

総 説

浮稲節間の伸長成長 —植物ホルモンによる調節と細胞壁の変化—

東哲司・笹山大輔・伊藤一幸
(神戸大学大学院農学研究科)

要旨：浮稲は、洪水環境で栽培可能な唯一の作物であり、それは主として深水状態で急速に節間を伸長させる能力に基づく。環境ストレスに対するこの浮稲の適応機構は、生態学や形態学、遺伝学、生理・生化学、分子生物学などの様々な観点から研究がなされてきた。本稿では、浮稲節間の急速な伸長成長に関して、植物ホルモンによる調節と細胞壁の構造変化を中心に調査してきた著者のグループの研究について主に紹介したい。

キーワード：浮稲、エクспанシン、エチレン、細胞壁、植物ホルモン、成長、節間伸長、低酸素。

浮稲 (*Oryza sativa* L.) は雨期に大規模な洪水が生じる地域で栽培されている特殊なイネで、水深 1 m を超える深水状態が 5 カ月も続くような環境でも栽培が可能である (Catling 1992, Maclean ら 2002)。2004-2006 年での世界における浮稲の栽培面積はおよそ 420 万 ha であり、全稲作面積の 2.8% に相当する (IRRI 2008)。浮稲はアジアとアフリカで栽培されており、その栽培面積の約 80% はアジアである。アジアで浮稲が栽培されている地域は東南アジアと南アジアに集中しており、バングラデシュ (117 万 ha)、ミャンマー (49 万 ha)、ベトナム (22 万 ha)、カンボジア (19 万 ha)、ネパール (12.5 万 ha)、タイ (5 万 ha) などがある。これらの国は、ガンジス川、ブラマプトラ川、イラワジ川、メコン川、チャオプラヤ川といった大河川を有し、それらのデルタ地帯が浮稲栽培地帯となっている。また、その詳細は不明であるが、インドやインドネシアでも浮稲が栽培されているようである。アフリカでの浮稲の栽培面積はおよそ 70 万 ha と見積もられ、西アフリカ地域で栽培されているようである (IRRI 2008)。

浮稲の収量は総じて低く、水深 1 m から最大 4~5 m といった厳しい水位条件にも適応可能な浮稲品種 (floating rice, 第 1 図) の収量 (籾) はおよそ 1.0~2.5 t/ha に過ぎない (Maclean ら 2002)。これらの品種では急激な水位上昇に適応する能力が優先されるため、育種などによる収量の向上は難しい。一方、1 m 以下の比較的穏やかな水位に適応可能な浮稲品種は深水稲 (deepwater rice) とよばれ、その収量はより高く最大で 4 t/ha に達する (Maclean ら 2002)。それでもなお、灌漑を利用した水稲生産に比べれば、浮稲の収量は低い水準といえるだろう。高い収量性と、浮稲のもつ深水条件に対する高い適応性を併せ持つイネ品種を作出することは、食糧増産の一助となると考えられ、浮稲の深水適応性の解明は重要な研究課題であるといえる。

浮稲が有する高い深水適応性は、深水条件下での急激な

節間伸長に基づく。それゆえ浮稲研究は、節間とその伸長成長に関して数多く行われてきた。日本の栽培品種では、節間伸長は生殖成長期における幼穂分化から出穂にかけてみられる現象であるが、浮稲では栄養成長期の比較的早い段階から伸長節間が形成される。発育に伴って最初に伸長する節間は伸長最低節間 (LEI, lowest elongated internode) と呼ばれ、LEI の位置は生育条件によってやや変動するものの、それぞれの品種に固有の性質であり、深水抵抗性すなわち浮稲性の指標とされている (井之上 1987)。近年、いくつかのグループにより LEI を司る QTL の同定が試みられ、第 3 染色体および第 12 染色体に座乗することが明らかにされている (Nemoto ら 2004, Kawano ら 2008)。*Oryza* 属で浮稲性を有する種は *O. sativa* だけでなく、同じく栽培種の *O. glaberrima* (Watarai and Inouye 1996, Mochizuki ら 1998, Futakuchi ら 2001)、それぞれの野生種である *O. rufipogon* と *O. barthii* (Kihara ら 1962, Morishima ら 1962)、南米の野生種である *O. glumaepatula* と *O. glandiglumis* (塩・東 未発表) が知られている。

深水条件での浮稲の急速な節間伸長には、エネルギー供給が必要となる。それゆえ、物質生産の面からも多くの研究が行われてきた。浮稲を水位上昇処理すると、水面上の葉の光合成能力が増大し (Yamaguchi ら 1989)、葉から節間への同化産物の転流が促進され、シンク器官への分配パターンが変化する (内田 ら 1989a, b, Uchida ら 1990, Hirano ら 1995, 1996, 1997) ことが明らかにされている。

浮稲に関連した近年の分子生物学の研究分野では、転写因子としての特徴を備えジベレリン (GA) によって発現が上昇する遺伝子 *Os-GRF1* (*Growth-Regulating Factor1*) の同定 (van der Knaap ら 2000)、シロイヌナズナのエチレンレセプターと高い相同性を示し、深水処理で発現が上昇する *Os-ERL1* (*Ethylene Response 2 like 1*) の同定 (Watanabe ら 2004)、アブシジン酸 (ABA) 不活性化酵素遺伝子の単



第1図 水位上昇処理により2 m以上に伸ばした浮稲。

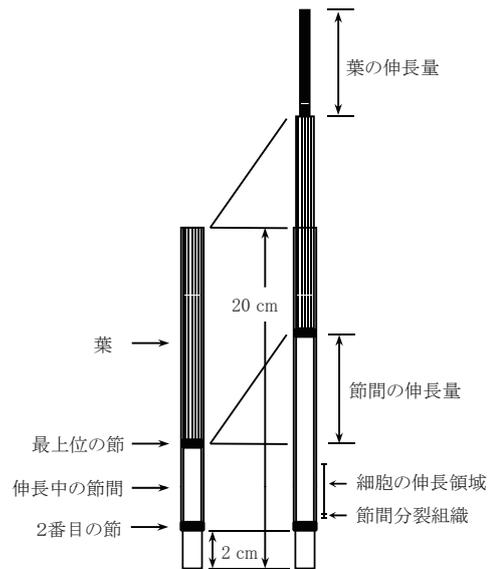
離 (Yang and Choi 2006) といった進展が見られる。

このように浮稲の深水下での節間伸長はさまざまな観点から研究されており、多くの知見が得られている。それらの研究に関しては既に優れた総説が他に多く発表されているため (菅 1984, 1988, 井之上 1987, 佐野・永口 1992, Kende ら 1998, Sauter 2000), 本稿では、植物ホルモンによる節間伸長の調節と細胞壁の構造変化について我々の研究を中心に述べさせていただく。本稿でご紹介できない部分については前述の総説をご参考願いたい。

1. 植物ホルモンによる伸長調節

エチレンは、植物の多くの生理現象に関与する植物ホルモンであり、一般に陸上植物においては茎葉の成長を抑制することが知られている。1970年にKuらにより、エチレンがイネ子葉鞘の成長を促進することが発見されて以来、多くの水生・半水生植物の茎葉がエチレンにより伸長することが見いだされた。これらの植物では深水条件におかれると、一刻も早く水面上にその体の一部を抽出するために、水中で組織内に蓄積するエチレンを伸長成長誘導のためのシグナルとして利用したと考えられている。1983年にMétraux and Kendeは、浮稲を深水処理すると節間組織内のエチレン濃度が上昇することと、気中栽培している植物体をエチレン処理すると節間の伸長が誘導されることより、深水下での浮稲の旺盛な成長にエチレンが重要な役割を担っていることを明らかにした。

エチレンだけでなく、GAの関与も調査されてきた。浮稲を浸水すると内生GA活性が増大し (Yamaguchi 1974, Suge 1985, Azuma ら 1990b), また気中で生育中の植物体にGAを投与すると節間の伸長が誘導される (Raskin and Kende 1984b, Suge 1985, Azuma ら 1990b)。Raskin and Kende

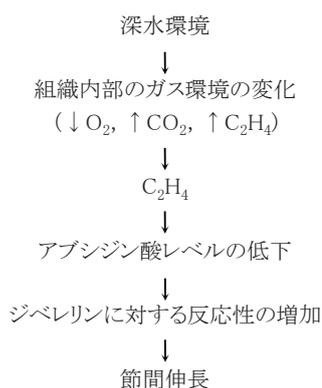


第2図 浮稲茎切片の模式図。

浮稲は幼穂形成を伴わずに伸長節間を形成するため、栄養成長期の主稈と分けつから左図のような最上位で伸長中の節間を有する茎切片を作成することができる。実際の茎切片では、最上位の節間は上から2番目の節由来の葉鞘で包まれている。茎切片に含まれる伸長中の節間は、深水処理やエチレン処理、ジベレリン処理によって無傷植物と同様に伸長する (Raskin and Kende 1984a, b)。右図は処理後の茎切片の様子を示す。節間の伸長により、茎切片の上部から節間の上の葉が出現し、さらにその上から葉の伸長により次位の葉が抽出する。節間の下から2-5 mmの箇所に節間分裂組織があり、それより上の約3 cmの範囲が細胞の伸長領域となる。茎切片を用いることで、実験系が単純化できると共に汎用化できるため、浮稲の深水適応の研究に大きな貢献を果たしてきた。

(1984b)は、GA合成阻害剤で予め処理した浮稲茎切片(第2図)を深水処理やエチレン処理しても節間の伸長は誘導されないが、GAを与えると節間の伸長は回復し、その際にエチレンを同時に処理するとGAに対する反応性が増大することを見いだした。これらの結果は、エチレンは内生GA活性を増大させることにより浮稲節間の伸長を誘導していることを示唆するが、エチレン処理によって内生GA活性はむしろ低下することが報告されている (Azuma ら 1990b)。その後、エチレンによるGAに対する節間の反応性の増大は、GAの拮抗物質であるABAの生体内量がエチレン処理によって低下することで説明されている (Hoffmann-Benning and Kende 1992, Azuma ら 1995)。

節間の伸長に及ぼす他の植物ホルモンの作用も調べられている。ABAとインドール酢酸 (IAA)、ベンジルアデニン (BA)は単独では成長を促進することではなく、GAと共に与えるとABAとBAはGAが誘導する節間の伸長を抑制した (Azuma ら 1990b)。IAAは、投与濃度によってはGAによる伸長促進をさらに増大させた (Azuma ら 1990b)が、エチレン発生量も同時に増加したので、この促進はエチレ



第3図 深水と節間の伸長促進とを結ぶ反応鎖仮説。

深水環境では、低酸素状態になることでエチレン発生が増大すること、ガス拡散速度の低下により節間組織内でエチレンが蓄積する。蓄積したエチレンがアブシジン酸含量の低下を導き、このことがジベレリンの反応性を増加させることで急激な節間伸長が引き起こされるとされている (Kende ら 1998)。

ンによる作用かも知れない。ブラシノライドはわずかに節間の伸長を促進した (東 1991) が、その合成阻害剤による処理は GA が誘導する節間伸長に全く影響を及ぼさなかった (Azuma and Kende 未発表) ので、急速な節間伸長にブラシノライドが関与しているとは考えにくい。

その後、Kende ら (1998) は、深水条件におかれた浮稲が急速な節間伸長を示すまでの反応を、第3図に示すようにエチレン・GA・ABA の3つの植物ホルモンの関与で説明している。この反応の因果鎖の仮説と対比させて、以下に我々の研究結果を述べさせていきたい。

(1) エチレンに依存しない低酸素による節間伸長の促進

第3図に示した反応鎖において、伸長を誘導するための最初のシグナルは組織内のガス組成の変化である。その組成の変化の中で、特に酸素濃度の低下が、エチレン合成の鍵酵素であるアミノシクロプロパン-1-カルボン酸 (ACC) 合成酵素の活性を高めることでエチレン合成を促進するとされている (Cohen and Kende 1987)。確かに、浮稲茎切片を低酸素 (3%) のガス環境で培養すると、節間伸長の促進とエチレン発生量の増加が認められる (Raskin and Kende 1984a) が、エチレンの合成阻害剤であるアミノオキシ酢酸 (AOA) を投与して、エチレンの発生量をコントロールレベル以下に低下させても低酸素による節間の伸長促進は依然として認められた (Azuma ら 2001)。そこで 0 から 20% の酸素濃度で茎切片を培養し AOA 処理の影響を調べたところ、1~5% の酸素濃度で節間の伸長が促進され (最大は濃度 2% の時)、その濃度反応曲線は AOA 投与によりエチレン発生を抑制しても全く変化しなかった (定井ら 2008)。また、葉の成長も低酸素 (4~5%) により AOA 処理に関係なく促進された。浮稲茎切片を深水処理した場合、節間の成長だけでなく葉の成長も促進される (Azuma ら 1990a) のに対し、エチレン処理した場合は節間の伸長

は促進されるが葉の成長は抑制される (Raskin and Kende 1984a)。したがって、深水下での葉の成長促進には低酸素環境が関係していると思われる。

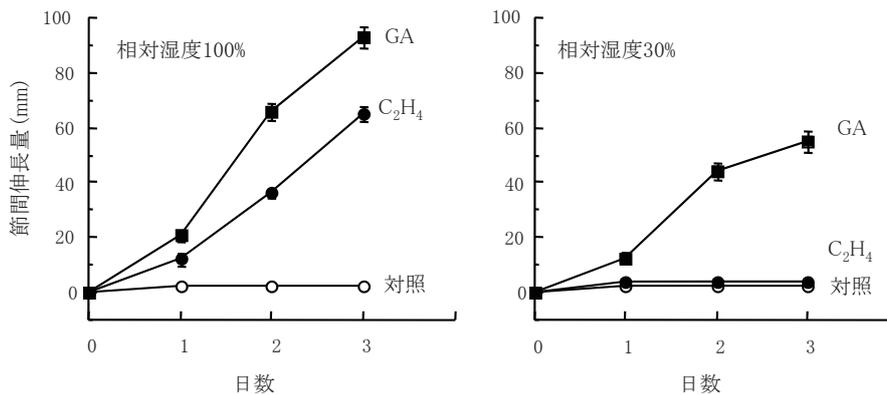
低酸素環境で茎切片を培養すると節間のエチレン発生量が増加する (Cohen and Kende 1987) が、ジベレリン処理や深水処理によっても増大する (Azuma ら 1994, 2001)。これらの処理は全て節間の伸長を促進する処理である。節間組織から切片を切り出し、それら節間切片を GA 処理や低酸素処理しても伸長は誘導されずエチレン発生も増加しないのに対し、オーキシシン処理では伸長とエチレン発生の両方が促進された (Azuma ら 2001)。これらのことより、低酸素環境が誘導するエチレン合成の増加は低酸素に特異的なものではなく、成長が促進される際に見られる共通の現象であると考えられる。

深水条件では水中でのガス拡散速度の低下により、容易に植物体内にエチレンが蓄積する。また、浮稲を明所の下で水に沈めると、光合成により放出される酸素がトラップされるため組織内は低酸素状態にはならない (東ら 1994)。それでは、深水状態で低酸素による伸長促進が重要となる場面があるのだろうか? 浮稲は大河川流域で栽培されているため、濁った流水の下で深水環境となる。そのような環境では、流水のためエチレンは拡散しやすく、また光が水中に届きにくいいため植物体内が低酸素状態になると考えられる。このような環境では、エチレンとは独立の低酸素による節間の伸長が起きていると著者は考えている。

(2) エチレンと GA が誘導する節間伸長と水分環境

浮稲茎切片をエチレンあるいは GA で処理すると、深水処理した場合と同様に、節間の伸長が誘導される (Raskin and Kende 1984a, b)。我々は、エチレンおよび GA が誘導する節間伸長と湿度条件との関係を調査した結果、エチレンと GA は高湿度環境では共に節間の伸長を促進するが、低湿度環境ではエチレンが誘導する節間伸長はほぼ完全に抑制されるのに対し、GA が誘導する節間伸長は低湿度でも生じることを見いだした (第4図; Azuma ら 1991)。低湿度環境でエチレンが節間の伸長を誘導しない現象は茎切片だけでなく、エチレン発生剤 (エセフォン) を含む培養液を用いて屋外で水耕栽培した無傷植物体でも認められた (Azuma ら 1995)。これらの植物体は、高湿度で節間伸長を誘導するのに十分な濃度のエチレンを生体内に含んでいたが節間の伸長促進はみられず、それらを深水処理することにより伸長が誘導された (Azuma ら 1995)。深水下での浮稲の表面には水との間に空気層が形成され (Raskin and Kende 1983)、この空気層は水蒸気で飽和している。したがって、深水状態は植物体に高湿度環境をもたらす、この環境が、エチレンが誘導する節間伸長に必要なことを以上の結果は示している。

次に我々は、エチレンが誘導する節間伸長が低湿度環境ではみられないことを、水ストレス状態で含量が増加することが多くの植物で報告されている ABA の含量変化で説



第4図 節間の伸長に及ぼす大気湿度の影響。

浮稲茎切片をエチレン (10 μ L/L) とジベレリン酸 (10 μ M) で処理し、相対湿度 30% あるいは 100% で培養した。

明することを試みた。しかしながら、エチレンは低湿度環境で節間の伸長を誘導しないにもかかわらず、ABA レベルを顕著に低下させた (Azuma ら 1995)。それゆえ、この現象を ABA 含量の変化で説明することはできないといえる。

では、GA はどうして低湿度環境でも浮稲節間の伸長を誘導することができるのだろうか。一般に、植物細胞の伸長は、細胞内と細胞外 (アポプラスト) の水ポテンシャルの差により生じる細胞の吸水力によってもたらされる。低湿度環境では、蒸散が促進されるためアポプラストに陰圧がかかり、外液の水ポテンシャルが低下する。これに対抗して成長に必要な吸水力を得るためには、細胞内の水ポテンシャルを低下させることが必要で、そのためより多くの浸透溶質を細胞内に必要とする。GA が細胞伸長を促進する際に浸透調節を行うことがいくつかの植物で報告されている。そこで、低湿度環境で浮稲節間の伸長を誘導することのできる GA の作用を浸透調節の面から調査した。深水処理や高湿度条件でエチレンや GA 処理した茎切片では、節間の伸長部位の細胞液浸透ポテンシャルは、伸長するにつれて次第に増加したのに対し、低湿度で GA 処理したものでは浸透ポテンシャルは低く保たれていた (Azuma ら 1997)。また、この浸透ポテンシャルの維持には、細胞内の可溶性糖含量の増加とインベルターゼ活性の増大を伴っていた。以上の結果は、低湿度環境での GA による節間伸長の促進は、糖供給に基づく浸透調節作用が関与していることを示唆する。低湿度でエチレンが節間伸長を誘導できないのは、エチレンには浸透調節作用がないことが原因である可能性はあるが、実証するのは難しい。というのは、低湿度条件ではエチレンにより節間伸長が誘導されないため、高湿度条件のエチレン処理で伸長が誘導された節間と細胞液の浸透ポテンシャルを比較しても、エチレンの浸透調節作用を検討することはできないからである。

前述したように、低湿度条件では蒸散が促進されるため、この条件で細胞伸長を誘導するにはより多くの浸透溶質を細胞内に必要とし、細胞伸長にとっては不利な環境であると

いえる。それに対し高湿度や水中環境は、蒸散が抑えられ浸透調節の必要が少ないため細胞伸長には都合のよい環境となる。このように、蒸散速度の違いが細胞伸長に影響を及ぼすと考えられるので、エチレンや GA が浮稲茎切片の蒸散速度に及ぼす影響を次に調査した。低湿度条件では、エチレンは節間の伸長を促進することができないにもかかわらず、茎切片の水の取込量および蒸散量は GA 処理した茎切片や対照の茎切片に比べて有意に高かった (Azuma ら 2003a)。一方、エチレンと GA が共に節間の伸長を誘導できる高湿度環境では、これらのホルモン処理により茎切片の蒸散量に差はなかった。以上のことより、低湿度条件でエチレンが節間の伸長を促進できないのは、この環境ではエチレンにより蒸散が促進されることにより、細胞外液の水ポテンシャルがさらに低下することがその一因となっていると考えられる。興味深いことに、低湿度環境でエチレンと低濃度の GA とを共に与えると、ABA は節間の伸長を促進した (Azuma ら 2003b)。この ABA の作用は高湿度環境では見られなかったことから考えると、エチレンは低湿度環境で蒸散を促進するが、ABA は気孔閉鎖を導くことによりその蒸散を抑制し、その結果、節間の伸長が促進されたものと推察される。

エチレンによる細胞伸長が湿度によって影響を受けるとい現象は、浮稲節間だけではなく、イネ実生の葉でも見られた (Azuma ら 2007)。この場合、エチレン処理は、高湿度環境では葉の成長を促進したのに対し、低湿度環境では成長を抑制した。一方 GA は湿度に関係なく葉の成長を促進した。またこの湿度環境によるエチレンの異なる作用は、インド型である浮稲のような長稈品種だけでなく、日本型矮性品種の短銀坊主でもみられた。エチレンは、イネ組織の成長を抑制あるいは促進するという両方の作用を有しており、その作用の発現は周りの水分環境の違いにより誘導されると考えられる。

2. 節間伸長と細胞壁の変化

深水条件での浮稲節間の伸長は、節間基部に位置する介

在分裂組織における細胞分裂速度の増加と、それによって新たに生じた細胞の伸長促進によって達成される (Kende ら 1998)。植物細胞の伸長は吸水による成長であり、それには細胞壁の伸張が不可欠である。以下に、浮稲節間の伸長を細胞壁の構造および伸展性の変化の面から調査した研究結果について紹介する。

(1) 細胞壁多糖類

細胞壁は、結晶性のセルロースによって構成される微繊維 (セルロースマイクロフィブリル) を骨格とし、その間に多様なヘミセルロースおよびペクチンからなるマトリックス多糖が埋め込まれている構造をもつ。ヘミセルロースはセルロースと結合することで細胞壁に強度と弾力性を与えており、ヘミセルロースの切断やつなぎ換えといった構造の変化は細胞壁の伸展性を増加させると考えられている (Cosgrove 2005)。細胞壁の構造において重要な役割を担うこれらの多糖の量と種類に関して、深水下で急激に伸長している節間と空气中で緩やかに伸長している節間では明らかな違いがみられる。深水下で伸長中の節間の細胞壁は、空气中で生育中の節間の細胞壁と比較して、単位長さあたりのセルロースとヘミセルロースの量が数倍低く、これは深水下で伸長中の節間の細胞壁がかなり薄い構造になっていることを意味する (Azuma ら 1996)。ヘミセルロースを構成する単糖の組成を分析したところ、主要な糖としてアラビノース、キシロース、ガラクトース、グルコースが検出された。節間の伸長領域ではグルコースが最も割合の多い糖であり、一方伸長をすでに終えた領域ではキシロースの占める割合が最も高く、これらの組成は深水下条件と空中条件で生育中の節間で同様であった (Azuma ら 1996)。

伸長領域で高い割合で存在するグルコースの分布は、イネ科植物の成長中組織の細胞壁における主要なヘミセルロースの1つである $(1 \rightarrow 3), (1 \rightarrow 4)\beta$ -D-グルカンの分布と一致した (Sauter and Kende 1992, 村永ら 2001)。イネ科植物では、細胞壁中の $(1 \rightarrow 3), (1 \rightarrow 4)\beta$ -D-グルカンの加水分解が、細胞壁の伸展性の増加をもたらすことによって細胞伸長を導く可能性が示唆されている (Hoson 1993, Carpita 1996)。そこで、浮稲節間の細胞壁中の $(1 \rightarrow 3), (1 \rightarrow 4)\beta$ -D-グルカン加水分解酵素の活性を調査したが、深水下条件の節間と空中条件の節間との間で、あるいは伸長領域と非伸長領域の間で有意な差は認められなかった (村永ら 2001)。したがって、深水下条件での節間の急速な細胞伸長には、細胞壁中の $(1 \rightarrow 3), (1 \rightarrow 4)\beta$ -D-グルカンの加水分解は関与していないようである。

浮稲茎切片を深水下条件から空气中に移すことによって節間の伸長速度が低下する際に、細胞壁中のヘミセルロース中のグルコース量はほとんど変化しない一方で、キシロース量は顕著に増加する (笹山ら 2008, Sasayama ら 2008)。このキシロースを含む多糖の増加が、節間の伸長において負の調節をしている可能性が考えられる。

(2) フェノール酸

イネ科植物の細胞壁中では、パラクマル酸やフェルラ酸などのフェノール酸がマトリックス多糖に多数エステル結合している。成長中の組織において、マトリックス多糖に結合しているフェルラ酸どうしが二量体化してジフェルラ酸を形成することにより細胞壁多糖が架橋され、それによって細胞壁の伸展性が低下して成長が停止すると考えられている (Fry 1986)。

そこで、深水下条件および空中条件の節間細胞壁におけるパラクマル酸、フェルラ酸、ジフェルラ酸の蓄積について調査を行った (Azuma ら 2005a)。まず節間における分布を調べたところ、フェルラ酸およびジフェルラ酸量は、深水下条件および空中条件の両節間ともに、基部の介在分裂組織の部位で最も低く、そこから細胞伸長領域にかけて節間上部に移るにつれて徐々に増加した。一方、パラクマル酸の量は細胞伸長領域全体で低く、細胞壁が肥厚すると共に増加した。

深水下条件で生育中の茎切片を空气中に移し、節間の伸長領域でのフェノール酸含量を経時的に測定したところ、フェルラ酸とジフェルラ酸は節間伸長の停止に先だって細胞壁内に蓄積したのに対し、パラクマル酸は伸長の停止後に顕著に増加した (Azuma ら 2005b)。この場合も、パラクマル酸量の変動は細胞壁重量の変動と同じパターンであった。

以上の結果より、細胞壁におけるフェルラ酸およびジフェルラ酸の蓄積は節間伸長の停止に関与していると考えられ、逆にこれらの蓄積を抑えることで急速な節間伸長が誘導されている可能性が示唆される。一方、パラクマル酸の蓄積は伸長停止後の二次細胞壁の形成に関係している可能性が高い。パラクマル酸あるいはフェルラ酸の投与は、GAが誘導する節間の伸長を抑制したが、その抑制作用はパラクマル酸よりもフェルラ酸の方が強かった (Azuma ら 2005c)。さらに、節間伸長と細胞壁中のフェルラ酸およびジフェルラ酸の蓄積との間には、パラクマル酸に比べてより強い負の相関が見出されたことなどからも、フェルラ酸およびジフェルラ酸の蓄積が節間伸長の調節に関与している可能性が支持される。

(3) エクспанシン

エクспанシンは 1992 年に McQueen-Mason らによって単離・同定された細胞壁タンパク質であり、酸性条件下で細胞壁の伸展を媒介する作用をもつ (Cosgrove 2000)。浮稲節間において、エクспанシンをコードすると予想される 12 の遺伝子が、GAの投与によって発現が上昇することが報告されており、これらの遺伝子が深水下での節間伸長の促進に関与していると推察されている (Cho and Kende 1997c, Lee and Kende 2001, 2002)。しかしながら、それぞれの遺伝子産物がエクспанシン活性をもっているかについてはほとんど報告がなく、現在のところ活性が確認されているのは OsEXPA4のみである (Cho and Kende 1997a, c)。

第1表 節間の細胞壁構成成分とエクспанシンに対する反応性との相関係数.

細胞壁構成成分 ($\mu\text{g}/\text{mg}$ cell wall)	相関係数
セルロース	-0.817
ヘミセルロース	-0.837
アラビノース	0.434
キシロース	-0.947*
ガラクトース	0.836
グルコース	0.305
バラクマル酸	-0.873
フェルラ酸	-0.969**
ジフェルラ酸	-0.917*

内生のエクспанシンを熱失活させた節間切片を、エクспанシンを含む酸性緩衝液に入れ、張力下で誘導される細胞壁の伸びをエクспанシンに対する反応性とした。相関係数は、笹山ら (2006, 2008) および Azuma ら (2005b) の結果をもとに算出した。**, *: 1%, 5%水準でそれぞれ有意。

Cho and Kende (1997b) は、節間細胞壁のエクспанシンに対する反応性およびイムノプロット分析によるエクспанシタンパク質量の調査により、深水条件での急激な節間伸長にエクспанシンが関与している可能性を初めて示唆した。我々は、節間伸長におけるエクспанシンの関与について、実際の活性に基づく調査、すなわち浮稲節間におけるエクспанシンの活性と細胞壁のエクспанシンに対する反応性に着目して調査を進めている。

まず、浮稲の深水条件での節間伸長にエクспанシンが実際に作用している可能性についての検討を行った。エクспанシンが作用しているならば、浮稲の節間の伸長は酸性条件で促進されると考え、節間組織を pH 4.5~7.0 の緩衝液に浸し伸長量を測定した。その結果、深水下で伸長中の節間は pH 5.5 の酸性緩衝液で最も伸長したのに対し、気中で生育している節間では酸性条件での伸長促進はほとんどみられなかった (Sasayama ら 2007)。したがって、深水下での急速な節間伸長に、酸性条件で作用するエクспанシンが関与している可能性が考えられる。次に、内生のエクспанシンが媒介する節間細胞壁の伸展を測定したところ、節間の伸長領域では高い伸展性がみられ、特に深水下で生育中の節間で著しく高い伸展性を有していた。この細胞壁の伸展性の差を、節間細胞壁中のエクспанシン活性と節間細胞壁のエクспанシンに対する反応性に分けて調査した。細胞壁中のエクспанシン活性は、深水条件と気中条件の節間と差がみられなかったのに対し、細胞壁のエクспанシンに対する反応性は、深水条件の節間の方が有意に高いことを見出した (Sasayama ら 2007)。この結果から、浮稲の深水条件での節間伸長はエクспанシン活性の変化よりも細胞壁のエクспанシンに対する反応性の変化によって調節されている可能性が示唆される。

次に、茎切片を深水条件から気中条件に移すことによる

節間の伸長の低下におけるエクспанシンの活性および細胞壁の反応性の関与について調査した。深水条件から気中条件に移した茎切片の節間の伸長速度は急速に低下し、その後節間伸長は停止した。この変化と、エクспанシンが媒介する細胞壁の伸展性の変化との間には非常に強い正の相関がみられ、この細胞壁伸展性の変化は、細胞壁中のエクспанシン活性とは相関がなく、細胞壁のエクспанシンに対する反応性との間に強い正の相関が認められた (笹山ら 2006, Sasayama ら 2009)。これらの結果からも、浮稲の深水下での節間伸長は、細胞壁のエクспанシンに対する反応性の調節を通じて制御されている可能性が考えられる。

では、節間細胞壁のエクспанシンに対する反応性は、どのようなメカニズムで調節されているのだろうか? まず考えられるのは細胞壁の構造変化である。上述したように、節間の伸長に伴い量に変化する細胞壁構成成分として、セルロース、ヘミセルロース、フェノール酸などが挙げられる。そこで、これらの物質の含量変化と細胞壁のエクспанシンに対する反応性との関係を調べたところ、ヘミセルロース中のキシロース、フェルラ酸、ジフェルラ酸と壁の反応性との間に有意な負の相関が認められた (第1表)。一方、節間細胞壁のエクспанシンに対する反応性の高い部位 (Sasayama ら 2007) は、節間細胞壁の (1→3), (1→4) β -D-グルカンを含む部位 (村永ら 2001) とほぼ一致する。したがって、細胞壁中の (1→3), (1→4) β -D-グルカンがエクспанシンに対する反応性に寄与している可能性もある。

おわりに

浮稲節間の深水下での急速な伸長は、エチレン・ABA・GA からなる反応鎖で誘導されると説明されてきた (第3図) が、上述したようにエチレンを介さない低酸素環境が誘導する反応経路も存在するようである。低酸素環境が、内生の ABA 含量や GA の作用に影響を及ぼしているかどうかに関してはさらに調査が必要であるが、エチレンによるものと低酸素によるものとの2つの反応経路が存在することは、浮稲が深水環境を生き抜く可能性を増大させるみごとな適応であるといえるだろう。また、急速な節間の伸長は、細胞壁のエクспанシンに対する反応性が重要な役割を担っているようである。この反応性の変化は、細胞壁の構造と組成の変化によりもたらされ、その制御を解明することが今後の課題であろう。

冒頭で述べたように浮稲の収量は低く、1970年代後半のポルポト政権下のカンボジアではその収量の低さから浮稲の栽培が禁じられたほどである (清野 2001)。しかしながら浮稲栽培は、直播栽培が一般的であるなど省力的であり、また洪水によって上流より栄養分が運ばれ、一方で洪水により雑草の成長が抑制されるため、肥料や除草剤の必要性が少なく、自然環境を利用した低投入の持続的農業であるといえる。浮稲田は徐々に減少しており、その多くは灌漑

田へと転換され、灌漑を利用した高投入型の稲作によって高収を達成しているが、今後、浮稲の重要性が見直される時が来るのではないかと著者は考えている。

引用文献

- Azuma, T., F. Mihara, N. Uchida, T. Yasuda and T. Yamaguchi 1990a. Internodal elongation and ethylene concentration of floating rice stem sections submerged at different water depths. *Jpn. J. Trop. Agr.* 34 : 265–270.
- Azuma, T., F. Mihara, N. Uchida, T. Yasuda and T. Yamaguchi 1990b. Plant hormonal regulation of internodal elongation of floating rice stem sections. *Jpn. J. Trop. Agr.* 34 : 271–275.
- Azuma, T., F. Mihara, N. Uchida, T. Yasuda and T. Yamaguchi 1991. Influence of humidity on ethylene-induced internodal elongation in floating rice. *Plant Cell Physiol.* 32 : 307–309.
- 東哲司 1991. 浮稲の節間伸長における植物ホルモンの役割に関する研究. 神戸大学学位論文 (国立国会図書館, 博士論文目録 91-R-42) (神戸大学学術成果リポジトリ, 甲 0975).
- Azuma, T., F. Mihara, N. Uchida, T. Yasuda and T. Yamaguchi 1994. Gibberellin-induced ethylene production in internodes of floating rice. *Jpn. J. Trop. Agr.* 38 : 78–82.
- 東哲司・金田康史・角田依子・内田直次・安田武司・山口禎 1994. 深水下での浮稲の節間伸長における酸素の必要性. *熱帯農業* 38(別1) : 51–52.
- Azuma, T., T. Hirano, Y. Deki, N. Uchida, T. Yasuda and T. Yamaguchi 1995. Involvement of the decrease in levels of abscisic acid in the internodal elongation of submerged floating rice. *J. Plant Physiol.* 146 : 323–328.
- Azuma, T., Y. Sumida, Y. Kaneda, N. Uchida and T. Yasuda 1996. Changes in cell wall polysaccharides in the internodes of submerged floating rice. *Plant Growth Regul.* 19 : 183–187.
- Azuma, T., S. Ueno, N. Uchida and T. Yasuda 1997. Gibberellin-induced elongation and osmoregulation in internodes of floating rice. *Physiol. Plant.* 99 : 517–522.
- Azuma, T., N. Uchida and T. Yasuda 2001. Low levels of oxygen promote internodal elongation in floating rice independently of enhanced ethylene production. *Plant Growth Regul.* 34 : 181–186.
- Azuma, T., T. Hatanaka, N. Uchida and T. Yasuda 2003a. Enhancement of transpiration by ethylene is responsible for absence of internodal elongation in floating rice at low humidity. *J. Plant Physiol.* 160 : 1125–1128.
- Azuma, T., T. Hatanaka, N. Uchida and T. Yasuda 2003b. Interactions between abscisic acid, ethylene and gibberellin in internodal elongation in floating rice : the promotive effect of abscisic acid at low humidity. *Plant Growth Regul.* 41 : 105–109.
- Azuma, T., N. Okita, T. Nanmori and T. Yasuda 2005a. Changes in cell wall-bound phenolic acids in the internodes of submerged floating rice. *Plant Prod. Sci.* 8 : 441–446.
- Azuma, T., N. Okita, T. Nanmori and T. Yasuda 2005b. Relationship between the deposition of phenolic acids in the cell walls and the cessation of rapid growth in internodes of floating rice. *Plant Prod. Sci.* 8 : 447–453.
- Azuma, T., N. Okita, T. Nanmori and T. Yasuda 2005c. Effect of phenolic acid application on gibberellin? induced internodal elongation in floating rice. *Jpn. J. Trop. Agr.* 46 : 215–219.
- Azuma, T., T. Honda, A. Sadai, D. Sasayama and K. Itoh 2007. Suppression and promotion of growth by ethylene in rice seedlings depends on ambient humidity. *J. Plant Physiol.* 164 : 1683–1687.
- Carpita, N. C. 1996. Structure and biogenesis of the cell walls of grasses. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 47 : 445–476.
- Catling, D. 1992. *Rice in Deep Water*. MacMillan Press, London and Basingstoke. 1–542.
- Cho, H. -T. and H. Kende 1997a. Expansins in deepwater rice internodes. *Plant Physiol.* 113 : 1137–1143.
- Cho, H. -T. and H. Kende 1997b. Expansins and internodal growth of deepwater rice. *Plant Physiol.* 113 : 1145–1151.
- Cho, H. -T. and H. Kende 1997c. Expression of expansin genes is correlated with growth in deepwater rice. *Plant Cell* 9 : 1661–1671.
- Cohen, E. and H. Kende 1987. *In vivo* 1-aminocyclopropane-1-carboxylate synthase activity in internodes of deepwater rice. Enhancement by submergence and low oxygen levels. *Plant Physiol.* 84 : 282–286.
- Cosgrove, D.J. 2000. Loosening of plant cell walls by expansins. *Nature* 407 : 321–326.
- Cosgrove, D.J. 2005. Growth of the plant cell wall. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 6 : 850–861.
- Fry, S.C. 1986. Cross-linking of matrix polymers in the growing cell walls of angiosperms. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 37 : 165–186.
- Futakuchi, K., M.P. Jones and R. Ishii 2001. Physiological and morphological mechanisms of submergence resistance in African rice (*Oryza glaberrima* Steud.). *Jpn. J. Trop. Agr.* 45 : 8–14.
- Hirano, T., H. Koshimura, N. Uchida, T. Azuma and T. Yasuda 1995. Growth and distribution of photoassimilates in floating rice under submergence. *Jpn. J. Trop. Agr.* 39 : 177–183.
- Hirano, T., N. Uchida, T. Azuma and T. Yasuda 1996. Effect of submergence on distribution of photoassimilates and activities of sucrose metabolizing enzymes in sink organs of floating rice. *Jpn. J. Crop Sci.* 65 : 540–548.
- Hirano, T., N. Uchida, T. Azuma and T. Yasuda 1997. Relationship between export rate of photoassimilates and activation state of sucrose phosphate synthase in submerged floating rice. *Jpn. J. Crop Sci.* 66 : 675–681.
- Hoffmann-Benning, S. and H. Kende 1992. On the role of abscisic acid and gibberellin in the regulation of growth in rice. *Plant Physiol.* 99 : 1156–1161.
- Hoson, T. 1993. Regulation of polysaccharide breakdown during auxin-induced cell wall loosening. *J. Plant Res.* 106 : 369–381.
- 井之上準 1987. 東南アジアの浮稲とその生態. *東南アジア研究* 25 : 51–61.
- IRRI 2008. Distribution of rice crop area, by environment. In *Rice Statistics*. <http://www.irri.org/science/ricestat/data/may2008/WRS2008-Table30.pdf> (2008/7/31閲覧).
- Kawano, R., K. Doi, H. Yasui, T. Mochizuki and A. Yoshimura 2008. Mapping of QTLs for floating ability in rice. *Breed. Sci.* 58 : 47–53.
- Kende, H., E. van der Knaap and H. -T. Cho 1998. Deepwater rice : a model plant to study stem elongation. *Plant Physiol.* 118 : 1105–1110.
- Kihara, H., T.C. Katayama and K. Tsunewaki 1962. Floating habit of 10

- strains of wild and cultivated rice. *Jap. Jour. Genet.* 37 : 1-9.
- 清野真巳子 2001. 禁じられた稲. 連合出版, 東京. 1-26.
- Ku, H. S., H. Suge, L. Rappaport and H. K. Pratt 1970. Stimulation of rice coleoptile growth by ethylene. *Planta* 90 : 333-339.
- Lee, Y. and H. Kende 2001. Expression of β -expansin is correlated with internodal elongation in deepwater rice. *Plant Physiol.* 127 : 645-654.
- Lee, Y. and H. Kende 2002. Expression of α -expansin and expansin-like genes in deepwater rice. *Plant Physiol.* 130 : 1396-1405.
- Maclean, J.L., D.C. Dawe and G.P. Hettel 2002. *Rice Almanac*. Third edition. CABI Publishing, Wallingford, Oxon. 1-253.
- McQueen-Mason, S., D.M. Durachko and D.J. Cosgrove 1992. Two endogenous proteins that induce cell wall expansion in plants. *Plant Cell* 4 : 1425-1433.
- Métraux, J. -P. and H. Kende 1983. The role of ethylene in the growth response of submerged deep water rice. *Plant Physiol.* 72 : 441-446.
- Mochizuki, T., K. Ryu and J. Inouye 1998. Elongation ability of African floating rice (*Oryza glaberrima* Steud.). *Plant Prod. Sci.* 1 : 134-135.
- Morishima, H., K. Hinata and H. Oka 1962. Floating ability and drought resistance in wild and cultivated species of rice. *Indian J. Genet. Plant Breed.* 22 : 1-11.
- 村永順一郎・沖田直子・東哲司・南森隆司・安田武司 2001. 浮稲節間の伸長に伴う細胞壁中の (1 \rightarrow 3), (1 \rightarrow 4)- β -D-グルカン量とグルカナーゼ活性の変化. 日作紀 70(別 2) : 195-196.
- Nemoto, K., Y. Ukai, D.Q. Tang, Y. Kasai and M. Morita 2004. Inheritance of early elongation ability in floating rice revealed by diallel and QTL analyses. *Theor. Appl. Genet.* 109 : 42-47.
- Raskin, I. and H. Kende 1983. How does deep water rice solve its aeration problem. *Plant Physiol.* 72 : 447-454.
- Raskin, I. and H. Kende 1984a. Regulation of growth in stem sections of deep-water rice. *Planta* 160 : 66-72.
- Raskin, I. and H. Kende 1984b. Role of gibberellin in the growth response of submerged deep water rice. *Plant Physiol.* 76 : 947-950.
- 定井綾子・東哲司・伊藤一幸 2008. 低酸素環境による浮稲茎葉の成長促進. 日作紀 77(別 2) : 306-307.
- 佐野芳雄・永口貢 1992. 形が変わるメカニズム-表現型可塑性の発育遺伝-. 遺伝 (別 4) : 118-125.
- 笹山大輔・東哲司・南森隆司・安田武司 2006. 浮稲節間の伸長停止に伴うエクспанシンの活性と細胞壁反応性の変化. 日作紀 75(別 1) : 166-167.
- Sasayama, D., T. Azuma, T. Nanmori and T. Yasuda 2007. Involvement of acid-induced growth and expansin action in the internodal elongation of submerged floating. *Jpn. J. Trop. Agr.* 51 : 95-101.
- 笹山大輔・東哲司・伊藤一幸 2008. 浮稲節間におけるエクспанシンに対する細胞壁の反応性と壁構造の関係. 日作紀 77(別 2) : 308-309.
- Sasayama, D., T. Azuma and K. Itoh 2009. Changes in expansin activity and cell wall susceptibility to expansin action during cessation of internodal elongation in floating rice. *Plant Growth Regul.* (in press).
- Sauter, M. and H. Kende 1992. Levels of β -glucan and lignin in elongating internodes of deepwater rice. *Plant Cell Physiol.* 33 : 1089-1097.
- Sauter, M. 2000. Rice in deep water : "How to take heed against a sea of troubles". *Naturwissenschaften.* 87 : 289-303.
- 菅洋 1984. 浮稲は洪水に遭うとなぜ伸びるのか? 農及園 59 : 23-28.
- Suge, H. 1985. Ethylene and gibberellin : regulation of internodal elongation and nodal root development in floating rice. *Plant Cell Physiol.* 26 : 607-614.
- 菅洋 1988. 浮稲の生物学. 植物の化学調節 23 : 131-141.
- 内田直次・東哲司・安田武司・山口禎 1989a. 深水条件下における浮稲の伸長と生長関数との関係. 熱帯農業 33 : 164-172.
- 内田直次・大脇英敏・東哲司・安田武司・山口禎 1989b. 異なる水位上昇速度下における浮稲の主稈および分けつの乾物生産並びに葉面積の展開. 熱帯農業 33 : 253-260.
- Uchida, N., H. Ohwaki, T. Yasuda and T. Yamaguchi 1990. Effect of increase of the water level on the uptake and distribution pattern of nitrogen in the main stem and tillers of floating rice. *Jpn. J. Trop. Agr.* 34 : 27-34.
- van der Knaap, E., J.H. Kim and H. Kende 2000. A novel gibberellin-induced gene from rice and its potentially regulatory role in stem growth. *Plant Physiol.* 122 : 695-704.
- Watanabe, H., M. Saigusa, S. Hase, T. Hayakawa and S. Satoh 2004. Cloning of a cDNA encoding an ETR2-like protein (*Os-ERL1*) from deep water rice (*Oryza sativa* L.) and increase in its mRNA level by submergence, ethylene, and gibberellin treatments. *J. Exp. Bot.* 55 : 1145-1148.
- Watarai, M. and Inouye J. 1997. Effect of water conditions on the LEI position in African floating rice (*Oryza glaberrima* Steud.). *Jpn. J. Crop Sci.* 66 : 300-306.
- Yamaguchi, T. 1974. Studies on the floating rice. VIII. Effects of raising water level on the amounts of endogenous gibberellin-like substance. *Jpn. J. Trop. Agr.* 17 : 147-152.
- Yamaguchi, T., U. Uchida and T. Yasuda 1989. Studies on the growth and photosynthesis of floating rice. *Jpn. J. Trop. Agr.* 33 : 22-30.
- Yang, S. H. and D. Choi 2006. Characterization of genes encoding ABA 8'-hydroxylase in ethylene-induced stem growth of deepwater rice (*Oryza sativa* L.). *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 350 : 685-690.

Elongation Growth in Internodes of Floating Rice : Hormonal Regulations and Cell Wall Modifications : Tetsushi AZUMA, Daisuke SASAYAMA and Kazuyuki ITOH (*Grad. Sch. Agr. Sci., Kobe Univ., Kobe 657-8501, Japan*)

Abstract : Floating rice is the only crop that can be grown in flooded plains due to the capacity to elongate internodes rapidly under flooding conditions. The mechanisms of adaptation to flooding stress have been investigated from ecological, morphological, genetical, physiological, biochemical and molecular biological points of view. In this review, we mainly describe our research that has focused on the regulation of growth by plant hormones and the change in cell wall structure during rapid elongation in internodes of submerged floating rice.

Key words : Cell wall, Deep water rice, Ethylene, Expansin, Floating rice, Hypoxia, Internode growth, Plant hormones.