特集記事

イネの栄養応答機構解明のための遺伝子発現情報基盤の構築と応用研究への展開

竹久妃奈子

農研機構・次世代作物開発研究センター，茨城県つくば市，〒305-8518

Rice gene expression resources for elucidating response to nutritional environment and improving crop production

Hinako Takehisa

Institute of Crop Science, NARO, Tsukuba, Ibaraki 305-8518, Japan

キーワード

イネ，栄養応答，根，トランスクリプトーム解析，情報基盤，圃場

はじめに

近年，世界的な人口増加や食生活の変化によって穀物需要が増加しており，酸性土壌，アルカリ土壌，低栄養土壌など全陸地の約 70% を占めている不良土壌での生産性の向上が緊急な課題となっている．それに伴いリン鉱石や塩化加里等の肥料原料の需要拡大が見込まれており，それらを全て輸入に頼っている我が国にとっても，将来的な資源の枯渇や肥料の高騰が懸念されている．一方で，窒素やリン酸肥料の過剰投入による土壌・水質汚染も問題になっており，施肥量の低減や節約技術の確立，不良土壌や低栄養環境に適応可能な作物品種の開発が強く望まれている．植物は生育に必要な無機栄養を根から吸収し，体全体に輸送し利用している．また動物のように餌を求めて移動できないため，根圏の栄養状態の変化に迅速に反応し根系形態や分布，栄養素の吸収量や代謝機構を変化させるなど，植物特有の高い適応能力を備えている．これらのメカニズムを解明していくことは，植物の栄養利用効率の向上や環境ストレス耐性の強化，ひいては作物生産に関する国内外の課題克服につながる重要な課題といえる．

栄養などの環境応答・適応機構を包括的に理解するために，マイクロアレイや mRNA-Seq の技術を用いた網羅的な遺伝子発現プロファイリングが有効である．筆者らが本研究に着手した当時，窒素，リン酸，カリウムを含む必須栄養素への応答に関する遺伝子発現プロファイリングはシロイヌナズナで多く報告されていたが，主要穀

物であるイネでは情報が少なくその整備が遅れていた．そのため本研究では情報基盤の構築とその公開を目的とし，日本型イネ品種「日本晴」を用いて，栄養吸収に必要な根の形態形成と生理機能に着目した時空間的遺伝子発現プロファイリングおよび栄養環境応答に着目した大規模な遺伝子発現プロファイリングを実施した．本稿では，これらのプロファイリングで得られた成果と，その発現情報を利用して現在進めている圃場におけるイネの栄養生理に関する研究を紹介したい．

1. イネの栄養応答機構解明のための遺伝子発現情報基盤の構築

1) 根の時空間的遺伝子発現プロファイリング

イネの根系は種子根と多数の冠根からなり，1本の根は先端の分裂組織を起点として複数の細胞層を同心円状に発達させながら伸長し，その過程で根毛や側根など新しい組織を形成していく．そして，これらの細胞や組織を巧妙に使い分けることで，根は土壌環境の感知，水や栄養の吸収・分配など多岐にわたる機能を担っている．我々は，レーザーマイクロダイセクションを用いてイネ幼植物の冠根を，発達段階が異なる根冠，分裂帯，伸長帯，成熟帯など 8 箇所（R0-R7）に分割し，さらに先端部（R2-R3）と基部（R7）をそれぞれ放射線状に中心柱部位（内皮，内鞘，維管束を含む），皮層，表層部位（表皮，外皮，厚壁組織を含む）に分割して，詳細なマイクロアレイ解析を行った（図 1，Takehisa *et al.* 2012）．主成分分析の結果，発達段階ごとのサンプルでは根冠と分裂帯の遺伝子発現パターンが他の部位と大きく異なり，細胞層ごとのサンプルでは中心柱部位が他の部位に比較して特徴的な発現パターンを示していた．本研究では，さ

図 1. 根の遺伝子発現プロファイリングのサンプル構成 (Takehisa *et al.* 2012 より改変)。

1本の冠根を、根冠(R0)、分裂帯(R1)、伸長帯(R2)、成熟帯I(R3)、成熟帯II(R4)、成熟帯III(R5)、成熟帯IV(R6)、成熟帯V(R7)の8箇所に分割し、さらにR2-R3部位とR7部位をそれぞれ放射線状に中心柱部位(内皮、内鞘、維管束を含む)、皮層、表層部位(表皮、外皮、厚壁組織を含む)に分割し、マイクロアレイ解析を実施した。

らに根冠、側根形成、栄養素の吸収に着目して解析を実施した。

根冠では、デンプン合成や糖代謝関連の遺伝子に加えて、エチレンシグナル伝達経路に関与する *OsETR2;1*, *OsCGT1;1*, *OsEIN3;2*, *OsEIN3;3* や AP2/EREBP スーパーファミリーに属する複数の遺伝子の特異的発現が見られ、根冠を含む根端部位では、拮抗的に作用するオーキシシグナル応答因子である class IIa *OsARF* 遺伝子群とサイトカイニンシグナル抑制因子である A type *OsRR* 遺伝子群の強い発現が確認された。根冠は良好な根圏環境や土壌中のスムーズな根の伸長を維持するために、多糖類や有機酸などで構成されている粘液物質や境界細胞を作成し土壌中に放出しており、エチレン合成やシグナル伝達を欠如したトマト変異体の根は土壌中への進入が困難になることが報告されている (Clark *et al.* 1999, Hussain *et al.* 1999)。さらに、エチレンは根端のオーキシシン合成を誘導することで根の伸長抑制を促すこと (Stepanova *et al.* 2005, Swarup *et al.* 2007)、オーキシシンとサイトカイニンの相互作用は根を含む植物細胞の分化と分裂のバランス制御に重要であることが知られていることから (Dello Ioio *et al.* 2007, 2008)、植物ホルモンシグナル系の遺伝子群の発現誘導が根冠特有の機能発現を制御している可能性が考えられる。

側根形成部位で高発現していた遺伝子群を抽出し、その発現パターンから側根形成誘導に関わると考えられる遺伝子群(71 遺伝子)と、その後の発達・伸長に機能すると考えられる遺伝子群(78 遺伝子)に分類した。前者にはシロイヌナズナの側根原基の形成に関わる *PUCHI* (Hirota *et al.* 2007) や *LRPI* (Smith and Fedoroff 1995, Krichevsky *et al.* 2009) のホモログ遺伝子やイネの冠根原基形成に関わる *CRL1* (Inukai *et al.* 2005) などの転写因子が含まれ、後者には細胞壁や細胞骨格の構築に関わる

と推定される遺伝子が多く含まれており、それぞれ側根の数や長さの制御に重要であると考えられた。トウモロコシの組換え自殖系統 (recombinant inbred lines: RILs) を用いた研究では、側根の数と長さが圃場での乾燥耐性や低窒素耐性、低リン耐性の増強に影響を及ぼすことが報告されている (Zhan *et al.* 2015, Zhan and Lynch 2015, Jia *et al.* 2018)。このことは、側根の形態を改変することで作物の低栄養環境耐性を高められることを示しており、本研究で抽出された遺伝子群に関し更なる研究が期待される。

既存の論文から栄養吸収や輸送に関わると考えられるトランスポーターやチャネル遺伝子(371 遺伝子)をリストアップし、それらの遺伝子において根の時空間発現プロファイリングを行った。その結果、根冠や分裂帯、伸長帯特異的に高発現している遺伝子だけでなく、通気組織が完全に形成されている成熟帯部位で高発現しているもの、さらに中心柱、皮層、表層部位の各細胞層で特異的に発現誘導されている遺伝子も見出された。これらは、表皮細胞における栄養吸収や、内皮・外皮での細胞間輸送など細胞層ごとの重要な役割を担っている可能性が考えられる。本実験で得られた遺伝子発現情報は栄養が十分に足りている環境下で生育させたイネのサンプルから収集したものであり、最も基本的な根の機能を反映していると言える。今後、これらの遺伝子機能と根圏の栄養状態との関係性を明らかにしていくことで、植物の栄養応答メカニズムの理解が深まり、さらには環境ストレス耐性作物開発の一つの糸口になるのではないかと期待している。

2) 栄養応答に関する網羅的遺伝子発現プロファイリング

窒素、リン酸、カリウムは植物にとって極めて重要な無機栄養であり、その欠乏や過剰は作物の生長や収量に

大きな影響を及ぼす。本研究では、この三大栄養素の量をそれぞれ調整した水耕液で生育させたイネ幼植物を用いて、根と地上部の網羅的遺伝子発現プロファイリングを実施した (図2, Takehisa *et al.* 2013, 2015)。根のプロファイリングでは、通常条件で生育させたイネ幼植物を各栄養素を全く与えない環境に移植して6時間および24時間後の比較的早い応答を解析した (Takehisa *et al.* 2013)。移植後6時間では、窒素欠乏に対して1000以上の遺伝子が発現上昇もしくは減少したのに対し、リンとカリウム欠乏に関してはほとんど変動が見られなかった。24時間後に発現上昇が大きかった上位20の遺伝子を窒素、リン酸、カリウム欠乏処理のそれぞれで抽出したところ、各栄養欠乏時に特異的に発現誘導されるトランスポーター遺伝子や転写因子が見出されただけでなく、*OsGLP1* が全栄養欠乏に共通して誘導されていることが明らかになった。*OsGLP1* は過酸化水素やスーパーオキシドアニオンなどの活性酸素種除去に関わる superoxide dismutase (SOD) 活性を有し、病害ストレス耐性に関与していることが知られている (Banerjee *et al.* 2010, Banerjee and Maiti 2010)。さらに、全栄養欠乏に共通して発現誘導された遺伝子を抽出したところ46遺伝子が見いだされ、活性酸素量の調整に関わると考えられる5個の class III ペルオキシターゼをコードする遺伝子と、シロイヌナズナの ERF 転写因子の一つである *RAP2.11* のホモログ遺伝子が含まれていた。活性酸素を介したシグナル伝達は、植物の病原体防御やプログラム細胞死、気孔の開閉など様々な環境ストレス応答に関与していることが知られており (Apel and Hirt 2004)、シロイヌナズナでは窒素、リン酸、カリウム欠乏によって根に活性酸素が蓄積される

ことが報告されている (Shin *et al.* 2005)。また *RAP2.11* はカリウム欠乏により蓄積する活性酸素により誘導され、カリウムトランスポーター *AtHAK5* の発現を調整していることが明らかにされている (Kim *et al.* 2012, Shin and Schachtman 2004)。以上の結果から、窒素、リン酸、カリウム全ての欠乏環境下における早急なイネの応答・適応機構に活性酸素の蓄積とそのシグナル伝達機構が関与しており、それらの下流では *RAP2.11* を介した栄養吸収と輸送調節が機能している可能性が示唆された。

地上部の遺伝子発現プロファイリングでは、各栄養素について濃度を7段階に調整し (通常濃度と 1/64, 1/16, 1/4, 4倍, 16倍, 64倍濃度)、5日間生育させた幼植物を用いた (Takehisa *et al.* 2015)。栄養素ごとに変動遺伝子数をカウントしたところ、窒素では過剰な状態に比較して欠乏時に変動する遺伝子が圧倒的に多く、リン酸では過剰・欠乏とも同程度、カリウムにおいては欠乏状態では発現上昇する遺伝子が、過剰状態では抑制される遺伝子が多かった (図3)。このような発現傾向の特性はこれまでに報告がなく、現在も原因は不明であるが、3栄養素を同条件で比較したことで見えた興味深い現象である。本実験で用いた地上部のサンプルには、葉身と葉鞘、未成熟葉と成熟葉が含まれていることから、栄養欠乏・過剰条件で変動した遺伝子群が関与する機能は各組織や発達段階で異なることが予想された。そこで、変動した遺伝子群を様々な発達段階の器官・組織の遺伝子発現データ (Sato *et al.* 2011a) を用いて共発現解析することで分類し、栄養応答遺伝子群の機能を推定した。その結果、窒素欠乏で発現が抑制される遺伝子群の中には、発達中の茎や花器官で発現が高いもの、葉身や葉鞘などの栄養器官で発現が高いもの、全組織・器官で発現しているものが見出され、Gene ontology enrichment test から、それぞれ、未熟組織の発達、緑色組織の光合成とタンパク質合成、細胞内基礎代謝に関係していることが示唆された。これらの機能は窒素レベルによって直接的もしくは間接的に調整されていると考えられる。さらに本研究では、アンモニウムトランスポーターである *OsAMT1;2* と *OsAMT3;3* やリン酸トランスポーター *OsPT8*, カリウムトランスポーター *OsHAK27* をそれぞれコードする遺伝子と共に、複数のプロテインキナーゼ遺伝子を含む共発現ネットワークを見出した。シロイヌナズナでは、プロテインキナーゼを介したリン酸化制御が栄養欠乏環境下におけるトランスポーターやチャネルの発現調節に重要であるとの事例がいくつか報告されており (Liu and Tsay 2003, Lee *et al.* 2007, Loqué *et al.* 2007, Lanquar *et al.* 2009)、これらの遺伝子群が共同でイネの栄養環境適応に機能している可能性が考えられる。

本研究で得られた根と地上部の栄養応答に関する遺伝子発現情報は、National Center for Biotechnology Information (NCBI) の Gene Expression Omnibus (GEO) (Edgar *et al.* 2002) に登録している (GSE30136,

図2. 栄養応答に関する網羅的遺伝子発現プロファイリングのサンプル構成。

根のプロファイリングでは、窒素、リン酸、カリウムをそれぞれ全く与えない水耕液に幼植物を移植して6時間および24時間後のサンプルを用いた。地上部のプロファイリングでは、各栄養素について濃度を7段階に調整した水耕液 (通常濃度と 1/64, 1/16, 1/4, 4倍, 16倍, 64倍濃度) に幼植物を移植して5日間生育させたサンプルを用いた。

図3. 根圏の窒素 (N), リン酸 (P), カリウム (K) 濃度の変化に伴う地上部の変動遺伝子数の推移 (Takehisa *et al.* 2015 より改変). □: 対照区と比較して発現量が増加した遺伝子, ■: 発現量が低下した遺伝子.

GSE66935). また, 栄養に関するデータは3種の栄養素欠乏に対する応答を比較しやすいよう加工し, 根に関しては発現部位を立体的に把握しやすいようピクトグラフを導入し, 遺伝子発現情報データベース「RiceXPro」(Sato *et al.* 2011b, 2013) から公開している.

2. 遺伝子発現情報基盤を利用した圃場におけるイネの栄養応答機構の解明

環境制御室内で得られる試験結果は必ずしも圃場のものと一致しない. 実際に筆者は, 大学院時代, 水耕栽培やポット栽培で見られた塩ストレスや栄養ストレス耐性が圃場で再現されないケースを多く目の当たりにしてきた. 本研究で得られた遺伝子発現情報はグロースチャンパー内の水耕栽培で育成した幼植物から収集したものであり, 基盤情報としての汎用性は高いが, そのままで圃場環境下の作物の栄養応答機構を理解することは難しいと考えられた. そこで, 圃場で栽培したイネの網羅的遺伝子発現情報 (Sato *et al.* 2011a) を利用して栄養応答遺伝子群を整理し, 植物体内の窒素とリンの栄養状態をモニタリングすることができる遺伝子発現指標をそれぞれ開発した (Takehisa and Sato 2019). 窒素に関しては, 窒素欠乏時に発現が誘導される8遺伝子と発現が抑制される11遺伝子をそれぞれ窒素の指標遺伝子1と2とし, リン欠乏時に発現が誘導される13遺伝子をリンの指標遺伝子とした. 窒素の指標遺伝子1には, 分げつ形成に関与すると考えられる *OsTEF1* (Paul *et al.* 2012) や *HAP2H* (Thirumurugan *et al.* 2008), ウレアトランスポーターをコードしている *OsDUR3* (Wang *et al.* 2012) が含まれ, 窒素の指標遺伝子2には *OsGRX4* (Garg *et al.* 2010) やサイトカイニン合成酵素の一つ *OsIPT7* (Sakamoto *et al.* 2006, Kamada-Nobusada *et al.* 2013) が含まれていた. リンの指標遺伝子には, リン欠乏環境下における恒常性維持に関与する *OsSPX1* (Wang *et al.* 2009, Liu *et al.* 2010) と *OsIPS1* (Hou *et al.* 2005), さらにリン欠乏環境下における膜脂質の転換に関与しているシロイヌナズナの *MGD2*, *MGD3* (Kobayashi *et al.* 2009) と相同性が高い monogalactosyldiacylglycerol (MGDG) 合成酵素遺伝子が

含まれていた.

これらの指標を用いて圃場で生育するイネを移植から収穫時期まで経時的にモニタリングしたところ, 移植後30日目くらいに植物体内の窒素とリンの栄養状態がダイナミックに変動していることが示され, さらに複数年にわたるプロファイリングと生育調査および形態観察の結果から, それらの変動が土壌種と分げつ形成に深く関与していることを明らかにした. また, 可給態リン酸が少ない黒ボク土壌で生育させたイネは, 分げつ形成時期にリンの吸収や再配分に関わる遺伝子群を発現誘導させてリン酸獲得を促し, 隣り合う個体との競合による窒素不足を感知すると迅速にその機構を抑制させていることを示した. さらにこれらの成果は, 遺伝子発現指標のプロファイリングが, 見た目では判断が難しいリン欠乏状態のような作物の生理状態を把握するために有用であることを明らかにした. また本研究では, この栄養状態が変動する時期に着目して突然変異体のスクリーニングを実施し7月上旬から急激に枯れあがる突然変異体 *age-dependent withering1 (adw1)* を得た. *adw1* の原因遺伝子はリンの吸収を負に制御する *PHO2* で (Bari *et al.* 2006, Hu *et al.* 2011), 7月上旬まではリンを分げつ形成に優先的に使用し, 分げつ形成が停止すると葉に過剰なリンが蓄積し, 植物体全体が枯れあがるのが明らかになった. さらに *adw1* は可給態リン酸が少ない黒ボク土壌においても野生株の約10倍のリンを体内に蓄積することができることから, 今後 *PHO2* の部分欠損変異体を得ることで低リン土壌においてもリンを適度に獲得することができる育種素材の開発が期待できる.

3. おわりに

本研究では, 三大栄養素である窒素, リン酸, カリウムに関する大規模な遺伝子発現情報基盤を整備し, それを活用することで圃場における作物体内の栄養状態の変動を可視化することに成功した. これらの成果は, 環境条件を精密に再現できるグロースチャンパーと実際の圃場で生育する作物を同一のツールを用いて解析したことによって得られ, さらに, これまでの研究によって蓄積

された個々の現象や遺伝子に関する知見があったからこそ成し得たのだと強く感じている。近年、オミクス研究の進展により、栄養応答だけでなく植物の生育そのものを分子レベルで統合的に解析するための様々なツールが整備されてきている。今後圃場で生育する作物を対象としたオミクス研究を進めていくことで、圃場で起きている現象そのものを分子生理学的に理解することができ、さらに遺伝学、栽培学的研究を組み合わせることで、その成果を作物のパフォーマンス向上につなげることが可能になると考えられる。このような研究成果を積み重ねていくことで、実験室とフィールドの間にあるギャップを埋め、圃場における作物の環境適応戦略の解明、それを利用した育種・栽培管理技術の高度化に貢献していきたい。

謝 辞

本研究を遂行するにあたり、農研機構、各大学の共同研究者と関係者の方々から多大なるご支援をいただきました。特に佐藤豊博士は、それまでほとんど経験がなかったオミクス研究に飛び込んだ私に一から丁寧に指導くださり、本研究の終始にわたり甚大なるご教示とご協力をくださいました。この場をお借りして厚く御礼申し上げます。また、学生・ポストドク時代にご指導いただいた山形大学の阿部利徳先生、東北大学大学院の佐藤雅志先生、理化学研究所の阿部知子先生、農研機構の長村吉晃先生、そして日々研究を志す中で多くの助言とご協力を頂いた各研究室の皆様と関係者の方々に心より感謝申し上げます。

引用文献

Apel, K. and H. Hirt (2004) *Annu. Rev. Plant Biol.* 55: 373–399.
 Banerjee, J., N. Das, P. Dey and M.K. Maiti (2010) *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 402: 637–643.
 Banerjee, J. and M.K. Maiti (2010) *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 394: 178–183.
 Bari, R., B. Datt Pant, M. Stitt and W.R. Scheible (2006) *Plant Physiol.* 141: 988–999.
 Clark, D.G., E.K. Gubrium, J.E. Barrett, T.A. Nell and H.J. Klee (1999) *Plant Physiol.* 121: 53–59.
 Dello Ioio, R., F.S. Linhares, E. Scacchi, E. Casamitjana-Martinez, R. Heidstra, P. Costantino and S. Sabatini (2007) *Curr. Biol.* 17: 678–682.
 Dello Ioio, R., F.S. Linhares and S. Sabatini (2008) *Curr. Opin. Plant Biol.* 11: 23–27.
 Edgar, R., M. Domrachev and A.E. Lash (2002) *Nucleic Acids Res.* 30: 207–210.
 Garg, R., S. Jhanwar, A.K. Tyagi and M. Jain (2010) *DNA Res.* 17: 353–367.
 Hirota, A., T. Kato, H. Fukaki, M. Aida and M. Tasaka (2007) *Plant Cell* 19: 2156–2168.
 Hou, X.L., P. Wu, F.C. Jiao, Q.J. Jia, H.M. Chen, J. Yu, X.W. Song

and K.K. Yi (2005) *Plant Cell Environ.* 28: 353–364.
 Hu, B., C. Zhu, F. Li, J. Tang, Y. Wang, A. Lin, R. Che and C. Chu (2011) *Plant Physiol.* 156: 1101–1115.
 Hussain, A., C.R. Black, I.B. Taylor and J.A. Roberts (1999) *Plant Physiol.* 121: 1227–1237.
 Inukai, Y., T. Sakamoto, M. Ueguchi-Tanaka, Y. Shibata, K. Gomi, I. Umemura, Y. Hasegawa, M. Ashikari, H. Kitano and M. Matsuoka (2005) *Plant Cell* 17: 1387–1396.
 Jia, X., P. Liu and J.P. Lynch (2018) *J. Exp. Bot.* 69: 4961–4970.
 Kamada-Nobusada, T., N. Makita, M. Kojima and H. Sakakibara (2013) *Plant Cell Physiol.* 54: 1881–1893.
 Kim, M.J., D. Ruzicka, R. Shin and D.P. Schachtman (2012) *Mol. Plant* 5: 1042–1057.
 Kobayashi, K., K. Awai, M. Nakamura, A. Nagatani, T. Masuda and H. Ohta (2009) *Plant J.* 57: 322–331.
 Krichevsky, A., A. Zaltsman, S.V. Kozlovsky, G.W. Tian and V. Citovsky (2009) *J. Mol. Biol.* 385: 45–50.
 Lanquar, V., D. Loqué, F. Hörmann, L. Yuan, A. Böhner, W.R. Engelsberger, S. Lalonde, W.X. Schulze, N. von Wirén and W.B. Frommer (2009) *Plant Cell* 21: 3610–3622.
 Lee, S.C., W.Z. Lan, B.G. Kim, L. Li, Y.H. Cheong, G.K. Pandey, G. Lu, B.B. Buchanan and S. Luan (2007) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 104: 15959–15964.
 Liu, K.H. and Y.F. Tsay (2003) *EMBO J.* 22: 1005–1013.
 Liu, F., Z. Wang, H. Ren, C. Shen, Y. Li, H.Q. Ling, C. Wu, X. Lian and P. Wu (2010) *Plant J.* 62: 508–517.
 Loqué, D., S. Lalonde, L.L. Looger, N. von Wirén and W.B. Frommer (2007) *Nature* 446: 195–198.
 Paul, P., A. Awasthi, A.K. Rai, S.K. Gupta, R. Prasad, T.R. Sharma and H.S. Dhalwal (2012) *Funct. Integr. Genomics* 12: 291–304.
 Sakamoto, T., H. Sakakibara, M. Kojima, Y. Yamamoto, H. Nagasaki, Y. Inukai, Y. Sato and M. Matsuoka (2006) *Plant Physiol.* 142: 54–62.
 Sato, Y., B. Antonio, N. Namiki, R. Motoyama, K. Sugimoto, H. Takehisa, H. Minami, K. Kamatsuki, M. Kusaba, H. Hirochika *et al.* (2011a) *BMC Plant Biol.* 11: 10.
 Sato, Y., B.A. Antonio, N. Namiki, H. Takehisa, H. Minami, K. Kamatsuki, K. Sugimoto, Y. Shimizu, H. Hirochika and Y. Nagamura (2011b) *Nucleic Acids Res.* 39: D1141–D1148.
 Sato, Y., H. Takehisa, K. Kamatsuki, H. Minami, N. Namiki, H. Ikawa, H. Ohyanagi, K. Sugimoto, B. Antonio and Y. Nagamura (2013) *Nucleic Acids Res.* 41: D1206–D1213.
 Shin, R. and D.P. Schachtman (2004) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 101: 8827–8832.
 Shin, R., R.H. Berg and D.P. Schachtman (2005) *Plant Cell Physiol.* 46: 1350–1357.
 Smith, D.L. and N.V. Fedoroff (1995) *Plant Cell* 7: 735–745.
 Stepanova, A.N., J.M. Hoyt, A.A. Hamilton and J.M. Alonso (2005) *Plant Cell* 17: 2230–2242.
 Swarup, R., P. Perry, D. Hagenbeek, D. Van Der Straeten, G.T. Beemster, G. Sandberg, R. Bhalerao, K. Ljung and M.J. Bennett (2007) *Plant Cell* 19: 2186–2196.
 Takehisa, H., Y. Sato, M. Igarashi, T. Abiko, B.A. Antonio, K. Kamatsuki, H. Minami, N. Namiki, Y. Inukai, M. Nakazono *et al.* (2012) *Plant J.* 69: 126–140.
 Takehisa, H., Y. Sato, B.A. Antonio and Y. Nagamura (2013) *Plant Signal. Behav.* 8: e24409.
 Takehisa, H., Y. Sato, B. Antonio and Y. Nagamura (2015) *Rice* 8: 59.

- Takehisa, H. and Y. Sato (2019) *Plant J.* 97: 1048–1060.
- Thirumurugan, T., Y. Ito, T. Kubo, A. Serizawa and N. Kurata (2008) *Mol. Genet. Genomics* 279: 279–289.
- Wang, W.H., B. Köhler, F.Q. Cao, G.W. Liu, Y.Y. Gong, S. Sheng, Q.C. Song, X.Y. Cheng, T. Garnett, M. Okamoto *et al.* (2012) *New Phytol.* 193: 432–444.
- Wang, C., S. Ying, H. Huang, K. Li, P. Wu and H. Shou (2009) *Plant J.* 57: 895–904.
- Zhan, A. and J.P. Lynch (2015) *J. Exp. Bot.* 66: 2055–2065.
- Zhan, A., H. Schneider and J.P. Lynch (2015) *Plant Physiol.* 168: 1603–1615.