

変動環境を想定した作物の個葉光合成に関する生理遺伝学的研究
迫田和馬 (NTT 宇宙環境エネルギー研究所)

光合成は、作物の物質生産の根幹をなす生理的プロセスであり、その生長や収量と密接に関連する。個葉光合成は多収化を目指す作物育種において重要形質として位置づけられ、自然変異の活用や遺伝子工学の利用に基づく分子育種の改良が試みられてきた。圃場環境では、光強度や温度、CO₂濃度などの環境要因は短期～中長期的に絶えず変動しており、光合成への作用を介して作物の物質生産性に大きな影響を及ぼす。よって、圃場で観察される変動環境を想定した光合成改良戦略の構築が重要課題といえる。被推薦者は、ダイズなどのC₃植物の個葉光合成について、最大速度の自然変異とその要因、変動光環境に対する応答の制御、さらに高CO₂濃度下における窒素利用効率に及ぼすRubisco特性の影響を明らかにし、作物の個葉光合成改良の可能性を示した。その成果は以下のように要約される。

1. 圃場環境におけるダイズの最大光合成速度に関する自然変異とそれに寄与する遺伝的要因の解明

ダイズ個葉の最大光合成速度に関する自然変異を明らかにするため、アジア各地より収集された多様な品種・系統を人工気象室内で栽培し、強光下における葉温と光合成速度を評価した。対象としたダイズ集団内には幅広い自然変異が存在することを明らかにし、顕著に高い最大光合成速度を示す2品種を選抜した。次いで、選抜品種および多収品種を含む4～11のダイズ品種を3カ年にわたり圃場栽培し、生育期間を通して最大光合成速度を評価した。それにより、Jijori, Jin dou 17 および Peking の3品種は、圃場栽培されたダイズ品種群の中で高い最大光合成速度を示し、その高い光合成速度にはそれぞれ異なる生理的要因が寄与していることが示唆された(業績1, 2)。

ダイズの優れた光合成能力に寄与する遺伝的要因を明らかにするため、最大光合成速度について明瞭な差異を示す品種 Peking と品種エンレイに着目した。エンレイの遺伝背景に Peking の染色体断片が導入された染色体断片置換系統群、および両親の交雑集団より選抜した光合成関連遺伝子座の残余ヘテロ系統の自殖後代を3カ年にわたり圃場栽培し、最大光合成速度の品種間差異に関わる遺伝子座を解析した。第13番および第20番染色体上に最大光合成速度に効果を示す量的形質遺伝子座(QTL; *qLPC13* および *qLPC20*)を同定した(業績3, 参考資料1)。

2. 変動光環境における光合成の制御メカニズムの理解とその遺伝子工学的改良の可能性

圃場環境において、作物群落内の光強度は、雲や風、自己・相互遮蔽などによって1秒未満・数分の時間スケールで変動している。暗黒や弱光から強光への急な変化に対し、光合成速度は緩慢に増加しながら定常状態へと到達する応答(光合成誘導反応)を示す。誘導過程にある光合成速度の律速要因を明らかにするため、気孔コンダクタンス(g_s)、葉肉コンダクタンス(g_m)、カルボキシル化反応の最大速度($V_{c,max}$)の誘導過程における挙動を解析した。シロイヌナズナとタバコにおいて、暗黒から強光への変化に対していずれのパラメータも誘導反応を示し、 $V_{c,max}$ 、 g_m 、 g_s の順に速い反応速度を示すことを明らかにした。さらに、C₃光合成の生化学モデルに基づき各パラメータの光合成への律速程度を比較し、誘導過程においては g_s の律速程度が最も大きく、 g_m のそれが最も小さいことを示した。以上より、 g_s の誘導反応の迅速化が、変動光環境における光合成、ひいては物質生産性の向上につながる可能性が示された(業績4, 参考資料2)。

定常状態にある g_s は、単位葉面積当たりの気孔数(気孔密度)に大きく依存することが知られる。気孔密度が誘導過程にある g_s や光合成速度に与える影響を明らかにするため、気孔密度の異なるシロイヌナズナ形質転換系統を用いた解析を行った。気孔形成の制御因子であるSTOMAGENの過剰発現系統(ST-OX)およびEpidermal Patterning Factor (EPF1)のノックアウト系統(*epf1*)の気孔密度は、野生型系統(WT)と比較してそれぞれ約3.7倍、1.5倍程度に増加した。暗黒から強光への変化において、ST-OXおよび*epf1*はWTより速い光合成誘導反応を示し、これは誘導前の g_s の初期値が高いことに起因すると考えられた。また、定常光環境におけるバイオマスはWTと形質転換系統間で差異がなかったのに対し、5分間隔の弱光と強光を12時間繰り返す変動光環境ではWTより*epf1*のバイオマスが有意に高かった(業績5)。以上より、気孔密度の適度な増加が変動光環境における植物の光合成および物質生産性の向上に寄与する可能性が示された。また、最大光合成速度および光合成誘導反応の主要な支配要因であることがわかった気孔密度を迅速評価するために、機械学習による画像認識にもとづく気孔密度測定法を新たに開発した(業績7)。

圃場環境では、光強度に加えて様々な環境要因が同時に変動し、光合成に作用することも考慮する必要がある。例えば、土壌中の水分条件は降雨パターンに従って乾燥と湿潤の間で変動する。これら水分条件の変動が変動光環境における光合成に与える作用を明らかにするため、イネとダイズを対象に乾燥条件及びその後の湿潤条件における光合成誘導反応を解析した。乾燥ストレス条件下では、主に g_s の低下により変動光条件下での光合成誘導反応が鈍化し、積算のCO₂固定量が大幅に減少することを明らかにした。また、最大光合成速度が低下しない乾燥ストレス強度であっても、光合成誘導反応は鈍化することが示された。一方、乾燥後の湿潤条件下では、光合成誘導反応や積算CO₂固定量は乾燥ストレス前と同程度まで回復した。以上より、不良環境においては、光合成誘導反応の遅速が作物の物質生産の制限要因となる可能性を示した(業績7)。

3. 高CO₂環境における光合成および窒素利用効率の遺伝子工学的改良の可能性

産業革命期以降、大気中CO₂濃度は増加の一途をたどり、今世紀末には490～1260 ppmに達すると予測される。イネなどのC₃植物が持つRubiscoは、低CO₂環境に適した低活性型の酵素特性(CO₂との親和性が高く、触媒回転速度が低い)を有する。高CO₂環境では、C₃植物の光合成速度は主にRuBP再生反応に律速されると考えられ、低活性型Rubiscoの過剰蓄積による窒素利用効率の低下が懸念される。高CO₂環境における光合成と窒素利用効率の改良を目的として、Rubiscoの含量及び酵素特性を遺伝子工学的に改変したイネを用いた解析を行った。C₄植物ソルガム由来のRubisco small subunit (RbcS)を高発現し、さらにイネ由来RbcSの発現を抑制した二重形質転換イネ(iSS系統)は、野生型イネ(WT系統)と比較して触媒速度が高く、CO₂に対する親和性が低い高活性型Rubiscoを有することが示された。また、WT系統と比較してiSS系統の葉面積当たりのRubiscoと窒素の含量は有意に低かった。比較的低濃度のCO₂条件(14 Pa及び40 Pa)においては、WT系統と比較してiSS系統の最大光合成速度は有意に低く、

単位窒素含量あたりの光合成速度も低かった。一方、高 CO₂ 条件 (88 Pa) においては、iSS 系統の最大光合成速度は WT 系統と同程度となり、単位窒素含量あたりの光合成速度は有意に高かった。以上より、イネにおいて Rubisco を高活性型に改変し、さらにその含量を減少させることで、高 CO₂ 環境における光合成ならびに窒素利用効率の改良が実現する可能性を示した (業績 8)。

本業績は、C₃ 植物の個葉光合成について、サイズの最大光合成速度の自然変異とその生理的・遺伝的要因を提示するとともに、イネやシロイヌナズナを用いた解析から、変動光環境においては気孔密度が、高 CO₂ 環境では Rubisco に関する特性が光合成改良の重要ターゲットとなることを明らかにした。これらは、C₄ 作物に比べてその生産効率が光合成能によって律速されている C₃ 作物の個葉光合成を、順遺伝学的手法と逆遺伝学的な遺伝子工学的手法に基づいて改良する分子育種戦略を提示するものと言える。今後さらなる発展が期待されることから、日本作物学会研究奨励賞に値する業績と評価される。

研究業績

1. Sakoda, K., Tanaka, Y., Long, S.P. and Shiraiwa, T. 2016. Genetic and physiological diversity in the leaf photosynthetic capacity of soybean. *Crop Sci.* 56: 2731-2741.
2. Sakoda, K., Suzuki, S., Fukayama, H., Tanaka, Y. and Shiraiwa T. 2019. Activation state of Rubisco decreases with the nitrogen accumulation during the reproductive stage in soybean [*Glycine max* (L.) Merr.]. *Photosynthetica* 57: 231-236.
3. Sakoda, K., Kaga, A., Tanaka, Y., Suzuki, S., Fujii, K., Ishimoto, M. and Shiraiwa, T. 2019. Two novel quantitative trait loci affecting the variation in leaf photosynthetic capacity among soybeans. *Plant Sci.* 291: 110300.
4. Sakoda, K., Yamori, W., Groszmann, M. and Evans, J.R. 2020. Stomatal, mesophyll conductance, and biochemical limitations to photosynthesis during induction. *Plant Physiol.* 185: 146-160.
5. Sakoda, K., Yamori, W., Shimada, T., Sugano, S.S., Hara-Nishimura, I. and Tanaka Y. 2020. Higher stomatal density improves photosynthetic induction and biomass production in *Arabidopsis* under fluctuating light. *Front. Plant Sci.* 11: 589603.
6. Sakoda, K., Watanabe, T., Sukemura, S., Kobayashi, S., Nagasaki, Y., Tanaka, Y. and Shiraiwa, T. 2019. Genetic diversity in stomatal density among soybeans elucidated using high-throughput technique based on an algorithm for object detection. *Sci. Rep.* 9: 7610.
7. Sakoda, K., Taniyoshi, K., Yamori, W. and Tanaka, Y. 2021. Drought stress reduces crop carbon gain due to delayed photosynthetic induction under fluctuating light conditions. *Physiol Plant.* e13603.
8. Sakoda, K., Yamamoto, A., Ishikawa, C., Taniguchi, Y., Matsumura, H. and Fukayama, H. 2020. Effects of introduction of sorghum RbcS with rice RbcS knockdown by RNAi on photosynthetic activity and dry weight in rice. *Plant Prod. Sci.* 24: 346-353.

参考資料

1. Sakoda, K., Tanaka, Y. and Yamori, W. 2021. Genetic diversity in leaf photosynthesis among soybeans under the field environment, *Handbook of Plant and Crop Physiology*, 4th edition, 1026-1040.
2. Sakoda, K., Adachi, S., Yamori, W. and Tanaka, Y. 2022. Towards improved dynamic photosynthesis in C₃ crops by utilizing natural genetic variation, *J. Exp. Bot.* 73: 3109-3121