

機関番号：12601  
 研究種目：若手研究（A）  
 研究期間：2008～2010  
 課題番号：20688006  
 研究課題名（和文） 木本植物に発達した高効率な有機酸放出を可能にする新奇アルミニウム  
 防御機構の解明  
 研究課題名（英文） Novel Aluminum-defense Mechanisms of Woody Plants in Making  
 Efficient Excretion of Organic Anions  
 研究代表者  
 大澤 裕樹（OSAWA HIROKI）  
 東京大学・大学院農学生命科学研究科・助教  
 研究者番号：90401182

研究成果の概要（和文）: 本研究では、クスノキが高いアルミニウム耐性を有することを発見するとともに、この種を用いて世界で初めて根のプロアントシアニジン集積特性を明らかにした。さらにプロアントシアニジン集積細胞の局在やプロファイル解析を通じて、増殖過程のプロアントシアニジン集積細胞からの根端表層の交代が植物の高アルミニウム耐性機構の生理基盤となることを初めて示した。

研究成果の概要（英文）: Aluminum (Al) is a major harmful metal that inhibits plant growth in acid soils, especially in marginal lands of tropic region where low soil pH strengthens its toxicity. Although the physiological and molecular background of Al resistance of most crop species is now well understood, there is a great lack of understanding of the mechanisms of Al resistance in the strongest Al-resistant crops and plant species. We have evaluated the mechanisms of a high Al resistance of several woody plant species, focusing on phenolic compounds that accumulate in root apices. Phenotypic observation with camphor tree (*Cinnamomum camphora*) roots, which show strong Al-resistance with small citrate release, has identified proanthocyanidins (PAs) accumulate in the innermost cell layer of lateral root cap. The cell profiling has revealed that PA-accumulating cells in the root elongation zone protect the underlying root cells from Al accumulation and thus from Al-induced inhibition of cell expansion in camphor tree. These results suggest that PA accumulation in root apex of some woody plants may function as an effective barrier to shield the expansion of inner cells against Al. These findings provide a novel strategy that inducing PA accumulation in the root apex may potentiate the long-term and high Al resistance in plants.

## 交付決定額

（金額単位：円）

|        | 直接経費      | 間接経費      | 合計        |
|--------|-----------|-----------|-----------|
| 2008年度 | 1,700,000 | 510,000   | 2,210,000 |
| 2009年度 | 2,800,000 | 840,000   | 3,640,000 |
| 2010年度 | 1,800,000 | 540,000   | 2,340,000 |
| 年度     |           |           |           |
| 年度     |           |           |           |
| 総計     | 6,300,000 | 1,890,000 | 8,190,000 |

研究分野：造林学・樹木生理学

科研費の分科・細目：森林学・森林科学

キーワード：アルミニウム、酸性土壌、プロアントシアニジン、根、フラボノイド、ボーダーセル

1. 研究開始当初の背景：時に数千年もの長 | 期にわたり、木本植物の根は、自身の巨大な

バイオマスを支持しながら個体の生命を維持するため、物理的および生理的に必要な機能を発達させている。この支持プロセスの発現は、1年生作物根にとって困難な、不良土壌、沙漠、凍土、鋳物土層や高地といった、生物生産の限界地の環境でも常に行われている。これらの環境応答の顕著な一例は、多くの樹木が1年生作物にとって致死となる高いアルミニウム(Al)濃度条件においても生育抑制の小さい高いAl耐性を示すことに求められる(Tahara et al. 2005, Tomioka et al. 2005, Osawa et al. 2006)。Alは、酸性土壌で根伸長を短時間で阻害して植物の成長を制限する。短時間で発現するこの制限は、根端で分裂した細胞の伸長をAlが阻害することに起因する(Ryan et al. 1993)。この阻害を防ぐ有力な方策の1つは、Al結合性の有機酸を根から放出してAl毒性を緩和する耐性機構の発揮であり(Ryan et al. 2001)、近年有機酸の輸送体候補が同定されつつある(Sasaki et al. 2004, Ma et al. 2007, Magalhaes et al. 2007)。しかし、Alに放出される有機酸に関して、長期間や高濃度のAlストレスに対する有効性や、量もしくは質(Alとの結合力)のいずれによって耐性を決定するか不明な点が多い。一方、強酸性土壌フィールドでも樹木のAl障害が検出されにくい(Vanguelova et al. 2007)点や、栽培実験による処理期間や培養液組成の違いから木本植物と1年生作物とのAl耐性を直接比較しにくい点から、木本植物の高Al耐性とその機構について不明な点が多い。また、エネルギー基質となる有機酸を過剰に放出することによる損失の問題や、放出有機酸が根圏微生物にすみやかに分解される(Jones et al. 1996)といったAl誘導性の有機酸放出についての負の効果の説明する有力な学説は現在まで得られていない。

2. 研究の目的：木本植物の高Al耐性機構の解析により、クエン酸放出を増強させる因子やクエン酸放出以外のAl耐性に関与する原因物質候補を絞り込み、同定する。非ストレス時の木本植物の根に特徴的な分裂組織細胞の分化及び伸長機構について、根端の分裂細胞の分化と機能の発達過程を明確にするとともに、Al応答性の根端組織の役割を明らかにする。これらの解析の実施により、植物の高Al耐性や樹木根の根系発達や成長特性のよりよい理解に貢献することを目標とする。

3. 研究の方法：高Al耐性を示すクスノキにおいて、Al応答性のクエン酸放出の放出特性を解析した。短時間の根伸長を規定する根端の細胞伸長域を1年生作物を用いて比較した。根圏でのクエン酸の保持能や再回収能

に着目して、少ないクエン酸放出によるAl耐性を増強させる機構の有無を検討した。樹木根の細胞伸長域特異的な褐変物質の集積や細胞壁特性に着目して、クエン酸放出以外のAl耐性機構の可能性を検討した。一方、高Al耐性の木本植物根に発達する二次代謝産物がAl耐性に果たす役割、さらには根端の成長と維持に及ぼす役割を明らかにするため、フラボノイド生成機構と生理機能を検証する栽培実験を行った。

4. 研究成果：組織化学染色を用いた細胞学解析により、クスノキ根端に集積するプロアントシアニジンと同定した。その結果、クスノキ根に集積するプロアントシアニジンは、表皮細胞に隣接する側根冠の最内層細胞列に限定され、根の細胞分裂域途上より集積が開始することを明らかにした。さらに、このプロアントシアニジン集積細胞は細胞伸長開始間もなく扁平柔細胞となり一部を残して消失することがわかった。高速液体クロマトグラフィー/質量分析装置を用いた解析の結果、これらのプロアントシアニジンがカテキンを構成単位とする重合体であることを明らかにした。クスノキ根の伸長を指標とするアルミニウム施用試験により、一年生の耐性作物が抑制される濃度の50倍濃度以上のアルミニウムイオンに長期間耐性であることを示した。解析の結果、クスノキ根の高アルミニウム耐性はアルミニウム排除型である一方、ダイズを用いた耐性比較からクエン酸放出が原因でないことを明らかにした。続いて、根伸長ならびに根端細胞のプロファイル解析により、高濃度アルミニウム存在下でもプロアントシアニジン集積細胞の分裂と伸長開始が維持されて表皮細胞の伸長過程が保たれることを明らかにし、表皮細胞の伸長域が根伸長域の少ないアルミニウム抑制と空間的に対応することを示した。さらに、根伸長のバイオアッセイにより、感受性植物根のアルミニウム集積がクスノキ根のプロアントシアニジンの構成単位となるカテキンによって著しく抑制されることを示した。これらの解析結果は、根集積性のプロアントシアニジンがアルミニウムストレス耐性において重要な役割を担うことを示唆する。

#### 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計6件)

1. Osawa H, Ikeda S, Tange T (2012) The rapid accumulation of aluminum is ubiquitous in both the evergreen and deciduous leaves of Theaceae and Ternstroemiaceae plants over a wide pH range in acidic soils. *Plant and Soil*, in

press. 査読有

2. Osawa H, Endo I, Hara Y, Matsushima Y, Tange T (2011) Transient proliferation of proanthocyanidin-accumulating cells on the epidermal apex contributes to highly aluminum-resistant root elongation in camphor tree. *Plant Physiology* 155: 433-446. 査読有

3. Endo I, Tange T, Osawa H (2011) A cell-type-specific defect in border cell formation in the *Acacia mangium* root cap developing an extraordinary sheath of sloughed-off cells. *Annals of Botany* 108: 279-290. 査読有

4. Tange T, Yanaga K, Osawa H, Masumori M (2009) Effects of evening and nighttime leaf wetting on stomatal behavior of *Cryptomeria japonica* growing in dry soil. *Photosynthetica* 47: 313-316. 査読有

5. Endo I, Tange T, Osawa H (2009) The protective role of a unique tissue detachment on root cap cells in a strong aluminum-resistant tree *Acacia mangium*. *The Proceedings of the International Plant Nutrition Colloquium XVI*, <http://escholarship.org/uc/item/3028n08z> 査読有

6. Osawa H, Matsushima Y, Tange T (2009) Long-term and highly aluminum-resistant root elongation in a camphor tree *Cinnamomum camphora*. *The Proceedings of the International Plant Nutrition Colloquium XVI*, <http://escholarship.org/uc/item/5x71985r> 査読有

〔学会発表〕(計20件)

1. 大澤裕樹 (2012) Transient proliferation of proanthocyanidin-accumulating cells on the epidermal apex contributes to highly aluminum-resistant root elongation in camphor tree. 第123回 日本森林学会大会, 2012年3月26-28日, 宇都宮大学, 宇都宮市 (受賞講演)

2. 大澤裕樹・遠藤いず貴・丹下健 (2012) 木本性種の根端細胞におけるプロアントシアニジン局在の細胞学的解析, 第123回 日本森林学会大会, 2012年3月26-28日, 宇都宮大学, 宇都宮市

3. Osawa H, Endo I, Hara Y, Matsushima Y, Tange T (2011) The roles of flavonoid accumulation on strong aluminum-resistance in roots of woody plants. 3rd Japan-China Joint Workshop on Plant Nutrition, 2011年3月27-29日, 倉敷芸文館, 倉敷市

4. 大澤裕樹・池田信輔・松島雄紀・丹下健 (2011) 木本植物におけるプロアントシアニジンとアルミニウムの空間集積性の解析, 第122回 日本森林学会大会, 2011年3月25-28日, 静岡大学, 静岡市

5. 大澤裕樹・池田信輔・松島雄紀・丹下健 (2010) ツバキ科種のアルミニウム移行集積とプロアントシアニジン集積の関連解析, 日本土壌肥料学会 2010年度北海道大会, 2010年9月6-8日, 北海道大学, 札幌市

6. 原有香里・大澤裕樹・丹下健 (2010) 高アルミニウム耐性を分けるメラルーカ根端集積性プロアントシアニジンの構成解析, 日本土壌肥料学会 2010年度北海道大会, 2010年9月6-8日, 北海道大学, 札幌市

7. 遠藤いず貴・大澤裕樹・丹下健 (2010) 高アルミニウム耐性に関連した樹木根の新規ボーダーセルの生理・生化学特性の解析, 日本土壌肥料学会 2010年度北海道大会, 2010年9月6-8日, 北海道大学, 札幌市

8. 大澤裕樹・松島雄紀・池田信輔・丹下健 (2010) 木本植物におけるプロアントシアニジン集積の組織特異性, 第121回 日本森林学会大会, 2010年4月2-5日, 筑波大学, つくば市

9. 遠藤いず貴・大澤裕樹・丹下健 (2010) *Acacia mangium* における根からのプロアントシアニジン細胞離脱の形式と役割, 第121回 日本森林学会大会, 2010年4月2-5日, 筑波大学, つくば市

10. 原有香里・大澤裕樹・丹下健 (2010) 高アルミニウム耐性メラルーカ根のプロアントシアニジン集積パターンと組成解析, 第121回 日本森林学会大会, 2010年4月2-5日, 筑波大学, つくば市

11. 松島雄紀・大澤裕樹・丹下健 (2009) 木本植物根における高アルミニウム耐性とフラボノイド集積との関連性解析, 日本土壌肥料学会 2009年度京都大会, 2009年9月15-17日, 京都大学, 京都市

12. 遠藤いず貴・大澤裕樹・丹下健 (2009)

高アルミニウム耐性樹木 *Acacia mangium* の根端から離脱する組織の系列解析, 日本土壤肥料学会 2009 年度京都大会, 2009 年 9 月 15-17 日, 京都大学, 京都市

13. Endo I, Tange T, Osawa H (2009) The protective role of a unique tissue detachment on root cap cells in a strong aluminum-resistant tree *Acacia mangium*, The Proceedings of the International Plant Nutrition Colloquium XVI, Aug 26-30, 2009, Sacramento, CA

14. Osawa H, Matsushima Y, Tange T (2009) Long-term and highly aluminum-resistant root elongation in a camphor tree *Cinnamomum camphora*. The Proceedings of the International Plant Nutrition Colloquium XVI, Aug 26-30, 2009, Sacramento, CA

15. 大澤裕樹 (2009) 木本植物に固有な高アルミニウム耐性機構, 第 18 回バイオ林木育種研究会, 2009 年 3 月 28 日, 京都大学, 京都市 (招待講演)

16. 遠藤いず貴・大澤裕樹・丹下健 (2009) *Acacia mangium* 根端における組織離脱の細胞系列解析, 第 120 回日本森林学会大会, 2009 年 3 月 26-28 日, 京都大学, 京都市

17. 松島雄紀・大澤裕樹・丹下健 (2009) 木本根端のフラボノイド集積とアルミニウム耐性の網羅的解析, 第 120 回日本森林学会大会, 2009 年 3 月 26-28 日, 京都大学, 京都市

18. 大澤裕樹・松島雄紀・遠藤いず貴・丹下健 (2009) アルミニウム耐性の異なる樹木根のフラボノイドの生化学解析, 第 120 回日本森林学会大会, 2009 年 3 月 26-28 日, 京都大学, 京都市

19. 遠藤いず貴・大澤裕樹・丹下健 (2008) アルミニウム耐性を示す *Acacia mangium* 根端で離脱する組織の形成過程の解析, 日本土壤肥料学会 2008 年度愛知大会, 2008 年 9 月 9-13 日, 名古屋市立大, 名古屋市

20. 大澤裕樹・遠藤いず貴・松島雄紀・丹下健 (2008) クスノキ根端のアルミニウム耐性表皮の形態形成解析, 日本土壤肥料学会 2008 年度愛知大会, 2008 年 9 月 9-13 日, 名古屋市立大, 名古屋市

〔その他〕  
ホームページ等

<http://silva.fr.a.u-tokyo.ac.jp/>

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

大澤 裕樹 (OSAWA HIROKI)  
東京大学・大学院農学生命科学研究科・助教  
研究者番号: 90401182

### (3) 連携研究者

丹下 健 (TANGE TAKESHI)  
東京大学・大学院農学生命科学研究科・教授  
研究者番号: 20179922

小島 克己 (KOJIMA KATSUMI)  
東京大学・アジア生物資源環境研究センター・教授  
研究者番号: 80211895