

シロイヌナズナ由来のガラクトキノール合成酵素の異所的発現が ポプラの塩ストレス応答に与える影響

野間 冬紗（筑波大学生物学類）

指導教員：小口 太一（筑波大学生命環境系）

【導入】

気候変動により植物の生育に影響を与える干ばつや塩害などの増加が懸念される。その対策として、環境ストレスに耐性を持つ植物の作出が有効であると考えられる。細胞の環境ストレスへの適応機序の一つとして、細胞毒性のない物質（適合溶質）を高濃度に生産・蓄積し、細胞機能を保護する機構が知られている。ガラクトキノールから合成されるラフィノースファミリーオリゴ糖は、適合溶質の一つであり、ガラクトキノール合成酵素（*GolS*）遺伝子を高発現させることでシロイヌナズナ、イネ、ダイズ等の複数の植物において、環境ストレス耐性の向上が報告されている。

本本植物は、成長に伴う大気中の二酸化炭素固定やカーボンニュートラルな資源として、気候変動の抑止への活用が期待される。先行研究で、樹木研究のモデル植物であるポプラにシロイヌナズナ由来のガラクトキノール合成酵素遺伝子（*AtGolS2*）を異所的に発現させた遺伝子組換えポプラが作出された¹。本組換えポプラは、干ばつストレスに対する耐性の向上が報告されている²が、塩ストレスに対する耐性評価は行われていない。そこで、本研究では、*AtGolS2* 遺伝子がポプラの塩ストレス応答に与える影響の調査を目的とし、特定網室で本組換えポプラの耐塩性試験を行った。

【植物材料】

ポプラは、交雑アスペン（*Populus tremula* × *P. tremuloides*, T89 株）を用いた。また、T89 株に *AtGolS2* 遺伝子を導入した組換え系統（*GolS2-5*、*GolS2-14*）は、先行研究¹により作出された。非組換え体を含む系統は 0.5 × MS を基本培地とする寒天培地上で 25°C、16 時間明期/8 時間暗期の条件で継代・維持している。

【方法】

継代後約 1 か月のポプラを、培土（元気くん 1 号）が入ったスリット鉢（ロング 6 号）に植え替え、培養室（25°C、16 時間明期/8 時間暗期）で約 1 か月馴化した後、特定網室に移動した。塩ストレス処理は、塩水（200、100、0 mM NaCl）の底面給水によって行った（2024.06.24–2024.07.16）。塩ストレス処理期間中、ストレス傷害の指標として QY（光合成量子収量）および SPAD（葉緑素量）を 2 日に 1 度、樹高および基部直径を 1 週間ごとに計測した。QY は FluorPen100 を、SPAD は葉緑素計 SPAD-502 を使用して測定した。また、塩ストレス処理後、上から 4 枚目の葉から直径 7 mm のリーフディスクを 3 枚切り出し、MilliQ 水 1 mL 中で震とうし、溶出した Na⁺ と K⁺ の濃度を LAQUAtwin (Na-11/K-11) を用いて計測した。

【結果】

（1）生育評価

樹高、基部直径ともに、200 mM 区では塩処理開始から 7 日目以降、100 mM 区では 11 日目以降すべての系統で成長が停止し、生育に関しては、系統間での有意差は見られなかった。

（2）QY を指標とした耐塩性評価

QY は、0 mM 区では試験期間を通じて大きな変化はなかった。200 mM 区では全系統ともに実験開始から 6 日目に低下し始め、

12 日目にはほぼ 0 となった。100 mM 区では、T89 株が塩処理開始から約 10 日目に低下し始めたのに対し、組換え 2 系統は約 14 日目から低下が始まった（図 1）。

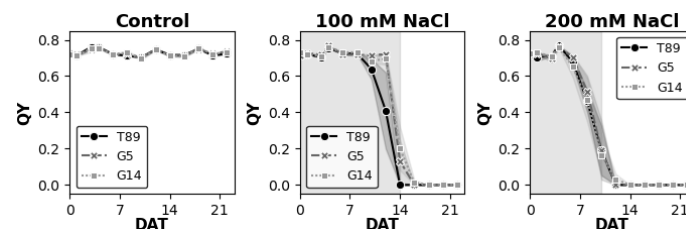


図 1 塩処理期間中の QY の変動

（3）SPAD を指標とした耐塩性評価

SPAD は、100 mM 区と 200 mM 区で QY が減少するタイミングで一過的に増加した後、減少する傾向が観察された。0 mM 区と 200 mM 区は 3 系統間の違いはなかったが、100 mM 区では T89 株と組換え 2 系統の変動に違いが見られた。

（4）[Na⁺]/[K⁺]比

100 mM 区と 200 mM 区において、[Na⁺]/[K⁺]比が T89 株に比べて組換え系統で低い傾向が観察され、特に 100 mM 区においては、T89 株と *GolS2-14* 系統の間では有意差が検出された（ $\alpha=0.05$ ）（図 2）。

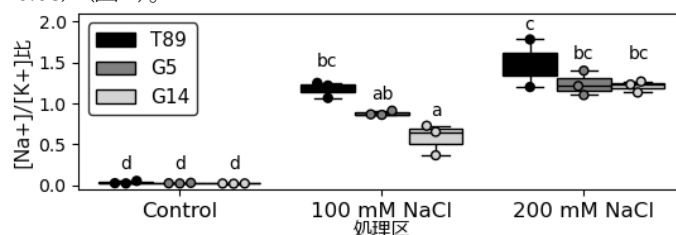


図 2 塩ストレス処理終了時の葉の [Na⁺]/[K⁺]比

【考察】

特定網室での耐塩性評価の結果、*AtGolS2* 発現組換えポプラは、100 mM NaCl 処理による塩ストレスに対して、T89 株よりも高い耐性を示した。また組換え系統では、試験終了時の [Na⁺]/[K⁺]比が、T89 株より低かったことから、*AtGolS2* の異所的発現は、塩ストレス下で細胞のイオン恒常性の維持を介して、ストレス耐性を向上したことが予想された。200 mM 区においても、[Na⁺]/[K⁺]比では、T89 株と組換え体で違いがあるものの、100 mM 区で見られた違いよりも小さかったため、ストレス障害を緩和するには至らなかったものと考えられる。今後は、塩ストレス処理下でイオン恒常性に関わる遺伝子に着目し、ストレス耐性向上の機序を明らかにしたい。

【参考文献】

¹ Molecular Breeding 37:57(2017)

² Transgenic Research 31:579-591(2022)