

短報

オゾン曝露によるブナ葉の生理活性の変化

武田麻由子，相原敬次
(大気環境部)

重点基礎研究[平成 13 年度]

1. はじめに

近年，日本各地で樹木の衰退が報告され，神奈川県においても，大山のモミ林や丹沢のブナ林の衰退が顕著となっている。特に丹沢のブナ林は，現在も衰退が進行中である。

当所では衰退の原因として大気汚染に注目し，上空調査等により丹沢における大気汚染の実態解明をおこない，オゾンや二酸化硫黄等の大気汚染物質が首都圏から移流していること^{1),2)}，特にオゾンは，樹木への影響が考えられる濃度である 40ppb を遙かに超える高濃度が出現していること^{3),4)}を明らかにしてきた。

丹沢山地のブナ林衰退の主原因がオゾンであることを確認する方法として，オープントップチャンバー(OTC)実験がある。この方法は，現地の環境大気と活性炭フィルターによりオゾンを除去した大気をそれぞれチャンバー内に導入し，チャンバー内のブナの生長を比較することにより，ブナ生長に及ぼすオゾンの影響を検討することができる。この実験では，3～5年間継続してブナの生長量を観測するが，生長量とともに樹木の生理活性の変化についても測定する必要がある。そこで，現地調査に先立ち，ブナ衰退の指標となりうる生理活性項目の検討を行った。

生理活性項目のうち，光合成を行う成分であるクロロフィルと窒素代謝の過程で必要な酵素である硝酸還元酵素の 2 つに着目し，チャンバー内でブナにオゾンを曝露し，葉内のクロロフィル量，硝酸還元酵素活性の変化を検討したので，その結果を報告する。

2. 実験

2.1 試験対象樹木

黒ボク土を充填した 1/5000a のポットに丹沢産 4 年生のブナ苗を定植し，オゾン曝露チャンバー及び対照チャンバーにそれぞれ 18 本ずつ配置した。

2.2 オゾン曝露

オゾン曝露チャンバーでは，丹沢における 1 時間最高値である 150ppb 程度のオゾンを光合成が

行われる 9:00～17:00 の 1 日 8 時間，ブナの着葉期間である 5 月下旬より 8 月末まで曝露した。対照チャンバーは，オゾン濃度を 10ppb 程度に制御した。

2.3 クロロフィル量

オゾン曝露前後に適宜数枚の葉をサンプリングし，生重量を測定した。葉をメスで細かく切り，遮光した試験管に入れ，80%アセトンで抽出し，25ml 定容とした。対照に 80%アセトンを用い，645nm と 663nm の吸光度を測定し，Arnon の式でクロロフィルの濃度を求めた。

$$\text{クロロフィル a} = 2.69 \times A_{645} + 12.7 \times A_{663}$$

$$\text{クロロフィル b} = 22.9 \times A_{645} - 4.68 \times A_{663}$$

クロロフィル全量

$$= \text{クロロフィル a} + \text{クロロフィル b}$$

(単位：mg/L, A₆₄₅：645nm における吸光度，A₆₆₃：663nm における吸光度)

2.4 硝酸還元酵素活性

オゾン曝露前後に適宜数枚の葉をサンプリングし，生重量を測定した。葉をメスで 0.5cm 角程度に切り，遮光したコニカルビーカーに入れ，0.1M 硝酸カリウム及び 0.01% ターゲットール NPX を含む 0.2M リン酸カリウム緩衝液を 5ml 加えた。減圧下で吸引し，30 分のウォーターバス中で 1 時間振とう培養した。培養後の液を 4ml とり，2% スルファニルアミド - 3N 塩酸溶液，0.04% N-1-ナフチルエチレンジアミン二塩酸塩水溶液を 1ml ずつ添加した。30 分のウォーターバス中で 30 分振とう培養し，発生した亜硝酸を発色させ，540nm の吸光度を測定した。定量にはイオンクロマト用亜硝酸標準液を用い，同様の発色操作を行い，検量線を作成し，定量した。

3. 結果

3.1 可視被害

オゾン曝露チャンバーでは，曝露後 1 ヶ月程度で，ブナの葉に褐色の斑点の出る症状や葉脈を残して色が抜ける症状が観察された(写真)。対照チャンバーでは，約 3 ヶ月間の実験を通して可視被害はみられなかった。



ブナ被害写真

3.2 クロロフィル量変化

対照チャンパーでは、葉の展開直後(5月初旬)に比べ、5月下旬～6月下旬にクロロフィル量が増加し、7月に入ると減少する季節変化がみられた。一方曝露チャンパーでは、クロロフィル量は増加せずほぼ一定で、7月には同様に減少した。図1に5月初旬のクロロフィル量を1としたクロロフィル量の経時変化を示した。5月下旬から6月下旬にかけて、オゾン曝露チャンパーでは、対照チャンパーに比べ有意にクロロフィル量が減少したが、落葉直前では明らかな差は見られなくなる結果となった。

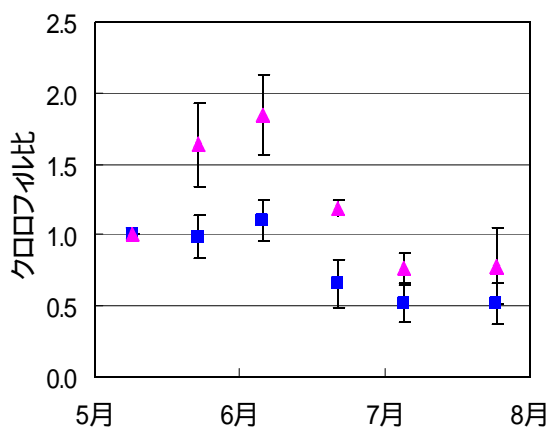


図1 5月初旬を1としたクロロフィル量の経時変化 (■:曝露, ▲:対照, n=6 ~ 8, bar: 90%信頼区間)

3.3 硝酸還元酵素活性変化

硝酸還元酵素の活性は光の影響が大きく、晴れの日と雨の日で大きく値が異なった。日射の影響を除くため、オゾン曝露チャンパーの硝酸還元酵素活性を対照チャンパーの硝酸還元酵素活性で除した値の経時変化を図2に示した。6月末まではオゾン曝露チャンパーと対照チャンパーで有意差はないが、7月に入るとオゾン曝露チャンパーで活性が下がり、対照チャンパーの60%程度の活性となった。

4. まとめ

丹沢産ブナ苗を用い、丹沢で観測される濃度のオゾンを曝露し、葉内の生理活性の変化を測定した。その結果、葉内のクロロフィル量は、5月末から6月末までオゾン曝露チャンパーで有意に減少するが、7月には対照チャンパーと変わらない結果となった。また硝酸還元酵素活性は、7月以降オゾン曝露チャンパーで活性が下がり、対照チャンパーの60%程度となった。以上より、クロロ

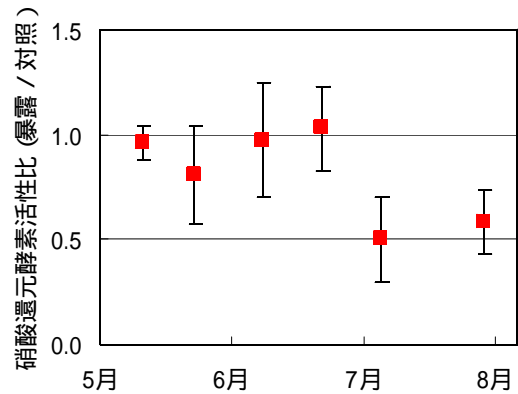


図2 硝酸還元酵素活性比(曝露/対照)の経時変化 (n=6 ~ 8, bar: 90%信頼区間)

フィル量や硝酸還元酵素活性は、光や温度の影響を受けやすいため、現地で葉を採取した場合には、採取直後に液体窒素等で凍結し、冷暗所に保存するなど、分析までの保存方法に工夫を要するが、現地における OTC 実験において、ブナ衰退度の指標として使用できる可能性が示唆された。

参考文献

- 1)阿相敏明, 相原敬次, 青山尚巳, 菊川城司, 須山芳明, 大道章一: 高濃度大気汚染生成機構の解明に関する研究 - 神奈川県西部地域の光化学オキシダント生成機構解明調査 -, 神奈川県環境科学センター年報 28, 29(1996)
- 2)阿相敏明: 高濃度大気汚染生成機構の解明に関する研究 - 西丹沢における気流調査 -, 神奈川県環境科学センター年報 29, 33(1997)
- 3)阿相敏明, 武田麻由子, 相原敬次: 西丹沢における酸性雨及び大気汚染物質の汚染状況 (1995 ~ 2000), 大気環境学会年会講演要旨集 42, 414 (2001)
- 4)阿相敏明, 武田麻由子, 相原敬次, 若松伸司: 丹沢大山における森林保全のためのオゾン許容量推定手法の開発 - 丹沢におけるオゾン汚染状況の把握と汚染機構の解明 -, 大気環境学会年会講演要旨集 42, 415(2001)