

琉球大学学術リポジトリ

葉身の浸透圧調節能力からみた野生稻*Oryza latifolia* Desv.の耐塩性

メタデータ	言語: 出版者: 琉球大学農学部 公開日: 2008-02-13 キーワード (Ja): 浸透圧調節, 耐塩性, 野生稻 キーワード (En): osmotic adjustment, salt tolerance, wild <i>Oryza</i> species 作成者: 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, Nakamura, Ichiro, Agarie, Sakae, Murayama, Seiichi, Tobita, Satoshi, Yanagihara, Seiji, Kawamitu, Yoshinobu, Motomura, Keiji メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/20.500.12000/3560

葉身の浸透圧調節能力からみた野生稲 *Oryza latifolia* Desv. の耐塩性

仲村一郎^{1*}, 東江 栄², 村山盛一¹, 飛田 哲³, 柳原誠司⁴, 川満芳信¹, 本村恵二¹

¹琉球大学農学部生物生産学科, ²佐賀大学農学部生物生産学科, ³国際農林水産業研究センター, ⁴国際稲研究所

Salt Tolerance of Wild *Oryza* Species, *Oryza latifolia* Desv., on the Basis of Osmotic Adjustment Ability of Leaf Blade.

Ichiro NAKAMUARA^{1*}, Sakae AGARIE², Seiichi MUARAYAMA¹, Satoshi TOBITA³, Seiji YANAGIHARA⁴
Yoshinobu KAWAMITUSU¹ and Keiji MOTOMURA¹

¹Department of Bioproduction, Faculty of Agriculture, University of the Ryukyus

²Department of Bioproduction, Faculty of Agriculture, Saga University

³International Research Center for Agricultural Science (JIRCAS)

⁴International Rice Research Institute (IRRI)

Abstract: To elucidate the mechanisms of salt tolerance in wild rice *Oryza latifolia* Desv., we have tested the ability of osmotic adjustment by comparing its content of cation (K^+ and Ca^{2+}) and compatible solute (proline and sucrose) in the leaves with those of salt-sensitive wild rice *Oryza rufipogon*, check varieties of cultivated rice (*O. sativa* L.), SR26B (salt-tolerance) and IR28 (salt-susceptible). When the plants were water-cultured with $6dSm^{-1}$ (50mM) and $12dSm^{-1}$ (113mM) NaCl for 30 days, the content of K^+ and Ca^{2+} were highest in the leaves of *O. latifolia* among the species, suggesting that this species has higher capacity of the physiological functions regulated by K^+ and Ca^{2+} , such as osmotic adjustment in vacuole, stomatal regulation and maintaining plasmamembrane structure. However, there was no correlation between the degree of salt tolerance estimated by dry matter production and the ratio of cation contents such as K^+/Na^+ or Ca^{2+}/Na^+ in the leaves. These indices of salt tolerance were the lowest in *O. latifolia* due to large amounts of Na^+ in the leaves of this species. Proline contents in the salt stress-leaves were higher in the salt tolerant cultivar SR26B and *O. latifolia*. There was the negative significant correlation between free proline content and osmotic potential in the salt tolerant species, indicating that proline participates in osmotic adjustment in the salt tolerant species. The correlation of turgor pressure and water potential showed that *O. latifolia* maintained turgor pressure under the salt-stress condition.

キーワード：浸透圧調節, 耐塩性, 野生稲

Key words: osmotic adjustment, salt tolerance, wild *Oryza* species

緒 言

我々はこれまで野生稲 *Oryza latifolia* Desv. の耐塩性がこれまで耐塩性品種として育成されてきた *Oryza sativa* 育成品種よりも高いこと, またその要因として本種の光合成能力が塩ストレス下で維持されることを明らかにした.¹⁶⁾ 高塩環境下ではイオンストレスと浸透圧ストレスが引き起こされるが, そのような環境において光合成速度を維持するには, 1) 気孔開度を高く維持できること, 2) 細胞内の浸透圧を調節する能力が高いこと, 3) CO_2 固定系の酵素活性が高いこと, 及び 4) チラコイド膜自体の耐塩性が高いこと等が考

えられる。

根圏の Na^+ 濃度の上昇に伴いイネでは地上部 Na^+ 濃度が直線的に増加する。 Na^+ の地上部への移行は, 拡散によって行われ, 光環境に関係なく進行する。^{10, 24)} 葉内に蓄積した Na^+ は, 化学的特性のよく似た一価の陽イオンである K^+ の吸収系から細胞内に流入し, 液胞へとりこまれる。³⁾ その結果, 液胞の浸透圧は上昇し, 細胞外から液胞内へ水が流入する。液胞との浸透圧のバランスを保つために植物は, 適合溶質と呼ばれる低分子有機化合物を細胞質に蓄積する。^{4), 5), 7), 13)} 適合溶質には, スクロースや糖の誘導体 (マンニトール, ピニトール, トレハロース等), アミノ酸 (プロリン), 及び第 4

*Corresponding author (E-mail : abreeder@agr.u-ryukyuu.ac.jp)

級アンモニウム化合物のベタイン類 (グリシンベタイン, プロリンベタイン等) 等がある。これらのうちどれを蓄積するかは, 植物種によって異なる。例えば, 中生植物の大麦では, ベタイン¹⁾, トマトではイノシトールや糖²⁰⁾, イネでは, プロリンを適合溶質として細胞質に蓄積すると考えられている⁹⁾, また塩生植物のアイスプラントでは, myo-イノシトール¹⁷⁾, マングローブでは, グリシンベタインを細胞質に蓄積する。⁸⁾ 塩ストレス下で光合成速度を維持した *O. latifolia* はこれらの浸透圧調節物質を蓄積する能力が高いと考えられる。

高塩環境下のように, 通常は代謝に深く関わらないイオンが多量に蓄積される場合, 体内のイオンバランスは攪乱し, イオンストレスが引き起こされる。植物細胞の原形質膜や液包膜 (トノプラスト) にはそれぞれ特有のイオン透過性や選択性があり, 体内のイオンバランスの恒常性を保っている。例えば, カリウムイオン (K^+) とナトリウムイオン (Na^+) を比較すると, 細胞膜には K^+ チャンネルや K^+ トランスポーターがあり, 細胞外から細胞質へのカリウムの移動性を高め¹⁵⁾, 液胞膜には Na^+/H^+ アンチポーターが細胞質から液胞へのナトリウム移動性を高く保っている。このホメオスタシス機構により植物は細胞質における K^+ の濃度を Na^+ の濃度よりも高く保つことができる。^{22), 23)} 塩ストレス条件下の植物では, 細胞質のナトリウム濃度が上昇するため, カリウムやカルシウム濃度は減少する。^{6), 18)}

K^+ は, 細胞内に蓄積し細胞質 pH を安定化するとともに液胞の浸透圧の調節などに働き³⁾, カルシウムイオン (Ca^{2+}) は, 主として細胞壁や細胞膜などのアポプラスト部分 (細胞外) に吸着し, 細胞膜の表面でリン脂質やタンパク質と結合して膜構造を維持する。¹⁰⁾ また, 液胞の浸透圧の調節にも関与している。³⁾ $NaCl$ 存在下におけるそれぞれのイオンのバランスは, 細胞の浸透圧の維持に強く関与すると考えられる。イネでは, Na^+ , K^+ , 及び Ca^{2+} の葉身への蓄積量に品種間差がみられ, 耐塩性種の葉身の K^+/Na^+ 比, 及び Ca^{2+}/Na^+ 比は感受性種より高いという報告がある。¹⁹⁾

以上をふまえて本研究では, *O. latifolia* が塩ストレス条件下でも光合成速度を維持する要因を調べることを目的に, 適合溶質であるプロリン, スクロース含量を測定した。また, あわせて浸透調節や膨圧の維持に関与する K^+ , Ca^{2+} を測定し, *O. latifolia* の浸透調節能力について考察した。

実験材料および方法

1. 供試材料と栽培条件

材料は, 1994年に国際農林水産業研究センター沖縄支所において $NaCl$ ($12dSm^{-1}$; 約 $113mM$) 存在下の生存率を指標に選抜された野生種 *O. latifolia* Desv. (IRGC Acc. No. 100965) である。本研究では他に感受性野生種として *O. rufipogon* Griff. (IRGC Acc. No. 105390), また比較品種として *O. sativa* L. cv. IR28 (感受性品種), 及び *O. sativa* L. cv. SR26B (耐塩性品種) を用いた。野生稲は, 種子の初殻を取り除き, それを $45^{\circ}C$ で3日間インキュベートして休眠を打破した。予措として種子消毒 (ベンレート T 水和剤 2000 倍

希釈液に24時間浸種) と催芽 ($32^{\circ}C$, 24時間浸種) を行った。葉齢が3~4葉期に達した幼苗を木村氏B液 ($(NH_4)_2SO_4$ $48.2mg/L$, K_2SO_4 $15.9mg/L$, $MgSO_4$ $65.9mg/L$, KNO_3 $18.5mg/L$, $Ca(NO_3)_2$ $59.9mg/L$, KH_2PO_4 $24.8mg/L$, Fe-citrate (Fe_2O_3) $2\sim 5mg/L$) を含む $48\times 80\times 20cm$ のプラスチックバットに移植し, 水耕栽培した。植物体は箆に軽石を敷き詰めて固定し, 箆の底は根が出やすいように約 $1cm^2$ の穴を3箇所開けた。プラスチックバットに, 8つの穴を開けた発砲スチロールを浮かせ, その穴に植物体の入った箆を設置した。

水耕液の更新は7日毎に行い, pHはpH計 (HM-10P, 東亜電波工業株式会社) を用いて, $5.0\sim 5.5$ になるよう毎日調整した。

$NaCl$ 処理は, 播種後58日目に飽和 $NaCl$ を水耕液に添加し, 電気伝導度計 (CM-14P, 東亜電波工業株式会社) を用いて電気伝導度が $0dSm^{-1}$, $6dSm^{-1}$, $12dSm^{-1}$ となるように調節した。

2. 葉身の Na^+ , K^+ , 及び Ca^{2+} 含量の測定

$NaCl$ 処理後7日目と14日目の最上位展開葉を用いて陽イオンを測定した。採取した葉を水道水, 及び蒸留水で洗浄した後, $80^{\circ}C$ で72時間乾燥させた。乾燥した試料を粉碎後, 約 $0.25g$ 秤量し, 0.1% 硝酸を $50mL$ 加え, 24 時間 $80^{\circ}C$ 下で温湯抽出した。抽出液は, 孔径 $0.45\mu m$ のメンブレンフィルターを用いて濾過し, イオンクロマトグラフィー (DX-AQ, DIONEX社) を使用してイオン分析を行った。陽イオンの分析には, ガードカラム (IonPac, CG12), 分離カラム (IonPac, CS12) を用い, 溶離液には $20mM$ メタンサルホン酸を使用した。硝酸と溶離液の調整は, $18M\Omega$ 以上の超純水 (Milli-RX, 日本ミリポア社製) を用いた。

3. 葉の水ポテンシャル, 及び浸透ポテンシャルの測定

水ポテンシャル, 浸透ポテンシャルは Boyer (1995) の方法に従った。光合成速度を測定後, 測定部分の葉身中央部をリーフパンチでディスク (約 $3.1cm^2$) を打ち抜き, 素早くアイソピエスティックサイクロメーターのチャンバーに入れて密閉し約 $1\sim 3$ 時間平衡化させた。

浸透ポテンシャルの測定は, 水ポテンシャルの採取を行った同じ葉を用いた。採取した葉を素早く $1mL$ シリンジに入れ, 蒸散による水分の損出を抑えるため針の先端をゴム栓に差込み, 浸透ポテンシャルの測定に使用するまで $-40^{\circ}C$ の冷凍庫に保存した。測定には, アイソピエスティックサイクロメーターを用いた。

4. プロリン含量の測定

被測定葉を採取後直ちに液体窒素に浸漬し, 凍結乾燥後 (VD-41, Taitec) 粉碎した。粉碎試料は, 分析に使用するまで $-80^{\circ}C$ で保存した。抽出は, 各試料約 $500mg$ について高速溶媒抽出装置 (日本ダイオネックス, ASE-200) を用いて行った。抽出時の溶媒は 75% エタノール, 抽出条件は, 抽出圧力 $2000psi$, 溶媒使用量 $3.3ml$, 抽出温度 $25^{\circ}C$, 抽出時間

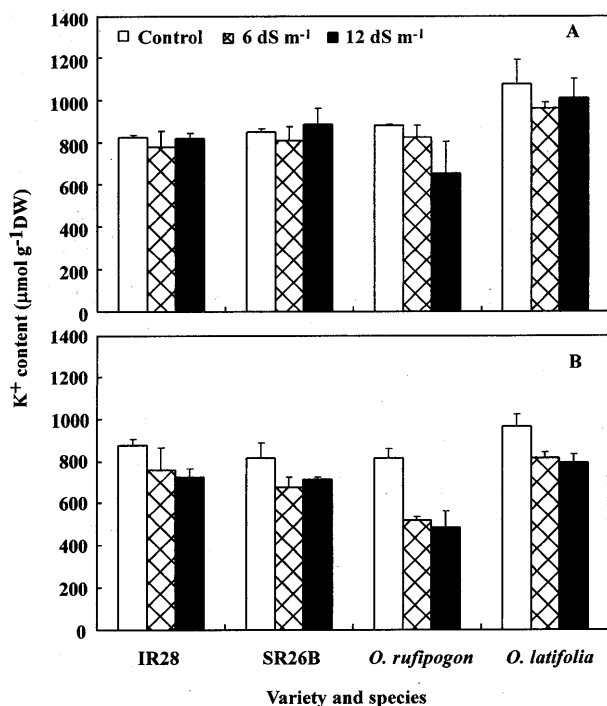


Fig. 1. K⁺ content of leaves measured at 7 (A) and 14 (B) days after NaCl treatment.

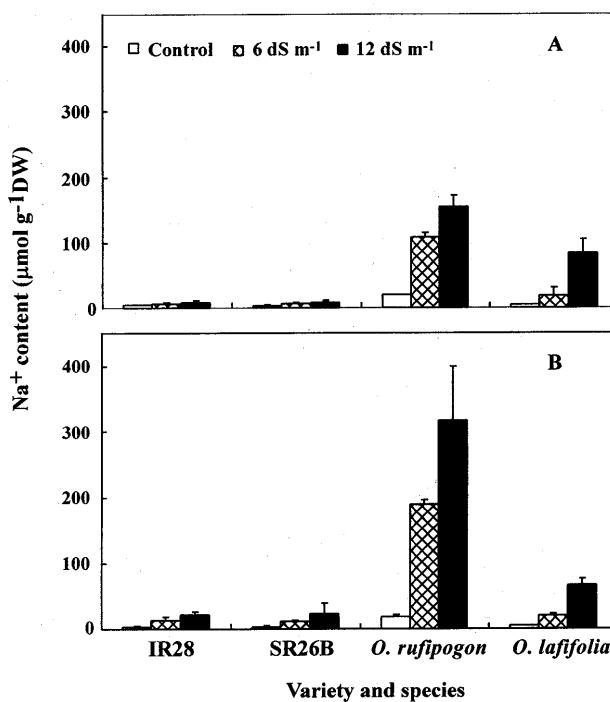


Fig. 2. Na⁺ content of leaves measured at 7 (A) and 14 (B) days after NaCl treatment.

30分であった。抽出は3回繰り返した。抽出液は、クロロホルムで脱脂し、水槽部分をエバポレーターで乾固した。乾固した試料を5 mLクエン酸ナトリウム緩衝液 (pH 2.2) で希釈し、孔径0.45µmメンブレンフィルターで濾過した後、ろ過液に含まれるプロリンを島津高速液体クロマトグラフで定量した。分析カラムとアンモニアトラップカラムには、それぞれShima-pack Amino-Na及びISB-30Naであった。

5. スクロース含量の測定

粉碎した葉身の乾物試料0.25gに超純水を50ml加え、室温で2時間振盪した。懸濁液を、孔径0.45µmメンブレンフィルターで濾過し、ろ過液に含まれるスクロースを島津高速液体クロマトグラフで定量した。ガードカラムと分析カラムには、それぞれShim-pack SCR102HG及びShim-pack SCR-101Nであった。

結果および考察

既報において、*O. latifolia*はNa⁺を葉身に蓄積しても光合成速度を維持することを明らかにした。¹⁶⁾ 本研究では*O. latifolia*の耐塩性の要因として浸透圧調節機構を検討した。まず、NaCl処理後のK⁺、及びNa⁺イオンの蓄積について考察する。K⁺は細胞質の中で最も多量に存在する陽イオンで、原形質膜やトノプラストにあるポンプによって約100~200mMの範囲で細胞内濃度が維持されている。¹⁸⁾ また、K⁺は細胞内での移動性が高く、細胞内に蓄積し細胞質pHを安定化するとともに液胞の浸透圧の調節や気孔開閉の調節などに関わると考えられている。³⁾ また、Ca²⁺は主として細胞壁や細胞膜などのアポプラストに吸着し、細胞膜の表面でリン脂質や

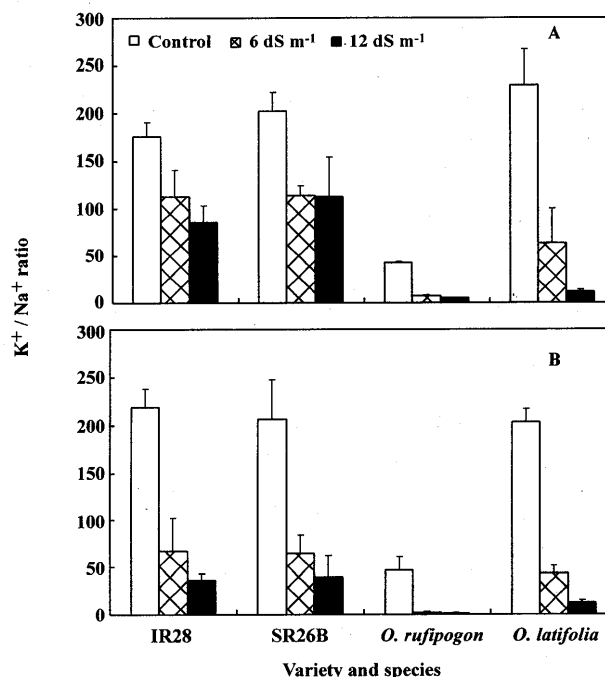


Fig. 3. K⁺/Na⁺ ratio of leaves measured at 7 (A) and 14 (B) days after NaCl treatment.

タンパク質と結合することで膜構造を維持する役割をもつ。¹¹⁾

Figure 1にNaCl処理後7日目と14日目のK⁺含量を示した。K⁺含量は、どのイネもNaCl処理期間が長くなるにつれ低下した。最も大きく低下したのは*O. rufipogon*で、12dSm⁻¹NaClにおいては約40%減少した。他のイネの減少率は12~18%で大きな差はなかった。また、K⁺含量は*O. latifolia*で最も高く、NaCl処理区においても同様であった。前述したようにK⁺は、細胞質pHの安定化や浸透調節、及び気孔開閉に関与している

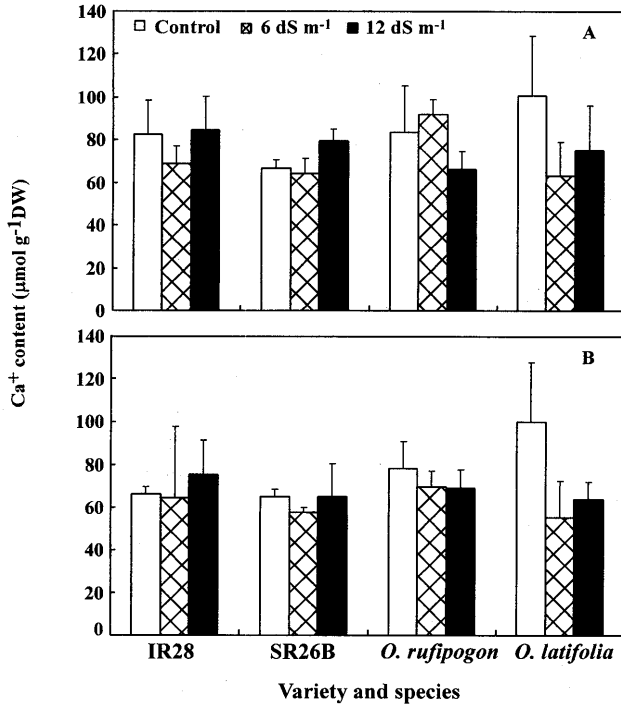


Fig. 4. Ca²⁺ ratio of leaves measured at 7 (A) and 14 (B) days after NaCl treatment.

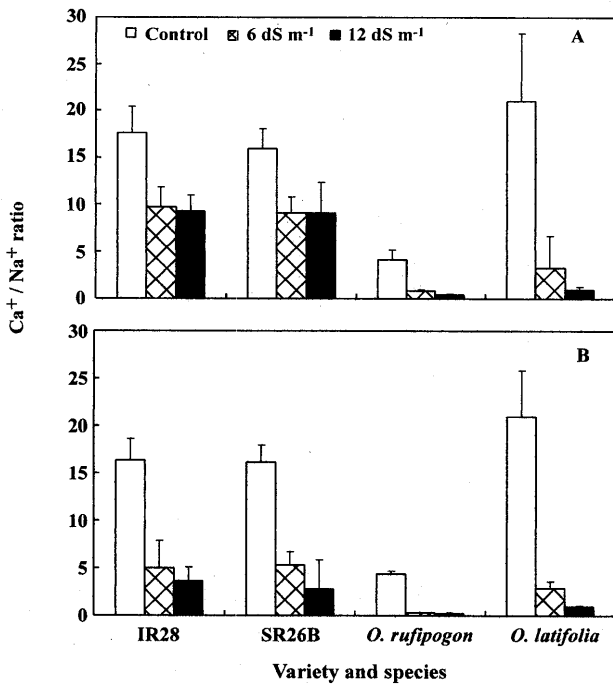


Fig. 5. Ca²⁺/Na⁺ ratio of leaves measured at 7 (A) and 14 (B) days after NaCl treatment.

ことから、K⁺の含量の高さが*O. latifolia*の耐塩性に関与している可能性が示唆された。

Figure 2 に NaCl 処理後の乾物重当たりの葉身 Na⁺ 含量を示した。Na⁺ 含量は野生種で高かった。葉内 NaCl 含量の増加は感受性野生種の *O. rufipogon* で高く、12dSm⁻¹ 区では処理後 14 日目に約 20 倍増加した。*O. latifolia* の NaCl 含量は SR26B の約 3 ~ 10 倍高かった。

イネの場合、耐塩性種は感受性種に比べ、葉身の K⁺/Na⁺

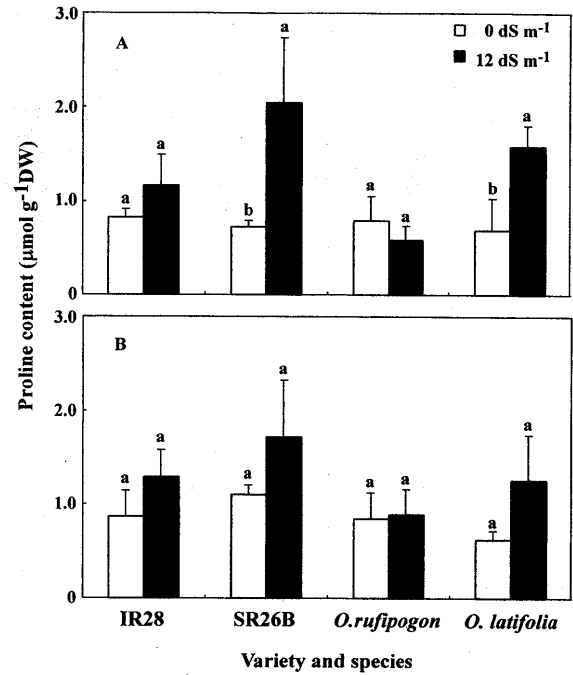


Fig. 6. Proline content of leaves measured at 7 (A) and 14 (B) days after NaCl treatment. Columns with the same letter are not significant as determination by t-test ($P < 0.01$).

比が高いという報告がある。¹⁹⁾ NaCl に対する K⁺/Na⁺ 比の変化は栽培種と野生種で異なった (Fig. 3)。栽培種の IR28 と SR26B では低下傾向が類似し、処理後日数にもなって低下した。野生種 *O. rufipogon* の K⁺/Na⁺ 比は最も低く、NaCl 処理後 14 日目にはほとんど検出できなくなった。*O. latifolia* の NaCl 無処理区の値は、栽培種と同程度であったが Na⁺ 吸収量が高いため、NaCl 処理区では著しく低下した。しかし処理後日数の経過にもなると K⁺/Na⁺ 比の低下は小さく、処理後 14 日目には栽培種の値に近いものとなった。このことは、栽培種は処理日数の経過にもないホメオスタシスを維持できなくなるが、*O. latifolia* ではそれを維持することを示している。

次に Ca²⁺ について検討する。Fig. 4 に NaCl 処理後 7 日目と 14 日目の葉身の Ca²⁺ 含量を示した。NaCl の影響は *O. latifolia* で大きく、12dSm⁻¹ 区の Ca²⁺ 含量は処理後 14 日目に約 35% 減少した。しかしもともとの含量が高いため、低下後の含量は他のイネと同程度であった。

耐塩性種の Ca²⁺/Na⁺ 比は高く保たれるという報告があるが¹⁹⁾、本研究で用いた耐塩性種の Ca²⁺/Na⁺ 比は感受性種よりも低く (Fig. 5)、報告されている結果とは逆の結果となった。しかし K⁺/Na⁺ 比の場合と同様、NaCl 処理日数にもなると低下の度合いが *O. latifolia* で小さかった。これは前述したホメオスタシス能の高さを示唆するものと考えられる。

次に適合溶質であるプロリンについて検討したい。プロリンを浸透調節物質として用いる種は多い。^{7), 10), 21)} プロリン蓄積量には種間差がみられ、耐塩性種で高いという報告があるが⁹⁾、イネでは逆の例も報告されている。¹²⁾

Fig. 6 にプロリン含量を示した。プロリン含量は NaCl 処

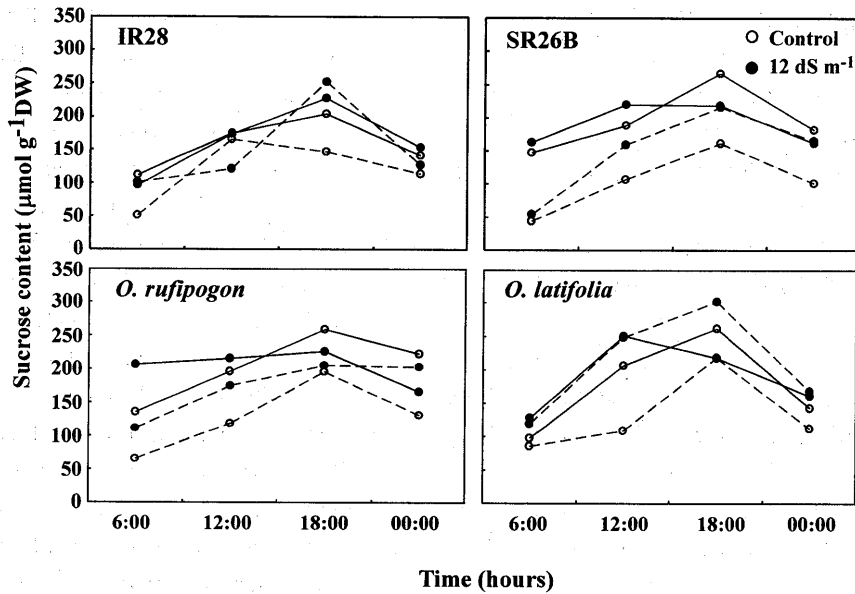


Fig. 7. Diurnal change in sucrose content at 7 and 14 days after NaCl treatment in leaves of rice plants. Dashed line represent 7 days after treatment and solid line represent 14 days after treatment.

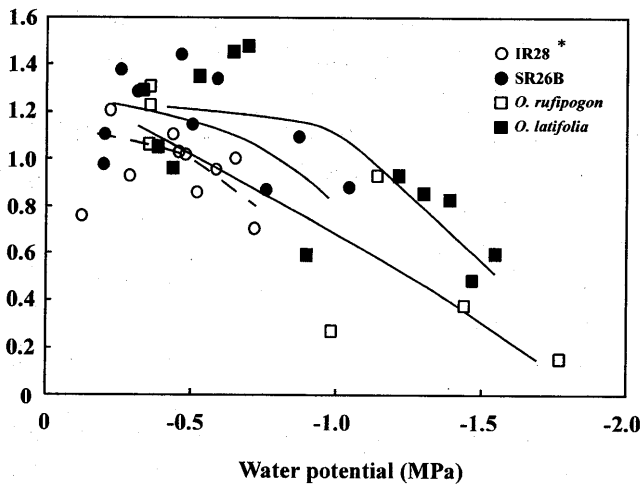


Fig. 8. Relationship between turgor and water potential in the youngest fully expanded leaf grown in different NaCl concentrations.

*:IR28 was shown by the broken line.

理で増加する傾向を示した。増加度の最大値はIR28で1.5倍、SR26Bで1.6倍、*O. rufipogon*で1.1倍、*O. latifolia*では約2倍であった。SR26Bと*O. latifolia*には浸透ポテンシャルとプロリン含量との間に負の相関関係が認められ、両者の関係は、SR26Bでは $y = -0.29x - 1.19$ ($r = -0.81$)、*O. latifolia*では $y = -0.6x - 1.19$ ($r = -0.76$) の式であらわすことができた。これはプロリンが浸透調節に関与していることを示唆する。

両種とも浸透調節に対するプロリンの関与が示唆されたが、プロリン合成のNaCl反応性は栽培種で高かった。すなわちSR26BではNaCl処理後14日目に乾物あたりNa⁺を19.6μM、プロリンを1.4μM蓄積した。一方、*O. latifolia*は、乾物あたりNa⁺を61.9μM、プロリンを0.9μL g⁻¹蓄積し、Na⁺ 1 μMたりのプロリン合成は、SR26Bの方が*O. latifolia*より5倍高かった。

ある種植物では、スクロースが適合溶質に関与する。^{4),14)} Fig. 7に葉身におけるスクロース含量の日変化を示した。いずれのイネにおいても6時から徐々に増加し18時に最大値となる日変化を示した。NaCl処理後7日目にはいずれのイネでもNaCl処理区と無処理区との間で差がみられ、NaCl処理葉身で高く推移した。最も大きな差が認められたのは*O. latifolia*で、NaCl処理区で1日を通して高く推移した。12時にはNaCl処理区のスクロース含量は無処理区の約2倍となった。このようにスクロース含量が耐塩性品種で高かったのは、浸透調整に対するスクロースの関与を示唆するもので興味深い。しかし、プロリン含量がNaCl処理日数の経過にともなって増加したのに対し、スクロースは逆に低下した。スクロース含量が*O. latifolia*において高く維持されたのは浸透調節のための積極的なものなのか、あるいは本種がNaCl存在下で光合成速度を維持できた結果なのか、今後さらに検討する必要がある。

浸透調節は、水ポテンシャルが低下したときに膨圧を維持するために行われる。Fig. 8に膨圧と水ポテンシャルの関係を示した。栽培品種のIR28とSR26BはNa⁺の吸収量が少なく、水ポテンシャルは約-1.0MPa付近まで低下した。そのときの膨圧は0.8MPa付近で一定であった。一方、野生種ではNa⁺吸収量が高いため、水ポテンシャルは-1.5MPaまで低下した。*O. latifolia*では水ポテンシャルが-1.0~-1.5 MPa付近で膨圧が約0.8MPaで一定となり、*O. latifolia*は低い水ポテンシャルのときに膨圧を維持できることが明らかとなった。この膨圧の維持が、NaCl存在下において気孔開度、ひいては光合成速度を維持させた要因と考えられた。

要約

本研究では、NaCl処理後の葉身の陽イオン含量 (K⁺, Ca²⁺)、及び適合溶質 (プロリン、スクロース) 含量を測定し、

*O. latifolia*の浸透圧調節能力について検討した。得られた結果は以下の通りである。

- 1) NaCl処理後のK⁺含量は、*O. latifolia*で最も高かったことから、*O. latifolia*はK⁺の関与する反応、すなわち液胞の浸透圧の維持や気孔開閉の調節能が高いことが示唆された。
- 2) K⁺/Na⁺比と耐塩性の強弱との間に規則性は見出せなかった。
- 3) Ca²⁺/Na⁺比と耐塩性の強弱との間に関連性は見出せなかった。
- 4) NaCl存在下のプロリン含量は、耐塩性種の方で大きかった。また、耐塩性の高い種においてはプロリン含量と浸透ポテンシャルとの間に高い負の相関関係が認められ、浸透調節に対するプロリンの関与が示唆された。
- 5) 膨圧と水ポテンシャルの関係から、*O. latifolia*は塩ストレス条件下で膨圧を維持することが明らかとなった。

文 献

- 1) Arakawa, K., Katayama, M. and Takabe, T. 1990. Leaves of betaine and betaine aldehyde dehydrogenase activity in the green leaves, and etiolated leaves and roots of Barley. *Plant Cell Physiol.*, 31: 797-803.
- 2) Boyer, J.S. 1995. Measuring the water status of plants and soils. Academic Press, San Diego, pp. 49-102.
- 3) 茅野充男 1991. 現代植物生理学 5, 「物質の輸送と貯蔵」, 朝倉書店, 東京, pp. 94-103.
- 4) Flowers, T.J., Troke, P.F. and Yeo, A.R. 1977. The mechanism of salt tolerance in halophytes. *Ann. Rev. Plant Physiol.*, 28: 89-121.
- 5) Garcia, A.B., Engler, J.de A., Iyer, S., Gerats, T., Montagu, M.V. and Caplan, A.B. 1997. Effects of osmoprotectants upon NaCl stress in rice. *Plant Physiol.*, 115: 159-169.
- 6) Gorham, J., Jones, R. G. W. and McDonnell, E. 1985. Some mechanisms of salt tolerance in crop plants. *Plant Soil*, 89: 15-40.
- 7) Greenway, H. and Munns, R. 1980. Mechanisms of salt tolerance in nonhalophytes. *Ann. Rev. Plant Physiol.*, 31: 149-190.
- 8) Hibino, T., Meng, Y.L., Kawamitsu, Y., Uehara, N., Matsuda, N., Tanaka, Y., Ishikawa, H., Baba, S., Takabe, T., Wada, K., Ishii, T. and Takabe, T. 2001. Molecular cloning and functional characterization of two kinds of betaine-aldehyde dehydrogenase in betaine-accumulating mangrove *Avicennia marina* (Forsk.) Vierh. *Plant Mol. Biol.*, 45: 353-363.
- 9) Igarashi, Y., Yoshida, Y., Sanada, Y., Yamaguchi-Shinozaki, K., Wada, K. and Shinozaki, K. 1997. Characterization of the gene for Δ^1 -pyrroline-5-carboxylate synthetase and correlation between the expression of the gene and salt tolerance in *Oryza sativa* L. *Plant Mol. Biol.*, 33: 857-865.
- 10) Kavi Kishor, P.B., Hong, Z., Miao, G-H., Hu, C-A. and Verma, D.P.S. 1995. Overexpression of Δ^1 -pyrroline-5-carboxylate synthetase increases proline production and confers osmotolerance in transgenic plants. *Plant Physiol.*, 108: 1387-1394.
- 11) Legge, R. L., Thompson, J. E., Baker, J. E. and Lieberman, M. 1982. The effect of calcium on the fluidity and phase properties of microsomal membranes isolated from postclimacteric golden delicious apple. *Plant Cell Physiol.*, 23: 161-169.
- 12) Lutts, S., Kinet, J.M. and Bouharmont, J. 1996. Effects of salt stress on growth, mineral nutrition and proline accumulation in relation to osmotic adjustment in rice (*Oryza sativa* L.) cultivars differing in salinity resistance. *Plant Growth Regul.*, 19: 207-218.
- 13) Martino, C.D., Delfino, S., Pizzuto, R., Loreto, F. and Fuggi, A. 2003. Free amino acid and glycine betaine in leaf osmoregulation of spinach responding to increasing salt stress. *New Phytol.*, 158: 455-463.
- 14) 間藤 徹. 1997. 植物の耐塩性メカニズム. 植物の科学調節, 32 (2) : 198-206.
- 15) 水谷昭文, 佐藤陽子, 松田信行, 加藤靖浩, 魚住信之. 2003. 「カリウムイオン輸送系と生理的役割. 植物細胞工学シリーズ18」, 秀潤社, pp.40-47.
- 16) Nakamura, I., Murayama, S., Tobita, S., Bong, B.B., Yanagihara, S., Ishimine, Y. and Kawamitsu, Y. 2002. Effect of NaCl on the photosynthesis, water relation and free proline accumulation in the wild *Oryza species*. *Plant Prod. Sci.*, 5: 305-310.
- 17) Nelson, D.E., Koukoumanos, M. and Bohnert, H.J. 1999. Myo-inositol-dependent sodium uptake in ice plant. *Plant Physiol.*, 119: 165-172.
- 18) Niu, X., Bressan, R. A., Hasegawa, P. M. and Pardo, J.M. 1995. Ion homeostasis in NaCl stress environments. *Plant Physiol.*, 109: 735-742.
- 19) Ram, P.C., Singh, B.B., Singh, A.K., Singh, V.K., Singh, O.N., Setter, T.L. Singh, R.K. and Singh, V.P. 1996. Environmental and plant measurement requirements for the assessment of drought, flood and salinity tolerance in rice. in *Physiology of stress tolerance in rice*. Singh, V.P., Singh, R. K., Singh, B.B. and Zeigler, R.S., eds, IRRI, Philippines, pp 46-69.
- 20) Sacher, R.F. and Staples, R.C. 1985. Inositol and sugars in adaptation of tomato to salt. *Plant Physiol.*, 77: 206-210.
- 21) Stewart, C.R., Morris, C.J. and Thompson, J.F. 1966. Changes in amino acid content of excised leaves during incubation. II. Role of sugar in the accumulation of proline in wilted leaves. *Plant Physiol.*, 41: 1585-1590.

- 22) 高岸秀次郎. 1987. 耐塩性の科学. 熱帯農研集報, 59: 25-34.
- 23) 田中喜之, 福田篤徳, 中村敦子. 2003. ナトリウムイオン輸送と耐塩性. 植物細胞工学シリーズ18. 秀潤社, 東京, pp.129-137.
- 24) Tsuchiya, M., Naito, H., Ehara, H. and Ogo, T. 1992. Physiological response to salinity in rice plant.: I. Relationship between Na^+ uptake and respiration under different humidity and salinity conditions. *Jpn. J. Crop Sci.*, 61: 16-21.