

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 II  
**Role of arbuscular mycorrhizal fungi in metal uptake and tolerance of the host plant: Dynamics of cadmium at plant – fungi interface II**

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

<sup>a</sup> 農研機構 畜産草地研究所, <sup>b</sup> 広島大学

<sup>a</sup> NARO, NILGS, <sup>b</sup> Hiroshima Univ.

アーバスキュラー菌根菌が感染した植物の菌根内カドミウム (Cd) 分布を大型放射光施設 SPring-8 の BL37XU で微細領域の蛍光 X 線分析により解析した。根と菌糸の双方に Cd を与えると Cd は植物細胞にも検出されたのに対し、外生菌糸のみに Cd を与えた場合は Cd は菌根内で植物細胞に受け渡されず菌糸内に留まる事が示された。また XAFS 解析により外生菌糸内を輸送中の Cd と内生菌糸内に蓄積した Cd とは別の化学形態である事が示唆された。

Cadmium distribution in arbuscular mycorrhizal roots were investigated with X-ray fluorescence analysis using micro-beam from BL37XU, SPring-8. When both plant root and fungal hyphae were exposed to cadmium, the metal was detected both in plant and fungal cell. On the other hand, the metal absorbed by the hyphae were mainly distributed in the fungal structure in the mycorrhizal root when only extraradical hyphae were exposed to cadmium. The micro-XAFS analysis implied difference in chemical status of cadmium in intraradical fungal structure and that in extraradical hyphae. These observations indicated the importance of arbuscular mycorrhizal fungi in cadmium uptake and tolerance of the host plant.

キーワード:アーバスキュラー菌根共生、カドミウム、X 線蛍光分析 (X-ray fluorescence analysis, XRF)、X 線吸収端微細構造 (X-ray Absorption Fine Structure, XAFS)

**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 菌の共生は宿主植物の養分吸収を促進するのみならず、宿主を様々な環境ストレス耐性を向上させることが知られている。環境中 (土壌中) のカドミウム (Cd) は植物の生育を阻害するが、AM 菌の感染はこの影響を緩和する。我々は AM 菌共生植物で、菌糸のみに与えた Cd 安定同位体は地上部へ転流されずに地下部に留まることを観察しており、「AM 菌は土壌中の Cd を吸収し、宿主に輸送するが、宿主根の中では宿主細胞に供給せず、菌糸内に Cd を蓄積している」ことが考えられた<sup>1)</sup>。この仮説を検証するため、マイクロビームを用いた XRF によるマイクロレベルで元素マッピングおよび測定点のスペクトラム分析によって、菌糸のみに Cd を吸収させた菌根植物の菌根内での Cd 微細分布を解析した。さらにマイクロ XAFS 解析によって菌体内 Cd の対イオンの推定を試みた。

ポット (菌根菌の菌糸は通すが植物根は通さない微細ナイロンメッシュにより共生画分 (植物 + 菌) と菌糸画分を区画したポット) を用い、Cd が AM 菌のみから供給される試験区、および対象として菌根全体を Cd に曝露した区を設定した。AM 菌および宿主植物は *Glomus intraradices* -ミヤコグサ、または *Gigaspora margarita* -タマネギである。回収した菌根サンプルは高圧急速凍結後、凍結置換を経て樹脂包埋したのち切片化した。なお固定法検討のため、液体プロパンを用いた急速凍結法または化学固定を行ったサンプルも用意した。得られた切片は事前に形態観察および隣接切片の生化学的分析により観察に用いる試料を厳選した。なお一部の菌体試料 (土壌から回収した菌糸など) は乾燥後そのまま SP-8 での観察に供した。XAFS 解析の標準物質のうち、リン酸塩は塩化カドミウム水溶液にリン酸ナトリウム水溶液を添加して生じた水に不溶性の沈殿を洗浄、乾燥して調製した。なお XRF 解析では複数の樹脂切片の観察から Zn が細胞壁に局在していることが認められたため、Zn 分布を構造の指標として用い、それとの比較によって Cd の分布を検定した。

**実験:** 実験は BL37XU に既設の走査型 X 線顕微鏡を用いて行った。分析に用いた試料は分画

**結果と考察：** 本研究により菌根内の元素分布をマイクロ XRF により分析可能であることが示された。高圧急速凍結と液化プロパンを用いた急速凍結では同様の結果が得られた。一方化学固定では処理の過程で元素の移動が生じていると考えられた（データは示さない）。

元素マッピングおよびスペクトラム分析の結果、菌根菌の外生菌糸のみに Cd を与えた場合、菌根内の Cd は菌糸構造のみに検出され、特に樹枝状体で強かった。すなわち、菌糸が吸収した Cd は菌根まで輸送されるものの、菌根内では植物細胞に移行しないと考えられた。Cd の蓄積は樹枝状体で顕著であり、養分交換器官である樹枝状体においてリン酸や水分、他のミネラル等の養分は植物に移行する反面、Cd については輸送の dead end となって蓄積している可能性が考えられた（Fig. 1）。

以上の結果は、菌糸のみに与えた Cd 安定同位体が根部に集積した実験結果を良く説明する。一方で、AM 菌感染植物では非感染植物より Cd 汚染土壌での生育が良く、Cd 総吸収量はむしろ増加することから<sup>1)</sup>、AM 菌由来 Cd の植物体総 Cd 量への寄与は低いと考えられた。菌根化による宿主植物の Cd 耐性付与メカニズムを解明するためには量的影響に加え、植物内 Cd の存在形態の変化など、質的な影響を明らかにする必要がある。

本実験で菌根中の Cd の対イオンはマイクロ XAFS で分析できることが初めて示された。外生菌糸および内生菌糸に含まれる Cd の X 線吸収端近傍構造（XANES）を標準物質のそれと比較したところ、外生菌糸中の Cd はリン酸カ

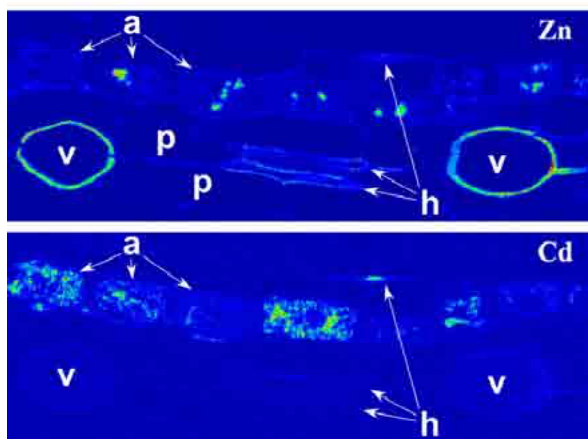


Fig. 1. Zn (upper) and Cd (lower) mapping in section of mycorrhizal root (*Lotus japonicus* colonized by *Glomus intraradices*). Some fungal structures marked are: a, arbuscule; v, vesicle; p, plant cell without fungal structure inside; h, hyphae. Zn was accumulated in cell wall of both plant and fungal cell, thus providing structural information, and Cd was distributed in the fungal structures only. Spectrum analysis of some specific points confirmed that plant cell without fungal structures and plant cell wall apart from fungal structures were free from Cd (data not shown)

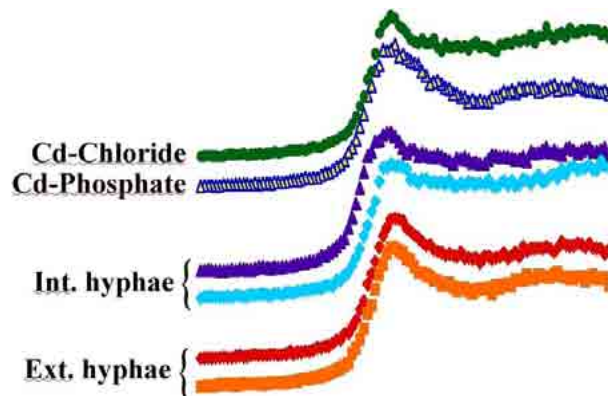


Fig. 2. Micro-XAFS analysis of Cd in the fungal structure inside or outside of mycorrhizal root. Signal of chloride differed from that of phosphate in shape behind the peak, i.e., decrease in absorbance was larger in phosphate. Cd in extraradical hyphae generated phosphate-type XAFS pattern although Cd in intraradical hyphae showed different pattern.

ドミウムに類似した波形を示したのに対し、内生菌糸中の Cd は異なる波形となった。これは AM 菌の種類や測定部位によらなかった（Fig. 2）。

今回の実験では用いた標準試料の種類が十分ではないこと、また更に広いエネルギー領域の測定が必要と考えられたことから、最終的な対イオンの同定には至らなかった。しかし、少なくとも AM 菌内の Cd の形態は宿主の中と外で異なること、さらにその変化が菌の種類によらず共通であること、といった先駆的な知見が得られた。外生菌糸中ではリン酸塩と類似の波形を示し、内生菌糸では異なるという観察から、(1) AM 菌菌糸内、特に外生菌糸中では豊富に存在するポリリン酸が Cd 無毒化の役割を担う (2) 内生菌糸中では、Cd の蓄積は菌根菌の宿主へのリン供給を阻害しない (3) 宿主へのリン供給の結果、取り残された Cd が養分交換器官である樹枝状体に蓄積する といったモデルが現時点で想定される。

**今後の課題：** AM 共生系は、AM 菌の感染・樹枝状体の形成・樹枝状体の崩壊という過程を経る。観察数を増やすことで今回得られた結果の普遍性を確認すると同時に、異なる共生ステージのサンプルを分析することが AM 共生系における Cd 動態の全貌を明らかにする上で重要である。またマイクロ XAFS では XANES の測定点を増やすとともに、標準試料を増やし、拡張 X 線微細構造（EXAFS）を測定することが対イオンの同定に必要である。

#### 参考文献

- 1) Chen BD and Ohtomo R, The significance of AM fungi in plant adaptation to cadmium contaminated soils, Abstract of JCOM2007 (2007) p. 6.