

AA ゲノムの野生イネ *Oryza nivara* の光合成特性に及ぼす窒素施肥量の影響 —日本型栽培イネ品種「日本晴」との比較—

濱岡範光¹⁾・上野修²⁾

¹⁾九州大学大学院生物資源環境科学府, ²⁾九州大学大学院農学研究院

要旨：持続可能な稲作体系を確立するためには、窒素施肥量の最適化を図るとともに生理的窒素利用効率 (NUE) の高い品種の育成が求められる。これまでの研究から、野生イネ *Oryza nivara* の IRGC105715 系統 (NVR) は低窒素条件下において高い NUE を示すことが見出されている。本研究では、NVR の光合成特性に及ぼす窒素施肥量の影響を *O. sativa* 品種の日本晴と比較することにより検討した。窒素処理として3段階の窒素濃度区 (標準窒素濃度を 1N 区として、1/2N 区、1/4N 区) を設け、ビニルハウス内で水耕栽培を行った。栄養成長期における葉身の光合成関連特性を調査したところ、NVR の光合成速度、気孔伝導度および炭酸固定活性の指標である Ci/Gs は 1/2N 区と 1/4N 区で日本晴よりも高く、光化学系 II の最大量子収率についても 1/4N 区で NVR が日本晴を上回った。また、NVR の比葉重と葉身窒素含量は 1/2N 区と 1/4N 区で日本晴よりも高い傾向がみられた。光合成窒素利用効率 (PNUE) は 1/2N 区、1/4N 区において NVR が日本晴よりも有意に高かった。以上の結果から NVR は日本晴と比較して、低窒素施肥条件下で高い光合成能および PNUE を示すことが明らかとなり、これには低窒素条件下においても気孔伝導度、光化学系の活性および窒素含量を高く維持することが関わると考えられた。本研究で見出された野生イネ *O. nivara* の光合成特性は、低窒素投入型品種の育成にとって有用な遺伝形質となる可能性がある。

キーワード： *Oryza nivara*, 光合成, 光合成窒素利用効率, 窒素反応, 低窒素施用, 野生イネ。

1960年代からのイネの収量性向上には、個葉レベルの光合成速度の向上、並びに受光態勢や葉面積指数といった群落レベルでの草型に関わる要因の改良に基づく個体群光合成速度の向上が大きく寄与してきたものと考えられている (武田ら 1983, 黒田・玖村 1990, 斎藤ら 1993)。物質生産と直接的に関わる個葉光合成能のさらなる改良は、今後、イネの収量性向上を目指して行く上で重要である (Murchie ら 2009)。一方、イネの光合成能は窒素施肥量と密接に関連すると考えられており (長田・村田, 1962)、持続可能な稲作体系を確立していくためには、窒素施肥量と光合成能の関係を最適化するとともに、光合成窒素利用効率 (Photosynthetic nitrogen use efficiency, 以下 PNUE) を高めることが必要であり、この点は今後のイネ品種の育成にとって重要な課題の一つである。

窒素はタンパク質等の生体物質の主要構成成分であるため、植物の成長・分化や様々な生理機能に関与しており、それらの制限因子となる。そのため作物における光合成や乾物生産過程にも窒素が密接に関わっている。窒素施肥量に対する植物の生育や光合成特性の反応については、これまでに多数の報告があり、低窒素施肥条件では葉身のクロロフィル含量と Rubisco 含量が低下することにより、光合成速度が低下することが知られている (Evans and Terashima 1987)。さらに光化学系 II の最大量子収率や有効量子収率といった光化学系の活性 (Kumagai ら 2009)、並びに CO₂ の拡散や蒸散速度に関わっている気孔伝導度 (気孔開度) (Evans 1989) が低下することも報告されている。

一般に野生イネは栽培イネ (*Oryza sativa*) と比べて収量が低く、その他、高い脱粒性や深い休眠性といった栽培に適さない形質を多く残している。しかし近年それら野生イネの中に、病害虫抵抗性 (Prasad and Eizenga 2008, Fujita ら 2010) や環境ストレス耐性 (Brar and Khush 1997, Scafaro ら 2010) といった農業上有用な形質を持つ野生イネ系統の存在が確認されており、それらは今後の栽培イネ品種の改良にとって有用な遺伝資源になるものと注目されている。このように、野生イネについてこれまでに注目されてこなかった農業形質を評価することにより、将来栽培イネ品種の育成につながる特性を見出すことができるかもしれない。これまでに栽培イネを含むイネ属植物の光合成特性を調査した報告はいくつかあるが (Yeo ら 1994)、野生イネの光合成特性の窒素反応については不明な点が多い。野生イネが通常窒素施肥のない環境に自生していることを踏まえ、低窒素条件下における光合成能および PNUE について栽培イネ品種と異なる特性をもつ可能性がある。

栽培イネでは、異なる窒素施肥条件で栽培したときの止葉の PNUE は、全窒素吸収量に対する収量、すなわち収量の窒素利用効率と密接に関わっていることが明らかになっている (Jiang ら 2005)。塩田ら (2012) はイネ属 21 種の PNUE を調査し、それには 2.4 倍の変異があること、また *O. sativa* の栽培イネ品種の PNUE は野生種に比べていく分低い傾向にあることを報告している。このように、光合成に対する窒素の影響は、*O. sativa* の栽培イネ品種と野生種の間で少なからず異なっていることが考えられる。

著者らは、AAゲノムのイネ属植物における低窒素適応系統の選抜とその生理的特性の解明を目指し研究を進めている。この中で、低窒素条件において *O. sativa* の栽培イネ品種よりも乾物生産能、窒素吸収能、並びに乾物生産に対する生理的窒素利用効率 (Physiological nitrogen use efficiency, 以下 NUE) が高い野生イネ系統を *O. nivara* および *O. barthii* より見出した (Hamaoka ら 2013)。NUE は窒素吸収量当たりの物質生産能の指標であることから、これには個葉の光合成能も密接に関わっていることが予想される。そこで本研究では、野生イネの *O. nivara* 系統と栽培イネ品種の日本晴を異なる3段階の窒素施肥条件で育成し、それらの光合成特性と PNUE を解析することで、NVR の NUE に関わる生理的要因を個葉レベルで明らかにすることを試みた。

材料と方法

1. 供試材料

供試材料として、イネ属植物の AA ゲノムグループに属する近縁種の中から野生イネ *Oryza nivara* の IRGC105715 系統 (NVR) と栽培イネ *Oryza sativa* 品種の日本晴を用いた。なお、NVR の採種地 (自生地) はカンボジアである (Hamaoka ら 2013)。

2. 栽培方法

予め高温で休眠打破処理を行い、吸水加温処理をした種子を 2011 年 7 月上旬に黒粒培土を充填した育苗箱に播種した。育苗箱で 4 週間生育させた植物を水耕槽へ移植し、自然光下で水耕栽培を行った。栽培は九州大学農学部貝塚圃場のビニルハウス内で行った。栽培期間のハウス内の平均気温は 31.2℃、平均湿度は 52% であり、晴天時の日中の光強度 (PPFD) は 1300 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 以上であった。4 つの穴をあけたミラーフォーム (45 × 31 cm^2) に播種後 4 週目の植物を 1 つの穴に 1 個体ずつスポンジブロックで固定し、32 L の水耕液を満した水耕槽に浮べて栽培した。また、水耕液の蒸発と水耕液への光の照射を防ぐため水耕槽の表面をビニルフィルムで完全に覆った。水耕液は Yoshida ら (1971) の組成を基本として、窒素源である硝酸アンモニウムの濃度のみを 3 段階に改変して用いた。すなわち標準窒素濃度 (2.86 mM N) を 1N 区として、その 50% (1.43 mM N) の 1/2N 区および 25% (0.72 mM N) の 1/4N 区を設定した。水耕液の更新は 4 日毎に行った。栽培期間中の水耕液の pH は塩酸および水酸化ナトリウムを用いて 5.0~5.5 の間に調節した。移植後 4 週目の植物について以下の測定を行った。

3. 測定項目

(1) ガス交換特性

ガス交換特性の測定は、携帯型同化箱 (PLC-4B, 島津製作所製) を用いて開放型ガス交換測定システムで行った。光源はメタルハライドランプ (LS-M180, 住田光学ガラ

ス社製) を使用し、光強度 (PPFD) 1500 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ とした。また、葉温 $30 \pm 0.5^\circ\text{C}$ 、相対湿度 60%、 CO_2 濃度 $403 \pm 4 \mu\text{L L}^{-1}$ の条件で測定した。移植後 4 週目の植物の最上位完全展開葉を対象として、光合成速度 (Pn)、気孔伝導度 (Gs) および細胞間隙 CO_2 濃度 (Ci) を午前 8 時から午後 1 時の間に測定した。各系統 1 処理当たり 3~4 個体を測定した。Pn、Gs および Ci は Long and Hallgren (1985) の計算式に従い算出した。

(2) クロロフィル蛍光特性

ガス交換特性の測定に用いた葉を対象に、各系統 1 処理当たり 3~4 葉についてクロロフィル蛍光を測定した。アルミホイルを用いて遮光することにより葉身を約 1 時間暗順化させた後に、励起光を繰り返し照射してクロロフィル蛍光を測定した。なお、蛍光測定にはクロロフィル蛍光測定装置 (PAM-2000, Waltz 社製) を用いた。光化学系 II における最大量子収率 (Fv/Fm) および有効量子収率 (Φ_{PSII}) は、Genty ら (1989) の方法に従い算出した。

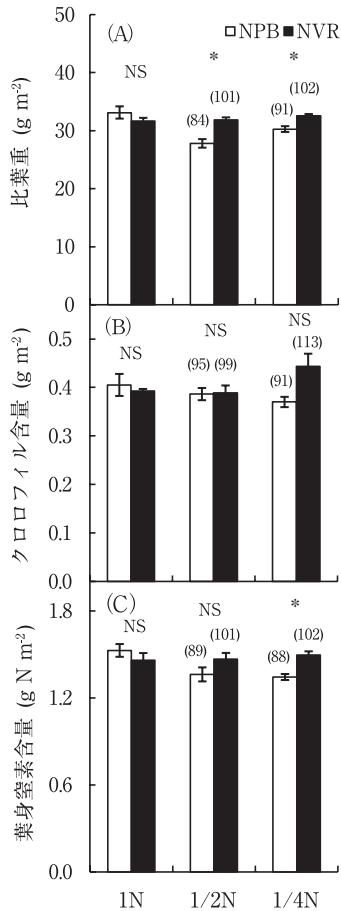
(3) 比葉重、クロロフィル含量、葉身窒素含量および PNUE

ガス交換特性を測定した葉身から比葉重、クロロフィル含量および窒素含量の測定用サンプルを採取した。測定葉より 3 枚の葉片ディスク (直径 5 mm) を採取し、液体窒素に投入し -80℃ 下で冷凍保存した。採取した葉片をサンプル瓶中の 96% エタノール (3 mL) に浸し、クロロフィルが十分に抽出されるまで暗所に約 3 日間保存した。クロロフィルを抽出後、Wintermans and de Mots (1965) の方法に従って、分光光度計 (UV-1200, 島津製作所製) を用いて波長 649 nm および 665 nm の吸光度を測定した。それを基に抽出液のクロロフィル含量を算出し、単位葉面積当たりの値に換算した。測定後の葉身サンプルは 3 日以上 70℃ で熱風乾燥させて乾燥重量を測定し、葉片ディスクの葉面積から比葉重を算出した。窒素含量測定用サンプルは乳鉢と乳棒を用いて細かく粉砕した。これについて CN コーダ (NC-900, 住友化学工業製) を用いて乾物重当たりの窒素含量を測定し、葉面積当たりの窒素含量に換算した。光合成速度を葉面積当たりの窒素含量で除することにより PNUE を算出した。

結 果

1. 比葉重、クロロフィル含量および葉身窒素含量

日本晴の比葉重は、水耕液の窒素濃度の低下に伴ってわずかに低下する傾向が見られたが (第 1 図 A)、NVR の比葉重は窒素濃度に関わらずほぼ一定であり、1/2N 区と 1/4N 区では日本晴よりも有意に高かった。クロロフィル含量は 1/4N 区で NVR が日本晴よりも高い傾向が見られたが (第 1 図 B)、全ての窒素処理区において両者の間に有意差はなかった。両系統の葉身窒素含量は 1.25~1.63 g N m^{-2} であり、日本晴の葉身窒素含量は窒素施肥量の低下に伴って減少したが、NVR ではほとんど変化しなかった。

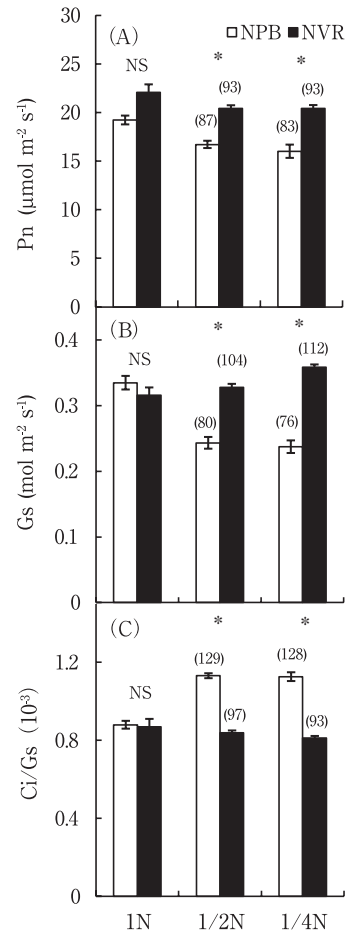


第1図 異なる窒素濃度で育成した日本晴 (NPB) と *O. nivara* 系統 (NVR) における最上位完全展開葉の比葉重 (A), クロロフィル含量 (B) および葉身窒素含量 (C). 図中の縦棒は標準誤差 (n = 3~4) を示す. * は系統間に5%水準で有意差があることを, NS は有意差がないことを示す (t 検定). 括弧内の数値は, 1N 区の値を 100 としたときの 1/2N 区および 1/4N 区の値.

1N 区では日本晴が NVR よりもわずかに高い傾向を, また 1/2N 区と 1/4N 区では NVR が日本晴よりも高い傾向を示し (第1図 C), 1/4N 区において両者間に有意差があった.

2. ガス交換およびクロロフィル蛍光パラメーター

第2図に異なる窒素条件下における日本晴と NVR の Pn および Gs を示す. Pn は水耕液の窒素濃度の低下に伴って低下する傾向が見られたが, 3 窒素処理区ともに日本晴よりも NVR で高い傾向があり, 1/2N 区と 1/4N 区においては両者の間で有意差があった (第2図 A). また 1N 区に対する 1/4N 区の Pn の維持率は日本晴で 83%, NVR で 93% であり, NVR が日本晴よりも高かった. Gs は 1N 区において系統間に有意差はみられなかったが (第2図 B), 1/2N 区と 1/4N 区における Gs は NVR が有意に高かった. また, 水耕液の窒素濃度の低下に伴って日本晴は Gs を低下させたが, NVR は Gs をむしろ高める傾向を示した. 細胞間隙 CO₂ 濃度/気孔伝導度比 (Ci/Gs) は葉内部の炭酸固定活性と関連づけられ, この値が低いほど炭酸固定活性



第2図 異なる窒素濃度で育成した日本晴 (NPB) と *O. nivara* 系統 (NVR) の光合成速度 [Pn] (A), 気孔伝導度 [Gs] (B) および細胞間隙 CO₂ 濃度 / 気孔伝導度比 [Ci/Gs] (C). 図中の縦棒は標準誤差 (n = 3~4) を示す. * は系統間に5%水準で有意差があることを, NS は有意差がないことを示す (t 検定). 括弧内の数値は, 1N 区の値を 100 としたときの 1/2N 区および 1/4N 区の値

が高いことを示す (Sheshshayee ら 1996, Ray ら 2003). Ci/Gs は, 1N 区においては有意な系統間差がみられなかったが (第2図 C), 1/2N 区と 1/4N 区では NVR が日本晴に比べて有意に低い値を示し, NVR は 1N 区の値を 1/2N 区と 1/4N 区でも維持する傾向を示した.

第1表にクロロフィル蛍光パラメーターである Fv/Fm と Φ_{PSII} を示す. 1N 区と比較したとき, Fv/Fm は 1/4N 区で, Φ_{PSII} は 1/2N 区と 1/4N 区で低下した. 1/4N 区では両パラメーターともに NVR が日本晴と比べていく分高く維持する傾向があり, 1/4N 区における Fv/Fm には両者間に有意差があった (第1表).

PNUE は日本晴と NVR ともに水耕液の窒素濃度の低下に伴って低下し, その変化のパターンは類似していた (第3図). しかし, すべての窒素処理区において NVR が日本晴よりも高い傾向があり, 1/2N 区と 1/4N 区では NVR が日本晴よりも有意に高かった (第3図).

第1表 異なる窒素濃度で育成した日本晴と *O. nivara* 系統 (NVR) の光化学系 II 最大量子収率 [Fv/Fm] および光化学系 II 有効量子収率 [Φ_{PSII}].

窒素処理	品種 / 系統	Fv/Fm	Φ_{PSII}
1N	日本晴	0.821 ± 0.002	0.356 ± 0.023
	NVR	0.816 ± 0.007	0.354 ± 0.009
		N.S.	N.S.
1/2N	日本晴	0.822 ± 0.001 (100)	0.322 ± 0.028 (90)
	NVR	0.818 ± 0.010 (100)	0.321 ± 0.007 (91)
		N.S.	N.S.
1/4N	日本晴	0.764 ± 0.012 (93)	0.328 ± 0.023 (92)
	NVR	0.800 ± 0.011 (98)	0.339 ± 0.004 (96)
		*	N.S.

平均値 ± 標準誤差 (n=3~4). * は系統間に 5%水準で有意差があることを, NS は有意差がないことを示す (t 検定). 括弧内の数値は 1N 区の値を 100 としたときの 1/2N 区および 1/4N 区の値の相対値.

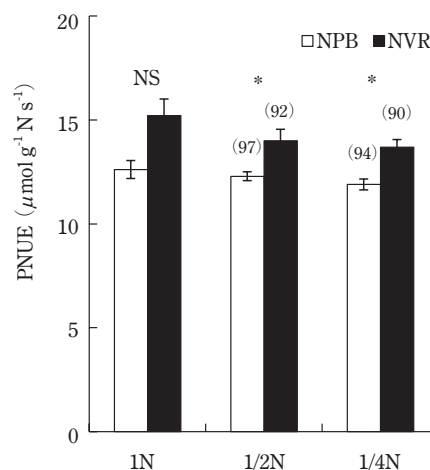
3. 葉身窒素含量とガス交換特性の関係

第4図は, 3つの窒素処理区の植物から得た測定データをもとに, 葉身窒素含量とガス交換測定パラメーターの関係を示したものである. 日本晴においては葉身窒素含量と Pn (第4図A) および Gs (第4図B) との間に有意な正の相関関係が, また Ci/Gs (第4図C) との間に有意な負の相関関係が見られた. 一方, NVR では葉身窒素含量 (と各パラメーター間に有意な相関関係は見られなかった (第4図A-C)). しかし NVR は日本晴と比較して, 葉身窒素含量がいく分低いとき (1.32~1.48 g N m²) に Pn と Gs が高い傾向があり, 反対に Ci/Gs は低い傾向があった.

考 察

NVR の Pn は日本晴と比べ 1N 条件では有意差がなかったが (第2図A), 1/2N 区と 1/4N 区では有意に高く, 1N 区に対する 1/2N 区と 1/4N 区の Pn の維持率も日本晴よりも高かった. このような特性は, 前年度に標準窒素 (1N) と低窒素 (1/3N) 条件で育成した日本晴と NVR の光合成速度の結果とほぼ一致していた (濱岡・上野 2011). したがって, NVR は低窒素施肥条件 (0.72~1.43 mM N) で栽培イネ品種の日本晴よりも高い Pn を示す系統であると考えられる.

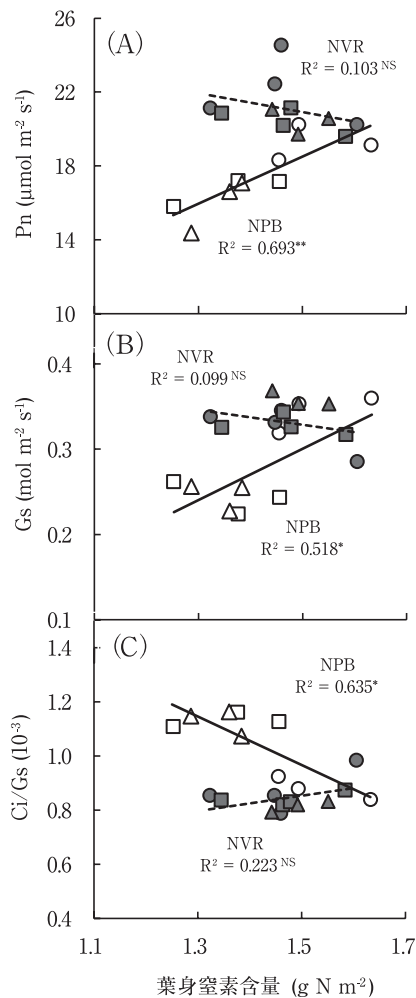
このような日本晴と NVR における Pn の違いをもたらす要因を CO₂ 拡散, 光化学反応および炭酸固定反応の面から検討する. まず CO₂ 拡散に関わる Gs の結果を見ると (第2図B), 日本晴では 1/2N 区および 1/4N 区で Gs を低下させたのに対し, NVR ではいく分高めた. したがって, NVR は窒素施肥量が低い条件でも高い気孔開度を維持する特性をもつと考えられる. 石原ら (1978) は, *O. sativa* 品種の Gs は葉身窒素含量が増加すると高くなることを報告している. 一方, *O. glaberrima* 系統の Gs は *O. sativa* 品種と異なり, 窒素施肥量 (丸山ら 2000) や葉身窒素含量 (田川ら 2000) に影響されず常に高い値を維持することが報告



第3図 異なる窒素濃度で育成した日本晴 (NPB) と *O. nivara* 系統 (NVR) の光合成窒素利用効率 [PNUE]. 図中の縦棒は標準誤差 (n=3~4) を示す. * は系統間に 5%水準で有意差があることを, NS は有意差がないことを示す (t 検定). 括弧内の数値は, 1N 区の値を 100 としたときの 1/2N 区および 1/4N 区の値.

されている. NVR で見られた窒素施肥量と Gs の関係は *O. glaberrima* の特徴と類似しており, NVR でも葉内窒素含量に依存した気孔の反応性が低い可能性が考えられる. 一方, NVR は日本晴と比較して, 低窒素施肥条件で根系を大きく発達させる特性をもち, 出液速度からみた根の活性も高いことが明らかになっている (Hamaoka ら 2013). データは示していないが, 両系統の蒸散速度は Gs とほぼ類似した傾向を示したことから, 低窒素施肥条件において NVR の Gs がいく分高まったことには, 根系の発達に伴った根の吸水能力の向上が関わっていると考えられる.

次に光合成の光化学系に着目すると, NVR の Fv/Fm と Φ_{PSII} は窒素施肥量の低減に伴いわずかに低下したが, 1/4N 区においては日本晴と比較して高く維持する傾向を示した



第4図 異なる窒素濃度で育成した日本晴 (NPB) と *O. nivara* 系統 (NVR) における葉身窒素含量と光合成速度 [Pn] (A), 気孔伝導度 [Gs] (B) および細胞間隙 CO_2 濃度 / 気孔伝導度比 [Ci/Gs] (C) の関係。○: NPB 1N区, □: NPB 1/2N区, △: NPB 1/4N区, ●: NVR 1N区, ■: NVR 1/2N区, ▲: NVR 1/4N区。*, ** はパラメーター間にそれぞれ5%, 1%水準で有意な相関があることを, NSは有意な相関がないことを示す (t検定)。

(第1表)。一般に通常大気条件の日中では, 光化学系で生産される化学エネルギーは炭酸固定系の要求量を超えるため, 炭酸固定能がPnの主たる律速要因となるものと理解されている (Farquharら1980)。一方, Kumagaiら(2010)は低窒素施肥条件下で栽培された水稻が高いPnを発揮するためには, 炭酸固定能に加えて光化学系の電子伝達活性を高く維持することが重要であることを指摘しており, これが特に低窒素施肥条件下で起こる光阻害による活性酸素の生成を抑制する上で有効であると考えられている。このことを踏まえると, 1/4N区におけるNVRのFv/Fmと Φ_{PSII} が高い傾向を示す点は, 低窒素環境下の強光に対する光阻害耐性が高いことを示唆するものであり興味深い。

NVRの比葉重および葉身窒素含量は窒素処理条件に関わらずほぼ一定であったのに対し(第1図A, C), 日本晴で

は窒素施肥量の低下に伴ってそれらの値を低下させるという特徴を示した。一方, クロロフィル含量は両種間で有意な違いはないが, NVRが日本晴よりも高い傾向を示した(第1図B)。本研究では葉面積の測定は行わなかったが, NVRは日本晴に比べていく分小さな葉をもち, 窒素施肥量の低下に伴い, 葉幅は減少した。このことが比葉重, 葉面積当たりのクロロフィル含量および葉身窒素含量を高く維持したことに関わっているもの考えられる。C₃植物において, 炭酸固定鍵酵素のRubiscoはPnを律速する主要因の一つである (Farquharら, 1980)。イネにおける葉内窒素成分の約25%はRubiscoに配分されており, 葉内窒素含量とRubisco含量は密接な関係をもち, 葉内窒素含量とPnの間にも高い正の相関関係がある (Makinoら1985, Hirasawaら2010)。本研究におけるNVRの葉身窒素含量は, 窒素施肥条件に関わらずほぼ一定の高い値を示した。したがって, 窒素施肥量が少ない条件(1/2N区, 1/4N区)でもNVRの葉身窒素含量が高かったことがRubisco含量を高く維持して炭酸固定活性を高く保つことに寄与し, これが低窒素施肥条件下で日本晴よりもPnが高い要因の一つであると考えられる。一方, 低窒素施肥条件下で栽培したNVRと日本晴では, 根系の発達程度と窒素吸収能はNVRの方が日本晴よりも高いことが明らかになっている (濱岡ら2012, Hamaokaら2013)。このことを踏まえると, 窒素施肥量が少ない条件でも葉身窒素含量を高く維持するというNVRの特性には, 根系の発達と高い窒素吸収能が関わっていると考えられる。

以上のように, NVRは日本晴と比較して低窒素施肥条件下において高いPnを示す系統であると判断され, これには低窒素施肥条件下においても気孔開度, 光化学系の活性, 並びに葉身窒素含量が高いことが密接に関わっていると考えられる。

PNUEについてはこれまでに多くの植物種で調査されており, 種間の変異が大きいことが指摘されている (Wrightら2004)。一方, 同一種内では光環境, 栄養状態および葉齢に関わらずPNUEはほぼ一定であるという (Hikosakaら2004)。本研究においては, 窒素施肥条件に関わらずNVRのPNUEは日本晴よりも高い傾向があり(第3図), 特に低窒素施肥条件(1/2N区, 1/4N区)において両者間に有意差が認められた。したがって, 近縁なイネ属植物の間でもPNUEには違いがあるといえよう。Field and Mooney (1986)によると, PNUEの変異には大気から炭酸固定部位までのCO₂の拡散過程, 光合成系への窒素分配および光合成酵素の活性が密接に関わるという。葉身窒素含量(日本晴で1.25~1.63 g N m², NVRで1.32~1.61 g N m²)に対するPn, GsおよびCi/Gsの関係をみると, 日本晴ではすべてのパラメーター間に有意な相関があったのに対し, NVRでは有意な相関は見られなかった(第4図)。日本晴で認められた関係は*O. sativa*の他の品種でも見出されているが (Hirasawaら2010), 日本晴と比較してNVRで

は各窒素施肥条件における葉身窒素含量の値に大きなばらつきが認められた。このことがNVRにおいて葉身窒素含量と各パラメーターの間で有意な相関関係がみられなかったことに関係しているかもしれない。一方、NVRの葉身窒素含量が低窒素施肥条件においても高かったことには、同条件で葉幅を小さくさせて個葉の葉面積をいく分低下させること、並びに窒素吸収能が高いこと(Hamaokaら2013)が関わっていると考えられる。NVRで見出された窒素に対する光合成関連特性の反応がどのような要因により引き起こされたのかを明確にするには、窒素処理条件の幅を大きくして葉身窒素含量の差異を大きくした植物を用いて、光合成特性を詳細に検討する必要がある。しかし、本研究における低窒素施肥条件(0.72~1.43 mM N)でのNVRの高いPnには、少なくともCO₂の葉内への拡散能(気孔開度)が高いこと(第2図B)、光捕集能(クロロフィル含量)と光化学系IIの活性が高いこと(第1表、第1図B)、および葉身の窒素含量を高く維持して(第1図C)炭酸固定活性を高めること(第2図C)が関係していると考えられ、この結果としてPNUEが日本晴に比べ高くなったものと推察される。イネ科植物のソルガムでは低窒素施肥条件で葉の光合成細胞の細胞壁を厚くすることが報告されており(牧野・上野2013)、本研究の日本晴においては、葉身窒素含量の低下に伴って葉の構成成分に対する窒素の投資が大きくなるとともに、Rubisco等の炭酸固定酵素に対する窒素の分配が相対的に低くなった可能性も考えられる。イネのPNUEの品種間差および種間差をより詳細に検討していくためには、葉の形態的特性にも着目して調査する必要がある。また本研究では、異なる窒素施肥条件で栽培したときのPnとPNUEの系統間差について検討を行ったが、これらが個体レベルのNUEとどのように関連するかについては、個体の葉面積や葉身への窒素分配が窒素施肥量に対してどのように反応するのか等、個体レベルの生理生態的特性を踏まえて検討する必要がある。

最近、Huangら(2012)は*O. rufipogon*が*O. sativa*の日本型亜種の祖先種であること、また*O. rufipogon*が栽培化されて生まれた古代ジャポニカ品種が*O. nivara*と交雑したことにより*O. sativa*のインド型亜種が生じたと推論している。Maruyama and Tajima(1990)は日本型品種よりもインド型品種のGsが高いことを見出している。また、インド型品種は日本型品種と比較して、窒素施肥に対する初期生育の反応が高く、この傾向は特に少窒素施肥条件下で明確に見られることが指摘されている(御子柴・高瀬1965)。これらの傾向は、本研究で調査したNVRと日本晴の間でもみられた。したがって、本研究で見出されたNVRの特性がインド型品種に受け継がれているとすれば、*O. sativa* 亜種間の窒素反応に関わる生理特性の違いに*O. nivara*の光合成特性が密接に関わっている可能性がある。また一般に*O. nivara*は熱帯アジアの雨季と乾季がはっきり分かれた湿地帯に分布しており(森島2001)、加えて通

常人為的な施肥を受けない、栽培品種と比べて低い窒素環境で生育していると考えられる。したがって、本研究で示された低窒素施肥条件で光合成能、光阻害耐性並びにPNUEが高いというNVRの生理的特性は、自生地での低窒素・高日射環境に適応した結果獲得されたものかもしれない。さらに本研究で確認されたNVRの光合成特性は、*O. sativa*品種と比べて特に低窒素施肥条件において優れているものと考えられ、これが低窒素施肥条件での高い乾物生産能とNUE(Hamaokaら2013)に寄与しているものと推察される。以上より、野生イネ*O. nivara*のもつ優れた光合成特性は、低窒素施肥型の品種育成にとって有用な遺伝資源になるものと考えられる。

謝辞：本研究で供試した野生イネの種子は、九州大学大学院農学研究院植物育種学研究室、吉村淳博士並びに安井秀博士から分譲を受けた。また、窒素分析および機器の使用に当たり、九州沖縄農業研究センター、松尾直樹博士のご協力を得た。記して感謝の意を表す。

引用文献

- Brar, D.S. and Khush, G.S. 1997. Alien gene introgression in rice. *Plant Mol. Biol.* 35: 35-47.
- Evans, J.R. and Terashima, I. 1987. Effect of nitrogen nutrition on electron transport components and photosynthesis in spinach. *Aust. J. Plant Physiol.* 14: 59-68.
- Evans, J.R. 1989. Photosynthesis and nitrogen relationships in leaves of C₃ plants. *Oecologia* 78: 9-19.
- Farquhar, G.D., von Caemmerer, S. and Berry, J.A. 1980. A biochemical model of photosynthetic CO₂ assimilation in leaves of C₃ species. *Planta* 149: 78-90.
- Field, C. and Mooney, H.A. 1986. The photosynthesis-nitrogen relationship in wild plant. In: Givnish, T.J. ed., *On the Economy of Form and Function*. Cambridge University Press, Cambridge. 25-55.
- Fujita, D., Yoshimura, A. and Yasui, H. 2010. Development of near-isogenic lines and pyramided lines carrying resistance genes to green rice leafhopper (*Nephotettix cincticeps* Uhler) with the Taichung 65 genetic background in rice (*Oryza sativa* L.). *Breed. Sci.* 60: 18-27.
- Genty, B.J., Briantais, M. and Baker, N.R. 1989. The relationship between the quantum yield of photosynthetic electron transport and quenching of chlorophyll fluorescence. *Biochem. Biophys. Acta* 990: 87-92.
- Hamaoka, N., Uchida, Y., Tomita, M., Kumagai, E., Araki, T. and Ueno, O. 2013. Genetic variations in dry matter production, nitrogen uptake, and nitrogen use efficiency in the AA genome *Oryza* species grown under different nitrogen conditions. *Plant Prod. Sci.* 16: 107-116.
- 濱岡範光・上野修 2011. AA ゲノム野生イネ *Oryza nivara* における光合成特性の窒素反応. 日作紀 80 (別 1): 122-123.
- 濱岡範光・内田遊里・富田匡斐・荒木卓哉・上野修 2012. 野生イネ *Oryza nivara* における¹⁵N 流入速度からみた窒素吸収特性. 日作紀 81 (別 2): 278-279.
- Hikosaka, K. 2004. Interspecific difference in the photosynthesis-nitrogen relationship: patterns, physiological causes, and ecological importance. *J. Plant Res.* 117: 481-494.

- Hirasawa, T., Ozawa, S., Taylaran, R.D. and Ookawa, T. 2010. Varietal differences in photosynthetic rates in rice plants with special reference to the nitrogen content of leaves. *Plant Prod. Sci.* 13: 53-57.
- Huang, X.H., Kurata, N., Wei, X.H., Wang, Z.X., Wang, A., Zhao, Q., Zhao, Y., Liu, K.Y., Lu, H.Y., Li, W.J., Guo, Y.L., Lu, Y.Q., Zhou, C.C., Fan, D.L., Weng, Q.J., Zhu, C.R., Huang, T., Zhang, L., Wang, Y.C., Feng, L., Furuumi, H., Kubo, T., Miyabayashi, T., Yuan, X.P., Xu, Q., Dong, G.J., Zhan, Q.L., Li, C.Y., Fujiyama, A., Toyoda, A., Lu, T.T., Feng, Q., Qian, Q., Li, J.Y. and Han B. 2012. A map of rice genome variation reveals the origin of cultivated rice. *Nature* 490: 497-503.
- 石原邦・江原宏昭・平沢正・小倉忠治 1978. 水稻葉における気孔開度と環境条件との関係. 第 7 報 葉身のチッソ濃度と気孔開度の関係. *日作紀* 47: 664-673.
- Jiang, L.G., Dong, D.F., Gan X.Q. and Wei, S.Q. 2005. Photosynthetic efficiency and nitrogen distribution under different nitrogen management and relationship with physiological N-use efficiency in three rice genotypes. *Plant Soil* 271: 321-328.
- Kumagai, E., Araki, T. and Kubota, F. 2009. Characteristics of gas exchange and chlorophyll fluorescence during senescence of flag leaf in different rice (*Oryza sativa* L.) cultivars grown under nitrogen-deficient condition. *Plant Prod. Sci.* 12: 285-292.
- Kumagai, E., Araki, T. and Ueno, O. 2010. Comparison of susceptibility to photoinhibition and energy partitioning of absorbed light in photosystem II in flag leaves of two rice (*Oryza sativa* L.) cultivars that differ in their responses to nitrogen-deficiency. *Plant Prod. Sci.* 13: 11-20.
- 黒田栄喜・玖村敦彦 1990. 水稻個葉の光合成速度における新旧品種間差異. 第 1 報 個葉光合成速度と気孔伝導度. *日作紀* 59: 283-292.
- Long, S.P. and Hallgren, J.E. 1985. Measurements of CO₂ assimilation by plants in the field and the laboratory. In: Coombs, J., Hall, D.O., Long, S.P. and Scurlock, J.M.O. eds., *Techniques in Bioproductivity and Photosynthesis*. Pergamon Press, Oxford. 62-94.
- Makino, A., Mae, T. and Ohira, K. 1985. Photosynthesis and ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase oxygenase from emergence through senescence - quantitative analysis by carboxylation oxygenation and regeneration of ribulose-1,5-bisphosphate. *Planta* 166: 414-420.
- 牧野雄太郎・上野修 2013. ソルガム (*C₄*) の葉の構造・機能特性に及ぼす窒素の影響. 2. 葉肉細胞と維管束鞘細胞の構造について. *日作紀* 82 (別 1): 212-213.
- 丸山博子・平尾健二・窪田文武 2000. 環境条件に対する栽培イネ, *O. glaberrima* Steud. および *O. sativa* L. の乾物生産と気孔反応特性. *日作紀* 69 (別 2): 278-279.
- Maruyama, S. and Tajima, K. 1990. Leaf conductance in japonica and indica rice varieties. I. Size, frequency, and aperture of stomata. *Jpn. J. Crop Sci.* 59: 801-808.
- 御宇柴晴夫・高瀬経道 1965. 印度型水稻の施肥反応. 第 1 報 窒素施肥量の差異が印度型水稻の生育・収量に及ぼす影響. *熱帯農業* 9: 19-23.
- 森島啓子 2001. 野生イネへの旅. 裳華房, 東京. 24-51.
- Murchie, E.H., Pinto, M. and Horton, P. 2009. Agriculture and the new challenges for photosynthesis research. *New Phytol.* 181: 532-552.
- 長田明夫・村田吉男 1962. 水稻品種の光合成と耐肥性に関する研究. 第 1 報 中生品種の光合成と耐肥性との関係. *日作紀* 30: 220-223.
- Prasad, B. and Eizenga, G.C. 2008. Rice sheath blight disease resistance identified in *Oryza* spp. accessions. *Plant Disease* 92: 1503-1509.
- Ray, D., Sheshshayee, M.S., Mukhopadhyay, K., Bindumadna, H., Prasad T.G. and Kumar, M.U. 2003. High nitrogen use efficiency in rice genotypes is associated with higher net photosynthetic rate at lower Rubisco content. *Biol. Plant.* 46: 251-256.
- 斎藤邦行・下田博之・石原邦 1993. 水稻多収品種の乾物生産特性の解析. 第 6 報 新・旧品種の比較を通じて. *日作紀* 62: 509-517.
- Scafaro, A.P., Haynes, P.A. and Atwell, B.J. 2010. Physiological and molecular changes in *Oryza meridionalis* Ng., a heat-tolerant species of wild rice. *J. Exp. Bot.* 61: 191-202.
- Sheshshayee, M.S., Krishnaprasad, B.T., Nataraja, K.N., Shankar, A.G., Kumar, M.U. and Prasad, T.G. 1996. Ratio of intercellular CO₂ concentration to stomatal conductance is a reflection of mesophyll efficiency. *Curr. Sci.* 70: 672-675.
- 塩田拓之・立場真衣・上野修 2012. イネ属 (*Oryza*) 植物における光合成能と葉身窒素含量との関係, 特に光合成窒素利用効率の変異について. *日作紀* 81 (別1): 302-303.
- 田川毅明・平尾健二・窪田文武 2000. アフリカイネ, *Oryza glaberrima* Steud., の個葉光合成における窒素利用効率の種特性. *日作紀* 69: 74-79.
- 武田友四郎・岡三徳・縣和一 1983. 暖地における水稻品種の物質生産に関する研究. 第 1 報 明治期以降の新旧品種の乾物生産特性. *日作紀* 52: 299-306.
- Wintermans, J.F.G.A. and de Mots, M. 1965. Spectrophotometric characteristics of chlorophyll and their pheophytins in ethanol. *Biochem. Biophys. Acta* 109: 44-45.
- Wright, I.J., Reich, P.B., Westoby, M., Ackerly, D.D., Baruch, Z., Bongers, F., Cavender-Bares, J., Chapin, T., Cornelissen, J.H.C., Diemer, M., Flexas, J., Garnier, E., Groom, P.K., Gulias, J., Hikosaka, K., Lamont, B.B., Lee, T., Lee, W., Lusk, C., Midgley, J.J., Navas, M.-L., Niinemets, U., Oleksyn, J., Osada, N., Poorter, H., Poot, P., Prior, L., Pyankov, V.I., Roumet, C., Thomas, S.C., Tjoelker, M.G., Veneklaas, E.J. and Villar, R. 2004. The worldwide leaf economics spectrum. *Nature* 428: 821-827.
- Yeo, M.E., Yeo, A.R. and Flowers, T.J. 1994. Photosynthesis and photorespiration in the genus *Oryza*. *J. Exp. Bot.* 45: 553-560.
- Yoshida, S., Forna, Cock, J.A. and Gomez, K.A. 1972. Laboratory manual for physiological studies of rice. International Rice Research Institute, Manila, Philippines. 56.

The Effect of Nitrogen Application Level on Photosynthetic Traits in the AA Genome Wild Rice Species, *Oryza nivara*: a Comparison with the *Oryza sativa Japonica* Cultivar, Nipponbare : NORIMITSU HAMAOKA¹⁾ and OSAMU UENO²⁾ (¹⁾Graduate School of Bioresource and Bioenvironmental Sciences, Kyushu University, Hakozaki, Higashi-ku, Fukuoka, 812-8581, Japan, ²⁾Faculty of Agriculture, Kyushu University, Hakozaki, Higashi-ku, Fukuoka, 812-8581, Japan)

Abstract : The optimization of nitrogen (N) application level and the development of cultivars with high physiological N use efficiency (NUE) are needed to establish a sustainable rice cropping system. In our previous study, we found that a strain of wild rice species *Oryza nivara* (IRGC105715; NVR) shows high NUE under low N conditions. In this study we investigated photosynthetic traits of NVR in comparison with the *O. sativa japonica* cultivar Nipponbare. Plants were water-cultured under three N conditions; standard N (1N), medium N (1/2N) and low N (1/4N) levels. At the vegetative stage, leaves of NVR showed a higher photosynthetic rate, stomatal conductance (G_s) and CO_2 fixation activity than those of Nipponbare under 1/2N and 1/4N conditions. NVR also showed higher maximum quantum yield of photosystem II than Nipponbare under 1/4N condition. NVR tended to have higher specific leaf weight and leaf N content than Nipponbare. Under 1/2N and 1/4N conditions, NVR exhibited higher photosynthetic N use efficiency (PNUE) than Nipponbare. These data demonstrate that NVR have higher photosynthetic capacity and PNUE than Nipponbare under low N conditions. These traits may be attributed to the maintenance of higher G_s , photochemical activity and leaf N content under a low N condition in NVR. It is suggested that the photosynthetic properties of NVR may be a promising genetic trait for breeding of cultivars suitable for low N-input agriculture.

Key words : Low nitrogen application, Nitrogen response, *Oryza nivara*, Photosynthesis, Photosynthetic nitrogen use efficiency, Wild rice species.
