

## 論文の内容の要旨

森林科学 専攻

平成 13 年度博士課程 進学

氏 名 田原 恒

指導教員名 小島克己

論文題目 *Melaleuca cajuputi* のアルミニウム耐性機構

酸性硫酸塩土壌は、強酸性土壌の中でも特に pH が低く、粘土鉱物から溶出したアルミニウム (Al) が植物に有害な  $Al^{3+}$  として土壌溶液中に高濃度に含まれている。酸性硫酸塩土壌で生育可能な植物の探索は十分ではないが、フトモモ科樹木 *Melaleuca cajuputi* Powell など少数の植物が生育できることがわかっている。*M. cajuputi* などの酸性硫酸塩土壌で生育可能な植物の特性を理解することにより、酸性硫酸塩土壌での造林技術の確立に寄与するとともに、広く強酸性土壌での生物生産向上に資することができよう。本研究では、酸性硫酸塩土壌で生育可能な樹種を選抜するとともに、強酸性土壌で問題になる Al に対する樹木の反応と耐性樹種である *M. cajuputi* 耐性機構を明らかにすることを目的とした。Al によって植物に現れる最も顕著な障害は根の伸長阻害であり、根端が Al の標的部位である。植物の Al 耐性機構は、Al が根端に集積しないようにする「Al 排除機構」と根端に Al が侵入しても耐えられる「根端内 Al 耐性機構」の二つに大きく分けて考えることができる。植物の Al 耐性機構の研究は、Al 排除機構を中心になされてきており、Al と結合する有機酸を根端から分泌し、Al が根に吸収されるのを防ぐ機構が明らかになっている。一方、根端内 Al 耐性機構については、未解明な部分が多い。本研究では、*M. cajuputi* の Al 耐性機構を Al 排除機構、根端内 Al 耐性機構の両側面から解析した。

タイ国ナラティワート県に分布する酸性硫酸塩土壌に試験地を設け、植栽後 2 年間の生残と樹高成長を調べ、生育可能な樹種を選抜を行った。試験地の地下水および土壌溶液の pH

が 2.8–3.7 と非常に低く、土壌溶液の Al 濃度が 2–3 mM と非常に高かった。フトモモ科の *Eucalyptus alba* Reinw. ex Bl., *Melaleuca arcana* S.T.Blake, *M. cajuputi*, *M. leucadendra* (L.) L., *Syzygium lineatum* (DC.) Merr. & L.M.Perry, *S. oblatum* (Roxb.) A.M.Cowan & J.M.Cowan, *S. pachyphyllum* (Kurz) Merr. & L.M.Perry, *S. scortechinii* (King) Chanter & J.Parn., *S. zeylanicum* (L.) DC., マメ科の *Acacia mangium* Willd., フジウツギ科の *Fagraea fragrans* Roxb. の 11 種は、活着率がよく樹高成長量も大きく、酸性硫酸塩土壌で生育可能だった。*E. camaldulensis* Dehn. は活着率は高かったが、次第に枯死個体が増加し成長量も低下した。*M. bracteata* F.Muell. は植栽 2 年後までにすべて枯死し、酸性硫酸塩土壌での生育には適していないと考えられた。

*Melaleuca* 属と *Eucalyptus* 属の 9 種の Al 耐性を評価するために、植物育成装置内で水耕実験を行った。1 mM  $\text{AlCl}_3$  の培養液 (pH 4.0) で 24 時間処理し、根の伸長阻害によって Al 耐性を評価した。その結果、*M. cajuputi*, *M. leucadendra*, *M. quinquenervia* (Cav.) S.T.Blake, *E. deglupta* Bl., *E. grandis* W.Hill ex Maiden の 5 種は根の伸長が阻害されず 1 mM の Al に耐性があり、*M. bracteata*, *M. glomerata* F.Muell., *M. viridiflora* Sol. ex Gaertner, *E. camaldulensis* の 4 種は根の伸長が阻害され 1 mM の Al に耐性がないことがわかった。Al による 9 種の根端へのカロース (1,3- $\beta$ -D-グルカン) の沈着量と、根の伸長の間に関係が認められた。このことは、カロースが種間の Al 耐性比較の指標として利用できる可能性を示している。次に、*M. cajuputi*, *E. camaldulensis*, *M. bracteata* の 3 種について Al 濃度を 6 段階設け (0.1, 0.2, 0.5, 1, 2.5, 5 mM)、5 日間処理し Al 耐性を調べた。*E. camaldulensis* は 2.5 mM 以上の Al で、*M. bracteata* は 0.2 mM 以上の Al で根の伸長が阻害された。*M. cajuputi* は 5 mM Al でのみ根の伸長が阻害され、非常に高い Al 耐性を持っていることがわかった。

*Melaleuca cajuputi* の極めて高い Al 耐性が Al 排除機構によるものであるかどうかを明らかにすべく、根からの Al 結合性物質の分泌について調べ、Al 耐性がより低い *E. camaldulensis*, *M. bracteata* と比較した。1 mM Al の 0.35 mM  $\text{CaCl}_2$  溶液 (pH 4.0) に根を 24 時間浸け、根からの分泌物を採取し分析した。3 種ともクエン酸とリンゴ酸を分泌しており、*E. camaldulensis* ではシュウ酸も分泌していた。しかし、*M. cajuputi* のクエン酸とリンゴ酸の分泌量は、Al 感受性種 *M. bracteata* よりも少なく、また、有機酸を分泌して Al 耐性を得ている既知の種と比べて分泌量が小さいことから、有機酸の分泌は *M. cajuputi* の主要な Al 耐性機構ではないと考えられた。Al 結合能力を持つリン酸の分泌は、*M. bracteata* が *M. cajuputi* と *E. camaldulensis* よりも多く、*M. cajuputi* と *E. camaldulensis* の主要な Al 耐性機構とは考えられなかった。Al 結合能力を持つフェノール物質の根からの分泌量は、*E. camaldulensis* > *M. cajuputi* > *M. bracteata* の順で多かった。従って、*E. camaldulensis* では、根からのフェノール物質の分泌が Al 耐性に寄与している可能性があり、*M. cajuputi* では主要な Al 耐性機構ではないと考えられた。また、*E.*

*camaldulensis* では、Al によって分子量 500 程度の Al 結合性物質の分泌量が増えることが、ピロカテコールバイオレット比色法による Al 結合性物質の定量ならびにゲル濾過法による分泌物の分画により明らかになった。Al に反応した Al 結合性物質の分泌が *E. camaldulensis* の Al 耐性に寄与している可能性がある。しかし、*M. cajuputi* では、*M. bracteata* よりも Al 結合性物質の分泌量が小さく、Al 耐性に Al 結合性物質の分泌は関与していないと考えられた。

感受性種 *M. bracteata* の Al 障害発生までの時間を調べたところ、*M. bracteata* では 1 mM Al 処理 3 時間で根の伸長阻害と根端へのカロール沈着が観察された。これらの現象は *M. cajuputi* では観察されず、*M. cajuputi* と *M. bracteata* の耐性の違いは 3 時間で現れることがわかった。もし、*M. cajuputi* の Al 耐性が Al 排除機構によるものであれば、Al 処理開始 3 時間で *M. cajuputi* と *M. bracteata* の根端の Al 濃度に違いが現れるはずである。そこで、1 mM Al の 0.35 mM  $\text{CaCl}_2$  溶液に 2 種の根を浸け、根端 5 mm に取り込まれる Al 量を比較した。処理開始 1 時間後の根端の Al 濃度は、*M. cajuputi* のほうが *M. bracteata* よりも高く、3 時間と 6 時間後の Al 濃度は、*M. cajuputi* と *M. bracteata* で同程度だった。この結果から、*M. cajuputi* の Al 耐性は Al 排除機構によるものではなく、根端内 Al 耐性機構によるものであることが明らかになった。Al 処理をした 2 種の根端の Al を細胞膜を破壊してから 1 mM クエン酸ナトリウムと 5 mM  $\text{CaCl}_2$  を含む溶液で抽出した。*M. cajuputi* では抽出されずに残る Al が *M. bracteata* よりも少なかった。このことは、根端に強く結合した Al が *M. cajuputi* で *M. bracteata* よりも少ないこと、つまり、2 種で根端内での Al の存在形態が異なっていることを示している。*M. cajuputi* では Al が根端内で有機酸やフェノール物質などと強く結合して無害化されていることが考えられる。*M. cajuputi* の根全体のクエン酸濃度は、24 時間の 1 mM Al 処理後、*M. bracteata* の約 4 倍であり、このことが *M. cajuputi* の Al 耐性に寄与している可能性がある。しかし、根端の可溶性フェノール物質の濃度は樹種による違いがなかった。

酸性硫酸塩土壌の土壌溶液に、*M. bracteata* などの Al 耐性の低い樹種が障害を受けるのに十分な Al が含まれていた。酸性硫酸塩土壌で *M. bracteata* が生育できなかった原因の一つは過剰な Al によるものであり、酸性硫酸塩土壌に植栽する樹木は、高い Al 耐性を持つことが必要条件であると言える。植物の Al 障害の研究に主に用いられている作物やモデル植物が 1–50  $\mu\text{M}$  の Al で根の伸長が阻害されることと比べると、1 mM の Al に耐性を示した 5 種は高い Al 耐性を有しており、中でも 2.5 mM の Al に耐性を示した *M. cajuputi* は Al 耐性が極めて高いと言える。*Melaleuca* 属に 0.2 mM Al で根が著しく根の伸長が阻害される種 *M. bracteata* を見だし、Al 耐性の大きく異なるこの近縁 2 種を比較することによって *M. cajuputi* の Al 耐性機構を解析した。その結果、*M. cajuputi* の Al 耐性は、有機酸分泌などによる既知の Al 排除機構によるものでなく、根端内 Al 耐性機構によるものであることが明らかになった。