

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 16 日現在

機関番号：10105

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2012～2013

課題番号：24658207

研究課題名(和文) バイオミメティクスを目指すシソ科植物「シモバシラ」の氷晶析出機構の解明

研究課題名(英文) ELucidation of Mechanism of Ice Segregation by *Keiskea japonica* Miq., Lamiaceae AIMING FOR BIOMIMETICS

研究代表者

武田 一夫 (TAKEDA, Kazuo)

帯広畜産大学・畜産学部・教授

研究者番号：80374768

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円、(間接経費) 900,000円

研究成果の概要(和文)：シモバシラ(*Keiskea japonica*, Miq.)の氷晶析出現象について、析出機構の解明を目的に室内実験を行った。その結果、初冬に氷核活性温度が $-2.1\sim-2.5$ に高まること、電子顕微鏡写真から木部表面に $1\mu\text{m}$ のピット(壁孔)構造があること、3次元蛍光画像解析から茎内部の給水が導管周辺部位を経由して起こることが確認された。気温低下が始まると、氷核活性によって凍結し、ピットが氷の木部内部への侵入を阻止し、氷成長面の吸引力によって土壌水が根系や導管を経て木部表面に移動し、連続した氷晶が析出すると考えられる。こうした現象は、それを模したバイオミメティクス技術への応用が期待される。

研究成果の概要(英文)：In order to clarify the mechanism of ice segregation phenomenon by *Keiskea japonica* Miq., Lamiaceae, various laboratory experiments were conducted. As a result, it was verified that the nucleation temperature reaches to -2.1 to -2.5 deg C, pits having 1 micrometer in size are on the xylem surface through the electron microscopic analysis, and the water pathway in the xylem exists in the periphery of vessel to the xylem surface through three-dimensional fluorescent image analysis. Based on these findings, it can be explained that small pits play a role as a barrier to interrupt the ice intrusion into the xylem, so that soil water moves to the xylem surface through roots and xylem by the super cooling of growing surface of ice and freezes continuously as ice segregation phenomenon. These phenomena can be applied for a biomimetic micro water pump. The simple pump system driven by thermal condition will be a good tool for a component technology in the micro mechatronics.

研究分野：農学

科研費の分科・細目：農業工学・農業環境工学

キーワード：シモバシラ シソ科植物 氷晶析出 氷核活性 植物外凍結 ピット(壁孔) 3次元画像解析 バイオミメティクス

1. 研究開始当初の背景

シモバシラの氷晶析出は、表皮・師部などを含む皮層部分が木部表面から剥離した後、木部表面から放射方向に垂直に板状の薄い氷が幾重にも成長する現象である(図1)。この現象は、茎の木部表面で氷核活性による水の凍結をキッカケに発生する。この現象の先行研究では、植物学者による野外調査(Hillefors 1976 など)や、植物生理学者による氷核活性機構の一部解明(Ishikawa 2004、Gusta etc. 2009)が行われているが、植物外凍結であるシモバシラの茎構造に由来する氷晶析出機構や吸水機構は未解明である。研究代表者の武田は、雪氷学分野で過去30年にわたって土の凍結・凍上現象でアイスレンズ(土中の霜柱)の基礎・応用研究(Takeda etc.1997、Takeda etc. 2005)に携わり、特異な氷晶析出現象をもつシモバシラに着目し、東京・高尾山などで予備調査を実施した。一方、分担者の松嶋は、農業計測工学を専門とし、蛍光色素による植物内の水移動可視化の研究(Matsushima etc. 2009)に携わってきた。また、植物生理学分野で植物の耐寒性を研究するKaren Tanino(カナダ・サスカチュワン大学教授)を海外共同研究者に加え、長年温めてきた植物外凍結の機構解明という課題に対して、先端的な研究成果を生み出せると考え、申請するに至った。

2. 研究の目的

シソ科植物「シモバシラ(*Keiskea japonica* Miq.)」は、初冬にその根で多量の土中水を吸引しながら、葉の落ちた茎から氷晶とよばれる氷を分離析出する特徴をもつ。本研究は、植物のもつ特殊機能を新技術(例えば、医療分野でのマイクロポンプ、農業分野・気象分野での氷核物質の活用など)に結び付けることを視野に、氷晶析出機構や吸水機構の解明を目的に、室内試験で氷核物質、氷晶の析出特性、



図1 氷晶析出したシモバシラ

通水経路、茎構造を調べるものである。

3. 研究の方法

2003年12月と2004年12月に高尾山(東京都)で実施した、シモバシラの氷晶析出観測結果に基づき、3種類の室内実験を行って、氷晶析出機構の解明を試みた。

(1) 氷核活性機能

8月から氷晶析出する12月までの毎月、高尾山と陣馬山(東京都)で採取シモバシラ試料を皮層と木部に分けて、氷核活性機能の季節変動を調べた。氷核活性は、各部位の小片を入れた過冷却水が凍る活性温度 T_a から活性度 $T_a(=0 - T_a)K$ と、 T_a が $1.1 \sim 4.0K$ の範囲にある試料数で除した値、活性率%で表した。

(2) 氷晶析出と茎の構造

根系を除去したシモバシラの生きた茎や死んだ茎を用いて、容器から吸水して木部表面で氷晶を析出させる実験を行った。また、木部表面の電子顕微鏡写真を撮影して、その構造を調べた。

(3) 通水経路

氷晶析出時の茎内部の通水経路を確認するため、室内で根系を除去した茎に蛍光色素溶液を吸収させて氷晶を析出させた後、茎を薄切りしては蛍光画像の撮影を繰り返し、得られた画像から3次元画像解析を行った。

4. 研究成果

上記3実験から以下の成果が得られた。

(1) 実験結果

氷核活性機能

シモバシラの氷核活性は、夏期から初冬にかけて上昇した。高尾山では12月下旬に氷晶析出したが、12月上旬には活性度の度数分布は2.1~2.5Kが60%以上を占めた(図2)。また、活性率は、8月に30%前後あったものが、80%以上に達し、茎、皮層、木部の順に高くなった(図3)。一方、陣馬山でも12月上旬に氷晶が析出し、同様の結果を示した。

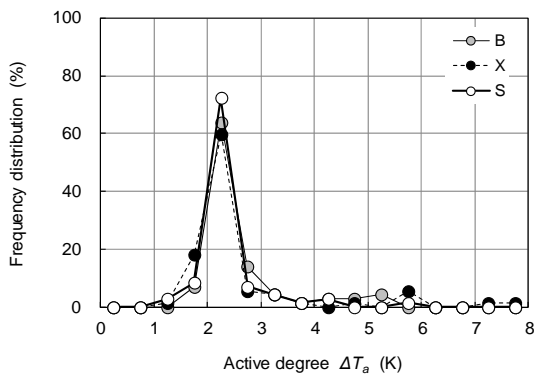


図2 活性度の度数分布(2012/12/09, 於: 高尾山試料). S: 茎, B: 皮層, X: 木部(いずれも試料数 n=72).

氷晶析出と茎の構造

根系を除去したシモバシラの茎を、一端を給水容器に浸しながら他端を氷点下の冷気に曝すと、凍結開始をきっかけに、木部表面から氷晶が析出した。これは、茎組織の生死を

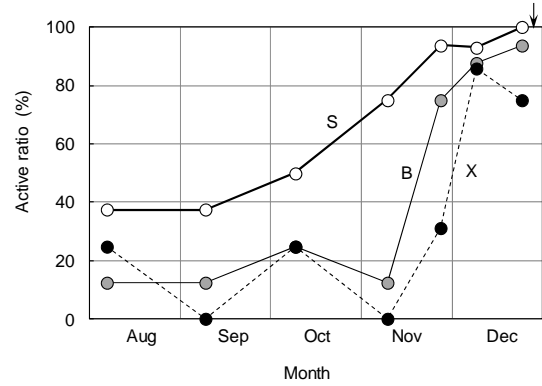


図3 活性率の季節変化(2012). S: 茎, B: 皮層, X: 木部, ↓: 氷晶析出推定日.

問わず起こり、析出速度の最大は $5.6 \times 10^{-7} \text{m/s}$ であった。氷晶が析出する木部表面の構造を走査電子顕微鏡で調べたところ、1 μm サイズのピット(壁孔)が分布密度 $4.5 \times 10^4 \text{個} \cdot \text{mm}^{-2}$ で観察された(図4)。

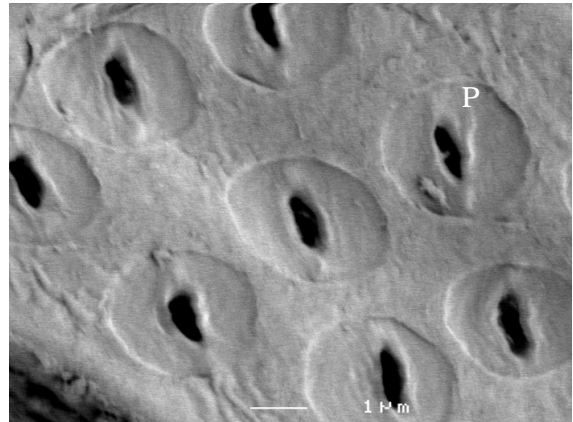


図4 シモバシラの木部表面にあるピットの走査電子顕微鏡写真. P: ピット

通水経路

木部の組織構造や導管構造を確認できる分解能をもつ、明視野撮影で得られた水平・垂直断面画像と、蛍光画像を合わせて観察することで、蛍光色素で着色した部位と茎の組織の位置関係を確認した。蛍光がみられた部位は、導管を含む木部組織であったが、特に導管周囲から木部表面にかけて強く現れた(図5)。

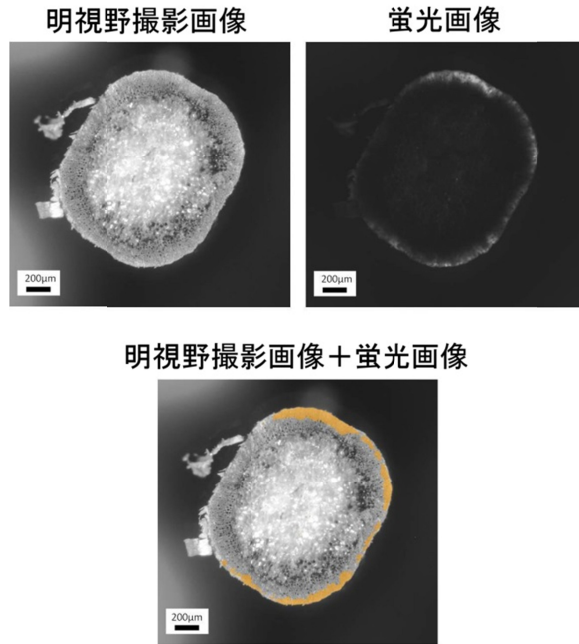


図 5 氷晶が析出したシモバシラ茎の横断面写真（下）の黄色い部分に蛍光物質の集積がみられる。

(2) 氷晶析出機構の考察

以上の結果から、氷晶析出機構と吸水機構はつぎのように推論される。気温が $-2 \sim -3$ に低下したとき、木部より皮層の氷核活性が高いので、皮層や木部表面にある水は氷核活性機能によって過冷却が破れて凍結する。氷～水界面の温度は、 0 近い氷点下にあるため、本来なら木部内部の水まで凍結させて 0 になって、熱的平衡状態を保つことになる。しかし、温度に対応した氷の曲率では、木部表面にあるピットの直径が小さく、氷は木部内部へ侵入できない。その結果、氷～水界面の温度に対応して低下した化学ポテンシャル（バルクの水より低い）により、木部内部から吸引した水を凍結させて、熱的平衡状態を保つことになる。氷は木部内部へ侵入できないため、吸水しながら木部表面から放射方向外に向かって成長を続けることになる。この氷の集合体を、シモバシラの氷晶析出として私たちは観察することになる。このとき、木部表面の水と土壤水は、茎内部や根系を通

じて繋がっている必要がある。このような吸水過程を、蛍光色素溶液を吸引させて茎の 3 次元蛍光画像解析で通水経路を確認したところ、蛍光色素の集積部分から、土壤水は根系から過冷却状態で主に導管を経て木部組織から木部表面へ達するとみられる。導管と木部組織内部の通水経路に規則性がないことから、植物の生理的な理由より、氷晶析出という物理的理由で通水されていると思われる。

(3) バイオミメティクスへの応用可能性

シモバシラの氷晶析出現象は、過冷却水と氷を隔てる役割をもたせる、ピットに似せた形状の穴を膜などの材料に備えることで、温度制御によって強力な吸水機能をもつバイオミメティクス技術として応用が期待できる。この膜を用いることで、効率的に溶液の濃縮を行うことができ、医薬、食品分野への適用が期待される。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者には下線)

[雑誌論文](計2件)

松嶋卯月、武田一夫、Karen TANINO、シモバシラ (*Keiskea japonica* Miq.) 氷晶形成における通水経路および氷成長面、低温生物工学会誌 (*Cryobiology and Cryotechnology*)、60 巻、2014、31-33

武田一夫、シソ科植物「シモバシラ」による氷晶析出機構への物理的アプローチ、日本雪氷学会誌・雪氷、査読有、75 巻、2013、183-197

[学会発表](計6件)

武田一夫、松嶋卯月、Karen Tanino、シソ科植物「シモバシラ」による氷核活性の季節変化、雪氷研究大会((公社)日本雪氷学会、日本雪工学会共催)、2013.09.18、北見工業大学(北海道北見市)

松嶋卯月、武田一夫、Karen TANINO、シモバシラ (*Keiskea japonica* Miq.) 氷晶形成における通水経路および氷成長面、低温生物工学会、2013.06.22、関西大学(大阪府吹田市)

武田一夫、松嶋卯月、Karen Tanino、シソ科植物「シモバシラ」による氷晶析出現象 低温生物工学会、2013.06.22、関西大学(大阪府吹田市)

鈴木 綾、武田一夫、Karen Tanino、シソ科植物「シモバシラ」による氷核活性機能、雪氷研究大会((公社)日本雪氷学会、日本雪工学会共催)、2012.09.26、福山市立大学(広島県福山市)

武田一夫、Karen Tanino、松嶋卯月、シソ科植物「シモバシラ」の氷晶析出に関わる茎の構造、雪氷研究大会((公社)

日本雪氷学会、日本雪工学会共催)、2012.09.25、福山市立大学(広島県福山市)

Kazuo Takeda, Karen Tanino, Uzuki Matsushi, Mechanism of ice segregation by *Keiskea japonica* Miq., Laminaceae, Plant and Microbe Adaptations to Cold, 2012.06.25、北海道大学(北海道札幌市、日本)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

武田 一夫 (TAKEDA, Kazuo)
帯広畜産大学・畜産学部・教授
研究者番号：80374768

(2) 研究分担者

松嶋 卯月 (MATSUSHIMA, Uzuki)
岩手大学・農学部・准教授
研究者番号：70315464