

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2007～2008

課題番号：19580164

研究課題名（和文） 湿地生樹木の湛水耐性機構

－微小酸素電極を用いた樹体内の酸素動態の解明

研究課題名（英文） Flooding tolerance of swamp trees - Dynamics of oxygen from shoot through root probed by a micro oxygen electrode

研究代表者

益守 真也(MASUMORI MASAYA)

東京大学・大学院農学生命科学研究科・講師

研究者番号：50282702

研究成果の概要：湿地に生育するフトモモ科樹木の低酸素環境に対する耐性機構の一端を明らかにした。根系だけを溶存酸素の少ない水に沈める湛水条件においても成長のよい樹種では、幹の周皮内に細胞間隙に富む二次通気組織が発達し、大気から取り込まれた酸素が根系内に供給されていることを微小酸素電極を用いた実験により定量的に明らかにした。また全身を水中に沈める沈水条件において成長できる樹種では、細胞間隙に富み形態も異なる異形葉を発達させ、体内でのガス交換を容易にしていることが示された。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
19年度	1,400,000	420,000	1,820,000
20年度	600,000	180,000	780,000
年度			
年度			
年度			
総計	2,000,000	500,000	2,500,000

研究分野：農学

科研費の分科・細目：林学・林学・森林工学

キーワード：熱帯造林, 湿地生樹木, 湛水耐性, フトモモ科, 通気組織, 周皮, 酸素センサー

## 1. 研究開始当初の背景

本課題は、湿地に生育する樹種を対象に、根系が水中に没したとき(湛水)あるいは全身が水中に没したとき(沈水)の樹体内の酸素の動態を微小酸素電極を使って実測し、その耐性機構を明らかにしようとするものである。

水の酸素溶解量が少なくガス拡散速度も極めて低いため、土壌が水で飽和すると根への酸素供給が著しく抑えられ好気呼吸ができなくなり、根の生理活性が低下して養水分の吸収が妨げられ、植物にとって致命的な害をもたらす。また

植物根や微生物の酸素消費により土壌中の酸素濃度が低下すると有害な金属が還元されて溶出してくることも湛水に伴う植物の傷害の要因となる(Jackson 1985 に総説)。種によってはこのような湛水条件に対する耐性をもち根の活性を維持し成長し続けることができる。湛水耐性種の適応的反応としては、好気呼吸に抛らずにエネルギーを産生する代謝経路の誘導(例えば醗酵系の賦活化)と、通気組織の形成が知られている(Drew 1997 に総説)。前者の代謝的な適応による機構は比較的良好に研究されているが、嫌気呼

吸によって得られるエネルギーでは長期の低酸素環境で生育することは困難で、非同化器官への酸素の供給が必要であると考えられている。湛水条件においたときの茎や根での通気組織の形成は湛水耐性種の多くで見られ、気中にある地上部から根系への酸素輸送を容易にする反応であると説明されている。この考えは、根からの漏出酸素を詳細に測定するという手法により多くの傍証が得られている。しかしながら、通気組織の酸素供給能への寄与について、実際に組織内の酸素の動態に基づいた実証的な研究は少ない。酸素の供給源や輸送の駆動力など不明な点が多く、実際に通気組織が酸素輸送にどの程度寄与しているかは必ずしも明らかではなかった。これらの点を実証するには、茎や根の中の酸素量の変化を知る必要があるが、根自身による消費量や根からの酸素漏出抵抗を無視した根外の酸素濃度で評価されていることが多かった。

生きた組織内の酸素濃度を測る技術として微小なクラーク型酸素電極が医学分野で発達してきた。近年、比較的硬い細胞壁を持つ植物組織にも応用できるような電極が作製されている。湛水耐性種の根内酸素濃度測定も試みられており、通気組織の酸素輸送への寄与が示されつつあるが(Armstrong 1994, Armstrong et al. 2000, Pedersen et al. 2006など)、いずれも対象としているのはイネやヨシなどの茎から根端までの距離が比較的短く、通気組織が一次組織内に形成される草本種が大多数で、木本植物を対象とした研究はわずかである。

本課題で供試した植物は、タイ南部の湿地周辺の二次林に分布する高木種である。*Melaleuca cajuputi* は季節的に湛水する湿地に優占し、幼樹のうちには完全に水没してしまうような条件でも成長している。*Syzygium* 属は、季節的に湛水する場所とほとんど冠水しない場所とに分布を異にしている数種を用いる。申請者らは今までに *M. cajuputi* が極めて高い湛水耐性をもち(Yamanoshita et al. 2001)、水中でも高いエネルギー充足率を維持していることを示し(Yamanoshita et al. 2005)、特に代謝的な適応反応について研究してきた(Kogawara et al. 2006)。さらに、長期的な湛水に対しては解剖学的な変化によって根系への酸素供給を維持していることを示唆する結果を得ていた。*Syzygium* についても、実験的な湛水に対する耐性と組織の空隙率に関連があり、耐性種では根端から酸素が漏出して根系を酸化的に維持していることを明らかにしてきた(江崎ら 2005)。

沈水条件で生育する植物の水中での酸素獲得機構として光合成で産生される酸素の利用が提案されているが(Voesenek 2006 に総説)、体内での酸素の動態については未解明であり、しかも、いずれも水生植物を対象とした研究によるものであり、*M. cajuputi* のように基本的に陸生である植物の沈水耐性機構についての既往研究は

皆無であった。

Armstrong W (1994) Polarographic oxygen electrodes and their use in plant aeration studies. Proc. Royal Soc. Edinburgh Section B-Biol. Sci. 102: 511-527 1994

Armstrong W, Cousins D, Armstrong J, et al. (2000) Oxygen distribution in wetland plant roots and permeability barriers to gas-exchange with the rhizosphere: a microelectrode and modelling study with *Phragmites australis*. Annals of Botany 86 (3): 687-703

Drew MC (1997) Oxygen deficiency and root metabolism: injury and acclimation under hypoxia and anoxia. Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Boil. 48:223-250

江崎五郎・益守真也・山ノ下卓 (2005) 低酸素条件下でのフトモモ属4種の根系への酸素供給。根の研究 14:186.

Jackson MB (1985) Ethylene and the responses of plants to soil waterlogging and submergence. Ann. Rev. Plant Physiol. 36:145-174

Kogawara S, Yamanoshita T, Norisada M, Masumori M, Kojima K (2006) Photosynthesis and photoassimilate transport during root hypoxia in *Melaleuca cajuputi*, a flood-tolerant species, and in *Eucalyptus camaldulensis*, a moderately flood-tolerant species. Tree Physiology 26, 1413-1423

Pedersen O, Vos H, Colmer TD (2006) Oxygen dynamics during submergence in the halophytic stem succulent *Halosarcia pergranulata* Plant Cell Environ 29 (7): 1388-1399

Voesenek LACJ, Colmer TD, Pierik R, Millenaar FF, Peeters, AJM (2006) How plants cope with complete submergence. New Phytologist 170:213-226

Yamanoshita T, Nuyim T, Masumori M, Tange T, Kojima K, Yagi H and Sasaki S (2001) Growth response of *Melaleuca cajuputi* to flooding in a tropical peat swamp. J Forest Research 6: 217-219

Yamanoshita T, Masumori M, Yagi H, Kojima K (2005) Effects of flooding on downstream processes of glycolysis and fermentation in roots of *Melaleuca cajuputi* seedlings. Journal of Forest Research 10: 199-204.

## 2. 研究の目的

既に湛水に対する耐性があることが明らかとなっている樹種を用いて、まず湛水条件下の根系に酸素が輸送されていることを確認した上で、地上部から根端までの酸素の輸送経路を明らかにして、通気組織形成の寄与を評価する。

また、沈水条件でも成長する樹種について、酸素供給が抑制されている状態での形態的・解剖学的な変化を観察して、非同化器官におけるエネルギーの獲得に光合成によって産生された酸素がどのように関与しているかを明らかにし、非水生植物の沈水耐性機構を解明する。

### 3. 研究の方法

まず、供試植物の実生あるいは挿し木苗を根が水中にある条件で育成する。その際、根の伸長を物理的に制限して根系の形が顕微鏡下の限られた空間に収まるように誘導し、水中にある根に微小酸素電極を挿入する作業を実体顕微鏡下でおこなえるようにするための育成装置を作製する。また、湛水処理期間中、気中にある葉の光合成速度や伸長反応を継続測定し、樹種ごとの湛水耐性を評価する。

水中での根の中の酸素濃度の変化を、根端付近に微小酸素電極を挿入して計測する。

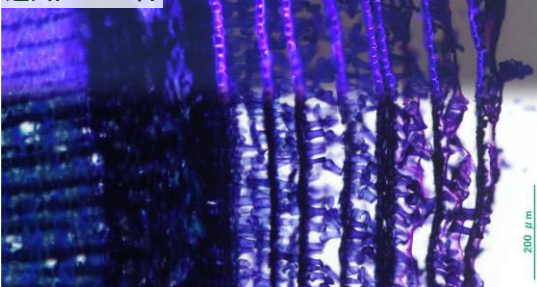
2) 湛水条件における根系について茎から根端にかけての酸素濃度の分布 湛水条件下で育成した稚樹の根系の各部に微小酸素電極を挿入して酸素濃度の分布を測定し、酸素供給が根での好気呼吸に及ぼす影響を評価する。

湛水条件における茎から根にかけての酸素通道部位を明らかにするため、切片の顕微鏡観察をおこなう。

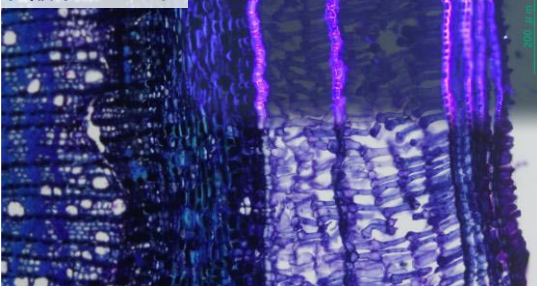
湛水条件における地上部からの酸素供給源周皮の部分的削除やワセリン塗布などによって幹を覆い酸素透過を遮ったとき、あるいは暗黒下において光合成を抑えたときの、根の酸素濃度とエネルギー充足率を計測する。

湛水条件における地上部から根系への酸素輸送の駆動力を明らかにするため、光合成を阻害したときの、根の酸素濃度を計測し、地上部から幹を通じて根系に酸素が送り込まれるその駆動力が、濃度勾配によるものなのか予圧対流によるものなのかを検証する。

通気区29日目



低酸素区38日目



主根の水面下1cmの周皮部分の横断面(左が木部)

それぞれの上半分は蛍光の画像。

スベリンの蓄積した細胞層と間隙に富む柱状の細胞が幾重にも重なって通気組織を形成していた。

一方、沈水耐性種については、枝葉水を満たした容器内に供試植物体を入れ溶存酸素計を挿入し、閉鎖系での酸素濃度の変化、すなわち個体全体としての見かけの光合成速度を計測する。光条件などを変えた際の光合成速度の変化などから、条件下における光合成能と耐性機構の関連を明らかにする。

### 4. 研究成果

#### (1) 湛水耐性機構

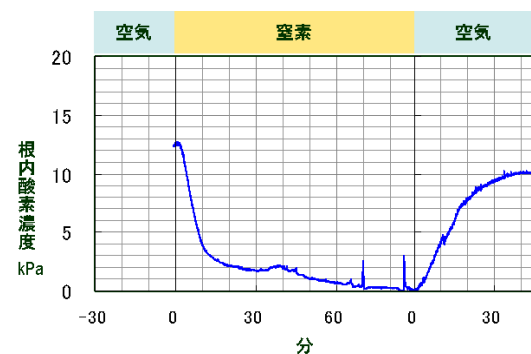
タイの湿地周辺に生育する *Syzygium* 属樹種の幼樹を湛水条件下で育成したところ、成長量などに指標される湛水耐性に、現地での分布に対応した樹種間差が見られた。

耐性のある種では、根内の皮層部の細胞間隙が大きい、いわゆる一次通気組織が湛水条件下において発達した。

より耐性の高い種を用い、根内の酸素分圧を計測できる微小酸素電極の作製に成功した。この電極を用いた実験により根圏をほぼ無酸素状態にしても、根内の一次通気組織内には酸素が存在していることを確認した。さらに、その酸素が周皮に作られた二次通気組織を経て地上部から送り込まれていることなどを定量的に明らかにした。

解剖学的な観点から、周皮内に二次通気組織が著しく発達する過程を、スベリン化した細胞層に挟まれた柱状の細胞の長さ(放射方向)の長さを指標に定量した。二次通気組織が発達すると根圏をほぼ無酸素状態にしても根内酸素濃度が高く維持されることや、その酸素が二次通気組織を経て地上部から送り込まれていることなどを定量的に確認した。

さらに二次通気組織を介した酸素の供給に光合成反応が直接的には関与していないことを明らかにした。少なくとも供試したサイズの苗においては、低酸素条件下の根系への酸素供給は、能動的な輸送ではないことを示唆している。茎



#### 茎周囲の酸素を無くした時の根内(皮層内)酸素濃度

低酸素区38日目の苗の水面より上をビニル袋で被い、根圏の酸素濃度を低くした条件下での側根内の酸素濃度を記録しながら、袋内に窒素を充満させ、89分後また空気で充満させた。地上部の環境から酸素を無くすと根内酸素が可逆的に減った。

の一部の周囲を空気ではなく窒素に置き換えたりした実験の結果、根系に供給される酸素が幹周囲の大気から取り込まれていることや、取り込まれる部位が水面近くであることを明らかにした。

周皮の発達には木本植物に特徴的とも言えるが、その周皮内に形成される二次通気組織を介した酸素の動態の一部を明らかにすることに成功した。

## (2) 沈水耐性機構

*Melaleuca cajuputi* 幼樹は沈水条件においても伸長成長するが、暗黒にすると成長せず死亡していくことから、水中でも光合成を維持しエネルギーを獲得していることが示唆された。一部の葉の形態が気中葉とは異なる異形性を示すことが確認された。水中異形葉は解剖学的にも気中葉とは異なっており、細胞間隙に富んでいた。容易にし気体拡散速度の小さい水中において同化器官と非同化器官間の気体移動を樹体内で行うことによりガス交換が容易になるのであろう。高木性の陸生植物でありながら、沈水条件に対して水生植物的な適応反応を示すといえる。

森林の保全や造成が望まれている湿地は世界に広く分布しており、湛水環境での造林技術の開発は重要である。樹木の湛水・沈水耐性機構を明らかにすることは、そのような立地環境に適した樹種の検索や育苗法・植栽方法・育林方法の開発に必須の知見を与えることになる。

## 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0件)

[学会発表] (計5件)

- ① 柳澤萌人・益守眞也・江崎五郎・山ノ下卓・丹下健，低酸素条件下における *Syzygium* 属3種の根系への酸素供給，第119回日本森林学会大会，2008
- ② 長藤慎介・則定真利子・山ノ下卓・古川原聡・益守眞也・大澤裕樹・小島克己・丹下健，高温に対する *Acacia* 属2種の根の通水性の応答，第119回日本森林学会大会，2008
- ③ 山ノ下卓・則定真利子・NUYIM Tanit・益守眞也・小島克己，熱帯泥炭湿地造林における湛水順化処理の効果，第119回日本森林学会大会，2008

④ 田中一生・山ノ下卓・益守眞也・丹下健，沈水した *Melaleuca cajuputi* の成長と異形葉形成に及ぼす溶存二酸化炭素濃度の影響，第120回日本森林学会大会，2009

⑤ 柳澤萌人・益守眞也・山ノ下卓・江崎五郎・丹下健，湿地生樹木における根への酸素供給—根内酸素濃度の実測と二次通気組織の観察—，第30回根研究集会，2009

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

益守 眞也 (MASUMORI MASAYA)

東京大学・大学院農学生命科学研究科・講師  
研究者番号:50282702

### (2) 研究分担者

### (3) 連携研究者

丹下 健 (TANGE TAKESHI)

東京大学・大学院農学生命科学研究科・教授  
研究者番号:20179922

小島 克己 (KOJIMA KATSUMI)

東京大学・アジア生物資源環境研究センター・  
教授  
研究者番号:80211895

### (4) 研究協力者

山ノ下 卓 (YAMANOSHITA TAKASHI)

東京大学・アジア生物資源環境研究センター・  
特任助手