

新しい高等植物耐塩機構

劣性遺伝子支配

Novel mechanisms of
salt-tolerance of higher plants :
Regulation by recessive genes

小林裕和、小林京子

静岡県立大学大学院生活健康科学研究科

はじめに

人類の生存に必要な食糧および酸素(O₂)は、太陽エネルギーを利用して光合成を営む植物に主として由来している。地球上陸地に残された不毛砂漠乾燥地帯は、地上の1/3までも占め、さらに毎年約6万km²(四国と九州を合わせた面積に相当)ずつ拡大している。砂漠乾燥地帯の緑化を図るためには灌漑が必要であるが、水の確保が可能な場合も、水分蒸発による土壤中塩分の地表層集積の問題が生じる可能性が高い。また、海岸乾燥地域においては希釈海水灌漑が考えられる。

一方、水は光合成における電子供与体であると同時に、蒸散による光合成器官の冷却に必要であり、乾燥地に生育する植物において、水の有効利用は、その生存にかかわる重要課題である。植物が利用できる水分の枯渇という点において、塩ストレスは乾燥ストレスと類似する。塩および乾燥に対する耐性を植物に付与

するために、耐塩機構の解明は急務である。

植物の耐塩機構としては、浸透圧調節物質の蓄積、高塩土壌からの能動的な水分吸収、体内中NaClの積極的除去、および塩耐性光合成能力の獲得などが考えられる。また、植物のストレス応答遺伝子発現に興味を持たれている。これらのうち、浸透圧調節物質の蓄積あるいは乾燥誘導性遺伝子の発現を人為的に制御することにより、植物への環境ストレス耐性の付与の成功例がある。しかしながら、環境ストレスに対する耐性および応答機構の全貌は明らかにされていない。筆者らは、遺伝学的解析に適したシロイヌナズナを用い、光合成独立栄養生長が耐塩性になった突然変異体を選抜することを通して、その未知の耐塩機構を解明したいと考えた。

1. シロイヌナズナ突然変異体

野生体は完全に枯死する条件下(200~250 mM NaCl、海水の約半分あるいは生理的食塩水の2倍弱の塩濃度)で生存できることを指標に、変異原処理したシロイヌナズナ M₂世代実生から、耐塩性突然変異体を選抜した。合計14万8300個体から2系統の耐塩性突然変異体 *pst1* (*photoautotrophic salt tolerance 1*)¹⁾ および *pst2* を得た。*pst1* の遺伝子座は第三染色体の上部、遺伝子マーカー nga 162 から 6.7±3.28 cM にマッピングされた。ほかの環境ストレス関連の遺伝子は、これらの遺伝子座の近傍には存在しないことから、*pst1* および *pst2* は新規の環境ストレス耐性遺伝子であると考えられた。

pst 突然変異体系統について、その耐塩機構を解析した。*pst* 植物体の耐塩性は、実生の時期から植物体が成熟するまで維持されることを確認した。塩ストレスがない条件下で生育させた *pst1* の形態的な表現型において、野生体と有意な差異は見いだされなかった。

筆者紹介：こばやし・ひろかず(KOBAYASHI, Hirokazu) 静岡県立大学大学院生活健康科学研究科(Graduate School of Nutritional and Environmental Sciences, University of Shizuoka) 助教授 1982年名古屋大学大学院農学研究科博士課程修了 農学博士 専門：植物分子遺伝学 連絡先：〒422-8526 静岡市谷田52-1 E-mail hirokazu@smail.u-shizuoka-ken.ac.jp(勤務先)

こばやし・きょうこ(KOBAYASHI, Kyoko) 静岡県立大学大学院生活健康科学研究科(Graduate School of Nutritional and Environmental Sciences, University of Shizuoka) 客員共同研究員 1988年名古屋大学大学院農学研究科博士課程修了 農学博士 専門：植物分子遺伝学 連絡先：同上 E-mail kyoko@smail.u-shizuoka-ken.ac.jp(勤務先)

キーワード：環境ストレス耐性、シロイヌナズナ、劣性遺伝子、突然変異体、SOD

プロリンは適合溶質として、多くの植物において浸透圧調節の役割を担っていると考えられている。シロイヌナズナにおいても、塩ストレスへの適応において重要な役割を果たしている結果が報告されている。これらの知見から、*pst1* 突然変異体の耐塩性は、細胞質基質内のプロリンの蓄積が増加しているのではないかと予想された。しかしながら、*pst1* において塩で誘導されるプロリンの量は、野生体の蓄積より低かった。このことから、*pst1* における耐塩性は、むしろほかの耐性機構の獲得により、プロリンの蓄積が抑制されていると考えられた。

2. 新規耐塩機構

研究の過程において、光照度が野生体の塩ストレスに影響を与えることを見いだした。生育に適した照度(約 $30 \mu\text{mol m}^{-2} \text{sec}^{-1}$)は、塩ストレス下では、野生体の生育を大きく阻害し、照度の上昇はさらに塩ストレスを強めた。この結果は、塩ストレスによって光化学系から活性酸素が生じている可能性を示唆している。パラコートとして知られている農薬メチルピオローゲンは、光がある条件下でスーパーオキシドラジカルを発生させ、植物に障害を与える。*pst1* は、メチルピオローゲン存在下での生存率において野生体に比べて約10倍耐性であった(図1)。電解質漏出を指標とした場合、メチルピオローゲン処理による傷害の程度は、*pst1* では低く抑えられていた。塩ストレスに曝した *pst1* 植物体においては、葉緑体における活性酸素消去系として知られているスーパーオキシドジスムターゼ(SOD)およびアスコルビン酸ペルオキシダーゼの活性が顕著に増大していた。このことから、*pst1* は活性酸素に耐性になった結果、塩ストレスに対しても耐性になっていると考えられた¹⁾。

塩ストレスを受けた植物細胞中には大量の Na^+ が蓄積し、 K^+ の取込み能力が低下した。*pst2* において、塩ストレスに曝した時の Na^+ と K^+ の蓄積を測定した。その結果、 K^+/Na^+ 比はコントロールに比べて、*pst2* の方が2倍近く高いことが観察され、高い K^+/Na^+ 比が、*pst2* の耐塩性に寄与していることが示唆された。

A 野生系統



B 耐塩性突然変異系統 *pst1*



図1 シロイヌナズナ耐塩性突然変異体 *pst1* の活性酸素発生に対する耐性¹⁾ 発芽後7日間、通常の照射下 ($29 \mu\text{mol m}^{-2} \text{sec}^{-1}$) において生育させたシロイヌナズナ実生は、さらに7日間、同一光条件下において、 $30 \mu\text{M}$ メチルピオローゲンを含む濾紙上に放置した。

おわりに

本研究において、活性酸素除去および K^+/Na^+ 比の維持という新規の耐塩機構の介在が示され、また、大変興味深いことに、これらは劣性遺伝子によって支配されていた。別途遂行してきたラン藻への強光耐性の付与の研究において、強光耐性はD1タンパク質の電子伝達効率の低下に伴うチラコイド膜のレドックスの変化が、葉緑体機能構築シグナルを発信状態に保ち、壊れた分を作ることにより見かけ上強光耐性であるというメカニズムを提唱できた²⁾。一方、シロイヌナズナ耐塩性突然変異体 *pst1* は、野生体においては十分発現していない活性酸素除去系の複数の酵素の活性が高くなっており、高等植物の環境ストレス応答遺伝子発現シグナル伝達機構の新しい経路の介在を示唆する。共に、環境ストレスによる細胞内レドックスの変動を感知し、ストレスに適応しようとする光合成生物の獲得形質をかいま見ることができる。ここで紹介した *pst* 耐塩性突然変異系統においては、耐塩性誘導機構を抑制する因子に変異が起こったものと考えられる。このことは、植物を含む生物の起源が海にあることと無縁とは思われない。

○参考文献

- 1) Tsugane, K., Kobayashi, K., Niwa, Y., Ohba, Y., Wada, K. and Kobayashi, H.: *Plant Cell*, 11, 1195~1206 (1999)
- 2) Narusaka, Y., Narusaka, M., Satoh, K. and Kobayashi, H.: *J. Biol. Chem.*, 274, 23270~23275 (1999)