^b Figures in parentheses representing the number of plants used.

されている(7,8)。CRS は比較的高分子量物質なので、本物質とは異なるものと思われる。本 研究において、亜硫酸酸化活性を有する高分子物質も見出された。少なくとも分子量の異なる2種 類の物質があり、分子量の小さい方の物質はわずかに正に荷電し、熱処理により失活した。動物の 亜硫酸酸化酵素は亜硫酸を酸化する際にチトクロムcを還元することができたが、本物質はチトク ロム c の還元を引き起こさなかった。パーオキシダーゼ、チトクロムオキシダーゼによる亜硫酸の 酸化には、それぞれマンガン、還元型チトクロムcを必要としたが、本物質による亜硫酸酸化は、 いかなる物質の添加も必要としなかった。しかしながら、この物質がパーオキシダーゼあるいはチ トクロムオキシダーゼ活性をもつかどうかは今後検討する必要があるだろう。

大気汚染物質による障害の評価法として次に示す方法がしばしば用いられている。

1) クロロシスを起こした葉面積の測定(3)

2) 生重量, 乾重量あるいは葉面積当たりのクロロフィル含有量の減少(13)

しかしながら、これらの方法には欠点がある。例えば、SO₂暴露によって葉が収縮したり、葉の生 重量および乾燥重量も減少した。そのため、これらの方法では多くの場合、正確な評価が得られな かった。O₃による障害と共にクロロフィルa/b比が減少することが報告されている(13)。本実 酸でもSO₂暴露によりクロロフィルa/b比が減少した。これらの結果から、クロロフィルa/b比を測定することは、大気汚染物質による植物被害を評価するための有益な方法になりうることが 示唆された。大気汚染物質による植物被害は主に汚染物質の吸収速度に依存している。従って、大 気汚染物質に対する植物の抵抗性の生化学的機構を研究する際には、被害度を大気汚染物質の吸収 速度の差に基づいて補正しなければならない。硫黄増加量当たりのクロロフィルa/b比減少を、植 物が吸収したSO₂に対する抵抗性の指標として用いた。トウゴマは吸収したSO₂に対して高い抵抗 性を示した。トマトの場合を除いて、亜硫酸を減少する活性と吸収したSO₂に対して高い抵抗 にほぼ平行関係があった。大気汚染物質による植物被害の評価法としてクロロフィルa/b比の測 定は有効な方法と思われるが、これを野外に応用するには更に種々の条件の検討を必要とするだろ う。

亜硫酸は大層反応性に富んでおり、酵素、金属、クロロフィル等と反応してフリーラジカルを生 成し、亜硫酸を酸化する。図2に示されたような亜硫酸を減少する活性には、これらの反応の少な くとも一つは含まれているかもしれない。植物の障害がこれらの反応過程において生じる可能性が あるので、植物の亜硫酸酸化は必ずしも亜硫酸の無毒化過程ではないかもしれない。しかしながら 本研究において、亜硫酸を酸化する活性の高いトウゴマが、吸収したSO₂に対して強い抵抗性を示 したことから、亜硫酸酸化活性は亜硫酸の無毒化に重要な役割を果たしているように思われる。チ トクロム c 還元を触媒する活性も、亜硫酸ガス濃度の高い大涌谷に生育している植物に活性が高い ことから、亜硫酸の無毒化に関与しているように思われる。しかしながら、この物質の生理的意義 を考える前に、この物質の同定が必要であろう。

次に、表2の亜硫酸を減少する活性に基づいて計算すると、トウゴマおよびソラマメの葉生重量 1g当たり、1時間でそれぞれ2.46および0.84 μ molesの亜硫酸を酸化することができる。また、 表5よりトウゴマおよびソラマメの葉生重量1g当たり、1時間に吸収されたSO2量は、生重量と 乾重量の比を6として計算すると、それぞれ3.65および1.42 μ molesとなる。従って、この活性 だけでも吸収されたSO2のかなりの部分を酸化する能力を有することになる。この活性が植物体中 でどの程度働いているかは疑問であるが、チトクロム c 還元による活性やクロロプラスト中での反 応を考慮に入れると、表5のようなSO2濃度では、植物は吸収したSO2のほとんどを酸化すること ができると思われる。

引用文献

- 74 -

^{1.} Asada, K. and K. Kiso. 1973. Initiation of aerobic oxidation of sulfite by illuminated spinach chloroplasts. Eur. J. Biochem. 33: 253-257

- 2. Ballantyne, D. J. 1977. Sulphite oxidation by mitochondria from green and etiolated peas. Phytochem. 16: 49-50
- 3. Bressan, R. A., L. G. Wilson and P. Fillner. 1978. Mechanisms of resistance to sulfur dioxide in the Cucurbitaceae. Plant Physiol. 61: 761-767
- 4. Cohen, H. J., S. Betchen-Lange, D. L. Kessler and K. V. Rajagopalan. 1972. Hepatic sulfite oxidase. Congruency in mitochondria of prosthetic groups and activity. J. Biol. Chem. 247: 7759-7766
- Cohen, H. J., R. T. Drew, J. L. Johnson and K. V. Rajagopalan. 1973. Molecular basis of the biological function of molybdenum. The relationship between sulfite oxidase and the acute toxicity of bisulfite and SO₂. Proc. Nat. Acad. Sci. USA 70: 3655-3659
- 6. Fridovich, I. and P. Handler. 1961. Detection of free radicals generated during enzymic oxidations by the initiation of sulfite oxidation. J. Biol. Chem. 236: 1836-1840
- 7. Fujita, Y. and J. Myers. 1966. Cytochrome c redox reactions induced by photochemical system 1 in sonicated preparations of Anabaena cylindrica. Arch. Biochem. Biophys. 113: 730-737
- 8. Fujita, Y. and J. Myers. 1966. Some properties of the cytochrome c reducing substance, a factor for lightinduced redox reaction of cytochrome c in photosynthetic lamellae. Plant & Cell Physiol. 7: 599-606
- 9. Humphrey, R. E., M. H. Ward and W. Hinze. 1970. Spectrophotometric determination of sulfite with 4, 4'-dithiodipyridine and 5, 5'-dithiobis-(2-nitrobenzoic acid). Analyt. Chem. 42: 698-702
- Klebanoff, S. J. 1961. The sulfite-activated oxidation of reduced pyridine nucleotides by peroxidase. Arch. Biochem. Biophys. 122: 481-487
- 11. Kondo, N. and K. Sugahara. 1978. Changes in transpiration rate of SO₂-resistant and -sensitive plants with SO₂ fumigation and the participation of abscisic acid. Plant & Cell Physiol. 19: 365-373
- 12. 近藤矩朗・菅原 淳. 1978. 二酸化イオウに対する植物の抵抗性に関する研究(2). 二酸化イオウ暴 露による植物の蒸散変化とアブサイシン酸量との関連について、陸上植物による大気汚染環境の評価と改 善に関する基礎的研究.昭和51/52年度研究報告.国立公害研究所特別研究成果報告 R-2-78. p. J7 -24
- 13. Kundson, L. L., T. W. Tibbitts and G. E. Edwards. 1977. Measurement of ozone injury by determination of leaf chlorophyll concentration. Plant Physiol. 60: 606-608
- 14. Miller, J. E. and P. B. Xerikos. 1979. Residence time of sulphite in SO₂ 'sensitive' and 'tolerant' soybean cultivars. Environ. Pollut. 18: 259-264
- Nakamura, S. 1970. Initiation of sulfite oxidation by spinach ferredoxin-NADP reductase and ferredoxin system: a model experiment on the superoxide anion radical production by metalloflavoproteins. Biochem, Biophys. Res. Comm. 41: 177-183
- Tager, J. M. and N. Rautanen. 1955. Sulfite oxidation by plant mitochondrial system. Preliminary observations. Biochem. Biophys. Acta 18: 111-121
- 17. Tager, J. M. and N. Rautanen. 1956. Sulphite oxidation by plant mitochondrial system. Enzymic and non-enzymic oxidation. Physiol. Plant. 9: 665-673
- Taylor, O. C. 1973. Acute responses of plants to aerial pollutants. In Air Pollution Damage to Vegetation. (Edit. by J. A. Naegele), p.9-20. American Chemical Society, Washington, D.C.
- 19. Thomas, M. D. 1961. Effects of air pollution on plants. In Air Pollution. World Health Organization, Geneva
- 20. Thomas, M. D., R. H. Hendricks, T. R. Collier, and G. R. Hill. 1943. The utilization of sulfate and sulfur dioxide for the nutrition of alfalfa. Plant Physiol. 18: 345-371
- 21. Weigal, J. and H. Ziegler. 1962. Die Raumliche Verteilung von ³⁵S und die Art der Markierten Verbindungen in Spinatblattern nach Begasung mit ³⁵SO₂. Planta 58: 435-447
- Yang, S. F. 1967. Biosynthesis of ethylene. Ethylene formation from methional by horseradish peroxidase. Arch. Biochem. Biophys. 122: 481-487

Summary

Sulfite oxidizing activity in plant leaves was measured by the reduction of cytochrome c in the presence of sulfite and by the decrease rate of sulfite exogenously applied. *Pieris japonica, Hydrangea paniculata, Enkianthus campanulatus,* castor bean and kidney bean showed high activities of cytochrome c-linked sulfite oxidation, while *Clethra barbinervis*, tomato, broad bean, spinach, sunflower and perilla showed a little. The activity had optimum pH between 8.0 and 8.5. The active substance was small in molecular size and not affected by either heat or trypsin treatment. The decrease rate of sulfite exogenously applied was large in extract from castor bean, and less in those from broad bean, spinach, peanut and kidney bean. The activity of tomato was especially low. On Sephadex G-25 gel filtration, the fractions with the ability to decrease sulfite was separated from those with cytochrome c-linked sulfite oxidizing activity. The active substances decreasing sulfite had high molecular weights. Analysis with an ion chromatograph showed that almost all sulfite was transformed to sulfate by the dialysate of castor bean extract.

The ratio of decrease in chlorophyll a/b ratio to sulfur increase in leaves exposed to SO₂ was used as an indicator of the sensitivity to SO₂ absorbed by plants. Castor bean was resistant to absorbed SO₂, but broad bean, spinach and peanut were sensitive.

Key words: Chlorophyll a/b ratio – Cytochrome c reduction – SO₂ resistance – Sulfite oxidation – Sulfur dioxide

国立公害研究所研究報告 第10号 (R-10-'79) Research Report from the National Institute for Environmental Studies No. 10, 1979

<u>I</u> – 4

二酸化硫黄毒性防御へのスーパーオキシド ジスムターゼの関与について

田中 浄 ・ 菅原 淳

Role of superoxide dismutase in the defense against SO_2 toxicity and induction of superoxide dismutase with SO_2 -fumigation

Kiyoshi TANAKA¹ and Kiyoshi SUGAHARA¹

要 旨

植物に対するSO₂毒性の少なくとも一部は活性酸素,特にスーパーオキシド ラジ カル(O_2^-)が原因となっている可能性が強い。そこで O_2^- を除去する酵素であるス ーパーオキシド ジスムターゼ($O_2^-+O_2^-+2H^+ \rightarrow O_2+2H_2O_2$)が SO₂毒性防 御に関与していると考え,以下の検討を行った。

ポプラ (Populus euramericana) で葉位別にスーパーオキシド ジスムターゼ (SOD) 含量を測定したところ,若い葉(上位葉)は古い葉(下位葉)より,約5倍 の SOD を含んでいた。ポプラを2.0 ppm SO₂に暴露した時,SOD の多い葉は SO₂ に強い抵抗性を示したが,SOD の少ない古い葉は顕著な可視害を示した。

ホウレンソウ(Spinacia oleracea L. cv. New Asia) 葉の SOD は銅のキレート 試薬である Diethyldithiocarbamateの噴霧後、直ちに阻害を受け、10時間後、約80% の活性を消失した。このホウレンソウは 0.5 ppm SO₂に対して著しく抵抗性を失った。

ポプラを 0.1 ppm SO₂に長時間暴露した時,顕著な SOD の誘導が観察された。誘 導された SOD は cyanide 感受性の Cu, Zn 型 SOD であった。SOD の増加したポ プラは 2.0 ppm SO₂に対して強い抵抗性を示した。以上の結果は SO₂毒性を考える上 でO₂⁻の関与を示すと同時に、SOD が SO₂毒性防御の要因になっていることを示唆 している。

緒言

植物の二酸化硫黄(SO₂)に対する抵抗性は気孔から葉内に侵入するSO₂の量と侵入したSO₂の 生理レベルにおける解毒作用に依存する。ここでは後者について論じる。SO₂毒性はSO₂が水に溶 解した時に生成するH⁺, HSO₃⁻, SO₃²⁻イオンそのものの毒性とHSO₃⁻, SO₃²⁻イオン存在時、

1. 国立公害研究所 生物環境部

1. Division of Environmental Biology, The National Institute for Environmental Studies, Tsukubagakuen, Ibaraki 305 光照射葉緑体で生成する活性酵素の毒性に分けることができる。活性酵素とはスーパーオキシド ラジカル(O_2^-),ハイドロキシル ラジカル(OH・)、一重項酸素(1O_2),過酸化水素(H_2O_2) の総称であり、これらは非常に反応性に富み、生体物質の不可逆的な酸化を引き起こす。最近、島 崎・榊はホウレンソウをSO₂暴露した時のクロロフィル分解は O_2^- により、不飽和脂肪酸の過酸化 は 1O_2 により引き起こされることを証明した(15)。その他、 H_2O_2 が光合成を阻害している可能 性もある(13)。このように活性酸素の毒性はSO₂毒性を考える上で重要な問題となりつつある。

高等植物の葉緑体はこれらの活性酸素の毒性を防御するために、 O_2^- に対してはスーパーオキシ ド ジスムターゼ (SOD), チトクロム f など、OH・に対してはマニトール、ソルビトールなど の単糖類, 1O_2 に対しては β – カロチン、α – トコフェロールなど、 H_2O_2 に対してはパーオキシ ダーゼなどの生体物質を備えている。通常、葉緑体内で生成する位の濃度の活性酸素はこれらの物 質で除去され、植物は正常な生命活動を維持している(4)。しかし、植物がSO₂に暴露された時、 葉緑体内の活性酸素の濃度が増し(3)、これらの防御物質では除去しきれない量の活性酸素が葉 緑体構成成分の不可逆的な酸化、傷害を引き起こすことが十分予測される。本研究においては活性 酸素の中でも時に反応性の高いO₂⁻の不均化反応(O₂⁻+O₂⁻+2H⁺→O₂+2H₂O₂)を触媒し、 酸素毒性防御の主役を担っている SOD がSO₂ 毒性防御に実際に寄与しているか否かについて検討 した。

材料と方法

植物材料:ポプラ(Populus euramericana)をさし木から、公害研用土 (バーミキュライト、 ピートモス、パールライト、細れき — 1:1:1:1)と赤玉土を1:1で含むポットで、25℃、 湿度70%の自然光室で育てた。1週間に2回、Hoagland No.2溶液の Microelements を加えた。 さし木をしてから4~7週間目のポプラ(130~180 cm)を実験に使用した。ホウレンソウの育成 条件については引用文献(16)を参照。

ガス暴露: SO₂暴露は暴露用グロースキャビネット内で湿度75%, 照度約3万1xの条件で行っ た。温度はポプラで25℃, ホウレンソウで20℃に調節した。植物をグロースキャビネットに移し, 2時間後, SO₂に暴露した。0.1 ppm SO₂の長期間暴露の場合, 午前5時~午後7時まで明期とし, 午後7時~午前5時まで暗期とした。

試料調製と定量:植物葉を経時的に採取し、0.1 Mリン酸カリウム (pH 7.8) で破砕し,破砕 物の一部はクロロフィル、マロンジアルデヒドの定量に、残りは遠心分離にかけ、上清液を透析後、 タンパク質、酵素の定量に使用した。クロロフィルの定量は Arnon の方法 (2) で、タンパク質 の定量は Lowry 法 (14) で、不飽和脂肪酸の過酸化物であるマロンジアルデヒドは TBA (チオバ ルビツール酸) 法 (11) で行った。

パーオキシダーゼはグアイアコールの酸化による 470 nmの吸収増加で測定し(17),1分間に

A₄₇₀の吸収を 1.0 増加させる酵素量を1 酵素単位とした。反応混液は 0.1 M リン酸カリウム (pH 6.0)、1 m M グアイアコール,粗酵素液, 0.002 % H₂O₂、0.1 m M EDTA (エチレンジアミン 四酢酸) で総量は 1.0 ml であった。H₂O₂の添加で反応を開始した。

スーパーオキシド ジスムターゼ (SOD) はキサンチン, キサンチン オキシダーゼ系で発生 させた O_2^- によるチトクロム c の還元の阻害度から測定した (5)。1 酵素単位は Fridovich の定 義によって決めた。反応混液は50 mM リン酸カリウム (pH 7.8), 0.1 mM EDTA, 0.1 mM + サンチン, 0.01 mM 馬心筋チトクロム c, 粗酵素液で, キサンチン オキシダーゼ (5~10 μ g) の添加により,反応を開始した。総量は 1.0 ml であった。

結果と考察

(i)ポプラにおける葉位別の SOD 含量と SO2抵抗性

図1 Aで示したように、ポプラの SOD 含量は葉位別に大きな差があり、若い葉(上位葉)に多 く、古い葉(下位葉)に少ない傾向をもつ。パーオキシダーゼ、クロロフィル、タンパク質含量は どれも葉位別にそれ程顕著な差は認められなかった。ポプラを2.0ppm SO₂に暴露した時の可視害 は古い葉に強く現れ、若い葉ではそれ程ではない。図1 Aにおいてクロロフィルの分解およびマロ ンジアルデヒドの生成を可視害の指標とした。SO₂暴露時のクロロフィルの分解は O₂⁻を介して行 われる(15)。MDA が生成するということは、¹O₂ができていることの証明にもなる。¹O₂ は O₂⁻ を経て生成するとも言われていることから(19)、O₂⁻の生成があることも推定できる。図1 Bの結 果はSO₂毒性を葉内の SOD が防御している可能性を支持している。

(ii)SOD を不活性化したホウレンソウ葉のSO2抵抗性

Diethyldithiocarbamate (DDTC) は銅のキレート試薬であり、ラットに静脈注射をした場合、 SOD が阻害される (12)。鉢植えホウレンソウの葉部に 2 % DDTC / 20mMリン酸カリウム (pH 7.8) を噴霧した時の SOD 含量とクロロフィル含量の経時変化を図 2 に示した。DDTCを噴霧後、 SOD 活性は直ちに減少し始め、10時間目でほぼ 80%阻害された。この時、クロロフィルは10時間 目から徐々に分解、減少する。これは阻害されないで残った SOD が、葉緑体内に生成する O_2^- を 除去しきれないためにクロロフィルの分解が起こったためと推定される。

次に DDTC 処理後、ホウレンソウを0.5 ppm SO₂に暴露した時の SO₂抵抗性について検討した (図3)。この図で縦軸は DDTC 処理葉、無処理葉の、SO₂暴露をしていない時のクロロフィル含 量をそれぞれ 100%として表している。DDTC により、葉内 SOD を阻害されたホ ウレンソ ウは SO₂の毒性に対する抵抗性を失うことが明らかである。



図1A ポプラの葉位別の SOD, パーオキシダーゼ, タンパク質およびクロロフィル 含量。横軸は茎の先端からの長さを示す。さし木をしてから, 30日目のポプ ラを使用した。

Fig. 1A Contents of SOD, peroxidase, protein, and chlorophyll in poplar leaves of different ages. The horizontal axis shows the length from the top of stalk. The poplar plant at 30 days after cutting was used. Enzyme activities, protein and chlorophyll were determined as described in Materials and methods.



- 図1B ポプラの葉位別の SOD 含量と SO₂ 抵抗性。 SOD 活性は SO₂ 暴露前に定量 した。MDA 生成は 2.0ppm SO₂ 暴露前後の差で、クロロフィル分解は暴露 前を 100%として示した。さし木をしてから40日目のポプラを使用。暴露時 間は22時間であった。
- Fig. 1B Relationship between the content of SOD and the resistance to SO₂ in poplar leaves at different ages. SOD activity has been determined before SO₂-fumigation. After 2.0 ppm SO₂- fumigation for 22 hr, the formation of malondialdehyde and the destruc tion of chlorophyll were measured. The poplar plant at 40 days after cutting was used.



- 図2 DDTCによるホウレンソウ葉内SODの不活性化。2%DDTC/20mM リン酸カリウム(pH 7.8)をホウレンソウの葉部に噴霧し,経時的に葉を採取し、水洗後、ポプラ葉と同様の方法でSOD、クロロフィル量を測定した。
- Fig. 2 Inactivation of SOD in spinach leaves by DDTC. The spinach leaves were sprayed with 2% DDTC in 20 mM potassium phosphate (pH 7.8). The leaves were collected at indicated times, fully washed with distilled water, then supplied to the determinations of SOD and chlorophyll.

(前) SO₂による SOD の誘導

最近、大腸菌、細菌、ラン藻において、高酸素濃度、メチルビオロゲン添加などでO₂⁻の濃度を 増加させると SOD が誘導されることが明らかになった(1,8,9,10)。動物においても高酸素 濃度下でラットの肺の SOD が誘導されることが報告された(18)。今までのところ、高等植物で SOD が誘導されるという報告はないが、SO₂暴露により、葉緑体内のO₂⁻濃度が増加すれば、 SOD が誘導されることが期待できる。

図4は0.1 ppm SO₂にポプラを長期間暴露した時の SOD 含量の変動を示す。この図で、c は茎の上端から5,6,7,8位葉の SOD の経日変化を示し、d は 0.1 ppm SO₂にあらかじめ、8 日間 暴露し、新たに生じた5,6,7,8の0.1 ppm SO₂中における SOD の経日変化を示す。a,b は それぞれの比較標品である。c は12日目で a の約2倍、d は20日目で b の5倍の SOD を誘導した。 この SOD の誘導は新生葉において顕著で、古い葉程、誘導量が減少した。ここで同時に定量した



- 図3 DDTC処理ホウレンソウ葉に対するSO2暴露の影響。2%DDTCを噴霧後、 ホウレンソウを0.5 ppm SO2に暴露した時のクロロフィル分解の経時変化を 示す。クロロフィル分解はSO2暴露をしていない時のクロロフィル量を100 %として示す。
- Fig. 3 Effect of SO₂-fumigation on spinach leaves, in which SOD was inactivated by DDTC. After the spray of 2% DDTC in 20 mM potassium phosphate, pH 7.8, to spinach leaves, the leaves were fumigated with 0.5 ppm SO₂. The content of chlorophyll was expressed as % of the content of chlorophyll in leaves without SO₂-fumigation, whether DDTC was sprayed or not.

パーオキシダーゼについてはSO₂による影響はほとんど認められなかった。また、このような低濃 度のSO₂は葉中のタンパク質量、クロロフィル量にほとんど影響を及ぼさないことも確認した。

高等植物の SOD には活性中心に銅と亜鉛をもつ Cu, Zn - SOD, マンガンをもつMn - SOD の2種のアイソザイムがあることが知られている。前者は cyanide により阻害され、後者は阻害されないことから区別できる(7)。表1から、SO2暴露により増加した SOD は cyanide 感受性の Cu, Zn - 型 SOD であることが明らかである。現在までに知られている SOD の誘導は全てMn - SOD の増加で説明されていることから、高等植物は他の生物と異なった SOD の誘導機構を備えている可能性がある。

なお、2.0 ppm SO₂でポプラを22時間暴露した場合も、若い葉で SOD の誘導が認められたが、 22時間目で1.2~1.9倍と実験ごとに誘導量が異なった。このように高い濃度のSO₂はクロロフィ ル、タンパク質の分解などの強い傷害を起こすことから、当然、タンパク質合成系に何らかの影響 を与えていることが想像され、これが誘導酵素量のバラツキの原因となっていると思われる。この 条件においても、パーオキシダーゼの増加、減少は認められなかった。



- 図4 SO₂によるポプラ葉 SOD の誘導。さし木をしてから、30日目のポプラを 0.1 ppm SO₂に長期間暴露した。茎の上端から、5、6、7、8位の葉につい て SOD 活性の経日変化を調べた(a;対照,c; SO₂暴露)。0.1 ppm SO₂ に8日間暴露したポプラの新たに生じた5、6、7、8位の葉についてもSOD 活性の変動を調べた(b;対照,d; SO₂暴露)。
- Fig. 4 Induction of SOD by long term fumigation with 0.1 ppm SO₂. The poplar plant at 30 days after cutting was fumigated with 0.1 ppm SO₂. SOD activities of leaves in the fifth to eighth positions from the top were followed (a; control, c; SO₂-fumigation). The enzyme activities of leaves in the newly produced fifth to eighth positions at eight days after 0.1 ppm SO₂-fumigation were also followed (b; control, d; SO₂-fumigation).

	SOD activity (units/cm ²)		
	(b)	(d)	
Total	3.6	16.0	
CN-sensitive	2.8	14.8	
CN-insensitive	0.8	1.3	

表1 SO₂暴露による Cu, Zn型 SOD の誘導 Table 1 Induction of Cu, Zn-SOD in poplar leaves by SO₂

0.1 ppm SO₂暴露後20日目のdと対照bについて、CN 処理法により、SO₂ により誘導された酵素のアイソザイムについて検討した。dとbの粗酵素液 をあらかじめ5mM KCN(リン酸緩衝液、pH 7.8)で30分間処理した。

Both crude enzymes of d and b (d; poplar plant at 20 days after 0.1 ppm SO₂-fumigation, b; control) were incubated for 30 min in 5 mM KCN and 50 mM potassium phosphate, pH 7.8, at 25° C, before the assay of SOD was done.



 図5 SO2により葉内 SOD の増加したポプラに対する2.0 ppm SO2暴露の影響。
 0.1 ppm SO2に暴露後、20日目のポプラを2.0 ppm SO2に暴露し、b、d 葉のクロロフィル分解の経時変化を調べた。

Fig. 5 Effect of 2.0 ppm SO₂-fumigation on poplar plants, in which the content of SOD was increased by 0.1 ppm SO₂. Both poplar leaves of d and b (d; at 20 days after 0.1 ppm SO₂-fumigation, b; control) were fumigated with 2.0 ppm SO₂.

図5は図4におけるポプラ標品(0.1 ppm SO₂ 暴露後20日目)を2.0 ppm SO₂ に暴露した時のb, d 葉のクロロフィル分解の経時変化である。この図から明らかなように0.1 ppmSO₂暴露によりSOD の増加したポプラ葉dは2.0 ppm SO₂の暴露に対して強い抵抗性を示した。これと似た現象は高等動 物でも観察されている。85%酸素下で一定期間,飼育されたラットはSODを誘導し,100%酸素 中でも、大部分生き残ったが、急に100%酸素にさらされたラットはほとんど死亡した(6)。

現在までに知られている SOD の誘導は全て O_2^- を増加させる条件で起こることから、ポプラの SO₂による SOD の誘導は、SO₂毒性の少なくとも一部は O_2^- の毒性であり、SO₂ 毒性の防御に SOD が関与していることを強く示唆している。また低濃度 SO₂の長期間暴露による SOD の誘導 は、葉内 SOD 含量が栄養条件、気象条件などに比較的影響されないこと、SOD が酵素的に安定 であり、微量で定量できることなどを考えると、SO₂の汚染評価に利用できる可能性をもっている。この応用面を開発するにあたっては、SO₂濃度と SOD 誘導量の関係、ポプラ以外の植物の SOD 誘導,他の汚染ガス、例えば O₃、NO₂による SOD 誘導の有無、野外植物のSOD含量とSO₂被暴 歴の関係などを調べる必要性があるように思える。

引用文献

- 1. Abeliovich, A., D. Kellenberg and M. Shilo. 1974. Effects of photooxidative conditions on levels of superoxide dismutase in Anacystis nidulans. Photochem. Photobiol. 19: 379-382
- Arnon, D. I. 1949. Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenol oxidase in *Beta vulgaris*. Plant Physiol. 24: 1-75
- Asada, K. and K. Kiso. 1973. Initiation of aerobic oxidation of sulfite by illuminated spinach chloroplasts. Eur. J. Biochem, 33: 253-257
- Asada, K., M. Takahashi and M. Nagate. 1974. Assay and inhibitors of spinach superoxide dismutase. Agr. Biol. Chem. 38: 471-473
- Asada, K., M. Takahashi, K. Tanaka and Y. Nakano. 1977. Formation of active oxygen and its fate in chloroplast. In *Biochemical and Medical Aspects of Active Oxygen*. (Edit. by O. Hayashi & K. Asada), p.45-63. University of Tokyo Press, Japan
- Fridovich, I. 1977. Biological aspects of superoxide radical and superoxide dismutases. In Biochemical and Medical Aspects of Active Oxygen. (Edit. by O. Hayaishi & K. Asada), p.171-181. University of Tokyo Press, Japan
- 7. Fridovich, I. 1975. Superoxide dismutase. Annu. Rev. Biochem. 44: 147-159
- Gregory, E. M. and I. Fridovich. 1973. Induction of superoxide dismutase by molecular oxygen, J. Bacteriol. 114: 543-548
- 9. Gregory, E. M., S. A. Goscin and I. Fridovich. 1974. Superoxide dismutase and oxygen toxicity in a eukaryote. ibid. 117: 456-460
- Hassan, H. M. and I. Fridovich. 1977. Regulation of the synthesis of superoxide dismutase in Escherichia coli: induction by methyl viologen. J. Biol. Chem. 252: 7667-7672
- 11. Health, R. L. and L. Packer. 1968. Photoperoxidation in isolated chloroplasts. I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. Arch. Biochem. Biophys. 125: 189-198
- 12. Heikkila, R. E., F. S. Cabbat and G. Cohen. 1976. In vivo inhibition of superoxide dismutase in mice by diethyldithiocarbamate. J. Biol. Chem. 251: 2182-2185

- Kaiser, W. M. 1976. The effect of hydrogen peroxide on CO₂-fixation of isolated intact chloroplasts. Biochim. Biophys. Acta 440: 476-482
- 14. Lowry, O. H., N. J. Rosebrough, A. H. Farr and R. J. Randall. 1951. Protein measurement with the Folin Phenol reagent. J. Biol. Chem. 193: 256-275
- 15. 島崎研一郎・榊 剛・菅原 淳. 1978. SO2暴露による光合成色素の分解について. 日本植物学会第 43回大会研究発表記録. p.167
- Shimazaki, K. and K. Sugahara. 1979. Specific inhibition photosystem II activity in chloroplasts by fumigation of spinach leaves with SO₂. Plant & Cell Physiol. 20(5): 947-955
- Siegel, B. Z. and S. M. Siegel. 1970. Anomalous substrate specificities among the algal peroxidases. Amer. J. Bot. 57: 285-287
- Stevens, J. B. and A. P. Auter. 1977. Induction of superoxide dismutase by oxygen in neonatal rat lung. J. Biol. Chem. 252: 3509-3514
- Takahama, U. and M. Nishimura. 1976. Effects of electron donor and acceptors, electron transfer mediators and superoxide dismutase on lipid peroxidation in illuminated chloroplast fragments. Plant & Cell Physiol. 17: 111-118

Summary

Using higher plants, the role of superoxide dismutase (SOD), catalyzing the disproportionation of superoxide radicals to hydrogen peroxide $(0_2^- + 0_2^- + 2H^+ \rightarrow 0_2^- + H_2^- 0_2)$, in the defense against SO₂ toxicity was investigated. Young poplar leaves contained approximately five times higher content of SOD than old lower ones. The former was more resistant to the toxicity of 2.0 ppm SO₂ than the latter. The spray of diethyldithiocarbamate (DDTC) to spinach leaves caused the remarkable loss of SOD activity in leaves, resulting in the decrease in the resistance to the toxicity of 0.5 ppm SO₂.

The SOD in poplar leaves was increased by long term fumigation with 0.1 ppm SO₂. The induction of SOD by 0.1 ppm SO₂ was observed in young leaves more greatly than in old ones. The induced SOD was a CN-sensitive Cu, Zn-SOD. The poplar leaves, which acquired the high level of SOD induced by 0.1 ppm SO₂-fumigation, were more resistant to 2.0 ppm SO₂ than the control leaves having the usual level of this enzyme.

All of these findings suggested that SO_2 toxicity might be at least partly due to the toxicity of superoxide radical, and that SOD participated in the defense against SO_2 toxicity.

Key words: Induction of superoxide dismutase – Oxygen toxicity – SO_2 resistance – SO_2 toxicity – Superoxide dismutase

国立公害研究所研究報告 第10号 (R-10-'79) Research Report from the National Institute for Environmental Studies No. 10, 1979

II - 5

二酸化硫黄暴露によるホウレンソウ葉の光合成色素分解と 脂質過酸化反応に対する活性酸素の関与

島崎研一郎¹• 榊 剛¹• 菅原 淳¹

Active oxygen participation in chlorophyll destruction and lipid peroxidation in SO₂-fumigated leaves of spinach

Ken-ichiro SHIMAZAKI¹, Takeshi SAKAKI¹ and Kiyoshi SUGAHARA¹

要 旨

ホウレンソウを明条件下,2.0 ppmの二酸化硫黄(SO₂)に暴露すると,暴露をは じめてから2~3時間で、クロロフィル aとカロチノイドが分解しはじめた。しかし クロロフィルりは、8時間目までは分解しなかった。フェオフィチン aの含量は、SO₂ 暴露により変化しなかった。またフェオフィチンりは検出されなかった。

2.0 ppm SO₂に2時間暴露したホウレンソウ葉から切り出した葉円板(*φ*=10mm) に光をあてると、クロロフィルαとカロチノイドが分解した。しかし暗条件では、ど ちらも分解しなかった。窒素気流により嫌気条件にすると、明条件下でも分解が著し く阻害された。以上の結果は、SO2暴露による光合成色素の分解には、光と酸素の両 方が必要であることを示している。クロロフィルαの分解は、フリーラジカルのscavenger であるチロン (tiron: 1, 2-dihydroxybenzene - 3, 5-disulfonate), ヒド ロキノンおよびアスコルビン酸によって阻害された。しかし、一重項酸素 $(^{1}O_{2})$ の scavenger であるダブコ (DABCO: 1, 4 - diazabicyclo - [2, 2, 2] - octane), メチオ ニンおよびヒスチジン、ヒドロキシルラジカル(OH・)のscavenger である安息香酸 およびギ酸は無効であった。クロロフィルαの分解は、SO3暴露葉のホモジネイトに スーパーオキシドアニオンラジカル(O,)の不均化反応を触媒する酵素スーパーオ キシドディスムターゼ(SOD)を加えると著しく阻害された。さらに、2時間の 2.0 ppm SO2暴露により、一定葉面積あたりの SOD 活性は約40%に低下した。この とき、クロロフィルの分解はほとんど認められないが、以後、光照射により分解が進 んだ。以上の結果は、SO2暴露によるクロロフィルαの分解が、O2⁻に起因している ことを示している。

さらに脂質過酸化反応の指標であるマロンジアルデヒド(MDA)の蓄積が、クロ ロフィル分解と平行して認められた。MDAの生成はチロン、ヒドロキノン、ダブコ

1. 国立公害研究所 生物環境部

^{1.} Division of Environmental Biology, The National Insistute for Environmental Studies, Tsukubagakuen, Ibaraki 305

で阻害されたが、安息香酸、ギ酸は阻害しなかった。MDA の生成は $^{1}O_{2}$ の寿命をながくする重水 ($D_{2}O$) により増加した。以上の結果から、脂質の過酸化に $^{1}O_{2}$ が関与していると思われる。最後に O_{2}^{-} および $^{1}O_{2}$ の生成経路について考察した。

緒 言

植物をSO₂に暴露すると、クロロシスやネクロシスが起こることはよく知られた事実であり(16, 20, 25, 30, 32, 33, 39), 多くの研究者により、SO₂による光合成色素の分解が報告されている。 我々は以前(35), SO₂暴露によるクロロフィルの分解について調べ、この色素がフェオフィチン などに変化するのではなく、主に脱色(bleaching) することから、クロロフィルの分解に何らか の酸化力が作用していると推論した。

葉緑体に光照射すると、チラコイド膜面にO₂⁻が生成する(4、10)。生成したO₂⁻は、さらにその他の活性酸素、¹O₂、H₂O₂およびOH・の発生源となりうる。これらの活性酸素はいずれも高い反応性をもち、例えば、O₂⁻はアルコルビン酸(10)やグルタチオン(2)、¹O₂は不飽和脂質(14,37)やアミノ酸(7)、OH・はメチオナール(9)、H₂O₂は光合成炭酸固定系の酵素(11)やスーパーオキシドディスムターゼ(8)と反応する。しかしこれらの活性酸素は細胞内の scavenger または quencher により消去され、細胞内の活性酸素濃度は、毒性を発輝しないような低い濃度に保たれている(5)。Asadaら(3)は、葉緑体の光照射によりO₂-が生成すると、O₂-は亜硫酸を連鎖反応的に酸化し、さらに大量の活性酸素を生成することを示した。最近、Ziegler(40)はホウレンソウをSO₂に暴露した時に、亜硫酸が葉緑体のストロマ部分にくらべて、チラコイド膜に取込まれやすいことを示した。従って、SO₂暴露により、チラコイド膜に取込まれた亜硫酸が、光照射により生じたO₂-によって連鎖反応的に酸化され、その結果大量に生成した活性酸素が、SO₂の植物毒性を考える上で、重要な役割を果たしている可能性がある(5)。

今回の報告では、SO₂の光合成色素および脂質に対する影響を調べる上で、活性酸素の関与を考 えた。その結果、クロロフィルαは O_2^- により分解されること、および脂質の過酸化反応が 1O_2 を 介して起こることが示された。

材料と方法

植物材料:鉢植えホウレンソウ(*Spinacia oleracea* L. cv. New Asia)の生育4~6週目のものを用いた。生育条件は前に示した(34)。

SO₂暴露:午前中に植物をグロースキャビネットに入れて、約1~2時間光照射を行ったあと、 2.0 ppmのSO₂を含んだ空気を導入した。葉面付近の光強度は 25,000~35,0001x,室温は20℃と した。

光合成色素の定量:光合成色素は、暴露後直ちに、直径10mmの葉円板を打ち抜き、一定葉面積

当たりの含量を求めた。クロマトグラフィーを行う場合は、葉円板をガラスホモゲナイザー中で、 純アセトンを加えてホモゲナイズし、抽出液をガラスフィルターでろ過したあと、分液ロート中で 過酸化物のふくまれていないジェチルエーテル層へ移した。この分画を10% NaCl溶液を加えて、 数回洗い、Na₂SO₄を添加して水分をのぞいたあと、セルロースの薄層クロマトにかけた。薄層は microcrystalline のセルロースプレート (20×20 cm, Avicel SF)を用いて、ヘキサン:アセトン (90:10, v/v) 溶媒で展開した。クロマトグラム上に分離された、クロロフィルα、b およびフ ェオフィチンαは、ジェチルエーテルで溶出し、French (12) の吸光係数を用いて定量した。カロ チノイドはLiaaen-Jensen と Jensen (17)の方法に従って、クロロフィルをけん化して定量した。 さらに80%アセトンで抽出したクロロフィルとカロチノイドはそれぞれ Mackinney (19) および Kirk と Allen (15) の方法で分光的に定量した。吸収スペクトルは、日立556または日立 200分光 光度計を用いて記録した。

SO₂暴露葉の光照射: 2時間の暴露葉から,直径10mmの葉円板を切り抜き,40mMリン酸緩衝液(pH 6.0)をインフィルトレイトしてペトリ皿に浮かべ,真上から7 cmの水層を通して光照射を行った。葉面の光強度は30,000~32,000 lxであった。ペトリ皿のまわりは20[°]Cの水流により, 温度上昇を防いだ。嫌気条件下で光照射を行う場合には、Erlenmeyer フラスコの内部に,窒素を 常時循環させ,フラスコの底にならべた葉円板に対し,下方から光を照射した。活性酸素のscavenger やその他の試薬類は陰圧にしてインフィルトレイトして与えた。重水(D₂O)は99.9%のも のをリン酸緩衝液のかわりに用いた。

脂質過酸化反応の測定:脂質の過酸化反応は Heath と Packer (12)の方法に従って、MDAの生成を指標とした。3 mlの暴露葉ホモジネイトに、20%のトリクロル酢酸にとかした0.5%のチオバルビツール酸溶液を5 ml加えて95℃で30分間インキュベイトした。遠心して得られた上清を532 nmの吸光度から、対照波長を600 nmにとって測定し、差吸光係数として $d \epsilon$ mM (532 - 600 nm) = 155 (13)を用いて定量した。

SOD 活性の測定: SOD 活性は McCord と Fridovich (21) の方法に準じて、キサンチン酸化酵素によるチトクロム c 還元速度の阻害の大きさを、550 nm の吸光度の増加から分光的に測定して 求めた。反応混液は 1 ml 中に50 mM リン酸カリウム緩衝液 (pH 7.8), 0.1 mM EDTA, 0.1 mM キサンチン、10 μ M チトクロム c および求めようとする酵素粗抽出液を含んでいる。反応はキサン チン酸化酵素を加えて開始し、約1分測定した。SOD の酵素単位は、上記の実験条件下でチトク ロム c の還元を50%阻害する量を1単位として定義した。タンパク質はLowry ら(17) の方法に 従って求めた。

牛乳のキサンチン酸化酵素、牛赤血球のスーパーオキシドディスムターゼおよびウマ心臓のチト クロム c はシグマのものを用いた。

- 89 -

結 果

図1には、一定葉面積の暴露葉から得られた、80%アセトン抽出液の吸収スペクトルが示されている。SO2暴露により全波長域にわたって、吸光度が減少するが、新しいピークの出現や、ピークの位置の移動はなかった。クロロフィルbのSoret帯に相当する455nm付近の肩がはっきりしてくる。これは、この波長域に吸収をもつカロチノイドが、クロロフィルbに比較すると分解しやすいことを示している。



- 図1 SO₂暴露による光合成色素の吸収スペクトルの変化。光合成色素は、一定葉 面積から80%アセトンを用いて抽出した。
- Fig. 1 Effect of SO₂ fumigation on the absorption spectra of photosynthetic pigments. Pigments were extracted with 80% acetone from the same leaf area of SO₂-fumigated leaves.

図2には、クロロフィル、カロチノイドのSO2暴露による分解の経時変化を示す。薄層クロマト グラフィーで各色素を分離定量した結果、暴露を開始してから約2時間で、クロロフィル a とカロ チノイドが分解をはじめるが、クロロフィル b は8時間目までほとんど分解しなかった。フェオフ ィチン a の量的変動はなく、フェオフィチン b は検出されなかった。暴露時間がながくなると、ク ロロフィル a の分解の速度が落ちるが、クロロフィル b もゆっくりと分解しはじめる。薄層上には、



- 図2 SO2暴露による,光合成色素の分解。クロロフィルα (--○--),クロロフ ィルb (--△--),フェオフィチンα (-●--),全カロチノイド(--□--)。
- Fig. 2 Time course of the degradation of photosynthetic pigments by SO₂ fumigation. chlorophyll a (- \circ -), chlorophyll b (- \triangle -), pheophytin a (- \bullet -), total carotenoids (- \circ -). For details, see *Materials and methods*.



- 図3 SO₂暴露葉における,光合成色素分解に対する光の効果。暗条件下のクロロ フィルα (--○---),明条件下のクロロフィルα (一●一),暗条件下の全 カロチノイド (一▲一)。
- Fig. 3 Light-requirement for the destruction of the photosynthetic pigments. Chlorophyll a in darkness (- \circ -), chlorophyll a in light (- \bullet -), total carotenoids in darkness (- \circ -), total carotenoids in light (- \bullet -). Chlorophyll a and carotenoids were determined by the methods of Mackinney (19) and Kirk and Allen (15), respectively.

今まで述べてきた色素以外に、色のある物質は検知されなかった。

SO₂暴露を暗中で行うと、可視害の現れ方が著しく軽微になる。暗中では、気孔が閉じて、SO₂ の植物組織への侵入を減少させるからだと思われる。しかし、光の作用として、SO₂の侵入を促進 するだけなのか、あるいはSO₂存在下で、光合成色素の分解を進めているのか明らかでない。そこ で、SO₂暴露を2時間行った葉から切り抜いた葉円板を用いて、光の効果を調べた。2時間の暴露 では、前にのべたようにクロロフィルの分解はほとんどない。図3に示すように、クロロフィル*a* は光照射によりほぼ直線的に分解するが、暗条件では全く分解しなかった。またクロロフィル*a*に 比較して、カロチノイドはさらに分解しやすかった。



- 図4 SO₂暴露葉における,光合成色素分解に対する酸素の効果。窒素気流下のクロロフィルα(-O-),空気中のクロロフィルα(-●-),窒素気流下の全カロチノイド(--▲--),空気中の全カロチノイド(--▲--)。
- Fig. 4 Oxygen requirement for the destruction of photosynthetic pigments in SO₂-fumigated leaves. Chlorophyll *a* in nitrogen gas $(-\circ-)$, chlorophyll *a* in air $(-\bullet-)$, total carotenoids in nitrogen gas $(-\triangle-)$, total carotenoids in air $(-\bullet-)$. See footnotes in Fig. 3.

図4に示すように、クロロフィル aの分解は、窒素気流により嫌気条件にすると、光が当たって いても著しく阻害される。この結果は光照射中に生じた活性酸素が、光合成色素の分解に関与して いることを示していると思われる。そこで、活性酸素の scavenger の効果を調べた。表1に示すよ うに、クロロフィル aの分解はフリーラジカルの scavenger である、ヒドロキノン、チロン (23)、 アスコルビン酸(10)を加えると阻害された。しかし、 $^{1}O_{2}O$ scavenger であるダブコ (26)、メチ オニン、ヒスチジン (7)および OH・の scavenger である、安息香酸 (7)およびギ酸は効果が なかった (表3)。さらに、 $^{1}O_{2}O$ 寿命をながくする D₂O (22) も、クロロフィルの分解に影響し なかった(表1)。スーパーオキシドラジカル(O_2^-)の不均化反応を触媒する酵素,SODを,暴露葉のホモジネイトに加えると、クロロフィル aの分解が抑えられた(図5)。このとき、同量の 牛血清アルブミンは全く効果がなかった。

表1 SO₂暴露葉のクロロフィル*a*分解に対する,チロン,アスコルビン酸,ヒド ロキノン,ダブコ、メチオニン、ヒスチジンおよび重水の効果

Additions	Chlorophyll a Illuminat	Chlorophyll a destroyed (%) Illumination time (h)		
	3	6		
None	100	100		
Tiron. 1 mM	27	84		
10 mM	2	29		
Ascorbate, 1 mM	73	56		
10 mM	27	16		
Hydroquinone, 0.1 mM	0	39		
1 mM	-12	10		
DABCO. 10 mM	77	105		
Methionine, 10 mM	116	· 97		
Histidine, 10 mM	114	87		
D.O	70	112		

 Table 1
 Effect of tiron, ascorbate, hydroquinone, DABCO, methionine, histidine and D₂O on chlorophyll a destruction in SO₂-fumigated leaves



- 図5 SO₂暴露葉ホモジネイトのクロロフィル分解に対する、SODの添加効果。 何も加えない場合 (-- ○--), 牛血清アルブミン添加 (---△---), および SOD を加えた場合 (-●-)。
- Fig. 5 Effect of SOD on chlorophyll *a* destruction in the homogenate obtained from SO₂-fumigated leaves. No addition $(-\circ-)$, bovine serum albumin $(-\triangle-)$ and SOD $(-\bullet-)$. SO₂ fumigation was performed for 3 hr.

図6には、SO2暴露による可溶性SOD活性の変化を示す。SO2暴露の結果、一定葉面積当たりのSOD活性は著しく低下した。2時間のSO2暴露で、SOD活性は約40%に低下するがこの時点ではクロロフィルの分解は認められなかった。しかし、以後光照射によりクロロフィルの分解が進行し、SOD活性も幾分減少する傾向にあった。一定葉面積あたりの可溶性タンパクの含量も、2時間のSO2暴露で約90%に減少するが、SODの活性低下にくらべるとわずかの割合であった(図6)。

以上の結果はすべて、SO₂暴露による光合成色素の分解が、フリーラジカルおそらくはスーパー オキシドラジカルによっていることを示している。

表2には、クロロフィルαの分解に対する、光化学系Iの環状電子伝達系のメディエーターである、フェナジンメトサルフェイト (PMS)、および光化学系Iから電子をうけとり、生じたラジカ ルがただちに O_2 と反応して、 O_2^- を生成することの知られているメチルビオローゲン (MV)の効 果が示されている。PMSはクロロフィルの分解を阻害し、MV は促進した。

図7には、SO₂暴露葉におけるマロンジアルデヒド(MDA)の生成を示す。MDA はクロロフィルの分解と平行して生成した。ダブコはMDA の生成を阻害し、D₂Oは促進した。しかし、安息 香酸とギ酸はMDA の生成に影響しなかった(表3)。従って、SO₂暴露葉においては $^{1}O_{2}$ が、脂



- 図6 SO₂暴露の, SOD 活性, タンパク含量およびクロロフィル含量に及ぼす影響。SO₂暴露(ZZZ))は2時間行った。暴露後, 葉円板を切り抜き光照射を行った。
- Fig. 6 Effect of SO₂ fumigation on the SOD activity and contents of chlorophyll *a* and protein. SO₂ fumigation (ZZZ) was performed for 2 hr. After fumigation, leaf disks were excised and were illuminated. Assay methods were shown in *Materials and methods*.

表 2 SO2暴露葉における、クロロフィル a 分解に対する PMSと MV の効果

Table 2 Effect of PMS and MV on chlorophyll a destruction in SO₂-fumigated leaves

Additions		Chlo	rophyll a con	tent (%)	
		Illi	lumination time (h)		
	0	2	3	4	6
No additions	100	78		54	
PMS (0.1 mM)	100	87		77	
No additions	100		78		49
MV (1 mM)	100		41		16

一方ダブコ, D₂O. 安息香酸. ギ酸がクロロフィルαの分解に作用しないことは前にのべたとお りであった。



- 図7 a SO2暴露葉における、MDA 生成 に対する、重水 (-●--)、ダブ コ (--△--) およびチロン (--▲--) の効果。何も加えない場合 (-○--)。
- Fig. 7a Effect of D_2O (- \bullet -), DABCO (- \triangle -) and tiron (- \bullet -) on the MDA formation in SO₂-fumigated leaves. No added (- \circ -).



- 図7b SO2暴露葉における,クロロフィ ル a分解に対する,重水(一●一)、 ダブコ(--△--)、チロン(--▲--) の効果。何も加えない場合 (一○一)。
- Fig. 7b Effect of $D_2O(-\bullet-)$, DABCO $(-\triangle-)$ and tiron $(-\bullet-)$ on the chlorophyll *a* destruction in SO₂fumigated leaves. No added $(-\circ-)$.

さらに、50 mMのチロンを加えると、 $クロロフィル \alpha$ の分解もMDAの生成も完全に阻害された(表3)。

表3 SO₂暴露葉における、クロロフィルαの分解とMDA 生成に対する、安息香酸、ギ酸、チロンの効果

they as altered all a destruction and MDA forms

Table 3	Effect of benzoate, formate and thon on chorophyll a destruction and MDA forma-
	tion in SO ₂ -fumigated leaves

Additions	Chlorop	hyll a destroyed	MDA	formation	
		(%)		(%)	
	Illumination time (h)				
	3	6	3	6	
None	100	100	100	100	
Benzoate, 10 mM	107	148		94	
Formate, 10mM	117	150	95	91	
Tiron, 50 mM	-1		-15	_	

考 察

SO₂暴露による,光合成色素の分解には、光と酸素の両者が必要であることが示された。活性酸素の scavenger および SOD 添加のクロロフィル a 分解に対する効果から、クロロフィル a の分解 にはスーパーオキシドラジカルが関与していると思われる。

葉緑体は光照射中に、 O_2^- を生じるが(4,10)、その大部分はSODにより消去される。Asada ら(5)の計算によると、SODは、本来葉緑体内に生成したと考えられる O_2^- 濃度の0.1%まで 低下させる。従って、もしSOD活性が、SO2暴露中に阻害されれば、葉緑体内の O_2^- 濃度は大き く増加するはずである。実際、SOD活性は、2時間のSO2暴露の結果、40%に低下した。このこ とから、 O_2^- 消去系の不活性化により、葉緑体内の O_2^- 定常濃度が増加し、 O_2^- から生成した O_2 OH・、 H_2O_2 などの活性酸素分子種も加えて、クロロフィルをはじめとして不飽和脂質など、生体 成分の非特異的酸化がすすんでいることが十分考えられる。加えてAsada ら(5)が指摘している ように、SO2 は O_2^- により連鎖反応的に酸化され、大量の活性酸素を産生していると思われる。田 中と菅原(38)は、ポプラを、0.1 ppmのほとんど可視害の出ない濃度でSO2暴露すると、若い葉にお いて著しいSODの誘導が起こることを見い出した。SODの誘導は、 O_2^- の増加する条件で起こ る(1)ことが知られているので、この結果は、SO2暴露により葉内の O_2^- 濃度が、増加すること を示している。

一方、亜硫酸は、タンパク質中のジスルフィド結合と高い反応性をもつことが知られ(6)、亜 硫酸による解裂($\mathbf{P} - \mathbf{S} - \mathbf{S} - \mathbf{P} + \mathbf{SO}_3^{2-} \longrightarrow \mathbf{P} - \mathbf{S} - \mathbf{SO}_3^{2-} + \mathbf{P} - \mathbf{S}^-$)はタンパク質の 構造変化を引き起こす。最近、Miszalski と Ziegler (24)は、SO₂暴露により、チラコイド膜の

- 96 -

チオール(-SH)の量が増すこと、また、この増加が、明条件で大きいことを報告した。クロロフィルはタンパクと結合しているときには、光や酸素に対して比較的安定であるが、有機溶媒に溶けた場合のようなフリーの状態では極めて不安定である(2)。亜硫酸は、クロロフィルと結合してクロロフィルの安定化に寄与しているタンパク質部分の変性を引き起こしている可能性も考えられる。

PeiserとYang (28) は、65%エタノール溶液中での in vitro のモデル実験で、不飽和脂肪酸リ ノール酸またはリノレン酸の過酸化物が、亜硫酸存在下に homolysis する時に生じる、フリーラジ カルにより、クロロフィルが分解されることを示した。さらに彼ら (29) は、アルファルファの苗 をSO₂に暴露すると、可視害の著しい葉ほど脂質過酸化物の蓄積が多いことを示した。これらの in vitro と in vivo の実験から、PeiserとYang (29) は、脂質過酸化物がクロロフィルの分解に必須 であると考えた。今回の我々の in vivo の実験においても、脂質 過酸化物の生成に応じて、クロロ フィルが分解した (図7)。しかし、ダブコ添加で脂質の過酸化が減少しても、D₂Oにより脂質の 過酸化が増加しても、クロロフィルの分解には影響がなかった (図7)。以上の結果は、Peiser と Yang の考えに疑問をいだかせる。この点を明らかにするには、さらに詳しい検討が必要であろう。

クロロフィルの分解が大きいと MDA の蓄積が大きく、チロンを加えてクロロフィルの分解を部 分的に阻害すると、MDA の生成も部分的に阻害される(図7)。このようなクロロフィル分解と MDA 生成の間の平行関係は、クロロフィルの分解を O_2^- の生成の指標に、また、MDA の生成を 1O_2 生成の指標として仮定すると、 O_2^- と 1O_2 の生成のあいだに、何らかの関連があることを示し ている。 O_2^- の scavenger であるチロンを高濃度加えると、チロンは 1O_2 と直接には反応しないに もかかわらず、MDA の生成を、すなわち 1O_2 の生成を阻害した。この結果は、 1O_2 が O_2^- を介し して生成することを示している。Takahama と Nishimura(36、37)は、 O_2^- が光合成電子伝達系 の光化学系 I または II により酸化されて、 1O_2 を生じることを示した。Kellogg と Fridovich(14) はキサンチン酸化酵素により生成した O_2^- と H_2O_2 の協同作用により、 1O_2 および OH・が生じるこ とを示し、Elstner と Konze(9)はこの反応が、照射葉緑体でも起こりうることを報告している。 しかし今回の報告では 1O_2 の生成経路については、明確な証拠は得られなかった。

上に述べてきたように、SO₂暴露葉内に生じたO₂⁻は、クロロフィルを分解するのみならず、O₂ を生じ脂質過酸化の間接的原因となる。従ってO₂⁻はSO₂による植物の可視被害を考える上で中 心的役割を果たしている。しかし、その生成経路については不明である。Peiser と Yang (27) は 76%エタノール溶液中の *in vitro* の実験で、亜硫酸のO₂⁻による連鎖反応的酸化により生じた、フ リーラジカルがクロロフィルを分解することを証明した。このとき、O₂⁻はクロロフィル分子自身 が、酸性条件で電子供与体となり、分子状酸素を一電子還元することにより生じたと考えた。しか し、このようなO₂⁻の生成経路が、SO₂暴露葉のような *in vivo* の系で必ずしも働いているとは限 らない。一方、Asada (4) らは、光照射葉緑体において光化学系 I の還元側でO₂が一電子還元

- 97 -

され、 O_2^- を生成することを証明した。同様な O_2^- の生成は, *in vivo* でも起こっていることを, Radmer と Kok (31) は緑藻とらん藻を用いた実験から明らかにした。SO₂暴露葉に PMS を添加 すると、クロロフィルの分解が約50%阻害される(表 2)。これは PMS が光化学系 I の還元側で、 分子状酸素ときっこうして電子を受けとり、 O_2^- の生成速度を減少させるからだと考えられる。MV の添加はクロロフィルの分解を 2 ~ 3 倍促進した(表 2)。MV は光化学系 I の還元側で電子を受 けとり、生じた MV・がただちに O₂を還元して、多量の O₂-を生成したせいだと考えられる。以上 の結果は O₂-の少なくとも一部は、SO₂暴露葉においても、光化学 I の還元側で生成する可能性を示 している。光は光化学系 I を励起するのに必要なのだろう。SO₂暴露により、光合成電子伝達反応 が阻害されるが、光化学 I はSO₂暴露に対して高い安定性をもつことはすでに報告した(34)。

引用文献

- 1. Abeliovich, A., D. Kellenberg and M. Shilo. 1974. Effect of photooxidative conditions on levels of superoxide dismutase in *Anacystis nidulans*. Photochem. Photobiol. 19: 379-382
- 2. Asada, K. and S. Kanematsu. 1976. Reactivity of thiols with superoxide radicals. Agr. Biol. Chem. 40: 1891-1892
- Asada, K. and K. Kiso. 1973. Initiation of aerobic oxidation of sulfite by illuminated spinach chloroplasts. Eur. J. Biochem. 33: 253-257
- Asada, K., K. Kiso and K. Yoshikawa. 1974. Univalent reduction of molecular oxygen by spinach chloroplasts on illumination. J. Biol. Chem. 249: 2175-2181
- Asada, K., M. Takahashi, K. Tanaka and Y. Nakano. 1977. Formation of active oxygen and its fate in chloroplasts. In *Biochemical and Medical aspects of Active oxygen*. (Edit. by O. Hayaishi and K. Asada), p. 45-63. University of Tokyo Press, Tokyo
- Bailey, J. L. and R. D. Cole. 1959. Studies on the reaction of sulfite with proteins. J. Biol. Chem. 234: 1733-1739
- 7. Bodaness, R. S. and P. C. Chan. 1977. Singlet oxygen as a mediator in the hematoporphyrin catalyzed photooxidation of NADPH to NADP⁺ in deuterium oxide. ibid. 252: 8554-8560
- 8. Bray, R. C., S. A. Cockle., E. M. Fielden., P. B. Roberts., G. Rotillo and L. Calabrese. 1974. Reduction and inactivation of superoxide dismutase by hydrogen peroxide. Biochem J. 139: 43-48
- 9. Elstner, E. F. and J. R. Konze. 1974. Light-dependent ethylene production by isolated chloroplasts. FEBS Lett. 45: 18-21
- 10. Epel, B. L. and J. Neumann. 1973. The mechanism of the oxidation of ascorbate and Mn⁺⁺ by chloroplasts. The role of radical superoxide. Biochim. Biophys. Acta 325: 520-529
- 11. Forti G. and P. Gerola. 1977. Inhibition of photosynthesis by azide and cyanide and the role of oxygen in photosynthesis. Plant Physiol. 59: 859-862
- 12. French, C. S. 1960. The chlorophyll in vivo and in vitro In Encyclopedia of Plant Physiology. (Edit. by W. Ruhland), p. 251-297. Springer-Verlag, Berlin
- 13. Heath, R. L. and L. Packer. 1968. Photoperoxidation in isolated chloroplasts I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. Arch Biochem. Biophys. 125: 189-198
- 14. Kellogg, E. W. and I. Fridovich. 1977. Liposome oxidation and erythrocyte lysis by enzymatically generated superoxide and hydrogen peroxide. J. Biol. Chem. 252: 6721-6728
- Kirk, J. T. O. and R. L. Allen. 1965. Dependence of chloroplasts pigments synthesis effect of actidione. Biochem. Biophys. Res. Commun. 21:523-530

- Kondo, N. and K. Sugahara. 1978. Changes in transpiration rate of SO₂-resistant and -sensitive plants with SO, fumigation and the participation of abscisic acid. Plant & Cell Physiol. 19: 365-373
- Liaaen-Jensen, S. and A. Jensen. 1971. Quantitative determination of carotenoids in photosynthetic tissues. In Methods in Enzymology 23 A. (Edit. by A. San Pietro) p. 586-602. Academic Press, New York
- Lowry, O. H., N. J. Rosenbrough, A. L. Farr and R. J. Randall. 1951. Protein measurement with the Folin phenol reagent J. Biol. Chem. 193: 265-275
- 19. Mackinney, G. 1941. Absorption of light by chlorophyll solutions. J. Biol. Chem, 140: 315-322
- Malhotra, S. S. 1977. Effects of aqueous sulphur dioxide on chlorophyll destruction in *Pinus contorta*. New Phytol. 78: 101-109
- 21. McCord, J. M. and I. Fridovich. 1969. Superoxide dismutase. An enzymic function for erythrocuprein (hemocuprein). J. Biol. Chem. 244: 6049-6055
- 22. Merkel, P. B., R. Nilsson and D. R. Kearns. 1973. Deuterium effects on singlet oxygen lifetime in solutions. J. Amer. Chem. Soc. 94: 1030-1031
- Miller, R. W. and F. D. H. Macdowall. 1975. The tiron free radical as a sensitive indicator of chloroplastic photooxidation. Biochim. Biophys. Acta 387: 176-187
- 24. Miszalski, Z. and I. Ziegler. 1979. Increase in chloroplastic thiol groups by SO₂ and its effect on light modulation of NADP-dependent glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase. Planta 145: 383-387
- 25. Müller. J. 1957. Spezifischer nachweis von SO₂-Rauchschaden an Pflanzen mit Hilfe von Blattpigmentanalysen. Naturwissenschaften 44: 453
- Ouannes, C. and T. Wilson. 1968. Quenching of singlet oxygen by tertiary aliphatic amines. Effect of DABCO. J. Amer. Chem. Coc. 90: 6527-6528
- 27. Peiser, G. D. and S. F. Yang. 1977. Chlorophyll destruction by the bisulfite-oxygen system. Plant Physiol. 60: 277-281
- 28. Peiser, G. D. and S. F. Yang. 1978. Chlorophyll destruction in the presence of bisulfite and linoleic acid hydroperoxide. Phytochemistry 17: 79-84
- Peiser, G. D. and S. F. Yang. 1979. Ethylene and ethane production from sulfur dioxide-injured plants. Plant Physiol. 63: 142-145
- Puckett, K. J., E. Nieboer, W. P. Flora and D. H. S. Richardson. 1973. Sulphur dioxide: its effect on photosynthetic ¹⁴C fixation in lichens and suggested mechanisms of phytotoxicity. New Phytol. 72: 141-154
- Radmer, R. J. and B. Kok. 1976. Photoreduction of O₂ primes and replaces CO₂ assimilation. Plant Physiol. 58: 336-340
- 32. Rao, D. N. & F. LeBlanc. 1965. Effects of sulfur dioxide on the lichen algae with special reference to chlorophyll. Bryologist 69: 69-73
- . 33. Setterstrom, C. and P. W. Zimmerman. 1939. Factors influencing susceptibility of plants to sulphur dioxide. I. Contrib. Boyce Thomson Inst. 10: 155-181
 - 34. Shimazaki, K. and K. Sugahara. 1979. Specific inhibition of photosystem II activity in chloroplasts by fumigation of spinach leaves with SO₂. Plant & Cell Physiol. 20: 947-955
 - 35. 島崎研一郎・菅原 淳. 1978、二酸化イオウの植物影響の作用機序に関する研究(1)光合成電子伝達 反応阻害とクロロフィル分解との関連について.陸上植物による大気汚染環境の評価と改善に関する基礎 的研究.昭和51/52年度研究報告,国立公害研究所特別研究成果報告 R-2-78. p. 35-45
 - Takahama, U. and M. Nishimura. 1976. Effects of electron donor and acceptors, electron transfer mediators, and superoxide dismutase on lipid peroxidation in illuminated chloroplast fragments. Plant & Cell Physiol. 17: 111-118
 - 37. Takahama, U. and M. Nishimura. 1975. Formation of singlet oxygen in illuminated chloroplasts. Effects on photoinactivation and lipid peroxidation. ibid. 16: 737-748
 - 38. 田中 浄・菅原 淳、1979、SO2番性防御へのスーパーオキシドジスムターゼの関与、日本植物生理学 会(名古屋)講演要旨集, p. 182

- Thomas, M. D. and G. R. Hill. 1935. Absorption of sulphur dioxide by alfalfa and its relation to leaf injury. Plant Physiol. 10:291-307
- 40. Ziegler, I. 1977. Subcellular distribution of ³⁵S sulfur in spinach leaves after application of ³⁵SO₄²⁻, ³⁵SO₄²⁻, and ³⁵SO₂. Planta 135: 25-32

Summary

When spinach plants were fumigated with 2.0 ppm sulfur dioxide (SO_2) in light, chlorophyll a and carotenoids began to be destroyed in 2 to 3 hr after initiation of fumigation but chlorophyll b was not within 8 hr. The content of pheophytin a, chromatographically determined, was not changed by SO₂ fumigation.

When leaf disks ($\phi = 10$ mm), punched from the leaves fumigated with SO₂ at 2.0 ppm for 2 hr, were illuminated, chlorophyll *a* and carotenoids were broken down, but they are not destroyed in darkness. The destruction of chlorophyll *a* and carotenoids, however, were markedly suppressed under a stream of nitrogen gas. Chlorophyll *a* destruction was inhibited by free radical scavengers, 1,2-dihydroxybenzene-3,5-disulfonate (tiron), hydroquinone and ascorbate. However, the singlet oxygen scavengers, 1,4-diazabicyclo-[2,2,2]-octane (DABCO), methionine and histidine, and hydroxyl radical scavengers, benzoate and formate were without effect. Chlorophyll *a* destruction was inhibited by the addition of superoxide dismutase to the homogenate of SO₂-fumigated leaves. SO₂ fumigation for 2 hr reduced the SOD activity to 40%, at that time no significant chlorophyll destruction was observed. From these results we concluded that chlorophyll *a* destruction was due to superoxide radicals in SO₂-fumigated leaves.

Moreover, the malondialdehyde (MDA), an indicator of lipid peroxidation, was accumulated in SO₂-fumigated leaves in light but not in darkness. MDA formation was inhibited by tiron, hydroquinone and DABCO but was not by benzoate and formate. MDA formation was increased by D_2O . From these results it was concluded that 1O_2 had the immediate relation with the cause of lipid peroxidation in SO₂-fumigated leaves.

Key words: Carotenoid destruction-Chlorophyll destruction-Effect of SO₂-Lipid peroxidation-Oxygen toxicity-Sulfur dioxide 国立公害研究所研究報告 第10号 (R-10--'79) Research Report from the National Institute for Environmental Studies No. 10, 1979

II - 6

ホウレンソウ葉の酸素交換反応とクロロフィルけい光の誘導期現象に

及ぼす二酸化硫黄(SO₂)暴露の影響

岛崎研一郎¹• 伊藤久仁子²• 菅原 淳¹

Effects of SO_2 fumigation on the rate of O_2 exchange and the chlorophyll fluorescence induction in spinach leaves

Ken-ichiro SHIMAZAKI¹, Kuniko ITO² and Kiyoshi SUGAHARA¹

要 旨

ホウレンソウ葉を二酸化硫黄(SO₂)に暴露すると、光合成による酸素発生は著し く阻害されるが、呼吸による酸素吸収はほとんど変化しなかった。SO₂暴露により阻 害された酸素発生は、環境中のSO₂を除くことにより徐々に回復した。SO₂2.0 ppm に1時間暴露すると、酸素発生は約20%に阻害されるが、SO₂除去後4時間目には、 もとの約70%までもどる。しかし、それ以上回復しなかった。この結果はSO₂による 光合成阻害に、回復可能な可逆的阻害と回復しない不可逆的な阻害があることを示し ている。SO₂暴露後、一昼夜放置したホウレンソウ葉(可視害なし)の光-光合成曲 線を求めると、弱光下、および中程度の光強度で著しい阻害が認められた。また、対 照では約 25,0001x で酸素発生が光飽和するが、SO₂暴露葉では 50,0001x の光強度 でも飽和しなかった。以上の結果は、SO₂による光合成の不可逆的阻害の少なくとも 一部が光の直接関与する反応の阻害に起因していることを示している。

つぎにクロロフィルαけい光の誘導期現象に対するSO2暴露の影響を調べた。ホウ レンソウ葉を2.0 ppmのSO2に1時間暴露すると、けい光の誘導期現象はほぼ完全に 消失した。30分間の暴露では誘導期現象はわずかに残っている。しかしSO2により、 ーたん消失したけい光の誘導期現象は、外気中のSO2を除くことによりゆっくりと回 復した。30分間SO2に暴露した試料の場合、約4時間後にはもとの変化を示すように なった。けい光の強度はおもに光化学系 IIの反応中心の電子受容体Qの酸化還元状態 により決まることが知られているので、以上の結果はSO2暴露により、電子伝達系に 何らかの回復可能な変化が生じていることを示している。

1. 国立公害研究所 生物環境部

2. Faculty of Science, Toho University, Funabashi, Chiba 274

^{2.} 東邦大学 理学部

^{1.} Division of Environmental Biology, The National Institute for Environmental Studies, Tsukubagakuen, Ibaraki 305

緒言

 SO_2 により光合成色素が分解することは、可視障害として古くから知られている(17)。可視害 の現れる前に、クロロフィルの局在部位である葉緑体チラコイド膜が膨潤すること(18)、傷害が 強くなると破壊されること(6)、さらに亜硫酸自身がチラコイド膜に親和性をもつ(21)ことか ら、この膜の最も主要な機能である電子伝達反応への影響に的をしばって、研究をすすめて来た。 その結果、電子伝達系の光化学系IIが、不可逆的に阻害されるが、光リン酸化反応および膜を介し てのプロトンこう配の形成は阻害されないことを、すでに報告した(11,13)。一方このような不 可逆的損傷とは別に、いったんSO₂により阻害された光合成活性は、外気中のSO₂を除くことによ り、かなりの部分が回復することはよく知られた事実である(2,7,14)。暴露葉から単離抽出し た葉緑体について、SO₂の影響を調べる場合、詳しい解析が可能である一方、葉の中に光合成阻害 要因として、存在または実現されていた物質または環境が、抽出操作のうちに失われる恐れがある。 ここでは葉緑体抽出などの破壊操作を加えることなく、*in vivo*におけるSO₂の影響を知ることを 目的として、葉片のままで光合成反応を測定する、二つの異なった方法を試みた。

材料および方法

植物材料:鉢植えホウレンソウ(*Spinacia oleracea* L. cv. New Asia)の生育4~7週間目の ものを用いた。育成条件は前回の報告書にのべた(12)。

SO₂ガス暴露: 2.0 ppm (v∕v)のSO₂を含んだ空気中で,所定時間暴露した。光強度は葉面で 25,000 ~ 35,0001x であった。

呼吸,光合成活性の測定:Yamashitaらの方法(20)に準じて,溶液中で光合成および呼吸の測定を行った。重炭酸ナトリウム(NaHCO₃)を含んだ緩衝液中に葉片を沈め、酸素発生および酸素吸収を、クラークタイプの酸素電極を用いて測定した。測定中はたえずマグネチックスターラーでかくはんした。装置の概要を図1に示す。光源にはダングステンランプ(100 V - 300 W)を用い、減光フィルター(neutral density filter)を用いて光強度を調節した。光強度は図1のアクリル 樹脂の前面で、照度計(Pocket luxmeter,Lichtme B technik, Model PO-57, Berlin)を用いて 測定した。反応混液の光による温度上昇を防ぐため測定セル全体を20℃に保った水層の中に沈めた。反応混液の組成および測定条件は図2に示すように、至適条件として得られた,pH 7.0,基質 NaHCO₃ 濃度25 mM,光強度 35,000 lx,葉片のサイズ 1.2 × 5 cm である。

クロロフィルけい光の誘導期現象の測定:四面透明キュベットの中にアクリル樹脂にはさんで固定した葉片を挿入し、葉面に45°の角度からコーニングフィルター4-96 (Corning 4-96)を通過した青色光で、励起した。クロロフィルαから発するけい光は、励起光と直角方向に出てくる部分を赤色カットフィルター (Corning 2-64、>650 nm)および干渉フィルター (吸収極大 683 nm,透過率30%、半値幅10 nm)を通し、フォトマルチプライアーで検出し、増幅したあとレコ



図1 酸素電極による光合成および呼吸測定装置





- 図2 ホウレンソウ葉の酸素発生速度と反応混液の pH(A), NaHCO₃濃度(B), 照射光強度(C), 葉片の大きさ(D)の関係
- Fig. 2 Effects of pH (A), NaHCO₃ concentration (b), light intensity (C), and leaf size (D) on the rate of O₂ evolution in spinach leaf strip

ーダーに記録した。照射光源はハロゲンランプを用い、葉面の光強度は3×10⁴ ergs/cm².secであった。葉片は励起光をあてる前に少なくとも20分間暗中に適応させた。

クロロフィルの定量:クロロフィルの定量は、Mackinney(5)の吸光係数を用いた。

結果および考察

1) ホウレンソウの酸素交換反応に対するSO2暴露の影響

SO2暴露後ただちに葉片を切りとり、呼吸および光合成活性に及ぼす影響を調べた。対照葉では 暗条件下で呼吸による一定の酸素吸収を示し、光をあてると約3分のおくれのあと酸素が発生し10 ~15分で一定の値を示すようになる(図3)。SO2暴露により酸素発生は著しく阻害され、暴露1 時間目でみかけの酸素発生はほぼ完全に停止する。一方酸素吸収はほとんど変化しなかった。以上 の結果は、SO2に対して光合成の方が呼吸にくらべて、感受性が高いことを示している。



- 図3 酸素発生および酸素吸収速度に及ぼすSO2暴露の影響
- Fig. 3 Effects of SO₂ fumigation on the rates of photosynthetic O₂ evolution and respiratory O₂ uptake
Sij と Swanson (14) はじめ多くの研究者(2,7) により報告されているように SO₂ に阻害された光合成活性は、外気中の SO₂を除くことによりかなりの部分回復する。図4には、SO₂に1時間暴露したホウレンソウ葉の光合成活性の回復過程が示されている。測定をはじめてからしばらくは活性に変化はみられないが、1時間経たころから約3時間にわたって、ほぼ直線的に酸素発生が増加する。しかしさらに光照射を続けても活性の増加はなく、対照の約70%にとどまっている。以上の結果は、SO₂暴露による光合成活性の阻害には、環境の SO₂を除くことにより回復する部分(可逆的阻害)と回復しない部分(不可逆的阻害)の、二つがあることを示している(2,7,16)。



図4 SO₂暴露により阻害された光合成活性の回復。酸素発生速度は真の値を示した。

Fig. 4 Recovery of SO_2 -inhibited photosynthetic O_2 evolution after fumigation. Photosynthesis was expressed as a rate of real photosynthetic O_2 evolution.

図5はSO₂暴露後、一昼夜自然光室に放置したホウレンソウ葉の光-光合成曲線である。縦軸には 各光強度における定常状態の酸素発生速度が示されている。可逆的阻害部分の回復は十分完了して、 不可逆的阻害部分のみ、見られる条件である。図から明らかなように弱光から強光条件にわたって 阻害がみられた。図6には、弱光下におけるSO₂の影響を詳しく調べた結果が示されている。SO₂ 暴露葉において著しい阻害が認められる。弱光条件では光合成全体を、光の直接関与する反応が律 速しているので、SO₂によりその反応が阻害されたことを示している。さらに対照葉では約25,000 lxの光強度で飽和するが、暴露葉では 50,0001xの強光下でも飽和しなかった。以上の結果はSO₂ による光合成反応の不可逆的阻害のうち、少なくとも一部は光化学反応の阻害(11)によることを 示している。



- 図5 光一光合成曲線に及ぼす SO₂暴露の影響。2.0 ppmの SO₂に 1.5 時間暴露した。
- Fig. 5 Effect of SO₂ fumigation on the light-photosynthesis curve before (\circ) and after treatment (\bullet). SO₂ fumigation was performed for 1.5 hr at 2.0 ppm.



- 図6 SO₂暴露の,弱光下における光-光合成曲線に及ぼす影響。2.0ppmのSO₂に
 2時間暴露した。
- Fig. 6 Effect of SO₂ fumigation on the light dependence of O₂ exchange at low intensities before (o) and after (•) treatment. SO₂ fumigation was performed at 2.0 ppm for 2 hr.

2) ホウレンソウ葉のクロロフィルけい光誘導期現象(Kautsky効果)に及ぼすSO2暴露の影響 暗条件に20分間以上適応させた葉に光をあてると、秒から分のオーダーで特徴的なけい光強度の 変化を示す。図7には典型的なけい光強度の変化が示されている。けい光強度は、照射直後、1の



図7 SO₂暴露の、ホウレンソウ葉におけるクロロフィルけい光の誘導期現象に及 ぼす影響。光照射を行う前に、20分間暗条件に適応させた。

Fig. 7 Effect of SO₂ fumigation on the chlorophyll fluorescence induction in spinach leaf. Sample leaf was kept in darkness for 20 min before illumination.

レベルまで早く立ち上がり、ややゆるやかにピークPに達し、比較的ゆっくりと減衰しはじめるが、 途中肩Mを示したあと、さらにゆっくりと減衰し、定常レベルSに達する(けい光の誘導期現象) (3)。右側にはSO2暴露を、1時間行った葉のけい光収率の変化が示されている。I-P-M-S に至るけい光の誘導期現象がほぼ完全に消失している。IからPへのけい光強度の増加は、おもに 光化学系IIの第一次電子受容体として仮定されているQ(1)の光還元に相当すると考えられてい る(1,4,8)。すなわちQの還元型が増せばけい光強度は増加し、酸化型が増せば減少するので I-Pの消失は、Qが酸化型にとどまっていることを示している。SO2暴露により光化学系IIの水 側(例えば酸素発生系)の阻害による水からQへの電子供給の不足(8,19)、あるいはいったん 還元されたQの再酸化の促進(10,15)、(例えばQ付近から電子をうけとる物質の生成)がもたら されたことを示している。

SO2暴露により、いったん消失したけい光の誘導期現象は、外気中のSO2を除くことにより徐々 に回復した。図8には30分間SO2暴露を行った試料の、けい光誘導期現象の回復過程が示されてい る。SO2暴露によりI-Pが消失するが、1時間暴露に比較するとなだらかなピークがみられる点 で異なる。外気中のSO2を除いて、60分たつとピークの位置が左側に移動する。120分たつと、I - Pの変化が再び現れ、Qの還元が部分的に回復する。また、P-Sのなだらかなけい光収率の減 少も認められる。240分経過したものでは、ほぼ対照と同じけい光の誘導期現象を示すようになっ た。したがって短時間のSO2暴露によりひき起こされたけい光誘導期現象の消失は可逆的変化であ ることを示している。SO21時間暴露で、酸素発生が著しく阻害され、けい光の誘導期現象もほぼ 完全になくなること。この二つの変化は、SO2を除くことにより徐々に回復することから、同一の メカニズムに起因している可能性がある。もしそうなら、古くから報告されその機作が議論の的と なっている見かけの光合成の可逆的阻害も、電子伝達反応の阻害に由来することになる。



- 図8 SO₂暴露により阻害された、クロロフィルけい光の誘導期現象の回復。SO₂ 暴露は30分間行った。暴露した葉片は、けい光を測定するとき以外は暗条件 に置いた。
- Fig. 8 Recovery of SO₂-inhibited chlorophyll fluorescence induction after fumigation. SO₂ fumigation was performed at 2.0 ppm for 30 min. The leaf was kept in darkness except when the fluorescence induction was measured.

大嶋ら(9)は、SO2暴露中の光一光合成曲線を求め、弱光下において強光下より阻害率が大きい ことを報告している。この阻害はSO2を除けば回復するので、彼らの得た結果も見かけの光合成阻 害の少なくとも一部は、電子伝達反応の阻害に起因するという考えを支持していると思われる。こ の点については現在さらに検討中である。

引用文献

- Duysens, L. N. M. and E. Sweers. 1963. Mechanism of two photochemical reactions in algae as studied by means of fluorescence. In Studies on Microalgae and Photosynthetic Bacteria. (Edit. by Japan Soc. Plant Physio.), p.353-372. University of Tokyo Press, Tokyo
- 2. 古川昭雄・戸塚 績、1978. ヒマワリ葉の光合成,気孔開度におよぼす二酸化イオウの影響。陸上植物 による大気汚染環境の評価と改善に関する基礎的研究、昭和51/52年度研究報告、国立公害研究所特別研 究成果報告 R-2-78. p.57-65
- Kautsky, H. and W. Appel. 1960. Chlorophyllfluorescenz und Kolensäureassimilation. XIII. Die Fluorescenzkurve und die Photochemie der Pflanze. Biochem. Z. 332: 277-292 (1960)
- Kobayashi, Y., Y. Inoue and K. Shibata. 1975. Light-dependent fluorescence variations in intact leaves. Plant & Cell Physiol. 16: 767-776
- 5. Mackinney, G. 1941. Absorption of light by chlorophyll solutions. J. Biol. Chem. 140: 315-322
- 6. Malhotra, S.S. 1976. Effects of sulphur dioxide on biochemical activity and ultrastructural organization of pine needle chloroplasts. New Phytol. 76: 239-245
- 7. 松岡義浩、1978. 水稲の二酸化硫黄障害とその機作に関する研究. 千葉農試特別報告7:1-63
- 8. Oren, A., E. Padan and S. Malkin. 1979. Sulfide inhibition of photosystem II in cyanobacteria (blue-green algae) and tobacco chloroplasts. Biochem. Biophys. Acta 546: 270-279
- 9. 大嶋保夫・牛島忠広・田崎忠良. 1973. ヒマワリの光合成速度および蒸散速度に対する二酸化イオウ (SO₂)の影響. 生物環境調節. 11:103-108
- Satoh, K., A. Yamagishi and S. Katoh. 1977. Fluorescence induction in chloroplasts isolated from the green algae, Bryopsis maxima. II. Induction of cytochrome f photoxidation and DPS transient in fluorescence induction. In Photosynthetic Organelles, Special Issue of Plant & Cell Physiol. (Edit. by S. Miyachi et al.), p.75-86. Japanese Society of Plant Physiologists and Center of Academic Publications Japan
- 11. Shimazaki, K. and K. Sugahara. 1979. Specific inhibition of photosystem II activity in chloroplasts by fumigation of spinach leaves with SO₂. Plant & Cell Physiol. 20: 947-955
- 12. 島崎研一郎・菅原 淳. 1978. 二酸化イオウの植物影響の作用機序に関する研究(1)光合成電子伝達 反応阻害とクロロフィル分解との関連について.陸上植物による大気汚染環境の評価改善に関する基礎的 研究.昭和51/52年度研究報告.国立公害研究所特別研究成果報告 R-2-78. p. 35-45
- 13. 島崎研一郎・菅原 淳・岡田光正・滝本道明 1978. 二酸化イオウの作用機序に関する研究(2)光合 成電子伝達反応の阻害機構および葉緑体反応の指標性について、陸上植物による大気汚染環境の評価と改 善に関する基礎的研究,昭和51/52年度研究報告、国立公害研究所特別研究成果報告 R-2-78. p. 47 -56
- 14. Sij, J. W. and C. A. Swanson. 1974. Short-term kinetics on the inhibition of photosynthesis by sulfur dioxide. J. Env. Quality 3: 103-107
- Takahama, U., H. Inoué and M. Nishimura. 1974. Effect of hydrogen peroxide on fluorescence and the C550 absorption change of spinach chloroplasts fragments. Plant & Cell Physiol. 15: 979-986
- 16. 谷山鉄郎・有門博樹・岩田幸弘・沢中和雄. 1972. 作物のガス障害に関する研究. 第10報. 亜硫酸ガス に長期間接触した水稲の光合成,暗呼吸について. 日作紀. 41:120-125
- 17. Thomas, M. D. and G. R. Hill, 1935. Absorption of sulphur dioxide by alfalfa and its relation to leaf injury. Plant Physiol. 10: 291-307
- Wellburn, A. R., O. Majernik and F. M. N. Wellburn. 1972. Effects of SO₂ and NO₂ polluted air upon the ultrastructure of chloroplasts. Environ. Pollut. 3: 37-49

- Yamashita, T. and W. L. Butler. 1969. Photooxidation by photosystem II of Tris-washed chloroplasts. Plant Physiol. 44: 1342-1346
- 20. Yamashita, T., H. Kohda, J. Nanri and G. Tomita. 1978. The simultaneous measurement of CO₂-evolving and CO₂-fixing activities in fresh leaves. J. Fac. Agr., Kyushu Univ. 22: 107-118
- 21. Ziegler, I. 1977. Subcellular distribution of ³⁵S sulfur in spinach leaves after application of ³⁵SO₄²⁻, ³⁵SO₃²⁻, and ³⁵SO₂. Planta 135: 25-32

Summary

SO₂ fumigation suppressed the photosynthetic O₂ evolution but did not affect the respiratory O₂ uptake in spinach leaves. The O₂ evolution inhibited by SO₂ gradually recovered after fumigation. When spinach was fumigated with 2.0 ppm SO₂ for 1 hr, the O₂ evolution was inhibited to 20%, while the SO₂-inhibited photosynthesis recovered to 70% of unfumigated sample in 4 hr after fumigation. However, no more recovery of the photosynthesis was observed. The results indicate that SO₂ fumigation brought about two kinds of inhibition in photosynthesis of spinach leaves, i.e. reversible and irreversible inhibitions. The irrevesible effect of SO₂ fumigation on the light-photosynthesis curve was investigated using spinach plant which was allowed to stand in the green house one day after fumigation. SO₂ fumigation inhibited the photosynthetic O₂ evolution both in low and moderate light intensities. Photosynthetic O₂ evolution was saturated at about 25,000 lux in unfumigated leaves, but was not saturated even at 50,000 lux in fumigated leaves. The results suggest that the irreversible inhibition of O₂ evolution might at least partly be due to the injury of photochemical reactions in electron transport system.

The effect of SO₂ fumigation on the chlorophyll *a* fluorescence induction was also studied. When spinach plant was fumigated with 2.0 ppm SO₂ for 1 hr, the fluorescence induction was completely eliminated, while a slight induction phenomena was observed for 30 min-fumigated leaves. The fluorescence induction once eliminated by SO₂ fumigation was restored gradually after fumigation. For 30 min-fumigated leaves, SO₂-inhibited fluorescence induction was almost completely restored in 4 hr after fumigation. The results indicate that the SO₂ fumigation reversibly altered the activity of photosynthetic electron transport.

Key words: Chlorophyll a-Fluorescence induction-Photosynthetic O₂ evolution-Respiratory O₂ uptake-Sulfur dioxide

国立公害研究所研究報告 第10号 (R-10-'79)

Research Report from the National Institute for Environmental Studies No. 10, 1979

11 - 7

二酸化硫黄暴露による光合成電子伝達系の阻害部位について

島崎研一郎¹• 菅原 淳¹

Inhibition site of SO₂ in electron transport system in chloroplasts by fumigation of lettuce plants

Ken-ichiro SHIMAZAKI¹ and Kiyoshi SUGAHARA¹

要 旨

二酸化硫黄(SO₂)暴露葉から単離した葉緑体の,光化学系II付近の阻害部位について調べた。その結果,

- 水からジクロロインドフェノール (DCIP) への電子伝達は著しく阻害されるが、 光化学 I に依存した、還元型DCIP (DCIPH₂)からメチルビオローゲン(MV) への電子伝達は、阻害されなかった。
- 2) 光化学系 IIへの人工電子供与体である、ジフェニルカルバジド(DPC)または Mn²*を加えても、SO₂により阻害されたDCIP 光還元活性は回復しなかった。
- 3) 水からフェリシアナイドへの電子伝達と、DCMU存在下での水からシリコモリ ブデン酸(SM)への電子伝達は、同じ程度阻害された。
- 4) 光化学系Ⅱの酸化側を阻害する、カルボニルシアナイドクロロフェニルヒドラゾン(CCCP)存在下でのカロチノイド光退色の初速度は、DCIP光還元活性の 阻害に応じて低下した。
- 5) クロロフィルaからのけい光強度の経時変化は、その変化成分が著しい影響をう けた。すなわち、
 - i)けい光強度の変化成分の大きさが減少し、定常状態のけい光収率が低下した。 DCMUを加えると一部収率が回復した。還元剤ジチオナイトを加えてイン キュベイトすると、さらにけい光収率があがった。
 - ii) けい光強度が定常状態に達するまでの時間が長くなった。しかし、DCMU存 在下では定常状態に達する時間の遅延は認められなかった。
 - ※化学系Ⅱの還元側の電子プールの大きさは、SO₂により暴露時間が短い場合は増加するが、長くなると減少した。一方、DCMU存在下でQ(第一次電子受容体)のプールの大きさを求めると、SO₂暴露により減少した。

以上の結果に基づくと、SO₂暴露による電子伝達反応の阻害は光化学系Ⅱの反応中心 そのものか、あるいは、その極めて近傍が失活したためであると結論される。

- 1. 国立公害研究所 生物環境部
- 1. Division of Environmental Biology, The National Institute for Environmental Studies, Tsukubagakuen, Ibaraki 305

緒言

SO₂は植物に様々な障害を及ぼすことが知られている(2,10,16)。最近,我々はホウレンソウ をSO₂に暴露し,暴露後,葉片を用いてその影響を調べたところ,光合成活性は著しく阻害される が呼吸活性はほとんど影響されないこと、さらに、暴露葉から単離した葉緑体の光化学系IIに依存 した反応は阻害されるが、光化学系Iに依存した反応はほとんど影響されないこと、および光リン 酸化反応や光誘導の pH 変化などのエネルギー転換反応は、影響を受けないことを報告した(12, 13)。

ところで、SO₂による光化学系 II 付近の阻害部位が系 II 反応中心の酸化側(水側)か、還元側か、 あるいは反応中心そのものなのかは、SO₂による光合成色素の分解のメカニズムを知る上からも興 味ある問題である。SO₂による光合成色素の分解が、光により進められることはすでに報告した (14)。もしSO₂により系 II の酸化側が阻害されていれば Yamashita ら(18) および Yamashita と Butler (19) が報告しているように、光照射によりカロチノイドをはじめとして光合成色素の分解 が進行するからである。

そこで今回は、SO₂の阻害部位をさらに詳しく調べる目的で、光化学系IIに依存した電子伝達活性、およびクロロフィル*a*けい光の誘導期現象へのSO₂の影響を調べた。その結果、SO₂による阻害は光化学系IIの反応中心そのものか、あるいは極めて近くが阻害される結果が得られたので報告する。

材料および方法

植物材料:レタス(*Lactuca sativa* L. var. Romaine)の生育6-8週目を用いた。栽培条件, ガス接触葉からの葉緑体の単離は前報(12, 13)と同じである。

光合成反応の測定:単離葉緑体による DCIP の光還元の測定は、前に示した(13)。酸素発生お よび酸素吸収は、クラークタイプの酸素電極を用いて測定した。酸素発生測定のための反応混液は、 6 ml中に58 mM Tricine – NaOH緩衝液 (pH7.5),67 mM蔗糖,0.5 mMフェリシアナイドお よびクロロフィル 200 µg 相当の単離葉緑体を含んでいる。DCMUに阻害されない酸素発生は上記 の組成に、1.1 mgのシリコモリブデン酸および7 µMのDCMUをさらに加えた反応混液を用いて 測定した。光化学系 I に依存した酸素吸収は、反応混液 6 ml中に、58 mM Tricine – NaOH緩衝液 (pH7.5),67 mM蔗糖,0.1 mMメチルビオローゲン、1 mMアザイド(NaN₃),150 µM DCIP、 2 mMアスコルビン酸、7 µM DCMUおよびクロロフィル 200 µg 相当の単離葉緑体を含んだもの を用いた。

カロチノイド光退色の速度は、日立556二波長分光光度計を用いて、490 nmの吸光度の減少を、 対照波長を540 nmにとって二波長分光測定を行い求めた。反応混液は4ml中に67 mMリン酸緩衝 液(pH 7.0),100 μM CCCPおよびクロロフィル40 μg 相当の葉緑体を含んでいる。 励起光は

-112-

測定光と直角方向から当て、フィルター(Corning 2403、> 620 nm)および厚さ 7 cmの水層を通 した赤色光(キュベットの前面で光強度 2 × 10⁵ ergs・cm⁻²、sec⁻¹)を用いた。フォトマルチプライア ー(光電子増倍管)の前面には、迷光を除くためフィルター(Corning 9782)を取り付けた。

けい光強度の誘導期現象は次のように測定した。四面透明セル中の葉緑体標品を、直流電源につ ないだハロゲンランプからフィルター(Corning 9782)を通過した青色の光(キュベットの前面 で光強度 7,000または 15,000 ergs・cm⁻²・sec⁻¹)で励起した。けい光は、励起光ど直角方向から 出てくる部分を、フォトマルの前面にフィルター(Corning 2030,> 650 nm)および干渉フィル ター(極大透過波長 683 nm、半波長幅 10 nm)を取り付けて測定した。フォトマルからのシグ ナルは増幅して、レコーダー(Yokogawa Technicorder F Model 3052)またはトランジェントレ コーダー(Kawasaki Electronica Model TM-1410)に記録した。反応混液は、4 ml 中に 12.5 mM Tricine - NaOH 緩衝液(pH 7.5)、100 mM 蔗糖、5 mM NaClおよびクロロフィル10 μ g 相当の葉緑体を含んでいる。

クロロフィルの濃度は Mackinney(9)の吸光係数を用いて定量した。 反応の測定は、20℃~22℃で行った。

結 果

表1に示すように、水からDCIPへの電子のながれはSO₂暴露により著しく阻害されるが、光化 学系Iに依存した、DCIPH₂からMVへの電子伝達はほとんど影響されない。この結果は光化学系 \square の反応が阻害されていることを示し、ホウレンソウを用いて得られた結果と一致している(12, 13)。図1に、光化学系 \square 付近の電子伝達系の模式が示されている。SO₂に電子伝達活性を阻害さ れた葉緑体(SO₂阻害葉緑体)に、光化学系 \square への電子供与体として知られているDPC(17)、 Mn²⁺を加えたが、Hill 反応活性はほとんど回復しなかった。この結果は、SO₂による阻害がY₁よ りも反応中心寄りで、DCIP光還元部位に至るまでの経路にあることを示している。

第一次電子受容体として仮定されている物質Q(4)から直接電子をうけとると考えられている シリコモリブデン酸(SM)とDCMUの存在下で、水からSMへの電子伝達活性は、フェリシア ナイド(Fecy)を電子受容体とした場合と同じように阻害された(図2)。(SM存在下ではDCMU は Hill 反応を阻害しない(3)、図1)この阻害の程度は、DCIP~Hill 反応活性の阻害と全く同 じであった(データは示さない)。従ってSO₂による電子伝達活性の阻害は、Y₂からQへ至る経路 にあると考えられる。

葉緑体にCCCPを加えて光照射を行うと、水からY₂への電子供与が阻害されるため、光化学反応によりY₂の酸化型が蓄積する(10)。この酸化力により、カロチノイドはじめ光合成色素の不可 逆な退色が起こる(18)。図3は、カロチノイド光退色初速度へのSO₂暴露の影響を示している。 図から明らかなように、カロチノイド光退色の初速度はDCIP光還元活性の低下に平行して減少した。 表1 SO₂暴露による電子伝達反応の阻害と、SO₂阻害葉緑体に対するジフェニル カルバジド(DPC)の効果

Table 1 Effects of SO₂ fumigation on electron transport activities and effect of DPC on SO₂inhibited DCIP-photorecudtion

Reaction measured	SO ₂ fumigation (h)					
	0	2	3	5		
$H_2 O \rightarrow DCIP^a$ (µmoles DCIP reduced/mg chl h)	148	86	45	13		
H ₂ O→DCIP ^a (+DPC) ^b (µmoles DCIP reduced/mg chl·h)	166	93	49	15		
DCIPH ₂ \rightarrow MV (+DCMU) (μ moles O ₂ uptake/mg chl·h)	216	206	193	190		

^a SO₂暴露は 2.0 ppm (v/v) の濃度で行った。

b DPCは0.5mMの濃度になるように加えた。

^a SO₂ fumigation was performed at 2.0 ppm (v/v).

b Diphenylcarbazide was added to the reaction mixture at 0.5 mM.



PSII: photosystem II, PSI: photosystem I, P680: reaction center of photosystem II, P680*: excited state of P680, P700: reaction center of photosystem I, P700*: excited state of P700, Q: primary electron acceptor, R: secondary electron acceptor, PQ: plastoquinones, Heat: heat treatment, Tris: Tris treatment, Y_1 , Y_2 : unidentified electron carriers, DPC: diphenylcarbazide, CCCP: carbonyl cyanide-*m*-chlorophenylhydrazone, SM: silicomolybdate, Fecy: ferricyanide, DCIP: 2, 6-dichloroindophenol, MV: methyl viologen

図1 高等植物における光化学系 II 付近の電子伝達系の模式図

Fig. 1 Photosynthetic electron transport pathway in the vicinity of photosystem II in higher plants (modified from Govindjee and Van Rensen, 1978)



- 図2 SO₂阻害葉緑体に対するシリコモリブデン酸の効果。Fecyを電子受容体としたときの酸素発生速度(…○…),およびこの反応系にDCMUとSMを添加した時の酸素発生速度(一●一)。SMはDCMUで阻害された葉緑体に光をつけた状態で加え、すぐに酸素の発生を測定した。SO₂暴露は2.0 ppm(v/v)の濃度で行った。
- Fig. 2 Effect of SM on the SO₂-inhibited Hill reaction. Rate of O₂ evolution with Fecy as an electron acceptor (- $\circ \circ$ -), rate of O₂ evolution with SM as an electron acceptor in the presence of DCMU (- $\circ \circ$ -). SM was added to the chloroplast suspension after the addition of DCMU. SO₂ fumigation was performed at 2.0 ppm.



- 図3 SO₂暴露の、CCCPにより誘導されるカロチノイド光退色への影響。SO₂ 暴露は2.0 ppm (v / v)の濃度で行った。100 µM CCCP存在下での490nm における吸光度変化の初速度(-○-)、およびDCIP光還元速度(-●-)。
- Fig. 3 Effect of SO₂ fumigation on the CCCP-induced carotenoid photobleaching. SO₂ fumigation was done at 2.0 ppm. Initial rate of absorbance change at 490 nm in the presence of 100 μ M CCCP (-0-) and the rate of DCIP photoreduction (-0-).

以上の結果は、SO₂による阻害がCCCPの阻害部位よりさらに反応中心寄りで、光化学系Ⅱの反応 中心の極めて近くであることを示している。

反応中心付近の酸化還元状態を知るため、SO₂暴露のけい光強度の誘導期現象におよぼす影響について調べた。けい光収率の経時変化は図3の左上図(1)に示すとおりである。光照射開始直後の早い立ちあがり(Fi)につづいてゆっくりと収率が増加し、定常状態(Fs)に達する。ゆっくり



- 図4 SO₂暴露のけい光強度の誘導期現象におよぼす影響。SO₂暴露は 2.0 ppm で 行った。葉緑体は 5 分間暗条件でインキュベイトしたあと光をあてた。
 - 実験A) 何も加えなかったもの(1), 10μMのDCMU添加(2), さらに 少量のジチオナイトを加え3分間インキュベイトしたもの(3)。 励起光強度は試料の位置で7,000 ergs・cm⁻²・sec⁻¹である。
 - 実験B) 10 µMの DCMU添加条件でトランジェントレコーダーを用いて記録 した。励起光強度は試料の位置で 15,000 ergs・cm⁻²・sec⁻¹ である。 DCIP 光還元速度は、対照、SO₂暴露 1.75時間および 3.5時間暴露の場合で それぞれ、135、87および 35 µmoles・mg chl⁻¹・hr⁻¹ であった。
- Fig. 4 Effects of SO₂ fumigation on the fluorescence induction. Fumigation was performed at 2.0 ppm of SO₂. Chloroplasts were incubated in the dark for 5 min before illumination. In A, no addition (1), in the presence of 10 μ M DCMU (2), 10 μ M DCMU and a few grains of sodium dithionite (3), respectively. In B, curve of fluorescence induction was recorded on a digital transient memory in the presence of 10 μ M DCMU. The rates of DCIP photoreduction were 135, 87 and 35 μ moles·mgchl⁻¹·hr⁻¹ for 0, 1.75 and 3.5 hr of SO₂ fumigation, respectively.

したけい光の増加(FiからFsへの移行過程)は、還元型Qの蓄積に相当する(4,11)。 SO₂の影響はFiに対してはわずかで,けい光強度の変化成分(Fs-Fi)に対して著しかった。すなわちFs-Fiの大きさが減少し,定常状態におけるけい光の収率(Fs)が低下した。DCMU存在下では、SO₂ 阻害棄緑体のけい光収率が部分的に回復するが,対照にはおよばなかった。このDCMU添加によ るけい光収率の増加は,対照葉緑体ではほとんど認められない。従ってSO₂阻害葉緑体においては、 DUMUが存在しない条件では,照射中にもQの一部が酸化型で存在していることを示している。 SO₂阻害葉緑体を,Qを化学的に還元することの出来る還元剤ジチオナイト(5)の存在下で3分 間インキュベイトすると,さらにけい光収率があがった。この収率の増加はSO₂阻害葉緑体におい て著しく,SO₂による阻害がQ自身よりもQを光還元する過程に起きていることを示していると思 われる。

さらに SO₂阻害葉緑体においては、けい光強度が定常状態に達するまでの時間が長く なる。(図 4 A)。便宣上、けい光強度の変化成分が半分の強さに達する時間(*t*½)を指標として求めると 表 2 に示すように、SO₂暴露により*t*½の増加が認められた。一方、DCMU 存在下では、*t*½ は

- 表2 SO₂暴露によるけい光誘導期現象の *t* ½の変化。SO₂暴露は 2.0 ppm で行っ た。励起光強度は、7,000 ergs • cm⁻² • sec⁻¹ である。DCIP 光還元速度は、 対照、1.5 および 3 時間 SO₂暴露の場合、それぞれ 178、104 および 38 μ moles • mg ch^{ri} • hr⁻¹ であった。
- Table 2 Effect of SO₂ on the half-rise time of the fluorescence induction in the presence and absence of DCMU. SO₂ fumigation was performed at 2.0 ppm. Light intensity was 7,000 ergs·cm⁻²·sec⁻¹ at the position of the cuvette. The rates of DCIP photoreduction were 178, 104 and 38 μmoles·mgchl⁻⁴·hr⁻¹ for 0, 1.5 and 3.0 hr SO₂ fumigation, respectively.

Addition	I	Half-rise time $(t_{1/2})$				
	SO	(ergs/cm ² .sec)				
	0	1.5	3.0			
- DCMUa	0.81	1.3	2.4 (sec)	7,000		
+DCMU	52	53	56 (msec)	7,000		



- 図5 SO₂暴露による、反応中心還元側の電子プールの変化。SO₂暴露は2.0 ppm で行った。電子プールの大きさは Murataらの方法(11)で求め、相対値で 示してある。-DCMUで測定したプールの大きさ(…〇…)、+ DCMUで 測定したプールの大きさ(一●一)。縦軸は、DCMUのあるなしで異なるス ケールを用いた。励起光強度はキュベットの位置で7,000 ergs・cm⁻²・sec⁻¹。
- Fig. 5 Effect of SO₂ on the pool size of electron acceptors on the reducing side of photosystem II. SO₂ fumigation was performed at 2.0 ppm. The relative values of pool size were determined according to the method of Murata et al. (11). Relative pool size determined in the absence of DCMU (- \circ -) and that determined in the presence of 10 μ M DCMU (- \bullet -). Different ordinate scales apply for values of work integral in the presence and absence of DCMU. Light intensity at the position of the cuvette was 7,000 ergs cm⁻² ·sec⁻¹.

ほとんど変化しなかった。

図5には、光化学系IIの還元側に位置する電子受容体のプールの大きさを Murataら(11)の方 法で測定した結果が示されている。-DCMUでは、SO2暴露により3時間まではプールの大きさ の増加がみられたが、以後減少した。+DCMUでは、光化学系IとIIの間の電子伝達が阻害され るので、プールの大きさは光還元されるQの大きさを表していると考えられるが、このQのプール の大きさはSO2暴露により減少の一途をたどった。このことは反応中心そのもの、または極めて近 傍が不活性化されていることを示している。一方表2に示したように、SO2阻害葉緑体において、 Qの光還元は対照とほぼ同じ時間内に完了する。従って、SO2阻害葉緑体においては、失活した反 応中心と失活していない反応中心とが存在し、後者は対照の反応中心とほぼ同じ速度で作動してい ると思われる。

考察

Katoh(8)は、光化学系II付近の電子伝達反応阻害剤の作用部位と様式を調べ、系IIの反応中 心の酸化側あるいは還元側を阻害する二つのグループに分類した。これらの阻害剤はHill反応活性 を強く阻害する濃度で、いずれもQの光還元は阻害しなかった。従って、反応中心の光化学反応は 阻害していないと考えられている。一方、SO2阻害葉緑体においては還元されるQの量が減少して いる。このことは、SO2による阻害部位が、Katohらの調べた阻害剤よりも反応中心に近い部位、 または反応中心そのものであることを示している。

SO2による光合成色素の分解は、SO2障害の中でも最も著しい特徴である。SO2による光合成色素の分解は、光照射により進行し暗中では起こらないことはすでに報告した(14)。そこで系 IIの水側がSO2により阻害され、CCCP 添加(18)や Tris処理葉緑体(19)で観察されるように、光照射時に光化学系 II に蓄積する酸化力で色素が分解されていく可能性が考えられた。しかし、CCCP 添加によるカロチノイドの光酸化がSO2 暴露により阻害されており、酸化力の形成本体である光化学反応そのものが不活性化されていることから、上記の可能性はなさそうである。

植物をSO₂に暴露すると、気孔から侵入したSO₂は葉内の水にとけ、細胞内には亜硫酸(SO₃²⁻, HSO₃⁻) および水素イオン(H⁺)を生じる。亜硫酸は、多くの生体物質、例えばタンパク質中の ジスルフィド結合、核酸中のピリミジンなどと高い反応性を持っている。さらに葉内に存在するア ルデヒドと反応しα-hydroxysulfonateなどの毒物を生じる(15)。しかし葉緑体を亜硫酸やαhydroxysulfonate 共存下でインキュベイトしても、電子伝達反応は阻害されない(1)。一方、H⁺ は葉緑体の存在している細胞質のpHを下げるはずである。pH 4 から 5 で葉緑体をインキュベイ トすると、系 IIの反応中心の水側が阻害されるが(6,7)、外から系 IIへの電子供与体を加えると 活性の回復が認められ、SO₂の阻害の仕方とは異なっている。SO₂暴露による葉緑体の阻害が、ど のような物質または誘因条件によるか不明であり、今後の検討をまたねばならない。

51 用 文 献

- Asada, K., S. Kitoh, R. Deura and Z. Kasai. 1965. Effect of α-hydroxysulfonate on photochemical reactions of spinach chloroplasts and participation of glycolate in photophosphorylation. Plant & Cell Physiol. 6: 615-629
- Barett, T. W. and H. M. Benedict. 1970. Sulfur dioxide. In Recognition of Air Pollution Injury to Vegetation: A Pictorial Atlas. (Edit. by J. S. Jacobson and A. C. Hill), p.C 1-C 17. Air Pollution Control Association, Pittsburgh, Pennsylvania. 1970
- 3. Barr, R., F. L. Crane and R. T. Giaquinta. 1975. Dichlorophenylurea-insensitive reduction of silicomolybdic acid by chloroplast photosystem II. Plant Physiol. 55: 460-462
- Duysens, L. N. M. and H. E. Sweers. 1963. Mechanism of two photochemical reactions in algae as studied by means of fluorescence. In Studies on Microalgae and Photosynthetic Bacteria. (Edit. by Japan Soc. Plant Physiol.), p353-372. University of Tokyo Press, Tokyo.

- Ikegami, I. and S. Katoh. 1972. Studies on chlorophyll fluorescence in chloroplasts. 1. Effects of dithionite on fluorescence of chlorophyll A in isolated spinach chloroplasts. Arch. Biochem. Biophys. 150: 9-14
- Itoh, S. and M. Nishimura. 1977. pH dependent changes in the reactivity of the primary electron acceptor of system II in spinach chloroplasts to external oxidant and reductant. Biochim. Biophys. Acta 460: 381-391
- 7. Katoh, S. and A. San Pietro. 1968. A comparative study of inhibitory action on oxygen-evolving system of various chemical and physical treatment of *Euglena* chloroplasts. Arch. Biochem. Biophys. 128: 378-386
- 8. Katoh, S. 1972. Inhibitors of electron transport associated with photosystem II in chloroplasts. Plant & Cell Physiol. 13: 273-286
- 9. Mackinney, G. 1941. Absorption of light by chlorophyll solutions. J. Biol. Chem. 140: 315-322
- Mudd, J. B. 1975. Sulfur dioxide. In Responses of Plants to Air Pollution. Edited by J. B. Mudd and T. T. Kozlowski, p.9-22. Academic Press, New York
- Murata, N., M. Nishimura and A. Takamiya. 1966. Fluorescence of chlorophyll in photosynthetic systems. II. induction of fluorescenece in isolated spinach chloroplasts. *Biochim. Biophys. Acta* 120: 23-33
- 12. Shimazaki, K. and K. Sugahara: 1979. Specific inhibition of photosystem II activity in chloroplasts by fumigation of spinach leaves with SO₂. Plant & Cell Physiol. 20: 947-955
- 13. 島崎研一郎・菅原 淳・岡田光正・滝本道明. 1978. 二酸化イオウの植物影響の作用機序に関する研究 (2). 光合成電子伝達反応の阻害機構および葉緑体反応の指標性について。陸上植物による大気汚染環境 の評価と改善に関する基礎的研究. 昭和51/52年度研究報告.国立公害研究所特別研究成果報告 R-2-78. p.47-56
- **14**. 島崎研一郎・榊 岡・菅原 淳. 1978. SO₂暴露による光合成色素の分解について、日本植物学会第 43回大会(千葉 1978)研究発表記録. p. 167
- 15. Tanaka, H., T. Takanashi and M. Yatazawa. 1972. Experimental studies on SO₂ injuries in higher plants. I. Formation of glyoxylate-bisulfite in plant leaves exposed to SO, . *Water Air Soil Pollut.* 1: 205-211
- Taylor, O. C. 1973. Acute responses of plants to aerial pollutants. In Air Pollution Damage to Vegetation Edited by J. A. Naegele. p.9-20. Academic Chemical Society, Washington, D. C.
- 17. Vernon, L. P. and E. R. Shaw. 1969. Oxidation of 1, 5-diphenylcarbazide as a measure of photosystem II activity in subchloroplasts fragments. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 36: 878-884
- 18. Yamashita, K., K. Konishi, M. Itoh and K. Shibata. 1969. Photobleaching of carotenoids related to the electron transport in chloroplasts. *Biochem. Biophys. Acta* 172: 511-524
- 19. Yamashita, T. and W. L. Butler. 1969. Photooxidation by photosystem II of Tris-washed chloroplasts. *Plant Physiol.* 44: 1342-1346

Summary

Effects of SO₂ on photosynthetic electron transport system were studied by fumigating the lettuce plants with SO₂ at 2.0 ppm (v/v). Electron flow from water to 2,6-dichloroindophenol (DCIP) was inhibited but electron flow from reduced DCIP to methyl viologen was not affected in chloroplasts isolated from SO₂-fumigated leaves. Diphenylcarbazide (DPC) or MnCl₂, exogenous electron donors for photosystem II, could not restore the activity of DCIP-photoreduction of SO₂-inhibited chloroplasts. Electron flow, measured as O₂ evolution, from water to ferricy-anide or to silicomolybdate in the presence of DCMU was inhibited to the same extent. The initial rate of carotenoid photobleaching in the presence of carbonyl cyanide-*m*-chlorophenylhydrazone (CCCP) was suppressed in parallel with the inhibition of DCIP-Hill reaction.

Effect of SO_2 on the fluorescence induction was investigated in chloroplasts isolated from the SO_2 -fumigated leaves. The extent of variable part of fluorescence induction was much diminished in SO_2 -inhibited chloroplasts. The fluorescence yield of SO_2 -inhibited chloroplasts was significantly increased on addition of DCMU and especially when preincubating the sample with sodium dithionite. However, these yields were never as great as those of non-fumigated chloroplasts. The time required to reach steady state of fluorescence became longer with increasing the time of SO_2 fumigation but the time was not altered in the presence of DCMU. The pool size of electron acceptors on the reducing side of photosystem II increased with SO_2 fumigation when fumigation time was within 3 hr after then slightly decreased, while the pool size of primary electron acceptors determined in the presence of DCMU decreased with SO_2 fumigation. From these results we concluded that SO_2 inactivated the primary electron donor or reaction center.

Key words: Chloroplasts-Effect of SO₂-Electron transfer-Photosystem II-Photosynthesis-Sulfur dioxide 国立公害研究所研究報告 第10号 (R-10-79) Research Report from the National Institute for Environmental Studies No.10, 1979

II – 8

ホウレンソウ、ソラマメおよびトウモロコシ葉中の、マグネシウムによって活性化 される膜結合 ATP アーゼに及ぼすアブサイシン酸とカリウムイオンの影響

小幡浜子¹• 近藤矩朗²• 菅原 淳²

Effects of abscisic acid and K⁺ ion on Mg-activated, membrane-bound ATPase of spinach, broad bean and corn leaves

Hamako OBATA-SASAMOTO¹, Noriaki KONDO² and Kiyoshi SUGAHARA²

要 旨

ホウレンソウ、ソラマメおよびトウモロコシの葉抽出物の1,500×gから10,000 ×gの間の沈殿物を用いて、ショ糖密度こう配遠心により膜分画を行った。ショ糖密 度1.12と1.14の間の層にあるホウレンソウ抽出物のマグネシウムの活性化ATPアー ゼ活性は、50mMカリウムイオンおよび2.5×10⁻⁶mMアブサイシン酸(ABA)によ り促進された。膜のマーカー酵素として、チトクロムc酸化酵素、IDPアーゼ、NADPH ーチトクロムc還元酵素、NADH - チトクロムc還元酵素活性を、ホウレンソウ画 分について調べた。

緒 言

気孔の開閉運動を決めている孔辺細胞の運動はエネルギーを必要とした能動的過程であり、孔辺 細胞の浸透ポテンシャルの制御と関連している(12)。孔辺細胞の浸透圧はカリウムイオンの出入 りによって調節されている。また、ABA が気孔開度を減少することも知られている(12)。した がって、孔辺細胞へのカリウムイオンの移動における ABA の役割を明らかにすることは気孔運動 の調節機構の解明に役立つものと思われる。マグネシウム、カリウムによって活性化される膜結合 ATPアーゼが、根におけるカリウムイオンの特異的吸収に関係していることが示唆されている (5,10)。最近、根におけるイオン吸収をABA がすみやかに抑制することが報告された(1)。し

^{1.} 筑波大学 生物科学

^{2.} 国立公害研究所 生物環境部

^{1.} Institute of Biological Science, The University of Tsukuba, Sakura-mura, Ibaraki

^{2.} Division of Environmental Biology, The National Institute for Environmental Studies, Tsukubagakuen, Ibaraki 305

かし、葉のマグネシウム、カリウム活性化 ATP アーゼに関しては2,3の報告しかない(2,7)。 膜画分に ABA が結合するという報告が出されている(4)が、葉および根の ATP アーゼ活性が ABA によって制御されるという報告はない。本研究では葉から抽出したマグネシウム、カリウム によって活性化される膜結合 ATP アーゼ活性に対する *in vitro* での ABAの影響について述べる。

材料および方法

植物材料:ホウレンソウ (Spinacia oleracea L. cv. Newasia), ソラマメ (Vicia faba L. cv. Otafuku) およびトウモロコシ (Zea mays L. cv. Yellow Dent-corn) は温度, 湿度を制御した ガラス室で栽培した。自然光下, 温度は昼25℃, 夜20℃ (ホウレンソウの場合には昼20℃, 夜15℃), 湿度70%で4週間から8週間育成した。

酵素調整:酵素はKasamoの方法(6)で調整した。50から100gの葉を切り取り、ホウレンソ ウおよびソラマメの場合はブレンダー、トウモロコシはPolytronを用いて、0.25Mショ糖、20mM の β -メルカプトエタノール、3mMのEDTAおよび20mMのトリスー塩酸(pH 7.6)から成る磨 砕液中で磨砕した。磨砕液は2層のガーゼで沪過し、沪液は1,500×gで25分間遠心した。上清を 10,000×gで30分間遠心して得られた沈殿を2mlの磨砕液に懸濁して、遠心管中に作られたショ糖 溶液の上に置いた。2.5ml以上の54.1%ショ糖(密度1.22)、2.5mlの48.45%(密度:1.18)、 42.9%(密度:1.16)、35.0%(密度:1.14)および30.0%(密度:1.12)のショ糖溶液を16ml の遠心管中に順次重ねて、ショ糖の段階的密度こう配を作成した。ショ糖溶液は20mMの β -メル カプトエタノールと20mMのトリスー塩酸(pH7.6)を含んでいた。遠心管中の試料を日立RPS25-3ロー ターを用いて、20,800 rpm(約80,000×g)で75分間遠心した。その後、ミツミSJ-1301型密 度こう配分画器を用いて液滴数を数えて11面分に分画して、各画分の酵素活性を測定した。

酵素活性測定: ATPアーゼ活性測定のための反応混液は 2.5 mMのMgCl₂, 3 mMのATP-Na₂ と酵素液を含む 2 mlの 20 mMトリスーマレイン酸緩衝液 (pH 6.5) であり、場合により、これに 50 mMのKClあるいは 2.5×10⁻⁶ MのABA を加えた。37℃で数時間培養した後、15% TCA を 1 ml 加え反応を止め、遊離した無機リンを高橋の方法 (13) で測定した。

腹のマーカー酵素(チトクロム c酸化酵素, NADH-およびNADPH-チトクロム c 還元酵素, pH 9.0 および pH 6.5 ATP アーゼ)の活性測定は,基本的には Hodges and Leonardの方法(5) を用いたが、トリスーメス緩衝液の代わりにトリスーマレイン酸緩衝液を用いた。また、遊離した 無機リンは高橋の方法(13)で、潜在IDP アーゼは5℃に5日間保存した後に、Hendriks(3)と 同様の方法で測定した。

タンパク質の定量:酵素液は蒸留水に対して十分に透析し、タンパク質含有量は牛血清アルブミンを標準物質としてLowryらの方法(11)で定量した。

結果および考察

ホウレンソウおよびソラマメの抽出物のショ糖密度とう配遠心により得られた各画分の ATP ア ーゼ活性に対する MgCl₂の影響を調べ,表1 に示した。全画分において MgCl₂の促進効果が認め られた。MgCl₂の至適濃度は画分によって異なったが、以下の実験は2.5mMの濃度で行った。

表1 ホウレンソウおよびソラマメ抽出物のショ糖密度こう配遠心による画分中の ATPアーゼ活性に及ぼす塩化マグネシウムの影響

	ATPase activity (n moles Pi/min/mg protein)								
Fr. No.	Spinach MgCl ₂ (mM)				Broad bean MgC1 ₂ (mM)				
	0	1.25	2.5	5.0	0	1.25	2.5	5.0	
1	16.4	25.0	24.7	21.7	_	_		_	
2	12.1	17.5	20.1	23.7	1.7	5.1	8.2	8.2	
3	14.4	28.2	32.6	36.2	_	_	_	-	
4	2.7	8.9	11.7	10.6	0.5	2.3	3.3	3.4	
5	0.9	4.0	5.4	5.1	0.2	1.3	2.1	2.1	
6	0.7	2.6	4.2	3.9	0.1	0.7	1.1	1.2	
7	0.6	3.6	5.9	7.6	0.9	3.4	6.2	6.2	
8	4.8	8.0	9.9	12.3	1.3	4.4	7.3	8.3	
9	3.5	9.5	15.7	15.7	2.1	8.2	12.1	13.4	
10	6.4	9.8	10.7	10.3	3.2	14.8	25.9	30.1	
11	-	-	_		2.6	4.1	5.5	5.0	

Table 1
 Effect of MgCl₂ on the ATPase activities in the fractions of discontinuous sucrose density gradient centrifugation of extract obtained from spinach and broad bean

ホウレンソウ,ソラマメおよびトウモロコシのショ糖密度こう配分画における ATP アーゼ活性 の分布を図1に示した。ホウレンソウとソラマメの場合には、ショ糖密度1.12と1.18に一つずつ, 二つのピークを示した。トウモロコシの場合には、密度1.12の画分にのみ活性のピークが見られ た。ホウレンソウでは高密度側のピークの方が大きいが、ソラマメでは低密度側のピークの方が大 きかった。このような分布パターンは繰り返し得られた。各画分中の ATP アーゼ活性に対する KCl の影響を表2に示す。ホウレンソウの画分8と9にKClの促進効果が見られた。この画分は密度 1.12と1.14の境界を含む画分である。ソラマメの場合は、画分1すなわち遠心管の底部にのみ KCl の促進が認められた。トウモロコシの場合には、いずれの画分にも KClの促進効果は見られなかっ た。ホウレンソウ画分に見られた KClの促進効果は、促進の大きさは実験ごとに変動したが、繰り 返し観察された。

図2に膜のマーカー酵素のいくつかの分布をホウレンソウの場合について示してある。チトクロム c 酸化酵素活性は画分2,3,4 に高く、これらの 画分に ミトコンドリア膜が多いことを示して いるものと思われる (5)。NADH - チトクロム c 還元酵素活性は密度が低くなるにつれて比活性 が増大している。これは低密度画分にエンドプラスミックレチキュラムが多いことを示している。

KCI によって活性促進が見られる画分 8と9には、NADH-チトクロム c 還元酵素とpH9.0 ATP アーゼの小さな活性ピークが見られ、pH6.5 ATP アーゼと IDP アーゼ活性の比較的大きな ピークがある。NADH-チトクロム c 還元酵素はトノプラスト、IDP アーゼはゴルジ装置のマーカ ー酵素として用いられている(5)。Kasamoはタバコの葉を用いて、ホスホタングステン酸-クロ



- 図1 ショ糖密度こう配遠心によるホウレンソウ(A), ソラマメ(B) およびトウモ ロコシ(C)のATPアーゼ活性の分画。各反応混液は2.5mMのMgCl₂を含む。
- Fig. 1 Fractionation of ATPase activity in spinach (A), broad bean (B) and corn (C) by discontinuous sucrose density gradient centrifugation. Each reaction mixture contained 2.5 mM MgCl₂.

表2 ショ糖密度こう配分画によって得られた各画分中の ATP アーゼ活性に及ぼ す KC1と ABA の影響

	ATPase activity (n moles Pi/min/mg protein)									
Fr. No. Spinacl	Spinach	Broad bean			n	Corn				
		KC1 ^a	ABAb		KC1 ^a	ABAb		KC1 ^a	ABAb	
1	24.7	21.3	24.8	8.5	10.4	15.2	2.0	2.0	2.2	
2	20.1	14.4	17.7	13.8	11.3	11.4	2.2	2.1	2.2	
3	32.6	25.8	41.1	13.0	12.6	13.8	2.3	2.4	2.4	
4	11.7	9.3	11.8	3.6	3.0	3.4	4.0	4.2	4.3	
5	5,4	4.3	4.7	4.6	3.7	4.7	4.9	4.7	5.7	
6	4.2	4.5	4.9	6.7	5.3	6.1	7.4	6.9	8.1	
7 -	5.9	4.7	5.6	10.3	6.9	9.3	13.4	11.3	12.1	
8	9.9	12.3	12.2	12.8	10.2	13.3	18.4	17.8	20.4	
9	15.7	17.3	16.7	16.7	15.1	17.6	27.8	27.3	27.2	
10	10.7	10.7	11.5	14.8	12.6	17.4	12.3	12.0	11.3	
11	_	-	-	7.6	7.6	8.2	7.0	7.3	7.3	

 Table 2
 Effects of KC1 and ABA on the ATPase activities in the fractions of discontinuous sucrose density gradient centrifugation

a KClの濃度, 50mM

^b ABAの濃度, 2.5×10⁻⁶M

a Concentration of KCl, 50 mM.

b Concentration of ABA, 2.5×10^{-6} M.

ム酸による染色によって、ショ糖密度1.12と1.14の間の境界画分は原形質膜が多い画分であることを示した(7,9)。マグネシウム依存、カリウム促進 ATP アーゼは、グルカン合成酵素と同様、原形質膜のマーカー酵素として、しばしば用いられる(2,3)。従って、ホウレンソウ葉から得られた画分8と9は原形質膜とゴルジ装置を多く含んでいるように思われる。

表2に、ホウレンソウ、ソラマメおよびトウモロコシのATPアーゼ活性に対する in vitro での ABAの影響を示した。種々の画分においてABAの促進あるいは阻害効果が認められ、カリウム の効果とは一致しなかった。特に、ホウレンソウの画分3および8、ソラマメの画分1と10に顕著 な促進効果が見られた。KC1による促進効果の見られたホウレンソウの画分8とソラマメの画分 1においてABAによる促進効果が見られたことは注目すべきであろう。しかしながら、ホウレン ソウの画分8にKC1とABAを同時に加えても、各々単独に加えた場合と同程度の効果しか見られ なかった。またABAの効果は2.5×10⁻⁴Mから2.5×10⁻⁴Mの濃度の範囲でほとんど同様であっ た。

もし、葉中の原形質膜結合、カリウム促進ATPアーゼが細胞のカリウムイオン取り込みを制御 しているならば、ABA 促進ATPアーゼはABAの取り込みを支配しているかもしれないし、あ るいは、ABA が原形質膜を通してのイオンの移動を制御しているかもしれない。本実験では、葉 全体の抽出物を用いているが、孔辺細胞のATPアーゼに対するABAの影響を調べるためには、



- 図2 ホウレンソウ抽出物のショ糖密度こう配画分における数種の膜マーカー酵素 の活性
- Fig. 2 Activities of marker enzymes of membrane in the fractions of discontinuous sucrose density gradient centrifugation of extract obtained from spinach leaves

孔辺細胞を多く含んだ表皮切片あるいは単離した孔辺細胞を用いて研究する必要がある。

引用文献

- 1. Erlandsson, G., S. Pettersson and S-B. Svensson. 1978. Rapid effects of abscisic acid on ion uptake in sunflower roots. Physiol. Plant. 43: 380-384
- Fujino, M. 1967. Role of adenosinetriphosphate and adenosinetriphosphatase in stomatal opening. Sci. Bull. Fac. Educ. Nagasaki Univ. 18: 1-47
- 3. Hendriks, T. 1978. The distribution of glucan synthetase in maize coleoptiles: a comparison with K-ATPase. Plant Sci.Lett. 11: 261-274

- 4. Hocking, T. J., J. Clapham and K. J. Cattell. 1978. Abscisic acid binding to subcellular fractions from leaves of *Vicia faba*. Planta 138: 303-304
- 5. Hodges, T.K. and R.T. Leonard. 1974. Purification of a plasma membrane-bound ATPase from plant roots. In Methods in Enzymology 32 B. (Edit. Fleischer, S. and L. Packer), p. 392-406. Academic Press, New York
- 6. Kasamo, K. 1976. The role of the epidermis in kinetin-induced retardation of chlorophyll degradation in tobacco leaf discs during senescence. Plant & Cell Physiol. 17: 1297-1307
- 7. Kasamo, K. 1979. Characterization of membrane-bound Mg⁺⁺- activated ATPase isolated from the lower epidermis of tobacco leaves. ibid. 20: 281-292
- Kasamo, K. and T. Yamaki. 1973. The stimulative effect of auxin in vitro on Mg⁺⁺-activated ATPase activity in crude enzyme extract from mung bean hypocotyls. Sci. Pap. Coll. Gen. Educ. Univ. Tokyo 23: 131-138
- Kasamo, K. and T. Yamaki. 1976. In vitro binding of IAA to plasma membrane-rich fractions containing Mg⁺⁺-activated ATPase from mung bean hypocotyls. Plant & Cell Physiol. 17: 149-164
- 10. Leonard, R. T. and C. W. Hotchkiss. 1978. Plasma membrane-associated adenosine triphosphatase activity of isolated cortex and stele from corn roots. Plant Physiol. 61: 175-179
- 11. Lowry, O. H., N. J. Rosebrough, A. L. Farr and R. J. Randall. 1951. Protein measurements with the Folin phenol reagent. J. Biol. Chem. 193: 265-275
- 12. Raschke, K. 1975. Stomatal action. Ann. Rev. Plant Physiol. 26: 309-340
- 13. Takahashi, T. 1955. The method of the determination of true inorganic phosphorus, creatine phosphate in mammalian tissue and studies on the phosphoamidase, creatine phosphokinase activities of boar spermatozoae. Seikagaku (in Japanese) 26: 690-701

Summary

Discontinuous sucrose density gradient centrifugation was carried out with $1,500 \times g$ to $10,000 \times g$ pellet of leaf homogenates of spinach, broad bean and corn. Both K⁺ ion (50 mM) and abscisic acid (2.5×10^{-6} M) stimulated the Mg⁺⁺-activated ATPase activity in interphase fractions between sucrose densities of 1.12 and 1.14 of spinach, but not in those of broad bean and corn. Activities of several membrane-marker enzymes, i.e., cytochrome c oxidase, IDPase, NADPH cytochrome c reductase and NADH cytochrome c reductase, were also measured in the fractions obtained from spinach leaves.

Key words: Abscisic acid - Broad bean - Corn - Mg, K-ATPase - Plasma membrane - Spinach

国立公害研究所研究報告 第10号 (R-10-'79) Research Report from the National Institute for Environmental Studies No. 10, 1979

II - 9

ヒマワリにおける80。吸収と802ドースとの関係

戸塚 績¹ · 名取俊樹¹

SO_2 absorption rate of sunflower leaves in relation to SO_2 dose

Tsumugu TOTSUKA¹ and Toshiki NATORI¹

要 旨

- 1) ヒマワリのSO2吸収速度に及ぼす光,温度,湿度,葉令の影響を検討した。その 結果,ヒマワリ葉のSO2吸収能は、気温20~30℃,湿度60~80%の条件下では、主 として照度によって律速された。葉令については、播種後20~40日間育成された個 体の子葉の次に位置する葉において、葉中硫黄増加量に顕著な差異は認められなか った。
- 2) 14時間日長(30klx, 25℃),湿度75%のもとでSO₂濃度と暴露日数を変えてヒマワリ個体のガス吸収量を測定した結果、SO₂ドース1ppm・day付近までは、いずれのガス濃度でも、SO₂ドースとガス吸収量との間に、ほぼ同一の直線関係がえられた。このことは、ある濃度範囲において、ガス吸収速度とガス濃度との間に直線関係が成立することを意味する。しかし、その吸収速度が維持される暴露日数は、0.3ppmでは3日程度であるが、0.1ppmで10日、0.05ppmで20日となった。ヒマワリ葉のガス吸収速度は、0.02ppmの場合、0.048mgS/dm²/dayとなり、この吸収能力が50日間程度持続しうることが推論された。

緒 言

二酸化硫黄を含む空気中におかれた植物が葉から二酸化硫黄(SO₂)を体内に取り込むことは、 古くThomasら(16)のアルファルファによる実験で知られている。Hill(5)は暴露キャビネット を利用した1~2時間暴露の実験で、アルファルファ群落によるSO₂収着速度が空気中SO₂濃度 0.25ppmまで直線的に増加することを報告している。松岡ら(7)の結果によると、ナシの葉で、 SO₂濃度と葉面SO₂吸収速度との関係が0.3 ppm以上で飽和曲線化している。最近、大政と安保 (10)は、植物のガス吸収能と、ガス拡散抵抗に関する葉面境界層抵抗と気孔抵抗の合計値との間

^{1.} 国立公害研究所 生物環境部

^{1.} Division of Environmental Biology, The National Institute for Environmental Studies, Tsukubagakuen, Ibaraki 305

に直線関係の成立することを報告している。

これまでの多くの知見によると、葉から吸収されたSO₂の大部分は、無機態の硫酸塩の形で葉肉 細胞に蓄積される(17)。そこで、植物の葉中硫黄含有量を指標としたSO₂大気汚染状態を推定す る試みがなされている(6,8,11,14,15,18)。しかし、植物のガス吸収能をもとにした環境 指標を確立するためには、ガス濃度、暴露時間とガス吸収能との間の量的関係をは握する必要があ る。一方、植物のSO₂吸収能力は、大気中SO₂濃度の他に、植物の種類によって異なるばかりでな く(4)、個々の植物の生育状態(2)や生育時の栄養条件(3,9)、植物のおかれている気象条 件によっても変化しうる(1,13,17)。したがって、葉の硫黄含量をもとにSO₂大気汚染度の評価 法を確立するためには、SO₂ドースとガス吸収速度との関係に及ぼす各種要因の影響を検討して、 これらの要因によるガス吸収能力の変動幅を明確にすべきであろう。

ここでは、ヒマワリを用いて、はじめに葉のSO2吸収能に及ぼす光、温度、湿度、葉令の影響を 検討した。その結果をもとに、ガス吸収に関する最適環境条件を設定して、SO2の長期間暴露によ る植物の葉中硫黄含有量の変化を測定し、SO2ドースとガス吸収速度との関係を検討した。

材料と方法

実験 1.

SO2吸収速度に及ぼす照度、気温、湿度、葉令の影響を検討するために、ヒマワリ(Helianthus annuus L. cv. Russian Mammoth)を使用した。自然光型制御温室(気温:日中25℃、夜間20℃、相対湿度75%)内で、1/10000のプラスチックポット(内容積約2ℓ)に1本仕立てとしたヒマワリを4~7週間育成した。これを人工光型グロースキャビネット内に設置して、一定の光、温度、湿度条件下でSO2暴露処理した。暴露終了後、各処理ごとに10個体の植物についてただちに葉を採取して、乾重量測定後、試料を粉末処理し、けい光 X線分析装置(理学電機、KG-4型)で硫黄含有量を測定した。

実験 2.

SO₂濃度,暴露日数をかえて、ヒマワリのSO₂吸収速度を測定するために、実験1と同様な生育 条件下で育成したヒマワリを人工光型グロースキャビネットに設置して、一定の制御環境条件下でSO₂暴 露処理した。暴露条件は14時間明期(照度は30Klx、25℃)、10時間暗期(20℃)、湿度75%一定と して、SO₂濃度を0.05 ppmで15日間、0.1 ppmで11日間、0.3 ppmで10日間、0.5 ppmで6日間 暴露した。それらの暴露期間中各4回、被験植物を各10個体サンプリングして、葉中硫黄含有量を 実験1と同様な方法で測定した。一方、暴露処理と平行して同様な環境条件下で、SO₂を含まない 空気中で生育した対照植物について、葉中硫黄含有量を測定した。

結果と考察

実験 1.

(1)照度の影響:上述の人工光型グロースキャビネット3台に、それぞれ10個体のヒマワリを 設置し、照度を28 klxと、寒冷紗で遮光して15 klx、さらに0 klx と3 段階に変えて、それぞれ気 温25℃、湿度65%に設定して、0.3 ppm SO₂ で23時間暴露した。被暴葉の硫黄含量と同様な条件下 で育成した対照植物の葉中硫黄含有量との差を求め、この値をSO₂ 暴露による葉の硫黄増加量とした。 図1の(A)にみられるように、葉中硫黄増加量は暗所でほとんど0であったが、15 klx、28 klx では、それぞれ1.86mgS/dm²、1.92 mgS/dm² と、ほぼ同様な値を示した。このことは、20 klx 前後の照度で吸収能が飽和することを意味している。藤原(3)はソバの葉の SO₂吸収量が、葉の 受けている光量が少ない方が少ない傾向を示すことを報告している。また、葉のSO₂吸収能は葉面にあ る気孔の開閉機能と密接な関係のあることが報告されている(10)。また、ガス拡散に関する気孔 抵抗が光条件で律速されていること(19)から考えると、図1の(A)でえられた結果は、主とし て気孔開度の変化によるといえよう。

(2)気温の影響:グロースキャビネットの照度を約30 klx,相対湿度65%として、気温を20℃、 25℃、30℃の3段階に変えて、0.3 ppm SO₂で23時間暴露し、葉中硫黄増加量を求めた。結果を図 1の(B)に示した。25℃、30℃ではほぼ同様な増加量(約1.2 mgS/dm²)を示し、両者の間に 差が認められなかった。しかし、20℃では25℃の値の75%に低下していた。



図1 ヒマワリの葉のSO2吸収に及ぼす光(A), 気温(B), 湿度(C), 葉令(D) の影響。いずれも0.3 ppm SO2, 23時間暴露による。

Fig. 1 Changes in SO₂ absorption rate of sunflower leaves in relation to light intensity (A), air temperature (B), relative humidity of air (C) and leaf age (D). Fumigations with SO₂ at 0.3 ppm for 23 hrs.

(3) 湿度の影響: グロースキャビネットの照度を約30 klx,気温20℃一定として、空気湿度を 60%、70%、80%の3段階に変えて、0.3 ppm SO₂で23時間暴露し、葉中硫黄増加量を求めた。図 1の(C)にみられるように、60%、70%の場合には差異が明確ではないが、80%では明らかに若 干高くなる傾向がみられた。Spedding(13)がオオムギの葉で報告しているように、葉のガス吸収 能に対する湿度の影響は気孔開度によって変化しうる。

(4) 葉令による変化:前述の自然光型制御温室で播種後それぞれ20,25,34,40日間育成され たヒマワリを,子葉の次に位置する葉のみ残して.その他はすべて切除した。切口にワセリンを塗 布し、10個体を1グループとして、2グループずつグロースキャビネットに設置し,葉面上照度30 klx,気温25℃,湿度75%,0.3 ppm SO₂で23時間暴露し,葉中硫黄増加量を測定した。結果を図 1の(D)に示す。実験した葉令の範囲では、葉中硫黄増加量には顕著な差異は認められず、葉令 40日の値が若干低くなった程度であった。Craker and Starbuck(2)がタバコの葉で、葉位に よるガス吸収速度の顕著な差異を報告しているが、測定時の葉面照度が同一になるように考慮され たかどうか疑問である。

以上の結果、ヒマワリ葉のSO₂吸収能は気温25~30℃,湿度60~80%の条件下では、主として照 度によって律速されることが判明した。Thomas(17)はガス吸収を支配する気孔開度を高める条 件として、高照度、高湿度、適温、適度な土壌水分をあげている。それ故、本実験で検討した影響 要因のうち、照度を除く他の条件下では、ヒマワリの気孔開度に及ぼす影響に大差なかったといえ るのかも知れない。

実験 2.

実験1の結果に基づいて、ヒマワリ個体によるSO₂吸収速度とガス濃度、暴露時間との関係を検 討するために、照度30 klx、14時間明期(気温25℃、ただし暗期10時間は20℃)、湿度75%一定の もとで実験した。

図2にSO₂暴露による葉中硫黄含有量の経時変化を示した。対照区の植物の葉中硫黄含有量は、 どの暴露処理区の場合でも実験期間を通して、ほぼ一定(約1.5 mgS/dm²葉面)であった。しか し、SO₂ 暴露処理区の植物では、SO₂ 濃度が高いほど、葉中硫黄増加量は暴露日数が長くなるにつ れて急激に増加している。

図2の各暴露処理区について,対照区の葉中硫黄含有量との差を算出した結果,図3がえられた。 0.05 ppm区では,暴露8日後ころからほぼ飽和した値を示しているが,0.3と0.5 ppm区では, 暴露開始直後から葉のSO2取込み量が急激に増加し,その後次第に飽和値に近付く傾向を示した。 この理由として,大政・安保(10)も報告しているように,SO2暴露により,ガス拡散に関する気 . 孔抵抗の増大がある。さらに、ここではSO2暴露した植物の葉中硫黄増加量を算出するのに、対照 区の値との差引きで求めている。この方法では対照区と暴露区で,葉によるSO2吸収の有無の他は すべて同一条件を仮定している。しかし、実際は、暴露時間が長くなれば、葉から吸収されたSO2 が硫酸塩となって、茎や根に転流されたり、根からの硫酸塩の吸収が変化することもありうるので、 差引法で求めたSO2吸収量は近似値である。0.3ppm SO2の暴露で5日以降、葉中硫黄含有量の増 加が抑制される傾向がみられる理由の一つに、前述の諸変化が関与しているかも知れない。なお、 藤原(3)はソバを使った実験で、図3と同様な結果を報告している。

図3の結果をもとに、葉中硫黄増加量とSO₂ドース(暴露日数×濃度)との関係を算出した。図4にみられるように、SO₂ドースが低いところではガス吸収速度はほぼ直線的に増加するが、SO₂ドースが高くなると飽和曲線化する。これは前に述べたいくつかの理由によるとおもわれる。それ故、植物のガス吸収速度とSO₂ドースとの関係を検討する場合は、両者の間に直線関係の成立する範囲で考察する必要がある。図4で明らかなように、0.05、0.1、0.3 ppmでは、SO₂ドースが1 ppm・day付近まではほぼ同一の直線(こう配は2.4 mgS/dm²/ppm・day)で近似された。このことは、0.05 ppmで2.4 mgS/dm²/20days、すなわち、暴露20日間の平均的吸収速度が0.12mgS/dm²/dayであること、0.1 ppmでは0.24 mgS/dm²/dayの吸収速度が10日間持続



- 図2 種々なSO₂濃度で暴露されたヒマワリの葉中硫黄含有量の経時的変化。図中 の数字はSO₂濃度。●;対照区,○;暴露区。14時間明期(30 klx,25℃), 10時間暗期(20℃),湿度75%
- Fig. 2 Time trends of leaf sulfur content in sunflower plants fumigated at different SO₂ concentrations. Numerals in the figures show SO₂ concentration. •; control plants, 0; fumigated plants. Measuring conditions: 14 hrs light (30 klx, 25° C) and 10 hrs dark (20° C) periods and 75% R.H.



- 図3 種々なSO2濃度で暴露されたヒマワリの葉中硫黄増加量の経時的変化。図2 の資料より作図
- Fig. 3 Time trends of the increment of leaf sulfur content in sunflower plants fumigated at different SO₂ concentrations. Obtained from data in Fig. 2



- 図4 SO₂ドースとヒマワリの葉中硫黄
 増加量との関係。図3の資料より
 作図
- Fig. 4 Relation between SO_2 dose and increment of leaf sulfur content in sunflower plants fumigated at different SO_2 concentrations. Obtained from data in Fig. 3



- 図5 SO₂濃度の変化によるヒマワリ葉のSO₂吸収速度(○)の変化と、その吸収速度が持続する暴露日数(●)との関係
- Fig. 5 Relation between SO₂ concentrations and duration of fumigation (•) showing a given SO₂ absorption rate (•) of sunflower leaves

以上に述べたSO₂濃度とガス吸収速度との関係を図5にまとめた。それぞれのSO₂濃度における ガス吸収速度が維持される日数は、暴露時のSO₂濃度によって異なる。一方、図4の結果から判断 して、0.05ppm以下のSO₂濃度でもSO₂ドースと葉中硫黄含有量の増加との間の直線関係が,SO₂ ドース1ppm・day 付近まで成立すると仮定しても差しつかえないとおもわれる。それ故、0.02ppm SO₂の場合、2.4 mgS/dm²/50 days、すなわち、0.048 mgS/dm²/dayの平均吸収速度が50日 間の暴露期間中維持されるものと推察される。Thomas and Hill (16) によると、アルファルファ の葉では、SO₂の低濃度、長期暴露実験で、葉中硫黄含有量が2%(乾量当たり)で黄白化し、生活機 能が停止したが、1.5%以下では、葉が正常な機能を示したという。本実験で設定した実験植物の 育成条件下では、ヒマワリ葉の1 dm² あたり乾重量は 300~350 mg (12) である。それ故、ヒマワ リ葉のSO₂-Sの蓄積能がアルファルファのそれと同程度(乾量当たり1.5%)と仮定すれば、1 dm²の 葉で4.5~5.25 mgのSO₂-Sを蓄積できることになる。この値は、0.02 ppm SO₂で 100 日間の 暴露日数を要することを意味している。

引用文献

- 1. Brennan, E. and I. A. Leone. 1968. The response of plants to sulfur dioxide or ozone-polluted air supplied at varying flow rates. Phytopathol. 58: 1661-1664
- 2. Craker, L. E. and J. S. Starbuck. 1973. Leaf age and air pollutant susceptibility: Uptake of ozone and sulfur dioxide. Environ. Res. 6: 91-94
- 3. 藤原 喬. 1975. 低濃度域二酸化イオウによる植物の障害発現とその診断に関する研究. 電中研農電研 究所報告: 74001. p. 1-87
- 4. Furukawa, A., O. Isoda, H. Iwaki and T. Totsuka. 1980. Interspecific difference in resistance to sulfur dioxide. Res. Rep. from the Nat. Inst. for Environ. Studies No. 11 (in press)
- 5. Hill, A. C. 1971. Vegetation: A sink for atmospheric pollutants. J. Air Pollut. Contr. Ass. 21: 341-346
- Lihnell, D. 1969. Sulfate content of tree leaves as an indicator of SO₂ air pollution in industrial area. In Proceedings of the First European Congress on the Influence of Air Pollution on Plants and Animals, Wageningen 1968, p. 341-352. Centre for Agric. Publ. and Document., Wageningen
- 7. 松岡義浩・高崎 強・宇田川理, 1978. 大気中の二酸化硫黄と植物葉中に集積する硫黄との関係,千葉 農試研報19:109-113
- 8. 農林水産省林業試験場土壌部. 1973. 東京都内における樹木葉中の硫黄含有量と大気汚染度との関係. 「大気汚染による農林作物被害の測定方法に関する研究」、農林水産技術会議事務局研究成果 64:7-13
- 9. Olsen, R. A. 1957. Absorption of sulfur dioxide from the atmosphere by cotton plants. Soil Sci. 84: 107-111
- **10.** 大政謙次・安保文彰. 1978. 植物による大気汚染物質の収着に関する研究(1). SO₂の局所収着と可 視障害発現との関係. 農業気象 34 : 51-58

- van Ray, A. 1969. The use of indicator plants to estimate air pollution by SO₂ and HF. In Proceedings of the First Congress on the Influence of Air Pollution on Plants and Animals, Wageningen 1968, p.319-328. Centre for Agric. Publ. and Document., Wageningen
- 12. Shimizu, H., A. Furukawa and T. Totsuka. 1980. Effects of low concentrations of SO₂ on the growth of sunflower. Res. Rep. from the National Inst. for Environ. Studies No. 11 (in press)
- Spedding, D. J. 1969. Uptake of sulfur dioxide by barley leaves at low concentration sulfur. Nature 224: 1229-1231
- 14. 杉山恵一. 1979. 大気汚染指標生物としての地衣類. 文部省「環境科学」特別研究:環境変化の測定に おける生物指標の役割 第2号「環境科学」研究報告集 B30-S2-2, p.19-31
- 15. 高崎 強・松岡義浩・森川昌記・白鳥孝治、1974. 葉分析法による大気汚染状況の推測. 千葉農試研究 報告14 : 119-124
- 16. Thomas, M. D. and G. R. Hill. 1935. Absorption of sulphur dioxide by alfalfa and its relation to leaf injury. Plant Physiol. 10: 291-307
- 17. Thomas, M. D. 1961. Effects of air pollution on plants. In Air Pollution, WHO Monograph 46: 223-278
- 18. 戸塚 續・戸田広光. 1977. 葉のイオウ含有量による SO₂大気汚染状況の推定に関する一つの試み. 「植物群落の物質代謝による環境保全に関する基礎的研究」論文集(門司正三編) p. 25-29
- 19. 戸塚 績. 1972. 気孔の開閉運動. 植物生理学講座 5. 物質の交換と輸送, p.90-111, 朝倉書店. 東 京

Summary

- (1) Effects of light intensity, air temperature, relative humidity and leaf age on SO₂ absorption rate of sunflower plants were investigated. The absorption rate was mainly limited by the light intensity received under conditions of 20 - 30°C in air temperature and 60 - 80% R.H. There was no distinct change in the absorption rate of leaves in different leaf ages from 20 to 40 days after sowing.
- (2) Daily changes of leaf sulfur content of sunflower plants fumigated at different SO₂ concentrations were examined under conditions of 14 hrs day length (30 klx, 25° C) and 75% R.H. There was a linear relationship between the increase of leaf sulfur content and SO₂ dose up to 1 ppm day, regardless of SO₂ concentrations. This means a parallel change of the SO₂ absorption rate of leaves with SO₂ concentrations up to about 0.3 ppm. The absorption rate at 0.02 ppm SO₂ under the measuring conditions was estimated to be 0.048 mg S/dm² leaf/day, which remained constant during the fumigation periods of 50 days.

Key words: Sunflower plants, SO₂ absorption rate, SO₂ dose

国立公害研究所研究報告 第10号 (R-10-'79)

Research Report from the National Institute for Environmental Studies No. 10, 1979

II - 10

ヒマワリ個体群による SO2 吸収量の推定

清水英幸¹• 戸塚 績¹

Estimation of SO₂ absorption rate of sunflower population

Hideyuki SHIMIZU¹ and Tsumugu TOTSUKA¹

要 旨

二酸化硫黄(SO。)に暴露されたヒマワリの個体およびその個体群の各器官におけ る硫黄(S)含有率の増加から、植物の個体および個体群によるSO2吸収について検 討を加えた。ファイトトロン温室内で4週間育成したポット植えのヒマワリを一定の 環境に制御された人工光型グロースキャビネットに搬入し、4日間育成した後03 ppm SO₂に2日間暴露した。植物体各器官のS含有率を測定した結果,植物は主と してその葉部からSO2を吸収すること、そして吸収されたSO2-Sの10-20%は暴露 期間中に茎、根へと転流されることが示唆された。植物の生育していないポットに詰 められた人工培土(バーミキュライト:ピートモス:パーライト:小砂利=2:2: 1:1容量比)も、表層(含水率:200%)にSO2を吸着するが、吸着したSO2-S はほとんど表層から移動しなかった。同様にして育成したヒマワリを、グロースキャ ビネット内に配置して実験個体群(密度:18個体/m²)を作り、2日間SO2暴露処理 (0.1 - 0.5 ppmの5段階の濃度)を行った。暴露終了直後,植物を層別に刈り取り, 各器官でのS含有率の増加を求めた。この結果から、単位土地面積当たりのヒマワリ 個体群のSO2吸収速度とSO2濃度、個体群上照度、葉面積指数(LAI)、吸光係数と の関係を示す実験式(9)が導かれた。(9)式を検討した結果、次のことが推察さ れた:SO2濃度が0.1ppm以下の場合、ヒマワリ個体群のSO2吸収速度は、SO2濃度 の増大に伴い直線的に増大する。個体群上照度の増大に伴い,SO2吸収速度は増大する が、40 klx 程度の照度で飽和する。また LAI の増大に伴い SO2吸収速度は直線的に 増大するが、LAI が4程度で飽和する。さらに吸光係数の変化は、SO₂吸収速度と SO2濃度、個体群上照度との関係に影響を与えないが、吸光係数の減少に伴い、SO2 吸収速度が飽和する LAI の値は増大し、また飽和値も増大する。

緒言

近年石炭や石油をエネルギー顔とする重化学工業の急速な進歩に伴って、特に工業地域で種々の

1. 国立公害研究所 生物環境部

^{1.} Division of Environmental Biology, The National Institute for Environmental Studies, Tsukuba-gakuen, Ibaraki 305

汚染物質が大気中に放出されてきた。これらの大気汚染物質が人間を含め動植物に有害な影響を与 えることが報告されるに従い,我々の身近な環境として大気汚染が注目されるようになった。大気 汚染物質が植物に種々の影響を与えることは,現在ではよく知られている。高濃度の大気汚染物質 に暴露された植物は,その葉に汚染物質特有の可視障害が発現する。また比較的低濃度の場合,可 視障害が認められなくても光合成速度を低下させたり,生体物質,酵素活性,乾物生長などにも影 響を与える。二酸化硫黄(SO₂)は,植物にこのような影響を与える主要な大気汚染物質の一つと して,古くから多くの研究がなされている。最近の研究により,植物のSO₂による可視障害の発現 がSO₂吸収量と密接に関係していることが明らかになってきた(4,10,30,37,47)。また温室や グロースキャビネットの中で低濃度SO₂に長期間暴露された植物が種々の影響を受けると共に,植 物体の硫黄(S)含有率が増加することが観察されている(3,5,6,7,8,25,29,40,48)。 さらに野外のSO₂汚染地域に生育する植物のS含有率が,非汚染地域に生育する植物のそれより高 くなることも報告されている(31,41,42,51,52)。

このようなことから、植物は大気汚染物質 SO₂を吸収, 蓄積する重要な役割(sinkとしての役割) を果たしており、植物自体はその影響を受けたとしても、大気汚染環境を改善し、大気浄化に貢献 していると考えられている(15, 16, 21, 38, 44, 45)。

植物に吸収されたSO₂量を推定するにはいくつかの方法がある。野外の植物群落のSO₂吸収量は 大気のSO₂濃度の層別変化などから空気力学的に推定される(14,15,16,44)。これには広い均 ーな植物群落が必要である。植物葉及び個体のSO₂吸収量を推定するには、密閉容器であるいは通 気された容器の空気取入口と出口とで、SO₂濃度を測定し、SO₂の減少量から算出する方法(4,21, 26,37,47,48)がある。この方法は比較的高濃度で短期間暴露の実験で有効である。また、放射 性同位体Sを用いてSO₂吸収量を推定する方法(15,26,36,38,45,49)もある。これは吸収量 を正確に測定できるだけではなく、吸収されたSO₂-Sのその後の植物体内における変化、移動を 追跡できるという利点もある(17,18,19,49)。しかし、放射性同位体を使うため危険を伴い、 特殊な装置が必要である。また、長期間の処理は 35 SO₄²⁻で育てた植物を用いるOlsen(36)の方 法以外では困難である。一方、より長期間暴露での植物のSO₂吸収量を推定する場合、植物体での S含有率の増加を測定する方法(3,48,53)がある。

SO2吸収量をS含有率増加で推定する場合,葉だけでなく,茎,根のS含有率も測定する必要が あると思われる。その理由は、SO2を含めた大気汚染物質の植物による吸収は,葉での光合成,呼 吸などのガス交換に伴う経路以外に、茎に吸着し浸透してくる経路や,また地表面に吸着したSO2 が土壌水に溶け、それが根から吸収される経路などの可能性があることと、さらに葉から吸収され たSO2-S が茎・根へと転流されることも考えられるからである。

本実験では植物体のS含有率の増加から植物に吸収されたSO2量を推定する方法を用いて、始め に、SO2がヒマワリ植物に吸収される主要な経路を検討し、また、吸収されたSO2-Sの植物体内 での転流の有無について検討を加えた。さらに、ヒマワリ個体群のSO₂-S増加量を層別刈取法を 用いて測定し、いくつかの要因と関連させて、植物群落がSO₂を吸収する能力を、数学モデルを用 いて推定した。

材料と方法

実験1:ヒマワリ植物によるSO2の吸収とSO2-Sの転流

実験材料としてロシアヒマワリ(*Helianthus annuus* L. cv. Russian Mammoth)を用いた。前 年度に種子採取用に育成したヒマワリから採取し、4 °Cに保存しておいた種子をベンレート1,000 倍液に30分間浸漬して滅菌し、流水で約12時間洗浄後、人工培土を詰めた1/10,000 アールポッ ト(高さ20cm)に3粒ずつ播種した。これをファイトトロン温室(昼/夜温:25/20±0.5 °C, 相対湿度:70±7%)に配置し、育成した。播種1週間後に幼植物を間引き、1ポットあたり1個 体仕立てとした。人工培土としては、バーミキュライト、ピートモス、パーライト、小砂利を2: 2:1:1 (容量比)に混合したものを用い、培土1.8 ℓ に苦土石灰15g、Magamp-K5gを均 ーに加えた。潅水を適宜行い培土が乾燥しないようにし、液肥としてHyponex 1,000培液を1ポッ トあたり100-200 ml ずつ週2回与えた。

播種後4週間目に環境制御された人工光型グロースキャビネット(170×230×190 cm³,小糸工 業製)(2)2台にヒマワリ(植物高:50-80 cm)を搬入し、4日間生育させた。潅水、液肥はそ れまでと同様に行った。各キャビネットの植物は、暴露1時間前に、A区:全葉除去区(植物体か ら葉をすべて取り除く一ただし頂芽は残す)、B区:ポット被覆区(植物体以外のポット部分をポ リエチレン製の袋で2重に包み、空気と人工培土との接触を断つ)、C区:無処理区の3区に分け、 各区に8-17個体使用した。植物に100-200 mlの液肥を与えた後、2日間SO2暴露処理した。

キャビネット内の気温は明期(14時間):25±0.5℃,暗期(10時間):20±0.5℃で,相対湿度 は75±5%に設定した。照明は24個のメタルハライドランプ(400W Yoko Lamp,東芝製)を用 い,植物上で28-38klxの照度を得た。活性炭フィルターとマンガンフィルターを通すことによっ て外気中に存在している大気汚染物質を除去した空気を,各キャビネットに供給した。キャビネッ ト内の風速は20-40 cm sec⁻¹で,キャビネット内の左側壁から右側壁へと通気した。また空気中 のCO2濃度は400±10 ppm に制御した。2台のキャビネットは同様な環境条件に制御して,1台 をSO2暴露処理用,他を対照用とした。ただし換気量は,暴露処理用キャビネットで800 m³/時間, 対照用で75 m³/時間であった。

暴露時のSO₂濃度は2,000 ppmの標準SO₂ガスをマスフローコントローラーを用いて清浄空気 で希釈し、0.3 ± 0.03 ppmに制御した。キャビネット内の2 定点で連続的に空気を採取し、SO₂ 濃度を励起けい光型SO₂分析計(Thermo Electron Corp. 43型)を用いて常時測定し、記録した。 暴露終了後、個体別に葉部(葉身)、茎部(茎と葉柄)、地下部(根)の各器官に分別した。面積 計(林電工製 AMM - 7型)を用いて葉面積を測定した。根は水道水で十分洗浄し、人工培土を除 去した。すべてのサンプルは紙袋に入れて、80-90℃で3日間乾燥させた後、乾重量を測定した。 これを粉砕機(平工製作所製, TI - 200型)で粉末化し、油圧式プレス(30 t/cm²,前川製, M 型)で直径4 cmの円盤状に圧縮した後、波長分散型けい光X線装置(理学電機製, D - 9C型)を 用いて、そのS含有率を測定した。

なお、ヒマワリの育成に使用した人工培土によるSO2吸着量についても測定した。前述と同一の 人工培土を詰めたポットを、2台のキャビネットに10ポットずつ配置し、0.3 ppm SO2に2日間暴 露した。暴露1時間前に100-200mlの液肥を各ポットに与えた。暴露終了直後、各々のポット内 の人工培土を表面から湿重量で40g程度ずつ、4層まで採取し(各層約0.6 cmの深さ)、前述の植 物の場合と同じく乾燥させ、乾重量を測定し、S含有率を測定した。

実験2:ヒマワリ個体群によるSO2の吸収

実験材料は実験1と同じくロシアヒマワリを用いた。実験1と同様に、種子を滅菌して播種し、 4週間ファイトトロン温室で育成した。実験1と同一条件に環境制御した人工光型グロースキャビ ネット2台に、ポット植えのヒマワリ(70-90cm)を各々56個体搬入し、一定間隔(茎間22cm × 25cm)に配置して4日間生育させた。

実験1と同様に、キャビネットの1台をSO2暴露処理用とし、他を対照用とし、2日間SO2暴露 処理を行った。暴露終了後、ただちに各個体群の中央部で、培土表面から20cmごとに24か所の照 度を測定した。次いで各個体群の中央部に位置する植物24個体を選出し、サンプルとした。

サンプル個体は12個体ずつ2組に分け、各組別に培土表面より20cmごとに層別刈取を行った。 各層で葉と茎に分けた後、葉面積を測定した。なおこの際未成熟の若葉は別に分けた。根は実験1 と同様に処理した。すべてのサンプルは実験1と同様に乾燥させ、乾重量を測定した後、S含有率 を測定した。SO2暴露処理は、0.1、0.2、0.3、0.4、0.5 ppmの5段階で行い、常に対照と比較 した。また、0.3 ppmおよび 0.5 ppm SO2暴露処理の際,個体群内の空気中のSO2濃度の垂直変化を 数か所において測定した。

結果と考察

人工培土によるSO₂の吸着と植物によるSO₂-Sの経根的吸収の可能性

実験1で人工培土を0.3 ppm SO₂に暴露処理した2日間,人工培土は十分湿っていた。培土の含 水率は第一層(約0-0.6 cmの深さ)で培土乾重量あたり200%程度,他の層では100%程度で あった。SO₂暴露処理区と対照区の人工培土各層のS含有率を図1に示す。培土表層ではSO₂暴露 処理によって明らかにS含有率は増加しているが,表層から0.6 cm以下の深さではほとんど差が 認められなかった。そこでこの結果から単位土地面積当たりのSO₂-S吸収量を算出すると,4.73 mgS/dm²地面/2日間となり,培土の含水率が高い実験1のような条件のもとでは,培土表層に


- 図1 0.3 ppm SO₂に2日間暴露された人工培土におけるS含有率の層別変化。各 測定値は10ポットの試料の平均値, 横線は±標準偏差を示す。●: 0.3 ppm SO₂暴露処理区, ○:対照区
- Fig. 1 Vertical change in sulfur content of culture medium exposed to 0.3 ppm SO₂ for 2 days. Each dot is the mean of 10 replicates and horizontal bars indicate 2 × standard deviation of mean. •: SO₂ exposure plot, o: Control plot

はSO₂はかなり多量に吸着されることが示された。しかし図1より、吸着されたSO₂-Sは下層に はほとんど移動しないと考えられる。

土壌がSO₂をかなりの速度で吸着することは、高濃度SO₂による暴露実験で報告されている。土 壌によるSO₂吸着は、主として土壌細菌などに依存しない物理化学的吸着であること(1,20)、ま た、土壌の比表面積や含水率が、SO₂吸着に重要な影響を与えること(55)などが示されている。 本実験では人工培土を用いたが、SO₂の物理化学的吸着に関して本質的な違いはないであろう。な お、この人工培土が非常に高い含水率を有していたことは、SO₂吸着に関してかなり良い条件であ ろうと思われる(55)。Nyborg(35)がCox(9)の結果をもとに、0.03ppm SO₂に48時間暴露 で土壌が0.6 mgS/dm²地面程度吸着したことを計算している。また、PayrissatとBeilke(39) が種々のヨーロッパ土壌に、最高2.3 ppmのSO₂を暴露した実験をもとに計算すると、SO₂0.3 ppmに換算して、1.5 - 4.5 mg SO₂ - S/dm²地面/2 日間を吸着することになる(土壌 pHや 空気の相対湿度によって多少異なる)。実験1でSO₂48時間暴露で人工培土は4.73 mgS/dm²地面 吸着しており、SO₂ドースを単位とすれば、これらの報告とかなり近い値となる。実験1の結果お よびこれらの報告の結果から、土壌はSO₂の重要な sink であると考えられる。

しかし、図1に示されるように、培土表面に吸着された $SO_2 - S$ は培土の下層へはほとんど移動 しなかった。実験1、2で用いたポットに生育しているヒマワリの場合、播種後4 – 5 週間で細根 はポット内部に十分広がっているが、人工培土の表面から1 – 2 cmの深さには、ほとんど存在して いなかったので、これらのヒマワリが培土表面に吸着したSO2 ~ Sを,経根的に吸収することは不可能であろう。ただし、野外では降雨などによっていったん土壌表面に吸着したSO2 ~ Sが、土壌 内部に浸透し、植物の根から吸収される可能性は十分考えられる。

ヒマワリ植物によるSO₂-Sの吸収経路の検討と吸収されたSO₂-Sの転流

実験1のA区において、0.3 ppm SO₂の2日間暴露処理で、ヒマワリ植物の新葉の展開はわずか しか見られなかった。SO₂暴露処理区と対照区の茎と根のS含有率を比較すると(表1)、両者の 間に差が検出されなかった。したがって、SO₂-Sが茎に付着、浸透したとしても、その量はほと んど無視できる程度であると考えられる。

表1 0.3 ppm SO₂に2 日間暴露されたヒマワリ各器官のS含有率の変化

Table 1Change in sulfur content of each plant part of sunflower by the exposure to 0.3 ppmSO2 for 2 days

	1 - 1 1	sulfur content (× 10^{-2} gS g ⁻¹ d.w.)				
treatment	plant part	control	0.3ppmSO ₂ exposure	% of control		
A: leaf removed	. root	0.535 ± 0.101	0.527 ± 0.091	98.5		
	stem	0.222 ± 0.045	0.227 ± 0.030	102.3		
B: pot wrapped	root	0.405 ± 0.070	0.504 ± 0.083	124.4 a		
•	stem	0.186 ± 0.036	0.207 ± 0.036	111.2		
	leaf	0.640 ± 0.094	1.390 ± 0.149	217.1 ^C		
C: non-treatment	root	0.474 ± 0.041	0.506 ± 0.062	106.9		
	stem	0.152 ± 0.035	0.226 ± 0.047	148.4 ^C		
	leaf	0.574 ± 0.073	1.366 ± 0.136	238.0 ^c		

8-17個体の平均値±標準偏差を示す。

a: t-検定で危険率5%で有意, C:危険率0.1%で有意。

Mean values of 8-17 plants with standard deviations are shown. Significant difference of t-test: a at p<0.05; c at p<0.001

次に実験1のB区とC区におけるヒマワリ植物では、どちらも、0.3 ppm SO₂2日間暴露によっ て葉に10%程度の可視障害が発現した。これは後述する実験2の結果と異なるが、ファイトトロン 温室で育成していた時の天候の差による生育不良が一原因であろうと思われる。SO₂暴露処理区お よび対照区の各器官のS含有率を表1に示す。B.C両区において、SO₂暴露処理区の葉のS含有 率は対照区の値と比較して、明らかに増加している。また、両区において、つまりSO₂と人工培土 との接触の有無にかかわらず、茎、根のS含有率もSO₂暴露によって増加している。このことより、 茎、根でみられたS増加は、人工培土によるSO₂吸着の結果(前述)からも推測されたように、培 土表面に吸着したSO₂が経根的に吸収されたのではなく、葉で吸収されたSO₂-Sが茎や根へ転流 されてきたと考えられる。

トマトを ³⁵SO₂に暴露した実験で、葉に吸収されたSO₂- ³⁵S は暴露7日後でも茎、根にほとん ど移動していなかったという報告がある (22)。しかし、一方 Thomas ら (49) は数種の植物を ³⁵SO₂に暴露して、葉以外の各器官で ³⁵S が認められたこと、また葉での ³⁵S が暴露後の時間経過 に従って減少したことから、SO₂-Sは転流されたと考えている。さらに最近では、GarsedとRead の一連の研究 (17, 18, 19) や、JensenとKozlowski (26) の研究で、葉に吸収されたSO₂- ³⁵S が ³⁵SO₄²⁻の形でまず蓄積され、その後転流されることが報告されている。これらの実験では、数 日間で数10%が転流されている。実験1では、ヒマワリ植物の各器官で、SO₂暴露処理区と対照区 の平均のS含有率の差にSO₂暴露処理区の植物の平均乾重を乗じてSO₂-S増加量を求め、茎、根 での増加量と植物全体での増加量の比を転流率として、この値を各暴露処理区ごとに算出した。そ の結果、0.3ppm SO₂暴露の2日間に植物に吸収されたSO₂-Sの10%程度が茎や根に転流された。

SO₂濃度と葉から吸収されたSO₂-Sの転流量の割合との関係について、ヒマワリ個体群を用いた実験2(後述)のデータをもとに計算した結果を表2に示す。0.2 ppm SO₂暴露処理の場合を除くと、0.1 - 0.5 ppm SO₂暴露の2日間におけるSO₂-Sの転流率は10-20%であり、SO₂濃度が低い場合の方が転流率は高くなる傾向が認められた。

表 2 SO₂に暴露されたヒマワリ個体群のS増加量と葉から吸収されたSO₂-Sの 転流率

SO ₂ concentration (ppm)	S	translocation rate			
	leaf	stem	root	population	(%)
0.1	0.453	0.012	0.125	0.590	23.21
0.2	1.320	0.082	-0.054	1.347	2.07
0.3	1.413	0.312	0.127	1.852	23.70
0.4	1.825	0.182	0.030	2.036	10.40
0.5	2.405	0.141	0.117	2.663	9.71

Table 2 Sulfur increment in sunflower population exposed to SO_2 and the translocation rate of $SO_2 - S$ absorbed by leaves

実験1の結果より、植物によるSO₂-Sの吸収は主として葉部で行われること(現在では気孔を 経て吸収されると一般に考えられている(46,50)。)また、葉で吸収されたSO₂-Sの一部は、茎 や根へ転流されることが示された。

ヒマワリ個体群による SO2 吸収量の推定

実験2におけるSO2暴露の2日間で, SO2濃度が0.1, 0.2, 0.3 ppmの場合, 植物に可視障害

は全く発現しなかったが、0.4 ppmの場合、上層部の葉にごくわずかな可視障害が観察された。また0.5 ppmでは上層部の葉に葉面積で数%の可視障害が発現した。なお、0.3 ppmと0.5 ppm SO2 に暴露した際、キャビネット内の数地点でSO2濃度を測定した結果、個体群の中央部でも設定SO2 濃度値と比較して5-10%の低下にとどまったので、設定濃度をのまま暴露濃度とみなした。

図2にSO₂暴露処理区および対照区のヒマワリ個体群の生産構造図および相対照度(A),器官 別S含有率の層別変化(B),さらにSO₂暴露処理による器官別S増加率(dS)の層別変化(C), および個体群の占有している単位土地面積当たりの器官別S増加量の層別変化(D)を0.1 - 0.5 ppmの各濃度別に示した。SO₂暴露処理によってヒマワリ個体群の生産構造はほとんど変化しなか った(図2のA)。しかし、S含有率は各器官において明らかに増大し、特に葉において顕著であ った(図2のB)。図2のCより、上層部の葉ほどS増加率が大きいこと、茎でも最上部よりやや 下層部でS増加率の最大値がみられること、また0.2ppmの場合を除くと、根にもかなりのS増加 がみられることなどが明らかになった。またSO₂濃度が高くなるに従ってS増加率も大きくなって いる。さらに図2のDより、単位土地面積当たりでは、S増加量の大半は上層部の葉で占められて いることが観察された。しかし、茎や根でのS増加量も無視できない。前述のように、これは葉で 吸収されたSO₂-Sの転流の結果(表2参照)であると考えられるので、各層での葉によるSO₂-Sの吸収率[*dS]を、葉の[dS]に、茎、根の(dS]を考慮して(1)式で算出した。

 $(*\Delta S) = (\Delta S)_{\text{leaf}} \cdot \sum \Delta S_{\text{pop}} / \sum \Delta S_{\text{leaf}}$ (1)

ただし、 (*AS) : 各層の葉の実際の $SO_2 - S$ 吸収率

• • •

〔⊿S〕_{leaf}: 各層の葉のSO₂-S増加率

∑ Δ S pop : 植物個体群全体での SO₂ - S 増加量

 $\Sigma \Delta S_{leaf}$:植物個体群全葉での $SO_2 - S$ 増加量

である。ここでは、茎、根によるSO2-S吸収量は0、また葉で吸収されたSO2-Sの一部がその 葉中でのS増加率に比例して茎、根に転流されたと仮定している(表3)。

さて、植物によるSO₂吸収は種々の環境要因に影響されるが、戸塚・名取(53)は、本実験と同 様に、ヒマワリを用いた実験で、気温が20-30℃、相対湿度が60-80%の範囲では、植物のSO₂吸 収速度はほとんど一定であるが、照度の変化はSO₂吸収速度に大きな影響を及ぼすことを示した。 また、Hill(21)や松岡(32)も照度の変化が植物のSO₂吸収に影響することを報告している(主 としてこの照度は葉の気孔開度に影響を与えている(32))。そこで、各々のSO₂濃度の暴露処理区 について、層別刈取を行った個体群の各層における葉面上照度 *I* と、葉によるSO₂吸収率(**4* S) との関係を図3に示した。この関係を(2)式で近似した。

$$(*\Delta S) = \frac{\beta I}{1 + \alpha I} = \frac{\beta}{\alpha} \left(\frac{I}{\frac{1}{\alpha} + I} \right)$$
(2)

-146-



- Total increment of sulfur (mgS/dm²gza./day)
- 図2 SO₂に暴露されたヒマワリ個体群における生産構造図(A),S含有率(B), S増加率(C),単位面積当たりのS増加量(D)の層別変化。Fは同化器 官、Cは非同化器官を示す。図A,Bにおいて実線はSO₂暴露処理区の値を、 破線は対照区の値を示す。図AにおいてI/I₀はSO₂暴露処理区の個体群 内の相対照度を示す。
- Fig. 2 Changes in sunflower population of productive structure (A), vertical distribution of sulfur content (B), vertical distribution of sulfur increment at unit leaf area and unit dry weight of stem and root (C) and vertical distribution of total increment of sulfur at unit ground area (D) under exposure to different concentrations (0.1-0.5 ppm) of SO₂. F: photosynthetic organ, C: non-photosynthetic organs, *I/I*₀: relative light intensity in the SO₂ exposed population. In figures A and B, solid and broken lines in each layer indicate the values of SO₂ exposed and control plots, respectively.

-147-

- 表3 SO2に暴露されたヒマワリ個体群各層における葉のSO2-S吸収率:〔*4S〕 の計算値
- Table 3 Calculated values of $SO_2 S$ absorption rate : [* ΔS] by leaves in each layer of sunflower population exposed to SO₂.

height from soil surface		SO ₂ -S absorption	rate : [*4S](mg	S dm ⁻² leaf d ⁻¹)	
(cm)		SO,	concentration (ppm)	
	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5
100-120	0.04	0.55	0.54	0.79	0.86
80-100	0.08	0.48	0.55	0.82	0.91
60-80	0.10	0.33	0.37	0.65	0.45
40-60	0.05	0.26	0.32	0.39	0.44
20-40	0.04	0.13	0.23	0.25	0.44
0-20	0.01	0.10	0.15	0.19	0.35



図3

- SO2に暴露されたヒマワリ個体群における葉のSO2-Sの吸収率:〔*4S〕 と葉面上照度: 1との関係。●: 0.1, ○: 0.2, ▲: 0.3, △: 0.4. ■:0.5 ppm SO₂暴露処理区。曲線は(2)式による(***d**S)と Iとの関係 を示す。
- Relationship between SO₂-S absorption rate of leaves: [*1S] and light intensity: I in Fig. 3 the sunflower population exposed to SO₂. •: 0.1, o: 0.2, ▲:0.3, △: 0.4, •: 0.5 ppm SO_2 exposed plot. Curves in solid lines indicate the relation of [*dS] and I derived from equation [2].

ここで α , β は各SO₂濃度の場合での定数(β :初期の傾き, β/α :飽和値)である。

(2) 式の逆数関係は直線となるので、データを代入して直線回帰を行い、各SO2濃度で定数 αβを求めた。なお、直線回帰のさい、個体群の下層部の葉から得られた値が、直線関係から大きく はずれていたのでこれを除外した。下層部の葉は老化が進んでおり、SO2吸収能力が極度に低下し ていたために、上述の直線関係に近似しなかったものと思われる。下位葉のSO2吸収速度がかなり 低いことを Craker と Stabbuck (10) や市川ら (23) が報告している。図2のDから明らかなよう に、植物個体群によるSO2吸収量においては下層部の葉はほとんど寄与していないので、これらの 点を除いて回帰直線を求めても、個体群全体のSO2吸収量を推定する上で、ほとんど影響はないも のと思われる。

次に、すでに求めた β および $\beta / \alpha \ge SO_2$ 濃度: [S] との関係を調べた(図4、5)。 $\beta \ge [S]$ との関係を〔3〕式で近似し、定数rの値を求めた(r = 0.82)。

$$\beta = \gamma \ (S) \tag{3}$$

 β / α と〔S〕との関係は(4)式で近似し、定数 δ 、 ϵ の値を求めた($\delta = 3.24, \epsilon = 5.41$)。

$$\frac{\beta}{\alpha} = \frac{\epsilon(S)}{1+\delta(S)} \tag{4}$$

(3) 式および(4) 式によって、 $\alpha \geq \beta$ は〔S〕と定数 r, δ , ϵ の関数として表現できたので これらを(2) 式に代入して(5) 式を得た。



-149-



- 図6 SO₂に暴露されたヒマワリ個体群における葉のSO₂-S吸収率: (*AS) と 葉面上照度: I との関係。(5)式から算出した。
- Fig. 6 Relationship between $SO_2 S$ absorption rate of leaves: $[*\Delta S]$ and light intensity: *I* in the sunflower population exposed to SO_2 , calculated from equation [5].

$$(*AS) = \frac{(S)}{1+(S)} \cdot \frac{I}{\frac{1}{\frac{r}{\varepsilon} + \frac{r\delta}{\varepsilon}(S)}}$$
(5)

(5)式によって、Iと〔*4S〕の関係を算出した結果を、図6に示す。得られた結果は図3と 比較して多少の変異がみられる。

ところで個体群内の照度 I は個体群上照度: I_0 , 葉面積指数(LAI): F, 葉群による吸光係数: K(主として葉の傾きに関係)の関数として(6)式で表されている(33)。

 $I = I_0 \exp\left(-KF\right) \tag{6}$

対数をとると

$$\log_{10} \left(I \swarrow I_0 \right) = -K \cdot \log_{10} \ell \cdot F \tag{6}$$

となる。本実験で得た I / I_0 とFのデータを片対数グラフにプロットした(図7)。明らかに \log_{10} (I / I_0) とFは直線関係にある。ここで $I / I_0 \approx 0.1$ の時, $F \approx 2.5$ であるので、これらの数 値を(6)'式に代入して、 $K \approx 0.92$ を得た。さて、個体群内の葉面が受けている光量は(7)式で 示されている(43)。

7

$$I = \frac{K I_0 \exp(-KF)}{1 - m}$$
(7)

ここでmは葉の光透過率を示す。本実験で用いたヒマワリ葉で測定した結果の平均値では, m=0.097を得た。



Fig. 7 Relationship between relative light intensity: I/I_0 and leaf area index: LAI in sunflower population.

さて、ヒマワリ個体群全体が、単位土地面積当たり1日に吸収するSO₂ –Sの量(Total [*dS])は 各層の [*dS] を棄面積指数: Fで積分して求められる ((8)式)。

Total
$$(*\Delta S) = \int_0^F (*\Delta S) dF$$
 (8)

(8) 式に(5) 式を代入すると

٢,

Total
$$(*\Delta S) = \int_0^F \frac{\epsilon(S)}{1+\delta(S)} \cdot \frac{1}{\frac{1}{\frac{r}{\epsilon} + \frac{r\delta}{\epsilon}(S)}} dF$$

これに(7)式を代入して(9)式が得られた。

Total (*
$$\Delta$$
S) = $\int_{0}^{F} \frac{\epsilon(S)}{1+\delta(S)} \cdot \frac{\frac{KI_{0} \exp(-KF)}{1-m}}{\frac{1}{\frac{r}{\epsilon} + \frac{\alpha \delta}{\epsilon}(S)} + \frac{KI_{0} \exp(-KF)}{1-m}} dF$

$$= -\frac{1}{K} \cdot \frac{\epsilon(S)}{1+\delta(S)} \left\{ \ln\left(\frac{\epsilon(1-m)}{r+r\delta(S)} + KI_0 \exp(-KF)\right) - \ln\left(\frac{\epsilon(1-m)}{r+r\delta(S)} + KI_0\right) \right\}$$
(9)

Total [*IS] を, SO₂濃度: [S], 個体群上照度: I_0 , 葉面積指数: F, の関数として表現 したのであるが、ここで(9)式に本実験での3変数([S], I_0 , F)の値を代入して算出した

- 表4 SO₂に暴露されたヒマワリ個体群の単位土地面積当たりの1日の,植物体S 増加量の測定値(A)と葉群のSO₂-S吸収量の推定値(B)との比較
- Table 4 Comparison between the measured values of S increment of plants (A) and the estimated values of $SO_2 S$ absorption rate of foliage canopy (B) per unit ground area in sunflower population exposed to SO_2

[S] (ppm) ,	I ₀ (kix)	F	A: Total [*4S] measured (mgSdm ⁻² gr.a. d ⁻¹)	B: Total [*dS] estimated (mgSdm ⁻² gr.a. d ⁻¹)	A/B ratio (%)
0.1	34.5	3.77	0.590	0.839	70.4
0.2	34.0	3.22	1.347	1.355	99.4
0.3	33.7	3.68	1.852	1.902	97.4
0.4	36.4	2.86	2.036	2.027	100.5
0.5	33.9	3.72	2.663	2.605	102.3

ヒマワリ個体群によるSO₂-S吸収速度の推定値と実際のS増加量(表2参照)を比較して表4に 示した。推定値と実測値は0.1ppm SO₂の場合を除いて極めて近い値を示した。そこで(9)式は ヒマワリ個体群のSO₂吸収速度を3変数の変化から推定するうえで有効であると考えた。

表3において0.1 ppm SO₂の場合の Total (*4S)の実測値は,推定値に比較してかなり小さ い。これは転流されたSO₂-Sが,根からさらに土壌へと浸出される可能性を考慮に入れなかった ためであろう。ThomasとHill (48)は、SO₂に暴露した植物の根の近傍では周囲の土壌に比べ14 倍ものSO₄²⁻が存在する事実から、この可能性を指摘している。また、Fried (14)は水耕のアルフ ァルファに0.1 ppm ³⁵SO₂を暴露して2日後に、水耕液中に³⁵Sが検出されたことを報告している。 また Garsed と Read (17)も根から水耕液へ³⁵SO₂-Sが浸出したことを報告している。我々の実 験でも根からSO₂-Sが土壌中に浸出することは十分考えられるが、特に0.1 ppm SO₂の場合、 SO₂-Sの転流率がかなり高いこと、さらに主として根にこれが蓄積されていることから、ヒマワ リ個体群によって吸収されたSO₂-Sが他のSO₂濃度の場合と比べて、無視できないほどの割合で +壌中に浸出したのであろう。 (9) 式を用いて〔S〕, F. I_0 を種々に変化させて, Total〔*4S〕の変化を計算した結果を 図8に示す。現在,工場における脱硫装置の改良整備などによって,工業地域の空気中のSO2濃度 が0.1ppmを超すことはまれになってきている。このような低濃度のSO2環境下で,植物個体群の SO2吸収速度は,SO2濃度の増大に伴って直線的に増大することが図8のAより推察される。この 直線関係を Hill(21)は、すでにアルファルファにおける実験で報告している。また植物個体群の SO2吸収速度は、照度: I_0 の増大に伴ってある程度増大するが、 $I_0 = 40$ klx 程度で飽和すること も推察される(図8のB)。さらに植物個体群が吸収するSO2の速度は葉面積指数:Fが4までは 直線的に増大するが、それ以上では急速に飽和してしまうことも推察される(図8のC)。ところ で吸光係数:Kは植物によって異なり、イネ、ススキでは0.3 – 0.4、トウモロコシでは0.6 程度 である(24、33、54)。そこで、ヒマワリ葉のようなSO2吸収能の葉をもつ植物で、Kの値が異な



図8 ヒマワリ個体群によるSO₂-S吸収速度とSO₂濃度(A),個体群上照度(B) および葉面積指数(C)との関係。(9)式より算出した。





図9 ヒマワリ個体群によるSO₂-S吸収速度とSO₂濃度(A).個体群上照度(B) および葉面積指数(C)との関係に及ぼす吸光係数:Kの影響。(9)式より 算出した。

Fig. 9 Effect of extinction coefficient: K on the interrelationships among SO_2 -S absorption rate by sunflower population, SO_2 concentration (A), incident light intensity above the plant canopy (B) and leaf area index (C), calculated from equation [9].

る場合の植物個体群としてのSO₂吸収速度の変化を調べてみた。図8のA, Bに示されるように Kの値が変化しても Total (*4S)と (S), I_0 との関係はほとんど変化しない。しかし、Fとの関係に対して、Kの値の変化は初期の傾きにほとんど影響を与えないが、Total (*4S)の飽和値は Kが小さいほど高くなり、また飽和に達するFの値も増大することが推察される。

- 表5 文献における植物および他の物質によるSO2吸収,吸着速度の値
- Table 5
 Values of SO₂ absorption or adsorption rate of plants or other materials, calculated from data in literatures

sorption material	SO ₂ absorption rate	measuring condition	reference
	(mgSO ₂ m ⁻² leaf 14h ⁻¹)		
bariey leaf	0.2 - 13	glass tube	Spedding (45)
	(mgSO ₂ m ⁻² gr.a. 14h ⁻¹)		
alfalfa population (LAI=8-11)	204	growth cabinet	H训 (21)
grass	12 - 158	field (³⁵ SO ₂ , profile method)	Garland et al. (15)
herbage	36 - 50	field (³⁵ SO ₂)	Owers and Powell
grass land	58 - 216	•	(38)
hedge	245 - 353		
grass	19 - 109	field (profile method)	Shepherd (44)
short grass	7 - 148	field (profile method)	Garland et al. (16)
forest (Scots pine)	14	field (eddy correlation method)	Galbally et al. (14)
farmland (pea, ryegrass)	43		
sunflower population (LAI=4, I ₀ =40klx)	100	growth cabinet	present study
	(mgSO ₂ m ⁻² surface 24h ⁻¹)		
limestone some metals filter paper	4 - 8 0.2 - 66 1 - 38	glass tube	Spedding (45)
water	62 - 136	field (³⁵ SO ₂)	Owers and Powell (38)
soil	100	controlled condition	Cox (9)
european soils	23 - 74	closed chamber	Payrissat and Beilke
snow	7 - 41	field	Dovland and
cement stucco clay soil	197 - 308 106 - 222 81	cylindrical flow reactor	Eliassen (12) Judeikis and Stewart (27)
loam soil asphalt	80 5		
artificial soil	79	growth cabinet	present study

* 0.05 ppm SO2暴露の場合に換算した。

* Values were calculated in the case of 0.05 ppm SO₂ exposure.

今日まで多くの研究者がグロースキャビネットなどを用いたSO2暴露実験や,野外での35SO2暴 露実験、また空気力学的手法などによって、植物や植物群落、また土壌、水、その他の物質に吸収、 吸着されるSO₂量を推定している。それらの知見をもとに、SO₂濃度が0.05 ppmの場合の単位土 地面積(m²)当たり1日に吸収されるSO2量を算出した(表5)。これらの結果は、測定方法も環 境条件も異なっているので、一概に比較できないが、植物ばかりでなく、土壌を含めた種々の物質 が空気中からのSO,除去に関係していることがわかる。本実験でも人工培土はかなり多量のSO。 (79mg SO₂/m²地面/24時間)を吸着しえたが,同一条件のもとで LAI = 4 のヒマワリ 個体群 はさらに多くの SO₂(100 mg SO₂/m²地面/14時間)を吸収しうることが推定された。なお、 Yee ら (55) は土壌のSO,吸収速度に土壌含水率が関係していることを報告している。本実験では、 培土の含水率が培土乾重量当たり約200%であり、SO2を吸着し易い状態であったと思われる。通 常の土壌含水率はかなり低く。日本の土壌では10-60%である(11,28,34)。したがって通常の 土壌による SO₂吸着速度は、上述の値より若干低いかもしれない。また Payrissat と Beilke (39) は、土壌に繰返しSO2を暴露するとしだいに吸着速度が小さくなっていくことを報告している。吸 着したSQ。がその表面から除去されない限り、土壌のSQ2 吸着能は減少すると思われる。土壌の 場合,表面に吸着した SO₂は,雨によって地中へと浸透していくであろうが,晴天が続く場合は吸 着速度はかなり小さくなろう。これらの場合と異なり植物では、気孔を経て葉内に SO。を吸収する ため(46,50),すぐに吸収速度が減少するとは考えられない。ただし植物が吸収するSO2量は、 葉のS含有率で葉乾重当たり2%程度といわれている(48)。LAIが4のヒマワリ個体群の葉乾重 は約100g/m²地面であるので、葉群でのSO2吸収量は約4gSO2/m²地面で飽和することにな る。(本実験の条件下では 0.05 ppm SO2の場合,約40日)。しかし,植物は新葉を展開して吸収面 を更新する。また葉で吸収したSO2-Sを茎,根へと転流させるし,さらに土壌中に浸出させる可 能性もあるので、より多量のSO2を吸収することが可能であろう。なお表5で、アスファルトによ るSO2吸着速度が小さいことは、工業地帯や大都市での緑地帯、街路樹の必要性を示唆する。また 草原に比較して生垣の SO2吸収速度が大きいことは、立体的に葉を多くつけられる群落構造の方が エアーフィルターとしての役割が大きいことを示唆している。

現在,大気汚染環境は年々改善されているものの,汚染物質は低濃度でこそあるが,現実に存在 している。このような汚染物質(ここではSO₂)に対して,植物個体群,もしくは群落がエアーフ ィルターとして重要な役割をはたしうることが明らかになった。植物をエアーフィルターとして利 用する場合,汚染物質の吸収量が大きく、しかも抵抗性の高い植物種を選定することが重要である。 さらに緑地帯のように集団の状態で有効に汚染物質を吸収させるためには,吸光係数:Kと,葉面 積指数:Fを十分考慮して植物種を選定したり,栽植密度を検討することが必要であろう。

引用文献

- 1. Abeles, F.B., L.E. Craker, L.E. Forrence and G.R. Leather. 1971. Fate of air pollutants: Removal of ethylene, sulfur dioxide, and nitrogen dioxide by soil. Science 173: 914-916
- 2. 相賀一郎・大政謙次・安保文彰. 1978. 大気汚染ガス暴露のためのグロースキャビネット. 陸上植物に よる大気汚染環境の評価と改善に関する基礎的研究. 昭和51/52年度研究報告. 国立公害研究所特別研究 成果報告 R - 2 - 78. p. 193-210
- Bell, J.N.B. and C.H. Mudd. 1976. Sulphur dioxide resistance in plants: a case study of Lolium perenne. In Effects of air pollutants on plants (edit. by T.A. Mansfield), p.87-103. Cambridge University Press, London
- 4. Bressan, R.A., L.G. Wilson and P. Filner. 1978. Mechanisms of resistance to sulfur dioxide in the Cucurbitaceae. Plant Physiol. 61: 761-767
- 5. Cowling. D.W., L.H.P. Jones and D.R. Lockyer. 1973. Increased yield through correction of sulphur deficiency in ryegrass exposed to sulphur dioxide. Nature 243: 479-480
- 6. Cowling D.W. and D.R. Lockyer. 1976. Growth of perennial ryegrass (Lolium perenne L.) exposed to a low concentration of sulphur dioxide. J. Exp. Bot. 27(98): 411-417
- Cowling, D.W. and D.R. Lockyer. 1978. The effect of SO₂ on Lolium perenne L. grown at different levels of sulphur and nitrogen nutrition. J. Exp. Bot. 29(108): 257-265
- Cowling, D.W. and M.J. Koziol. 1978. Growth of Ryegrass (Lolium perenne L.) exposed to \$O₂. J. Exp. Bot. 29(112): 1029-1036
- 9. Cox, G.L. 1975. M.Sc. thesis, University of Guelph (cited from (35)).
- Craker, L.E. and J.S. Starbuck. 1973. Leaf age and air pollutant susceptibility: Uptake of ozone and sulfur dioxide. Environmental Research 6: 91-94
- 11. 土壤物理測定法委員会、1975. 土壤物理測定法,養賢堂、東京
- 12. Dovland, H and A. Eliassen. 1976. Dry deposition on a snow surface. Atmospheric Environment 10: 783-785
- Fried, M. 1948. The absorption of sulfur dioxide by plants as shown by the use of radioactive sulfur. Soil Sci. Soc. Amer. Proc. 13: 135-138
- 14. Galbally, I.E., J.A. Garland and M.J.G. Wilson, 1979. Sulphur uptake from the atmosphere by forest and farmland. Nature 280; 49-50
- Garland, J.A., W.S. Clough and D. Fowler. 1973. Deposition of sulphur dioxide on grass. Nature 242: 256-257
- Garland, J.A., D.H.F. Atkins, C.J. Readings and S.J. Caughey. 1974. Deposition of gaseous sulphur dioxide to the ground. Atmospheric Environment 8: 75-79
- Garsed, S.G. and D.J. Read. 1977. Sulphur dioxide metabolism in soy-bean, *Glycine Max* var. Biloxi. I. The effects of light and dark on the uptake and translocation of ³⁵SO, New Phytol. 78: 111-119
- Garsed, S.G. and D.J. Read. 1977. Sulphur dioxide metabolism in soy-bean, Glycine Max var. Biloxi. II. Biochemical distribution of ³⁵SO₂ products. New Phytol. 79: 583-592
- 19. Garsed, S.G. and D.J. Read. 1977. The uptake and metabolism of ³⁵SO₂ in plants of differing sensitivity to sulphur dioxide. Environ. Pollut. 13: 173-186
- Ghiorse, W.C. and M. Alexander. 1976. Effect of microorganisms on the sorption and fate of sulfur dioxide and nitrogen dioxide in soil. J. Environ. Qual. 5(3): 227-230
- 21. Hill, A.C. 1971. Vegetation: A sink for atmospheric pollutants. J.Air Poll. Control Ass. 21: 341-346
- 22. 兵庫県農総センター. 1978. SO₂-Sの葉面吸収とSO₄²⁻-Sの経根吸収による体内での分布と代謝の 相違. 大気汚染による農作物被害に関する研究:硫黄酸化物,フッ素系ガス,重金属等,総合助成試験成 果. p.71-72
- 23. 市川信雄・山上良明・長谷部俊雄. 1979. 二酸化硫黄接触による生育等阻害要因解析試験、昭和53年度 環境保全に関する試験成績.北海道立中央農業試験場, p.69-90

- **24.** 岩城英夫. 1964. 講座,物質生産の生態学I. 植物群落の物質生産の理論的解析. 生物科学 16(1) : 29-38
- 25. Jäger, H.-J. and H. Klein. 1977. Biochemical and physiological detection of sulfur dioxide injury to pea plants (*Pisum sativum*). J.Air Poll. Control Ass. 27(5): 464-466
- 26. Jensen, K.F. and T.T. Kozlowski. 1975. Absorption and translocation of sulfur dioxide by seedlings of four forest tree species. J.Environ. Qual. 4(3): 379-382
- 27. Judeikis, H.S. and T.B. Stewart. 1976. Laboratory measurement of SO₂ deposition velocities on selected building materials and soils. Atmospheric Environment 10: 769-776
- 28. 関東ローム研究グループ。1965. 関東ローム その起源と性状。築地書館、東京、p.235-268
- 29. Klein, H., H.-J. Jäger, W. Domes and C.H. Wong. 1978. Mechanisms contributing to differential sensitivities of plants to SO₂. Oecologia (Berl.) 33: 203-208
- 30. Kondo, N. and K. Sugahara. 1978. Changes in transpiration rate of SO₂-resistant and -sensitive plants with SO₂ fumigation and the participation of abscisic acid. Plant & Cell Physiol. 19(3): 365-373
- Lihnell, D. 1969. Sulphate contents of tree leaves as an indicator of SO₂ air pollution in industrial areas. In Air pollution - Proceedings of the First Congress on the Influence of Air Pollution on Plants and Animals, Wageningen, 1968, p.341-352. Centre for Agr. Publ. and Documentation, Wageningen
- 32. 松岡義浩, 1978. 水稲の二酸化硫黄障害とその機作に関する研究, 千葉農試特報 7 : 1-63
- 33. Monsi, M. und T. Saeki. 1953. Über den Lichtfaktor in den Pflanzengesellschaften und seine Bedeutung für die Stoffproduktion. Jap. J. Bot. 14: 22-52
- 34. 農林省農林水産技術会議. 1959. 昭和33年度土地利用調査研究経過報告書. 別冊 Ⅲ. 現地調査報告. 昭和34年度土地利用調査研究協議会資料 第10号の2
- 35. Nyborg, M. 1978. Sulfur pollution and soil. In Sulfur in the environment Part II: Ecological Impacts (edit. by J. O. Nriagu), p.359-390. A. Wiley-Interscience Publication, John Wiley and Sons, New York
- 36. Olsen, R. A. 1957. Absorption of sulfur dioxide from the atmosphere by cotton plants. Soil Science 84: 107-111
- **37.** 大政謙次・安保文彰. 1978. 植物による大気汚染物質の収着に関する研究(I) SO₂の局所収着と可視 障害発現との関係. 農業気象 34(2): 51-58
- Owers, M. J. and A. W. Powell. 1974. Deposition velocity of sulphur dioxide on land and water surfaces using a ³⁵S tracer method. Atmospheric Environment 8: 63-67
- 39. Payrissat, M. and S. Beilke. 1975. Laboratory measurements of the uptake of sulphur dioxide by different european soils. Atmospheric Environment 9: 211-217
- Priebe, A., H. Klein and H.-J. Jäger. 1978. Role of polyamines in SO₂-polluted pea plants. J. Exp. Bot. 29(112): 1045-1050
- Raay, A. van. 1969. The use of indicator plants to estimate air pollution by SO₂ and HF. In Air pollution -Proceedings of the First Congress on the Influence of Air Pollution on Plants and Animals, Wageningen, 1968, p.319-328. Centre for Agr. Publ. and Documentation, Wageningen
- 42. Roberts, B. R. 1976. The response of field-grown white pine seedlings to different sulphur dioxide environments. Environ. Pollut. 11: 175-180
- 43. Saeki, T. 1960. Interrelationships between leaf amount, light distribution and total photosynthesis in a plant community. Bot. Mag. Tokyo. 73: 55-63
- 44. Shepherd, J. G. 1974. Measurements of the direct deposition of sulphur dioxide onto grass and water by the profile method. Atmospheric Environment 8: 69-74
- Spedding, D. J. 1969. Uptake of sulphur dioxide by barley leaves at low sulphur dioxide concentrations. Nature 224: 1229-1230
- Taylor, O. C. 1973. Acute responses of plants to aerial pollutants. In Air Pollution Damage to Vegetation. (edit. by J. A. Naegele), p.9-20. American Chemical Society, Washington, D.C.
- 47. Thomas, M. D. and G. R. Hill, Jr. 1935. Absorption of sulphur dioxide by alfalfa and its relation to leaf injury. Plant Physiol. 10: 291-307

-157-

- Thomas, M. D. and G. R. Hill. 1937. Relation of sulphur dioxide in the atmosphere to photosynthesis and respiration of alfalfa. Plant Physiol. 12: 309-383
- 49. Thomas, M. D., R. H. Hendricks, L. C. Bryner and G. R. Hill. 1944. A study of the sulphur metabolism of wheat, barley and corn using radioactive sulphur. Plant Physiol. 19: 227-244
- 50. Thomas, M. D. 1961. Effects of air pollution on plants. In Air Pollution, WHO Monograph No. 46: 233-278
- 51. 戸塚 績・古川昭雄・名取俊樹・小川 潔. 1977. 足尾製錬所の週辺に生育する植物の葉内水溶性硫酸 塩量について、「植物群落の物質生産による環境保全に関する基礎的研究」論文集(門司正三編) p. 19 -23
- 52. 戸塚 績・戸田広光. 1977. 葉のイオウ含有量による SO₂大気汚染状態の推定に関する一つの試み「植物群落の物質生産による環境保全に関する基礎的研究」論文集(門司正三編) p. 25-29
- 53. 戸塚 績・名取俊樹. 1979 ヒマワリにおける SO2吸収と SO2ドースとの関係. 国立公害研究所研究報告第10号. 告第10号. p.131-138
- 54. 内島善兵衛・宇田川武俊・堀江 武・小林勝次. 1968. 作物群落内におけるエネルギーとガスの交換に 関する研究(4)トウモロコシ群落内への直達光の透入と葉面光強度. 農業気象 24(3):141-151
- Yee, M. S., H. L. Bohn and S. Miyamoto. 1975. Sorption of sulfur dioxide by calcareous soils. Soil Sci. Soc. Amer. Proc. 39: 268-270

Summary

The absorption of sulfur dioxide (SO_2) by sunflower plant and its experimental population was investigated on the basis of sulfur (S) increment in each part of the plant exposed to SO_2 . Potted sunflower plants grown for 4 weeks in a phytotron greenhouse were precultured for 4 days in an artificially-lit growth cabinet under controlled environment and exposed to 0.3 ppm SO_2 for 2 days. The measurement of S increment of each plant part indicated that the plant absorbed SO_2 mainly through leaf, and that 10-20% of the absorbed SO₂-S was translocated into stem and root during the exposure period. The surface of artificial soil (water content: 200%) being composed of vermiculite, peat moss, perlite and fine gravel (2:2:1:1 v/v) in the pot without planting also adsorbed SO_2 , but the adsorbed $SO_2 - S$ mostly remained near the surface layer. Sunflower population (planting density: 18 plants/m²) was established in the growth cabinet and exposed to SO_2 for 2 days at different concentrations from 0.1 to 0.5 ppm, Just after the exposure treatments ended, the exposed plants were harvested by stratified clipping method to determine the S increment in each plant part. From the obtained data, a semi-empirical model of equation [9] was introduced for estimating SO_2 absorption rate of the foliage canopy in relation to SO_2 concentration, incident light intensity above the canopy, leaf area index (LAI) and light extinction coefficient of the foliage. By using the equation [9], the followings were predicted: Below 0.1 ppm SO_2 , the SO_2 absorption rate of the foliage canopy of sunflower increases linearly with increasing SO_2 concentration. The absorption rate increases with increasing incident light intensity until saturated at about 40 klx. When the LAI increases, the absorption rate increases linearly to some extent and is almost saturated at above 4 in LAI. The change of light extinction coefficient does not affect the interrelationships among the SO_2 absorption rate, SO_2 concentration and incident light intensity. However, the value of LAI showing the saturated value of absorption rate increases with decreasing the light extinction coefficient, where the saturated value of absorption rate also increases. . 1

Key words: SO₂ absorption rate, Sunflower population, Translocation of SO₂-S

国立公害研究所研究報告 第10号 (R-10-'79) Research Report from the National Institute for Environmental Studies No. 10, 1979

∏ -- 11

赤外カラー航空写真による植物活性の生態調査に関する基礎的研究(1) 数種の樹木における葉の反射率比およびバイバンド比と光合成機能との関係

青木正敏¹ • 欠吹万寿¹ • 戸塚 績²

Remote sensing of the physiological function of plants by infrared color aerial photography (1). Relations between leaf reflectivity ratio, bi-band ratio and photosynthetic function of leaves in several woody plants

Masatoshi AOKI¹, Kazutoshi YABUKI¹ and Tsumugu TOTSUKA²

要 旨

1. 800nmにおける葉の光反射率(rNI')と630nm(rR')および550nm(rG') における葉の光反射率との比(光反射率比,rNI'/rR'およびrNI'/rG')をもとに、 樹木の葉のクロロフィル含量を健全な葉のクロロフィル含量の10%以内の推定標準誤 差で推定できることが分かり、赤外カラー写真による樹木の光合成機能推定の基礎資 料が得られた。

ホ外カラー写真の発色特性を調べた結果、赤外カラー写真の色調解析を行う際の波長としては 455nm 域(B), 550nm 域(G), および 620nm 域(R) が適当であると考えられた。

3. バイバンド比と葉の反射率比との相関を調べた結果, R/Bおよび R/Gではそ れぞれに対応する反射率比, rNI'/rG' および rNI'/rR', との相関が高かった(相 関係数:約0.9)ので, R/Bおよび R/Gでは赤外カラー写真からそれぞれに対応 する葉の反射率比をかなり正確に推定できると考えられた。一方, G/Bでは条件に よってはそれに対応する反射率比 rR'/rG' との相関が高くないこともあったので,G/B は葉の反射率比を必ずしも正確に反映しているとはいえず,活性度推定のためのバイ バンド比としては不適当と考えられた。

4. 種々の樹木について,種々の波長域間のバイバンド比と葉のクロロフィル含量 あるいは光合成能との相関を調べた結果,葉の光合成機能を推定する場合に適当と考 えられたバイバンド比は R/G, R/B, R/BG であった(ただし,BG:491nm)。そ のうち R/G は特に優れていた。

^{1.} 大阪府立大学 農学部

^{2.} 国立公害研究所 生物環境部

^{1.} College of Agriculture, University of Osaka Prefecture, Sakai, Osaka 591

^{2.} Division of Environmental Biology, The National Institute for Environmental Studies, Tsukubagakuen, Ibaraki 305

5. バイバンド比R/Gを使用した場合、葉のクロロフィル含量を健全な葉のクロ ロフィル含量の約10%の推定標準誤差で推定しうると考えられた。

緒 言

近年,大気汚染に伴う植物の被害調査の一手法として、赤外カラー航空写真が用いられるように なった。この方法は、植物の生理的活性が低下すると、葉色が変化して葉の光反射率が緑色光域で 高くなり、近赤外光域では低下することに基づいている。赤外カラー写真では近赤外光域までの光 に対しても感光するため、赤外カラーポジ写真からそれら両波長域に対応した2波長域の透過光量 の比を求め、これをバイバンド比とし、バイバンド比から被写体の植物の活性度を判定している (5)。

このように、赤外カラー写真による植物活性度の推定は、葉の光学的特性に基づく方法であるが、 葉の光学的特性と生理的活性との関係はほとんど明らかにされていない。著者らはこの調査方法を 確立すべく、基礎的な研究を進めた。本論文では、葉の生理的活性度を、光合成色素である葉内ク ロロフィル含量および光合成能で代表させ、1)葉のクロロフィル含量と葉の光反射特性との関係を 調べ、光反射特性から葉のクロロフィル含量をどの程度の精度で推定できるかを明らかにし、バイ バンド比による樹木の光合成機能推定のための根拠を得ようとした。さらに、2)葉の光反射特性 と赤外カラー写真の発色特性との関係、および3)バイバンド比と光合成機能との関係を調べ、植 物活性度調査に対する赤外カラー写真の適用性を検討した。

実験方法

葉の光反射特性と葉内クロロフィル含量との関係を実験的に調べるため、数種の樹木からクロロ フィル含量の異なると推測される葉を多数採取し、個々の葉の反射スペクトルを自記分光光度計で 測定した後、ただちに、各葉のクロロフィル含量を測定した。測定された種々の波長別反射率から、 二つの波長別反射率の間の比を求めた。この比を反射率比とし、種々の波長間の反射率比とクロロ フィル含量との関係を調べた。

赤外カラーポジ写真の発色特性を調べるため、カメラに種々の波長の干渉フィルターを装着して 白色物体(晴天時の白く輝いた雲)を撮影し、干渉フィルターの透過中心波長と現像された赤外カ ラーポジ写真の透過光スペクトルとの関係を調べた。

葉のクロロフィル含量と赤外カラーポジ写真のバイバンド比との関係を調べるために,採取した 葉を白色厚紙上に並べて,自然光および人工光下で,種々の露出条件のもとで葉面に対して鉛直方 向から撮影し,その後ただちに各葉のクロロフィル含量を測定した。現像された赤外カラーポジ写 真について,写真濃度計に干渉フィルターを装着して種々の波長についてフィルム透過光量出力を 測定し,2種の波長でそれぞれえられた出力の比をもって,バイバンド比とした。なおこの時,葉

-160-

の反射特性とバイバンド比との関係を調べるため、写真撮影前に葉の反射スペクトルの測定を行う 場合もあった。

光合成能とバイバンド比との関係を調べる場合には,光合成能を測定した後に赤外カラー写真を 撮影した。

実験対象とした樹種は、大阪府立大学構内に生育するクスノキ (camphor tree, Cinnamomum camphora Sieb.)、ポプラ (poplar, Populus nigra L.)、サンゴジュ (Japanese viburnum, Viburnum Awabuki K.Koch)、ケヤキ (Japanese zelkova, Zelkova serrata Makino)、スズ カケノキ (plane tree, Platanus orientalis L.)、キョウチクトウ (oleander, Nerium indicum Mill)、およびアメリカキササゲ (Common catalpa, Catalpa bignonioides Walt.) の の7種であった。各樹種とも、5~6個体からそれぞれ3~6葉ずつ採取して実験に供した。

葉の光反射スペクトルの測定には Cary 17 DX 型自記分光光度計(Varian Co, Ltd.)を用い, 反射測定用セル窓に葉面を測定光源に対して鉛直に固定し,400nm ~ 2300nm にわたって反射ス ペクトルを測定した。測定部分は葉の表面片側中央位置の約0.5 cm × 1.0 cm であった。葉の反射 スペクトルから450nm,550nm,630nm,および800nm について波長別反射率(%)を求め, それぞれの葉の反射率を rB', rG', rR',および rNI'とした。これらの四つの波長別反射率から, 種々の波長の組合せによる反射率比を求めた。

クロロフィル含量の測定のために、各葉からリーフ・パンチで1枚1 cm² の葉片を10枚打ち抜き、 測定に供した。これらについて、Smith-Benitez 法(7)に従ってクロロフィルを抽出し、 溶液 のクロロフィル吸光度を測定して単位葉面積当たりのクロロフィル含量(クロロフィルα+クロロ フィルb)を求めた。

光合成量の測定は、切葉について気温25°C(または22°C)、湿度80%、短波放射量 0.25 cal ・ cm⁻²・min⁻¹(または 0.3 cal ・ cm⁻²・min⁻¹)、通気量毎分12ℓ, CO₂ 濃度 400 ppm の条件の もとで、同化箱(有効寸法:幅15cm、長さ20cm、厚さ 4 cm)を用いて行い、みかけの光合成量を 測定した。この値を光合成能とした。

赤外カラー写真の撮影は、コダック・エクタクローム・インフラレッド・フィルム(Kodak
Ektachrome Infared Film, IE135-20)を用い、カメラ(Nikomat EL; レンズ: Micro-NIKKOR-P, 1: 3.5, f=55mm)に 500nm以下の波長の光を除去するコダック・ラッテン・フィルター(Kodak Wratten gelatine filter: No12)を装着して行った。撮影光源として自然
光あるいは写真用散光用ランプ(岩崎電機, PRF500W; 色温度 5900K)を用いた。葉の鏡面
反射光が撮影されないように光源の位置を操作して撮影した。露光条件を種々に変えて撮影し、現
像後適当な露光量と考えられた写真をバイバンド比の解析に用いた。

赤外カラーポジ写真のフィルム透過光量測定には、ホト・パターン・アナライザー(応用電子株 式会社製、PPA-250型)を用いた。この装置に約10 nmの半値幅をもち、透過中心波長を異にす る干渉フィルターをとりつけ、赤外カラーポジ写真の波長別透過光量出力(mV)を求めた。使用した干渉フィルターの透過中心波長は417nm,461nm,491nm,535nm,583nm,および624nmであり、それぞれのフィルターを用いたときのホト・パターン・アナライザーの透過光量出力値(mV)をそれぞれ、P,B,BG,G、O,およびRとした。フィルムの測定面積は0.2 mm×0.2 mmとし、葉の鏡面反射部分を避けて、フイルムの葉像上を走査して透過光量出力の平均値を求めた。

結果および考察

(1) 葉の光反射特性とクロロフィル含量との関係

図1にクロロフィル含量の異なった葉の光反射スペクトルを、クスノキについて示す。クロロフィル含量が少ない葉ほど葉の反射率は 500nm ~ 700nm域で高く、特に 550nm ~ 650nm域で著し く増大した。これは、この波長帯での葉の光吸収率がクロロフィル含量の減少につれて減少するた めであろう。一方、当然のことながら、クロロフィルによる光の吸収帯でない 800nm の近赤外光 域での反射率は、クロロフィル含量の差による変化が小さく、極端にクロロフィル含量の少ない葉



- 図1 葉の光反射スペクトルに及ぼすクロロフィル含量の影響。図中の数値はクロ ロフィル含量(μg・cm⁻²)を示す。
- Fig. 1 Effects of chlorophyll content on reflection spectrum of a leaf. Numerals in the figure show the chlorophyll content $(\mu g.cm^{-2})$.

でわずかに減少した。450nm 以下の青色光域でもクロロフィル含量の差による反射率の変化は少なく、クロロフィル含量が極端に少ない葉でわずかに反射率が増大した。図2に葉の反射特性を代表していると考えられる青色光域の450nm,緑色光域の550nm、赤色光域の630nm,および近赤外光域の800nm での各反射率(それぞれ rB', rG', rR',および rNI'とする)とクロロフィル含量との関係を示す。rG' および rR' ではクロロフィル含量の減少に伴い、反比例的な関係で急激に反射率が増大した。一方、rB' および rNI' の場合、30 µg・cm⁻² 以下にクロロフィル含量が減少した葉以外では変化がほとんど認められなかった。このような傾向は他の6 樹種についても同様であった。



SPECTRAL REFLECTIVITY (%)

図2 葉の光反射率とクロロフィル含量との関係。 rB', rG', rR' 光および rNI'は それぞれ 450nm, 550nm, 630nm および 800nm における葉の反射率を示す。 Fig. 2 Relation between spectral reflectivity and chlorophyli content. rB', rG', rR' and rNI' denote the spectral reflectivity at 450 nm (B'), 550 nm (G'), 630 nm (R') and 800 nm (NI') respectively.

バイバンド化は葉の反射率比を表していると考えられるので、上記4波長における葉の反射率の 組合せによる反射率比とクロロフィル含量との関係をサンゴジュ、クスノキ、およびキョウチクト ウについて調べた。図3には相関係数が比較的高かった反射率比(rNI'/rR',rNI'/rG',rB'/ rR',およびrB'/rG')とクロロフィル含量との関係を示す。 クロロフィル含量と反射率との関 係(図2参照)が類似したrNI'とrB' による反射率比(rNI'/rB')およびrR'とrG'による反 射率比(rR'/rG')では、クロロフィル含量と反射率比との相関は低かった。しかしながら、その他の反射率比(rNI'/rG', rNI'/rR', rB'/rG', および rB'/rR')では、反射率比の大きい葉ほどクロロフィル含量は多く、いずれの場合でもクロロフィル含量との相関係数は0.83 以上であり、両者の間に直線的な関係が認められた。



図3 葉の反射率比とクロワフィル含量との関係 rB', rG', rR', および rNI' は それぞれ 450nm (B'), 550nm (G'), 630nm (R'), および 800nm (NI') における葉の光反射率を示す。図中の数字は相関係数(r)を示す。

Fig. 3 Relation between reflectivity ratio of the leaf and chlorophyll content in Japanese viburnum, camphor tree and oleander. rB', rG', rR' and NI' are the same as those in Fig. 2. Numerals in the figure show correlation coefficient (r).

表1に各樹種における種々の反射率比とクロロフィル含量との関係の相関係数を示す。相関係数 (r)は葉厚の変化が一番大きかったサンゴジュで全般的に小さかった。種々の反射率比のうち、rNI' /rG',およびrNI'/rR'では相関係数も大きく、かつ直線性が良く、またクロロフィル含量の差 異による反射率比の変動幅が大きかったため、クロロフィル含量を推定するには最も適当な反射率 比であると考えられた。これらの反射率比の場合、回帰直線をもとにクロロフィル含量を推定する 際の推定標準誤差は2.5 μ g・cm⁻² ~ 6.5 μ g・cm⁻² であった。健全な葉の平均的なクロロフィル 含量がサンゴジュで約60 μ g・cm⁻²、クスノキおよびキョウチクトウで約50 μ g・cm⁻² であったの で、その推定標準誤差はそれらの約10%以内に相当することになる。なお、反射率比 rNI'/rR'で は、3樹種についての回帰直線がほとんど一致したため、同一の回帰直線を用いて反射率比からク ロロフィル含量を推定できる可能性が高い。

反射率比からクロロフィル含量を推定する場合、誤差をもたらす原因の一つとして葉の厚さが考

えられる。そこで、葉の厚さを実験的に変えるために、2枚以上の葉を密着させた場合について検 討した。この場合、400nm ~ 700nmの可視光域では、葉の反射率にはほとんど変化がなく、上位 の葉の反射スペクトルにほとんど一致した。しかしながら750nm ~ 900nmの近赤外光域では重ね 枚数の増加によって反射率はかなり増大した。例えば、サンゴジュ葉において、2枚とも葉厚がほ とんど同じで、800nm での反射率が2枚とも55.3%である葉を重ねた場合、800nm での反射率 は65.3%に増大した。この場合、葉を重ねない時の rNI//rG' は6.51(クロロフィル含量:66.6 $\mu g \cdot cm^{-2}$)と6.14(クロロフィル含量:60.2 $\mu g \cdot cm^{-2}$)であったが、これらの葉を重ねると rNI//rG' の値は7.59となった。同様に、rNI//rR'では11.1および10.6であったが、葉を重 ねた場合は13.3に増大した。

Table 1 Correlation coefficient of the relation between reflectivity ratio of leaf and chlorophyll content in camphor tree, oleander and Japanese viburnum. Symbols are referred to Fig. 2. n is the sample size. Numerals in parentheses show the standard error of estimate calculated by the regression line. * shows the high linearity.

Species Reflectivity	Camphor tree (n=25)	Oleander (n=27)	Japanese viburnum (n=29)		
ratio					
rNI'/rG'	*0.99 (2.5µg.cm ⁻²)	*0.98 (2.4µg.cm ⁻²)	*0.94 (4.1µg.cm ⁻²)		
rNI'/rR'	*0.94 (5.6 ")	*0.95 (3.8 ")	*0.83 (6.7 ")		
rB'/rG'	*0.90 (7.5 ")	*0.95 (3.7 ")	*0.92 (4.8 ")		
rB'/rR'	*0.94 (5.7 ")	*0.96 (3.5 ")	*0.87(5.8 ")		
rNI'/rB'	0.63 (13.3 ")	0.32 (-)	0.21 (-)		
rR'/rG'	-0.43 (-)	-0.09 (0.56 (-)		

Measurements in 1979

図3に見られるサンゴジュ葉の反射率比とクロロフィル含量との関係から、rNI/rG'の値が7.59 のサンゴジュ葉のクロロフィル含量は約79 μ g・cm⁻²と推定される。さらに、葉を2枚重ねて葉厚 が2倍としたときの実際のクロロフィル含量合計値は127 μ g・cm⁻²(= 66.6 μ g・cm⁻² + 60.2 μ g・cm⁻²)であるので、約48 μ g・cm⁻²の推定誤差(相対誤差:48/79×100=61%)とな る。rNI//rR'の場合では、同様に、約75 μ g・cm⁻²と推定されるので、推定誤差は52 μ g・cm⁻² (相対誤差:52/75×100=69%)となる。クスノキ、サンゴジュ、およびキョウチクトウにつ

表1 クスノキ、キョウチクトウ、サンゴジュにおける葉の反射率比とクロロフィル含量との間の相関係数 記号は図2におけると同じ。nは標本の大きさを、
 ()内の数値は回帰直線によるクロロフィル含量の推定標準誤差(µg・cm⁻²)
 を、*印は直線的関係であることを示す。

いて,被実験葉の厚さを調べたところ(25~29枚),葉の厚さの変動がサンゴジュの場合最も大きかった。肉眼的に葉色が同じでクロロフィル含量がほぼ同一と推定されたサンゴジュの葉について葉 厚を調べたところ,葉厚の平均値からの偏差は最大約±10%であった。

以上の結果をもとに、反射率比が葉厚に比例すると仮定して、サンゴジュの葉厚の偏差の値と人為的に葉厚を2倍に変えて測定した時の推定誤差とによるクロロフィル含量の推定最大誤差は、rNI'/rG'の場合で約±6%(=61%×±0.1)、rNI'/rR'の場合で約±7%(=69%×±0.1)となる。従って、同一植物において葉の厚さの偏差に基づくクロロフィル含量の推定誤差は、rNI'/rG'およびrNI'/rR'で、最大±10%以内と推定される。表1で、サンゴジュの相関係数が他の樹種の場合よりも小さく、推定標準誤差が大きかったが、この理由は主に葉厚の変動に基づくものであると考えられる。

葉の光反射スペクトルは葉内水分の減少に伴って変化することが報告されている(6)。このた め、葉の水分状態は反射率比をもとにクロロフィル含量を推定する際の誤差の原因になるとも考え られる。この点について調べた結果、1300nm以上の赤外光域では葉の反射率は葉内水分の減少 に伴ってかなり増大した。可視光~近赤外光域でも葉内水分が通常の含水量の½程度に減少したと き、緑色光域で約1%、近赤外光域で約4%反射率は増大した。しかしながら、葉内水分の減少に 伴う可視光~近赤外光域での反射率比の増加率はほぼ一定であったため、反射率比 rNI/rR/および rNI/rG/では、葉内水分量が20%減少して葉のしおれが肉眼的にもはっきり認められる状態にな っても、5%以内の減少にとどまった。従って、葉内水分状態に基づく反射率比 rNI/rR/ および rNI/rG/ によるクロロフィル含量の推定誤差は通常の場合無視できると考えられる。

(2) 葉の光反射特性と赤外カラー写真の発色特性の関係

上述のごとく,葉の光反射特性である反射率比,rNI//rR'およびrNI//rG'から葉の生理的活 性を示すクロロフィル含量をかなり高い精度で推定できることが確認された。従って,赤外カラー 写真が被写体の葉の反射特性を正しく反映していれば,赤外カラー写真から被写体の葉のクロロフ ィル含量を高い精度で推定できると考えられる。そこで,第1に赤外カラー写真の発色特性を調べ. 赤外カラー写真を解析する際の最適な波長について明らかにしようとした。第2にはクロロフィル 含量と赤外カラーポジ写真の発色の関係を,第3に反射率比とバイバンド比の関係を調べた。

a) 赤外カラー写真の発色特性

コダック社の赤外カラーフィルムの分光感度によると(4),カメラにラッテン・フィルター№12 を装着して撮影した場合,赤外カラーフィルムのイエロー層は, 500nm~600nmを,マゼンタ層 は 500nm~700nmを,およびシアン層は 500nm~900nmに感光して発色する。

図4は、半値幅が9nm~15nmである種々の透過中心波長の干渉フィルターをカメラに装着し、白 色物体を被写体として赤外カラー写真撮影を行い、コダック社の赤外カラーフィルムの発色特性を調 べた結果を示す。図の横軸は干渉フィルターを通過してフィルムに達した光の波長を,縦軸は現像 ・発色したフィルムの透過スペクトルのピーク波長を示す。反射光のうち,500nm~590nmの光 は主にイエロー層に感光し、455nmをピークとした波長域(半値幅:約100nm)に発色した。ま た、600nm~680nmの反射光は主にマゼンタ層に感光し、550nmをピークとした波長域(半値幅 :約60nm)に、690nm~900nmの光はシアン層に感光し、620nmをピークとした波長域に発色 した。従って、赤外カラー写真の色調解析を行うべき波長としては、455nm、550nm、および 620 nmが適当であると考えられる。

b) 葉のクロロフィル含量の差異と赤外カラー写真の発色

図5にサンゴジュの葉の光反射スペクトルとそれに対応した葉の赤外カラーポジ写真像の透過ス ペクトルの典型的な例を示す。図中の数値は葉のクロロフィル含量(µg・cm⁻²)を示す。葉の赤 外カラーポジ写真像の透過スペクトルは葉の光反射スペクトルの形とやや異なって三つの極大値が 見られた。



- 図4 露光した光の波長と赤外カラー写真の発色のピーク波長との関係。横軸はフィルムに照射した光の波長を,縦軸はその赤外カラー写真上に発色した透過 スペクトルのピーク波長を示す。
- Fig. 4 Relation between wavelength of the light exposed and peak wavelength of the color development on infrared film. The abscissa shows the wavelength of light incident upon the film, and the ordinate shows the peak wavelength of the transmission spectrum of the color development.

そのうち、650nm付近の極大値は葉からの800nm前後の反射光によって発色したものと考えられる。短波長側の二つの極大値は500nm~680nm域の反射光の相対的な分光放射照度およびフィ

-167-

ルムのイエロー層およびマゼンタ層の相対的な感度との相乗的な結果で生じたものであると考えられる。なお、670nm以上の透過スペクトルは感光層によるものでなく、フィルムベース自体の分光特性に基づく結果であると考えられる。

赤外カラーポジ写真の透過スペクトルは露光量および光顔の光質によって異なったが、同一の撮 影条件の場合、クロロフィル含量が多く、可視光域の葉の反射率が低い濃緑の葉では、全波長域に わたって赤外カラーポジ写真の透過率が低い像として発色した。しかし、クロロフィル含量が少な く可視光域で葉の反射率が増大した葉では、350nm~580nmでのフィルム透過率が増大した。 葉による近赤外光域の反射によって発色した620nmにおけるフィルムの透過率は、近赤外光域の葉 の反射率との対応がよかった。



- 図5 葉の光反射スペクトルと葉の赤外カラー写真の発色の比較。上図の葉を赤外 カラー写真撮影すると下図のように発色したことを表す。図中の数値はクロ ロフィル含量(µg・cm⁻²))を示す。
- Fig. 5 Spectral characteristics of reflection of leaf and its color development on infrared film. Numerals in the figure show the chlorophyll content in μg.cm⁻². Data of the upper and lower figures were obtained with the same leaves.

c) 葉の光反射率比とバイバンド比との関係

以上のように、赤外カラー写真では、フィルムが発色する波長とそれを感光させた光の波長がず れている点、および図5からも明らかなように、写真像の透過スペクトルの形は被写体の葉の反射 スペクトルの形とやや異なった点が認められた。しかしながら、全体的には、葉の写真像の光透過 スペクトルは葉の光反射スペクトルをよく反映しているように思われた。そこで、次に反射率比と バイバンド比との関係を種々の波長について検討した。

図4から明らかになったように, 550nm, 630nm,および 800nm での葉の反射光は,赤外カ ラー写真ではそれぞれ 455nm, 550nm, および 620nmに発色しているので, 葉の反射率比とバ イバンド比との関係を調べる場合の赤外カラー写真の色調解析には 455nm, 550nm, および 620nm の波長が望ましい。しかしながら、それら三つの波長と同一の透過中心波長をもつ干渉フィルター を入手できなかったので,透過中心波長がそれら三つの波長に最も近い 461nm 、535nm 、および 624nmの干渉フィルターを選んで色調解析に供した。これらの干渉フィルターを用いたときのフィ ルムの透過光量出力をそれぞれ B, G, および R とし, R/B, R/G, および G/B のバイバンド比 を求め,それらバイバンド比に対応する葉の反射率比 rNI//rG′,rNI//rR′,および rR′/rG′ との相関をクスノキおよびキョウチクトクトウについて調べた(表2)。 バイバンド比 G/B とそ れに対応する反射率比 rR'/rG' とでは相関が高くなかった。 R/Gと rNI//rR' およびR/B と rNI'/rG' との間の相関係数(r)は、クスノキでそれぞれ 0.96 および 0.91、キョウチクトウ でそれぞれ 0.88 および 0.90 であり、高い相関を示した。R/Gと rNI //rG'.および R/BとrNI ✓rR′との相関も高かった。これはGとBおよびrR′とrG′との相関が元来高いことによるものと考 えられる。G/Bと rR'/rG' との相関は低かったが、この測定に用いたポジ写真よりも青~緑色 光域におけるフィルムの透過率が高かった別の例では,G/Bと rR'/rG'との相関係数は約 0.9 であ り,かなり高い相関がえられた。さらに,表2に示した G/Bと r R'/rG' との間の相関係数がクス ノキ(r= 0.11)とキョウチクトウ(r= 0.65)でかなり異なっていることを考え合わせると。 G/Bはかなり不安定な要素を含んでいると考えられ、活性度解析のバイバンド比としては不適当 であると考えられる。

一方, R/Bおよび R/Gでは, 露光量を変化させても反射率比との相関は表2の結果とほとん ど変わらなかった。従って, 赤外カラー写真像の色調は被写体の葉の色調とは異なっているが, バ イバンド比 R/Bおよび R/Gは葉のクロロフィル含量の指標である反射率比をよく反映している と言える。

(3) バイバンド比と葉の光合成機能との関係

以上の結果から、バイバンド比 R/Bおよび R/Gから被写体の葉のクロロフィル含量を高精度 で推定できる可能性が高いと考えられる。そこで実際に、バイバンド比とクロロフィル含量とがど

- 表2 クスノキおよびキョウチクトウにおけるバイバンド比と反射率比との間の相 関係数 nは標本の大きさを示す。B,G および R はそれぞれ 461nm, 535nm および 624nmにおける赤外カラー写真の透過光量出力を示す。他 の記号は図2におけると同じ。
- Table 2 Correlation coefficient of the relation between bi-band ratio and reflectivity ratio in camphor tree and oleander. B, G and R denote the light intensity of transmission of the infrared color film at 461 nm, 535 nm and 624 nm bands respectively. *n* is the sample size. Other symbols are referred to Fig. 2.

Reflectivity	Cai	mphor tree (n	=25)	Oleander $(n=25)$		
Bi-band ratio	rNI' rR'	$\frac{rNI'}{rG'}$	$\frac{\mathbf{rR'}}{\mathbf{rG'}}$	$\frac{\mathbf{rNI'}}{\mathbf{rR'}}$	$\frac{rNI'}{rG'}$	$\frac{\mathbf{rR'}}{\mathbf{rG'}}$
R/G R/B G/B	0.96 0.83 -0.16	0.95 0.91 0.00	-0.42 -0.32 0.11	0.88 0.82 0.14	0.86 0.90 0.32	-0.12 0.16 0.65

Measurements in 1979



- 図'6 サンゴジュ(左), クスノキ(中), およびキョウチクトウ(右)におけるバイバイ バンド比とクロロフィル含量との関係。B,G およびR はそれぞれ 461nm, 535nm および 624nmにおける赤外カラー写真の透過光量出力を示す。図 中の数値は相関係数(r)を示す。
- Fig. 6 Relation between bi-band ratio and chlorophyll content in Japanese viburnum, camphor tree and oleander. B, G, and R denote the light intensity of transmission of the infrared color positive film at 461 nm, 535 nm and 624 nm bands respectively. Numerals in the figure show correlation coefficient (r).

の程度の相関関係にあるかを調べてみようとした。さらに、クロロフィル含量と光合成能とは密接 な関係にあることから、バイバンド比と光合成能との相関も調べた。

図6にバイバンド比とクロロフィル含量との関係の例をクスノキ、キョウチクトウおよびサンゴ ジュについて示す。クスノキの場合、G/Bではクロロフィル含量と無相関であったが、 R/Bお

-170 -

よび R/G では相関は非常に高かった。特に, R/G では, 直線性もよく, しかもクロロフィル含 量の差異によるバイバンド比の変動幅が最も大きかった。キョウチクトウでも同様のことが言えた。 サンゴジュでは撮影条件を種々に変えたため, R/Gとクロロフィル含量との関係が撮影条件によ って変わった。しかしながら, 相関はいずれの場合も高かった。

図7にバイバンド比と光合成能との関係をポプラおよびクスノキについて示す。バイバンド比と 光合成能との関係でも、特に R/Gでは相関が高く、しかも直線性が良かった。

表3に6樹種について、種々の光源条件および露出条件下で撮影された赤外カラー写真のバイバ



図7 ポプラ(上) とクスノキ(下) におけるバイバンド比と光合成能との関係 図中の記号は図6に示されている。

Fig. 7 Relation between bi-band ratio and net photosynthetic rate in poplar (upper) and camphor tree. The bi-band ratio is composed of B, G and R which are indicated in Fig. 6.

ンド比とクロロフィル含量および光合成能との関係を示す。 R/Gでは、全樹種にわたり相関係数 は 0.8 ~ 0.9 で相関は高く、光合成能の差異によるバイバンド比の値の変動幅が大きく、かつ直線 性が良かった。

表4には、クスノキ、キョウチクトウおよびサンゴジュについて、バイバンド比とクロロフィ ル含量との相関を調べた結果を示す。なお、葉の光合成機能を推定する場合に最も適したバイバン ド比を明らかにするため、表中にはB、G、Rの他に417nm、491nm および 583nm における フィルムの透過光量出力(それぞれP、BG、およびOとする)の組合せによるバイバンド比も示 されている。サンゴジュでは、五つの撮影条件について、それぞれ5枚ずつの葉の赤外カラー写真 撮影を行ったため、同一撮影条件ごとのバイバンド比とクロロフィル含量との相関(標本の大きさ : *n* = 5)の相関係数について、五つの場合の相関係数の平均値とその範囲が示されている。

前述のように、反射率比 r R' / rG'ではクロロフィル含量との相関は低かった(表1)。その反 射率比に相当するバイバンド比 G/Bとクロロフイル含量との相関も全樹種にわたって低かった。 R/P, R/O, O/B, およびO/BG とクロロフィル含量との相関係数は約0.9前後で相関は高 かった。

しかしながら、これらのいずれのバイバンド比も直線性が悪く、かつクロロフィル含量の差異に よるバイバンド比の変動幅が小さく、クロロフィル含量推定には適当でないと考えられた。一方、 R/Bおよび R/G では相関係数が 0.89~0.96 であり、相関は高く、直線性も良かった。 そのうち、 R/Gでは特に直線性が良く、かつクロロフィル含量の差異に伴うバイバンド比の値の 変動幅が大きかったため、クロロフィル含量を推定するバイバンド比として最も適当と考えられた。

- 表3 数種の木本植物におけるバイバンド比とクロロフィル含量および光合成能と の間の相関係数。記号は表2に同じ。
- Table 3
 Correlation coefficient of the relations between bi-band ratio and chlorophyll content and net photosynthetic rate in several woody plants. Symbols are referred to Table 2.

Bi-band ratio	Japanese zeikova 1975	Poplar 1975	Commor catalpa 1975	Camphor tree 1976	Plane tree 1976	Japanese viburnum 1976
	(<i>n</i> = 18)	(<i>n</i> = 19)	_	(n = 18)	(n = 17)	(n = 19)
R/B	0.87	0.87	-	0.81	0.79	0.92
R/B	0.86	0.85	-	0.89	0.85	0.81
G/B	0.80	0.27	-	0.68	0.56	0.51
	(<i>n</i> = 26)	(<i>n</i> = 23)	(<i>n</i> = 18)	(<i>n</i> = 20)		·
P/B	0.33	0.74	0.84	0.85	_	_
R/G	0.85	0.86	0.80	0.89	-	
G/B	-0.41	-0.68	-0.55	-0.27	_	_
	Bi-band ratio R/B R/B G/B P/B R/G G/B	Japanese Bi-band zelkova ratio 1975 (n = 18) R/B 0.87 R/B 0.86 G/B 0.80 (n = 26) P/B 0.33 R/G 0.85 G/B -0.41	Japanese Bi-band ratio Japanese Bi-band ratio Poplar 1975 (n = 18) (n = 19) R/B 0.87 0.87 R/B 0.86 0.85 G/B 0.80 0.27 (n = 26) (n = 23) P/B 0.33 0.74 R/G 0.85 0.86 G/B -0.41 -0.68	Japanese Common catalpa Bi-band zelkova Poplar catalpa ratio 1975 1975 1975 (n = 18) (n = 19) (n = 19) R/B 0.87 0.87 - G/B 0.80 0.27 - (n = 26) (n = 23) (n = 18) P/B 0.33 0.74 0.84 R/G 0.85 0.86 0.80	Japanese Common Camphor Bi-band zelkova Poplar catalpa tree 1975 1975 1975 1976 (n = 18) (n = 19) (n = 18) R/B 0.87 0.87 - 0.86 0.85 - 0.89 G/B 0.80 0.27 - 0.68 (n = 26) (n = 23) (n = 18) (n = 20) P/B 0.33 0.74 0.84 0.85 R/G 0.85 0.86 0.80 0.89	JapaneseCommon CamphorPlaneBi-bandzelkovaPoplarcatalpatreetreetree197519751975197619761976 $(n = 18)$ $(n = 19)$ $(n = 18)$ $(n = 17)$ R/B0.870.87-0.810.79R/B0.860.85-0.890.85G/B0.800.27-0.680.56 $(n = 26)$ $(n = 23)$ $(n = 18)$ $(n = 20)$ P/B0.330.740.840.85-R/G0.850.860.800.89-G/B-0.41-0.68-0.55-0.27-

Measurements in 1975 ~ 1976

- 表4 バイバンド比とクロロフィル含量との間の相関係数および推定標準誤差 ()内の値はクロロフィル含量の推定標準誤差(µg・cm⁻²)を示す。※印 は、直線的関係であることを示す。P, B, BG, G, OおよびRはそれぞれ 417nm, 461nm, 491nm, 535nm, 583nm, および 624nm における 赤外カラー写真の透過光量出力を示す。nは標本の大きを示す。サンゴジ ュでは撮影条件を異にする5種類の標本(n=5)における相関係数の変動幅 ([]内数字)とその平均値およびクロロフィル含量の推定標準誤差(平均 値)を示した。
- Table 4 Correlation coefficient of the relation between bi-band ratio and chlorophyll content, and the standard error of estimate of chlorophyll content (µg.cm⁻²) obtained by the bi-band ratio in camphor tree, oleander and Japanese viburnum. P, B, BG, G, O and R denote respectively the light intensity of transmission of the infrared color positive film at 417 nm, 461 nm, 491 nm, 535 nm, 583 nm and 624 nm bands. *n* is the sample size. In Japanese viburnum, data of the correlation coefficient show mean values obtained in 5 groups (*n*: 5 in each group) of leaves. The ranges of the coefficients are shown in [].* shows the high linearity.

Bi-band ratio	Camphor tree ($n = 25$) 0.87 (8.4 µg.cm ⁻²)			Oleander ($n = 25$) 0.87 (5.9 µg.cm ⁻²)			Japanese viburnum $(n = 5, 5, 5, 5, 5)$		
R/P							* 0.94 [0.88 - 0.98]	(4.3 μg.cm ⁻²)	
R/B	0.93 (6.3	,,)	0.89 (5.5	")	* 0.92 [0.79 - 0.98]	(4.5 ")
R/BG	*0.96 (4.5	")	*0.92 (4.7	, ")	* 0.96 [0.94 - 0.99]	(3.7 ")
R/G	*0.96 (4.8	••)	*0.90 (5.3	,,)	* 0.89 [0.79 - 0.99]	(5.0")
R/O	0.91 (7.2	,,)	0.88 (5.8	")	0.77 [0.48 - 0.97]	(6;5 ")
G/B	0.00 (-)	0.26 (-)	0.71 [0.32 - 0.99]	(6.8")
O/B	0.87 (8.5	")	0.83 (6.6	**)			
O/BG	0.93 (6.5	,,)	0.87 (6.0	,,)		•	

Measurements in 1979

なお、 R/Gと R/Bの中間的なバイバンド比である R/BGでも、R/B と同程度以上に相関も 高く、直線性もよかった。

R/Bに対応するrNI'/rG'は、rNI'/rR'と同程度以上にクロロフィル含量との相関も高く、 直線性もすぐれていた(表1)。それにもかかわらずR/BがR/Gの場合よりも相関係数および直 線性の点でやや劣っていた原因は赤外カラーフィルムの感光・発色特性にあると考えられる。

露光量を少なくすると、同じクロロフィル含量の葉に対して R/G, R/B および R/BG 等のバイバンド比が増大するように変化した。しかし、この場合でも、R/G, R/B および R/BG では、表4に示した相関係数には著しい変化が認められなかった。

R/Gの場合,回帰直線でクロロフィル含量を推定する場合の推定標準誤差は 5.3 µg・cm⁻² 以下であり、この値は・3 樹種の正常な葉のクロロフィル含量の約10%に相当した。従って、バイバンド比 R/Gによれば、約10%の推定標準誤差で被写体のクロロフィル含量を推定できると考えられる。

結 語

従来,赤外カラー写真は,バイバンド比と肉眼的観察および枝伸長量等による活性度階級表とが 比較検討されながら,植物活性度調査に利用されていた。(1,2,3,5)。本研究では,個 々の葉に関して,バイバンド比R/G等により直接的に葉の光合成機能を高精度で推定できることが 確められた。しかしながら,赤外カラー航空写真による活性度の調査法では,赤外カラー写真上の 樹木像からバイバンド比を求め,樹木の活性度を推定しようとしている(8,9)。樹木では葉が 複雑に重なり合って樹冠を形成しているため,本研究でのように水平におかれた個々の葉の場合と 比べて,樹冠内での個々の葉の傾き,葉の重なりおよび葉量などの点から,樹冠についての反射 率比およびバイバンド比と樹木全体の光合成機能との関係は,より複雑であるとも考えられる。こ の点が今後の研究課題である。なお,バイバンド比とクロロフィル含量および光合成能との関係式 は、露光量および撮影光顔光質によって変化し,同一撮影条件下で撮影された場合でも,現像処理過 程の差異によっても変化した。このため,クロロフィル含量等の光合成機能に対するバイバンド比

謝辞

本研究にあたり、実験にたずさわった当時の大阪府立大学農学部環境調節工学専攻生の今井周治 (現在:大阪府生活環境部公害室特殊公害課勤務)および篠原辰夫(現在:メトロ航測株式会社勤 務)の両君,および Cary 17 DX 分光光度計の使用にあたって御指導を得た国立公害研究所の菅 原淳部長に謝意を表します。なお、本研究の一部は文部省科学研究費補助金環境科学特別研究(1) 遠隔計測による環境情報の収集に関する基礎研究(研究代表者:土井康弘)によっても行われた。

引用文献

- 1. アジア航測株式会社技術開発部編. 1972. 技術報. 1972 年 11 月. Na.8. 新しい調査技術 ----赤外カラー 写真
- 2. 角谷信昭・大屋文彦・落合昭吾・前野道雄. 1974. 生物指標による大気汚染評価に関する研究(第2報) 樹木活性度とマルチバンドによる写真濃度との関係. 大気汚染研究 9(2): 386
- 3. 建設省国土地理院. 1979年2月. 樹木の活力度及び水域の透明度による地域環境の監視手法の研究報告書.
- 4. 長瀬産業株式会社コダック製品部. コダック・エクタクローム・インフラレッド・フィルム.
- 5. 中島巌. 1973.赤外カラー写真による環境と樹木活力の診断. 農業および園芸 48:195 200
- 6. 篠崎光夫・村上仁士・辰巳修三・菅原淳. 1978, 各植物における葉面光反射スペクトルの測定、陸上植物 による大気汚染環境の評価と改善に関する基礎的研究,昭和51/52年度研究報告,国立公害研究所特別研 究成果報告R-2-78, p.127-134

- 7. Smith, J.H.C. and A. Benitez. 1955. Chlorophylls : Analysis in plant materials. Moderne Methoden der Pflanzenanalyse IV, p. 142. Springer, Berlin
- 8. 矢吹万寿・青木正敏。1973.赤外カラー航空写真による植物活性の生態調査.大気汚染研究 8:596
- 9. 矢吹万寿・青木正敏・今井周治. 1975.赤外カラー航空写真による植物活性の生態調査(2). 大気汚染研 究 10:320

Summary

(1) The relation between characteristics of the reflection of leaves and chlorophyll content of leaves was investigated in several woody plants to obtain the basic data for estimating photosynthetic functions by infrared color aerial photograph. It was made clear that chlorophyll content of a leaf was estimated with the standard error less than 10% of that in the normal leaf by the reflectivity ratios of rNI'/rR' and rNI'/rG' which are the ratios of reflectivity of a leaf at 800 nm (rNI') to that at 630 nm (rR') and 550 nm (rG').

(2) The characteristics of the color development of the film were examined. The suitable wavelengths for the analysis of color development were determined to be 455 nm band (B), 550 nm band (G) and 620 nm band (R).

(3) The bi-band ratios of R/B and R/G on the film were highly correlated respectively with the corresponding reflectivity ratios of rNI'/rG' and rNI'/rR'. It was indicated that R/B and R/G are applicable as better indices of the chlorophyll content of leaves.

(4) The relations between bi-band ratio and photosynthetic functions of a leaf as expressed by chlorophyll content and net photosynthetic rate were investigated for various tree species. It was shown that the suitable bi-band ratio for estimating the photosynthetic functions of the leaf was R/G, R/B, and R/BG (BG: 491 nm band), in which R/G was the most suitable ratio.

(5) The chlorophyll content of the leaf was estimated by the bi-band ratio R/G with the standard error of estimate of about 10% of that in the normal leaf.

Key words: Remote sensing, Bi-band ratio, Chlorophyll content

国立公害研究所研究報告 第10号 (R-10-79) Research Report from the National Institute for Environmental Studies No. 10, 1979

∏−12

大気汚染地域におけるセイタカアワダチソウ群落の乾物生長と

大気浄化機能に関する野外調査

古川昭雄 • 松岡義浩 • 戸塚 績

Field studies on the dry matter growth of golden rod plant community and the physiological activity of palnt community as a sink of air pollutant in air polluted area

Akio FURUKAWA¹, Yoshihiro MATSUOKA² and Tsumugu TOTSUKA¹

`要 旨

大気汚染地域に自生しているセイタカアワダチソウ純群落を用いて、植物群落の生 長に対する大気汚染の影響と植物群落による大気浄化機能の評価を試みた。調査地点 に、千葉市寒川町と中西町の2地点を選び、昭和53年3月~10月にかけて調査した。この 調査期間中に寒川町においては、6回、中西町において5回、層別刈取を行い、セイ タカアワダチソウ群落の生長を測定した。また、葉内S含有量を測定して大気からの SO2吸収による大気浄化機能を評価する試みを行った。

寒川町の大気中SO₂濃度は全期間を通して中西町よりも高かった。寒川町のセイタ カアワダチソウ群落における葉内S含有率(葉面積当たりのS含有量)は、中西町の それと比較してかなり高く、上層部の葉ほど含有率が高い傾向にあった。この結果から 植物群落が大気中のSO₂を相当量吸収していることが予想され、大気浄化に貢献して いるものと思われた。しかし、葉内に吸収・蓄積されるSには土壌由来のものと、大 気中から吸収したものとがあり、大気中からどの程度SO₂を吸収しているのかの定量 的は握は困難であった。

セイダカアワダチソウ群落の調査期間中における生長量は、大気汚染度と土壌環境 条件の異なる寒川町と中西町において、同程度であった。寒川町における群落は比較 的小形の植物個体の、中西町の群落では、概して大きい個体の占める割合が高かっ たが、単位土地面積当たりの植物生長量には差が見られなかった。また、大気汚染質 を吸収する場でもある葉の量も、単位土地面積当たりでは両地点に差は見られなかっ た。

1. 国立公害研究所 生物環境部

2. 千葉県農業試験場 公害研究室

2. The Chiba-Ken Agricultural Experimental Station, Chiba 280-02

^{1.} Division of Environmental Biology, The National Institute for Environmental Studies, Tsukubagakuen, Ibaraki 305

緒言

植物群落による大気浄化機能についてはこれまでにも数多くの報告がある(2,3,5,9,14)。 Hill(5)は人工気象室型ガス暴露室内にアルファルファ人工群落を作り,群落による種々の大気 汚染質の吸収能を調べている。さらに,大気汚染発生源に隣接した森林によって大気汚染濃度が低 下するとの報告もある(11)。このように、植物群落は大気浄化に非常に重要な役割りを果してい る。しかし,大気汚染質を吸収すれば,植物はそれによって影響を受け,生理機能が低下し,ひい ては大気汚染質吸収能も低下する。本調査研究では、千葉市の大気汚染地域に生育するセイタカア ワダチソウ群落の生長を経時的にとらえ追跡し,大気汚染の影響をは握するとともに野外条件下に おいて植物群落の大気汚染環境浄化機能の評価を試みた。

I.調査地点および調査方法

昭和52年度の千葉市内大気汚染調査報告により、大気中 SO2濃度が最も高かった寒川小学校の近傍に調査地点を設定した(図1)。また、比較的 SO2濃度が低いと思われた中西町に調査地点を設定し、寒川町との比較を行った。両地点のセイタカアワダチソウ群落は休耕田に自生し、ほぼ完全な純群落を構成していた。しかし、中西地区のセイタカアワダチソウ群落は数年来放置されているものであったが、寒川地区の休耕田に自生していたセイタカアワダチソウ群落は毎年夏期に一回7月下旬ころ刈り取られていた。



図1 千葉市におけるセイタカアワダチソウ群落の野外調査地点を示す略図

Fig. 1 Map showing the location of survey sites of golden rod plant community in Chiba City

測定方法の詳細は各項目別に述べられているので、ここでは、調査方法の概要について述べる。 寒川地区の調査地点は千葉市内のK製鉄所高炉より数百米、東方に位置する南北約100m、東西約 300mのセイタカアワダチソウ純群落内に30×30mの方形区を設定し、西南部の一隅に仮設小屋を 設置し、各種計測機器による大気環境の連続測定を行った。しかし、9月上旬に方形区内のセイタ カアワダチソウ群落を残して周囲は全て刈り取られ、群落を取り囲む環境条件が変化した。その変 化は群落周辺の植物高が高くなったにとどまり、群落内部にまでは影響を与えなかった。中西地区 における大気環境の測定はPbO₂ 法による大気中 SO₂濃度とアルカリロ紙法によるF 濃度のみにつ いて行った(表1)。土壌条件については、各調査時期ごとに両調査地点において、無機栄養塩を 主体とした調査を行った(II.を参照)。植物群落の生長過程は、3~11月にかけて寒川地区にお

Measuring site	Measuring factors	Instruments
Samukawa	Atmospheric constituents	
	CO ₂	Infrared CO ₂ gas analyzer (Shimazu, URA-2S)
	SO ₂	Total sulfur analyzer by FPD method (Bendix. Model 8301)
	NO, NO_2, NO_X	Nitrogen oxides analyzer by chemiluminescent method (Kimoto, model 258)
	O ₃	Ozone analyzer by chemiluminescent method (Kimoto, Model 806)
	· SO _X	PbO ₂ method
	F	Alkali filter method
	Meteorological factors	
	solar radiation	Golzinski type solarimeter (Nakano Noshi- densi)
	air temp.	Thermo-couple of Co - Cu
•	wind velocity	Photo-electric anemometer
		(Makino Oyosokki, Model AF750S)
	· wind direction	(Makino Oyosokki, Model VF016)
Nakanishi	Atmospheric constituents	4 17
	SOx	Pb0 ₂ method
	F	Alkali filter method

Table 1	Environmental factors measured	at two measuring sites	of Samukawa and	Nakanishi in
	Chiba City			

* Measurements at Samukawa were done at 50 cm height above the roof of the observation room settled at the corner of the observation field.

表1 千葉市寒川町と中西町における各種環境要因の測定および測器の一覧
いて6回,中西地区において5回層別刈取りを実施した。(IV.を参照)。セイタカアワダチソウ 群落による大気浄化機能の評価は、大気中のSO₂に着目し、葉内に吸収、蓄積されたS含有量を定 量することによって試みた。S含有量の定量に供した植物材料は、層別刈取りを行い、乾燥重量を 測定した試料である(V.を参照)。

Ⅱ.調査地点の大気環境

植物群落は環境と相互に作用し合って生活しており、環境条件をは握することは、群落の作用を 知るうえに必要な条件である。千葉市寒川町と中西町において行った大気環境因子の測定結果につ いて以下に記述する。寒川町においては仮設の測定小屋において種々の大気環境因子を測定したが、 中西町においては、PbO₂ 法とアルカリロ紙法による大気中 SO₂濃度とF濃度だけである(調査方 法の項および表2参照)。測定方法および測定に用いた機種を第1章の表1に示した。

測定期間中の各種測定値の経時変化を付属資料にまとめた。大気汚染質の一日の濃度変化の例と して、晴天であった8月23日(1978年)について図2に示した。これによればNO₂は2~4 pphm の間で変動していた。これに対してNOは午前0時すぎから増えはじめ、7時ころに急激に減少し た。その後NO₂がやや増加する傾向を示したが、数時間後には減少した。O₃はNOの減少と符号 して増加しはじめ、15時付近で最高濃度となり、その後減少した。この様な変化が一般的傾向であ ることは付属資料に示した7月後期の結果からもわかる。アメリカのロスアンゼルス市での測定に おいても同様のパターンが報告されている(13)。8月23日のO₃ 濃度と日射量の関係を図3のA に示した。日射量が増大するに従ってO₃濃度も上昇するが、前者に比べ後者は1~2時間のおく れが認められた。さらに日射量が減少しはじめてもO₃濃度は上昇し続け、9 pphmにまで達した。

各月の上中下旬のNO₂, SO₂, O₃の平均値の推移を図4に示した。測定全期間の平均濃度はNO₂, 2 pphm, SO₂ 1 pphm, O₃ 2 pphmであった。NO₂は秋に向かって増加の傾向が認められ, O₃ は5月後半,8月後半,10月前半で高かった。SO₂については,夏から秋に向かって減少したが, 付属資料,図2に見られるように,一般に夜間において高かった。SO₂ 濃度とCO₂濃度には相関関 係が認められなかった(図3のB)。両地区において行ったPbO₂法による積算 SO₂濃度と寒川地区 においてFPD法によって測定したSO₂濃度を図5に示した。6月~10月までのPbO₂法による平均 SO₂濃度は寒川地区0.34 mg SO₃/dm²/d,中西地区で0.076 mg SO₃/dm²/d であった。図 5 で見る限り寒川地区において,両測定法によって同様の SO₂濃度の変動が認められ,FPD法と PbO₂法との間には高い正の相関関係があった(図6)。この関係が中西町でも成立しているとす ると,中西町の大気中の SO₂濃度は非常に低いと考えられる。FPD法によって測定した SO₂濃度 がOであってもPbO₂法による SO₂濃度は0.2 mg SO₃/dm²/d であった。このかさ上げ現象の理 由として,FPD法によっては極低濃度の SO₂が測定されていない,妨害物質によってPbO₂法の測 定で干渉がおこり,高めの SO₂濃度が記録されたなどが考えられる。

Ⅲ.調査地点の土壌環境

今回の調査のように比較的近接した2地点での植物群落の生長を解析する場合,その土壌環境を は握しておくことが必須である。そこでセイタカアワダチソウ群落の生長に影響を与えると思われ る土壌環境のうち特に栄養塩類要因について検討した。植物の栄養環境は植物の生育に伴って変化 し、また土壌の深さによっても変化するので、土壌の層別変化と季節変化に着目して調査分析を行 った。



図2 寒川地区における1978年8月23日の日射量および各種大気成分の日変化 Fig. 2 Diurnal measurements of radiation and atmospheric constituents at Samukawa in Chiba



図 3 日射量とO₃濃度との関係(A)および SO₂濃度との関係(B) A, B, いずれも図 2 の資料をもどにして作成した。

Fig. 3 Relationships between solar radiation and O_3 concentration (A) and between SO_2 concentration and CO_2 concentration (B). Data obtained from Fig. 2.

-182-



図 4 NO₂ , SO₂ , O₃ の変動 寒川地区において測定した瞬時値より旬間積算値として求めた。

Fig. 4

Monthly changes (mean values of ten days) in concentrations of NO_2 , SO_2 and O_3 at Samukawa



- 図5 PbO₂とFPD法によって測定した SO₂濃度の月別変化
 FPD法の測定値は寒川地区においてのみ(○)で, PbO₂ による測定値は寒川
 地区(●)と中西地区(▲)の測定結果である。
- Fig. 5 Monthly changes in SO₂ concentrations measured using PbO₂ and FPD methods. Data for FPD method were obtained at Samukawa (○) and data for PbO₂ method were obtained at Samukawa (●) and Nakanishi (▲).

-183-

セイタカアワダチソウの地下部(根および地下茎)はおおむね地表から約15cm程度の範囲に分 布しており,特に寒川町ではその下層に分布するヨシの地下部と住み分けているようである。一方 中西町の群落は寒川町の群落と比べて個体密度が低く,地下茎も太かったが,地下部の分布範囲は 同程度であった。セイタカアワダチソウ群落の生長については別項にまとめられており,そこで土 壌環境とセイタカアワダチソウ群落の生長との関係について論じる。

土壌サンプリングと土壌分析

各調査地において、植物体をサンプリングした3方形枠のそれぞれの近傍から土壌を採取した。 リター層をとりのぞき、地表から0~5、10~15、20~25cmの3層について100 cm³ ステンレス製 採土管とビニール袋に土壌を採取した。土壌分析は、含水量、仮比重、交換態アンモニア窒素、硝 酸態窒素、Troug-リン酸、全炭素と全窒素の7項目について行った。定容採土管に採取された土 壌をそのまま恒温乾燥機で105±5℃で一昼夜乾燥し、重量の減少から新鮮土壌体積当たりの含水 量を計算した。また含水量を求めるために乾燥した試料について体積当たりの乾量を測定し、仮比 重とした(8)。アンモニア態窒素は、新鮮土壌を10%KCl溶液で30分振とう抽出してろ過した後、 インドフェノール法(15)によって比色定量した。アンモニア分析に供した抽出液の一部を硝酸態 窒素の分析に用いた。カドミウム - 銅還元法による比色定量(19)をテクニコン・オートアナライ



図6 大気中SO₂濃度測定に関するPbO₂法とFPD法との比較 図5に示した寒川地区における測定結果による。



ザーⅡ型を用いて行なった(12)。Troug-リン酸については、風乾土(<2 mm)から0.005N硫酸(pH 3.0)によって抽出されたリン酸のモリブデンブルーの発色による比色定量を行った(4)。 全炭素と全窒素の含量は柳本CNコーダーを使用して風乾土(<2 mm)について分析した(4)。

結果

表2に寒川町と中西町の2調査地点の土壌について層別,季節別の土壌分析結果を3試料の平均 値で示した。

含水量は両地点とも夏に低下している。また同じ時期では中西区の方が全体にやや高い値を示した。しかし、寒川町の群落にも全体にヨシが混入しており、両区とも水田の跡地であることからも 水条件はよいと思われる。

仮比重は表層部の変動が大きく両地点ともセイタカアワダチソウ群落の生長に伴って、減少する 傾向を示した。一方2層と3層は大きな季節変動は見られなかった。一般に仮比重は土壌中の有機 物含量と負の関係にあり、表層部での仮比重の減少はセイタカアワダチソウの生長に伴うリター の供給量の増加と対応していると考えられる。仮比重を両地点で比較すると中西町の土壌が層別あ るいは季節別にみても常に低い値を示した。これは寒川町では毎年刈取りが行われていたのに対し て中西町では行われていなかったため、有機物の蓄積量に両区で差ができたことが一因であろう。 しかし、直径2mmのふるいを通した風乾土の全炭素含量は中西町で必ずしも高くないので、粗大 な植物枯死体が中西町で多いと思われる。さらに、寒川町の土壌が海成沖積土であり砂質のローム となっていることもこの区の土壌の仮比重が高い理由の一つであろう。

全炭素と全窒素は共に土壌の有機物含量とほぼ対応すると考えられる。両地点を比較すると寒川 町では2層目、3層目での炭素、窒素含量の低下が中西町に比べて著しい。これは寒川町では刈取 りによって毎年の有機物の供給量が低いことを反映したものと思われる。またC/N比を比較する と、中西町の方が全体に低い値を示し腐植化がより進行していることを示唆している。すなわち、 全窒素含量が同じ場合、中西町の土壌の方が窒素の無機化が起こりやすく、植物の生長に有効に使 われやすいと考えられる。

アンモニアや硝酸のような無機態窒素は、全窒素に比べてより短い時間で変動を示すので、各調 査地点での季節変化を論ずることはやや無理があるが、同一調査時のサンプルについての比較は可 能である。アンモニア態窒素は全体に寒川町のものの方がやや高い傾向を持ち、硝酸態窒素は中西 町の方が高い傾向を持った。また、アンモニア態窒素の層別の変動は比較的小さかったが、硝酸態 窒素は特に中西町で第1層で高い値を示した。硝酸態窒素含量とアンモニア態窒素含量の比は、そ の土壌の酸化還元状態を示す指標となりうる。両区で比較してみると中西町が高い値を示し、より 酸化的な土壌環境であることを示唆している。

Troug液によって抽出されるリンは常に寒川町の土壌で高い値を示した。これは寒川町の土壌が

-185-

表2 2 調査地点における土壌環境の垂直方向の変化と季節変化 値は3 試料の平均値で示す。

 Table 2
 Seasonal and vertical changes in the eight edaphic factors at the two sampling sites in Chiba. The figures described are the averages of three samples.

water content (V/V%)						Troug-P (µg/g dry soil)							
tampline	soj) denth		sampling date					soil		te			
site	(cm)	15 Mar.	22 May	24 July	25 Sept.	30 Oct.	site	site (cm)	15 Mar.	22 May	24 July	25 Sept.	30 Oct.
Site A1)	0-5	53.1	50.8	22.4	26.3	29.5	Site A	0-5	89.1	90.1	110.4	90.5	88.0
	10-15	40.6	38.6	24.8	34.8	37.3		10-15	73.3	61.6	82.0	71.6	70.5
	20-25	30.6	29.3	28.9	32.8	37.2		20-25	\$ 4 .7	38.9	46.7	36.7	40.0
Site B ²)	0-5	_ 3)	61.2	28.1	24.5	32.5	Site B	0-5	-	44.8	34.1	43.7	36.2
	10-15	-	56.3	36.4	33.7	37.4		10-15	-	17.3	22.6	30.0	17.4
	20-25	-	58.0	44.7	38.8	46.7		20-25	-	1.5	7.0	17.7	8.3

bulk density (g/cm ³)						total C (%)							
sampling site	soi] depth	sampling date						soil depth		sampling date			
	(cm)	15 Mar.	22 May	24 July	25 Sept.	30 Oct.	site	soil depth (cm) 0-5 10-15 20-25	15 Mar.	22 May	24 July	25 Sept.	30 Oct.
Site A	0-5	0.90	0.91	0.79	0.71	0.69	Site A	0-5	7.2	6.4	7.45	6.82	7.38
	10-15	1.10	1.16	1.06	1.10	1.05		10-15	3.3	2.4	4.30	3.48	3.16
	20-25	1.36	1.39	1.34	1.21	1,29		20-25	2.0	1.1	2.89	2.10	1.80
Site B	0-5	-	~	0.65	0.58	0.52	Site B	0-5	-	5.1	3.75	4.52	6.04
	10-15	-	-	0.95	0.90	0.70		10-15		3.7	2.84	3.52	3.77
	20-25 ,	-	~	1.05	1.03	0.86		20-25	-	3.1	2.13	2.55	3.19

exchangeab	:hangeable NH4 (µg/g fresh soil)						total N (%)						
	soil		sampling date					soil		sampling date			
sampling site	(cm)	15 Mar.	22 May	24 July	25 Sept.	30 Oct.	site	(cm)	15 Mar.	22 May	24 July	25 Sept.	30 Oct.
Site A	0-5	4.1	1.42	3.5	2.3	5.7	Site A	0-5	0.45	0.41	0.46	0.38	0.46
	10-15	2.9	1.23	3.2	2.1	3.7		10-15	0.23	0.18	0.27	0.23	0.21
-	20-25	2.7	J.48	3.2	2.2	3.3		20-25	0.15	0.23	0.19	0.15	0.12
Site B	0-5	-	1.63	3.0	1.9	2.9	Site B	0-5	-	0.39	0.31	0.35	0.44
	10-15	-	1.30	3.4	1.7	2.0		10-15	-	0.26	0.25	0.29	0.29
	20-25	-	1.28	3.6	1.7	2.3		20-25	-	0.19	0.19	0.22	0.24

NO;(µg/g	fresh soil)						C/N ratio	•						
	soil			sampling da	ite .			soil	sampling date					
sampling site	depth (cm)	15 Mar.	22 May	24 July	25 Sept.	30 Oct.	sampling site	depth (cm)	15 Mar.	22 May	24 July	25 Sept.	30 Oct.	
Site A	0.5	3.41	1.25	0.75	1.48	3.41	Site A	0-5	16.0	15.6	16.2	18,1	15.9	
	10-15	1,41	0.54	0.75	1.13	2,58		10-15	14.2	13.8	15.9	15.1	15.1	
	20-25	1.14	0.18	0.80	0.78	1.90		20-25	13.0	10.2	15.1	14.3	14.5	
Site B	0-5	_	3.83	5.6	7.7	13.74	Site B	0-5	-	13.2	12.t	12.8	13.6	
	10-15	-	1.35	1.7	3.2	7.47		10-15	-	13.8	11.5	12.2	12.8	
	20-25	-	1.06	1.8	3.1	5.67		20-25	-	16.8	11.3	12.0	13.3	

1) site A; Samukawa, 2) site B; Nakanishi 3) - ; not measured

海成沖積土であることが関係しているかもしれない。また両地点とも下層程、低い値を示した。

以上をまとめると、中西町の土壌は、寒川町の土壌に比べて植物群落に対して高い窒素の供給力 を持つと考えられる。一方、リンに関しては、Troug液抽出リンについて寒川町の土壌で高い値を 示したものの無機態の栄養塩の量は土壌中で有機化と無機化の平衡関係で決まっているので、必ず しも寒川町の土壌がリンの供給力が高いとは言えない。また水条件がセイタカアワダチソウの生育 を直接に制限することは、両地点で起こりにくいと考えられた。

Ⅳ. セイタカアワダチソウ群落の生長

大気汚染環境や土壌環境が異なる千葉市の2地点(寒川町と中西町)において、セイタカアワダ チソウ群落(ヨシやクズが若干混入している)の生長を、1978年3月15日から10月30日にか けて調査した。植物の生長は種々の要因によって影響を受けるが、主要な環境要因として、光環境 や温度環境のような気象要因、大気汚染物質のような人為的要因、また生育立地の水分状態や栄養 状態などの無機的、有機的土壌要因などがある。これらの環境条件については前章に詳述されてい る。この章では、両調査地点におけるセイタカアワダチソウ群落の生長の季節変化について記述す る。

立地条件および調査方法

セイタカアワダチソウの生長量の調査は、寒川町においては1978年の3月15日、5月22日、 7月24日、7月31日、9月25日、10月30日の合計6回行った。中西町においては3月15日 を除く同じ日に合計5回行った。ただし、10月30日の調査の時、中西町のセイタカアワダチソウ群 落は植物がほとんど倒伏していたため、他の調査結果との比較が困難と思われたので結果から除い た。

調査方法としては、セイタカアワダチソウ群落の内部に50cm×50cmの方形枠を任意に設定して、 地表面から20cmごとに群落内の照度を測定した。次にセイタカアワダチソウの地上部を地表面から刈 取り、ビニール袋に入れ実験室内に持ち帰り、各個体ごとに植物高を計測し、方形枠内の個体数を 調べた後、基部より20cmごとの層別に分離した。これらを葉部、茎部、花芽および穂、枯死葉に 分別し、葉面積計(林電工、AMM-7型)で葉面積を測定した。地上部を取り去った方形枠内の表 層のリターをすべて採取した後、深さ20cmまでこの方形枠内に含まれる地下部(地下茎と根)を 採取した。セイタカアワダチソウの地下部は20cmより深くにはほとんど存在していなかった。 地 下部は水道水で十分洗浄した。すべての試料は、上記の処理終了後、ただちに80-90℃で1-2日 間乾燥した。再び80-90℃で1-2日間乾燥した後、試料乾重量を測定した。両調査地点において 1日の調査に各々3個の方形枠を設定して、各々の試料について上記の処理を行った。

調査結果

今回の各調査日における両調査地点のセイタカアワダチソウ群落の生産構造図を付属資料にまと

-187-



(B); expressed on ground area basis (unit: g.d.w./m²), I/I_0 ; relative light intensity

- 188 --

めてある。

両調査地点のセイタカアワダチソウ群落の間に、生育初期から、単位土地面積当たり(以下の結 果は特別に記述しない限り単位土地面積当たりの値で示す)の個体数、個体当りの乾重量および植 物高に著しい差異が認められた。図7のAに7月31日調査の両地点において得られた生産構造図を 示す。中西町の植物個体は寒川町のそれと比較して、ほぼ2倍近い乾重量を示し、植物高も大きく、 個体としてより大きな生長を行っている。しかし単位土地面積あたりの個体数は寒川町の植物群落 の方が中西町のそれより多く、単位土地面積当たりの群落としては両地点において、ほとんど同程 度の物質生産を行っていることが判明した(図7のB)。セイタカアワダチソウ群落の乾物生長量 を各調査日において比較すると(図8)、9月までは時間と共にほぼ直接的に生長量は増大してお り、両地点においていずれの時期にもほとんど差は認められなかった。

植物の純物質生産速度は葉の光合成速度と葉の量の積で示される。そこで葉面積指数(LAI) の季節変化を調べた(図9)。セイタカアワダチソウの地上部はロゼットで越冬し,3月に茎の伸 長生長とそれに伴う葉の展開が始まる。5月までに群落のLAIは急速に増大し、その後はほぼ一 定の値(約8程度)を示し、9月から減少している(図9)。5月以降も群落の生長は図8に示し たように盛んであり、植物高も増大し新葉が展開しているが、下位葉が枯死していくためにLAI は一定に保たれたと思われる。また群落の葉乾重も全体的にはLAIと同様な変化を示した(図10)。



図8 寒川地区(●)と中西地区(○)のセイタカアワダチソウ群落の乾物生長量の変 化

Fig. 8 Monthly changes in the dry weight growth of golden rod community at Samukawa
 (●) and Nakanishi (○) in Chiba





Monthly changes in specific leaf Fig. 11 area (SLA) of golden rod community at Samukawa (•) and Nakanishi (0)

0.0



Ō

25 30 Sept. Oct.

-190 -



and Nakanishi (0)





図15 寒川地区(●)と中西地区(○)のセ イタカアワダチソウ群落の根部乾 重量の月別変化

Fig. 15 Monthly changes in root dry weight of golden rod community at Samukawa (•) and Nakanishi (°)



図16 寒川地区(●)と中西地区(○)のセ イタカアワダチンウ群落の地上部 重/地下部重の比(*T*/*R*)の月別 変化

Fig. 16 Monthly changes in Top/Root ratio of golden rod community at Samukawa (•) and Nakanishi (•)

ただし、5月から7月にかけても葉乾重はかなり増大している。さらに葉乾重あたりの面積(SLA)の変化を図12に示す。以上の結果から、セイタカアワダチソウ群落は春新芽を出してから5月までに急速に葉を増大させ、また薄い葉をつけることによって急速に葉面積を広げるが、以後は葉面積はほとんど変化せず、やや厚い新葉をつけるようになることが推察された。なお、両調査地点におけるこれらの値またLAR、LWRの値はいずれの調査日においてもほとんど差は認められなかった^{*}(図9~13)。

次にセイタカアワダチソウ群落における茎部および地下部の乾重量の変化を調べた(図14, 15)。 茎部乾重量は9月まではほぼ直線的に増大している。また地下部乾重量は7月まではほとんど変化 しないが。9月以降若干増大した。寒川町と中西町の両地点で茎部の生長に差が認められた。中西 町の群落の茎部乾重量は寒川町のそれと比較して、すでに5月から大きな値を示している。また、 地下部乾重量を比較すると、逆に寒川町の方が中西町より高い値を示した。このように全乾重の生 長は寒川町と中西町で差は認められなかったが(図8), 乾物の地上部、地下部への分配は両者で 異なっていることが推察された。そこで地上部と地下部の乾重量の比(*T/R* 比)を調べた(図16)。 全調査期間を通じて中西町のセイタカアワダチソウ群落は寒川町のそれと比較して大きなT/R比 を示した。また、植物高も中西町の群落の方が大きな値を示したが、植物個体数は逆に寒川町の群 落の方が大きな値を示した。両地区でのこのような相異を起こした原因の一つとして,植物の刈取 りの有無が考えられる。セイタカアワダチソウは種子による繁殖と同時に,地下茎による栄養繁殖 を行うが、群落として定着した場合では、地下茎から毎年新芽を地上部へ出す栄養繁殖が群落の再 生産の中心となると考えられる。調査以前,寒川町の群落は年に1回刈取りが行われていた。主茎 を刈取られた植物では新たに複数の地下茎をのばし地上茎を形成すると考えられる。このような理 由で寒川町の群落は地下部が発達し、また個体数も多くなったのではないかと思われる。また個体 当たりでみると、より大きな栄養を地下部に蓄積した植物は春の地上部の生長が速いであろう。こ のことが両調査地点での植物高やT/R比の差に反映していると考えられる。

セイタカアワダチソウ群落の生長と環境

千葉市の寒川町と中西町の両調査地点におけるセイタカアワダチソウ群落の生長を調査したとこ ろ、両群落の物質生産にはほとんど差が認められなかった(図7のB,図8)。またしAIの変化 もほとんど差がなく、しAIは5月にはほぼ最高値(約8)を示した(図9)。群落の純物質生産 速度に直接に影響すると考えられるしAIが生育最盛期の5月から7月にかけて大きく変化しなか ったこと、および群落の乾重量増加は主として茎部乾重量の増加によるが、この茎部の単位乾重量 当たりの呼吸速度は、生育時期と共に低下していくことが報告されており(6)、今回、単位土地 面積当たりの茎部全体の呼吸量は5月-9月にかけてほとんど変化しなかったと思われることは、 乾物生長がほぼ直線的に増加した(図8)ことに対応していると思われる。またしAIが5月にほ ぼ最高値に達したことから、両地点のセイタカアワダチソウ群落は共にその光環境に依存したLAI を5月中に実現し,以後は茎の伸長生長に伴い葉群を更新しながらそのLAIを維持していたと考 えられる。すなわち,両調査地点の群落の生長は主として光環境に制限されていたと考えられる。 前章に示したように,両地点での大気汚染環境および土壌環境は異なっている。特に窒素の供給力 は中西町の土壌が大きいと考えられたが,寒川町においてもLAI8程度の葉群の光合成を支える のには十分な窒素の供給があったと思われる。

今回調査したセイタカアワダチソウ群落の生長の一般的な特徴をまとめると、両調査地点ともセ イタカアワダチソウ群落は、5月中にその光環境に依存した葉群を形成し、以後、そのLAIに見 合った純物質生産を行ったと考えられる。その際、一般に葉群の光合成活性に影響すると考えられ る大気汚染環境および土壌環境の各要因は、寒川町と中西町とでは植物の物質生産に対して顕著な 差を引き起こす程の差がなかったのであろう。

V. セイタカアワダチソウ群落による大気汚染質の吸収

植物群落による大気汚染物質の吸収能を知る目的で、前記の両調査地点においてサンプリングしたセイタカアワダチソウ群落について、各層の葉内硫黄含有量を調べた。寒川町の調査地における大気汚染物質として、NO₂,NO,O₃、SO₂,HF等がかなりの濃度存在していたが(I.を参照)、葉内に取り込まれた大気汚染物質の量から、植物群落の大気浄化能を知るためには、SO₂に着目するのが最も妥当と思われた。すなわち、O₃は吸収されてもO₃としては葉内に蓄積されず、O₃吸収量を元素分析等の方法によって知ることは不可能である。また、NO₂は吸収されて、N-化合物となって葉内に蓄積するが(10)、ケルダール法等によるN定量法では、本来、葉内のN含有量が高いため、たとえ、大気中からNO₂を吸収したとしても、N含有量の増加として捉えることは困難である。またHFは葉内に吸収されたF化合物となり、元素分析によってFの蓄積量を測定することは可能であるが、一般的には1回の測定に多量のサンプルを要し、定量方法も煩雑である。ところで、非汚染地に生育する植物の葉内硫黄含有量は、概して低い。したがって、大気中から吸収されたSO₂が葉内に硫黄化合物として蓄積すれば、硫黄含有量の増加としてとらえることができる。これらの理由により、我々はSO₂に着目し葉内硫黄含有量を定量することによって、セイタカアワダチソウ群落による大気浄化能の評価を試みることにした。

調査方法

セイタカアワダチソウの層別刈取りの方法,時期および生長量の測定方法は Ⅳ.. に 詳述してある。葉内硫黄含有量の定量は,通常行われているLECO社製の燃焼式硫黄分析計を用いて行った (22)。

結果および考察

単位葉面積当たりの硫黄含有量を横軸に,葉位を縦軸に取り図に示した。図17のAは中西区,B は寒川区である。これらの図より明らかなように,中西区より寒川区の方が同じ葉位では各採取時



- 図17 セイタカアワダチソウ群落の層別の葉中硫黄含有量。(A)中西地区,(B)寒川地区 測定日 5月 22日●;7月24日▲;7月31日△;9月25日□;10月31日○
- Fig. 17 Vertical distribution of sulfur content in leaves of golden rod community at (A) Nakanishi and (B) Samukawa in Chiba Measuring date; May 22, •; July 24, •; July 31, \triangle ; Sept. 25, \square ; Oct. 31, \bigcirc

期とも硫黄含有量が高かった。さらに、両区とも葉位と硫黄含有量との間に直線関係が見られた。 この直線の傾きや横軸を切る点に影響を与える要因として、降雨量、光強度等の自然環境要因ばか りでなく、植物の生長速度、さらに群落をとりまく大気中の SO₂ 濃度などが考えられる。寒川区と 中西区の葉内硫黄含有量(X)と葉位(Y)について回帰直線を求めると、寒川区の方がX = 5.36×10⁻³ Y + 5.50×10⁻¹であり、中西区の方が $X = 4.88 \times 10^{-3}$ Y + 2.99×10⁻¹であった。こ の回帰直線の傾きは寒川区の方が大きく、さらに横軸を切る値も寒川区の方が大きかった。ここで PbO₂法による大気中の SO₂濃度(図5)をみると、全期間を通じて寒川区の方が高かった。したが って、寒川区の回帰直線の傾きが大きいのは、SO₂の取込みを反映していると思われる。

群落内の光強度は上層部から下層部に向かって減少する。さらに、下層にある葉は上層にある葉 より葉齢がすすみ老化がすすんでいると考えられる。したがって、群落によるSO₂の吸収を考えた 場合、かなりの部分が群落上層で行われていると思われる。そこで、群落最上部の下に位置する

- 表3 各調査日の中西地区と寒川地区におけるセイタカアワダチソウ群落の最上層 より第2,3,4層目(各層の厚さは20cm)における葉群の硫黄含有量と両地 区の値の差
- Table 3 Sulfur content of foliage at the second, the third and the fourth layer, numbered from the top layer (depth of each layer was 20 cm) of golden rod community in each sampling date at Samukawa and Nakanishi. Difference of the values between both sites is also shown at the right-hand column.

	Leaf sulfur content (10 ⁻⁵ g S/cm ²)								
Sampling date	No. of foliage position	Samukawa (A)	Nakanishi (B)	Dif. (A) - (B)					
22/5	2	0.890	0.700	0.190					
,	3	0.780	0.511	0.269					
	4	0.569	. 0.412	0.157					
24/7	2	0.924	0.913	0.011					
,	3	0.898	0.773	0.125					
	4	0.986	0.785	0.201					
31/7	2	0.898	1.000	-0.102					
	3	0.885	0.903	-0.018					
	. 4	0.990	0.893	0,151					
25/9	2	1.72	1.41	0.31					
1-	3	1.61	1.44	0.17					
	4	1.60	1.38	0.22					
30/10	` 2		1.64	0.50					
	. 3	1.90	1.57	0.33.					
	4	1.69	1.49	0.20					

上層部の葉群について、葉内硫黄含有量を寒川区と中西区で採取時期別に比較したのが表3である。 各地区でのPbO₂法による大気 SO₂濃度の変化とあわせて考察すると、5月22日に採取した試料に ついては、中西区と寒川区では各層とも寒川区の方が高かった。一方、大気中の SO₂濃度は中西区 ではこん跡値であったのに対し、寒川区では0.30 mg SO₃/100 cm²/d であった。7月24日およ び7月31日採取試料とも上層における両区間の差はわずかであったが、下層においては寒川区の方 が高かった。一方、大気中の SO₂濃度は寒川区においては、5月31日~7月1日に高かったが、7 月1日~8月1日では低かった。したがって下層において葉中硫黄含有量の両区間の差が増加した 理由は、5月31日~7月31日の SO₂濃度差の大きい時期に、群落最上層部を形成した葉群が、大気 中より SO₂を吸収したためと思われる。9月25日に採取した試料では硫黄含有量の差が再び大きく なった。これは8月1日~9月1日の間で大気中 SO₂濃度の両区間の差が大きくなっているのに対 応すると思われる。9月1日~10月31日における両区の SO₂濃度差は小さかったが、10月30日に採 取した試料においては、両区の硫黄含有量の差が大きかった。これは9月1日以降ではセイタカア ワダチソウの伸長生長が止まり、同一の葉群が長期間にわたり群落上層部を占めており、しかも、 この時期には花穂が伸長し、この部位に向かって群落下部から硫黄の一部が転流したかもしれない。

植物群落による SO₂ 浄化能を群落を構成する植物の葉内硫黄含有量により評価することは、葉内 硫黄含有量に影響を与える未知の要因が多く、さらに根を経由してくる硫黄の取扱いが避けられな い問題として最後に残り、明確にはしにくい。しかし、上記の結果より、長期暴露について葉内硫 黄含有量と葉位との回帰直線を求め、そのこう配の大小により SO₂ 大気汚染度を評価できよう。ま た、短期暴露については、群落最上部の下に位置する上層部の葉の硫黄含有量を指標として、植物 による SO₂ 吸収能を評価することが有効ではないかと思われる。

VI. まとめ

野外に自生している植物群落を用いた大気汚染の影響評価、大気汚染浄化機能の評価を同時に試 みた報告はこれまでになされていない。斉藤ら(16)による牧草地帯での空気力学的方法を用いた 植物群落による大気汚染浄化能についての報告はあるが、大気汚染濃度の測定方法に問題があり、 信頼しうる結果を得ていない (斉藤らが使用している分析計は電気伝導度法によるもので、感度 は低く、瞬時値の測定は不可能で、空気力学的方法を用いるのは難点がある)。Bennett & Hill (2)はアルファルファ人工群落を人工光室内に作り、種々のガス成分の垂直濃度分布を測定してい る。彼らによれば、群落外で5 pphmの SO₂が 2 pphmにまで低下する。

今回の調査においては、植物体内のS含有量を測定することによって大気中から SO₂をどれだけ 取込んだかを評価する試みを行った。これまでの報告によれば、植物体内のS含有量は大気中の SO₂ 濃度とかなりよく対応しており(17, 21)、体内 S量の変化から植物による SO₂吸収能を評価 できるものと思われる。しかし、千葉市内におけるセイタカアワダチソウ群落を用いた今回の試み においては、植物体内のS含有量と大気中のSO2濃度との間に明確な関係を得ることができなかった。その主因は大気中のSO2濃度が極めて低く、植物体中に吸収蓄積されたSO2量が少なかったためであろう。すなわち、根を経由して葉に供給された土壌由来のS量と比較して、葉面の気孔を介在して吸収された大気中のSO2由来のS量が少なかったためと思われる。しかし、寒川町のセイタカアワダチソウ群落における葉内S含有量は中西町のそれよりも高く、植物群落がSO2を吸収蓄積していることを裏付けている。

寒川町と中西町とでは、土壌環境、大気汚染質の濃度(PbO2法によって測定したSO2濃度)に 著しい差があったにもかかわらず,単位土地面積当たりのセイタカアワダチソウ群落の生長には差 がみられなかった(IV.を参照)。 植物の生長を左右する環境因子は非常に多いが、寒川町と中西 町のようにかなり近接した場所では、光、温度、湿度等の気象条件はほぼ同じであると考えられ、 大気汚染濃度と土壤環境のみが変動要因とみなせる。しかし、大気汚染環境も環境基準値の下方修 正や汚染源における排出量の抑制努力によって近年、低下する傾向にあり、特に SO2 感受性の高い 植物を除いて植物の生長は大気汚染による影響を殆ど受けないまでになっているものと推察される。 一方において、実験室内での低濃度 SO2 暴露(0.1~0.005ppm SO2)や複合汚染質暴露によって 植物の生長が低下するとの報告もある(1,20)。低濃度大気汚染質暴露によって植物の生長がど のような影響を受けるかは非常に重要な問題である。これまでこの問題について報告された資料の 中には、野外条件下の調査期間中の平均的SO2濃度は著しく低いにもかかわらず、植物の生長がか なり抑制されたという結果もある(7)。しかし、このなかには調査期間中のある時期のみ大気中 SO2濃度が植物に可視的障害をもたらすほどに高く、それ以外の時期には大気中 SO2濃度が低かっ た例が多い。調査期間中の平均的 SO2 濃度と対比して SO2の慢性的障害を論ずる場合には、暴露期 間中の SO₂濃度の変動幅を問題にする必要がある。また本報告書Ⅲ-3 で論じられているように, 植物の生長過程に複雑な生理作用が関与しており、たとえ葉の光合成能力の一部が低下したとして も,それがただちに乾物生長の低下に結びつかない。本調査のように全調査期間を通じて大気汚染 度が低い場合には,一年生草本植物のように生育期間が短い植物では,光合成能力の若干の低下や 伸長生長あるいは分化に影響を受けるかも知れないが(18),特に SO。感受性の高い植物を除いて. 乾物生長の抑制を短期間暴露で観察することは不可能ではないかと思われる。本報告書Ⅲ - 3で論 じられている SOgドースと生長抑制との関係から判断すると、本調査で観測されたような低濃度汚 染でも暴露期間が長くなれば,植物の生長に何らかの障害が発現するのではないかと思われる。し たがって、常緑の木本植物など寿命の長い植物が低濃度 SO₂に数年にわたって暴露されたときの牛 長変化を追求すれば、 SO₂暴露による生長抑制を観察できるようになるかもしれない。今後は、1 年以上にわたる長期暴露の植物影響を評価する手法を開発する必要がある。

なお、本調査は国立公害研究所陸生生物生態研究室と千葉県農業試験場公害研究室との共同研究 として実施されたものである。本文をまとめるに当たり、調査結果の解析を担当した項目について

-197-

第Ⅱ章を米山忠克¹,古川昭雄¹,第Ⅲ章を可知直毅¹,松丸恒夫²,第Ⅳ章を清水英幸¹,可知直毅¹, 森川昌記²,第 V章を名取後樹¹,高崎 強²が分担執筆し、これらの本文をもとに第Ⅰ章,第 Ⅵ章 をとりまとめた。分担執筆者の諸氏に感謝の意を表します。また、本調査に御協力いただいた国立 公害研究所技術部生物施設管理室の藤沼康美・町田 孝の両氏に感謝します。

引用文献

- 1. Ashenden, T.W. 1978. Growth reductions in cocksfoot (*Dactylis glomerata* L.) as a result of SO₂ pollution. Environ. Pollut, 15: 161-166
- Bennet, J. H. and A. C. Hill. 1973. Absorption of gaseous air pollutants by a standardized plant canopy. J. Air Pollut. Cont. Assoc. 23: 203-206
- 3. Bennet; J. H., A. C. Hill and D. M. Gates. 1973. A model for gaseous pollutant sorption by leaves. J. Air Pollut. Cont. Assoc. 23: 957-962
- 4. 十壤養分測定法委員会、 1975、土壤養分分析法、養賢堂
- 5. Hill, A. C. 1971. Vegetation: a sink for atmospheric pollutants. J. Air Pollut. Cont. Assoc. 21: 341-346
- Iwaki, H., M. Monsi and B. Midorikawa. 1966. Dry matter production of some herb communities in Japan. The 11th Pacific Science Congress, Tokyo, p. 1-15
- 7. Linzon, S. N. 1978. Effects of airborne sulfur pollutantes on plants. In Sulfur in the environment (edit. by J. O. Nriagu), p.482. Wiley Interscience, New York
- 8. Jackson, M. L. 1958. Soil chemical analysis. Constable, London
- 9. Martin, A. and F. R. Barber. 1971. Some measurements of loss of atmospheric sulphur dioxide near foliage. Atmos. Environ. 5: 345-352
- Matsumaru, T., T. Yoneyama, T. Totsuka and K. Shiratori. 1979. Absorption of atmospheric NO₂ by plants and soils. Soil Sci. Plant Nutr. 25: 255-265
- 11. Murphy, L. E. Jr., T. R. Sinclair and K. R. Knoerr. 1977. An assessment of the use of forests as sinks for the removal of atmospheric sulfur dioxide. J. Environ. Qual. 6: 388-396
- 12. Otsuki, A. 1978. A reactivation solution for a cooperized cadmium column in the automatic determination of nitrate in natural water. Analyt. Chem. Acta 99: 375-377
- 13. Perkins, H. C. 1974. Air Pollution, McGraw Hill Book Company, New York
- 14. Roberts, B.R. 1974. Foliar sorption of atmospheric sulphur dioxide by woody plants. Environ. Pollut. 7: 133-140
- 15. Sagi, T. 1966. Determination of ammonia in sea water by the indophenol method and its application to the coastland off shore waters. Oceanogr. Mag. 18: 43-51
- **16.** 斉藤隆幸・磯部誠之・永井良典・堀部淑子。1971. 牧草畑へのSQがスの附着量の推定。農業気象 26: 1~4
- 17. 佐藤俊・山家義人. 1973. 東京都内における樹木葉中の硫黄含有量と大気汚染度の関係「大気汚染による 農林作物被害の測定法に関する研究」農林水産技術会議特別研究成果 64. p. 7~13
- 18. Shimizu, H., A. Furukawa and T. Totsuka. 1980. Effects of low concentrations of SO₂ on the growth of sunflower. Res. Rep. the Nat. Inst. Environ. Stud. No. 11 (in press)
- 19. Stickland, J. H. and T. R. Parsons. 1968. Practical handbook of seawater analysis. Fish. Res. Bd. Canada. Bull., No. 167
- 20. Tingey, D. T. and R. A. Reinert. 1975. The effect of ozone and sulfur dioxide singly and in combination on plant growth. Environ. Pollut. 9: 117-122

- 21. 戸塚績・古川昭雄・名取俊樹:小川潔,1974. 足尾製錬所の周辺に生育する植物の葉内水溶性硫酸塩量に ついて「植物群落の物質代謝による環境保全に関する基礎的研究」論文集. p. 19~23
- 22. 字田川理・松岡義浩. 1973. 燃焼法による硫黄の定量「大気汚染による農林作物被害の測定法に関する研究」農林水産技術会議特別研究成果. 64. p. 7~13

Summary

The effects of air pollution on a growth of plant community and the function of plant community as a sink of air pollutant were investigated using the golden rod (Solidago altissima L.) community grown in the air polluted area of Chiba City near Tokyo. We found two sites with different conditions of air pollution, i.e. Samukawa and Nakanishi. The latter site was used as a control plot. The investigations were carried out from March to October, 1978. Vertical distribution of photosynthetic organs of the golden rod community was determined by stratified clipping method for 6 times at Samukawa and 5 times at Nakaishi. Using the obtained results of dry weight of plant organs, the growth analyses were made. The function of plant community as a sink of air pollutants was estimated by measuring the vertical change of sulfur content in the foliage.

The atmospheric concentration of SO_2 at Samukawa was always higher than at Nakanishi. The average concentration of SO_2 measured by PbO₂ method during June to October was 0.34 mg $SO_3/dm^2/d$ at Samukawa and 0.076 mg $SO_3/dm^2/d$ at Nakanishi. At Samukawa, the average concentration of SO_2 during June to October obtained by FPD method was 0.01 ppm. There was no distinct relationship between the atmospheric SO_2 concentration and the increase of sulfur content in foliage at unit ground area of the golden rod community grown at both sites. However, the sulfur content in leaves was remarkably higher at upper layers of the community at Samukawa. This phenomenon indicates a higher absorption rate of SO_2 in leaves situated in upper layers of the community. Therefore, it can be stressed that the golden rod community played a role as a sink of sulfur dioxide in the ambient atmosphere. There was no difference in dry matter production of the plant community on a ground area basis and in leaf area index between both sites. It was impossible to detect the air pollution effect on dry weight growth of golden rod community under low SO_2 concentrations as observed at Samukawa. This may suggest that the golden rod is a resistant species to SO_2 .

Key words: Plant growth, SO₂ absorption, Golden rod.

-199-

付 属 資 料

付図 1-5

寒川地区における 1978年7月24日~8月17日の風向,日射量, 気温の 変化(上図)と, CO₂濃度, SO₂濃度, NO, NO₂濃度およびO₃ 濃度の経 時変化(下図)

測定値はいずれも1時間平均値を示す。

Appended figures 1 - 5

Data of wind direction, radiation, air temperature (A series; upper figures) and concentrations of CO_2 , SO_2 , NO, NO₂ and O_3 (B series; lower figures) at Samukawa in Chiba City, obtained during July 24 to August 17, 1978. Shown as hourly mean values.

付図 6-15

寒川町と中西町における各調査日に3か所の方形枠で得られたセイタカアワ ダチソウ群落の生産機構図

葉,茎,根の乾重量および葉面積の値は50×50cmの方形枠でえられた値で ある。図中の●印は葉面積を,斜線部は根重量を示す。

Appended figures 6 - 15

Vertical distribution of photosynthetic (leaf) and non-photosynthetic (stem) organs of golden rod plant community sampled at three plots at Samukawa and Nakanishi on May 22, July 24, July 31, September 25 and October 30, 1978.

Dry weight of leaves, stems and roots and leaf area indicates values obtained on the quadrate of 50×50 cm². Closed circles indicate leaf area and hatched area shows root weight.



-201-



-202-



-203-



-204-



-205-



-206-





-207-









-209.--





-210-

国立公害研究所研究報告 第10号 (R-10-'79)

Research Report from the National Institute for Environmental Studies No. 10, 1979

II - 13

植物による大気汚染ガス収着機構の解析

SO2 の局所収着と可視害発現との関係

大政謙次¹ • 安保文彰¹

Analysis of air pollutant sorption by plants (1) Relation between local SO₂ sorption and acute visible leaf injury

Kenji OMASA¹ and Fumiaki ABO¹

要旨

SO2の植物への収着の機構とSO2に対する植物の抵抗性との関係を明らかにするために、葉面の各部位により異なる可視害発現を取りあげ、制御された環境下で実験を行い、解析した。得られた結果は次のように要約される。

(1) SO₂ 暴露に伴う植物の被害発現に至るまでの SO₂ 収着速度Qと単位水蒸気飽差 当たりの蒸散速度w'との比Q/w'と大気中の SO₂ 濃度 P_{as} との間には、 $Q/w' \approx 1.8 \times 10^{-3}P_{as}$ の関係が成立する。これは、モデル $Q/w' = (k_w/k_sk_s) \cdot (P_{as} - P_{1s})$ において $k_s = 1.53$ 、 $P_{1s} = 0$ vol ppm として計算した値と一致する。ただし、 P_{4s} ;気孔底界面での SO₂ 濃度, k_w ;飽和蒸気密度 - 飽和蒸気圧変換係数、 k_s ; SO₂ 濃度単位変換係数、 k_r ;葉面におけ る水蒸気の拡散抵抗と SO₂ の拡散抵抗との比

(2) 光, 温湿度, 風速等を一定に保った実験装置内で, SO₂ 暴露下における葉気温 差dTと蒸散速度Wとの間に線形関係が成立した。そして, その回帰係数は, -5.8×10^{5} cm²·s·°C/g であった。(1) で得られた関係と合わせて考えると, 葉温を 測定することにより蒸散速度すなわち気孔開閉の程度が推定され, 更にSO₂ 収着速度 を推定することができる。

(3) SO₂暴露下において、葉面の各部位における可視害発現の程度とその部位にお ける葉温の変化との間に密接な関係が認められた。すなわち、葉温の上昇が遅い部位 程、被害の程度が大きくなる傾向があった。これは、葉温上昇が遅い部位程気孔の閉 じる速度が遅く、葉温上昇が早い部位に比べてより多くのSO₂を収着するためと考え られる。

1. 国立公害研究所 技術部

^{1.} Division of Engineering, The National Institute for Environmental Studies, Tsukuba-gakuen, Ibaraki 305

緒言

植物の大気汚染害発現の程度は、収着量に寄与する重要な因子である濃度やドースに関連づけて 議論されることが多い(7,9,14,15)。しかし、葉面境界層、気孔開度、気孔底の界面の性質等 も物質移動を支配する重要な因子であり、汚染害発現に寄与すると考えられる。特に、種、エイジ、 葉面部位等が異なる場合、これらの諸因子の違いは顕著であろうと考えられる。それゆえ、種、エ イジ、葉面部位等の差による汚染害発現の違いに関係する生理的諸要因を解析するためには、その 前提として、物質移動にかかわるこれ等の諸因子の違いを明らかにしておく必要がある。

葉面境界層や気孔抵抗等に関係する汚染物質の気相での拡散については物質拡散のアナロジーに より、水蒸気やCO₂の拡散と同様に取り扱い得ることが知られている(1,8,16)。植物側の界面 の性質と濃度境界条件や界面抵抗等の界面での境界条件については、Hill(6)やBennett et al.(1) が水における溶解度との関係を報告している。Spedding(13)は、界面での境界条件については触 れていないが、界面を構成する物質の違いによる汚染物質の収着速度の違いを報告している。植物 の界面の性質の違いによる収着速度の違いについては、Fowler and Unsworth(2)の報告がある。 しかし、被害発現に至るまでの経時的な植物側の界面での境界条件についての報告は見当たらない。 一般に、界面での境界条件は、対象とする物質の界面における溶解度、植物体内での移動、代謝活 性、緩衡能等により異なり、実験的検討を必要とする。

この研究は、以上に述べた植物への汚染物質の収着の機構についての問題点を解析し、物質移動 にかかわる諸因子と植物の抵抗性との関係を明らかにしようとするものである。本報では、その第 一段階として、SO2 暴露に伴う植物の被害発現に至るまでの葉面でのSO2 収着速度と蒸散速度との 関係を実験により求め、さらに簡単なモデルを用いての経時的な界面での境界条件について解析を 試みた。また、その結果を用いて葉面の局所部位に発現する急性的な可視害に寄与する因子を検討 した。

材料および方法

材 料…実験材料としては、大気汚染ガス暴露実験にしばしば用いられるロシアヒマワリ(Helianthus annuus L c.v. Russian Mammoth)を選んだ。材料は、ファイトトロン(昼間:25℃,夜 間:20℃,70% RH,自然光)で、バーミキュライト、パーライト、ピートモス、小礫を2:2: 1:1の比でつめたポット(直径10 cm、高さ20 cm)に栽培し、播種後4~5週間(1個体の葉面 積:1000~2500 cm²,葉数:10~20枚)のものを用いた。

装 置…実験装置は、当研究所に設置されているガス暴露用グロースキャビネット(有効内容積: 2.3 (W)×1.7 (D)×1.9 (H); m³)を用いた(10)。本装置は、光源として陽光ランプを用い、 酸化鉄を含むリン酸ガラスフィルターにより約800 nm 以上の熱線を除去している。照度は、光源 下1.3mの位置で、全ランプ点灯時において40±5klxであった。装置内の温度、湿度、SO2 濃度の 制御精度は、それぞれ、±0.5℃、±3%RH、±0.04volppm 以下であり、装置内の平均風速は 0.22m/s(標準偏差:0.05m/s)であった。SO₂濃度の測定には、190~230nmの紫外線で励起 し、300~390nm のけい光強度を測定する分析計を使用した。

測定方法… SO₂ 収着速度は、一定濃度の SO₂を一定流量で装置内に供給し、装置内の SO₂ 濃度が 十分定常になった後、10個体のヒマワリを搬入し、その後の装置内の SO₂ 濃度の変化から計算した。 この方法は、ヒマワリ搬入時の装置内の状態の乱れが安定するのに15~30分程度必要とするが、そ の後の10個体総計での SO₂ 収着速度の経時変化を測定できる。実験の精度を上げるために、供給ガ スは、濃度が既知のボンベ詰めのものを用い、質量流量計により調節した。また、装置内の冷却除 湿コイルによる SO₂ 濃度への影響を除去するために、温湿度の制御は、電気ヒーターと加湿器のみ で行った。蒸散速度は、0.1gまで測定可能な上皿電子天秤を用いて測定した。その際、ポットを ビニール袋でおおい、土の表面からの蒸発を防いだ。葉温は、直径 0.1 mm の銅 ーコンスタンタン 熱電対を、水平に支持した葉の表面あるいは裏面に接着して測定した。なお、蒸散速度や葉温の測 定の際の材料の処理や熱電対の接着方法等は、各々の実験により異なるので、実験方法に詳述する。

実験方法… SO₂暴露下の植物の葉面での蒸散速度, SO₂収着速度, 葉気温差, 可視害発現の程度 等の関係を調べるために, SO₂暴露実験を3段階に分けて行った。具体的な実験方法は以下の様で あった。

実験 I … SO₂暴露下における葉気温差と蒸散速度の経時変化の同時測定 – SO₂暴露下における葉 気温差と蒸散速度との関係を調べるために葉気温差と蒸散速度の経時変化を同時に測定した。葉気 温差は、熱電対を1枚の葉の表裏にそれぞれ6対ずつ取り付けて測定した。この場合の材料として は、1個体のヒマワリの第5、6葉位の葉のみを残し、取り付けた24対の熱電対のSO₂暴露時にお ける葉気温差の変化のパターンが比較的均一なものを選んだ。これは、葉気温差と同時に測定され る蒸散速度が1個体での値であるので、この値と対比する1個体の平均葉気温差に対する各部位の 葉気温差の分散を小さくするための処置である。

実験Ⅱ…葉面でのSO₂収着速度と蒸散速度の経時変化の同時測定一SO₂暴露下におけるヒマワリ のSO₂収着速度と蒸散速度との関係を調べるために、ヒマワリに0.2~1.5 volppmの濃度のSO₂を 約5時間暴露し、10個体総計でのSO₂収着速度と蒸散速度の経時変化を同時に測定した。葉温は、 SO₂暴露前の葉の表面あるいは裏面にランダムに接着測定し、10個体の平均葉温を計算した。

実験 II... SO₂ 暴露に伴う葉面の各部位の葉温変化の測定と SO₂ 暴露後に発現する可視害の程度の 評価一葉面の局所部位に発現する急性の可視害に寄与する因子を検討するために, SO₂ 暴露時にお ける葉面の各部位における葉温の経時変化の測定とその部位に SO₂ 暴露後に発現する可視害発現の 程度の評価を行った。葉温は、ヒマワリ1個体を3段階の葉位に分け、それぞれの段階を代表する 葉位の葉の表面の葉肉部に6対の熱電対を接着し、測定した。また、可視害の程度は、SO₂を2時 間暴露した後、20時間経過した時点での熱電対の接着点を中心とする直径1cmの円内において可視 書部分の占める面積の割合を測定し、3段階に区分した。すなわち、全く可視害発現がない場合を
 (−) 記号で表示し、可視害部分の全面積に占める割合が0~1/2の場合を(+)、1/2~1の場合を(++)と評価した。

実験結果および考察

1)記 묽 E: 葉面における純放射 $cal/cm^2 \cdot s r_{wa}$: 水蒸気に関する境界層抵抗 s/cm S:葉面における顕熱伝達 cal/cm²·s r_{ws} :水蒸気に関する気孔抵抗 s/cm L:蒸発の潜熱 cal/g r_{sa}: SO₂に関する境界層抵抗 s/cm W:葉面における蒸散速度 g/cm²·s r_{ss} : SO₂に関する気孔抵抗 s/cm α。:葉面における短波放射の吸収係数 r₀ : SO₂に関する界面での抵抗 s/cm E_s :葉面における短波放射 $cal/cm^2 \cdot s$ r_a :葉面における境界層抵抗 s/cm E₁:葉面における長波放射の吸収 α : 風向に対する葉の傾きや風の乱れ等を、 $cal/cm^2 \cdot s$ 考慮した係数 2εσTl⁴:葉面からの長波放射 $cal/cm^2 \cdot s$ x:葉の前縁からの風方向の距離 cm 1:葉 長 ε:葉面における長波の射出率 cm a:ステファン・ボルツマンの常数 Sc:シュミット数 (1.37×10^{-12}) cal/cm²·s·[°]K⁴ Rer: xでのレイノルズ数 °C,°K D :相互分子拡散係数 Ta:気 温 cm²/s T/:葉 温 °C, °K D_s: SO₂と空気との相互分子拡散係数 °C ΔT :葉気温差($T_I - T_a$) cm²/s Dw:水蒸気と空気との相互分子拡散係数 hr:葉面における熱伝達係数 $cal/cm^2 \cdot s \cdot C$ cm²/s Q:葉面における SO₂ 収着速度 g /cm²·s $w': W/(X_s(T_I) - \varphi X_s(T_a))$ g /cm²·s·mmHg *X*_{*}(*T*):*T* ℃における飽和蒸気圧 mmHg ks: SO2濃度単位変換係数 (3.95×10^8) volppm·cm³/g (35°C) Pas::大気中の SO2 濃度 volppm k_{w} :飽和蒸気密度 – 飽和蒸気圧変換係数 Pis: 気孔底界面での SO₂濃度 volppm $(1.06 \times 10^{6}) \text{ mmHg} \cdot \text{cm}^{3}/\text{g}(35^{\circ}\text{C})$

2) SO2暴露下における葉気温差と蒸散速度との関係

Monteith (8) や Gates and Papian (3) 等によれば, 葉面における熱収支は一般に次式により与 えられる。

E = S + LW

(1)

-214-

式(1)において純放射Eは

$$E = \alpha_p E_s + E_l - 2\varepsilon \sigma T_l^4 \tag{2}$$

長波放射の吸収 E_1 は周囲壁面による黒体放射で、その温度が気温 T_a に等しいとすれば、 $2\sigma T_a$ となり、さらに葉の射出率を近似的に 1.0 として、次式を得る。

$$E = \alpha_{b}E_{s} + 2\sigma (T_{a}^{4} - T_{I}^{4}) \simeq \alpha_{b}E_{s} + 8\sigma (T_{a} - T_{I}) T_{a}^{3}$$
(3)

顕熱項Sは,

$$S = -2h_T(T_a - T_I) \tag{4}$$

ここで、 $(T_1 - T_a) = AT$ として、ATとWとの関係を求めると次式を得る。

$$\Delta T = -\{ L/(8\sigma T_a^3 + 2h_T) \} W + \alpha_p E_s / (8\sigma T_a^3 + 2h_T)$$
(5)








図2 図1の結果から求めた蒸散速度Wと葉気温差 ΔT の関係

Fig. 2 Relation between transpiration rate (W) and leaf-air temperature difference (ΔT) . Data were obtained from the results shown in Fig. 1.

3) 葉面におけるSO2 収着速度と蒸散速度との関係

植物への SO₂収着の機構を調べるために、ヒマワリの SO₂収着速度と蒸散速度との関係を実験に より調べた(実験II)。図3に材料を 0.2~1.5 volppm の間の4 段階の濃度(SO₂収着速度を装置 内の濃度変化から求めている関係で、20%程度の経時的な濃度変化を生じる)の SO₂に約5 時間暴 露したときの SO₂収着速度 Q と蒸散速度 W の経時変化の関係を示す。図中の数字(m_f)1,2,3,… は、SO₂暴露時間を表し、時間は $30m_f + 15\min(m_f = 1, 2, 3, ...)$ で計算される。例えば、 $m_f = 5$ は、暴露開始後 2 時間45分経過した時点での値であることを示している。図3 において、 1 と 1.5 volppm の濃度で、暴露時間の経過に伴って SO₂収着速度も蒸散速度も共に減少する現象 がみられた。その程度は、1volppmよりも1.5volppmの方が大きかった。また、0.65volppmでも顕著ではないがその傾向がみられた。可視害として、1と1.5volppmにおいて、ネクロシスやクロロシスの前兆である葉表面での水渗現象やその後の葉のしおれ等の現象がみられた。これ等の現象が発現し始めたのは、1.5volppmで暴露開始後約2時間、1volppmで約3時間経過した時点であった。しかし、図3で得られた関係には、測定時におけるSO2濃度の経時変化や蒸散速度の減少に伴う葉温上昇等の影響を含んでいる。そこで、これ等の影響を除去するために $Q/w' \ge P_{as}$ との関係として整理し直した。図4にその結果を示す。w'は

$$w' = W/(X_s(T_l) - \varphi \cdot X_s(T_a))$$
(6)

より計算されるが、これを求めるには、葉温が必要である。葉温は暴露開始前の値しか測定してい



- 図3 SO₂収着速度Qと蒸散速度Wの関係。SO₂濃度は約1.5volppm(a),約1 volppm(b),約0.65volppm(c),そして約0.2volppm(d)である。図中の数字1,2,3,…は暴露時間の経過を表す。気温35-36℃,湿度65%RH,照度20klx。
- Fig. 3 Relation between SO₂ sorption rate (Q) and transpiration rate (W) during SO₂ fumigation. The SO₂ concentration is about 1.5 volppm (a), about 1 volppm (b), about 0.65 volppm (c) and 0.2 volppm (d). The fumigation time (min) is calculated from $30m_f+15$, where m_f indicates the number in the figure. Air temperature, 35-36°C; humidity, 65% RH; light intensity, 20 klx.



図4 図3に示した結果から求めたガス濃度 PasとQ/w'の関係

Fig. 4 Relation between SO₂ concentration (P_{as}) and the ratio of SO₂ sorption rate divided by the water vapor pressure differences between gas-liquid interface in the leaf and the atmosphere (Q/w'). Data were obtained from the results shown in Fig. 3.

ないので,経時的な値は,実験(I)で得られた*4TとWと*の回帰係数~5.8×10⁵ cm²·s·°C/g を 用いて,蒸散速度の変化*4W*から葉温の変化を推定し,測定した暴露開始前の値に加算することに より求めた。式(5)によれば,気温の変化が回帰係数に影響するが,10°C程度の変化の場合,寄 与する割合は小さい。この方法で正確な葉温を推定することは困難であるが,*w*'を計算するための 平均葉温としての概算値は推定できよう。図4によれば葉表面における水参や葉のしおれ等の可視 害にかかわらず, *Q/w'とPas*の間に,近似的に*Q/w'* \approx 1.8×10⁻³*Pas*の関係が成立することが認め られた。この結果より,葉の表面での水参の状態等の特別な場合を除いて,ヒマワリの SO2収着の 主なものは気孔を通しての吸収であると考えられる。そして,SO2収着機構は,葉面における蒸散 機構(4,8)と同様に取り扱うことができよう。

次に、葉面における蒸散速度および SO2 収着速度に関する簡単なモデルにより、SO2 に関する植物体界面での境界条件について検討した。葉面における蒸散速度および SO2 収着速度は、気孔が両面にある場合それぞれ次式で近似される。

$$W = 2(X_s(T_l) - \varphi X_s(T_a)) / k_w (r_{wa} + r_{ws})$$
(7)

(8)

$$Q = 2(P_{as} - P_{ls}) / k_s (r_{sa} + r_{ss} + r_b)$$

-218-

式(6),(7),(8)よりQ/w'を求めると次式を得る。

$$Q/w' = \{k_w(r_{wa} + r_{ws})/k_s(r_{sa} + r_{ss} + r_b)\}(P_{as} - P_{ls})$$
(9)

式 (9) において、SO₂に関する界面での抵抗 r_a は、界面でのSO₂の吸収が急激な反応吸収と考えられるので $r_a \simeq 0$ s/cmと推定される。また、装置内においては、最大風速が 0.4 m/s ($Re = 5.3 \times 10^3$) であることより、葉面における境界層抵抗 r_a は局所および平均の場合について、それぞれ、次式で近似される (5, 12)。

$$r_a = 1 / (\alpha \cdot 0.332 \, Sc^{1/3} \cdot Re_x^{1/2} D / x) \quad (BM) \tag{10}$$

$$r_a = 1/(\alpha \cdot 0.664 Sc^{1/3} \cdot Re_l^{1/2} D/l) \quad (\mp 4)$$
(11)

また、 r_{ss}/r_{ws} 、 r_{ss}/r_{ws} には次式の関係が成立する(8)。

$$r_{sa}/r_{wa} = (D_s/D_w)^{-2/3} = 1.53$$
 (12)

$$r_{ss} / r_{ws} = (D_s / D_w)^{-1} = 1.89 \tag{13}$$

実測のデータに基づいて境界層抵抗を計算することは、葉数が多い場合、実際にはなかなかやっかいである。しかし、式 (12)、(13)で与えられる r_{sa}/r_{wa} 、 r_{ss}/r_{ws} を $r_{sa}/r_{wa} = r_{ss}/r_{ws} = k_r$ と仮定するならば、境界層抵抗を計算する必要がなくなり、 $r_b = 0$ として式 (9) は簡略化される。

$$Q/w' = (k_w/k_s k_r) \cdot (P_{as} - P_{ls}) \tag{14}$$

式 (14) の $k_w / k_s k_r \epsilon_k_r = 1.53 \ge k_r = 1.89$ について計算するとそれぞれ、 1.8×10^{-3} mmHg/volppm ($k_r = 1.55$), 1.4×10^{-3} mmHg/volppm($k_r = 1.89$) となる。この値は、図4で得られた回帰係数 1.8×10^{-3} mmHg/volppm とほぼ一致している。式 (14) に $k_r = 1.53$, $P_{Is} = 0$ volppmを代入して 計算すると $Q/w' = 1.8 \times 10^{-3} P_{as}$ を得る。 $k_w / k_s k_r$ は、実験の際の温湿度条件により若干変わる。 様である。図5に32℃, 50% RHと35.5℃, 65% RHの温湿度条件で得られたQ/w'を比較した結 果を示す。35.5℃, 65% RHに比べて、32℃, 50% RHのQ/w'方が小さい傾向があった。この原 因については、Q/w'そのものの変化、SO₂ 収着速度、温湿度、葉温等の測定あるいは推定誤差、 式 (5), (6) 等の近似モデルの精度等が考えられる。この問題に関する詳細な検討は今後の課題で あろう。また、ここで得られた結果は、約5時間程度のSO₂暴露実験に基づくものであり、数週間 あるいは数か月といった長期間暴露状態でのSO₂の収着については言及しなかった。しかし、この 問題は、フィールドでのSO₂ 収着量を推定するのに非常に重要であり、今後詳細な検討を必要とす

-219-

るが、手持ちのデータから推察すると、可視害発現が顕著になるまでは、ここで得られた結果が適 用できる様である。



- 図5 Q/w'に及ばす気温および湿度の影響。白丸(○)は気温 35.5℃, 湿度65% RHの条件下のデータ,黒丸(●)は気温 32℃,湿度50% RHの条件下のデ ータである。
- Fig. 5 Influences of air temperature and humidity on Q/w'. \circ denotes data at an air temperature of 35.5°C and a relative humidity of 65%. \bullet those at an air temperature of 32°C and a relative humidity of 50%.

4) 葉温測定による気孔開閉およびSO2収着速度に関する情報の抽出

葉温と水蒸気に関する気孔抵抗との関係は式(7)を式(5)に代入することにより得られる。

$$\Delta T = -L\{X_s(T_l) - \varphi X_s(T_a)\} / \{k_w (4\sigma T_a^3 + h_T) (r_{wa} + r_{ws})\}$$

$$+\alpha_{p}E_{s}/(8\sigma T_{a}^{3}+2h_{T})$$
⁽¹⁵⁾

実験装置内において、光環境、温湿度、風速等を一定に保つとすれば、 ΔT を測定することにより 水蒸気に関する気孔抵抗を推定することができる。なお、水蒸気に関する気孔抵抗とSO₂に関する 気孔抵抗は、式(13)により相互に変換可能である。また、先に得られた蒸散機構とSO₂収着機構 との関係を用いることによって、 ΔT から局所SO₂収着速度を推定することができる。この様な方 法は厳密な物質移動論としては問題点もあるが、実用上は差しつかえないと考えられる。

5) 葉面の局所部位に発現する可視害における気孔の役割

大気汚染物質に暴露された植物の可視害発現の状態は,葉位や葉面の部位等により異なることが 一般に知られている。しかし、その原因の解析例は皆無に等しい。その主要な理由の一つは、今ま で局所的にも正確な面情報に基づいた可視害の評価や、寄与すると予想される因子の定量化がなさ

-220 -



- 図6 SO2暴露下における葉気温差 4Tの経時変化およびそれぞれの部位における 可視害の程度(-,+,++)。気温26℃,湿度60% RH,照度40 klx。可視 害の程度は熱電対の接着点を中心とする直径10mmの円内において可視害の 面積の割合いで示す。-:可視害なし,+:可視害の面積の割合い1/2 未満, ++:可視害の面積の割合1/2 以上。
- Fig. 6 Time courses of leaf-air temperature difference (ΔT) during SO₂ fumigation and the degree of local visible leaf injury (-, +, ++) after fumigation under an air temperature of 26°C, a relative humidity of 60% and a light intensity of 40 klx. The degree of local visible leaf injury was estimated by measuring the ratio of injured leaf area in a circular area (10 mm in diameter) where a thermo-couple was set. denotes the ratio of injured leaf area being 0, + the ratio being less than 1/2, ++ the ratio being greater than 1/2.

れていなかったことによると考えられる。そこで、先に得られた結果を利用して、1~2volppm程度の高濃度のSO₂を暴露したときの種々の葉位の葉の各部位に発現する可視害の原因を局所収着量との関係から定量的に検討した(実験Ⅱ)。局所収着量は、先に述べた関係を利用し、葉温を測定することにより推定した。葉温の測定は熱電対を用いて行ったが、この方法は接触計測であるので、正確な局所情報を得るのに必ずしも好ましい方法ではない。しかし、得られた結果が本質を逸脱することはないと考えられる。図6に約2volppmのSO₂を暴露したときの同一葉位で異った部位における葉気温差の経時変化の典型的例を示す。各々の部位において、SO₂暴露前の葉気温差は -1.3~-1.7℃と比較的均一であったにもかかわらず、暴露時間の経過に伴って不均一になった。可 視害は,葉表面での水参現象,葉のしおれ,植物色素の退色,ネクロシスやクロロシスへと進行する が、この時点では,被害の兆候はみられなかった。しかし,暴露終了後20時間経過した時点では, ネクロシスやクロロシスの段階まで進行しており、これ以上被害の程度は大きくならない。この時 点での可視害発現の程度は,葉面の部位の違いにかかわらず,葉温上昇が遅い部位程大きかった。 実験装置内の環境は一定に保たれており,SO2を暴露しない場合の葉気温差(1点での測定値)は, 図7に示す様に一定に保たれる。それゆえ,各部位における葉気温差の上昇はSO2暴露の影響で気



図7 SO₂を暴露しない場合の葉気温差 *dT* の経時変化。気温26℃,湿度60% RH, 照度40 klx。





- 図8 SO₂暴露下の葉気温差*4T*の経時変化を数量化するためのモデル図。図中の 斜線部分の面積*A*, *B*を測定することによって, *4T*の変化の早さを評価す る。*4T*の変化が早い場合ほど, *A*/(*A*+*B*)の割合いは小さい。
- Fig. 8 Schematic representation of the response of leaf-air temperature difference (ΔT) , during SO₂ fumigation. The degree of response is indicated by the ratio of areas (A/(A+B)). A/(A+B) becomes small for a fast response.



図9 A/(A+B)と可視害の程度との関係

Fig. 9 Relation between A/(A+B) ratio, an index of the response of leaf-air temperature difference, and degree of local visible leaf injury (-, +, ++)

孔が閉じたことを示唆している。被害の程度と葉温上昇との関係を定量的に議論するために、これ 等を数量化した。被害の程度の表現は、実験Ⅲの方法によった。他方、葉温の時間的変化の数量化 は、図8に示すモデルによった。図に示された斜線部の全面積を(A+B)とし、葉気温差を示す 曲線によって、さらにAとBに区分した。A/(A+B)の割合が小さい程、SO2暴露時における葉 温の上昇が早いことを意味する。1個体での種々の葉位におけるA/(A+B)と可視害発現の割合 との関係を図9に示す。同一葉位においては、この面積比を用いた葉温上昇の早さと可視害の程度 との間に密接な関係が認められた。先に得られた蒸散速度、葉温変化および SO2収着速度相互間の 関係から、葉温上昇が遅い部位程気孔の閉じる速度が遅く、葉温上昇が早い部位に比べて、より多 くの SO2を収着すると考えられる。そして、葉面の各々の部位における気孔抵抗の変化が各部位に おける可視害発現の重要な因子であることを示している。

以上の人工環境下で得られた結論は、実際のフィールドにおいて現れる一見複雑にみえる現象も、 間接的にせよ収着量を示す尺度を導入することにより、整理される部分がかなり残されていること を示唆している。今後、個体レベルでの生理的諸要因の解析の前提条件として、これらの収着機構 にかかわる現象が明らかにされることが望まれる。

謝 辞

本研究にあたって貴重な助言をたまわった当研究所技術部の相賀一郎室長,生物環境部の戸塚 績 室長,近藤矩朗室長、古川昭雄博士、また、装置の維持管理および材料植物の栽培に携わっている 技術部の関係諸氏に心からの謝意を表する。

付 記

本報は農業気象学会誌に掲載された論文 (11) を構成し直したものである。

引用文献

- 1. Bennet, J. H., A. C. Hill and D. M. Gates. 1973. A model for gaseous pollutant sorption by leaves. Journal of the Air Pollution Control Association 23: 957–962
- 2. Fowler, D. and M. H. Unsworth. 1974. Dry deposition of sulphur dioxide on wheat. Nature 249: 389-390
- 3. Gates, D. M. and L. V. E. Papian. 1971. Atlas of energy budgets of plant leaves, p.3-16. Academic Press, New York
- 4. 長谷場徹也. 1973. 植物の蒸散に関する農業気象的研究. 愛媛大学農学部紀要. 18:1-141
- 5. 長谷場徹也. 1975. 風に揺れる葉形湿面からの水蒸気輸送. 農業気象. 31:135-143
- 6. Hill, A. C. 1971. Vegetation: a sink for atmospheric pollutants. Journal of the Air Pollution Control Association 21: 341-346
- 7. 岩切敏. 1974.大気汚染害.農業気象ハンドブック. p. 633-656 ,養賢堂,東京
- 8. Monteith, J. L. 1973. Principles of environmental physics, p.134-189. Edward Arnold, London
- 9. Mudd., J. B. 1975. Sulfur dioxide. In *Responses of plants to air pollution* (edit. by J. B. Mudd and T. T. Kozlowski), p.11-13. Academic Press, New York
- 10. 大政謙次・相賀一郎. 1976. 植物実験用グロースキャビネットにおける低濃度大気汚染ガス制御(I)低 濃度ガス制御のための空調プロセスと基本的ガス制御について、冷凍協会学術講演会講演論文集. 27~30
- 11. 大政謙次・安保文彰. 1978. 植物による大気汚染物質の収着に関する研究(I) SO₂の局所収着と可視障害 発現との関係、農業気象、34:51-58
- Parlange, J. Y., P. E. Waggoner and G. H. Heichel. 1971. Boundary layer resistence and temperature distribution on still and flapping leaves. Plant Physiology 48: 437-442
- 13. Spedding, D. J. 1969. Uptake of sulphur dioxide by barley leaves at low sulphur dioxide concentrations. Nature 224: 1229-1231
- 14. 谷山鉄郎・有門博樹. 1968. 作物のガス障害に関する研究 第1報 数種の作物の亜硫酸ガス濃度と薬面 破壊程度との関係. 日本作物学会紀事, 37:366~371
- Thomas, M. D. and G. R. Hill, Jr. 1935. Absorption of sulphur dioxide by alfalfa and its relation to leaf injury. Plant Physiology 10: 291-307
- Unsworth, M. H., P. V. Biscoe and V. Black. 1976. Analysis of gas exchange between plants and polluted atmospheres. In *Effects of air pollutants on plants* (edit. by T.A. Mansfield), p.5-16. Cambridge University Press, London

Summary

In order to investigate the relation between the gaseous pollutant sorption into the leaves and the power of resistance to the air pollution, the local SO_2 sorption into the leaf in relation to the degree of acute visible leaf injury was examined in an environmental control chamber. The results obtained were as follows.

-224-

(1) An equation for the relation between Q/w' and P_{as} was obtained as $Q/w' \simeq 1.8 \times 10^{-3} P_{as}$, where w' was transpiration rate divided by the water vapor pressure differences between gas-liquid interface in the leaf and the atmosphere, Q was SO₂ sorption rate and P_{as} was atmospheric SO₂ concentration. The result agrees with the equation which is obtained by a model, $Q/w' = (k_w/k_s k_r)$ $(P_{as} P_{ls})$ with $P_{ls} = 0$ volppm and $k_r = 1.53$, where P_{ls} is SO₂ concentration at gas-liquid interface in the leaf, k_r is the ratio of SO₂ diffusive resistance to water vapor diffusive resistance, k_w is a constant, 1.06×10^6 mmHg·cm³/g, and k_s is a constant, 3.95×10^8 volppm·cm³/g.

(2) Relation between leaf-air temperature difference and transpiration rate was obtained as a linear equation during SO₂ fumigation in the chamber, in which light intensity, air temperature, humidity, wind velocity and SO₂ concentration were kept constant, and the regression coefficient was -5.8×10^5 cm² s·°C/g. According to the results, the local transpiration rate which indicates the stomatal aperture is able to be estimated by measuring leaf temperature, and the SO₂ sorption rate can be estimated from obtained diffusive resistances.

(3) The degree of visible injury in a local area of the leaf to SO_2 fumigation had a correlation with the local changes of leaf temperature, that is, the slower the rise of leaf temperature in a local area was, the greater the degree of injury in the local area was. According to the results of (1) and (2), the rise of leaf temperature means a decrease of transpiration rate, stomatal closure and a decrease of SO_2 sorption rate. Therefore, the major cause of differences in the degree of visible injury seems to be the differences in SO_2 sorption rate at different sites in the leaf.

Key words: SO₂ sorption, Leaf injury, Leaf temperature

国立公害研究所研究報告 第10号 (R-10-'79) Research Report from the National Institute for Environmental Studies No. 10, 1979

∏−14

植物による大気汚染ガス収着機構の解析

(2)環境制御装置内植物のNO2およびO3収着速度の同時測定法について

大政謙次¹• 安保文彰¹• 船田 周²• 相賀一郎¹

Analysis of air pollutant sorption by plants (2) A method for simultaneous measurement of NO₂ and O₃ sorptions by plants in environmental control chamber

Kenji OMASA¹, Fumiaki ABO¹, Shu FUNADA² and Ichiro AIGA¹

要 旨

NO₂ + O₃ の混合ガス暴露の場合について,環境制御装置内のガス反応を考慮した 植物の汚染ガス収着速度の測定法の検討を行った。得られた結果は,次の様に要約さ れる。

(1) 測定用 チャンバー 内での NO₂ とO₃ のガス反応は、式(9)、(10) で表わさ れる。ここでの反応速度定数 k^{NO_2} , k^{O_3} は、空調条件により若干異なるが, $k^{NO_2} = 17.5$ m⁶·g⁻¹·s⁻¹, $k^{O_3} = 9.5$ m⁶·g⁻¹·s⁻¹ であった。これは、チャンバー内でのガス反応を NO₂ + O₃ → NO₃ + O₂, NO₃ + NO₂ + H₂O → 2HNO₃ と仮定した場合の反応速 度定数とほぼ一致していた。

(2)(1)で得られたガス反応を考慮した NO₂ + O₃の場合のガス収着速度の推定式 は式(11)で表わされる。式(11)における反応項 $B \cdot x_h$ と微分項 $C \cdot z_h$ は、ガス収 着速度の測定精度を高めるための補正項と考えられるが、反応項は静特性の補正に、 微分項は動特性の補正に効果がある。一例ではあるが、反応項の補正効果を調べたと ころ、反応項を考慮しない場合、定常状態で、NO₂で約20%、O₃で約30%の測定誤 差が生じたが、反応項を考慮することにより、NO₂、O₃ 共に5%以下の測定誤差で の測定が可能になった。他方、微分項の補正効果を調べたところ、分析計あるいはプ ロセスのノイズおよびノイズ除去のためのディジタルフィルターの時定数 T_c (式(5))

1. 国立公害研究所 技術部

2. Faculty of Agriculture, Ehime University, Matsuyama 790

^{2.} 愛媛大学 農学部

^{1.} Division of Engineering, The National Institute for Environmental Studies, Tsukuba-gakuen, Ibaraki 305

により影響を受け、定常と過渡で特性が異なることが分かった。すなわち、定常状態では、ノイズの影響により微分項がかえって測定誤差を助長し、誤差要因になる。しかし、*T*。を大きくするとノイズが平滑化され誤差が少なくなる。過渡状態では、*T*。が小さい場合には定常状態と同様にノイズの影響で、*T*。が大きい場合には、フィルターによる遅れの影響で誤差が大きくなる。しかし、最適な*T*。を選ぶことにより、*AP*/*T*₁₁·*C*₄ = 0.9×10⁻⁸ g·s⁻²·volppm⁻¹ 程度の過渡変化に対して、*IAE*/*4U* max 評価で10%以内の誤差での測定が可能であることが分かった。この場合、本装置における最適な*T*_eは、*T*_e=1~2minであった。

(3) 実際に, 植物の NO₂ 収着速度, O₃ 収着速度および蒸散速度の同時測定を行った。その結果, 植物反応に伴うガス収着速度の変化は, 最も大きい場合でも, 1.5×10^{-9} g·s⁻²·volppm⁻¹ 程度であり, (2)の結果から推察するに, 植物反応に対して 十分な追従性があり, 測定法および測定装置の有効性が確かめられた。

緒 言

都市域等の汚染された大気には、硫黄酸化物、窒素酸化物、光化学オキシダント等の種々の汚染 物質が混在している(9)。 複数成分の混合した汚染ガスによる植物影響に関する研究は、単一成 分の汚染ガスによる植物影響に関するものに比べれば少ないが、近年、多くの研究者により報告さ れるようになった(12,16,19,20)。 これらの複数成分の混合した汚染ガスによる植物影響に関 する研究、また、植物による大気浄化の予測モデルに関する研究の前提として、単一成分のガスの 場合と同様、植物による汚染ガスの収着の機構が明らかにされる必要がある(3,14,18)。

植物による汚染ガスの収着の機構を調べるためのガス収着速度の測定法としては,Hill(7,8) や Rogers *et. al.*(17)が単一成分の汚染ガスの場合について報告している。しかし,汚染ガスは 種類によって異なるが反応性に富む。また,混合ガス暴露下においては,ガス相互間の反応や,実 験装置内の熱交換器や壁面での反応等による測定精度への影響は顕著である。しかし,これらの反 応による影響を考慮した測定法に関する報告は見当たらない。

反応を考慮した混合ガス暴露下での汚染ガス収着速度の測定に際しては、次の条件が満たされる 必要がある。(1)装置内でのガス相互間の反応、熱交換器や壁面での反応、その他測定精度にか かわる現象が整理され、測定誤差の検討が十分なされていること、(2)対象となる個々のガス収 着速度および蒸散速度が同時測定可能なこと、(3)測定系が植物反応に対して十分な動特性を有 すること等である。著者らは、主要な汚染ガスである NO₂ + O₃ の混合ガス暴露の場合について、 国立公害研究所に設置されている汚染ガス暴露実験装置(1)を用いて、上記の条件を満たす測定 法の検討を行った。

測定法の原理

植物のガス収着速度を測定するための環境制御装置内における汚染ガスの流れを図1に示す。装置 内の空気の動特性が完全混合モデルであると仮定すると(4, 6, 11),ガス収支は次式で表される。

-228-

$$\frac{d(V \cdot C_d)}{dt} = F_i \cdot C_i - F_d \cdot C_d - P - R - D + U \tag{1}$$

ただし、V; チャンバー内容積 (13m³), F_i ; 新鮮空気取入れ量 (m³·s⁻¹), F_d ; 排気量(m³·s⁻¹), C_i ; 新鮮空気のガス濃度 (g·m⁻³, volppm), C_d ; チャンバー内ガス濃度 (g·m⁻³, volppm), P; 植物のガス収着速度 (g·s⁻¹, m³·volppm·s⁻¹), R; 反応速度 (g·s⁻¹, m³·volppm·s⁻¹), D; 外乱 (g·s⁻¹, m³·volppm·s⁻¹), U; ガス供給量 (g·s⁻¹, m³·volppm·s⁻¹), t; 時間 (s)。装置内の汚染ガスの反応には、ガス相互間の反応、熱交換器によるガス吸収、壁面へのガス 吸着等が考えられるが、反応系の複雑さから、一般にこれらのガス反応を正確かつ詳細な反応モデ ルとして確定することは困難である。そこで、簡便的に、ガス濃度に依存し、再現性のある反応を反応項*R*、その他を外乱項*D*と考える。*R*は、実験により求められるが、*N*成分ガス (C_d^1 , C_d^2 , …, C_d^N) による反応の場合、一般に次式で表される。

$$R \equiv R (C_d^1, C_d^2, \cdots, C_d^N)$$

n Disturbance Fresh air Exhaust air (C_i F_i) (Cd,Fd) Reaction Plant R Growth room Recycle Recycle exit nir inlet air Heat exchanger and Gas jet unit humidifier Manipulated Disturbance variable n

図1 環境制御装置内における汚染ガスの流れ

Ci:新鮮空気のガス濃度

- Ca: チャンバー 内ガス濃度
- F₁:新鮮空気取入れ量
- Fa:排気量

- *P*:植物のガス収着速度 U:ガス供給量
- D:外乱

R:反応速度

- Fig. 1 Schematic diagram of the material balance of air pollutants in an environmental control chamber
 - C_i : gas concentration of fresh air C_d : gas concentration of room and exhaust air
 - F_i : air flow rate of fresh air
 - F_d : air flow rate of exhaust air
- R : reaction rate which depends on gas concentration
- P : gas sorption rate of plants
- U : manipulated variable
- D : disturbance

(2)

式(2)を考慮して,式(1)を状態Sの近傍でテーラー展開し,2次以上の項を無視することに より線形化し,偏差をそれぞれ, *AC_i*, *AP*, *AD*, *AU* で表せば次式を得る。

$$V \cdot d\Delta C_d / dt = F \cdot \Delta C_i - F \cdot \Delta C_d - \Delta P - \sum \left(\frac{\partial R}{\partial C_d} \right)_s \cdot \Delta C_d^i - \Delta D + \Delta U$$
(3)

ただし、 添字Sは状態Sでの値、 AC_i , AC_d , AP, AD および AU はN成分ガスの中で測定対象と なるガス成分での値を示す。また、 $F_i = F_d = F$ とし、 F、 Vは一定と仮定する。

植物のガス収着速度の測定法としては、式(3)を用いて、装置内のガス濃度変化 ΔC_d から推定する手法と供給量の変化 ΔU から推定する手法が考えられる。本報では、ガス濃度変化から推定 する手法、特に、測定対象のガスを一定量供給し、装置内のガス濃度が十分定常になった後、植物 を搬入し、その後のガス濃度変化から推定する手法について述べる。この場合、供給量が一定に制 御されるので、 $\Delta U = 0$ である。さらに、新鮮空気に含まれる汚染ガスがフィルターにより十分に 除去される場合には、 $\Delta C_i = 0$ である。今、状態 S を植物を搬入する前の定常状態と仮定すれば、 ΔP , ΔC_d , ΔD 等は、植物を搬入した後の定常状態からの偏差を表す。以上の点を考慮し、式(3) より、植物のガス収着速度の変化量 ΔP を求めると次式を得る。

$$\Delta P = -F \cdot \Delta C_d - \sum \left(\frac{\partial R}{\partial C_d}^i \right)_s \cdot \Delta C_d^i - V \cdot d\Delta C_d / dt - \Delta D$$
(4)

ここで、状態Sすなわち植物を搬入する前の定常状態において、植物のガス収着速度PはP=0 で あるので上記のガス収着速度の変化量 4Pは、ガス収着速度と同義である。以後、 4Pをガス収着 速度とする。

実際に装置を用いてガス収着速度を測定する場合には、対象となるガス成分についての反応項 $\sum [\partial R/\partial C_{d}^{i}]_{s} \Delta C_{d}^{i}$ と外乱項 ΔD を実験により十分に検討する必要がある。そして、反応項につ いては、[$\partial R/\partial C_{d}^{i}$]_s を前もって求めておき、ガス収着速度の測定の際に使用する。他方、外乱項 については、その原因を調べ、 $\Delta D = 0$ と仮定できるような対策を施す。その他、 ΔC_{d} を測定す る際の分析計のノイズに対する対策が必要である。青木(2)は、光合成速度を測定する際、濃度 測定値の時間平均を用いる手法を提案している。この様に濃度測定値を平滑化して用いる手法は、 分析計のノイズのみならず、完全混合流モデルで代表されない空気流の高周波成分の除去にとって も効果がある。本報では、計算機で処理するために便利な、次式のディジタルフィルターを用いる。

 $\Delta \widehat{C}_{d_{h}} = \{ (2T_{c} - \tau) \} / (2T_{c} + \tau) \} \cdot \Delta \widehat{C}_{d_{h-1}} + \{ \tau / (2T_{c} + \tau) \} \cdot (\Delta C_{d_{h}} + \Delta C_{d_{h-1}})$ (5)

このフィルターは、アナログ系での時定数 T_eの1次遅れフィルターをディジタル化したものである。ただし、τはサンプリング周期、添字hは、サンプリング時点hでの値であることを示す。以上の点を考慮し、植物のガス収着速度を測定する際必要なガス収着速度の推定式を求めると次式を 得る。

$$\cdot \Delta \widehat{P}_{h} = -F \cdot \Delta \widehat{C}_{d_{h}} - \sum_{i} \left(\partial R / \partial C_{d^{i}} \right)_{s} \cdot \Delta \widehat{C}_{d_{h}}^{i} - V \cdot \left(\Delta \widehat{C}_{d_{h}} - \Delta \widehat{C}_{d_{h-1}} \right) / \tau$$
(6)

ここで、サンプリング周期では、プロセスおよびフィルターの遅れに対して十分小さい値をとる。

実験装置および方法

1) 環境制御装置

今回の実験には、当研究所に設置されている汚染ガス暴露実験装置(1)を用いた。この装置は、 植物に汚染ガスを暴露し、汚染ガス収着速度を測定するための測定用 チャンバー(グローズルー ム内容積: 2.3 (W)×1.7 (D)×1.9 (H); m³)、測定用チャンバーへ実験目的にあった新鮮 空気を安定した状態で供給するための給気処理装置および排気に含まれる汚染ガスを除去するため の排気処理装置で構成される。給気処理装置は、外気に含まれる汚染をフィルターにより除去する とともに新鮮空気の温湿度を制御する機能を有している。処理された新鮮空気の測定用 チャンバ ーへの供給量(換気量)Fは、自動ダンパにより高精度に調節される。測定用 チャンバー は、チ ャンバー 内循環空気の温湿度、および汚染ガス濃度を制御する機能を有している。また、循環空 気の風速は一定に保たれており、グロースルーム内で0.22m・s⁻¹(標準偏差0.05m・s⁻¹)である。

2) 測定法検討のためのDDCシステム

測定法の検討のための DDC(Direct Digital Control) システムのブロック線図を図2に示す。



- 図2
 DDC システムのブロック線図

 GS:ガス貯蔵所
 SU:ガスサンプリングユニット

 ST:安定化電源
 OGA:O3 分析計

 DIT:放電管
 NGA:NO2 分析計

 MFC:質量流量調節計
 DCS:ディジタルコンピューター

 ACF:活性炭フィルター
 GC:ガス噴射ユニット
- Fig. 2 Block diagram of DDC system
 - GS : gas storage
 - ST : stabilized power supply
 - DIT : discharge tube
 - MFC : mass flow controller
 - ACF : active carbon filter

SU: gas sampling unit in growth
roomOGA: O3 gas analyzerNGA: NO2 gas analyzerDCS: digital computer systemGC: gas jet unit in control chamber

このシステムでは、計算機が、 チャンバー 側の検出端あるいは操作端とオンラインで接続され、 実験目的に応じた任意のアルゴリズムによる解析が可能である。操作端では、既知濃度の供給ガス が、計算機からの操作信号に従って質量流量計により調節され、測定用 チャンバー に供給される。 ここで使用される供給ガスは、 NO₂が既知濃度のボンベ詰めガス、また、ボンベ供給のできない O₃ については、O₂ を原料に 無声 放電を利用した発生器により供給する方式で、できうる限り一定 濃度の供給が可能なシステムを選択した。そして、必要に応じて供給ガス濃度をモニターした。検 出端であるガス分析計の測定原理は、NO₂、O₃ 共にケミルミネッセンス法である。

3) 実験方法

主要な汚染ガスである NO₂ + O₃ の混合ガス暴露の場合について,先に述べた測定原理に基づく 測定法の検討を行った。具体的な実験方法は,以下の様であった。

実験 I …反応項の検討 — NO₂ (1.0 ~ 8.0 volppm) と O₃ (0.2 ~ 0.8 volppm) について,種 々の濃度の組み合わせ実験を行い,反応項の検討を行った。反応項Rは,換気量Fが一定の条件下 で,片方のガス濃度を一定値に制御し,他方のガス濃度の目標値を2時間ごとにプログラムで変化 させた場合の各濃度状態での NO₂ および O₃ のガス供給量の定常値Uから次式を用いて推定した。

$$R = U - F \cdot C_d \tag{7}$$

その際,空調系の影響を少なくするために, チャンバー内空気の温湿度,コイル表面温度および 新鮮空気の温湿度等を一定に制御した。

実験Ⅱ…ガス濃度に及ぼす空調系の影響の検討 – NO₂ + O₃ の混合ガス暴露の場合のガス濃度 に及ぼす空調系の影響の定性的な特性を調べた。測定用 チャンバー へ NO₂ および O₃を一定 量 供給し,ガス濃度が,十分定常になった後,チャンバー内空気の温湿度および熱交換器のコイル 表面温度を変化させ,その時の経時的なガス濃度変化を測定した。

実験 II … 測定精度の検討(I) NO₂ + O₃ の混合 ガス暴露の場合の本測定法における反応項 の効果に関する検討を行った。実験は、NO₂ および O₃ を一定量供給し、十分定常になった後、ヒ マワリ10個体のガス収着速度 4Pと同程度の NO₂ および O₃ の供給量を順次ステップで変化させ た。そして、その時のガス濃度変化から反応項を考慮した場合と考慮しない場合について測定誤差 を調べた。この場合、推定式における微分項は除いた。供給ガスの変化量 – 4U を、真のガス収着 量 4Pと考え、測定誤差 4P- $4\hat{P}$ を - 4U- $4\hat{P}$ で与えた。なお、 $4\hat{P}$ は、式(6)すなわち、式(11) により得られる。

実験IV…測定精度の検討(II) NO₂ + O₃の混合ガス暴露の場合の本測定法におけるディジタ ルフィルターおよび微分項の効果に関する検討を行った。図3に実験および測定精度の評価の手法 を表す概念図で示す。具体定には、O₃ 濃度が一定に制御された条件下で、NO₂を一定量供給し、十 分定常になった後、NO₂ 供給量を図3に示す様にステップあるいはランプで変化させた。そして、 その時のガス濃度変化から $\Delta \hat{P}^{NO_2}$ を推定し、さらに、次式で定義される真のガス収着速度とガス 収着速度の推定値の偏差の絶対値積分の時間平均値 IAEを用いて、推定値 $\Delta \hat{P}^{NO_2}$ の評価を行っ た。

$$IAE = \sum_{n=1}^{n} |\Delta \widehat{P}^{NO_2} + \Delta U^{NO_2}| \cdot \tau / T$$
$$= \sum_{n=1}^{n} |\Delta \widehat{P}^{NO_2} - \Delta P^{NO_2}| \cdot \tau / T$$
(8)

ただし、Tは、定常特性の評価の場合には、図3に示した区間 T_s 、過渡特性の評価の場合には、 区間 T_r を用いた。整数nは、 $n = T / \tau$ により得られる。また、サンプリング周期 τ は、区間 Tおよびディジタルフィルターの時定数 T_c に比べて十分小さな値 $\tau = 2 \sec$ を選んだ。

実験V…植物の蒸散速度,NO₂収着速度およびO₃収着速度の連続同時測定—実際に植物を用い て蒸散速度,NO₂収着速度およびO₃収着速度の連続同時測定を行った。NO₂収着速度およびO₃ 収着速度は、本測定法により、また蒸散速度は、0.1gまで測定可能な上皿電子天秤を用いて測定 した。実験材料としては、播種後6週間のロシアヒマワリ(*Helianthus annuus* L c.v. Russian Mainmoth) 10個体(全葉面積: 2.06×10⁴ cm²)を用いた。



- 図3 実験および測定精度の評価の手法を表す概念図。植物のガス収着量 Δ Pを供給ガスの変化量 Δ Uで与え、そのときのガス濃度変化から Δ Pを推定し、 測定精度の検討を行う。
- Fig. 3 Schematic representation for the evaluation of measurement error. ΔU denotes changes of manipulated variable, and $-\Delta U$ is net sorption rate (ΔP) . $\Delta \hat{P}$ denotes sorption rate calculated from Eq. (6), (cf. Eq. (11)). In the experiments, ΔU is manipulated as a step or lamp mode, and reliability of $\Delta \hat{P}$ is evaluated by *IAE* (Eq. (8)).

測定用チャンバー内におけるガス反応

1) NO₂+O₃の混合ガス暴露下における反応

大気中で生じる汚染ガスの化学反応については、数多くの報告がみられる(5,10)。 測定用チャンバー 内では、これらの大気中でのガス反応に加えて、熱交換器、調湿器、壁面等を含めた複雑な反応系が生起しているものと考えられる。しかし、 チャンバー 内でのガス反応については、不明な点が多い。そこで、植物によるガス収着を測定するための反応項を確定するという観点から、NO₂ + O₃ の混合ガス暴露下における チャンバー 内での反応についての検討を行った。

図4に実験Iにより得られた各濃度状態での NO $_2$ あるいは O $_3$ の反応速度を示す。図4 (a), (b)が NO₂濃度をプログラムで変化させた場合,同図(c),(d)が O₃濃度を変化させた場合 の結果である。濃度変化のプログラムを実行するのに約8時間必要とするが、その間に得られた各 濃度状態での NO2 の反応速度 R^{NO2} あるいは O3 の反応速度 R^{O3} とガス 濃度との間には、プログ ラム変化させたガスの種類には関係なく、線形関係が成立した。以上の結果より、反応速度 R^{NO}2 あるいは R^{o_3} と NO₂ 濃度 $C_d^{No_2}$ および O₃ 濃度 $C_d^{o_3}$ の間には、次式の関係が成立すると考えら れる。

$$R^{NO_2} = k^{NO_2} \cdot C_d^{NO_2} \cdot C_d^{O_3}$$
(9)

 $R^{0_3} = k^{0_3} \cdot C_d^{NO_2} \cdot C_d^{0_3}$



C_d^{NO2}(x10⁻²g·m 1,0 (×10⁻²g·m 3.0 3.0,00 0.5 05 ∕ Cd3reaction rate, R^{NO2} (x10⁻⁴9.5⁻¹) 50 01 51 55 52 (a) (b) 2.5 م⁷ 0.6 volpp rate, R^{0,} (×10⁻ 2.0 20 1.5 1.0 Eaction 0.5 0.2 volnor 00 k 0.2 volpom ඊ_{0.0} 2.0 4.0 6.0 8.0 10.0 0.0 2.0 4.0 6.0 8.0 10.0 NO₂ concentration, C^{NO₂}(volppm) NO₂ concentration, C_d^{NO₂} (volppm) $C_{d}^{O_{3}}(\times 10^{-3} \text{gm}^{-3})$ $C_{d}^{O_3}(\times 10^{-3} \text{ gm}^{-3})$ 0,0 15 reaction rate, R^{NO2} (x10⁴95¹) 0.5 1.0 0.0 0.5 n rate, R⁰3(x 10⁻⁴gs⁻¹) 20 210-4gs⁻¹) Cd^{NO2}= (c) (d) 30 volppm Cd^{NO}₂≃ volopr 20 votpp <u>6</u> 1.0 volpprr ٥ 10.000 gc 10 volppm 0.8 1.0 0.2 0.8 0.2 0.6 0.4 0.0 0.4 0.6 1.0 ŝ O_3 concentration, $C_d^{O_3}$ (volppm) O O3 concentration, Cd (volppm)

図 4

チャンバー内における NO2 と O3の反応速度 R^{NO2}, R^{O3} (a), (b)は O3 濃度を一定に制御しNO2 濃度を変化させた場合の結果.(c), (d)はNO2 濃度を一定に制御しO3 濃度を変化させた場合の結果である。

NO₂ reaction rate (RNO_2) and O₃ reaction rate (RO_3) in the chamber. (a) and (b) Fig. 4 were obtained from experiments in which NO₂ concentration was varied and O₃ concentration was maintained constant. (c) and (d) were obtained from experiments in which O₃ concentration was varied and NO₂ concentration was maintained constant.

これらの関係を確かめるために、図4で得られた結果を $R/C_{d}^{NO_{2}} \ge C_{d}^{O_{3}}$ との関係として整理した(図5)。図5の結果から式(9)および式(10)の関係が成立することが確かめられた。そして、図5における回帰係数すなわち式(9)、式(10)の反応速度定数 $k^{NO_{2}}$ および $k^{O_{3}}$ は、 $k^{NO_{2}} = 17.5m^{6} \cdot g^{-1} \cdot s^{-1}$, $k^{O_{3}} = 9.5m^{6} \cdot g^{-1} \cdot s^{-1}$ であり、 $k^{NO_{2}} \simeq 2 k^{O_{3}}$ の関係が成立した。さらに、この値を チャンバー 内容積 V で除し、単位容積当たりの反応速度定数 $k'^{NO_{2}}$ および $k'^{O_{3}}$ を求めれば、 $k'^{NO_{2}} = 1.3m^{3} \cdot g^{-1} \cdot s^{-1}$ (0.16 volppm⁻¹·min⁻¹)、 $k'^{O_{3}} = 0.7m^{3} \cdot g^{-1} \cdot s^{-1}$ (0.08 volppm⁻¹·min⁻¹)を得る。他方、チャンバー 内でのガス反応を NO₂ + O₃ → NO₃ + O₂, NO₃ + NO₂ + H₂O → 2HNO₃ と仮定し、反応速度定数を求めると $k'^{NO_{2}} = 0.164$ volppm⁻¹·min⁻¹, $k'^{O_{3}} = 0.082$ volppm⁻¹·min⁻¹ を得る(10)。この値は、チャンバー で得られた実験結果とほぼ一致している。このことから、チャンバー内で生成する反応生成物の大部分は、上記の反応により生じ、熱交換器で除湿された水と共に外部へ除去されるものと推定される。



- 図5 図4の結果から得られた $R / C_d^{NO_2} \geq C_d^{O_3}$ の関係
- Fig. 5 Relation between O₃ concentration $(C_d O_3)$ and the ratio of reaction rate to NO₂ concentration $(R/C_d NO_2)$. The data are obtained from the results in Fig. 4.

2) ガス反応に及ぼす空調系の影響

チャンバー内でのガス反応の反応速度定数は、 チャンバー内空気の温湿度および熱交換器の コイル表面温度等の空調系の変化に対して若干影響を受ける(実験Ⅱ)。 空調系の変化に対する影響の一例として,図6に チャンバー内空気の温度を25℃から30℃にステップで変化させた場合に



図 6- NO₂ と O₃の反応速度に及ぼす空調条件の影響

Fig. 6 Influence of air conditions on reaction of NO₂ and O₃. Mass flow rates of NO₂ and O₃ (U) were maintained constant.



図 7 空調系が一定に制御された場合の NO2 濃度と O3 濃度の経時変化

Fig. 7 Time course of NO_2 concentration and O_3 concentration, when air temperature, humidity, temperature on coil surface and mass flow rates of NO_2 and O_3 were maintained constant

ついて示す。 チャンバー 内空気の温度を変化させると、湿度およびコイル表面温度が変化し、同時に除湿量も変化する。この様な雰囲気の変化に対して、 NO₂ で 0.07volppm, O₃ で 0.01volppm の濃度変化が認められた。この原因については、温度変化に伴う反応速度定数の変化、コイル表面

での湿面の変化等種々の原因が考えられるが明確ではない。しかし、図7に示されるように、チャ ンバー内空気の温湿度、コイル表面温度および新鮮空気の温湿度等の空調系が一定の状態に制御 された場合には、ガス濃度の変化すなわちガス反応の反応速度定数の変化は認められなかった。こ のことから、実際に植物のガス収着速度を測定する場合には、空調条件を測定期間中一定に保つ必 要があり、各空調条件によって若干ではあるが変化する反応速度定数については、実験の都度求め る必要があることが明らかになった。しかし、反応速度定数は、先に得られたガス反応に関する知 見を利用すれば、状態Sすなわち植物搬入前の定常状態でのガス濃度およびガス供給量から式(9)、 (10)を用いて容易に推定できる。

測定精度の検討

NO₂ + O₃の混合ガス暴露下における各ガス成分に関するガス収着速度の推定式は、式(9)、(10) を式(6)に代入すれば得られる。2成分であるのでベクトル表示すれば、次式を得る。

$$\hat{P}_{h} = A \cdot x_{h} + B \cdot x_{h} + C \cdot z_{h}$$
(11)

$$\begin{aligned} \mathbf{f}_{c}\mathbf{f}_{c}\mathbf{f}_{c}, \quad \widehat{P}_{h} &= \begin{bmatrix} \frac{dP_{h}}{k} \frac{NO_{2}}{2} \\ d\widehat{P}_{h} \frac{O_{3}}{2} \end{bmatrix}, \quad \mathbf{x}_{h} &= \begin{bmatrix} \frac{dC_{d_{h}}}{k} \frac{O_{3}}{2} \\ d\widehat{C}_{d_{h}} \frac{O_{3}}{3} \end{bmatrix}, \quad \mathbf{z}_{h} &= \begin{bmatrix} \frac{dC_{d_{h}}}{k} \frac{O_{3}}{2} - \frac{dC_{d_{h-1}}}{2} \\ d\widehat{C}_{d_{h}} \frac{O_{3}}{2} - \frac{dC_{d_{h-1}}}{2} \end{bmatrix}, \\ \mathbf{A} &= \begin{bmatrix} -F & 0 \\ 0 & -F \end{bmatrix}, \quad \mathbf{B} &= \begin{bmatrix} -k \frac{NO_{2} \cdot C_{d}}{2} & -k \frac{NO_{2} \cdot C_{d}}{2} \\ -k \frac{O_{3}}{2} - \frac{k}{2} \frac{O_{3}}{2} \\ -k \frac{O_{3}}{3} - \frac{k}{2} \frac{O_{3}}{3} \\ -k \frac{O_{3}}{3} - \frac{k}{2} \frac{O_{3}}{3} \end{bmatrix}, \\ \mathbf{C} &= \begin{bmatrix} -V/\tau & 0 \\ 0 & -V/\tau \end{bmatrix} \end{aligned}$$

式(11)における反応項 $B \cdot x_h と 微分項 C \cdot z_h dt, 植物のガス収着速度の測定精度を高めるため$ の補正項と考えられるが、その機能はまったく異なる。すなわち、ガス収着速度は、式(11)によれば、チャンバー内のガス濃度変化を測定することにより求められるが、ガス濃度が変化すると、式(9)、(10)から明らかな様に、反応速度も変化する。それゆえ、正確なガス収着速度を求めるためには、反応速度の変化による誤差を補正する必要がある。この役割りをするのが、反応項であり、反応速度の変化に伴う定常偏差すなわち、静特性の補正に効果がある。他方、 チャンバー内のガス濃度は、ガス収着速度の変化に対して、式(2)から明らかな様に チャンバー 容積の大きさに起因する遅れを持つ。それゆえ、正確なガス収着速度を求めるためには、遅れによる誤差を補正する必要がある。この役割りをするのが微分項であり、ガス濃度の遅れに伴う過渡偏差すなわち、動特性の補正に効果がある。しかし、微分による補正であるので、ノイズに対して影響を受けやすい。一般に、これらの反応項および微分項による補正効果は、条件により異なり一様ではない。そこで、これらの微分項や反応項の効果について、実験 <math>mおよび実験Wにより検討した。

図8に実験Ⅲにより得られた反応項の効果についての例を示す。反応項の効果は,係数マトリッ

クス**B**がガス濃度に依存することから、ガス濃度が高い程補正効果が大きいといえる。図8において、反応項を考慮しない場合、NO₂で約20%、O₃で約30%の測定誤差($1 - dP/dU_{max}$)が生じたが、反応項を考慮することによりNO₂、O₃共に定常状態での測定誤差が5%以下になった。このことから、実際に植物のガス収着速度を測定する場合にも反応項の補正効果は十分に期待できる。

他方, 微分項は, プロセスあるいは分析計ノイズの影響を顕著に受けるため, これらのノイズ対 策との関係から補正効果を検討する必要がある。そこで, NO₂を例に実験IVにより微分項の効果を 調べた。図9にノイズ対策のために用いたディジタルフィルターの時定数 T_cと定常あるいは過渡状 態における微分項の効果との関係を示す。定常状態では, 微分項を考慮しない場合の方が, 微分項 を考慮した場合に比べて測定誤差が少なかった。特にディジタルフィルターの時定数 T_cが小さい場 合には顕著であった。これは, T_cが小さい場合には, ノイズの影響により微分項がかえって測定

٦



図8 ガス収着速度測定における反応項B·xhの効果
 (a), (c) は反応項B·xhを考慮した場合, (b), (d) は考慮しなかった場合の結果である。

Fig. 8 Effect of reaction term $(B \cdot x_h)$ on sorption rate (\hat{P}_h) . The sorpition rates of (a) and (c) are calculated from $A \cdot x_h + B \cdot x_h$, and those of (b) and (d) from $A \cdot x_h$.

誤差を助長し、誤差要因になることを示している。しかし、*T*。を大きくするとノイズが平滑化され 誤差が少なくなる。過渡状態においても、*T*。<1.0 minの場合には同様の傾向がみられた。しかし、 *T*。>1.0 minの場合には、*T*。を大きくすると誤差が増大した。これは、*T*。が大きい場合には、フィ ルターによる遅れで誤差が増大するためである。しかし、適切な*T*。を選べば、過渡特性が、微分項 を考慮しない場合に比べて微分項を考慮した場合、測定誤差の評価基準 *IAE* / $4U_m \& x^2$ で約2倍改善 され、*IAE* / $4U_m \& x^2$ <10% での測定が可能であることが分かった。

次に種々のガス収着速度の過渡変化に対する測定の追従性について検討した(実験IV)。図10に その結果を示す。図9の過渡特性の結果と同様にフィルターの時定数 T_c が小さい場合にはノイズの 影響で、また、 T_c が大きい場合にはフィルターによる遅れの影響で誤差が増大した。本装置におけ る最適なフィルター時定数 T_c を求めると、 T_{tt} あるいは AP^{NO_2}/T_{tt} で表わされる過渡変化の程度に かかわらず、 $T_c = 1 \sim 2$ min であった。そして、最適な時定数のフィルターを用いることにより、



図9 ガス収着速度測定における微分項*C*・z_hの効果

- (a), (b) は定常状態, (c), (d), (e)は過渡状態について評価した結果で, (a), (c) は式 (11) より計算した場合, (b), (d) は微分項 $C \cdot z_h$ を考慮し なかった場合の結果である。(e) は微分項および反応項 $B \cdot x_h$ を考慮しなか った場合の結果である。 T_s : 30min, T_{ts} : 20min, $dU_m^{NQ^2}$: 2.4 × 10⁻⁵g·s⁻¹, NO₂濃度 $C_{d_s}^{NO_2}$: 2.3 volppm, O₃濃度 $C_{d_s}^{O_3}$: 0.4 volppm
- Fig. 9 Effect of differential term $(C \cdot z_h)$ on sorption rate (\widehat{P}_h) . (a) and (b) are obtained in steady-state, and (c), (d) and (e) in transient conditions (Fig. 3), where the sorption rates of (a) and (c) are calculated from Eq. (11), those of (b) and (d) from $A \cdot x_h + B \cdot x_h$ and that of (e) from $A \cdot x_h$. Parameters: $T_{s'}$ 30 min; $T_{ts'}$ 20 min; $\Delta U_{max}^{riO_2}$ 2.4 × 10⁻⁵ g·s⁻¹; NO₂ concentration $C_{ds'}^{NO_2}$ 2.3 volppm; O₃ concentration, $C_{ds'}^{O_3}$, 0.4 volppm.

 $T_{tt} = 20 \min t$ なわち、 $\Delta P^{NO_2} / T_{tt} \cdot C_{d_s}^{NO_2} = 0.9 \times 10^{-8} \text{g} \cdot \text{s}^{-2} \cdot \text{volppm}$ 程度の過度変化に対して、 $IAE / \Delta U_{mS^2}$ 評価で10%以内の誤差で測定が可能であることが分かった。ここで、 $C_{d_s}^{NO_2}$ は、状態 S、 tなわち、植物を搬入する前の定常状態でのNO₂ 濃度を表す。



- 図10 ガス収着速度の過渡変化に対する測定の追従性
- Fig. 10 *IAE* in transient conditions. The sorption rate is calculated from Eq. (11). Parameters: T_{fs} , 20 min; $\Delta U_{max}^{NO_2}$, 2.4 × 10⁻⁵g·s⁻¹; NO₂ concentration, $C_{ds}^{NO_2}$, 2.3 volppm; O₃ concentration, $C_{ds}^{O_1}$, 0.4 volppm.

植物の蒸散速度, NO2 収着速度および O3 収着速度の同時測定

本測定法を用いて、実際に植物の汚染ガス収着速度を測定する場合の具体的な測定手順を図11に 示す。植物を搬入し、ガス収着速度を測定する以前に、空調方式、換気風量、化学反応速度定数等 を決定する必要がある。空調方式は、SO2の様に冷却除湿の影響が定量的に再現性のとれないガス の場合には、温湿度の制御を多少犠性にしても冷却除湿を用いない空調方式を選択する必要がある (13, 14)。しかし、NO2+O3の場合の様に冷却除湿を含めたガス反応に再現性がある場合には、 冷却除湿を用いた空調方式の選択が可能である。換気風量は、反応を伴わないガスのガス収支から 推定する。化学反応速度定数は、測定対象とするガスの反応を十分検討する必要があるが、NO2+ O3の場合には先に述べた知見を利用し、式(9)、(10)より推定する。これらの特性は握を行った 後、チャンバー内のガス濃度が定常になっているかどうかを確かめ、植物を搬入し、測定を開始 する。測定終了後,植物を搬出し、ガス濃度が植物搬入前の状態に回復することを確かめる。回復 しない場合には,原因を確かめ再度実験を繰り返す。

以上の測定手順に従って、 $NO_2 + O_3$ の混合ガス暴露下における蒸散速度、 NO_2 収着速度および O_3 収着速度の同時測定を行った。図12にその結果の例を示す。植物反応に伴うガス収着速度の変 化は、最も大きい場合でも、 1.5×10^{-9} g·s⁻²·volppm⁻¹程度であり、図10の結果から推察するに、 植物反応に対して十分な追従性があり、測定法および測定装置の有効性が確かめられた。



図11 植物の汚染ガス収着速度測定手順

Fig. 11 Flow chart for simultaneous measurement of air pollutant sorptions. C_{d_s} and C_{d_o} in the figure denote gas concentrations in steady-state. C_{d_s} is the initial value and C_{d_o} is the value after plants are removed from the chamber.



- 図12 蒸散速度,NO2収着速度の同時測定の結果
 気温30℃,湿度60%RH,照度40klx,NO2濃度約2volppm,O3濃度約0.5
 volppm
- Fig. 12 Example of simultaneous measurement of transpiration rate, NO₂ sorption rate and O₃ sorption rate of plants. Conditions: air temperature, 30°C; humidity, 60% RH; light intensity, 40 klx; NO₂ concentration, $C_{d_s}^{NO_2}$, about 2 volppm; O₃ concentration, $C_{d_s}^{O_3}$, about 0.5 volppm.

謝 辞

本研究に当たって貴重な助言をたまわった当研究所技術部の松本 茂氏,また,装置の維持管理 および材料植物の栽培に携わっている技術部の関係諸氏に心からの謝意を表する。

付 記

本報は農業気象学会誌に掲載された論文(15)を構成し直したものである。

- 1. 相賀一郎・大政謙次・小林雄一. 1980. 国立公害研究所植物実験用環境調節施設. 最新空調設備・空調方 式実例集. 経営開発センタ. 印刷中
- 2. 青木正敏. 1978. 環境制御室内作物の光合成速度の動的測定法. 農業気象 34:1-6
- 3. Bennett, J.H. and A.C. Hill. 1975. Interactions of air pollutants with canopies of vegetation. In *Responses* of plants to air pollution (edit. by J.B. Mudd and T.T. Kozlowski), p.273-306. Academic Press, New York
- 橋本 康・大政謙次・船田 周, 1975. 植物育成用グロースキャビネットにおける空調システムの計算機 制御(Ⅲ)冷凍 50:792-805
- 5. Hecht, T.A. and J.H. Seinfeld. 1972. Development and validation of a generalized mechanism for photochemical smog. Environmental Science and Technology 6: 47-57
- Hemmi, P. 1969. Temperatur-und Feuchteverhalten klimatisierter Räume. Schweizerische Blätter für Heizung und Lüftung. Heft 1: 8-14
- 7. Hill, A.C. 1967. A special purpose plant environmental chamber for air pollution studies. Journal of the Air Pollution Control Association 17: 743-748
- 8. Hill, A.C. 1971. Vegetation: a sink for atmospheric pollutants. ibid. 21: 341-346
- 9. 環境庁編. 1978. 環境白書 昭和53年度版. p. 121-206. 大蔵省印刷局
- 10. 近藤次郎編. 1975. 大気汚染 現象の解析とモデル化. p. 129-202. コロナ社
- 11. Nakanishi, E., N.C. Pereira, L.T. Fan and C.L. Hwang. 1973. Simultaneous control of temperature and humidity in a confined space Part 1. Building Science 8: 39-49
- 12. 日本公衆衛生協会, 1977. 大気汚染の植物影響に関する調査報告書, p.115-129. 日本公衆衛生協会
- 13. 大政謙次・相賀一郎, 1976. 植物実験用グロースキャビネットにおける低濃度大気汚染ガス制御(I). 冷凍協会学術講演会講演論文集. p.27-30
- 14. 大政謙次・安保文彰、1978. 植物による大気汚染物質の収着に関する研究(1)、農業気象 34:51-58
- 大政謙次・安保文彰・相賀一郎. 1979. 環境制御装置内植物のNO2およびO3収着速度の同時測定法について. 農業気象 35:31-40
- 16. Reinert, R. A., A. S. Heagle and W. W. Heck. 1975. Plant responses to pollutant combinations. In Responses of plants to air pollution (edit. by J.B. Mudd and T.T. Kozlowski), p. 159-177. Academic Press, New York
- Rogers, H. H., H. E. Jeffries, E. P. Stahel, W. W. Heck, L. A. Ripperton and A. M. Witherspoon. 1977. Measuring air pollutant uptake by plants: a direct kinetic technique. Journal of the Air Pollution Control Association 27: 1192-1197
- Unsworth, M. H., P. V. Biscoe and V. Black. 1976. Analysis of gas exchange between plants and polluted atmospheres. In *Effects of air pollutants on plants* (edit. by T. A. Mansfield). p. 5-16. Cambridge University Press, London
- Wellburn, A. R., T. M. Capron, H.S. Chan and D. C. Horsman. 1976. Biochemical effects of atmospheric pollutants on plants. In *Effects of air pollutants on plants* (edit. by T. A. Mansfield). p. 105-114. Cambridge University Press, London
- 20. 山添文雄, 1976. 植物におよぼす大気複合汚染の影響, 遺伝 30. No. 7, 31-36

Summary

A method for simultaneous measurement of NO_2 and O_3 sorption rates of plants in an environmental control chamber was examined. Namely, NO_2 and O_3 reactions in the chamber were identified and an equation for calculation of the sorption rates, which took the reactions of gases into consideration, was examined. The results obtained were as follows.

(1) NO₂ reaction rate R^{NO_2} and O₃ reaction rate R^{O_3} in the chamber were given by

-243-

$$\mathcal{C}^{\mathrm{NO}_2} = k^{\mathrm{NO}_2} \cdot C_d^{\mathrm{NO}_2} \cdot C_d^{\mathrm{O}_3},$$

$$R^{O_3} = k^{O_3} \cdot C_d^{NO_2} \cdot C_d^{O_3}$$
,

where k^{NO_2} is the rate constant of the NO₂ reaction, k^{O_3} is the rate constant of the O₃ reaction, $C_d^{NO_2}$ is the NO₂ concentration and $C_d^{O_3}$ is the O₃ concentration. The value of k^{NO_2} was about 17.5 m⁶·g⁻¹·s⁻¹ and k^{O_3} was about 9.5 m⁶·g⁻¹·s⁻¹, and these values were slightly influenced by the air conditioning system. The results were nearly equal to the rate constants of the reactions of NO₂ + O₃ \rightarrow NO₃ + O₂ and NO₃ + NO₂ + H₂O \rightarrow 2HNO₃.

(2) An equation for the calculation of gas sorption rates in $NO_2 + O_3$ was given by

$$P_h = A \cdot x_h + B \cdot x_h + C \cdot z_h$$

where,

$$\hat{\boldsymbol{P}}_{h} = \begin{pmatrix} \Delta \hat{P}_{h}^{NO_{2}} \\ \Delta \hat{P}_{h}^{O_{3}} \end{pmatrix}, \quad \boldsymbol{x}_{h} = \begin{pmatrix} \Delta \hat{C}_{dh}^{NO_{2}} \\ \Delta \hat{C}_{dh}^{O_{3}} \end{pmatrix}, \quad \boldsymbol{z}_{h} = \begin{pmatrix} \Delta \hat{C}_{dh}^{NO_{2}} - \Delta \hat{C}_{dh-1}^{NO_{2}} \\ \Delta \hat{C}_{dh}^{O_{3}} - \Delta \hat{C}_{dh-1}^{O_{3}} \end{pmatrix},$$

$$\boldsymbol{A} = \begin{pmatrix} -F & 0 \\ 0 & -F \end{pmatrix}, \quad \boldsymbol{B} = \begin{pmatrix} -k^{NO_{2}} \cdot C_{d}^{O_{3}} & -k^{NO_{2}} \cdot C_{d}^{NO_{2}} \\ -k^{O_{3}} \cdot C_{d}^{O_{3}} & -k^{O_{3}} \cdot C_{d}^{NO_{2}} \end{pmatrix}_{S}, \quad \boldsymbol{C} = \begin{pmatrix} -V/\tau & 0 \\ 0 & -V/\tau \end{pmatrix}$$

and

$$\Delta \widehat{C}_{dh} = \{ (2T_c - \tau) / (2T_c + \tau) \} \cdot \Delta \widehat{C}_{dh-1} + \{ \tau / (2T_c + \tau) \} \cdot (\Delta C_{dh} + \Delta C_{dh-1}),$$

and where $d\hat{P}_{h}^{NO_{2}}$ is the NO₂ sorption rate, $d\hat{P}_{h}^{O_{3}}$ is the O₃ sorption rate, F is the ventilation flow rate, V is the volume in the chamber, τ is a sampling time, $\Delta C_d^{NO_2}$ is the change in NO₂ concentration from the initial condition and $\Delta C_{d}^{O_3}$ is the change in O₃ concentration. The suffix h denotes the values at time h $\cdot \tau$ and S denotes the values in the steady-state before plants are placed in the chamber. The reaction term $B \cdot x_h$ and the differential term $C \cdot z_h$ in the equation are correction terms to obtain the exact sorption rates. The $B \cdot x_h$ term corrects the static characteristics, and the $C \cdot z_h$ term corrects the dynamic characteristics. As an example, the effect of $B \cdot x_h$ on static characteristics was examined. If $B \cdot x_h$ was not considered, errors in the measurements of the sorption rates would be 20% of $\Delta U_{\max}^{NO_2}$ and 30% of $\Delta U_{\max}^{O_3}$, where $\Delta U_{\max}^{NO_2}$ and $\Delta U_{\max}^{O_3}$ are given in Fig. 3. By considering $B \cdot x_h$, the errors were reduced to 5%. Effects of the $C \cdot z_h$ term on dynamic characteristics were also examined. The effect of $C \cdot z_h$ depended upon the time constant T_c of the digital filter and noise of the process and the gas analyzer. In the steady-state, the errors were increased by C^*z_h . However, increase of T_c tended to reduce the noise, because the noise was smoothed by the filter. In transient conditions, the error was increased by the noise', like steadystate with small T_c and also by the lag time of the filter in the case of large T_c . By choosing an optimal T_c , however, the error was reduced to within 10% (IAE/ ΔU_{max}) to changes in $\Delta P/T_{tt} \cdot C_{ds}$ = 0.9×10^{-8} g⁻² ·s ·volppm⁻¹. where T_{tt} was given in Fig. 3. In the system, the optimum value of T_c was found to be $1 \sim 2 \min$.

(3) Rates of transpiration, NO₂ sorption and O₃ sorption were measured simultaneously. The fastest change of gas sorption rate of plants was approximately $1.5 \times 10^{-9} \text{ g} \cdot \text{s}^{-2} \cdot \text{volppm}^{-1}$. Therefore, the method of measurement and the system described here may have satisfactory dynamic characteristics.

Key words: $NO_2 + O_3$, Plant sorptions, Simultaneous measurement

国立公害研究所研究報告 第10号 (R-10-'79) Research Report from the National Institute for Environmental Studies No. 10, 1979

∏ −15

植物による大気汚染ガス収着機構の解析

(3) NO_2 , O_3 あるいは $NO_2 + O_3$ 暴露下における収着について

大政謙次¹・安保文彰¹・名取俊樹²・ 戸塚 績²

Analysis of air pollutant sorption by plants (3) Sorption under fumigation with NO₂, O₃ or NO₂ + O₃

Kenji OMASA¹, Fumiaki ABO¹, Toshiki NATORI² and Tsumugu TOTSUKA²

要 旨

主要な大気汚染物質であるNO₂およびO₃の単一あるいは混合ガス暴露下における 植物のNO₂およびO₃ 収着の機構を調べるために、制御された環境下でヒマワリを用 いてガス暴露実験を行い、ガス収着速度、蒸散速度、葉温等の経時変化を測定した。 そして、簡単なモデルによりガス収着の機構についての解析を行った。得られた結果 は次の様に要約される。

(1) NO₂, O₃単一あるいはNO₂ + O₃ 混合ガス暴露により、気孔の閉鎖および葉面 に可視害の発現する現象がみられた。これらの現象発現の程度は、ガス濃度が高い程 顕著であり、また、暴露ガスの組成により異なっていた。 NO₂およびO₃単一ガス暴 露の場合について、これらの現象が発現し始める濃度を比較すると、NO₂濃度の方が、 O₃濃度よりも10倍程高かった。また、NO₂ + O₃ 混合ガス暴露の場合には、単一ガ ス暴露でこれらの現象が認められない低濃度域において現象が生じるという"複合汚 染効果"が認められた。なお、SO₂を含めた可視害発現および気孔閉鎖に関するNO₂、 O₃、およびSO₂の害作用の程度は、O₃ > SO₂ > NO₂であった。

(2) NO₂およびO₃の単一あるいは混合ガス暴露に伴う*Q/w'とPa*との間には、 $Q^{NO_2}/w' \simeq 1.4 \times 10^{-3} \cdot P_a^{NO_2}$, $Q^{O_3}/w' \simeq 1.5 \times 10^{-3} \cdot P_a^{O_3}$ の関係が成立した。 の関係は、植物の被害発現や暴露ガスの組成に影響されなかった。また、この関係は、 モデル*Q/w'* = $(k_w/k_g \cdot k_r) \cdot (P_a - P_l)$ において、 $P_l \simeq 0$ volppmとして得られ る式にほぼ一致した。以上により、NO₂およびO₃についての植物側界面での境界条 件としてのガス濃度は、0 volppm、と仮定でき、NO₂およびO₃のガス収着速度が、

1. 国立公害研究所 技術部

2. 国立公害研究所 生物環境部

^{1.} Division of Engineering, The National Institute for Environmental Studies, Tsukuba-gakuen, Ibaraki 305

^{2.} Division of Environmental Biology, The National Institute for Environmental Studies, Tsukubagakuen, Ibaraki 305

境界層抵抗や気孔抵抗等の気相での拡散に関与する因子に支配されることが明らかに なった。

緒 言

大気汚染物質の収着源としての植物群落の重要性が多くの研究者によって報告されている(3, 13,16)。植物による汚染物質の収着は、大気中および植物側界面での汚染物質の濃度とその間の 物質拡散抵抗によって支配される。植物による汚染物質の収着機構を解明し、収着予測モデルを作 成するためには、汚染物質の収着を支配するこれらの因子の検討が必要である。

葉面境界層や気孔等における気相での大気汚染ガスの拡散については、水蒸気やCO₂の拡散と同様に取り扱い得ることが知られている(2,9,16)。しかし、植物側の濃度境界条件や界面抵抗等の界面での境界条件に関する報告は少なく不十分である。筆者らは、文献(10)で植物側界面での境界条件に関する問題点を指摘し、SO₂の単一ガス暴露の場合における界面での境界条件について検討した。しかし、他の汚染物質について、単一あるいは混合ガス暴露の場合の被害発現に至るまでの界面での境界条件を比較検討した報告は見当たらない。そこで、本報では、主要な大気汚染物質である NO₂ および O₃の単一あるいは混合ガス暴露の場合について、植物のガス収着速度と蒸散速度との関係を実験により求め、さらに、簡単なモデルを用いて被害発現に至るまでの界面での境界条件についての

材料と方法

材料;実験材料としては、ファイトトロン(昼間:25℃,夜間:20℃,70% RH,自然光) で、バーミキュライト、パーライト、ピートモス、小礫を2:2:1:1の比でつめたポット(直 径10cm、高さ20cm)に、播種後4~6週間栽培したロシアヒマワリ(1個体の葉面積:1500~ 2500 cm²、葉数:15~25枚)を用いた。

装置;実験には、当研究所に設置されている汚染ガス暴露実験装置を用いた(1)。装置内の温湿度の制御精度は、±0.5℃、±3% RHであり、NO₂およびO₃ 濃度の制御精度は、設定値に対して、共に±0.5%以内であった。また、装置内の平均風速は、0.22ms⁻¹、照度は、光源下1.3mの位置で、全ランプ点灯時において40±5klxであった。NO₂およびO₃ 濃度の測定には、ケミルミネッセンス法の分析計を用いた。

測定方法; NO₂あるいはO₃単一ガス暴露の場合の植物によるガス収着速度は,一定濃度のガス を一定流量で装置内に供給し,装置内のガス濃度が十分定常になった後,10個体のヒマワリを搬入 し,その後の装置内のガス濃度変化から計算した。他方,NO₂ + O₃の混合ガス暴露の場合には, 一方のガス濃度を一定に制御し,他方のガス濃度について単一ガス暴露の場合と同様な方法で測定 した。その際,装置内での反応によって失われる NO₂,O₃ 量を前もって求めておき,収着速度の 計算の際に補正した(11)。蒸散速度は,秤量法により,葉温は,直径0.1mmの鍋-コンスタン タン熱電対により測定した。

実験方法; NO₂, O₃単一あるいはNO₂ + O₃ 混合ガス暴露下の植物葉面での蒸散速度, 葉気温 差, NO₂収着速度, O₃収着速度等の関係を調べるために, ガス暴露実験を2段階に分けて行った。 具体的な実験方法は以下の様であった。

実験I;実験装置内植物のガス暴露に伴う蒸散速度と葉気温差の経時変化の同時測定-大気中と 気孔底との間の単位水蒸気圧差当たりの蒸散速度 w'を算出する際必要な葉温を蒸散速度Wと気温 から推定する近似式を求めるために、O3暴露下(0.4 volppmで2時間暴露の後0.8 volppmで3 時間暴露)で、植物5個体の蒸散速度と葉気温差の経時変化を同時に測定した。葉気温差は、40対 の熱電対を40枚の葉の表面にランダムに接着して測定し、5個体の平均葉温を算出した。

実験 II ; 植物のガス収着速度と蒸散速度の経時変化の同時測定 $-NO_2$, O_3 単一あるいは, NO_2 + O_3 混合ガス暴露下での植物の NO_2 あるいは O_3 収着速度と蒸散速度との関係を調べるために. $NO_2(0.2 \sim 6 \text{ volppm})$, $O_3(0.2 \sim 0.8 \text{ volppm})$ の単一あるいは混合ガスに植物を約5時間暴露 し、10個体当たりの NO_2 あるいは O_3 収着速度と蒸散速度の経時変化を同時に測定した。

実験結果および考察

1)	記	号
• /		

W	:葉面における蒸散速度	$g \cdot cm^{-2} \cdot s^{-1}$	P_{l}	:気孔底界面でのガス濃度 volppm
T _a	:気 温	°C	$P_l^{NO_2}$:気孔底界面でのNO2濃度 volppm
T_I	:葉 温	°C	$P_l^{o_3}$:気孔底界面でのO₃濃度 volppm
4 T	:葉気温差(T _I – T _a)	°C	r _{wa}	:水蒸気拡散に対する境界層抵抗s・cm ⁻¹
Q	:葉面におけるガス収着速度	g•cm ⁻² •s ⁻¹	r _{ws}	:水蒸気拡散に対する気孔抵抗 s・cm ⁻¹
Q^{NO_2}	:葉面におけるNO2収着速度	g•cm ⁻² •s ⁻¹	r _{ga}	:ガス拡散に対する境界層抵抗 s・cm ⁻¹
Q^{O_3}	: 葉面における0₃収着速度	g•cm ⁻² •s ⁻¹	r _{gs}	:ガス拡散に対する気孔抵抗 s・cm ⁻¹
$X_s(T)$): T℃における飽和蒸気圧	mmHg	Dw	:水蒸気と空気との相互分子拡散係数
φ	:相対湿度			cm ² •s ⁻¹
Pa	:大気中のガス濃度	volppm	Dg	:ガスと空気との相互分子拡散係数
$P_a^{\text{NO}_2}$:大気中のNO2濃度	volppm		cm ² •s ⁻¹
$P_a^{O_3}$:大気中の0₃濃度	-volppm	k _a	:葉面の境界層構造や気孔の数等に関係
Mw	:水蒸気の分子量			する比例定数
M_{g}	: ガスの分子量		w'	$: W \neq \{X_s(T_i) - \varphi X_s(T_a)\}$
kg	:ガス濃度単位変換係数			g •cm ⁻² •s ⁻¹ •mmHg ⁻¹
•	$(NO_2; 5.40 \times 10^8, O_3; 5.18 \times 10^8, k_w$ $SO_2; 3.88 \times 10^8) \text{volppm} \cdot \text{cm}^3 \cdot \text{g}^{-1} (30^\circ \text{C})$		k _w C)	: 飽和蒸気密度-飽和蒸気圧変換係数 (1.05×10 ⁸)mmHg・cm ³ ・g ⁻¹ (30℃)

-247-

2) 実験装置内植物の蒸散速度と葉気温差との関係

植物のガス収着機構と蒸散機構を比較検討するためには、ガス収着速度と蒸散速度の他に葉温を 同時測定する必要がある。しかし、実験IIのガス収着速度の測定の際、その都度、植物10個体の平 均葉温を熱電対により測定することは非常に厄介である。そこで、葉温の推定式を求めることにし た。

光環境,気温,風速,植物の設置条件等を一定に保った場合、実験Iにより得られたO₃暴露に 伴う装置内植物の蒸散速度Wと葉気温差 ΔT の経時変化の関係は、図1で表される。O₃暴露時間 の経過に伴って、実験装置内植物のWは減少し、 ΔT は上昇する。そして、Wと ΔT との間には線 形関係が成立した。この関係はガスの種類には依存しない。この結果を利用して、実験IIにおいて 測定された蒸散速度Wから、葉温 T_i を推定するための式を求めると次式を得る。

 $T_{I} = -6.4 \times 10^{5} \cdot W + T_{a} + 2.2$

 (\mathbf{i})

この方法で正確な葉温の経時変化を推定することは困難であるが、w'等を計算するための平均葉 温としての概算値は推定できよう。

3) 植物の NO2 あるいは O3 収着速度と蒸散速度との関係

植物のNO₂およびO₃収着の機構を調べるために、NO₂、O₃単一あるいはNO₂+O₃混合ガス 暴露下におけるヒマワリのガス収着速度と蒸散速度との関係を実験により調べた(実験II)。図2 ~図5に実験より得られたガス収着速度Qと蒸散速度Wの経時変化の関係を示す。図2がNO₂単一



- 図1 O₃暴露下における蒸散速度Wと葉気温差 *4*Tの関係。気温30℃,湿度60% RH,照度40 klx。
- Fig. 1 Relation between transpiration rate (W) and leaf-air temperature difference (ΔT) during O₃ fumigation. Each point is the mean value of data and vertical bars indicate standard deviation of each point. Conditions: air temperature, 30°C; humidity, 60% RH; light intensity, 40 klx.

ガス暴露(0.2~6 volppm)の場合のNO₂収着速度Q^{NO₂}とWとの関係、図3がO₃単一ガス暴露 (0.2~0.8 volppm)の場合のO₃収着速度Q^{O3}とWとの関係、図4がNO₂+O₃混合ガス暴露 (NO₂; 1~4 volppm,O₃; 0.2 volppm)の場合のNO₂収着速度Q^{NO₂}とWとの関係、図5がNO₂. +O₃混合ガス暴露(NO₂; 1 volppm,O₃; 0.2~0.6 volppm)の場合のO₃収着速度Q^{O3}とWとの関係を表す。図中の数字(m_f) 1,2,3……はガス暴露経過時間を表し、暴露経過時間は、60・ m_f -20min(m_f =1,2,3,……)で計算される。ここで得られた結果は、測定法に起因する測定時におけるガス濃度変化の影響を含んでいるが、ほぼ一定濃度下での実験値であるといえる。単一あるいは混合ガス暴露下におけるガス収着速度と蒸散速度の経時変化は、汚染ガスの種類や濃度によって程度の差はあるが、暴露時間の経過に伴って減少する傾向が多くの場合に認められた。そし



- 図2 NO2単一ガス暴露下におけるNO2収着速度Q^{NO2}と蒸散速度Wの関係。NO2 濃度は、約6 volppm(a)、約4 volppm(b)、約2 volppm(c)そして約0.2 volppm(d)である。図中の数字1.2.3……は暴露時間の経過を表す。気 温30℃、湿度55-60% RH、照度40 klx。
- Fig. 2 Relation between NO₂ sorption rate (Q^{NO_2}) and transpiration rate (W) during NO₂ fumigation. The NO₂ concentration is about 6 volppm (a), about 4 volppm (b), about 2 volppm (c) and about 0.2 volppm (d). The fumigation time (min) is calculated from 60 mf-20, where mf indicates the number in the figure. Conditions: air temperature, 30° C; humidity, 55-60%RH; light intensity, 40 klx.

て、その程度は、ガス濃度が高い程大きかった。気象条件が一定の場合には、蒸散速度の変化を気 孔開度の指標とみなしてよいことから、上述の現象の主要な原因は、汚染ガスの影響による気孔の 閉鎖であると考えられる。各ガス成分について減少傾向が明瞭な場合のガス濃度をあげると、NO₂ 単一ガスの場合で $\hat{6}$ volppm (図2)、O₃単一ガスの場合で0.4,0.6,0.8 volppm (図3)、NO₂+ O₃の混合ガスの場合でNO₂;1,2,4 volppm,O₃;0.2 volppm (図4),O₃;0.2,0.45,0.6 volppm,NO₂;1.0 volppm (図5)であった。

また、葉面に発現する可視害として、ガスの種類や濃度により程度の差はあるが、ネクロシスの 前兆である葉面での水渗現象やその後の葉のしおれ等の現象がみられた。これらの現象が発現し始 めたのは、NO₂単一ガス6volppmで暴露開始後約4時間(図2)、O₃単一ガス0.6volppmで約4



- 図3 O₃単一ガス暴露下におけるO₃収着速度Q^{O3}と蒸散速度Wの関係。O₃濃度は、 約0.8 volppm(a),約0.6 volppm(b),約0.4 volppm(c) そして約0.2 volppm(d)である。図中の数字1,2,3……は暴露時間の経過を表す。 気温30℃,湿度60% RH,照度40 klx。
- Fig. 3 Relation between O₃ sorption rate (Q^{O₃}) and transpiration rate (W) during O₃ fumigation. The O₃ concentration is about 0.8 volppm (a), about 0.6 volppm (b), about 0.4 volppm (c) and about 0.2 volppm (d). The fumigation time is calculated from the same equation as explained in Fig. 2. Conditions: air temperature, 30°C; humidity, 60% RH; light intensity, 40 klx.

時間、0.8 volppmで約2時間(図3)、NO₂ + O₃混合ガスNO₂; 2 volppm, O₃; 0.2 volppmで 約3時間, 4 volppm、0.2 volppmで約2時間(図4), 1.0 volppm, 0.6 volppmで約4時間(図 5)経過した時点であった。また、本報での処理条件の範囲内で上述の濃度域以外においては、約 5時間の実験期間中可視害発現は認められなかった。以上の結果を比較すると、単一ガス暴露の場 合、NO₂の1/10程度のO₃濃度で可視害の発現および蒸散速度を気孔開度の指標としてみた場合 の気孔の閉鎖が認められた。また、混合ガスの場合には、単一ガスの場合に可視害発現や気孔の閉 鎖が認められない濃度域の組み合わせの場合においても、可視害が発現し、気孔が閉じるという "複合汚染効果"が認められた。なお、文献(10)のSO₂の場合、1 volppm約3時間の時点で可視 害が発現し、0.65 volppmで気孔が閉じ始めたことから、可視害発現および気孔の閉鎖に関する



- 図4 NO₂ + O₃混合ガス暴露下におけるNO₂収着速度Q^{NO2}と蒸散速度Wの関係。
 NO₂濃度は,約4 volppm(a),約2 volppm(b) そして約1 volppm(c)である。O₃濃度は0.2 volppm一定である。図中の数字1,2,3……は暴露時間の経過を表す。気温30℃、湿度55-60% RH,照度40 klx。
- Fig. 4 Relation between NO₂ sorption rate (Q^{NO2}) and transpiration rate (W) during NO₂ + O₃ fumigation. The NO₂ concentration is about 4 volppm (a), about 2 volppm (b) and about 1 volppm (c). The O₃ concentration is maintained constant (0.2 volppm). The fumigation time is calculated from the same equation as explained in Fig. 2. Conditions: air temperature, 30°C; humidity, 55-60%RH; light intensity, 40 klx.

 NO_2 , O_3 , SO_2 の害作用は, O_3 が最も強く, SO_2 , NO_2 の順であることが認められた。しかし, "複合汚染効果"を含めて,可視害発現や気孔開閉に関するより詳細な検討は今後の課題である。

図2~図5で得られたガス収着速度Qと蒸散速度Wとの関係には、測定時におけるガス濃度の経時変化や蒸散速度の減少に伴う葉温上昇等の影響を含んでいる。そこで、これらの影響を除去するために、 $Q/w' \geq \pi z$ 濃度 $P_a \geq o$ 関係として整理し直した。図6、図7にその結果を示す。図6は、NO₂単一(図2)あるいはNO₂+O₃混合ガス暴露(図4)下における $Q^{NO_2}/w' \geq P_a^{NO_2} \geq o$ 関係、図7は、O₃単一(図3)あるいはNO₂+O₃混合ガス暴露(図5)下における $Q^{O_3}/w' \geq P_a^{O_3} \geq o$ 関係を表す。w'は、



- 図5 NO₂ + O₃混合ガス暴露下におけるO₃収着速度 Q^{O3} と蒸散速度 W の関係。 O₃濃度は約0.6 volppm (a),約0.45 volppm (b) そして約0.2 volppm (c) である。NO₂濃度は 1.0 volppm 一定である。図中の数字 1,2,3 ……は暴 露時間の経過を表す。気温30℃,湿度60% RH,照度40 klx。
- Fig. 5 Relation between O_3 sorption rate (Q^{O_3}) and transpiration rate (W) during $NO_2 + O_3$ fumigation. The O_3 concentration is about 0.6 volppm (a), about 0.45 volppm (b) and about 0.2 volppm (c). The NO_2 concentration is maintained constant (1.0 volppm). The fumigation time is calculated from the same equation as explained in Fig. 2. Conditions: air temperature, 30°C; humidity, 55-60%RH; light intensity, 40 kkx.
$$w' = W / \{ X_s(T_l) - \varphi \cdot X_s(T_a) \}$$
(2)

より計算されるが、これを求めるには、葉温が必要である。葉温は、前述の方法により式(1)を 用いて計算した。図6および図7によれば、葉面における水漆現象や葉のしおれ等の可視害発現や 単一あるいは混合ガスのいかんにかかわらず、 $Q/w' \geq P_a$ の間に、近似的に、 $Q^{NO_2}/w' = 1.4$ ×10⁻³・ $P_a^{NO_2}$ 、 $Q^{O_3}/w' = 1.5 \times 10^{-3} \cdot P_a^{O_3}$ の関係が成立した。この結果より、ヒマワリのNO₂ あるいはO₃の収着の機構は、葉面における蒸散機構(4.9)と同様に取り扱うことができよ う。



- 図 6 NO₂単一あるいはNO₂+O₃混合ガス暴露下における $Q^{NO_2} / w' \geq P_a^{NO_2}$ の関係。この関係は図 2. 図 4 に示した実験結果から得られた。
- Fig. 6 Relation between NO₂ concentraton $(P_a^{NO_2})$ and the ratio of NO₂ sorption rate to transpiration rate divided by the water vapor pressure differences between gas-liquid interface in the leaf and the atmosphere (Q^{NO_2}/w') . Data were obtained from the results shown in Figs. 2 and 4.



- 図7 O_3 単一あるいはNO₂+O₃混合ガス暴露下における $Q^{o_3} / w' \ge P_a^{o_3}$ の関係。 この関係は図3,図4に示した実験結果から得られた。
- Fig. 7 Relation between O_3 concentration $(P_a^{O_3})$ and the ratio of O_3 sorption rate to transpiration rate divided by the water vapor pressure differences between gas-liquid interface in the leaf and the atmosphere (Q^{O_3}/w') . Data were obtained from the results shown in Figs. 3 and 5.

4) 収着モデルによる解析

葉面における蒸散速度およびガス収着速度に関する簡単なモデルにより、NO2あるいはO3に関する植物側界面での境界条件について検討した。葉面における蒸散速度およびガス収着速度は、それぞれ次式で近似される。(10)。

$$W = k_a \cdot \{X_s(T_l) - \varphi \cdot X_s(T_a)\} / \{k_w \cdot (r_{wa} + r_{ws})\}$$
(3)

$$Q = k_{a} \cdot (P_{a} - P_{l}) / \{ k_{g} \cdot (r_{ga} + r_{gs}) \}$$
(4)

ただし;

$$r_{gg} / r_{wg} = (D_g / D_w)^{-2/3}$$
 (5)

$$r_{a*} / r_{ws} = (D_a / D_w)^{-1}$$
 (6)

空気中でのNO₂やO₃等の相互分子拡散係数は、Lennard–Jonesの分子モデルを用いたHirschfelder らの理論式(6)によってよく表されることが知られている。しかし、ここでは便宣的に D_g / D_w を次式により近似した。

$$D_{g} / D_{w} = (M_{g} / M_{w})^{-1/2}$$
(7)

式(7)は、簡便的な式ではあるが、空気中での種々のガス成分についての相互分子拡散係数(7, 15)から求めた値と比較的よく一致する。

実験結果との比較を容易にするために、 $r_{ga} / r_{wa} = r_{gs} / r_{ws} = k_r と仮定し、式(2) ~ (4)$ よりQ / w'を求めると次式を得る。

$$Q \neq w' = (k_m \neq k_r) \cdot (P_a - P_l) \tag{8}$$

式(8)の $k_w / k_g \cdot k_r \epsilon_{NO_2}, O_3$ およびSO₂について計算した結果を表1に示す。表1には比較のため図6.図7および文献(10)で得られたNO₂.O₃,SO₂に関する $Q / w' \geq P_a$ の比例定数を付記した。NO₂.O₃およびSO₂共に計算された $k_w / k_g \cdot k_r$ と実験により求められた比例定数はほぼ一致している。

表1 $k_w / k_s \cdot k_r$ と実験により求められた $Q / w' \ge P_a$ の比例定数

Table 1 Comparison between the values of $k_w/k_g \cdot k_r$ which were calculated from equation (8) and the coefficients of Q/w' and P_a which were obtained by experiment. The values of $k_w/k_g \cdot k_r$ for NO₂, O₃ and SO₂ were calculated by assuming $r_{ga}/r_{wa}=r_{gs}/r_{ws}=k_r$. The coefficients of Q/w' and P_a for NO₂ and O₃ were obtained from the data in Figs. 6 and 7 and the coefficient for SO, was obtained from literature data (10).

			kw/kgkr		
	rga/rwa	rgs/rws	kr = rga/rwa	k _r = r _{gs} /r _{ws}	(experiment)
NO2	1.37	1.60	mmHg·volppm ⁻¹ 1.42 × 10	mmHg.volppm3 1.22×10	mmHg-volppm ⁻¹ 1.4 × 10
03	1.39	1.64	1.46 × 10 ⁻³	1.24×10^{-3}	1.5×10^{-3}
S O ₂	1.53	1.89	1.77 × 10 ⁻³	1.43 × 10 ⁻³	1.8 × 10 ⁻³

以上の結果は、主要な大気汚染ガスである NO₂および O₃についての植物側界面での境界条件が、 可視害発現や単一あるいは混合ガス暴露のいかんにかかわらず、SO₂の場合と同様 $P_1^{NO_2} \simeq 0$ volppm、 $P_1^{O_3} \simeq 0$ volppmと仮定でき、NO₂および O₃のガス 収着速度が、境界層抵抗や気孔抵抗等 の気相での拡散に関与する因子に支配されることを示している。Rich et al (14) も、O₃暴露下で 暗条件から明条件にした場合の豆の葉のO₃収着速度と水蒸気拡散に関する気孔抵抗を測定し、気 孔抵抗がO₃収着を支配する主要な因子であることを報告している。Hill(5)は、アルファルファ 群落を用いた種々の単一汚染ガスの1~2時間程度の暴露実験の結果をもとに、種々の汚染ガスの 水に対する溶解度とガス収着速度を比較し、概して、溶解度の大きいガスの方が、ガス収着速度も 大きいことを報告している。Hillの実験結果は、気孔抵抗を測定していないので一概に比較できな いが、 $NO_2 \ge O_3$ の収着速度は同程度とみなせる。Bennett et al.(2)は、植物側界面での境界条 件の設定に気液平衡に関する Henryの法則を適用したガス収着予測モデルを提案し、ガス収着にお ける溶解度やそれに関連しての溶液濃度の重要性を報告している。しかし、単に汚染ガスの水に対 する溶解度で、植物によるガス収着の機構を説明することはできない。例えば、水に対する溶解度 が比較的大きいSO2についてみると、文献(10)よりヒマワリは、1.5 volppm、5時間の暴露で 約1.4×10⁻⁵g・cm⁻²のSO₂を収着する。実験に用いたヒマワリ葉の生重量(約0.03g・cm⁻²)が、 すべて水であると仮定し、水に対する溶解度の気液平衡(8)から、界面でのSO2濃度を計算する と、おおよそ 1.5×10^3 volppm を得る。この値は、暴露濃度1.5 volppm に比べて非常に高い値で ある。O3あるいはNO2の場合には、溶解度(NO2の場合は分解能力)がSO2に比べて小さいこと から、計算により求められる界面でのガス濃度は、SO₂の場合よりもさらに高い値になる。以上の ことは、植物側界面での境界条件、すなわち、溶液濃度を支配する主要な要因が、水に対する溶解 度ではなく、植物体内の代謝、移動、その他溶液濃度を下げる機能であることを示唆している。し かし、Hill(5)の結果から推察するに、溶解度は直接あるいは間接的に溶液濃度を下げる機能に 関係している。いずれにせよ,先に得られた実験結果は,水渗あるいはしおれ等の可視害発現に至 るまで、これらの溶液濃度を下げる機能が、植物側界面での境界条件 Plをおおよそ0 volppm に下 げるに十分な能力を有していることを示している。

謝 辞

本研究に当たって貴重な助言をたまわった当研究所技術部の相賀一郎室長,生物環境部の古川昭 雄博士,また,装置の維持管理および材料植物の栽培に携わっている技術部の関係諸氏に心からの 謝意を表する。

付 記

. 1

本報は、農業気象学会誌に掲載された論文(12)を構成し直したものである。

引用文献

- 1. 相賀一郎・大政謙次・小林雄一, 1980. 国立公害研究所植物実験用環境調節施設. 最新空調設備・空調 方式実例集,経営開発センタ.印刷中
- 2. Bennett, J.H., A.C. Hill and D. M. Gates. 1973. A model for gaseous pollutant sorption by leaves. Journal of the Air Pollution Control Association 23: 957-962
- 3. Bennett, J.H. and A.C. Hill, 1975. Interactions of air pollutants with canopies of vegetation. In Responses of plants to air pollution (edit. by J.B. Mudd and T.T. Kozlowki), P.273-306. Academic Press, New York
- 4:長谷場徹也 1973 植物の蒸散に関する農業気象的研究.愛媛大学農学部紀要 18:1 141
- 5. Hill, A.C. 1971. Vegetation: a sink for atmospheric pollutants. Journal of the Air Pollution Control Association 21: 341-346

- 6. Hirschfeleder, J.O., C.F. Curtiss and R.B. Bird. 1954. Molecular theory of gases and liquids. John Wiley & Sons, New York
- 7. 化学工学協会編、1971、物性定数、8. p.229-230、丸善。
- Landolt-Börnstein. 1962. Zahlenwerte und Funktionen aus Physik, Chemie, Astronomie, Geophysik und Technik. 6 Auflage. II Band. 2 Teil. Bandteil b. Lösungsgleichgewichte I,p. 1-26. Springer-Verlag, Berlin
- 9. Monteith, J.L. 1973. Principles of environmental physics, p. 134-189. Edward Arnold, London
- 10. 大政謙次・安保文彰. 1978. 植物による大気汚染物質の収着に関する研究(I)SO2の局所収着と可視 障害発現との関係. 農業気象 34:51-58
- 11. 大政謙次・安保文彰・相賀一郎. 1979. 環境制御装置内植物のNO₂およびO₃収着速度の同時測定法に ついて、農業気象 35:31-40
- 12. 大政謙次・安保文彰・名取俊樹・戸塚 績. 1979. 植物による大気汚染物質の収着に関する研究(Ⅱ) NO₂, O₃あるいは NO₂ + O₃ 暴露下における収着について. 農業気象. 35:77-83
- 13. Rasmussen, K.H., M. Taheri and R. L. Kabel. 1975. Global emmissions and natural processes for removal of gaseous pollutants. Water, Air and Soil Pollution 4: 33-64
- 14. Rich, S., P.E. Waggoner and H. Tomlinson. 1970. Ozone uptake by bean leaves. Science 169: 79-80
- 15. 内田秀雄、1972、 湿り空気と冷却塔. p. 73. 裳華房
- Unsworth, M. H., P. V. Biscoe and V. Black. 1976. Analysis of gas exchange between plants and polluted atmospheres. In *Effects of air pollutants on plants* (edit. by T.A. Mansfield), p. 5-16. Cambridge University Press, London

Summary

In order to investigate NO_2 and O_3 sorption by plants during exposure to NO_2 , O_3 and $NO_2 + O_3$ which are the principal gaseous pollutants, sunflower plants were fumigated with the pollutants in an environmental control chamber. The time courses of sorption rate, transpiration rate and leaf temperature were measured during fumigation, and the sorption processes were discussed by the use of a simplified model. The results obtained are as follows.

(1) The stomatal closure and the appearance of visible leaf injury by fumigation with a single gas $(NO_2 \text{ or } O_3)$ and a mixed gas $(NO_2 + O_3)$ were observed. The degrees of the appearance of these phenomena were related to the gas concentration, and the degree of injury increased with increasing gas concentration. The degree of injury is also related to the kind of pollutant. In the case of fumigation with NO₂ or O₃, the NO₂ concentration at which the phenomena began to appear was about ten times higher than that for O₃. In the case of fumigation with NO₂ + O₃, the phenomena appeared at the concentrations of NO₂ and O₃ below which the phenomena did not appear during exposure to a single gas $(NO_2 \text{ or } O_3)$. The obtained results may indicate one of the synergistic effects of air pollutants. The degree of injury for NO₂ and O₃ on the stomatal closure and the appearance of leaf injury, was distinctly in the order of O₃>SO₂>NO₂.

(2) The relations between Q/w' and P_a during fumigation with a single (NO₂ or O₃) or a mixed gas (NO₂ + O₃) were expressed by equations of $Q^{NO_2}/w' \simeq 1.4 \times 10^{-3} \cdot P_a^{NO_2}$, and $Q^{O_3}/w' \simeq 1.5 \times 10^{-3} \cdot P_a^{O_3}$, where Q^{NO_2} and Q^{O_3} are sorption rates of NO₂ and O₃, w' transpiration rate divided by the water vapor pressure difference between gas-liquid interface in the leaf and the atmosphere, and $P_a^{NO_2}$ and $P_a^{O_3}$ gas concentration of NO₂ and O₃ in the atmosphere. These relations were independent of the gas components used for fumigation and the appearance of visible leaf injury. These empirical equations corresponded to those which were derived by using a simplified model, $Q/w' = (k_w/k_g k_r) (P_a - P_l)$ at $P_l = 0$ volppm, where P_l is gas concentration at gas-liquid interface in the leaf, k_r the ratio of gas diffusive resistance to that for water vapor, k_w a constant; $1.05 \times 10^6 \text{ mmHg} \cdot \text{cm}^3 \cdot \text{g}^{-1}$, and k_g a constant; $5.40 \times 10^8 \text{ (NO}_2$) or $5.18 \times 10^8 \text{ (O}_3)$ volppm cm³ g⁻¹. The calculated values of k_w/k_gk_r were coincident with the coefficients of Q/w' and P_a . From the results mentioned above, it was concluded that NO₂ and O₃ concetrations at the gas-liquid interface in the leaf are considered to be zero, and NO₂ and O₃ sorption rates can be explained by factors such as boundary layer and stomatal resistances, which are related to gaseous diffusion.

Key words: NO₂, O₃, Mixed gas, Sorption process

-258 -

17

国立公害研究所研究報告 第10号 (R-10-'79)

Research Report from the National Institute for Environmental Studies No. 10, 1979

∐ −16

汚染ガスに被暴した植物の葉温パターンの計測

大政謙次¹• 安保文彰¹• 橋本 康²• 相賀一郎¹·

Measurement of thermal pattern of plant leaves under fumigation with air pollutant

Kenji OMASA¹, Fumiaki ABO¹, Yasushi HASHIMOTO² and Ichiro AIGA¹

要 旨

走査型赤外線カメラを汚染ガスに被暴した植物の葉温の計測に適用することを試み、 その際の問題点について検討した。また、実際に、制御された環境下でSO₂暴露実験 を行い、その際の経時的な葉面温度パターンの変化を計測し解析した。得られた結果 は次のように要約される。

(1)種々の状態のヒマワリ葉の平均放射率を測定したところ、得られた結果は、葉 により異なるが0.95以上であった。また、正常葉と2時間程度 SO₂に暴露した被暴 葉の放射率を比較したが差異は認められなかった。

(2)環境制御装置内での周囲環境の影響は、前もって周囲環境からの放射強度を計 測することにより補正される。それゆえ、装置内での周囲環境の葉温の計測精度への 影響は、0.2℃以内であった。

(3) 赤外線カメラを用いて、SO₂暴露下における葉面温度パターンの経時変化を計 測した。そして、葉温を指標としてSO₂収着量の2次元分布を推定し、可視害発現パ ターンと比較した。その結果、SO₂による急性の可視害は、SO₂収着量があるしきい 値を越えた部位にのみ発現する傾向があった。

緒营、、

植物温度は、植物生体における生理反応や植物と大気との物質輸送を支配する重要な因子である。 しかし、植物温度は、種々の環境要因の影響をうけ、また、生体の生理状態により著しく変化する ことが知られている。また、植物の種類によっても異なる。それゆえ、汚染ガスによる植物影響の

^{1.} 国立公害研究所 技術部

^{2.} 愛媛大学 農学部

^{1.} Division of Engineering, The National Institute for Environmental Studies, Tsukuba-gakuen, Ibaraki 305

^{2.} Faculty of Agriculture, Ehime University, Matsuyama 790

様な環境と植物反応との関係を調べる研究分野では、植物温度の計測が必要となる。

従来,植物温度の計測には,熱電対やサーミスタによる接触測定法が広く用いられてきたが,近年,表面温度計測機器の発達により,放射温度計や走査型赤外線カメラによる非接触測定法が注目される様になった(1,3,6,7)。特に,走査型赤外線カメラによる計測は,植物温度の面情報を得ることができ,画像処理装置と組み合わせた植物温度の計測評価手法の開発は,その緒についたところで,今後の研究の余地を残している。

本報では、走査型赤外線カメラを汚染ガスに被暴した植物の葉温の計測に適用することを試み、 その際の問題点について検討した。さらに、SO2暴露下での経時的な葉面温度パターンを計測・解 析することにより、SO2収着速度と可視害の関係に関する問題(4)を面領域に拡張して得た結果 について報告する。

測定原理および装置の概要

1)赤外線カメラによる葉温の測定原理

葉面における赤外線の分光放射強度 $R(\lambda, T)$ は、葉面が不透明であると仮定すると(2)、葉面の熱放射と周囲環境からの放射の葉面反射との和で与えられる(1,7)。

$$R(\lambda, T) = \epsilon(\lambda, T) \cdot W(\lambda, T) + \left((1 - \epsilon(\lambda, T)) \cdot E(\lambda, T_s)\right)$$
(1)

ただし、 λ ; 波長, $\epsilon(\lambda, T)$; 温度Tの葉面の分光放射率, $W(\lambda, T)$; 温度Tなる黒体の分光放 射強度, $E(\lambda, T_s)$; 温度T_sなる周囲環境から葉面への分光放射強度。

有効波長域 $\lambda_1 \leq \lambda \leq \lambda_2$ なる赤外線検出器において、葉面からの放射強度 $R(\lambda, T)$ を計測すると、検出器の出力電E $V_T(T, T_s)$ は、次式で与えられる。

$$V_{T}(T, T_{s}) = \int_{\lambda_{1}}^{\lambda_{2}} f(\lambda) \cdot R(\lambda, T) d\lambda$$

$$\simeq \overline{\epsilon} (T) \cdot V_{W}(T) + (1 - \overline{\epsilon} (T)) \cdot V_{E}(T_{s})$$
(2)

ただし、 $f(\lambda)$;赤外線カメラの検出器の放射一電気変換効率、内部増幅器の増幅率、気体、レン ズ、フィルター等の透過および反射率等を考慮した係数、また、平均放射率 $\overline{e}(T)$ 、および $V_w(T)$ 、 $V_B(T)$ 、は次式で定義される。

$$\overline{\epsilon}(T) = \left(\int_{\lambda_1}^{\lambda_2} \epsilon(\lambda, T) \cdot f(\lambda) \cdot W(\lambda, T) \, d\lambda\right) / \left(\int_{\lambda_1}^{\lambda_2} f(\lambda) \cdot W(\lambda, T) \, d\lambda\right)$$
(3)
$$V_W(T) = \int_{\lambda_1}^{\lambda_2} f(\lambda) \cdot W(\lambda, T) \, d\lambda$$
(4)

-260-

$$V_E(T) = \int_{\lambda_1}^{\lambda_2} f(\lambda) \cdot E(\lambda, T_s) \, d\lambda \tag{5}$$

検出器の出力電圧 $V_{\tau}(T, T_s)$ は、装置で得られるので、平均放射率 $\epsilon(T)$ および周囲環境からの放射強度に相当する電圧 $V_{\varepsilon}(T)$ を前もって計測しておき設定してやれば、 $V_{w}(T)$ を得ることができる。

$$V_{W}(T) = \left(V_{T}(T, T_{S}) - V_{E}(T_{S})\right) / \overline{\epsilon}(T) + V_{E}(T_{S})$$
(6)

 $V_{W}(T)$ は、温度Tなる黒体の放射を計測したときの検出器の出力電圧で定義されるので、黒体に 対する較正曲線を求めておけば、 $V_{W}(T)$ から葉温Tを得ることができる。なお、 $f(\lambda)$ の特性の 変化に対しては、基準黒体温度を常時モニタすることにより較正することができる。

2) 計測装置の概要

赤外線カメラは、対物面走査方式で、検出器として Cd Hg Te (8~13 μ,液体窒素冷却) のもの を用いた。本装置の仕様は、温度測定範囲;-40~2000℃、温度分解能;35℃黒体に対して0.05 ℃、水平画像分解能;300 line、走査線数;120 line (スキャンタイム1s)、240 line (2s)、480 line (4s)、観測視野;25°^H×20°^V、焦点範囲;20 cm~∞である。



図1 画像解析システムのブロック線図 Fig. 1 Block diagram of the system for image processing

- 赤外線カメラからの検出信号は、図1に示す画像処理装置により解析される。この装置では、赤 外線カメラからの検出信号が、ビデオプロセッサ(図2)の入力ユニット(A/D変換器、フィル ター等)で10ビット(250H×240V,分解能0.05℃)のディジタル信号に変換された後、データ メモリーに記憶される。さらに、記憶された信号は、カラーモニターに表示されると共に計算機に 伝送される。計算機とビデオプロセッサーは、GP-IBバスで接続されており、ビデオプロセッ サーからのデータを計算機に伝送するだけでなく、計算機で処理された結果をビデオプロセッサー に伝送し、カラーモニターに表示できる。計算機は、磁気テープやカートリッジ磁気ディスク等の 記憶装置を持っており、実験目的に応じて、リアルタイムあるいはバッチでの処理が可能である。 また、磁気テープにより、大型計算機での処理も可能である。この計測システムは、VTRや写真 等の記憶装置を用いることにより、フィールドでの観測データの解析にも利用できる。なお、本装 置には、赤外線カメラの他、可視害や生長評価のための計測用ビジコンカメラ(0.3~2.3 μm)が 接続されており、ビデオA/D変換器やビデオ I/Oを介して、8 ビット(最大分解能: 1024H× 1024V)のディジタル画像データが計算機に伝送される





汚染ガスに被暴した植物の葉面温度パターンの計測

1) 葉面の放射率と周囲環境の影響

赤外線カメラにより葉温を計測する場合,式(6)における平均放射率 $\overline{\epsilon}(T)$ および周囲環境からの放射強度に相当する電圧 $V_{\varepsilon}(T)$ を求めておく必要がある。平均放射率 $\overline{\epsilon}(T)$ は, $\overline{\epsilon}(T)$, $E(\lambda, T_{s})$,赤外線カメラの諸特性が温度Tに依存しないと仮定すれば、次式により求めることができる。

$$\widetilde{\epsilon} = \left[V_{\tau}(T_2) - V_{\tau}(T_1) \right] / \left[V_{W}(T_2) - V_{W}(T_1) \right]$$
(7)

温度アが23~38℃の範囲で、種々のア₁およびア₂について、ヒマワリ葉面の平均放射率を測定した。 なお、測定中は、周囲環境を一定に保つため、周囲を一定温度の黒色塗装板で囲んだ。得られた葉 面の放射率は、葉により異なるが、0.95以上であった。この結果は、種々の植物葉の放射率につい て調べた Fuchs and Tanner (1)、Gates and Tantraporn (2)、滝内・橋本 (7) らの報告と 一致している。また,正常葉と2時間程度SO₂に暴露した被暴葉の放射率を比較したが,差異は認められなかった。

植物のガス暴露実験を行う環境実験装置では、実験装置内の空気温度は、±0.5 ℃以内の精度で 制御されているが、実験装置内表面の放射率や表面温度については考慮されていない。特に、光照 射用ランプと接したガラス表面は、約40℃にも達する。そこで、測定温度に及ぼす周囲環境の影響 について検討した。周囲環境からの放射の影響は、式(6)における電圧 $V_{E}(T)$ を環境からの放 射強度に合わせて適切に調節することにより補正される。しかし、装置内表面の温度は、空気温度 から約40℃まで場所により不均一である。そこで、赤外線カメラを水平に固定し、葉面をカメラ面 に対して、60°~-60°まで変化させ、熱電対と赤外線カメラにより得られる温度の比較を行った。 葉面とカメラ面との角度を変えることにより、葉面は異なった装置内表面からの放射を受ける。な お、実験の際の $V_{E}(T)$ は、葉面がカメラ面に対して平行(0°)な場合の周囲環境からの放射強度 に調節した。この実験の結果、赤外線カメラと熱電対の温度指示値の差は、葉面とカメラ面の角度 の違いにかかわらず0.2℃以内であった。

2)経時的な葉面温度パターンの計測

赤外線カメラによる葉面温度パターン計測の応用として、局所SO2収着速度と可視害との関係の 解析(4)を面領域のレベルに拡張することを試みた。大政・安保(4)によれば、環境制御装置 内のヒマワリの葉面での葉気温差 *4T*,蒸散速度WおよびSO2収着速度Qの関係は次式で与えられ る。

$$\Delta T = -\{ L / (8\sigma T_a^3 + 2h_T) \} \cdot W + \alpha_P \cdot E_S / (8\sigma T_a^3 + 2h_T)$$
(8)

 $Q/W = k \cdot P_{as} / \{ X_s(T_I) - \varphi X_s(T_a) \}$ (9)

ただし、 T_a ;気温、 T_l ;葉温、L;蒸発の潜熱、 σ ;ステファン・ボルツマンの定数、 h_τ ;葉面に おける熱伝達係数、 α_p ;葉面における短波放射の吸収係数、 E_s ;葉面における短波放射、k;1.8 ×10⁻³ mmHg・volppm⁻¹、 P_{as} ;大気中のSO2濃度、 $X_s(T)$; T ℃における飽和蒸気圧、 φ ;相 対湿度。式(8)、(9)の関係より、温湿度、光、風速等の環境要因が一定に制御された装置内で は、葉温は、蒸散速度およびSO2収着速度の指標とみることができる。

以上の関係を踏まえた上で、赤外線カメラにより、SO2暴露下における葉面の経時的な葉温パタ -ンの変化を計測した。図3にSO2暴露前の正常な葉のNo.1~5の赤外線カメラの水平走査方向 の各位置での葉温を示す。葉脈の近傍での葉温は、他の部位に比較して高い傾向があったが、葉脈 以外の部位の葉温は、均一とみなせる。次に、No.3の走査方向のSO2暴露に伴う葉温の経時変化 を図4に示す。暴露初期の状態において、22±0.3℃であった葉温が、時間の経過に伴って上昇し、 暴露開始後70min 経過した時点で、24±1.4℃となった。なお、赤外線カメラと熱電対で測定した 葉温の誤差は0.3℃以内であった。葉温変化が顕著な部位とそうでない部位 a~g での連続的な葉



- 図3 SO₂暴露前の正常な葉の葉温。葉温は、赤外線カメラのNo.1~No.5の走査 方向の各位置での値を示す。環境実験装置内の温湿度、風速、光等の環境要 因は一定に保たれている。
- Fig. 3 Leaf temperature at sites of scanning line of No. 1 No. 5 at a point in time before SO_2 fumigation. Air temperature, humidity, wind velocity and light intensity within the chamber were maintained constant.



図4 図3における No. 3の走査方向のSO₂暴露に伴う葉温の変化。暴露開始後70 分経過した時点では可視害は発現しなかった。

Fig. 4 Changes in leaf temperature during SO₂ fumigation at sites of the scanning line of No.3 in Fig. 3. The visible leaf injury did not appear during SO₂ fumigation.

温の経時変化を図5に示す。暴露開始後70minの時点での葉温上昇は、最も変化が大きい部位で 3.2℃、最も小さい部位で0.7℃であった。葉温とSO2収着速度の関係より、葉温上昇が遅い部位 程、多量のSO2を収着すると考えられる。可視害もa.c.e.gにおいて発現し、b.d.f にお いては発現しなかった。ここでの可視害の計測評価(5)は、暴露終了後20hr 経過した時点で行 った。なお、葉温の計測期間である暴露後70minまで、可視害の発現はみられなかった。図6に a ~ gの暴露開始後60min 経過した時点での葉温と可視害の関係を示す。24℃の近傍において可視害 発現のしきい値がみられる。図7に暴露開始後60min 経過した時点で、23.7℃をしきい値に取り 2 値化した場合の葉面温度の2 値化画像を示す。英字Nで印字した黒地の領域が23.7℃以下、白地 の領域が23.7℃以上の部位である。図8 に葉面に発現した可視害のパターンを示す。黒地の領域 が可視害発現部位、白地の領域が正常な部位である。葉脈の近傍に正常な領域が残る割合が多かっ

-264-







- 図6 図5 における SO₂ 暴露開始後60 min 経過した 時点での葉温と約1 day 後に 発現した可視害との関係
- Fig. 6 Relation between leaf temperature at a point in time 60 minutes after the onset of fumigation and the local visible leaf injury (-, +)

たが、葉脈の近傍でない部位でも葉温上昇が早い領域は、可視害発現の程度が小さかった。

ţ

以上の結果およびSO₂による可視害発現パターンが、正常な領域と可視害発現領域とに顕著に分離されること(5)等の結果は、SO₂による可視害が、SO₂収着量があるしきい値を越えた部位にのみ発現することを示唆している。

				NI	NNER	nhr: vn	
_				NNNN	NNN I	GNONN	N
	IN INN			'NNNG	13 NT	INN: INN	NN -
N	NNNANNNNN	N	NU	NNNNN	NNN	NNENN	NNN -
NN:	NGSUNNNUN/F	_ N _	141	NUNNH	INNE	INNNN	NNNN
BNN	NARANANA I	INN	N	NUMBER	INN	NNNAN	NUNN
NECTION	SUSANDANNAN	INNN	RN	VANNNI	anini i	INNNN	NN AN
NARADIN	NNENNENNNN	IN N	N	VONNI	VNNN	NNNN	1919ACN
NUNNIN	NUCLINAN	IN N		9 M NH N	IIIII.	เกิงที่เป็น	NIDELLAN
NNNNIN	ann sectors and	H.	N	NUNNI	INNE	INNIIAN	histophan
NUNCIAN	N22NN *****			NNNND	NNN	NNNN	NNNHN
NNNNNN	NN	N		NNNNN	NNN	NNNNN	кана
"NNNN"	NIN MALE	N N			UNNA	TINNIN	RANIA
N	NUMBER	INNN	N	NN1	INN.	NNNNN	NNNN
RAN	NINNERA	NON	ŃŃ	T NINI	IN _N .	NINNG	NNN
NNNN	REARING	NNN	NNIII	INNNN	INNN	NNNNN	NN
NNNNN	- NNKSINNANA	W NNN	- NIGHT	en ante ante	$D_{M,0}$	NNNNN	N
NN	INVERSION NOT	NNNN	NNNN	INNERNE	i Nitere	NNNN	
_	- SNAMAN	NNNNN'	- NNN	INNNR	NUM	NNN	
	NANNNA	NNNNN	N74N7	INNNN	INNN	NNNN	
	SKAN BE	NNNN		i nintani.	0, 9,	272	
	NUNNHUNN	NNNNN	NNN	INNNNN	NNN	NN	
	MNADINACIU	NNNNN	-NINP	PHINN	NNN		
	NUNNUNUN	NNN	NNN	INNNN	INN		
	NNNGINN	NN	NNNP	INNANA	W.—		
	NNNUNN	NN	NN28	INNNN	_		
	NNO	-NNN		INNN			
	N21N	NNNN	NNN)	INN	_		
		NNNNN	NNN:	IN		~	
		NNNN	NN				

			- N-	- A
		4 I	E ARE NEWSER	9 650
	- N NIND	110 61		Annuch R
N	NUMBER	UN N GAN	NERGER	NGRUDBEATAN
NNN	NNNNNNNN	N"NNNNN	NUCLIN N	ICRICIAL DEVENSE
NINNN	NUNNNNNNN	NNNNNN	NKKKENN	NINGGUN NYEN
NNNNN	M WRNNNN	NEWHINE	- HNNNNNN	"KRUGUNDISPI" KUN
hannat	NNNNNNN	HUDBERN	NUN CONDER	N NGCHNORSONN
Wantani	UNNENNEN	HARRIN	R LINNUTOR	ar rannadannadan
INNINN	UNNNNN N	N NN N	KUNNA	NEWERBERG
-NHUNNNI	anning ran	NUMBER OF STREET	NSJ	sta universitienniste
teraturate	1444 1314	U N N	GUNN BUI	NAN NUMBER DUCKS
- 1400441	0950 0	N-NN-	- Numerical	annen heneruustel
NICHMAN	N NNI	NUUUKN	NORNADON	NENHABISSISSI
-NN2M-	NNN - N NAAS	ennens-	- NEEDONNE	ARCHMANN CORPORATION OF
N NNN	NN NN	NNUNNN	N/ANNE A	INFRIDICTION CONTRACTOR
	N	NNNNN -	-NNNNNN	RAANNAAAAANNAA
NHHH	NINN	NNNNNN	NONE NUM	EN TATATALAN INTERNALEN
- NUNN	NNNNNN	NNNNN-	- NHOLIN-RHN	WNUNNNNNN
NNN	NUTITINNI	NNNN N	NNNNNN N I	RATIONN
- N/J-	- CONCIDENTIAL	NUT NUT		austrantistr —
N	NNNN HN	N NNNN	NUN NUNUN	NNNNNN
	NINTANN	-NINGAR	TANK NN DNN	INNININA IN THE OWNER OF THE OWNE
	N NNNNN	N NUNK	DONN NON	IN NNIM
	TENNIN	-NNNN	 Manufactor 	Prunatatung hi
	NNNNN	NNNNNNN	NNNANNDU	a Naturtak del
	-NNRNN N	NNTRANN	**************************************	al. 1414
	NHUNNN	NUNNNN	INN NO NECOLO	ATTEN .
	- nitentin	1111111111		
	MARIAN	LINN	NGUNNNEN	14
		~~~~		
	NKN	RN NN	N N NNNN	
	N	-11-11-	-NN-NNNN-	
		NIZAINA	NN NN	
	· ·	-NNNN	- NN	
		N	N	

- 図7 暴露開始後60分の時点での葉温の 2値化画像。ここで葉温は、23.7
   ℃をしきい値として2値化された。
   黒地の領域が23.7℃以下,白地の
   領域が23.7℃以上の部位である。
- Fig. 7 A digited image of leaf temperature at a point in time 60 minutes after the onset of fumigation. The area plotted 'N' is the site at which leaf temperature is under 23.7°C, and the other area is the site at which leaf temperature is above 23.7°C.
- 図8 葉面に発現した可視害のパターン。 黒地の領域が可視害発現部位,白 地の領域が正常部位である。
- Fig. 8 A pattern of the visible leaf injury. The area plotted 'N' is the site at which the injury appeared, and the other area is the site at which the injury was not appeared.

### 結び

以上の実験的検討により、走査型赤外線カメラを用いて、汚染ガスに被暴した植物の温度を、植物生体に影響することなく非破壊、非接触で面計測できることが確かめられた。また、植物温度に は、単に温度としての情報だけでなく、蒸散、汚染ガス収着、気孔開閉等物質輸送にかかわる情報 も含まれており、赤外線カメラからの計測データを画像処理することにより、これらの情報を面領 域で抽出できることが確かめられた。今後、ここで得られた結果をもとに、植物個体を対象とした 汚染ガスによる植物影響、特に物質輸送にかかわる現象を明らかにしていく予定である。

### 謝辞

なお、本研究の一部のデータは、愛媛大学農学部農業環境工学研究室の解析装置により処理され た。終わりに、実験に協力して下さった愛媛大学農学部の五百木啓三氏および、本研究のための計 測システムの製作に当たり協力を受けた日本電子(株)サーモビュアグループ、三菱電機(株)・ 協栄産業(株)電子計算機グループ、浜松テレビ(株)中川岩代氏に心からの謝意を表する。

### 引用文献

- 1. Fuchs, M. and C. B. Tanner. 1966. Infrared thermometry of vegetation. Agronomy Journal 58: 597-601
- 2. Gates, D. M. and W. Tantraporn, 1952. The reflectivity of deciduous trees and herbaccous plants in the infrared to 25 microns. Science 115: 613-616
- 3. 橋本 康・五百木啓三・船田 周・円羽 登・杉 二郎, 1979. 植物生育のプロセス同定とその最適制 御(VI) 葉温の画像処理, 生物環境調節 17:27-33
- 4. 大政謙次・安保文彰. 1978. 植物による大気汚染物質の収着に関する研究(1) SO₂の局所収着と可視 障害発現との関係、農業気象 34:51-58
- 5. 大政謙次・安保文彰・橋本 康・相賀一郎. 1979. 画像処理による植物の大気汚染害の評価,本報告書 269-274
- 6. Shiraisi, M., Y. Hashimoto and S. Kuraishi. 1978. Cyclic variations of stomatal aperture observed under the scanning electron microscope. Plant and Cell Physiology 19: 637-645
- 7. 滝内基弘・橋本 康、1977、放射温度計による葉温測定と植物生体情報との関連、計測自動制御学会論 文集 13:482-488

## Summary

In this paper, we examined some problems in measuring of leaf temperature under fumigation with an air pollutant in an environmental control chamber using a infrared thermal camera of scanning type. Furthermore, we measured changes in time of the leaf temperature pattern during  $SO_2$  fumigation, and analyzed. The results obtained were as follows.

(1) The emissivities of the sunflower leaves under various conditions were measured. Though the values obtained by this experiment were slightly different with individual sample leaves, these values were above 0.95. The values of the leaf furnigated two hours with  $SO_2$  was not different from those of the healthy leaf.

(2) The influence of the infrared radiation from the surroundings was corrected by measuring previously_this radiation. Therefore, in an environmental control chamber, errors in measurement of leaf temperature were within  $0.2^{\circ}C$ .

(3) Changes in time of leaf temperature pattern were measured with this thermal camera during  $SO_2$  fumigation in the chamber, and these patterns were compared with the pattern of visible injury appeared on the same leaf. The leaf temperature pattern was similar to the pattern of visible injury. As changes in leaf temperature with  $SO_2$  fumigation are able to be the indicater of  $SO_2$  sorption rate, the local  $SO_2$  sorption rate at sites on the leaf surface were able to be estimated from the changes in the leaf temperature pattern. As the result, it was realized that there was a tendency for the injury to appear at the site which the amount of  $SO_2$  sorption was over a threshold-value.

Key words. Air pollution, Image processing, Thermal pattern-

国立公害研究所研究報告 第10号 (R—10---'79) Research Report from the National Institute for Environmental Studies No.10, 1979

□ -17

## 画像処理による植物の大気汚染害の評価

大政謙次'• 安保文彰'• 橋本 康²• 相賀一郎¹

### Evaluation of air pollution injury to plants by image processing

# Kenji OMASA¹, Fumiaki ABO¹, Yasushi HASHIMOTO² and Ichiro AIGA¹

### 要 旨

画像処理による可視害の程度や症状のパターン認識の自動計測手法の開発を目的として、主要な汚染ガスである SO₂ および O₃による可視害葉の反射スペクトル画像を 簡単な特徴量を用いて解析し、可視害の評価を行った。得られた結果は次の様に要約 される。

(1)一定の光条件下で、クロロフィル吸収帯の千渉フィルター(中心波長671nm, 半値幅10nm)を通して可視害葉の葉面反射を計測することにより、クロロフィルの 分解にかかわる可視害の抽出が可能である。

(2)簡単な特徴量であるスペクトル画像の濃度値ヒストグラムと濃度平均値を用い て、SO₂被害葉とO₃被害葉の可視害の特徴の違いが定量的に比較できる。また、こ れらの特徴量は、可視害の程度の定量にも利用できる。

# 緒 营

汚染ガスにより葉面に発現する可視害は、ガスによる植物影響の最も顕著な症状であり、その症 状の特徴は、汚染ガスの種類や植物により異なる(4,9)。それゆえ、可視害は、古くから大気汚 染地域での調査や汚染ガス暴露実験の際の影響の評価のための指標として用いられてきた(2,7, 8)。

可視害の評価は,程度の評価と症状の認識に分けられるが,観察による評価が最も一般的である (3)。可視害の程度の評価に限れば,定量的評価法に関する報告もなされているが(2,3,5), 多量のサンプル処理が可能な自動計測手法の開発が望まれている。可視害の症状の認識は,専門家

^{1.} 国立公害研究所 技術部

^{2.} 愛媛大学 農学部

^{1.} Division of Engineering, The National Institute for Environmental Studies, Tsukuba-gakuen, Ibaraki 305

^{2.} Faculty of Agriculture, Ehime University, Matsuyama 790

の観察による特徴比較に止まり、特徴量の抽出による定量的な比較検討はなされていない。

本研究は、可視害の発現した葉面からのマルチスペクトル画像を画像処理することにより、可視 害の程度や症状のパターン認識の自動計測手法を開発しようとするものである。本報では、その第 一段階として、主要な汚染ガスである SO₂ およびO₃による可視害葉の反射スペクトル画像を解 析し、簡単な特徴量を用いて、SO₂ およびO₃による可視害の特徴の違いについて検討した。

### 材料と方法

植物材料…植物材料としては、ファイトトロン(昼間:25°C,夜間:20°C,70% RH、自然光)で、 バーミキュライト、パーライト、ピートモス、小礫を2:2:1:1の比でつめたポットに栽培した播種 後6週間(1個体の葉面積:1500~2500 cm²、葉数:15~25枚)のロシアヒマワリ(*Helianthus annuus* L c. v. Russian Mammoth)を用いた。

ガス暴露…ファイトトロンで生育させた実験材料を汚染ガス暴露実験装置(1)に入れ,SO₂の 場合 1.5 volppm 3 hr,O₃の場合 0.8 volppm 2 hr の暴露処理した後,3日間光照射下で生育させた。 この処理の後,被害部位における汚染ガスの影響による植物色素の退色現象は進行しない。ガス暴 露実験装置内の環境条件は、温度;25±0.5℃,湿度;60±3%RH,平均風速;0.22 ms⁻¹,照 度;光源下 1.3 mの位置で40±5 klx であった。SO₂ およびO₃ 濃度の制御精度は,設定値に対 して,共に0.5%以内であった。

画像処理…得られた植物の葉の表面の反射を一定の光条件のもとで標本撮影装置により干渉フィ ルターを通して撮影したネガフィルム(24×36 mm²)を画像処理装置を用いて解析した。撮影は、 葉のしおれによる影響を小さくするために、切り取った後、直ちに行った。画像処理装置では、ネ ガフィルムの1画面が画素数256×240、濃度値量子化レベル数256のディジタル信号に変換され、 計算処理される。

クロロフィルの定量…葉片(20×20 mm²)を切り取り,直ちにネガフィルムに撮影した後,80% 氷冷アセトンを加えて磨砕し,遠心分離により抽出した。そして,抽出液の吸収スペクトルを分光 光度計を用いて測定し,クロロフィル含有量を Mackinney の吸収係数を用いて計算した(6)。

### 可視害の抽出のための波長帯域の選定

可視害は、植物色素の退色により生じることが知られており、退色する植物色素の主要な成分の 一つにクロロフィルがある(3,5)。そこで、クロロフィルの吸収帯を用いて可視害の抽出を試み た。図1に中心波長671 nm、半値幅10 nm の干渉フィルターを通して撮影した典型的なSO2ある いは O3 被害葉の画像を示す。この画像の中で正常な部位は、クロロフィルによる光の吸収が大き いので黒く、可視害発現部位は、吸収が小さく反射が大きいので白く表される。SO2 被害葉には 比較的ブロードな可視害が発現し、O3 被害葉には葉脈上に薄い可視害が発現しているのが観察さ れる。この方法により撮影される可視害が、クロロフィル含有量と定量的にどの様な関係にあるのか を O₃の 被害葉の場合を例に調べた。図 2 に撮影された葉片(20×20 mm²)のネガフィルムの濃度 平均値とクロロフィル含有量の関係を示す。画像処理の際の標本点間隔は、葉面上で約0.4 mm で あった。図 2 から、被害葉の濃度平均値とクロロフィル含有量の間には正の相関関係が認められた。 濃度平均値は、ネガフィルムの解析であるので、その値が小さい程、葉面反射が大きいことを表す。 なお、実験は 3 回に分けて行ったが、得られた結果に差異は認められなかった。以上の結果より、 一定の光条件下で、クロロフィルの吸収帯のフィルターを通して葉面反射を計測することにより、 クロロフィルの分解にかかわる可視害の抽出が可能であることが分かった。





- 図1 SO₂および O₃による可視害葉のスペクトル画像の例 (干渉フィルター: λ_{max} = 671 nm, λ_{1/2}=10 nm)
- Fig. 1 Examples of spectral image of SO₂ and O₃ injured leaf. (Interference filter:  $\lambda_{max} = 671 \text{ nm}, \lambda_{1/2} = 10 \text{ nm}$ ).



- 図2 スペクトル画像(ネガフィルム)の濃度平均値とクロロフィル含有量との関係
- Fig. 2 Relation between mean value of gray levels of spectral image (negative film) and total chlorophyll content

## SO2およびO3に被暴した植物に発現する可視害の比較

可視害の特徴を表す特徴量としては種々のものが考えられるが、ここでは、特徴量として最も 基本的と考えられる濃度値ヒストグラムと濃度平均値を取りあげる。図3に671 nmの干渉フィル ターを通して撮影した正常葉、SO2被害葉およびO3被害葉のネガフィルムの濃度値ヒストグラム の典型的な例を示す。基準化した結果を得るために標本の大きさおよび標本点間隔は、それぞれ、 葉面上で90×75 nm²、約0.8 nmとした。図3において、正常葉およびO3被害葉の濃度値ヒスト グラムは、単峰性の正規分布に近い分布を示したが、O3被害葉は、正常葉に比べて小さい濃度値レ ベルに極大値をもった。他方、SO2被害葉は、正常葉の極大値に近い濃度値レベルと完全可視害 葉に近い濃度値レベルの二つの極大値をもった。このことは、O3被害葉は、葉面全体に比較的均 ーに可視害が発現し、SO2被害葉は、正常な部位と可視害発現部位とに完全に分離されることを 意味する。図4に1個体の植物の葉位別の濃度値ヒストグラムにおける極大値の濃度値レベルと濃度平





Fig. 3 Examples of gray level histogram in the image of healthy or injured leaf



図4 種々の葉位における濃度平均値とヒストグラムの極大値の濃度値レベル Fig. 4 Mean value of gray levels and gray level in maximum value of the histogram in different leaf positions

均値を示す。SO2暴露葉、O3暴露葉共に、下位葉に可視害が発現する割合いが多かった。正常葉あ るいはO3暴露葉での極大値の濃度値レベルと濃度平均値は、葉位あるいは被害の程度にかかわら ず、ほぼ等しかった。他方、SO2暴露葉において、可視害が発現した葉は、上記の様に二つの極 大値を持ったが、可視害が発現しなかった葉は、極大値が一つで、濃度平均値は、正常葉のそれと ほぼ等しかった。

以上の結果は、簡単な特徴量である濃度値ヒストグラムと濃度平均値を用いて、SO2 被害葉と O3 被害葉の可視害の特徴の違いが定量的に比較できることを示しており、これらの特徴量は、症 状の自動識別に利用できよう。また、これらの特徴量は、濃度値ヒストグラムが可視害部分の面積 の算出、濃度平均値がクロロフィル含有量に関係することから、可視害の程度の自動計測にも利用 できよう。

### 結び

本文では、自動計測を目的とした画像処理による可視害の評価の一方法について述べた。すなわ ち、最初に、可視害の抽出のためのフィルターの波長帯域の検討を行った。その結果、クロロフィ ル吸収帯の干渉フィルター(中心波長 671 nm、半値幅10 nm)を通して葉面反射を計測することに より、クロロフィルの分解にかかわる可視害の抽出が可能であることが分かった。次に、この波長 帯域で撮影した SO₂ およびO₃による可視害の反射スペクトル画像を簡単な特徴量を用いて解析し、 SO₂ およびO₃による可視害の特徴の違いについて検討した。その結果、簡単な特徴量である濃度 値ヒストグラムと濃度平均値を用いて、SO₂ 被害葉とO₃被害葉の可視害の特徴の違いが定量的に 比較でき、これらの特徴量が症状の自動識別に利用できることが分かった。しかし、人間が認識す る可視害の特徴量は、ここで述べた以外にも種々考えられ、今後、これらの特徴量を詳細に検討し た上で、可視害の自動計測手法を開発していく予定である。

### 謝 辞

本研究に当たって貴重な助言をたまわった当研究所生物環境部の島崎研一郎氏,実験に協力して いただいた愛媛大学農学部の五百木啓三氏,金子昌二氏,また,装置の維持管理および材料植物の 栽培に携わっている技術部の関係諸氏に心からの謝意を表する。

### 引用文献

- 1. 相賀一郎・大政謙次・小林雄一, 1980, 国立公害研究所植物実験用環境調節施設,最新空調設備・空調 方式実例集,経営開発センタ、印刷中
- Bressan, R. A., L. G. Wilson and P. Filner. 1978. Mechanisms of resistance to sulfur dioxide in the cucurbitaceae. Plant Physiology 61: 761-767
- 3. Chester, K. S. 1959. How sick is the plant? In *Plant pathology, Vol 1, The diseased plant* (edit. by J. G. Horsfall and A. E. Dimond), p.100-142. Academic Press, New York

- 4. Jacobson, J. S. and A. C. Hill. 1970. Recognition of air pollution injury to vegetation: A pictorial atlas, Air Pollution Control Association. Pennsylvania
- 5. Knudson, L. L., T. W. Tibbitts and G. E. Edwards. 1977. Measurement of ozone injury by determination of leaf chlorophyll concentration. Plant Physiology 60: 606-608
- 6. Mackinney, G. 1941. Absorption of light by chlorophyll solutions. Journal of Biological Chemistry 140: 315-322
- 7. Mudd, J. B. and T. T. Kozlowski. 1975. Responses of plants to air pollution. Academic Press, New York
- 8. 日本公衆衛生協会、1977、大気汚染の植物影響に関する調査報告書、日本公衆衛生協会
- 9. 大気汚染協議会, 1973. 大気汚染植物被害写真集, 日本公衆衛生協会

### Summary

Image processing method was applicable to measure the degree and the characteristics on the symptom of visible injuries on plant leaves by air pollutants. Each healthy and injured leaves by  $SO_2$  and  $O_3$ , were photographed through interference filter and the spectral images obtained were analyzed by using two simple characteristic indexes. The results obtained were as follows.

(1) By measuring the surface reflection of injured leaves through an interference filter (central wavelength 671 nm and harf-band width 10 nm) under constant lighting condition, it is possible to be extracted informations about visible injuries in relation to chlorophyll destruction.

(2) By using the gray level histogram of the spectral images and the mean value of gray levels, it is possible to compare quantitatively characteristics on the symptom of  $SO_2$  injury with that of  $O_3$  injury, and then to measure quantitatively the degree of visible leaf injuries.

Key words: Air pollution injury, Image processing, Chlorophyll.

国立公害研究所研究報告 第10号 (R-10~'79) Research Report from the National Institute for Environmental Studies No. 10, 1979

∏ -18

# 人工光ガスキャビネット内の C2~ Cs 鎖状炭化水素の分析

松本 茂 ・ 秋元 肇

# Analysis of low-molecular-weight aliphatic hydrocarbons ( $C_2 - C_5$ ) in the plant growth cabinets

# Shigeru MATSUMOTO¹ and Hajime AKIMOTO²

## 要 旨

植物実験用人工光ガスキャビネット内空気中の C₂~C₅炭化水素の分析を行った。 試料は-110℃のメタノールー液体窒素を使用し Tenax GC を充てんしたサンプリン グ管に濃縮し、ガスクロマトグラフで分析した。

キャビネットの新鮮空気処理装置のフィルター通過前後の空気中の $C_2 \sim C_5$ 炭化水 素を分析した結果、フィルターはこれらの炭化水素に対しては浄化能力が無いことが 明らかとなった。キャビネット内の各々の炭化水素の濃度は $0.5 \sim 10$  ppb のオーダー であった。この結果をもとに NO₂、O₃ 複合状態でのPANの生成量を予測した結果、 キャビネット内の PANの濃度は換気が10回/hの場合最大でもO₃ 濃度の $10^{-3}$ 程 度と見積られた。

### 緒 言

国立公害研究所植物実験施設人工光ガスキャビネットでは、SO₂, NO₂, O₃, 炭化水素等の複合 汚染ガスによる植物影響の実験を行っている。これらのガスの複合状態では光化学反応により二次 生成物が発生することが予想される(5)。キャビネットの新鮮空気処理装置には取入空気中の汚染 物質を除去するフィルターが装備されているが(1)、炭化水素の除去性能は確認されていない。ま たC₂H₄は極微量で植物に対し異常な生長反応を示すことが知られている。このためキャビネット 内の炭化水素の測定は重要となっている。

1. 国立公害研究所 技術部

^{2.} 国立公害研究所 大気環境部

^{1.} Division of Engineering, The National Institute for Environmental Studies, Tsukuba-gakuen, Ibaraki 305

^{2.} Division of Atmospheric Environment, The National Institute for Environmental Studies, Tsukubagakuen, Ibaraki 305

本研究では新鮮空気処理装置のフィルター通過前後の空気中の炭化水素を分析してフィルター性能を検討した。またキャビネット内の炭化水素を分析した。さらにNO₂, O₃2成分複合状態におけるキャビネット内のPAN 濃度を検討した。

# 分析法

大気中の炭化水素の濃度は ppb レベルであり従来 Tenax GC 等を濃縮剤とし、液体酸素等を冷却剤とした低温濃縮によるガスクロマトグラフ分析が行われている(3,4,6,7,8,10)。 著者らは濃縮剤に Tenax GC を用い、冷却剤として取扱いが容易なメタノールー液体窒素を使用 する低温濃縮法により、C2~C5炭化水素をガスクロマトグラフで分析した。

サンプリング装置は図1に示すように、二つのサンプルを同時に採取することができる。サンプ



 図1 サンプリング装置のブロック図。A:サンプリング管 B:メタノールー 液体窒素 C:流量計 D:ニードル弁 E:サンプリングポンプ F:ガスメーター G:バイパスポンプ

Fig. 1	Block diagram of sam	pling unit.		
	A: sampling tube	B: methanol-liq.N ₂	C: flow meter	D: needle valve
	E: sampling pump	F: gas meter	G: bypass pump	

リング管は内径 3 mm  $\phi$ , 長さ 400 mmのステンレス管をU字に曲げ,両端に接続用ニップルを銀ろう 溶接する。濃縮剤は Tenax GC 60/80 mesh (島津製作所)を1 mℓサンプリング管に充てんした。 コールドトラップの冷却剤には – 110 ℃以下のメタノールー液体窒素を使用した。ガスメーターは 1 回転 0.5 ℓの湿式ガスメーターを使用した。ガスクロマトグラフ(島津製作所GC – 6 A)の分 析条件を表1に示す。

操作はあらかじめ 180 ℃の温度で窒素を流しながら24時間エージングしたサンプリング管をサン プリング装置に取付け冷却剤の中にひたして試料を約 100 ml/min で吸引する。試料採取量は3~ 5 l とし、ガスメーターで正確に測る。試料採取終了後直ちにサンプリング管をとりはずし両端を 表1 ガスクロマトグラフの分析条件 Table 1 Analytical conditions of gas chromatography

instrument	GC=6A (Shiihazu)
column	squalene 1% on activated alumina 60/80 mesh SUS 3 mm $\phi \times$ 3 m
detector	FID
injection temp.	180°C
column temp.	45°C (3min) → 100°C (4°C/min)
detector temp.	150°C
carrier gas	N ₂ 60 ml/min

密封する。分析はサンプリング管をガスクロマトグラフに取付け、サンプリング管の温度が180℃ に安定した後キャリアガスを流して分析する。

試料空気中の物質 x の濃度 C_xは、 v をサンプル採取量、 a_x を物質 x のピーク面積とすると

(1)

 $c_x = k_x \cdot a_x / v$ 

となる。 $k_x$ は濃度算出のための係数であり、検出器の感度、トラップ効率に関係しているため、分 析の前にあらかじめ値を求めておく必要がある。サンプリング装置のトラップ効率は500 ppm 前 後の標準ガス(高千穂化学)を希釈装置(スタンダードテクノロジーSGGU - 14)を使用してN₂で 数 ppm に希釈したガスをガスタイトシリンジで直接ガスクロマトグラフに導入した場合の応答と、 同じく数 + ppb に希釈したガスをサンプリング装置で1~6 ℓ採取した場合の応答を比較して求め た。その結果トラップ効率は95%以上であった。検出器の校正は測定の前に希釈した数 + ppb の  $C_3 H_6$ 標準ガスをサンプリング装置で採取して行った。これらの結果から $k_x$ を求めた。再現性は数 + ppb に希釈した標準ガスを40ℓのバッグに採り、サンプリング装置で採取し分析して検討した。 結果を表2に示す。変動係数は  $i - C_4 H_{10}$ を除き5%以内であった。 $i - C_4 H_{10}$ の変動係数が8% となったのは、濃度が低いためバッグに吸着されたためと考えられる。

### 結果および考察

測定対象のキャビネットは容量が約10m⁽実験部寸法: 1.7 m(W) × 2.3 m(D) × 1.9 m(H)), 換気回数 7.5 ~ 280 回/h 可変,温湿度制御範囲15~40℃,50~80% RH,照度40kl_x(メタルハラ イドランプ)である(1)。新鮮空気処理装置に内蔵されている換気用外気浄化フィルターはフィレ ドンフィルター,活性炭フィルター,二酸化マンガン触媒フィルターの三層構造となっている。

新鮮空気処理装置のフィルター性能は、フィルター通過前後の空気を同時に分析し両者を比較し て検討した。測定は1978年12月8日から4日間実施した。得られたガスクロマトグラフの例を図 2に、分析結果を表3に示す。この結果フィルターはC₂~C₅炭化水素に対しては浄化能力の無い

-277-

ことが明らかになった。

表 2	バッグに採取した標準ガスを分析した時のガスクロマトグラフの再現性
Table 2	Reproducibility of the gas chromatography data of standard gas collected in a bag

species	<i>х</i> (ррb)	σ (ppb)	C.V. (%)
C ₂ H ₆	6.82	0.25	3.7
C ₂ H ₄	47.6	2.0	4.2
C ₂ H ₂	4.74	0.15	3.2
$C_3H_8$	9.05	0.29	3.2
C ₃ H ₆	4.82	0.20	4.1
$i-C_4H_{10}$	0.85	0.07	8.2
$n-C_4H_{10}$	3.85	0.13	3.4
$i-C_{4}H_{12}+cis-2-C_{4}H_{8}$	5.06	0.15	3.0
$n-C_5H_{12}$	3.91	0.13	3.3

x: mean
standard deviation
C.V.: coefficient of variation
An analysis of a sample was repeated eight times.

# 表3 新鮮空気処理用フィルター通過前後の空気中の炭化水素濃度

Table 3 Concentration of aliphatic hydrocarbons in ventilation air with and without filters

	without filters (1)			difference	
species	mean (ppb)	standard deviation (ppb)	mean (ppb)	standard deviation (ppb)	(1) - (2) (ppb)
C ₂ H ₆	2.1	0.6	3.0	0.9	-0.9
C ₂ H ₄	3.6	1.1	4.6	1.6	-1.0
C ₂ H ₂	5.0	1.4	5.7	1.4	-0.7
C ₃ H ₈	3.5	1.2	3.5	1.4	0.0
C ₃ H ₆	1.0	0.3	0.9	0.2	0.1
$i - C_4 H_{10}$	1.0	0.4	0.8	0.5	0.2
$n-C_4H_{10}$	2.4	0.6 ·	2.1	0.7	0.3
<i>i</i> -C ₅ H ₁₂					
+cis-2-C4H8	2.2	0.8	1.6	0.5	0.6
$n-C_{s}H_{12}$	1.2	0.4	0.8	0.3	0.4

Number of samples was five.

キャビネット内空気中の炭化水素の分析は1979年2月5日から6日間実施した。キャビネット には播種後4週のロシアヒマワリ10個体を入れ、10回/hの換気条件で測定した。結果を表4に示 す。



図2 大気中のガスクロマトグラムの一例。A:CH₄ B:C₂H₆ C:C₂H₄ D:C₃H₈ E:C₃H₆ F:*i*-C₄H₁₀ G:*n*-C₄H₁₀ H:C₂H₂ I:*i*-C₅H₁₂+c*is*-2-C₄H₅ J:*n*-C₅H₁₂

Fig. 2 A typical gas chromatogram of aliphatic hydrocarbons in ambient air A: CH₄ B: C₂H₆ C: C₂H₄ D: C₃H₈ E: C₃H₆ F:  $i-C_4H_{10}$ G:  $n-C_4H_{10}$  H: C₂H₂ I:  $i-C_5H_{12}+cis-2-C_4H_8$  J:  $n-C_5H_{12}$ 

炭化水素濃度の測定値のふれは取入空気中の濃度変化を示している。キャビネット内の炭化水素の 濃度は物質によって異なるが  $0.5 \sim 10 \text{ ppb}$ のオーダーであった。植物に直接影響を及ぼす $C_2 H_4$ の 濃度は他の化合物より高く平均で 6.6 ppb,最高で 14.5 ppbであった。また $C_3 H_6$ は光化学反応に より PANを牛成するが(5),濃度は最高で 4.0 ppbであった。

キャビネット内の光化学反応生成物の中で重要な物質はPANであり、NO₂,O₃ 複合状態におけるキャビネット内のPANの生成量を検討した。一般に物質 xのキャビネット内の濃度変化を完全 混合モデルでシミュレートすると

$$dc_{x}/dt = F \cdot c_{xi} + R_{x} - F \cdot c_{x}$$
⁽²⁾

となる。ここでは  $c_x$  は x の + v ビネット内濃度,  $c_x$  は取入外気中の x の濃度,  $R_x$  は + v ビネット内の反応等で発生あるいは消滅する速度, F は換気回数, t は時間である。定常状態での x の濃度  $c_x$  は, (2) 式を  $\frac{dc_x}{dt} = 0$  の条件で解けば得られる。PANを生成する + v ビネット内炭化水素

species	maximum (ppb)	, minimum (ppb)	mean (ppb)	standard deviation (ppb)
C ₂ H ₆	5.4	2.6	3.8	0.6
C ₂ H ₄	14.5	3.5	6.6	2.6
C ₂ H ₂	6.2	1.2	3.3	1.4
C, H,	4.0	1.6	2.5	0.6
С,Н,	2.6	0.2	0.7	0.6
$n - C_4 H_{10}$	1.1	0.3	0.5	0.2
$n - C_5 H_{12}$ $i - C_5 H_{12}$	2.9	0.6	1.4	0.6
+cis-2-C4 H8	1.5	0.3	0.7	0.4
$n-C_5H_{12}$	1.0	0.5	0.7	0.2

表4 キャビネット空気中の鎖状炭化水素の濃度

Concentration of aliphatic hydrocarbons in cabinet air

Table 4

Number of samples was fifteen.

はC₃H₆以外は非常に少ないので、PANの生成機構は次のようにモデル化される(5)。

$$C_3H_6 + O_3 \xrightarrow{R_1} CH_3 CHO + \cdots$$
(3)

$$CH_3 CHO + OH \xrightarrow{R_2} CH_3 CO + H_2 O$$
(4)

$$CH_3 CO \cdot + O_2 \xrightarrow{k_3} CH_3 C(O) O_2 \cdot$$
(5)

$$CH_{3}C(O)O_{2} \cdot + NO_{2} \xrightarrow{k_{4}} CH_{3}C(O)O_{2}NO_{2}(PAN)$$
(6)

これらは(3)が律速反応であり、またキャビネット内のPANの濃度はCH₃CHOの濃度を超えない(2)。 生成するPANの濃度を最大に見積り、PANの濃度を反応(3)で生成するCH₃CHO 濃度に等しいと近似すればPANの生成速度 $R_*$ は

$$R_{x} = d (PAN) / dt \simeq k_{1} \cdot (C_{3}H_{6}) \cdot (O_{3})$$
(7)

となる。定常状態での PANの濃度は(7) 式を(2) 式へ代入し  $c_{xi} = 0$  とすることにより

$$(PAN) \simeq k_1 \cdot (C_3 H_6) \cdot (O_3) \neq F$$
(8)

となる。換気回数Fを 0.18 min⁻¹(約10回/h), C₃H₆ 濃度を10ppbとすると,反応(3)の速

-280-

度定数が $k_1 = 0.018 \text{ ppm}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ より(9),

$$(PAN) \simeq (O_3) \times 10^{-3}$$
 (9)

となる。この結果PANの濃度はO3濃度の10-3以下のオーダーであると推定される。

植物から発生する  $C_2H_4$  はキャビネット入口と内部の  $C_2H_4$  濃度を測定し(2) 式から計算できるが、今回の測定では両者に有意の濃度差は認められなかった。

### 謝 辞

本研究に当たり分析に協力して頂いた製鉄化学工業(株)猪藤融正氏に感謝致します。

## 引用文献

- 1. 相賀一郎・大政謙次・安保文彰. 1978. 大気汚染ガス暴露のためのグロースキャビネット. 国立公害研 究所特別研究成果報告 R - 2 - 78. P. 193-210
- 2. 秋元 肇・坂東 博・酒巻史郎・井上 元・星野幹雄・奥田典夫, 1979, 長光路フーリエ変換赤外分光器 によるプロピレン - 窒素酸化物 - 空気系光酸化反応生成物に関する研究, 国立公害研究所特別研究成果報 告R - 9 - 79. P. 9 - 27
- 近本武次・江阪 忍・迫田吉之助・1976.京都府南部地域における大気中炭化水素、全国公害研究誌 1:109-117
- 4. 加藤龍夫. 1975. 大気汚染のガスクロマトグラフ技術. 三共出版, 東京
- 5. 近藤次郎編. 1975. 大気汚染研究 現象の解析とモデル化 . コロナ社,東京
- Lonneman, W.A., S.L. Kopcynski, P.E. Darley and F.D. Sutterfields. 1974. Hydrocarbon Composition of Urban Air Pollution. Environ. Sci. Technol. 8: 229 - 236
- 7. Parsons, J.S. and S. Mitzner. 1975. Gas chromatographic method for Concentration and Analysis of Traces of Industrial Organic Pollutants in Environmental Air and Stacks. ibid. 9: 1053 – 1058
- Russell, J.W. 1975. Analysis of Air Pollutants Using Sampling Tubes and Gas Chromatography. ibid 9: 1175 - 1178
- Stedaman, D.H., C.H. Wu and H. Niki. 1973. Kinetics of Gas-Phase Reactions of Ozone with Some Olefins. J. Phy. Chem. 77: 2511
- 10. 渡辺征夫・山田重行. 1978. 並流カラムーデュアル検出器による大気中含酸素有機化合物および炭化水 素の同時分析,大気汚染学会誌 13:259-265

### Summary

Low-molecular-weight aliphatic hydrocarbons ( $C_2 - C_5$ ) contained in the circulated air in the plant growth cabinets with artificial light, were analyzed by gas chromatography. The air sample was collected on a porous polymer (Tenax GC) trap immersed in methanol-liq.N₂ (-110°). The collected sample was thermally desorbed into a gas chromatograph.

The concentrations of individual aliphatic hydrocarbons in the cabinet air were in the range of 0.5 to 10 ppb. It was found that the filters used for inlet ventilation air of the cabinets were unable to remove any of the low-molecular-weight aliphatic hydrocarbons. The concentration of PAN in the cabinet air was estimated to be less than  $10^{-3}$  of that O₃, when the concentrations of

 $NO_2$  and  $O_3$  in the cabinet air were controlled in a ppm range, and when a ventilation of the cabinet air was set at 10 times per hours.

Key words: Aliphatic hydrocarbon, Gas chromatography, Growth cabinet

国立公害研究所研究報告 第10号 (R—10--'79) Research Report from the National Institute for Environmental Studies No.10, 1979

II – 19

# 大気汚染ガス暴露のためのグロースキャビネット(II) NO₂, O₃ 複合系における反応生成物の問題について

松本 茂¹ • 大政謙次¹ • 相賀一郎¹

# Growth cabinet for air pollutants gas fumigation (II) Some problems of reaction products in $NO_2$ -O₃ system

Shigeru MATSUMOTO¹, Kenji OMASA¹ and Ichiro AIGA¹

## 要 旨

この報告ではNO₂ $-O_3$ 複合暴露実験の場合発生するNO₃等のNO_xがNO₂濃度制御 センサであるケミルミネッセンス方式NO_x分析計に及ぼす影響について述べる。 ま た反応生成物と換気量の関係について述べる。

NO_x分析計のコンバーターによる変換特性を調べた結果、NO₂とO₃の反応により生成したNO_xはSUS, MoおよびCのいずれのコンバーターでもNOに変換された。また反応で生成したNO_xはテフロン管に収着され易いことが明らかとなった。これらの結果から定性的にはサンプリング配管を長くすれば、NO₂以外の反応で生成したNO_xはテフロン管で除去されNO_x分析計はNO₂制御センサーとして使用できることが明らかとなった。

キャビネットによるNO₂, O₃複合ガス暴露実験の際発生するNO_xのキャビネット 内濃度は完全混合モデルを仮定すると換気回数に反比例し、換気回数を増すことで系 外へ除去できることが明らかとなった。この結果は実測値と一致した。

### 緒言

植物に対する大気汚染ガスの影響に関する研究が進むにつれて、従来NO_xとして扱われていた 窒素酸化物の主な成分である NO と NO₂の 植物影響の 違いが明らかにされつつある。例えば大政 (3) は植物の NO₂ および NO の収着実験を行った結果、汚染ガス収着の制限要因になる気孔底界 面濃度が NO は 0.9 以上であり NO₂は 0 であると報告している。このように NO と NO₂の 植物に 与える効果には顕著な差異があり、植物に対する NO_xの影響に関する研究は NO, NO₂等 NO_xの

^{1.} 国立公害研究所 技術部

^{1.} Division of Engineering, The National Institute for Environmental Studies, Tsukuba-gakuen, Ibaraki 305

各成分について解析する事が重要となっている。しかしこのような研究に使用されるガス暴露キャビネットにはいくつかの問題がある。例えばNO₂を暴露した時は植物生育用の光によりNO₂がNO とO₃に分解される可能性がある(2)。国立公害研究所植物実験施設で使用している人工光ガス暴 露キャビネットではこのような場合キャビネットの換気量を増すことにより生成したNOおよびO₃ と無視できる濃度まで減少させることができることを既に報告した(1)。この報告ではNO₂-O₃ 複合暴露実験の場合発生するNO₃等の酸化物(2)がNO₂濃度制御センサーであるケミルミネッセ ンス方式NO_x分析計に及ぼす影響について述べる。また反応生成物と換気量の関係について述べる。

### 実験結果および考察

ケミルミネッセンス方式NO_x 分析計の測定原理はNOとO₃の反応で発生するけい光を利用して おり、NO以外のNO_xはNO_x/NOコンバーターでNOに変換して測定している。人工光ガスキャ ビネットでNO₂、O₃複合実験を行う場合はNO₃、HNO₃等種々のNO_xが発生するため(2)、こ れらのNO_xのNO_x/NOコンバーターによるNOへの変換特性を定性的に調べた。

最初に図1に示した装置によりNO₃-に対するステンレス,モリブデン,カーボンの各コンバー ターの変換特性を求めた。実験ではマイクロシリンジにより一定量のKNO₃水溶液を注入し、コン



- 図1 NO₃ に対するSUS, M₀またはC触媒の特性を調べるための装置のブロック図 A:フィルター, B:ポンプ, C:ニードルバルブ, D:流量計, E:マイ クロシリンジ, F:石英筒, G:石英綿, H:ヒーター, I:ステンレス (SUS),モリブデン(Mo)またはカーボン(C), J:NO分析計。
- Fig. 1 Block diagram of the device for examining the effects of SUS, Mo or C as catalyzer on NO,
  A: filter B: pump C: needle valve D: flow meter E: micro-syringe
  F: quartz cylinder G: quartz wool H: heater I: SUS, Mo or C chip
  J: NO anaylzer

バーターで変換された NOを測定した。結果を表1に示す。この結果モリブデンおよびカーボンコ ンバーターはNO。をNOへ変換しないことが明らかとなった。次に各コンバーターによる NO。と O₃の反応により生成するNO_xのNOへの変換特性を調べた。実験装置を図2に示す。O₃発生装置 は紫外線照射方式を使用しており、紫外線をしゃ断することで O₃の発生を止めることができる。 実験はNO250ppm/N2標準ガスとO3発生装置を通った合成空気を混合し、コンバーターで変換 されたNOを測定した。その結果混合器とコンバーターを直結(テフロン管7cm)した場合はNO2 に空気を混合した場合とO3を混合した場合のNO分析計の指示は等しかった。これは反応生成物が 全てNOに変換されることを示している。しかしテフロン管を長く(130cm)した場合はNO2に 空気を混合した場合に比べて、O₃を混合した場合の方がNO分析計の指示が低下した。 これはテ フロン管が反応生成物を収着したことによるものと推定される。この点に関しては今後定量的な研

表1 SUS, MoまたはC触媒によるKNO₃水溶液のNOへの変換率

Table 1

Effects of SUS, Mo or C as catalyzer on the conversion to NO by addition of KNO, aqueous solution.





図 2 SUS, MoまたはC触媒によるNO2とO3の反応により生成するNOxのNO への変換特性を調べるための装置のブロック図。A:O₃発生装置, B:水, C:ステンレス (SUS), モリブデン (Mo) またはカーボン (C). D: NO分析計,E:記録計,F:混合器。

Fig. 2 Block diagram of the device examining for effects of SUS, Mo or C converter on the reaction products, NO_X, in NO₂-O₃ system A: ozonator B: water, C: SUS, Mo or C as catalyzer D: NO analyzer E: recorder F: mixer

究が必要であるが定性的にはコンバーターにモリブデンあるいはカーボンを使用する場合,サンプリング配管を長くすればNO_x分析計はNO₂制御センサーとして使用できることが明らかとなった。

キャビネットによるNO₂, O₃複合ガス暴露実験の際発生するNO_xを系外へ除去することは、前 に述べたように重要である。一般に物質 x のキャビネット内の濃度変化と完全混合モデルを仮定す ると

$$dc_x/dt = F \cdot c_{xi} + R_x - F \cdot c_x \tag{1}$$

となる。ここで $c_x$ はxのキャビネット内濃度、 $c_x$ は取入空気中のxの濃度、 $R_x$ はキャビネット内の反応等で発生あるいは消滅する速度、Fは換気回数、tは時間である。大政ら(4)はキャビネット内のNO₂とO₃の反応速度が

$$\frac{d(\text{NO}_2)}{dt} = 2 \frac{d(\text{O}_3)}{dt} = -2 k(\text{NO}_2)(\text{O}_3) \qquad k = 0.08 \text{ ppm}^{-1} \cdot \text{min}^{-1} (2)$$

で表されることを報告しており、 $NO_x$ の生成速度 $R_x$ は、

$$R_{x} = -\frac{d (\text{NO}_{2})}{dt} = 2 k (\text{NO}_{2}) (\text{O}_{3}) \qquad \qquad k = 0.08 \text{ ppm}^{-1} \cdot \text{min}^{-1} (3)$$



Fig. 3 Effects of ventilation on disappearance of O₃ reacted with NO₂ (NO₂: 1 ppm, O₃: 1 ppm, temp.: 35°C, humid.: 60 %RH) となる。定常状態でのキャビネット内の反応で生成するNO_xの濃度  $c_x$ は、取入空気中の濃度  $c_{xi}$ を 0とすると、

$$c_r = 2 k (\mathrm{NO}_2) (\mathrm{O}_2) / F \tag{4}$$

となる。この結果、反応で生成したNO_xは換気量を増すことにより、系外へ除去できることが明らかとなった。最後にNO₂/ppm、O₃1ppmの複合実験におけるシミュレーションと実測値を図 3に示す。この結果シミュレーションと実測値は一致した。

### 謝 辞

実験の一部に協力頂いた製鉄化学工業(株)額田正己氏,(株)柳本製作所山下孝一氏に感謝致します。

### 引用文献

- 1. 相賀一郎・大政謙次・安保文彰. 1978. 大気汚染ガス暴露のためのグロースキャビネット. 国立公害研 究所特別研究成果報告R-2-78. p.193-210
- 2. 近藤次郎編. 1975. 大気汚染研究-現象の解析とモデル化-. コロナ社,東京
- 3. 大政謙次. 1979. 植物群落の汚染ガス収着機能-現象の解析とモデル化- 陸上植物による大気汚染環 境の評価と改善に関する基礎的研究:昭和51/53年度特別研究報告. 国立公害研究所研究報告R - 10 - 79
- 大政謙次・安保文彰・相賀一郎. 1979. 環境制御装置内植物の NO₂ および O₃ 収着速度の同時測定法に ついて. 農業気象. 35:31-40

## Summary

When NO₂ and O₃ are fumigated simultaneously to vegetation in a environmental control chamber, NO_x's such as NO₃ are generated in a chamber. This paper was concerned with the effects of such NO_x's on the chemiluminescence NO_x analyzer using as concentration control senser of NO₂. And it was examined the possibility of the exhaust of reaction products such NO_x's to outdoor by increase of ventilation times.

As a result of examination on the conversion characteristics of the converter containing stainless steel chips, molybdenum chips or fine particles of glassy-carbon,  $NO_X$  as the reaction products between  $NO_2$  and  $O_3$  were able to be converted to NO by any kinds of converters. It was known that the reaction products have a tendency to be absorped inside of teflon tube. An adsorption characteristic was available to be used the analyzer as control senser by use of long length teflon tube.

The concentration of  $NO_X$  generated in the chamber when the  $NO_2$  and  $O_3$  simultaneous fumigation experiments were carried out, were estimated by a simulation model and the result was agreed with the measured value.

Key words: Fumigation chamber, NO2, NOX analyzer, O3

国立公害研究所研究報告 第10号 (R-10--'79) Research Report from the National Institute for Environmental Studies No.10, 1979

∏ − 20

# 制御温室におけるヒマワリの生長の季節的変動について

藤沼康実'• 町田 孝'• 戸塚 續²• 相賀一郎¹

# Seasonal changes in growth of sunflower in phytotron greenhouse

# Yasumi FUJINUMA¹, Takashi MACHIDA¹, Tsumugu TOTSUKA² and Ichiro AIGA¹

### 要 旨

温・湿度の制御された温室(25℃,70% RH)でヒマワリを生育時期をずらして, 1977年1月から1978年2月にわたり,計8回,播種後6週目まで同一方法で育成 し、ヒマワリの乾物生長に対する自然光の季節的変動の影響を調べた。

日長時間の変動の花蕾形成に対する影響は認められなかったが、人工光グロースキャビネットの対照区を除いて、生育期間中の積算放射量の変動と乾物生長量の増減が一致した。しかし、放射量を光合成有効放射量(P.A.R.)に変換して考えると、人工光区を含めて、乾物生長量とP.A.R.の積算値との間に正の相関があり、光条件が 直接乾物生長に影響する因子であることが明らかとなった。

また、生育初期には個体乾重量の相対生長率(R.G.R.)が放射量の増加に伴い増 大したが、生育中・後期には放射量の影響は少なく、ほぼ一定値をとった。乾物生長 量増分の各器官への分配率は、生育初期に放射量の増加に伴い、葉への分配率が高く なったが、生育中・後期になるに従い、生育初期とは反対に、非同化器官、特に茎へ の分配率が高くなった。これらのことから、乾物生長に対する放射量の影響は生育初 期に大きく、高放射量下ではR.G.R.が高くなると共に、葉の形成が促進され、それら が生育中・後期の乾物生長量に大きく影響することが明らかになった。

### 緒言

高等植物を実験対象とする試験研究において,植物実験用環境調節施設を利用することが、最近 多くなってきた。しかし、それらの施設の運営において、工学的な環境制御方法が確立されている のに反して、そこで供試されている実験材料植物の吟味は著しく立遅れている(1,2)。特に、そ

^{1.} 国立公害研究所 技術部

^{2.} 国立公害研究所 生物環境部

^{1.} Division of Engineering, The National Institute for Environmental Studies, Tsukuba-gakuen, Ibaraki

^{2.} Division of Environmental Biology, The National Institute for Environmental Studies, Tsukubagakuen, Ibaraki 305

れらの環境調節装置に適合した実験材料植物の栽培方法・生育条件を確立する必要性が叫ばれている(4,8)。

我々は、本研究所の植物実験施設における実験材料植物の育成方法の確立をめざして、さまざま な制御環境下での高等植物の生育動態を調査している。その一連の実験の中で、既に人工光型グロ ースキャビネットにおけるヒマワリの最適生育温度を検索し、その生育適温が25℃~30℃の範囲に あり、初期生育期の生長速度が生育温度により大きく影響されることを見出した(5)。

本報告では、温・湿度の制御された温室でヒマワリを1年間、同一の生育方法で生育時期をずら して栽培し、ヒマワリの乾物生長に対する自然光の季節的変動の影響を検討した。

### 材料および方法

### 実験材料植物とその育成方法

実験材料植物として、本研究所で自家採種したロシアヒマワリ(Helianthus annuus L. cv. Russian Mammoth)を用いた。培養土として、バーミキュライト:ピートモス:パーライト:小砂 利を2:2:1:1 (容量比) に混合した人工培土 1.8 ℓに Magamp-K5g,苦土石灰 15g を混 入し、1/1 万アールのプラスチック製ポットに詰めたものを使用した。1 鉢当たり3粒の種子 を播種し、発芽後、1 鉢1 個体仕立てとし、水ストレスを受けないように適度に潅水した。また、液肥として0.1%の Hyponex 液に Hoagland No.2 solution の微量要素液を加えたものを1 鉢当 たり 100~200 mlを3~4 日ごとに与えた。ほぼ着蕾する播種後6 週目まで相互被陰がないように 温室内の定位置で育成した。

### 生育環境条件

ヒマワリの生長実験を本研究所植物実験施設の制御温室で1977年から1978年にかけて、8回 行った。また対照区として、人工光グロースキャビネットで生長実験を1回行った。1回の生長実 験は6週間であった。制御温室はアルミフレームに複層ガラスが装着されたものであり、室温25± 1℃、湿度70±5%R.H.、風速は植物栽培位置付近の高さで40cm・s⁻¹以下に制御した。光条件は 日射計(MS-61:英弘精機製)で測定し、温室内への透過光量は室外の放射量の約55%であった。 その透過光量の54.5%が光合成有効放射量(P.A.R.)(LI-185:ラムダ社製で測定し、換算し た)であった。また、対照区の人工光グロースキャビネット(KG-306特殊型:小糸工業製)は 制御温室と同一の温度・湿度条件とし、14時間明期(5:00~19:00)に制御した。その光源は陽 光ランプ(D400:東芝製)に熱線吸収フィルターを装着したもので、P.A.R.量は日射計で測定 した放射量の96.6%であった。表1に各生長実験の行われた期間とそれらの期間中の積算放射量 と平均日長時間(9)を示した。

### 生長解析

播種後2週目, 4週目, 6週目の3回, 各回10鉢ずつサンプリングし, 草丈, 葉数, 葉面積およ
Growing periods		Integrated (kcal	radiation (cm ² )	,	Day length (hours)	
	W	Weeks after sowing				
	0 - 2	2 - 4	4 - 6	total		
1977,						
21, Jan 3, Mar.	1.72	1.91	2.01	5.64	10.9	
18, Mar 28, Apr.	1.94	· 2.60	2.72	7.26	13.0	
13. May - 23. Jun.	3.49	2.72	2.16	8.37	14.5	
24. Jun. – 4. Aug.	2.13	2.80	3.22	8.15	14.3	
19. Aug 29. Sep.	1.68	2.60	2.17	6.45	12.5	
30. Sep. – 20. Nov.	1.65	1.77	1.45	4.87	10.9	
11, Nov 22, Dec.	1.40	1.38	1.31	4.15	9.8	
22, Dec. ^{'<u>7</u>8} 1, Feb.	1.24	1.35	1.56	4.15	10.0	
Artificial light	2.23	2.43	2.38	7.04	14.0	

表1 制御温室におけるそれぞれの生長実験期間中の積算放射量と平均日長時間 Table 1 Changes in integrated radiation and mean day length at various growing periods

び各器官別(葉,茎,根,花蕾)の乾燥重量を測定し(子葉,葉柄の重量は茎のそれに加えた).1 個体当たりの平均値と標準偏差を求めた。また,播種時の種子乾燥重量は,種皮を除き1粒当たり 0.084gであった。

## 結果および考察

### 生育時期と生育状況

表2に、8回の各生育実験区における,播種後6週目の生育状況を示す。各生育実験区の中で、 冬期にあたる11月11日播種区が乾物重,草丈,葉面積とも最小の値を示した。夏期にあたる6月24 日播種区が最大の生長量を示し、個体重で比較すると11月11日播種区の4~5倍の生長量となった。 しかし、対照区の人工光で育成したものにははるか及ばなかった。形態的には夏期に育成されたヒ マワリは人工光区と同様に、剛健な様相になったが、冬季に育成されたものは徒長し、弱少な様相 に生育した。図1より、この生長量の変動を6週目の個体乾重を生育期間中の積算受光量と比較す ると、人工光で育成されたものを除き、積算放射量と個体乾重の両者の変動パターンが各生長実験 を通して一致し、両者間には高い正の相関(r² = 0.98)が得られた。この相関関係は草丈(r² = 0.78)、葉面積(r² = 0.94)でも認められた。このことから、生長の季節的変動はその生育期間 中の放射量の増減によることが明らかになった。しかし、人工光区の個体乾重は積算放射量と比べ、 きわめて大きい値を示した。この放射量は赤外部(~ 3000nm)を含む放射量であり、人工光区では放射量の 96.6%が光合成有効放射量(P.A.R.)であることから、各生育実験区の放射量をP.A.R.量に換算して、播種

- 表2 ヒマワリの生長因子の季節的変動。ヒマワリは自然光型制御温室と人工光型 グロースキャビネットで25℃,70% R.H.の条件下で播種後6週目まで育成さ れた。測定値は10個体当たりの平均±標準偏差を示す(ただし器官別乾物重 は平均値のみ)。()内の値は個体乾重に対する百分率を示す。
- Table 2 Seasonal changes in growth characteristics of sunflower. The plants were grown in phytotron greenhouse and in artificially-lit growth cabinet for 6 weeks after sowing at  $25^{\circ}$ C, 70 %R.H.. Each value indicates mean ± standard deviation (n = 10; standard deviation is excluded in dry weight each organ). Values in parentheses are percent to total dry weight.

Growth characteristics			Sowing date in phytotron greenhouse								
		1977	18, Mar.	13, May	24, Jun.	19, Aug.	30 ,Sep.	11, Nov.	22, Dec.	artificial light	
Plant height	cm	138.7 ±11.4	145.7 ± 6.6	133,3 ± <i>13.3</i>	161.0 ± <i>14.4</i>	130.6 ± <i>13.8</i>	92.1 ±1 <i>3.4</i>	91.9 ± <i>9.2</i>	93.8 ±1 <b>4.0</b>	175.7 ±9.2	
No. of leaves		21.2 ± 2.4	28.4 ± 3.8	25.2 ± 2.3	26.6 ± 3.1	24.0 ± 2.0	22.7 ± 2.2	22.0 ± 2.5	23.6 ± 3.0	31.9 ± 2.8	
Leaf area	dmʻ	17.6 ± 1.4	24.5 ± <i>3.3</i>	22.9 ± 1.8	31.0 ± <i>2.0</i>	23.6 ± <i>3.0</i>	20.5 ± <i>4.3</i>	10.0 ± 2.3	15.5 ± 1.9	42.1 ± 3.5	
Dry weight/p	ant										
total	ę	18.4 ± 1.9	31.7 ± 2.6	38.2 ± 4.2	45.7 ± 3.5	23.5 ± 2.4	15.2 ± 2.4	8.0 ± 1.4	12.1 ±.6	76.0 ± <i>8.4</i>	
leaf	g (%)	4.6 (37)	7,2	8.3	9.7	6.4 (28)	5.1	2.6	4.1 /34)	14.8	
· stem	8 (%)	10.7	19.1	22.3	28.5	12.2	6.7	4.2	5.8	47.9	
1001	B (%)	2,7	4.0	7.4	6.6	3.2	2.3	.9	1.7	9.0	
flower	(%) (%)	.4 (3)	1.4 (4)	.2 (3)	.9 (2)	1.7 (7)	1.1	.3	.5	4.3	

後6週目の個体重と積算 P.A.R.量との関係を図2 で検討した。その結果、人工光区を含めて、個 体乾重と積算 P.A.R.量との間には正の相関(  $r^2 = 0.90$ ) が認められた。従って、光環境を除く他 の環境因子が制御された環境下では、ヒマワリの乾物生長に関与する環境因子は受光量、それも直 接乾物生産につながる P.A.R.量のみであることが推定された。また、Downs and Hellmers (3) が指摘しているように、植物実験用環境調節装置で行われる植物の生長、特に乾物生長を扱う実験 において、P.A.R.の測定が必須項目になると思われる。

次に、ヒマワリの生長に対する日長時間の影響を調べると、表1より、各生育実験区ごとの平均 日長時間は14.5時間(5月13日播種区)から9.8時間(11月11日播種区)まで変動したが、各生 育実験区で着蕾しており、花蕾乾重が個体乾重に占める比率は大きな変動がなかった。従って、ヒ マワリでは日長時間が栄養生長から生殖生長への発育段階の転換には影響しないと思われる。



- 図1 それぞれの生育期間におけるヒマワリの平均個体乾物重(A)と生育期間中の積算受光量(B)の季節的変動。ヒマワリは25℃,70% R.H.で育成された。
  (A)中の縦線は平均値の標準偏差の2倍値を示す(n=10)。●:制御温室,
  ○:人工光型グロースキャビネット。
- Fig. 1 Seasonal changes in mean dry weight per plant of sunflower (A), and integrated radiation (B) at various growing periods. The plants were grown at 25°C, 70 %R.H. in phytotron greenhouse (•) and in artificially-lit growth cabinet ( $\circ$ ). Vertical bars indicate 2 × standard deviation of mean (n = 10).



- 図2 ヒマワリの平均個体乾物量と積算光合成有効放射量(P.A.R.)との関係。縦 線は平均値の標準偏差の2倍値を示す(n=10)。●:制御温室, 〇:人工光 型グロースキャビネット。
- Fig. 2 Mean dry weight per plant of sunflower in relation to integrated photosynthetically active radiation (P.A.R.). Measurements in phytotron greenhouse ( $\bullet$ ) and in artificially-lit growth cabinet ( $\circ$ ). Vertical bars indicate 2 × standard deviation of mean (n = 10).



- 図3 ヒマワリの器官別乾物重の代表的生長パターン(上図)と乾物生長増分の各 器官への分配率(下図)の季節的変化。分配率は各器官の乾物重の増分÷全 体の乾物重の増分×100%で示した。ヒマワリは制御温室と人工光型グロー スキャビネット内で育成した。
- Fig. 3 Seasonal changes in patterns of dry weight growth of each organ (upper), and distribution ratio in each organ (lower) in sunflower. The distribution ratio indicates the ratio of the dry weight increment of each organ to that of total plant dry weight × 100%. Measurements in phytotron greenhouse and in artificially-lit growth cabinet.



- 図4 それぞれの生育段階におけるヒマワリの AC / AF 比に対する光合成有効放射量の影響。 AC / AF 比は同化器官(葉)の増分に対する非同化器官(茎+根+花蕾)の増分の重量比を示す。●:制御温室、〇:人工光型グロースキャビネット。
- Fig. 4 Effects of photosynthetically active radiation (P.A.R.) on \u03c8C/\u03c4F ratio in each growing stage of sunflower. \u03c8C/\u03c8F ratio indicates the ratio of dry weight increment of non-photosynthetic organ (incl. stems, roots and flowers) to that of photosynthetic organ (leaves). Measurements in phytotron greenhouse (•) and in artificially-lit growth cabinet (0).



- 図5 全生育段階におけるヒマワリの相対生長率(R.G.R.)と積算光合成有効放射 量(P.A.R.)との関係。R.G.R.は播種後0~2週,2~4週,4~6週の3 生育段階の平均を示す。●:制御温室,○:人工光型グロースキャビネット。
- Fig. 5 Relation between relative growth rate (R.G.R.) and photosynthetically active radiation (P.A.R.) in sunflower. Values of R.G.R. indicate means of R.G.R. in three growing stages (0 - 2, 2 - 4 and 4 - 6 weeks after sowing). Measurements in phytotron greenhouse (•), and in artificially-lit growth cabinet (°).



- 図6 各生育段階におけるヒマワリの相対生長率(R.G.R.)に対する積算光合成有 効放射量(P.A.R.)の影響。●:制御温室,〇:人工光型グロースキャビネ ット。
- Fig. 6 Effects of photosynthetically active radiation (P.A.R.) on relative growth rate (R.G.R.) in each growing stage of sunflower. Measurements in phytotron greenhouse (•) and in artificially-lit growth cabinet ( $\circ$ ).

### 生長過程に対する P.A.R.の影響

前述のように,各生育実験区の生長量の差がその生育期間の積算 P.A.R.量に帰因するので,乾物 生産量を生産力と生産物の分配の両面から検討した。

図3(上)に生育実験区の季節的代表例4区と人工光区の器官別乾物量の増加パターンを、図3 (下)には各生育段階における生長の分配率(器官別乾物重の増分÷個体乾物重の増分×100%) を示した。図3より、生長量の大きな人工光区や夏季には、乾物重が生育後期になると急激に増加 した。また、それらの実験区の器官別乾物重の変化は生育初期に葉への同化産物の分配が大きく、 生育後期になるに従い、同化産物が茎へ著しく分配され、茎が同化産物のシンクとなった。しかし、 生長量の少ない秋、冬期には乾物重の増加も緩やかで、葉や他の器官への同化産物の分配は生育後 期まであまり変化がなかった。また、図4に生育段階ごとの積算P.A.R.量と4C/4F比(同化器 官の増分に対する非同化器官の増分の重量比)との関係を示した。播種後0~2週の生育初期には P.A.R.量の増加に伴って、同化産物の同化器官(葉)への分配が大きくなったが、生育中・後期に なるに従って、P.A.R.量の増加に伴い、非同化器官への同化産物が葉に多く分配され、急速に葉 の量を増大し、より大きな物質生産を行う体勢になる(6)ことが確認された。

次に、図5に全生育段階の平均の相対生長率(R.G.R.)と積算 P.A.R.量との関係を示した。全生 育段階における R.G.R.の平均値は P.A.R.量と対数の相関があった( $Y = 0.38 \ln X + 1.13$ ,  $\tau^2 = 0.92$ , Y : R.G.R., X : P.A.R.)。この関係を各生育段階ごとに分解すると(図6),図5で見ら れた対数の関係は播種後0~2週の生育初期のみに見られ、生育の進んだ生育中・後期には、P.A.R. 量による R.G.R.の変化は少なかった。また、生育が進むにつれて P.A.R.量に関係なく、どの実験区 でも R.G.R.が低下した。一般に日射は光合成、つまり生産過程に対しては促進的に働き、葉面積の 拡大に対しては抑制的に働くと言われている(7)が、図4と図6から、乾物生長に対する P.A.R. 量の影響を生育段階を追って考えると、P.A.R.量が大きい場合には、生育初期に物質生産の場であ る葉が急速に増加し、物質生産を促進する体勢を整え、その後は高い P.A.R.量が小さい場合には、 初期生育が遅れ、生育初期の葉の増加も緩やかで、生産力も低くなり、これが生育後期まで影響し、 同化産物の非同化器官への蓄積も少ないと思われる。

### おわりに

今回の実験は環境調節施設における実験材料植物の生育制御方法の確立のために行ったものであ る。その結果,環境調節施設で行われる植物の生長,特に乾物生長を扱う実験において,光合成有 効放射量の測定が不可欠なものであることが証明された。

今後さらに、光環境を含む環境因子の植物の生長に対する影響を調査し、制御環境下での植物の

上育動態を解析し、環境調節施設での実験材料植物の育成様式を確立したいと考えている。

付 記

本報告は、日本生物環境調節学会第16回大会(1978年)に発表された「制御環境下でのヒマワ りの生長:制御温室での生長の季節的変動について」を一部修正して構成されたものである。

### 引用文献

- 1. 相賀一郎・大政謙次・小林雄一, 1980 . 国立公害研究所植物実験用環境調節施設, 最近空調設備・空調 方式実例集, 経営開発センタ、(印刷中)
- 2. Downs, R. J., and H. Hellmers. 1975. Controlled environment as research tools. In Environment and The Experimental Control of Plant Growth, p.2-3. Academic Press, New York
- 3. ---- and ---. 1975. Light Measurement. ibid. p. 32-37.
- 4. Evans, G. C. 1972. Principles of Experimental Design. In The Quantitative Analysis of Plant Growth, p.80-81. Blackwell Sci. Pub., Oxford
- 5. 藤沼康実・町田 孝・戸塚 績・相賀一郎. 1978. 制御環境下でのヒマワリの生長-栄養成長におよぼ す温度要因の影響-. 陸上植物による大気汚染環境の評価と改善に関する基礎的研究. 昭和51/52 年度 研究報告. 国立公害研究所特別研究成果報告R-2-78. P.183-191
- 6. 木村 充. 1973. 光合成産物の分配,植物の生産過程(木村・戸塚著). p.90-93. 共立出版,東京
- 7. 玖村殺彦, 1976. 日射と物質生産, 作物の光合成と生態, p. 127-129. 農文協、東京
- 8. 宮山平八郎. 1972. ファイトトロンの役割と展望. バイオテク 3:865-869

### Summary

Effects of seasonal changes in the sunlight conditions on the dry matter growth of sunflowers grown in the phytotron greenhouse were examined during January, 1977 to February, 1978. As a control, the plants were grown in the artificially-lit growth cabinet under conditions of 25°C, 70%R.H. and 14 hours light period (40klux) per day.

Flower formations in the reproductive stage of growth were not influenced by the day-length, but the variations of the dry matter growth corresponded to changes in the integrated radiation in growing periods. There was a linear correlation between the integrated photosynthetically active radiation (P.A.R.) of 400-700 nm and the dry matter growth of plants grown in the sunlight and in the artificial light. At an early stage, 0-2 weeks after sowing, the relative growth rate (R.G.R.) of plant dry weight and also the ratio of the dry weight increment of leaves to that of whole plant increased with increase of the integrated P.A.R.. However, at later stages, the R.G.R.s were roughly constant, regardless of the P.A.R., and the ratio of dry weight increment of non-photosynthetic organs (especially stem) to that of whole plant tended to increase with increase of the integrated P.A.R..

It was concluded that the dry matter growth of sunflowers was dependent on the integrated P.A.R. received at the early stage of the growth; the R.G.R. of total dry weight and the growth of leaves were accelerated with increase of the integrated P.A.R., which in turn limited the dry matter growth at later stages.

Key words: Plant growth, Phytotron, Seasonal change in plant growth, Sunflower

国立公害研究所研究報告 第10号 (R-10-179) Research Report from the National Institute for Environmental Studies No. 10, 1979

## 二酸化硫黄の植物に及ぼす生理生化学的影響

## 菅原 淳

# Physiological and biochemical effects of sulfur dioxide on plants

## Kiyoshi SUGAHARA¹

二酸化硫黄(SO₂)は大気汚染物質の主要な成分として古くから知られており、その植物影響に 関しても多くの研究がなされてきた。これらの研究では可視障害発現、生育阻害、光合成能の低下 などに関するものが大勢を占めているが、SO₂ 毒性の作用機構やSO₂の物質代謝系への影響などと 取組んだものは少なかった。近年になって環境問題が重視され、実験設備や分析手法の開発に伴っ て生理生化学的レベルでの研究も行われるようになり、これらの成果に関するいくつかの総説も書 かれるようになった(10, 11, 16, 20, 46)

SO₂に限らず、大気汚染物質の植物影響の解析はなかなか困難である。その理由は、大気汚染物 質に対する植物の感受性が、さまざまな要因によって左右されるからである。すなわち、環境要因 としての温度、湿度、光、土壌中の水分や栄養塩組成、および植物の生育段階、令、さらにその植 物が育ってきた前歴などに加えて同品種間の個体差などがある。これらの要因を出来る限り制御し て再現性ある結果を得るためには、特殊な栽培施設や実験装置が必要であり、このことが大気汚染 の研究を可視現象のは握にのみ長く止まらせていたともいえる。

しかしながら, SO₂の植物影響を, これらの要因によって左右される障害発現を突き進んで, い つも再現性よく得られる現象──つまり細胞レベルあるいは細胞内器官レベル, あるいは更に奥深 く分子のレベルで得られるような生理生化学的現象 ── として捕えるならば, 植物種間差による影 響の評価までも可能になると思われる。

当研究所では、幸い優れた実験施設に恵まれており、上記の要因をかなりの精度で制御しながら SO₂障害発現の機作の解明を、上述のような生理生化学的レベルで行ってきた。今回は、これらの

^{1.} 国立公害研究所 生物環境部

^{1.} Division of Environmental Biology, The National Institute for Environmental studies, Tsukubagakuen, Ibaraki 305

研究結果を中心に SO₂の植物影響を生理生化学的に解析して行く。なお、本報告書に、 SO₂毒性に 対する植物の抵抗性の機作として、別稿がもうけられているので、重複を避けるために、これらの 内容は本稿から省いている。

## 1. 光合成色素の分解

SO₂による可視障害発現は光合成色素の分解によるものである。クロロフィル分解の機作に関してはいくつかの過程が報告されている(17,23,26,27)。RaoとLeBlanc(27)は、実験室で地 衣類を高濃度SO₂(5 ppm)に接触させると、クロロフィルがMg²⁺とフェオフィチンに壊れることを報告した。これは高濃度のため多量のSO₂が取り込まれ、pH低下が起ったために生じる二次的影響と考えられる。Puckettら(26)は、SO₂を水に通気して得られたaqueous SO₂(SO₂水溶 液)中に地衣類を浸した実験で、非可逆的酸化過程によるクロロフィルの分解が起こっていると報告した。一方、Malhotra(17)は、マツの葉を同じくSO₂水溶液に浸した実験で、10~50 ppmのSO₂では葉中のクロロフィラーゼが活性化され、クロロフィルbがクロロフィライドbに変換されたと報告している。これらの結果をまとめると、SO₂によるクロロフィル分解過程はi)フェオフィチン経由なのか、ii)クロロフィライド経由なのか、iii)不可逆的酸化なのかということになる。

我々は(30)SO₂暴露葉から80%アセトン溶液で色素を抽出し吸収スペクトルを測定した結果, フェオフィチンに由来する新たなピークの出現を認めず、クロロフィルαのピークの吸光度減少の みを認めたことから、SO2によるクロロフィルの分解はフェオフィチン経由でなく、ブリーチング であることを報告した。更にこの知見を裏付ける結果として(33), SO2 暴露葉から経時的に抽 出した色素を薄層クロマトにより分離定量し、クロロフィルαの分解が進行しているにもかかわら ず、葉中わずかに存在するフェオフィチンロはほとんど変動しないことを示した。次いでクロロフ ィルのブリーチングを起こす酸化力として活性酸素に着目し、 SO2を可視障害が生じない程度に暴 露( 2 ppm、 2 hr)した葉から打抜いた葉片板を用いて,暗所と明所,好気と嫌気条件下での色素 の分解及びこの分解に及ぼす活性酸素のスカベンジャーの効果を調べた。この結果、クロロフィル の分解には酸素と光が必要であり、スーパーオキシドラジカル(O2⁻)のスカベンジャーが分解を 阻害したことから、O₂[^]がクロロフィルのブリーチングに作用していることが明らかになった。O₂[−] は通常の場合でも光合成電子伝達系の光化学系 I の還元側で生成される( 5 )が,生体内に存在す るスーパーオキシドジスムターゼ(SOD)という酵素により消去され、無害の濃度に抑えられて いる(5)。我々の研究で(33)、このSOD添加により、暴露葉のホモジネートのクロロフィル分 解が抑えられる結果が得られており、O。「が分解に関与している別の証拠にもなっているが、この SODによる消去可能な量以上に SO2 暴露葉でO2 の生成が起こっていると考えられる報告が浅田 (4) により発表されている。すなわち葉緑体に亜硫酸を加えた実験で、光照射により以下のよう な亜硫酸の連鎖反応的酸化により〇2⁻が生成する。

-300-

 $SO_{3}^{2-} + O_{2}^{-} + 3H^{+} \longrightarrow HSO_{3} \cdot + 2OH \cdot$ (1)  $SO_{3}^{2-} + OH \cdot + 2H^{+} \longrightarrow HSO_{3} \cdot + H_{2}O$ (2)  $HSO_{3} \cdot + O_{2} \longrightarrow SO_{3} + O_{2}^{-} + H^{+}$ (3)  $HSO_{3} \cdot + OH \cdot \longrightarrow SO_{3} + H_{2}O$ (4)  $2HSO_{3} \cdot \longrightarrow SO_{3} + SO_{3}^{2-} + 2H^{+}$ (5)  $SO_{3} + H_{2}O \longrightarrow SO_{4}^{2-} + 2H^{+}$ (6)  $2OH \cdot \longrightarrow H_{2}O_{2}$ (7)

しかし、これらの結果は単離葉緑体について得られたもので、同様な現象がそのまま in vivoで 起こっているとするのは問題であり、今後詳しく追求されねばならない。

2. 脂質の過酸化

、細胞が生命現象を営む反応の場,例えば光合成を行う葉緑体や呼吸を行うミトコンドリアは、ラ メラ構造を持っている。このラメラ構造の構成成分である脂質の破壊は膜の生理機能の障害につな がる。生体内で脂質の過酸化が起こっていることは、マロンジアルデヒド(MDA)の生成を測定 することにより調べられるが、SO2暴露により可視障害を受けた葉中にMDAが生成されているこ とから、SO2が脂質の過酸化反応を引き起こしていることが知られていた(25)。我々の研究(33) においても、SO2暴露葉でクロロフィルαの分解と平行してMDAの生成が進行することが観られ た。しかし、MDA生成に対する活性酸素のスカベンジャーの阻害効果から、脂質を酸化する酸化 力はクロロフィルのブリーチングを引き起こすO2⁻ そのものではなくて、O2⁻から由来する一重項 酸素であるという結果が得られている。他に、脂質過酸化物がクロロフィル分解に必須であるとする考え (24) もあるが、我々の研究からは、クロロフィル分解と脂質の過酸化は、SO2暴露により増加した O2⁻のためにもたらされる平行した結果と考えられる。しかし、更に詳しい検討が必要である。

### 3. S-S 結合の解裂

SO2暴露によるラメラ構造の破壊および酵素の失活などについて、最も重要な観点は、これらの 構成成分であるタンパク質のS-S結合が亜硫酸によって解裂されるのではないかということであ る。

下記のような反応によって解裂が起こることは in vitro ではよく知られる事実である

 $RSSR + SO_{3}^{2-} \longrightarrow RS^{-} + RSSO_{3}^{-}$ 

Grill と Esterbauer(9)は SO2の影響をマツの 棄で調べたとき、SHの含量が障害を受けた葉

で2~4倍も高くなることを見出した。しかしこの結果については、SO2の直接的影響でなくて、 葉中の代謝系が変化を受け、より多くのSH化合物を生じるようになったのではないか(20)と、 否定するむきもある。近年、Misalski と Ziegler (19)は SO2 暴露によりチラコイド膜のSHの量 が増すこと、そして、この増加の程度が暗条件より明条件下で大きいことを報告している。このこ とはラメラタンパク質が攻撃を受けていることを暗示している。

我々は水溶性クロロフィルタンパク質を用いたモデル実験で次のような結果を得た(35)。 すな わち、このタンパク質に光をあてると、光転変反応を起こして、別の型の色素タンパク質になるが、 この変換反応にはタンパク質中のS - S結合が関与しており、このS - S結合が解裂すると反応が 進行しないことが知られている(22)。この転換反応をSO₃²⁻が10⁻³ M ~ 10⁻² M の濃度域で阻害 した(35)。SO₂暴露時にSO₃²⁻がこの濃度に匹敵する程生体内に生じるかは、すでに報告した我 々の結果(14)から計算して可能なことであり、SO₂暴露で、色素タンパク質のS - S結合の解裂 が起こっていることを裏付けていると思われる。更に詳しく検討中である。

# 4. 光合成電子伝達系の阻害

光合成電子伝達系への阻害を調べるには、当然単離葉緑体についてまず試みるということになる。 今までの多くの研究は葉緑体を用いたものであるが、特に SO₂障害を念頭において行ったもので なくて、亜硫酸イオン、硫酸イオンの影響という目的で得られたものもかなりある。結果は用いら れた葉緑体の単離方法や植物組織によって異なっている場合があり、 *in vitro* の結果が *in vivo* にすぐにつながらない難しさを感じさせる。植物体内に侵入した SO₂は SO₃²⁻ と HSO₃⁻ になり、 これが生体内防御機構で SO₄²⁻ に酸化されるので、 SO₄²⁻ の影響も含めて考えなければならない。

浅田ら(2)の研究をはじめいくつかの報告(3,6,28)は、 $SO_3^{2^-}$ や $SO_4^{2^-}$ は電子伝達反応は阻害せずに光リン酸化反応を阻害し、いわゆる脱共役剤として作用するとした。リン酸化反応においては、 $SO_3^{2^-}$ や $SO_4^{2^-}$ が  $PO_4^{3^-}$ ときっこうすることがいわれており、また $SO_4^{2^-}$ が coupling factor 1 (CFI)を攻撃するともいわれている。さらに $SO_3^{2^-}$ は金属イオンと結合する性質があり、重金属イオンを持った酵素を失活させることもいわれており、電子伝達鎖のフェレドキシンやチトクロームらの働きを阻害する可能性も報告されている(8)。また、光リン酸化反応のcofactor として知られるビタミンK₃などとも結合することがいわれており、これらのcofactor の失活も光リン酸化反応の阻害につながると考えられる。

Malhotra (15) は、 マツの葉を SO2水溶液中に浸して後、その葉緑体を単離して酸素発生を測 定すると共に、電子顕微鏡により葉緑体ラメラ構造の変化を観察した。マツの葉の中間部と末梢部 とから単離した葉緑体では、酸素発生は 500 ppmの SO2水溶液濃度で完全阻害、しかし先 端部か らの葉緑体はこの濃度でほとんど阻害を受けず、1000 ppmの濃度で完全に阻害された。完全阻害 が起こる段階では、電子顕微鏡観察により葉緑体内部構造がかなり乱れていることが示された。こ のように植物の葉組織の発育段階によっても影響の受け方が異なるので、なるべく in vivoに近い 状態で研究を行わなければならない。

我々の研究においても、なるべく in vivo に近い状態での SO₂ 障害の機作をは握するために、ホ ウレンソウ個体を SO₂に暴露し、その暴露葉から葉緑体を単離して、電子伝達系に対する SO₂の影 響を観た(29,34)。葉のクロロフィル分解の起こる以前に、電子伝達系の光化学系 II の反応が阻 害を受けたが、この段階では光化学系 I の反応はほとんど阻害を受けなかった。また、光リン酸化 反応や光誘導の pH 変化などのエネルギー転換反応系は直接影響を受けなかった(29)。この光化学 系 II の反応の阻害機作をさらに詳しく追求し、人工電子供与体および受容体と各種阻害剤との組合 わせ条件下での電子の流れと、葉緑体から発するクロロフィル a のけい光誘導期現象の変化から、こ の阻害は光化学系 II の反応中心そのものか、あるいはその近傍が阻害されていることを明らかにし た (34)。上述の結果から分かるように、単離葉緑体で得られた結果とは必ずしも一致しない。ま た、さらに SO₂暴露葉から葉緑体を単離するという人異的影響を除く目的で、暴露葉片そのものを 反応混液中に浸し、酸素電極を用いて酸素の発生と吸収を測定した(32)。また同時に、葉片自体 が発するクロロフィル a のけい光誘導期現象の変化を測定した。これらの実験結果から、光合成電 子伝達反応阻害には、不可逆的なものと可逆的なものとが存在することが明らかになった(32)。可 逆的なものは単離葉緑体レベルでの測定では得られなかったものだけに、今後 in vivo での障害機 作の解析のために新たな詳しい検討を必要とする。

#### 

古く Wislicenus (41) や米丸 (42) らによって、α-ヒドロキシスルフォネートが炭酸固定経 路を阻害するということが論じられた。当時、光合成の初期生成物がフォルムアルデヒドであると いう説が支持されていたこともあって、Wislicenus は植物体内で亜硫酸が直接同化作用の中間生 成物であるアルデヒドと結合して炭水化物の生成を阻害すると唱えたが、米丸は彼の説が実験的裏 付けがないことに注目し、彼と同様な実験の反復および種々の詳細な実験の積重ねを行い、アルデ ヒドと亜硫酸の反応によって生ずるα-ヒドロキシスルフォネートが有害作用を行い、さらにアル デヒドは同化作用の産物そのものでなく植物有機酸から由来すると論じた。α-ヒドロキシスルフ ォネートの直接的効果は、それからずっと後の Zelitch (43) によるグリコール酸酸化酵素の阻害 報告である。次いで、浅田と葛西(1) はタバコ葉で、浅田ら(2) はホウレンソウ葉緑体で、α -ヒドロキシスルフォネートが炭酸固定を10⁻² M以上の濃度で阻害することを報告した。しかしな がら、SO₂暴露によりα-ヒドロキシスルフォネートが阻害を示す程高濃度に生体的に蓄積するか どうかは疑問視されており、むしろ、この物質を含む bisulfite 化合物は葉緑体膜に作用し、その 膜の透過性に影響を与えるために炭酸固定が阻害されるとする報告もある(21)。

炭酸ガス(CO2)吸収へ及ぼす SO2の影響については, Thomas ら (36, 37, 38), Katz(13)

-303-

Vogl (39), William (40), 松岡 (18), 古川 (7)など多くの研究があるが, これらの結果をまと めてみると次のようなことがいえる。すなわち, SO2暴露により SO2吸収速度は直ちに低下し始め るが, SO2の無毒化処理可能ないき値内(可視障害の表れない条件下)では, 暴露停止後光合成 速度は正常のレベルまで回復する。しかし, いき値を越えた可視障害が表れる条件下では, 完全 回復はみられない。回復過程には二段階あって, 早い回復とゆっくりした回復がある。

Ziegler (44) はホウレンソウの無傷葉緑体を用いて、炭酸固定経路の重要な位置を占める RuDP カルボキシラーゼの活性部位に CO₂が結合する反応を SO₃²⁻ がきっこう的に阻害すること、そして この阻害は可逆的であることを示した。先に述べた SO₂暴露による CO₂吸収の阻害の中で、早い回 復を示す可逆性は、この RuDP カルボキシラーゼ活性の可逆的阻害に対応しているといえる。また、 Ziegler とその共同研究者達は、CO₂固定経路の種々の酵素例えばフォスフォエノールピルビン酸 カルボキシラーゼ (45),リンゴ酸脱水素酵素 (47,48).グリセルアルデヒド 3 リン酸脱水素酵素 (49) などについての SO₃²⁻ の影響も調べている。SO₂暴露が進行すれば、これらの酵素の阻害も 引き起こされ、CO₂固定が全面的に阻害を受けることになり、前述のゆっくりした回復に相当する ものの中にこれらの酵素の阻害回復が含まれていると思われる。

一方, SO₂水溶液を用いて, 地衣類(26)やマッの葉(15)の¹⁴CO₂固定の阻害を, 色素の分解 や微細構造変化と平行して調べた報告があるが, 詳しい機作の解析は試みられていない。

我々は、SO2暴露(2 ppm, 1時間)後の葉片を用いて、NaHCO3を基質としたときの酸素交換反応を緩衝液中で測定した(32)。元の活性の約20%まで阻害されていた酸素発生能は徐々に回復し、4時間後に約70%にまで回復した。しかし残りの30%は回復しなかった。HCO3 が基質である以上、CO2固定系が阻害を受けておれば、電子伝達系の電子の流れもスムーズに行かなくなり、酸素発生も阻害される。このゆっくりした酸素発生の回復過程は、上述のCO2吸収阻害のゆっくりした回復と対応する可能性がある。この遅い回復過程は、生体内に残存するSO3²⁻の無毒化反応の進行(亜硫酸酸化反応)を示すのか、CO2固定経路中の失活した酵素の修復過程なのか、新たな酵素の誘導による機能回復過程なのか、あるいはこれらの混り合ったものなのか、今後検討すべき問題である。

当研究所で行われている研究を中心に、SO₂の植物影響の機構を生理生化学的解析により説明し て来た。このように生理生化学的レベルでの影響が明らかになってくると、ある特定の生理活性を 指標として測定することにより再現性よくその影響を検知できることが期待される。その1例とし て、葉緑体の光合成電子伝達活性あるいはけい光収率を指標とすることが試みられ、かなりよい結 果が得られている。しかしながら、植物のSO₂防御機構も含めて、全体としていまだ不明な点が多 く、今後の研究に待つ所が多い。特に、得られた実験結果が in vivo でも行われているかどうかの 判定は困難であり、出来るだけ in vivo に近い状態で研究を行う方法を開発することも、今後の課 題の一つと思われる。

### 引用文献

- Asada, K. and Z. Kasai. 1962. Inhibition of the photosynthetic carbon dioxide fixation of green plants by α-hydroxysulfonates and its effects on the assimilation products. Plant & Cell Physiol. 3: 125-136
- 2. Asada, K., S. Kitoh, R. Deura and Z. Kasai. 1965. Effect of α-hydroxysulfonates on photochemical reactions of spinach chloroplasts and participation of glycolate in photophosphorylation. ibid. 6:615-629
- 3. Asada, K., R. Deura and Z. Kasai. 1968. Effect of sulfate ions on photophosphorylation by spinach chloroplasts. ibid. 9: 143-146
- 4. Asada, K. and K. Kiso. Initiation of aerobic oxidation of sulfite by illuminated spinach chloroplasts. Eur. J. Biochem. 33: 253-257
- Asada, K., M. Takahashi, T. Tanaka and Y. Nakano. 1977. Formation of active osygen and its fate in chloroplasts. In *Biolochemical and Medical Aspects of Active Oxygen* (Edit. by O. Hayashi and K. Asada), p. 45-63. Japan Scientific Societies Press, Tokyo
- Ballantyne, D. J. 1973. Sulfite inhibition of ATP formation in plant mitochondria. Phytochemisty 12: 1207-1209
- 7. 古川昭雄・戸塚績。1978. ヒマワリ葉の光合成,気孔開度におよぼす二酸化イオウの影響. 陸上植物による大気汚染環境の評価と改善に関する基礎的研究。昭和51/52年度研究報告.国立公害研究所特別研究成果報告R-2-78. p57 65
- 8. Griessmeyer, H. 1930. Über experimentelle Beinflussung des Eisen in Chloroplasten. Planta 2: 331
- 9. Grill, D. and H. Esterbauer. 1972. Water-soluble sulfhydryl compounds in intact and SO₂-damaged pine needles. Soc. Ecol., Proc. Conf. Load Loadabil. Ecosyst., 1972, Giessen, West Germany, p.155-156
- Hällgren, J. E. 1978. Physiological and biochemical effects of sulfur dioxide on plants. In Sulfur in the Environment, Part II: Ecological Impact (Edit. by J. O. Nriagu), p.163-209. A Wiley-Intersci. Publ., New York
- Horsman, D. C. and A. R. Wellburn. 1976. Guide to the metabolic and biochemical effects of air pollutants on higher plants. In *Effects of Air Pollutants on Plants* (Edit. by T. A. Mansfield), p.185-199. Cambridge Univ. Press, Cambridge
- 12 Imamura, M and S. Shimizu. 1974. Metabolism of chlorophyll in higher plants. IV Relationship between fatty acid oxidation and chlorophyll beleaching in plant extract. Plant & Cell Physiol. 15: 187-190
- Katz, M. 1949. Sulfur dioxide in the atmosphere and its relation to plant life. Ind. Eng. Chem. 42: 2450-2465
- Kondo, N. and K. Sugahara. 1978. Changes in transpiration rate of SO₂-resistant and -sensitive plants with SO₂ fumigation and the perticipation of abscisic acid. Plant & Cell Physiol. 19: 365-373
- 15. Malhotra, S. S. 1976. Effects of sulphur dioxide on biochemical activity and ultrastructural organization of pine needle chloroplasts. New Phytol. 76: 239-245
- 16. Malhotra, S. S. and D. Hocking, 1976. Biochemical and cytological effects of sulphur dioxide on plant metabolism. ibid. 76: 227-237
- 17. Malhotra, S. S. 1977. Effects of aqueous sulphur dioxide on chlorophyll destruction in *Pinus contorta*. ibid. 78: 101-109
- 18. 松岡義浩. 1978. 水稲の二酸化硫黄障害とその機作に関する研究。千葉県農試特別報告7:1-63
- Miszalski, Z. and I. Ziegler. 1979. Increase in chloroplastic thiol groups by SO₂ and its effect on light modulation of NADP-dependent glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase. Planta 145: 383-387
- 20. Mudd, J. B. 1975. Sulfur dioxide. In Responses of Plants to Air Pollution (Edit. by J. B. Mudd and T. T.
- Kozlowski), p.9-22. Academic Press, New York

- Murray, D. R. and J. W. Bradbeer. 1971. Inhibition of photosynthetic CO₂ fixation in spinach chloroplasts by α-hydroxy-2-pyridinemethanesulphonate. Phytochemistry 10: 1999-2003
- 22. Oku, T. and G. Tomita, 1975. The reversible photoconversion of *Chenopodium* chlorophyll protein and its control by the apoprotein structure. Plant & Cell Physiol. 16: 1009-1016
- 23. Peiser, G. D. and S. F. Yang. 1977. Chlorophyll destruction by the bisulfite-oxygen system. Plant Physiol. 60: 277-281
- 24. Peiser, G. D. and S. F. Yang. 1978. Chlorophyll destruction in the presence of bisulfite and linoleic acid hydroperoxide. Phytochemistry 17: 79-84
- 25. Peiser, G. D. and S. F. Yang. 1979. Ethylene and ethane production from sulfur dioxide-injured plants. Plant Physiol. 63: 142-145
- Puckett, K. J., E. Nieboer, W. P. Flora and D. H. S. Richardson. 1973. Sulphur dioxide: its effects on photosynthetic ¹⁴C fixation in lichens and suggested mechanisms of phytotoxicity. New Phytol. 72: 141-154
- 27. Rao, D. N. and F. LeBlanc. 1965. Effects of sulfur dioxide on the lichen algae with special reference to chlorophyll. Bryologist 69: 69-73
- 28. Ryrie, I. J. and A. T. Jagendorf. 1971. Inhibition of photophosphorylation in spinach chloroplasts by inorganic sulfate. J. Biol. Chem. 246: 582-588
- 29. Shimazaki, K. and K. Sugahara. 1979. Specific inhibition of photosystem II activity in chloroplasts by fumigation of spinach leaves with SO₂. Plant & Cell Physiol. 20: 947-955
- 30. 島崎研一郎・菅原淳. 1978. 二酸化イオウの植物影響の作用機序に関する研究(1) 光合成電子伝達反応 阻害とクロロフィル分解との関連について. 陸上植物による大気汚染環境の評価と改善に関する基礎的研 究. 昭和51/52年度研究報告,国立公害研究所特別研究成果報告,R-2-78,p.35-46
- 31. 島崎研一郎・菅原淳・岡田光正・滝本道明, 1978. 二酸化イオウの植物影響の作用機序に関する研究(2)。 光 合成電子伝達反応の阻害機構および葉緑体反応の指標性について,昭和51/52年度研究報告, 国立公害研究所特別研究成果報告, R-2-78.p.47-56
- 32. 島崎研一郎・伊藤久仁子・菅原淳. 1979. ホウレンソウ葉の酸素交換反応とクロロフィルけい光の誘導期 現象に及ぼす二酸化硫黄暴露の影響.陸上植物による大気汚染環境の評価と改善に関する基礎的研究.昭 和52/53年度研究報告.国立公害研究所研究報告.R=10-79
- 33. 島崎研一郎・榊 剛・菅原淳。1979. 二酸化硫黄暴露によるホウレンソウ葉の光合成色素分解と脂質過酸 化反応に対する活性酸素の関与. 昭和51/53年度研究報告. 国立公害研究所研究報告. R-10-79.
- 34. 島崎研一郎・菅原淳, 1979. 二酸化硫黄暴露による光合成電子伝達反応の阻害部位について, 昭和51/53 年度研究報告,国立公害研究所研究報告,R-10-79
- 35. 菅原淳・内田節子・滝本道明. 1979. 亜硫酸イオンの水溶性クロロフィルタンパク質に及ぼす影響. 昭和 51/53年度研究報告,国立公害研究所研究報告.R-10-79
- 36. Thomas, M. D. and G. R. Hill. 1935. Absorption of sulphur dioxide by alfalfa and its relation to leaf injury. Plant Physiol. 10: 291-307
- 37. Thomas, M. D. and G. R. Hill. 1937. Relation of sulphur dioxide in the atmosphere to photosynthesis and respiration of alfalfa. ibid. 12: 309-383
- Thomas, M. D., R. H. Hendricks and G. R. Hill, 1944. Some chemical reactions of SO₂ after absorption by alfalfa and sugar beets. ibid. 19: 212-226
- Vogl, M., S. Boertitz and H. Polster. 1964. Physiologische und Biochemische Beitraege zur Rauchschadenforshung (3); Der Einfluss Stossartiger, Starker SO₂-Begasung auf die CO₂-Absorption und einige Nadelinhaltsstofe von Fichte und Bergkiefer unter Laboratoriumsbeding. Arch. Forstwesen 13: 1031-1043
- 40. Williams, R. J. H., M. M. Loyd and G. R. Ricks. 1971. Effects of atmospheric pollution on deciduous woodland (1); Some effects on leaves of *Quercus petraca* (mattuschka) Leibl. Environ. Pollut. 2: 57-68
- 41. Wislicents, H. 1914. Sammlung von Abhandlungen über Abgase und Rauchschäden. Heft 10

- 42. 米丸忠太郎。 1927. 亜硫酸ガスの植物に及ぼす障害作用について、農事試報告 47: 1-102
- Zelitch, I. 1957. α-hydroxysulfonates as inhibitor of the enzymic oxidation of glycolic and lactic acids.
  J. Biol. Chem. 224: 251-260
- 44. Ziegler, I. 1972. The effect of SO₃⁻ on the activity of ribulose-1, 5-diphosphate carboxylase in isolated spinach chloroplasts. Planta 103: 155-163
- 45. Ziegler, I. 1973. Effect of sulphite on phosphoenolpyruvate carboxylase and malate formation in extracts of Zea mays. Phytochemistry 12: 1027-1030
- 46. Ziegler, I. 1973. The effect of air-polluting gases on plant metabolism. In *Environmental Quality and Safety* (Edit. by F. Coulston and F. Korte), Vol. 2 p.182-208. Academic Press; New York
- 47. Ziegler, I. 1974. Action of sulphite on plant malate dehydrogenase. Phytochemistry 13: 2411-2416
- Ziegler, I. 1974. Malate dehydrogenase in Zea mays: properties and inhibition by sulphite. Biochim. Biophys. Acta 364: 28-37
- 49. Ziegler, I., A. Marewa and E. Schoepe. 1976. Action of sulphite on the substrate kinetics of chloroplastic NADP-dependent glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase. Phytochemistry 15: 1627-1632

国立公害研究所研究報告 第10号 (R-10-'79) Research Report from the National Institute for Environmental Studies No. 10, 1979

**Ⅲ** – 2

# SO2毒性に対する植物の防御機構

# 近藤矩朗

# Physiological responses involved in defense against SO₂ phytotoxicity

# Noriaki KONDO¹

都市地域,工場地帯および火山地帯などの大気に含まれる種々のガス状物質によって植物は様々 な被害を受ける。特に植物に多大な被害を与える物質として,硫黄酸化物,窒素酸化物,オキシダ ント、フッ化水素,エチレンなどがあるが,同一ガスによる被害の程度は植物の種類によって大き く変動するし,異なる種類のガスに対する植物の感受性の違いも植物種間で著しい差違が見られる。 このような汚染ガスに対する植物の種類による反応の違いに基づいて,植物を大気汚染情況の指標 として用いようとする試みがなされてきた。しかし,植物の大気汚染物質に対する感受性は種々の 条件,例えば植物あるいは葉の令や光,日長,温度,湿度,灌水,施肥などの栽培条件,さらには 大気汚染物質被暴の前歴などによって大きく左右される。したがって植物を大気汚染の指標として 用いるためには感受性に影響を与える種々の要因を十分に検討する必要がある。そのためには感受 性を支配する生理的および生化学的要因を解明することが不可欠である。このような研究を始める



図1 SO₂毒性発現過程の概略図

1. 国立公害研究所 生物環境部

1. Division of Environmental Biology, The National Institute for Environmental Studies, Tsukubagakuen, Ibaraki 305

に際し、まず二酸化硫黄(SO₂)を取り上げた。 SO₂は植物に顕著な被害を与えること、植物に吸 収された SO2を生化学的に追跡することが可能であることなどがその理由である。図1に示したよ うに大気中のSO₂は気孔を通って植物の葉に侵入し、孔辺細胞の湿表面あるいは細胞液中で亜硫酸 あるいは重亜硫酸イオンとなり水素イオンを生成する。水素イオン生成は周囲の pHを下げること になり、生理機能に数知れぬ影響を与えるものと思われる。亜硫酸イオンは極めて反応性に富んで おり、タンパク質のS-S結合を解裂したり(4)、種々の重金属、色素およびその他の物質と反応 して活性酸素の一つである0%を生成して(1)、種々の物質の分解を誘起し亜硫酸自身は硫酸に酸 化される。SO2の典型的な障害はクロロフィルの分解であり、試験管レベルの実験から、この反応 の少なくとも一部は亜硫酸によって生成が促進されるO₂が関与している(23)と考えられるように なった。本報告書に示されているように、島崎らは SO2 暴露した植物葉中には光と酸素の存在下で O₂⁻が増大し、これがクロロフィルの分解を引き起こすことを示唆した(28)。また、O₂⁻から生成 した¹O2 が脂質を分解して生体膜に損傷を与えているように思われる。このように SO2 暴露から可 視被害発現までの過程に種々の反応が介在していることは明らかである。植物はこのような種々の 反応過程に SO₂による毒性を防御する機構を備えているものと考え, SO₂毒性に対する防御機構を 各素過程について研究を進めた。なお,植物に吸収された SO₂が生体成分と反応して有毒物質に変 わることによって毒性を発揮するという考えもある。グリコール酸酸化酵素の阻害剤であるα-ヒ ドロキシスルフォネートは亜硫酸とアルデヒドあるいはケトンとの反応生成物で、炭酸固定や光リ ン酸化反応を阻害する (2,3) ことから、一時注目されたが,植物体内に検知できるほど生成する には極めて高濃度の SO2 暴露を必要とするため、現在ではこの物質の関与は疑問視されるようにな った。以下に、私たちの研究の背景と得られた結果を簡単に紹介する。

### 1. 気孔の開閉運動による SO2 吸収の制御

SO₂による被害の程度は葉の SO₂吸収速度に依存することは古くから知られていた(38)。また、 暴露時の湿度,光強度などが植物の抵抗性,ガス吸収を支配していることも古くから知られていた (29)が,これらの環境要因が気孔の開閉を支配することが明らかになると共に,SO₂に対する植物 の抵抗性は気孔を通しての SO₂の吸収速度に依存することが一般的に受け入れられるようになって きた(35,36)。しかし,気孔の密度,開度と SO₂ に対する抵抗性との間には必ずしも相関関係は 認められなかった(5,6)。これらの実験では暴露中の気孔の挙動についての注意が払われなかったが、 前報告書(14)にも示したように,私たちは SO₂ 暴露に伴う気孔の運動がSO₂吸収速度を支配してい ることを見出した(16)。多くの植物において,高濃度 SO₂に対する抵抗性は気孔の挙動と密接に 関係しているように思われる。また,前報および本報告書(13)にも示したように SO₂暴露に伴う気 孔の運動には植物ホルモンのアブサイシン酸(ABA)が重要な役割を演じていることが明らかにな った。すなわち,ABAを多く含む植物は SO₂にさらされると素早く気孔を閉じて SO₂の吸収を減 少させた。それでは SO₂とABA はどのような相互作用をしているのだろうか。 SO₂の影響は前述 のように pH 低下効果と亜硫酸イオンの効果とに分けて考えられるが、ABAと相互作用をもつのは **亜硫酸ではなく pH効果であることを本報告書において示唆した(13)。この結果は、水に溶けると** 水素イオンを生じるどんなガスにも当てはまることになり、CO₂による気孔閉孔 運動がABAに依 存するという報告(27)とも適合するし、NO2とABAとの間に見られるSO2の場合と同様の相互作 用(未発表データ)をも説明できる。しかし、ABA作用とpHとの間にどのような関係があるかは 今後の課題である。ABAは気孔を閉じさせるホルモンであることは知られている(11)が、どのよ うな機作によっているのかは明らかでない。気孔の開閉運動は孔辺細胞への種々のイオン特にカリ ウムイオンの出入りによって制御されているので、カリウムイオンの透過性を支配していると考え られる膜結合の Mg, K-ATP アーゼに対して ABA がどのような作用を示すかを調べてみた。ABA が Mg、K-ATPアーゼ活性を促進することが観察された(20)ので、このABA作用と気孔運動と の関係については今後更に検討していく予定である。一方,2種のC4植物においては,SO2による 気乳閉孔運動とABA含有量との間に相関関係は認められなかった(13)。したがって、気孔運動に |対する.ABAが関与しない SO₂独自の作用も考えなければならない。亜硫酸イオンが PEPカルボ キシラーゼを阻害することが知られている(19, 22, 41)。PEPカルボキシラーゼ阻害は, 気孔開 孔のために必要とされるリンゴ酸生成を低下させるので、 SO₂による気孔閉孔運動は説明できるよ うに思われるが、PEPカルボキシラーゼ阻害はCa、C4植物のいずれにおいても見られるので、更 に詳細な研究が要求される。一方, α-ヒドロキシスルフォネートがC₄植物のリンゴ酸生成を顕著に 阻害するという報告(22)があり、この面からも検討する必要があるかもしれない。いずれにせよ、 ABA および亜硫酸の気孔開閉運動制御の機構は今後に残された興味深い研究テーマである。

### 2. pH 緩衝機能

SO₂が気孔を通して葉中に侵入し水に溶けると水素イオンを生じて pHを低下させるはずである。 前述のように pH低下が気孔閉孔の引き金役を果たすこともあり, pH低下イコール 害作用とは言え ないが、細胞液の pH 変動は種々の生理障害を引き起こすものと思われる。細胞内の代謝反応は至 適 pHの異なる種々の酵素によって動かされており, pH変動は代謝系を狂わすことになる。また, pH低下はクロロフィルのフェオフィチン化を引き起こし光合成機能の阻害および可視被害を生じる。 事実, SO₂ 暴露によるクロロフィルのフェオフィチン化に関していくつかの報告がある (10, 17, 25, 26)。しかし、本報告書において島崎らが報告しているようにフェオフィチン化が見られない 場合もある (28)。また、前報告書に示しているように, SO₂暴露によって, 10⁻²M程度の水素イ オンが生じているはずであるにもかかわらずホウレンソウ葉磨砕液の pH変化は極めて小さい(32)。 SO₂暴露によって葉中の pH があまり変動しないことは古くから報告されており (37),植物は大き な pH 緩衝機能を持っていると考えられる。この緩衝機能には解離した有機酸の他に塩基性物質が

-311 -

関与している可能性がある。Priebeら(24)はSO₂暴露によりポリアミンの生成が促進されることを見出し、これと水素イオンが結合することによって水素イオンを除去すると考えた。また、前述のように酵素反応は pH によって支配されるが、逆にこれが細胞液の pH を巧みに調節するという 考えもある(31)。

### 3. 亜硫酸の酸化による亜硫酸の無毒化機構

亜硫酸イオンはタンパク質のS-S結合を解裂することが知られており(4),種々のタンパク質 の機能障害。酵素活性の阻害を引き起こすと考えられる。本報告書において菅原らは亜硫酸イオン が水溶性クロロフィルタンパク質の光転換反応を阻害することを報告し、S―S結合の解裂による ものと推定した (33)。また、亜硫酸が炭酸ときっこう的に炭酸固定系の酵素を阻害することも報告 されている(19.40-42)。更に、亜硫酸イオンは電子伝達系や種々の物質の介在のもとで活性酸 素を牛じ (1)、植物体に不可逆的な指傷をも引き起こす。このような有毒な亜硫酸イオンを低毒性 の硫酸イオンに酸化することで SO₂による被害を軽減することができると考えられる。実際, SO₂ 暴露葉には硫酸の蓄積が見られる(39)が、上述の活性酸素生成の際、同時に亜硫酸酸化も起こる ため、亜硫酸の酸化すなわち無毒化反応とは言い切れない。しかし, SO₂吸収による被害発現には吸収 日のいき値が存在すること(21.38).吸収の絶対量だけでなく吸収速度が関係していること(38) などから無輩化機構の存在が示唆されており、また最近、亜硫酸の酸化速度と亜硫酸に対する抵抗 性との間に相関関係があることが報告された(18)。動物には亜硫酸酸化酵素が存在し、SO₂に対 する抵抗性と密接な関係があることが報告されている(7-9)が、植物葉にはこのような物質の存 在は確認されていなかった。そこで、亜硫酸酸化活性を有する物質を数種の植物を用いて調べ、そ の結果を前報告書(15)および本報告書(12)に報告した。高分子および低分子の活性物質の存在が 確認され、SO2に対する抵抗性との関連が示唆された。低分子活性物質の同定、これらの物質の諸 性質については今後の研究が必要である。

## α - ヒドロキシスルフォネートについて

グリコール酸酸化酵素の阻害剤である $\alpha$ -ヒドロキシスルフォネートは炭酸固定,光リン酸化を 阻害する(2,3) ことから,植物葉中で亜硫酸イオンにより生成する有毒物質として古くから注目 されてきた。また、 $\alpha$ -ヒドロキシスルフォネートはPEPカルボキシラーゼを阻害することも報 告されている(19)。しかしながら、極めて高濃度のSO₂に暴露しないとこの物質の生成が検出でき ないことからこの物質の役割は疑問視されてきた。しかし、5ppmSO₂に暴露したオオムギ葉にお いて $\alpha$ -ヒドロキシスルフォネートによる影響を示唆する結果が報告されており(30), SO₂影響 におけるこの物質の関与は否定できないように思われる。また、もし $\alpha$ -ヒドロキシスルフォネー トが植物体内で分解しにくいならば、不安定な亜硫酸に代わって安定な有毒物質として植物葉中で 作用していることも考えられるので、今後検討していく必要があるかもしれない。

## 5. 活性酸素の消去機能

亜硫酸イオンはCo, Mn等の重金属,種々の酵素,あるいは葉緑体の電子伝達反応などにより酸化されると共に,活性酸素の一つであるO₂⁻を生じ,これがクロロフィルの分解を引き起こすと考えられる。また,O₂⁻より生じる¹O₂は脂質の過酸化物を生成して膜機能等を破壊するものと思われる。本報告で島崎らが報告しているように、SO₂に暴露したホウレンソウ葉ではO₂と光の存在下でのみクロロフィルの分解が進行し,脂質の過酸化生成物であるMDAの蓄積が認められた(28)。これらの結果より,クロロフィルの分解や膜の機能および構造の破壊等のSO₂による急性被害は活性酸素の毒性によるものと結論される。それならば活性酸素を消去することによってSO₂被害を軽減することができるはずである。植物の葉緑体にはO₂⁻を消去するスーパーオキシドジスムターゼ(SOD)が存在し,電子伝達反応により生成されるO₂⁻を消去しているが、SO₂によりO₂⁻の生成が増大してSODの処理能力を越えると活性酸素による障害が発現すると考えられる。本報告書に示されているように,田中と菅原はポプラの葉位別のSOD含有量とSO₂抵抗性とを比較し、両者の間に平行関係を見出した(34)。また,低濃度および高濃度SO₂に暴露した葉にSODの誘導が見られ、SOD活性の増大した葉はSO₂に対して強い抵抗性を獲得したと報告した。これらの結果はSO₂による酸素毒性の防御にSODが重要な役割を果たしていること、ならびにSO₂に暴露された植物葉はSOD活性を増加することによってSO₂汚染環境に対して順応していることを示している。

ここに述べたように植物は SO₂ 毒性に対して数段の防御機構を備えている。多くの植物では高濃 度 SO₂に対しては気孔運動による防御が抵抗性を決定し,低濃度 SO₂に対しては第2 段以降の生化 学的防御機構が抵抗性を支配している。しかし,すべての植物がこれらの機能を十分に備えている 訳ではない。例えば,ABAを多く含み気孔での防御機能が高い落花生,トマトは亜硫酸酸化活性 はあまり強くない。一方,酸化活性の高いトウゴマは気孔での防御機能はほとんどなく SO₂吸収は 極めて大きい。またABA含有量は水条件で大きく変化するし、トマトの亜硫酸酸化活性も施肥条 件で変動するように思われる。更にポプラの SOD活性は SO₂ 被暴歴によって変動した。このよう に栽培条件によって種々の生理・生化学的活性が変動するため、植物を大気汚染の指標とする場合 には、その植物の生理・生化学的特徴を理解し、目的に応じた栽培条件を設定しなければならない。 また、生化学的指標としてポプラの SOD活性のように被暴歴によって著しく変化する活性を測定 することによって汚染情況をは握することもできると思われる。この場合にも他の環境条件の影響 を十分に検討しておく必要があるだろう。

### 引用文献

- Asada, K. and K. Kiso. 1973. Initiation of aerobic oxidation of sulfite by illuminated spinach chloroplasts. Eur. J. Biochem. 33: 253-257
- Asada, K., S. Kitoh, R. Deura and Z. Kasai. 1965. Effect of α-hydroxysulfonates on photochemical reactions of spinach chloroplasts and participation of glyoxylate in photophosphorylation. Plant & Cell Physiol. 6: 615-629
- 3. Asada, K. and Z. Kasai. 1962. Inhibition of the photosynthetic carbon dioxide fixation of green plants by  $\alpha$ -hydroxysulfonates, and its effects on the assimilation products. ibid. 3: 125-136
- 4. Bailey, J. L. and R. D. Cole. 1959. Studies on the reaction of sulfite with proteins. J. Biol. Chem. 234: 1733-1739
- Bell, J. N. B. and C. H. Mudd, 1976. Sulphur dioxide resistance in plants: a case study of Lolium perenne. In Effects of Air Pollutants on Plants. (Edit. by T. A. Mansfield), p.87-103. Cambridge University Press
- Bressan, R. A., L. G. Wilson and P. Filner. 1978. Mechanisms of resistance to sulfur dioxide in the Cucurbitaceae. Plant Physiol. 61: 761-767
- 7. Cohen, H. J. and I. Fridovich. 1971. Hepatic sulfite oxidase. The nature and function of the heme prosthetic groups. J. Biol. Chem. 246: 374-382
- Cohen, H. J., I. Fridovich and K. V. Rajagopalan. 1971. Hepatic sulfite oxidase. A functional role for molybdenum. ibid. 246-382
- . 9. Cohen, H. J., R. T. Drew, J. L. Johnson and K. V. Rajagopalan. 1973. Molecular basis of the biological function of molybdenum. The relationship between sulfite oxidase and the acute toxicity of bisulfite and SO₂. Proc. Nat. Acad. Sci. USA 70: 3655-3659
- Coker, P. D. 1967. The effects of sulphur dioxide pollution on bark epiphytes. Trans. Br. Bryol. Soc. 5: 341-347
- Jones, R. J. and T. A. Mansfield. 1970. Suppression of stomatal opening in leaves treated with abscisic acid. J. Exp. Bot. 21: 714-719
- 12. 近藤矩朗・秋山洋子・藤原 誠・菅原 淳. 1979. 植物における亜硫酸酸化活性. 陸上植物による大気 汚染環境の評価と改善に関する基礎的研究. 昭和51/53年度特別研究報告. 国立公害研究所研究報告 第10号
- 13. 近藤矩朗・丸田一成・菅原 淳, 1979. 二酸化硫黄暴露による植物の蒸散変化のアブサイシン酸による制 御と気孔開度に及ぼす亜硫酸イオンと pH の影響. 同上
- 14. 近藤矩朗・菅原 淳.1978. 二酸化イオウに対する植物の抵抗性に関する研究(2) 二酸化イオウ暴露によ る植物の蒸散変化とアブサイシン酸量との関連について.陸上動物による大気汚染環境の評価と改善に関 する基礎的研究.昭和51/52年度研究報告.国立公害研究所特別研究成果報告 R-2-78.p.17-24
- 15. 近藤矩朗・菅原 淳. 1978. 二酸化イオウに対する植物の抵抗性に関する研究(4)植物における亜硫酸酸 酸化反応について、同上. p. 29-34
- Kondo, N. and K. Sugahara. 1978. Changes in transpiration rate of SO₂-resistant and -sensitive plants with SO₂ fumigation and the participation of abscisic acid. Plant & Cell Physiol. 19: 365-373
- Malhotra, S. S. 1977. Effects of aqueous sulphur dioxide on chlorophyll destruction in *Pinus contorta*. New Phytol. 78: 101-109
- 18. Miller, J. E. and P. B. Xerikos. 1979. Residence time of sulphite in SO₂ 'sensitive' and 'tolerant' soybean cultivars. Environ. Pollut. 18: 259-264
- 19. Mukerji, S. K. and S. F. Yang, 1974. Phosphoenolpyruvate carboxylase from spinach leaf tissue: inhibition by sulfite ion. Plant Physiol. 53: 829-834
- 20. 小幡浜子・近藤矩朗・菅原 淳. 1979. ホウレンソウ、ソラマメおよびトウモロコシ葉中の,マグネシウム によって活性化される膜結合 ATPアーゼに及ぼすアブサイシン酸とカリウムイオンの影響.陸上植物に 関する基礎的研究.昭和51/53年度特別研究報告.国立公害研究所研究報告 第10号
- 21. O'Gara, P. J. 1922. Sulphur dioxide and fume problems and their solutions. Abstract in Ind. Eng. Chem. 14: 744

- Osmond, C. B. and P. N. Avadhani. 1970. Inhibition of the β-carboxylation pathway of CO₂ fixation by bisulfite compounds. Plant Physiol. 45: 228-230
- 23. Peiser, G. D. and S. F. Yang. 1977. Chlorophyll destruction by the bisulfite-oxygen system. ibid. 60: 277-281
- Priebe, A., H. Klein and H. -J. Jager. 1978. Role of polyamines in SO₂-polluted pea plants. J. Exp. Bot. 29: 1045-1050
- Puckett, K. J., E. Nieboer, W. P. Flora and D. H. S. Richardson. 1973. Sulphur dioxide: its effect on photosynthetic ¹⁴C fixation in lichens and suggested mechanisms of phytotoxicity. New Phytol. 72: 141-154
- Rao, D. N. and B. F. LeBlanc. 1965. Effects of SO₂ on the lichen alga, with special reference to chlorophyll. Bryologist 69: 69-75
- Raschke, K. 1974. Abscisic acid sensitizes stomata to CO₂ in leaves of Xanthium strumarium L. In Plant Growth Substances 1973. p.1151-1158. Hirokawa Publishing Co. Inc., Tokyo
- 28. 島崎研一郎・榊 剛・菅原 淳、1979. 二酸化硫黄暴露によるホウレンソウ葉の光合成色素分解と脂質 過酸化反応に対する活性酸素の関与.陸上植物による大気汚染環境の評価と改善に関する基礎的研究.昭 和51/53年度特別研究報告、国立公害研究所研究報告 第10号
- 29. Setterstrom, C. and P. W. Zimmerman. 1939. Factors influencing susceptibility of plants to sulphur dioxide injury I. Cont. Boyce Thompson Inst. 10: 155-181
- 30. Spedding, D. J. and W. J. Thomas. 1973. Effect of Sulphur dioxide on the metabolism of glycollic acid by barley (*Hordeum vulgare*) leaves. Aust. J. Biol. Sci. 26: 281-286
- Stout, R. G. and R. E. Cleland. 1978. Effects of fusicoccin on the activity of a key pH-stat enzyme, PEPcarboxylase. Planta 139: 43-45
- 32. 菅原 淳・近藤矩朗・滝本道明, 1978. 二酸化イオウに対する植物の抵抗性に関する研究(3) 二酸化イオ ウ暴露による植物細胞液の pH 変化について、陸上植物による大気汚染環境の評価と改善に関する基礎的 研究,昭和51/52年度研究報告、国立公害研究所特別研究成果報告 R-2-78. p. 25-28
- 33. 菅原 淳・内田節子・滝本道明、1979. 亜硫酸イオンの水溶性クロロフィル蛋白質におよばす影響.陸上 植物による大気汚染環境の評価と改善に関する基礎的研究.昭和51/53年度特別研究報告、国立公害研究 所研究報告 第10号
- 34. 田中 浄. 菅原 淳. 1979、二酸化硫黄毒性防御へのスーパーオキシド ジスムターゼの関与について. 同上
- Taylor, O. C. 1973. Acute responses of plants to aerial pollutants. In Air Pollution Damage to Vegetation. (Edit. by J. A. Naegele), p.9-20. American Chemical Society, Washington, D.C.
- 36. Thomas, M. D. 1961. Effects of air pollution on plants. In *Air Pollution*. p.233-278. World Health Organization, Geneva
- 37. Thomas, M. D., R. H. Hendricks and G. R. Hill. 1944. Some chemical reactions of sulphur dioxide after absorption by alfalfa and sugar beets. Plant Physiol. 19: 212-226
- Thomas, M. D. and G. H. Hill. 1935. Absorption of sulphur dioxide by alfalfa and its relation to leaf injury. ibid. 10: 291-307
- 39. Weigal, J. and H. Ziegler. 1962. Die raumliche Verteilung von ³⁵S und die Art der markierten Verbindungen in Spinatblattern nach Begasung mit ³⁵SO₂. Planta 58: 435-447
- 40. Ziegler, I. 1972. The effect of SO₃²⁻ on the activity of ribulose-1, 5-diphosphate carboxylase in isolated spinach chloroplasts. Planta 103: 155-163
- 41. Ziegler, I. 1973. Effects of sulphite on phosphoenolpyruvate carboxylase and malate formation in extracts of Zea mays. Phytochem. 12: 1027-1030
- 42. Ziegler, I. 1974. Malate dehydrogenase in Zea mays: properties and inhibition by sulfite. Biochem. Biophys. Acta 364: 28-37

-315-

国立公害研究所研究報告 第10号 (R-10-79) Research Report from the National Institute for Environmental Studies No. 10, 1979

∭ — 3

## 植物の生長に及ぼす二酸化硫黄の影響

# 戸塚 績¹

## Effects of sulfur dioxide on plant growth

## Tsumugu TOTSUKA¹

主要な大気汚染物質の一つである二酸化硫黄(SO₂)の都市域における環境濃度は、排煙脱硫装 置の技術的進歩とその普及、あるいは環境行政の努力によって、近年著しく低下してきており、環 境基準を満足する地域が多くなってきた(22)。しかし、SO₂は主として石油、石炭など化石燃料 の燃焼や硫化鉱からの金属製練に伴って排出される量が多く、火山活動など自然現象で排出される 量はわずかである。大規模な人為的排出源ばかりでなく小規模な排出源において、排煙に含まれる SO₂を完全に除去することは技術的にも困難で、工業活動の規模拡大に伴って、今後とも都市域に おける SO₂による大気汚染は環境問題の重要な課題として残されている。

SO2の植物に及ぼす影響については、かつて、我が国ばかりでなく諸外国でも硫化鉱製練所の周辺で、排煙中のSO2による植物被害が社会問題化し、調査研究が行われてきた(32)。そのためSO2の植物影響については、比較的高濃度SO2による植物被害が研究の中心におかれていた。しかし、20世紀後半に入って、世界的な工業活動の増大により、環境汚染物質が人類の生活環境中に大量に放出され、環境汚染が各国で社会問題をひき起こすようになった。SO2による大気汚染の問題も、かつての高濃度SO2による局所的な植物被害から、都市域の生活環境下で、広域かつ低濃度長期間暴露による植物被害へと質的に変化してきた。

### 1. SO₂による植物の被害

SO₂による植物被害では、可視被害と不可視被害が区別される(30)。障害の定義が研究者の間で も統一されていないようであるが、ここでは次のように区別しておく。すなわち、可視被害には 比較的高濃度(1~数 ppm SO₂)の短時間(24時間以内)暴露で葉肉細胞の破壊→壊死となって現

¹ 国立公害研究所 生物環境部

^{1.} Division of Environmental Biology, The National Institute for Environmental Studies, Tsukubagakuen, Ibaraki 305

れる急性障害と、低濃度に長期間(1日以上あるいは1~数年間)暴露されたとき、葉面に漂白班 (クロロシス)となって現れる慢性障害とがある。その症状は植物の種類によって異なり、「大気汚 染植物被害写真集」(30)や「大気汚染による農作物被害症状の標本図譜」(18)が参考となる。ま た、不可視被害では、肉眼では被害がみられないが、光合成や呼吸などの植物の生理機能の低下を もたらし、その後の植物の生長や収量に悪影響を与える。不可視害でも、植物の乾物生長の低下と なって現れる場合には被害を認識できるので、可視被害・不可視被害の区別は必ずしも明確でない。

以上に述べたような障害は、葉面を通じて体内に SO₂が吸収され、それが毒性の強い亜硫酸イオ ンや重亜硫酸イオンとなって蓄積されるためであると考えられている(39)。さらに、これらのイ オンが酸化されてより毒性の弱い硫酸イオンになり、体内に蓄積される(39)。藤原(1975)は、 ソバを使った実験をもとに、可視被害の発現過程について次のように考察している。すなわち、高 濃度 SO₂暴露では、SO₃²⁻、あるいはHSO₃⁻のSO₄²⁻への酸化反応が律速要因となって、亜硫酸イ オンが一時的に葉内に蓄積され、それが細胞の破壊を引き起こす。一方、低濃度暴露では、吸収さ れた SO₂が短時間内に硫酸塩に変化し、亜硫酸塩の蓄積はわずかであるが、暴露時間が長くなるに つれて硫酸塩が蓄積する。そのために SO₃²⁻ → SO₄²⁻ への反応が抑制され亜硫酸塩の増加→可視害 発現を引き起こすのではないかという。

人間社会に及ぼす SO₂の影響について, 我が国では人間の健康被害が主として取り上げられてき た。しかし, 植物は人間を含めた高等動物一般に比較して SO₂汚染に対して著しく感受性が高い。 それゆえ,林木, 農作物や公園緑地, さらには, 一般家庭に植栽されている鑑賞植物に対して, また, 自 然環境としての生物生態系の物質循環に対して, SO₂の影響を無視できないであろう。SO₂に対す る植物の高感受性を利用して, 大気汚染環境評価のための手法や大気汚染環境改善のための緑地帯 の利用法を開発したり, 農業作物の収量への影響評価, さらには家畜の健康を阻害するという牧草 の硫酸塩含量の増加を予測評価することは, 我々の食糧確保と生活環境の保全のために不可欠では ないかと考える。

### 2. 可視障害と植物の生長

植物の乾物生長に対する SO₂の影響について Hill and Thomas (1933) や Katz (1949) らは, 可視障害をうけた葉面積が少なくとも全葉面積の5%以上にならないと,植物体の乾物生長が減少 しないと主張した。さらに Brisley and Jones (1950) が小麦の種実収量を,Brisleyら (1959) はワタの収量について検討し,SO₂暴露による作物の収量減少が,可視害を受けた葉面積の割合に 比例することを認めた。Hill and Thomas (1933) はアルファルファ群落で,SO₂暴露による群落 乾物生長量の減少を測定し,収量(y,対照値に対する%)と葉面の可視障害発現度(x,全葉面 積に対する可視被害葉面積%) との関係を次式で表示した。

$$y = a - bx$$

*a*と*b*は定数で,*a*はほぼ 100 %,*b*はこの回帰直線のこう配である(例えば、アルファルファで は*a* = 99.5, *b* = 0.30)。この関係式が前述の小麦(7)およびワタ(8)の実験結果の整理に 適用され、*a*と*b*が算出されている(39)。なお、小麦では生育段階の経過とともに*b*の値が著し く増加している。

最近の報告の一つ, Heck and Dunning (1978)のエンバクを用いた実験でえられた結果から図 1が得られた。また, Linzon (1978)がカナダオンタリオ州サドベリー地区のニッケル・銅製練所 周辺のストローブマツ (*Pinus strobus* L.)林で, 1953年~1963年までの10年間の年平均材積生 長量の増減と1963年8月に1年葉に発現している可視被害度を調査した結果を記載している。この 資料を(1)式にあてはめてみると,可視害発現度と材積生長量増減値との間に直線的関係が成立 した。



- 図1 SO₂暴露による葉面の可視害徴発現 状態と植物個体重(コントロールに 対する%)との関係。△,●,○は それぞれ暴露条件を異にした3種類 の実験結果を示す。暴露条件:
  - △: 1, 2, 4 ppmで SO₂で 1.5 時間
    × 2 回暴露(生育前中期)
  - ●: 0.75, 1.5, 3.0 ppmSO₂で1.5
    時間×2回暴露(生育中期)
  - ○: 0.8, 1.6ppm SO₂で3時間×2 回暴露(生育後期)

Heck and Dunning (1978)より作図。



図2 アキニレ(●)とイチョウ(○)に おける SO₂ドースと葉面可視障害発 現との関係。Temple(1972)より 作図。

-319-

(1)

SO₂による植物被害を数量的に論ずるには、SO₂の濃度、暴露時間と植物の反応との関係を数量 的には握することが必要である。Temple(1972)が報告している二、三の木本植物のSO₂暴露に よる可視害発現に関するデータをもとに、SO₂ドース(濃度×暴露時間)と葉面可視害度との関係 を求めた結果、図2がえられた。この関係は実験に用いたSO₂の濃度の範囲(2~8 ppm)内で成 立するものである。図2で横軸を切る値、すなわち可視障害が発現しないSO₂ドースが小さいほど、 また、直線のこう配が大きいほど、植物のSO₂感受性が高いといえる。この観点から判断すると、 アキニレの方がイチョウより感受性が高いといえよう。

Thomas and Hill (1935) はアルファルファで一定の割合の葉面可視害発現をもたらすのに要 する SO2濃度と暴露時間との関係を調べている(図3 参照)。この三者の関係が次式で表わされ ている。この式は O'Gara が最初に提案した式を一部修正したものである。

$$t \left( C - C_0 \right) = b' \tag{2}$$

ここで*t* は暴露時間(時間), *C* は SO₂ 濃度 (ppm), *C*₀ は可視害発現の下限濃度 (ppm), *b* は定 数である。例えば50%可視害発現の場合, *C*₀ = 1.4, *b* = 2.1 となる。図 3 をもとに, SO₂ ドース と葉面可視害度との関係を求めた結果, 図 4 が得られた。この関係は図 3 に示した SO₂ 濃度の範囲 で成立しうる。一定の可視害発現に要する SO₂ ドースが, SO₂ 濃度が高くなると若干減少するため に, 可視害度と SO₂ ドースとの関係が図中の 2 本の直線でかこまれた範囲内(細線をほどこされた 部分)で変動することを示す。(2) 式とは別に Guderian ら(1960)が指数関数式を, Zahn (1963) が(2) 式を修正した関係式を提示しているが, (2) 式が単純で実際に適用するのに便利なよう



▲33 アルファルファにおりる楽曲弓には 害度(図中の数字,被害面積の割合), 暴露時間,SO₂濃度との関係(37)



図4 図3をもとに算出したアルファルフ ァにおける SO₂ドースと葉面可視障 害度との関係

に思われる。また、この(2)式と(1)式とを組合せて、一定の可視害徴発現をもたらす SO₂ド ースと、そのドースによる暴露処理に伴う生長量の低下を推定することができるとおもわれる。

図2や図4に示した実験では、暴露時間が数時間以内と比較的短く、SO2濃度も比較的高い。しかし、生活環境中で生育する植物が比較的低濃度のSO2に長時間(例えば数か月~1年間)暴露されても、可視障害の発現しない大気中SO2濃度を知ることが、自然環境としての植生の保全を考える上に必要である。

前に述べた(2)式は、次のように変形できる。

$$C = \frac{1}{t} \cdot b' + C_0 \tag{3}$$

この式は、図3の数値を用いて、横軸に暴露時間(t)の逆数、1/t、縦軸にSO₂ 濃度(C)をとれば直線化することを意味している。ここで、縦軸をきる値 $C_0$  (ppm SO₂)は、1/t = 0、すなわち、暴露時間が無限大のとき、一定の可視害発現に必要なSO₂ 濃度を示す。図3では、葉面の可視害度0%のとき、 $C_0 = 0.24$ 、可視害度50%のとき $C_0 = 1.4$ となる。このような値を種々な植物について求めておけば、葉面における可視害発現を一定の値におさえるのに必要な大気中SO₂ 濃度を知ることができる。

表1と表2は、世界でも有数なニッケル生産量をほこるカナダオンタリオ州サドベリー地区に生育している農作物や林木について、葉面の可視障害度が10%に達するに要する暴露時間とSO2濃度を示している。これらのデータを(3)式にあてはめてみると、1時間暴露のときのSO2濃度値が(3)式の直線関係からはずれるが、その他の2,4、8時間暴露とSO2濃度との関係は、多くの植物で(3)式を満足する。一例を図5に示す。そこで、表1、2に示された植物について、2,4、8時間暴露時のSO2濃度の値から(3)式の $C_0$ と*b*を求めた結果、表1、2の右側2列に示した値がえられた。 $C_0$ の値のばらつきをみると、農作物では21種のうちの16種が0.02~0.20 ppmSO2の値をとり、5種が0.31~0.35 ppmの値を示した。前者の範囲は、 $C_0$ がもっとも小さい植物は $C_0$ の最も大きい種より10倍もSO2感受性が高いことを意味している。林木では、0.16~0.20 ppm を示した種が4種含まれていた。

上に述べたように、可視害発現に関して、植物のSO₂抵抗性は、植物の種類によって著しい差があ る。植物のSO₂抵抗性を支配している機構はまだ完全には解明されていない(本報告書 309頁 参照)が、まず第一の問題はSO₂が植物体内にとりてまれるかどうかである。植物の葉面における SO₂の吸収には、葉面における気孔開度が関与する。また、体内に吸収されたSO₂はHSO₃⁻やSO₃²⁻ イオンとなり、体液の pH を低下させる。 pH の低下は植物細胞内の種々な化学反応に障害をもた らす。したがって細胞の緩衡機能によって pH の低下をどの程度抑制できるかが問題となる。また、 体内の SO₃²⁻ イオンは SO₄²⁻ イオンとなって葉内に蓄積されるが、この SO₃²⁻ → SO₄²⁻ への酸化反応 の速度が問題となろう。最近 Miller and Xerikos(1979)は SO₂抵抗性を異にするダイズの品種で、葉

-321 -

表 1 各種農作物について可視障害(被害葉面積が全葉面積の10%)をもたらす 暴露時間と SO2濃度との関係(42)。本文中(3)式の C₀ および b⁶を算出 した結果を示す。

		最高	<b>玉平均濃度</b>	(ppm)		C ₀	<i>b</i> ⁷
	- <del>2</del> 1	1時間	2時間	4時間	8時間	ppm	ppm•t
y	13	0.56	0.39	0.26	0.15	0.09	0.62
オオ	ムギ	0.63	0.44	0.24	0.12	0.02	0.85
ムラサキ	-ツメクサ	0.70	0.46	0.27	0.14	0.05	0,84
ダイ	コン	0.76	0.54	0.29	0.14	0.02	1,06
エン	バク	0.63	0.59	0.34	0.17	0.05	1.10
エン	ドウ	0.63	0.59	0.34	0.17	0.05	1.10
· ル	バーブ	0.63	0.59	0.34	0.17	0.05	1.10
チモシー	·(牧草)	0,66	0.54	0.40	0.21	0.14	0.83
フダ	ンソウ	0.88	0.64	0.42	0.27	0.16	0.97
インゲ	ンのー種	0.46	0.45	0.43	0.21	0.20	0.57
テン	サイ	1.31	0.77	0.45	0.23	0.07	1.42
カ	ブ	1.31	0.77	0.45	0.23	0.07	1:42
ニン	ジーン	1.08	0.79	0.50	0.25	0.11	1.40
キュ	ウリ	1.08	0.79	0.50	0.25	0.11	1.40
$\nu$	タス	0.64	0.56	0.43	0.38	0.32	0.49
۲ ۲	マト	0.64	0.56	0.43	0.38	0.32	0.49
ジャ	ガイモ	0.64	0.56	0.43	0.38	0.32	0.49
エゾ	イチゴ	0.74	0.63	0.53	0.39	0.34	0.61
セロ	リー	0.87	0.74	0.55	0.29	0.20	1.14
ホウレ	ンソウ	1.34	0.91	0.50	0.34	0.14	1.54
+ +	ベッ	0.94	0.89	0.70	0.45	0.36	1.11

表2 表1と同じ。ただし林木の場合(42)。

	最	高 平	均濃度		<i>C</i> ₀	b' .
122 1	1 時間	2 時間	4 時間	8時間	ppm	_ppm • t
ドロノキの一	種 0.66	0.43	0.37	0.20	0.17	0.56
(Populus grandidente	ata					
Michx.)						
ヤナギのー	種 0.41	0.38	0.33	0.30	0.28	0.21
ドロノキの一つ	種 0.42	0.39	0.26	0.13	0.07	0.67
(Populus tremuloides				`		
Michx.)						
バンクシャマ	ツ 0.52	0.44	0.29	0.20	0.13	0.63
ストローブマ	ツ. 0.45	0.35	0.25	0.21	0.16	0.38
ハンノキの一	重 0.46	0.43	0.43	0.21	0.21	0.50
アカマツの一	重 0.78	0.69	0.44	0.30	0.18	1.03
(Pinus resinosa Ait.)					,	
ドロノキの一	重 0.82	0.65	0.45	0.26	0.16	1.01
(Populus balsamifera L.)						
オーストリアマ	ツ 0.66	0.45	0,44	0.33	0.33	0.28
アメリカマンサ	ク 1.14	0.75	0.45	0.23	0.08	1.36
アカガシの一	重 0.89	0.82	0.61	0.41	0.31	1.06
サトウカエ	デ 0.82	`0.65	0.62	0.46	0.45	0.45
トウヒの一	重 0.87	0.79	0.70	0.50	0.45	0.71
(Picea glauca)	,				] .	

-322-



図5 葉面可視害発現をもたらす SO₂濃度の下限値と暴露時間の逆数との関係。表 1の資料より作図。○;ソバ,●;エンドウ,X;キュウリ,●;トマト

柄から硫酸を葉内に吸収させ、葉内での減少速度を測定した結果、抵抗性の高い品種ほど減少速度 が大きかったことを報告している。このことは、大気中の SO₂が葉内に吸収されたときに細胞内に 生成される SO₃²⁻  $\rightarrow$  SO₄²⁻  $\sim$  の酸化過程における反応速度が抵抗性を支配している一つの要因にな りうることを暗示している。

植物のSO₂抵抗性は種間あるいは品種間の差異ばかりでなく,同一の種あるいは品種でも,植物の 生育段階や生育条件によって著しく変化する。例えば,Katz (1949)は日変化する光条件下でSO₂ 暴露し,葉面のSO₂吸収率が光強度と平行関係にあり、しかも可視害発現度がSO₂吸収率と密接な 関係があることを報告している。SO₂の吸収には,SO₂濃度や暴露時間だけでなく,葉面の気孔運 動を支配する環境要因,例えば光(光量,光質),気温,湿度,土壤条件(土壤水分,栄養塩)など が影響し、障害発現を左右する(26,39,42)。特に、高照度,高湿度,適度な土壤水分は植物の SO₂感受性を高めるという(39)。気温については,その他の環境条件が適度であれば、18~40℃ の範囲では植物の感受性は変わらない(21)。栄養条件では,Leone and Brennan(1971)のタバ っとトマトを使った実験で,適度に窒素と硫黄を施肥された植物は,それらの元素を欠乏させた植 物より SO₂感受性が高くなり、窒素の過剰施肥で抵抗性が高まり,硫黄の過剰施肥で抵抗性が弱ま ったという。

植物の生育段階による SO₂抵抗性の変化では、ヒマワリの場合(41)、生理的活性の強い葉や老 化した葉は SO₂感受性が高く、茎の先端部に近い若い葉では抵抗性が大きかった。また、同一葉位 の葉で比較すると、播種後日数の若い植物ほど SO₂感受性が高かった。

以上述べたように、 SO2に対する植物の感受性を左右する要因が数多くあり, 同程度の可視害発

現をもたらすSO₂ドースも変動しうる。Dreisinger and McGovern (1970)によると、可視障害の 発現を抑制するような環境条件下では、同程度の可視害を発現させるのに 2 ~ 3 倍以上の SO₂ドー スが必要だという。

### 3. 不可視害としての植物の生長低下について

植物の生長に及ぼす SO₂の影響について、Wislicenus (1901) や Stoklasa (1923) は, 葉面に可 視障害の発現がなくても, 生長障害は起こり得ると主張していた。しかし, 1930 年代の Thomas らの研究 (38) では, 前に述べたように, 葉面の可視障害発現率が 5 %以上ないと, 生長低下は起 こらないことを示した。最近の研究では, Brisley ら (1959) がワタで, Davis (1972) がダイズ で, 可視害の発現なしては収量が減少しないことを報告している。

しかし、英国における二・三の禾本科植物(牧草)を用いた研究では、可視障害の発現がなくて も収量減少のあり得ることが報告されている。例えば、Bell and Clough (1973) は鉢植えのペ レニアルライグラス(ホソムギ, Lolium perenne L.var. S23)を, SO₂汚染地域に設置された空 気浄化装置付きの温室(0.0005ppm SO2, 対照区とする)内と,外気をそのまま通気した温室 (生育期間中の平均 SO2 濃度, 0.12 ppm) 内で9週間生育させた結果, SO2 暴露植物は対照区の 植物と比較して,葉数で43%,葉面積43%,葉乾重46.1%それぞれ減少し,枯死葉の乾重量が79.3 %増加したという。葉数の減少は、新葉の展開が抑制され、枯死葉が増加したためである(これら) の結果は Bleasdale(1973)の結果とも一致している)。 さらに彼らは第2の実験として、上述の 高 SO2濃度温室内の SO2濃度を 0.067ppm (生育期間の平均値) に低下させて, 1971年10月~1972 年4月の冬期26週間、ライグラスS23の生長を追跡した。その結果、第一の実験結果とほぼ同様な 結果が得られ、SO₂暴露植物では対照区の植物に比して、葉面積51%、葉乾重51%それぞれ減少し、 枯死葉の乾重が88%増加したという。この実験で、可視的症状としてSO2暴露植物にクロロシスが 若干みられたことから、生長低下が不可視障害の結果と断言することには抵抗があるともいってい る。さらに、Lockyerら(1976)は、温室内に設置したガス暴露キャビネット(日中平均気温17.9℃, 湿度64%)で,硫酸塩を施肥し,鉢植えのライグラスS23を77日間SO2暴露した結果,SO2濃度が  $200 \mu g / m^3 (0.07 ppm) では、植物体地上部乾重量が対照区と大差なかった。一方、 <math>400 \mu g SO_2 / m^3$ (0.14ppm)では約30%減少したが、葉色の変化やネクロシスの発現は観察されなかったという。 また、同一の研究グループの別の実験(9)で、 $SO_2 濃度を50 \mu g / m^3 (0.02 ppm)$ と極低濃度で 87日間連続暴露した結果、硫酸塩施肥した植物でも、体内硫黄含有量が増加したが、植物体地上部 乾重量は対照区との間に有意差は認められなかった。さらに, Cowling and Koziol (1978)は、ペ レニアルライグラスS23で50µgSO2/m³と400µgSO2/m³でそれぞれ29日間と22日間連続暴露し た結果、高SO2区で葉に可視害が発現したが、光合成・呼吸機能や乾物生長量は、対照区と大差な く低SO2区では可視害さえ発現しなかったという。しかし、Aschenden and Mansfield (1977)が 同一植物で 0.11 ppm SO₂ (324  $\mu$ g SO₂ / m³) で 4 週間,暴露キャビネット(光度 0.116 ly / min, 気温日中24 °C,夜間12 °C,風速 0.42 m / s)内で暴露処理した結果,地上部乾重量が対照区の値よ り34 %減少したという(この実験で,暴露キャビネット内の風速が低い(例えば 0.17 m / s)と, SO₂ 暴露による生長低下が抑制されることをみている)。以上の結果からみると、ペレニアルライグラ スS 23 °C t, 0.1 ppm SO₂ 付近を境にして、生長阻害が発現するようである。

一方、Aschenden (1978)は、上述の実験(1)と同一の暴露条件で、牧草のオーチャードグラ ス(カモガヤ、Dactylis glomerata L. var. S37)を0.11ppmSO₂で4週間連続暴露し、葉数で 35%、葉面積で32%、植物体地上部乾重量で38%、いずれも対照植物の値より減少したことをみた。 このとき、全葉面積の5%にネクロシスが発現している。また、この実験で、SO₂暴露時の生育温 度が低い(日中21℃、夜間10℃)と、SO₂による生長低下が半分以下に軽減されたという。さらに、 Aschenden (1979)は上述のオーチャードグラスとケンタッキーブルーグラス(ナガハグサ、Poa pratensis L. var. Monopoly)を空気浄化装置付きの温室内で冬期(10~3月)、0.067ppmSO₂ 濃度を日中(午前9時30分~午後5時まで)のみ、週5日間(暴露時間は103.5時間/週)、20週 間連続暴露した。その結果、両植物とも、緑葉の乾重量は対照区の値より28%以上減少し、分げつ 数の増加や葉面積生長も抑制された。

以上に述べたように、禾本科植物のうちでも、SO₂高感受性種では、0.05ppm前後のSO₂でも、 数週間~20週間の暴露により、乾物生長が抑制されるようである。その場合、葉面に若干の可視障 害が発現することもある。しかし、ペレニアルライグラスのなかでも品種間で感受性が異なる(4, 5)。

一方,双子葉植物について,二,三の知見がある。例えば,ハッカダイコンを自然光型暴露室 (日中25℃,夜間20℃,湿度80%)で0.05ppmSO₂に5週間(1日8時間,週5日暴露)暴露後, 植物体全乾量は対照区と大差なかったが,地下部生長量の抑制がみられたという(40)。ヒマワリを 人工光型暴露キャビネット(14時間明期(35klx,25℃),10時間暗期(20℃),湿度75%)内で生 育させ,播種後1週間目から5週間にわたり,0.05ppmと0.1ppmのSO₂濃度で連続暴露した結果 (SO₂ドースはそれぞれ1.75ppm・dと3.50ppm・dとなる)(31),植物体全乾重量は0.05ppmSO₂ 区と0.1ppmSO₂で,いずれも対照区との間に差異が認められなかった。

以上に述べたように、植物の生長に及ぼす低濃度 SO₂ 暴露の影響は、第2節で述べたような可視 害発現に関する種間差と同様に、植物の種類によってかなり異なるようである。急性障害としての 可視障害発現の場合と異なることは、植物の生長過程には、光合成、呼吸、吸水と蒸散、栄養塩類 の吸収、同化産物と貯蔵物質の転流などの生理機能や、新生器官の形成に関与する同化産物や貯蔵 物質の利用機構など複雑にからみあっていることである。したがって、植物の生長に及ぼす SO₂の 影響を解明するためには、SO₂の毒作用がどの生長過程に影響しうるかを解明する必要がある。こ こで、SO₂の生長への影響過程を、SO₂の葉内吸収と葉肉細胞内での亜硫酸イオンの蓄積、SO²-→

-325-

SO²⁻への変化とSO²⁻の蓄積とその毒作用が植物の生理機能および生長と密接な関係をもっと仮 定してみよう。これらの諸過程に関連する植物の諸特性が,生長への影響を指標としたSO₂抵抗性 を左右することになろう。例えば、葉のSO₂吸収能が低いこと(すなわち、気孔開閉機能が敏感な こと)、葉内における亜硫酸酸化活性が強いこと、細胞内のpH緩衝能が高いこと、SO₂に暴露され ても光合成機能が低下しにくいこと、葉内に形成されたSO²⁻が他器官へすみやかに転流し、葉肉 細胞にSO²⁻が蓄積されにくいこと、新葉の展開速度が速いこと、SO₂に暴露されて新生の同化器 官(葉)が形成される重量の、植物体全重量の増加に占める割合が非同化器官(茎など)のそれ より大きくなり、しかも単位面積当たりの葉重量が小さい葉(うすい葉)を形成しうることなどの 性質が、SO₂暴露による生長阻害を受けにくくするのではないだろうか。ちなみに、Guderian (1967)は、葉面の可視障害発現に関するSO₂抵抗性と植物の生長影響に関するSO₂抵抗性とは異 なるといっている(その例として、アルファルファは急性障害発現では高感受性だが、収量への影響では抵抗性の高いグループに入るという)。

### 4. 植物の保護に係る SO2 環境基準について

表3は世界各国できめられているSO₂環境基準である(43)。これらの数値は、大部分が人の健 康を保護する上でも維持されることが望ましい規準値である。ちなみに、大気中SO₂濃度のバック グラウンドは4 $\mu$ g/m³(0.0015ppm)か、それ以下といわれている(15)。これらの環境基準でき められているSO₂濃度が植物の生活にどのような影響を与えるかを、実験的事実に基づいて検討し ておく必要がある。第2節で述べたように、植物の可視障害発現の限界濃度は、植物の種類によっ てかなり異なっている。表4は、Heggestad and Heck(1971)が過去の知見に基づいてとりまと めた数値を一部修正(42)したもので、0~8時間という比較的短時間の暴露で、可視障害が発現しや すい条件下でえられた可視害発現(葉面積当たりで可視障害度5%程度)の限界濃度を示している。 これをSO₂ドースに換算すると、SO₂高感受性植物では、SO₂濃度0~4ppmの範囲で、0.4~4 ppm・h となる(仮りに4か月間程度の生育期間をもつ植物で,この期間の連続暴露を仮定すれば、 限界濃度は0.003~0.03ppmSO₂となる)。中程度の感受性をもつ植物では、0.2~12 ppmSO₂の 範囲でSO₂ドースが1.6~20 ppm・hrとなる。このように、同程度の感受性を示す植物の間でも、 可視害発現に必要なドースは10倍もひらきがある。また、最も高感受性の種と、中間的な感受性を もつ種のなかでも抵抗性の高い種と比較すると、可視害発現の限界SO₂ドースは50倍もの差がある。

一方,植物の生長への影響について、生長低下をもたらす SO2 濃度の下限値を求めるには、SO2 ドースと生長変化との関係を検討する必要がある。SO2ドースと植物の生長変化との関係を求めら れるような研究報告は非常に少ない。これまでに報告されている資料のうちで、谷山(1972)がイ ネで、藤原(1975)が各種農作物で、Heck and Dunning(1978)のエンバク、Aschenden(1979) の牧草について報告した資料をもとに、SO2ドースと生長変化との関係を検討してみた。図6はイ

表3 世界各国における SO2環境基準値 (ppm) (43)

国 2	<u>名</u>	1時間値	日平均値	年平均值	国	名		1時間値	日平均值	年平均值
ベルギ	_	-		0.06	Ħ	• •	本	0.1	0.04	
ブルガリ	プ		0.02		ポー	ラン	۲		0.13	
カナ	ダ	0.34	0.11	0.02	ル -	マニ	7		0.1	
שמצ	7			0.03	スイ	ペ イ	2	0.31)	0.15	0.06
チェコスロバ	キア		0.06		スウ	ェーデ	×	0.251)	0.1	0.05 ²⁾
東ドイ	ッ	0.2	0.06		ス	イ	ス	0.31)	0.2	
フインラン	ノド	0.28 ¹⁾	0.1	0.07	٢	ル	Э		0.12	
フラン	ス		0.38		<b>y</b>		連	0.2 ¹⁾	0.02	
ハンガリ	_	0.2 ¹⁾	0.06		ж		E		0.14	0.03
イスラエ	ル	0.31)	0.1		西日	ドイ	ッ	0.2 ¹⁾	0.06	
イタリ	_	0.31)	0.15		ユー:	ゴスラビ	ア	0.2 ¹⁾	0.06	

3) 30分間平均值, 2) 30日間平均值

表4 二酸化硫黄の短時間暴露による可視害発現をもたらす限界濃度 (ppm) (42)。 かっこ内の数字は SO₂ ドース (ppm・hr)を示す。

暴露時間	高感受性植物	中程度の感受性植物	高抵抗性植物
	ppm	ppm	ppm
0.5	1.0 ~4.0 (0.5 ~ 2.0)	$3.5 \sim 12$ (1.75 ~ 6)	> 1 0
1.0	0.5 ~ 3.0 (0.5 ~ 3.0)	$2.5 \sim 10$ (2.5 $\sim 10$ )	≥ 8
2.0	0.25~2.0 (0.5~4.0)	$1.5 \sim 7.5 (3.0 \sim 15)$	≥ 6
4.0	$0.1 \sim 1.0 (0.4 \sim 4.0)$	$0.5 \sim 5 (2.0 \sim 20)$	$\geq$ 4
8.0	$0.05 \sim 0.5 (0.4 \sim 4.0)$	0.2~2.5(1.6~20)	$\geq$ 2

ネの場合(35)である。この資料から、SO₂ドースと植物体乾物量の対照区の値に対する相対値との関係を求めた結果を図7に示した。

暴露開始の第一週目を除いて、その後の2~4週目までの個体乾重量の低下がSO₂ドースと負の 相関がみられた。図8は藤原(1975)の報告している資料をもとに作図したものである。なお、こ の際の暴露条件などが表5にまとめられている。図8で、SO₂ドースと植物個体重との間の直線関 係のこう配の絶対値が、植物の生長に関するSO₂抵抗性を示す一つの指標になりうる。実験された 種のうちでは、ソバが特に感受性が高く、イネやエンドウは比較的抵抗性が高いといえよう。実験 された植物のうち、ソバやカブを除くその他の種では、図上の生長量100%を示す横軸と平行な直 線上で、この直線群が1点に集中しているようにみえる。この点のSO₂ドースは、SO₂暴露されて も生長低下を起こさない限界ドースではないかと思われる。この値がほぼ1.4 ppm・dayと読みとれ



図6 SO₂暴露によるイネの個体乾重量の 低下(34)。横軸は生育時期を示す。

100

80

60

複 构 40

> 20 L 0

) 8

圕

物体乾物



 図7 図6をもとに算出したイネにおける SO₂ドースと植物体乾物重(対照区の値に対する%)との関係
 ○一○:7月30日~8月6日
 ×-×:8月6日~8月13日
 ●一●:8月13日~8月20日





図8 数種作物における SO₂ ドースと植物 体乾物重(対照区の値に対する%) との関係。ソバ(□),カブ(▲), レタス(●),ダイズ(○),サツマ イモ(×),イネ(■),エンドウ (△)。藤原(1975)より作図。

20

ス

30

(ppm ·day)

40

10

SO₂ K -

-328-

る。この値は、レタス、ダイズ、サツマイモ、エンドウ、イネなどで、0.05ppmSO₂ で28日間ある いは 0.02 ppm SO₂で70日間暴露されても生長低下が起こらないかも知れないことを暗示する値で ある。また、藤原の実験した種のうちで、4か月間(120日)の生育期間をもつ植物があるとすれ ば、この期間中連続暴露されて生長阻害を起こさない限界濃度は、 $1.4 \div 120 = 0.01$ ppmとなる。 藤原(1975)は11種類の作物について実験し、植物体地上部の生長に影響をもたらす限界濃度が 0.05ppmより若干低いところにあると推定しているが、推定の根拠が必ずしも明確でない。イネに 関しては、SO₂ドースと生長との関係が図7と一致しないが、実験条件や品種の差異(藤原はコシ ヒカリ、谷山はマンリョウ)によるのではないかと思われる。なお、図9にエンバクの場合(20)、 図10に2種類の牧草の例(3)を示した。なお、植物保護のためのSO₂環境基準を検討した一例と して、西ドイツのデータが表6にまとめられている。







これまで述べてきたことは、単一汚染物質としての $SO_2$ の植物影響である。しかし、野外条件下では、複数の汚染物質が共存した複合汚染が常態である。 $SO_2 + O_3$ ,あるいは $SO_2 + NO_2$ 混合ガスの植物影響は、単一汚染物質のそれと異なって、汚染物質の"相乗効果"が報告されている。 また、汚染物質の植物影響は環境条件によって変化する。それゆえ、室内実験によって得られた結果をもとに、主な環境要因が変化したときの植物反応の変化を予測できるような数学モデルの開発 と同時に、実際に野外条件下で実験した結果と比較検討し、室内実験によって得られた結果の野外への適用性を検討する必要があろう。

-329-
表 6 西ドイツにおいて植物保護のために提案された SO₂環境基準値 (mg SO₂/m³)
 (24)。かっこ内の数字は ppmに換算した値 (2.6mg SO₂/m³ = 1ppm SO₂)。

		年平均值	生育期間平均值
1.	高感受性植物	0.06 (0.023)	0.05 (0.019)
2.	中程度の植物	0.09 (0.035)	0.08 (0.030)
3.	鈍感な植物	0.13 (0.05)	0.12 (0.046)
1.	高感受性植物(属名)	:モミ,トウヒ,クノ ウマゴヤシ	レミ、スグリ、シャジクソウ、
2.	中程度の植物(属名)	:トウヒ, マツ, カラ ゴ, オオムギ, カラ	ラマツ,シナノキ,ブナ,リン ラスムギ,ライムギ,コムギ
3.	鈍感な植物(属名)	:カエデ,ハンノキ, バラ,ナス,トウォ アブラナ,ユリ科術	ハコヤナギ, コナラ, サクラ, ミロコシ, ブドウ, フダンソウ, こ属する植物

引用文献

- Ashenden, T. W. and T. A. Mansifeld, 1977. Influence of wind speed on the sensitivity of ryegrass to SO₂. J. Exp. Bot. 28: 729-735
- Ashenden, T. W. 1978. Growth reductions in cocksfoot (Dactylis glomerata L.) as a result of SO₂ pollution. Environ. Pollut. 15: 161-166
- Ashenden, T. W. 1979. The effects of long-term exposures to SO₂ and NO₂ pollution on the growth of Dactylis glomerata L. and Poa pratensis L. Environ. Pollut. 18: 249-258
- 4. Bell, J. N. B. and W. S. Clough. 1973. Depression of yield in ryegrass exposed to sulphur dioxide. Nature 241: 47-49
- 5. Bell, J. N. B. and C. H. Mudd, 1976. Sulphur dioxide resistance in plants: a case study of *Lolium perenne*. In *Effects of air pollution on plants* (edit. by T. A. Mansfield), p.209. Cambridge Univ. Press, London
- Bleasdale, J. K. A. 1973. Effects of coal-smoke pollution gases on the growth of ryegrass (Lolium perenne L.). Environ, Pollut. 5: 275-285
- 7. Brisley, H. R. and W. W. Jones, 1950. Sulfur dioxide fumigation of wheat with special reference to its effects on yield. Plant Physiol. 25: 666-681
- Brisley, H. R., C. R. Davis and J. A. Both. 1959. Sulfur dioxide fumigation of cotton with special reference to its effect on yield. Agron. J. 51: 77-80
- 9. Cowling, D. W. and D. R. Lockyer. 1976. Growth of perennial ryegrass (Lolium perenne L.) exposed to a low concentration of sulphur dioxide. J. Exp. Bot. 27: 411-417
- Cowling, D. W. and M. J. Koziol. 1979. Growth of ryegrass (Lolium perenne L.) exposed to SO₂.
  Effects on photosynthesis and respiration. J. Exp. Bot. 29: 1029-1036
- 11. Davis, C. R. 1972. Sulfur dioxide fumigation of soybeans: Effect on yield. J. Air Pollut. Contr. Ass. 22: 964-966
- 12. Dreisinger, B. R. and P. C. McGovern. 1970. In Proceedings: Impact of Air Pollution on vegetation (edit. by S. N. Linzon), Specialty Conference, Toronto, Ontario, Air Pollution Contr. Ass. Pittsburgh, Pa. 文献番号26により引用

- 13. 藤原 斎. 1975. 低濃度域二酸化イオウによる植物の障害発現とその診断に関する研究. 電中研農電研究 所報告: 74001
- 14. 古川昭雄・戸塚 績. 1978. ヒマワリ葉の光合成速度に及ぼす SO₂, NO₂, O₃の複合影響. 日本生物環境 調節学会第16回大会講演要旨集 p.19
- 15. Georgii, H. W. 1970. J. Geophys. Res. 75: 2365-2371 文献番号26により引用
- 16. Guderian R., H. Von Wirkungen gasfoermiger Luftverunreinigunger auf die Vegetation. Z. Pflanzenkr. Pflanzensch. 67: 257-264 文献番号42により引用
- 17. Guderian, R. 1967. Reactions of plant societies in the raising of feed crops to the effects of sulfur dioxide. Der Landersanstalt fuer Immissions-and Bodennutzungsschutz des Landes Nordhein-Westfalen, Essen, W. Germany 文献番号42により引用
- 18. 群馬県・埼玉県・千葉県・東京都・神奈川県・大阪府・兵庫県・岡山県. 1976. 大気汚染による農作物被 害症状の標本図譜, p. 1-92
- 19, Heggestad, H. E. and W. W. Heck. 1971. Nature, extent and variation of paint response to air pollutants. Adv. in Agron. 23: 111-145
- 20. Heck, W. W. and J. A. Dunning. 1978. Response of oats to sulfur dioxide: Interactions of growth temperature with exposure temperature or humidity. J. Air Pollut. Contr. Ass. 28: 241-246
- 21, Hill, G. R. and M. D. Thomas. 1973. Influence of leaf destruction by sulphur dioxide and by clipping on yield of alfalfa. Plant Physiol. 8: 223-245
- 22. 環境庁編. 1979. 環境白書 昭和54年版, 大蔵省印刷局, 533 頁
- 23. Katz, M.1949. Sulfur dioxide in the atmosphere and its relation to plant life. Ind. Eng. Chem. 41:2450-2465
- 24. Knabe, W. 1976. Effects of sulfur dioxide on terrestrial vegetation. AMBIO 5: 213-218
- 25. Leone, I. A. and E. Brennan. 1971. Paper 71-64, presented at the 64th Annual Meeting of the Air Pollution Contr. Ass. Atlantic City, N.J.
- Linzon, S. N. 1978. Effects of airborne sulfur pollutants on plants. In Sulfur in the environment (edit. by J. O. Nriagu), p.482. Wiley Interscience, New York
- Lockyer, D. R., D. W. Cowling and L. H. P. Jones. 1976. A system for exposing plants to atmospheres containing low concentrations of sulphur dioxide. J. Exp. Bot 27: 397-409
- 28. Miller, J. E. and P. B. Zerikos. 1974. Residence time of sulphite in SO₂ 'sensitive' and 'tolerant' soybean cultivars. Environ. Pollut. 18: 259-264
- 29. 日本公衆衛生協会, 1977.「大気汚染の植物影響に関する調査報告書」環境庁大気保全局 昭和51年度生 活環境保全対策調査 p.1-129
- 30. 大気汚染研究全国協議会編,1973. 大気汚染植物被害写真集,日本公衆衛生協会
- 31. Shimizu. H., A. Furukawa and T. Totsuka. 1980. Effects of low concentrations of SO₂ on the growth of sunflower. Res. Rep. from the Nat. Inst. for Environ. Studies, No. 11 (in press)
- 32. 白鳥孝治、1978. 大気汚染による植物被害の変遷、千葉県公害研究所研究報告 X: 1-14
- 33. Stoklasa, J. 1923. Urban Schwartzenberg, Berlin 文献番号26により引用
- 34. 谷山鉄郎. 1972. 作物の亜硫酸ガス障害の実態とその機構に関する研究. 三重大学農学部学術報告 44: 11-130
- 35. 谷山鉄郎 1979. 農作物の大気汚染害 硫黄酸化物とイネー(門司正三・内嶋善兵衛編:大気環境の変化 と植物)大気環境の科学 5. p.95-112, 東京大学出版会,東京
- 36. Temple, P. J. 1972. Dose-response of urban trees to sulfur dioxide. J. Air Pollut. Contr. Ass. 22: 271-274
- Thomas, M. D. and G. R. Hill. 1935. Absorption of sulfur dioxicde by alfalfa and its relation to leaf injury. Plant Physiol. 10:291-307
- 38. Thomas, M. D. and G. R. Hill. 1937. The continuous measurement of photosynthesis, respiration and transpiration of alfalfa and wheat growing under field conditions. Plant Physiol. 12: 285-307
- 39. Thomas, M.D. 1961. Effects of air pollution on plants. In Air Pollution, WHO Monograph 46: 223-278

- 40. Tingey, D. T., W. W. Heck and R. A. Reinert. 1971. Effect of low concentrations of ozone and sulfur dioxide on foliage, growth and yield of radish. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 96: 369-371
- 41. 戸塚 績・荒川市郎・野本宣夫・田崎忠良. 1978. 二酸化イオウ暴露によるヒマワリ葉の可視害徴発現に ついての観察、国立公害研究所特別研究成果報告 R-2-78. p. 119-125
- 42. U.S. Environmental Protection Agency. 1973. Effects of sulfur dioxide in the atmosphere on vegetation. Revised Chapter 5, Air Quality Criteria for Sulfur Dioxides. Document EPA-R3-73-030, p.43, Research Triangle Park, North Carolina
- . 43. U.S. Environmental Protection Agency. 1974. The world's air quality management standards Vol. 1. The air quality management standards of the world, including United States federal standards. EPA-650/9-75-001-a. Miscellaneous series
  - 44. Wislicenus, H. 1901. Z. Angew. Chem. 28: 689-712 文献番号26により引用
  - 45. Zahn, R. 1963. Untersuchungen über die Bedeutung Kontinuierlicher und intermittierender Schwefeldioxide in wirkung für die Pflanzenreaktionen. Staub 23: 334-352 文献番号42により引用

国立公害研究所研究報告 第10号 (R-10-'79) Research Report from the National Institute for Environmental Studies No. 10, 1979

Ⅲ—4

# 高等植物の光合成に対するSO。の影響

# 古川昭雄

# Effect of SO₂ on photosynthesis in higher plants

# Akio FURUKAWA¹

古くから大気汚染質、とりわけ SO₂の植物に及ばす影響について数多くの研究がなされてきてい る(4, 16, 18, 24, 25, 26, 35, 36, 37),高濃度の SO₂を植物に暴露すると,短時間で葉面に 可視障害が発現し、ネクロシスやクロロシスを起こす(3)。可視障害の発現度合は,SO₂を処理 する時の環境条件(5, 32),生育時の環境条件(17),栽培する時の栄養条件(6, 32)によって 大きく影響される。さらに、植物の種によっても可視障害の発現度合は異なる(28, 30)。これま での研究は,主としてこのような高濃度 SO₂処理による可視障害の発現に対する種々の条件の影響 を調べてきている。しかし、可視障害の発現機構については不明の点が多く(24),どのようにし て可視障害が発現するのかは全く判明していないといってよい。種による可視障害の発現度合の違 いは、どれだけ葉内に SO₂を取り込んだかによって第一義的に決まるわけで(12),可視障害の発 現にのみ着目して処理条件を様々に変化させて実験を行ったところで、何の問題の解決にもならな い。また、このような研究結果からは、大気汚染による経済的損失の評価、環境改善に対する社会 的要求への対応を論ずることはできない。可視障害の発現度合を種々の植物で観察し、抵抗性の強 い植物を選別して緑化木もしくは大気汚染の浄化に役立たせようとしても、そのように抵抗性の強 い植物は大気汚染質の吸収能が低く(12),目的を達成することはできない。

植物は光合成作用によって吸収した CO₂を有機物として固定し,それを葉・茎・根の各器官に分配して生長している。光合成速度が SO₂処理によって低下するならば,植物の生長は抑制され,穀物や畑作物の収量は減少する。植物の生長に対する SO₂の影響については,我々の研究スタッフによってなされているが(14),それには多大の時間と労力を有し,短期間で影響を評価することは

^{1.} 国立公害研究所 生物環境部

^{1.} Division of Environmental Biology, The National Institute for Environmental Studies, Tsukubagakuen, Ibaraki 305

困難である。さらに、生長影響も SO₂処理中の環境条件(1,2,38)や植物の種類(7,8) に よって変動し、一概に影響の有無を論じ、作物の収量減少、ひいては経済的損失を評価するには困 難がある。このような生長影響に比べて、光合成に対する影響は短い時間で明確な結果が得られ、 その結果を利用することによって生長に対する影響もある程度推察することは可能である(39)。す なわち、SO₂に限らず、大気汚染質の植物に対する影響を評価するために光合成に対する影響を調 べるのは、非常に都合のよい方法である。

植物の光合成に対する影響を明確にするために、大気から葉内へのCO₂, H₂O, SO₂ の流れを 考えてみることにする。例えばCO₂は、大気から葉面境界層、気孔を通して葉内に取り込まれ、細 胞液に溶けてクロロプラストにまで達する(図1)。光合成速度は、大気とクロロプラストでの CO₂濃度の落差と各経路での障害物の大きさによって決まる、すなわち、障害物は葉面境界層、気 孔、葉肉組織でのCO₂拡散の抵抗として捕えることができる。一方、H₂Oの流れは気孔底での湿度



図1 植物葉の横断切片の模式図。大気から気孔間隙を経てクロロプラストに至る CO₂とSO₂の,また,気孔底から大気に放出される水分(H₂O)のガス拡散 抵抗を示す。呼吸作用によってミトコンドリア,パーオキシゾームからCO₂ が放出され、一部はクロロプラストで再固定され、葉外に放出される。 光呼吸によるCO₂放出もミトコンドリアにおいて行われていると言われてい るが,暗呼吸と区別するためにパーオキシゾームから放出されるように図示 してある。 を100%と考え、葉内と大気との間の蒸気圧の差と葉面境界層、気孔抵抗によって規定される。さらに、SO2の流れは、SO2の水に対する溶解度が大きく、気孔底でのSO2濃度は0と考えられるので(29)、H2Oの流れと同様に、大気中のSO2濃度と葉面境界層、気孔抵抗によって決まる。一般に、葉面境界層と気孔におけるガス拡散は気相で、葉内でのガス拡散は液相で起こると考えられている。

クロロプラストへのCO₂の供給は大気中から気孔を通して侵入してきたCO₂と、ミトコンドリア で呼吸作用によって生じたCO₂とによってなされている。呼吸作用によるCO₂の放出は、通常、暗 所において見られるいわゆる暗呼吸と光呼吸によるものとがある。この様に、光合成速度といっても、 種々の要因が作用しているので、SO₂の光合成に対する影響を論じるには、これらの要因を明ら かにしなければならない。この様な概念と論点から、ヒマワリの光合成速度に対するSO₂の影響に ついて、これまでに数多くの実験を積み重ねてきたので、主として我々が得た結果を中心に、どこ まで解明され、何が不明で、その結果、何が判明したかについて以下に述べる。



図 2 種々の SO2濃度によるヒマワリ葉の光合成速度の阻害と処理停止後の回復。 SO2処理は0分に開始し、90分後に処理を停止し、90分間の回復を観察して いる。SO2の濃度は各線の横に示してある。SO2処理条件は25℃,36klx, 75%相対湿度である。

最初に、CO₂の大気中からクロロプラストへの流れのどこに SO₂が最も強く作用しているかについて述べる。光合成速度は SO₂を処理すると急激に減少し、SO₂の濃度に依存した阻害を示す(図2)。

光合成速度と蒸散速度を同時に計測し、気孔抵抗と葉肉抵抗を計算してみると、気孔抵抗は、ほとんど変化せず、葉肉抵抗が著しく増大することが分かる(表1)。つまり、SO₂は気孔に作用するよりも葉内での光合成代謝系に直接的に影響していることが推察される。さらに、呼吸作用に対するSO₂の影響は、光呼吸速度を著しく阻害するにもかかわらず、暗呼吸速度にはほとんど影響しない。すなわち、SO₂の光合成に対する作用は光合成の酵素系(19,20,41,42,43)なり、電子伝達系(23,24,33)を可逆的に、もしくは非可逆的に阻害していることになる。SO₂の濃度が高い時には、光合成の回復は見られず(図2)、光合成代謝系が完全に破壊されていると考えられる。しかし、SO₂濃度がかなり低い時にも100%回復するのではなく、非可逆的に阻害される部位が存在することを示している。

SO2 濃度 ppm	相対光合成速度 * %	葉面境界層 + s ∕	-気孔拡散抵抗 cm	葉肉組織	l織拡散抵抗 s /cm	
		初期値	90分後	初期値	90分後	
0.0	100	4.6	4.4	3. 8	4.0	
0.1	$1 \ 0 \ 0$	4.5	4. 2	3.5	4.0	
0.5	88	4.3	4.4	3.2	4.0	
1. 0	65	4.5	5.3	3.0	6.7	
1.5	37	4.4	6. 6	3. 9	36.5	

表1 種々のSO2濃度におけるヒマワリ葉の光合成速度およびCO2拡散抵抗

*処理後90分における値

それでは、環境条件が変化した時に、SO₂による光合成速度の減少がどのようになるかについて 述べることにする。これまでの研究においては、光と他の大気中ガス成分、CO₂, NO₂, O₃ が変 化した時のSO₂の光合成への影響について述べたので、この点について詳述したい。

光は光合成にとって必須条件である。光条件を種々に変えて SO₂の光合成影響を調べると、光の 強さが増すに従って影響が大きくなる(図3)。この実験事実は、群落上層部の強光に照らされて 高い光合成速度を有する葉ほど、SO₂による影響が大きいことを意味している。つまり、群落を維 持している葉の光合成が SO₂によって減少し、植物群落の維持が困難になり、滅亡していくことに なる。群落下層の葉は、光合成速度が低く、群落全体に対する寄与率は小さい。植物体の下位葉は 葉令が進み、それ自体の光合成速度も低く(10,31)、さらに、SO₂による影響を、上位の成熟葉 や若葉よりも受けやすい(15)。下位葉が SO₂の影響を受けやすく、光合成速度の低下が著しくて も、植物体全体の生長はほとんど影響されないばかりか、植物群落内の下層部位では光も弱く、そ れだけ SO₂の光合成に対する阻害作用も小さいと考えられる。大気中のガスを葉内へ取り込む入口 である気孔の開度も光が強いほど大きく、それだけ余計に葉内に SO₂を取り込み、光合成速度を低下させるのに役立つことになる。しかし、SO₂の影響を弱めるために遮光しようとするのは、かえって、植物の生長を減少させるだけで何の役にも立たない。なぜならば、植物の生長は他の環境条件よりも光によって一番大きく左右されるからである(9,22)。

大気中の SO2 濃度は、概して、工業地帯において高い。その理由は、石油を燃料として使用して いるため、石油中に混在している硫黄が SO2 となって放出されるためである。この燃焼によって、



図3 SO₂によるヒマワリ葉の光合成阻害と光の強さとの関係。SO₂による光合成 速度の経時変化(例えば図2に示してある)を片対数グラフ上にプロットす ると、2本の直線によって近似される(15)。この直線のこう配を光合成阻 害係数とした。最初の直線のこう配をB-1st、二番目の直線のこう配を B~2ndとして、SO₂処理中の光の強さとの関係を図中に示してある。

SO₂ばかりでなくCO₂も多量に大気中に放出される。事実,石油,石炭のような化石燃料の燃焼に よって生じたCO₂は地球上のCO₂濃度を急速に上昇させている(11)。それでは,大気中のCO₂濃 度を変えるとSO₂の光合成に対する影響がどのように変化するかを見ることにする。

SO₂による光合成速度の低下は、CO₂濃度が上昇するにつれて低下する(図4)。CO₂濃度が上 昇すると気孔が閉じ始めるが、SO₂の吸収速度はCO₂濃度によっては、ほとんど影響を受けず、CO₂ 濃度が高い時にはSO₂が葉内に入りにくくなるためではない。亜硫酸イオン(SO₃²⁻)と炭酸イオ ン(CO₃²⁻)は光合成において、CO₂を固定する酵素であるリブロース1,5-2リン酸(RuDP)カル ボキシラーゼ活性に対してきっこう的に作用する(41)。つまり、CO₂濃度が高いとSO₂のRuDP カルボキシラーゼに対する作用を弱め、その結果として光合成速度の低下を抑制することになる。



 図4 種々のCO₂濃度におけるポプラ菜の光合成速度に対する SO₂の影響。 0.8 ppm SO₂(○), 1.6 ppm SO₂(●) を種々の CO₂濃度においてポプラ葉に処理し, 光合成速度に対する影響を調べている(13)。



 図5 ヒマワリ葉の光合成速度に対する複合大気汚染ガスの影響。0.2 ppm SO₂と 0.2 ppm O₃, 1.0 ppm NO₂ とが共存した時に光合成速度がどのような影響 を受けるかを調べている。1.0 ppm NO₂, 0.2 ppm O₃, 0.2 ppm SO₂ 単 独処理では光合成速度はほとんど影響されないが、2種類以上のガスを混合 処理すると顕著な光合成阻害が生じる。 植物にとって CO₂は、光合成作用における基質であって、CO₂濃度が高いほど生長は促進される。 CO₂の濃度が高ければ SO₂の影響も弱まるわけで、一挙両得の様に思われるが、CO₂には別の作用 もあり、CO₂濃度が高ければよいとはいかない。CO₂は大気圏外への放熱を妨げる温室効果を有す るため、CO₂濃度があまり上昇しすぎると、地球は焦熱地獄になる(11)。

大気汚染質は、何も SO₂に限ったことではなく、NO_x, O_xは広く我が国においても、かなりの濃度で存在する(14)。つまり、SO₂が大気汚染質として単独で存在する地域は全くないと言っても 過言ではない。野外に成育している植物は、大なり小なり NO_x や O_x のような他の大気汚染質と SO₂ が混在した複合汚染環境に置かれている。それでは、他の大気汚染質が SO₂ と複合状態になった時、光合成速度はどのような影響を受けるのかについて述べることにする。

複合大気汚染状態での光合成の動態については、ほとんど研究がなされていないのが現状である。 わずかにWhiteら(39)、が報告しているにすぎない。我々が調べたSO₂とNO₂もしくはO₃との複 合影響.さらにこれら3種の複合影響は全く未知の分野といってよい。この実験結果から非常に驚 くべきことに、SO₂とNO₂もしくはO₃が混在すると、単独で存在した時には全く影響が観察され ない濃度で光合成速度は顕著に阻害される(図5)。この様な相乗効果は、NO₂とO₃の複合作用に おいても観察されている。

大気汚染質が複合状態になると、影響が相乗的に増大するということは、非常に重要な問題を含んでいる。少なくとも、環境基準値を考え直す必要があるかもしれないからである。単一の大気汚染質によって全く影響が出なくても、わずかでも他の大気汚染質が混在すれば著しい影響が発現する。現に、光合成速度に対する NO₂とO₃の複合影響では、NO₂の濃度が 0.2 ppm でも 1.0 ppm でも光 合成の低下は全く同じであった。

複合汚染の影響については、研究が緒についたばかりで、これからの研究に待たねばならない。 また、複合作用がどの様にして発現するのかについての機作も全く不明である。それゆえ、今後の 大気汚染の植物影響に関する研究は、複合汚染に焦点を絞って行く必要がある。

引用文献

- 1. Ashenden, T.W. 1978. Growth reductions in cocksfoot (*Dactylis glomerata* L.) as a result of SO₂ pollution. Environ. Pollut. 15: 161-166
- Ashenden, T.W. and T.A. Mansfield. 1977. Influence of wind speed on the sensitivity of ryegrass to SO₂. J. Exp. Bot. 28: 729-735
- Barrett, T.W. and H.M. Benedict. 1970. Sulfur dioxide. In Recognition of Air Pollution Injury to Vegetation: A Pictorial Atlas (edit. by J.S. Jacobson and A.C. Hill), p. Cl-C17 Air Pollution Control Association, Pittsburg
- Bell, J.N.B. and C.H. Mudd. 1976. Sulfur dioxide resistance in plants: A case study of Lolium pereme. In Effects of Air pollutants on Plants (edit. by T.A. Mansfield), p. 87-104 Cambridge University Press, London
- 5. Brennan, E. and I.A. Leone, 1968. The response of plants to sulfur dioxide or ozone-polluted air supplied at varying flow rates. Phytopathol. 58: 1661-1664

- 6. Cotrufo, C. and C.R. Berry. 1970. Some effects of a soluble NPK fertilizer on sensitivity of eastern white pine to injury from SO₂ air pollution. Forest Sci. 16: 72-73
- 7. Cowling, D.W. and D.R. Lockyer. 1976. Growth of perrenial ryegrass (Lolium perenne L.) exposed to a low concentration of sulphur dioxide. J. Exp. Bot. 27: 411-417
- 8. Ferguson, P., J.A. Lee and J.N.B. Bell. 1978. Effects of sulphur pollutants on the growth of Sphagnum species. Environ. Pollut. 16: 151-162
- 9. 藤沼康実・町田孝・戸塚績・相賀一郎. 1979、制御温室におけるヒマワリの生長の季節的変動について、 国立公害研究所研究報告. R-10-79. p.289-297
- Furukawa, A. 1973. Photosynthesis and respiration in poplar plant in relation to leaf development. J. Jap. For. Soc. 55: 119-123
- 11. 古川昭雄. 1978. 大気と植物「環境植物学」(田崎忠良編著) p. 88-120. 朝倉書店
- 12. Furukawa, A., O. Isoda, H.Iwaki and T. Totsuka. 1980. Interspecific difference in resistance to sulfur dioxide. Res. Rep. from the Nat. Inst. for Environ. Studies, No. 11 (in press)
- Furukawa, A., a. Koike, K. Hozumi and T. Totsuka. 1979. The effect of SO₂ on photosynthesis in poplar leaves at various CO₂ concentrations. J. Jap. For. Soc. 61: 351-356
- 14. 古川昭雄・松岡浩・戸塚績. 1979. 大気汚染地域におけるセイタカアワダチソウ群落の乾物生長と大気浄 化機能に関する野外調査. 国立公害研究所研究成果報告 R-10~79. p.177-210
- 15. 古川昭雄・戸塚績、1978. ヒマワリ葉の光合成、気孔閉度におよばす二酸化イオウの影響,「陸上植物による大気汚染環境の評価と改善に関する基礎的研究」昭和51/52年度研究報告. 国立公害研究所特別研究成 果報告. R-2-78. p. 57-66
- 16. 藤原喬. 1975. 低濃度域二酸化イオウによる植物の障害発現とその診断に関する研究、電中研農電研究所 報告 No. 74001. p.1-87
- 17. Heck, W.W. and J.A. Dunning. 1978. Response of oats to sulfur dioxide: Interactions of growth temperature with exposure temperature or humidity. J.Air Poll. Cont. Assoc. 28: 241-246
- Heggestad, H.E. and W.W. Heck. 1971. Nature, extent, and variation of plant response to air pollutants. Advan. Agron. 23: 111-145
- Horsman, D.C. and A.R. Wellburn. 1977. Effect of SO₂ polluted air upon enzyme activity in plants originating from areas with different annual mean atmospheric SO₂ concentrations. Envrion. Pollut. 13: 33-39
- Jager, H. j. and H. Klein. 1977. Biochemical and physiological detection of sulfur dioxide injury to pea plants (*Pisum sativum*). J. Air Poll. Cont. Assoc. 27: 464-466
- Kisaki, T., S. Hirabayashi and N. Yano. 1973. Effect of the age of tobaco leaves on photosynthesis and photorespiration. Plant & Cell Physiol. 14: 505-514
- 22. Leopold, A. C. and P. E. Kriedemann. 1975. Plant Growth and Development. p. 545. McGrow Hill, New York
- Malhotra, S.S. 1976. Effects of sulphur dioxide on biochemical activity and ultrastructual organization of pine needle chloroplasts. New Phytol. 76: 239-245
- Malhotra, S.S. and D. Hocking. 1976. Biochemical and cytological effects of sulphur dioxide on plant metabolism. ibid. 76: 227-237
- Mudd, J.B. 1973. Biochemical effects of some air pollutants on plants. In Air Pollution Damage to Vegetation (edit. by J.A. Naegele), p. 31-47. American Chemical Society
- 26. Mudd, J.B. 1975. Sulfur dioxide. In Responses of Plants to Air Pollution (edit. by J.B. Mudd and T.T. Kozlowski), p. 9-22 Academic Press, New York.
- Furukawa, A., T. Natori and T. Totsuka. 1980. The effects of SO₂ on net photosynthesis in sunflower leaf. Res. Rep. from the Nat. Inst. for Environ. Studies, No. 11 (in press)
- 28. O'Connor, J.A., D.G. Parbery and W. Strauss. 1974. The effects of phytotoxic gases on Australian native plant species. Part 1. Acute effects of sulphur dioxide. Environ. Pollut. 7: 7-23

-340-

- 29. 大政謙次・安保文彰。1978. 植物による大気汚染物質の収着に関する研究(1), SO₂の局所収着と可視障 害発現との関係、農業気象 34:51-58
- Ranft, Von H. and Dassler, H.-G. 1970. Rauchhartetest an Geholzen in SO₂-Kabinenversuch. Flora 159: 573-588
- Salin, M.L. and P.H. Hormann. 1971. Changes of photorespiratory activity with leaf age. Plant Physiol. 48: 193-196
- 32. Setterstrom, C. and P. W. Zimmerman. 1939. Factors influencing susceptibility of paints to sulphur dioxide injury. I. Cont. Boyce Thompson Inst. 10: 155-181
- 33. Shimazaki, S. and K. Sugahara. 1979. Specific inhibition of photosystem II activity in chloroplasts by fumigation of spinach leaves with SO₂. Plant & Cell Physiol. 20: 26-35
- 34. Thomas, M.D. 1951. Gas damage to plants. Ann. Rev. Plant Physiol. 2: 293-322
- 35. Thomas, M.D. 1961. Effects of air pollution on plants. In Air Pollution, WHO, monog. No. 46. p. 233-378
- 36. Thomas, M.D. and R.H. Hendricks. 1956. Effect of air pollution on plants. In *Air Pollution Handbook* (edit. by P.L. Magill, F.R. Holden, C. Ackly and F.G. Sawyer), Sec. 9: 1-44
- 37. Thomas, M.D., R.H., Hendricks, T.R. Collier and G.R. Hill. 1943. Utilization of sulphate and sulphur dioxide for the sulphur nutrition of alfalfa. Plant Physiol. 18: 345-371
- 39. White, K.K., A.C. Hill and J.H. Bennett. 1974. Synergistic inhibition of apparent photosynthesis rate of alfalfa by combinations of sulfur dioxide and nitrogen dioxide. Environ. Sci. Technol. 8: 574-576
- 40. Ziegler, I. 1972. The effect of SO₃⁻on the activity of ribulose-1, 5-diphosphate carboxylase in isolated spinach chloroplasts. Planta 103: 155-163
- 41. Ziegler, I. 1973. Effect of sulphite on phosphoenolypyruvate carboxylase and malate formation in extracts of Zea mays. Phytochem. 12: 1027–1030
- 42. Ziegler, 1. 1974. Action of sulphite on plant malate dehydrogenase. ibid. 13: 2411-2416

国立公害研究所研究報告 第10号 (R—10—'79) Research Report from the National Institute for Environmental Studies No. 10, 1979

Ⅲ — 5

# 高等植物による大気二酸化窒素(NO₂)の吸収と代謝

# 米山忠克1

## Absorption and metabolism of atmosperic NO₂ in higher plants

# Tadakatsu YONEYAMA¹

### 1. 大気汚染質 NO₂ と植物

大気汚染質としての窒素酸化物には一酸化窒素(NO)と二酸化窒素(NO₂)があるが、一般に NO₂の方がより植物に吸収され、毒性も強いと考えられている(25)。これらの窒素酸化物の発生 源は石油、石炭などの燃焼と考えられているが、土壌からの発生を示唆するデータ(18)もある。 グリーンハウスの中で、炭酸ガス施肥のためのプロパンなどの燃焼が、植物の生長を阻害するほど に室内のNO, NO₂ 濃度を高めているという報告(5, 6, 7)もある。

大気に放出されたNO, NO₂は,大気中の反応で消滅,植物群落による吸収(13),土壌による 吸収(1),雨滴による吸収などの運命をたどるが,現在の都市大気のNO₂ 濃度はやや増加の傾 向にある。

現在,都市大気の NO₂ 濃度(年平均)は0.03~0.05ppm 程度である。この濃度以下で植物への影響を調べた報告は今のところないが,この濃度以上0.5ppm(50pphm)以下で,植物の生理機能や生長に阻害的な影響があるとする報告がある。表1にその報告例をまとめた。この濃度範囲は,可視害はほとんど認められないが,植物葉の光合成活性などが阻害されたり,長期間の暴露によって生長が抑制されたりする,いわゆる慢性被害を受ける濃度域と言えよう。

一方,NO2単独では阻害的影響が認められないか,軽微にすぎない場合でも,他の大気汚染ガス が共存すると,相加的あるいはそれ以上の影響(相乗的)となることが,次第に明らかになりつつ ある(4,9,36)。

^{1.} 国立公害研究所 生物環境部

^{1.} Division of Environmental Biology, The National Institute for Environmental Studies, Tsukubagakuen, Ibaraki 305

		Adm	NO ₂	暴露		-+++	
10	ı 	123	濃度(pphm)	期間(日)	影	│×厭	
۲	7	٢	10, 25, 50	20 時間	20時間の1時間平均として 光合成活性阻害(10pphm-9%、25ppm-31%、) 50pphm-32%	6	
۲	マ	٢	50	10 - 22	生長阻害	33	
٢	マ	٢	15 - 26	10 - 22	乾燥重量の低下,クロロフィルの増加,葉の下方 への屈曲	32	
۲	マ	۲	50	19	葉面積、乾燥重量の減少	7	
۲	7	۲	25	全生育期間	22%の収量減	30	
ケン ブル	タッ ーグ	キー ラス	週平均 6.8 (月曜日から) 金曜日まで 11pphmの (暴露)	56 - 140 (週103.5時間)	葉面積,乾燥重量の減少	2	
ヒマ	ヮ	IJ	10	24	乾燥重量减少	39	
ネ ー	ブ	N	25	35	葉量の増加,結実の減少	35	

表 1 50pphm 以下の NO2 暴露の植物への阻害的影響の報告例

### 植物によるNO₂吸収

大気の NO₂ が植物に吸収される経路として,植物の茎葉部からの直接的吸収と,土壌へ吸収された NO₂ が根により吸収されるという二つがある (40)。 前者では茎葉部の表層に点在する気孔を介して葉細胞へと取り込まれる。後者では土壌に吸収された NO₂ が硝酸,亜硝酸となり (45), それらが根を通じて吸収される (41)。 短時間の吸収では,主要な経路は前者である (45)が,後者の吸収では,大気中に NO₂ がなくなった後でも土壌に固定されていた NO₂ 窒素が植物に吸収 されることになるので,植物の NO₂ 窒素の吸収経路としては無視出来ない場合があることが最近明らかになって来ている (48)。

植物に吸収された NO₂ 量の推定方法には、(イ)一定の NO₂ 濃度に保たれたキャビネットに、 植物(全体,またはある器官)を入れた時の,室内の NO₂ 濃度の減少量から計算(13,29)、(ロ) NO₂ に暴露された植物の窒素含量の増加量から推定(13,38)、(ハ)植物に吸収された窒素の うち、NO₂ 以外の起源の窒素をアイソトープ法で標識して推定し、全窒素量からその量をひき、残 りを NO₂ 起源の窒素として計算(21,46)、(ニ) NO₂ のNをアイソトープ(¹⁵N)で標識して, これを植物に暴露し、植物中の¹⁵N 濃度を分析して(44)、NO₂ 由来として計算(16,40) するな どの方法がある。 Matsumaru ら(21)の(ハ)の方法による推定によれば、0.3ppm の NO₂ 暴 露下では、水耕されたトマト、ヒマワリは1日当たり2.6 mg/g 乾重、トウモロコシは1.0 mg/g 乾重の NO₂ を吸収することが出来る。土耕にされた植物でも、似た吸収率が求められている(46)。 葉による吸収は気孔を介して行われるので、その吸収量には、昼間多く夜間に少ないという日周 性があり(13, 15, 43)、外気のNO₂の濃度に比例する吸収量がある(15, 29)。低濃度のNO₂に おける吸収では、葉中の窒素含量(%)は吸収率に関係しないようである(28)。 植物種により、 また、環境条件により単位葉面積当たりの気孔面積が異なるため、植物によるNO₂の吸収量は変 化する。しかし名取ら(24)によれば、それぞれの葉について、単位飽差当たりの蒸散量に対する NO₂吸収量を計算したところ、植物種、環境条件、NO₂濃度に関係なく一定値1.2~1.4×10⁻³ g NO₂·gH₂O⁻¹·mmHg⁻¹NO₂ ppm⁻¹となる。大気の NO₂ 濃度, 葉温, 蒸散量が測定できれば、 この定数を使って、葉における NO₂ 吸収量の推定ができる。

植物の NO₂ 吸収能に従って、植物を表2のようにグループ分け出来る。 吸収性, 同化利用性が 高ければ, 多分抵抗性も高いだろうが, この性質を持つ植物は, NO₂ 吸収面積としての葉面積が 大であれば, 大気中の NO₂ を吸収して, その濃度を下げるフィルターとなり得るだろう。一方, 抵 抗性が低く, NO₂ に特異的に弱い植物がみつかれば, それは大気の NO₂ 濃度の危険度を示す指標 植物となろう。

吸収性	同化利用性	抵抗性	利用	植物例
高	百	高	吸収面積(葉面積)が大きければ 植物フィルターとして利用できる	ヒマワリ, キュウリ
高	低	低	NO2 特異性が高ければ、大気 NO2 の植物指標となる	
低	高	高		トウモロコシ
低	低	?		

表 2 植物の NO₂ 吸収の分類

#### .3. 植物におけるNO₂の代謝

#### (1) NO₂の代謝過程

NO₂ に暴露された植物では、暴露されない植物と比べて、硝酸含量が増加したり(39, 47, 50)、 亜硝酸が蓄積したり(17, 42, 43, 44)、 タンパク態窒素含量が増加したり(27)、 全窒素含量が 増加したり(27, 37, 39) する。また真弓と山添(23)、 Matsumaruら(21)の実験は、吸収され た NO₂ は植物細胞中で無機態で集積されることは少なく、速やかに有機能に変換されることを示 唆している。一方、 NO₂ 暴露下の植物では、硝酸還元酵素活性(50)、 亜硝酸還元酵素活性(43) が増大することも報告されている。

Yoneyama ら(16, 42)は¹⁵N 標識の NO₂ を作り,葉にこれを暴露した時の葉内の¹⁵Nの分布 から,図1に示すような経路で NO₂の窒素が代謝されることを確認した。



図1 植物葉細胞での NO₂の代謝

気孔から侵入した NO₂は、細胞液中で分解し、硝酸と亜硝酸になり、これらは硝酸還元酵素、 亜硝酸還元酵素によりアンモニアとなり、この窒素はグルタミン合成酵素、グルタミン酸合成酵素 で、グルタミン、グルタミン酸に移され、さらにアミノ基転移酵素で各種のアミノ酸に窒素が移動 する。このように合成されたアミノ酸はタンパク質に取り込まれ、それの構成アミノ酸となる(42)。 夜間には気孔の開度が小さくなり、全吸収量は少なくなる。また、光が存在しないので、硝酸還元 酵素、亜硝酸還元酵素、グルタミン酸合成酵素活性の作動のための還元剤の供給が少なくなり、十 分な活性が発現せず、硝酸、亜硝酸、グルタミンで集積する比率が明条件下よりも大となる(16)。

同様な研究が植物葉に吸収された SO₂ についてもなされている。³⁵S 標識の SO₂ を,葉に暴露 して、その体内変化が追跡された。Thomas ら (34)の実験によれば、 硫黄欠乏の小麦、大麦で は ³⁵SO₂ はすばやく有機態の硫黄化合物となるが、水耕液から十分に硫黄を与えられたトウモロ コシでは ³⁵SO₂ は長く無機態の ³⁵SO₄⁻⁻ の形でとどまるようだ。Matsumaru ら (21) は培地の窒 素 (NO₃⁻⁻)の濃度条件を変えて NO₂を暴露しているが、いずれの濃度条件下においても、吸収さ れた NO₂ はすばやく同化され有機態になると報告している。最近の ³⁵SO₂ を使った実験(11) で 興味あることは、暗条件下でも有機態に代謝されることである。暗条件下での有機化は NO₂ に関 しても起こった(16)が、この代謝過程の生理的機作に関しては、不明なことが多い。光の関与し ない根でも硝酸、亜硝酸の有機化がなされている(41)のだから、暗黒下でも、硝酸、亜硝酸、あ るいは硫酸、亜硫酸が還元される生理的システムが存在すると考えてもおかしくない。

### (2) NO₂ が毒になる時,益になる時?

NO2 がいかなる機作で、植物の生理的活性を阻害し、生長を抑制するか、今考えられる範囲で図2 にまとめた。動物体で問題となっているような膜の変性が考えられる。松島ら(22)の電子顕微

鏡写真は、NO2の暴露によって、可視害がみられない時にも、葉緑体のラメラの膜が破壊されてい ることを示している。水にとけた NO2 は、亜硝酸となる。NO2 に暴露された植物葉中での亜硝酸の 集積と、可視害発現と対応している(17,43)。また亜硝酸が光合成活性を阻害することが知られて いる(12)。しかし、どのように可視害発現に至るかは不明である。バンスライク反応により、亜硝 酸がタンパク質のアミノ基を変化させるのも、可視害発現に何らかの役割をしているのかも知れな い。亜硝酸還元酵素活性が高く、亜硝酸をすく還元してしまえば、一時的にはこの可視害発現をあ る程度おさえることができる(43)。



図2 植物における NO₂ 毒性発現過程

先に述べたように、酵素活性が十分作動すれば、NO₂ はアミノ酸またはタンパク質の窒素源となり 得る。このことは植物に窒素が不足している時には、NO₂ が有力な窒素源となり、生長を促進させ る可能性を示している。Faller(8)は窒素欠乏の植物に NO₂ を暴露し、このことを実証した。し かし、通常の生育条件下では、NO₂ の窒素は植物の必要窒素量の 1~3%程度(0.03ppmNO₂で) を満たすにすぎない(46)。NO₂ が植物のタンパク質の窒素源となるにしても、それに対応する炭 素は、光合成反応によって獲得しなければならない。NO₂ 暴露によって光合成の促進が起こらず、 NO₂ を窒素源とするタンパク質合成が盛んに起こり、そのため炭素が使われると、転流する炭素化 合物の量が少なくなり(39)、このため生長が阻害されることになる。戸塚ら(37)は、NO₂ 暴露 がヒマワリ、インゲンの生殖器官の発達を遅らせることを報告している。

#### (3) NO2 窒素の移動

植物に吸収された大気汚染物質の元素が、吸収された部位から他の部位への移動について、研究 例は少ないが、表3に示したように SO₂の S と NO₂の N は転流すると考えられる。移動の方向 は成熟葉から展開葉、および根部へである。 SO₂の S は SO₄⁻⁻ の形態で移動するとの報告(34) があるが、NO₂の N は先に述べたようにアミノ酸に転形して、光合成産物と同様、篩管を移動す ると考えられる。今日, 葉の窒素が根に移動することについての報告(19, 20, 26, 31)は少なく, その量および意義については、今後の研究にまたねばならない。

大気汚染ガス	植物	調査部位	結果	文献
H * F	アルファルファ,オーチャード グラス、フダンソウ,キクヂシャ. ホウレンソウ、レタス	葉から茎へ 茎から根へ	ほとんど移動せず	3
[∗] SO₂	大豆	特定の葉から他の葉へ	移動する	10
*SO₂	4種の幼木	地上部から根へ	相当量移動する	14
*NO₂	ヒマワリ	成熟葉から新葉へ 茎葉部から根へ	移動する	16

表3 吸収された大気汚染質元素(*印)の植物体内での移動

引用文献

- 1. Abeles, F. B., L. E. Craker, L. E. Forrence and G. R. Leather. 1971. Fate of air pollutants: removal of ethylene, sulfur dioxide, and nitrogen dioxide by soil. Science 173: 914-916
- Ashenden, T. W. 1979. The effects of long-term exposures to SO₂ and NO₂ pollution on the growth of Dactylis glomerata L. and Poa pratensis L. Environ. Pollut. 18: 249-258
- 3. Benedict, H. M., J. M. Ross and R. W. Wade. 1964. The deposition of atmospheric fluorides by Vegetation. Int. J. Air Wat. Poll. 8: 279-289
- 4. Bull, J. N. and T. A. Mansfield. 1974. Photosynthesis in leaves exposed to SO₂ and NO₂. Nature 250: 443-444
- Capron, T. M., and T. A. Mansfield. 1975. Generation of nitrogen oxide pollutions during CO₂ enrichment of glasshouse atmospheres. J. Hor. Sci. 50: 233-238
- Capron, T. M. and T. A. Mansfield. 1976. Inhibition of net photosynthesis in tomato in air polluted with NO and NO₄. J. Exptl. Bot. 27: 1181-1186
- Capron, T. M. and T. A. Mansfield. 1977. Inhibition of growth in tomato by air polluted with nitrogen oxides. J. ibid. 28: 112-116
- Faller, N. 1972. Schwefeldioxid, Schwefelwasserstoff, Nitrose Gase und Ammoniak als ausschlie
   *üliche S-bzw. N-Quellen der h
   öheren Pflanze. Z. Pflanzenern. Bodenk.* 131: 120-130
- 9. 古川昭雄・名取俊樹・戸塚 績. 1979. ヒマワリ葉の光合成速度に及ぼす SO₂・NO₂・O₃ の複合影響 - 経時的変化,日本生態学会大会講演要旨集 p.295
- Garsed, S. G. and D. J. Read. 1974. The uptake and translocation of ³⁵SO₂ in soybean Glycine max var. Biloxi. New Phytol. 73: 299-307
- Garsed, S. G. and D. J. Read. 1977. Sulphur dioxide metabolism in soybean Glycine max var. Biloxi, II. Biochemical distribution of ³⁵SO₂ products. ibid. 79: 583-592
- 12. Grant, B. R. and D. T. Canvin, 1970. The effect of nitrate and nitrite on oxygen evolution and carbondioxide assimilation and reduction of nitrate and nitrite by intact chloroplast. Planta 95: 227-246
- 13. Hill, A. C. 1971. Vegetation: A sink for atmospheric pollutants. J. Air Pollut. Contr. Ass. 21: 341-346

- 14. Jensen, K. F. and T. T. Kozlowski. 1975. Absorption and translocation of sulphur dioxide by seedlings of four forest tree species. J. Environ. Qual. 4: 379-382
- 15. Kaji, M. and T. Yoneyama, 1979 (Unpublished data).
- Kaji, M., T. Yoneyama, T. Totsuka and H. Iwaki, 1980. Absorption of atmospheric NO₂ by plants and soils. (VI) Transformation of NO₂ absorbed in the plant leaves and translocation of NO₂-nitrogen in plants. Res. Rep. from the Nat. Inst. for Environ. Studies, No. 11 (in press)
- 17. 加藤俊博・橘 昌司・位田藤久太郎, 1974, 被覆下における有害ガスによる作物の障害に関する研究. Ⅱ. 亜硝酸ガスによる作物の障害の機作について、生物環境調節, 12: 103-107
- Kim, C. M. 1973. Influence of vegetation types on the intensity of ammonia and nitrogen dioxide liberation from soil. Soil Biol. Biochem. 5: 163-166
- 19. 金 雄柱, 1978, 機械移植用苗における施肥窒素の動態について, 日本土壌肥料学雑誌, 49:135-137
- Maytin, P. 1976. Verteilung von Stickstoff auf Spro and Wurzel bei jungen Bohnenpflanzen nach der Aufnahme von NO₃⁻ and NH⁺₄. Z. Pflanzenern. Bodenk. Heft 2:181-193
- Matsumaru, T., T. Yoneyama, T. Totsuka, and K. Shiratori. 1979. Absorption of atmospheric NO₂ by plants and soils. (1) Quantitative estimation of absorbed NO₂ in plants by ¹⁵N method. Soil Sci. Plant. Nutr. 25: 255-265
- 22. 松島二良ら、1977.オゾン,二酸化窒素,二酸化硫黄,エチレンによるケヤキの不可視害葉における 微 細構造の比較,大気汚染研究,11:360-369
- 23. 真弓洋一・山添文雄. 1979. 作物による二酸化窒素の吸収および体内変動について.日本土壌肥料学雑誌 50:116-122
- 24. 名取俊樹・大政謙次・安保文彰・戸塚 績. 1979. ガス拡散モデルにおけるガス吸収能の評価について. Ⅱ. 各種植物における NO₂ 吸収の予測について、大気汚染学会講演要旨集. p. 391
- 25. Ormrod, D. P. 1978. Pollution in Horticulture, p.260, Elsevier, New York
- 26. Pate, J. S. 1973. Uptake, assimilation and transport of nitrogen by plants. Soil Biol. Biochem. 5: 109-119
- 27. Prasad, B. J. and D. N. Rao. 1978. Bioassay techniques to diagnose NO₂ pollution. J. IPHA, India 1(3): 10-14
- 28. Rogers, H. H. 1975. Uptake of nitrogen dioxide by selected plant species. Doctoral thesis, University of North Carolina
- Rogers, H. H., H. E. Jeffries, E. P. Stahel, W. W. Heck, L. A. Ripperton and A. M. Witherspoon. 1977. Measuring air pollutant uptake by plants: a direct kinetic technique. J. Air pollut. Contr. Ass. 27: 1192-1197
- Spierings, F. H. F. G. 1971. Influence of fumigations with NO₂ on growth and yield of tomato plants. Neth. J. Plant Pathol. 77: 194-200
- 31. 異 二郎・河野恭広. 1979. 水稲の葉に与えた¹⁵N-尿素の根群への転流.日本作物学会紀事別号 48:165-166
- 32. Taylor, O. C. and Eaton, F. M. 1966. Suppression of plant growth by NO₂. Plant Physiol. 41: 132-135
- 33. Taylor, O. C. and D. C. Maclean. 1970. Nitrogen oxides and the peroxyacyl nitrates, In Recognition of Air Pollution Injury to Vegetation, A Pictorial Atlas, (edit. by J. S. Jacobson and A. C. Hill) p.E1-E14. Air Pollution Contro. Assoc. Pittsburgh
- 34. Thomas, M. D., R. H. Hendricks, L. C. Bryner, and G. R. Hill. 1944. A study of sulphur Metabolism of wheat, barley and corn using radioactive sulphur. Plant Physiol. 19: 227-244
- Thompson; C. R., E. G. Hensel, G. Kats, and O. C. Taylor. 1970. Effects of continuous exposure navel oranges to NO₂. Atmos. Environ. 4: 349-355
- 36. Tingey, D. T., R. A. Reiner, J. A. Dunning and W. W. Heck. 1971. Vegetation injury from the interaction of nitrogen dioxide and sulfur dioxide. Phytopathology 61: 1506-1511

- 37. 戸塚 績・佐藤秋生・米山忠克・牛島忠広. 1978. 高等植物の生長におよばす二酸化窒素の影響(2) ヒマワリとインゲンマメの乾物生長におよばす NO₂ 暴露の影響,陸上植物による大気環境の評価と改善 に関する基礎的研究,51/52年度研究報告,国立公害研究所特別研究成果報告R-2-78. p. 77-87
- 38. 戸塚 績・米山忠克・名取俊樹・藤沼康実,1978,高等植物の生長におよぼす二酸化窒素の影響(3) NO₂ 暴露に対する草本植物の感受性および植物体窒素濃度変化の種間差異,陸上植物による大気汚染環境の評価と改善に関する基礎研究,51/52年度研究報告、国立公害研究所特別研究成果報告 R-2-78. p. 89-94
- 39. 戸塚 績・米山忠克・名取俊樹・滝本道明,1978.高等植物の生長におよぼす二酸化窒素の影響(1) 暴露によるヒマワリの乾物生長変化と NO₂ 吸収について,陸上植物による大気汚染環境の評価と改善に 関する基礎的研究.51/52年度研究報告.国立公害研究所特別研究成果報告 R-2-78.p.67-76
- Yoneyama, T., A. Hashimoto and T. Totsuka. 1979. Absorption of atmospheric NO₂ by plants and soils. (IV) Two routes of nitrogen uptake by plants from atmospheric NO₂: Direct incorporation into aerial plant parts and uptake by roots after absorption into soil. Soil Sci. Plant Nutr. (in press)
- 41. Yoneyama, T., E. Iwata and J. Yazaki. 1979. Nitrite utilization in the roots of higher plants. ibid (in press)
- 42. Yoneyama, T., and H. Sasakawa. 1979. Transormation of atmospheric NO₂ absorbed in spinach leaves. Plant & Cell Physiol. 20: 263-266
- Yoneyama, T., H. Sasakawa, S. Ishizuka and T. Totsuka. 1979. Absorption of atmospheric NO₂ by plants and Soils. (II) Nitrite accumulation, nitrite reductase activity and diurnal change of NO₂ absorption in leaves. Soil Sci. Plant Nutr. 25: 267-275
- 44. 米山忠克・笹川英夫・戸塚 績・山本幸男,1978. 高等植物の生長におよぼす二酸化窒素の影響(5) 草本植物による¹⁵NO₂の吸収,亜硝酸の蓄積,亜硝酸還元酵素活性の変化,陵上植物による大気汚染環 境の評価と改善に関する基礎研究,51/52年度研究報告,国立公害研究所特別研究成果報告 R-2-78. p. 103 - 111
- 45. Yoneyama, T., T. Totsuka, S. Hashimoto, and J. Yazaki. 1979. Absorption of atmospheric NO₂ by plants and soils. (III) Changes in the concentration of inorganic nitrogen in the soils fumigated with NO₂: effect of water conditions. Soil Sci. Plant Nutr. 25: 337-348
- 46. Yoneyama, T., T. Totsuka, N. Hayakawa and J. Yazaki. 1980. Absorption of atmospheric NO₂ by plants and soils. (V) Day and night NO₂-fumigation effect on the plant growth and estimation of the amount of NO₂-nitrogen absorbed by plants. Res. Rep. from the Nat. Inst. for Environ. Studies, No. 11 (in press)
- 47. 米山忠克・戸塚 績・石塚茂樹・藤沼康実・矢崎仁也・1978、高等植物の生長におよぼす二酸化窒素の 影響(4) 数種木本植物の生長および植物体内窒素濃度におよぼす NO2 暴露の影響、陸上植物による大 気汚染環境の評価と改善に関する基礎的研究。51/52年度研究報告。国立公害研究所特別研究成果報告 R-2-78、p. 95 - 102
- Yoneyama, T. and T. Yasuda, J. Yazaki and T. Totsuka. 1980. Absorption of atmospheric NO₂ by plants and soils. (VII) NO₂ absorption by plants: re-evaluation of the air-soil-root route. Res. Rep. from the Nat. Inst. for Environ. Studies, No. 11 (in press)
- 49. Zeevaart, A. J. 1974. Induction of nitrate reductase by NO₂. Acta Bot. Neerl. 23: 345-346
- Zeevaart, A. J. 1976. Some effects of fumigating on plants for short periods with NO₂. Environ. Pollut. 11: 97-108

国立公害研究所研究報告 第10号 (R-10--'79) Research Report from the National Institute for Environmental Studies No. 10, 1979

Ⅲ—6

# 植物 ― 土壌系への酸性雨の影響について

荒井邦夫¹ · 戸塚 績¹

# Effects of acid precipitation on plants and soils

Kunio ARAI¹ and Tsumugu TOTSUKA¹

日本各地に降る雨の酸性化傾向は、大気汚染の著しい地域では1960年代初期より明らかとなり、 近年はpH4.0以下の雨が降ることもまれではない(図1)。このような酸性雨の動・植物に対する 影響が我国で注目され始めたのは、比較的最近のことである。1970年夏に近畿地方各地や四日市 で、降り始めの雨によるアサガオ花弁の脱色現象が観察された(13,59)ことがその発端となって いる。そして1973年には静岡・山梨両県で、また、1974年および1975年には関東地方一帯で、 目に刺激性の痛みを与える酸性の強い霧雨が降り、酸性雨(湿性大気汚染)として大きな社会問題 となった。それ以後、各地の試験研究機関において大気汚染状況、気象条件、雨水成分濃度などが 調査され、酸性雨発生機構の解明が試みられている(19,21,22,26,27,28,33,54)。



図1 四日市市(全市18か所の平均)および熊本市(全市5~7か所の平均)にお ける雨水のpHの推移(59,38)

1. 国立公害研究所 生物環境部

1. Division of Environmental Biology, The National Institute for Environmental Studies, Tsukubagakuen, Ibaraki 305 一方,スウェーデン、ノルウェー、イギリスなど北ヨーロッパ各国やアメリカ北東部では、以前 から大気汚染の進み方と平行した雨水の酸性化傾向が認められていた。これらの地域に降る雨や雪 のpHは1950年代には6前後であったのが、年ごとに低下して1970年ころにはpH4 あるいは それ以下となっている。そして、このような強酸性の雨は、各種生態系に種々の悪影響を与えるで あろうと予測されている(18,30,31,40,41)。スカンジナビア半島では、すでに酸性雨の被害 が現実のものとなっており、過去20年間に森林生産は減少し(6)、サケ・マスなどの魚類が湖や 河川から姿を消した(18,41)。植物生長や土壌の化学的性質あるいは森林生態系に対する酸性 雨の影響の検討もこれら各国で数多くなされており、酸性雨問題に関する国際シンポジウムも何度 か開かれている(注)。

今後,我国においても酸性雨問題は健康被害の面ばかりでなく,生態系に対する影響についても, 自然環境の保全の立場から次第に重要性を増してくると考えられる(25,42)。ここでは,現在ま でに国内外で行われてきた酸性雨研究の中で,植物 — 土壌系に関係するものを中心に取り上げ, 大気汚染の一側面である酸性雨問題か,現在および将来にわたり農林業生産や生態系にどの程度の 影響を与えるのかを評価・予測し,今後の研究の参考としたい。

- 注) The first international symposium on acid precipitation and the forest ecosystem. Columbus.Ohio, USA, May 12-15, 1975.
  - The international conference on the effects of acid precipitation. Telemark, Norway, June 14 19, 1976.

#### 大気汚染と酸性雨

### (1) 雨水中への汚染物質の取り込み

化石燃料の燃焼等により大気中に放出された硫黄酸化物や窒素酸化物は,rainout (雨滴の生長 段階での取り込み)や washout (降下する雨滴による取り込み)の過程を経て雨中に取り込まれ, 地下に落下する (35, 42)。

降雨により大気汚染物質が雨滴中に取り込まれてゆく様子は図2からもうかがえる。降り始めの 雨水中の $SO_4^{-2}$ ,  $NO_3^-$ ,  $C\ell^-$ などの陰イオン濃度および総イオン濃度の指標である導電率は高い 値を示すが,降雨量が増すに従って大気中の汚染物質が洗浄・除去されてゆくため、時間の経過と ともに雨水中の各種イオン濃度は低下してゆく(42,54)。一般には washout による取り込みが多 いと考えられているが,汚染物質は数千m上空で rainout によってもかなり取り込まれている(27)。

#### (2) 雨水中のイオンバランスとpH

清浄な雨水でも大気中の二酸化炭素との平衡関係により25℃, 1気圧の条件下ではpH5.65と弱 酸性を示す(44)。雨水中に取り込まれた SO₂やNOxは, 種々の化学反応を受けて亜硫酸, 硫酸, 硝酸などに変化し,雨水をさらに酸性化する(30,41)。しかし,雨水中には酸性の陰イオン以外 にNH4*,Na*,Ca*2などの塩基性陽イオンも多く存在し,これらすべてのイオンの化学当量バラ



ンスにより雨水のpHは決定される(3,16,32,35)。雨水中に存在する陰イオンの一部は海水 に由来するが、それは Na⁺を主体とする陽イオンによって中和される。それ以外の陰イオン(excess ions)の一部は、NH₄⁺などの陽イオンにより中和され、残った SO₄⁻², NO₃⁻, C $\ell^{-}$  などの陰イ オンはH⁺と結びつき、雨水の水素イオン濃度を高める(図3)。

(3) 雨水成分の測定例

各地で行われた雨水の分析結果によると、SQ₄⁻², NO₃⁻, Cℓ⁻などの陰イオン濃度とpHの間 には、地域差もみられるが、一般的に相関が少ないことが多い。例えば、東京都で汚染の著しい都 心部と汚染の比較的進んでいない多摩地区を比較すると雨水中の陰イオン濃度や導電率は都心部で 高いが、pH値は逆に多摩地区で低い。そして、雨水中の陰イオン濃度とpH値の間の相関関係は 多摩地区では強いが、都心部ではほとんど認められない(26, 27)。また、SO₄⁻², NO₃⁻, Cℓ⁻ の3種陰イオン濃度から計算したpH値と実測pH値とを比較すると、大気汚染の著しい地域ではその 差が大きく、大気が清浄な地域では値が比較的一致する(54)。これらの測定結果は、すでに述べ たように、雨水のpH値を決定する要因がSO₄⁻², NO₃⁻, Cℓ⁻, HCO₃⁻ などの陰イオン濃度だ

-353-

けではないことを裏付けている。数多くの汚染源からさまざまな汚染物質が放出される都市域では、 酸性の陰イオン以外にNH₄⁺, 金属イオンなどの塩基性陽イオンも多く存在し,相互の反応で塩を 形成するためpH値はそれほど低下しないが,大気が比較的清浄な地域では,雨水の酸性化を緩和 する方向に働く塩基性物質が相対的に少ないために,かえってpH値が低下すると考えられている (27, 33, 54)。

#### (4) 雨水酸性化の原因物質

雨水酸性化の原因物質として、一般にSO₄⁻², NO₃⁻, Cℓ⁻が考えられる。アメリカ北東部の例 では1973年の段階で雨水のpHは4.05であり、その酸性化への貢献度はSO₄⁻²65%、NO₃⁻ 30%、Cℓ⁻ 5%と計算されているが、近年はNO₃⁻ や Cℓ⁻ の占める割合が増加している(3,32)。 我国でも同様の傾向にある(27)。スカンジナビア半島ではSO₄⁻²が主要な酸性化物質であるが (41)、その発生源はイギリスの工業地帯であることが確認されている(18)。大気中に放出された亜 硫酸ガスの一部分は塩基性物質と反応し、塩となって汚染源近くに降下するが(43)、過剰な酸性 物質は遠距離まで飛散し、広い範囲にわたって酸性の雨を降らせる(18,41)。このような広域汚 染も酸性雨問題の一つの特徴である。

我国において、目に対する健康被害やアサガオ花弁の脱色などを引き起こした酸性雨の原因物質 として、上述の酸性陰イオンの他に、アルデヒド類(29)や航空機排ガスから光化学的に生じたエ アロゾル粒子に付着した有機過酸(ペルオキシ酸)(24)であるとの報告も見られる。

### 2. 人工酸性雨の植物への影響

現実に降る酸性雨には酸、塩基、ばいじん、重金属などいろいろな成分が含まれているが、その 中で植物に対する影響が最も大きいのは、 $SQ_4^{-2}$ ,  $NO_3^{-1}$ ,  $C\ell^{-}$ などの陰イオンの増加による雨水 のpH値の低下であると考えられる。酸性雨の植物影響を実験的に検討した多くの研究では、主と して硫酸により各段階にpH値を調整した人工酸性雨が用いられている。

#### (1) 葉面可視障害と散布液のpH

カバノキ(56),サトウカエデ(57),インゲンマメ(8,10,17,57),ヒマワリ(8),マツ (58),イネ(52)など多くの植物に共通して、散布液のpHが3.0以下になると葉の表面に壊死斑 点が生ずる。走査電顕による観察では傷害の95%が毛耳(trichome)や気孔の近辺に局在して おり、ガス交換や分泌作用が傷害発生と何らかの関係があると思われる(8)。コムギやハダカム ギではpH2.0でも可視障害が認められない(52)という例外もあるが、大部分の植物で可視障害 発現の限界値がpH3.0前後と類似していることは、植物種や環境要因の差異より、むしろ散 布液のpHが可視障害発現には決定的な要因であることを暗示している(17)。 現実に降る雨のpHは低くても4.0前後であり,葉面可視害を引き起こすには至っていない。植物生長に対する酸性雨の影響がこれまであまり注目されなかったのは、このことも一因であろう。

酸性雨による可視障害として、アサガオ花弁の脱色現象が観察されている(13,46,59)。その 原因として亜硫酸による漂白作用や低pHによるアントシアンの変色反応が考えられるが(46)、 0.3 ppmあるいはそれ以下の通常環境濃度のSO₂が雨水中に溶け込んでもpHはさほど低下せず、 アサガオ花弁の脱色を引き起こさないとの報告もある(14)。また、現実に降った雨水でアオウキ クサを育てた場合に生長障害が起こるが、これにはpHの低さ以外にCu⁺²などの重金属イオンの 阻害作用も考えられている(47)。

大阪市周辺において、雨によるアサガオ花弁の脱色現象分布とキンモクセイの開花異常分布、クロマツやアオウキクサの生育阻害分布がよく一致している(46)ので、アサガオ花弁の脱色現象は 大気汚染や酸性雨の植物指標として利用できるであろう。

#### (2) 光合成・呼吸への影響

pH 2.5以下の液を散布したインゲンマメの葉のクロロフィル含量は, a, b とも著しく低下する (10, 17), また, コンゴレッドの染色反応によれば, その時の葉肉組織のpH は 4.0以下となる(10)。 組織学的には葉肉細胞は小型化し, 細胞間隙は少なく, 葉緑体内のデンプン粒は小さくなる(10), また, 葉緑体の崩壊や柵状組織細胞の原形質分離も観察されている(17)。

SO₂などの汚染ガス暴露は明らかに葉の光合成速度を低下させることが知られているが、人工酸性雨の散布による光合成速度の変化については相反する結果が報告されている。



Respirometer を用いてO₂放出量でみたインゲンマメの葉のみかけの光合成速度は散布液のpH が低下するに従って高まり,pH 2.0 では対照区の約3.7 倍となる(表1)。呼吸もpHの低下に伴 って,わずかずつ増加する傾向にある。呼吸に比べて光合成速度は大幅に促進されるにもかかわら ず,炭水化物生産や根のバイオマスは酸性雨によって減少する。FERENBAUGH(10)はこの現象を, 葉肉組織のpH の低下により光リン酸化反応が共役しないためであろうと考えている。GORDON(15) も葉片を硫酸液や硝酸液に浮かべた時にみかけの光合成が促進されることを観察している。

一方、CO₂吸収量で測定したイネ科作物の葉の光合成は、散布液のpHが4.0以下で明らかに阻害され、阻害の程度は硫酸ミストより亜硫酸ミストの方が著しい(図4)。また、感受性には種間差も認められ、ハダカムギやコムギに比較してイネは光合成阻害を受けやすい(52)。ミズゴケ類でも亜硫酸溶液の濃度が高まると、H₂¹⁴ CO₃ からの¹⁴ CO₂ の取り込みが減少する(11)。

**FERENBAUGH**(10)と谷山・斉藤(52)が光合成速度の変化に関して得た結果は相反している。 その他にインタクトな高等植物を使って,酸性雨と光合成速度の変化を研究した報告は見当たらな い。従って,この差異が光合成測定法の差異によるのか → 光合成反応における CO₂吸収とO₂ 放 出は必ずしも並行していないのか → あるいは使用した植物の感受性の差異によるか、などは興味 深い今後の検討課題である。

#### (3) 葉からのカチオンの溶脱

通常の降雨やかん水の際に植物の葉や茎などから各種の物質が溶脱することが知られている(23, 53)。酸性雨はこの傾向をさらに助長する。インゲンマメやサトウカエデの葉からのCa⁺², K⁺, Mg⁺²の溶脱は散布液のpHが低下するにつれて増大する(図5)。pH 3.0以下では,表皮組織 の破壊がカチオンの溶脱に関係していると思われるが,傷害が認められないpH 3.3以上でもカチ オン溶脱の明らかな増加がみられる。この溶脱の機構として,葉のクチクラ層におけるカチオンと 散布液中の水素イオンとの交換反応が考えられている(57)。

植物体からのカチオンの溶脱割合はカチオンの種類,葉の構造,葉令によって異なっている。 Na⁺, Mn⁺, Ca⁺², Mg⁺² などは比較的流亡しやすく、また若い葉に比べて成熟葉はカチオンの溶 脱が起こりやすい (53)。タバコの葉では散布液のpHの低下により Ca⁺² の溶脱は増加するが, Mg⁺² のレベルはあまり変化せずK⁺の溶脱はかえって減少する (9)。通常の雨水成分を含んだ硫 酸ミスト処理により、インゲンマメの葉では Ca⁺², Mg⁺² 以外にNやPの濃度も明らかに減少し、 Sは逆に増加する (17)。

降雨による植物体からの物質の溶脱量は時間とともに増大し,数日間の連続した降雨処理は当初 に葉中に存在していた成分量の数倍を溶脱させるといわれている。そのような場合には根よりの吸収や転 流が促進され、また溶脱したカチオンの再吸収も起こる(23,53)。酸性雨による植物体からのカ チオンの溶脱の増大は生長に直接影響するとともに、森林生態系内での物質循環にも大きな変化を 与える (7)。

#### (4) 形態形成・生長・収量への影響

カバノキではpH 3.0以上の硫酸ミストによる生長への影響は認められないが,pH 3.0以下では 葉のいしゅくやわい化が観察されている。また子葉期に散布した場合は4~5 葉期の場合より枯死 率が高く,ageにより感受性に差がみられる(56)。FERENBAUGH(10)はpH 2.5の硫酸ミストに よりインゲンマメの葉のいしゅく,不定芽の発生,初生葉の脱落などが引き起こされることを観察 している。そして葉の発育異常はおそらく酸とオーキシンとの相互作用の結果であり、オーキシン 生合成の過程に存在する,酸に感受性の高い中間生産物の生成や脱炭酸反応が,組織の酸性化によ り阻害されるためであろうと考えている。同じインゲンマメを使った実験で,硫酸ミストのpH の 低下に伴う栄養器官(葉)や生殖器官(さや)の乾物重の変化が調べられている(17)。両器官と もpH 4.0 では約10%,pH 2.5 では30%以上の乾物重の低下が認められたが,さや数は各区とも 差がなかった。谷山・斉藤(52)は出穂開始期のイネで,pH 4.0 以下の硫酸あるいは亜硫酸ミス トを散布した場合に収量の低下が起こることを報告している。これは不受精が原因ではなく,光合 成の抑制による登熟歩合の低下に起因している。

イネの場合可視障害の発生はpH 3.0 までであるが、pH 4.0 でも光合成速度や生長の低下は明ら かである。同様な現象はインゲンマメでも認められている(17)。このことは大気汚染ガスばかり でなく、酸性雨によっても不可視被害の発生があり得ることを示している(52)。



 5 サトリカエテの葉からのカナオンの 溶脱に及ぼすミストの酸性度の影響 (57)



WOOD and BORMANN (58) はアメリカ北東部に降る雨に準じた組成 (SO₄⁻²: NO₃⁻: C $\ell$ ⁻⁼ 66:24:10)の人工酸性雨でマツ幼植物の生長への影響を調べている。それによると幼植物の生長 は降雨の pH の低下につれて,かえって促進される (図 6)。特に pH 2.3 では葉面可視障害が現 れ、また後述するように土壌中から多量の有効塩基が溶脱するにもかかわらず、全処理区中最高の 生長量を示した。これは pH の低下に伴い人工酸性雨中の NO₃⁻量が急激に増加したため、窒素肥 料効果が強く表面に出て、酸によるマイナスの効果を打ち消した結果と解釈されている。

以上のように、硫酸を主体とした pH 3.0 ~ 4.0 程度の人工酸性雨は植物に対して可視障害は起 こさないものの、光合成能の変化、葉よりのカチオンの溶脱、土壌中の有効塩基の溶脱などを通じ て植物の生長にマイナスの影響を与えるといえる。pH 4.0 前後の雨は我国でも決して珍しくない。 この程度の酸性雨が作物の収量を低下させるという実験結果は、農業生産にとって重大な問題とな りうることを示唆している。一方、WooD and BORMANN (58)の実験が示すように、多くの物質 を含む現実の雨は低 pH によるマイナスの作用とともに、N やS などの栄養塩類をも属加させて植 物の生長にプラスに作用する場合もある。現実に降る酸性雨の影響を考える際には多面的な捕え方 が必要であろう。

### 3. 土壌に対する酸性雨の影響

#### (1) 塩基の溶脱と土壌の酸性化

我国のように降雨量の多い場所では、土壌は絶えず雨水の下降浸透を受けている。大気中のCO₂ の溶解により微酸性となっている雨水は、イオン交換により土壌粒子に吸着されているCa⁺², Mg⁺², K⁺などの塩基を徐々に溶脱し、代わりにH⁺を吸着させる。その結果、土壌肥よく度の指標である 塩基飽和度は低下し、土壌は酸性化してゆく。酸性雨がまず土壌中でこの反応を促進するであろう ことは、多くの研究者に指摘されており(18, 30, 39, 41, 48)、また実験的にも証明されている。 ライシメーターやポットを使った実験では、pH 3 ~ 4 の降雨による土壌からの Ca⁺²をはじめとす る塩基の溶脱(図7)、塩基飽和度の低下、土壌の酸性化、浸透水の酸性化などの現象が認められ ている(34, 43, 58)。土壌鉱物の風化作用も降雨の酸性化により増大するが、pH 4.0 以下では 土壌の塩基保持能の低下や風化による供給を上回る量の溶脱のため、土壌中の置換性塩基の量は減 少する(58)。塩基飽和度の低下は特に植物の根が多く分布する土壌の表層部で著しい(1, 36)。 土壌中のアニオン組成に対する酸性化の影響は塩基組成の場合ほど明白ではないが、最終的にはN やPを根圏から除去したり、植物が利用できない形態に変化させたりする(2)。また土壌の酸性 化は Aℓ, Cu などの植物の生育に有害な金属イオンの溶出を促進する(2, 39)。

#### (2) 土壌の性質による感受性の違い

OVERREIN (43) は酸性雨による土壌酸性化に関係する要因として、降雨の酸性度、土壌中に浸



図7 20週間の酸性雨処理による土壌から の塩基の溶脱(58)

図8 土壌呼吸量と無機態窒素量に及ぼす 硫黄添加の影響(48)

透してゆく雨水の量、塩基の種類による溶脱の難易、土壌の持つ緩衝作用などをあげている。一般 に塩基置換容量(CEC)が大きく、塩基飽和度の高い土壌はpHの変化に対して高い緩衝能を持 っている。従って粘土粒子や有機物が豊富な土壌は砂土に比べて塩基の溶脱や酸性化に対して抵抗 性がある(34)。TAMM(49)は酸性雨に対する感受性が最も高いのは弱酸性の土壌であろうと述 べている。すなわち、高い塩基飽和度を持つアルカリ性または中性の土壌は、一般に大きな CEC を持ち緩衝能が大きいので、侵入してきたH⁺は Ca⁺²、Mg⁺² などとの交換により速やかに土壌 コ ロイドに吸着され、土壌溶液の pHの変化は少ない。またすでに強酸性である土壌へのより以上の H⁺の流入は比較的小さな変化しか引き起こさない。しかし弱酸性の土壌はCECや塩基飽和度が低 く、緩衝能が小さいので、酸性雨の影響を最も受けやすい。

HOLT - JENSEN (18) は、ヨーロッパ中央部のように土壌の Ca 含量が高い地域では酸性雨の影響は当分現れそうにないが、Ca 含量の低いスカンナビア半島などでは、酸性雨によりさらに有効塩基の溶脱が進み、生産力が低下するだろうと述べている。日本の土壌は火山灰を母材とするものが多く、湿潤な気候下で形成されたため、風化や塩基の溶脱が進み土壌が酸性化している。このような特徴を持つ土壌は酸性雨の影響を受けやすい。

### (3) 森林土壌と農耕地土壌

農耕地土壌では多量に施用される硫安などの化学肥料のために土壌の酸性化が進んでおり、これ

に比べれば酸性雨の影響はわずかなものであるといわれている(12,34)。また作物は多量の塩基 を吸収するので、収穫物を系外へ持ち出せばそれだけ土壌中の塩基は失われ、土壌の酸性化は促 進される。しかし農耕地土壌の酸性化は、栽培技術的には石灰の施用により比較的容易に改善でき る。

十分な土壌管理が不可能な森林土壌にとって、酸性雨の影響は農耕地土壌よりはるかに大きいものと考えられる。降雨の酸性化が著しいスカンジナビア半島やアメリカ北東部でも、森林土壌への 影響が重点的に研究されている。一方森林土壌でも、土壌細菌による硝酸化成などの生物的過程で 引き起こされる土壌の酸性化の程度は、酸性雨によるそれを上回っているとの意見(12)や植物や 土壌中に存在する塩基の量に比べれば、溶脱により流失する塩基の量はわずかなものであり、酸性 雨の影響はそれほど大きくないとの意見(34)もある。

### 4. 森林生態系に対する酸性雨の影響

### (1) 土壌微生物活性の変化

土壤呼吸(土壤からのCO₂の放出)は一般に土壤中の微生物活性や植物の根による呼吸を表して いる。TAMM(48), TAMM et al (51)は、植物の生育していない土壤中に硫黄(S)を粉末また は硫酸態として混入し、8週間培養した後に土壌呼吸の明らかな低下をみている(図8)。この場 合粉末のSより硫酸態のSの方が阻害効界ははるかに大きい。またこの処理は土壌中の無機態の窒 素量を増加させた。しかし増えたのはアンモニア態窒素のみであり、硝酸態窒素は逆に減少して硝 酸化成は抑制された。ABRAHAMSEN et al (1)も、pH 4.1 ~ 4.4 の土壌では硝酸化成が起こら ないが、石灰を加えると硝酸化成が増加すると報告している。土壌の酸性化による土壌呼吸や硝酸 化成の低下は、土壤微生物活性の低下を示している。従って土壌の酸性化による土壌呼吸や硝酸 化成の低下は、土壤微生物活性の低下を示している。従って土壌の酸性化による土壌呼吸や硝酸

#### (2) 森林生物相の変化

森林土壌動物の中で主要な地位を占めるミミズは,酸性雨や石灰施用処理により生存個体数が減 少し,種組成も変化する(1)。

落葉樹林や針葉樹林にみられる着生地衣類の窒素固定能は、環境濃度のSO₂ガスやpH 4.0 以下の酸性雨によって低下する(5,51)。

酸性雨を使ったかん水実験によれば、コケ類、地衣類、下草類は大きな被害を受けるが、生長した 樹木はほとんど影響を受けない(51)。しかし酸性雨の前処理によりpHが4.0~4.2以下となった 土壌では、モミの木の種子の発芽や芽生えの生長は抑制される(1)。この結果は酸性雨により森 林を構成する樹種の変化が起こり得ることを暗示している。 TAMM and COWLING (50) は樹木に対する酸性雨の影響を,直接的なものと間接的なものに分類して列記している。直接的影響の主なものとして,葉の保護機能を果しているクチクラ層の破壊, 孔辺細胞の正常な機能の妨害,気孔やクチクラを通じて拡散する酸性物質の細胞への害作用,受精 や発芽などの妨害などをあげ,間接的影響としては葉からの養分の溶脱,乾燥など他の環境ストレ ス要因に対する感受性の高まり,菌類や地衣類との共生関係の変化,などをあげている。

耕地生態系と比較した森林生態系の特徴として、物質が閉鎖系内で循環している点があげられる (49)。長期間酸性雨にさらされた結果、酸性化が進んで貧栄養となった土壌は、植物の生長を妨げ、 長期にわたれば植生を変化させるかもしれない。さらにリターや腐植の分解、無機化を遅らせ系内 における物質循環速度を低下させることにより樹木の生長に影響するであろう(41)。

#### (3) 年輪解析からみた森林生産力の変遷

長期間にわたる森林生産力の変遷を調査する場合には、樹木の年輪解析が有効な手段として用い られている。樹木は広範囲の地域に分布しており、生育期間が非常に長い。そして長期間にわたる 環境変化の歴史をその年輪に刻み込んでいる(4)。

スカンジナビア半島南部では1950~1965年の間に、雨のpHは6前後から4以下になり、それに伴って土壌の塩基飽和度も大きく減少している(41)。そして森林の生長はこの期間中に2~ 7%減少した(6)。JONSSON(20)はスウェーデン南部の森林において、土壌の性質からみて 酸性雨の影響を受けやすいと思われる地域と、そうでない地域との間で、年輪解析によるマッの生 長の比較を行った。その結果、両地域間には有意な差が認められ、その原因は土壌の酸性化以外に 考えられないと述べている。WHITTAKER et al (55)によれば、アメリカ北東部の森林の生産性 は、1956~60年から1961~65年の間に18%も低下した。これは乾燥化とともに大気汚染の進 行(特に降雨の酸性化)にも原因があると考えられている。

一方,降雨の酸性度の異なる地点間,あるいは酸性化に対して異なる感受性を持つ土壌の間で, マッやモミの生長の比較が行われたノルウエーの研究(1)では,酸性雨の被害は存在するにして もわずかなものであり,現在のところ年輪解析による検出は不可能であると結論している。 CogBILL(4)はアメリカ東部の酸性土壌森林を対象として,降雨の酸性度の異なる2地点で樹木の 生長を調べたが,近年特に目立った生長の減退は認められなかったと述べている。また土壌の酸性 化により森林生産力が低下しているとすれば,石灰の施用によりある程度回復することが予想され るが,実際には効果がほとんどないことが報告されている(48)。

以上のように,現在のところ酸性雨による土壌の酸性化,塩基飽和度の低下などが森林生産を統 計的に有意なほど減少させているかどうかについては,研究者間で見解の相異がみられる。その原 因はいくつか考えられる。地域により降雨の酸性度や土壌の酸性化に対する感受性が異なること, 樹木の生長は遺伝的要因,樹令,隣木との競合,生育地の条件等で変異が大きいこと,またすでに 述べたように、降雨に含まれるNやSの持つ肥料効果が酸の阻害効果をある程度打ち消してしまう こと、など複雑な要因が関係していると思われる。

しかしながら、現在のような酸性の降雨が将来にわたって降り続くならば、森林土壌の肥よく度 を低下させ森林生産に重大な打撃を与えるであろう、という予測に関しては大部分の研究者の意見 は一致している。

#### (4) 将来の予測

理論的には酸性雨が森林生態系に悪影響を与え,森林生産力を低下させることは疑いないと思われる。ここで問題なのは,そのような事態が何時,どの程度で現れるかである。通常の実験的時間 のわく組みの中で得られた結果による予測はまず不可能であるため,理論的なモデルによる計算が いくつか試みられている。

REUSS(45)によると、塩基飽和度が20%以上の非石灰質土壌の場合、もし雨のpHが硫酸によ り4.0に保たれていれば、土壌は数十年間で著しく酸性化し塩基飽和度も低下する。塩基飽和度が 20%以下になると溶脱は次第にゆるやかになり、ついには停止する。MCFEE et al (37)は土壌pH の変化の程度と、それを引き起こすのに必要な時間を、CEC20meqを持つアメリカ中西部森林土 壌をモデルに計算している。そして塩基性物質を含まない pH 4.0の雨が年間1000 mmずつ百年間降り 続けば、表層20cmの土壌の塩基飽和度は20%減少し、pH は 0.6 低下するという結果を出している。

スカンジナビア半島南部の土壌では、もし降雨中の全ての酸が当量の塩基を土壌から溶脱すれば、 森林生産は毎年1%の割合で減少してゆくといわれている(18)。

その他の多くの研究者達も,現在のような酸性雨が降り続けば,数十年から百年後には森林生産 に重大な影響が現れてくると考えている。そして雨の酸性度がさらに増加したり,土壌の緩衝能が 大きく低下するようなことがあれば,この時期はさらに早まるであろう。

## 5. まとめ

ヨーロッパやアメリカにおける酸性雨問題は我国とは異なった問題意識から出発している。そこ では大気汚染の進行に伴って年ごとに高まってゆく雨や雪の酸性度が、生態系にどのような影響を 与えるか、が最重要課題として取り上げられている。我国の酸性雨問題は人間に対する健康被害か ら始まり、現在のところ研究の重点も酸性雨の発生機構の解明に置かれている。しかし、次第に農 林作物や生態系への影響についても関心が向けられ始めている。

植物生長への酸性雨の影響は、植物の生理機能の変化による直接的な影響と、土壌肥よく度の低下を通じた間接的な影響に分けることができる。現在のところ農業生産への被害はほとんど報告さていない。しかし実験的結果にせよ、昨今普通にみられるpH3~4程度の雨が植物生長に直接影響して、収量を顕著に低下させるという事実は無視できない重みを持っている。また酸性雨による

森林土壌の酸性化は、有効塩基の溶脱を促進し、塩基飽和度の低下を通じて森林生長に悪影響を与 える。このことはすでに現在、降雨の酸性度が高く、土壌の塩基含量の低い地域では認められてい る。今のところ酸性雨の影響が現れていない地域でも、数十年後には何らかの被害が出るであろう ことは、多くの研究者の一致した意見である。土壌に対する酸性雨の影響は一過性のものではなく、 時間の経過とともに徐々に蓄積されてゆくという特徴を持っている。

生態系への影響としては、土壌微生物活性の低下や樹冠からのカチオンの溶脱の増大による系内 での物質循環速度の低下,森林生物相の変化などが指摘されている。しかし生態系全体への影響は いまだ不明な部分が多い。複雑な構造を持つ生態系に対する我々の認識は現在のところ不十分なも のであり、酸性雨が降り続くことにより近い将来いかなる事態が生ずるかの予測も困難なのが現状 である。

### 引用文献

- 1. Abrahamsen, G., R. Horntvedt and B. Tveite. 1977. Impacts of acid precipitation on coniferous forest ecosystems. Water Air Soil Pollut. 8: 57-73
- 2. Baker, J., D. Hocking and M. Nyborg. 1977. Acidity of open and intercepted precipitation in forests and effects on forest soils in Alberta, Canada. ibid. 7: 499-460
- Cogbill, C. V. and G. E. Likens. 1974. Acid precipitation in the Northeastern United States. Water Resources Research 10: 1133-1137
- Cogbill, C. V. 1977. The effect of acid precipitation on tree growth in eastern North America. Water Air Soil Pollut. 8: 89-93
- 5. Dension, R. B., B. Caldwell, B. Bormann, L. Eldred, C. Swanberg and S. Anderson. 1977. The effects of acid rain on nitrogen fixation in western Washington coniferous forests. ibid. 8: 21-34
- Dochinger, L. S. and T. A. Seliga. 1975. Acid precipitation and the forest ecosystem. Report from the first international symposium. J. Air Pollut. Cont. Assoc. 25: 1103-1105
- 7. Eaton, J. S., G. E. Likens and F. H. Bormann. 1973. Throughfall and stemflow chemistry in a northern hardwood forest. Jour. Ecol. 6: 495-508
- 8. Evans, L. S., N. F. Gmur and J. J. Kelsch. 1977. Perturbations of upper leaf surface structure by simulated acid rain. Eviron. Exp. Bot. 17: 145-149
- 9. Fairfax, J.A. and N. W. Lepp. 1975. Effect of simulated "acid rain" on cation loss from leaves. Nature 255: 324-325
- Ferenbaugh, R. W. 1976. Effects of simulated acid rain on Phaseolus vulgaris L. (Fabaceae). Amer. J. Bot. 63: 283-288
- 11. Ferguson, P., J. A. Lee and J. N. B. Bell. 1978. Effects of sulphur pollutants on the growth of Sphagnum species. Environ. Pollut. 16: 151-162
- 12. Frink, C. R. and G. K. Voigt. 1977. Potential effects of acid precipitation on soils in the humid temperate zone. Water Air Soil Pollut. 7: 371-388
- 13. 藤井徹. 1971.「あさがお」の花弁の脱色. 大気汚染ニュース No. 62
- 14. 藤原喬, 1972. 霧雨. 霧と亜硫酸ガス等による植物障害について、大気汚染ニュース No. 71.
- 15. Gordon, C. C. 1972. Mount storm study. Final report. FPA Contact No. 68-02-0229 (cited from (10))
- Granat, L. 1972. On the relation between pH and the chemical composition in atmospheric precipitation. Tellus 24: 550-560

- 17. Hindawi, J. J., J. A. Rea and W. L. Griffis. 1977. Response of brush bean exposed to acid mist. Proc. Ann. Meet. Air Pollut. Control Assoc. Vol 70th No. 3 77-30.4: 1-16
- 18. Holt-Jensen, A. 1973. Acid rains in Scandinavia. Ecologist 3: 378-382
- 19. 碇宏八郎 1975. 唐津地方における酸性降雨について。大気汚染ニュース No. 86
- Jonsson, B. 1977. Soil acidification by atmospheric pollution and forest growth. Water Air Soil Pollut. 7: 497-501
- 21. 関東地方公害対策推進本部大気汚染部会・一都三県公害防止協議会 1975. 関東地方における"いわゆる酸 性雨(湿性大気汚染)"について. p. 1-76
- 22. 関東地方公害対策推進本部大気汚染部会・一都三県公害防止協議会. 1976. 昭和50年度関東地方における "いわゆる酸性雨(湿性大気汚染)"について、p. 1-83
- 23. 木村和義. 1978. 雨と植物 --- リーチングを中心として --- 農業気象 34 : 23-30
- 24. 北川徹三. 1978. 続・環境問題の正しい解析 → 光化学スモッグ問題を中心として → . 公害研究シリーズ No. 14:33-36
- 25. 小泉清明. 1974. 酸性の雨と環境への影響。産業公害 10: 1845-1850
- 26. 古明地哲人・沢田正・大平俊男・広沢和嘉・門井守夫、1975、雨水成分調査について、東京都公害研年報 6:104-112
- 27. 古明地哲人・福岡三郎・中野欣嗣・朝来野国彦・大平俊男、 1976. 雨水の汚染とそのメカニズムに関する 研究、東京都公害研年報.7:27-37
- 28. 小山功・古明地哲人・渡辺のぶ子・吉田三恵・石黒辰吉. 1978. 降水のパターン比較 ──pHと導電率について ──東京都公害研資料 No. 1-0-31:27-40
- 29. 黒川道子・阿相敏明・三村春雄・相原敬次・金子幹宏・才木義夫・西山信一・氷見康二・菅野三郎. 1975. 降雨中のホルムアルデヒド濃度と目に対する刺激性について. 大気汚染研究 10:(628)486
- 30. Likens, G. E., F. H. Bormann and N. M. Johnson. 1972. Acid rain. Environment 14: 33-40
- 31. Likens, G. E. and F. H. Bormann. 1974. Acid rain : A serious regional environmental problem. Science 184: 1176-1179
- Liljestrand, H. M. and J. J. Morgan. 1978. Chemical composition of acid precipitation in Pasadena, Calif. Envrion. Sci. Tech. 12: 1271-1273
- 33. 牧野宏・才木義夫・野島秀子. 1976. 雨水成分と大気汚染との関係. 全国公害研究会誌 1:93-97
- 34. Malmer, N. 1976. Acid precipitation : Chemical changes in the soil. AMBIO 5: 231-234
- 35. Marsh, A. R. W. 1978. Sulphur and nitrogen contributions to the acidity of rain. Atmos. Environ. 12: 401-406
- 36. Mayer, R. and B. Ulrich. 1977. Acidity of precipitation as influenced by the filtering of atmospheric sulphur and nitrogen compounds its role in the element balance and effect on soil. Water Air Soil Pollut. 7: 409-416
- 37. Mcfee, W. W., J. M. Kelly and R. H. Beck. 1977. Acid precipitation effects on soil pH and base saturation of exchange sites. ibid. 7: 401-408
- 38. 西禎三. 1971、雨水のpHからみた大気の汚染. 大気汚染ニュース No. 64
- 39. Norton, S. A. 1977. Changes in chemical processes in soils caused by acid precipitation. ibid. 7: 389-400
- 40. Nyborg, M. 1978. Sulfur pollution and soils. In Sulfur in the environment. Part II. Ecological impacts (edit. by J. O. Nriagu), p.359-390. Wiley-Interscience, New York
- 41. Odén, S. 1976. The acidity problem An outline of concepts. Water Air Soil Pollut. 6: 137-166
- 42. 小倉紀雄. 1979. 各種生態系への大気汚染の影響. 「大気環境の科学 5. 大気環境の変化と植物」. 門司正 三・内嶋善兵衛編,東大出版 p. 79-94
- 43. Overrein, L. N. 1972. Sulphur pollution patterns observed; Leaching of calcium in forest soil determined. AMBIO 1: 145-147
- 44. Reuss, J. O. 1977. Chemical and biological relationships relevant to the effect of acid rainfall on the soilplant system. Water Air Soil Pollut. 7: 461-478

- 45. Reuss, J. O. 1978. Simulation of nutrients loss from soils due to rainfall acidity. EPA 600/3-78-053
- 46. 佐藤治雄, 1972 a. 雨水によるアサガオの脱色, Nature Study 18:2-6
- 47. 佐藤治雄. 1972 b. 都会の雨と植物. バイオテク 3:123-130
- 48. Tamm, C. O. 1976. Acid precipitation: Biological effects in soil and forest vegetation. AMBO 5: 235-238
- 49. Tamm, C. O. 1977. Acid precipitation and forest soils. Water Air Soil Pollut. 7: 367-369
- 50. Tamm, C. O. and E. B. Cowling, 1977. Acid precipitation and forest vegetation, ibid. 7: 503-511
- 51. Tamm, C. O., G. Wiklander and B. Popvíc. 1977. Effects of application of sulphuric acid to poor pine forests. ibid. 8: 75-87
- 52. 谷山鉄郎・斉藤仁、1979. 酸性雨が水稲・麦類の光合成と収量におよぼす影響,日作東海支部研梗、84 : 61-64
- 53. Tukey, H. B. Jr., H. B. Tukey and S. H. Wittwer. 1958. Loss of nutrients by foliar leaching as determined by radioisotopes. Proc. Am. Hort. Sci. 71: 496-506
- 54. 梅村正雄・高原康光・形見武男・大野勝弘・早川友邦. 1977. 湿性大気汚染について、岐阜県公害研年報 5:25-30
- 55. Whittaker, R. H., F. H. Bormann, G. E. Likens and T. G. Siccama. 1974. The Hubbard Brook ecosystem study: Forest biomass and production. Ecol. Monogr. 44: 233-252
- 56, Wood, T. and F. H. Borman. 1974. The effects of an artificial acid mist upon the growth of *Betula* Alleghaniensis BRITT. Environ. Pollut. 7: 259-268
- Wood, T. and F. H. Bormann. 1975. Increases in foliar leaching caused by acidification of an artificial mist. AMBIO 4: 169-171
- 58. Wood, T. and F. H. Bormann. 1977. Short-term effects of a simulated acid rain upon the growth and nutrient relations of *Pinus strobus* L. Water Air Soil Pollut. 7: 479-488
- 59. 吉田克己. 1971. 酸性雨とあさがお. 大気汚染ニュース No. 66

国立公害研究所研究報告 第10号 (R-10-'79) Research Report from the National Institute for Environmental Studies No. 10, 1979

### 植物群落の汚染ガス収着機能

# 一現象の解析とそのモデル化-

大政謙次¹

# Sorption of air pollutants by plant communities — Analysis and modeling of phenomena —

# Kenji OMASA¹

大気汚染ガスの収着源としての植物群落の重要性が多くの研究者により報告されている(4, 13, 16, 23, 52, 58, 73, 75)。Meetham(32, 33)によれば、英国において発生するSO₂の14%が雨に溶解したり粒子として沈着し、22%が海に流され、残りの64%が植物や土壤等の地表面と反応して除去され、その半減期は9時間よりも小さいと推定されている。植物、土壌、海水、その他への種種の汚染ガスの収着速度に関する報告を比較すれば(17, 23, 44, 52, 58, 59, 62, 76)、植物のガス収着速度は、SO₂, NO₂, O₃, HF, Cl₂, PAN等の汚染ガスにおいて、土壌、海水、その他の物質へのガス収着速度に比べて大きいか同等レベルである。それゆえ、植物群落は、地表面において最も汚染ガスを収着する能力を有するものの一つと考えられる。我が国においても、森林、耕地を含めた植物被覆地の占める割合は、国土の約85%であり(28)、都市域等で発生し拡散した汚染

他方,都市域における大気汚染の対策の基本は,発生源を絶つことであるが,都市公園や道路周 辺のグリーンベルト等の設置により都市環境の整備を図り,都市それ自身に大気汚染浄化機能を持 たせることも対策の一つとして考えられる。都市環境の整備は,都市の機能,市民生活を踏まえた 上で総合的に計画立案されるべきであるが,現在のところ,計画に供するための植物の大気汚染浄 化機能に関する資料は少ない。また,アセスメントに利用し得るモデルとしては不十分である。

現在,筆者らは,上記の問題点を踏まえた上で,本特別研究において,植物群落による汚染ガスの収着にかかわる現象の解析およびモデル化に関する研究を行っているが、ここでは,本研究によ

^{1.} 国立公害研究所 技術部

Division of Engineering, The National Institute for Environmental Studies, Tsukuba-gakuen, Ibaraki 305
って現在までに得られた成果と植物群落による大気汚染浄化機能の予測モデルおよび評価手法の開 発にかかわる関連分野について述べる。

### 1. モデルの記述

水蒸気, CO₂, 汚染ガス等の大気から植物葉へのあるいはその逆のフラックスは, 葉内組織と大気との間のガス濃度差と拡散抵抗により支配される。

フラックス=ガス濃度差/拡散抵抗

自然環境下では,接地気層から地表面に至る過程に群落が存在し,各々のガスは,群落内葉間気層 -葉面境界層 -気孔(表皮)-気孔底 - 組織の経路を経てガス交換されるが,ガスの流れの方向は,



図1 植物群落のガス拡散抵抗モデル

ガスの種類や状態により異なる。図1に、これらの経路を経て行われるガス拡散に関する抵抗モデ ルを示す。この抵抗モデルにおいて、植物組織におけるガスの代謝あるいは移動等の生理現象は、 気孔底の界面のガス濃度で代表される。植物組織に至るまでのモデルを考えるならば、葉肉抵抗を 付加してもよい。大気から気孔底界面に至る拡散抵抗は、水蒸気、CO₂、汚染ガス等のガスの種類 にかかわらず、気相でのガス拡散のアナロジーに基づいて取り扱うことができるが、経路上の各過 程の特性により異なる。

植物群落による汚染ガスの収着量を予測するモデルを開発するためには、各過程における拡散抵 抗と気孔底界面のガス濃度の定量的な特性をは握する必要がある。以下に各過程における拡散抵抗 と気孔底界面でのガス濃度の特性について詳述する。

### 2. 接地気層および群落内の葉間気層における輸送現象

#### (1) 基礎方程式

工場や自動車等の発生源から排出された汚染ガスは、大気に移流・拡散し、植物群落に至る。こ れらの輸送現象を支配する基礎方程式は一般に次式で表わされる。

$$\boldsymbol{\nabla} \cdot \boldsymbol{V} = 0 \qquad (\boldsymbol{\mu} \quad \boldsymbol{k}) \quad (1)$$

$$D\mathbf{V}/Dt = (-1/\rho) \cdot \mathbf{V}P + \mathbf{V}(K_M \mathbf{V}\mathbf{V}) + \mathbf{F} \qquad (\mathbb{I} \oplus \mathbb{I}) \qquad (2)$$

$$D\theta / Dt = \nabla (K_H \nabla \theta) \qquad (x \dot{x} u \dot{x} -) \qquad (3)$$

$$DC/Dt = \nabla (K_D \nabla C) + q_c \qquad (\% \qquad \text{(f)} \qquad (4)$$

ここで、D/Dt は、substantial derivative、V は、nabra を表し、V、P、 $\rho$ 、F、 $\theta$ 、C、 $q_c$ ,  $K_M$ 、 $K_H$ 、 $K_D$  は、それぞれ速度ベクトル、静圧、空気密度、外力、温位、物質の濃度、物質の生成速度、 運動量、エネルギー、物質の乱流拡散係数を表す。

上式の乱流拡散係数 $K_M$ ,  $K_H$ ,  $K_D$  は風速, 気層安定度, 境界面からの距離, 境界面の性質等に より著しく変化する。最近, これらの拡散係数の性質が広い安定度範囲にわたって検討されている (7, 48, 64, 72)。Ueda *et al.* (72)によれば, 運動量とエネルギーの乱流拡散係数の間には, 次 式の関係が成立する。

$$K_{M} / K_{M0} = (1 + 2.5 R_{i})^{-1} \qquad R_{i} > 0 \quad (\Xi \quad \Xi)$$

$$(1 - 25 R_{i})^{1/3} \qquad R_{i} < 0 \quad (\Xi \times \Xi)$$
(5)

$$K_{H}/K_{M} = (K_{H0}/K_{M0}) \cdot (1 - R_{f}/R_{fc}) / (1 - R_{f})^{2}$$
(6)

ここで、 $R_i$ はグラディエント・リチャードソン数、 $R_{fc}$ はフラックス・リチャードソン数 ( $R_f = (K_{H0} / I_{H0})$ 

-369-

 $K_{M0}$ ) ·  $R_i$ ) で,その極限値は、 $R_{fc} = 0.1$  である。また、 $K_{M0}$ 、 $K_{H0}$ は中立流での値  $K_{H0}/K_{M0} = 1.2 \cdots$ (7) で与えられる。物質の乱流拡散係数 $K_D$ は、熱と物質の乱流拡散の機構の類似性から $K_D = K_H$ と考えられる。

(2) 接地気層の境界面としての植物群落の空気力学的特徴

植物群落と接した接地気層では、植被面が地面よりも高く、かつ空気力学的に滑らかでないので、 流れが複雑に影響を受ける。この様な接地気層での植物群落の影響すなわち境界面としての空気力 学的特徴については、数多くの報告がみられ(11,24,29,30,70)、Monteith(37)や伊藤(26) によりまとめられている。これらの報告によれば、十分に水平方向に広い植物群落と接した中立流 の接地気層での運動量の乱流拡散係数 $K_M$ と風速分布Uは、次式で与えられる(図2)。



図2 接地気属および群落内葉間気層における風速分布(24)。(Ⅰ)接地気層, (Ⅱ)群落内葉間気層,(Ⅲ)地表面と群落内葉間気層との混合層。

$$K_{M} = \kappa \cdot V_{\star} \cdot (z - d) \qquad (z > H) \tag{8}$$

$$U/V_{x} = (1/\kappa) \cdot \ln \{(z-d)/z_{0}\}$$
 (z>H) (9)

ここで、 $V_*$ は摩擦速度 ( $V_* = (\tau_z / \rho)^{1/2}$ )を表し、 $\tau_z, \kappa, z, d, z_0, H$ は、それぞれ、レイノル ズ応力、カルマン定数 (0.4)、地表面からの高さ、零面修正量、粗度定数、植物群落の有効高さ を表す。粗度定数 20 と零面修正量 dは,境界面としての植物群落の空気力学的特徴を表すパ ラメータで、植物による運動エネルギーの吸収に関係した複雑な値であり、群落の繁茂度、植物の 種類,風速その他に関係する。零面修正量 dは、植物群落の存在による風速分布の対数法則からの 外れを対数法則で記述するための補正係数であり、また、粗度定数 20 は、表面の粗さにかかわる 定数である。これらのパラメータの推定方法については、Deacon (11)、Lettau (30)、Kondo(29) らの報告がある。また、中立流の状態以外の接地気層での風速分布式としては、 Monin and Obukhov (35)の報告がある。

#### (3) 群落内の葉間気層における輸送現象

群落内の葉間気層の輸送現象に関する研究は、Poppendick (50) 以来数多くなされており(8, 9,24,25,60,61,63,66),内島(69),Monteith (38,39),De Veries and Afgan (12) ら によりまとめられている。水平方向に十分広い群落では、図2に示すような風速分布を示すが、こ の現象を支配する方程式は次式で与えられる。

$$d\left(K_{M} \cdot dU/dz\right)/dz = C_{M} \cdot F_{b} \cdot U^{2}/2$$
⁽¹⁰⁾

ここで、 $C_M$ は植物の単位面積当たりの抵抗係数、 $F_b$ は単位容積内の葉面積を表す。Inoue (24)は、 混合距離理論に基づき群落内葉間気層における乱流構造の解析を行い、混合距離 l < l = l(H)= 一定、 $C_M \cdot F_b$ = 一定の仮定のもとに、式(10)を解いて次式を得ている。

$$U(z)/U(H) = K_M(z)/K_M(H)$$

$$= \exp\left\{-\alpha(1 - z/H)\right\} \qquad (z \le H) \qquad (11)$$

$$t t t l, \qquad \alpha = H \cdot \{C_M \cdot F_b \neq 4 l (H)^2\}^{1/3}$$
(12)

 $\alpha$ は、植物による運動量吸収に関係する減衰係数で、イネ科植物の群落内では2.5~3.5、一般に、 2~4.3程度の値が報告されている(24,71)。しかし、減衰係数 $\alpha$ は、群落構造により変化し、 上層部にのみ葉がある樹木などは、式(11)の指数法則に従わない場合もあり(53)、十分な資料 が得られているとはいえない。

### 3. 葉面拡散抵抗

葉面拡散抵抗については,流体力学や伝熱工学の分野で開発された境界層理論をもとに種々の解 析がなされており, Monteith (37),内島 (69),長谷場 (20,21) らがこの分野の研究についてま とめている。 基本的には、葉形が平板に似ていることから平板境界層理論が基礎となる。平板における流れは、 自然対流と強制対流に大別される。自然対流は、風が弱く葉気温差が大きい場合に、空気の密度差 により生じる。自然対流の物質輸送に関するスッセルト数  $Nu(=h_b \cdot l / D = l / (D \cdot r_b))$ は、次 元解析から次式で与えられる。

$$Nu = f (Gr, Sc) \tag{13}$$

ここで、Gr, Sc,  $h_b$ ,  $r_b$ , l, Dは、それぞれ、グラスホフ数、シュミット数、葉面拡散速度、 葉面拡散抵抗、葉の代表長、分子拡散係数を表す。流れは、平板の状態により異なるが、垂直板の 場合で、おおよそ  $Gr \cdot Sc < 10^9$  で層流、 $Gr \cdot Sc > 10^9$  で乱流である。Gates (18) は、多くの資料

	状	態	ヌッセルト数 Nu
層	流	上向き平板	$N\boldsymbol{u} = 0.71 \left( \boldsymbol{Gr} \cdot \boldsymbol{\Lambda} \right)^{1/4}$
		下向き平板	$Nu = 0.35 (Gr \cdot \Lambda)^{1/4}$
乱	流	上向き平板	$Nu = 0.17 (Gr \cdot \Lambda)^{1/3}$
		下向き平板	$Nu = 0.08 (Gr \cdot \Lambda)^{1/3}$
		垂 直 板	$Nu = 0.13 (Gr \cdot \Lambda)^{1/3}$

表1 自由対流のヌッセルト数(18)

#### 注) A は、Pr (プラントル数) または Sc (シュミット数)

から自然対流のヌッセルト数の相関式を表1の様にまとめている。他方,風が強くなると強制対流 になる。流れに平行な面の温度が一様な平板の平均ヌッセルト数 Nu は,次式で与えられる。

$$Nu = 0.664 (Sc)^{1/3} \cdot (Re)^{1/2}$$
 (層流境界層)
 (14)

  $Nu = 0.036 (Sc)^{1/3} \cdot (Re)^{4/5}$ 
 (乱流境界層)
 (15)

ここで、*Re* は平板の長さ*l*を基準としたレイノルズ数を表す。平板境界層において、層流から乱 流に遷移する臨界レイノルズ数は、おおよそ5×10⁵ である。内島(69)は、式(14)、(15)と多 くの研究者による平面葉における観測結果がよく一致すると報告している。O'Dell *et al*.(42)も 同様な結果を得ている。一般に、葉面拡散抵抗は、強制対流と自然対流に関する抵抗の合成であり、 風速が弱い場合には、自然対流による影響が無視できない(19,37)。

自然条件下では、気流の風向・風速が著しく乱れ、葉のはためきが観察される。また、植物葉は、 形状が複雑で、葉温も不均一である。それゆえ、上記のモデルをそのまま自然条件下での現象に適 用することはできない。近年、乱流風洞や野外において、これらの問題点に関して種々の解析が行 われる様になった(22,45,46,47,51,56,68,77)。長谷場(22)や Parlange *et al* (46)は、 10 cm程度の振動模型葉を用いた実験により、風速が 0.5 ~ 5 m·s⁻¹において、気流の乱れや流れの 方向に対する葉の傾き等にかかわらず、葉面拡散速度  $h_b$  (= 1/ $r_b$ ) はみかけ上風速の 0.5 乗に比 例し、平板の層流境界層に対する葉面拡散速度増大率  $\beta$  は、気流の乱れが大きく流れの方向に対す る葉の傾きが大きい程大きいと報告している。この様な気流の乱れによる拡散増大作用は、乱れが 大きくなるとある飽和値に達する。長谷場 (22) は、この飽和値を  $\beta \simeq 1.6 \sim 1.7$ , Parlange *et al*. (46) は、 $\beta \simeq 2.5$  としている(図3)。他方、水稲やとうもろこしの様な細長い葉の植物では、気 流の乱れにより乱流遷移が早められる(27,67,77)。矢吹ら(77)は、水稲群落内の葉面拡散速 度が $Re \simeq 3 \times 10^2$ においても平均風速の.0.8 乗に比例すると報告している。また、Uchijima (67) は、とうもろこし群落内における葉面拡散速度が層流境界層から乱流境界層へ遷移的な値になるこ とを示している。Schuepp(56)は、葉のはためきが、葉面境界層の乱流遷移を早める可能性につ いて示唆している。



図3 葉面拡散速度に及ぼす気流の乱れの強さと面の傾きの影響(22)  $\beta = h_b / h_{b0}$ ,  $h_{b0} = [0.664 \cdot Sc^{1/3} \cdot Re^{1/2} + 0.27 (Gr \cdot Sc)^{1/4}] \cdot (D/l)$ 

葉面拡散速度 $h_b$ (=1/ $r_b$ )を群落内で計測される、あるいは式(11)により推定される葉間気層の拡散係数Kから直接求めようとする試みがある。Philip(49)は、松林において経験的に

$$h_b = 1 \times 10^{-3} \cdot K \tag{16}$$

の関係を、また内島ら(68)は、トウモロコシの群落内で

$$h_b = 0.56 + 1.25 \times 10^{-3} \cdot K_H \tag{17}$$

の関係を得ている。しかし,群落内での葉面拡散速度に関する研究は,実験室レベルでのそれに比較して非常に少なく不十分である。

## 4. 気孔抵抗と表皮抵抗

Brown and Escombe (6)は、J. Stefanの静気中の蒸発理論を気孔における水蒸気およびCO₂ の拡散に応用し気孔抵抗の概念を導入した。その後、Bange (2)、Meider and Mansfield (34)、 O'Dell *et al*. (42) らが、フィックの法則に基づき気孔開閉を考慮した気孔モデルを提案している。 彼らによれば、気孔は、ガス吸収性の室(呼吸腔)と開閉する微細管(気孔)として単純化できる。 この様なシステムにおけるガス拡散式は、Bird *et al*. (5)により与えられている(図4)。

$$n_{A} \mid_{z=z_{1}} = \{ \rho D / (z_{2} - z_{1})(\omega_{B})_{1n} \} \cdot (\omega_{A1} - \omega_{A2})$$
(18)

 $tttl, \quad (\omega_B)_{ln} = (\omega_{B2} - \omega_{B1}) / \ln(\omega_{B2} / \omega_{B1})$ (19)



図4 単純化された気孔のモデル(5)

-374-

ここで、 $n_A|_{z=z_1}$ 、 $\omega_A$ 、 $\omega_B$ は、それぞれ $z=z_1$ での成分Aのフラックス、成分Aの質量分率、 成分Bの質量分率を表す。今、成分Aを水蒸気、 $CO_2$ あるいは汚染ガスとし、成分Bを空気とすれ ば、 $\omega_{A1}$ 、 $\omega_{A2}$ は非常に小さく、 $(\omega_B)_{1n} \simeq 1$ である。それゆえ、式(18)は簡略化されて次式とな る。

$$q_s = D \cdot (C_s - C_i) / L_e \tag{20}$$

ここで、 $q_s$ は単一の気孔におけるガスフラックス、 $L_e$ は $z_2 - z_1$ の有効長、 $C_s$ 、 $C_i$ はそれぞれ気孔の出口と気孔底界面でのガス濃度を表す。式(20)によれば、単一の気孔における気孔抵抗  $r_{s1}$ は次式で表される。

$$\mathbf{r}_{s1} = L_{e} / D \tag{21}$$

植物葉においては、気孔が葉面に散在しているので、葉としての気孔抵抗 r_sを求めるためには、 葉全体にわたって平均化する必要がある。今、気孔の断面積を A_s、単位面積当たりの気孔の数を N_sとすると、葉としての気孔抵抗 r_sは次式で与えられる。

$$\mathbf{r}_{s} = L_{e} / (A_{s} \cdot N_{s} \cdot D) \tag{22}$$

O'Dell *et al*.(42)は、気孔の前腔の形状を楕円(長軸; *a*,短軸; *b*)と仮定し、気孔抵抗を 求めた。

$$\boldsymbol{r}_{s} = \boldsymbol{k}_{s} / (\boldsymbol{b} \cdot \boldsymbol{D}) \tag{23}$$

 $t_{t} = 4L_{e} / (\pi a \cdot N_{s})$ (24)

このモデルにおいて気孔の開閉は、短軸bの変化で表され、式(24)で表される $k_s$ は、植物における気孔の特性を表す定数である。また、有効長 $L_e$ は、Brown and Escombe(6)によれば次式で与えられる。

$$L_{e} = L_{s} + 1 / 8 \cdot \pi (a \cdot b)^{1/2}$$
⁽²⁵⁾

ここで, *L*, は気孔の長さを表す。

気孔の構造は一般に複雑で、上記の様な簡単なモデルで気孔抵抗を定量的に推定できるかどうか は別にして、式(22)で与えられる気孔抵抗rsと分子拡散係数Dとの関係は一般に受け入れられよ う。すなわち、水蒸気、CO₂、汚染ガス等の気孔抵抗は、どれか一つのガスについての値がわかっ ていれば、拡散のアナロジーに基づいて推定することができる(37、44)。

実際の植物の気孔抵抗は、植物の種類や生育状態により異なり、植物のおかれている環境や生理

表2 種々の植物の水蒸気に関する最小気孔抵抗と表皮抵抗(55)

植物名	$r_s$	rc	
草本植物	s·cm ⁻¹	s·cm ⁻¹	
モンテンジクアオイ	0. 75	75	Williams and Amer (1957)
コムギ	0. 25	- 17	Milthorpe (1961)
シロツメクサ	0. 33	16	Shepherd (1964)
ワタ	0.9 - 1.3	32	Slatyer and Bierhuizen (1964)
テンサイ	1.5 - 1.7	35 - 40	Gaastra (1959, 1963)
8 種類の作物	0.7 - 2.3		El-Sharkawy and Hesketh (1965)
インゲンマメ	0.5 - 1.5		Kanemasu and Tanner (1969)
ソラマメ	0.5 - 2.0		Kassam (1973)
<b>Circaea lutetiana</b> (ミズタマソウ属)	9.2-16.1	41-140	Holmgren et al. (1965)
<b>Lamium galeobdolon</b> (オドリコソウ属)	7.6-11.3	17 - 40	Holmgren et al. (1965)
木本植物			
<b>Betula verrucosa</b> (シラカンバ属)	0.9 - 1.4	56 - 83	Holmgren et al. (1965)
ヨーロッパヤマナラシ	2. 3		Holmgren et al. (1965)
ノルウェーカエデ	4.7-13.9	85 - 140	Holmgren et al. (1965)
ヨーロッパナラ	6.7-14.6	150-460	Holmgren et al. (1965)
ヨーロッパアカマツ	2.0		Rutter (1967)
オレンジ	1.0 - 3.0		Kriedemann (1971)
Populus sargentii (ハコヤナギ属)	4.0		Parkhurst and Gates (1966)
モミジバフウ)			
ユリノキ	40-60		Knoerr (1967)
タイサンボク	4.0 = 0.0		Kilout (1967)
Quercus velutina 」 (コナラ属)			
Picea sitchensis (トウヒ属)	3.0 - 8.0		Ludlow and Jarvis (1971)
<b>Pinus resinosa</b> (マツ属)			
young leaves	2.7 - 4.0		Waggoner and Turner (1971)
1-year-old leaves	7.0 - 9.0		Waggoner and Turner (1971)

注)  $1/r_s' = 1/r_s + 1/r_c$   $r_s$ : 気孔抵抗,  $r_c$ : 表皮抵抗

状態により変化する。気孔が完全に開いている場合の種々の植物の気孔抵抗については, Rutter (55)や Gaastra (15)がまとめている(表2)。なお、表2には、表皮抵抗r。も付記した。気孔抵 抗の変化すなわち気孔の開閉運動に影響を与える環境要因としては、光、風速、温湿度、土壌水分、 ガス濃度、その他化学物質等が考えられる(34、55、65)。これらの環境要因の中で、光は自然 条件下の群落において気孔抵抗に最も影響を与える要因の一つである。気孔は、光強度が強いと開 き、弱くなると閉じる。光強度 I と気孔抵抗r。の関係は、葉に水ストレスがない場合経験的に次式 で近似される(14,31,74)。

 $\boldsymbol{r}_{s} = \{ (I+I_{c})/I \} \cdot \boldsymbol{r}_{s}, _{\min}$   $\tag{26}$ 

ここで、Iは光強度、 $r_s$ , min は気孔が全開のときの気孔抵抗、 $I_c$ は、植物の種類、生育状態、環境条件等により異なる定数である。なお、自然条件下の群落内での光強度は、Monsi und Saeki (36)によれば、近似的に次式で与えられる。

$$I/I_0 = \exp\left(-F \cdot A\right) \tag{27}$$

ここで、I,  $I_0$ , F, Aは、それぞれ、群落内水平照度、群落上における水平照度、対象とする面 より上層の葉面積指数、群落吸光係数である。群落吸光係数Aは、植物の草型、葉の透光率等に より異なり、広葉型の群落で0.7~1.0、イネ型の群落で0.3~0.5程度の値が報告されている。 自然条件下の群落内での群落上面からの深さにつれての気孔拡散速度(= $1/r_s$ )の減衰は、おおよ そ深さに対して指数法則に従う。Uchijima(67)は、その理由として光強度の減衰による気孔の閉 鎖の他に、深さが増すにつれて大きい気孔抵抗の組織をもつ老化葉の増加にもあると報告している。

表皮抵抗r_eは、気孔が閉じた状態でのガスフラックスから求められるが、表2によれば、水蒸気の表皮抵抗は一部の植物を除いて気孔抵抗の10倍以上である。汚染ガスについても、SO₂で気孔抵抗の5倍以上(30~200s・cm⁻¹)の値が報告されており(58)、表皮抵抗は、普通無視してさしつかえないと考えられる。汚染ガスの植物表皮への吸着もSpedding(58)や大政ら(43,44)の報告から推察するに、暴露初期や葉面に露が結露している場合(13)を除けば、気孔からのガス吸収に比べて無視できる様である。

### 5. 気孔底界面でのガス濃度

植物の汚染ガス収着速度の測定例あるいは測定結果を大気から植物組織に至る全拡散抵抗として 整理した報告は数多くみられる(10, 17, 23, 54, 58, 76)。しかし、大気から植物の気孔底に至 る拡散抵抗は、前述した様に植物の種類や状態の違いにより異なり不確定である。また、この様に して得られた結果には、植物体内での汚染ガスの代謝や移動等の生理現象も含まれている。それゆ え、これらの結果をそのまま状態の違う場合に適用し、植物のガス収着速度を推定することは困難 である。植物による汚染ガスの収着速度の予測モデルを開発するためには,大気から気孔底に至る、 、 各過程における拡散抵抗の解析と同時に植物体内での汚染ガスの代謝や移動等に関係する気孔底界 面でのガス濃度の特性を知る必要がある。

大政ら(43,44),安保ら(1)は、ヒマワリの汚染ガス収着速度と気相での拡散抵抗の指標と しての蒸散速度を同時に測定し、主要な汚染ガスであるSO2, NO2, O3, NOの気孔底界面での ガス濃度を推定した。その結果、SO2, NO2およびO3に関しては、葉に水渗やしおれ等の被害が 発現するまで、気孔底界面でのガス濃度 $C_i$ が、 $C_i / C_b \simeq 0$ と推定でき、また、NOに関しては、  $C_i / C_b > 0.9$ と推定できると報告している。ここで、 $C_b$ は葉面境界層の外側でのガス濃度を表す。 名取ら(41)は、同様な方法で種々の植物のNO2に関する気孔底界面でのガス濃度を推定し同様な 結果を得ている。以上の結果は、SO2、NO2およびO3に関しては、被害発現に至るまで、植物体 内での代謝、移動等の生理機能が十分大きく、ガス収着速度は、気孔抵抗を含めた気相での拡散の みに支配されることを示している。他方、NOに関しては、植物体内での上記の生理機能が十分で なく、ガス収着速度は、気相での拡散に加えて、植物の生理機能にも影響される。他の汚染ガスの 気孔底界面でのガス濃度に関する報告は見当たらないが、Hill (23)は、アルファルファ群落によ る実験結果から、収着速度が大きい汚染ガスとして、HF, SO2, Cl2, NO2 およびO3 をあげ、 PANは上記のガスの1/2程度, CO2は1/10程度そしてNOおよびCOは1/10以下の収着速度 であるとしている。Garland and Penkett (17) も牧草の PAN とO3 収着速度を比較し同様な結果 を得ている。これらの実験結果は、気孔抵抗を含む気相での拡散等の収着速度に影響する要因につ いての検討が不十分であり、また測定精度についても十分な検討がなされていないので、各々のデ ータを一概に比較することはできないが、気孔底界面でのおおよそのガス濃度を知る目安になる。

ガスの種類	$C_i \swarrow C_b$	r _m	
SO ₂	0	0 s·cm ⁻¹	
$NO_2$	0	0	
O ₃	0	0	
HF	0	0	
Cl ₂	0	0	
PAN	0.	· 0	
NO	0.9以上	30以上	
СО	0.9以上	30以上	

表3 気孔底界面でのガス濃度および葉肉抵抗

-378-

表3に以上の報告から分子拡散係数の違いを考慮して、推定される種々の汚染ガスの気孔底界面でのガス濃度を示す。なお、表3には、植物組織での各汚染ガスの濃度Cmを0volppmと仮定して得られる葉肉抵抗rmのおおよその値を付記した。これらの気孔底界面でのガス濃度あるいは葉肉抵抗は、植物体内の生理状態により影響されるので、今後より詳細な検討が必要であろう。

### 6. 植物群落による汚染ガス収着量の予測モデル

最近,前述した大気から気孔底に至るまでの拡散モデルの知見を利用して,単葉から群落レベル まで,種々の汚染ガス収着モデルが提案されるようになった(1,3,4,40,42,57,73,75)。 しかし,実際に種々の条件下での植物群落による汚染ガスの収着に関する現象を解析した例は少な い(1,40,57)。Murphy et al.(40),Shreffler(57)はSO₂の場合に,水平方向に十分広い群 落を仮定し,気孔開度,群落の種類等の汚染ガスの収着への影響について検討している。しかし, これらの報告は,植物群落の大気汚染浄化機能を評価し,アセスメントに利用し得る十分な資料を 提供しているとは言えない。

現在,筆者らは,これらの目的に供するための植物群落による汚染ガスの収着にかかわる現象の 解析およびモデル化に関する研究を行っているが,そこで得られた若干の結果について述べる。

水平方向に十分広い群落を仮定し、高さ方向の拡散だけを考えると、式(4)の大気から群落に 至るガス拡散方程式は次式の様に簡略化される。

$$\partial C / \partial t = \partial \left( K_{D} \partial C / \partial z \right) / \partial z - Q \tag{28}$$

物質の消失速度Qは、大気でのガス反応がないと仮定すれば次式で与えられる。

 $Q = F_b \cdot k_b (C_b - C_i) / (r_b + r_s) \qquad \qquad \text{# A b} (z \le H) \tag{30}$ 

ここで,式(30)のQは単位容積当たりの植物によるガス収着速度である。また, kbは葉面の構造 や気孔の数等に関係する定数であるが,気孔が両面に均一に分布すると仮定してkb=2とする。Q を群落の高さに対して積分すれば,群落全体のガス収着能力Qrotalが得られる。

$$Q_{Total} = \int_{0}^{H} Q dz \tag{31}$$

今,中立流の場合を仮定し、境界条件を

$$C|_{z=z_a} = C_a$$
 大気濃度境界条件  
=一定  $(z_a = 20 \text{ m})$  (32)

$$\partial C / \partial z |_{z=0} = 0$$
 地表面濃度境界条件 (33)

$$\partial C / \partial t = 0 \tag{34}$$

として、式(7),(8),(9),(11),(17),(26),(27)等を用いて,NO₂を例に植物群落の汚 染ガス収着能力を計算した。ここで、各式のパラメータは、従来の研究で報告されている平均的な 値を用いた。具体的には,式(8),(9)でd = 100 cm, $z_0 = 20 \text{ cm}$ ,式(11)で $\alpha = 3$ ,式(26)で  $I_c = 0.4$  ( $I \le 1$ ),式(27)でA = 0.8である。また、群落の高さHは2mとし、群落構造は、図 5 に示す構造とした。

図5に植物群落の汚染ガス収着能力の計算例を示す。この場合、風速は地上から20mの位置で約



図5 植物群落のNO2 収着能力の計算例

1 m・s⁻¹,群落上1 mの位置で約0.5 m・s⁻¹であるが、この様な条件下では、群落の存在により、 群落付近のガス濃度は、地上から20mの位置でのガス濃度*C*_oに比べて半分以下に下がる。この条 件下での植物群落の汚染ガス収着能力は、*Q*_{Total} /*C*_o = 1.6×10⁻⁹ g・volppm⁻¹・s⁻¹・cm⁻² 程度 であるが、その大半は群落上層部で収着される。これは、群落の葉面積密度が下層部に比べて上層 部で大きいこと、気孔抵抗、葉面拡散抵抗、葉間気層での拡散抵抗等が下層部に比べて上層部で小 さいこと等が原因している。図6に種々の風速条件下での植物群落の汚染ガス収着能力を示す。群 落上1mの位置での風速が0.2 m・s⁻¹から5 m・s⁻¹ に変化すると、植物群落による汚染ガス収着 速度 *Q*_{Total} /*C*_a は、0.8×10⁻⁹ g・volppm⁻¹・s⁻¹・cm⁻² から5×10⁻⁹ g・volppm⁻¹・s⁻¹・cm⁻² に 6倍以上増える。この様に風速が大きい程汚染ガス収着能力が大きくなるのは、大気のガス濃度が 地上20mの位置で常に一定に保たれていると仮定したために(式(32))、風速の増大が接地気層や 群落内での拡散抵抗を小さくし、上空からのガス供給を大きくならしめるためである。この様なモ デルは、森林、耕地、公園等の植物被覆地が十分広い場合にあてはまる。他方、都市域の道路にお いては、道路そのものが、汚染ガスの発生源になり、上空でのガス濃度は道路上よりも低い。この ため汚染ガスは、道路から上空大気へと拡散し、前述のモデルはあてはまらない。風が強い場合に



 $C|_{z=0m}$ ; 地上面でのNO₂ 濃度

は、汚染ガスは急速に拡散し薄められるので、問題になるのは比較的風速が小さい場合である。図 6の結果から風速が小さい場合にも有効な収着源としての植物群落の重要性が示唆されるが、群落 が存在することによる風の減衰による上空大気への拡散速度の低下や排ガスの主要な成分である NOを植物群落は余り収着しないといった問題もあり、道路周辺のグリーンベルトに関する詳細な 検討は今後の課題であろう。

図?に気孔抵抗が異なる場合の植物群落の汚染ガス収着能力の違いを示す。気孔抵抗が $0.5s \cdot cm^{-1}$ から $10s \cdot cm^{-1}$ に変化すると汚染ガス収着能力は、 $3 \times 10^{-9}g \cdot volppm^{-1} \cdot s^{-1} \cdot cm^{-2}$ から $0.6 \times 10^{-9}$ g  $\cdot volppm^{-1} \cdot s^{-1} \cdot cm^{-2}$ に低下し約 1/5となる。それゆえ、気孔抵抗は、汚染ガス収着能力を支配する重要な因子と考えられる。表 2 に示す様に植物は種類により気孔抵抗が異なるので、大気汚染に強くかつ気孔抵抗の小さい植物種の選定が必要となる。また、気孔抵抗は、光や水分等の環境条件により変化するので、最適な群落構造や配置、管理法等の検討が必要であろう。

ここでは、NO₂の場合について検討したが、表3と気相中での物質輸送のアナロジーからここで 得られた結果はSO₂、O₃、HF、Cl₂、PAN等にもあてはまり、植物群落は、これらのガスについ ても有効な収着源であるといえる。



図7 種々の気孔抵抗における植物群落のNO2収着能力( $U|_{z=3m} = 1 \text{ m} \cdot \text{s}^{-1}$ )

本文では,植物群落の大気汚染浄化機能を評価し,アセスメントに利用し得る十分な資料を提供 するために本特別研究で行っている植物群落による汚染ガスの収着に関する研究の現在までに得ら れた成果とその関連分野とのかかわり合いについて述べた。

本研究によって現在までに得られた成果を要約すると、(1)植物群落による汚染ガスの収着量ある いは大気の汚染ガス濃度の低下を予測するに必要な植物側のガス濃度境界条件である気孔底界面で のガス濃度を種々の汚染ガスについて明らかにしたこと、(2)上記で得られた結果を、従来から多 くの研究者により報告されている大気から植物群落に至る一次元ガス拡散モデルに適用し、植物群 落の汚染ガス収着能力を定量的に評価し、植物群落の汚染ガス浄化機能の有効性を確認したことで ある。

しかし、都市域における都市公園や道路周辺のグリーンベルトの最適配置といった問題にここで 述べたモデルをそのまま適用することはできない。今後、目的に応じたモデルの開発あるいは各種 パラメータの実験的検討が必要であろう。また、モデル開発と同時に、植物群落のガス浄化機能を 直接野外で計測評価するシステムの開発が必要であろう。汚染ガス収着能力の優れた植物種の選定 およびその栽培管理技術に関する研究も必要であり、今後に残された問題は多い。

謝 辞

本稿をまとめるに当たり貴重な助言をたまわった当研究所大気環境部の植田洋匡室長,技術部の 竹下俊二主任研究員,また常日頃御指導をたまわっている技術部の相賀一郎室長,生物環境部の戸 塚 績室長,終始本研究に携わり協力していただいた協同研究者の安保文彰氏に心からの謝意を 表する。

### 引用文献

- 1. 安保文彰·大政謙次·名取俊樹·戸塚 績. 1979. 第20回大気汚染学会要旨集. 390
- 2. Bange, G. G. J. 1953. Acta. Bot. Neerl. 2(3):255
- 3. Bennett, J. H., A. C. Hill and D. M. Gates. 1973. J. Air Pollut. Control Assoc. 23:957
- 4. Bennett, J. H. and A. C. Hill. 1975. In Responses of Plants to Air Pollution (edit. by J. B. Mudd and T. T. Kozlowski). p. 273. Academic Press, New York
- 5. Bird, R. B., W. E. Stewart and E. N. Lightfoot. 1960. Transport Phenomena. p.522. John Wiley and Sons, New York
- 6. Brown, H. and F. Escombe. 1900. Phil. Trans. Roy. Soc. London, Ser. B 193:233
- 7. Businger, J. A., J. C. Wyngaard, Y. Izumi and E. F. Bradly, 1971. J. Atmos. Sci. 28:181
- 8. Cionco, R. M. 1965. J. Appl. Met. 4:517
- 9. Cowan, I. R. 1968. Quart. J. Roy. Met. Soc. 94:523
- 10. Craker, L. E. and J. S. Starbuck, 1972. Environ, Research 6:91
- 11. Deacon, E. L. 1953. No. 91, London, Air Ministry, Met. Office
- 12. De Vries D. A. and N. H. Afgan. 1975. Heat and Mass Transfer in the Biosphere. Part 1. John Wiley and Sons, New York
- 13. Fowler, D. and M. H. Unsworth. 1974. Nature 249:389

-383-

- 14. Gaastra, P. 1959. Meded. Landbouwhogesch. Wageningen. 58:1
- 15. Gaastra, P. 1963. In Environmental Control of Plant Growth (edit. by L. T. Evans). p.113. Academic Press, New York
- 16. Garland, J. A., W. S. Clough and D. Fowler. 1973. Nature 242:256
- 17. Garland, J. A. and S. A. Penkett. 1976. Atmos. Environ. 10:1127
- 18. Gates, D. M. 1962. Energy Exchange in the Biosphere. p.151. Harper and Row, Publishers
- 19. 長谷場徹也·武智 修. 1972. 農業気象 28:21
- 20. 長谷場徹也, 1973. 愛媛大学農学部紀要 18:1
- 21. Haseba, T., 1974. J. Agr. Met. 30:45
- 22. 長谷場徹也, 1975. 農業気象 31:135
- 23. Hill, A. C., 1971. J. Air Pollut. Control Assoc. 21:341
- 24. Inoue, E. 1963. J. Met. Soc. Japan 41:317
- 25. Inoue, K., Z. Uchijima, T. Horie and S. Iwakiri, 1975. J. Agr. Met. 31:71
- 26. 伊藤昭三, 1974. 農業気象ハンドブック、養賢堂, 92
- 27. Kestin, J., P. E. Mäder and H. E. Wang. 1961. Int. J. Heat Mass Transfer 3:133
- 28. 国土庁, 1978. 国土統計要覧 53年度版, 大成出版社, 33
- 29. Kondo, J. 1971. J. Met. Soc. Japan 49:121
- 30. Lettau, H. 1969. J. Appl. Met. 8:828
- 31. Lommen, P. W., C. R. Schwintzer, C. S. Yocum and D. M. Gates. 1971. Planta 98:195
- 32. Meetham, A. R. 1950. Quart. J. Roy. Met. Soc. 76:359
- 33. Meetham, A. R. 1954. Quart. J. Roy. Met. Soc. 80:96
- 34. Meider, H. and T. A. Mansfield. 1968. Physiology of Stomata. McGraw-Hill, London
- 35. Monin, A. and A. M. Obukhov. 1954. Trudy Inst. Geophys., Acad. Nauk USSR 24:163
- 36. Monsi, M. und T. Saeki. 1953. Jap. J. Bot. 14:22
- 37. Monteith, J. L. 1973. Principles of Environmental Physics. Edward Arnold, London
- 38. Monteith, J. L. 1975. Vegetation and the Atmosphere. Vol. 1 Academic Press, New York
- 39. Monteith, J. L. 1976. Vegetation and the Atmosphere. Vol. 2 Academic Press, New York
- 40. Murphy, C. E., Jr T. R. Sinclair and K. R. Knoerr. 1977. J. Environ. Qualt. 6:388
- 41. 名取俊樹·大政謙次·安保文彰·戸塚 績, 1979. 第20回大気汚染学会要旨集, 391
- 42. O'Dell, R. A., M. Taheri and R. L. Kabel. 1977. J. Air. Pollut. Control Assoc. 27:1104
- 43. 大政謙次・安保文彰. 1978. 農業気象 34:51
- 44. 大政謙次·安保文彰. 名取俊樹. 戸塚 績. 1979. 農業気象 35:77
- 45. Parkhurst, D. F., P. R. Duncan, D. M. Gates and F. Kreith. 1968. J. Heat Transfer 90:71
- 46. Parlange, J. Y., P. E. Waggoner and G. H. Heichel. 1971. Plant Physiol. 48:437
- 47. Parlange, J. Y. and P. E. Waggoner. 1972. ibid. 50:60
- 48. Paulson, C. A. 1970. J. Appl. Met. 9:857
- 49. Philip, J. R. 1964. ibid. 3:390
- 50. Poppendick, H. F. 1949. Contract N6-onr-275, TASK Order VI, NR 082-036
- 51. Raschke, K. 1956. Planta 48:200
- 52. Rasmussen, K. H., M. Taheri and R. L. Kabel. 1975. Wat. Air and Soil Pollut. 4:33
- 53. Rauner, JU. L., 1976. In Vegetation and the Atmosphere Vol. 2 (edit. by J. L. Monteith). p.241. Academic Press, New York
- 54. Rich, S., P. E. Waggoner and H. Tomlinson. 1970. Science 169:79
- 55. Rutter, A. J. 1975. In Vegetation and the Atmosphere Vol. 1 (edit. by J. L. Monteith). p.111. Academic Press, New York
- 56. Schuepp, P. H. 1972. Boundary-Layer Met. 2:263
- 57. Shreffler, J. H. 1978. Atmos. Environ. 12:1497

-384-

- 58. Spedding, D. J. 1969. Nature 224:1229
- 59. Spedding, D. J. 1972. Atmos. Environ. 6:583
- 60. 武田京一. 1964. 農業気象 20:1
- 61. Tan, H. S. and S. C. Ling. 1961. Tar-Tr 611:24
- 62. Terraglio, F. P. and R. M. Manganelli. 1966. Air and Wat. Pollut. Int. J. 10:783
- 63. Thom, A. S. 1971. Quart. J. Roy. Met. Soc. 97:414
- 64. Thom, A. S. 1975. In Vegetation and the Atmosphere Vol. 1 (edit. by J. L. Monteith). p.57: Academic Press, New York
- 65. 戸塚 績. 1972.物質の交換と輸送. 古谷他編. 朝倉. 90
- 66. Uchijima, Z. and J. L. Wright. 1964. Bull. Nat. Inst. Agr. Sci. A11:19
- 67. Uchijima, Z. 1966. Bull. Nat. Inst. Agr. Sci. A13:81
- 68. 内島善兵衛・宇田川武俊・堀江 武・小林勝次, 1970. 農業気象 25:215
- 69. 内島善兵衛, 1974, 農業気象ハンドブック, 養賢堂, 116, 213
- 70. Udagawa, T. 1966. J. Agr. Met. 22:7
- 71. 宇田川武俊, 内島善兵衛, 1971, 作物の光合成と物質生産, 戸苅養次監修, 養賢堂, 206
- 72. Ueda, H., S. Mitsumoto, Y. Ogawa and M. Okuda. 1979. Quart. J. Roy. Met. Soc. (in press) also in Int. Heat Transfer Conf. Vol. 1 91(1978)
- 73. Unsworth, M. H., P. V. Biscoe and V. Black. 1976. In *Effects of Air Pollutants on Plants* (edit. by T. A. Mansfield). p.5. Cambridge University Press, London
- 74. Waggoner, P. E. 1969. Crop Sci. 9:315
- 75. Waggoner, P. E. 1971. Bioscience 21:455
- 76. Whelpdale, D. M. and R. W. Shaw. 1974. Tellus XXVI 1-2: 196
- 77. 矢吹万寿·青木正敏·鱧谷 憲. 1974. 農業気象 30:101

国立公害研究所研究報告 第10号 (R—10-'79) Research Report from the National Institute for Environmental Studies No. 10, 1979

IV - 1

国立公害研究所植物実験施設における実験材料植物の育成方法について

藤沼康実 • 町田 孝 • 相賀一郎

# Outline of the culture method of plant materials in the N.I.E.S. phytotron

Yasumi FUJINUMA¹, Takashi MACHIDA¹ and Ichiro AIGA¹

### 要 旨

国立公害研究所植物実験施設で現在行われている実験材料植物の育成方法を下記の ように確立した。

 1. 栽培用培土は、人工培土(ピートモス:バーミキュライト:パーライト:小砂利 = 2:2:1:1)に基肥として Magamp - K5g/1.8 ℓを加え苦土石灰でpH6.4 に調整したものを選定した。生育期間中の液肥は 0.1% Hyponex 液を主体としたものを遇2回程度行うことを選定した。

2. 栽培容器は,栽培温度の空調が有孔床面よりの吹き上りなので,鉢の断面積を小さくした特殊型のプラスチックポットを開発した。それらは白色のスチレン樹脂製でそれぞれの鉢の表面積および有効内容積は $1 / 1 \int a (100 cm)$ ; 1.8  $\ell$ および1 / 5 + a; 4.0  $\ell$  である。

3. 実験材料植物の育成は毎週定期的に行い,表2および図2に示すように,数十種 類の供用個体数の多い植物では,常時供給できる体勢を確立した。そして,栽培管理 の主な作業はすべて規則的に行われ,栽培管理カルテに記入している。

はじめに

当研究所の植物実験用環境調節施設(以後ファイトトロンと呼ぶ)は植物に対する大気汚染環境 の影響を解明することを主目的としている。そこに設置されている大気汚染ガス暴露用グロースキ ャビネットを始めとする各環境調節装置の工学的な特性は既に報告されており(1), それらの成 果に基づいて,各環境調節装置が精度良く運転されている。しかし,それらの装置を実験あるいは 生育の場として利用する実験材料植物の育成方法,生育特性等については,我々の数少ないささい な報告(3,4)があるにすぎない。また,類似の内外のファイトトロンにおいても,同様であり、

^{1.} 国立公害研究所 技術部

^{1.} Division of Engineering. The National Institute for Environmental Studies, Tsukuba-gakuen, Ibaraki 305

そして、歴史の積みかさねがある外国の二、三の施設を除き、工学的な制御方法に比べて施設独自の植物育成方法の確立、供試植物の生育特性の解明が著しく遅れている(2)。従って、ファイトトロンで行われる実験結果の信頼性、再現性はこれらの実験材料植物側が持つ問題点によって著しく影響される。従来、この実験材料植物の育成法、実験利用法等についての指針は、ほとんど無く(7、9)、農業生産上重要な位置を占める数種の植物で、栽培作物としての特性等がは握されているにすぎない。我々は当ファイトトロンに適合した実験材料植物の育成、開発を目指して、次の3点について検討している。1. 植物の遺伝的形質の均質化 2. それぞれの制御環境下での植物の生育動態の解析 3. 各植物種ごとの育成方法の確立。そして、前述のように、ファイトトロンでの植物育成方法の情報が極端に少ない中で、試行錯誤的に植物育成方法を検討してきた。現在では、ヒマワリ、ホウレンソウを始めとして20数種類の植物の育成が行われ、当ファイトトロン独自の実験材料植物の育成方法を確立しつつある。

この報告では,現在,当ファイトトロンで行われている実験材料植物の育成方法を簡単に紹介する。

### 1. 栽培資材の開発, 選定

現在、当ファイトトロンでは1年間に約2万鉢の実験材料植物を育成しているが、より均質で効率的な実験材料植物の育成のために、当施設独自の栽培資材を開発し、選定している。

(1) 人工培土,施肥方法の選定(表 2 - A, B)

当施設の培養主の年間使用量は約20m⁻にもなり,天然の土壌では,均質でかつ植物防疫的に満足 できるものの確保が困難である。このために,人工的に製造された建築資材や容易に確保できる天 然資材から,最適人工培土を検索した。そして,それらの資材の組成を変えて,さまざまな人工培 土を作成し,ヒマワリの生長に対する影響を調べた(表1)。その結果,ヒマワリの乾物生長,草 丈,根と茎葉の乾物重の比率から,表中のバーミキュライト単用区(B)とピートモス+パーラィ ト混合(1:1)区(E)および(J)の4成分混合区が比較的大きな乾物生長をした上で根張り が良く剛健な草姿となり,鉢で栽培した植物としての条件(10)を比較的満足するものであった。 また,(B)(E)の組成の人工培土では,植物が生長すると鉢の重心が高く,不安定になるので、 (J)では,人工培土の比重を高めるために小砂利を加え、安定度を増加した。なお,現在使用し ている人工培土は(J)の組成を基準として,若干の改良を加えている。

次に、人工培土の施肥方法について検討した。表1の(J)の組成の人工培土に元肥として、緩 効性肥料として鉢物園芸で比較的良く用いられている Magamp - K (N:  $P_2O_5$ : K = 6:40: 5)と pH 調整剤として、苦土石灰を選定し、(6)、それらの施肥量をヒマワリの乾物生長量に対 する影響から検索した(図1)。その結果、Magamp - Kの施肥効果は1**鉢**(1.8  $\ell$ )当たり5 g でヒマワリの乾物生長量は最大値を示した。また、苦土石灰の施用量は1鉢当たり15g で最大の乾物生長 量を示した。従って、人工培養土に混入する基肥として、人工培土 1.8  $\ell$  当たり、Magamp - K5g、 苦土石灰15g を施用することにした。しかし、現在の施肥方法では、ピートモスの材質が変化した ため、苦土石灰の施肥量は pH 6.4 に調整するのに必要な量としている。この他に、生育期間中に 潅水を適宜行っており、その中で週に 2 回程度、液肥として 0.1 % Hyponex (N:可溶性 P₂O₅: K = 6.5 : 6 : 19) 液に Hoagland NO.2 solution の微量要素液 (8)を規定量加えた水溶液を 補足的に施用している。

表1 ヒマワリの生長に対する培土組成の影響。ヒマワリは25℃,70% R Hの制御 温室で育成し,播種後30日間,1/1万 a プラスチックポットで栽培した。 それぞれの培土(1.8 l/鉢)には1鉢当たり Magamp - K 5 gと苦土 石 灰15g を加えた。

ヒマワリの生長を表す値は5個体の植物の平均値を示す。

Table 1Effects of the composition of soil mixtures on the growth of sunflower. The plants<br/>were grown in the phytotron greenhouse at 25°C, 70%R.H., and were cultured with<br/>1/10000a plastic pots for 30 days after sowing. Magamp-K 5g/pot and magnesian<br/>lime 15g/pot were added to each soil mixture. Values of the growth characteristics<br/>indicate means of 5 plants.

	Con	position	of soil r	nixture	pH (H ₂ O)		Growth of sunflower		
	Peat- moss	(% Vermi culite	V/V) Per- lite	Fine gravel	Preuse	Used	Total dry wt. per plant (g)	Plant height (cm)	- Top/Root ratio (g/g)
A:	100	-	-	_	6.0	5.8	11.7	71.5	4.0
В:	-	100	_	_	7.1	7.0	14.7	72.8	3.0
C:	_	-	100		7.1	7.4	14.9	88.1	3.2
D:	50	50	-	_	6.6	6.2	15.8	96.3	4.6
E:	50	-	50	_	6.6	6.2	14.1	76.8	3.2
F:	—	50	50	-	7.5	7.4	11.9	85.0	4.6
G:	50	25	25	-	6.5	6.1	15.4	96.8	4.6
H:	25	50	25	-	7.1	6.6	13.4	94.0	5.7
I:	25	25	50	-	7.1	6.5	14.7	92.5	4.0
J:	35	535	20	10	7.2	6.6	14.8	81.4	2.6

### (2) 栽培容器の開発(表2-C)

植物の栽培容器は次の事項を基準として開発した。軽く破損しにくく取り扱いが簡単なこと、再 利用が可能であり、水洗、滅菌操作が容易に行えること、外容積に比較して有効内容積が大きいこ と、容器壁面より内部への光の透過がないこと。その結果、白色のスチレン樹脂製のプラスチック ポットを選定した。また、栽培温室の空調が床面よりの上方への吹き出しのため、鉢の断面積を小 さくして、空調の効果を上げた。そして、鉢の表面積が1/1万a(100 cd)と1/5千a(200 cd)の2種類の鉢を作成し、1/1万aポットは主として、一般草本植物用、1/5千aは苗木、 大型草本植物用とした。プラスチックポットは壁面からの通気,水の蒸発がないので,ポットの底 に半球型の多孔板を置き,それを補っている。この他に,簡便型のデスポーザブルポット(1/1 万*a*,発泡スチロール製)を幼苗,小型草本植物用に使用している。



- 図1 ヒマワリの平均乾物重(上図)および培土のpH(下図)に対する: Magamp-K (左図)と苦土石灰(右図),の影響。ヒマワリは制御温室(25℃,70% RH) で播種後30日間育成した。培土組成は表1の(J)と同じである。上図にお いて, Magamp-K試験区には苦土石灰15g /鉢を,また,苦土石灰試験区 には Magamp-K 5g /鉢を与えた。下図において、(○)は使用前の培土 の pH、(●)は使用後の培土の pH を示す。ヒマワリの個体乾物重の値は5 個体の平均値を示す。
- Fig. 1 Effect of Magamp-K (left) and magnesian lime (right) on total dry weight per plant of sunflower (upper), and pH(H₂O) in soil mixture (lower). The plants were grown in the phytotron greenhouse at 25°C, 70%R.H. for 30 days after sowing. The composition of the soil mixture was the same as (J) in Table 1. In upper part in the figure, to soil mixtures treated with Magamp-K, magnesian lime were added for 15g/pot, and to soil mixtures treated with magnesian lime, Magamp-K were added for 5g/pot. In lower part in the figure, (0) plots indicate pH(H₂O) in the virgin soil mixtures, (•) plots in the used soil mixtures. Values of total dry weight per plant indicate means of 5 plants.

#### 2. 実験材料植物の育成方法の確立(表2-D)

現在,当ファイトトロンでは,約20種の植物を育成して,常時実験に供用できる体勢を整えている。しかし,それらの育成方法は,栽培温室の面積,環境制御能力,作業従事スタッフの労働力の

制限により,完全なものとは言い難い。ここでは,かどう後3年を経過した現在,経験的な積み重 ねによって,ほぼ確立した代表的な実験材料植物の育成方法を紹介する。

#### (1) 実験材料植物の供給能力

当ファイトトロンには6室の制御温室(1室40m⁴)があり,供用鉢数の多い約十種類の実験材料 植物では,毎週定期的に播種され,各生育段階の植物が準備されている。しかし,栽培面積の制限 により,表2-Dに示すように,その栽培鉢数は限定されている。これらの植物以外に,必要に応 じて栽培しており,在庫種子の植物種類数は約50種150品種になる。また,樹木(特に街路樹, 緑化樹およびポプラ)は当研究所の実験ほ場の温室で栽培し,供用できる体勢を整えている。昭和 53年度の実験材料植物の供給実績は播種鉢数で20,810鉢に達しその中でヒマワリ(11,530鉢),ホ ウレンソウ(3,550鉢)が大半を占めた。このヒマワリは昭和51年度より純系選抜により第4代 (F4)まで得られ、ほぼ形質の均一な実験材料植物化がなされている。

#### (2) 栽培環境

6室の栽培温室は複層ガラス構造で高精度に温,湿度が制御できる温室3室と単層ガラス構造の 制御温室3室に分かれ,前者では温室内部への透過光量が外部の約46%,後者では約63%に減少す る(5)。従って,強光条件下で生育の良いヒマワリは後者の制御温室で25℃,70%RHで通年栽培 している。この制御温度は我々の行った実験結果(3)から決定した。また、ホウレンソウや立チ シャは比較的弱光条件下で生育が良く,その生育適温も低いので、前者の制御温室で昼間(5:00 ~19:00)20℃,夜間15℃,70%RHで栽培している。他の実験材料植物は栽培室数の関係で,25 ℃,70%RHで一括栽培している。

(3) 栽培管理(図2)

低温庫(2℃)に貯蔵されている種子を消毒した後,数時間水に浸漬してから播種するが,大型 のマメ科の種子とトウゴマの種子を除き,実験時に供用する鉢に直接,鉢当たりの規定個体数の数 倍播種し,育成している。前述のマメ科とトウゴマは,発芽が不ぞろいなので,プラスチックバッ トに播種し,その中で,同程度の生育をしている個体を鉢に定植する。また,培土は表2 - Aの (J)人工培土を標準とするが,イネではイネの育苗用粒状培土を使用している。また,他のイネ 科植物では,標準培土とローム表層土を3:1に混合している。播種後の栽培操作は図2に示す ものを基準としているが,図中の操作以外に,潅水,鉢の配置換え,植物防疫上の対処等は随時行 っている。そして、すべての栽培管理操作および栽培条件等は栽培カルテとして記録保管している。

## 表 2 国立公害研究所植物実験施設における実験材料植物の標準育成方法

### Table 2 The standard methods for the cultivation of plant materials in the N.I.E.S. phytotron

#### A The standard soil mixture.

- 1. Composition of soil mixture.
  - Peatmoss : Vermiculite : Perlite : Fine gravel = 2 : 2 : 1 : 1 V/V
- Basic fertilization. Magamp-K (N: P, O, : K = 6: 40: 5) Sg/1.8/ soil mixture
- 3. The adjustment of pH.
- adjustment with magnesian lime to 6.4 pH (H, O)
- B The culture solution as top dressing.
  - 1. Composition of culture solution.

Hyponex (N :  $P_2O_5$  : K = 6.5 : 6 : 19) 0.1% wt. Micro element solution of Hoagland No. 2 solution normal rate

2. Intervals of dressing.

twice a week with about 100-200 ml per pot

C. Pots for cultivation.

Pot	Size (pot area x height) (cm ² ) (cm)	Available soil capacity (1)	Material
1/10000 a plastic pot	100 × 20	1.8	white styrene
1/10000 a disposable pot	100 × 7	0.5	white styratorm
1/5000 a plastic pot	200 × 25	4.0	white styrene

#### D Plant materials and outlines of culture method.

Plant materials	Capacity of supplies (pots/week)	Culture co Temp (°C)	ndition Humid. (%R.H.)	**Soil mixture and pot	Growing periods (weeks)
Sunflower Helianthus annuus L.	80	25	70	I	6
Spinach Spinacia oleracea L. cv. New Asia	60	*20(15)	70	ĩ	7
Cos-lettuce Lactuce sative L. cv. White Paris	30	*20(15)	70	I	7
Tomato Lycoperisicum esculenta MILL, cy. Fukulu No. 2	10	25	70	Ľ	6
Japanese tadish Raphanus satirus L. cy. Minowse	10	25	70	I	7
Corn Zea mays L. c. Vallow dent corn	10	25	70	n	6
Kidney bean Phaseolus vulgaris L.	15	25	70	. <b>111</b>	6
Peanut Arachis hypogara L.	15	25	70	IN	10
Broad bean Vicia faba L.	15	25	70	111	10
Caster bean Ricinus communis L. (a local breed in Japan)	6	25	70	ſV	8

*; day (night), day period; 5:00-19:00.

**; I, 1/10000 a plastic pot filled with N.I.E.S. standard soil mixture.

II, 1/10000 a plastic pot filled with N.I.E.S. standard soil and loam soil (3 : 1).

III, sowing in vat filled with vermiculite and trans-planting to 1/10000 a plastic pot filled with N.I.E.S. standard soil mixture.

IV, sowing in vat filled with vermiculite and trans-planting to 1/5000 a plastic filled with N.I.E.S. standard soil mixture.

WEEKS	1 i	2	2	<i>u u</i>	5	6	7	
PLANTS	1234567	1234567	1214552	1234567	1236567	121455	112114144	1122666
							<b></b>	TT CHI CONTRACTOR
CUNCION CO	B/p 1/p						<b></b>	
SURFLUWER	30×6		24×6	15x8	8x10		+	
	ান স			Ke d				
SPINACH	10/p	3/p	<u> </u> →				┤╤┻═╾╧┷┶╴═══	
	30×2			20×3		1544		
	Ξ N							
COS-LETTUCE	10/p	1/p				1		
	30x1				15+2			1
TOMATO	5/8		<u> </u>					
	10x1/3	L	10x1		5×2			
11010			pNX					
JAPANEASE	5/p	<u>1/r</u>	·		<u> </u>	.	.	
RADISH	10x1/3		10x1		5×2	<u> </u>		1
	<u>µ</u> И_	<b></b>	<u>p px</u>				L	
DENT-CORN	3/p	<u>1/p</u>				1		
<b> </b>	10x 1/3	<b>├</b>	10x1		5+2			
	WL	<u>/I</u>	<u> </u>				۹	
KIDNEY BEAN	<u>30/v</u>		<b></b> 1/p	··· <u> </u>				· · · · · · · · · · · · · · · · · · ·
	1) yat		15x1		<u>h1</u>			
	ш	. <u> ^</u>			·│──└─────────────	-{ [¶] L	₋¦♥└──┛ [─] ────	
PEANUT	50/*		1/1/1/1	<u> </u>		-}	- <del> </del>	(untill JO weeks
	1 495							
	##L	<u>/1</u>	└───┫──	<u>9_</u>		_ฅฅ		
BRUAD BEAN	307					-		(until) 10 weeks
	- m	1/						
		<u> </u>		╶╎╩╌╌═┉┥──		- =	₋¦ ^ॼ └──┘ ^ॼ └────	
CASTER BEAN	1. ust			<b>↓</b>				· <u>↓</u> ······

図2 国立公害研究所植物実験施設における実験材料植物の栽培管理スケジュール

Typical schedules for the cultivation of plant materials in the N.I.E.S. phytotron

凡 例 圓 鉢に播種

Ĩ

2 おおいを除く

🔟 バットに播種 🏼 🎜 鉢に定植

■ 仮支柱でささえる ■ 本支柱でささえる

□ (3/p);3個体/鉢にまびく 図 (16×2);16鉢×2台車に拡げる

液肥施用 💿 液肥施用(必要に応じて) 📕 廃 棄

Fig. 2

appe	ndix ; sowing in pot	iii ; sowing in vat		; planting in pot
Ø	; uncovering of shade	; supporting w	ith wire	; supporting with pole
	(3/p); thinning to 3 pla ; fertilizing	nts/pot ); fertilizing (if occasion)	⊠ (16×2); ■ ;	spacing to 16 potsx2 carts disused

### おわりに

当研究所植物実験施設における実験材料植物の育成方法を簡単に紹介したが、決してこれらの育 成方法が当施設にとって最適なものではなく、現在行われている育成方法であるにすぎない。実 際に、通年同一育成方法で栽培しても、光条件の影響で植物の生長は大きく変化しており(4)、 その現象を克服する方法も解明されていない。このように、制御環境下で、常に同様な形質を持つ 植物を供給することは極めて困難である。我々は、その中で、実験の再現性、信頼性を高めること のできる実験材料植物を随時供給できるようにしたいと願っている。

### 謝 辞

植物実験施設がかどうして以来,実験材料植物の栽培管理全搬について,我々と共に従事してき た株式会社川上農場の関係スタッフに感謝の意を表します。

### 引用文献

- 1. 相賀一郎・大政謙次・小林雄一 · 1980. 国立公害研究所植物実験用環境調節施設 · 最近空調設備・空調 方式実例集 · 経営開発センタ · (印刷中)
- 2. Downs, R. J. and H. Hellmers. 1975. Controlled environments for plant research. In Environment and The Experimental Control of Plant Growth, p. 125-139. Academic Press, New York
- 3. 藤沼康実・町田 孝・戸塚 績・相賀一郎. 1978. 制御環境下でのヒマワリの生長 栄養生長におよぼ す温度要因の影響 - .. 陸上植物による大気汚染環境の評価と改善に関する基礎的研究。昭和51/52年度研 究報告. 国立公害研究所特別研究報告. R-2~78. p. 183~191
- 4. 藤沼康実・町田 孝・戸塚 績・相賀一郎. 1979. 制御温室におけるヒマワリの生長の季節的変動について、同上.昭和51/53年度特別研究報告. R-10~79. p. 289~297
- 5. 藤沼康実・清水 明・町田 孝・相賀一郎 1979 制御環境下でのヒマワリの生長;環境要因の微小変 化が生長におよぼす影響について、第17回日本生物環境調節調節学会講演要旨
- 6. Hanan, J. J. et al. 1978. Nutrition control. In Greenhouse Management, p.297. Springer-Verlag, New York
- 7. 原 秀雄。1950. 実験材料植物の採取と培養。養賢堂、東京
- 8. Hewitt, E. J. 1965. The micronutrients supplied in nutrient solutions. In Sand and Water Culture Methods used in The Study of Plant Nutrition, p. 235-245. Commonwealth Agricultural Bureaux. Buicks. England
- 9. タンパク質・核酸・酵素編. 1976 植物酵素・タンパク質の実験材料の選択法. 植物酵素・タンパク質研究法(別冊タンパク質・核酸・酵素), p8 49, 共立出版,東京
- 10. 鶴島久男. 1972. 植木鉢, 鉢花のプログラム生産 1. p113~126. 誠文堂新光社. 東京

## Summary

The culture methods of plant materials in the N.I.E.S. phytotron were established as follows.

- 1. The soil mixture was composed of peatmoss : vermiculite : perlite : fine gravel (2 ; 2 ; 1 ; 1 V/V. Magamp-K 5g/1.8l was added as fertilizer and magnesian lime 15g/1.8l was added as adjuster of pH (to 6.4) into the soil mixture.
- 2. To remove interference of upperblow-wind in the greenhouse to plant materials, special type of white styrene pots were developed. Cross-sectioned area and available soil capacity of each

pot were 1/10000 a ; 1.8l and 1/5000 a ; 4.0l respectively.

3. In about ten species of main plant materials, the processes of cultural management, as shown in Table 2 Fig. 2, were established, and each plant material was constantly supplied every week.

Key words: Culture method, Phytotron, Soil mixture, Sunflower

## 国立公害研究所特別研究成果報告

第1号 陸水域の富栄養化に関する総合研究--- 霞ヶ浦を対象域として. (1977)

第2号 陸上植物による大気汚染環境の評価と改善に関する基礎的研究 — 昭和51/52年度 研究報告.(1978)

(改称)

#### ·国立公害研究所研究報告

- 第3号 A comparative study of adults and immature stages of nine Japanese species of the genus *Chironomus*(Diptera, Chironomidae). (1978)
- 第4号 スモッグチャンバーによる炭化水素 窒素酸化物系光化学反応の研究 -- 昭和52年 度中間報告.(1978)
- 第5号 芳香族炭化水素 窒素酸化物系の光酸化反応機構と光酸化二次生成物の培養細胞に 及ぼす影響に関する研究 - 昭和51/52年度研究報告.(1978)
- 第6号 陸水域の富栄養化に関する総合研究(Ⅱ)-- 霞ヶ浦を中心として. (1979)
- 第7号 A morphological study of adults and immature stages of 20 Japanese species of the family Chironomidae (Diptera). (1979)
- 第8号 大気汚染物質の単一および複合汚染の生体に対する影響に関する実験的研究 昭和52/53年度 研究報告.(1979)
- 第9号 スモッグチャンバーによる炭化水素 窒素酸化物系光化学反応の研究 -- 昭和53年 度中間報告. (1979)
- 第10号 陸上植物による大気汚染環境の評価と改善に関する基礎的研究 昭和51/53年度 特別研究報告.(1979)

# RESEARCH REPORT FROM

THE NATIONAL INSTITUTE FOR ENVIRONMENTAL STUDIES

Na. 10

### 国立公害研究所研究報告 第10号

(R - 10 - 79)

昭和54年12月27日発行

編集·発行 国立公害研究所

茨城県筑波郡谷田部町小野川16番2

印刷 株式会社イセブ印刷 茨城県筑波郡筑波町北条31

Published by the National Institute for Environmental Studies Yatabe-machi, Tsukuba, Ibaraki 305, Japan. December 1979