

要旨

日立鉱山に自生するリョウブは、内生菌の感染によって重金属耐性を獲得していることが明らかにされているが、その重金属耐性獲得誘導機構については解明されていない。リョウブ根から分離された内生菌のうち、Y株種はシデロフォアの産生が確認されていることから、Y株種はリョウブ体内で重金属と錯体形成（または不溶性の重金属を可溶化）する物質を産生することにより、リョウブへの重金属耐性獲得を誘導していると考えた。また先行研究から細菌のコンタミネーションを避けるために、クエン酸を添加したMA培地で継代培養したY株種は明らかな形態変化が確認され、さらに接種試験ではリョウブ実生への重金属耐性誘導を生じなかったことから、酸性条件下でY株種に何らかの変異が起き、Y株種による重金属を可溶化する物質の産生量に差異が生じたと考えた。日立鉱山のリョウブ根圏土壌ではZnが特に高濃度であることから、本研究ではZnの毒性と錯体形成（可溶化）物質に着目し、1)酸性条件下におけるY株種の変異の解明、2)Y株種が産生するZn可溶化物質の同定と変異による産生能力の比較、3)Zn汚染土壌におけるリョウブ実生に対する通常株と変異の生じた株の接種試験を行い、変異によるZn可溶化物質の産生能の差異がリョウブへのZn耐性誘導にどのように影響するか解析し、最終的にY株種の関与するリョウブのZn耐性獲得機構を明らかにすることを目的とした。

Y株種の酸性条件下での変異が菌糸内の共生細菌除去によって生じると仮定したが、FISH法ではY株種菌糸内に蛍光が見られず細菌が確認されなかったことから、Y株種の変異は、Y株種自体が低pHの影響を受け生じた、と結論した。また、クエン酸添加培地で継代したY株種（以後変異株）は、MA培地で培養したY株種（以後通常株）と比較し、菌糸形態、色素産生量の変化といった変異を起こし、Y株種は酸性条件下によって生理的変異を生じることが明らかになった。Y株種の不溶性Zn活性試験の結果、試験に供した全てのY種株の通常株は本活性を示し、Y株種はZn可溶化物質を産生することを明らかになった。このZn可溶化物質はY株種によるリョウブのZn耐性誘導能力に関与し、体内でZnと錯体形成することで解毒する物質であると考えられ、酢酸エチル抽出、弱陰イオン交換樹脂による本物質の分画を行った結果、本物質は有機酸であることが明らかとなった。また、試験に供した36菌株の50%の変異株は通常株に比べZn可溶化物質産生能が有意に低下したことから、低pHでの変異によってZn可溶化物質の産生が低下したことが明らかになった。Zn汚染土壌におけるリョウブ実生への接種試験では、対照区ではクロロシスが通常株接種区に比べて多数確認され、葉の枚数や実生の生長量も低下したことから、Y株種通常株によるリョウブ実生へのZn耐性誘導が生じていることが示唆された。また、変異株接種区では通常株接種区に比べ多くの個体が枯死し、生存実生も小さく、葉の枚数も少なかったことから、Y株種が変異することで実生へのZn耐性誘導が消失することが示唆された。

以上のことから、Y株種はリョウブのZn耐性機構に關与するZn可溶化物質を産生し、酸性条件下ではZn可溶化物質産生能が低下する変異を生じ、リョウブのZn耐性誘導が低下することが明らかになった。これらのことからY株種は、強酸性環境の日立鉱山のリョウブ根圏ではZn可溶化物質の産生量を低下させ、土壤中のZnの可溶化を抑制しリョウブにおけるZn吸収を抑制する働きをし、リョウブ根内ではZn可溶化物質の産生量を増加させ、吸収されたZnと錯体構造を形成し、解毒化していると推測される。今後、通常株接種区と変異株接種区の実生の含有Zn濃度の比較、生存実生数、枯死実生の根部・地上部のY株種の感染率の確認をし、各接種区の実生のデータを比較すること、またZn可溶化物質の同定し、Zn解毒機構を化学的に解明にすることで、リョウブのZn耐性獲得機構とY株種の変異の關係性は明らかになると考えられる。

キーワード 内生糸状菌, リョウブ, Zn, 可溶化物質, 変異