オオムギによる大気汚染の検定[1)]

平井篤造[2)]

1．はじめに

植物による大気汚染の検定としては，いままでアサガオが多く用いられてきた。しかしこれには根腐れを起しやすい，茎についている葉の位置により汚染物質に対する反応の差があるなど，いろいろな欠点もある。そこでわれわれはオオムギの苗を用いる方法を開発した。[4)]

2．方法の概要

直径15cmの黒色ビニール製ポットに新鮮なバーミクライト（人造土壌，園芸店などで売っている）をつめ，オオムギ（ハダカムギを含み，品種は特別にこだわらない）の種子を20粒ずつまく。水道水だけを与えて，肥料は施さない。これを指定場所（地上でも，ベランダでもよい）に置くと，夏期では約1ヵ月で3枚程度の葉が出て，草丈は約10cmとなる。これで検定を終える。市民らは葉色と草丈の程度である程度その土地の汚染度を知ることができるが，後述するようにこれはかならずしも正確ではない。試料は研究室に運ばれ（バーミクライトを捨てて，根のついたオオムギだけをビニール袋に入れる），次の分析にうつるが，それまでは氷結して保存される。

葉緑素の定量：葉のみをとり，アセトンとエーテルですりつぶし，最終的には葉緑素のエーテル溶液を作る。これを分光光度計にかけて，600～700nmの波長での吸光度をはかって，葉緑素（Chl）a，bを定量することができる。詳細な方法は前報[1,2)]を参照されたい。

次に短冊形濾紙を用いて，上昇法ペイパークロマトグラフィー（ペイクロ）により，アセトン・ベンゼン・石油エーテルを溶媒として展開する。RF値の低い方から（原点に近い方から），Chl-b, Chl-a, フェオフィチン（Phe，ChlからMgがとれたもの）-b, Phe-a, カロチンの5成分に分画することができる（図1）。カロチンを除いて，Chl-a, b（両者を合わせる）とPhe-a, b（両者を合わせる）を切りとり，これらをエーテルで再抽出し，抽出液を分光光度計にかける。各成分の最高吸収波長で

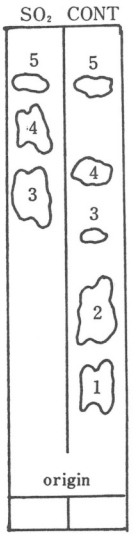


図1　葉緑素（Chl）およびフェオフィチン（Phe）のペイパークロマトグラム．SO_2：SO_2ガス処理オオムギ葉，CONT：対照無処理，1：Chl b，2：Chl a，3：Phe b，4：Phe a，5：カロチン，Origin：原点

の吸光度から，二波長法でChl(a+b)，Phe(a+b)の量が決定される。Phe(a+b)/Chl(a+b)+Phe(a+b)をPhe占有率と呼ぶこととする。[3)] Phe占有率が50%以上では被害甚，30～49%では被害中，29%以下では被害軽と考える。汚染から隔離された状態での健全オオムギのPhe占有率は10%以下である。

薄層クロマトグラフィー（薄層クロマト）：上記の方法では分析にかなりの時間がかかるので，薄層クロマトによる方法を開発した。葉緑素のエーテル溶液をシリカゲルの硝子板上につけ，ペイクロと同じ溶媒で展開した。展開を終えた硝子板は，そのまま直接デンシトメーターにかけ，565nmの波長で各分画の吸光度曲線の面積積分値を求め，これからPhe占有率を計算する。[6)] これに要する時間はペイクロの1/8に短縮できるが，精度はやや劣る。

3．実験の例

A．昭和53年6～9月における大阪近郊における大気

1）関西自然保護機構業績第16号

2）近畿大学農学部植物病理学研究室

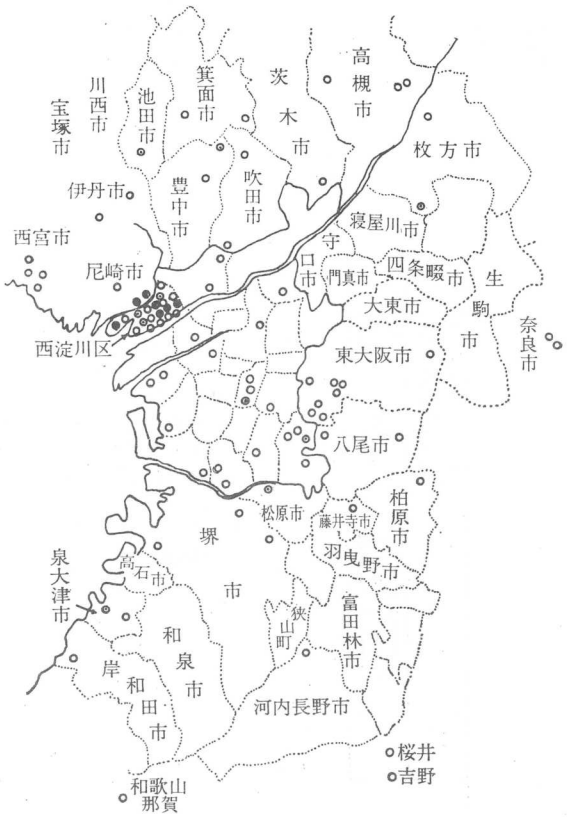


図2　大阪近郊における大気汚染によるオオムギのフェオフィチン占有率（昭和53年6月～9月）
● Phe占有率50%以上，被害重，⊙ 同30～49%，被害中，○ 同29%以下，被害軽．

汚染度（オオムギのPhe占有率）

表1および図2に示すとおりである。すなわち大阪市の西淀川区が Phe 占有率が最も高く，21地点の平均で29.4%であった。これは総平均を100とした場合145%にあたり，健全オオムギのPhe占有率を10%と仮定すると，その約3倍にあたる数字である。次いで堺，岸和田を含む大阪南部がひどく，ワースト第3位は豊中，吹田を含む大阪北部であった。[5)]

B．昭和53年5～11月における，大阪中央環状線（八尾市）での大気汚染度（オオムギのPhe占有率）

表2に示すとおりである。このとき対照区の本学構内はオオムギ設置区の八尾市中環線に近く，ふつうの大気汚染状況はほぼ同一と考えられる。そこで中環線のオオムギ設置区でPhe占有率が高ければ，自動車公害によるものと考えられる。表のように5～6月，9～10月，10～11月の4回の実験とも中環線の方が本学内より，オオムギのPhe占有率が大であった。[5)]

4．汚染物質の種類の検出

汚染物質のなかのNO_2とSO_2の害をオオムギを用いて区別できるようになった。その概要を説明する。

ペイクロ実験を精密に実施すると，図3のように，Chl Pheのスポット以外に，1,2,3,4,5,6,7,8の各スポットが生ずる。このうち6,7,8は目下のところ成分不明であるが，1はクロロフィライド（Chld, Chlからフィトール基がとれたもの），2はフェオフォルバイド（Phed, Pheからフィトール基がとれたもの）-b，3は同-aと最高吸光度の波長から同定された。純粋なNO_2ガス処理では，オオムギ葉で1,2,3の各スポットは明瞭であるが，純粋なSO_2ガス処理葉では，1,2,3は融合して不明瞭であった。また薄層クロマトの結果では，図4，図5に示すように，

表1　大阪近郊におけるオオムギの被害とPhe占有率（昭和53年6～9月）

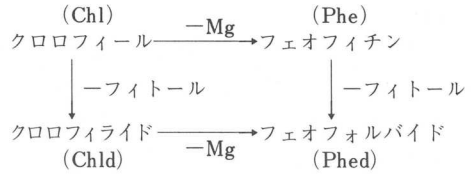
地域	調査数	範囲	草丈（cm）	1株重さ（g）	Phe占有率（%）	Pheの悪順位
大阪市内(除西淀川)	21		13.4 (120)	0.22 (138)	17.4 (86)	Ⅴ
西淀川区	21		10.5 (95)	0.14 (88)	29.4 (145)	Ⅰ
大阪北部	11	池田,箕面,豊中,吹田,茨木	10.2 (92)	0.17 (106)	19.2 (95)	Ⅲ
大阪東部	15	枚方,東大阪,八尾,柏原,藤井寺	10.0 (90)	0.12 (75)	15.4 (76)	Ⅵ
大阪南部	7	堺,泉大津,岸和田,松原	11.3 (102)	0.16 (100)	23.4 (115)	Ⅱ
兵庫県	7	伊丹,西宮,尼崎	12.1 (109)	0.13 (81)	12.8 (63)	Ⅶ
その他	7	奈良,和歌山,滋賀など	9.2 (83)	0.12 (75)	17.9 (88)	Ⅳ
平均（計）	89		11.1 (100)	0.16 (100)	20.3 (100)	

（ ）内の数字は平均に対するパーセント（%）

純粋 NO_2 ガス処理葉では 2 (Chld), 3 (Phed) の分画が出現するが，純粋 SO_2 ガス処理葉および健全葉では，こらはほとんど出現しなかった。

5．おわりに

Chl をめぐる各葉緑素成分の関係を次に図示する。



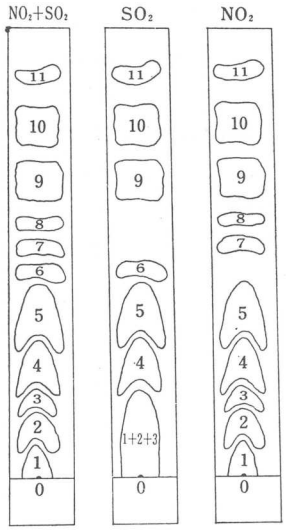


図3 高濃度 NO_2+SO_2, SO_2, NO_2 各ガスを作用させたオオムギ葉Chl各成分の変動（上昇法ペイパークロマトグラム）
0：原点，1：クロロフィライド，2：フェオフォルバイド b，3：同a，4：Chl b 5：Chl a，6～8：成分は不明，9 Phe b，10：Phe：a，11：カロチン．

表2　大阪市の中央環状線沿いに設置したオオムギの被害と Phe 占有率（昭和53年 5 ～11月）．

	中央環状線			対照（本学内）		
	草丈	1本重量	Phe 占有率	草丈	1本重量	Phe 占有率
第1回 5～6月	10.8cm (73)	0.20 g (76)	26.9% (108)	14.6cm	0.26 g	24.8%
第2回 6～7月	10.1 (102)	0.12 (92)	21.9 (131)	9.9	0.13	16.6
第3回 9～10月	8.3 (89)	0.06 (31)	22.1 (241)	9.3	0.19	9.1
第4回 10～11月	11.2 (67)	0.17 (70)	17.8 (140)	16.7	0.24	12.7

各回3～4回の実験平均値，（ ）内数字は対照を100としたパーセント

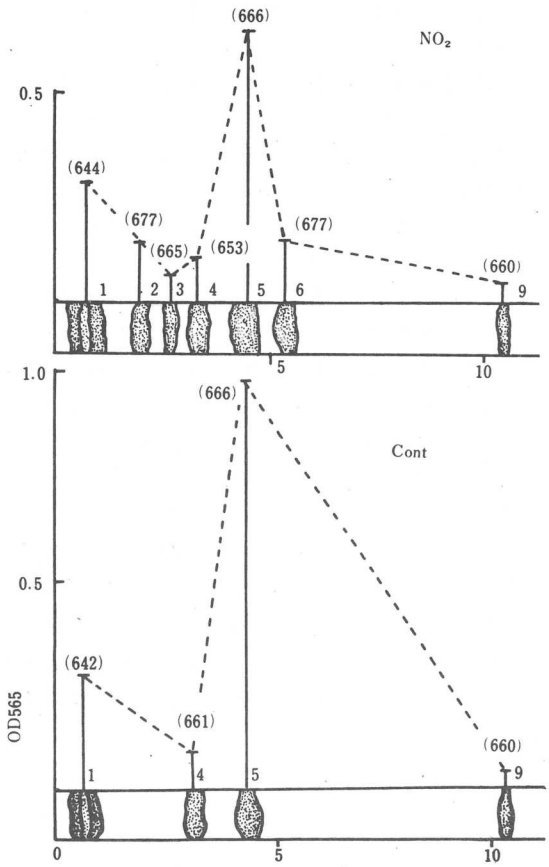


図4 無処理（Cont）および NO_2 処理オオムギ葉の葉緑素各成分の薄層クロマトグラフィーによる分離．
1：Chl (a+b)，2：Chld，3：Phed，4：Phe-b，5：Phe-a, b 6：未決定，9：カロチン
0：原点，数字は原点からの距離（cm）
（ ）内数字は最高吸収波長(nm)，バーの高さは吸光度（OD_{565}）を示す．

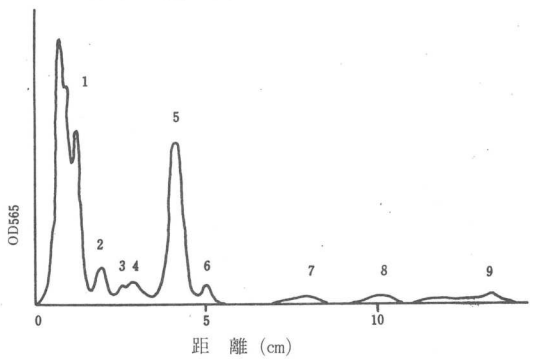


図5 NO_2 処理オオムギ葉の葉緑素の薄層クロマトグラムを光度計(波長565nm)でスキャンニングした図．
1：Chl (a+b)，2：Chld，3：Phed，4：Phe-b，5：Phe-a，6・7・8：未定，9：カロチン
0：原点，数字は原点からの距離（cm）．

この報文ではオオムギ葉のPhe量を測定して，オオムギ設置区の大気汚染度が検出できることを主眼として述べた。健全植物あるいは自然に黄化した葉（これを老化葉という）ではPhe占有率はせいぜい10%以内である。この方法を適用して，大阪市西淀川区の大気汚染度が大阪府下では最もはげしいこと，および大阪の中央環状線（八尾市）での自動車による排気ガスの被害が大きいことを証明した。

次に同じオオムギを用いて，純粋なNO_2ガス濃度はかなり高く，0.7～4.0ppm程度で10分処理）およびSO_2ガス（濃度未定）による暴露実験の結果から，NO_2ガスではPhed，Chldが生ずるが，健全葉またはSO_2ガスでは両者が生じないか，生じにくいことを証明した。以上のことから，NO_2ガスはオオムギ葉でChl，Pheからフィトール基を離脱させるが，SO_2ガスではそれはほとんど離脱しない。このことはNO_2ガスの植物成分に対する酸化力が大きいことを物語るように思われる。

NO_2ガスが植物の最も重要な機能である光合成に関与する酵素蛋白である，フラクションⅠ蛋白の合成を阻害する事実[4)]と考えあわせると，SO_2など他の汚染物質の被害と比較して，NO_2ガスの植物に対する被害はいちじるしいものと思われる。

引用文献

1．平井篤造・津田冨士夫(1973)．大気汚染による植物葉の葉緑素含量の変化。近畿大公害研報告1，175～180。

2．平井篤造・津田冨士夫・政田俊明・前原稔彦・坪田隆司(1974)．大気汚染による植物葉葉緑素からフェオフィチンの生成．近畿大公害研報告2，123～131。

3．平井篤造・坪田隆司(1975)。大気汚染物質による街路樹葉の葉緑素の変性．近畿大公害研報告3，111～118。

4．平井篤造その他(1978)．植物の大気汚染に関する研究（第6報）オオムギによる大気汚染物質の検出。近畿大公害研報告6，85～103(カラー図版2枚)．

5．平井篤造(1979)．植物の葉緑素定量による大気汚染度の検出．日本の科学者1979年7月号，394～398。

6．平井篤造・行実未規雄(1979)．植物の大気汚染に関する研究(第8報)．ワタによる大気汚染物質の検出．近畿大公害研報告（印刷中)。