

細胞膜表面のイオン活動度から見えるもの

小山博之¹・小林安文¹・Kinraide T. B.²・我妻忠雄³

キーワード 養分吸収, 根障害イオン, 細胞膜電荷, Gouy-Chapman-Sternモデル

1. はじめに

植物は根から養分を吸収する。その仕組みに関する理解は、ホウ酸 (Takano *et al.*, 2002, 2006) やケイ酸 (Ma *et al.*, 2006, 2007) トランスポーターの特定に代表されるように、ゲノム科学の時代を迎えて急速に進んでいる。根の吸収サイトの細胞膜には、トランスポーターが存在し、吸収された元素は表皮、皮層、内皮の各細胞および木部柔細胞を経て、トランスロケーターにより導管に送り出される。このような仕組みは、イオン吸収の一般的な仕組みである。一方、細胞膜上には、シグナル伝達の入り口としてセンサー機能を担うレセプタータンパク質も存在して、吸収サイトでのイオンホメオスタシスに関連することが予想される (Zhu, 2005)。

ところで、酸性条件で溶解しているアルミニウム (Al) イオンに代表されるような、根のイオンストレスも、同じ文脈で理解することができる。問題を生じる金属イオンは、根の吸収サイトでトランスポーターやレセプターを阻害し、さらに細胞膜の流動性を損ない、その結果生じる損傷により透過性を増大させる (Ishikawa and Wagatsuma, 1998)。内部に取り込まれた後には、ミトコンドリア機能の阻害など致命的な障害を引き起こすが (Yamamoto *et al.*, 2002)、トランスロケーターによる導管への排出機構が存在し (Larsen *et al.*, 2005)、ある種の Al 集積植物ではその能力が高いと考えられる。この吸収と転流のバランスで根の障害を説明する考え方は、他のイオンにも当てはまる。ナトリウム、マンガンや亜鉛などのイオン障害が地上部で生じやすいのは、これらのイオンは根表面からの吸

収速度に比較してトランスロケーターの能力が相対的に高いためと考えられる (Hall and Williams, 2003)。

このような、様々なイオンと植物の関係を理解する上で、細胞膜に到達するイオンの量を知ることの意味は大きい。養分欠乏で誘導される高親和性トランスポーターは、そこに到達するイオン量が少なくても、細胞内部に取り込む能力を保つ輸送体である。一方、最も代表的な Al 耐性機構である有機酸放出は (Kochian *et al.*, 2003)、細胞膜表面に Al イオンを到達させない戦略である。ともに、細胞膜表面に到達するイオンの濃度と関連する機構である。

この細胞膜表面のイオンの濃度は、溶液中の濃度だけでは決定されない。共存するイオンの濃度や pH に大きく影響を受ける。このことは、フィールド試験と水耕栽培、さらには分子生物学で用いられる高栄養培地での解析結果にギャップを生じる原因にもなっている。ここでは、細胞膜表面のイオン活動度のシミュレーションの実際と、そこから見えるイオンと植物の関係について解説する。

2. 細胞膜表面ではカチオンは濃縮される。

溶液中のイオンはアポプラストをへて、細胞膜に到達する。細胞壁を中心とするアポプラスト成分もイオンの移動に対する抵抗を持つと考えられる。例えば、細胞壁は十分な孔隙を持つため、イオンの透過に対する物理的な障害とはならない。しかし、陽イオン交換能力や様々なリガンドをもつため、カチオンの通過に影響すると考えられる。3 価の Al イオン (Al^{3+}) が透過する場合のアポプラスト抵抗はそれほど大きくないと見積もられているが (Kinraide, 2004)、細胞壁成分 (主にペクチン) と結合するとの報告もある。この、アポプラストとイオンとの関係は、根の本質を理解するために重要と考えるが、ここでは細胞膜とイオンの関係に話を戻す。

アポプラストを通過したカチオンは、細胞膜近傍 (数マイクロメートル) に近づくと、細胞膜表面に存在する負電荷により濃縮される。この濃度上昇は、カチオンの正電荷の密度と細胞膜の負電荷の大きさ (ゼータ電位) により影響をうける。つまり、コンパクトで正電荷が大きいカチオンほど、また細胞膜の負電荷の密度が大きければ大きいほど、そのカチオンの濃度は上昇することになる (図 1)。さて、このことを、溶液 pH が変化する場合のカルシウム

Hiroyuki KOYAMA, Yasufumi KOBAYASHI, Kinraide, T. B. and Tadao WAGATSUMA: Plasma membrane theory in nutrient uptake and rhizotoxicity

¹ 岐阜大学応用生物科学部 植物細胞工学研究室 (岐阜市柳戸 1-1)

² 米国農務省 アパラチア農業システム研究センター (ピーパー, ウェストバージニア)

³ 山形大学農学部植物栄養学・土壌学研究室 (鶴岡市若葉町 1-23)

2008年3月31日受付・2008年8月21日受理

日本土壌肥科学雑誌 第79巻 第5号 p.500~504 (2008)

(Ca) イオンについて考えてみる。Caは生理的なpH領域では2価のカチオン、 Ca^{2+} として振る舞いイオン化しやすいため、溶液中 (bulk phase) での活動度の変化は小さい [注：詳しくは後述するが、AlイオンはpHにより、イオン種 (speciation) が変化する]。一方、細胞膜表面の負電荷は、リン脂質などの生理学的pH領域にpKaを持つ酸性リガンドに由来するためpHにより変化する。例えば、酸性溶液では解離していないリガンドが、中性溶液中では解離するため、細胞表面の負電荷の密度は高くなる。そのため、Ca濃度が上昇することになる (図2)。この考え方をカチオン全体に拡張すると、細胞膜表面の電荷密度が、細胞に対するイオンの毒性と養分吸収の両者と関連することが直感的に理解できる。リン酸などのアニオンの場合、細胞膜表面の負電荷が大きいと近づき難くなり、細胞膜表面の濃度が低下することも同じ考え方で推定できる (Kinraide, 1998)。

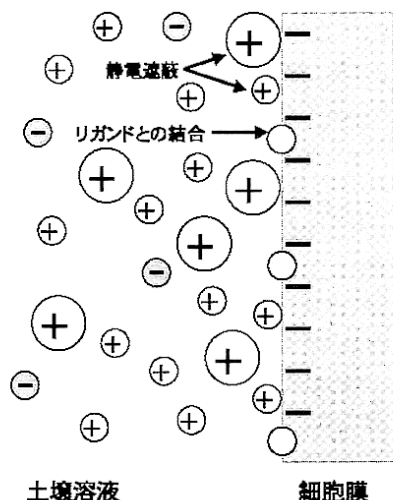


図1 根部細胞膜表面でのカチオン集積の模式図
根の表面は負電荷を持つ。正電荷を持つイオンは細胞膜表面では濃縮される。細胞膜表面の負電荷は、弱酸性の解離基によるものが多く、酸性化すると負電荷は小さくなる。

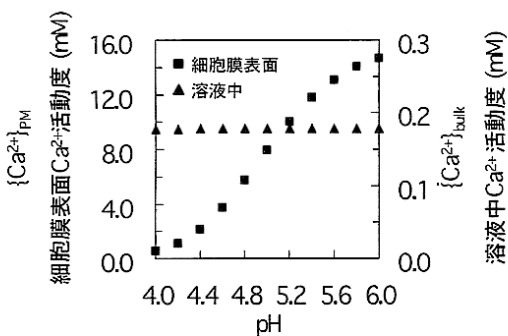


図2 溶液pHの変化に伴う細胞膜表面及び溶液中でのカルシウムイオン活動度の理論値
200 μ M塩化カルシウム単純溶液を基に計算プログラムを用いて算出した。溶液中の活動度は変化しないが、細胞膜表面ではpHが低下すると急激に低くなる。

3. 根の毒性 (rhizotoxicity) と軽減作用 (alleviation)

Rhizotoxicityは、根 (Rhizo-) と毒性 (toxicity) の造語であり、Al-rhizotoxicityやCu-rhizotoxicityのように用いられている。ここにあげた、Alと銅 (Cu) は根に障害を与えるイオンであるが、地上部での障害が中心となるナトリウム障害 (塩害) でも、sodium-rhizotoxicityを用い根に対する障害を限定的に表現している (Yermiyahu *et al.*, 1997)。rhizotoxicityは、根の伸長阻害や養分吸収能力の低下など、量的・質的な障害をもたらす。その原因となる標的分子が、細胞膜そのものに存在する場合はもちろん、シンプラストに存在する場合も、吸収・流入サイトとなる細胞膜表面の毒性イオン濃度が障害程度に強く影響する。その濃度は、カチオンの場合には前項で述べた Ca^{2+} と同様に、pH低下により細胞膜表面の弱酸性リガンドが非解離となった場合に低下するとともに、共存する他のカチオンとの競合によっても低下する (Kinraide, 1998)。この時、毒性作用が低いイオン (例えば Ca^{2+}) によって置き換えられる場合、軽減作用 (alleviation) が認められる。例えば、 Ca^{2+} が細胞膜表面の酸性リガンドに Al^{3+} と競合すれば、 Al^{3+} -rhizotoxicityは Ca^{2+} によりその毒性が軽減される。 Ca^{2+} はrhizotoxicityが極めて低いイオンであるが、毒性が高いイオン同士でも低濃度の添加で軽減される現象が認められる。例えば、水素イオン (H^+) はそれ自体がrhizotoxicであるため Ca^{2+} によりalleviateされるが、低濃度の Al^{3+} 毒性をalleviateする。低いpHの溶液で Al^{3+} をわずかに添加した時に根の伸長が回復するのは、 Al^{3+} -rhizotoxicityのほうが H^+ -rhizotoxicityよりましだからである。

4. 細胞膜表面のイオン活動度の推定

細胞膜表面のイオン活動度は、細胞膜表面のリガンド [酸性 (R^-) 若しくは中性 (P^0)] と、正電荷を持つイオン (P^+) との関係を通常の解離としてとらえれば、熱力学的に算出することが可能となる。実際にはいくつかの仮定に基づくモデルと、それから導き出される式における定数を実験及び理論的に求める必要がある。Gouy-Chapman-Sternモデルはその一つであり、Kinraideはそれに基づいた計算プログラムを開発・使用している。その詳細は既報を参照いただくこととするが (Kinraide, 1994)、このモデルは、①“細胞膜表面電気ポテンシャル (ψ_{PM})” (PMは、Plasma Membrane, 細胞膜上の意味) が定まると、イオンと細胞膜リガンドの解離反応として細胞膜表面でのイオンの濃度 $[C^+]_{PM}$ が算出できること (Sternモデル) と、②表面電荷密度 (σ) と帯電イオンの関係を示すGouy-Chapman理論から、近似的に ψ_{PM} をもとめられることを統合したものである。これを算出するためには、溶液中のイオン濃度 (若しくは活動度) と、細胞膜上のリガンドの総数や各種イオンとの結合定数が必要になる。前者は、GEOCHEMなどの溶液化学によるイオン種 (Ionic speciation) 推定

プログラムでもとめることができ、後者は各種イオンと細胞膜（プロトプラスト若しくはベシクル）との結合実験やゼータ電位測定からもとめることができる (Yermiyahu *et al.*, 1997). 実際には、理論計算により60種程度のイオンの結合定数の近似値も算出されている。Kinraideが開発・使用しているプログラムは、限られたイオンではあるがイオン種の推定に引き続き、各イオン種の細胞膜表面での濃度と活動度をもとめることが可能である。その使用例として、次節ではAl障害と細胞膜の関係を考察する。

5. Al障害と細胞膜

Alは溶液に加えた全て (Al_T ; TはTotal. 不溶性のものや電荷のないものも含めて、全てを合計したものが Al_T となる) が毒性を持つわけでない。これはイオン種により毒性が異なることと、溶液の状態によってイオン種の活動度が変わることによる。イオン種のなかでは、ポリマーイオンの毒性が最も大きい (Wagatsuma and Kaneko, 1987), 土壌系では、このイオン種はコロイドに固定され、モノマーイオン種のみとなる (Hiradate and Yamaguchi, 2003; Hiradate, 2004). また、有機酸や他のリガンド (硫酸イオン, リン酸イオンおよびフッ化物イオン) と結合したものの毒性は低い (Parker *et al.*, 1988). 一方, pHの変化により, 毒性が高い Al^{3+} の割合は減少して, $Al(OH)^{2+}$, $Al(OH)^{+}$, $Al(OH)_3^0$ を生じる。ここで, 強調したいのは, 毒性を持つのは溶液中 (bulk-phase) の活動度 $\{Al^{3+}\}_{bulk}$ ではなく, 細胞膜表面の活動度 $\{Al^{3+}\}_{PM}$ (PMはPlasma Membrane; 細胞膜) という点である。Kinraide等によるイオン種研究の初期の論文では (1990年ごろまで), bulk-phaseのイオン種と根の伸長の関係を吟味した (Kinraide and Parker, 1988). この初期の研究は, Alの毒性が溶液中のイオン種ごとに異なり, その標的が根の表層 (つまりアポプラストもしくは細胞膜) に存在することを示唆する画期的なものであった。その後, 毒性が強い Al^{3+} に焦点を絞り, 細胞膜表面の $\{Al^{3+}\}_{PM}$ がコムギの根伸長阻害をきれいに説明できることを示してきた (Kinraide, 1998). しかし, この一連の研究の間には

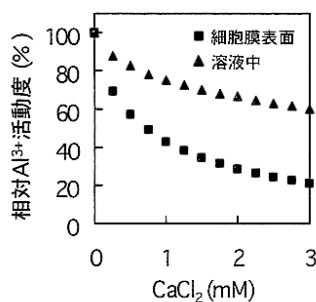


図3 塩化カルシウム添加が細胞膜表面及び溶液中の3価アルミニウムイオン活動度に及ぼす影響
pH 5.0の塩化カルシウムのみを含む単純溶液に4 μM 塩化アルミニウムを添加した際の、細胞膜表面及び溶液中の3価アルミニウムイオン活動度を、Caを含まない溶液の活動度に対する相対値として示してある。

理論の発展に伴う飛躍が存在する。初期の研究では、溶液のイオン種を問題にし、後期では細胞膜表面の活動度を調べている。この両者には、単純な比例関係は存在しない。例えば、細胞膜上の負電荷がpH 4.5から上の領域では、細胞膜表面の弱酸性リガンドが解離するため負電荷密度が高くなり、 $\{Al^{3+}\}_{bulk}$ が同じでも $\{Al^{3+}\}_{PM}$ は増加する。また、 $\{Ca^{2+}\}_{bulk}$ が $\{Al^{3+}\}_{bulk}$ に及ぼす影響はわずかであるが、細胞膜上では極めて大きい (図3)。その概念と、Alの溶液及び細胞膜上の活動度を図4で確認しておく。ここで注意することは、溶液のイオン濃度も大きく影響し、イオン強度が低い溶液ではAlの毒性が強調されるということである。Kobayashiらはシロイヌナズナで、Ca 200 μM にその他の栄養を希釈した低いイオン強度の溶液を用い、pH 5.0, Al_T 4 μM で耐性・感受性品種の差が顕著であることを示している。この条件では、Al耐性遺伝子 *AtALMT1* (*Arabidopsis thaliana* Aluminum-activated malate transporter 1) リンゴ酸トランスポーター遺伝子) が誘導され遺伝子破壊で感受性を示すため、Al毒性が存在することは間違いない (Kobayashi, *et al.*, 2007). これは比較的高いpHでもAl-rhizotoxicityが存在することを示すもので、酸性土壌の中和目标がpH 5.5程度とされていることと良く符合する。尚、この条件はコムギのAl耐性研究の標準的な条件 (例えば品種間差を調べる条件; pH 4.4, Ca 400 μM , Al_T 20 μM) (Ryan *et al.*, 1995) に比較して、 $\{Al^{3+}\}_{bulk}$ は1/10であるが $\{Al^{3+}\}_{PM}$ は13.2 μM であり同等である。両植物の実験系の差は、 H^+ -rhizotoxicityに対する感受性を反映したものと考えられる。Gouy-Chapman-Sternモデルによれば、 H^+ が細胞膜上のCa濃度を著しく低下させることがわかっている。また、Caが H^+ -rhizotoxicityをalleviateすることも確かである。 Al^{3+} と H^+ の毒性が混在する環境でCaの軽減作用を解き明かすことは、品種改良ばかりでなく施肥管理など酸性土壌での農業にとって重要な課題と考える。

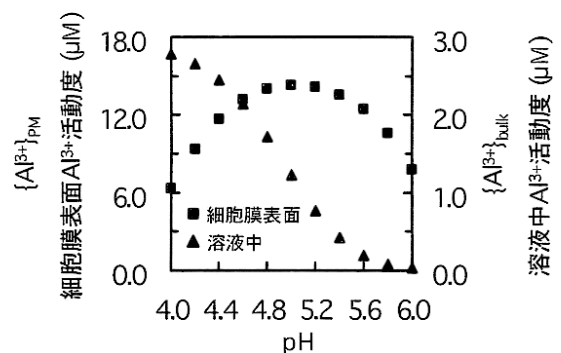


図4 溶液pHの変化に伴う細胞膜表面及び溶液中の3価アルミニウムイオン活動度の理論値

200 μM 塩化カルシウム単純溶液に4 μM 塩化アルミニウムを添加した。pH 5.0における細胞膜表面及び溶液中での活動度はそれぞれ、14.3, 1.2 μM と算出される。コムギのAl耐性研究の標準的な条件 (例えば品種間差を調べる条件; pH 4.4, Ca 400 μM , Al_T 20 μM) では、細胞膜表面及び溶液中での活動度はそれぞれ、13.2, 11.1 μM である。

6. Gouy-Chapman-Stern モデルの意味するものとその限界

Gouy-Chapman-Stern モデルは細胞膜表面の電荷密度が変化する状況での細胞膜近傍のイオンの濃度を議論する点で、rhizotoxicity をうまく説明できる。これは、低い塩濃度（細胞膜表面の負電荷が残る）で Al などのカチオンの毒性が強調され、高い塩濃度（細胞膜表面の負電荷が中和される）でセレン (SeO_4^{2-}) の吸収が増加することと一致する (Kinraide, 2003)。アニオンであるリン酸の施用効果が Ca 肥料添加で改善する現象も、細胞膜表面の負電荷が Ca^{2+} により中和されることで説明できるのかも知れない。このモデルからは細胞膜の細胞膜表面電気ポテンシャル (ψ_{PM}) が大きい、すなわち、より負電荷密度が大きい状態（近似的にはゼータ電位が大きい状態）の品種がより Al に感受性であることが予測できる。実際に、エンドウなど有機酸放出で耐性差をうまく説明できない植物の品種間差は、細胞膜表面の負電荷で説明ができそうである。このような耐性戦略をとる場合には、負電荷の低下により陰イオンであるリンの吸収が有利になる反面、膜表面での Ca 濃度低下に対応する仕組みをあわせ持つ必要があると考えられるが、現時点では議論に耐える実験はなされていない。

このモデルは細胞膜表面のイオン濃度全般に等しく当てはまり、吸収実験の際に共存イオン濃度の影響を考慮する必要性を理解する点で優れているが限界も存在する。まず、モデル化するために、細胞膜表面が仮想リガンドからなる均一な荷電物としてとらえていることである。養分吸収を担うトランスポーターや毒性イオンのターゲットとなるタンパク質・脂質などとイオンとの親和性を個別に反映しているわけではない。また、イオンの毒性ターゲットが細胞内部や細胞壁などのアポプラストに存在する場合や、イオン吸収が他のイオン輸送と共役している場合にもずれが生じると考えられる。現在、Kinraide が配布しているプログラムは、複数の植物種の Al 耐性を説明できるが、限られた実験値に基づいて作成したものである。細胞膜の表面電荷に関するデータは、Wagatsuma and Akiba (1989) が測定したものと、Yamiyafu *et al.* (1997) が測定したものを使用している。rhizotoxicity を、種を越えて議論する場合には、個別の種でゼータ電位などを測定する必要も出てくると考えられる。

7. 終わりに

この解説を結ぶに際し、本稿の執筆に至った経緯を少し記しておくことにする。Kinraide 博士の溶液化学に基づく論文 (Bulk-phase 理論) はそれ以前の Al 含量に基づく毒性の議論とは一線を画し、溶液中の Al 濃度 (活動度) と Al 毒性を結びつけるものであった。これは、Al 毒性のイオン種や標的リガンドとの相互関係を研究する道を開いた点で意義が大きい。そのため、発表直後から、極めて多く

の Al 研究者に認知される研究となった。問題はその後である。氏は、熱力学的な観点から細胞膜上の活動度と Al 毒性の議論 (PM 理論) を深めてゆくのであるが、多くの“生理学”に足場を置く Al 研究者は、溶液中で複雑に形態を変化させる Al の印象が強く、そのまま bulk-phase 理論と PM 理論には関連性があると思いついていた。ところが、Al 障害が起きる pH 範囲で細胞膜表面の電荷が大きく変わるため、実際には関連はないのである。今回の解説は、そのような状況をふまえて、Kinraide 博士の来日に際して取りまとめることとした。

Al 耐性に関しては、コムギリンゴ酸トランスポーター遺伝子 (*AlMT1*) や、それに引き続くシロイヌナズナの H^+ 及び Al^{3+} シグナル伝達転写因子 (*STOPI1*; Sensitive to Proton-rhizotoxicity 1) の発見など (Iuchi *et al.*, 2007)、分子レベルでの解明が急速に進んでいる。長年の懸案であった、クエン酸トランスポーターも複数のグループが時を同じくして発見し (Furukawa *et al.*, 2007; Magalhaes *et al.*, 2007)。今後は、水耕実験と圃場レベルの実験のギャップを埋め、有機酸放出以外の Al 耐性機構などを解明するなど、生理学研究を実用化に結びつけることが望まれる段階である。この際、細胞膜表面で Al が他のイオンとどのように関連して毒性を示すか正しくイメージすることの意味は大きいと考える。また、主要なトランスポーター遺伝子が単離され、アポプラストがもつ養分可溶性などの多様な機能に対する理解が深まる中 (Ae and Otani, 1997)、細胞膜表面のイオン活動度を考えることは、養分吸収を理解するうえでもきわめて重要である。近年の進歩が著しい、網羅的な解析手法の助けを得て、これら複数の事象を総合的に理解すれば、根の仕組みを解き明かせる日もそんなに遠くないのかもしれない。

尚、ここで取り上げたプログラムは BASIC で作成され、Al 以外にも、Ca, Cu, Na などのイオンに対応し、通常の PC で動かすことが可能である。Kinraide 博士に問い合わせることで、詳細な操作マニュアルとともに入手することができる。興味をもたれた方は是非問い合わせただければ幸いである。

謝辞：本稿の取りまとめにあたり、文部省科学研究費補助金 (課題番号 18208008) の補助を受けた。

文 献

- Ae, N. and Otani, T. 1997, The role of cell wall components from groundnut roots in solubilizing sparingly soluble phosphorus in low fertility soils. *Plant Soil*, 196, 265~270
- Furukawa, J., Yamaji, N., Wang, H., Mitani, N., Murata, Y., Sato, K., Katsuhara, M., Takeda, K. and Ma, J.F. 2007, An aluminum-activated citrate transporter in barley. *Plant Cell Physiol.*, 48, 1081~1091.
- Hall, J. L. and Williams, L. E. 2003, Transition metal transporters in plants. *J. Exp. Bot.*, 54, 2601~2613.
- Hiradate, S. 2004, Speciation of aluminum in soil environments. Application of NMR technique. *Soil Sci. Plant Nutri.*, 50, 303~314.

- Hiradate, S. and Yamaguchi, N. U. 2003, Chemical species of Al reacting with humic acids. *J. Inorg Biochem.*, **97**, 26~31.
- Ishikawa, S. and Wagatsuma, T. 1998, Plasma membrane permeability of root-tip cells following temporary exposure to Al ions is a rapid measure of Al tolerance among plant species. *Plant Cell Physiol.*, **39**, 516~525.
- Iuchi, S., Koyama, H., Iuchi, A., Kobayashi, Y., Kitabayashi, S., Kobayashi, Y., Ikka, T., Hirayama, T., Shinozaki, K. and Kobayashi, M. 2007, Zinc finger protein STOP1 is critical for proton tolerance in Arabidopsis and coregulates a key gene in aluminum tolerance. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, **104**, 9900~9905.
- Kinraide, T. B. 1994, Use of a Gouy-Chapman-Stern model for membrane-surface electrical potential to interpret some features of mineral rhizotoxicity. *Plant Physiol.*, **106**, 1583~1592.
- Kinraide, T. B. 1998, Three mechanisms for the calcium alleviation of mineral toxicities. *Plant Physiol.*, **118**, 513~520.
- Kinraide, T. B. 2003, The controlling influence of cell-surface electrical potential on the uptake and toxicity of selenate (SeO_4^{2-}). *Physiol. Plant.*, **117**, 64~71.
- Kinraide, T. B. 2004, Possible influence of cell walls upon ion concentrations at plasma membrane surfaces. toward a comprehensive view of cell-surface electrical effects upon ion uptake, intoxication, and amelioration. *Plant Physiol.*, **136**, 3804~3813.
- Kinraide, T. B. and Parker, D. R. 1987, Cation amelioration of aluminum toxicity in wheat. *Plant Physiol.*, **83**, 546~551.
- Kobayashi, Y., Hoekenga, O. A., Itoh, H., Nakashima, M., Saito, S., Shaff, J.E., Maron, L.G., Piñero, M.A., Kochian, L.V. and Koyama, H. 2007, Characterization of AtALMT1 expression in aluminum inducible malate release and its role for rhizotoxic stress tolerance in Arabidopsis thaliana. *Plant Physiol.*, **145**, 843~852.
- Kochian, L.V., Hoekenga, A. O. and Piñeros, M. A. 2004, How do plants tolerate acid soils? Mechanisms of aluminum tolerance and phosphorous efficiency. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, **55**, 459~493.
- Larsen, P. B., Geisler, M. J. B., Jones, C.A., Williams, K.M. and Cancel, J.D. 2005, ALS3 encodes a phloem-localized ABC transporter-like protein that is required for aluminum tolerance in Arabidopsis. *The Plant Journal*, **41**, 353~363.
- Ma, J. F., Tamai, K., Yamaji, N., Mitani, N., Konishi, S., Katsuhara, M., Ishiguro, M., Murata, Y. and Yano, M.: A silicon transporter in rice. *Nature*, **440**, 688~691.
- Ma, J. F., Yamaji, N., Mitani, N., Tamai, K., Konishi, S., Fujiwara, T., Katsuhara, M. and Yano, M. 2007, An efflux transporter of silicon in rice. *Nature*, **448**, 209~212.
- Magalhaes, J. V., Liu, J., Guimarães, C. T., Lana, U. G. P., Alves, V. M. C., Wang, Y. H., Schaffert, R. E., Hoekenga, O. A., Piñeros, M. A., Shaff, J. E., Klein, P. E., Carneiro, N. P., Coelho, C. M., Trick, H. N. and Kochian, L.V. 2007, A gene in the multidrug and toxic compound extrusion (MATE) family confers aluminum tolerance in sorghum. *Nat. Genet.*, **39**, 1156~1161.
- Parker, D. R., Kinraide, T. B. and Zelazny, L. W. 1988, Aluminum speciation and phytotoxicity in diluted hydroxyl ~ aluminum solutions. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, **52**, 438~444.
- Ryan, P. R., Delhaize, E. and Randall, P. J. 1995, Characterisation of Al ~ stimulated efflux of malate from the apices of Al-tolerant wheat roots. *Planta*, **196**, 103~110.
- Takano, J., Noguchi, K., Yasumori, M., Kobayashi, M., Gajdos, Z., Miwa, K., Hayashi, H., Yoneyama, T. and Fujiwara, T. 2002, Arabidopsis boron transporter for xylem loading. *Nature*, **420**, 337~340.
- Takano, J., Wada, M., Ludewig, U., Schaaf, G., von Wirén, N. and Fujiwara, T. 2006, The Arabidopsis major intrinsic protein NIP5;1 is essential for efficient boron uptake and plant development under boron limitation. *The Plant Cell*, **18**, 1498~1509.
- Wagatsuma, T. and Akiba, R. 1989, Low surface negativity of root protoplasts from aluminum-tolerant plant species. *Soil Sci. Plant Nutr.*, **35**, 443~452.
- Wagatsuma, T. and Kaneko, M. 1987, High toxicity of hydroxyl-aluminum polymer ions to plant roots. *Soil Sci. Plant Nutr.*, **33**, 57~67.
- Yamamoto, Y., Kobayashi, Y., Devi, S. R., Rikiishi, S. and Matsumoto, H. 2002, Aluminum toxicity is associated with mitochondrial dysfunction and the production of reactive oxygen species in plant cells. *Plant Physiol.*, **128**, 63~72.
- Yermiyahu, U., Brauer, D. K. and Kinraide, T. B. 1997, Sorption of aluminum to plasma membrane vesicles isolated from roots of Scout 66 and Atlas 66 cultivars of wheat. *Plant Physiol.*, **115**, 1119~1125.
- Yermiyahu, U., Nir, S., Ben-Hayyim, G., Kafkafi, U. and Kinraide, T. B. 1997, Root elongation in saline solution related to calcium binding to root cell plasma membranes. *Plant Soil*, **191**, 67~76.
- Zhu, J. K. 2003, Regulation of ion homeostasis under salt stress. *Curr. Opin. Plant Biol.*, **6**, 441~445.