



Title	水稻の塩害に関する生理学的研究：第6報 塩水処理による水稻根の活力低下およびその診断法
Author(s)	田川, 隆; TAGAWA, Takashi; 石坂, 信之 他
Citation	北海道大学農学部邦文紀要, 5(2), 83-88
Issue Date	1964-12-14
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/11736
Type	departmental bulletin paper
File Information	5(2)_p83-88.pdf



水稻の塩害に関する生理学的研究

第 6 報 塩水処理による水稻根の活力低下
およびその診断法

田川 隆・石坂信之
(北海道大学農学部)

Physiological Studies on the Tolerance of Rice Plants to Salinity

Part 6. Decrease of the viability of root in rice plant by the saline treatment

By

Takashi TAGAWA and Nobuyuki ISHIZAKA
(Faculty of Agriculture, Hokkaido University)

作物の塩害研究を進めるうえに塩害の被害度、耕種条件による被害の差異、耐塩性の品種間差異、さらに塩害対策の効果等を正確に把握することは欠くべからざる条件であり、したがって作物の活力について適確、かつ簡便な診断法が要求される。

潮風害の場合をのぞいて多くの場合の塩害は灌漑水に塩水が混入し、まず根圏に侵入するのが普通であり、根への影響はきわめて大きく、かつ直接的であると考えられる¹³⁾。一方根の活性に関しては Triphenyl tetrazolium chloride (以下 TTC と記す) の還元^{2,4,16)}、 α -Naphthylamine (以下 α -Na と記す) の酸化^{3,12,15,16,17)}、 Fe^{++} の酸化¹⁴⁾、Esculin の酸化¹¹⁾ 等多くの報告がなされている。これらを参考として本研究では TTC の還元、 α -Na の酸化について検討し、さらにこれらの酸化、あるいは還元力を測定することは、終局的には呼吸量の測定に帰結する、という観点から、酸素の吸収についても併せて測定し、いずれの測定においても塩害の進行とともにそれらの能力が低下し、呼吸能が著しく阻害されることが明らかになった。とくに TTC の還元力を測定する方法は鋭敏な反応であり、かつ簡便であるので塩害のさいの水稻の活力診断法として有用であるという結論を得たのでここに報告する。

実験材料および方法

供試材料

水稻、栄光を 24 時間浸漬し、第 1 表に示す水耕液で約 3 週間、本葉第 3 葉期にいたるまで培養し実験に供した。処理塩水濃度は 0.1, 0.2, 0.3 Mol, なお生重 1 g 当りの

第 1 表 培養液の組成および使用塩類

重 素	使 用 塩 類	要 素 量
N	NH_4NO_3	40 p.p.m
P_2O_5	KH_2PO_4	30
K_2O	{ KH_2PO_4 K_2SO_4 }	40
CaO	$CaCl_2 \cdot 2H_2O$	30
MgO	$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	30
Fe	Fe-citrate	痕 跡

註: H_2SO_4 で pH 4.6 に調整

活性、および蛋白質 1 mg 当りの活性を測定するさいは、根を約 2 cm の長さに細断し、その 1 g を実験に供した。

1. O_2 吸収

250 ml のフラスコに 230 ml の水とともに根を入れ、25°C、3 時間、暗所で反応させ WINKLER の方法⁷⁾により溶存酸素の減少量を測定した。

2. TTC の還元

相見ら⁴⁾の方法にしたがい、1% TTC、0.4% コハク酸ソーダ、0.1 Mol 磷酸緩衝液 (pH 7.0) を各々 1:5:4 の比に混じ、この混合液中に根を投げ、25°C、3 時間、暗所で反応させトリクロル醋酸で反応停止後、比色により TTC の還元量を測定した^{1,5)}。

3. α -Na の酸化

20 ppm の α -Na の中に根を入れ、25°C で反応させ、暗所、3 時間放置後、坂井らの方法¹²⁾により α -Na の定量を行ない、根による酸化量を求めた。

4. 蛋白質の定量

資料を80%アルコールで3回抽出,残さを勝又らの方法⁸⁾により定量した。

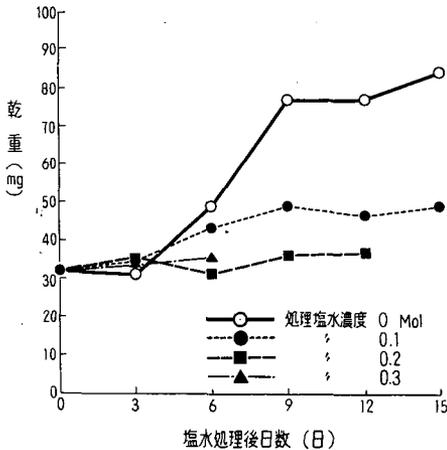
実験結果

I. 塩水処理による乾重増加の抑制

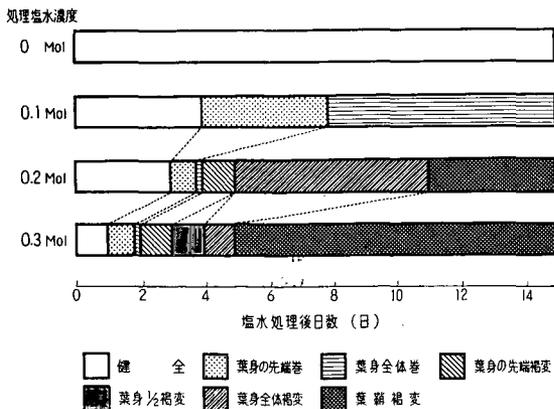
塩水処理により乾重の増加は著しく抑制される。すなわち0.1 Molの塩水処理により,15日間の乾重増加が対照区の1/3にとどまり,0.2,0.3 Molの塩水処理区ではほとんど乾重の増加をみない(第1図)。

II. 塩水処理による地上部の枯損状況

第2図に示すごとく塩水処理によりまず葉身が先端から巻きはじめ,ついで褐変する。褐変は次第に葉鞘にいたり,ついには枯死にいたる。0.3 Mol 塩水処理区では処理後1日,0.2 Mol 区では3日目,0.1 Mol 区では4日目に巻葉がみられ,0.3 Mol 区,0.2 Mol 区ではそれぞれ



第1図 生重および乾重におよぼす塩水処理の影響



第2図 塩水処理による地上部の損傷の進行状態

5日目,11日目に枯死する。ただしこれらの害徴の進行状態はその時の気象状態によって左右される。

III. 塩水処理による含水量の低下

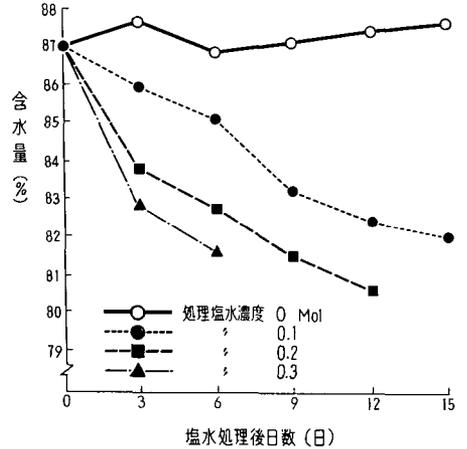
塩害が進み褐色の枯死部分が増加するにしたがい,含水量が急激に減少する。完全に褐変したときは5~6%含水量が減少した(第3図)。

IV. 塩水処理による塩素含量の増加

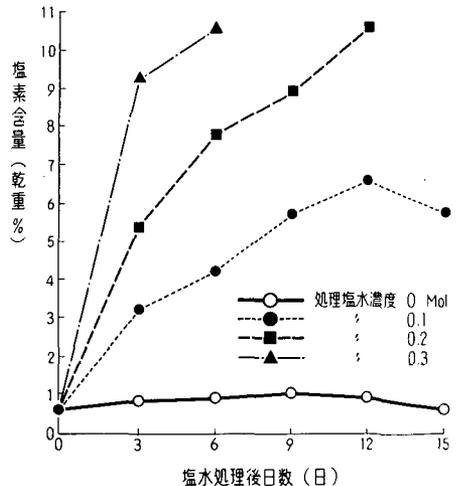
第4図のごとく塩水処理により塩素はきわめてすみやかに水稻体内にとり入れられる。0.3 Mol 塩水処理区では6日目に,0.2 Mol 塩水処理区では12日目にそれぞれ塩素含量は乾重の10%以上に達し,枯死にいたる。0.1 Mol 塩水処理区においてすら6%をこえるにいたる。

V. 水稻根の活力の検定

水稻を20個体採集し,地上部を切りはなし,それぞれ



第3図 含水量におよぼす塩水処理の影響



第4図 塩水処理による水稻内の塩素含量の増加

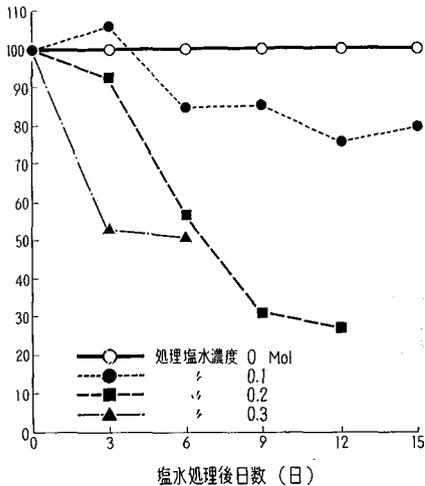
反応液中に浸し個体当りの活性を測定した。

1. O₂ 吸収

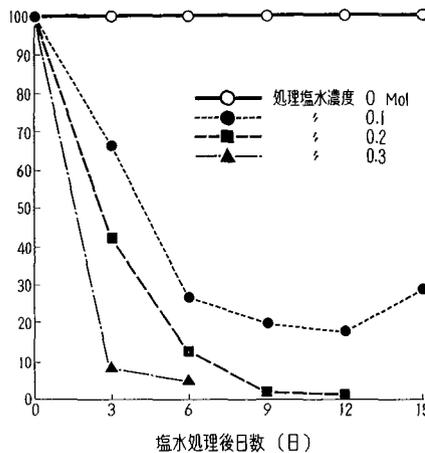
塩水処理により O₂ 吸収は明らかに減少し、0.3 Mol 塩水処理区では処理後3日目すでに対照区の50%、0.1 Mol 塩水処理区では9日目には30%以下に減少する。0.1 Mol 塩水処理区でも約80%に減ずる (第5図)。

2. TTC の還元

TTC が種々の脱水素酵素系によって還元されて水に難溶の TPF を作ることににより脱水素酵素系の活性を知ることができる。根端等、生長点にとくに強い活性がみられる。このことは通常 O₂ 吸収が根端に強いことを考えると、この両者の活性の分布にはきわめてよい一致が考えられる。



第5図 水稻根の酸素吸収におよぼす塩水処理の影響

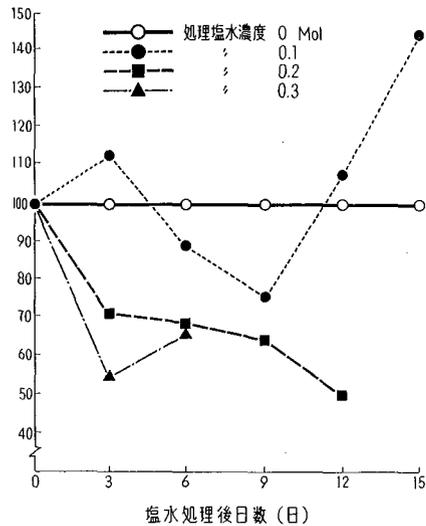


第6図 水稻根のTTC還元力におよぼす塩水処理の影響

塩水で処理をすると第6図に示すごとく、TTC還元力はきわめて急速に低下する。0.1 Mol 塩水処理区においてすら処理後6日目にすでに1/3に低下する。褐変した水稲根においてはほとんど活性を失うに至る。このTTCの還元はきわめて鋭敏な反応であり、塩害の一指標になり得ると考えられる。

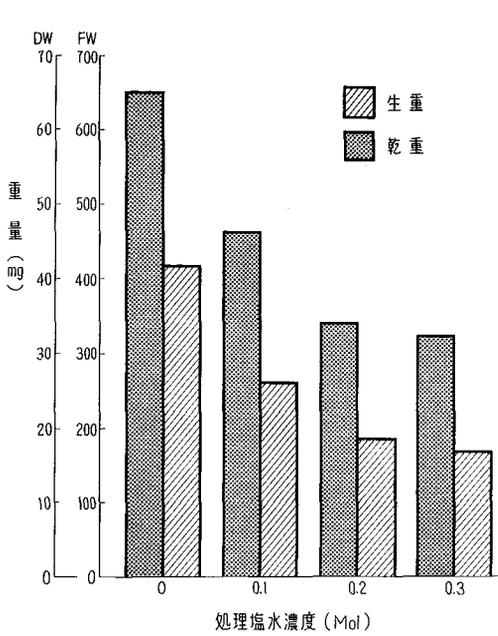
3. α-Na の酸化

0.2および0.3 Mol 塩水処理区では、ともに水稲根によるα-Na酸化量の減少をみるが、O₂吸収、あるいはTTC還元のさいにみられた抑制よりは弱く、0.1 Mol 塩水処理区においてはα-Na酸化はきわめて不安定となり (第7図)、この濃度では活力の指標としてα-Naの酸化量をとることはできない。しかし山田ら¹⁷⁾のごとく振とうするなど方法を改良することにより実用性を持つにいたるのではないと思われる。

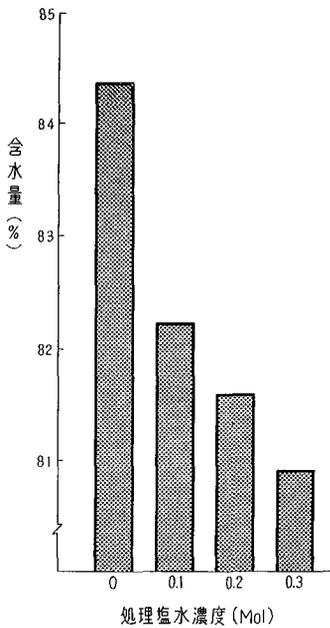


第7図 水稻根のα-Naの酸化におよぼす塩水処理の影響

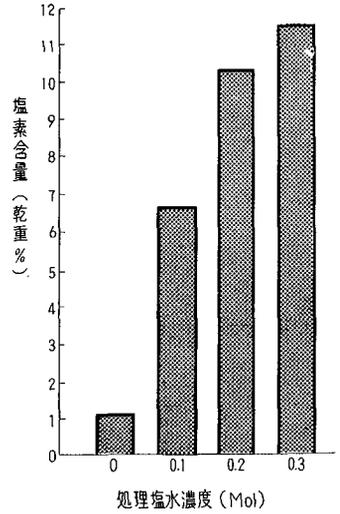
以上の実験はすべて個体単位に取扱ったのであるが、同様の資料を10日間塩水処理し、ついで根を地上部から切りはなし、根を2cmの長さの細断し、その1gについてO₂吸収、TTC還元、α-Na酸化を測定した。それを根の生重1g当り、および蛋白質1mg当りの活性として表示し、それぞれの測定値の持つ傾向を確認した。まず重量増加に対する塩水処理の影響であるが、第8図に示すごとく、生重、乾重ともに減少し、0.3 Mol 塩水処理ではそれぞれ対照区の1/2になる。含水量もまた同様に減少する (第9図)。同時に水稲体内の塩素含量は処理塩水濃度の増加にともなって増加し、0.3 Mol 塩水処理で



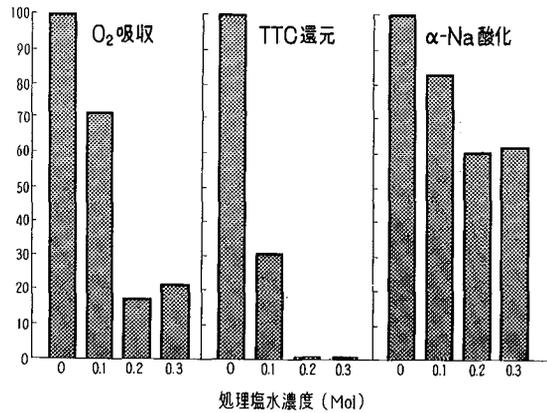
第8図 乾重および生重および塩水処理の影響



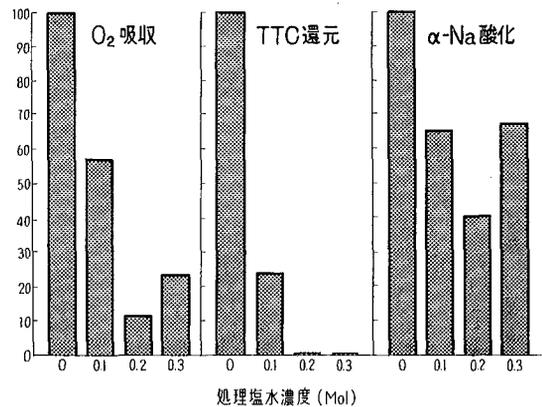
第9図 含水量におよぼす塩水処理におよぼす影響



第10図 塩水処理による水稲内の塩素含量の増加



第11図 水稲根のO₂吸収, TTC還元, α-Na酸化におよぼす塩水処理の影響 (生重1g当りの作用力)



第12図 水稲根のO₂吸収, TTC還元, α-Na酸化におよぼす塩水処理の影響 (蛋白質1mg当りの作用力)

11%をこすにいたる（第10図）。第11図，第12図にそれぞれ生重1g当りおよび蛋白質1mg当りの活性として O_2 吸収，TTC還元， α -Na酸化を比較して示すが，いずれの場合も，塩水処理によりそれらの活性が著しく低下していることが示され，個体単位で示された塩水処理による活性の低下が，単にみかけ上のものではなく，量的にも低下しているものであることが明らかにされた。

論 議

前報⁹⁾において塩水処理した水稻根は酸化鉄の附着が少なく白色であり，その酸化能力の減少が示唆された。また発根は水稻の耐塩性ときわめて強い相関々係を持つことが明らかにされた。これらのことより，根の活力を測定することは，塩害の進行度の指標として有効であろうとの観点より， O_2 吸収，TTC還元， α -Na酸化をとりあげたのである。従来これら3者は互に強い正の相関があることが報告されている^{15,16,17)}。

無機塩類と呼吸との関係についての報告は，比較的少なく，MILLERら⁹⁾によれば，種々の低濃度の無機塩はいずれも cytochrome oxidase の活性を高める。また HACKETT⁶⁾によれば DPNH oxidase で同様のことを報告している。呼吸による酸素吸収そのものについては，NIEMAN¹⁰⁾は12種の作物について4気圧までの食塩水で処理をし，わずかながら O_2 吸収が増加することを報じている。しかしながら本実験のごとく，植物が枯死するにいたるほどの苛烈な条件下では O_2 吸収もまた減少するであろうことは，呼吸がすべてのエネルギー供給源であることを考慮すれば，きわめて当然のことといわねばなるまい。

TTCは種々の脱水素酵素系によって還元される。とくに本実験で反応液中に添加された succinate を基質とする succinate dehydrogenase は広く生物界に見いだされ TCA cycle を回転させる酵素の一つとして生体内終末呼吸系で必須の役割を演じていると考えられている。従って根による TTC 還元力が減少するということは，さきの O_2 吸収量の減少とともに，呼吸作用への塩水の影響を示すものである。

相見ら³⁾によって水稻根による α -Naの酸化が組織化学的に研究され，坂井ら¹²⁾によって α -Naの定量法が確立され，水稻のムレ苗の活力を測定している，さらに山田ら¹⁷⁾によって活力診断の実用的方法として採用されるにいたっている。水稻根による α -Naの酸化の機作については，呼吸代謝過程に生成される H_2O_2 の存在のもとに peroxidase が働いて酸化されることが明らかに

されている^{3,12,17)}。結局 α -Naの酸化量を測定することは，呼吸代謝の結果生ずる H_2O_2 の生産量を通じて呼吸量を測定することを意味し，山田ら^{15,17)}によって呼吸作用と α -Na酸化作用とはきわめて強い正の相関があることがみられている。本実験においては，0.1 Molの塩水処理区では明瞭な抑制はみられなかったが，0.2 Mol, 0.3 Mol 塩水処理区では明らかな抑制がみられるので，実験技術の改良により TTC 同様の効果が期待できる。

以上のべたごとく O_2 吸収，TTC還元および α -Na酸化量はいずれも塩水処理により減少し，呼吸作用は塩水処理によって抑制されると考えられる。またこれらの測定値は水稻の塩害による枯損の進行と一致するので実用的には呼吸作用を測定することにより，なかならず TTC の還元を測定することにより，塩害の程度診断上実用的に，簡便，有効な指標をうるができる。

参 考 文 献

- 1) 赤堀二郎編：酵素研究法。朝倉書店，2，490-507，1956。
- 2) AIMI, R. and K. FUJIMAKI: Cell-physiological studies of the function of root. (1) Chemical and enzymatic constitution associated with the structural differentiation of root in rice plant. Proc. Crop Sci. Soc. Japan 27, 21-24, 1958.
- 3) 相見靈三・藤巻和子：根の機能に関する細胞生理学的研究。(2) 水稻根に於ける α -Na酸化力の組織内分布とTTC還元力との関係について。日作紀，28，205-207，1959。
- 4) 相見靈三・藤巻和子：TTCによる根の活力診断法。農及園，35，1345-1346，1960。
- 5) 江上不二夫他編：標準生化学実験法。文光堂，304-309，1953。
- 6) HACKETT, D. P.: Effects of salts on DPNH oxidase activity and structure of sweet potato mitochondria. Plant Physiol. 36, 445-452, 1961.
- 7) 北海道大学理学部植物生理学教室編：植物生理学実習。養賢堂，155-160，1957。
- 8) 勝又一郎・降矢 震：アンモニア，マイクロケルダール法とインドフェノール法との組合わせ。化学の領域増刊34，生化学領域における光電比色法，各論2，南江堂，51-53，1958。
- 9) MILLER, G. W. and H. J. EVANS: The influence of salts on the activity of particulate cytochrome oxidase from roots of higher plant. Plant Physiol. 31, 357-367, 1956.
- 10) NIEMAN, R. H.: Some effects of sodium chloride on growth, photosynthesis and respiration of twelve crop plants. Bot. Gaz. 123, 279-285, 1962.

- 11) 岡島英夫：水稻根郡の生理機能に関する研究。東北大農学研究所彙報 12, 1-146, 1960.
- 12) 坂井 弘・吉田富男：ムレ苗発生条件に関する研究。第一報，根の α -Naphthylamine 酸化力について。北海道農試彙報, 72, 82-91, 1957.
- 13) 田川 隆・石坂信之：水稻の塩害に関する生理学的研究。第4報，水稻の発根におよぼす塩水処理の影響。日作紀, 32, 124-127, 1963.
- 14) YAMADA, N. and Y. ŌTA: Study on the respiration of Crop plants. (7) Enzymatic oxidation of ferrous iron by root of rice plant. Proc. Crop Sci. Soc. Japan 26, 205-211, 1958.
- 15) YAMADA, N. and Y. ŌTA: Study on the respiration of crop plants. (8) Effect of hydrogen-sulfide and lower fatty acids on the respiration of root in rice plant. Proc. Crop Sci. Soc. Japan 27, 155-160, 1958.
- 16) YAMADA, N. and Y. ŌTA: Effect of water percolation on physiological activity of rice root. Proc. Crop Sci. Soc. Japan 29, 404-408,
- 17) 山田 登・太田保夫・中村 拓： α -ナフチルアミンによる水稻根の活力診断。農及園, 36, 1983-1985, 1961.

Summary

The subject to which we are faced at present is to find out some adequate method to determine the "viability" of rice plant by the saline treatment. We examined O_2 uptake, reduction of triphenyl tetrazolium chloride (TTC) and oxidation of α -naphthylamine (α -Na) by the root of rice plants. Rice plants, variety Eiko, were used as material, and were treated with 0.1, 0.2 and 0.3 Mol NaCl at about 3 week old.

With the increase of salt injury, O_2 uptake, reduction of TTC and oxidation of α -N by the roots of rice plants decreased rapidly. Although the oxidation of α -Na was not suppressed sufficiently by 0.1 Mol NaCl treatment, it is evident from the experimental results, that the respiratory activity of roots of rice plants decreased by the saline treatment. Accordingly, the "viability" of root may be determined satisfactorily by testing the activity of dehydrogenase with TTC reaction.