

## 樹勢により落葉時期が異なるブナの葉の光合成と遺伝子発現

### 光合成と老化誘導に関連する遺伝子に着目して

林登志郎・山田幸靖・斎藤秀之・澁谷正人（北大院農）

#### はじめに

遺伝子の発現情報を利用した樹木のストレス診断技術の開発研究の一環として、ブナの葉の衰退と老化の誘導を指標する遺伝子の探索を行っている。これらの指標性遺伝子の候補として、エチレンの前駆体であるアミノシクロプロパンカルボン酸の合成酵素(ACS)をコードする遺伝子が挙げられる。エチレンは葉の衰退や老化を誘導する植物ホルモンである。エチレンの生合成は ACS が律速していることが知られている。しかし、野外に生育するブナでは ACS 遺伝子の発現の役割について明らかにされていない。葉の衰退や老化の時期が異なる葉において、ACS をコードする遺伝子の発現時期が、衰退や老化時期と一致すれば、ACS 遺伝子の発現がエチレン生合成の律速因子として機能し、葉の衰退と老化を誘導する役割を果たしていることが示唆される。

本研究では、樹勢により葉の老化・落葉時期が異なるブナ(*Fagus crenata*)の葉を対象に、光合成速度と ACS 遺伝子の mRNA 量の季節変化を比べ、葉の衰退・老化における ACS 遺伝子の機能と役割を検討して、衰退・老化の指標性遺伝子としての適正を明らかにする。

#### 材料と方法

**供試木：** 供試木は北海道黒松内町に生育するブナである。落葉時期が異なる個体から試料葉を採取するため、ブナ二次林に生育する健全な成木を 3 個体、街路樹で樹勢の衰えている個体から 3 個体を選び、解析に用いた。健全木の 3 個体の樹高は約 20m、街路樹の 3 個体の樹高は約 5m である。以後、健全と思われる個体から順に、A, B, C 個体、街路樹を D, E, F 個体とする。供試葉の採取位置は、ともに陽光が直接あたる部分であった。供試葉の採取時期は 6 月上旬から 10 月下旬であった。

**光合成速度：** 光合成の測定は切り枝法で採取から 2 日以内に行った。測定装置は開放型光合成蒸散測定装置(LI-6400, Li-Cor 社)であった。光飽和光合成速度の測定条件は、光強度が  $1500 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 、葉温は現地の平均気温にあわせて時期により 15~25℃、葉面飽差は約 1.0 kPa、ガス交換チェンバー内  $\text{CO}_2$  濃度は 360 ppm であった。

**mRNA の定量：** 全 RNA の抽出は改良 CTAB 法によった。目的遺伝子の mRNA の定量は real-time-PCR 法(Light Cycler, Roche 社)によった。プライマーの設計は、ヨーロッパブナで単離された ACS をコードする遺伝子(ACS2)の塩基配列に基づいた。

#### 結果と考察

**光合成速度の季節変化と落葉時期：** 6 月の光飽和光合成速度は個体間で顕著な差が認められなかった。最初に葉が落葉した個体は街路樹の F 個体で、8 月上~中旬であった。次に光飽和光合成速度の低下を示した個体は E 個体と D 個体の順であった。A~C 個体の光飽和光合成速度の低下時期は最も遅く、9 月中旬から 10 月上旬であった。

**mRNA 量の季節変化：** ACS2 の mRNA 量の増加開始時期は、F 個体が最も早く 7 月中旬であった。続いて E 個体(9 月上旬)、C と D 個体(9 月下旬)、A と B 個体(10 月下旬)の順序であった。

**まとめ：** ACS2 遺伝子の発現量が増大した時期は光合成が低下している時期とほぼ一致した。また、光合成の低下時期が早い個体ほど ACS2 遺伝子の発現量の増大した時期が早かった。これらの結果から、ACS2 遺伝子の発現は、エチレンの生成量を増加させ、葉の衰退と老化を誘導していると考えられた。ACS2 遺伝子は葉の衰退と老化の誘導を指標する遺伝子として有効であると考えられた。

(連絡先：林登志郎 toshi37@for.agr.hokudai.ac.jp)