

論文の内容の要旨

森林科学専攻
平成18年度博士課程 入学
氏名 遠藤 いく貴
指導教員 丹下 健

論文題目 *Acacia mangium* の根における境界様細胞の生成と役割

木本植物の根は養水分の吸収とともに、巨大化する地上部の支持体として土壤中で長期間発達を続ける。よって、根の成長の継続は、木本植物がある環境において健全に生育するために必須の条件である。しかし、根の成長は土壌の理化学性など、多様な要素により影響される。土壌ストレスの一つに、熱帯地域に分布する強酸性土壌のアルミニウム過剰がある。低い土壌 pH によって土壌中に溶出したアルミニウムイオン(Al)が、根の伸長を阻害し、植物を枯死に至らせる。この Al の毒性に対して、根端からの有機酸の放出による無毒化が Al 耐性機構として唯一知られている。しかし、木本植物の中には少ない有機酸放出にもかかわらず、高い Al 耐性を示す種が存在しており、その耐性機構の詳細は明らかでない。近年、高 Al 耐性種のクスノキの根端で、プロアントシアニジン(PA)を集積する細胞層が Al 耐性に関与することが示唆されている。PA はフラボノイドの一種で、動物からの食害を抑える効果や抗菌作用を持つ。*Acacia mangium* Willd. は、酸性土壌においても旺盛な成長を示し、有用な熱帯造林樹種として知られている。高濃度の Al 存在下において生育する作物と比較して有機酸放出量が少なく、異なる機構によって Al 存在下での生育を可能にしていると考えられる。一方、水耕栽培時の *A. mangium* の根端に、鞘状に覆う組織が形成されることを見出した。根冠細胞のうち、境界細胞(border cell)や境界様細胞(border-like cell)は根と土壌との境界でさまざまな機能を有することから、*A. mangium* の鞘状組織が土壌ストレスに対して何らかの役割を持つことが考えられる。境界細胞は根冠周縁部の細胞で、水中に置いた根冠から単体で速やかに分散する特性を持つ。また、シロイヌナズナなどいくつかのアブラナ科植物で、根冠の細胞が相互に結合した状態で離脱する境界様細胞の存在

が明らかにされている。境界細胞は、根表面で土壌粒子との摩擦や Al などの有害金属イオンに対する緩衝材となることや、土壌微生物の忌避や誘引に関与することなど、根の防御機構に寄与していることが報告されている。本研究では *A. mangium* の根端に生成される鞘状組織が境界様細胞であることを示すとともに、境界様細胞の生成過程や特性、Al 過剰などのストレス耐性との関わりを明らかにすることを目的とした。I 章では、本研究の背景と目的を明示した。

木本植物の根における境界細胞ならびに境界様細胞についての知見がほとんどないことから、II 章では、*A. mangium* の水耕苗の根端を覆った鞘状組織が境界様細胞であるか、根のどの細胞に由来するか等について組織化学的な解析を行った。*A. mangium* の鞘状組織は、根の伸長域を含む領域で形成されていた。顕微鏡による観察の結果、鞘状組織は複数の細胞がシート状に結合して離脱する境界様細胞であることが分かった。境界様細胞は根の長軸と平行に裂けており、境界様細胞の細胞間、特に細胞の短軸で強い自家蛍光が観察されたことから、細胞の長軸と比較して、短軸において、リグニンが細胞結合を強めていることが示唆された。境界様細胞の根との付着部位の詳細を調べるために根端切除実験を行った結果、境界様細胞は根の伸長域を含む根頂端から 1 mm までの側根冠細胞に付着することが明らかになり、境界様細胞はその先端側と基部側の両側で剥離していた。トルイジンブルー O (TBO) 染色を用いた組織化学的観察から、側根冠細胞と境界様細胞のフェノール性物質の呈色性が類似すること、フェノール性物質は根冠のコルメラ部分に集積しないことを明らかにした。以上の結果から、境界様細胞は側根冠細胞由来であると判断した。コルメラ部分を含む根頂端 0-1 mm では、境界様細胞と境界細胞がほぼ 1 対 1 の割合で離脱していたが、側根冠細胞のみである根頂端 1-3 mm では境界様細胞のみが離脱した。根端から離脱し、根周囲に留まった境界様細胞の分布および数は、個々の根によって様々であり、自然環境下において境界様細胞の離脱様式が異なることが推測された。また、低温実験での根の伸長速度と境界様細胞の離脱速度が比例していたことから、境界様細胞は根の伸長に伴って離脱することが明らかになった。

III 章では、*A. mangium* の境界様細胞の根圏における役割に関わる特性として、PA の細胞内での集積に注目し、境界様細胞の生成、離脱の過程を調べた。まず、組織化学的な解析により、II 章で認められたフェノール性物質が PA であることを確認した。アミロプラストを含む根冠をルゴール染色した結果と比較し、PA は主に側根冠細胞に集積することを明らかにした。さらに、PA は皮層を含む遠心側の外皮、表皮にも集積していた。境界様細胞および境界細胞にも PA は認められ、発芽後 4 日目という早い段階から離脱細胞内に集積することが明らかになった。コルメラには PA が集積していないことから、0-1 mm 部位から離脱し、PA を集積した境界細胞は側根冠細胞由来であることを示唆した。木本植物によって根に集積する PA は複数のパターンを示すことが報告されており、*A. mangium* の根では主に根端に多く集積し、特に根の表層部分にその集積が多いことが分かった。また、根に集積する PA は、根頂端から 1-3 mm 部位では細胞内全体で確認されたが、根頂端から 3-5 mm 部位では細胞壁付近に集積する傾向が見られ、呈色強度は基部側ほど弱かった。根の基部側で皮層や表皮の PA が減少していくことから、*A. mangium* の根端部位における PA の役割が、根の伸長に伴って失われることを示唆した。境界様細胞の PA 集積と生活性との関連を検討したところ、境界様細胞の生活性は根頂端から 0-1 mm に比べ基部側の 1-3 mm で低かったが、細胞の生活性の割合の大小にかかわらず、PA は比

較した根端部位で同程度集積していた。このことから、境界様細胞内の PA 集積は細胞の生活性と関係なく維持されることを示した。濾紙間で根を伸長させた実験から、根伸長跡に認められた PA が、離脱細胞内に存在することを明らかにし、細胞の失活後も細胞内に保持されて残ることを明らかにした。PA は境界細胞および境界様細胞に含まれて根外に放出された後に、根圏環境の形成に寄与していることを示唆した。

IV章では、*A. mangium* の高 Al 耐性や抗菌性への境界様細胞の関わりを調べた。高濃度の Al を含む培養液での水耕栽培実験によって、鞘状組織の有無は Al 耐性に影響しないこと、境界様細胞の離脱は Al 処理と無処理で有意な差がないことを明らかにした。また、根における Al の集積は、PA を集積した側根冠細胞の外側に限定された。以上のことから、高濃度の Al 存在下においても *A. mangium* の根の伸長が維持されるのは、伸長域において Al は PA を集積する側根冠細胞層の表層にのみ集積することによって、その内側に位置する表皮細胞の伸長が保護されるためであることを示唆した。さらに、Al を集積した側根冠細胞の境界様細胞としての恒常的な離脱が Al の集積の抑制に関与することを示唆した。次に、バクテリアの接種実験では、サイズに比べ *A. mangium* の根端でバクテリアの増殖が抑えられていた。このことから、PA の抗菌効果の可能性とともに、境界様細胞の離脱が根表面に付着したバクテリアの除去に効果的であることを示唆した。

V章の総合考察では、II-IV章の結果を踏まえて、*A. mangium* の根における境界様細胞の生成と離脱、および PA の集積が根の成長に果たす役割を考察した。*A. mangium* の境界様細胞は、根の伸長に伴って生成、離脱し、ストレス誘導的でないという点でエンドウマメ等の境界細胞と異なっていた。*A. mangium* の土壌ストレス耐性は、根冠細胞が根の伸長に伴って境界様細胞として離脱していくことによって発揮されていると考えられた。網羅的な解析により、根に PA を集積する種数の割合は草本植物に比べ木本植物で高いことが報告されている。また、クスノキの根端に集積する PA が Al 耐性に関与することが示唆されている。本研究では、高 Al 耐性樹種である *A. mangium* の根端に PA が常に集積することを明らかにした。一方で、根に PA が集積していても Al 耐性の低い種も存在することから、根端における PA の局在に関する樹種特性が Al 耐性に関わっている可能性が考えられた。

以上のように本研究では、*A. mangium* の境界様細胞の生成および離脱過程の解析によって、根冠細胞がばらばらになって脱落する種を用いた研究では明らかにできなかった根冠からの離脱細胞の土壌ストレス耐性や、根圏環境の形成における役割の一端を明らかにすることができた。