

C₄植物におけるストレス応答の細胞特異性

谷口光隆, 三宅博

名古屋大学大学院生命農学研究科

〒464-8601 名古屋市千種区不老町

Cell specificity of stress responses in C₄ plants

Key words: abscisic acid, C₄ plant, chloroplast, environmental stress, reactive oxygen

Mitsutaka Taniguchi & Hiroshi Miyake

Graduate School of Bioagricultural Sciences

Furo-cho, Chikusa-ku, Nagoya 464-8601, Japan

1. はじめに

C₄植物の葉組織では、維管束の周りを維管束鞘細胞が取り囲み、さらにその外側を葉肉細胞が取り巻いており、CO₂濃縮回路であるC₄回路はその両細胞にまたがって駆動している。C₄植物は優れた光合成能と環境耐性能を発揮することから、その回路をC₃植物に導入して生産性の向上した植物を開発しようとする研究が行われている。しかし、単にC₄回路を構成する酵素遺伝子を導入するだけでなく、回路の活性調節機構や代謝産物輸送機構、さらには葉肉および維管束鞘細胞の構造と機能の分化ならびにその分化制御機構を解明して導入していくことが重要である。

我々は葉肉細胞および維管束鞘細胞の環境ストレスに対する応答を細胞内構造の面から比較し、その応答性や耐性が両細胞間で分化していることを明らかにしてきた。本稿では、環境ストレスに応答した葉緑体の傷害発現ならびに細胞内配置変動が両光合成細胞間で異なる事例について紹介する。

2. 環境ストレスに伴う細胞特異的な葉緑体傷害

2-1. 葉緑体傷害発現の細胞特異性

C₄植物の葉肉細胞と維管束鞘細胞には発達した葉緑体が多数存在するが、中に含まれる代謝酵素やタンパク質には顕著な差異が見られ、機能分化が起こっている (Majeran & Wijk 2009, Zhao et al. 2013)。葉緑体構造にも差異が見られ、特にトウモロコシなどのNADP-マリックエンザイム(ME)型C₄植物では、維管束鞘葉緑体チラコイドのグラナ形成が抑制されている (三宅 1999)。強光、乾燥、塩などの環境ストレス下の葉緑体では、CO₂固定反応が低下して光化学反応で生じる還元力が過剰となり、活性酸素生成が促進され、光合成機能が低下する光阻害を引き起こす。環境ス

トレスに伴う光化学系IIの光阻害はトウモロコシの葉肉細胞および維管束鞘細胞のチラコイドで同程度であるにもかかわらず (Pokorska and Romanowska 2007), 葉肉葉緑体の方が傷害を受けやすいことを我々は見出した (Hasan et al. 2005)。すなわち, 塩ストレスに伴い葉肉葉緑体のチラコイドの膨潤, グラナの積み重なりの減少, 包膜の崩壊が顕著になるが, 維管束鞘葉緑体の構造に変化は見られなかった。この葉肉細胞特異的なストレスに伴う葉緑体傷害はトウモロコシ以外のNADP-ME型C₄植物 (Omoto et al. 2009) ならびにNAD-ME型C₄植物およびホスホエノールピルビン酸カルボキシキナーゼ (PCK) 型C₄植物においても確認されている (Omoto et al. 2010)。また, NADP-ME型C₄植物の維管束鞘細胞においては, 抑制されていたグラナ形成が塩ストレスに伴い発達する (グラナの積み重なりが増える) 現象が起こり (Hasan et al. 2006, Omoto et al. 2009), 環境ストレスに対する応答性や耐性が葉肉細胞と維管束鞘細胞間で分化していることが判明した。ところで, C₃植物のイネにおいては, むしろ維管束鞘葉緑体の方がストレス傷害を受けやすく (Yamane et al. 2003), C₃植物とC₄植物の葉緑体の環境適応機構には多様性があり, その分子機構の解明が新たなストレス耐性植物開発に重要であると考えられる。

2-2. 葉緑体傷害の分子機構

前述の環境ストレスに伴う葉緑体傷害は光依存的であり, 葉組織へのNa⁺イオンの過剰蓄積が直接的な原因ではなく, ストレス下で生じる活性酸素が葉緑体傷害を引き起こしていることをイネおよびトウモロコシにおいて明らかにしている (Mitsuya et al. 2003, Yamane et al. 2004a, 2004b, Hasan et al. 2005)。そこで, ストレス下での活性酸素種の細胞内局在についてトウモロコシの葉肉細胞と維管束鞘細胞を比較したところ, 傷害を受けやすい葉肉葉緑体内に活性酸素 (スーパーオキシドO₂⁻, 過酸化水素H₂O₂) の蓄積が検出された (Omoto et al. 2013)。さらに, 塩ストレスを受けたトウモロコシ葉より両葉緑体を単離し, 活性酸素消去系酵素の活性を調べた結果, O₂⁻をH₂O₂に変換するスーパーオキシドジスマターゼ活性は塩ストレスにより両葉緑体で増加したが, H₂O₂を水に変換して無毒化するアスコルビン酸ペルオキシダーゼおよびアスコルビン酸再生に関わるデヒドロアスコルビン酸レダクターゼの両活性は維管束鞘葉緑体においてのみ増加が見られた (Omoto et al. 2013)。したがって, 塩ストレスに伴い生成する活性酸素に対して, 維管束鞘葉緑体では活性酸素消去系の酵素活性を増大させて対処するが, 葉肉細胞では十分な対処がなされないため活性酸素が過剰蓄積し傷害が誘発されると考えられる。そもそも, トウモロコシの維管束鞘葉緑体には光化学系IIが少なく, 酸素発生が起こりにくい。そのため, 活性酸素の生成が低く抑えられており, ストレスに応答した活性酸素消去系の活性化と相まって, 維管束鞘葉緑体では積極的なストレス防御機構が働いていると考えられる。この維管束鞘葉緑体特異的な活性酸素消去能の活性化 (あるいは遺伝子発現の増大) は他のC₄サブタイプ種でも共通なのか, また, 葉肉葉緑体の活性酸素消去能が維管束鞘葉緑体並みに進化の過程で発達しなかった理由を今後解明し

ていく必要がある。

3. 環境ストレスに伴う細胞特異的な葉緑体運動

3-1. 葉肉葉緑体特異的な凝集運動

C_4 植物の両光合成細胞内の葉緑体は異なる細胞内配置をとり、葉肉葉緑体が細胞周縁部に散在している。一方、維管束鞘葉緑体は種によって維管束側あるいは葉肉細胞側に局在しており、その葉緑体局在配置をそれぞれ求心的配置、遠心的配置とよんでいる。我々は、NAD-ME 型 C_4 植物シコクビエの葉に極強光 ($3,000\sim4,000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ の白色光) を照射すると、葉肉葉緑体が維管束鞘細胞側に移動することを見出した (Yamada et al. 2009) (図 1)。

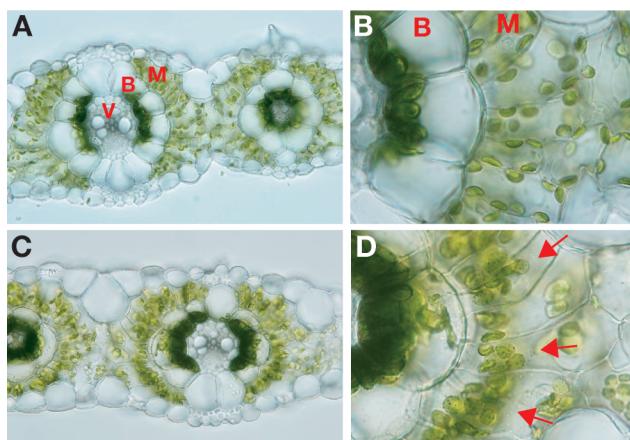


図 1. C_4 植物の葉肉細胞における極強光に応答した葉緑体凝集運動

シコクビエ葉身に通常光 ($250 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 白色光) (A, B) または極強光 ($4,000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 白色光) (C, D) を向軸側 (図の上側) から 2 時間照射した。強光照射により葉肉葉緑体の凝集運動が見られたが (図中の矢印)、維管束鞘葉緑体の求心的配列に変化は見られなかった。図 B および D は、それぞれ図 A および C の一部を拡大したものである。B: 維管束鞘細胞、M: 葉肉細胞、V: 維管束

葉緑体が光に応答して移動する現象は“葉緑体光定位運動”として C_3 植物を対象とした研究が進んでいる (末次&和田 2013)。すなわち、弱光下での葉緑体は光の入射方向と垂直な細胞面に集まる“集合運動”を起こしてなるべく光を捕集しようとする (図 2)。一方、強光下では葉緑体が光の入射方向と平行な細胞壁側へ移動する“逃避運動”を起こして強光ストレスを低減させようとする。我々は、シコクビエで見出された葉肉葉緑体の維管束鞘細胞側への移動を“凝集運動”と命名して集合・逃避運動と区別し、その生理的役割と分子機構の解明を目指すこととした。なお、維管束側に片寄った求心的配置をとるシコクビエの維管束鞘葉緑体は、長時間の強光照射によってもその位置を変化させず (図 1)，両細胞の葉緑体は細胞内配置においても異なるストレス応答戦略を用いていると考えられる。

C_4 植物の葉肉葉緑体が凝集運動を起こすことは乾燥ストレスを受けたトウモロコシ (Lal & Edwards 1996) やスペリヒュ (Guralnick et al. 2002) において既に報告がある。そこで、強光以外

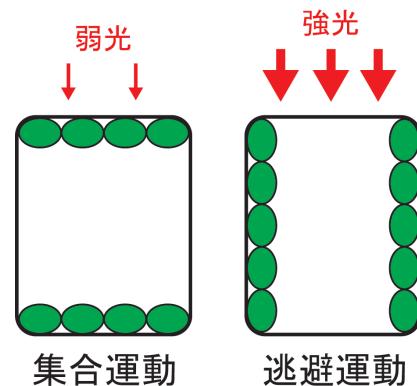


図 2. C_3 植物の葉緑体における集合運動と逃避運動

模式図は C_3 植物葉肉細胞の側面図であり、緑色の楕円は葉緑体を示す。

の他のストレスへの応答をシコクビエを用いて調べたところ、乾燥、塩、あるいは浸透圧ストレスを植物体が受けると、通常光 ($250\sim500 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) 下でも葉肉葉緑体の凝集運動が起こることが判明した (Yamada et al. 2009)。また、乾燥ストレスにより葉肉葉緑体の凝集運動が見られたシコクビエに再び水を与えたところ、葉肉葉緑体が半日以上かけてゆっくりと元のバラバラな配置に戻っていく様子が観察された。したがって、葉肉葉緑体の凝集運動は、環境ストレスに応答した可逆的な生理応答であるといえる。根から吸収した水が葉細胞に行きわたり、凝集運動を誘起していたストレス状態から回復することで、元の葉緑体配置へ戻ったと考えられる。このような葉肉葉緑体の凝集運動は、真夏の炎天下の乾燥した圃場で生育中のシコクビエやトウモロコシでも観察されたことから、過酷かつ複合的な自然環境下で生育する C_4 植物において通常起きている現象だと考えられる。

3-2. 凝集運動の分子機構

C_3 植物であるシロイヌナズナの葉緑体集合・逃避運動は、フォトトロピンによる青色光受容により誘起され、アクチン纖維を介して運動が起こる (末次&和田 2013)。実は、この葉緑体の集合および逃避運動は C_4 植物においても観察されている (Inoue & Shibata 1974, Taniguchi et al. 2003)。また、シコクビエの葉片に青色光を照射すると一部の葉緑体が逃避運動を起こすが、葉組織内にアブシジン酸 (ABA) を減圧浸透させてから青色光照射すると葉緑体は凝集運動を起こすことが見出された (間合ら 2011, Maai et al. 2011b) (図 3)。なお、赤色光下では葉緑体凝集運動は起こらなかった。以上のことより、 C_4 植物も C_3 植物と同じく集合・逃避の葉緑体運動機構をもつが、それに加えて C_4 植物は葉緑体を凝集運動させる分子機構も合わせもち、ABA は青色光で誘導される逃避運動を凝集運動へとシフトさせる誘導因子となっていると考えられる。そして、環境ストレスを植物が感知すると葉内の ABA 含量が増大して情報伝達がおき、凝集運動が誘導される

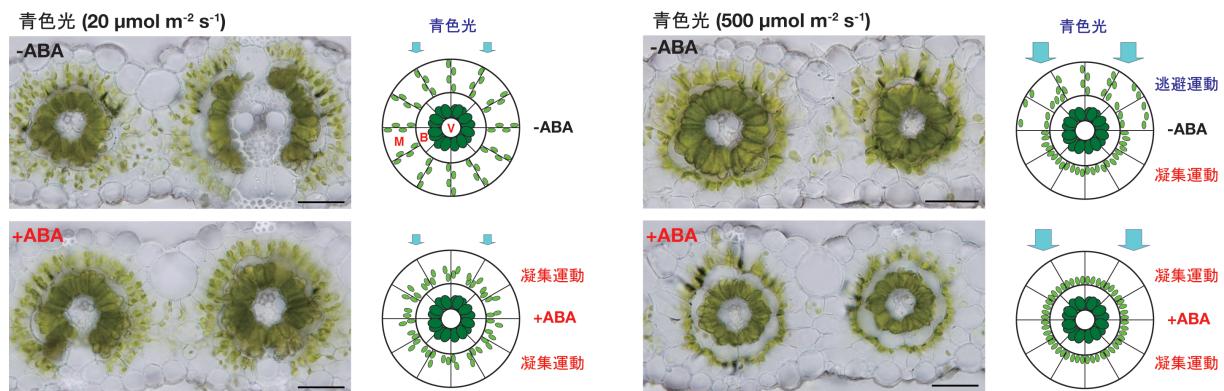


図3. 青色光およびABAに応答したシコクビエ葉緑体の細胞内配置の変化

シコクビエの葉身葉片に $20 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (左写真と模式図) または $500 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (右写真と模式図) の青色光を向軸側 (図の上側) から 8 時間照射後、横断切片を作製して光学顕微鏡観察した。上段は ABA 非処理、下段は $30 \mu\text{M}$ ABA 溶液を葉内に減圧浸透後、光照射を行っている。B : 維管束鞘細胞、M : 葉肉細胞、V : 維管束

と推察される。実際、ストレスに伴う葉内 ABA 含量の増大と葉肉葉緑体の凝集配置の増大には正の相関があることを我々は確認している（未発表データ）。一方、C₃植物葉緑体の集合・逃避運動に植物ホルモンが関与するという報告はなく、ストレスに応答した C₄葉肉葉緑体の凝集運動に特異的であると考えられる。

環境ストレスや ABA で誘導される葉肉葉緑体の凝集運動は暗所では起こらず光依存的であることから、光化学系で生成した活性酸素が凝集運動の誘導シグナルになっている可能性が考えられた。実際、C₃植物シロイヌナズナの葉緑体逃避運動は、過酸化水素の共存で促進されるという報告がなされている（Wen et al. 2008）。そこで、シコクビエ葉片に ABA と過酸化水素を浸透後に暗所下でインキュベートしたが、葉肉葉緑体の凝集運動は誘導されなかった。また、明所下での ABA に応答した凝集運動は、活性酸素スカベンジャーを共存させても阻害されなかった（Maai et al. 2011b）。したがって、C₃植物と異なり、C₄植物の凝集運動に対して活性酸素は関与していないと考えられた。

C₃植物の葉緑体運動を引き起こすアクチン繊維の動態や運動制御に関わるタンパク質因子が明らかになりつつある（末次&和田 2013）。一方、C₄植物の葉緑体運動については、アクチン繊維が凝集運動に関与していることを阻害剤実験により確認しているが（Yamada et al. 2009），制御因子は不明であり、今後の研究課題である。葉緑体の運動方向制御についても興味がもたれる。すなわち、凝集運動において葉肉葉緑体は維管束鞘細胞側へ動き同心円状に集合するが、逃避運動での葉緑体の移動方向は光の入射方向と平行な細胞壁側であり、隣接する葉肉細胞側への動きである。したがって、葉緑体を維管束鞘細胞側に向かわせる凝集運動機構が存在しており、維管束鞘細胞から何らかのシグナルが放出され、それを葉肉細胞が感知して方向性をもった葉緑体運動が引き起こされている可能性も考えられる。なお、環境ストレスに応答した凝集運動は葉緑体特異的であり、核やミトコンドリアの細胞内移動は見られなかった（Yamada et al. 2009）。一方、C₃植物においては葉緑体とともに核やミトコンドリアも逃避運動することが報告されており（Iwabuchi et al. 2007, Tsuboi et al. 2007, Islam et al. 2009），C₄葉肉葉緑体の凝集運動に特異的な制御機構が存在すると推定される。

以上のように、C₄葉肉細胞は、C₃植物でみられる葉緑体逃避運動に加えて、ストレスシグナル ABA により誘導される葉緑体凝集運動機構をもつことが明らかとなった。しかし、ストレスに応答して葉内で ABA がどのように蓄積され、その ABA を葉肉細胞がどのように検知して葉緑体凝集運動を引き起こすのか、葉緑体をどのようにして維管束鞘細胞側へ移動させてているのかといった情報伝達や運動制御の詳細は解明できていない。また、凝集運動の生理的役割も証明できていない。このような未解明点を明らかにするには、凝集運動を起こさない変異体を用いた解析が有効であるが、そのような変異体は見出されておらず、自ら単離する必要がある。変異体が単離できたならば、凝集運動変異体と野生体の間で環境ストレス感受性や光合成能を比較することで、

凝集運動の生理的役割が明らかになるであろう。また、変異体の原因遺伝子の同定を行い、コードタンパク質の機能を明らかにすることで、凝集運動の分子機構が解明されると考えられる。我々は、今後の C₄モデル植物と目されるエノコログサ (*Setaria viridis*) を研究対象に定め、現在、凝集運動変異体の探索を行っている。

3-3. 凝集運動の普遍性

植物体をストレスにさらすと、C₄光合成のサブタイプに関わらず調べたすべての单子葉C₄植物において葉肉葉緑体の凝集運動が観察された。しかし、その凝集運動の程度には種間差が見られ、NADP-ME型C₄植物（トウモロコシ、ソルガムなど）では凝集運動よりも逃避運動が顕著に起こる場合が多い（Yamada et al. 2009）。一方、NAD-ME型C₄植物（シコクビエ、キビなど）では維管束間の葉肉葉緑体が一部逃避運動しているものの、凝集運動が強く現れる。PCK型C₄植物のギニアグラスでは弱い凝集運動しか起こらないが、ローズグラスでは強い凝集運動が見られた。また、環境ストレスに伴う葉緑体凝集運動の応答性を单子葉C₄植物と双子葉C₄植物間で比較したところ、单子葉C₄植物の方が顕著な応答性が見られた。したがって、ストレスに応答した葉肉葉緑体の凝集運動はC₄光合成のサブタイプに関わらず多くのC₄植物で誘導されるが、その程度は植物種によって異なることが明らかとなった。C₄植物種によってストレスに対する応答・耐性的程度ならびに対応戦略が異なり、凝集運動の発現にも差異が生じると考えられる。凝集運動の程度を葉構造、供試植物が属する系統グループ、維管束鞘葉緑体の細胞内配置やグラナの発達度、維管束鞘細胞からのCO₂の漏出率などと比較したが、明白な関連性は見いだせず、凝集運動の程度差を導く要因の解明は今後の課題である。

葉片にABA溶液を浸透後、青色光を照射すると葉肉葉緑体の凝集運動が引き起こされる応答反応について、イネ科植物を主とする様々な植物について比較した（Maai et al. 2011b）。その結果、調べた单子葉C₄植物および双子葉C₄植物の全てにおいて凝集運動が観察された（未発表データ）。一方、C₃植物の葉肉葉緑体で凝集運動は観察されず、強光に応答した逃避運動のみが見られた。パニカム属（单子葉類イネ科）やフランベリア属（双子葉類キク科）植物には、C₃型、C₄型、およびC₃型からC₄型への進化途上と考えられるC₃-C₄中間型の植物種が存在するので、ABAと青色光に応答した葉肉葉緑体凝集運動を両属の様々な植物種で比較した。その結果、C₃型種では逃避運動のみが見られた一方、C₄型種では凝集運動が見られた。また、C₃-C₄中間型種では弱い凝集運動が見られる種と、見られない種があった。以上の結果より、C₄植物はABAと青色光に応答した凝集運動機構を普遍的に有しており、逃避運動機構をもつC₃植物からC₄植物が分岐進化する過程で、C₄植物特有の細胞内構造や代謝様式の獲得とともに葉緑体凝集運動機構も獲得してきたと推察される。

3-4. 凝集運動の生理的役割

集合運動は弱光の効率的捕集を、逃避運動は強光からの回避をそれぞれ担うという明確な生理的役割が見出されている（末次＆和田 2007）。一方、C₄植物の凝集運動の生理的役割は明らかになっていない。推定される役割として、(1) 葉緑体の相互被陰による強光ストレス障害からの防御、(2) 維管束鞘細胞から漏出したCO₂の再捕捉促進（ストレス下ではカルビン回路によるCO₂固定能が低下するので、脱炭酸されたCO₂がRubiscoで固定されず葉肉細胞に漏出しやすくなる）、(3) ストレス下でのC₄回路駆動の維持（葉肉葉緑体が維管束鞘細胞側へ凝集することでC₄光合成中間代謝産物の細胞間移動距離が減少することになり、ストレス下でもC₄回路駆動を高活性のままに維持しようとする）などが考えられる（図4）（Maai et al. 2011a）。

シコクビエを乾燥ストレスまたは塩ストレスにさらすと徐々に光合成速度、気孔コンダクタンスおよび蒸散速度が低下するが、それらの低下と葉肉葉緑体の凝集配置の程度には相関が見られた。したがって、凝集運動は、環境ストレスによって引き起こされる光合成活性低下に先んじる積極的な防御機構というよりは、光合成代謝の変動と連動した何らかの生理的役割があるのではないかと推察される。一方、環境ストレスに応答して葉肉葉緑体が凝集運動するC₄植物の生理応答はC₃植物には見られないものであることから、高温、強光、乾燥などの過酷な環境下でも生育するC₄植物が獲得した生存戦略の一つである可能性もあり、ストレス耐性の視点からも凝集運動の役割を解析する必要があろう。

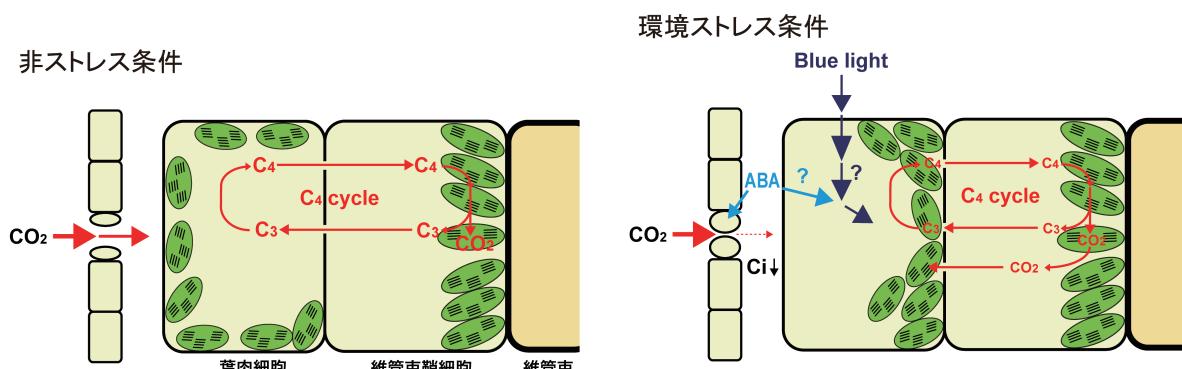


図4. 環境ストレスに応答したC₄植物特異的な葉肉葉緑体凝集運動

維管束鞘葉緑体が求心的位置をとるC₄植物（シコクビエなど）の葉身組織の模式図。非ストレス条件下では、葉肉葉緑体は細胞周縁部にバラバラに存在している。強光、乾燥、塩などの環境ストレスに応答して葉内のABA含量が増大し、気孔の閉鎖や葉肉葉緑体の凝集運動が起こる。

4. おわりに

隣り合う細胞でありながら葉肉細胞と維管束鞘細胞は構造および機能が分化しており、両葉緑体のグラナ構造、光化学系含量、細胞内配置の違いのみならず、環境ストレス応答・耐性も両葉緑体で異なることを示してきた。環境ストレスに応答して維管束鞘葉緑体をより優先的に傷害か

ら防御することは、維管束鞘葉緑体に局在するカルビン回路の活性維持に重要なのであろうか。通常は細胞周縁部に分散して配置しているが環境ストレスに応答して細胞内での位置を変える葉肉葉緑体と、細胞の成熟途中で獲得した細胞内局在を維持しようとする維管束鞘葉緑体 (Kobayashi et al. 2009) はストレスに対する耐性戦略が異なり、両細胞での代謝の分業と深く関わっていることが予想される。

このような C₄ 植物の細胞特異的なストレス応答を解析することは、葉肉および維管束鞘細胞のストレス耐性機構の分化ならびに C₃ 植物から C₄ 植物への進化を研究する上での新しい知見を提供できると考えられる。また、一般に C₄ 植物が C₃ 植物に比べて環境ストレス耐性能が高いと言われる要因を、葉緑体の活性酸素消去系や細胞内配向性から解明していくことができるかもしれない。細胞特異的なストレス応答・耐性のメリットと分子機構を解明できれば、C₄ 植物の更なる機能改良や C₃ 植物の C₄ 化を行うにあたっての新たな分子基盤を提供できるかもしれないと考え、研究を進めている。

引用文献

- Guralnick, L.J., Edwards, G., Ku, M.S.B., Hockema, B., & Franceschi, V.R. 2002. Photosynthetic and anatomical characteristics in the C₄-crassulacean acid metabolism-cycling plant, *Portulaca grandiflora*. *Funct. Plant Biol.* 29: 763–773.
- Hasan, R., Ohnuki, Y., Kawasaki, M., Taniguchi, M., & Miyake, H. 2005. Differential sensitivity of chloroplasts in mesophyll and bundle sheath cells in maize, an NADP-malic enzyme-type C₄ plant, to salinity stress. *Plant Prod. Sci.* 8: 567–577.
- Hasan, R., Kawasaki, M., Taniguchi, M., & Miyake, H. 2006. Salinity stress induces granal development in bundle sheath chloroplasts of maize, an NADP-malic enzyme-type C₄ plant. *Plant Prod. Sci.* 9: 256–265.
- Inoue, Y. & Shibata, K. 1974. Comparative examination of terrestrial plant leaves in terms of light-induced absorption changes due to chloroplast rearrangements. *Plant Cell Physiol.* 15: 717–721.
- Islam, M.S., Niwa, Y., & Takagi, S. 2009. Light-dependent intracellular positioning of mitochondria in *Arabidopsis thaliana* mesophyll cells. *Plant Cell Physiol.* 50: 1032–1040.
- Iwabuchi, K., Sakai, T., & Takagi, S. 2007. Blue light-dependent nuclear positioning in *Arabidopsis thaliana* leaf cells. *Plant Cell Physiol.* 48: 1291–1298.
- Kobayashi, H., Yamada, M., Taniguchi, M., Kawasaki, M., Sugiyama, T., & Miyake, H. 2009. Differential positioning of C₄ mesophyll and bundle sheath chloroplasts: recovery of chloroplast positioning requires the actomyosin system. *Plant Cell Physiol.* 50: 129–140.
- Lal, A., & Edwards, G.E. 1996. Analysis of inhibition of photosynthesis under water stress in the C₄ species *Amaranthus cruentus* and *Zea mays*: electron transport, CO₂ fixation and carboxylation capacity. *Aust. J.*

Plant Phys. 23: 403–412.

間合絵里, 三宅博, 谷口光隆 2011. 青色光とABAに応答したC₄植物の葉肉細胞における葉緑体の運動. 光合成研究 21: 16-19.

Maai, E., Miyake, H., & Taniguchi, M. 2011a. Differential positioning of chloroplasts in C₄ mesophyll and bundle sheath cells. *Plant Signal. Behav.* 6: 1111-1113.

Maai, E., Shimada, S., Yamada, M., Sugiyama, T., Miyake, H., & Taniguchi, M. 2011b. The avoidance and aggregative movements of mesophyll chloroplasts in C₄ monocots in response to blue light and abscisic acid. *J. Exp. Bot.* 62: 3213-3221.

Majeran, W. & van Wijk, K.J. 2009. Cell-type-specific differentiation of chloroplasts in C₄ plants. *Trends Plant Sci.* 14: 100-109.

Mitsuya, S., Kawasaki, M., Taniguchi, M., & Miyake, H. 2003. Light dependency of salinity-induced chloroplast degradation. *Plant Prod. Sci.* 6: 219-223.

三宅博. 1999. C₄光合成と作物. 日本作物学会紀事 68: 1-9.

Omoto, E., Kawasaki, M., Taniguchi, M., & Miyake, H. 2009. Salinity induces granal development in bundle sheath chloroplasts of NADP-malic enzyme type C₄ plants. *Plant Prod. Sci.* 12: 199–207.

Omoto, E., Nagao, H., Taniguchi, M., & Miyake, H. 2013. Localization of reactive oxygen species and change of antioxidant capacities in mesophyll and bundle sheath chloroplasts of maize under salinity. *Physiol. Plant.* 149: 1-12.

Omoto, E., Taniguchi, M., & Miyake, H. 2010. Effects of salinity stress on the structure of bundle sheath and mesophyll chloroplasts in NAD-malic enzyme and PCK type C₄ plants. *Plant Prod. Sci.* 13: 169-176.

Pokorska, B., & Romanowska, E. 2007. Photoinhibition and D1 protein degradation in mesophyll and agranal bundle sheath thylakoids of maize. *Funct. Plant Biol.* 34: 844–852.

末次憲之, 和田正三 2007. 光環境と光ストレスに対する葉緑体光定位運動による適応. 蛋白質核酸酵素 52: 587-593.

末次憲之, 和田正三 2013. 陸上植物の光応答戦略 –陸上植物における葉緑体の運動メカニズムの新機軸-. 植物科学最前線 4: 45.

Taniguchi, Y., Taniguchi, M., Kawasaki, M., & Miyake, H. 2003. Strictness of the centrifugal location of bundle sheath chloroplasts in different NADP-ME type C₄ grasses. *Plant Prod. Sci.* 6: 274-280.

Tsuboi, H., Suetsugu, N., Kawai-Toyooka, H., & Wada, M. 2007. Phototropins and neochrome1 mediate nuclear movement in the fern *Adiantum capillus-veneris*. *Plant Cell Physiol.* 48: 892–896.

Wen, F., Xing, D., & Zhang, L.R. 2008. Hydrogen peroxide is involved in high blue light-induced chloroplast avoidance movements in *Arabidopsis*. *J. Exp. Bot.* 59: 2891-2901.

Yamada, M., Kawasaki, M., Sugiyama, T., Miyake, H., & Taniguchi, M. 2009. Differential positioning of

- C₄ mesophyll and bundle sheath chloroplasts: Aggregative movement of C₄ mesophyll chloroplasts in response to environmental stresses. *Plant Cell Physiol.* 50: 1736-1749.
- Yamane, K., Kawasaki, M., Taniguchi, M., & Miyake, H. 2003. Differential effect of NaCl and polyethylene glycol on the structure of chloroplasts in rice seedlings. *J. Plant Physiol.* 160: 573-575.
- Yamane, K., Rahman, M.S., Kawasaki, M., Taniguchi, M., & Miyake, H. 2004a. Pretreatment with antioxidants decreases the effects of salt stress on chloroplast ultrastructure in rice leaf segments (*Oryza sativa* L.). *Plant Prod. Sci.* 7: 292-300.
- Yamane, K., Rahman, M.S., Kawasaki, M., Taniguchi, M., & Miyake, H. 2004b. Pretreatment with a low concentration of methyl viologen decreases the effects of salt stress on chloroplast ultrastructure in rice leaves (*Oryza sativa* L.). *Plant Prod. Sci.* 7: 435-441.
- Zhao, Q., Chen, S. & Dai, S. 2013. C₄ photosynthetic machinery: insights from maize chloroplast proteomics. *Front. Plant Sci.* 4: 85.