

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 25 年 6 月 7 日現在

機関番号：12605

研究種目：新学術領域研究

研究期間：2008～2012

課題番号：20120010

研究課題名（和文） 樹木に対するエアロゾルの影響とその樹種間差異の解明

研究課題名（英文） EFFECTS OF AEROSOL ON FOREST TREE SPECIES AND ITS SPECIES DIFFERENCE

研究代表者

伊豆田 猛 (IZUTA TAKESHI)

東京農工大学・大学院農学研究院・教授

研究者番号：20212946

研究成果の概要（和文）：ブナ、スダジイ、カラマツおよびスギの苗木に、ブラックカーボン粒子または硫酸アンモニウム粒子を暴露する手法を確立し、それぞれ 2 年間にわたる暴露実験を行った。いずれの樹種においても、成長や光合成能力に対するブラックカーボン粒子の影響は認められなかった。一方、硫酸アンモニウム粒子の暴露は、各樹種の成長に影響を及ぼさなかったが、スギの当年葉の光合成能力を増加させ、旧年葉のそれを低下させることが明らかになった。

研究成果の概要（英文）：Plant growth chambers for the exposure to black carbon or ammonium sulfate particles were developed. The seedlings of *Fagus crenata*, *Castanopsis sieboldii*, *Larix kaempferi* and *Cryptomeria japonica* were exposed to black carbon or ammonium sulfate particles in the chambers for two growing seasons. The exposure to black carbon particles did not significantly affect growth and photosynthetic capacity of *F. crenata*, *C. sieboldii*, *L. kaempferi* and *C. japonica* seedlings. The exposure to ammonium sulfate particles did not significantly affect growth of *F. crenata*, *C. sieboldii*, *L. kaempferi* and *C. japonica* seedlings, but it significantly increased photosynthetic capacity in the current-year needles and significantly reduced that in the previous-year needles of *C. japonica* seedlings.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
20 年度	20,300,000	6,090,000	26,390,000
21 年度	22,600,000	6,780,000	29,380,000
22 年度	14,700,000	4,410,000	19,110,000
23 年度	14,700,000	4,410,000	19,110,000
24 年度	14,700,000	4,410,000	19,110,000
総計	87,000,000	26,100,000	113,100,000

研究分野：複合新領域

科研費の分科・細目：環境学・環境動態解析

キーワード：エアロゾル、樹木、樹種間差異

1. 研究開始当初の背景

近年、東アジアにおけるエアロゾル粒子などによる越境大気汚染とその植物影響が懸念されている。人為起源のエアロゾル粒子は主に微小粒子として存在し、長距離輸送される。したがって、東アジア地域において越境輸送される大気汚染物質に含まれるエアロゾル粒子が植物に及ぼす影響を明らかにするためには、平均粒子径が数百 nm (サブミクロン) のエアロゾル粒子を用いた実験的研究を行う必要がある。しかしながら、サブミクロンサイズのエアロゾル粒子が植物におよぼす影響に関する研究は極めて限られており、野外で観測されている濃度レベルのサブミクロンサイズのエアロゾル粒子が、植物の成長や生理機能などに及ぼす長期的な影響はまったく明らかにされていない。

2. 研究の目的

本研究では、植物を長期にわたって育成することが可能なエアロゾル暴露チャンバー内でサブミクロンサイズのエアロゾル粒子を植物に暴露する装置を設計・開発し、実験的研究によって、東アジアの森林を構成する代表的な樹木に対するサブミクロンサイズのブラックカーボン粒子および硫酸アンモニウム粒子の影響とその樹種間差異を解明することを目的とした。

3. 研究の方法

(1) エアロゾル暴露チャンバーの開発

植物を長期的に育成することが可能なエアロゾル暴露チャンバーとして、自然光型のファイトトロン(除湿機能付)を用いた(写真1)。サブミクロンサイズのブラックカーボン粒子の発生には、燃焼合成カーボン粉末を水に懸濁した溶液を出発原料液として、超音波力型粒子発生装置と静電気力型粒子発生装置を用いた。懸濁液中のカーボン粉末濃度等を調整することによって、平均粒子径が 100~200 nm の粒子を生成させることができた。サブミクロンサイズの硫酸アンモニウム粒子の発生には、硫酸アンモニウム水溶液を数 μm の液滴群に転換し、液滴内の溶媒を蒸発させることによって個体粒子を形成させる噴霧乾燥法を用いた。硫酸アンモニウム溶液の濃度等を調整することによって、平均粒子径約 300 nm の粒子を生成させることができた。

サブミクロンサイズの粒子発生装置を暴露チャンバー内の中央に配置し、その周囲に樹木を配置した。粒子発生装置全体を特殊な回転台に載せて回転させることにより、周囲に配置した樹木に向けてエアロゾル粒子を暴露できるように設計した。

(2) 樹木に対するサブミクロンサイズのエアロゾル粒子の影響とその樹種間差異に関する実験的研究

2009年と2010年においては、サブミクロンサイズのブラックカーボン粒子が樹木に及ぼす影響に関する実験的研究をおこなった。2011年と2012年においては、樹木に対するサブミクロンサイズの硫酸アンモニウム粒子の影響に関する実験的研究をおこなった。供試樹木として、東アジアに生育する樹種であるブナ(*Fagus crenata*)、スダジイ(*Castanopsis sieboldii*)、カラマツ(*Larix kaempferi*)、スギ(*Cryptomeria japonica*)の1~3年生苗を用いた。4樹種の苗木を、鹿沼土を詰めた2Lポットに植栽し、6基のエアロゾル暴露チャンバー内に配置した。エアロゾル粒子の暴露をおこなう暴露区と暴露をおこなわない対照区を設定し、処理区あたり3チャンバーレプリケーションを設けた。

ブラックカーボン粒子の暴露実験は、2009年6月1日から2010年10月31日までおこなった。実験期間中においては、1~2日に1回、6:00~9:00の間に、暴露区に配置した苗木にサブミクロンサイズのブラックカーボン粒子を暴露した。樹木の成長期間中に、4樹種の葉のガス交換速度を携帯式光合成測定装置(LI-6400, Li-Cor Inc., Nebraska, U.S.A)を用いて測定した。実験終了時(2010年11月)には、葉面におけるブラックカーボン粒子の沈着状態の顕微鏡観察と沈着量の測定を行い、個体サンプリングを行うことによって個体乾重量を測定した。

ブラックカーボン粒子が樹木の葉のガス交換速度に及ぼす短期的な影響を明らかにするために、静電気力型粒子発生装置を用いて、各樹種の葉に最長50時間のブラックカーボン暴露を施した。暴露の前後に葉のガス交換速度とブラックカーボン粒子の葉面沈着量を測定した。



写真 1. 東京農工大学の府中キャンパスに設置したエアロゾル暴露チャンバー。チャンバー内の中央に粒子発生装置を設置し、その周囲に樹木を配置した。

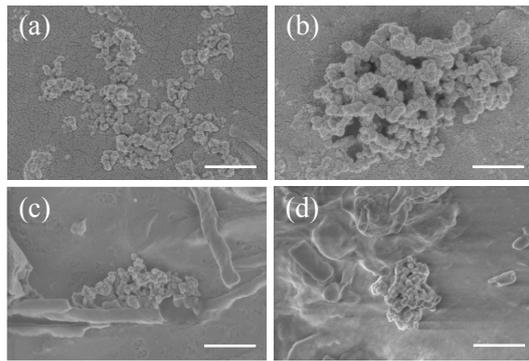


図 1. 葉表面に沈着したブラックカーボン粒子の FE-SEM 画像. (a)ブナ, (b)スダジイ, (c)カラマツ, (d)スギ. Bars = 500 nm.

硫酸アンモニウム粒子の暴露実験は、2011年6月3日から2012年10月8日までおこなった。実験期間中においては、1日に1~2回、6:00~9:00の間に、暴露区に配置した苗木にサブミクロンサイズの硫酸アンモニウム粒子を暴露した。樹木の成長期間中に、各樹種の葉のガス交換速度や葉内のタンパク質などの葉内成分濃度を測定した。また、実験終了時(2012年10月)に、葉面における硫酸アンモニウム粒子の沈着状態の顕微鏡観察と沈着量の測定を行い、個体サンプリングを行うことによって個体乾重量を測定した。

4. 研究成果

(1) 樹木に対するブラックカーボン粒子の影響

2010年11月に採取した葉の表面におけるブラックカーボン粒子の沈着状態を電界放出形走査電子顕微鏡(FE-SEM)で観察した結果、すべての樹種の葉表面に粒子発生装置から輸送されたブラックカーボン粒子の沈着が確認された(図1)。いずれの樹種においても、ブラックカーボン暴露区で育成した個体の葉面におけるブラックカーボン沈着量は対照区のそれより高く、その差は0.13~0.69 mg C m⁻² total leaf areaであった。これらの結果から、本研究で開発した暴露方法を用いることにより、サブミクロンサイズのブラックカーボン粒子が樹木の成長や光合成に及ぼす長期的な影響を明らかにすることが可能であることが示された。

いずれの樹種においても、光飽和条件下における純光合成速度、葉温、水蒸気気孔拡散コンダクタンス(g_s)、光合成における気孔制限および水蒸気飽差の上昇に対するg_sの変化にブラックカーボン暴露の有意な影響は認められなかった(データは示さず)。さらに、2010年11月における各樹種の個体乾重量にブラックカーボン粒子の暴露による有意な影響は認められなかった(図2)。以上の結果より、2成長期間にわたるサブミクロンサイ

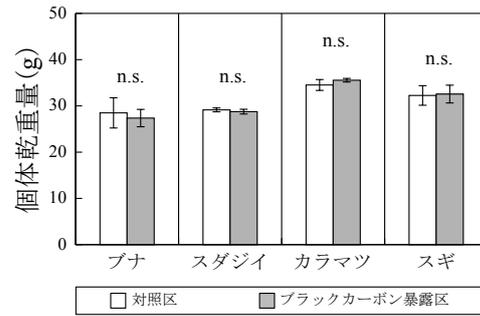


図 2. 2010年11月におけるブナ、スダジイ、カラマツおよびスギの個体乾重量に対するブラックカーボンの影響. n.s. = not significant (Two-sample *t*-test).

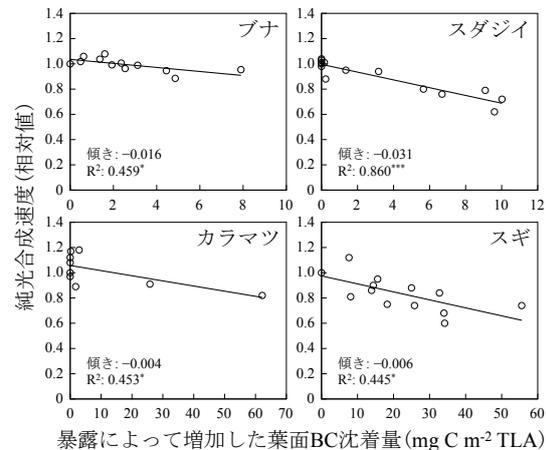


図 3. ブナ、スダジイ、カラマツおよびスギの光飽和条件下における純光合成速度(A)の相対値と暴露によって増加した葉面ブラックカーボン(BC)沈着量との関係。暴露によって増加した葉面 BC 沈着量=(暴露後の葉面 BC 沈着量)-(暴露前の BC 沈着量)。Aの相対値=(暴露後の A)/(暴露前の A)。TLA: total leaf area. Pearson correlation test: **p*<0.05, ****p*<0.001.

ズのブラックカーボン粒子の暴露は、ブナ、スダジイ、カラマツおよびスギの苗木の成長と光合成に影響を及ぼさないことが明らかになった。

短期暴露実験において、4樹種の葉に連続50時間にわたってサブミクロンサイズのブラックカーボン粒子の暴露を行った結果、暴露後の純光合成速度は暴露前のそれと比較して低かった。そこで、暴露後に測定した純光合成速度の相対値(暴露前の値を1とした時の値)と暴露によって増加した葉面ブラックカーボン沈着量との関係を調べた。その結果、いずれの樹種においても両者の間に有意な負の直線関係が認められた(図3)。しかしながら、4樹種における直線回帰式の傾きの絶対値は異なり、ブラックカーボン粒子の葉面沈着量の増加に伴う純光合成速度の低下

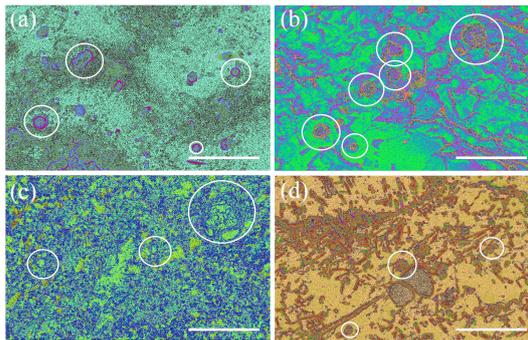


図 4. 4 樹種の葉の表面に沈着した硫酸アンモニウム粒子の FE-SEM 画像. (a)ブナ, (b)スダジイ, (c)カラマツ, (d)スギ. 丸印 = EDX による点分析の結果、硫黄を含むと判定された粒子. Bars = 5 μm .

程度は、スダジイ>ブナ>スギ>カラマツの順に著しいことが明らかになった。

(2) 樹木に対する硫酸アンモニウム粒子の影響

暴露期間中の日々の硫酸アンモニウム粒子の暴露時間と硫酸アンモニウム溶液の消費量を記録し、それらとチャンバーの容積から、暴露によって上昇したチャンバー内の日平均硫酸塩濃度を算出した。この算出値とフィルターパック法によって実測した値との間に有意な正の相関が認められた ($R^2=0.818$, $p<0.001$)。この関係から、2011年6月~10月および2012年3月~10月における暴露によって上昇したエアロゾル暴露チャンバー内の平均硫酸塩濃度は、それぞれ $2.73 \mu\text{g m}^{-3}$ および $4.32 \mu\text{g m}^{-3}$ であった。また、実験終了時である2012年10月に採取した各樹種の葉の表面における粒子の沈着状態を FE-SEM とエネルギー分散型 X 線分析装置 (EDX) を用いた手法によって観察した。その結果、硫酸アンモニウム暴露区で育成した4樹種の葉表面に、粒径 $300\sim 600 \text{ nm}$ の硫黄 (S) を含む粒子が観察された (図 4)。これらの結果から、本研究で開発した暴露方法を用いることにより、サブミクロンサイズの硫酸アンモニウム粒子が樹木の成長や光合成におよぼす長期的な影響を明らかにすることが可能であることが示された。

2012年10月における4樹種の個体乾重量に硫酸アンモニウム粒子の暴露による有意な影響は認められなかった (図 5)。育成期間中に測定したブナ、スダジイおよびカラマツの葉の純光合成速度に硫酸アンモニウム粒子の暴露による有意な影響は認められなかった (データは示さず)。一方、スギ当年葉の純光合成速度は、硫酸アンモニウム粒子の暴露によって有意に増加したが、旧年葉のそれは有意に低下した (図 6)。これらの結果から、

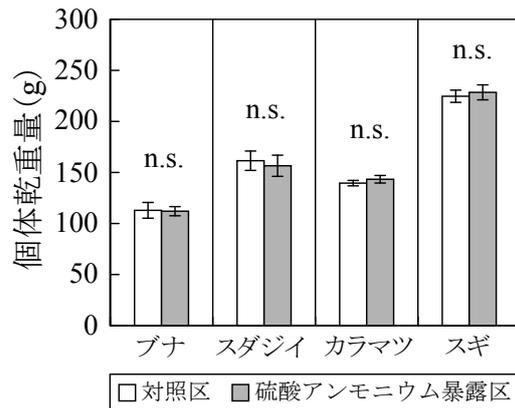


図 5. ブナ、スダジイ、カラマツおよびスギの個体乾重量に対する硫酸アンモニウム粒子の影響 (2012年10月). 各値は3チャンバー反復の平均値を示し、エラーバーはその標準偏差を示す. Two-sample t -test: n.s. = not significant.

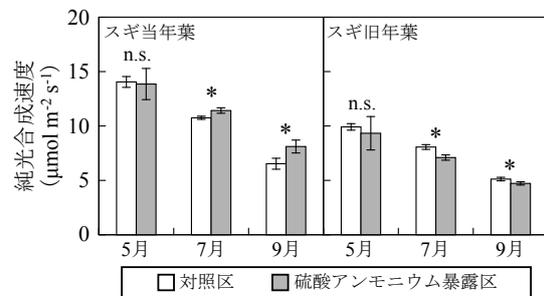


図 6. 2012年5月、7月、9月におけるスギの当年葉および旧年葉の純光合成速度に対する硫酸アンモニウム粒子の影響. 各値は3チャンバー反復の平均値を示し、エラーバーはその標準偏差を示す. Two-sample t -test: * $p<0.05$, ** $p<0.01$, n.s. = not significant.

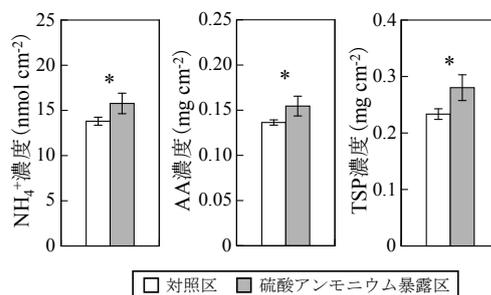


図 7. 2012年7月におけるスギの当年葉のアンモニウムイオン (NH_4^+) 濃度、全遊離アミノ酸 (AA) 濃度および全可溶性タンパク質 (TSP) 濃度に対する硫酸アンモニウム粒子の影響. 各値は3チャンバー反復の平均値を示し、エラーバーはその標準偏差を示す. Two-sample t -test: * $p<0.05$.

2 成長期間にわたるサブミクロンサイズの硫酸アンモニウム粒子の暴露は、4 樹種の個体乾物成長などに有意な影響を及ぼさないが、葉の純光合成速度に対する硫酸アンモニウム粒子の影響には樹種間差異があり、スギの針葉の純光合成速度は硫酸アンモニウム粒子の影響を受けやすいことが明らかになった。

2012 年 7 月におけるスギ当年葉のアンモニウムイオン濃度、全遊離アミノ酸濃度および全可溶性タンパク質濃度は、硫酸アンモニウム粒子の暴露によって有意に増加した(図 7)。硫酸アンモニウム粒子などの潮解性の高い粒子は、葉面に沈着すると、葉からの蒸散によって放出された水蒸気を吸湿し、潮解すると考えられており、潮解して生成されたアンモニウムイオンは葉のクチクラ層を介して葉内に吸収されることが報告されている。したがって、スギの当年葉においては、葉面に沈着した硫酸アンモニウム粒子が潮解し、アンモニウムイオンが葉内に吸収されたと考えられる。一方、硫酸アンモニウム粒子の暴露によって、スギの当年葉における水蒸気気孔拡散コンダクタンス、RuBP カルボキシラーゼ/オキシゲナーゼ(Rubisco)の濃度とクロロフィル b の濃度が有意に増加した(データは示さず)。したがって、葉内に吸収されたアンモニウムイオンがアミノ酸に同化され、Rubisco などのタンパク質やクロロフィルの合成に利用された結果、硫酸アンモニウム粒子の暴露によってスギの当年葉の純光合成速度が増加したと考えられる。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 15 件)

- ① Yamaguchi, M., Otani, Y., Takeda, K., Lenggoro, W., Ishida, A., Yazaki, K., Noguchi, K., Sase, H., Murao, N., Nakaba, S., Yamane, K., Kuroda, K., Sano, Y., Funada, R. and Izuta, T., Effects of long-term exposure to black carbon particles on growth and gas exchange rates of *Fagus crenata*, *Castanopsis sieboldii*, *Larix kaempferi* and *Cryptomeria japonica* seedlings, *Asian Journal of Atmospheric Environment*, 6, 259-267, 2012, 査読有.
- ② Yamaguchi, M., Takeda, K., Otani, Y., Murao, N., Sase, H., Lenggoro, I. W., Yazaki, K., Noguchi, K., Ishida, A. and Izuta, T., Optical method for measuring deposition amount of black carbon particles on foliar surface,

Asian Journal of Atmospheric Environment, 6, 268-274, 2012, 査読有.

- ③ Yamane, K., Nakaba, S., Yamaguchi, M., Kuroda, K., Sano, Y., Lenggoro, I. W., Izuta, T. and Funada, R., Visualization of artificially deposited submicron-sized aerosol particles on the surfaces of leaves and needles in trees, *Asian Journal of Atmospheric Environment*, 6, 275-280, 2012, 査読有.
- ④ Gen, M., Kakuta, H., Kamimoto, Y. and Lenggoro, I.W., A colloidal route to detection of organic molecules based on surface-enhanced Raman spectroscopy using nanostructured substrate derived from aerosols. *Japanese Journal of Applied Physics*, 50, 06GG10, 2011, 査読有.
- ⑤ Hama, N., Takashima, Y., Gen, M., Tsukada, M., Kamiya, H. and Lenggoro, I. W., Measurement of Model Aerosols Containing Two Metal Components Formed via Cooling and Dilution Routes, *Journal of Aerosol Research*, 26, 277-285, 2011, 査読有.
- ⑥ Naim, M. N., Bakar, N. F. A., Iijima, M., Kamiya, H. and Lenggoro, I. W., Electrostatic deposition of aerosols generated from an aqueous nanopowder suspension on a chemically-treated substrate, *Japanese Journal of Applied Physics*, 49, 06GH17, 2010, 査読有.
- ⑦ Naim, M. N., Iijima, M., Sasaki, K., Kamiya, H., Kuwata, M. and Lenggoro, I. W., Electrical-driven disaggregation of colloidal polymer particles under pulse DC charging, *Advanced Powder Technology*, 21, 534-541, 2010, 査読有.
- ⑧ Naim, M. N., Iijima, M., Kamiya, H. and Lenggoro, I. W., Electrophoretic packing structure from aqueous nanoparticle suspension in pulse DC charging, *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 360, 13-19, 2010, 査読有.

[学会発表] (計 49 件)

- ① 伊豆田 猛, 植物に対する越境大気汚染物質の影響, 第25回環境工学連合講演会, 2012年4月13日, 日本学会会議講堂(東京都港区).
- ② 伊豆田 猛, 石田 厚, 矢崎 健一, 野口 享太郎, Wuled Lenggoro, 山口 真弘,

大谷葉子, 竹田健太, 李 咄冉, 長尾 宙, 玄 大雄, 井川誠司, Lim Fong Zyin, 樹木に対するエアロゾルの影響とその樹種間差異の解明, 第53回大気環境学会年会 特別集会, 2012年9月13日, 神奈川大学(神奈川県横浜市).

- ③ Gen, M., Ikawa, S., Yamaguchi, M., Izuta, T. and Lenggoro, W. A plant growth chamber system facilitated with aerosol depositor for transporting submicron particles onto leaf surfaces. International Symposium on Aerosols in East Asia and Their Impacts on Plants and Human Health, 29 November 2012, Tokyo, Japan.
- ④ Yamaguchi, M., Otani, Y., Li, P., Nagao, H, Seki, A., Lenggoro, I. W., Yazaki, K., Noguchi, K., Ishida, A. and Izuta, T. Experimental study on the effects of ammonium sulfate particles on *Fagus crenata*, *Castanopsis sieboldii*, *Larix kaempferi* and *Cryptomeria japonica*, International Symposium on Aerosols in East Asia and Their Impacts on Plants and Human Health, 29 November 2012, Tokyo, Japan.
- ⑤ Lenggoro, W., Gen, M., Ikawa, S., Lim, F., Yamaguchi, M. and Izuta, T., An aerosol generator system for long-duration exposures of plants to submicrometer-sized particles, 7th Asian Aerosol Conference, 17-20 August 2011, Xi'an, China.
- ⑥ 玄 大雄, Lim Fong Zyin, 井川誠司, 山口真弘, 伊豆田 猛, Wuled Lenggoro, 植物用エアロゾル曝露チャンバーにおける粒子発生システムの構築, 第12回化学工学会学生発表会, 2010年3月6日, 九州大学(福岡県福岡市).
- ⑦ Lenggoro, W., Conversion of liquid-phase nanoparticles into the gas-phase for material assessment and assembly (Keynote). National Seminar on Nano Science & Technology 2009, 3 June 2009, Indonesia.

[図書] (計3件)

- ① Wang, W. N., Lenggoro, W. and Okuyama, K. (2011) Preparation of nanoparticles by spray routes, Encyclopedia of Nanoscience and Nanotechnology, 2nd Edition, Vol. 21, pp. 435-458, American Scientific Publishers.
- ② 伊豆田 猛 (2010) 植物に対する大気汚染物質の影響, 新・公害防止の技術と法規

2010 大気編 I (公害防止の技術と法規編集委員会 編), pp.160-171, (社)産業環境管理協会.

[その他]

- ① 本研究の成果などは、「粒子人間植物影響」のホームページ (<http://www.tuat.ac.jp/~aerosol/>) で公開している。
- ② 本研究の成果を広く社会や国民に説明するために、下記の一般市民向けの講演会などで講演した(計28件)。
 - (1) 伊豆田 猛, 大気環境学会植物分科会全国講演会, 2012年6月30日, 静岡県立大学(静岡県静岡市)で一般市民を対象に、本研究の成果を解説した。
 - (2) 伊豆田 猛, 津軽半島環境サミット, 2012年9月1日, 五所川原市中央公民館(青森県五所川原市)で一般市民を対象に、本研究の成果をわかりやすく解説した。
 - (3) 伊豆田 猛, Wuled Lenggoro など, 東京農工大学 科学技術展 2012, 2012年11月9~11日, 東京農工大学農学部(東京都府中市)で一般市民を対象に、本研究の成果をポスターで発表した。

6. 研究組織

(1) 研究代表者

伊豆田 猛 (IZUTA TAKESHI)
東京農工大学・大学院農学研究院・教授
研究者番号: 20212946

(2) 研究分担者

レンゴロ ウレッド (LENGGORO WULED)
東京農工大学・大学院工学研究院・准教授
研究者番号: 10304403
石田 厚 (ISHIDA ATSUSHI)
京都大学・生態学研究センター・教授
研究者番号: 60343787
矢崎健一 (YAZAKI KENICHI)
独立行政法人森林総合研究所・植物生態研究領域・主任研究員
研究者番号: 30353890
野口享太郎 (NOGUCHI KYOTARO)
独立行政法人森林総合研究所・立地環境研究領域・主任研究員
研究者番号: 70353802

(3) 連携研究者

なし