Melaleuca cajuputi のアルミニウム耐性機構

田原　恒

目次

第 1 章　背景 3
1.1　“強い”酸性土壌において植物の生育を阻害する要因 3
1.2　アルミニウムによる植物の生育阻害 4
1.3　植物のアルミニウム耐性機構 9
1.4　酸性硫酸塩土壌における造林 13
1.5　*Melaleuca cajuputi* のアルミニウム耐性 15
1.6　本論文の目的と構成 17

第 2 章　酸性硫酸性土壌における造林樹種の選抜 21
2.1　はじめに 21
2.2　材料と方法 23
試験地 23
苗木 23
植栽 24
生残と樹高および葉の元素の測定 24
地下水および土壌溶液の採取、分析 25
2.3　結果 27
土壌溶液と地下水の溶質濃度 27
生残と成長 27
葉の元素濃度 28
2.4　考察 35

第 3 章　*Melaleuca* 属と *Eucalyptus* 属樹木のアルミニウム耐性の評価 38
3.1　はじめに 38
3.2　材料と方法 41
植物材料 41
24 時間アルミニウム処理(実験 1) 41
根端のカロースの測定 42
根端のリグニンの測定 43
根端のアルミニウムの測定 44
20 日間アルミニウム処理(実験 2) 44
葉と茎、根のアルミニウムの測定 45
用量反応試験(実験 3) 45
統計分析 45
3.3　結果 48
24 時間アルミニウム処理における根の伸長 48
24 時間アルミニウム処理における根端のカロース、リグニン、アルミニウム濃度 48
根の伸長と根端のカロース、リグニン、アルミニウム濃度の関係 49
20 日間アルミニウム処理における根の伸長と乾重 49
20 日間アルミニウム処理における葉、茎、根のアルミニウム濃度 50
用量反応試験における根の伸長 50
用量反応試験における樹高と乾重 50
3.4　考察 62

第 4 章　根からのアルミニウム結合性物質の放出 67
4.1　はじめに 67
4.2　材料と方法 69
植物材料 69
根からの放出物の採取 69
有機酸、リン酸の測定 69
全有機炭素、元素の測定 71
フェノール物質の測定 71
アルミニウム結合能力の評価 72
ゲル濾過クロマトグラフィーによるアルミニウム結合性物質の分離 72
統計分析 72
4.3　結果 74
根からのカリウム、カルシウム、マグネシウム、鉄の放出 74
根からの有機酸の放出 74
根からのリン酸、フェノール物質の放出と放出物の全有機炭素 75
根からの放出物のアルミニウム結合能力 75
根から放出されたアルミニウム結合性物質の分離 76
4.4　考察 82

第 5 章　根端内でのアルミニウム耐性機構 86
5.1　はじめに 86
5.2　材料と方法 89
植物材料 89
根の伸長の測定 89
根端のカロースとリグニンの測定 89
根端のアルミニウムの測定 90
プロトプラストでのカロース生成の検出 90
根の有機酸の測定 92
根端のフェノール物質の測定 92
根端の脂質過酸化の測定 93
根端の活性酸素種の検出 94
統計分析 94
5.3　結果 95
根の伸長阻害と根端へのカロースとリグニンの蓄積 95
根端へのアルミニウムの集積 95
根端から単離したプロトプラストでのカロース生成 96
根の有機酸とフェノール物質 96
根端での脂質過酸化とスーパーオキシドの蓄積 97
5.4　考察 109

第 6 章　*Melaleuca cajuputi* のアルミニウム耐性機構 115

謝辞 120

引用文献 121

第1章　背景

1.1 “強い”酸性土壌において植物の生育を阻害する要因

酸性土壌とは、土壌溶液が炭酸以外の物質によって酸性を呈する土壌である(吉田 1984)。岡川(1984)によれば、酸性土壌の中でも特に酸性によって作物の栽培に問題がでるような“強い”酸性土壌には以下のようなものがある(名称は FAO/Unesco の分類体系による)。強い風化作用を受け、塩基不飽和による鉱質酸性を呈するフェラルソルやアクリソル、塩基不飽和有機物によって酸性を呈するポドゾルやヒストソル、パイライトの酸化で生ずる硫酸によって酸性を呈するチオニックフルビソル(酸性硫酸塩土壌)、火山灰に由来するアンドソル、易風化性鉱物のほとんど存在しない石英質の材料に由来するアレノソルなどがある。これらの“強い”酸性土壌は世界に 34 億 ha 存在するという(岡川 1984)。この面積は、永久凍土などを除いた世界の農業利用可能陸地面積の 30.7%に相当する(岡川 1984)。

但野・安藤(1984)は、作物における知見を基にして、“強い”酸性土壌において植物の生育を阻害する要因として以下のようなものを挙げている。水素イオンの害、アルミニウム(Al)やマンガンの過剰害、リンの不足、カルシウム(Ca)、マグネシウム、カリウムなどの塩基の不足、亜鉛、ホウ素、銅、モリブデンなどの微量元素の不足、硝酸化成、窒素固定作用などの不良などである。ヒストソルでは、Al とマンガンイオンは非常に少なく(岡川 1984)、窒素やリン、カリウム、カルシウム、マグネシウム等の多中量元素に加えて微量元素の含量や可給性に問題がある(久馬 1984)。アレノソルでは、酸性土壌による要因よりも水の不足などの方が強い阻害要因となることが多い(岡川 1984)。阻害要因の相対的強度は土壌ごとに異なっている上に、各要因は相互に複雑に関連しているが、ヒストソルとアレノソルを除く多くの“強い”酸性土壌で、アルミニウムの過剰害が深刻な問題となる(三枝 1994)。従って、“強い”酸性土壌での生物生産に用いられる植物は Al 耐性を備えている必要がある。

1.2 アルミニウムによる植物の生育阻害

Al は、岩石や土壌の構成元素として酸素やケイ素に次いで多く存在し、地殻中に約 7%含まれている(三枝 1994)。土壌中の Al は、一次鉱物や粘土鉱物などの構成成分として存在するほか、土壌コロイド表面の交換性 Al として、また、土壌溶液中にイオンや有機物との複合体として存在する(三枝 1994)。土壌の酸性化が進むと、鉱物中に珪酸塩や酸化物などとして存在する Al が溶解し、交換性 Al や土壌溶液中の Al が増加する(三枝 1994)。また、溶液中の Al の形態は pH によって変化するが、pH が 4.5 以下になると単量体 Al のほとんどが毒性の高い Al^{3+}で占められるようになる(Kinraide 1991)。

Al によって植物に引き起こされる反応は数多く知られているが、根の伸長阻害が最も顕著な障害である(Delhaize and Ryan 1995)。根の伸長阻害によって、養分や水分の吸収が阻害され、その結果、成長が低下すると考えられる。Al による根の伸長阻害は、根を Al にさらしてから 30 分から 2 時間で確認できる(Barceló and Poschenrieder 2002)。Al による根の伸長阻害の機構を明らかにすべく多数の研究が行われているが、Al の作用点がどこであるか、また、作用点からどのような過程を経て根の伸長が阻害されるのかについては統一的な見解に至っていない。

根端へ侵入した Al は細胞に存在する作用点に結合し、何らかの反応を誘発し、根の伸長阻害を引き起こすに至ると考えられる(図 1-1)。Al 処理をした細胞の中で Al のほとんどは細胞壁に存在する。例えば、Al 処理をしたオオシャジクモ(*Chara corallina* Willdenow)の細胞に集積した Al の 99.99%は細胞壁に存在した(Rengel and Reid 1997)。細胞壁に存在する Al の多くはペクチンと結合して存在すると考えられている(Chang et al. 1999a, Zheng et al. 2004)。Al処理をした細胞の中で大部分のAlが細胞壁に存在するものの、細胞膜のリン脂質や膜タンパク質にも Al が結合することが知られている(Matsumoto et al. 1992, Caldwell 1989)。また、細胞壁に存在する Al に比べればわずかであるが、Al 処理後、短時間のうちに細胞質に Al が

侵入することが示されている(Taylor et al. 2000)。さらに、核内でAlがDNAに結合して存在することが報告されている(Matsumoto et al. 1977)。このように根端に侵入したAlは細胞壁、細胞膜、細胞質、核のすべてに存在するので、そのいずれもがAlの作用点である可能性がある。現在のところ、Alの作用点がどこであるかは特定されていない。

根の伸長は、根端の分裂組織における細胞の分裂による細胞数の増加と、細胞の伸長の二つの要素から成っている。Alによって細胞分裂と細胞伸長の両方が阻害されることが知られているが、分裂活性の低下よりも短時間で根の伸長阻害が引き起こされることから、根の伸長阻害の初期段階においては、細胞分裂ではなく細胞伸長の阻害が主要な要因であると考えられる(Ciamporova 2002)。このことは、根端の伸長域のみをAlにさらしても根の伸長阻害が起こったことからも裏付けられている(Sivaguru and Horst 1998)。

植物細胞の伸長は、細胞内外の浸透ポテンシャルの差を原動力とした細胞(特に液胞)への吸水によるものであり、浸透ポテンシャルや細胞壁の伸展性、細胞膜や液胞膜の水透過性などによって規定されている(山本 1999)。Alによってこれらの要素が変化し、その結果細胞伸長が阻害されると考えられる。Tabuchi and Matsumoto (2001)は、Al処理によって感受性コムギ(*Triticum aestivum* L.)の根端において細胞壁の伸展性が低下することを見いだした。また、その伸展性の低下はAl処理によって3時間以内に引き起こされる(Ma et al. 2004)。メタノールによって固定した根端では、Al処理によってAlは集積するものの伸展性の低下が見られなかったことから(Ma et al. 2004)、Alによる細胞壁の伸展性の低下には何らかの代謝反応が関わっていると考えられる。根端において細胞壁の構成成分であるヘミセルロース、セルロース、ペクチン、リグニンの含量がAlによって増加すること(Wissemeier et al. 1987, Le Van et al. 1994, Sasaki et al. 1996, Tabuchi and Matsumoto 2001)、根端の細胞壁のヘミセルロース画分の多糖の平均分子量がAlによって大きくなること(Tabuchi and Matsumoto 2001)が報告されており、これら細胞壁構成成分の含量および分子量の変化が細胞壁の伸展性に影響を及ぼしている可能性がある。Alが細胞の浸透ポテンシャルに及ぼす影響については、感受性

コムギにおいて根端の浸透ポテンシャルが Al 処理によって上昇し、その浸透ポテンシャル上昇の一部はグルコースやスクロースなどの可溶性糖や K^+の濃度低下によるものであることが報告されている(Tabuchi et al. 2004)。水透過性については、トウモロコシ(*Zea mays* L.)の根において、伸長域ではなく根の先端から 5 cm の成熟した部位であるが、細胞膜の水透過性が Al によって低下することが報告されている(Gunsé et al. 1997)。以上のようにまだ報告例は少ないが、細胞伸長を規定する要素に Al が与える影響について情報が得られつつある。

Al によってヘミセルロースの一種であるカロース(1,3-β-D-グルカン)が根端に蓄積することが知られている(Wissemeier et al. 1987)。Sivaguru et al. (2000)は、カロース合成阻害剤の添加によってカロースの集積を抑えたところ、Al によるコムギの根の伸長阻害が緩和されたこと、Al によって合成されたカロースが原形質連絡の周辺細胞壁に集積し、細胞間の物質輸送を妨げることから、カロースが根の伸長を阻害する原因となっているのではないかと提案している。Al によって細胞質基質の Ca^{2+}濃度が高まることと、細胞質基質の Ca^{2+}濃度の上昇によってカロース合成が促進されることから、Al による細胞質基質の Ca^{2+}濃度の上昇が Al によるカロース合成の引金になっている可能性が考えられている(Rengel and Zhang 2003)。しかし、Ca イオノフォアを用いた実験によれば、Al によるカロース合成は細胞質基質の Ca^{2+}濃度の上昇によってのみでは説明できなかった(Bhuja et al. 2004)。また、Al は根端の膜電位やゼータ電位の脱分極化(Ahn et al. 2004, Sivaguru et al. 2005)、H^+-ATPase 活性の低下(Ahn et al. 2001, 2002)を引き起こすことが報告されている。Sivaguru et al. (2005)は、カロース合成酵素が細胞膜上に存在するため、細胞質の Ca^{2+}濃度の上昇に加えて膜電位の変化も Al によるカロース合成にかかわっている可能性を示唆している。

Al によって根端において活性酸素種の蓄積とミトコンドリアの機能不全が誘発されることが見いだされた(Yamamoto et al. 2002, Yamamoto et al. 2003)。抗酸化剤を添加して活性酸素種の蓄積を抑えると、タバコ(*Nicotiana tabacum* L.)の培養細胞の Al による増殖阻害が緩和されたことから、活性酸素種の蓄積は Al による増殖阻害の原因になっていると考えられる

(Yamamoto et al. 2002)。また、活性酸素種による典型的な障害である生体膜の脂質過酸化がAlによって引き起こされることが知られているが(Cakmak and Horst 1991)、抗酸化剤によってAlによる脂質過酸化を抑制しても、Alによる根の伸長阻害が緩和されなかったので、根端における脂質過酸化はAlによる根の伸長阻害の原因とはなっていないと考えられる(Yamamoto et al. 2001)。Alによるカロースの蓄積と活性酸素種の蓄積は、証拠は十分とは言えないが、Alによる根の伸長阻害の原因であることが示されている数少ない現象である。

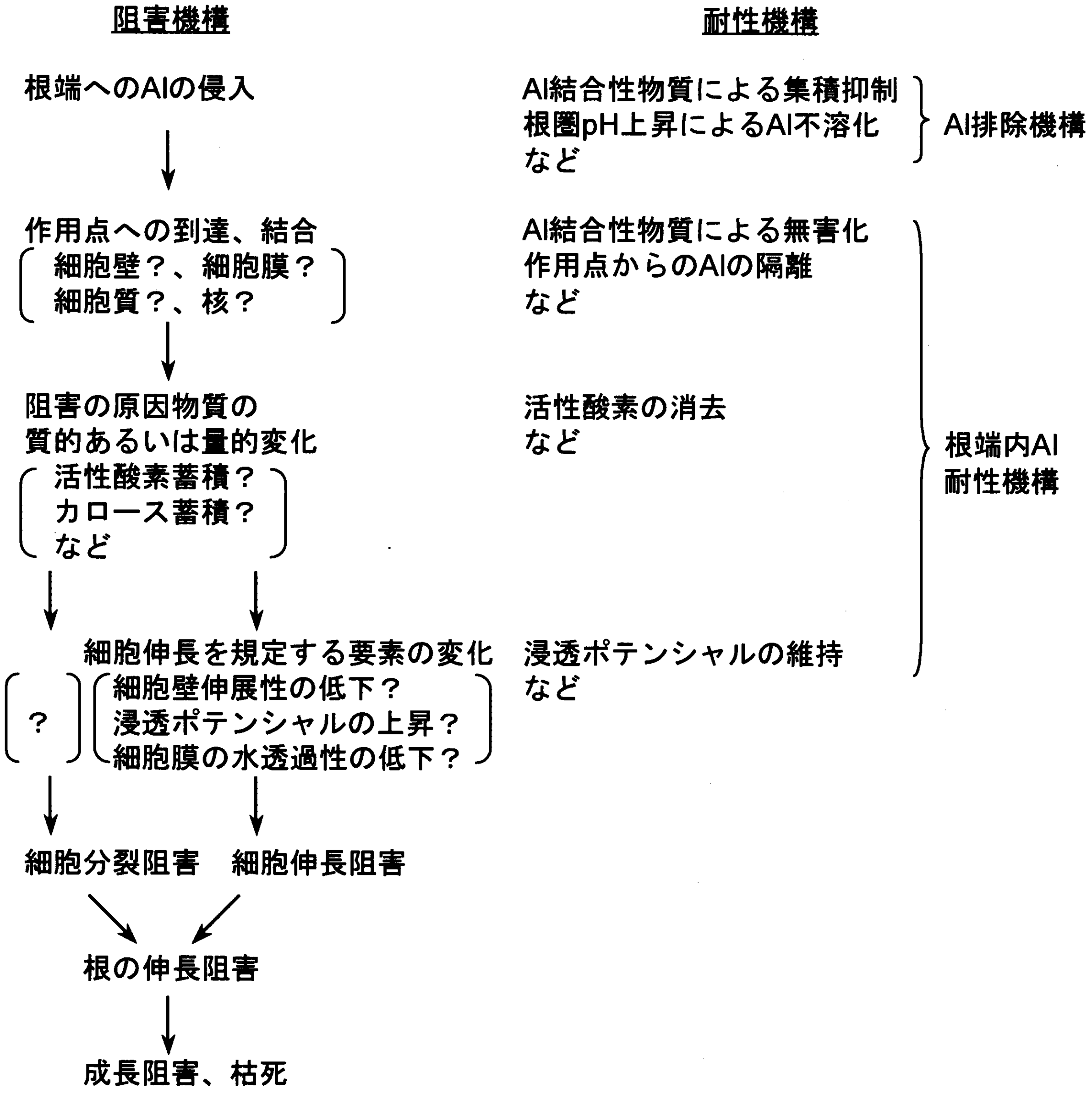

図 1-1. アルミニウムによる生育阻害機構と想定される耐性機構

1.3 植物のアルミニウム耐性機構

Al によって植物に引き起こされる最も顕著な障害は根の伸長阻害であり、根の伸長阻害は根端に Al が侵入することで引き起こされる(Delhaize and Ryan 1995)。従って、植物の Al 耐性機構は、Al が根端に集積するのを防ぐ機構(Al 排除機構)と、根端に Al が集積しても耐えられる機構(根端内 Al 耐性機構)の二つに分けて考えることができる(図 1-1)。

Al 排除機構として最も盛んに研究され解明が進んでいるのが根からの有機酸分泌である。リンゴ酸やクエン酸、シュウ酸などの低分子有機酸は、Al と結合して Al を無害化するとともに Al が根に集積するのを抑えることができ、いくつかの作物種でこれらの有機酸が Al に反応して根から分泌されることが知られている(Ma 2000, Ma et al. 2001, Ma and Furukawa 2003)。熱帯マメ科樹木の *Paraserianthes falcataria* (L.) Neilson は、Al に応答して根のクエン酸合成酵素遺伝子の発現とクエン酸合成酵素の活性が高まり、クエン酸集積量と根からのクエン酸分泌が増加する(大沢 1999)。コムギとトウモロコシでは、リンゴ酸とクエン酸をそれぞれ透過するアニオンチャンネルが Al によって活性化されることが分かっている(Piñeros and Kochian 2001, Zhang et al. 2001, Kollmeier et al. 2001)。また、Al によるコムギの根からのリンゴ酸分泌には、タンパク質のリン酸化が関与している(Osawa and Matsumoto 2001)。最近、コムギから Al によって活性化されるリンゴ酸トランスポーター遺伝子 *ALMT1* が単離され、準同質遺伝子系統の耐性の違いはその遺伝子によるものであることが報告された(Sasaki et al. 2004)。

このように根からの有機酸分泌による Al 排除機構は遺伝子レベルまで解析が進みつつあり、形質転換による Al 耐性の付与が試みられている。クエン酸合成酵素を過剰発現させたタバコ(de la Fuente et al. 1997)、シロイヌナズナ(*Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh.; Koyama et al. 2000)、セイヨウアブラナ(*Brassica napus* L.; Anoop et al. 2003)、リンゴ酸脱水素酵素の過剰発現により有機酸合成を高めたアルファルファ(*Medicago ativa* L.; Tesfaye et al. 2001)におい

て、Al 耐性の向上が報告されている。ただし、クエン酸合成酵素を過剰発現させてもタバコの根のクエン酸含量や根からのクエン酸分泌が増加しなかったとの報告もある(Delhaize et al. 2001)。リンゴ酸トランスポーター遺伝子 *ALMT1* を導入したタバコ培養細胞とオオムギ(*Hordeum vulgare* L.)では、Al によってリンゴ酸分泌が誘導され、Al 耐性を高めることに成功している(Sasaki et al. 2004, Delhaize et al. 2004)。

Al 排除機構として、Al 結合能力を有するリン酸やフェノール物質、ポリペプチドを根から分泌して Al の侵入を抑える可能性も指摘されている(Lindberg 1990, Basu et al. 1999, Kidd et al. 2001)。また、細胞膜のゼータ電位や細胞壁の陽イオン交換容量が低いと、細胞膜や細胞壁に Al が結合しにくいために Al 耐性が高いとの考えもある(Wagatsuma and Akiba 1989, Blamey *et al.* 1990)。細胞壁の陽イオン交換容量はペクチンが持つ負電荷に関連しているが、トウモロコシの培養細胞で細胞壁のペクチン含量を少なくすると、細胞壁に結合する Al 量が少なくなるとともに Al 障害の指標であるカロースの蓄積が少なくなった(Schmohl and Horst 2000)。シロイヌナズナの Al 耐性突然変異体は、野生型と比べて H^-の取り込みが多く、根圏の pH が高かったことから、根圏の pH を高め、Al を無害な形態に変えることにより耐性を得る可能性も示唆されている(Degenhardt et al. 1998)。

根端内 Al 耐性機構として、根端において Al が有機酸やフェノール物質などと結合し Al が無害化されていることが考えられる。ソバ(*Fagopyrum esculentum* Moench)やチャノキ(*Camellia sinensis* L.)などのいわゆる「Al 蓄積型植物」は 10 000 μg (g 乾重)$^{-1}$ 以上の Al を葉に蓄積することが知られており(Barceló and Poschenrieder 2002)、葉における Al の存在形態が注目されてきた。ソバでは、Al が葉でシュウ酸と結合し、木部液中でクエン酸と結合している(Ma et al. 1997b, 1998, Ma and Hiradate 2000)。*Melastoma malabathricum* L.もソバと同様に Al が葉でシュウ酸と結合し、木部液中でクエン酸と結合していることが報告されている(Watanabe et al. 1998b, Watanabe and Osaki. 2001)。また、チャノキでは Al が葉でカテキンと、木部液中でクエン酸と結合し(Nagata et al. 1992, Morita et al. 2004)、アジサイ(*Hydrangea*

macrophylla (Thunb.) Seringe)では、Al が萼片で delphinidin 3-glucoside と 3-caffeoylquinic acid に、葉でクエン酸と結合していることが報告されている(Takeda et al. 1985, Ma et al. 1997a)。これらの植物の葉や木部液中に存在するAlはシュウ酸やクエン酸、カテキンなどと結合しているので無害であると考えられている(Barceló and Poschenrieder 2002)。ソバについては、根においてAlがシュウ酸と結合して存在するという報告があるが(Ma et al. 1998)、他の植物については、Al 障害が引き起こされる部位である根端において Al の存在形態を無害化の観点から調べた例はない。Al の存在形態は調べられていないが、Al 耐性の異なる 12 種の作物や樹木において根のフェノール物質濃度と Al 耐性を比較したところ相関があり、根の細胞内において Al がフェノール物質によって無害化され Al 耐性を獲得していることが示唆されている(Ofei-Manu et al. 2001)。また、*Eucalyptus globulus* Labill.と *E. urophylla* S. T. Blake の根端で Al 処理によってリンゴ酸濃度が高まることから、これらの種では根端において Al がリンゴ酸と結合して無害化されていることが推論されている(Silva et al. 2004)。

細胞のアポプラストや液胞などにAlを隔離、蓄積して、作用点にAlが到達、結合しないようにすることも根端内耐性機構として提唱されている。根端でなく葉において調べられた例であるが、ソバの葉では Al とシュウ酸の結合体が液胞に隔離されて存在している(Shen et al. 2002)。

Al によって根端で活性酸素種が蓄積することが知られており(Yamamoto et al. 2003)、酸化ストレス耐性がAl耐性に寄与している可能性がある。Ezaki et al.(2000)は、ペルオキシダーゼ、グルタチオン S-トランスフェラーゼなどの抗酸化酵素を過剰発現させることによって、シロイヌナズナのAl耐性が高まることを示した。また、マンガン型スーパーオキシドジスムターゼを過剰発現させることによって、セイヨウアブラナの Al 耐性が高まることも報告されている(Basu et al. 2001)。

Al 感受性コムギでは Al によって根端の浸透ポテンシャルが高まったが、Al 耐性コムギでは浸透ポテンシャルが低くなった(Tabuchi et al. 2004)。Al 耐性コムギでは、グルコースやフルク

トースなどの可溶性糖の濃度が上昇しており、浸透ポテンシャルの低下に寄与していると考えられる。浸透ポテンシャルを低めることによる細胞伸長の原動力増大も細胞内耐性機構の一つと考えることができよう。

1.4 酸性硫酸塩土壌における造林

酸性硫酸塩土壌は、主に熱帯・亜熱帯の低湿地帯に分布し、その面積は世界で1167万haにおよぶ(岡川 1984)。パイライト(FeS_2)を含んだ堆積物が陸化して酸化状態に置かれると、パイライトの酸化によって硫酸を生じ、酸性硫酸塩土壌になる(久馬 1984)。この土壌は、"強い"酸性土壌の中でも極めて強い酸性でpH 3から4を呈し(久馬 1984)、植物の生育を阻害するAlイオンの濃度が高い(Shamshuddin and Auxtero 1991)。

酸性硫酸塩土壌でも、排水によって酸化を促し、生じた酸を天水や灌漑水で洗浄すること、石灰を施与し中和すること、あるいはその両方によって土壌を改良し、イネ(*Oryza sativa* L.)などの作物を作ることが可能である(久馬 1984)。しかし、このような手法には莫大な資本投入が必要であり、適用範囲が限定される。土壌改良をしていない酸性硫酸塩土壌ですべての植物が生育できないわけではなく、フトモモ科の *Melaleuca cajuputi* Powellなどの樹木やある種のイネ科、カヤツリグサ科の草本が生えることができる(Osaki et al. 1998)。

Melaleuca cajuputi のような酸性硫酸塩土壌に耐性を持つ樹木の力を最大限に発揮させれば、低資本投入で森林を造ることができるだろう。森林を造れば、物質生産、炭素固定、有機物供給による土壌環境改善など森林の多面的な機能を享受することができる。ベトナムのメコンデルタに分布する酸性硫酸塩土壌において *M. cajuputi* の造林試験が行われ、*M. cajuputi* は酸性硫酸塩土壌で造林可能であることが報告されている(Nakabayashi et al. 2001)。また、マレーシアではアブラヤシ(*Elaeis guineensis* Jacq.; Auxtero and Shamshuddin 1991)やカカオノキ(*Theobroma cacao* L.; Shamshuddin et al. 2004)を栽培する試みが行われており、アブラヤシは土壌中に有害なAlが多くなければ生育でき、カカオノキの生育には土壌改良が必要だという。以上のように、一部の酸性硫酸塩土壌で樹木の植栽試験が行われているが、酸性硫酸塩土壌で生育できる樹種、またその樹種の特性についてはほとんど知られていない。適用性

の広い造林技術を確立するためには、酸性硫酸塩土壌で生育可能な樹種と、その樹種の特性についての知見が必要である。酸性硫酸塩土壌においては土壌溶液中の高濃度の Al が問題となるので、特に造林候補樹種のAlに対する反応とAl耐性機構について知ることが重要となる。

1.5 *Melaleuca cajuputi* のアルミニウム耐性

Melaleuca cajuputi は、ベトナム、ラオス、ミャンマー、タイ、マレーシア、インドネシア、パプアニューギニアおよびオーストラリア(ウエスタンオーストラリア北部およびノーザンテリトリー)に分布する樹高 10～30 m のフトモモ科樹木である(Elliot and Jones 1993)。幹は薪炭材や杭に利用され、樹皮は木製の船の板間を埋める充填材に使われる(Brinkman and Xuan 1991)。また葉からは薬用とされる芳香を有する精油が採取され、花は蜜源となり、果実は胡椒代わりに用いられる(Brinkman and Xuan 1991)。*M. cajuputi* は、河川沿いや低湿地に生育し、湛水耐性を持つ(山ノ下・益守 2001, Yamanoshita et al. 2001, Yamanoshita et al. 2005)。また一方で、pH が 3～4 になる酸性硫酸塩土壌のような"強い"酸性土壌でも生育できる(Osaki et al. 1998, Nakabayashi et al. 2001)。

植物の Al 耐性の評価には根の伸長阻害が指標として用いられるが、Al^{3+}以外のイオンによる干渉を避けるために、根の伸長に不可欠な Ca のみを含む溶液に Al を加えて短時間、根を浸すという方法が頻用されている(Wenzl et al. 2001)。シロイヌナズナの Landsberg 系統は Ca 溶液中の 1 μM Al で 50%根の伸長が阻害され(Toda et al. 1999)、トウモロコシの Al 感受性系統 SA5 は 9.5 μM で 75%(Pellet et al. 1995)、コムギの Al 耐性準同質遺伝子系統 ET8 は 50 μM で 50%(Sasaki et al. 2004)、穀物作物の中で最も Al 耐性が高いと言われているイネの Al 耐性品種コシヒカリは 50 μM で 42%(Ma et al. 2002)、熱帯イネ科牧草 *Brachiaria decumbens* Stapf は 50 μM で約 40%(Wenzl et al. 2001)、それぞれ Ca 溶液中の Al によって根の伸長が阻害された。このように、植物の Al に関する研究材料に主に用いられている作物やモデル植物は、Ca 溶液中の 1～50 μM の Al によって根の伸長が阻害される。

Melaleuca cajuputi は土壌溶液の Al 濃度が非常に高い酸性硫酸塩土壌で生育できるので、高い Al 耐性を持っていると考えられる。*Melaleuca cajuputi* の Al 耐性を Ca 溶液で評価した例

はないが、培養液中の 555 μM Al (Osaki et al. 1997) や 380 μM Al (Nguyen et al. 2003b) によっても個体の成長が阻害されなかったとの報告がある。Ca 溶液を用いた Al 耐性の評価と培養液を用いた Al 耐性の評価結果を単純に比較するのは難しいが、*M. cajuputi* は作物やモデル植物と比べて非常に高い Al 耐性を持っていると言える。

1.6 本論文の目的と構成

本研究では、熱帯の酸性硫酸塩土壌で生育可能な樹木を選抜するとともに、Al 耐性樹木である *M. cajuputi* の Al 耐性機構を他のフトモモ科樹木と比較しながら明らかにすることを目的とした。以下に本論文の構成を概説する。

第 2 章では、熱帯の酸性硫酸塩土壌で生育可能な樹木を選抜することを目的とした。タイ国ナラティワート県に試験地を設けて植栽試験を行い、植栽可能な樹種を多数選抜した。フトモモ科の *Eucalyptus alba* Reinw. ex Bl.、*M. arcana* S.T.Blake、*M. cajuputi*、*M. leucadendra* (L.) L.、*Syzygium lineatum* (DC.) Merr. & L.M.Perry、*Sy. oblatum* (Roxb.) A.M.Cowan & J.M.Cowan、*Sy. pachyphyllum* (Kurz) Merr. & L.M.Perry、*Sy. scortechinii* (King) Chanter & J.Parn.、*Sy. zeylanicum* (L.) DC.、マメ科の *Acacia mangium* Willd.、フジウツギ科の *Fagraea fragrans* Roxb.の 11 樹種は、生残率が高く樹高成長量も大きく、酸性硫酸塩土壌で造林木として用い得ることが分かった。*E. camaldulensis* Dehn.は次第に生残率と成長量が低下した。*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造林木には適していないと考えられた。土壌溶液には 2～3 mM の Al が含まれていたことから、選抜された樹種にはこのような高濃度の Al に対する耐性が備わっていると考えられる。

第 3 章では、フトモモ科の *Melaleuca* 属と *Eucalyptus* 属 9 樹種について Al 耐性を評価し、耐性種と感受性種を選抜することを目的とした。また、Al による根端へのカロースの蓄積が種間の Al 耐性比較の指標として使えるかについて検討した。*M. cajuputi*、*M. leucadendra*、*M. quinquenervia* (Cav.) S.T.Blake、*E. deglupta* Bl.、*E. grandis* W.Hill ex Maiden は、24 時間の培養液中の 1 mM Al による処理に耐性があったが、*M. bracteata*、*M. glomerata* F.Muell.、*M. viridiflora* Sol. ex Gaertner、*E. camaldulensis* は根の伸長が阻害された。*M. cajuputi*、*E. camaldulensis*、*M. bracteata* について培養液中の Al (0.1、0.2、0.5、1、2.5、5 mM) で用量反応

試験を行ったところ、*M. bracteata* は 0.2 mM 以上の Al で、*E. camaldulensis* は 2.5 mM 以上の Al で処理開始から 5 日間の根の伸長が阻害されたのに対して、*M. cajuputi* は 5 mM の Al のみで根の伸長が阻害された。*M. cajuputi* の Al 耐性については培養液中の 555 μM の Al に耐えるという報告があるが（Osaki et al. 1997）、本実験により 2.5 mM の Al にも耐えられることが明らかになり、本種の Al 耐性の高さが従来考えられていたよりも遥かに高いことが明らかになった。*M. bracteata* は *M. cajuputi* に比べて Al 耐性が低く、*M. cajuputi* の Al 耐性機構を解明する上で比較樹種として用いるのに適していると考えられる。また、*E. camaldulensis* は、24 時間の Al 処理では 1 mM の Al で根の伸長が阻害されたが、5 日間の処理では阻害されなかったことから、Al 誘導性の Al 耐性機構を持つと考えられた。Al による 9 樹種の根端へのカロースの蓄積量と、Al 耐性の間に樹種を越えて負の相関が認められた。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ことを示唆している。

第 4 章と第 5 章では、*M. cajuputi* の極めて高い Al 耐性の機構解明を試みた。第 4 章では、まず耐性種 *M. cajuputi* の Al 耐性機構が根からの Al 結合性物質の分泌による根端からの Al 排除であるかどうかを明らかにすることを目的とした。*M. cajuputi* の根から 1 mM Al の Ca 溶液に放出された Al 結合性物質（シュウ酸、クエン酸、リンゴ酸、リン酸、フェノール物質）の量を測定するとともに、根からの放出物の Al 結合能力を評価し、*M. bracteata* と比較した。*M. cajuputi* の根からのシュウ酸の放出は確認されず、クエン酸、リンゴ酸、リン酸、フェノール物質の放出量は *M. bracteata* よりも少なかった。また、*M. cajuputi* の根からの放出物の Al 結合能力は *M. bracteata* に比べて小さかった。これらの結果から、Al 結合性物質の根からの分泌は *M. cajuputi* の主要な Al 耐性機構ではないと考えられた。一方、*E. camaldulensis* は、Al によって根からの放出物の Al 結合能力が高まる傾向にあった。この Al 結合性物質は未同定であるが、Al と結合して分子量 500 程度の複合体を形成することが分かった。*E. camaldulensis* では、Al に反応した Al 結合性物質の分泌が Al 耐性に寄与している可能性がある。これらの結果から、*M. cajuputi* の Al 耐性機構は、従来作物で報告されてきたような Al 結合性物質の分泌による

根端からの Al 排除ではないことが明らかになった。

第 5 章では、*M. cajuputi* の Al 耐性が 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を *M. bracteata* との比較により明らかにすることを目的とした。根の伸長阻害、カロースとリグニンの蓄積を指標として Al 障害発生までの時間を調べたところ、*M. bracteata* では Ca 溶液中の 1 mM Al によって 3 時間後には障害が引き起こされること分かった。一方、*M. cajuputi* では Ca 溶液中の 1 mM Al によって障害が確認されず、*M. cajuputi* と *M. bracteata* の耐性の違いは Al 処理開始から 3 時間後には現れることがわかった。処理開始 3 時間後の根端の Al 濃度に両種で差がなかったことから、*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。1 mM Al の Ca 溶液で処理をした *M. cajuputi* と *M. bracteata* で、根における Al 結合性物質(シュウ酸、クエン酸、リンゴ酸、フェノール物質)の含量を比較した。有機酸の種類による Al 無害化能力の違いを考慮に入れて算出した根内のシュウ酸、クエン酸、リンゴ酸による Al 無害化能力は、*M. cajuputi* と *M. bracteata* で同程度だった。また、*M. cajuputi* の根のフェノール物質濃度は、*M. bracteata* よりも低かったことから、シュウ酸、クエン酸、リンゴ酸、フェノール物質による Al の無害化が *M. cajuputi* の根端内 Al 耐性機構であるとは言えなかった。活性酸素による代表的な障害である脂質過酸化に対する Ca 溶液中の 1 mM Al の影響を調べたところ、*M. bracteata* では Al により根端で脂質過酸化が促進される傾向にあったが、*M. cajuputi* では影響がなかった。*M. cajuputi* は *M. bracteata* よりも活性酸素消去の能力が高い可能性がある。

第 6 章では、本研究により明らかとなった *M. cajuputi* の Al 耐性機構について、他の植物で知られている Al 耐性機構と比較しながら考察した。*M. cajuputi* は Ca 溶液中の 1 mM Al に対して耐性を示した。現在までのところ Ca 溶液中の 1 mM という極めて高い Al 濃度に対して耐性を持つ植物は報告されていない。*M. cajuputi* よりも明らかに耐性が低い近縁種 *M. bracteata* と比較することによって *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を明らかにした。本研究

は、極めて高いAl耐性が根端内Al耐性機構によって付与されることを近縁種を用いて示した初めての例である。

第2章　酸性硫酸性土壌における造林樹種の選抜

2.1 はじめに

本章では、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、酸性硫酸塩土壌で生育可能な樹種を選抜することを目的とした。

酸性硫酸塩土壌は、極めて酸性でpH 3から4を呈し(久馬 1984)、植物の生育を阻害するAlイオンの土壌溶液中の濃度が高い(Shamshuddin and Auxtero 1991)。従って、酸性硫酸塩土壌で生育できる植物は限られていると考えられる。タイのナラティワートの酸性硫酸塩土壌にはフトモモ科樹木*Melaleuca cajuputi*やある種のイネ科、カヤツリグサ科草本が自生していることが報告されている(Osaki et al. 1998)。ベトナムのメコンデルタに分布する酸性硫酸塩土壌では、*M. cajuputi*の造林試験が行われ、*M. cajuputi*が酸性硫酸塩土壌で生育可能であることが報告されている(Nakabayashi et al. 2001)。また、マレーシアではアブラヤシ(*Elaeis guineensis*, Auxtero and Shamshuddin 1991)やカカオノキ(*Theobroma cacao*, Shamshudding et al. 2004)を栽培する試みが行われている。このように酸性硫酸塩土壌で生育可能な樹木に関する報告は少数存在するが、探索は十分ではない。

本研究で、植栽試験に用いた樹種は以下の通りである。フトモモ科の*Eucalyptus alba* Reinw. ex Bl.、*E. camaldulensis* Dehn.、*E. grandis* W. Hill ex Maiden、*Melaleuca arcana* S. T. Blake、*M. bracteata* F. Muell.、*M. cajuputi*、*M. leucadendra* (L.) L.、*Syzygium lineatum* (DC.) Merr. & L.M.Perry、*Sy. oblatum* (Roxb.) A.M. Cowan & J.M. Cowan、*Sy. pachyphyllum* (Kurz) Merr. & L.M.Perry、*Sy. scortechinii* (King) Chanter & J.Parn.、*Sy. zeylanicum* (L.) DC.、マメ科の*Acacia mangium* Willd.、フジウツギ科の*Fagraea fragrans* Roxb.、フタバガキ科の*Shorea roxburghii* G. Don。*Eucalyptus*属樹種は熱帯から温帯で広く植栽されている早成樹種である。酸性硫酸塩土壌で生育できる*M. cajuputi*の酸性土壌耐性を解析するため*Melaleuca*属から

高木を選んだ。*Syzygium* 属樹種は泥炭湿地に自生する在来種である(Nuyim 1997)。*Acacia mangium* は熱帯で広く植栽されている早成樹種であり、荒廃地を含めた東南アジアに広く植栽されている。*Fagraea fragrans* は泥炭湿地林の林縁部に見られる在来種である(Nuyim 1997)。*Shorea roxburghii* は、東南アジアの熱帯多雨林の代表的構成樹種であるフタバガキ科樹種の一つで、この地域に分布する(小島ら 1998)。

2.2 材料と方法

試験地

タイ国南部、マレー半島のタイ湾側に位置するナラティワート県に試験地(北緯 6°20'、東経 101°50')を設置した。おおむね2月から5月が乾季で、10月から12月が雨季であり、ケッペンの気候帯では、熱帯多雨気候と熱帯モンスーン気候の移行帯にある(山ノ下 2001)。この地域の平均気温は 27.6°C で(Phengklai and Niyomdham 1991)、平均年降水量は 2257 mm (1986～1995)である(Yamanoshita et al. 2001)。この地域には泥炭湿地が存在しており、海水準の停滞期に形成された浜堤の内部に生育したマングローブ、海水遮断後の湛水沼沢性植物の遺体によって泥炭層が形成されていった。従って、泥炭層の下には、かつてマングローブ林であった汽水環境下の堆積有機物があり、その下層には海水中の硫酸根を還元して生成集積したパイライトを含む粘土質堆積物が存在する場合が多い(高井 1998)。排水開発により泥炭層が薄くなり、酸化がパイライト堆積層まで及ぶと酸性硫酸塩土壌となる(小島・鈴木 2004)。イネ科などの草本のみが生える荒廃地となって放棄されいる酸性硫酸塩土壌に試験地を設置した(図 2-1a)。

苗木

E. camaldulensis(lot 19708)、*E. grandis*(lot 19307)、*M. arcana*(lot 18679)、*M. bracteata* (lot 17255)、*M. leucadendra*(lot 18424)の種子は Australian Tree Seed Centre(CSIRO Forestry and Forest Products, オーストラリア)から購入した。*Syzygium lineatum*、*Sy. oblatum*、*Sy. pachyphyllum*、*Sy. scortechinii*、*Sy. zeylanicum*、*E. alba*、*M. cajuputi*、*Acacia mangium*、*Fagraea fragrans*、*Shorea roxburghii* の種子はタイ王室森林局より提供を受けた。砂質の培土に種子を播いたのち、適当な大きさの実生をビニルポットに移植し苗木に仕立てた。ポットの

培土は沖積土に籾殻を混ぜ合わせたものを用いた。

植栽

本試験地の酸性硫酸塩土壌は、その形成過程から排水の悪い低地に位置しており、雨季には完全に水に覆われる。従って、この酸性硫酸塩土壌では、強酸性とともに湛水が植物の生育に問題となる(小島 2004)。このような土地でも、高さ 50 cm の盛土(マウンド)を造って雨季の湛水を緩和して植栽すると活着、成長することが分かっている(Norisada et al. unpublished data)。そこで本研究でも 50 × 50 × 50 cm のマウンドを造り植栽した(図 2-1b)。2001 年 10 月と 2002 年 10 月の二回植栽した。2001 年は、*A. mangium*、*E. alba*、*E. camaldulensis*、*E. grandis*、*F. fragrans*、*M. cajuputi*、*M. leucadendra*、*Sh. roxburghii*、*Sy. lineatum*、*Sy. oblatum*、*Sy. pachyphyllum*、*Sy. scortechinii*、*Sy. zeylanicum* の 13 種を 21 m × 29 m の試験地に 1 m × 1 m の間隔で植栽した。2002 年は、*E. camaldulensis*、*E. grandis*、*M. arcana*、*M. bracteata*、*M. cajuputi*、*M. leucadendra* の 6 種を植栽した。10 m × 30 m の試験地に 5 m × 30 m のブロックを 2 つ設け、各樹種の 5 本 × 5 本の区画を乱塊法により配置した。2001 年は 1 樹種当たり 46～47 本、2002 年は 1 樹種あたり 50 本を植栽した。

生残と樹高および葉の元素の測定

およそ 4 ヶ月毎に生残を確認し、樹高を測定した。2001 年に植栽した苗木については、植栽時と植栽後 5 ヶ月と 7 ヶ月に 1 樹種につき 1～5 個体から成熟している最も若い葉を採取し各元素濃度を測定した。採取した葉を 80°C で 48 時間乾燥させ粉砕したのち、約 50 mg を量りとり、60% (w/w)硝酸と 60% (w/w)過塩素酸の混合液(5:3, v/v)に浸し、熱して灰化した。カリウム(K)、ナトリウム(Na)、カルシウム(Ca)、マグネシム(Mg)、鉄(Fe)、マンガン(Mn)をフレーム原子吸光光度計(Z-6100, 日立ハイテクノロジーズ)で定量した。

地下水および土壌溶液の採取、分析

植栽試験地の酸性硫酸塩土壌および、周辺地域に分布する泥炭土壌、砂質未熟土壌、沖積土壌の地下水と土壌溶液を採取し、各種溶質濃度を測定した。地下水は、地下水面が現れるまで地面に穴を掘り採取した。雨季に水面が地表より高い場合は、穴を掘らずに地表面水を採取した。土壌溶液は、遠心機(50A-IVD, 佐久間製作所)を用いて、100 mL 採土円筒に詰めた土壌を10 000 *g*、10°C で30 分間遠心し採取した。pH をガラス電極 pH メータで測定し、Al 濃度をファーネス原子吸光光度計(SIMAA6000, パーキンエルマー)で、Mn と Fe 濃度をフレーム原子吸光光度計(Z-6100, 日立ハイテクノロジーズ)で、全有機炭素を全有機炭素計(TOC-5000A, 島津製作所)で測定した。陽イオン(Na^+、NH_4^+、K^+、Mg^{2+}、Ca^{2+})と陰イオン(Cl^-、NO_3^-、SO_4^{2-})をイオンクロマトグラフ(島津製作所)で定量した。陽イオンは、5 mM HNO_3 を移動相として 1.2 mL min^{-1} で陽イオン交換カラム(IC-C3, 島津製作所)に送液し 40°C で分離し、電気伝導度検出器(CDD-6A, 島津製作所)で検出した。陰イオンは、8.0 mM *p*-ヒドロキシ安息香酸、3.2 mM ビス(2-ヒドロキシエチル)イミノトリス(ヒドロキシメチル)メタン水溶液を移動相として1.5 mL min^{-1} で陰イオン交換カラム(IC-A3, 島津製作所)に送液し40°C で分離し、電気伝導度検出器(CDD-6A, 島津製作所)で検出した。リン酸濃度は、モリブデン青法(川村 1994)によって測定した。試料溶液 210 μL に 1.25 M H_2SO_4、0.205 mM ビス[(+)-タルトラト]二アンチモン(III)酸二カリウム三水和物、4.85 mM 七モリブデン酸六アンモニウム四水和物、30 mM アスコルビン酸を含む溶液 40 μL を加え、15 分後に 880 nm における吸光度を分光光度計(Ultrospec 3000, アマシャム バイオサイエンス)で測定した。

(a)

(b)

図 2-1. タイ国ナラティワート県の酸性硫酸塩土壌地区(a)と2001年に設置した植栽試験地(b)

2.3 結果

土壌溶液と地下水の溶質濃度

土壌溶液と地下水の溶質濃度を表 2-1 に示す。酸性硫酸塩土壌の地下水および土壌溶液のpHは2.8～3.7であり、“強い”酸性土壌の一つである泥炭土壌のpHが3.8～4.5だった。酸性硫酸塩土壌の地下水の Al 濃度は 0.1～0.2 mM、土壌溶液の Al 濃度は 1.9～3.0 mM だった。他の土壌では、地下水、土壌溶液とも 0.05 mM 以下だった。酸性硫酸塩土壌の Mn 濃度は、土壌溶液で 34～49 μM、地下水で 5～10 μM だった。他の土壌の Mn 濃度は、土壌溶液、地下水とも 0.4 μM 以下だった。酸性硫酸塩土壌の Fe 濃度は、土壌溶液で 5～44 μM、地下水で 120～149 μM であり、他の溶質では土壌溶液の濃度が地下水よりも高い傾向にあったのに Fe では逆の傾向を示した。これは Fe^{2+}が酸化されて Fe^{3+}となり沈殿したためではないかと考えられる。酸性硫酸塩土壌の陽イオン(Na^+、NH_4^+、K^-、Mg^{2+}、Ca^{2+})の濃度は他の土壌と比べて高い傾向を示した。リン酸イオン濃度は、酸性硫酸塩土壌の土壌溶液で 1.0 μM、他の土壌の土壌溶液、地下水で 1.4 μM 以下だった。全有機炭素(TOC)は、酸性硫酸塩土壌の土壌溶液で 3.5 mM、地下水で 0.2～1.2 mM だった。

生残と成長

植栽木の生残と樹高を図 2-2 と図 2-3 に示す。樹高は、2001 年植栽については植栽 2 年後に、2002 年植栽については植栽 1 年 8 ヶ月後に生残していた個体の平均値である。*A. mangium*、*E. alba*、*F. fragrans*、*M. arcana*、*M. cajuputi*、*M. leucadendra*、*Sy. lineatum*、*Sy. oblatum*、*Sy. pachyphyllum*、*Sy. scortechinii*、*Sy. zeylanicum* の 11 種は、植栽約 2 年後の生残率が 80%以上だった。2001 年に植栽した *A. mangium* と *E. alba*、*M. cajuputi*、*M. leucadendra* は、それぞれ 1 年あたり 125、152、166、204 cm の樹高成長を示した。2002 年に植栽した *M.*

arcana は 1 年あたり 149 cm 樹高成長を示し、*M. cajuputi* と *M. leucadendra* は 2001 と同様の樹高成長を示した。2001 年に植栽した *F. fragrans*、*Sy. lineatum*、*Sy. oblatum*、*Sy. pachyphyllum*、*Sy. scortechinii*、*Sy. zeylanicum* は、大きくはないが堅調な樹高成長を示した。*E. camaldulensis* は、初期の生残率は高かったが、次第に枯死個体が増加し成長量も低下した。2001 年植栽の *E. grandis* は、2 年後の生残率が高く樹高成長量も高かったが、2002 年植栽の *E. grandis* は生残率が低く、樹高成長量も低かった。*Sh. roxburghii* の植栽 2 年後の生残率は 28%と低かったが、生残している個体は樹高の成長が見られた。*M. bracteata* は植栽後 1 年のうちに 78%、植栽 2 年後までにすべて枯死し、それまでに樹高成長も見られなかった。

葉の元素濃度

植栽木の葉の元素濃度を図 2-4 に示す。植栽後の葉の K 濃度は、すべての樹種で 4～12 mg (g 乾重)$^{-1}$ の範囲にあった。葉の Na 濃度は、*A. mangium* と *E. grandis*、*M. cajuputi*、*M. leucadendra* で他の樹種と比べて高い傾向にあり、植栽後の値が 1.8～4.3 mg (g 乾重)$^{-1}$ だった。他の樹種は、植栽後の Na 濃度が 0.02～1.45 mg (g 乾重)$^{-1}$ の範囲にあった。植栽後の葉の Ca 濃度は、樹種間で大きな差がなく 1.2～8.5 mg (g 乾重)$^{-1}$ の範囲にあった。植栽後の葉の Mg 濃度は、樹種間で大きな差がなく 1.2～3.8 mg (g 乾重)$^{-1}$ の範囲にあった。植栽後の葉の Fe 濃度は、樹種間で大きな差がなく 0.05～0.57 mg (g 乾重)$^{-1}$ の範囲にあった。葉の Mn 濃度は、*Eucalyptus* 属の樹種で他の樹種よりも高い傾向にあり、0.7～1.1 mg (g 乾重)$^{-1}$ の範囲にあった。他の樹種の植栽後の Mn 濃度は 0.03～0.69 mg (g 乾重)$^{-1}$ の範囲にあった。

表 2-1. 土壌溶液と地下水の溶質濃度

土壌タイプ	水タイプ	採取年月	pH	Al (μM)	Mn (μM)	Fe (μM)	陽イオン (μM)					陰イオン (μM)				TOC (mM)
							Na^+	NH_4^+	K^+	Mg^{2+}	Ca^{2+}	PO_4^{3-}	Cl^-	NO_3^-	SO_4^{2-}	
酸性硫酸塩土壌	土壌溶液	2001年10月	3.7 (0.5)	2973 (430)	33.8 (11.2)	4.7 (1.3)	401 (67)	1853 (2,240)	113 (63)	1030 (373)	987 (304)	1.0 (0.6)	238 (131)	170 (168)	7544 (799)	3.5 (1.1)
		2002年3月	-	1924 (-)	49.0 (-)	43.5 (-)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	地下水	2001年3月	2.9 (0.0)	145 (9)	5.0 (0.2)	148.9 (9.8)	99 (2)	65 (4)	37 (1)	121 (6)	85 (7)	0.4 (0.1)	103 (3)	trace	1479 (24)	0.3 (0.0)
		2001年6月	3.4 (0.0)	115 (25)	10.3 (1.7)	-	281 (42)	40 (2)	23 (1)	334 (54)	501 (27)	0.4 (0.0)	235 (26)	trace	2853 (360)	1.2 (0.1)
		2001年10月	2.8 (0.0)	200 (18)	5.7 (0.2)	119.6 (6.2)	111 (2)	50 (2)	52 (1)	163 (5)	149 (5)	0.3 (0.0)	92 (7)	trace	1638 (9)	0.2 (0.1)
泥炭土壌	土壌溶液	2002年3月	-	26 (-)	0.4 (-)	3.2 (-)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	地下水	2001年3月	4.2 (0.1)	13 (4)	n.d.	22.9 (5.4)	58 (9)	2 (3)	4 (2)	12 (1)	9 (1)	0.5 (0.1)	46 (1)	trace	10 (5)	3.7 (0.5)
		2001年6月	4.5 (0.1)	14 (1)	n.d.	-	83 (4)	5 (0)	7 (1)	12 (2)	18 (6)	0.5 (0.0)	66 (2)	trace	tarce	3.3 (0.0)
		2001年10月	3.8 (0.1)	26 (5)	n.d.	22.4 (6.7)	96 (12)	4 (3)	13 (12)	26 (5)	15 (5)	0.5 (0.2)	91 (7)	trace	16 (8)	6.2 (1.3)
砂質未熟土壌	土壌溶液	2001年3月	6.5 (-)	14 (5)	0.2 (0.1)	-	272 (109)	104 (62)	128 (8)	55 (21)	51 (11)	1.4 (0.4)	300 (272)	22 (17)	38 (14)	-
		2001年6月	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		2001年10月	5.4 (0.4)	49 (51)	0.2 (0.1)	0.9 (1.2)	107 (35)	85 (47)	29 (2)	9 (4)	31 (20)	0.8 (0.5)	167 (37)	15 (6)	14 (8)	2.0 (0.6)
	地下水	2001年3月	4.7 (-)	14 (-)	n.d.	1.4 (-)	15 (-)	4 (-)	3 (-)	10 (-)	3 (-)	0.6 (-)	2 (-)	n.d.	trace	1.6 (-)
		2001年6月	5.1 (0.0)	13 (4)	n.d.	-	38 (8)	4 (2)	5 (2)	9 (4)	21 (7)	1.3 (0.7)	13 (1)	trace	trace	1.8 (0.1)
		2001年10月	5.1 (-)	32 (-)	0.1 (-)	2.6 (-)	94 (-)	2 (-)	67 (-)	6 (-)	6 (-)	0.4 (-)	40 (-)	trace	trace	2.7 (-)
沖積土壌	土壌溶液	2001年3月	6.7 (0.1)	6 (2)	0.1 (0.1)	-	106 (43)	24 (28)	82 (43)	41 (11)	15 (11)	0.6 (0.2)	140 (67)	18 (32)	19 (7)	1.9 (0.3)
		2002年3月	-	2 (-)	0.3 (-)	0.4 (-)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

括弧内の数値は標準偏差である。-は測定していないこと、n.d.は検出されなかったことを示す。

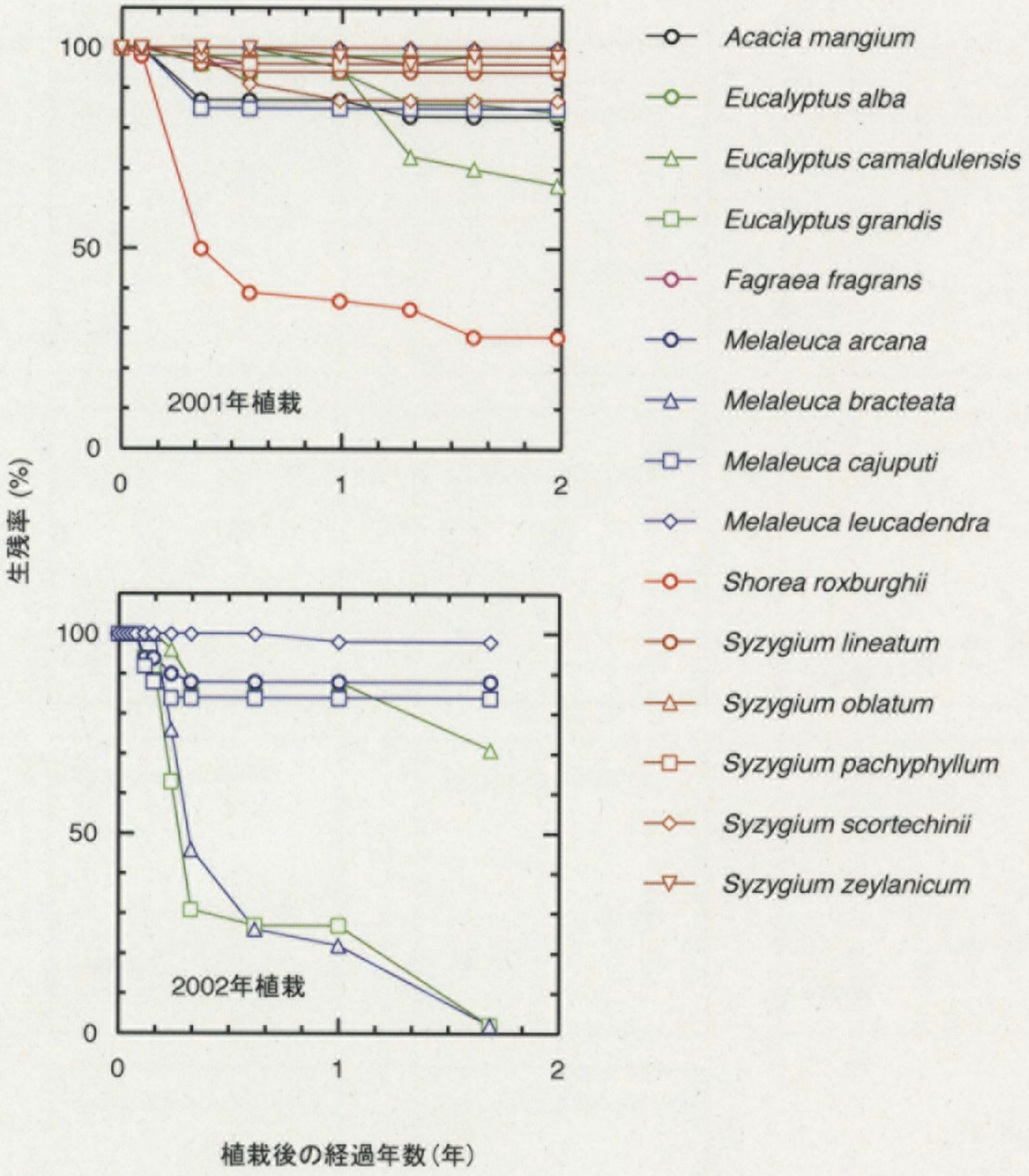

図 2-2. 酸性硫酸塩土壌に植栽した樹木の生残

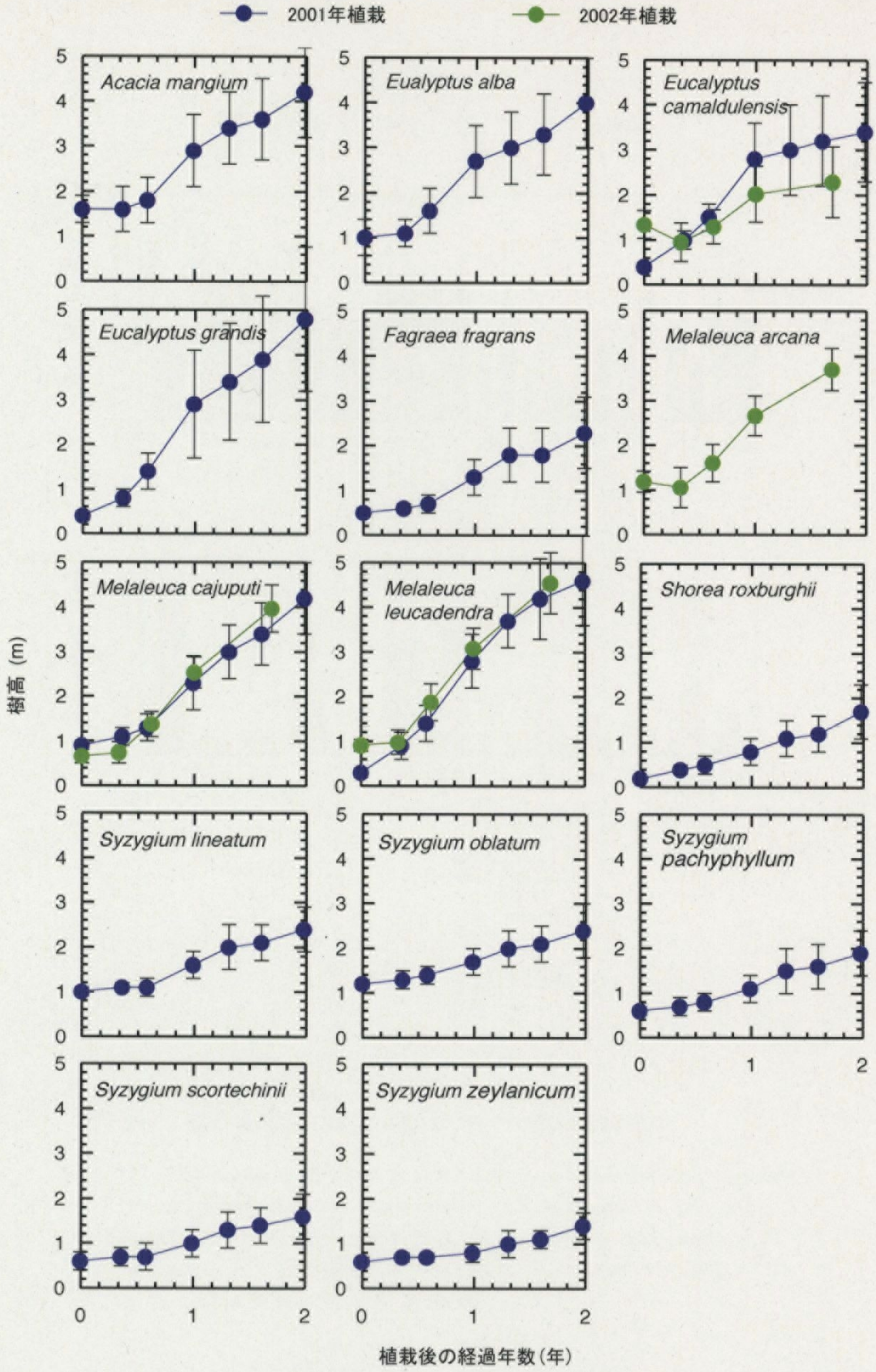

図 2-3. 酸性硫酸塩土壌に植栽した樹木の樹高成長

値は標準±標準偏差である。2002年植栽の*E. grandis*と*M. bracteata*は枯死したために値を示していない。

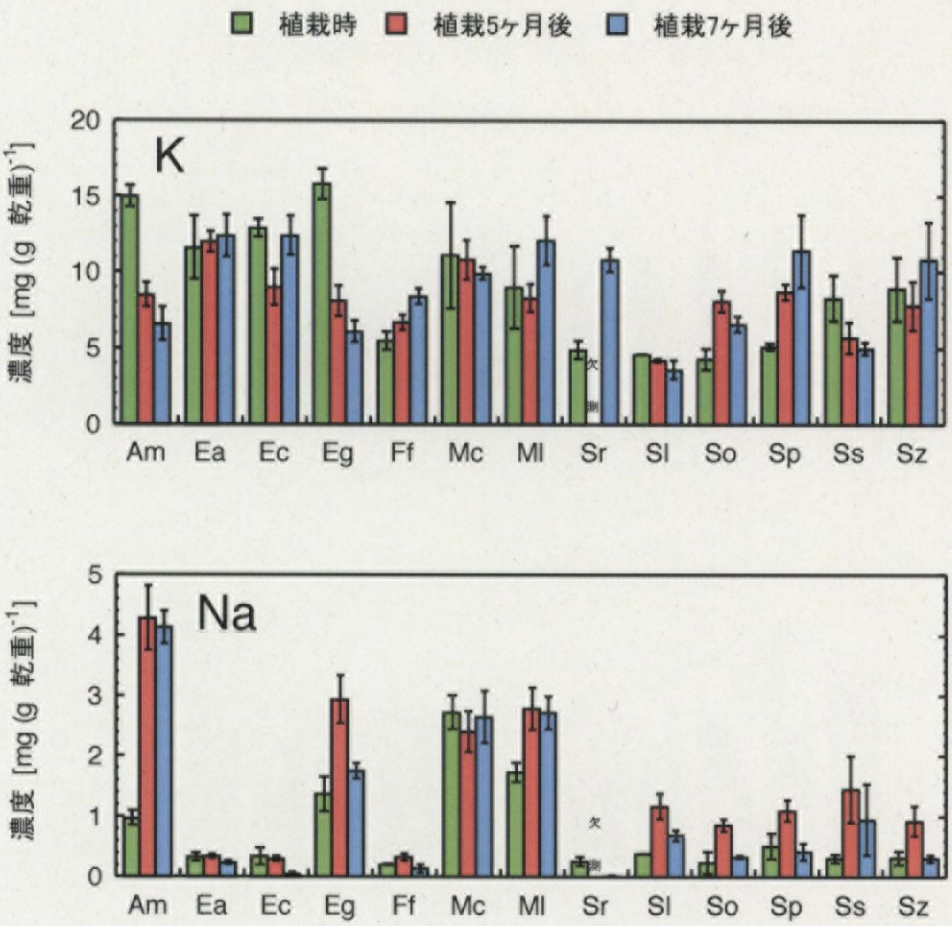

図 2-4. 酸性硫酸塩土壌に植栽した樹木の葉の元素濃度

Amは*Acacia mangium*、Eaは *Eucalyptus alba*、Ecは *E. camaldulensis*、Egは *E. grandis*、Ffは*Fagraea fragrans*、Mcは *Melaleuca cajuputi*、Mlは *M. leucadendra*、Srは *Shorea roxburghii*、Slは *Syzygium lineatum*、Soは *Sy. oblatum*、Spは *Sy. pachyphyllum*、Ssは *Sy. scortechinii*、Szは *Sy. zeylanicum*の省略である。Feの植栽時の値は測定していない。値は平均±標準誤差である（$n = 3〜5$）。

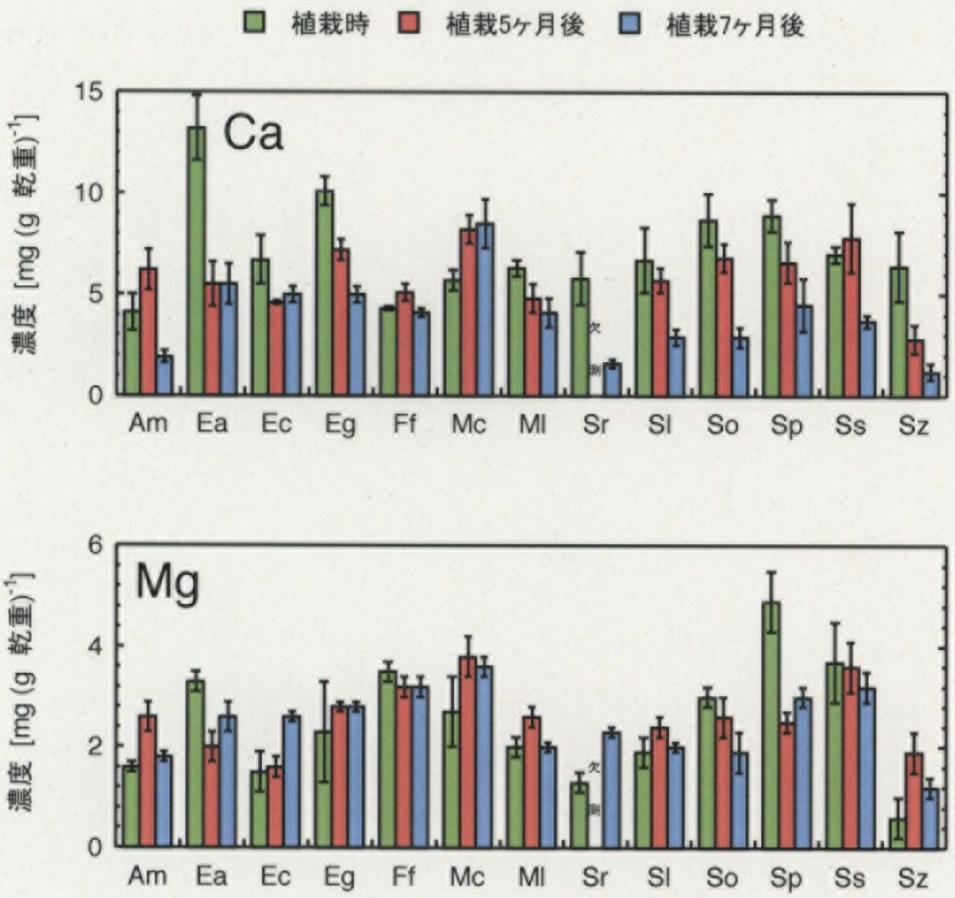

図 2-4. 酸性硫酸塩土壌に植栽した樹木の葉の元素濃度(続き)

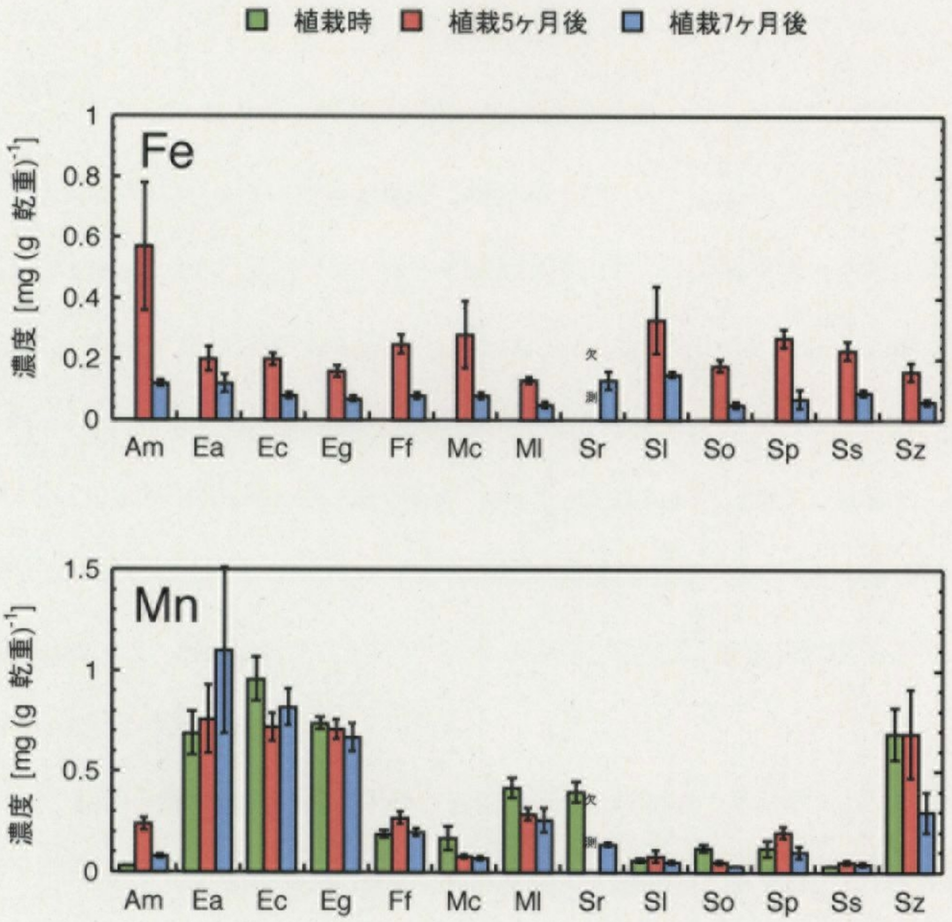

図 2-4. 酸性硫酸塩土壌に植栽した樹木の葉の元素濃度(続き)

2.4 考察

ベトナムのメコンデルタの酸性硫酸塩土壌に植栽した *M. cajuputi* が生育できたとの報告があるが(Nakabayashi et al. 2001)、酸性硫酸塩土壌において生育可能な樹種に関する報告は少ない。本研究では、*A. mangium*、*E. alba*、*F. fragrans*、*M. arcana*、*M. cajuputi*、*M. leucadendra*、*Sy. lineatum*、*Sy. oblatum*、*Sy. pachyphyllum*、*Sy. scortechinii*、*Sy. zeylanicum* の 11 種もの樹木が酸性硫酸塩土壌で生育できることが分かった。これらの樹種は、植栽後の生残率が高く、樹高成長量も大きかったので、酸性硫酸塩土壌における造林候補樹種である。*M. bracteata* は、植栽後 2 年のうちにすべての個体が枯死し、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。

"強い"酸性土壌で植物の成長を妨げる要因として、H^+の害、過剰な Al や Mn による障害などが上げられている(但野・安藤 1984)。本試験地の土壌溶液と地下水の pH は 2.8～3.7 であり非常に低かった。水耕栽培実験の結果によると、培養液の pH が 3.5 の場合の *E. camaldulensis* と *M. cajuputi*、*M. leucadendra* のバイオマス成長は、pH 4.2 の場合よりも小さかった(Nguyen et al. 2003b)。従って、本試験地において高濃度の H^+がこれらの樹種の成長を抑制していた可能性がある。

酸性硫酸塩土壌の土壌溶液の Al 濃度は 1.9～3.0 mM で、他の種類の土壌と比べて非常に高かった(表 2-1)。*A. mangium* と *E. grandis* は、それぞれ 2.5 mM Al と 1.6 mM Al の培養液で水耕栽培すると根の伸長が阻害された(大沢 1999, Silva et al. 2004)。また、*E. camaldulensis* は 0.5 mM Al の培養液でバイオマス成長が阻害されたとの報告がある(Nugyen et al. 2003a)。したがって、これらの樹種では、土壌溶液中の Al によって成長が抑制されていた可能性がある。

酸性硫酸塩土壌の土壌溶液の Mn 濃度は 34～49 μM で、他の土壌と比べて高かった(表

2-1)。Mn は主に葉に蓄積し障害をもたらすので(Carver and Ownby 1995)、葉における濃度が障害を規定すると考えられる。10%の乾重減少をもたらす葉の Mn 濃度を水耕栽培実験によって調べると、*E. camaldulensis* と *M. leucadendra* でそれぞれ 7.2 mg (g 乾重)$^{-1}$、0.45 mg (g 乾重)$^{-1}$ だった(Reichman et al. 2004)。本研究における *E. camaldulensis* と *M. leucadendra* の植栽後の葉の Mn 濃度は、それぞれ 0.72〜0.82 mg (g 乾重)$^{-1}$、0.26〜0.29 mg (g 乾重)$^{-1}$ だったので、 土壌溶液中の Mn は *E. camaldulensis* や *M. leucadendra* の成長を阻害するほどではなかったと考えられる。

“強い”酸性土壌では、一般に K、Ca、Mg などの塩基の不足が問題となるが(但野・安藤 1984)、成熟過程の初期にある酸性硫酸塩土壌では、塩類含量が高いものがあり、これが問題となる場合がある(久馬 1984)。酸性硫酸塩土壌の土壌溶液中の K^+、Ca^{2+}、Mg^{2+} の濃度は、それぞれ 113 μM、987 μM、1030 μM であり、他の土壌と比較して高いほうだった(表 2-1)。*Eucalyptus* や *Melaleuca* の水耕栽培実験に用いられる培養液には、例えば 600〜770 μM K、350〜1250 μM Ca、250〜820 μM Mg が含まれており(Watanabe et al. 1998a, Nguyen et al. 2003b, Yamanoshita et al. 2005)、この濃度と比較すると酸性硫酸塩土壌の土壌溶液に含まれていた K^+ 濃度は若干低いが、Ca^{2+}、Mg^{2+} の濃度は適当な値である。また、養分適当条件で水耕栽培した *A. mangium* と *M. cajuputi* の葉の K、Ca、Mg 濃度は、それぞれ 12 と 16 mg K (g 乾重)$^{-1}$、4 と 7 mg Ca (g 乾重)$^{-1}$、4 と 3 mg Mg (g 乾重)$^{-1}$ だった(Osaki et al. 1997)。本研究における *A. mangium* と *M. cajuputi* の葉の K、Ca、Mg 濃度は、それぞれ 7〜9 と 10〜11 mg K (g 乾重)$^{-1}$、2〜6 と 8〜9 mg Ca (g 乾重)、2〜3 と 4 mg Mg (g 乾重)$^{-1}$ であり、K 濃度は養分適当条件で栽培した場合と比べて低い傾向にあったが、Ca と Mg の濃度は養分適当条件で栽培した場合と同程度だった。以上のことから、本研究の酸性硫酸塩土壌では、Ca^{2+} と Mg^{2+} の不足や過剰は植物の成長を阻害する主な要因にはなっていなかったと考えられる。K^+ は十分でなかった可能性があるが、枯死を引き起こすほどの欠乏状態ではなかったと思われる。

酸性硫酸塩土壌の土壌溶液の Na^+ 濃度は 400 μM 程度であったが、*E. camaldulensis* と *E.*

grandis は 50 mM NaCl 処理によっても成長が阻害されなかったとの報告があり(Sun and Dickinson 1993)、これらの種では Na の過剰害は起きていなかったと考えられる。また、耐塩性が低い植物でも成長を阻害する NaCl 濃度は、数十 mM であることから(Greenway and Munns 1980)、本研究の試験地で Na^{+}は植栽木の成長を阻害する要因とはなっていなかったと考えられる。

酸性硫酸塩土壌では、パイライトの酸化過程で大量の Fe が遊離されるので、Fe^{2+}濃度が高く、時に数十 mM に達し植物の生育を阻害する(久馬 1984)。イネは pH 3.7 において Fe^{2+}濃度がおよそ 1800 μM を超えると Fe 過剰害を発現するという(Sahrawat 2004)。本研究の酸性硫酸塩土壌の Fe 濃度は、土壌溶液で 5～44 μM、地下水で 120～149 μM であり、植栽木の生育を阻害していた可能性は低い。

本章の研究によって、酸性硫酸塩土壌で生育可能な多数の樹種 *A. mangium*、*E. alba*、*F. fragrans*、*M. arcana*、*M. cajuputi*、*M. leucadendra*、*Sy. lineatum*、*Sy. oblatum*、*Sy. pachyphyllum*、*Sy. scortechinii*、*Sy. zeylanicum* を選抜することができた。*M. bracteata* は酸性硫酸塩土壌での生育に適してないと考えられた。また、酸性硫酸塩土壌で植栽木の生育を妨げる要因の一つとして過剰な Al が考えられた。