

アーバスキュラー菌根菌が宿主植物のカドミウムの吸収と耐性に果たす役割：植物-菌根菌境界域におけるカドミウムの動態
Role of arbuscular mycorrhizal fungi in metal uptake and tolerance of the host plant: Dynamics of cadmium at plant – fungi interface.

大友 量^a, 陳 保冬^a, 名雪 圭一郎^b, 久我 ゆかり^b
 Ryo Ohtomo^a, Baodong Chen^a, Keiichiro Nayuki^b, Yukari Kuga^b

^a 農研機構 畜産草地研究所, ^b 広島大学
^a NARO, NILGS, ^b Hiroshima Univ.

カドミウム (Cd) 存在下で栽培した菌根菌感染植物の根や菌糸内の Cd 分布を大型放射光施設 SPring-8 の BL37XU を用いてマッピングした。感染根の Cd は菌根菌菌糸に存在するか、植物細胞内に一様に分布していた。菌糸では Cd は表層および内部に分布していた。またコンパートメントを用いた栽培法により、菌糸を介した Cd の輸送が裏付けられた。助細胞の Cd はポリリン酸と同様の場所に存在した。また菌根菌胞子にも著量の Cd が蓄積していた。

Distribution of cadmium (Cd) in plant root colonized by arbuscular mycorrhizal (AM) fungi or the fungi themselves were examined by X-ray fluorescence analysis using micro-beam from BL37XU, SPring-8. In the mycorrhizal root, Cd were detected in hyphal structure, or evenly distributed in plant cell where broken hyphae were observed. Cd in extraradical hyphae of AM fungi mainly distributed inside. The hyphae not directly exposed to Cd also contained Cd, indicating Cd transport through the hyphae. Significant Cd was detected in auxiliary cells and in spores of AM fungi, which might be related with AM fungal function of bio-stabilization of Cd in soil environment.

キーワード：アーバスキュラー菌根共生、カドミウム、蛍光 X 線分析、ファイトレメディエーション

背景と研究目的： 糸状菌であるアーバスキュラー菌根菌（以下 AM 菌）が植物の根に感染して成立する AM 共生系は、陸上でもっとも普遍的かつ重要な植物-微生物共生系である。AM 菌は土壤中に伸ばした菌糸からリン酸を始めとする無機養分や水を吸収して植物に供給する他、病害や乾燥ストレスに対する植物の抵抗性を高めるといった機能も有する。AM 菌の共生はまた宿主植物のカドミウム (Cd) 汚染環境への耐性を増強するが、その機序は明らかではない。陳らは AM 菌菌糸によって吸収された Cd は植物根が自ら吸収した Cd とは異なって地上部への転流が抑制されていることを見出した。つまり菌根内での AM 菌細胞から植物細胞への Cd の受け渡しの有無を明らかにすることが宿主の Cd 耐性の増強機構の解明に重要であると考えられた。本研究では Cd 存在下で栽培した菌根菌感染植物の根や菌根菌菌糸内の Cd 分布をマイクロビームを用いた蛍光 X 線分析によってマッピングし、AM 菌が宿主植物の Cd 吸収や Cd 耐性に果たす役割を明らかにする。

実験： AM 菌感染植物材料として以下の 3

種を用いた。すなわち a) *Gigaspora margarita* 感染タマネギ (サンプリング 10 日前に Cd を全体に施用し急速凍結で固定ののち樹脂包埋) b) *Glomus intraradices* 感染ニンジン毛状根 (Cd を含まない培地 (root compartment, RC) で培養した感染根から伸びた菌糸を Cd 含有培地 (hyphal compartment, HC) に誘導。グルタルアルデヒドによる化学固定) c) *G. intraradices* 感染ミヤコグサ (Cd を含まない培土 (root compartment, RC) で植物を栽培し、35 μm メッシュ (菌糸は通るが根は通らない) を介して Cd 非含有培土 (buffer compartment) さらに Cd 含有培土 (HC) と接触させ菌糸を伸長させた)。

これらのうち生のサンプル (b および c) は切片化し (根) あるいはそのままの状態 (菌糸および胞子) PP 膜に挟み、また樹脂包埋切片 (a, 根および菌糸) は PP 膜上に接着して分析した。

微小領域での元素マッピングは SPring-8 の BL37XU において硬 X 線マイクロビーム (1.5 μm) を用いた蛍光 X 線分析によって行った。可能な場合は鉄 (Fe) および亜鉛 (Zn) の同時マッピングを行った。

結果および考察：(1) 菌根内の Cd 分布：今回、根の中の Cd の分布は a)のサンプルのみで明瞭に観察できた(図 1)。b)および c)では、生の切片を用いたため構造の明瞭さが低かったことに加え、b)のサンプルでは培養期間が長すぎたため、また c)のサンプルでは HC 内の有効カドミウム濃度が不足していたことが原因と考えられる。a)のサンプルで確認された Cd の局在は、植物の細胞壁や内生菌糸の一部に局在している様に見える Zn や Fe とは明らかに異なっていた。Zn や Fe が無く Cd のみが検出できた菌糸構造(白矢印：消化された樹枝状体)が認められた。また細胞全体に Cd が薄く広がっているような植物細胞があり(黒矢印)、その中の菌糸らしい構造には Zn と Fe が認められた。

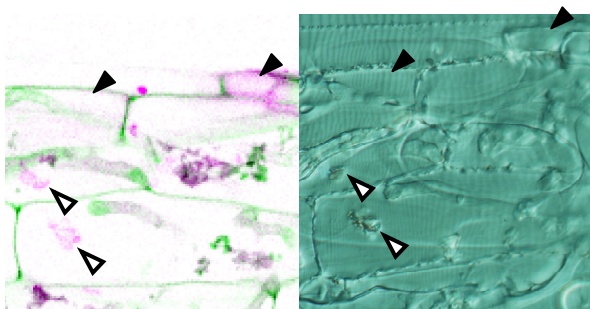
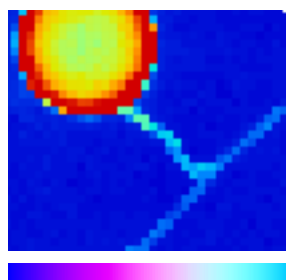


Fig.1. (Left) The results of Cd and Zn mapping of mycorrhizal root section. Cd signal was shown in purple, and Zn signal was in green. White arrowheads are Cd-rich fungal structures (arbuscule ?), and black arrowheads are Cd-rich plant cells. (Right) The corresponding differential interference contrast (DIC) image.

(2) AM 菌内の Cd 分布：すべての実験区において外生菌糸中に Cd を検出した(データは示していない)。菌糸内の Cd 分布は細胞壁および内部に観察され、内部に強いシグナルが認められた菌糸もあった。また Cd に直接曝されていない菌糸(bのサンプルの RC から回収した菌糸)ではその内部に Cd が検出され、Cd が菌糸内を輸送されている事を示す、初めての直接的な証拠が得られた。

予想外の結果として、新たに形成された胞子に著量の Cd が蓄積している事が明らかとなった(図 2)。このことは菌根菌が土壤中で

Fig.2. Cd accumulation in a spore of *Glomus intraradices* formed in RC (Cd free) of root organ culture. Strong signal were shown in red and weak signal were in blue. Cd content in spore was higher than that in hyphae.



Cd の生物学的利用可能性低減に寄与している可能性がある。また今後、Cd 蓄積の菌根菌生活史に与える影響を明らかにする必要がある。

Gi. margarita が持つ助細胞 (auxiliary cells) にも Cd が蓄積していた。主に細胞壁に検出された Fe と異なり、細胞内部にも薄く分布していた。また細胞内に顕著に Cd が蓄積した固まりが認められ、その位置は DAPI 染色によって確認されたポリリン酸の局在と関連が示唆された(図 3)。

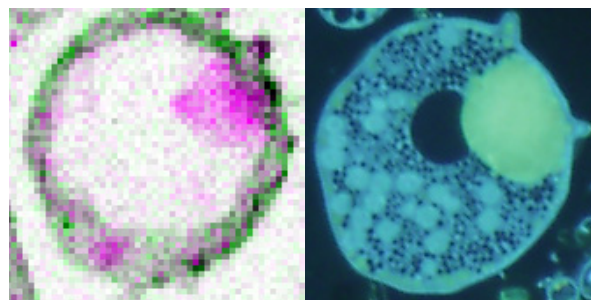


Fig.3. (Left) The result of Cd (purple) and Fe (green) mapping of auxiliary cell. Cd distributed within the cell with large clusters, although Fe was only detected in cell wall. (Right) DAPI staining of corresponding image of the serial section used for the mapping. Yellow signal indicates polyphosphate accumulation.

今後の課題： 今回の実験により、AM 菌や菌根内の Cd 分布が細胞レベルで分析できる事が示された。今後観察数を増やし、得られた結果の一般性を確認する必要がある。特に細胞内局在の点では水溶性イオンである Cd の分布への処理法による影響を考慮する必要がある。

生殖細胞への Cd の蓄積は意外であった。これが土壤中 Cd の生物利用性に与える影響は無論、胞子の発芽や AM 菌生存率(特に菌株による Cd 耐性の違いとの関連)、後代の Cd に関する形質の変化といった事に及ぼす影響も非常に興味深い。

いくつかの観察において細胞内 Cd の分布がポリリン酸 (poly P) の分布と関連している可能性が示唆された。Poly P は AM 菌において主に液胞中に蓄積し、リン酸輸送形態としてその機能に深く関与しているのみならず、他の生物ではキレーターとして重金属の毒性軽減に関与している事が示されている。今後、Cd の細胞内での局在、および XAFS による細胞内での Cd の対イオンを同定し、菌糸内 Cd 蓄積機能を明らかにする必要がある。