

# 寒冷地域に生育するコケ植物の環境応答による凍結ストレス耐性機構の解明

生態環境科学専攻 生物適応機構学講座  
博士課程3年 南 杏鶴  
(指導教官 竹澤 大輔)

## 1. 背景・目的

地球上の植物は、外界のさまざまな環境変化に適応して生育している。非維管束植物のコケ植物は、土壌以外にも、ストレス条件下にさらされやすい樹幹や岩の上に生育し、環境ストレスに対して非常に高い耐性を持ったものが存在する。また、高等植物の生育が困難である高地や寒冷地にも群落を形成し、その植生はツンドラ地域や南極大陸まで及ぶ。このような低温で乾燥した地域に生育する蘚類の大群落は永久凍土の融解を防ぐ役割を持つことから、地球温暖化抑制の面からもコケ植物の高い環境適応能力を理解することは重要である。植生の分布からコケ植物が氷点下以下の凍結ストレス環境に適応していることは知られていたが、生理学的・分子レベルで解析した例は少ない。野外から採取したコケ植物の凍結耐性(耐凍性)が季節変動する。しかしながら、冬期のコケ植物の耐凍性上昇を引き起こす要因として、気温低下以外にも採取した気象条件や土壌性質、乾燥状態なども考慮する必要があり、野外のコケ植物の耐凍性を変化させる原因が調べられた例はなかった。

本研究では、培養条件やストレス処理条件の制御が可能な実験室内での「無菌培養系」を利用し、コケ植物の環境応答による耐凍性獲得機構について生理学的に評価することを目的とした。そこで、まず、モデル植物として近年脚光を浴びている蘚類ヒメツリガネゴケに注目し、コケ植物の耐凍性獲得機構について解析を進めることにした。

## 2. 結果・考察

25℃で無菌培養したヒメツリガネゴケ原系体細胞の耐凍性(細胞の50%生存率)は非常に低く、-2℃であった。耐凍性上昇を誘導する処理として、植物細胞のストレス耐性を向上させる植物ホルモンのアブシジン酸(ABA)処理の他、高浸透圧、低温処理を行い、ストレス条件下における原系体細胞の耐凍性を調べた。その結果、わずか一日のABA、高浸透圧処理によって耐凍性はそれぞれ-10℃、-6℃まで上昇した。また、低温処理による耐凍性上昇には数日間を有し、0℃7日間の処理で耐凍性は-4℃に上昇した(図1)。これらの耐凍性上昇過程では、ストレス関連性遺伝子やタンパク質の発現変化がみられ、スクロースなどの可溶性糖の蓄積を伴った細胞内浸透濃度の増加が見られた。さらに、ヒメツリガネゴケの内生ABA量を測定した結果、高浸透圧処理では内生ABA量の増加がみられたが、低温処理期間中において内生ABA量の増加はみられず一定であった。(表1)。これらのことは、ABAを介したストレス応答機構がヒメツリガネゴケの迅速な耐凍性の獲得に重要であることを示している。

ABAは乾燥ストレス耐性にも重要な働きを持つことが知られている。野外のヒメツリガネゴケは温帯地域の湿った土壌や小川の溝などに生育している。これらの場所は突然の乾燥にさらされる危険性が非常に高いことから、ヒメツリガネゴケはABAを介した迅速な生理学的変化を誘導することで、これらのストレスに対して適応している可能性が示された。

今後、このような系を野外のコケ植物の凍結ストレス応答研究に応用し、ABA応答性や可溶性糖やタンパク質のプロファイルを解析することでそれらの適応能力の評価が可能であると考えられる。このような生理学的評価が、未だ不明な点が多い寒冷地に自生するコケ植物の環境適応機構の理解につながると期待される。

図1) ストレス処理後のヒメツリガネゴケ原系体細胞の耐凍性の変化

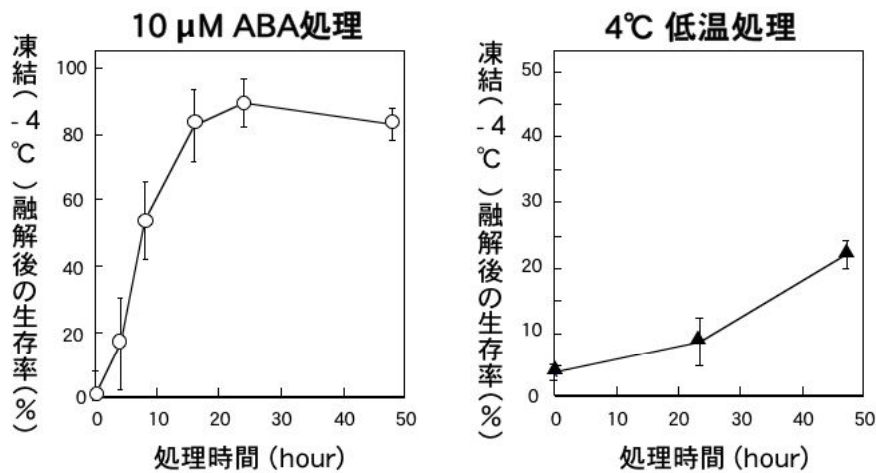


表1) 低温・マンニトール処理期間中における内生ABA含量の変化

処理	処理日数 (日)	ABA 含量 (ng / g 乾重量)	凍結 (-3°C) 後の生存率 (%)
0°C	0	2.4	12.4±2.3
	0.5	1.8	13.2±2.2
	1	1.7	19.5±7.1
	3	1.9	39.5±4.5
	7	1.9	63.7±0.5
Man 0.5 M	0.5	5.1	69.4±3.7

### 3. 発表論文 (2004-2005 年度)

• Daisuke Takezawa, Anzu Minami (2004) Calmodulin-binding proteins in bryophytes: Identification of abscisic acid-, cold-, and osmotic stress-induced genes encoding novel membrane-bound transporter-like proteins. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 317: 428-436

• Anzu Minami, Manabu Nagao, Keiichi Ikegami, Tomokazu Koshihara, Keita Arakawa, Seizo Fujikawa, Daisuke Takezawa (2005) Cold acclimation in bryophytes: Low temperature-induced freezing tolerance in *Physcomitrella patens* is associated with increase in expression levels of stress-related genes but not with increase in levels of endogenous abscisic acid. *Planta* 220: 414-423

• Manabu Nagao, Anzu Minami, Keita Arakawa, Seizo Fujikawa, Daisuke Takezawa (2005) Rapid degradation of

starch in chloroplasts and concomitant accumulation of soluble sugars associated with ABA-induced freezing tolerance in the moss *Physcomitrella patens*. *Journal of Plant Physiology* 162: 169-180

#### 4. 学会発表 (2004 - 2005 年度)

- ・南 杏鶴、長尾 学、荒川 圭太、藤川 清三、竹澤大輔  
コケ植物の耐凍性獲得過程で発現する遺伝子の同定  
第 44 回日本植物生理学会 2004 年度会 東京 (東京都立大学)  
2004 年 3 月 29 日
- ・Anzu Minami, Nagao Manabu, Keita Arakawa, Seizo Fujikawa, Daisuke Takezawa  
Characterization of ABA-induced genes in the moss *Physcomitrella patens*  
7th International Plant Cold Hardiness Seminar  
北海道 (北海道大学)  
2004 年 7 月 10 日 ~ 15 日
- ・Anzu Minami, Manabu Nagao, Keita Arakawa, Seizo Fujikawa, Daisuke Takezawa  
Abscisic acid-induced freezing tolerance in *Physcomitrella patens*.  
MOSS 2004, The 7th Annual Moss International Conference  
Germany (University of Freiburg)  
2004 年 9 月 12 ~ 15 日
- ・南 杏鶴、長尾 学、荒川圭太、藤川清三、竹澤大輔  
ヒメツリガネゴケのアブシジン酸低感受性変異体における浸透圧及び凍結耐性の低下  
第 45 回日本植物生理学会 2005 年度会 新潟 (新潟コンベンションセンター)  
2005 年 3 月 26 日