

氏名（本籍）	Huu Duc HUYNH（ベトナム）
学位の種類	博士（生物学）
学位記番号	博 甲 第 6751 号
学位授与年月日	平成26年 2月28日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
審査研究科	生命環境科学研究科
学位論文題目：Assessments on Drought Tolerance in Transgenic Potato Lines under Confined Conditions(閉鎖系での遺伝子組換えジャガイモ系統の乾燥耐性の評価)	
主査	筑波大学教授 Ph.D. 渡邊和男
副査	筑波大学教授 理学博士 繁森英幸
副査	筑波大学准教授 博士(理学) 小野道之
副査	筑波大学教授 農学博士 佐藤誠吾

論文の要旨

植物は多様な環境ストレスに対して応答する。一方、環境変動等による急激な乾燥等の過酷な条件ではこれに迅速に対応できずに、成長停止、生産力の低下や枯死などが起こる。作物では、乾燥についての耐性の付与は重要な育種課題となっており、ジャガイモ等イモ類では、水ストレスの栽培管理制御と耐性の育種導入は大きな課題である。当該研究では、ジャガイモを使用し、外来の転写因子の遺伝子組換え導入し、この外来遺伝子の発現によって乾燥耐性が高まるかどうかの検証をした。

アラビドプシス由来の転写因子である*DREB1A*は、塩や高温等の多様なストレスに迅速に応答し、耐性を強化することがイネ等の作物での先行研究で知られている。ジャガイモでは、塩及び低温ストレスに対して、耐性を誘導する事が、所属研究室の先行研究でわかっている。また、これら環境ストレスすべてに対して*DREB1A*を導入した同一の組換え体系統が、複数の耐性を持つ様に反応できるわけではないことがわかっている。それぞれの環境ストレスについても、遺伝子型ごとに異なる表現型を示す事もわかっており、高度の耐性を示す系統がある一方、遺伝子発現が認められても、ほとんど耐性を誘導しない系統も存在する。よって、予測だけではなく、実質の評価によって異なる環境ストレスへの応答を*DREB1A*導入の多数の組換え体で評価する必要がある。また、発現制御が耐性につながるような機構の明確化も必要である。乾燥耐性については、1) *DREB1A*について、遺伝子組換え体の乾燥耐性評価の実例がジャガイモではない。2) 乾燥耐性の評価自体が困難であり、再現性を担保できる手法が必要である。この2点が課題として存在する。これら2点をクリアできれば、*DREB1A*を用いたジャガイモ乾燥耐性系統の作出と、発現機構の明確化及び品種育成への基盤構築に大きく資する。

乾燥耐性の評価は、試験管内条件で多数の個体／系統及び系統群を反復評価できるようなシステムを考慮した。乾燥ストレスを誘導する媒体としてPEG(ポリエチレングリコール)、高塩濃度、

多糖類等を用いて検討した。そのなかで、毒性のないPEGを用いた液体培地評価法が一番安定していると判定された。これは水分ストレスそのものを評価していると考えられる。また、閉鎖系栽培室で、土壌にてポット栽培している植物体にPEGを添加する方法も考案した。これは、根での水分吸収力と関係していると考えられる。これら2法を用いて、以後*DREB1A*導入の多数の組換え体系統の評価を行った。浸透圧は、 -1.8 MPaとして、葉の萎枯状態をスコア化し、植物全体の萎枯状態と総合的な評価を反復試験にて行った。

試験管内の耐性評価の反復試験では、分散分析の結果、非組換え体に比べ有意に乾燥耐性が高いと考えられる7系統の組換え体が選抜された。ポット栽培の反復試験と分散分析の結果では、やはり7系統について耐性が高い事がわかった。一方、それぞれの試験方法に共通して耐性の高いものは3系統であった。

次に、これら耐性の高い系統での*DREB1A*の発現量を定量評価し、耐性表現型との相関を検討した。試験管内評価では、 $r=0.82$ ($p<0.01$) と高い相関が認められたが、ポット栽培では有意な相関は認められなかった ($r=0.45$)。 *DREB1A*の発現は急激な水分ストレスそのものへの耐性誘導に強く関わるが、根での水吸収抑制には、*DREB1A*のみが反応系の律速要因ではないことが示唆された。

本研究で用いられた異なる乾燥耐性についての表現型の評価アプローチにより、適正かつ再現性の高い耐性評価法が確立された。また、乾燥耐性についても、*DREB1A*は耐性誘導を支援し、水ストレスについて、制御することができることがわかった。一方、根からの水野吸収については別途の機構が存在し、単純に*DREB1A*のみで対応するものではないことが示唆された。

審 査 の 要 旨

乾燥耐性評価は、きめ細やかな表現型の評価が要求される。これら課題を再現性の担保と分散分析の適正な応用によって、評価法を確率させたことは高く評価できる。また、*DREB1A*についての水ストレスには、急速に対応できるが、根での水分吸収には別途異なる機構が存在する事が明確化され、乾燥耐性の付与のストラテジーに資する情報が得られた。総じて、植物生理学の基礎となる観察を重視した丁寧な実験結果であり、質の高い研究成果であると考えられる。

平成26年1月6日、学位論文審査委員会において、審査委員全員出席のもとに論文の審査及び最終試験を行い、本論文について著者に説明を求め、関連事項について質疑応答を行った。その結果、審査委員全員によって合格と判定された。

よって、著者は博士（生物工学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものとして認める。