

大気汚染物質の植物への影響実験

北世晃一*・田崎和江*

Kouichi KITASE* and Kazue TAZAKI* : Experimental Observation on Effect of the Dust on Soybean Plant

ABSTRACT : Experimental observation on effect of the air dust containing soot on soybean plant was made using optical microscopy and scanning electron microscopy equipped with energy dispersive X-ray analyzer. Sprayed soot sample (group 1), planted in the soil mixed with soot (group 2) and control sample (group 3) were set up in this experiment. After 3 months of aging, the sample in group 1 showed the highest stem compare with group 2 and 3 samples. On the other hand, the leaves and pods in group 1 were not well grown. The sample in group 2 showed the worst growing rate because of harden soil. SEM-EDX data showed high Ca, Si and Al contents in black particles on the surface and inside cell of soybean in group 1 and 2 samples. The result suggests that polluted air has a serious effect on the normal growth system of plants.

Key words : Soybean, Soot, Scanning electron microscope, Energy dispersive X-ray analysis, Ca, NaCl.

はじめに

大気汚染は、大きな地球環境問題の一つである。大気汚染と生物、特に大気汚染を浄化していると言われる植物との関係については、以前から多くの研究や調査が行われてきた。例えば大気汚染地域と非汚染地域における松の生育差の調査(津野・佐藤, 1976a, 1976b), 大気汚染検出用植物計として、ソバなどの作物幼苗を利用する研究(津野ほか, 1976, 1977), 植物のNO₂同化能力についての研究(森川, 1995)が行われている。また、微生物と環境汚染についての研究では、微生物を利用した有機化学汚染物質の浄化の研究(浄原, 1995)や、生物による重金属の吸収と除去機能に関する研究(茅野, 1995)がある。しかし、いずれも統計的な調査や化学的な側面からの研究であり、植物体内部を、形態的な側面で観察した例は少ない。そこで本研究では、植物を人為的に大気汚染下にさらす栽培実験を行い、植物の外形的変化の観察や、光学顕微鏡、走査型電子顕微鏡による植物表面および内部の微細観察を行い、大気汚染が植物に与える影響について考察することを目的とした。

*〒920-11 金沢市角間町 金沢大学理学部地学教室 Department of Earth Sciences, Faculty of Science, Kanazawa University, Kanazawa 920-11, Japan

試料および実験観察方法

本実験は、金沢大学理学部附属植物園の農場で行った。実験に用いた試料は、一般的な作物であり栽培が容易な大豆 (*Glycine max* Merrill) を用いた。マメ科植物である大豆の根には根粒バクテリア (*Rizobium*) が根粒を形成している。根粒バクテリアは大豆と共生関係にあり、空気中の窒素を直接土中に固定する(岩田, 1995; Postgate, 1981)。実験に用いた大豆はあらかじめ植物園の腐葉土に植え、あまり個体差がなく成長することを確認した。負荷に用いた大気汚染物質は、固体物質の方が気体よりも扱いが容易であり、特に閉鎖系を保つ必要性がないことから、国道8号線、富山県小矢部市の源平トンネル内壁に付着していたススおよびヘドロ状に堆積していたスス混じりの土壌を採取し、実験に用いた。なお、トンネル内は、地学科の地球環境学実験および宮田(1995MS)により汚染の激しい場所であることが明らかになっている。

大豆は1995年7月3日に種子を鉢に植え、7月10日に畑へ植え替え、7月27日までは、通常通りの栽培を行った。大豆を植えて26日目の7月28日から、毎日一回ススの懸濁液を噴霧する試料、スス混じりの土壌に植え込んだ試料、そして、比較のために通常の栽培を行った試料の三種類に分け、ススの負荷による成長差、外形変化の観察を行った。

栽培した大豆の茎は、カミソリで切片をつくり、光学顕微鏡により観察した。光学顕微鏡はNikon製X2 HPD型を用い、明視野検鏡法、および偏光検鏡法で観察を行った。

また、大豆の茎の切片、葉の表面について、走査型電子顕微鏡とエネルギー分散分析で観察および分析を行った。試料は両面テープで試料台に接着させ、走査型電子顕微鏡の低真空モード(Wet-SEM)で組成像を観察し、必要に応じて炭素蒸着を行った後、高真空モードで観察し、エネルギー分散分析を行った。走査型電子顕微鏡は日本電子製低真空走査型電子顕微鏡JSM-5200LV型を使用した。また、エネルギー分散分析は走査型電子顕微鏡に取り付けられたフィリップス製EDAX PV9800STD型エネルギー分散型X線分析装置を使用した。この装置の検出器にはベリリウム膜を使用しているため、検出できる元素は原子番号11(Na)以降のものである。加速電圧は、15-25kVで使用した。

また、採取したススは、蛍光X線分析(XRF)により、含有元素の同定、X線粉末回折分析(XRD)により、含有鉱物の同定を行った。蛍光X線分析は、理学電機製rigaku system3270型蛍光X線分析装置を使用し、電圧50kV、電流20mAで測定した。X線粉末回折分析は、理学電機製RINT1200型X線回折装置を使用し、CuK α 線を用いて、電圧40kV、電流30mAで測定を行った。

結果および考察

1. ススのXRFおよびXRDの分析結果

ススのXRFによる定量分析はトータルが77.29wt%と低い値を示した。このことより、多量の炭素成分および微量の重金属を含有していることが示唆された。また、定性分析では、微量

の Cr, Fe, Ni, Cu, Zn, Pb の存在を認めた。XRD 測定により、ジブサム、ハライト、カルサイト、石英、長石の存在を明らかにした。

Table 1. Experimental observation records of soybean within two months.
期日 (1995年)

7 / 3	鉢に 2 粒づつ植える。
7 / 5	発芽
7 / 10	畑へ植えかえ約 5 cm
7 / 17	約 12cm
7 / 28	スス、ススマじり土壌採集。ススマじり土壌を植えこむ。スス懸濁液の噴霧開始 (毎日 1 回)
8 / 5	正常 (対照), スス懸濁液を噴霧は約 40cm スス植え込みは約 20cm
8 / 12	正常 (対照), スス懸濁液を噴霧は約 50~60cm, スス植え込みは約 25~30cm
8 / 14	スス懸濁液を噴霧の方が正常 (対照) より若干丈が高いのが認められる。
8 / 15	花をつけ始める。(赤紫色)
8 / 19	高さ方向の成長がほぼ止まる。正常 (対照) は約 1 m, スス懸濁液を噴霧は約 1 m 15cm スス植え込みは約 40cm~50cm
8 / 29	正常 (対照) とスス懸濁液を噴霧にサヤができ始める。
9 / 1	スス植え込みにサヤができ始める。
9 / 17	採集。外見の測定。

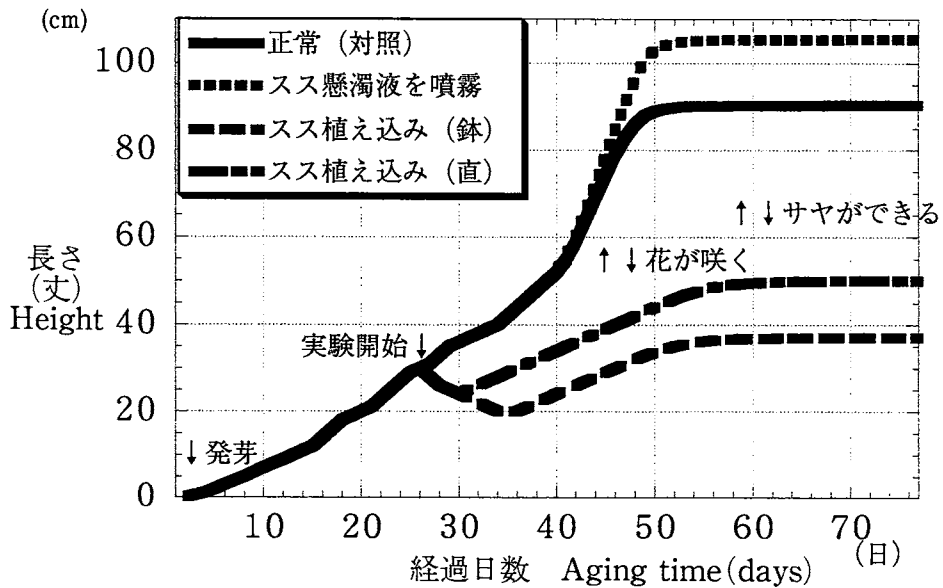


Fig. 1. Growth rate of soybean under different conditions.
—; control, ...; sprayed soot sample, - · -; used mixture of soil and soot

Table 2. Experimental growth rate of normal- and soot-polluted soybean samples

測定項目	正常 (対照)	スス懸濁 液を噴霧	スス植え 込み
全体の長さ	105cm	116cm	70cm
茎から上の長さ	90cm	106cm	50cm
根の長さ	15cm	10cm	20cm
茎の直径	15mm	11mm	6mm
葉の枚数	208枚	118枚	26枚
サヤの数	114個	54個	5個
重量	172g	88g	19g

重量については2日後に測定した。
(各々4個体採取しその平均値)

2. 大豆の生育観察と外面観察の結果

観察結果の生育記録を Table 1 に示す。また、大豆の成長曲線の変化を Fig. 1 に示す。大豆の成長は、ススの懸濁液を噴霧した試料の方が、正常に栽培した試料に比べ、栽培後45日ごろから背が高くなり始め、最終的には約10cm高くなった。一方、スス混じりの土壤に植え込んだ試料では、鉢植えた試料、畑の畝に直植えた試料ともに、実験開始後先端がいったん枯れて丈が短くなった後、また再度成長を始めるといった結果を得た。9月17日に採取した試料の外見の測定結果を Table 2 に示した。ススの負荷を与えた試料は、正常に栽培した試料と比べ、茎の太さ、葉の枚数、さやの数、重量において、顕著な生育不良が現れている。

3. 茎切片の光学顕微鏡観察

細胞壁間または細胞内部に、黒色の付着物および透明な球状物質の存在を認めた。そのクロスニコルによる観察では、光を呈するものも認められ、植物体内に、結晶性物質が存在することを示唆している。

4. 茎切片のSEM-EDX観察および化学分析

ススの負荷に関係なく、全ての試料において、細胞内に球形の粒子の付着が認められ、そのEDX分析からはNaとClのピークが認められた(Fig. 2)。これは、その形態や化学組成から考えて、ハライトであると思われる。NaとClは、一般に植物体中に含有されており、植物組織または組織液中に過剰なNaとClが晶出して形成されたと考えられる。これは、一種の生体鉱物化作用といえる。このような高等植物における生体鉱物については、キク科植物の、子

房壁、種皮に、シュウ酸カルシウム一水塩 $\text{CaSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (Whewellite) の結晶が含まれ、その結晶の形態によって植物の分類を試みるという報告がある (清水, 1981-1991)。しかし、本研究による観察では、Whewellite の結晶は認められなかった。

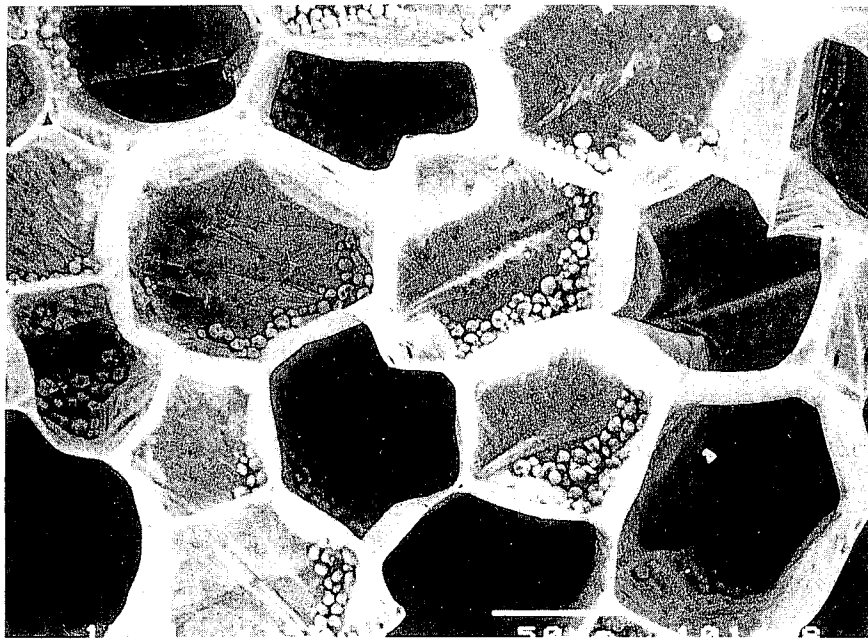
ススの負荷を与えて栽培した試料の茎切片の SEM 観察と Wet-SEM を用いた組成像の観察では、粒子状の物質が細胞壁の内側に多数付着しているのが認められた。組成像の細胞壁より明るく光ることから、生物体を構成する C, H, N, O などの元素より、原子番号の大きい元素を含むことが示唆される。Fig. 3 に示したように、 $1 \mu\text{m}$ から $2 \mu\text{m}$ 程度の粒子状の物質が多数細胞壁の内側に沈着している。また、EDX 分析の結果からは、Ca のピークのみが認められた。さらに、部分的に、Si と Al の高いピークをもつ粒子も認められた。葉の表面・気孔の観察では、ススの懸濁液を噴霧した試料においてのみ、Na, Cl, Ni, Al, Fe などのピークからなる付着物が観察された。これらの付着物は、ススの負荷による外部的要因によって植物体内に取り込まれたものであると推測される。ススの植物体内への沈着のメカニズムについては、ススに含まれている物質が、水に溶けてイオンとして、または、ごく微細な粒子については固体のまま植物の根や気孔を通して取り込まれたと考えられる。ススを蒸留水に懸濁させ、 $0.45 \mu\text{m}$ のメンブランフィルターで濾過を行ったところ、ジプサム、ハライトは溶解した。

5. 植物生育の差について

ススの負荷の有無による植物成長差の要因は、下記のことを考えられる。その一つは、ススの植物表面や内部への付着による影響である。ススが植物表面に付着することにより、その部分に当たる太陽光を遮ることで光合成を阻害し、気孔をふさぐことにより呼吸や炭酸同化作用を妨げる。また、ススの細胞内への付着により正常な細胞の生理作用に障害が生じた可能性も考えられる。しかし実際には、降雨により植物表面に付着したススが洗い流されることも多く、また、ススの付着していた細胞壁に特に異質な形態や構造は認められないので、どの程度影響を受けているかは不明である。

また、ススの XRF で同定された重金属の生育への影響が考えられる。Fe, Zn は植物の必須元素であるが、今回の実験結果からは、それらの量が過剰かどうかは明らかではない。また、Pb は汚染元素の一つであるが、EDX による、Pb の濃集部分は検出されなかったことから、植物中に取り込まれるとしても、おそらく微量であると思われる。

さらに、スス混じりの土壤に植え込んだものについての生育への影響の要因は、次の2つのことが考えられる。一つは、土壤の固化による根の成長阻害である。スス混じりの土壤は非常に固くなり、根の発育が阻害され、養分の吸収阻害が生じ、地上部分の生育にも影響が現れたと考えられる。また、スス混じりの土壤には、有機養分が乏しいことが原因となり、生育への影響が現れたと考えられる。ススの負荷を与えたものについては、生育差が顕著に現れ、無機質な物質の植物表面および内部への付着が認められたことから、ススによる生育阻害の影響は大きい。



茎切片

正常 (对照)

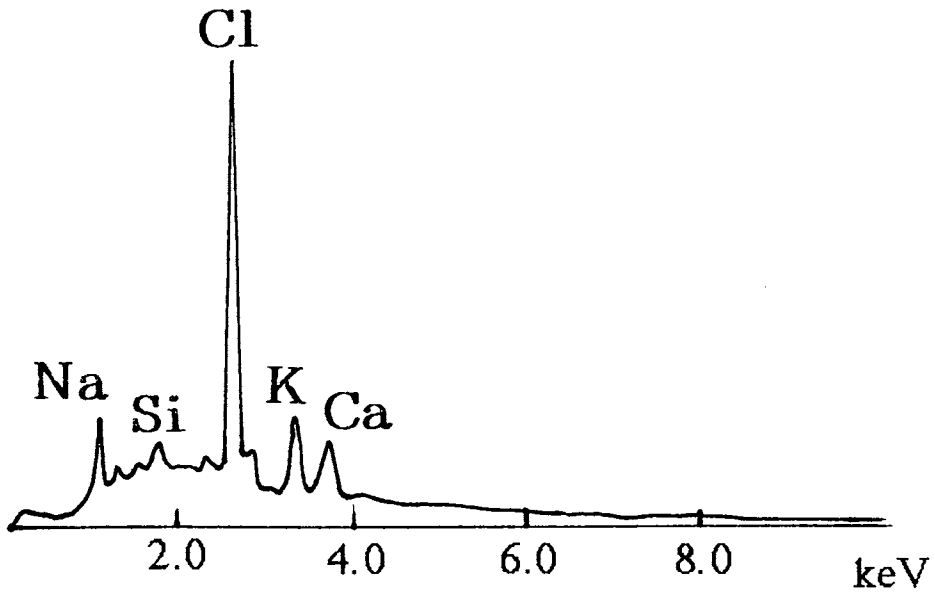
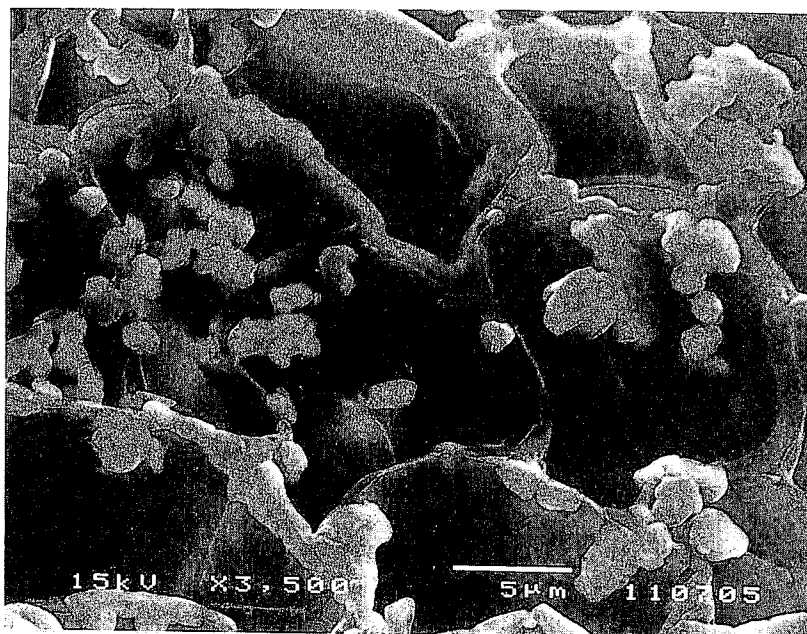


Fig. 2. Scanning electron micrograph of cross section of soybean stem and the EDX analysis (control sample).

以上の実験結果から、大気汚染物質は植物表面に付着するだけでなく、根や気孔を通して植物体内に取り込まれて固定されることを電子顕微鏡による直接観察で明らかにすることができた。



茎切片 スス懸濁液を噴霧

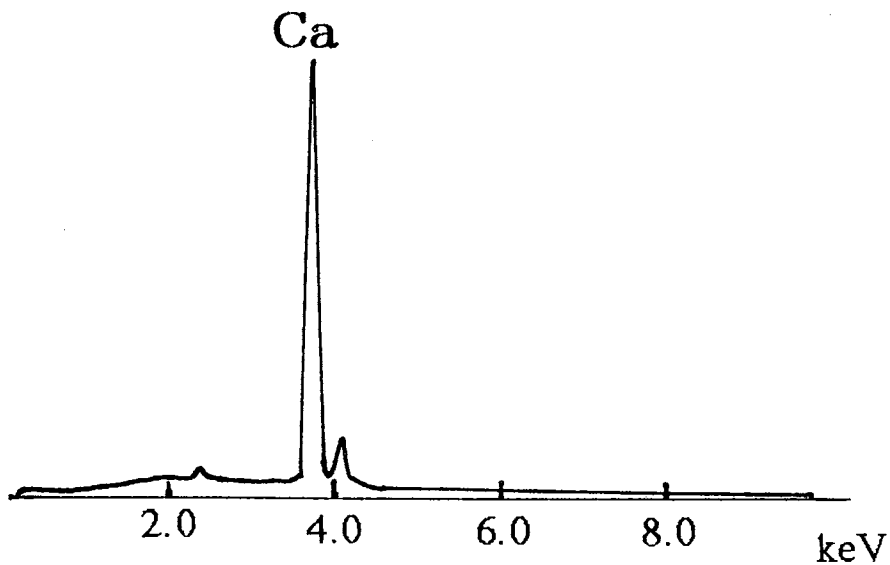


Fig. 3. Scanning electron micrograph of cross section of soot-sprayed soybean sample, showing presence of Ca crystals on the surface.

謝 辞

本研究を行うに当たり、金沢大学理学部附属植物園の清水建美教授、木下栄一郎博士、松崎一典氏をはじめ、生物学科の学生の方々には格段のご配慮をいただいた。ここに厚く御礼申し上げます。

文 献

- 茅野充男. 1995. 生物による重金属の吸収と除去機能. 研究ジャーナル, 18(3): 11-17.
- 岩田進午. 1995. 土は生命の源. 創森社, 222p.
- 浄原法蔵. 1995. 微生物使用による有機化学汚染物質の浄化. 研究ジャーナル, 18(3): 23-29.
- 宮田 統. 1995. 源平トンネル周辺の汚染物質の考察. 金沢大学理学部地学科卒業論文, 50p.
- 森川弘道. 1995. 植物利用による大気汚染物質の浄化. 研究ジャーナル, 18(3): 18-22.
- 清水満子. 1981. キク科植物にみられる結晶I. 東洋大紀要教養編 (自然科学), 24: 101-109.
- . 1982. キク科植物にみられる結晶II. 東洋大紀要教養編 (自然科学), 25: 19-30.
- . 1983. キク科植物にみられる結晶III. 東洋大紀要教養編 (自然科学), 26: 25-34.
- . 1984. キク科植物にみられる結晶IV. 東洋大紀要教養編 (自然科学), 27: 85-96.
- . 1985. キク科植物にみられる結晶V. 東洋大紀要教養編 (自然科学), 28: 51-61.
- . 1986. キク科植物にみられる結晶VI. 東洋大紀要教養編 (自然科学), 30: 1-19.
- . 1987. キク科植物にみられる結晶VII. 東洋大紀要教養編 (自然科学), 31: 103-117.
- . 1988. キク科植物にみられる結晶VIII. 東洋大紀要教養編 (自然科学), 32: 69-85.
- . 1990. キク科植物にみられる結晶IX. 東洋大紀要教養編 (自然科学), 34: 59-73.
- . 1991. キク科植物にみられる結晶X. 東洋大紀要教養編 (自然科学), 35: 41-59.
- . 1992. キク科植物にみられる結晶XI. 東洋大紀要教養編 (自然科学), 36: 61-79.
- 庄野邦彦・窒素固定. Postgate, J., 1981. Nitrogen Fixation. 朝倉書店, 99p.
- 津野幸人・佐藤 亨・入倉修一. 1977. 作物幼苗の亜硫酸ガスに対する抵抗性の差異とそれを応用した大気汚染検出用植物計. 鳥取大砂丘研報, 16: 15-26.
- ・———・喜安光男. 1976. ソバ幼苗を用いた大気汚染検出用植物計の開発とその応用例. 鳥取大砂丘研報, 15: 9-20.
- ・———. 1976a. 大気汚染地域における松の衰弱微候とその数量化による被害度判定法 I 大気汚染地域における松の衰弱微候. 鳥取大砂丘研報, 15: 21-28.
- ・———. 1976b. 大気汚染地域における松の衰弱微候とその数量化による被害度判定法 II 衰弱微候の数量化による被害度の表示と調査事例. 鳥取大砂丘研報, 15: 29-36.