

解説

Agrochemistry and Biology Series

環境ストレスに対する植物の反応 —大気汚染ガスに対する反応を例として—

佐治 光, 中嶋信美*, 久保明弘, 青野光子

国立環境研究所生物圏環境部, *地域環境研究グループ

(平成8年5月20日受理)

Plant Response to Environmental Stress —Response to Air Pollutants—

Hikaru SAJI, Nobuyoshi NAKAJIMA,* Akihiro KUBO and Mitsuko AONO

Environmental Biology Division, and *Regional Environment Division, National Institute
for Environmental Studies, Onogawa, Tsukuba 305, Japan

はじめに

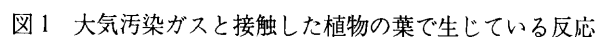
乾燥, 低温, 紫外線などさまざまな環境要因が植物にとってストレス源となり, その程度が大きいと障害をもたらす。ストレス状態下にある植物の体内では, 障害へと導く反応とそれを防ぐための反応が同時に進行し, これらが複雑に絡み合って作用し, 最終結果をもたらすと考えられる。このような反応のなかには個々の環境要因に特異的なものもあれば, かなり共通のものもあるようである。概してストレスの初期段階では, それぞれの要因による特異的な反応が生じるのに対し, 後期では細胞の構成成分の破壊とその防御や修復といった共通性の高い反応がストレス源の種類にかかわらず起こっていると予想される。こういった反応を一つ一つ分子レベルで明らかにすることは, 植物生理学および病理学上の大きな課題であると同時に農業生産や環境保全対策のうえでもきわめて重要である。これまでの研究によって得られている知見はまだごく断片的なものにすぎないが, 今後遺伝学や分子生物学の手法を用いて多くの情報が得られることが期待される。ここでは, 私たちが行なっている植物の大気汚染ガスに対する反応の解析例を紹介し, 植物のストレス反応の一端について論じてみたい。

植物の大気汚染障害とその防御機構

都市域およびその周辺では毎年夏になると, オゾン (O_3) を主成分とする光化学スモッグの発生とともにアサガオやサツマイモなどの葉に白色または褐色の斑点がみられるよ

うになる。このような病斑部の組織では, クロロフィルをはじめとする生体物質が破壊され, 葉肉細胞が死滅している。障害の起こりやすさは大気汚染ガスの種類や濃度の他, 植物の種類や年齢, 光強度や気温などの条件によって著しく異なる。これまでの知見に基づき, 大気汚染ガスと接触した植物の葉においてどのような反応が起こっているのかを大ざっぱに図示すると, 図1のようになる¹⁾。 O_3 , 二酸化硫黄 (SO_2), 二酸化窒素 (NO_2) などの大気汚染ガスは, 気孔を通して葉内に吸収され, 組織中の水に溶解, SO_2 や NO_2 の場合には, それぞれ毒性の SO_3^{2-} , NO_2^- などのイオンを生じる。これらのイオンや O_3 は反応性が高く, 生体物質に損傷を与える。またこれらの物質やそれにより生じた損傷が原因となり, 二次的毒性物質である活性酸素や老化ホルモンであるエチレンなどが発生し, これらの働きにより生体物質の損傷や組織の老化がさらに進み, その結果, 可視障害や生長抑制といった障害が植物に発生する。以上が障害につながる反応の概略であるが, 一方, 細胞内では障害を防ぐための反応も起こっており, 毒性物質を解毒したり, 損傷を受けた生体物質を修復したりしている。これらの反応のなかには, 光に強く依存するものがあることがわかっている。

図1に示された反応のうち, 私たちはとくに二次的毒性物質である活性酸素とエチレンに注目して研究を行なっている。その理由は, 後で述べるように, これらの物質が大気汚染ガスだけでなく, その他のさまざまな原因で植物に生じる障害にも関与していると思われるからである。した



と理解しやすい。また植物を嫌気状態、すなわち酸素のない状態にしてやると障害が抑えられ、活性酸素の消去剤の投与によっても障害は軽減される。したがって、大気汚染ガスと接触した植物の細胞内で活性酸素が生じ、それが障害の発生と深く関わっていると思われる。とすると、活性酸素の生じやすさやその消去能が植物の大気汚染感受性を決定している可能性が考えられる。このようなストレス状態下での活性酸素の発生のしくみはまだあまりわかっていないが、活性酸素の消去反応は、かなり明らかになってきている。

2 植物の活性酸素消去系

活性酸素は細胞内のさまざまな場所でさまざまな反応に伴って発生するため、それぞれの場所にその消去系が必要となる。たとえば図2に示したような反応系が、葉緑体やサイトゾルに存在することがわかっている。何らかの原因で酸素に電子が付与されると O_2^- が生じる。これがスーパーオキシドジスムターゼ (SOD) によって触媒される不均化反応により H_2O_2 へと変えられ、さらにアスコルビン酸を基質とするアスコルビン酸ペルオキシダーゼ (APX) により水へと解毒される。この反応に伴いアスコルビン酸がモノデヒドロアスコルビン酸 (MDA) に変化し、さらにその自動的不均化反応によりデヒドロアスコルビン酸 (DHA) ができる。図の残りの部分の反応によって、MDAやDHAからアスコルビン酸が再生される。この H_2O_2 の消去系は植物に特有のもので、アスコルビン酸-グルタチオン経路と呼ばれる。ペルオキシゾーム内にはAPXがなく、

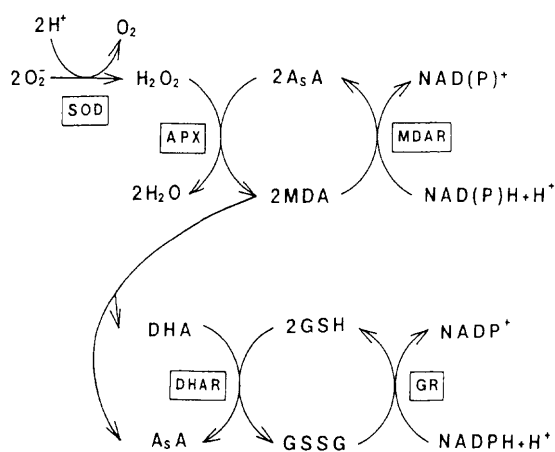


図2 植物の代表的な活性酸素消去系

AsA: アスコルビン酸, MDA: モノデヒドロアスコルビン酸, DHA: デヒドロアスコルビン酸, GSH: 還元型グルタチオン, GSSG: 酸化型グルタチオン, [SOD]: スーパーオキシドジスムターゼ, [APX]: アスコルビン酸ペルオキシダーゼ, [MDAR]: モノデヒドロアスコルビン酸レダクターゼ, [DHAR]: デヒドロアスコルビン酸レダクターゼ, [GR]: グルタチオンレダクターゼ。

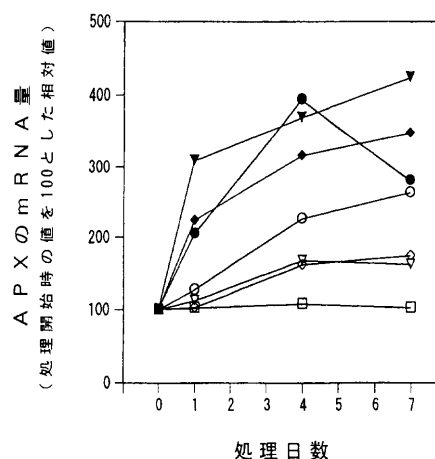


図3 大気汚染ガスと接触したシロイヌナズナにおけるアスコルビン酸ペルオキシダーゼ mRNA 量の変化

●: 0.1 ppm O_3 , ◆: 0.12 ppm O_3 , ▼: 0.15 ppm O_3 , ○: 0.1 ppm SO_2 , ◇: 0.12 ppm SO_2 , ▽: 0.15 ppm SO_2 , □: 対照。

H_2O_2 はカタラーゼにより消去されている。これらの反応に関与している酵素については、タンパクレベルや遺伝子レベルの研究が進み、その構造や性質が明らかにされてきている。また、さまざまなストレスによりこれらの酵素の遺伝子発現が誘導されることが報告されている。たとえば私たちは、大気汚染ガスと接触したシロイヌナズナにおいてサイトゾル型APXのmRNAが増加することを見出した⁴⁾(図3)。このように、植物は単にこれらの防御酵素をもっているだけでなく、環境に応じてその量を変化させることにより障害の発生をくい止めているようである。最近、APX遺伝子発現の誘導にエチレンが関与しているという報告がなされている。また、大気汚染ガスにより遺伝子発現の誘導が起こるものとして、ここで述べた活性酸素消去系酵素の他に、後で述べるエチレン合成系の酵素やグルタチオン-S-トランスフェラーゼ、病原菌の感染に伴いその発現が誘導されるPRタンパク質など多くのものが知られている。

3 活性酸素消去系酵素の遺伝子操作

植物のストレス耐性に活性酸素消去系が関与しているとすると、それを遺伝子操作により人為的に改変することで植物のストレス耐性を変化させることができると予想される。このような仮定に基づき、活性酸素消去系酵素の遺伝子操作実験が行なわれている⁵⁾。これまでSOD遺伝子の導入により O_3 や除草剤のパラコート、低温などに対する耐性の高まった植物が、またグルタチオンレダクターゼ (GR) 遺伝子の導入により SO_2 やパラコートに対する耐性の高まった植物が作成されている。パラコートは光合成の電子伝達系から電子を受け取りそれを酸素に付与することにより細胞内で活性酸素を生じることで除草作用をもたら

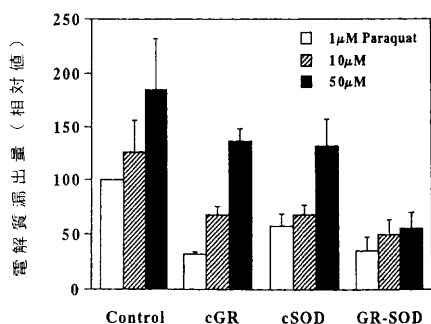


図4 活性酸素消去系酵素遺伝子を導入したタバコのパラコート耐性

葉を異なる濃度のパラコート溶液で処理し、組織からの電解質の溶出量により障害の程度を比較した。値が大きいものほど障害の程度が大きい。Control: 対照の非組換え体, cGR: サイトゾル型グルタチオンレダクターゼ活性の高い組換え体, cSOD: サイトゾル型スーパーオキシドジスムターゼ活性の高い組換え体, GR-SOD: cGR と cSOD の交配により得られた組換え体。

すことがわかっており、この種の研究によく用いられる。私たちは最近、SOD 遺伝子が導入されたタバコと GR 遺伝子が導入されたタバコを交配することにより、これら二種類の酵素活性の高い遺伝子組換え植物を作成し、それがきわめて高いパラコート耐性を示すことを見いだした⁶⁾ (図4)。これらの結果は、植物のストレス耐性における活性酸素消去系酵素の重要性を示すとともに、遺伝子操作が植物のストレス耐性を改善するのに有効な技術となり得ることを示唆している。ただし、このようなストレス耐性の獲得は常に観察されるわけではなく、ストレスの種類により、また実験条件によっても結果が異なり、さらに多くの研究が必要である。

エチレン

エチレンは植物の老化や障害に伴って発生し、さまざまな作用を示す植物ホルモンで、その作用機構は、他の植物ホルモンと同様まだよくわかっていないが、最近の突然変異体を用いた遺伝学および分子生物学的研究により、そのシグナル伝達に関与すると思われる遺伝子がいくつか同定されている⁷⁾。さきに述べたように、障害に伴って発生するエチレンの作用には二面性があり、障害を促進し組織の枯死や離脱へと向かわせる作用と各種防御遺伝子の発現を誘導し障害の進行をくい止める作用といった相反する働きを示すことがわかっている。大気汚染ガスと接触した植物においてもエチレンが発生し、障害の発生に関与することが指摘されている。この場合のエチレンの発生のしくみについては、これまでいくつかの説があったが、その生合成のキーエンザイムであるアミノシクロプロパンカルボン酸 (ACC) 合成酵素の活性増加がエチレンの発生と並行して

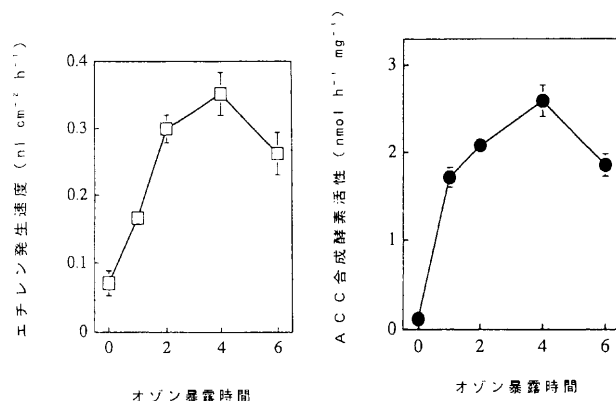


図5 オゾンと接触したトマトの葉におけるエチレンの発生と ACC 合成酵素活性

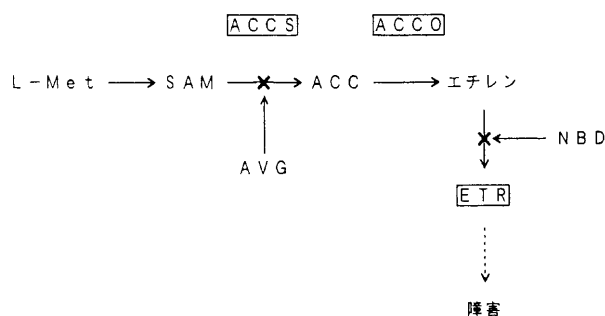


図6 大気汚染ガスによって誘導されるエチレン生合成経路とその作用

L-Met: メチオニン, SAM: S-アデノシルメチオニン, ACC: アミノシクロプロパンカルボン酸, **ACCS**: ACC 合成酵素, **ACCO**: ACC オキシダーゼ, AVG: アミノエチキシビニルグリシン, NBD: ノルボルナジエン, **ETR**: エチレン受容体様タンパク質。→は阻害剤の作用部位を示す。

起こること (図5) や、その酵素の阻害剤であるアミノエチキシビニルグリシン (AVG) であらかじめ処理するとエチレンの発生が起こらなくなることから、図6のような経路でエチレンが発生することが明らかとなった⁸⁾。さらに、ACC 合成酵素の活性増加の少なくとも一部は、同酵素の mRNA 量の増加によってもたらされることが明らかとなっている。また、AVG 処理によりエチレンの発生が起こらなくなったトマトでは O₃ や SO₂ による障害が軽減されることや、エチレンの受容体様タンパク質への拮抗的阻害剤である 2,5-ノルボルナジエン (NBD) の処理によっても障害が抑えられることがわかり、発生したエチレンがそのシグナル伝達を通して大気汚染ガスによる障害を促進していることが明らかとなった。エチレンを単独で植物に与えただけでは顕著な障害が起こらないので、その作用はあくまでも障害の進行を促進することにあると思われる。今後の研究課題としては、大気汚染ガスによる ACC 合成酵素の誘導のしくみやエチレンのシグナル伝達機構、さらに、

その後にかかる障害の進行過程の解明など多くの問題が残されている。

お わ り に

ここまで読んでこられておわかりのように、比較的良好に研究が行なわれている活性酸素やエチレンに関してもまだまだ未解明なことのほうが多く、植物のストレス応答機構は謎に包まれている。たとえばこれらの物質の発生のしくみはまだよくわかっていないし、発生した活性酸素やエチレンの作用やその標的となるものについても同様のことがいえる。これらの研究を難しくしている原因の一つは、障害という現象が、多くの反応が同時に進行し、かつこれらが相互作用することで成り立っており、個々の要素を一つずつ拾い出して解析しても、実体を把握することが困難であることにあると思われる。一方、最近の植物生理学の研究の動向としては、同じように複雑な多くの反応からなる細胞分化や形態形成といった現象の解明に、突然変異体を用いた遺伝学的手法が導入され、分子生物学の技術とあわさって、今までにない新たな展開が急ピッチで進んでいる。

環境ストレス研究においても同様な展開が可能であると考えられることから、今後はそのような方向で研究が進んでいくのではないかと予想している。一人でも多くの方がこのような研究に興味をもって参加してこられるのを期待している。

引 用 文 献

- 1) 近藤矩朗・佐治 光：大気汚染学会誌 **27**, 273 (1992)
- 2) 浅田浩二：農薬誌 **10**, 729 (1985)
- 3) T. Sakaki, N. Kondo & K. Sugahara : *Physiol. Plant.* **59**, 28 (1983)
- 4) A. Kubo, H. Saji, K. Tanaka & N. Kondo : *Plant Mol. Biol.* **29**, 479 (1995)
- 5) 佐治 光・青野光子・海老沼宏安・松永悦子：植物細胞工学 **5**, 291 (1993)
- 6) M. Aono, H. Saji, A. Sakamoto, K. Tanaka, N. Kondo & K. Tanaka : *Plant Cell Physiol.* **36**, 1687 (1995)
- 7) J. R. Ecker : *Science* **268**, 667 (1995)
- 8) G. Y. Bae, N. Nakajima, K. Ishizuka & N. Kondo : *Plant Cell Physiol.* **37**, 129 (1996)