植物の塩ストレス障害は どのようにして起こるのか

光障害と抗酸化能力の秘密

現在、土壌の表層に塩が蓄積した塩類集積土壌は世界の全陸地面積の7%に相当し、さらにこの面積は乾燥地や半乾燥地域を中心に年々増加しつつある⁽¹⁾。塩類集積土壌で最も頻繁に見られる塩は、塩化ナトリウムである。一般に、大部分の作物は、塩にさらされると体内に取り込まれた塩により、細胞の水ポテンシャルと無機イオンのホメオスタシスが変化して塩ストレス障害が発現し、生育が阻害され、最終的に枯死する。したがって塩類集積土壌を農業に利用することは難しく、このような土壌の増加は近年の世界における総人口の増加と相まって、食糧不足を招く深刻な問題である。そこで塩類集積土壌の有効利用のために、作物における塩ストレスの影響を軽減し、耐塩性を増大させる試みがなされている。そのためには、作物においてどのように塩ストレス障害が発現するのかを理解する必要がある。

過剰な塩を含む土壌で植物を生育させると、吸収された塩によって浸透圧ストレスや塩イオンの過剰ストレスが引き起こされる。さらに塩によって光合成活性が低下すると、葉緑体は光エネルギーの過剰状態になり、酸化ストレスが引き起こされて植物細胞に障害

を及ぼす可能性がある。このように、一言で塩ストレスといっても、実際には複数のストレスが複合したものであるため、植物における塩ストレス障害発現機構は複雑であり、その原因も未だ明らかであるとはいえない。では、植物では塩ストレスによって一体どのような障害が引き起こされるのだろうか。またその主な原因は何なのであるか。本稿では、筆者らが行ってきた、最も重要な作物の一つであるイネを用いた研究を中心に話を進める。

イネ葉の細胞微細構造に及ぼす塩ストレスの影響

長期間塩にさらされた植物では、地上部、特に葉が塩のシンク器官になっており、根に比べて生長の阻害や障害が著しいことが知られている。そこで、葉における塩ストレス障害を、透過型電子顕微鏡を用いて超微形態学的に調べた。イネ（品種‘日本晴’）を1週間水耕栽培した後、水耕液にNaClを加えてさらに栽培した。その後、NaClを与えたイネ葉の内部組織を経時的に観察すると、特に細胞小器官の膜系において変形や消失などの障害が現われるが、その中でも葉緑体にお

ける障害が顕著であった⁽²⁾。

葉緑体は包膜で包まれており、内側には基質（ストロマ）に埋まった層状のチラコイドが存在するが、NaCl処理によるチラコイドの膨潤が他の細胞小器官の障害に先立って見られたことから、葉緑体が特に塩に対して感受性の高い細胞小器官であることがわかった。このような葉緑体チラコイドの膨潤は、塩ストレスの他にオゾンや紫外線、過剰な重金属など様々なストレスによって引き起こされる。

またチラコイドの膨潤は、光酸化ストレスによる典型的な障害であるといわれている。葉緑体は活性酸素を生成する主要な小器官であり、環境ストレスにより葉緑体内の光エネルギーが過剰な状態になると、主に光化学系Iの電子受容体により発生する O_2^- および H_2O_2 が過剰に蓄積して生体成分を酸化し、障害が引き起こされる。これらの活性酸素種は低温、乾燥および重金属などの環境ストレスによって生成されることが知られている。そこで塩ストレスにより引き起こされた葉緑体チラコイドの破壊が、塩の過剰な蓄積によるイオン毒性によるものなのか、塩により生成された活性酸素種などによって、二次的に引き起こされた光酸

図 1 ■ 明暗条件において NaCl を処理したイネの葉における葉肉細胞葉緑体の微細構造

A: 明条件対照区, B: 明条件 NaCl 処理区, C: 暗条件 NaCl 処理区. A と B の NaCl 処理区では, C の暗条件における NaCl 処理区の葉においてより高濃度の Na または Cl が含まれている. バーは 1 μm , G, St はそれぞれグラナチラコイド, ストロマトラコイド. 矢印は膨潤したチラコイドを示す.

化によるものなのかを調べた。

しかし、塩ストレス障害における光酸化の関与を証明するのは容易なことではない。なぜならば、障害発現における光依存性を調べるために、植物に明暗両条件下で塩処理を行なった場合、暗条件下では蒸散が抑制され、塩の取り込み量が明条件に比べ低下してしまうためである。そこで、水耕栽培したイネに明条件および光酸化の起こらない暗条件において、様々な濃度の NaCl を処理した。24 時間後、明暗両条件間で同程度の Na または Cl を含む葉組織を用いて、葉緑体の微細構造とクロロフィル含量の変化について比較検討した。

その結果、明条件では塩処理によってクロロフィル含量の減少やチラコイドの膨潤などの葉緑体の障害が起こったのに対し(図 1-A, B), 暗条件では明条件と同程度、あるいはより高濃度の Na または Cl が含まれている場合でも、塩ストレスによるクロロフィル含量の減少や葉緑体の破壊は起こらなかった(図 1-C)。さらに明条件での塩ストレスによる葉緑体の障害は、アスコルビン酸などの活性酸素除去剤を処理することによって緩和された⁽⁹⁾。したがって、塩ストレスによる葉緑体チラコイドの膨潤やクロロフィル含量の減少など葉緑体における障害は、葉組織内の塩の過剰な蓄積が直接的な原因となって起こるものではなく、過剰な塩により光に依存して生成された過剰

●塩の分布と障害発現

しかし前述のように、植物を細胞レベルで見た場合、塩ストレス障害は過剰な塩が直接的な原因になるのではなく、塩によって引き起こされた光酸化

次に、葉においても同様に、Naの分布と塩ストレス障害発現部位を調べた。イネの葉は葉身と葉鞘から成り立っており、葉身の先端部が最も組織の齢が進んでおり、葉身の基部や葉鞘に向かって齢が若くなる。1枚の葉において、Naは葉鞘の中央部に最も多く蓄積し、葉身の先端部に向かって減少した。一方、クロロフィル含量の低下は葉身先端部および中央部で顕著であったが、葉鞘および葉身基部では著しい減少は見られなかった。また、内部構造を透過型電子顕微鏡で観察すると、葉身の先端部では塩処理によって葉緑体チラコイドが膨潤し、細胞膜や

これらの結果より、葉内では塩の最も多く蓄積した部位と塩ストレス障害の発現部位は一致せず、塩ストレス障害は必ずしも塩が多く蓄積した部位から発現するのではないことが示された。さらに、塩ストレスによる障害は、下位葉や葉身先端部などといった植物体内の齢の進んだ部位から発現することから、植物体における塩ストレス障害の発現とその程度には、組織における塩の過剰な蓄積だけでなく、組織の加齢も関与していることが示唆された。

●塩ストレス障害と齢の関係

植物における塩ストレス障害発現には、組織内の塩含量、光酸化、また齢が関係していることがわかった。では一体これらはどのように関係しあって障害の発現程度が決定されているのだろうか。2カ月間土耕で生育させたイネの新葉(第9葉)および古葉(第6葉)から葉切片を切り出し、MES (2-morpholino ethanesulfonic acid) 緩衝液に様々な濃度の NaCl を加えた溶液上で24時間放置し、葉組織内の Na 含量を測定した。また、塩ストレ

図2 ■ NaClを処理した植物における葉組織のNa濃度と障害発現の関係

ス障害の指標としてクロロフィル含量の測定および組織内微細構造の透過型電子顕微鏡観察を行なった。

その結果、いずれの齢の葉組織においても、クロロフィル含量は組織内Na含量の増加に伴って減少したが、組織内でのNa含量が同程度である場合、クロロフィル含量の減少は新葉よりも古葉においてより著しかった⁽⁶⁾。また内部構造の電子顕微鏡観察の結果から、古葉、新葉のいずれにおいても葉緑体チラコイドの膨潤など、根からNaClを取り込ませた場合と同様の微細構造変化が現われたが、組織内のNa含量が同程度である場合、新葉に比べ古葉ではより顕著な微細構造変化が観察された。さらに、NaClと同時に加齢を抑制する植物ホルモンのサイトカイニンを処理すると、特に古葉において塩ストレス障害が緩和された。

これらの結果より、植物組織における塩ストレス耐性は、加齢に伴って減

少することが示された。植物細胞での塩ストレス障害発現は光酸化が主な原因であるということ併せて考えると、光酸化に対する抗酸化能力が加齢に伴って減少するため、古い葉組織では若い葉組織に比べて酸化ストレスへの感受性が高く、古葉ではより少ない塩によって光障害などの塩ストレス障害が発現すると考えられた。さらに、サイトカイニンによる塩ストレス障害の緩和については、サイトカイニン自体には抗酸化能力はないので、この物質は抗酸化能力の維持などにより加齢に伴う酸化ストレスへの感受性の増加を防ぎ、塩による光障害を緩和したと考えられる。

*

以上、植物における塩ストレス障害は、従来考えられてきた組織内の過剰な塩の蓄積による直接的な障害ではなく、塩により引き起こされる活性酸素種による光障害であるという新しい知見を得ることができた。またそのことによって、植物を組織レベルで見た場合に、必ずしも塩が多く蓄積していなくても障害が発現するという現象も、組織の抗酸化能力の違いによって説明することができる。また、塩害地において作物の塩ストレス障害を緩和させる方策を考える際に、塩ストレス障害を光障害と考えると、光障害の原因の一因である活性酸素種の除去を考える

ことが障害を緩和させる上で重要であるといえる。実際、抗酸化物質の直接的な処理や遺伝子導入により抗酸化酵素の活性を上昇させた植物では塩ストレス障害が緩和されることが示されており、有効な手段であると考えられる。さらに、加齢に伴う抗酸化能力の低下を抑制するサイトカイニンの処理や、内在性サイトカイニンの増加を促す窒素の施与も塩ストレス障害を緩和させる可能性がある。これらの知見が、耐塩性作物の作出および塩類集積地などにおける農業の進展に役立てば幸いである。

- 1) I. Szabolcs: "Handbook of Plant and Crop Stress", Marcel Dekker, 1994, p.3.
- 2) S. Mitsuya, M. Kawasaki, M. Taniguchi & H. Miyake: *Plant Prod. Sci.*, 6, 219 (2003).
- 3) K. Yamane, S.M. Rahman, M. Kawasaki, M. Taniguchi & H. Miyake: *Plant Prod. Sci.*, in press.
- 4) H. Greenway & R. Munns: *Ann. Rev. Plant Physiol.*, 31, 149 (1980).
- 5) A.R. Yeo & T.J. Flowers: *Physiol. Plant.*, 56, 343 (1982).
- 6) R. Munns & A. Termaat: *Aust. J. Plant Physiol.*, 13, 143 (1986).
- 7) S. Mitsuya, K. Yano, M. Kawasaki, M. Taniguchi & H. Miyake: *Plant Prod. Sci.*, 5, 269 (2002).
- 8) S. Mitsuya, M. Kawasaki, M. Taniguchi & H. Miyake: *Plant Prod. Sci.*, 6, 213 (2003).

(三屋史朗, 三宅 博, 名古屋大学大学院生命農学研究科)