

オゾンがアサガオの葉令別光合成速度と 可溶性炭水化物に及ぼす影響

久野春子・寺門和也

Effects of Ozone on Apparent Photosynthesis and Soluble
Carbohydrate in Leaves at Different Ages of Morning Glory

Haruko KUNO and Kazuya TERAKADO

Summary

This study was carried out about the relation between leaf age and the order of leaves damaged visibly from photochemical oxidant according to growth stages of morning glory. In this work, the effects of ozone on apparent photosynthesis and soluble carbohydrate contents of inmatured leaves and matured ones were studied. Results obtained were as follows;

1. The leaves which were located below the 5th, 9th, 15th and 17th respectively of 6, 13, 22 and 40 leaves according to growth stages, were damaged visibly from oxidant. The ozone sensitive leaves ceased their area expansion and showed large stomatal opening.
2. Apparent photosynthetic rate was highest at the leaf order just before ceasing leaf expansion. And the value at the leaf order above or below it became lower.
3. Changes and recovery of photosynthetic rates when the upper and the lower leaves were exposed to 0.1, 0.2 and 0.5 ppm ozone for 120 minutes were observed. In the exposed plot to 0.1 ppm ozone, photosynthetic rate was similar as that of control and visible damage was not observed. A slight decrease of photosynthetic rate in the lower leaves was observed at a concentration of 0.2 ppm and recovery of photosynthetic rates in the upper and the lower leaves became later in early stage. But visible damages were not occurred. In the exposed plot to 0.5 ppm ozone, photosynthetic rates were decreased remarkably and recovery of them were worse at the upper, the middle and the lower leaves. Visible damages were observed at the middle and the lower leaves, but not at the upper ones.
4. When the plants were exposed to 0.5 ppm ozone for 120 minutes, starch contents in the upper and the lower leaves were less than that before treatment. Total soluble carbohydrate contents in the upper leaves increased slightly, but it decreased in the lower leaves.

I 緒 言

多数の植物について光化学オキシダントによる影響を調査し、可視被害等から指標植物の検討を行ってきた。¹⁾ その中でアサガオは生育期間が長くオゾンに敏感に反応し、可視被害程度とオキシダントドースとの相関がよいため指標植物として最適であることがわかった。^{2), 3)} このような可視被害調査を行う中でオゾンにより被害を受け

る葉位と受けない葉位があることがわかり、アサガオの葉位別による気孔開度、クロロフィル、糖濃度など葉のもつ生理的な特徴について報告した。⁴⁾

一方、オゾンによる可視被害発生との関係で、MacDowall,⁵⁾ 三宅ら⁶⁾はタバコで、浅川ら⁷⁾はネギで気孔開度の影響を受けるとし、Lee⁸⁾は還元糖濃度と関連があると報告した。葉令との関係では、Suttonら⁹⁾がビントビーンの葉を用いて実験し、若い葉は可視被害を生じ

ないがオゾンにより細胞レベルの障害は受けており、それらは5日間位で回復し、またグルコースを葉へ供給することにより著しく回復が早くなるという興味あるデータを示した。

本報告では、アサガオの成長に従って気孔開度などの葉令の特徴と可視被害葉位との関係について調査を行った。そして、若い葉令と成熟した葉令の葉にそれぞれ濃度別のオゾン処理を行い、光合成速度の変化と回復の仕方を見て、さらにオゾン処理による葉内の可溶性炭水化物の変動から、オゾンが各葉令に及ぼす影響について検討を行った。

II 材料および方法

1. 材料

アサガオは品種スカーレットオハラを用い、浄化空気室と非浄化空気室内に地植えし、実験1と4に使用した。また、 $\frac{1}{5000}$ a ワグネルポットにて育成したアサガオは実験2と3に用いた。地植え栽培の施肥量は化成肥料(N, P₂O₅, K₂O 14, 14, 14)を100 g/m²施用し、ポット栽培はポット当りN 0.6 g, P₂O₅ 0.6 g, K₂O 0.3 gとした。播種は5月中旬に行い、6月中旬に移植した。

2. 方法

実験1. 全葉数が6, 13, 22, 40枚の生育時期別に葉面積の拡大推移を測定し、また、気孔開度は浄化空気室のアサガオを用いて湿潤法⁴⁾により葉の表面と裏面を5段階に分けて調査した。一方、各時期のアサガオがオキソダントにより受ける可視被害を非浄化空気室内で葉位ごとに調べた。^{2,3)}

実験2. 葉位別の光合成・呼吸速度はポット植えのアサガオを用い、同化箱内に着生葉を1枚入れて葉位ごとに測定した。

測定装置の概略は図1に示した。浄化空気室の空気をポンプで引いて濃硫酸を通して除湿した空気とその1部の空気を水中を通して加湿し、それらを混合して一定の湿度を保った空気を4 ℓ/min.の流量として同化箱へ通した。みかけの光合成速度は同化箱へ入る前の空気と同化箱内の空気のCO₂濃度を赤外線ガス分析計(日立堀場 ASSA-2型, 200~400 ppm)により測定し、その濃度差よりmg CO₂ · dm⁻² · hr⁻¹として求めた。呼吸速度の測定はソーダライムと10% KOH 溶液を通して脱炭酸した空気を2 ℓ/min.の流量を同化箱に通し、暗黒下で行った。

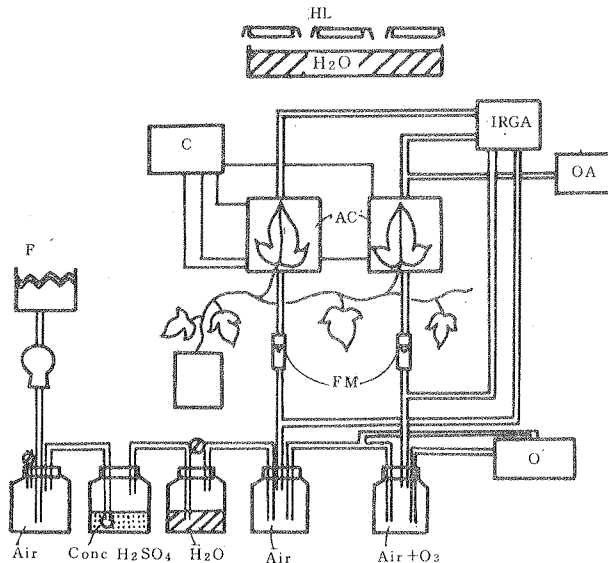


Fig.1 Diagram of the system for measurement of photosynthesis and ozone exposure.

IRGA : Infrared gas analyzer HL : Halogen lamp
 C : Coolnics OA : Ozone analyzer P : Pump
 F : Active carbon filter FM : Flow meter
 O : Ozonater AC : Assimilatory chamber

同化箱の概略は図2に示した。大きさは、15cmと20cmの正方形で厚さ6cmの2種類を透明アクリルで作製した。内部の中心に四角形の小型送風機を入れ、その外側に冷却用の水を通す口の字型の箱を設けて、その回りを空気が攪拌するような構造にした。冷却用の水箱と小型送風機の上部に空気の吹き出し管と葉を載せるネットを置き、下部に採取用の管を設置した。同化箱内の温度は熱電対で測定し、28℃とした。照明はヨウ素ランプ(500W)を6コ用い、10cmの流水フィルターを通過して、同化箱内で38Kluxになるようにした。

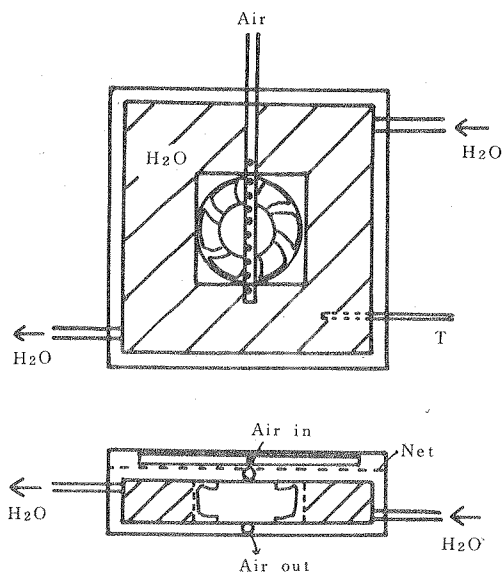


Fig. 2 Diagram of assimilatory chamber.
V : Ventilator
T : Thermoelectric couple

実験3. オゾン処理実験は同化箱を2コ用い、一方を対照用とし、もう一方をオゾン処理用として、同時に着生葉の光合成速度を測定した。オゾン処理は空気の1部分にオゾン発生器(ISHII 120A型)によって発生させたオゾンを混合し、4ℓ/minの流量とし同化箱へ通した。同化箱内のオゾン濃度は、ケミルミオゾンメータ(電気化学計器KK)により測定した。処理方法は初めに約40分間前照射を行い、光合成速度が安定した時点でオゾン処理区同化箱へオゾン(0.1, 0.2, 0.5 ppm)を流し、120分間の光合成速度の変化を見たのち、オゾンの発生をとめた。20分間暗黒下においたのち、再び照射して光合成速度の回復をみた。

実験4. 実験3と同じ光合成測定装置を用い、対照と

オゾン処理用の2コ同化箱を用いた。まず、対照区とオゾン処理用の葉の半分(主脈は残す)をそれぞれ切り取り、熱エタノールへ入れた。直ちに残りの半葉は前照射してからオゾン処理を開始し120分間光合成を行った後、対照区と同時に切り取り熱エタノールに入れた。これらの葉は粉末にしたのち、還元糖、非還元糖、デンプン含有率を分析測定した。¹⁰⁾ なお、本実験では切葉を用いて光合成を行った。

Ⅲ 結 果

1 生育経過とOx可視被害発生葉位

図3にアサガオの生育経過に従って調査したOx可視被害と気孔開度、葉面積拡大推移を示した。本葉が6枚位のアサガオ(播種後約1ヵ月)は頂芽より数えて第5位で葉面積の拡大が止まり、気孔開度が大きくなり、Ox被害が生じた。7月上旬には13枚位の葉数となり、頂芽より数えて第9位で葉面積拡大が停止して、気孔開度が最大になり、第9位から下位の葉でOx被害を呈した。7月中旬には22枚位の葉数となり、葉面積は第12位で拡大が止まり、第15位から下位の葉にOx被害を受けた。8月上旬には全葉数が40枚前後となり、葉面積拡大は第14位ごろで止まり、裏面の気孔開度は第17位以下で大きくなり、Ox被害は第17位以下で生じた。なお、7月中旬以降では開葉した1番上の葉は頂芽より数えて第5, 6位であった。

2 葉別別光合成・呼吸速度

全葉数28枚のアサガオを用いて測定した第7, 11, 15, 21, 24位葉の光合成・呼吸速度を図4に示した。光合成速度は第11位葉で最高値となり、第7位葉と第15位葉でやや低く、さらに下位の第21, 24位葉で順次低下した。呼吸速度は第15位葉が一番低く、それより上位葉と下位葉で高かった。

3 各濃度別オゾン処理による葉別別光合成速度の影響

Oxにより可視被害を生じる葉令の葉(以下、下位葉とする)と可視被害を生じない葉令の葉(以下、上位葉とする)にそれぞれ0.1, 0.2, 0.5 ppmのオゾン処理を行った。図5~7はオゾン処理中の光合成速度の変化を120分間み後、20分間の暗黒下において、ひきつづき再照射による光合成の回復の仕方を示したものである。

0.1 ppmオゾン処理区(図5)では下位葉および上位葉の光合成速度は無処理と比べてほとんど差がなかった。また、再照射した時の光合成速度の回復は下位葉で20分後にやや遅れるが、40分後には元の値以上になり、上

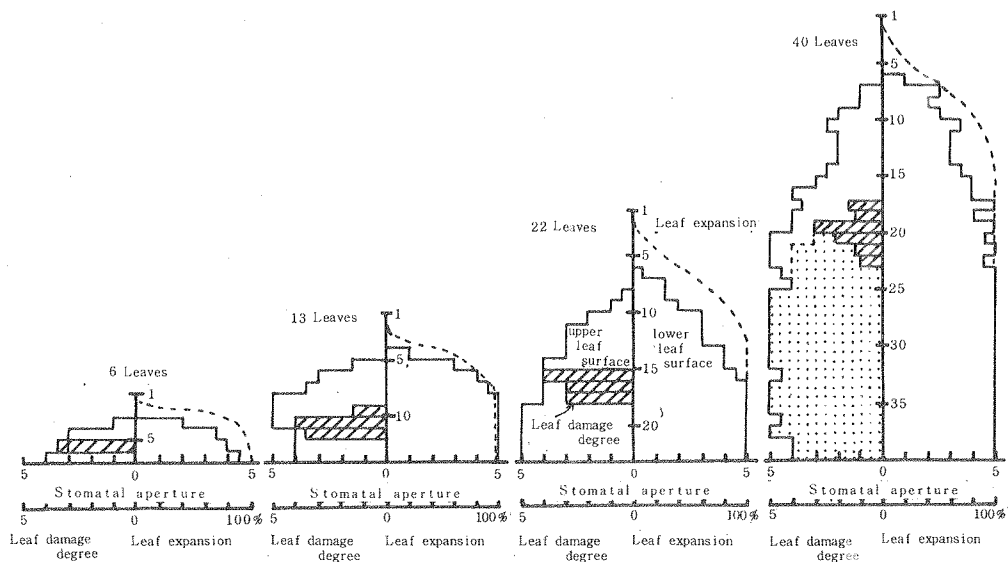


Fig.3 Effects of leaf age on visible damage by oxidant, stomatal aperture and leaf expansion according to growth stages of morning glory.

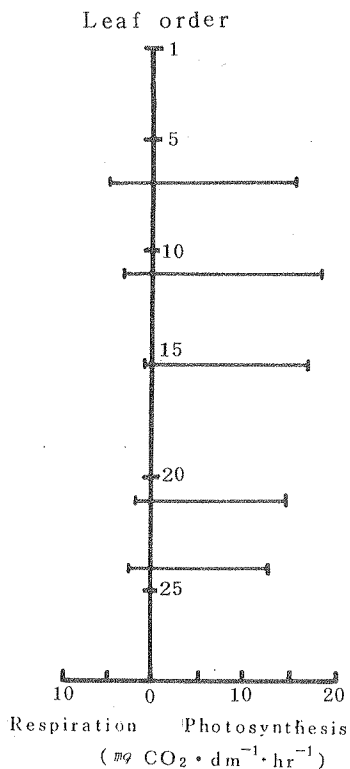


Fig.4 Apparent photosynthesis and respiration in leaves at different ages of morning glory grown in filtered air greenhouse.

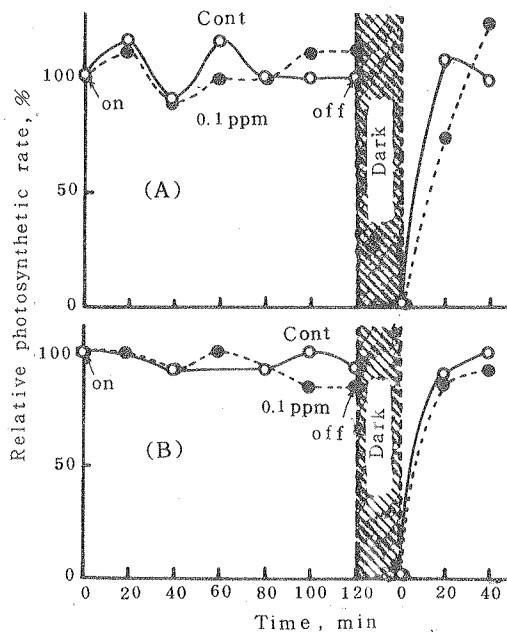


Fig.5 Changes of apparent photosynthetic rates during ozone exposure at 0.1 ppm and recovery after exposure, in the lower (A) and the upper (B) leaves.

位葉は無処理とほぼ同じ経過で回復した。本処理区では葉上に白色小斑点などの可視被害は生じなかった。

0.2 ppm オゾン処理区(図6)では、上位葉の光合成速度は無処理とほとんど同じ経過であったが、下位葉で

はオゾン処理直後に低下し始め、10分後に最低値となった後再び上昇し、20分後にはほぼ処理前の値にもどった。その後100分までは同じ値が続いたが120分目やや低下した。光合成の回復は上、下位葉とも無処理と

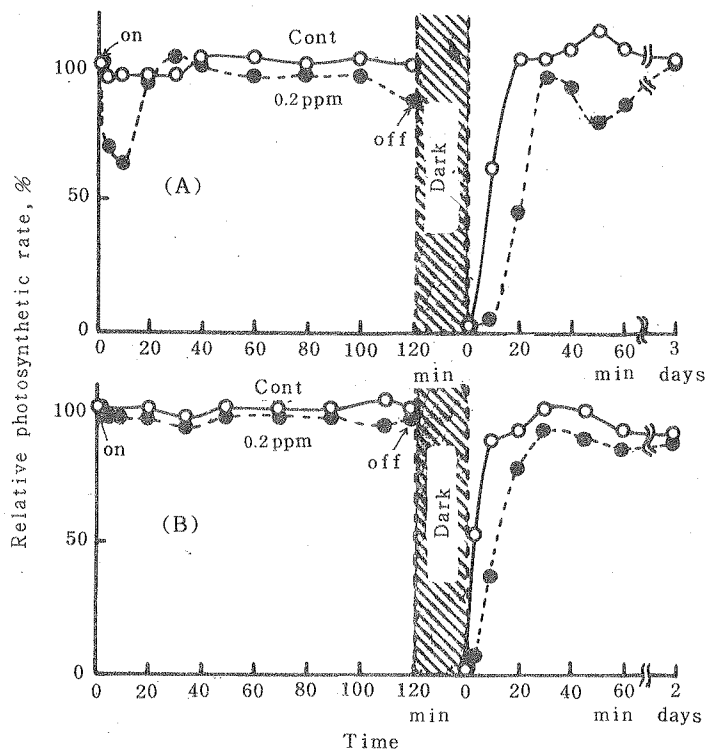


Fig. 6 Changes of apparent photosynthetic rates during ozone exposure at 0.2 ppm and recovery after exposure, in the lower (A) and the upper (B) leaves.

比較して立ち上がりが遅く、特に下位葉では10分後に無処理が62%回復しているのに対し処理区が4%にすぎず、20分後では無処理が102%に対し処理区で45%であった。しかし、30分後には両葉位とも処理前の値近くまで上昇し、さらに2日後には無処理と同じ値となった。本処理により上位、下位葉とも可視被害は生じなかった。

0.5 ppm オゾン処理区(図7)は2段階のO₃可視被害発生葉位(中位葉と下位葉とする)と上位葉を用いたところ、処理直後から低下し始め120分後には下位葉で処理前の25%、中位葉で45%、上位葉で40%まで低下した。一方、光合成速度の回復は無処理区で20~40分で処理前の値にもどったのに対し処理区では40分後に下位葉で10%、中位葉で18%、上位葉で35%の回復率であり、60分後には下降傾向を示した。本処理による

可視被害は下位葉で白色小斑点(被害程度4)とかがっ色斑点(被害程度3)が生じ、中位葉では白色小斑点(被害程度3)がみられたが、上位葉では被害が生じなかった。

4 オゾン処理による葉の可溶性炭水化物の変化

アサガオの下位葉と上位葉に0.5 ppmのオゾンを経験処理して、処理前の半葉と処理後の半葉の可溶性炭水化物含有率を比較し表1に示した。無処理葉は非還元糖とデンプン含有率が增加したが、オゾン処理葉は還元糖は変化なく非還元糖が増加しデンプンは減少した。一方、全可溶性炭水化物含有率は無処理区で上位、下位葉でそれぞれ13.07 glucose mg/g.f.w, 8.13 glucose mg/g.f.wと増加したが、オゾン処理区では上位葉で2.48 glucose mg/g.f.w.とやや増加したものの下位

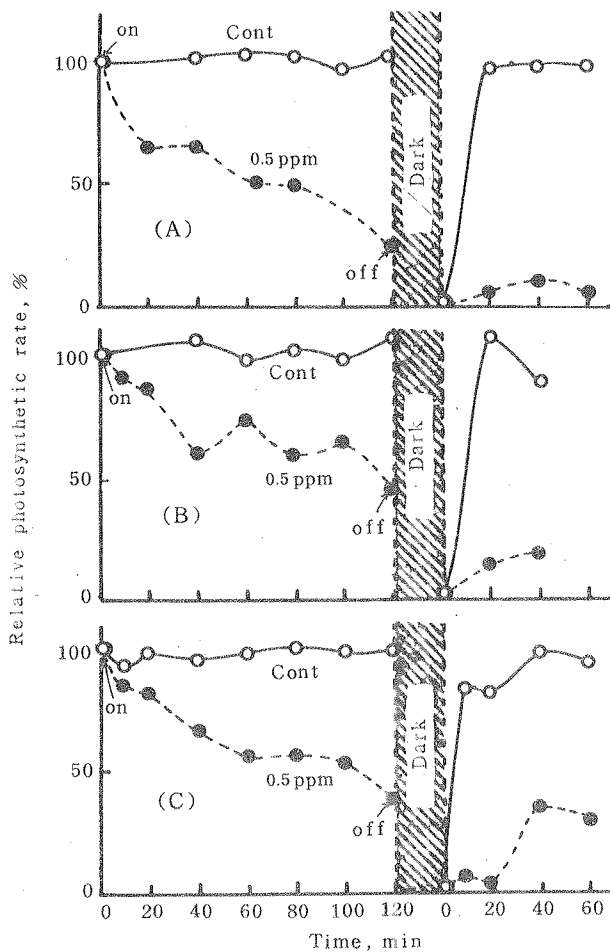


Fig. 7 Changes of apparent photosynthetic rates during ozone exposure at 0.5 ppm and recovery after exposure, in the lower (A), the middle (B) and the upper (C) leaves.

Table.1 Effects of soluble carbohydrates contents in the lower and the upper leaves by ozone exposure at 0.50 ppm for 120 minutes.

| | | Reducing sugar | Non-reducing sugar | Starch | Total | after |
|-----------------------|--------|-----------------------|--------------------|--------|-------|--------|
| | | (glucose mg/g. f. w.) | | | | before |
| <u>The lower leaf</u> | | | | | | |
| Control | before | 21.51 | 5.17 | 10.49 | 37.17 | 13.07 |
| | after | 18.84 | 8.42 | 22.98 | 50.24 | |
| Ozone | before | 16.50 | 3.25 | 19.89 | 39.64 | 2.48 |
| | after | 16.18 | 9.40 | 16.54 | 42.12 | |
| <u>The upper leaf</u> | | | | | | |
| Control | before | 14.31 | 6.47 | 49.33 | 70.11 | 8.13 |
| | after | 14.68 | 8.08 | 55.49 | 78.25 | |
| Ozone | before | 16.13 | 6.40 | 30.99 | 53.52 | -0.35 |
| | after | 15.93 | 9.22 | 28.02 | 53.17 | |

葉では処理前より $-0.35 \text{ glucose mg/g.f.w}$ と減少した。

IV 考 察

アサガオは生育時期により生長速度が異なり、5、6月は緩やかな生長であり葉数も少ないが、7月に入り気温の上昇とともに急速に生長を始め、展開葉数は1日当たり1~1.5枚となった。葉数が6枚という生育初期でもOxによる可視被害は観察されたが、葉面積の拡大が止まり気孔開度も大きくなった葉位であることがわかる。また、葉数が13、22、40枚の時期ではそれぞれ第9、15、17位以下で可視被害が生じたが、葉面積の拡大停止と気孔開度が十分に大きくなった葉位であり、生長速度の差により下位へ移動するという現象がみられた。

全葉数が28枚あるアサガオの葉位別光合成速度は気孔開度が2~3と小さく葉面積の拡大が停止する前の第10位葉前後が光合成速度の最高葉位となり、既報⁴⁾で報告したクロロフィル含有率の最高値と一致した。葉位別の呼吸速度はDickmannら¹¹⁾がポプラで測定した結果と同様であり、展開中の若い葉で高い値であり、成熟すると低くなり老化に伴い再びやや高くなった。したがって、気孔開度の小さな上位葉でも光合成・呼吸速度は高く活発な生理代謝が行われているものと考えられる。一方、オゾンにより可視被害を呈する葉は気孔開度は大きい光合成速度がやや低下しており、葉面積拡大などの合成系が止った生理的転換期に相当する葉位と思われる。

以上のような特徴的な葉令を上位葉と下位葉として、それぞれの葉の光合成速度に対するオゾン処理の影響をみると、濃度、葉令により異なった。0.1 ppm 処理では上位、下位葉とも120分間では影響がみられないが、0.2 ppm では下位葉でのみ若干低下した。0.5 ppm では全葉位で著しく低下し、特に下位葉への影響は大きかった。谷山ら¹²⁾はトウモロコシ、水稻、落花生のオゾンによる光合成速度の影響をみているが、0.5 ppm 以上の濃度で阻害されたと報告しており、本実験のアサガオも同様な結果であった。

また、光合成速度の回復も濃度、葉令により異なり、0.1 ppm では影響がなく、0.2 ppm では再照射直後に差が出たがその後処理前の値にもどった。河内¹³⁾はタバコ、水稻、トウモロコシのオゾン吸収速度を拡散抵抗から計算し、上位葉と下位葉は同じかあるいは上位葉の方がオゾン吸収は大きかったと報告している。アサガオに

においても上位葉、下位葉ともオゾンは光合成作用とともに気孔を通して吸収されていると考えられるが、この程度の濃度、処理時間では光合成速度に及ぼす影響はほとんどなく、また、葉内へ取り入れたオゾンは細胞の枯死へと進行する前に代謝的に回避できたものと思われる。

0.5 ppm では下位葉ほど回復の仕方が悪く、可視被害の出現度も大きかった。しかし、上位葉は光合成速度がオゾン処理120分後に40%まで低下し、また回復も再照射40分後に35%であったが白色小斑点等の可視被害は出現せず、光合成阻害と可視被害の発生は別の機作によるものと推察される。すなわち、河内¹⁴⁾の報告にあるようにオゾン処理による光合成速度の低下は主として気孔閉鎖によるものと考えられるが、気孔を通して取り入れたオゾンは細胞と作用し中位、下位葉のように細胞の枯死へと進行するか、あるいは上位葉のようにそれらを回避できるかは葉内の抗酸化性物質^{15,16)}および酸素分解に関する酵素¹⁷⁾などの葉令のもつ生理的な相違によるものと考えられ、今後の研究課題として残される。

つぎに、光合成阻害率の高かった0.5 ppm オゾン処理による葉中の可溶性炭水化物への影響をみた。還元糖および非還元糖は無処理区と同じ傾向であったが、デンプンは無処理区で増加したのに対し処理区は上位、下位葉とも減少した。処理区の全可溶性炭水化物は上位葉でわずかに増加したが、下位葉では処理前の値よりも減少し、オゾンは炭水化物生産に著しい影響を与えた。

Duggerら¹⁸⁾はレモン苗に0.25 ppm、1日8時間、週5日間、9週間オゾン処理して、還元糖の増加とデンプンの減少および全炭水化物の低下を報告している。また、Millerら¹⁹⁾はボンデロー松の苗に0.3 ppmのオゾンを33日間処理して葉中のデンプンが40%に減少したことから、オゾンによりヘキソースからのデンプン合成の阻害あるいはデンプン分解の促進等がおきたと考えられると述べている。本実験のように120分間という短時間のオゾン処理であってもデンプン合成は著しく阻害され、炭水化物生産の面からみると光合成速度に対する阻害よりも大きい影響を受けることがわかった。中村ら²⁰⁾はイネのRuBPカルボキシラーゼ活性がオゾン処理により低下することを報告しているように、オゾンは光合成の炭酸還元サイクルを阻害するものと考えられる。したがって、オゾンは気孔閉鎖による光合成速度の低下だけではなく、葉内に取り込んだオゾンは上位、下位葉ともに直ちに炭水化物合成などの生理代謝に大きな影響を与えているものと推察される。

V 摘 要

アサガオ(品種 スカーレットオハラ)の生長に従って、葉令の特徴とオキシダントによる可視被害の発生葉位との関係について調査した。また、若い葉と成熟した葉にオゾン処理を行い、光合成速度と葉内の可溶性炭水化物に対するオゾンの影響について検討した。

得られた結果は以下のとおりである。

1. 葉数が6, 13, 22, 40枚の各生育時期におけるアサガオはそれぞれ第5, 9, 15, 17位葉以下でO₃による可視被害が生じ、それらの葉位は葉面積の拡大が停止し気孔開度が大きいという特徴がみられた。
2. 葉位別光合成速度は葉面積の拡大が停止する直前の葉位で一番高く、それより上位および下位の葉で順次低下した。
3. 若い葉令(上位葉)と成熟した葉令(下位葉)の葉にそれぞれ0.1, 0.2, 0.5 ppmのオゾン処理を120分間行い、その間の光合成速度の変化と回復をみた。0.1 ppm 処理区は無処理区とほとんど同じ経過をとり、可視被害は生じなかった。0.2 ppm 処理区は下位葉で光合成速度がやや低下し、上, 下位葉で初期の回復が遅れたが、可視被害は生じなかった。0.5 ppm 処理区は上, 中, 下位葉で光合成速度が著しく低下し、回復程度も非常に悪かった。可視被害は中, 下位葉で生じたが上位葉ではみられなかった。
4. 0.5 ppmのオゾンを上, 下位葉に120分間処理したところ、上, 下位葉ともデンプンが処理前より減少した。また、全可溶性炭水化物は上位葉では処理前の値よりもやや増加したが、下位葉では減少した。

謝 辞

本実験を行うにあたり光合成測定装置の作製に関し、ご教示いただいた農林水産省農業研究センター室長棟方研氏に対し謝意を表します。

引 用 文 献

- 1) 寺門和也, 久野春子(1981): 都農試研究報告, **14**, 13-25
- 2) 服田春子, 寺門和也(1975): 大気汚染研究, **9**, 722-728
- 3) 久野春子, 寺門和也(1981): 都農試研究報告, **14**, 26-38
- 4) 服田春子, 寺門和也(1975): 大気汚染研究, **9**, 729-733

- 5) MacDowall, F.D.H. (1965): Can. J. Plant Sci., **45**, 1-12
- 6) 三宅喜之, 宇野良男(1973): 宇都宮たばこ試報告, **12**, 61-66
- 7) 浅川富美雪, 今井太磨雄, 日下昭二(1978): 日土肥誌, **49**, 204-209
- 8) Lee, T.T. (1965): Can. J. Bot., **43**, 677-685
- 9) Sutton R. and I. P. Ting (1977): Amer. J. Bot., **64**, 404-411
- 10) 農林省農林水産技術会議事務局監修, 作物分析法委員会編(1975): 栽培植物分析測定法, p. 63-75, 養賢堂, 東京
- 11) Dickmann D. I. and J. G. Gordon (1975): Plant Physiol. **56**, 23-27
- 12) 谷山鉄郎, 山下和巳, 小池十七男(1976): 日作紀, **45**, 9-16
- 13) 河内宏(1980): 大気汚染学会誌, **15**, 389-393
- 14) 河内宏(1980): 大気汚染学会誌, **15**, 109-117
- 15) 三宅喜之(1973): 宇都宮たばこ試報告, **12**, 55-60
- 16) 榎剛, 近藤短朗(1981): 国公研研究報告, **28**, 31-37
- 17) 田中浄, 菅原淳(1979): 国公研研究報告, **10**, 77-86
- 18) Dugger, W. M., Jr., J. Koukol and R. L. Palmer (1966): J. Air Pollut. Contr. Assoc., **16**, 467-471
- 19) Miller, P. R., J. R. Parmeter, Jr., B. H. Flick and C. W. Martinez (1969): J. Air Pollut. Contr. Assoc., **19**, 435-438
- 20) 中村拓, 坂齊(1978): 日作紀, **47**, 707-714