

AtGolS2 組換えポプラの隔離ほ場栽培による乾燥耐性及び生物多様性影響の評価

鹿倉 悠平 (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>

近年、気候変動に伴い化石資源の代替としてバイオマス資源の利用を進めていく必要があり、バイオマスの増産が求められる。一方、世界の森林面積は人為的要因等により減少傾向にあるため、対策が求められる。また、植物は様々な環境要因により生育を阻害される。乾燥は植物の生育を阻害する大きな要因の一つである。ゆえに乾燥ストレス下でも生育可能な林木の開発は、植林可能地域を拡大し、森林減少の抑制、木質バイオマス生産能の向上をもたらす、持続的開発に寄与すると考えられる。

林木は世代時間が長いこと、他殖性が高いことから遺伝子組換え技術を用いる利点が多い。本研究では、*AtGolS2* 遺伝子を導入した組換えポプラをモデルとし、組換え技術による乾燥ストレス耐性林木の開発を検証する。

AtGolS2 遺伝子がコードするガラクトキノール合成酵素はラフィノース属オリゴ糖の前駆体となるガラクトキノールの合成を触媒する酵素である。*AtGolS2* を過剰発現させることでラフィノース属オリゴ糖の蓄積が増加し、ストレス耐性が向上することが期待される。先行研究にて、ポプラ T89 系統を宿主とした *AtGolS2* 過剰発現組換え系統 (系統 5 及び 14) が作出され、*in vitro* 及び閉鎖系栽培室で乾燥ストレス耐性が向上することが報告されている。しかしながら、閉鎖系環境や温室では、植栽 2 年目以降のポプラの評価は難しく、これまで実施されていなかった。

本研究では、野外環境における *AtGolS2* 組換えポプラの乾燥耐性及び生物多様性影響の評価を目的とし、本学隔離ほ場にて第一種使用される組換えポプラを用い、以下の試験を行った。

<方法>

AtGolS2 過剰発現組換え体 2 系統 (系統 5 及び 14) 及び対照非組換え体 (T89) は、2018 年 11 月に遺伝子実験センター隔離ほ場 II に植栽された。2020 年 5 月～9 月の間、乾燥耐性を評価するために以下の 3 つの処理区を設けた。降雨のみで栽培を行う無処理区、ポッドをシートで覆い、外部からの雨水の浸入を遮断することを目的とした灌水制限区、人為的に灌水を行い土壌の水分状態を高く保つことを目的とした灌水区である。処理期間中、土壌水分計を用いて各土壌の乾燥状態を定期的に計測した。植物体の乾燥傷害の評価指標として葉の光合成量子収率 (QY)、葉の電解質漏出量 (EL) 等の測定を行った。これらを各処理区、系統間で比較、解析することにより組換え体の乾燥耐性を評価した。また、隔離ほ場栽培での導入遺伝子 (*AtGolS2*) の発現量を qRT-PCR 法で確認した。

生物多様性影響の評価として、周囲の土壌微生物及び植物の生育に与える潜在的影響を調査した。土壌微生物への影響は、株元付近の土壌の微生物数を平板培養法によって測定し評価した。また、植物への影響は、株元付近のアレロパシー活性を後作試験により調べ評価した。

<結果>

土壌水分量は、灌水区では 6 月下旬以降 40～50% を推移したのに対し、灌水制限区では 6 月下旬から 8 月初旬は 40% 前後、以降は 30% 以下に低下した。無処理区は 6 月下旬から 8 月初旬は灌水区と同程度、以降は灌水制限区と同程度となった。

QY 測定値と測定時の土壌水分量の 2 変量のクラスター分析を行った結果、植物へのストレス強度を土壌水分量により 3 段階に区分できることが分かった。このうち、最も強いストレス区分では、上部の葉の QY 値は、組換え体 2 系統で対照非組換え体より有意に高く、傷害の緩和が認められた (図)。一方、他 2 区分では、QY 値の分布に差は認められない (図)。qRT-PCR の結果、*AtGolS2* 発現量は、系統 14 が系統 5 よりもやや高い傾向があるが有意な違いではなかった。

また、生物多様性影響評価では、平板培養法による株元の土壌微生物数は、細菌、放線菌、糸状菌いずれも、組換え体と非組換え体の間に有意差は見られなかった。後作試験による株元の土壌のアレロパシー活性も、組換え体と非組換え体の間に有意差は見られなかった。

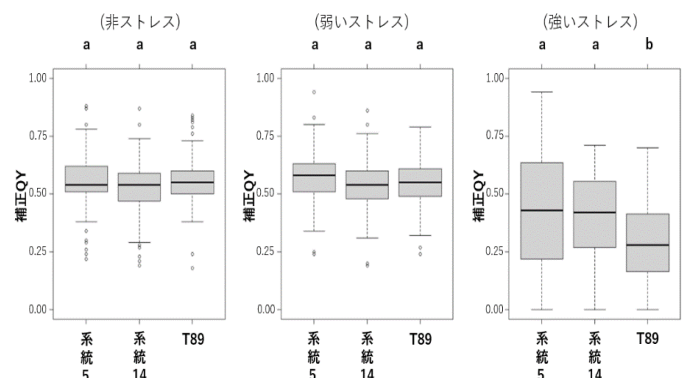


図 2. ストレス区分ごとの上部の葉の QY 値 (グラフ上部のアルファベットは Tukey-HSD 検定による有意差を示す、有意水準 5%)

<考察>

本研究結果から、隔離ほ場において *AtGolS2* 組換えポプラの乾燥耐性が非組換え体に比べて有意に高いことが示唆された。また、組換え体 2 系統では、下部の葉での QY 値において系統 14 が系統 5 よりやや高い傾向があった。*AtGolS2* 発現量もまた、系統 14 において高い傾向にあり、組換え体の乾燥耐性が *AtGolS2* の発現によることが示唆される。

生物多様性影響評価については、本研究により土壌微生物及び土壌のアレロパシー活性について、本組換え体と非組換え体の間に潜在的な違いがないことが示された。先行研究において葉のアレロパシー活性についても、本組換え体と非組換え体の間に潜在的な違いがないことが示されており、本組換えポプラの栽培の生物多様性影響は非組換えポプラと同等であると結論される。

以上、本研究は *AtGolS2* 組換えポプラの利用価値、野外栽培における環境への安全性を支持すると考えられる。