

Review

식물의 고염 (高鹽) 스트레스에 대한 반응 및 적응기작

윤대진

경상대학교 대학원 응용생명과학부

Molecular Mechanism of Plant Adaption to High Salinity

Dae-Jin Yun

Division of Applied Life Science (BK21 program), and Environmental Biotechnology National Core Research Center,
Gyeongsang National University, Jinju 660-701, Korea

ABSTRACT Plant responses to salinity stress is critical in determining the growth and development. Therefore, adaptability of plant to salinity stress is directly related with agriculture productivity. Salt adaptation is a result of the integrated functioning of numerous determinants that are regulated coordinately through an appropriate responsive signal transduction cascade. The cascade perceives the saline environment and exerts control over the essential mechanisms that are responsible for ion homeostasis and osmotic adjustment. Although little is known about the component elements of salt stress perception and the signaling cascade(s) in plant, the use of *Arabidopsis* plant as a molecular genetic tool has been provided important molecular nature of salt tolerance effectors and regulatory pathways. In this review, I summarize recent advances in understanding the molecular mechanisms of salt adaptation.

Key words: Halophytes, ion homeostasis, osmotic adjustment, salt stress, signal transduction, stress response

서 론

식물이 성장하기 위해서는 미네랄과 같은 필수영양소를 필요로 한다. 그러나 토양에 과대하게 존재하는 염농도(鹽濃度)는 식물의 성장을 저해하는 중요한 요소이다. 최근의 보고에 의하면 전 세계 경작 가능한 토양의 20%와 관계토양(irrigated land)의 40% 이상이 과대한 염류축적에 영향을 받고 있는 것으로 알려져 있다 (Rhoades and Loveday 1990). 식물은 고농도의 염 (salt) 환경에 자랄 수 있는 능력에 따라 비 내염성 식물 (glycophytes)과 내염성 식물 (halophytes)로 나누어진다 (Flower et al. 1977). 내염성 식물의 경우 바닷물의 2배 이상의 소금농도에서도 자랄 수가 있으나, 식량으로 사용되어지는 농작물을 비롯한 대부분의 식물은 비 내

염성 식물로서 높은 염 농도에 지극히 예민하다. 따라서, 고염 스트레스에 대한 적응능력은 농업생산성과 직결되기 때문에, 식물의 고염 (高鹽) 스트레스에 대한 반응 및 적응 기작에 관한 연구는 인간이 농경생활을 시작하면서부터 꾸준히 관심을 가져온 중요한 연구 주제였다.

식물이 고염에 노출되게 되면 세포 내에 삼투압의 불균형 (osmotic imbalance)과 이온농도의 불균형 (ionic imbalance)이 일어나게 된다 (Figure 1). 또한 2 차 스트레스로서 oxidative stress, membrane disorganization, 영양장애, 대사장애, 광합성 장애 등이 초래되며, 이들이 심할 경우는 죽음이 초래되게 된다. 토양 중에 존재하는 이온 독성 중 Na^+ 이온에 대한 독성은 가장 심한 이온 스트레스 (ion stress)로 꼽히며, 어떤 종류의 식물은 음이온인 Cl^- 에 대해서도 감수성을 가지는 경우가 있다. 또한 고염농도에 의한 삼투압의 불균형은 물의 흡수를 방해하여 생리학적으로는 건조 스트레스를 받은 상태의

*Corresponding author Tel 055-751-6256 Fax 055-759-9363
E-mail djyun@gsnu.ac.kr

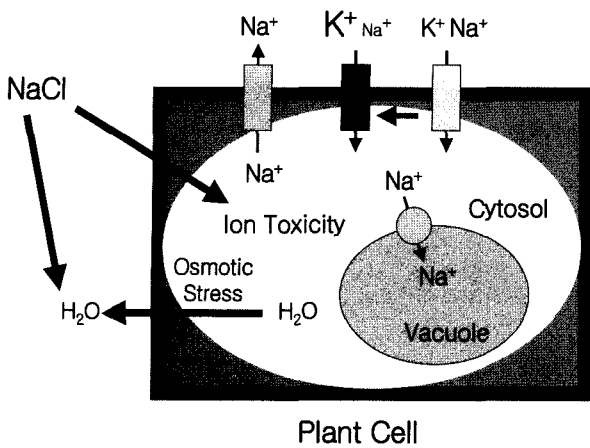


Figure 1. Plant Adaption to High Salinity. When plants are exposed to salinity, caused by high NaCl concentrations, apoplastic levels of Na⁺ and Cl⁻ alter aqueous and ionic thermodynamic equilibria resulting in hyperosmotic stress and ionic imbalance and toxicity. Survival and growth is dependent on the capacity of the plant to re-establish, expeditiously, cellular osmotic and ionic homeostasis, i.e. adaptation to the stress environment. Tolerance to NaCl stress is mediated by processes that restrict Na⁺ uptake across the plasma membrane (presumably due to a combination of reduced influx and increased efflux), facilitate Na⁺ and Cl⁻ sequestration into the vacuole and regulate compatible osmolyte production and accumulation. The coordinate control of these processes is essential for the osmotic adjustment and ion homeostasis that is required for salt adaptation.

비슷하게 된다. 따라서, 식물의 고염스트레스에 대한 적응 기작을 이해하는 것은 내염성 작물의 분자육종 뿐만이 아니라 기초생물학적으로도 이온 수송, 삼투압 조절, 대사영양에 필요한 유전자 조절 및 신호전달을 이해하는데 중요한 연구 수단이 된다. 본 총설에서는 효모 및 *Arabidopsis* 분자유전학을 이용한 최근의 연구를 중심으로 소개하고자 한다.

1. 이온들의 항상성 유지 (Ion homeostasis)

세포가 일반적으로 NaCl에 의하여 매개되어지는 高塩 환경아래 놓이게 되면, NaCl에서 유래되어지는 Na⁺와 Cl⁻ 이온 뿐만 아니라 세포내에 존재하는 K⁺와 Ca²⁺ 이온에 대해서도 불균형이 일어나게 된다. 외부에 존재하는 Na⁺ 이온은 K⁺ 이온의 세포내로의 유입에 영향을 주어 세포에 필수적인 K⁺ 이온의 획득을 줄이게 만든다. 또한 高塩 스트레스는 세포내에 Ca²⁺ 이온의 증가를 초래하게 되고, 세포는 증가된 Ca²⁺ 이온을 감지함으로써 외부의 고염환경에의 적응에 필요한 신호전달 반응을 시작하게 된다. 세포막을 통한 Na⁺ 이온의 유입과 유출의 통제는 H⁺ translocating ATPase, pyrophosphatase, Ca²⁺-ATPase, secondary active transporters와 channel 등과 같은 세포막에 존재하는 transport 단백질에 의하여 조절되어 진다 (Niu et al. 1995; Sze et al. 1999). 그러나, 이들 transport 단백

질들이 Na⁺, Cl⁻, K⁺, Ca²⁺ 이온의 transporter로 작용한다는 기능에 관한 연구는 대부분 각각의 단백질의 구조분석을 통한 간접적인 정보 및 효모돌연변이체를 이용한 complementation 실험을 근거로 유추한 것 이다 (Dreyer et al. 1999).

1.1 Na⁺ 이온의 항상성 유지 (Na⁺ homeostasis)

세포내 각 기관의 이온의 농도를 조사해 본 결과 액포 (vacuole)에 바닷물 농도의 Na⁺ 및 Cl⁻ 이온이 존재함을 알 수가 있었다. 액포에의 Na⁺ 이온의 격리는 에너지의존형의 transporter를 필요로 하며, Na⁺ 이온의 축적은 액포의 alkalinization을 초래하게 된다 (Blumwald and Poole 1985; Guern et al. 1989; Martinez and Lauchli 1993). 이러한 alkalinization에는 Na⁺/H⁺ antiporter를 부분적으로 필요로 한다. 최근에 효모의 Na⁺/H⁺ antiporter인 NHE가 결핍된 돌연변이체를 이용한 functional complementation법을 통하여 식물의 NHE-like protein (NHX)을 암호화하고 있는 유전자가 분리되었으며, 이 유전자를 *Arabidopsis*에 도입하여 과잉 발현시킨 결과 내염성을 나타내며, Na⁺ 이온의 격리를 확인 할 수가 있었다 (Apse et al. 1999). *Arabidopsis*의 NHX (AtNHX1)는 고염 스트레스와 ABA에 의하여 그 발현이 유도 되어진다 (Shi and Zhu 2002). AtNHX promoter-GUS fusion construct를 이용한 분석에 의하면 이들 construct를 발현하는 형질전환식물은 기공세포 (guard cell)와 뿌리털 (hairy root)에 강하게 발현하며, 이것은 AtNHX가 hairy root에 있는 enlarged vacuole에 Na⁺ 이온을 축적하는 것을 시사하였다. 또한 AtNHX의 발현은 ABA합성 및 신호전달에 이상을 초래하는 *abi* 돌연변이체와 NaCl의 신호전달에 이상을 초래하는 *sos* 돌연변이체에서 저하되어져 있음을 알 수가 있었다. 이와 같은 결과는 고염 스트레스가 AtNHX의 transcription수준에서 발현을 유도할 뿐만이 아니라 이러한 발현조절은 부분적으로 ABA의 합성과 신호전달에 의존함을 시사한다.

AtNHX와 함께 세포내에서 Na⁺ 이온을 액포로 격리하는 데는 식물의 분비경로에 있는 막에 존재하며, 기전성(起電性)을 가지고 있는 vacuolar type H⁺-ATPase (V-ATPase)도 역할을 하는 것으로 알려져 있다 (Dietz et al. 2001). V-ATPases는 평상시 이온항상성 (ion homeostasis)을 유지하는데 중요한 역할을 할 뿐 만이 아니라 스트레스 조건하에서도 solute 이온을 액포에 uptake하기 위해서는 증가된 V-ATPase의 활성을 필요로 하는 것으로 알려져 있다 (Wang et al. 2001).

1.2 K⁺ 이온의 항상성 유지 (K⁺ homeostasis)

K⁺ 이온은 세포내에 존재하는 많은 효소들의 co-factor로 필요한데 비해서 Na⁺ 이온은 독성을 지닌다. 세포내로 유입된 고농도의 Na⁺ 이온은 많은 효소의 활성에 강한 저해 작용을

가진다. 이러한 Na^+ 이온의 독성은 세포내에 존재하는 K^+ 이온과 Na^+ 이온의 농도비 (K^+/Na^+ ratio)에 의존한다. Halophyte의 경우, 세포내에 존재하는 Na^+ 이온의 농도가 glycophyte에 비하여 훨씬 높지만 K^+/Na^+ ratio가 낮기 때문에 NaCl 스트레스에 대해서 저항성을 가지는 것으로 알려져 있다 (Flowers et al. 1977). 생리학적인 연구에 의하면 세포내로의 Na^+ 이온의 유입은 K^+ 이온의 유입과 경쟁하는 것으로 알려져 있다. 왜냐하면 대부분의 K^+ 이온의 세포로의 유입을 조절하는 transporter는 Na^+ 이온의 transport 활성도 함께 가지고 있기 때문이다 (Amtmann and Sanders 1999). 그러나, 세포가 고염 스트레스에 직면하게 되면 transporter의 K^+ 이온에 대한 친화력 (affinity)을 Na^+ 이온보다 높임으로서, 세포질 내에 고농도의 K^+ 이온을 축적하고, Na^+ 이온의 농도를 낮추게 된다 (Figure 1; Anderson et al. 1992; Hirsch et al. 1998).

1.3 Ca^{2+} 이온의 항상성 유지 (Ca^{2+} homeostasis)

실험에 의하면 외부에서 Ca^{2+} 이온을 공급하면, NaCl에 의한 세포독성을 줄이는 것으로 알려져 있다. 그러나 이 실험은 Ca^{2+} 이온이 세포 외부 (extracellularly)에서 작용하는지 그렇지 않으면 세포내부 (intracellularly)에서 작용하는지가 명확하지 않았다. 최근의 보고에 의하면 세포내부 (intracellularly)의 세포질에서 변화된 Ca^{2+} 이온이 salt에 대한 sensitivity에 중요한 역할을 하는 것으로 알려졌다. 예를 들면, *Arabidopsis* 식물체에서 액포의 Ca^{2+} -ATPase를 code하고 있는 ACA4를 효모에 발현하면 효모세포의 salt에 대한 저항성을 증가시키는 것으로 알려졌다 (Geisler et al. 2000). 또한 *Arabidopsis*의 $\text{Ca}^{2+}/\text{H}^+$ antiporter인 *CAX1* 유전자를 담배에 과대 발현시키게 되면, 형질 전환식물체는 ion stress에 대해서 민감하게 반응하는 것으로 알려졌다 (Hirschi 1999), ionotropic glutamate receptor인 *GluR2*를 *Arabidopsis* 식물에 과잉발현하게 되면 세포내에서 Ca^{2+} 이온을 이용하는 효율이 떨어지게 되고, salt에 sensitive한 phenotype을 보임을 알 수가 있었다 (Kim et al. 2001).

Ca^{2+} 은 또한 식물이 Na^+ 스트레스하에 있을때 K^+ transport를 유지하게 하고, K^+/Na^+ selectivity를 원활하게 하는 것으로 알려져 있다 (Cramer et al. 1987; Liu and Zhu 1997). 식물이 Na^+ 스트레스에 직면 하였을 때 세포내에 최소한 threshold level의 K^+ 농도를 유지하는 기작은 단세포인 효모와 비슷한 것으로 추측되어진다. 아직 Na^+ 스트레스를 인식하는 수용체 (receptor)는 알려져 있지 않지만 NaCl 스트레스는 apoplast나 액포 등으로 부터 Ca^{2+} 이온의 유입을 촉진하여 세포질내의 Ca^{2+} 이온농도를 높이게 되고 이렇게 순간적으로 변화된 세포질내의 Ca^{2+} 농도는 second messenger로서 작용하여, 세포의 스트레스에 대한 신호전달체계를 활성화 하게 되며, 궁극적으로는 salt stress의 적응에 관여하는 K^+ 의 유입과 세포내의 K^+/Na^+ selectivity를 조절하게 된다 (Mendoza et al. 1994;

Knight et al. 1997).

2. Osmolyte의 생합성

세포가 외부의 삼투압변화에 의하여 반응하는 가장 공통된 현상은 compatible solute이라고 하는 대사산물 (osmolyte)을 축적하는 것이라고 볼 수가 있다. 이들은 sucrose, fructose 등과 같은 sugar류들, glycerol, methylated inositol 등과 같은 sugar alcohol류들, trehalose, raffinose, fructans등과 같은 complex sugar류들, 그리고 glycine betaine, dimethyl sulfonium propionate (DMSP), proline, ectoine 등과 같은 charged metabolites들이다 (Figure 2).

2.1 Osmolyte의 생체 내 역할

Osmolyte의들의 세포내의 축적은 정상적인 대사를 방해하지 않으며, 세포내의 삼투압을 낮춤으로서 삼투압을 조절하고 (osmotic adjustment), 외부의 삼투압 스트레스에 대한 저항성을 부여한다 (Delauney and Verma 1993; Louis and Galinski 1997; McCue and Hanson 1990). 이들은 전형적으로 친수성 (hydrophilic)을 가지고 있기 때문에 단백질, 단백질 결합체, 혹은 membrane등에 결합하고 있는 물과 치환할 수가 있어서 osmoprotectant로 작용할 뿐만이 아니라 저분자 chaperone들처럼 non-enzymatic하게 작용한다 (Strizhov et al. 1997; Nelson et al. 1998; Bohnert and Shen 1999). Compatible solute들이 세포내에 대량으로 축적되게 되면 효소의 열역학적인 안정성을 증가시켜, salt 이온이 효소활성을 저해하는 것을 막아주게 된다. 그리고, 광합성 II계에서 작용하는 oxygen-evolving enzyme 등과 같은 효소복합체들이 해리되는 것을 막아주는 역할을 수행한다. 또한, compatible solute의 일종인 glycine betaine은 아주 작은 농도로 축적되어도 thylakoid나 plasma membrane등이 freezing damage, 열에 의해서 불안정화 되는 것을 막아 주기도 한다.

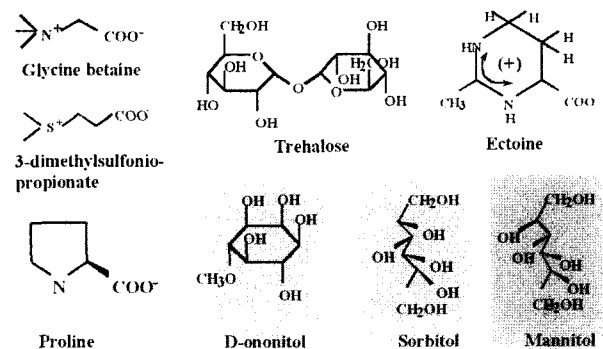


Figure 2. List of osmolytes involved in either osmotic adjustment or in the protection of structure (Hasegawa et al., 2000).

2.2 Osmolyte의 대사 경로

전형적으로 osmolyte의 대사경로는 세포의 기초대사 경로와 연결되어져 있다. 즉, proline은 glutamic acid 생합성계, ectoine은 aspartate 생합성계, glycine betaine은 choline 대사계, pinitol은 myo-inositol 합성계와 연결되어져 있다. 이렇게 생합성 되어진 osmolyte들의 공통적인 특성은 앞에서 설명한 바와 같이 세포내에서 과대하게 축적되더라도 세포내의 생화학적 대사를 방해하지 않는다는 특징을 가지고 있다. 이들은 고염 stress하에서 효소활성을 유지하게 해 주는 역할을 하며, 세포내의 pH 및 charge balance에 최소한의 영향을 주는 기능을 가지고 있다. 기초 대사경로로부터 각각 특정한 osmolyte를 합성하는데 필요한 효소유전자들은 종종 stress에 의하여 발현이 유도되어 진다 (Leung and Giraudat 1998; Ono et al. 1999). 예를 들면, 고등식물이 glycine betaine을 choline으로부터 합성하는데는 choline monooxygenase와 betaine aldehyde dehydrogenase를 필요로 하는데, 이들은 스트레스 유도성이다.

3. 효모 (yeast) 시스템을 이용한 고염 스트레스 연구

효모 (*Saccharomyces cerevisiae*)는 단세포로 생물로서, homologous recombination을 이용한 유전자의 파괴가 가능하여 유전학적으로 취급이 용이할 뿐만 아니라, 구조적으로도 식물과 비슷하게 세포벽과 액포를 가지고 있기 때문에 식물의 salt stress를 연구하는 중요한 model system으로 잘 이용되어져 왔다.

3.1 HOG (high osmolarity glycerol) 및 calcineurine pathway

고염 스트레스에 의하여 발생하는 osmotic 스트레스 및 ion 독성 (특히 Na⁺)에 대응한 세포의 적응 기작은 2종류의 신호 전달 체계 즉, mitogen에 의하여 활성화 되어지는 MAP kinase cascade (HOG pathway)와 Ca²⁺/calmoduline-의존형 탈인산화 효소인 calcineurin에 의하여 조절되어지는 cascade (calcineurine pathway)가 알려져 있다 (Figure 3). 외부의 osmotic농도가 올라가게 되면, 세포의 표면에 존재하는 2종류의 osmosensor가 MAP kinase cascade를 활성화하고 결과적으로는 osmoprotectant인 glycerol의 생산과 축적을 유도하게 된다 (Maeda et al. 1994, 1995). Tyrosine 탈인산화효소와 threonine/serine 탈인산화효소는 이들 MAP kinases들을 탈인산화 함으로서 MAP kinase pathway를 negative하게 조절한다. 한편 Na⁺ 이온에 의하여 발생한 스트레스는 calcineurine 의존형 pathway를 활성화 시켜, 궁극적으로는 Na⁺의 유입 (influx)과 방출 (efflux)에 관계하는 transporter들을 조절한다 (Mendoza et al. 1994, 1996). 따라서 calcineurin 결핍돌연변이체는 Na⁺ 이온의 유입을 막기 위하여 Na⁺보다 K⁺ 이온에 더 큰 친화성을 갖게하는 K⁺

transport system을 가동시킬 수 없을 뿐만 아니라, Na⁺ 이온의 방출에 관여하는 P-type ATPase인 ENA1유전자의 발현이 현저히 감소하게 됨으로써 세포내에 Na⁺ 이온이 대량으로 축적되게 되어 결국은 Na⁺ 이온에 대하여 극히 sensitive한 phenotype을 보이게 된다 (Garcia-deblas et al. 1993; Mendoza et al. 1994). Redundant한 탈인산화효소인 PPZ1와 PPZ2은 또한 calcineurine pathway를 negative하게 조절한다 (Posas et al. 1995).

Calcineurin은 Ca²⁺과 calmoduline-의존형 탈인산화효소이므로 Na⁺ 이온에 의한 스트레스는 Ca²⁺신호를 매개체로 하며, 이러한 Ca²⁺과 calmodulin에 의한 calcineurin의 활성화의 결과는 Na⁺ 이온에 대한 항상성 (Na⁺homeostasis)으로 연결되어진다. 현재 제시되어지고 있는 model에 의하면 세포내 Ca²⁺ 이온의 항상성 유지 (Ca²⁺ homeostasis)는 Ca²⁺ 농도를 조절하는 3종류의 Ca²⁺ transporter에 의존하며 이들 transporter들은 calcineurin에 의하여 조절되어지는 Feed back mechanism인 것으로 알려져 있다 (Cunningham and Fink 1996). Ca²⁺과 calmodulin에 의한 calcineurin의 활성화는 endomembrane에 위치한 Ca²⁺-ATPase를 code하고 있는 유전자들 (vacuole-PMCI 과

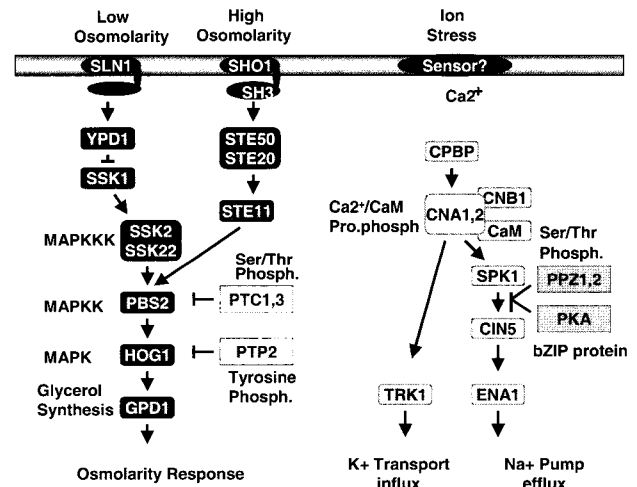


Figure 3. Osmotic and Na⁺ ion stress mediated signaling pathways in yeast *Saccharomyces cerevisiae*. In the yeast *Saccharomyces cerevisiae*, two signaling cascades mediate osmotic adjustment and appropriate ion homeostasis under NaCl stress; a mitogen-activated protein (MAP) kinase cascade and a calcineurin, Ca²⁺/Calmoduline-dependent protein phosphatase, regulated cascade. At high osmolarity, two distinct cell-surface osmosensors activate a MAP kinase cascade that eventually upregulates glycerol production and accumulation. Na⁺ stress also activates a calcineurin-dependent pathway that regulates the activity of Na⁺ influx (TRK1) and efflux transporters (ENA1). Calcineurin deficient mutants fail to convert the K⁺ transport system to the high affinity state that facilitates better discrimination for K⁺ over Na⁺ (See figure 1) and exhibit reduced expression of the ENA1 gene that encodes a plasma membrane sited P-type ATPase essential for Na⁺ efflux. The net result is substantially greater Na⁺ accumulation and, consequently, an extremely salt sensitive phenotype.

PMRI)의 발현은 증가시키고 vacuolar Ca²⁺/H⁺ exchanger 유전자(VCX1)의 발현은 감소시킨다. 따라서 이들 transporter들은 Ca²⁺ 신호체계를 조절할 뿐 만이 아니라, Na⁺ 스트레스로부터 발생된 세포내 Ca²⁺의 생리화적인 활성 변화를 제정립하는 역할을 수행하는 것으로 생각되어 진다.

3. 2 Yeast complementation법을 이용한 식물 salt stress 관련 유전자의 cloning

효모에 식물유전자를 도입한 다음 salt stress에 대한 저항성을 나타내는 유전자를 찾고, 그들의 기능을 알아내는 functional complementation법은 식물의 이온 transporter들을 비롯한 salt 저항성유전자를 찾는 유용한 방법으로 사용되어져 왔으며, 이렇게 찾아진 대표적인 *Arabidopsis* 유전자들을 열거하면 Table 1과 같다.

4. 식물에서의 salt stress 연구

식물은 외부 스트레스를 감지할 수 있을 뿐만이 아니라 일련의 신호전달체계를 가동시켜 스트레스관련 방어 유전자들을 활성화하는 정교한 환경 스트레스적응 메커니즘을 갖고 있음이 알려져 있다. 많은 생리학 및 생화학적인 연구에 의하면, 식물의 salt stress에 대한 적응기작은 Figure 4에서 보는 바와 같이 이온의 항상성 유지 (ion homeostasis), 물의 항상성 유지 (osmotic compensation), 상해의 치료 (injury repair), 성장의 저해 등에 관련된 것들이 종합적으로 조화되어서 나타나는 결과라고 할 수가 있으며, 이러한 salt 저항성에 관련된 정확한 기작 및 유전학적인 component를 알아내는 데는 아직도

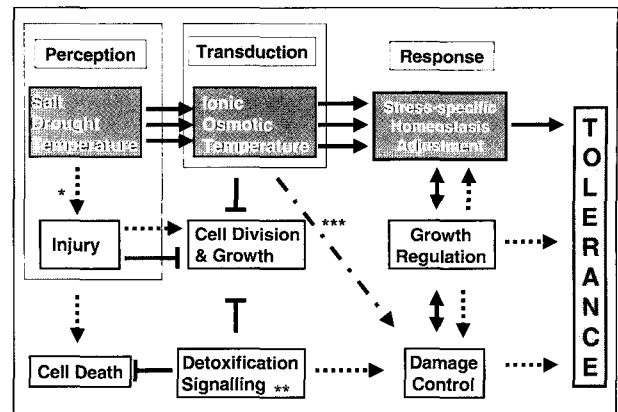


Figure 4. Signaling pathways linking abiotic stress, injury, and defense. It is now generally hypothesized that salt adaptation is a result of the integrated functioning of numerous determinants that are regulated coordinately through an appropriate responsive signal transduction cascade (See text for detail). *, protein unfolding, membrane leakage, water/ion imbalance ; **, a pathway controlled by general stress ; ***, an overlapping pathway that is co-regulated or hyper-regulated by specific condition.

많은 연구가 필요하다는 것이 일반적인 인식이다 (Zhu 2001). 그러나, 식물이 어떻게 고염환경을 인식하고, 어떠한 신호전달 반응을 통해서, 변화된 환경에 적응하는지에 관한 연구는 최근에 model 식물인 *Arabidopsis*의 유전학 시스템을 도입함으로써 엄청난 진전을 보이게 되었다.

4.1 *Arabidopsis* 유전학 시스템을 이용한 salt stress 신호 전달 연구

*Arabidopsis*는 세대간격이 짧고, genome size가 적으며, transformation이 용이할 뿐만이 아니라 최근에 genome sequence의

Table 1. *Arabidopsis* genes that confer salt tolerance when expressed in yeast cells (Xiong et al. 2002)

Gene	Function	Reference
ACA4	Vacuolar membrane Ca ²⁺ -ATPase	Geisler et al. 2000
NHX1	Vacuolar Na ⁺ /H ⁺ transporter	Gaxiola et al. 1999
AVP1	Vacuolar H ⁺ -pyrophosphatase	Gaxiola et al. 1999
SAL1	3'5'-bisphosphate nucleotidase, inositol polyphosphate phosphatase	Quintero et al. 1996
STO, STZ	Zink finger-like transcription factor	Lippuner et al. 1996
SLT1	Unknown protein	Matsumoto et al. 2001
GSK1	GSK2/Shaggy-like kinase	Piao et al. 1999
CBL1	Calcineurine B-like protein	Kudla et al. 1999
HK1	Histidine kinase	Urao et al. 1999
MEKK1	MAP kinase kinase kinase	Covic and Lew 1996; Mizoguchi et al. 1996; Covic et al. 1999
RCI2A	Unknown membrane protein	Nylander et al. 2001
HAL3	FMN-binding protein	Espinosa-Ruiz et al. 1999
AtHB-12	Homeodomain protein	Shin et al. 2004

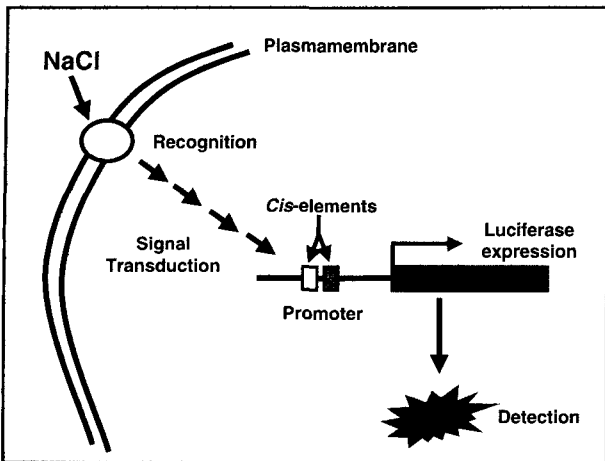


Figure 5. Identification of NaCl stress signaling component using RD29::Luciferase system. One of the approach for identifying genes that function in plant salinity stress was achieved by introducing into *Arabidopsis* plants a chimeric gene construct consisting of the firefly luciferase coding sequence (LUC) under the control of the stress-responsive RD29A promoter. LUC activity in the transgenic plants, as assessed by using *in vivo* luminescence imaging, faithfully reports the expression of the endogenous RD29A gene. The *cos* (for constitutive expression of osmotically responsive genes), *los* (for low expression of osmotically responsive genes), and *hos* (for high expression of osmotically responsive genes) mutants were identified by J-K Zhu group using a high-throughput luminescence imaging system. Because this approach utilizes a screen for genes that can function in stress response signaling, the use of this system makes it possible to identify genes that have substantial impact on abiotic stress adaptation.

완성으로 분자유전학적인 기술을 구사할 수 있는 모델식물로서 각광을 받고 있다. *Arabidopsis*는 비내염성 식물 (glycophyte)로서 salt stress에 의하여 생장의 저해와 상해를 입는다. *Arabidopsis*가 NaCl의 상해를 받으면 다른 glycophyte 식물들과 마찬가지로 모든 stage에서 상해를 받게 되는데 종자발달 단계에서 약 8시간 동안 150 mM의 NaCl을 처리하면 callose의 축적과 함께, ovule과 embryo구조의 변화를 보이고 세포사 (cell death)의 징후를 보인다. 그러나, *Arabidopsis*가 NaCl에 가장 sensitive하게 반응하는 시기는 종자의 발아와 seedling 단계이다. 약 75 mM의 농도에서 종자의 발아는 크게 저해되어지며, 일반적으로 약 50 mM 이상의 NaCl은 식물의 성장을 저해하며, 궁극적으로는 세포사를 유발하게 된다.

Arabidopsis 유전학 시스템을 이용한 development와 disease resistance 연구의 성공은 많은 연구자들로 하여금 salt stress 분야에서도 *Arabidopsis* 시스템의 이용가능성을 시도해 보게 하였다. 그중 하나가 높은 NaCl 농도에서 자랄수 있는 돌연변이체를 screening하는 것 이었다 (Saleki et al. 1993; Quesada et al. 2000). 또 다른 시도는 NaCl 존재 하에서 뿌리의 성장이나 일반적인 생장이 저해되는 돌연변이체를 screening하는 방법이었다 (Tsugane et al. 1999; Zhu 2000). 또한, Figure 5에서

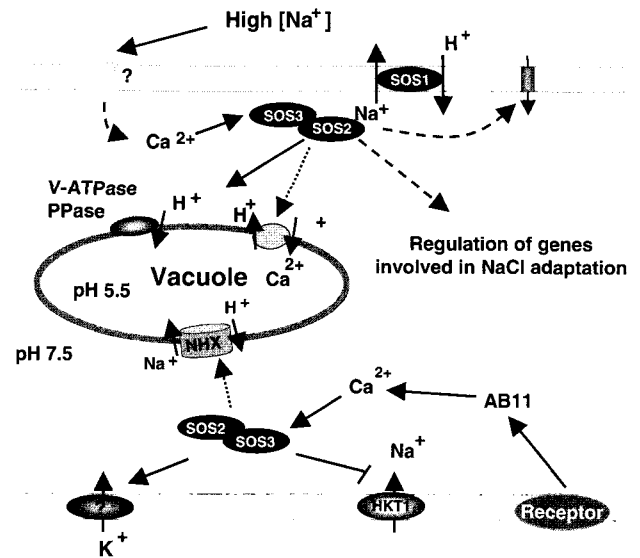


Figure 6. SOS pathway (modified from Zhu, 2003). The Ca^{2+} -activated Salt Overly Sensitive (SOS) signal transduction pathway facilitates Na^+ homeostasis in *planta* (Zhu, 2003). Hypersaline stress induces a Ca^{2+} transient that is decoded by components of the SOS pathway to facilitate Na^+ homeostasis. SOS3 recognizes Ca^{2+} signals by the interaction of the divalent cation with the EF structures in the protein. SOS3 then activates the serine/threonine kinase SOS2, which phosphorylates the plasma membrane localized SOS1 to induce its Na^+/H^+ antiporter capacity. SOS1 has been suggested to be a Na^+ sensor but the determinant(s) responsible for the salt-induced Ca^{2+} transient is not yet identified (See text for detail).

설명하는 바와 같이 salt stress에서 의하여 발현이 유도되어지는 유전자의 promoter에 firefly luciferase 유전자를 연결한 다음 형질 전환체를 만들어, 돌연변이체 pool을 작성한 다음 그 발현에 이상을 초래하는 돌연변이체를 확보하는 방법은 일반적인 growth inhibition assay를 통하여 확보하기 어려운 salt tolerant의 결정인자들을 분리하는데 유효한 방법임이 증명되었다 (Ishitani et al. 1997).

4.2 SOS pathway

Zhu group은 *Arabidopsis* genetic system을 이용하여 내염성 스트레스 적응에 이상을 초래하는 돌연변이체를 선발하고 sos (salt overlay sensitive) mutant라고 명명하였다. 이들 중 SOS3는 NaCl에 극히 감수성을 보였으나 식물 배지내에 Ca^{2+} 농도를 증가시키자 NaCl에 대한 감수성이 사라졌다. 이러한 결과와 일치하게도, 이 돌연변이체로부터 cloning된 SOS3는 효모의 calcineurine B subunit와 homology를 보였으며, Ca^{2+} -binding 활성을 가지고 있다 (Liu and Zhu 1998). 최근에 sos3 이외에도 sos2, sos1의 돌연변이체로부터 각각의 유전자가 cloning되었는데 흥미롭게도 이들은 모두 NaCl에 의해서 매개되어지는 ion homeostasis 신호전달의 동일한 pathway에 존재하는 중요한 component임이 확인되었다 (Figure 6).

Ca²⁺-의존형인 SOS 신호전달 경로는 세포막에 존재하는 Na⁺/H⁺ antiporter인 SOS1 (salt adaption에 필요한 ion homeostasis와 Na⁺ ion을 세포 밖으로의 방출하는 기능을 가지고 있음)을 활성화하기 위한 경로이다 (Qui et al. 2002; Zhu 2002; Shi et al. 2003). 최근의 연구 결과에 의하면 Ca²⁺에 결합한 SOS3는 serine/threonine kinase인 SOS2를 세포막에 recruit하는 것으로 알려져 있다 (Qui et al. 2002; Quintero et al. 2002; Zhu 2003). NaCl에 의하여 유도되어진 Ca²⁺ transient는 SOS3로 매개되어지고 SOS2를 활성화한다 (Knight et al. 1997; Zhu 2003). SOS3-SOS2 protein kinase 복합체는 SOS1을 인산화하여 SOS1으로 하여금 Na⁺/H⁺ antiporter활성을 갖도록 한다 (Qui et al. 2002; Quintero et al. 2002). SOS3-SOS2 protein kinase 복합체는 또한 SOS1 mRNA의 stability에 필요한 경로를 활성화하여 SOS1의 발현을 안정화한다 (Shi et al. 2000, 2003; Zhu 2003).

sos돌연변이체 (sos1, sos2, sos3)는 모두 NaCl에 sensitive할 뿐만이 아니라, K⁺ ion 결핍 표현형을 가지고 있다. sos돌연변이체가 K⁺ 결핍 표현형을 가지고 있다는 사실은 SOS에 의하여 매개되어지는 신호전달 경로가 K⁺의 acquisition에 positive한 regulatory의 역할을 하고 있음을 시사한다. 최근의 보고에 의하면 SOS1 자체는 K⁺ transporter 활성을 가지고 있지 않는 것으로 알려져 있다 (Quintero et al. 2002). 그러나 *Arabidopsis* seedling에 50 mM의 NaCl을 전 처리 (pretreatment)하면, 야생형에서는 아무런 변화가 없으나 sos1-1 돌연변이체 뿌리에서 분리한 세포막의 K⁺ permeability는 감소됨을 알 수가 있었다 (Qi and Spalding 2004). 이와 같은 sos1-1 돌연변이체에서의 K⁺ uptake의 감소는 세포의 Na⁺ efflux system의 결핍에 의하여 생기는 세포내의 증가된 Na⁺ 농도에 의한 것 이라고 생각되어 지며, 그 target은 아마도 K⁺ channel인 AKT1이라고 생각된다 (Qui et al. 2002; Quintero et al. 2002; Qi and Spalding 2004). 최근에 sos3의 NaCl 감수성의 suppressor로서 cloning된 AtHKT1는 세포내의 Na⁺ ion의 유입 (influx)을 매개하는 transporter (Figure 5; Rus et al. 2001, 2004)로 알려졌는데, hkt1의 mutation은 세포내의 Na⁺ ion의 축적을 줄임으로서 sos1, 2, 3의 K⁺ 결핍 표현형을 suppressor함을 알 수가 있었다 (Rus et al. 2001, 2004). 또한, AtHKT1을 식물에 대량 발현시키면, 세포내에 Na⁺ ion이 축적되고, K⁺ 결핍 현상을 일으키는 것으로 알려졌다 (Rus et al. 2004). 이상의 결과를 종합해 보면, SOS에 의하여 매개되어지는 신호전달 경로가 직,간접적으로 K⁺의 acquisition에 역할을 하고 있음을 알 수가 있다.

4.3 Salt stress 신호전달을 매개하는 abscisic acid (ABA)

식물이 외부로부터 osmotic stress를 받게 되면 식물조직, 특히 잎에 대량의 ABA가 축적된다 (Zhu 2002; Himmelbach

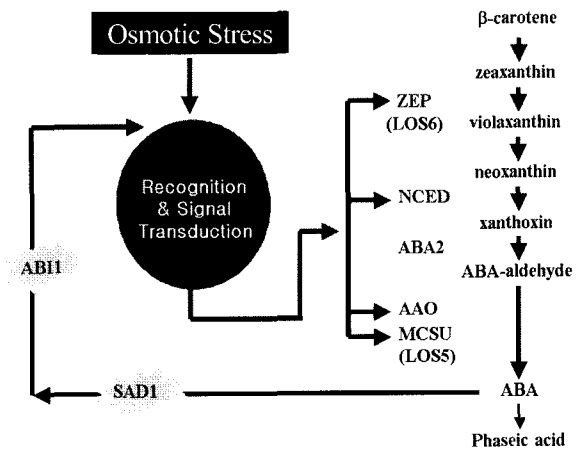


Figure 7. Regulation of ABA biosynthesis pathway (modified from Xiong and Zhu, 2003). The plant hormone ABA accumulates in plant tissues, especially leaves, in response to osmotic based stresses, including NaCl stress. ABA controls the plant adaptive response to osmotic/NaCl stress by altering expression of genes involved in osmotic stress response. The main biosynthetic pathway for ABA is initiated in plants by the conversion of zeaxanthin to violaxanthin by the enzyme ZEP (zeaxanthin epoxidase). An important and rate limiting step is the oxidative cleavage of neoxanthin by NCED (9-cis epoxycarotenoid deoxygenase). These enzymes and the AAO (ABA aldehyde oxidase) and the MCSU (molybdenum cofactor sulfurylase) have all been shown to be transcriptionally up regulated by drought or salt stress. Since genes encoding enzymes for several steps in the ABA biosynthetic pathway also transcriptionally activated by ABA itself, through a possible Ca²⁺/phosphorylation signal cascade, ABA may participate in a feed-forward loop to amplify ABA mediated stress responses (See text for detail).

et al. 2003). 비록 에틸렌, salicylic acid와 jasmonic acid가 다양한 스트레스 반응에 역할을 하며 서로 상호작용을 하는 것으로 알려져 있지만, ABA는 식물의 비생물학적 스트레스 (abiotic stress)에서 가장 중요한 역할을 하는 식물 호르몬이며, stress반응에 관여하는 유전자들의 발현을 조절을 매개하는 것으로 알려져 있다. 이러한 ABA의 역할은, ABA insensitive mutant인 *abi1*과 *abi2*에서 스트레스 유도성 유전자의 발현에 엄청난 변화가 초래된다는 사실로부터 알게 되었다. 그러나 비록 stress 유도성의 유전자 발현이 ABA에 의해서 매개되지 않지만, 모든 NaCl 스트레스 유도성 유전자의 발현이 ABA에 의해서만 유도되는 것은 아니다. 스트레스 유도성 유전자의 발현조절은 약간 복잡하며, ABA-dependent 및 -independent로 나누어진다 (Ingram and Bartels 1996).

NaCl스트레스는 ABA에 의하여 조절되어지는 유전자의 발현에 영향을 줄 뿐만이 아니라, ABA 생합성에 관련된 유전자의 발현도 조절한다 (Xiong and Zhu 2003). 따라서, 스트레스에 의하여 식물조직에 축적되는 ABA의 양은 부분적으로는 전사조절 (transcriptional regulation)의 결과라고 볼 수가 있다 (Figure 7). ABA생합성의 주된 경로는 zeaxanthin을 vio-

laxanthin으로 바꾸는 단계에서 시작되어 지며, 이를 매개하는 효소가 ZEP (zeaxanthin epoxidase)이다 (Audran et al. 1998). ABA생합성 경로에 중요한 rate-limiting step은 9-cis-epoxy-carotenoid dioxygenase (NECD)에 매개되어지며 neoxanthin을 oxidative cleavage하는 step이다. ZEP, NECD, ABA aldehyde oxidase (AAO)와 molybdenum cofactor sulfurylase (MCSU)의 유전자는 건조나 NaCl stress에 의하여 transcriptional하게 up-regulate되는 것으로 알려져 있다 (Audran et al. 1998; Seo et al. 2000; Iuchi et al. 2000; Xiong et al. 2003). 또한, ABA 생합성 경로에 작용하는 여러 효소유전자들의 발현은 ABA자체에 의해서도 transcription하게 활성화되어지는 것으로 알려져 있는데, 이것은 아마도, ABA에 의하여 매개되어지는 스트레스 반응을 증폭시키기 위한 것이라 생각되어진다. (Figure 7; Xiong et al. 2003).

5. Salt stress 저항성 식물체의 개발 연구

식물에서의 NaCl 스트레스에 대한 적응기작은 앞에서 서술한 바와 같이 세포막을 통한 Na⁺ 이온의 유입과 유출의 통제, 액포 (vacuole)로의 독성 Na⁺ 이온의 격리 (ion homeostasis) 그리고, osmotic 스트레스에 대한 적응을 위한 osmoprotectant의 생산과 축적, toxic radical scavenging, 물 수송 (water transport), 그리고 장거리 수송반응 (transducers of long-distance response coordination) 등과 같은 종합적인 요소들에 의하여 조절되어진다.

최근, salt stress 신호전달에 관련된 component들 및 Na⁺ ion homeostasis에 관여하는 transporter들의 발견으로 인하여, salt stress에 저항성을 갖는 식물체의 개발을 위한 생명 공학 적 연구가 활발하게 진행되고 있는데, 그것을 정리해 보면 Table 2와 같다.

Table 2. Transgenic Approaches to Engineering Salt Stress Tolerance (provided by H. Bohnert)

Gene	Protein	Source	Cellular role(s)	Transgenic host	Comments	Reference
Transcription factors						
alfin1	Zn-finger family	<i>M. sativa</i>	Transcription factor (TF)	<i>M. sativa</i>	Overexpressors show salinity tolerance	Winicov & Bastola, 1999
ts1	Tobacco stress-induced gene 1	<i>N. tabacum</i>	TF	<i>N. tabacum</i>	Tolerance to salinity and salicylic acid; Transgene has homology to EREBP/AP2	Park et al., 2001
MYB10	Myb-family	<i>Craterostigma plantagineum</i>	TF	<i>A. thaliana</i>	General stress tolerance; glucose insensitivity	Villalobos et al., 2004
OSISAP1	Zinc-finger family	<i>O. sativa</i>	TF	<i>N. tabacum</i>	Improved growth under several stress conditions	Mukhapadhyay et al., 2004
Components of signal transduction or ROS detoxification						
cnb1	Calcineurin B1	<i>S. cerevisiae</i>	Ca ²⁺ -binding	<i>N. tabacum</i>	Coexpression of catalytic & regulatory subunits; strong tolerance to salinity	Pardo et al., 1998
Oscdcp7	Ca-dependent protein kinase	<i>O. sativa</i>	PK	<i>O. sativa</i>	Induction of stress responsive genes in response to salinity, drought & cold	Saijo et al., 2000
gst/gpx	Glutathione-S-transferase/ glutathione peroxidase	<i>E. coli</i>	Detoxification of herbicides and toxic substances	<i>N. tabacum</i>	Over-expressors of GST/GPX show stimulated seedling growth under chilling & salt stress	Roxas et al., 1997
Mn-SOD	Mn-Superoxide dismutase		Dismutation of ROS in mitochondria	<i>M. sativa</i>	Transformants showed significantly higher survival under water stress and freezing	McKersie et al., 1996
Osmolyte production (detoxification or, possibly, acting as secondary signal molecules)**						
Bet	Choline dehydrogenase	<i>E. coli</i>	Glycinebetaine biosynthesis	<i>Synechococcus sp.</i>	Transformants with enhanced survival of Rubisco in plants under salt stress	Nomura et al., 1995
betB	Betaine aldehyde dehydrogenase	<i>E. coli</i>	Glycinebetaine biosynthesis	<i>N. tabacum</i>	Transformed plants with better growth in osmotic stress conditions	Holmstrom et al., 2000

(continued)

Gene	Protein	Source	Cellular role(s)	Transgenic host	Comments	Reference
codA	Choline oxidase A	<i>Arthrobacter globiformis</i>	Glycinebetaine biosynthesis	<i>A. thaliana</i>	Transformants tolerant to salt & cold	Hayashi et al., 1997
ectA, ectB, ectC	L-2,4-diaminobutyric acid acetyltransferase, L-2,4-diaminobutyric acid transaminase, L-ectoine synthase	<i>Halomonas elongata</i>	Ectoine biosynthesis	<i>N. tabacum</i>	Transformants with increased tolerance to hyperosmotic stress.	Nakayama et al., 2000
Imt1	Myo-inositol-O-methyltransferase	<i>M. crystallinum</i>	D-Ononitol biosynthesis	<i>N. tabacum</i>	Transformants better adapted to water and salt stress	Sheveleva et al., 1997
mtlD	Mannitol-1 phosphate dehydrogenase	<i>E. coli</i>	Mannitol metabolism	<i>N. tabacum</i>	Transformants with better growth under salt stress	Tarczynski et al., 1993
mtlD	Mannitol-1 phosphate dehydrogenase	<i>E. coli</i>	Mannitol metabolism	<i>N. tabacum</i>	Transformants more tolerant to salt & oxidative stress	Shen et al., 1997
P5CS	O-pyrroline 5-carboxylate synthase	<i>V. aconitifolia</i>	Proline biosynthesis	<i>N. tabacum</i>	Transformants accumulated 2-fold more proline than wild type; more tolerant to water stress.	Kishor et al., 1995; Hong et al., 2000
ProDH	Proline dehydrogenase	<i>A. thaliana</i>	Proline biosynthesis	<i>A. thaliana</i>	Antisense transgenics more tolerant to freezing and high salinity than wild type	Nanjo et al., 1999
Tsp1	Trehalose 6-phosphate synthase	<i>S. cerevisiae</i>	Trehalose biosynthesis	<i>N. tabacum</i>	Transformants with trehalose accumulation and improved drought tolerance.	Romero et al., 1997
Transport proteins						
AtNhx1	Na ⁺ /H ⁺ antiporter	<i>A. thaliana</i>	Vacuolar antiporter	<i>A. thaliana</i>	Transformants with sustained growth and development in soil water with high sodium chloride.	Apse et al., 1999
AtNhx1	Na ⁺ /H ⁺ antiporter	<i>A. thaliana</i>	Vacuolar antiporter	<i>L. esculentum</i>	Transformants with sustained growth in high salt (200 mM) without Na ⁺ -accumulation in fruits	Zhang & Blumwald, 2001; Zhang et al., 2001
Hal1	Protein involved in regulation of K ⁺ transport & Na ⁺ extrusion	<i>S. cerevisiae</i>	Regulation of K ⁺ transport	<i>L. esculentum</i>	Transformants with higher level of salt tolerance; transgenics able to retain more K ⁺ than control under salt stress	Gisbert et al., 2000; Ellul et al., 2003
Others						
AtNced3	9-cis-epoxy carotenoid synthesis	<i>A. thaliana</i>	ABA biosynthesis	<i>A. thaliana</i>	Transformants with increased endogenous ABA; enhanced levels of drought/ABA inducible genes; reduced transcription rates; improved drought tolerance	Iuchi et al., 2000
AtRabG3e	Vesicle trafficking protein	<i>A. thaliana</i>	Vesicle traffic	<i>A. thaliana</i>	Induction of salt & drought tolerance	Mazel et al., 2004
Bip	Binding protein	<i>G. max</i>	Molecular chaperone; unfolded protein response (UPR)	<i>N. tabacum</i>	Transformants with higher tolerance to water stress	Alvim et al., 2001
Gly1	Glyoxylase-1	<i>Brassica juncea</i>	Converts 2-oxaldehydes into 2-hydroxy acids	<i>N. tabacum</i>	Overexpressors with tolerance to methylglyoxal and high salt	Veena et al., 1999
Gpd	NAD ⁺ -dependent glyceraldehydes 3-phosphate dehydrogenase	<i>Pleurotus sajor-caju</i>	Glycolytic pathway	<i>S. tuberosum</i>	Transformants with salt stress tolerance	Jeong et al., 2001

결론과 전망

본 총설에서는 salt stress 반응 및 적응기작 연구를 모델세포인 효모 및 비내염성 식물 (glycophyte)인 *Arabidopsis*를 중심으로 소개하였다. 이들 시스템을 이용한 연구는 분자유전학 tool을 구사할 수 있다는 장점으로 인하여, salt stress에 관련된 많은 transport 및 신호전달 component들을 확보할 수 있게 하였다. 앞으로의 연구는 식물이 어떻게 salt stress를 감지 (salt stress sensor)하는가? 그리고, 이미 확보된 신호전달자 및 transport가 salt stress에 의하여 어떻게 조절 되는가? 에 초점이 맞추어 질것이라 생각되며, 여기에 대한 해답을 얻기 위해서는 더욱더 많은 salt stress 반응 및 적응기작에 관여하는 유전자들이 확보되어야 할 것으로 생각된다.

그러나, 비록 glycophyte인 *Arabidopsis*를 model 식물로 이용하여 salt tolerance기작에 관한 어느 정도의 정보를 얻을 수 있음에도 불구하고, 이러한 정보만으로 salt 저항성에 관한 기작을 설명하기에는 부족하다는 것이 일반적인 생각이다. Salt 저항성은 多遺傳形質 (multigenic trait)이므로, 식물에 salt 저항성을 부여하는 산물들을 만드는 생화학적 경로나, stress신호전달 경로는 서로 복잡하게 작용하고 있고 (Figure 4), Salt stress에 대해서 훨씬 강한 표현형을 보이는 halophyte는 glycophyte보다 훨씬 더 효율적으로 salt adaptation에 필요한 component들을 이용할 수 있을 뿐만이 아니라 진화학적으로 다양한 salt 저항성 mechanism을 가질 것으로 생각되어진다. 따라서, halophyte를 모델식물로 이용하여 연구하면 이렇게 부족한 정보를 보충할 수 있을 뿐만이 아니라 salt stress저항성에 관여하는 중요한 component 유전자를 발견할 수 있을 것이라 기대되어 진다 (Bressan 2001; Inan et al. 2004). 최근, *Arabidopsis*와 life cycle이 매우 유사하며, cDNA level에서 90%이상의 相同性 (identity)을 보일 뿐만이 아니라, 형태학적으로나 표현형적인 속성이 매우 비슷하고, 형질전환이 가능하면서 유전학적인 분석이 가능한 내염성 식물인 *Thellungiella hallophila*가 발견되었다 (Figure 8). 따라서, 앞으로의 *T. hallophila*를 모델식물로 한 연구가 진행되어지면 *T. hallophila*가 *Arabidopsis*보다 NaCl에 대해서 훨씬 증가된 저항성을 가지는 이유가 (1) 신호전달 경로의 차이에 의한 것 인지, (2) 기능이 훨씬 강한 유전자에 의한 것인지, (3) 아니면 NaCl저항성을 부여하는 새로운 유전자에 의한 것인지를 알 수가 있을 것으로 기대된다.

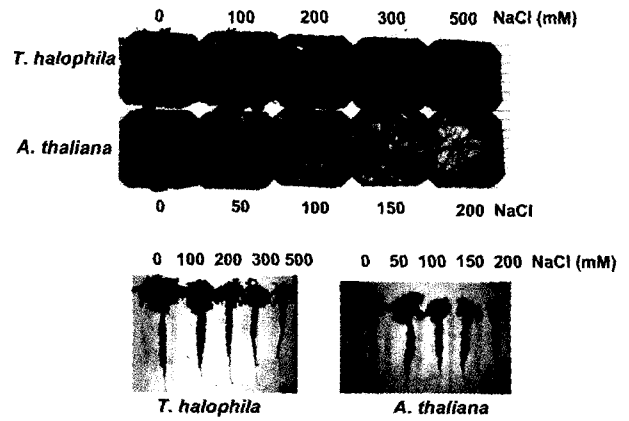


Figure 8. NaCl tolerance of cress plants compared to *Arabidopsis*. Survivability of salt cress (*Thellungiella thellungiella*) and *Arabidopsis* was compared in Turface hydroponic growth medium after increasing NaCl exposure from 0 mM to 500 mM in 100 mM increments every 5 days. Photographs were provided by Dr. Ray A. Bressan (Center for Plant Environmental Stress Physiology, Purdue University).

인용문헌

Alvim FC, Carolino SM, Cascardo JC, Nunes CC, Martinez CA, Otoni WC, Fontes EP (2001) Enhanced accumulation of BiP in transgenic plants confers tolerance to water stress. *Plant Physiol* 126: 1042-1054

Amtmann A, Sanders D (1999) Mechanisms of Na⁺ uptake by plant cells. In, (eds) *Advances in Botanical Research*. Academic Press, pp 76-114

Anderson JA, Huprikar SS, Kochian LV, Lucas WJ, Gaber RF (1992) Functional expression of a probable *Arabidopsis thaliana* potassium channel in *Saccharomyces cerevisiae*. *Proc Natl Acad Sci USA* 89: 3736-3740

Apse MP, Aharon GS, Snedden WA, Blumwald E (1999) Salt tolerance conferred by overexpression of a vacuolar Na⁺/H⁺ antiport in *Arabidopsis*. *Science* 285: 1256-1258

Audran C, Borel C, Frey A, Sotta B, Meyer C, Simonneau T, Marion-Poll A (1998) Expression studies of the zeaxanthin epoxidase gene in *Nicotiana plumbaginifolia*. *Plant Physiol* 118: 102-110

Blumwald E, Poole RJ (1985) Na⁺/H⁺ antiport in isolated tonoplast vesicles from storage tissue of *Beta vulgaris*. *Plant Physiol* 78: 163-167

Bohnert HJ, Shen B (1999) Transformation and compatible solutes. *Sci Horticul* 78: 237-260

Bressan RA, Zhang C, Zhang H, Hasegawa PM, Bohnert HJ, Zhu J-K (2001) Learning from the *Arabidopsis* Experience, The next gene search paradigm. *Plant Physiol* 127: 1354-1360

Covic L, Lew RR (1996) *Arabidopsis thaliana* cDNA isolated by functional complementation shows homology to serine/threonine protein kinases. *Biochim Biophys Acta* 1305: 125-129

사 사

본 논문은 농촌진흥청 바이오그린21사업 및 환경생명과학 국가핵심 연구센터 연구비지원에 의한 결과이다.

- terization of ARAKIN (ATMEKK1): a possible mediator in an osmotic stress response pathway in higher plants. *Biochim Biophys Acta* 1451: 242-252
- Cramer GR, Lynch J, Luchli A, Epstein E (1987) Influx of Na⁺, K⁺, and Ca²⁺ into roots of salt-stressed cotton seedlings. *Plant Physiol* 83: 510-516
- Cunningham KW, Fink GR (1996) Calcineurin inhibits VCX1-dependent H⁺/Ca⁺ exchange and induces Ca²⁺-ATPases in *Saccharomyces cerevisiae*. *Mol Cell Biol* 16: 2226-2237
- Delauney AJ, Verma DPS (1993) Proline biosynthesis and osmoregulation in plants. *Plant J* 4: 215-223
- Dietz KJ, Tavakoli N, Kluge C, Miura T, Sharma SS, Harris GC, Chardonnens AN, Gollack D (2001) Significance of the V-type ATPase for the adaptation to stressful growth conditions and its regulation on the molecular and biochemical level. *J Exp Bot* 52: 1969-1980
- Dreyer I, Horeu C, Lemaillet G, Zimmermann S, Bush DR, Rodriguez-Navarro A, Schachtman DP, Spalding EP, Sentenac H, Gaber RF (1999) Identification and characterization of plant transporters using heterologous expression systems. *J Exptl Bot* 50: 1073-1087
- Ellul P, Rios G, Atares A, Roig LA, Serrano R, Moreno V (2003) The expression of the *Saccharomyces cerevisiae* HAL1 gene increases salt tolerance in transgenic watermelon [*Citrullus lanatus* (Thunb.) Matsun and Nakai]. *Theor Appl Genet* 107: 462-469
- Espinosa-Ruiz A, Belles JM, Serrano R, Gulianez-Macia FA (1999) *Arabidopsis thaliana* AtHAL3: a flavoprotein related to salt and osmotic tolerance and plant growth. *Plant J* 20: 529-539
- Flowers TJ, Troke PF, Yeo AR (1977) The mechanism of salt tolerance in halophytes. *Annu Rev Plant Physiol* 28: 89-121
- Garcia-deblas B, Rubio F, Quintero FJ, Baelos MA, Haro R, Rodriguez-Navarro A (1993) Differential expression of two genes encoding isoforms of the ATPase involved in sodium efflux in *Saccharomyces cerevisiae*. *Mol Gen Genet* 236: 363-368
- Gaxiola RA, Rao R, Sherman A, Grisafi P, Alper SL, Fink GR (1999) The *Arabidopsis thaliana* proton transporters, AtNhx1 and Avp1, can function in cation detoxification in yeast. *Proc Natl Acad Sci USA* 96: 1480-1485
- Geisler M, Frange N, Gomes E, Martinoia E, Palmgren MG (2000). The *ACA4* gene of *Arabidopsis* encodes a vacuolar membrane calcium pump that improves salt tolerance in yeast. *Plant Physiol* 124: 1814-1827
- Guern J, Mathieu Y, Kurkdjian A (1989) Regulation of vacuolar pH in plant cells. *Plant Physiol* 89: 27-36
- Hasegawa PM, Bressa RA, Zhu J-K, Bohnert H (2000) Plant cellular and molecular responses to high salinity. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol* 51: 463-499
- Hayashi H, Mustardy L, Deshniem P, Ida M, Murata N (1997). Transformation of *Arabidopsis thaliana* with the coda gene for choline oxidase; accumulation of glycine-betaine and enhanced tolerance to salt and cold stress. *Plant J* 12: 133-142
- Himmelbach A, Yang Y, Grill E (2003) Relay and control of abscisic acid signaling. *Curr Opin Plant Biol* 6: 470-479
- Hirschi, KD (1999) Expression of *Arabidopsis CAX1* in tobacco: altered calcium homeostasis and increased stress sensitivity. *Plant Cell* 11: 2113-2122
- Hirschi, KD (2004) The calcium conundrum. Both versatile nutrient and specific signal. *Plant Physiol* 136: 2438-2442
- Hirsch RE, Lewis BD, Spalding EP, Sussman MR (1998) A role for the AKT1 potassium channel in plant nutrition. *Science* 280: 918-921
- Holmstrom, KO, Somersalo S, Mandal A, Palva TE, Welin B (2000) Improved tolerance to salinity and low temperature in transgenic tobacco producing glycine betaine. *J Exp Bot* 51: 177-185
- Hong Z, Lakkineni ?, Zhang Z, Verma DP (2000) Removal of feedback inhibition of delta(1)-pyrroline-5-carboxylate synthetase results in increased proline accumulation and protection of plants from osmotic stress. *Plant Physiol* 122: 1129-1136
- Inan G, Zhang Q, Li P, Wang Z, Cao Z, Zhang H, Zhang C, Quist TM, Goodwin SM, Zhu J, Shi H, Damsz B, Charbaji T, Gong Q, Ma S, Fredricksen M, Galbraith DW, Jenks MA, Rhodes D, Hasegawa PM, Bohnert HJ, Joly RJ, Bressan RA, Zhu J-K (2004) Salt stress. A halophyte and cryophyte *Arabidopsis* relative model system and its applicability to molecular genetic analyses of growth and development of extremophiles. *Plant Physiol* 135: 1718-1737
- Ingram J, Bartels D (1996) The molecular basis of dehydration tolerance in plants. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol Biol* 48: 377-403
- Ishitani M, Xiong L, Stevenson B, Zhu J-K (1997). Genetic analysis of osmotic and cold stress signal transduction in *Arabidopsis*: Interactions and convergence of abscisic acid-dependent and abscisic acid-independent pathways. *Plant Cell* 9: 1935-1949
- Iuchi, S, Kobayashi M, Yamaguchi-Shinozaki K, Shinozaki K (2000) A stress-inducible gene for 9-cis-epoxycarotenoid dioxygenase involved in abscisic acid biosynthesis under water stress in drought-tolerant cowpea. *Plant Physiol* 123: 553-562
- Jeong MJ, Park SC, Byun MO (2001) Improvement of salt tolerance in transgenic potato plants by glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase gene transfer. *Mol Cell* 12: 185-189
- Kim SA, Kwak JM, Jae SK, Wang MH, Nam HG (2001) Overexpression of the AtGluR2 gene encoding an *Arabidopsis* homolog of mammalian glutamate receptors impairs calcium utilization and sensitivity to ionic stress in transgenic plants. *Plant Cell Physiol* 42: 74-84
- Knight H, Trewavas AJ, Knight MR (1997) Calcium signalling in *Arabidopsis thaliana* responding to drought

- and salinity. *Plant J* 12: 1067-1078
- Kudla J, Xu Q, Harter K, Gruissem W, Luan S (1999) Genes for calcineurin B-like proteins in *Arabidopsis* are differentially regulated by stress signals. *Proc Natl Acad Sci USA* 96: 4718-4723
- Leung J, Giraudat J (1998) Abscisic acid signal transduction. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol* 49: 199-222
- Lippuner V, Cyert MS, Gasser CS (1996) Two classes of plant cDNA clones differentially complement yeast calcineurin mutants and increase salt tolerance of wild type yeast. *J Biol Chem* 271: 12859-12866
- Liu J, Zhu JK (1997) An *Arabidopsis* mutant that requires increased calcium for potassium nutrition and salt tolerance. *Proc Natl Acad Sci USA* 94: 14960-14964
- Liu J, Zhu JK (1998) A calcium sensor homolog required for plant salt tolerance. *Science* 280: 1943-1945
- Louis P, Galinski EA (1997) Characterization of genes for the biosynthesis of the compatible solute ectoine from *Mari-nococcus halophilus* and osmoregulated expression in *E. coli*. *Microbiol* 143: 1141-11
- Maeda T, Takekawa M, Saito H (1995) Activation of yeast PBS2 MAPKK by MAPKKs or by binding of an SH3-containing osmosensor. *Science* 269: 554-558
- Maeda T, Wurgler-Murphy SM, Saito H (1994) A two-component system that regulates an osmosensing MAP kinase cascade in yeast. *Nature* 369: 242-245
- Martinez V, Luchli A (1993) Effects of Ca²⁺ on the salt-stress response of barley roots as observed by in-vivo ³¹P-nuclear magnetic resonance and in-vitro analysis. *Planta* 190: 519-524
- Matsumoto TK, Pardo JM, Takeda S, Bressan RA, Hasegawa PM (2001) Tobacco and *Arabidopsis* SLT1 mediate salt tolerance of yeast. *Plant Mol Biol* 45: 489-500
- Mazel, A, Leshem, Y, Tiwari BS, Levine A (2004) Induction of salt and osmotic stress tolerance by overexpression of an intracellular vesicle trafficking protein AtRab7 (At-RabG3e). *Plant Physiol* 134: 118-128
- McCue KF, Hanson AD (1990) Drought and salt tolerance: Towards understanding and application. *Biotechnol.* 8: 358-362
- McKersie BD, Bowley SR, Harjanto E, Leprince O (1996). Water-deficit tolerance and field performance of transgenic alfalfa overexpressing superoxide dismutase. *Plant Physiol* 111: 1177-1181
- Mendoza I, Quintero FJ, Bressan RA, Hasegawa PM, Pardo JM (1996) Activated calcineurin confers high tolerance to ion stress and alters the budding pattern and cell morphology of yeast cells. *J Biol Chem* 271: 23061-23067
- Mendoza I, Rubio F, Rodriguez-Navarro A, Pardo JM (1994) The protein phosphatase calcineurin is essential for NaCl tolerance of *Saccharomyces cerevisiae*. *J Biol Chem* 269: 8792-8796
- Mizoguchi T, Irie K, Hirayam T, Hayashida N, Yamaguchi-Shinozaki K, Matsumoto K, Shinozaki K (1996) A gene encoding a MAP kinase kinase kinase is induced simultaneously with genes for a MAP kinase and an S6 kinase by touch, cold and water stress in *Arabidopsis thaliana*. *Proc Natl Acad Sci USA* 93: 765-769
- Mukhopadhyay A, Vij S, Tyagi AK (2004) Overexpression of a zinc-finger protein gene from rice confers tolerance to cold, dehydration, and salt stress in transgenic tobacco. *Proc Natl Acad Sci USA* 101: 6309-6314
- Nakayama H, Yoshida K, Ono H, Murooka Y, Shinmyo A (2000) Ectoine, the compatible solute of *Halomonas elongata*, confers hyperosmotic tolerance in cultured tobacco cells. *Plant Physiol* 122: 1239-1247
- Nanjo T, Kobayashi M, Yoshiba Y, Kakubari Y, Yamaguchi-Shinozaki K, Shinozaki K (1999) Antisense suppression of proline degradation improves tolerance to freezing and salinity in *Arabidopsis thaliana*. *FEBS Lett* 461: 205-210
- Nelson DE, Shen B, Bohnert HJ (1998) Salinity tolerance - mechanisms, models, and the metabolic engineering of complex traits. In *Genetic Engineering, Principles and Methods*, ed JK Setlow, pp 153-176, Vol. 20, New York: Plenum Press
- Niu X, Bressan RA, Hasegawa PM, Pardo JM (1995) Ion homeostasis in NaCl stress environments. *Plant Physiol* 109: 735-742
- Nomura M, Ishitani M, Takabe T, Rai AK, Takabe T (1995) *Synechococcus* sp. PCC7942 transformed with *Escherichia coli bet* genes produces glycine betaine from choline and acquires resistance to salt stress. *Plant Physiol* 107: 703-708
- Nylander M, Heino P, Helenius E, Palva ET, Ronne H, Welin BV (2001) The low-temperature- and salt-induced RCI2A gene of *Arabidopsis* complements the sodium sensitivity caused by a deletion of the homologous yeast gene SNA1. *Plant Mol Biol* 45: 341-351
- Ono H, Sawada K, Khunajakr N, Tao T, Yamamoto M, Hiramoto M, Shinmyo A, Takano M, Murooka Y (1999) Characterization of biosynthetic enzymes for ectoine as a compatible solute in a moderately halophilic eubacterium, *Halomonas elongata*. *J Bact* 181: 91-99
- Pardo JM, Reddy MP, Yang S, Maggio A, Huh G-H, Matsumoto T, Coca MA, Paino-D'Urzo M, Koiwa H, Yun D-J, Watad AA, Bressan RA, Hasegawa PM (1998) Stress signalling through Ca²⁺/calmodulin-dependent protein phosphatase calcineurin mediates salt adaptation in plants. *Proc Natl Acad Sci USA* 95: 9681-9686
- Park JM, Park CJ, Lee SB, Ham BK, Shin R, Paek KH (2001) Overexpression of the tobacco Tsi1 gene encoding an EREBP/AP2-type transcription factor enhances resistance against pathogen attack and osmotic stress in tobacco. *Plant Cell* 13: 1035-1046
- Piao HL, Pih KT, Lim JH, Kang SG, Jin JB, Kim SH, Hwang I (1999) An *Arabidopsis* GSK3/shaggy-like gene that complements yeast salt stress-sensitive mutants in induced by NaCl and abscisic acid. *Plant Physiol* 119: 1527-1534

- Posas F, Camps M, Arino J (1995) The PPZ protein phosphatases are important determinants of salt tolerance in yeast cells. *J Biol Chem* 270: 13036-13041
- Qi Z, Spalding EP (2004) Protection of plasma membrane K⁺ transport by the salt overly sensitive Na⁺-H⁺ antiporter during salinity stress. *Plant Physiol* 136: 2548-2555
- Quesada, V, Ponce MR, Micol JL (2000) Genetic analysis of salt-tolerant mutants in *Arabidopsis thaliana*. *Genetics* 154: 421-436
- Qui QS, Guo Y, Dietrich MA, Schumaker KS, Zhu JK (2002) Regulation of SOS1, a plasma membrane Na⁺/H⁺ exchanger in *Arabidopsis thaliana*, by SOS2 and SOS3. *Proc Natl Acad Sci USA* 99: 8436-8441
- Quintero FJ, Garcadeblas B, Rodriguez-Navarro A (1996) The *SAL1* gene of *Arabidopsis*, encoding an enzyme with 3' (2'), 5'-bisphosphate nucleotide and inositol polyphosphate 1-phosphatase activities, increases salt tolerance in yeast. *Plant Cell* 8: 529-537
- Quintero FJ, Ohta M, Shi H, Zhu J-K, Pardo JM (2002) Reconstitution in yeast of the *Arabidopsis* SOS signaling pathway for Na⁺ homeostasis. *Proc Natl Acad Sci USA* 99: 9061-9066
- Rhoades JD, Loveday J (1990) Salinity in irrigated agriculture. in American Society of Civil Engineers, Irrigation of Agricultural Crops (Steward BA and Nielsen DR eds), Am Soc Agronomists, Monograph 30, 1089-1142
- Romero C, Belles JM, Vaya JL, Serrano R, Culliaz-Maci FA (1997) Expression of the yeast trehalose-6-phosphate synthase gene in transgenic tobacco plants, pleiotropic phenotypes include drought tolerance, *Planta* 201: 293-297
- Roxas VR, Smigh JRK, Allen ER, Allen RD (1997) Overexpression of glutathione S-transferase/glutathione peroxidase enhances the growth of transgenic tobacco seedlings during stress, *Nature Biotech* 15: 988-991
- Rus A, Lee B-h, Munoz-Mayor A, Sharkhuu A, Miura K, Zhu JK, Bressan RA, Hasegawa PM (2004) AtHKT1 facilitates Na⁺ homeostasis and K⁺ nutrition in *Planta*. *Plant Physiol* 136: 2500-2525
- Rus A, Yokoi S, Sharkhuu A, Reddy M, Lee B-h, Matsumoto TK, Koiwa H, Zhu JK, Bressan RA, Hasegawa PM (2001) AtHKT1 is a salt tolerance determinant that controls Na⁺ entry into plant roots. *Proc Natl Acad Sci USA* 98: 14150-14155
- Saijo Y, Hata S, Kyojuka J, Shimamoto K, Izui K (2000) Over-expression of a single Ca²⁺-dependent protein kinase confers both cold and salt/drought tolerance on rice plants. *Plant J* 23: 319-327
- Saleki R, Young P, Lefebvre DD (1993) Mutants of *Arabidopsis thaliana* capable of germination under saline conditions. *Plant Physiol* 101: 839-845
- Seo M, Koiwai H, Akaba S, Komano T, Oritani T, Kamiya Y, Koshiha T (2000) Abscisic aldehyde oxidase in leaves of *Arabidopsis thaliana*. *Plant J* 23: 481-488
- Shi H, Ishitani M, Kim C, Zhu JK (2000) The *Arabidopsis thaliana* salt tolerance gene SOS1 encodes a putative Na⁺/H⁺ antiporter. *Proc Natl Acad Sci USA* 97: 6896-6901
- Shi H, Lee BH, Wu SJ, Zhu JK (2003) Overexpression of a plasma membrane Na⁺/H⁺ antiporter gene improves salt tolerance in *Arabidopsis thaliana*. *Nature Biotech* 21: 81-85
- Shi H, Zhu JK (2002) Regulation of expression of the vacuolar Na⁺/H⁺ antiporter gene AtNHX1 by salt stress and ABA. *Plant Mol Biol* 50: 543-550
- Shin D, Koo YD, Lee H, Baek D, Lee S, Cheon C, Kwak SS, Lee S, Yun DJ (2004) Athb-12, homeobox-leucine zipper domain protein from *Arabidopsis thaliana*, increases salt tolerance in yeast by regulating sodium exclusion. *Biochem Biophys Res Commun* 323: 534-540
- Strizhov N, Abraham E, Okresz L, Blicling S, Zilberstein A, Schell J, Koncz C, Szabados L (1997) Differential expression of two P5CS genes controlling proline accumulation during salt-stress requires ABA and is regulated by ABA1, ABI1, and AXR2 in *Arabidopsis*. *Plant J* 12: 557-569
- Sze H, Li X, Palmgren MG (1999) Enegrization of plant cell membranes by H⁺-pumping ATPases: Regulation and biosynthesis. *Plant Cell* 11: 677-689
- Tarczynski M, Jensen RG, Bohnert HJ (1993) Stress protection of transgenic tobacco by production of the osmolyte mannitol. *Science* 259: 508-510
- Tsugane K, Kobayashi K, Niwa Y, Ohba Y, Wada K, Kobayashi H (1999) A recessive *Arabidopsis* mutant that grows photoautotrophically under salt stress shows enhanced active oxygen detoxification. *Plant Cell* 11: 1195-1206
- Urao T, Yakubov B, Satoh R, Yamaguchi-Shinozaki K, Seki B, Hirayama T, Shinozaki K (1999) A transmembrane hybrid-type histidine kinase in *Arabidopsis* functions as an osmosensor. *Plant Cell* 11: 1743-1754
- Villalobos MA, Bartels D, Iturriaga G (2004) Stress tolerance and glucose insensitive phenotypes in *Arabidopsis* overexpressing the CpMYB10 transcription factor gene. *Plant Physiol* 135: 309-324
- Winicov I, Bastola DR (1999). Transgenic overexpression of the transcription factor A1fin1 enhances expression of the endogenous MsPRP2 gene in alfalfa and improves salinity tolerance of the plants. *Plant Physiol* 120: 473-480
- Xiong L, Gong Z, Rock CD, Subramanian S, Guo Y, Xu W, Galbraith D, Zhu JK (2001) Modulation of abscisic acid signal transduction and biosynthesis by an Sm-like protein in *Arabidopsis*. *Dev Cell* 1: 771-781
- Xiong L, Schumaker KS, Zhu JK (2002) Cell signaling during cold, drought, and salt stress. *Plant Cell* 14: S165-S183
- Xiong L, Zhu JK (2002) Salt tolerance. In Somerville C, Meyerowitz E, (eds) *Arabidopsis* book. The American Society of Plant Biology. Rockville, MD pp1-24.
- Xiong L, Zhu JK (2003) Regulation of abscisic acid bio-

- synthesis. *Plant Physiol* 133: 29-36
- Zhang HX, Blumwald E (2001) Transgenic salt-tolerant tomato plants accumulate salt in foliage but not in fruit. *Nature Biotechnol* 19: 765-768
- Zhu JK (2000) Genetic analysis of plant salt tolerance using *Arabidopsis*. *Plant Physiol* 124: 941-948
- Zhu JK (2001) Plant salt tolerance. *Trends Plant Sci* 6: 66-71
- Zhu JK (2002) Salt and drought stress signal transduction in plants. *Annu Rev Plant Biol* 53: 247-273
- Zhu JK (2003) Regulation of ion homeostasis under salt stress. *Curr Opin Plant Biol* 6: 441-445

(접수일자 2004년 12월 31일, 수리일자 2005년 1월 7일)