

過剰害が北海道の落葉広葉樹に与える影響を、主として可視障害、成長、光合成機能の面から検討した。

北海道の落葉広葉樹の光合成特性

北海道の落葉広葉樹林を構成する樹種は光合成の光利用の遠いから3つのタイプに分けられる (Koike 1988)。すなわち、森林遷移の初期に現れるシラカンバ、ダケカンバ、ケヤマハンノキは強光を利用して光合成をおこなうのに適しているが、弱光下での光合成効率は低い (強光利用型)。イタヤカエデは森林遷移の後期に現れる樹種であり、弱光を効率よく利用することができるとが、ハルニレは遷移の中間に現れる樹種であり、強光も弱光も利用できるとが、ハルニレは遷移の中間型である (中間型)。マンガンの過剰集積がこれらの光合成特性の異なる樹木におよぼす影響について考察していく。

1. マンガン過剰害の可視障害

マンガンの過剰に集積することによって植物は様々な形態的、生理的障害を生じることが知られている (for review: Horst 1988)。マンガンは葉において顕著に集積するため、可視障害の発現は葉において顕著に認められる。一般に古い葉では褐変や褐色斑が生じ、若い葉では黄化が生じる。こまが知られてい。しかし、可視障害の発現の仕方は植物種に大きく依存するため、マンガンの過剰害を診断する際の指標とするためには、樹木においてもそれぞれ樹種において生じる可視障害の様子を明らかにする必要がある。そこで、マンガンを過剰に供した水耕栽培によるシラカンバ、ダケカンバ、ケヤマハンノキ、ハルニレ、イタヤカエデの5樹種におけるマンガンの過剰害の可視障害の様子を明らかにした。

材料と方法

マンガンの処理

シラカンバ、ダケカンバ、ケヤマハンノキ、ハルニレ、イタヤカエデの5樹種についてマンガンを過剰に供した水耕栽培をおこなった。材料は苗木で3年生 (イタヤカエデ) の苗木 (王子緑化、札幌) で、苗高が20~30cmのものを用いた。水耕栽培は森林総合研究所北海道支所のガラス室で自然光の下で培養液に通気をする方法でおこなった。マンガンの処理はコントロールを1 mg L⁻¹とし、10、50、100 mg L⁻¹の計4処理を設けた。マンガンの処理による樹種間の影響の違いを比較するためにそれぞれの処理について100リットルの培養液が入る大型水槽を用いて5つの樹種を栽培した。マンガンの以外の培養液の組成は40.0 (N)、10.8 (P)、27.2 (K)、6.1 (Mg)、5.0 (Fe) mg L⁻¹と微量元素であり、10日ごとに交換をおこなった。

結果と考察

マンガンを過剰に与えておこなった水耕栽培によって、落葉広葉樹5種には可視障害が生じた (写真1)。樹種にかかわらず、古い葉では褐変と褐色斑、若い葉では黄化がみられる傾向があった (図2)。褐色斑の生じる部位は次のような樹種による違いが認められた。褐色斑はシラカンバ、ダケカンバ、ケヤマハンノキでは葉の縁と葉脈と葉脈の間に、ハルニレでは葉脈に沿って、イタヤカエデでは葉の全体に一樣に生じていた。

ここで見られた褐色斑は酸化マンガンを含むので (Horst 1978)、樹種による発現部位の違いは葉の中のマンガンの分布の違いを表していると考えられる。一例として、シラカンバの葉を葉の縁、葉脈間、葉脈のそば、葉脈の4つの部位に切り分けてそれぞれマンガンの濃度を測定した結果を図2に示す。葉全体でマンガンの濃度が増加するとそれぞれの部位の濃度はほとんど割合を変えずに増加していき、シラカンバでの褐色斑の発現が葉の縁と葉脈間、葉脈のそばと葉脈間、葉脈間と葉脈間に高濃度のマンガンの集積するということから説明できるであろう (Kitao 未発表)。

2. マンガン過剰害が光合成におよぼす影響

マンガン過剰害が植物の生理機能におよぼす影響としては、クロロフィルの合成阻害 (Clairmont 1986)、ポリフェノールオキシダーゼ (polyphenol oxidase) 活性の増加 (Nable et al. 1986)、他の金属元素 (カルシウム、マグネシウムなど) の吸収阻害 (Izuta et al. 1994; Langheinrich 1992)、光合成活性の阻害 (Nable et al. 1988; Ohki 1985) などが挙げられる。これらの中でも光合成速度の低下は可視障害の発現より先行して起こるため (Nable et al. 1988)、マンガン過剰害の指標として適していると考えられる。そこで、光合成活性に着目してマンガン過剰害の評価を試みた。

光合成は光のエネルギーを利用して水と二酸化炭素から糖と酸素を作り出す作用であるが、その反応はいくつもの複雑な過程によって成り立っている (図3)。光合成反応は、光エネルギーを吸収して光合成に必要な物質 (NADPH、ATP) を生成する明反応系と、明反応系で作られた物質を用いて二酸化炭素を糖に還元する暗反応系の2つに分けられる。ここでは、明反応系の活性を示す指標として光量子収量 (Bjorkman 1981) を、暗反応系の活性を示す指標としてルビスコ活性とRuBP再生速度 (Sharkey 1985; Farquhar and Sharkey 1982) を用いて光合成反応を評価した。光量子収量 (図3-I) は明反応系での光の利用効率を示し、光-光合成曲線の初期勾配から求められる。ルビスコ (ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase) はカルビン回路へ二酸化炭素を取り込む際に働く酵素で、ルビスコ活性 (図3-II) は暗反応系初期段階での二酸化炭素の利用効率を示し、葉内二酸化炭素-光合成曲線の初期勾配から求められる。RuBP (ribulose-1,5-bisphosphate) 再生速度 (図3-III) はカルビン回路の代謝速度を示し、二酸化炭素が高濃度になったときの光合成の最大値から求められる (von Caemmerer and Farquhar 1981)。

マンガン過剰害が光合成のどの過程に影響をおよぼすのかを明らかにするためにシラカンバについてマンガン過剰集積が光量子収量 (図3-I)、ルビスコ活性 (図3-II)、RuBP再生速度 (図3-III) の3つの過程におよぼす影響を調べた。

材料と方法

光合成のガス交換能測定法

光合成のガス交換は2通りの方法を用いて測定した。1つは二酸化炭素のガス交換から求めるものである。完全に展開し葉齢が21~28日の葉について携帯型光合成蒸散測定装置 (Model H-3, Analytical Development Company, UK) を用いて測定をおこなった。飽和光 ($1100 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) での純光合成速度を通常大気中の二酸化炭素濃度 (35 Pa)、13 Pa、0 Pa の下で測定した。本研究において、測定した純光合成速度と計算によって求めた葉内二酸化炭素濃度とは直線関係にあったので、回帰によって求めた直線の傾きからルビスコ活性を算出した。

2つ目は光合成の酸素発生から求めるものである。葉齢が21~28日の葉から切り抜いた半径1cmのディスクについて、気相型酸素電極を用いて純光合成速度を求めた。飽和の二酸化炭素濃度 (5%) の下で、光強度を900、50、0 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ と変えて純光合成速度を測定した。光強度が50 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ の時の純光合成速度と光が0の時の暗呼吸速度の傾きから明反応系の活性を示す光量子収量を求めた。飽和二酸化炭素 (5%)、飽和光 ($900 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) での純光合成速度をRuBP再生速度の指標とした。

葉内マンガン濃度測定

光合成測定に用いた葉は脱イオン水で洗浄した後、乾燥機で2から3日乾燥させた。乾物重測定後、硝酸 (HNO_3) と過塩素酸 (HClO_3) の混合液によって湿式灰化をおこなった。マンガンの定量は原子吸光分光光度計 (Model 180-50, HITACHI, Japan) を用いておこなった。

結果と考察

シラカンバではマンガンが集積しても光量子収量にはほとんど影響は見られな

った(図4d)。このことはマンガン集積は光合成の明反応系にはほとんど影響をおよぼさないことを示している。一方、暗反応系の指標であるルビスコ活性(図4b)、RuBP再生速度(図4c)ともに顕著な影響を受けていることが明らかになった。

通常大気中の二酸化炭素濃度の下で測定した最大の光合成速度は実際の生育環境でのマンガン集積の影響を評価するのに適した指標と考えられるが、その値もマンガン集積によって低下する傾向が見られた(図4a)。データは示していないが本研究において、通常大気中の二酸化炭素濃度での光合成はルビスコ活性によって律速されていたので、マンガン集積によるルビスコ活性の低下が光合成への影響としても重要な意味を持つと考えられる(Kitao et al. 投稿中)。

3. 北海道主要広葉樹5種へのマンガン過剰害の影響

北海道では酸性硫酸塩土壌と呼ばれる特殊な酸性土壌が数多く存在している(Ishiwata et al. 1992)。酸性硫酸塩土壌はパイライト(FeS_2)という特殊な鉱物が酸素と水に触れることによって硫酸を生じることで酸性化した土壌である。北海道の夕張露天掘り跡地の酸性硫酸塩土壌は荒廃地化し、その後の緑化もうまくいっていないのが現状であるが、そのような荒廃地化した土壌においてもカンパ類の侵入は認められている。果たして、シラカンバ、ダケカンバはマンガン集積に対して強い耐性を持つのであろうか。光合成活性のうちルビスコ活性を指標として広葉樹5種のマンガン過剰集積に対する感受性の違いを比較した。ルビスコ活性の測定の方法は前述のものと同様である。

結果と考察

すべての樹種においてルビスコ活性はマンガン集積にともない低下する傾向が見られた(図4)。ハルニレ、イタヤカエデに比べると、シラカンバ、ダケカンバ、ケヤマハンノキはルビスコ活性の低下の度合いが顕著に小さいことが明らかになった。これらの樹種は葉へのマンガン集積に対して何らかの抵抗性を持つといえるだろう(Kitao et al. 準備中)。

4. マンガン処理が成長におよぼす影響

これまでマンガン集積が光合成におよぼす影響について見てきたが、マンガン集積によって引き起こされた光合成の低下は樹木の成長にどれだけ影響を与えるのであろうか。マンガン濃度を変えた培養液で水耕栽培をおこなった際のマンガン処理による成長への影響を比較した。水耕栽培の方法は前述のものと同様である。

材料と方法

成長量測定

成長量の比較には相対成長量を用いた。相対成長量(RGR)は $RGR = (\ln(W_2) - \ln(W_1)) / (t_2 - t_1)$ で求められる。ここで、 W_1 (g):栽培開始時の乾物重、 W_2 (g):栽培終了時の乾物重、 $t_2 - t_1$:栽培期間(日数)である。

結果と考察

図5bに示されているようにすべての樹種において処理区のマンガン濃度が上昇すると相対成長率も低下した。光合成へのマンガン集積の影響が小さかったシラカンバ、ダケカンバ、ケヤマハンノキではマンガン処理による成長への影響も小さく、光合成への影響の大きかったハルニレでは、成長への影響も大きかった。光合成への影響が大きかったイタヤカエデの成長があまり影響を受けていなかったのは、イタヤカエデの相対成長率の絶対値が小さく処理間の差が出にくかったことと(図5a)、イタヤカエデが前年の蓄えを使って葉を展開させる一斉開葉型の樹種であることに由来するであろう(Kitao et al. 準備中)。

5. 北海道の広葉樹の開葉パターン

北海道の広葉樹の開葉パターンは大きく3つのタイプに分けられる (Kikuzawa 1983)。

- 1) 順次開葉型：生育期間を通して常に新しい葉を展開し続けるタイプ。ケヤマハンノキがこのタイプに当てはまるが、シラカンバ、ダケカンバも順次開葉型に近い。
 - 2) 一斉+順次型：春先に数枚の葉を一斉に展開させるが、その後も条件が良ければ新しい葉を展開するタイプ。ハルニレはこのタイプである。
 - 3) 一斉開葉型：春先に一斉に葉を展開させるタイプ。その後は通常では新しい葉を展開しない。イタヤカエデはこのタイプである。
- このような開葉パターンの違いはマンガン過剰害の感受性にどのようにかかわっているのであろうか。マンガン処理が葉の展開数に与える影響を調べた。さらに、ケヤマハンノキに関しては葉齢とマンガン集積との関係について調べた。

材料と方法

マンガン処理がそれぞれの樹木の開葉数に与える影響を調べた。それぞれの苗木の主軸部について、栽培を開始してから新しく展開した葉の数を調べた。ケヤマハンノキに関しては葉位別にサンプリングをおこなった。葉齢は個々の葉が展開した日付から算出した。マンガンの定量法は前述の方法と同様である。

結果と考察

順次開葉型のケヤマハンノキ、シラカンバ、ダケカンバでは栽培期間を通して新しい葉を作り続けた。マンガン処理による葉の展開数への影響は見られなかった。一斉+順次型のハルニレについては、栽培開始時にはすべての苗木において一斉開葉がおこなわれていたため、一斉開葉の後に順次開葉してきた葉についての葉数を示している。ハルニレではマンガン処理によって葉の展開数が抑えられる傾向が見られた。特に100 mg L⁻¹マンガン処理区では処理後の葉の展開はほとんど見られなかった。

一斉開葉型のイタヤカエデでは栽培開始後におよそ7枚の葉を展開させ、その後は新しい葉を展開させなかった。

マンガンの移動は植物体中の水の移動(蒸散流)によっておこなわれるために、葉齢が進み蒸散量の合計が多くなるほどマンガン集積が多くなると考えられる。

図5にケヤマハンノキの葉の葉齢とマンガン濃度との関係を示すが、葉齢が進むにつれてマンガン濃度は上昇していく。

マンガン過剰害の影響の出方には開葉パターンの違いが問題となるであろう。順次開葉型の樹種では同時にいろいろな葉齢の葉が存在することになり、マンガンの濃度の高い葉(古い葉)から低い葉(若い葉)まで同時に存在することになる。一方、一斉開葉型の樹種では常に同じ葉齢の葉しか存在せず、すべての葉に同じようにマンガンの集積していくことになる。

葉齢と光合成活性、葉齢とマンガン集積、マンガン集積と光合成活性の関係についてさらに検証する必要があるが、順次開葉型の樹種は新しい葉を次々作ることでマンガンの影響を軽減しているのかもしれない。

まとめ

マンガン耐性機構について

マンガン耐性機構の一つとしては液胞の動きが示唆されている。液胞内でマンガンは低分子の有機酸と結びつき無毒化されると考えられている (Memon and Yatazawa 1984)。Ruftyら (1979) は低温によってマンガン過剰害の可視障害がひどくなったり、成長量により大きな低下が見られたりするのは、低温による細胞伸長の抑制のため液胞の発達が抑えられたことに起因すると述べている。

北海道の広葉樹の葉の構造に関しては、遷移の初期に現れる樹種の方が遷移の後期に現れる樹種に比べて、櫛状組織にシリンダー状の大きな細胞を形成することが知られている (Koike 1988)。シラカンバ、ダケカンバ、ケヤマハンノキではマン

ガン集積に対する光合成活性の抵抗性が見られたが、それは大きな細胞を形成することで液胞を発達させることができることに起因するのかもしれない。

マンガン過剰害が北海道の落葉広葉樹林へ与える影響

以上のことから北海道の落葉広葉樹林へのマンガン過剰害の影響を考察すると、遷移の初期にある若い森林よりも後期にある発達した森林のほうがマンガン過剰害の影響を受けやすい可能性が示唆される。この可能性を検証するためにはさらに多くの樹種についてマンガン過剰害の影響を明らかにするとともに、マンガン過剰害への耐性を決める耐性機構についても明らかにしていく必要があるだろう。また、一斉開葉型の樹種と同じように春先に葉を展開させるが、落葉広葉樹よりも長期間、同じ葉をつけている常緑針葉樹へのマンガンの影響というのも興味深い研究テーマである。

文献

- Bjorkman O (1981) Responses to different quantum flux densities. In: Lange OL, Nobel PS, Osmond CB and Ziegler H (eds) *Physiological Plant Ecology I: Responses to the Physical Environment*, pp 57-107. Springer-Verlag, Berlin
- Clairmont KB, Hagar WG and Davis EA (1986) Manganese toxicity to chlorophyll synthesis in tobacco callus. *Plant Physiol* 80: 291-293
- Farquhar GD and Sharkey TD (1982) Stomatal conductance and photosynthesis. *Ann Rev Plant Physiol* 33: 317-345
- Fernandez IJ (1989) Effects of acidic precipitation on soil productivity. In: Adriano DC and Johnson AH (eds) *Acidic Precipitation Vol 2: Biological and Ecological Effects*, pp 61-83. Springer-Verlag, New York
- Foy CD, Chaney RL and White MC (1978) The physiology of metal toxicity in plants. *Ann Rev Plant Physiol* 29: 511-566
- Haines BL and Carlson CL (1989) Effects of acidic precipitation on trees. In: Adriano DC and Johnson AH (eds) *Acidic Precipitation Vol 2: Biological and Ecological Effects*, pp 1-27. Springer-Verlag, New York
- Heenan DP and Carter QG (1977) Influence of temperature on the expression of manganese toxicity by two soybean varieties. *Plant Soil* 47: 219-227
- Horst WJ (1988) The physiology of manganese toxicity. In: Graham RD, Hannam RJ and Uren NC (eds) *Manganese in Soils and Plants*, pp 175-188. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht
- 石渡輝男・沖田良隆・斉藤万之助 (1992) 北海道における各種酸性硫酸塩土壌の区分、分布および性状、日土肥誌、63、86-90
- Izuta T, Noguchi K, Aoki M and Totsuka T (1995) Effects of excess manganese on growth, water content and nutrient status of Japanese cedar seedlings. *Environmental Sciences* 3,4: 209-220
- Kikuzawa K (1983) Leaf survival of woody plants in deciduous broad-leaved forests. 1. Tall trees. *Can J Bot* 61: 2133-2139
- Kitao M, Thomas TL and Koike T (1995) The effects of manganese toxicity on photosynthesis of white birch (*Betula platyphylla* var. *japonica*) seedlings evaluated by the measurement of gas exchange and chlorophyll fluorescence. (投稿中)
- Kitao M and Koike T (1996) The effects of manganese toxicity on the photosynthesis of representative deciduous broad-leaved trees in northern Japan. (投稿中)
- 北尾光俊・田淵隆一・トーマス、レイ・小池孝良 (1994) 日本林学会北海道論集、42、111-113
- 小池孝良・真田勝・太田誠一 (1993) 酸性雨：植物生態系はどのような影響を受けるのか。—森林生態系の現状と研究の取り組み—、日土肥誌、64、704-710
- Koike T (1988) Leaf structure and photosynthetic performance as related to the forest succession of deciduous broad-leaved trees. *Pl Sp Biol* 3: 77-87
- Langheinrich U, Tischner R and Godbold DL (1992) Influence of a high Mn supply on Norway spruce (*Picea abies* (L.) Karst.) seedlings in relation to the

- nitrogen source. *Tree Physiol* 10: 259-271
- Memon AR and Yatazawa M (1984) Nature of manganese complexes in manganese accumulator plant - *Acanthopanax sciadophylloides*. *J Plant Nutr* 7: 961-974
- Nable RO, Houtz RL and Cheniae GM (1988) Early inhibition of photosynthesis during development of Mn toxicity in tobacco. *Plant Physiol* 86: 1136-1142
- Ohki K (1985) Manganese deficiency and toxicity effects on photosynthesis, chlorophyll and transpiration in wheat. *Crop Sci* 25: 187-191
- Rufty TW, Miner GS and Raper CD, Jr (1979) Temperature effects on growth and manganese tolerance in tobacco. *Agron J* 71: 638-644
- Sharkey TD (1985) Photosynthesis in intact leaves of C3 plants: physics, physiology and rate limitations. *Bot Rev* 51: 53-105
- Sumner ME, Fey MV and Noble AD (1991) Nutrient status and toxicity problems in acid soils. In: Ulrich B and Sumner ME (eds) *Soil Acidity*, pp 149-182. Springer-Verlag, Berlin
- von Caemmerer S and Farquhar GD (1981) Some relationships between the biochemistry of photosynthesis and the gas exchange of leaves. *Planta* 153: 376-387

研究発表

論文等

- 北尾光俊, 田淵隆一, 藤村好子, 小池孝良: マンガン過剰がシラカンバ苗木の成長に及ぼす影響. *日林学会北海道論集*, 41, 214-216, (1993)
- 小池孝良, 真田勝, 太田誠一: 酸性雨: 植物生態系はどのような影響を受けるのか. - 森林生態系の現状と研究の取り組み -, *日土肥誌*, 64, 704-710, (1993)
- 北尾光俊, 田淵隆一, トーマスレイ, 小池孝良: 北海道主要樹種におけるマンガン過剰障害. *日林学会北海道論集*, 42, 111-113, (1994)
- Kitao, M., Thomas, T.L. and Koike, T. (1995) The effects of manganese toxicity on photosynthesis of white birch (*Betula platyphylla* var. *japonica*) seedlings evaluated by the measurement of gas exchange and chlorophyll fluorescence. (投稿中)
- Kitao, M. and Koike, T. (1996) The effects of manganese toxicity on photosynthesis of representative deciduous broad-leaved trees in northern Japan. (投稿中)
- 北尾光俊: 酸性降下物が北海道の落葉広葉樹の成長に与える影響. - マンガン過剰害を中心に -, (1996) (投稿中)

学会発表等

- 北尾光俊, 真田勝, 丹下健, 八木久義, 佐々木恵彦: 酸性硫酸塩土壌に生育する植物の葉の可視障害と無機栄養状態, *日生態学会講演集*, 40, 97
- Kitao, M., Tabuchi, R. and Koike, T.: Manganese toxicity on growth of white birch (*Betula platyphylla* var. *japonica*) seedlings. 15th IBC Abst., p269, (1993)
- Kitao, M., Sanada, M., Tange, T., Yagi, H. and Sasaki, S.: The visible symptoms of leaves and their inorganic nutrient conditions of the woody plants on acid sulfate soils. 15th IBC Abst., p270, (1993)
- Kitao, M., Sanada, M., Tabuchi, R., Koike, T., Tange, T., Yagi, H. and Sasaki, S.: Preliminary study on the soil acidification on woody plants. *Tsukuba Workshop Abst.*, p40, (1993)
- 北尾光俊, 八木久義, 佐々木恵彦: マンガン集積がシラカンバ個葉の無機栄養状態におよぼす影響, *日生態学会講演集*, 41, 110, (1994)
- 北尾光俊, 田淵隆一, トーマスレイ, 小池孝良: 水耕栽培法によって誘導された樹木のマンガン過剰障害, *日林学会講要*, 105, 391, (1994)
- 北尾光俊, 森茂太, 小池孝良: 土壌酸性化に伴うマンガンの溶出と樹木影響, *日生態学会講演集*, 42, 5, (1995)