

令和 4 年 5 月 31 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2017～2020

課題番号：17H03825

研究課題名(和文) 針葉樹における壁孔閉鎖による通水阻害の発生と回復機構の解明

研究課題名(英文) Novel mechanisms of winter xylem dysfunction due to pit aspiration in conifer trees

研究代表者

種子田 春彦 (Taneda, Haruhiko)

東京大学・大学院理学系研究科(理学部)・准教授

研究者番号：90403112

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 10,300,000円

研究成果の概要(和文)：枝の凍結・融解時に起きる通水阻害は、風衝環境に生える常緑針葉樹の主要な枯死原因となる。申請者らは、亜高山帯性常緑針葉樹であるシラビソ(*Abies veitchii*)を用いた研究から、凍結融解による通水阻害が、仮道管内腔への気泡の侵入だけでなく、壁孔の閉鎖によっても起きることを発見した。そして、乾燥ストレスがマイルドな時期には壁孔の閉鎖、乾燥ストレスが強い時期にはエンボリズムも主要な枝の通水阻害の要因になることを明らかにした。乾燥ストレスが解消されると、壁孔の閉鎖が早い段階で解消される一方でエンボリズムは展葉が起きる7月にかけてゆっくりと起きることが明らかになった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

亜高山帯に分布する常緑針葉樹では、森林限界など風衝環境の個体で冬季に茎で深刻な通水阻害が起きる。この原因として、仮道管内部の水が凍結したときに溶け出る気体が融解後に膨らんで仮道管の内腔を塞ぐ現象(凍結融解によるエンボリズム)がであるとされてきた。一方で、実験室内での実験では、凍結融解によるエンボリズムは、直径の太い道管・仮道管ほど弱い水ストレスでも深刻な通水阻害が起きるが、常緑針葉樹は細い仮道管を持ち、凍結融解によるエンボリズムが起りにくいことが示されている。本研究は、壁孔膜の閉鎖による通水阻害を世界で初めて発見し、こうした野外での測定と実験室での測定における矛盾に合理的な説明を与えた。

研究成果の概要(英文)：Winter xylem dysfunction caused by frost drought is a major cause of mortality in subalpine evergreen conifers growing in wind-exposed environments. This study uncovered that the inhibition of stem water transport was caused by sap-freezing-induced pit aspiration as well as the xylem embolism, which is a blockage of xylem tracheids due to entry of air using *Abies veitchii* dominant species of Japanese subalpine forest. The pit aspiration occurred in a slightly stressed plant in winter and was regained rapidly after the conifers recovered from drought stress in April. Severe xylem embolism was found in a highly dehydrated plant and was repaired slowly by mid-July by refilling the embolized lumen with water.

研究分野：植物生理生態学

キーワード：植物生態学 乾燥ストレス 水輸送 寒冷地適応 木部構造 仮道管

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

常緑針葉樹は、亜高山帯や亜寒帯において優占種として森林を構成する。その面積は森林全体の約 30% を占め、木材資源や二酸化炭素のシンクとして、人類にとって非常に重要な役割を担っている。風衝地に生える常緑針葉樹の個体では、冬の終わりから春先にかけて枝レベルで枯死が観察される。枝の枯死は主に風上側で起きるために風下側だけに枝が発達する旗型樹形と呼ばれる樹冠形態を示すようになり、枝の枯れが進行するとやがて個体が枯死する (p3, 図 1)。こうした枝レベルの枯死は、風衝環境になる林縁部に生育する成熟木の枯死を通して、森林限界の形成や縞枯れ現象にみられるような、森林における景観レベルでの大規模な変化を引き起こす (Mayr 2012)。

こうした春先に起きる枝レベルの枯死の原因として、冬季に起きる茎の通水阻害 (凍結融解による通水阻害) が有力視されている。インスブルック大学の S. Mayr 教授らは、ヨーロッパアルプスの風衝地に生える常緑針葉樹のうち複数の樹種の茎で、冬季に水がほとんど流れなくなることを報告している (Mayr et al., 2006)。こうした通水阻害は、仮道管内部の水が凍結したときに溶け出る気体が融解後に膨らんで仮道管の内腔を塞ぐ現象 (凍結融解によるエンボリズム) が原因で起きるとした (Sperry et al. 1994)。

一方で、実験室内での実験では、凍結融解によるエンボリズムは、より多くの気体を溶かしている直径の太い道管・仮道管ほど弱い水ストレスでも深刻な通水阻害が起きることが示されている (Davis et al. 1999, Pittermann & Sperry 2006)。そして、亜高山帯に分布する常緑針葉樹は直径 10 - 20 mm の細い仮道管を持ち、凍結融解によるエンボリズムが起こりにくいことが示されている (Pittermann & Sperry 2006)。こうした野外での測定と実験室での測定における矛盾には合理的な説明がなされていない。

さらに、亜高山帯常緑針葉樹の一部の種では、展葉をひかえた初夏までに、通水阻害を起こした枝が、再び通水を回復することも示されている (Mayr et al., 2006, 2014)。通水阻害からの回復には、侵入した気体に圧力をかけて溶かし、仮道管内腔を再び水で満たす必要がある。こうした圧力は、能動的な過程によって木部柔組織の細胞から仮道管内腔にショ糖が輸送され、浸透的に水が仮道管内腔へ移動することで生じるという生理学的メカニズムが提唱されている。しかし、詳細なメカニズムの解明には至っていない (Rockwell et al. 2014)。

### 2. 研究の目的

私たちは、こうした過去の研究成果を踏まえて、亜高山帯針葉樹での冬季の通水阻害とそこから回復過程の生理メカニズムの詳細を探り、枝レベルの枯死の原因を明らかにすることを目的として研究を行った。予備的に冬季に通水阻害を起こした枝の木部を cryo-SEM で観察したところ、空洞化した仮道管はほとんど見つからなかったが、仮道管と仮道管を繋ぐ壁孔を壁孔膜が偏ることで塞いでいる様子が確認された。私たちは、この壁孔膜の移動による壁孔閉鎖が冬季の通水阻害に実質的な影響を与えていると考えた。そして、以下の 4 つの項目について測定を計画した：(1) 常緑針葉樹の冬季の通水阻害におけるエンボリズムと壁孔の閉鎖の寄与、(2) 壁孔膜の閉鎖に必要な力学強度の関係、(3) エンボリズムと壁孔の閉鎖による通水阻害からの回復への寄与とそのメカニズム、(4) 通水阻害の年変動と気象条件の関係。

### 3. 研究の方法

私たちは、八ヶ岳北部 (長野県茅野市) の亜高山帯に広がる常緑針葉樹林の優占種であるシラビソ (*Abies veitchii*) を主な研究材料として測定を行った。常緑針葉樹の冬季の通水阻害におけるエンボリズムと壁孔の閉鎖の寄与を明らかにするために、1 年生枝の通水能力と cryo-SEM による観察から木部内の水分分布と壁孔膜の位置の季節変化を解析した。また、壁孔膜の閉鎖に必要な力学的強度を推測するために、シラビソの 1 年生枝に圧力をかけて水を流した。高い圧力で枝に水を流すと、高い流速のために壁孔膜が押されて壁孔の閉鎖が起きることが期待される。枝に掛けた圧力と通水能力の低下の関係から、壁孔の閉鎖が起きる力学的な負荷の大きさを推定した。また、冬季の通水阻害からの回復への寄与を明らかにするために、壁孔膜エンボリズムを起こした仮道管への水の再充填の季節変化を cryo-SEM による観察によって行った。また、エンボリズムを起こした仮道管への水の再充填を実験的に再現するために、3 月末から 4 月にかけてのエンボリズムを起こした枝の信用を水に浸け、エンボリズムの回復を MRI (核磁気共鳴) によって定期的にかつ非破壊的に観察した。通水阻害の年変動については、労力の問題から継続的な測定を行うことができなかったが、エンボリズムの発生の有無を簡単に判別できる方法を開発した。

### 4. 研究成果

### (1) 常緑針葉樹の冬季の通水阻害におけるエンボリズムと壁孔の閉鎖の寄与

枝の通導度と木部の水分分布の季節変化の測定から、季節によってエンボリズムと壁孔閉鎖による通水阻害への寄与が異なることが明らかになった。測定2月初めから3月初めでは、乾燥ストレスは強くないにも関わらず、茎の通水能力は最大値の20-30%にまで低下していた。cryo-SEMの観察からエンボリズムは個々の仮道管でわずかに起きているにすぎず、このときは壁孔の閉鎖によって通水能力の低下が起きていることが明らかになった。一方で、3月末には強い乾燥ストレスがかかり、枝はほぼ完全に水を通さなくなった。そして、木部では壁孔膜の閉鎖とともに深刻なエンボリズムも起きており、平均して約70%の仮道管が空洞化していた。このときシュートの水ポテンシャルは-2.8 MPaであり、エンボリズムが壁孔膜を通して広がる強い張力が木部液にかかっていたことが示された。

また、実験室内でマイルドな乾燥ストレスのかかった枝に木部液の凍結と融解を11回、経験させたところ、壁孔膜の閉鎖が観察された。さらに、閉鎖した壁孔膜の割合は最大値に対する枝の通水能力と比例関係にあった。これらのことから凍結と融解が壁孔膜の閉鎖を引き起こし、枝の通水を阻害することが示唆された。

以上の結果は、常緑針葉樹が木部液の凍結と融解を経験することで、弱い乾燥ストレスでも重度の枝の通水阻害が起き、これは主に壁孔膜の閉鎖によるものであることが示唆される。また、過去の実験室内での結果が示すように凍結融解によるエンボリズムは起きるが、極めて小規模なものにとどまっていた。冬の終わりで乾燥ストレスが強まって壁孔を通して気泡が隣接する仮道管に広まる強い木部張力が発生すると、木部内に散らばっていたすでに空洞化していた仮道管から周囲の仮道管へ空気が広がり、乾燥ストレスだけで予測されるよりもより深刻なエンボリズムに発展したと考えられる。以上の結果は、Plant Physiology 誌に投稿し、改訂中である。

### (2) 壁孔膜の閉鎖に必要な力学強度の関係

壁孔膜の閉鎖は、凍結時の体積増加によって起きる木部液の流れが壁孔膜を押しこむことで起きると考えられる。そこで、長さ4cmに切った一年生の茎片に水を流し、かけた圧力勾配と通導度の低下の関係を測定して、壁孔が閉鎖するのに必要な圧力勾配を求めた。シラビソの近縁種であるトドマツ(*Abies schaliensis*)を使って測定を行い、6.3 kPa/mmの圧力勾配による流れによって通導度が20%程度まで低下することとcryo-SEMによる観察からこのときに壁孔の閉鎖が起きていることを確認した。

シラビソで同様の実験を行ったところ、3.5 kPa/mmの圧力勾配によって50%まで通導度が低下した。この値は、過去に報告されているヨーロッパアルプスの亜高山帯の針葉樹と非常に似た値であり(Beikircherら2008)、凍結によって生じる壁孔の閉鎖が他の種でも起こる可能性が示唆された。実際に、縞枯山では、トウヒ(*Picea jezoensis* var. *hondoensis*)やオオシラビソ(*Abies mariesii*)でも厳冬期に壁孔の閉鎖を確認している。

さらに一般性を確認するために、東京大学の小石川植物園に植栽されている常緑針葉樹30種について同様の実験を行い、壁孔の閉鎖が始まる圧力勾配(95%まで通導度が低下する圧力勾配)について調べた。その結果、0.3から2.5 kPa/mmまで大きな多様性があることがわかった。これらの中には、温暖な地域に分布する種も含まれており、今後は、壁孔膜の形態やこれらの種の蒸散流速との関係からこうした多様性が生じる要因についても考察していきたい。

当初の計画では、壁孔膜を動かす流れを作る枝内の凍結が進む速度との関係の測定も予定していたが、これは実施することができなかった。引き続き、今後の課題であると考えている。

### (3) エンボリズムと壁孔の閉鎖による通水阻害からの回復への寄与とそのメカニズム

本研究は、亜高山帯の常緑針葉樹であるシラビソでは、冬季に失った枝の通水能力を回復させる能力を持ち、これが生存に必須な形質であることを明らかにした(Ogasa et al. 2019, Maruta et al. 2020)。風衝地に分布する個体では、風下側では健全な枝が発達するのに対して、風上側で顕著な針葉や枝の枯死がみられる旗型樹形となる。古くから厳冬期も風上側で顕著な乾燥ストレスを受けることが明らかになっていた(Hadley & Smith 1986など)。今回の測定から、幹の氷が解けると個体内の水の再移動・均等化が起きて風上側、風下側ともに同じ程度の強い乾燥ストレスが起き、枝でも深刻な通水阻害が起きていることが示された。このとき、シュートの水ポテンシャルはどの枝も-3 MPa付近に達し、ここでの枝の通水阻害がエンボリズムによるものであることが推測される。このままの状態では春・夏を迎えれば個体の大部分の枝が枯死するはずである。しかし、展葉を始める7月中旬までに枝の通水能力がほぼ完全に回復することで、3月末に印をつけたほとんどの枝が生き残った。つまり、空洞化した仮道管への水の再充填が枝ひいては個体の生存を可能にしたと言えるだろう。

また、4月から7月まで1ヶ月ごとに枝の通水能力とcryo-SEMの観察によるエンボリズムと壁孔の閉鎖を観察した。個体の乾燥ストレスが解消された4月の終わりにはほとんどの壁孔で

閉鎖の状態は解消されていた。一方で、完全に開いている壁孔の割合は7月まで徐々に増加した。これらの結果から、壁孔の閉鎖は比較的容易に起きる一方で、壁孔膜（特にマルゴ）と壁孔の側壁との結合が解けて、完全に正常の位置まで戻るのには時間がかかることがわかった。空洞化した仮道管への水の再充填は、7月までかけてゆっくりと起きていた。4月下旬の材では、早材の仮道管の多くが空洞化したが、葉とつながっている葉跡の維管束の周りには仮道管だけに多くの水が存在した。この結果は、針葉で吸収した水が葉跡の木部や篩部を通して茎に供給されて再充填が起きることを示唆するだろう。そして、展葉の始まる7月には、ほとんどの仮道管が再充填されると同時に新たな木部が作られ、冬におきた深刻な通水阻害の影響をほとんど受けることなく、夏を迎えることができていた。

仮道管へ水が再充填される現象を実験室で再現することを試みた。3月末にエンボリズムを起こしている風衝地に生息する個体から、6年生の枝を採取した。そして、雪解けを模すために、枝の切り口を水面から出した状態でそのほかの茎や針葉を水に浸した。3、4年目の茎で空洞化した仮道管への水の再充填を観察するために、MRIを使って経時的に観察を行った。しかし、再充填を観察できることはなかった。この原因の一つとして、観察した茎が古い茎だったことが挙げられる。MRIでの観察には、直径が7mm以上の茎の太さが必要になる。一方で、Ogasaら(2019)では、エンボリズムが起きやすかつ回復する枝は当年から2年生までの若い枝であることを示している。この点を改善して新たに研究を進めていきたい。

#### (4) 通水阻害の年変動と気象条件の関係

気象条件と通水阻害の関係を明らかにしたいと思ったが、通水阻害の季節変化を定期的に測定していくには、非常に多くの時間と労力、そして強い意志が必要となり、今回の研究期間では完全なデータを採ることはできなかった。

これを改善するために、現地でもまたは実験室内で簡単に木部内の水分分布を判別する方法を見出した(Taneda et al. 2021)。原理として、空気の入った仮道管は光が散乱するために、氷の詰まった部位に比べて明るい色になる。そこで、凍った枝の切り口をトリミングし、デジカメによって画像化し、木部の色の違いから空洞化した仮道管の割合(木部の面積の割合)を算出する、というものである。撮像の前に必要な切り口のトリミングは、現地で剃刀を使って削る、もしくは、実験室に凍った状態で持ち帰り、cryo-statで行うこともできる。採取した枝を冷凍庫に保存することで、比較的簡易に多くの数のサンプルからの情報を得ることができる。また、cryo-statを用いて茎の軸方向に沿った連続的な水分分布の変化を観察することで、エンボリズムの軸方向の広がりも明らかにすることができる。風衝環境に分布する個体におけるエンボリズムの発生は、風上側からの枝の重なりといった空間的な微環境に強く影響を受け、大きなバラつきが生じる。こうした簡易なエンボリズムの観察方法は、森林内のエンボリズムの被害を定量するうえで非常に有用な測定ツールになるはずだ。

#### 引用文献

- Beikircher B, Ameglio T, Cochard H, Mayr S. 2010. Limitation of the Cavitron technique by conifer pit aspiration. *Journal of Experimental Botany* 61: 3385-3393.
- Davis SD, Sperry JS, Hacke UG. 1999. The relationship between xylem conduit diameter and cavitation caused by freezing. *American Journal of Botany* 86: 1367-1372.
- Hadley JL, Smith WK. 1986. Wind effects on needles of timberline conifers: Seasonal influence on mortality. *Ecology* 67: 12-19.
- Maruta E, Kubota M, Ikeda T. 2020. Effects of xylem embolism on the winter survival of *Abies veitchii* shoots in an upper subalpine region of central Japan. *Scientific Reports* 10: 6594.
- Mayr S, Schmid P, Laur J, Rosner S, Charra-Vaskou K, Dämon B, Hacke UG. 2014. Uptake of water via branches helps timberline conifers refill embolized xylem in late winter. *Plant Physiology* 164: 1731-1740.
- Mayr S, Schmid P, Beikircher B. 2012. Plant water relations in alpine winter. In: Lutz, C. (ed) *Plants in Alpine Region: Cell Physiology of Adaptation and Survival Strategies*, Wien: Springer, p151-161.
- Mayr S, Hacke U, Schmid P, Schwienbacher F, Gruber A. 2006. Frost drought in conifers at the alpine timberline: Xylem dysfunction and adaptations. *Ecology* 87: 3175-3185.
- Ogasa MY, Taneda H, Ooeda H, Ohtsuka A, Maruta E. 2019. Repair of severe winter xylem embolism supports summer water transport and carbon gain in flagged crowns of the subalpine conifer *Abies veitchii*. *Tree Physiology* 39: 1725-1735.
- Pittermann J, Sperry JS. 2006. Analysis of freeze-thaw embolism in conifers. The interaction between cavitation pressure and tracheid size. *Plant Physiology* 140: 374-382.

- Sperry JS, Nichols KL, Sullivan JEM, Eastlack SE. 1994. Xylem embolism in ring-porous, diffuse-porous, and coniferous trees of northern Utah and interior Alaska. *Ecology* 75: 1736-1752.
- Taneda H, Yazaki K, Hiramatsu T, Shimizu B, Sugiura D and Miyazawa Y. 2021 Simple method for observation of water distribution on tracheid-bearing wood of subalpine conifers. *Trees* 35: 697-707 2021

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計10件（うち査読付論文 3件 / うち国際共著 1件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Kenichi Yazaki, Delphis F. Levia, Akiko Takenouchi, Makoto Watanabe, Daisuke Kabeya, Naoko H. Miki, Haruhiko Taneda, Mayumi Y. Ogasa, Michio Oguro, Shin Taro Saiki, Hiroyuki Tobita, Kenji Fukuda.	4. 巻 107
2. 論文標題 Imperforate tracheary elements and vessels alleviate xylem tension under severe dehydration: insights from water release curves for excised twigs of three tree species.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 American Journal of Botany	6. 最初と最後の頁 1122-1135
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/ajb2.1518	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Haruhiko Taneda, Sachiko Funayama Noguchi, Stefan Mayr, Susumu Goto.	4. 巻 34
2. 論文標題 Elevational adaptation of morphological and anatomical traits by Sakhalin fir ( <i>Abies sachalinensis</i> ).	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Trees	6. 最初と最後の頁 507-520
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00468-019-01932-4	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Haruhiko Taneda, Kenichi Yazaki, Tokiyoshi Hiramatsu, Bunnichi Shimizu, Daisuke Sugiura, Yoshiyuki Miyazawa	4. 巻 35
2. 論文標題 Simple method for observation of water distribution on tracheid-bearing wood of subalpine conifers.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Trees	6. 最初と最後の頁 697-707
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00468-020-02070-y	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Haruhiko Taneda, Takefumi Ikeda	4. 巻 108
2. 論文標題 Hydraulic architecture with high root resistance fraction contributes to efficient carbon gain of plants in temperate habitats.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 American Journal of Botany	6. 最初と最後の頁 1932-1945
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/ajb2.1753	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計7件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 種子田 春彦
2. 発表標題 植物の凍ると凍らない
3. 学会等名 富士山自然ガイドスキルアップセミナー 2019 山梨県富士山科学研究所
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 種子田 春彦, 小笠 真由美, 矢崎 健一, 丸田 恵美子
2. 発表標題 縞枯れではどうやって風が針葉樹を衰退させるのか?
3. 学会等名 日本生態学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 宮沢良行、種子田春彦、杉浦大輔
2. 発表標題 縞枯樹木の水利利用の現状 - 衰退は気孔開閉に顕れているか -
3. 学会等名 日本生態学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 谷口晃基, 種子田春彦, 安江恒, 福田健二
2. 発表標題 年輪解析から見てきた縞枯れにおける常緑針葉樹の枯死パターン
3. 学会等名 日本生態学会
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

種子田春彦の研究内容  
<http://www.bs.s.u-tokyo.ac.jp/~seitaip1/taneda.html>

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	福田 健二  (Fukuda Kenji)  (30208954)	東京大学・大学院農学生命科学研究科(農学部)・教授   (12601)	
研究分担者	矢崎 健一  (Yazai Kennichi)  (30353890)	国立研究開発法人森林研究・整備機構・森林総合研究所・主任研究員 等   (82105)	

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
連携研究者	石川 雅也  (Ishikawa Masaya)  (90355727)	東京大学・大学院農学生命科学研究科・特任研究員   (12601)	
連携研究者	小笠 真由美  (Ogasa Mayumi)  (10646160)	国立研究開発法人森林総合研究所・植物生態研究領域・研究員   (82105)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関			
オーストリア	インスブルック大学			