

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 5 月 15 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(A)

研究期間：2011～2014

課題番号：23248022

研究課題名(和文) 樹木の水分生理特性と萎凋病の枯死機構の統合的理解

研究課題名(英文) Integrated understanding of hydraulic traits of trees and wilting mechanism in tree diseases

研究代表者

福田 健二 (Fukuda, Kenji)

東京大学・新領域創成科学研究科・教授

研究者番号：30208954

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 38,900,000円

研究成果の概要(和文)：乾燥ストレスにおかれた樹木や冬季の凍結融解ストレスを受けた樹木の木部では、道管が空洞化して通水が阻害される現象(エンボリズム)が生じることが知られている。乾燥ストレスによる木部の通水阻害をMRI(核磁気共鳴画像装置)により非破壊観察した結果、当年生木部では1～2年生木部に比べて通水阻害が生じにくいことが示された。通水阻害の起きやすい樹種では、吸水後に通水を回復させる能力が高かった。マツ材線虫病やナラ枯れなどの萎凋病における木部通水阻害は、MRI観察とcryo-SEM(低温走査電顕)による観察の結果、乾燥ストレスによる通水阻害とは異なるメカニズムによることが示唆された。

研究成果の概要(英文)：In tree xylem under drought stress or freezing stress, cavitation and embolism are known to occur and result in loss of water conductance. Nondestructive observation of xylem embolism with a compact MRI system during water stress showed that current-year xylem is less vulnerable to cavitation than older xylem. Species with higher vulnerability to cavitation have higher refilling ability, which should be related to water capacitance of wood tissue. Cryo-sem and anatomical observations of xylem specimens inoculated with tree pathogens suggested that xylem dysfunction in the wilting diseases is caused by different mechanisms from drought-induced embolisms.

研究分野：樹木生理学・樹病学

キーワード：エンボリズム キャピテーション 通水阻害 非破壊観察 cryo-SEM MRI

1. 研究開始当初の背景

陸上に進出した植物にとって、根から葉への水輸送は生存上最大の課題の1つである。木樹種においては、幹の通水機能は生存戦略を決定する重要な特性とみなされている。植物の水輸送において、安全性と効率性はトレードオフの関係にあり、通水効率の高い大径道管をもつ環孔材樹種では、乾燥や凍結ストレスによって道管に通水阻害(エンボリズム)を生じやすいため、1年以内に通水機能を失うことが確かめられている(Utsumi et al. 1996, Umebayashi et al. 2008 など)。一方、道管を持たない針葉樹では、仮道管を通した樹液上昇は非常に遅いが、環境ストレスによる通水阻害は起こりにくい。しかしながら、この単純な図式では、類似の木部構造を形成する植物間での生理生態特性の違いを説明することは困難である。

一方、日本の松枯れやナラ枯れ、アメリカのニレ枯病(Dutch Elm Disease)など、樹木の世界的な重要病害には萎凋病が多い。萎凋病は、高木にとっての最大の急所ともいえる幹の通水機能が病原体によって侵される病気で、その発生生態と樹木の水分生理特性には密接な関係がある。

研究代表者の福田は、マツ材線虫病の萎凋過程の生理的変化に着目して枯死メカニズムの解明に努めてきた。特に、永久磁石を用いた樹木用MRI(核磁気共鳴画像)装置を(株)エム・アール・テクノロジー社と共同開発し、通水阻害の進展過程を非破壊で経時的に観察する技術を世界で初めて確立し、マツ材線虫病の通水阻害には、異なる2つのタイプがあることを示した(Utsuzawa et al. 2005)。

そこで、乾燥ストレスによる通水阻害と萎凋病における通水阻害のメカニズムの共通性と差異を明らかにすることが次の課題である。

2. 研究の目的

本研究では、1) 水ストレスによる樹木の通水阻害拡大過程と2) その回復過程、3) 凍結ストレスによる冬季の通水阻害と春季の回復過程、4) 樹木病害における通水阻害の拡大と病原分布の拡大過程の関係、の検討を行った。MRIでの非破壊観察により通水阻害と回復過程を可視化するとともに、cryo-SEMによる凍結試料の木部の水分分布観察を通して、通水阻害のメカニズムの多様性と共通性を明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

1) 乾燥ストレス下での通水阻害進展過程と乾燥適応メカニズムの検討

シラカンバとカツラの鉢植え苗を用いて乾燥ストレス下での通水阻害の拡大過程を非破壊観察し、水ポテンシャルとMRI画像から求めた年輪ごとの木部断面積に占める通水阻害面積率(%)を求めた。乾燥ストレス

を与えた鉢植え苗から採取した切枝を用いて通水コンダクタンス測定を行い、通水阻害率(PLC:%)と水ポテンシャルの関係から、これら2樹種の脆弱性曲線(vulnerability curve)を作成し、MRIの結果と比較した。

また、落葉広葉樹6樹種の鉢植え苗を用いて、乾燥ストレスの程度の異なるサンプルの貯水量から木部の貯水性(capacitance)を評価した。木部の凍結試料のcryo-SEM観察による道管や木繊維中の水の有無の検討と合わせて、樹種ごとの乾燥ストレス適応戦略を比較した。

2) 水ストレスによる通水阻害からの回復過程の解明

鉢植え苗に乾燥ストレス後に再灌水することにより、空洞化した道管の再充填(refill)が見られるかを観察した。ヤマグワとゲッケイジュの切枝を用いて道管にキャピラリーを挿入して気体や液体を注入し、再充填時に道管内に陽圧が維持されるかを検討した。

3) 亜高山帯針葉樹における冬季の通水阻害と春季の回復現象の検討

北八ヶ岳縞枯山において定期的にシラビソの枝を採取し持ち帰って、通水コンダクタンスの測定および木部染色による通水部位の確認を行った。

4) 樹木病害における通水阻害過程と病原の分布解析

マツノザイセンチュウを接種した感受性および抵抗性マツ苗のMRI観察と、ナラ菌(*Raffaelea quercivora*)を接種したミズナラ苗、青変菌を接種したエゾマツ苗のcryo-SEM観察を行った。それらを含む樹木病害について病原の分布と通水阻害の関係を検討した。

4. 研究成果

1) 乾燥水ストレス下での通水阻害進展過程と乾燥適応メカニズムの検討

シラカンバ、カツラともにMRIによる非破壊観察結果と、凍結サンプルのcryo-SEM観察による道管の水分布とはよく一致しており、MRIでの道管のエンボリズムの進展を観察できていることが実証された(図-1)。

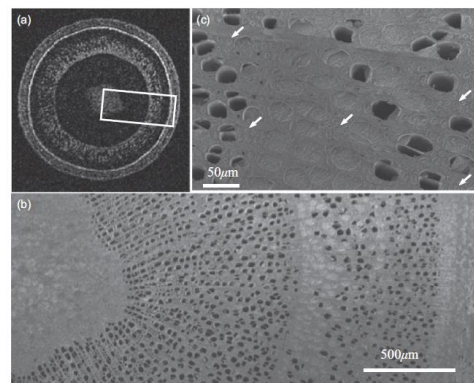


図-1 カツラの(a)MRI画像と(b)同じ部位のcryo-SEM画像および(c)その拡大(Fukuda et al. 2015)

また、MRI による乾燥ストレス下でのエンボリズムの拡大過程の観察結果から、1-2 年生の木部で通水阻害が先に発生、拡大し、当年生木部では通水阻害が発生しにくいことが明らかにされた (図-2)。

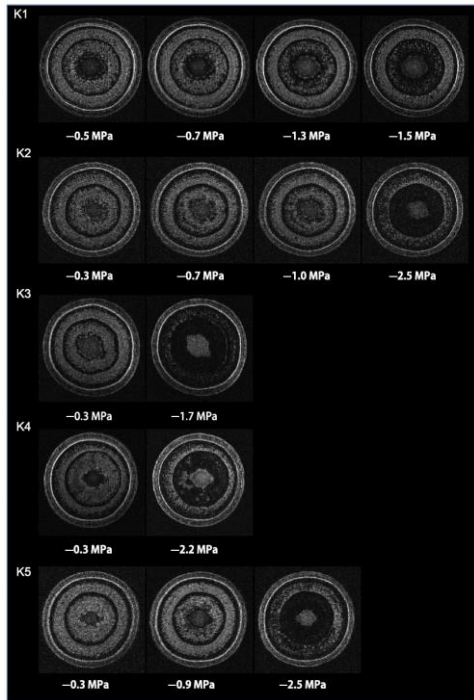


図-2 カツラの乾燥ストレスによる通水阻害拡大過程の MRI 画像 (数値は各撮像日の水ポテンシャル値) (Fukuda et al. 2015)

MRI で観察された木部全体の通水阻害面積の木部断面積に対する割合は、切枝の通水コンダクタンス測定によって求めたシラカンバ、カツラの脆弱性曲線と一致した (図-3)。

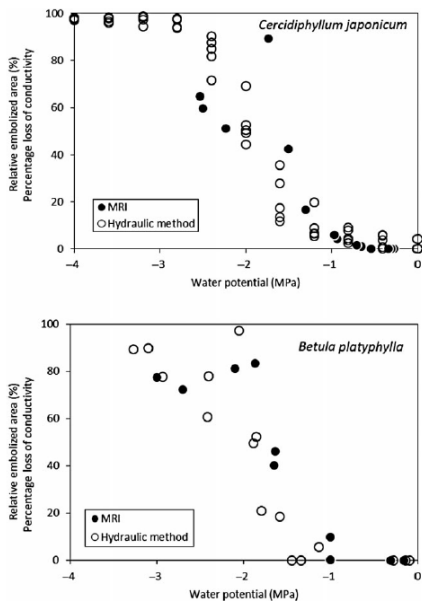


図-3 乾燥ストレス進行過程における水ポテンシャルと MRI 画像による通水阻害面積率 (●) および切枝の通水コンダクタンスから求めた通水阻害率 (○) との関係 (上: カツラ、下: シラカンバ) (Fukuda et al. 2015)

一方、年輪ごとの通水阻害面積割合から求めた脆弱性曲線 (図-4) は、当年生木部と 1-2 年生木部とで大きく異なり、壁孔の経年劣化などにより、木部のキャビテーションに対する脆弱性が高まること示唆された。

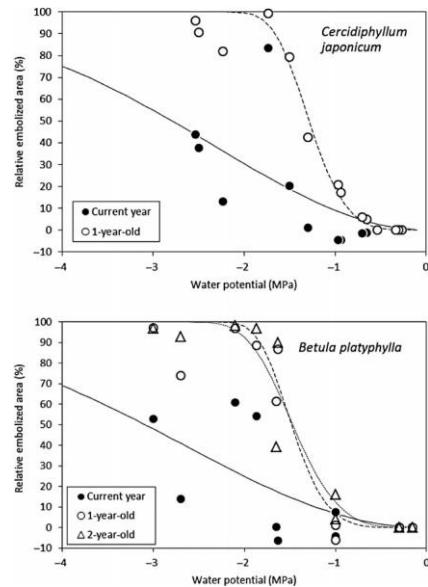


図-4 MRI 画像から求めた当年生 (●)、1 年生 (○)、2 年生 (△) 木部の脆弱性曲線 (上: カツラ、下: シラカンバ) (Fukuda et al. 2015)

次に、落葉広葉樹 6 種の脆弱性曲線 (図-5) から求めた Ψ_{50} (通水阻害率 50% 時の水ポテンシャル) と、灌水再開後の通水コンダクタンスの回復率の関係から、キャビテーション抵抗性の低い樹種ほど回復性が高いという関係があることが明らかにされた (図-6)。

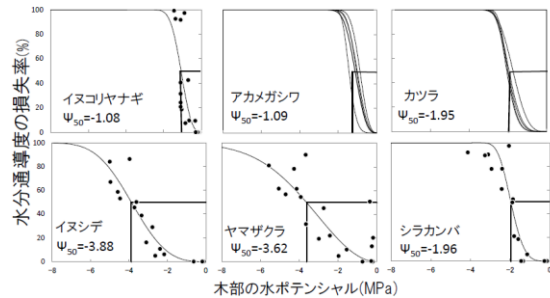


図-5 落葉広葉樹 6 種の脆弱性曲線 (Ogasa et al. 2013 に加筆)

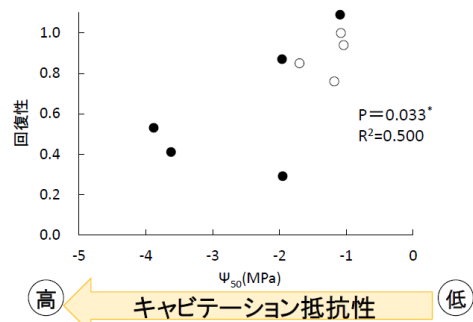


図-6 落葉広葉樹 6 樹種のキャビテーション抵抗性と回復性の関係 (Ogasa et al. 2013 に加筆)

2) 水ストレスによる通水阻害からの回復過程の解明

乾燥ストレス後の回復については、切枝を用いたコンダクタンスの回復が見られた樹種においても、MRIによる観察を行った鉢植え苗では通水阻害部の再充填は見られなかった。この原因の解明は今後の課題である。

空洞化した道管の再充填には、周囲の道管にかかった負圧の影響を排除して道管内腔を陽圧で保つ必要がある。そのメカニズムとしては壁孔内腔の気泡による隔離（ピットバルブ仮説）が提唱されているが、実際に道管内腔の気泡はヤマグワとゲッケイジュで0.1MPa程度の陽圧に耐えることが実験的に示された。

3) 亜高山帯針葉樹における冬季の通水阻害と春季の回復現象の検討

シラビソの風衝個体では、雪に埋もれず外気にさらされている枝で、冬の終わりまでに1年生木部の通水がほぼ完全に阻害されていることが確認された。一方、展葉の始まる夏の始めには木部の通水はほぼ完全に回復していた（図-7）。

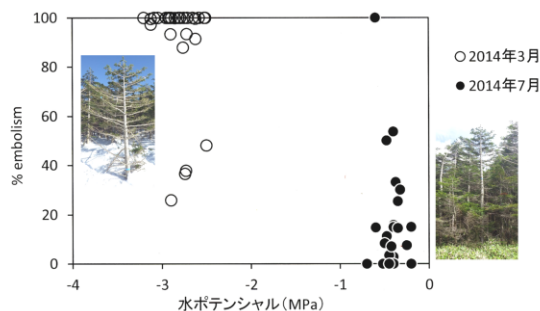


図-7 シラビソの3月と7月の通水阻害率

4) 樹木病害における通水阻害過程と病原の分布解析

抵抗性クロマツ2クローン（土佐清水63, 大分8）と感受性クロマツ2クローン（鹿島2, 双葉1）に強病原性線虫S10および弱病原性線虫C14-5を接種後、コンパクトMRIを用いて通水阻害進展過程の経時観察を行った結果、抵抗性マツは感受性マツと比較して通水阻害の拡大が緩やかに進行し、感受性マツの通水阻害が木部全面に広がる時期においても通水阻害域が限定的であることが明らかにされた。感受性クローンの通水阻害域は線虫の分布と対応することが示された（図-8）。

ナラ枯れについては、自然感染したミズナラ樹幹内のナラ菌のDNAのマイクロサテライト解析の結果、カシノナガキクイムシが多様な遺伝子型のナラ菌を孔道内に運び入れ、各遺伝子型の菌が孔道内にパッチ状に広がっていることが示された。

ナラ菌を接種したミズナラ苗では、菌糸は接種4日以降に接種部付近に認められ、菌糸が分布した道管内は空洞化していた。しかしその道管の周囲の仮道管には通水がみられた。また、水を保持していても通水していな

い道管が見られた。接種7日後、菌糸分布域の近傍ではチロース形成が認められたが、その周囲仮道管では通水が見られた。

青変菌 *Ceratocystis polonica* を接種したエゾマツ苗では菌糸分布範囲とその周囲で水分通導阻害が引き起こされた。

街路樹の萎凋枯死を引き起こしているコフキタケ、ベッコウタケ、ナラタケモドキの樹幹内の菌糸分布を検討した結果、感染経路や拡大過程には菌種による違いが見られたが、いずれの菌も辺材に菌糸が蔓延することで萎凋枯死を引き起こしていることが示さ

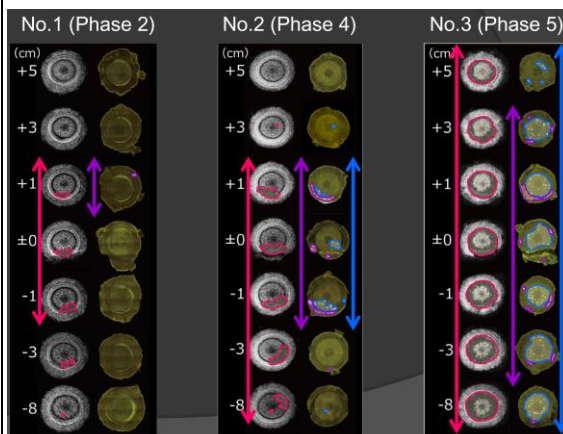


図-8 マツノザイセンチュウを接種した感受性マツ苗 (No.1~3) の1年生主軸のMRIで見た通水阻害域 (左: 赤丸) と木部の線虫分布域 (右: 黄丸) (Akami et al.: IUFRO PWD Conference 2013)

5) 総合考察

以上の結果から、乾燥ストレスによる通水阻害の起きやすさは樹種により異なり、通水阻害が起きやすい樹種では貯水により通水を回復する能力が高いことが考えられた。また、通水阻害の起きやすさは年輪間で異なり、当年の新しい木部では通水阻害が起きにくいことが明らかにされた。

キャピラリーを道管に挿入する実験系により、通水の回復のメカニズムとして提唱されているピットバルブ仮説を支持する結果が得られた。しかし、通水阻害からの回復現象は、MRIで観察することが未だできておらず、回復に必要な環境条件や回復過程の解明が今後の重要な課題である。

冬季の凍結ストレスによる通水阻害については、亜高山帯針葉樹で通水阻害と回復とが生じていることが確認され、今後そのメカニズムの解明を進める必要がある。

樹木病害における通水阻害については、乾燥ストレスによる通水阻害の発生拡大過程とは大きく異なり、いずれの病害でも病原の分布と通水阻害の分布の密接な関係が明らかにされた。したがって、病原の分布拡大が萎凋枯死に大きな役割を果たすことが示された。ナラ枯れでは、通水阻害と道管内の水の有無とは対応しておらず、キャピテーション以外の通水阻害メカニズムの存在が推測

された。樹木萎凋病における通水阻害メカニズムについては、今後さらに詳細な検討が必要である。

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 31 件)

すべて査読あり

- ① Fukuda K, Kawaguchi D, Aihara T, Ogasa YM, Miki NH, Haishi T, Umabayashi T (2015) Vulnerability to cavitation differs between current-year and older xylem: non-destructive observation with a compact magnetic resonance imaging system of two deciduous diffuse-porous species. *Plant Cell and Environment* (doi: 10.1111/pce.12510)
- ② Son JA, Matsushita N, Hogetsu T (2015) Migration of *Bursaphelenchus xylophilus* in cortical and xylem axial resin canals of resistant pines. *Forest Pathology* 45 (doi: 10.1111/efp.12164)
- ③ Takahashi Y, Matsushita N, Hogetsu T (2015) Genotype distribution of *Raffaelea quercivora* in oak galleries and its composition in the mycangia of *Platypus quercivorus*. *Forest Pathology* 45 (doi: 10.1111/efp.12148)
- ④ Yang L, Miki NH, Matsuo N, Zhang G, Wang L, Yoshikawa K (2014) Contribution of adventitious roots to water use strategy of *Juniperus sabina* in a semi-arid area of China. *Journal of Agricultural Science and Technology A*, 4(3A) 251-259 (<http://www.davidpublishing.com/journals>)
- ⑤ Ogasa M, Miki NH, Okamoto M, Yamanaka N and Yoshikawa K (2014) Water loss regulation to soil drought associated with xylem vulnerability to cavitation in temperate ring-porous and diffuse-porous tree seedlings. *Trees* 28: 461-469 (doi: 10.1007/s00468-013-0963-0)
- ⑥ Ogasa M, Miki N, Murakami Y, Yoshikawa K (2013) Recovery performance in xylem hydraulic conductivity is correlated with cavitation resistance for temperate deciduous tree species. *Tree Physiology* 33: 335-344 (doi: 10.1093/treephys/tpt010)
- ⑦ Sano Y, Utsumi Y, Nakada R (2013) Homoplastic occurrence of perforated pit membranes and torus-bearing pit membranes in ancestral angiosperms as observed by field-emission scanning electron microscopy. *Journal of Wood Science* 59: 95-103 (doi: 10.1007/s10086-012-1304-4)
- ⑧ Sperry JS, Christman MA, Torres-Ruiz MS, Taneda H, Smith DD (2012) Vulnerability curves by centrifugation: is there an open

vessel artefact, and are 'r' shaped curves necessarily invalid? *Plant Cell and Environment* 35: 601-610 (doi: 10.1111/j.1365-3040.2011.02439.x)

- ⑨ Nagai S, Utsumi Y (2012) The function of intercellular spaces along the ray parenchyma in sapwood, intermediate wood and heartwood of *Cryptomeria japonica* (Cupressaceae). *American Journal of Botany* 99: 1553-1561 (doi: 10.3732/ajb.1200160)
- ⑩ Umabayashi T, Fukuda K, Haishi T, Sotooka, K Sule Z, Otsuki K (2011) The developmental process of xylem embolisms in pine wilt disease monitored by multipoint imaging using compact magnetic resonance imaging. *Plant Physiology* 156: 943-951 (<http://dx.doi.org/10.1104/pp.110.170282>)

[学会発表] (計 55 件)

- ① 小笠真由美・内海泰弘・三木直子・矢崎健一・福田健二 (2015) 樹木用 MRI を用いた樹幹内部の非破壊的観察から見えてきたこと—これまでの知見との比較 (シンポジウム招待講演), 第 126 回日本森林学会大会, 2015.3.26-28, 北海道大学 (北海道札幌市)
- ② 栗飯原 友・三木直子・小笠真由美 (2015) 落葉広葉樹における本部の構造的特性と貯水性の関係. 第 62 回日本生態学会大会, 2015.3.18-22, 鹿児島大学 (鹿児島県鹿児島市)
- ③ 三木直子・小笠真由美・津田智和・楊靈麗・福田健二 (2015) 広葉樹の通水機能の回復性に木部のキャパシタンスは関係するの? 第 62 回日本生態学会大会, 2015.3.18-22, 鹿児島大学 (鹿児島県鹿児島市)
- ④ Takahashi Y, Fukuda K (2014) Xylem dysfunction caused by Japanese oak wilt pathogen *Raffaelea quercivora* and its hyfal distribution. IUFRO World Congress, 2014. 10.6-10, Salt Lake City (USA).
- ⑤ 小笠真由美・三木直子 (2014) 温帯性広葉樹における通水特性と成長特性の関係 (招待講演). 第 125 回日本森林学会大会, 2014.3.26-29, 大宮ソニックシティ (埼玉県さいたま市)
- ⑥ 高橋由紀子・坂上大翼・福田健二 (2014) *Ceratocystis polonica* 接種がエゾマツ苗の水分通導に与える影響. 第 125 回日本森林学会大会. 2014.3.26-29, 大宮ソニックシティ (埼玉県さいたま市)
- ⑦ 種子田春彦 (2014) 根、茎、葉の水の流れやすさを測る—測定手法とそこからわかること— (招待講演). 第 61 回生態学会大会, 2014.3.14-18, 広島国際会議場 (広島県広島市)
- ⑧ Akami A, Kusumoto D, Hirao T, Watanabe A, Fukuda K (2013) Resistance

- mechanism to pine wilt disease in resistant Japanese black pine clones: observations of symptom development with a compact MRI. IUFRO Unit 7.02.10 Pine Wilt Disease Conference, 2013.10.15-18, Braunschweig (Germany)
- ⑨ Takahashi Y, Matsushita N, Hogetsu T (2013) Clonal structure of *Raffaelea quercivora* in galleries and mycelia on *Platypus quercivorus*. The 10th Int. Congress of Plant Pathol., 2013.8.25-30, Beijing (China)
- ⑩ 種子田春彦(2013) 維管束による水輸送: 構造の安全性と適応戦略 (招待講演). 第77回植物学会大会, 2013.9.13-15, 北海道大学 (北海道札幌市)
- ⑪ Utsumi Y, Ogura M, Fukuda K (2013) Interspecific variation of xylem water transport pathway in conifers. The 8th Pacific Regional Wood Anatomy Conf., 2013.10.17-21, Beijing (China)
- ⑫ 小笠真由美・内海泰弘・梅林利弘・三木直子・福田健二(2013) 負圧下の樹幹木部における通水領域解析法. 第63回日本木材学会大会, 2013.3.27-29, 岩手大学 (岩手県盛岡市)
- ⑬ Akami A, Komatsu M, Fukuda K (2012) Nematode distribution and occurrence of xylem embolism in pines. The 3rd Meeting of IUFRO Unit 7.03.12, 2012. 6.10-16, Univ. of Tokyo, Tokyo (Japan)
- ⑭ Umebayashi, T, Fukuda K (2012) The developmental process of xylem embolisms in pine wilt disease. The 3rd Meeting of IUFRO Unit 7.03.12, 2012. 6.10-16, Univ. of Tokyo, Tokyo (Japan)
- ⑮ Takahashi Y, Fukuda K (2012) Positional relationship between hyphae and embolism in *Raffaelea quercivora*-inoculated saplings. The 3rd Meeting of IUFRO Unit 7.03.12, 2012. 6.10-16, Univ. of Tokyo, Tokyo (Japan)
- ⑯ Ogasa M, Miki N, Murakami Y, Yamanaka N, Yoshikawa K (2012) Cavitation resistance and xylem recovery: does wood density determine hydraulic strategy? ESJ-59, 2012.3.17-21, Ryukoku Univ., Ohtsu (Japan)
- ⑰ 大條弘貴・種子田春彦・寺島一郎(2012) 単一道管での測定からエンボリズムを起こした道管への陰圧下で水が再充填される機構を解明する. 第59回日本生態学会大会, 2012.3.17-21, 龍谷大学 (滋賀県大津市)
- ⑱ 小倉美穂・内海泰弘・福田健二(2012) 日本産針葉樹 13 種の樹幹における通水様式の解明. 2012.3.15-17, 第62回木材学会大会, 北海道大学 (北海道札幌市)

〔図書〕(計 2 件)

- ① 福田健二(2014) 樹木の構造と生理. (堀大才編:「樹木診断調査法」)講談社, 12-43
- ② Utsumi Y and Sano Y (2014) Freeze stabilization and cryopreparation technique for visualizing the water distribution in woody tissues by X-ray imaging and cryo-scanning electron microscopy. (In J. Kuo ed. Electron Microscopy: Methods and Protocols. 3rd edition) Springer, New York, 677-688.

〔その他〕

ホームページ等

<http://hyoka.nenv.k.u-tokyo.ac.jp/study.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

福田 健二 (Kenji Fukuda)

東京大学・大学院新領域創成科学研究科・教授 研究者番号: 30208954

(2) 研究分担者

内海 泰弘 (Yasuhiro Utsumi)

九州大学・大学院農学研究院・准教授 研究者番号: 50346839

三木 直子 (Naoko H. Miki)

岡山大学・大学院環境学研究所・准教授 研究者番号: 30379721

松下 範久 (Norihisa Matsushita)

東京大学・農学生命科学研究科・准教授 研究者番号: 00282567

楠本 大 (Dai Kusumoto)

東京大学・農学生命科学研究科・講師 研究者番号: 80540608

種子田 春彦 (Haruhiko Taneda)

東京大学・理学系研究科・助教 研究者番号: 90403112

坂上 大翼 (Daisuke Sakaue)

東京大学大学院農学生命科学研究科・助教 研究者番号: 90313080

(3) 研究協力者

小笠真由美 (Mayumi Y. Ogasa)

森林総合研究所・研究員 研究者番号: 10646160

高橋由紀子 (Yukiko S. Takahashi)

森林総合研究所・研究員 研究者番号: 60725266

梅林利弘 (Toshihiro Umebayashi)

北海道大学・農学部・博士研究員

矢崎健一 (Kenichi Yazaki)

森林総合研究所・主任研究員 研究者番号: 30353890

丸田恵美子 (Emiko Maruta)

元 東邦大学・理学部・教授 研究者番号: 90229609