

嫌気的環境に適応したヒルムシロ (*Potamogeton distinctus* A. Benn.) 殖芽の成長と代謝

佐藤 竜久*・原田 太郎*・佐藤 健一**・石澤 公明*、***

Growth and metabolism of pondweed (*Potamogeton distinctus* A. Benn.)
turions surviving in anaerobic environments

Tatsuhisa Sato*, Taro Harada*, Kenichi Satoh** and Kimiharu Ishizawa*,***

要約：ヒルムシロの殖芽は、越冬後翌春成長を再開する無性生殖器官である。その伸長成長は酸素濃度の低下により著しく加速され、無酸素中で最も良く伸長するが、5 kPa 以上の酸素分圧では殆ど伸長しない。この嫌気条件下での成長は、エネルギー充足率が0.8を越える活発なATP生産により支えられている。そのATP生産は、貯蔵デンプンを基質とする解糖系の活性化によることが分かった。¹⁴C-グルコースを用いたトレーサー実験から、解糖系の駆動は、エタノール発酵と乳酸発酵に加え、アラニンの合成によっていることが明らかとなった。アラニン合成の促進は、ピルビン酸からアラニンを合成する反応を触媒するアラニンアミノトランスフェラーゼの活性が、嫌気処理により高められた結果であると考えられた。ヒルムシロ殖芽の嫌気条件に対するこれらの応答について、水生植物が獲得した嫌気的環境への適応形質と関連させて考察した。

キーワード：アラニン合成, アルコール発酵, 嫌気生活, 水生植物, 乳酸発酵, ヒルムシロ

はじめに

水生植物は、陸上で進化した維管束植物（ここで陸生植物と呼ぶ）が、再び水中に生活圏を広げるために、水中環境に適応した植物群であると言われている。水生植物は多様な形態的、生理的特徴を示すが、通気組織の著しい発達、異形葉の形成、光合成の二酸化炭素固定様式、そしてエチレンによる成長制御等の特性は、水中環境への適応戦略と深く関連していると理解される (Sculthorpe 1967; Cook 1990; 角野 1994)。

水中の環境要因で最も重要な因子の一つとして、物質拡散定数の著しい低下がある。特に、水中での酸素供給は、直接生存に関わる問題であり、水生植物は、嫌気的環境を回避するシステムとして、通気組織を発達させている。一方で、沼沢に生育する水生植物には、陸生植物には見られない著しい嫌気ストレスに対する耐性を獲得

したものがいることが判ってきた (Braendle and Crawford 1989)。そこで、水田を生育場所としている野生植物（水田雑草）にも、同じような強い嫌気ストレス耐性を獲得したものがいるのではないかと考えて検索したところ、ヒルムシロ (*Potamogeton distinctus* A. Benn.) の殖芽とウリカワ (*Sagittaria pygmaea* Miq.) の塊茎が、強力な嫌気ストレス耐性を持つことを発見した (Ishizawa et al. 1999)。この嫌気ストレスに対する耐性機構を解明することにより、水生植物が獲得した嫌気的環境への適応戦略を理解することを目的にして研究を始めた。

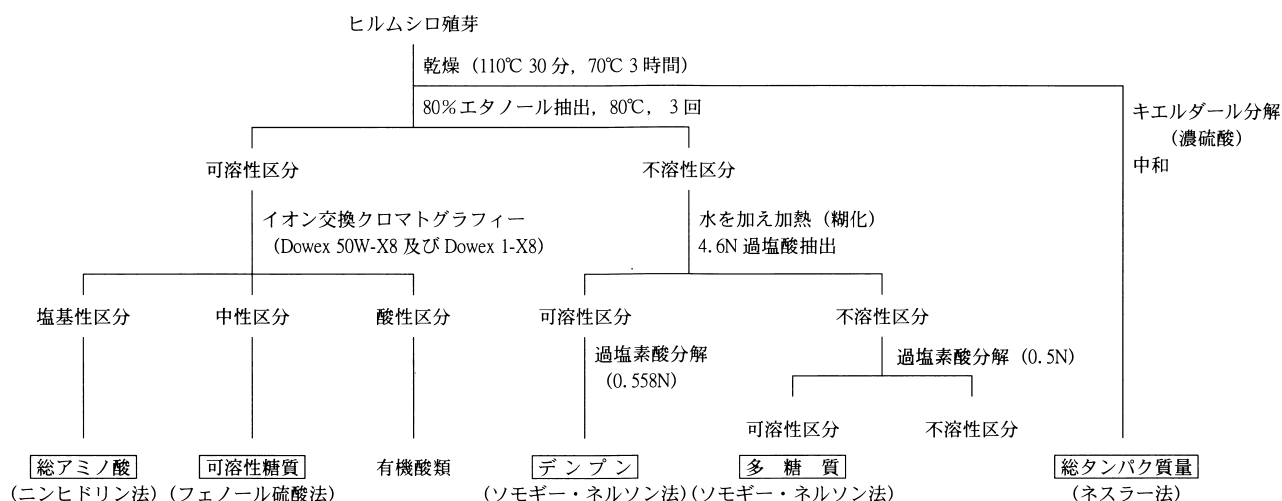
今回、無酸素条件下で成長するヒルムシロ殖芽が、どのようにしてエネルギーを生産しているのかを解析した。その結果、貯蔵デンプンを基質として、エタノール発酵と乳酸発酵に加え、アラニン合成を行うことによって駆動される解糖系により、無酸素中でも活発なATP生産を持続していることを明らかにすることが出来た。

* 東北大学大学院生命科学研究所 〒980-8578 仙台市青葉区荒巻字青葉

Department of Developmental Biology and Neuroscience, Graduate School of Life Sciences, Tohoku University,
Sendai 980-8578, Japan

** 東北大学理学部

*** 連絡著者 Corresponding author



第1図 ヒルムシロ殖芽の構成成分の分析

材料および方法

材料と培養：ヒルムシロ (*Potamogeton distinctus* A. Benn.) は、1996年仙台市青葉区上愛子塩柄の斉勝川で採集したものを、東北大理学部温室で栽培して用いた。採集したヒルムシロ殖芽は、4°C 暗所に保管し実験に供した。実験には無傷の殖芽か、又は鱗片葉を剥ぎ取り、基部と先端を切り落とした長さ10mmの切片を使用した。イネ (*Oryza sativa* L. cv. Sasanishiki) の材料調整は、Ishizawa and Esashi (1984) によった。培養には、ステンレス管を通して、ガスを連続通気できる装置 (Ishizawa et al. 1999) を使用した。嫌気処理では、純窒素ガス (日本酸素 B グレード, 酸素濃度 5 ppm 以下) を、好気処理では、圧縮空気を連続通気 ($1 \times 10^{-5} \text{ m}^3 \text{ min}^{-1}$) した。

組織構成成分の分析：ヒルムシロ殖芽の構成成分の分析は、第1図に示すような方法で分析をした (Sato et al. 印刷中)。粗タンパク質量の定量は、窒素含有化合物をキエルダール法でアンモニアに分解後、ネスラー法で定量した。デンプンは加熱して糊化後、過塩素酸で加水分解して生成した還元糖をソモギー・ネルソン法で定量した。デンプン以外の多糖類は塩酸で加水分解後、ソモギー・ネルソン法で還元糖を定量した。可溶性糖質は、フェノール硫酸法で定量し、アミノ酸総量は、ニンヒドリン法で定量した。

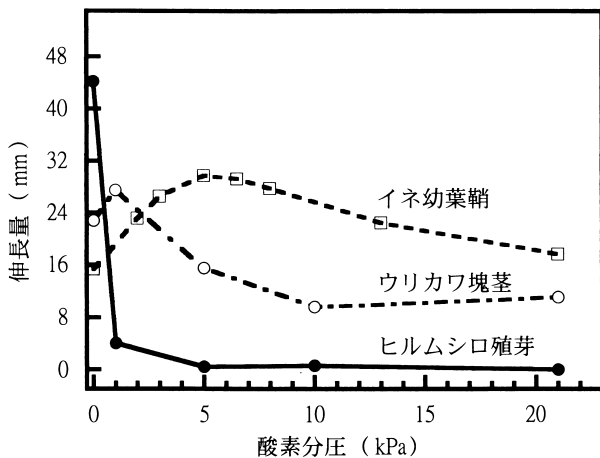
^{14}C -グルコースを用いたトレーサー実験： ^{14}C -グルコースを投与するための殖芽切片の培養には、カルベニシリン (50 mg l^{-1}) とバンコマイシン (0.5 g l^{-1}) を含む蒸留水を用いた。この培養器を、二酸化炭素吸着剤として1mlの4NKOHを入れた容器と、酸素吸着剤 (アネロパウチ・キープ, 三菱ガス科学) とともに培養瓶に入れ、連続通気培養装置で1, 3, 6日間培養後、培養瓶を密

閉して通気装置から切り離れた。この培養瓶に 0.37 MBq の $[\text{U-}^{14}\text{C}]$ -グルコース (ARC, 比活性 $300 \text{ mCi mmol}^{-1}$) を、注射器でダブルゴム栓を通して投与後、25°C 暗所で8時間培養した。切片は液体窒素で凍結した後、80°Cで2時間、エタノールで抽出し、その一部は蒸留してエタノールを回収した。エタノール抽出後の残渣は、更に50%エタノールで2時間、水で1時間、それぞれ80°Cで抽出し、先のエタノール抽出区分と合わせて可溶性区分とした。蒸留エタノール区分、二酸化炭素を吸着したKOH、可溶性区分、そして抽出残渣 (不溶性区分) の放射能は、液体シンチレーションカウンター (LSC-3000, アロカ) で測定した。更に、可溶性区分の代謝産物は、Eschrich (1984) の方法に従って、2次元セルロース薄層クロマトグラフィーで分析した。

アミノ酸の分析：各アミノ酸は、Stocchiら (1989) の方法を参考に分析した。イオン交換樹脂により分画したアミノ酸を dimethylaminoazobenzene sulfonyl chloride (ナカライテスク) でダブルシル化後、Cosmosil 5 C₁₈-MS カラム (ナカライテスク) を用いた HPLC で分析し、436nm の吸光度から各アミノ酸を定量した。

ATP, ADP, AMP, エタノール, 乳酸の定量：ATP, ADP, そして AMP の定量は、ルシフェリン/ルシフェラーゼを用いたルミネッセンス法で定量した (Ishizawa et al. 1999)。エタノールは、Porapak (Type T mesh 80-100, ウォーターズ) カラムと FID を用いたガスクロマトグラフィーで定量した。乳酸は、乳酸脱水素酵素とアラニンアミノトランスフェラーゼを用いた酵素法で定量した (Noll 1985)。

アルコール脱水素酵素 (ADH) とアラニンアミノトランスフェラーゼ (ALT) 活性の測定：ADH 活性は、100 mM Bicine/KOH 緩衝液 (pH 8.7), 3 mM NAD⁺, 10% エ



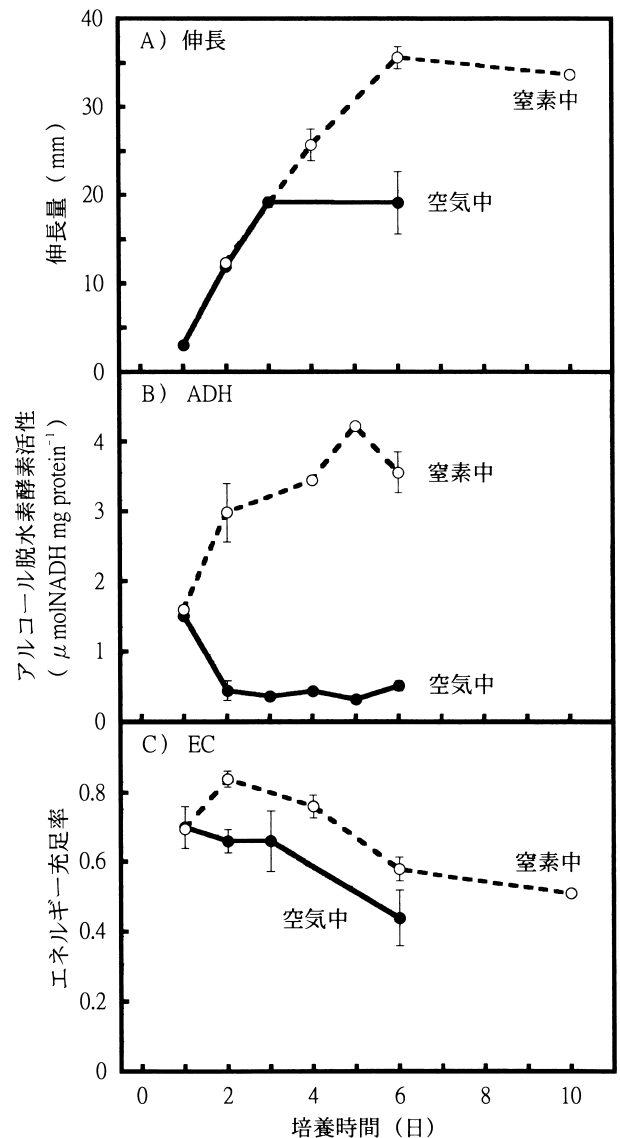
第2図 イネ幼葉鞘, ウリカワ塊茎, ヒルムシロ殖芽における伸長成長の酸素分圧 (kPa) 依存性

タノールを反応液として, NADH 量を 340nm の吸光度変化から求めた。また, ALT 活性は, Horder and Rej (1985) の方法に従い, 乳酸脱水素酵素の反応をカップルさせて, アラニンをピルビン酸に変化させる速度を, 生成する NADH 量の 340nm 吸光度変化で記録した。

結 果

イネ幼葉鞘が無酸素中でも成長できることは古くから知られていた。そこでヒルムシロ殖芽の伸長成長の酸素分圧依存性と, イネ幼葉鞘 (Ishizawa and Esashi 1984) およびウリカワ塊茎 (Ishizawa et al. 1999) の酸素分圧依存性を比較してみた (第2図)。イネ幼葉鞘では, 5 kPa 程度の酸素分圧の時に最も大きな伸長が見られ, 無酸素でも伸長するが, その伸長量は空气中 (酸素分圧 21kPa) での伸長を上回ることにはない。ウリカワ塊茎も 1 kPa 程度で最も伸長するが, イネ幼葉鞘と異なり無酸素中の伸長が空气中の伸長を上回った。これらに対して, ヒルムシロ殖芽の伸長は著しく異なり, 空气中の酸素分圧では全く伸長できず, 酸素分圧が 5 kPa 以下で伸長し, 無酸素中で最も伸長することが判った。

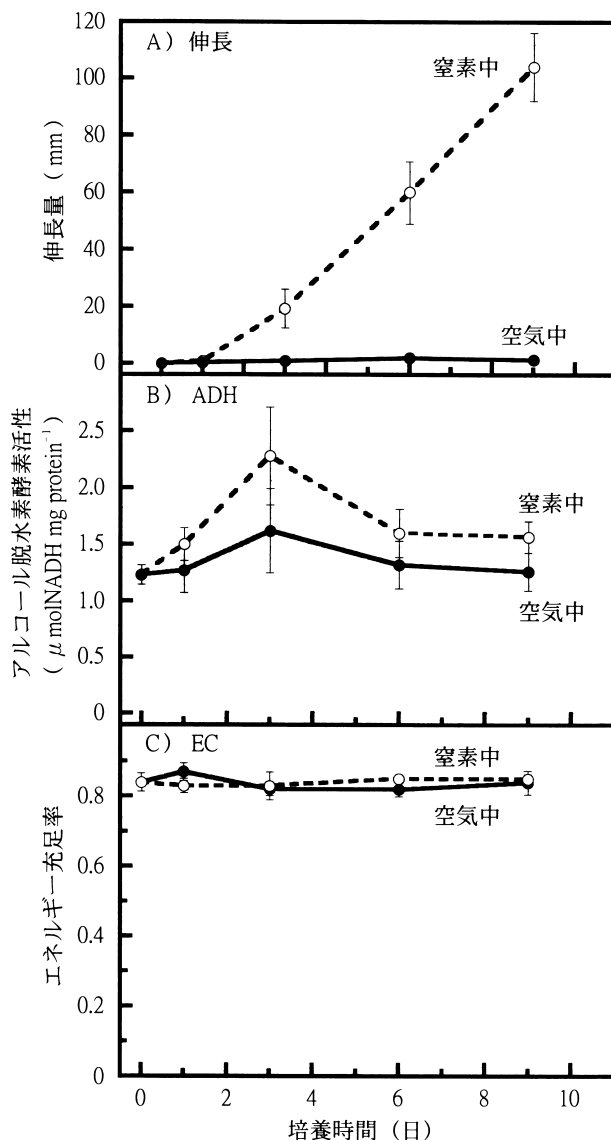
無酸素中で活発に成長するイネ幼葉鞘とヒルムシロ殖芽は, 成長に必要なエネルギーをどのようにして確保しているのだろうか。そのエネルギー状態を調べるために, イネ幼葉鞘とヒルムシロ殖芽の成長, アルコール脱水素酵素 (ADH) 活性と ATP, ADP, AMP 含量の変化を比較した。イネ幼葉鞘の場合 (第3図), 3日目までは, 無酸素中でも空气中と変わらず成長するが, 空气中での伸長は3日目以降停止するのに対して, 無酸素中では6日目まで伸長を続けた。ADH 活性は, 無酸素中で高い活性が維持されるのに対して, 空气中2日目以降は非常に低い活性しか検出できなくなった。この時の幼葉鞘の



第3図 空气中および無酸素中でのイネ幼葉鞘の成長 (A) に伴うアルコール脱水素酵素活性 (B) とエネルギー充足率の変動 (C)

ATP, ADP, AMP 含量は, 空气中1日目では, それぞれ 105, 60, 29 pmol mg⁻¹ FW であったが, これを窒素中に移し5日後の6日目では, 38, 10, 15 pmol mg⁻¹ FW にまで減少した。計算されたエネルギー充足率 (energy charge, EC) の変動を表したのが第3図Cである。空气中では, 3日目までは EC は 0.7 近くの値を保っているが, その後急速に EC 値は低下する。このことは, 第3図Aで幼葉鞘の伸長成長が停止することと対応している。イネ幼葉鞘は, 空气中では3日目までは成長を持続するが, その後本葉が幼葉鞘を破って成長し, 幼葉鞘は細胞死を伴う老化が始まる。一方, 無酸素中では4日目までは, EC は 0.7 以上の値を維持しているが, それ以降徐々に低下し始め, 成長は停止した。

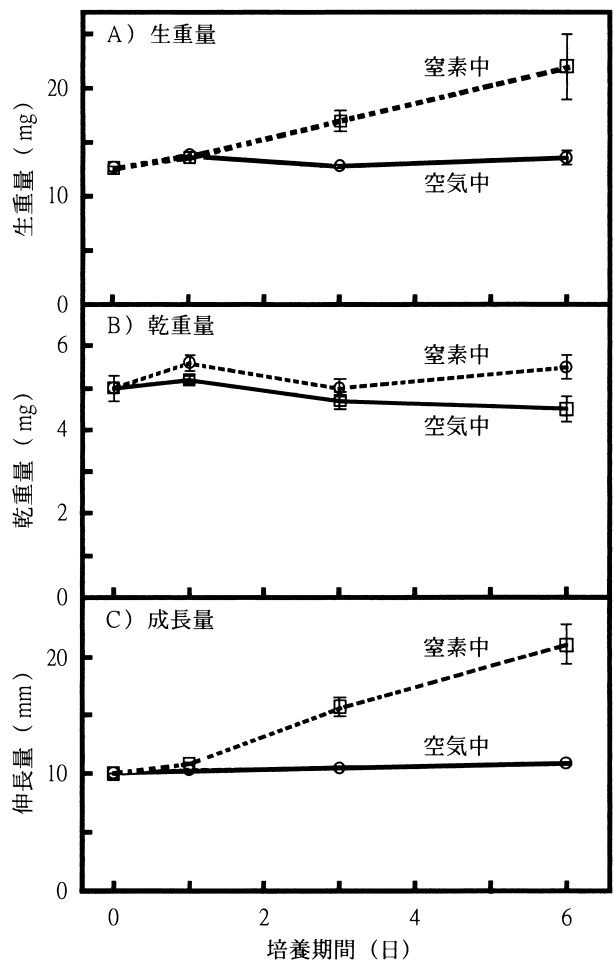
ヒルムシロ殖芽では (第4図), 空气中では全く成長



第4図 空气中および無酸素中でのヒルムシロ殖芽の成長 (A) に伴うアルコール脱水素酵素活性 (B) とエネルギー充足率の変動 (C)

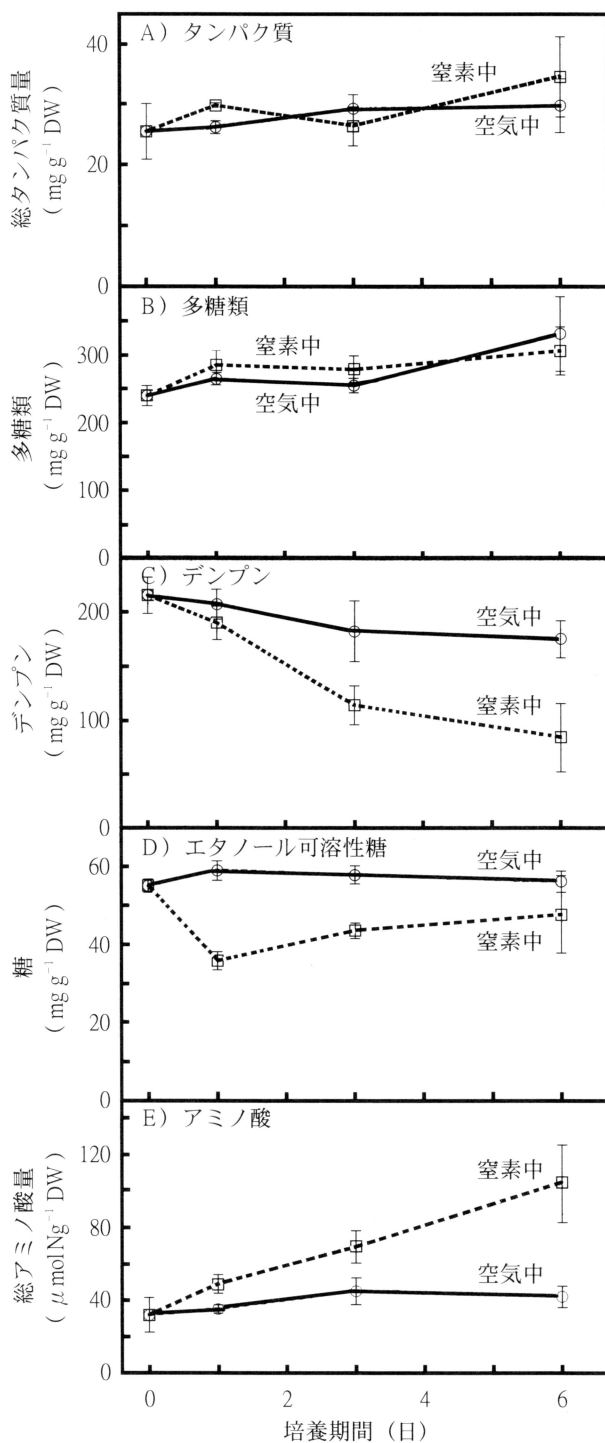
しないが、無酸素中では1日の潜伏期間の後9日目まで、ほぼ一定速度で成長を持続した。この時、ADH活性は3日目付近で多少高まる傾向が見られるが、空气中と比べ有意な活性の上昇が認められなかった。培養を始める直前の殖芽のATP、ADP、AMP含量は、それぞれ90、40、5 pmol mg⁻¹ FWであるが、この値は9日間の培養期間を通じて、空气中、無酸素中に関係なくほぼ一定に保たれた。EC値(第4図C)も空气中、無酸素中で共に0.8以上の値が全培養期間を通じて保たれた。このことは、ヒルムシロ殖芽は、イネ幼葉鞘よりは遙かに活発なATP生産を無酸素中でも持続していることを示している。

第5図は、ヒルムシロ殖芽の無酸素中の成長を、生重量、乾重量、伸長量の変化で見たものである。無酸素中でのヒルムシロ殖芽の伸長成長に伴って、生重量は増加



第5図 ヒルムシロ殖芽の空气中、無酸素中での生重量 (A)、乾重量 (B)、そして成長量 (C) の変化

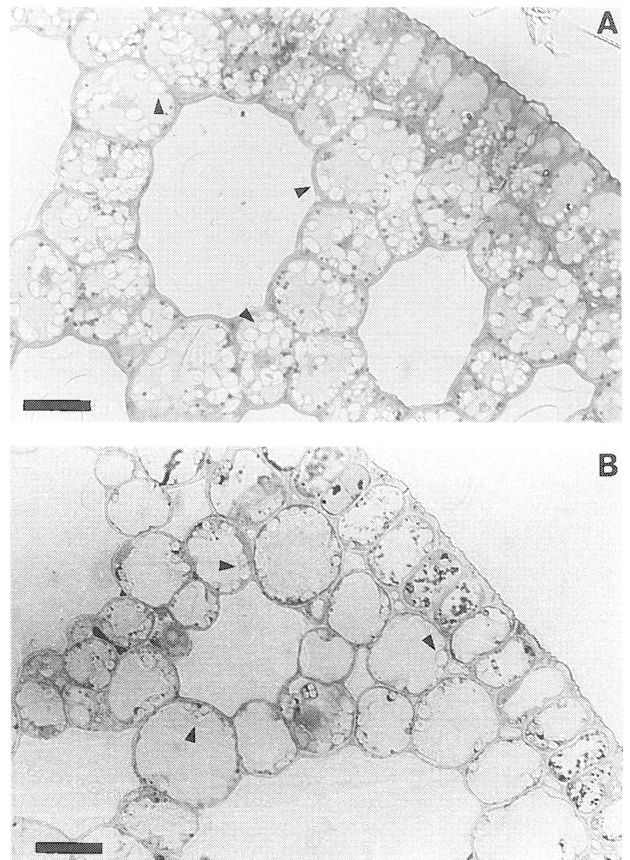
するが、乾重量が低下した。即ち、無酸素中の伸長成長は、何らかの物質を消費することにより吸水成長していることを示した。そこで殖芽を構成している各物質を大まかに、タンパク質、デンプンを除く多糖類、デンプン、可溶性糖質、そしてアミノ酸に分けて、それらの量の変化を空气中と無酸素中で比較してみた(第6図)。無酸素中での総タンパク質量(第6図A)、デンプンを除いた多糖類量の変化(第6図B)は、空气中と比べ有意な差は認められなかった。しかし、デンプン含量(第6図C)は無酸素中での成長に伴って減少し、6日後にはその約半分が消費された。また、可溶性糖質(第6図D)は、無酸素中で培養後1日目に2/3程度まで減少した後、徐々に元のレベルまで回復する傾向が認められた。また、アミノ酸総量(第6図E)は、無酸素中で徐々に増加することが判った。これらのことから、第5図Bで観測された無酸素中での乾重量の減少が、主にデンプンの消費によると結論することができる。第7図は、無酸素中で3日間培養したヒルムシロ殖芽の茎の横断切片を光学顕微鏡で観察したものである。空气中で培養された



第6図 空气中、無酸素中でのヒルムシロ殖芽の構成成分、タンパク質量 (A)、多糖類 (B)、デンプン (C)、可溶性糖 (D)、そしてアミノ酸 (E) の変動

ものには、多数のアミロプラストが認められるが、無酸素中で培養されたものは、アミロプラスト数の著しい減少が認められ、無酸素中でデンプンが急速に消費されていることが判った。

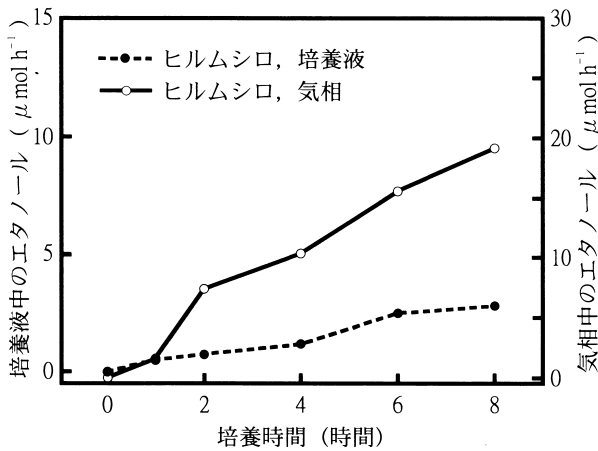
嫌気条件下に曝された植物組織では、一般にアルコール発酵と乳酸発酵が活性化される。そこで、エタノール



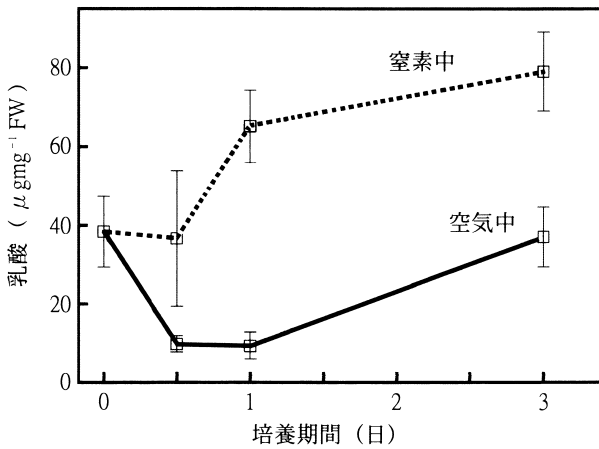
第7図 空气中 (A) と無酸素中 (B) で3日間培養したヒルムシロ殖芽の茎の横断面。太棒線は、25 μmを示し、矢尻はアミロプラストを指す。

と乳酸生成量の時間的変化を追跡することにした。エタノール生成量は、空气中では全く検出されなかった。無酸素中で培養した場合、培養液中、気相中に排出されるエタノール生成速度は、培養時間と共に徐々に増加することが判った (第8図)。一方、組織内の乳酸含量を測定したところ、培養1日目に急激に高まり、その後飽和する傾向が認められた (第9図)。植物組織が嫌気条件に曝された場合、乳酸発酵が最初に誘導され、その後細胞質内の pH が低下するに伴って、アルコール発酵が活性化されると言われている (Davis 1980)。ヒルムシロ殖芽でも、無酸素条件に置かれた初期には乳酸発酵が先行し、その後アルコール発酵が活性化される可能性があることが判った。

ヒルムシロ殖芽の嫌気的エネルギー代謝の特徴を直接調べるために、¹⁴C-グルコースを投与し、グルコースがどのように代謝されるかを調べた。第10図は、取り込まれた¹⁴Cが、可溶性区分、不溶性区分、エタノール、そして二酸化炭素に取り込まれた量を表したものである。¹⁴Cの全取り込み量は、培養期間を通じて無酸素中で約半分に抑えられた。不溶性、可溶性、二酸化炭素への取り込み量も空气中の方が高かった。エタノールへ



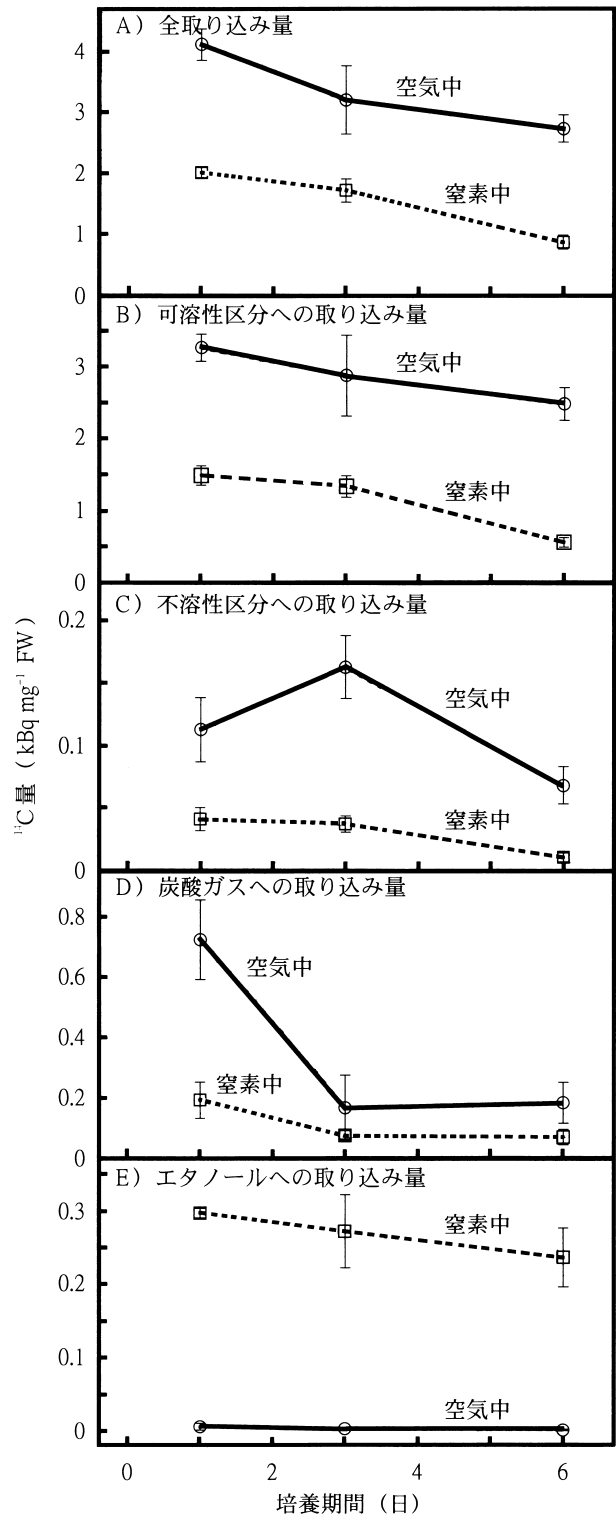
第8図 無酸素中で培養したヒルムシロ殖芽によるエタノール生成速度の変化



第9図 無酸素中、空気中で培養したヒルムシロ殖芽の乳酸含量の変動

の¹⁴Cの取り込みは、空気中では殆ど見られないのに対して、無酸素中では高い割合が培養期間を通じて維持され、活発なエタノール生産が起こることが示された。

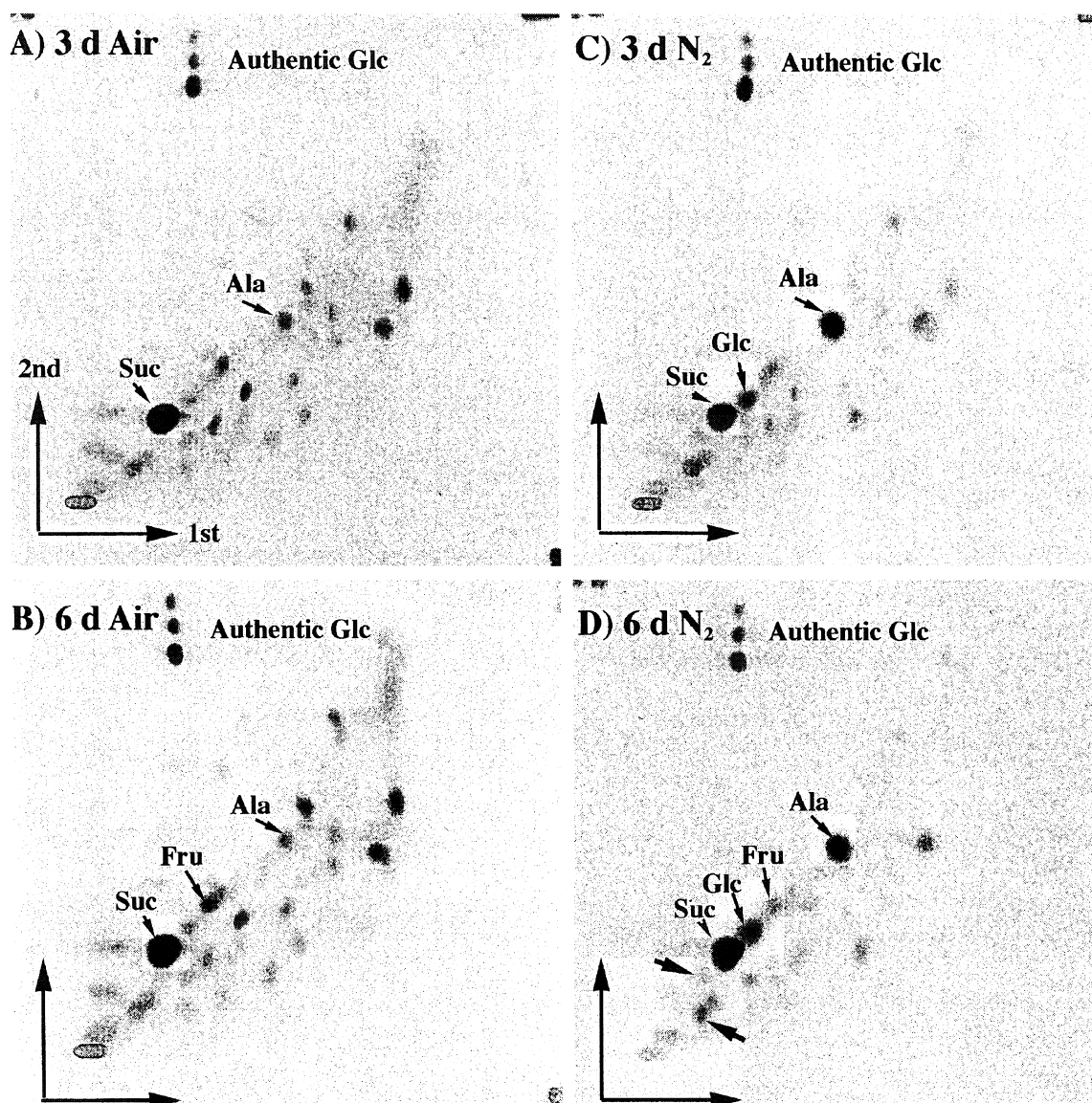
次に、可溶性区分に取り込まれた¹⁴Cがどのような代謝中間産物に取り込まれているかを調べるために、2次元薄層クロマトグラフィーにより分析した(第11図)。空気中、無酸素中を問わず、最も高い放射能がスクロースにあった。第6図Dでは可溶性糖含量が無酸素中に移された1日目著しく減少し、その後徐々に増加する傾向が認められたが、第11図で見られる無酸素中でのスクロースへの放射能の大きな取り込みは、糖の消費だけではなく活発な合成も起こっていることを示した。無酸素中で最も大きな放射能の違いが見られた代謝産物はアラニンであった。取り込まれた総¹⁴C量の内、エタノールとアラニンに取り込まれる放射能の割合を見たのが第12図である。空気中では、アラニンへの取り込み量は2~3%であり、またエタノールへの取り込みは殆



第10図 ¹⁴C-グルコースのヒルムシロ殖芽への取り込み量の変化

どない。無酸素中では、アラニンへの¹⁴Cの取り込み量は、培養期間を通じて10%近くに達し、また、エタノールへの取り込み量は1日目では15%であるが、6日目には25%を越えて増加した。

第6図Eが示したように、無酸素中ではアミノ酸総量の増加が認められた。そこで、無酸素中での各アミノ酸



第11図 ^{14}C で放射能ラベルされたヒルムシロ殖芽の可溶性物質の2次元セルロース薄層のクロマトグラフィーによる分析。空气中で3日間 (A), 空气中で6日間 (B), 窒素中で3日間 (C), 窒素中で6日間 (D) 培養後, 8時間の間 ^{14}C -グルコースを投与した殖芽から抽出した可溶性区分を試料とした。

含量の変動を調べた (第1表)。多くのアミノ酸含量が無酸素中で増加する傾向が認められるが, 中でもアラニン含量は, 無酸素中で約10倍増加した。更に, ロイシン, イソロイシン, そしてバリンも顕著な増加が見られた。それに対して, アスパラギン酸含量は無酸素中で顕著に減少した。アラニンの主要な合成は, ピルビン酸にグルタミン酸のアミノ基が転移する反応によることが知られている。そこで, この反応を触媒するアラニンアミノトランスフェラーゼ活性を測定してみた (第13図)。空气中に対して, 高い酵素活性が培養期間を通じて認められ, 無酸素中でピルビン酸からアラニンが合成される経路が活性化されていることが示唆された。

考 察

陸生植物が嫌気ストレスに曝された場合に, どのように応答するかについては, 主に栽培植物を中心に研究されてきた。嫌気ストレスに対する耐性の度合いは, 植物種により様々であるが, Crawford (1978) は, パスツール効果を低く抑えられ, 嫌気条件でエタノール生産が抑えられる陸生植物が, 嫌気ストレスに対して強い耐性を持つとの考えを提出した。しかし, 第8図, 第10図に示されているように, ヒルムシロ殖芽はエタノール発酵が活発に駆動することにより, 第4図に示されているような高いATP生産を維持している。同様に, 無酸素中で成長することが知られているリュウノヒゲモ (*Potamogeton*

第1表 空気中と無酸素中で栽培したヒルムシロの殖芽のアミノ酸含量の変化

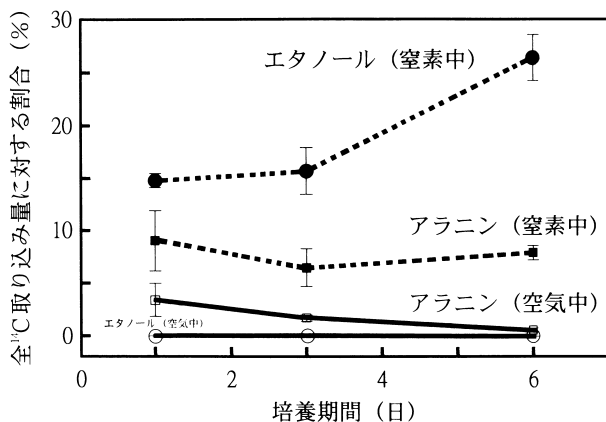
アミノ酸	処 理	アミノ酸含量			
		培養前	1日目	3日目	6日目
Asp	空気	1.93 ± 1.44	5.98 ± 0.25	2.42 ± 1.82	8.81 ± 0.17
	無酸素		0.03 ± 0.03	0.88 ± 0.88	2.58 ± 2.32
Glu	空気	0.74 ± 0.44	1.71 ± 0.51	1.43 ± 0.60	0.53 ± 0.12
	無酸素		1.31 ± 0.31	0.69 ± 0.35	1.37 ± 0.08
Ser	空気	0.30 ± 0.15	0.47 ± 0.07	0.45 ± 0.12	0.32 ± 0.03
	無酸素		0.25 ± 0.06	0.36 ± 0.06	0.48 ± 0.02
Thr + Arg*	空気	1.72 ± 0.06	1.46 ± 0.11	2.11 ± 0.26	1.14 ± 0.46
	無酸素		1.31 ± 0.31	1.42 ± 0.33	2.23 ± 0.21
Gly	空気	0.14 ± 0.06	0.23 ± 0.05	0.24 ± 0.11	0.17 ± 0.04
	無酸素		0.16 ± 0.06	0.25 ± 0.16	0.45 ± 0.14
Ala	空気	1.41 ± 0.70	1.42 ± 0.14	1.23 ± 0.24	0.78 ± 0.12
	無酸素		6.75 ± 2.37	6.49 ± 2.76	18.3 ± 3.38
Pro + GABA*	空気	0.23 ± 0.10	0.75 ± 0.29	0.77 ± 0.12	0.51 ± 0.21
	無酸素		0.78 ± 0.19	1.86 ± 0.34	3.50 ± 0.70
Val	空気	0.38 ± 0.12	0.41 ± 0.05	0.81 ± 0.08	0.75 ± 0.30
	無酸素		0.56 ± 0.03	1.13 ± 0.05	1.28 ± 0.05
Ile	空気	0.17 ± 0.09	0.14 ± 0.02	0.30 ± 0.03	0.32 ± 0.07
	無酸素		0.32 ± 0.03	0.64 ± 0.04	1.00 ± 0.19
Leu	空気	0.03 ± 0.03	0.16 ± 0.03	0.09 ± 0.05	0.12 ± 0.04
	無酸素		0.32 ± 0.03	0.74 ± 0.01	1.21 ± 0.28
Phe	空気	0.50 ± 0.34	0.83 ± 0.67	0.26 ± 0.11	0.69 ± 0.49
	無酸素		1.26 ± 1.07	1.04 ± 0.78	7.66 ± 7.08
Cys	空気	nd	nd	nd	nd
	無酸素		nd	0.37 ± 0.22	0.21 ± 0.12
Lys	空気	0.14 ± 0.14	0.32 ± 0.24	0.46 ± 0.11	0.28 ± 0.06
	無酸素		0.37 ± 0.17	0.51 ± 0.19	0.58 ± 0.10
His	空気	nd	0.07 ± 0.07	0.10 ± 0.10	0.12 ± 0.12
	無酸素		0.04 ± 0.04	0.04 ± 0.04	0.09 ± 0.09
Tyr	空気	0.06 ± 0.04	0.18 ± 0.24	0.18 ± 0.13	0.16 ± 0.06
	無酸素		0.23 ± 0.10	0.42 ± 0.13	0.55 ± 0.18

Thr + Arg*, Pro + GABA*: Thr と Arg, Pro と γ -アミノ酪酸 (GABA) は分離できなかった。nd: 検出限界以下

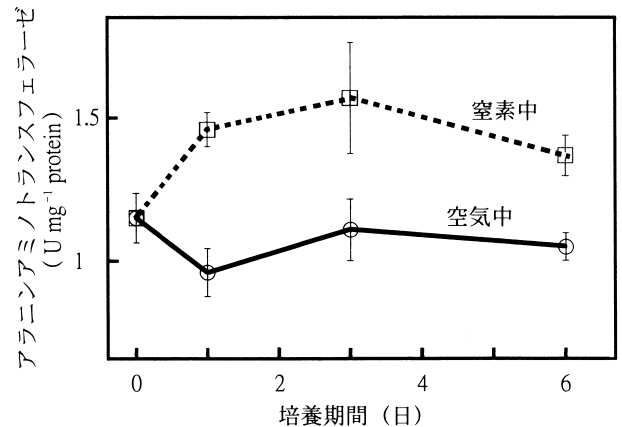
pectinatus L.) 塊茎 (Summer et al. 2000), ウリカワ塊茎 (Ishizawa et al. 1999), ヒシ (*Trapa natans* L.) 種子の芽ばえ (Menegus et al. 1992) 等の水生植物でも, 同様に強いパスツール効果が起こることが判ってきた。このように無酸素中で成長できる強い嫌気ストレス耐性を持つ水生植物は, 陸生植物と異なった代謝的適応を獲得していると言えるのかもしれない。

嫌氣的条件に曝された植物は, エタノールや乳酸以外にも, 幾つかのアミノ酸や有機酸類を生産することが知られている。多様な代謝産物を生産することにより, 一種類の代謝産物が蓄積する弊害を防いでいるとの考えが提出されている (Crawford 1978)。ヒルムシロ殖芽では, アラニン合成が特に際だって高まることが特徴である (第11図, 第1表)。その生合成に関わると考えられるアラニンアミノトランスフェラーゼ活性も高まることか

ら, 解糖系の活性化に伴って生産されるピルビン酸の一部がアラニンに変換するものと考えられる。アスパラギン酸の減少は, このアラニン合成に必要なグルタミン酸の供給に関係しているのかもしれない。嫌気ストレス耐性が強くないコムギでもこのようなアラニン合成の活性化が知られていることから, アラニン合成そのものが強い嫌気ストレス耐性をもたらしめているとは考えられない。しかし, ヒルムシロ殖芽の場合には, デンプンから解糖系を通して生成されたピルビン酸が, 最終的にエタノール, 乳酸, そしてアラニンの3つの合成経路に振り分けることが, 無酸素中での円滑なエネルギー生産には重要なことであるのかもしれない。また, 嫌気条件でデンプンをアラニンに変換することにより, 好気条件に変化したときにこれを再利用する意味があるのかもしれない。しかし, 嫌気条件下でのアラニン合成の意義は今後の問



第12図 ヒルムシロ殖芽に取り込まれた¹⁴Cのエタノールとアラニンへの分配



第13図 ヒルムシロ殖芽のアラニンアミノトランスフェラーゼの活性に及ぼす無酸素条件の効果

題として残された。

無酸素中でのアミノ酸代謝の特徴として、ロイシン、バリン、イソロイシン含量の増加が認められた。これらアミノ酸の生合成を律速する反応に、ピルビン酸を基質とするアセト乳酸合成酵素 (E.C. 4.1.3.18) が関係している。一方で、水田雑草に対して高い除草効果を示すスルホニルウレア系除草剤の作用点が、アセト乳酸合成酵素にあることが明らかにされている (Mazur and Falco 1989)。本研究で明らかになった、ヒルムシロ殖芽の無酸素中でのアミノ酸の代謝は、スルホニルウレア除草剤により阻害されると考えられ、その高い除草効果と関連する可能性が示唆された。

従来、イネ幼葉鞘は無酸素中で成長できる代表的な植物組織として多くの研究がなされてきた。しかし、第2図に示されるように、ヒルムシロ殖芽の酸素分圧に対する反応性は、イネ幼葉鞘とは明らかに異なっている。特に、空气中の酸素分圧では成長せず、嫌気条件下で初めて成長を開始するという性質は、水田で生育するヒルムシロにとっては極めて適応的性質であると言える。即ち、秋に形成したヒルムシロ殖芽は深い休眠状態にあり、嫌気処理をしても成長しない。低温処理を受けて翌3月頃になるとこの休眠から覚醒し、嫌気処理により成長を開始できる状態になるが、好気条件では成長できない。水田では、水が入れられて嫌気的環境が形成されるまで、成長の開始を遅らせていることになる。嫌气的刺激により成長を開始すると、水面に葉を展開するまで、貯蔵デンプンを使って急速に伸長成長をするものと思われる。ウリカワ塊茎には、ヒルムシロのような休眠性はないが、春先に水田の湛水が刺激となって、成長を開始する性質をもっているものと思われる。これらのことは、維管束植物の一部が、生育圏を水中に拡大するために獲得した適応形質が、人為的に管理された水田の中で生育することに、見事に適合したものではないかと想像される

のである。

引用文献

- Braendle, R. and R. M. M. Crawford 1989. Rhizome anoxia tolerance and habitat specialization in wetland plants. In : Plant Life in Aquatic and Amphibious Habitats (ed. by R. M. M. Crawford), Blackwell Scientific Publications, Oxford, UK, pp.397 - 410.
- Crawford, R. M. M. 1978. Biochemical and ecological similarities in marsh plants and diving animals. *Naturwissenschaften* 65 : 194 - 201.
- Cook, C. D. K. 1990. Aquatic Plant Book. SPB Academic Publishing, The Hague, The Netherlands.
- Davies, D. D. 1980. Anaerobic metabolism and the production of organic acids. In : The Biochemistry of Plants (ed. by P. K. Stumpf and E. E. Conn), Academic Press, New York, USA, pp.581 - 611.
- Eschrich, W. 1984. Phloem unloading following reactivation in predarkened mature maize leaves. *Planta* 161 : 113 - 119.
- Horder, M. and R. Rej 1985. Alanine aminotransferase, routine UV-method. In : Methods of Enzymatic Analysis, 3rd ed. Vol. III (ed. by H. U. Bergmeyer), Verlag Chemie GmbH, Weinheim, Germany, pp.445 - 450.
- Ishizawa, K. and Y. Esashi 1984. Gaseous factors involved in the enhanced elongation of rice coleoptiles under water. *Plant Cell Environ.* 7 : 239 - 245.
- Ishizawa, K., S. Murakami, Y. Kawakami, and H. Kuramochi 1999. Growth and energy status of arrowhead tubers, pondweed turions and rice seedlings under anoxic conditions. *Plant Cell Environ.* 22 : 505 - 514.
- 角野康郎 1994. 日本水草図鑑. 文一総合出版, 東京.
- Mazur, B. J. and S. C. Falco 1989. The development of herbicide

- resistant crops. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 40 : 441 - 470.
- Menegus, F., L. Cataruzza, L. Scaglioni and E. Ragg 1992. Effects of oxygen level on metabolism and development of seedlings of *Trapa natans* and two ecologically related species. *Physiol. Plant.* 86 : 168 - 172.
- Noll, F. 1985. L-(+)-Lactate. In : *Methods of Enzymatic Analysis*, 3rd ed. Vol. VI (ed. by Bergmeyer), Verlag Chemie GmbH, Weinheim, Germany, pp.582 - 588.
- Sato, T., T. Harada and K. Ishizawa. Stimulation of glycolysis in elongating pondweed turions under anaerobic conditions. *J. Exp. Bot.* (in press)
- Sculthorpe, C. D. 1967. *The Biology of Aquatic Vascular Plants*. Edward Arnold Ltd., London, UK. (Reprinted in 1985 by Koeltz Scientific Books, Königstein, Germany).
- Stocchi, V., G. Piccoli, M. Magnani, F. Palma, B. Biagiarelli and L. Cucchiarini 1989. Reversed-phase high-performance liquid chromatography separation of dimethylaminoazobenzene sulfonyl- and dimethylaminoazobenzene thiohydantoin-amino acid derivatives for amino acid analysis and microsequencing studies at the picomole level. *Anal. Biochem.* 178 : 107 - 117.
- Summer, J. E., R. G. Ratcliffe and M. B. Jackson 2000. Anoxia tolerance in the aquatic monocot *Potamogeton pectinatus* : absence of oxygen stimulates elongation in association with an unusually large Pasteur effect. *J. Exp. Bot.* 51 : 1413 - 1422.

(2002年2月15日受理)