

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

横田智・田原恒・西口満・古川原聡・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深刻な影響を及ぼし、農林業や環境保全に深刻な問題を引き起こしている。我々は遺伝子組換えによってセイヨウハコヤナギ (*Populus nigra* var. *italica*) の環境耐性を向上させる研究の中で、野生型セイヨウハコヤナギの耐塩性の閾値を明らかにする必要がある。セイヨウハコヤナギのクローン苗を水耕栽培し、肥料液に NaCl を添加して 4 週間塩処理を行った。25 mM NaCl では有意な成長低下がみられなかった。また、75 mM NaCl 以上では 4 週間後まで生存する苗はなかったことから、50 mM NaCl がセイヨウハコヤナギの耐塩性の閾値と考えられる。

キーワード：耐塩性、閾値、セイヨウハコヤナギ (*Populus nigra* var. *italica*)

I はじめに

世界では 8 億ヘクタールを超える土地が塩の影響を受けている。この面積は、全陸地の 6% 以上に相当する (3)。このため、食料生産や環境保全の面から植物の耐塩性を高める試みの重要性が増している。

植物の耐塩性は種によって大きく異なる。イネやシロイヌナズナは耐塩性が低く、アルファルファは高く、オオムギはその中間とされている (3)。また、好塩植物では、最適な成長に 100–200 mM の塩化ナトリウムを必要とするものが多い (1)。

我々は遺伝子組換えによるセイヨウハコヤナギ (*Populus nigra* var. *italica*) の環境ストレス耐性を向上させる研究に取り組んでいる。その中で野生型ポプラの耐塩性の閾値を明らかにすることを目的に本研究を行った。

II 材料と方法

1. セイヨウハコヤナギ苗の育成

人工光型グロースチャンパー（面積 240 × 340 cm²，高さ 240 cm）において温度 25 °C，日長 16 時間，光量子束密度 280 μM/m²/s，相対湿度 75% ± 7% で生育しているセイヨウハコヤナギの茎を、節を含む長さ 3 cm の小断片に切断し、1% (v/v) 次亜塩素酸ナトリウムに 5 分間浸漬して滅菌した。滅菌した少断片は腋芽誘導培地に挿して温度 25 °C，日長 16 時間，光量子束密度 30 μM/m²/s で 4 週間培養した。腋芽誘導培地には MURASHIGE AND SKOOG BASAL MEDIUM WITH GAMBORG'S VITAMINS (2) (SIGMA-ALDRICH, St. Louis, MO, USA) を用いて pH 5.8 に調整し、2.0% (w/v) ショ糖、5 μM

ベンジルアデニンを添加した。培地の支持体には 0.8% (w/v) 寒天を用いた。2–3 cm に伸ばしたシュートを切り取り発根培地に移した。発根培地には MSB5 培地 (pH 5.8) に 2.0% (w/v) ショ糖、1.8 μM インドール-3-酪酸を添加し、支持体には 0.8% (w/v) 寒天を用いた。腋芽誘導と同じ温度・光条件で培養して発根させ、苗高が 7 cm 程度に成長した苗を水耕栽培に移した。水耕栽培は、前記の人工光型グロースチャンパーにおいて同条件で行った。肥料としてハイボネックスを 2000 倍希釈で与えた。

2. 塩処理および成長量・葉緑素の測定

苗高が 15 cm 程度に成長した時点で塩処理を開始し、4 週間継続した。塩処理として、肥料液に 0–100 mM の NaCl を添加した。各処理の供試個体数を 6 個体とした。塩処理開始直前と塩処理開始後 4 週間に渡って苗高を測定した。また、各処理濃度について 1 個体のクロロフィル量を測定した。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、茎の上位にあるほぼ展開の終了した葉 3 枚を測定した。同一週の苗高成長とクロロフィル量については、Tukey 法による多重比較検定を行った。

III 結果と考察

塩処理が苗高成長に及ぼす影響を調べた。図-1 に苗高成長量の平均値 ± 標準誤差 (n=6) を示した。図中の異なるアルファベットは Tukey の多重比較検定による 1% 水準での有意性を表す。塩処理 2 週間では、NaCl 濃度に

Satoru YOKOTA, Ko TAHARA, Mitsuru NISHIGUCHI, Satoshi KOGAWARA, Takeshi MOHRI, Koichi KAKEGAWA, Tokihiko NANJO (Forestry and Forest Products Research Institute, Matsunosato 1, Tsukuba, Ibaraki, 305-8687) Threshold of salinity tolerance in *Populus nigra* var. *italica*

比例して有意な成長低下が認められた。とくに 75~100 mM NaCl 区の成長低下は著しく、塩処理 1 週間からほとんど成長していなかった。塩処理 4 週間では、75~100 mM NaCl 区の苗はすべて枯死していたが、25~50 mM NaCl 区の苗は全て生存していた。0 mM NaCl 区に対する成長量の低下率は 25 mM NaCl 区が 20%、50 mM NaCl 区が 40%であった。これら低下率の数字は、塩処理 2 週間のものとはほぼ同じであり、25~50 mM NaCl 区ではセイヨウハコヤナギの苗が一定の成長を維持していると考えられた。

塩処理をした苗では葉が黄白化する現象が認められたため、塩処理が葉のクロロフィル含有量に及ぼす影響を調べた。図-2 は塩処理期間中のクロロフィル量の平均値 ± 標準誤差 (n=3) を表示したものである。図中の異なるアルファベットは Tukey の多重比較検定による 1%水準での有意性を表す。NaCl 濃度に比例してクロロフィル量が減る現象は苗高成長と同じだが、塩処理期間が延びるほど減少率が大きくなった。0 mM NaCl 区に対する 50 mM NaCl 区の減少率は塩処理 2 週間では 42%であるが、塩処理 4 週間では 64%であった。しかしながら、50 mM NaCl 区の苗を NaCl を添加しない肥料液に戻すと、

成長を回復することが分かった (データ表示なし)。

本研究の結果から、セイヨウハコヤナギは 25 mM NaCl ではほとんど影響を受けないが、75 mM NaCl 以上では致命的な影響を受けることが示された。このことから、野生型セイヨウハコヤナギの耐塩性の閾値は 50 mM NaCl 程度と推定された。この値はイネやシロイヌナズナなど多くの非耐塩性植物の閾値 (40 mM NaCl) とほぼ一致する (3)。

引用文献

- (1) FLOWERS, T.J., TROKE P.F. and YEO, A.R. (1977) The mechanism of salt tolerance in halophytes. *Annu. Rev. Plant Physiol.* 28: 89-121
- (2) GAMBORG, O.L., MILLER, R.A. and Ojima, K. (1968) Nutrient requirement of suspension cultures of soybean root cells. *Exp. Cell Res.* 50: 151-158
- (3) MUNNS, R. and TESTER, M. (2008) Mechanisms of salinity tolerance. *Annu. Rev. Plant Biol.* 59: 651-681

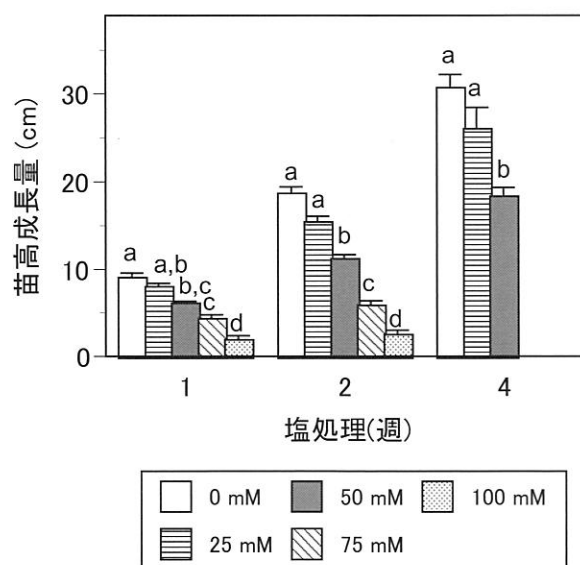


図-1. 塩処理が苗高成長に及ぼす影響

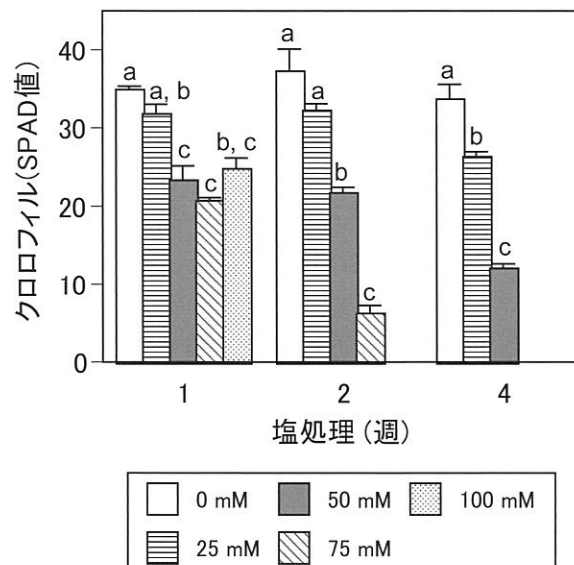


図-2. 塩処理が葉のクロロフィル量に及ぼす影響