

ソナレシバの耐塩性機構に関する研究

多田 雄一

東京工科大学応用生物学部応用生物学科

概要 日本を含む亜熱帯の海岸部に生育するイネ科の多年生の草本であるソナレシバ(沖縄産)の耐塩性を土耕と水耕栽培によって検定し、土耕では海水の塩濃度の3倍に相当する1,500 mM NaClに耐性であることを確認した。このようなソナレシバの高度な耐塩性機構を解明するため、異なる塩濃度で水耕栽培したソナレシバの生長速度、含水率、各種イオン含量、塩類腺からのイオン分泌量、プロリン含量などの生理応答について解析した。

沖縄で採取したソナレシバの地上部重量は100 mM NaCl処理で増加し、根重量は1,000 mM NaClまでの濃度で濃度依存的に増加した。根と地上部のNa⁺とCl⁻含量は、塩処理後に急速に上昇したが、一定量を超えないように制御されていると考えられた。沖縄のソナレシバは、これまで報告されている他の地域のソナレシバに比べて、塩ストレス下でもK⁺含量が高く維持されていることが明らかになった。また、浸透圧の調整に関与するプロリンの含量も塩濃度依存的に上昇した。

また、ソナレシバの耐塩性機構を細胞レベルで解析するために、ソナレシバとイネの培養細胞の生理特性を塩ストレス下で比較した。ソナレシバ培養細胞は、イネの細胞が生育できない500 mM NaCl条件でも増殖でき、プロリン蓄積量も高いことから、細胞レベルでの耐塩性を有すると考えられた。また、ソナレシバ培養細胞は300-500 mM NaCl条件下でイネよりもNa⁺とCl⁻の蓄積量が低く抑えられていた。これらのことから、ソナレシバの細胞、および個体レベルの耐塩性機構には、Na⁺、K⁺とCl⁻の能動的な取り込み/排出機構とプロリン蓄積が関与していることが示された。

また、ソナレシバの耐塩性に関与する遺伝子を同定するために、ソナレシバのcDNAを網羅的に導入したシロイヌナズナの中から耐塩性が向上した個体をスクリーニングして、導入されているソナレシバcDNAを同定した。約3,000個体の組換えシロイヌナズナの耐塩性スクリーニングを行ない、複数の耐塩性系統を得た。これらの耐塩性系統のうちの2系統に導入されていたソナレシバcDNAはGlycine-rich RNA-binding protein (SvGRP1, SvGRP2)をコードしていた。SvGRP高発現シロイヌナズナではストレス関連遺伝子(RD29A, DREB1A, RD22)の塩応答的な発現が抑制されていた。

1. 目的

地球上の陸地の約3割は乾燥地域であり砂漠、あるいは砂漠化が進行している。砂漠化の主要な原因の一つとして不適切な灌漑等に起因する土壌表層への塩類集積が挙げられる。このような土壌では一般の植物は生育できないため、砂漠化だけではなく食糧を生産する耕地の減少をもたらす、結果として世界の食糧不足に拍車を掛けることになる。これらの砂漠地域を耕地化・緑化することで食糧問題の解決、二酸化炭素の固定による温暖化防止、環境の修復と保全にも貢献することができる。また、地球上

の水のうち97.5%が海水であり、氷河などを除いた利用可能な淡水は、わずか0.01%と言われている。地球上の水の大部分を占める海水を使って作物が栽培できれば、水不足に悩んでいる地域でも大幅な食糧増産が可能になる。塩類集積地での作物栽培や海水を利用した農業を可能にするためには、耐塩性植物を開発が必要である。耐塩性植物を分子育種するためには、塩生植物の耐塩性機構を解明し、耐塩性遺伝子を同定することが必要である。これまでに、中生植物と塩生植物に共通して機能する耐塩性機構として、転写因子の過剰発現によるストレス耐性

遺伝子の協調的発現誘導(Kasuga *et al.* 1999)、Na⁺の隔離・排出(Apse *et al.* 1999; Shi *et al.* 2003)や適合溶質の合成(Delauney and Verma 1993; Ashraf and Foolad 2007)などが報告されている。筆者らも、塩生植物であるマングローブの耐塩性機構の解明に取り組み、いくつかの耐塩性に関与する遺伝子を同定した(Ezawa and Tada 2009; Yamanaka *et al.* 2009)。しかし、これらの遺伝子の効果は海水並みの塩ストレスに対しては不十分であり、塩生植物の耐塩性で中心的な役割を担う遺伝子の解明はなされていない。

本研究では、高度な耐塩性を示すソナレシバの耐塩性機構を解明し、耐塩性遺伝子を同定することで、その仕組みを耐塩性植物の分子育種に応用するための基礎的な技術を開発することが目的である。ソナレシバは世界中の亜熱帯地域に自生する多年生草本の塩生植物であり、塩類腺をもっている(Gallagher 1979; Blits and Gallagher 1991; Marcum and Murdoch 1992; Bell and O'Leary 2003; Breen *et al.* 1977; Naidoo and Mundree 1993; Donovan and Gallagher 1985; Lipshitz and Waisel 1974)。日本では沖縄などの南西諸島の海岸部に生育する。ソナレシバはイネ科の単子葉植物であることから、ソナレシバの耐塩性機構が明らかになれば、世界の主要穀物であるイネ、ムギ、トウモロコシなどのイネ科の単子葉作物への応用が容易であると考えられ、その利用価値は非常に高い。特に湛水栽培を行うイネに適用した場合は、海水を利用した栽培が可能になるので、海水を利用した農業による食糧増産が実現する可能性がある。

2. 方法

2.1 ソナレシバの耐塩性評価と塩応答性

沖縄県西表島の海岸で採取したソナレシバを土耕と水耕によって栽培し、0~2,000 mM NaCl で処理して耐塩性の程度を評価した。また、ソナレシバの水耕溶液に様々な濃度の NaCl を添加して、生長速度、含水率、各種イオン含量、塩類腺からのイオン分泌量、プロリン含量などの生理応答について解析した。大きさが同程度のソナレシバをハイポニカ水耕液(協和)で水耕栽培し、0、100、500、1,000 mM NaCl を添加後 0、1、3、7、14、21 日目にイオンとプロリン測定用のサンプルをサンプリングした。生長量測定用のサンプルは 6 週間後にサンプリングした。イオン

測定用サンプルは地上部と根に切り分け、地上部は 50 ml 遠沈管に 10 ml の純水と一緒に入れ良く振って、塩類腺から排出した塩を溶解させて回収した。次に、地上部と根部の FW と DW を測定し、含水率を調べた。その後、乾燥させた植物体を乳鉢と乳棒ですり潰し、植物体 10 mg に抽出液 5 ml の割合で 15 ml 遠沈管に入れ、80°C で一晩イオンを抽出した。抽出液には、陽イオン測定用には 0.5%硝酸を、陰イオン測定用にはイオン交換水を用いた。そして塩類腺から排出された塩類に含まれるイオン量と植物体内のイオン含有量をイオンクロマトグラフィー(IA300 東亜 DKK(株))を用いて測定した。また、ソナレシバを用いて、0 日目と 6 週間目の FW と DW を測定し、異なる塩濃度における生長量を比較した。プロリン含量の測定は、Bates *et al.* (1973) の方法に従って行った。

2.2 細胞レベルの耐塩性評価

ソナレシバの無菌栽培した根を 1.0 ppm 2,4-D、0.1 ppm ベンジルアミノプリン、B5 ビタミン、1% スクロース、0.2% ゲランガムを添加した 1/2 MS 培地で培養し、誘導されたカルスを、ゲランガムを含まない液体培地で懸濁培養した。比較のためにイネ(日本晴)の培養細胞 Akagi *et al.* (1989) の方法で培養した。培地に、0、100、300、500 mM NaCl を添加して継時的にサンプリングし、イオン含量とプロリン含量を測定した。

2.3 ソナレシバの耐塩性遺伝子のスクリーニング

ソナレシバ cDNA を網羅的にシロイヌナズナに導入し、耐塩性の向上した個体を選抜し、導入されている cDNA を解析した。具体的には、CloneMiner cDNA Library Construction Kit (Invitrogen 社)を用いて、cDNA ライブラリーを構築し、CaMV35S プロモーターを含むプラスミド pGWB2 に組換えて発現ライブラリーを作製した。これらをアグロバクテリウムにより網羅的にシロイヌナズナに導入して、組換えシロイヌナズナ集団を作出した。これらの組換え体を 175 mM NaCl を含む 1/2 MS 培地(Murashige and Skoog 1962)でスクリーニングして、耐塩性系統を選抜した。さらに、選抜系統に導入されているソナレシバ cDNA を PCR 法で増幅し、塩基配列を解析した。また、耐塩性組換え体のイオン含量の測定やストレス応答性遺伝子の発現解析を行った。

3. 結果

3.1 ソナレシバの耐塩性評価と塩応答性

土耕したソナレシバを異なる濃度の NaCl 溶液に浸漬して栽培したところ、1,500 mM NaCl までは生存可能であった、一方で、水耕栽培の場合は 1,250 mM まで生存可能であった。土耕栽培では土壌の緩衝作用等により高い耐塩性を示すと考えられた。この結果から沖縄産のソナレシバは海水の 3 倍もの濃度の NaCl に耐性であることが明らかとなった。この濃度は報告されている他の地域のソナレシバが耐性を示した塩濃度の中で最も高い値である。

次に、0~1,000 mM NaCl で水耕栽培したソナレシバの生長量、各種イオン含量、プロリン蓄積量を測定した。

ソナレシバのシュート(地上部)は、100 mM NaCl では生長の促進が認められたが、500, 1,000 mM NaCl では生長が抑制された (Fig. 1A)。一方で根は 1,000 mM NaCl ま

で濃度依存的に生長が促進された (Fig. 1B)。それ以上の高濃度では実験していないが、調べた塩濃度の中で最も高濃度である 1,000 mM NaCl で最も根の生育が促進されるということは注目に値する。

塩処理したソナレシバのシュートでは Na⁺と Cl⁻が濃度依存的に蓄積したが、海水並みの 500 mM NaCl では Na⁺濃度は一時的に上昇するものの、3 週間後には無処理と差のない濃度にまで低下した (Fig. 2A, 2B)。一方で、K⁺濃度は 1,000 mM NaCl を含む調べたすべての塩処理によっても比較的恒常性が保たれていた (Fig. 2C)。根においてもほぼ同様の傾向が認められた (Fig. 2D-2F)。塩類腺から排出されるイオンを測定したところ、500 mM NaCl の方が 1,000 mM NaCl よりも全てのイオンで排出量が多かった (Fig. 2G-2H)。

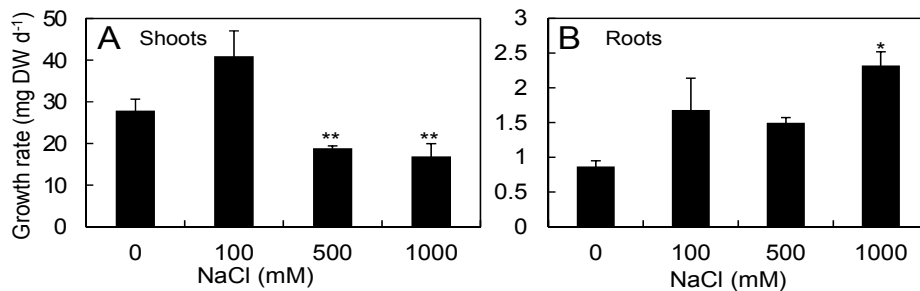


Fig. 1. 異なる塩濃度で水耕栽培したソナレシバの生長量。(A)シュート、(B)根

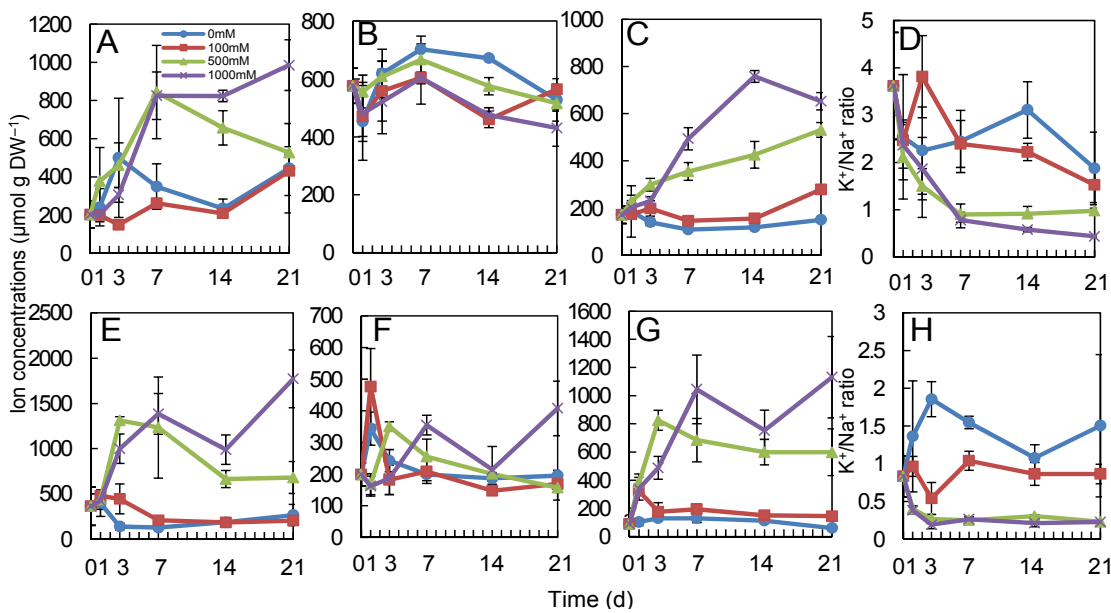


Fig. 2. 異なる塩濃度で水耕栽培したソナレシバのイオン濃度 (A~D)シュート、(E~H)根、(A, E)ナトリウムイオン、(B, F)カリウムイオン、(C, G)塩化物イオン、(D, H)K⁺/Na⁺ ratio

ストレス耐性の向上に関与することが知られているプロリン (Delauney and Verma 1993; Hare *et al.* 1999) の含量は、塩処理によって根とシュートの両方で濃度依存的に高まったが、シュートにより多くのプロリンが蓄積した (Fig. 3)。

3. 2 細胞レベルの耐塩性評価

ソナレシバは葉の表面上に塩類腺という塩類の排出器官を有しているが、塩類腺から排出される塩分は多くないことから、細胞・組織レベルの耐塩性機構を有していると考えられた。そこで、ソナレシバの細胞レベルでの耐塩性メカニズムを明らかにするために、ソナレシバの培養細胞の塩ストレス応答および耐塩性能をイネの培養細胞と比較解析した。

ソナレシバの培養細胞は 300 mM NaCl まではイネの培養細胞と同様の生育曲線を示して増殖したが、イネの細胞が増殖できない 500 mM NaCl でも生育を示した (Fig.

4A-D)。ソナレシバ培養細胞のイオン含量を調べたところ、塩処理下の Na^+ は植物体と比較して低かった。Cl⁻ も塩処理下では極めて低く抑制されていた。K⁺ は植物体の場合と異なり、高塩濃度では著しく低下した (Fig. 5)。一方で、

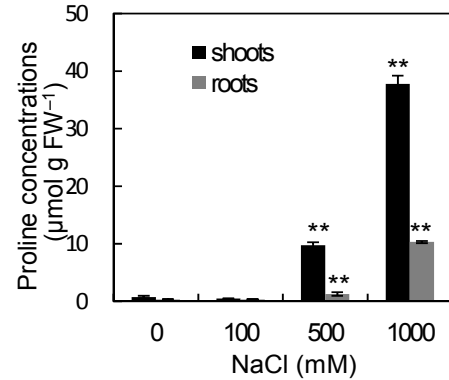


Fig. 3. 異なる塩濃度で水耕栽培したソナレシバのプロリン量

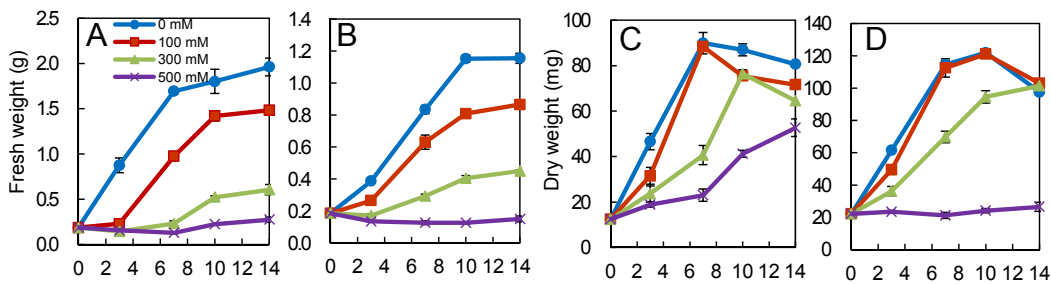


Fig. 4. 異なる塩濃度で培養したソナレシバとイネの培養細胞の生長量 (A) ソナレシバ生体重、(B) イネ生体重、(C) ソナレシバ乾物重、(D) イネ乾物重

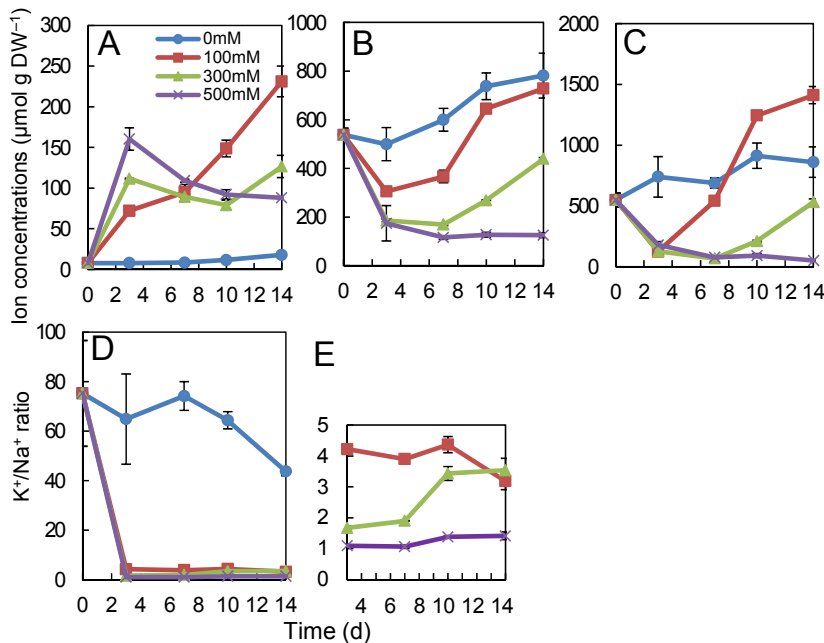


Fig. 5. 異なる塩濃度で培養したソナレシバ細胞中のイオン濃度 (A) ナトリウムイオン、(B) カリウムイオン、(C) 塩化物イオン、(D, E) K^+/Na^+ ratio

イネの細胞は塩処理によって Na^+ 、 Cl^- 共に含量が高まった。結果として、高塩処理条件ではソナレシバの方が高い K^+/Na^+ 比を保つことができた (Fig. 5)。

プロリン含量はソナレシバとイネで大きく異なった。ソナレシバでは塩濃度依存的なプロリン蓄積が認められたが、イネの培養細胞は 500 mM NaCl ではプロリン生産能が低かった。また、プロリンの絶対蓄積量は同じ塩濃度ではソナレシバの方が高かった (Fig. 6)。

3.3 ソナレシバの耐塩性スクリーニング

ソナレシバの耐塩性遺伝子を同定するために、ソナレシバ cDNA を網羅的にシロイヌナズナに導入し、その中から耐塩性の向上した個体を選抜し、導入されている cDNA を解析した。CloneMiner cDNA Library Construction Kit (Invitrogen 社)を用いて、cDNA ライブラリーを構築し、CaMV35S プロモーターを含むプラスミド pGWB2 に組換ええて発現ライブラリーを作製した。これらをアグロバクテリウムにより網羅的にシロイヌナズナに導入して、約 3,000 個体の組換えシロイヌナズナを作出した。これらの組換え体を 175 mM NaCl を含む 1/2 MS 培地でスクリーニングして、10 系統の耐塩性系統を選抜した。選抜系統に導入されているソナレシバ cDNA を解析したところ、2 系統の cDNA が *glycine-rich RNA-binding protein* (GRP) をコードしていた。これら 2 種の GRP (SvGRP1, SvGRP2) は、C 末端側のグリシンリッチリピート領域がそれぞれ 16 アミノ酸と 14 アミノ酸の 2 種であるが、GRP 領域以外は完全に同一配列であった。データベースの検索から、耐塩性の強い作物であるソ

ルガムにもグリシンリッチリピート領域が 15 アミノ酸と 14 アミノ酸の 2 種の相同性の高い GRP が存在することがわかった。一方で、イネ、トウモロコシ、シロイヌナズナには相同性の高い 2 種の GRP の存在は見いだされなかった。

選抜された SvGRP 発現シロイヌナズナを 100 mM NaCl の水耕液に移植して、継時的にストレス関連遺伝子 (RD29A, DREB1A, RD22) の発現解析をおこなったところ、野生型と比較して塩応答的な発現誘導が抑制されていた (Fig. 7)。これらの特性と耐塩性の向上の関連についてはさらなる研究が必要であるが、組換え体ではストレス応答シグナル経路が変化していることが示された。

さらに、本研究によって上記の GRP 発現個体以外にも 10 個体以上の耐塩性個体を選抜されている。これらについても、今後、導入されている cDNA の同定と詳細な耐塩性検定を実施する予定である

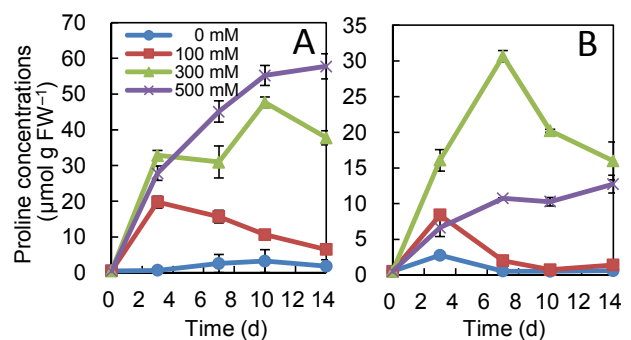


Fig. 6. 異なる塩濃度で培養したソナレシバ(A)とイネ(B)の培養細胞のプロリン含量

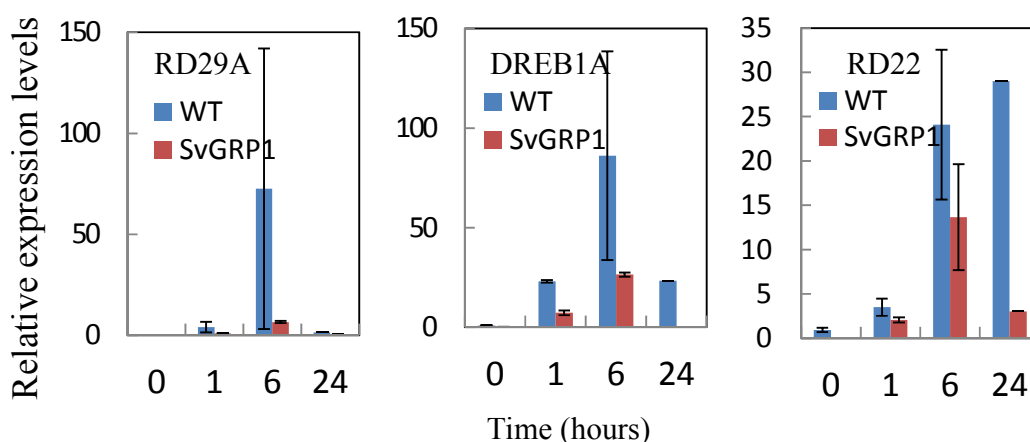


Fig. 7. GRP 組換え体と野生型におけるストレス関連遺伝子 (RD29A, DREB1A, RD22) の発現解析

4. 考 察

本研究によって、ソナレシバは海水の塩濃度の 3 倍に相当する 1,500mM NaCl に耐性であることが明らかとなった。このようなソナレシバの高度な耐塩性機構を解明するため、異なる塩濃度で水耕栽培したソナレシバの生長量、各種イオン含量、塩類腺からのイオン分泌量、プロリン含量などの生理応答について解析した。ソナレシバの地上部重量は 100 mM NaCl 処理で増加し、根重量は 1,000 mM NaCl までの濃度で濃度依存的に増加した。このような塩ストレス下の根の生長量の確保は耐塩性に重要な役割を果たしていると考えられる。根と地上部の Na⁺と Cl⁻含量は、塩処理後に急速に上昇したが、その後は一定濃度を維持、または減少した。このことから、ソナレシバの植物体では、他の適合溶質と合わせて Na⁺と Cl⁻が合計の浸透圧として一定値を超えないように制御されていると考えられた。この制御に関する機構を明らかにし、その遺伝子を同定することで耐塩性植物の創製に貢献できると考えられる。また、ソナレシバは塩ストレス下でもシュートの K⁺イオン含量が高く維持されていることが明らかになった。この機構に関与する遺伝子の同定も耐塩性植物の創製に必須であると考えられる。また、浸透圧の調整に関与するプロリンの含量も塩濃度依存的に上昇し、耐塩性に一定の役割を果たしていると推測された。ソナレシバに特徴的なプロリン合成の制御機構や高活性な合成酵素が存在するかどうかについて興味を持たれる。

また、ソナレシバの耐塩性機構を細胞レベルで解析するために、ソナレシバとイネの培養細胞の生理特性を塩ストレス下で比較した。ソナレシバ培養細胞は、イネの細胞が生育できない 500 mM NaCl 条件でも増殖でき、イネと比較してプロリン蓄積量も高かった。これらのことから、ソナレシバは細胞レベルでの耐塩性を有することが明らかとなった。しかし、植物体レベルの耐塩性(1,500 mM NaCl)における細胞レベルの耐塩性(500 mM NaCl)の寄与度は大きくない。このことから、ソナレシバの耐塩性機構では、塩類腺を含む植物体レベルの耐塩性が重要な役割を果たしていると考えられる。また、ソナレシバ培養細胞は 300-500 mM NaCl 条件下でイネよりも Na⁺イオンと Cl⁻イオンの蓄積量が低く抑えられていた。これらのことから、ソナレシバの細胞、および個体レベルの耐塩性機構には、Na⁺イオン、K⁺イオンと Cl⁻イオンの能動的な取り込み/排出

機構とプロリン蓄積が関与していることが示唆された。

ソナレシバ cDNA を網羅的にシロイヌナズナから選抜された耐塩性系統に導入されている cDNA を解析したところ、グリシンリッチリピート領域が異なる 2 種の GRP をコードしていた。同様の GRP は、耐塩性の強いソルガムにも存在するが、イネ、トウモロコシ、シロイヌナズナには見いだされなかったことから耐塩性との関係が示唆される。シロイヌナズナには 11 種の GRP が存在し、そのうちのいくつかは強発現させることで耐塩性が高まることが報告されている (Mangeon *et al.* 2010)。GRP はタンパク質の相互作用などの役割があると考えられることから、これらの GRP がソナレシバを含む塩生植物の塩性応答のシグナル経路で重要な役割を果たしている可能性が考えられる。

5. 今後の課題

本研究から、沖縄に自生するソナレシバが海水の 3 倍という極めて高濃度の塩ストレスに耐性があることが明らかとなった。また、各種イオンと適合溶質であるプロリンの蓄積特性についても明らかとなった。今後は、これらの特性に関与する遺伝子の同定を行うことで耐塩性機構を分子レベルで明らかにする必要がある。さらに、ソナレシバ cDNA の網羅的発現個体のスクリーニングで同定した GRP をはじめとする遺伝子の耐塩性における役割を詳細に解明するとともに、塩類腺の形成機構に関する研究も併せて行なうことで、ソナレシバの耐塩性機構の全体像を明らかにできると考えられる。

それらの仕組みを主要穀物であるイネ、ムギ、トウモロコシなどのイネ科の単子葉作物へ応用できれば、塩害地での食糧生産や海水を利用した農業が可能になり、食糧問題の解決に大きく貢献できると期待される。

文 献

- Akagi H, Sakamoto M, Negishi T, Fujimura T (1989) Construction of rice cybrid plants. *Mol Gen Genet* 215: 501-506.
- Ashrafa M, Foolad MR (2007) Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance. *Environ Exp Bot* 59: 206-216.
- 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.
- Bates L, Waldren R, Teare I (1973) Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant Soil* 39: 205-207.
- Bell HL, O'leary JW (2003) Effects of salinity on growth and cation accumulation of *Sporobolus virginicus* (Poaceae). *Amer J Bot* 90: 1416-1424.
- Blits KC, Gallagher JL (1991) Morphological and physiological responses to increased salinity in marsh and dune ecotypes of *Sporobolus virginicus* (L.) Kunth. *Oecologia* 87: 330-335.
- Breen CM, Everson C, Rogers K (1977) Ecological studies on *Sporobolus virginicus* (L.) Kunth with particular reference to salinity and inundation. *Hydrobiologia* 54: 135-140.
- Delauney A, Verma DPS (1993) Proline biosynthesis and osmoregulation in plants. *Plant J* 4: 215-223.
- Donovan LA, Gallagher JL (1985) Morphological responses of a marsh grass *Sporobolus virginicus* (L.) Kunth., to saline and anaerobic stresses. *Wetlands* 5: 1-13
- Ezawa S, Tada Y (2009) Identification of salt tolerance genes from the mangrove plant *Bruguiera gymnorhiza* using *Agrobacterium* functional screening. *Plant Sci* 176: 272-278.
- Gallagher JL (1979) Growth and element compositional responses of *Sporobolus virginicus* (L.) Kunth. to substrate salinity and nitrogen. *American Mid Natur* 102: 68-75.
- Hare PD, Cress WA, Van Staden J (1999) Proline synthesis and degradation: a model system for elucidating stress-related signal transduction. *J Exp Bot* 50: 413-434.
- Kasuga K, Liu Q, Miura S, Yamaguchi-Shinozaki K, Shinozaki K (1999) Improving plant drought, salt, and freezing tolerance by gene transfer of a single stress-inducible transcription factor, *Nat Biotechnol* 17: 287-291.
- Lipshitz N, Waisel Y (1974) Existence of salt glands in various genera of the Gramineae. *New Phytol* 73: 507-513.
- Mangeon A, Junqueira RM, Sachetto-Martins G (2010) Functional diversity of the plant glycine-rich proteins superfamily. *Plant Signal Behav* 5: 99-104.
- Marcum KB, Murdoch CL (1992) Salt tolerance of the coastal salt marsh grass, *Sporobolus virginicus* (L.) Kunth. *New Phytol* 120: 281-268.
- Murashige T, Skoog F (1962) A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. *Physiol Plant* 15: 473-497.
- Naidoo G, Mundree SG (1993) Relationship between morphological and physiological responses to waterlogging and salinity in *Sporobolus virginicus* (L.) Kunth. *Oecologia* 93: 360-366.
- Shi H, Lee BH, Wu SJ, Zhu JK (2003) Overexpression of a plasma membrane Na⁺/H⁺ antiporter gene improves salt tolerance in *Arabidopsis thaliana*. *Nat Biotechnol* 21: 81-85.
- Yamanaka T, Miyama M, Tada Y (2009) Transcriptome profiling of the mangrove plant *Bruguiera gymnorhiza* and identification of salt tolerance genes by *Agrobacterium* functional screening. *Biosci Biotechnol Biochem* 73:304-310.

Analysis of Salt Tolerance Mechanisms in *Sporobolus Virginicus*

Yuichi Tada

School of Bioscience and Biotechnology, Tokyo University of Technology

Summary

We identified a line of *Sporobolus virginicus* (L.) Kunth, a halophyte turf grass, collected in Okinawa, Japan. The line showed a salinity tolerance up to 1,250–1,500 mM NaCl, a three-fold higher concentration than seawater salinity. We investigated the growth rate, water content, ion concentration and secretion, and proline concentration in comparison with the reported properties of lines collected from the other places. Shoot growth was stimulated by 100 mM NaCl and root growth was stimulated at salinities of up to 1,000 mM NaCl. Accumulation of Na⁺ and Cl⁻ in shoots and roots was rapidly elevated by salinity stress but did not exceed levels required for osmotic adjustment, due in part to ion secretion by leaf salt glands, which are common characteristics among *S. virginicus* lines. However, the Japanese lines accumulated K⁺ to a higher level than other lines even under salinity stress. An increase in proline concentration was observed that was proportional to the NaCl concentration in the culture solution and might partially account for the osmotic adjustment of shoots. We also generated and characterized cultured cells of *S. virginicus* in comparison with rice cultured cells. The cultured cells of *S. virginicus* showed an enhanced growth compared with rice cultured cells in 500 mM NaCl. The concentration of Na⁺ and Cl⁻ ions in the cultured cells in 300–500 mM NaCl was lower level than in moderate salinity. Cultured cells of *S. virginicus* accumulated proline to higher levels than rice cultured cells under salinity stress. The active regulation of Na⁺, Cl⁻, and K⁺ influx/efflux and proline accumulation might be involved in salt tolerance mechanisms at the cellular level as well as *in planta*. We also performed comprehensive salt tolerant screening of Arabidopsis plants transformed with cDNA expression library consist from *S. virginicus* shoot mRNA and identified plants with enhanced salt tolerance. Two cDNA introduced into the plants encode genes for glycine-rich RNA binding proteins (SvGRP1, SvGRP2). In the transformants, expression of stress responsive genes, *RD29A*, *DREB1A* and *RD22*, was compromised under saline condition.