

イオンバランス是正による塩蓄積型塩耐性植物の機構解明

三浦 謙治, 古川 純

筑波大学大学院生命環境科学研究科

概要 植物の成長・発達を阻害する環境的要因として塩ストレスは重大な被害をもたらす要因である。こうした高塩濃度土壌は、少量の水が乾燥することで水に溶けた塩が蓄積する乾燥地において良く見られる。塩ストレスによって成長・発達が阻害されることにより、穀物収量が著しく減少することが知られている。そのため、植物は様々な方法で塩ストレスに対処する方法を進化させてきている。本研究では塩ストレス耐性をもたらす方法として、リン酸の蓄積が関わるということ報告する。シロイヌナズナにおけるリン酸蓄積型変異株 *siz1* 及び *pho2* では野生株と比較してナトリウムイオンの取り込み及び蓄積が減少していた。このナトリウムイオンの減少により *siz1* 及び *pho2* では塩ストレスに耐性を示した。これまでの研究から塩を蓄積する変異株として *sos3-1* が単離されているが、*siz1* 及び *pho2* 変異ともに *sos3-1* のナトリウム感受性を抑圧することが明らかとなった。しかし、遺伝学的な解析から、*SIZ1* と *SOS3* 及び *PHO2* と *SOS3* は塩ストレス応答に関してアディティブな関係が示された。これらの結果から、*SIZ1* 及び *PHO2* は *SOS3* とは別の経路で塩ストレス耐性に関わっていることが示唆され、リン酸の恒常性とナトリウムイオン蓄積との関連性が示唆された。

1. 研究目的

植物においてナトリウムは植物の成長を阻害し、著しい収量の低下につながる。これはナトリウムイオンが地上部に蓄積することで、植物における必須イオン、特にカリウムイオンの吸収を阻害し、イオンホメオスタシスを攪乱するためである (Hasegawa *et al.*, 2000; Zhu, 2002)。またナトリウムの蓄積は多くの必須酵素の活性を阻害したり、細胞膜形成を阻害することで成長の妨げとなっている。土壌中においても、乾燥によってその塩濃度が上昇することが知られている。通常、穀物、作物は塩を植物体内に蓄積して、カリウムの吸収を阻害してしまうため、塩ストレスに弱い。これまでに様々な因子が塩ストレス応答に関わることが報告されてきている。その中にはカリウムトランスポーターである *HKT1* (Rus *et al.*, 2001) や塩ストレスシグナルに関わる *SOS1*, *SOS2*, *SOS3* (Liu and Zhu, 1998; Shi *et al.*, 2000; Qiu *et al.*, 2002; Quintero *et al.*, 2002) などが含まれる。我々は、ナトリウム感受性変異株 *sos3-1* の抑圧変異株を単離する段階で *siz1* を単離している (Miura *et al.*, 2005)。つまり、*sos3-1 siz1-1* 二重変異株では *sos3-1* 変異株よりも

ナトリウムに耐性を示している (図 1)。このことは *SIZ1* がナトリウム耐性に関わることを示唆している。また先行研究において *siz1* 変異株はリン酸を体内に蓄積すること、動物においてはナトリウム依存性リン酸トランスポーターがリン恒常性に重要な働きがあること (Segawa *et al.*, 2009)、またキュウリ、ピーマンにおいて高濃度のリン酸を与えることで、塩存在下においても乾燥重量、クロロフィル含量が維持 (通常は低下する) されたこと (Kaya *et al.*, 2001) からナトリウムとリン酸蓄積は何らかの関わりがあることが示唆されている。本研究では塩ストレス時における過剰なナトリウムイオン (プラスチャージ) の調節にリン酸イオン (マイナスチャージ) が関わっていると考え、その調節機構を明らかにすることを目的とする。

2. 研究方法

植物材料及び生育条件: リン酸蓄積型変異株 *siz1* 及び *pho2* を用いて塩ストレスに対する応答を調べる。3 週間目の植物を週に 2 回、様々な濃度の NaCl を与えて、16 日後に生体重を測定する。NaCl を与えていない場合の生

体重と比較して、どれぐらい増減したかを % により表示した。

イオン含量の測定: 短日条件で培養した3週間目の植物を0.2x Hoagland 溶液を含む水耕栽培条件に移し、1か月さらに培養した。その後、0.2x Hoagland に50 mM NaCl を添加した溶液で2週間培養した。その植物体を脱イオン水でリンスを行い、65°Cで72時間乾燥させた。乾燥後、乳鉢ですりつぶし、0.1 N 硝酸で抽出後、フィルターペーパーで濾した。Na、K、P 含量は島津製作所の ICP-Atomic Emission Spectrometer ICPS-8100 で測定した。

Na の取り込みアッセイ: 3週間目の植物を0.2x Hoagland 溶液を含む水耕栽培条件に移し、1か月さらに培養した。その後、²²NaCl を含む0.2x Hoagland 溶液にて24時間培養した後、BAS 1800-II で現像した。

3. 研究結果

siz1 変異株は sos3 のナトリウム感受性の抑圧に関わる

図1で示したように、*siz1-1* は *sos3-1* の NaCl 感受性の抑圧変異株として単離された。ただ、この条件では Na⁺ によるか Cl⁻ によるかが明らかではない。また *sos3-1* は NaCl 及び LiCl に感受性を示すが、KCl、CsCl 又はマンニトールには感受性を示さないことから、浸透圧ストレスによる影響ではないことが明らかとなっている (Liu and Zhu, 1997)。

sos3-1 siz1-1 は NaCl 感受性の抑圧は見られたが、LiCl に関する抑圧、及び Cl⁻ 又は浸透圧による影響に関しては *sos3-1* 変異株と違いが見られなかった (図2)。このことから、*siz1* 変異は NaCl 感受性を特異的に抑圧することが示唆された。

siz1 変異は塩ストレス耐性に対して促進的に働く

通常塩ストレスは、成長段階で非常に重大な影響を与える。そこで、土で育てている植物に対して Na⁺ の影響を調べた。この実験では *sos3-1 siz1-1* という二重変異株とともに、*siz1-2*、*siz1-3* の一重変異株を用いている。これらの植物に50、75、100、150 mM NaCl を与え、その乾燥重量の変化を調べた (図3)。NaCl を与えた時、アントシアニンの蓄積が見られ、野生株と *sos3-1* 変異株の成長は著しく阻害された (図3A, 3B)。一方 *sos3-1 siz1-1* 二重変異株ではシャーレでの結果と同様 (図1B)、アントシアニンの蓄積が見られず (図3A)、野生株 (Col-*gll*) と同程度まで回復した (図3B)。また、*siz1-2* 又は *siz1-3* 一重変異株では

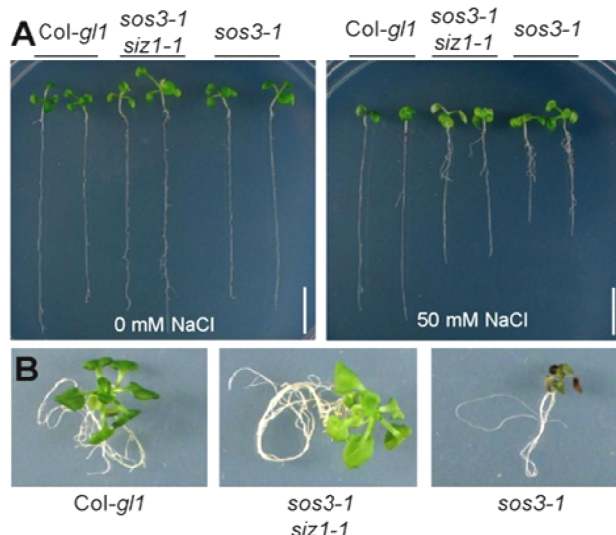


図1. A: 50 mM NaCl 存在下では *sos3-1 siz1-1* は *sos3-1* よりもより成長している。B: 50 mM NaCl 存在下で18日間培養すると *sos3-1* はアントシアニンを蓄積し、成長が抑制されているが、二重変異株では野生株と同様の生育が見られた。

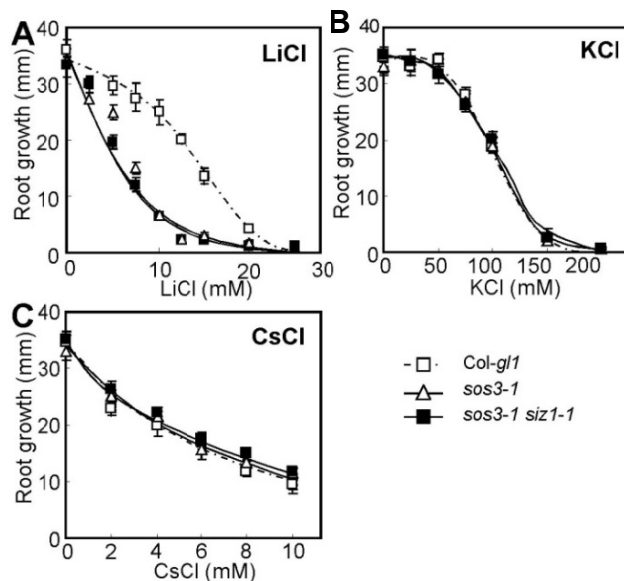


図2. LiCl (A)、KCl (B)、CsCl (C) においては *sos3-1* と *sos3-1 siz1-1* に違いが見られなかった。このことから、*siz1* 変異は NaCl 感受性を特異的に抑圧することが示唆される。

NaCl を与えると通常条件に比べて大きさが増した (図3A, 3B)。*siz1-2* に *SIZ1::GFP* を導入した植物では野生株と同じ表現型を示した (図3C) ことから、*SIZ1* によって *siz1* 変異

が相補されたことを示している。*sos3-1*、*sos3-1 siz1-1* 及び *siz1-2*、*-3*の結果から(図3B)、遺伝的に additive な関係であることが示唆された。このことは *SOS3* と *SIZ1* は別のシグナル経路を介して塩ストレス応答に関与している可能性が考えられる。

siz1 変異株においてはナトリウムの取り込み及び蓄積が減少している

siz1 がどのようにナトリウム耐性を示しているのかを明らかにするため、 ^{22}Na ラベルされたナトリウムの取り込み及び ICP-AES により、ナトリウムの蓄積を調べた。野生株に

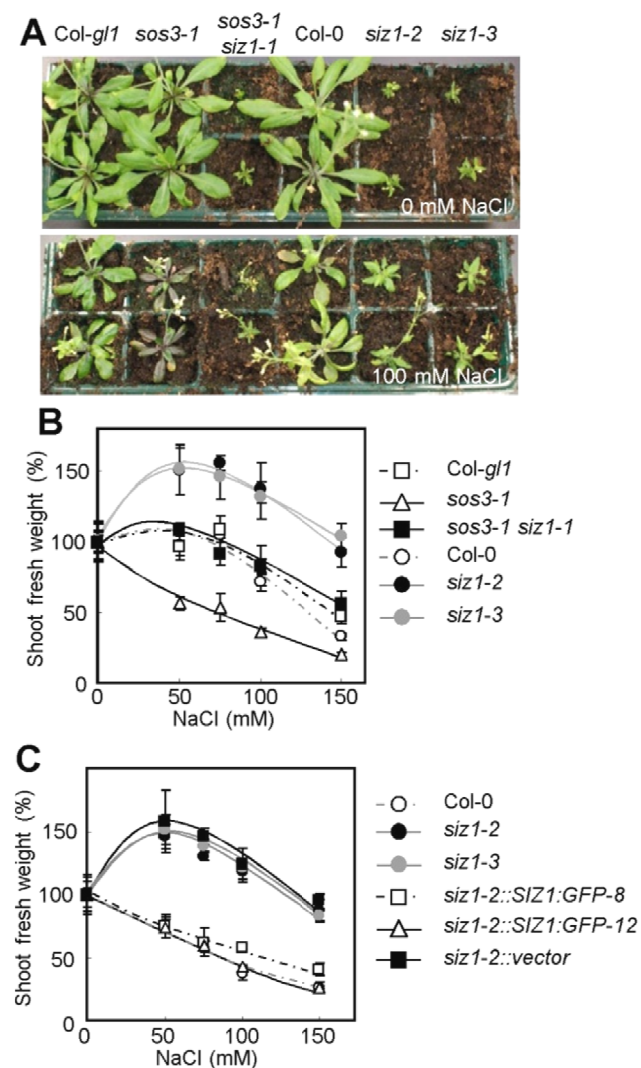


図3. *siz1* 変異によって NaCl 耐性が付加される。(A) 0 又は 100 mM NaCl を与えた植物。(B) 野生株(Col-0 及び Col-g1)、*sos3-1*、*sos3-1 siz1-1*、*siz1-2*、*siz1-3* における地上部の生重量測定。0 mM NaCl 時の生重量を 100%として計算。(C) *siz1-2* 及びその相補株の生重量測定。

比べ *siz1-3* 変異株ではナトリウムの取り込みが減少していた(図4A)。また、ナトリウム、リン、カリウムのイオン量を測定したところ、NaCl 処理をした植物において、*siz1-3* では野生株に比べてナトリウム量の低下が見られた。また、以前の結果と同様(Miura *et al.*, 2005)、*siz1-3* 変異株ではリンの蓄積が確認された。このことから *siz1-3* 変異によって、ナトリウムイオンの取り込み及び蓄積が減少された。

リン酸蓄積変異株 *pho2* では塩ストレス耐性が促進された

siz1 変異によりリンが蓄積し、ナトリウムの減少が見られた(図4)。動物においてはナトリウム依存型リン酸トランスポーターがリン酸の恒常性に関わっていることが知られている(Marks *et al.*, 2010)。このことから、植物においてもリン酸の恒常性にナトリウムが関わっている可能性が考えられ、ナトリウムの過剰蓄積によりリン酸の恒常性にも異常をきたしている可能性が考えられる。そこで、*siz1* とは別のリン酸蓄積型変異株である *pho2* (Delhaize and Randall, 1995) の塩ストレス応答性を調べた。すると、50 mM、75 mM NaCl 塩ストレス条件下においては成長の促進が見られた(図5)。

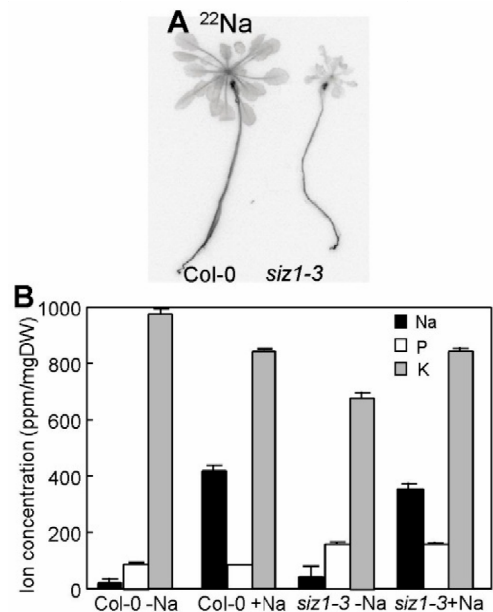


図4. *siz1* 変異株ではナトリウムの取り込み (A) 及び蓄積 (B) が減少。(A) $^{22}\text{NaCl}$ を添加して 24 時間培養。(B) Na、P、K イオン量の測定。50 mM NaCl を添加した場合、*siz1* 変異株では Na の低下及び P の上昇が見られた。

また ^{22}Na 及び ^{32}P 放射性元素を用いた取り込みを調べたところ、 ^{32}P の増加とともに ^{22}Na の減少が見られた(図 6A)。またナトリウムとリンの蓄積を調べたところ、リンの過剰蓄積とともに、ナトリウムの減少が見られた(図 6B)。 *siz1*

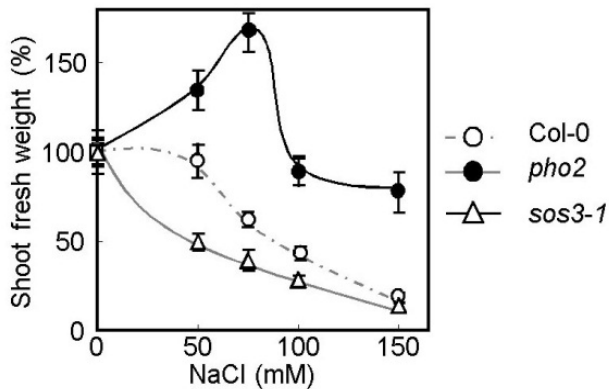


図 5. *pho2* 変異によって NaCl 耐性が付加される。野生株 (Col-0)、*pho2*、*sos3-1* における地上部の生重量測定。0 mM NaCl 時の生重量を 100% として計算。

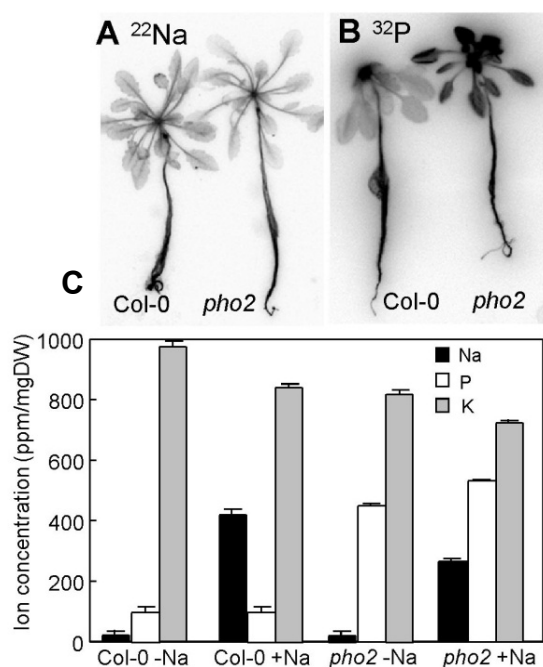


図 6. *pho2* 変異株ではナトリウムの蓄積減少及びリンの蓄積上昇が見られた。 ^{22}Na (A) 又は ^{32}P (B) を与えた時の野生株 (Col-0) と *pho2* 変異株の取り込みを放射能の強弱により確認。(C) 野生株及び *pho2* 変異株に塩ストレスを与えたときの Na、P、K の含量を ICP-AES で測定した。

及び *pho2* における結果から、リン酸の蓄積はナトリウム恒常性の制御に関わっている可能性が示唆された。

4. 考察

塩ストレスは主要な環境ストレスの1つで、植物の成長及び発達に影響を与える。今回の研究ではリン酸の蓄積とナトリウム恒常性の調節に何らかの関わりがあることが示唆された。リン酸蓄積変異株 *siz1* 及び *pho* では塩ストレス耐性が増したが、これはナトリウムイオンの取り込み及び蓄積の減少によるものと考えられる。また遺伝学的研究から、*SIZ1* と *SOS3* または、*PHO2* と *SOS3* は additive な関係にあることから、*SIZ1* または *PHO2* による塩ストレス耐性は *SOS3* 依存的塩ストレスシグナルとは独立した経路によるものであることが示唆された。

リン酸蓄積によってナトリウムの取り込み及び蓄積上昇が緩和された

siz1 及び *pho2* 変異株が塩ストレス耐性を示し、リン恒常性とナトリウム恒常性に何らかの関係があることが示唆された。動物においてはナトリウム依存性リン酸トランスポータが腎臓におけるリン酸の再吸収及びリン酸恒常性に重要な役割を果たすことが分かっている (Sagawa *et al.*, 2009)。一方で植物においてはプロトン駆動型リン酸トランスポータが主要な役割を担っている (Rausch and Bucher, 2002)。動物細胞においては三種類のナトリウム依存性リン酸トランスポータが存在する。I 型は基質やイオン駆動性、生理学的機能はよく分かっていない。II 型は細胞内におけるリン酸蓄積機能を担っている。III 型はハウスKEEPING型である。いくつかのナトリウム依存性リン酸トランスポータが緑藻や植物において同定された (Mimura *et al.*, 2002; Rubio *et al.*, 2005; Pavón *et al.*, 2008)。生化学的、生理学的研究により植物では塩ストレス及びリン酸代謝に何らかの関連があることが示唆された。シャジクモ *Characorallina* においては外部のナトリウムイオンがナトリウム依存性リン酸トランスポータの共輸送活性に必要である (Mimura *et al.*, 2002)。また、藻類 *Anabaena doliolum* においては、葉緑体濃度及びタンパク質含量は塩濃度が上昇すると低下するが、リン酸欠乏培地においてはその影響が増大したことから、高塩濃度がリン酸取り込みの減少に関わっている可能性が示唆された (Rai and Sharma, 2006)。キュウリ及びピーマンにおいて、通常は乾燥重量

及び葉緑体含量が塩処理によって減少するが、高い濃度のリン酸を添加することによって、これらの減少を防ぐことができた(Kaya *et al.*, 2001)。小麦及びレタスにおいては、リン酸トランスポータ活性が高濃度塩処理によって阻害された(Maas *et al.*, 1979; Martinez *et al.*, 1996)。またマングローブ *Bruguieraparviflora* では NaCl によってリン酸欠乏が引き起こされ、ホスファターゼ活性の上昇が見られた(Parida and Das, 2004)。高塩濃度によるホスファターゼ活性の上昇は紅藻 *Gracilariatenuistipitata*、ホウレン草 *Spinaciaoleracea* および小麦でも見られた(Pan, 1987; Szabo-Nagy *et al.*, 1992; Lee *et al.*, 1999)。シロイヌナズナにおいても、ゴルジ体局在性リン酸トランスポータ PHT4;6 の変異株では塩ストレス感受性を示した(Cubero *et al.*, 2009)。こうした研究結果及び、リン酸蓄積変異株 *siz1* 及び *pho2* が塩ストレス耐性を示したことから(図 3, 5)、これらリン酸蓄積変異株では塩ストレスによって引き起こされるリン酸輸送システムの低下を克服し、塩ストレス耐性を促進していると考えられる。

植物ホルモンの1つ、サリチル酸が *siz1* の塩ストレス耐性に関わっている可能性も考えられる

siz1 変異株では通常条件においてもサリチル酸が蓄積することが知られている(Yoo *et al.*, 2006; Lee *et al.*, 2007)。通常サリチル酸は病原菌応答に関わると考えられているが、いくつかの報告から、サリチル酸処理は塩ストレス耐性を上昇させることが知られている。サリチル酸処理によって塩ストレス条件下における植物の成長が改善され、これはアブジジン酸(ストレス応答に重要な役割を果たす)やプロリン含量の上昇が引き起こされたためと考えられる(Shakirova *et al.*, 2003)。サリチル酸を根から吸収させたトマトにおいても 200 mM NaCl ストレスに対する耐性を示した(Stevens *et al.*, 2006)。また、緑豆において、サリチル酸は塩ストレスによって引き起こされる光合成活性の減少の緩和、Na⁺ 及び Cl⁻ の蓄積減少、窒素・リン酸・カリウム及び抗酸化酵素の活性化の上昇が引き起こされた(Nazar *et al.*, 2010; Khan *et al.*, 2010)。塩ストレスは内在性のサリチル酸レベルを上昇させ、サリチル酸合成酵素である benzoic acid 2-hydroxylase の活性を上昇させることがイネを用いた研究で明らかになっている(Sawada *et al.*, 2006)。これらの機構がどのようにして引き起こされるかに関して次のような仮説が考えられている。サリチル酸処理によって

H₂O₂ レベルの一過的な上昇が行われる。H₂O₂ はシグナル伝達因子として抗酸化酵素の活性化や抗酸化物質の蓄積、活性酸素除去システム等を促進する(Gill and Tuteja, 2010)。これらの抗酸化作用の働きによって活性酸素の恒常性維持(活性酸素蓄積とその除去のバランス)を行っており、この恒常性維持のおかげで塩ストレスに対して耐性が上昇すると考えられている。このことから、*siz1* 変異株においては、前述のリン酸の蓄積による効果とサリチル酸蓄積による効果の両方が塩ストレス耐性に関わっていると考えられる。

5. 今後の課題

本研究においてリン酸の蓄積と塩ストレス耐性の関連性が示唆された。しかし、どのようなメカニズムによって調節されているかについては明らかとされていない。通常ナトリウムは葉において液胞に蓄積すると考えられている。実際、液胞局在性 Na⁺/H⁺ アンチポータを過剰発現させることにより、塩ストレス耐性が付与されることから(Apse *et al.*, 1999)、細胞質から液胞へのナトリウムの隔離が重要な役割を担っている。一方で、リン酸は植物において必須元素であることから、細胞室内においても蓄積が見られるが液胞においてもリン酸の蓄積が確認されている。ただ、どのようにリン酸が液胞に取り込まれるかについて、どのようなトランスポータが存在するのかを含め分かっていない。これらの機構を解明することでナトリウム恒常性とリン酸蓄積との関連性を明らかにできると考えられる。

リン酸の蓄積とナトリウムの関連性があること、また液胞局在性のリン酸トランスポータの実態が明らかになっていないことから、我々は地上部において発現が確認されており局在性の分かっていないリン酸トランスポータの候補として *PHT1;5* の解析を行っている。*ph1;5* 変異株では塩に対して感受性を示した(図 7)。このことはリン酸トランスポータ *PHT1;5* が *PHT4;6* (Cubero *et al.*, 2009)と同様、塩ストレス応答に関わっている可能性が考えられる。局在性に関しては解析中であるが、こうしたリン酸トランスポータと塩ストレス応答の関連性を明らかにすることによって、植物による塩ストレス耐性に関して、新たな側面による応用が可能になると考えられる。

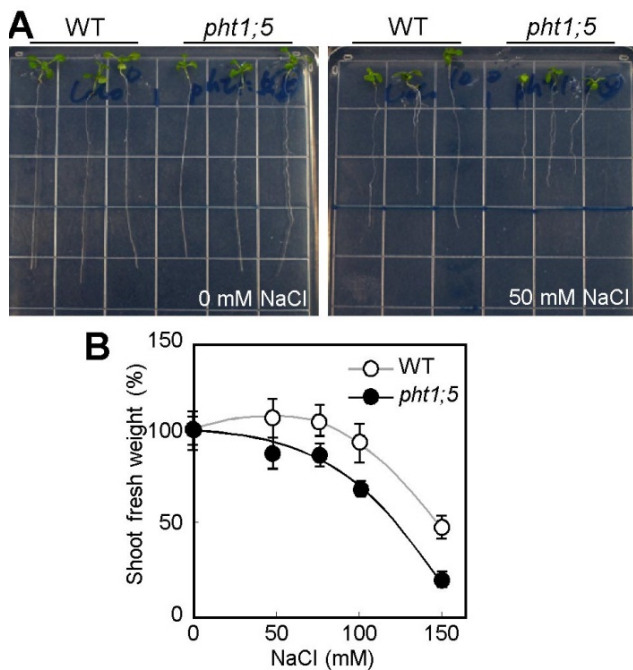


図 7. *pht1;5* 変異株では NaCl に対して感受性を示した。(A) 4 日目の芽生えを NaCl を添加した培地に移して 1 週間後の根の伸長を観察。*pht1;5* 変異株では根の伸長が阻害された。(B) 2 週間目の野生株 (WT) および *pht1;5* 変異株に NaCl を 1 週間に 2 回与えて地上部の生重量測定。0 mM NaCl 時の生重量を 100% として計算。

謝 辞

本研究において佐藤愛子氏、長田理沙氏、駒田亜弥氏、佐藤文香氏には技術的なサポートを頂きました。また ICP-AES の使用においては筑波大学分析センターの機器を使用させて頂きました。この研究は公益財団法人ソルトサイエンス研究財団、JST 若手研究者の自立的な研究環境整備促進プログラム「次代を担う若手大学人育成イニシアティブ (筑波大学)」の支援をうけましたこと、この場において感謝申し上げます。

文献等

Apse MP, Aharon GS, Snedden WA, Blumwald E (1999) Salt tolerance conferred by overexpression of a vacuolar Na^+/H^+ antiporter in *Arabidopsis*. *Science* 285: 1256-1258
 Cubero B, Nakagawa Y, Jiang XY, Miura KJ, Li F, Raghothama KG, Bressan RA, Hasegawa PM, Pardo JM (2009) The phosphate transporter PHT4;6 is a determinant of salt tolerance that is localized to the golgi

apparatus of *Arabidopsis*. *Mol Plant* 2: 535-552

- Delhaize E, Randall PJ (1995) Characterization of phosphate-accumulator mutant of *Arabidopsis thaliana*. *Plant Physiol* 107: 207-213
 Gill SS, Tuteja N (2010) Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant PhysiolBiochem* 48: 909-930
 Hasegawa PM, Bressan RA, Zhu J-K, Bohnert HJ (2000) Plant cellular and molecular responses to high salinity. *Annu Rev Plant Biol* 51: 463-499
 Kaya C, Kirmak H, Higgs D (2001) Effects of supplementary potassium and phosphorus on physiological development and mineral nutrition of cucumber and pepper cultivars grown at high salinity (NaCl). *J Plant Nutr* 24: 1457-1471
 Khan NA, Syeed S, Masood A, Nazar R, Iqbal N (2010) Application of salicylic acid increases contents of nutrients and antioxidative metabolism in mungbean and alleviates adverse effects of salinity stress. *Inter J Plant Biol* 1: e1
 Lee TM, Tsai CC, Shih MC (1999) Induction of phosphorus deficiency and phosphatase activity by salinity (NaCl) stress in *Gracilaria tenuistipitata* (Gigartinales, Rhodophyta). *Phycologia* 38: 428-43
 Lee J, Nam J, Park HC, Na G, Miura K, Jin JB, Yoo CY, Baek D, Kim DH, Jeong JC, Kim D, Lee SY, Salt DE, Mengiste T, Gong Q, Ma S, Bohnert HJ, Kwak SS, Bressan RA, Hasegawa PM, Yun D-J (2007) Salicylic acid-mediated innate immunity in *Arabidopsis* is regulated by SIZ1 SUMO E3 ligase. *Plant J* 49: 79-90
 Liu J, Zhu J-K (1997) An *Arabidopsis* mutant that requires increased calcium for potassium nutrition and salt tolerance. *Proc Natl Acad Sci USA* 94: 4960-4964
 Liu J, Zhu J-K (1998) A calcium sensor homolog required for plant salt tolerance. *Science* 280: 1943-1945
 Maas EV, Ogata G, Finke MH (1979) Salt-induced inhibition of phosphate transport and release of membrane proteins from barley roots. *Plant Physiol* 64: 139-143
 Marks J, Debnam ES, Unwin RJ (2010) Phosphate

- homeostasis and the renal-gastrointestinal axis. *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* 299: F285-F296
- Martinez B, Bernstein N, Lauchli A (1996) Salt-induced inhibition of phosphorus transport in lettuce plants. *Physiol Plant* 97: 118-122
- Mimura T, Reid RJ, Ohsumi Y, Smith FA (2002) Induction of the Na⁺/Pi cotransport system in the plasma membrane of *Chara corallina* requires external Na⁺ and low levels of Pi. *Plant Cell Environ* 25: 1475-1481
- Miura, K., Rus, A., Sharkhuu, A., Yokoi, S., Karthikeyan, A.S., Raghothama, K.G., Baek, D., Koo, Y.D., Jin, J.B., Bressan, R.A., Yun, D.-J. and Hasegawa, P.M. (2005) The *Arabidopsis* SUMO E3 ligase SIZ1 controls phosphate deficiency responses. *ProcNatlAcadSci USA* 102: 7760-7765
- Nazar R, Iqbal N, Syeed S, Khan NA (2010) Salicylic acid alleviates decreases in photosynthesis under salt stress by enhancing nitrogen and sulfur assimilation and antioxidant metabolism differentially in two mungbean cultivars. *J Plant Physiol* in press
- Pan SM (1987) Characterisation of multiple acid phosphatases in salt-stressed spinach leaves. *Aust J Plant Physiol* 14: 117-124
- Parida AK, Das AB (2004) Effects of NaCl stress on nitrogen and phosphorus metabolism in a true mangrove *Bruguieraparviflora* grown under hydroponic culture. *J Plant Physiol* 161: 921-928
- Pavón LR, Lundh F, Lundin B, Mishra A, Persson BL, Spetea C (2008) *Arabidopsis* ANTR1 is a thylakoid Na⁺-dependent phosphate transporter. *J BiolChem* 283: 13520-13527
- Qiu Q, Guo Y, Dietrich MA, Schumaker KS, Zhu J-K (2002) Regulation of SOS1, a plasma membrane Na⁺/H⁺ exchanger in *Arabidopsis thaliana*, by SOS2 and SOS3. *ProcNatlAcadSci USA* 99: 8436-84
- Quintero FJ, Ohta M, Shi H, Zhu J-K, Pardo JM (2002) Reconstitution in yeast of the *Arabidopsis* SOS signaling pathway for Na⁺ homeostasis. *ProcNatlAcadSci USA* 99: 9061-906
- Rai AK, Sharma NK (2006) Phosphate metabolism in the cyanobacterium *Anabaena doliolum* under salt stress. *CurrMicrobiol* 52: 6-12
- Rausch C, Bucher M (2002) Molecular mechanisms of phosphate transport in plants. *Planta* 216: 23-37
- Rubio L, Linares-Rueda A, Garcia-Sánchez MJ, Fernández JA (2005) Physiological evidence for a sodium-dependent high-affinity phosphate and nitrate transport at the plasma membrane of leaf and root cells of *Zostera marina* L. *J Exp Bot* 56: 613-622
- Sawada H, Shim IS, Usui K (2006) Induction of benzoic acid 2-hydroxylase and salicylic acid biosynthesis -Modulation by salt stress in rice seedlings. *Plant Sci* 171: 263-270
- Segawa H, Aranami F, Kaneko I, Tomoe Y, Miyamoto K (2009) The roles of Na/Pi-II transporters in phosphate metabolism. *Bone* 45: 52-57
- Shakirova FM, Sakhabutdinova AR, Bezrukova MV, Fatkhutdinova RA, Fatkhutdinova DR (2003) Changes in the hormonal status of wheat seedlings induced by salicylic acid and salinity. *Plant Sci* 164: 317-322
- Shi, H., Ishitani, M., Kim, C. and Zhu, J.-K. (2000) The *Arabidopsis thaliana* salt tolerance gene *SOS1* encodes a putative Na⁺/H⁺ antiporter. *ProcNatlAcadSci USA* 97: 6896-690
- Stevens J, Senaratna T, Sivasithamparam K (2006) Salicylic acid induces salinity tolerance in tomato (*Lycopersiconesculentum* cv. Roma): associated changes in gas exchange, water relations and membrane stabilization. *Plant Growth Regul* 49: 77-83
- Szabo-Nagy A, Galiba G, Erdei E (1992) Induction of soluble phosphatases under ionic and nonionic osmotic stress in wheat. *J Plant Physiol* 140: 629-633
- Yoo CY, Miura K, Jin JB, Lee J, Park HC, Salt DE, YunD-J, Bressan RA, Hasegawa PM (2006) SIZ1 small ubiquitin-like modifier E3 facilitates basal thermotolerance in *Arabidopsis* independent of salicylic acid. *Plant Physiol* 142: 1548-1558

Salt-Accumulated Salt-Tolerant Plants through Control of Ion Balance

Kenji Miura, Jun Furukawa

Graduate School of Life and Environmental Sciences, University of Tsukuba

Summary

High salinity is a major environmental factor, which inhibits plant growth and development, leading to large yield losses in crops. It is vital for a living cell to maintain intracellular ionic homeostasis. We report here the mutations in *SIZ1* or *PHO2*, which causes more accumulation of phosphate compared to wild type, enhance tolerance to salt stresses. The *siz1* and *pho2* mutations reduce the uptake and accumulation of Na^+ . These mutations are also able to suppress the Na^+ hypersensitivity of *sos3-1* mutant, whereas genetic analyses suggest that *SIZ1* and *SOS3* or *PHO2* and *SOS3* are additive effect on response to salt stresses. Furthermore, the *siz1* mutation cannot suppress the Li^+ hypersensitivity of *sos3-1* mutant. These results indicate that phosphate accumulating mutants, *siz1* and *pho2*, reduce the uptake and accumulation of Na^+ , leading to enhancing salt tolerance and that, genetically, *SIZ1* or *PHO2* are likely independent on *SOS3*-dependent salt signaling.