

広葉樹冬芽の凍結適応機構

バイオマス転換学講座 資源植物創成学分野
塚田洋平

【背景】

寒冷地に生育する樹木は、組織によって異なる凍結適応機構を示す。師部や形成層の細胞は細胞外凍結により、木部柔細胞は深過冷却により氷点下温度へ適応する。一方、冬芽では器官外凍結という特殊な機構によって氷点下温度に適応するものが知られている。器官外凍結とは、氷点下にさらされた冬芽が、細胞内から脱水した水を原基から離れた組織外の特異的な場所に氷として析出させる凍結様式である。この器官外凍結は多様な組織からなる冬芽全体で機能するため、冬芽の凍結挙動を明らかにするには、真冬の冬芽を細胞レベルで観察する必要がある。そこで本研究では、秋から冬にかけて広葉樹冬芽の耐凍性の向上を調べると共に、低温走査型電子顕微鏡 (Cryo-SEM) を用いて真冬の冬芽の凍結挙動を細胞レベルで観察した。

【材料と方法】

供試木: 北大構内に生育するケヤキ (*Zelkova serrata*) とヤマグワ (*Morus bombycis*) の成木から採取した当年生の枝を実験に供試した。2011年9月から2012年1月までおよそ2週間おきに耐凍性の測定のため、両樹種の枝を採取した。また、Cryo-SEMによる観察のため、12月と1月に両樹種の枝を採取した。

冬芽の耐凍性の測定: 耐凍性の測定は電解質漏出法により行った。水を加えた試験管に冬芽を1つずつ入れフリーザーに移した。-3°Cで植氷し、5°C/dayの速度で冷却した。試料は-5、-10、-15、-20、-25、-30°Cの各温度まで冷却し、融解後に冬芽からの電解質漏出量を導電率計で測定することで生存率を算出して耐凍性を評価した。

Cryo-SEMによる冬芽組織細胞の凍結挙動の観察: 試料をCryo-SEM観察用のホルダーに入れて水でマウントした後、-3°Cのフリーザー内に移した。温度平衡後、植氷し、5°C/dayの緩やかな速度で-30°Cまで冷却した。その後、液化フロンで急速凍結固定し、液体窒素中で保存した。未凍結のコントロール試料として、室温から液化フロンで急速凍結固定したものを用意した。これらの試料をCryo-SEMによって観察した。

【結果と考察】

冬芽の耐凍性の測定: ケヤキ冬芽とヤマグワ冬芽の耐凍性は秋から冬にかけて向上した。9月5日におけるケヤキ冬芽とヤマグワ冬芽では、-5°Cまでの冷却で冬芽はほとんど死滅した。両樹種とも冬芽の耐凍性は9月から12月にかけて徐々に向上した。1月5日において、ケヤキ冬芽とヤマグワ冬芽では-30°Cまでの冷却で電解質漏出量は50%に達しなかった。

Cryo-SEMによる冬芽組織細胞の凍結挙動の観察: -30°Cまで冷却したケヤキ冬芽とヤマグワ冬芽をCryo-SEMによって観察すると、両樹種ともにリン片内部の細胞の外側にのみ氷が析出した様子が観察された。また各組織細胞の凍結挙動は両樹種ともに同じであり、原基組織では脱水収縮をとまなう過冷却によって、氷を蓄積するリン片の細胞は細胞外凍結によって氷点下温度に適応している様子が観察された。両樹種の冬芽で観察された氷の析出場所は、これまで報告されていないものであった。しかし冬芽の各組織細胞の凍結挙動は、典型的な器官外凍結と多くの共通点が観察された。