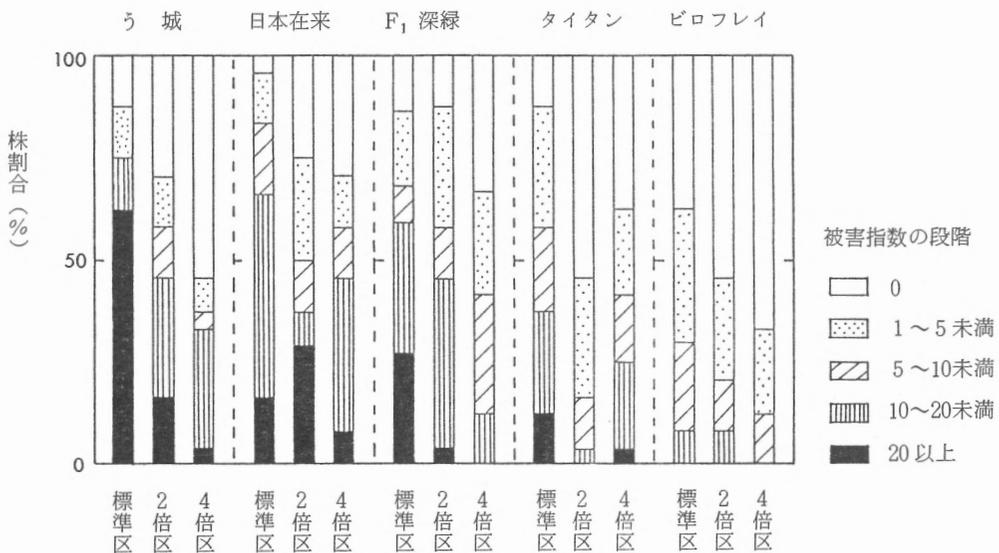


図IV-28. 圃場の加里施用量試験区における5品種のOx被害指数 (1985年6月6日調査, 6月3, 4, 5日Ox)



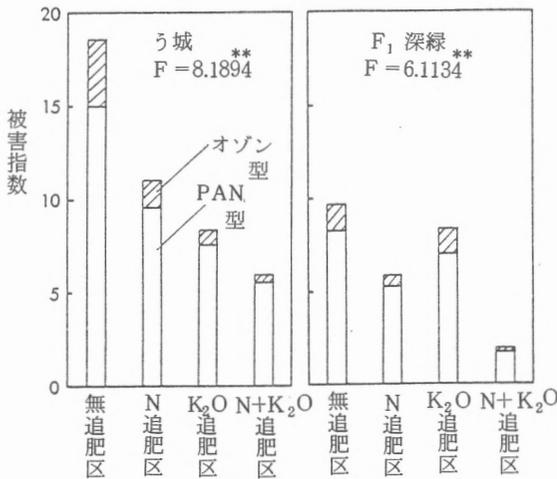
図IV-29. 圃場の加里施用量試験区における5品種のOx被害指数の株割合

(2) 追肥試験

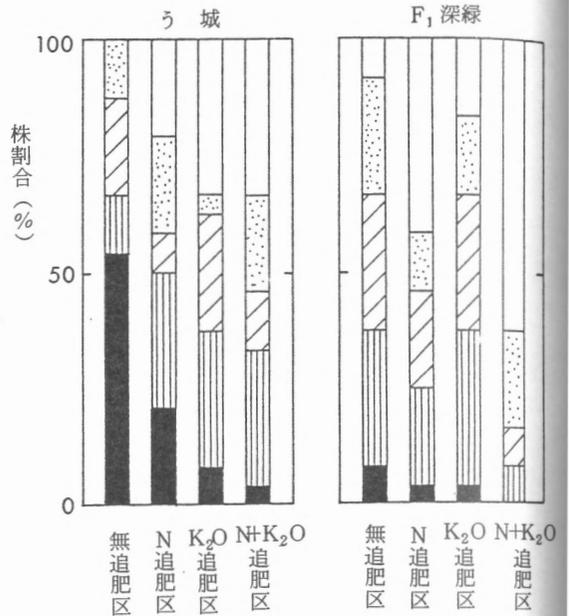
図IV-30に示すように、う城の被害指数は無追肥区>N追肥区>K<sub>2</sub>O追肥区>N+K<sub>2</sub>O追肥区の順に低下した。う城の被害軽減率はN追肥区で41%、K<sub>2</sub>O追肥区で55%、N+K<sub>2</sub>O追肥区で68%になった。F<sub>1</sub>深緑の被害指数は無追肥区>K<sub>2</sub>O追肥区>N追肥区>N+K<sub>2</sub>O追肥区の順であり、被害軽減率はそれぞれ14%、39%、79%となり、両品種ともN+K<sub>2</sub>O追肥が最も被害を軽減した。被害指数の段階ごとの株割合を図IV-31に示すと、追肥により被害指数の大きい株割合が減少し、被害指数0と小さい値の株割合が増加した。すなわち、う城の無追肥区は被害0の株が皆無であるが、N+K<sub>2</sub>O追肥区では37%になり、F<sub>1</sub>深緑の無追肥区は8.5%であったが、N+K<sub>2</sub>O追肥区では63.5%と増えた。なお、生長量は無追肥区と追肥区で差はみられなかった。

ハウレンソウを市場出荷する場合、仮にO<sub>x</sub>被害を受けても被害指数が5以下のわずかな被害の株であれば問題はないと思われる。そこで被害指数5以下の株割合をみると、う城の無追肥区では13%であるが、N+K<sub>2</sub>O追肥区では54%となり約5割に達した。F<sub>1</sub>深緑の場合は無追肥区が34%であったが、N+K<sub>2</sub>O追肥区で84%となり、追肥により出荷可能な株が8割に達することがわかった。

以上のことから、O<sub>x</sub>によるハウレンソウの被害は施肥条件により軽減をはかれることが証明された。



図IV-30. 圃場の各追肥試験区における2品種のO<sub>x</sub>被害指数 (1985年6月10日調査, 6月6, 7日O<sub>x</sub>)



図IV-31. 圃場の各追肥試験区における2品種のO<sub>x</sub>被害指数の株割合 (被害指数の段階は図IV-29を参照)

3) 追肥による現地実証試験

ハウレンソウのO<sub>x</sub>被害は加里、窒素施用量の増加あるいは追肥により軽減されることがポットおよび圃場試験にて明かとなった。これらの成果を現地にて実証するため、農家のハウレンソウ畑3カ所にて追肥を行いO<sub>x</sub>被害軽減の試験を行った。

〈材料および方法〉

播種後本葉が4~6枚の時期をめぐりに追肥を行った。追肥の方法は現地にいろいろな作型があるため(写真IV-5, 6)次の4種類とした。( )内はN:P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>:K<sub>2</sub>Oのkg/10aの値である。1.大塚ポット肥料区(5:2.7:5.7) 2. 硝安+硫加区(5:0:5) 3. 化成8号区(5:5:5) 4. 磷硝安加里S604号区(5:2:3) 5. 無処理区とし、各区3連で行った。1は大塚ポット肥料33gをm<sup>2</sup>当り5ℓの水に溶かし液肥とし土壌灌注し、2は硝安14.5g/m<sup>2</sup>と硫加10g/m<sup>2</sup>の2種類の単肥を、3は化成肥料8号62.5g/m<sup>2</sup>を、4は磷硝安加里S604号31.25g/m<sup>2</sup>をそれぞれ株間に施用した。

A(1)試験地(八王子市中野)の品種はパレードであり、播種日は1986年8月16日、1m当り6条の筋まき、元肥

は化成8号64kg/10a(春期に鶏ふんと牛ふんを5t/10a)である。B試験地(立川市西砂)の品種はリードであり、61年8月20日に播種し、シルバーポリトウ30井でトンネル栽培され元肥は油粕、化成(3, 10, 10)、炭カルをそれぞれ60, 60, 150kg/10a、豚ふんを1.5t/10aである。2つの試験地は61年9月10日に(A試験地は本葉8枚位、B試験地は本葉5, 6枚)に追肥を行い(写真IV-7)、9月13日に発生したOx(O<sub>3</sub>6pphm以上7時間、最高値11pphm)による被害を9月18日に調査した。A(2)試験地(八王子市中野)の品種はパレードであり、61年9月18日に播種され、元肥は化成8号64kg/10a、石灰窒素100kg/10aであり、ソルゴが混入されている。追肥は9月30日(本葉4枚)に行い、10月16日に発生したOx(O<sub>3</sub>6pphm以上5時間、最高値8pphm)により生じた被害を10月20日に調査した。

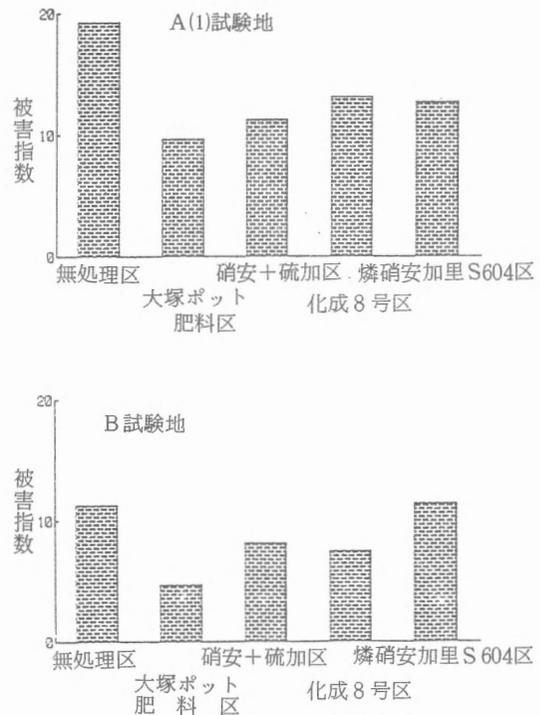
結果および考察

A(1)試験地とB試験地の各追肥区における被害指数は図IV-32に示した。A(1)試験地の無処理区に対する各区の被害軽減率は大塚ポット肥料区49.7%、硝安+硫加区41.5%、化成8号区31.6%、燐硝安加里S604号区33.7%であり、B試験地では各々57.5, 27.4, 32.7, -2.2%であった。なお、無処理区と各追肥区の被害指数のt検定を行ったところA(1)試験地はすべての区で統計的に有意差(p=.001~p=.02)が認められ、B試験地は大塚ポット肥料区で有意差(p=.01)があったが、他の3区は認められなかった。このように2試験地とも大塚ポット肥料区が一番被害軽減率が高かった。この試験では追肥後3日目にOxが発生したため、吸収の早い液肥の大塚ポット肥料区が粉状や粒状の他の区よりも大きな効果が現れたものと考えられる。B試験地ではトンネル栽培のため、粉状と粒状肥料が溶けにくく効果が低かったのであろう。被害指数の段階による株割合は図IV-33に示すように、A(1)試験地では被害指数10以下の株割合は無処理区12%に対し大塚ポット肥料区は65%、硝安+硫加区は56%、化成8号区は41%、燐硝安加里S604号区が29%となり軽い被害の株数が増加した。B試験地では被害指数5以下の僅かな被害を呈した株割合は無処理区25%に対し大塚ポット肥料区は59%、化成8号区57%、硝安+硫加区46%と増加し、燐硝安加里S604号区は25%で変わらなかった。

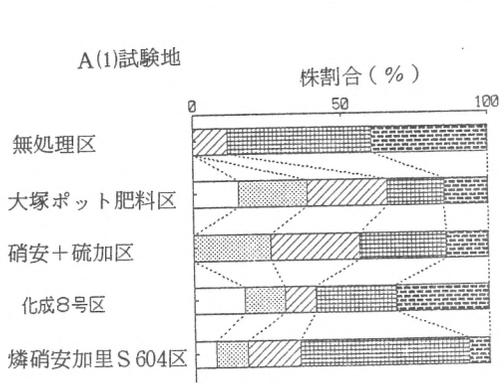
A(2)試験地の被害指数と被害葉数は図IV-34に、被害指数の段階による株割合は図IV-35に示した。燐硝安加里S604号区の被害の軽減率は42.7%(危険率1%で有意

差あり)であり、被害指数5以下の株割合は無処理区が16.7%に対し、燐硝安加里S604号区は48.3%に増加した。なお、図IV-36に無処理区と燐硝安加里S604号区における葉中のT-N, P, K含有率を示すと、燐硝安加里S604号区のT-N含有率は無処理区に対し被害のない葉で134%、被害のある葉で124%、K含有率は各々109%, 120%, P含有率は各々105%, 102%となり、追肥により各成分の増加がみられた。

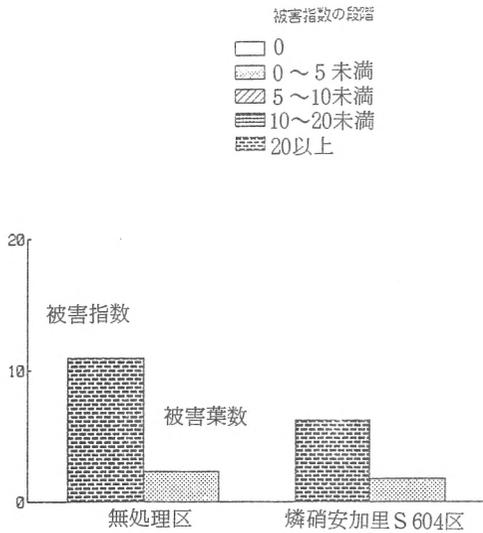
以上のことから、ハウレンソウのOx被害は追肥により軽減されることが現地にて実証され、今後一般農家へ普及することにより経済的損失を小さくできる見通しがついた。



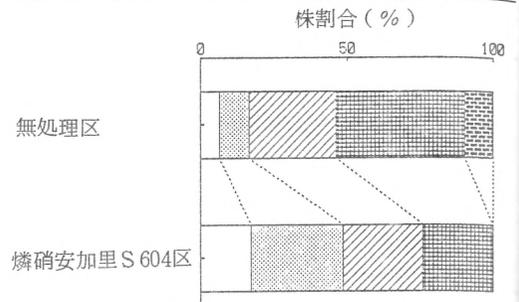
図IV-32. A(1)およびB試験地の各追肥区におけるOx被害指数 (1986年9月18日調査, 9月13日Ox)



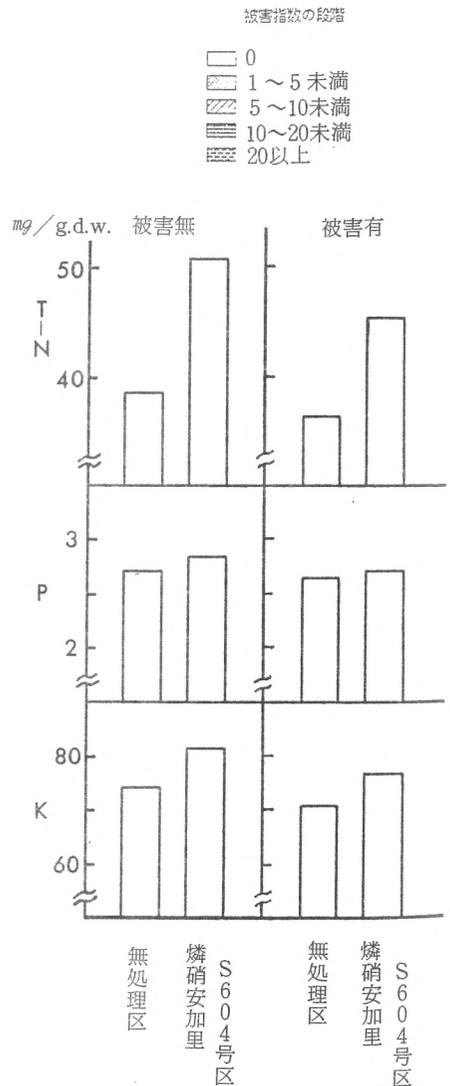
図IV-33. A(1)およびB試験地の各追肥区におけるOx被害指数の株割合



図IV-34. A(2)試験地の追肥区におけるOx被害指数と被害葉数



図IV-35. A(2)試験地の追肥区におけるOx被害指数と被害葉数の株割合



図IV-36. A(2)試験地の追肥区における葉中T-N, P, K含有率

## 摘 要

都市近郊で主要生産を占めるハウレンソウについてOxが及ぼす被害の特徴を明らかにし、被害を軽減・回避するために抵抗性品種の検索を行い、品種によるOx抵抗性差異とその要因について形態的、生理的に検討を行った。次に、栽培技術的にOx被害を軽減する方法として施肥法を取り上げ、ポット、圃場試験にて検討したのち、現地実証試験を行った。

1. Oxによるハウレンソウの被害の特徴について調査を行った。

(1) 可視被害症状は中位葉から下位葉の表面を中心に白色斑が生じるオゾン型被害と中位葉の裏面に銀白色斑を生じるPAN型被害とそれらが同時に生じる型の三通りがあった。

(2) 15品種を圃場に栽培し、Ox発生により生じた被害を調査したところ、感受性に大きな品種間差異がみられた。生長、抽台の早いう城、日本在来、ニューアジアなどは感受性が高く、抽台が中程度のミンスターランド、F<sub>1</sub>深緑などは中位の感受性かあるいはやや抵抗性であり、抽台のみられなかったピロフレイ、キングオブデンマーク、ノーベルは強い抵抗性を示した。

(3) 生育ステージによるOx感受性は、播種日を変えて試験してみると、若いステージで低いが、生長とともに高くなり、収穫期に最高となり、老化により低下した。低温処理およびケミカルバーナリゼーションを行い、生育を促進させると感受性が高くなった。

(4) 葉内成分のタンパク、SH基、クロロフィル含有率とSOD活性は若い生育ステージの方ほど高い値であり、活性酸素障害の保護機能との関連が示唆された。

2. ハウレンソウの抵抗性品種の検索を行い、葉の形態、体内成分、酵素活性などの要因と抵抗性との関係をみた。さらに、感受性品種と抵抗性品種を用いて、オゾン処理による気孔拡散抵抗、活性酸素防御系酵素活性と活性酸素防御物質の変動について実験を行い、オゾン被害の作用機作と抵抗性について検討を行った。

(1) 系統の明らかな12品種を栽培し、Ox被害量、葉の形態、葉内成分、酵素活性を調査測定し、それぞれの相関関係を求めた。葉の刻みが多く、葉の薄い品種はOx被害を受けやすく、酸化型アスコルビン酸が多かった。一方、丸い葉形で刻みが少なく厚い葉を持った品種はSOD活性が高く被害量が小さかった。次に、主成分分析

を行ったところ、各特性値に対する3主成分の寄与率は草丈と葉形が約90%であり、被害指数、葉の厚さ、タンパク、総、酸化型、還元型アスコルビン酸が約80%であったが、G.per.は38%と低かった。12品種のスコアを見ると、被害量が多く酸化型アスコルビン酸の多い東洋系品種の日本在来、う城と豊葉が一つのまとまりを作り、葉が厚くSOD活性の高いキングオブデンマーク、ピロフレイ、札幌大葉、バイキングは抵抗性が強く西洋系品種のまとまりとなった。交配種のF<sub>1</sub>深緑、ニューサッポロ、交配ニューアジア、F<sub>1</sub>スパークと丸種ミンスターは中間に位置し、交配種は両親の中間的な性質を示した。

(2) 感受性品種のう城と抵抗性品種のピロフレイを用いた正逆交雑種のOx被害量を見ると母親の影響を強く受けており、また、葉内のクロロフィル、SH基含有率も母親の性質を強く受けていた。オゾンに対するハウレンソウの抵抗性は細胞質遺伝をする葉緑体と関連していることが予想された。

(3) 感受性品種のう城、日本在来および抵抗性品種のピロフレイ、キングオブデンマークの気孔密度は、第1、2葉位では4品種に差がみられず、第3、4葉位では抵抗性品種の方がやや多い結果となり、気孔密度と抵抗性との関連は認められなかった。

4品種の気孔拡散抵抗はオゾン処理により増大し、処理開始後50~60分後の途中から2つの抵抗性品種は感受性の2品種よりも高い値を示し、気孔が閉鎖する傾向が認められた。

(4) 感受性品種と抵抗性品種の活性酸素防御系酵素活性を比較すると、抵抗性品種のSODとGSSG red.活性は感受性品種より低く、Asc.per.とCat.活性は差がなく、G.per.は高かった。

(5) 高濃度オゾン(0.15ppm, 3時間)処理による4品種の活性酸素防御系酵素活性の経時変化は、GSSG red.活性が増大し、SODとCat.活性は大きな変化をせず、Asc.per.とDHA red.活性は低下した。G.per.活性は処理後の被害発現とともに増大した。

抵抗性品種のGSSG red.活性の増大はオゾン処理開始直後からおこったが感受性品種では1~2時間遅れ、また、感受性品種のAsc.per.とDHA red.活性が抵抗性品種より早く低下を始めた。このような活性酸素防御機に対する反応の差が抵抗性と関連することが推察された。

(6) 低濃度オゾン長時間処理(0.025ppm, 1日5時間, 10日間)を行ったところ、感受性品種のSOD, Asc.per., GSSG red.およびCat.活性は低下したが、抵抗性品種は

GSSG red.とCat.活性が増大し、SOD活性は感受性品種に比べ増大の傾向があった。抵抗性品種はバックグラウンドのような低いオゾン濃度により活性酸素防御系酵素活性を増大させ、オゾン毒性の防御機能を獲得することが明かとなった。

(7) 対照区のハウレンソウのオゾン感受性葉位は播種後30日から40日にかけて急激にアスコルビン酸と総グルタチオン含有率の減少がおこるが、低濃度オゾン長時間処理により感受性品種のアスコルビン酸含有率は対照区よりも低下し、抵抗性品種は対照区よりも高い値であった。抵抗性品種の総グルタチオン含有率は特にキングオブデンマークで著しい増加を示し、ピロフレイも対照区より高い値を示したが、感受性品種のうち城は対照区と同様に低下し、日本在来は対照区よりやや高い値を維持した。この様な品種によるオゾン毒性防御機能の獲得の違いが被害の品種間差異として現れるものと推察された。

3 ハウレンソウのO<sub>x</sub>被害を軽減するため、施肥方法について検討を行った。

(1) 窒素、リン酸、加里、石灰の各施用量の多少とオゾン処理による被害程度との関係を見るため、F<sub>1</sub>深緑を用いポット試験を行った。窒素とリン酸施用量試験区は2、4倍と多施用すると標準区よりも被害が小さくなった。加里と石灰施用量試験区は無施用において被害が最も大きく、多施用により被害は減少した。

(2) 窒素、加里各施用量が葉内のアスコルビン酸、グルタチオン含有率および活性酸素防御系酵素活性に及ぼす影響を見た。アスコルビン酸は窒素を4倍施用した区で、総グルタチオンは加里を4倍施用した区で増加した。アスコルビン酸は窒素を4倍施用した区で、総グルタチオンは加里を4倍施用した区で増加した。酵素活性は窒素を多施用するとGSSG red.とCat.活性が高くなり、加里を多施用するとSOD、Asc. per., GSSG red. およびCat.活性が高くなった。これらの酵素活性の増大はオゾンに対する抵抗性をもたらし被害の軽減効果となって現れたものと推察される。

(3) 元肥の加里施用量の多少と窒素および加里による追肥に関する圃場試験を行い、被害の軽減効果を見た。加里施用量の増加はO<sub>x</sub>被害を減少し、4倍施用量の被害軽減率はう城66%、F<sub>1</sub>深緑57%、日本在来39%、タイタン39%、ピロフレイ55%であった。被害指数の段階ごとの株割合を見ると、加里多施用により被害のない株と軽い株割合が増加した。

追肥により被害は減少し、う城の被害軽減率は窒素の

追肥で41%、加里の追肥で55%、窒素と加里の同時追肥で68%となり、F<sub>1</sub>深緑ではそれぞれ39%、14%、79%となった。両品種とも窒素と加里を同時に追肥することにより、もっとも被害の軽減効果が大きくなった。被害指数5以下の僅かな被害の株割合は、F<sub>1</sub>深緑の場合、無追肥区が34%であったが、窒素と加里の同時追肥により84%に達した。

(4) 追肥による被害軽減に関する現地実証試験を八王子市中野(A(1)、A(2)試験地)と立川市西砂(B試験地)にある農家のハウレンソウ畑にて行った。A(1)試験地の無処理区に対する各追肥区の被害軽減率は大塚ポット肥料区49.7%、硝安+硫加区41.5%、化成8号区31.6%、燐硝安加里S604号区33.7%であり、B試験地では各々57.5、27.4、32.7、-2.2%であった。この試験では追肥後3日目にO<sub>x</sub>が発生したため液肥で与えた大塚ポット肥料区が粉状で与えた他の区よりも被害軽減効果が大きかった。

A(2)試験地では燐硝安加里S604号による追肥を行ったところ、被害軽減率は42.7%であり、被害指数5以下の株割合は無処理区が16.7%に対し、処理区は48.3%に増加した。このようにハウレンソウのO<sub>x</sub>被害は追肥により軽減されることが現地の畑にて実証された。

## 総合考察

1970年7月、立正高校の生徒が突然呼吸困難、手足のしびれ、目の痛みなどの症状を訴えて以来、光化学スモッグの名は広く社会に知れわたるようになった。しかし、この事件の発生する数年前から都市近郊の農作物は葉上に可視被害を生じ問題となっていた。このことは、植物が人間よりも敏感に大気汚染物質に反応し、人体被害発生への警告をしていたものとみなされる。

このような植物被害の原因解明のため1973年に東京都では農業試験場に浄化空気室を設置し、大気汚染に関する植物被害のための試験研究に取り組むこととなった。

1. 大気中の主な汚染物質はO<sub>x</sub>であり、その大部分はオゾンが占め、2~6%がPANであった。浄化空気室内に植栽した植物は被害の発現が見られなかったが、非浄化空気室内の植物は葉上に白色斑、褐色斑、銀白色斑などが生じたり葉全体の赤色化や落葉もおこり、野外の観察と同様の症状がみられた。これらの被害の特徴は人工オゾンとPANの処理実験によって再現され以下のような結果が得られた。これはアメリカ合衆国のカルフォルニア州で報告されている被害と同様であり、同じ型の大気

汚染すなわち光化学オキシダントによる植物被害であることが立証された。

汚染物質	発現部位	症状	組織
オゾン	成熟葉の	白色斑	柵状組織が
	表面が中	褐色斑	中心
	心	赤色化	
PAN	未成熟葉	光沢化	海绵状組織
	の裏面が	銀白色斑	が中心
	中心	青銅色斑	

汚染物質による被害は植物によって異なり、オゾン型被害を呈する植物はアサガオなど42種、PAN型被害はペチュニアなど9種、オゾンとPANの双方の被害を示す植物はホウレンソウなど4種であり、O<sub>x</sub>に対する感受性は種、品種により大きく異なることが明らかになった。

2. 大気汚染の実態を把握するため植物によるO<sub>x</sub>被害の特徴を利用した指標植物の有効性について検討した結果、以下のようにまとめられた。

(1) 大気汚染物質の判別……植物葉の被害症状、例えばアサガオの成熟葉の被害からはオゾン、またペチュニアの未成熟葉の被害からPANの発生がわかる。

(2) O<sub>x</sub>発生日の把握……毎日新しい葉が展開し感受性を示す葉を常に備えているアサガオは被害発現も早いためO<sub>x</sub>発生日を知ることが出来る。

(3) O<sub>x</sub>汚染量の把握……アサガオおよびペチュニアは毎日被害を調査することによりその被害指数とO<sub>x</sub>およびPANドースとの間に高い相関関係が得られる。また、一定期間に発現した被害量とその期間に生じたO<sub>x</sub>の汚染量との間にはさらに高い相関関係がある。

感受性の異なる品種を利用して、感受性の高い品種だけに被害が生じたときは汚染程度が低く、中程度の感受性品種まで被害が及んだ場合は、汚染が中程度であり、感受性の低い品種にまで被害が生じたときは、汚染が激しかったことがわかる。

以上述べたO<sub>x</sub>と植物被害の関係を利用して大気汚染を把握できるよう指標植物の栽培管理と調査方法について改良を加え、市民および自治体へ普及したところ、次のようなことが明らかとなった。

(1) O<sub>x</sub>汚染の分布状況……アサガオやペチュニアなどの植物を各地に配置し、同じ時期に調査することにより汚染の分布が把握できる。

(2) O<sub>x</sub>汚染の年変動……同じ品種のアサガオやペチュニアを同じ様に肥培管理し同一期間調査することによ

りその年ごとのO<sub>x</sub>汚染量の変動を把握することが出来る。指標植物による簡易な大気汚染測定法の開発によって、これらの方法は広範な一般市民および各自治体でも利用された。その結果、大気汚染状況を科学的に把握できることがわかると同時に市民は大気汚染問題に関心を持ち、生活環境改善への意識を向上させる契機にすることが出来た。

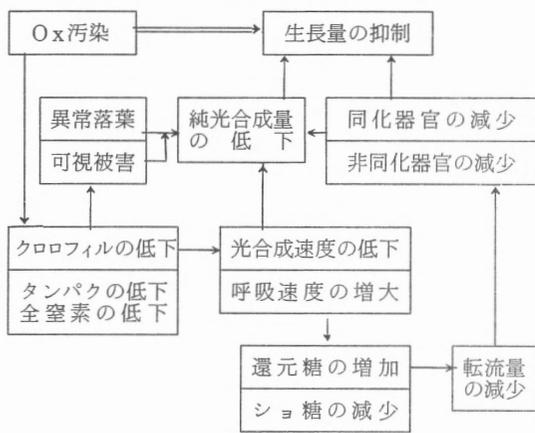
3. O<sub>x</sub>による大気汚染は大都市を中心に広域化しており農作物をはじめ多くの植物にも被害がみられ、農業生産および自然生態系への影響が懸念された。しかし、O<sub>x</sub>が収量や生長量に及ぼす影響についてわが国ではこれまでほとんど説明が成されていない。そこで大気汚染による長期間の影響を知るために草本植物と比べて生育期間の長い樹木の生長を通して解析を行ったところ浄化空気室法により樹木の生長量の抑制がみられた。それらの抑制割合は樹種により異なり、ポプラの挿し木苗がもっとも大きな影響を受けた。1975年春にポプラを挿し木して4ヵ月後の乾物重を見ると浄化空気室内(浄化区) 211.69gに対し非浄化空気室内(非浄化区)では82.73gとなり、O<sub>x</sub>により著しい生長抑制が生じることを明らかにした。

O<sub>x</sub>はその年の気象条件などにより発生濃度の高低及び地域的差異など年々変動する様相を示すが、これらの変動が植物の収量、生長にどのような影響を及ぼすかは明らかにされていない。著者は1974年から1978年までの5年間同じ手法を用いてポプラを浄化区と非浄化区と比較栽培してみたところ浄化区に対する非浄化区の生長量の割合は、それぞれの年の生育期間に発生したO<sub>x</sub>汚染量と高い負の相関関係にあることを証明し、年によって異なるO<sub>x</sub>発生量がポプラの生長量の抑制に反映することを明らかにした。

以上のような生長量の抑制とO<sub>x</sub>との関係を葉の機能面の解析結果から総合的に論じると以下のようにまとめることができる。

すなわち、O<sub>x</sub>暴露により葉内のクロロフィル含有率が次第に低下し、光合成速度の低下がおけると同時に呼吸量の増大が生じ純光合成量が低下した。ポプラ葉の光—光合成曲線および呼吸速度の実測値から個体当りの1日の純光合成量を試算すると非浄化区の値は浄化区の値の49%であり、O<sub>x</sub>による乾物生長量の低下を裏付ける数値が得られた。

非浄化区でみられた葉内の還元糖の増加とショ糖含有率の低下は転流量の減少を引起すことが推察され、非同化器官の生長量抑制と葉面積の縮小となって現れた。



また、落葉現象も加わって同化器官の減少となり生長量がさらに抑えられ、生長率（RGR）および純同化率（NA R）が低下することが明らかになった。

大気中で繰り返し発生するO<sub>x</sub>が光合成速度に及ぼす影響は多大なものであることがわかったが、それらをオゾン処理実験により詳細に解明した例は他にみられない。そこで、0.1ppmのオゾンを5時間処理して光合成速度を見ると3%というわずかな阻害率であったが、0.1ppm、1日5時間処理を1週間行くと33%、2週間行くと59%と光合成阻害率が大きくなった。これらの処理葉にさらに0.1ppmのオゾンを3時間処理すると光合成速度はそれぞれ10%、22%の阻害が生じた。すなわち、健全葉に対するオゾン処理の阻害率よりも大きく、繰り返しオゾン処理をすると累積的な阻害作用があることを証明した。したがって長期間に渡るO<sub>x</sub>暴露は比較的低濃度でも累積的な光合成能力の低下を起し大きな生長量抑制となって現れるものと結論された。

4. ホウレンソウは光化学オキシダントの発生する春期から秋期にかけて葉上にO<sub>x</sub>被害を生じ経済的損失を受けている。最近では夏まきホウレンソウの栽培が導入されるようになり、被害発生機会も増えてきた。

ホウレンソウのO<sub>x</sub>被害の特徴はオゾン型とPAN型被害があり、生育ステージや品種により感受性に差異がみられた。葉内のタンパク、SH基、クロロフィル含有率およびSOD活性はO<sub>x</sub>被害を受けにくい若い生育ステージの方が高く、これら物質とO<sub>x</sub>抵抗性との関連が予想された。O<sub>x</sub>被害の品種間差異を解明するため、系統の明らかな12品種を圃場に栽培し主成分分析を行ったところ、葉の刻みが多く、葉の薄い東洋系品種は被害を受けやすく、丸い葉形で厚い葉を持った西洋系品種はSOD

活性が高く被害が小さくO<sub>x</sub>抵抗性が強かった。交配種は両親の中間的な性質を示し、被害も中程度であった。これらの抵抗性に関する遺伝様式を見るため、感受性品種と抵抗性品種を親とし正逆交雑をした種を用いてO<sub>x</sub>による被害量を比較すると母親の影響を強く受けており、抵抗性は細胞質遺伝をすることが推定された。オゾンが細胞構造に及ぼす影響は第一に葉緑体のチラコイドであり、オゾン処理により光合成色素が分解し、葉緑体内のアスコルビン酸や葉内SH基が減少するという報告<sup>104,127)</sup>から、オゾンによる被害の引金が葉緑体にあることが推察された。また正逆交雑種の葉内のクロロフィルやSH基含有率が母親の影響を受けており、オゾンに対するホウレンソウの抵抗性は細胞質遺伝をする葉緑体と関連した因子ではないかと予想された。

最近、オゾンやSO<sub>2</sub>の作用機作について葉緑体中に生じる活性酸素が原因であるとの説<sup>104,135,136)</sup>が出され、O<sub>2</sub><sup>-</sup>は光合成色素を分解し、<sup>1</sup>O<sub>2</sub>は脂質の過酸化を起すことが証明された。そして活性酸素の毒性は葉内のSOD活性および還元性物質のアスコルビン酸によりある程度防ぐことが出来ることとされている。また、Fosterら<sup>138)</sup>は75%の高酸素条件下でワタを育成するとO<sub>2</sub><sup>-</sup>が発生し、その毒性を防ぐために葉緑体内の活性酸素防御系酵素であるSODとグルタチオンレダクターゼ（GSSG red.）活性が働くとの見解を述べている。

田中ら<sup>105)</sup>は植物の種によるオゾン抵抗性とこれらの物質との関係について、抵抗性の強い種はアスコルビン酸とグルタチオン含有率が高いことを報告している。しかし、著者は同一種のホウレンソウを用いて、感受性の2品種と抵抗性の2品種とを比較したところ、抵抗性品種のSODとGSSG red.活性は感受性品種より低い値であり、抵抗性品種のアスコルビン酸とグルタチオン含有率も感受性品種より少ない量であった。浄化空気下で栽培したホウレンソウの潜在的な酵素活性や還元性物質の量的な違いが抵抗性の要因に直接結び付かないことが明らかになった。

そこで、高濃度と低濃度のオゾンを感受性品種と抵抗性品種に処理して活性酸素防御に関する酵素活性と物質の変動についてみたところ、次のような結果が得られた。

光化学スモッグの発生時にしばしばみられるオゾン濃度0.15ppmをホウレンソウに処理すると、抵抗性品種はGSSG red.活性の増大が処理開始直後から起こり、感受性品種は1～2時間遅れて高くなった。また、Asc. per.とDHA red.活性が抵抗性品種より感受性品種の方で早

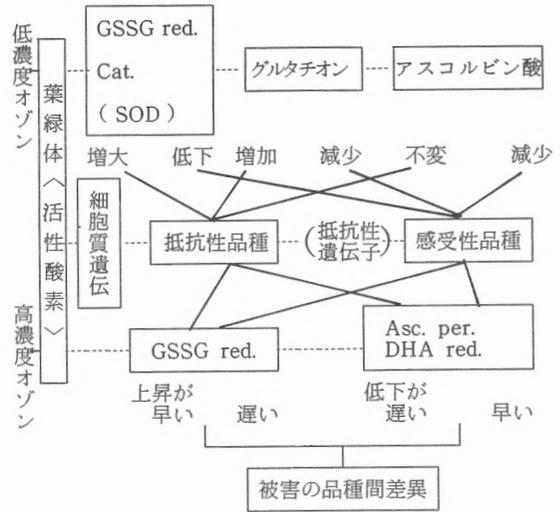
く低下し両品種の活性酸素防御機能の反応に違いがみられ、これらが抵抗性の要因の一つになるものと思われた。さらに、野外に植栽されている植物は常に大気中オゾンのバックグランド汚染(0~0.05ppm)にさらされており、ハウレンソウをこの様な低濃度のオゾンに長時間処理して感受性と抵抗性品種について比較してみた。感受性品種のSOD, Asc. per., GSSG red, Cat.活性は低下したが、抵抗性品種はGSSG red.とCat.活性が増大し、SOD活性はやや増大の傾向にあった。

圃場と非浄化空気室内で栽培した12品種のハウレンソウの主成分分析の結果、抵抗性の強い品種が高いSOD活性をもち、一方、浄化空気下育成のハウレンソウでは抵抗性品種の方が感受性品種よりもSOD活性が低いという相反する結果を前述した。このことは、大気中の比較的低いOx濃度に長時間暴露された感受性品種はSOD活性が減少し、抵抗性品種では増加したためであると考えられる。

つぎに、舌性酸素防御物質の変動を見ると、播種後30日から40日にかけてオゾン感受性葉位のアスコルビン酸とグルタチオン含有率は急激に減少するが、抵抗性品種のアスコルビン酸は低濃度オゾン処理により減少が緩やかになり、グルタチオンは特に抵抗性の強い品種で著しく増加した。

同じ様な現象はあるストレス条件下に植物をおいた場合に起こることが報告されている。Gambleら<sup>151)</sup>は、冬小麦を水ストレス条件下で栽培するとGSSG red.活性の増大と一部Cat.活性の増大が起こり、それは気孔閉鎖によりCO<sub>2</sub>供給の低下が生じ、O<sub>2</sub>が電子受容体となりO<sub>2</sub><sup>-</sup>やH<sub>2</sub>O<sub>2</sub>が発生するためとしている。また、De Kokら<sup>150)</sup>はハウレンソウのfrost-hardeningによりGSSG red.活性の増大とグルタチオンの増加を見ており、これらは低温下で生じるフリーラジカルが細胞膜へ傷害を起こすことを防ぐ植物の防御機能の役割を果たすものと推察している。オゾンも膜の透過性を増大させる現象があり、<sup>152)</sup>冷温傷害の機構とよく似ている。低濃度オゾン長時間処理、いわゆるozone-hardeningによるGSSG red.などの酵素活性の増大やグルタチオンの増加現象は細胞膜の傷害を防ぐ機能を高めるものと思われる。

ハウレンソウのOx被害が品種により激しい症状を示すものから僅かなものまで大きく異なる現象は以下のような関係で表すことができる。



すなわち、抵抗性品種では、低濃度オゾン処理の場合、GSSG red., Cat., SOD活性が増大し、グルタチオンも増加すること、高濃度オゾン処理の場合にはGSSG red.活性の促進が直ちに起こり、オゾン処理により葉緑体中に生ずる活性酸素に対する防御機能が維持されるが、感受性品種ではこのような現象は起こらないという差異がO<sub>2</sub><sup>-</sup>による葉緑素の破壊すなわち被害発現の差に結びつくものと推察される。

一方、オゾン抵抗性は細胞質遺伝をする葉緑体と関連した因子とみられるが、抵抗性品種の葉緑体がオゾンに対してどのような保護機構を持ち、活性酸素防御系酵素活性と活性酸素防御物質を維持ないし増大させるのかは未解明であり、今後の研究課題として重要である。

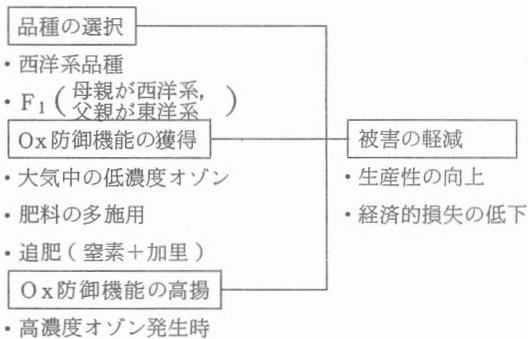
5. Ox被害は抵抗性の強い西洋系品種により軽減・回避されることがわかったが、これらは生産上および味覚の点で問題があり、現在栽培されているハウレンソウはほとんどF<sub>1</sub>品種であり、中程度の被害を生じ被害対策がせまられている。しかし、農園芸植物の被害軽減のための対策はタバコ<sup>153)</sup>以外の植物ではほとんどなされていない。また、施肥量と被害量との関係について多くの報告はあるが、それらの要因は解明されていない。そこで施肥量がハウレンソウ葉の活性酸素防御系酵素活性および活性酸素防御物質に及ぼす影響を明らかにし、施肥により被害を軽減する方法について検討した。

ポット試験において窒素、加里各施用量と葉内成分の関係を見ると、アスコルビン酸は窒素を4倍施用した区で、グルタチオンは加里を4倍施用した区で増加がみられ、酵素活性は窒素を多施用するとGSSG red.とCat.活

性が高くなり、加里を多施用するとSOD, Asc. per., GSSG red.およびCat.活性が高くなった。窒素, 加里の多施用はオゾン処理実験で被害の減少がみられたが、これらの酵素活性の増大がオゾンに対する毒性の防御機能を果たし被害の軽減となって現れたものと考えられる。

つぎに圃場において、加里多施用がOx被害を軽減することを立証した。圃場試験はポット試験よりも被害の軽減効果が大きく現れた。これは野外の大気中の低濃度オゾンが防御機能を増強し施肥による効果に相加された結果であるとみなされる。一方、元肥の多施用は土壤中へ過剰の塩分を投入することになるので、本葉が5, 6枚の時期に少量を追肥する方法を検討した。窒素, 加里の単独追肥により被害は軽減されたが、窒素と加里の同時追肥はさらに軽減効果が大きかった。このことは窒素, 加里のポット試験に於て葉内のアスコルビン酸やグルタチオン含有率の増加および活性酸素防御系酵素活性の増大が各試験区でみられたことから両方の影響により大きな効果が生まれたものと推察される。

以上の結果を総合し、ハウレンソウのOx被害に対処するための方策は次のようにまとめることができる。



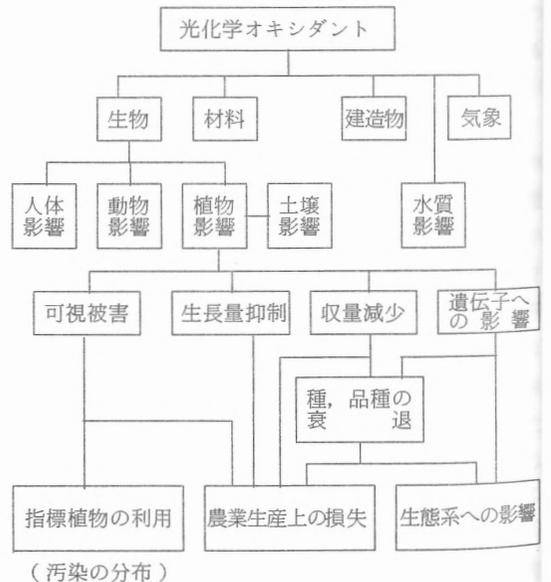
ハウレンソウの被害軽減を図るためには、第一に、品種の選択が重要である。抵抗性の強い西洋系品種あるいはF<sub>1</sub>の場合、母親を西洋系とし父親を東洋系品種として交配し抵抗性を強めた品種(種子は丸種になる)を選ぶことにより被害は中程度以下に抑えることが出来る。これらの品種は野外条件下で大気中に存在している低濃度オゾンにより活性酸素に対する防御機能を獲得する性質を備えている。そして、元肥の多施用あるいは追肥を行い、活性酸素に対する防御機能をさらに高めておくことにより、光化学スモッグが発生したときに高濃度オゾンに対し抵抗性が発揮される。すなわち、(1)品種の選択(2)Ox防御機能の獲得(3)Ox防御機能の高揚の3つが総

合されてOx被害の軽減・回避の効果が期待される。

最後に、農家のハウレンソウ畑にて丸種の交配種を用いて追肥による現地実証試験を行ったところ、追肥に用いた肥料の種類により軽減率は異なったが、Ox被害は軽減され、今まで述べたOx抵抗性についての生理・生化学的な推論の正しいことを証明できた。

以上、光化学オキシダントによる植物の被害についてアサガオとペチュニアの指標植物の利用法、ポプラの生長抑制の解析、ハウレンソウのOx抵抗性と被害軽減試験として取り組み、Oxが植物に及ぼす影響の一連の機構を解明することができた。

Oxが植物に及ぼす影響は葉上の可視被害、落葉現象、生長量の抑制、収量の減少などにみられ、これらは農業生産上の損失と関連するが、Ox汚染の分布が広い範囲に及んでいることやOxによる遺伝的要素への影響や大気中の酸性降下物質による土壌や水質への汚染を考慮すると、自然生態系へ大きな被害が及んでいることが考えられ、今後の解明が待たれる。また、Oxが植物以外の生物や材料(塗料, ゴムなど)、建造物および気象などに及ぼす影響は膨大なものが予想される。



都市生活環境保全の上から、汚染源対策が必要なこととは言うまでもなく、また、都市の過密化を避けるため農地・緑地の保存、保全が都市政策上必要であろう。一方でこれら植物による大気浄化能および気候緩衝作用など都市環境へもたらす公益的機能に関する評価も今後、明らかにする必要がある。

## 要 約

1960年代の後半から東京近郊の園芸植物は葉面に病害虫の影響とは異なる可視被害を生じ問題となっていた。1970年の夏、光化学スモッグによる人体被害および植物の異常落葉などが発生するにおよび光化学オキシダント(Ox)が及ぼす植物被害に関する究明が急がれ、これらの問題解明に着手することになった。

初めにOxによる植物被害の立証を行い、これらの可視被害の特徴を用いてOx汚染を把握する指標植物の利用方法をアサガオとペチュニアについて開発した。つぎにOxが植物の生長量に及ぼす影響をポプラの生長量抑制の解析を通して把握した。さらに、ハウレンソウの品種によるOx抵抗性の要因を解明するとともに、被害軽減を図るため施肥方法について検討を試み、Ox被害の軽減化を立証した。

得られた成果の概要は以下の通りである。

## 1. Oxによる植物被害の立証と被害の特徴

東京農試内に設置した浄化空気室と非浄化空気室を用いてOxによる植物被害を立証するため、大気汚染物質を常時観測しながら、植物被害の発生動向と特徴を調査した。

1) 当地にて大気汚染を常時観測した結果、主な汚染物質はOxであり、その大部分はオゾンがしめ、Oxの内2~6%がPANであった。浄化空気室は、活性炭などのフィルターによりOxの約90%を浄化する機能があり、植栽した植物に被害を生じなかったが、非浄化空気室内では葉上に可視被害がみられ、植物被害を引き起こす主な汚染物質はOx中のオゾンとPANであるとみなされた。

2) 植物葉の被害症状を分類すると、オゾンによる被害は成熟葉の表面を中心に白色斑、褐色斑、葉全体の赤色化などがみられ、主に柵状組織が崩壊していた。一方、PANによる被害は未成熟葉の裏面を中心に生じる光沢化、銀白色斑、青銅色斑であり、主に海绵状組織の崩壊によっておこった。オゾン型被害を呈する植物はアサガオなど42種、PAN型被害はペチュニアなど9種であり、オゾンとPANの両方の被害を呈する植物はハウレンソウなど4種であった。

3) Oxに対する植物の感受性は種、品種により大きく異なり、10pphm以下のOx濃度で可視被害の生じる感受性の高い植物、10~15pphmの濃度で生じる中程度の植物、15pphm以上の濃度で生じる感受性の低い植物

に分けられた。

4) Oxにより被害を受けた葉の細胞組織はパーオキシダーゼ活性により強く染色され、Oxによる被害を確認する一つの方法と見なされた。

## 2. Oxに対する指標植物の開発

植物の可視被害の特徴を利用して大気中のOx汚染を把握するため、指標植物の開発を行った。オゾンに対してはアサガオを、PANに対してはペチュニアを用いて、被害の特徴と指標性について検討したのち、市民が利用できる調査方法を作成し普及した。

1) 8品種のアサガオの中でスカーレットオハラがOxに対して1番高い感受性を示し、Ox7pphm以上の濃度が数時間続き、日最高値が8pphm以上を示した日の翌日に白色小斑点及び褐色斑を成熟葉上に生じた。アサガオの1日ごとの被害度合計値及び被害指数は7pphm以上Oxドースとの間に、また、被害指数とOx日最高値との間に相関関係がみられた。また、1週間ごとの被害度合計値及び被害葉数は、1週間ごとの7, 8, 9pphm以上の各Oxドース、日最高値の1週間ごとの合計値との間にそれぞれ高い相関関係があった。すなわち、アサガオは大気中に生じるOx汚染量を葉上に被害として量的にかなり正確に表す植物であり、Ox汚染を把握する指標植物として適していた。

2) アサガオがオゾンにより被害を生じる葉位は、葉面積の拡大が停止し気孔開度が大きい葉齢のものであった。葉内のクロロフィル、還元糖、デンプン含有率および光合成速度は葉面積が拡大している葉位で高い値を示し、拡大が停止した葉位では低下したことから、アサガオがオゾンに感受性を示す葉は代謝活性が最大に達した葉よりも下位の葉であることがわかった。

3) アサガオを指標植物として普及する場合、高い感受性を示し被害が均一に出現するような肥培管理方法が必要である。そこでアサガオのOx感受性に及ぼす窒素、リン酸、加里施用量の影響について検討を行った。窒素とリン酸は標準施用量が最も高い感受性を表し、無施用および多施用により感受性は低下した。加里は無施用と標準施用が高い感受性を示し、多施用は低下した。葉内成分との関係では、窒素とリン酸施用量区で葉中P含有率と被害指数との間に負の相関関係があった。窒素施用量区では葉中非還元糖、全糖及びデンプン含有率と被害指数との間にそれぞれ正の相関関係が認められ、一方、加里多施用区ではデンプン含有率が特に高く、含有率と被害指数との間に負の関係があった。したがってOx感

受性はデンプン含有率が中程度のときに高くなることが分かった。

4) ペチュニアがPANにより被害を生じる葉位は葉面積が拡大している葉齢のものであり、被害症状は葉の先端部から基部へバンド状に移動する特徴を示した。また、品種によりPAN感受性が大きく異なった。ペチュニアの被害度合計値とPAN濃度2ppb以上ドースとの間には相関関係が認められ、中程度の感受性品種のブルーエンサインの被害出現は感受性の高いホワイトエンサインの約3倍のPANドースを必要とした。ペチュニアの被害を10日間ごとにまとめて調査した場合、その期間に発生したPANドースは被害量と高い相関があり、ペチュニアはPANの指標植物として適していた。

5) 市民がアサガオとペチュニアを指標植物として利用する際の調査方法について検討を行い、普及した結果、一般市民が指標植物の観察を通してOxの発生日と汚染量をほぼ正確につかむことができ、Ox汚染の分布も明らかになった。このような指標植物の利用は市民に大気汚染問題への関心を持たせ生活環境改善への意識を向上させる契機となった。

### 3. Oxが樹木の生長量に及ぼす影響

Oxが樹木の生長量に及ぼす影響を浄化空気室法を用いて調査した。また、Oxおよびオゾンが光合成、呼吸、葉内成分などへ及ぼす生理的影響について検討を行った。

1) 数種樹木を浄化空気室(浄化区)と非浄化空気室(非浄化区)にて育成し生長量を比較してみると、落葉樹のポプラとコナラはOxにより大きな生長抑制を受け、クワおよび常緑樹のシラカシ実生苗では中程度であり、シイ実生苗ではわずかな影響であった。

2) 1975年の春にポプラを挿し木して4ヵ月後の苗高(H)、苗径(D)、乾物重をみると浄化区はそれぞれ216cm、17.3mm、211.7g、非浄化区では143cm、11.7mm、82.7gであり、Oxによって著しい生長量の抑制が生じた。展開葉数は浄化区65.2枚に対し非浄化区51.2枚であり、個体中の最大葉の面積を比較すると、浄化区332.2cm<sup>2</sup>、非浄化区222.2cm<sup>2</sup>であり、Ox暴露により葉数および葉面積が低下した。Oxの発生により非浄化区のポプラは成熟葉の表面に白色小斑点を生じ、その後下位葉から落葉し、非浄化区で20.4枚、浄化区で5.0枚であった。

1974年から1978年の5年間同じ手法を用いて浄化区に対する非浄化区のポプラ挿し木苗の生長量(D<sup>2</sup>H)の割合をみると、それぞれの年の生育期間に発生したOxドースと高い負の相関関係にあり、年によって異なるOx

発生量がポプラの生長量の抑制に反映した。

3) 非浄化区のポプラ葉のクロロフィル含有率と光合成速度は開葉20日目以降の葉で次第に低下し、浄化区の約半分になった。浄化区に対する非浄化区のクロロフィル含有率の割合( $n-F.A./F.A. \times 100\%$ )は開葉後20日目以降から暴露されたOxドースと高い負の相関関係にあり、また、クロロフィル含有率と光合成速度との間に正の相関関係が得られた。

光-光合成曲線と各葉位の葉面積から個体当りの1日の純光合成量を推定してみると非浄化区は浄化区の49.0%であり、Oxによるポプラ挿し木苗の生長量の低下を裏付ける数値が得られた。

非浄化区のポプラ葉の暗呼吸速度は中下位葉において浄化区よりも高い値を示し、消耗が大きかった。非浄化区におけるポプラ葉の還元糖含有率は全葉位で浄化区よりも約2倍高い値を示し、非浄化区は還元糖は浄化区の3分の1以下の低い値であり、転流量の減少が示唆された。

4) 濃度別オゾン処理および長時間オゾン処理がポプラ挿し木苗の光合成・暗呼吸速度に及ぼす影響について検討を行った。

ポプラの下位葉に0.10、0.15、0.20、0.25ppmのオゾン5時間処理すると、光合成速度はそれぞれ3、7、28、34%阻害されたが、処理後2、3日以内に光合成速度は対照区と同じレベルに回復した。0.10ppmのオゾンで1日5時間、週5日間処理を1および2週間行くと、下位葉の光合成速度はそれぞれ33%、59%の阻害率を示し、暗呼吸速度は1週間処理区で15%増加した。これらの処理葉に再び0.10ppmのオゾン3時間処理すると光合成速度はそれぞれ10%、22%阻害され、健全葉に対するオゾン処理よりも大きな影響を受けた。すなわち、ポプラは比較的低濃度のオゾンでも繰り返して暴露されることにより累積的に光合成阻害を生じ、大きな生長量の抑制を引き起こすことがわかった。

### 4. ホウレンソウの品種によるOx抵抗性の解明

都市近郊で主要生産を占めるホウレンソウの被害を軽減・回避するために抵抗性品種の検索を行い、Ox抵抗性の要因について検討を行った。

1) Oxによるホウレンソウの可視被害はオゾン型被害とPAN型被害とそれらが同時に生じる型の三通りがあった。生育ステージによるOx感受性は、若いステージで低いが、生長とともに高くなり、収穫期に最高となり、老化により低下した。葉内成分のタンパク、SH基、クロ

ロフィル含有率とSOD活性は若い生育ステージの方ほど高い値であり、活性酸素障害の保護機能との関連が示唆された。

2) 系統の明らかな12品種を栽培し、葉の形態、体内成分、酵素活性などの要因と抵抗性との関係を見た。葉の刻みが多く、葉の薄い品種はOx被害を受けやすく、酸化型アスコルビン酸が多かった。一方、丸い葉形で刻みが少なく厚い葉を持った品種はSOD活性が高く被害量が小さかった。次に、主成分分析を行い12品種のスコアを見ると、被害量が多い東洋系品種の日本在来およびう城と豊葉が一つのまとまりを作り、キングオブデンマーク、ピロフレイ、札幌大葉およびバイキングは抵抗性が強く西洋系品種のまとまりとなった。交配種のF<sub>1</sub> 深緑、ニューサッポロ、交配ニューアジアおよびF<sub>1</sub> スパークと丸種ミンスターは中間に位置し、交配種は両親の中間的な性質を示した。

3) 感受性品種のう城と抵抗性品種のピロフレイを用いた正逆交雑種のOx被害量を見ると母親の影響を強く受けており、また、葉内のクロフィル、SH基含有率も母親の性質を強く受けていた。オゾンに対するハウレンソウの抵抗性は細胞質遺伝をする葉緑体と関連していることが推定された。

4) 感受性品種のう城、日本在来および抵抗性品種のピロフレイ、キングオブデンマークの気孔密度を測定したところ気孔密度と抵抗性との関連は認められなかった。この4品種の気孔拡散抵抗はオゾン処理により増大し、気孔が閉鎖する傾向が認められたが、品種による差異は小さく気孔拡散抵抗がOx抵抗性の要因とは認められなかった。

5) 感受性品種と抵抗性品種を比較すると、抵抗性品種のSODとGSSG red.活性は感受性品種よりも低く、また、SH基とアスコルビン酸含有率も同様に抵抗性品種の方が低かった。

しかし、高濃度オゾン(0.15ppm, 3時間)処理を行うと抵抗性品種ではGSSG red.活性の増大がオゾン処理開始直後からおこったが感受性品種では1~2時間遅れ、また、感受性品種のAsc. per.とDHA red.活性が抵抗性品種より早く低下を始めた。このような品種による活性酸素防御機能に対する酵素反応の差異が抵抗性と関連することが推察された。

低濃度オゾン長時間処理(0.025ppm, 1日5時間, 10日間)により、感受性品種のSOD, Asc. per., GSSG red., Cat.活性は低下したが、抵抗性品種はGSSG red.

とCat.活性が増大し、SOD活性は感受性品種に比べ増大の傾向があった。抵抗性品種はバックグラウンドのような低いオゾン濃度により活性酸素防御系酵素活性を増大させ、オゾン毒性の防御機能を獲得することが明かとなった。

6) 低濃度オゾン長時間処理により感受性品種のアスコルビン酸含有率は低下したが、抵抗性品種は高い値を示した。総グルタチオン含有率は抵抗性品種の特にキングオブデンマークで著しい増加を示し、ピロフレイも高い値を示したが、感受性品種のう城は低下した。このように抵抗性品種において総グルタチオンが増加することは活性酸素防御機能の獲得として考えられ、被害の品種間差異の要因になるものと推察された。

## 5. 施肥方法によるハウレンソウのOx被害軽減試験

栽培技術的にハウレンソウのOx被害を軽減する方法として施肥法を取り上げ、ポットおよび圃場試験にて検討したのち、現地実証試験を行った。

1) F<sub>1</sub> 深緑を用いポット試験を行った結果、窒素とリン酸施肥量試験区は2, 4倍と多施用すると標準区よりも被害が小さくなった。加里と石灰施肥量試験区は無施用において被害が最も大きく、多施用により被害は減少した。

2) 窒素、加里各施肥量が葉内のアスコルビン酸、グルタチオン含有量および活性酸素防御系酵素活性に及ぼす影響を見た。アスコルビン酸は窒素を4倍施用した区で、総グルタチオンは加里を4倍施用した区で増加した。酵素活性は窒素を多施用するとGSSG red., およびCat.活性が高くなり、加里を多施用するとSOD, Asc. per., GSSG red.およびCat.活性が高くなった。これらの酵素活性の増大はオゾンに対する防御機能を高め被害の軽減として現れたものと推察される。

3) 圃場において加里を多施用すると、用いた5品種のOx被害は軽減された。

一方、本葉5, 6枚の時期に追肥を行うと、窒素と加里の同時追肥は窒素および加里の単独追肥よりも被害の軽減効果は大きく約8割に達し、経済的損失を小さく出来ることがわかった。

4) 農家のハウレンソウ畑において、4種類の追肥を行ったところ、Ox被害はおおよそ半分まで軽減されることが実証された。

## 引用文献

- 1) Middleton, J.T., J.B. Kendrick, Jr., and H.W. Schwalm: Injury to herbaceous plants by smog or air pollution. *Plant Dis. Rep.* 34, 245-252, 1950
- 2) Haagen-Smitt, A.J.: Chemistry and physiology of Los Angeles smog. *Ind. Eng. Chem.* 44, 1342-1346, 1952
- 3) National Research Council 編、和田攻、木村正己監訳: 環境汚染物質の生体への影響13, 光化学オキシダント(上)中島泰知、宗森信訳 東京化学同人 1981
- 4) Middleton, J.T.: Photochemical air pollution damage to plants. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 12, 431-448, 1961
- 5) Dugger, W.M. and P.T. Ting: Air pollution oxidants-Their effects on metabolic processes in plants. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 21, 215-234, 1970
- 6) 大平俊男: 光化学スモッグの概要, 東京光化学スモッグに関する調査研究 第1報, 1-28, 東京都公害研究所 1971
- 7) 福田三千夫: タバコの生理的斑点病に関する研究, 岡山たばこ試験場報告 第33号、1, 1973
- 8) Burk, L.G. and H.E. Heggstad: Weather fleck in *Nicotiana tabacum*. *Plant Dis. Repr.* 40, 424-427, 1956
- 9) 須山勇, 黒田昭太郎, 篠原俊清, 国沢健一: タバコの生理的斑点病に関する研究 第5報 病斑の発生と大気中のオキシダントとの関係, 岡山たばこ試験場報告 第33号 37-49, 1973
- 10) 沢田正, 古明地哲人, 野内勇, 小口邦子, 大平俊男: 光化学スモッグの影響と思われる植物の被害状況について(2) 大気汚染研究 7, 232, 1972
- 11) 東京都労働経済局農林水産部: 東京の園芸特産 1986
- 12) 篠崎光夫, 前野道雄, 水沢芳名: ホウレンソウのオゾン障害に対するピペロニルブトキシサイドの効果について 神奈川県農業総合研究所研究報告 第115号, 45-52, 1975
- 13) Taylor, O.C., E.R. Stephens, E.F. Darley and E.A. Cardiff: Effect of air-borne oxidants on leaves of pinto bean and petunia. *Proc. Amer. Soc. Hort. Sci.*, 75, 435-444, 1960
- 14) Hill, A.C., M.R. Pack, M. Treshow, Downs and L.G. Transtrum: Plant injury induced by ozone. *Phytopathol.* 51, 356-363, 1961
- 15) Menser, H. A., H. E. Heggstad and Street: Response of plants to air pollution. Effects of ozone concentration and leaf surface area on injury to *Nicotiana tabacum*. *Phytopathol.* 53, 1304-1308, 1963
- 16) Thomson, W. W., W. M. Dugger, Jr. and Palmer: Effects of ozone on the fine structure of the palisade parenchyma cells of bean. *Can. J. Bot.* 44, 1677-1682, 1966
- 17) Stephens, E.R., Darley, E.F., Taylor, O.C. and Scott, W.E.: Photochemical reactions in air pollution. *Int. J. Air and Water Pollut.* 4, 79-100, 1961
- 18) Taylor, O. C.: Importance of peroxyacetyl nitrate (PAN) as a phytotoxic air pollutant. *Air Pollut. Contr. Assoc.* 19, 347-351, 1969
- 19) Dugger, W. M., Jr., O.C. Taylor, E.C. Cardiff and C.R. Thompson: Stomatal action in relation to damage from photochemical oxidants. *Plant Physiol.* 37, 487-491, 1962
- 20) 泉川碩雄, 伊藤宣夫, 舟島正直, 広野富雄, 久司, 早福正孝, 中野欣嗣, 朝来野国彦, 大平俊男: 窒素酸化物, 炭化水素とPANの関係, 東京光化学スモッグに関する調査研究 第3報 323-334, 1971 東京都公害研究所
- 21) 泉川碩雄, 早福正孝, 中野欣嗣, 朝来野国彦, 大平俊男: 大気中PANの連続測定および定量, 公害研究所年報 第4巻 41-49, 1973
- 22) 農林省農林水産技術会議事務局監修: 大気汚染による農作物被害症状の標本図譜 群馬県, 埼玉県, 東京都, 神奈川県, 大阪府, 兵庫県, 岡山県, 1976
- 23) 佐野豊: 組織学研究法 第6章 一般染色 南山堂, 1965
- 24) 瓜谷郁三: 病態植物の生化学 p. 1-73, 植物の生化学 後編 罹病植物と殺菌剤の生化学 篤造, 鈴木直治共編・農業技術協会刊, 1963
- 25) Curtis, C. R. and R.K. Howell: Increases in peroxidase isoenzyme activity in bean leaves

- posed to low doses of ozone. *Phytopathology* 61, 1306-1307, 1971
- 26) 相見豊三：細胞生理学実験法, p.208, 養賢堂, 1953
- 27) Middleton, J.T., J.B. Kendrick, Jr. and E.F. Darley: Air-borne oxidants as plant-damaging agents, pp191-198. In Proceedings of the Third National Air Pollution Symposium, Pasadena, California, 1955, Los Angeles: National Air Pollution Symposium, 1955
- 28) Noble, W. M. and L.A. Wright: Air pollution with relation to agronomic crops: II. A bio-assay approach to the study of air pollution. *Agron. J.*, 50, 551-553, 1958
- 29) Heggestad, H. E. and H. A. Menser: Leaf spot-sensitive tobacco strain Bel W-3, a biological indicator of the air pollutant ozone. *Phytopathology* 52, 735, 1962
- 30) 埜田宏：環境汚染と指標植物 p.88 共立出版1974
- 31) 山家義人：都市域における環境悪化の指標としての樹木衰退と微生物相の変動 林試研報, 301, 119-129, 1978
- 32) 松中昭一：指標生物 環境汚染を啓示する p.33-44, 講談社サイエンティフィック 1975
- 33) 沢田正, 古明地哲人, 野内勇, 大橋毅, 大平俊男：アサガオのオキシダント指標性について 大気汚染研究 8, 541, 1973
- 34) 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：昭和48年度一都三県光化学スモッグ共同調査報告書, p.125-174, 1974
- 35) 浅川富美雪, 今井太磨雄, 日下昭二：農作物に及ぼすオゾンの影響(第1報)可視害と濃度, 時間の関係及び糖質, クロロフィルへの影響 近畿中国農研 48, 82-86, 1974
- 36) 中村拓, 松中昭一：大気汚染に対する指標植物の利用(1) 光化学オキシダントに対するアサガオの感受性とその変動要因 日作紀 43, 517-521, 1974
- 37) Oshima, R. J.: A viable system of biological indicators for monitoring air pollutants. *J. Air Pollut. Contr. Assoc.* 24, 576-578, 1974
- 38) 石原邦, 西原武彦, 小倉忠治：水稻葉における気孔の開閉と環境条件との関係 第1報 気孔開度の測定法について 日作紀, 40, 491-496, 1971
- 39) 西村光雄：クロロフィル 光電比色法 化学の領域増刊34号, p.136-141, 南江堂, 東京, 1958
- 40) 村山登, 吉野実, 大島正男, 塚原貞夫, 川原崎祐司：水稻の生育に伴う炭水化物の集積過程に関する研究 農業技術研究所報告, B, 4, 123-130, 1955
- 41) 阿武喜美子, 瀬野信子：糖質実験法, 生物化学実験法X I, 蛋白質核酸酵素編集部編, p.13-14, 共立出版, 東京, 1968
- 42) 同上：同上 p.15
- 43) Dickmann D.I. and J.G. Gordon: Incorporation of  $^{14}\text{C}$ -photosynthate into protein during leaf development in young populus plants. *plant Physiol.* 56, 23-27, 1975
- 44) 和田喜徳, 渡辺誠子, 黒田昭太郎：タバコ葉の生育にともなう光合成能力とクロロフィル量の消長 日植雑, 80, 123-129, 1967
- 45) Hopkinson, J. M.: Studied on expansion of the leaf surface, IV. The carbon and phosphorus economy of a leaf. *Jour. Expt. Bot.* 15, 125-137, 1964
- 46) Lee, T.T.: Sugar content and stomatal width as related to ozone injury in tobacco leaves. *Can. J. Bot.* 43, 677-685, 1965
- 47) MacDowall, F.D.H.: Predisposition of tobacco to ozone. *Can. J. Plant Sci.* 45, 1-12, 1965
- 48) 三宅嘉之, 宇野良男：タバコの生理的斑点障害に関する研究(第6報) Bel W<sub>3</sub> のオゾンによる生理障害と気孔開度との関連 宇都宮たばこ試験場報告, 12, 61-66, 1973
- 49) 松島二良：光化学反応物質の植物に及ぼす影響 日本公衆衛生協会, 171-181, 1972
- 50) Brewer, R.F., F.B. Guillemet and R.K. Creveling: Influence of N-P-K fertilization on incidence and severity of oxidant injury to mangels and spinach, *Soil Sci.* 92, 298-301, 1961
- 51) 喜多村俊明, 門田恵美子：タバコの生理的斑点病に関する研究 第9報 窒素栄養と斑点(タイプII, III)の発生について 岡山たばこ試験場報告, 33, 71-77, 1973
- 52) Leone, I.A., E. Brennan and R.H. Daines: Effect of nitrogen nutrition on the response of tobacco to ozone in the atmosphere. *J. Air Pollut. Contr. Assoc.* 16, 191-196, 1966

- 53) Heck, W.W., J.A. Dunning and I.J. Hindawi : Interactions of environmental factors on the sensitivity of plants to air pollution. J. Air Pollut. contr. Assoc. 15,511-515,1965
- 54) 鄭永浩, 太田保夫: イネの光化学オキシダント障害に関する生理的研究 第4報 イネの内生アブシジン酸(ABA)含量およびオゾン感受性におよぼす窒素施肥量の影響, 日作紀, 50,570-574,1981
- 55) Craker, L.E.: Effects of mineral nutrients on ozone susceptibility of *Lemna Minor*. Can. J. Bot. 49,1411-1414,1971
- 56) Ogawa, T. and K. Shibata : A sensitive method for determining chlorophyll b in plant extracts. Photochem. Photobiol. 4,193-200, 1965
- 57) 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: 栽培植物分析測定法 p.63-75, 養賢堂, 東京, 1975
- 58) 同上: 同上, p.328-335
- 59) 馬場起, 寺岡幸: 作物の大気汚染被害の発生機構に関する生理的研究 (第5報) 気孔開度および茎葉組織汁液の酸化還元電位とオゾン被害との関係 農学研究, 57,163-188,1979
- 60) 浅川富美雪, 前川往亮, 田中平義, 日下昭二: 野菜類の無機養分とオゾン障害の関係 第2報 カリウムを欠除した場合のネギ, トマトのオゾン感受性, 近畿中国農研, 56, 82-85,1978
- 61) Dunning, J.A., W. W. Heck and D.T. Tingey : Foliar sensitivity of pinto bean and soybean to ozone as affected by temperature, potassium nutrition and ozone dose. Water, Air and Soil Pollution 3, 305-313,1974
- 62) 環境庁大気保全局大気規制課/編: 日本の大気汚染状況, 昭和54年度全国常時監視測定局における測定値とその概要 p.1787-1943
- 63) 松中昭一編: アサガオ利用の実例, 図説環境汚染と指標生物 p.98-103, 1979
- 64) Thompson, C.R., and O.C. Taylor : Effects of air pollutants on growth leaf drop, fruit drop and yield of citrus trees. Environ. Sci. Technol., 3,934-940,1969
- 65) Thompson,C.R., E. Hensel and G.Kats : Effects of photochemical air pollutants on Zinfandel grapes. Hort Science 4,222-224,1969
- 66) Thompson, C.R., O.C. Taylor, M.D. Thomas and J.O. Ivie : Effects of air pollutants on apparent photosynthesis and water use by citrus trees. Environ. Sci. Technol., 1, 644-650,1967
- 67) Taylor, O.C. : Air pollution with relation to agronomic crops(4) : Plant growth suppressed by exposure to air-borne oxidants ( Smog ). Agron. J., 50,556-558,1958
- 68) Taylor, O.C., E.A. Cardiff, J.D. Mersereau and J.T. Middleton : Effect of air-borne reaction products of ozone and 1-N-hexene vapor (synthetic smog) on growth of avocado seedlings. Pro.Ame. Soc. Hort. Sci., 71, 320-325, 1958
- 69) Miller, T.R., J.R. Parmeter, Jr., Brigitta H. Flick and C.W. Martinez : Ozone dosage response of ponderosa pine seedlings. J. Air Pollut. Control Assoc., 19,435-438,1969
- 70) 久野春子, 寺門和也, 柳田明德: 大気汚染と植物の生長, 環境科学総合研究会第3回研究発表会予稿集, 38-39,1977
- 71) 吉良竜夫編: 生態学大系第II巻上, 植物生態学(2) 古今書院, 1963
- 72) Okoro, O.O. and J. Grace : The physiology of rooting *Populus* cuttings I. Carbohydrates and photosynthesis. Physiol. Plant., 36,133-138,1976
- 73) 服田春子, 本間慎: クワにおける展開期間の成長におよぼす貯蔵物質量の影響, 日本蚕糸学雑誌, 40, 307-312,1971
- 74) 谷山鉄郎: 硫酸化物大気汚染と作物生産, 科学, 48(3), 169-175,1978
- 75) Taylor, O.C., C.R. Thompson, D.T. Tingey and R.A. Reinhert : Responses of plants to air pollution 6. Oxides of nitrogen 121-139, Academic Press, 1975
- 76) 松島二良, 佐光重広: 造園樹木類の二酸化硫黄の吸収, 可視障害, 生育ならびに光合成間の関係, 三重大学環境科学研究紀要 第2号, 95-105,1977
- 77) Taylor, O.C. and F.M. Eaton : Suppression of plant growth by nitrogen dioxide. Plant Physiol. 41, 132-135, 1966
- 78) Jensen, K.F. and L.S. Dochinger : Responses of hybrid poplar cuttings to chronic and acute levels of ozone. Environ. Pollut., 6, 289-295, 1974

- 79) 谷山鉄郎, 小池十七男: エチレン汚染に対する指標植物としてのゴマの落蕾感受性と作物被害について, 三重大学環境科学研究紀要, 第3号, 71-83, 1978
- 80) Craker, L.E.: Ethylene production from ozone injured plants. Environm. Pollut. 1, 299-304, 1971
- 81) 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: 栽培植物分析測定法 p.247-248, 養賢堂, 東京, 1975
- 82) Ting, I.P. and S.K. Mukerji: Leaf ontogeny as a factor in susceptibility to ozone: Amino acid and carbohydrate changes during expansion. Amer. J. Bot. 58, 497-504, 1971
- 83) 中村拓, 坂育: 光化学オキシダントによる稲の被害について, 第3報 オゾンがイネ葉の諸生理活性に及ぼす影響, 日作紀, 47, 709-714, 1978
- 84) Barnes, R.L.: Effects of chronic exposure to ozone on photosynthesis and respiration of pines. Environ. Pollut. 3, 133-138, 1972
- 85) Dugger, JR. W.M., J. Koukol and R.L. Palmer: Physiological and biochemical effects of atmospheric oxidants on plants. J. Air Pollut. Control Assoc., 16, 467-470, 1966
- 86) 土方智, 寺門和也, 久野春子: 大気汚染によるナシの異常落葉について(1)異常落葉の生理的特徴, 昭和51年度研究速報, p.82, 東京都農業試験場
- 87) Sutton, R. and I.P. Ting: Evidence for the repair of ozone-induced membrane injury. Amer. J. Bot., 64, 404-411, 1977
- 88) 谷山鉄郎, 山下和巳, 小池十七男: 作物のガス障害に関する研究 第13報 大気汚染質, オゾンガス( $O_3$ )がトウモロコシ, 水稻および落花生の光合成におよぼす影響, 日作紀, 45, 9-16, 1976
- 89) 谷山鉄郎: 作物の環境汚染をめぐる諸問題, 農業および園芸, 54, 1551-1555, 養賢堂, 東京, 1979
- 90) 東京都農業試験場: 大気汚染被害発生限界の解明に関する試験成績書, p.10-13, 1979
- 91) 古川昭雄, 門田正也:  $O_3$ によるポプラ葉の光合成・光呼吸・暗呼吸の性質におよぼす影響について, 大気汚染研究, 9, 376, 1974
- 92) 篠原俊清, 山本義忠, 北野溥: タバコの生理的斑点病に関する研究 第16報 オゾン感受性の品種間差異 岡山たばこ試験場報告 35, 51-58, 1975
- 93) Hucl, P. and W.D. Beversdorf: The response of selected *Phaseolus vulgaris* L. cultivars to ozone under controlled fumigation and ambient field levels. Can. J. Plant Sci. 62, 561-569, 1982
- 94) Engle, R.L. and W.H. Cabelman: Inheritance and mechanism for resistance to ozone damage in onion, *Allium cepa* L. Proc. Amer. Soc. Hort. Sci. 89, 423-430, 1966
- 95) Manning, W.J., W.A. Feder and I. Perkins: Sensitivity of spinach cultivars to ozone. Plant disease reporter 56, 832-833, 1972
- 96) Heagle, A.S., R.B. Philbeck and M.B. Letchworth: Injury and yield responses of spinach cultivars to chronic doses of ozone in open-top field chambers. J. Environ. Qual. 8, 368-373, 1979
- 97) Cameron, J.W. and O.C. Taylor: Injury to sweet corn inbreds and hybrids by air pollutants in the field and by ozone treatments in the greenhouse. J. Environ. Quality, 2, 387-389, 1973
- 98) Dean, C.E.: Stomate density and size as related to ozone-induced weather fleck in tobacco. Crop.Sci. 12, 547-548, 1972
- 99) Hucl, P., W.D. Beversdorf and B.D. Mckersie: Relationship of leaf parameters with genetic ozone insensitivity in selected *Phaseolus vulgaris* cultivars. Can. J. Bot. 60, 2187-2191, 1982
- 100) 河内宏: 植物葉によるオゾン吸収と被害発現の関係—とくに葉位によるオゾン感受性の差異とオゾン吸収速度の関連について 大気汚染学会誌 15, 389-393, 1980
- 101) 三宅嘉之: タバコの生理的斑点障害に関する研究(第5報)オゾン感受性と葉中アスコルビン酸, グルタチオン含量との関連 宇都宮たばこ試験場報告, 12, 55-60, 1973
- 102) Menser, H. A.: Response of plants to air pollutants. III. A relation between ascorbic acid levels and ozone susceptibility of light-preconditioned tobacco plants. Physiol. 39, 564-567, 1964
- 103) Tomlinson, H. and S. Rich: The ozone resistance of leaves as related to their sulfhydryl and adenosine triphosphate content. Phyto-

- pathology 58, 808-810, 1968
- 104) 榎剛, 近藤矩朗: オゾン暴露によるホウレンソウ葉の光合成色素の分解について 国立公害研究所研究報告 28, 31-37, 1981
- 105) 田中浄, 須田好子, 近藤矩朗, 菅原淳: オゾン抵抗性と活性酸素毒性防御物質 国立公害研究所研究報告 82, 167-172, 1985
- 106) 小岩井晃: タバコ葉のオゾン障害に対する保護物質 植物の化学調節 11, 19-26, 1976
- 107) 香川彰: 農業技術大系 野菜編7 ホウレンソウ ホウレンソウの品種生態 p.基43-50, 農山漁村文化協会 1973
- 108) 香川彰: 晩抽型ホウレンソウの開花促進に関する研究(第2報) 低温処理温度及び期間並びに処理後種子の乾燥が開花・結実に及ぼす影響 園芸学会雑誌 26, 230-235, 1957
- 109) 香川彰: 晩抽型ホウレンソウの開花促進に関する研究(第5報) 開花に及ぼす生長調整剤の影響 28, 277-287, 1959
- 110) 浅田浩二: 酸素毒性 生化学, 48, 226-257, 1976
- 111) Grill, D., H. Estebrauer and U. Klösch: Effect of sulphur dioxide on glutathione in leaves of plants. Environ. Pollut. 19, 187-194, 1979
- 112) 松本博, 国則登代: 生物化学実験法10 SH基の定量法 p.86-90, 学会出版センター, 1978
- 113) Asada, K., M. Takahashi and M. Nagate: Assay and inhibitors of spinach superoxide dismutase. Agr. Biol. Chem., 38, 471-473, 1974
- 114) Siegel, B.Z. and S.M. Siegel: Anomalous substrate specificities among the algal peroxidases. Amer. J. Bot. 57, 285-287, 1970
- 115) 微生物研究法懇談会編: 微生物学実験法Ⅶ, 生化学的研究法の基礎 p.257-258 講談社 1977
- 116) National Research Council編, 和田攻, 木村正己監訳: 環境汚染物質の生体への影響 13, 光化学オキシダント(下) 中島泰知, 宗森信訳 東京化学同人 1981
- 117) Lee, E.H. and J.H. Bennett: Superoxide dismutase. A possible protective enzyme against ozone injury in snap beans (*Phaseolus vulgaris* L.), Plant Physiol. 69, 1444-1449, 1982
- 118) Tanaka, K. and K. Sugahara: Role of superoxide dismutase in the defense against  $\text{SO}_2$  toxicity and induction of superoxide dismutase with  $\text{SO}_2$  fumigation, Res. Rep. Natl. Inst. Environ. Stud. 11, 155-164, 1980
- 119) Curtis, C.R., R.K. Howell and D.F. Kremer: Soybean peroxidases from ozone injury. Environ. Pollut. 11, 189-194, 1976
- 120) Freebairn, H. T. and O.C. Taylor: Prevention of plant damage from air-borne oxidizing agents. Proc. Amer. Soc. Hort. Sci. 76, 693-699, 1960
- 121) 農林水産技術会議事務局: 果実・野菜のビタミンC定量法 p.149-161 49年度食品分析研究会報告書 1975
- 122) 奥野忠一: 応用統計ハンドブック主成分分析 p.328-345, 養賢堂 1980
- 123) Taylor, G.S.: Ozone injury on Bel W<sub>3</sub> tobacco controlled by at least two genes. Phytopathology 58, 1069, 1968 (abstract)
- 124) 山本義忠: タバコの生理的斑点病に関する研究 第18報 生理的斑点病に対する抵抗性の統計遺伝学的考察 岡山たばこ試験場報告 35, 67-74, 1975
- 125) 金田吉男, 慶田雅洋: 食品中の食品添加物の酵素分析法 食品衛生研究 31, 839-862,
- 126) 常脇一郎, 遠藤隆: 植物遺伝学, 木原均監修 第1巻, p.531-546 葦華房, 東京, 1980
- 127) 三宅博, 古川昭雄, 戸塚績, 前田英三: オゾンおよび二酸化硫黄がホウレンソウ葉の細胞微細構造に及ぼす影響 国立公害研究所研究報告 28, 47-85, 1981
- 128) Law, M.Y., A. Charles and B. Halliwell: Glutathione and ascorbic acid in spinach (*Spinacia oleracea*) chloroplasts. The effects of hydrogen peroxide and of paraquat. Biochem. J. 210, 899-903, 1983
- 129) Rich, S. and N.C. Turner: Importance of moisture on stomatal behavior of plants subjected to ozone. J. Air Pollut. Control. Assoc. 22, 718-721, 1972
- 130) 河内宏: 植物葉におけるオゾン吸収速度と気孔拡散抵抗との関係 大気汚染学会誌, 15, 109-117, 1980
- 131) 倉石晋: 実験生物学講座 植物生理学〔Ⅱ〕 勝見允行, 増田芳雄編, 環境ストレス p.193-200, 丸善

- 1983
- 132) Kato, I., Y. Naito, R. Taniguchi and F. Kamota : Studies on the method for measuring amounts of evapotranspiration 1. A method by measuring humidity using transpiration chambers. *Pro. Crop Sci. Soc. Japan*, 28, 286-288, 1960
- 133) Caastra, P. : Photosynthesis of crop plants as influenced by light, carbon dioxide, temperature, and stomatal diffusion resistance. *Meded. Landbouwh. Wageningen, Nederland*, 59, 1-68, 1959
- 134) Asada, K., K. Kiso and K. Yoshikawa : Univalent reduction of molecular oxygen by spinach chloroplasts on illumination. *J. Biol. Chem.* 249, 2175-2181, 1974
- 135) Asada, K. and K. Kiso : Initiation of aerobic oxidation of sulfite by illuminated spinach chloroplasts. *Eur. J. Biochem.* 33, 253-257, 1973
- 136) 島崎研一郎, 榊剛, 菅原淳 : 二酸化硫黄暴露によるホウレンソウ葉の光合成色素と脂質過酸化反応に対する活性酸素の関与 国立公害研究所研究報告 10, 87-100, 1979
- 137) Tanaka, K., N. Kondo and K. Sugahara : Accumulation of hydrogen peroxide in chloroplasts of SO<sub>2</sub>-fumigated spinach leaves. *Plant & Cell Physiol.* 23, 999-1007, 1982
- 138) Foster, J.G. and J.L. Hess : Response of superoxide dismutase and glutathione reductase activities in cotton leaf tissue exposed to an atmosphere enriched in oxygen. *Plant Physiol.* 66, 482-487, 1980
- 139) Nakano, Y. and K. Asada : Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. *Plant & Cell Physiol.* 22, 867-880, 1981
- 140) Matsuyama, N. and T. Kozaka : Increase of peroxidase activity unrelated with resistance to rice blast disease. *Ann. Phytopath. Soc. Japan*, 47, 654-661, 1981
- 141) 原田朗 : 環境科学叢書 大気バックグラウンド汚染, 共立出版, 1973
- 142) Runeckles, V.C. and P.M. Rosen : Effects of pretreatment with low ozone concentration on ozone injury to bean and mint. *Can. J. Bot.* 52, 2607-2610, 1974
- 143) Chanway, C.P. and Y.C. Buneckies : The role of superoxide dismutase in the susceptibility of bean leaves to ozone injury. *Can. J. Bot.* 62, 236-240, 1984
- 144) Barnes, R.L. : Effects of chronic exposure to ozone on soluble sugar and ascorbic acid contents of pine seedlings. *Can. J. Bot.* 50, 215-219, 1972
- 145) Leone, I.A. and E. Brennan : Ozone toxicity in tomato as modified by phosphorus nutrition. *Phytopathology*, 60, 1521-1524, 1970
- 146) Heagle, A.S. : Effects of growth media, fertilizer rate and hour and season of exposure on sensitivity of four soybean cultivars to ozone. *Environ. Pollut.* 18, 313-322, 1979
- 147) 真弓洋一, 山添文雄 : 植物に及ぼす光化学大気汚染の影響の解析 農業技術研究所報告 B 第35号 1-71, 1983
- 148) 菅原友太 : 農, 園芸作物のビタミンCに関する研究 p.35-37, 養賢堂 1957
- 149) 篠原温, 田中邦雄, 鈴木芳夫, 山崎肯哉 : 野菜の栽培条件と品質(第1報)レタス, シュンギクにおける施肥条件とアスコルビン酸含量について 園芸学会雑誌 47, 63-70, 1978
- 150) De Kok, L.J. and F.A. Oosterhuis : Effects of frost-hardening and salinity on glutathione and sulfhydryl levels and on glutathione reductase activity in spinach leaves. *Physiol. Plant.* 58, 47-51, 1983
- 151) Gamble, P.E. and J.J. Burke : Effect of water stress on the chloroplast antioxidant system. I. Alterations in glutathione reductase activity. *Plant Physiol.* 76, 615-621, 1984
- 152) Nobel, P.S. and C.T. Wang : Ozone increases the permeability of isolated pea chloroplasts. *Arch. Biochem. Biophys.* 157, 388-394, 1973
- 153) 北野溥, 篠原俊清, 山本義忠, 木村敦雄, 小岩井晃, 木佐木卓郎, 福田三千夫 : タバコの生理的斑点病に関する研究 第20報 オキシダント障害防除薬剤の実用化の検討 岡山たばこ試験場報告 35, 87-95, 1975

## Summary

Since the middle of 1960's, it has become a subject of discussion why visible injuries different from those of pathogens appear on the leaf surface of horticultural plants cultivated in the suburbs of Tokyo. In the summer of 1970, photochemical smogs injured not only the human body but also higher plants and caused leaf abscission of plants. Since then, I have engaged in the studies on the effects of photochemical oxidant (Ox) to plants and obtained some interesting results. This is the summary of my investigations.

In the first experiment, it has been shown that Ox injures the plant leaf and morning glory (*Pharbitis Nil* Choisy) can be used as monitors of ozone injury and petunia (*Petunia hybrida* Vilm) as monitors of PAN injury. In the 2nd experiment, growth of poplar (*Populus x euramericana* cv. I45/51) cuttings grown in filtered air chamber was compared with those grown in non-filtered air one and it was revealed that Ox in the normal air in Tokyo suppressed the growth of plant. In the 3rd experiment, morphological and physiological characters of spinach (*Spinacia oleracea* L.) varieties were examined in relation to resistance to Ox. Finally, the methods of fertilization were examined to reduce spinach leaf injury by field experiment as well as pot experiment.

The results obtained were as follows.

#### 1. The leaf injuries by Ox.

The plants were grown in filtered air chambers and non-filtered air chambers at Tokyo Metropolitan Agricultural Experiment Station in order to clarify plant injuries by Ox in the air.

1) Main air pollutant was Ox at this station. Main component of Ox was ozone and 2 - 6 % of it was PAN. In filtered air chamber, about 90 % of Ox were removed through active carbon filter and the injuries were not observed on the leaf, while they were clearly observed on the leaf of the plant in non-filtered air chamber. It was proved by this experiment that main air pollutants in Tokyo which caused injuries on leaves were ozone and PAN.

2) Symptoms of visible injuries were classified into ozone type and PAN type. The former injuries occurred on the upper surface of matured leaves with white and brown flecks, and sometimes the color of whole leaf turned red, and destroy of palisade tissue was observed with a microscope. The latter PAN type injuries consisted of silvering, glazing, bronzing and sometimes necrosis occurring on the underside of young leaves and the destroy of spongy tissue was observed. Ozone injury type plants were 42 species (morning glory etc.), PAN injury type plants were 9 species (petunia etc.), and ozone and PAN injury type plants were 4 species (spinach etc.).

3) Plant susceptibility to Ox depended on species and varieties. Visible injuries occurred by exposing to under 10pphm of Ox in high sensitive plants, in intermediate sensitive plants from 10 to 15pphm, in resistant plants above 15pphm.

4) Tissues of Ox injured leaves were stained strongly with guayacole due to high peroxidase activity. It was indicated that this staining method could be a useful technique for detecting Ox injury.

#### 2. Ox indicator plants

Indicator plants for Ox were selected from various plant species. Morning glory was found to be the best as an indicator of ozone pollution and petunia as an indicator of PAN pollution. Characteristics of injuries of the indicator plants were investigated and the techniques for the diagnosis of the injury were established for the practical use by citizens.

1) Variety Scarlet O'hara was the most susceptible to Ox among eight varieties of morning glory. When Ox concentration greater than 7 pphm continued for several hours and maximum Ox concentration were greater than 8 pphm, injury symptoms such as small flecks of chlorosis and occasionally undecided flecks of necrosis were observed on matured leaves at the next day. Clear relationships existed between the sum of daily injury degree or injury index and Ox dose greater than 7 pphm, and between injury index and daily maximum Ox concentration. The sum of weekly injury degree and number of injured leaves were correlated with weekly doses greater than 7, 8 or 9 pphm, and the weekly sum of daily maximum Ox concentration respectively. It was concluded that morning glory whose injury degree on the leaf surface showed exactly Ox pollution level, was suitable for indicator plant.

2) The orders of morning glory leaves occurred ozone injury showed ceasing of area expansion and opening largely of stomatal. About the contents of chlorophyll, reducing sugar and starch in the leaves, and photosynthetic rates, higher values were found in the leaf expanding stage, but these values decreased after the stop of leaf expansion. Thus, it is assumed that the order of leaves sensitive to ozone are located below the leaves having high metabolic activities.

3) Experiments were conducted to determine the effects of nitrogen, phosphorus and potassium nutrition on the response to Ox of morning glory when using indicator plant. Morning glory getting optimal nitrogen or phosphorus supply were found to be more susceptible to Ox than those supplied deficiently or luxuriously. In potassium nutrition, plants getting optimal or lack supply were more susceptible than those supplied luxuriously. There were inverse correlation between phosphorus contents in leaves and injury index of morning glory in nitrogen and phosphorus nutrition. The positive correlations were observed between injury index and non-reducing sugar, total sugar or starch contents in nitrogen nutrition. In potassium nutrition, plants getting luxurious supply had very high contents of starch in leaves and the inverse correlation existed between starch content and injury index. Therefore, leaves containing mediate starch were more susceptible to Ox than low and high contents' ones.

4) Petunia leaves were sensitive to PAN during leaf area expansion. Symptom of injury appeared like band from the top to the base of leaf.

PAN susceptibility of petunia were different with cultivars. There were the relationship between the sum of injury degree and PAN dose greater than 2 ppb. Moderate sensitive cultivar, Blue Ensign, was induced injury by exposing PAN dose three times as much as high sensitive cultivar, White Ensign. High relationship existed between PAN dose and the sum of injury degree surveyed for every 10 days.

5) The plant monitoring techniques were adapted for citizen and popularized. They could exactly understand the day of Ox occurrence and evaluate the level or distribution of photochemical air pollution by using these techniques. With the survey using indicator plants of this time as a turning point, air pollution problem and improvement of their living environment had become the center of public interest.

### 3. Effects of Ox on the growth of trees.

It was studied about the effects of Ox on the plant growth and about the physiological effects of Ox or ozone on photosynthesis, respiration and chemical components in the leaves.

1) The growth of several trees grown in filtered air chamber (F. A.) was compared with those grown

in non-filtered air chamber (n-F.A.). Ox suppressed the growth of *Populus × euramericana* and *Quercus serrata* Thunb. largely, *Morus alba* L. and *Quercus myrsinaefolia* Blume moderately and *Castanopsis Sieboldii* (Mak) Nakai slightly.

2) The values in shoot's height (H), diameter (D) and dry weight of poplar cuttings were respectively 216cm, 17.3mm, 211.7g in F.A. and 143cm, 11.7mm, 82.7g in n-F.A. at about four months after cutting in the spring of 1975. Number of leaves unfolded was 65.2 in F.A. and 51.2 in n-F.A., and the maximum leaf area of plant was respectively  $332.2\text{cm}^2$  and  $222.2\text{cm}^2$ .

The leaf injury, white flecks was observed on the upper surface of matured leaves in n-F.A. Then, injured leaves dropped in the growing season and the numbers of fallen leaves were 20.4 in n-F.A., but only 5.0 in F.A. There was a strong negative relationship between the ratio of growth amount ( $D^2H\% = n\text{-F.A.}/\text{F.A.} \times 100$ ) and doses of Ox occurred in poplar growing season in each year from 1974 to 1978.

3) Chlorophyll contents and photosynthetic rates of poplar grown in n-F.A. were become gradually lower since the about 20th day after leaves unfolding, and reduced to half of those grown in F.A. There were strong negative relationship between of Ox dose exposed from the 20th day after each leaf unfolding, and the ratio of chlorophyll content (n-F.A./F.A.  $\times 100\%$ ) in poplar leaves, and positive relationship between chlorophyll contents and photosynthetic rates.

It was supported the Ox-induced growth suppression of poplar cuttings that if net photosynthetic amount per plant a day was calculated using the light-photosynthetic curves and leaf area of plant, the value in n-F.A. was half of them in F.A.

Dark respiratory rates of middle and lower leaves in n-F.A. were higher than those in F.A. The decrease of transpiration was suggested as that reducing sugar contents of all leaves in n-F.A. were two times as much as in F.A. and non-reducing sugar contents in n-F.A. were less than third ones in F.A.

4) It was investigated that the ozone treatments of various concentration and the long time period influenced the photosynthetic and respiratory rates of poplar leaves.

The lower leaves fumigated with ozone at 0.10, 0.15, 0.20 and 0.25 ppm for 5 hours had after fumigation.

After fumigating to poplar with 0.10 ppm ozone for 5 hours a day, 5 days a week, during the 1- and 2-week, photosynthetic rates of the lower leaves were reduced by 33% and 59% respectively, but dark respiratory rates were stimulated by 15% during the 1-week treatment.

Photosynthetic rates of leaves previously injured by ozone treatment during the 1- and 2-week, were depressed 10% and 22% respectively by fumigating again to 0.10 ppm ozone for 3 hours. It was concluded that the growth of poplar was suppressed severely with cumulative inhibition of photosynthetic rates caused by repeated exposure to relatively low ozone concentrations.

#### 4. Ox resistance of spinach cultivars.

In order to reduce the Ox injury of spinach which were cultivated in large areas in the suburbs of Tokyo, the spinach cultivars resistant to Ox were selected and thire morphological and physiological characteristics were studied in comparison with those of sensitive cultivars.

1) Spinach leaf injuries were classified into three types, i.e., ozone injury type, PAN injury type and both injury type. Spinach is generally less sensitive to Ox at young growth stage, but more sensitive

with the progress of growth, and the most sensitive at the harvest time and again less sensitive at the senescence stage.

The contents of protein, total SH groups and chlorophyll, and the activity of superoxide dismutase (SOD) in leaves were the higher in the young growth stage than in the senescence ones. These results suggested that these substances in spinach leaves are related to the mechanism of protection against ozone toxicity.

2) The relation of resistance against Ox to the morphological characters, the chemical components and the enzyme activities of spinach leaves were investigated using twelve spinach cultivars. The cultivars of notchy and thin leaves, and of high dehydroascorbic acid content were sensitive to Ox. The cultivars of less-notchy, thick and round leaves, and of high activity in SOD were resistant to Ox. From the results obtained by the principal component analysis of the data, twelve cultivars were classified into three groups, i.e., (1) the oriental strain cultivars (Japanese Prickly and Ujyou) and Houyou which were sensitive to Ox, (2) the occidental strain cultivars (King of Denmark, Viroflay, Sapporo-ooba and Viking) which were resistant, and (3) the hybrids (F<sub>1</sub> Shinryoku, New Sapporo, Hybrid New Asia and F<sub>1</sub> Spirk) and Münsterland (smooth-seed) which were moderately sensitive.

3) Reciprocal crossing from the sensitive cultivar (Ujyou) and the resistant cultivar (Viroflay) showed that the Ox resistance as well as chlorophyll and total SH contents determined by female character. Thus, the ozone resistance of spinach are assumed to be related to characters of chloroplast and cytoplasmic inheritance.

4) The difference of density of stomata was not recognized by comparing the sensitive cultivars (Ujyou and Japanese Prickly) with the resistant cultivars (Viroflay and King of Denmark).

Stomatal diffusion resistances of these four cultivars increased by stomatal closure during ozone fumigation. But stomatal diffusion resistance was not recognized as the factor of resistance to ozone, because the varietal difference in stomatal diffusion resistance for ozone was small.

5) SOD and glutathion reductase (GSSG red.) activities of the resistant cultivars were lower than the sensitive ones, and the contents of SH groups and ascorbic acid of the former were also lower than the latter.

In the examination of high ozone concentration treatment (0.15 ppm × 3 hrs), GSSG red. activity of the resistant cultivars increased immediately after fumigation, while that of the sensitive cultivars increased immediately after fumigation, while that of the sensitive cultivars increased 1 or 2 hours later. Ascorbate peroxidase (Asc. per.) and dehydroascorbate reductase (DHA red.) activities of the sensitive cultivars decreased rapidly while those of the resistant cultivars did slowly. Thus, it was assumed that these differences in the activities of the enzymes defending against active oxygen toxicity were related to ozone resistance.

In the examination of low ozone concentration exposure for long time (0.025 ppm × 5 hrs/day × 10 days), the activities of SOD, Asc. per., GSSG red. and catalase (Cat.) were reduced in the sensitive cultivars while GSSG red. and Cat. were greatly and SOD was slightly activated in the resistant cultivars. It was proved that the resistant cultivars activate these enzymes in low ozone concentration exposure for long time and detoxicate ozone.

6) In spinach leaves which were exposed to ozone in low concentration for long time, ascorbic acid content decreased in the sensitive cultivars, and not decreased in the resistant cultivars.

The contents of total glutathion in the resistant cultivars (King of Denmark and Viroflay) increased, but decreased in the sensitive cultivar (Ujyou). Increase in total glutathion contents of the resistant cultivars was considered to be the protective mechanism against active oxygen toxicity.

#### 5. Fertilizer application system to reduce spinach leaf injury.

In order to search for the methods how to reduce ozone leaf injury of spinach, various methods of fertilyzer application were examined with pots and in the field.

- 1) Spinach cultivar, F<sub>1</sub> Shinryoku was tolerant to ozone when grown in the pot of the soil which had been supplied with N as much as two or four times of a normal amount. Non-supply of potassium and calcium increased ozone sensitivity, but luxurious supply of them decreased it.
- 2) Effects of nitrogen and potassium level on the contents of ascorbic acid and total glutathion, and the activities of the several defensive enzymes against active oxygen toxicity were studied. Ascorbic acid contents increased by four times supply of normal nitrogen amount and total glutathion contents increased by four times supply of normal potassium amount. GSSG red. and Cat. activities increased by luxurious nitrogen supply, and SOD, Asc. per., GSSG red. and Cat. activities also increased by luxurious potassium supply. It was assumed that promotion of these enzyme activities increased the functions of the detoxication of ozone and then decreased the leaf injury.
- 3) In the field, Ox injury decreased when spinach was grown in soil with luxurious potassium supply. When the spinach of 5th or 6th leaf stage was supplied with additional fertilizers (N and K), Ox injury decreased. This effect was larger when nitrogen and potassium were supplied together than when they were supplied separately.
- 4) In this way, the method of additional fertilization to reduce Ox injury was established in the spinach fields cultivated by farmers.