

C-4 酸性・酸化性物質に係る陸域生態系の衰退現象の定量的解析に関する研究

(3) 衰退地域の植物の生理生態学的特性と環境要因の複合影響評価

独立行政法人国立環境研究所

国際室

清水 英幸・馮 延文 (EFF)

生物圏環境部

戸部 和夫

[客員研究員] (財)電力中央研究所

河野 吉久

東京農工大学農学部

伊豆田 猛

平成 11 ~ 13 年度合計予算額 27,699 千円

(うち、平成 13 年度予算額 8,945 千円)

[要旨] ①前白根山稜線の北西斜面を非衰退地、南東斜面を衰退地として、ダケカンバの生理生態学的特性を調査し、以下のことを明らかにした。非衰退地に比べて衰退地のダケカンバでは、葉のクロロフィル濃度、可溶性タンパク質(TSP)濃度および RuBP カルボキシラーゼ/オキシゲナーゼ(Rubisco)濃度の低下時期と葉の黄化や落葉の開始時期が早く、葉の老化時期が早かった。非衰退地に比べて衰退地のダケカンバの当年シュート(枝・葉・芽)の生長量やその数は少なく、両調査地での生長量の差には、葉の光合成能力よりも、シュートあたりの葉面積の違いが寄与したと考えられた。また、当年シュートの窒素吸収量が少なかったことが関与している可能性が考えられた。葉中の K、Ca、Mg 等の栄養塩類濃度や重金属である Mn 濃度などの比較から、これらがダケカンバの衰退に関与しているとは思われなかった。両調査地で計測された環境要因との比較から、水分環境やオゾン濃度がダケカンバの当年枝の生長や老化の促進に影響した可能性が考えられた。②また、白根山周辺におけるシラビソの非衰退木と衰退木の比較から、シラビソ衰退木では葉のクロロフィル濃度が低く、針葉の光合成における光利用効率の低下が示唆された。非衰退木と比べシラビソ衰退木の針葉における Rubisco 濃度等に有意差は認められなかったが、K 濃度は有意に低く、低 pH の酸性霧による植物体内からのカチオンなどの溶脱の可能性が示唆された。③ダケカンバ、シラビソ、オオシラビソに及ぼすオゾンと水ストレスの影響を、環境制御室を用いて実験的に検討した結果、ダケカンバやシラビソでは、オゾンや水ストレスの有意な個体乾重への影響が認められたが、オオシラビソでは有意差が認められなかった。オゾンはダケカンバの光合成速度や蒸散速度を抑制し、NAR の低下を引き起こしており、これが生長抑制につながったと推察された。水ストレスもダケカンバの光合成速度や蒸散速度を抑制したが、NAR だけでなく LAR も低下させていた。これらの植物の乾重生長へのオゾンと水ストレスの複合影響は認められなかったが、ダケカンバの蒸散速度に対しては、オゾンと水ストレスとの間で相殺的な複合影響が認められた。以上より、ダケカンバやシラビソの衰退には、オゾンや水ストレスが影響している可能性が実験的に示された。④今後、詳細な長期暴露実験や現地での長期的な環境計測や植生調査によって、奥日光などで観察されるこれらの植物の衰退原因が解明されることが期待される。

[キーワード] オゾン、シラビソ、生理生態学的特性、ダケカンバ、水ストレス

1. はじめに

森林衰退は現在世界規模で観察される深刻な環境問題の一つである。森林衰退の原因は十分には解明されておらず、地域によっていくつかの衰退原因が推測・提唱されている。森林更新過程説、自然災害説の他、乾燥・水ストレスや大気汚染物質も主要な原因として指摘されている。なお、大気汚染が森林衰退の主原因であるとする考え方の中にもいくつかの仮説があり、代表的なものとして、酸性雨による土壌酸性化説、アルミニウム汚染説、マグネシウム欠乏説、窒素過剰供給説、オゾン説、これらのストレス複合説などがある (Smith 1990)¹⁾。

近年、我が国でも、関東地方のスギ (高橋ら 1987)²⁾、神奈川県丹沢山地におけるモミやブナ (井川 1992、丸田ら 1999)^{3,4)}、栃木県奥日光におけるダケカンバ、シラビソ、オオシラビソ (谷本ら 1996)⁵⁾ など、各地で樹木枯損や森林衰退が顕在化している。森林衰退の現状把握には背景となる環境要因を考慮する必要があり、各衰退地域の環境汚染状況や樹木生育状況などに関する総合的な現地調査が必要である。現在、我が国の森林衰退地域における原因究明調査は限られており、これまで、関東地方のスギ衰退には水ストレス (松本 1993)⁶⁾ や光化学オキシダント (小川 1992)⁷⁾ が、丹沢山地のモミ衰退には酸性霧 (井川 1992)⁸⁾ やオキシダント (神奈川県 1994)⁹⁾ が、同山地のブナ衰退にはオゾンと大気の乾燥化 (丸田ら 1999)⁴⁾ が関与している可能性が指摘されている。

栃木県奥日光地域において顕在化している、ダケカンバ、シラビソ、オオシラビソなどの森林衰退に関して、白根山周辺では、1983年の春にダケカンバ (*Betula ermanii* Cham.) の一斉枯死が観察されており (長谷川 1993)⁹⁾、現在、前白根山から南西方向に伸びる稜線の南東斜面において、帯状に広範囲にわたってダケカンバの衰退が顕在化している。一方、稜線の北西斜面ではダケカンバの衰退は認められず、斜面方位によって衰退度が著しく異なる。しかしながら、前白根山周辺におけるダケカンバ林衰退をはじめ、本地域の森林衰退の原因解明に関しては、現地での詳細な植生および環境調査が行われていないため、ほとんど明らかにされていない。

一方、これまでの様々な実験的研究から、樹木によっては、オゾンをはじめとするいくつかの環境要因に対して感受性が高く、その影響を受けやすい種があることが知られている^{10,11)}。しかし、奥日光地域で森林衰退が認められるダケカンバ、シラビソ、オオシラビソなどの樹木種に関しては、詳細な実験的検討が行われておらず、オゾン等の環境要因の影響を受け易いか否か等、何も明らかにされていない。

2. 研究目的

そこで、本研究では、前白根山頂上付近のダケカンバ林において、稜線の北西斜面でダケカンバの衰退があまり認められない地域を非衰退地とし、稜線の南東斜面のダケカンバの衰退が顕著である地域を衰退地として、両調査地におけるダケカンバの枝葉の生長や葉内成分の変化等の生理生態学的特性を比較検討し、衰退原因について考察する。なお、本調査と連携して実施した衰退度調査および環境要因計測については、サブテーマ7に別記する。また、白根山周辺におけるシラビソの非衰退木と衰退木の葉内成分などを測定し、シラビソの衰退原因についても考察する。さらに、精巧な環境制御室を用いて、オゾンと水ストレスを組み合わせ、ダケカンバやシラビソ、オオシラビソの実生・苗木に実験的に処理し、その生長や生理活性に及ぼすこれら環境要因の単独および複合影響について実験的解析を行い、奥日光地域でみられる樹木の衰退原因について考察する。

3. 前白根山周辺におけるダケカンバの生理生態学的特性に関する調査・解析

(1) 材料と方法

本調査に関しては、前白根山直下の稜線上の標高 2320m 付近のダケカンバ林を主たる対象として、稜線の北西斜面でダケカンバの衰退があまり認められない地域を非衰退地とし、稜線の南東斜面のダケカンバの衰退が顕著である地域を衰退地として、下記のような項目を実施した。

①フェノロジーの観察

2000年6月5日から10月23日および2001年6月9日から10月28日までの期間において、ダケカンバの非衰退地と衰退地においてフェノロジー観察を目視で行った。

②植物体のサンプリング

ダケカンバの非衰退地と衰退地において、衰退度を代表する樹木を4～10個体ずつ測定木としてあらかじめ選定し、樹冠の上部に位置する光環境の良好な葉が付いている枝を先端から約20cmの長さで採取した。採取した枝葉は、乾燥を防ぐため、枝の切り口を蒸留水を含ませた吸湿性紙(キムワイプ)で包み、ポリエチレン袋に入れて密封し、クーラーボックスに入れて研究室に持ち帰った。また、落葉時期には測定木の根元周辺の地面に落ちた葉を、無作為に約10枚ずつ採取した。

③当年枝の形態の測定

2001年7月14日、27日、8月19日、9月5日、23日、29日、10月16日、28日に、ダケカンバの当年枝の形態測定を行った。非衰退地と衰退地から採取した枝葉から、各個体あたり2～4本の当年枝(2001年に伸長生長をした枝)を採取した。採取した当年枝の生重、長さおよび直径を測定した後、60℃で1週間にわたって熱風乾燥し、乾重を測定した。

④芽の形態の測定

2001年5月25日、6月9日、19日、23日に、2000年に形成されたダケカンバの芽の乾重を測定した。また、2001年7月14日、27日、8月19日、9月5日、23日、10月16日、28日に、2001年に形成されたダケカンバの芽の乾重を測定した。非衰退地と衰退地から採取した枝葉から、2000年に形成された芽は前年枝から採取し、2001年に形成された芽は当年枝から採取した。採取した芽の生重を測定した後、60℃で1週間にわたって熱風乾燥し、乾重を測定した。

⑤葉の形態の測定

非衰退地と衰退地から採取した枝葉から、各個体あたり約10枚の葉を無作為に採取した。採取した葉の生重を測定し、面積計(AAM-8, 林電工)で葉面積を測定した後、60℃で1週間にわたって熱風乾燥し、乾重を測定した。

⑥RGR、NARおよびLAR

各サンプリング時の当年シュートあたりの乾重と葉面積の測定結果に基づいて、2001年6月23日から7月14日までの期間における当年シュート(当年枝、葉、葉柄および芽)あたりの乾物生長の相対生長率(RGR)、純同化率(NAR)、葉面積比(LAR)を算出した(Hunt 1978)¹²⁾。

⑦葉のクロロフィル、全可溶性タンパク質およびRubisco濃度の測定

2000年(7月24日、8月12日、25日、9月8日、23日)と2001年(7月14日、27日、8月19日、9月5日、23日)において、非衰退地と衰退地から採取したダケカンバ葉のクロロフィル濃度、全可溶性タンパク質濃度およびRuBPカルボキシラーゼ/オキシゲナーゼ(Rubisco)濃度を測定した。

現地から持ち帰った枝葉から完全展開葉を選び、生重で 100mg の葉を液体窒素で瞬間冷凍し、測定時まで -30 °C に設定したフリーザーに保存した。冷凍試料に液体窒素と少量の石英砂を加えて乳鉢で摩砕し、それにバッファ 1.0ml を加えて、抽出を行った。抽出バッファの組成は、100mM HEPES (pH7.5, 25 °C)、5mM EDTA、0.7% polyethylene glycol 20000 (w/v)、2% polyvinylpyrrolidone (PVPP, insoluble (w/v))、1mM PMSF、0.2% β -mercaptoethanol (v/v) である。クロロフィル濃度の測定にはこの磨砕液を試料液とした。その後、磨砕液をマイクロテストチューブに移し、冷却遠心 (9000g \times 30sec.) 後の上澄液を全可溶性タンパク質および Rubisco 濃度の測定試料液とした。

クロロフィル濃度の測定は、Arnon (1949)¹³⁾ の方法を用いた。磨砕液 100 μ l と 80% アセトン溶液 900 μ l を混合・攪拌し、30 分間冷暗所で静置した後、冷却遠心 (12000rpm \times 5min.) を行った。上澄液の 647nm と 664nm における吸光度を分光光度計 (UV-1200, 島津製作所) で測定し、試料液中のクロロフィル濃度を算出した。

全可溶性タンパク質濃度は、タンパク質分析キット (Bio-Rad Protein Assay Kits, Bio-Rad) を用いて測定した。発色液 3ml に、試料液と純水の合計 20 μ l を加えて、5 分以上静置した後、595nm における吸光度を分光光度計で測定した。既知濃度の牛血清アルブミン (BSA) 溶液を用いて同様の測定を行い、595nm における吸光度とタンパク質濃度の検量線を作成し、試料溶液中の全可溶性タンパク質濃度を算出した。

Rubisco 濃度は、試料液を SDS-PAGE にかけて、試料液中のタンパク質を分子量ごとに画分し (Laemmli 1970)¹⁴⁾、泳動ゲル上の Rubisco のバンドをデンストグラフで読み取ることで測定した。試料液を抽出バッファで 2 倍に希釈し、等量のサンプルバッファを加えて攪拌した後、95 °C で 5 分間加熱し、試料中のタンパク質を SDS 化させた。なお、サンプルバッファの組成は、0.1M Tris-HCl (pH 6.8)、12% β -mercaptoethanol (v/v)、20% glycerol (v/v)、4% sodium dodecylsulfate (SDS, (w/v))、 $<$ 0.01% bromophenol blue (BPB, 液が紺色になるまで 2% 溶液を添加した) となるように調整した。ポリアクリルアミドゲルを作製し、SDS 化させた試料を電気泳動にかけ、coomassie brilliant blue (CBB) で染色し、Rubisco ラージサブユニット (LSU) のバンドをデンストグラフ (AE-6920MF, アトー) で読み取り、バンドの面積を測定した。既知濃度の BSA 溶液を標準タンパク質試料として、ダケカンバの試料液と同様の操作を行い、デンストグラフで得られたバンドの面積とタンパク質量の検量線を作成し、試料中の Rubisco 濃度を算出した。

⑧葉の元素濃度の測定

現地から持ち帰った枝葉から、各個体当たり約 10 枚の葉を無作為に採取し、60 °C で 1 週間にわたって熱風乾燥した後、サンプルミルを用いて粉碎した。この粉碎試料 0.1g に、濃硝酸、濃塩酸および 30% 過酸化水素水を 1ml ずつ順次添加し、加熱して湿式分解を行った。分解液は、ろ過後に 1N 塩酸で 50ml に定容し、試料液とし、カルシウム (Ca)、マグネシウム (Mg)、カリウム (K)、ナトリウム (Na)、マンガン (Mn) およびアルミニウム (Al) 濃度を原子吸光光度計 (AA670/GV-6, 島津製作所) を用いて測定した。また、分析試料中の全炭素 (C) および全窒素 (N) 濃度を CN コーダー (MT-500, Yanako) で測定した。

(2) 結果と考察

①フェノロジー

2000 年および 2001 年における非衰退地と衰退地に生育するダケカンバの葉の観察結果の概略

は以下のものである。2000年においては、ダケカンバの開葉開始日は明確ではなかったが、開葉時期は、両調査地ともに6月5～23日の期間であった。非衰退地におけるダケカンバの葉の黄化は9月8～23日に開始したが、衰退地においては非衰退地に比べて約2週間早い8月25日～9月8日に葉の黄化や落葉が開始した。10月7日の時点で、非衰退地ではほとんどの葉は黄化していたが、落葉は終了していなかったのに対し、衰退地においては、落葉が終了していた。

2001年においては、6月23日が両調査地のダケカンバの開葉開始日であり、10個体中、衰退地では6個体、非衰退地では7個体に開葉が認められた。その後、7月12日には、全個体で開葉が認められた。非衰退地のダケカンバでは9月5～23日に葉の黄化が開始したが、衰退地では8月19日～9月5日には葉の黄化や落葉が開始していた。非衰退地では9月29日の時点でほとんどの葉が黄化していたが、落葉は終了していなかった。これに対して、衰退地では、9月23日には落葉がほぼ終了していた。

②当年枝の形態の季節変化

図1に、1999年、2000年および2001年に伸長したダケカンバの枝の長さを示した。すべての年において、非衰退地に比べて衰退地における枝の長さは有意に短かった。

図2に、2001年6月23日から10月28日までのダケカンバの当年枝の乾重、長さおよび直径の季節変化を示した。当年枝1本あたりの乾重は、非衰退地では2001年6月23日から9月23日にかけて、衰退地では6月23日から9月5日にかけて増加し、両調査地ともそれ以降はほぼ一定の値を示した。非衰退地における乾重は、7月14～27日までの期間に著しく増加したのに対して、衰退地のそれは同時期にほとんど増加しなかった。その結果、非衰退地に比べて衰退地の当年枝1本あたりの乾重は、7月27日～10月16日の期間で有意に低かった(図2-a)。ダケカンバの当年枝の長さは、両調査地ともに6月23日から9月5日にかけて増加し、それ以降は一定の値を示した。非衰退地における長さは、7月14日から7

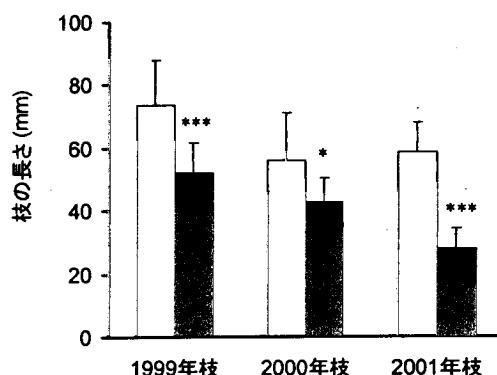


図1. ダケカンバの1999年枝と2000年枝と2001年枝の長さ。各バーは8個体の平均値(±標準偏差)。非衰退地(□)と衰退地(■)との間の有意差(* p<0.05, *** p<0.001)。

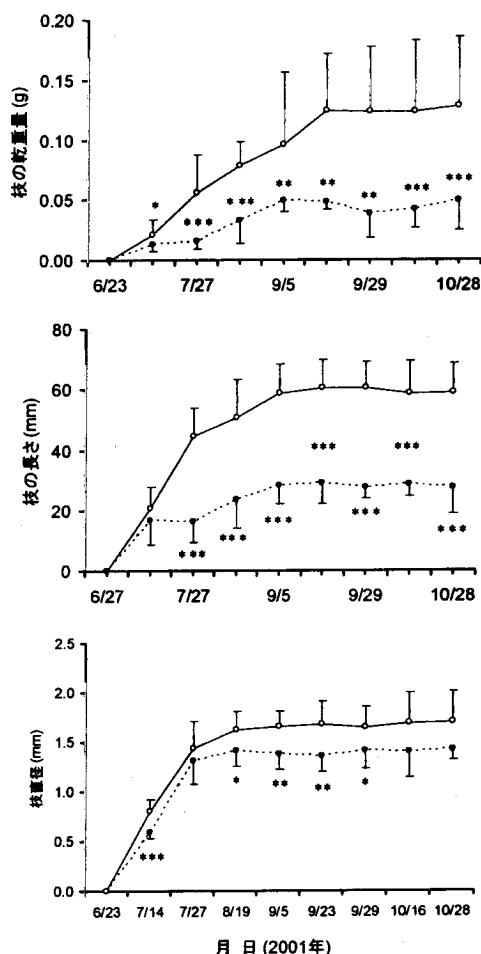


図2. 2001年におけるダケカンバの2001年枝1本あたりの乾重、長さおよび直径の季節変化。図中の各シンボルは、6～8個体の平均値(±標準偏差)。非衰退地(○)と衰退地(●)との間の有意差(* p<0.05, ** p<0.01, *** p<0.001)。

月 27 日までの期間に著しく増加したが、衰退地のそれは同時期にほとんど増加せず、その結果、7 月 27 日から 10 月 16 日の期間において、当年枝の長さは、非衰退地に比べて衰退地で有意に低かった(図 2-b)。ダケカンバの当年枝の直径は、両調査地ともに 6 月 23 日から 8 月 19 日にかけて増加し、それ以降はほぼ一定の値を示した。衰退地における直径は、非衰退地のそれに比べて短い傾向にあり、7 月 14 日、8 月 19 日、9 月 5 日、23 日、29 日において有意に短かった(図 2-c)。

③葉の形態の季節変化

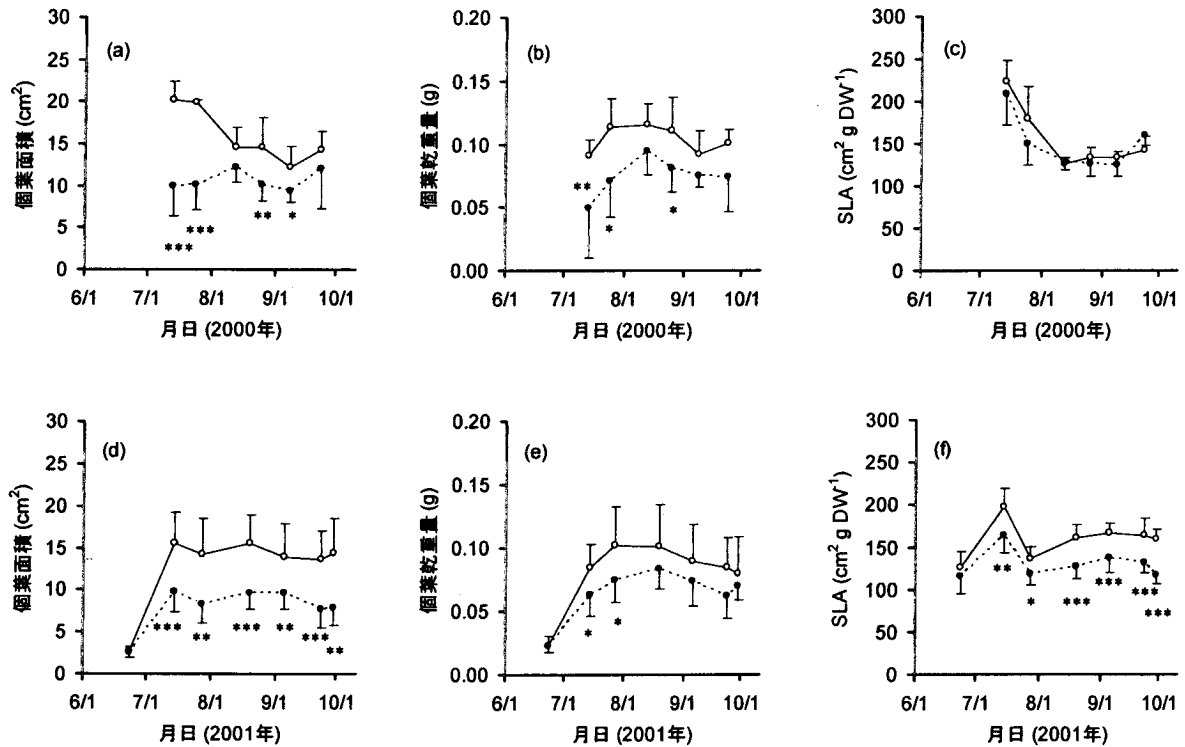


図 3. 2000 年および 2001 年におけるダケカンバの個葉面積、個葉乾重および比葉面積(SLA)の季節変化。図中の各シンボルは、4～8 個体の平均値(±標準偏差)。非衰退地(○)と衰退地(●)との間の有意差(* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$)。

図 3 に、2000 年および 2001 年における非衰退地と衰退地に生育するダケカンバの個葉の形態の測定結果を示した。2000 年の夏期において、非衰退地に比べて衰退地のダケカンバの個葉面積は低い値を示す傾向が認められ、7 月 13 日、24 日、8 月 25 日および 9 月 8 日において有意に低かった(図 3-a)。また、非衰退地に比べて衰退地における個葉乾重は低い値を示す傾向が認められ、7 月 13 日、24 日および 8 月 25 日において有意に低かった(図 3-b)。両調査地で生育しているダケカンバの葉の比葉面積(SLA)は 7 月 13 日から 8 月 12 日にかけて急激に低下し、それ以降はほぼ一定の値を示す傾向があったが、いずれの時期においても両調査地間で有意な差はなかった(図 3-c)。2001 年においては、開葉開始直後のダケカンバの個葉面積には、両調査地間で有意な差は認められなかったが、開葉が完了した 7 月 14 日から 9 月 23 日の期間では非衰退地に比べ衰退地の個葉面積は有意に小さかった(図 3-d)。また、非衰退地に比べ衰退地のダケカンバの個葉乾重は低い値を示す傾向が認められ、7 月 14 日、27 日において有意に低かった(図 3-e)。両調査地で生育しているダケカンバの葉の SLA は 6 月 23 日から 7 月 14 日にかけて急激に上昇し、

7月14日から7月27日にかけて急激に低下した。その後、7月27日から8月19日にかけて緩やかに上昇し、それ以降はほぼ一定の値を示した。開葉開始日の6月23日には、両調査地間のSLAに有意な差は認められなかったが、開葉完了後の7月14日から9月29日の期間において、非衰退地に比べて衰退地のSLAは有意に低かった(図3-f)。

図4に、2001年におけるダケカンバの当年枝1本あたりの着葉数の季節変化を示した。両調査地における当年枝1本あたりの葉数は、6月23日から7月14日にかけて急激に増加した。その後、非衰退地では、落葉の開始が認められた9月23日までほぼ一定の値を示した。一方、衰退地における葉数は、落葉の開始が認められた9月5日以降に減少した。開葉完了後の7月14日から9月29日までの期間において、非衰退地に比べて衰退地における当年枝1本あたりの葉数は有意に少なかった。

④ 生長パラメータ

図5に、2001年6月23日から7月14日の期間におけるダケカンバの当年シュート(当年枝、葉、葉柄および芽)の乾物生長の相対生長率(RGR)、純同化率(NAR)および葉面積比(LAR)を示した。非衰退地に比べて衰退地に生育するダケカンバの6月23日から7月14日までの期間におけるRGRは有意に低かった(図5-a)。両調査地に生育するダケカンバの同期間におけるNARには、有意差はなかったが(図5-b)、一方、非衰退地に比べて衰退地に生育するダケカンバの同期間におけるLARは、有意に低かった(図5-c)。

⑤ 芽の形態の季節変化

図6に、両調査地に生育するダケカンバにおいて2000年に形成された芽(2000年芽)お

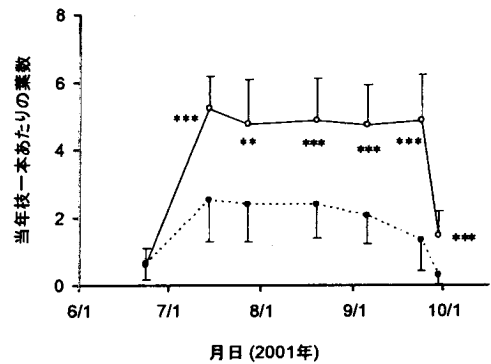


図4. 2001年におけるダケカンバの当年枝1本あたりの着葉数の経時変化。図中の各シンボルは、4～8個体の平均値(±標準偏差)。非衰退地(○)と衰退地(●)との間の有意差(** p<0.01, *** p<0.001)。

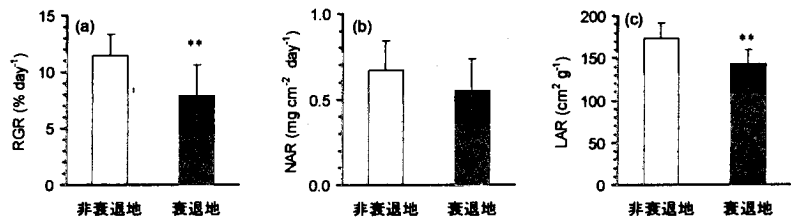


図5. 2001年6月23日から7月14日の期間におけるダケカンバの当年シュートの相対成長率(RGR)、純同化率(NAR)および葉面積比(LAR)。図中の各バーは8個体の平均値(±標準偏差)。非衰退地(□)と衰退地(■)との間の有意差(* p<0.05, ** p<0.01)。

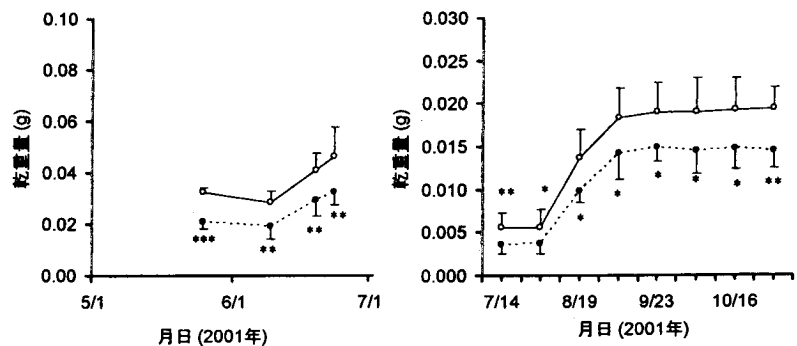


図6. ダケカンバが2000年(a)および2001年(b)に形成した芽1つあたりの乾重の季節変化。図中の各シンボルは、6～10個体の平均値(±標準偏差)。非衰退地(○)と衰退地(●)の間の有意差(* p<0.05, ** p<0.01, *** p<0.001)。

よび 2001 年に形成された芽(2001 年芽)の 1 つあたりの乾重の季節変化を示した。図 7 に、両調査地に生育するダケカンバが 2000 年枝 1 本あたりに形成した 2000 年芽の数および 2001 年枝 1 本あたりに形成した 2001 年芽の数を示した。2000 年芽の 1 つあたりの乾重は、両調査地ともに 2001 年 6 月 9 日から 6 月 23 日にかけて上昇した。非衰退地に比べて衰退地における 2000 年芽の乾重は、2001 年 6 月 9 日から 6 月 23 日の期間において有意に低かった(図 6-a)。これに対して、2000 年枝 1 本あたりに形成した 2000 年芽の数には、両調査地の間で有意な差は認められなかった(図 7-a)。2001 年芽の 1 つあたりの乾重は、両調査地ともに 2001 年 7 月 27 日から 9 月 5 日にかけて上昇した。非衰退地に比べて衰退地における 2001 年芽の乾重は、2001 年 7 月 14 日から 10 月 28 日の期間において有意に低かった(図 6-b)。また、非衰退地に比べて衰退地における 2001 年枝 1 本あたりに形成した 2001 年芽の数は、有意に少なかった(図 7-b)。

⑥葉内成分の季節変化

図 8 に、2000 年 7 月 13 日から 9 月 23 日までの両調査地におけるダケカンバの葉のクロロフィル濃度の季節変化を示した。非衰退地より衰退地における葉のクロロフィル a 濃度は、9 月 8 日および 9 月 23 日に有意に低かった(図 8-a)。非衰退地に比べて衰退地の葉のクロロフィル b 濃度は低い傾向があり、7 月 24 日、8 月 12 日、25 日、9 月 8 日、23 日において有意に低かった(図 8-b)。クロロフィル a+b 濃度も同様に非衰退地に比べて衰退地の方が低い傾向があり、8 月 12 日、9 月 8 日、23 日において有意に低かった(図 8-c)。

非衰退地に比べて衰退地におけるダケカンバの葉のクロロフィル a/b 比は、7 月 24 日、8 月 12 日、25 日に有意に高かったが、9 月 23 日においては低かった(図 8-d)。

図 9 に、2001 年 7 月 14 日から 9 月 23 日までの両調査地におけるダケカンバの葉のクロロフィル濃度の季節変化を示した。非衰退地に比べて衰退地に生育するダケカンバの葉のクロロフィル a 濃度は、2001 年 7 月 14 日において有意に低かったが、7 月 14 日から 27 日にかけて衰退地では

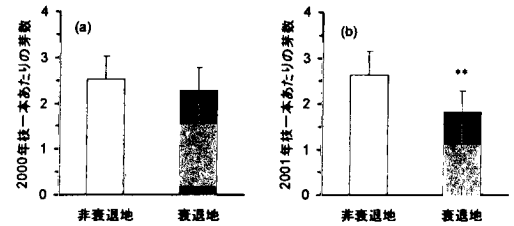


図 7. ダケカンバの 2000 年枝および 2001 年枝 1 本あたりの芽数。(a)2001 年 5 月 25 日、6 月 9 日、19 日のデータをプールした平均値。(b)2001 年 10 月 16 日、28 日のデータをプールした平均値。非衰退地(□)と衰退地(■)との間の有意差(** p<0.01)。

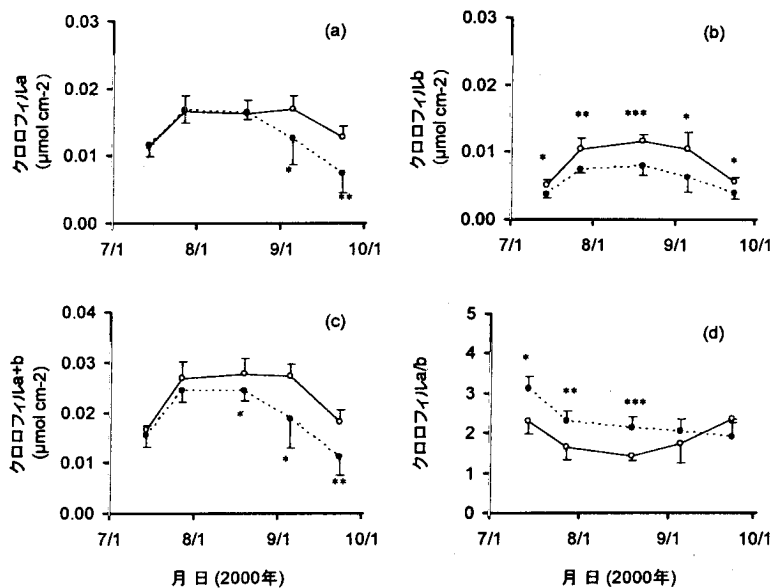


図 8. 2000 年におけるダケカンバの葉のクロロフィル濃度の季節変化。図中の各シンボルは、8 個体の平均値(±標準偏差)。非衰退地(○)と衰退地(●)との間の有意差(* p<0.05, ** p<0.01, *** p<0.001)。

クロロフィル a 濃度が急激に上昇したため、7月27日および8月19日において両調査地で有意差は認められなかった。衰退地のダケカンバにおいて葉の黄化が認められた9月5日以降、葉のクロロフィル a 濃度は非衰退地のそれに比べて有意に低くなった(図9-a)。非衰退地に比べて衰退地における葉のクロロフィル b 濃度は、7月14日から9月23日の期間に有意に低かった(図9-b)。このため、非衰退地に比べて衰退地では、クロロフィル a+b 濃度は、7月14日、9月5日、23日に有意に低く(図9-c)、また、クロロフィル a/b 比は高い値を示す傾向が認められ、7月14日、27日および8月19日において有意に高かった(図9-d)。

図10に、2000年7月24日から9月23日および2001年7月14日から9月23日までの両調査地におけるダケカンバの葉の全可溶性タンパク質(TSP)濃度と Rubisco 濃度の季節変化を示す。

図10. 2000年および2001年におけるダケカンバの葉の全可溶性タンパク質(TSP)濃度、RuBPカルボキシラーゼ/オキシゲナーゼ(Rubisco)濃度およびTSP濃度に対するRubisco濃度の比(Rubisco/TSP)の季節変化。図中の各シンボルは、4~8個体の平均値(±標準偏差)(2000年7月24日の非衰退地の値は2個体の平均値)。非衰退地(○)と衰退地(●)との間の有意差(* $p<0.05$, ** $p<0.01$)。

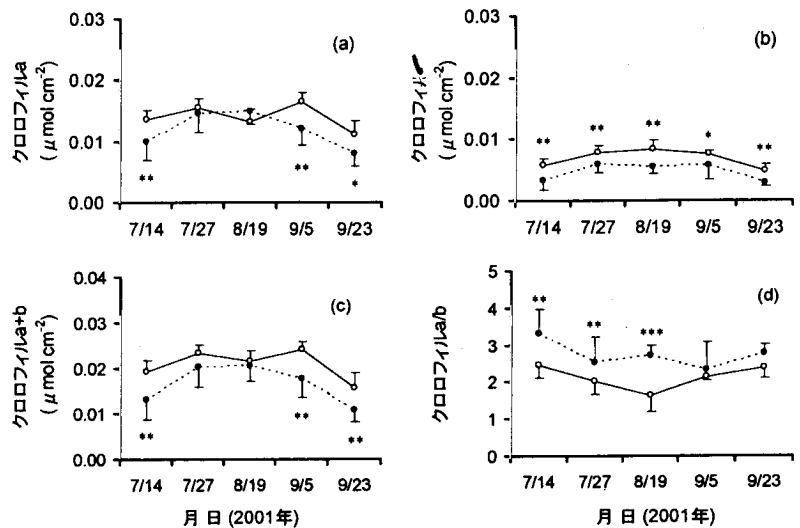
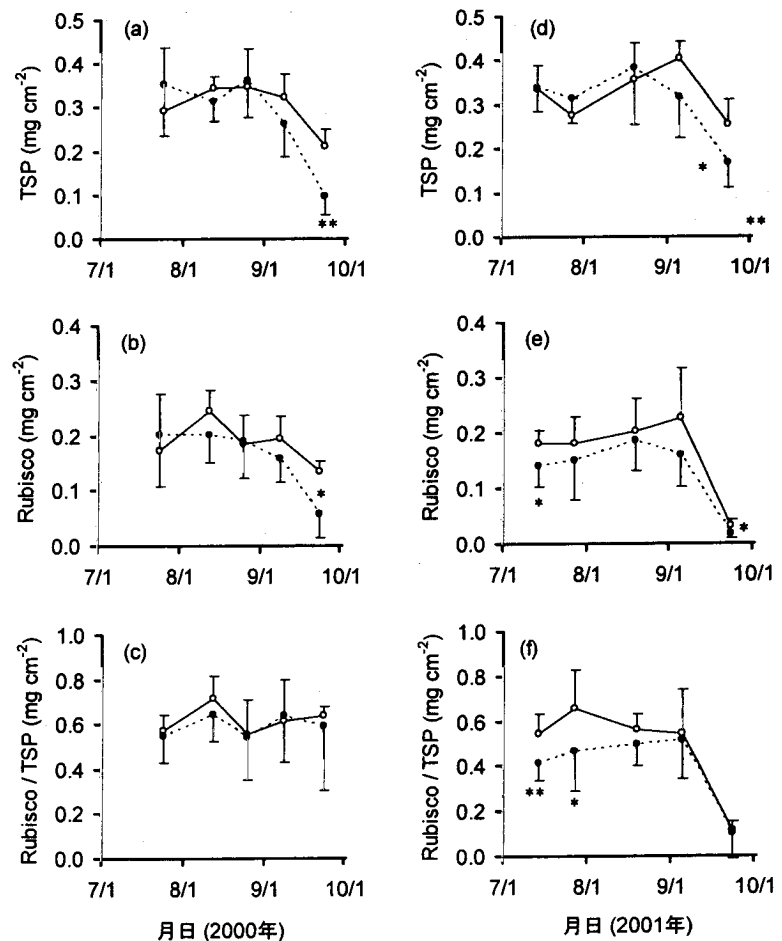


図9. 2001年におけるダケカンバの葉のクロロフィル濃度の季節変化。図中の各シンボルは、8個体の平均値(±標準偏差)。非衰退地(○)と衰退地(●)との間の有意差(* $p<0.05$, ** $p<0.01$, *** $p<0.001$)。



節変化を示した。2000年における TSP 濃度は、非衰退地では 7 月下旬から 9 月上旬まで若干増加し、9 月上～下旬にかけて低下したが、衰退地では非衰退地よりも約 2 週間早い 8 月下旬～9 月上旬の期間に低下した(図 10-a)。このため、非衰退地に比べ衰退地における葉の TSP 濃度は、9 月 23 日には有意に低かった。非衰退地における Rubisco 濃度は 2000 年 7 月 24 日から 8 月 12 日にかけて増加し、8 月 25 日にかけて減少し、9 月 8～23 日にかけて若干減少した(図 10-b)。一方、衰退地における Rubisco 濃度は、非衰退地のそれに比べて低い傾向があり、9 月 8～23 日にかけて著しく低下した。このため、非衰退地に比べて衰退地における Rubisco 濃度は、9 月 23 日には有意に低かった。なお、2000 年のいずれの時期においても、ダケカンバの葉の Rubisco/TSP 比には両調査地間に有意な差は認められなかった(図 10-c)。2001 年 7 月 14 日から 8 月 19 日の期間において、両調査地のダケカンバの葉の TSP 濃度に有意差は認められなかったが、衰退地では、8 月 19 日以降に葉の TSP 濃度が低下し始めたため、9 月 5 日、23 日において、非衰退地のそれに比べて有意に低くなった(図 10-d)。2001 年においては、非衰退地に比べて衰退地のダケカンバの葉の Rubisco 濃度は低い傾向があり、7 月 14 日および 9 月 23 日には有意に低かった(図 10-e)。なお、9 月 5～23 日にかけて Rubisco 濃度は著しく低下した。また、非衰退地に比べ衰退地におけるダケカンバの葉の Rubisco/TSP 比は低い傾向があり、2001 年 7 月 14 日と 27 日において有意に低かった(図 10-f)。Rubisco/TSP 比も 2001 年 9 月 5～23 日にかけて著しく低下した。

⑦葉の元素濃度の季節変化

図 11 に、2000 年 7 月 13 日から 9 月 23 日および 2001 年 6 月 23 日から 9 月 29 日までの各調査地におけるダケカンバの葉の C 濃度、N 濃度および C/N 比の季節変化を示した。また、図 12 に、

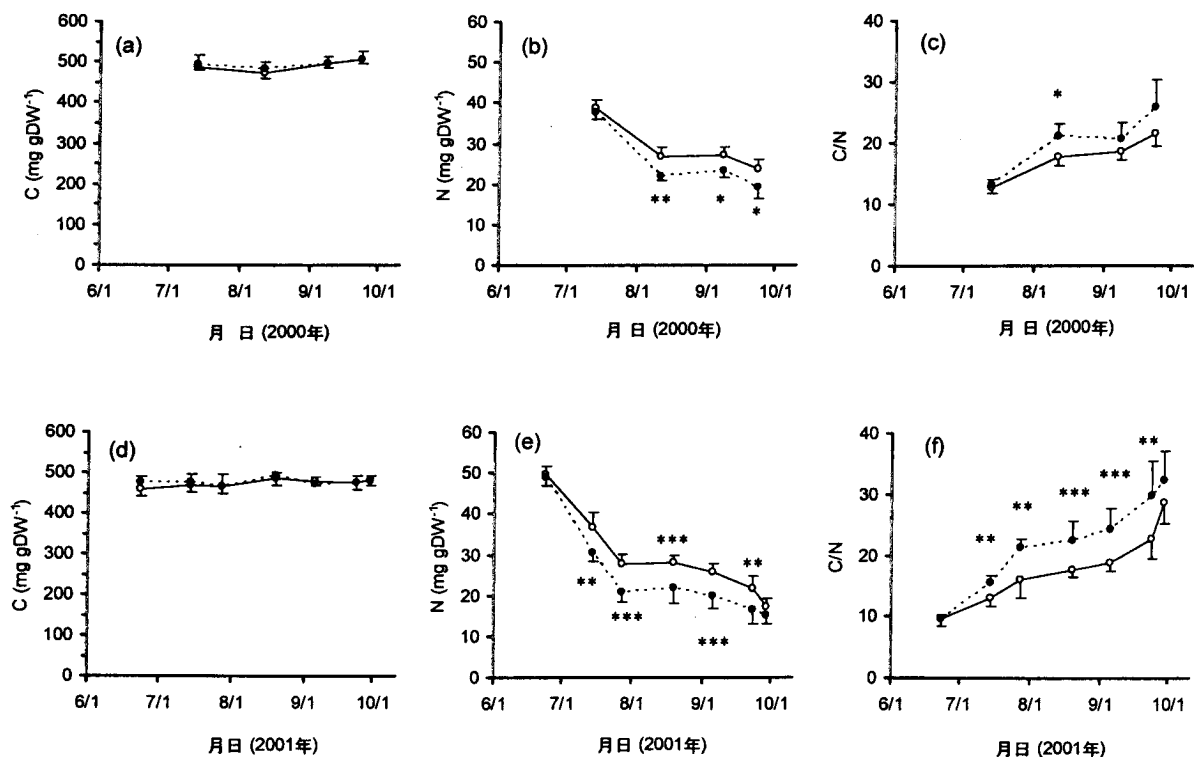


図 11. 2000 年および 2001 年におけるダケカンバの葉の炭素(C)濃度、窒素(N)濃度および C/N 比の季節変化。図中の各シンボルは、4～8 個体の平均値(±標準偏差)。非衰退地(○)と衰退地(●)との間の有意差(* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$)。

2000年7月13日から9月23日および2001年6月23日から9月29日までの各調査地におけるダケカンバの単位葉面積あたりのN濃度の季節変化を示した。2000年における両調査地のダケカンバの葉のC濃度は7月13日～9月23日までほぼ一定の値で推移し、両調査地におけるC濃度に有意差は認められなかった(図11-a)。葉のN濃度は、2000年7月13日から8月12日にかけて急激に低下し、それ以降9月23日まで緩やかに低下したが、非衰退地に比べ衰退地におけるN濃度は低い傾向を示し、8月12日から9月23日の期間には有意に低かった(図11-b)。また、両調査地におけるダケカンバの葉のCN比は、2000年7月13日から9月23日にかけて増加したが、非衰退地に比べ衰退地の葉のCN比は高い傾向を示し、8月12日には有意に高かった(図11-c)。ダケカンバの葉の単位葉面積あたりのN濃度は、非衰退地では2000年7月13日から9月23日にかけてほぼ一定の値で推移したが、一方、衰退地では9月8日までほぼ一定の値で推移したが、その後9月23日にかけて低下した。なお、非衰退地に比べ衰退地における単位葉面積あたりのN濃度は低い傾向を示し、2000年8月12日および9月23日には有意に低かった(図12-a)。2001年における両調査地におけるダケカンバの葉のC濃度は、6月23日から9月23日までの期間においてほぼ一定の値で推移し、両調査地におけるC濃度に有意な差は認められなかった(図11-d)。両調査地における葉のN濃度は、2001年6月23日から7月27日にかけて急激に低下し、それ以降9月29日まで緩やかに低下した。なお、非衰退地に

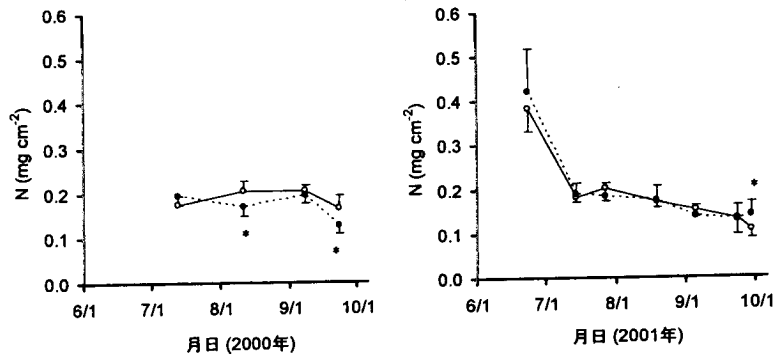


図12. 2000年および2001年におけるダケカンバの単位葉面積あたりの窒素(N)濃度の季節変化。図中の各シンボルは、4～8個体の平均値(±標準偏差)。非衰退地(○)と衰退地(●)との間の有意差(* $p < 0.05$)。

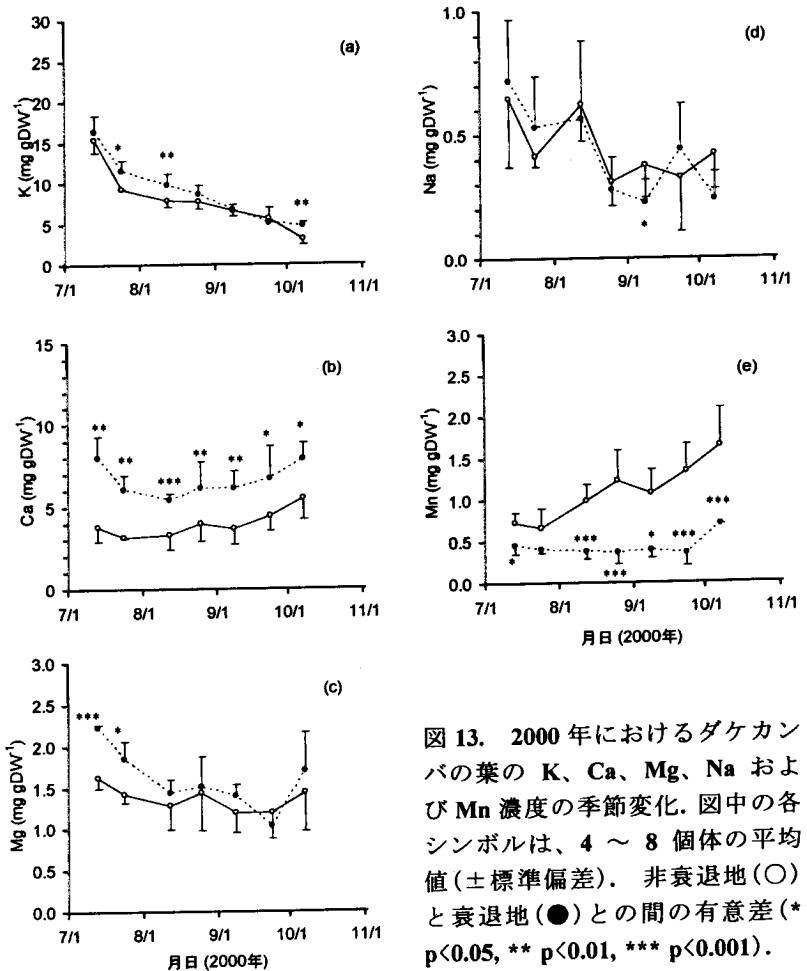


図13. 2000年におけるダケカンバの葉のK、Ca、Mg、NaおよびMn濃度の季節変化。図中の各シンボルは、4～8個体の平均値(±標準偏差)。非衰退地(○)と衰退地(●)との間の有意差(* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$)。

比べ衰退地における N 濃度は低い傾向を示し、2001 年 7 月 14 日から 9 月 23 日の期間において有意に低かった(図 11-e)。両調査地における葉の C/N 比は 2001 年 6 月 23 日から 9 月 29 日にかけて増加する季節変化を示した。なお、非衰退地に比べ衰退地における葉の C/N 比は高い傾向を示し、2001 年 7 月 14 日から 9 月 23 日の期間には有意に高かった(図 11-f)。両調査地におけるダケカンバの葉の単位葉面積あたりの N 濃度は、2001 年 6 月 23 日から 7 月 14 日にかけて急激に低下し、7 月 13 日から 9 月 23 日にかけてほぼ一定の値で推移したが、9 月 29 日には、非衰退地と比べ衰退地における単位葉面積あたりの N 濃度は有意に低かった(図 12-b)。

図 13 に、2000 年 7 月 13 日から 10 月 7 日までの両調査地におけるダケカンバの葉の元素濃度の推移を示した。両調査地における葉の K 濃度は、7 月 13 日から 10 月 7 日の期間で低下する季節変化を示したが、非衰退地に比べ衰退地における葉の K 濃度は高い値を示す傾向が認められ、7 月 24 日、8 月 12 日および 10 月 7 日において有意に高かった(図 13-a)。葉の Ca 濃度は両調査地において 7 月 13 日から 8 月 12 日にかけて低下し、それ以降はほぼ一定の値を示したが(図 13-b)、非衰退地に比べ衰退地における葉の Ca 濃度は、7 月 13 日から 10 月 7 日の期間において有意に高かった(図 13-b)。衰退地における葉の Mg 濃度においても、K および Ca 濃度と同様に、非衰退地に比べて高い値を示す傾向が認められ、7 月 13 日と 7 月 24 日において有意に高かった(図 13-c)。非衰退地に比べて衰退

地における Na 濃度は、9 月 8 日において有意に低かったが、その他の時期では両調査地間の Na 濃度に一定の傾向は認められなかった(図 13-d)。葉の Mn 濃度は、非衰退地では調査期間中上昇する傾向を示したが、衰退地ではほぼ一定であり、その結果、7 月 13 日から 10 月 7 日の期間において、非衰退地に比べて衰退地における葉の Mn 濃度は有意に低かった(図 13-e)。なお、両調査地のダケカンバの葉内 Al 濃度は、7 月 13 日から 10 月 7 日までの期間において検出限界以下であった。

図 14 に、2001 年 7 月 14 日から 9 月 23 日までの両調査地におけるダケカンバの葉の元素濃度の推移を示した。両調査地における葉の K 濃度は、7 月 14 日から 9 月 23 日の期間

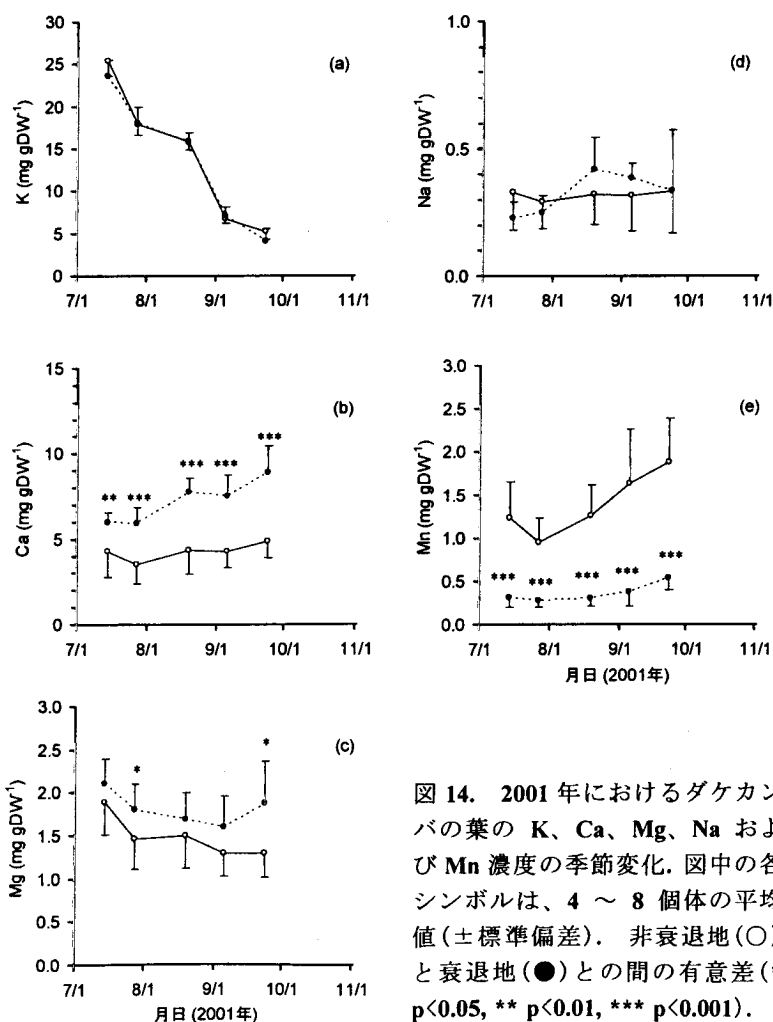


図 14. 2001 年におけるダケカンバの葉の K、Ca、Mg、Na および Mn 濃度の季節変化。図中の各シンボルは、4 ~ 8 個体の平均値(±標準偏差)。非衰退地(○)と衰退地(●)との間の有意差(* p<0.05, ** p<0.01, *** p<0.001)。

中低下する季節変化を示したが、いずれの時期においても、両調査地間で有意差は認められなかった(図 14-a)。非衰退地における葉の Ca 濃度は、7月 27 日から 9月 23 日にかけて上昇する季節変化を示した。一方、衰退地における葉の Ca 濃度は、7月 14 日から 9月 23 日の期間ではほぼ一定の値を示したが、非衰退地に比べて衰退地における葉の Ca 濃度は、7月 14 日から 9月 23 日の期間において、有意に高かった(図 14-b)。衰退地における葉の Mg 濃度においても、Ca 濃度と同様に、非衰退地に比べて高い値を示す傾向が認められ、7月 27 日と 9月 23 日において有意に高かった(図 14-c)。両調査地におけるダケカンバの葉の Na 濃度は、7月 14 日から 9月 23 日までの期間においてほぼ一定の値を示し、いずれの時期においても両調査地間で有意差は認められなかった(図 14-d)。非衰退地における葉の Mn 濃度は調査期間中上昇する傾向を示したが、衰退地における葉の Mn 濃度はほぼ一定であり、その結果、非衰退地に比べ衰退地における葉の Mn 濃度は、7月 14 日から 9月 23 日までの期間において有意に低かった(図 14-e)。なお、両調査地のダケカンバの葉の Al 濃度は、7月 13 日から 10月 7 日までの期間において検出限界以下であった。

⑧総合考察

ダケカンバは、一年に一節ずつ枝を生じて伸長する。当年枝の伸長はその年次内で終了し、次年度以降は伸長しない。また、ダケカンバは自由生長型の樹種であり、各年次の枝における伸長量は、各年の同化産物量に大きく左右されるため(丸山 1983)¹⁷⁾、ダケカンバの各年次の枝の伸長生長は、その年の生育状態を直接的に反映していると考えられる。両調査地において 1999 年、2000 年および 2001 年におけるダケカンバの当年枝の長さを測定した結果、すべての年において、非衰退地に比べ衰退地に生育するダケカンバの当年枝の長さは有意に短かった(図 1)。また、非衰退地に比べ衰退地のダケカンバが 2000 年および 2001 年に形成した芽 1 つあたりの乾重は有意に低く(図 6)、2001 年において衰退地のダケカンバが当年シュートに形成した芽数は非衰退地のそれに比べて有意に少なかった(図 7-b)。これらの結果より、非衰退地に比べ衰退地に生育するダケカンバが 2000 年および 2001 年に獲得した同化産物量は少なかったと考えられる。2001 年 7 月 14 ~ 27 日にかけて、非衰退地のダケカンバの当年枝は著しく生長したが、衰退地のそれは同時期にほとんど生長しなかった(図 2-a, b)。7 月 27 日以降、当年枝の生長速度は両調査地とも同程度であったため、両調査地のダケカンバの当年枝の生長に違いが生じたのは、この時期の生長量の差異によるものである。したがって、衰退地のダケカンバは、急激に生長する期間が短いか、この時期に何らかのストレスを受けた可能性がある。そこで、両調査地に生育するダケカンバの生長量に差異が生じた原因を検討するため、両調査地のダケカンバの葉と当年枝が著しく生長した 2001 年 6 月 23 日から 7 月 14 日までの時期における当年シュートの RGR、NAR および LAR を算出した(図 5)。この時期、非衰退地に比べ衰退地における当年シュートの RGR は有意に低かった(図 5-a)。また、NAR については両調査地間で有意差は認められなかったが(図 5-b)、衰退地における LAR は有意に低かった(図 5-c)。これらの結果は、非衰退地に比べ衰退地に生育するダケカンバの当年シュートの生長量が低かったことには、葉の光合成能力よりも、シュートあたりの葉面積の違い(図 3-d, 図 4)が寄与していたことを示している。

両調査地における葉のクロロフィル、Rubisco および TSP 濃度は、2000 年と 2001 年においてほぼ同様な傾向で季節変化をした(図 8, 図 9, 図 10)。2001 年 7 月 14 日において、非衰退地に比べ衰退地に生育するダケカンバの葉のクロロフィル濃度と Rubisco 濃度は有意に低かった(図 8, 図

10-b)。しかし、7月下旬から8月の期間において、ダケカンバの葉のクロロフィル a+b、Rubisco および TSP 濃度には、両調査地間で有意な差は認められなかった(図 9-c, 図 10-d, e)。したがって、2001 年には、非衰退地に比べて衰退地のダケカンバは葉の成熟が遅かったと考えられる。このことは、この時期における葉内成分の差が葉の光合成能力に影響していた可能性を示唆している。2000 年および 2001 年の 9 月上～下旬において、非衰退地に比べて衰退地に生育するダケカンバの葉のクロロフィル、Rubisco および TSP 濃度は有意に低かった(図 8, 図 9, 図 10)。一般に、葉の老化に伴いクロロフィルやタンパク質は分解され、濃度は低下するが(Taylor and Whitelaw 2001)¹⁶⁾、2000 年と 2001 年において衰退地のダケカンバの黄化・落葉時期は非衰退地のそれに比べて早かった(図 4)。したがって、非衰退地に比べて衰退地のダケカンバでは葉の老化が早いことが明らかになった。

土壌中の Ca、Mg、K などは植物必須元素であり、これらの元素が欠乏すると植物の生育に障害が現れる。非衰退地に比べて衰退地のダケカンバの葉の Ca、Mg および K 濃度は高い値を示す傾向が認められた(図 13, 図 14)。したがって、衰退地のダケカンバの生長量が非衰退地のそれより少なかったのは、これらの植物必須元素の欠乏が原因ではないことが示された。

N は植物多量必須元素であり、葉の N の大部分は光合成系のタンパク質に含まれている。最大光合成速度は単位葉面積あたりの N 濃度と非常に高い正の相関を示すことが報告されている(Hikosaka et al. 1998)¹⁷⁾。2001 年における両調査地に生育するダケカンバの単位葉面積あたりの N 濃度はほぼ同様な値で季節変化した(図 12-b)。しかし、非衰退地に比べて衰退地のダケカンバの当年シュートあたりの葉面積は有意に小さいため(図 3-d, 図 4)、当年シュートあたりの葉に蓄積された全 N 含量は少ないことが推測される。これらの結果より、非衰退地に比べて衰退地のダケカンバの当年シュートの生長量が低かったことには、シュートあたりの全 N 含量が少なかったことが関与していると考えられる。

土壌溶液中の硝酸イオン等の濃度計測や、表層および下層土壌の N 含量の計測結果(別記：サブ 7 報告)から、衰退地に生育するダケカンバは N が不足した状態であった可能性がある。ダケカンバの立木密度は非衰退地に比べて低いいため、衰退地では雨などによる土壌(従って土壌中の N)の流亡が大きいと考えられる。また、非衰退地に比べて衰退地における土壌の全 N 含量が少ないことから、8 月以降において無機化可能な有機態窒素が欠乏し、微生物が硝酸イオンを新たに作る事が出来ず、早期に土壌溶液の硝酸イオンが枯渇した可能性がある。前白根山のダケカンバの一斉枯死が観察されたのは 1983 年であるため(長谷川 1993)⁹⁾、表層土壌中の N の多くはダケカンバの一斉枯死後に蓄積されたものであると考えられる。森林土壌においては、リターフールが林床に還元される窒素の主要な源である。衰退地は非衰退地より立木密度が低く、衰退地に生育するダケカンバの葉量は非衰退地のそれらに比べて少ないため(図 4)、衰退地における落葉や落枝の供給量は非衰退地よりも少ない。この結果、衰退地における表層土壌の N 濃度は非衰退地のそれより低く、衰退地の土壌では窒素不足の可能性がある。

2001 年度の調査の結果、非衰退地と衰退地におけるダケカンバの開葉時期に差は認められなかった。一方、2000 年および 2001 年において、非衰退地に比べて衰退地のダケカンバの黄化・落葉時期が早かった。これらのことより、非衰退地に比べて衰退地のダケカンバの着葉期間は短いことが明らかになった。葉の黄化・落葉の現象と気温低下の間には密接な関係があるが、8 月中旬から 9 月上旬にかけて両調査地における日平均気温はほぼ同様な値で推移したため(別記：

サブ3報告)、日平均気温の低下だけで9月5日以前の衰退地におけるダケカンバの黄化・落葉の開始を説明することは出来ない。したがって、ダケカンバの早期黄化・落葉には、気温以外の環境要因が関係していることが考えられる。

大気の気温や湿度および土壌含水率の計測結果から(別記:サブ3報告)、衰退地においては、非衰退地に比べて、大気の高湿・乾燥化、土壌の保水能力の低下、乾燥化が進行している可能性がある。ダケカンバの葉の展開時期である2001年7月において、非衰退地に比べ衰退地の個葉面積の拡大速度は小さかった(図3-d)。2001年7月上～中旬にかけて、衰退地の大気と土壌において乾燥化が認められていることから、7月14日以前の衰退地における葉の水分状態も悪化していたことが示唆される。ダケカンバの葉の展開時期に、衰退地の葉において水分欠乏が起きたことによって葉の展開が抑制され、個葉面積が非衰退地のそれに比べて小さくなった可能性がある。2001年7月14日において両調査地の当年枝の長さには差がなかったが、7月14～27日にかけて衰退地の当年枝の伸長生長が非衰退地のそれに比べて悪かった(図1, 図2)。これらのことから、ダケカンバの当年枝の伸長生長の時期に、衰退地の当年枝において水分欠乏が起きたことで伸長生長が抑制され、当年枝の長さが非衰退地のそれに比べて短くなった可能性がある。

一方、大気汚染ガスであるオゾンの濃度が非衰退地と比べ衰退地では有意に高いことが計測されており(別記:サブ3報告)、これも当年枝の生長等に関係している可能性がある。両調査地におけるオゾン濃度の差は6～7月と9月に有意であり、前者では衰退地のダケカンバの当年枝の生長に影響し、後者の時期には衰退地のダケカンバ葉のクロロフィル含有量やRubisco含有量の早期低下、早期黄化・落葉に影響した可能性も考えられる。

4. 白根山周辺におけるシラビソの非衰退木と衰退木の葉内成分に関する調査・解析

(1) 材料と方法

2000～2001年において、白根山周辺においてシラビソの非衰退木と衰退木をそれぞれ6個体ずつ測定木として選定し、樹冠の上部に位置する光環境の良好な針葉の着いた枝を先端から約20cmの長さで採取した。採取した枝葉は、乾燥を防ぐため、枝の切り口を蒸留水を含ませた吸湿性紙(キムワイプ)で包み、ポリエチレン袋に入れて密封し、クーラーボックスに入れて研究室に持ち帰った。採取した針葉のクロロフィル含量、全可溶性タンパク質含量およびRuBPカルボキシラーゼ/オキシゲナーゼ(Rubisco)含量を前記の方法で測定した。また、現地から持ち帰った枝葉から各個体当たり約10枚の針葉を無作為に採取し、Ca, Mg, K, MnおよびAl濃度を前記の方法で測定した。シラビソの針葉の成分濃度に関する測定項目の結果について、t検定を行い、非衰退木と衰退木の平均値間の有意性を検定した。

(2) 結果と考察

① 2000年調査

図15に、2000年8月25日、9月23日および10月23日に採取したシラビソの当年葉のクロロフィル濃度を示した。衰退木における当年葉のクロロフィルa濃度は非衰退木に比べて低かったが、統計的に有意な差ではなかった(図15-a)。これに対して、8月25日においては、非衰退木に比べて衰退木の当年葉のクロロフィルb濃度は有意に低かった(図15-b)。このため、非衰退

木の値に比べて、8月25日における衰退木の当年葉のクロロフィル a+b 濃度は有意に低く(図 15-c)、クロロフィル a/b 比は有意に高かった(図 15-d)。また、非衰退木に比べて衰退木のクロロフィル a/b 比は、9月23日にも有意に高かった(図 15-d)。

図 16 に、2000年8月25日、9月23日および10月23日に採取したシラビソの前年葉のクロロフィル濃度を示した。衰退木における前年葉のクロロフィル a 濃度は非衰退木よりも低かったが、統計的に有意な差ではなかった(図 16-a)。

これに対して、8月25日において、非衰退木より衰退木の前年葉のクロロフィル b 濃度は有意に低かった(図 16-b)。このため、非衰退木の値に比べて、8月25日における衰退木の前年葉のクロロフィル a+b 濃度は有意に低く(図 16-c)、クロロフィル a/b 比は有意に高かった(図 16-d)。また、非衰退木に比べて衰退木のクロロフィル a/b 比は、10月23日にも有意に高かった(図 16-d)。

上記のように、シラビソ衰退木の当年葉と前年葉において集光性クロロフィルである

クロロフィル b の濃度が非衰退木に比べて低かったことから、衰退木の針葉の光合成における光利用効率が低下している可能性がある。したがって、シラビソ衰退木は、今後さらに衰退が進行することが予想される。

図 17 に、2000年8月25日、9月23日および10月23日に採取したシラビソの当年葉の全可溶性タンパク質(TSP)濃度、Rubisco 濃度および TSP 濃度に対する Rubisco 濃度の比(Rubisco 濃度/TSP 濃度)を示した。8月25日における衰退木の TSP 濃度は、非衰退木のそれに比べて有意に低かつ

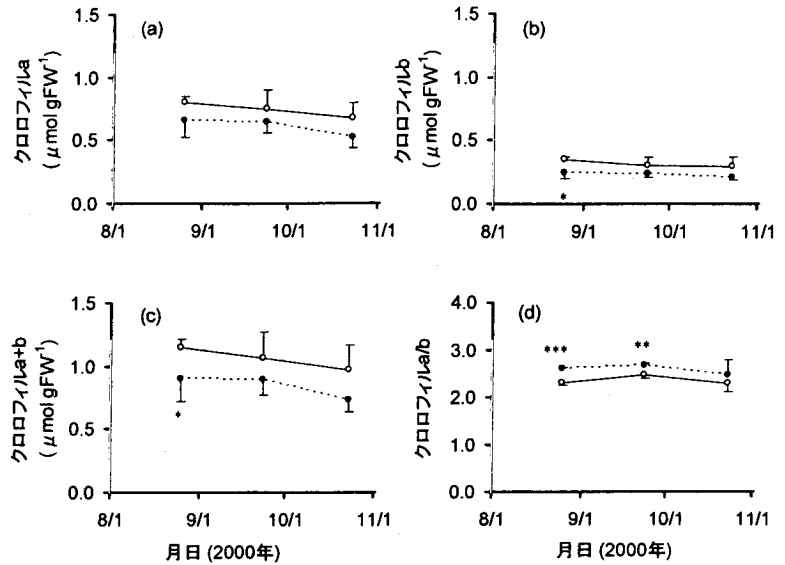


図 15. 2000 年におけるシラビソの当年葉のクロロフィル濃度の季節変化。図中の各シンボルは 4 個体の平均値(±標準偏差)。非衰退木(○)と衰退木(●)との間の有意差(* p<0.05, ** p<0.01, *** p<0.001)。

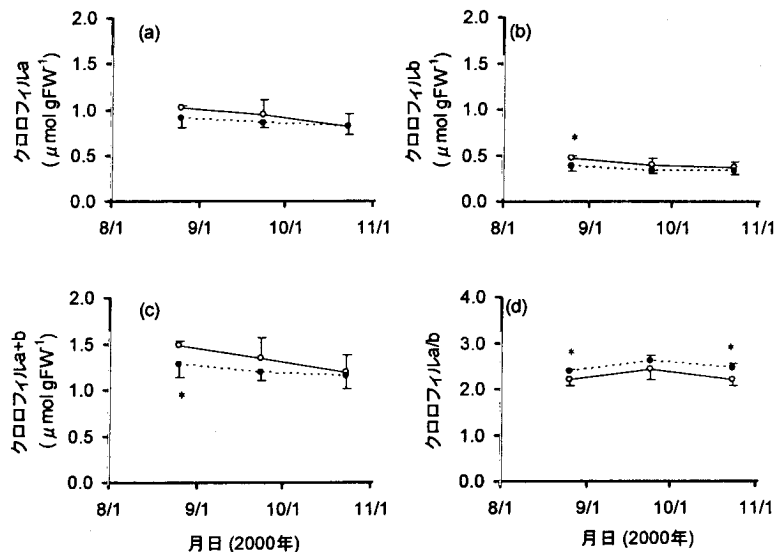


図 16. 2000 年におけるシラビソの前年葉のクロロフィル濃度の季節変化。図中の各シンボルは 4 個体の平均値(±標準偏差)。非衰退木(○)と衰退木(●)との間の有意差(* p<0.05, ** p<0.01, *** p<0.001)。

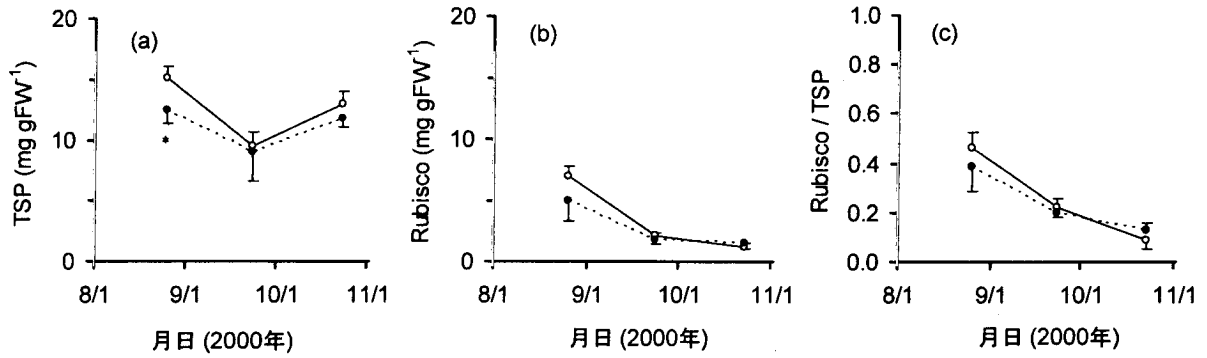


図 17. 2000 年におけるシラビソの当年葉の全可溶性タンパク質(TSP)濃度、RuBP カルボキシラーゼ/オキシゲナーゼ(Rubisco)濃度および TSP 濃度に対する Rubisco 濃度の比(Rubisco/TSP)の季節変化. 図中の各シンボルは 4 個体の平均値(±標準偏差), 非衰退木(○)と衰退木(●)との間の有意差(* $p < 0.05$).

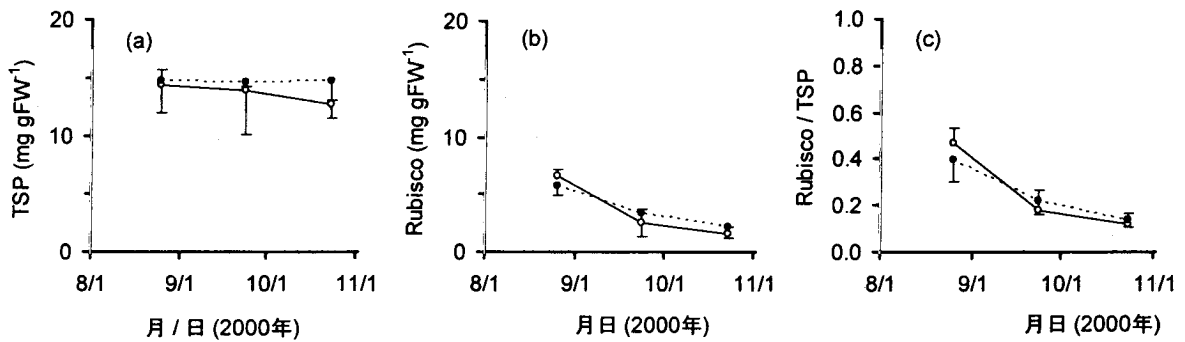


図 18. 2000 年におけるシラビソの前年葉の全可溶性タンパク質(TSP)濃度、RuBP カルボキシラーゼ/オキシゲナーゼ(Rubisco)濃度および TSP 濃度に対する Rubisco 濃度の比(Rubisco/TSP)の季節変化. 図中の各シンボルは 4 個体の平均値(±標準偏差), 非衰退木(○)と衰退木(●)との間の有意差無し.

た。しかし、いずれの時期においても、当年葉の Rubisco 濃度と Rubisco/TSP 比は、衰退木と非衰退木との間で有意差は認められなかった。

図 18 に、2000 年 8 月 25 日、9 月 23 日、10 月 23 日に採取したシラビソ前年葉の全可溶性タンパク質(TSP)濃度、Rubisco 濃度および TSP 濃度に対する Rubisco 濃度の比(Rubisco 濃度/TSP 濃度)を示した。いずれの時期においても、これらの数値は衰退木と非衰退木との間で有意差は認められなかった。

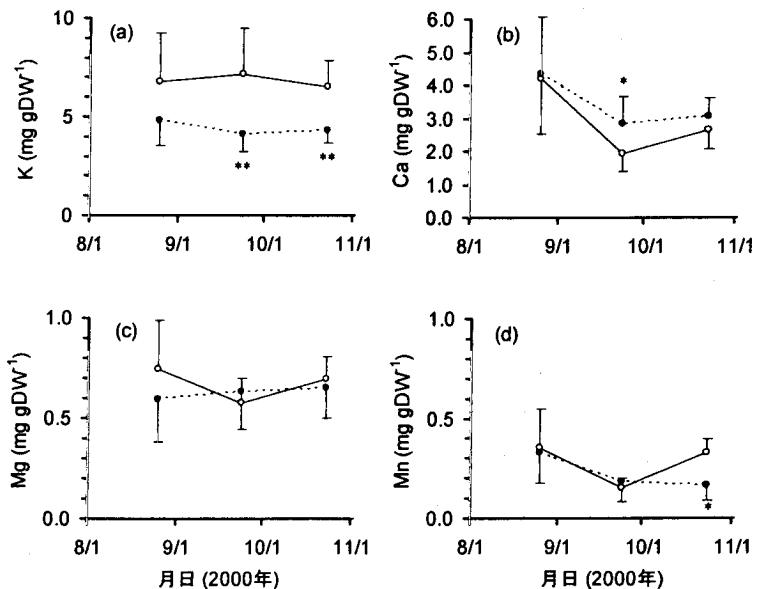


図 19. 2000 年におけるシラビソの当年葉の K、Ca、Mg および Mn 濃度の季節変化. 図中の各シンボルは 4 個体の平均値(±標準偏差). 非衰退木(○)と衰退木(●)との間の有意差(* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$).

図 19 に、2000 年 8 月 25 日、9 月 23 日、10 月 23 日に採取したシラビソ当年葉の元素濃度を示した。9 月 23 日と 10 月 23 日において、非衰退木に比べ衰退木の当年葉の K 濃度は有意に低かった(図 19-a)。9 月 23 日における衰退木の当年葉の Ca 濃度は、非衰退木のそれに比べて有意に高く(図 19-b)、10 月 23 日における衰退木の当年葉の Mn 濃度は、非衰退木のそれに比べて有意に低かった(図 19-d)。Mg 濃度に関しては、いずれの時期でも、衰退木と非衰退木との間で有意差は認められなかった(図 19-c)。

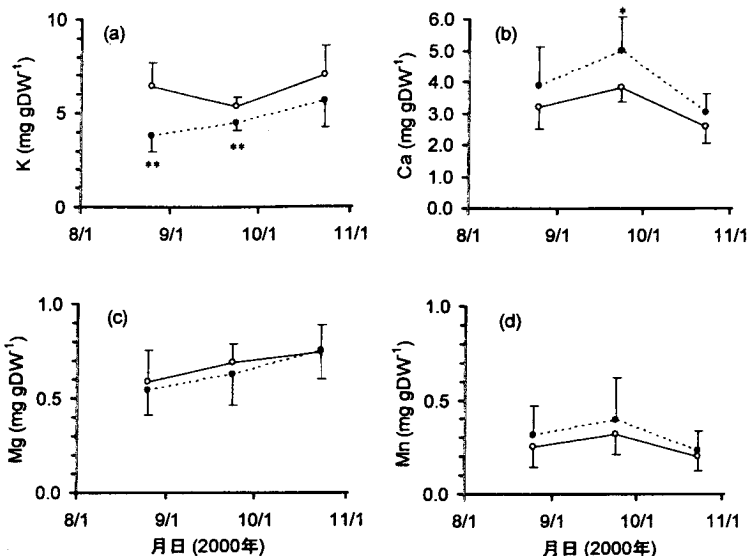


図 20. 2000 年におけるシラビソの前年葉の K、Ca、Mg および Mn 濃度の季節変化。図中の各シンボルは 4 個体の平均値(±標準偏差)。非衰退木(○)と衰退木(●)との間の有意差(* p<0.05, ** p<0.01)。

図 20 に、2000 年 8 月 25 日、9 月 23 日、10 月 23 日に採取したシラビソ前年葉の元素濃度を示した。8 月 25 日および 9 月 23 日における衰退木の前年葉の K 濃度は、非衰退木のそれに比べて有意に低く(図 20-a)、9 月 23 日における衰退木の前年葉の Ca 濃度は、非衰退木のそれに比べて有意に高かった(図 20-b)。Mg および Mn 濃度に関しては、いずれの時期においても、衰退木と非衰退木との間に有意差は認められなかった(図 20-c, d)。

② 2001 年調査

図 21 に、2001 年 7 月 27 日、9 月 5 日、23 日および 10 月 28 日に採取したシラビソの当年葉のクロロフィル濃度を示した。9 月 23 日において、非衰退木より衰退木の当年葉のクロロフィル a 濃度およびクロロフィル b 濃度は有意に低く(図 21-a, b)、クロロフィル a+b 濃度も有意に低かった(図 21-c)。しかし、非衰退木と衰退木のクロロフィル a/b 比には有意差はなかった(図 21-d)。

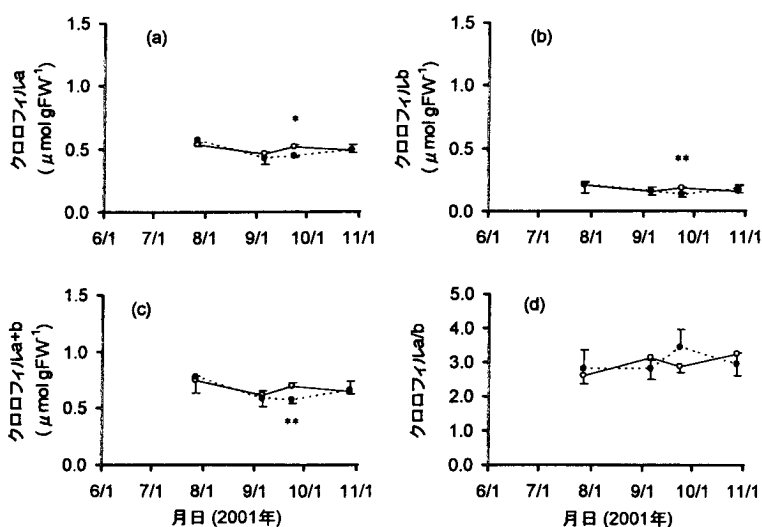


図 21. 2001 年におけるシラビソの当年葉のクロロフィル濃度の季節変化。図中の各シンボルは 4 個体の平均値(±標準偏差)。非衰退木(○)と衰退木(●)との間の有意差(* p<0.05, ** p<0.01)。

図 22 に、2001 年 6 月 23 日、7 月 27 日、9 月 5 日、23 日および 10 月 28 日に採取したシ

ラビソの前年葉のクロロフィル濃度を示した。6月23日において、衰退木の前年葉のクロロフィル a 濃度とクロロフィル a+b 濃度は有意に低かった(図 22-a, c)。一方、クロロフィル b 濃度に関しては期間中非衰退木と衰退木との間に有意差は認められなかったが(図 22-b)、非衰退木に比べ衰退木のクロロフィル a/b 比は一貫して高く、7月27日においては有意に高かった(図 22-d)。

図 23 に、2001 年 7 月 27 日、9 月 5 日、23 日および 10 月 28 日に採取したシラビソの当年

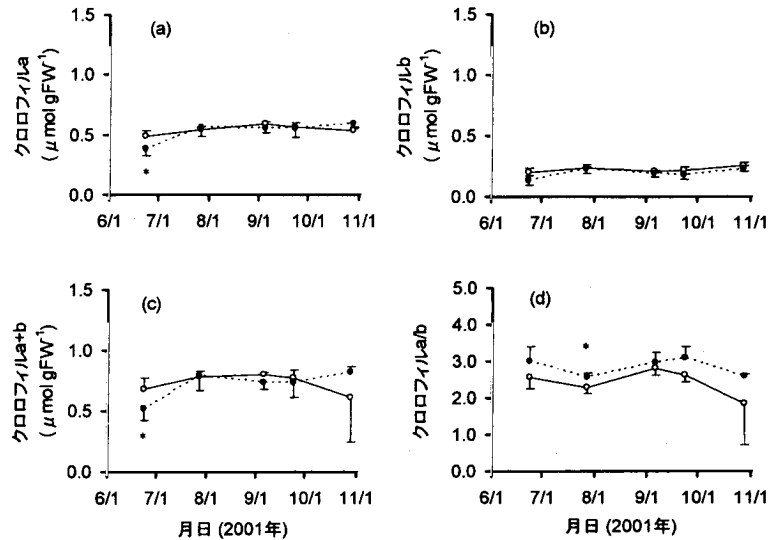


図 22. 2001 年におけるシラビソの前年葉のクロロフィル濃度の季節変化。図中の各シンボルは 4 個体の平均値(±標準偏差)。非衰退木(○)と衰退木(●)との間の有意差(* p<0.05)。

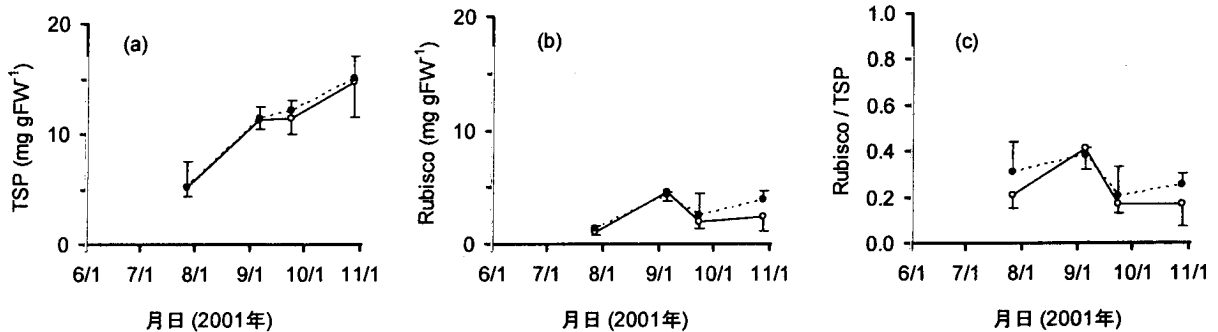


図 23. 2001 年におけるシラビソの当年葉の全可溶性タンパク質(TSP)濃度、RuBP カルボキシラーゼ/オキシゲナーゼ(Rubisco)濃度および TSP 濃度に対する Rubisco 濃度の比(Rubisco/TSP)の季節変化。図中の各シンボルは 4 個体の平均値(±標準偏差)。非衰退木(○)と衰退木(●)との間の有意差無し。

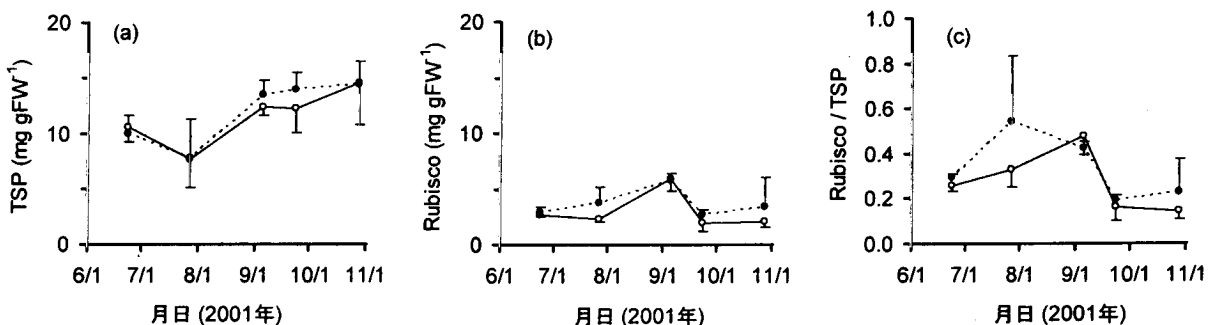


図 24. 2001 年におけるシラビソの前年葉の全可溶性タンパク質(TSP)濃度、RuBP カルボキシラーゼ/オキシゲナーゼ(Rubisco)濃度および TSP 濃度に対する Rubisco 濃度の比(Rubisco/TSP)の季節変化。図中の各シンボルは 4 個体の平均値(±標準偏差)。非衰退木(○)と衰退木(●)との間の有意差無し。

葉における全可溶性タンパク質(TSP)濃度、Rubisco 濃度および TSP 濃度に対する Rubisco 濃度の比(Rubisco/TSP)を示した。いずれの時期においても、非衰退木と衰退木の当年葉におけるこれらの数値に関しては有意差は認められなかった。

図 24 に、2001 年 6 月 23 日、7 月 27 日、9 月 5 日、23 日および 10 月 28 日に採取したシラビソの前年葉における全可溶性タンパク質(TSP)濃度、Rubisco 濃度および TSP 濃度に対する Rubisco 濃度の比(Rubisco/TSP)を示した。いずれの時期においても、シラビソの非衰退木と衰退木における前年葉の数値に関しては有意差は認められなかった。

図 25 に、2001 年 7 月 27 日、9 月 5 日、23 日および 10 月 28 日に採取したシラビソの当年葉の元素濃度を示した。7 月 27 日から 9 月 23 日までの期間において、衰退木の当年葉の K 濃度は非衰退木に比べて低い値を示す傾向にあり、7 月 27 日および 9 月 5 日においては有意に低かった(図 25-a)。7 月 27 日から 10 月 28 日までの期間において非衰退木に比べて衰退木の当年葉の Ca および Mg 濃度も低い値を示す傾向があり、Ca 濃度は 10 月 28 日に、Mg 濃度は 7 月 27 日において有意に低かった(図 25-b, c)。これに対して、いずれの時期においても、非衰退木と衰退木の当年葉における Mn 濃度には有意差は認められなかった(図 25-d)。

図 26 に、2001 年 6 月 23 日、7 月 27 日、9 月 5 日、23 日および 10 月 28 日に採取したシラビソの前年葉の元素濃度を示した。6 月 23 日から 10 月 28 日までの期間を通して、非衰退木に比べて衰退木の前年葉の K 濃度は低い値を示す傾向にあり、6 月 23 日、7 月 27 日

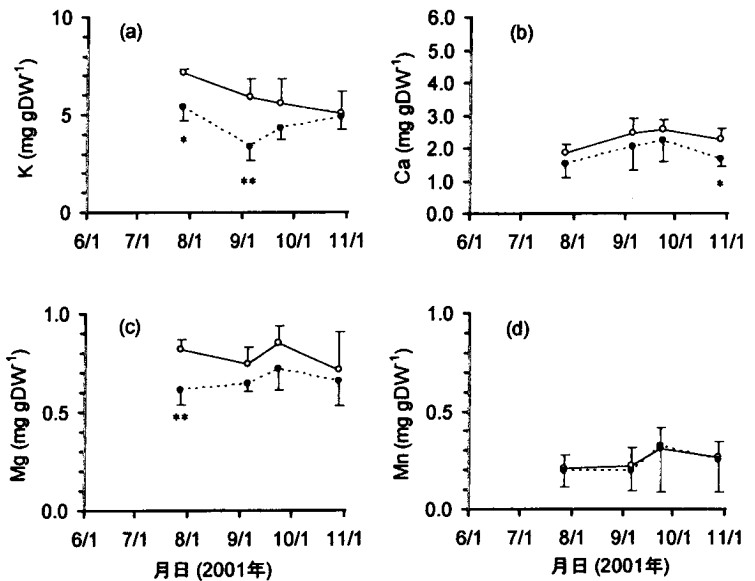


図 25. 2001 年におけるシラビソの当年葉の K、Ca、Mg および Mn 濃度の季節変化。図中の各シンボルは 4 個体の平均値(±標準偏差)。非衰退木(○)と衰退木(●)との間の有意差(* p<0.05, ** p<0.01)。

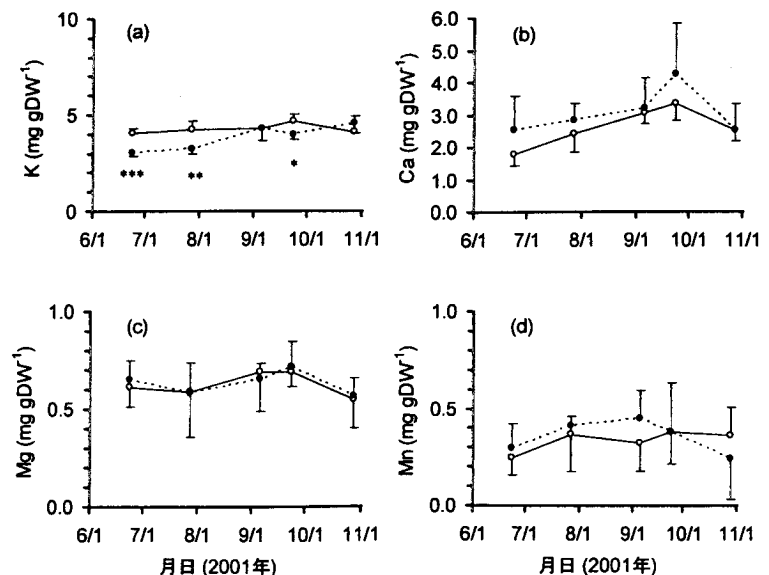


図 26. 2001 年におけるシラビソの前年葉の K、Ca、Mg および Mn 濃度の季節変化。図中の各シンボルは 4 個体の平均値(±標準偏差)。非衰退木(○)と衰退木(●)との間の有意差(* p<0.05, ** p<0.01, *** p<0.001)。

および 9 月 23 日において有意に低かった(図 26-a)。一方、いずれの時期においても、非衰退木と衰退木の当年葉における Ca、Mg および Mn 濃度に関しては、有意差は認められなかった(図 26-b, c, d)。

③総合考察

奥日光地域では、前述したダケカンバ以外にもシラビソやオオシラビソをはじめとする数種の樹木の衰退が観察されているが、その実態や原因については詳細な調査が行われていない。本調査においては、シラビソ衰退木と非衰退木の葉内成分の比較を通して、シラビソの衰退原因について考察した。2000 年と 2001 年の両調査では、シラビソ衰退木の当年葉と前年葉におけるクロロフィル濃度が非衰退木のそれらに比べて低く、またクロロフィル a/b 比が変化していることから、衰退木の針葉の光合成における光利用効率が低下している可能性が指摘される。これに対して、ほとんどの時期において、シラビソ衰退木の針葉における TSP 濃度、Rubisco 濃度および Rubisco/TSP 濃度比は、非衰退木のそれらと有意差が認められなかった。シラビソの光合成の場に関しては影響されていないと思われる。一方、シラビソ衰退木の当年葉と前年葉の K 濃度は、非衰退木のそれらに比べて有意に低い場合が多かった。奥日光の森林衰退地域においては、比較的 pH が低い酸性霧が発生しており、シラビソなどの衰退に関与している可能性が報告されている(村野 1993)¹⁰⁾。酸性雨や酸性霧のような酸性降下物によって葉表面のクチクラワックスが侵食されると、植物体内からのカチオンなどの溶脱が促進されることが報告されている(Scherbatskoy and Klein, 1983; Turner and Tingey, 1990)。したがって、今後は、シラビソ衰退木で観察された針葉の K 濃度の低下と酸性霧などの酸性降下物との関係を検討する必要がある。

5. 樹木の生長に及ぼすオゾンと水ストレスの単独/複合影響に関する実験的解析

(1) 材料と方法

①植物材料と栽培条件

野外調査を行った奥日光地域で現在衰退が認められる樹種のうち、種子あるいは苗木の入手が可能であった以下の植物を本研究で使用し、オゾンや水ストレスの影響について検討した。

- (a) ダケカンバ (*Betula Ermanii*) の二年生苗木、
- (b) 種子から発芽育成したダケカンバの実生苗、
- (c) シラビソ (*Abies veitchii*) の六年生苗木、
- (d) 種子から発芽育成したオオシラビソ (*Abies mariesii*) の実生苗

ダケカンバとシラビソの種子はパーミキュライトに播種し、気温：20/15 °C(昼/夜)、湿度：70 ± 5%RH に制御した自然光型環境制御温室の中で発芽・育成した。発芽約 3 ヶ月後には、赤土(国立環境研究所内)50%+パーミキュライト 25%+赤玉小粒 25%、を混合した人工培土を詰めたプラスチックポット(1/10,000a；直径 12cm；高さ 20cm)に 1 個体ずつ移植した。液体肥料としてハイポネックスの 1000 倍希釈液を各ポットあたり 3 日に 1 回、適量与えた。

ダケカンバとオオシラビソの苗木については、購入後直ちに、上記人工培土を詰めたプラスチックポットに移植し、上記と同様な環境条件に制御した自然光型環境制御温室のもとで育成し、実験に供試した。

②オゾン曝露/水ストレス処理実験

各苗を自然光型ガス曝露チャンバーに搬入し、ガス曝露および水ストレス処理を行った。チャンバー内の気温は 06:00 から徐々に上昇させ、08:00 ~ 18:00 には 20 ± 1 °C となるように制御した。その後、徐々に温度を下げ、20:00 ~ 06:00 には 12.5 ± 1 °C とした。実験期間中の相対湿度は一定 ($70 \pm 5\%$) に制御した。

オゾン (O_3) の影響に関しては、清浄区 (N 区 ; $<5\text{ppb}O_3$) と曝露区 (O 区 ; 日平均 $50\text{ppb}O_3$) の植物の生長等を比較することによって行った。清浄区では、活性炭フィルターによって浄化した空気をファイトトン内に導入し、オゾン濃度を 5ppb 以下に制御した。曝露区では、同様の浄化空気に、オゾン発生器で発生させたオゾンを加えてチャンバー内に導入した。毎日 08:00 から徐々にオゾン濃度を上昇させて、13:00 ~ 17:00 の 4 時間は 100ppb に制御し、17:00 から徐々に濃度を低下させて 22:00 に 20ppb となるように制御した。本研究におけるオゾン濃度の設定は、国立環境研究所奥日光環境観測所における観測から得られたオゾン濃度のパターンを基準とした。

水ストレス処理をオゾン処理と同時に行ったが、水ストレス 0 (W0 ; $1.0 < \text{pF} < 1.8$: 平均含水量 38%)、水ストレス 1 (W1 ; $1.8 < \text{pF} < 2.5$: 平均含水量 27%)、水ストレス 2 (W2 ; $2.5 < \text{pF} < 3.0$: 平均含水量 17%) の 3 処理区を設けた。土壌 pF 値はテンシオメータ (DIK-3060 ダイキ理化学工業) で測定し、各処理の範囲内に収まるように、適宜灌水した。

上記の実験条件を組み合わせた結果、本研究では以下の 6 種類の処理区を設けた。

NW0 区 : O_3 0ppb + 水ストレス 0 ($1.0 < \text{pF} < 1.8$)

NW1 区 : O_3 0ppb + 水ストレス 1 ($1.8 < \text{pF} < 2.5$)

NW2 区 : O_3 0ppb + 水ストレス 2 ($2.5 < \text{pF} < 3.0$)

OW0 区 : O_3 50ppb + 水ストレス 0 ($1.0 < \text{pF} < 1.8$)

OW1 区 : O_3 50ppb + 水ストレス 1 ($1.8 < \text{pF} < 2.5$)

OW2 区 : O_3 50ppb + 水ストレス 2 ($2.5 < \text{pF} < 3.0$)

③実験期間

各実験植物毎に上記の処理を行った期間は以下のようである。

(a) ダケカンバ (*Betula Ermanii*) の二年生苗木 : 2001 年 6 月 14 日 ~ 10 月 15 日

(b) 種子から発芽育成したダケカンバの実生苗 : 2000 年 8 月 21 日 ~ 11 月 27 日

(c) シラビソ (*Abies veitchii*) の六年生苗木 : 2000 年 8 月 21 日 ~ 11 月 27 日および 2001 年 6 月 14 日 ~ 10 月 14 日の 2 季節

(d) 種子から発芽育成したオオシラビソ (*Abies mariesii*) : 2000 年 8 月 21 日 ~ 11 月 27 日および 2001 年 6 月 14 日 ~ 10 月 14 日の 2 季節

なお、上記 (c) と (d) に関しては 2000 年 11 月 28 日 ~ 2001 年 6 月 13 日の間は、野外のガラス温室内で加温せずに育成した。

④乾重生長

実験開始時に、供試した苗木の中から無作為に 12 個体を選び、サンプリングし、初期値を計測した。また、実験終了時には、各処理区のすべての苗木をサンプリングした。苗木は、葉、幹および根に分別し、葉面積を測定した後、 80 °C で 3 日間以上乾燥させ、乾重を測定した。

実験に供試した植物のうち、(a) ダケカンバ (*Betula Ermanii*) の二年生苗木に関しては、特に以下⑤~⑩の解析・計測も実施し、オゾン曝露と水ストレスのダケカンバの生理生態機能への影響

について詳細に解析した。

⑤ 生長解析

実験開始時 (t_1) および終了時 (t_2) におけるダケカンバ苗の乾重に基づいて、4 ヶ月間の育成期間中における、個体乾物生長の相対生長率 (RGR)、純同化率 (NAR)、葉面積比 (LAR) および比葉面積 (SLA) を以下の式より算出した¹⁹⁾。

$$\text{RGR} (\% \text{ day}^{-1}) = [(\ln W_2 - \ln W_1) / (t_2 - t_1)] \times 100$$

$$\text{NAR} (\text{g cm}^{-2} \text{ d}^{-1}) = [(W_2 - W_1) / (t_2 - t_1)] \times [(\ln LA_2 - \ln LA_1) / (LA_2 - LA_1)]$$

$$\text{LAR} (\text{cm}^2 \text{ d}^{-1}) = \text{RGR} / \text{NAR}$$

$$\text{SLA} (\text{cm}^2 \text{ g}^{-1}) = \text{LA} / W$$

ここで、 W_i : 時間 t_i における個体乾重 (g)、 LA_i : 時間 t_i における葉面積 (cm^2) である。

また、乾重の測定結果に基づいて、各植物器官への乾物分配率を下記の式より算出した。

$$\text{乾物分配率} (\%) = [(OW_2 - OW_1) / (W_2 - W_1)] \times 100$$

ここで、 OW_i : 時間 t_i における各植物器官の乾重 (g) である。

⑥ ガス交換速度 (純光合成速度・蒸散速度)

実験開始 16 週目から 17 週目において、各処理区のダケカンバ 6 個体を無作為に選んで、携帶式光合成蒸散測定装置 (CIRAS Shimadzu Co. Ltd.) を用いてダケカンバの葉の光合成速度および蒸散速度の計測を行った。測定時のキュベット内における二酸化炭素濃度と気温は、各々 $380 \pm 10 \text{ ppm}$ 、 $20 \pm 0.5 \text{ }^\circ\text{C}$ に制御した。光合成速度測定時の葉面における光合成有効放射量は $580 \pm 20 \mu \text{ mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ にした。

⑦ 水ポテンシャル

光合成速度・蒸散速度を測定後、直ちに植物の葉片を切り取り、プレッシャーチャンバーを用いて、水ポテンシャルを測定した。

⑧ クロロフィル含有量

サンプリング直後、直径 1cm のリーフディスクを同一葉から 2 枚打ち抜き、乳鉢に入れ 80% アセトンを加えて磨砕した。冷却遠心 ($9000\text{g} \times 5 \text{ 分}$) 後、上澄液を 80% のアセトンで 50ml に定容した。646nm と 663nm における吸光度を分光光度計 (Hitachi Co. Ltd., Tokyo, Japan) で測定し、クロロフィル含有量を算出した。

⑨ RuBP カルボキシラーゼ/オキシゲナーゼ (Rubisco) 含有量

上記の磨砕した葉の試料に抽出バッファ 1.0ml を加えて、Rubisco 含有量の測定用の抽出を行った。抽出バッファの組成は、100mM HEPES (pH7.5, 25 °C)、5mM EDTA、0.7% polyethylene glycol 20000 (w/v)、2% polyvinylpyrrolidone (PVPP, insoluble (w/v))、1mM PMSF、0.2% β -mercaptoethanol (v/v) である。その後、試料をマイクロテストチューブに移し、冷却遠心 ($9000\text{g} \times 10 \text{ 分}$) 後の上澄液を Rubisco 含有量の測定試料液とした。試料液を抽出バッファで 2 倍に希釈し、それに対して等量のサンプルバッファを加えて混ぜた後、95 °C で 5 分間加熱し、試料中のタンパク質を SDS 化させた。ポリアクリルアミドゲルを作製し、SDS 化させた試料を電気泳動にかけ、coomasie brilliant blue (CBB) で染色し、ゲル上の Rubisco ラージサブユニット (LSU) のバンドをデンストグラフ (AE-6920MF ATTO Co. Ltd.) で読み取り、Rubisco 含有量を算出した。

⑩ 葉内元素の測定

各処理区から乾重を測定した植物の葉を 4 枚ずつ選び、粉碎した。この試料 0.1g と 3ml 濃硝酸

酸を加水分解装置で溶解し、濾過した液を蒸留水で 50ml に定容し、葉内元素の試料液とした。K、Ca、Al、Mn、Mg、Fe、Cu 等の元素濃度は、ICP-750 (Nippon Jarrell-Ash) を用いて測定した。全炭素および全窒素含量は、C,N アナライザ (NC-90A, Shimadzu Corp., Osaka, Japan) で測定した。

⑪統計処理

乾物生長の測定項目等について、オゾンと水ストレスを要因とした二元配置分散分析を行い、各要因の単独および交互作用について検定した。本研究ではすべての統計解析には、J-star を用い、5%レベルおよび 1%レベルの有意差検定を行った。

(2) 結果と考察

①ダケカンバ (*Betula Ermanii*) の二年生苗木に対するオゾンと水ストレスの影響解析

図 27 に、最終サンプリング時におけるダケカンバの葉、茎、根の各器官および個体の乾重の測定結果を、また、表 1 に、二元配置分散分析の結果を示した。O₃ 曝露によって葉、根および個体の乾重生長は抑制され、オゾンの単独効果が認められた。また、水ストレス処理によって各器官および個体の乾重生長は抑制され、水ストレスの単独効果が認められた。水ストレスが大きいほどその影響は大きかった。しかし、これらの器官および個体の乾重に対するオゾンと水ストレスの有意な複合効果は認められなかった(表 1)。

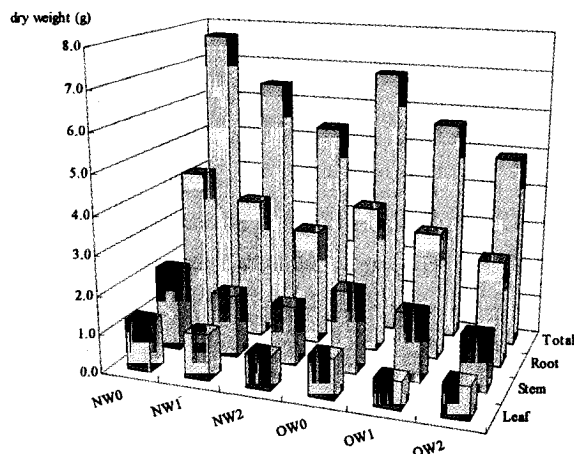


図 27. ダケカンバ二年生苗木の葉・幹・根および個体の乾重生長に及ぼすオゾンと水ストレスの影響。

表 2 に、生長解析を行って算出した各生長パラメータを示した。オゾンの影響を NW0 区と OW0 区との比較からみると、NW0 区に比べて OW0 区での RGR の低下は LAR によるものではなく、NAR の低下に起因すると思われた。また、水ストレスの影響を NW0 区と NW1 区、NW2 区との比較からみると、水ストレス処理による RGR の低下は NAR と LAR

表 1. 二元配置分散分析 (ANOVA) によるダケカンバ二年生苗木の乾重生長影響の要因検定。

	葉乾重	幹乾重	根乾重	個体乾重
オゾン (O ₃)	*	—	*	*
水ストレス (WS)	*	**	**	*
O ₃ × WS	—	—	—	—

** : 1%有意差あり, * : 5%有意差あり, — : 有意差なし。

の双方が低下したことに起因すると思われた。水ストレスとオゾンの複合影響に関しては、少々複雑であるが、オゾン曝露と同時に強い水ストレス処理を行った場合、RGR の低下以上に NAR は低下して

表 2. ダケカンバ二年生苗木の各生長パラメータに及ぼすオゾンと水ストレスの影響。

	NW0	NW1	NW2	OW0	OW1	OW2
RGR (mg·mg ⁻¹ ·day ⁻¹)	1.21	1.08	0.93	1.14	0.94	0.85
NAR (mg·cm ⁻² ·day ⁻¹)	0.25	0.22	0.21	0.23	0.23	0.16
LAR (cm ² ·mg ⁻¹)	4.90	4.85	4.53	4.92	4.06	5.31
SLA (cm ² ·mg ⁻¹)	0.19	0.16	0.16	0.21	0.18	0.21
Top/Root (%)	80	77	79	83	75	81

おり、それを若干補うように LAR がむしろ上昇していた。LAR そして葉の薄さを表す SLA に関してはオゾンと水ストレスは相殺的に働く可能性が示唆された。なお、地上部/地下部 (Top/Root) 比や乾物の分配率に関しては、オゾンも水ストレスも明確な影響を示さなかった。乾物の分配率や同化産物の転流に関してはより詳細な検討が必要であろう。

図 28 に、オゾン曝露/水ストレス処理がダケカンバの葉の純光合成速度、蒸散速度、クロロフィル含有量、Rubisco 含有量に及ぼす影響を示した。純光合成速度は、オゾン曝露によって有意に低下し、また、水ストレス処理によっても有意に低下したが、二元配置分散分析の結果、オゾンと水ストレスの複合影響は認められなかった。一方、蒸散速度に対しては、オゾンと水ストレスの単独影響が認められたほか、複合影響(相殺作用)も有意に認められた。なお、水ポテンシャルに関しては、水ストレス処理で有意な増加傾向が見られたが、オゾン処理による影響は認められなかった。

クロロフィル a+b 含有量および Rubisco 含有量に関しては、オゾン曝露も水ストレス処理も一定の影響傾向がみられなかった(図 28)。また、本実験では、オゾン曝露や水ストレス処理による栄養成分への影響は認められなかった。

②ダケカンバの実生苗に対するオゾンと水ストレスの影響解析

図 29 に、最終サンプリング時におけるダケカンバの葉、茎、根の各器官および

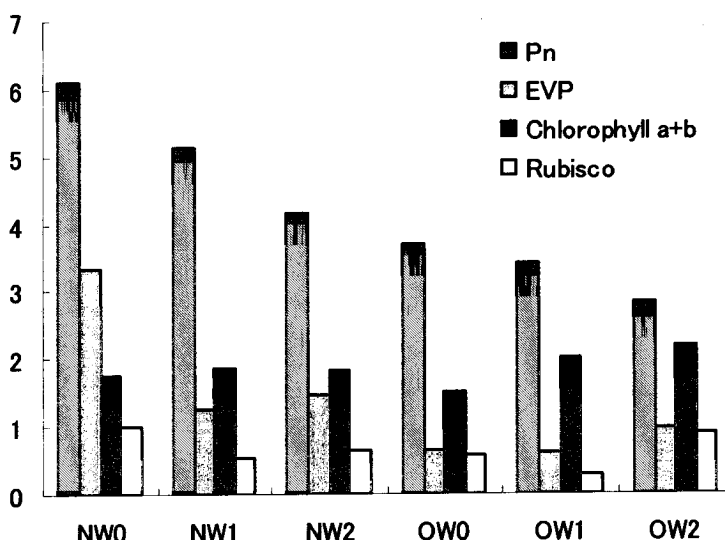


図 28. ダケカンバ二年生苗木の葉の純光合成速度、蒸散速度、クロロフィル含有量および Rubisco 含有量に及ぼすオゾンと水ストレスの影響。純光合成速度(Pn): $\mu \text{ mol m}^{-2} \text{ sec}^{-1}$; 蒸散速度(EVP): $\text{mmol m}^{-2} \text{ sec}^{-2}$; クロロフィル含有量(Chlorophyll a+b): $\text{mg g}^{-1} \text{ FW}$; Rubisco 含有量(Rubisco): %.

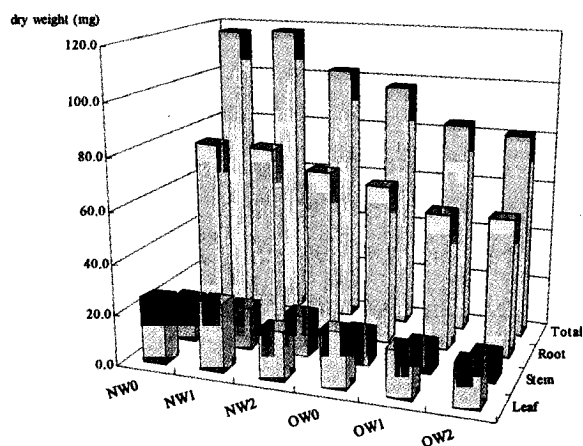


図 29. ダケカンバ実生苗の葉・幹・根および個体の乾重生長に及ぼすオゾンと水ストレスの影響。

表 3. 二元配置分散分析(ANOVA)によるダケカンバ実生苗の乾重生長影響の要因検定。

	葉乾重	幹乾重	根乾重	個体乾重
オゾン(O ₃)	*	**	*	*
水ストレス(WS)	*	-	-	-
O ₃ × WS	-	-	-	-

** : 1%有意差あり, * : 5%有意差あり, - : 有意差なし.

個体の乾重の測定結果を、また、表3に、二元配置分散分析の結果を示した。O₃曝露によって各器官および個体の乾重生長は顕著に抑制され、オゾンの単独効果が認められた。また、水ストレス処理によっても乾重生長は抑制されたが、二元配置分散分析の結果としては、根のみに有意な水ストレスの単独効果が認められた。なお、上記①二年生苗の場合と同様に、これらの器官および個体の乾重に対するオゾンと水ストレスの有意な複合効果は認められなかった(表3)。

③シラビソ(*Abies veitchii*)の六年生苗木に対するオゾンと水ストレスの影響解析

図30に、最終サンプリング時におけるシラビソの葉、茎、根の各器官および個体の乾重の測定結果を、また、表4に、二元配置分散分析の結果を示した。O₃曝露によって葉、根および個体の乾重生長は抑制され、オゾンの単独効果が認められた。また、水ストレス処理によって各器官および個体の乾重生長は抑制され、水ストレスの単独効果が認められた。水ストレスが大きいほどその影響は大きかった。本実験条件では比較すると水ストレスよりもオゾンの方が影響は大きかった。なお、シラビソに対しても、各器官および個体乾重に対するオゾンと水ストレスの有意な複合影響は認められなかった(表4)。

④オオシラビソ(*Abies mariesii*)の実生苗に対するオゾンと水ストレスの影響解析

図31に、最終サンプリング時におけるオオシラビソの葉、茎、根の各器官および個体の乾重の測定結果を、また、表5に、二元配置分散分析の結果を示した。O₃曝露によって各器官および個体の乾重生長は抑制される傾向にあったが、個体差が大きく、二元配置分散分析の結果では、有意なオゾンの単独効果は認められなかった。また、水ストレス処理によっても各器官および個体の乾重生長は抑制される傾向が明らかに認められたが、有意な水ストレスの単独効果が得られたのは茎乾重のみであった。なお、ダケカンバやシラビソの場合と同様に、オオシラビソに対しても、各器官および個体乾重に対するオゾンと水ストレスの有意な複合影響は認められなかった(表5)。

⑤総合考察

オゾン曝露によって、本実験に用いたすべての樹木種では個体の乾重生長が低下する傾向が認められたが、二元配置分散分析の結果、統計的には、ダケカンバとシラビソで有意なオゾンの影響が認められた。ダケカンバ二年生苗木に及ぼす影響を生長解析した結果、オゾンによるRGRの低下は、主としてNARの低下によっており、葉の乾物生産効率がオゾンの影響を受けたこと

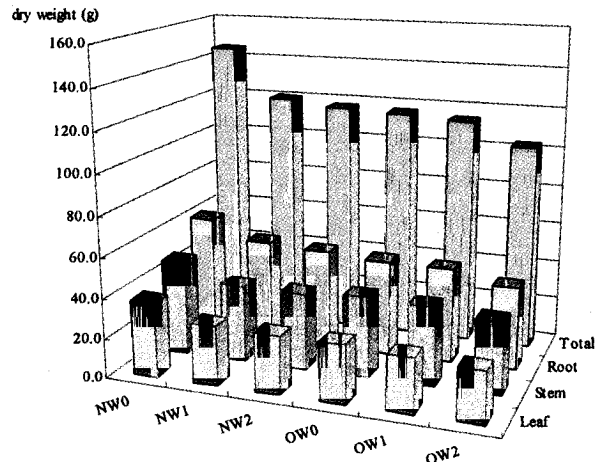


図30. シラビソ六年生苗木の葉・幹・根および個体の乾重生長に及ぼすオゾンと水ストレスの影響。

表4. 二元配置分散分析(ANOVA)によるシラビソ六年生苗木の乾重生長影響の要因検定。

	葉乾重	幹乾重	根乾重	個体乾重
オゾン(O ₃)	*	-	**	**
水ストレス(WS)	**	**	*	**
O ₃ × WS	-	-	-	-

** : 1%有意差あり, * : 5%有意差あり, - : 有意差なし.

が示唆された(表 2)。この主要な原因はオゾンによる純光合成速度の抑制であろう。実際、本研究では、ダケカンバの純光合成速度はオゾン暴露によって有意に抑制されており、また、蒸散速度や気孔コンダクタンスも低下していた(図 28)。オゾンが植物の光合成を抑制することは多くの植物で認められており(Martin et al. 1998)²⁰⁾、また、オゾンは気孔コンダクタンスを減少させ、気孔から葉内への CO₂ 供給量が低下することにより、純光合成が抑制されることも報告されている(Wieser and Havranek 1996)²¹⁾。ダケカンバの気孔閉鎖そして光合成はオゾンにかなり敏感かもしれない。一方、オゾン暴露による純光合成速度の低下には、気孔の閉鎖よりむしろ葉内の光合成活性が影響を受けるといふ報告もあり、オゾンによるクロロフィルや Rubisco の活性あるいはその含有量の低下について検討する必要がある。しかし、本研究で測定した限りでは、クロロフィルについても Rubisco についてもその含有量に一定の傾向は認められなかった。オゾンが光合成の生理生化学的機作に及ぼす影響、また同化産物の転流等に及ぼす影響については今後の課題である。

水ストレスによってもこれらの樹種の生長は抑制される傾向にあったが、二元配置分散分析の結果、統計的には、ダケカンバ二年生苗木とシラビソ六年生苗木で有意な水ストレスの影響が認められた。むしろ水ストレスに敏感であろうと予想された実生苗の個体乾重には統計的には影響が認められなかった。ダケカンバ二年生苗木に対する生長影響を解析すると、その RGR の低下には NAR と LAR の双方が関係しており、葉の乾物生産効率の低下とともに葉の薄さや同化産物の分配等も影響を受けた可能性が示唆された。

本実験で用いた植物の乾物生長に関しては、オゾンと水ストレスの複合影響は認められず、両要因はこれらの樹種の生長に対して相加的に作用したと判断される。ただし、LAR や SLA に対しては、相殺的な傾向も認められており(表 2)、また、蒸散量に関しては優位な相殺効果が認められた(図 28)。例えば、水ストレスによって気孔が閉鎖ぎみの植物ではオゾンの吸収量が少なく、オゾンの影響を受けにくいなどといった機作が考えられる(Kronfub et al. 1998、Martin et al. 1998)。しかし、複合処理した OW1 区や OW2 区では、最終的な乾物生長は相加的に抑制されており、オゾンと水ストレスは長期的には独立に影響していると考えられる。

ダケカンバへの影響に関してみると、小型の実生苗にはオゾン暴露の影響がむしろ大きいのに対し、比較的大きな二年生の苗木に対しては、むしろ水ストレスの影響が顕著であった。樹齢に

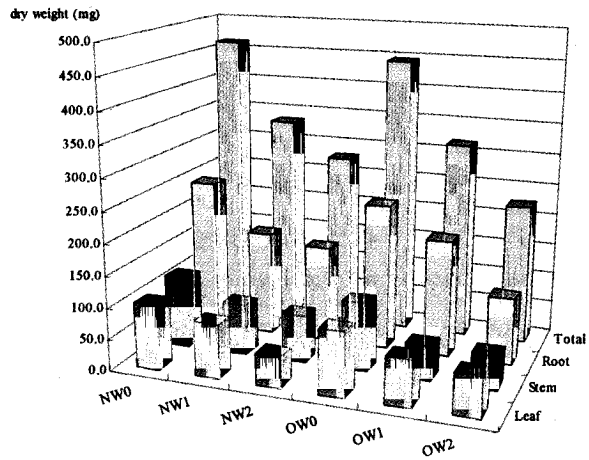


図 31. オオシラビソ実生苗の葉・幹・根および個体の乾物生長に及ぼすオゾンと水ストレスの影響。

表 5. 二元配置分散分析(ANOVA)によるオオシラビソ実生苗の乾物生長影響の要因検定。

	葉乾重	幹乾重	根乾重	個体乾重
オゾン(O ₃)	—	—	—	—
水ストレス(WS)	—	*	—	—
O ₃ × WS	—	—	—	—

** : 1%有意差あり, * : 5%有意差あり, — : 有意差なし。

よって同樹種でもオゾンや水ストレスに対する感受性が異なることも予想され、今後、より長期的な実験が必要であると考えられる。

6. 本研究により得られた成果

前白根山直下の稜線上の標高 2320m 付近におけるダケカンバの衰退が認められない北西側斜面を非衰退地とし、ダケカンバが衰退している南東側斜面を衰退地として、ダケカンバの生理生態学的特性を調査した。その結果、以下のことが明らかになった。①非衰退地に比べて衰退地のダケカンバでは、葉のクロロフィル濃度、可溶性タンパク質(TSP)濃度および RuBP カルボキシラーゼ/オキシゲナーゼ(Rubisco)濃度の低下時期と葉の黄化や落葉の開始時期が早かったことより、葉の老化時期が早いことが明らかになった。②非衰退地に比べて衰退地のダケカンバの当年シュート(枝・葉・芽)の生長量やその数は少なかった。当年シュートの純同化率(NAR)については両調査地間で有意差は認められなかったが、非衰退地に比べて衰退地のダケカンバの当年シュートの葉面積比(LAR)は有意に低かったことから、両調査地での生長量の差には、葉の光合成能力よりも、シュートあたりの葉面積の違いが寄与したと考えられた。③単位葉面積あたりの窒素濃度については両調査地で有意差がなかったが、非衰退地に比べて衰退地のダケカンバの当年シュートの葉に蓄積された窒素含量は有意に少なかった。非衰退地より衰退地のダケカンバの当年シュートの生長量が低かったことには、当年シュートの窒素吸収量が少なかったことが関与している可能性が考えられた。④非衰退地に比べて衰退地のダケカンバの方が、葉に有用な K、Ca、Mg の濃度はむしろ高く、有害と考えられる Mn 濃度などは低かったことから、これらの栄養塩類や重金属類がダケカンバの衰退に関与しているとは思われなかった。⑤現地における環境要因計測との比較から、非衰退地と比べた衰退地での水分環境の差やオゾン濃度の差が、ダケカンバの当年枝の生長やクロロフィル含有量や Rubisco 含有量の早期低下、早期黄化・落葉に影響した可能性も考えられた。

白根山周辺におけるシラビソの非衰退木と衰退木から当年葉と前年葉を採取し、それらのクロロフィル濃度、TSP 濃度、Rubisco 濃度および無機元素濃度を測定した。⑥シラビソの葉のクロロフィル濃度は非衰退木に比べて有意に低く、シラビソ衰退木の針葉の光合成における光利用効率の低下が示唆された。⑦これに対して、いずれの時期においても、シラビソの非衰退木と衰退木の針葉における TSP 濃度、Rubisco 濃度および Rubisco/TSP 濃度比に有意差は認められなかった。⑧一方、シラビソ衰退木の葉の K 濃度は、非衰退木のそれらに比べて有意に低かった。奥日光の森林衰退地域では低 pH の酸性霧が発生しており、また、酸性降下物によって植物体内からのカチオンなどの溶脱が促進されることが報告されている。今後は、シラビソ衰退木の針葉における K 濃度の低下と酸性霧などの酸性降下物との関係を検討する必要がある。

ダケカンバ、シラビソ、オオシラビソに及ぼすオゾンと水ストレスの影響を、環境制御室を用いて、実験的に検討した。⑨個体乾重への影響を見ると、ダケカンバやシラビソではオゾンや水ストレスの有意な影響が認められたが、オオシラビソでは有意差が認められなかった。⑩オゾンはダケカンバの光合成速度や蒸散速度を抑制し、NAR の低下を引き起こしており、これが生長抑制につながっていると推察された。⑪水ストレスもダケカンバの光合成速度や蒸散速度を抑制したが、NAR だけでなく LAR も低下させていた。⑫これらの植物の乾重生長へのオゾンと水ストレスの複合影響は認められなかったが、ダケカンバの蒸散速度に対しては、オゾンと水ストレ

スとの間で相殺的な複合影響が認められた。⑬ダケカンバやシラビソの衰退には、オゾンや水ストレスが影響している可能性が実験的に推察された。今後、さらに詳細な長期暴露実験や現地における長期的な環境計測や植生調査によって、奥日光などで観察されるこれらの植物の衰退原因が解明されることが期待される。

7. 引用文献

- 1) Smith, W. H. (1990) Air Pollution and Forests, Interaction Between Air Contaminants and Forest Ecosystems. Second Edition, New York, p.618
- 2) 高橋啓二, 沖津進, 上田洋匡(1987)関東・更新地方におけるスギの衰退と大気二次汚染物質の分布. 森林立地学会誌, 28, 11-17
- 3) 井川学(1992)酸性霧とその環境影響. 森林立地, 34, 36-39
- 4) 丸田恵美子, 志摩克, 堀江勝年, 青木正敏, 土器屋由紀子, 伊豆田猛, 戸塚績, 横井洋太, 坂田剛(1999)丹沢・檜洞丸におけるブナ林の枯損と酸性降下物. 環境科学会誌, 12, 241-250
- 5) 谷本丈夫, 劉岩, 里道知佳, 大久保達弘, 二瓶幸志(1996)奥日光・足尾・赤城山地における森林衰退と立地環境. 森林立地学会誌, 38 (1), 1-12
- 6) 松本陽介, 丸山 温, 森川 靖(1993)酸性雨によるスギ衰退の原因を考察する水ストレス説. 資源環境対策, 29 (2), 150-166
- 7) 小川和雄, 松本利恵, 高野利一(1992)埼玉県東部におけるスギの衰退とその原因. 人間と環境, 18 (2), 61-69
- 8) 神奈川県丹沢大山自然環境総合調査団(1994)丹沢大山自然環境総合調査 中間報告会試料.
- 9) 長谷川順一(1993)日光の森はなぜ枯れるのか. フロラ栃木, (2), 6-11
- 10)伊豆田猛, 松村秀幸, 河野吉久, 清水英幸(2001)樹木に対するオゾンの影響に関する実験的研究, 大気環境学会誌, 36(2), 60-77
- 11)伊豆田猛, 松村秀幸, 河野吉久, 清水英幸(2001)樹木に対する酸性降下物の影響に関する実験的研究, 大気環境学会誌, 36(3), 137-155
- 12)Hunt, R. (1978) Growth analysis of individual plants. Plant Growth Analysis, Edward Arnold Publishers Ltd., London, pp.8-251)
- 13)Arnon, D. I. (1949) Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. Plant physiology, 24 (1), 1-15
- 14)Laemmli U. K. (1970) Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. Nature, 227, 680-685
- 15)丸山幸平 (1983) ブナの冬芽の大きさと新鞘の形質との関連性について. 日本林学会誌, 65 (2), 43-51
- 16)Taylor, J. E. and Whitelaw, C. A. (2001) Signals in abscission. New Phytologist, 151, 323-339
- 17)Hikosaka, K., Hanba, Y., Hirose, T. and Terashima, I. (1998) Photosynthetic nitrogen use efficiency in leaves of woody and herbaceous species. Functional Ecology, 12, 896-905
- 18)村野健太郎 (1993) 酸性雨と酸性霧, 裳華房, pp. 144-148
- 19)Hunt, R. (1978) Plant growth analysis, p.8-22, Edward Arnold Publishers Ltd., London (1978)
- 20)Martin, D., Didier, L. T. and Jean, P.G. (1998) Reactions of Norway spruce and beech trees to 2 years of

ozone exposure and episodic drought. *Environmental and Experimental Botany* 40, 77-91.

- 21) Wieser, G. and Havranek, W. M. (1996) Evaluation of ozone impact on mature spruce and larch in the field. *J Plant Physiol* 148, 189-194
- 22) Kronfub, G., Polle, A., Tausz, M., Havranek, W. M. and Wieser, G. (1998) Effects of ozone and mild drought stress on gas exchange, antioxidants and chloroplast pigments in current-year needles of young Norway spruce. *Trees* 12, 482-489

[国際共同研究等の状況]

なし

[研究成果の発表状況]

(1) 誌上発表 (学術誌・書籍)

- ①伊豆田猛, 松村秀幸, 河野吉久, 清水英幸: 大気環境学会誌, 36(2), 60-77 (2001) 「樹木に対するオゾンの影響に関する実験的研究」
- ②伊豆田猛, 松村秀幸, 河野吉久, 清水英幸: 大気環境学会誌, 36(3), 137-155 (2001) 「樹木に対する酸性降下物の影響に関する実験的研究」
- ③ L.D. Emberson, M.R. Ashmore, F. Murray, J.C.I. Kuylenstierna, K.E. Percy, T. Izuta, Y. Zheng, H. Shimizu, B.H. Sheu, C.P. Lui, M. Agrawal, A. Wahid, N.M. Abdel-Latif, M. van Tienhoven, L.I. de Baul, M. Domingos : *Water, Air, Soil Pollut.*, 130, 107-118 (2001) “Impacts of air pollutants on vegetation in developing countries”
- ④ Y. Zheng, H. Shimizu, J.D. Barnes : *New Phytologist*, 155, 67-78 (2002) “Limitations to CO₂ assimilation in ozone-exposed leaves of *Plantago major*”
- ⑤田村俊樹, 米倉哲志, 中路達郎, 清水英幸, 馮延文, 伊豆田猛: 大気環境学会誌, (2002)印刷中. 「前白根山周辺におけるダケカンバの生育状況、葉内成分および生育土壌に関する調査」
- ⑥ Y. Feng, N. Ogura, Z. Feng, F. Zhang, H. Shimizu : *Water, Air, and Soil Pollution* (投稿中) “The concentrations and sources of fluoride in atmospheric depositions in Beijing, China”

(2) 口頭発表

- ① Y. Feng, N. Ogura, Z. Feng and Y. Huang: *Acid rain 2000, 6th International Conference on Acidic Deposition*, Tsukuba, Japan (2000) “A study on chemical characteristics of atmospheric deposition and element budgets at forest catchment area in Beijing suburb”
- ②馮延文, 清水英幸: 環境科学会 2001 年会 (2001) 「ダケカンバの生長に及ぼすオゾンと水ストレスの単独/複合影響」
- ③馮延文, 大田伸之, 田村俊樹, 伊豆田猛, 清水英幸: 第 42 回大気環境学会 (2001) 「奥日光前白根山周辺におけるダケカンバ衰退に関する調査. 1. ダケカンバの衰退現状とオゾン濃度」
- ④田村俊樹, 馮延文, 清水英幸, 伊豆田猛: 第 42 回大気環境学会 (2001) 「奥日光前白根山周辺におけるダケカンバ衰退に関する調査. 2. ダケカンバのフェノロジー特性と葉内成分および土壌化学性」
- ⑤馮延文, 清水英幸: 環境科学会 2002 年会 (2002) 「ダケカンバの生長および光合成に及ぼすオゾンと水ストレスの単独/複合影響」

⑥田村俊樹，河辺喬，富永健吾，太田純史，馮延文，清水英幸，伊豆田猛：第 43 回大気環境学会（2002）「奥日光前白根山周辺の森林衰退地におけるダケカンバの生長特性」

（3）出願特許

なし

（4）受賞等

なし

（5）一般への公表・報道等

①ダイエー OMC エコロジーカード活動報告書（本研究をダケカンバ衰退地の写真と共に紹介）

②環境会議（2001 年 1 月号，宣伝会議，本研究課題を紹介）

③NHK サイエンスアイ（2001 年 11 月 10 日，森林衰退に関する環境ストレスについて紹介）

（6）その他成果の普及、政策的な寄与・貢献について

環境省の酸性雨対策検討会や（財）日本環境衛生センター酸性雨研究センターの土壌・植生モニタリングワーキンググループにおける酸性雨の生態影響に関する検討において、本研究の成果に基づいて酸性雨モニタリング地点の選定や森林生態系に対する酸性雨の影響評価などに貢献した。今後も、本研究で得られた手法や成果について EANET などと連携し、アジア地域での研究の推進に役立てるように、その広報・普及に努める。