

E-3 荒廃熱帯林のランドスケープレベルでのリハビリテーションに関する研究

(2) プランテーションや荒廃草地などのナチュラルフォレストコリドー導入に関する立地管理方法の開発に関する研究

② 荒廃地における造林技術の開発

東京大学

大学院農学生命科学研究科附属演習林
アジア生物資源環境研究センター

丹下 健
小島克己

<研究協力者>

東京大学 アジア生物資源環境研究センター

則定真利子・山ノ下卓・古河原聡・
田原 恒・松尾孝行

大学院農学生命科学研究科森林科学専攻

益守眞也

タイ王国 農業・協同組合省森林局

Tanit Nuyim

平成14～16年度合計予算額	9, 038千円
(うち、平成16年度予算額)	2, 502千円)

[要旨] 熱帯荒廃地を対象とし、造林技術の開発に関する実験室での基礎研究とタイ国ナラティワート県でのフィールド研究を行った。その結果、1) 育苗ポットを大きくすると、フタバガキ科樹木の苗木を砂質土壌に植栽した場合に活着率が高まること、2) 光硬化処理をすると、フタバガキ科樹木の苗木を砂質土壌に植栽した場合に活着率が高まる種があること、3) 砂質土壌、強酸性土壌で植物成育の阻害要因となっているリン酸欠乏について、熱帯荒廃地造林に用いられるマメ科樹木4種を用いてリン酸欠乏耐性機構を調べたところ、どの種もリン酸欠乏に応答してリン酸トランスポーター遺伝子の発現が高まったこと、4) 強酸性土壌での植物成育の阻害要因となっているアルミニウム過剰について、アルミニウム耐性の異なるフトモモ科樹木3種を用いて耐性機構を調べたところ、アルミニウム結合性物質の分泌によるアルミニウム取り込み抑制以外の耐性機構の存在が示唆されたこと、5) アルミニウム耐性種*Melaleuca cajuputi*について、根端でのアルミニウムとの強い結合を抑制する耐性機構の存在が示唆されたこと、6) 泥炭土壌での植物成育の阻害要因となっている根の低酸素ストレスについて、湛水耐性種*Melaleuca cajuputi*を用いて光合成と糖代謝系の応答を調べたところ、*Melaleuca cajuputi*は、根の低酸素ストレスにより一時的に光合成速度が低下するが、比較的短期間で光合成速度が回復し、根への光合成産物の転流が増加したこと、7) 湛水耐性種*Melaleuca cajuputi*は、根圏の酸素濃度が低下してもすぐには根のスクロース分解酵素の活性が低下せず、根への糖の転流が阻害されないこと、8) 高温が光合成と成長に与える影響を *Acacia* 属6種について比較したところ、高温による光合成の低下がない種や光合成の低下はあるが光阻害が生じない種があることが明らかになった。

[キーワード] 熱帯荒廃地、森林再生、低エネルギー投入、環境造林、環境ストレス

1. はじめに

荒廃地の環境修復を目的とした造林、すなわち環境造林を進めるに当たっては、投入するエネルギーをなるべく低く抑えることが実現性や持続性、また造林に伴う環境負荷の観点から望ましい。森林再生により環境を修復することができれば、そこを元の自然環境に近い形あるいは生物生産の場に誘導することは容易になるであろう。

本研究では、人為により本来の生物生産性を維持できなくなっている極限的荒廃地を対象とし、樹木の能力を最大限に利用することによる低投入エネルギー型の森林再生法の開発のための基礎研究を行った。この課題を強力に、かつ効率的に推進するために、これまでの研究の蓄積があるタイ国ナラティワート県の泥炭湿地とその周辺の荒廃地に目標を定めた。

タイ国ナラティワート県に設置した環境造林試験地において、既に選抜したそれぞれの問題土壌に耐性のある造林樹種の成長や光合成等の環境応答機構を調べるとともに、在来種を中心に新たな環境ストレス耐性種の選抜を行った。同時に、実験室において、貧栄養、湛水、アルミニウム、高温などのストレスに対する造林樹種の応答を解析し、ストレス耐性種の耐性機構の解明を試みた。

2. 研究目的

(1) 砂質土壌の造林法の改良- 育苗ポットの大きさと苗木の活着・成長 (平成14年度)

これまでに、砂質土壌の裸地にフタバガキ科樹木を植栽する際に、*Acacia mangium* Willd. 等の環境ストレス耐性のある樹種をまず植栽し成林させてから目的とする樹種を植栽すると活着（苗木が生き残ること）が改善することを明らかにしてきた。本研究では、苗木のポットのサイズを大きくし、育苗時の根系成長を促進することにより苗木の活着が改善するかどうかを検討した。

(2) 砂質土壌の造林法の改良- 光硬化処理と苗木の活着 (平成15年度)

植栽前に庇陰を取り外してある程度の期間、全天光下に置くこと（光硬化処理）により、苗木の活着が高まることが経験的に知られているが、光硬化処理によって活着率がどの程度改善するのかについて調べた例は少ない。本研究では、6種のフタバガキ科の苗木について光硬化処理によって植栽後の活着が改善するかどうかを検討した。

(3) リン欠乏下での熱帯マメ科樹木のリン酸トランスポーター遺伝子の発現 (平成14年度)

リンは植物にとって必須元素であるが (Marschner 1995、森ほか 2001)、土壌中では不可給態となっているものが多く、土壌溶液中の濃度が低い (Brady and Weil 1996、久馬(編) 1997)。東南アジアにおける主要な造林樹種である *Acacia auriculiformis* Cunn. ex Benth., *Acacia mangium*, *Paraserianthes falcataria* (L.) Neilson, *Leucaena leucocephala* (Lamk) de Wit の不可給態リン酸の可給化能を調べたところ、可給化されたリン酸の吸収過程が律速となっている可能性が示唆された。本研究ではこれらのマメ科樹木4種について、リン欠乏条件下での根の高親和性リン酸トランスポーター遺伝子の発現をリアルタイムPCR法により調べた。根のクエン酸合成酵素遺伝子と分泌性酸性ホスファターゼ遺伝子の発現をあわせて調べた。

(4) フトモモ科樹木のアルミニウム耐性と根からの分泌物 (平成14年度)

強酸性土壌中のアルミニウム (Al) は根の伸長阻害として顕著にあらわれる (Delhaiz and Ryan 1995)。多くの植物種は、1 mMのAlにより生育が著しく阻害される (Schaedle et al 1989)。フトモモ科樹木の *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh. や *Melaleuca cajuputi* Powell は、1 mMのAlを

含む培養液でも生育が阻害されずAl耐性が高いこと、*Melaleuca bracteata* F. Muell. は1 mMのAlで生育が著しく阻害され、*E. camaldulensis*や*M. cajuputi*よりもAl耐性が低いことをこれまでに明らかにした。本研究ではこれらの3種について、根端へのAlの取り込みと有機酸などのAlと結合する物質の根からの分泌を調べた。

(5) アルミニウム耐性の異なる*Melaleuca*属2樹種の根端のアルミニウムに対する反応 (平成15年度)

平成14年度までにAl耐性の高い*Melaleuca cajuputi*では根端へのAlの集積が少なく、根端へのAlの侵入を抑制する機構を*M. cajuputi*が持つことが示唆されたが、それはアルミニウム結合性物質の根からの分泌によるものではないことを明らかにした。本研究では、根の伸長に不可欠なカルシウムのみを含む溶液にAlを加える系を用いて、これら2種の根の伸長がAlによって短時間のうちにどの程度影響を受けるかを調べ、2種の間で根端へのAlの取り込みに違いがあるかどうかを調べた。

(6) 根圏の低酸素濃度が*Melaleuca cajuputi*の成長と根の糖濃度に及ぼす影響 (平成14年度)

湛水条件下では、根圏の酸素濃度が低いいため根の好気呼吸が制限され、好気呼吸以外のエネルギーの獲得系が重要となる。光合成によって同化された炭素は細胞質でスクロースに合成され、転流される。篩管中のスクロースの濃度差が転流の駆動力となるため、葉でのスクロースの合成と分解の速度や根でのスクロースの分解速度が転流に大きな影響を及ぼす (Gifford and Evans 1981)。本研究では湛水耐性を持つ*Melaleuca cajuputi*を用い、根圏の低酸素濃度ストレスが葉の光合成と根の糖濃度に及ぼす影響を調べた。

(7) 根圏の低酸素濃度が糖の転流に及ぼす影響 (平成15年度)

平成14年度までに、*Melaleuca cajuputi*は根の低酸素濃度ストレスにより一時的に光合成が低下し、それにもなると根の糖濃度が低下するが、比較的短期間で回復し、成長も抑制されないことを明らかにした。本研究では、*Melaleuca cajuputi*の湛水耐性機構の一端を解明することを目的に、*Melaleuca cajuputi*ほど耐性がない*Eucalyptus camaldulensis*と比較しながら、低酸素濃度ストレスが糖の転流に与える影響を調べた。

(8) *Acacia*属樹木の成長と光合成に及ぼす高温の影響 (平成16年度)

熱帯荒廃地の裸地に造林する場合、苗木は高温に曝される。高温ストレスにより苗木の光合成や成長量が低下するが、これらの反応は種によって異なる。そこで、高温が光合成と成長に与える影響を、*Acacia auriculiformis*、*A. cincinnata* F. Muell.、*A. crassicarpa* Cunn. ex Benth.、*A. flavescens* Cunn. ex Benth.、*A. mangium* Willd.、*A. melanoxylon* R. Br. Cunn. ex Benth. の*Acacia*属6種について比較した。

3. 研究方法

(1) 砂質土壌の造林法の改良- 育苗ポットの大きさと苗木の活着・成長 (平成14年度)

タイ国ナラティワート県パチョ (北緯6° 30' 東経101° 45') に試験地を設けた (図-1)。年平均気温28℃、年降水量2,257 mmで、年降水量の半分以上が11月と12月に降る。1月から4月にかけて雨が少ない。土壌は、砂質であるために養水分の保持力が弱く、乾季には表層がかなり乾くが、雨季には湛水する。土壌のpH(H₂O)は5前後、pH(KCl)は4前後である。表層10cmの養分濃度は、全窒素0.5 g kg⁻¹、全リン0.1 g kg⁻¹、交換性カリウム0.02 cmol_c kg⁻¹、交換性カルシウム0.10 cmol_c kg⁻¹。

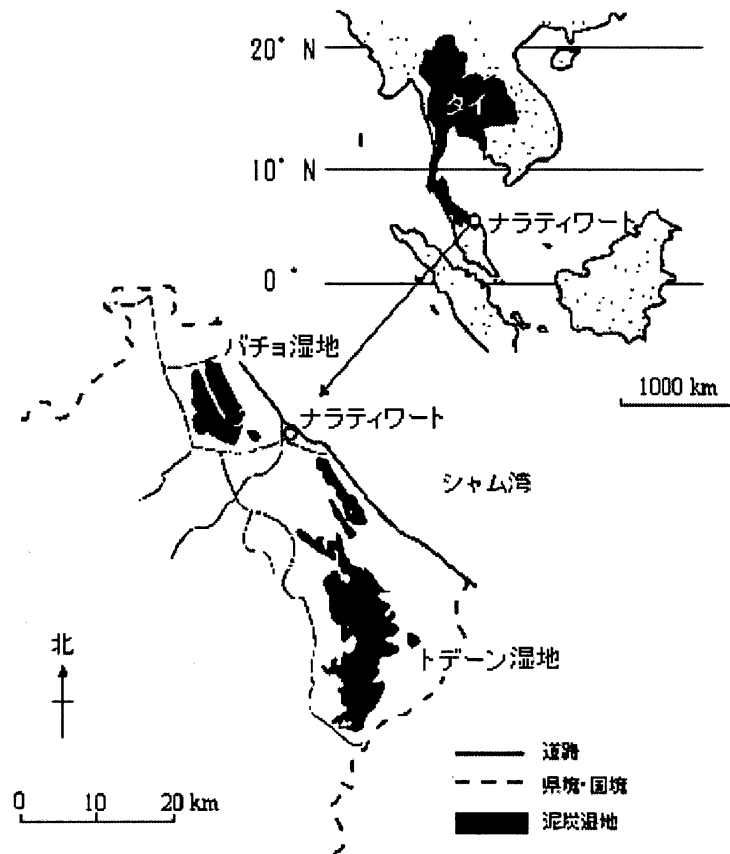


図-1 調査地の位置.

kg⁻¹、交換性マグネシウム0.03 cmol_c kg⁻¹と少なく、全層的に土壤養分が少ない。イネ科の草本群落や、低木の疎林が成立しているが、植生は全般にまばらで、表層に真っ白な砂が露出している。

大(畳んだときの横×縦の長さ：24×31 cm)、小(11×14 cm)のビニルポットでフタバガキ科樹木6種、*Anisoptera costata* Korth.、*Dipterocarpus chartaceus* Sym.、*Dipterocarpus obtusifolius* Teijsm. ex Miq.、*Hopea odorata* Roxb.、*Shorea glauca* King、*Shorea roxburghii* G. Donを育苗した。植栽2ヶ月前に小ポットの苗木の半数を大ポットに移植し、合わせて3つのポットサイズ処理区(大ポット区、小ポット区、移植区)を設けた。表層約20cmを耕耘し、1×1mの間隔で各処理区約60本を植栽し、処理区間で活着を比較した。植栽時に、各処理区20個体の苗について器官別乾重を測定した。

(2) 砂質土壤の造林法の改良- 光硬化処理と苗木の活着(平成15年度)

フタバガキ6種、*Dipterocarpus obtusifolius*、*Hopea odorata*、*Neobalanocarpus heimii* (King) P. Ashton、*Shorea leprosula* Miq.、*Shorea roxburghii*を砂と沖積土壤を混ぜた培土を入れたビニルポットで育苗した。植栽3ヶ月前にそれぞれの種について半数の苗を相対日射量5%の庇陰下に置き(無処理苗)、残りを全天光下に置いた(光硬化苗)。光硬化苗、無処理苗それぞれの半数を裸地に、残りをフタバガキと*Acacia mangium*を混植した5年生の林分内に植栽した。1処理区につき12個体を植栽し3反復設けた。その後3ヶ月間の生残を調べた。

(3) リン欠乏下での熱帯マメ科樹木のリン酸トランスポーター遺伝子の発現 (平成14年度)

播種後1ヶ月の4種の芽生えを、珪砂を培土とした1/10,000 aのワグネルポットに植え替えた。リン源として0.6 mMのリン酸ナトリウムを含む培養液とリン源を含まない培養液を与える処理区を設けた。1処理区につき5個体を供し、28℃/25℃の温室で栽培した。処理3ヶ月後、いずれの種もリン欠乏処理により成長が抑制されていた。各処理区5個体の細根からCTAB法により全RNAを抽出した。一定量の全RNAを鋳型として逆転写酵素によりcDNAを合成し、リアルタイムPCR法によりそれぞれの目的遺伝子の発現量を相対定量した。それぞれの目的遺伝子についてリアルタイムPCRの増幅効率を算出し、発現量を相対値化した。アクチン遺伝子について同様に発現量を相対値化し、目的遺伝子の相対発現量をアクチン遺伝子の相対発現量あたりで評価した。

(4) フトモモ科樹木のアルミニウム耐性と根からの分泌物 (平成14年度)

砂耕で育成した播種2-7ヶ月後の実生を培養液を満した1/5,000 aのワグネルポットに植え替え、通気しながら30℃、人工光 (16/8時間 明/暗) の植物育成装置内で水耕栽培した。移植後10日以上経った実生を実験に用いた。0、1、2.5、5 mM のAlCl₃を含む培養液で栽培し、Al耐性を評価した。処理開始時と5日後に根の長さを測定し、40日後の乾重を測定した。1 mMのAlCl₃を含む培養液に根を浸し、24時間後に根端5 mmのAl濃度を測定し、根端へのAlの集積を調べた。0 mMあるいは1 mM AlCl₃の0.35 mM CaCl₂溶液 (pH 4.0) に根を24時間浸け、根からの分泌物を分析した。溶液中の陽イオンを除いたのち20倍に濃縮し、25 mMになるようにAl(NO₃)₃を加え、有機物と結合していない溶液中の単量体Al濃度をピロカテコールバイオレット比色法によって測定した。溶液中の全Al量と単量体Al量の差から、根から分泌された物質のAl結合能力を評価した。分泌物中のフェノール物質をホーリン・デニス法によって、有機酸を高速液体クロマトグラフィーによって分析した。前述のようにして採取、濃縮した試料に、およそ1 mM AlになるようにAlCl₃を加え、ゲル濾過クロマトグラフィーにより分離し、各画分のAl濃度を測定した。

(5) アルミニウム耐性の異なる *Melaleuca* 属2樹種の根端のアルミニウムに対する反応 (平成15年度)

M. cajuputi と *M. bracteata* の種子を珪砂上で発芽させ、培養液を毎日与えて、温度30℃、人工光 (16/8時間 明/暗) の植物育成装置内で育てた。発芽後2-5ヶ月の実生を前述の培養液を使った水耕栽培に移し6日間経ったものを実験に用いた。0.35 mM CaCl₂水溶液 (pH 4.0) に12時間根を浸けて馴らした後、1 mMのAlCl₃を含む0.35 mM CaCl₂水溶液に実生の根を浸した (Al区)。対照として、AlCl₃を含まない0.35 mM CaCl₂水溶液に実生の根を浸した (対照区)。処理開始1、3、6、12、24時間の根の伸長量を根画像解析ソフトWinRhizoを用いて測定した。同様のAl処理を1、3、6、12、24時間施した実生の根端5 mmを切り取り、Ticeら (1992) の方法により次のように分画してアルミニウムを定量した。切り取った根端を5 mM CaCl₂を含む1 mM クエン酸ナトリウム溶液 (pH4.0) に浸し、溶液中に遊離したアルミニウムを細胞壁と細胞間隙 (アポプラスト) に存在するアルミニウムとしてファーンネス原子吸光分析装置で定量した。その後、根端を凍結して細胞膜や液胞膜などの生体膜を破壊してから再度前述の溶液に浸し、溶液中に遊離したアルミニウムを細胞内 (シンプラスト) のアルミニウムとして定量した。抽出残渣を湿式灰化してアルミニウムを定量した。これは細胞壁や細胞膜などに比較的強く結合しているアルミニウムである。

(6) 根圏の低酸素濃度が *Melaleuca cajuputi* の成長とスクロース代謝に及ぼす影響 (平成14年度)

タイ国ナラティワート県で採取した *Melaleuca cajuputi* の種子を珪砂に播種した。発芽後約4ヶ月の実生を、ガラス温室（昼30℃、夜25℃）で培養液にポンプで空気を送りながら水耕栽培した。1週間後に、空気を通気する空気通気区と窒素を通気する窒素通気区を設けた。処理3日目と19日目に成熟葉のCO₂濃度350 ppm下の光飽和光合成速度と気孔コンダクタンスを、光合成蒸散測定装置（LI6400, Li-cor）を用いて測定した。測定葉と側根のスクロース、グルコース、フルクトースの濃度を高速液体クロマトグラフで定量した。また、タイ国ナラティワート県の湿地周辺に分布する *Alstonia scholaris* (L.) R. Br. について、同様の処理区を設け、処理20日目の光合成速度と気孔コンダクタンスを測定し、個体の生重量を測定した。

（7）根圏の低酸素濃度が糖の転流に及ぼす影響（平成15年度）

ガラス温室（昼30℃、夜25℃）で播種後120日目の *Eucalyptus camaldulensis* と播種後143日目の *Melaleuca cajuputi* を用いて水耕栽培を行った。培養液に窒素ガスを通気する区（低酸素区）と、空気を通気する区（対照区）を設け、19日間処理した。処理期間を通じて樹高を測定し、また処理後0、1、5、7、11、19日目に成熟葉の光飽和光合成速度を携帯式光合成蒸散測定装置（LI6400, Li-cor）で測定した。処理後1日目と19日目に成熟葉に¹³C₂を取り込ませ、18時間後に個体を器官別に切り分けて乾燥させ、各器官中の¹³C増加量を安定同位体比質量分析計（DeltaS, Thermo Finigan）を用いて分析した。¹³C₂を取り込ませた成熟葉から各器官に転流した総量に占める各器官への転流量の比率を求めた。処理後1日目の根の糖濃度を、HPLCを用いて測定し根のスクロース分解酵素の活性（インベルターゼ活性とスクロースシンターゼ活性）を測定した。

（8）*Acacia*属樹木の成長と光合成に及ぼす高温の影響（平成16年度）

Acacia auriculiformis, *A. cincinnata*, *A. crassicarpa*, *A. flavescens*, *A. mangium*, *A. melanoxylon* の実生を、珪砂を培土として1/10000a ワグネルポットに植え替えた。植物育成装置（30℃[12h]/25℃[12h]、相対湿度約75%、自然光）2台で、自動灌水装置により培養液を1日に3回灌水して栽培した。移植後38日目に、一方の育成装置の温度を38℃(12h)/33℃(12h)（高温区、相対湿度約85%）に設定し、もう一方はそのまま（対照区）とし、1種1処理区8本ずつを供し、20日間処理した。樹高ならびに処理開始時に成熟していた葉における光飽和光合成速度（P_{max}、光量：2000 μmol m⁻² s⁻¹）と最大量子収率（F_v/F_m、夜明け前）を経時測定した。また処理開始後に展開した葉について、P_{max}を処理後18日目に、F_v/F_mとカルボキシル化効率（A-Ci曲線の初期勾配、大気CO₂濃度：50~200 μmol mol⁻¹）を処理後19日目に測定した。処理終了後に器官別に分けて80℃で乾燥し重さを量った。

4. 結果と考察

（1）砂質土壌の造林法の改良- 育苗ポットの大きさで苗木の活着・成長（平成14年度）

植栽7ヶ月後の小ポット区の活着率は、*A. costata*が37%、*D. chartaceus*が56%、*D. obtusifolius*が89%、*H. odorata*が66%、*S. glauca*が22%、*S. roxburghii*が86%であった。植栽7ヶ月後の大ポット区の活着率は、*A. costata*が88%、*D. chartaceus*が88%、*D. obtusifolius*が100%、*H. odorata*が97%、*S. glauca*が49%、*S. roxburghii*が100%であった。いずれの種も、小ポット区で活着率が低く、大ポット区で活着率が高かった。*A. costata*以外の種では、移植区で小ポット区よりも活着率が高かった。*A. costata*では移植区と小ポット区で活着率に差がなかった。大ポット区では小ポット区に比べて個体乾重が大きかったが、個体乾重に対する根の乾重の割合（以下、根の

割合)には両区で差がなかったことから、大ポット区での活着率の改善は大きな苗木を植えたことによると考えられる。一方、*D. obtusifolius*以外の種では、移植区と小ポット区で個体乾重に差がなかった。これら5種のうち、*A. costata*以外では、移植区で小ポット区よりも根の割合が大きかった。移植により根の割合が増加した4種で移植による活着の改善がみられたことから、根の割合が大きかったことにより植栽による水分環境の変化に対応することができたと考えられる。本研究により、ポットのサイズがフタバガキ科樹木の苗木の活着を左右すること、また種によっては大きなポットで育苗すれば裸地に植栽してもある程度の活着が望めることが明らかとなった。

(2) 砂質土壌の造林法の改良- 光硬化処理と苗木の活着 (平成15年度)

植栽約3ヶ月後の生残率を調べた。裸地では、無処理苗と光硬化苗の活着率がそれぞれ、*D. obtusifolius*で100 %、100 %、*H. odorata*で89 %、100 %、*N. heimii*で78 %、97 %、*S. leprosula*で92 %、89 %、*S. roxburghii*で100 %、100 %、*Shorea sp.*で100 %、100 %となり、*H. odorata*と*N. heimii*で光硬化処理により有意に生残率が高まった。林内では、無処理苗と光硬化苗の活着率がそれぞれ、*D. obtusifolius*で100 %、100 %、*H. odorata*で81 %、100 %、*N. heimii*で81 %、94 %、*S. leprosula*で97 %、97 %、*S. roxburghii*で100 %、100 %、*Shorea sp.*で97 %、100 %となり、*H. odorata*と*N. heimii*で光硬化処理により有意に生残率が高まった。*H. odorata*と*N. heimii*では、植栽後3ヶ月の時点での植栽木の生残が光硬化処理によって改善することが明らかになった。この改善効果は、裸地に植栽する場合だけでなく、林内に植栽する場合でも期待できることがわかった。

(3) リン欠乏下での熱帯マメ科樹木のリン酸トランスポーター遺伝子の発現 (平成14年度)

いずれの種においても、根のクエン酸合成酵素遺伝子の発現にリン欠乏処理による誘導は認められなかった。*P. falcataria*でリン欠乏処理による根の分泌性酸性ホスファターゼ遺伝子の発現誘導が認められた。いずれの種においても、リン欠乏処理により根の高親和性リン酸トランスポーター遺伝子の発現が誘導された。

リン欠乏条件下では、低濃度の可給態リン酸の吸収能力が植物の生育にとって重要である。リン欠乏条件下で根のリン酸吸収効率が高まる、あるいは高親和性リン酸トランスポーターの発現が誘導されるという報告がある(Mimura 2001、Raghothama 1998、2000、Schachtman et al 1998)。これまでの実験において、4種の不可給態リン酸の利用能力に違いがあったが、根からの有機酸や酸性ホスファターゼの分泌量ではその能力の違いを説明できなかった。本研究において高親和性トランスポーター遺伝子のリン欠乏による発現誘導が4種ともに認められた。植物体や根の周りのリン酸濃度に対する高親和性リン酸トランスポーター遺伝子発現の誘導の種間差が、不可給態リン酸の利用能力の種間差をもたらしている可能性がある。

(4) フトモモ科樹木のアルミニウム耐性と根からの分泌物 (平成14年度)

処理開始から5日間の根の伸長量は、*E. camaldulensis*と*M. cajuputi*の1 mMと2.5 mM Al区で0 mM Al区よりも大きく、Alによって根の伸長が促進された。5 mM Al区では両種の根の伸長量が0 mM Al区のそれぞれ65%と29%に抑制された。*M. bracteata*は、すべてのAl区で根の伸長が著しく阻害され、1 mM Al区で0 mM Al区の5%に抑制された。3種とも培養液のAl濃度が高いほど乾重成長が小さかった。*M. cajuputi*は5 mM Al区で、*M. bracteata*は2.5と5 mM Al区で処理40日後までにほとんどの個体が枯死した。*E. camaldulensis*と*M. cajuputi*は、乾重成長が若干阻害されるものの、それぞれ5 mM Alと2.5 mM Alで生育できるAl耐性が高い種であることがわかった。

根端5 mmへのAlの取り込みは、処理開始24時間で*M. bracteata*で5.4 mg g⁻¹、*M. cajuputi*で4.1 mg g⁻¹、*E. camaldulensis*で4.3 mg g⁻¹であり、*M. bracteata*の根端のAl濃度が*E. camaldulensis*や*M. cajuputi*よりも高かった。*E. camaldulensis*や*M. cajuputi*には、根端へのAlの侵入を抑制する機構があることが示唆された。

根からの分泌物のAl結合能力を調べたところ、すべての樹種と処理区で全Al量より単量体Al量が少なく、根からAlと結合する物質が分泌されていることが分かった。*E. camaldulensis*のAl処理区でAlを加えない対照区よりも分泌物のAl結合量が多かった。他の2種は処理による違いがなかった。いずれの種でも対照区のほうがAl処理区より根から分泌されるフェノール物質が多かった。3樹種ともAl処理区のみでクエン酸が検出された。*E. camaldulensis*のAl処理区のみでシュウ酸が分泌されていた。ゲル濾過クロマトグラフィーによる分離の結果、*E. camaldulensis*のAl処理区のみで、分子量300-700の画分にAl化合物が検出された。*E. camaldulensis*はAl存在下で、Alと結合して分子量300-700程度になる何らかの物質を分泌していることがわかった。

低分子有機酸の分泌量は3樹種いずれの処理区とも数十nmol g⁻¹ 24 h⁻¹以下で、有機酸を分泌することによってAl耐性を獲得していると報告されている樹種や作物種の分泌量よりも格段に少なかった (Ryan et al 2001)。また、Al耐性の低い*M. bracteata*で耐性の高い*M. cajuputi*よりもAl結合性の物質やフェノール物質、有機酸の分泌量が多かった。以上の二点から、Al結合性物質の分泌量のみでは、3種のAl耐性の違いや根端へのAlの取り込みの違いを説明できないので、Al結合性物質の分泌によるAl取り込み抑制以外のAl耐性機構が存在すると考えられる。

(5) アルミニウム耐性の異なる*Melaleuca*属2樹種の根端のアルミニウムに対する反応 (平成15年度)

*M. cajuputi*では1 mMのアルミニウムによって根の伸長が阻害されなかったのに対して、*M. bracteata*では1 mMのアルミニウムによって根の伸長が著しく阻害され、その阻害は処理後3時間のうちに現れた。根端の各画分のアルミニウム濃度を2種間で比較したところ、クエン酸で抽出可能なアルミニウムについては、アポプラストとシンプラストのいずれについても両種の間で差がなかったが、クエン酸では抽出されない、細胞壁や細胞膜などに比較的強く結合しているアルミニウムについては、*M. cajuputi*のほうが*M. bracteata*よりも少なかった。この違いは、処理後1時間で既に現れていた。比較的強く結合しているアルミニウムがどのような部位にどのような形で存在しているのかについては今後の解析が必要であるが、*M. cajuputi*にはこのような結合を抑制する機構が存在し、これがこの種の高いアルミニウム耐性に寄与している可能性を示すものである。

(6) 根圏の低酸素濃度が*Melaleuca cajuputi*の成長と根の糖濃度に及ぼす影響 (平成14年度)

処理5日目以降、窒素通気区と空気通気区の樹高成長量において処理区間で差がなかった。処理19日目の個体生重量も処理区間で差がなかった。処理19日目の光合成速度と気孔コンダクタンスにも処理区間で差がなかった。低酸素ストレスによる光合成の低下は一時的であり、成長への影響も小さいことがわかった。*A. scholaris*では、処理20日目の窒素通気区の個体生重量が空気通気区の半分であり、光合成速度と気孔コンダクタンスも窒素通気区で小さいままであった。

葉の糖濃度に処理区間で差がなかった。根の糖濃度は、処理3日目に窒素通気区で低かったが、処理19日目には処理区間で差がなかった。処理3日目には、窒素通気区で光合成が抑制されていたために根に転流される糖が減少し、根の糖濃度が減少したと考えられる。処理19日目には光合成

が回復しており、その結果根に十分なスクロースが転流されたと考えられる。

湛水耐性の高い *M. cajuputi* では、低酸素処理初期には気孔の閉鎖によって光合成が低下したが、19日目には光合成も根の糖濃度も回復し、成長の抑制も認められなかった。一方、*A. scholaris* では、光合成が回復せず、成長が抑制された。阻害された光合成が回復する過程での光合成、糖代謝系の変化を調べ、根圏が低酸素状態にあっても *M. cajuputi* の成長が維持される機構を解明する必要がある。

(7) 根圏の低酸素濃度が糖の転流に及ぼす影響 (平成15年度)

E. camaldulensis では、低酸素区でほとんど成長せず、成熟葉の光飽和光合成速度が大きく低下し、処理後11日目にはほとんど光合成をしていなかった。一方、*M. cajuputi* では、低酸素区で対照区と同様の樹高成長を示し、成熟葉の光飽和光合成速度が低下しなかった。*E. camaldulensis* では、根に転流した¹³Cの割合が処理後1日目に低酸素区で対照区の半分程度に低下し、処理後19日目には2割程度にまで低下した。*M. cajuputi* では、根への転流の割合に処理区間で差がなかった。*E. camaldulensis* では、処理後1日目の低酸素区で対照区に比べて根のインペルターゼ活性が低く、スクロース濃度が高かった。*M. cajuputi* では根のスクロース分解酵素活性及びスクロース濃度に処理区間で差がなかった。*E. camaldulensis* では、根圏の酸素濃度が低下することにより、短時間で根のスクロース分解酵素活性が低下して根のスクロース濃度が高くなり、その結果、葉から根への糖の転流の駆動力となる糖の濃度勾配が小さくなって根への転流が抑制され、成長が抑制されると考えられる。*M. cajuputi* では、根圏の酸素濃度が低下してもすぐには根のスクロース分解酵素活性が抑制されず、根のスクロース濃度が高まらないために糖の濃度勾配が維持され、転流が抑制されないと考えられる。このような転流の維持が、根圏の酸素濃度が低くても成長を維持できる要因のひとつと考えられる。

(8) *Acacia* 属樹木の成長と光合成に及ぼす高温の影響 (平成16年度)

A. cincinnata と *A. melanoxydon* は高温により成長量が低下した。処理終了時の高温区における個体乾重は、対照区に対し *A. melanoxydon* で約50%、*A. cincinnata* で約80%であった。6種すべてにおいて高温区と対照区で気孔コンダクタンスに差がなかった。一方、*A. cincinnata*、*A. mangium*、*A. melanoxydon* では、処理開始時に展開していた葉のPmaxが高温により低下した。これら3種と *A. auriculiformis*、*A. crassicarpa* では、処理開始後に展開した葉のPmaxが高温により低下し、対照区に対し *A. melanoxydon* で約50%、*A. cincinnata* で約60%、*A. auriculiformis* と *A. mangium* で約70%、*A. crassicarpa* で約90%の値を高温区で示した。また、*A. cincinnata*、*A. mangium*、*A. melanoxydon* の高温区におけるカルボキシル化効率も、*A. melanoxydon* で対照区の約70%、*A. cincinnata* と *A. mangium* で約90%に低下していた。*A. flavescens* ではPmaxとカルボキシル化効率の高温による低下はなかった。*A. cincinnata* と *A. melanoxydon* では、処理開始時に展開していた葉のFv/Fmが高温区で徐々に低下し、処理終了時に *A. cincinnata* で0.75、*A. melanoxydon* で0.72に低下した。処理開始後に展開した葉の高温区のFv/Fmは *A. cincinnata* で約0.78、*A. melanoxydon* で約0.70だった。他の4種は高温によるFv/Fmの低下が小さかった。*A. cincinnata* と *A. melanoxydon* では、高温によるFoの増加も見られた。以上のことから、*A. flavescens* と *A. crassicarpa* は、光合成と成長に高温(38℃)の影響はほとんどなく、高温耐性を持つことがわかった。これに対し、*A. cincinnata* と *A. melanoxydon* は高温によって光合成速度と成長が低下し、高温耐性が低いことがわかった。*A. auriculiformis* と *A. mangium* は、高温による光合成速度の低下が見られるものの、

光化学系IIに障害が生じなかったことから、光障害に対する防御機構が働いていることが示唆された。

5. 本研究により得られた成果

- (1) フタバガキ科樹木6種 (*Anisoptera costata*, *Dipterocarpus chartaceus*, *D. obtusifolius*, *Hopea odorata*, *Shorea glauca*, *S. roxburghii*) の苗木を砂質土壌に植栽したとき、育苗ポットを大きくすると活着率が高まった。
- (2) フタバガキ科樹木6種 (*Dipterocarpus obtusifolius*, *Hopea odorata*, *Neobalanocarpus heimii*, *Shorea leprosula*, *Shorea roxburghii*) の苗木を砂質土壌に植栽したとき、光硬化処理すると植栽後3ヶ月の時点で、*Hopea odorata*と*Neobalanocarpus heimii*の活着率が高まった。
- (3) マメ科樹木4種 (*Acacia auriculiformis*, *A. mangium*, *Paraserianthes falcataria*, *Leucaena leucocephala*) は、リン酸欠乏に応答してリン酸トランスポーター遺伝子の発現が高まった。
- (4) フトモモ科樹木2種 (*Eucalyptus camaldulensis*と*Melaleuca cajuputi*) について、アルミニウム結合性物質の分泌による取り込み抑制ではない未知のアルミニウム耐性機構の存在が示唆された。
- (5) アルミニウム耐性種*Melaleuca cajuputi*について、アルミニウムが根端に強く結合しないような機構の存在が示唆された。
- (6) 湛水耐性種*Melaleuca cajuputi*は、根の低酸素ストレスにより一時的に光合成速度が低下するが、比較的短期間で光合成速度が回復し、根への光合成産物の転流が増加した。
- (7) 湛水耐性種*Melaleuca cajuputi*は、根圏の酸素濃度が低下してもすぐには根のスクロース分解酵素の活性が低下せず、根への糖の転流が阻害されなかった。
- (8) *Acacia flavescens*と*A. crassicaarpa*は高温耐性を持ち、*A. auriculiformis*と*A. mangium*は高温下で光障害に対する防御機構が働いていることが示唆された。

6. 引用文献

- 1) Brady NC and Weil RR (1996) *The Nature and Properties of Soils*. 11th ed. 740 pp. Prentice Hall, Upper Saddle River, NJ.
- 2) Delhaize E and Ryan PR (1995) Aluminum toxicity and tolerance in plants. *Plant Physiol* 107: 315-321.
- 3) Gifford RM and Evans LT (1981) Photosynthesis, carbon partitioning, and yield. *Annu Rev Plant Physiol* 32: 485-509.
- 4) Kochian LV (1995) Cellular mechanisms of aluminum toxicity and resistance in plants. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol* 46: 237-260.
- 5) 久馬一剛 (編) (1997) *最新土壌学*. 216 pp. 朝倉書店, 東京.
- 6) Marschner H (1995) *Mineral Nutrition of Higher Plants*. 2nd ed. 889 pp. Academic Press, San Diego, CA.
- 7) 森敏, 前忠彦, 米山忠克 (編) (2001) *植物栄養学*. 291 pp. 文永堂出版, 東京.
- 8) Mimura T (2001) Physiological control of phosphate uptake and phosphate homeostasis

in plant cells. *Aust J Plant Physiol* 28: 653-658.

- 9) Raghothama KG (1998) Phosphate acquisition. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol* 50: 665-693.
- 10) Raghothama KG (2000) Phosphate transport and signaling. *Curr Opin Plant Biol* 3: 182-187.
- 11) Ryan PR, Delhaize E. and Jones DL (2001) Function and mechanism of organic anion exudation from plant roots. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol* 52: 527-560.
- 12) Schachtman DP, Reid RJ and Ayling SM (1998) Phosphorus uptake by plants: from soil to cell. *Plant Physiol* 116: 447-453.
- 13) Schaedle M., Thornton FC, Raynal DJ and Tepper HB (1989) Response of tree seedlings to aluminum. *Tree Physiol* 5: 337-356.
- 14) Tice KR, Parker DR and Demason DA. (1992) Operationally defined apoplastic and symplastic aluminum fractions in root-tips of aluminum-intoxicated wheat. *Plant Physiol* 100: 309-318.

7. 国際共同研究等の状況

タイ国農業・協同組合省森林局のTanit Nuyim氏と共同研究を行っている。

8. 研究成果の発表状況

(1) 誌上発表

<論文(査読あり)>

- ① Y. Hayashi, N. Ikeue, K. Tanoi, N. Nogawa, T. Tange, H. Yagi, K. Matsune, and T.M. Nakanishi: *J. Radioanal. Nucl. Chem.*, 255, 115-118 (2003)
“Element analysis and radioactivity measurement within a wood disk by neutron activity analysis”
- ② 小島克己: 日本林学会誌、86, 1, 61-68 (2004)
「熱帯樹木の環境ストレス応答」
- ③ T. Hashimoto, T. Tange, M. Masumori, H. Yagi, S. Sasaki and K. Kojima: *TROPICS*, 14, 123-130 (2004)
“Allometric equations for pioneer tree species and estimation of the aboveground biomass of a tropical secondary forest in East Kalimantan”
- ④ S. Kogawara, M. Norisada, T. Tange, H. Yagi and K. Kojima: *Tree Physiol.*, in press (2005)
“Elevated atmospheric CO₂ alters the effects of phosphate deficiency on carbon allocation in pine (*Pinus densiflora* Sieb. & Zucc.)”
- ⑤ K. Tahara, M. Norisada, T. Hogetsu and K. Kojima: *J. For. Res.*, in press (2005)
“Aluminum tolerance and aluminum-induced deposition of callose and lignin in the root tips of *Melaleuca* and *Eucalyptus* species”
- ⑥ K. Tahara, M. Norisada, T. Tange, H. Yagi and K. Kojima: *Soil Sci. Plant Nut.*, in press (2005)
“Ectomycorrhizal association enhances Al tolerance by inducing citrate secretion in

Pinus densiflora”

- ⑦ T. Yamanoshita, M. Masumori, H. Yagi and K. Kojima: J. For. Res., in press (2005)
“Effects of flooding on downstream processes of glycolysis and fermentation in roots of *Melaleuca cajuputi* seedlings”

<その他誌上発表（査読なし）>

- ① 長野敏英編：熱帯生態学、朝倉書店、26-43（2004）
「3. 熱帯林の生態（執筆担当：鈴木邦雄・小島克己）」
- ② 長野敏英編：熱帯生態学、朝倉書店、102-127（2004）
「5. 熱帯林の再生・修復（執筆担当：小島克己・鈴木邦雄）」
- ③ 小池孝良編：樹木生理生態学、朝倉書店、50-58（2004）
「栄養塩と光合成（執筆担当：丹下健）」
- ④ Y. Matsumoto, E. Ueda, and S. Kobayashi (Eds): Rehabilitation of Degraded Tropical Forests, Southeast Asia 2004, 109-114（2004）
“Environmental reforestation on degraded sandy soils in southern Thailand（執筆担当：M. Norisada, T. Yamanoshita, M. Masumori, T. Tange, T. Nuyim and K. Kojima）”
- ⑤ Y. Matsumoto, E. Ueda, and S. Kobayashi (Eds): Rehabilitation of Degraded Tropical Forests, Southeast Asia 2005, in press（2005）
“What prevents establishment of seedlings planted on degraded tropical soils and how can we cope with it? - Lessons from reforestation trials on degraded sandy soils in southern Thailand（執筆担当：M. Norisada, T. Yamanoshita, K. Tahara, S. Kogawara, T. Matsuo, M. Masumori, T. Tange, H. Yagi, T. Nuyim, S. Sasaki and K. Kojima）”

（2）口頭発表

- ① 古川原聡、山ノ下卓、則定真利子、益守眞也、小島克己：第114回日本林学会大会（2003）
「根圏の低酸素濃度がカユプテのスクロース代謝に及ぼす影響」
- ② 則定真利子、小島克己：第114回日本林学会大会（2003）
「リン欠乏下での熱帯マメ科樹木のリン酸トランスポーター遺伝子の発現」
- ③ 田原恒、則定真利子、山ノ下卓、益守眞也、小島克己：第114回日本林学会大会（2003）
「フトモモ科樹木のアルミニウム耐性と根からの分泌物」
- ④ 古川原聡、山ノ下卓、則定真利子、益守眞也、小島克己：第115回日本林学会大会（2004）
「根圏の低酸素濃度が糖の転流に及ぼす影響」
- ⑤ 田原恒、則定真利子、山ノ下卓、益守眞也、宝月岱造、小島克己：第115回日本林学会大会（2004）
「耐性の異なる *Melaleuca* 2種のAlに対する根端の反応」
- ⑥ M. Norisada, T. Yamanoshita, M. Masumori, T. Tange, T. Nuyim and K. Kojima: International workshop on “The landscape level rehabilitation of degraded tropical forests”, Tsukuba, Japan, 2004
“Environmental reforestation on degraded sandy soils in southern Thailand”
- ⑦ M. Norisada, T. Yamanoshita, K. Tahara, S. Kogawara, T. Matsuo, M. Masumori, T. Tange, H. Yagi, T. Nuyim, S. Sasaki and K. Kojima: International workshop on “The landscape level rehabilitation of degraded tropical forests”, Tsukuba, Japan, 2005

“What prevents establishment of seedlings planted on degraded tropical soils and how can we cope with it? - Lessons from reforestation trials on degraded sandy soils in southern Thailand”

⑧ 松尾孝行、則定真利子、小島克己：第116回日本林学会大会（2005）

「*Acacia*属6種の成長と光合成の高温に対する反応」

(3) 特許出願

なし

(4) シンポジウム、セミナーの開催（主催のもの）

なし

(5) マスコミ等への公表・報道等

なし

9. 成果の政策的な寄与・貢献について

本研究の成果は、荒廃地の環境修復を目的とした造林、すなわち環境造林の技術の確立に大きく寄与するものである。環境造林の技術はAR-CDM事業の基礎をなすものであり、今後、学術誌への発表を通じて成果の公表や普及に努め、審議会、委員会等の場で成果を提示し、政策形成に貢献する。