

大気汚染物質がウメノキゴケのレカノール酸含量に及ぼす影響

坂東 誠*・杉野 守*

Effects of Air Pollutants on the Lecanoric Acid Content of
the Lichen *Parmotrema tinctorum*

Makoto BANDO* and Mamoru SUGINO*

Synopsis

Treatment with artificial acid rain at pH 2 for 10 min and then modified Czapek's solution for 90 min every 3 or 4 days decreased the lecanoric acid content of *Parmotrema tinctorum* within 2 weeks, and did treatment with such rain at pH 4 or 5 for 90 min every 3 or 4 days. Exposure to 0.15 ppm SO₂ gas for 90 min every 3 or 4 days for 2 weeks affected this content little if at all. In urban areas, the lecanoric acid content of the test lichen moved into the open air did not change in the 5 weeks of the experiment. However, rain that fell in urban areas decreased the lecanoric acid content, although rain that fell in the outskirts did not.

I 結 言

環境汚染の測定法には、化学的、物理学的及び生物学的方法があり、特に後者については環境指標生物が利用される。ウメノキゴケ (*Parmotrema tinctorum*) を含む着生地衣は、樹木や岩石などの地表面と離れた所にある基物に着生し、大気汚染がその成長に直接的に影響することから、指標生物として役立つ¹⁾。特に、ウメノキゴケの成長は大気中の二酸化硫黄 (以後、SO₂ ガスと称する) に阻害されるので²⁾、この地衣の自生分布は硫黄酸化物による大気汚染の状況を知るのに役立つと言われている³⁾。さらに、都市に近い所に自生するウメノキゴケほど、レカノール酸 (オルセリン酸のジデブシドで、ウメノキゴケの主要な地衣酸⁴⁾) の含量が少なくなるとの報告もある⁵⁾。しかしながら、大気汚染がレカノール酸含量を減らすのかについては、あまりよく知られていない。そこで筆者らは、汚染物質として人工酸性雨、SO₂ ガス、大阪府・奈良県内の大気及びその地域で降った雨水が、ウメノキゴケのレカノ

ール酸含量に及ぼす影響を調べた。

II 実験材料および方法

1992~1994年に兵庫県川西市赤松(実験1)、宝塚市上佐曾利(実験2及び3)及び川辺郡猪名川町(実験4)で採取したウメノキゴケを、1カ月間を限度に室内で風乾して保存し、葉状体の辺縁部を1~3 cm² に切って実験に使用した。

中川ら⁵⁾はウメノキゴケの成分のうち、エタノールに溶けるのはレカノール酸のみであり、この抽出液の213 nmにおける吸光度と、その中に含まれているレカノール酸量の間には比例関係があることを報告し、この事実を利用してウメノキゴケのレカノール酸含量の簡易定量法を開発した。本研究におけるレカノール酸の定量は、この中川らの方法を一部変更して行った。すなわち、材料から0.1 cm² 前後の葉状体小破片を切り出して秤量し、1 mgにつき50 mlの割合の市販特級エタノールに入れ、5~10°C条件下で1日間抽出して濾過し、再びエタノールを加え

*農学科植物生理学研究室 (Lab. of Plant Physiology, Dept. of Agriculture, Kinki Univ., Nakamachi, Nara, 633 Japan)

てもとの量に定容した液の213 nmにおける吸光度を求めた。なお、その紫外線吸収スペクトルを調べた結果、213 nmに特性吸収を示すレカノール酸特有の吸収スペクトルが確認された。中川ら⁵⁾はレカノール酸の標品を用いて検量線を求め、吸光度に一定の係数を掛けてレカノール酸の絶対含量を求めているが、筆者らは標品が入手できなかったことから、この吸光度をレカノール酸相対含有値として示した。

人工酸性雨の原液は、硫酸イオン、塩化物イオン及び硝酸イオンが約2 : 1 : 1になるように、硫酸、塩酸及び硝酸を混合して作った。人工酸性雨液のpHは、この原液を純水で薄めて調整した。

実験1及び2においては、濾紙を1枚敷いた9 cm有蓋ペトリ皿に材料を5個体置床し、それを2週間、近畿大学農学部研究室(奈良県奈良市中町)の南側窓際に置いた。その間、実験1では3、4日毎(週2回)に、材料をpH 4及び5の人工酸性雨液及び対照区としてpH 5.6の純水に30分間浸けたり、pH 2及び4の人工酸性雨液及び純水に10分間浸けた後、すぐにpH 5.6の改変 Czapek 液⁶⁾に90分間浸けた。実験2では3、4日毎に、材料を風乾状態のまま及び、純水や改変 Czapek 液に90分間浸けた後、密閉容器(内容積約41 L)に入れた。そして亜硫酸水素ナトリウムと硫酸の化学反応によって生成させたSO₂ガスをシリンジで60 ml取り、これを予め空気を抜いておいたテドラバッグにガスメーターを通した空気とともに入れて10 Lとし、さらにこのバッグからシリンジで100 ml取り出したガスを同様にして

空気で希釈して10 Lとし、この中からシリンジで100 mlを取り出したガスを密閉容器に入れて(このとき容器内のSO₂ガス濃度は約0.15 ppm)、3時間置いた後、材料を容器から取り出した。

実験3では、濾紙に固定した3個体の材料をガラス管の中央に置き、材料を清浄化した外気に晒すために管の口に約120 cm³の活性炭粒を詰めたカートリッジを付けたもの(清浄化区)と、外気にそのまま晒すためにプラスチック粒を詰めたカートリッジを付けたもの(外気区)を一組にした器具(Fig. 1)を用意した。そしてこの器具を都市域として大阪府大阪市天王寺区、堺市上野芝向ヶ丘及び兵庫県西宮市中島町、及び非都市域として大阪府池田市伏尾台及び奈良県奈良市中町の野外の風通しの良い所に1994年10月26日から5週間置いた。なお、材料に用いた兵庫県宝塚市上佐曾利に自生していたウメノキゴケのレカノール酸相対含有値を、実験開始前に測定した。

実験4では、材料を雨に晒すため、または晒さないようにするために、3個体の材料を両端の口が開いた、または上端の口が閉じ、下端の口に霧侵入防止用ガーゼが覆われた透明プラスチック製の筒の内壁に固定した器具(Fig. 2)を用意した。そしてこの器具を都市域として大阪府大阪市天王寺区、大阪府淀川区及び豊中市中桜塚、及び非都市域として実験6と同じ場所の野外に1995年3月27日から5週間置いた。なお、この期間中に降雨があった日は計16日であった。

材料のレカノール酸相対含有値は各実験終了後に

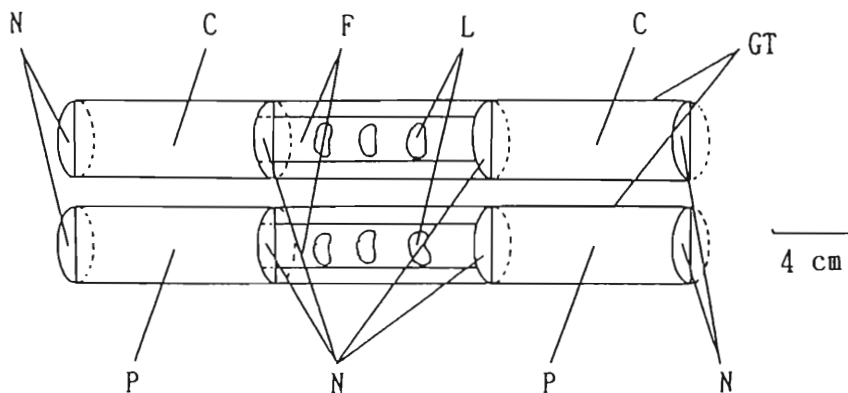


Fig. 1 Device for exposure of the lichen to the air.

The upper tube exposes thalli to purified air. The lower tube exposes thalli to the open air. N, nets; C, cartridge containing granules of activated carbon; P, cartridge containing plastic granules; F, filter papers; L, lichen thalli; GT, glass tubes.

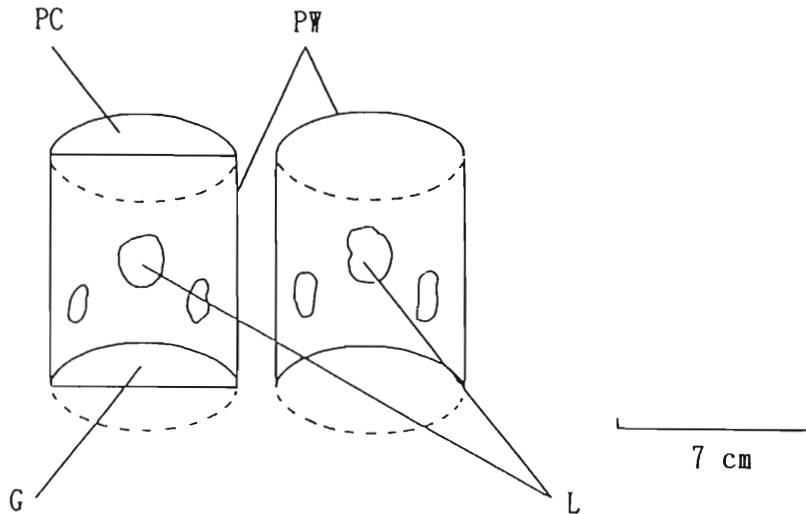


Fig. 2 Device for exposure to the rain. The left cylinder shelters thalli from the rain. The right cylinder exposes thalli to the rain. PC, plastic ceiling; PW, plastic walls; G, gauze. L, lichen thalli.

測定し、測定値間の差の有意性の検定を、t検定 (Welch 補正両側検定法, 有意水準 5%) によって行った。

III 結 果

実験 1 の結果は Table 1 に示す通りである。pH 4 及び 5 の人工酸性雨液に浸けた材料中のレカノール酸相対含有値は、対照区に比べて有意に小さかった。また、pH 2 の人工酸性雨液に浸けた後改変 Czapek 液に浸けた材料中のレカノール酸相対含有値も有意に小さくなった。

実験 2 では SO₂ ガスに晒した材料のレカノール

酸相対含有値は SO₂ ガスの影響を受けなかった (Table 2)。

実験 3 の結果は Table 3 に示す通りである。5 週間、外気区の材料のレカノール酸相対含有値は、清浄化区の 0.9~1.1 倍であり、これら間に有意差はなかった。また、実験前に測定したレカノール酸相対含有値 (213 nm における吸光度の平均±標準偏差) は 0.647 ± 0.050 であり、この実験終了時の各区のレカノール酸相対含有値との間に有意差はなかった。

実験 4 の結果は Table 4 に示す通りである。大阪市天王寺区及び淀川区では、雨に晒した地衣体のレ

Table 1. Effects of artificial acid rain at different pHs on the content of lecanoric acid in *P. tinctorum*.

pH	With artificial acid rain		With artificial acid rain and modified Czapek's solution	
	Content of lecanoric acid (absorbance at 213 nm)	Probability	Content of lecanoric acid (absorbance at 213 nm)	Probability
2	NT		0.497 ± 0.026	a
4	$0.242 \pm 0.073^{1)}$	a ²⁾	0.661 ± 0.076	b
5	0.373 ± 0.106	a	NT	
5.6 (Water)	0.723 ± 0.205	b	0.715 ± 0.061	b

¹⁾ Mean±standard deviation of 5 samples.

²⁾ Different letters indicate a significant difference ($p < 0.05$, t-test with Welch's correction). NT, Not tested.

Table 2. Effects of 0.15 ppm SO₂ gas on the content of lecanoric acid in *P. tinctorum*.

	Content of lecanoric acid (absorbance at 213 nm)		
	With gas exposure	Without gas exposure	Statistical significance ²⁾
SO ₂ treatment only	0.734±0.237 ¹⁾	0.748±0.197	NS
Water supply and SO ₂ treatment	0.537±0.143	0.514±0.117	NS
Supply of modified			
Czapek's solution and SO ₂ treatment	0.753±0.173	0.628±0.104	NS

¹⁾ Mean±standard deviation of 5 samples.

²⁾ Differences with $p < 0.05$ by the t-test with Welch's correction are taken to be significant. NS, Not significant.

Table 3. Effects of growth in the open air on the content of lecanoric acid in *P. tinctorum*.

Location	Content of lecanoric acid (absorbance at 213 nm)		
	In the open air	In purified air	Statistical significance ²⁾
Urban areas			
Tennoji-ku, Osaka	0.631±0.139 ¹⁾	0.641±0.120	NS
Uenoshiba-Mukogaoka, Sakai	0.660±0.078	0.703±0.096	NS
Nakajimasho, Nishinomiya	0.591±0.057	0.572±0.022	NS
Outskirts			
Fushiodai, Ikeda	0.817±0.110	0.773±0.062	NS
Nakamachi, Nara	0.608±0.095	0.631±0.164	NS

¹⁾ Mean±standard deviation of 3 samples.

²⁾ Differences with $p < 0.05$ by the t-test with Welch's correction are taken to be significant. NS, Not significant.

Table 4. Effects of rain on the content of lecanoric acid in *P. tinctorum*.

Location	Content of lecanoric acid (absorbance at 213 nm)		
	Exposed to rain	Sheltered from rain	Statistical significance ²⁾
Urban areas			
Tennoji-ku, Osaka	0.557±0.026 ¹⁾	0.747±0.071	Give value
Yodogawa-ku, Osaka	0.496±0.029	0.682±0.066	Give value
Nakasakurazuka, Toyonaka	0.621±0.059	0.714±0.133	NS
Outskirts			
Fushiodai, Ikeda	0.582±0.090	0.687±0.101	NS
Nakamachi, Nara	0.500±0.018	0.564±0.069	NS

¹⁾ Mean±standard deviation of 3 samples.

²⁾ Differences with $p < 0.05$ by the t-test with Welch's correction are taken to be significant. NS, Not significant.

カノール酸相対含有値が、晒さなかったものより有意に小さくなったものの、他の場所では差がなかった。

IV 考 察

現在、日本で観測される酸性雨には、硫酸、塩酸及び硝酸などが含まれており、そのpHは4.5～5.0である⁷⁾。本実験で使用した人工酸性雨は、天然の酸性雨を模したものであり、pH 4及び5の人工酸性雨を週2回30分間与えると、2週間後にはレカノール酸相対含有値が減っていた。この結果は天然の酸性雨がレカノール酸含量に影響していることを示唆する。しかし一般に、酸性雨のpHは一定ではなく、降りだしの雨ほどpHが低いことが多い⁷⁾。そこでpH 2の人工酸性雨を10分間与えた後に、pH 5.6の改変Czapek液を90分間与えると、2週後にはレカノール酸相対含有値が有意に減少したが、pH 4の人工酸性雨を与えた後、pH 5.6の改変Czapek液を90分間与えても、有意に減少しなかった。この結果は初期に降る低いpHの雨が極めて速やかにレカノール酸を減少させていることを示唆する。また酸性雨中の汚染物質が、地衣体の含水量の減少によって濃縮されることから、地衣体の速い蒸散が、酸性雨の影響を助長していると考えられる。

従来、実験的に大気汚染物質が地衣に及ぼす影響を調べる場合、風乾した地衣は大気汚染物質の影響を殆ど受けにくいことから、湿らせた地衣を材料にして、高湿条件下で行われてきた⁸⁾。しかしながら、通常、野外に自生する地衣は、大部分の時間、風乾状態にあることから、筆者らは風乾したウメノキゴケに0.15 ppmのSO₂ガスを処理する実験を行った。現在の大阪平野におけるSO₂ガス濃度は0.004～0.013 ppmと言われている⁹⁾。本実験で使用したSO₂ガス濃度は、その11.5～37.5倍であるが、実験2では、このような高濃度のガスにウメノキゴケを晒したのものにもかかわらず、レカノール酸相対含有値は有意に変化しなかった。これは一般に、SO₂ガスが地衣に吸収されるには、ガスが水分に溶ける必要があることから¹⁾、風乾したウメノキゴケでは、SO₂ガスが殆ど影響しなかったと考えられる。しかし、湿ったウメノキゴケにSO₂ガスを晒しても、その影響がはっきりしなかった。これらの実験結果は、室内条件下では、SO₂ガスがレカノール酸含有量に及ぼす影響が少ないか、または遅いことを示唆している。

実験3では、ウメノキゴケを都市域の汚染された外気に晒したにもかかわらず、レカノール酸相対含有値に有意な変化はなかった。一方、実験4ではウ

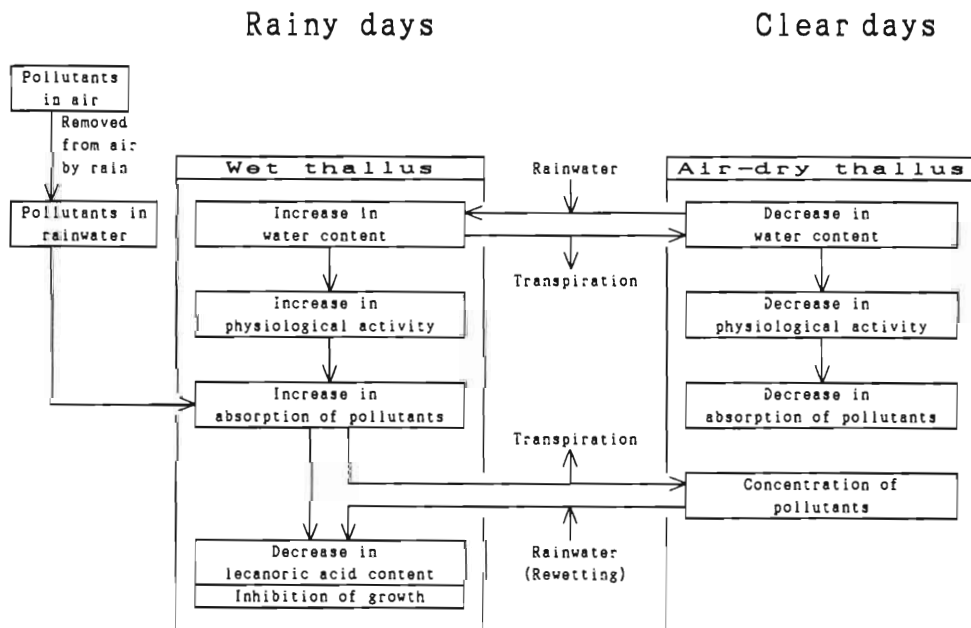


Fig. 3 Hypothesis about the effects of air pollution on *P. tinctorum*.

メノキゴケを非都市域の雨に晒しても、レカノール酸相対含有値は雨に晒さなかった場合と有意な差がなかったが、都市域の雨に晒すと有意に小さくなった。これらの結果は、大気汚染ガスよりも、汚染された雨（酸性雨）のほうが、レカノール酸含量に対する影響が大きいことを示し、ウメノキゴケが酸性雨の指標生物として役立つ可能性が高いことを示している。

以上の結果よりウメノキゴケは、晴天時には含水量が減り、大気汚染の影響を受けにくくなるが、雨が降りだすと含水量が増し、雨水に溶けた汚染物質が地衣体内に取り込まれ、レカノール酸を減少させると考えられた。また雨が止むと、地衣体の含水量が減少し、すでに取り込まれた汚染物質が濃縮され、再度含水量が増えたときにレカノール酸含量を減少させると考えられた (Fig. 3)。

今後は、天然の酸性雨のpHの違いがレカノール酸相対含有値に及ぼす影響などを調べ、ウメノキゴケが酸性雨害の指標に役立つことを実証して行きたい。

V 要 約

ウメノキゴケを3, 4日毎にpH 2の人工酸性雨に10分間、またはpH 4及び5の人工酸性雨に90分間浸けると、2週間後のレカノール酸相対含有値が減少した。

室内において、ウメノキゴケを0.15 ppmのSO₂ガスに3, 4日毎に90分間晒しても、レカノール酸

相対含有値は有意に変化しなかった。

都市域の外気にウメノキゴケを晒しても、レカノール酸相対含有値は有意に変化しなかった。また、都市域に降った雨にウメノキゴケを晒すと、レカノール酸相対含有値が有意に減少したが、非都市域の降雨では有意に変化しなかった。

以上のことから、ウメノキゴケのレカノール酸相対含有値は、酸性雨の指標になり得ると考えられた。

VI 引用文献

- 1) V. AHMADJIAN: *The Lichen Symbiosis*, John Wiley & Sons, New York (1993)
- 2) 中川吉弘・光木偉勝: 環境研究, 79, 31~41 (1990)
- 3) 杉野 守・芦田 馨・尾垣光治: 近畿大学環境科学研究所研究報告, 11, 85~95 (1983)
- 4) 吉村 庸・黒川禎子: 高知学園短期大学紀要, 22, 663~672 (1991)
- 5) 中川吉弘・光木偉勝: 兵庫県公害研究所研究報告, 17, 12~17 (1985)
- 6) M. BANDO and M. SUGINO: *J. Plant Res.*, 108, 572-529 (1995)
- 7) 大政謙次: 生物環境調節, 30, 1~8 (1992)
- 8) 中川吉弘・光木偉勝・渡辺 弘: 大気汚染学会誌, 17, 370~376 (1982)
- 9) N. HAMADA, H. MIYAWAKI and A. YAMADA: *J. Plant Res.*, 108, 483-491 (1995)