

シラカンバ冬芽の越冬メカニズム

1. はじめに

遺伝資源部では、より多くの林木遺伝資源を確実に長期保存するために、樹木の凍結保存技術の開発に取り組んでいます。この技術を効率的に開発するためには、保存サンプルの生物的特性をよく理解することが極めて重要です。

本稿では、寒冷な地域に広く分布する有用な北方樹木であるシラカンバ(*Betula platyphylla* var. *japonica*)の冬芽の越冬メカニズム研究について紹介します。

2. 耐凍性

厳冬期(1~2月)に北海道でシラカンバの冬芽を採取して耐凍性を調べました(図1)。自然界で起こるような、緩やかな温度低下をプログラムフリーザーで再現して冬芽を凍結しました。そして、凍結によって傷害を受けた細胞からの電解質漏出量を測定するイオンリーケージ法によって、凍結した冬芽の生存率を調べました。その結果、-30℃以下まで凍結しても冬芽の生存率はほとんど低下しないことがわかりました(図1a)。さらに、厳冬期の冬芽の付いた枝を-30℃まで緩やかに凍結し、解凍後に水差しをすると、2週間後には多くの冬芽が展葉を

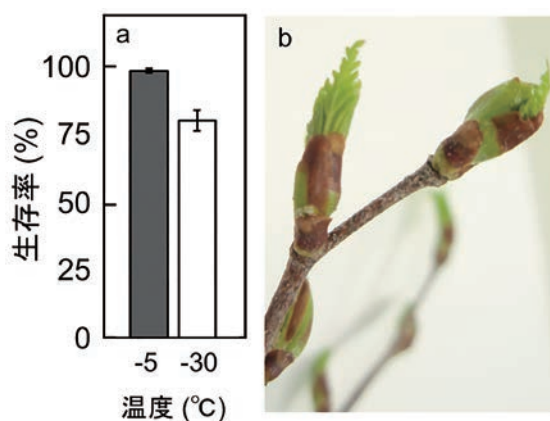


図1. シラカンバ冬芽の耐凍性

- (a) イオンリーケージ法で調べた冬芽の生存率
(b) -30℃まで凍結した冬芽の開芽

開始しました(図1b)。これらの結果から、シラカンバの冬芽は-30℃以下までの凍結に耐えるほどの非常に高い耐凍性をもつことがわかりました。

3. Cryo-SEM (クライオセム)を用いた越冬メカニズム解析

氷点下の温度では、致命的な傷害となる細胞内での氷晶形成を防止することが細胞の生存にとって最も重要です。寒冷な地域に生育する植物は、この氷晶形成を防ぐ越冬メカニズムによって冬の氷点下温度に適応しています。

シラカンバの冬芽の越冬メカニズムを明らかにするためにCryo-SEM (クライオセム)を用いました。Cryo-SEMは、凍結した生物組織を細胞レベルで観察することのできる走査型電子顕微鏡です(写真1a)。観察するサンプルを載せるステージが-160℃以下に維持されてお

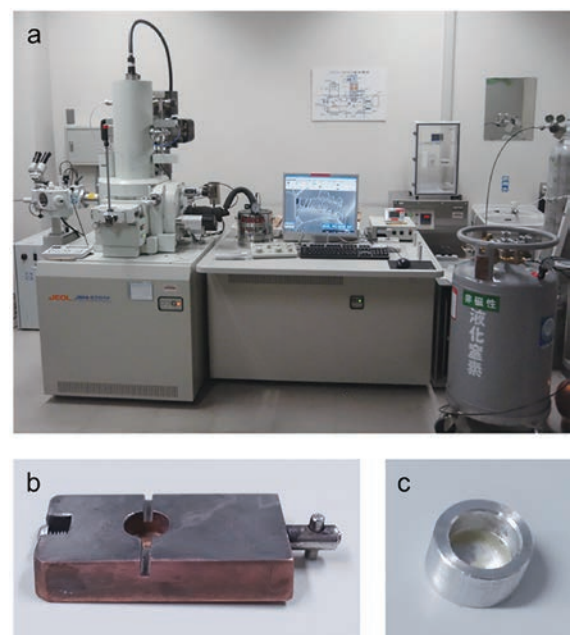


写真1. Cryo-SEM (a)と自作したサンプルマウント(b)およびホルダー (c)

冬芽をホルダーに固定して凍結処理し、マウントに設置して顕微鏡内のステージ上で観察を行う。

り、凍結状態のサンプルを観察することができます。操作に慣れるまで相当な時間を要しますが、他の顕微鏡では見ることのできない様々な生命現象を観察できるとても有用な研究ツールです。越冬メカニズムの研究だけでなく、形態観察、組織内外の水分分布の可視化、樹木では、道管や仮道管内の水の有無などを調べたりすることにも利用されています。

本研究で観察したシラカンバの冬芽のように、生物から採取したサンプルは大きさや形がそれぞれ異なり、既製の顕微鏡用治具だけでは観察することが困難です。そのため、本研究は観察用治具の自作からスタートしました。単にサンプルを固定するだけでなく、装置内での操作性などの性能が求められ、0.1mm単位でサイズを微調整して、冬芽の形態に適したサンプルマウント(写真1b)とホルダー(写真1c)を試行錯誤して完成させました。

この自作の治具を用いてCryo-SEMでシラカンバの冬芽の凍結挙動を細胞レベルで観察しました(写真2)。シラカンバの冬芽(葉芽)には、数層の芽鱗に囲まれた内部に、折りたたまれた数枚の葉原基があります(写真2a)。また、冬芽の基部に近いところには成長点があります。組織の間は非常に粘度の高い未同定の物質で満たされています。このような多様な組織からなる冬芽の構造をCryo-SEMで観察すると、凍結前には組織内部の細胞間に空隙(矢印:細胞間隙)があることがわかりました(写真2b)。また、細胞レベルでの観察では、円形や楕円形の細胞と細胞内に水分が確認されました。これに対し、-30℃まで緩やかに凍結した冬芽では、組織内部の細胞間隙に析出した氷晶(★)と著しく収縮、変形した細胞が観察されました(写真2cとd)。これらの細胞は-30℃まで緩やかに凍結される過程で完全に脱水し、収縮した細胞の内部には水分がないことがわかりました。このように、細胞が水分を内から外へ脱水し、そ

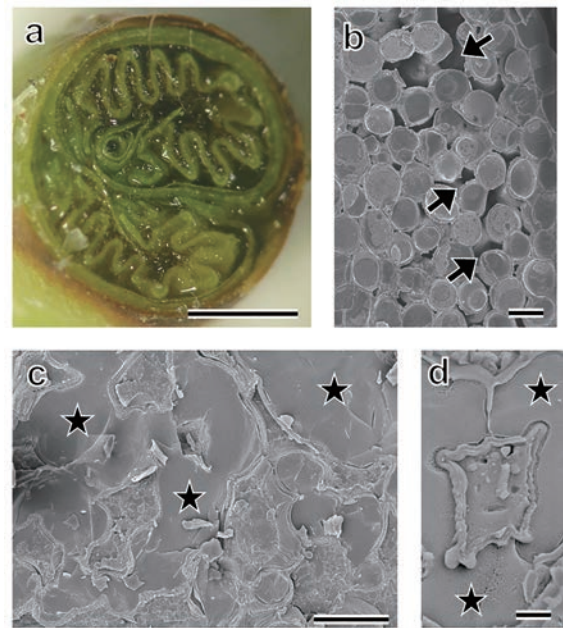


写真2. シラカンバ冬芽の凍結挙動

(a)冬芽の横断面
 (b)凍結前の葉原基 矢印、組織内部の細胞間隙
 (cとd)凍結した冬芽の葉原基(c)と細胞(d)。
 ★:析出した細胞外氷晶。
 Bar(a) = 1 mm. Bars (bとc) = 10 μm
 Bar(d) = 1 μm.

の近傍部位へ氷晶を析出させる越冬メカニズムを「細胞外凍結」と言います。すなわち、シラカンバ冬芽の細胞は、「細胞外凍結」によって冬季の水点下温度に適応し、越冬していることが明らかとなりました。

「細胞外凍結」は、多くの草本植物にも共通のメカニズムであり、樹木の常緑葉や皮層組織の細胞では「細胞外凍結」が見られます。一方、冬芽が「細胞外凍結」する樹種は珍しく、多くは「器官外凍結」と呼ばれる異なった越冬メカニズムを持ちます。“なぜ冬芽は樹種によって異なる越冬メカニズムを持つのか? ”、この大変興味深いテーマについて現在も研究中です。

ここで紹介した内容は、Endoh and Fujikawa (2021) *Tree Physiology* 41: 606-618で公表されています。

(遺伝資源部 保存評価課 遠藤 圭太)