

3. 酸性霧と森林衰退

-フィールド調査と曝露実験-

3.1. 大気汚染物質の樹冠への沈着

3.1.1. 緒言

欧米だけではなく我が国でも各地で森林の枯損が広がっている。関東地方の広い地域でスギの立ち枯れ、北関東の赤城山でシラカンバ、ミズナラ、カラマツの衰退、奥日光の垂高山帯でシラビソ、ダケカンバの枯損、神奈川県の大山ではモミの立ち枯れ、丹沢山地ではブナの衰退が著しい。その一因として酸性沈着物が考えられる。

酸性沈着物の直接的影響として、植物体表面から各種元素の溶脱を引き起こす作用がある。通常の降雨でも植物の葉から種々の無機物質や糖、アミノ酸、有機酸などの有機物質が体表面のクチクラ層を通過して流亡することが知られている¹⁾。溶脱は主として降水中の水素イオン H^+ による葉表面におけるイオン交換反応と考えられており、 H^+ を多く含む酸性霧は通常の雨や露と比較して葉からの陽イオンの溶脱を著しく増加させる。植物体から溶脱される陽イオンでは K^+ 、 Mg^{2+} 、 Ca^{2+} が主なもので、降水のpHが4以下になると溶脱量が急増する。また、その量は植物によって異なる。有機酸に関しては、成長した木の表面の特徴である粗い樹皮に水が長時間接触することと多くの場合関連しており、長時間の接触は有機酸の溶脱を容易にし、pHの低い樹幹流を発生させる²⁾。

大気汚染に対する応答を見るために行なったマツの苗木を対象にした酸性雨の曝露実験によると、pH3.0 処理区では曝露なし及びpH5.1 処理区の苗木よりも成長が活発であった。これは酸性雨が葉への窒素肥料となったことが示唆される³⁾。一方、pH4.5 の降雨を別種のマツの苗木に曝露することにより成長を促す効果がわずかに見られたが、pH3.3 の降雨では樹高と幹径の成長が減少したという報告もある⁴⁾。スギの幼苗を使って人工酸性雨を2か月にわたり週に2~3回の割合で散布

した実験によると、雨水pH3.0の処理区では全実験期間を通じて植物体には可視障害は認められなかった。しかし、pH2.0の処理区では雨水の散布回数が増すにつれて、葉の先端部に赤褐色の可視障害が発現した。また、スギの成長速度は雨水pH3.0の処理区で若干の低下がみられたが、pH4.5の処理区では変化がみられなかった⁵⁾。一方、モミではpH4.0の人工酸性雨を30週にわたり散布した結果、落葉が促進された⁶⁾。

本研究室においても、擬似酸性霧曝露によるモミ苗の衰退機構に関して検討した。1992年の9月よりpH3の溶液（硝酸、塩化ナトリウム、硫酸アンモニウムをそれぞれ1mM含む）とpH5の溶液（pH3の溶液を100倍希釈）を用いた擬似酸性霧の曝露を開始した。曝露は霧の発生頻度が低い1~3月と8月を除き、毎週2回で、1回に2時間ずつ曝露した。その結果、実験を開始して数ヶ月は酸溶液内に硝酸塩やアンモニウム塩が入っているため、これが栄養源となり成長はかえって促進され、緑が濃くなった。ところが1993年の6月になって、枝先の新芽が枯れるという現象がpH3の霧を曝露しているモミだけに始まった。このようなメカニズムは充分明らかにされたとは言えないが、現段階では、①葉の表面が酸で破壊され、蒸散速度が制御できなくなり乾燥に弱くなること、②酸溶液により栄養成分が葉から溶出することが確かめられている⁷⁾。

丹沢大山のモミは、標高400~1000mにかけての南東斜面を中心とした約100haの範囲に生息している。古くから大山阿夫利神社のもとで保護され、1960年代に神奈川県天然記念物に指定されたが、その前後から大山下社付近にモミ原生林の立ち枯れが多くなり、1970年代後半まで枯死が急速に進行した。しかし、モミと同様に自生するスギでは立ち枯れは見られていない。

樹冠へ沈着する汚染物質の沈着メカニズムや定量的評価、酸性沈着に対する樹木の感受性を解明することは大気汚染と樹木の衰退と

の因果関係を明らかにするために不可欠である。

本研究では樹冠への酸性沈着物の沈着形態の寄与を雨・霧・エアロゾル・ガスの観点から見て、それぞれの沈着速度を算出し、これまでに報告されている沈着速度との比較を行い、得られた沈着速度から沈着量を算出し、それぞれの寄与の定量的評価を行った。また、樹木の感受性を評価することを目的として吸収、溶脱といった観点からも評価した。さらに、林内雨量と林内雨の主要無機イオンの空間的分布特性を検討するために、樹木に対する測定点を増やした観測も行なった。

3.1.2. 実験

調査は大山（北緯：35° 26' 15''、東経：139° 14' 04''、標高 1252 m、神奈川県伊勢原市）の標高 700 m に位置する大山阿夫利神社下社境内に生育するモミおよびスギ林で行った。下社は大山の中腹に位置し、伊勢原市街地の西北西 6.7 km、相模湾から約 15 km 離れた場所に位置する。

林外雨の採取器は横浜・大山の各 1 地点に設置した。大山のモミ・スギ林内雨については、採取器を樹幹近傍に各 4 地点、樹幹流については各 2 地点に設置した。また 2005 年 10 月 2 日から 11 月 14 日にかけて 2 本のモミ (M1、M2) を対象に林内雨の採取地点を増やして採取を行った。採取器を 1 方向毎に樹幹から約 1.5 m、3 m 間隔で 2 箇所ずつ、それぞれ北東・南東・西の 3 方向に計 6 箇所設置し、本来設置している樹幹近傍の採取器とあわせて、一つの樹木に計 7 個の採取器を設置した。

林外雨・林内雨の採取はポリプロピレン製ボトル (2 L) に、ポリカーボネート製のフィルターホルダー (ザルトリウス SM165-11、直径 80 mm) を装着した濾過式採取器 (直径 47 mm、孔径 1.0 μm のメンブランフィルターを装着) を用いて行った。フィルターを装着することにより、試料の蒸発を防ぐと共に、バクテリアやエアロゾルの混入が最小限に抑えられ、

主要無機イオンの採取期間中の変質はほぼ無視できる。採取期間中におけるボトル内での直射日光による試料の変質を極力避けるために、ボトルは木製ケースで遮光している。樹幹流の採取は、樹幹への損傷を最小限にするためにガーゼトラップ法で行った。試料回収時には採取された試料液の一部 (約 50 mL) をポリプロピレン製ボトルに移して研究室に持ち帰った。

採取した林外雨、林内雨、樹幹流は回収後、液量を測定し、直ちに孔径 0.45 μm メンブランフィルターを用いて吸引濾過して分析試料とした。吸引濾過は試料中の微生物による劣化や、精密測定機器への異物混入を防ぐために行った。

試料は一部を電気伝導度、pH 測定に供した後、主要無機イオンをイオンクロマトグラフ法、高周波誘導結合プラズマ発光分析法 (ICP-AES) によりそれぞれ分析した。また、全有機炭素 (TOC) および無機炭素 (IC) 濃度の測定は全有機炭素計を用いて分析した。

大山に林外雨降雨強度計を 1 台、モミ・スギに樹幹から約 1 m 離れた地点に林内雨降雨強度計を各 1 台設置し、それぞれ林外雨及び林内雨の降雨強度を測定した。

林内雨はその中に含まれる有機物についても分析した。その分析方法は次の通りである。

(1) 全糖、ウロン酸および中性糖の分析

降水中に溶解している糖類は微量であると考えられるので、定量分析を行うにあたって予め試料をロータリーエバポレーター (N-1000V-W、東京理化学器械製) で約 2 mL まで濃縮した。濃縮試料は分析機器に供するまで冷凍保存した (-20 °C)。

全糖、ウロン酸はフェノール硫酸法⁸⁾、m-ヒドロキシジフェニル法⁹⁾でそれぞれ測定した。還元糖は強酸 (一般に硫酸) で処理すると、脱水されてフルフラールまたはその誘導体となる。さらにフルフラールは、酸性条件下でフェノール類や SH 化合物、尿素、芳香族アミン等の試薬と反応して特有な色を呈する。こ

れら2法はこの反応機構に基づいている。

①フェノール-硫酸法

試料 0.5 mLに5%フェノール水溶液 0.5 mLを加え、さらに濃硫酸(96.0%) 2.5 mLをすばやく加えた後に均一になるようによく混合した。室温下で30分間放置後、紫外可視分光光度計(UV-265, UV-1700、島津製作所製)により490 nmの波長における吸光度 A_{490} を測定した。なお、標準試料としてD-glucose(MW=180.16)を使用し、全糖濃度 T_s は以下の式から算出した。

$$T_s(\mu\text{M}) = 91 \times A_{490} \times 10^3 \div (M \times W_{\text{glucose}})$$

②m-ヒドロキシジフェニル法

試料 0.5 mLに12.5 mM $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ 硫酸溶液 3.0 mLを加えすばやく均一に混合し、次いで熱水浴で5分間加熱した。再度氷冷後、0.15% m-ヒドロキシジフェニル+0.5% 水酸化ナトリウム混合液 50 μL を加え、紫外可視分光光度計(UV-265, UV-1700、島津製作所製)により520 nmの波長における吸光度 A_{520} を測定した。なお、標準試料として α -D-galacturonic acid(MW=180.16)を使用し、ウロン酸濃度 U_a は以下の式から算出した。

$$U_a(\mu\text{M}) = 111 \times A_{520} \times 10^3 \div (M \times W_{\text{galacturonic acid}})$$

高等植物細胞壁を構成している単糖類の主なものはHexoseとしてD-glucose、D-galactose、D-fructoseの3種、PentoseとしてL-arabinose、D-xyloseの2種、Methyl pentoseとしてL-rhamnose、L-fucoseの2種、ウロン酸としてD-galacturonic acid、D-glucuronic acidの2種である¹⁰⁾。ウロン酸を除く上記単糖類をガスクロマトグラフで分離定量するには、化学的に修飾して揮発性誘導体に変換することが必要である。現在、誘導体化するにあたって様々な方法が用いられているが、本研究ではアルジトールアセテート法を採用した¹¹⁾。

③アルジトールアセテート法

多糖類を構成している中性糖の種類と組成比を分析するにあたり、まずグリコシド結合を切断し(加水分解)、遊離単糖にする必要が

ある。試料は2Nトリフルオロ酢酸(TFA)で121℃、1h加水分解し、次いで水素化ホウ素ナトリウム(20 mg NaBH_4/mL 2N NH_3)を加え室温放置した。少量の酢酸を加え過剰の水素化ホウ素ナトリウムを分解した後に、メチルアルコールを加えての乾固を数回繰り返してホウ酸を除き、糖アルコールを得た。この糖アルコールに無水酢酸と1-メチルイミダゾールを加えアセチル化しアルジトールアセテートとした後にガスクロマトグラフ(GC-17A Ver. 3、島津製作所製)による分析に供した。なお、個々の成分定量は、内標準法により行い、内標準物質としてmyo-inositolを使用した。

3.1.3. 結果と考察

3.1.3.1. 組成

図3.1に2005年の横浜と大山の林外雨、そしてモミ及びスギの林内雨と樹幹流の平均組成を示した。横浜の林外雨の組成は、陽イオンでは $\text{NH}_4^+ = \text{Na}^+ > \text{H}^+ > \text{Ca}^{2+} > \text{Mg}^{2+} > \text{K}^+$ 、陰イオンでは $\text{SO}_4^{2-} > \text{Cl}^- > \text{NO}_3^-$ の順に濃度が高かった。一方、大山の林外雨は $\text{H}^+ > \text{NH}_4^+ > \text{Na}^+ > \text{Ca}^{2+} > \text{K}^+ = \text{Mg}^{2+}$ 、陰イオンでは $\text{SO}_4^{2-} > \text{Cl}^- > \text{NO}_3^-$ の順に濃度が高かった。大山でも横浜と同様の組成を示していることがわかる。総イオン濃度は横浜が高く、発生源が近くにあること、そして大山に比べ降水量が少ないことによるものと考えられる。

モミ林内雨は陽イオンでは $\text{K}^+ = \text{Ca}^{2+} > \text{Na}^+ > \text{Mg}^{2+} > \text{NH}_4^+ > \text{H}^+$ 、陰イオンでは $\text{Cl}^- > \text{SO}_4^{2-} > \text{NO}_3^-$ の順に濃度が高かった。スギ林内雨では $\text{Ca}^{2+} > \text{Na}^+ = \text{K}^+ > \text{Mg}^{2+} > \text{H}^+ > \text{NH}_4^+$ 、及び $\text{Cl}^- > \text{SO}_4^{2-} > \text{NO}_3^-$ の順であった。組成、降水量、総イオン濃度(沈着量)は樹種による大きな違いは見られなかった。林内雨は林外雨に比してイオン濃度が高いが、これは霧水沈着、ガス・エアロゾルによる樹幹への乾性沈着によるものと考えられる。 H^+ の割合が林外雨に比べ減少している一方、 K^+ 、 Mg^{2+} 、 Ca^{2+} の割合は増加している。

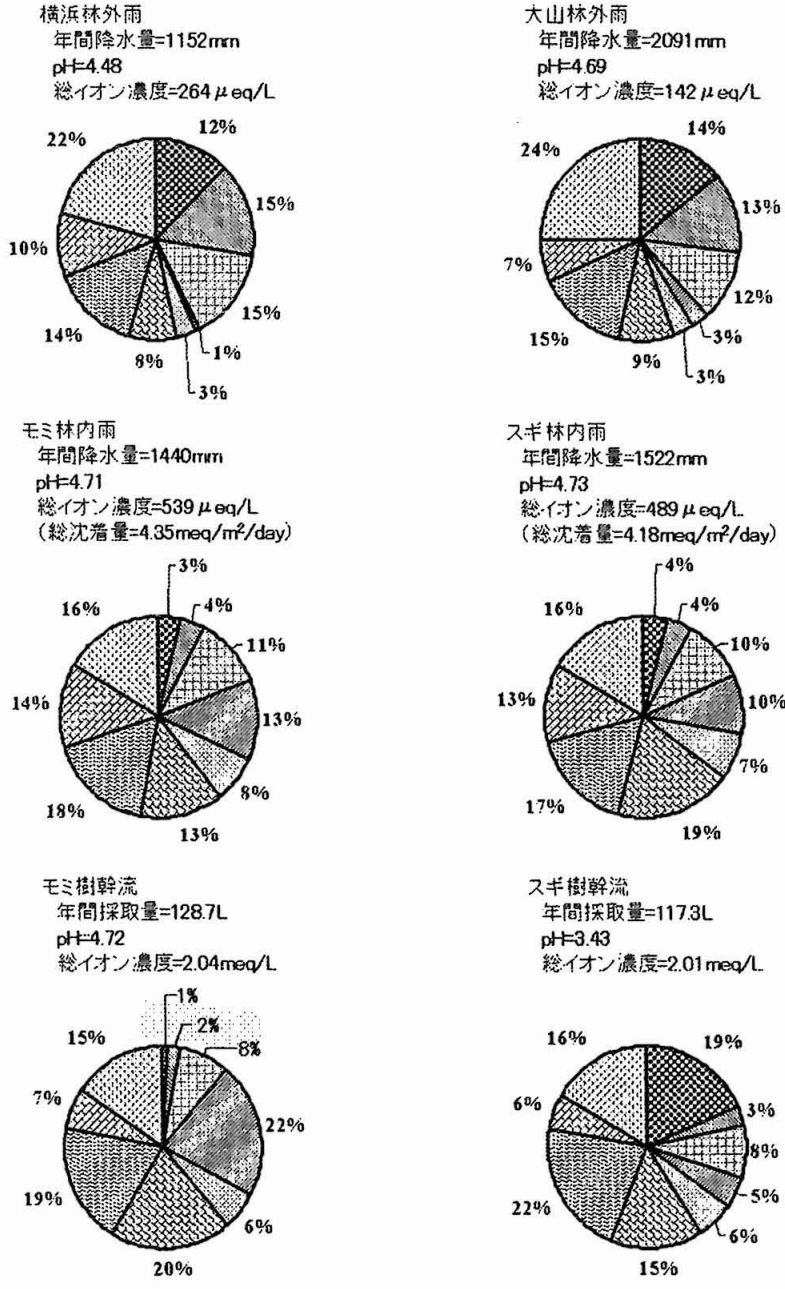
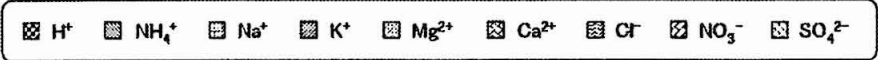


図 3.1 2005 年の横浜と大山の林外雨、モミとスギの林内雨と樹幹流の平均組成

これは葉上での H^+ と K^+ 、 Mg^{2+} 、 Ca^{2+} のイオン交換反応に起因するものと考えられる。

モミ樹幹流については陽イオンでは $K^+ > Ca^{2+} > Na^+ > Mg^{2+} > NH_4^+ > H^+$ 、陰イオンでは $Cl^- > SO_4^{2-} > NO_3^-$ の順に濃度が高かった。林内雨と比較して K^+ 、 Mg^{2+} の増加が見られる。一方、スギ樹幹流では $H^+ > Ca^{2+} > Na^+ > Mg^{2+} > K^+ > NH_4^+$ 、及び $Cl^- > SO_4^{2-} > NO_3^-$ の順に濃度が高く、特異的に H^+ の割合が大きかった。その原因として樹幹からの H^+ の溶脱、水分蒸発による樹幹流の濃縮、樹幹への酸性物質の乾性沈着、さらにこれらの複合影響である可能性が高いが¹²⁾、モミ樹幹流との比較から H^+ の溶脱が大部分を占めていると考えられる。

3.1.3.2. 経年・季節変化

1994年から2005年の期間における横浜と大山の林外雨の降水量、pH、主要無機イオン濃度の経年変化を図3.2に示した。モミとスギの林内雨及び樹幹流の経年変化を図3.3、図3.4に示した。

2000年、2001年では三宅島の火山ガスの影響による樹幹への酸性物質の沈着のために林内雨、樹幹流のpHの低下がみられる。横浜、大山の林外雨の経年変化を見るとイオン当量濃度にはあまり変化が見られないものの若干のpHの低下がみられる。

2003年、2004年、2005年の冬季(12月~2月)、春季(3月~5月)、夏季(6月~8月)、秋季(9月~11月)の季節変化を、横浜と大山の林外雨、モミ及びスギの林内雨と樹幹流について、それぞれ図3.5、3.6、3.7に示した。横浜と大山の林外雨を比較すると、総イオン濃度は横浜で高く、これは発生源が近くにあるためである。pHはともに夏に低く、冬に高い傾向があり、ガス成分の HNO_3 、 HCl 濃度が増加しているためであると考えられる。林内雨のpHは夏に高く、冬に低い傾向を示しており、林外雨と異なる挙動を示している。これは主に樹木の成長期に相当する春から秋にかけて H^+ の消費によるものといえる¹³⁾。モミ樹幹流では春に K^+ 濃度が高くなり、スギ樹

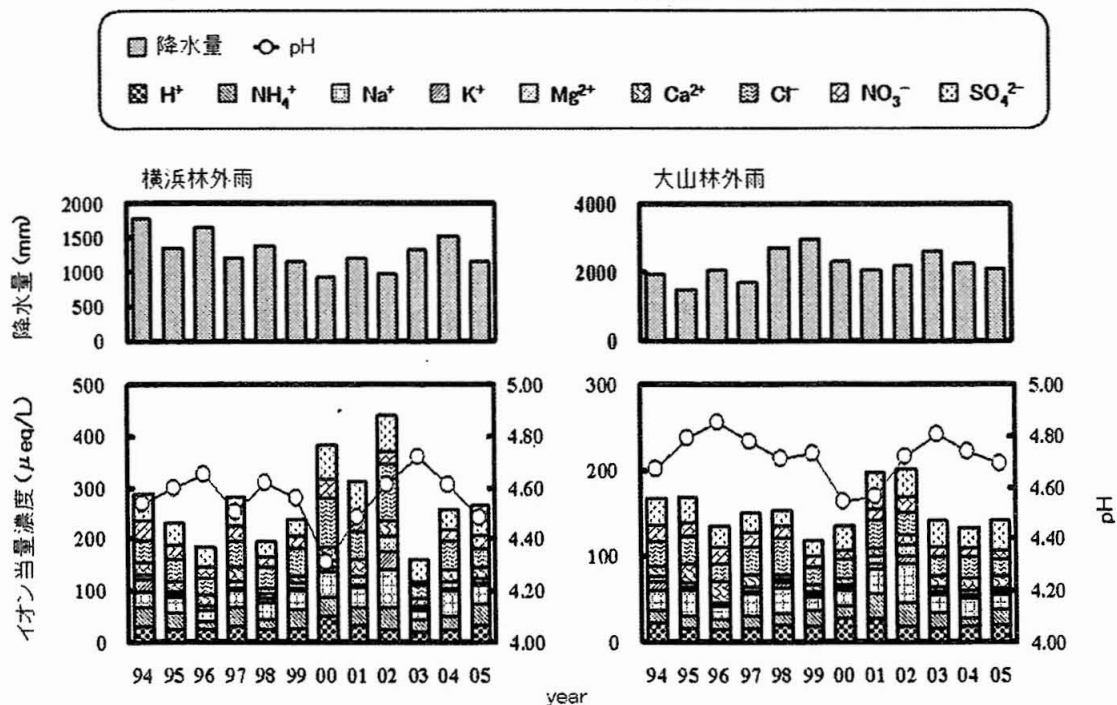


図 3.2 1994 年から 2005 年の横浜と大山の経年変化

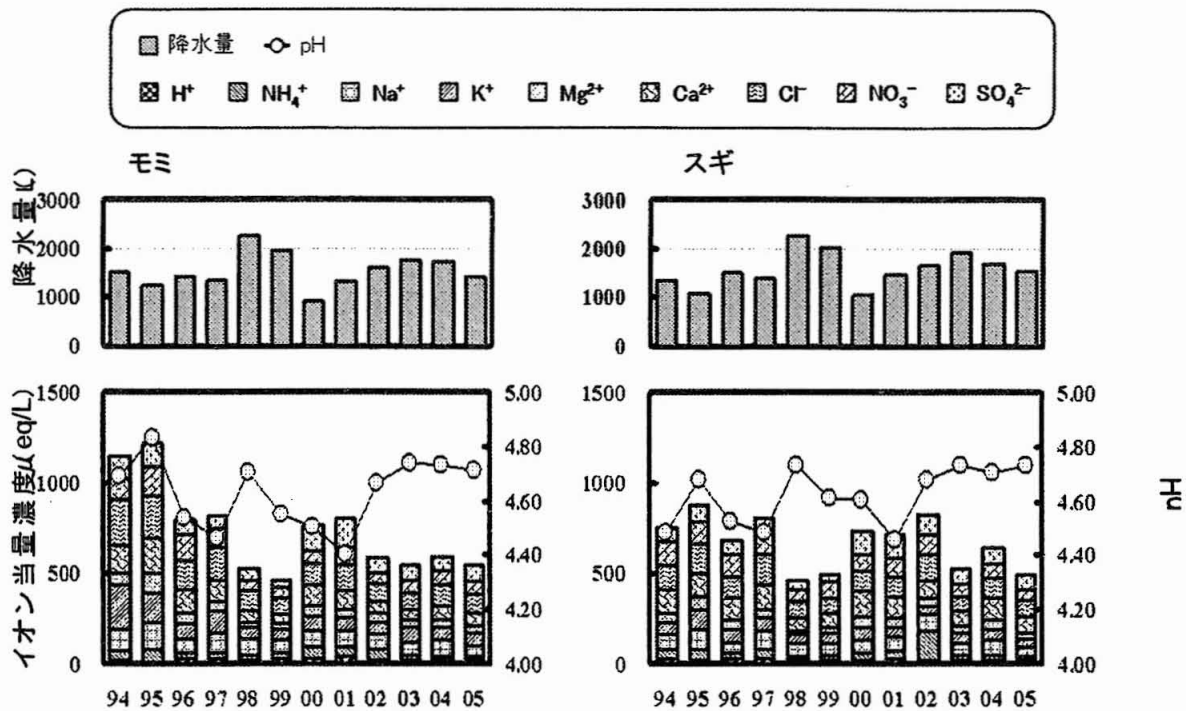


図 3.3 林内雨の経年変化

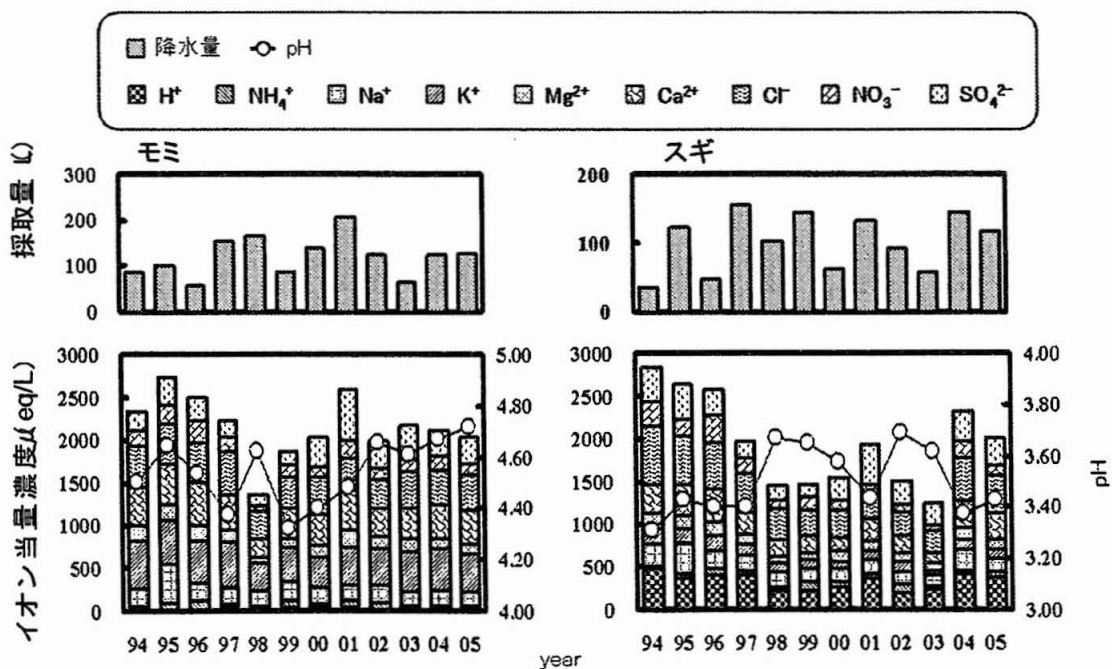


図 3.4 樹幹流の経年変化

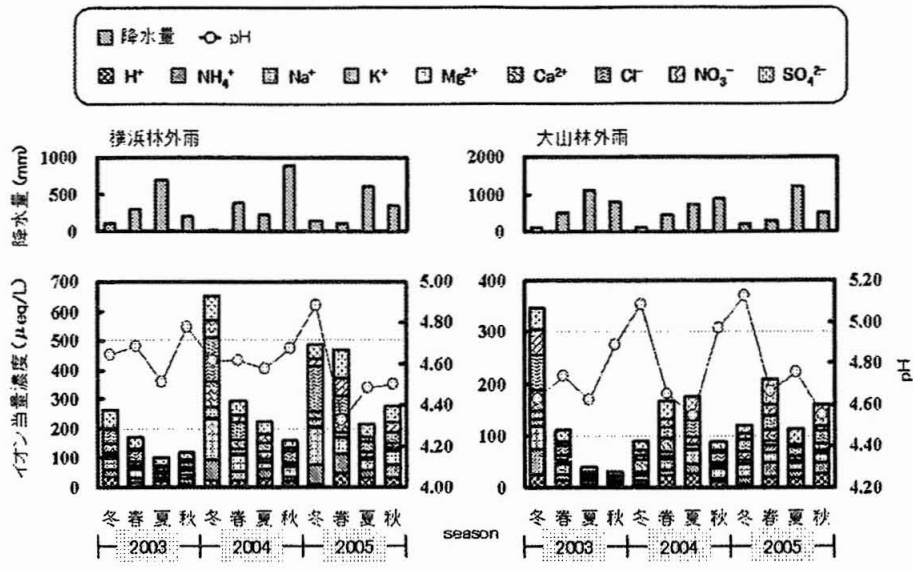


図 3.5 横浜と大山の林外雨

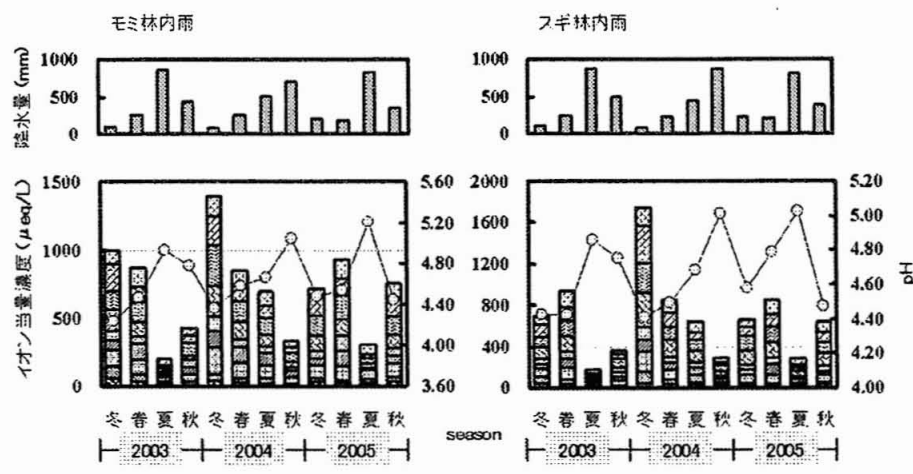


図 3.6 モミとスギの林内雨

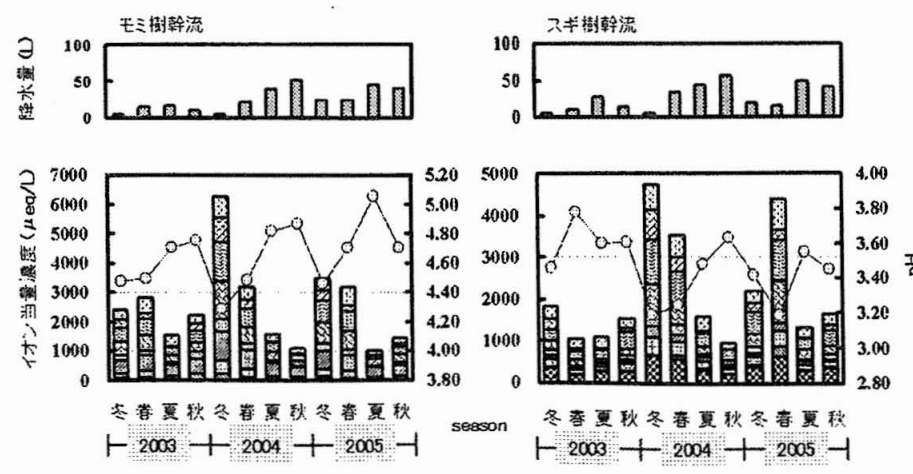


図 3.7 モミとスギの樹幹流

幹流ではH⁺濃度が高くなる傾向にある。多くの場合に、総濃度が冬季に高い傾向にあるのは降水量が少なく、降雨の洗浄効果が低いことによるものであろう。

3.1.3.3. 降水中の有機物

(1) 中性糖濃度とその組成

最近の研究によると、植物の必須元素であるホウ素は、細胞壁に存在するペクチン質多糖類の一つである Rhamnogalacturonan-II (RG-II) と結合して存在していることが明らかにされている。ペクチン分子は Ca²⁺により架橋されることで細胞壁構造をより安定化させる。これらの成分は、酸性沈着物に含まれるH⁺とのイオン交換反応により樹冠から溶脱することが考えられる。そこでまず、フィールドにおける樹木から糖成分が溶脱しているかを確認するため、大山中腹で2004年1月から12月までに採取された降水試料について高等植物細胞壁を主に構成している7種の中性糖 (L-rhamnose, L-fucose, L-arabinose,

D-xylose, D-mannose, D-galactose および D-glucose) とウロン酸 (D-galacturonic acid) 濃度の調査を行った。図3.8に中性糖濃度とその組成を降水形態別に示す。林内雨および樹幹流では、樹種に関係なくD-mannose, D-galactose および D-glucose が高い割合で検出されており、全体の約60%を占めた。これらはとりわけ針葉樹に多く含まれる代表的な単糖類であるため、樹木からの溶脱に起因していると考えられる。また、樹幹に沿って流下する樹幹流における全中性糖濃度は、枝葉から森林床へ落下する林内雨よりもモミで3.3倍、スギで4.5倍ほど高い。この差異は主に樹木との接触時間に関連していると考えられ、先に示した主要無機イオンと同様の傾向が見られた。また、林外雨についても中性糖は検出されたが、その総濃度は林内雨の約30%程度であり、D-glucose の占める割合が相対的に高かった。

表3.1に、林外雨および林内雨中の中性糖濃度間の相関係数を示した。林外雨に比して

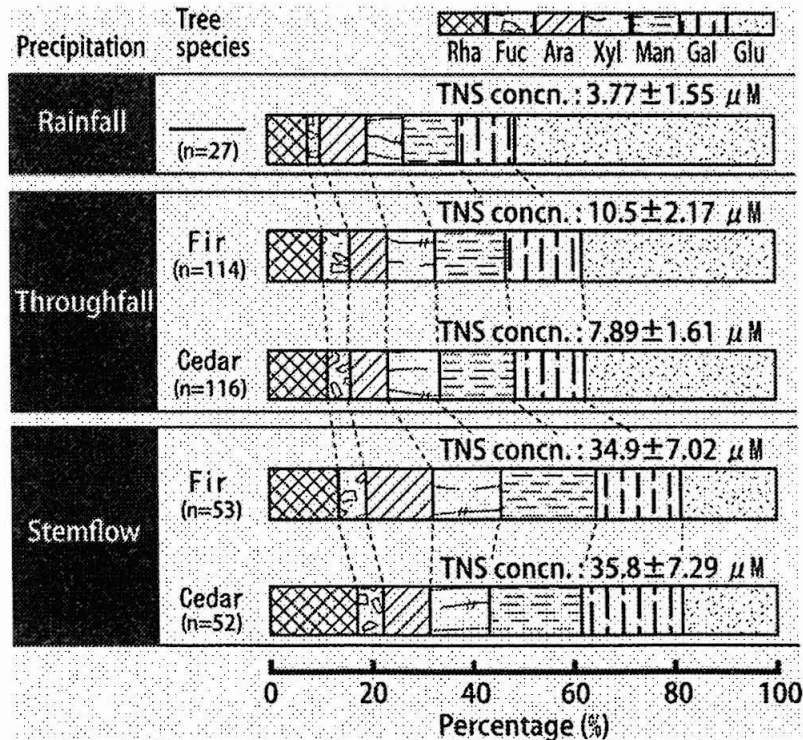


図 3.8 降水形態別の中性糖濃度とその組成

林内雨で比較的高い相関係数が多くなっており、これより中性糖は単糖類としてではなく2種類以上の単糖類が結合した複合多糖類として葉から溶脱していることが分かる。本研究で使用しているアルジトールアセテート法は、異なる位置のグリコシド結合を有する多糖の場合でも、構成単糖が同じであれば同一のアルジトールアセテート誘導体を与えるため、結合位置の決定まではできない(結合位置の決定には、酸加水分解処理前にグリコシド結合に与らない水酸基を酸やアルカリに対して安定なメトキシ基に置換する必要がある)。このため確認することはできないが、ヘミセルロースの一部である Glucomannan (D-glucose と D-mannose が 1 : 2 で結合)や D-galacto-D-gluco-D-mannan (D-galactose、D-glucose および D-mannose が結合)として溶脱していると考えられる。

(2) 溶存有機炭素に占める中性糖、ウロン酸の割合

図 3.9 に、溶存有機炭素(Dissolved organic carbon, DOC)に占める中性糖、ウロン酸の割合を示した。DOC は樹幹流で最も高く、林内雨に比べモミで8倍、スギで6倍の値であり、このような DOC 濃度の形成過程は、樹冠表面に蓄積した濃度、林外雨降水量および接触時間で決定される¹⁴⁾。本研究の対象物質である糖(中性糖+ウロン酸)が DOC に占める割合は林外雨で 39%と高く、樹冠部を通過した降雨ではその割合が減少した。残りの DOC は明らかではないが、植物由来の様々な成分(有機酸、アミノ酸、シキミ酸など)が含まれていると考えられる。

(3) 降水中の全中性糖濃度とウロン酸濃度の関係

図 3.10 に示すようなペクチン質多糖類において、ウロン酸である D-galacturonic acid は直鎖で α -(1 → 4) 結合した Homogalacturonan として存在している。また、

Homogalacturonan に結合している4つの側鎖を構成する糖は、本研究で対象としている7種の中性糖である。そこで、降水試料中の全中性糖濃度とウロン酸濃度の関係を調べ図 3.11 に示した。林内雨、樹幹流ではいずれの樹種においてもその相関係数は高くなっており(0.900 以上)、このことは植物細胞壁からの成分溶脱過程が類似していることを示唆している。ウロン酸は植物細胞壁の言わば“原料”であり、一次壁に多く存在するペクチン質の合成に必要な成分である。酸性沈着物が引き起こすウロン酸溶脱は、ペクチン質を減少させるだけでなく、細菌類など植物病理的な外敵の侵入をも増加させる可能性がある。

(4) 中性糖、ウロン酸溶脱量の季節変化

図 3.12 に林内雨で観測された中性糖およびウロン酸溶脱量の季節変化を示した。ここで、冬季は12月～2月、春季は3月～5月、夏季は6月～8月、秋季は9月～11月とした。スギ林内雨では、春季から冬季にかけて中性糖溶脱量にあまり変化は見られないが、モミ林内雨では、他の季節に比べ春季にその量が相対的に増加した。また、ウロン酸溶脱量についてはモミ、スギ共に春季に増加し特にモミで顕著だった。植物体の生長期に当たる春季は、植物細胞壁内でも細胞分裂が盛んとなる。このため、中性糖、ウロン酸溶脱量が飛躍的に増加したのと考えられる。

(5) 降雨強度と中性糖、ウロン酸濃度との関係

図 3.13 に林内雨における降雨強度範囲毎の成分濃度を示した。ここに示した降雨強度値は、林内雨降雨強度計ではなく林外雨降雨強度計のデータを使用した。図より、降雨強度が弱まるにつれ、中性糖、ウロン酸、金属イオンおよびホウ素の濃度は高くなる傾向にあった。降雨強度が弱い場合、雨水が樹冠に接触している時間は長くなるため、葉上でのイオン交換反応による栄養塩類の溶脱は促進

表 3.1 林外雨および林内雨中の中性糖濃度間の相関関係

	Rha	Fuc	Ara	Xyl	Man	Gal	Glu	DOC
Rha	1.000							
Fuc	0.412	1.000						
Ara	0.783	0.218	1.000					
Xyl	0.796	0.406	0.704	1.000				
Man	0.983	0.427	0.733	0.812	1.000			
Gal	0.976	0.444	0.711	0.773	0.985	1.000		
Glu	0.149	0.840	0.193	0.221	0.126	0.167	1.000	
DOC	0.138	0.762	0.059	0.179	0.154	0.142	0.757	1.000

	Rha	Fuc	Ara	Xyl	Man	Gal	Glu	DOC
Rha	1.000							
Fuc	0.891	1.000						
Ara	0.959	0.811	1.000					
Xyl	0.953	0.915	0.924	1.000				
Man	0.962	0.834	0.967	0.939	1.000			
Gal	0.953	0.814	0.982	0.944	0.983	1.000		
Glu	0.837	0.823	0.782	0.852	0.824	0.813	1.000	
DOC	0.685	0.555	0.560	0.693	0.653	0.601	0.559	1.000

	Rha	Fuc	Ara	Xyl	Man	Gal	Glu	DOC
Rha	1.000							
Fuc	0.945	1.000						
Ara	0.952	0.855	1.000					
Xyl	0.934	0.895	0.961	1.000				
Man	0.960	0.870	0.978	0.964	1.000			
Gal	0.952	0.858	0.977	0.961	0.982	1.000		
Glu	0.818	0.742	0.869	0.835	0.868	0.882	1.000	
DOC	0.603	0.505	0.675	0.662	0.732	0.642	0.629	1.000

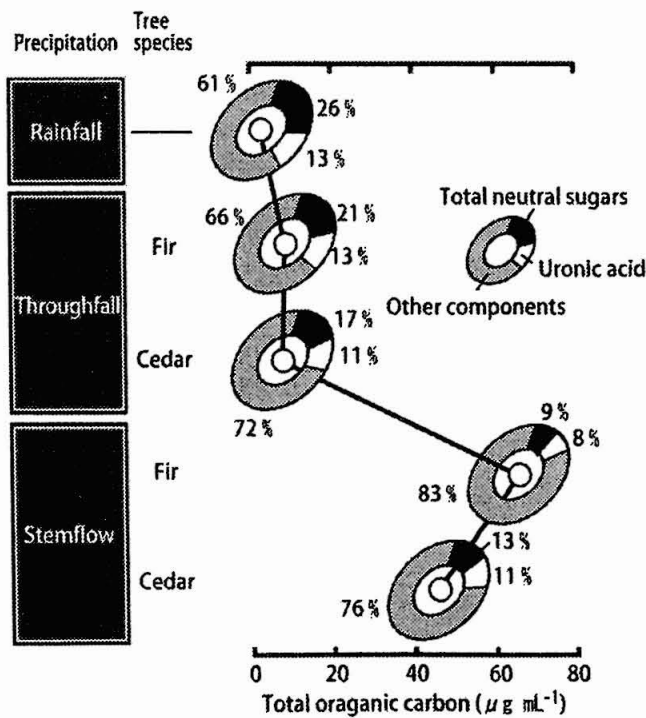


図 3.9 溶存有機炭素に占める中性糖、ウロン酸の割合

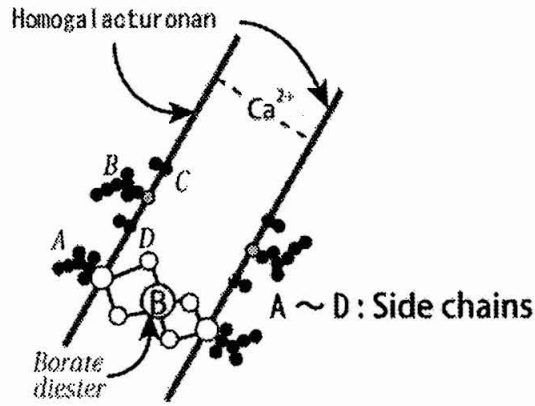


図 3.10 ペクチン質多糖類

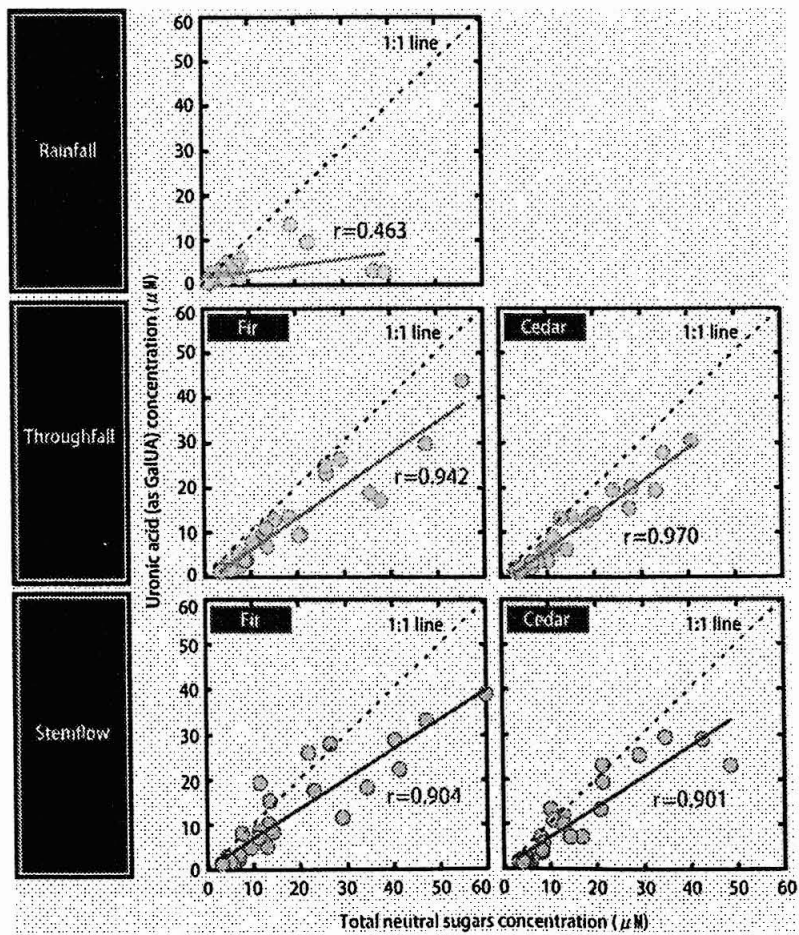


図 3.11 降水試料中の全中性糖濃度とウロン酸濃度の関係

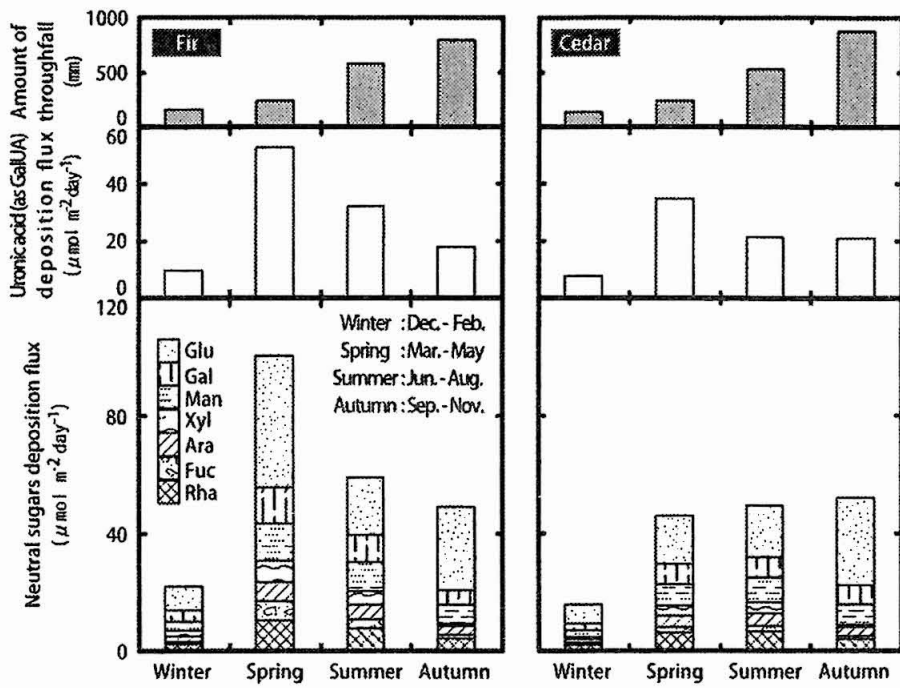


図 3.12 中性糖およびウロン酸溶脱量の季節変化

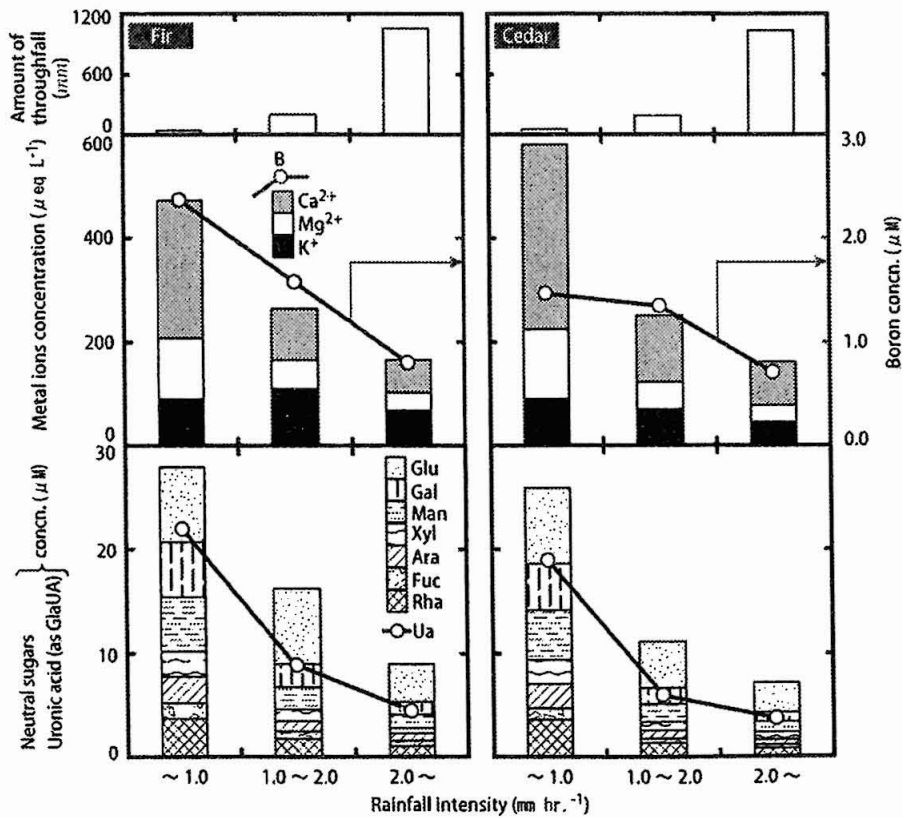


図 3.13 林内雨における降雨強度範囲毎の成分濃度

されるものと考えられる。

(6) グルコースの起源

これまで、大山で採取した降水中の中性糖分析の結果について述べてきた。林内で得られた降水には、植物体由来の複合多糖類が含まれており、その濃度は酸性度の増加に伴い上昇することが明らかとなった。これを構成している単糖類の種類とその組成比を調査するため、トリフルオロ酢酸でグリコシド結合を加水分解した。しかしながら、この操作では雨水に元来含まれている単糖類をも測定してしまい正確な評価ができない。ここでは、その単糖類を測定するため、通常の中性糖分析法から酸加水分解処理を省き、アセチル化した後にガスクロマトグラフで測定を行った。なお、成分分析は2005年8月から12月までに採取した降水試料を対象とした。

林外雨で多く検出されたD-glucoseは、その大部分が植物以外の起源であることが予想される。これを検討するために、降水中で検出されたD-glucoseを複合多糖類由来(From poly-saccharide, FP)と単糖類由来(From mono-saccharide, FM)に分け、その結果を図

3.14に示した。その結果、FPは林外雨よりも林内雨および樹幹流でその割合は増加していたが、FMの割合は降水形式に関わらずほぼ一定を保っていた。

3.1.3.4. 林内雨成分の支配要因

(1) NO₃⁻沈着量と各成分溶脱量の比較

森林樹冠への大気汚染物質の沈着が樹冠に及ぼす影響を定量するために、大気汚染物質の指標にNO₃⁻を用いて無機イオン沈着量との関係を考察した。H⁺は樹木から金属イオンが溶脱する際に消費されてしまうため、正確な酸性度の指標とならない。図3.15にモミ、スギ林内雨のNO₃⁻沈着量と無機イオン沈着量の関係をそれぞれ示した。

モミ、スギ共にCa²⁺及びMg²⁺沈着量はNO₃⁻沈着量と正の相関を示した。Na⁺及びK⁺沈着量はNO₃⁻沈着量に対して相関が小さかった。Ca²⁺及びMg²⁺はNO₃⁻の沈着によって樹冠からの溶脱が促進されているといえる。Na⁺は海塩を由来とするためNO₃⁻沈着量との相関は小さかった。K⁺は樹冠から溶脱したものではあるが、大気汚染物質以外の別の因子の影響を強く受

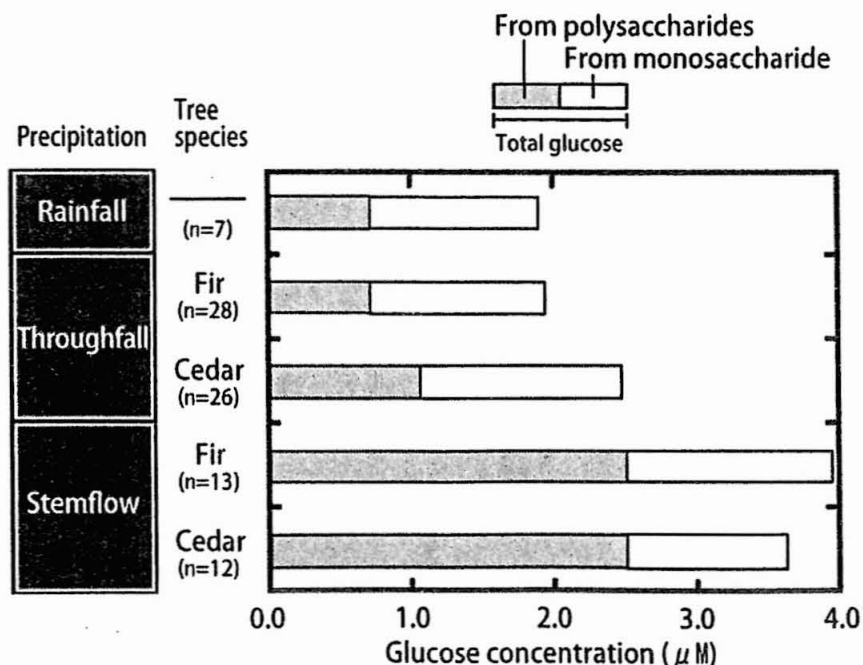


図 3.14 降水中 D-glucose の由来による分類

けていると考えられる。

図 3.16 に林内雨中の中性糖、ウロン酸、金属イオンおよびホウ素濃度を pNO_3^- の一定範囲毎に示した。金属イオンの溶脱量については、総沈着量の指標としての Na^+ 濃度に対する比として表示したが、これは以下の 2 点の理由に基づく。

- ・ Na^+ もまた樹木から溶脱するが、その量は Ca^{2+} に比べてごく僅かである

- ・ Na^+ は林外雨、霧水およびエアロゾルに含まれており、酸成分の負荷が多いときは全ての成分濃度が高くなる傾向にある

図より、 NO_3^- 濃度の変動が中性糖溶脱量に大きな影響を及ぼしていると推測される。特に pNO_3^- : 3.5~3.0 の範囲で顕著であり、4.0~3.5 の範囲に比べモミで約 2.91 倍、スギで約 2.89 倍の上昇となった。この事は pNO_3^- : 4.0~3.0 間に境界値が存在していることを示唆している。なお、 pNO_3^- の低下にあまり影響がない成分もあり、L-fucose や D-xylose がこれに該当する。このような差が生じる理由としては、現在のところ明確ではないが、元の構成多糖の存在形態によるものと考えられる。

また、これまでの研究より、 pNO_3^- の低下は

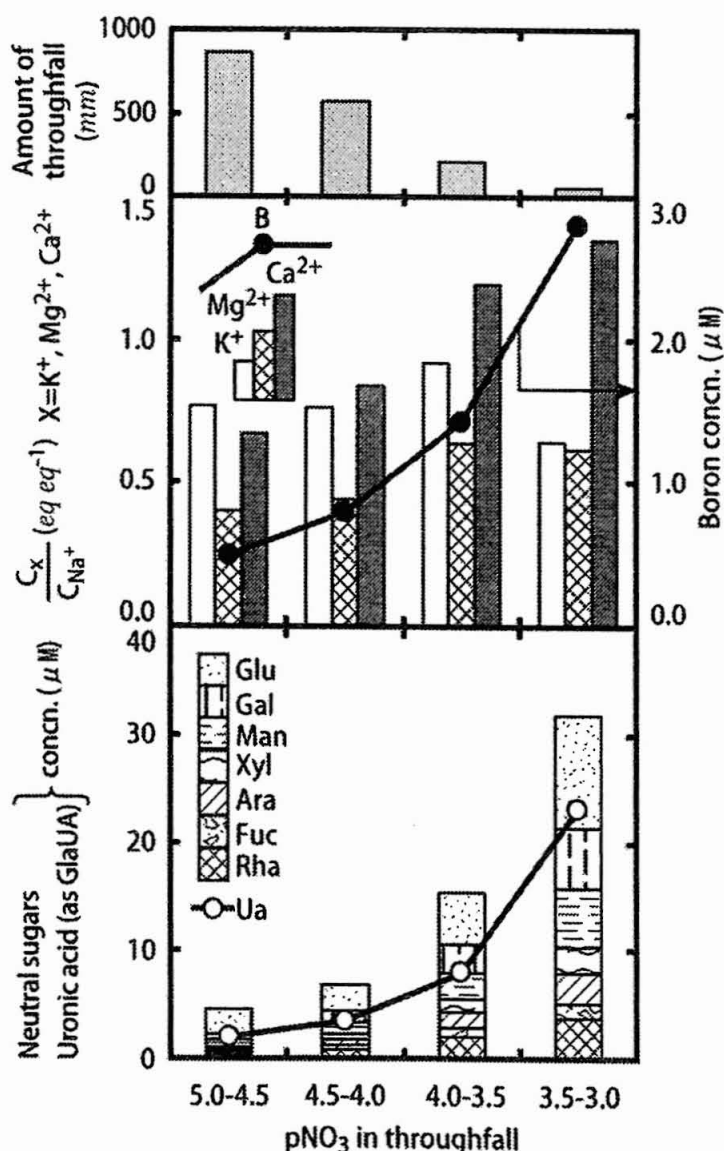


図 3.16 林内雨中の中性糖、ウロン酸、金属イオン及びホウ酸濃度と pNO_3^- の関係

林内雨中の Ca^{2+} 濃度を増加させることが明らかとなっているが¹⁵⁾、それと関連深いホウ素や中性糖、ウロン酸濃度も増加する傾向にあった(スギについては pNO_3 と $\text{Ca}^{2+}/\text{Na}^+$ の相関性があるものの、モミのそれと比べ低い結果となった(表 3.2))。この時の降水量は他に比べ少ないことから、樹冠付着時間や霧などによる影響が考えられる。葉中のホウ素要求量は、開花期などの生殖生長期に特に高くなり、それが欠如すると生長が停止することが報告されている¹⁶⁾。また、Ishii らは、ホウ素欠乏した培地でカボチャを水耕栽培させたところ、葉の細胞壁の肥厚が正常なものに比べ膨潤していることを確認した(図 3.17)¹⁷⁾。この膨潤は、細胞壁密度の増加に起因するのではなく、dRG-II-B のホウ酸エステル架橋欠如によるものである。このようなことから、酸性沈着物質が引き起こす葉内成分の溶脱は、樹種に関わらず植物の持つ生理学的機能を低下させていることが予想される。

表 3.2 スギ、モミにおける pNO_3 と各々との相関性

	Tree species	$\frac{\text{Ca}^{2+}}{\text{Na}^+}$	Boron	TNS	Ua
pNO_3	Fir	0.722	0.628	0.731	0.759
	Cedar	0.644	0.637	0.835	0.820

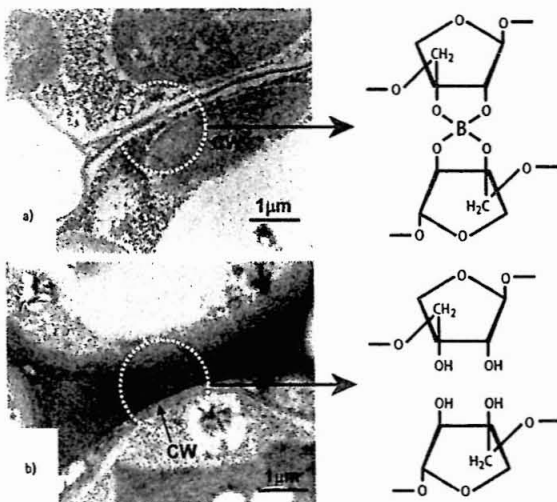


図 3.17 葉の細胞壁の肥厚の膨張

図 3.18 には、酸性度の指標である pNO_3 と複合多糖類由来 D-glucose (From polysaccharide, FP, ○, line A) と単糖類由来 D-glucose (From monosaccharide, FM, △, line B) との関係を示した。測定樹種毎に示した。 pNO_3 の低下に伴い FP は増加する傾向にあり、特にモミでその傾向は強かった。対照的に、FM は全体的にデータにバラツキが大きかった。以上のことから、FM は主にエアロゾルのような粒子状物質の起源によるものと考えられる。

(2) 林外雨降水量と林内雨沈着量との関係

樹冠からの溶脱を支配する要因として降水量が考えられる。図 3.19 に林外雨の降水量とモミ林内雨成分の沈着量の関係を示した。また、図 3.20 に林外雨降水量とスギ林内雨成

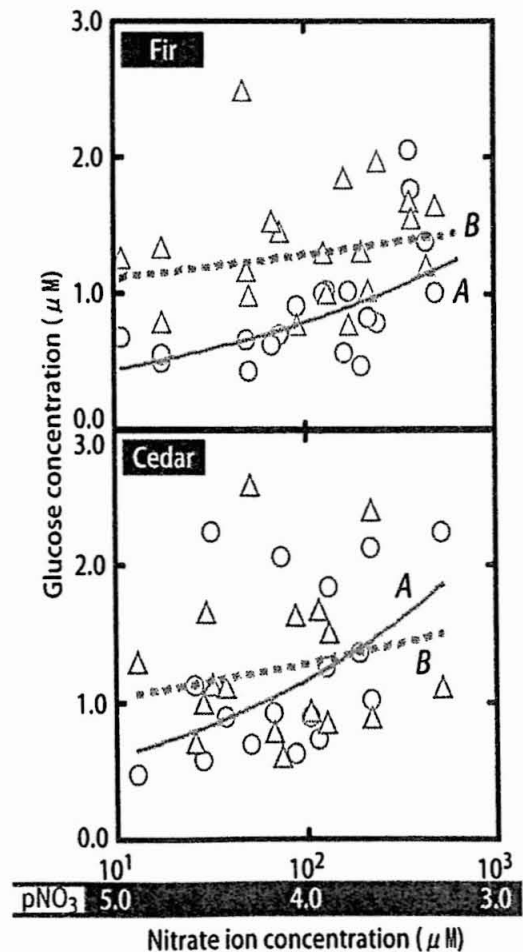


図 3.18 pNO_3 と複合多糖類由来および単糖類由来グルコース濃度の関係

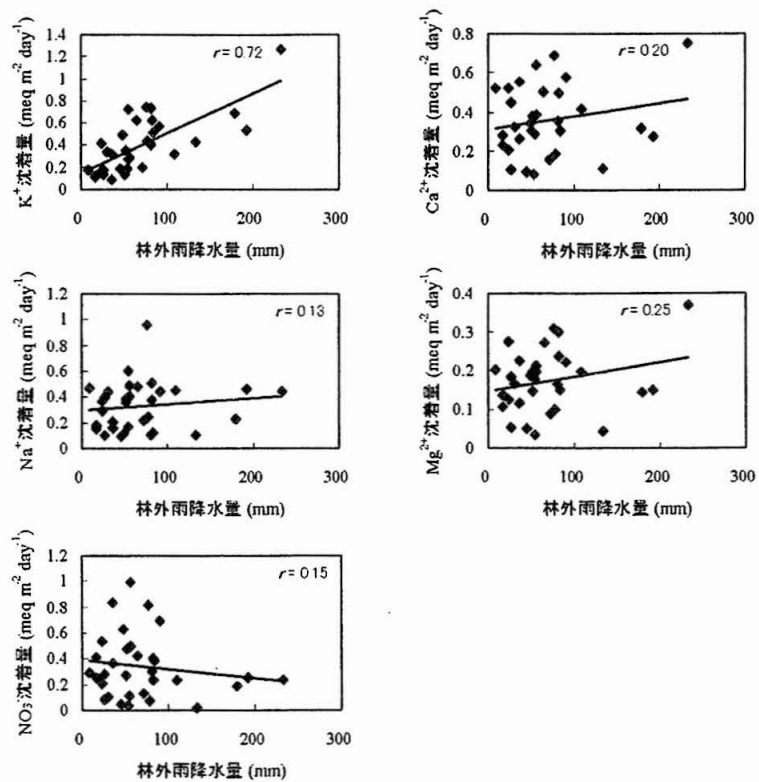


図 3.19 林外雨の降水量とモミ林内雨成分の沈着量の関係

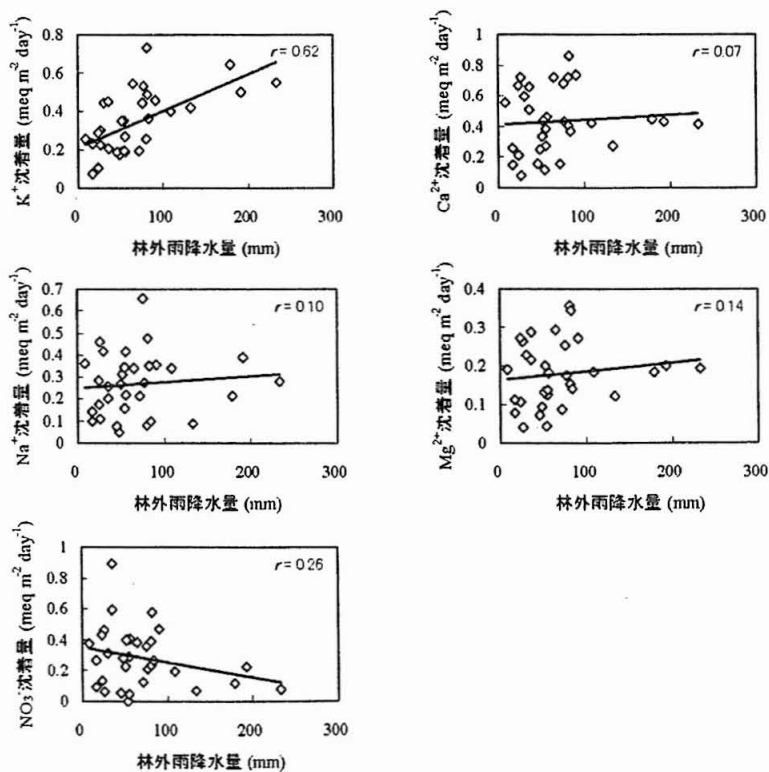


図 3.20 林外雨降水量とスギ林内雨成分の沈着量の関係

分の沈着量の関係を示した。ここでは、林外雨を降水量の影響を検討するための比較対象とした。林内雨の降水量は樹冠に沈着した霧水による増加、樹冠上での蒸発による減少、枝から樹幹を伝い樹幹流になることによる減少などで林外雨の降水量から増減する。そのため、樹冠に対する接触や洗浄の効果を評価するためには林外雨の降水量を用いることが適切であると考えられる。

モミ、スギ共に林外雨の降水量と K^+ 沈着量の間には正の相関がみられた。一方、 Ca^{2+} 、 Na^+ 、 Mg^{2+} 及び NO_3^- はそれぞれ降水量に対する相関はみられなかった。 K^+ と降水量の関係は、 K^+ の溶脱が枝葉と降水の接触により促進されることによると考えられる。Likens らは、降水量が K^+ の正味の溶脱量の予測に使える唯一の変数であり、乾性沈着期間や雨の酸性度との相関はないと報告している¹⁵⁾。しかし、本研究室における植物枝葉への擬似酸性霧の暴露実験において、暴露溶液の pH が小さいときには K^+ の溶脱が促進されているという結果が得

られている。また、林内雨の NO_3^- 沈着量が増加するときも K^+ 沈着量が増加する傾向がある。従って、 K^+ の溶脱は降水量が主要な支配要因となっているものの、酸性沈着物の影響も受けているといえる。

K^+ 沈着量についてモミとスギとの間で比較すると、モミの方が同じ降水量に対して沈着量が大きくなる傾向があった。従って、スギよりモミの方が K^+ の溶脱が起こりやすいと考えられる。

(3) 無機イオン濃度と DOC 濃度との関係

植物枝葉からは無機イオンの他に有機酸や中性糖などの有機化合物も溶脱している。そこで図 3.21 に、モミ、スギ林内雨における無機イオン濃度と DOC 濃度との関係を示した。モミ、スギ共に K^+ 濃度と DOC 濃度との間に正の相関がみられた。モミ林内雨の Ca^{2+} 及び NO_3^- 濃度と DOC 濃度との間にも相関がみられた。一方、スギ林内雨の Ca^{2+} 及び NO_3^- 濃度と DOC 濃度との間では相関が小さかった。 K^+ 濃

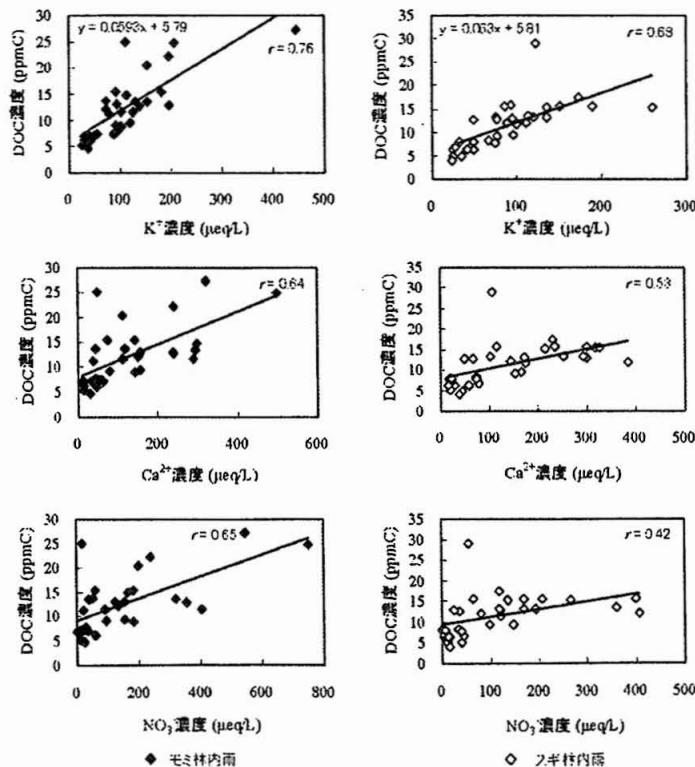


図 3.21 モミ・スギ林内雨における無機イオン濃度と DOC 濃度との関係

度と DOC 濃度の間に相関が認められたことから、樹冠から有機酸が溶脱する際に K^+ が対イオンとして溶脱している可能性が示唆される。

一方、 K^+ 濃度に対して DOC 濃度をプロットした図において回帰直線の y 軸の切片は、モミ、スギ共に 5.8 に近い値を示した。また、林内雨試料個別の DOC 濃度の最低値についてもモミで 4.023、スギで 3.043 (ppmC) を示した。従って、 K^+ と有機酸が対になって溶脱することとは別の機構による有機物の溶脱も考えられる。例えば、樹幹流や林内雨にはグルコースに代表される中性糖類が豊富に含まれており、林内雨中では DOC の 7-8% を占めている。しかし、林内雨の DOC の化学組成については十分解明されていない。

K^+ 濃度と DOC 濃度の関係をモミとスギとの間で比較すると、回帰直線における切片、傾きに大きな差はなかった。従って、 K^+ と有機酸の溶脱挙動に樹種間の差はないものと考えられる。

3.1.3.5. 樹冠通過率とその支配因子

林内雨と樹幹流による物質降下量、樹冠上での降雨の蒸発を明らかにすることは、森林生態系へ沈着する酸物質量を把握するだけでなく、酸性降下物が植生、土壌および物質循環過程へ及ぼす影響を明らかにする上で重要である。ここでは、降雨強度計を用いてスギ、モミを対象に樹幹通過率とその支配因子を検討した結果について示す。

○降雨の樹冠通過率

森林樹冠に降り注ぐ降水は、林内雨・樹幹流として林床に達するもののほか、樹冠上で蒸発するものもある。降水がそれらの過程にどの程度移行するのかを明らかにするとともに、樹冠への霧の寄与を明らかにする目的で、モミとスギそれぞれの林内雨と林外雨との関係を霧発生時・霧非発生時と分け、図 3.22 に示した。

全降水試料から、モミでは 80% が林内雨に

なると言える ($r=0.92$)。5-10% が樹幹流になる¹⁹⁾と報告されているので、葉上の蒸発は 10-15% に相当するものと考えられる。またスギでは 69% が林内雨になり ($r=0.91$)、葉上の蒸発は 21-26% に相当するものと考えられる。葉上の蒸発が降雨の 10% あるいは 20% の割合で行われるものであるなら、汚染物質が樹冠上で濃縮され、降雨による樹木へのダメージはそれだけ大きくなると予想される。

なお、林内雨量は対象木の樹冠が隣接木の樹冠と重なっている場合、樹幹からの距離で異なる分布が示されるが、この採取点では隣接木の影響を考慮する必要はない。また、林外雨が樹幹流となる割合の 5-10% はスギについての報告値であるが、この樹幹流についても樹種、降雨強度、樹高、樹葉の密度などの要因により、その液量は変化するものと考えられる。例えば、樹肌が平滑の樹種は樹肌が粗の樹種よりも樹幹流下量が多い。モミはスギよりも樹肌が粗のため、樹幹流として観測される割合 5-10% を下回ると予測される。

次に霧の寄与について検討する。モミを対象とした場合、降雨の樹冠通過率は霧発生時では 85% ($r=0.91$)、霧非発生時 (降雨のみの樹冠通過率) では 65% ($r=0.92$) であり、この 20% の差は霧水の林内雨への寄与と考えられる。スギを対象とした場合も、霧発生時では 83% ($r=0.87$)、霧非発生時では 63% ($r=0.93$) であり、この 20% の差は霧水の林内雨への寄与と考えられる。このことから霧水の寄与はモミ・スギいずれも 20% であった。

3.1.3.6. 樹冠の特性

降雨の樹冠捕捉量と、林外雨と比較した林内雨の観測時間の遅れについてモミとスギを対象に比較した結果を図 3.23 に示す。林内雨観測時間の遅れは林内雨が観測され始めた時間から林外雨が観測され始めた時間との時間差を、樹冠捕捉量は林内雨が観測され始めた時点までの林外雨量を示している。スギはモミより樹冠捕捉量が多い。このことは葉上の

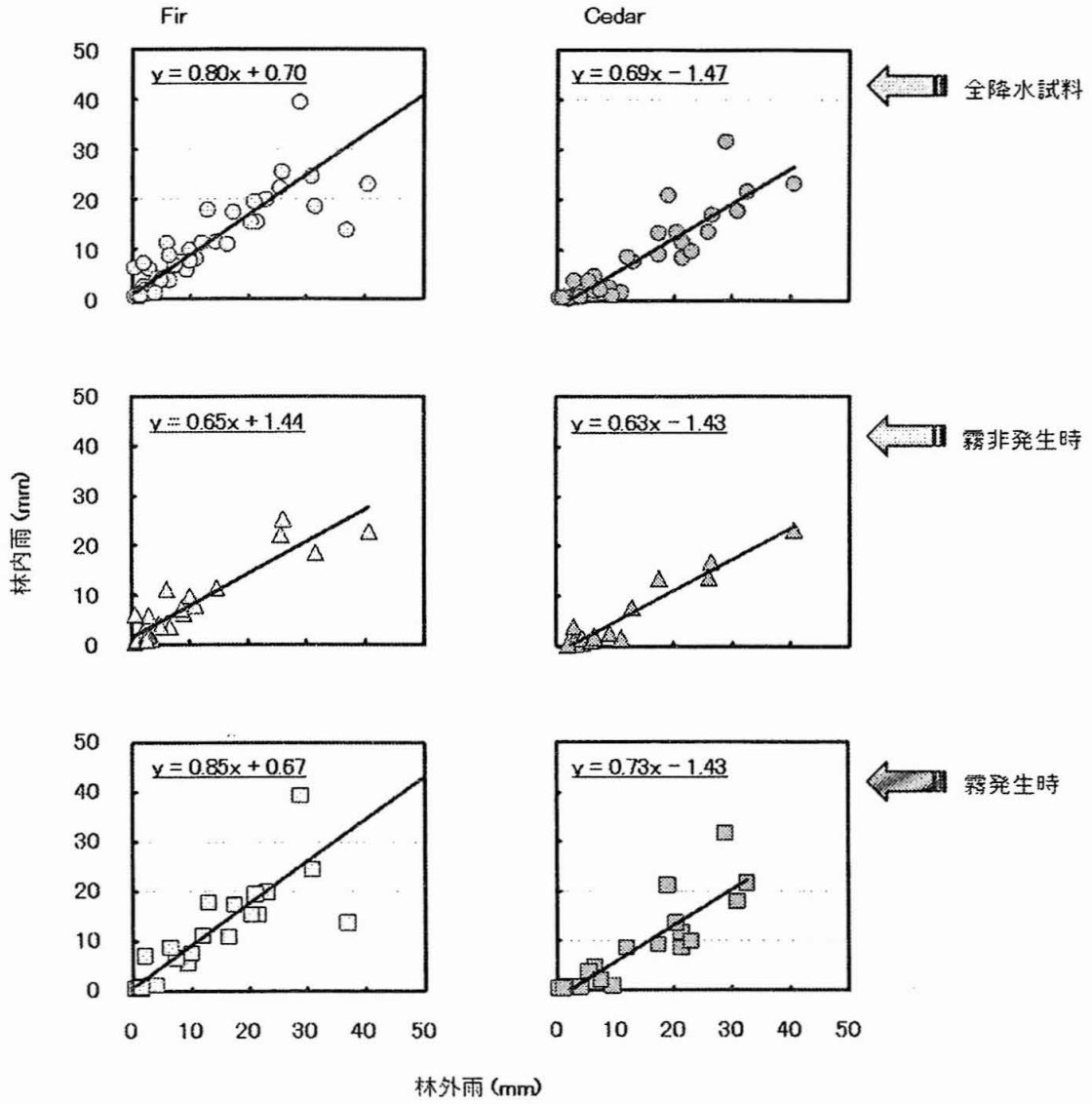


図 3.22 霧発生時・非発生時のモミ・スギの林内雨林外雨との関係

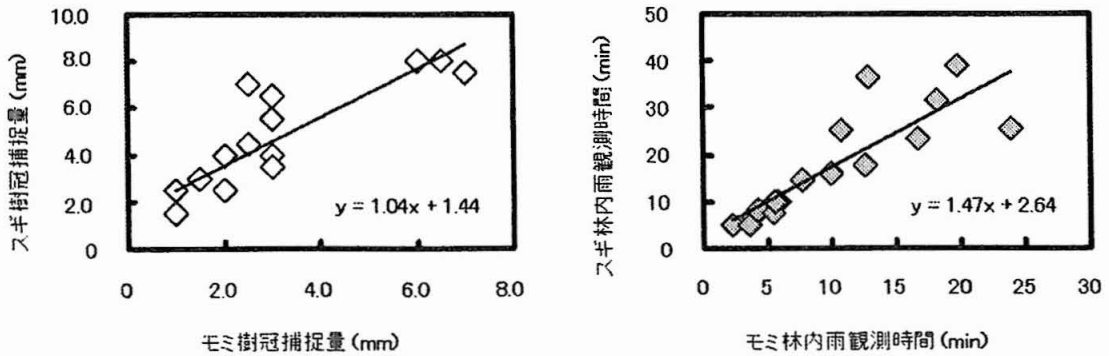


図 3.23 降雨樹冠捕捉量と林外雨と比較した林内雨の観測時間の遅れについての比較

蒸発の割合からもうかがえる。この要因として、樹冠下の降雨強度計の設置地点の問題もあるが、多くは樹木の形状に起因していると考えられる。樹冠捕捉量はモミでは 3.0 mm、スギでは 4.0 mm 付近に集中していることが見られる。林内雨の観測時間の遅れもスギの方が大きかった。ただし、捕捉量は一定の値にとどまる傾向があるものの、観測時間の遅れに関しては降雨強度、樹冠の濡れの状態（霧の発生、前回の降雨からの時間間隔）に依存しており、大きく変動する傾向がある。

3.1.3.7. 林内雨の収支

樹冠上の溶脱と樹冠への汚染物質の様々な沈着形態の寄与率を解明する目的で、モミを対象に検討した結果を以下に示す。

この目的においては、沈着速度を求めることが重要であり、ここでは各成分の林内雨沈着量から求めた。様々な沈着形態ごとの沈着速度を表 3.3 に示す。計算過程の詳細については以下に示す。すべての成分について、林内雨沈着量から求めた値は文献値を上回った。この要因として以下のことが考えられる。一つは、大山では霧の発生頻度が高いため樹冠が濡れていることが多い。濡れている樹冠ではガスやエアロゾルの沈着速度が増加することが考えられる。そして樹冠の大きさにも関係があると考えられ、樹冠が大きければ沈着量が多くなり、それにつれて算出された沈着速度は増加する。沈着速度は上記のような要因をはじめとして、多くのファクターに影響されるため文献値自体も様々である。

<計算方法>

林内雨の収支についての計算方法、及び各沈着速度の算出方法を以下に示す。

林内雨、林外雨沈着量

$$R(\text{meq}/\text{m}^2/\text{day}) = C_{\text{rain}}(\text{meq}/\text{m}^3) \times \text{降水量}(\text{m})/\text{時間}(\text{day})$$

霧水沈着量

$$F(\text{meq}/\text{m}^2/\text{day}) = C_{\text{fog}}(\text{meq}/\text{m}^3) \times \{ \text{林内雨量}(\text{m})$$

$$- \text{降水量}(\text{m}) \times 0.60 \} / \text{時間}(\text{day})$$

$$V_{\text{fog}} = F/C_{\text{fog}}$$

降水量に林外雨が林内雨として観測される割合 0.6 (図 3.22 で示した霧非発生時のモミ樹冠通過率) を掛けたものと林内雨との差を霧水量とした。

乾性 (エアロゾル、ガス) 沈着量

$$D(\text{meq}/\text{m}^2/\text{day}) = \text{林内雨沈着量} - (\text{林外雨沈着量} + \text{霧水沈着量})$$

$$D_{\text{Na}} = (C_{\text{Na}}(\text{粗大}) \times V_{\text{粗大}} + C_{\text{Na}}(\text{微小}) \times V_{\text{粗大}}/10)_{\text{aerosol}} \rightarrow V_{\text{粗大}} \text{の決定}$$

$$D_{\text{Cl}} = (C_{\text{Cl}} \times V)_{\text{gas}} + (C_{\text{Cl}}(\text{粗大}) \times V_{\text{粗大}} + C_{\text{Cl}}(\text{微小}) \times V_{\text{粗大}}/10)_{\text{aerosol}} \rightarrow V_{\text{gas}} \text{の決定}$$

エアロゾル沈着量

$$A(\text{meq}/\text{m}^2/\text{day}) = (C \times V)_{\text{aerosol}}$$

ガス沈着量

$$G(\text{meq}/\text{m}^2/\text{day}) = (C \times V)_{\text{gas}}$$

Na の乾性沈着はエアロゾル由来とし、微小粒子の沈着速度は粗大粒子の 10% と仮定した²¹⁾。Cl の乾性沈着はガス、エアロゾル由来とし、得られたガス沈着速度に 0.3 を掛けたものを弱酸性ガスの沈着速度とした²²⁾。また、ガスに関しては HCl と HNO₃ が H⁺ を、HCl が Cl⁻ を、HNO₃ が NO₃⁻ を、SO₂ が SO₄²⁻ を生じるとし、強酸性ガスを HCl と HNO₃、弱酸性ガスを SO₂ とした。なおこの計算では、Na と Cl は枝葉とのイオン交換をしないと仮定し、この Na と Cl からすべての粒子成分とガス状成分の沈着速度を見積もった。

溶脱、吸収量

$$L(\text{meq}/\text{m}^2/\text{day}) = (\text{林内雨沈着量}) - (R + F + D)$$

林内雨沈着から林外雨、霧水、乾性沈着を引いた値がプラスなら溶脱、マイナスなら吸収とした。

3.1.3.8. 樹冠における物質収支

表 3.3 で示した沈着速度をもとに樹冠における物質収支への各沈着形態の寄与を成分ごとに計算した結果を図 3.24 に示した。図から Na⁺、Cl⁻ は湿性沈着が主であり、海塩由来であると考えられる。NH₄⁺ に関しては乾性沈着

が主であり、アンモニアガス由来であると考えられる。K⁺、Ca²⁺は溶脱が主であり、またNH₄⁺の吸収量が特に多いことが示された。NO₃⁻、SO₄²⁻は湿性沈着、乾性沈着ともに同程度の割合で占められており、硝酸や硫酸塩由来であると考えられる。溶脱量と陰イオン吸収量とを加えたものは、陽イオン吸収量とほぼ等しいと見積もることができる。無機塩類の栄養としてK、Mg、Ca、加えてNやS、Pなどが植物の生育に必要である。NH₄⁺、NO₃⁻は窒素固定をする際に必要であり、図に示されている吸収分は樹木への栄養として摂取されていると考えられる。葉を構成しているK⁺、Mg²⁺、Ca²⁺は林内雨沈着量のそれぞれ92%、35%、46%を溶脱量で占めている。H⁺の吸収量(0.78 meq/m²/day)は、K⁺、Mg²⁺、Ca²⁺の溶脱量(1.00 meq/m²/day)とほぼ等しい。このことは、樹冠上のイオン交換反応によりH⁺が消費され、K⁺、Mg²⁺、Ca²⁺の溶脱が起こったものと考えられる。アンモニアガスの沈着量が過剰に多いのはCl⁻を枝葉との相互作用をしないと仮定し、HClの沈着速度を算出し、その値をそのままアンモニアについても沈着速度として用いているからである。Cl⁻は溶脱や吸収の可能性もあり、強酸とアンモニアの沈着速度が等しいと仮定していることには今後の検討が必要であろう。

○汚染寄与度

NO₃⁻を汚染の指標としてそれぞれの寄与を図3.25に載せた。汚染の寄与はエアロゾル微小、エアロゾル粗大、林外雨、霧水、ガスの順に大きくなっていく傾向が見られた。

○標高依存性

図3.26に林内雨の標高依存性を示した。林外雨量の標高依存性は見られないため、林内雨量の増加は霧によるものである。その霧水量の増加により沈着量も増加傾向にある。このことは、霧水の汚染寄与率が標高とともに上昇することを示唆している。

表 3.3 さまざまな沈着形態ごとの沈着速度

沈着形態	沈着速度 V (cm/s)	
	林内雨による予測値	文献値
霧	52.8	40.0
エアロゾル(粗大)	6.1	4.0
エアロゾル(微小)	0.6	0.4
強酸性ガス	10.9	1.0
弱酸性ガス	3.3	0.3
NH ₃ ガス	10.9	1.0

3.1.3.9. 林内雨の空間的分布特性

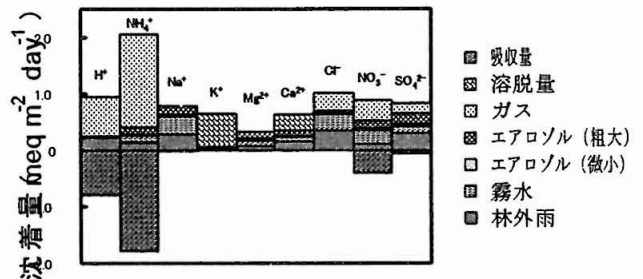


図 3.24 樹冠における物質収支への各沈着形態の寄与を成分ごとに計算した結果

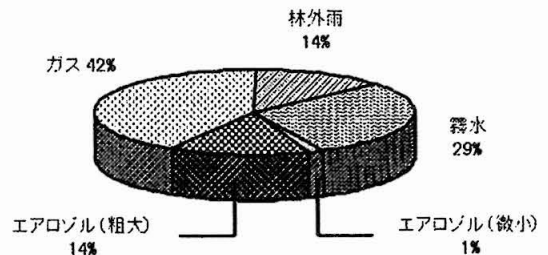


図 3.25 NO₃⁻汚染指標としたそれぞれの寄与率

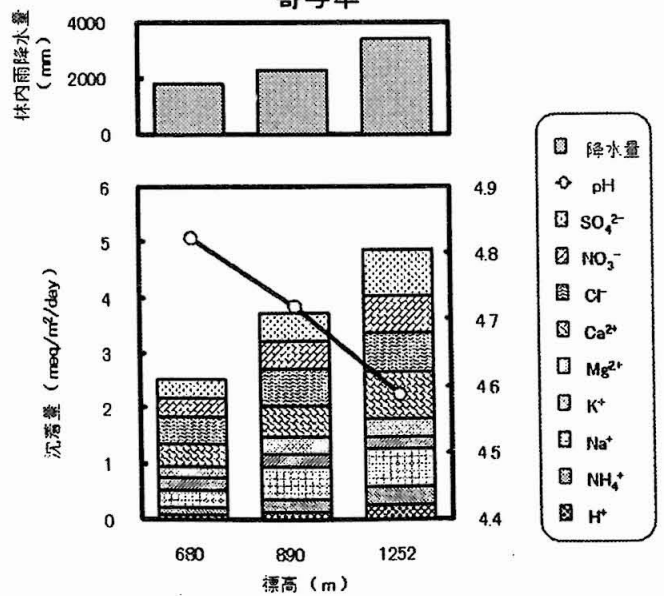


図 3.26 林内雨の標高依存性

林内雨の空間的分布特性は、樹冠への汚染物質の沈着メカニズムを把握する上で重要である。このために2本のモミを対象に、1つの樹冠下に計7個（樹幹近傍に1個、北西、南、東の各方向に樹幹からの距離を変えてそれぞれ2個）の採取器を設置した（図3.27）。採取期間は2005年10月2日～11月14日であり、1週間毎に採取を行った。10月2日～10月10日のC4、F2は欠落している。10月10日～11月14日における各採取地点の降水量と沈着量の組成を図3.28に示した。

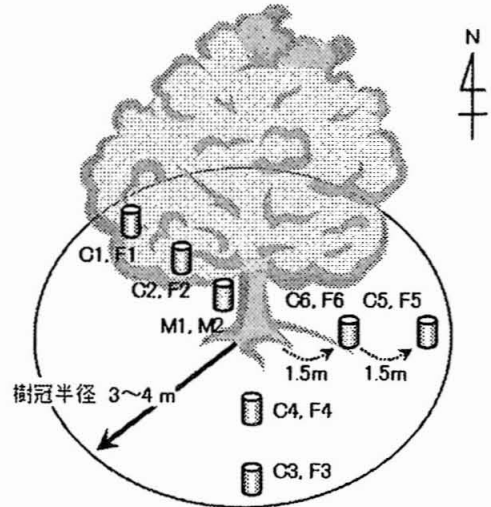


図 3.27 採取地点

○降水量の比較

降水量が多く観測された10月10日～10月23日のデータを用いて、樹幹からの距離による降水量の分布を図3.29に示した。モミ-1について、樹冠縁で降水量が少なくなる傾向があることから枝の先端では小さな葉が密集しており降水を保持しやすい形状になっていることが考えられる。モミ-2がモミ-1とは異なった分布を示している要因のひとつとして他樹の影響が考えられる。他樹の影響がある場合、降水量は少なくなる傾向にあり、その要因として葉上の保持が考えられる。また、葉密度が小さい箇所では林外雨の通過が容易になり降水量が多くなる傾向がある。

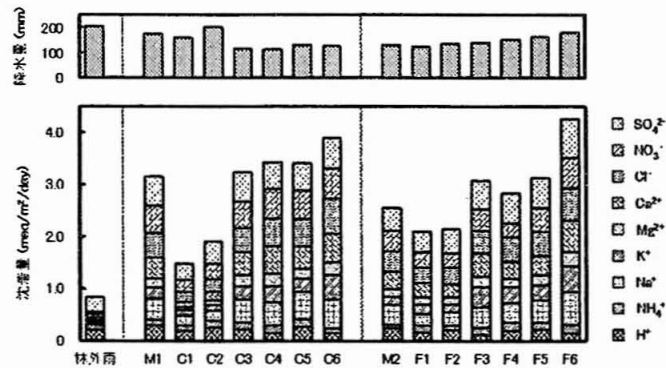


図 3.28 採取地点の降水量と沈着量の組成

○沈着量の比較

東側ではモミ-1でC5<C6、モミ-2でF5<F6の順で沈着量が高い。南側では明らかな変化は見られず、北西側ではモミ-1でC1<C2<M1、モミ-2でF1<F2<M2の順で沈着量が高くなる傾向が示された。このことから樹幹からの距離による沈着量の分布は樹幹に近づくにつれて沈着量が増加する傾向にある。1週間毎の沈着量の方角依存性と風配率(%)を図3.30に示した。多くの場合で西、南東、北東の順に沈着量が増加している。風向頻度は特に西からの風が多いことから西部の沈着量が多くなると思われたがその傾向はほとんど見られなかった。山の表層における風向は地形による影

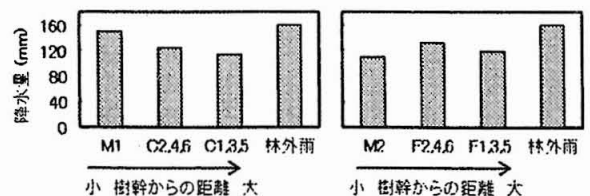


図 3.29 樹幹からの距離による降水量の分布

響が強く、空気塊が谷部に収束され谷に沿って流れる影響が支配的であることを考慮すると、斜面にある北東側の沈着量が多く、その反対側にある西側の沈着量が少なくなったものであろう。また、10/17～10/23の沈着量の分布、特にNO₃⁻に着目すると方角依存が見られなかった。その一因として、18日に大量の

降雨があり、乾性沈着の影響が相対的に小さかったことが考えられる。一方、10/30～11/7の試料では期間降雨が少なく、乾性沈着の影響を多く受けており、その結果、明らかな方角依存性が示されたと考えられる。樹冠の大気汚染物質の乾性沈着を考える上で、樹冠の斜面に対する方向が重要であることが示され

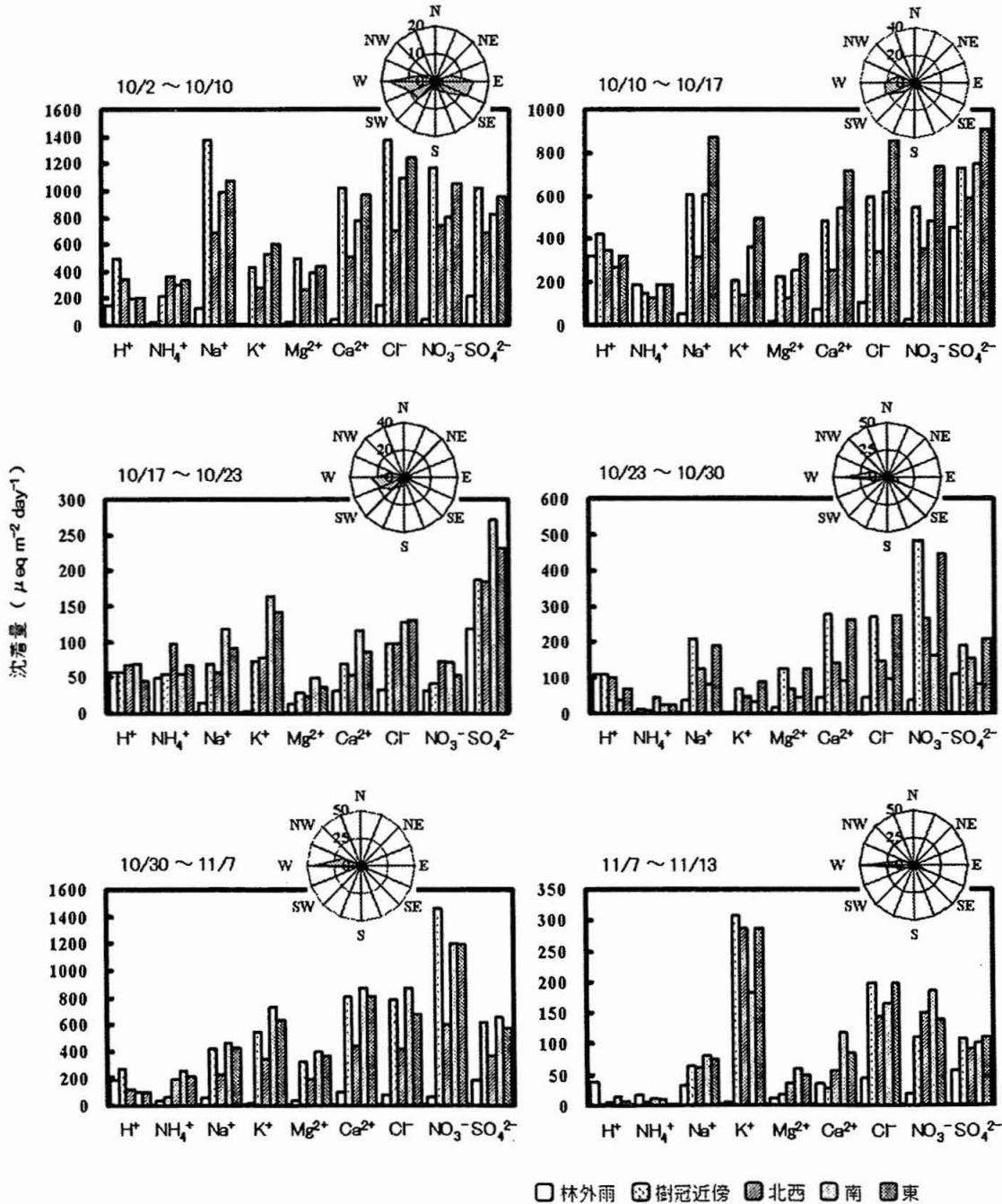


図 3.30 一週間ごとの沈着量の方角依存性と風配率の関係

た。

○溶脱の挙動

樹冠上のイオン交換反応により H^+ が消費され、 K^+ 、 Mg^{2+} 、 Ca^{2+} の溶脱が起こっていることが示唆された。この節では酸性沈着に対する感受性を解明するために、それら溶脱成分の挙動について検討した結果を報告する。

図 3.31 には林内雨の K^+ 、 Mg^{2+} 、 Ca^{2+} 濃度にそれぞれ林内雨の収支で得られた各成分の溶脱量の割合 ($K^+=0.92$ 、 $Mg^{2+}=0.35$ 、 $Ca^{2+}=0.46$) を掛けた値と pNO_3 の関係を表した。ホウ素濃度及び総濃度 (K^+ 、 Mg^{2+} 、 Ca^{2+} の濃度の総和) もあわせてプロットした。また、図中の曲線は pNO_3 に対する総濃度の近似曲線である。それぞれの成分で中性に近い降水でも溶脱が確認されるが、 pNO_3 の低下に伴いそれらの溶脱量は増加の傾向にあった。特に pNO_3 が 3.0~3.5 の付近で無機イオン、ホウ素濃度が著しく増加している。最近の研究によると、植物の必須元素であるホウ素は、細胞壁に存在するペクチン多糖類の一つである Rhamnogalacturonan-II と結合して存在していることが明らかにされている。ペクチン分子は Ca^{2+} により架橋されることで細胞壁構造をより安定化させる。 pNO_3 の 3.0~3.5 付近で Ca^{2+} は他の無機イオンに比べて増加率が高いことから、細胞壁の損傷が著しいといえる。

またホウ素に関しても Ca^{2+} と同様なことが言える。

3.1.4. まとめ

林外雨、霧水、エアロゾル及びガス状物質について、それら森林樹冠への沈着経路の定量的解明と、沈着過程の支配要因について検討した。林内雨中の K^+ 、 Mg^{2+} 、 Ca^{2+} は pNO_3 の低下に伴い溶脱量は増加の傾向にあった。これらの成分は大気汚染物質の沈着によって樹冠からの溶脱が促進されているといえる。 pNO_3 の低下に伴いホウ素濃度も増加する傾向にあったが、このホウ素の溶脱は植物の生長停止を招くことが報告されている。酸性沈着物が引き起こす葉内成分の溶脱は、樹種に関わらず生理学的機能を低下させていることが予想される。ただし K^+ の沈着量は大気汚染物質の沈着の影響を受けているものの降水量が主要な支配要因であった。また、 K^+ の濃度と DOC 濃度との間に相関が見られたことから、 K^+ は主に有機酸の対イオンとして共に溶脱していることが考えられる。

降水試料には高等植物細胞壁を構成している 7 種の中性糖が含まれており、その濃度は樹木との接触時間の関係から林内雨よりも樹幹流で高くなった。また、林内雨および樹幹流では L-rhamnose, D-mannose, D-galactose

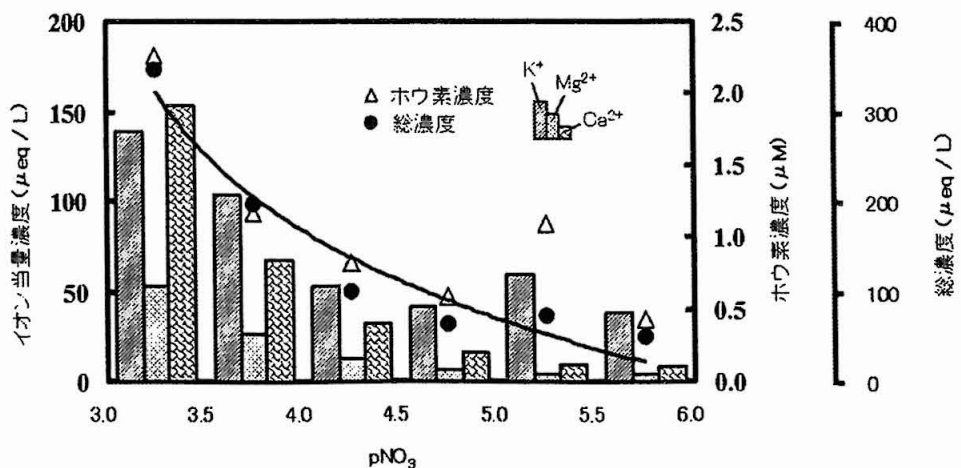


図 3.31 pNO_3 に対する溶脱量の挙動

およびD-glucoseが高い割合で検出され、これはとりわけ針葉樹に多く含まれる代表的な単糖類であるため、樹木からの溶脱に起因していると考えられる。林内雨観測において、 pNO_3 の低下に伴い中性糖やウロン酸濃度も増加する傾向にあった。

降雨の樹冠通過率はスギで80%、モミで69%であった。スギはモミより樹冠捕捉量が多く、林内雨の観測時間の遅れも大きかった。スギの方が降雨を捕捉しやすいことが考えられる。また、樹冠捕捉量は一定の値にとどまる傾向があるものの、観測時間の遅れに関しては降雨強度、樹冠の濡れた状態に依存しており、大きく変動する傾向が得られた。

林内雨として観測された主要無機イオン成分の樹冠への沈着経路を見積もった。多く

のイオン成分の沈着経路は林外雨、霧水、ガスであることが分かった。 K^+ 、 Mg^{2+} 、 Ca^{2+} は林内雨沈着量のそれぞれ92%、35%、46%が溶脱で占められていた。汚染物質の沈着への寄与は微小エアロゾル、粗大エアロゾル、林外雨、霧水、ガスの順に大きくなる傾向が見られた。標高とともに霧の沈着量は多くなるので、霧水の汚染寄与率は標高とともに上昇する。

林内雨の空間的分布特性についてモミを対象に検討を行った結果、沈着量は風向と地形に依存しており、谷風の上昇する斜面に面する南東側で多くなる傾向が見られた。このことから、樹冠への大気汚染の乾性沈着を考える上で、樹冠の斜面に対する方向が重要であると示された。

3.2. 苗木の擬似酸性霧への応答

3.2.1. 緒言

大気から降り注ぐ酸性雨（霧・雪）や酸性の乾性沈着物質（ガスやエアロゾルなど）が森林などの陸上植生の生育に悪影響を及ぼすことは、北米や北欧などを中心に多く報告されてきた。人間活動により生じた大気の酸性化は、降水や土壌を酸性化させ、自然生態系を破壊する恐れがあり、地球規模の大きな環境問題となっている。石炭や石油の燃焼、あるいは硫化金属の精錬に伴って発生した酸性雨・霧は、自然にある中性環境を酸性環境に変えつつあり、その過程で特に中性環境に分布する生物とその物質代謝に様々な影響・被害を与えている。その主なものに(1)酸性雨・霧に含まれる硫酸や硝酸、亜硫酸ガスなどの酸性ガスによる影響・被害、(2)生物生存に不可欠な必須元素の供給の過不足による影響・被害（例えば窒素過剰、マグネシウム不足など）、(3)酸で溶出するアルミニウムなどの有害金属による被害、(4)自然生態系の中で連鎖的に広がる影響・被害などがある。

酸性の強い降水は石油・石炭などの化石燃料の使用燃焼によって発生する硫黄酸化物、窒素酸化物などの大気汚染物質を原因とし、ヨーロッパや欧米などの森林や湖沼などへの影響が問題とされてきた。酸性雨・霧の代表的な環境被害として森林衰退が挙げられる。ヨーロッパでは、旧西ドイツ西部に広がる「黒い森」で1982年頃からモミが立ち枯れ、「黒い森」から「黄色の森」になっている。旧チェコスロバキアでは50%以上の針葉樹が中～重度の被害、ノルウェー（ボヘミア北西部）では、例えばトウヒの落葉が50%以上となって大きな被害を受けている。森林衰退はドイツを中心にヨーロッパ全域に及んでおり、中央ヨーロッパでは700万haに及ぶとされており、特に針葉樹林のモミやトウヒの被害は顕著で、トウヒを中心として森林の全体で60%近くに及んでいる（ヨーロッパモミ、オークなどに被害が多い）。北米では一定高度以上の

山岳地帯で被害が多く、ニューヨーク州北東部のホワイトフェース山に植生するトウヒ、アパラチア及びカナダにおけるトウヒなど、山岳地帯において深刻である。中国では1975年頃から四川省の蛾眉山に植生するモミの衰退が始まり、山頂ではモミの枯死が87.3%に及ぶとされている。最近では重慶（南山）のシナアカマツの衰退も始まっている。我が国でも、苫小牧のストローブマツ、赤城山のシラカンバ、ダケカンバ、丹沢大山のモミなどが被害を受けている。これら以外にも関東・関西地方のスギの立ち枯れ、奥日光の亜高山帯でシラビソ、ダケカンバの枯損、丹沢山系の標高の高い地域でのブナ衰退、富士山のハリモミ、シラビソなど様々な地域で森林衰退が発生しており、深刻な問題といえる。

森林衰退は1つの要因ではなく、いくつかの要因の複合された効果によって森林衰退が引き起こされると考えるのが妥当であろう。その要因は、日本、ヨーロッパ、北米でそれぞれ異なり、また同じ国の中にあっても地域や樹種によっても異なるといえる。

〈丹沢山地におけるブナの衰退〉

ブナは夏緑樹林の一種で、春先に芽吹き、初夏には緑の葉を着け、秋になれば黄や赤に紅葉し、冬に落葉するというサイクルを毎年繰り返す。四季の移り変わりがはっきりとしている日本などの東アジアや欧州、北部などの温帯地域に分布し、熱帯や寒帯には生育しない。日本に分布するブナには、ブナとイヌブナの2つの種類がある（図3.32）。ブナは、北海道黒松内から鹿児島県高隈山まで日本全国、日本海沿岸にも太平洋沿岸にも広く分布している。一方、イヌブナの分布は太平洋側に偏っており、ブナよりも標高が低い箇所に生育する。

UNESCOの世界自然遺産に1993年に登録され、世界最大級の原生林である青森県白神山地のブナ林は、地球温暖化が進むと僅か0.1～10%しか残らないと試算されている（図

3.33)²³⁾。現在、太平洋側に面した丹沢山地〔主に檜洞丸（標高 1600 m）や蛭ヶ岳（標高 1673 m）の 800 m 以上に生育するブナ林の衰退が問題視されているが、丹沢山地では温暖化の影響よりも関東平野を発生源とするガス状大気汚染物質の影響の方が強いと考えられる。特にオゾンは樹木への影響が考えられる濃度である 40 ppb をはるかに超える高濃度で出現していることから、衰退の原因として一般に見なされている²⁴⁾。ブナ苗木へのオゾンの人工的な曝露実験では、オゾンが乾物生長やクロロフィル含量を低下させることが示されている。しかしながら、オゾンは植物の生長を抑制するものの、森林衰退との因果関係については不確かな点が多い。我々のフィールドとする大山中腹では pH 2.5~3.5 の酸性度の高い霧が約 20% 程度発生しており、標高の増加と共に霧の発生頻度は増加する。ブナ衰退域における酸性霧の発生頻度は、これまでのところ明らかではないが、大山と同程度のレベルである可能性は高い。

3.2.1.1. 酸性沈着物が樹木葉ワックスに及ぼす影響

(1) 樹木葉ワックスの役割

樹木は葉、枝、幹、根などで構成されているが、このうち葉は地上部の全表面の約 50% を占め（針葉樹の場合）、大気環境の直接影響を最も受けやすい部位である。葉面はク

チクラ層で覆われ、水分や栄養塩類が植物体から失われるのを防いでいる²⁵⁾。クチクラ層は、クチン質からなるクチクラとその外側に存在するワックスから構成されており、特に最外層にあつて直接大気と接する部分をエピクチクラワックス（クチクラ表層ワックス）と呼んでいる³⁾。エピクチクラワックスは外気に暴露されて変化（劣化）するが、それは通常不可逆的である²⁷⁾。特に針葉樹では、ほとんどの樹種が常緑であり、ドイツトウヒなどでは、葉が 9 年も着いていることがある。そのため、葉は降雨や風の影響を繰り返し受

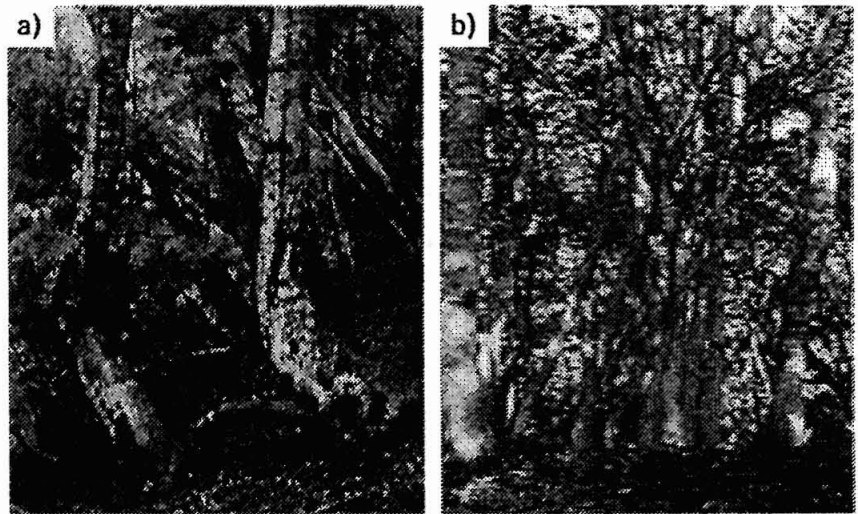


図 3.32 イヌブナ(a)とブナ(b)

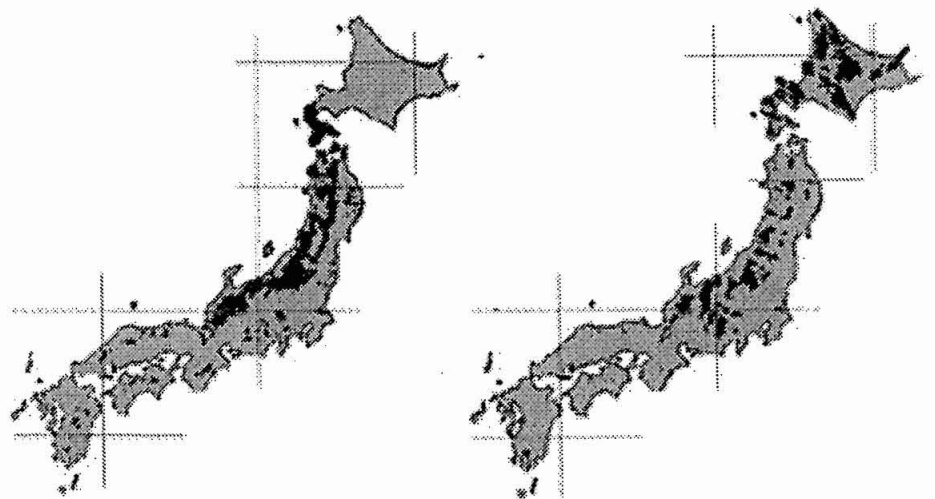


図 3.33 イヌブナ(左)、ブナ(右)の日本における分布

けるとともに、大気が汚染した土地では、着葉中に葉面に沈着する汚染物質も相当量に達し、しばしばエピクチクラワックスの流亡や変質の原因となる。このようなワックスの劣化は、葉面からの栄養塩類の流出や蒸発（水分損失）の増大、菌類の感染などを引き起こして、森林衰退の一因となると考えられている²⁸⁾。

また、樹木の葉面は大気-植物-土壌系の物質動態に支配的に関わると同時に樹木自身その結果から影響を受けている。すなわち、樹木の葉面には、大気中のガスやエアロゾルが乾性沈着によって蓄積し、降水によって洗脱されて林内雨や樹幹流として樹木の周辺土壤に負荷される。

エピクチクラワックスを含むクチクラ層の最も重要な役割は水分保持であり、気孔により制御された蒸散以外の水分損失（クチクラ蒸散）を最小限に抑えるはたらきをしている。そのため、クチクラ蒸散速度はエピクチクラワックスを除去すると著しく増加する²⁹⁾。反対に、ワックス量が増加するとクチクラ蒸散速度が低下する現象が農作物²⁹⁾ やスギ³⁰⁾ などの樹木で確認されている。このように、ワックスは植物の水分保持と深く関わっているので、水分条件の変化はしばしばワックス量の増減を引き起こす。さらに、エピクチクラワックスは気象因子に対する防護壁として、また葉面微生物の侵入に対する防御壁としても働いている。

気孔周辺のワックスが風雨などの自然現象や汚染物質の沈着などによって失われると、菌糸などが気孔腔内に侵入し、気孔の閉塞を引き起こすことがある³¹⁾。また、微生物が葉面で繁殖すると、それ自身がエピクチクラワックスの結晶構造を破壊して、葉面の疎水性を低下（濡れ性を増大）させ、引いてはクチクラ蒸散や葉面からの栄養塩類の溶脱を促進させることもある。

(2) 樹木葉ワックスの成分(エピクチクラワ

ックス)

エピクチクラワックスの成分については、これまで多くの報告があり、アルコール、アルカンなどの脂肪族化合物の混合物であるとされている³²⁾。また、エピクチクラワックスを含むクチクラ層の成分は、脂肪酸と高級アルコール(C₁₀~C₃₀)のエステル15%、サポニン配糖体10%、セルロース14%、長鎖炭化水素(C₂₁~C₃₅)が網状に結合したクチン60%であるとされている³³⁾。一般に陽樹や乾生植物は厚いクチクラ層をもっている。この、エピクチクラワックスを含むクチクラの生合成については、不明の点が多いが、長鎖の脂肪酸はマロニル CoA による伸長と、比較的長鎖のアシル CoA 同士の縮合によって作られる。そして、この長鎖の脂肪酸の α 酸化によって高級アルコールができる。

トウヒ属において、樹種による違いや組成と結晶構造との関連も明らかになっている³²⁾。ほとんどのトウヒに最も多量に含まれる成分は、2級アルコール、アルカン、2価アルコール、およびアルキルエステルであるが、それぞれの含有率は樹種によって異なる。例えば、ドイツトウヒでは、それぞれ、25.6%、30.9%、18.2%、12.5%であるのに対し、Blue spruce ではそれぞれ 54.0%、5.9%、26.9%、10.8%となっていてアルコール類がかなり多い。2級アルコールの中でも nonacosan-10-ol (C₂₉の2級アルコール)はオゾンや酸性降下物の暴露によって含有率が大きく変化し³⁴⁾、かつ、ワックスの tube 構造の形成にも関わっているため、酸性降下物の植物への影響を見る上で特に注目されている。

3.2.1.2. 植物の生理的な機能と植物中の成分

(1) 蒸散作用

葉は呼吸することによって酸素を吸収し、炭酸ガスを排出しており、根から吸収した水の大部分は、地上にある葉から水蒸気の状態では排出され、このような作用を蒸散作用と称

している。蒸散は、一日中一定の速度で起こっているのではなく、昼の間は盛んであるが、夜にはほとんど起こらない。蒸散は葉に気孔からの水の蒸気であり、気孔は昼の間に開いて、夜には閉じるからである。この蒸散作用には、表皮細胞からクチクラ層を通して発生するクチクラ蒸散作用と、細胞間隙と通じている気孔を通して発生する気孔蒸散作用がある。クチクラ蒸散は、クチクラ層を通して葉の内部から空気中へと起こる水の拡散作用で、物理的な蒸発と同様に考えることができる。これに対して気孔蒸散は、導管の末端から出た水が葉肉細胞に取りられ、この細胞の表面から気腔と呼ばれる細胞間隙の空気に水蒸気の形で拡散する。さらに細長い間隙の気孔隙を通して葉の外の大気中へ拡散するので、気孔開度によって大きく左右されるのが特徴である。

(2) 気孔開閉

気孔は葉の表皮に数多く見られる。大きさは幅3~12 μm 、長さ10~40 μm 、その数は植物の種類によって違うが、1cm当り1000~60000と言われている³⁴⁾。気孔は葉の裏面にだけ見られることが多い。気孔は表皮細胞の特殊化した孔辺細胞2個からできており、その下に呼吸腔と呼ばれる細胞間隙をもっている。気孔の動きは一般に水蒸気の出入り口であるが、炭酸固定の原料として炭酸ガスの入り口でもある。気孔の開度の一日をみると、日が昇り始めると気孔が開き、午前中に最大の開度になる。日が沈むと気孔は閉じる。気孔の開閉は主として炭酸ガス濃度で調節されている。日が沈むと、葉による炭酸同化作用が低下して呼吸によって葉の炭酸ガス濃度が上昇し、大気中の濃度(0.03%)とほぼ同じになる。このことによって気孔は閉じることになる。昼間は光合成によって葉の炭酸ガス濃度が低下して気孔は開く。

(3) 植物中の無機塩類の必要性

植物体は水と有機物質と無機物質から成り立っている。また、物質を構成している元素の大部分は、炭素(C)、水素(H)、酸素(O)の三元素であり、光合成によって同化されたものである。つまり、CとOは炭酸ガス(CO_2)として空気中から葉を通して取り込み、Hは水(H_2O)として根から吸収する。

植物体に存在する水以外の無機物質の量は、水を除いた物質全体の10%も満たない少量である。しかし、その中には多くの元素が含まれており、植物にとって必要不可欠のものが存在している。植物の生育に必要な無機元素は無機栄養素ともよばれる。無機栄養素は土の中に無機塩類の形で存在しており、植物は根から水とともにイオンの形で吸収している。植物にとって必要量の比較的多いものは多量元素とよばれ、窒素(N)、リン(P)、イオウ(S)、カリウム(K)、カルシウム(Ca)、マグネシウム(Mg)がある。要求量が比較的小さいものを微量元素といい、鉄(Fe)、銅(Cu)、マンガン(Mn)、亜鉛(Zn)、モリブデン(Mo)、ホウ素(B)、塩素(Cl)がある。

3.2.1.3. 植物中の必須元素の役割と欠乏による症状

無機塩類がどのように植物に対して作用しているかを見るもっとも明確な目安は、植物の最終的な成長量である。従って、欠乏による成長阻害がもっともはっきりした物差しになる。また緑色植物の場合、葉に病状が現れやすく、葉の褐色が障害のはっきりした目印になる。N, K, P, Mgが欠乏した場合は、茎の下部に着生する老葉から褐色化し始める。老葉中の必要元素が上部にある若い葉へ移動し、再利用されるためである。

S, Ca, Fe, Mn, B, Cu, Znなどの欠乏では、茎の先端部にある若い葉から褐色化し始める。古葉にある元素が体内を移動できないからである。代表的な元素(K, Mg, Ca)の植物体への役割、欠乏による症状を詳しく述べる。

(1) K

植物はカリウムをイオンのかたちで能動的に吸収する。その際には、 Ca^{2+} の存在が不可欠である。カリウムの欠乏は、呼吸、光合成、クロロフィル生成、葉の水分量、といった色々な面に影響する。タンパク質の生成にカリウムは関係するので、欠乏状態では形成層の分解能力が低下する。実際にカリウム欠乏でタンパク質合成が抑えられ、非タンパク質窒素化合物の蓄積をすることが知られている。カリウムの不足の状態では光合成が低下しているにもかかわらず、炭水化物の蓄積が見られる。これは、タンパク質合成が抑えられているため、本来ならばタンパク質の炭素骨格となるべきものが、使用されずに蓄積されたと説明される。カリウムは液胞に多量に存在し、気孔の開閉運動に関係している。

欠乏の際の一般的な症状としては、まず葉に褐色の斑点が現れ、やがて壊死するが、カリウムは流動的であるために、症状はまず熟成葉に現れる。

(2) Mg

マグネシウムは光合成と炭水化物の代謝の2つの面で重要であり、炭水化物の代謝系に関する多くの酵素を活性化する。

マグネシウムが欠乏すると、クロロフィル生成が阻害され、葉の黄化が見られる。この褐色は熟成葉から順次若い葉におよぶ。そして葉緑組織が発達し、細胞は小さくなるがその数はふえる。また師部の発達に影響する。マグネシウムはリボソームの会合に必要であり、若くて成長中の組織で、タンパク質合成の盛んな部分に多い。

(3) Ca

土壌中のカルシウムの多くは、 $\text{CaAl}_2\text{SiO}_6$ として存在し、降雨などによって利用可能な形に変えられる。土壌の表面はマイナスに帯電しているので、 H^+ 、 Ca^{2+} は強く引きつけられている。そこで土壌中の水素イオン濃度が高くなると、土壌表面は H^+ が多くなり、交換可能な Ca^{2+} が少なくなる。それで、炭酸カル

シウム、酸化カルシウムなどを添加することは、土壌の酸性化の改良と必要な元素の供給ともなる。カルシウムは細胞膜の正常な機能の維持と、外からの刺激に対応するために必要である。

カルシウムの欠乏している状態では、頂端や根端の伸長が悪くなる。特に、根端細胞ではミトコンドリアの数が減少し、ひどいときには死にいたる。同化物質の転流がうまく行えず、葉での炭化水素の含量は高くなるが、茎や根では低くなる。また、葉の周縁の色が薄くなる。体内の移動は少なく、成長している若い組織や細胞に欠乏症が現れる。

3.2.1.4. 本研究の目的

関東平野南西部の丹沢山塊東端に位置する丹沢ではモミの立ち枯れやブナの衰退が見られ、丹沢大山では標高の上昇にともない霧の発生頻度が増加し、また発生する霧の10~25%がpH3.5以下の酸性霧であることから、酸性霧の森林生態系にもたらす影響は大きいと考えられる。これまで、我々は以下のことを明らかにしてきた。

関東平野南西部の丹沢山塊東端に位置する大山での酸性霧(pH3)の組成をもとに、モミへの擬似酸性霧水の長期の噴霧実験(室外噴霧実験)を行ったところ、実験開始から数ヶ月は含まれている硝酸塩やアンモニウム塩が栄養源となり成長速度は大きくなったが、次第に枝から異常な発芽や新芽の不完全展開、先端部の白化、葉の厚みの減少などの生育被害が生じた。長期の噴霧実験では霧水の酸性度の低下に大きく依存することが明らかになった。葉表面のエピクチクラワックス層が侵食されることによる水分損失などの影響がある。

短期噴霧実験(室内噴霧実験)では、pHの低下に伴い無機塩類、糖類の溶脱量が増加し、葉表面のエピクチクラワックス層の減少が生じた。塩を添加した系においては、 HNO_3 単独の系よりも溶脱量が増加した。塩が細胞組織へ

の浸透性やイオン交換の作用の変化に関与していると考えられる。

本研究では酸性霧と樹木（モミ、スギ、ブナ）の衰退、立ち枯れとの関連性を把握するために、樹木苗木への擬似酸性霧水の噴霧実験を行いその影響を検討した。酸性霧の濃度、組成の影響、さらに、モミ、スギ、ブナの酸性霧沈着による溶脱機構の違いや酸緩衝能の違い、酸によるワックスの溶解性を明らかにすることを目的とし、様々な系において噴霧実験を行った。

3.2.2. 実験方法

3.2.2.1. 擬似酸性霧がブナ、モミ苗木の生長に及ぼす影響—室外実験—

(1) 苗木の生育条件

神奈川大学研究棟において、ブナ苗木（7年生）とモミ苗木（6年生）を赤玉土と腐葉土の比率を2：1とした土壌を入れた鉢（4L）の中で2004年07月から生育させた。それぞれの鉢には、自動灌水装置を用いて1日に2回（06：00と18：00）、1回当たり約800mLの水道水を灌水した。また、肥料として1年に1回の割合で直径1cm程度の油粕を2gずつ与えた。

(2) 霧の噴霧条件

噴霧実験は、苗木をあらかじめpH3処理区（ブナ：12本、モミ：8本）、pH5処理区（ブナ：12本、モミ：8本）および対照区（ブナ：6本、モミ：1本）の3グループにわけて行った。pH3処理区に使用した擬似酸性霧溶液は、大山で採取している霧水のうち酸性度が最も高かった時のイオン組成を参考に、1mM硝酸、1mM塩化ナトリウム、1mM硫酸アンモニウムの混合溶液として調製した。一方、pH5処理区には汚染度の低い霧水として、pH3の擬似酸性溶液を100倍希釈して使用した。

これらの擬似酸性溶液は、簡易移動型チャンバー（1.8m×1.5m×1.6m）内で二つのド

ライフォグ加湿ユニット（いけうち、AKIMist B）を用いてブナ、モミ苗木に噴霧した（Figure 2.5）。ドライフォグ加湿ユニットは、コンプレッサー（日東工機、LC-910）で圧縮空気を送ることにより直径20 μ mの霧粒を流量約1.0L hr⁻¹で噴霧することができる。擬似酸性溶液の噴霧は、1週間に2回の割合で2時間行い、噴霧終了後はチャンバー内で20分間静置した。なお、酸性溶液を噴霧する以外はできるだけ自然環境下で苗木を生育させるため、特別に温度制御は行わなかった。このような噴霧実験は2004年09月～12月、2005年04月～07月および09月～12月までの期間に行った。

(3) 評価方法

① 生長測定

擬似酸性霧によるブナ、モミ苗木の生長阻害を調査するため、年に2、3回程度、樹高と土壌から約5cmの箇所の幹直径を測定した。また、ブナ苗木について2005年07月～12月にかけて1個体当たりの葉数をカウントし、落葉率を調べた。

② エピクチクラワックス量の測定

エピクチクラワックス量の測定は、Saseらの方法に従った³⁵⁾。モミ苗木から当年生および1年生針葉を含む枝葉を採取し、実験室に持ち帰った後に枝部と葉部を慎重に分けた。葉は超音波洗浄機を用いて純水で1分洗浄し、50℃以下で30分間電気炉で乾燥させ、室温（25℃）になるまで放置した。なお、超音波洗浄によりワックス量が影響を受けることはない。乾燥させた葉から約5.0gを分取し、20mLクロロホルムで15秒間振とうさせ、エピクチクラワックスを抽出した。葉や器壁はさらに5mLのクロロホルムで洗浄し、先のと併せた。ワックスの粗抽出液は、葉面に付着していた粒子状物質が懸濁しているため、濾紙（No. 5C、直径110mm、東洋濾紙製）を使用した濾過により除去を行った。これを重

量既知の小ビーカーに入れ、熱水浴で蒸発乾燥させた後に再びビーカー重量を測定し、その差分をワックス量とした。ワックス量の表示は、単位乾燥葉重量当りに換算し表示した。

③ エピクチクラワックスの赤外吸収分析

赤外吸収分析を行うにあたって、試料の調製には錠剤法を用いた。すなわち、KBr 500 mg をメノウ乳鉢に入れ手早くすり潰し、エピクチクラワックスを約 3 mg 加え試料全体が均一になるように混合した。その後、加圧装置でプレスを行い錠剤を成型し、フーリエ変換型赤外分光装置 (FT-IR) に供した。

④ ゲル浸透クロマトグラフ (GPC) によるエピクチクラワックスの分子量の測定

噴霧後の枝葉からエピクチクラワックスを抽出した後、サンプル瓶にワックス 1 mg と溶媒であるテトラヒドロフラン (THF) を 2 mL を入れワックスを溶解させたのちゲル浸透クロマトグラフィ (GPC101 昭和電工製) にて測定した。

⑤ クロロフィル含有量の測定

各処理区のみミ苗木から当年生および 1 年生針葉を 5 枚採取し、磁性乳鉢で磨り潰した。その後、80% アセトンでクロロフィルを抽出し、この操作を抽出液が緑色でなくなるまで行い、正確に 10 mL に定容した。この抽出液を紫外可視分光光度計 (UV-265, UV-1700、島津製作所製) により 646 nm、663 nm の波長における吸光度 A_{646} および A_{663} を測定し、以下の式からクロロフィル a (Ca)、クロロフィル b (Cb) 含有量を算出した。

$$Ca \text{ (mg L}^{-1}\text{)} = 12.21 \times A_{663} - 2.81 \times A_{646} \quad (3.1)$$

$$Cb \text{ (mg L}^{-1}\text{)} = 20.13 \times A_{646} - 5.03 \times A_{663} \quad (3.2)$$

クロロフィル含有量の表示は、単位生葉重量当りに換算し表示した。

3.2.2.2. 溶脱成分からみたみミに対する擬

似酸性霧の影響—室内実験—

(1) 植物試料と溶脱実験

溶脱実験には、みミ苗木 (15 年生) から採取した当年生針葉を使用し、酸性溶液の噴霧は Klemm らが報告している方法に従って行った³⁶⁾。みミ枝葉は、液体肥料 (ハイポネックス原液 5-10-5, $N_2 : H_3PO_4 : K=5 : 10 : 5$ 、村上物産) を 5 mL (5 倍希釈溶液) を入れた試験管に装着した (図 3.34)。擬似酸性溶液は、室外実験と同様の組成で噴霧し (流量 4 mL min^{-1} 、計 360 分間)、得られた接触溶液は 1 時間毎に回収した。また、葉面に付着している乾性付着粉塵を取り除くため、前処理として 10 分間、純水をみミ枝葉に対して噴霧した。

(2) 溶脱成分分析

接触溶液は、フィールド調査の林内雨と同様に、その溶脱成分を分析した。

(3) 走査型電子顕微鏡 (SEM) による葉表面の観察

葉表面に存在するエピクチクラワックスを観察するため、擬似酸性霧を噴霧処理した葉に金蒸着を施した後、SEM (S-4000、日立製作

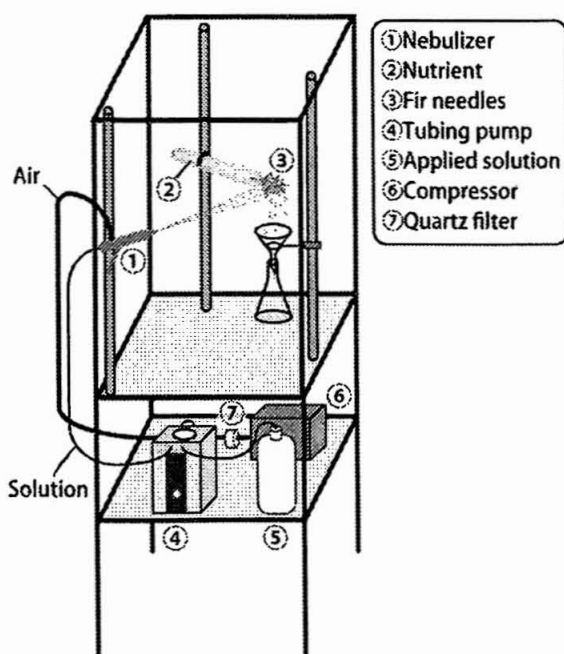


図 3.34 噴霧実験装置

所製)で直接観察した。以下に分析条件を記す。

加速電圧	15 kV
2次電子分解能	1.5 nm
電子銃	冷陰極電界放射型
電子入射角度	90°

(4) 生体膜結合型カルシウム(mCa)の分析

酸性霧の曝露により葉肉細胞中の生体膜結合型カルシウム(mCa)に及ぼす影響を検討した。酸性霧処理した生葉は、プラントミクロームにより断面厚100 μm程度にカットし、この断面を蛍光プローブであるクロロテトラサイクロン(CTC)で染色した。画像撮影は、一定条件下で正立型蛍光顕微鏡システムと自動露光制御を備えたカメラにより行い、画像解析ソフト(IMAGE-PRO PLUS)で撮影した写真の蛍光輝度を測定することにより、葉内のmCa変化を評価した³⁷⁾。

3.2.3. 結果と考察

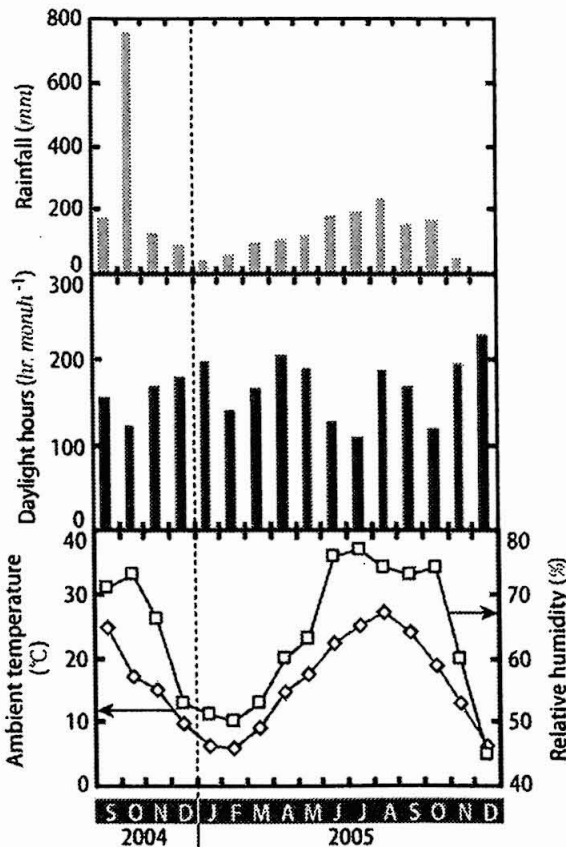


図 3.35 2004 年 9 月～2005 年 12 月の横浜における気象パラメータ

3.2.3.1. ブナ苗木に対する長期擬似酸性霧噴霧実験 (室外実験)

本研究では、酸性霧と森林衰退の関連性について検討するため、2004 年 09 月から 2005 年 12 月まで専用チャンバーを使用し、硝酸で pH を 3 と 5 に調製した擬似酸性霧のブナ苗木への噴霧を開始した。

(1) ブナの生長

図 3.35 に 2004 年 9 月から 2005 年 12 月までの横浜における気象パラメータ (気温、湿度、日射量および降水量)を示した。気温、湿度、日射量の平均値および総降水量はそれぞれ、16.0 °C、63.7 %、5.49 hr. day⁻¹および 2560 mm であった。なお、2004 年 10 月に降水量が著しく高くなっているが、これは台風 22、23 号の影響によるものである。また、同期間における O₃ と NO_x 濃度の平均値はそれぞれ 14.2 ppb、42.4 ppb であり、国設丹沢酸性雨測定所 (西丹沢) で 1995 年から 2000 年まで観測された平均値³⁸⁾と比べ、オゾンで約 1/3 倍、NO_x で約 8 倍であった。

図 3.36 にはブナの生育状況を樹高および

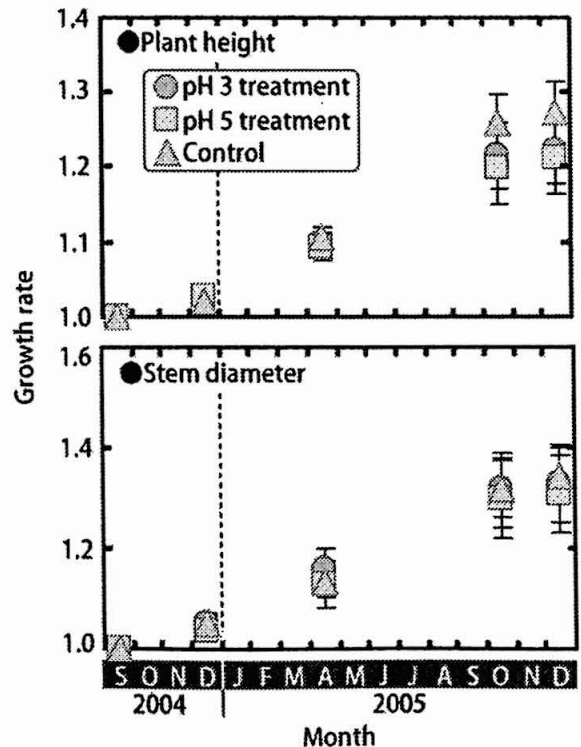


図 3.36 樹高および幹の直径によるブナの生育状況

幹の直径として示した。なお、樹高と幹直径は2004年9月の測定値(表3.4)を1とした割合で表示した。これより、樹高については各処理区間に有意差は見られなかったが($p < 0.10$)、対照区で酸性霧処理区よりも高い傾向にあった。一方、幹直径についても樹高と同様な変化を示しており、2005年12月の段階では対照区と酸性霧処理区間に有意差が見られなかった($p < 0.10$)。このように、対照区とpH3処理区間の差は僅かであることから、擬似酸性溶液中の NH_4^+ や NO_3^- といった無機態窒素が肥料として土壌もしくは葉から直接吸収したと考えられ、このような現象は、国内外の針葉樹(例えばモミヤスギ)で数多く報告されている^{39), 40)}。

(2) 酸性霧が葉数に及ぼす影響

ブナ苗木に対する擬似酸性霧噴霧の影響は、葉密度や葉面積にも影響が生じた。図3.37に2005年7月時点で撮影した各処理区のブナ苗木の写真を示す。これよりpH3処理区の一部には、葉密度や葉面積がpH5処理区のそれと比べ著しく低下する現象が見受けられた。

ブナは通常、互生と呼ばれる葉の付き方をするが、pH3処理区の写真を見る限りそれには従っていないかった。さらに、2005年04月当初は葉を付けたものの、それ以降生長が停止し枯死した苗木がpH3処理区で2本確認された。

そこで、2005年7月から12月にかけて、各処理区の1個体当たりの葉数を測定した(図3.38)。なお、測定にあたって、葉の色や大きさなどは考慮に入れなかった。図より、7月時点の葉数は、pH3, 5処理区でそれぞれ苗木1本あたり 510 ± 83.4 、 775 ± 85.9

(平均値±標準誤差)となり、pH3処理区で有意に減少していた($p < 0.10$)。これまで、モミ苗木を対象とした同様の擬似酸性霧噴霧実験で、pH3処理区の新芽の数が対照区と比べ減少し葉の総質量も減少することが明らかとなっており³⁹⁾、ブナ苗木についても同様な傾向が見られた。

ブナは秋から冬にかけて葉が黄変し最後に落葉する。この一連のメカニズムは一般的に次の様に説明できる。夏から秋にかけ次第に日照時間が短くなり、気温が低くなることで樹木は葉を落とす準備を始める。まず、葉中の葉緑体(主成分:クロロフィル)が分解され、また、炭水化物やタンパク質、無機塩類が葉から茎へと移動する。その結果、葉中には代謝の際に不要となった物質のみが残ることになり、葉の動きが弱くなると、葉柄の基部に離層と呼ばれる特殊な細胞が作られ、これが生成されると葉を落とす準備が終了する。そこで、この落葉現象に酸性霧の影響で差異が生じるのではないかと考え、各処理区における葉数を数えて落葉率(7月を1とした割合)を調査し、その結果を図3.39(a)に示し

表 3.4 2004年9月のブナの樹高と幹直径

Treatment	Plant height (cm)	Stem diameter (mm)
pH 3	106±3.51	14.6±0.958
pH 5	104±2.78	15.6±0.900
Control	104±3.36	12.6±1.04

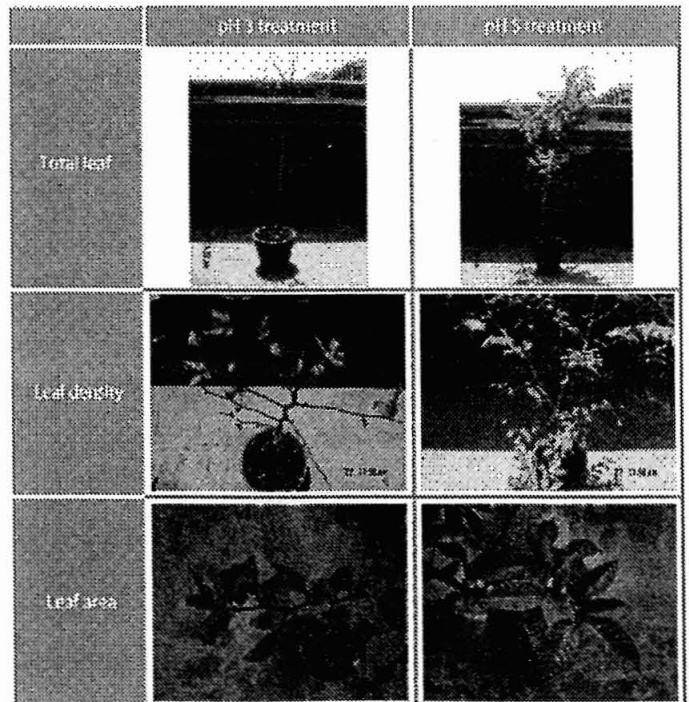


図 3.37 2005年7月時点での各処理区のブナ苗木

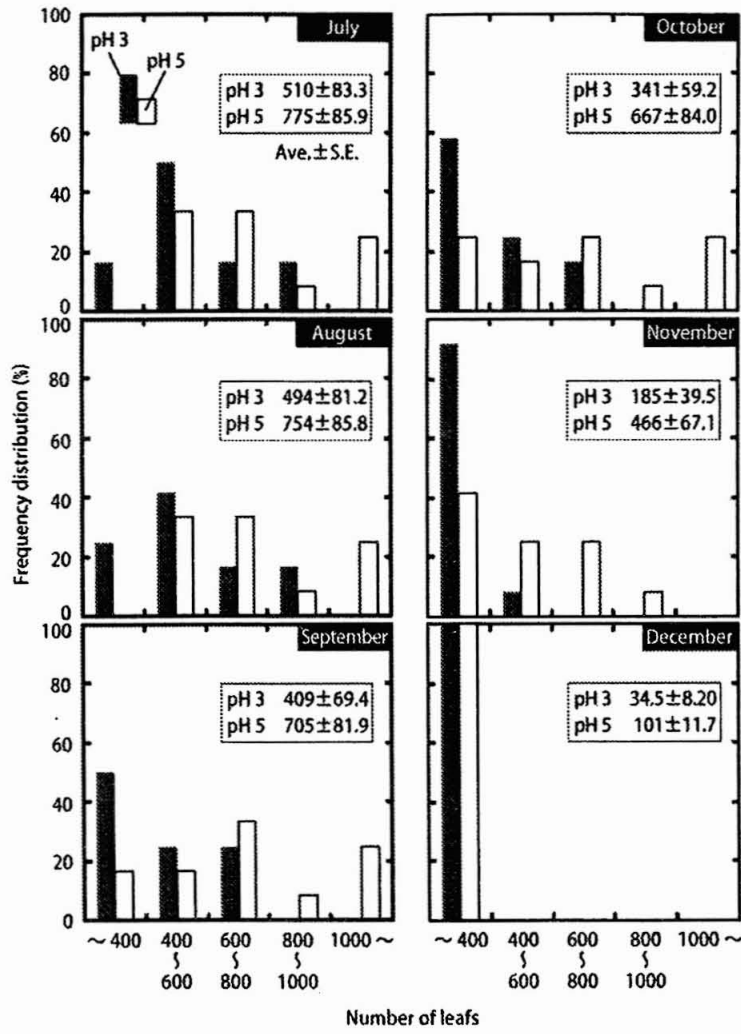


図 3.38 2005 年 7 月～12 月の各処理区の 1 個体当たりの葉数

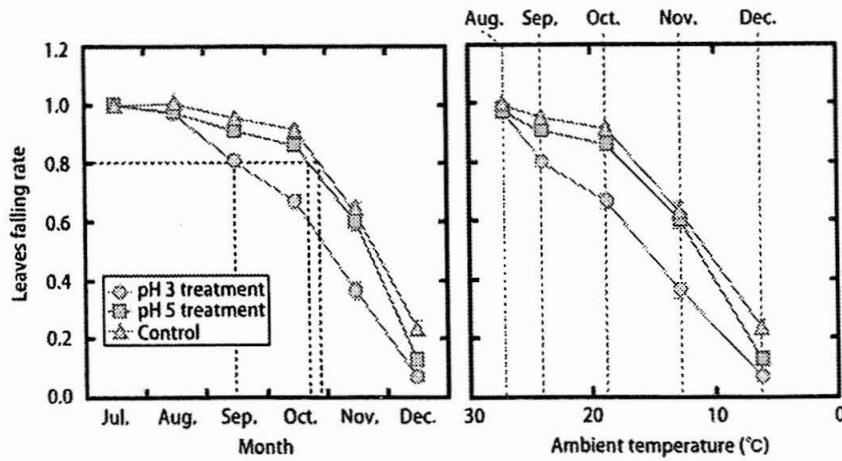


図 3.39 各処理区の落葉率(7月を1とした割合)(a)と、落葉率と気温の関係(b)

た。また、同期間の落葉速度 V_f を苗木一本の一日あたりの平均落葉枚数として算出し、表 3.5 に示した。

pH 3 処理区のブナ苗木は、9 月頃から落葉が加速し始めており、その時点の落葉速度は 3.04 day^{-1} と他の処理区 (pH 5 : 1.75 day^{-1} , 対照 : 1.60 day^{-1}) に比べ約 2 倍高く、葉数は 7 月当初の 8 割程度まで減少した。これを落葉率として考えると、2 割が落葉したということであり、さらに、同じく 8 割程度となった時期を他処理区と比べると、落葉は約 1.5 ヶ月程度早まっていた。通常、落葉は気温が低くなるに伴い加速されるが (図 3.39(b))、気温の影響よりも酸性霧の影響の方が大きいことを示唆する結果となった。このような落葉時期の早期化は、植物体内での離層の形成時期に狂いが生じた結果であり、酸性霧がその生理学的機能を阻害させたと考えられる。

3.2.3.2 モミ苗木に対する長期擬似酸性霧噴霧実験

(1) 酸性沈着物の影響評価におけるワックスの重要性

我々の研究フィールドである大山は、標高 700 m 以上でのモミ原生林の立ち枯れが著しく、先に述べた霧などの酸性沈着物との関連が示唆されている。酸性沈着物は、土壤の酸性化や植物体への直接影響を介して森林衰退を引き起こすと言われているが、これまで日本では、酸性沈着物が原因で土壤が酸性化したという明確な事例は報告されていない。実際、大山では土壤の酸性は起こっておらず⁴¹⁾、また、火山地域の極端に酸性化した土壤でも比較的正常に生育しているので、土壤の酸性化が枯損の直接的原因とは考えにくい⁴²⁾。それ故、オキシダント、酸性沈着物、エアロゾルなどの植物への直接曝露の影響がより重要と考えられる。

樹木 (地上部) 表面の約 50 % (針葉樹の場合) を占める葉面はクチクラ層で覆われてい

て、養分流失や蒸散の増大を防ぐ重要な役割を担っている。モミ針葉は、線形で通常 2~3.5 cm 程度の長さであり (図 3.40 (a))、葉の表裏面はクチクラ層により光沢を帯び、特に裏側は中脈の両側に気孔帯の白いすじが肉眼で確認できる (図 3.40 (b))。このクチクラ層の最外層に存在するエピクチクラワックスは、酸性沈着物質などにより流亡すると考えられるので、その影響を調査するため、室外酸性霧噴霧実験に使用しているモミ苗木から、当年生および 1 年生針葉を含む枝葉を採取し、ワックス存在量の測定および SEM による結晶状態の観察を行った。

(2) エピクチクラワックス量の測定

ワックスは脂肪族化合物の混合物であるので、様々な有機溶媒 (例えばエタノール、アセトン、n-ヘキサン、クロロホルムなど) を用いて抽出できる。その中でも抽出効率の観点からクロロホルムが一般に用いられており、

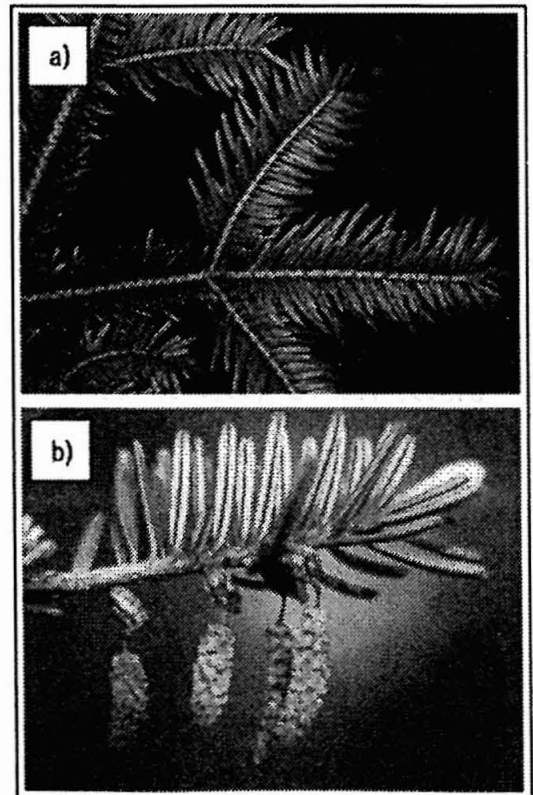


図 3.40 モミ針葉(表)(a)
モミ針葉(裏)(b)

図 3.41 に示すように完全に葉から抽出することが可能である。クチクラ内在性ワックス (Intracuticular wax) を含む全ての可溶性クチクラ脂質 (Soluble cuticular lipids) を抽出するには室温で6時間以上かかるが、酸性沈着物などの葉面への影響を見る場合、エピックチクラワックスを対象にすることが多いので、通常10~15秒、長くても1分以内の抽出で可溶化するものをエピックチクラワックスとして扱う。この程度の短時間抽出では、クチクラ内部の脂質はほとんど溶出せず、且つ、抽出されるワックス量の再現性もよい。

図 3.42 に各処理区のもみ針葉から抽出したエピックチクラワックスの IR 吸収スペクトルを示す。吸収位置の解析にあたってはまずスペクトル全体を $4000\sim 1500\text{ cm}^{-1}$ と $1500\sim 650\text{ cm}^{-1}$ の二つの領域に分ける。前者には伸縮振動による吸収のみが、後者には変角振動と単結合による伸縮振動の吸収によるスペクトルが現れるため、複雑なスペクトルが得られる。ワックスは、これまでの多くの研究からその主成分が二級アルコール、アルカン、二価アルコールおよびアルキルエステルであることが明らかとなっている。 $3400\sim 3200\text{ cm}^{-1}$ には水酸基の幅広い吸収があるが、本来、アルコール水酸基は鋭い吸収を示し、このような幅広い吸収は、アルコール水酸基が多分子間で水素結合を形成していることを示している。また、分子内にカルボニル基が含まれているため、 1700 cm^{-1} 付近に鋭く強い吸収が

現れている。各処理区におけるスペクトルの強度を比較すると、pH 3, 5 処理区では C-H 伸縮振動や C=O 伸縮振動のピークが対照区と比べ弱くなっていた。これは、長期の酸性霧噴霧によってワックス成分に影響が生じたためだと考えられる。実際、ワックスの構成成分は、葉の老化や汚染物質の曝露によって含有率や炭素鎖の長さが変化するという報告があり⁴³⁾、今後、分子量分布の測定などより詳細な検討が必要である。

図 3.43 に、エピックチクラワックスの定量結果を示した。ワックス量の測定は各処理区につき3回の測定を行い、測定値は平均値±標準誤差で表示した。ワックス量の葉重量に占める割合は約0.57% (対照区、当年生針葉での算出値) と非常に低い数値であるが、様々な環境因子に対する防護壁としての重要な役割

を担っている。各処理区におけるワックス量は、擬似酸性霧水の酸性度の増加に伴い減少傾向を示しており、対照区と比べ pH 3 処理区で有意に減少していた ($p < 0.05$)。これは、酸性霧の葉面への沈着の影響によりワックスが流亡したためであり、その影響は当年生よりも1年生針葉の方で強く受けていた。このような結果は、ワックスが加齢と共に風雨による物理的摩滅や酸性沈着物による流亡によって徐々に減少するという報告⁴²⁾と符合する。

(3) SEM によるワックス結晶構造の評価

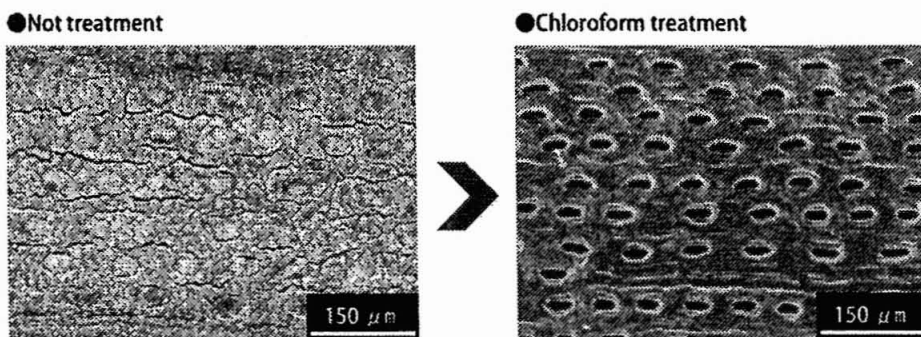


図 3.41 クロロホルムで抽出前(左)、抽出後(右)

次に、エピクチクラワックスの状態およびその結晶構造の評価を行うため、pH 3, 5 処理区から採取した針葉表面の観察を SEM により行った。今回は、主に機能的に重要な気孔付近の結晶構造に着目して行い、その結果を図 3.44 に示した。pH 5 処理区と比べ pH 3 処理区の葉表面ではワックスの減少が確認できた (図 3.44(d), (j))。また、ワックス結晶間の空隙の幅も広がっていた (図 3.44(b), (h))。このことは、先に示した各処理区におけるワックス量の定量結果に反映していると考えられる。さらに、当年生針葉と 1 年生針葉のワックスの状態を比較すると、1 年生針葉の方でワックスは塊となって存在していることから、酸性霧による結晶構造の変異や加齢によるワックス自体の劣化の影響が考えられる。

酸性沈着物は、ワックスを侵食するばかりでなく、ワックスの再生成をも阻害する⁴⁴⁾。このような影響は、葉の表面層を劣化させ、植物体内からのクチクラ蒸散および葉内成分の溶脱を増加させる結果を招く。このようなワックスの物理的、化学的変化は酸性沈着物に対する葉の抵抗性を弱めるばかりでなく、葉表面における昆虫や病原菌の侵入をも容易にし、生長低下を引き起こす可能性がある。

3.2.3.4.4 葉中クロロフィル濃度の測定

クロロフィルは植物葉における光合成で最も中心的な役割を持つ色素で、現在までクロロフィル a からクロロフィル d までの 4 種類が存在することが明らかとなっている。モミなどの高等植物にはクロロフィル a とクロロフィル b のみが葉中の葉緑体に含まれており、その含有量はクロロフィル a の方が多いとされている⁴⁵⁾。そこで、擬似酸性霧水がモミ針葉中のクロロフィル濃度に及ぼす影響を調べるため、各処理区の当年生および 1 年生針葉のクロロフィル a およびクロロフィル b 濃度の測定を行い、その結果を図 3.45 に示した。クロロフィル a, b の濃度は、対照区と pH 3

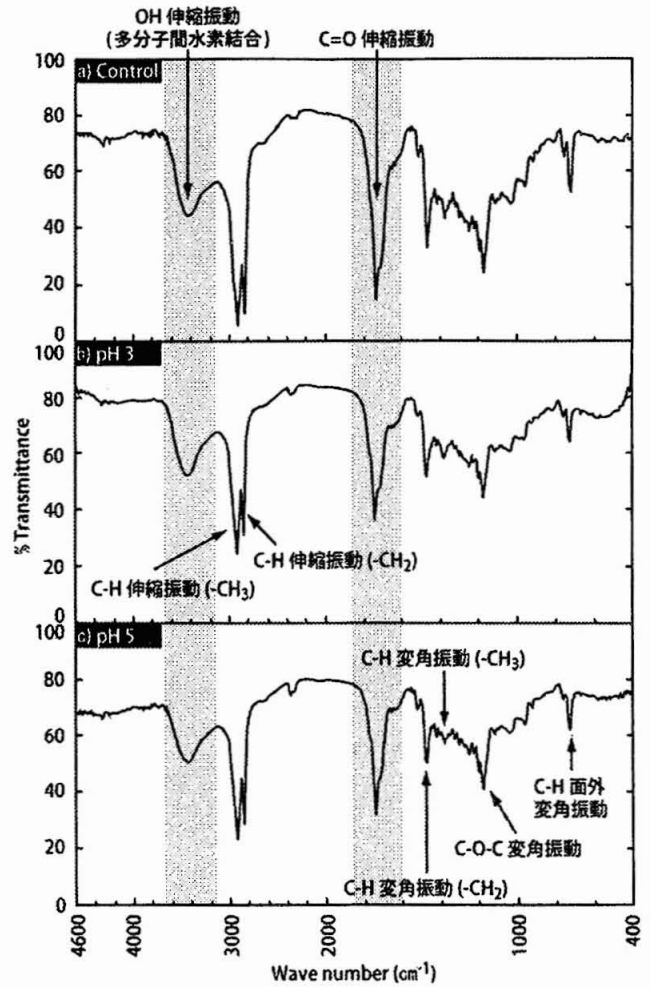


図 3.42 各処理区のモミ針葉から抽出したエピクチクラワックスの IR 吸収スペクトル

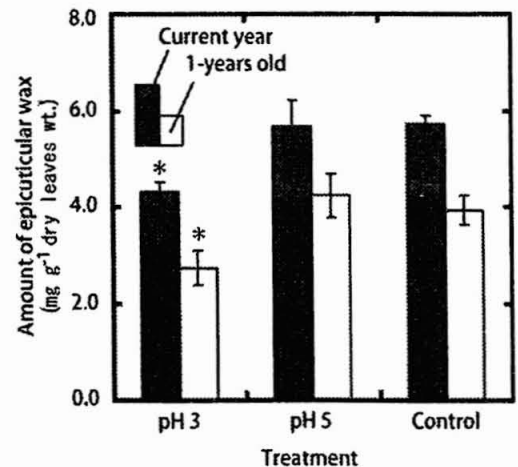
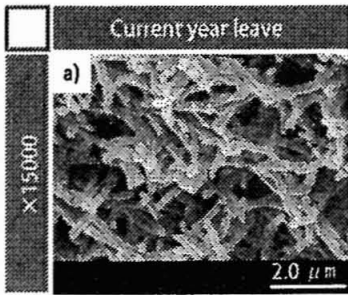
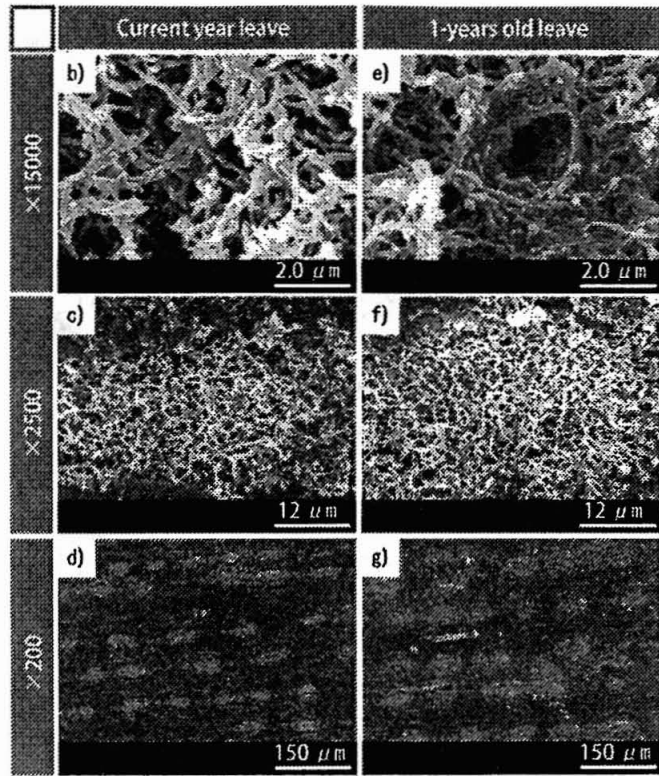


図 3.43 エピクチクラワックスの定量

● Not treatment



● pH 3 treatment



● pH 5 treatment

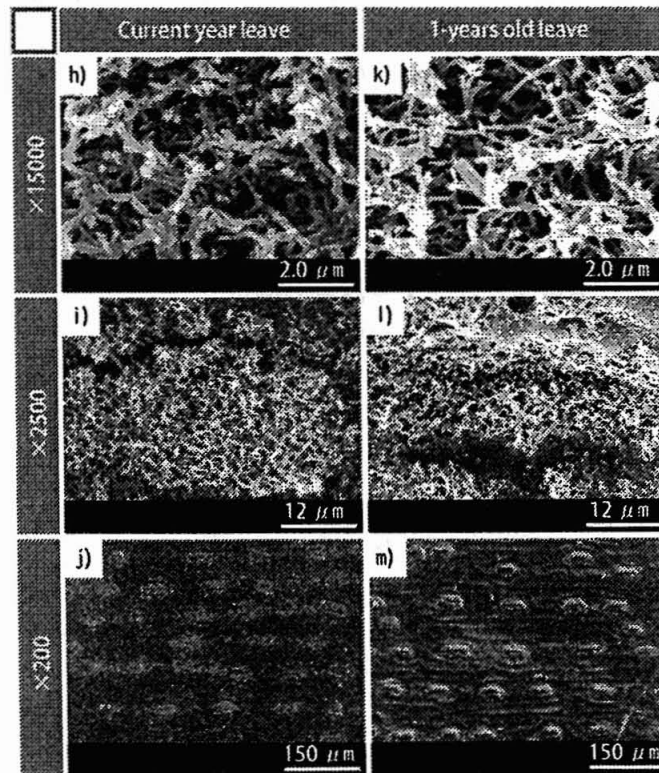


図 3.44 針葉表面の観察結果(気孔付近の結晶構造)

処理区の間で有意な差が見られた ($p < 0.05$)。このような酸性度の低下に伴うクロロフィル濃度増加の現象は、スギ苗木でも確認されている⁴⁶⁾。一方、Van Dijk らは、数種の針葉樹に NH_4^+ を負荷すると、その負荷量に伴って葉内クロロフィル濃度が増加することを報告しており⁴⁷⁾、この結果に基づいて三輪らはスギ苗木の葉内クロロフィル濃度が増加した原因として、人工酸性雨中の窒素分がスギ苗木に吸収され、クロロフィルの生成に利用された可能性を指摘している⁴⁸⁾。本研究で使った pH 3 の擬似酸性溶液には pH 5 のそれと比べ 100 倍の窒素分を含むことから、同様に解釈することができる。

3.2.3.3. 枝葉への噴霧実験

(1) 成分溶脱量の pH による変化

霧水の酸性化が植物体からの成分溶脱にもたらす影響を調査するために、当年生のモミ枝葉について擬似酸性霧水を用いた噴霧実験により検討を行った。図 3.46 に擬似酸性霧水を一定時間 (360 min) 噴霧させた時の pH 毎の成分溶脱量を示した。(a) は硝酸溶液のみの系、(b) はモル濃度で硝酸 2 に対し硝酸アンモニウムと塩化ナトリウムをそれぞれ 1 の割合で混合した系である。中性に近い霧水でも溶脱は確認されるが、霧水 pH の低下に伴いその量は増加する傾向にあった。中性糖、ウロン酸および金属イオンは pH 3.5 から 3.0 付近での増加率が著しくなっており、このことは、植物組織の損傷が pH 3.3 以下で生じるといふ報告と一致し⁴⁹⁾、且つ、酸性霧の植物影響について考察する上で重要な情報となり得る。Adams は、数種

の植物葉に pH 5.6, 3.5, 3.0 の人工酸性雨滴 (50 μL) を付着させるところ、雨滴の pH が成分溶脱により 75 分の観察時間の間上昇し、一方、パラフィルム上の同じ液滴の pH は植物表面のそれよりも常に低かったことを観察している⁴⁹⁾。このように、葉からの溶脱量が増加す

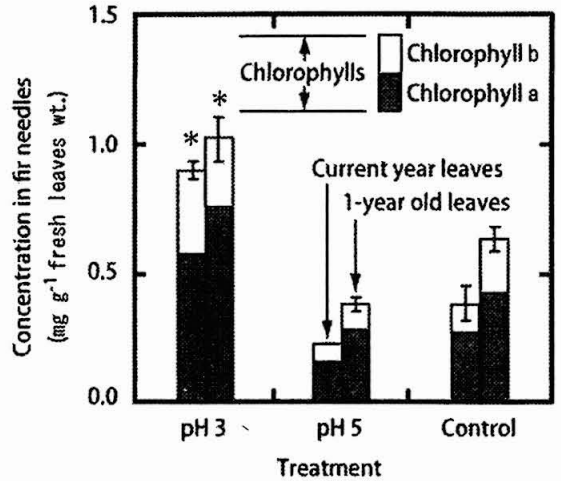


図 3.45 各処理区の当年生および 1 年生針葉のクロロフィル a およびクロロフィル b 濃度

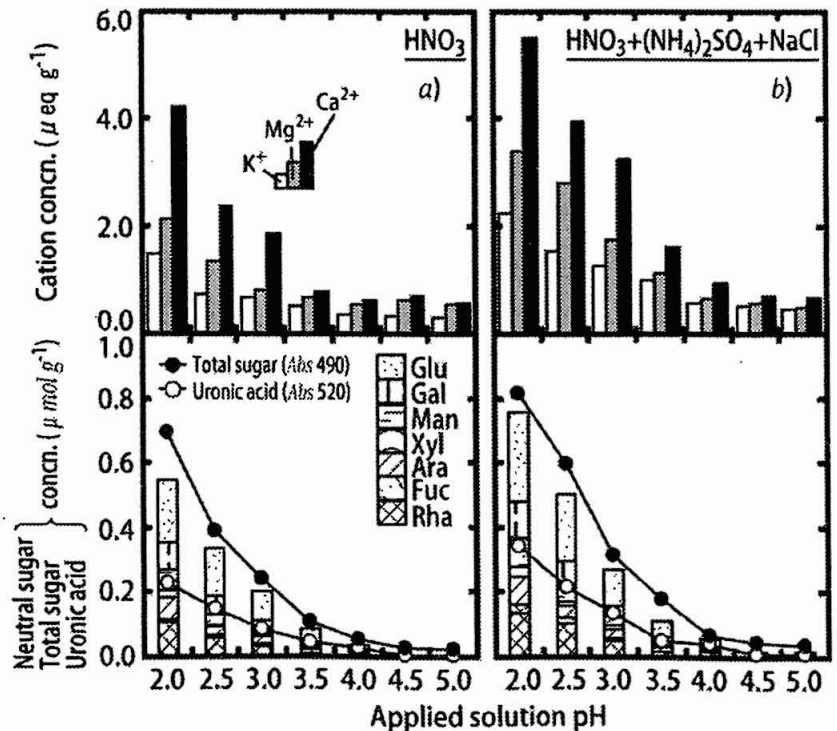


図 3.46 当年生モミ枝葉へ擬似酸性霧水を 360 min 噴霧させたときの pH ごとの成分溶脱量

るのは、酸を中和する物質を葉表面に分泌しているためであり、同時に葉が酸性霧に対するバッファー能力を保持することを示すものである。また、硫酸アンモニウムや塩化ナトリウムといった塩を添加した系では、硝酸のみの系と比べ成分溶脱量は増加しており、酸性度を高くするとより顕著になった。フィールドで実際に観測される雨や霧には多くの塩類が存在しており、塩は細胞組織への浸透性やイオン交換作用の変化に関与し、各成分の溶脱作用にも影響が及ぶものと考えられる。

(2) 成分溶脱量の経時変化

図 3.47 には、pH 2, 3, および 5 の擬似酸性霧水をモミ枝葉に対し噴霧させた時の成分溶脱量の経時変化を示した。これより、溶脱成分である中性糖、ウロン酸および金属イオンは、いずれも噴霧開始後 60 分ぐらいまでにその大半が溶脱していることが判る。葉が乾いた状態でそこに酸性霧を噴霧させた場合、葉から液滴が落下するまでには時間がかかるので、このような葉と霧水との接触時間の長期化が影響したと考えられる。実際、①で得られた接触溶液の液量は、枝葉の形態に関わらず、他の時間 (②~⑥) よりも 1, 2 割程度減少していた。

(3) 酸性霧処理したモミ針葉表面の SEM による観察

次に、酸性霧噴霧処理したモミ針葉の表面状態を調査するため SEM を用いて観察し、その結果を図 3.48 に示した。これより、pH の低下に伴う表面エピククラワックスの減少が確認され、下層部位が露出していた。また、2 種の塩を添加した系ではいずれもその流亡域が拡大しており、霧水の酸性度の増加によってその影響はさらに増大した。このようなワックスの減少は、先に述べた成分溶脱量を大きく左右させる。

葉表面に付着した霧液滴は、気孔よりもククラ層を通して表皮細胞に到達する⁵⁰⁾。溶

脱は、ククラおよび細胞壁の交換場所でカチオンが霧液滴中の H^+ および NH_4^+ と交換される反応であるので、無機栄養塩類や糖類の溶脱は、葉表面からのワックスの流亡の程度に依存すると考えられる。

(4) 時期による溶脱挙動の違い

霧水の酸性化が植物体からの成分溶脱にもたらす影響を調査するために当年生の枝葉 (モミ、スギ、ブナ) について擬似酸性霧水を用いた噴霧実験による検討を行った。

図 3.49 に成長期 (春~夏) において擬似酸性霧水 (噴霧溶液: HNO_3) をモミ枝葉に対し噴霧 (計 300 分間) させた時の成分溶脱量と成分割合の関係を示した。霧水の pH の低下によって溶脱量が増加する傾向であった。pH 2~3 にかけて溶脱量が顕著に増加しており、これらは植物の損傷が pH 3.3 以下で生じると報告に一致していた⁵¹⁾。また、溶脱量が増加するのは、酸を中和する物質を葉表面に分泌しているためであり、同時に葉が擬似酸性霧水に対するバッファー能力を保持することを示すものである⁵²⁾。またこの図より、樹種間での溶脱量を比較すると、スギ < モミ < ブナの順に多く、樹種による耐酸性の違いを示した。成分割合では、モミとスギでは Ca^{2+} 、 K^+ が多く、ブナは特に Ca^{2+} が多く溶脱していた。一方、どの樹種も Mg^{2+} の溶脱は少なかった。これらの溶脱挙動の違いは、溶脱機構または葉面を保護するワックスの成分に関係すると考えられる。ブナで Ca^{2+} が多く溶脱していた理由として、ブナは上記の樹種間の比較より耐酸性が弱いことや、モミとスギと比べてワックス量が少ないことなどが寄与していると思われる。最近の研究において、細胞壁においてペクチン多糖類の一つである Rhamnogalacturonan II (RG-II) が、植物の必須微量元素であるホウ素と結合して機能していることが明らかにされており⁵³⁾、ペクチン分子は Ca^{2+} により架橋されることで細胞壁構造をより安定化させる。 Ca^{2+} の溶脱により、

- ① 0 ~ 60 min.
- ② 60 ~ 120 min.
- ③ 120 ~ 180 min.
- ④ 180 ~ 240 min.
- ⑤ 240 ~ 300 min.
- ⑥ 300 ~ 360 min.

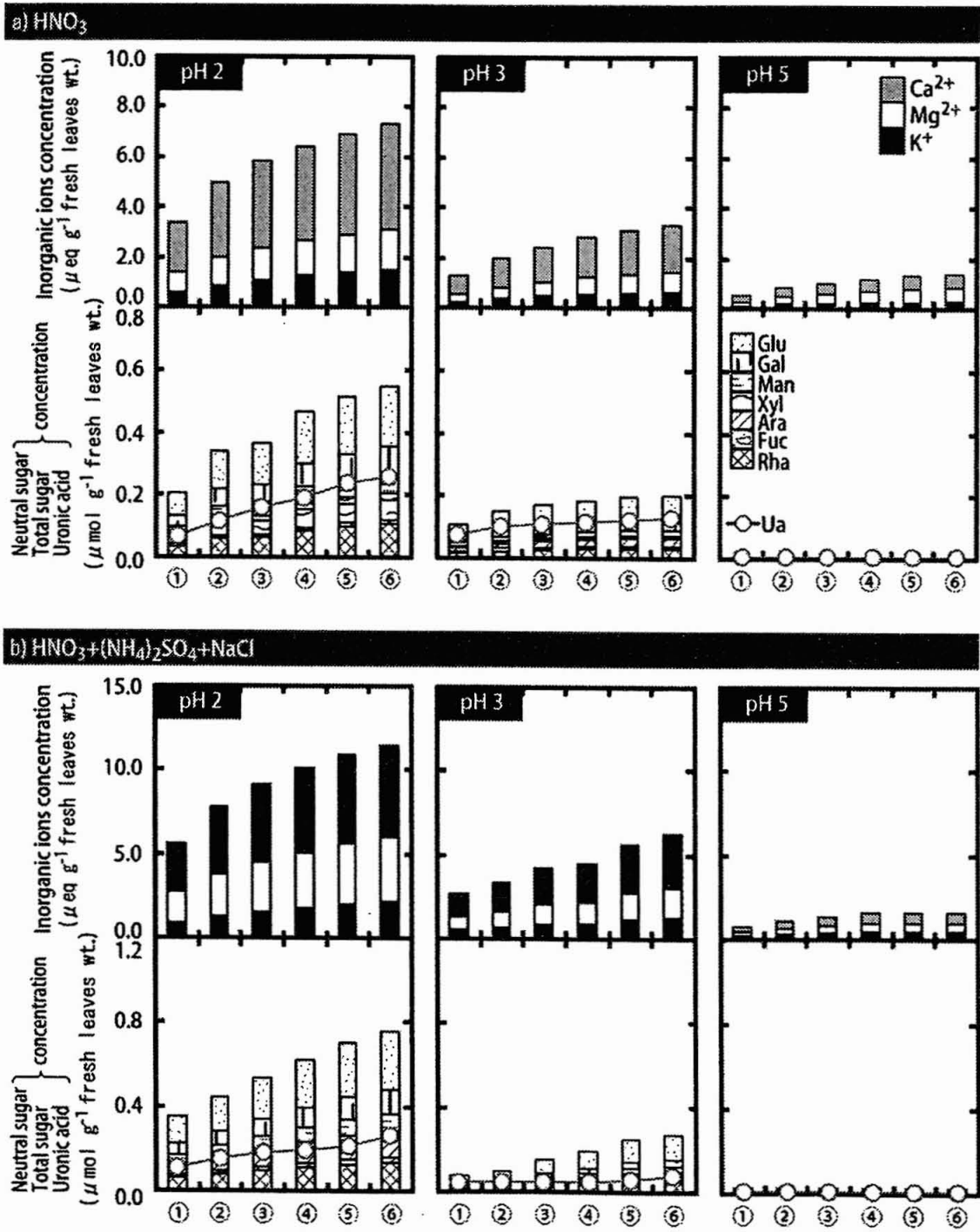


図 3.47 pH 2, 3, および 5 の擬似酸性霧水をモミ枝葉に対し噴霧させたときの成分溶脱量の経時変化

細胞壁の構造の不安定化によって、ホウ素や酸性糖など成分が溶脱すると考えられる。

図 3.50 に時期を変えて擬似酸性霧水をモミ、スギ枝葉に対し噴霧（計 300 分間）させた時の成分溶脱量と成分割合の関係を示した。モミは休眠期に、スギは成長期に溶脱はより多くなった。成分割合では、モミは成長期に K^+ 、休眠期に Ca^{2+} が多く、スギはモミと反対であった。成長期と休眠期の Mg^{2+} の溶脱量を比較すると、休眠期に顕著に減少していた。これらは、季節による葉表面の酸に対する抵抗力の違いによると考えられる。

(5) 膜結合型カルシウム (*mCa*) に対する酸性霧の影響

植物葉は霧水中に多く存在するプロトン (H^+) が付着すると、イオン交換作用によりカルシウム (Ca) を葉表面に分泌する、いわゆるバッファー化を起こすことが知られており、このような溶脱は生理学上重要である。*mCa* は、細胞膜構造とその機能を維持する上で重要な役割を担い、また環境ストレスに対して強い応答を示すことも報告されている³⁴⁾。このような Ca が酸性霧によりどの程度減少するかを明らかにするために、ここでは生体膜と結合している Ca と特異的な親和性を有する蛍光プローブである CTC を使用し、その蛍光強度を測定した。図 3.51 中の写真は CTC 蛍光が *mCa* 由来であることを示しているが、併せて表示したダイヤグラムから、葉肉細胞の細胞膜上で蛍光は強くなっていることが分かる。図 3.51A、B にモミおよびスギ針葉中の *mCa* レベルの測定結果を示す。モミでは SAF の pH 2, 3 処理区で針葉中の *mCa* レベルが未処理区と比較してそれぞれ 22、13% と有意に減少した ($p > 0.01$)。一方、スギの *mCa* レベルは酸性霧処理の有無に関わらず一定という興味深い結果が得られた。図 3.51C には、M. Jiang らが米国メイン州で赤トウヒを対象に SAF を噴霧し、針葉内の *mCa* レベルを測定した結果を示すが³⁾、今回モミで得られた結果と同様な傾向を示している。このことから酸性霧に対する応答が樹種によって大きく異なることが明ら

かとなった。今後、丹沢山地で同様に衰退が進行しているブナ (*Fagus crenata*) についても検討する予定である。

(6) 擬似酸性処理したモミ、スギ葉のエピクチクラワックスの影響
 <エピクチクラワックス量>

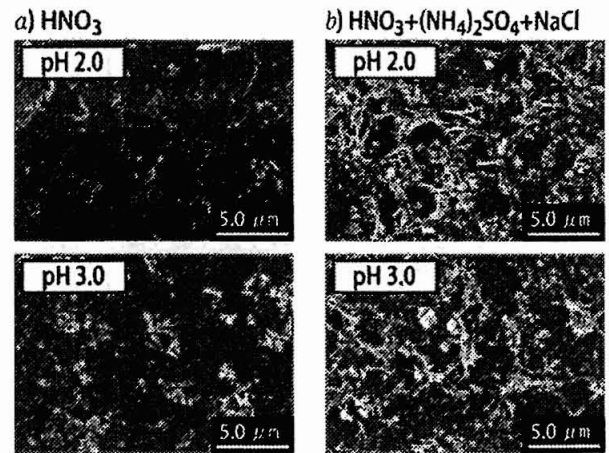


図 3.48 酸性霧噴霧処理したモミ針葉の表面状態

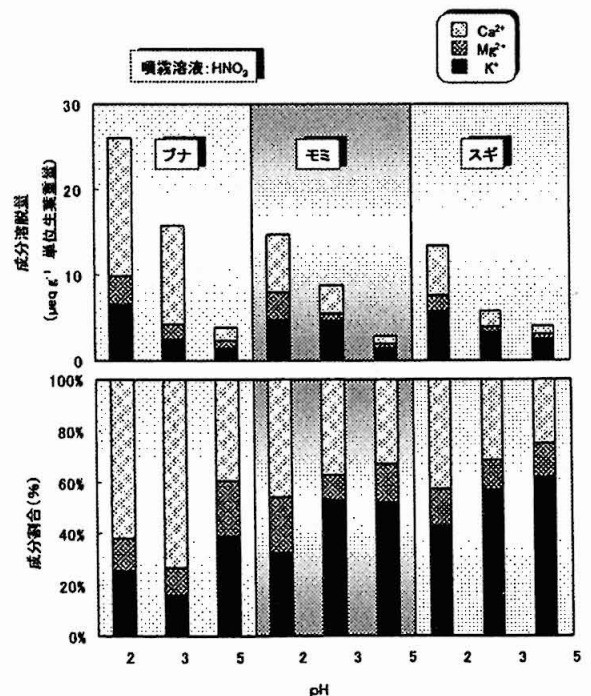


図 3.49 成長期において擬似酸性霧水

エピクチクラワックス（以下ワックス）とは、クチクラ（エピクチクラワックス→ワックス層→ペクチン層→クチン層の順番に葉を保護する層）の表皮細胞の細胞壁の一番外側の部分であり、ガスや水分やイオンなどが植物体から失われるのを防ぐ働きがある³⁾。また、ワックスは植物の水分保持と深く関わっており、水分条件の変化でワックス量の増減を引き起こすと言われている。このワックスは針葉の表面を覆い、いつも大気に晒され、大気汚染物質に対する感受性が高く、結晶構造の劣化が原因で容易に化学組成を変化させるという報告がある²⁶⁾。

図 3.52, 3.53 に擬似酸性霧水の pH とモミ、スギのワックス量の関係を示した。モミとスギの試料は当年生の葉を用いた。擬似酸性霧水の噴霧溶液は①HNO₃ の系、②HNO₃+NaCl の系、③HNO₃+(HN₄)₂SO₄ の系とし、各系においてどのようにワックスが変化しているのかを検討した。

HNO₃ の系でのモミのワックス量は、擬似酸性霧水の pH の低下に伴い減少する傾向を示している。しかし、スギでは変化が小さい。

ワックス量の減少は、酸性霧の葉面への沈着影響によりワックスが流亡したためであると考えられる。葉齢の違いによるワックス量の違いを見ると、モミでは、葉齢が増すにつれ減少し、スギは増加した。一般的にワックスは、葉齢の増加により、風雨による物理摩擦や酸性沈着物による流亡によって徐々に減少するという報告があるが³¹⁾、スギではこれと異なる結果となった。②HNO₃+NaCl の系、③HNO₃+(HN₄)₂SO₄ の系ではワックス量と pH の間に関係は認められなかった、多くの試料を分析し、今後の検討が必要である。針葉樹の1年生のワックス量については、新鮮葉重量あたりのワックス量 (mg/g) で多いものから順に、ヒ

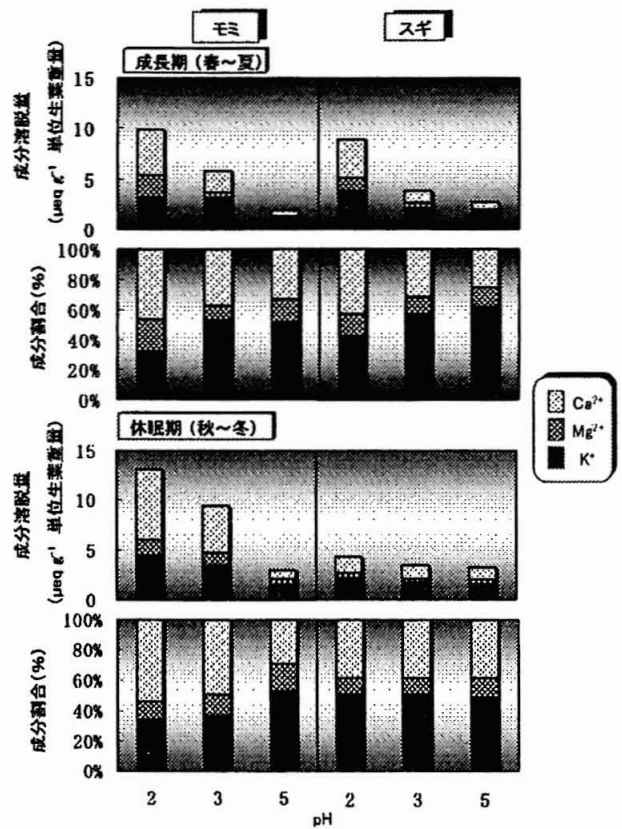


図 3.50 成長期と休眠期において擬似酸性霧水をモミ、スギ枝葉に対し噴霧されたときの成分溶脱量と成分割合

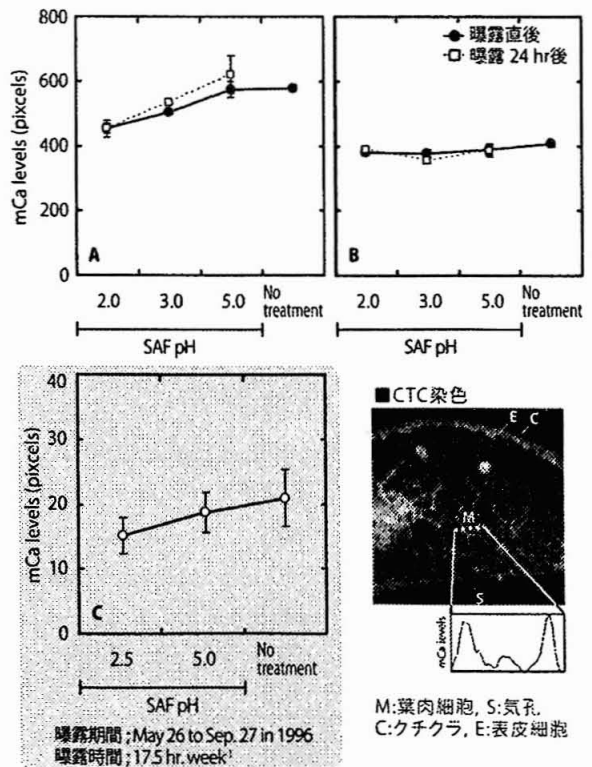


図 3.51 SAF 処理区における mCa レベル変化
A:モミ, B:スギ, C:赤トウヒ

マラヤスギで 7.7 ± 0.5 、ヒバで 6.7 ± 0.7 、オシラビソで 6.4 ± 0.9 、アカマツで 5.6 ± 0.8 、スギで 5.5 ± 1.4 と報告されている¹⁷⁾。本研究での評価法と多少異なるが、本研究での1年生葉の乾燥葉重量あたりのワックス量を比較すると、モミ 11.4 ± 0.7 (mg/g)、スギ 5.3 ± 0.3 (mg/g) であり、モミはこれらの針葉樹の中でワックス量が多い樹種といえる。

<GPCによる分子量分布の測定>

擬似酸性霧水の噴霧によって、モミとスギでの溶脱量、ワックス量、TOC量などの溶脱機構、挙動が異なっていた。これは、ワックス成分の違いが影響していると考えられるため、モミとスギの分子量を測定した。結果を図3.54に示す。モミはpHの低下に伴い低分子成分(溶出液量18~23 mL)を中心に多く溶解し、pHによる変化は大きい。その低分子成分の溶解とは水に溶けやすい低級アルコールなどが考えられる。一方、スギは、余り変化していないため、pHによる変化は小さい。また、モミのワックス成分(分子量200~3500)はスギ(分子量100~800)より幅広い分子量を持つことがわかる。このように酸によるワックスの溶解性やワックス成分がモミとスギで異なっており、このことが樹種による溶脱挙動や耐酸性の違いの一因と考えられる。

3.2.4. 結論

酸性霧による影響をより詳細に観察するため、丹沢山地で現在衰退が進行しているブナおよびモミ枝葉に対して擬似酸性霧を噴霧し、葉からの成分溶脱量や葉面に及ぼす影響について検討した。pH3の処理区のブナ苗木は葉の展開が著しく阻害されており、また、展開している葉についても落葉が対照区と比べ早期化することが明らかとなった。このことから、大気汚染物質によりブナの生長は抑制され、且つ、枯死する可能性があることが示唆

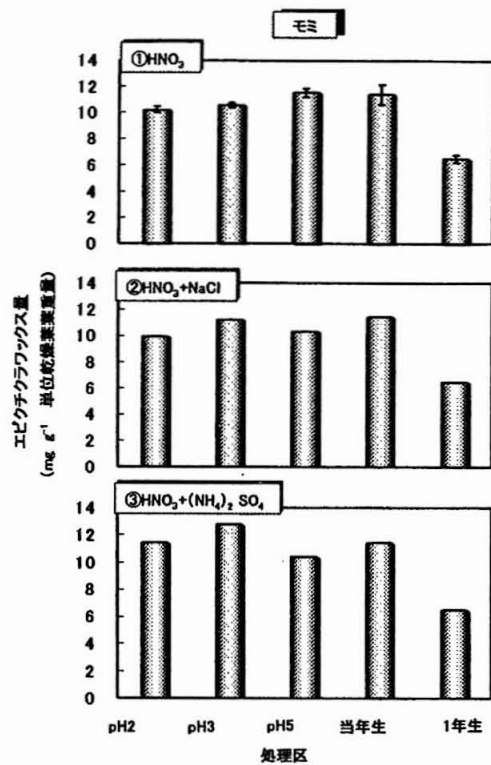


図 3.52 擬似酸性霧水の pH とモミのエピクチクラワックス量の関係 (図中のエラーバーは標準誤差を示す)

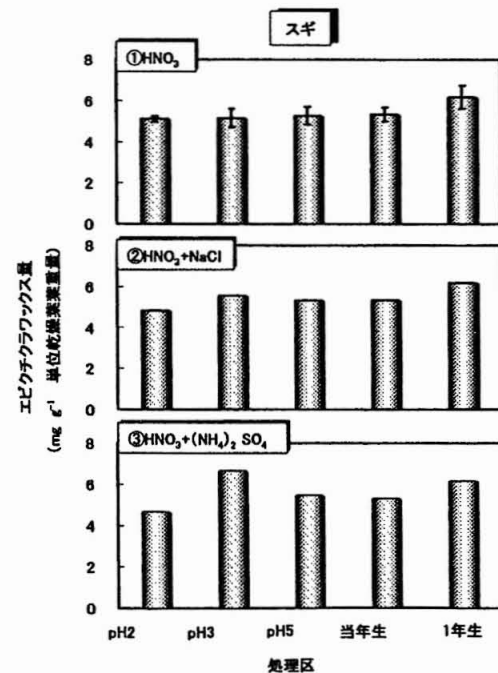


図 3.53 擬似酸性霧水の pH とスギのエピクチクラワックス量の関係 (図中のエラーバーは標準誤差を示す)

された。今後、得られたデータを裏付けるために、丹沢山地における霧発生頻度や風の影響等を詳細に調査する必要がある。

同様なことはモミ苗木についても言え、霧水の酸性化が植物体からの成分溶脱量にもたらす影響を調査したところ、酸性度の増加に伴い中性糖、ウロン酸および金属イオンの溶脱量は増加し、塩を添加した系でより顕著となった。このことはフィールド観測での結果を大いに支持するものである。これより、森林衰退のメカニズムの一つとして、まず酸性沈着物により葉表面のエピクチクラワックスが流亡すること、続いてワックス下部に存在する表皮細胞から中性糖、ウロン酸、ホウ素および Ca^{2+} が溶脱することが明らかとなった。

本研究では酸性霧と樹木（モミ、スギ、ブナ）の衰退、立ち枯れとの関連性を把握するために、樹木への擬似酸性霧の噴霧実験を行いその影響を検討した。その結果、樹種間による溶脱量の比較では、スギ<モミ<ブナの順に高く、樹種による酸耐性の違いを示した。特にブナで Ca^{2+} が多く溶脱していた。 Ca^{2+} の溶脱より、細胞壁の破壊や生体膜の機能低下が生じると考えられる。成長期と休眠期における溶脱挙動の違いでは、モミは休眠期の方が高く、スギは成長期の方が高かった。塩を含む系と含まない系では、休眠期の噴霧実験の結果より、硝酸に塩化

ナトリウムを添加した系では溶脱量が抑制され、硫酸アンモニウムを添加した系では、硝酸のみの系より溶脱量が増加した。

モミとスギのエピクチクラワックスの量や分子量を測定したところ、モミとスギの違いが明らかになった。ワックス量について、モミはpHの低下に伴い減少するが、スギはあまり変化していない。また、モミのワックスの分子量分布は200~3500と幅広い分布を持ち、一方スギは100~800と狭い。これらのワックス成分の酸への応答の違いが、樹種による溶脱機構や耐酸性の違いの一因と考えられる。

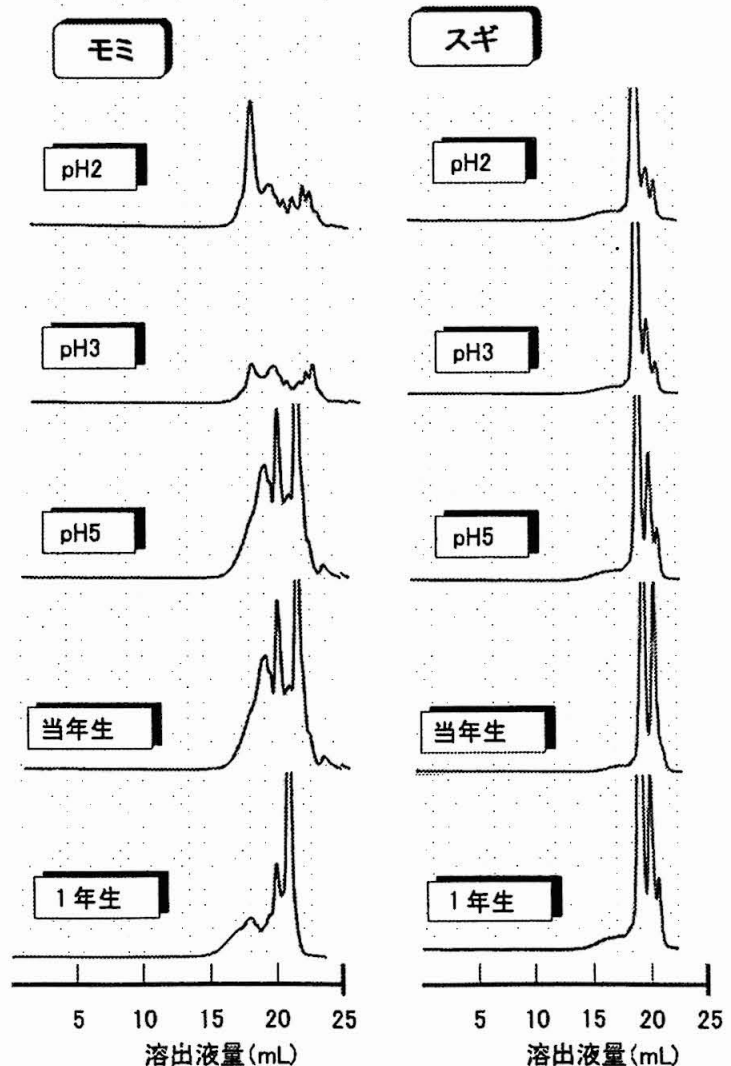


図 3.54 擬似酸性霧水の pH とエピクチクラワックスの分子量分布の関係

第3章 参考文献

- 1) 木村和義, “作物にとって雨とは何か”, 農山漁村文化協会 (1987) p.197.
- 2) Z. Polkowska, A. Astel, B. Walna, S. Malek, K. Medrzycka, T. Gorecki, J. Siepak, J. Namiesnik, “Chemometric analysis of rainwater and throughfall at several sites in Poland”, *Atmos. Environ.*, **39**, 837 (2005).
- 3) B. Momen, P. D. Anderson, J. L. J. Houppis, J. A. Helms, “Growth of ponderosa pine seedlings as affected by air pollution”, *Atmos. Environ.*, **36**, 1875 (2002).
- 4) S. B. McLaughlin, P. A. Layton, M. B. Adams, N. T. Edwards, P. J. Hanson, E. G. O'Neill, “Growth responses of 53 open-pollinated loblolly pine families to ozone and acid rain”, *Environmental Quality*, **23**, 247 (1994).
- 5) 伊豆田猛, 三輪誠, 三宅博, 戸塚績, “スギ苗の生長に対する人工酸性雨の影響”, 人間と環境 (日本環境学会誌), **16**, 44 (1990).
- 6) 伊豆田猛, 大谷知子, 横山政昭, 堀江勝年, 戸塚績, “モミ苗の成長に対する人工酸性雨の影響”, 大気汚染学会誌, **28**, 29 (1993).
- 7) 井川学, “酸性降下物と生態系影響 丹沢・大山における森林衰退と酸性霧”, 環境科学学会誌, **12**, 233 (1999).
- 8) M. Dubois, K. A. Gilles, J. K. Hamilton, P. A. Rebers, F. Smith, “Colorimetric method of determination of sugars”, *Analytical Chemistry*, **28**, 350-356 (1956).
- 9) N. Blumenkrantz, G. Asboe-Hansen, “New method for the quantitative determination of uronic acid”, *Analytical Biochemistry*, **54**, 484-489 (1973).
- 10) 櫻井直樹, 山本良一, 加藤陽治, “植物細胞壁と多糖類”, 培風館, p.181(1991).
- 11) Sase, H., Takamatsu, T., Yoshida, T., “Variation in amount and elemental composition of epicuticular wax in Japanese cedar (*Cryptomeria japonica*) leaves associated with natural environmental factors”, *Can. J. For. Res.*, **28**, 87-97 (1998).
- 12) 佐藤一男, 高橋, “スギ樹幹からの水素イオンの溶脱と樹幹近傍土壌の酸性化”, 環境科学学会誌, **9**, 221 (1996).
- 13) 大河内博, 細野哲也, 丸山文隆, 井川学, “丹沢大山における酸性降下物とスギ、モミ樹幹との相互作用”, 環境科学学会誌, **8**, 305 (1995).
- 14) 松本嘉孝, 西田継, 熱田洋一, 坂本康, “温帯林における樹冠通過雨の年間 DOC フラックスの推定”, 環境科学学会誌, **17** (5), 379-388 (2004).
- 15) Igawa, M., Kase, T., Satake, K., Okochi, H., “Severe leaching of calcium ions from fir needles caused by acid fog”, *Environ. Pollut.*, **119**, 375-382 (2002).
- 16) 間藤徹, “ホウ素の生理学—最近の展開—”, *RADIOISOTOPES*, **49**, 279-281 (2000).
- 17) Ishii, T., Matsunaga, T., and Hayashi, N., “Formation of rhamnogalacturonan II-borate dimer in pectin determines cell wall thickness of pumpkin tissue”, *Plant Physiol*, **126**, 1698-1705 (2001).
- 18) G. E. Likens, C. T. Driscoll, D. C. Buso, T. G. Siccama, C. E. Johnson, G. M. Lovett, D. F. Ryan, T. Fahey, W.A.Reiners, “The biogeochemistry of potassium at Hubbard Brook”, *Biogeochem.*, **25**, 61 (1994)
- 19) 金子信司, 荒木誠, 古澤仁美ほか, “酸性雨等の森林生態系への影響モニタリング—関西スギ林における酸性降下物—”, 森林総合研究所研究報, Bulltin of FFPRI 3, 281 (2004).
- 20) G. M. Lovetto, “Rates and mechanisms of cloud water deposition to a subalpine balsam fir forest”, *Atmos. Environ.*, **18**, 361 (1984).
- 21) T. A. McMahon, P. J. Denison, “Empirical atmospheric deposition Parameters A survey”, *Atmos. Environ.*, **13**, 571 (1979).
- 22) P. J. Hanson, S. E. Lindberg, “Dry deposition

- of reactive nitrogen compounds: a review of leaf, canopy and non-foliar measurements”, *Atmos. Environ.*, **25**, 1615 (1991).
- 23) Matsui, T., Yaihasi, T., Nakaya, T., Tanaka, N., and Taoda, H., “Climatic controls on distribution of *dagus crenata* forests in Japan”, *J. Veg. Sci.*, **15** (1), 57-66 (2004)
- 24) 阿相敏明, 武田真由子, 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”, 神奈川県環境科学センター研究報告, **24**, 82-89 (2001)
- 25) O.Klemm, “Leaching and uptake of ions through above-ground Norway spruce tree parts ”in “Forest Decline and Air Pollution”, Springer-Verlag , Berlin, (1989) p.211-237.
- 26) P.J.Holloway, “Plantcuticles ; Physicochemical Characteristics and biosynthesis ” in “ Air Pollutants and the Leaf Cuticle ” Springer -Verlag , Berlin, (1994) p.1-13.
- 27) J.N.Cape, I.S.Paterson,J.Wolfenden, Regional variation in surface properties of Norway spruce and Scots pine needles in relation to forest decline. *Environ. Pollut.*, **58**, 325-342(1989).
- 28) M.Thrunen, S.Huttunen, “ A review of the response of epicuticular wax of conifer needles to air pollution ” , *J.Environ.Qual*, **19**, 35-45,(1990).
- 29) W.R.Jordan,P.J.Shouse, A.Blum,F.R.Miller, R.L.Monk, Environmental physiology of sorghum .II. Epicuticular wax load cuticular transpiration. *Crop Sci.*, **24**, 1168-1173(1984).
- 30) H.Sase, T.Takamatsu, T.Yoshida, K.Inubushi, Changes in properties of epicuticular wax and the related water loss in Japanese Cedar (*Cryptomeria japonica*) leaves associated with natural environmental factors . *Can J. For. Res.*, **28**, 87-97(1998b).
- 31) K.Mendgen, “ Fungal attachment and penetration ” in “ Plant Cuticles ” , BIOS Scientific Publishers Ltd, Oxford, (1996) , p.175-188.
- 32) K.E.Percy, C.J.McQuattie, J.A.Rebbeck, “Effects of air pollutants on epicuticular wax chemical composition” ,in *Air Pollutants and the Leaf Cuticle*. Springer-Verlag , Berlin, (1994a) p.67-79.
- 33) 清水碩著, “大学生の植物生理学 (改訂版) ”、掌華房(1996) p.26~59,127~144.
- 34) J.N.Cape Effects of air pollution on the chemistry of surface waxes of Scots pine. *Water Air Soil Pollut*, **31**,393-399.
- 35) H. Sase, T. Takamatsu, T. Yoshida, “Variation in amount and elemental composition of epicuticular wax in Japanese Cedar (*Cryptomeria japonica*) leaves associated with natural environmental factors”, *Can J. For. Res.*, **28**, 87-97 (1998a).
- 36) O. Klemm, “Leaching of cations by acid rain from twigs and single needles in forest decline and air pollution”, Springer-Verlag , Berlin, (1989) p.221-225.
- 37) C. H. Borer, D. H. Dehayes, *Tree*, **12**, 21-26 (1997).
- 38) 阿相 敏明, 武田 真由子, 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”, 神奈川県環境科学センター研究報告, **24**, 82-89 (2001).
- 39) Igawa, M., Kameda, H., Maruyama, F., Okochi, H., Otsuka, I., “Effect of simulated acid fog on needles of fir seedlings”, *Environ. Exp. Bot.*, **38**, 155-163 (1997).
- 40) D. P. Byres, J. D. Johnson and T. J. Dean, “Seasonal response of slash pine (*Pinus elliotti* var. *elliotti* Engelm.) photosynthesis to longterm exposure to ozone and acidic precipitation”, *New phytol.*, **122**, 91-96 (1992).
- 41) 大河内 博, 長嶋 律, 補伽 栄一, 井川 学, “丹沢山塊大山の土壌の酸性度と化学組成”, 環境科学会誌, **6**, 29-34 (1993).
- 42) Sase, H., Takamatsu, T., Yoshida, T., “Variation in amount and elemental

- composition of epicuticular wax in Japanese cedar (*Cyptomeria Japonica*)leaves associated with natural environmental factors”, *Can. J. For. Res.*, **28**, 87-97 (1998).
- 43) J. N. Cape, K. E. Percy, “Effects of air pollution on the chemistry of surface waxes of Scots Pine”, *Water Air Soil Pollut.*, **31**, 393-399 (1986).
- 44) K. E. Percy, E. A. Baker, “Effects of simulated acid rain on production, morphology and composition of epicuticular membrane development”, *New Phytol.*, **107**, 577-589 (1987).
- 45) 玉置 元則, 平木隆年, 正賀 充, 中川 吉弘, 小林 禧樹, “森林地域での林外雨と林内雨採取法の検討”, 兵庫県立公害研究所研究報告, **24**, 42-47 (1992).
- 46) 三輪 誠, 伊豆田 猛, 戸塚 績, “スギ苗の生長に対する人工酸性雨とオゾンの単独および複合影響”, 大気汚染学会誌, **28**, 279-287 (1993).
- 47) H. F. G. Van Dijk, M. H. De Louwn, J. G. Mroelofs, and J. J. Verburgh, “Impact of artificial, ammonium-enriched rainwater on soils and young coniferous trees in a greenhouse. Part II-Effect on the trees”, *Environ. Pollut.*, **63**, 41-59 (1990).
- 48) T. Wood, and F. H. Bormann, “Increases in foliar leaching caused by acidification of an artificial mist”, *AMBIO*, **4**, 169-171 (1975).
- 49) C. M. Adams, “The response of *Artemisia tilesii* to simulated acid precipitation”, M. S. Thesis, Univ. of Tronto, Ontario (1992).
- 50) L. S. Evans, “Acidic precipitation effects on terrestrial vegetation”, *Ann. Rev. Phytopath.*, **22**, 397-420 (1985).
- 51) T. Wood, F. H. Bormann, “Increases in foliar leaching caused by acidification of an artificial mist”, *AMBIO*, **4**, 169-171 (1975).
- 52) C. M. Adamus, T. C. Huchinson, “A comparison of the ability of leaf surfaces of three species to neutralize acidic rain drops”, *New phtol*, **97**, 463-478 (1984).
- 53) T. Ishii, T. Matsunaga, *Phytochemistry*, **57**, 969-974 (2001).
- 54) M. Jiang, R. Jagels, *Tree physiol.*, **19**, 906-916 (1999)