

ガラクトノール合成酵素遺伝子を導入した ハイブリッドアスペン実生の糖組成および凍結抵抗性の評価

バイオマス転換学講座 資源植物創成学分野
板羽貴史

【背景と目的】北方に生育する樹木の細胞内では、低温馴化の過程で様々な生理的・形態的变化が生じ、その結果として凍結抵抗性が上昇することが知られている。しかし、同じ個体内でも組織によって凍結適応機構は異なり、樹皮や形成層では細胞外凍結能が、また木部では深過冷却能が向上することによって樹木全体の凍結抵抗性が上昇する。低温馴化時の重要な生理的变化の一つに可溶性糖の蓄積があり、なかでも冬季にのみ蓄積するラフィノースは凍結抵抗性の上昇と相関性が高いことが知られている。そこで、ラフィノースを人為的に蓄積させ木部や樹皮の凍結抵抗性への影響を検証することを目的として、当研究室では、以前にラフィノース合成に不可欠なニホンカラマツ由来のガラクトノール合成酵素(LkGolS)の遺伝子を導入したハイブリッドアスピンの形質転換体を作成したが、その機能評価は不十分であった。そこで本研究では、形質転換体を用いて *LkGolS* 遺伝子の過剰発現による糖組成への影響や、細胞外凍結や深過冷却の能力に対するラフィノースの影響を検証することにした。

【材料と方法】供試木には節間培養で増殖させた野生型および形質転換ハイブリッドアスペン(*Populus tremula* × *P. alba*)を用い、23°C、16時間日長の条件下で生育させた。低温処理は4°C(昼)/2°C(夜)の8時間日長の条件で行った。Reverse Transcription(RT)-PCRにより、野生株と形質転換株の緑葉・木部・樹皮における導入遺伝子の発現を調べた。糖組成の分析は、採取した各組織から80%エタノールを用いて可溶性糖を抽出し、HPLC分析によって行った。凍結抵抗性の測定は電解質漏出法にて行った。

【結果と考察】RT-PCRで *LkGolS* 遺伝子発現を検証した結果、ハイブリッドアスペン実生の緑葉・木部・樹皮すべてで *LkGolS* 遺伝子由来するバンドの増幅がみられた。野生株(WT)では同バンドが見られなかったため、形質転換株(TG)のいずれの組織でも *LkGolS* 遺伝子が発現されていることが確認できた。糖分析の結果、未馴化・低温馴化両条件とも、WTよりTGでラフィノースやスタキオースが多く蓄積されていた。各組織の凍結抵抗性を測定した結果、緑葉では未馴化条件でWTとTGにあまり差は見られなかったが、低温馴化条件ではTGの凍結抵抗性が上昇しWTより少し高くなった。木部では未馴化・低温馴化両条件とも、WTとTGの凍結抵抗性に顕著な差は見られなかった。樹皮では未馴化・低温馴化両条件ともにWTよりTGの方が凍結抵抗性が高かった。以上の測定結果より、細胞外凍結によって氷点下温度に適應する緑葉および樹皮の細胞では、ラフィノースの蓄積量の増加と凍結抵抗性の上昇が見られたが、深過冷却によって適應する木部の細胞では、ラフィノースの蓄積と凍結抵抗性との間に明確な相関関係は見られなかった。