

平成 22 年 5 月 1 日現在

研究種目： 若手研究(B)  
 研究期間： 2008 ～ 2009  
 課題番号： 20780114  
 研究課題名(和文) 樹木成長におけるアルミニウムの有用性とそのメカニズムの解明  
 研究課題名(英文) Investigation of advantageous of aluminum for tree growth and the growth mechanism induced by aluminum.

研究代表者  
 富岡 利恵 (Rie Tomioka)  
 名古屋大学・大学院生命農学研究科・助教  
 研究者番号：40456588

研究成果の概要(和文)：アルミニウムによる樹木根成長促進メカニズムを明らかにすることを目的に窒素代謝、植物ホルモンに着目し研究を行った。植物材料に2カ月生のコナラの実生苗を用い、水耕栽培にてアルミニウム処理実験を行った。根にアルミニウムが作用することにより、根細胞中のオーキシシン濃度が高い濃度に保たれ、硝酸還元酵素活性が高まり、その結果、根の伸長成長、側根形成が促進されることが示唆された。

研究成果の概要(英文)：The research was carried out to clarify the mechanism of root growth stimulation induced by rhizospheric aluminum in woody plant root. Using *Quercus serrata* seedling grown hydroponically, auxin concentration and activity of nitrate reductase in root treated aluminum were higher than those of control. It was considered that stimulation of root growth induced by aluminum might be as results of these phenomena.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	2,500,000	750,000	3,250,000
2009年度	800,000	240,000	1,040,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野：農学

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 根成長 コナラ

## 1. 研究開始当初の背景

アルミニウムは地殻を構成している元素の中で最も多量に存在する金属である。そのアルミニウムが土壌の酸性化によってイオ

ン化し、土壌溶液中に溶出する。土壌溶液中に過剰に存在するアルミニウムイオンが植物に毒性を示すことが広く知られており、酸性土壌における植物成長の限定要因だと考

えられている。アルミニウム毒性メカニズムや耐性メカニズムについての研究、遺伝子組み換え作物や樹木の創出に関する研究が数多くなされている。アルミニウムに対する負の影響に関する数多くの研究報告の一方で、チャの木や熱帯の強酸酸性土壌に生育する *Melaluca* など、アルミニウム蓄積植物において、アルミニウム処理により成長促進が報告されている。また、アルミニウム蓄積植物でなくても、ある濃度範囲のアルミニウムを根に処理することにより、樹木根や地上部のバイオマスが増加するという報告がある。

陸生植物は、土壌に根をはり、土壌から栄養を吸収し、その生命を保っている。根の呼吸活動や、根からの分泌物の作用により、根の近傍はその周辺土壌より pH が低くなっている。好む、好まざるにかかわらず、植物の根近傍にはアルミニウムイオンが存在し、他の栄養塩類とともに、アルミニウムを吸収している。実際に、ほとんどの陸上植物でその地下部と地上部にアルミニウムが検出される。進化の過程を考えると、たとえば、生物が地球の海に誕生し、シアノバクテリアの活動によって、海水中や大気中の酸素濃度が増加し続けるなか、生物にとって有害であった酸素から身を守り、反対に酸素を利用し、生命を維持する生き物が現れた。このように、植物が陸上へ上がり、大地に根をはり、地殻の表面から栄養を摂取することは、地殻中に存在する元素をその生命維持活動に支障がないように取り入れ利用できる能力が必要であったと考える。また、陸域での生存を有利にするために、海中には大量に存在していない元素をその成長に利用するようになったのではないかと考える。

申請者のこれまでの研究より、日本の二次林に広く見られるアルミニウム蓄積植物ではないコナラ、クヌギ、クス、ヒノキ、モミにおいて、ある範囲の濃度のアルミニウム処理により、その成長が促進されることを見出し、アルミニウムの樹木成長への役割について次の点を明らかにしてきた。

(1)アルミニウムが接触した根組織で細胞分裂や窒素代謝等が活性化され、根細胞の生理活性が高まる結果、根の成長が促進される。また、それは短期的な効能だけでなく恒常的に体内の生理活性を高めるような役割を持っている。

(2)根における代謝の活性化や成長の促進が地上部の代謝機能を高め、光合成などの生理活性が高まり、個体全体の成長が促される。

## 2. 研究の目的

これまでの研究結果より、ある濃度範囲において、根圏のアルミニウムの存在によって樹木の根はその成長が促進されることを確認した。樹木根のアルミニウムによる成長促

進メカニズムに焦点をあて、植物にとってアルミニウムがその成長に重要な要因であることを明らかにすることを目標とし、根の窒素代謝、ホルモン濃度の変化に着目し、実験を行った。

## 3. 研究の方法

名古屋大学構内の二次林において、コナラ (*Quercus serrata* Thunb.) の種を採取し、水耕栽培で育てた 2 カ月生の実生苗を材料に使用した。

最初に根細胞から粗酵素液を抽出し、窒素代謝に関わる酵素(硝酸還元酵素、亜硝酸還元酵素、グルタミン合成酵素)の測定方法の確立をした。

水耕溶液に塩化アルミニウムを添加し、21 日間の窒素同化に関わる酵素活性の変化を測定した。複数回行い、再現性を確かめた。

また、これまでの研究で根成長促進において、アルミニウムが「引き金」的役割を果たしていることが明らかとなっていることや、土壌中のアルミニウムイオンの存在は不均一であり、実際の土壌での根とアルミニウムの接触は断続的であることから、根をアルミニウム溶液に一時間暴露し、その後の窒素代謝の変化と根中の植物ホルモン濃度(オーキシン、サイトカイニン)変化、根成長の変化を測定した。

## 4. 研究成果

窒素代謝に関わる酵素の酵素活性測定法の確立を行った。作物種を材料にした既報の方法を参考に酵素活性測定法を試みたところ、樹木根の場合は作物の根とは大きく異なり、タンパク質の量が少ないことや、樹木特異的な酵素活性阻害分子が存在することが明らかとなった。緩衝溶液、プロテアーゼ阻害剤の検討、阻害物質除去方法、酵素タンパク精製の検討を行い、信頼度の高い方法を確立した。

2.5 mM の塩化アルミニウムを添加した培養液にコナラの根を 21 日間暴露した。3、7、14 日後または 3、6、9、12、15、21 日後に苗を回収し、根の硝酸還元酵素、亜硝酸還元酵素、グルタミン合成酵素活性を測定した。処理 3 日後から硝酸還元酵素活性は対照区よりも活性が高くなることが明らかとなった。亜硝酸還元酵素、グルタミン合成活性へのアルミニウムの影響は明瞭ではなかった。

21 日間アルミニウム処理をした根細胞中の硝酸還元酵素の基質濃度の変化に対する活性の変化を調べ、ミカエリス定数(Km)、最大反応速度(Vmax)を求めた。その結果、アルミニウム処理によって、硝酸還元酵素の Km 値の低下、Vmax の増加が認められた(図 1)。この結果から、アルミニウム処理した根細胞中の硝酸還元酵素活性が対照区よりも高い

要因は、硝酸還元酵素と基質である硝酸との親和性の増加、阻害物質の減少ならぬ activator の増加、酵素タンパク質の増加が関係していることが示唆された。この結果を2009年7月に Plant Biology2009 で発表した。

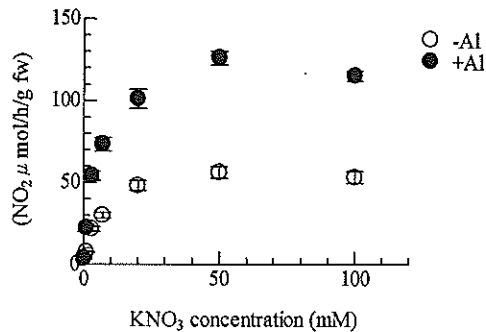


図1. アルミニウム処理21日後の根から抽出した硝酸還元酵素の硝酸濃度の変化に対する活性の変化。

複数回の実験より、根の硝酸還元酵素はアルミニウム処理により活性化されるが、その下流の亜硝酸還元酵素、グルタミン合成酵素の活性は2週間のアルミニウム処理では影響を受けないことが明らかとなった。

実生苗の根を一時間 2.5 mM 塩化アルミニウム溶液に暴露し、その後、アルミニウムを含まない培養液にもどし、1, 2, 3日後の硝酸還元酵素活性の変化、根伸長に関わる植物ホルモンのオーキシシンとサイトカイニンの根中の濃度変化と根の伸長を調べた。その結果、処理から1日経過後、アルミニウム処理した根の硝酸還元酵素活性が対照区の個体の根よりも高くなることが明らかになった。

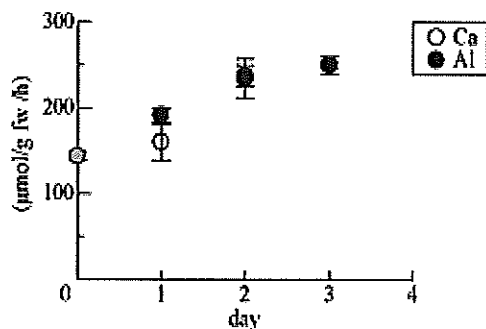


図2. 一時間の 2.5 mM 塩化アルミニウム(Al) または 4.2 mM 塩化カルシウム(Ca) 処理から 1, 2, 3 日後の根の硝酸還元酵素活性。

また、細胞内オーキシシン濃度は対照区個体

の根では処理経過後減少するが、アルミニウム処理個体の根では処理前の濃度を維持していた。アルミニウム処理個体の根において、処理後オーキシシン酸化分解物質であるアスパラギン酸縮合体が検出されなかったことから、アルミニウム処理個体の根に見られたオーキシシン濃度の維持はアルミニウム処理によってオーキシシンの酸化分解がなんらかの要因によって抑制されていることによることが示唆された。

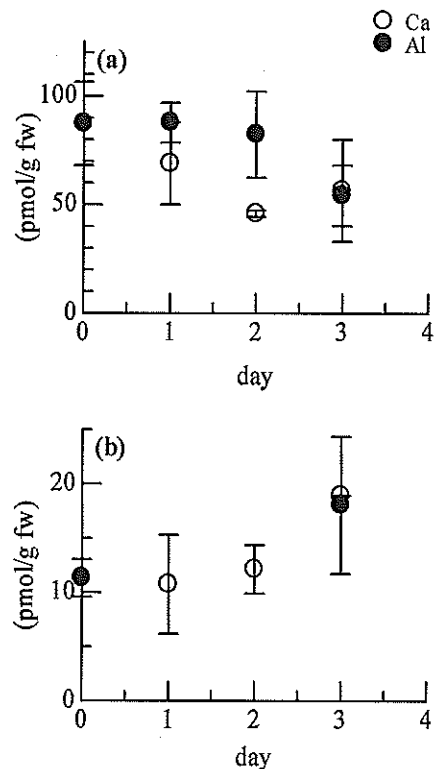


図3. 一時間の 2.5 mM 塩化アルミニウム(Al) または 4.2 mM 塩化カルシウム(Ca) 処理から 1, 2, 3 日後の根のオーキシシン(a)とアスパラギン酸縮合体(b)の濃度変化。

以上の結果から、アルミニウムによる根伸長は硝酸還元酵素活性化と、オーキシシン濃度が高い濃度で維持されることによって起こることが示唆された。

##### 5. 主な発表論文等

[学会発表] (計 1 件)

Rie Tomioka, Tezuka Takafumi, Chisato Takenaka. Effect of rhizospheric Al on

nitrogen metabolism in root of *Quercus serrata* Thunb. 2009年7月18-22日アメリカ合衆国ハワイ

6. 研究組織

(1) 研究代表者

富岡 利恵 (Rie Tomioka)

名古屋大学・大学院生命農学研究科・助教

研究者番号：40456588