

セイヨウハコヤナギの生育に及ぼす塩ストレスと浸透圧ストレスの比較

横田智・田原恒・西口満・毛利武・掛川弘一・楠城時彦（森林総研）

要旨： 塩ストレスは植物の生育に重大な影響を及ぼす環境要因である。塩ストレスには、高浸透圧による害と、 Na^+ などのイオンによる害の二つの面がある。塩ストレスの二面性を理解するため、水耕栽培によって、セイヨウハコヤナギ (*Populus nigra* var. *italica*) に、 NaCl とポリエチレングリコール (PEG) 6000 を与え、生育に及ぼす影響を比較した。 NaCl 、および PEG 処理によって苗木の成長は著しく低下した。しかし、100 mM NaCl では4週間以内にほとんどの苗木が枯死するのに対して、100 mM NaCl と等張な 199 g/l PEG では4週間後まで枯死するものはなかった。これらの結果から、セイヨウハコヤナギの生育阻害効果において NaCl と PEG 処理に違いのあることが示された。

キーワード： 塩ストレス, 浸透圧ストレス, セイヨウハコヤナギ, 塩化ナトリウム, ポリエチレングリコール 6000

Abstract : Salt stress is one of the major environmental factors limiting plant growth. Salt stress shows two distinct phases: a rapid osmotic phase and a slower, ionic phase. To understand the plant response to salt and osmotic stresses, the effects of NaCl and iso-osmotic polyethylene glycol (PEG) 6000 on growth in *Populus nigra* var. *italica*, using the hydroponic culture method. NaCl and PEG treatments significantly reduced shoot growth. Almost of nursery trees treated with 100 mM NaCl withered within four weeks, whereas those treated with iso-osmotic PEG survived until the end of the experiment. These results indicated that the differences between NaCl and PEG treatments existed in the inhibitory effects on the plant growth.

Keywords : salt stress, osmotic stress, *Populus nigra* var. *italica*, sodium chloride, polyethylene glycol 6000

I はじめに

塩ストレスは植物の生育に重大な影響を及ぼす環境要因であり、農林業や環境保全に深刻な問題を引き起こしている。主な植物では、アルファルファは耐塩性が高く、イネやシロイヌナズナは低い、オオムギやコムギはその中間とされている(6)。セイヨウハコヤナギ (*Populus nigra* var. *italica*) の耐塩性はイネなどと同程度である(7)。

塩ストレスが植物に及ぼす害には二つの面がある。ひとつは高浸透圧によるものであり、もうひとつは Na^+ や Cl^- など植物に有害なイオンによるものである。このうち、浸透圧ストレスは急速に生じ、新芽の成長を阻害する。一方、イオンストレスはゆっくりと生じ、成熟葉の老化を促進するとされている(6)。

塩ストレスの二つの面を識別する試みとして、 NaCl による塩ストレスと、高分子化合物ポリエチレングリコール (PEG) による浸透圧ストレスがそれぞれ植物の成長に及ぼす影響の違いについて、インゲン、トウモロコ

シ、ソルガム、およびダイダイなどで調べられている(2, 3, 8)。

我々は、環境耐性遺伝子を用いた遺伝子組換えによって、セイヨウハコヤナギの耐塩性を向上させる研究に取り組んでいる。その中で塩ストレスの二面性を理解するため、水耕栽培法を用いて、塩ストレスと浸透圧ストレスを与え、それぞれがセイヨウハコヤナギの生育に及ぼす影響を比較した。

II 材料と方法

1. セイヨウハコヤナギ苗の増殖と栽培

セイヨウハコヤナギの増殖、育成、および栽培方法は前報(7)のとおりに行った。

2. NaCl 処理と PEG 処理

苗高が 20 cm 程度になった時点で NaCl 、および PEG 処理を開始し、4週間継続した。 NaCl 処理として、肥料液に 50 mM NaCl 、および 100 mM NaCl を添加した。

Satoru YOKOTA, Ko TAHARA, Mitsuru NISHIGUCHI, Takeshi MOHRI, Koichi KAKEGAWA, Tokihiko NANJO (Forestry and Forest Products Research Institute, Matsunosato 1 Tsukuba Ibaraki 305-8687) Comparison of effects of sodium chloride and iso-osmotic polyethylene glycol on growth in *Populus nigra* var. *italica*

PEG 処理として, Michel ら (4) の次式により

$$\psi = -(1.18 \times 10^{-2})C - (1.18 \times 10^{-4})C^2 + (2.67 \times 10^{-4})CT + (8.39 \times 10^{-7})C^2T$$

C : 溶質量(g), T : 液温($^{\circ}\text{C}$)

50 mM NaCl, および 100 mM NaCl と等張となる PEG6000 の濃度をそれぞれ 134 g/l, および 199 g/l と算出し, 肥料液に添加した。肥料液の交換は週 2 回行った。

3. 成長量と葉緑素量の測定

NaCl, および PEG 処理の供試苗木を各 4 本とし, 処理開始直前と処理開始後 4 週間の苗の地上部, および地下部の可視被害を比較するとともに苗高を測定した。処理期間中に枯死, あるいは梢端枯れを生じた苗木は測定対象から除外した。なお, 本研究では各処理の結果, 地上部と地下部の境界領域で茎が壊死したものを枯死とみなした。また, 各処理 1 個体について展開の終了した上位葉 4 枚を特定し, それら 4 葉について処理開始直前と処理開始後 3 週間のクロロフィル量を継続して測定した。クロロフィル量の測定には葉緑素計 (コニカ・ミノルタ SPAD-502Plus) を使用した。

III 結果

1. 塩ストレス, および浸透圧ストレスが苗木に及ぼす可視被害の比較

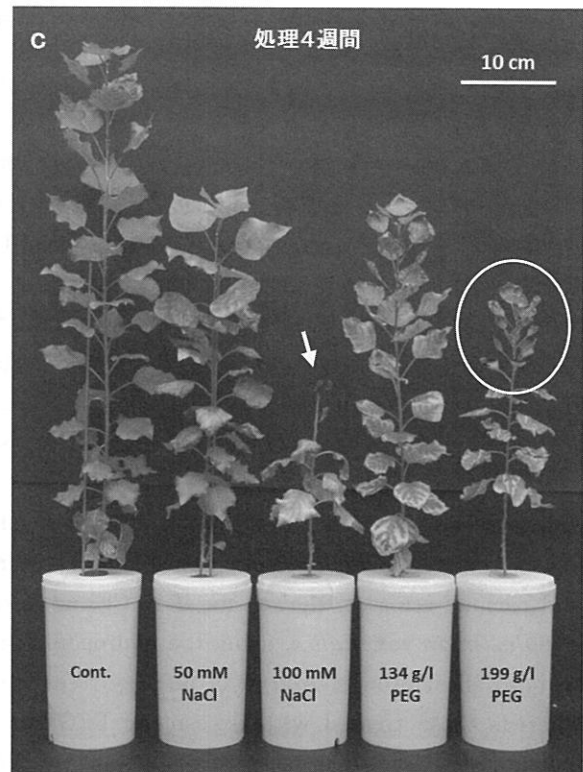
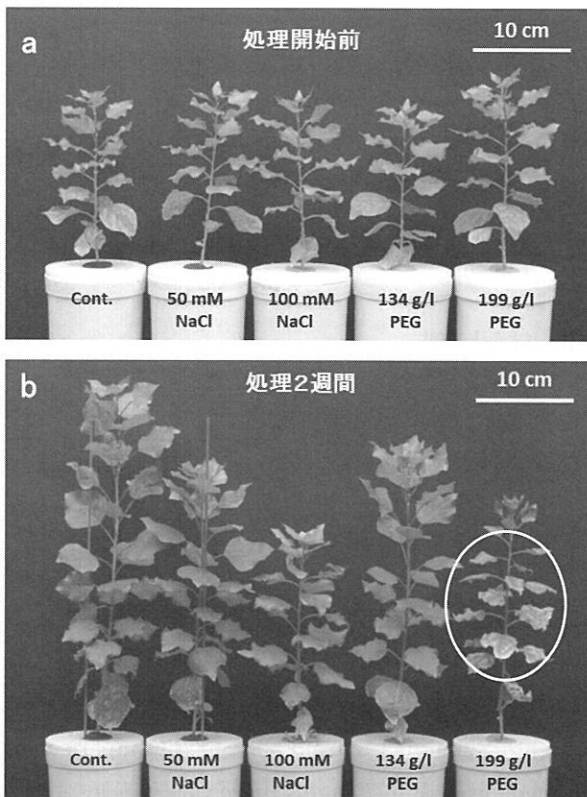


図-1. NaCl, および PEG 処理を受けたセイヨウハコヤナギの可視被害

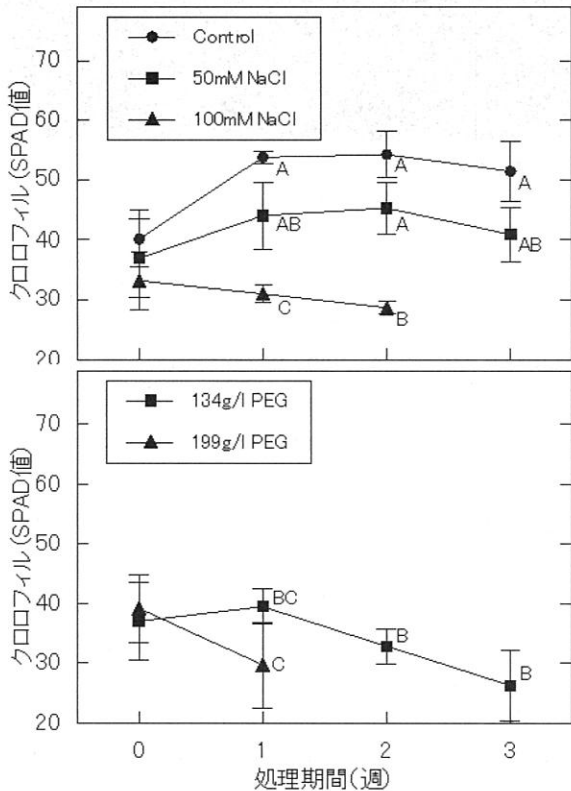
Fig. 1. Visible damage of young trees exposed to NaCl and PEG treatment.

塩ストレス, および浸透圧ストレスがセイヨウハコヤナギに及ぼす可視被害を比較した。NaCl 処理, および PEG 処理前後の苗木を図-1 に示す。各処理によってセイヨウハコヤナギの生育は阻害され, 処理 2 週間後の 100 mM NaCl ではクロロフィルの減少による葉の黄白化が見られたが, 等張の 199 g/l PEG 処理では加えて成熟葉の枯れ上がりが見られた (図-1 b, 丸囲)。処理 4 週間後, 50 mM NaCl 処理では成長量の低下はあるが, 苗木は成長を維持していた。しかし, 100 mM NaCl 処理では 2 週間を過ぎて苗木の梢端が枯れたり (図-1 c, 矢印), 枯死したりした。一方, PEG 処理では, 199 g/l PEG でも苗木は枯死することはなかった。しかし, 成熟葉の枯れ上がりに加え, 未成熟葉の展開が抑制され小型化するのが観察された (図-1 c, 丸囲)。

2. NaCl および PEG 処理がクロロフィル含有量に及ぼす影響

NaCl 処理, および PEG 処理を受けた苗木の葉が黄白化する現象が認められた (図-1 b, c) ため, 処理前後におけるクロロフィル量 (平均値 \pm 標準偏差, $n=4$) の変化を図-2 に示した。コントロールでは, 時間経過に伴っ

てクロロフィル量が増加した後、徐々に減少した。これと比べて量的には少ないが、50 mM NaCl でも同様の増減が観察された。しかしながら、100 mM NaCl では時間経過に伴うクロロフィル量の増加はなく、処理開始後から徐々に減少し、2週を過ぎて測定対象の葉は枯れた。一方、134 g/l PEG では時間経過に伴いクロロフィル量はいくらか増加するが、その後は減少に転じた。さらに、199 g/l PEG では処理開始からクロロフィル量は急速に減少し、測定対象の葉は2週を待たずに枯れた。



異なる文字は処理間の有意差を示す (Tukey, $p < 0.01$)

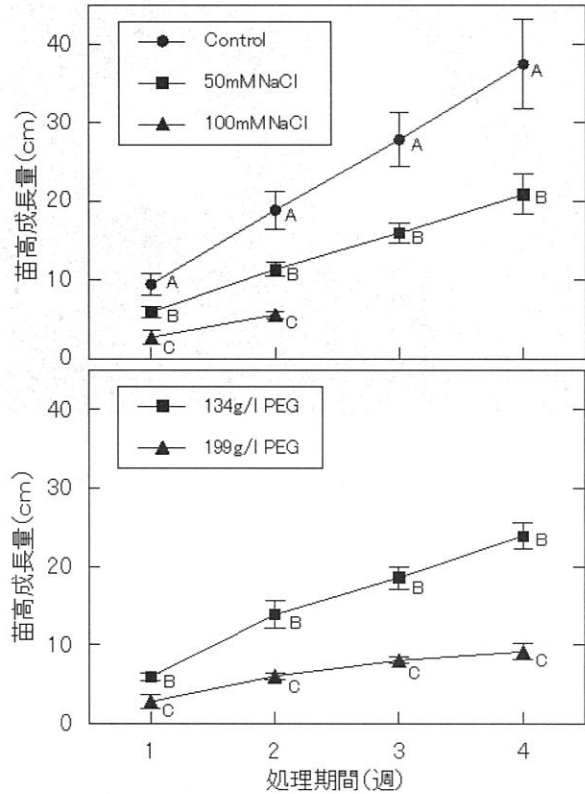
図-2. NaCl, および PEG が苗木のクロロフィル含有量に及ぼす影響

Fig. 2. Effects of NaCl and PEG on the chlorophyll content of young trees

3. NaCl および PEG 処理が苗木成長に及ぼす影響

NaCl, および PEG 処理期間の苗木の苗木成長量 (平均値±標準偏差, $n=4$) を図-3 に示した。コントロールの苗木は4週間で37.5 cm の成長量であった。これに対して、50 mM NaCl では20.9 cm で44.3%減少し、134 g/l PEG では23.9 cm で36.2%の減少であった。しかし、50 mM NaCl と等張な PEG 処理の間で、苗木成長量に有意差を認めることはできなかった。ただし、100 mM NaCl では2週を過ぎると先端枯れや枯死が生じたが、

199 g/l PEG では枯死や先端枯れはなく、成長を維持していた。



異なる文字は処理間の有意差を示す (Tukey, $p < 0.01$)

図-3. NaCl, および PEG が苗木成長量に及ぼす影響
Fig. 3. Effects of NaCl and PEG on the growth of young trees

4. 塩ストレス, および浸透圧ストレスが根に及ぼす可視被害の比較

塩ストレスと浸透圧ストレスがセイヨウハコヤナギの根に及ぼす可視被害を比較した。NaCl, および PEG 処理4週間後の根を図-4 に示す。塩ストレス, および浸透圧ストレスを受けた根は、コントロールに比べて体積が小さくなっているように見えた。しかし、100 mM NaCl を除いて、根の色などの外見はコントロールと変わりなく見えた。これに対して100 mM NaCl 処理を受けた根は、一部が壊死して黒褐色に変色していた (図中矢印)。

IV 考察

塩ストレスが植物の生育に及ぼす影響は、まず浸透圧の影響として現れ、遅れてイオンの影響が現れる (6)。NaCl 処理と PEG 処理を比較した本研究の結果でも、PEG 処理による早い葉の枯れ上がり (図-1 b) や、クロロフィルの急速な減少 (図-2) に浸透圧の影響を認める

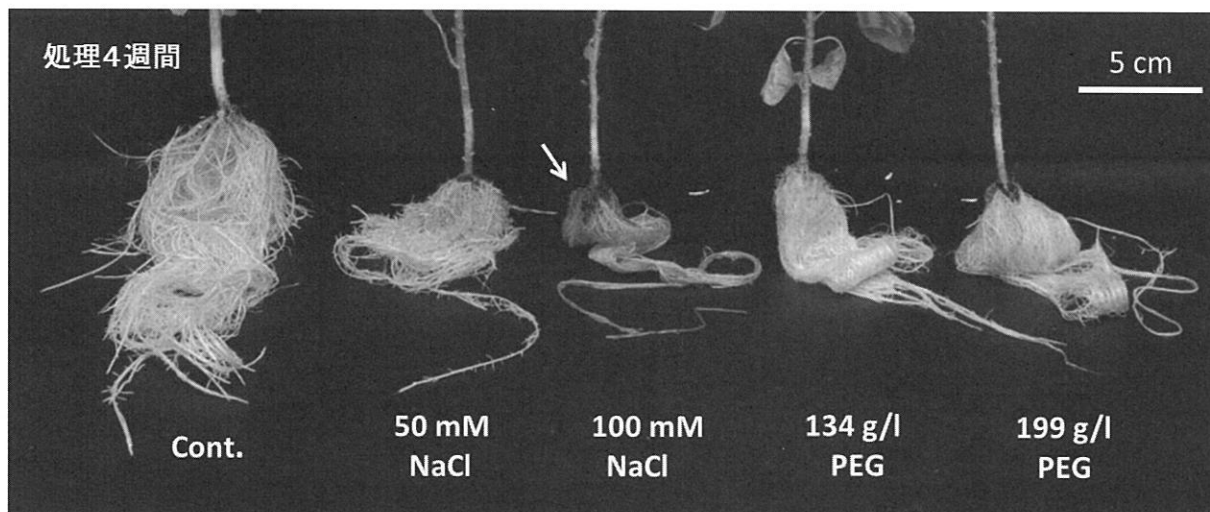


図-4. NaCl, および PEG 処理を受けた根の可視被害

Fig.4. Visible damage of roots in young trees exposed to NaCl and PEG treatment

ことができる。ただし、等張な NaCl 処理において、同様の現象が遅延する理由として、植物体内に取り込まれた Na^+ や Cl^- が膨圧の維持に利用されている可能性があげられる (6)。特に、耐塩性の植物に比べ、感受性のもものは Na^+ や Cl^- の植物体内への吸収が多いとされ (1)、セイヨウハコヤナギの予備実験でも 200 mM NaCl, 24 時間の塩処理で葉内の Na が 0.10 ± 0.01 mg/g DW から 17.27 ± 2.57 mg/g DW (いずれも平均値 \pm 標準偏差, $n=3$) に増加していた。植物体内に蓄積した Na^+ や Cl^- は体外に排出されるか、液胞に隔離されない限り、植物の様々な代謝に悪影響を及ぼす。一般には、100 mM を超える Na^+ はほとんどの酵素を著しく阻害する (5)。

NaCl 処理と PEG 処理の影響を比較した従来の研究では、わずかに PEG 処理の阻害効果が大きいとしているものがある (2, 8)。その一方で、Köşkeröğlu と Tuna (3) は、高濃度の NaCl は PEG よりも有害性が大きいとしている。本研究でも、50 mM NaCl と等張の PEG 処理で苗高成長量に有意差が見られなかった。しかし、100 mM NaCl では処理 2 週間を過ぎて苗木の梢端枯れや根の壊死を生じた一方で、等張の PEG 処理ではこうしたことは生じなかった。したがって、梢端枯れや根の壊死は主に有害なイオンが原因と考えられる。この結果から、遺伝子組換えによる耐塩性樹木を作製する上で、高い塩濃度では浸透圧耐性に加えて、イオン毒性に対する耐性を考慮する必要性が示された。

引用文献

(1) GREENWAY, H. and MUNNS, R. (1980) Mechanisms of salt tolerance in nonhalophytes,

Ann. Rev. Plant Physiol. : 31, pp.149-190

(2) KAWASAKI, T., AKIBA, T. and MORITSUGU, M. (1983) Effects of high concentrations of sodium chloride and polyethylene glycol on the growth and ion absorption in plants, Plant and Soil : 75, pp.75-85

(3) KÖŞKEROĞLU, S. and TUNA, A.L. (2010) The investigation on accumulation levels of proline and stress parameters of the maize (*Zea mays* L.) plants under salt and water stress, Acta Physiol. Plant. : 32, pp.541-549

(4) MICHEL, B.E. and KAUFMANN, M.R. (1973) The osmotic potential of polyethylene glycol 6000, Plant Physiol. : 51, pp.914-916

(5) MUNNS, R., JAMES, R.A. and LÄUCHLI, A. (2006) Approaches to increasing the salt tolerance of wheat and other cereals, J. Exp. Bot. : 57, pp.1025-1043

(6) MUNNS, R. and TESTER, M. (2008) Mechanisms of salinity tolerance, Annu. Rev. Plant Biol. : 59, pp.651-681

(7) 横田智・田原恒・西口満・古川原聡・毛利武・掛川弘一・楠城時彦 (2013) 野生型セイヨウハコヤナギにおける耐塩性の閾値について, 関東森林研究 : 64, pp.113-114

(8) ZEKRI, M. and PARSONS, L.R. (1990) Comparative effects of NaCl and polyethylene glycol on root distribution, growth, and stomatal conductance of sour orange seedlings, Plant and Soil : 129, pp.137-143