

## 塩ストレス下における野生稲 *Oryza officinalis* Wall ex Watt の乾物生産 および光合成能力

西澤優<sup>1)</sup>・仲村一郎<sup>2)</sup>・モハメド アムザド ホサイン<sup>2)</sup>・赤嶺光<sup>2)</sup>・鄭紹輝<sup>3)</sup>

(<sup>1)</sup> 鹿児島大学大学院連合農学研究科, <sup>2)</sup> 琉球大学農学部, <sup>3)</sup> 佐賀大学農学部)

**要旨:** 野生稲 *Oryza officinalis* Wall ex Watt の耐塩性を評価するために、耐塩性の高い *O. latifolia* Desv., *O. sativa* L. cv. Pokkali および感受性野生稲の *O. rufipogon* Griff., *O. australiensis* Domin を用いて、播種後 60 日目から 32 日間の塩水処理 (12 dS m<sup>-1</sup> NaCl) を行ない、乾物生産、葉身のイオン含有率および光合成速度を比較した。塩ストレス環境下の *O. officinalis* および *O. latifolia* の葉身乾物重の低下程度は、Pokkali より低かった。また *O. officinalis* および *O. latifolia* の葉身水分含有率は Pokkali と同程度であり、葉身の Na<sup>+</sup> 含有率は、Pokkali より高かった。播種後 81 日目 (塩水処理 21 日目) の *O. officinalis* および *O. latifolia* の光合成速度は、Pokkali より低下しなかった。光合成速度と葉内 CO<sub>2</sub> 濃度の関係から、*O. officinalis*, *O. latifolia*, *O. australiensis* および Pokkali における光合成の低下要因は、気孔開閉の影響が大きいと考えられた。しかし、光合成速度と気孔伝導度の関係では、*O. officinalis* は高い相関、*O. latifolia* は中程度の相関が認められた。以上の結果、塩ストレス環境下の *O. officinalis* は、Pokkali より葉身に Na<sup>+</sup> を多く蓄積するにも関わらず、光合成速度および乾物生産の低下は少ないことから、*O. latifolia* と同等の耐塩性を有することがわかったものの、光合成速度の律速要因は別であることが示唆された。

**キーワード:** 乾物生産、光合成速度、耐塩性、Na<sup>+</sup> 含有率、Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> 比、野生稲。

イネ (*Oryza sativa* L.) は、世界の主要な作物の一つであり、アジア各国で生産されている。一方、世界の塩害地域は 9000 × 10<sup>6</sup> ha あり、毎年 200 万 ha の農地が塩の影響を受けている (Flowers 2004)。今後の世界人口の増加、塩害地域における作物の収量低下や食料供給率を考慮すると、耐塩性イネの作出は重要な課題である。

イネは、塩類に対し感受性がある作物に分類され、50 mM 以上の NaCl 環境下では、生長が阻害される (間藤 1991)。NaCl ストレス下で栽培したイネは、葉組織内の Na<sup>+</sup> の増加によって乾物生産を低下させる (趙ら 1996)。葉組織内の Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> 比は、NaCl ストレスを受けることによって増加し、組織中のイオンバランスを崩す (Siringam ら 2009)。また、葉組織内の Na<sup>+</sup> が増加すると、細胞内における代謝阻害を引き起こす (Niu ら 1995)。葉身の水分含量と Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> 比の間には負の相関関係があり、塩ストレスを受けて Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> 比が高い状態の時、葉身水分含量は低下し、水ストレスを受ける (Arunroj ら 2004)。水ストレスを受けたイネは、葉の伸長が抑制され、乾物生産が低下するなどが報告されている (Tanguilig ら 1987)。

光合成速度は乾物生産と密接に関係し、光合成速度の低下は乾物生産の低下を引き起こす要因となる。塩ストレスを受けたイネは、葉身に Na<sup>+</sup> を蓄積し、光合成速度を低下させることが報告されている (Yeo and Flowers 1983, Yeo ら 1985)。また、塩ストレスを受け葉身の水分含量が低下したイネは、気孔の閉鎖に伴い気孔伝導度が低下することによって炭素固定速度の減少を引き起こすことが報告され

ている (Sese and Tobita 2000)。

イネの塩に対する耐性には品種間差があり、耐塩性イネ品種では、地上部に Na<sup>+</sup> を転流しないよう根で吸収を抑制する機構を有することが報告されている (Tsuchiya ら 1994, Basu ら 2010)。しかし、葉身 Na<sup>+</sup> 含量と乾物生産に相関がない品種や (趙ら 1996)、葉身 Na<sup>+</sup> 含量と光合成の維持能力においても品種間差があることから (楨原ら 2001)、耐塩性イネ作出における知見を得るには、さらに多くのイネの耐塩性機構について詳しく調べる必要がある。

イネ (*Oryza*) 属には、2 種の栽培イネと約 20 種の野生稲が存在する。これまでに、*Oryza* 属野生稲の中には、耐乾性、耐塩性、病害虫耐性など農業上有用な形質をもつ種が存在することが報告されている (Kobayashi ら 1993, Xiao ら 1998, Nakamura ら 2002)。野生稲は、栽培イネにこれらの有用な形質を導入するための遺伝資源として期待されている。

仲村らは、国際農林水産業研究センター (JIRCAS) 沖縄支所にて、幼苗期における野生稲の耐塩性スクリーニング試験により選抜された *O. latifolia*, *O. officinalis*, *O. australiensis* および *O. eichingeri* 系統の中から *Oryza* 属野生稲 *O. latifolia* を用い、第 8~10 葉齢期における耐塩性試験をした (Nakamura ら 2002, 仲村ら 2005)。その結果、*O. latifolia* は、12 dS m<sup>-1</sup> NaCl の塩水処理でも光合成能力が低下しないことが明らかになった。一方、その他の野生稲において、幼苗期以外の耐塩性を詳しく評価した報告はほとんどない。

第1表 塩水処理が *Oryza* 属5種の葉身、葉鞘および地上部乾物重に及ぼす影響 (播種後92日)。

| 種                            | 葉身 (g / 個体) |                    | 葉鞘 (g / 個体) |                    | 地上部 (g / 個体) |                   |
|------------------------------|-------------|--------------------|-------------|--------------------|--------------|-------------------|
|                              | 対照区         | 塩処理区               | 対照区         | 塩処理区               | 対照区          | 塩処理区              |
| <i>O. sativa</i> cv. Pokkali | 35.5 ± 0.4  | 18.7 ± 0.3 (56) ab | 87.3 ± 1.9  | 43.9 ± 1.4 (50) b  | 120.9 ± 2.2  | 62.6 ± 1.6 (52) b |
| <i>O. officinalis</i>        | 6.2 ± 0.2   | 3.8 ± 0.1 (62) ab  | 9.4 ± 0.2   | 6.1 ± 0.1 (65) a   | 15.6 ± 0.4   | 10.0 ± 0.2 (64) a |
| <i>O. latifolia</i>          | 9.8 ± 0.3   | 7.1 ± 0.1 (72) a   | 15.5 ± 0.2  | 10.4 ± 0.2 (67) a  | 25.4 ± 0.1   | 17.5 ± 0.2 (69) a |
| <i>O. australiensis</i>      | 9.6 ± 0.5   | 4.2 ± 0.2 (43) b   | 15.2 ± 1.3  | 7.7 ± 0.3 (51) b   | 24.7 ± 1.8   | 11.9 ± 0.5 (48) b |
| <i>O. rufipogon</i>          | 9.0 ± 0.4   | 4.7 ± 0.9 (52) ab  | 29.4 ± 0.6  | 16.3 ± 1.6 (55) ab | 38.5 ± 0.5   | 21.0 ± 1.0 (54) b |

数値は平均値 ± 標準誤差。括弧内は対照区を100とした場合の相対値を表す。

n = 3, 同一英文字は各相対値について種間に Tukey 法により 5%水準で有意差がないことを示す。

*O. officinalis* は、栽培イネに有用な形質を導入するために、戻し交雑の材料や、コルヒチン処理後の栽培種と交配し、複2倍体を得るなどの研究に使用されている (Watanabe and Ono 1973, Jena and Khush 1990)。しかし、*O. officinalis* の耐塩性機構については明らかにされていない。*O. officinalis* の耐塩性機構を調査することは、耐塩性イネ作出のための一助となる。

そこで本研究では、播種から60日間水耕栽培した *O. officinalis* に塩水処理を行い、乾物生産、イオン吸収量、および光合成の面から耐塩性を評価した。

## 材料と方法

### 1. 栽培条件

材料には、琉球大学農学部保存系統である *Oryza officinalis* Wall ex Watt (IRGC Acc. No. 104672), *Oryza australiensis* Domin (IRGC Acc. No. 101144), *Oryza latifolia* Desv. (IRGC Acc. No. 100965:耐塩性野生稻), *Oryza rufipogon* Griff. (IRGC Acc. No. 105390:感受性野生稻) および *Oryza sativa* L. cv. Pokkali(耐塩性栽培イネ)の *Oryza* 属5種を用いた。種子は、籾殻を取り除き、45℃、3日間の温度処理を行い休眠打破した。その後、ベンレート水和剤2000倍希釈液に、30℃、24時間浸漬させて種子消毒を行い、水洗後30℃で24時間水に浸漬させた。栽培は、琉球大学農学部亜熱帯フィールド科学教育研究センターのビニールハウス内で行った。播種は2010年6月26日に行った。鳥尻マージ土壌を敷き詰めた育苗箱(長さ55 cm × 幅45 cm × 高さ10 cm)に、発芽処理を行った種子を1 cm間隔で播種した。発芽後、4葉期に達した(播種後21日)、生育の揃った苗を選び、吉田氏液(Yoshidaら1976)を用い水耕栽培を行った。選抜した個体は、スポンジに挟み、あらかじめ穴を開けた発砲スチロールの穴に差し込み、吉田氏液を入れたプラスチックバット(長さ73 cm × 幅42 cm × 高さ20 cm)に浮かせ栽培した。水耕液の更新は7日毎に行い、pHが5.0~5.5になるように毎日1 Nの塩酸および1 Nの水酸化ナトリウムで調整した。塩水処理は、10葉期(播種後60日)に、NaCl飽和水溶液を用い電気伝導度が12 dS m<sup>-1</sup>になるよう調整した。電気伝導度は、電気伝導度計(Twin Cord, 堀場製作所)を用いて測定した。NaCl濃度の調整は、水耕液

の更新時に行った。各処理区でプラスチックバットを3枚ずつ使用し、プラスチックバット1枚につき各種稲を2個体配置した。各実験は、1反復につき各種稲2個体を供試し3反復とした。

### 2. 生育形質の調査

播種後92日(塩水処理開始後32日目)に、供試個体を根、葉鞘、葉身に分解し、各器官の生体重を測定した。その後80℃で72時間通風乾燥し、乾物重を測定した。光合成測定部位の葉面積については、葉面積計(AAM-8型, 林電工)を用い測定した。また、葉身水分含有率は、葉身生体重から葉身乾物重を差し引いた値を葉身生体重で割った値とした。

### 3. イオン含有率測定

播種後92日目に、供試個体を蒸留水で洗浄し、器官ごとに細かく切断し、80℃で72時間以上通風乾燥した。乾燥した試料は粉砕機(ミルミキサーMR-280, 山善)を用い1 mm<sup>2</sup>以下となるまで細かく粉砕した。粉砕試料0.25 gに対し、1 Nの硝酸を50 ml加え、80℃で24時間静置した。その後抽出液を孔径0.45 μmのフィルターで濾過し、さらに濾過液を超純水で10倍に希釈したものを分析した。測定には、ICP-AES(ICP-9000, 島津)を用い、Na<sup>+</sup>およびK<sup>+</sup>を定量した。

### 4. 個葉の光合成速度の測定

測定には、播種後81日(塩水処理開始後21日目)に達した全供試材料の主稈最上位完全展開葉を用いた。供試個体は、測定時の光条件を揃えるために測定前日に、実験室内へ移動した。測定の前処理として、光源のメタルハライドランプ(東芝)で測定葉に30分程度光を照射した。測定葉の中央部分について、携帯型光合成測定装置(SPB-H4, ADC社)を用いて、光合成速度、気孔伝導度、葉内CO<sub>2</sub>濃度を測定した。測定条件は、導入空気量450 ml min<sup>-1</sup>、光強度は約1500 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>の飽和光、葉温30 ± 2℃であった。

## 5. 統計解析

塩処理区の相対値内における種間差に関しては、エクセル統計 2010 ((株) 社会情報サービス社) を用いて、一元配置分散分析および Tukey 法による多重比較検定を行った。また、対照区と塩処理区間の検定では、t 検定を行った。

### 結 果

#### 1. 乾物重および水分含有率

第 1 表に、播種後 92 日の *Oryza* 属 5 種の地上部、葉身および葉鞘における乾物重を示した。対照区を 100% とした場合の塩処理区の相対値をみると、地上部乾物重では *O. latifolia* および *O. officinalis* でそれぞれ 69% および 64% であり、他種より有意に高かった。葉身乾物重の相対値では、最も塩水処理の影響を受けなかったのは *O. latifolia* で、*O. australiensis* よりも有意に高かった。

第 2 表 塩水処理が *Oryza* 属 5 種の葉身水分含有率に及ぼす影響 (播種後 92 日)。

| 種                            | 対照区 (%)    | 塩処理区 (%)      |
|------------------------------|------------|---------------|
| <i>O. sativa</i> cv. Pokkali | 73.2 ± 0.7 | 72.5 ± 0.3 ab |
| <i>O. officinalis</i>        | 68.3 ± 3.1 | 70.2 ± 0.7 b  |
| <i>O. latifolia</i>          | 74.4 ± 0.8 | 75.4 ± 0.8 a  |
| <i>O. australiensis</i>      | 75.2 ± 0.9 | 73.0 ± 0.7 ab |
| <i>O. rufipogon</i>          | 69.0 ± 1.4 | 66.2 ± 1.1 c  |

数値は平均値 ± 標準誤差。

n = 3, 同一英文字は各平均値について各区の種間に Tukey 法により 5% 水準で有意差がないことを示す。

第 2 表に、播種後 92 日における *Oryza* 属 5 種の葉身水分含有率を示した。塩水処理後の *O. officinalis* および *O. latifolia* はそれぞれ 70.2% および 75.4% であり、Pokkali と同程度の葉身水分含有率を示した。一方、塩水処理後の *O. rufipogon* は葉身水分含有率が 66.2% であり、他種より有意に低かった。

#### 2. イオン含有率

第 3 表に、播種後 92 日の *Oryza* 属 5 種の各部位における Na<sup>+</sup> 含有率を示した。対照区を 100% とした場合の塩処理区の相対値をみると、葉身では、*O. officinalis* で 2782% であり、他種より有意に高かった。葉鞘の相対値は、*O. latifolia* で 3020% であり、他種より有意に高かった。根の相対値は、Pokkali で 423% であり、他種より有意に高かった。*O. officinalis* および *O. latifolia* の葉身は、他の種よりも Na<sup>+</sup> 含有率が高かった。

第 4 表に、播種後 92 日の *Oryza* 属 5 種の各部位における K<sup>+</sup> 含有率を示した。対照区を 100% とした場合の塩処理区の相対値をみると、葉身では、*O. rufipogon* で 90% であり、他種より有意に低かった。Pokkali, *O. officinalis*, *O. latifolia* および *O. australiensis* は、100% から 150% 程度であった。葉鞘の相対値は、*O. rufipogon* で 71% と有意に最も低く、Pokkali で 256% と有意に最も高い値を示した。根の相対値は、*O. australiensis* で 364% であり、他種より有意に高かった。*O. rufipogon* 以外の種の葉身では、対照区に比べ塩処理区で K<sup>+</sup> 含有率が高かった。

第 3 表 塩水処理が *Oryza* 属 5 種の部位別 Na<sup>+</sup> 含有率に及ぼす影響 (播種後 92 日)。

| 種                            | 葉身 (% DW)   |                      | 葉鞘 (% DW)   |                       | 根 (% DW)    |                      |
|------------------------------|-------------|----------------------|-------------|-----------------------|-------------|----------------------|
|                              | 対照区         | 塩処理区                 | 対照区         | 塩処理区                  | 対照区         | 塩処理区                 |
| <i>O. sativa</i> cv. Pokkali | 0.44 ± 0.01 | 0.70 ± 0.01 (159) c  | 2.19 ± 0.01 | 3.49 ± 0.25 (159) c   | 1.54 ± 0.04 | 6.52 ± 0.07 (423) a  |
| <i>O. officinalis</i>        | 0.13 ± 0.01 | 3.67 ± 0.63 (2787) a | 0.88 ± 0.01 | 7.13 ± 0.14 (811) b   | 1.75 ± 0.04 | 5.59 ± 0.14 (320) bc |
| <i>O. latifolia</i>          | 0.26 ± 0.12 | 4.17 ± 0.31 (1574) b | 0.36 ± 0.01 | 10.81 ± 0.61 (3020) a | 2.17 ± 0.18 | 7.70 ± 0.03 (355) b  |
| <i>O. australiensis</i>      | 1.16 ± 0.04 | 4.98 ± 0.43 (431) c  | 4.66 ± 0.12 | 12.55 ± 0.14 (269) c  | 1.89 ± 0.15 | 7.04 ± 0.52 (373) b  |
| <i>O. rufipogon</i>          | 0.70 ± 0.04 | 4.80 ± 0.18 (683) bc | 2.66 ± 0.21 | 11.33 ± 0.71 (426) c  | 1.99 ± 0.10 | 5.56 ± 0.21 (280) c  |

数値は平均値 ± 標準誤差。括弧内は対照区を 100 にした場合の相対値を表す。

n = 3, 同一英文字は各相対値について種間に Tukey 法により 5% 水準で有意差がないことを示す。

第 4 表 塩水処理が *Oryza* 属 5 種の部位別 K<sup>+</sup> 含有率に及ぼす影響 (播種後 92 日)。

| 種                            | 葉身 (% DW)   |                     | 葉鞘 (% DW)   |                     | 根 (% DW)    |                     |
|------------------------------|-------------|---------------------|-------------|---------------------|-------------|---------------------|
|                              | 対照区         | 塩処理区                | 対照区         | 塩処理区                | 対照区         | 塩処理区                |
| <i>O. sativa</i> cv. Pokkali | 2.77 ± 0.14 | 4.20 ± 0.12 (152) a | 2.63 ± 0.15 | 6.75 ± 0.08 (256) a | 0.47 ± 0.02 | 0.90 ± 0.03 (193) b |
| <i>O. officinalis</i>        | 3.06 ± 0.02 | 4.06 ± 0.06 (133) a | 3.89 ± 0.06 | 6.31 ± 0.09 (162) b | 0.84 ± 0.01 | 1.57 ± 0.17 (187) b |
| <i>O. latifolia</i>          | 3.25 ± 0.03 | 4.35 ± 0.11 (134) a | 3.78 ± 0.11 | 3.24 ± 0.38 (86) cd | 0.90 ± 0.02 | 1.40 ± 0.03 (156) b |
| <i>O. australiensis</i>      | 3.27 ± 0.11 | 3.69 ± 0.27 (113) a | 2.26 ± 0.06 | 2.42 ± 0.07 (107) c | 0.48 ± 0.03 | 1.73 ± 0.28 (364) a |
| <i>O. rufipogon</i>          | 2.61 ± 0.12 | 2.34 ± 0.06 (90) b  | 3.03 ± 0.05 | 2.16 ± 0.02 (71) d  | 0.48 ± 0.03 | 0.61 ± 0.01 (126) b |

数値は平均値 ± 標準誤差。括弧内は対照区を 100 にした場合の相対値を表す。

n = 3, 同一英文字は各相対値について種間に Tukey 法により 5% 水準で有意差がないことを示す。



第5表 塩水処理が *Oryza* 属5種の部位別  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  比に及ぼす影響 (播種後92日).

| 種                            | 葉身   |       | 葉鞘   |       | 根    |       |
|------------------------------|------|-------|------|-------|------|-------|
|                              | 対照区  | 塩処理区  | 対照区  | 塩処理区  | 対照区  | 塩処理区  |
| <i>O. sativa</i> cv. Pokkali | 0.16 | 0.17  | 0.83 | 0.52* | 3.31 | 7.25* |
| <i>O. officinalis</i>        | 0.04 | 0.90* | 0.23 | 1.13* | 2.08 | 3.55* |
| <i>O. latifolia</i>          | 0.08 | 0.96* | 0.09 | 3.33* | 2.42 | 5.50* |
| <i>O. australiensis</i>      | 0.35 | 1.35* | 2.07 | 5.19* | 3.97 | 4.07  |
| <i>O. rufipogon</i>          | 0.27 | 2.03* | 0.88 | 5.24* | 4.11 | 9.14* |

n = 3, 数値は平均値を表す.

\*: 対照区と塩処理区間に5%水準で有意差があることを示す.

第6表 塩水処理が *Oryza* 属5種の光合成速度, 葉内  $\text{CO}_2$  濃度および気孔伝導度に及ぼす影響 (播種後81日).

| 種                            | $\text{Pn}$ ( $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) |                         | $\text{Ci}$ ( $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) |                          | $\text{gs}$ ( $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) |                        |
|------------------------------|--|-------------------------|--|--------------------------|--|------------------------|
|                              | 対照区  | 塩処理区                    | 対照区  | 塩処理区                     | 対照区  | 塩処理区                   |
| <i>O. sativa</i> cv. Pokkali | $17.9 \pm 0.1$                                       | $14.9 \pm 0.3$ (84) bc  | $290.3 \pm 0.3$                                      | $236.7 \pm 4.1$ (82) a   | $365.7 \pm 5.8$                                    | $128.5 \pm 3.9$ (35) b |
| <i>O. officinalis</i>        | $13.4 \pm 0.2$                                       | $13.2 \pm 0.1$ (98) a   | $288.6 \pm 2.3$                                      | $225.2 \pm 3.7$ (78) ab  | $383.0 \pm 8.0$                                    | $122.7 \pm 5.2$ (32) b |
| <i>O. latifolia</i>          | $13.7 \pm 0.1$                                       | $12.9 \pm 0.7$ (94) ab  | $281.1 \pm 2.5$                                      | $227.4 \pm 12.5$ (81) ab | $483.7 \pm 5.4$                                    | $220.2 \pm 5.0$ (46) a |
| <i>O. australiensis</i>      | $14.6 \pm 0.1$                                       | $13.1 \pm 0.7$ (90) abc | $275.1 \pm 2.3$                                      | $197.8 \pm 6.0$ (72) b   | $361.0 \pm 7.7$                                    | $124.9 \pm 6.5$ (35) b |
| <i>O. rufipogon</i>          | $21.4 \pm 0.5$                                       | $16.2 \pm 0.1$ (76) c   | $273.5 \pm 6.2$                                      | $238.4 \pm 5.6$ (87) a   | $294.7 \pm 8.1$                                    | $88.8 \pm 0.8$ (30) b  |

Pn: 純光合成速度, Ci: 葉内  $\text{CO}_2$  濃度, gs: 気孔伝導度.数値は平均値  $\pm$  標準誤差. 括弧内は対照区を100とした場合の相対値を示す.

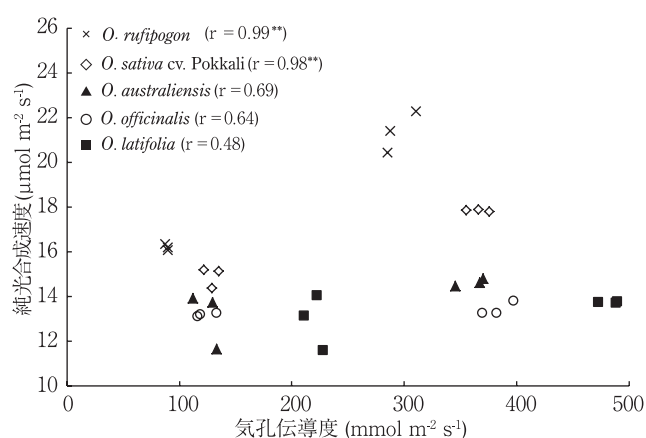
n = 3, 同一英文字は各相対値について種間に Tukey 法により5%水準で有意差がないことを示す.

第5表に, 播種後92日の *Oryza* 属5種の各部位における  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  比を示した. 塩処理によりすべての野生種のどの部位においても,  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  比は対照区に対し高い値を示した. Pokkali では, 塩処理区の根で最も高い値を示し, 葉身では対照区と塩処理区でほとんど差が認められなかった.

### 3. 個葉の光合成速度

第6表に, 播種後81日の *Oryza* 属5種の光合成速度, 葉内  $\text{CO}_2$  濃度および気孔伝導度を示した. 対照区を100%とした場合の塩処理区の相対値をみると, 光合成速度は, *O. officinalis*, *O. latifolia* および *O. australiensis* が90%以上あり, *O. rufipogon* より有意に *O. officinalis* および *O. latifolia* が高かった. 葉内  $\text{CO}_2$  濃度の相対値は, *O. rufipogon* で87%と最も高く, 次いで Pokkali の82%であった. 一方, *O. australiensis* は72%と最も低く, *O. rufipogon* および Pokkali と, *O. australiensis* の間で有意に低かった. 気孔伝導度の相対値は, 供試稲すべてが50%を下回った. その中で *O. latifolia* が46%であり, 他種より有意に高かった.

第1図に, 播種後81日における *Oryza* 属5種の光合成速度と気孔伝導度の関係を示した. *O. rufipogon*, Pokkali, *O. australiensis* および *O. officinalis* の相関係数は, それぞれ0.99 ( $p < 0.01$ ), 0.98 ( $p < 0.01$ ), 0.69 ( $p > 0.05$ ) および0.64 ( $p > 0.05$ ) であり, 光合成速度と気孔伝導度の間に高い相関を示した. 一方, *O. latifolia* の相関係数は0.48 ( $p > 0.05$ ) であり, 中程度の相関であった.



第1図 塩水処理後の *Oryza* 属5種における光合成速度と気孔伝導度の関係 (播種後81日). 括弧内の数値は相関係数, \*\* は1%水準で有意であることを示す.

## 考 察

### 1. 塩ストレスが乾物生産および葉身水分含有率に及ぼす影響

播種後92日における乾物重の相対値では, *O. officinalis* および *O. latifolia* は, 耐塩性品種である Pokkali と比較し, 塩ストレスによる地上部乾物重の低下が少なかった (第1表). これまでに, イネは土壤中に  $\text{NaCl}$  が50 mM 以上存在すると生長が低下することが明らかにされている (間藤

1991, 趙ら 1995). 本研究では  $12 \text{ dS m}^{-1}$  (約  $100 \text{ mM}$ ) の  $\text{NaCl}$  処理を行っており,  $50 \text{ mM}$  より強い塩ストレス下でも, *O. officinalis* および *O. latifolia* は栽培イネの Pokkali よりも乾物生産を低下させなかった. このことから, *O. officinalis* および *O. latifolia* は, 栽培イネよりも  $\text{NaCl}$  に対する生長阻害が少ない, すなわち乾物生産面から評価すると, 耐塩性が高いことが明らかになった. 葉身乾物重の相対値では, *O. officinalis* および *O. latifolia* は, 塩ストレスによる葉身への影響が少ないことが明らかとなった. このことは, 塩ストレス下でも *O. officinalis* および *O. latifolia* が乾物生産を高く維持できる一つの要因であることが示唆された.

播種後 92 日における *O. officinalis* および *O. latifolia* の葉身水分含有率は, 対照区に比べ塩処理区で高くなる傾向を示した (第 2 表). アブラナ科の中には, 塩ストレスをうけると葉を厚くし, それに伴い葉内水分を保持する機構をもつ種がある (Vos ら 2013). また, 細胞質内に適合溶質や液胞内にナトリウムを蓄積することによって葉内水分を保持する機構をもつ植物もある (Matoh ら 1986b, Munns and Tester 2008). 本実験では, *O. officinalis* および *O. latifolia* ともに Pokkali に比べ葉身へ  $\text{Na}^+$  を多く蓄積していたが, このことが葉身水分含有率を高く維持する要因となるかは不明である. 今後, 塩処理後における比葉面積の変化, 適合溶質の種類および含量の面から水分保持能力について調査する必要がある.

## 2. 塩ストレス後の葉身 $\text{Na}^+$ および $\text{K}^+$ 含有率に及ぼす影響

Yeo ら (1985), 趙ら (1995) はイネが  $\text{Na}^+$  を体内に吸収すると, 生長が阻害されることを報告したが, 本研究では播種後 92 日における各部位の  $\text{Na}^+$  含有率は, どの供試材料も, 対照区に比べ塩処理区において葉身, 葉鞘および根に  $\text{Na}^+$  を多く蓄積した (第 3 表). また塩ストレスを受けた野生稲は, 耐塩性品種の Pokkali に比べ, 葉身に多くの  $\text{Na}^+$  を吸収, 蓄積することが明らかとなった (第 3 表). 塩に強い作物の耐塩性機構は, 塩を体内に取り込まないようにする塩分制御と, 塩類を取り込んだことによって起こるイオンの毒性と浸透圧の上昇に耐えうる塩分耐性の二つに分類される (Levitt 1992, Larcher 2003). 塩に強い作物は, プロリンなどを合成し, 細胞の浸透圧を調整することや,  $\text{Na}^+$  を液胞内へ封じ込めることで, 塩ストレスの影響を回避することが知られている (東江 2004). 耐塩性品種の Pokkali は, 地上部に  $\text{Na}^+$  を転流させない塩分制御の耐塩性機構を有することが報告されており (Akita and Cabuslay 1990, Lee ら 2003, Anil ら 2005), 本実験結果でも Pokkali の  $\text{Na}^+$  含有率は, 葉身<葉鞘<根の順を示し, これらの結果と一致した. 一方, 仲村ら (2005) は, *O. latifolia* の 10 葉齢期における耐塩性を評価した結果, 同種は耐塩性栽培イネ品種よりも地上部への  $\text{Na}^+$  吸収量が多いにも関わら

ず, 生存率は耐塩性栽培種よりも高く, 栽培イネの耐塩性機構とは異なる機構を有していることを明らかにした. 本研究においても, *O. officinalis* は光合成をする主要な器官である葉身に多くの  $\text{Na}^+$  を吸収, 蓄積するにも関わらず, 耐塩性栽培イネ Pokkali よりも地上部の乾物生産は低下しなかった. このことから, *O. officinalis* においても *O. latifolia* と同様, 塩分耐性の耐塩性機構を有することが明らかとなった.

趙ら (1996) は, 塩水処理した水稻の各部位において, 根では  $\text{K}^+$  濃度が低下し, 葉身では増加することを明らかにした. Siringam ら (2009) は, 塩ストレスをうけたイネの  $\text{K}^+$  の吸収量は, 耐塩性品種では増加するが, 感受性品種では変化しないことを明らかにした. 本研究では Pokkali, *O. officinalis* および *O. latifolia* の葉身で, 塩水処理後に  $\text{Na}^+$  と同時に  $\text{K}^+$  含有率も高くなる結果となった (第 4 表). 気孔の開閉は,  $\text{K}^+$  濃度とも関係しており, 孔辺細胞内に  $\text{K}^+$  が多く蓄積されると気孔が開く (Humble and Raschke 1971).  $\text{K}^+$  が欠乏すると, 蒸散制御や水分吸収が抑制され, 水ストレスの影響を受けやすくなる (Tanguilig ら 1987, Nandwal ら 1998). 塩ストレス下で *O. officinalis* および *O. latifolia* における葉身水分含有率が低下しなかったことは, 葉身  $\text{K}^+$  含有率が増加したことと関係しているかもしれない.

Pokkali の葉鞘および葉身の  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  比は, 塩水処理による影響はみられなかった. 一方, *O. officinalis* および *O. latifolia* の葉身では, 対照区に対し塩処理区で  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  比が増加した (第 5 表). Sese and Tobita (2000) および Siringam ら (2009) は, 塩ストレスを受けたイネ葉身の  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  比は増加することを示し, 本実験と同様な結果となった. Matoh ら (1986a), 山内ら (1987) は, 高濃度の  $\text{NaCl}$  環境下でイネを栽培した際, 生育を阻害する要因が, 地上部の  $\text{Na}^+$  濃度と関係があることを示唆した. また,  $\text{Na}^+$  が植物体内へ過剰吸収されると, 光合成の阻害, 細胞質内の酵素活性の低下などを引き起こすことが知られている (Niu ら 1995). このことから, *O. officinalis* および *O. latifolia* では,  $\text{Na}^+$  と同時に  $\text{K}^+$  を吸収することにより,  $\text{Na}^+$  が及ぼす細胞質内への影響を軽減させていると考えられた.

## 3. 塩ストレスが個葉の光合成速度におよぼす影響

一般に, 塩ストレスに曝されたイネは, 光合成速度が低下すると報告されている (Yeo ら 1985). 本実験において, 塩ストレスを受けた Pokkali および *O. rufipogon* は, Yeo and Flowers (1983) の報告と同様に光合成速度が低下した. 一方, *O. officinalis* および *O. latifolia* における光合成速度の低下は少なかった (第 6 表). Bohra and Doerffling (1993) は, 塩水処理中のイネにカリウムを施肥すると, カリウムを施肥しないイネに比べ光合成活性が増加することを示した. *O. officinalis* および *O. latifolia* は, 塩ストレスによって  $\text{Na}^+$  と同時に  $\text{K}^+$  の吸収を高めていた. 今後, *O. officinalis* およ

び *O. latifolia* が塩ストレス下において葉身に  $K^+$  を蓄積すること、水分含有率および光合成速度を維持すること、これらの関係性について詳細に調査する必要がある。

播種後 81 日における気孔伝導度は、すべての種で対照区に対し塩処理区において 50% 以下となり、塩ストレスによって気孔開度の低下が起こることがわかった (第 6 表)。塩水処理 21 日目における Pokkali, *O. officinalis*, *O. latifolia* および *O. australiensis* の光合成速度は、それぞれ 16%, 2%, 6% および 10% 低下したのに対し、葉内  $CO_2$  濃度はそれぞれ 18%, 22%, 19% および 28% 低下した。一方, *O. rufipogon* は光合成速度が 24% 低下したのに対し、葉内  $CO_2$  濃度は 13% 低下した (第 6 表)。これらの結果から、光合成速度の低下要因は、*O. rufipogon* 以外の種では、葉肉部分の光合成活性の低下よりも、気孔の開鎖によるところが大きいと考えられた。一方, *O. rufipogon* では気孔の開鎖に加え、葉肉部分の光合成活性の低下によると考えられた。

光合成速度と気孔伝導度は密接に関係しており、植物が水ストレスや塩ストレスを受けると、気孔伝導度の低下に伴い光合成速度も低下する (Wrong ら 1979, Brugnoli and Lauteri 1991)。本研究において、*O. rufipogon*, Pokkali, *O. australiensis* および *O. officinalis* では、光合成速度と気孔伝導度の間に相関係数が 0.6 以上の高い相関が認められた (第 1 図)。Brugnoli and Lauteri (1991) は、塩感受性のインゲンマメは、塩ストレスによって気孔伝導度と光合成速度は低下するが、葉内  $CO_2$  濃度は一定となる実験結果を報告している。本研究において *O. officinalis* は、塩水処理後の葉内  $CO_2$  濃度は供試イネの中で最も低かったことから、*O. officinalis* では塩ストレス環境下において炭酸固定能力が高いと考えられる。一方で、*O. latifolia* は、気孔伝導度と光合成速度の相関係数は 0.48 と供試イネの中で最も低かった (第 1 図)。*O. latifolia* は、塩水処理後の気孔伝導度、葉身水分含有率が供試イネの中で最も高かった。気孔開度は孔辺細胞の膨圧によって変動する。塩ストレスを受けた *O. latifolia* は、葉身水分含有率を高く維持することにより気孔開度を高くすることができたと考えられるが、この機作については今後の検討課題である。

以上のことから、*O. officinalis* は、塩ストレスを受けても、耐塩性品種の Pokkali より、葉身に  $Na^+$  を多く吸収、蓄積するにも関わらず、乾物生産、葉身水分含有率、光合成速度の低下は少なかった。これは、仲村ら (2005) の報告および本研究の塩ストレスを受けた *O. latifolia* と同様の結果であり、*O. officinalis* は *O. latifolia* と同程度の耐塩性を有することが明らかになった。しかし、*O. officinalis* と *O. latifolia* では塩ストレス環境下における光合成の応答には種間差が認められた。今後は、塩ストレスを受けた耐塩性野生稲における葉肉部分の光合成活性について詳細に調べる必要がある。

## 引用文献

- 東江栄 2004. アイスプラントを用いた土壌脱塩技術の可能性. 熱帯農業 48: 294-298.
- Akita, S. and Cabuslay, G.S. 1990. Physiological basis of differential response to salinity in rice cultivars. Plant Soil 123: 277-294.
- Anil, V.S., Krishnamurthy, P., Kuruvilla, S., Sucharitha, K., Thomas, G. and Marhew, M.K. 2005. Regulation of the uptake and distribution of  $Na^+$  in shoots of rice (*Oryza sativa*) variety Pokkali: role of  $Ca^{2+}$  in salt tolerance response. Physiol. Plant. 124: 451-464.
- Arunroj, D.S., Supapoj, N., Toojinda, T. and Vanavichit, A. 2004. Relative leaf water content as an efficient method for evaluating rice cultivars for tolerance to salt stress. ScienceAsia 30: 411-415.
- Basu, S., Roychoudhury, A., Saha, P.P. and Sengupta, D.N. 2010. Comparative analysis of some biochemical responses of three indica rice varieties during polyethylene glycol-mediated water stress exhibits distinct varietal differences. Acta Physiol. Plant 32: 551-563.
- Bohra, J.S. and Doerffling, K. 1993. Potassium nutrition of rice (*Oryza sativa* L.) varieties under NaCl salinity. Plant Soil 152: 299-303.
- Brugnoli, E. and Lauteri, M. 1991. Effects of salinity on stomatal conductance, photosynthetic capacity, and carbon isotope discrimination of salt-tolerant (*Gossypium hirsutum* L.) and salt-sensitive (*Phaseolus vulgaris* L.)  $C_3$  non-halophytes. Plant Physiol. 95: 628-635.
- 趙東夏・佐々木治人・石井龍一 1995. 韓国産水稻品種の耐塩性に関する研究 I. 乾物生産と個葉光合成における耐塩性の機構. 日作紀 64: 475-482.
- 趙東夏・伊藤亮一・石井龍一 1996. 韓国産水稻品種の耐塩性に関する研究 第 2 報 NaCl 処理がイネの葉身、葉鞘、根の Na および K イオン濃度に及ぼす影響. 日作紀 65: 1-7.
- Flowers, T.J. 2004. Improving crop salt tolerance. J. Exp. Bot. 55: 307-319.
- Humble, G.D. and Raschke K. 1971. Stomatal opening quantitatively related to Potassium transport. Plant Physiol. 48: 447-453.
- Jena, K.K. and Khush, G.S. 1990. Introgression of genes from *Oryza officinalis* Well ex Watt to cultivated rice, *O. sativa* L. Theor. Appl. Genet. 80: 737-745.
- Kobayashi, N., Ikeda, R., Domingo I.T. and Vaughan D.A. 1993. Resistance to infection of rice Tungro viruses and vector resistance in wild species of rice (*Oryza* spp.). Japan. J. Breed. 43: 377-387.
- Larcher, W. 2003. Physiological plant ecology. Fourth edition. Springer-Verlag Berlin Heidelberg New York. 416-428.
- Lee, K.S., Choi, W.Y., Ko, J.C., Kim, T.S. and Gregorio, G.B. 2003. Salinity tolerance of japonica and indica rice (*Oryza sativa* L.) at the seedling stage. Planta 216: 1043-1046.
- Levitt, J. 1992. Responses of plants to environmental stress. Academic press, New York.
- 横原大悟・平井儀彦・津田誠・岡本憲治 2001. ナトリウムイオン集積に対するイネ切断葉の光合成反応からみた耐塩性の評価. 日作紀 70: 78-83.
- Matoh, T., Kairusmee, P. and Takahashi, E. 1986a. Salt-induced damage to rice plants and alleviation effect of silicate. Soil Sci. Plant Nutr. 32: 295-304.
- Matoh, T., Watanabe, J. and Takahashi, E. 1986b. Effects of sodium and



- potassium salts on the growth of a halophyte. *Soil Sci. Plant Nutr.* 32: 451-459.
- 間藤徹 1991. 高等植物の耐塩性機構. *植物細胞工学* 3: 268-272.
- Munns, R. and Tester, M. 2008. Mechanisms of salinity tolerance. *Ann. Rev. Plant Biol.* 59: 651-681.
- Nakamura, I., Murayama, S., Tobita, S., Bong, B.B., Yanagihara, S., Ishimine, Y. and Kawamitsu, Y. 2002. Effect of NaCl on the photosynthesis, water relations and free proline accumulation in the wild *Oryza* species. *Plant Prod. Sci.* 5: 305-310.
- 仲村一郎・東江栄・村山盛一・飛田哲・柳原誠司・川満芳信・本村恵二 2005. 生長・乾物生産からみた野生稲 *Oryza latifolia* Desv. の耐塩性. *熱帯農業* 49: 70-76.
- Nandwal, A.S., Hooda, A. and Datta, D. 1998. Effect of substrate moisture and potassium on water relations and C, N and K distribution in *Vigna radiata*. *Biol. Plant.* 41: 149-153.
- Niu, X., Bressan, R.A., Hsegawa, P.M. and Pardo, J.M. 1995. Ion homeostasis in NaCl stress Environments. *Plant Physiol.* 109: 735-742.
- Sese, M.L.D. and Tobita, S. 2000. Effects of salinity on sodium content and photosynthetic responses of rice seedlings differing in salt tolerance. *J. Plant Physiol.* 157: 54-58.
- Siringam, K., Juntawong, N., Um, S.C. and Kirdmanee, C. 2009. Relationships between sodium ion accumulation and physiological characteristics in rice (*Oryza sativa* L. spp. Indica) seedling grown under iso-osmotic salinity stress. *Pak. J. Bot.* 41: 1837-1850.
- Tanguilig, V.C., Yambao, E.B., O'toole, J.C. and Datta, S.K.D. 1987. Water stress effects on leaf elongation, leaf water potential, transpiration, and nutrient uptake of rice, maize, and soybean. *Plant Soil* 103: 155-168.
- Tsuchiya, M., Miyake, M. and Naito, H. 1994. Physiological response to salinity in rice plant: III. A possible mechanism for Na<sup>+</sup> exclusion in rice root under NaCl-stress condition. *Jpn. J. Crop Sci.* 63: 326-332.
- Vos, A.C., Broekman, R., Guerra, C.C.D.A., Rijsselberghe, M.C. and Rozema, J. 2013. Developing and testing new halophyte crops: A case study of salt tolerance of two species of the brassicaceae, *Diplotaxis tenuifolia* and *Cochlearia officinalis*. *Environ. Exp. Bot.* 92: 154-164.
- Watanabe, Y. and Ono, S., 1973. Cytogenetic studies on the artificial polyploids in the genus *Oryza*. V. Sterile amphiploids, sativa-officinalis (AACC). *Japan. J. Breed.* 23: 67-70.
- Wrong, S.C., Cowan, I.R. and Farquhar, G.D. 1979. Stomatal conductance correlates with photosynthetic capacity. *Nature* 282: 424-426.
- Xiao, J.H., Li, J.M., Grandillo, S., Ahn, S.N., Yuan, L.P., Tanksley, S.D. and McCouch, S.R. 1998. Identification of trait-improving quantitative trait loci alleles from a wild rice relative, *Oryza rufipogon*. *Genetics* 150: 899-909.
- 山内益夫・前田吉広・長井武雄 1987. 耐塩性の品種間差とナトリウムの吸収・移行特性との関係 (1) イネ. *土肥誌* 58: 591-594.
- Yeo, A.R. and Flowers, T.J. 1983. Varietal differences in the toxicity of sodium ions in rice leaves. *Physiol. Plant.* 59: 189-195.
- Yeo, A.R., Caporn, S.J.M. and Flowers, T.J. 1985. The effect of salinity upon photosynthesis in rice (*Oryza sativa* L.): Gas exchange by individual leaves in relation to their salt content. *J. Exp. Bot.* 36: 1240-1248.
- Yoshida, S., Forno, D.A., Cook, J.H. and Gomez, K.A. 1976. Laboratory Manual for Physiological Studies of Rice. International Rice Research Institute, Manila. 61-65.

**Dry Matter Production and Photosynthetic Ability of *Oryza officinalis* Wall ex Watt under Salinity Stress Condition** : Yu NISHIZAWA<sup>1)</sup>, Ichiro NAKAMURA<sup>2)</sup>, Md. Amzad HOSSAIN<sup>2)</sup>, Hikaru AKAMINE<sup>2)</sup> and Shao-Hui ZHENG<sup>3)</sup> (<sup>1)</sup>The United Grad. School of Agr. Sci., Kagoshima Univ.; <sup>2)</sup>Fac. of Agr., Univ. of the Ryukyus, Okinawa 903-0213, Japan; <sup>3)</sup>Fac. of Agr., Saga Univ.)

**Abstract** : This experiment was conducted to evaluate the salt tolerance level of the wild *Oryza* species, *Oryza officinalis* Wall ex Watt. Dry matter weight, ion content and photosynthetic rate of *O. officinalis* were compared with those of two salt-sensitive wild species, *O. rufipogon* Griff. and *O. australiensis* Domin, the salt-tolerant cultivar *O. sativa* L. cv. Pokkali and the salt-tolerant wild species *O. latifolia* Desv. under a 12 dS m<sup>-1</sup> NaCl-stressed condition. *O. officinalis* and *O. latifolia* subjected to salt stress had heavier leaf dry matter than Pokkali, and similar leaf water content (%) to that of Pokkali. *O. officinalis* and *O. latifolia* had more accumulated Na<sup>+</sup> in the leaves than Pokkali. The photosynthetic rate of *O. officinalis* and *O. latifolia* was not decreased by a salt-stressed condition as compared with that of Pokkali. The main factor of the decreased photosynthetic rate was stomatal closure in all species. Furthermore, photosynthetic rate of *O. rufipogon* was related to non-stomatal limitations. Photosynthetic rate showed a positive correlation with stomatal conductance in *O. officinalis*, but a clear correlation was not found in *O. latifolia*. These results indicated that the salt tolerance mechanism of *O. officinalis* was similar to that of *O. latifolia*. However, the coefficient of correlation between photosynthetic rate and stomatal conductance showed a difference between *O. officinalis* and *O. latifolia* in the response of photosynthetic rate to salinity stress.

**Key words** : Dry matter production, Na<sup>+</sup> / K<sup>+</sup> ratio, Photosynthetic rate, Salt tolerance, Sodium content, Wild *Oryza* species.