

# カツラ木部由来の過冷却促進物質とその関連物質による凍霜害防止に

## 関する研究

共生基盤学専攻 バイオマス転換学講座 資源植物創成学 森若 元太

### 1. はじめに

北方に生育する樹木の木部柔細胞は深過冷却により氷点下温度に適応する。これまでの研究では、木部柔細胞の過冷却機構は木部細胞壁の構造特性によって凍結脱水や植氷といった細胞外氷晶の影響を防ぎ、細胞内の水が物理的に隔離された小さな液滴として存在することで均質核形成温度まで過冷却を維持するものと考えられてきた。しかし、木部組織を液体窒素で急速凍結融解することで細胞壁に大きな障害を与えずに細胞内成分を細胞外に漏出させると木部組織の過冷却能力が大きく低下することから、木部柔細胞の過冷却能力には細胞壁の構造特性のみでなく、細胞内成分の関与が予想された。実際に、当研究室ではドロップレットフリージングアッセイによって複数種の北方落葉広葉樹の木部組織の粗抽出画分から過冷却促進活性を検出し、さらにカツラの木部柔組織から過冷却促進活性を有するフラボノール配糖体などを同定した。本研究では、これらの過冷却促進物質の氷核形成阻害活性による凍結阻害効果の実用的な利用を考慮し、植物の凍霜害防止に関する効果の有無について検討することにした。

### 2. 方法

1) 供試物質 冬期のカツラの4~6年生の枝からエタノール抽出物を調製し、Milli-Q水に溶解したものを粗抽出画分とした。また、過冷却促進物質やその関連物質として Quercetin-3-O-glucoside (Q3Glc), タンニン酸, 茶カテキン, エピガロカテキンガレート (EGCg) を使用した。いずれの試料も終濃度が0.01または0.1% (w/v) となるようにMilli-Q水に溶解した。氷核形成物質として氷核細菌 *Erwinia ananas* を終濃度2 mg/ml で用いた。

2) 凍霜害防止効果の評価 播種後30 cm程度に生育した秋播きコムギの実生の緑葉を長さ1 cmに切り、その上に試料を7  $\mu$ l ずつ滴下したものを10枚ずつ用意し、シャーレ内にセットした。これらを-5°Cに設定した気相式フリーザー内に設置し、3時間後に凍結した試料の個数を調べた。この試行は3回繰り返した。対照区には過冷却促進活性を持たない低分子化合物である0.1%のグルコース溶液ならびにMilli-Q水に氷核細菌 *E. ananas* を加えたものを用いた。

### 3. 結果とまとめ

凍霜害が起こるときはまず植物体の表面が凍結し、次いで内部が凍結していくことが多い。そのため、過冷却促進物質を含む溶液を植物体の表面に滴下してから冷却したとき、凍結阻害活性がもたらす効果の有無について調べることにした。対照区であるMilli-Q水や0.1%グルコース溶液を用いて凍霜害防止効果を測定すると、-5°Cの設定温度でも3時間後にはほぼ全ての試料が凍結し、葉は致死傷害を被った。一方、冬のカツラ粗抽出画分を用いると、0.01, 0.1%の双方とも-5°Cですべての試料が凍結せず葉は生存していた。0.1%のQ3Glcは-5°Cで80%以上の試料が、また0.1%のタンニン酸では-5°Cで30%以下の試料が、0.1%の茶カテキンでは-5°Cで90%以上の試料が凍結せず、葉が生存していた。このことから、本実験系では過冷却促進物質による凍霜害防止効果が検出された。