Kobe University Repository : Kernel

PDF issue: 2025-07-16

浮イネの深水適応における光合成産物の供給と分配に関する研究

平野，達也

(Degree)
博士（学術）
(Date of Degree)
1996-03-31
(Date of Publication)
2014-04-11
(Resource Type)
doctoral thesis
(Report Number)
甲1565
(JaLCDOI)
https://doi.org/10.11501/3116913
(URL)
https://hdl.handle.net/20.500.14094/D1001565

※ 当コンテンツは神戸大学の学術成果です。無断複製・不正使用等を禁じます。著作権法で認められている範囲内で、適切にご利用ください。

博士論文

浮イネの深水適応における光合成産物の供給と分配に関する研究

平成８年３月

神戸大学大学院自然科学研究科

平野達也

目次

緒論 ---------- 1

第一章　深水下における生長および光合成能力の推移 ---------- 6
材料と方法 ---------- 7
結果 ---------- 8
考察 ---------- 17
摘要 ---------- 20

第二章　加齢に伴う光合成能力の変化と窒素源 ---------- 21
第一節　高窒素処理下での浮イネの生長と光合成能力 ---------- 22
材料と方法 ---------- 22
結果 ---------- 23
考察 ---------- 30
第二節　下位葉の老化に及ぼす深水の影響 ---------- 32
材料と方法 ---------- 32
結果 ---------- 33
考察 ---------- 42
摘要 ---------- 44

第三章　ソース葉における光合成産物の転流能力の変化 ---------- 46
材料と方法 ---------- 47
結果 ---------- 50
考察 ---------- 57
摘要 ---------- 60

第四章　シンク器官の生長と光合成産物の分配特性 ---------- 61
第一節　最上位節間の生長と光合成産物の分配 ---------- 62
材料と方法 ---------- 62
結果 ---------- 63
考察 ---------- 69
第二節　光合成産物の分配とスクロース分解酵素活性の
経時的変化 ---------- 70
材料と方法 ---------- 70
結果 ---------- 72
考察 ---------- 80

第三節　節間の生長に伴うスクロース分解酵素活性の変動 ---- 84
材料と方法 ---------- 84
結果 ---------- 85
考察 ---------- 93
摘要 ---------- 95

総合考察 ---------- 97

摘要 ---------- 105

Summary ---------- 111

謝辞 ---------- 116

引用文献 ----------117

緒論

東南アジアやインド，バングラデシュ，西アフリカの一部の地域では，雨季に河川が氾濫し，その流域が広範囲かつ長期間にわたって浸水する．これらの地域では，水位が1.5m～4.0m程度にも達するので，普通のイネ品種を栽培することができない．このため，深水下で急速に伸長できる浮イネが栽培されている．この伸長能力は主として節間の伸長能力であり，この結果，植物体の一部を水面上に保ち，深水下での生育を可能にしている（Vergara et al. 1976）．

そこで，まず浮イネの節間伸長の特性についてみると，次の二点が知られている．一つは，日本で栽培されている普通のイネ品種の節間は，生殖生長の開始期頃に伸長し始める（星川　1975）のに対し，浮イネのそれは，水位に関わりなく栄養生長期に開始する点である．つまり，節間の伸長開始期が早いことが浮イネの重要な特性の一つである．第二は，浮イネの最初に伸長する節間である伸長最低節間（LEI）は品種に固有のかなり安定した形質であること（Inouye and Hagiwara 1981），そして，このLEIの位置が低い品種ほど深水条件下での伸長性が高い品種であること（Inouye and Mogami 1980, Inouye 1983）である．

この深水下における節間の伸長機構には，植物ホルモンであるエチレンとジベレリンが関与していることが，多くの研究者により報告されている（Metraux and Kende 1983, Raskin and Kende 1984 a, b, Suge 1985, Azuma et al. 1990）．深水下での急激な節間伸長をもたらすエチレンとジベレリンの作用について，Kendeらは次のような仮説を提唱している．深水下では浮イネ節間内の酸素分圧が低下する．そして，酸素分圧の低下によってエチレン生合成が促進され，節間内のエチレン濃度が増加する．そのエチレンが内生ジベレリンに対する細胞の感受性を増大させる（Metraux and Kende 1983, Raskin and Kende 1984 a, b, Cohen and Kende 1987）．このジベレリンが誘導する伸長反応は，節間の分裂組織における細胞分裂活性の増加と新たに形成された細胞の伸長の増加によるものである（Bleecker et al. 1986, Raskin and Kende 1984b）．また，ジベレリンは伸長節間の細胞壁のゆるみに関与している（Kutchera and Kende 1988）．さらに，エチレンとジベレリン以外にも，アブシジン酸が，深水下での節間伸長に関与していることも報告されており（Hoffmann-Benning and Kende 1992, Azuma et al. 1995），エチレンとジベレリンに

よって誘導される節間伸長は周囲の水分環境に影響を受け，エチレン処理による節間伸長には，ジベレリンと異なり高湿度条件が必要であることも明らかにされている（Azuma et al. 1991，1995）．以上のように，深水下における浮イネの節間伸長を解明する上で，植物ホルモンの関与については多くの報告がある．

このような節間伸長の特性および機構によって，浮イネは植物体の一部を水面上に抽出できる．このことは，浮イネが深水下で光合成器官を水面上に配置し，光合成を行い，生長に必要な光合成産物を供給できることを意味する．そこで，光合成と物質生産の面から，深水に対する浮イネの適応様式を明らかにする試みもいくつかみられる．山口と佐藤（1963）は，非浮イネと異なり浮イネは深水下においても，高い糖含量とアミラーゼ及びインベルターゼ活性を保つことが旺盛な生長と関連があると報告している．また，浮イネは水位上昇処理により普通栽培下よりも個体当たり還元糖含量が高くなるが，非浮イネでは水位上昇処理下で個体当たり還元糖含量は著しく低下した（山口 1973a）．

深水下における浮イネの生育と葉面積の関係に関しては以下のような報告がある．水中にある浮イネの葉は，その表面の気相を通じてガス交換が行える（Raskin and Kende 1983）．しかし，水面上に完全に抽出した葉身を多く持つ個体ほど正常に伸長できること（Inouye 1983），また，相対生長率と葉面積比の間の関係および乾物生長率と平均葉面積の間の関係は，水面上の葉面積のみを対象とした場合の方が密接であること（内田ら 1989a），一般にガス拡散は液相中では気相中の一万分の一であること（Osborne 1984）などから，浮イネの生長は，水面上に抽出した葉の面積（ソースサイズ），その光合成能力および光合成産物の転流能力（ソース能），そしてシンク能の変動による光合成産物の分配形式の変化に大きく支配されると言える．

ソースのサイズに関しては，深水下での著しい節間伸長によって植物体上部を水面上に保つこと以外にも，浮イネは主稈の葉齢の進行，つまり葉の生長を深水下において促進させることが明らかにされている（山口 1973a）．このことは，水面上に若い活動的な葉を多く展開させることを意味している．しかし，これらの特性がある浮イネとはいえ，深水条件下では水面上に抽出する葉の面積は著しく減少する（内田ら1989 a, b）．よって，深水下で浮イネが生長を維持するためには，上位葉のソース能を高く保つことおよび光合成産物の効率的な分配が重要であると思われる．ソースの能力に関しては，Yamaguchi et al.（1989）が深水下における浮イネの光合成能力の変化について報告して

いる．それによると，実験に用いた浮イネ６品種中５品種の最上位展開葉で，単位葉面積当たりのCO_2同化速度が増加し，主稈当たりのCO_2同化速度もその５品種で増加することがわかった．

シンク能の変動に関しては，深水下で生育した浮イネは上位節の一次分げつや各節位の二次分げつの発生が抑制され，逆に，主稈や下位節の一次分げつの乾物生長速度は増加することが示された（内田ら 1989 b）．浮イネは，個体の生長に有利なように，ソースの大きさの変化にあわせて，シンクの中心を強勢な稈へと移行させると彼らは結論づけている．次に，急激な生長を示す主稈において各器官のシンク能に及ぼす深水の影響を調査するため，深水下における光合成産物の分配に関する実験がRaskin and Kende（1984 c）によって行われた．^{14}Cでラベルした光合成産物の葉から伸長節間と稈の未抽出部分への転流は，３日間深水処理した浮イネ茎切片で急激に増加した．そして，この光合成産物の転流の増加が，急激な節間の伸長に必要なエネルギーや基質，浸透物質の供給を満たす要因の一つであると彼らは結論づけている．

以上のように，深水という過酷な環境とそれが原因で生じる節間の著しい伸長がシンクとソースのバランスの変化をもたらすこと，またその深水下での生育を維持するために必要な光合成産物の供給と分配という両面での適応が明らかにされつつあるが，これらの面からの研究は節間伸長と植物ホルモンの関与に関する研究に比較すると少なく，いまだ解明されていない点も多い．特に大きく分けて以下の三つの項目が，浮イネの深水に対する適応性を知る上で重要と考えられる．

最初に，ソースである葉を水面上に維持するための浮イネの適応の一つである深水下における葉の生長促進による葉齢の進行と光合成能力の維持にはどのような機構があるのかという点である．葉の光合成能力はその窒素含量と密接な関係があり（von Caemmerer and Farquhar 1981, Evans 1983, Evans and Terashima 1988），イネ葉においても，光飽和，大気条件下での光合成速度は，葉身窒素含量と強い正の相関を示すことが知られている（Makino et al. 1988）．つまり，光合成能力の維持および葉の生育には窒素の供給が必要とされる．この窒素源に関して，生長中のイネ葉身における全窒素の45-63％が老化葉から再分配された窒素であることが報告されている（Mae and Ohira 1981）．よってイネにおいて，根から吸収される窒素とともに，老化葉から再分配される窒素は重要な窒素源となっている．以上のことから，深水下における浮イネ上位葉の急速な生長促

進と光合成能力の維持に必要な窒素供給に関しては，根から吸収される窒素および老化葉からの再分配窒素の二つの側面から調査する必要がある．

二番目は，光合成産物のソースである上位葉からシンク器官への転流能力の点である．シンク器官への光合成産物の分配の制御は，ソース葉でのスクロース形成速度が主要な要因の一つである（Stitt et al. 1984, Huber et al. 1985）．そこで，ソースである葉の一部を切除したり，また遮光することによってシンクに対するソースの比率を低下させたとき，スクロース含量とその転流速度が増加することが報告されている（Thorne and Koller 1974, Swanson et al. 1976, Geiger 1976, Borchers-Zampini et al. 1980）．深水下で急速に節間と若い葉が生長している浮イネでは，それらシンクにおける光合成産物の要求量の増大によりソース葉における光合成産物の転流速度が増加していると思われる．しかし，これらの観点から浮イネの特性を調査した報告はない．

最後は，シンクへの光合成産物の分配に関する報告は前述のRaskin and Kende（1984c）の報告のみで，茎切片以外の系では行われていない点である．深水下での光合成産物の分配の経時的変化や各器官間の分配パターンの変化に関しては不明な点が多い．また，ソースからシンクへの光合成産物の転流速度は，それらの間に存在するスクロース濃度勾配の程度によって決定する（Walker and Thorney 1977, Ho and Baker 1982, Wyse and Saftner 1982）．よって，シンクへのスクロースの流れを制御する要因の一つはシンクでのスクロース分解の速度であると考えられている（Ho 1988）．そこで，深水下における伸長節間でのスクロース分解に関与している酵素活性の変動が，光合成産物の分配を通じてその急速な伸長と関連があることが予想される．

以上のように，深水下で生育する浮イネにおいて，深水という環境下で光合成産物に関するシンクとソースのバランスの変化に伴い，急速に生長している部位への炭素および窒素の効率的な分配が求められ，また，それにより生長に必要な光合成産物の供給が維持できると思われる．よって，これらの観点から深水に対する浮イネの適応を調査することは重要である．なお，本論文は四つの章から構成されている．第一章では，深水下での浮イネの生育を特徴付けるため，非浮イネとの差異に着目した．特に，深水下における葉の能力の変化を光合成能力と葉内成分含量を調査することで明らかにし，浮イネの特性を現在報告されているものと併せてさらに検討した．第二章では，深水下における浮イネの急速な葉の生長促進と光合成能力の維持に必要な窒素源として，根から吸

収された窒素と老化葉から再分配された窒素の役割を評価するために実験を行った．最初に，深水下での浮イネの生育に対する根から吸収される窒素の重要性を評価し，続いて，水没した下位葉の老化に及ぼす深水の影響を調査した．第三章では，光合成産物の転流量とスクロース合成速度に対して深水が影響を及ぼすかどうかを明らかにし，ソースにおける深水への対応を検討した．第四章では，光合成産物の分配パターンの深水下における変化を明らかにし，光合成産物の効率的な利用ということに関して考察した．さらに，スクロース分解酵素活性の変動を調査し，光合成産物の分配との関連性と浮イネの最も大きな特徴である節間の生長との関係を論じた．

第一章

深水下における生長および光合成能力の推移

浮イネは深水に対して急激な節間伸長によって対応する能力を有している（Vergara et al. 1976）．また，深水下で生育した浮イネは主稈の葉数が増加，すなわち葉の生長が促進される（山口 1973）．このような特性によって，浮イネは植物体の一部を水面上に抽出でき，その抽出した上位葉で光合成を行なうことができるのであろう．実際に，浮イネでは，供試した6品種中5品種において，主稈の最上位展開葉の単位葉面積当たりCO_2同化速度が深水下で増加することが知られている（Yamaguchi et al. 1989）．さらに，この増加は気孔伝導度よりもむしろ葉肉伝導度と密接な関係にあった．

葉の光合成能力はその窒素含量と密接な関係があり（von Caemmerer and Farquhar 1981, Evans 1983, Evans and Terashima 1988），イネ葉においても，光飽和，大気条件下での光合成速度は，葉身窒素含量と強い正の相関を示すことが知られている（Makino et al. 1988）．また，イネ葉において，全窒素の28%を占めるリブロース1.5-ビスホスフェイトカルボキシラーゼ/オキシゲナーゼ（Rubisco）（Makino et al. 1984a）は，CO_2固定を担っている酵素であり，光飽和，O_2濃度2%の大気CO_2条件下の光合成速度との間に密接な関係がある（Makino et al. 1984b）．しかし，浮イネについて，前述のように光合成能力の変化は調べられているが，これら葉内成分含量の深水下における変動を調査した報告はない．

本章では，深水下における主稈の葉数や光合成能力の増加といった葉の能力と生長の変化が浮イネに特異的なものであるかを，非浮イネと比較することによって明らかにした．さらに，光合成関連葉内成分として可溶性タンパク質，クロロフィルおよびRubisco含量を測定し，光合成能力との関係を明らかにすることを目的とした．

材料と方法

1．供試材料

浮イネ品種であるHabiganj Aman II（HA）と非浮イネ品種であるTaichung Native 1（TN）を使用した．なお，両品種ともにインド型品種である．種子は1％次亜塩素酸ナトリウム溶液で30分間消毒し，洗浄後，蒸留水中で30℃で48時間，吸水・催芽させた．発芽した種子を1ℓプラスチックポットに3粒ずつ播き，土耕した．肥料として，化成肥料をポット当たりN，P，Kがそれぞれ0.5gずつになるように与えた．約4.5葉期に2株に間引きを行い，9.6葉期まで屋外で生育させた．

2．深水処理とサンプリング

9.6葉期の植物体の第7葉が完全に水没するように，一定の水位に保ち，屋外で深水処理を行った．その水位はHAで70cm，TNで40cmとした．また，対照区として，そのまま普通条件下で栽培した植物体を用いた．処理後0，4，8日目に，主稈葉数で見た葉齢の調査および植物体の草丈，最上位カラー部の高さと総節間長の測定を行った．そして，それぞれ第8葉の葉身（8L，以後各葉位の数字とLに略記）以上をサンプリングし，光合成能力の測定に使用した．

3．光合成能力の測定

光合成能力は気相酸素電極（Hansatech, CB1D.LS2.LD-1）により光およびCO_2飽和下での酸素放出速度を測定することで算出した．測定にはサンプリングした葉身の中央部約5cmを使用した．葉を測定前に10分間前照射し，チャンバーを密閉することで測定を開始した．測定条件は，5％CO_2，20％O_2，相対湿度100％，光量子密度2200μmol photon・m^{-2}・s^{-1}，葉温25℃とした．測定終了後，葉は葉内成分定量用に液体窒素で凍結させ，-30℃で保存した．

4．可溶性タンパク質とクロロフィルの抽出・定量

凍結保存した葉を5mM DTT，0.1mM EDTA，12.5% グリセロール，50mM K-Phosphate（pH 7.5）を含む緩衝液4mlで，氷冷しながら乳鉢と乳棒で磨砕した．抽出懸濁液4ml中1mlを分取し，100％アセトン4mlを加えて，5,000×g（＜4℃）で10分間

遠心後，その上清をクロロフィルの定量に使用した．残りの抽出懸濁液３mlは30,000×g（<4℃）で10分間遠心した．その上清を可溶性タンパク質とRubiscoの定量に使用した．

クロロフィルはArnon法（1949）により定量した．可溶性タンパク含量は牛血清アルブミン（BSA）を標準としてBradford（1976）の方法により定量した．

５．Rubiscoの定量

Rubisco含量は免疫拡散法（Single Radial Immunodiffusion; SRID）により定量した．0.9%NaClと0.1% NaN_3を含む1.2%アガーゲル12mlを溶解し，50～55℃に保温した．Makino et al.（1983）の方法によって精製したイネRubiscoに対するウサギ抗血清60μl（0.5%）をゲル液に加え，よく撹拌した．そして，あらかじめ50℃に保温しておいたガラス板上にゲル（厚さ１mm）を作製した．ゲル板に直径３mmの穴をあけ，そこに抽出液および標準として精製イネRubisco（0.4～２μg）の４μlをアプライした．ゲルを25℃で３日間，過湿条件下で放置し，その後，0.9%NaCl溶液中で12時間除タンパク後，0.05%CBB R-250を含む溶液中で染色した．さらに，５%酢酸溶液中で脱色した後，生じた沈降輪の直径を測定した．

結果

表１はHAおよびTNの葉齢の進行に及ぼす深水の影響を表したものである．HAにおいて，処理４日目の両区間の葉齢に有意な差はなかったが，処理８日目には深水処理した植物体の葉齢の方が対照区よりも増加した．一方TNにおいては，処理４日目および８日目ともに，両区間の葉齢に有意な差はなかった．

Table 1 Effect of submergence on progress of leaf age of HA and TN.

Variety	Treatment	Days after treatment		
		0	4	8
HA	Control	9.6	10.3	11.0
	Submergence		10.5	11.5*
TN	Control	9.6	10.0	10.6
	Submergence		10.0	10.7

* ; significant at 1% level

深水したHAの草丈，最上位カラー部の高さおよび稈長は処理後４日目までに著しく増加し，最上位カラー部は水面上に抽出した（図１）．対照区のHAの草丈，最上位カラー部および稈長の増加量は８日間でそれぞれ約10cmで，深水区の20から30％であった．非浮イネであるTNの草丈は，深水処理８日目で対照区と比較してわずかに増加した．また，最上位カラー部までの長さと稈長との差，すなわち最上位完全展開葉の葉鞘の長さが増加した．

表２はHAの稈を構成するそれぞれの節間の長さを示したものである．深水処理４日目において，最上位節間である第10節間が対照区よりも著しく伸長していた．また，その下位の第９節間長も深水下で有意に長かった．深水処理８日目では，さらに上位の第11節間が伸長していた．また，深水処理したTNにおいても，処理８日目に第10節間の伸長（3.2cm）により稈長は４cm増加した（データは示さず）．

図２は，HAとTNの８Ｌ以上の葉身の酸素電極法による単位葉面積当たり光合成能力の変化を示す．処理４日目において，HAおよびTNの９Ｌ以上の光合成能力は両区間で差がないが，葉身の約半分が水没していた８Ｌの光合成能力は対照区より有意に低かった．処理８日目において，深水処理したHAの最上位完全展開葉である11Ｌの光合成能力は対照区と比較して高く，また，出葉中の12Ｌも20.8μmol $O_2 \cdot m^{-2} \cdot s^{-1}$の光合成能力を有していた．しかし，両品種の９Ｌと10Ｌの光合成能力は両区間で差がなかった．両品種の８ＬおよびTNの11Ｌの光合成能力は深水処理により対照区よりも低かった．

図３は，HAとTNの８Ｌ以上のクロロフィル含量の変化を示す．深水処理４日目において，HAの10Ｌおよび11Ｌのクロロフィル含量は対照区よりも有意に高く，HAの８Ｌと９ＬおよびTNの９Ｌと10Ｌのクロロフィル含量には深水処理の影響がなかった．TNの８Ｌのクロロフィル含量は深水下で対照区よりも低下した．処理８日目には，HAの８Ｌから11ＬおよびTNの９Ｌから11Ｌまでのクロロフィル含量に有意な区間差はなかったが，TNの８Ｌの含量は深水処理下で対照区よりも低かった．

HAに関して，深水処理４日目の10Ｌおよび11Ｌの可溶性タンパク含量は対照区よりも有意に高く，８Ｌおよび９Ｌの含量は両区間で差がなかった（図４）．処理８日目には，８Ｌから11Ｌまでの可溶性タンパク含量に深水処理の影響はなく，また深水処理した植物体では，12Ｌが4.77g・m^{-2}の可溶性タンパク含量を有していた．TNに関しては，深水処理４日目の８Ｌの可溶性タンパク含量が対照区よりも低かったが，９Ｌおよび10Ｌは

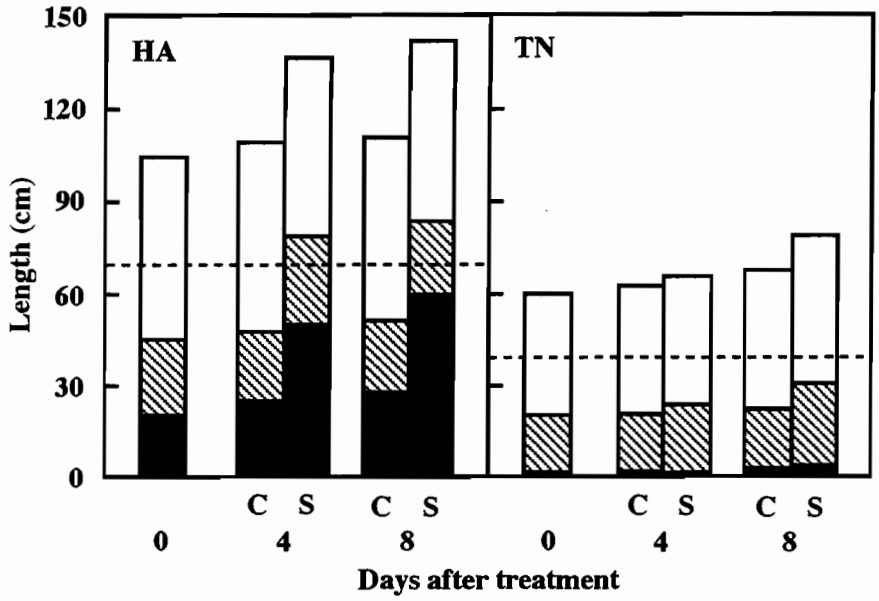

Fig 1 Effect of submergence on culm length (■), collar length (▨ + ■) and plant length (□ + ▨ + ■). Submerged treatment (S) was carried out in the depth of water to half of the 8th leaf blade. Control plants (C) were grown under ordinary conditions. Dotted lines express the water level. Data are expressed as the means of six replicates.

Table 2 Effect of submergence on each internodal length of HA.

Internodal position	Treatment	Days after treatment		
		0	4	8
			cm	
7th	Control	5.6	5.7	5.7
	Submergence		5.5	5.4
8th	Control	7.8	8.0	7.7
	Submergence		7.8	7.8
9th	Control	6.6	9.9	9.6
	Submergence		14.3*	13.9*
10th	Control	--	1.8	5.1
	Submergence		21.8*	22.9*
11th	Control	--	--	--
	Submergence		--	8.7

* ; significant at 1% level

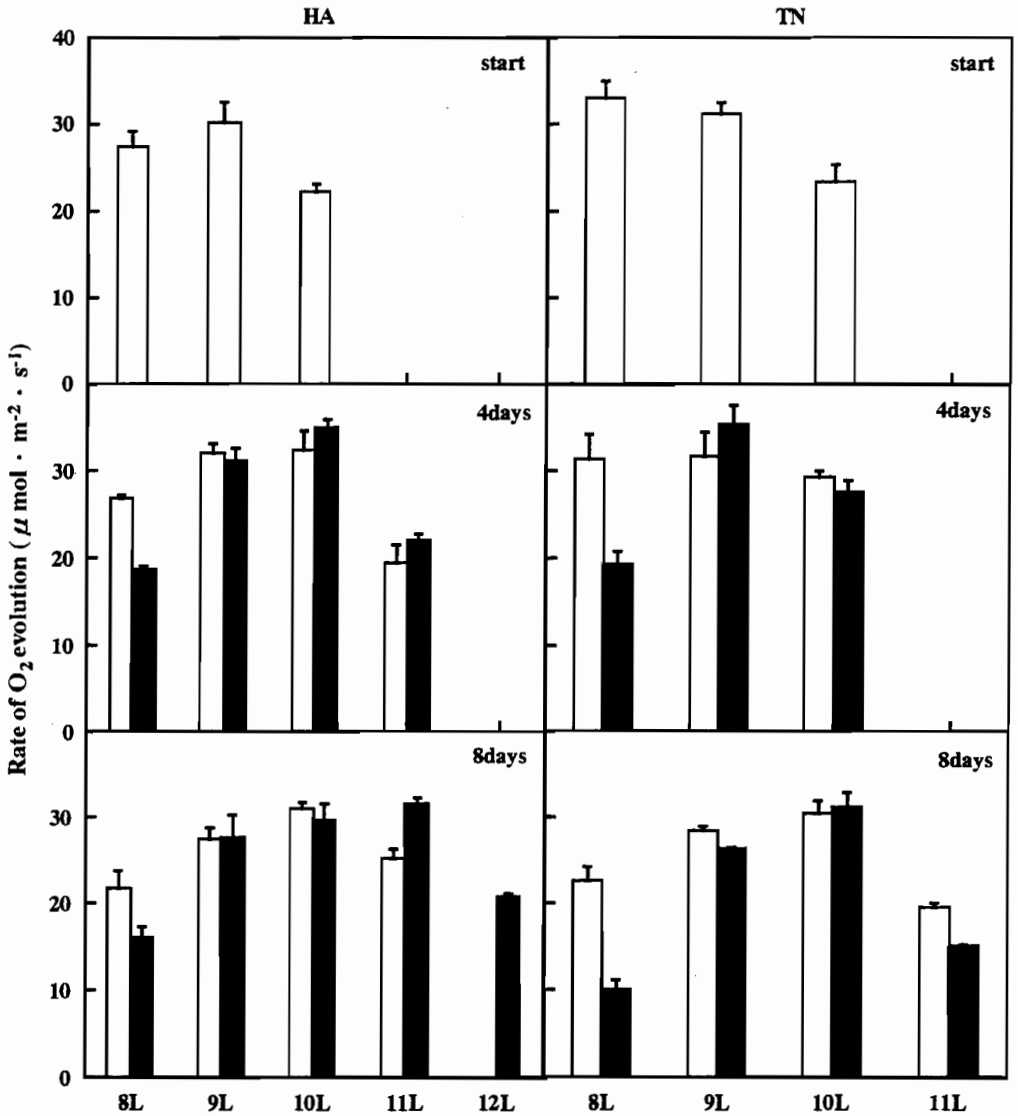

Fig 2 Effect of submergence on rate of O_2 evolution of each leaf blade in HA and TN. Submerged treatment (■) was carried out in the depth of water to half of the 8th leaf blade. Control plants (□) were grown under ordinary conditions. Rate of O_2 evolution was measured with gas-phase oxygen electrode (20% O_2, 5% CO_2, 2200 μ mol photon m^{-2} s^{-1}, 25℃, saturated water vapor) at 0, 4 and 8days after treatment. Vertical bars express + standard errors (n = 3).

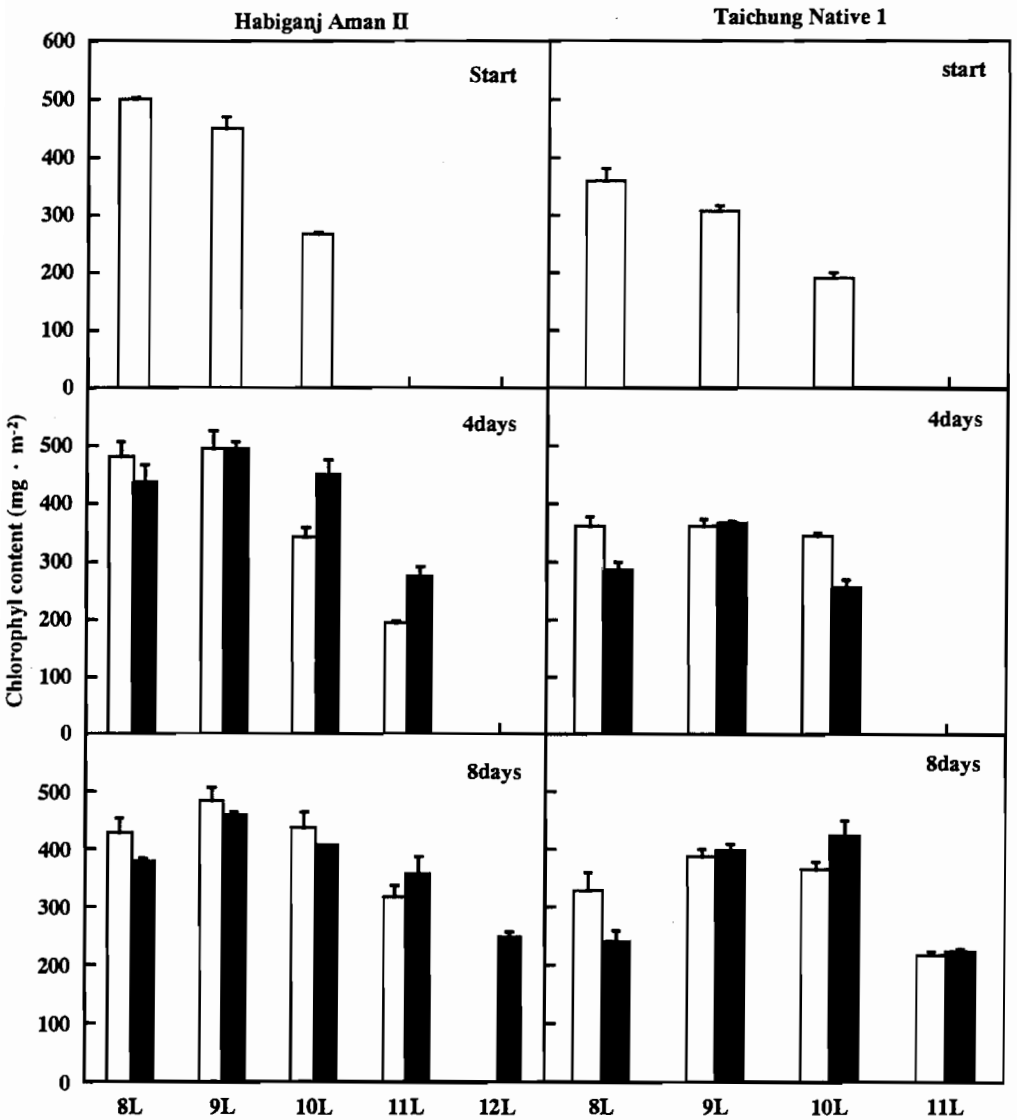

Fig 3 Effect of submergence on chlorophyl content of each leaf blade in HA and TN. Submerged treatment (■) was carried out in the depth of water to half of the 8th leaf blade. Control plants (□) were grown under ordinary conditions. Chlorophyl content was determined by method of Arnon (1949) at 0, 4 and 8 days after treatment. Vertical bars express + standard errors (n = 3).

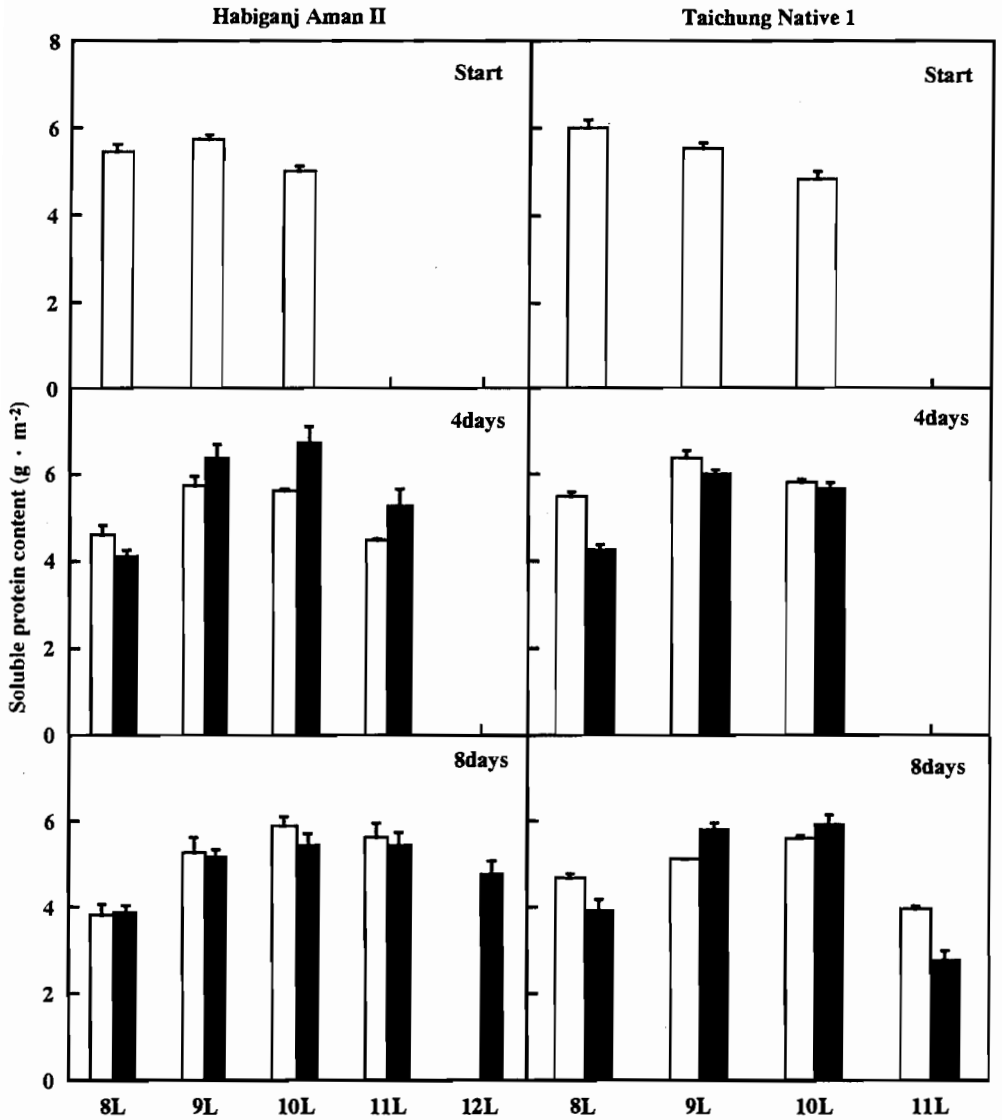

Fig 4 Effect of submergence on soluble protein content of each leaf blade in HA and TN. Submerged treatment (■) was carried out in the depth of water to half of the 8th leaf blade. Control plants (□) were grown under ordinary conditions. Soluble protein content was determined by method of Bradford (1976) using BSA as standard at 0, 4 and 8 days after treatment. Vertical bars express + standard errors (n = 3).

処理の影響を受けなかった．深水処理８日目には，９Ｌの可溶性タンパク含量は対照区よりも有意に高かったが，８Ｌと11Ｌの含量は対照区よりも低く，10Ｌの含量は処理の影響を受けなかった．

深水処理４日目のHAにおいて，８ＬのRubisco含量は対照区よりも低く，一方10Ｌおよび11Ｌの含量は対照区よりも高かった（図５）．９Ｌの含量は両区間で差がなかった．深水処理８日目のHAでは，９Ｌから11ＬまでのRubisco含量は対照区と差がなく，８ＬのRubisco含量は対照区よりも低かった．TNに関して，深水処理４日目と８日目ともに８ＬのRubisco含量は対照区よりも低く，一方，９Ｌおよび10ＬのRubisco含量は両区間で差がなかった．処理８日目では，深水処理した植物体の11ＬのRubisco含量は対照区よりも低かった．

図６はクロロフィル，可溶性タンパク質およびRubisco含量と光合成能力との関係を示す．すべての葉内成分と光合成能力との間には0.1%水準で相関があった．特に，光合成能力は可溶性タンパク質およびRubisco含量との相関が高かった．また，各葉内成分と光合成能力の関係を品種別および処理別に回帰分析した結果，１%水準では有意な差はなかった（データは示さず）．

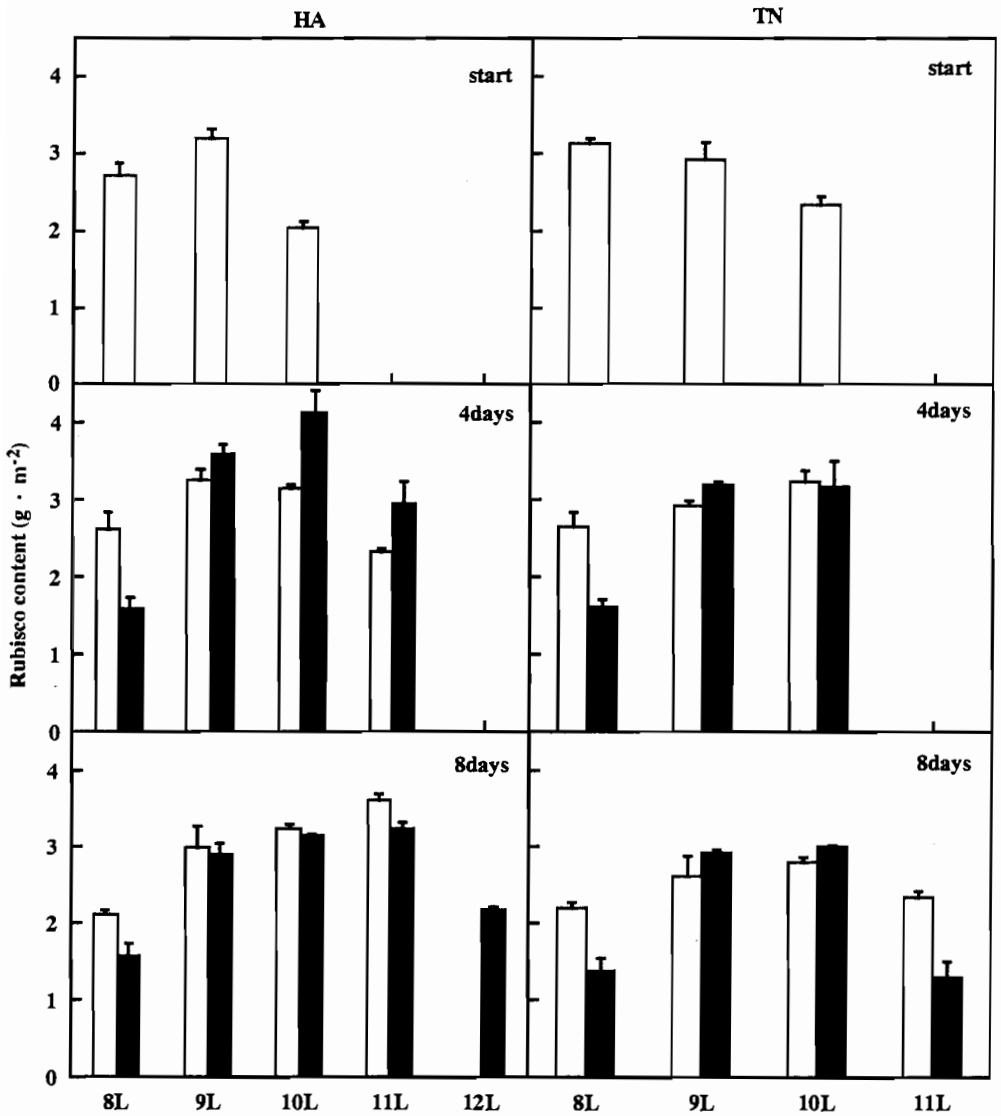

Fig 5 Effect of submergence on Rubisco content of each leaf blade in HA and TN. Submerged treatment (■) was carried out in the depth of water to half of the 8th leaf blade. Control plants (□) were grown under ordinary conditions. Rubisco content was determined by single radial immunodiffution method using rabbit antiserum against purified rice Rubisco at 0, 4 and 8 days after treatment. Vertical bars express + standard errors (n = 3).

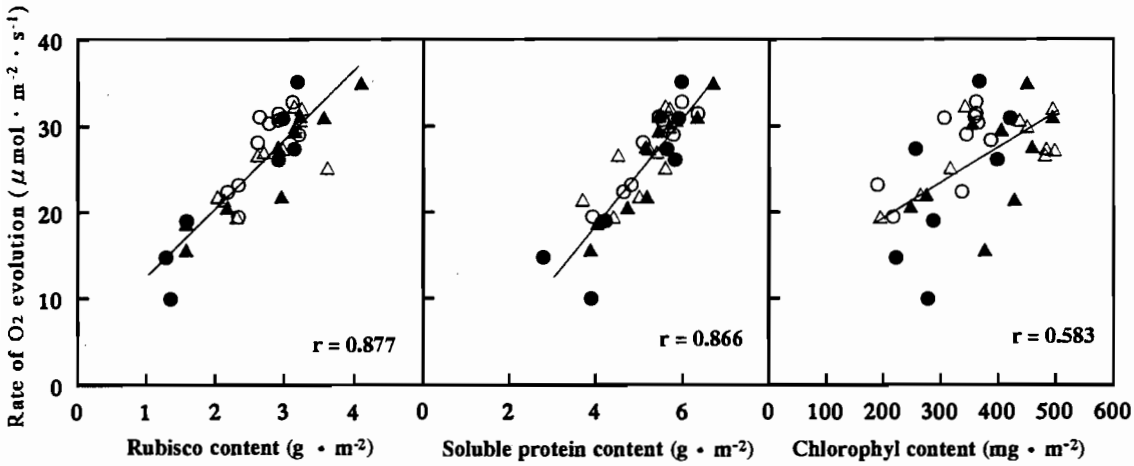

Fig 6 Relationships between rate of O_2 evolution and contents of Rubisco, soluble protein and chlorophyl of each leaf blade in HA (△, ▲) and TN (○, ●). Submerged treatment (▲, ●) was carried out in the depth of water to half of the 8th leaf blade. Control plants (△, ○) were grown under ordinary conditions. The each correlation coefficient is significant at 0.1 % level.

考察

深水下で生育したHAの稈長は急速に増加し，それによって最上位カラー部は水面上に抽出した（図１）．これはそのほとんどが最上位節間の著しい伸長によるものであった（表２）．非浮イネのTNにおいても節間の伸長は認められたが，それは最上位節間の第10節間のみで，浮イネと比べるとわずかの伸長量であった．また，深水下で生育した浮イネの葉齢は対照区の植物体と比較して８日間で0.5進行した（表１）．一方，TNにおいては葉齢の進行はみられなかった．その結果，深水処理８日目において，HAでは９Ｌ以上が水面上に完全に抽出したのに対し，TNでは９Ｌの約半分が水没した．このように，深水下における最上位節間の急速な伸長によって最上位カラー部が水面上に維持されること，また主稈の葉齢進行によって葉数が増加することは浮イネに特異的な性質であることが示された．

Yamaguchi et al.（1989）は，実験に用いた浮イネ６品種中５品種で，主稈の最上位展開葉における単位葉面積当たりのCO_2同化速度が深水下で増加することを示した．本実験で用いたHAは，CO_2同化速度が深水下で増加した浮イネ品種の一つであり，この増加は気孔伝導度よりもむしろ葉肉伝導度と密接な関係にあった．そこで，本実験では，気孔の影響を無視できる，光およびCO_2飽和下での最大光合成能力に及ぼす深水の影響を明らかにするため，気相型酸素電極法により光合成速度を測定した．処理後８日目に，HAでは，深水処理された植物体の最上位展開葉である11Ｌの光合成能力が対照区よりも増加したのに対し，TNでは，逆に最上位展開葉の11Ｌの光合成能力は深水区の方が対照区よりも低かった（図２）．また，深水処理下で葉齢が進行したHAでは12Ｌが出葉し，20.8μmol・m^{-2}・s^{-1}という最上位完全展開葉（11Ｌ）の約65％の光合成能力を有していた．このように，深水下においてHAの上位葉の光合成能力が増加するのは，一つは葉齢の進行，すなわち葉の生長が深水下で促進される結果であろう．そこで，光合成能力の変動をもたらす要因を検討するには，葉の生長に伴う光合成関連の葉内成分含量の変動を調査する必要があろう．

葉の光合成能力はその窒素含量と密接な関係がある（von Caemmerer and Farquhar 1981, Evans 1983, Evans and Terashima 1988）．特に，光合成暗反応系においてCO_2固定を担っている酵素であるRubiscoは，イネ成熟葉で全窒素の28％，全可溶性タンパクの55％を占め（Makino et al. 1984a），光飽和および大気条件下のCO_2同化速度との間には高い正の

相関があることが示されている（Makino et al. 1984b）．本研究において，両品種ともに，光飽和，CO_2飽和下の光合成能力とRubisco含量の間には高い正の相関があり（図６），一つの回帰式で表すことができた．また，光化学反応系の能力を表す指標であるをクロロフィル含量と光合成能力との相関係数は必ずしも高くなかった（図６）．したがって，浮イネ，非浮イネを問わず，深水下の光合成能力の変化はRubisco含量の変化が重要な要因の一つであろう．しかし，深水処理４日目のHAにおいて，10Ｌおよび11ＬのRubisco含量は対照区よりも増加するが，それらの光合成能力は対照区の値とほとんど差がなかった（図２，５）．また，深水処理８日目のHAでは，11Ｌの光合成能力が対照区よりも増加するが，そのRubisco含量は対照区の値とほとんど差がなかった（図２，５）．つまり，深水下でのHAの光合成能力の増加をRubisco含量の増加だけでは説明できない部分もある．

本研究で行ったような光飽和，CO_2飽和下の光合成速度は，無機リン酸再生のためのスクロース生合成能力によって律速されていることが報告されている（Sharkey 1985, Stitt 1986, Sharkey et al. 1986）．また，窒素含量が増加するにつれて，光飽和，高CO_2下でのイネ葉の光合成ース合成酵素の活性によって律速されるようになる（Makino et al. 1994）．つまり，葉身の完全展開直後の時期は十分な窒素が存在し，光飽和，CO_2飽和下の光合成速度はRubisco以外の要因である無機リン酸再生のためのスクロース生合成能力によって律速される可能性がある．従って，本研究において，Rubisco含量が十分にある最上位展開葉の光合成能力が対照区より深水下で増加するのは，スクロース生合成系の酵素活性の増加によるものであるかもしれない．

HAの第10節間は深水処理４日目でほとんどの伸長を終え，深水処理８日目においては，第11節間が既に8.7cm伸長していた（表２）．そしてこのとき，HAの11Ｌの光合成能力は対照区よりも有意に高い値を示した（図２）．この11Ｌと第11節間はお互いにソースとシンクの関係にある（田中　1958, Tanaka 1961）．つまり，深水処理後に抽出した節間の急速な伸長に対して必要な光合成産物の供給のため，同じく深水処理後に抽出したそのソース葉は光合成能力の増加によって対応していることが考えられる．

深水４日目という早い時期に，浮イネ上位２葉のRubisco含量が対照区よりも高くなったこと，また深水８日目に，浮イネの最上位完全展開葉の光，CO_2飽和下の最大光合成能力が増加したことは非浮イネでは認められず，浮イネに特有の現象であった．それど

ころか非浮イネでは，深水処理８日目の最上位展開葉において，光合成能力およびRubisco含量は対照区よりも低下した．この光合成能力の増加は必ずしもRubiscoに依存したものではない．しかし，少なくとも深水下で生育している浮イネは，主稈の葉数が増加することを含めて，旺盛な葉の生育を行い，その葉の光合成能力を高く維持することは明らかである．これらの結果が，浮イネの節間をはじめとする深水下での急速な生長を維持する要因の一つであろう．

摘要

本章の目的は，深水下における浮イネと非浮イネの生育の違いと光合成能力の変化を調査し，その光合成能力の変化をもたらす要因について葉内成分の点から検討することである．

約9.6葉期の浮イネ品種であるHabiganj Aman II（HA）と非浮イネ品種であるTaichung Native 1（TN）を，その第７葉の葉身が完全に水没するように深水処理した．そして各葉位毎に，光，CO_2飽和条件下での酸素放出速度を気相酸素電極法により測定することで最大光合成能力を算出し，葉内成分としてクロロフィルと可溶性タンパク，Rubisco含量を定量した．深水処理した浮イネは対照区よりも主稈の葉齢が進行した．また，深水処理４日目に，浮イネの上位２葉のRubisco 含量は対照区よりも増加し，深水処理８日目には，浮イネの最上位完全展開葉の光合成能力が対照区よりも高かった．これらの変化は非浮イネには認められなかった．以上の結果から，浮イネは非浮イネと異なり，深水下で旺盛な水面上の上位葉の生育を行い，その葉の光合成能力を維持できることが明らかになった．

光，CO_2飽和条件下での光合成能力とRubisco含量の間には高い正の相関があり，深水下における浮イネの光合成能力の増加にはRubisco含量の増加が重要な要因の一つであることが明らかになった．しかし，それぞれの深水下での変動パターンから，深水下での浮イネにおける光合成能力の増加をRubisco含量の増加だけでは説明できなかった．深水下で生育している浮イネの最上位完全展開葉において，光合成能力が普通栽培下の植物体よりも増加する要因に関してはさらに調査が必要である．

第二章

加齢に伴う光合成能力の変化と窒素源

植物体の生長，特に葉の生育と光合成能力の維持には窒素の供給が不可欠である．第一章の結果から，浮イネは非浮イネと異なり，葉齢の進行が深水下で促進されることが明らかになった．また，深水下で生育した浮イネの上位葉は，普通条件下で生育した植物体と同じかそれ以上のRubisco含量を有していた．つまり，深水下において浮イネは非浮イネよりも若い上位葉の生長が促進されるので，さらに多くの窒素がその上位葉へ供給される必要があろう．水位上昇処理した浮イネは生体重当たり全窒素およびタンパク態窒素含量が対照区よりも低下するが，個体当たりのそれらの含量は逆に増加することも報告されている（山口 1973b）．この窒素供給源については，生長中のイネ葉身の全窒素のうち45-63%は老化器官から再分配された窒素であることが報告されている（Mae and Ohira 1981）ので，老化器官からの再分配窒素は重要な窒素源の一つである．

本章では，高窒素施肥が深水下における浮イネの生育および光合成能力に与える影響を調査し，深水下での浮イネ上位葉の生育が根からの窒素供給にどれだけ依存しているかを検討した．また，深水下での浮イネの生長が下位葉からの再分配窒素に依存しているならば，浮イネ下位葉の老化は深水によって促進されると思われる．そこで，深水下での上位葉の生育が異なる浮イネと非浮イネにおいて，水没による葉の老化における差異を明らかにし，その差異は両者の深水に対する葉の反応性の違いによるものであるのか，それともシンクである上位葉の生長速度が両者で異なるからであるのかを検討した．

第一節　高窒素処理下での浮イネの生長と光合成能力の変化

本節では，深水下で生育する浮イネの窒素源として根から吸収される窒素の重要性を評価するため，浮イネを標準窒素区と高窒素区という窒素含量の異なる二つの水耕液で，それぞれ深水下と普通条件下で栽培し，乾物重と光合成能力，葉身の全窒素含量を測定した．その結果から，深水下で生育した浮イネにおいて，高窒素処理によって植物体の生長，特に葉身の生育が促進されるかどうかを検討した．

材料と方法

1．供試材料

浮イネ品種であるHabiganj Aman IIを使用した．種子は第一章第一節と同様に予措，催芽させた．発芽した種子を水の上に浮かべたプラスチック製のネット上におき，第３葉が出葉するまで生育させた．その幼植物体をMae and Ohira（1981）の水耕液（NH_4NO_3 1 mM）を用いて，40ℓのコンテナ上にとりつけた発泡スチロール板にスポンジで固定して，約10.2葉期まで屋外で生育させた．

2．窒素および深水処理

約10.2葉期まで生育した植物体を水耕液の入った１ℓのプラスチック製の瓶に移し，スポンジで固定し，それにより深水処理下での水耕液の拡散を防いだ．窒素処理は1.0mM NH_4NO_3（標準窒素区）と1.5mM NH_4NO_3（高窒素区）の２段階で行った．そして，それぞれの窒素処理区の植物体を，第８葉身が完全に水没するように深水処理した．対照区として，普通条件下で植物体を栽培した．処理開始時および処理後４日目と８日目に，すべての処理区でその半分の植物体の水没した第８葉身（８Ｌ）と第10葉身（10Ｌ）以上の葉身中央部をサンプリングし，酸素電極法による光合成能力の測定に使用した．残りの植物体は，根，主稈の茎部（葉鞘を含む），第６節位以下の分げつ，第７節位以上の分げつ，第７葉身以下の葉身（７Ｌ），第８葉身（８Ｌ），第９葉身（９Ｌ），第10葉身（10Ｌ），第11葉身（11Ｌ），第12葉身（12Ｌ）に分けてサンプリングし，すぐに105℃で30分間，Killing処理を行い，70℃で5日間乾燥させた．その後乾物重を測定し，各葉身は全窒素含量の定量に使用した．なお，水耕液は処理後４日目に取り替えた．

3．光合成能力の測定

第一章と同様の方法で測定した．

4．全窒素含量の定量

全窒素含量はケルダール - ガンニング変法により葉身窒素を分解後，インドフェノール法によって比色定量した（菅原と副島 1977）．試験管中で，5％（w/v）サリチル酸を含む濃硫酸約2 mlに乾燥試料を1晩浸した．加熱分解前に，そこへ粉末状のチオ硫酸ナトリウムを約50mg加えた．ケルダール分解装置で，試験管中の試料が白煙を生じるまで加熱し，冷却後，分解促進のため，30％過酸化水素水を約0.5ml加えた．さらに，分解液が透明になるまで加熱し，透明になってからも過酸化水素を完全に分解させるため，約1時間加熱し続けた．分解終了後，その液を冷却させ，蒸留水で50mlに定容した．定容した分解液のうち，50μlをインドフェノール法による比色定量に使用した．

結果

表3は葉齢の進行に及ぼす深水と窒素処理の影響を示す．処理開始時の葉齢は10.2であった．処理4日目の深水処理した植物体において，葉齢の進行に対する窒素施肥量による影響はなかった．また，対照区の植物体においても，標準窒素区と高窒素区で有意な差はなかった．処理8日目では，対照区および深水区ともに葉齢の進行に有意な窒素処理の影響はなかったが，深水区の二つの植物体は対照区の標準窒素区の植物体よりも有意に葉齢が進行した．

Table 3 Effects of submergence and N treatment on leaf age.

Treatment	Days after treatment		
	0	4	8
Control N-1.0	10.2	10.8a	11.4b
Control N-1.5		10.9a	11.6ab
Submergence N-1.0		11.2a	11.8a
Submergence N-1.5		11.2a	11.9a

Data are expressed as the means of six replicates.
In each data within different days, means followed by a common letter are not significantly different at 1% level by Duncan's multiple range test.

深水処理した植物体の根の乾物重は実験期間中ほとんど変化がなかった（表４）．第６節位以下の分げつの乾物重に関して，処理４日目では４処理区間で有意な差はないが，処理８日目においては対照区の高窒素施肥された植物体だけが他の３処理区よりも有意に増加した．第７節位以上の分げつはすべての処理区の植物体で処理８日目には発生しており，深水処理した標準窒素区の植物体のその乾物重だけが有意に低かった．処理４日目の茎部の乾物重は４つの処理区でほとんど差がないが，処理８日目では，対照区の標準窒素区および高窒素区の植物体と比較して，深水処理した標準窒素区の植物体の茎部の乾物重は有意に低かった．しかし，深水処理した植物体における両窒素処理区間で茎部の乾物重の差はなかった．深水下で生育した植物体の全葉身の乾物重は，両窒素処理区ともに処理開始時からほとんど一定であったが，対照区の標準窒素区の植物体における葉身乾物重は処理８日目に処理開始時より増加し，対照区の高窒素区の植物体における乾物重は処理８日目にそれ以上に増加した．以上の合計である植物体全体の乾物重に関して，処理８日目では，対照区の高窒素区の植物体，次に対照区の標準窒素区の植物体，そして深水処理した両窒素区の植物体の順に高かった．

深水処理によって水没した７Ｌおよび８Ｌの乾物重は，窒素施肥量に関わらず，対照区の植物体よりも急速に低下した（表５）．対照区における８Ｌの乾物重に関して，標準窒素区の植物体は実験期間中に徐々に低下したが，高窒素区の植物体は実験期間中ほとんど変化しなかった．処理４日目では，９Ｌの乾物重は４つの処理区間でほとんど差がなかったが，処理８日目では，対照区の高窒素処理された植物体の９Ｌの乾物重が深水処理した両窒素処理区の植物体よりも有意に高かった．処理期間中，処理区に関係なく，10Ｌの乾物重は有意な差がなかった．11Ｌの乾物重もまた処理開始時より増加した後，処理４日目および８日目において，処理区間に関係なく有意な差はなかった．処理８日目において，対照区の標準窒素区の植物体における12Ｌの乾物重だけが他の処理区よりも低かった．

図７は光およびCO_2飽和下での酸素放出による光合成能力の変化を示す．対照区の植物体の８Ｌの光合成能力に関して，標準窒素区の植物体では実験期間中に徐々に減少したが，高窒素区の植物体では処理開始時から４日目の間に減少したが，４日目から８日目の間に再び増加した．深水された植物体の８Ｌの光合成能力は，窒素処理区に関わらず，対照区の両窒素処理区の植物体よりも速く低下した．対照区の植物体の10Ｌと11Ｌ

Table 4 Effect of submergence and N treatment on dry weight of each organ.

Days	Treatment	Organs					
		Root	L.tiller	H.tiller	Stem	Leaf blade	Total
		g plant^{-1}					
0		0.582d	2.154d	--	0.549d	0.530c	3.816e
4	Control N-1.0	0.897bc	3.017bc	--	0.795c	0.544c	5.252c
	Control N-1.5	0.771c	3.038bc	--	0.814bc	0.600bc	5.223c
	Submergence N-1.0	0.587d	2.791c	--	0.746c	0.523c	4.647cd
	Submergence N-1.5	0.526d	2.636c	--	0.721c	0.527c	4.410d
8	Control N-1.0	1.054ab	3.788b	0.110a	1.182a	0.638b	6.771b
	Control N-1.5	1.156a	4.474a	0.115a	1.068a	0.714a	7.528a
	Submergence N-1.0	0.493d	3.238b	0.045b	0.907b	0.531bc	5.214c
	Submergence N-1.5	0.499d	3.377b	0.120a	0.965ab	0.589bc	5.551c

L.tiller; tillers lower than the 7th nodal position. H.tiller; tillers of the 7th and the 8th nodal positions. Data are expressed as the means of four replicates.
In each data within different organs, means followed by a common letter are not significantly different at 1% level by Duncan's multiple range test.

Table 5 Effects of submergence and N treatment on dry weight of each leaf blade.

Days	Treatment	Leaf position					
		7L	8L	9L	10L	11L	12L
		g plant^{-1}					
0		0.137a	0.097a	0.120b	0.122a	0.054c	
4	Control N-1.0	0.085bc	0.093ab	0.113b	0.137a	0.113ab	
	Control N-1.5	0.103ab	0.102a	0.128ab	0.146a	0.121ab	
	Submergence N-1.0	0.050d	0.069c	0.108bc	0.138a	0.119ab	0.039c
	Submergence N-1.5	0.054d	0.078c	0.108bc	0.141a	0.105b	0.041c
8	Control N-1.0	0.069cd	0.085bc	0.123ab	0.134a	0.125a	0.102b
	Control N-1.5	0.065d	0.101a	0.141a	0.150a	0.136a	0.121a
	Submergence N-1.0	0.019e	0.024d	0.094c	0.140a	0.139a	0.115a
	Submergence N-1.5	0.020e	0.040d	0.121b	0.149a	0.139a	0.120a

Data are expressed as the means of four replicates.
In each data within different organs, means followed by a common letter are not significantly different at 1% level by Duncan's multiple range test.

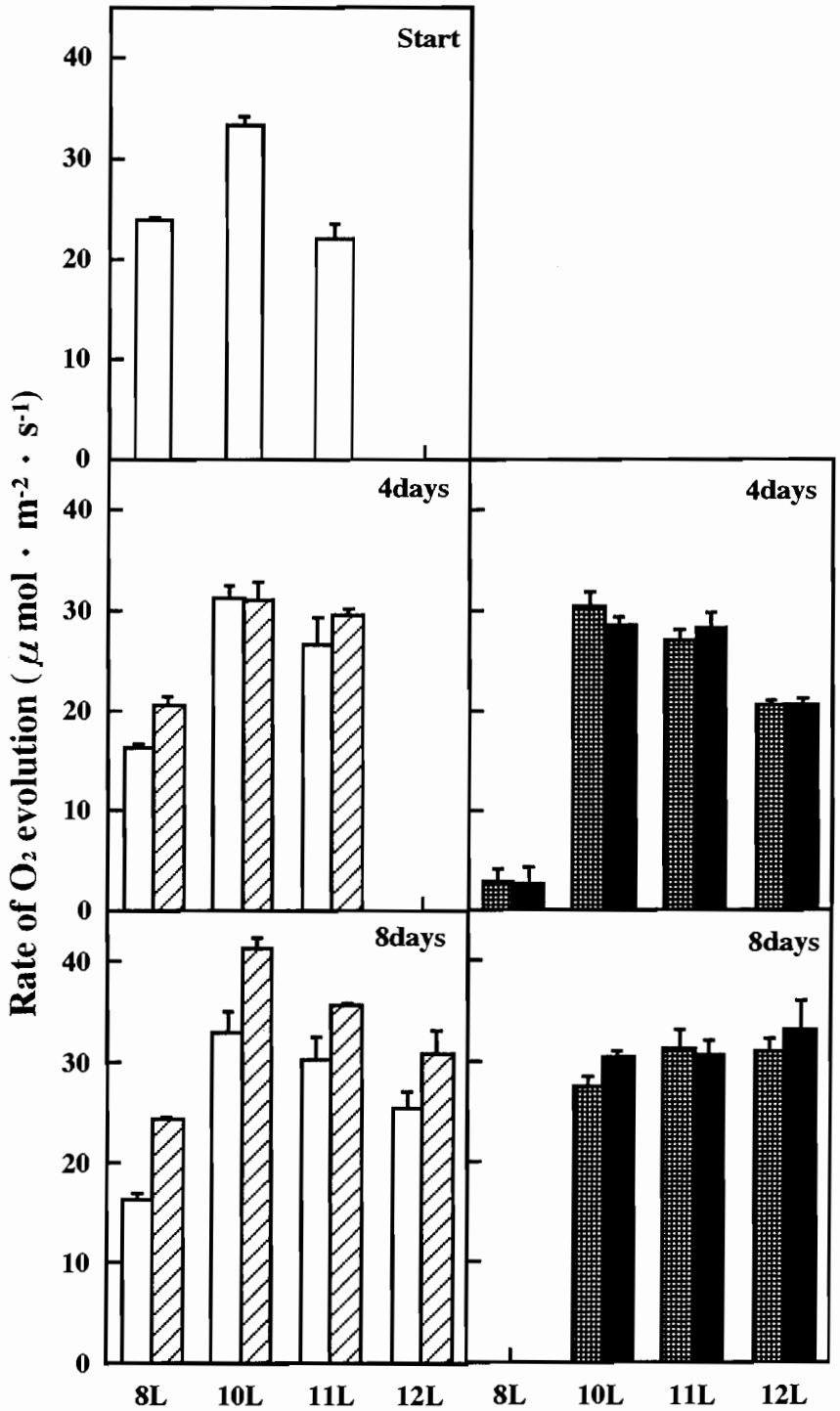

Fig 7 Effect of submergence on rate of O_2 evolution of each leaf blade in plants supplied 1.0 mM NH_4NO_3 (□ ▩) and 1.5 mM NH_4NO_3 (▨ ■). Submerged treatment (▩ ■) was carried out in the depth of water to the top of the 8th leaf blade. As control (□ ▨), plants grown under ordinary conditions were used. Before the treatment, all the plants were grown with water culture solution (1.0 mM NH_4NO_3) describrd by Mae and Ohira (1981). Rate of O_2 evolution was measured with gas-phase oxygen electrode (20% O_2, 5% CO_2, 2200 μ mol photon m^{-2} s^{-1}, 25℃, saturated water vapor). Vertical bars express + standard errors (n = 3).

の光合成能力において，処理４日目では窒素処理間で差がなかったが，処理８日目では高窒素区の植物体の方が標準窒素区よりも有意に高かった．さらに，処理８日目において高窒素処理された対照区の12Ｌの光合成能力は標準窒素区よりも高かった．一方，深水処理した植物体の10Ｌから12Ｌの光合成能力は実験期間中，窒素処理の程度による差はみられなかった．しかし，深水処理後８日目における12Ｌの光合成能力は，窒素施肥量に関わらず対照区の標準窒素区よりも有意に高かった．

図８は葉身の全窒素含量の変化を示す．対照区の植物体に関して，処理４日目では，測定したすべての葉位の葉身において窒素施肥量による有意な窒素含量の差はなかったが，処理８日目では，高窒素処理された植物体の８Ｌ，10Ｌおよび11Ｌの窒素含量が標準窒素区よりも高かった．処理８日目の対照区の植物体における12Ｌの窒素含量は，窒素処理の程度による差はなかった．深水処理した植物体に関して，処理４日目と８日目ともに，測定したすべての葉のおいて窒素処理の程度による窒素含量の差はなかった．また，深水処理された植物体の８Ｌの窒素含量は，両窒素処理区ともに対照区のそれよりも著しく低下した．処理８日目では，窒素施肥量に関わらず，深水処理した植物体における10Ｌと12Ｌの窒素含量は対照区の標準窒素区の植物体よりも高かった．

図９は葉身の窒素含量と光，CO_2飽和下の光合成能力の関係を示す．深水下および普通栽培かを問わず，葉身の窒素含量と光合成能力の間には高い正の相関があった．

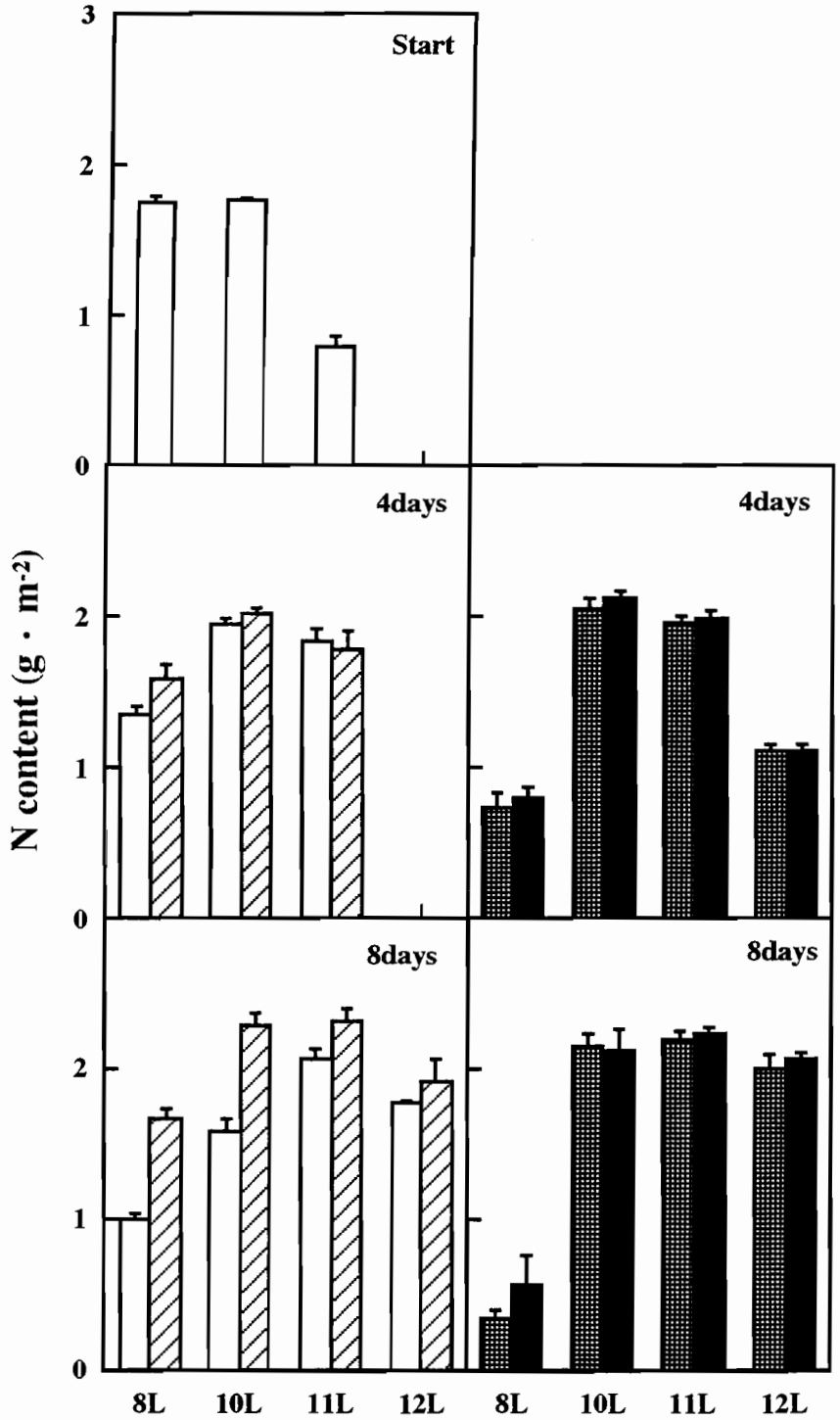

Fig 8 Effect of submergence on N content of each leaf blade in plants supplied 1.0 mM NH_4NO_3 (□ ▩) and 1.5 mM NH_4NO_3 (▨ ■). Submerged treatment (▩ ■) was carried out in the depth of water to the top of the 8th leaf blade. As control (□ ▨), plants grown under ordinary conditions were used. Before the treatment, all the plants were grown with water culture solution (1.0 mM NH_4NO_3) describrd by Mae and Ohira (1981). N content was determined according to the method of Kjeldahl-Gunning and indophenol reaction. Vertical bars express + standard errors (n = 3).

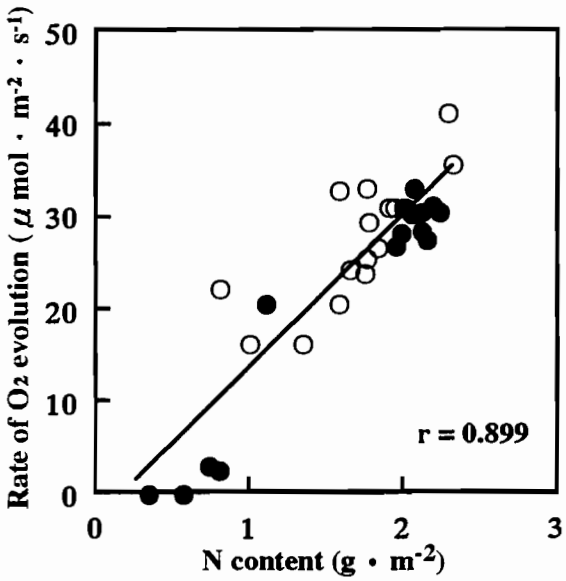

Fig 9 Relationship between rate of O_2 evolution and N content of each leaf blade.

●; submergence　○; control

The correlation coefficient is significant at 0.1% level.

考察

処理８日目において，深水高窒素区，深水標準窒素区，対照高窒素区そして対照標準窒素区の順に葉齢が進んでいた（表３）．しかし，深水処理した２つの窒素処理区間では葉齢にほとんど差がなく，深水下で生育した植物体の葉齢の進行には窒素施肥量は影響を及ぼさないことが判明した．10Ｌおよび11Ｌの乾物重は処理４日目と８日目ともに４つの処理間で差がなかったが，処理８日目の12Ｌの乾物重において，対照区の標準窒素処理された植物体だけが他の３つの処理区の植物体よりも低かった（表５）．以上のことから，普通栽培下の植物体はその葉身の生育が1.5mMの高窒素施肥によって促進されるが，深水下で栽培された植物体は1.5mMの高窒素による葉身の生育促進がないことを示唆する．

葉の窒素含量の増加に伴って，細胞間隙の飽和CO_2分圧下でのCO_2同化速度は高くなることが知られており（von Caemmerer and Farquhar 1981, Evans 1983, Evans and Terashima 1988），光合成能力の維持に窒素の供給は不可欠である．本実験においても，葉身の窒素含量と光，CO_2飽和下の光合成能力は高い正の相関があった（図９）．よって，深水下で急速に生育する浮イネにおいて，葉数の増加と光合成能力の維持のための上位葉への窒素供給は不可欠である．

そこで，浮イネを普通栽培下と深水下で高窒素処理したときの光合成能力および葉身窒素含量に関して調査すると，以下の２つの点が明らかになった（図７，８）．一つは，対照区の８Ｌの光合成能力および全窒素含量の老化に伴う低下が高窒素により抑制されるが，深水処理した植物体では，窒素処理の程度に関係なく８Ｌの光合成能力および全窒素含量は対照区よりも速く低下することである．もう一つは，処理８日目の対照区の植物体において，活動中心的な10Ｌから12Ｌの光合成能力と10Ｌと11Ｌの窒素含量が高窒素処理により高くなるが，処理８日目の深水処理した植物体においては，10Ｌから12Ｌまでの光合成能力および窒素含量に高窒素処理による影響が現れないことである．以上の結果から，普通栽培下の植物体とは対照的に，深水下で生育している植物体に窒素を多く与えても水没した下位葉の光合成能力の低下を抑えることができず，また上位葉の光合成能力が増加することもないことがわかった．

しかし，深水処理した標準窒素区の植物体の最上位展開葉の葉身は，対照区の標準窒素区の最上位展開葉よりも高い光合成能力を有し，対照区の高窒素処理された植物体と

ほとんど同等の光合成能力および窒素含量を有していた．よって，普通栽培下の植物体と比較して，深水下で生育した浮イネでは水没葉の窒素含量が急速に低下するが，水面上の上位葉身の窒素含量を高いレベルで維持する能力があることが明らかになった．このことから，深水下で生育している浮イネは水面上の上位葉の生長に必要な窒素の供給に関して，次の３点で適応していることが考えられる．一つは，深水下では根からの窒素吸収量が増加していること，二つ目は，根から吸収した窒素を生長している上位葉へ優先的に分配すること，最後は，根から吸収した窒素には依存せず，老化葉からの窒素を生長中の上位葉へ急速に再分配することである．

イネの根の生育および養分吸収には，他の植物同様に酸素の供給が必要である（John et al. 1974，星川 1975）．また，イネを栽培している土壌空気中あるいは水耕液中の二酸化炭素分圧の増加は根の発育阻害により根からの窒素吸収を低下させる（斉藤 1954）．ところが，浮イネが生育しているような地域では深水条件により浮イネ節間空隙内において極度の酸素分圧の低下および二酸化炭素分圧の上昇が生じる（Setter et al. 1987）．よって，普通栽培条件下で生育した植物体と比較して，深水下で浮イネは根の生育が阻害される（表４）．以上のことから，深水下で浮イネは根からの窒素吸収量が増加しているとは考えにくい．さらに，Uchida et al.（1990）は，深水下で生育している浮イネは根から与えた^{15}Nの吸収量が低下するのと同時に，主稈葉身中に含まれる^{15}N量が対照区よりも低下することを示している．つまり，深水下で急速に生長している上位葉に必要な窒素は，根から吸収される窒素以外の窒素にその多くを依存すると思われる．よって，深水処理した浮イネは根から吸収した窒素を優先的に生長葉に分配しているとしても，普通栽培条件下と比較して，少なくとも老化葉からの再分配窒素にその生育を依存する割合は増加していることが示唆される．このことは，水没した下位葉の窒素含量が，窒素施肥量に関わらず急速に低下していることからも支持される（図８）．

第二節　下位葉の老化に及ぼす深水の影響

第一節の結果から，浮イネ上位葉への窒素供給には下位葉からの再分配窒素が重要であることが推察された．深水下での浮イネ上位葉の生長が下位葉からの再分配窒素に依存しているならば，浮イネでは下位葉の老化が深水によって促進されると思われる．本節では，深水下における上位葉の生育速度が異なる浮イネと非浮イネにおいて，植物体を深水処理することによって水没した下位葉の老化に関して光合成能力を測定することによって比較し，またその老化に伴うタンパク質画分の変化およびタンパク質分解活性を測定した．さらに，着生葉と切断葉でそれらを比較することにより，浮イネと非浮イネの水没した下位葉の老化速度の差は，両品種の水没に対する葉の反応性の差であるのか，あるいはシンクである上位葉への窒素再分配速度の差であるのかを検討した．

材料と方法

1．供試材料

浮イネ品種であるHabiganj Aman II（HA）と非浮イネ品種であるTaichung Native 1（TN）を使用した．第一章と同様の方法で両品種ともに約9.5葉期まで生育させた．なお，植物体のすべての分げつを取り除き，主稈のみとした．

2．深水処理

約9.5葉期まで生育した両品種の植物体を，第７葉身が完全に水没するように屋外で深水処理した．対照区として，普通条件下で生育させた植物体を用いた．また，植物体から切除した第７葉身を完全に水没させて深水処理を行った．処理開始時と処理後２，４，６，８，10日目に，第７葉身の中央部をサンプリングし，酸素電極法による光，CO_2飽和下の光合成能力の測定に使用した．

3．光合成能力の測定

第一章と同様に酸素放出速度を測定し，光合成能力を算出した．測定後の葉身は液体窒素で凍結後，-30℃で保存した．

4．可溶性および不溶性タンパク質，Rubiscoとクロロフィルの抽出・定量

凍結保存した葉を，5 mM DTT，0.1 mM EDTA，12.5% グリセロール，50 mM K-Phosphate（pH 7.5）を含む緩衝液4 mlで，氷冷しながら，乳鉢と乳棒で磨砕した．抽出懸濁液4 ml中1 mlを分取し，100％アセトン4 mlを加えて，5,000×g（<4℃）で10分間遠心後，その上清をクロロフィルの定量に使用した．残りの抽出懸濁液3 mlは30,000×g（<4℃）で10分間遠心した．その上清を可溶性タンパク質画分とし，そのタンパク含量およびRubisco含量の定量に使用した．沈殿を抽出に使用した緩衝液で洗浄し，30,000×g（<4℃）で10分間遠心後，その沈殿を90％アセトンで洗浄して，30,000×g（<4℃）で10分間遠心した．その沈殿に2％（v/v）SDS，300 mM 2-メルカプトエタノール，50 mM K-Phosphate（pH 7.5）を含む緩衝液2 mlを加えて，懸濁した．その懸濁液を3分間煮沸して，不溶性タンパクを可溶化した．30,000×gで20分間遠心後，その上清を不溶性タンパク質の定量に使用した．

可溶性および不溶性タンパク質含量はBSAを標準として，それぞれBradford（1976）の方法とLowry（1951）の方法により定量した．クロロフィル含量はAmon法（1949）により定量した．Rubisco含量は第一章と同様に免疫拡散法により定量した．

5．タンパク質分解酵素活性の測定

タンパク質分解酵素活性はMae and Ohira（1984）の方法に基づいて測定した．基質としては1％（w/v）ヘモグロビン（Sigma, from bovine）を使用し，反応によって生じたアミノ酸量を，ロイシンを標準としてニンヒドリン反応により比色定量した．

結果

実験期間中，両品種の対照区の植物体における光およびCO_2飽和下の光合成能力は徐々に低下し，処理10日目でHAとTNでそれぞれ16.6と16.1μmol・m^{-2}・s^{-1}であった（図10）．HAにおいて，深水処理により水没した着生葉および切断葉の光合成能力はともに対照区よりも急速に低下したが，その低下速度は着生葉の方が速く，それぞれ処理6日目と処理10日目にゼロになった．TNにおいて，処理2日目では深水処理した切断葉の光合成能力の方が着生葉よりも低かったが，その後は着生葉の方が切断葉よりも低かった．しかし，HAとは異なり，処理10日目まで着生葉と切断葉ともにゼロにはならなかった．

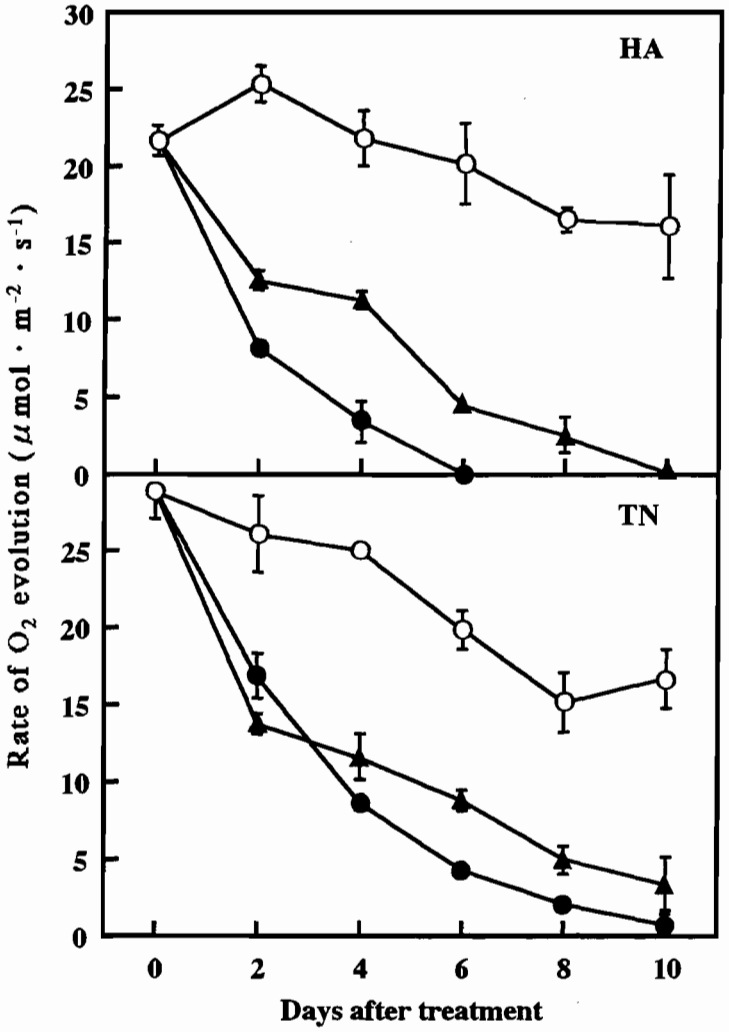

Fig 10 Changes in rate of O_2 evolution of the attached (●) and the detached (▲) 7th leaf blade under submergence in HA and TN. As control (O), the attached 7th leaf blade grown under ordinary conditions was used. Rate of O_2 evolution was measured with gas-phase oxygen electrode (20 % O_2, 5 % CO_2, 2200 μmol photon m^{-2} s^{-1}, 25 ℃, saturated water vapor). Vertical bars express ± standard errors (n = 3).

HAにおいて，深水処理した切断葉の可溶性タンパク質含量は対照区よりも速く低下したが，処理10日目でも処理開始時の約50％の含量があった（図11）．一方，深水処理により水没した着生葉の可溶性タンパク含量は処理８日目にゼロになった．深水処理したTNにおいて，水没した切断葉と着生葉の可溶性タンパク質含量は処理４日目まで有意な差はなかったが，その後，着生葉の方が切断葉よりも速く低下した．しかし，処理10日目でも深水処理した２つの葉で可溶性タンパク含量が存在した．

深水処理したHAの切断葉と着生葉における不溶性タンパク含量はともに対照区よりも速く低下するが，着生葉の方は処理８日目に含量がほぼゼロになったのに対し，切断葉では処理10日目の時点で処理開始時の約３分の１の含量があった（図12）．TNの不溶性タンパク含量において，深水処理した着生葉は処理４日目以降，切断葉は処理６日目以降で対照区よりも低くなった．しかし，深水処理した両葉の含量は処理10日目でもゼロにはならなかった．

図13は両品種のクロロフィル含量の深水下における変化を示す．HAにおいて，着生葉および切断葉のクロロフィル含量ともに対照区よりも速く低下した．処理２日目では切断葉と着生葉の間で差はないが，４日目以降，着生葉の方が切断葉よりも速く低下した．TNにおいて，処理２日目では対照区および深水処理した切断葉と着生葉の間にクロロフィル含量の有意な差はないが，４日目以降深水処理した両葉が対照区よりも速く含量が低下した．また，処理期間中，深水下での両葉の含量に差はなかった．

図14は両品種のRubisco含量の深水下における変化を示す．HAにおいて，深水処理した切断葉のRubisco含量は対照区よりも速く低下したが，処理10日目でも処理開始時の約10％の含量があった．一方，深水処理により水没した着生葉のRubisco含量は処理６日目にゼロになった．TNにおいて，深水処理下での切断葉と着生葉の含量は処理４日目まで有意な差はなかった．その後は，深水下で着生葉の方が切断葉よりも速く低下するが，処理10日目でも深水処理した２つの葉でRubiscoが存在した．

図15はRubisco含量と光，CO_2飽和下の光合成能力との関係を示す．両品種ともにRubisco含量と光合成能力の間には高い相関があった．また，これらの関係を品種別に回帰すると，１％水準で有意差はなかった（データは示さず）．

HAにおいて，対照区の植物体のタンパク質分解酵素活性は処理６日目までほとんど一定であり，その後徐々に増加した（図16）．一方，深水処理した切断葉の活性は処理６

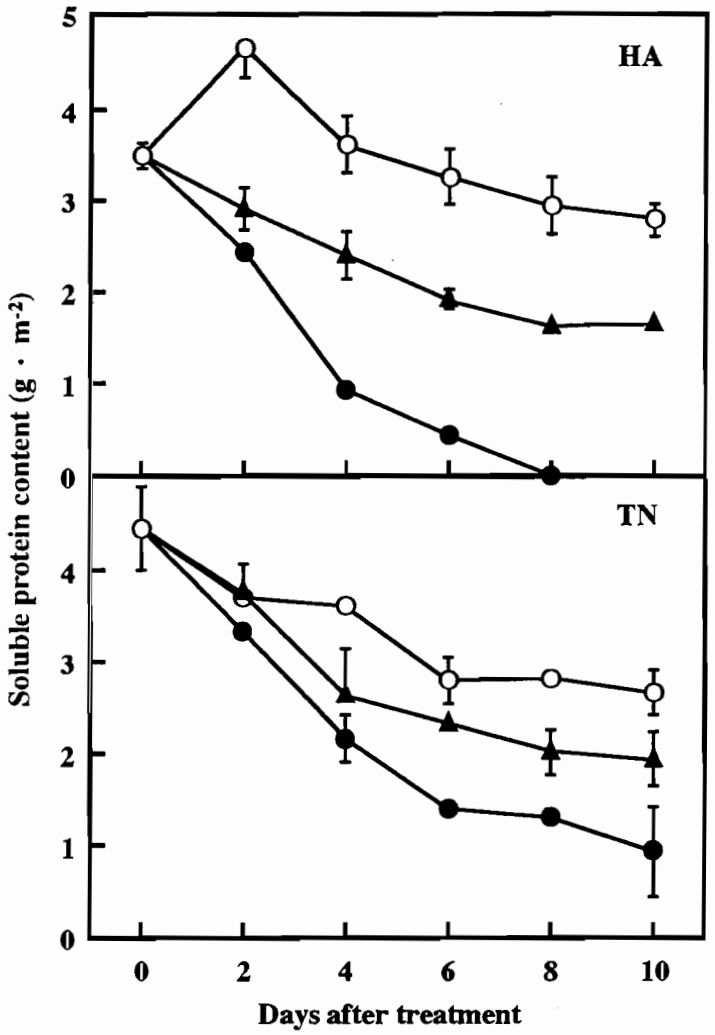

Fig 11 Changes in soluble protein content of the attached (●) and the detached (▲) 7th leaf blade under submergence in HA and TN. As control (O), the attached 7th leaf blade grown under ordinary conditions was used. Soluble protein content was determined by the method of Bradford (1976) using BSA as standard. Vertical bars express ± standard errors (n = 3).

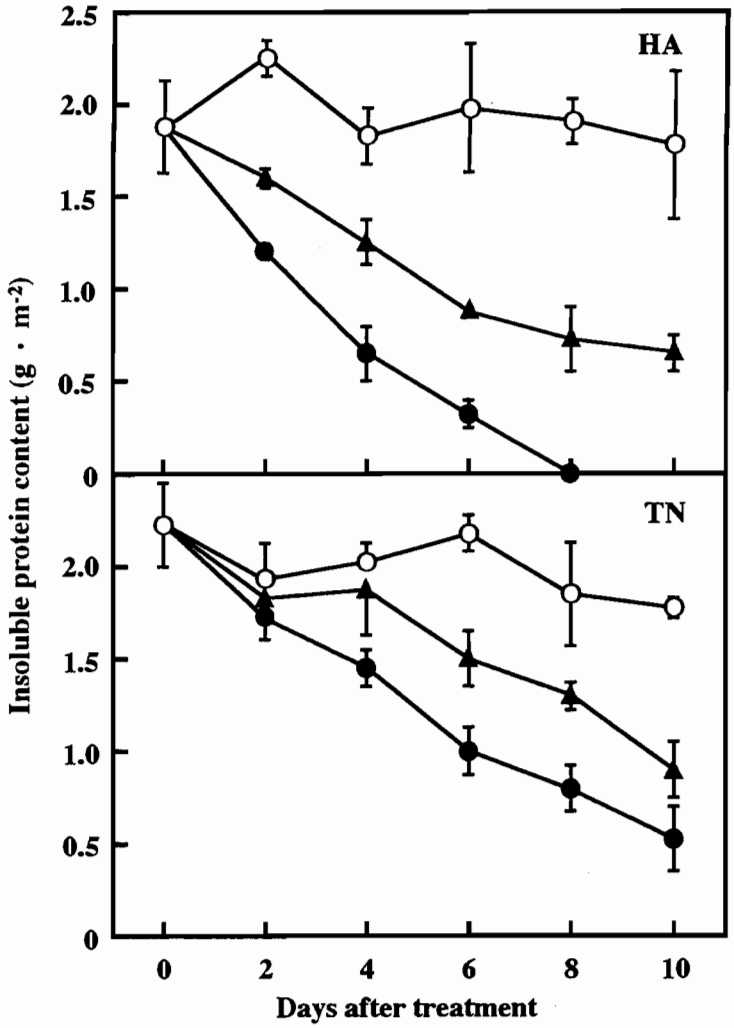

Fig 12 Changes in insoluble protein content of the attached (●) and the detached (▲) 7th leaf blade under submergence in HA and TN. As control (O), the attached 7th leaf blade grown under ordinary conditions was used. Insoluble protein content was determined by the method of Lowry (1951) using BSA as standard. Vertical bars express ± standard errors (n = 3).

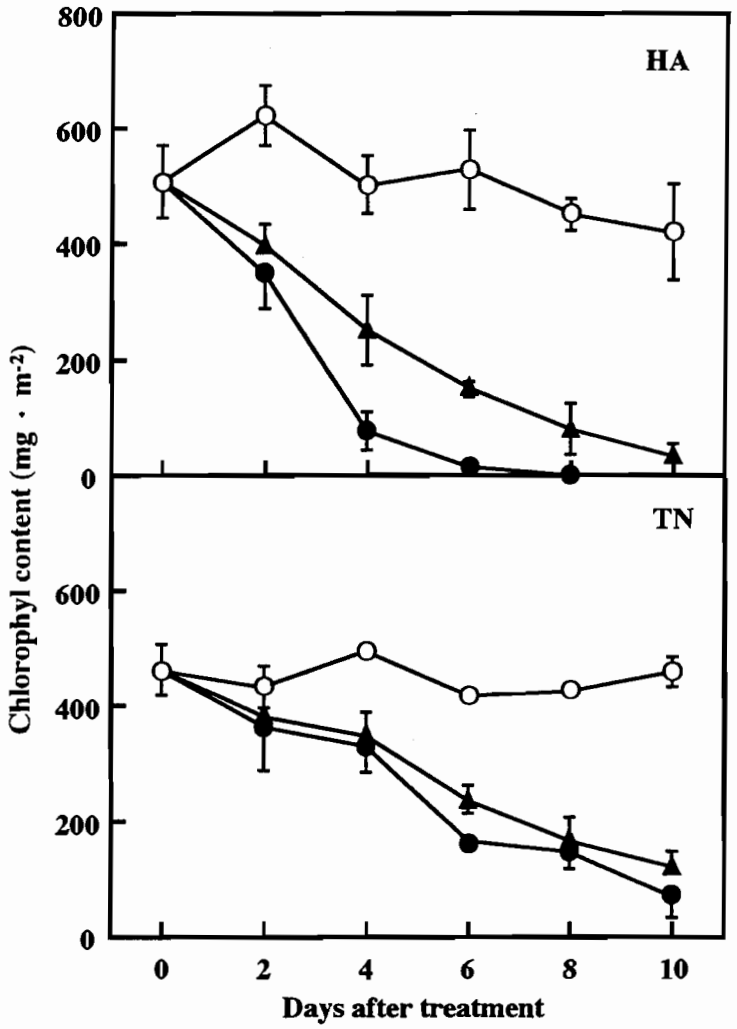

Fig 13 Changes in chlorophyl content of the attached (●) and the detached (▲) 7th leaf blade under submergence in HA and TN. As control (O), the attached 7th leaf blade grown under ordinary conditions was used. Chlorophyl content was determined by the method of Arnon (1949). Vertical bars express ± standard errors (n = 3).

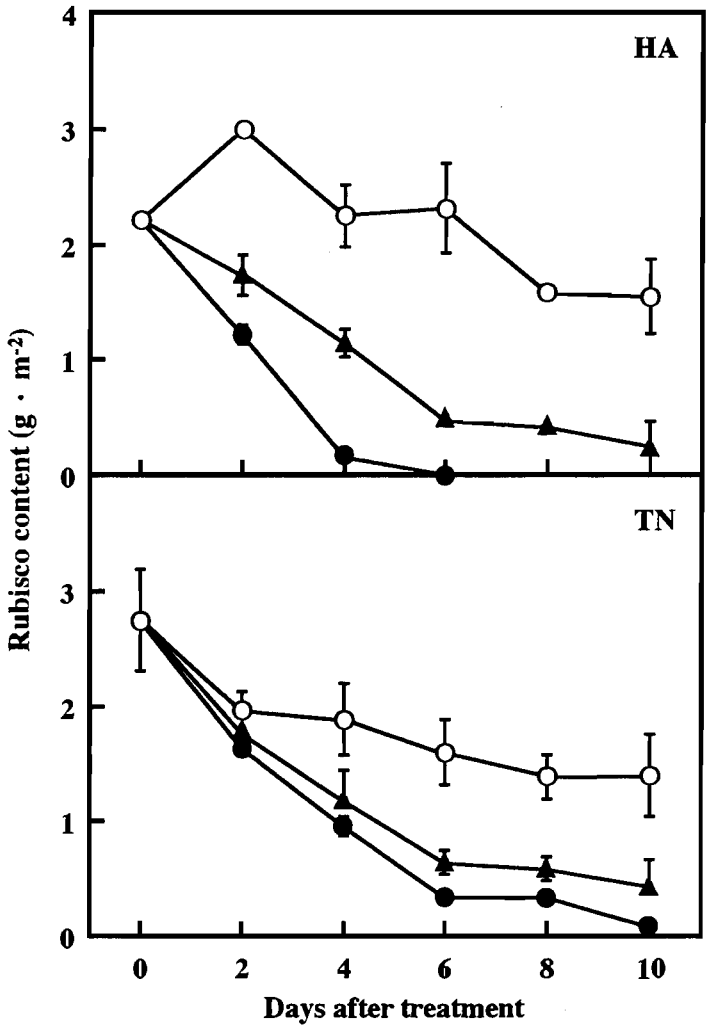

Fig 14 Changes in Rubisco content of the attached (●) and the detached (▲) 7th leaf blade under submergence in HA and TN. As control (O), the attached 7th leaf blade grown under ordinary conditions was used. Rubisco content was determined by single radial immunodiffution method using rabbit antiserum against purified rice Rubisco. Vertical bars express ± standard errors (n = 3).

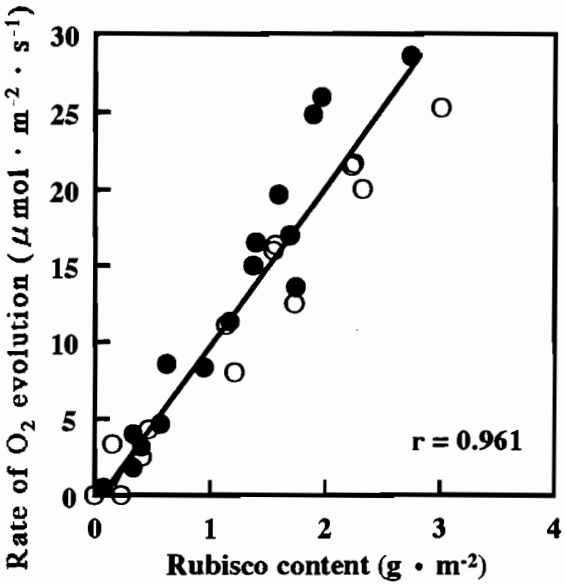

Fig 15 Relationship between rate of O_2 evolution and Rubisco content of the 7th leaf blades in HA (O) and TN (●).
The correlation coefficient is significant at 0.1% level.

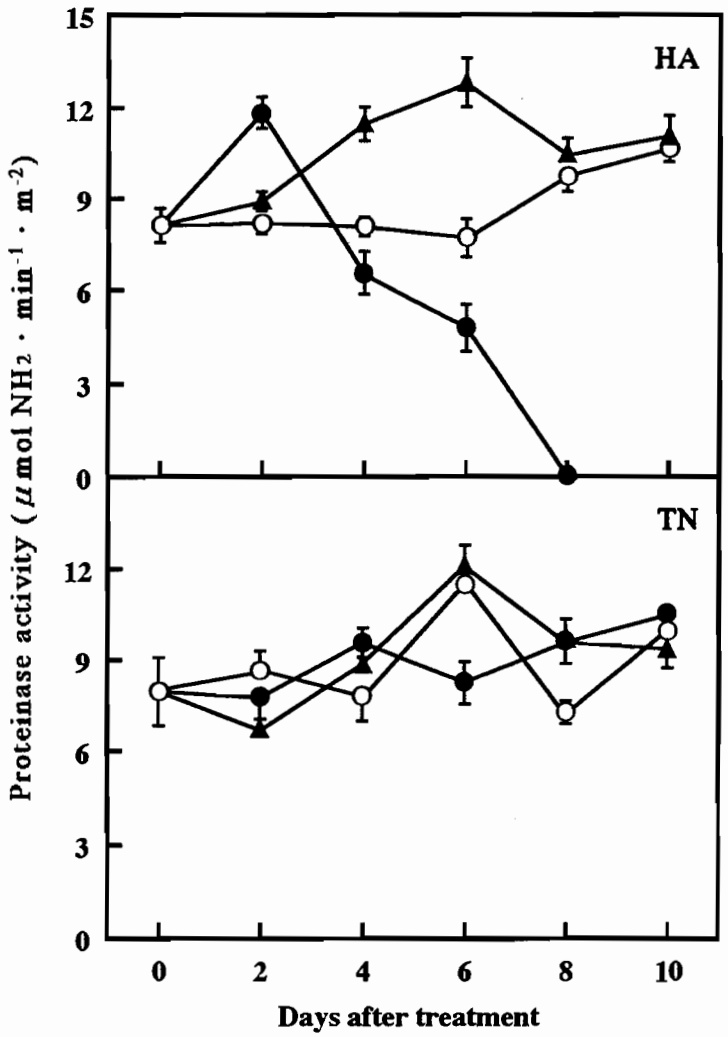

Fig 16 Changes in proteinase activity of the attached (●) and the detached (▲) 7th leaf blade under submergence in HA and TN. As control (O), the attached 7th leaf blade grown under ordinary conditions was used. Proteinase was assayed by the method of Mae and Ohira (1984) using hemoglobin from bovine as substrate. Vertical bars express ± standard errors (n = 3).

日目にかけて徐々に増加し，同じく水没した着生葉の活性は処理２日目で著しく増加し，その後急速に低下した．TNにおいて，深水処理した切断葉のタンパク質分解酵素活性はHAのそれと同様の動きを示したが，処理期間中，対照区および２つの深水処理葉の間で大きな差はなかった．

考察

深水によって完全に水没した下位葉の光合成能力の変化を浮イネと非浮イネで調査した結果，両品種ともに下位葉の光合成能力は深水による水没で低下した（図10）．すなわち，葉の老化は深水下で促進されることを示している．他の植物種において，多くの研究者がこの現象を報告している（Kawase 1974, Drew and Sisworo 1977, Jackson 1979, Trought and Drew 1980, Wenkert et al. 1981, Hung and Kao 1993）．さらに，本実験の結果から明らかになった深水下における両品種間の光合成能力の変化の違いは次の２点であった．

一つは，深水処理により水没した着生葉の光合成能力をHAとTNで比較すると，HAでは処理６日目にゼロになったのに対し，TNでは処理10日目においても光合成能力がゼロにならなかったことである．これら光合成能力の変化は葉内成分含量の変化と一致し（図11-14），特にRubisco含量の変化とは高い正の相関があった（図15）．よって，深水下においてHAの着生葉の葉内タンパク質，特にRubiscoの分解はTNよりも急速に促進され，その結果，光合成能力の低下，つまり老化が速まることが明らかになった．

もう一つは，深水処理したHAでは，着生葉の光合成能力の方が切断葉よりも著しく低下したのに対し，深水処理したTNでは，着生葉と切断葉の間にそのような顕著な差がなく，その結果切断葉においては光合成能力の低下速度に品種間差はなかったことである．よって，HAとTNの水没した着生葉においてその老化速度が異なるのは，水没に対する葉の反応性が両品種で異なるからではないことが明らかになった．着生葉と切断葉の形態的な差はシンクとしての生長器官が存在するかどうかである．また，深水下で浮イネは非浮イネと異なり水面上の若い上位葉の生長が促進される（第一章）．つまり，HAの水没した下位葉の老化がTNよりも促進されるのは，深水下での急速な上位葉の生長に対して，下位葉の窒素の分解とそれに続く再分配が増加した結果であると考えられる．

深水処理した浮イネの水没した着生葉において，タンパク質分解酵素活性が処理後２

日目に著しく増加した（図16）．コムギ（Dalling et al. 1976, Nair et al. 1978, Wittenbach 1979），トウモロコシ（Feller et al. 1977），オオムギ（Friedrich and Huffaker 1980），ダイズ（Wittenbach et al. 1980）といった多くの植物種で，葉のタンパク質分解酵素活性と窒素の消失の間に高い正の相関があることが示されている．しかし一方で，イネ葉においてはこのような相関がみられないことも報告されている（Mae and Ohira 1984, Mae et al 1985）．本実験において，浮イネの深水直後の著しいタンパク質分解酵素活性の増加はその後のRubisco含量の急速な減少と関連があると思われ，上述の普通栽培下のイネ葉の老化に伴う変化とは異なる結果となった．深水下での浮イネ葉の老化には，通常のイネ葉の老化とは異なり急速なタンパク質の分解が伴っているので，タンパク質分解酵素の関与が示唆されるが，この点に関してはさらに調査する必要があろう．

深水下において，非浮イネでは全可溶性窒素/タンパク態窒素の割合が著しく増加するのに対し，浮イネではほとんど変化がないことが報告されている（山口 1973b）．今回の結果と併せて検討すると，深水下で水没した葉のタンパク質の分解から上位葉への再分配，さらにその上位葉でのタンパク質の合成といった一連の過程が浮イネでは維持されるのに対し，非浮イネでは水没葉のタンパクの分解のみが進行することが考えられる．よって，浮イネが深水下で生育すると，水没した下位葉のタンパク質分解酵素活性が増加し，それに伴い再分配窒素源としての葉内の可溶性タンパク質，特にRubiscoの分解が促進され，下位葉の老化速度が高くなる．この作用が深水下での葉数の増加およびその葉の光合成能力の維持に必要とされる窒素の，水没した老化葉から生長葉への求頂的な転流を可能にしている要因の一つであろう．

摘要

光合成産物の供給を維持するには，まず葉の生育とその光合成能力の維持が必要である．深水下で生育している浮イネは葉の生長の促進によって主稈葉数が増加し，光合成能力も高く維持される．本章の目的は，葉の生長を維持するために必要な窒素供給において深水下で浮イネが受ける影響とそれに対する適応を解明することである．

第一節では，浮イネを標準窒素区（1.0 mM NH_4NO_3）と高窒素区（1.5 mM NH_4NO_3）の２段階で窒素処理し，それぞれ深水下と普通栽培下で生育させ，葉の光合成能力および窒素含量を測定した．対照区の植物体においては，高窒素処理により上位葉の光合成能力および葉身の全窒素含量が増加した．しかし，深水処理した植物体においては，窒素施肥量に関係なく，上位葉の光合成能力および葉身の全窒素含量は一定であった．さらに，標準窒素量で深水処理した植物体の上位葉は，高窒素施肥量で普通条件下で生育した植物体と同レベルの高い葉身窒素含量を有していた．これらの結果と，深水下では酸素分圧の低下と二酸化炭素分圧の上昇により根の生育と窒素の吸収が低下すると思われることから，深水下で生育した浮イネは根から吸収した窒素以外の窒素により上位葉の光合成能力と生長を維持していることと考えられた．よって，深水下における浮イネの生長には下位葉からの窒素再分配が重要であることが示唆される．

深水下での浮イネの生長が下位葉からの再分配窒素に依存しているならば，浮イネでは下位葉の老化が深水によって促進されると思われる．そこで第二節では，深水によって水没した下位葉の老化を調査するため，浮イネ品種であるHabiganj Aman II（HA）と非浮イネ品種であるTaichung Native 1（TN）を深水処理し，その光合成能力およびタンパク質画分の変化とタンパク質分解酵素活性を調査した．その結果，HAの深水により水没した着生葉はTNのそれよりも光合成能力の低下が速かった．光合成能力の変化はRubisco含量の変化と高い正の相関があり，水没したHAの下位葉ではRubiscoの急速な分解によって老化が促進されることが明らかになった．さらに，水没によるHAとTNの下位葉の老化速度の差は，両品種の水没に対する葉の反応性の違いであるのか，若い上位葉の生長速度の違いから生じる急速な窒素再分配によるものかどうかを検討するため，切断葉と着生葉を同様の条件下で深水処理して，上記の項目に関して調査した．その結果，深水処理したHAの切断葉はその着生葉よりも光合成能力の低下が抑制され，そして，切断葉においては深水による光合成能力の低下に品種間差はなかった．着生葉と切断葉の形態

的な差は，シンクとしての生長器官が存在するかどうかである．よって，これらの結果から，水没した下位葉から生長中の葉への窒素の再分配の増加が，浮イネの水没した下位葉の老化を非浮イネよりも促進する主な原因であることを示唆する．深水処理したHAの着生葉において，タンパク質分解酵素活性が処理2日後に著しく増加した．この活性増加はHAの水没葉中の可溶性タンパク，特にRubisco含量の急速な低下と関連があると考えられる．以上の結果から，深水下のHAにおいて，水没した下位葉のRubiscoをはじめとするタンパク質は，活性の増加したタンパク質分解酵素によって分解され，若い上位葉の生長促進による葉数の増加に対応するための重要な窒素源となっていると思われる．

第三章
ソース葉における光合成産物の転流能力の変化

第一章で述べたように，深水下で浮イネの節間は急速に伸長する．また，浮イネは非浮イネと異なり主稈の葉の生長が速くなる．これらの生長促進により光合成産物の要求量が増加することが予想され，深水下での水面上に維持される葉面積の減少（内田ら 1989a, b）とあわせて，浮イネは深水下でシンクとソースのバランスが変化すると思われる．

葉で同化された炭素はスクロースとして葉から転流され，デンプンとして葉緑体に蓄積する．よって，ソース葉でのスクロースの供給が光合成産物の転流を制御する要因の一つである（Geiger et al. 1979）．光合成産物に対するシンクとソースのバランスの変化は，光合成によって固定された炭素のデンプンとスクロースへの配分を変化させることが知られている（Herold 1980）．また，ソースである葉の一部を切除したり，また遮光することによって，シンクとソースの比率をシンクがより大きくなるように変化させると，残された葉においてCO_2同化速度は一定であるが，スクロース含量とその転流速度が増加することが報告されている（Thorne and Koller 1974, Swanson et al. 1976, Geiger 1976, Borchers-Zampini et al. 1980, Rufty and Huber 1983）．一方，シンク器官を除去することなどによりスクロースの要求量を減少させると，ソース葉においてCO_2同化速度の低下とデンプンの蓄積が生じる（Ciha and Brun 1978, Hall and Milthorpe 1978, Rufty and Huber 1983）．

本章では，まず深水下で生育した浮イネの各葉における光合成産物のシンクへの供給能力の変化を検討するため，光合成産物の転流速度をトレーサーとして$^{13}CO_2$を用いて調査した．また，それら葉におけるスクロースとデンプンの含量を測定した．さらに，深水下におけるソース葉の転流速度およびスクロースとデンプン含量の変化をもたらす要因を検討するため，スクロース生合成系の酵素であるスクロースホスフェイトシンターゼ（SPS）と細胞質フルクトースビスホスファターゼ（Cytosolic FBPase）の活性を調査した．

材料と方法

1．供試材料

浮イネ品種であるHabiganj Aman IIを使用した．第一章と同様の方法で種子を予措，催芽させた．発芽した種子は第二章第一節と同様に水耕法により，第9.5葉期まで屋外で生育させた．なお，生育中に発生した分げつはそのたびに取り除き，主稈のみの植物体とした．

2．深水処理

第9.5葉期の供試イネを水耕液の入った1ℓのプラスチック製の瓶に移し，スポンジで固定し，またそれによって深水処理下での水耕液の拡散を防いだ．そして，第10.3葉期に生育するまで5日間，第7葉の葉身の約半分が水没する水位で屋外で深水処理した．対照区として，普通条件下で第10.3葉期まで生育させた植物体を使用した．この時点で，両区の植物体とも最上位節間は第9節間であった．各処理区の植物体のうち半数は^{13}Cによるトレーサー実験に使用し，残りの植物体は酵素活性の測定とデンプンおよびスクロース含量の定量のため，第7葉（7L）以上の葉身中央部を午前10時にサンプリングし，すぐに液体窒素で凍結後，-30℃で保存した．

3．^{13}Cの供与と分析

植物体を深水処理したタンク上に容積1m^3のアクリルチャンバーをおいた．対照区の植物体を水を満たしていないタンク内に置き，同じくその上にアクリルチャンバーをおいた．チャンバー内の空気を冷却槽に通すことによって，その気温を35℃以下に制御した．^{13}Cを供与する前に，チャンバー内の空気をソーダライムを入れたシリンダーに通して，チャンバー内のCO_2の約50%を取り除いた．チャンバー内のCO_2濃度は赤外線CO_2分析計（Shimazu；URA-107）によりモニターした．10gの$Ba^{13}CO_3$を入れた200mlのガラスフラスコにペリスタリックポンプで50%（v/v）リン酸を滴下することで$^{13}CO_2$を発生させた．上記の装置で，午前8時から10時までの2時間，植物体に$^{13}CO_2$を供与した．供与時のチャンバー内のCO_2濃度は430±20ppm，そのうち$^{13}CO_2$は約50%であった．供与終了時および供与後6，21時間後に植物体をサンプリングした．そして，第7葉身以下の葉身（7L），第8葉身（8L），第9葉身（9L），第10葉身（10L），その他の部位に

分けて，すぐに105℃で30分間，Killingを行い，つづいて，70℃で５日間，それら試料を乾燥させた．その後，試料の乾物重を測定した．

乾燥した試料を振動式の粉砕器により粉末状にし，その^{13}C含量を赤外線$^{13}CO_2$分析計（日本分光；EX130S）によって測定した．２時間の$^{13}CO_2$供与期間中に固定された炭素の全炭素に占める割合（RSA）は，以下に示す式によって算出した．

$$\mathrm{RSA} = \frac{\text{試料中の}^{13}\text{C atom \% excess}}{\text{供与した空気中の}^{13}\text{C atom \% excess}} \times 100$$

試料中の$^{13}CO_2$供与期間中に固定された炭素の含量（A）は，試料中の全炭素含量が乾物重の45％であると仮定して，以下の式により算出した（Tatsumi et al. 1992）．

$$A = \mathrm{RSA}/100 \times \text{試料の乾物重} \times 0.45$$

４．炭素転流量の算出

同化器官である葉のラベル炭素含量は，その葉によって固定された炭素量から，他の器官へ転流された炭素量および呼吸によって消費された炭素量をひいたものである（Geiger and Shieh 1988）．本実験では，ラベル炭素供与６時間後および21時間後の植物体全体に存在する^{13}C含量から，以下の式により，呼吸によって植物体全体から消失した^{13}Cの比率（R rate）を算出した．

$$\mathrm{R\ rate} = \frac{^{13}\text{C供与終了時から６，21時間後までに植物体全体から消失したラベル炭素量}}{^{13}\text{C供与終了時に植物体全体に存在するラベル炭素量}} \times 100$$

各葉身から^{13}C供与６および21時間後までに転流によって消失したラベル炭素量（E）は，以下の式によって算出した．

$$E = {}^{13}\text{C供与６時間または21時間までに葉身から消失したラベル炭素量} \times (1 - \mathrm{R\ rate}/100)$$

５．酵素活性の測定

凍結保存させておいた試料を50mM Mops-NaOH（pH 7.5），５mM $MgCl_2$，１mM EDTA，2.5mM DTT，0.5mg/ml BSA，0.1% Triton X-100を含む緩衝液１mlで，氷冷しな

がら乳鉢と乳棒で磨砕した．そして，抽出液を12,000×gで10分間（<4℃）遠心した．その上清を，50mM Mops-NaOH （pH 7.5），5 mM $MgCl_2$，2.5mM DTT，0.5mg/ml BSAを含む緩衝液で平衡化させておいたSephadex G-25 （Pharmacia）カラムで遠心することにより脱塩した（Hermerhorst and Stokes 1980）．

SPSの活性はHuber et al.（1989）の方法に基づいて測定された．基質飽和の最大活性（Vmax）は，脱塩した抽出液の50μlを10mM フルクトース-6-リン酸（F6P），40mM グルコース-6-リン酸（G6P），10mM UDP-グルコース（UDPG），5 mM $MgCl_2$，50mM Mops-NaOH （pH 7.5）とともに，全容量100μl中で25℃で15分間反応させることで測定した．低基質濃度で活性阻害剤である無機リン酸（Pi）を含む条件下でのin vivo 活性（Vlimiting）は，脱塩した抽出液の50μlを3 mM F6P，12 mM G6P，10 mM UDPG，10 mM Pi，5 mM $MgCl_2$，50mM Mops-NaOH （pH 7.5）とともに，全容量100μl中で25℃で15分間反応させることで測定した．反応は30%KOH溶液を100μl加えて停止した．ブランクとして反応をさせない反応液を用いた．反応停止液を沸騰水中に10分間おくことによって反応せずに残ったF6Pを破壊した．冷却後，13.8Mの濃硫酸に溶解した0.14%アンスロン1mlを加えて，40℃で20分間反応，発色させた．冷却後，620nmの吸光度を測定した．

Cytosolic FBPaseの活性はStitt et al.（1982）の方法に基づいて測定した．脱塩した抽出液50μlを50μMフルクトース-1,6-ビスホスフェイト（FBP），5mM $MgCl_2$，0.2mM NADP，50mM HEPES-NaOH （pH 7.0），2 U/ml ホスホグルコイソメラーゼ，2 U/ml G6Pデヒドロゲナーゼとともに，全容量1 ml中で25℃で反応させ，340nmの吸光度を連続的にモニターした．

6．スクロースおよびデンプン含量の定量

凍結保存した試料を5 mlの80%エタノールで乳鉢と乳棒により磨砕した．その抽出液を3,000×gで15分間遠心し，その上清を別の試験管に移した．その沈殿残査に80%エタノールを5 ml加え，80℃で20分間放置し，その後それを撹拌した．その抽出液を再び3,000×gで15分間遠心し，その上清を最初の抽出液の上清と合わせ，スクロースの定量に用い，沈殿残査をデンプンの定量に用いた．その抽出液を濃縮乾固し，50 mM HEPES-KOH（pH 7.5）緩衝液10mlに溶解した．スクロースとヘキソースの含量はKerr et

al.（1985）による方法によって定量した.

結果

深水処理した植物体の７Ｌには，^{13}C供与期間中に新たに固定された炭素（新規固定炭素）はほとんど存在しなかった（図 17）．^{13}C供与終了時の対照区の植物体の７Ｌにおける新規固定炭素は8.5mgで，６時間後は5.6mg，21時間後は3.5mgであった．８Ｌにおける新規固定炭素の変動は，両区間でほとんど差がなかった．^{13}C供与終了時の９Ｌにおける新規固定炭素は，深水処理した植物体で15.7mg，対照区の植物体で12.9mgであり，わずかに深水処理した植物体の方が高かった．しかし，その６時間後と21時間後には両区間の新規固定炭素含量に差はなかった．^{13}C供与終了時において，深水処理した植物体の10Ｌにおける新規固定炭素含量は，対照区の植物体よりも有意に高かった．その６時間後の新規固定炭素含量における両区間の差はほとんどなく，よって，深水処理下で生育した植物体の方が含量の低下が大きかった.

図 17の結果をもとに，^{13}C供与期間中にあらたに固定された炭素の各葉身から他の器官への転流によって消失したラベル炭素流出量を算出した（表６）．深水処理した植物体の７Ｌのラベル炭素流出量は対照区よりも有意に低かった．８Ｌにおける流出量に関しては，０－６ｈでは深水区の方が対照区よりも５％水準で有意に高かったが，０－21ｈでは両区間で有意な差が存在しなかった．深水処理した９Ｌからのラベル炭素流出量は，０－６ｈにおいて対照区よりも５％水準で有意に高く，また０－21ｈにおいては対照区の約1.5倍で，１％水準で有意に高かった．最上位展開葉の10Ｌでは，０－６ｈおよび０－21ｈともに，深水処理した植物体のラベル炭素流出量の方が対照区よりも大きく，１％水準で有意差があった.

表６の結果から，^{13}C供与後６時間に葉身から他の器官へ転流した生体重当たりのラベル炭素の流出速度を算出した．７Ｌにおける流出速度は深水下で有意に低かった（表７）．深水処理した植物体の９Ｌと10Ｌの流出速度はそれぞれ５％と１％水準で対照区よりも有意に高かった．８Ｌの流出速度は両区間で差がなかった.

深水処理した７Ｌにおけるデンプンおよびスクロース含量は対照区よりも著しく低かった（表８）．８Ｌ以上のデンプン含量は両区間で差がなかった．８Ｌのスクロース含量は両区間で差がないが，深水処理した植物体における９Ｌと10Ｌのスクロース含量は対

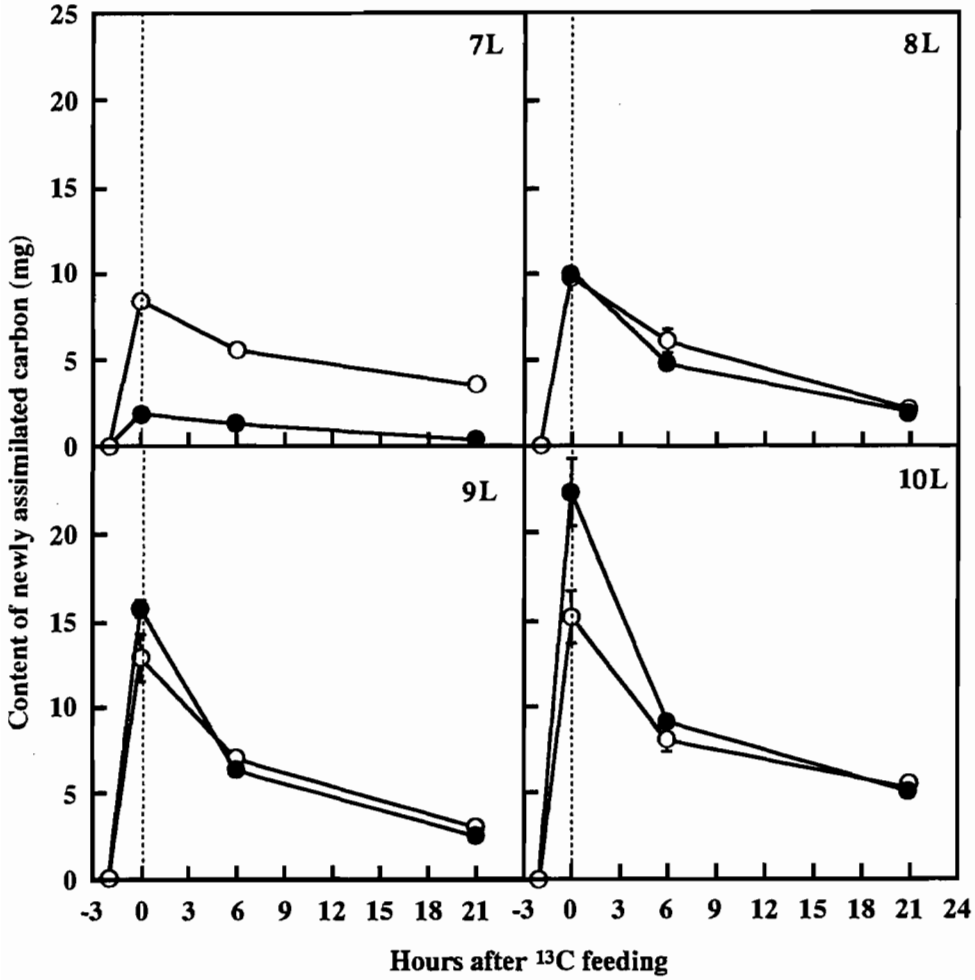

Fig 17 Changes in content of carbon assimilated during ^{13}C feeding in each leaf blade. Submerged treatment (●) was carried out in the depth of water to half of the 7th leaf blade for 5 days. As control (○), plants grown under ordinary conditions until the same leaf age as the submerged plants were used. $^{13}CO_2$ was fed to the both plants from 8 a.m to 10 a.m (from -2 to 0). The both plants were harvested at 0, 6 and 21 hours after ^{13}C feeding.

Vertical bars express ± standard errors (n = 5).

Table 6 Effect of submergence on amount of export of carbon assimilated during ^{13}C feeding period from each leaf blade.

Period	Treatment	Leaf position			
		7L	8L	9L	10L
		mg C			
0 - 6h	Control	2.23	2.38	5.46	6.62
	Submergence	0.57*	4.27*	7.65*	10.68**
0 - 21h	Control	3.25	4.90	6.39	6.89
	Submergence	1.19**	5.91	9.72**	12.63**

Data are expressed as the means of five replicates.
* , ** ; significant at 5% and 1% level.

Table 7 Effect of submergence on export rate of each leaf blade from 0 to 6h after ^{13}C feeding .

Treatment	Leaf position			
	7L	8L	9L	10L
	mg C h^{-1} g FW^{-1}			
Control	1.30	1.32	2.32	2.84
Submergence	0.48**	1.75	2.86*	4.06**

Data are expressed as the means of five replicates.
* , ** ; significant at 5% and 1% level.

Table 8 Effects of submergence on sucrose and starch contents and sucrose/starch ratio of each leaf blade.

	Treatment	Leaf position			
		7L	8L	9L	10L
Sucrose (mg g FW^{-1})	Control	28.6	38.0	42.1	43.9
	Submergence	5.3**	37.8	54.4*	54.0*
Starch (mg g FW^{-1})	Control	3.48	3.14	2.87	2.75
	Submergence	0.65**	3.27	2.94	2.55
Sucrose/starch	Control	8.2	12.1	14.6	16.0
	Submergence	8.2	11.6	18.5*	21.2**

Data are expressed as the means of five replicates.
* , ** ; significant at 5% and 1% level.

照区よりも高かった．スクロースとデンプンの含量比に関して，７Ｌと８Ｌのそれは深水による影響を受けなかったが，９Ｌと10Ｌでは深水処理した植物体の方が対照区よりも高い値を示した．

図 18は各葉位別のSPS活性（VmaxとVlimiting）を示したものである．深水処理した植物体における７ＬのVmaxとVlimiting活性は対照区よりも低かった．８ＬのVmaxとVlimiting活性は両区間でほとんど差がなかった．９Ｌと10ＬのVmax活性も両区間で有意な差はなかった．しかし，深水処理した植物体における９Ｌと10ＬのVlimiting活性は対照区よりも有意に高い値を示した．

図18の結果からSPSの活性化率（Vlimiting/Vmax）を算出した．７ＬのSPS活性化率は深水下で対照区よりも有意に低かった（表９）．８Ｌの活性化率は両区間で差がなかった．しかし，９Ｌと10Ｌの活性化率は，深水下の植物体の方が対照区よりも高く，それぞれ５％と１％で有意差があった．

深水処理した植物体における７ＬのCytosolic FBPase活性は対照区よりも低下した（図19）．一方，深水処理した植物体における９Ｌと10Ｌの活性は対照区よりも有意に増加した．８ＬのCytosolic FBPase活性は両区間で差がなかった．

SPSのlimiting活性はラベル炭素の流出速度と高い正の相関があり，Cytosolic FBPase活性も同様に高い正の相関があった（図20）．SPSのlimiting活性とCytosolic FBPase活性はそれぞれスクロース含量およびスクロースとデンプンの含量比と高い正の相関があった（図21，22）．

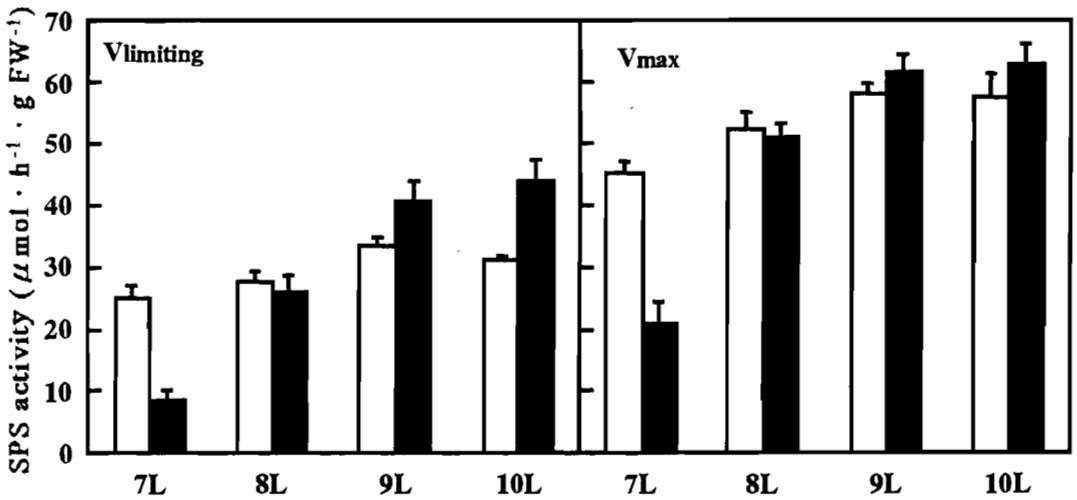

Fig 18 Effect of submergence on SPS (Vmax) and SPS (Vlimiting) activities of each leaf blade. Submerged treatment (■) was carried out in the depth of water to half of the 7th leaf blade for 5 days. As control (□), plants grown under ordinary conditions until the same leaf age as the submerged plants were used. SPS was assayed under two different reaction mixtures, saturating substrate (Vmax) and limiting substrate plus inhibitor (Pi) (Vlimiting) by the method of Huber et al. (1989). Vertical bars express + standard errors (n = 3).

Table 9 Effect of submergence on SPS activation state of each leaf blade.

Treatment	Leaf position			
	7L	8L	9L	10L
		%		
Control	55.1	53.0	57.8	54.6
Submergence	40.9**	51.0	65.9*	69.4**

Data are expressed as the means of three replicates.
*, ** ; significant at 5% and 1% level.

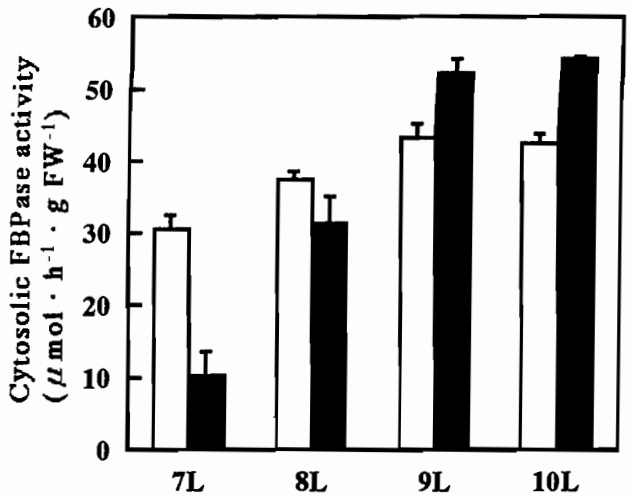

Fig 19 Effect of submergence on Cytosolic FBPase activity of each leaf blade. Submerged treatment (■) was carried out in the depth of water to half of the 7th leaf blade for 5 days. As control (□), plants grown under ordinary conditions until the same leaf age as the submerged plantswere used. Cytosolic FBPase was assayed by the method of Stitt et al. (1982). Vertical bars express + standard errors (n = 3).

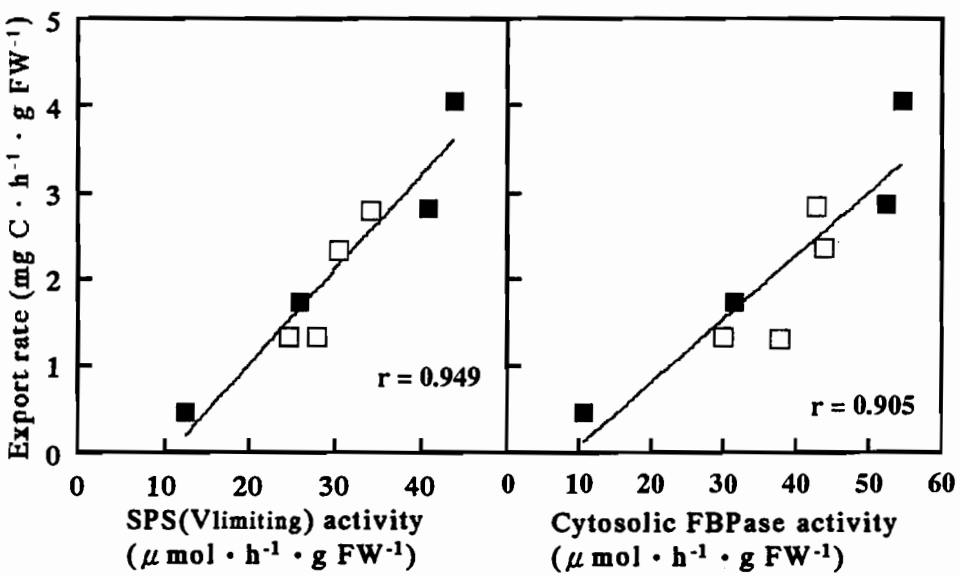

Fig 20 Relationship between export rate and SPS (Vlimiting), and Cytosolic FBPase activities of each leaf blade. Submerged treatment (■) was carried out in the depth of water to half of the 7th leaf blade for 5 days. As control (□), plants grown under ordinary conditions until the same leaf age as the submerged plants were used. The each correlation coefficient is significant at 0.1% level.

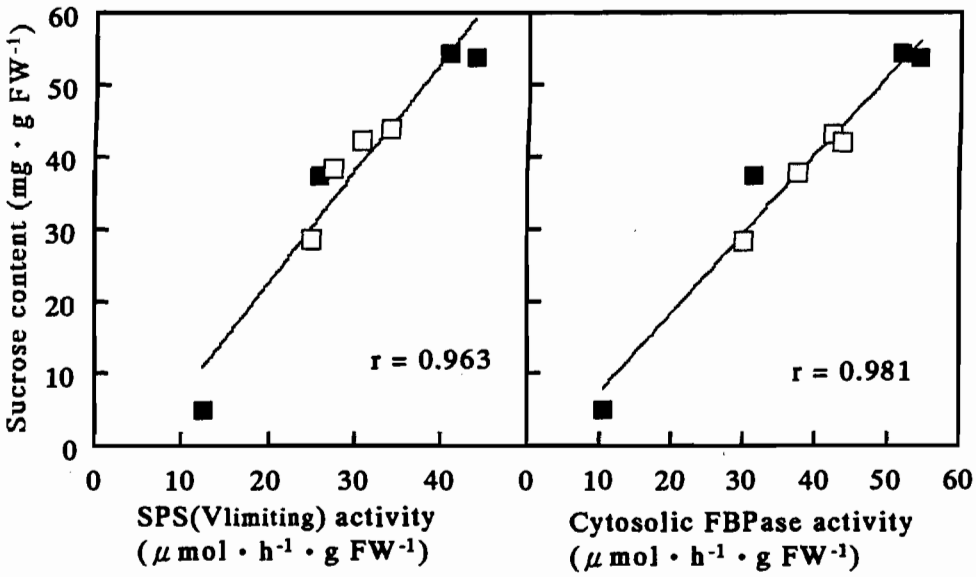

Fig 21 Relationship between sucrose content and SPS (V limiting), and Cytosolic FBPase activities of each leaf blade. Submerged treatment (■) was carried out in the depth of water to half of the 7th leaf blade for 5 days. As control (□), plants grown under ordinary conditions until the same leaf age as the submerged plants were used.
The each correlation coefficient is significant at 0.1% level.

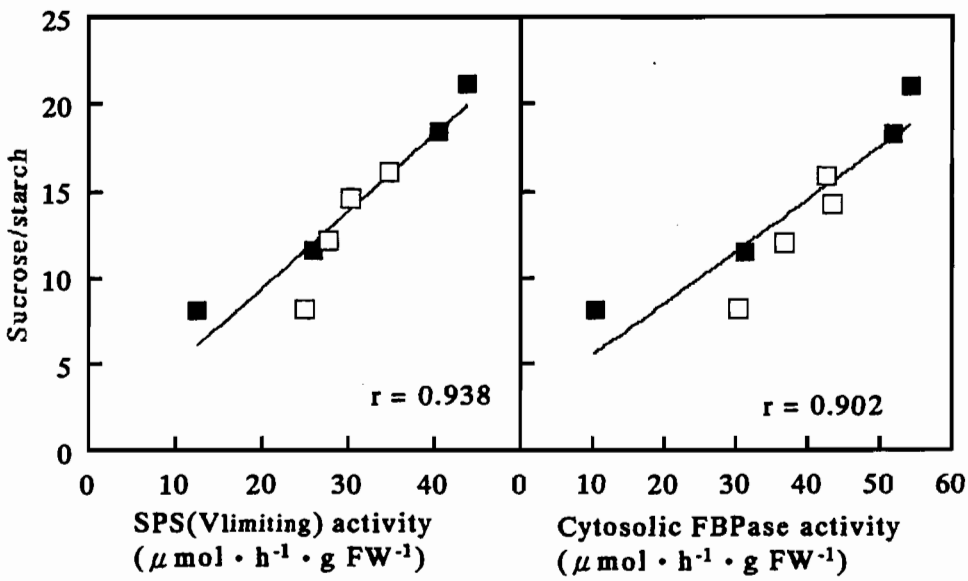

Fig 22 Relationship between sucrose/starch and SPS (V limiting), and Cytosolic FBPase activities of each leaf blade. Submerged treatment (■) was carried out in the depth of water to half of the 7th leaf blade for 5 days. As control (□), plants grown under ordinary conditions until the same leaf age as the submerged plants were used.
The each correlation coefficient is significant at 0.1% level.

考察

本実験において，完全展開した上位２葉である９Ｌおよび10Ｌのラベル炭素の流出速度，すなわち光合成産物の転流速度は，対照区よりも深水区の方が有意に増加した（図17，表６，７）．葉で同化された光合成産物はスクロースとして葉から転流され，またその一部はデンプンとして葉緑体に蓄積するので，Geiger（1979）は，ソース葉からの光合成産物の転流を制御する要因の一つはスクロースとデンプン間の光合成産物の分配比であることを報告している．よって，葉内のデンプンとスクロース含量を調査した結果，９Ｌおよび10Ｌのデンプン含量については処理による影響がほとんどなかったが，スクロース含量は深水区の方が対照区よりも増加し，スクロースとデンプンの含量比は深水区の方が有意に高いことが明らかになった（表８）．よって，深水下で生育している浮イネの上位葉において光合成産物の転流速度が対照区よりも高いのは，葉で固定された炭素をより多くスクロースへと分配することによって生じると考えられる．

本実験で使用した約9.5葉期の植物体は５日間の深水処理によって約10.3葉期にまで生長した．葉齢を揃えるため，対照区の植物体も約10.3葉期の植物体を用いた．この時点では，両区の植物体ともに第９節間が最上位節間であり，第10節間はまだ伸長を開始していなかった．イネのソース-シンク単位は，ある葉身とその葉鞘，その葉がでている節に直結する下部節間，その節間の下部節から出ている根と分げつであり，さらにその葉身が最上位の完全展開葉であるときは，生長中の未抽出葉もまたその葉のシンク器官である（田中　1958，Tanaka 1961）．つまりこの場合，第９節間に対するソース葉は９Ｌであり，第10節間がまだ伸長していないこの時点では，出葉中の第11葉が10Ｌに対する最も大きなシンクである．深水下で，浮イネの最上位節間は急速に伸長し（Vergara et al. 1976），主稈の葉数が増加，すなわち新たな葉の生長が促進される（山口 1973a）．これらの現象は第一章においても観察された．本実験においては，深水下で生育した植物体は第９節間および第11葉の生長が促進され，その生長に必要な光合成産物の要求量が増加していると考えられる．ソースである葉の一部を切除したり，また遮光することによって，シンクとソースの比率をシンクがより大きくなるように変化させると，残された葉においてCO_2同化速度は一定であるが，スクロース含量とその転流速度が増加することが報告されている（Thorne and Koller 1974，Swanson et al. 1976，Geiger 1976，Borchers-Zampini et al. 1980）．よって，９Ｌおよび10Ｌにおける転流速度とスクロース

含量が深水処理された植物体で増加するのは，それぞれのシンク器官の急速な生長による光合成産物の要求量の増加に対応したものであると考えられる．

生長中のシンク器官へ転流される光合成産物の形態はスクロースであるので，葉におけるスクロース形成速度がシンクへの光合成産物の転流速度を調節する要因の一つである（Stitt et al. 1984，Huber et al. 1985）．また，スクロースの生合成速度はSPSとCytosolic FBPaseによって調節されていることを多くの研究者が報告している（Huber 1981，Stitt et al. 1982，Huber et al. 1983，Huber 1983，Herzog et al. 1984，Stitt et al. 1987，Stitt 1988）．そこで，深水下で生育している浮イネ上位葉において，光合成産物の転流量の増加をもたらすスクロース形成率増加の要因について調査するため，SPSとCytosolic FBPaseの活性の変化に着目した．その結果，深水下で光合成産物の転流速度とスクロースの形成率が増加している９Ｌと10Ｌにおいて，Cytosolic FBPase活性は対照区よりも高かった（図19）が，SPS（Vmax）活性は対照区とほとんど差がなかった（図18）．

SPSの活性は“fine control”と“coarse control”によって調節されていることが知られている．“fine control”はアロステリックな活性化剤であるG6Pと抑制剤であるPiによる調節であり，“coarse control”は酵素タンパク質のリン酸化による調節である（Huber and Huber 1992）．このSPSのリン酸化は明暗変換によって生じ，光照射によってSPSは脱リン酸化され，活性が増加する（Huber and Huber 1992）．このリン酸化，脱リン酸化によるSPS活性の変化は，よりin vivoに近い基質濃度で，しかもPiの存在する条件下で活性を測定したときに検出することができる（Stitt et al. 1988）．よって本研究においても，Vlimitingというin vivoに近い基質濃度で活性抑制剤である無機リン酸を含む反応条件下でSPSの活性を調査した．その結果，深水下で転流速度の増加がみられた９Ｌおよび10Ｌにおいて，SPS（Vlimiting）活性は対照区よりも有意に高い値を示し（図18），SPSの活性化率が対照区よりも高くなることが明らかになった（表９）．しかし，この深水下での上位葉におけるSPS（Vlimiting）活性の増加は光活性化とは無関係であり，他の要因によるものであると考えられる．最近，高CO_2濃度下で生育した植え付け21日目の若いイネは出葉中の葉身の伸長速度が増加し，それに伴って最上位完全展開葉のSPS（Vlimiting）活性が増加することが報告された（Soneweera et al. 1995）．よって，深水下で生育している浮イネ上位葉のSPS（Vlimiting）活性の増加は，その葉に対するシンク器官の深水処理による生長促進と密接な関係にあることが示唆される．

SPS（Vlimiting）およびCytosolic FBPase活性と光合成産物の転流速度，またスクロース含量やスクロース/デンプン比の間には高い正の相関があった（図20，21，22）．このことは深水処理した浮イネの上位２葉における転流速度とスクロース形成率の増加は，in vivoに近い条件で測定されたSPS（Vlimiting）活性の増加によるSPS活性化率の増加およびCytosolic FBPase活性の増加と密接な関係にあることを示唆する．以上の結果から，深水下において急速に生長しているシンク器官に対応するソース葉では，これら酵素活性の増加によるスクロース形成率の増加とそれに伴う光合成産物の転流速度の増加が生じていることが明らかになった．

摘要

深水下で急速な生長を示すシンク器官に対して，ソースである上位葉の光合成産物の供給能力の変化を明らかにするため，本章ではまず深水下での葉における光合成産物の転流速度の変化およびその変化をもたらす要因を解明することを目的とした．深水下で生育している浮イネ上位葉からの光合成産物の転流速度を調査するため，トレーサーとして^{13}Cを用いて実験を行った．供試材料として，５日間深水下で生育させた10.3葉期の植物体と，対照として普通栽培条件下で10.3葉期まで生育させた植物体を使用した．

深水処理した植物体の９Ｌと10Ｌにおける光合成産物の転流速度は対照区のそれらよりも高かった．これらの葉においては，スクロースの含量およびスクロースとデンプンの含量比が増加していた．さらに，スクロースの生合成に関与している酵素であるSPSとCytosolic FBPaseの活性を調査した結果，よりin vivoに近い条件で測定したSPS活性（Vlimiting）およびCytosolic FBPase活性が，深水下で生育している９Ｌと10Ｌで対照区よりも高かった．また，これら両酵素活性と転流速度およびスクロース含量との間には高い正の相関があった．９Ｌと10Ｌに対する主要なシンクは，それぞれ最上位節間である第９節間と出葉中の第11葉であり，これらは深水下で急速に生長が促進されている器官である．以上のことから，深水下における９Ｌと10Ｌの光合成産物の転流速度の増加はこれらシンクの生長促進に対応したものであると思われる．また，その転流速度の増加はSPSの活性化率（Vlimiting/Vmax）の増加およびCytosolic FBPase活性の増加と密接な関係にあることが示唆された．

第四章
シンク器官の生長と光合成産物の分配特性

浮イネの最大の特徴は深水下における急速な節間の伸長である．この急速な伸長には光合成産物の供給が不可欠であると思われる．Raskin and Kende（1984c）は，３日間深水処理した浮イネ茎切片において，^{14}Cでラベルした光合成産物の葉から伸長節間と稈の未抽出部分への分配が増加することを示した．しかし，浮イネにおいて光合成産物の分配を扱った研究は他になく，茎切片以外の系では行われていない．また，特に深水処理直後の変動は明らかにする必要がある．なぜなら，深水下での浮イネ節間の伸長は，深水処理後３時間20分の誘導期間を経て開始することが示されている（Rose-John and Kende 1985）からである．

イネにおいては，光合成産物はスクロースの形態でソースからシンクへと転流される（Fukumorita and Chino 1982）．その転流速度はソースとシンクの間に存在するスクロース濃度勾配の程度によって決定される（Walker and Thorney 1977，Ho and Baker 1982，Wyse and Saftner 1982）．よって，あるシンク器官へのスクロースの流れを制御する要因の一つは，そこでのスクロース分解の速度であると考えられている（Ho 1988）．組織の生長とスクロース分解酵素の活性および光合成産物の分配の関係はたびたび議論されており，その相関が指摘されている（Morris and Arthur 1985b，Sung et al. 1994）．浮イネにおいても，節間をはじめとするシンク器官の光合成産物の分配とスクロース分解酵素の活性を明らかにすることで，深水下での光合成産物の分配の変動とこれら酵素との関連性，さらにはRaskin and Kende（1984c）が述べている急速な伸長に必要なエネルギーや呼吸基質，浸透物質の供給機構を解明する糸口がつかめると思われる．

本章では，トレーサーに^{13}Cを用いて光合成産物の分配に関する実験を行った．また，スクロース分解酵素である酸性インベルターゼとスクロースシンターゼの活性を調査し，光合成産物の分配とシンク器官の生長との関係について述べた．

第一節　最上位節間の生長と光合成産物の分配

イネのソース-シンク単位は，ある葉身とその葉鞘，その葉がでている節に直結する下部節間，その節間の下部節から出ている根と分げつであり，さらにその葉身が最上位の完全展開葉であるときは，その葉が出ている節と同じ節から伸長している未抽出葉もまたその葉のシンク器官である（田中　1958, Tanaka 1961）．そこで本節では，ソースである葉を最上位の伸長節間の上位節から発生している葉だけに限定した植物体を用いて，その植物体に^{13}Cを供与し，深水処理に伴う光合成産物の分配の変化を調査した．

材料と方法

1．供試材料

浮イネ品種であるHabiganj Aman IIを使用した．種子は第一章と同様に予措し，催芽させた．発芽した種子を１ℓプラスチックポットに12粒ずつ播き，土耕した．植物体には第一章と同様に肥料を与え，約9.2葉期まで屋外で生育させた．なお，分げつは発生するたびに植物体から取り除いた．^{13}Cを供与する前に，第８葉身を除くすべての展開葉身を植物体から取り除いた．この時点で，実験に用いた植物体には第６および７節間が存在し，さらに第８節間が伸長中であった．

2．^{13}C供与

植物体を同化装置内に置き，$^{13}CO_2$を午前11時から５時間供与した．供与時の条件は，CO_2濃度が約450ppm，^{13}Cの比率が約65％，光量子密度は1300μmol photon・m^{-2}・s^{-1}，同化装置内の温度は27℃であった．$^{13}CO_2$は第三章と同様に発生させた．

3．深水処理とサンプリング

^{13}C供与後，第８葉身の基部までの水深で植物体を屋外で深水処理した．対照区として，普通条件下で生育させた植物体を用いた．ポット当たり６個体の葉齢の揃った植物体の地上部を処理開始時と処理後24時間および72時間でサンプリングし，稈長と第８節間長を測定した．直ちに，サンプリングした植物体を第７節間以下の節間（LIn），第７葉鞘

以下の葉鞘（LLs），第８節間（8In），第８葉鞘（8Ls），第８葉身（8Lb）と葉の未展開部分（NEP）に分けた．その試料を105℃で30分間Killing後，70℃で5日間乾燥させ，乾物重を測定した．

４．^{13}C分析

乾燥試料中の^{13}C含量を第三章と同様に測定し，^{13}Cの比活性（RSA）と絶対量を算出した．その結果から，それぞれのサンプリング時における各器官へのラベル炭素の分配率を算出した．

結果

図23は植物体地上部の各器官の乾物重を示す．処理開始時にLLsの乾物重は植物体地上部の中で最も大きかった．深水処理した植物体のNEPの乾物重は，処理72時間後に対照区よりも大きかった．実験期間中，8Lsと8Lbの乾物重に関して両区間でほとんど差はなかった．深水処理した植物体の8Inの乾物重は処理後24から72時間の間に著しく増加し，対照区の約2.5倍になった．LLsとLInを合わせた下部器官の乾物重は，対照区の植物体では徐々に増加するのに対し，深水区の植物体は処理24から72時間の間にほとんど増加しなかった．

処理開始時から処理72時間後の間の植物体全体の乾物重の増加量に対する各器官の乾物重の増加量（乾物分配率）を算出した．LInとLLsの乾物分配率は対照区と比較して深水下で有意に低下した（表10）．逆に，深水処理した植物体の8Inへの乾物分配率は対照区よりも高かった．他の３つの器官への乾物分配率は両区間で差がなかった．

第８節間長と稈長は深水処理後24から72時間の間に著しく増加した（図24）．一方，対照区の植物体のそれらはほとんど変化がなかった．また，深水下での稈長の増加量の約90％は第８節間の増加によるものであった．

図25は各器官の全炭素中の^{13}C供与期間中に固定された炭素の割合（RSA）を示したものである．処理開始時，すなわち^{13}C供与終了時において，各器官の中で，唯一の葉身である8Lbと最上位の器官であるNEPのRSAが高く，LInとLLsといった下部器官のRSAが低かった．処理開始時から処理24時間後の間に，8LbのRSAは両区間でほぼ同様に急速に低下した．処理開始時に9.8％であったNEPのRSAは，処理24時間後に深水区および対照区

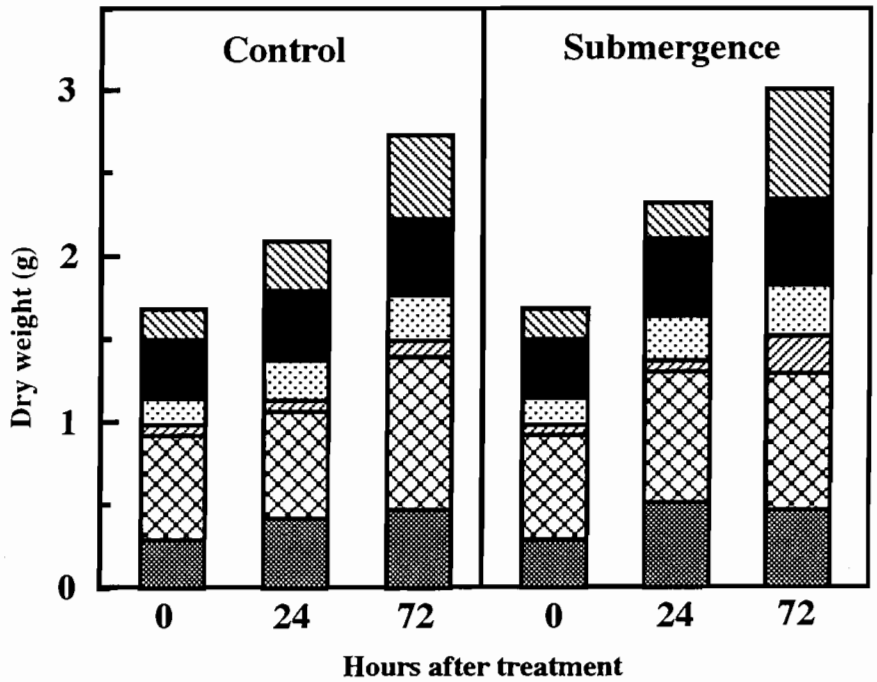

Fig. 23 Changes in the dry weight in each component of shoot. The plants were treated as described in materials and methods. Harvested plants were separated into LIn (▩), LLs (⊠), 8In (▨), 8Ls (⊡), 8Lb (■) and NEP (⧅), and then were dried at 70℃ for five days after killing at 105℃ for 30 minutes. Data are expressed as the mean of six replications.

Table 10 Effect of submergence on dry matter partitioning ratio in each organ during the experimental period.

Treatment	Organ					
	LIn	LLs	8In	8Ls	8Lb	NEP
			%			
Control	16.8	26.8	4.2	11.7	9.3	31.3
Submergence	13.2*	14.3**	13.5**	11.4	11.7	36.1

Data are expressed as the means of four replications.
*, ** ; significant at 5% and 1% level.

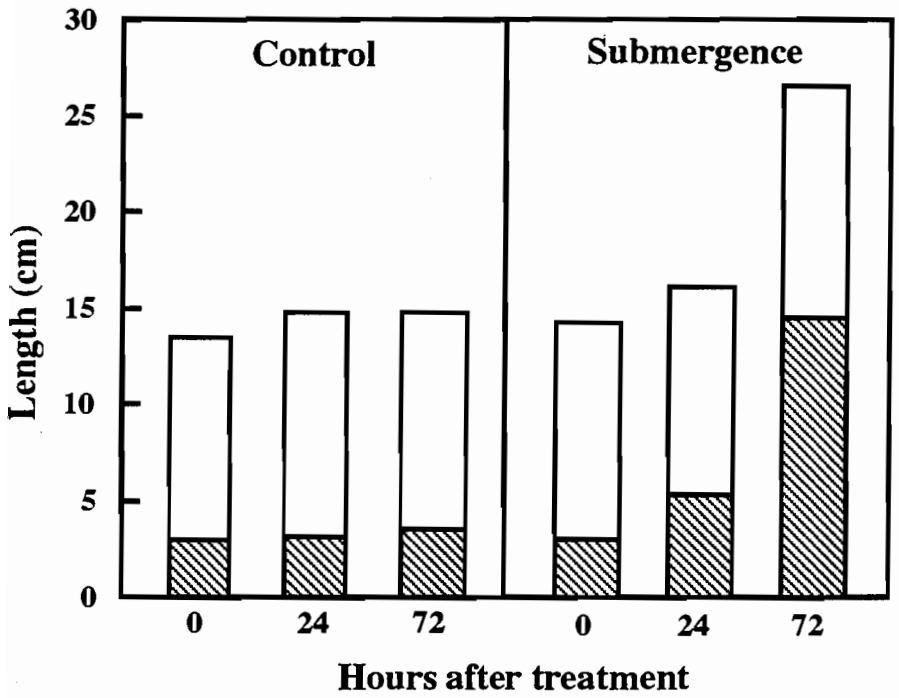

Fig. 24 Changes in the length of the 8th internode and culm (▧+□).

▧ ; length of 8th internode, □; total length of the 6th and 7th internodes and non-elongated stem.

Data are expressed as the mean of six replications.

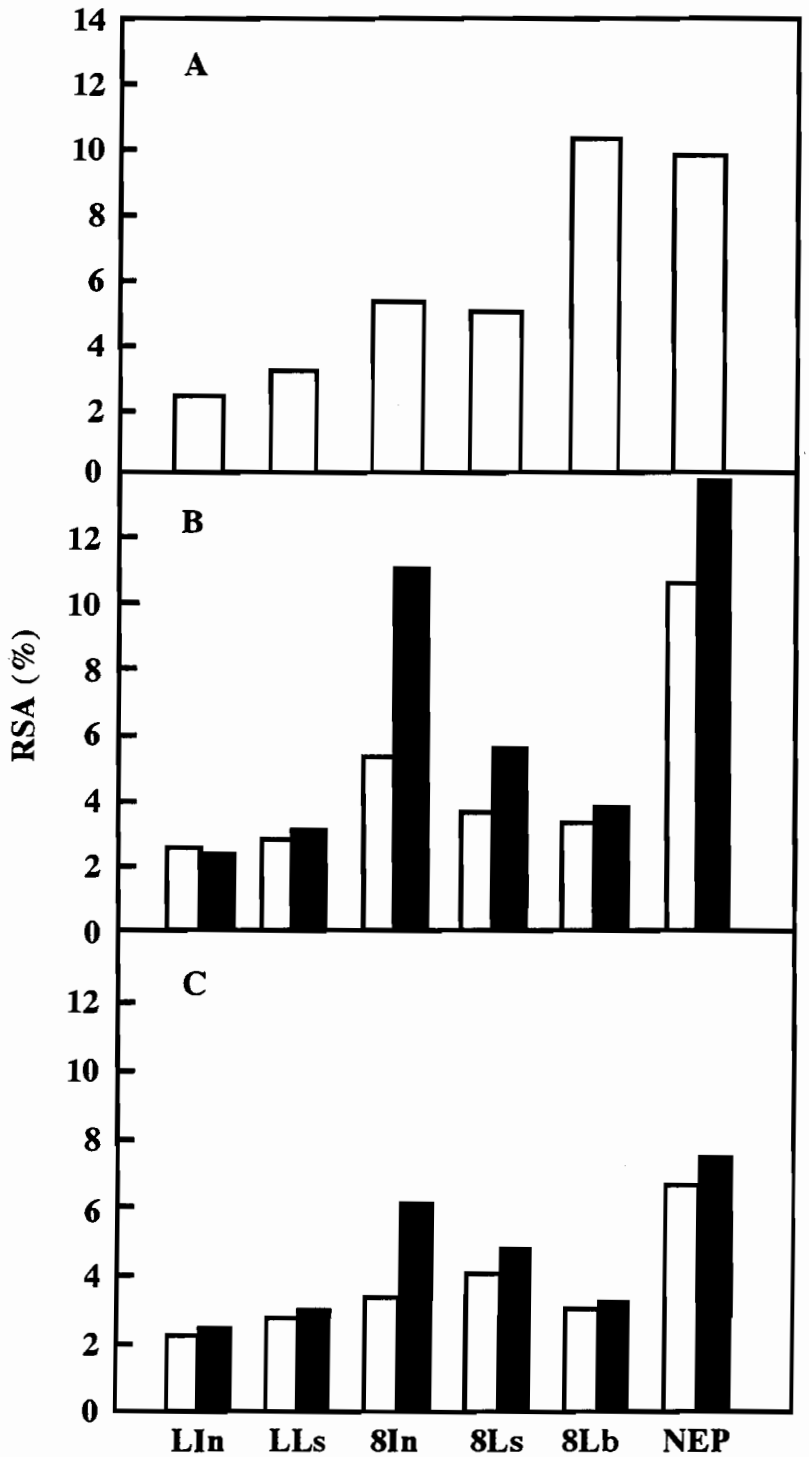

Fig. 25 Effects of submergence on RSA values in each component of shoot. A ; onset, B ; 24h after the treatment, C ; 72h after the treatment. □ ; control plants, ■ ; submerged plants. RSA was calculated as described in materials and methods. Data are expressed as the mean of three replications.

の植物体でそれぞれ13.8%と10.7%に増加し，その後処理開始時の値よりも低下した．深水処理した植物体の8InのRSAは処理24時間後に対照区の約２倍の値を示し，処理72時間後においても対照区より高かった．処理24時間後の8LsのRSAは対照区より深水区の方が高かった．LInとLLsといった下部器官のRSAは両区間で差がなく，また実験期間中の変動もほとんどなかった．

処理開始時，植物体全体のラベル炭素のうち40.3%が8Lbに存在して（図26），処理の如何に関わらず，それは24時間後までに急速に低下した．対照区において，8Inのラベル炭素分配率は実験期間中ほとんど変化しないが，深水下での8Inのラベル炭素分配率は増加し続け，処理72時間後には対照区の約3.5倍になった．一方，対照区のLInとLLsをあわせた下部器官の分配率は実験期間中増加し続けるが，深水処理した植物体のそれは処理24から72時間の間に減少した．8Lsのラベル炭素分配率に関して，処理24時間後においては深水区の方が対照区よりも高かったが，処理72時間後では両区間で差がなかった．NEPの分配率に関して，処理24時間後では対照区の方が深水処理した植物体よりも高かったが，処理72時間後では両区間にほとんど差はなかった．

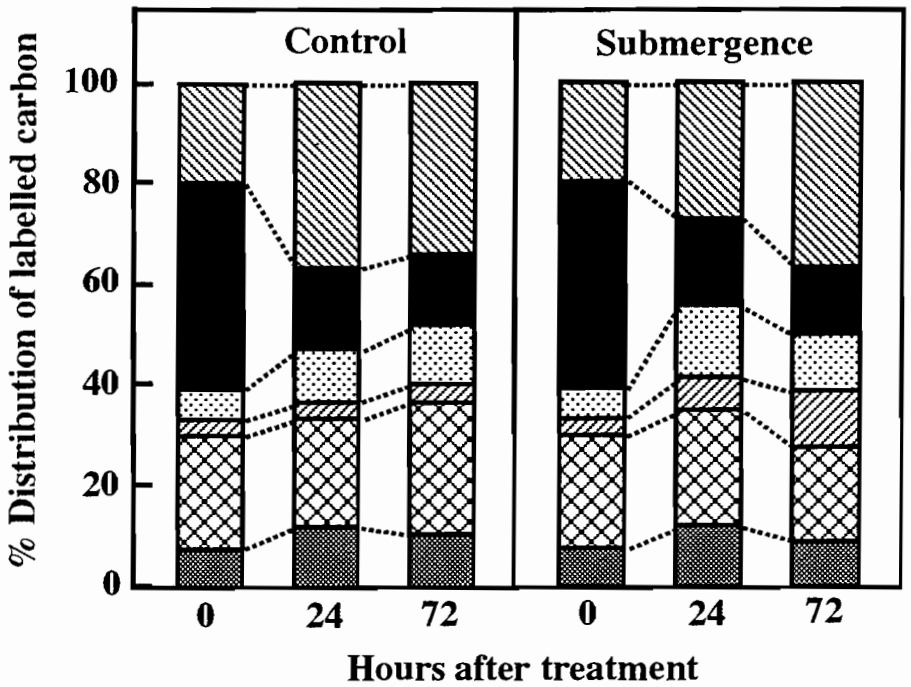

Fig. 26 Changes in the percentage distribution of labelled carbon in each component of shoot. The plants were treated as described in materials and methods. Harvested plants were separated into LIn (▩), LLs (⊠), 8In (▨), 8Ls (⊡), 8Lb (■) and NEP (▧), and were dried. The percentage distribution of labelled carbon was expressed as the ratio of the ^{13}C amount in each organ to that in the whole shoot. Data are expressed as the mean of three replications.

考察

処理24時間後において，深水処理した植物体の最上位節間である8Inのラベル炭素の比活性（RSA）およびその分配率は，ともに対照区の２倍の値を示した（図25，26）．Raskin and Kende（1984c）は，３日間深水下で生育させた浮イネ茎切片を用いて，葉からの光合成産物の伸長節間への転流が著しく増加することを示している．しかし，今回の結果から，深水後24時間という早い時期に最上位の伸長節間への光合成産物の分配が増加することが明らかになった．深水下での浮イネ節間の伸長は，深水後３時間20分の誘導期間を経て開始することが示されており（Rose-John and Kende 1985），今回の結果は，深水下での節間の急速な伸長と平行して，光合成産物の分配が増加することを示している．けれども，節間の乾物重は深水処理24時間後の時点でほとんど増加していなかった（図23）．つまり，深水処理した植物体の伸長節間では，処理前に存在した炭素が深水処理により急速に消費されていることを示唆する．

本実験に用いた植物体において，葉の未抽出部分であるNEPが最も大きなシンク器官であった．また，深水処理24時間後で，NEPのRSAは対照区よりも高かったが（図25），ラベル炭素の各器官への分配率を見ると，NEPへの分配は深水区よりも対照区の方が大きかった（図26）．分配パターンという点から考察すると，この結果は，深水処理前に固定された炭素は処理後まず最初は葉の未抽出部分への分配を抑えて伸長中の節間へ優先的に分配されることを示唆している．

対照区の植物体では，LLsとLInをあわせた下部器官への乾物分配率が43.6%であったが，深水区の植物体は27.5%であった（表10），さらに，深水処理した植物体のこれら下部器官の乾物重は処理24から72時間の間に減少した（図23）．以上のことから，浮イネは深水下で光合成産物の分配パターンを下部の器官から上位の器官へ変動させ，最上位節間と葉の未抽出部分の急速な伸長に対応するものと考えられる．

第二節　シンク器官における光合成産物の分配とスクロース分解酵素活性の経時的変化およびそれらの関係

第一節では，伸長節間への光合成産物の分配は，深水処理後24時間以内に急速に増加することが示された．しかし，前節の実験は，深水処理前に固定された光合成産物の深水処理に伴う変動を調査したものであるので，シンクへの光合成産物の分配に及ぼす深水の影響を明らかにするには，さらに深水処理期間中に固定された光合成産物の変動を調査する必要がある．そこで本節では，主稈だけの植物体を用いて，最上位節間とその下部節間および葉の未抽出部分への光合成産物の分配に及ぼす深水の影響を経時的に調査し，分配パターンの変動があるかどうか調査した．さらに，それらの器官におけるスクロース分解に関与している酵素である酸性インベルターゼ（AI）とスクロースシンターゼ（SS）活性を測定し，光合成産物の分配の変化との関係，さらにそれら酵素活性の変動が節間の生長にもたらす作用について考察した．

材料と方法

1．供試材料

浮イネ品種であるHabiganj Aman IIを使用した．種子の予措および催芽は第一章と同様に行った．発芽した種子を，第二章と同様にMae and Ohira（1981）の水耕液を用いて，屋外で9.5葉期まで生育させた．この時点で植物体の最上位節間は第９節間であった．

2．深水処理

約9.5葉期の植物体を水耕液の入った１ℓのプラスチック製の瓶に移し，スポンジで固定し，またそれによって深水処理下での水耕液の拡散を防いだ．そして，第８葉身の基部までの深さで植物体を深水処理し，その水位は実験期間中，一定に維持した．対照区として，普通条件下で生育させた植物体を用いた．これらの植物体のうち半分を後に述べる^{13}Cを用いたトレーサー実験に使用した．残りの植物体の最上位節間である第９節間と第８節間および第10葉以上の葉の未抽出部分を処理開始時と処理後１，３および５日目の午前10時にサンプリングし，その一部を酵素活性の測定およびヘキソースとスクロースの定量のため，液体窒素で凍結させ，-30℃で保存した．残りは105℃で30分間killing後，

70℃で5日間乾燥させ，その乾物重を測定した．

3．^{13}Cの供与と分析

第三章と同様の方法で，処理開始前の植物体と，深水処理した植物体には処理後1，3および5日目に，対照区の植物体には5日後に，すべて午前8時から2時間，$^{13}CO_2$を供与した．供与の条件は第三章と同様であった．供与終了後およびその6時間後に植物体をサンプリングし，すぐにそれらを最上位節間である第9節間と第8節間，第10葉以上の葉の未抽出部分および他の部分に分けた．それら試料は105℃でkilling後，70℃で5日間乾燥させた．^{13}Cの分析は，第三章と同様に行い，各試料のRSAと^{13}C量を算出した．なお，ラベル炭素の分配率は以下の式で算出した．

$$\text{分配率} = \frac{\text{^{13}C供与後6時間における各器官のラベル炭素量}}{\text{^{13}C供与終了時の植物体全体に存在するラベル炭素量}} \times 100$$

4．酵素活性の測定

酵素の抽出はHubbard et al.（1989）の方法に基づいて行った．凍結保存した試料を5 mM $MgCl_2$，1 mM EDTA，2.5 mM DTT，0.05％（v/v）Triton X-100を含む試料の5倍量の50 mM Mops-NaOH（pH 7.5）緩衝液で，氷冷しながら乳鉢と乳棒で磨砕した．抽出液を12,000×g（＜4℃）で10分間，遠心した．すぐにその上清を，5 mM $MgCl_2$，2.5 mM DTTを含む50 mM Mops-NaOH（pH 7.5）緩衝液で平衡化したSephadex G-25（Pharmacia）カラムで遠心によって脱塩した（Hermerhorst and Stokes 1980）．

脱塩した試料中のSS活性の測定はHubbard et al.（1989）の方法に従って行った．AI活性の測定は，脱塩した試料50 μlを100 mM スクロースと5 mM $MgCl_2$を含む100 mM Sodium-acetate（pH 5.0）緩衝液の250 μlとともに37℃で20分間反応させることで行った．反応はSomogyiの銅試薬（1952）を1 ml加えて，停止させた．ブランクとして，反応をさせないものを使用した．反応によって生成した還元糖含量をSomogyi-Nelson法（1952）によって測定して，AI活性を算出した．可溶性タンパク含量はBSAを標準としてBradford（1976）の方法で測定した．

5．スクロースとヘキソース含量の定量

凍結保存した試料を5mlの80%エタノールで乳鉢と乳棒により磨砕した．その抽出液を3,000×gで15分間遠心し，その上清を別の試験管に移した．その沈殿残査に80%エタノールを5ml加え，80℃で20分間放置し，その後それを撹拌した．その抽出液を再び3,000×gで15分間遠心し，その上清を最初の抽出液の上清と合わせ，可溶性糖類であるスクロースとヘキソース定量用の試料とした．その抽出液を濃縮乾固し，50 mM HEPES-KOH（pH 7.5）緩衝液の10mlに溶解した．スクロースとヘキソースの含量はKerr et al.（1985）による方法で定量した．

結果

第8節間の長さは対照区，深水区ともにほとんど変化しなかった（図27）．第9節間は深水下で急速に伸長し，その伸長は処理1日目から3日目の間が最も大きかった．対照区の植物体の第9節間長は実験期間中わずかに増加した．

対照区の植物体における第8節間の乾物重は実験期間中わずかに増加するが，深水処理した植物体では徐々に低下した（図28）．処理後1日目では，両区間の第9節間の乾物重に差はなかった．しかし，その後深水下のそれは対照区よりも急速に増加した．葉の未抽出部分の乾物重は，処理期間を通じて深水処理した植物体の方が対照区よりも大きかった．

表11は^{13}C供与6時間後における各器官の全炭素にしめる^{13}C供与期間中に固定された炭素の占める割合（RSA）を示したものである．第8節間のRSAは処理開始時に最も高く，5日後の対照区の植物体において処理開始時より有意に低下した．深水処理1日目における第8節間のRSAは処理開始時よりも急速に低下した．その後，深水処理5日目に対照区の5日目のそれと同じ程度の値にまで増加した．処理開始時に，第9節間のRSAは第8節間よりも高かった．対照区の第9節間のRSAは処理5日目に処理開始時よりも低下した．一方，処理開始時と比較して，深水処理した植物体のそれは処理1日目に有意に増加し，処理3日目までその値は高かった．深水処理5日目の第9節間のRSAと5日目の対照区のそれを比べると，深水区のRSAの方が有意に高かった．葉の未抽出部分のRSAに関して，処理開始時よりも深水処理1日目および3日目の方が低下するが，深水処理5日目でその値と同じ程度になった．

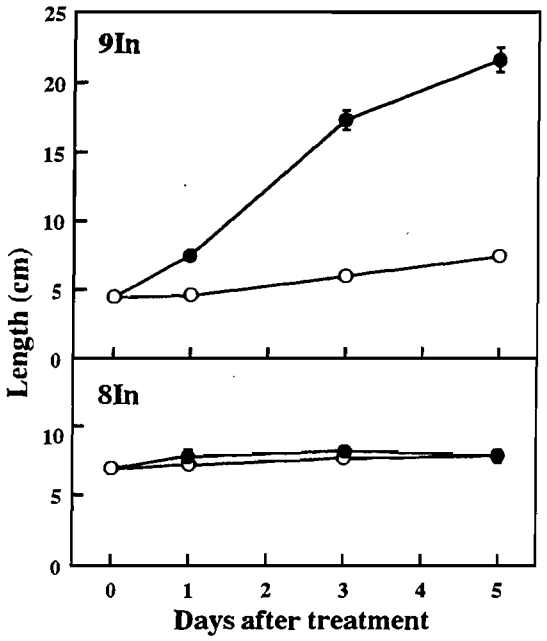

Fig 27 Changes in length of the 8th internode (8In) and the 9th internode (9In) in submerged (●) and control (o) plants. Vertical bars express ± standard errors (n = 6).

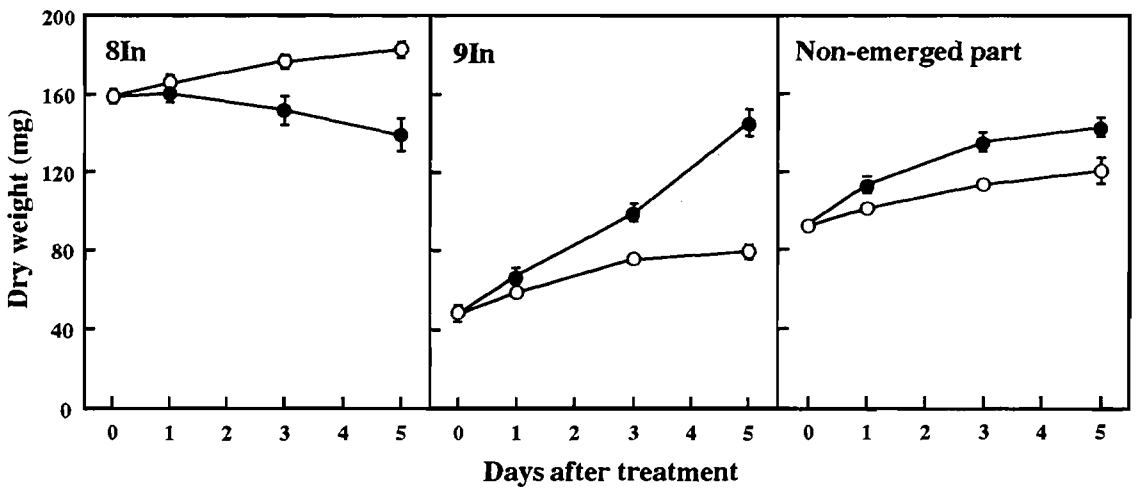

Fig 28 Changes in dry weight of the 8th internode (8In), the 9th internode (9In) and the non-emerged part in submerged (●) and control (o) plants. Vertical bars express ± standard errors (n = 6).

Table 11 Effect of submergence on RSA values of the 8th internode, the 9th internode and the non-emerged part.

Treatment	Days after treatment	Organs		
		8th internode	9th internode	Non-emerged part
			%	
Control	0	6.9a	10.7b	27.8a
	5	4.4b	6.4c	26.5ab
Submergence	1	3.5c	17.6a	26.9ab
	3	3.1c	15.6a	25.7b
	5	4.6b	10.9b	28.9a

Data are expressed as the means of five replicates.
In each data within different organs, means followed by a common letter are not significantly different at 1% level by Duncan's multiple range test.

表12は^{13}C供与6時間後における各器官のラベル炭素の分配率を示したものである．処理開始時において，葉の未抽出部分の分配率は3つの器官の中で最も大きく，次が第8節間であった．5日目の対照区の植物体において，葉の未抽出部分への分配は処理開始時より増加し，一方，第8節間への分配は低下した．深水処理1日目において，第9節間へのラベル炭素分配率は著しく増加し，第8節間への分配率の2倍以上の値を示した．深水処理5日目の第9節間への分配は対照区の分配率の3倍以上であった．深水下で，葉の未抽出部分への分配は徐々に増加し，5日目には対照区よりも有意に高かった．

Table 12 Effect of submergence on percentage distribution of labelled carbon to the 8th internode, the 9th internode and the non-emerged part.

Treatment	Days after treatment	Organs		
		8th internode	9th internode	Non-emerged part
			%	
Control	0	7.0a	3.6b	17.9d
	5	5.2b	3.3c	20.7c
Submergence	1	4.1c	8.5b	22.2c
	3	3.3d	10.9a	24.7b
	5	4.4c	10.7b	26.9a

Data are expressed as the means of five replicates.
In each data within different organs, means followed by a common letter are not significantly different at 1% level by Duncan's multiple range test.

葉の未抽出部分における植物体当たりのAI活性は両区間で有意な差がなく，実験期間中の変化も大きくなかった（図29）．第９節間の植物体当たりAI活性は深水１日目に著しく増加し，その後は１日目の値の約半分に低下した．対照区の第９節間におけるAI活性は実験期間中ほとんど変化しなかった．第８節間のAI活性は深水下で徐々に低下し，処理５日目には対照区よりも低い値を示した．第８節間および葉の未抽出部分の可溶性タンパク当たりAI活性は両区間で有意な差はなく，その値もほぼ一定であった（表13）．第９節間の可溶性タンパク当たりAI活性は深水処理１日目に急速に増加し，３日目にはその値の約半分に低下した．

深水処理期間を通じて，葉の未抽出部分の植物体当たりSS活性は対照区よりも有意に高く，逆に第８節間のそれは対照区よりも低かった（図30）．深水処理した植物体の第９節間における植物体当たりSS活性は，処理１日目では対照区と差がないが，その後対照区よりも急速に増加した．第８節間の可溶性タンパク当たりSS活性は深水処理１日目に対照区よりも大きく低下した（表14）．一方，対照区のそれは徐々に低下し，処理５日目には深水区とほぼ同じ値になった．葉の未抽出部分の可溶性タンパク当たりSS活性は両区間ともに処理期間中増加するが，深水区の植物体の方が対照区よりも増加速度が大きかった．深水処理した第９節間の可溶性タンパク当たりSS活性は，処理３日目まで対照区と差がないが，処理５日目には対照区よりも有意に増加した．

第８および第９節間当たりのスクロース含量は深水処理１日目に急速に増加し，５日目まで対照区より高い値を示した（図31）．深水下で生育した植物体における葉の未抽出部分のスクロース含量は，処理１日目対照区と差がないが，処理３日目以降対照区よりも高かった．第８節間の生体重当たりスクロース含量は実験期間中対照区よりも高かった（表15）．葉の未抽出部分の生体重当たりスクロース含量は深水処理３日目以降，第９節間は深水処理５日目に対照区よりも高い値を示した．

第９節間当たりヘキソース含量は深水処理１日目に著しく増加し，その後徐々に減少した（図32）．一方，対照区のそれは５日目までほとんど変化しなかった．深水処理した植物体における第８節間の含量は処理１日目には対照区と差がないが，３日目以降対照区よりも増加した．葉の未抽出部分の植物体当たりヘキソース含量は深水処理１日目でに対照区よりも高いが，５日目には対照区との差はなかった．表16は生体重当たりのヘキソース含量の変化を示す．深水処理した植物体の第９節間における生体重当たりヘ

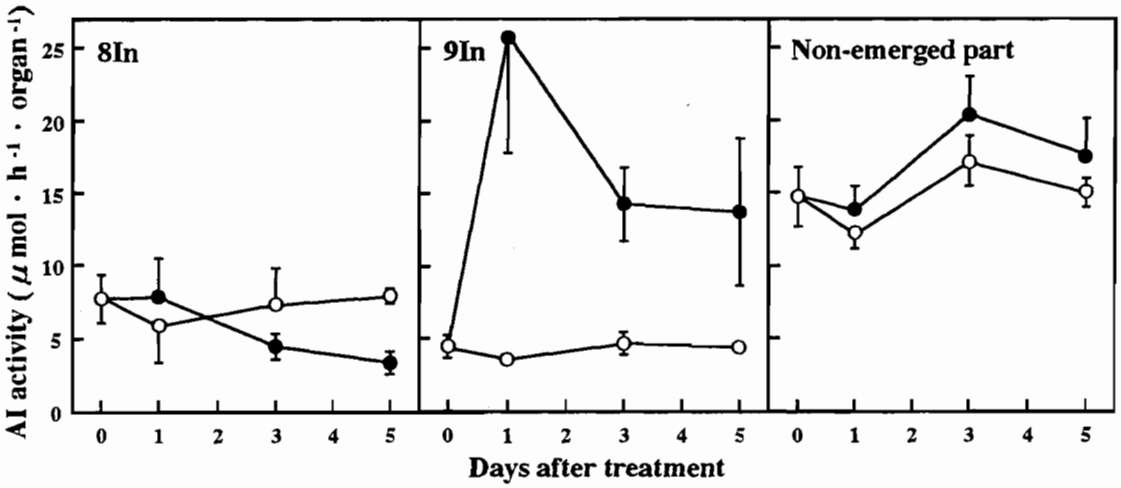

Fig 29 Changes in AI activities per the 8th internode, the 9th internode and the non-emerged part in submerged (●) and control (o) plants. AI was assayed by the method described in materials and methods. Vertical bars express ± standard errors (n = 3).

Table 13 Effect of submergence on AI activity per soluble protein of the 8th internode, the 9th internode and the non-emerged part.

Organs	Treatment	Days after treatment			
		0	1	3	5
			μ mol • h^{-1} • mg protein^{-1}		
8th internode	Control	2.85 ± 0.81	3.27 ± 1.44	2.95 ± 1.07	3.42 ± 0.20
	Submergence		3.68 ± 1.28	2.67 ± 0.52	2.73 ± 0.65
9th internode	Control	3.32 ± 0.57	1.87 ± 0.16	2.77 ± 0.47	2.84 ± 0.20
	Submergence		8.51 ± 2.65	4.54 ± 0.82	5.07 ± 1.88
Non-emerged part	Control	3.00 ± 0.42	2.84 ± 0.24	3.33 ± 0.34	3.24 ± 0.21
	Submergence		3.32 ± 0.32	4.03 ± 0.50	3.63 ± 0.54

Data are expressed as the means of three replicates ± SE.

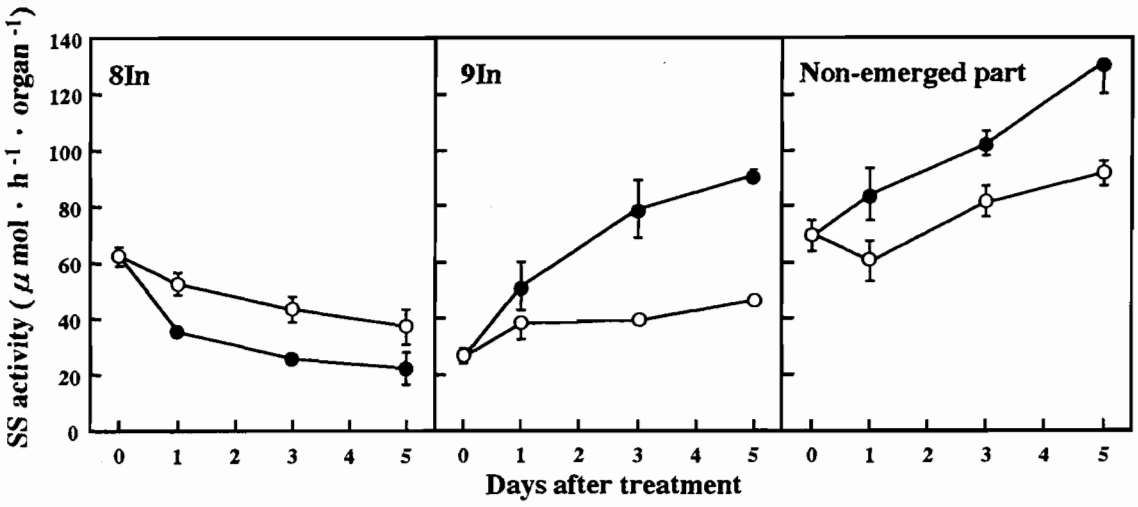

Fig 30 Changes in SS activities per the 8th internode, the 9th internode and the non-emerged part in submerged (●) and control (o) plants. SS was assayed by the method of Hubbard et al. (1989). Vertical bars express ± standard errors (n = 3).

Table 14 Effect of submergence on SS activity per soluble protein of the 8th internode, the 9th internode and the non-emerged part.

Organs	Treatment	Days after treatment			
		0	1	3	5
		μ mol • h $^{-1}$ • mg protein $^{-1}$			
8th internode	Control	31.1 ± 2.8	29.4 ± 2.2	17.7 ± 1.8	16.2 ± 2.7
	Submergence		16.8 ± 0.3	15.5 ± 0.7	18.2 ± 4.7
9th internode	Control	15.7 ± 0.9	17.5 ± 3.0	20.7 ± 0.6	23.1 ± 1.2
	Submergence		20.2 ± 2.8	25.2 ± 3.3	33.6 ± 0.7
Non-emerged part	Control	14.1 ± 1.6	14.1 ± 1.6	15.8 ± 1.1	19.7 ± 0.9
	Submergence		20.3 ± 2.2	20.2 ± 0.5	27.1 ± 2.3

Data are expressed as the means of three replicates ± SE

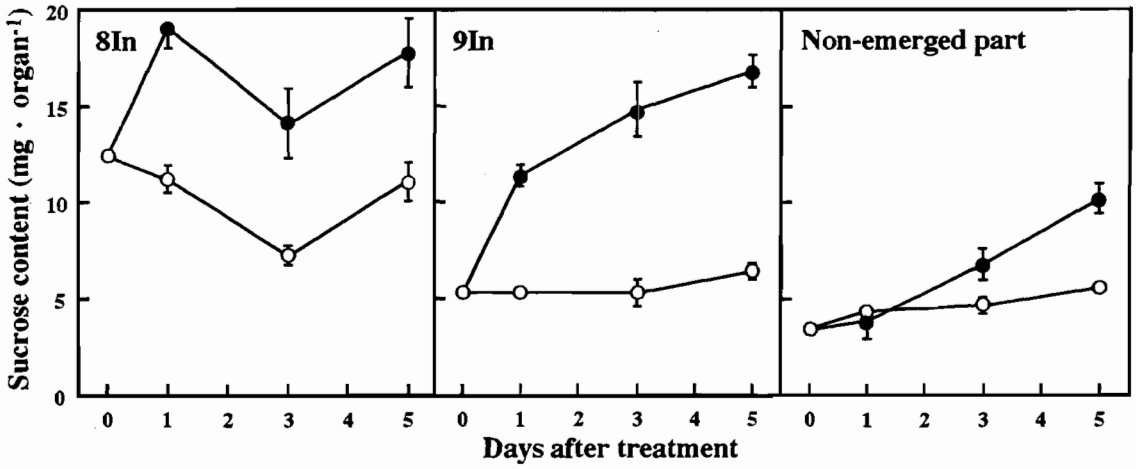

Fig 31 Changes in sucrose contents per the 8th internode, the 9th internode and the non-emerged part in submerged (●) and control (o) plants. Sucrose content was determined by the method of Kerr et al. (1985). Vertical bars express ± standard errors (n = 3).

Table 15 Effect of submergence on sucrose contents per fresh weight of the 8th internode, the 9th internode and the non-emerged part.

Organs	Treatment	Days after treatment			
		0	1	3	5
		mg g FW^{-1}			
8th internode	Control	14.5 ± 0.2	13.0 ± 0.8	7.9 ± 0.5	12.1 ± 1.1
	Submergence		22.5 ± 1.3	17.1 ± 2.2	22.4 ± 2.3
9th internode	Control	17.0 ± 0.5	15.3 ± 1.8	13.5 ± 1.8	12.2 ± 0.8
	Submergence		13.1 ± 0.7	12.0 ± 1.1	18.0 ± 0.6
Non-emerged part	Control	6.2 ± 0.1	7.6 ± 0.1	6.7 ± 0.6	7.2 ± 0.1
	Submergence		6.3 ± 1.4	9.0 ± 0.1	10.9 ± 0.8

Data are expressed as the means of three replicates ± SE.

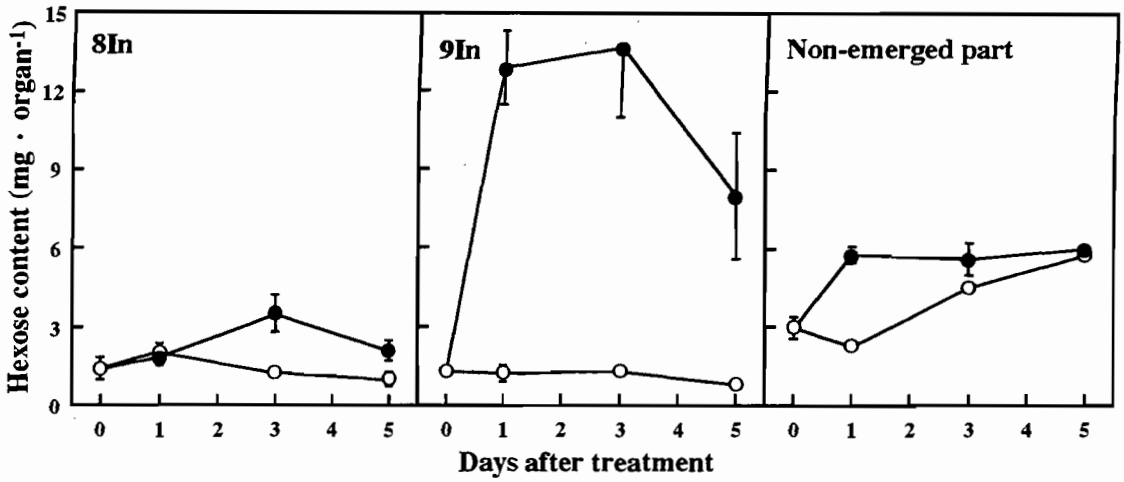

Fig 32 Changes in hexose contents per the 8th internode, the 9th internode and the non-emerged part in submerged (●) and control (o) plants. Hexose content was determined by the method of Kerr et al. (1985). Vertical bars express ± standard errors (n = 3).

Table 16 Effect of submergence on hexose contents per fresh weight of the 8th internode, the 9th internode and the non-emerged part.

Organs	Treatment	Days after treatment			
		0	1	3	5
		mg g FW^{-1}			
8th internode	Control	1.7 ±0.5	2.3 ±0.5	1.3 ±0.1	1.1 ±0.3
	Submergence		2.1 ±0.3	4.2 ±0.8	2.6 ±0.5
9th internode	Control	4.2 ±0.1	3.5 ±0.8	3.3 ±0.3	1.8 ±0.2
	Submergence		14.9 ±1.6	11.1 ±2.2	5.8 ±1.7
Non-emerged part	Control	5.3 ±0.7	4.0 ±0.3	6.3 ±0.1	7.3 ±0.3
	Submergence		9.2 ±0.5	7.5 ±0.8	6.4 ±0.1

Data are expressed as the means of three replicates ± SE.

キソース含量は処理１日目に急速に増加し，その後徐々に低下したが，一方，対照区のそれは実験期間中ほとんど変化がなかった．第８節間の生体重当たりヘキソース含量は処理１日目には両区間で差がなかったが，３日目以降，深水区の方が対照区よりも高い値を示した．深水処理した植物体の葉の未抽出部分では，深水処理１日目に対照区よりも高く，３日目以降は両区間で差がなかった．

第８節間のスクロースとヘキソースの含量比は深水処理１日目に有意に増加するが，その後は両区間で差はなかった（表17）．深水処理した植物体の第９節間のスクロース/ヘキソース比は処理１日目から５日目まで対照区よりも低かった．深水処理１日目において，葉の未抽出部分の含量比は対照区よりも低いが，処理５日目には対照区よりも有意に高い値を示した．

Table 17 Effect of submergence on sucrose/hexose ratio of the 8th internode, the 9th internode and the non-emerged part.

Organ	Treatment	Days after treatment			
		0	1	3	5
8th internode	Control	8.9	5.6	6.0	11.1
	Submergence		10.6*	4.0	8.5
9th internode	Control	4.1	4.4	4.1	6.8
	Submergence		0.9*	1.1*	2.1*
Non-emerged part	Control	1.2	1.9	1.0	1.0
	Submergence		0.8*	1.2	1.7*

Data are expressed as the means of three replicates.
* ; significant at 1% level.

考察

浮イネの最も大きな特徴は深水下における急速な節間伸長である（Vergara et al. 1976）．今回の研究においても，最上位節間である第９節間の長さは深水下で急速に増加し，その増加は深水後１日目から３日目の間が最も大きかった（図27）．その第９節間への光合成産物の分配は深水処理１日目に著しく増加し，その後そのレベルを維持した（表12）．この結果は第一節の結果と一致した．一方，両区間ともに第８節間の伸長は停止していた（図27）が，光合成産物の分配に関しては異なった反応を示した．つまり，第８節間

への分配は深水処理した植物体では第9節間よりも低い値を示したが，対照区の植物体では第9節間よりも高い値を示した（表12）．これらの結果から，深水下で生育した浮イネは光合成産物の分配パターンを下位節間から上位節間へと変化させることが分かった．

トレーサー実験の結果から判断すると，3つのシンク器官の中で葉の未抽出部が最も大きなシンクであった（表12）．しかし，葉の未抽出部分へのラベル炭素の分配は深水下で増加したが，その比活性（RSA）は両区間および処理後日数で有意な差はほとんどなかった（表11）．第一章の結果から，深水下で生育した浮イネは普通栽培下で生育したものより主稈の葉数が増加することを示している．以上のことから，深水下における葉の未抽出部分への光合成産物の分配の増加は，その生長が促進された結果によるものが大きな要因であると思われる．一方で，第9節間へのラベル炭素の分配は深水処理1日目に増加し，これは急速な比活性の増加を伴っていた（表11，12）．よって，深水下において，最上位節間への光合成産物の分配の増加はその伸長が促進された結果だけではないことが明らかになった．

連続的な器官の伸長には，その伸長細胞の浸透物質の濃度が十分に維持されていなければならない（Cosgrove 1986）．Kutchera and Kende（1988）は，深水処理した浮イネの伸長中の節間では浸透調節が働いていると結論づけている．本研究において，伸長中の最上位節間の植物体当たりおよび可溶性タンパク当たりのAI活性は深水処理1日目に著しく増加した（図29，表13）．AIは急速に伸長している組織においてスクロースの分解を制御していることが報告されている（ap Rees 1974，Sung et al. 1988）ので，この伸長節間におけるAI活性の増加は節間へ転流されてきたスクロースの加水分解を促進していると思われる．実際，第9節間のヘキソース含量は深水処理1日目に急速に増加し，スクロースとヘキソースの含量比も低下した（図32，表16，表17）．同様に，急速に伸長している組織では，AI活性の増加とヘキソースの蓄積が密接な関係にあることが示されている（Morris and Arthur 1984，1985a，Lambrechts and Kolloffel 1993）．Raskin and Kende（1984c）は，葉から急速に伸長している節間へ光合成産物の転流が増加することで，その節間の伸長に必要なエネルギーや基質，浸透物質など要求量の増加に対応していると述べている．また，Kutchera（1991）は，液胞において，AIはヘキソースの濃度を調節することにより，伸長細胞の浸透圧を維持することを提案している．以上のことから，深

水処理した植物体の最上位節間におけるAI活性の増加によって，葉から転流されてきたスクロースの加水分解が促進され，それが急速に伸長している細胞の浸透圧の維持に重要な役割を果たしていると考えられる．深水処理１日目に生ずるこの現象は，急速な節間伸長を支える重要な要因の一つであろう．

第９節間の植物体当たりのSS活性は深水処理３日目に，同じく可溶性タンパク当たりSS活性は深水処理５日目に対照区よりも有意に高かった（図30，表14）．SSは細胞伸長が生じている組織よりむしろスクロースやデンプンを貯蔵する組織においてスクロースの分解を制御していることが報告されており（Sung et al. 1988），節間のような伸長組織において活性が増加するという報告はほとんどない．しかし，深水処理３日目以降は，第９節間の伸長はかなり低下しており（図27），このSS活性の増加はヘキソースの蓄積よりはむしろ乾物重の増加（図28）と関連があると思われる．また，SS活性は細胞壁の合成と相関があることが報告されている（Chourey 1991）．よって，深水処理した植物体の最上位節間において，急速な伸長が緩和された後のSS活性の増加は節間の乾物の蓄積や細胞壁の合成と関連がある可能性がある．

第９節間への光合成産物の分配は深水処理期間を通じて対照区よりも高く（表12），第９節間では，深水処理初期はAI活性の増加が生じ，深水処理後期はSS活性の増加が生じていた（図29，30，表13，14）．また，特に第９節間におけるラベル炭素の比活性と可溶性タンパク当たりのAI活性は密接な関係にあった（表11，表13）．さらに，第８節間においては，深水処理１日目で，光合成産物の分配およびラベル炭素の比活性の減少と植物体当たりおよび可溶性タンパク当たりのSS活性の減少が生じていた（表11，12，図30，表14）．Morris and Arthur（1985b）は，インゲンの伸長中の節間において，^{14}Cでラベルした炭素の分配と比活性の変化は可溶性タンパク当たりのAI活性の変化と相関があることを報告している．また，インゲンの果実の生育過程で，鞘の伸長はAI活性と関連があり，種子の乾物蓄積はSS活性と関連があることを報告している（Sung et al. 1994）．ソースからシンクへの光合成産物の転流速度はそれらの間に存在するスクロース濃度勾配の程度に依存していることが示されている（Walker and Thornley 1977，Ho and Baker 1982，Wyse and Saftner 1982）．よって，シンク器官でのスクロース分解の速度が光合成産物の転流速度を調節する要因の１つであろう（Ho 1988）．今回の研究で，深水処理した植物体の第９節間において，生体重当たりヘキソース含量の増加（表16）によりスク

ロースとヘキソースの含量比は低下し（表17），これはソース葉と第9節間の間のスクロース濃度勾配の増加を示すと思われる．逆に，下位節間である第8節間では，生体重当たりスクロース含量が深水下で急速に増加し，深水処理1日目のスクロース/ヘキソース比は対照区よりも有意に増加した．以上の結果は，深水下で生育した浮イネ節間におけるスクロースの分解に関与している酵素活性の変化は，組織内のスクロースおよびヘキソースの含量を調節することにより，光合成産物の分配パターンの変化と密接な関係があることを示唆するものである．

第三節　節間の生長に伴うスクロース分解酵素活性の変動

第二節において，深水下における最上位節間への光合成産物の分配の増加にAIおよびSSが関連している可能性が示唆された．また，可溶性タンパク当たりのAI活性の増加は深水処理１日目に，同じくSS活性の増加は深水処理５日目に認められ，節間の急速な伸長に対して，それぞれが異なる役割を演じているものと考えられた．本節では，深水下での節間の伸長と乾物の蓄積を経時的に調査し，その各段階でのAIおよびSS活性の変動をさらに詳細に明らかにすることで，それら酵素が節間の生長においてどのような働きを持っているのかを検討した．

材料と方法

１．供試材料

浮イネ品種であるHabiganj Aman IIを用いた．第一章と同様に，植物体を約7.5葉期まで土耕により屋外で栽培した．

２．深水処理

供試植物体を第７葉の葉身基部までの深さで屋外で深水処理した．対照区として，普通条件下で栽培した植物体を用いた．第９葉が出葉を始めた処理後３日目に，水位を第８葉の葉身基部までに高くした．深水処理した植物体の第９節間は第９葉が出葉後６日目（葉齢9.4）に伸長を始め，対照区のそれは８日目（葉齢9.5）から伸長を始めた．両区の植物体ともに，第９葉が出葉後20日目まで１日置きに第９節間をサンプリングした．長さを測定後，サンプリングした節間の半数は105℃で30分間killing後，70℃で5日間乾燥させた．そして乾物重を測定し，デンプンとスクロース，ヘキソース含量の定量に用いた．残りは酵素活性の測定のため，液体窒素で凍結後，-30℃で保存した．

３．AIおよびSS活性の測定

第四章第二節と同様に測定を行った．

4．デンプンとヘキソース，スクロース含量の定量

第三章および第四章第二節と同様に定量を行った．

結果

図33に第９節間の長さと乾物重の変化を示す．深水処理した植物体における第９節間長は，節間が伸長を始めた第９葉出葉後６日目から８日目にかけて約15cm増加した．その後，８日目から10日目にかけて2.2cm，10日目から12日目にかけて0.7cm伸長し，ほぼ伸長は停止した．一方，対照区の第９節間は急速な伸長はなく徐々に伸長し，最も伸長したのが10日目から12日目にかけての2.9cmであった．最終的な第９節間長は深水区と対照区それぞれ23.2cmと9.55cmであった．深水処理した植物体における第９節間の乾物重は６日目から10日目にかけて直線的に65mg増加し，10日目から12日目まで増加量が低下した後，再び12日目から16日目まで直線的に64mg増加した．対照区の節間の乾物は８日目から16日目まで徐々に増加率を高めながら蓄積するが，出葉20日目の時点で，深水区の乾物重よりも低かった．

図34は第９節間の生長に伴うその節間当たりのAIおよびSS活性を示したものである．第９葉出葉後６日目から８日目にかけて，深水区のAI活性は著しく増加した．その後12日目までにその活性は急速に低下し，14日目から16日目にかけて再び増加した．対照区のAI活性は８日目から20日目まで徐々に増加するが，実験期間中を通じて深水区の活性よりも低かった．深水処理した植物体のSS活性は節間の伸長が開始した第９葉出葉後６日目から高い値を示した．10日目に一度その活性は低下するが，12日目に再び増加し，８日目と同じく実験期間中の最大値に達した．そして，その後急速にその活性は低下した．対照区の植物体において，節間の伸長が開始した８日目のSS活性は深水区の６日目の値より低く，８日目から10日目にかけてその活性は増加するが，その後14日目までほぼ一定であった．14日目から16日目までその活性は大きく増加するが，その後急速に低下した．

図35は第９節間の生長に伴う可溶性タンパク当たりのAIおよびSS活性を示したものである．節間の伸長が開始した第９葉出葉後６日目から８日目にかけて，深水処理した植物体の可溶性タンパク当たりAI活性は著しく増加し，実験期間中の最大値に達した．その後８日目から10日目までその活性は急速に低下するが，12日目以降再びその活性は増

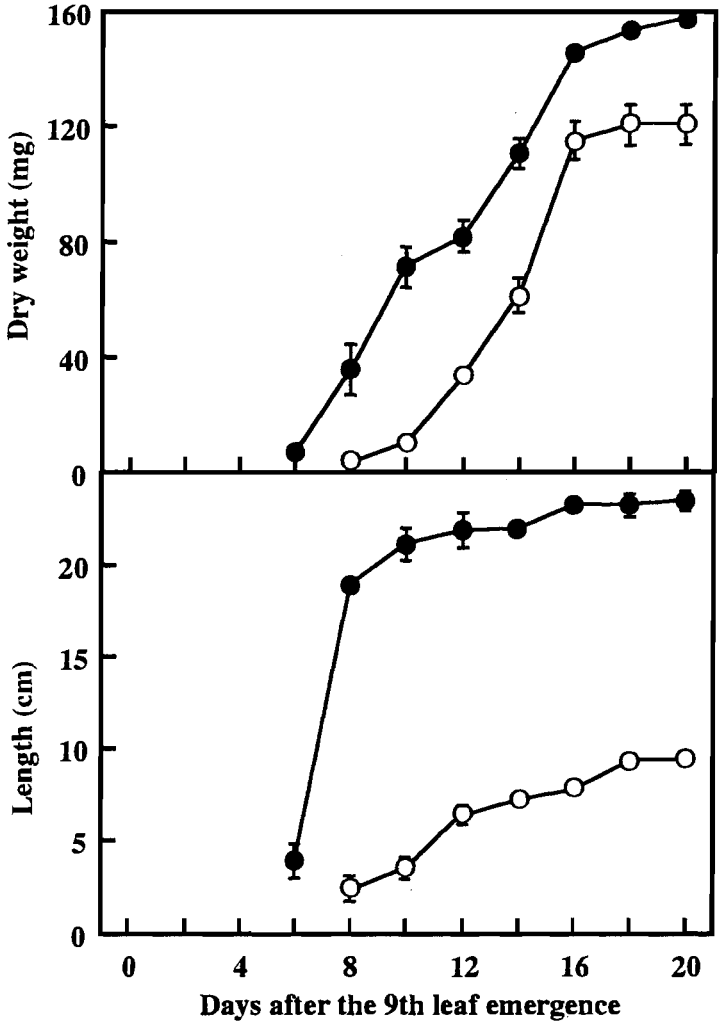

Fig 33 Changes in dry weight and length of the 9th internode in submerged (●) and control (O) plants. The 9th internode of the submerged plants began to elongate six days after emergence of the 9th leaf.
Vertical bars express ± standard errors (n = 5).

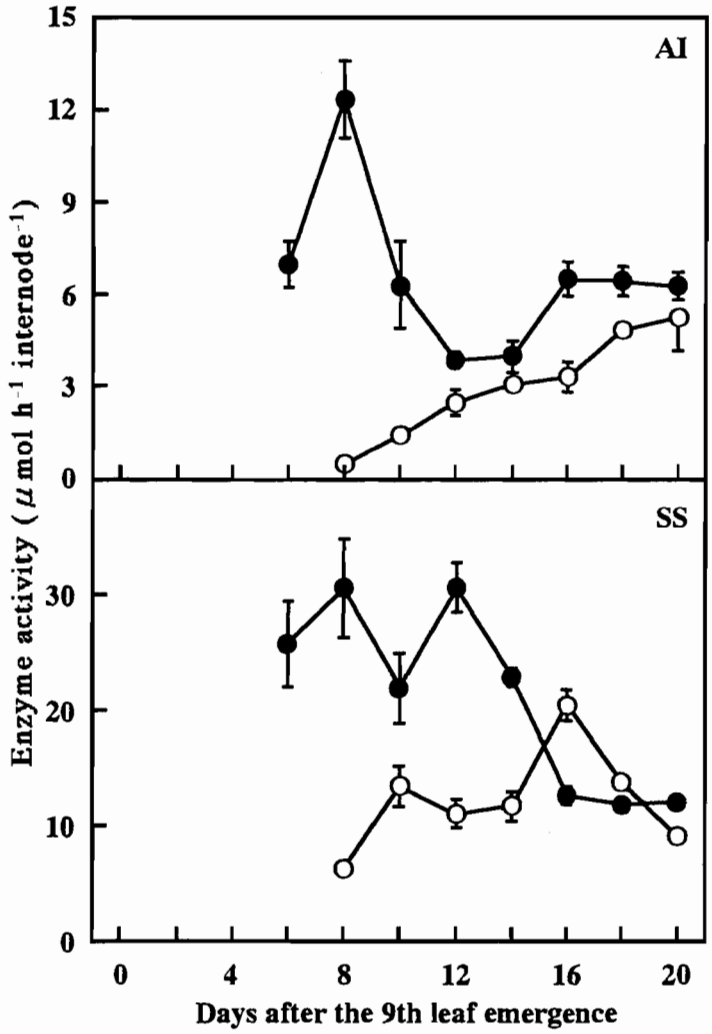

Fig 34 Changes in AI and SS activities per plant of the 9th internode in submerged (●) and control (O) plants. Vertical bars express ± standard errors (n = 5).

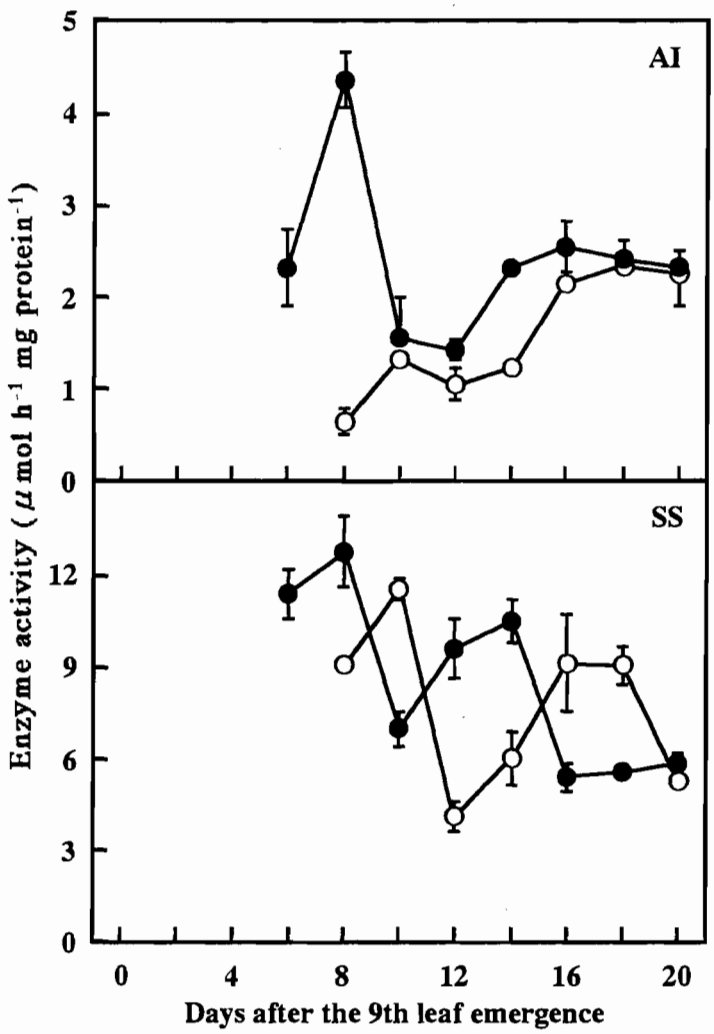

Fig 35 Changes in AI and SS activities per soluble protein of the 9th internode in submerged (●) and control (O) plants. Vertical bars express ± standard errors (n = 5).

加し，20日目までそのレベルで活性は維持された．対照区の植物体において，節間の伸長が開始した８日目から10日目まで可溶性タンパク当たりAI活性は増加するが，その増加は深水区の植物体のような急速なものではなかった．その後，14日目から16日目にかけてその活性は増加し，20日目までそのレベルで活性は維持された．深水処理した植物体において，６日目から８日目にかけての可溶性タンパク当たりSS活性が実験期間中で最も高く，その後10日目にかけてその活性は急速に低下した．10日目から14日目まで再びその活性は増加するが，14日目から16日目に再び活性は低下し，20日目までそのレベルで活性は維持された．対照区の植物体の可溶性タンパク当たりSS活性も節間が伸長を開始した８日目から10日目にかけて増加し，実験期間中の最大値に達した．その活性は10日目から12日目にかけて急速に低下し，12日目から16日目まで再び増加した．

深水処理した植物体における節間当たりデンプン含量の実験期間中の増加量は7.79mgであった（図36）．一方，対照区の植物体の節間当たりデンプン含量は経時的に急速に増加し，第９葉出葉後20日目には深水区の植物体の約６倍であった．節間の伸長が開始した６日目から８日目にかけて，深水区の植物体の節間当たりヘキソース量は急速に増加した．しかし，その含量は８日目を頂点にして14日目までに急速に低下した．対照区の節間当たりヘキソース含量は実験期間中大きな変動はなく，また，８日目から12日目まで深水処理した植物体の含量よりもかなり低かった．節間の伸長が開始した６日目から８日目にかけて，深水処理区の節間当たりスクロース含量は増加し，実験期間中の最大値に達した．その後，その含量は14日目まで徐々に減少するが，再び16日目に増加し，さらに18日目に低下した．対照区の節間当たりスクロース含量は８日目から14日目までに急速に増加した．その後，その含量は16日目に低下するが，再び20日目まで増加した．

深水下で生育した植物体の第９節間における乾物重当たりデンプン含量は実験期間中ほぼ一定で，対照区よりも低いレベルにあった（図37）．対照区の乾物重当たりデンプン含量は実験期間中徐々に増加し，第９葉出葉後20日目には深水区の約５倍であった．深水処理した植物体の乾物重当たりヘキソース含量は節間の伸長が開始した６日目から高い値を示し，８日目にさらに増加した．しかし，その後その含量は急速に低下した．同様に，対照区の乾物重当たりヘキソース含量も節間の伸長が開始した８日目から10日目にかけて増加し，その後急速に減少した．深水処理した植物体の乾物重当たりスクロース含量は節間の生長につれて徐々に減少した．一方，対照区の含量は８日目から12日目

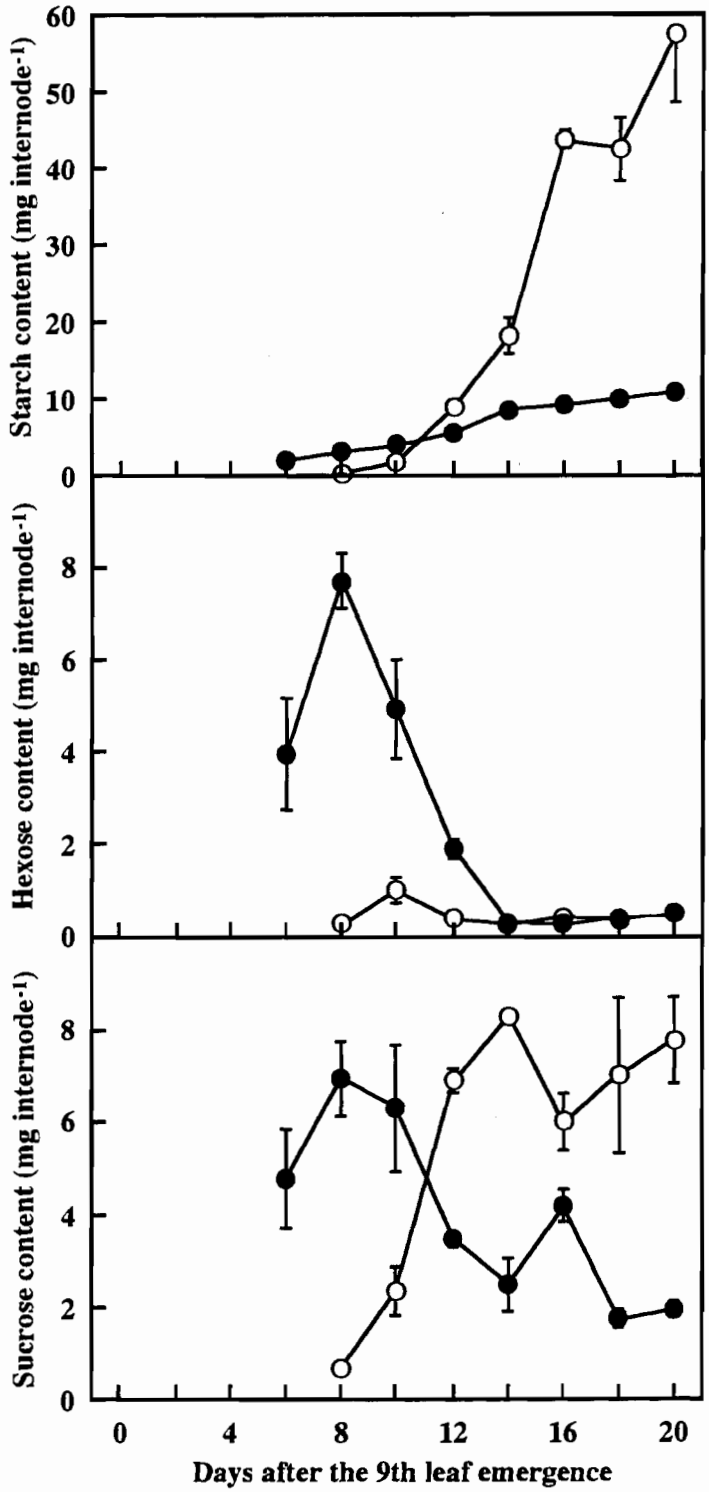

Fig 36 Changes in starch, hexose and sucrose contents per plant of the 9th internode in submerged (●) and control (O) plants. Vertical bars express ± standard errors (n = 5).

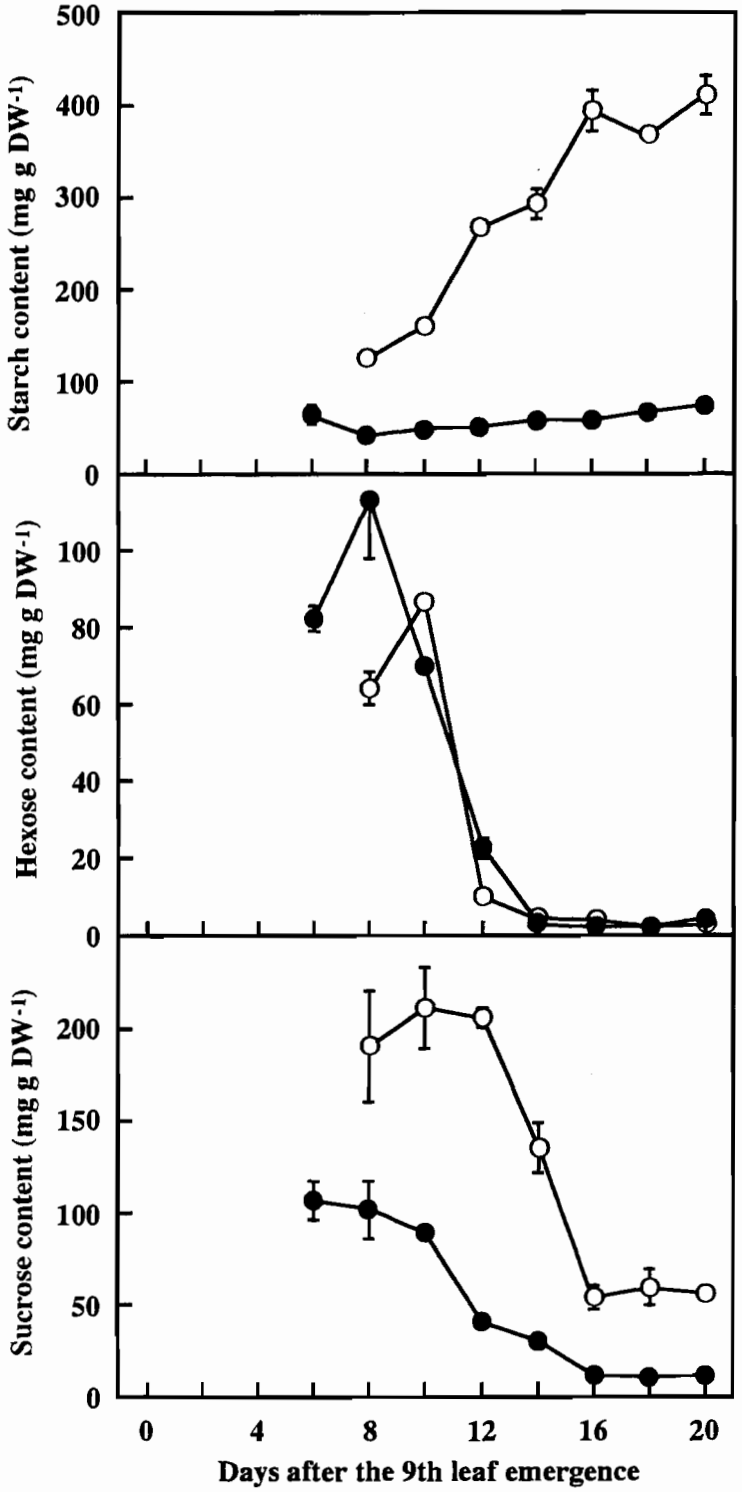

Fig 37 Changes in starch, hexose and sucrose contents per dry weight of the 9th internode in submerged (●) and control (O) plants. Vertical bars express ± standard errors (n = 5).

まで200mgという高いレベルで一定であったが，その後急速に低下した．また，実験期間中を通じて，対照区の含量の方が深水区よりも高かった．

図38は第9節間の生長に伴うスクロースとヘキソースの含量比を示す．深水処理した植物体のスクロース/ヘキソース比は12日目までほぼ一定の低いレベルであった．12日目以降その比は増加し，16日目に実験期間中の最大値に達した．そして，18日目には再びその比は低下した．対照区のスクロース/ヘキソース含量比は10日目から14日目にかけて著しく増加し，その後16日目には大きく減少した．18日目には再びその含量比は増加した．

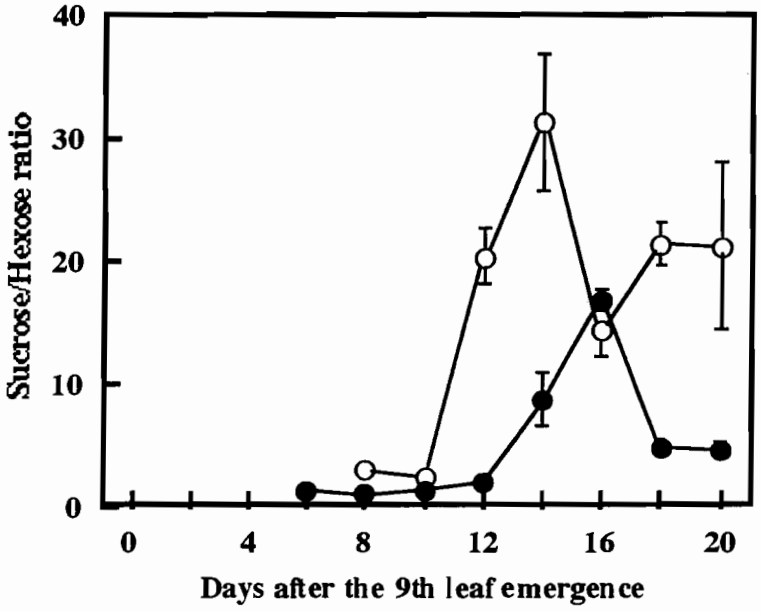

Fig 38 Changes in sucrose/hexose ratio of the 9th internode in submerged (●) and control (○) plants. Vertical bars express ± standard errors (n = 5).

考察

深水下で生育した植物体の第9節間は第9葉出葉後6日目である葉齢9.4の時期から伸長を開始し，対照区の植物体の第9節間は第9葉出葉後8日目である葉齢9.5の時期から伸長を開始した（図33）．すなわち，深水下で生育した植物体の節間の方が対照区よりもわずかに早い時期に伸長を開始した．

対照区の第9節間は，生長の伴って乾物重当たりヘキソースおよびスクロース含量が低下し，逆にデンプン含量が増加した（図37）．しかし，深水下で生育した植物体では，乾物重当たりデンプン含量は実験期間中ほぼ一定で，対照区よりもかなり低かった．深水状態にある浮イネはその葉鞘や節間にデンプンをほとんど蓄積しない（山口と佐藤1963）．深水処理した浮イネ茎切片において，節間の古い部分のデンプン含量が急速に低下し，また節間の新たに伸長した部分にもデンプンが蓄積しないことが報告されている（Raskin and Kende 1984c）．また，Smith et al.（1987）は，深水処理した浮イネの伸長節間では，α-アミラーゼの活性が増加することを報告している．この増加したα-アミラーゼ活性により，節間の伸長に必要な炭水化物の供給が行われていると彼らは結論づけている．よって，今回の結果はこれらの報告と一致し，深水処理後に伸長を開始した節間においてデンプンの蓄積が生じないのは，普通栽培条件下で生育した浮イネ節間と比較して，深水下での節間伸長には細胞壁の合成も含めてより多くの炭水化物を必要とすることを示すものである．一方で，図36に示したように，第9葉出葉後12日目以降，深水処理した植物体の節間当たりデンプンおよびスクロース含量は対照区のそれらより有意に低いにも関わらず，その乾物重は対照区よりも高かった（図33）．よって，深水下で生育した植物体の節間において，その乾物重が12日目以降に増加したのは，節間の伸長後に生じる細胞壁合成の増加によるものであることが推察される．

深水下での節間の急速な伸長は6日目から8日目に生じた（図33）．そして，この伸長に伴って乾物重も増加した（図33）．この乾物重の増加期には節間当たりヘキソースおよびスクロース含量が増加し（図36），この結果は第四章第二節の結果と一致した．連続的な器官の伸長には，その伸長細胞の浸透物質の濃度が十分に維持されていなければならない（Cosgrove 1986）．この著しく増加したヘキソース含量は深水下での急速な節間伸長に必要な浸透物質として作用していると思われる．さらに，この深水下で生育した植物体の節間が急速に伸長する時期と併せて，可溶性タンパク当たりのAI活性が著

しく増加した（図35）．このような急速な増加は対照区の植物体には見られず，深水下で特異的な現象であった．第四章第二節でも述べたように，AIは急速に伸長している組織においてスクロースの分解を制御していることが報告されている（ap Rees 1974, Sung et al. 1988）．また，急速に伸長している組織では，AI活性の増加とヘキソースの蓄積が密接な関係にあることが示されており（Morris and Arthur 1984, 1985a, Lambrechts and Kolloffel 1993），Kutchera（1991）は，AIは液胞においてヘキソースの濃度を調節することにより，伸長細胞の浸透圧を維持することを提案している．よって，深水下で生育している浮イネの節間におけるAI活性の著しい増加は，その伸長を維持するために必要である伸長細胞の浸透圧調節を通じて，深水下での節間伸長と密接な関係があると考えられる．

可溶性タンパク当たりのSSは，両区ともに二度の活性のピークがあった．深水処理した植物体は8日目と14日目であり，対照区の植物体は10日目と16日目であった．SSは細胞伸長が生じている組織よりむしろスクロースやデンプンを貯蔵する組織においてスクロースの分解を制御していることが提案されている（Sung et al. 1988）．また，SS活性は細胞壁の合成（Chourey 1991）やデンプンの合成（Chourey and Nelson 1976）と高い相関があることが報告されている．対照区の植物体においては，10日目から12日目と14日目から16日目にかけて，乾物重当たりの急速なデンプン蓄積が生じている（図37）．深水処理した植物体においては，6日目から10日目と12日目から16日目にかけて乾物の蓄積が生じ，特に，12日目以降の乾物重の増加は，前述のように細胞壁合成が増加したことによると思われる（図33）．以上のことから，浮イネ節間において，これらSS活性の増加はデンプンや細胞壁の合成と関連があることが推察される．特に深水処理した植物体の節間ではデンプンの蓄積がほとんど生じていないことから，SSは急速な伸長後の細胞壁の合成に対する基質の供給に重要な役割を演じていると考えられる．

本節の結果から，スクロースの分解に関与している酵素であるAIとSSは，伸長中の節間という一つの器官において，それぞれ異なる時期にその生長に対して異なる役割を演じていることが示唆された．特に，AI活性の著しい増加は深水処理された浮イネの最上位節間に特異的に見られる現象であり，その急速な伸長において重要な機能を果たしていると考えられる．

摘要

本章の目的は，深水下におけるシンク器官への光合成産物の分配の経時的な変化，特に深水処理直後に分配の変化が生じているか，またシンク器官の間で分配パターンの変化が生じているかを明らかにすることである．また，スクロース分解酵素の活性の変化に着目して，光合成産物の分配との関係を検討し，それら酵素が深水下における各シンク器官，特に伸長中の最上位節間の生長に対してもたらす作用について検討した．

第一節では，最上位節間と互いにシンク-ソースの関係にある最上位節から発生している葉だけにソースを限定した植物体を用いて，深水処理前に同化された炭素の各器官への分配を調査することで，速やかな光合成産物の分配の変化が生じているか検討した．最上位節間におけるラベル炭素の比活性は，まだ乾物重の増加が生じていない深水処理１日目の時点で著しく増加した．また，対照区の植物体は最上位節間よりも葉の未抽出部分へ優先的に光合成産物を分配し，一方，深水区の植物体は葉の未抽出部よりも最上位節間へ優先的に光合成産物を分配することが示唆された．

第二節では，主稈だけの植物体を用いて，深水処理１，３，５日後に^{13}Cを供与し，各シンク器官への光合成産物の分配の経時的変化およびスクロースの分解に関与している酵素活性の変化との関係を調査した．深水処理した植物体において，最上位節間である第９節間への光合成産物の分配は対照区よりも増加し，逆に第８節間への分配は低下した．つまり，深水下で生育した浮イネは光合成産物の分配パターンの変化が生じている．急速に伸長している第９節間の可溶性タンパク当たりのAI活性は，深水処理後１日目で著しく増加した．これらの増加は，ヘキソースの蓄積と一致していた．よって，深水処理された植物体の第９節間におけるAI活性の増加はスクロースの加水分解を促進し，伸長細胞の浸透圧を維持しているものと思われる．第９節間における可溶性タンパク当たりSS活性は深水処理５日目に対照区よりも増加し，またその第８節間のSS活性は深水処理１日目に対照区よりも急速に低下した．これらの酵素活性の変化は光合成産物の分配パターンの変化と一致していた．よって，深水下におけるスクロース分解に関与している酵素活性の変化は各部位や時期によって特徴的であり，シンクとソース間のスクロース濃度勾配を変化させることにより，シンク器官への光合成産物の分配における変化と密接な関係があることを示唆する．

第三節では，深水下における最上位節間の生長とスクロース分解酵素活性の関係をさ

らに詳細に明らかにするため，長期間にわたってそれらを経時的に調査した．深水下において，最上位節間は伸長が開始すると同時に急速に伸長し，ほぼ２日間で15cm伸長した．その急速な伸長時期とさらにその後の伸長がほぼ停止した時期に，乾物の蓄積が生じた．可溶性タンパク当たりAI活性は節間の急激な伸長時期にのみ増加し，可溶性タンパク当たりSS活性は乾物の蓄積が生じている二度の時期に増加した．深水下で急速に伸長している節間において，これらスクロース分解酵素活性の変動はそれぞれ異なる役割を演じていると考えられた．特に，AI活性の著しい増加は深水下で急速に伸長している最上位節間に特異的に見られる現象で，その伸長との関連性が示唆された．

総合考察

本研究で用いた浮イネ品種であるHabiganj Aman IIはバングラデシュ在来の品種であり，その栽培地域における雨季の洪水期間は３から６カ月，さらに１日当たりに水位上昇速度は多いときで60cm以上になることもある（Vergara et al. 1976）．浮イネは水面上に完全に抽出した葉身を多く持つ個体ほど正常に伸長できることが報告されている（Inouye 1983）．しかし，このような過酷な深水環境下では，水面上に維持される葉の面積は大きく減少すると思われる．実際，Habiganj Aman IIを１日当たり８cmの水位上昇下で栽培すると，普通栽培下の植物体と比較して水面上に抽出している葉の面積は著しく減少した（内田ら 1989b）．このことは光合成を行えるソース葉が低下することを意味する．一方で，深水下で生育している浮イネの最大の特徴は旺盛な節間伸長である（Vergara et al. 1976）．また，深水下で浮イネは未抽出葉の生長を促進させ，主稈の葉数を増加させる（山口 1973a）．以上のことから，浮イネは深水下で光合成産物の供給という面でソースとなる葉の面積の低下というストレスを受けるにもかかわらず，節間と葉の急速な生長を可能にしている．本研究の目的は，深水下で旺盛な生育を行うために必要な光合成産物の供給とその効率的な分配に関して，浮イネが深水から受ける影響とそれに対する適応を明らかにすることである．

まずはじめに，深水に対する浮イネと非浮イネの適応をその生育と光合成能力の面から調査した．この実験では，深水ストレスの程度を両品種で揃えるため，それぞれ植物体の第７葉が完全に水没するように一定の水位で深水処理した．その結果，浮イネに特異的な反応は次の４つである．１つは，処理８日目における主稈の葉齢の促進（表１），２つめは，急速な節間伸長による最上位カラー部の水面上への維持（図１），３つめは処理８日目の最上位完全展開葉における光，CO_2飽和下での光合成能力の増加（図２），最後に，処理４日目という早い時期での上位２葉の各葉内成分の増加（図３，４，５）であった．

葉の窒素含量の増加に伴って，様々なCO_2濃度下での光合成速度が増加することが報告されている（von Caemmerer and Farquhar 1981，Evans 1983，Evans and Terashima 1988）．また，光合成暗反応系においてCO_2固定を担っている酵素であるRubiscoは，イネ成熟葉で全窒素の28%，全可溶性タンパクの55%を占め（Makino et al. 1984a），本研究では，

光，CO_2飽和下での光合成能力とRubisco含量との間には高い正の相関があった（図６）．よって，前述の葉齢の進行と光合成能力の増加，葉内成分の増加といった浮イネにのみみられる深水下での特徴にはすべて，それら上位葉への窒素供給の増加によって生じると思われる．

そこで，深水下で生育している浮イネの窒素供給源として，根から吸収された窒素と水没した下位葉に存在する窒素の双方に関してその重要性を検討するため実験を行った．深水下において窒素濃度1.0mMの水耕液で生育した浮イネ上位葉の窒素含量は，普通栽培下で窒素濃度1.5mMの水耕液で生育した浮イネと同程度であった（図８）．つまり，このことは深水処理した浮イネが普通栽培下よりも少ない窒素施肥量で高い葉身窒素含量を維持できることを示す．そこで，その能力は何に依存しているのかを検討した．深水条件という低酸素分圧，高二酸化炭素分圧下（Setter et al. 1987）では，根の生育および窒素吸収量が低下することが報告されている（斉藤 1954，John et al. 1974，星川 1975）．また，深水下で浮イネは根の生育が阻害される（表４）．さらに，Uchida et al.（1990）は，トレーサーとして^{15}Nを根から与えて，浮イネにおける根からの窒素吸収と分配に及ぼす深水の影響を調査した．その結果，普通栽培条件下と比較して，深水下で生育している浮イネは根からの窒素吸収量が低く，主稈の葉身に分配された^{15}Nの絶対量も低かった．以上のことから，深水下における浮イネ上位葉の生育には老化葉からの再分配窒素がかなりの割合で関与していることが示唆された．

深水下での浮イネ上位葉の生長が下位葉からの再分配窒素に依存しているならば，浮イネでは下位葉の老化が深水によって促進されると思われる．深水下における上位葉の生育速度が異なる浮イネと非浮イネにおいて，植物体を深水することによって水没した下位葉の老化を，光合成能力を測定することによって比較し，またその老化に伴うタンパク質画分の変化およびタンパク質分解活性を測定した．その結果，浮イネは非浮イネと比べて水没した葉の光合成能力の低下が速く（図10），それはRubisco含量の低下によるものであること（図14，15），浮イネ葉を切断葉として深水処理すると，着生葉として深水処理したときよりも光合成速度の低下が抑制され，切断葉においては老化速度に品種間差がないこと（図10）が明らかになった．さらに浮イネ着生葉を深水処理するとRubisco含量の低下と併せてタンパク質分解酵素活性が増加した（図16）．以上のことから，深水下で生育している浮イネの窒素に対するソースである水没した下位葉とシンク

である生長中の上位葉の関係は以下の通りであろう．まず，深水により水没した下位葉の老化が促進される．この現象は，多くの植物において報告されている（Kawase 1974, Drew and Sisworo 1977, Jackson 1979, Trought and Drew 1980, Wenkert et al. 1981, Hurng and Kao 1993）．同時に，前述のように深水下では若い未抽出の葉の生長が促進されるが，根からの窒素の供給は深水下で制限される．これらの結果，水没葉の急速なタンパク質の分解が生じ，それにはタンパク質分解酵素活性の増加が関与している．そして，この老化葉からの再分配窒素が求頂的に急速に転流される．これら一連の作用により，深水下での浮イネの生長が維持されると思われる．

本研究において，深水処理８日目に，浮イネの最上位完全展開葉の光，CO_2飽和下での最大光合成能力は対照区よりも高い値を示した（図２）．しかし，この光合成能力の増加をもたらす要因の一つはRubiscoが高いレベルで存在することであるが，それだけでは説明できず，他の要因の関与が考えられた．イネ葉において，光飽和，大気条件下での光合成速度とRubisco含量との関係を見ると，Rubisco含量の増加につれて光合成速度は飽和する傾向を示し，またRubiscoのin vivoでの比活性は若い時期の葉ほど低く，老化葉では高い，つまり若い時期の葉は活性化されていないRubiscoが多く存在していることが示された（和田　1988）．さらに，Fukayama et al.（in press）は，イネ葉における光，CO_2飽和下の光合成速度とRubisco含量およびRubisco activase含量について調査し，Rubiscoが過剰に存在する葉身の完全展開直後の若い時期には，光，CO_2飽和下の光合成速度はRubisco activase含量と密接に関係していることを提案した．よって，深水下で生育している浮イネにおいて，Rubiscoが十分に存在する最上位完全展開葉の光，CO_2飽和下での光合成能力が対照区よりも増加するのは，Rubiscoの活性化率およびRubisco activase含量の変化と関係があると考えられる．

さらに，光，CO_2飽和下の光合成速度は，無機リン酸再生のためのスクロース生合成能力によって律速されていることが報告されている（Sharkey 1985, Stitt 1986, Sharkey et al. 1986）．また，窒素含量が増加するにつれて，光飽和，高CO_2下での光合成速度はスクロース合成酵素の活性によって律速されるようになることを，Makino et al.（1994）はイネ葉において報告した．一方，トウモロコシのSPS遺伝子を導入してその活性を増加させたトマトの形質転換植物体は，野生種のトマト植物体と比較して，光飽和，CO_2飽和下での最大光合成能力が増加する（Galtier et al. 1993）．本研究において，深水後５

日目の浮イネ最上位葉において，SPSとCytosolic FBPaseの活性が対照区よりも増加した（図18，19）．よって，浮イネを深水下で処理すると，最上位展開葉の光，CO_2飽和下の光合成速度が対照区よりも増加するのは，これらスクロース生合成に関与している酵素活性の増加によるものかもしれない．

深水下で生育している浮イネは，最上位節間が急速に伸長し（表２），主稈における未抽出葉の生長促進により葉数が増加する（表１）．一方で，水面上に維持される葉の面積は普通栽培下と比較して大きく低下する（内田ら 1989a, b）．よって，浮イネにおいて，光合成産物に関するシンクとソースのバランスは普通栽培下と深水下で大きく異なる．これは最初にも述べたように，深水という環境が浮イネにもたらす大きな影響の一つである．これに対し，浮イネはソースとシンクの両面で対応している．

ソースにおいては，深水下で生育した浮イネの完全展開葉のうち上位２葉で，SPSの活性化率の増加とCytosolic FBPase活性の増加した（図18，19，表９）．このことは光合成産物の転流速度の増加と密接な関係があった（図17，表６，７）．イネのソース-シンク単位は，ある葉身とその葉鞘，その葉がでている節に直結する下部節間，その節間の下部節から出ている根と分げつであり，またその葉身が最上位展開葉であるときには現在出葉中の葉もシンクとなる（田中　1958，Tanaka 1961）．よって，この上位２葉はそれぞれ伸長中の最上位節間および出葉中の葉とシンクーソースの関係にある．すなわち，深水下で急速な生長が生じる器官に対して，それに対応するソースの光合成産物の転流能力が増加することが明らかになった．

SPS活性化率の増加は，基質濃度を制限し，活性抑制剤である無機リン酸（Pi）を加えた反応条件下で測定したVlimiting活性における増加により生じた．SPSは光により活性化されることが知られており，それは酵素タンパク質のリン酸化によって生じ，光による脱リン酸化は活性の増加をもたらす（Huber and Huber 1992）．このリン酸化されたSPSは基質に対する親和性と抑制剤である無機リン酸に対する感受性が変化する（Stitt et al. 1988）ので，上述のVlimiting条件において活性を測定したときにのみリン酸化，脱リン酸化によるSPS活性の変化が検出できる．しかし，本研究における深水下での上位葉のSPS（Vlimiting）活性の増加は光活性化とは無関係であり，他の要因によるものであると考えられる．細胞質の無機リン酸を取り込むマンノース溶液中に葉切片を浮かべて処理すると，そのSPS（Vlimiting）活性が増加することが報告されている（Stitt et al.

1988, Huber et al. 1989）．スクロース合成の過程で遊離した無機リン酸は，葉緑体包膜にあるリン酸トランスロケーターによってスクロース合成の基質であるトリオースリン酸と交換で再び葉緑体内に戻り，再利用される（Flugge and Heldt 1991）．つまり，葉で合成されたスクロースのシンク器官への転流が増加すると，葉緑体から細胞質への基質であるトリオースリン酸の輸送が高まる．そして，逆に細胞質から葉緑体への無機リン酸の輸送も増加する結果，細胞質において無機リン酸が過剰に蓄積せず，SPS活性も高く維持されることが推察される．すなわち，このことからも深水下で生育している浮イネ上位葉のSPS（Vlimiting）活性の増加は，その葉に対するシンク器官への光合成産物の転流の増加と密接な関係にあることが示唆される．

シンクにおいては，伸長中の最上位節間への光合成産物の分配が深水処理１日目という早い時期に著しく増加すること（図25，26，表11，12），葉の未抽出部分への分配も深水下での生育につれて徐々に増加すること（表12），逆に，伸長が停止している下位節間への分配は普通栽培下よりも低下すること（表12）が明らかになった．深水下で生長が高まる器官への光合成産物の分配が増加し，一方で，生長が停止している器官への分配は低下し，光合成産物の分配パターンの変化が深水下で生じていることが示された．

前述のように，イネはその葉の間にソースとシンクに関しての分業が成立している．つまり，あるソース葉はあるシンク器官と密接な関係にあり，特に節間の伸長が生じるとそれが明確になる（田中　1958，Tanaka 1961）．その事を考慮して，深水下での浮イネにおけるソースとシンクの関係を検討すると，最上位完全展開葉と出葉中の葉の未抽出部分，そして上から２番目の完全展開葉と伸長中の最上位節間がそれぞれソースとシンクの関係にある．そして，深水下ではこの２つの要素ともに，ソースにおいては光合成産物の転流能力の増加が生じ，シンクにおいては光合成産物の分配率が増加している．つまり，これら急速に深水下で生長しているシンクへの光合成産物の分配の増加は，それに応じたソース葉での光合成産物の転流速度の増加で説明できる．しかし，伸長節間のすぐ下位にある伸長停止節間への光合成産物の分配は，深水５日目において低下している（表12）のに，そのソース葉における光合成産物の転流量は低下していないどころか，わずかに対照区よりも増加している（表６，７）．このことは，伸長停止節間に対するソース葉からの光合成産物が，その上位の深水下で著しく伸長している節間もしくは葉の未抽出部分へと分配されている可能性を示すものである．栄養生長期には光合成

産物の転流の方向および量は現在生長している器官のシンク能によって決定されると提案されている（Watson 1971, Wearing 1972, Wilson 1972）．つまり，深水下での節間と葉の未抽出部分の急速な生長は光合成産物の要求量の著しい増加をもたらし，よって，その下位にある葉からも光合成産物の供給を受けるのではないか．この可能性を明らかにするには，各個葉にラベル炭素を供与して，その分配を詳細に調査する必要がある．

本研究における結果の中で，深水処理した植物体の最上位節間におけるAI活性の増加は最も顕著に現れたものの一つである（図29, 34, 35, 表13）．この増加は節間の急速な伸長時期と一致すること，AIは伸長中の組織でスクロースの分解に関与していること（ap Rees 1974, Sung et al. 1988），液胞においてAIはヘキソースの濃度を調節することで伸長細胞の浸透圧を維持すること（Kutchera 1991）が提案されている．よって，深水下における節間の急速な伸長とAI活性の増加は密接な関係にあり，その作用は深水下で生育している浮イネの伸長節間での浸透調節（Kutchera and Kende 1988）に関与している重要な要因であることが示唆された．一方，SSはデンプンやスクロースを蓄積する組織や器官においてその活性が高いことが提案されている（Sung et al. 1988）．実際，SSの活性と器官の生長は，果実や種子といった貯蔵組織において多く調査されている（Sung et al. 1989, Xu et al. 1989, Ross and Davis 1992, Sun et al. 1992, Wang et al. 1993）．ところが本研究では，深水下で生育している植物体の伸長節間においてSS活性が増加し，乾物の蓄積および光合成産物の分配との関連が示唆された（第四章第二節）．すなわち，伸長節間という一つの器官においてAIとSSは深水処理により活性が増加し，それぞれ細胞の浸透調節および乾物蓄積（特に細胞壁の合成）という異なる働きを持っていることが推察された．このように一つの伸長器官においてAIおよびSSの活性に関して検討した報告はほとんどなく，今後節間の伸長に対して果たす機能の分担について具体的に検討して行くべきであろう．

以上のように浮イネは深水下において，その生長に必要な窒素および炭素の供給という点で大きなストレスを受ける．それに対し，浮イネの水没した下位葉のタンパク質，特にRubiscoの分解が促進され，水面上にある上位葉の生長と光合成能力の維持に必要な重要な窒素源となる．この作用は非浮イネ品種には認められない浮イネの重要な特性である．そして，浮イネは光合成産物を効率的に生長部位に分配して，深水に適応している．これには，ソース葉ではSPSの活性化率とCytosolic FBPase活性の増加が，伸長節間

では，その伸長初期にはAI，伸長後期にはSS活性の増加が重要な役割を演じていることが示唆された（図39）．これら一連の適応機能が深水という過酷な環境下での浮イネの旺盛な生育を可能にしていると考えられる．

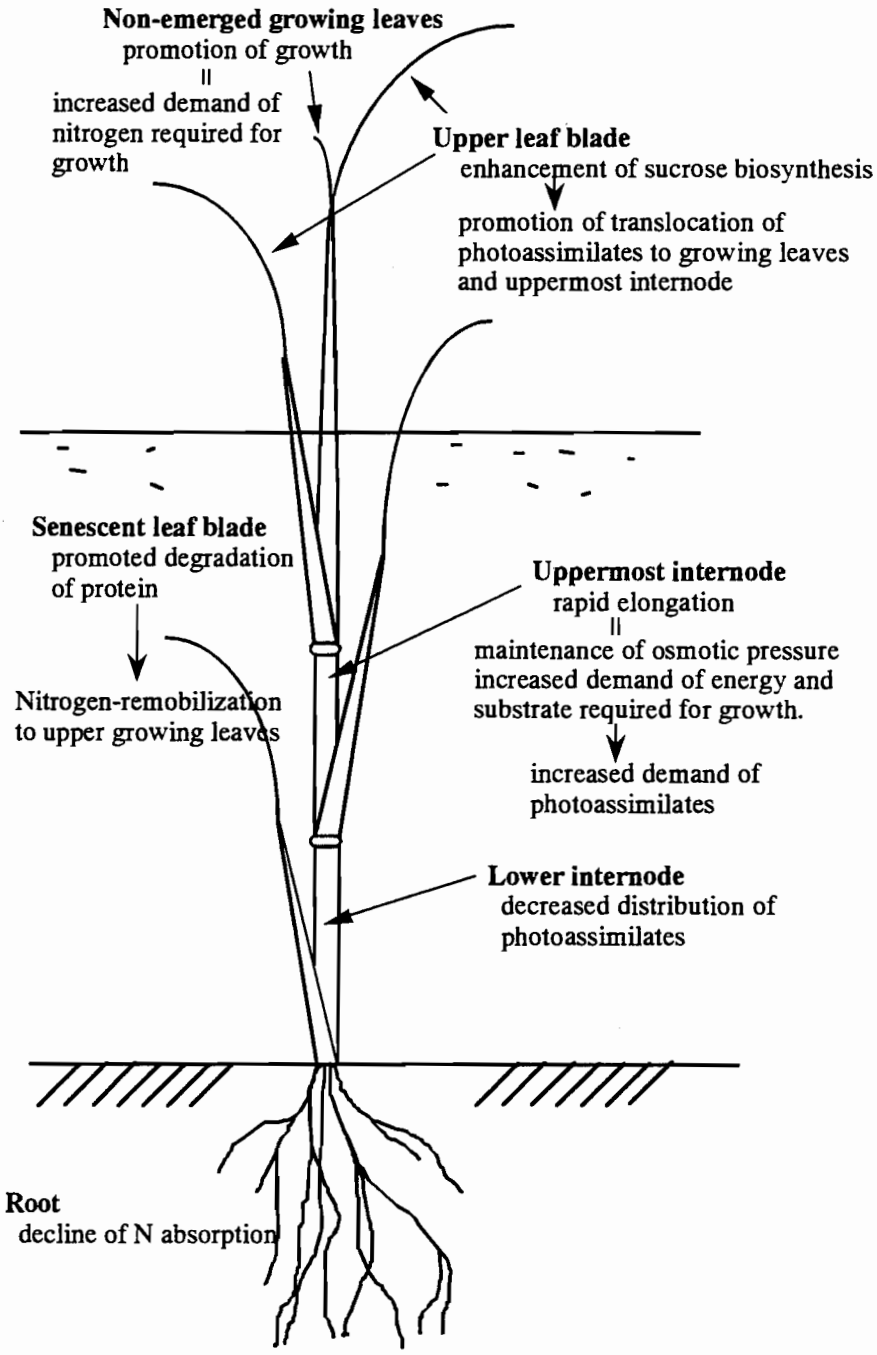

Fig 39 Illustration for adaptation of floatiog rice to submergence on supply of nitrogen (left side) and carbohydrate (right side) requied for rapid growth under the condition.

摘要

深水下において，浮イネは急速な節間の伸長という旺盛な生育を行う一方で，同化可能な葉面積が低下する．そこで，浮イネは光合成産物の供給を高めることおよび光合成産物の分配を効率的に行うことによって深水に適応していると思われる．光合成産物の供給に関しては，主稈の葉齢進行が深水下で促進され，ソースとなる上位葉を維持すること，主稈の最上位展開葉の光合成能力が高くなることが知られているが，そのような増加をもたらす葉内の要因や葉の急速な生育を支える窒素の供給など不明な点が多い．また，光合成産物の効率的な分配という点はほとんど報告されていない．そこで，本論文の目的は，浮イネにおける光合成産物に関するソースおよびシンクの能力に及ぼす深水の影響とその適応を解明することである．実験材料としては，バングラデシュ在来の浮イネ品種であるHabiganj Aman IIを使用した．なお，第一章および第二章第二節では，非浮イネ品種であるTaichung Native 1も比較のために使用した．得られた結果の大要は以下の通りである．

第一章　深水下における生長および光合成能力の推移

本章の目的は，深水下における浮イネと非浮イネの生育の違いと光合成能力の変化について明らかにし，その光合成能力の変化をもたらす要因について葉内成分の点から検討することである．

約9.6葉期の浮イネ品種であるHabiganj Aman II（HA）と非浮イネ品種であるTaichung Native 1（TN）を，その第７葉の葉身が完全に水没するように深水処理した．そして各葉位毎に，光，CO_2飽和条件下での酸素放出速度を気相酸素電極法により測定することで最大光合成能力を算出し，葉内成分としてクロロフィルと可溶性タンパク，Rubisco含量を定量した．浮イネは深水処理８日目で対照区よりも主稈の葉齢が進行した．また，深水処理４日目に，浮イネの上位２葉のRubisco 含量は対照区よりも増加し，深水処理８日目には，浮イネの最上位完全展開葉の光合成能力が対照区よりも高かった．これらの変化は非浮イネには認められなかった．以上の結果から，浮イネは非浮イネと異なり，

深水下で旺盛な葉の生育を行い，上位葉の光合成能力を高く維持できることが明らかになった．

光，CO_2飽和条件下での光合成能力とRubisco含量の間には高い正の相関があり，深水下における浮イネの光合成能力の増加にはRubisco含量の増加が重要な要因の一つであることが明らかになった．しかし，それぞれの深水下での変動パターンから，深水下での浮イネにおける光合成能力の増加をRubisco含量の増加だけでは説明できなかった．深水下で生育している浮イネ最上位完全展開葉において，光合成能力が普通栽培下の植物体よりも増加する要因に関してはさらに調査が必要である．

第二章　加齢に伴う光合成能力の変化と窒素源

光合成産物の供給を維持するには，まず葉の生育とその光合成能力の維持が必要であり，それには窒素の供給が不可欠である．特に浮イネでは，深水下で葉の生長の促進によって主稈葉数が増加し，光合成能力も高く維持されるので，その水面上の上位葉への窒素の供給が促進される必要がある．本章の目的は，葉の生長を維持するために必要な窒素供給において浮イネが深水から受ける影響とそれに対する適応を解明することである．

第一節　高窒素処理下での浮イネの生長と光合成能力の変化

本節では，浮イネを標準窒素区（1.0 mM NH_4NO_3）と高窒素区（1.5 mM NH_4NO_3）の２段階で窒素処理し，それぞれ深水下と普通栽培下で生育させ，葉の光合成能力および窒素含量を測定した．

対照区の植物体においては，高窒素処理により上位葉の光合成能力および葉身の全窒素含量が増加した．しかし，深水処理した植物体においては，窒素施肥量に関係なく，上位葉の光合成能力および葉身の全窒素含量は一定であった．さらに，標準窒素量で深水処理した植物体の上位葉は，高窒素施肥量で普通条件下で生育した植物体と同レベルの高い葉身窒素含量を有していた．これらの結果と，深水下では酸素分圧の低下と二酸化炭素分圧の上昇により根の生育と窒素の吸収が低下すると思われることから，深水下

で生育した浮イネは根から吸収した窒素以外の窒素により上位葉の光合成能力と生長を維持していると考えられた．よって，深水下における浮イネの生長には下位葉からの窒素再分配が重要であることが示唆される．

第二節　下位葉の老化に及ぼす深水の影響

深水下での浮イネの生長が下位葉からの再分配窒素に依存しているならば，浮イネでは下位葉の老化が深水によって促進されると思われる．そこで第二節では，深水処理によって水没した下位葉の老化を調査するため，浮イネ品種であるHabiganj Aman II（HA）と非浮イネ品種であるTaichung Native 1（TN）を深水処理し，その光合成能力およびタンパク質画分の変化とタンパク質分解酵素活性を調査した．

深水により水没したHAの着生葉はTNのそれよりも光合成能力の低下が速かった．光合成能力の変化はRubisco含量の変化と高い正の相関があり，水没したHAの下位葉ではRubiscoの急速な分解によって老化が促進されることが明らかになった．さらに，水没によるHAとTNの下位葉の老化速度の差は，両品種の水没に対する葉の反応性の違いであるのか，若い上位葉の生長の違いから生じる急速な窒素再分配によるものかどうかを検討するため，切断葉と着生葉を同様の条件下で深水処理して，上記の項目に関して調査した．その結果，深水処理したHAの切断葉はその着生葉よりも光合成能力の低下が抑制され，そして，切断葉においては深水処理による光合成能力の低下に品種間差はなかった．着生葉と切断葉の形態的な差は，シンクとしての生長器官が存在するかどうかである．よって，これらの結果は水没した下位葉からシンク器官への窒素の転流が増加していることにより，水没による下位葉の老化がさらに促進されていることを示唆する．深水処理したHAの着生葉において，タンパク質分解酵素活性が処理２日後に著しく増加した．この活性増加はHAの水没葉中の可溶性タンパク，特にRubisco含量の低下と密接な関係があると考えられる．以上の結果から，深水下のHAにおいて，水没した下位葉のRubiscoをはじめとするタンパク質は，活性の増加したタンパク質分解酵素によって分解され，急速に生長しているシンクの窒素要求量の増加に対応するための重要な窒素源となっていると思われる．

第三章　ソース葉における光合成産物の転流能力の変化

深水下で急速な生長を示す主稈レベルでのシンクとソースのバランスの変化に伴うそれぞれの能力の変化を明らかにするため，本章ではまず深水下でのソース葉における光合成産物の転流能力の変化およびその変化をもたらす要因を解明することを目的とした．深水下で生育している浮イネ上位葉からの光合成産物の転流速度を調査するため，トレーサーとして^{13}Cを用いて実験を行った．供試材料として，５日間深水下で生育させた10.3葉期の植物体と，対照として普通栽培条件下で10.3葉期まで生育させた植物体を使用した．

深水処理した植物体の９Ｌと10Ｌにおける光合成産物の転流速度は対照区のそれらよりも高かった．これらの葉においては，スクロースの含量およびスクロースとデンプンの含量比が増加していた．９Ｌと10Ｌに対する主要なシンクは，それぞれ最上位節間である第９節間と出葉中の第11葉であり，これらは深水下で急速に生長が促進されている器官である．以上のことから，深水下における９Ｌと10Ｌの光合成産物の転流速度の増加およびスクロース含量の増加はこれらシンクの生長促進に対応したものであると思われる．さらに，スクロースの生合成に関与している酵素であるSPSとCytosolic FBPaseの活性を調査した結果，in vivoのSPS活性およびCytosolic FBPase活性が，深水下で生育している９Ｌと10Ｌで対照区よりも高かった．また，これら両酵素活性と転流速度およびスクロース含量との間には高い正の相関があった．また，その転流速度の増加はSPSの活性化率の増加およびCytosolic FBPase活性の増加と密接な関係にあることが示唆された．

第四章　シンク器官の生長と光合成産物の分配特性

本章の目的は，深水下におけるシンク器官への光合成産物の分配の経時的な変化を明らかにし，特に深水処理直後に分配の変化が生じているか，またシンク器官の間で分配パターンの変化が生じているかを明らかにすることである．また，スクロース分解酵素の活性の変化に着目して，光合成産物の分配との関係を検討し，それら酵素が深水下に

おける各シンク器官，特に伸長中の最上位節間の生長に対してもたらす作用について検討した.

第一節　最上位節間の生長と光合成産物の分配

本節では，最上位節間と互いにシンク-ソースの関係にある最上位節から発生している葉だけにソースを限定した植物体を用いて，深水処理前に同化された炭素の各器官への分配を調査することで，速やかな光合成産物の分配の変化が生じているか検討した.

最上位節間におけるラベル炭素の比活性は，まだ乾物重の増加が生じていない深水処理１日目の時点で著しく増加した．また，対照区の植物体は最上位節間よりも葉の未抽出部分へ優先的に光合成産物を分配し，一方，深水区の植物体は葉の未抽出部よりも最上位節間へ優先的に光合成産物を分配することが示唆された.

第二節　シンク器官における光合成産物の分配とスクロース分解酵素活性の経時的変化

本節では，主稈だけの植物体を用いて，深水処理１，３，５日後に^{13}Cを供与し，各シンク器官への光合成産物の分配の経時的変化を調査した．また，その分配とスクロースの分解に関与している酵素活性との関係に着目した.

深水処理した植物体において，最上位節間である第９節間への光合成産物の分配は処理１日目から５日目まで対照区よりも増加し，逆に第８節間への分配は低下した．つまり，深水下で生育した浮イネは光合成産物の分配パターンの変化が生じている．急速に伸長している第９節間の可溶性タンパク当たりの酸性インベルターゼ活性は，深水後１日目で著しく増加した．これらの増加は，ヘキソースの蓄積と一致していた．よって，深水処理した植物体の第９節間のAI活性の増加は，スクロースの加水分解を促進し，伸長細胞の浸透圧を維持しているものと思われる．深水処理した植物体の第９節間における可溶性タンパク当たりSS活性は，深水処理５日目に対照区よりも増加し，またその第８節間のSS活性は深水処理１日目に対照区よりも急速に低下した．これらの酵素活性の変化は光合成産物の分配パターンの変化と一致していた．よって，スクロース分解に関

与している酵素活性の変化は，シンクとソース間のスクロース濃度勾配を変化させることにより，シンク器官への光合成産物の分配における変化と密接な関係があることを示唆する．

第三節　節間の生長に伴うスクロース分解酵素活性の変動

本節では，深水下における最上位節間の生長とスクロース分解酵素活性の関係をさらに詳細に明らかにするため，長期間にわたってそれらを経時的に調査した．

深水下において，最上位節間は伸長が開始すると同時に急速に伸長し，ほぼ2日間で15cm伸長した．その急速な伸長時期とさらにその後の伸長がほぼ停止した時期に，乾物の蓄積が生じた．可溶性タンパク当たりAI活性は節間の急激な伸長時期にのみ増加し，可溶性タンパク当たりSS活性は乾物の蓄積が生じている二度の時期に増加した．深水下で急速に伸長している節間において，これらスクロース分解酵素活性の変動はそれぞれ異なる役割を演じていると考えられた．特に，AI活性の著しい増加は深水下で急速に伸長している最上位節間に特異的に見られる現象で，その伸長との関連性が示唆された．

Supply and partitioning of photoassimilates in adaptation to submergence in floating rice.

Floating rice plants respond to submergence by rapid internodal elongation. On the other hand, the area of photosynthesizing leaves above the water surface decreases remarkably under submergence. As a result, potential for supply of photoassimilates in the source leaves and efficient partitioning of the photo-assimilates to sink organs are probably important factors for the adaptations of floating rice plants to submergence.

The aim of this study is to examine the system of adaptation to submergence for source and sink of photoassimilates in floating rice plants. Habiganj Aman II (HA), a floating rice variety from Bangladesh was used in this study. In chapters 1 and 2, Taichung Native 1 (TN), a non-floating rice variety, was also used as a comparison. The summary obtained in this paper was as follows:

Chapter 1 Growth and photosynthetic activity under submergence.

In this chapter, the differences in their growth and changes in photosynthetic activity under submergence between HA and TN were compared. Furthermore, factors involved in the changes of photosynthesis in terms of leaf components were investigated.

The plants of both varieties (9.6 leaf stage) were submerged up to the top of the 7th leaf blade. At 0, 4 and 8days after submergence, the rate of oxygen evolution (OER) was measured with a gas-phase oxygen electrode (20% O_2, 5% CO_2, 2200 μ mol photon m^{-2} s^{-1}, 25℃, saturated water vapor), and the amounts of chlorophyl, soluble protein and Rubisco were determined in each leaf blade.

In HA, the leaf stage of the submerged plant progressed as compared with the control. In the submerged HA, Rubisco contents of the upper two leaves were higher than the control at 4 days, and the OER of the uppermost leaf was higher than the control at 8 days. In TN, however, these phenomena were not detected. Therefore, the active growth of the upper leaves and higher maintenance of the photosynthetic activity under submergence are the characteristics of floating rice plants, differing from non-floating rice plants.

The OER was correlated positively with the Rubisco content ($r = 0.877$). This indicates that the enhanced Rubisco content appears to be one of important factors that cause the increase of the photosynthetic activity in the submerged HA.

However, considering the changes in the OER and the Rubisco content in each leaf blade, the increase of Rubisco content was not all consistent with the increase of the OER. These results indicate the possibility that the factors other than the Rubisco content were involved in the increase of the photosynthetic activity of the upper leaves in the submerged floating rice.

Chapter 2 Changes in photosynthetic activity of senescing leaves, and nitrogen sources

Maintenance of leaf growth and photosynthetic activity are essential for the supply of photoassimilates. The aim of this chapter is to investigate the effects of submergence on supply of nitrogen required for the leaf growth of floating rice.

1. Growth and photosynthetic activity under high nitrogen nutrition.

HA was grown hydroponically under submergence and ordinary condition (control). Ammonium nitrate concentrations in the hydroponic solution were 1.0 (standard-N) and 1.5 mM (high-N). The submerged treatment was carried out in the depth to water of the top of the 8th leaf blade. OER and nitrogen content of the each leaf blade were measured.

The dry weight of root declined remarkably under submergence. In the control, the upper leaf blades of high-N plants had higher OERs and nitrogen contents than those of the standard-N plants. On the other hand, in the submerged plants, no difference in the OERs and nitrogen contents was detected between high and standard-N plants. In addition, the upper leaf blades of the submerged standard-N plants had the N contents as high as the control high-N plants. It has been observed that submergence induced reduction of O_2 partial pressure and increase of CO_2 partial pressure in the floating rice. Thus, submergence probably suppresses the root growth and its absorption of nitrogen. These results indicate that not the nitrogen absorbed in the root but the remobilized-nitrogen originated from the lower leaves is important for maintenance of the growths and photosynthetic activities of the upper leaves in the submerged floating rice.

2. Effects of submergence on senescence of lower leaves.

If the nitrogen required for growth of floating rice under submergence depends on the remobilized-nitrogen originated from the lower leaves, it is likely that senescence of the lower leaves is promoted under submergence. To investigate the senescence of the submerged lower leaves, HA and TN (9.6 leaf stage) were

submerged up to the top of the 7th leaf blade. In the 7th leaf blade, OER and various leaf comstituents contents were measured. Furthermore, proteinase activity was assayed.

The OER of the submerged 7th leaf blade in HA decreased more rapidly than that in TN. The OERs were correlated closely with the Rubisco contents. This result indicates that the rapid degradation of Rubisco causes the reduction of the photosynthetic activity in the submerged leaves. The detached 7th leaf blade was submerged under the same condition as the attached 7th leaf blade in order to examine whether the difference in the rate of senescence between both varieties is either due to difference in sensitivity to submergence, or due to difference in the growth rate of the younger leaves. In the submerged HA, the decrease of OER of attached 7th leaf blade in HA was accelerated as compared with that of the detached leaf blade. In addition, no difference in the reduction of OER between both varieties was detected in the detached 7th leaf blade. Export of nitrogen to other growing sink organs occurs in the attached senescing leaves, while not in the detached leaves. Therefore, these results suggest that the promotion of nitrogen export to the growing sink organs causes the acceleration of senescence of the submerged lower leaves in the floating rice. Proteinase activity of the attached leaf blade in the submerged HA increased remarkably at 2 days after the treatment, and may be related to the subsequent degradation of the proteins. Therefore, the proteins in the submerged leaf blade were degraded by the proteinase of which activity increased under submergence and were most important nitrogen source for the rapid growth of the younger leaves.

Chapter 3 Changes in potential of photoassimilates export of source leaves.

The aim of this chapter is to investigate whether the source leaves of the floating rice alter the potential for supply of photoassimilates under submergence. The export rate of photoassimilates from each leaf blade was examined by tracer experiment of $^{13}CO_2$. The plants were submerged up to the half of the 7th leaf blade for five days, until 10.3 leaf stage.

The export rates of photoassimilates of the 9th (9L) and the 10th leaf blades (10L) in the submerged plants was higher than those in the control plants. Those leaf blades in the submerged plants had more sucrose contents and sucrose/starch ratio than the control. The main sink organs of the 9L and 10L are the uppermost 9th internode and the growing 11th leaf, respectively, of which the growths are

stimulated under submergence. This suggests that the increased export rates of photoassimilates and sucrose contents are related closely to the promoted growths of each sink organ. Furthermore, activities of sucrose biosynthesis enzymes, sucrose-phosphate synthase (SPS) and cytosolic fructose-1,6-bisphosphatase (Cytosolic FBPase) were examined in each leaf blade. The SPS activity under limiting substrate and cytosolic FBPase activity of the 9L and 10L in the submerged plants were higher than those in the control. These enzymes activities were correlated positively with the export rates of photoassimilates and the sucrose contents. Therefore, the increased SPS activation state and cytosolic FBPase activity may play important roles in the promotion of photoassimilates export of the upper leaves in the submerged floating rice.

Chapter 4 Growth of sink organs and Characteristics of photoassimilates partitioning.

In this chapter, effects of submergence on the distribution patterns of photoassimilates were investigated in the submerged floating rice, using ^{13}C-labelled carbon. In addition, activities of sucrose metabolizing enzymes, acid invertase (AI) and sucrose synthase (SS), were analyzed in the sink organs, and the functions on the rapid internodal elongation under submergence were discussed.

1. Growth of uppermost internode and distribution of photoassimilates.

Source leaves of the plants used in this experiment were restricted to the full expanded leaf (the 8th leaf blade) attached on the uppermost internode (the 8th internode). $^{13}CO_2$ was fed to the plants, and then the plants were submerged up to the the basis of the 8th leaf blade.

The relative specific activity of labelled carbon of the uppermost internode increased remarkably at one day after submergence. The dry weight increased little at this time. In the control plants, the labelled carbon was partitioned predominantly to the non-emerged part of leaves, while in the submerged plants, to the uppermost internode rather than the non-emerged part.

2. Changes in distribution of photoassimilates and activities of sucrose metabolizing enzymes in sink organs.

In this experiment, the floating rice plants of the 10.3 leaf stage were

submerged up to the half of the 7th leaf blade. At 1, 3 and 5 days after submergence, $^{13}CO_2$ was fed to the plants, and the distribution of the labelled carbon to the 8th and 9th internode and the non-emerged part of leaves was examined. Comparing each value in the submerged plants with the control, the distribution of photoassimilates to the uppermost 9th internode increased considerably, while there was a decline in the 8th internode. Therefore, the floating rice plants under submergence alter the partitioning pattern of photoassimilates.

Total (per plant) and specific (per soluble protein) activities of acid invertase (AI) of the rapidly elongating 9th internode increased remarkably one day after submergence. These increases corresponded to accumulation of hexose. It is likely that the increased AI activities of the 9th internode in the submerged plant promoted the hydrolysis of sucrose and maintained the osmotic pressure in the elongating cells. Total sucrose synthase (SS) activity of the 9th internode in the submerged plant increased markedly after three days and corresponded to accumulation of dry matter. These changes were in agreement with the changes in the distribution patterns of photoassimilates. These results suggest that the changes in the activities of the enzymes involved in sucrose metabolism may be related to the changes in the distribution of photoassimilates to the sink organs of submerged floating rice plants via the increase of the magnitude of the sucrose concentration gradients which exist between source and sink.

3. Growth of internode and changes in activities of sucrose metabolizing enzymes.

Uppermost internode in the submerged plants elongated rapidly for initial two days after it appeared. At this time, the AI activity per soluble protein increased remarkably. And then the activity declined rapidly. High SS activities per soluble protein were detected at the period of accumulation of dry matter, regardless of the treatment. In the internodes of the submerged plants, SS might be related to the cell wall synthesis, since the internodes had much less starch accumulation than the control. These results support that the specific sucrose metabolizing enzymes are associated with the specific processes that occur in the rapidly growing internodes under submergence; AI is associated with the internodal elongation and SS with the internodal cell wall synthesis.

The results obtained in this paper were summarized in Fig. 39 (pp104)

謝辞

本研究を行うに当たり，終始御懇篤な御指導と御鞭撻を賜った神戸大学大学院自然科学研究科　安田武司教授に謹んで感謝の意を表します．また，浮イネに関する研究の機会を与えて下さり，実験当初に御指導と貴重な御助言を賜った神戸大学農学部　山口　禎名誉教授に謹んで感謝の意を表します．さらに，本研究における実験の計画と遂行，ならびに本論文の作成に当たり，御指導と貴重な御助言を頂いた同研究科　内田直次助教授に心から感謝の意を表します．本論文の作成に当たり，御指導と御校閲を賜った同研究科　上島脩志教授ならびに王子善清教授に感謝の意を表します．さらに，^{13}Cの使用に当たり，御指導と御助言を頂いた同研究科　巽　二郎助教授に感謝の意を表します．本研究を行うに当たり，数々の貴重な御助言と激励を頂いた同研究科　東　哲司助手に心から感謝いたします．

本研究の共同研究者である越村英世氏ならびに谷口恵大氏に心から厚くお礼申し上げます．また，Rubiscoの定量に当たり，抗血清の作製やRubiscoの精製等の実験方法の指導をして頂いた深山　浩氏に心から感謝いたします．^{13}Cの使用に当たり，数々の助言を頂いた穴田大作氏に心から感謝いたします．さらに，その他多くの方々の御助言と御助力，激励のうえに本研究は遂行し得たものであります．最後になりましたが，公私にわたりお世話になりました熱帯植物学講座の諸先輩方，同輩，また後輩のみなさん，関係者各位に心から感謝申し上げます．

引用文献

ap Rees, T. 1974. Pathways of carbohydrate breakdown in higher plants. In: Northcote, D. H. eds., Int. Rev. Biochem. Vol 11. Butterworths, London. pp89-127

Arnon, D. I. 1949. Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidases in *Beta vulgaris* . Plant Physiol. 24, 1-15

Azuma, T., F. Mihara, N. Uchida, N. Yasuda and T. Yamaguchi 1990. Plant hormonal regulation of internodal elongation of floating rice stem sections. Jpn. J. Trop. Agr. 34, 271-275

Azuma, T., F. Mihara, N. Uchida, N. Yasuda and T. Yamaguchi 1991. Influence of humidity on ethylene-induced internodal elongation in floating rice. Plant Cell Physiol. 32, 307-309.

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

Bleecker, A. B., J. L. Schuette and H. Kende 1986. Anatomical analysis of growth and developmental patterns in the internode of deep-water rice. Planta. 169, 490-497.

Borchers-Zampini, C., A. B. Glamn, J. Hoddinott and C. A. Swanson 1980. Alterations in source-sink patterns by modification of source strength. Plant Physiol. 65, 1116-1120.

Bradford, M. M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Anal. Biochem. 72, 248-254.

Ciha, A. J. and W. A. Brun 1978. Effect of pod removal on nonstructural carbohydrate concentration in soybean tissue. Crop Sci. 18, 773-776.

Chourey, P. S. and O. E. Nelson 1976. The enzymatic deficiency conditioned by the shrunken-1 mutations in maize. Biochem. Genet. 14, 1041-1055.

Chourey, P. S., Y. C. Chen and M. E. Miller 1991. Early cell degeneration in developing endosperm is unique to the shrunken mutation in maize. Maydica 36, 141-146

Cohen, E. and H. Kende 1987. In vivo 1-aminocyclopropane-1-carboxylate synthase activity in internodes of deepwater rice. Plant Physiol. 84, 282-286.

Cosgrove, D. J. 1986. Biophysical control of plant cell growth. Ann. Rev. Plant Physiol. 37, 377-405

Dalling, M. J., G. Boland and J. H. Wilson 1976. Relation between acid proteinase activity and redistribution of nitrogen during grain development in wheat. Aust. J. Plant physiol. 3, 721-730.

Drew, M. C. and E. J. Sisworo 1977. Early effects of flooding on nitrogen deficiency and leaf chlorosis in barley. New Phytol. 79, 567-571.

Evans J. R. 1983. Nitrogen and photosynthesis in the flag leaf of wheat (*Triticum aestivum* L.). Plant physiol. 72, 297-302.

Evans, J. R. and I. Terashima 1988. Photosynthetic characteristics of spinach leaves grown with different nitrogen treatments. Plant Cell Physiol. 29, 157-165.

Feller, U. K., T. T. Soong and R. H. Hageman 1977. Leaf proteolytic activities and senescence during grain development of field-grown corn (*Zea mays* L.). Plant Physiol. 59, 290-294.

Flugge, U.-I. and W. H. Heldt 1991. Metabolite translocators of the chloroplast envelope. Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol. 42, 129-144.

Friedrich, J. W. and R. C. Huffaker 1980 Photosynthesis, leaf resistances, and ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase degradation in senescing barley leaves. Plant Physiol. 65, 1103-1107.

Fukayama, H., N. Uchida, T. Azuma an T, Yasuda. Relationships between photosynthetic activity and the amount of rubisco activase and other leaf constituents in rice leaves from emergence through senescence. Japan. J. Crop Sci. (in press).

Fukumorita, T. and M. Chino 1982. Sugar, amino acid and inorganic contents in rice phloem sap. Plant Cell Physiol. 23, 273-283.

Geiger, D. R. and W.-J. Shieh 1988. Analyzing partitioning of recently fixed and of reserve carbon in reproductive *Phaseolus vulgaris* L. plants. Plant Cell Environ. 11, 777-783.

Galtier, N., C. H. Foyer, J. Huber, T. A. Voelker and S. C. Huber 1993. Effects of elevated sucrose-phosphate synthase activity on photosynthesis, assimilate partitioning and growth in tomato (*Lycopersicon esculentum* var UC82B). Plant Physiol. 101, 535-543.

Geiger D. R. 1976. Effects of translocation and assimilate demand on photosynthesis. Can. J. Bot. 54, 2337-2345.

Hall, A. J. and F. L. Milthorpe 1978. Assimilate source-sink relationships in *Capsicum annuum* L. III. The effects of fruit excision on photosynthesis and leaf and stem carbohydrates. Aust. J. Plant Physiol. 5, 1-13.

Hermerhorst, E. and G. B. Stokes 1980. Microcentrifuge desalting : A rapid, quantitative method for desalting small amounts of protein. Anal. Biochem. 104, 130-135.

Herold, A. 1980. Regulation of photosynthesis by sink activity --- the missing link. New Phytol. 86, 131-144.

Herzog B., M. Stitt and H. W. Heldt 1984. Control of photosynthetic sucrose synthesis by fructose 2,6-bisphosphate. III. Properties of cytosolic fructose 1,6-bisphosphatase. Plant Physiol. 75, 561-565.

Ho, L. C. 1988. Metabolism and compartmentation of imported sugar in sink organs in relation to sink strength. Ann. Rev. Plant Physiol. 39, 355-378.

Ho, L. C. and D. A. Baker 1982. Regulation of loading and unloading in long distance transport systems. Physiol. Plant. 56, 225-230.

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.

星川清親 1975. イネの生長. 農文協. pp131-156, 207-211.

Hubbard, N. L., S. C. Huber and D. M. Pharr 1989. Sucrose phosphate synthase and acid invertase as determinants of sucrose concentration in developing muskmelon (*Cucumis melo* L.) fruits. Plant Physiol. 91, 1527-1534.

Huber, S. C. 1981. Interspecific variation in activity and regulation of leaf sucrose phosphate synthase. Z Pflanzenphysiol. 102, 443-450.

Huber, S. C. 1983. Role of sucrose -phosphate synthase in partitioning of carbon in leaves. Plant Physiol. 71, 818-821.

Huber, S. C., T. W. Rufry Jr, P. S. Kerr and D. C. Doehlert 1983. Different mechanisms for regulation of sucrose phosphate synthase – a key enzyme in photosynthetic sucrose formation. Curr. Top. Plant Biochem. Physiol. 2, 20-34.

Huber, S. C., P. S. Kerr and W. Kalt-Torres 1985. Regulation of sucrose formation and movement. In: Heath, R. L., Preiss, J., eds., Regulation of carbon partitioning in photosynthetic tissue., Am. Soc. Plant Physiol., Rockville, Md., USA. pp. 199-214.

Huber, S. C., T. H. Nielsen, J. L. A. Huber and D. M. Pharr 1989. Variation among species in light activation of sucrose-phosphate synthase. Plant Cell Physiol. 30, 277-285.

Huber, S. C. and J. L. Huber 1992. Role of sucrose-phosphate synthase in sucrose metabolism in leaves. Plant Physiol. 99, 1275-1278.

Hurng, W. P. and C. H. Kao 1993. Endogenous polyamine levels and flooding-enhanced leaf senescence of tobacco. Plant Sci. 91, 121-125.

Inouye, J. 1983. Regulation between elongation ability and internode elongation of floating rice under raising water conditions. Jpn. J. Trop. Agric. 27, 181-186.

Inouye,J and T. Hagiwara 1981. Effects of some environmental factor on the position of the lowest elongated internode of three floating rice varieties. Jpn. J. Trop. Agric. 25, 115-121.

Inouye, J. and T. Mogami 1980. On the position of lowest elongated internode of floating rices originated in different countries. Jpn. J. Trop. Agric. 24, 13-17.

Jackson, M. B. 1979. Rapid injury to peas by soil waterlogging. J. Sci. Food Agric. 30, 143-152.

John, C. D., V. Limpinuntana and H. Greenway 1974. Adaptation of rice to anaerobiosis. Aust. J. Plant Physiol. 1, 513-520.

Kawase, M. 1974. Role of ethylene in induction of flooding damage in sunflower. Physiol. Plant. 31, 29-38.

Kerr, P. S., T. W. Ruffy Jr. and S. C. Huber 1985. Endogenous rhythms in photosynthesis, sucrose phosphate synthase activity, and stomatal resistance in leaves of soybean (*Glycine max* L. Merr.). Plant Physiol. 77, 275-280.

Kutchera, U. 1991. Osmotic relations during elongation growth in hypocotyls of *Helianthus annuus* L. Planta 184, 61-66.

Kutchera, U and H. Kende 1988. The biophysical basis of elongation growth in internodes of deepwater rice. Plant Physiol. 88, 361-366.

Lambrechts, H. and C. Kolloffel 1993. Soluble and insoluble invertase activity in elongating *Tulipa gesneriana* flower stalks. Physiol. Plant. 89, 830-834.

Lowry, O. H., N. J. Rosebrough, A. L. Farr and R. J. Randall 1951. Protein measurement with the folin phenol reagent. J. Biol. Chem. 193, 265-275.

Mae, T and K. Ohira 1981. The remobilization of nitrogen related to leaf growth and senescence in rice plants (*Oryza sativa* L.). Plant Cell Physiol. 22, 1067-1074.

Mae, T and K. Ohira 1984. The relationships between proteolytic activity and loss of soluble protein in rice leaves from anthesis through senescence. Soil Sci. Plant Nutr. 30, 427-434.

Mae, T., T. Hoshino and K. Ohira 1985. Proteinase activities and loss of nitrogen in the senescing leaves of field -grown rice (*Oryza sativa* L.). Soil Sci. Plant Nutr. 31, 589-600.

Makino, A., Mae, T and K. Ohira 1983. Purification and storage of ribulose 1,5-bisphosphate carboxylase in rice leaves. Plant Cell Physiol. 24, 1169-1173.

Makino, A., Mae, T and K. Ohira 1984a. Relation between nitrogen and ribulose 1,5-bisphosphate carboxylase in rice leaves from emergence through senescence. Plant Cell Physiol. 25, 429-437.

Makino, A., Mae, T and K. Ohira 1984b. Changes in photosynthetic capacity in rice leaves from emergence through senescence. Analysis from ribulose 1,5-bisphosphate carboxylase and leaf conductance. Plant Cell Physiol. 25, 511-521.

Makino, A., Mae, T and K. Ohira 1988. Differences between wheat and rice in the enzymic properties of ribulose 1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase and relationship to photosynthetic gas exchange. Planta 174, 30-38.

Makino, A., H. Nakano and T. Mae 1994. Responses of ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase, cytochrome f, and sucrose synthesis enzymes in rice leaves to leaf nitrogen and their relationships to photosynthesis. Plant Physiol. 105, 173-179.

Metraux, J.-P. and H. Kende 1983. The role of ethylene in the growth response of submerged deep water rice. Plant Physiol. 72, 441-446.

Morris, D. A. and E. D. Arthur 1984. An association between acid invertase and cell growth during leaf expansion in *Phaseolus vulgaris* L. J. Exp. Bot. 25, 1369-1379.

Morris, D. A. and E. D. Arthur 1985a. Invertase activity, carbohydrate metabolism and cell expansion in the stem of *Phaseolus vulgaris* L. J. Exp. Bot. 36, 623-633.

Morris, D. A. and E. D. Arthur 1985b. Effects of gibberellic acid on patterns of carbohydrate distribution and acid invertase activity in *Phaseolus vulgaris* L. Physiol. Plant. 65, 257-262.

Nair, T. V. R., H. L. Grover and Y. P. Abol 1978. Nitrogen metabolism of the upper three leaf blades of wheat at different soil nitrogen levels. II. Protease activity and mobilization of reduced nitrogen to the developing grains. Plant Physiol. 42, 293-300.

Osborne, D. J. 1984. Ethylene and plants of aquatic and semi-aquatic environments.: A review. Plant Growth Regulation 2, 167-185.

Raskin, I and H, Kende 1983. How dose deep water rice solve its aeration problem? Plant Physiol. 72, 447-454.

Raskin, I and H, Kende 1984a. Regulation of growth in stem section 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.

Raskin, I and H, Kende 1984c. Effects of submergence on translocation, starch content and amylolitic activity in deep water rice. Planta 162, 556-559.

Rose-John, S. and H. Kende 1985. Short-term growth response of deep-water rice to submergence and ethylene. Plant Sci. 38, 129-134.

Ross, H. A. and V. H. Davies 1992. Sucrose metabolism in tubers of potato (*Solanum Tuberosum* L.). Effects of sink removal and sucrose flux on sucrose-degrading enzymes. Plant Physiol. 98, 287-293.

Rufry, T. W. and S. C. Huber 1983. Changes in starch formation and activities of sucrose phosphate synthase and cytoplasmic fructose-1,6-bisphosphatase in response to source-sink alterations. Plant Physiol. 72, 474-480.

斉藤文次 1954. 暖地水稲の秋落防止に関する研究　第２報　水稲根の養分吸収に及ぼす遊離炭酸の影響. 九州農試報. pp283-293.

Setter, L. T., T. Kupkanchanakul, K. Kupkanchanakul, P. Bhekasut, A. Wiengweera and H. Greenway 1987. Concentration of CO_2 and O_2 in floodwater and in internodal lacunae of floating rice growing at 1-2 metre water depths. Plant Cell Environ. 10, 767-776.

Sharkey, T. D. 1985. Photosynthesis in intact leaves of C3 plants: physics, physiology and rate limitations. Bot. Rev. 51, 53-105.

Sharkey, T. D., M. Stitt, D. Heineke, R. Gerhardt, K. Raschke and H. W. Heldt 1986. Limitation of photosynthesis by carbon metabolism. II. O2-insensitive CO2 uptake results from limitation of triose phosphate utilization. Plant Physiol. 81, 1123-1129.

Smith, A. M., J. V. Jacobsen and H. Kende 1987. Amylase activity and growth in internodes of deepwater rice. Planta 172, 114-120.

Somogyi, M. 1952. Notes on sugar determination. J. Biol. Chem. 195, 19-23.

Soneweera, P. S., A. S. Basra, E. W. Barlow and J. P. Conroy 1995. Diurnal regulation of leaf blade elongation in rice by CO_2. Is it related to sucrose-phosphate synthase activity? Plant Physiol. 108, 1471-1477.

Stitt, M. 1986. Limitation of photosynthesis by carbon metabolism. I. Evidence for excess electron transport capacity in leaves carrying out photosynthesis in saturating light and CO_2. Plant Physiol. 81, 1115-1122.

Stitt, M. 1988. Control of sucrose synthesis. In: Barker, J., Malkin, R. eds., Techniques and new developments in photosynthetic research. Plenum, London, pp365-386.

Stitt, M., G. Mieskes, H. D. Soling and H. W. Heldt 1982. On a possible role of fructose 2,6-bisphosphate in regulating photosynthetic metabolism in leaves. FEBS Lett. 145, 217-222.

Stitt, M., B. Herzog and H. W. Heldt 1984. Control of photosynthetic sucrose synthesis by fructose 2,6-bisphosphate. I. Coordination of CO_2 fixation and sucrose synthesis. Plant physiol. 75, 548-553.

Stitt, M., S. C. Huber and P. Kerr 1987. Control of photosynthetic sucrose formation. In: Hatch, M. D., Boardman, N. K. eds., The biochemistry of plants, vol. 10, Photosynthesis. Academic Press, New York, pp327-409.

Stitt, M., I. Wilke, R. Feil and H. W. Heldt 1988. Coarse control of sucrose-phosphate synthase in leaves: alterations of the kinetic properties in response to the rate of photosynthesis and the accumulation of sucrose. Planta 174, 217-230.

菅原　潔，副島正美 1977. 蛋白質の定量法，生物化学実験法，学会出版センター，東京，pp48-60.

Suge, H. 1985. Ethylene and gibberelline: regulation of internodal elongation and nodal root development in floating rice. Plant Cell Physiol. 26, 607-614.

Sun, J., T. Loboda, S. S. Sung and C. C. Black 1992. Sucrose synthase in wild tomato, *Lycopersicon chmielewskii*, and tomato fruit sink strength. Plant Physiol. 98, 1163-1169.

Sung, S. S., D. P. Xu, C. M. Galloway and C. C. Black Jr. 1988. A reassessment of glycolysis and gluconeogenesis in higher plants. Physiol. Plant. 72, 650-654.

Sung, S. S., D. P. Xu and C. C. Black Jr. 1989. Identification of actively filling sucrose sinks. Plant Physiol. 89, 1117-1121.

Sung, S. S., W. J. Sheih, D. R. Geiger and C. C. Black Jr. 1994. Growth, sucrose synthase, and invertase activities of developing *Phaseolus vulgaris* L. fruits. Plant Cell Environ. 17, 419-426.

Swanson, C. A., J. Hiddinott and J. W. Su 1976. The effect of selected sink leaf parameters on translocation rates. In: Wardlaw, I. F., Passioura, J. B. eds., Transport and transfer processes in plants. Academic Press, New York, pp 347-356.

田中　明 1958. 葉位別に見た水稲葉の生理機能の特性及びその意義に関する研究　第11報，各葉位葉同化作用力及び同化産物の移動．土肥誌29，327-333.

Tanaka, A. 1961. Studies on the nutrio-physiology of leaves of rice plant. J. Fac. Agr. Hokkaido Univ. 51, 449-550.

Tatsumi, J., N. Endo and Y. Kono 1992. Root growth and partitioning of ^{13}C-labelled photosynthate in the seminal root of corn seedlings as affected by light intensity. Jpn. J. Crop Sci. 61, 271-278.

Thorne, J. H. and H. R. Koller 1974. Influence of assimilate demand on photosynthesis, diffusive resistances, translocation, and carbohydrate levels of soybean leaves. Plant Physiol. 54, 201-207.

Trought, M. C. T. and M. C. Drew 1980. The development of waterlogging damage in wheat seedlings (*Triticum aestivum* L.). I. Shoot and root growth in relation to changes in the concentration of dissolved gases and solutes in the soil solution. Plant Soil 54, 77-94.

内田直次，東　哲司，安田武司，山口　禎 1989a　深水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における浮稲の主稈および分げ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. Azuma, T. Yasuda and T. Yamaguchi 1990. Effects 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.

Vergara, B. S., B. Jackson and S. K. De Datta 1976. Deep water rice and its response to deep water stress. In: Climate and Rice. International Rice Research Institute, Los Banos, Philippines, pp 301-319.

von Caemmerer, S. and G. D. Farquhar 1981. Some relationships between the biochemistry of photosynthesis and the gas exchange of leaves. Planta 153, 376-387.

和田義春 1988. イネ個葉の光合成特性の老化にともなう変化．宇都宮大農学術報特輯 49，1-44.

Walker, A. F. and J. H. M. Thorney 1977. The tomato fruits : Import, growth, respiration and carbon metabolism at different fruits size and temperature. Ann. Bot. 44, 659-669.

Wang, F., A. Sanz, M. L. Brenner and A. Smith 1993. Sucrose synthase, starch accumulation, and tomato fruit sink strength. Plant Physiol. 101, 321-327.

Watson, D. J. 1971. Size, structure and activity of productive system of crops. In: Potential crop production, Heinemann, New York, pp76-88.

Wenkert, W., N. R. Fausey and H. D. Watters 1981. Flooding responses in *Zea mays* L. Plant Soil 62, 351-366.

Wearing, P. F. 1972. Some further aspects of control of crop process. In: Crop process in controlled environments. Academic Press, New York, pp265-278.

Wilson, J. W. 1972. Control of crop process. In: Crop process in controlled environments. Academic Press, New York, pp7-30.

Wittenbach, V. A. 1979. Ribulose bisphosphate carboxylase and proteolytic activity in wheat leaves from anthesis through senescence. Plant Physiol. 64, 884-887.

Wittenbach, V. A., R. C. Ackerson, R. T. Giaquinta and R. R. Hebert 1980. Changes in photosynthesis, ribulose bisphosphate carboxylase, proteolytic activity, and ultrastructure of soybean leaves during senescence. Crop Sci. 20, 225-231.

Wyse, R. E. and R. A. Saftner 1982. Reduction in sink-mobilizing ability following periods of high carbon flux. Plant Physiol. 69, 226-228.

Xu, D. P., S. S. Sung and C. C. Black 1989. Sucrose metabolism in lima bean seeds. Plant Physiol. 89, 1106-1116.

山口　禎，佐藤　孝 1963. 浮稲に関する研究 2．水位の増減が炭水化物含量および Amylase, Invertase活性におよぼす影響. 日本作物学会紀事 31, 357-361.

山口　禎 1973a. 浮稲に関する研究 3．水位の上昇が生育および炭水化物含量におよぼす影響. 日本作物学会紀事 42, 29-34.

山口　禎　1973b. 浮稲に関する研究 4．水位の上昇が窒素化合物含量におよぼす影響. 日本作物学会紀事　42, 35-40.

Yamaguchi, T., N. Uchida and T. Yasuda 1989. Studies on the growth and photosynthesis of floating rice. Jpn. J. Trop. Agr. 33, 25-30.