

令和 3 年 6 月 4 日現在

機関番号：14301

研究種目：挑戦的研究(萌芽)

研究期間：2017～2020

課題番号：17K19291

研究課題名(和文) 樹木師液流を規定する各要素の実測による理論モデルの検証

研究課題名(英文) Validation of the theoretical model by actual measurements of each component that regulates phloem translocation in trees

研究代表者

檀浦 正子 (Dannoura, Masako)

京都大学・農学研究科・助教

研究者番号：90444570

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：高木の師部輸送を説明するために、ヒノキ林において、 ^{13}C ラベリングによる師液流の実測と各種説明変数を測定した。師液流の駆動力である膨圧について、葉(ソース)と幹内樹皮(シンク)の水ポテンシャル・浸透圧より推定し、夜間の方が昼間よりも駆動力が大きいことが示された。コンダクタンスについては、樹皮サンプルを採取し、師液の糖濃度を測定して師液の粘性を算出し、師部の直径や密度に関する解剖学的なデータを得た。樹高20.4mの個体に ^{13}C ラベリングを行い実測された炭素移動速度は $0.12\text{--}0.25\text{ m h}^{-1}$ であり、部位・時間帯によって異なった。今後は師部輸送に関して、日変動を考慮にいれた理解が必要である。

研究成果の学術的意義や社会的意義

20mを超える高木において、 ^{13}C パルスラベリング実験と、師部構造の解析を組み合わせた野外実験を行った。理論モデルが発展した分野において、実測値を提供する学術的意義は大きい。時間帯により師部流速が変化することは、水ポテンシャルなどによってもたらされる駆動力の日変動が師液流にも大きく影響を与えるということであり、未知の部分が大きい師部輸送について、理解が一步進んだといえる。

研究成果の概要(英文)：In order to explain the phloem transport in tall trees, we measured the actual phloem flow by ^{13}C labeling and explanatory variables in a Hinoki cypress forest. The turgor pressure, which is the driving force of phloem flow, was estimated from the water potential and osmotic pressure of the leaves (source) and the inner bark of the trunk (sink), and it was shown that the driving force was greater at night than during the day. For conductance, the viscosity of the phloem sap was calculated by measuring the sugar concentration in the phloem sap, and anatomical data, the diameter and density of the sieve cells were obtained from bark samples. The carbon transfer rate was $0.12\text{--}0.25\text{ m h}^{-1}$ from ^{13}C labeling of a 20.4 m tall tree, and it varied depending on the position and time of the day. In the future, it will be necessary to take into account the daily variation to better understanding of phloem transport.

研究分野：森林生態学

キーワード：師液流 膨圧 パルスラベリング 師液流モデル 炭素循環

1. 研究開始当初の背景

森林は、陸域面積の 3 分の 1 を占め、地球炭素循環において大きく複雑な機能をもつ。森林を構成する樹木は光合成と呼吸により二酸化炭素を吸収・放出し、大気とのやりとりを行うことで、地球環境に大きな影響を与えている。

光合成産物はソースである葉から師部を通りシンクである各器官に配分される。さらに樹木によって得られた光合成産物の一部は師部から根を介して土壌へと送り込まれる。したがって樹木の師部輸送は、植物個体における炭素配分においても、森林生態系炭素循環の視点からも、重要な意味合いをもつ。ところが、師部に関する知識は木部のそれに対して非常に少ない。生きている細胞からなる師部は、木部と違って観察自体が難しい。草本植物に比べ、木本植物では樹皮が厚いなどアプローチの困難さから研究が立ち遅れており、重要性は自明であるがわかっていないことが多く「謎の中央銀行」とも形容されている(Ryan and Asao, *Tree Physiol.*, 2014)。

この師部の輸送機構(図 1)に関しては、シンクとソースの圧力差を駆動力とし経路抵抗で割ったもので表すことができるという圧流説(Münch 1930)が提唱され、草本ではこの考え方をを用いると師部輸送がうまく表現できる。しかし近年、この圧流説を木本植物にもあてはめた場合、特に高木で成り立たないことが議論され始めている(De Schaper, *J.Exp.Bot.* 2013)。そこで、この 10 年間でさまざまな物理的要素を組み込み理論的に改良された樹木の師部輸送モデルが提唱され始めている。(Juske and Holttta *New Phytol.*, 2015; Woodruff, *Tree Physiol.*, 2013)。問題は、これらの理論モデルは、実測値を用いて検証がされていないことである。

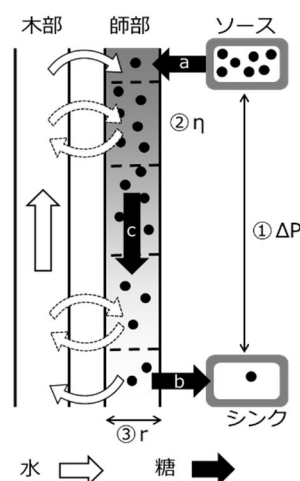


図1. 圧流説に基づく師部輸送の概念図。師部ローディング(a)とアンローディング(b)によりシンクとソースの圧力差(ΔP)が生じ、炭水化物の流れ(c)を生み出す。師液流速は粘性(η)と通路の径(r)により規定される。木部では反対の向きに水が流れており、木部と師部はシンクとソースの近く、あるいはその間でも、水の交換を行なう。(Salmon et al., 2019)

2. 研究の目的

森林生態系を構成する高木の師部は、植物個体の中の炭素配分においても、森林生態系炭素循環の視点からも、重要な部分である。しかし、これまでの師液輸送モデルでは高木の光合成産物移動は説明することができず、森林炭素循環の予測も困難である。

そこで、森林を構成する高木の炭素移動を説明するために、安定同位体ラベリングによる師液流の実測とともに、各種説明変数を測定し、新しい師液流モデルを提唱することが本研究の目的である。そのために、高木において 1)師液の駆動力となるシンクとソースの圧力差を求め、すなわち幹の上部と下部において水ポテンシャルと浸透圧ポテンシャルを測定し、師部の膨圧を推定する。抵抗となる 2)師部の顕微鏡観察を行い、師液の粘性を調べる。さらにその樹木に簡易な 3) ^{13}C パルスラベリングを行うことで、師液流速を求め、そしてこれら実測値を理論的師液流モデルに入力することにより 4)師液流モデルを検証する。

3. 研究の方法

3 - 1) 試験地の詳細

本研究は滋賀県大津市にある桐生水文試験地(34° 57' 49" N, 135° 59' 40" E, 250 m asl)において行った。面積は 6ha であり、ヒノキ(*Chamaecyparis obtusa* Sieb. Et Zucc.)が優占する。ほとんどのヒノキは 1959 年に植栽されたものである。年平均気温は 13.4、年平均降水量は 1578 mm である(2000- 2010 年)。樹木の平均樹高は 18.4 m、平均 DBH は 21.7cm である。

3 - 2) シンクとソースの圧力差(P)の推定

師部の膨圧は水ポテンシャル、重力ポテンシャル、浸透ポテンシャルの 3 つから計算できる。

師部の膨圧(Ψ_p) = 水ポテンシャル(Ψ_w) - 浸透ポテンシャル(Ψ_{π}) - 重力ポテンシャル(Ψ_g)

このシンクとソースの膨圧の差が駆動力(P)となる。

3 - 2- 水ポテンシャル(Ψ_w)の測定

木部と師部とは隣り合って存在しており、水の交換を行っていると考えられる。ここでは木部の水ポテンシャルが、師部の水ポテンシャルと同じであると仮定し、幹の上下で道管の水ポテンシャルを測定する。水ポテンシャルは試験地においてタワーから採取可能な樹冠をもつ 2 個体について個体あたり 2 つのシュートをサンプルとし、昼間(13:30)および夜明け前(4:15)に採取し、水ポテンシャルを、プレッシャーチャンバーによって測定した。

昼間の水ポテンシャルを樹木の幹の上部と下部で別々に測定することは難しい。そのために、上下に

葉が出ているような個体を選定し、測定する葉にワセリンを塗る(あるいはビニール袋をかぶせる)ことで蒸散を抑制し、葉の水ポテンシャルとその高さの道管の水ポテンシャルが同じになるようにすることで低い部分の高さの道管での水ポテンシャルを測定することを考えていたが、桐生試験地においては樹高が20mと高く下枝を持つ適当な個体が見つからなかったため測定がかなわなかった。

3 - 2 -)重力ポテンシャル(Ψ_G)の測定

100mで1MPaの重力ポテンシャルがかかる。これを樹木において、各ポテンシャルを測定する高さによってあてはめることができる。例えば本研究において対象木は20mであるため、樹冠部における重力ポテンシャルは0.2MPaである。

3 - 2 -)浸透ポテンシャル(Ψ_{Π})の測定

シュートの浸透ポテンシャルについては、水ポテンシャルと同様にタワーからアクセス可能な樹冠2個体から各2つずつのシュートを採取し、すぐにプラスチック袋に入れて密閉し、液体窒素にいれ保管し研究室に持ちかえた。幹については、5本のサンプル木を対象に、直径10mmの円形の樹皮サンプルを1.3mの高さより、個体あたり2つずつ採取し、同様に液体窒素にいれ持ち帰った。

サンプルは室温に戻して、プレスして採取した樹液をオズモメーター(VAPRO 5520, Wescor Inc., Logan, UT, USA)を用い溶質モル濃度(mol kg^{-1})を測定した。浸透ポテンシャル(Ψ_{Π})はヴァン・フォッフの式をもちいて以下の式で計算できる。

$$\Psi_{\Pi} = -C_s \times R \times T$$

ここで、 C_s は mol l^{-1} であらわされ溶液ではほぼ溶質モル濃度と同じとされ(Holta et al., 2017)、 T は温度(K)、 R は理想気体定数である。

3 - 3)コンダクタンス(通道性・抵抗の逆数)の測定

3 - 3 -)顕微鏡観察

2020年10月に、幹チャンバー設置場所の近傍の4高度から樹皮サンプル(1cm*2cm)を採取し、グルタルアルデヒドで固定し、師部を顕微鏡により観察した。画像は光学顕微鏡に設置したデジタルカメラで撮影し、画像解析によって、師管の直径、密度等を測定した。

3 - 3 -)樹液の粘性の推定

試験地内の8本のサンプル木より各3個ずつ採取した直径10mmの円形の樹皮サンプルを3mlの蒸留水とともに5時間室温で放置し師部抽出液を得た(Devaux et al., 2009)。フィルターでろ過し、測定まで20度で保管した。フェノール硫酸法(Dubois et al. 1956)によって糖濃度を測定した。別に採取したサンプルから含水率を算出した。

師液の20における粘性(η)は、師部液のスクロース濃度(c)によって以下の式で求められる。ここで η_0 は純粋の粘性(1.0019 mPa s)である(Holta et al., 2006, 2009)。

$$\eta = \eta_0 \exp\left(\frac{4.86 \times 0.956 \times c}{1 - 0.956 \times c}\right)$$

3 - 4)¹³Cパルスラベリングによる師液流速の実測

¹³CO₂は通常大気に1%程度含まれている。99.9%の高濃度¹³CO₂を標識物質として光合成によって葉から取り込ませると、¹³Cは糖に合成され、幹の師部を通り、一部を幹呼吸として放出しながら根へ至る。この師部輸送速度を実測するために、試験地内の樹高20.4mヒノキを対象とし、2020年9月28日15:25と、2020年10月7日8:50に¹³Cパルスラベリングを行った。ラベリングのために、光を通す強度の高いビニールシート(厚さ0.2mm)でラベリング用チャンバーを作成し、¹³CO₂を注入した(図2)。合計12Lの99.9%の¹³CO₂を注入し、1時間後にチャンバーを開封した。

幹の地上高17.0m(T1)、13.5m(T2)、6.23m(T3)、1.85m(T4)の幹に幹呼吸チャンバーを設置し、それぞれのチャンバーをレーザー式炭素安定同位体測定装置(Picarro, G2101-i)に接続し、幹呼吸として放出されるCO₂の同位体比の連続測定を行った。



図2 ラベリングチャンバー

3 - 5)師液流モデルの検証

圧流説をもとにして、様々な抵抗を組み込んだ師液流モデルが発展しているが、最もシンプルなのは、円管を通過するときの流れを説明するハーゲン・ポワイユズの式を組み込んで、以下のように表すことができる。

$$V = f \times \frac{r^2}{8 \times \eta \times L} \times \Delta P$$

ここで V は師液流速 ($m\ h^{-1}$)、 f は細胞を通る際の抵抗係数(0.7; Liesche et al., 2015)、 r は師部細胞の直径、 L は師部の長さ、 μ は粘性、 P はソースとシンクの圧力差である。すなわち、ソースとシンクの圧力差の駆動力が、師部の直径が小さくなるほど、また粘性が高く師部の長さが長くなるほど大きな抵抗がかかることで制限され、師液流速が算出されるという式である。なお、すべての師細胞が通道しているわけではないためここでは、Jensen ら(2012)に従って 80% が通道しているとした。ここでは、コンダクタンス ($m^4Pa^{-1}\ s^{-1}$) を部位ごと(樹幹→T1, T1→T2, T2→T3, T3→T4)に算出し、抵抗の逆数より V を算出した。

4. 研究成果

4 - 1) シンクとソースの圧力差 (P) の推定

葉と幹における水ポテンシャル、浸透ポテンシャル、膨圧の平均値。()内は sd を示す。

	昼間	夜明け前
ソース (葉) の水ポテンシャル	-1.49 (0.16)	-0.53 (0.03)
ソース (葉) の浸透ポテンシャル	-1.82 (0.11)	-1.54 (0.05)
ソース (葉) の重力ポテンシャル	0.2	0.2
ソース (葉) の膨圧	0.14 (0.06)	0.81 (0.07)
シンク (幹内樹皮) の水ポテンシャル	-*	-0.53**
シンク (幹内樹皮) の浸透ポテンシャル	-0.78 (0.04)	-0.75 (0.05)
内樹皮の膨圧	-	0.22
P	-	0.79

*測定できなかつた。仮に-0.78MPa とすると日中の膨圧差は 0MPa、重力ポテンシャルを足した P は 0.2MPa となり、夜間の駆動力よりも日中が低いことが推測される。

**夜明け前の水ポテンシャルは樹木のどこにおいても葉と同じ値と仮定

これらからシンクとソースの膨圧差は夜間では 0.59MPa であり、駆動力である P は重力ポテンシャルを足して、夜間は 0.79MPa と計算された。

4 - 2) コンダクタンスの測定

顕微鏡観察で得られた画像(図 3)を二値化し、樹木の高さごとの師管の通道している師部の面積、平均師管直径、個数、師管断面積合計を算出した。



図 3 師部の顕微鏡写真

高さ (m)	直径 (cm)	通道師部面積 (cm ²)	平均師管直径 (μm)	師部の個数	師管断面積合計 (mm ²)
17	8	0.43	9.17	67858	18.7
13.5	11	0.65	8.62	105976	28.2
6.23	14.7	0.54	9.74	80048	26.4
1.85	18.4	1.10	8.40	196538	48.2

また、師部のスクロース濃度は 16.03% w·v, 20 における粘性は 2.34(mPas)と計算された。

4 - 3) ^{13}C パルスラベリングによる師液流速の実測
 各チャンバーの位置で、計測される ^{13}C 同位体比が有意に上昇した時間を算出し(図 4,5)、幹チャンバー間の距離から、それぞれの部位を通る炭素移動速度を算出した(図 5)。この速度は炭素が呼吸として放出される時間であるが、ほぼ師液流速と同等である(Dannoura et al., 2008)。また上昇した時間は最初に炭素が到達した時間であるため最速の師液流速である。求められた師液流速は、0.12-0.255 m h^{-1} であり、それぞれのチャンバー間で速度は異なっていた。また、夕方に行ったラベリングと朝に行ったラベリングでは、同じ場所でも速度が異なっていた。
 幹を通る平均速度を求めるために、ラベリング時間と幹の下部(T4)に炭素が到達時間を用いて求めた炭素移動速度は夕方のラベリングの際には 0.15 m h^{-1} 、朝のラベリングの際には 0.19 m h^{-1} であった。

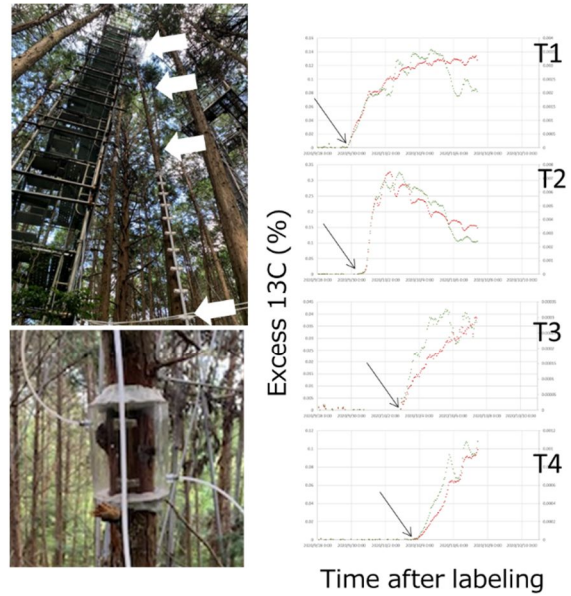


図 4 幹呼吸チャンバーの位置および写真

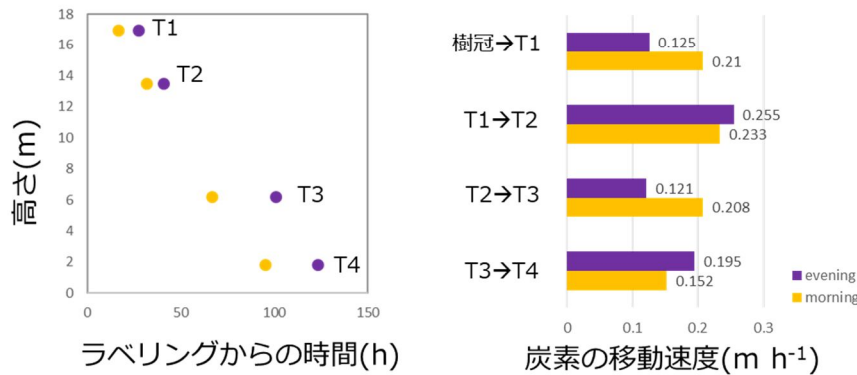


図 5 各チャンバーに ^{13}C が検出された時間(左)と計算された炭素移動速度(右)

4 - 4) 師液流モデルの検証

計算された各部位の通水性およびコンダクタンスを図 6 に示す。
 $\Delta P = 0.6 \text{ MPa}$ を仮定すると、師液流速は $V (\text{m h}^{-1})$ は 0.15 と算出された。

この値は、 ^{13}C ラベリングで実測された流速と同じかまたは遅い。仮定された駆動力は夜間の最大の値であり、昼間は夜間よりも遅いことが推察される。そのことを考慮にいれると、 V はより低い値をとるはずである。すなわち、ラベリングによる師液流速の実測値は、モデルによる予測値よりも速いと考えられる。まだ考えられていないような、高木の速い師部輸送を実現するようなしくみがあるのかもしれない。

また、ラベリングの時間によって同じ部位でも師液流速に違いがみられた(図 5 右)。同じ部位は同じ師部構造を持っていると考えられるため、この違いは駆動力あるいは師液の粘性によるものだと考えられる。日変動をする水ポテンシャル、シンクの光合成速度やソーラの呼吸量などが大きな役割を果たしていることが予想される。今後さらなる検証を行うには、日変動による駆動力や抵抗の違いを考慮にいれたアプローチが必要だと考えられる。

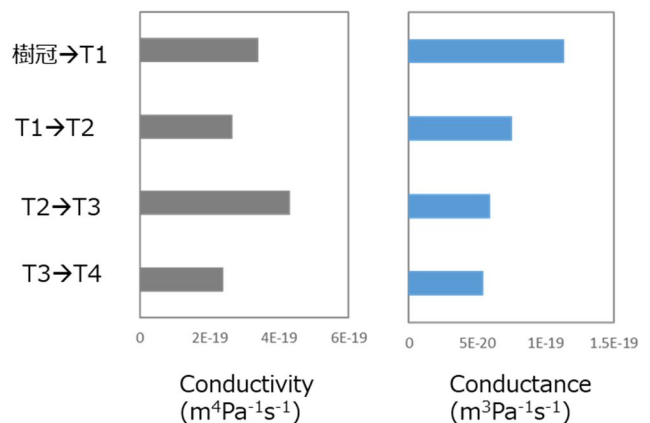


図 6 各部位で計算された通水性(左)とコンダクタンス(右)

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 6件/うち国際共著 5件/うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 Epron Daniel、Dannoura Masako、Holttta Teemu	4. 巻 39
2. 論文標題 Introduction to the invited issue on phloem function and dysfunction	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Tree Physiology	6. 最初と最後の頁 167 ~ 172
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1093/treephys/tpz007	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する
1. 著者名 Salmon Yann、Dietrich Lars、Sevanto Sanna、Holttta Teemu、Dannoura Masako、Epron Daniel	4. 巻 39
2. 論文標題 Drought impacts on tree phloem: from cell-level responses to ecological significance	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Tree Physiology	6. 最初と最後の頁 173 ~ 191
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1093/treephys/tpy153	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する
1. 著者名 Dannoura Masako、Epron Daniel、Desalme Dorine、Massonnet Catherine、Tsuji Shoko、Plain Caroline、Priault Pierrick、G?rant Dominique	4. 巻 39
2. 論文標題 The impact of prolonged drought on phloem anatomy and phloem transport in young beech trees	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Tree Physiology	6. 最初と最後の頁 201 ~ 210
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1093/treephys/tpy070	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する
1. 著者名 Epron Daniel、Dannoura Masako、Ishida Atsushi、Kosugi Yoshiko	4. 巻 39
2. 論文標題 Estimation of phloem carbon translocation belowground at stand level in a hinoki cypress stand	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Tree Physiology	6. 最初と最後の頁 320 ~ 331
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1093/treephys/tpy016	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する

1. 著者名 檀浦正子	4. 巻 85
2. 論文標題 炭素収支におけるパルスラベリング手法の適用と展望	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 森林科学	6. 最初と最後の頁 13~18
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.11519/jjsk.85.0_13	査読の有無 有
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 Martineau E., Domec J.C., Bosc A., Dannoura M., Gibon Y., Bernard C., Jordan-Meille L.	4. 巻 39
2. 論文標題 The role of potassium on maize leaf carbon exportation under drought condition	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Acta Physiol Plant	6. 最初と最後の頁 219
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s11738-017-2515-5	査読の有無 有
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 該当する

[学会発表] 計5件 (うち招待講演 1件 / うち国際学会 3件)

1. 発表者名 檀浦正子、辻祥子
2. 発表標題 マツの根の解剖学的構造と呼吸量
3. 学会等名 根研究学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Dannoura M., Tsuji S., Desalme D., Priault P., Plain C., Epron D.
2. 発表標題 Differences in phloem anatomy alters its function under drought stress
3. 学会等名 IUFRO 125th Anniversary Congress 2017 (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Daniel Epron, Masako Dannoura, Atsushi Ishida, Yoshiko Kosugi
2. 発表標題 Phloem conductance (and carbone translocation) at stand level: scaling anatomical data
3. 学会等名 iPhloem (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Dannoura M., Epron D.
2. 発表標題 How does phloem carbon translocation capacity scale with canopy photosynthesis in a hinoki cypress plantation?
3. 学会等名 「光合成機能の環境応答とモデリング」ワークショップ (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 檀浦正子
2. 発表標題 13C ラベリングによる光合成生産物の樹幹内転流の把握
3. 学会等名 「樹木年輪」研究会・組織と材質研究会合同シンポジウム (招待講演)
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

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
---------------------------	-----------------------	----

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			
フィンランド	ヘルシンキ大学			
フランス	INRA	Universite de Lorraine		
フランス	Universite de Lorraine	INRA-Nancy		