

4. 大気汚染成分と UV-B が植物に与える影響

4.1 緒言

近年見られる森林破壊は、いわゆる大気汚染成分の影響だけでなく、増加する UV-B 紫外線の相乗的な影響も考慮に入れなければならない。

環境破壊の問題は全世界的に広がり、その深刻さを増している。オゾン層の破壊もその1つである。1980年代初めから、南極の春先にオゾンホールが観測されるようになった。オゾンの減少は北半球でも認められるようになってきており、日本上空でのオゾンの全量は、10年に2~3%の割合というごくわずかではあるが減少の傾向が確認されている。有害紫外線 (UV-B) の量の方は、今のところ増加している事実は確認されていないが、これは、雲量や大気汚染度なども紫外線量に影響を及ぼすためであり、短期的には、必ずしもオゾンの現象に対応して UV-B の増加が現れるとは限らない。しかし、気象庁 (1992年) によれば、オゾン以外の条件が変わらなければ、オゾンの減少に伴い UV-B の地上到達量が増加することが観測により確認されている。

成層圏のオゾン層の破壊は、人間が放出した CFC (chlorofluorocarbon、フロン) によって引き起こされている。1974年にフロンが成層圏でオゾン層を破壊するという警告が発せられ (Mohna and Rowland, 1974)、それが国際社会に受け入れられ、1985年に「オゾン層の保護のためのウィーン条約」、1987年に「オゾン層を破壊する物質に関するモントリオール議定書」が採択された。オゾン層保護対策が功を奏し、90年代に入ってからフロン濃度の増加が停止している。オゾン層については7月、米航空宇宙局 (NASA) などの研究グループが「オゾン層破壊のペースが鈍り、回復に向かい始めたのかもしれない」と発表している。しかし、2003年は南極上空のオゾン層破壊が史上最大級であった (環境省、気象庁、2003)。気象庁は「上空のオゾン破壊物質は依然として多く、回復の兆しは見られない」としている。

オゾン層が回復するには数十年かかる可能性もあり、今後も継続的な対策が必要である。

紫外線はその波長により、UV-A (320~400nm)、UV-B (280~320nm)、および UV-C (200~280nm) の3つに区分される。紫外線は波長が短いほど生物に対する害作用が大きい。UV-Cは大気中の物質によりほとんど吸収されてしまうため、オゾン量が減少しても、地表面に到達する量は極めてわずかであり、生物に対して問題になることはない。また、UV-Aの放射量はオゾン量の変化に関わらずほぼ一定である。オゾン量が破壊された場合、UV-Bの地表面への到達量が特異的に増加すると考えられる。その増加の割合は、1%のオゾン量の減少に対して、約2%といわれている。UV-Bは、タンパク質、核酸などの重要な生体内物質に吸収され損傷を与えるため、オゾン層が破壊され、その結果として UV-B の地表面への到達量が増加すると、人間をはじめとする生物や生態系にさまざまな悪影響をもたらすと考えられる。

UV-B 放射量の増加が植物にもたらす影響について、多くの科学者により研究が行われてきた。その結果、UV-B に対する感受性は植物の種類により大きく異なるものの、多くの植物は UV-B 放射量の増加により生育が低下すること、また UV-B が植物に引き起こす反応もさまざまであることが明らかになってきた。植物の器官の中で最も環境ストレスに対して感受性が高いのは葉である。UV-B により葉面積の減少、葉の厚さの増加、葉の表面のワックス状の物質の形成 (Tevini and Teramura, 1989)、葉内での紫外線吸収物質の蓄積 (Day, 1993) が引き起こされる。

さて大気汚染による酸性の汚染露に光を照射すると、大気中でもっとも酸化力の強い活性酸素である・OHラジカルを形成し、特に植物葉での影響が懸念される。

これまでに、UV-B 照射と酸性霧噴霧によって、植物細胞壁を構成するペクチンにあるホウ素-RG-II複合体を補強するCaイオンが酸性霧中のプロトンとイオン交換し、複合体構造が

壊れ、細胞壁に損傷を与えることが報告されている^{1, 2)}。

また、アカマツの葉に・OHラジカル処理をすることで、気孔が閉じ、光合成量が低下すること³⁾、UV-B照射によって気孔閉鎖が起こることも示されてきた。

第4章では、まず1節で硝酸を用いた酸性霧とUV-Bが、葉からのイオンの溶脱に与える相互作用についての研究を報告する。つぎに2節ではUV-Bと水酸化ラジカルが葉からの糖質を含む溶脱物質に与える影響及び気孔の開閉に与える影響について報告する。最後に3節では植物の生長にきわめて重要な影響を持つ気孔の開閉に対する、水酸化ラジカルおよびUV-Bの作用について報告する。

4.2. 硝酸とUV-Bが植物葉に与える影響

4.2.1 はじめに

4章第1節では、UV-Bと硝酸の投与が植物葉にどのような影響を与えるのかを溶脱物質の面から捉えることを目的とした。神奈川県大山では、霧の成分に硝酸が含まれ、近年もその傾向が続いていることから、硝酸霧が植物の葉に影響を与えていることが懸念される。特に、早朝硝酸霧が植物用表面で蓄積した後、朝日によって気温が上昇し最初は低濃度でも霧の水分が蒸発することにより最終的に高濃度の硝酸が葉に影響を与える可能性がある。

また、同時に太陽光に含まれるUV-Bが、硝酸と反応することにより、さらに相乗的に葉にダメージを与えることが予想された。

そこで、本研究では硝酸を葉に塗布し、UV-Bを含む照射光下で葉から溶脱するイオンを調べることとした。イオンの溶脱は細胞膜の損傷を意味するので、イオンが溶脱していれば、何らかの損傷が引き起こされた証拠となる。

4.2.2 方法

植物材料として、人工気象器内で1/5濃度のホーランド液によって生育したアラスカエンドウ (*Pisum sativum* L., cv.

Alaska) を用いた。気象器内はUVを含まない光合成有効放射 (PER) 区と、UVランプの下に厚さ0.13mm以下の酢酸セルロース製のシートを用いてUV-CをカットしたUV-B区の条件を、またUV-B照射強度が強いものと弱いものをシートの劣化を利用してつくり、12時間明期の間に照射した。各波長の合計照射強度についてのまとめを表4.1に示した。可視光に対するUV-Bの割合について、直射日光条件を基準にすると、UV-B弱区で1.8倍、UV-B強区で8.3倍となった。

各条件下で、0mMではイオン交換水を、硝酸1あるいは10mMを、アラスカエンドウの第3葉、第4葉、第5葉に明期の始まりに筆で塗布した。実験処理区については表4.2にまとめて示した。

UVランプ消灯後、各区から葉を採取し、超高純水5mlに漬け、溶け出した K^+ 、 Mg^{++} 、 Ca^{++} イオンをイオンクロマトグラフィー (PIA-1000, Shimadzu) を用いて、また、 B^- イオンはICP-AESを用いて測定し、葉重量1gあたりの溶脱物質量 (μg) として示した。

4.2.3 結果と考察

表4.1.1で示したように、2006年4月から12月まで、毎月1回晴天の日を選び、天空と直射日光のUV-A, B及び可視光の強度を測定した。UV-Bの生物に対する影響は、その絶対的な照射量ではなく、可視光に対する比率で決まるため、表の最後には可視光に占めるUV-Bの比率を計算した。天空放射および直射日光で、可視光に占めるUV-Bの比率は、それぞれ2.6%と1.3%であった。そこでこの様な条件を人工気象室で再現するために、UV-Cカットシートを1枚用いた、UV-B強照射区と、2枚用いた弱照射区の2つを設定した。UV-B弱照射区では、直射日光に対して1.8倍の、また、天空放射に対してはほぼ同程度のUV-Bが照射するようにした。また、UV-B強照射区では、直射日光の8.3倍、また天空放射の4.2倍の強度が照射で

きるようにした。PER 区では UV-B は測定限界を下回る量であったが、UV-A は若干照射されていた。

以上の条件より、UV-B 弱照射区はほぼ自然状態の UV-B 照射を再現したもので、UV-B 強照射区は、自然状態の 4~8 倍の UV-B が照射されている条件であると言える。

次に、アラスカエンドウの葉に対する UV-B と、硝酸処理の影響を見た。これらの生長抑制因子と思われる各因子の影響を見る場合生長中の若い葉と、展開が終わった古い葉を比較する必要がある。このため若い葉として、アラスカエンドウの第 3 葉 (展開前) を、古い葉として第 5 葉 (展開後) を用い、強い UV-B 照射強度と 10mM の高硝酸濃度で 3 日間処理したものと対照区で比較した (表 4.2)。

図 4.1 に若い葉 (第 3 葉) と古い葉 (第 5 葉) に対する、UV-B 強照射区での硝酸処理 10 mM の効果を示す。K⁺は、葉の生重量 1 グラム当たり、200~400 マイクログラム溶出されていた。一般に、カリウムは細胞質内に高濃度 (100~400mM) で存在することが知られている。1 グラムの生重量を、1ml の水と考えると、200~400 マイクログラムという値は、モル濃度に換算すると、5~10mM になり、カリウムの溶脱は起こっているが、細胞膜が破壊されて、細胞質の溶液がもれ出ているのではないことが分かった。

Mg⁺⁺は K⁺の 1/5~1/10 倍量しか溶出していなかった。一方、カルシウムはカリウムの約 1/2 量溶出していた。カルシウムは、カリウムとは逆に細胞質内よりも、細胞外に多く存在していることが知られている。特に細胞へ気を構成する多糖類成分のひとつであるペクチンの架橋構造をホウ素とともに強化している機能が知られている。したがって、カルシウムの溶脱は、ホウ素の架橋構造を弱め、ペクチンの構造を変化させる結果を導く可能性がある。カルシウムでも、特に若い葉では、UV-B 照射によりカルシウムの溶脱が増加している傾向があった。しかし、展開の終わった古い葉である

第 5 葉では、カルシウムの溶脱は、UV-B 照射によって増加する傾向はなかった。

B⁺の溶出では、強 UV-B 照射、かつ、10mM 濃度硝酸を塗布した処理区で古い葉である第 5 葉のみ溶脱量が多かった。

全体的に、第 3 葉 (若い葉) のほうが第 5 葉 (古い葉) よりイオンの溶脱量が多い傾向があった。また若い葉でも古い葉でも K⁺、Mg⁺⁺、Ca⁺⁺については、UV-B 区で溶脱が多い傾向にあった。しかし、いずれの溶脱イオンでも硝酸処理による一定の影響は見られなかった。

以上の結果から、UV-B 強照射の影響はあるものの、10mM と言う、自然条件ではありえないような高濃度の硝酸では、イオン溶脱には影響が出ないことが分かった。そこで硝酸の濃度をより実際に測定される濃度に近づけるため、1 mM 処理区を設けた。

図 4.2 に、展開後の葉 (第 4 葉) を用いて、UV-B 照射強度に強弱をつけ、硝酸濃度を 0、1、10mM と変化させ、3 日間処理した結果を示す。この処理では、UV-B 照射強度の強弱や硝酸濃度による一定の傾向が見られなかった。カリウムの溶脱では、図 4.1 と同様に、特に UV-B 強照射により溶脱が増加する傾向があった。Mg⁺では、一定の傾向が見られなかった。Ca⁺⁺では、全体として、UV-B 強照射区で溶出量が多い傾向にあった。しかし、硝酸による影響は見られなかった。B⁺では PER を照射し、10mM 硝酸を塗布した処理区で溶脱量が多かったが、UV-B と硝酸による傾向は見られなかった。これらの結果は、UV-B 照射および硝酸処理を 3 日間続けた後の植物材料を用いて得られたものである。そこで、次により長時間、UV-B 及び硝酸処理を続けた場合どのような影響が出るかを見た。

弱い UV-B を照射し、低濃度の 1mM 硝酸塗布を長期間 (5 日間) 行った結果を図 4.3 に示す。長時間処理によって、K⁺、Mg⁺⁺、Ca⁺⁺では、UV-B 区で溶脱量が多い傾向にあった。B⁺では UV-B を照射し、硝酸 1mM を塗布した処理

区で溶脱量が多かった。

以上の結果から、強い UV-B を照射した場合、植物の葉から溶脱するイオンには、かえって効果がないことが分かった。これは、強い UV-B や高濃度の硝酸に晒された植物は、防御反応を起こし、かえって細胞膜などを強化して、溶出が起こらないようにしている可能性が考えられる。逆に、自然状態の UV-B の強度で照射され、なおかつ低濃度 (1mM) の硝酸で処理されると、植物が持つ本来の防御機構が働かず、細胞膜や、細胞壁の重要なイオンが溶脱する可能性が示された。

今後は、自然状態で起こっている条件を処理区とし、それらを取り除いた条件を対照区として実験系を組み立てる必要があると考えられる。

4.2.4 参考文献

- (1) Igawa, M., K. Okumura, H. Okochi, N. Sakurai (2002) Acid fog removes calcium and boron from fir trees, *J. Forest Res*, 7, 213-215
- (2) Igawa, M., T. Kase, K. Satake, H. Okochi (2002) Severe leaching of calcium ions from fir needles caused by acid fog. *Environmental Pollution*, 119, 375-382
- (3) Kume, K., T. Arakaki, N. Tsuboi, M. Suzuki, D. Kuramoto, K. Nakane and H. Sakugawa (2001) Harmful Effects of Radicals Generated in Polluted Dew on Needles of Japanese Red Pine (*Pinus densiflora*). *New Phytologist*, 152, 53-58

表 4.2.1 屋外及び人工気象器内における各波長の合計照射強度 (W/m²)

	UV-B (280-320nm)	UV-A (320-400nm)	可視光 (400-800nm)	UV-B/可視光 (%)
天空 (2006年/4月-12月)	28.3	375.7	1082.4	2.6
直射日光 (2006年/4月-12月)	177.3	1721.6	13850.0	1.3(1.0)
PER	0.0	0.6	262.0	0.0
UV-B区(UV弱) ランプ3本	5.4	6.1	239.5	2.3(1.8)
UV-B区(UV強) ランプ3本	19.6	17.2	180.9	10.8(8.3)

表 4.2.2 実験処理区

第4葉	0、1mM	0、1mM	0、1mM
(展開後)	0、10mM	0、10mM	0、10mM
第5葉			0、10mM
(展開後)			
第3葉			0、10mM
(展開前)			

- 3、あるいは5日間照射
 5日間照射

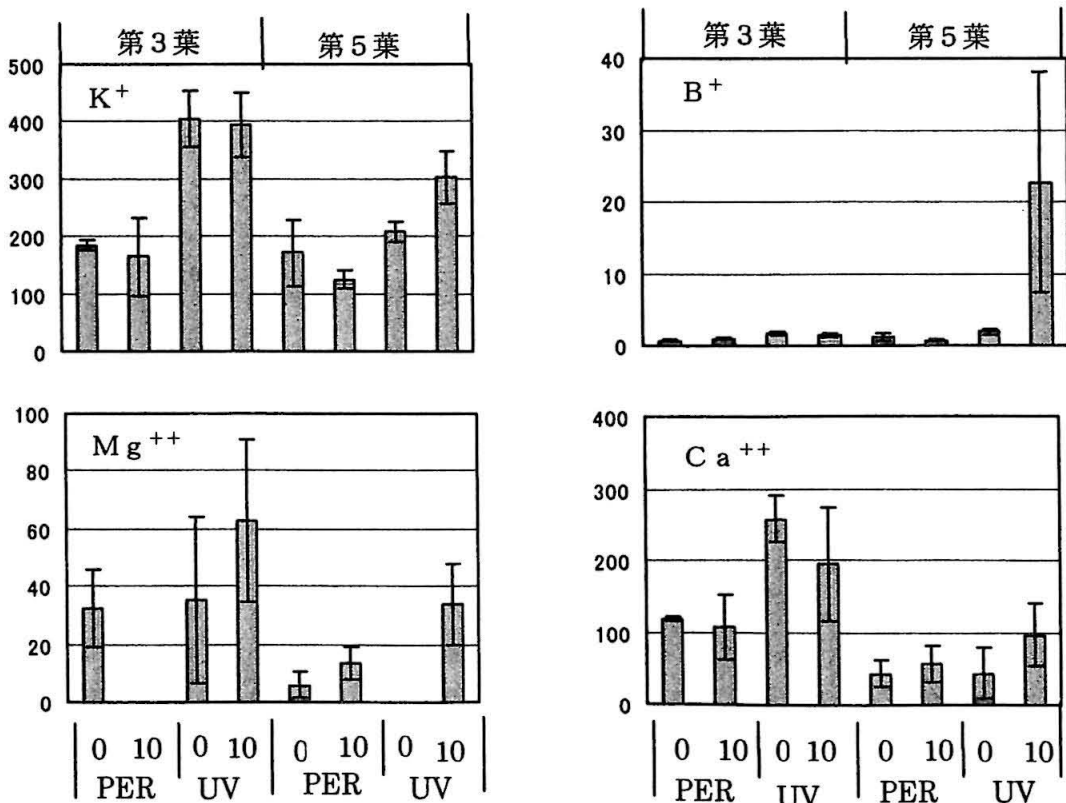


図 4.2.1 第3葉と第5葉、3日間、強UV・高硝酸濃度処理 (μg/1g)

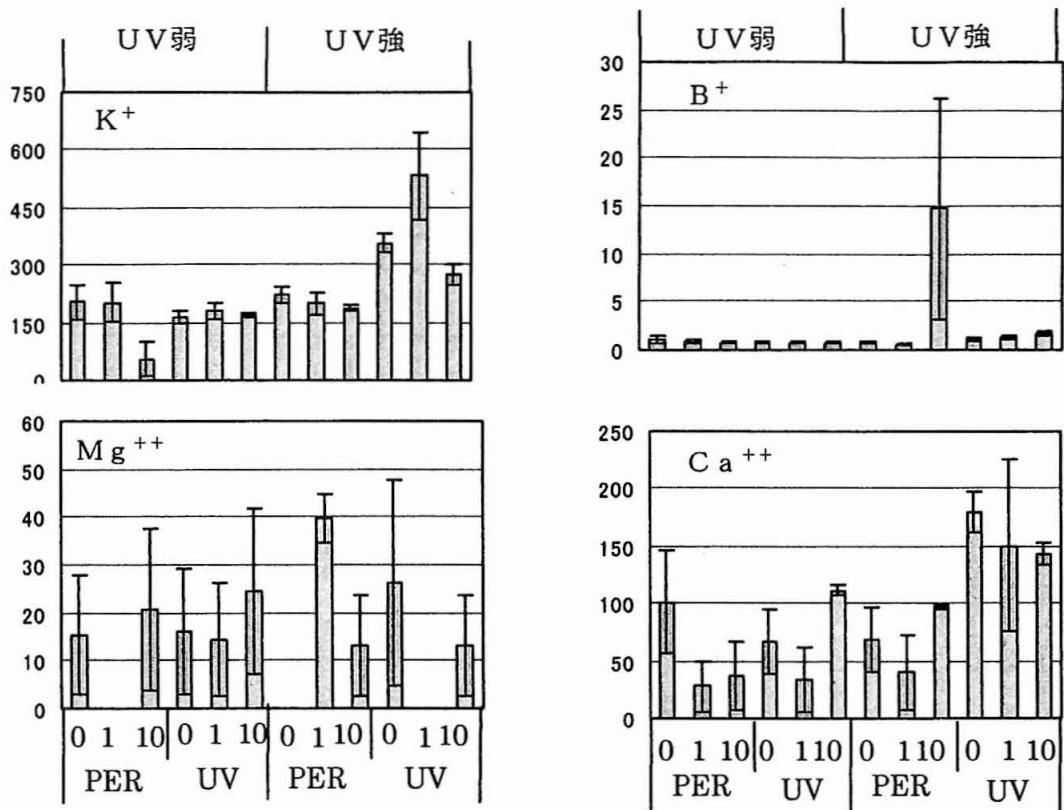


図 4.2.2 第4葉、3日間処理 ($\mu g/1 g$)

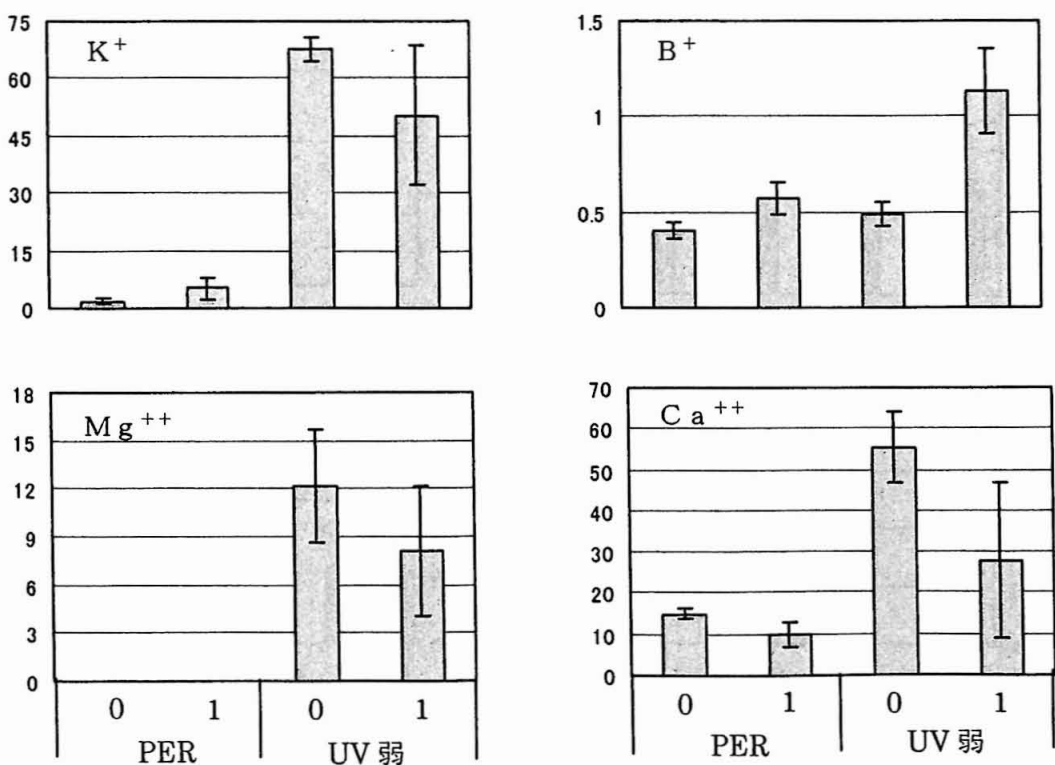


図 4.2.3 第4葉、5日間、弱 UV-B・低硝酸濃度処理 ($\mu g/1 g$)

4.3 水酸化ラジカルと UV-B が植物葉に与える相乗効果

4.3.1 はじめに

4章3節では、水酸化ラジカルが植物の葉に与える影響について調べた結果を報告する。広島県の極楽寺で行われた調査によると、露の成分に含まれる過酸化水素、シュウ酸、3価の鉄に紫外線が照射されると水酸化ラジカルを生成することが報告されている。

そこで、極楽寺で調査された露の成分を実験室で調整し、植物に処理した後、UV-Bを照射することで、植物の葉にどのような影響が生じるかを検討した。測定した項目は、植物の光合成に直接影響を与える気孔の開閉率、植物の膜の損傷を反映するイオンの溶脱量および植物の細胞を取り囲んでいる細胞壁の構成成分である中性糖及び酸性糖の溶脱量である。

4.3.2 材料と方法

4.3.2.1 植物材料

本研究では、植物材料としてソラマメ (*Vicia faba*) を用いた。ソラマメの品種は一寸そら豆 (タキイ種苗) である。

ソラマメの種は空気を送りながら一晚流水につけた。その後、発芽しやすくするために外皮を剥き、ポットに3つずつ植えた。そのポットを、ホーグランド液を入れたバットに入れ、25℃のバイオトロン (NK System Biotron LH300) 内で育てた。ホーグランド液の組成は下に示した。使用した土はパーミキュライトである。バット内のホーグランド液はなくなる前に適宜バットに加えた。この状態で第5葉が完全に展開するまで育てた。

ホーグランド液

Macroelements (g/L) (×20)

Ca (NO ₃) ₂	16.4
KNO ₃	10.2

MgSO₄ · 7H₂O 9.8

Macroelement - 1 (g/L) (×40)

KH₂PO₄ 5.6

Microelements - 2 (mg/L) (×40)

H ₃ BO ₃	116
MnCl ₂ · 4H ₂ O	72
ZnSO ₄ · 7H ₂ O	8.8
CuSO ₄ · 5H ₂ O	3.2
H ₂ MoO ₄ · H ₂ O	3.6
FeNaEDTA · H ₂ O	346.8

この濃縮液を×1/5になるよう希釈してソラマメに与えた。

4.3.2.2 実験条件

ソラマメは次の条件に設定したバイオトロン内で育てた。複式図は図4.3.1に示した。8:00~20:00を明期、20:00~8:00を暗期とし、温度を25℃に設定した。バイオトロン内は中央で二つに仕切り、上段をPAR区、下段をUV-B区とした。仕切りの下にはUVランプ (TL20W/12RS、Phillips) を3本設置した。PAR区では、バイオトロン内の蛍光灯により Photosynthetic Active Radiation (光合成有効放射) が供給されるが、仕切りにより紫外線は当たらないようにした。UVランプの下にはカットニングシート (中川ケミカル) を敷いた。これにより、UV-B区では、波長の短いUV-Cが遮断され、PARに加えてUV-AとUV-Bが供給されるようにした。

また、多目的分光放射計 (MSR-7000、オプトリサーチ) を用いて、屋外とバイオトロン内の分光放射照度を測定し、比較した。バイオトロンについては、PAR区、UV-B区でUVランプを3本つけた状態で測定した。屋外では2004年4月27日快晴の日に、広島大学総合科学部モデル棟付近の

建物の影に入らない場所で測定した。屋外では、直接太陽の方向にセンサーを向けた値と真上（天空）に向けた値を測定した。それぞれ UV-B (280~320 nm)、UV-A (320~400 nm)、可視光 (400~800 nm) の範囲の分光照度を合計した値を表 4.3.1 に示した。波長が短いほどエネルギーが高くなることを考慮し、合計する前に各波長の値に波長 (nm) をかけ、その和を各区分の合計照度とした。また、可視光に対する UV-B の割合もパーセント表示で示した。可視光の強度は植物の UV-B 感受性を左右する。可視光が強いほど、光合成が活発になり、UV-B に対する抵抗力が高まる。UV ランプを 1 本点灯したものと、3 本点灯したものであまり値が変わらないように見えるが、これはセンサーの感知する範囲がとても狭いためであると考えられる。UV ランプを 3 本点灯した場合、実際には 1 本点灯したものの 3 倍の UV 照射になると考えられるので、UV-B/可視光の割合も 1 本点灯したものの 3 倍、つまり約 20.4% になると予想される。これは 4 月の屋外における UV-B/可視光の割合の約 2.6 倍となる。

4.3.2.3 実験方法

—気孔開孔率の測定方法—

UV-B や、噴霧液の気孔への影響を調べるため、9:00、12:00、15:00、18:00、21:00 に気孔の開孔率を調べた。まず、各処理ごとに異なる 3 個体から 1 枚ずつ葉を選んだ。この時選ぶ葉は、第 4 葉もしくは第 5 葉に限定し、完全に展開している病徴のないものを選んだ。また、一度実験に用いた葉を再度利用すると、本来の気孔開孔リズムと異なる結果が出るので、同じ葉は使わないようにした。

葉の裏面に歯科用ゴム質弾性印象材プロビール (Heraeus Kulzer GmbH & Co. KG) を塗り、乾燥させて気孔の型を取り、はがし

た。プロビールの葉に接していた面にマニキュア (株式会社カネボウ) を塗り、乾燥させ、はがした。それを、プロビールに接していた面を上にしてスライドガラスの上に置き、プレパラートを作成した。

気孔の観察は長焦点距離の光学顕微鏡 (BX41, OLYMPUS) (40 倍の対物レンズ) で行った。顕微鏡に、テレビに接続したデジタルカメラ (CAMEDIA, OLYMPUS) を取り付け、テレビ画面上で気孔を観察した。一度に画面ごとに映った気孔で閉じているものと開いているものの数を数え、一枚の葉につき約 100 個の気孔の開閉を調べた。3 枚の葉の平均開孔率を求め、それをグラフで表した。

—噴霧実験方法—

噴霧液・洗浄液の作成

・露成分溶液

極楽寺山の露成分を参考に、その 1000 倍濃縮液を作った。噴霧、洗浄に用いる際は、この溶液を 1 ml とり、1000ml にメスアップして用いた。

・露成分 1000 倍濃縮液 (mM)

Mg (NO ₃) ₂ · 6H ₂ O	1.5
Ca (NO ₃) ₂ · 4H ₂ O	3.6
NaOH	9.6
KOH	3.4
HCl	9.8
H ₂ SO ₄	4.5

・水酸化ラジカル生成溶液

フェントン反応を利用して水酸化ラジカルを発生させるための溶液を作成した。100mM 過酸化水素水、5mM シュウ酸溶液、1mM Fe (III) 溶液を別に作っておき、使用する際は各溶液を 1ml ずつ入れ、1000ml にメスアップした。実験によっては露成分 1000 倍濃縮液も 1ml 加えた。

① 噴霧方法

実験期間中、9:00に噴霧溶液を霧吹きで噴霧した。個体全体にまんべんなく、なおかつ、噴霧溶液がこぼれないよう注意して噴霧した。

一葉からの溶脱物質実験方法一

20:00に消灯した後、各区分から4枚ずつ葉を取り、溶脱実験に用いた。この時、気孔開孔率の実験と同様、第4葉もしくは第5葉を用い、完全に展開した病徴のない葉を使用した。実験に移る前に、葉の重量を測定しておいた。

ビーカーに100mlの洗浄溶液を入れておき、それに採取した葉を、5分間、表面を洗うように揺らしながらつけた。また、余計な物質を溶液に溶かし込まないために、葉の切り口を溶液につけないよう注意した。この溶液を、ロータリーエバポレーターを用いて乾固させた。その後、フラスコ内に2回に分けて2mlの純水をいれ、パスツールピペットを用いて壁面を洗うようにして、葉からの溶脱物質を溶かし込んだ。このサンプルは、実験使用時まで-20°Cで保存した。このサンプルは、全糖量、ウロン酸量、イオン濃度（Kイオン、Caイオン、Mgイオン、Bイオン）の測定に用いた。

また、各溶脱物質量を葉面積に応じた量に換算するため、葉面積を測定した。溶脱実験に用いた葉をコピーし、スキャナで画像編集ソフト（Adobe Photoshop）に取り込んだ。それを画像解析ソフト（Scion Image）を用いて、白と黒の二値化を行い、葉を印刷してある黒い部分の面積を測った。この時表示される面積の単位は cm^2 ではないため、あらかじめ1cm~6cm四方の黒い正方形を複数作成しておき、面積と表示される値との関係をグラフ化して、葉面積を cm^2 に置き換えた。

①全糖量の測定

フェノール硫酸法によって測定した。サンプル0.25mlに水を0.25ml加えて2倍希釈した。それに5%フェノールと濃硫酸を加え、Voltexをかけた。濃硫酸でかなり発熱しているため、室温で十分冷ましてから490nmの吸光度を測定した。

以下の式を用いて濃度を求めた。

$$\begin{aligned} \text{全糖量} (\mu\text{g}/\text{ml}) \\ &= A_{490} \times 91 \times 2 \quad (\text{希釈倍率}) \end{aligned}$$

②ウロン酸の測定

カルバソール硫酸法により測定した。サンプル0.5mlに四ほう酸ナトリウム12.5mM/ H_2SO_4 を3ml加え、voltexをかけた。水中で十分に冷やした後、100°Cの湯の中で5分温めた。その後、再び水中で冷やした後、m-フェニルフェノール0.15%/0.5%NaOHを50 μL 加えてVoltexをかけた。520nmの吸光度を測定し、以下の式を用いてウロン酸濃度を求めた。

$$\begin{aligned} \text{ウロン酸量} (\mu\text{g}/\text{ml}) \\ &= A_{520} \times 111 \end{aligned}$$

③イオン濃度測定

各イオンはICP-AESを用いて測定した。サンプル0.5mlを10mlにメスアップして測定に用いた。この時、サンプル中の硝酸濃度が1%、フッ化水素濃度が0.2%になるよう、メスアップの前に硝酸を0.1ml、フッ化水素を20 μl 加えておいた。測定の際に用いるスタンダード溶液にも同濃度となるように硝酸とフッ化水素を加えた。

ホウ素は、メモリー効果が大きい。各サンプルが直前に測定したサンプルの影響を受けないようにするため、1回の測定ごとにフッ化水素を30秒ほど流した。また、

もっとも微量なホウ素をより精度よく測定するため、キャリアーガス流量、RF出力、観測点の高さを、もっともホウ素に対する感度がよくなる組み合わせにした。

それぞれの溶脱物質量は、葉面積40 cm²あたりの量に計算しなおした。使用した葉の片面の平均面積は20 cm²前後であった。具体的な実験の処理条件は以下に記す。

・実験1

PAR区、UV-B区のソラマメをそれぞれ露噴霧グループと露成分+水酸化ラジカル発生溶液噴霧グループに分け、2日間実験を行った。溶脱実験では、露噴霧グループでは水洗浄と露洗浄のサンプルを作成し、露成分+水酸化ラジカル発生溶液噴霧グループでは水洗浄と露成分+水酸化ラジカル発生溶液洗浄のサンプルを作成した。溶脱物質実験を1、2日目で行った。

・実験2

PAR区、UV-B区のソラマメをそれぞれ水噴霧グループと露成分+水酸化ラジカル発生溶液噴霧グループに分け、3日間実験を行った。溶脱実験では、各区分で水洗浄と露成分+水酸化ラジカル発生溶液洗浄を行った。気孔開孔率は1、2日目、溶脱物質は1～3日目まで測定した。

・実験3

PAR区、UV-B区のソラマメをそれぞれ露噴霧グループと露成分+水酸化ラジカル発生溶液噴霧グループに分け、3日間実験を行った。溶脱実験での洗浄は水のみで行った。気孔開孔率、溶脱実験共に3日目のみ行い、溶脱実験は、各区分につき3つサンプルをとった。

4.3.3 結果

4.3.3.1 ホウ素濃度測定条件の検討

今回測定したイオンの中で、ホウ素が最

も微量である。図4.3.2～図4.3.5にホウ素測定の際に用いる条件を決めるためのデータを載せた。ICP-AESでは主にRF出力、キャリアーガス流量、観測点の高さでその信号強度が変わってくる。図4.3.2で観測点の高さを6 mmにすると最も強度が強くなることがわかった。続いて、図4.3.3でキャリアーガス流量を0.70 L/min、図4.3.4でRF出力を1350 Wとすると最も強度が強くなることがわかった。また、キャリアーガス流量とRF出力のバランスを図4.3.5に示した。これより、観測点の高さを6 mm、キャリアーガス流量を0.75 L/min、RF出力を1300 Wとして測定を行うことにした。

4.3.3.2 溶脱実験条件の検討

図4.3.6～図4.3.8が溶脱実験条件の結果である。まず、洗浄液の違いでUV-Bや水酸化ラジカルなどに対する特定の傾向があるのかを確かめるため、各溶脱物質の各区画における洗浄液間での相関を見てみた。表4.3.1に各要素での異なる洗浄液間の相関係数を示した。どの溶脱物質も1日目に低い相関があるものの、2日目は全体を通して相関が高く、また、全日程で比べると比較的高い相関が見られた。特にMgイオンについて、非常に高い相関が見られた。全体を通して言えることは、水で洗浄するよりも、噴霧した溶液で洗浄した方が多くの物質が溶脱するということである。

また、各溶脱物質の溶脱量を見てみると、Kイオン量とBイオン量で各区画間でのばらつきは見受けられるものの、全糖量、ウロン酸量、Mgイオン量、Caイオン量では実験日間でも、異なる処理間でも大差は見受けられなかった。また、Kイオン量とBイオン量においても、特別な傾向は見られなかった。なんらかの傾向が表れるのにはまだ実験日数が必要かもしれないと考え、次に3日間の実験を行うことにした。

4.3.3.3 気孔開孔率とイオン溶脱に対する影響 -その1-

実験開始1日目と2日目の気孔開孔率を図4.3.9に示した。気孔開孔率では、PAR区とUV-B区の違いで大きな差が出た。PAR区では、明期になって1時間後の9:00には開孔率が上がり始め、12:00、15:00、18:00には約80%~100%の気孔が開いていた。そして、暗期になって1時間後の21:00にはほとんどの気孔が閉じていた。明期になると気孔が開きはじめ、昼頃にはほとんどの気孔が開き、暗期になるとほとんどの気孔が閉じるという日周変動が確認された。

一方でUV-B区では、9:00にはPAR区と同じ程度の開孔率を示し、21:00には大部分が閉孔するものの、12:00~18:00、つまり最も気孔開孔が盛んに行われるべき時間帯に影響が表れた。紫外線照射2日目になると、PAR区でほとんどの気孔が開いている時間に気孔開孔率が約40~70%とかなり低くなっていた。特にUV-B区ではラジカル処理のものが、さらに開孔率が低くなる傾向にあった。しかし、いずれも昼間の開孔率は低いものの、PAR区のような明期に開孔率が上がり、暗期に開孔率が激減するというリズムは保ったままであった。

1日目~3日目の溶脱実験の結果を図4.3.10~図4.3.12に示した。まず、実験1と同様に洗浄液間での関係を見るため、実験1と同じく表4.3.2に相関係数を載せた。ウロン酸で高い相関が見られたほか、Kイオンの1、2日目やMgイオンやCaイオンの1日目などでかなり高い相関が見られた。全体を通して相関係数が低い値ばかりという要素はなかった。図4.3.10~図4.3.12を見てみると、実験1と同様、異なる洗浄液を用いると、水の方の溶脱量が少なくなるか、溶脱量が変わらないかのどち

らかになるようである。洗浄液の違いがUV-Bや水酸化ラジカルなどの特定処理に特別な影響を及ぼすことはなさそうである。

各溶脱物質を見てみると、全体を通して、実験日数を経るごとに溶脱量が増加する傾向にあるようである。ここで、洗浄液の違いがさほど各区画の処理に影響を及ぼさないことから、変化を見やすくするために、各区画内で2つの異なる洗浄液サンプルの溶脱量を平均した値を図4.3.13~図4.3.15に示した。全体的に、3日目で最も各区画の影響差がはっきり表れてくるようである。各要素間であまり変化がないように見受けられた全糖量やウロン酸量でも3日目になると差が開いてきて、UV-B・ラジカル処理がわりと高い値を示した。Bイオン、Mgイオンでも3日目のUV-B区がPAR区より顕著に多く溶脱していた。各処理間での変化を見やすくするため、3日間の溶脱量の合計を図4.3.16、図4.3.17に表した。Kイオンは、他のイオンとは違いUV-B区よりもPAR区の方で多く溶脱する傾向にあった。

全体的に実験日数を経るごとに溶脱量が増加する傾向にあったので、3日目だけに重点を置いて、実験を行うことにした。気孔開孔率、溶脱物質共に3日目のみ測定し、溶脱物質は水洗浄のみで各区画3サンプルずつとった。

4.3.3.4 気孔開孔率とイオン溶脱に対する影響 -その2-

3日目の気孔開孔率を図4.3.18に示した。PAR区では12:00、15:00、18:00で約75~95%の開孔率を保っていたのに対し、UV-B区では開孔率が50%前後に低下した。PAR区・UV-B区共に、そこまで顕著な差異ではないが、水酸化ラジカル成分を噴霧した方の開孔率が低下する傾向にあった。どの区分においても、昼間の開孔率に差は見られるものの、明期

になって徐々に気孔が開いた後高い開孔率を保ち、暗期になると閉じる日周変動が見られた。また、実験2と同様、朝晩の気孔開孔率はどの処理でも大差はなく、昼に大きな差が出た。

図 4.3.19、図 4.3.20 に溶脱実験の結果を示した。UV-B・ラジカル処理のウロン酸とCaイオン、UV-B 区のMgイオンにはt検定で有意な差が認められた(*は $P < 0.05$)。各物質を見てみると、まず、全糖量ではUV-B・ラジカル処理のものが高い値を示した。他の区分はあまり差がなかった。ウロン酸、Caイオン、Bイオンでも全く同じような傾向が見てとれた。Mgイオンでは、PAR区よりもUV-B 区のほうがより多く溶脱していたが、噴霧液による差はPAR区でしか見られなかった。Kイオンは他のイオンと傾向が全く異なり、PAR・ラジカル処理で最も高い値を示した。Caイオン、ウロン酸、全糖量は全体的に傾向がよく似ていた。

4.3.4 考察

4.3.4.1 気孔開孔率

実験2、3を通して確認できたことは、UV-B 照射はソラマメの気孔開孔を阻害するということである。9:00、21:00でPAR区とUV-B 区で大差がなく、UV-B 区で昼の気孔開孔が著しく阻害されていることから、UV-B が照射されている期間に気孔はかなりのストレスを受けているようである。また、実験1日目より2日目のほうがUV-B による気孔閉孔が促進されたことから、UV-B を照射し続けると、UV-B ストレスが蓄積されていく可能性があることを示唆している。今回の実験では、可視光に対するUV-B の割合がかなり高かったことから影響がすぐに表れたが、将来的にオゾン層が今以上に薄くなりUV-B 照射量が増えれば、長期の自然UV-B 照射で今回の実験のような影響が出てくるかもしれない。

今回用いたフェントン反応は、光によって強く加速される。パイオトロン(光)の強度は屋外と比べてかなり弱いため、UV-B 区に比べてエネルギーの弱いPAR区ではフェントン反応がうまく進行しなかった可能性も否めない。また、UV-B 放射は水酸化ラジカル生成を引き起こし様々な酸化ストレスを誘発するという報告もなされており(Eva Hideg and Imre Vass, 1996)、光と水酸化ラジカルは密接な関係にあると言える。

水酸化ラジカル発生溶液を噴霧したことによる影響は、UV-B に対する影響ほどははっきりとは表れなかった。しかし、水酸化ラジカル発生溶液を噴霧したものが水噴霧や露噴霧のものより開孔率が上がるものがほとんどなかったことから、長期的な実験を行えばその影響を観察しうる可能性はあると考えられる。

4.3.4.2 溶脱実験

まず、実験1、2で行った異なる洗浄液を用いる実験では、溶脱量に差はあるものの相関がかなり高いものか、洗浄液が異なってもあまり溶脱量に差がないかのどちらかである場合が多かった。洗浄液の違いによる特定の溶脱パターンは見受けられなかった。

今回測定した全糖量、ウロン酸量、Kイオン、Mgイオン、Caイオン、Bイオンはどれも植物体に欠かせない物質が溶脱したことを示す。Kイオンは細胞のpH調節および浸透圧調節において重要な役割を果たしている。Caは生体膜の構造と機能の維持に重要な役割を果たしている。また序論でも述べたとおり、ホウ素-RG-II複合体を補強し、細胞壁の形態を保つという非常に重要な役割も果たしている。つまり、ホウ素-RG-II複合体の崩壊はBイオン、ウロン酸の溶脱に加え、Caイオンの溶脱も見られるはずである。Mgの主要存在形

態はクロロフィルである。同じ2価の陽イオンとして、しばしばCaイオンと似た働きをする。

Kは特に、気孔開閉に寄与する主要なイオンである。孔辺細胞にKイオンが多く蓄積されることによって細胞内の浸透圧が高まり、吸水が起こる。孔辺細胞は、内側の細胞壁が厚く、外側の細胞壁が薄いため曲がりにくくなっている。よって、吸水し、膨圧が生じると、はじめて孔辺細胞の内側が開くようになる。

このことを踏まえ、図4.3.14と図4.3.20のK溶脱量を見てみると、他のイオンと全く異なる動きをしており、UV-B区で高い溶脱量を示すことはなく、逆にPAR区の方が多く溶脱していた。UV-B区で気孔開孔率がかなり低下したことから、UV-B照射により、葉内に存在するKの絶対量自体が減少したか、もしくは、Kが葉の表面まで溶脱することがPAR区よりも困難な状況であったと考えることができる。UV-Bを照射すると、植物は葉の表皮組織の上層に有しているクチクラ層を厚くして紫外線から細胞を防護しようとする。この作用により、UV-B区では、Kが溶脱しにくい状況にあったという可能性も考えられる。

表4.3.3に実験2、3における各溶脱物質間での相関係数を示した。共通して言えることは、ウロン酸と全糖量の相関はかなり高く、また、ウロン酸と2価のイオン、BイオンとCaイオンの相関もわりと高いということである。このことから、ホウ素-RG-II複合体の破壊が今回の実験条件での溶脱の一因であるということを示唆していると考えられる。図4.3.19、図4.3.20における溶脱量で、有意差が得られたのはUV-B・ラジカル処理のウロン酸、CaイオンとUV-B区のMgイオンであった。これらは、他の区分よりも多く溶脱しており、UV-B・ラジカル処理が溶脱の一因になっていることを示唆している。Bイオン、全糖

量は、有意差は確認できなかったが、UV-B・ラジカル処理で他の区分より高い値を示している。

これより、UV-Bと水酸化ラジカルの複合処理は、ホウ素-RG-II複合体になんらかの影響を与えることが示唆された。葉についた酸性霧はその中に含まれるプロトンと複合体を補強しているCaイオンとのイオン交換をして、Bイオン、RG-IIの主要要素であるウロン酸、Caイオンの溶脱が起こると言われている(Igawa et al., 2004)。UV-Bと水酸化ラジカルの複合処理は、プロトンを多く有していないことから、これらの物質の溶脱が起こる別のメカニズムで複合体構造が崩れると考えられる。

4.3.5 まとめ

本研究では、UV-Bによる気孔開孔の障害の様子が確認された。気孔開閉に関わる重要な物質のひとつであるKイオンがUV-B区であまり溶脱しなかったことから、UV-BによるKの減少、もしくは、UV-Bに対する防御作用によるKイオンの流出阻止が起こったと考えられる。また、Kに関してはラジカル処理における特別な傾向は見られなかったが、気孔開閉に関しては、UV-Bほどではないにしろ、開孔を障害させるはたつきがあるように見受けられた。

また溶脱実験でのウロン酸、Bイオン、Caイオンの溶脱量から、UV-B・水酸化ラジカル処理が原因でCaによって補強されていたホウ素-RG-II複合体の破壊が起きるのではないかということが示唆された。これは、細胞壁の主要構成要素であるペクチンが、見かけ上の分子量が小さくなることによって溶脱してしまい、植物の成長を阻害する結果になると考えられる。

今回フェントン反応で用いたFe(III)、シュウ酸、過酸化水素は、人為的な組み合わせと言うわけではなく、汚染露や雲、霧、雨などいたるところに存在する汚染物質で

ある。これらが自然の植物葉上で光を浴び、フェントン反応を引き起こして水酸化ラジカルを発生させるということは珍しいことではない。また、自然のUV-B放射量は今後しばらくは上昇しつづけるであろうと言われている。このまま環境悪化が続けば、本研究で行った実験のような植物にとって有害な影響が広がる可能性は否めない。今後更なる研究の発展が望まれる。

4.3.6 参考文献

- 環境庁地球環境部 (1995) オゾン層破壊—紫外線による健康影響、植物・生態系への影響— 中央法規出版
- 気象庁 (2002) オゾン層破壊の科学アセスメント2002
- 熊沢喜久雄 編 (1981) 植物生理学5 —水とイオン— 中央印刷
- 桜井 直樹、山本 良一、加藤 陽治 (1991) 植物細胞壁と多糖類 培風館
- 菅原努、野津敬一 (1998) 太陽紫外線と健康 —なぜ太陽紫外線は有害なのか?— 裳華房
- 増田芳雄 (1998) 植物生理学 培風館
- 新垣雄光、三宅孝之、柴田美智恵、佐久川弘 (1998) 雨水・露水中に光化学的に生成するヒドロキシルラジカル量の計測 日本化学会誌 No. 9 619-625
- 新垣雄光、三宅孝之、柴田美智恵、佐久川弘 (1999) 雨水・露水中におけるOHラジカルの光化学的生成および消失反応機構 日本化学会誌 No. 5 335-340
- Kume, A., T. Arakaki, N. Tsuboi, M. Suzuki, D. Kuramoto, K. Nakane and H. Sakugawa (2001) Harmful Effects of Radicals Generated in Polluted Dew on the Needles of Japanese Red Pine (*Pinus densiflora*). *New Phytologist*. 152: 53-58
- Hideg, E., I. Vass (1996) UV-B Induced Free Radical Production in Plant Leaves and Isolated Thylakoid Membranes. *Plant Sci*. 115: 251-260
- Greenberg BM, Wilson MI, Gerhardt KE, Wilson KE (1996) Morphological and Physiological Responses of *Brassica napus* to Ultraviolet-B Radiation: Balancing Damage, Repair and Acclimation Processes. *J. Plant Physiol*. 148: 78-85
- O'Neill, M.A., D. Warrenfeltz, K. Kates, P. Pellerin, T. Doco, A. G. Darvill, and P. Albershem (1996) Rhamnogalacturonan- II, a Pectic Polysaccharide in the Walls of Growing Plant Cell, Forms a Dimer That Is Covalently Cross-linked by a Borate Ester. *J Biol. Chem.* Vol. 271, No. 37: 22923-22930
- Igawa, M., H. Kameda, F. Maruyama, H. Okochi, I. Otsuka (1997) Effect of Simulated Acid Fog on Needles of Fir Seedlings. *Environ. Exp. Bot.* 38: 155-163
- Igawa, M., K. Okumura, H. Okochi, and N. Sakurai (2002) Acid Fog Removes Calcium and Boron from Fir Tree: One of the Possible Causes of Forest Decline. *J. For. Res.* 7: 213-215
- Igawa, M., T. Kase, K. Satake, H. Okochi (2002) Severe Leaching of Calcium Ions From Fir Needles Caused by Acid Fog. *Environ. Pollut.* 119: 375-382
- Jansen, M.A.K and Ria E. van den Noort (2000) Ultraviolet-B Radiation Induces Complex Alterations in Stomatal Behaviour. *Physiol. Plant.* 110: 189-194
- Kobayashi, M., H. Nakagawa, T. Asaka, and T. Matoh (1999) Borate-Rhamnogalacturonan II Bonding Reinforced by Ca²⁺ Retains Pectic Polysaccharides in Higher-Plant Cell Walls. *Plant. Physiol.* 119: 199-203
- Nakatani, N., T. Miyake, M. Chiwa, N. Hashimoto, T. Arakaki and H. Sakugawa (2001) Photochemical Formation of OH Radicals in Dew Formed on the Pine Needles At Mt. Gokurakuji. *Water, Air, and Soil Pollution*

- 130: 397-402
- Zepp, R.G., B.C. Faust and J. Hoigné (1992) Hydroxyl Radical Formation in Aqueous Reactions (pH 3-8) of Iron(II) with Hydrogen Peroxide: The Photo-Fenton Reaction. *Environ. Sci. Technol.* 26: 313-319
- Cen, Y-P., and J.F. Bornman (1990) The Response of Bean Plants to UV-B Radiation Under Different Irradiances of Background Visible Light. *J. Exp. Bot.* 41: 1489-1495
- Zuo, Y., and J. Hoigne (1992) Formation of Hydrogen Peroxide and Depletion of Oxalic Acid in Atmospheric Water by Photolysis of Iron(III)-Oxalato Complexes. *Environ. Sci. Technol.* 26: 1014-1022

表 4.3.1 屋外およびバイオトロン内における各波長の照射強度 (単位 W/m²)

	UV-B	UV-A	可視光	UV-B/可視光
屋外				
天空	13.4	331.9	1717.1	0.778
太陽	30.1	687.3	14095.2	0.214
バイオトロン				
PAR	0.2	0.6	236.6	0.074
UV-B(ランプ1本)	9.0	14.9	130.6	6.891
UV-B(ランプ3本)	9.8	17.2	134.1	7.302

表 4.3.2 実験1・2の各要素における異なる洗浄液間での相関係数 (r)

実験1	全糖量	ウロン酸	K	Mg	Ca	B
1日目	-0.01	0.02	-0.06	0.83	0.29	-0.04
2日目	-0.49	0.44	0.99	0.97	0.75	0.97
全日程	-0.37	0.40	0.99	0.90	0.66	0.41

実験2	全糖量	ウロン酸	K	Mg	Ca	B
1日目	-0.27	0.94	0.83	0.83	0.97	0.36
2日目	-0.81	-0.81	0.85	0.22	-0.23	0.09
3日目	-0.10	0.87	0.11	0.28	-0.74	0.82
全日程	0.29	0.61	0.54	0.25	-0.17	0.64

表 4.3.3 実験2・3での各要素間の相関係数 (r)

実験2	全糖量	ウロン酸	K	Mg	Ca
ウロン酸	0.77				
K	0.51	0.40			
Mg	0.46	0.56	-0.03		
Ca	0.11	-0.41	0.09	-0.02	
B	0.15	-0.004	-0.55	0.54	0.36

実験3	全糖量	ウロン酸	K	Mg	Ca
ウロン酸	0.87				
K	-0.11	-0.04			
Mg	0.42	0.43	0.31		
Ca	0.72	0.93	0.08	0.59	
B	0.22	0.56	-0.02	0.16	0.73

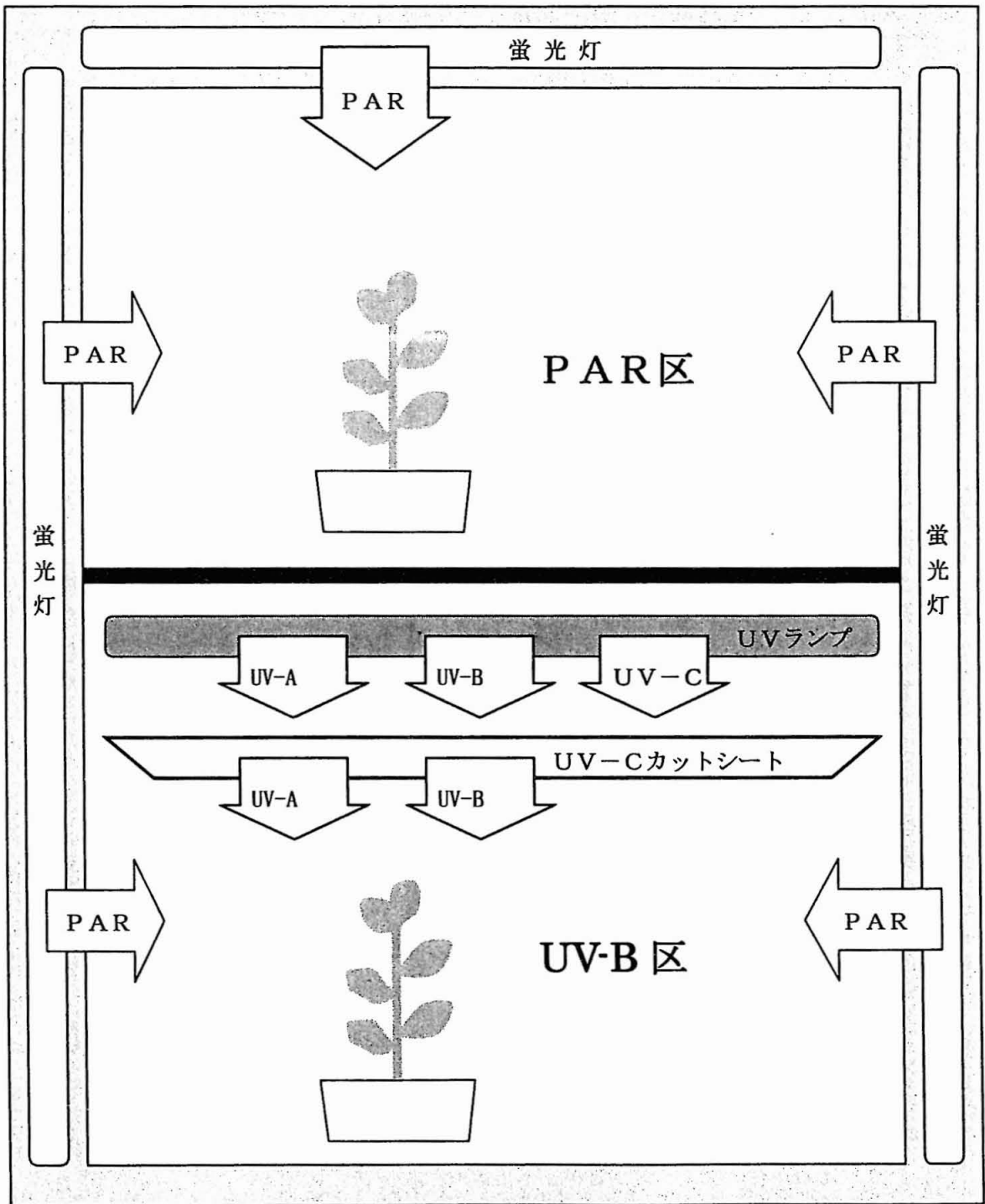


図 4.3.1 紫外線照射を行ったバイオトロンの構成
 バイオトロンは上下に仕切り、上段はPAR区に、下段をUV-B区にした。

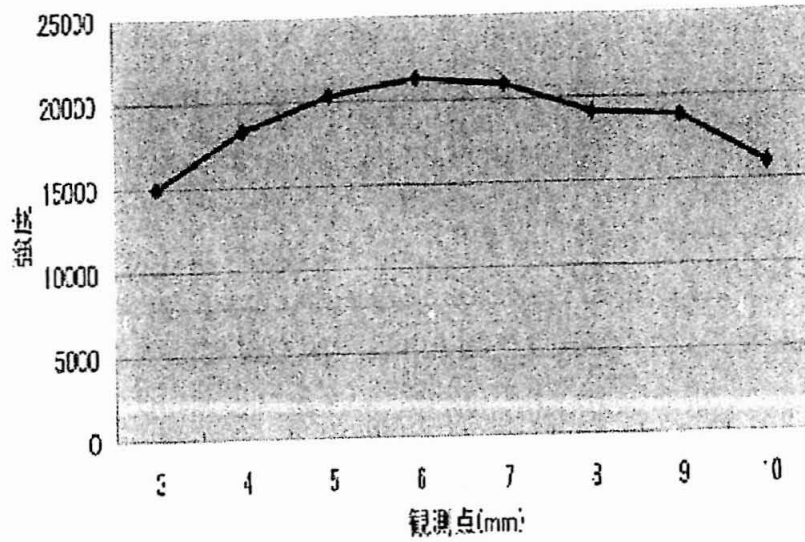


図 4.3.2 観測点による強度の違い
 (RF出力 1200W、キャリアーガス流量 0.8L/min、ホウ素 1ppm)

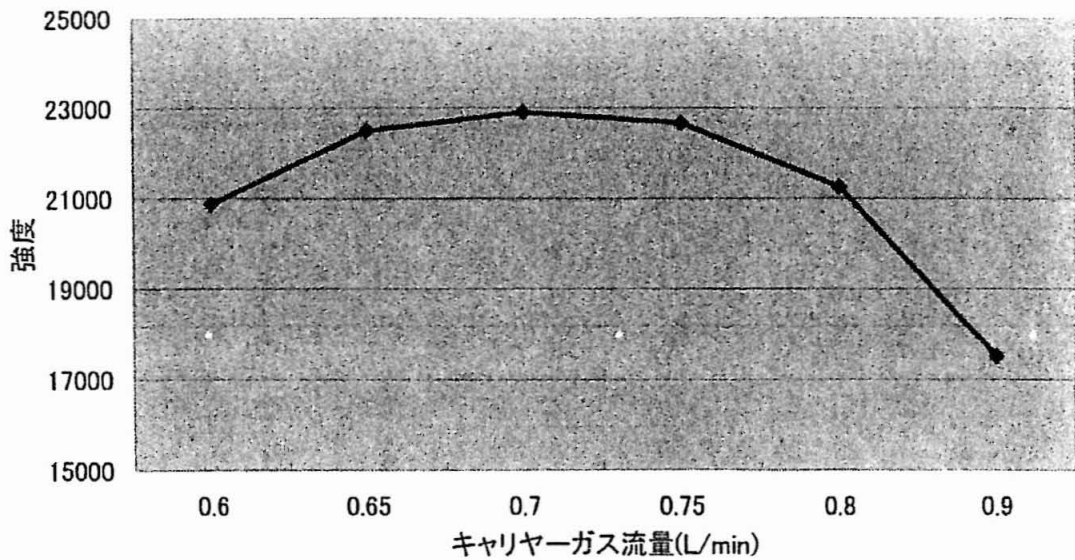


図 4.3.3 キャリアーガス流量による強度の違い
 (RF出力 1200W、観測点 6mm、ホウ素 1ppm)

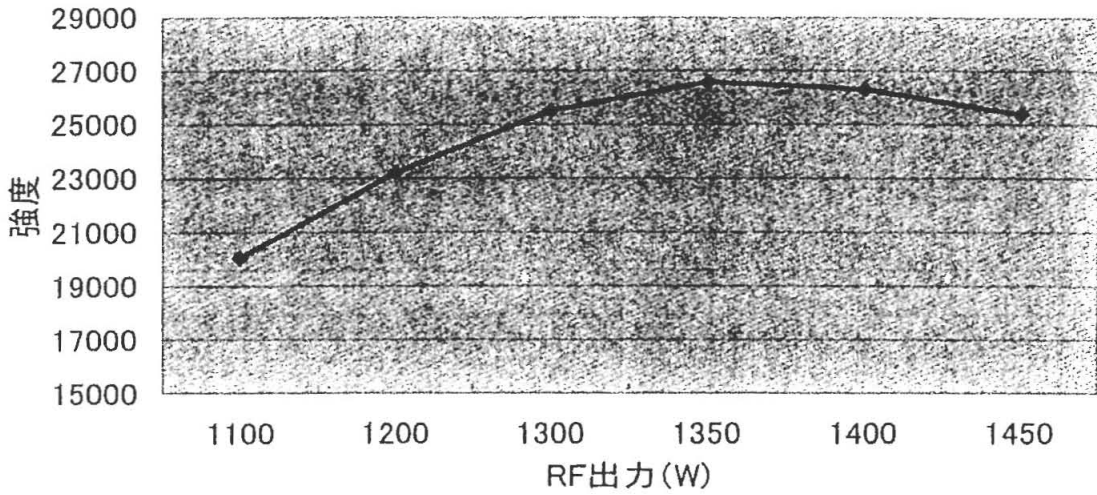


図 4.3.4 RF出力による強度の違い
 (キャリアガス 0.7L/min, 観測点 6mm, ホウ素 1ppm)

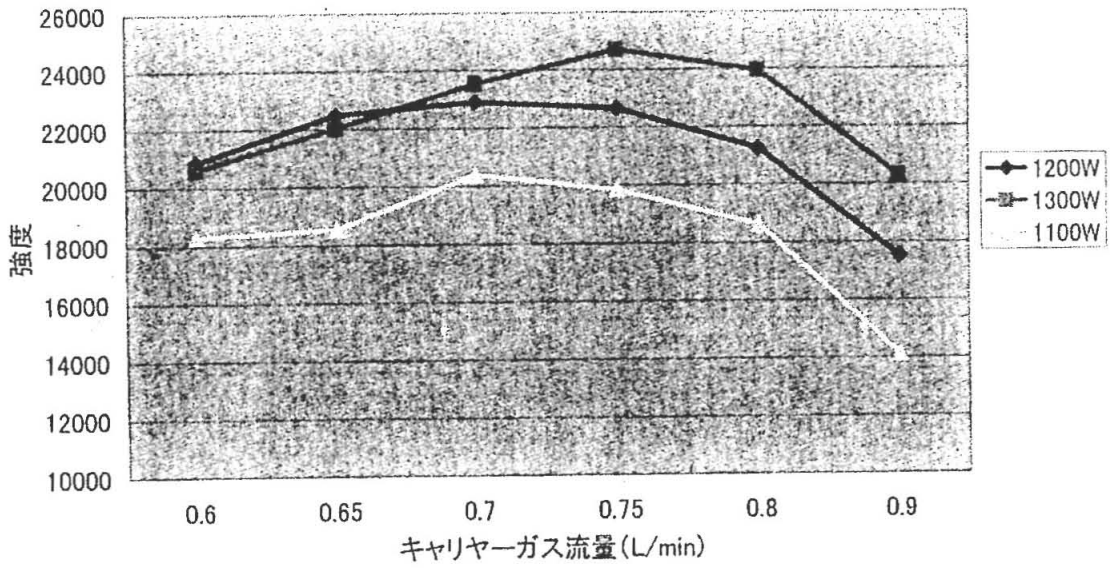


図 4.3.5 キャリヤガス流量とRF出力による強度の違い
 (観測点 6mm, ホウ素 1ppm)

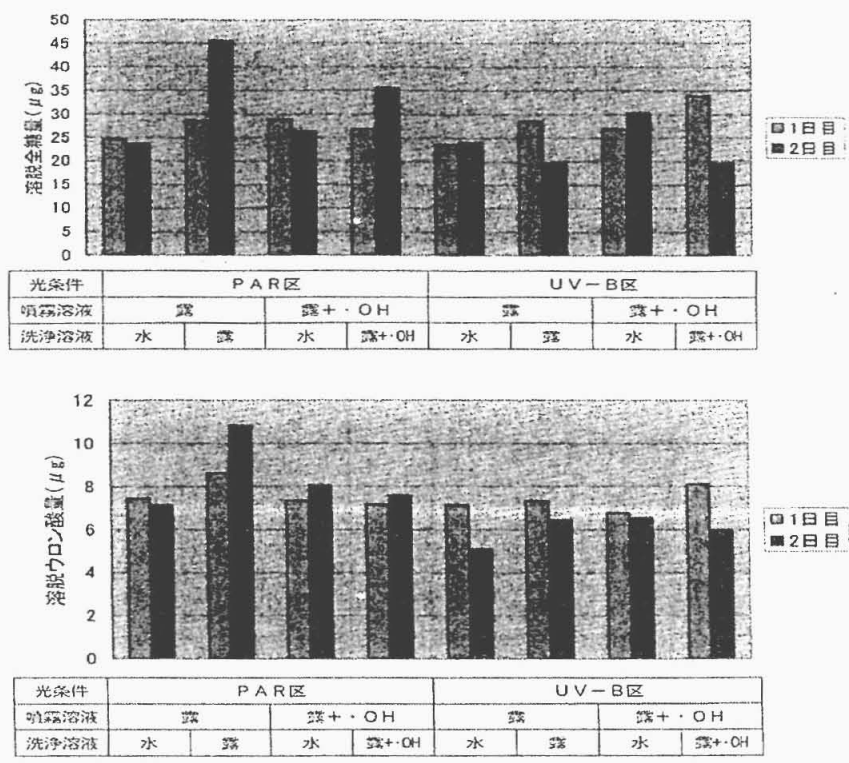


図 4.3.6 実験 1 での葉面積 40cm²あたりの溶脱全糖量(上)、ウロン酸量(下)

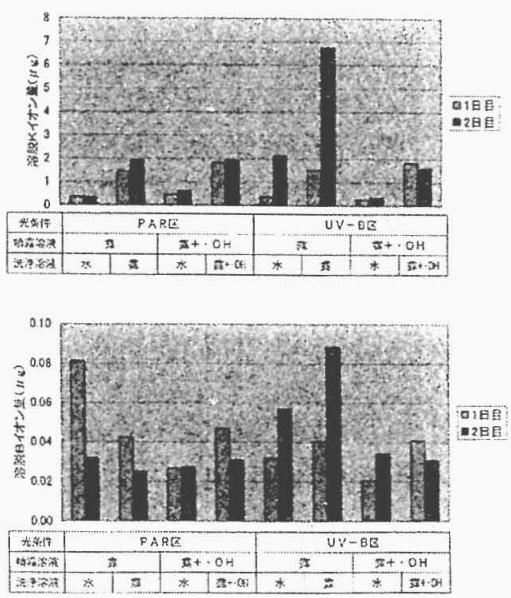


図 4.3.7 実験 1 での葉面積 40cm²あたりの溶脱Kイオン量(上)、Bイオン量(下)

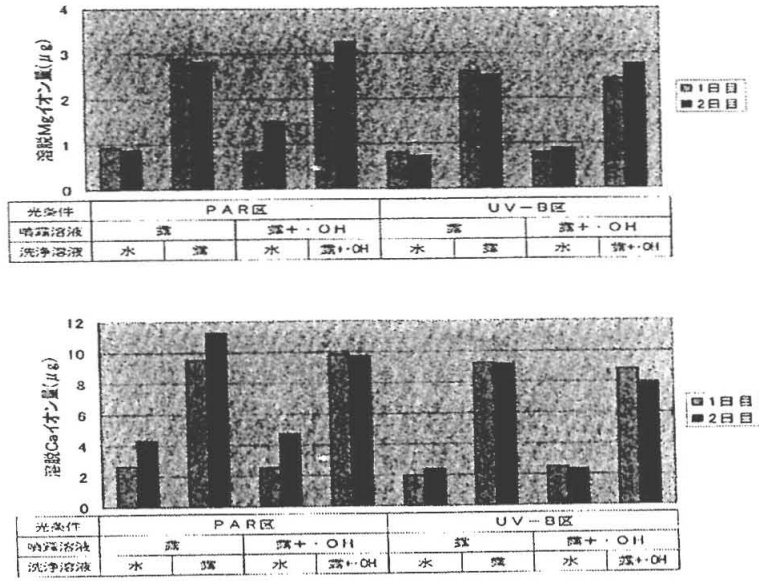


図 4.3.8 実験 1 での葉面積 40cm²あたりの
溶脱Mgイオン量(上)、Caイオン量(下)

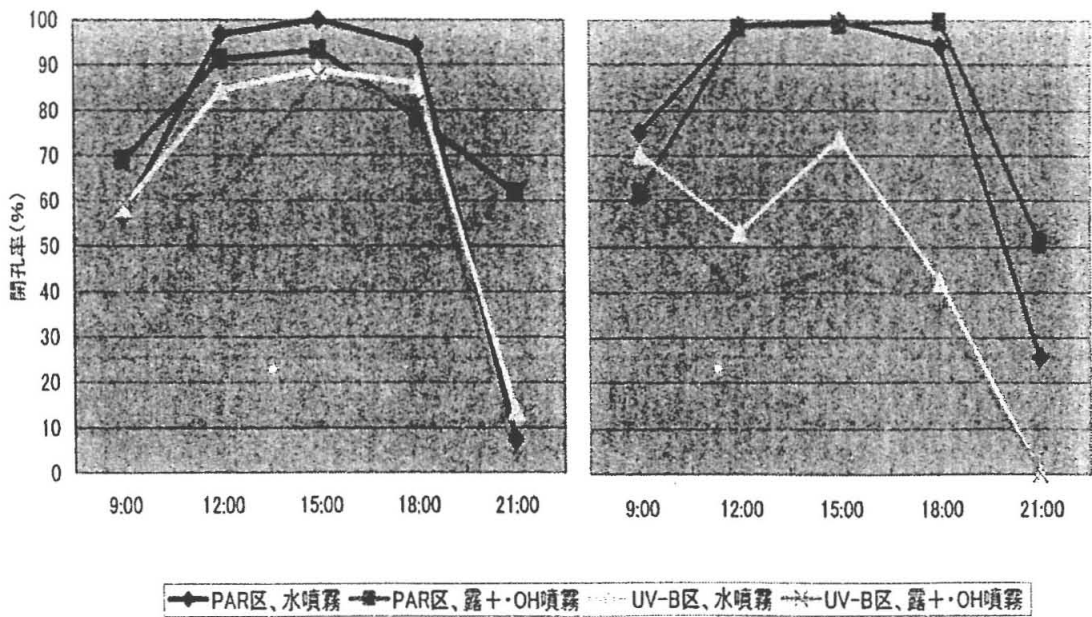


図 4.3.9 実験 2 での気孔開孔率(左が 1 日目、右が 2 日目)

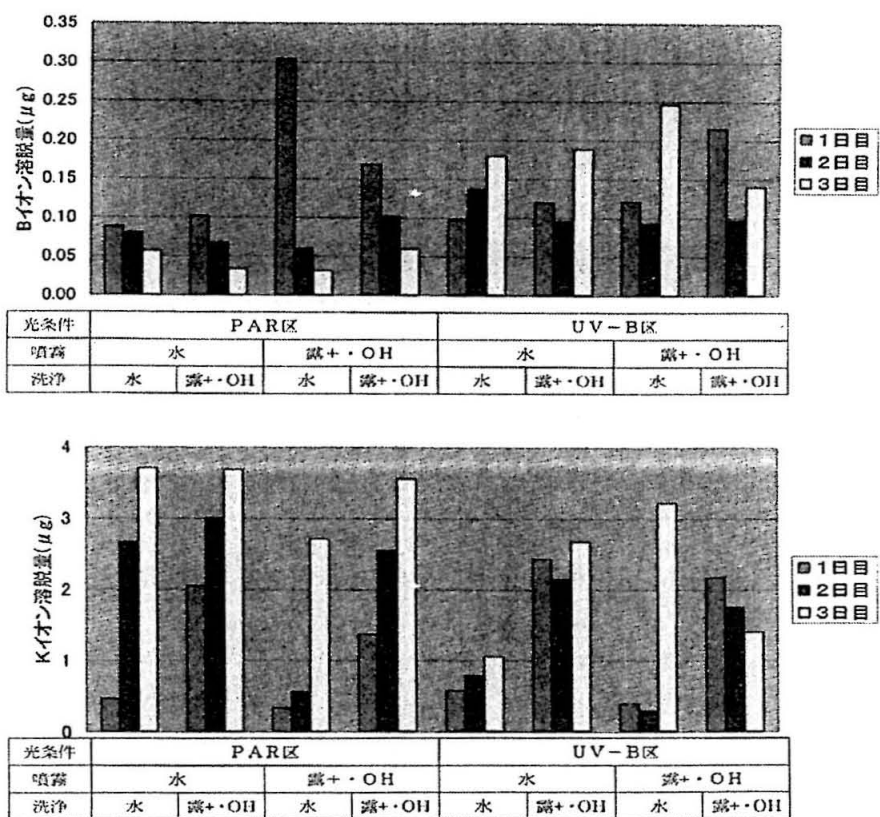


図 4.3.10 実験 2 における葉面積 40 c m²あたりの
溶脱Kイオン量(上)、Bイオン量(下)

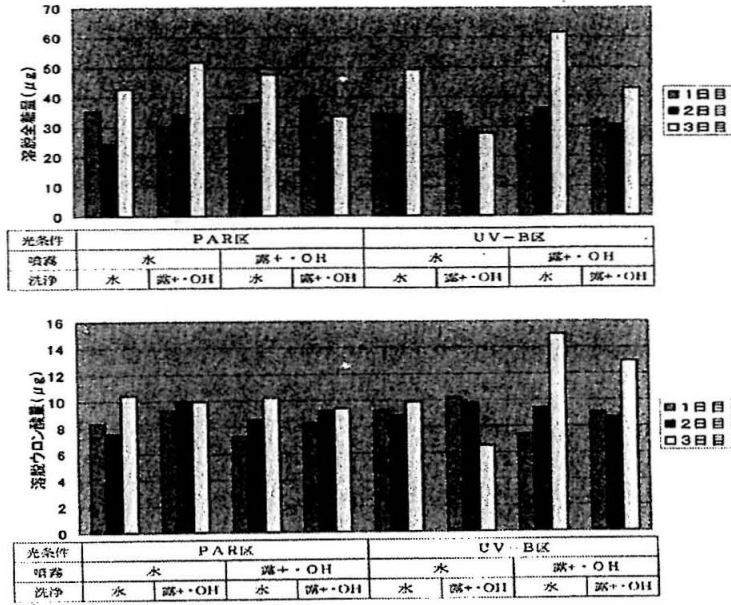


図 4.3.11 実験 2 における葉面積 40 c m²あたりの
溶脱全糖量(上)、ウロン酸量(下)

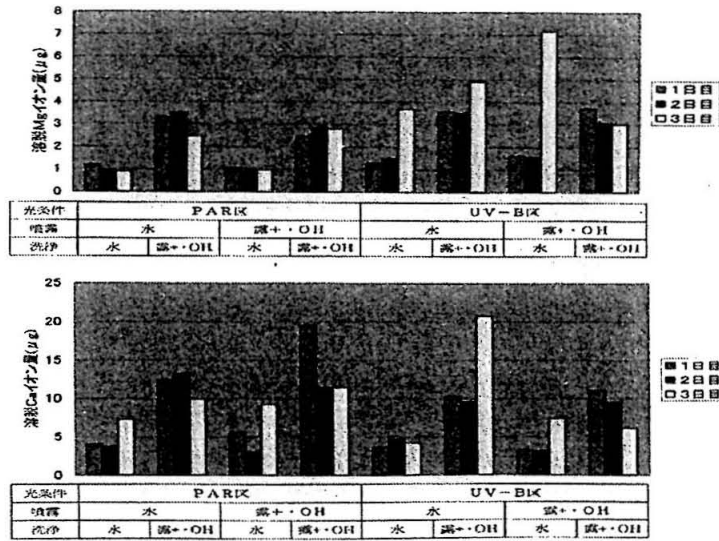


図 4.3.12 実験 2 における葉面積 40 c m²あたりの
溶脱Mgイオン量(上)、Caイオン量(下)

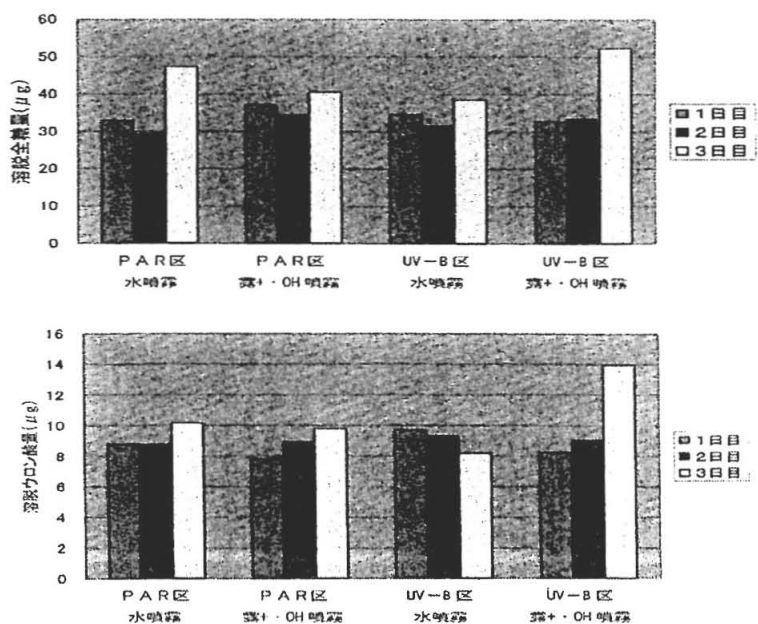


図 4.3.13 実験 2 における異なる洗浄液間での平均溶脱量
(上 : 全糖、下 : ウロン酸)

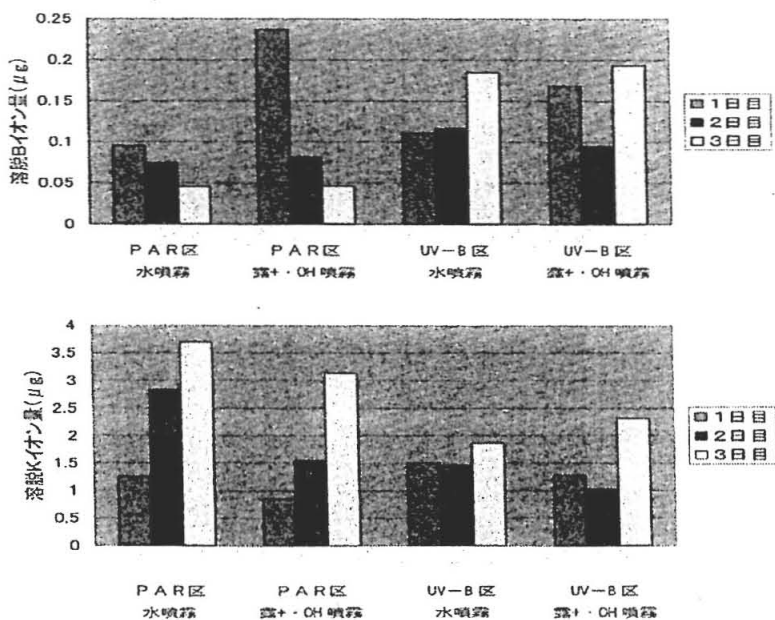


図 4.3.14 実験 2 における異なる洗浄液間での平均溶脱量
(上 : Bイオン、下 : Kイオン)

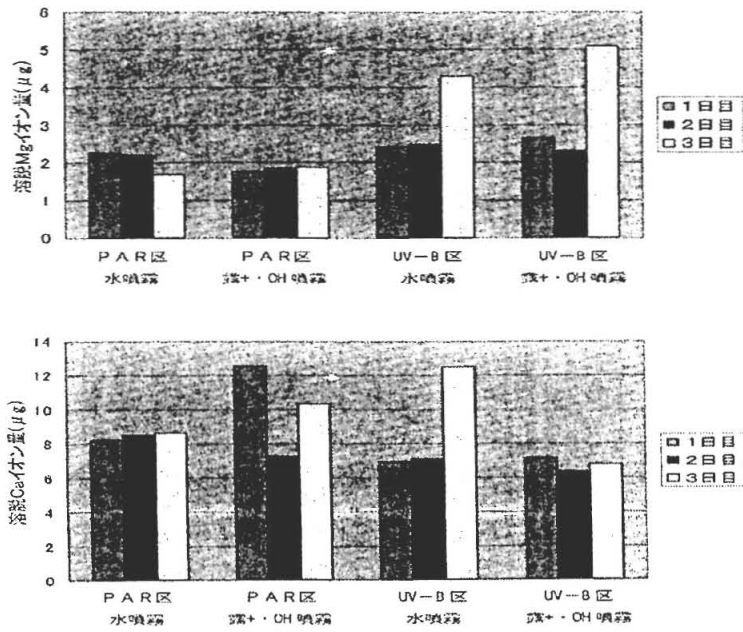


図 4.3.15 実験 2 における異なる洗浄液間での平均溶脱量
(上 : Mg イオン、下 : Ca イオン)

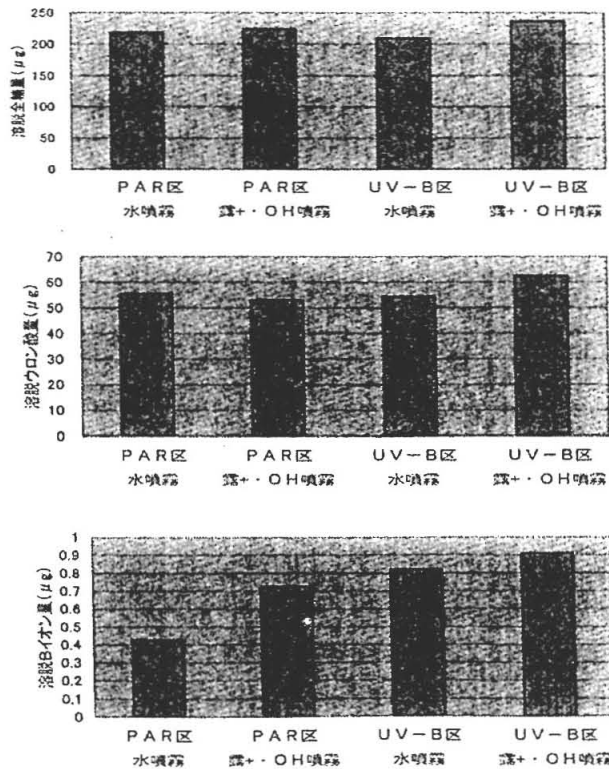


図 4.3.16 実験 2 での 3 日間の合計溶脱量
(上 : 全糖量、中 : ウロン酸量、下 : B イオン量)

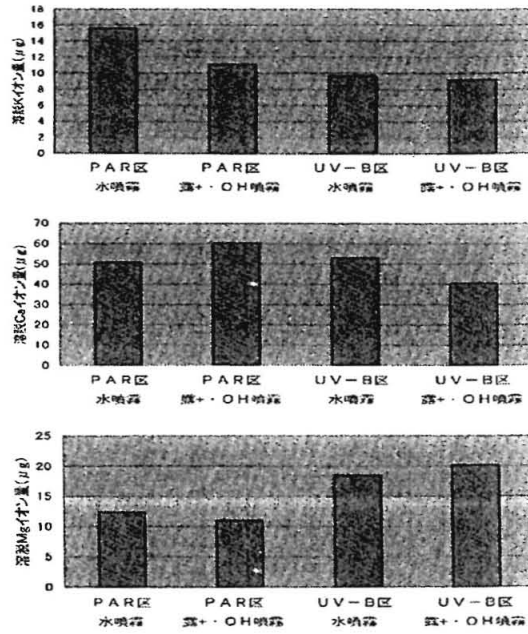


図 4.3.17 実験 2 での 3 日間の合計溶脱量
(上 : Kイオン量、中 : Caイオン量、下 : Mgイオン量)

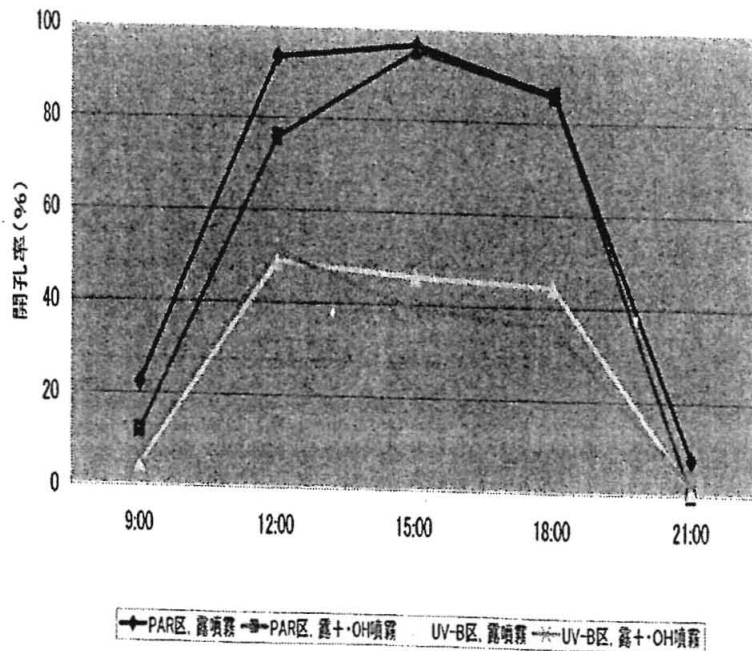


図 4.3.18 実験 3 での 3 日目の気孔開孔率

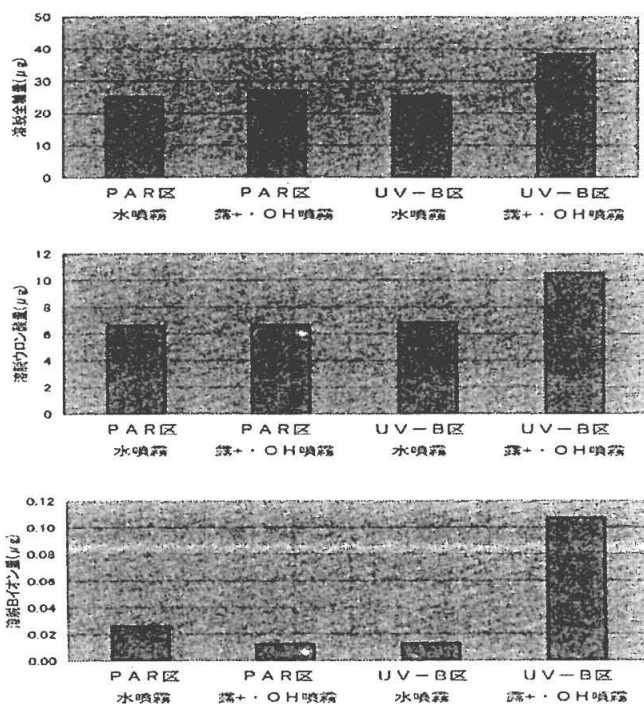


図 4.3.19 実験 3 における 3 日目の平均溶脱量
(上 : 全糖量、中 : ウロン酸量、下 : Bイオン量)

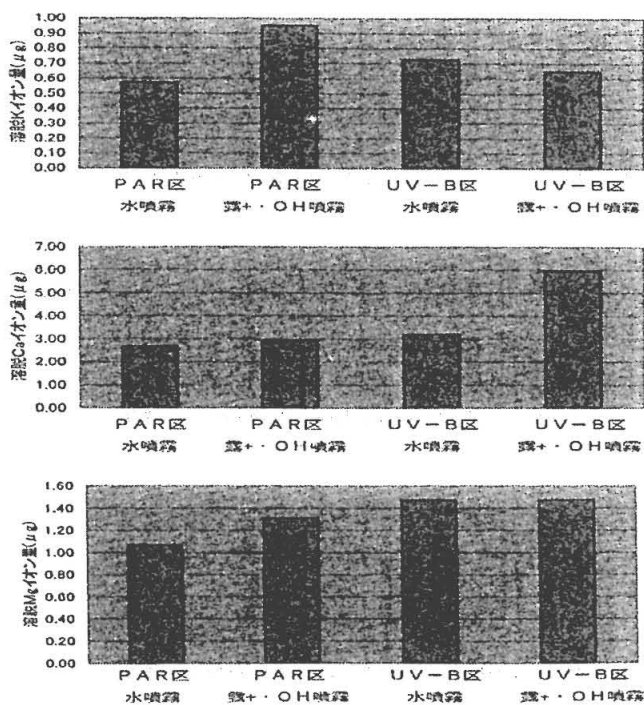
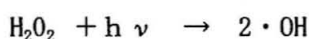
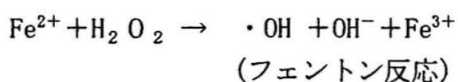


図 4.3.20 実験 3 における 3 日目の平均溶脱量
(上 : Kイオン量、中 : Caイオン量、下 : Mgイオン量)

4.4 大気汚染成分と UV-B が気孔の開孔率とイオンの溶脱に及ぼす影響

4.4.1 はじめに

大気圏に侵入する UV-B が増加すると、対流圏の化学反応性は全般に高くなる。例えば、過酸化水素や酸性の水蒸気に紫外線が当たると水酸化ラジカル ($\cdot\text{OH}$) ができる。水酸化ラジカルは活性酸素の中で最も反応性の高いラジカルで、強力な酸化剤である。最もよく使われている発生系は、フェントン反応とよばれる、過酸化水素と2価の鉄イオンとの反応である。また、大気汚染物質の NO_x が酸性雨の原因になり、その結果として水酸化ラジカルを生成させることがわかっている。水酸化ラジカルの生成過程を下に示す。



本研究は植物材料としてソラマメを用い、紫外線や水酸化ラジカルが植物の葉に対してどのような影響を与えるかを調べることを目的とし、次の2つの実験を行った。

(1) 気孔の開孔率の測定

気孔は植物の表皮組織に存在する孔で、開閉を制御し、大気と植物体内のガス交換の調節を行っている。 CO_2 の取り込みと蒸散の95%以上を支配しており、植物の生長や作物生産上からも重要な構造である。蒸散は、導管における水の移動、根の吸水、土壌からの無機養分の取り込みを促進する。気孔を構成している孔辺細胞は、光、炭酸ガス、植物ホルモン、 Ca^{2+} など多くの化学物質や物理的環境に対して受容・応答機能を

もち、気孔は複雑な制御を受けて開閉する。

UV-Bによって植物の気孔が閉じることが報告されている (Reneckles and Krupa, 1994)。UV-Bが孔辺細胞のコントロールメカニズムに直接作用し、その結果、光合成活性の低下が起こると考えられている (Nopeset al., 1999)。本項目では、ソラマメに紫外線を照射することで気孔の閉鎖が起こるか、紫外線の強度によってその反応の度合いが変わるか、また、水酸化ラジカルが開孔率に影響するかを調べる。

(2) 葉の表面の溶脱物質の分析

モミの針葉に酸性霧処理をすることによって、カルシウムやホウ素などが溶脱することが報告された (Igawa et al., 2002)。関東平野に隣接する大山では pH 3 以下の酸性霧が頻繁に見られ、天然のモミ林が衰退してきている。酸性霧が引き起こす溶脱によるカルシウムやホウ素の欠乏がモミ林衰退の主要な原因の1つであることが示唆された。ホウ素はほとんどが細胞壁に存在し、ホウ酸の形で細胞壁ペクチンのラムノガラクトuronan II (RG-II) 領域に結合して2本のペクチン鎖を架橋している。カルシウムは液胞中に存在するものと細胞壁に結合しているものがある。細胞壁カルシウムには、カルボキシル基とイオンの結合している画分、ガラクトuron酸水酸基。カルボキシル基と配位結合を形成してペクチンを分子間架橋している画分、RG-II 領域でのホウ酸の分子間架橋を強化してペクチンの不溶化に機能している画分がある。したがって、カルシウムやホウ素の溶脱によって細胞壁が損傷を受けると考えられる。

本研究では、酸性霧と同様に紫外線や水酸化ラジカルによってイオン・細胞壁成分の溶脱が起こるかを調べるため、葉の表面の全貌、ウロン酸、ホウ素、カルシウム、カリウム、マグネシウムの定量を行う。ウロン酸は細胞壁成分であるペクチンの主な

構成材料である。ホウ素、カルシウム、カリウム、マグネシウムは植物の正常な成長にとって必要な元素である。カリウムは液胞液に大量に存在し、細胞の浸透圧調節に重要な役割を果たしている。また、デンプンやタンパク質など、多くの生体高分子合成反応に影響する。マグネシウムはクロロフィルの形成・タンパク質合成に必須である。

4.4.2 材料と方法

4.4.2.1 植物材料

ソラマメ (*Vicia faba*, 品種 仁徳一寸、タキイ種苗) は葉の表皮が剥がしやすく、気孔を観察しやすいことから気孔の研究によく用いられてきた。また、穀物は一般的に紫外線感受性が高いとされている。

種を 25°C の流水に一晩つけて吸水させた後、発芽しやすくするために外皮をむき、バーミキュライトを入れたポットに1つずつ植えた。ホーグランド液を入れたバットにポットを入れ、25°C のインキュペーター (NK System Biotron LH300) 内で育てた。バット内の液がなくならないように2、3日おきにホーグランド液を足していった。高さ 20~25cm になるまで育て、実験に使用した。

ホーグランド液 (×10)

主要成分 (g/L)

Ca(NO ₃) ₂	8.2
KNO ₃	5.1
MgSO ₄ · 7H ₂ O	4.9
KH ₂ PO ₄	1.4

微量成分 (mg/L)

H ₃ BO ₃	29
MnCl ₂ · 4H ₂ O	18
ZnSO ₄ · 7H ₂ O	2.2
CuSO ₄ · 5H ₂ O	0.8

H ₂ MoO ₄ · H ₂ O	0.9
FeNaEDTA · H ₂ O	86.7

この溶液を 100 倍希釈したものをソラマメに与えた。

4.4.2.2 実験条件

バイオトロンは 8:00~20:00 を明期 20:00~8:00 を暗期、温度 25°C に設定していた。

図 4.4.1 が実験時のバイオトロンの模式図である。上段に PAR 区、下段に UV-A 区と UV-B 区を作った。上段には蛍光灯により PAR (Photosynthetic Active Radiation) (光合成有効放射) が供給されるが、紫外線は当たらないようになっている。下段は蛍光灯と UV ランプ (TL20W/12RS、Phillips) が当たるようになっており、UV ランプ下に、UV-A 区には UV-B 以下の波長をカットするルミナーシート (株式会社パナック) を敷き、UV-B 区には UV-C 以下の波長をカットするカッティングシート (中川ケミカル) を敷いた。これにより、UV-A 区には PAR と UV-A、UV-B 区には PAR と UV-A, B が照射される。実験時の UV 照射時間は、明暗周期に合わせて、8:00~20:00 とした。

実験を行うにあたり、バイオトロンのそれぞれの区と屋外の晴天時と曇天時の波長スペクトルを、多目的分光照射計 (MSR-7000、オプトリサーチ) で測定した。バイオトロンでは、それぞれの区のエリアの中央にセンサーを上向きにして設置し、UV ランプをつけた状態で測定した。UV 区は構造上 PAR 区より可視光が少ないので、PAR 区の光を白色紙で幾分か遮って調節することによって PAR 区と UV 区の可視光の量が近くなるようにした。

屋外での測定は、2004 年 1 月 26 日に総合科学部環境モデル実験棟北側の日陰に入らない場所で行った。センサーを真上に向

けた場合（天空）と、太陽の方向に向けた場合（太陽）について測定した。表 4.4.1 がその結果で、各波長域の照射強度を示している。波長が短いほどそのエネルギーは高いので、得られた波長スペクトルの値を波長（ μm ）で割ってから波長域ごとに積分して求めた。ここで可視光に対する UV-B の割合を求めているが、これは、生育時の可視光の強度や紫外線照射時の可視光の強度が UV-B 感受性に影響を与えるからである。いずれの場合も可視光が弱いと UV-B による光合成阻害が強く現れる（Mirecki and Teramura, 1985）、つまり、可視光に対する UV-B の割合が大きいほど植物に対する害が大きい。また、バイオトロンの UV-B 区でランプの本数を変えても差があまりないのは、センサーの感知する範囲がとて狭いからであり、実際にはランプ 3 本の場合は 1 本の時の 3 倍であると推察される。したがって、UV-B 区での可視光に対する UV-B の割合を冬の直射日光と比較すると、ランプ 1 本では約 8.4 倍、ランプ 3 本ではその 3 倍の約 25 倍であった。夏の UV-B 照射量のピークは冬の 3~4 倍である。

4.4.2.3 実験方法

UV 照射実験（実験 1）ではソラマメを 3 つのグループに分け、それぞれを PAR 区、UV-A 区、UV-B 区に入れ、2 日間、明期に紫外線を照射した。UV ランプは 3 本点灯させた。

噴霧実験（実験 2~5）では極楽寺山の露成分を参考にし、その 1000 倍濃縮液を作った。その化学的組成は以下のとおりである。

露成分 1000 倍濃縮液 (mM)	
$\text{Mg}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	1.5
$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	3.6
NaOH	9.6
KOH	3.4

HCl	9.8
H_2SO_4	4.5

これを 1000 倍希釈した溶液を噴霧に使用した。

水酸化ラジカル生成溶液は以下のようにして作成した。あらかじめ、過酸化水素水（100mM）、シュウ酸溶液（5mM）、Fe（III）溶液（1mM）を別々に作っておいた。露成分 1000 倍濃縮液とその 3 種の溶液を混ぜ、希釈して、露成分溶液中に過酸化水素水が最終濃度で $100\mu\text{M}$ 、シュウ酸溶液が $5\mu\text{M}$ 、Fe（III）溶液が $1\mu\text{M}$ 入った溶液を作り、それを噴霧に使用した。

噴霧方法は、ソラマメを 4 つのグループに分け、2 つを PAR 区、もう 2 つを UV-B 区に入れ、実験期間中、明期に紫外線を照射した。その時 UV ランプを点灯した数は表 4.4.2 に示している。それぞれの区で、片方に露成分溶液、もう片方に露成分十水酸化ラジカル生成溶液を、実験期間中の毎朝 9:00 に、霧吹きを用いて、すべての葉にまんべんなくかかるように噴霧した。噴霧量は表 4.4.2 に示している。

実験 1~4 について気孔開孔率の測定、実験 1~5 について葉の表面の溶脱物質の分析を行った。

4.4.2.4 気孔開孔率の測定

異なる 3 個体から、それぞれ 1 枚ずつ葉を選んだ。一枚の葉の同一箇所調べると、本来のリズムと異なる結果になるので、一度使用した葉は選ばないようにした。葉の裏側に歯科用ゴム質弾性印象材のプロビール（ヘレウス、クルツァー ジャパン株式会社）を塗り、乾いてからはがした。葉と接していた面に透明マニキュアを塗り、十分に乾かした後ではがし、プロビールと接していた面を上にしてスライドグラスにのせ、プレパラートを作った。型取りは、実験 1~3 では 1 日目と 2 日目、実験 4~5 で

は2日目と4日目に、9:00~21:00で3時間ごとに行った。図4.4.2がソラマメの気孔を型取りしたものの写真である。

観察は長焦点距離の光学顕微鏡(BX41、OLYMPUS)(40倍の対物レンズ)で行った。顕微鏡に、テレビと接続したデジタルカメラ(CAMEDIA、OLYMPUS)を取り付け、テレビ画面上で観察した。画面ごとに開いている気孔と閉まっている気孔の数を数えた。1枚の葉につき約100個の気孔を調べた。3個体の平均と標準誤差を求め、それを結果として表示した。

他の植物との比較するための補足実験として、ツユクサを用いて噴霧実験を行い、気孔の開孔率を求めた。UVランプは3本点灯させ、噴霧量は1個体あたり10mLにした。図4.4.3がツユクサの気孔の写真である。

4.4.2.5 葉の表面の溶脱物質の分析

20:00に消灯した後、それぞれの条件のグループから葉を5枚ずつ採取し、時々葉を揺らしながら、また、切り口がつかないようにして、100mLの脱イオン水中に5分間浸した。その後、実験4では50mLのアセトンに5秒、50mLのクロロホルムに15秒浸し、実験5では50mLのアセトンに5秒、50mLのクロロホルムに10秒、100mLの脱イオン水に5分浸した。それぞれの画分の溶液をロータリーエバポレーターで濃縮乾固させ、そこに1mLの脱イオン水を入れ、壁に付着した物質を溶かし込んだ。

ここで得られた溶液をサンプルとし、全糖、ウロン酸、イオンの定量を行った。全糖は490nmの吸光を測り(フェノール硫酸法)、ウロン酸は525nmの吸光を測り(カルバソール硫酸法)、濃度を求めた。実験1~4のすべてのイオンと実験5のハウ素は、神奈川大学の井川学先生に分析を依頼した。ハウ素はICP-AES、その他のイオンはイオンクロマトグラフで測定した。実験5のホ

ウ素以外のイオンはICP-AESで測定した各分析から得られたサンプル中濃度のデータから、葉1枚あたりの溶脱量を計算し、それを結果として表示した。

4.4.2.6 クチクラ除去処理

実験1~3を行った結果、各処理(UV-B、ラジカル)による決まった傾向が見られなかった。葉の表面にはクチンとロウでできたクチクラと呼ばれる層があり、雨水が内部に浸入したり、雨水に細胞内の水溶性物質がしみ出したり、また乾燥したときに水分が蒸発したりするのを防ぐはたらきがある。各処理による細胞からの物質の溶脱および何らかの変化がクチクラの内側で起きているかもしれないと考え、クチクラを除去することにした。

予備実験として、まず、アサガオの葉(各5枚)を用いて、処理方法を変えて各画分に含まれる全糖量に違いが出るかを調べた。処理方法は次の3通りである。

- ① アセトン中に10秒、クロロホルム中に10秒浸し、葉に付着したクロロホルムが乾いてから脱イオン水中に5分浸した。
- ② 洗びんで軽く水洗した後、アセトン中に10秒、クロロホルム中に10秒浸し、葉に付着したクロロホルムが乾いてから脱イオン水中に5分浸した。
- ③ 洗びんで軽く水洗した後、アセトン中に5秒、クロロホルム中に5秒浸し、葉に付着したクロロホルムが乾いてから脱イオン水中に5分浸した。得られた溶液をそれぞれ上記と同じ方法で濃縮し、その全糖量を測定した。

次にソラマメの葉を用いて、アセトンでの洗浄時間による溶け出す全糖量の違いを調べた。はじめにアセトンを入れたビーカーを3つ用意した。ソラマメの葉3枚を1つめのビーカーのアセトンに10秒、2つめのアセトンに10秒、3つめのアセトンに10秒浸した。これで1つめにはアセトン洗

浄時間0~10秒目、2つめには10~20秒目、3つめには20~30秒目の溶脱物が含まれることになる。10秒目の段階ですでに葉の張りがなくなり、溶液に葉の色が出ていたので、新たに葉を3枚用意し、2秒目、4秒目、6秒目について同様に行った。得られた溶液を濃縮し、その全糖量を測定した。

4.4.3 結果

4.4.3.1 気孔開閉率

実験1(図4.4.4)ではUVランプを3本使用した。コントロールとなるPAR区では2日間とも、明期開始から1時間後の9:00は低く、12:00~18:00は高く、暗期開始から1時間後の21:00に低くなるというリズムをとっていた。

1日目9:00(紫外線照射開始1時間後)はほぼ同じだったが、12:00、15:00にはUV-A区、UV-B区、ともにPAR区より少し低くなっていた。18:00にかけてUV-A区は上がり、PAR区とほぼ同じになったが、UV-B区はPAR区より約6%低かった。21:00にはどの処理区もほぼ同じとなった。

2日目9:00はPAR区に比べ、UV-A区は約4%、UV-B区は約8%低かった。12:00~21:00にかけてPAR区とUV-B区との差は大きく、最大で約24%あった。UV-A区は18:00まではPAR区に比べ、少し低い傾向はあったが、UV-B区ほどの低下は見られなかった。21:00にはUV-A区の方が少し高かった。

実験2(図4.4.5)でもUVランプを3本使用した。PAR区は、露成分のみ噴霧したものと酸化ラジカル生成溶液を噴霧したものを比べると、多少の上下はあるが、ほぼ同じリズム・値で、気孔が昼間に開き夜に閉じるという日周変動が見られた。

UV-B区はどちらも1日目の12:00の時点でPAR区よりかなり低下していた。露処理をしたものは、1日目、12:00をピ

ークにその後下がっていた。2日目は、12:00、15:00にはあまり上がらず、18:00に最大値をとっていた。ラジカル処理をしたものは露処理のものよりさらに低下が著しく、2日目には一日中ほとんど閉まった状態だった。

実験3(図4.4.6)ではUVランプを1本使用した。PAR区は、露処理のものに比べラジカル処理したものは12:00~18:00で少し(約5%)低下していたが、リズムは同じで、実験2と同様に気孔開閉の日周変動が見られた。

UV-B区は1日目、12:00の時点でどちらもPAR区より下がっていた。露処理したものとラジカル処理したものは同様のリズムで変化しており、15:00までは上昇していたが18:00になると急激に低下した。ラジカル処理したもののほうがより低下していた。2日目はどちらも一日中25%未満の低い開閉率で、9:00より12:00の方が低くなるなど、リズムが崩れていた。

実験4(図4.4.7)でもUVランプを1本使用した。PAR区の露処理のものとラジカル処理のものを比較すると、2日目は5%程度の差で上下しているが、ほぼ同じ値をとっていた。4日目はラジカル処理したもののほうが、12:00と15:00に約8%と若干低下し、21:00には逆に約10%上昇していた。PAR区ではラジカル処理に関わらず2日目も4日目もリズムはほぼ同じで、実験3までに見られたような気孔開閉の日周変動であった。

UV-B区は2日とも、PAR区とは異なるリズムであり、PAR区のような日周変動があまり見られなかった。常に50%以下の低い開閉率で、全体的にラジカル処理したもののほうが低かった。一時的に上昇することがあったが、それを除くと2日目より4日目の方が低下していた。

補足実験としてツユクサを用いた実験を行った。(図4.4.8) PAR区のコントロー

ル（噴霧なし）は12：00、15：00に高い値をとり、18：00、21：00にかけて低下していった。露処理したものは、12：00はコントロールほど上昇せず約24%低かったが、15：00、18：00はコントロールより約10%高かった。ラジカル処理したものは、12：00は露処理したものとほぼ同じで、15：00以降はコントロールより少し（6%以下）低いほぼ同じ値だった。

UV-B区は12：00以降、どちらもPAR区より低い値をとっていた。露処理の12：00はサンプル（型取りしたプロピール）紛失のためデータをとることができなかった。ラジカル処理をしたものの方が特に低いということはなかった。

4.4.3.2 葉の表面の溶脱物質

予備実験としてアサガオを用いた実験を行った（図4.4.9）アセトンでの洗浄前に水での予備洗浄を行わなかった①と予備洗浄を行った②を比較すると各画分で②の方が減少していたことから、葉の表面に糖が存在することが分かった。②と③を比較すると各画分で③の方が減少していたことから、アセトン・クロロホルムでの洗浄時間を長くすると、溶け出す糖の量が増えることが分かった。特に水面分に溶け出す糖の量が増えることから、細胞膜が損傷している可能性が考えられた。

次にソラマメを用いた予備実験を行った（図4.4.10）。20秒目までは洗浄時間が長くなるほど溶け出す糖の量が増加した。2秒目と4秒目を比較すると4秒目で5倍以上に増えたことから、2秒目と4秒目の間で細胞膜が壊れ始めたことが分かった。30秒目で20秒目より減少したが、これは、アセトンに溶け出ることのできる糖の大部分が20秒目までに溶け出し、20秒目以降は残り少なくなったためであると考えられる。これらの値は図4.4.8の水面分に匹敵する。この実験では水での予備洗浄を行わなかつ

たが、実験4、5では水の後でアセトンに浸した。この実験結果をふまえた上で、アセトンが水になじむための時間を考慮し、実験4、5ではアセトンに浸す時間を5秒に決めた。

実験1（図4.4.11、4.4.12）では、全糖量は1日目、PAR区よりUV-A区、UV-B区の方が少なかったが、2日目はPAR区よりUV-A区の方が多く、UV-B区も少し多かった。ウロン酸も似た傾向だったが、2日目もPAR区よりUV-B区の方が少なかった。

Bは1日目、PAR区とUV-A区はあまり差がなかったが、UV-B区は多かった。しかし2日目はPAR区よりUV-A区の方が少なく、UV-B区はさらに少なかった。Kは2日ともPAR区よりUV-B区の方が少なかった。逆にMgとCaは2日ともUV-B区の方が多く、特に1日目のUV-B区が多かった。

実験2（図4.4.13、4.4.14）では、1日目・2日目に共通する傾向を挙げると、全糖量は露処理の2つを比較するとUV-B区の方が多かった。PAR区の2つを比較するとラジカル処理したものの方が多かった。ウロン酸は露処理の2つを比較するとUV-B区の方が多かった。

Bはラジカル処理の2つを比較するとUV-B区の方が少なかった。PAR区の2つを比較するとラジカル処理の方が多かったが、UV-B区ではラジカル処理の方が少なくなっていた。Kは露処理の2つを比較するとUV-B区の方が少なかった。PAR区の2つを比較するとラジカル処理の方が少なかった。Caは2日ともに共通する傾向が見られなかった。Mgは露処理の2つを比較するとUV-B区の方が多かった。UV-B区の2つを比較するとラジカル処理の方が少なかった。CaとMgの傾向は似ていた。

実験3（図4.4.15、4.4.16）では、1日目・2日目に共通する傾向を挙げると、全

糖量は露処理・ラジカル処理のどちらもPAR区よりUV-B区の方が少なかった。PAR区の2つを比較するとラジカル処理したものが少なかった。ウロン酸は露処理の2つを比較するとUV-B区の方が少なかった。PAR区の2つを比較するとラジカル処理の方が少なかったが、UV-B区ではラジカル処理の方が多くなっていた。全糖量とヴロン酸の傾向は似ていた。

BとKはウロン酸と同じ傾向だった。Caは露処理の2つを比較するとUV-B区の方が少なかった。PAR区の2つを比較するとラジカル処理の方が少なかった。MgはPAR区の2つを比較するとラジカル処理の方が少なかった。CaとMgは特に2日目の傾向が似ており、UV-Bまたはラジカル処理で少なくなったが、UV-Bとラジカルと一緒に与えられると多くなっていた。

実験4(図4.4.17、4.4.18)では、クロロホルム画分は残りの2つの画分に比べて溶脱量が少ないが、Bは残りの2つの画分と同じ、またはそれ以上含まれていた。2日目・4日目に共通する傾向を挙げると、全糖量は水画分でラジカル処理の2つを比較するとUV-B区の方が多かった。PAR区の2つを比較するとラジカル処理したものが少なかった。アセトン画分では露処理・ラジカル処理のどちらもUV-B区の方が少なかった。PAR区・UV-B区のどちらもラジカル処理したものが多かった。クロロホルム画分では露処理の2つを比較するとUV-B区の方が少なかったが、ラジカル処理したものではUV-B区の方が多かった。UV-B区の2つを比較するとラジカル処理の方が多かった。

ウロン酸は水画分でラジカル処理の2つを比較するとUV-B区の方が多かった。アセトン画分は全糖量と同様に、両処理でUV-B区の方が少なく、両区でラジカル処理の方が多かった。クロロホルム画分では露処理の2つを比較するとUV-B区の方が少なか

った。PAR区の2つを比較すると露処理・ラジカル処理で同じ値で変化していなかった。全糖とウロン酸の変化は基本的に似ていた。

Bは水画分で露処理の2つを比較するとUV-B区の方が少なかったが、ラジカル処理ではUV-B区の方が多くなっていた。PAR区の2つを比較するとラジカル処理の方が少なかったが、UV-B区ではラジカル処理の方が多くなっていた。水画分での差はあまり大きくなかった。アセトン画分では露処理の2つを比較するとUV-B区の方が多かった。PAR区の2つを比較するとラジカル処理の方が多かった。クロロホルム画分では両日に共通する傾向は見られなかった。アセトン画分4日目とクロロホルム画分2日目のUV-B区のラジカル処理したもので大きな値を示した。

Kは水画分でラジカル処理の2つを比較するとUV-B区の方が少なかった。UV-B区の2つを比較するとラジカル処理の方が少なかった。4日目のPAR区のラジカル処理したもので大きな値を示した。アセトン画分では露処理・ラジカル処理のどちらもUV-B区の方が少なかった。クロロホルム画分では露処理の2つを比較するとUV-B区の方が多かった。PAR区の2つを比較するとラジカル処理の方が多かったが、UV-B区ではラジカル処理の方が少なかった。

Caは水画分でラジカル処理の2つを比較するとUV-B区の方が多かつ2日目・4日目に共通する傾向を挙げると、全糖量は水画分でラジカル処理の2つを比較するとUV-B区の方が多かった。PAR区の2つを比較するとラジカル処理したものが少なかった。アセトン画分では露処理・ラジカル処理のどちらもUV-B区の方が少なかった。PAR区・UV-B区のどちらもラジカル処理したものが多かった。クロロホルム画分では露処理の2つを比較するとUV-B区の方が少なかったが、ラジカル処

理したものでは UV-B 区の方が多かった。UV-B 区の 2 つを比較するとラジカル処理の方が多かった。

ウロン酸は水面分でラジカル処理の 2 つを比較すると UV-B 区の方が多かった。アセトン画分は全糖量と同様に、両処理で UV-B 区の方が少なく、両区でラジカル処理の方が多かった。クロロホルム画分では露処理の 2 つを比較すると UV-B 区の方が少なかった。PAR 区の 2 つを比較すると露処理・ラジカル処理で同じ値で変化していなかった。全糖とウロン酸の変化は基本的に似ていた。

B は水面分で露処理の 2 つを比較すると UV-B 区の方が少なかったが、ラジカル処理では UV-B 区の方が多くなっていた。PAR 区の 2 つを比較するとラジカル処理の方が少なかったが、UV-B 区ではラジカル処理の方が多くなっていた。水面分での差はあまり大きくなかった。アセトン画分では露処理の 2 つを比較すると UV-B 区の方が多かった。PAR 区の 2 つを比較するとラジカル処理の方が多かった。クロロホルム画分では両日に共通する傾向は見られなかった。アセトン画分 4 日目とクロロホルム画分 2 日目の UV-B 区のラジカル処理したもので大きな値を示した。

K は水面分でラジカル処理の 2 つを比較すると UV-B 区の方が少なかった。UV-B 区の 2 つを比較するとラジカル処理の方が少なかった。4 日目の PAR 区のラジカル処理したもので大きな値を示した。アセトン画分では露処理・ラジカル処理のどちらも UV-B 区の方が少なかった。クロロホルム画分では露処理の 2 つを比較すると UV-B 区の方が多かった。PAR 区の 2 つを比較するとラジカル処理の方が多かったが、UV-B 区ではラジカル処理の方が少なかった。

Ca は水面分でラジカル処理の 2 つを比較すると UV-B 区の方が多かった。PAR 区の 2 つを比較するとラジカル処理のほうが

少なかった。アセトン画分では露処理の 2 つを比較すると UV-B 区の方が少なかった。PAR 区の 2 つを比較するとラジカル処理の方が多かった。クロロホルム画分では露処理の 2 つを比較すると UV-B 区の方が多かったが、ラジカル処理では UV-B 区の方が少なかった。UV-B 区の 2 つを比較するとラジカル処理の方が少なかった。

Mg は水面分で露処理・ラジカル処理のどちらも UV-B 区の方が多かった。PAR 区の 2 つを比較するとラジカル処理の方が少なかった。アセトン画分では水面分と逆に両処理とも UV-B 区の方が少なかった。クロロホルム画分では露処理の 2 つを比較すると UV-B 区の方が多かった。PAR 区の 2 つを比較するとラジカル処理の方が多かった。Ca と Mg は 4 日目の PAR 区のラジカル処理したものは極端に大きな値を示した。

実験 5 (図 4.4.19、4.4.20、4.4.21) では、実験 4 までより噴霧量を減らし、葉から流れ落ちる液量を減らしたことで、どの要素も水面分・アセトン画分に含まれる量が実験 4 より増加した。水面分②は水面分①の 10~100 倍の濃度だった。全体的に見ると、全糖量、B、Ca は水面分①よりアセトン画分の方が含有量が少なかったが、ウロン酸、K、Mg は水面分①よりアセトン画分の方が多かった。B は実験 4 と同様に、クロロホルム画分での含有量が残りの 2 つの画分と同じ、またはそれ以上であった。

1 日目・2 日目・4 日に共通する傾向を挙げると、全糖量は水面分①ではすべての日に共通する傾向はなかった。アセトン画分とクロロホルム画分は露処理・ラジカル処理のどちらも UV-B 区の方が少なかった。水面分②では PAR 区の 2 つを比較するとラジカル処理の方が多かった。

ウロン酸は水面分①ではすべての日に共通する傾向はなかった。アセトン画分はラ

ジカル処理の2つを比較するとUV-B区の方が少なかった。クロロホルム画分ではすべての日に共通する傾向はなかった。水面分②では露処理の2つを比較するとUV-B区の方が少なかった。UV-B区の2つを比較するとラジカル処理の方が多かった。

Bは水面分①では露処理の2つを比較するとUV-B区の方が少なかった。アセトン画分ではすべての日に共通する傾向はなかった。クロロホルム画分では露処理の2つを比較するとUV-B区の方が多かった。水画分②では露処理の2つを比較するとUV-B区の方が少なかった。UV-B区の2つを比較するとラジカル処理の方が多かった。

Kは水面分①でラジカル処理の2つを比較するとUV-B区の方が少なかった。アセトン画分では露処理・ラジカル処理のどちらもUV-B区の方が少なく、PAR区・UV-B区のどちらもラジカル処理の方が多かった。クロロホルム画分では露処理・ラジカル処理のどちらもUV-B区の方が少なかった。水面分②では露処理の2つを比較するとUV-B区の方が少なかった。UV-B区の2つを比較するとラジカル処理の方が多かった。

Caは水面分①ではすべての日に共通する傾向はなかった。アセトン画分とクロロホルム画分は露処理・ラジカル処理のどちらもUV-B区の方が少なかった。UV-B区の2つを比較するとラジカル処理の方が多かった。水面分②では露処理の2つを比較するとUV-B区の方が少なかった。UV-B区の2つを比較するとラジカル処理の方が多かった。

Mgは水面分①ではすべての日に共通する傾向はなかった。アセトン画分とクロロホルム画分は露処理・ラジカル処理のどちらもUV-B区の方が少なかった。UV-B区の2つを比較するとラジカル処理の方が多かった。水面分②では露処理の2つを比較するとUV-B区の方が少なかった。PAR区の2つを比較するとラジカル処理の方が少な

かったが、UV-B区ではラジカル処理の方が多かった。CaとMgの傾向は似ていた。

4.4.4 考察

4.4.4.1 気孔開孔率

実験1では、紫外線照射1日目は全体的に大きな差は見られなかったが、2日目になるとUV-B区ではPAR区・UV-A区と比べて気孔開孔率が明らかに低くなっていたことから、UV-Bは気孔を閉じさせることが分かった。しかし、気孔が昼間に開き、夜に閉じるというリズムは保たれたままだった。よって、このままの条件で紫外線を照射し続けると、UV-B区はこのリズムを保ったまま、徐々に開孔率が下がっていくと思われる。また、UV-A区は12:00~18:00でPAR区に比べると、わずかながら低下する傾向が見られる。UV-Bほどではないが、昼間の開孔率を少し下げることがあるのかもしれない。

実験2~4では、PAR区の露処理したものは、何も噴霧していないもの(実験1)と同じようなリズムと値であることから、PAR区では露の影響はないと考えられる。ラジカル処理したものは露処理したものほとんど変わらない場合と、昼間に露処理より少し低下する場合があった。その理由として次の2つが考えられる。まず、PAR区での水酸化ラジカルの発生量が少なかったことである。PAR区は紫外線がほとんどなく、可視光も屋外に比べて弱い(表4.4.1)ので、光エネルギーが少ない。そのため、水酸化ラジカルがあまり発生せず、気孔の開閉に対する影響がわずかだったと考えられる。もう1つは、水酸化ラジカルは発生していたが、ラジカルが可視光下では気孔開閉に大きな影響を与えないことである。実験4で2日目は露処理のものあまり変わらなかったのに4日目は昼間にそれより低下していたことから、PAR区でも長期間ラジカル処理をすると開孔率が下

がっていくことが予想される。

UV-B 区では露処理・ラジカル処理のどちらも PAR 区より大きく低下していた。何も噴霧しなかった場合（実験 1）に比べると露処理のものも低下している。露成分中に硝酸イオンが含まれているため、エネルギーの高い紫外線が当たることによって水酸化ラジカルが発生したことが考えられる。また、ラジカル処理の植物個体との距離があまりなかったため、露処理のものにラジカル生成溶液が微量付着し、その影響を受けた可能性もある。実験 2（UV ランプ 3 本）と実験 3（UV ランプ 1 本）の 1 日目を比較すると、実験 2 の方が低下が著しい。このことから紫外線の強度に応じて開孔率は変化し、紫外線が強いほど開孔率が低下することが分かる。しかし 2 日目はラジカル処理のものは実験 2 の方が低下しているが、露処理に関しては逆に実験 3 の方が低下している。また、実験 3 と実験 4 の 2 日目は同じ条件であるにも関わらず、開孔率の低下の度合いや変動のリズムが異なる。これはソラマメの個体差や実験条件の違いが関係していると思われる。ソラマメは高さがほぼ同じになるまで育てたものを使用した。播種後それまでに要した期間は異なっていた。見た目では同じように感じても、栄養状態や老化の進み具合など植物体の中は異なる条件だったかもしれない。実験 3 の 2 日目以外は露処理のものよりラジカル処理の方が開孔率が低下しており、その程度は PAR 区で見られたものより大きい。このことから、UV-B 区ではラジカル生成溶液に紫外線が照射されることにより発生した水酸化ラジカルが、気孔の閉鎖をもたらしたと考えられる。ただし、可視光区との違いが、水酸化ラジカルの発生量の違いによるものなのか、あるいは、水酸化ラジカルの反応の場の条件の違いによるものなのか、断定することはできない。

ツユクサを用いた補足実験では、同じ実

験条件の実験 2（ソラマメ）の 1 日目と比較すると UV-B 区の低下が著しい。PAR 区の値もソラマメとは異なるため単純比較はできないが、ツユクサも紫外線感受性が高いと考えられる。

4.4.4.2 溶脱物質

実験 5 で噴霧した液体が葉から流れ落ちる量を減らした時に各画分で含有量が増えたことから、葉の表面に水で簡単に流れ落ちてしまうような物質が存在する、つまり、溶脱が起こっていると言えるだろう。水面分については、実験 5 のデータが最も信頼性が高く、実際に葉の表面で起きている現象をより反映していると思われる。また、実験 5 で UV-B やラジカルを与えていない場合でも実験 1（噴霧なし）より水面分①での含有量が増えているのは、噴霧した露成分を反映していると思われる。

実験 1 での PAR 区および実験 2～5 の PAR 区の露処理したものは各実験においてコントロールとなるものだが、日によって各画分の含有量がまちまちであることが多かった。これは、選んだ葉の個体差や、液に浸す時の操作（液中で振る回数など）のわずかな違いから生じたと思われる。また、図 4.4.12 の Mg、図 4.4.13 の全糖量、図 4.4.14 の K、図 4.4.18 の Ca と Mg で、他に比べて 1 つだけ極端に多いものがあるが、なぜそうなったのかは分からない。

表 4.4.3～4.4.7 は各処理による溶脱量の変化量を数値で表した表である。実験 1 で Mg は 1 日目の PAR 区のデータがないため、表 4.4.3 で標準誤差が 0 になっている。表 4.4.3 から UV-A によって、B は溶け出す量が若干減少し、Mg は増加していることが分かる。Ca は変化量が大きいいため標準誤差が大きくなっているが、図 4.4.12 とあわせて見ると増加しているのは明らかである。また表 4.4.3 から、何も噴霧しない時、UV-B は K の溶け出す量を減少

させCaとMgの溶け出す量を増加させることが分かる。実験2と実験3はUVランプの数のみが異なる(実験2は3本、実験3は1本)が、表4.4.4と表4.4.5を比較してみると、紫外線の強さに応じて効果が強くなったものもあれば効果が弱くなったものもある。例えばBは紫外線が強いほどUV-Bによって減少し、逆にCaは増加している。また、ウロン酸とBは紫外線が強いほどラジカルによって増加している。一方、全糖量やウロン酸に対するUV-Bの効果、Kに対するラジカルの効果などは紫外線の強さが違うと効果が弱くなっている。このことから、紫外線の強さが溶脱量に及ぼす影響は物質によって異なると考えられる。ただし、UV-Bの効果に関しては表4.4.4(実験2)と表4.4.6(実験4)の画面分の傾向が似ている。実験4はUVランプ1本だが照射期間が長い。したがって、紫外線を強くすることと照射期間を長くすることが同じ効果をもたらしたのかもしれない。表4.4.4~4.4.7を見ると、最初の水画分でCaとMgはUV-Bの効果の値が100より大きいことが多く、他のイオンより大きい傾向がある。このことから、CaとMgは噴霧処理をしてもUV-Bによって水に溶け出す量が増加すること、そして、他のイオンより最初の水画分に溶け出しやすいことが分かる。ラジカルによる効果は各要素による傾向の違いは見られないが、全体的に100を越えているものが多いことから、ラジカル処理によって溶脱が起こりやすくなると考えられる。表4.4.6と表4.4.7を見ると、特にアセトン画分でUV-Bによって溶け出す量が減少している。中でもKの減少が著しいが、一方、Bは表4.4.6では増加している。イオンによって差はあるが、UV-Bを照射すると溶脱が起こりにくくなると考えられる。UV-Bによる溶脱抑制効果、ラジカルによる溶脱促進効果はアセトン画分で顕著に現れているように思える。

表4.4.8~4.4.12はそれぞれの画分での各要素間の相関係数を示した表である。ウロン酸は正しく測れていない可能性がある(本来ならばウロン酸を含むサンプルに試薬を加えた時にピンク色に呈色するはずだが、そうならず、黄~褐色に呈色した。これは全糖量が多いためであると考えられる。)ので、この表では除いた。CaとMgの相関が高いものが多く、同じ2価の陽イオンとして同じような挙動をしていることが分かる。また、KとCa、KとMg、全糖量とKの相関が高いものも多い。酸性霧と同様に、UV-Bや水酸化ラジカルによってBやCaが溶脱し、細胞壁がダメージを受けるならば、B、Ca、全糖量の相関は高くなるはずである。全糖量とCaの相関は高いものがあつたが、全糖量とB、BとCaの相関は見られなかった。

通常、各溶液中の全糖量が増加すれば、それに伴って他のイオンの量も増加するはずである。しかし、表4.4.8~4.4.12で糖とイオンの相関が低い場合があることから、糖とは別の、各イオン特有の変化をしている可能性がある。そこで、各イオンの量を全糖量で割ることによって、全糖量の変化に応じたイオン量の変化を無視したうえで各イオンの変化を見ることにした。図4.4.22~4.4.27が各イオンの量を全糖量で割ったグラフである。図4.4.25と図4.4.26から、Bは特にクロロホルム画分で存在比が高く、ラジカル処理によってその比が低下する場面が多いことが分かった。図4.4.22~4.4.27から最初の水画分での一定の傾向は見られなかったが、他の画分ではPAR区の露処理のもので大きい値をとる傾向があつた。Kは、図4.4.25では極端に大きいものを除けばどの画分もほぼ同じだが、図4.4.26ではアセトン画分と水画分②が他の画分より大きい値をとり、UV-Bによってその値が低下していた。CaとMgは似ているが、Mgの方がKに近い変化をし

ている。全体的に最初の水面分と比較して、アセトン画分ではKとMg、クロロホルム画分ではBの割合が高くなるが、Caは最初の水面分と他の画分との差が他のイオンより少ないと言える。

図4.4.28はクチクラ除去のために行った処理によって各溶液が細胞に与える影響を示した想像図である。まず、最初の水によって表皮の外側に付着している物質のうちの水溶性の物が洗い流される。次のアセトンは水となじんだ後に表皮(クチクラ層)を通過して細胞壁に入りこみ、細胞壁(アポプラスト)内のイオンや低分子量の糖類などを溶かし出す。3番目のクロロホルムはアセトンによって入りやすくなった細胞壁に入り、細胞膜を破壊しながら疎水性物質を溶かし出す。この実験では各溶液を濃縮後、残った物質を水に溶かし込んだため、クロロホルム画分にはほとんど糖類が存在せず、イオンもごく少量であるのが当然である。最後の水は細胞質まで浸入し、細胞質内のイオンや水溶性の物質を溶かし出す。実験5の結果でも水面分②には他の画分より高濃度であったことから、クロロホルムまでの処理により細胞膜が破壊されたことが分かる。

アセトン画分では、UV-B照射により含有量が減少し、ラジカル処理により増加するという傾向が他の画分より顕著に現れていた。特に、全糖、ウロン酸、K、MgではUV-Bによる減少が著しかった。その原因として2つの仮説を考えた。

仮説1：UV-B照射によって葉の表皮付近の細胞のアポプラスト内の物質量が減少する

全糖、ウロン酸、MgはUV-B照射により最初の水面分で増加した場合もあったので、その3要素に関しては植物体表面にアポプラストから移動し、溶脱する可能性がある。表4.4.3~4.4.7から、特にMgはその可能

性が高く、相関の高いCaも同様にアポプラストから溶脱すると考えられる。Kは最初の水面分と最後の水面分のどちらでも増加が見られなかったので、葉の内部の細胞または他の器官に移動したのかもしれない。

仮説2：UV-B照射によってクチクラなどが増加し、細胞内の物質が外に流れ出にくくなる

UV-B照射による葉の厚さの増加が報告されているが、それは表皮細胞を守るクチクラなどの増加によって起こるのだろうと考えた。リグニンは難分解性で紫外線を吸収する物質である。そのような物質を増加させることによって植物は細胞内へのUV-Bの透過量を減少させ、自分の身を守ろうとする。

実際に、葉を浸した後のアセトンとクロロホルムはUV-B照射したものの方が色(緑色)が薄い場合が多かった。

ラジカル処理ではどの画分も含有量が増えるものが多く、UV-Bとは逆の効果であった。しかし、図4.4.22~4.4.27で、全糖量に対するイオンの割合(特にB)は、ラジカル処理によって低下する傾向が見られた。したがって、ラジカルによって葉の表皮が酸化され、表皮付近の物質が溶脱しやすくなるが、特に糖が溶脱しやすく、イオンは糖ほど溶脱しないと考えられる。

実験5の水面分②のイオン(図4.4.20、4.4.21)は、UV-B区の露処理をしたものももっとも低い値を示した。しかし、UV-Bによって細胞質内のイオン濃度が減少することは普通考えられない。したがって、UV-Bによるイオン量の低下は細胞膜の強度が上がったことを示していることが予想される。細胞膜強度が上がれば、アセトン、クロロホルムでの処理で、細胞膜が損傷される度合いが小さくなり、この画分に溶け出す量が減少すると考えられる。しかし、それにラジカル処理が加わるとイオン含有量が増

加した。これらのことから、UV-B 区では UV-B によって細胞膜強度が上がり、ラジカルによってその効果が打ち消される可能性が考えられた。

4.4.5 総合考察

気孔開閉には K^+ 、 Cl^- 、リンゴ酸、ショ糖が浸透物質として関与している。孔辺細胞細胞膜上に K^+ チャンネルが存在し、照射によって膜電位が過分極するとチャンネルが開き、細胞内に K^+ が取り込まれる。

K^+ の蓄積に応じてリンゴ酸の合成、 Cl^- の取り込みが起これ電気的中性が保たれる。このようにして K^+ 、 Cl^- 、リンゴ酸が孔辺細胞中に高濃度に蓄積し、水ポテンシャルの低下により周りの細胞からの吸水が起これ、孔辺細胞の体積が増大し、気孔が開く。孔辺細胞から K^+ が流出すると気孔が閉鎖する。つまり、気孔が開くためには孔辺細胞の周辺に K^+ が存在しなければならない。

仮説1が正しいとすれば、UV-B 照射によって表皮近くの細胞のアポプラストの K^+ が減少する。すなわち孔辺細胞の周辺の K^+ が不足し、気孔を開くことができなくなる。気孔の開孔率を測定した結果、UV-B 照射によって開孔率が低下していた。これは孔辺細胞の周辺の K^+ の不足による現象であると考えられる。また、実験5の結果から、UV-B 区ではラジカルによって細胞膜強度が下がることが考えられた。つまり、ラジカルによって孔辺細胞の細胞膜が損傷され、 K^+ が細胞の外に漏れ出て、さらに気孔が開きにくくなるのが考えられる。

植物は蒸散によって葉の温度調節を行い、蒸散流によって無機塩類なども運ぶ。UV-B や水酸化ラジカルによって気孔開孔率が低下することにより CO_2 の取り込みや蒸散が阻害され、その結果、光合成活性の低下、養分不足などが引き起こされる。

葉の表面の溶脱物質の測定の結果、UV-B

とラジカルで異なる効果が見られたが、気孔開孔率では UV-B とラジカルの相乗効果が見られ、気孔閉鎖をもたらした。また、気孔開孔率はPAR区で露処理とラジカル処理の差があまり見られなかったが、溶脱量はPAR区でもラジカル処理の効果が見られた。しかし、表4.4.3~4.4.7で示されているように、ラジカルの効果よりUV-Bの効果の方が有意差のあるものが圧倒的に多い。したがって、本研究の実験条件では、PAR区でもラジカルはある程度発生したが、気孔閉鎖をもたらすほどではなかったこと、そして、溶脱にはラジカルよりUV-Bの方が強い影響を与えることが考えられる。実験条件は異なるが、UV-B とラジカルが植物体内のアスコルビン酸濃度変化に与える影響が逆だったという報告がある (Jahl et al., 2003)。そこでは、UV-B とラジカルが異なるメカニズムで植物に影響する可能性が示唆された。

噴霧実験に使用したソラマメをしばらく育ててみると、実験でUV-B 照射とラジカル処理をしたものは、葉が茶色く枯れ落ちていった。UV-B 照射と露処理をしたものも、葉が黄色く変色したものがあつたが、ラジカル処理したもののように枯れ落ちてはいなかったことから、ラジカル処理によって早く老化がもたらされたと考えられる。UV-B やラジカルによって一度受けた損傷は回復するのが困難であるようだ。UV-B 区でラジカル処理によって気孔閉鎖が促進されることと溶脱との関係は分からなかったが、気孔閉鎖によって植物が衰退することは確認された。

4.4.6 参考文献

安藤淳平、古田直紀、瀬戸昌之、秋山堯 (1996) 環境の化学 日新出版
環境庁「オゾン層保護検討会」編 (1989) オゾン層を守る 日本放送出版協会
環境庁地球環境部 (1995) オゾン層破壊一

- 紫外線による健康影響, 植物・生態系への影響— 中央法規出版
- 菅原努、野津敬一 (1998) 太陽紫外線と健康—なぜ太陽紫外線は有害なのか?— 裳華房
- 環境省 (2003) 平成 14 年度オゾン層等の監視結果に関わる年次報告書
- 吉川敏一、河野雅弘、野原一子 (2000) 活性酸素・フリーラジカルのすべて—健康から環境汚染まで— 丸善
- 新免輝男 編 (1991) 現代植物生理学 4 環境応答 朝倉書店
- 駒嶺穆 編 (2001) 朝倉植物生理学講座 5' 環境応答 朝倉書店
- 倉石晋、西成典子 訳 (1972) 植物生理学入門 上 * 東京大学出版会
- 増田芳雄 (1988) 植物生理学 培風館
- Igawa, M., T. Kase, K. Satake, H. Okochi (2002) Severe leaching of calcium ions from fir needles caused by acid fog. *Environmental Pollution* 119, pp.375-382
- Igawa, M., K. Okumura, H. Okochi, N. Sakurai (2002) Acid Fog Removes Calcium and Boron from Fir Tree: One of the Possible Causes of Forest Decline. *J. For. Res.*, 7: 2 13-215
- Nogues, S., D. J. Anen, J. I. L. Marison, and N. R. Baker (1999) Characterization of Stomatal Closure Caused by Ultraviolet-B Radiation. *Plant Physiology*, 121, pp.489-496
- Hetherington & Woodward (2003) The role of stomata in sensing and driving environmental change. *Nature*, 424, pp.901-908
- Jahl, K., S. Katari, K. N. Gruprasad (2003) Changes in antioxidant defenses of cucumber cotyledons in response to UV-B and to the free radical generating compound AAPH. *Plant Science*, 165, pp.551-557

表 4.4.1 屋外とバイオトロンの各波長域の照射強度 (単位: $\mu\text{W}/\text{cm}^2$)

	UV-A 320-400nm	UV-B 280-320nm	可視光 400-800nm	UV-B/可視光 (%)
屋外				
晴天(天空)	548.2	7.8	4600.4	0.17
晴天(太陽)	9657.7	192.2	52100.9	0.37
曇天(天空)	177.3	3.1	3380.7	0.09
曇天(太陽)	3403.0	89.7	49112.8	0.18
バイオトロン				
PAR区	0.7	0.1	477.1	0.01
UV-A区(ランプ1本)	12.7	-0.04	328.0	-0.01
UV-A区(ランプ3本)	16.0	0.1	347.6	0.04
UV-B区(ランプ1本)	19.2	9.2	298.2	3.09
UV-B区(ランプ3本)	28.0	13.5	330.4	4.08

表 4.4.2 実験開始時のソラマメ播種後日数と実験条件(UVランプ点灯数と試験液噴霧量)

	播種後日数(日)	UVランプ点灯数(本)	噴霧量(mL/plant)
実験1	20	3	なし
実験2	20	3	10
実験3	29	1	10
実験4	17	1	10
実験5	25	1	5

表 4.4.3 実験1でのUV-AとUV-Bによる各要素の変化量

PAR区を基準(100%)とした時のUV-A区とUV-B区の変化量を表す。

1日目と2日目の平均±標準誤差で表している。

	UV-Aの効果	UV-Bの効果
全糖量	107.3 ± 27.3	79.2 ± 15.8
ウロン酸	91.0 ± 11.6	81.9 ± 4.0
B	77.5 ± 9.9	142.0 ± 63.5
K	93.5 ± 8.6	53.3 ± 2.2
Ca	124.4 ± 55.1	200.7 ± 3.9
Mg	527.7 ± 0.0	230.3 ± 0.0

表 4.4.4 実験 2 での UV-B とラジカルによる各要素の変化量

PAR 区の値を基準(100%)とした時の UV-B 区の変化量、および、露処理時の値を基準とした時のラジカル処理時の変化量を表す。

1 日目と 2 日目について、UV-B の効果は露処理どうしの比較とラジカル処理どうしの比較、ラジカルの効果は PAR 区どうしの比較と UV-B どうしの比較を行い、それぞれ平均±標準誤差で表示している。(n=4)

	UV-B の効果	ラジカルの効果
全糖量	136.6 ± 27.8	107.4 ± 28.3
ウロン酸	151.5 ± 55.9	585.3 ± 460.9
B	63.9 ± 17.8	120.9 ± 35.1
K	62.7 ± 24.3	55.0 ± 19.3
Ca	516.6 ± 321.9	153.1 ± 113.6
Mg	420.5 ± 335.0	205.5 ± 100.3

表 4.4.5 実験 3 での UV-B とラジカルによる各要素の変化量

PAR 区の値を基準(100%)とした時の UV-B 区の変化量、および、露処理時の値を基準とした時のラジカル処理時の変化量を表す。

1 日目と 2 日目について、UV-B の効果は露処理どうしの比較とラジカル処理どうしの比較、ラジカルの効果は PAR 区どうしの比較と UV-B どうしの比較を行い、それぞれ平均±標準誤差で表示している。(n=4)

*は $p < 0.05$ で有意差があることを表す。

	UV-B の効果	ラジカルの効果
全糖量	48.7 ± 13.6 *	127.4 ± 51.5
ウロン酸	58.5 ± 23.2	148.3 ± 54.0
B	90.3 ± 28.3	100.6 ± 27.4
K	109.2 ± 63.0	105.8 ± 44.4
Ca	222.2 ± 169.7	392.6 ± 335.5
Mg	1099.8 ± 1049.8	1070.0 ± 1051.8

表 4.4.6 実験 4 での UV-B とラジカルによる各要素の変化量

PAR 区の値を基準(100%)とした時の UV-B 区の変化量、および、露処理時の値を基準とした時のラジカル処理時の変化量を表す。

2 日目と 4 日目について、UV-B の効果は露処理どうしの比較とラジカル処理どうしの比較、ラジカルの効果は PAR 区どうしの比較と UV-B どうしの比較を行い、それぞれ平均±標準誤差で表示している。(n=6)

	UV-B の効果		
	水画分	アセトン画分	クロロホルム画分
全糖量	110.5 ± 13.3	61.1 ± 3.0 *	86.0 ± 24.9
ウロン酸	115.5 ± 13.7	41.6 ± 2.0 *	33.3 ± 33.3
B	86.2 ± 18.4	145.4 ± 51.9	384.8 ± 278.7
K	78.9 ± 24.4	37.2 ± 2.4 *	189.2 ± 86.4
Ca	217.6 ± 67.6	94.7 ± 26.3	85.2 ± 30.9
Mg	287.6 ± 75.3	53.5 ± 7.5 *	158.7 ± 54.7

	ラジカルの効果		
	水画分	アセトン画分	クロロホルム画分
全糖量	84.0 ± 25.1	123.5 ± 7.6	172.5 ± 72.4
ウロン酸	91.8 ± 16.2	124.9 ± 1.8 *	
B	117.3 ± 28.7	168.1 ± 62.5	315.3 ± 257.7
K	184.0 ± 126.9	111.6 ± 14.1	84.4 ± 25.8
Ca	117.9 ± 81.6	211.8 ± 100.1	303.5 ± 238.8
Mg	85.0 ± 35.5	186.4 ± 70.5	5782.5 ± 5661.8

表 4.4.7 実験 5 での UV-B とラジカルによる各要素の変化量

PAR 区の値を基準(100%)とした時の UV-B 区の変化量、および、露処理時の値を基準とした時のラジカル処理時の変化量を表す。

1 日目、2 日目、4 日目について、UV-B の効果は露処理どうしの比較とラジカル処理どうしの比較、ラジカルの効果は PAR 区どうしの比較と UV-B どうしの比較を行い、それぞれ平±標準誤差で表示している。(n=6)

*は $p < 0.05$ で有意差があることを表す。

UV-B の効果				
	水成分①	アセトン成分	クロロホルム成分	水成分②
全糖量	86.7 ± 16.5	52.6 ± 14.5 *	51.9 ± 8.2 *	98.9 ± 16.6
ウロン酸	92.6 ± 21.0	34.3 ± 18.1 *	69.7 ± 30.6	79.4 ± 9.1
B	171.4 ± 163.1	105.4 ± 62.5	221.6 ± 165.8	63.8 ± 15.0
K	74.8 ± 32.8	28.1 ± 12.1 *	59.9 ± 7.3 *	67.8 ± 20.9
Ca	90.5 ± 11.8	57.3 ± 8.7 *	75.5 ± 6.0 *	67.5 ± 15.7
Mg	100.6 ± 18.9	33.1 ± 10.0 *	66.4 ± 8.8 *	68.0 ± 16.9

ラジカルの効果				
	水成分①	アセトン成分	クロロホルム成分	水成分②
全糖量	95.0 ± 20.7	153.5 ± 35.3	148.7 ± 27.3	131.6 ± 27.5
ウロン酸	108.7 ± 25.0	139.3 ± 46.9	111.8 ± 27.6	121.6 ± 16.9
B	271.2 ± 250.3	212.8 ± 169.9	118.8 ± 49.0	153.3 ± 53.2
K	165.2 ± 82.7	146.3 ± 14.6 *	133.8 ± 22.8	103.6 ± 41.9
Ca	109.1 ± 24.3	122.6 ± 13.7	118.1 ± 11.5	144.3 ± 30.1
Mg	104.7 ± 24.2	126.6 ± 17.3	136.9 ± 27.6	141.1 ± 33.5

表 4.4.8 実験 1 の各要素間の相関係数(r)

	全糖量	B	K	Mg	Ca
全糖量		-0.38	0.71	-0.42	-0.07
B			-0.03	0.24	0.09
K				-0.28	-0.16
Mg					0.99

表 4.4.9 実験 2 の各要素間の相関係数(r)

	全糖量	B	K	Mg	Ca
全糖量		-0.02	-0.23	-0.58	-0.56
B			-0.10	0.25	0.32
K				0.19	0.08
Mg					0.58

表 4.4.10 実験 3 の各要素間の相関係数(r)

	全糖量	B	K	Mg	Ca
全糖量		0.45	0.76	-0.15	0.06
B			0.62	-0.33	0.08
K				-0.06	0.38
Mg					0.84

表 4.4.11 実験 4 の各画分での要素間の相関係数(r)

水画分

	全糖量	B	K	Mg	Ca
全糖量		-0.06	0.05	0.64	0.70
B			0.03	-0.38	-0.35
K				-0.45	-0.38
Mg					0.96

アセトン画分

	全糖量	B	K	Mg	Ca
全糖量		0.23	0.92	0.94	0.47
B			0.01	0.09	-0.05
K				0.96	0.42
Mg					0.59

クロロホルム画分

	全糖量	B	K	Mg	Ca
全糖量		-0.36	-0.14	0.45	0.43
B			-0.14	-0.18	-0.22
K				0.06	0.11
Mg					1.00

表 4.4.12 実験 5 の各画分での要素間の相関係数(r)

水画分①

	全糖量	B	K	Mg	Ca
全糖量		0.04	0.27	0.44	0.37
B			-0.22	-0.28	-0.11
K				0.83	0.88
Mg					0.30

アセトン画分

	全糖量	B	K	Mg	Ca
全糖量		-0.05	0.80	0.92	0.76
B			0.11	0.14	0.33
K				0.93	0.77
Mg					0.86

クロロホルム画分

	全糖量	B	K	Mg	Ca
全糖量		-0.11	0.68	0.79	0.78
B			-0.34	-0.27	-0.37
K				0.86	0.78
Mg					0.91

水画分②

	全糖量	B	K	Mg	Ca
全糖量		0.33	0.36	0.55	0.50
B			0.82	0.83	0.67
K				0.90	0.74
Mg					0.93

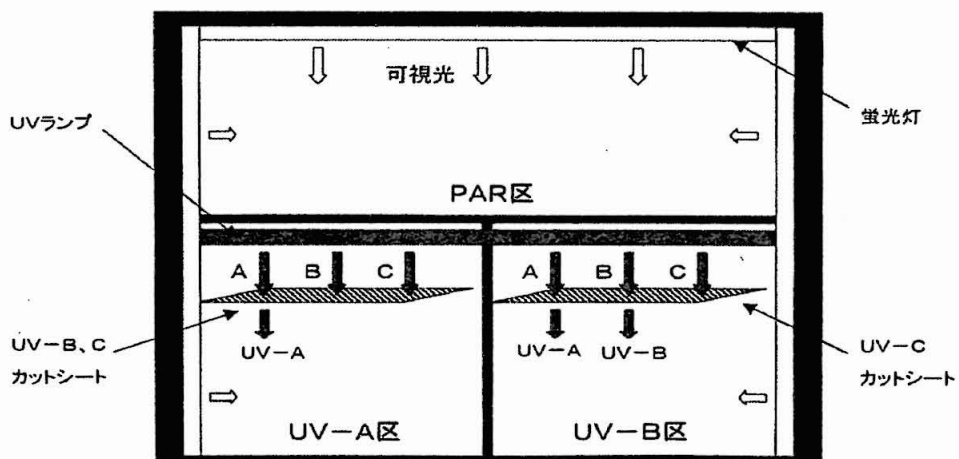


図 4.4.1 バイオトロンの模式図

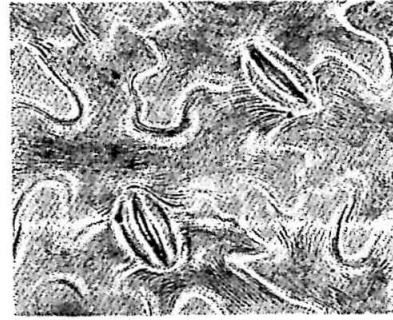


図 4.4.2 ソラマメの気孔（上が開いている気孔、下が閉じている気孔）

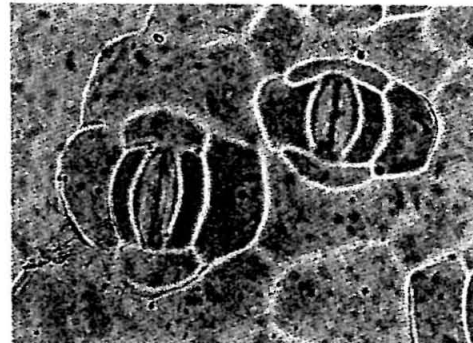


図 4.4.3 ツユクサの気孔(上が開いている気孔、下が閉じている気孔)

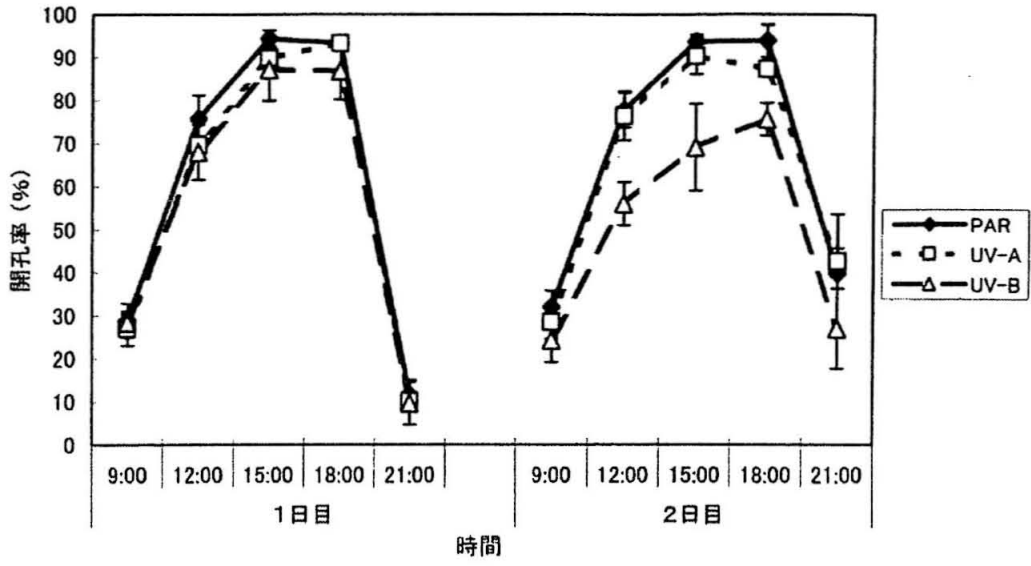


図 4.4.4 実験 1 での開孔率変化

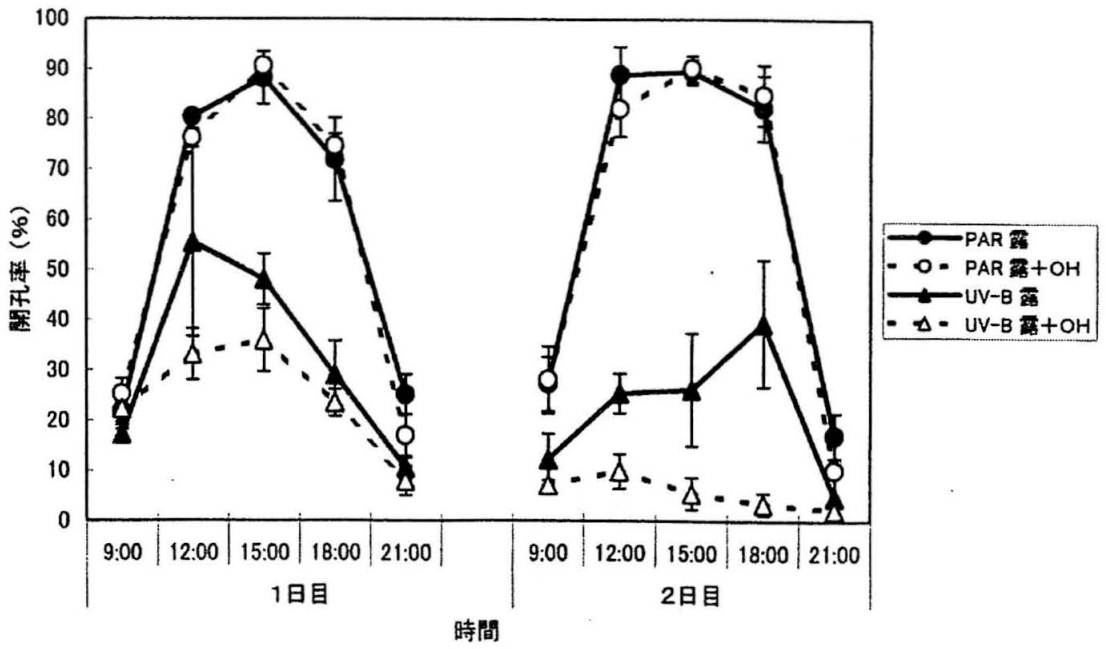


図 4.4.5 実験 2 での開孔率変化

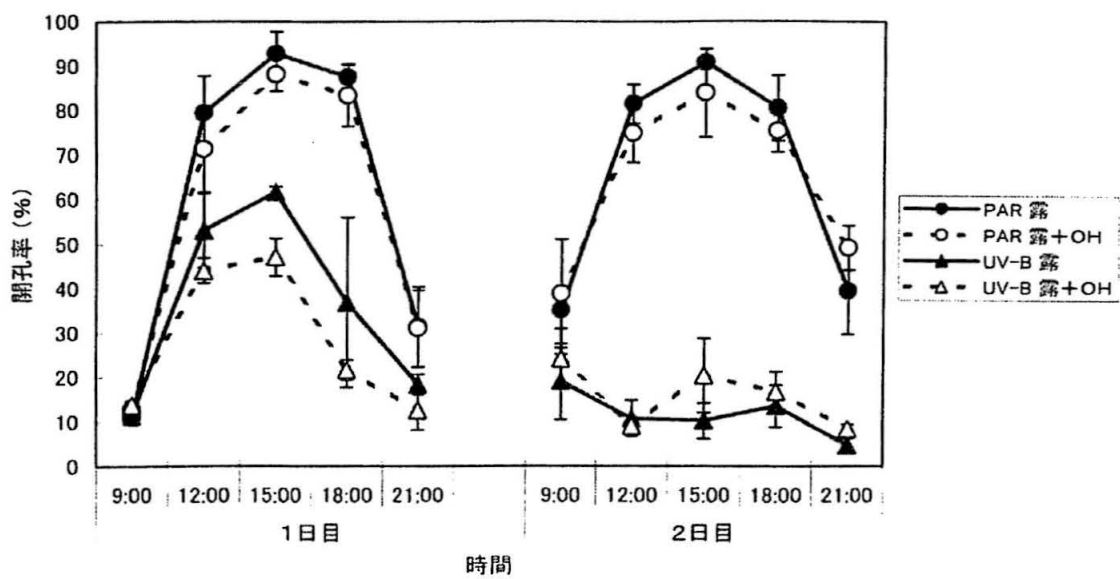


図 4.4.6 実験 3 での開孔率変化

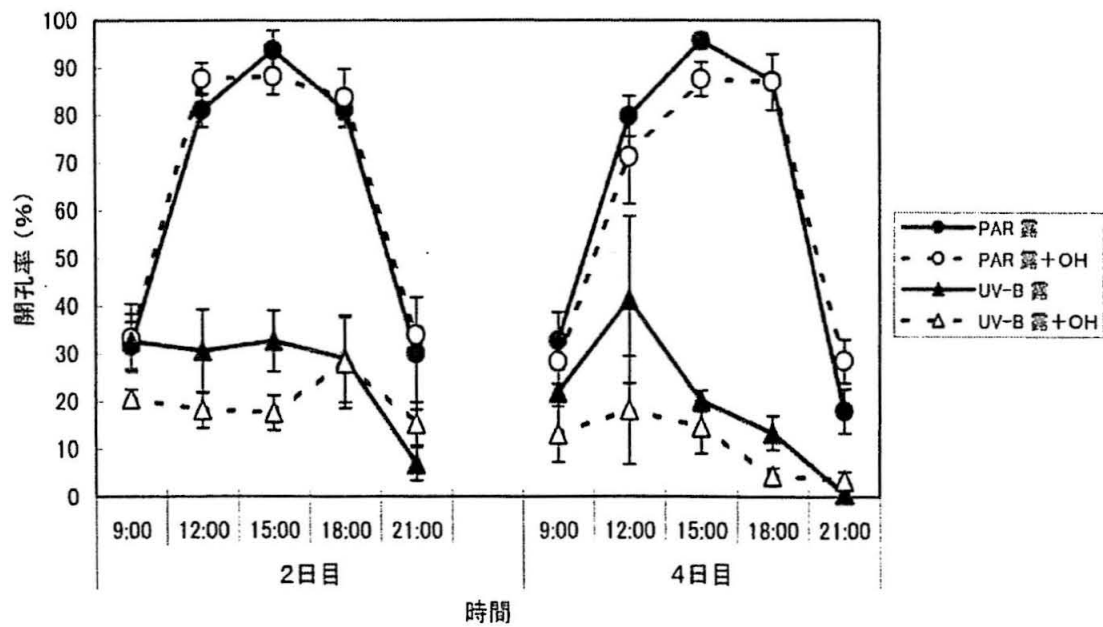


図 4.4.7 実験 4 での開孔率変化

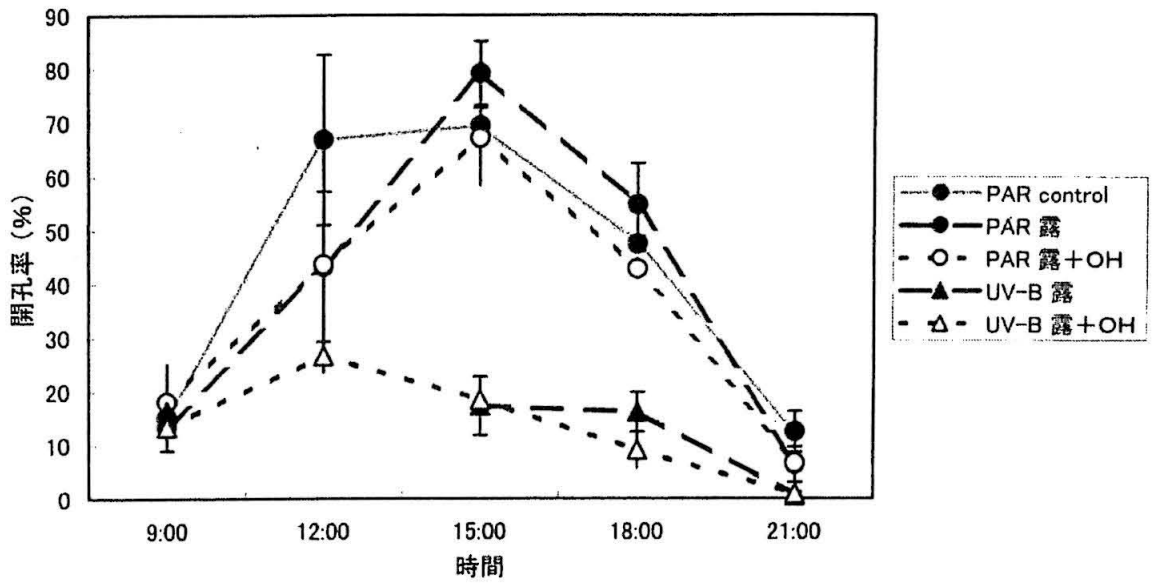


図 4.4.8 ツユクサを用いた噴霧実験での開孔率変化

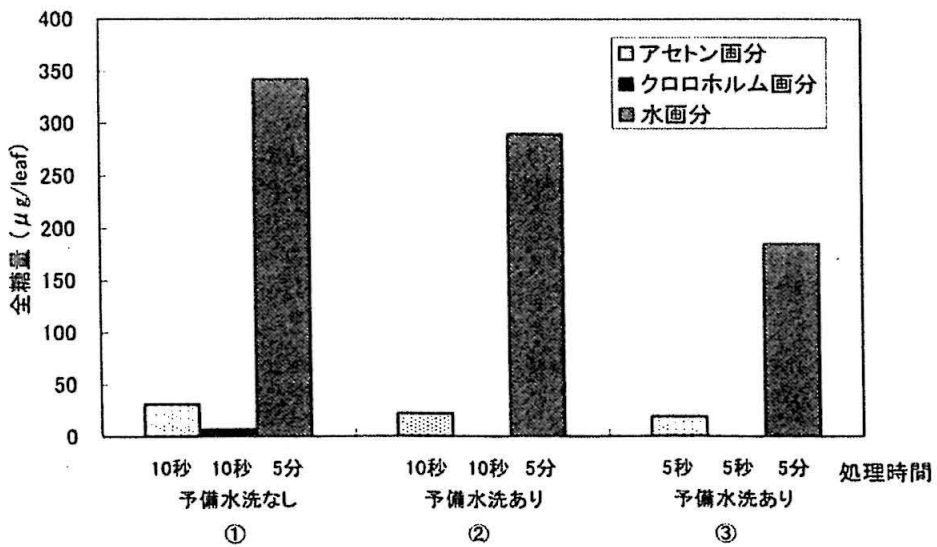


図 4.4.9 アサガオを用いた予備実験

クチクラ除去のための前処理方法の違いによる各画分の全糖量の違い

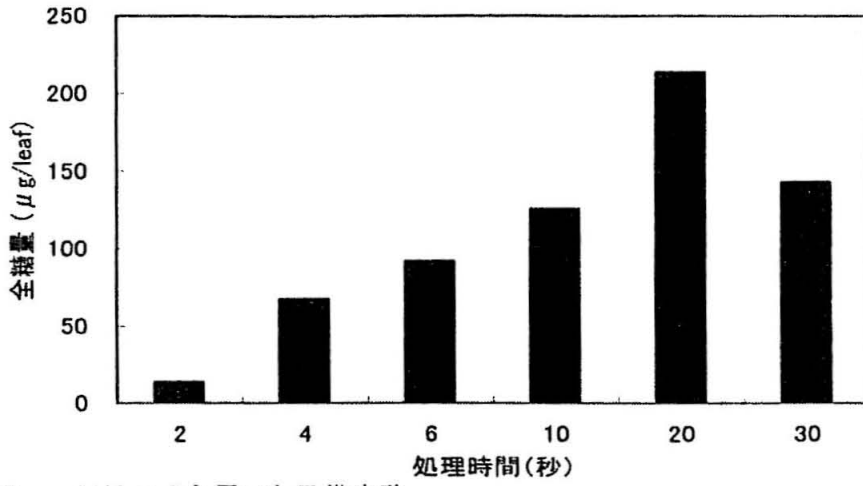


図 4.4.10 ソラマメを用いた予備実験
異なる洗浄時間でのアセトン画分の全糖量

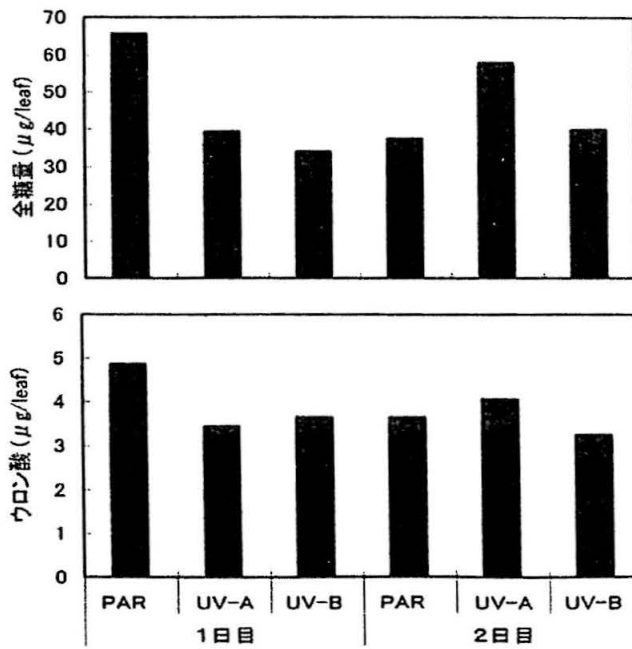


図 4.4.11 実験 1 での各処理区の水画分中の全糖量、ウロン酸量

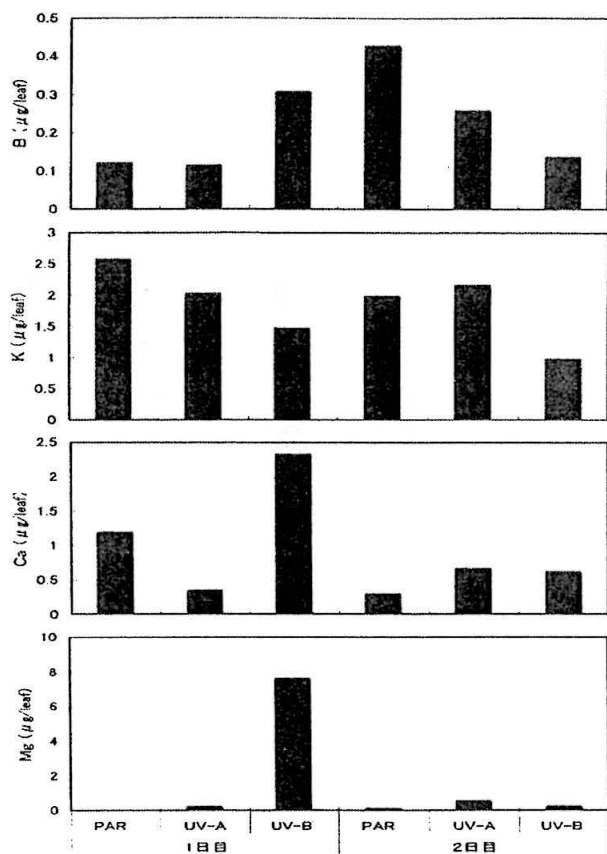


図 4.4.12 実験 1 での各処理区の水画分中のイオン溶脱量(上から B, K, Ca, Mg)

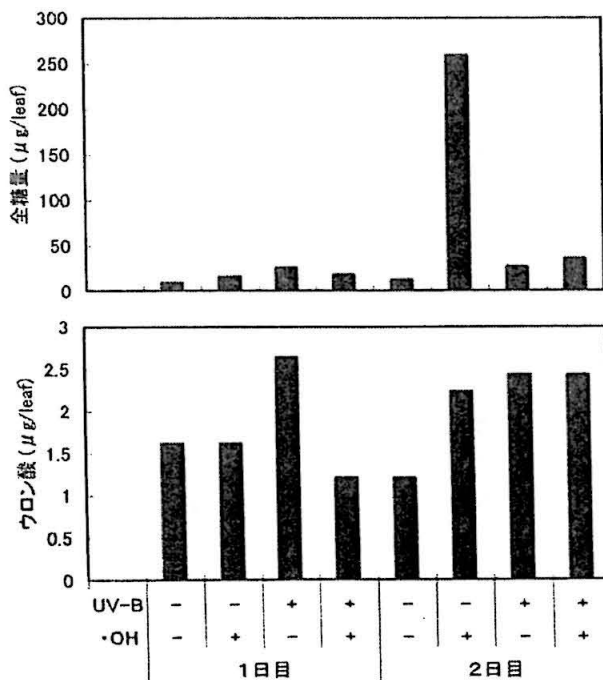


図 4.4.13 実験 2 での各処理区の水画分中の全糖量、ウロン酸量
横軸の-は処理なし、+は処理ありを示す。

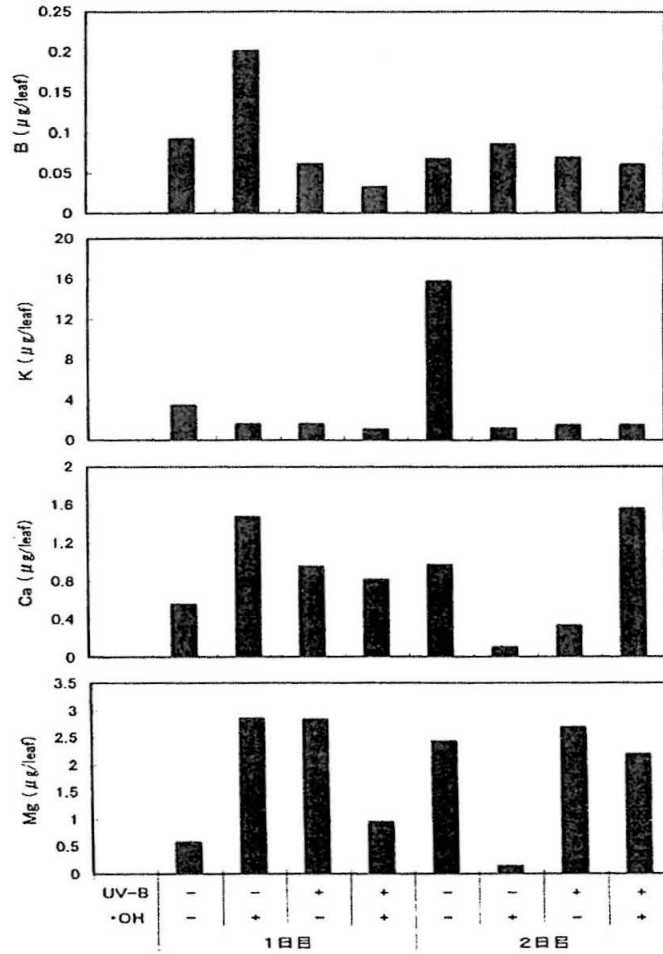


図 4.4.14 実験 2 での各処理区の水画分中のイオン溶脱量(上から B, K, Ca, Mg)
横軸の-は処理なし、+は処理ありを示す。

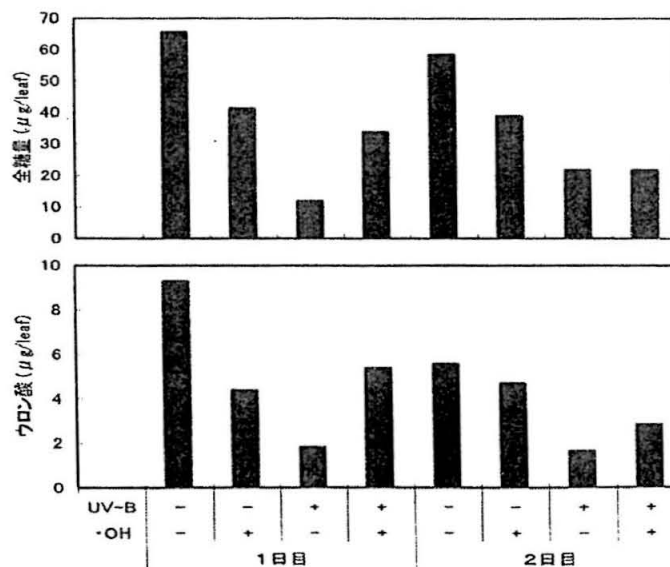


図 4.4.15 実験 3 での各処理区の水画分中の全糖量、ウロン酸量
横軸の-は処理なし、+は処理ありを示す。

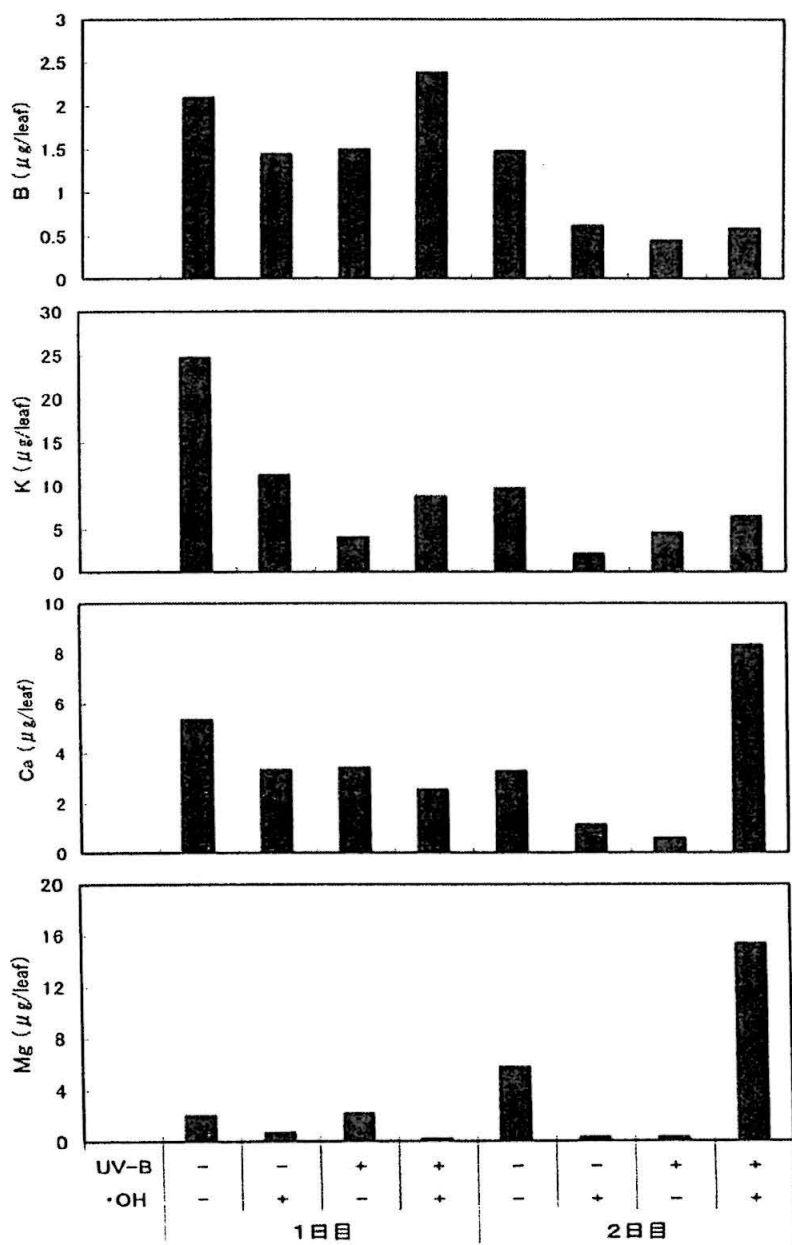


図 4.4.16 実験 3 での各処理区の水画分中のイオン溶脱量(上から B, K, Ca, Mg)
 横軸の-は処理なし、+は処理ありを示す。

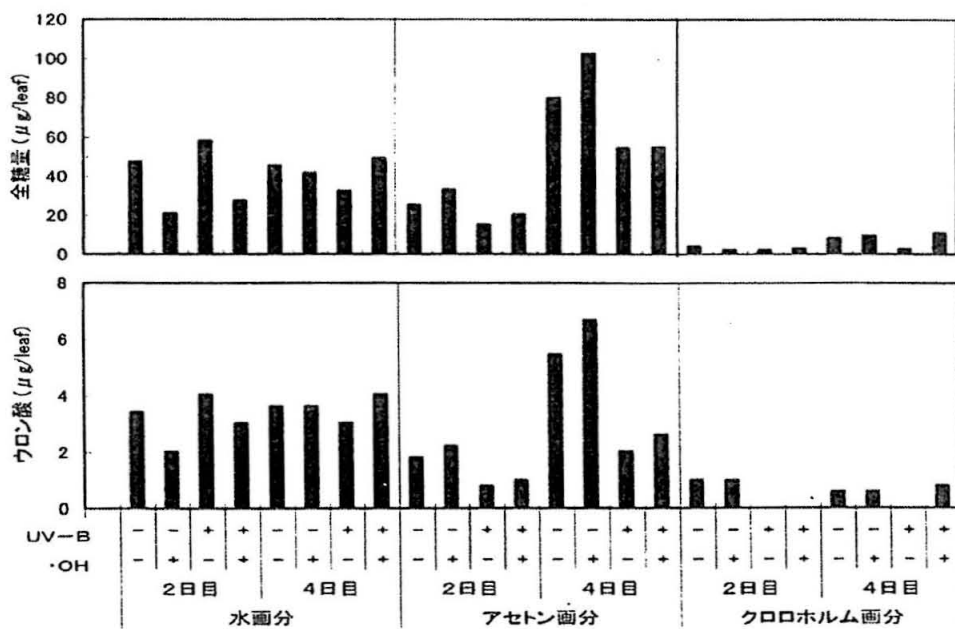


図 4.4.17 実験 4 での各処理区の水画分、アセトン画分、クロロホルム画分中の全糖量、ウロン酸量 横軸の-は処理なし、+は処理ありを示す。

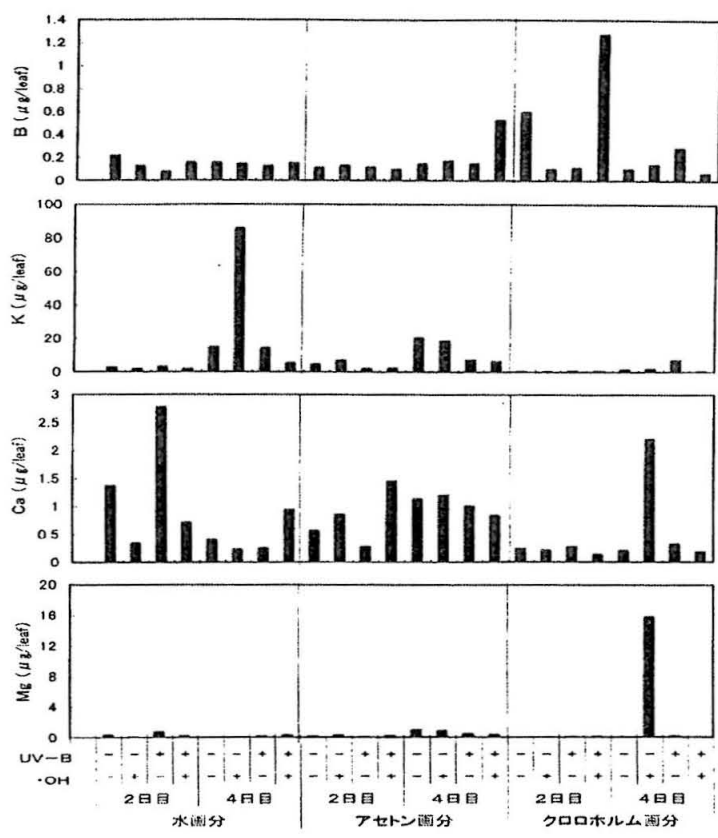


図 4.4.18 実験 4 での各処理区の水画分、アセトン画分、クロロホルム画分中のイオン溶脱量 (上から B, K, Ca, Mg) 横軸の-は処理なし、+は処理ありを示す。

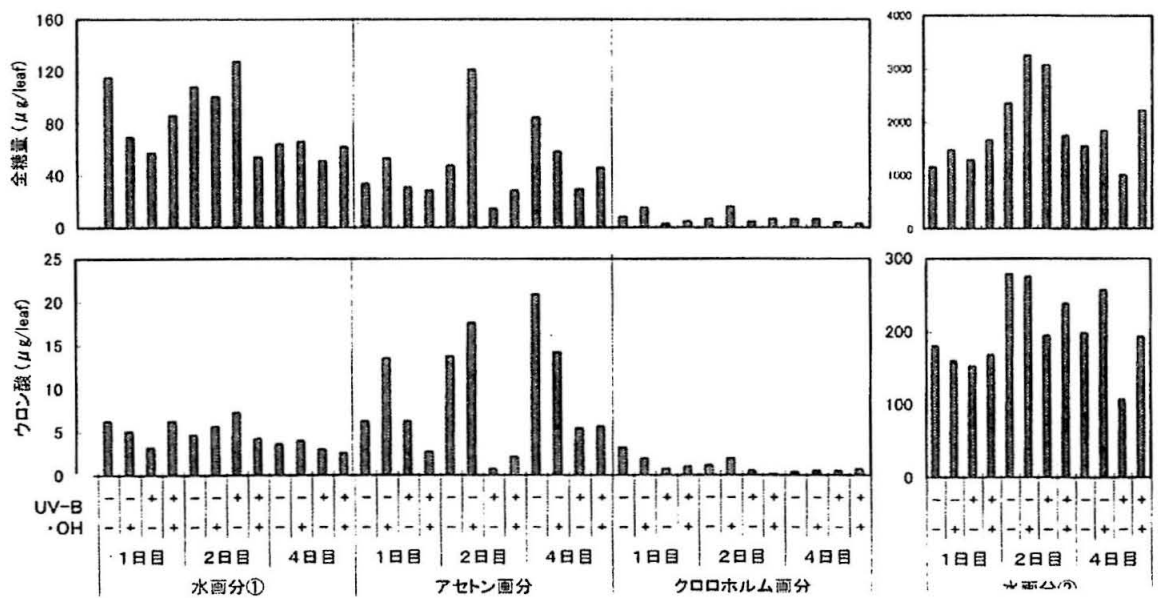


図 4.4.19 実験 5 での各処理区の水画分①、アセトン画分、クロロホルム画分、水画分②中の全糖量、ウロン酸量 横軸の-は処理なし、+は処理ありを示す。

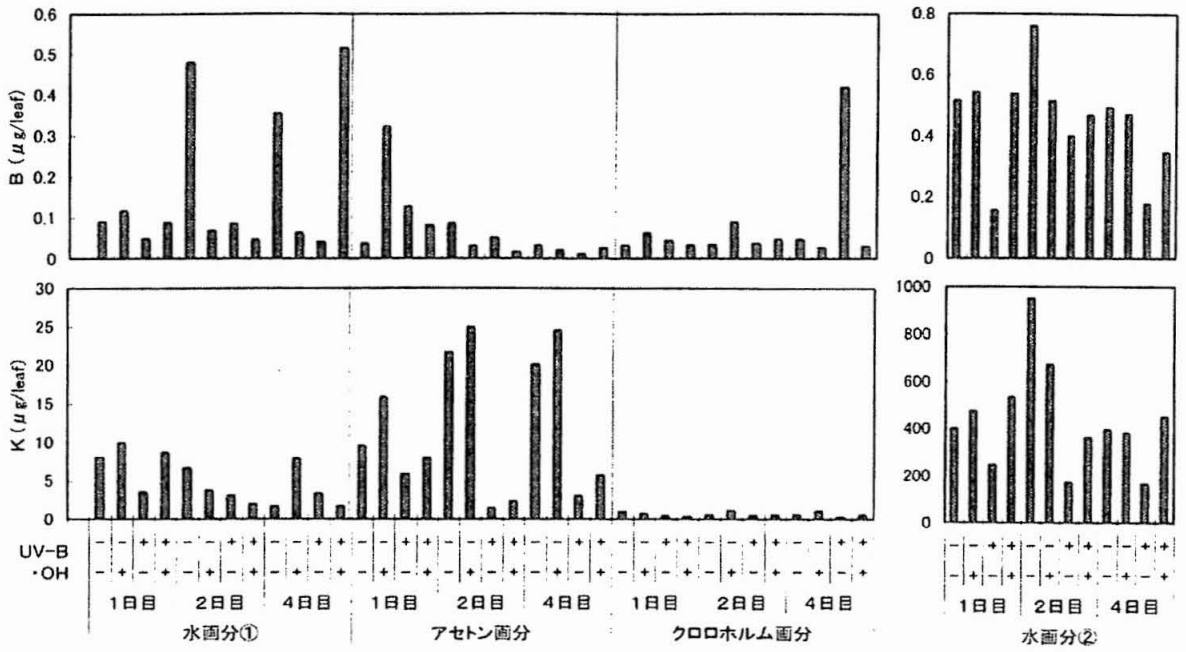


図 4.4.20 実験 5 での各処理区の水画分①、アセトン画分、クロロホルム画分、水画分②中の B, K の溶脱量
横軸の-は処理なし、+は処理ありを示す。

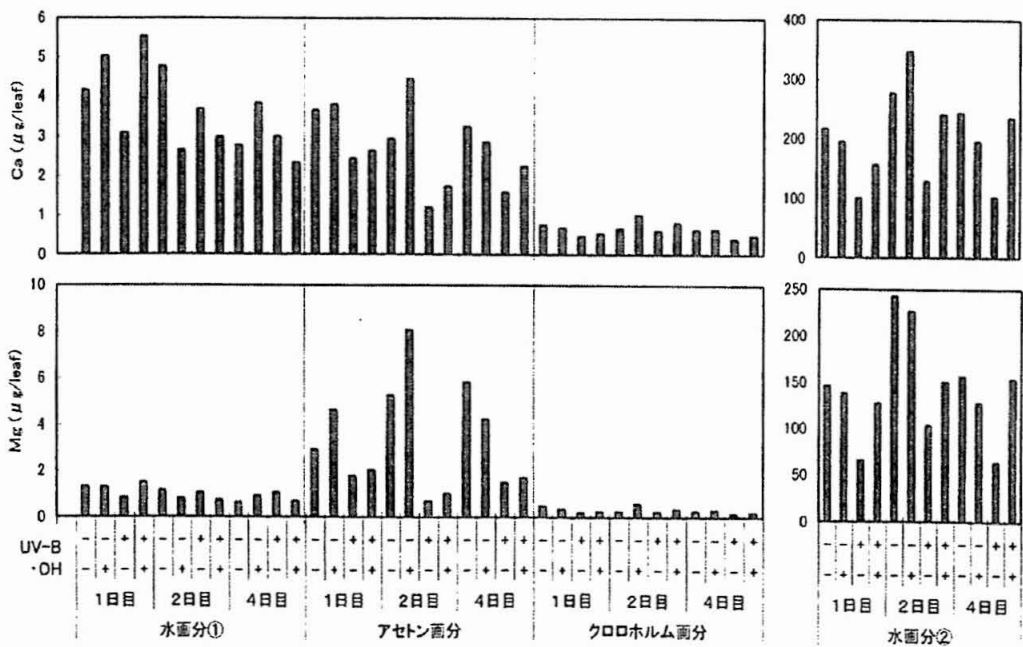


図 4.4.21 実験 5 での各処理区の水画分①、アセトン画分、クロロホルム画分、水画分②中の Ca, Mg の溶脱量
横軸の-は処理なし、+は処理ありを示す。

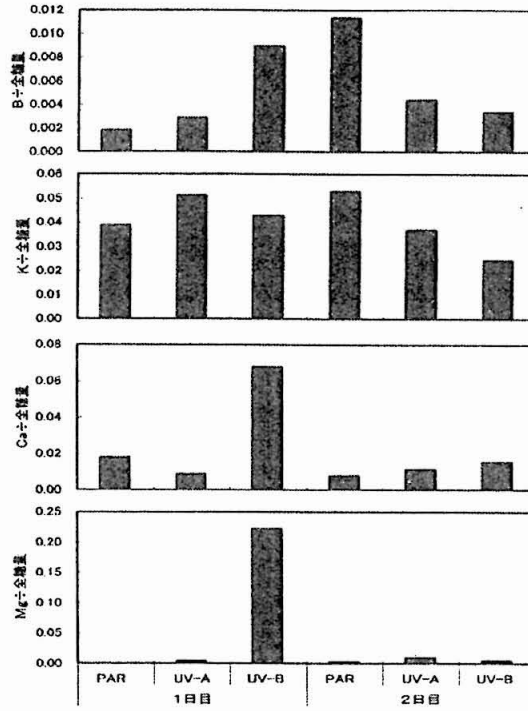


図 4.4.22 実験 1 のイオンと全糖量の比

(上から、B ÷ 全糖量、K ÷ 全糖量、Ca ÷ 全糖量、Mg ÷ 全糖量)

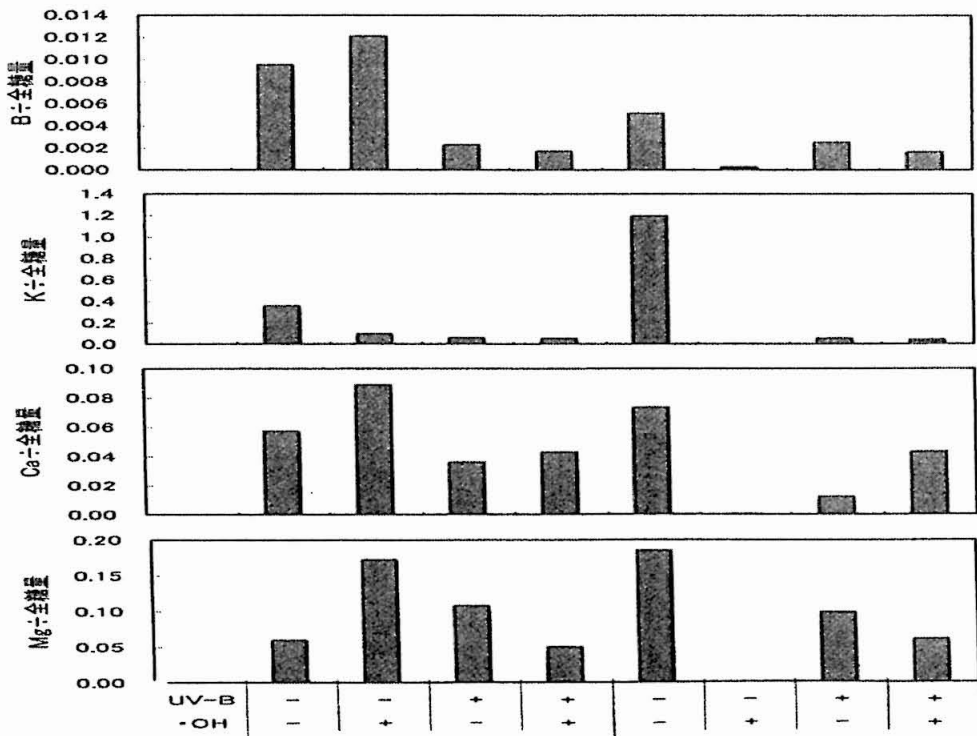


図 4.4.23 実験 2 のイオンと全糖量の比

(上から、B ÷ 全糖量、K ÷ 全糖量、Ca ÷ 全糖量、Mg ÷ 全糖量)

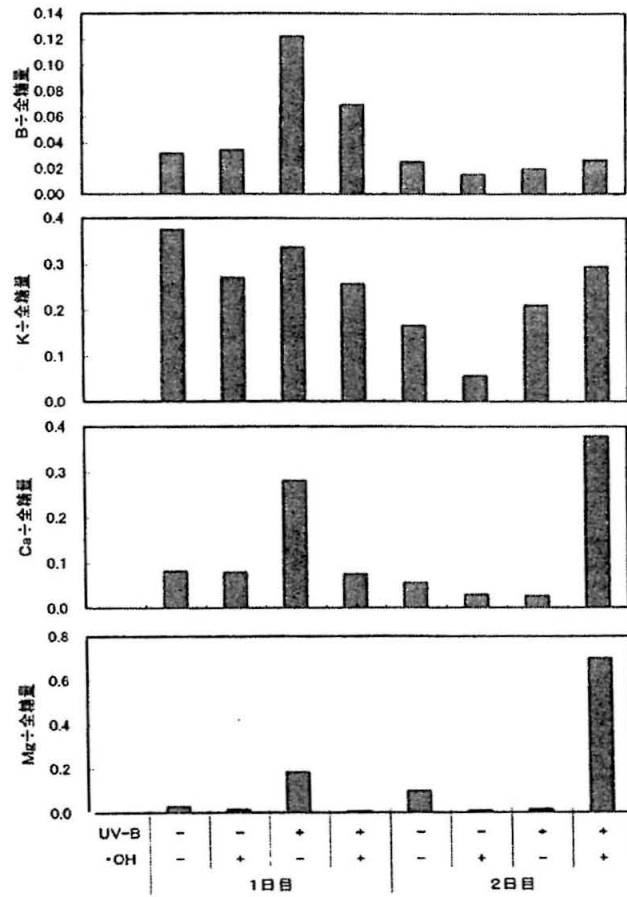


図 4.4.24 実験3のイオンと全糖量の比

(上から、B ÷ 全糖量、K ÷ 全糖量、Ca ÷ 全糖量、Mg ÷ 全糖量)

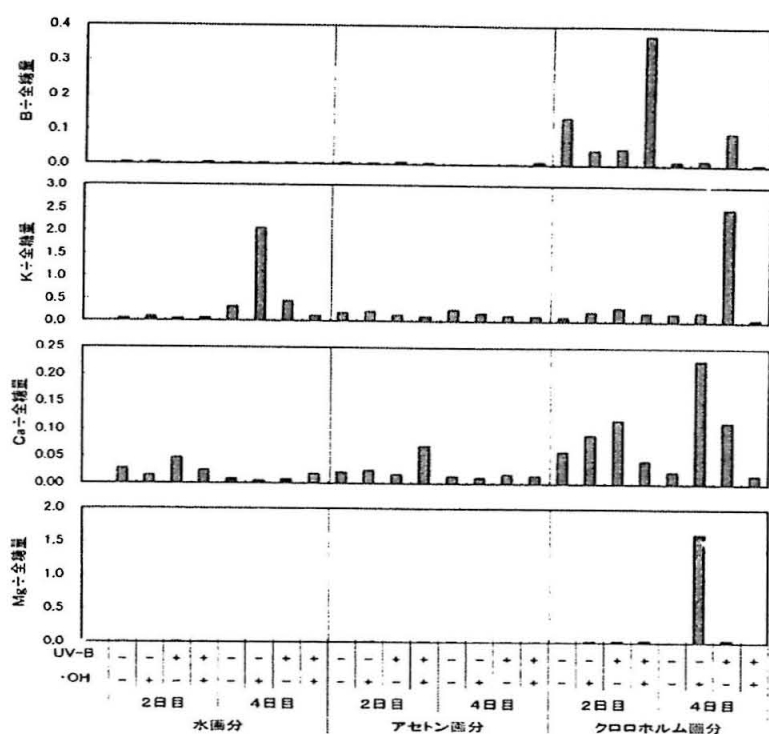


図 4.4.25 実験 4 のイオンと全糖量の比

(上から、B ÷ 全糖量、K ÷ 全糖量、Ca ÷ 全糖量、Mg ÷ 全糖量)

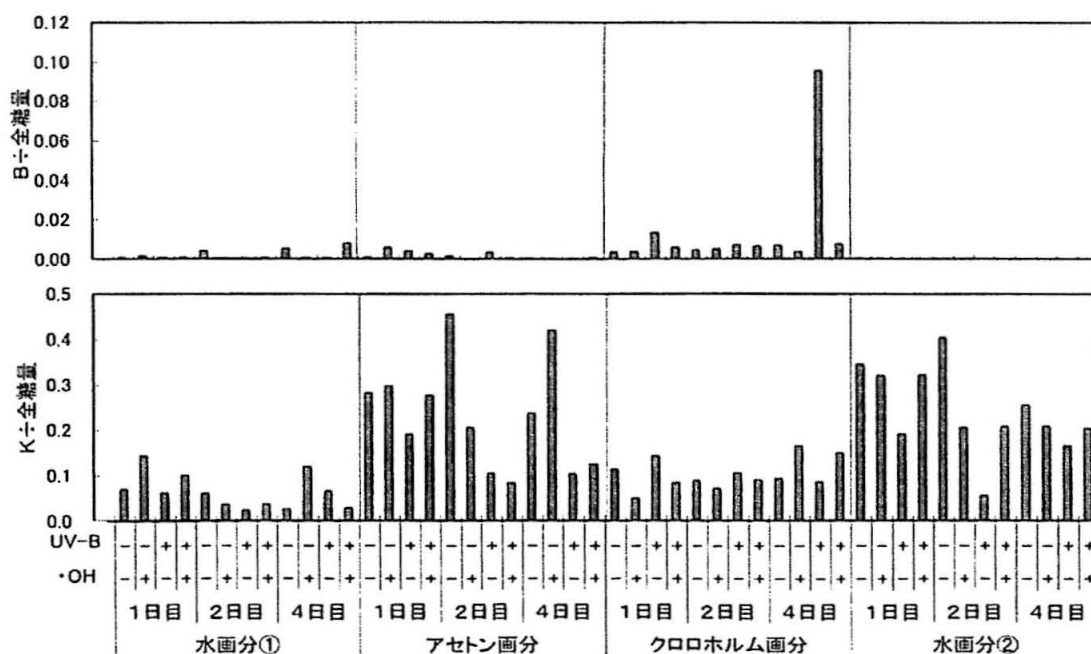


図 4.4.26 実験 5 のイオンと全糖量の比

(上が B ÷ 全糖量、下が K ÷ 全糖量)

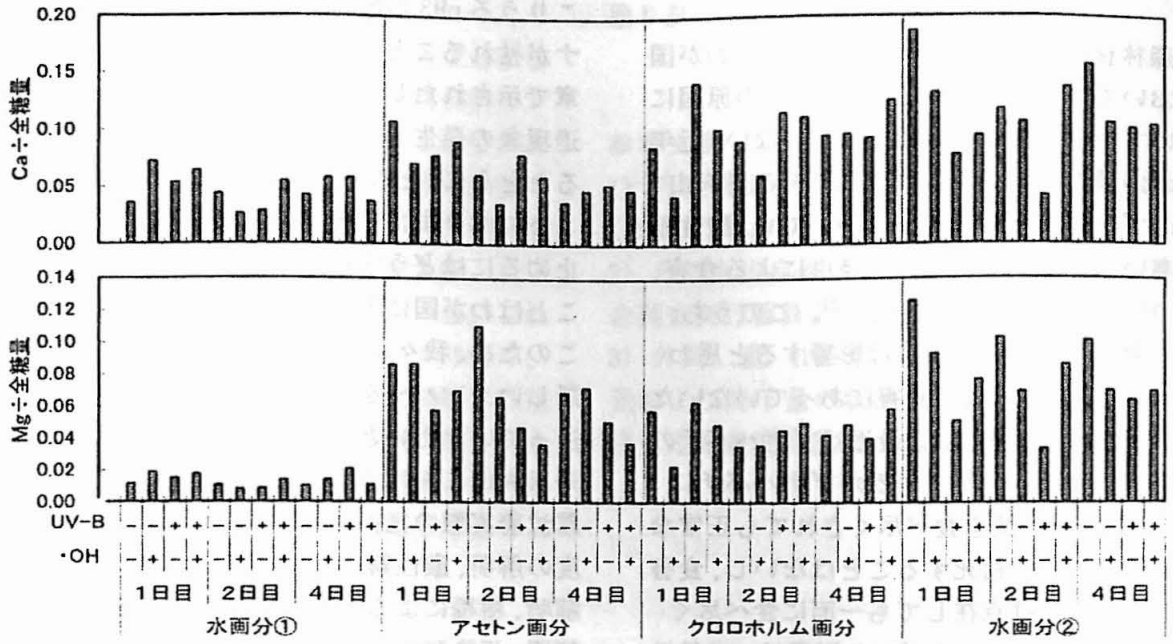


図 4.4.27 実験 5 のイオンと全糖量の比

(上がCa ÷ 全糖量、下がMg ÷ 全糖量)

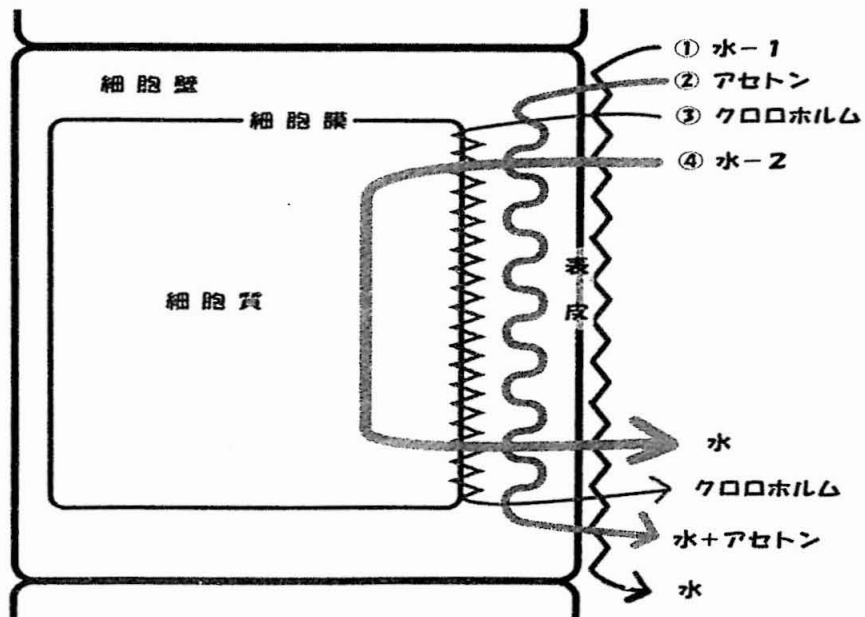


図 4.4.28 クチクラ除去処理による影響の想像図