

26

助成番号 0126

高機能付加遺伝子組換え植物を用いた塩類蓄積土壌の
ファイトレメデーション佐藤 茂、吉岡 俊人 (Shigeru Satoh, Toshihito Yoshioka)
東北大学大学院農学研究科 (Graduate School of Agricultural Sciences,
Tohoku University)

植物の能力を用いて環境汚染物質を除去する技術 (phytoremediation, ファイトレメデーション) の開発研究が進展している。この技術には、遺伝子組換えによって能力を高めた植物を作出し浄化効率を各段に高めることを期待できる利点がある。この技術は、重金属や有機ハロゲン化合物の除去を目的にしている場合が多い。化学肥料の大量使用、家畜のふん尿や生ごみなど高濃度の N・P 塩類を含む廃棄物による、土壌、地下水、河川湖沼水の汚染が問題になっているが、これら塩類の低減にも phytoremediation は有望な技術である。最近、エチレン低生産性の遺伝子組換えトマト植物では、重金属イオンの吸収能力が増加することが明らかにされ、エチレン関連遺伝子組換えによる高能力 phytoremediation 植物 (phytoremediator) 作出の可能性が示唆された。本研究は、エチレン非感受性遺伝子組換えタバコ植物の塩類吸収能力を検討し phytoremediator としての利用可能性を評価することを目的にして行った。

タバコ植物として、変異エチレンレセプター遺伝子 (*mNT-ERS1* 形質転換遺伝子を導入した遺伝子組換えタバコ (系統 No. 11, 32, 44, 49) を用いた。これらの植物では、高濃度塩類存在下におけるストレス反応が抑制されるため、塩類吸収能の高発現が期待される。塩類吸収試験の水耕栽培溶液の塩類組成と濃度は、実際の廃水中濃度に近似させ、MS 無機塩溶液の 1/6 希釈液を基本溶液にして、 NH_4NO_3 および NaCl を添加して設定した。タバコ植物体の根部を水耕栽培溶液に浸漬して7日間栽培し、水耕栽培溶液からの N, Na の減少量を植物体に吸収された量とみなした。

この結果、タバコ植物は、①N濃度が高い水耕栽培溶液からも効率よくNを吸収する、②短期間の処理では高濃度 NaCl による塩ストレス反応を受けにくい、③NaCl が高濃度に共存してもN吸収の抑制は小さい、④エチレン非感受性遺伝子組換えによりN吸収能力が向上する、ことが明らかになった。これらの結果から、タバコ植物は高濃度 Total-N を含む畜舎廃液や家畜し尿処理廃水、塩類集積土壌のN除去に適していると考えられた。また、遺伝子組換えによってタバコ植物のN吸収能力を向上させることが可能であることが明らかにされた。今後さらに、phytoremediator としてのタバコ植物の有効性を、(1) 成長の進んだ大型の植物体を用いる、(2) 長期間栽培して吸収能力を評価する、(3) エチレン関連遺伝子以外の塩類耐性遺伝子を導入した遺伝子組換え植物の検討を行う、ことによって実証することが重要である。

26

助成番号 0126

高機能付加遺伝子組換え植物を用いた塩類蓄積土壌の ファイトレメデーション

助成研究者：佐藤 茂（東北大学大学院農学研究科）

共同研究者：吉岡 俊人（東北大学大学院農学研究科）

1. 研究目的

近年、化学肥料の大量使用、家畜のふん尿や生ごみなど窒素（N）・リン酸（P）塩類を高濃度に含む廃棄物による、土壌、地下水、河川湖沼水の汚染がすすみ、様々な場面で問題となっている。

ガラス温室やハウス栽培などの施設園芸生産では、高濃度施肥による塩類の蓄積に原因する作物生産性の低下が指摘されている。生産性の高い農業の安定的な発展を図るうえで、土壌に蓄積した塩類の除去技術の確立が急務となっている。また、このような環境下で栽培される野菜の安全性について、特に硝酸(NO_3)塩濃度の増加の面から関心が高まっている。すなわち、わが国においては野菜中の硝酸塩について限度値は設定されていないが、すでに設定されている添加物としての硝酸塩の一日許容摂取量を考慮すると、国産野菜の硝酸塩濃度は高い傾向にあることが明らかになっている。そのため国内野菜生産における低硝酸塩栽培の確立が要請されている。

植物の能力を用いて環境汚染物質を除去する技術（phytoremediation, ファイトレメデーション）の開発研究が進展している。この技術には、遺伝子組換えによって能力を高めた植物を作出し浄化効率を各段に高めることを期待できる利点がある。この技術は、海外においては重金属や有機ハロゲン化合物の除去を目的にして研究されている場合が多いが、N・P塩類の低減を目的にした場合も有望な技術である。

最近、エチレン低生産性の遺伝子組換えトマト植物では、重金属イオンの吸収能が増加することが明らかにされ、エチレン関連遺伝子組換えによる高能力 phytoremediation 植物(phytoremediator) 作出の可能性が示唆された(Grichko et al. 2000)。私どもは、園芸学分野において、カーネーションやタバコを材料にして、エチレン低生産性やエチレン非感受性植物の作出を行ってきた(Kosugi et al. 2000, Terajima et al. 2001)。これらのエチレン関連遺伝子組換え植物においても、塩類の吸収能が増加している可能性が考えられる。

本研究では、すでに作成されているエチレン関連遺伝子組換え植物の中から、タバコ植物を用いて無機塩吸収能力を評価し、phytoremediator としての利用可能性について検討することを目的にした。タバコ属植物を、N・P塩類の phytoremediator として使用するメリットは、次のように考えられる。

- ①栽培タバコは草姿が大型で（バイオマスが多い）旺盛な成長力をもつため、N・Pの吸収量が多い。
- ②遺伝子組換えにより新形質を付与することが容易である。
- ③すでに遺伝子組換えによって耐塩性を付与した実験植物が作出されているので、交雑育種による phyto mediator 開発の資源として使用できる。
- ④タバコ臭による家畜糞尿の悪臭に対する相殺効果が期待できる。
- ⑤観賞用ハナタバコを使用しての景観改善を図ることができる。

特に、②については、国内には野生タバコが自生していないので、将来、遺伝子組換えによって高機能植物が開発された場合でも、花粉の飛散による遺伝子汚染の危惧がない点で重要である。

本研究は、当初、施設園芸等の高濃度塩類蓄積土壌を対象にした phyto mediator 開発の基礎研究の一環として、エチレン非感受性形質を付与した遺伝子組換えタバコの塩類吸収能力を評価することを目的にして立案した。しかし、実験計画の検討を進める過程で、土壌中の塩類濃度の低減よりも、家畜ふん尿や畜舎排水に起因する N・P 塩類（特に、 $\text{NO}_3\text{-N}$ ）の低減が、現在のわが国において焦眉の問題であることを認識するにいたった。すなわち、わが国の畜産業は、海外からの飼料搬入の上に成り立っており、膨大な排せつ物が環境中への N・P 塩類の過大な流出を引き起こし、主要な汚染源になっている。全国の産業廃棄物総排出量の 23%が農業分野から排出され、そのほとんどが家畜ふん尿である（環境省、1999年）。該分野からの環境への N・P 塩類（特に $\text{NO}_3\text{-N}$, P）の流出を低減する目的で、「家畜排せつ物法」（平成 11 年）が施行され、その基準達成のため廃水中の塩類濃度低減化技術の開発が急務になっている。

そこで、本研究では、家畜ふん尿や畜舎排水に起因する N・P 塩類の除去のための phyto mediator としてタバコ属植物の有用性を検討することに重点を移して実験計画を修正した。畜産廃水には高濃度の NaCl が含まれているので、N, P の吸収だけでなく、それらの吸収に対する NaCl の影響、および NaCl そのものの吸収などが検討されなければならない。また、タバコ植物の塩類吸収能力を検討する場合、被検液中の塩類は、植物生理学分野でよく使用される 100 ~200 mM NaCl ではなく、実際の廃水中の成分、濃度に近似していることが望ましいと。実験では、畜産廃水の N および Na, K, Cl 等の含量の検討を行って作成した塩類吸収のための被検液を用いて、エチレン非感受性形質転換タバコと非形質転換タバコ（対照）の塩類吸収能力を調べた。

2. 研究方法

2. 1 エチレン非感受性遺伝子組換えタバコ

高濃度塩類存在下におけるストレス反応が抑制されるため、塩類吸収能の高発現が期待できるタバコ植物として、変異エチレンレセプター遺伝子 (*mNT-ERS1* 形

質転換遺伝子)を導入した遺伝子組換えタバコ(系統 No. 11, 32, 44, 49)を用いた(Terajima et al. 2001). これらの系統および非遺伝子組換えタバコ(*Nicotiana tabacum* cv. Ky 57)のエチレン非感受性の検定は、対照および各系統の T1 世代の種子を、0 または 0.5 mM ACC(1-アミノシクロプロパン-1-カルボン酸)溶液で湿らせたろ紙上に蒔き、暗黒下、23°Cで 11 日間生育させた後、胚軸の長さを調べて判定した。

以下に述べる塩類の吸収試験においても、T1 世代の種子を発芽させて育成したタバコ幼植物体を用いた。

2. 2 無機イオンの分析

畜舎廃水および植物水耕液中の各種無機イオンは、導電率検出機(CM-8020, 東ソー)を装備した高速液体クロマトグラフ(LC-10, 島津)を用いて分析した。カラムおよび溶出液は、陽イオン分析には TSKgel IC-CationI/IIHR と 2 mM HNO₃, 陰イオン分析には TSKgel IC-Anion-PWXL と TSKeluent IC-Anion-A を用いた。被検液は、前処理カラム(C18)を用いて固形物と有機酸を除いた後、分析に供した。

2. 3 畜舎廃水中の無機塩濃度の実測による水耕栽培液の塩濃度の設定

タバコ植物の塩類吸収能を評価する際の水耕栽培液の塩類の組成と濃度は、実際の廃水中の濃度に近似することが望ましい。実際の畜舎廃水として、東北大学農学部構内にある中動物舎(ヤギ, ヒツジが主体)の廃水, および宮城県内の酪農家のし尿処理施設の最終処理水を分析した。塩類濃度の分析に先立って、pH および導電率を測定して NaCl 濃度の概算も行った。

2. 4 タバコ植物を用いた N 塩類の吸収試験

タバコ種子(cv. Ky 57 種子, 遺伝子組換え系統の T1 世代種子)を、多孔質の園芸用栽培基材(OASIS, Smithers-Oasis Japan)に播種し、ガラス温室内(15-25°C, 補光なし)で、6 葉期まで栽培した。給水・給肥はハイポネックス 500 倍液を、週 2 回与えて行った。タバコの栽培と塩類の吸収試験は、P1 閉鎖温室内で行った。

タバコ植物体の根部を、50 ml 水耕栽培液(表 1)に浸漬し開口部をポリエチレンフィルムで密閉して植物体以外からの蒸散を防いだ。容器には 50 ml 容のポリエチレンチューブを用いた。栽培は、上記と同じ環境条件で 7 日間行った。水耕栽培液の一部(0.2 ml)を 24 時間ごとに採取し、塩類濃度を測定した。なお、実験開始 1 日後からは、試料の採取前に純水を添加して 50 ml に fill-up し攪拌してから採取した。水耕栽培液からの減少量を植物体が吸収した量とみなした。

水耕栽培液は、1/6 MS(ムラシゲースクーグ)塩類溶液を基本溶液(Total-N: 10 mM)にした。この溶液に、20 mM NH₄NO₃を添加した(Total-N: 50 mM)。さら

に、この2種類のN濃度の液に、NaClを0, 50, 100 mMになるように加えた。したがって、合計6種の塩濃度組成の水耕栽培液を用いた。なお、実験途中の硝化・脱窒によるN除去を防ぐためATU (2 mg l^{-1})を水耕栽培液に加えた。これらの水耕栽培液のP濃度は0.21 mMであった。また、水耕栽培中にタバコ植物体が受ける塩ストレスを、光合成への影響を評価して調べた。すなわち水耕栽培液試料の採取前に、第5葉の光化学系II (PSII)の光化学収率(量子収率, F_v/F_m)をクロロフィル蛍光測定装置(OS-30, ADC)を用いて測定した。

3. 研究結果と考察

3. 1 水耕栽培液の塩濃度の設定

タバコ植物の塩類吸収能の試験を行うにあたって、水耕栽培液中の塩類の組成と濃度を実際の廃水中の組成と濃度に近似するために、畜舎廃水を測定して参考にした。畜舎廃水は高濃度のNaClを含んでいる。そのため、HPLC-イオンクロマトグラフィーによる分析では、 Cl^- の溶出位置が NO_2^- の溶出位置と近接し、高濃度 Cl^- 存在下での微量の NO_2^- の分析では、後者のピークが前者のピークにマスクされた。これを避けるためには、被検液の希釈度を変えて測定することが必要であった。

畜舎廃水中の塩濃度に近似して水耕栽培液の塩濃度を定めるため、畜舎廃水のN・P濃度を測定した。畜舎廃水として、東北大学農学部構内の中動物舎の廃水、および宮城県内の酪農家のし尿処理施設最終処理水を分析した。前者は2回採取、後者は1回採水した。

廃水原液の導電率の値をNaCl濃度に換算して求めた塩濃度は、54.7~107.7 mMであった。他方、主要無機イオン濃度の積算値から求めた塩濃度は、65.2~106.4 mMであった。畜舎廃水のTotal-N濃度は、20.5~31.2 mM (287~436.6 mg/liter)であった。中動物廃水中のNは全て $\text{NH}_4\text{-N}$ であったが、し尿処理施設最終廃水は $\text{NH}_4\text{-N}$ に加え $\text{NO}_3\text{-N}$ と $\text{NO}_2\text{-N}$ を含んでいた。Pは0~0.7 mMであった。

以上の測定値を参考にして、タバコ植物の水耕栽培液の組成を、MS(ムラシゲースクープ)無機塩溶液の1/6希釈液を基本溶液にして、 NH_4NO_3 およびNaClを添加して表1に示した濃度に設定した。Pは1/6 MS液の濃度0.21 mMを用いた。

3. 2 遺伝子組換えタバコ植物のエチレン非感受性の確認

変異エチレンレセプター遺伝子(*mNT-ERS1* 形質転換遺伝子)を導入した遺伝子組換えタバコ系統 No. 11, 32, 44, 49のエチレンに対する反応性を図1に示した。T1世代種子を、ACC(エチレン前駆物質)を含む培養液で発芽生育させた時の胚軸の長さを比較した。対照のcv. Ky 57はACC存在下で胚軸の伸長が抑制された。しかし、*mNT-ERS1* 遺伝子を導入した系統 No. 11, 32, 44, 49では、胚軸の伸長抑

制が見られなかった。この結果から、導入した変異エチレンレセプター遺伝子 (*mNT-ERS1*)が、エチレン非感受性を付与したことが推察された。導入した *mNT-ERS1* 遺伝子は、恒常的に発現する CaM35S プロモーターの制御下にあるので、タバコ植物が成長した後もエチレン非感受性の形質が発現されることが期待された。

3. 3 エチレン非感受性遺伝子組み換えタバコの塩類吸収能

対照 (cv. Ky 57) および4系統のエチレン非感受性遺伝子組換え系統のタバコ植物を、水耕栽培溶液 No. 1～6において栽培した時の、Total-NおよびNa⁺の吸収量を調査した結果を図2にを示した。Pの吸収量は、Total-NやNa⁺の吸収量に比べて非常に少なかったので、図の上には表れていない。Pに関しては以下の結果の解析からも除外した。

3. 3. 1 タバコ植物のN吸収能

タバコ植物は、水耕栽培液にNaClを添加しなかった場合、10 mM Total-Nを含む水耕液からは約0.5 mmole/g新鮮重量のNを吸収したが、50 mM Total-Nを含む水耕液からは0.3～0.4 mmole/g新鮮重量のNを吸収した(図2)。水耕液に50, 100 mMのNaClを添加したときも、同様の結果が得られた。この結果は、タバコ植物はN濃度が高い水耕栽培液からも効率よくNを吸収する活性を有していることを示している。これらの結果から、タバコ植物は高濃度 Total-Nを含む畜舎廃液や家畜し尿処理廃水のN除去に適していると考えられた。

3. 3. 2 タバコ植物のNa吸収

水耕栽培液に、50, 100 mMのNaClを添加した場合、10 mM Total-Nの栽培液では、それぞれ約0.18, 0.35 mmole/g新鮮重量のNa⁺が吸収され、50 mM Total-Nの栽培液ではそれぞれ約0.1～0.2, 0.2～0.4 mmole/g新鮮重量のNa⁺が吸収された(図2)。この条件下での、塩ストレス反応をFv/Fm値の減少によって調べた。実験期間の最終日の7日目を除いて、いずれの水耕栽培溶液で栽培した場合も、Fv/Fm値の有意な低下は認められなかった。葉の光合成活性に対する高濃度NaClの阻害作用はこの実験条件下ではなかったと考えられた。他方、実験操作中についた葉の傷部分に塩類の結晶の形成が見られた。今回採用した1週間程度の短期間処理では、タバコ植物は高濃度NaClによる塩ストレス反応を受け難いことが考えられた。これらの結果は、タバコ植物は短期間では高濃度の塩類に対する抵抗性が大きく、高濃度塩類を含む畜舎排水のN除去に適していることを示唆している。しかし、塩類の吸収試験を終えたタバコ植物を引き続き栽培すると、高濃度塩溶液で栽培したタバコほど葉の枯れ上がりと植物体の枯死が早く表れた。これは、実験に用いた植物体が幼弱すぎたためである可能性が考えられた。さらに生育ステージが進んだタバコ植物を用いた検討が必要と考えられた。

3. 3. 3 NaCl 共存下でのタバコ植物のN吸収

タバコ植物のN吸収は、10 mM Total-N を含む水耕栽培液を用いた場合は、50, 100 mM NaCl の共存によって抑制されなかった。他方、50 mM Total-N を含む水耕液からのN吸収は、50, 100 mM NaCl の共存に反比例して抑制された。0, 50, 100 mM NaCl 存在下で、それぞれ 0.30~0.40, 0.28~0.33, 0.18~0.28 mmole/g 新鮮重量のNが吸収された。

したがって、タバコ植物のN吸収に対するNaClの抑制効果は小さかった。この結果から、高濃度NaClを含む畜舎廃水や家畜し尿処理廃水ではN吸収の抑制が起こることが考えられる。しかし、抑制の程度は小さく、以下で述べる吸収能力の向上によって相殺することができると考えられた。

3. 3. 4 エチレン非感受性遺伝子組換えタバコのN吸収能

遺伝子組換えによりエチレン非感受性に形質転換したNo.49系統は、50 mM Total-N を含む水耕栽培液からのN吸収が、非遺伝子組換え植物 cv. Ky 57 よりも優っていた(図2)。促進効果は、50, 100 mM NaCl を添加した場合も見られた。また、No.44系統でも、50 mM Total-N を含む水耕栽培液からのN吸収が、NaCl 無添加、100 mM 添加区で、対照の cv. Ky 57 よりも大きかった。100 mM NaCl を添加した場合は、すべての遺伝子組み換え系統のN吸収量が、対照の cv. Ky 57 より多かった。他方、10 mM Total-N の水耕栽培液からのN吸収は、遺伝子組換え系統と対照の cv. Ky 57 の間で差がなかった。これらの結果は、遺伝子組換えによってエチレン非感受性形質を付与したタバコではN吸収能力が向上したことを示している。エチレン非感受性タバコのN吸収能力が向上した原因として、高濃度のTotal-N およびNaClの存在下で根が被る塩ストレスが軽減されている可能性が考えられる。本研究によって、遺伝子組換えによってタバコ植物のN吸収能力を向上させることが可能であることが明らかにされた。

4. 今後の課題

研究目的で述べたように、タバコ属植物を、農業生産および生活環境整備に資する phyto-remediator として使用することには、様々なメリットがある。今回の研究で、エチレン非感受性を付与した遺伝子組換えタバコの複数の系統 (No. 44, 49) でN吸収能力が向上していることを明らかにされた。したがって本研究が目的とした「高機能付加遺伝子組換え植物を用いた塩類のファイトレメデーション」の可能性について、少なくともNを対象として可能であることが実証された。Pの吸収に関しては、水耕栽培液の濃度が低かったため、信頼できる吸収量データが得られず、今後の検討課題として残された。

今回の研究は短い実験期間で行ったため、得られた知見はわずかである。明確な

結論を出すためには今後さらに実験を重ねる必要である。その際、(1) 大型のタバコ植物を用い、(2) 長期間栽培して吸収能力を評価する、ことが重要である。

畜舎廃水、家畜し尿処理廃水には、低減対象のN (NO₃-N, NH₄-N) やPに加えて高濃度のNaClやK⁺が含まれている。このような条件下で、N・Pの高吸収能力を維持するためには、塩ストレス耐性の植物を用いれば良いことが示された。すでに、タバコ植物では、マニトール-1-リン酸脱水素酵素遺伝子(*mt*) (米国, 1993年)、 Δ 1-ピロリン-5-カルボン酸合成酵素遺伝子 (*P5CS*) (米国, 1995年)、カルシウム結合タンパク質遺伝子 [*EhCaBP* (インド, 2002年)] を導入した塩ストレス耐性タバコが作出されている。これらの塩ストレス耐性タバコは、遺伝子の機能を調べるために作出された実験植物であるが、畜産廃水や生活排水のN・Pのphytoremediationに使用できるかどうか検討することは興味深いことである。本研究の助成研究者は、この観点から、過去6ヶ月の間にこれらの遺伝子組換えタバコの種子の入手を試みたが、成功しなかった。その理由は、純粋な研究目的で分譲を依頼した場合は好意的な分譲が期待できるが、phytoremediationという実用目的を明らかにすると、途端にガードが堅くなり分譲を拒否される、ということであった。遺伝子組換え植物を用いたphytoremediationは、将来、big technologyに成長することが期待されている。実用目的を示唆されてみすみずbusiness chanceを手放すことに躊躇するのは理解できることである。したがって、今後は、国内で独自に、遺伝子の単離・遺伝子組み換えタバコの作出を行うことが必要であると考えられる。

5. 引用文献

- Grichko, V. P., Filby, B. and Glick, B. R. 2001. Increased ability of transgenic plants expressing the bacterial enzyme ACC deaminase to accumulate Cd, Co, Cu, Ni, Pb and Zn. *J. Biotech.* 81: 45-53.
- Kosugi, Y., Shibuya, K., Tsuruno, N., Iwazaki, Y., Mochizuki, A., Yoshioka, T., Hashiba, T. and Satoh, S. (2000) Expression of genes responsible for ethylene production and wilting are differently regulated in carnation (*Dianthus caryophyllus* L.) petals. *Plant Sci.* 158: 139-145
- Terajima, Y., Nukui, H., Kobayashi, A., Fujimoto, S., Hase, S., Yoshioka, T., Hashiba, T. and Satoh, S. (2001) Molecular cloning and characterization of a cDNA for novel ethylene receptor, NT-ERS1, of tobacco (*Nicotiana tabacum* L.). *Plant Cell Physiol.* 42: 308-313.

表1. タバコ植物水耕栽培液のNおよびNaCl組成

溶液 No.	基本溶液	NH ₄ NO ₃ (mM)	Total-N (mM)	NaCl (mM)
1	1/6 MS	0	10	0
2				50
3				100
4		20	50	0
5				50
6				100

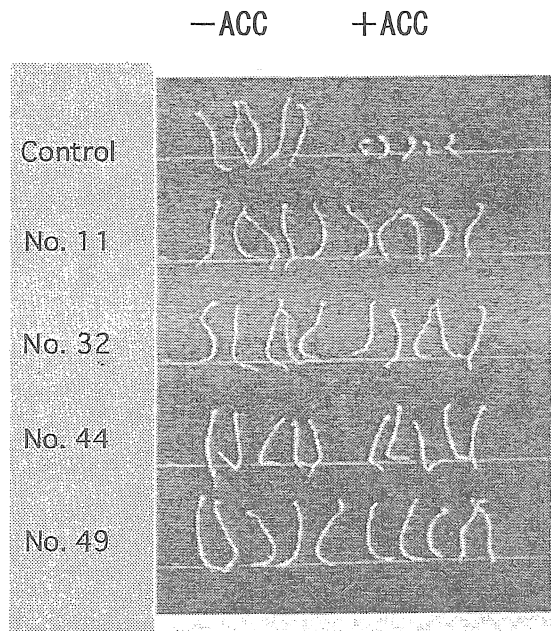


図1. *mNT-ERS1*を導入した遺伝子組み換えタバコ各系統のエチレン反応性. Control: cv. Ky 57.

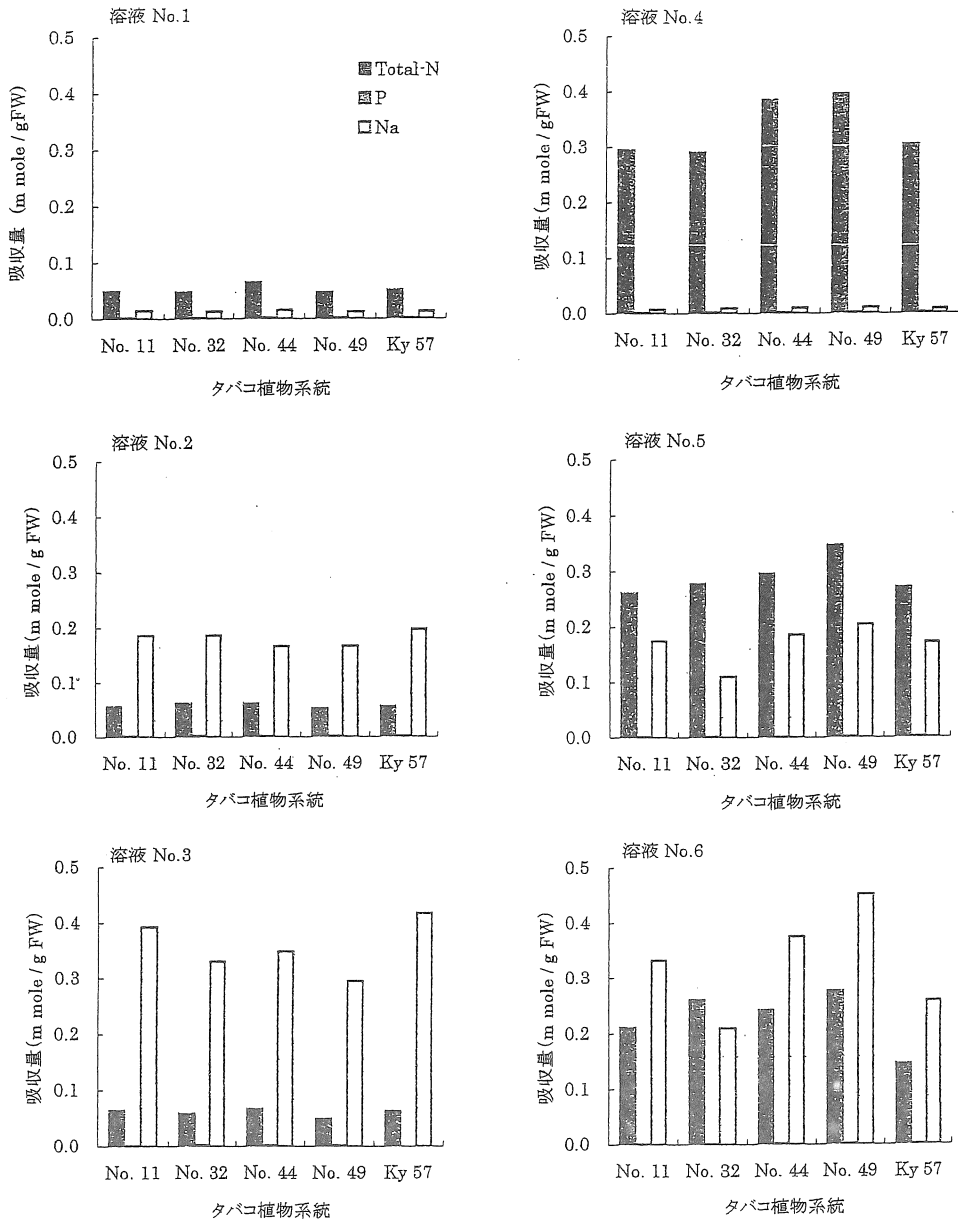


図2. エチレン非感受性遺伝子組換えタバコ系統間におけるN吸収量の比較

遺伝子組み換え系統 (No. 11, 32, 44, 49) および非遺伝子組換え系統 (cv. Ky 57) のタバコ幼植物を、水耕栽培溶液で7日間栽培し、栽培溶液からの減少量から Total-N および Na^+ の吸収量を求めた。実験は3植物体/区を用いて行い、平均値で結果を示した。

水耕栽培溶液組成：1/6MS 塩類溶液を基本にして、N 濃度を NH_4NO_3 で、 Na^+ 濃度を NaCl で以下のように調整した。溶液 No.1 (10 mM Total-N, 0 mM Na^+) ; 溶液 No.2 (10 mM Total-N, 50 mM Na^+) ; 溶液 No.3 (10 mM Total-N, 100 mM Na^+) ; 溶液 No. 4 (50 mM Total-N, 0 mM Na^+) ; 溶液 No.5 (50 mM Total-N, 50 mM Na^+) ; 溶液 No.6 (50 mM Total-N, 100 mM Na^+) .

Phytoremediation of N and P salts in soils and wastewater with high-performance transgenic plants

Shigeru Satoh, Toshihito Yoshioka

Graduate School of Agricultural Sciences, Tohoku University

Summary

Studies on phytoremediation, that is, use of plants for removing pollutants from the environment, are in progress. This technology has the advantage of employing genetically engineered plants with increased efficiency. Phytoremediation can be used for removing $\text{NO}_3\text{-N}$ and P from heavily fertilized soils and wastewater from livestock houses. Recently, it was shown that recombinant tomato plants with suppressed ethylene production had an increased ability to absorb heavy metal ions, suggesting a possibility of generating phytoremediators with increased ability by genetic engineering with ethylene-related genes.

The aim of this research was to evaluate tobacco plants as a phytoremediator for removing N and P salts. We compared the total-N-absorbing ability of the non-transformed tobacco plant (cv. Ky 57) and the transformants with suppressed ethylene sensitivity (strains No.11, 32, 44, 49). These transgenic tobacco plants were expected to have increased ability to absorb N, since their stress reactions under high salt concentrations is decreased.

Tobacco plants absorbed N efficiently from culture media containing total-N and NaCl at high concentrations. Transgenic tobacco plants with suppressed sensitivity to ethylene absorbed more total-N than the non-transformed control plants. These results indicated that tobacco plants could be used as phytoremediators for removing N from soils and wastewater, and that this activity could be enhanced by genetic engineering.