

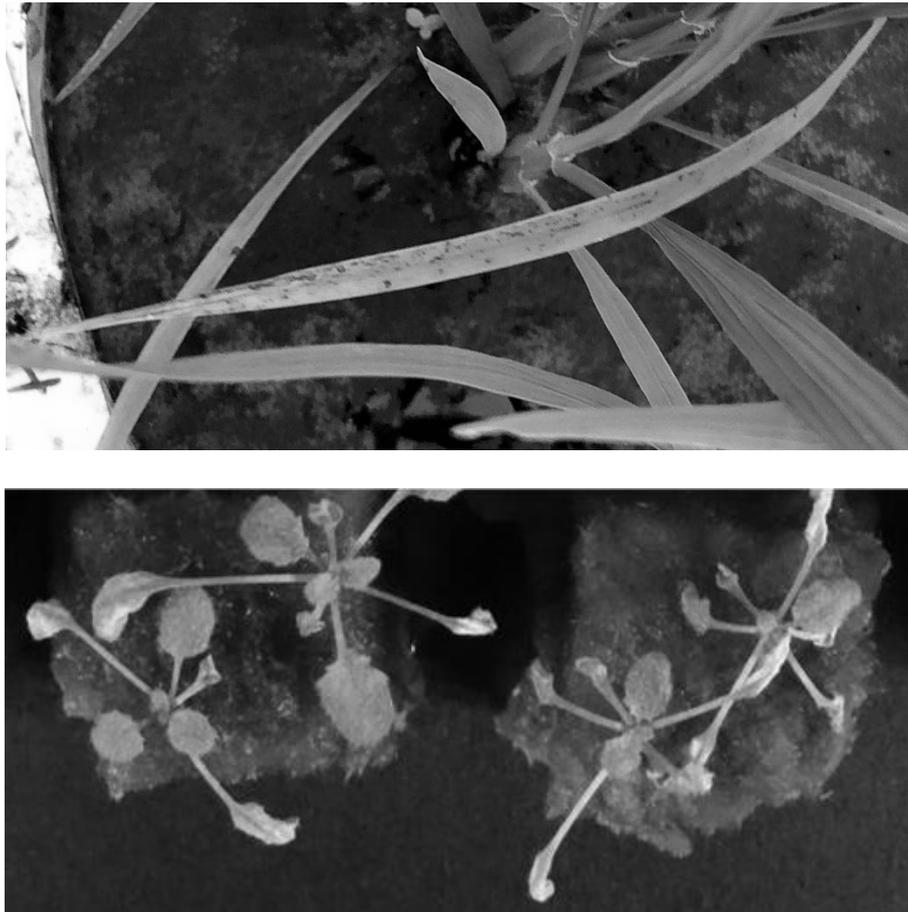
植物におけるオゾンの応答機構

目次

1		
2		
3		
4		
5		
6	1. はじめに	2
7	2. 急性影響	3
8	2.1. オゾン流入の制御	3
9	2.2. 抗酸化機構によるオゾンの解毒	5
10	2.3. プログラム細胞死による可視障害発現機構	5
11	2.4. 光呼吸の関与	8
12	3. 慢性影響	9
13	3.1. 生育・収量への影響	9
14	3.2. 品質への影響	12
15	4. まとめ	14
16	5. 参考文献	14
17		
18		
19		

1 1. はじめに

2 光化学オキシダントの主成分であるオゾンは、強い酸化力を持ち、人体だけでなく植物
3 にも有害に作用する。オゾンは植物の葉の表面にある気孔を介して取り込まれると、葉内
4 の様々な物質と反応して活性酸素種（ROS: Reactive oxygen species）を生成する。これに
5 より葉に褐色斑や黄変、白化などの可視障害を発生させたり（図 1）、クロロフィルの分解
6 等により植物の光合成能力を低下させ、森林の衰退や作物の収量低下を引き起こしている
7 と考えられている。



8
9 図 1 オゾンによる植物の葉の可視障害

10 上：イネ 下：シロイヌナズナ(澤田ら, 2017)

11

12 オゾンに対する植物の影響はその濃度と曝露期間によって異なる。高濃度のオゾン（一
13 般的に 0.15 ppm 以上）に短期間（数時間から数日間）曝露することによって生じる急性オ
14 ゾンストレスは、感受性の高い植物の細胞死を誘導し、可視障害を発生させる。一方、比
15 較的低濃度のオゾン（一般的に 0.15 ppm 以下）に長期間（数週間から数ヶ月間）曝露する
16 ことによって生じる慢性オゾンストレスは、光合成の低下や生育阻害、老化の促進等をも
17 たらす(Vainonen and Kangasjärvi, 2015; Frei, 2015)。また、これらの障害が生じる程度
18 には植物の種や品種間差があると同時に、植物の齢や環境条件によっても大きく異なる

1 (Ainsworth, 2017)。このようなオゾン障害発生に関する植物の生理的な応答については、
2 分子生物学の進展により遺伝子レベルでも解明されるようになってきた。そこで、植物の
3 オゾン応答の分子的メカニズムについて、主としてシロイヌナズナやイネのようなモデル
4 植物に関し国内のみならず海外で得られたものも含め、最近の知見を解説する。なお、急
5 性オゾン曝露に対する応答で紹介した研究におけるオゾン曝露実験はほぼすべて室内の人
6 工光型グロースキャビネットで行われている。

7

8 2. 急性影響

9 2.1. オゾン流入の制御

10 オゾンは気孔を通して葉内に入るため、気孔開閉の制御はオゾンの侵入を防ぐ第一段階
11 の防御機構である。オゾンに曝露された植物ではしばしば気孔開度の低下により気孔コン
12 ダクタンスが低下する(Torsethaugen *et al.*, 1999; Saji *et al.*, 2008)。オゾン曝露による気
13 孔コンダクタンスの低下は、曝露後 1 分以内に急速に生じ、その回復に 1~2 時間程度要す
14 るもの(Kollist *et al.*, 2007; Vahisalu *et al.*, 2010)とものとゆっくり観察されるもの(Saji
15 *et al.*, 2008)がある。気孔の開閉は気孔を構成する孔辺細胞の膨張と収縮によって引き起こ
16 され、この過程は孔辺細胞へのイオンやその他の物質の蓄積、流出等によって調節されて
17 いる。気孔の閉鎖に必要な孔辺細胞のイオン輸送経路の活性化は葉へのオゾンの侵入を制
18 限するために不可欠である。細胞内カルシウムイオン (Ca^{2+}) 濃度の増加はオゾン曝露後
19 数秒以内にみられる最も早い応答である(Evans *et al.*, 2005)。 Ca^{2+} の流入は、ROS の一種
20 である過酸化水素 (H_2O_2) による Ca^{2+} チャネル (特定のイオンなどを選択的に通す膜タ
21 ンパク質) の活性化により生じることが示されており(Pei *et al.*, 2000)、オゾン曝露された
22 タバコ細胞においてもオゾンにより生じた ROS が Ca^{2+} 流入を誘導することが報告されて
23 いる(Kadono *et al.*, 2006)。この Ca^{2+} 濃度の増加を二次メッセンジャー (細胞内での情報
24 伝達物質) として、陰イオンチャネルが活性化され、大量の塩素イオン (Cl^-) が細胞外に
25 流出し、膜電位がプラス方向に変化する。その結果、カリウムイオン (K^+) の放出に働く
26 外向きの K^+ チャネルが活性化され、孔辺細胞の膨圧が減少して、気孔が閉じると考えられ
27 ている (図 2)。

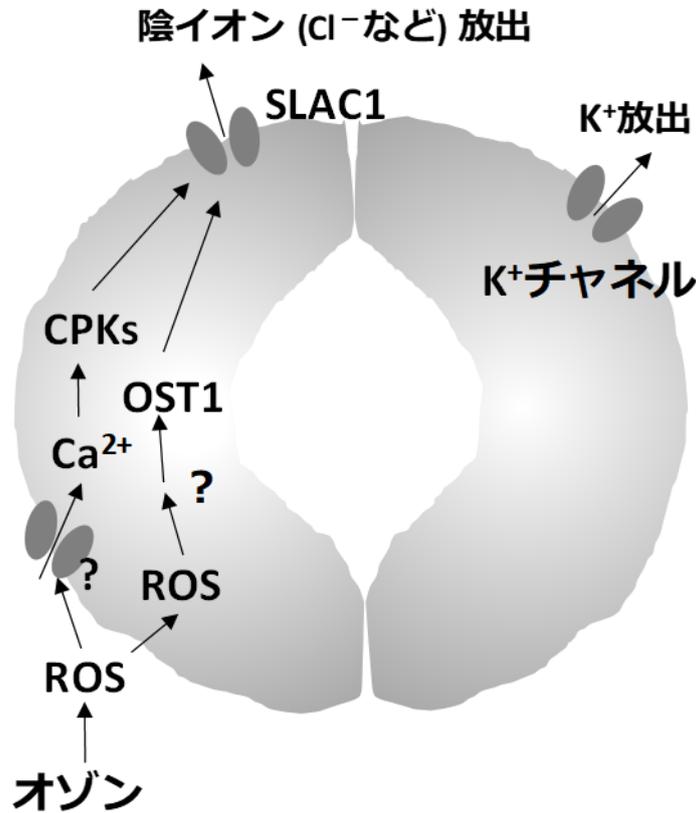


図 2 オゾン誘導性の急速な気孔閉鎖モデル

ROS: Reactive oxygen species (活性酸素種), OST1: OPEN STOMATA 1 (タンパク質キナーゼの 1 種), CPKs: Ca-dependent protein kinases (カルシウム依存性タンパク質キナーゼ), SLAC1: SLOW ANION CHANNEL 1 (S型陰イオンチャネル)

(Vahisalu *et al.*, 2010 改変)

S型陰イオンチャネル SLOW ANION CHANNEL 1 (SLAC1) タンパク質は、オゾン曝露により生じる ROS 誘導性の急速な気孔閉鎖において主要な役割を果たしていることが明らかとなった(Vahisalu *et al.*, 2008)。また、Saji *et al.* (2008)も同時期にオゾン感受性シロイヌナズナ変異体のなかに、気孔反応に異常を示すものを発見し、その原因遺伝子として *SLAC1* 遺伝子を同定している。SLAC1 タンパク質は細胞膜に局在し、陰イオンの細胞外への排出を担う膜タンパク質であり、タンパク質キナーゼ (タンパク質分子にリン酸基を付加する酵素) の一種 OPEN STOMATA 1 (OST1) タンパク質やその他のカルシウム依存性タンパク質キナーゼ (CPKs) によるリン酸化によって活性化される(Vahisalu *et al.*, 2010)。Vahisalu *et al.* (2010)は、OST1 タンパク質の活性化が ROS によって誘導されることも示唆している。このように気孔閉鎖のメカニズムにおいて、オゾン由来の ROS は各種シグナル物質やイオンチャネルとともに重要な役割を果たしている。

1

2 2.2. 抗酸化機構によるオゾンの解毒

3 オ존はアポプラスト（細胞膜外の、細胞間隙の気相空間や細胞壁のある液相空間）に
4 侵入後、液相に溶け込んだり種々の有機物と反応することにより ROS が生成する。よっ
5 て、オゾンから生成されたアポプラスト内の ROS の解毒はオゾンに対する第 2 段階の防
6 御機構である。アポプラスト内の ROS 消去において主要な役割を果たす物質は細胞壁液相
7 内の抗酸化物質であるアスコルビン酸である(Foyer and Noctor, 2009)。アスコルビン酸の
8 合成能力が低下したシロイヌナズナ突然変異体 *vtc1* は野生型と比較して、オゾン曝露に対
9 して高い感受性を示す(Conklin *et al.*, 1996)。アスコルビン酸はオゾンや ROS との直接の
10 反応(Barnes *et al.*, 2002)またはアスコルビン酸オキシダーゼによる ROS の代謝によりデ
11 ヒドロアスコルビン酸 (DHA) に酸化される(Sanmartin *et al.*, 2003)が、抗酸化機能を保
12 つためには還元型のアスコルビン酸にリサイクルされる必要がある。そのため、DHA は細
13 胞内に輸送され、細胞質型 DHA 還元酵素 (DHAR) によってアスコルビン酸に還元された
14 後、細胞外に戻される(Horemans *et al.*, 2000; Yoshida *et al.*, 2006)。この細胞質型 DHAR
15 を持たない変異体もまたオゾンに対して高い感受性を示した(Yoshida *et al.*, 2006)。シロ
16 イヌナズナ培養細胞を H_2O_2 で処理すると、急速にアポプラストにアスコルビン酸が放出
17 されることが示されているように、細胞外の ROS 蓄積はアポプラストへのアスコルビン酸
18 供給を刺激する(Parsons and Fry, 2010)。また、還元型グルタチオンもアスコルビン酸と
19 ともに H_2O_2 の解毒代謝を担うが、アスコルビン酸-グルタチオンサイクルで機能する酵素
20 や酸化還元基質の応答の違いが、イネ 2 品種のオゾン感受性差を左右することが報告され
21 ている(Wang *et al.*, 2013)。野内と小林 (2009)は、細胞壁中のアスコルビン酸によって植
22 物に侵入したオゾンの一部が消去されるとしており、消去されずに残ったオゾンや ROS が
23 細胞膜などにダメージを与える可能性を示唆した。消去されなかった ROS は以下で解説す
24 るプログラム細胞死を誘導するとともに、脂質やタンパク質などを直接酸化し、生体物質
25 に障害をもたらすと考えられる。

26

27 2.3. プログラム細胞死による可視障害発現機構

28 2.3.1. プログラム細胞死の機構

29 急性オゾン曝露は植物の病原菌感染時における過敏感反応に似たプログラム細胞死を引
30 き起こすとされている(Kangasjärvi *et al.*, 2005)。過敏感反応とは病原菌の感染を受けた
31 部位の細胞が自発的に死ぬことにより、感染菌が全身に蔓延しないように封じ込める反応
32 である。急性オゾン曝露された植物では、このプログラム細胞死を起こした葉の部位が可
33 視障害として観察されると考えられている(佐治ら, 2002)。オゾン誘導性のプログラム細胞
34 死は、オゾンやその分解で生じたスーパーオキシド (O_2^-) や H_2O_2 などの ROS が、主に細
35 胞膜上のニコチンアミドアデニンジヌクレオチドリン酸 (NADPH) 酸化酵素の活性化によ

1 　　ってさらなる ROS の急速な発生を誘導すること（オキシダティブバースト）により生じる
2 　　(Rao and Davis, 2001)。さらにこの NADPH 酸化酵素の活性化には分裂促進因子活性化タ
3 　　ンパク質キナーゼ（MAPK）タンパク質が関与している。MAPK によるタンパク質のリン
4 　　酸化は真核生物に広く保存される情報伝達経路であり、外部刺激によって活性化され、転
5 　　写因子や酵素などのタンパク質をリン酸化することによって細胞内でのシグナル伝達を担
6 　　う。この MAPK の活性化には細胞外から細胞内への Ca^{2+} の流入が主要な役割を果たして
7 　　いる。先に述べたように細胞内への Ca^{2+} の流入はオゾン曝露後にみられる最も早い応答の
8 　　一つであり、オゾン誘導性のプログラム細胞死において Ca^{2+} の流入が NADPH 酸化酵素の
9 　　リン酸化を誘導することが示唆されている (Tamaoki, 2008)。

10

11 2.3.2. エチレン等のシグナル因子の関与

12 　　オゾンに曝露した植物では、植物ホルモンの一つであるエチレンが発生し、障害を促進
13 　　する方向に作用する。さらに、エチレン以外にも、サリチル酸やジャスモン酸のようなス
14 　　トレス関連ホルモン等のシグナル物質が植物のオゾン応答に関与することが次々に明らか
15 　　になってきた（図 3）。これらのシグナル因子は植物の病原体感染を含む様々なストレス条
16 　　件下でも誘導され、互いに相互作用しながら防御反応や細胞死を誘導あるいは抑制する。
17 　　また 2.4 に後述のように、ROS についても、シグナル因子の一つとしての作用が重要視さ
18 　　れるようになってきた。オゾンに曝露した植物の体内では ROS やその他様々なシグナルの
19 　　作用により、多くの遺伝子の発現や代謝産物の量が変化し、成長モードからストレス防御
20 　　態勢へのシフトが起こると考えられる (Tamaoki *et al.*, 2003b; Cho *et al.*, 2008)。

21

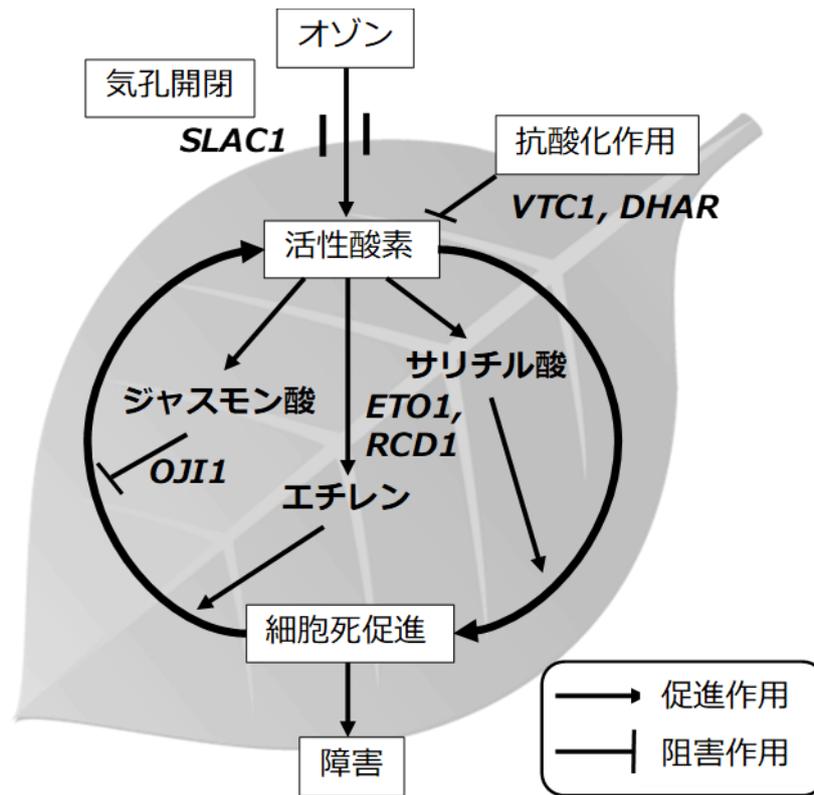


図 3 活性酸素と植物ホルモンを介したオゾンによる障害発生機構と
 オゾン感受性原因遺伝子の作用部位
 イタリック：遺伝子名 (澤田ら, 2017)

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21

オゾン曝露により誘導される上記の情報伝達の結果、エチレンやサリチル酸、ジャスモン酸などの植物ホルモンが誘導される。植物ホルモンを介したオゾンによる細胞死誘導機構を図 3 に示す。これらの植物ホルモンは病傷害などの環境ストレスにも応答することが知られている。エチレンは花芽形成や果実の成熟、病原菌抵抗性などに関与する物質であり、オゾン曝露時にも重要な働きを持つ。例えばエチレンを恒常的かつ多量に合成するシロイヌナズナの *ethylene overproducer 1 (eto1)* 変異体は、オゾンに曝露されると重度の可視障害を発生する (Rao *et al.*, 2002; Tamaoki *et al.*, 2003a)。さらに、エチレン生合成酵素であるアミノシクロプロパンカルボン酸合成酵素 (ACS) 遺伝子の発現を低下させた遺伝子組換えタバコでは、オゾン障害が軽減されることが示されている (Nakajima *et al.*, 2002)。サリチル酸は病原菌などの感染に急速に応答して合成され、その高蓄積によって過敏感細胞死を引き起こすことにより、病原菌の拡大を防ぐ (Malamy *et al.*, 1990)。上述したようにオゾンに急性曝露された植物では、病原菌の感染時と同様に過敏感反応による細胞死が誘導される。オゾン曝露によりサリチル酸を過剰蓄積するシロイヌナズナの生態型 Cape Verde Islands (Cvi) はオゾンにより重度の可視障害を示し、また、細菌のサリチル酸分解酵素遺伝子を導入した Cvi の形質転換体ではオゾン障害が軽減されたことから、オゾン曝露による細胞死誘導をサリチル酸が促進していることが示唆された (Rao *et al.*,

1 2000)。一方、ジャスモン酸は傷害応答に重要な働きを持つ植物ホルモンであるが、ジャス
2 モン酸の蓄積はオゾン曝露時の可視障害発現に対し抑制的に働くことが示されている。例
3 えば、シロイヌナズナにおいて、ジャスモン酸を活性型であるジャスモン酸イソロイシン
4 に代謝する酵素をコードする *JASMONIC RESISTANT 1* (*JAR1*) 遺伝子が機能しない変
5 異体 (*jar1*) 及びジャスモン酸合成能力の低下した変異体 *fad3/7/8* はオゾン感受性が高い
6 (Rao *et al.*, 2000; Staswick and Tiryaki, 2004)。このようにオゾン曝露により誘導された
7 エチレン、サリチル酸は ROS の生成を通じて可視障害発現を促進する方向に、ジャスモン
8 酸は抑制する方向に作用する(Overmyer *et al.*, 2000)が、これらの植物ホルモンは相互に
9 作用しあうことも知られている。*jar1* 変異体では高レベルのサリチル酸が蓄積され、サリ
10 チル酸を高蓄積する *Cvi* はジャスモン酸感受性が低いこと(Rao *et al.*, 2000)、ジャスモン
11 酸低感受性/オゾン高感受性突然変異体 *ozone-sensitive and jasmonate-semi-insensitive*
12 *mutant* (*oji1*) に、メチルジャスモン酸を処理するとエチレン生成が抑制され、オゾン障
13 害が軽減されることなどが報告されている(Kanna *et al.*, 2003)。また、オゾン感受性の突
14 然変異体 *radical-induce cell death 1* (*rcd1*) はエチレンとサリチル酸を高蓄積する
15 (Overmyer *et al.*, 2000; 2005)こと、エチレンを過剰蓄積する *eto1* 及び *eto3* 変異体はオゾ
16 ン曝露下でサリチル酸生成量が高い(Rao *et al.*, 2002)ことなどから、エチレンとサリチル
17 酸は互いの合成を促進することが示唆される。

18

19 2.4. 光呼吸の関与

20 一方、葉緑体内で光合成に伴って発生する ROS は、オゾン障害が光照射下で生じやすい
21 ことと関連付けて推論されてきたが、最近解析されたシロイヌナズナのオゾン感受性変異
22 体の原因遺伝子が光呼吸系酵素をコードしていることが分かり、これを裏付ける証拠とな
23 った(Saji *et al.*, 2017)。光呼吸は強光下において光合成の電子伝達系により生成するエネ
24 ルギー物質 (NADPH と ATP) を消費し、過剰に蓄積しないように作用する。ところが光
25 呼吸系変異体 (*gox1&2*, *hpr1-1*) ではこの機能が失われ、これらのエネルギー物質が過剰
26 蓄積する結果、光合成電子伝達の流れが悪くなり、電子が酸素に受け渡されて活性酸素が
27 多く発生すると予想される。この強光下の葉緑体内における ROS 生成とオゾンによるアポ
28 プラストにおける ROS 生成が同時に起こると細胞死が強く誘導され、葉の可視障害が生じ
29 ると考えられる (図 4)。

30

31

32

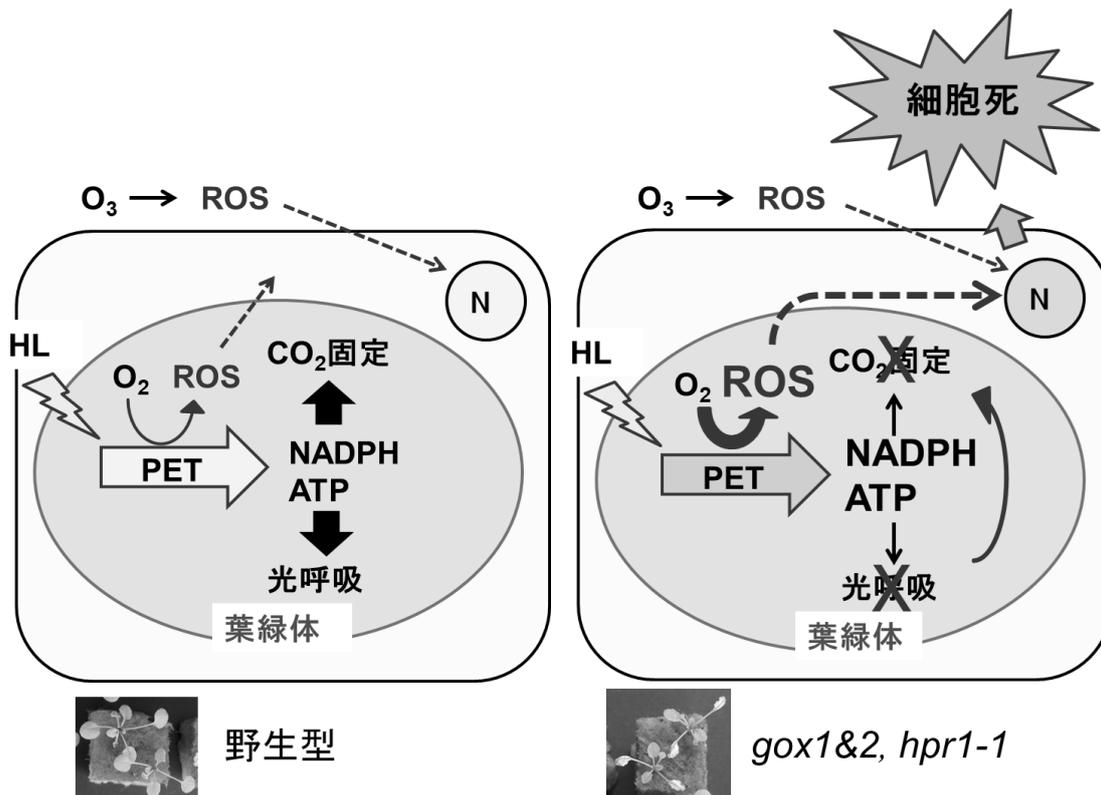


図4 光呼吸系酵素の突然変異体がオゾン感受性になるメカニズム (仮説)

HL: 強光、N: 核、O₃: オゾン、PET: 光合成電子伝達系、ROS: 活性酸素

3. 慢性影響

3.1. 生育・収量への影響

可視障害が生じないような比較的低濃度のオゾンであっても植物が長期間曝露された場合、その成長や収量は低下する。一般に、オゾンは葉緑体における光合成機能を阻害することによって、植物の成長や収量を低下させるとされており、特に CO₂ 固定を担うリブローズ 1,5-ビスリン酸カルボキシラーゼ/オキシゲナーゼ (Rubisco) の蓄積量や活性の低下が大きな要因であると考えられている。またアスコルビン酸合成酵素の一つが機能しないイネ変異体を長期的にオゾンに曝露すると、その生育や収量が野生型よりも有意に低下する (Frei *et al.*, 2012b) ことから、慢性影響の発現にも可視障害の発現と同様に ROS が関与していると考えられている。一方、イネ 20 品種を用いたオゾン曝露実験において、葉の可視障害の発現レベルと収量低下の度合いには相関関係が見られないことから、オゾンによる可視障害の発現と収量低下が独立したメカニズムにより制御されている場合もあることが示唆された (Sawada and Kohno, 2009)。葉の可視障害発現などの急性オゾン障害の分子機構は主に一つの遺伝子に生じた突然変異を解析することにより解明されてきた。しかし、慢性的なオゾン曝露により見られる成長速度や収量などの計量値や計数値で表される形質 (量的形質) は、表現型の違いを単純に有る無しで判別することが難しく、また量的形質には一般に複数の遺伝子が関与しているため、これまで分子機構の解明が困難であった (鵜

1 飼, 2000)。1980年代後半、DNA マーカーの登場により、量的形質に關与する遺伝子が染
2 色体上のどこに存在するのか（遺伝子座：染色体上における遺伝子の位置）、またいくつ
3 の遺伝子が關与するのかを推定することができる量的形質遺伝子座（QTL）解析と呼ばれ
4 る手法が進展してきた。Frei *et al.*, (2008) は、23品種のイネに慢性的なオゾン曝露を行
5 い、オゾンによる生育への影響が異なる2品種を選抜し、それらを交配親とする組換え自
6 殖系統群へのオゾン曝露から葉の可視障害、乾物重、気孔コンダクタンスに關与する6個
7 のQTLを同定した。それらのうち第8染色体上に存在する *OzT8* 遺伝子座は、光合成器官
8 の生化学的順応によってオゾンが引き起こす光合成活性の低下を緩和し、乾物重低下の抑
9 制に關与することが示された(Chen *et al.*, 2011)。また、葉内の還元型アスコルビン酸含量
10 を高く保つことによって酸化障害を回避し、オゾンによる可視障害の軽減に關与する *OzT9*
11 遺伝子座(Frei *et al.*, 2008; 2010)と *OzT8* 遺伝子座の双方の領域にオゾンによる可視障害
12 が見られない耐性親品種の染色体断片が導入された系統では、*OzT9* 遺伝子座単独が導入
13 された系統よりも乾物重の低下が軽減されることが示された(Wang *et al.*, 2014)。Ueda *et*
14 *al.* (2015) は *OzT9* 遺伝子座に座する可視障害（プログラム細胞死）の誘導に關与する
15 遺伝子として *OZONE-RESPONSIVE APOPLASTIC PROTEIN 1* (*OsORAP1*) 遺伝子を
16 同定している。この *OsORAP1* はアスコルビン酸酸化酵素様のタンパク質をコードし、こ
17 の遺伝子の機能が失われると葉の可視障害が軽減された。Tsukahara *et al.* (2013) は QTL
18 解析を用いて、イネの6番染色体の後方にオゾンによる収量の低下に關与する遺伝子座を
19 同定し、その遺伝子座が穂の一次枝梗数（枝分かれの数）に關わることを明らかにした（図
20 5）。さらに、その遺伝子座領域に座する *ABERRANT PANICLE ORGANIZATION 1*
21 (*APO1*) 遺伝子領域のみ感受性親に置換された系統を用いた収量影響評価によって、オゾ
22 ンによる *APO1* 遺伝子の発現抑制がイネの穂の一次枝梗数の減少とそれに伴う収量低下に
23 關与していることを確認し、さらにこの遺伝子の発現調節にジャスモン酸やアブシジン酸
24 などの植物ホルモンが關与していることを発見した(Tsukahara *et al.*, 2015)。

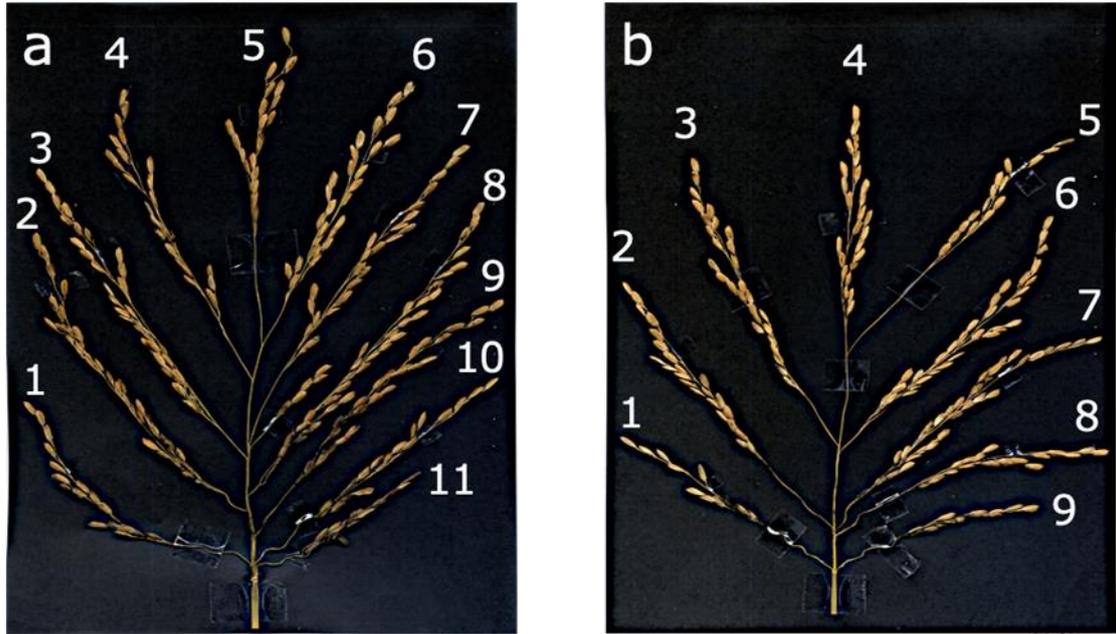


図5 オゾンによるコメ収量への影響

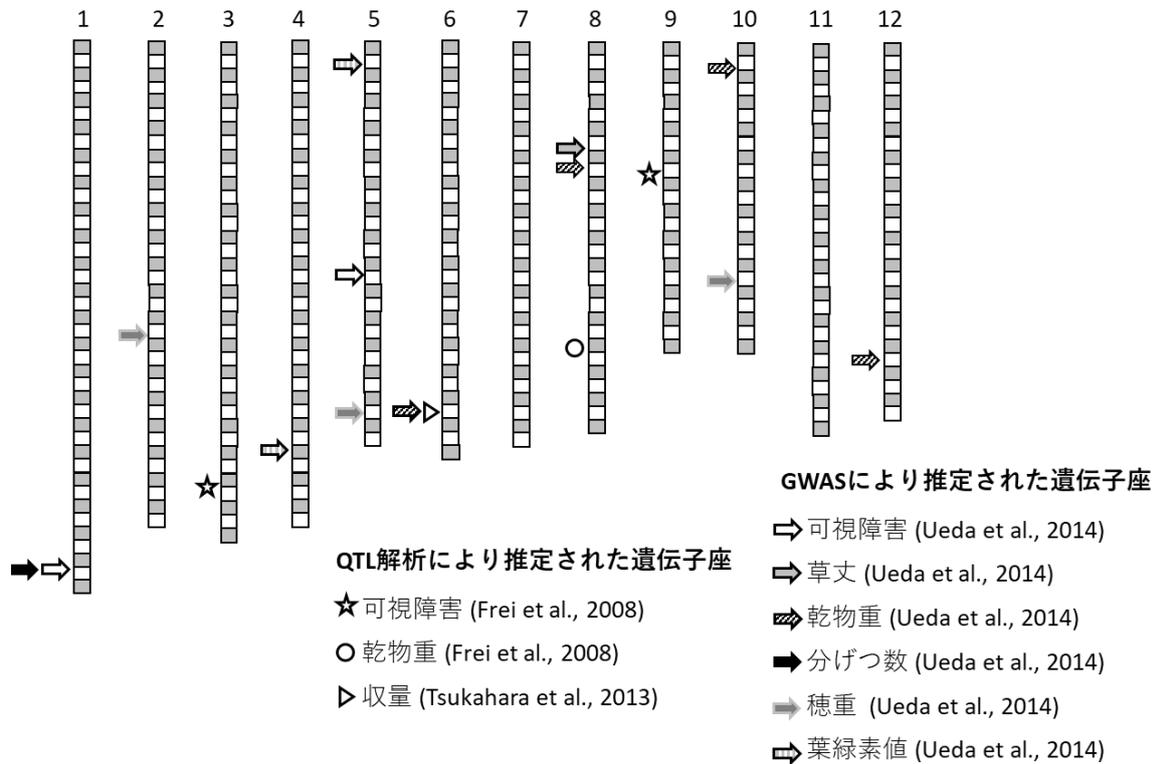
外気 (a) 及びオゾン添加 (b) で栽培されたハバタキの穂。
 オゾンにより穂の枝分かれ (一次枝梗) 数が減少し、収量が低下している。

(Tsukahara *et al.*, 2015 より改変)

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22

さらに近年は、次世代シーケンサーの普及により、ゲノムワイドアソシエーション解析 (GWAS) という手法が急速に用いられるようになってきた。GWAS では、QTL 解析に用いられていた単純反復配列 (SSR: Simple sequence repeat) などの DNA マーカーよりも、遺伝子多型 (DNA 配列の個体差) の頻度が高い一塩基多型 (SNP: Single nucleotide polymorphism) を利用することによって、これまで困難であった近縁品種間の多様性解析を行うことができる (米丸, 2013)。Ueda *et al.* (2014) は 328 系統のアジアイネを用い、オゾン耐性に関する GWAS を行った。生育や収量またはクロロフィル含量などの生理的形質に及ぼすオゾンの影響を指標に解析した結果、イネゲノム全体で 30,000 以上の SNP マーカーが検出され、それらの中から有意水準を 0.01% 以下に設定し、上述した形質に関する 16 個のマーカーをオゾンに応答する候補遺伝子座として選抜した。そのうち 6 番染色体の 27 Mb 付近に存在する遺伝子座は、乾物重、リグニン含量、分げつ数 (イネの茎の分枝数。一般的な植物では側芽の数に該当) 及び穂重に対して共通に関与しており、この遺伝子座は Tsukahara *et al.* (2015) の発見したオゾンによる収量低下に関する QTL と同じ領域に存在していた。また、2 番染色体と 10 番染色体にも穂の重量の低下に関与する SNP が検出され、10 番染色体のマーカー近傍に存在する遺伝子のうち 6 個はシグナル伝達に関与する遺伝子であることが明らかとなった (Ueda *et al.*, 2015)。これまでに QTL 解析や

1 GWAS によって明らかになった生育や収量におけるオゾン耐性に関与する遺伝子座を図 6
 2 に示す。



3
 4 図 6 QTL 解析と GWAS によって推定されたオゾン耐性に関与する
 5 遺伝子座の存在領域

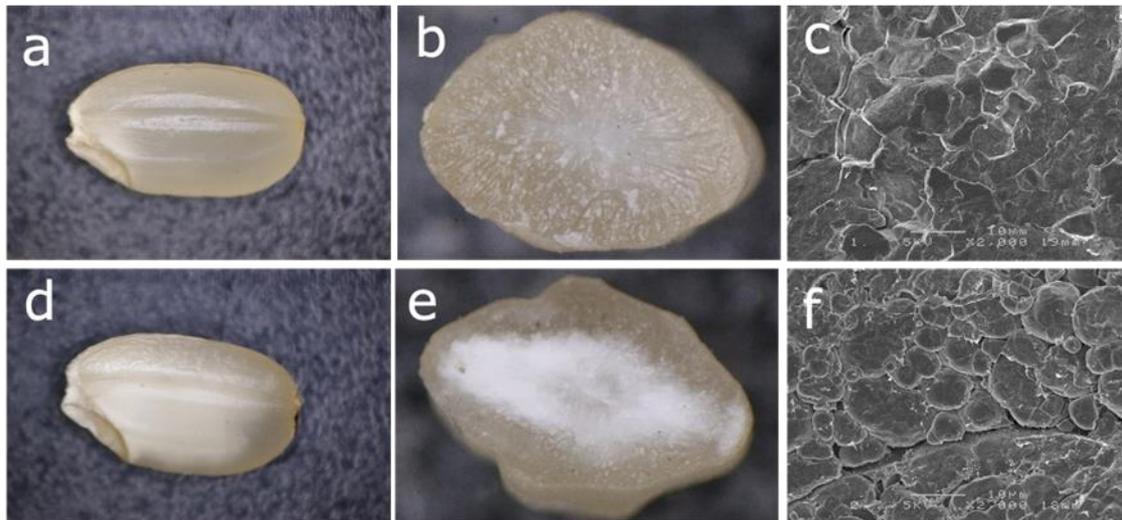
6 1 つの四角が 1 Mb (100 万塩基) を表す (Frei, 2015 改変)

7
 8 以上のように、DNA マーカー解析手法の飛躍的な発展により、オゾンによるイネの収量
 9 低下に関与する遺伝子の同定は進みつつあるが、まだ未解明の要因は多く残っている。例
 10 えば、我々が現在研究に使用している別のイネ品種では、オゾンにより稔実率（穎花のうち、
 11 受粉・登熟に成功し、米となる割合）が低下することにより、収量が低下する現象が
 12 見つかっている。したがって、上記した遺伝子（座）以外にも、オゾンによるイネの収量
 13 低下に関わる遺伝子は存在すると考えられるため、さらに本分野の研究を推進する必要が
 14 ある。

15
 16 3.2. 品質への影響

17 オゾンにより葉に生じる可視障害は、葉物野菜の品質低下の原因となるため以前から深
 18 刻な問題となっていたが、近年、オゾンは米の品質にも影響を与えることが明らかになっ
 19 てきており、玄米中のタンパク質の増加やデンプンの低下、あるいは白濁した米の増加な
 20 どが報告されている (Frei et al., 2012a; Huang et al., 2012; Wang et al., 2012; Jing et
 21 al., 2016; Sawada et al., 2016)。白濁した米は市場価値が大きく下がるため、農家収入を

1 減少させる。通常イネの胚乳は、デンプン粒が密に充填されており半透明の外観を示す。
2 一方で、このデンプン粒の充填が不十分になると空隙が生じ、これが光を乱反射するため
3 白濁化する。オゾンによる米の白濁増加の原因の一つはソース（同化産物を供給する茎葉
4 （など））側にあり、前述した *OzT9* 遺伝子座と *OzT8* 遺伝子座の領域にオゾン耐性を示
5 す親系統の染色体断片が導入された系統（オゾンによる光合成の低下が起こりにくく、可
6 視障害も軽減される系統）において白濁の発生が少なかったことから、葉の炭水化物生産
7 能力が低下し、米のデンプンを合成する糖が穂に十分輸送されなかったことが白濁に関与
8 していた可能性がある(Jing *et al.*, 2016)。もう一つはシンク（デンプンの貯蔵器官である
9 穂）側の要因である。オゾン曝露によりジャポニカ品種コシヒカリでは高い割合で白濁化
10 した米が観察された（図 7）(Sawada *et al.*, 2016)。この米ではアミロース含量の増加及び
11 長鎖アミロペクチンの割合が減少しており、この形質はデンプン合成酵素（*SSIIIa*）を欠
12 損したイネ突然変異体に形成される米と類似していた。そこでこの遺伝子の発現を調べた
13 ところオゾンにより発現量が低下することが見出された。したがってコシヒカリでは、オ
14 ゾンにより *SSIIIa* 遺伝子の働きが低下し、その結果として、デンプン合成が阻害されるこ
15 とが示唆された(Sawada *et al.*, 2016)。一方で、インディカ型品種カサラスでは、デンプン
16 合成酵素遺伝子のオゾンによる発現抑制が生じなかったことから、交配によりカサラス由
17 来の本遺伝子をコシヒカリに導入することにより、オゾンによる外観品質の低下が起きに
18 くい品種の育成が可能になると考えられる。
19



20
21 図 7 オゾンによるコメ品質への影響
22 外気 (a, b, c) 及びオゾン曝露 (d, e, f) 下で栽培されたコシヒカリの白
23 米。
24 (a, d) 白米の外観、(b, e) 断面の実体顕微鏡写真、及び (c, f) 断面
25 面の走査型電子顕微鏡写真。(図 7b, c, e, f は Sawada *et al.*, 2016 より)

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35

4. まとめ

植物のオゾン応答の分子メカニズムについて急性影響と慢性影響に分けて概説した。急性影響の発現は ROS 生成と密接に関連し、そのメカニズムについて多くの知見が得られている。一方、慢性影響に関しても、葉のアスコルビン酸含量がオゾン感受性に関与していることや、*APO1* 遺伝子の発現調節に植物ホルモンが関与することなどから、ROS がシグナル伝達などに関与していると考えられるが、そのメカニズムの多くはまだ解明されていない。

慢性オゾン影響の発現機構は非常に複雑であると考えられるが、ゲノムワイドな遺伝学的解析など新しい解析技術の利用によってさらに多くのオゾンに対する感受性に関与する遺伝子（座）が同定され、植物のオゾン応答の分子メカニズムが解明されることが期待される。

5. 参考文献

- Ainsworth, E.A. (2017) Understanding and improving global crop response to ozone pollution. *The Plant Journal*, 90, 886-897.
- Barnes, J., Zheng, Y. & Lyons, T. (2002) Plant resistance to ozone: The role of ascorbate. In *Air Pollution and Plant Biotechnology*, Omasa, K., Saji, H., Youssefian, S. & Kondo, N., (eds.) Springer: Tokyo, pp. 235-252.
- Chen, C.P., Frei, M. & Wissuwa, M. (2011) The *OzT8* locus in rice protects leaf carbon assimilation rate and photosynthetic capacity under ozone stress. *Plant, Cell & Environment*, 34, 1141-1149.
- Cho, K., Shibato, J., Agrawal, G.K., Jung, Y.H., Kubo, A., Jwa, N.S., Tamogami, S., Satoh, K., Kikuchi, S., Higashi, T., Kimura, S., Saji, H., Tanaka, Y., Iwahashi, H., Masuo, Y. & Rakwal, R. (2008) Integrated transcriptomics, proteomics, and metabolomics analyses to survey ozone responses in the leaves of rice seedling. *Journal of Proteome Research*, 7, 2980-2998.
- Conklin, P.L., Williams, E.H. & Last, R.L. (1996) Environmental stress sensitivity of an ascorbic acid-deficient *Arabidopsis* mutant. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 93, 9970-9974.
- Evans, N.H., McAinsh, M.R., Hetherington, A.M. & Knight, M.R. (2005) ROS perception in *Arabidopsis thaliana*: the ozone-induced calcium response. *The Plant Journal*, 41, 615-626.
- Feng, Z., Agathokleous, E., Yue, X., Oksanen, E., Paoletti, E., Sase, H., Gandin, A., Koike, T., Calatayud, V., Yuan, X., Liu, X., De Marco, A., Jolivet, Y.,

- 1 Kontunen-Soppela, S., Hoshika, Y., Saji, H., Li, P., Li, Z., Watanabe, M. &
2 Kobayashi, K. (2021) Emerging challenges of ozone impacts on Asian plants:
3 actions are needed to protect ecosystem health. *Ecosystem Health and*
4 *Sustainability*, 7, 1911602.
- 5 Foyer, C.H. & Noctor, G. (2009) Redox regulation in photosynthetic organisms:
6 Signaling, acclimation, and practical implications. *Antioxidants & Redox*
7 *Signaling*, 11, 861-905.
- 8 Frei, M. (2015) Breeding of ozone resistant rice: Relevance, approaches and
9 challenges. *Environmental Pollution*, 197, 144-155.
- 10 Frei, M., Kohno, Y., Tietze, S., Jekle, M., Hussein, M.A., Becker, T. & Becker, K.
11 (2012a) The response of rice grain quality to ozone exposure during growth
12 depends on ozone level and genotype. *Environmental Pollution*, 163, 199-206.
- 13 Frei, M., Tanaka, J.P., Chen, C.P. & Wissuwa, M. (2010) Mechanisms of ozone
14 tolerance in rice: characterization of two QTLs affecting leaf bronzing by
15 gene expression profiling and biochemical analyses. *Journal of Experimental*
16 *Botany*, 61, 1405-1417.
- 17 Frei, M., Tanaka, J.P. & Wissuwa, M. (2008) Genotypic variation in tolerance to
18 elevated ozone in rice: dissection of distinct genetic factors linked to
19 tolerance mechanisms. *Journal of Experimental Botany*, 59, 3741-3752.
- 20 Frei, M., Wissuwa, M., Pariasca-Tanaka, J., Chen, C.P., Südekum, K.-H. & Kohno, Y.
21 (2012b) Leaf ascorbic acid level – Is it really important for ozone tolerance in
22 rice? *Plant Physiology and Biochemistry*, 59, 63-70.
- 23 Horemans, N., Foyer, C.H. & Asard, H. (2000) Transport and action of ascorbate at
24 the plant plasma membrane. *Trends in Plant Science*, 5, 263-267.
- 25 Huang, Y.Z., Sui, L.H., Wang, W., Geng, C.M. & Yin, B.H. (2012) Visible injury and
26 nitrogen metabolism of rice leaves under ozone stress, and effect on sugar
27 and protein contents in grain. *Atmospheric Environment*, 62, 433-440.
- 28 Jing, L., Dombinov, V., Shen, S., Wu, Y., Yang, L., Wang, Y. & Frei, M. (2016)
29 Physiological and genotype-specific factors associated with grain quality
30 changes in rice exposed to high ozone. *Environmental Pollution*, 210, 397-
31 408.
- 32 Kadono, T., Yamaguchi, Y., Furuichi, T., Hirono, M., Garrec, J.-P. & Kawano, T. (2006)
33 Ozone-induced cell death mediated with oxidative and calcium signaling
34 pathways in tobacco Bel-W3 and Bel-B cell suspension cultures. *Plant*
35 *Signaling & Behavior*, 1, 312-322.

- 1 Kangasjärvi, J., Jaspers, P. & Kollist, H. (2005) Signalling and cell death in ozone-
2 exposed plants. *Plant, Cell and Environment*, 28, 1021-1036.
- 3 Kanna, M., Tamaoki, M., Kubo, A., Nakajima, N., Rakwal, R., Agrawal, G.K.,
4 Tamogami, S., Ioki, M., Ogawa, D., Saji, H. & Aono, M. (2003) Isolation of an
5 ozone-sensitive and jasmonate-semi-insensitive *Arabidopsis* mutant (*oji1*).
6 *Plant and Cell Physiology*, 44, 1301-1310.
- 7 Kollist, T., Moldau, H., Rasulov, B., Oja, V., Rämme, H., Hüve, K., Jaspers, P.,
8 Kangasjärvi, J. & Kollist, H. (2007) A novel device detects a rapid ozone-
9 induced transient stomatal closure in intact *Arabidopsis* and its absence in
10 *abi2* mutant. *Physiologia Plantarum*, 129, 796-803.
- 11 Malamy, J., Carr, J.P., Klessig, D.F. & Raskin, I. (1990) Salicylic acid: a likely
12 endogenous signal in the resistance response of tobacco to viral infection.
13 *Science*, 250, 1002-1004.
- 14 Nakajima, N., Itoh, T., Takikawa, S., Asai, N., Tamaoki, M., Aono, M., Kubo, A.,
15 Azumi, Y., Kamada, H. & Saji, H. (2002) Improvement in ozone tolerance of
16 tobacco plants with an antisense DNA for 1-aminocyclopropane-1-carboxylate
17 synthase. *Plant, Cell & Environment*, 25, 727-735.
- 18 Overmyer, K., Brosché, M., Pellinen, R., Kuittinen, T., Tuominen, H., Ahlfors, R.,
19 Keinänen, M., Saarma, M., Scheel, D. & Kangasjärvi, J. (2005) Ozone-
20 induced programmed cell death in the *Arabidopsis radical-induced cell*
21 *death1* mutant. *Plant Physiology*, 137, 1092-1104.
- 22 Overmyer, K., Tuominen, H., Kettunen, R., Betz, C., Langebartels, C., Sandermann,
23 H. & Kangasjärvi, J. (2000) Ozone-sensitive *Arabidopsis rcd1* mutant reveals
24 opposite roles for ethylene and jasmonate signaling pathways in regulating
25 superoxide-dependent cell death. *The Plant Cell*, 12, 1849-1862.
- 26 Parsons, H.T. & Fry, S.C. (2010) Reactive oxygen species - induced release of
27 intracellular ascorbate in plant cell - suspension cultures and evidence for
28 pulsing of net release rate. *New Phytologist*, 187, 332-342.
- 29 Pei, Z.-M., Murata, Y., Benning, G., Thomine, S., Klüsener, B., Allen, G.J., Grill, E. &
30 Schroeder, J.I. (2000) Calcium channels activated by hydrogen peroxide
31 mediate abscisic acid signalling in guard cells. *Nature*, 406, 731-734.
- 32 Rao, M. V. & Davis, K.R. (2001) The physiology of ozone induced cell death. *Planta*,
33 213, 682-690.
- 34 Rao, M.V., Lee, H., Creelman, R.A., Mullet, J.E. & Davis, K.R. (2000) Jasmonic acid
35 signaling modulates ozone-induced hypersensitive cell death. *The Plant Cell*,

1 12, 1633-1646.

2 Rao, M.V., Lee, H. & Davis, K.R. (2002) Ozone-induced ethylene production is
3 dependent on salicylic acid, and both salicylic acid and ethylene act in
4 concert to regulate ozone-induced cell death. *The Plant Journal*, 32, 447-456.

5 Saji, S., Bathula, S., Kubo, A., Tamaoki, M., Aono, M., Sano, T., Tobe, K., Timm, S.,
6 Bauwe, H., Nakajima, N. & Saji, H. (2017) Ozone-sensitive *Arabidopsis*
7 mutants with deficiencies in photorespiratory enzymes. *Plant and Cell*
8 *Physiology*, 58, 914-924.

9 Saji, S., Bathula, S., Kubo, A., Tamaoki, M., Kanna, M., Aono, M., Nakajima, N.,
10 Nakaji, T., Takeda, T., Asayama, M. & Saji, H. (2008) Disruption of a gene
11 encoding C₄-dicarboxylate transporter-like protein increases ozone
12 sensitivity through deregulation of the stomatal response in *Arabidopsis*
13 *thaliana*. *Plant and Cell Physiology*, 49, 2-10.

14 Sanmartin, M., Drogoudi, P.D., Lyons, T., Pateraki, I., Barnes, J. & Kanellis, A.K.
15 (2003) Over-expression of ascorbate oxidase in the apoplast of transgenic
16 tobacco results in altered ascorbate and glutathione redox states and
17 increased sensitivity to ozone. *Planta*, 216, 918-928.

18 Sawada, H. & Kohno, Y. (2009) Differential ozone sensitivity of rice cultivars as
19 indicated by visible injury and grain yield. *Plant Biology*, 11, 70-75.

20 Sawada, H., Tsukahara, K., Kohno, Y., Suzuki, K., Nagasawa, N. & Tamaoki, M.
21 (2016) Elevated ozone deteriorates grain quality of *japonica* rice cv.
22 Koshihikari, even if it does not cause yield reduction. *Rice*, 9, 7.

23 Staswick, P.E. & Tiryaki, I. (2004) The oxylipin signal jasmonic acid is activated by
24 an enzyme that conjugates it to isoleucine in *Arabidopsis*^[W]. *The Plant Cell*,
25 16, 2117-2127.

26 Tamaoki, M. (2008) The role of phytohormone signaling in ozone-induced cell death in
27 plants. *Plant Signaling & Behavior*, 3, 166-174.

28 Tamaoki, M., Matsuyama, T., Kanna, M., Nakajima, N., Kubo, A., Aono, M. & Saji, H.
29 (2003a) Differential ozone sensitivity among *Arabidopsis* accessions and its
30 relevance to ethylene synthesis. *Planta*, 216, 552-560.

31 Tamaoki, M., Nakajima, N., Kubo, A., Aono, M., Matsuyama, T. & Saji, H. (2003b)
32 Transcriptome analysis of O₃-exposed *Arabidopsis* reveals that multiple
33 signal pathways act mutually antagonistically to induce gene expression.
34 *Plant Molecular Biology*, 53, 443-456.

35 Torsethaugen, G., Pell, E.J. & Assmann, S.M. (1999) Ozone inhibits guard cell K⁺

1 channels implicated in stomatal opening. Proceedings of the National
2 Academy of Sciences, 96, 13577-13582.

3 Tsukahara, K., Sawada, H., Kohno, Y., Matsuura, T., Mori, I.C., Terao, T., Ioki, M. &
4 Tamaoki, M. (2015) Ozone-induced rice grain yield loss is triggered via a
5 change in panicle morphology that is controlled by *ABERRANT PANICLE*
6 *ORGANIZATION 1* gene. PLOS ONE, 10, e0123308.

7 Tsukahara, K., Sawada, H., Matsumura, H., Kohno, Y. & Tamaoki, M. (2013)
8 Quantitative trait locus analyses of ozone-induced grain yield reduction in
9 rice. Environmental and Experimental Botany, 88, 100-106.

10 Ueda, Y., Frimpong, F., Qi, Y., Matthus, E., Wu, L., Höller, S., Kraska, T. & Frei, M.
11 (2014) Genetic dissection of ozone tolerance in rice (*Oryza sativa* L.) by a
12 genome-wide association study. Journal of Experimental Botany, 66, 293-306.

13 Ueda, Y., Siddique, S. & Frei, M. (2015) A novel gene, *OZONE-RESPONSIVE*
14 *APOPLASTIC PROTEIN1*, enhances cell death in ozone stress in rice. Plant
15 Physiology, 169, 873-889.

16 Vahisalu, T., Kollist, H., Wang, Y.-F., Nishimura, N., Chan, W.-Y., Valerio, G.,
17 Lamminmäki, A., Brosché, M., Moldau, H., Desikan, R., Schroeder, J.I. &
18 Kangasjärvi, J. (2008) *SLAC1* is required for plant guard cell S-type anion
19 channel function in stomatal signalling. Nature, 452, 487-491.

20 Vahisalu, T., Puzõrjova, I., Brosché, M., Valk, E., Lepiku, M., Moldau, H., Pechter, P.,
21 Wang, Y.-S., Lindgren, O., Salojärvi, J., Loog, M., Kangasjärvi, J. & Kollist,
22 H. (2010) Ozone-triggered rapid stomatal response involves the production of
23 reactive oxygen species, and is controlled by *SLAC1* and *OST1*. The Plant
24 Journal, 62, 442-453.

25 Vainonen, J.P. & Kangasjärvi, J. (2015) Plant signalling in acute ozone exposure:
26 Ozone action on plants. Plant, Cell & Environment, 38, 240-252.

27 Wang, J., Zeng, Q., Zhu, J., Liu, G. & Tang, H. (2013) Dissimilarity of ascorbate-
28 glutathione (AsA-GSH) cycle mechanism in two rice (*Oryza sativa* L.)
29 cultivars under experimental free-air ozone exposure. Agriculture,
30 Ecosystems & Environment, 165, 39-49.

31 Wang, Y., Yang, L., Han, Y., Zhu, J., Kobayashi, K., Tang, H. & Wang, Y. (2012) The
32 impact of elevated tropospheric ozone on grain quality of hybrid rice: A free-
33 air gas concentration enrichment (FACE) experiment. Field Crops Research,
34 129, 81-89.

35 Wang, Y., Yang, L., Höller, M., Zaisheng, S., Pariasca-Tanaka, J., Wissuwa, M. & Frei,

- 1 M. (2014) Pyramiding of ozone tolerance QTLs *OzT8* and *OzT9* confers
2 improved tolerance to season-long ozone exposure in rice. *Environmental and*
3 *Experimental Botany*, 104, 26-33.
- 4 Yoshida, S., Tamaoki, M., Shikano, T., Nakajima, N., Ogawa, D., Ioki, M., Aono, M.,
5 Kubo, A., Kamada, H., Inoue, Y. & Saji, H. (2006) Cytosolic dehydroascorbate
6 reductase is important for ozone tolerance in *Arabidopsis thaliana*. *Plant and*
7 *Cell Physiology*, 47, 304-308.
- 8 鶴飼保雄. (2000) ゲノムレベルの遺伝解析 MAP と QTL, 東京大学出版会, pp. 237-248.
- 9 佐治 光, 久保明弘, 青野光子, 中嶋信美, 玉置雅紀. (2002) 植物のオゾン障害のしくみに
10 関する二つの仮説. *大気環境学会誌*, 37, A57-A62.
- 11 澤田寛子, 佐治 光, 青野光子, 中嶋信美, 玉置雅紀. (2017) 大気環境と植物—第5講 オ
12 ゾンストレスに対する分子レベルの応答—. *大気環境学会誌*, 52, A8-A15.
- 13 野内 勇, 小林和彦. (2009) 細胞壁アスコルビン酸によるオゾンの解毒量評価. *日本農業気*
14 *象学会大会講演要旨*, sp09, 53-53.
- 15 米丸淳一. (2013) イネ科作物の DNA マーカー開発と次世代育種への応用 (<特集>ゲノム
16 情報が明らかにする生物の多様性と形質発現). *日本草地学会誌*, 59, 64-69.