

亜高山帯に分布する常緑針葉樹の越冬戦略

種子田 春彦¹, 小笠 真由美², 矢崎 健一³, 丸田 恵美子⁴

¹ 東京大学 大学院理学系研究科附属植物園 日光分園
〒321-1435 栃木県日光市花石町 1842

² 国立研究開発法人森林研究・整備機構 森林総合研究所 関西支所
〒612-0855 京都府京都市伏見区桃山町永井久太郎 68

³ 国立研究開発法人森林研究・整備機構 森林総合研究所 北海道支所
〒062-8516 北海道札幌市豊平区羊ヶ丘 7

⁴ 神奈川大学総合理学研究所
〒221-8686 横浜市神奈川区六角橋 3-27-1

Winter survival of evergreen conifers in subalpine climate

Haruhiko Taneda¹, Mayumi Y. Ogasa², Kenichi Yazaki³, Emiko Maruta⁴

¹ Nikko Botanical Gardens, Graduate school of Science, The University of Tokyo,
1842 Hanaishicho, Nikko, Tochigi, 321-1435 Japan

² Kansai Research Center, Forestry and Forest Products Research Institute
68 Nagaikyutaro, Momoyamachoh, Fushimi, Kyoto, Kyoto, 612-0855 Japan

³ Hokkaido Research Center, Forestry and Forest Products Research Institute
7 Hitsujigaoka, Toyohira, Sapporo, Hokkaido, 062-8516 JAPAN

⁴ Research Institute for Integrated Science, Kanagawa University
3-27-1 Rokkakubashi, Kanagawa, Yokohama, Kanagawa 221-8686, Japan

Keywords: dieback, pit aspiration, plant hydraulics, tracheids, xylem embolism

DOI: 10.24484/bsj-review.16c4.00288

1. はじめに

植生帯でいう亜高山帯は常緑針葉樹が優占する森林が成立する場所で（図 1A），日本の本州では標高が 1500 m から 2500 m の地域にあたる。亜高山帯の気象条件は植物の成長にとって非常に厳しい。高標高ゆえに気温は低く，十分に光合成ができる期間は 1 年のうち半分にも満たず，逆に寒い冬の期間は長い。亜高山帯に限らず，寒冷地に分布する植物の多くは，地上部を枯らす，雪に埋もれる，落葉する，などの冬の厳しさを回避する戦略をとってやり過ごす（酒井 1995）。一方で，常緑針葉樹は一年中，樹冠に葉を維持し続ける。このため，葉や枝は−20℃を下回るような気温に曝されるし，卓越風が吹き付け，そこに雪が積もっていればさらに大きな力学的な負荷を受ける。気温が低いと酵素反応で動く代謝経路は働きが鈍っている中で，クロロフィルで吸収した光エネルギーを安全に処理しなければならない（Demmig-Adams and Adams 2006）。また，土壌や枝の中の水が凍るので，葉の表面から少しずつ蒸発して失われる水分を補給することができず，冬が長いほど強い乾燥ストレスの状態

に陥る (Mayr et al. 2012)。亜高山帯より高い標高には高木が分布できない高山帯が広がっており、これらの冬のストレスに真っ向から立ち向かって生きている亜高山帯の常緑針葉樹は、最も厳しい環境に生きる樹木であるといえるだろう (Chang et al. 2021)。

私たちは、その亜高山帯でも特に厳しい気象条件である、高山帯との境界の森林限界に生きる常緑針葉樹に興味を持った。ここは強い風が吹き付ける風衝環境であり、枯死して白骨化した個体とともに風下側だけに枝を発達させる旗型樹形を示す個体 (図 1B) がみられるように、常緑針葉樹が分布の最前線で攻防を行っている姿がある。私たちの調査地は亜高山帯の標高約 2250 m にあり森林限界ではないが峠周辺には風衝環境が広がっている。冬の期間も長く、紅葉が始まる 10 月上旬くらいから氷点下の最低気温を記録するようになり、11 月中旬から下旬には根雪となって土壤凍結が始まる。その後、12 月下旬から 2 月上旬までは昼間も 0°C を超えない真冬日が続き、2 月中旬以降、太陽高度の上昇とともに気温は上がっていくが、地面は雪に覆われている。4 月くらいから降雨がはじまり雪解けが促進され、5 月中旬になってやっと陽の光の届きにくい林床からも雪が消える。本稿では、こうした亜高山帯の風衝環境に分布する常緑針葉樹のシラビソ (*Abies veitchii*

Lind.) の、長く厳しい冬を生き延びるための越冬戦略について、私たちがここ数年、本州の八ヶ岳北部の縞枯山・雨池峠での調査を通して得た知見をまとめる (Ogasa et al. 2019; Maruta et al. 2022; Taneda et al. 2021, 2022)。

2. 亜高山帯の環境ストレスと植物への影響

2-1. 風衝環境と冬の乾燥ストレス

冬の間、常緑針葉樹は様々なストレスに耐えないといけないが、風衝地に生育する個体にとっては、冬の乾燥ストレス (frost drought) への応答が越冬の鍵になる (Mayr et al. 2012)。乾燥ストレスのかかり方は、葉の表面から蒸発して水蒸気として出ていく水の速度 (蒸散速度) と土壌から吸収し根や枝を通して葉へ輸送される水の供給速度のバランスで決まる。蒸散で出ていく水の速度は、葉内と大気の水蒸気濃度の差である大気飽差と、葉内から大気へ水蒸気が移動する経路 (気孔や組織表面を覆うクチクラ) での移動しやすさを示す気孔コン

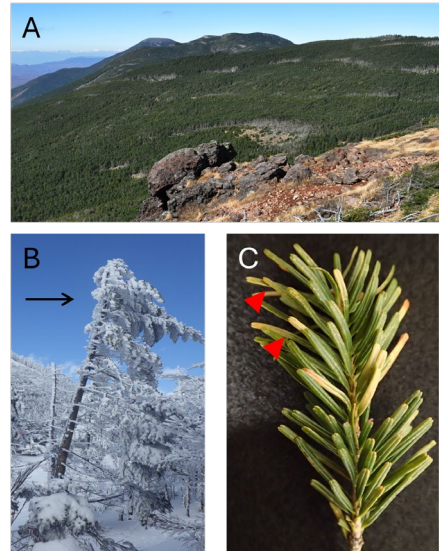


図 1. 亜高山帯針葉樹と風衝環境の個体の様子

A 縞枯山の南西斜面を覆う常緑針葉樹林。斜面を横切る白い帯状の構造は縞枯れ現象、B 旗型樹形の個体。矢印は風上側、C 旗型樹形の樹冠のシュート。矢頭は傷がついて褐変している部位を表す。

ダクタンスやクチクラコンダクタンスとの積で表される。冬の初めに地面が雪で閉ざされるころには気孔が閉鎖し、光合成によるガス交換も観測されなくなる (Bowling et al. 2018)。このため植物体から出ていく主要な水の移動経路は表面のクチクラだけになるが、クチクラコンダクタンスは気孔コンダクタンスの 1/100 程度でしかない (Nakamoto et al. 2012)。気温が低いことで大気飽差も低下し、冬の間の蒸散量は非常に少なくなる。このため、通常的环境中では、長い冬の間葉への水の輸送が止まっても、乾燥ストレスが生存に影響するような深刻なレベルまで悪化することはほとんどない (Maruta et al. 2020)。

ところが、今回、注目する風衝環境では状況が変わる。風衝地に生える個体の葉では風上側の枝をみると、葉の背軸側に発達する白い帯状のワックスが剥がれている様子や、表皮組織が壊れて褐変した傷痕がみられる (図 1C)。これらは、冬の強い風によって枝が大きく揺られて葉が他の枝葉とこすれあったり、強風で舞い上がった雪や氷の粒が葉へたたきつけられたりすることで起きたと推測されているが、こうした針葉でクチクラコンダクタンスを測定すると、無傷の針葉の数倍の値を示し、蒸散しやすくなっている (Hadley and Smith 1986; Maruta et al. 2020)。通常、針葉の表面はワックスやクチクラといった疎水性の高い物質に覆われていて内部から水が出ていきにくい構造をもつ。葉が傷ついて葉肉組織がむき出しになると防御応答としてリグニンのような疎水性の高い物質が傷口に沈着する (図 2)。しかし、クチクラコンダクタンスの増加はこうした応答があっても十分に蒸散をふせぎきれていないことを意味する。

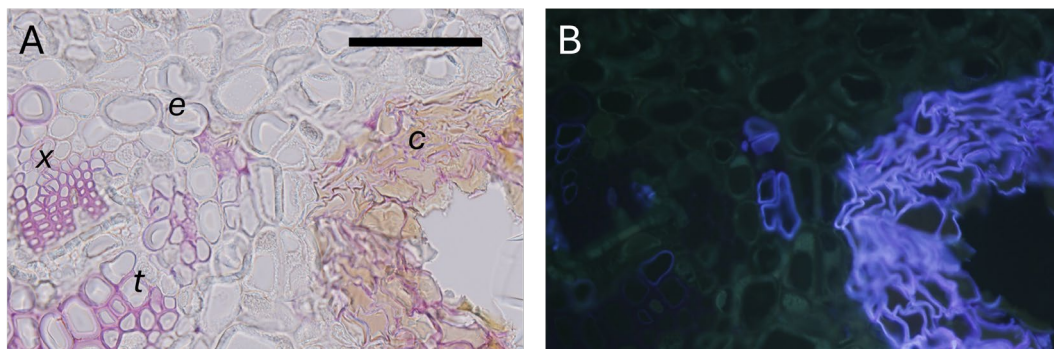


図 2. 葉の褐変箇所の横断面

A フロログルシノール塩酸溶液で染色した。赤く染まった部位 (木部の仮道管 (x) や移入組織仮道管 (t), 内皮 (e) と傷害部位 (c)) でリグニンの沈着が確認された。B 褐変した箇所や移入組織の蛍光 (UV 励起) から疎水性の物質の沈着が推測された。スケールバーは、200 μm 。

水を失いやすい傷ついた葉をもった枝では、冬の間水収支が徐々に悪化していく。そして、冬の終わりには強い乾燥ストレスに陥り、枝の水の通り道である木部を構成する仮道管を気体が塞いで水の輸送が阻害される「エンボリズム」という現象が起きることが知られている (Mayr et al. 2006)。冬の間葉への水の供給を阻んでいた土壌や枝の凍結は気温が上

れば回復する。しかし、エンボリズムによる影響は大気飽差が上昇する春以降も続く可能性があり、その場合には常緑針葉樹の成長や生存を脅かすはずである。実際に、常緑広葉樹では凍結融解によるエンボリズムが葉や枝の枯死につながり、種の分布域の決定要因になりうる強い影響を与える (Taneda and Tateno 2005)。

2-2. 植物の水輸送とエンボリズム

エンボリズムの原因となる仮道管に気体が入る経路には大きく 2 つがある (Tyree and Zimmermann 2002)。一つは乾燥ストレスが強くなったときに、既に気体で満たされた仮道管から他の仮道管に気泡が侵入するものであり (乾燥によるエンボリズム)、もう一つは、仮道管内の水が凍結したときに、それまで水に溶けていた気体が気泡として出現するものである (凍結融解によるエンボリズム)。これらを理解するには植物の水輸送に関して少し詳しい知識が必要になるため、やや長くなるが、以下、順を追って説明する。

常緑針葉樹では、植物体のほとんどの距離で維管束の仮道管 (図 3A) を通って水が移動する。針葉樹の仮道管は、直径が $5\text{--}30\text{ }\mu\text{m}$ で長さが $1\text{--}5\text{ mm}$ の細長い死んだ細胞で、中空になった内腔を水が通る (図 3B)。仮道管の細胞壁は、一次細胞壁の内側にリグニンの沈着した二次細胞壁が肥厚し、水漏れを防ぐとともに水が輸送されるときにかかる強い負の圧力に耐

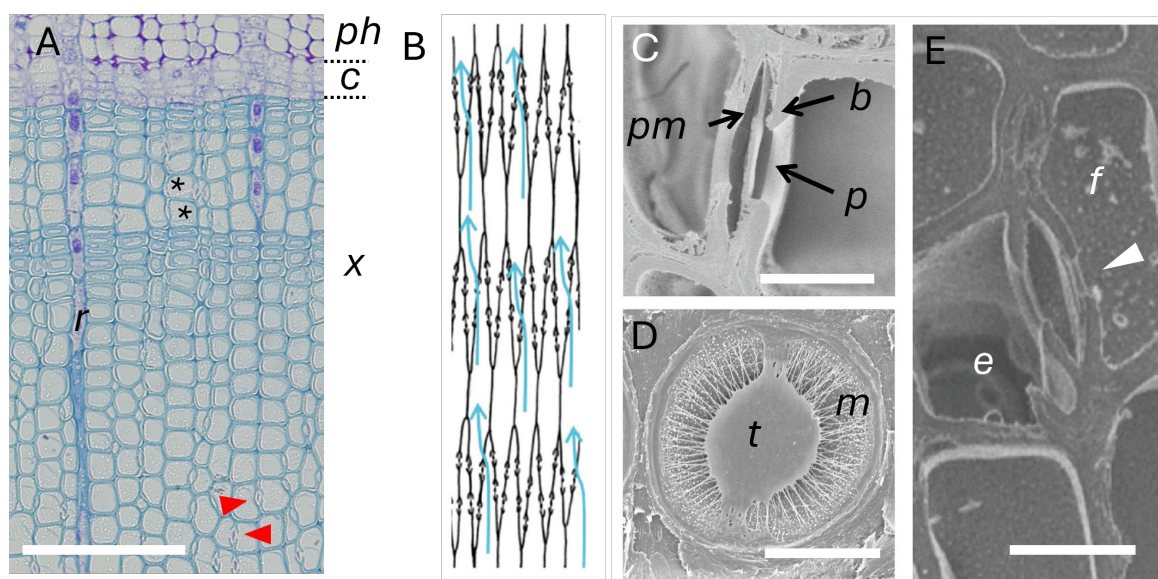


図 3. 針葉樹 (シラビソ) の枝の形態

A 枝の横断面。*ph* は師部、*c* は形成層、*x* は木部、*r* は放射組織を示し、アスタリスクは仮道管の細胞の例を、赤い矢頭は壁孔の例。B 仮道管で構成された木部での軸方向の水の動き、C 壁孔の縦断面。*b* は有縁部、*p* は壁孔口、*pm* は壁孔壁、D 壁孔壁の横断面。壁孔壁の中央部の *t* はトールス、周縁部の *m* はマルゴを示す。E エンボリズムの起きた仮道管で (*e*) と水のある仮道管 (*f*) との境界にある壁孔では、壁孔壁が変形してトールスが壁孔口を塞いでいる (矢じり)。仮道管の内腔部で軸方向に、隣接している仮道管へは壁孔を通して水が移動する。スケールバーは、A では $300\text{ }\mu\text{m}$ 、C と D では $5\text{ }\mu\text{m}$ 、E では $10\text{ }\mu\text{m}$ を示す。

えられるようになっている。仮道管の側面のところどころに二次細胞壁が発達しない壁孔と呼ばれる環状の構造があり、ここで隣の仮道管と連絡している。壁孔は、仮道管内腔側の入り口（壁孔口）に向かって狭まった有縁部という構造がある。内側には一次細胞壁由来の壁孔壁があり、隣接する2つの仮道管を隔てている（図 3C）。針葉樹の壁孔壁は特殊なかたちをしている（図 3D, Jacobsen 2021）。壁孔壁の中心部分には細胞壁の肥厚したトールスが存在し、周縁部にはセルロース微繊維の束が自転車のスポークのようにトールスをつなぐマルゴと呼ばれる構造がある。これらの構造は重要な機能を担っている。壁孔壁のマルゴにある大きな隙間を水は比較的小さな抵抗で流れることができる。仮道管に十分な大きさの気泡が侵入すると、水にかかっている負の圧力によって膨らみ仮道管の内腔を塞いでエンボリズムの状態になる。水が流れている仮道管には負の圧力がかかっているのに対して気泡が入った仮道管では圧力が水蒸気圧程度のほぼ 0 に近づいていく。この圧力差によってトールスが水の流れている仮道管側に引かれる。このときマルゴの細くて柔軟性のある細胞壁が伸びてトールスは壁孔口を塞ぎ、エンボリズムを起こした仮道管の中が気体で満たされても隣接した水の流れている仮道管へ気体が侵入することを防いでいる（図 3E）。

植物は、葉などの蒸散が起きた場所で生じる力によって根から葉へと水を引き上げて輸送する。この力は葉が水を失うほど強くなる。ここでは詳しい説明を省くが、この圧力の大きさは水ポテンシャルで表現でき、測定された値からは維管束内の水に -1 MPa 近い強い負の圧力が日常的にかかっていることが示されている（Scholander et al. 1965; Wei et al. 1999）。乾燥によるエンボリズムは乾燥ストレスで生じる過度な負の圧力が原因で起きる。乾燥ストレスが深刻になると仮道管内の水にかかる負の圧力は強くなり、壁孔口を塞ぐトールスを挟んでエンボリズムを起こした仮道管との圧力差が大きくなる。この圧力差により壁孔口を閉じている壁孔壁のトールスと壁孔の有縁部が接触している部分を気泡がすり抜けて、隣接する水で満たされた仮道管へ侵入することでエンボリズムが拡大していく（図 4A, Bouche et al. 2014）。もう一つの凍結融解によるエンボリズムは、その名の通り、仮道管内の水の凍結と融解で起きる（図 4A, Utsumi et al. 1999; Charra-Vaskou et al. 2023）。液体の水には気体が溶け込んでいるが、凍ると溶解度が著しく低下して気泡となって現れる。仮道管内の水が解けたあとにも気泡が残ると、周囲の水の負の圧力によって膨らんでエンボリズムの原因になる。水中にある気泡には、表面張力により気体を押す方向の圧力が働いていて、この力は気泡の直径が小さいほど強くなる。多くの小さな気泡はこの圧力によって水に溶け戻って消えてしまう。しかし、大きな気泡ができる直径が太い管では気泡が解け戻りにくく、そのまま残って道管内の水にかかる負の圧力によって膨らんでエンボリズムが起きる。このため、直径の太い道管をもつ種ほど、乾燥によるエンボリズムは起きないような弱い負の圧力でもエンボリズムが生じ、通水障害が観察される（Davis et al. 1999; Sevanto et al. 2012）。

野外で起きるエンボリズムによる通水障害の程度は、採取した枝で測定した水の流れやすさと、同じ枝で圧力をかけて水を流し気泡を押し出したあとの水の流れやすさとの割合から、どれだけ枝を水が流れなくなっているかという通水損失率（PLC, percent loss of conductivity）で定量できる。今回の研究では酸性フクシン水溶液の赤い液体を枝の切り口から流して染まらなかった領域の面積から推定することも行っている（図 5）。エンボリズムは本部にかかる負の圧力の大きさに依存して広がる。そこで、負の圧力と PLC との関係である脆弱性曲線と呼ばれるグラフから、エンボリズムへの抵抗性を推定する。最大の通水度の 50%を失うときの水ポテンシャルは P_{50} と呼ばれ、エンボリズムへの抵抗性の指標として使われる（Martin-StPaul et al. 2017）。

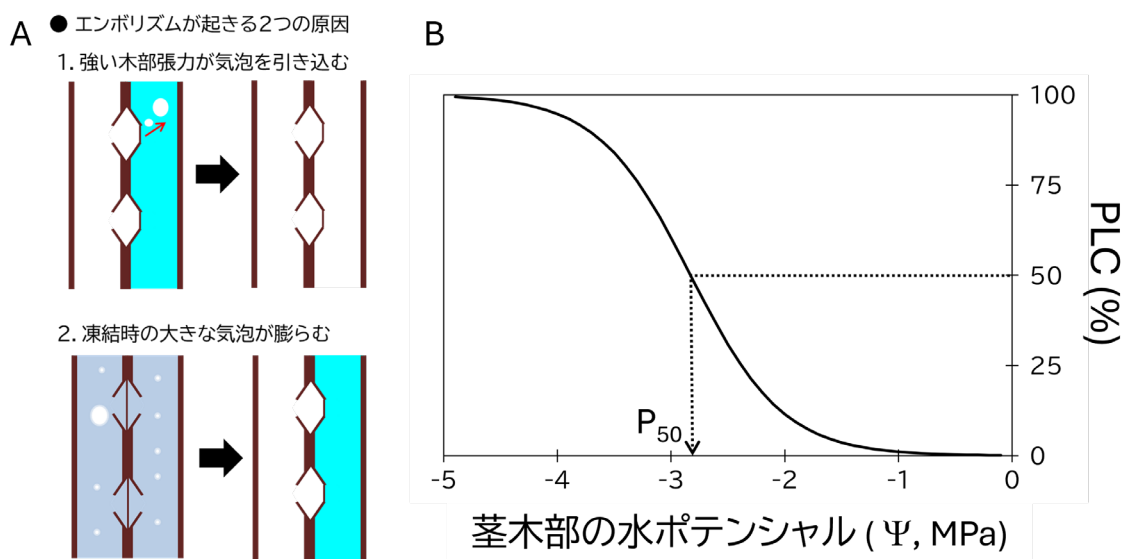


図 4. エンボリズムの発生メカニズムと脆弱性曲線

A エンボリズムの 2 つの発生メカニズム。B 木部の水ポテンシャルと PLC の関係を脆弱性曲線と呼ぶ。多くの場合、ロジスティック曲線になり、 $PLC = 100/[1 + \exp\{b/25 \cdot (\Psi - c)\}]$ の式で回帰する。式中の b と c は定数である。通水度を 50% 失う時の水ポテンシャルを P_{50} と呼び、エンボリズムへの抵抗性の指標とする。上記の式では b が P_{50} に一致する。

亜高山帯などの寒冷地の長く寒い冬の間には、枝の凍結融解と乾燥ストレスが同時に起きる。このため、針葉樹では冬季のエンボリズムによる枝の通水障害を調べた研究がおこなわれてきた（Mayr et al. 2006; Ogasa et al. 2019; Maruta et al. 2020）。針葉樹の脆弱性曲線を測定した研究からは、直径が太い仮道管ほど凍結融解によって弱い負の圧力でも深刻な通水障害が起きるが、寒冷地の針葉樹の仮道管は細くて通水障害が起こりにくいことが示されてきた（Sperry and Sullivan 1992; Pittermann and Sperry 2003）。しかし、野外環境で寒冷地の常緑針葉樹で通水障害の季節変化を測定すると、冬に 20–40% 程度の PLC が観察され、春になると早々に解消することが報告されている（Sperry et al. 1994; Sparks et al. 2001; McCulloh et al. 2011）。また、森林限界などの風衝環境では、乾燥によるエンボリズムが起きない弱い負の圧力でも

通水障害が確認され、時には 100%近い PLC が観察されている (Mayr et al. 2006)。さらに、こうした深刻な通水障害が春以降に解消されていくことも報告されている。私たちは、細い仮道管でも冬に通水障害が起き、かつそれが解消されることに興味を持った。そして、冬に通水障害と回復が、日本の樹種でも起きることを確認し、その詳細なメカニズムを明らかにすることを目指した。

3. シラビソにおける冬の通水障害と応答

3-1. シラビソにおけるエンボリズムへの抵抗性

最初に、本研究の材料であるシラビソで脆弱性曲線を調べてエンボリズムによる通水障害が起きる環境条件について考えた。乾燥によるエンボリズムでの脆弱性曲線は、現地から採取してきた枝を実験室で徐々に乾燥させて異なる程度の水ポテンシャルの枝をつくり、酸性フクシンを流し、測定時の最も新しい年輪で、染まらなかった (=通水しなかった) 面積から PLC を計算して (図 5)、水ポテンシャルとの関係をみた。さらに、様々な水ポテンシャルの枝をチャンバー内で -6°C から $+6^{\circ}\text{C}$ まで変動する気温にさらして枝の凍結融解を繰り返し経験させて、凍結融解によるエンボリズムへの脆弱性曲線をつくった (図 4, 表 1)。その結果、乾燥によるエンボリズムでは、 P_{50} が -3.0 MPa 付近を示した。これに対して、凍結融解のサイクルの回数が 10 回、15 回と増えると、 P_{50} は増加し、より高い水ポテンシャル (0 に近い) で強い通水障害を起こすようになった。亜高山帯の冬のように乾燥ストレスに加えて高頻度の凍結融解がおきる環境では、通水障害が起こりやすくなることが推測される。また、枝の齢によってもエンボリズムの広がり方は異なっていた (表 1)。1 年生、3 年生、5 年生の枝で乾燥ストレスだけをかけた場合では、枝の齢が 1 年生、3 年生、5 年生と上がるほど P_{50} は低くなり、抵抗性が高くなっていた。この傾向は凍結融解によるエンボリズムでも確認でき、先端にある若い枝ほどエンボリズムが起きやすいことがわかった。

表1 シラビソのエンボリズムへの抵抗性(P_{50})に対する凍結融解処理と枝齢の影響

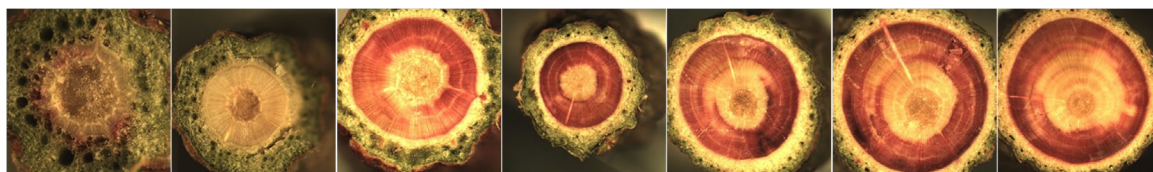
	1年生枝	3年生枝	5年生枝
乾燥のみ	-3.0 (0.19)	-3.1 (0.11)	-3.7 (0.13)
乾燥+10回の凍結融解	-2.0 (0.081)	-2.5 (0.071)	-2.7 (0.038)
乾燥+15回の凍結融解	-1.3 (0.050)		

値は、平均値 \pm 1SE を示す。

3-2. シラビソにおけるエンボリズムの発生とその回復

亜高山帯の冬にシラビソで通水障害が起きることを確かめるため、最も乾燥ストレスが深刻になる3月下旬に雨池峠を訪れて、旗型樹形を示すシラビソの3個体を選び測定を行った(Ogasa et al. 2019)。風上側、風下側を含めていろいろな方角に発達した枝が含まれるように1個体あたり20本の1年生の枝に印をつけて、そのうち半分をその場で採取して、3月下旬のPLCと水ポテンシャルを測定した。深刻な乾燥ストレスと通水障害は、冬の間に葉が傷を受けやすい風上側の枝だけで起きていると予想していたが、実際には、すべての方向で-2.5 MPaから-3.5 MPaという極めて低い水ポテンシャルが観察された。これは、気温が上がって枝の氷が解けて水が動いたことで、樹冠内の水ポテンシャルが均質化したためだと考えられる(Mayr and Charra-Vaskou 2007)。そして、枝の方角に関係なく多くの枝で完全に水が流れないことを意味するPLCが100%という値を記録した。同時に、7年生の枝も採取してそれぞれの枝齢ごとに通水障害の程度を観察すると、2年生までの若い枝ではほとんど染色液を通さないことが分かった(図5上)。このように枝を水が流れないのであれば、夏には樹冠のほとんどの若い枝が茶色く枯れてしまうはずである。

3月の風下側の枝



7月の風下側の枝

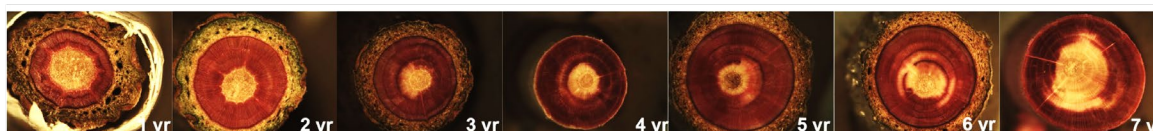


図5 旗型樹形を示すシラビソの風下側の枝の通水の様子

3月と7月に採取した7年生の枝に-5 kPaの負圧で酸性フクシン水溶液を流した後、枝を凍結乾燥させて横断面を撮影した。赤く染色されていない部分は通水障害により水が流れていなかったことを表す。上の画像が3月末、下の画像は7月に採取した枝を示した。それぞれ左から1年生、2年生、3年生、4年生、5年生、6年生、7年生の染色像を示した。

シラビソが新葉を展開する7月中旬に雨池峠を再訪して、印をつけたもう半分の枝で生死を確認し、生きている枝では個体が最も水を含んでいる夜明け前の水ポテンシャルとPLCを測定した。その結果、枯死した枝は全30本中1本だけで、生きているすべての枝で乾燥ストレスは解消し、そのほとんどでPLCが20%程度まで低下していた。7月に採取した枝でも若い枝での通水障害が解消されていた(図5下)。つまり、過去の研究で確認されたように、

シラビソでは冬に枝で深刻な通水阻害が起きるが、夏までに通水阻害を解消する生理機構をもち、葉と枝を維持して亜高山帯の風衝地での過酷な冬を生き延びていることがわかった。

3-3. 枝の通水能力と木部の水分分布の季節変化

冬の通水阻害が起きる様子とそれが解消される過程をもう少し詳しく調べるために、雨池峠を2月から約1か月おきに訪れ、個体の水分状態が最も回復している夜明け付近の水ポテンシャルと PLC の季節変化を測定した（図 6, Taneda et al. 2022）。

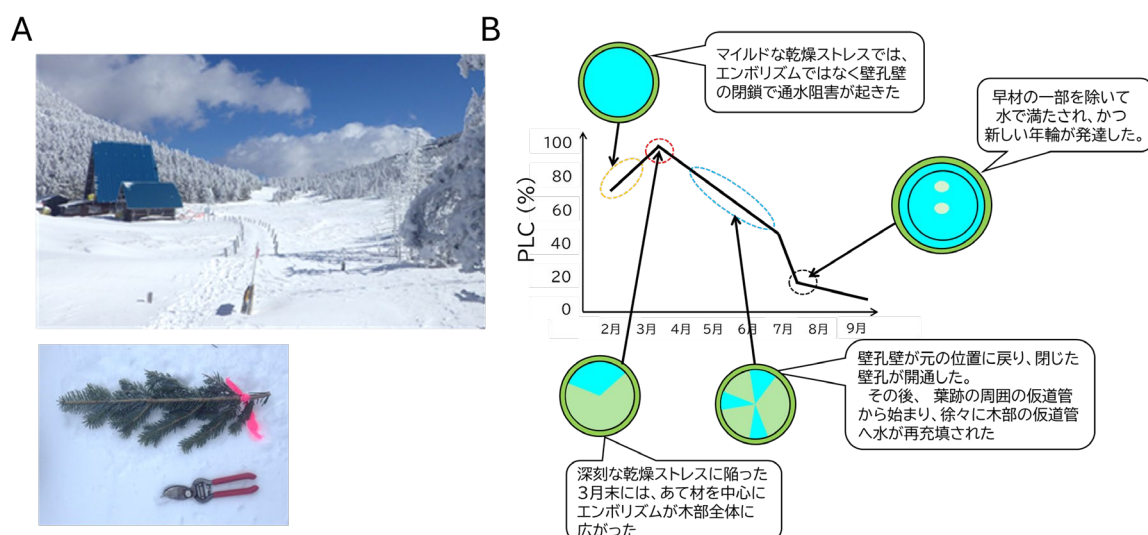


図 6. 風衝個体における水ポテンシャル, 通水度の季節変化

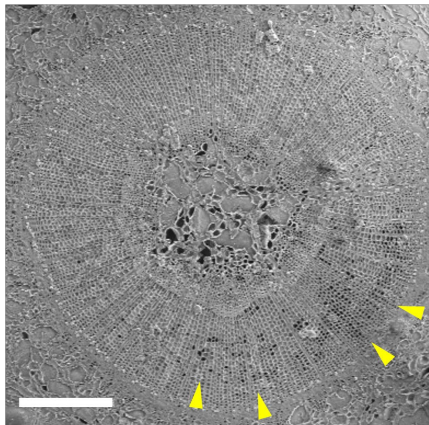
A 2月の雨池峠。採取した枝は一部の葉に傷があるものを選んだ。B PLC の季節変化。

夜明け付近の水ポテンシャルは、2月の初めから3月末までに -1.8 MPa から -2.6 MPa へ低下し、4月以降は急激に回復してその後は -0.5 MPa 以上の値をとった。一方で、PLC は約 70% だった2月初めから徐々に増加し3月末には 97% という極めて深刻な通水阻害を示す値を示した。その後、6月末までゆっくりと 60% 程度にまで低下し、7月末に一気に 20% へ低下した（図 6B）。こうした季節変化はこれまでの研究結果と一致していたが、これらの測定と同時に行った低温走査型電子顕微鏡（cryo-SEM）による枝木部の観察によって新たな通水阻害の発生と回復のメカニズムが明らかになった。

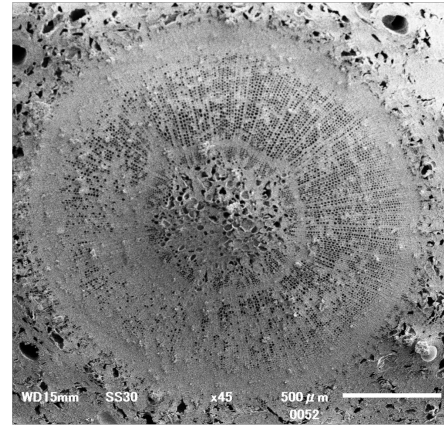
Cryo-SEM では、通常の走査型電子顕微鏡（SEM）の試料ステージを液体窒素で冷やすことで水分などを凍らせて固定した状態でサンプルの表面の様子を観察できる。今回の測定では、枝を採取したらすぐに液体窒素で凍らせることで木部内の水や空気の入った仮道管の分布、仮道管の微細構造を現地に近い状態で観察できるようにした。PLC 測定の結果から、2月や3月初めの枝では PLC の値と同じ 7 - 8 割近くの仮道管に空気が入っている状態を予想した。しかし、cryo-SEM で観察すると、水で満たされた仮道管がほとんどで、エンボリズムを起こした仮道管は背軸側に発達するあて材部分を中心にわずかに散在するのみだった（図 7A）。

ところが、3月末のほぼ完全に水を流さなくなった枝では70%近くの仮道管でエンボリズムが確認された(図7B)。水で満たされた仮道管の多くは孤立したかたちで存在しており、壁孔を介した横方向のつながりを使って水が流れる仮道管では、水輸送への寄与は小さいと考えられる。その後、5月下旬には、エンボリズムを起こした仮道管はあて材部分に残るだけで材の他の部分は水で満たされていた(図7C)。そして、7月下旬には、肥大成長が始まって新しい年輪ができると同時に、多くの枝でほとんどの仮道管が水で満たされていた(図7D)。以上は破壊的な測定ではあるが、調査期間を通して一部で葉が傷害を受けるなどの同程度の風衝環境にあった枝を採取しており、冬にエンボリズムにより空気の入った仮道管が夏に向かって再び水で満たされ、通水能力を回復させたことは確かであると考えている。

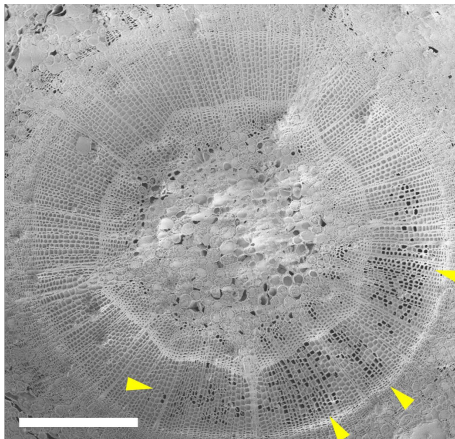
A 3月上旬



B 3月下旬



C 5月下旬



D 7月下旬

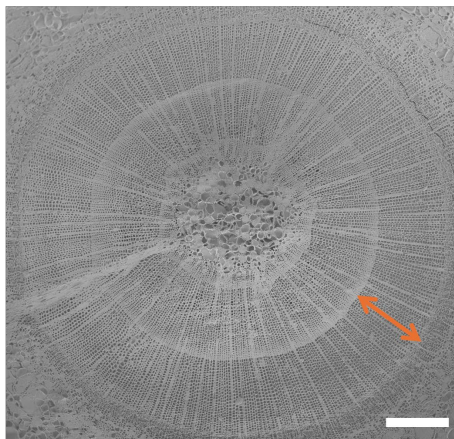
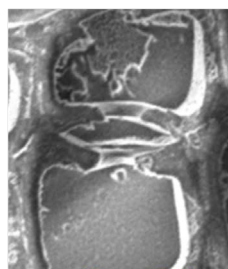
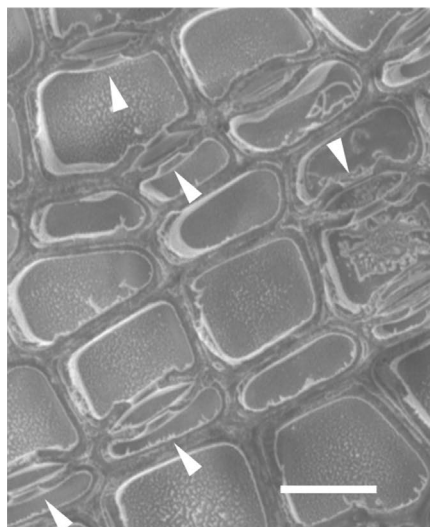


図7. シラビソの1年生枝の木部の cryo-SEM による観察像

A-D はそれぞれ、3月上旬、3月下旬、5月下旬、7月下旬に採取した枝の木部の横断面の cryo-SEM による観察像。A, C の矢じりは、散在するエンボリズムを、D の矢印は新しい年輪を示す。スケールバーは A, C, D で 300 μm , B で 500 μm を表す。

2月上旬の枝では、仮道管は水で満たされているにもかかわらず、水が流れないという矛盾した状態にあることがわかった。このときに何が起きているかを明らかにするために、cryo-

A 3月上旬



B 5月下旬

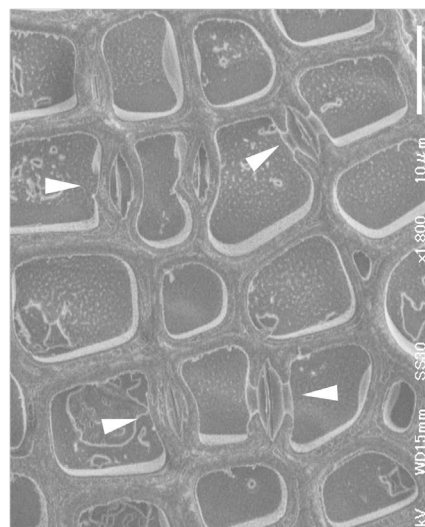


図8. シラビソの一年生枝の壁孔壁の cryo-SEM 観察像

A 3月上旬の枝で、右のイラストは壁孔壁が偏っている様子の模式図。矢じりは、閉鎖した壁孔壁を示す。2月上旬の枝でも同様の傾向を示した。B 5月下旬の枝で、多くの壁孔壁が真ん中の通常的位置に戻った（矢じり）。スケールバーは、10 μm を表す。

SEM でさらに詳しく観察すると、多くの仮道管で内腔が水で満たされているにもかかわらず壁孔壁が動いてトールスが壁孔口を塞いでいる「閉鎖状態」になっていることがわかった（図8A）。壁孔が閉鎖されていれば、仮道管と仮道管の間で水が移動できなくなり、枝全体でみても通水阻害の状態になるはずだ。さらに、4月下旬以降は閉鎖した壁孔の頻度が急激に低下することから（図8B）、壁孔の閉鎖は可逆的であり、エンボリズムを起こした仮道管の内腔が水で再充填されるよりも先に壁孔口が開き、このことが春の早い時期の PLC の低下に寄与していることが示された。エンボリズムをともしない壁孔膜の閉鎖は、亜高山帯に分布するオオシラビソ (Maruta et al. 2022) やトウヒ（種子田ら未発表）でも確認しており、トールスとマルゴのある壁孔壁をもつ仮道管では広く見られる現象であると考えられる。

壁孔が閉鎖するメカニズムを考えるために、実験的に乾燥ストレスをかけた枝に凍結融解を経験させた (Taneda et al. 2022)。実験室内で約-2 MPa

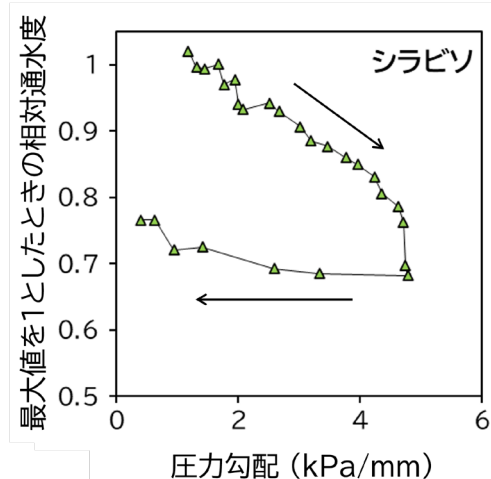


図9. シラビソの一年生枝に水を流したときの圧力と通水度の関係

矢印が示すように、1 kPa/mm から始めて 5 kPa/mm まで徐々に圧力勾配を高めていき、その後、圧力を下げ、そのときの通水度を測定した。最初の値に対する相対値で示した通水度は、顕著なヒステリシスを示した。シラビソの枝は、東京大学小石川植物園の植栽から採取した。

の乾燥ストレスのかけた枝では、隣接する2つの仮道管の内腔が水で満たされた状態で閉鎖した壁孔が10%未満にとどまるのに対して、凍結と融解を経験させると、閉鎖した壁孔が全体の50%近くまで増加していた。このことから、枝の凍結と融解が原因で仮道管の内腔が水で満たされた状態でも壁孔の閉鎖が起きることが示唆された。凍結時にどのようにして壁孔壁を変形させる圧力が生じるかは今後の課題である。私たちの仮説として、枝で凍結が広がっていく過程で、凍って体積が膨張した仮道管内の氷がまだ凍っていない水を押すことで流れができて、これが壁孔壁を動かすと考えている。シラビソの枝に正の圧力をかけて水を流すと、圧力の上昇とともに通水度が低下していき、その後、圧力を緩和しても通水度の低下は戻らなかった(図9)。この過程は、圧力が上がって流れが速くなりトールスにかかる圧力抗力が強くなってマルゴが変形してトールスが仮道管の二次細胞壁の有縁部に押し付けられるとともに壁孔口を塞ぐことを示唆している。また、有縁部と接した壁孔壁は弾性的にすぐに通常の位置に戻ることはなく、閉じた状態が維持されていた。この現象に対しては、流れで押し付けられた壁孔壁は分子間力で有縁部に付着し固定され、その後、徐々に隙間へ水分子が入り込むことで剥がれて弾性的に元の位置に戻るのではないかと想像している(Thomas and Kringstad 1971)。

3-4. エンボリズムからの回復とその限界

気体で満たされエンボリズムを起こした仮道管は、4月以降に水が再充填されて、通水能力が回復していった。仮道管の中から気泡を追い出して再び水で満たすためには、気体に正の圧力をかけて水に溶かす過程が必要である。ここでは、水で満たされた仮道管には負の圧力がかかっている状況でエンボリズムを起こした仮道管内の気体には正の圧力をかける必要がある。また、エンボリズムを起こして根からの水の輸送経路が絶たれているにもかかわらず充填する水をどこかからもってこなくてはならない。これらに対して、オーストリアのインスブルック大学の Mayr 教授らは以下のような仮説を提示している。エンボリズムを起こした仮道管の内腔へ隣接した放射組織の生きた細胞からショ糖のような低分子量の物質が輸送され、そこへ浸透的に水が移動する。水の体積が増えた分だけ気相に圧力がかかり気体が水に溶ける、というものである(Mayr et al. 2014)。エンボリズムを起こした仮道管では壁孔が閉鎖しているので(図3E)、周囲の仮道管の水にかかる負の圧力の影響を受けない。さらに、最充填のための水は、雨や雪解けで葉の表面を濡らしたもので、葉表面から吸収され葉と枝木部をつなぐ葉跡(leaf trace)という維管束(図10A)を通して水が移動する、と推察している。シラビソで調べると、細長い形状の仮道管の細胞は少なくとも1回以上は放射組織の細胞と接している。また、4月末の cryo-SEM による木部の観察像では二次木部の葉跡周辺の仮道管は水で満たされていることがわかる(図10B)。さらにシラビソの葉の表面からの水

の吸収速度は、傷のない葉では極めて小さかったが、傷のついた葉や新しい枝の葉の落ちた後の葉痕からは水が入りやすいことを確認している（種子田ら未発表）。これらの結果は、Mayr らの仮説を支持する傍証となるだろう。この仮説で提唱された再充填に関するメカニズムが正しいとすれば、その放射組織の細胞から浸透的に水を移動させるためには、エンボリズムを起こした細胞内の液相の浸透ポテンシャルを放射組織の細胞よりも下げる必要がある。強い乾燥ストレスがかかっている間は放射組織の生きている細胞も水ポテンシャルが低下しているはずであり、より多くのショ糖をエンボリズムの起きた仮道管へ輸送しないといけない。そこで、乾燥ストレスのかかった冬の間ではなく、水ポテンシャルが劇的に回復する 4 月以降でエンボリズムを起こした仮道管への水の再充填が起きることも、Mayr らの仮説と矛盾しないだろう（図 5）。

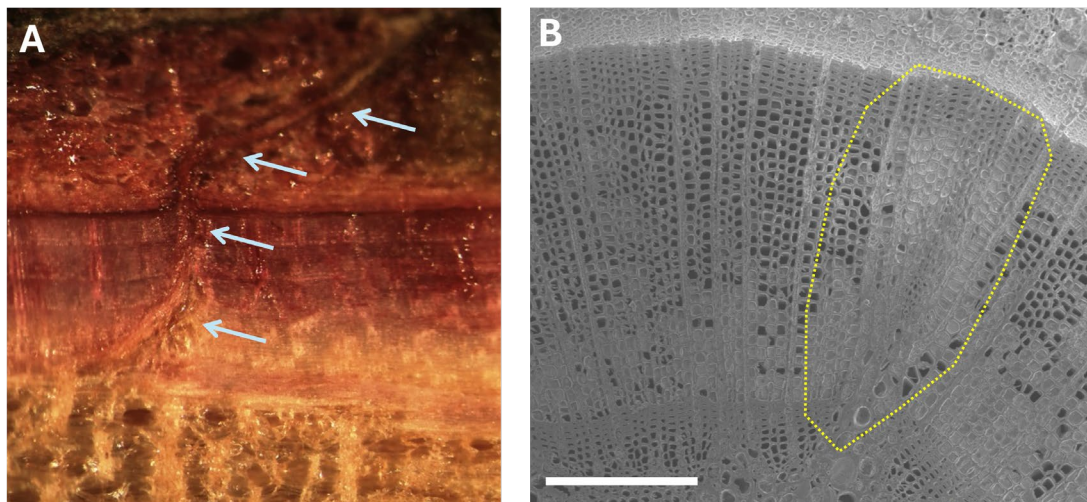


図 10. 枝木部における葉跡周辺の水分布

A オオシラビソの葉跡の走行。葉からサフラニン水溶液を吸わせた 4 年生枝の縦断面。矢印は葉跡を示し、髓付近の一次木部から二次木部と内樹皮を通して、針葉の葉脈に繋がる。B シラビソの 4 月下旬の 1 年生枝のサンプルの cryo-SEM 画像。点線で囲まれた葉跡周辺の仮道管は水で満たされている。B のスケールバーは、200 μm を示す。

こうした通水能力の回復過程を知ると、冬季の乾燥ストレスもエンボリズムも亜高山帯の常緑針葉樹の枯死要因にならないと結論付けてしまいそうだが、そうではない例を最後に示す。図 11 に示した枝は、風衝環境にある個体の枝で、3 月末に採取したものである。葉がついている 3 つの側枝で当年生シュートと途中の枝の水ポテンシャルを測定した。3 本ともに葉は深緑色をして外見では生きているように見える。しかし、2 本の小枝（図 11 の枝_1、枝_2）では -3.5 MPa 前後の値を示していたのに対して、1 本だけは -5 MPa よりも低い水ポテンシャルを示し（図 11 の枝_3）、その基部は -3.2 MPa と他の部位と同じような値を示していた。各枝の木部を cryo-SEM で観察すると、枝_3 のみ木部にあるすべての仮道管から水がなくなっており、内樹皮の細胞も水を失って縮み、空隙が目立っていた。図 5 や表 1 からわかるように、エンボリズムは先端の若い枝ほど起こりやすい。枝_3 では、冬の間に関

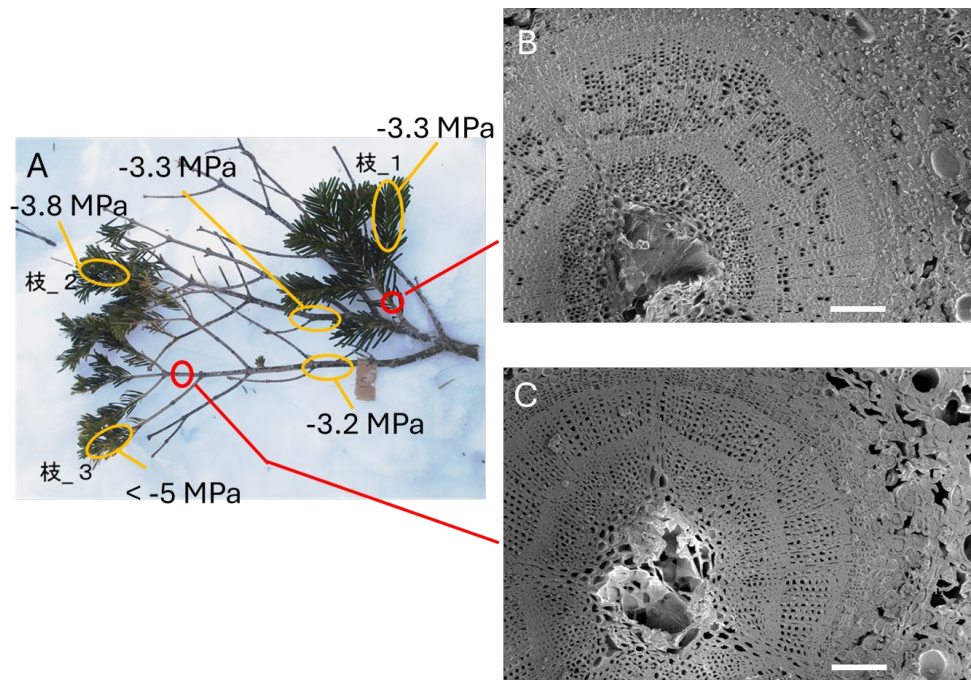


図 1 1. 枝内の水ポテンシャルの分布と枝木部の水分分布

A 3 本に分かれた枝で、葉の水ポテンシャルと枝の水ポテンシャルを測定した。B 枝_1 と枝_3 の木部の水分分布を cryo-SEM で観察した。枝_3 は、-5MPa 未満の水ポテンシャルを示し、枝木部ではほぼすべての仮道管でエンボリズムが起きていた。B と C のスケールバーは、200 μm を示す。

で葉から多くの水が失われて水ポテンシャルが下がり、まず若い枝で致命的なエンボリズムが起き、樹皮も水の供給が絶えて枯死したような状態になったと考えられる。エンボリズムにより気体で塞がれた仮道管では維管束を通した枝の先端側と基部側での水のつながりが断たれてしまう。このため葉の低い水ポテンシャルによる負の圧力は枝の基部やさらには他の側枝にまでは伝わらない（脆弱性による分断化, Tyree and Sperry 1988）。このため、この測定に使った枝を切らずに木に残しておけば、枝_3 だけが枯死して他の小枝は生き残るようなことが起きたと予想される。

4. おわりに

日本の中部山岳の亜高山帯で優占する常緑針葉樹であるシラビソでは、冬の乾燥ストレスが穏やかなうちは壁孔の閉鎖によって通水障害が起き、やがて乾燥によるエンボリズムも起きるような強い乾燥ストレスへと深刻化すると重度なエンボリズムも起きて枝をほぼ水を通らない状態になった。しかし、冬の間に起きる深刻な通水障害は、夏に向かって、まずは壁孔閉鎖が解消され、次にエンボリズムを起こした仮道管に水が充填されていき、さらに新しい木部の成長とともに枝の通水能力が回復していくことがわかった。一方で、冬の間に傷つくなどによって葉から水が蒸発しやすくなると、水ポテンシャルが回復する春を迎える前に

過度に乾燥ストレスがかかって枯死してしまう可能性が示唆された。致命的なエンボリズムの進行は枝の枯死を促進する一方で、枝の基部側との水の連絡を絶って致命的な乾燥ストレスの影響を枝レベルに限定させる効果があることも示唆された。

さらに詳しくシラビソの越冬戦略に迫るためには、今回、見てきた現象が起きる閾値となる条件を定量的に明らかにしていく必要があるだろう。例えば、亜高山帯のような場所で、壁孔の閉鎖だけでなくエンボリズムが起きる条件、仮道管への再充填が起こらなくなる条件、冬の間に致命的な乾燥ストレスが起きほどに脱水が進むような葉の損傷の程度などである。先述の Mayr らは、ドイツトウヒで 10 年にわたって冬の終わりの PLC と水ポテンシャルを測定し続け、これらが気象条件によって大きく変化し、冬の長さや積雪期間の長さが枝の通水阻害や乾燥ストレスの程度と正に関係することを明らかにしている (Mayr et al. 2020)。植物側の応答の閾値が具体的にわかっていけば、温暖化で変化する気象条件に対して、森林の応答や森林限界が生じる条件など常緑針葉樹とそれが構成する森林の応答をより正確に理解し、予測できるようになるはずだ。

謝辞

本研究の最初の 3 年間での大條弘貴氏、大塚晃弘氏の活躍がなければその後の発展はなかった。寺島一郎氏、福田健二氏、Stefan Mayr 氏、宮沢良行氏、清水文一氏には、研究を進めるうえで貴重な助言や励ましの言葉をいただいた。黒田克己氏、佐野雄三氏には、cryo-SEM や FE-SEM での観察を基礎から教えていただいた。舟山幸子氏には、測定のこまごましたところから助けていただいた。縞枯山荘、麦草ヒュッテのスタッフの方にはフィールド調査で助けていただいた。科研費 (17H03825, 21H02228)、守谷研究助成から資金的な援助をいただいた。この場を借りてお礼申し上げる。

引用文献

- Bouche PS, Larter M, Domec JC, Burtlett R, Gasson P, Jansen S, Delzon S (2014) A broad survey of hydraulic and mechanical safety in the xylem of conifers. *J Exp Bot* 65: 4419–4431. doi.org/10.1093/jxb/eru218
- Bowling DR, Logan BA, Hufkens K, Aubrecht DM, Richardson AD, Burns SP, Angregg WR, Blanken PD, Eiriksson DP (2018) Limitations to winter and spring photosynthesis of a Rocky Mountain subalpine forest. *Agri For Meteorol* 252: 241–255. doi.org/10.1016/j.agrformet.2018.01.025
- Chang CYY, Bräutigam K, Hüner NPA, Ensminger I (2021) Champions of winter survival: cold acclimation and molecular regulation of cold hardiness in evergreen conifers. *New Phytol* 229: 675–691. doi.org/10.1111/nph.16904
- Charra-Vaskou K, Lintunen A, Améglio T, Badel E, Cochard H, Mayr S, Salmon Y, Suhonen H, van Rooij M, Charrier G (2023) Xylem embolism and bubble formation during freezing suggest

- complex dynamics of pressure in *Betula pendula* stems. *J Exp Bot* 74: 5840–5853.
doi.org/10.1093/jxb/erad275
- Wei C, Tyree MT, Steudle E (1999) Direct measurement of xylem pressure in leaves of intact maize plants. A test of the cohesion-tension theory taking hydraulic architecture into consideration. *Plant Physiol* 21: 1191–1205. doi.org/10.1104/pp.121.4.1191
- Davis SD, Sperry JS, Hacke UG (1999) The relationship between xylem conduit diameter and cavitation caused by freezing. *Ame J of Bot* 86: 1367–1372. doi.org/10.2307/2656919
- Demmig-Adams B, Adams WW (2006) Photoprotection in an ecological context: The remarkable complexity of thermal energy dissipation. *New Phytol* 172: 11–21. doi.org/10.1111/j.1469-8137.2006.01835.x
- Hadley JL, Smith WK (1986) Wind effects on needles of timberline conifers: seasonal influence on mortality. *Ecology* 67: 12–19. doi.org/10.2307/1938498
- Jacobsen AL (2021) Diversity in conduit and pit structure among extant gymnosperm taxa. *Ame J Bot* 108: 559–570. doi.org/10.1002/ajb2.1641
- Martin-StPaul N, Delzon S, Cochard H (2017) Plant resistance to drought depends on timely stomatal closure. *Ecol Letters* 20: 1437–1447. <https://doi.org/10.1111/ele.12851>
- 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. *Sci Reports* 10: 6594. doi.org/10.1038/s41598-020-62651-2
- Maruta E, Yazaki K, Ogasa MY, Taneda H (2022) Pit aspiration causes an apparent loss of xylem hydraulic conductivity in a subalpine fir (*Abies mariesii* Mast.) overwintering at the alpine timberline. *Tree Physiol* 42: 1228–1238. doi.org/10.1093/treephys/tpab173
- Mayr S, Charra-Vaskou K (2007) Winter at the alpine timberline causes complex within-tree patterns of water potential and embolism in *Picea abies*. *Physiol Plant* 131: 131–139. doi.org/10.1111/j.1399-3054.2007.00942.x
- 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. [https://doi.org/10.1890/0012-9658\(2006\)87\[3175:FDICAT\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1890/0012-9658(2006)87[3175:FDICAT]2.0.CO;2)
- Mayr S, Schmid P, Beikircher B, Feng F, Badel E (2020) Die hard: timberline conifers survive annual winter embolism. *New Phytol* 226: 13–20. <https://doi.org/10.1111/nph.16304>
- Mayr S, Schmid P, Laur J, Rosner S, Charra-Vaskou K, Dämon B, Hacke UW (2014) Uptake of water via branches helps timberline conifers refill embolized xylem in late winter. *Plant Physiol* 164: 1731–1740. doi.org/10.1104/pp.114.236646
- Mayr S, Schmid P, Beikircher B (2012) Plant water relations in alpine winter. In C Lutz, ed, *Plants in Alpine Region: Cell Physiology of Adaptation and Survival Strategies*. Springer, Wien, pp 151–161.
- McCulloh KA, Johnson DM, Meinzer FC, Lachenbruch B (2011) An annual pattern of native embolism in upper branches of four tall conifer species. *Ame J Bot* 98: 1007–1015. doi:10.3732/ajb.1000503

- Nakamoto A, Ikeda T, Maruta E (2012) Needle browning and death in *Pinus pumila* in the alpine region of central Japan were not related to mechanical damage of cuticle and cuticle thickness. *Canadian J For Res* 42: 167–178. doi.org/10.1139/x11-153
- Ogasa MY, Taneda H, Ooeda H, Ohtsuka A, Maruta E, David W (2019) Repair of severe winter xylem embolism supports summer water transport and carbon gain in flagged crowns of the subalpine conifer *Abies veitchii*. *Tree Physiol* 39: 1725–1735. doi: 10.1093/treephys/tpz066
- Pittermann J, Sperry JS (2003) Tracheid diameter is the key trait determining the extent of freezing-induced embolism in conifers. *Tree Physiol* 23: 907–914. doi: 10.1093/treephys/23.13.907
- 酒井昭 (1995) 植物の分布と環境適応 熱帯から極地・砂漠へ 朝倉書店.
- Scholander PF, Hammel HT, Bradstreet ED, Hemmingsen EA (1965) Sap pressure in vascular plants. *Science* 148: 339–346. doi: 10.1126/science.148.3668.339
- Sevanto S, Michele Holbrook N, Ball MC (2012) Freeze/thaw-induced embolism: Probability of critical bubble formation depends on speed of ice formation. *Fron Plant Sci* 3: 1–12. doi.org/10.3389/fpls.2012.00107
- Sparks JP, Campbell GS, Black AR (2001) Water content, hydraulic conductivity, and ice formation in winter stems of *Pinus contorta*: A TDR case study. *Oecologia* 127: 468–475. doi.org/10.1007/s004420000587
- 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. doi.org/10.2307/1939633
- Sperry JS, Sullivan JEM (1992) Xylem embolism in response to freeze-thaw cycles and water stress in ring-porous, diffuse-porous, and conifer species. *Plant Physiol* 100:605–613. https://doi.org/10.1104/pp.100.2.605
- Taneda H, Ogasa MY, Yazaki K, Funayama-Noguchi S, Miyazawa Y, Mayr S, Maruta EI (2022) Impact of freeze–thaw-induced pit aspiration on stem water transport in the subalpine conifer *Abies veitchii*. *Plant Physiol* 190: 1687–1698. doi.org/10.1093/plphys/kiac388
- Taneda H, Tateno M (2005) Hydraulic conductivity, photosynthesis and leaf water balance in six evergreen woody species from fall to winter. *Tree Physiol* 25: 299–306. doi.org/10.1093/treephys/25.3.299
- Taneda H, Yazaki K, Hiramatsu T, Shimizu B, Sugiura D, Miyazawa Y (2021) A simple method to observe water distribution in tracheid-bearing wood of subalpine conifer. *Trees* 35: 697–707. doi.org/10.1007/s00468-020-02070-y
- Thomas RJ, Kringstad KP (1971) The role of hydrogen bonding in pit aspiration. *Holzforschung* 25: 143–149.
- Tyree MT, Sperry JS (1988) Do woody plants operate near the point of catastrophic xylem dysfunction caused by dynamic water stress? *Plant Physiol* 88: 574–580. doi.org/10.1104/pp.88.3.574
- Tyree MT, Zimmermann MH (2002) Xylem structure and the ascent of sap. (TT Timell, Ed.). Berlin: Springer Verlag.

Utsumi Y, Sano Y, Funada R, Fujikawa S, Ohtani J (1999) The progression of cavitation in earlywood vessels of *Fraxinus mandshurica* var. *japonica* during freezing and thawing. *Plant Physiol* 121: 897–904. doi.org/10.1104/pp.121.3.897