



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	アーバスキュラー菌根における物質代謝と輸送：4億年前に確立された共生システムへの温故知“最新”的アプローチ
Author(s)	江沢, 辰広; Ezawa, Tatsuhiro; 斎藤, 勝晴 他
Citation	日本土壌肥科学雑誌, 75(6), 737-746
Issue Date	2004
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/516
Type	journal article
File Information	EzJSSSPN.pdf



和文表題：

アーバスキュラー菌根における物質代謝と輸送：4億年前に確立された共生システムへの温故知“最新”的アプローチ

5 英文表題：

Metabolism and translocation in arbuscular mycorrhiza: approaching the symbiotic system established 400 million years ago

著者名：

10 江沢辰広*・斎藤勝晴**・青野俊裕***

Tatsuhiko Ezawa, Katsuharu Saito and Toshihiro Aono

所属機関：

*北海道大学大学院農学研究科，**東京大学大学院理学系研究科，***東

15 京大学生物生産工学研究センター

連絡先：

〒060-8589 札幌市北区北9条西9丁目

北海道大学大学院農学研究科

20 Email: tatsu@res.agr.hokudai.ac.jp

アーバスキュラー菌根における物質代謝と輸送：

4億年前に確立された共生システムへの温故知“最新”的アプローチ

江沢辰広*・斎藤勝晴**・青野俊裕***

5

キーワード：アーバスキュラー菌根、共生、リン酸代謝、炭素代謝、ポリリン酸

10

1. アーバスキュラー菌根はジュラシックパークよりも凄い？

Glomeromycota（門）に分類されるアーバスキュラー菌根菌（arbuscular mycorrhizal fungi, 以下 AM 菌と略す）¹⁾が他の菌類から分かれ、原始植物と共生を始めたのは、恐竜が闊歩したジュラ紀よりもさらに古く、4億年前のデボン紀にまでさかのぼると言われている。その頃の植物の化石に類似の構造体が見つかったこと²⁾や、リボソーム RNA 遺伝子の進化速度の計算式から導き出された近縁種との分岐点の推定年代が、化石のものと一致したこと³⁾などが根拠である。もし、この菌と植物の共生が、本当にデボン紀からほとんど姿を変えていないとすれば、この共生体はまさに生きた化石、“ジュラシックパーク”どこ

20

25

高等植物では明確な役割を持つ根・茎・葉などの器官と、それらを繋ぐ維管

束系が分化しているため、物質代謝や輸送の概観を把握することは比較的容易である。一方、AM 菌は、細胞と細胞を隔てる隔壁さえも持たず、チューブ状の細胞壁に囲まれた細胞質に核を始めとするオルガネラが浮遊しているといった極めて原始的な細胞構造を持つ生物である。それにも関わらず、高等植物同様、

- 5 物質吸収を担う部位とそれを利用する部位を分化させ、さらに輸送の双方向性宿主方向へのミネラル輸送と菌糸先端方向への炭素輸送—も兼ね備えている。この菌の胞子は土壌中で長く生存し、やがて植物の根が近づくと発芽して表皮から侵入し、皮層組織で樹枝状体を形成する (図)。この段階で初めて AM 菌は根のアポプラストに分泌される同化産物をエネルギーとして利用できるようなると考えられている。一方、エネルギーの供給システムが立ち上がると同時に、土壌中の菌糸 (外生菌糸) ネットワークを経由して集められたリン酸などのミネラルを宿主に供給するシステムが起動する。本稿では共生成立後の物質の流れについて、菌根研究の分野で欠けている情報を酵母やアカパンカビなどのモデル真菌、さらにモデル植物などで得られた知見で補いながら解説すると共に、菌根共生系におけるリン酸および炭素の獲得・代謝・輸送システムの包括的解明に向けての課題と意義について述べる。

2. 土壌からのリン酸獲得とコンパートメント化

1) 外生菌糸ネットワークの構築

- AM 菌は宿主からのエネルギー補給路が確保されると、ミネラル—特にリン酸を吸収するための外生菌糸のネットワークを土壌中に構築する。菌根形成によるリン酸吸収促進の主因は、吸収に寄与する細胞の表面積増加にある⁴⁾。周知のようにリン酸は土壌中での拡散速度が遅いため、根の周囲にはリン酸欠乏帯が生成しやすく、根はこの欠乏帯の外の土壌溶液にアクセスするために常に伸長し続ける必要がある。しかし、この目的のためには植物自身が根を増やすよりも、単位重量当たりの細胞表面積がより大きく取れる直径の極めて細い“菌糸”

の割合を増加させることの方が、炭素の投資効率から見て有効である。土壌中の外生菌糸の空間配置には種間差があることが知られている。*Scutellospora calospora*は根に近い空間に密な菌糸ネットワークを張って、比較的根近傍のリン酸を集めるのに対し、*Glomus caledonium*はより遠方にやや粗い菌糸ネットワークを構築し、リン酸も遠方から輸送する⁵⁾。自然条件下では外生菌糸の占有する空間が異なる複数の菌が同時に根に定着することで、より広い範囲から満遍なくリン酸を集められるメリットが生じると考えられている。

2) 不可吸態リン酸へアクセスできるか？

菌根形成によりカルシウム態や鉄態、アルミニウム態などの難溶性無機リン酸の利用効率は高まるものの^{6,7)}、AM菌がこれらを利用するために積極的に可溶化しているという証拠は得られていない。一方、AM菌は土壌中の有機態リン酸をホスファターゼにより無機化する機構を持つことが示唆されている^{8,9)}。ただし、ホスファターゼは土壌中に分泌されるのではなく、細胞壁あるいは原形質膜に結合した形で作用しているものと推定されている¹⁰⁾。いくつかの植物では菌根形成により根から分泌される酸性ホスファターゼが増加することが報告されており^{11,12)}、このうちマリーゴールドでは菌根特異的酸性ホスファターゼとして遺伝子が単離されている¹³⁾。根からのホスファターゼの分泌は、植物のリン酸欠乏に対する典型的な反応であり¹⁴⁾、菌根が形成されれば宿主のリン栄養は改善されるので、理論的にはホスファターゼの分泌量は減少するはずである。この現象が起こるメカニズムの詳細は不明であるものの、菌根形成が結果的に宿主の低リン酸耐性機構の発現を促進している事実は興味深い。

3) 細胞質へのリン酸の取り込み

細胞質におけるリン酸の生理的濃度は、一般に土壌溶液のその数百～数千倍であることから、土壌からリン酸を吸収する植物や微生物は特別な能動輸送システムである高親和型リン酸トランスポーター¹⁵⁾を進化させた。この輸送体は

細胞膜上に存在し、細胞膜 H^+ -ATPase (P-ATPase) や Na^+ -ATPase が細胞膜内外に形成するプロトン (ナトリウム) 勾配を駆動力として、リン酸を取り込む機能を持つ。プロトン共役型およびナトリウム共役型輸送体のリン酸取り込み活性は、その至適 pH がそれぞれ酸性およびアルカリ性側にあることから、この2つのシステムを合わせ持つことで、幅広い pH の環境からリン酸を獲得できると考えられている¹⁶⁾。AM 菌においてもプロトン共役型のリン酸トランスポーター遺伝子が単離されており、その発現はリン酸吸収を行う外生菌糸でのみ観察される¹⁷⁾ (図)。また、周囲に微量のリン酸 (35 μ M) が存在することで発現が誘導され、多量のリン酸 (3.5 mM) により抑制される¹⁸⁾。ナトリウム共役型のリン酸トランスポーターは、植物¹⁹⁾や他の菌類^{20, 21)}では存在が確認されているものの、AM 菌では現在までのところ報告はない。

菌根が形成されると、植物のリン酸トランスポーター遺伝子の発現量は減少し、代わってリン酸吸収を担う外生菌糸において AM 菌のリン酸トランスポーター遺伝子の発現が増加する²²⁾。自明のことだが、植物のリン酸トランスポーター遺伝子の発現は、植物自身のリン栄養状態によってもコントロールされている^{22, 23)}。一方、AM 菌経由のリン酸吸収に対して宿主植物のリン栄養状態がどのような経路で影響を及ぼしている (制御している) のかは興味深い。植物はリン酸を十分に与えられると AM 菌の侵入や宿主根内での内生菌糸の伸長を抑制することから²⁴⁾、粗調節のシステムとしては感染受容・防御のレベルでの制御が考えられる。しかし、より精密な調節システム、例えば AM 菌のリン酸トランスポーター遺伝子の発現や取込み後のリン酸輸送速度の調節などを宿主がコントロールする機構が存在するのか、などについては研究例が無い。

4) ポリリン酸への濃縮

リン酸は太古の昔から植物や微生物にとって不足がちであったため、環境中にリン酸が多く存在する場合は、自己の生命活動に必要な量以上のリン酸を体

内に取り込んで将来のために蓄積する機構、すなわち、取り込んだ多量のリン酸を別の形で（隔離して）保存するシステムを獲得した。植物においてそれは液胞へのフィチン酸の集積であり、微生物のそれはポリリン酸の合成である。ポリリン酸とはオルトリン酸が高エネルギーリン酸結合によって直鎖状に連結された無機高分子化合物で、細菌から哺乳類にいたるあらゆる生物の細胞にその存在が確認されている²⁵⁾。AM 菌がポリリン酸を蓄積することは比較的古くから知られており^{26,27)}、この化合物が宿主方向へのリン酸輸送に中心的な役割を果たしていると考えられている（図）²⁷⁻²⁹⁾。原核生物ではポリリン酸の代謝経路が良く解明されている²⁵⁾。ポリリン酸キナーゼ（polyphosphate kinase, PPK）はグラム陰性細菌の原形質膜上に存在し、ATP を基質としてポリリン酸を合成する。加水分解酵素としては、エキソ型およびエンド型のポリホスファターゼ（exopolyphosphatase, PPX; endopolyphosphatase, PPN）が知られている。このうち特に *ppx* は *ppk* のすぐ下流にコードされ、同一オペロンに存在しているにも関わらず、酵素活性のレベルでは別々の制御を受け、リン酸欠乏時には PPK 活性は上昇しても、PPX 活性は低く保たれることが知られている³⁰⁾。ポリリン酸の高エネルギー結合を利用する酵素としては、PPK の他に末端リン酸残基をグルコースに転移させ、グルコース-6-リン酸を生成するポリリン酸グルコキナーゼ（polyphosphate glucokinase, PPGK）などが知られている。一方、これらの酵素のうち、真核生物で活性が検出され、遺伝子の同定まで進んでいるのは PPX^{31,32)} と PPN³³⁾ だけである。筆者らが菌根菌の内生および外生菌糸におけるポリリン酸代謝関連の酵素活性を調べたところ、PPX 活性は検出された³⁴⁾ものの、PPK²⁸⁾および PPGK³⁵⁾の活性は検出できなかった。

真核生物におけるポリリン酸合成の経路は、その高い合成能力にもかかわらず、未だ謎に包まれたままである。酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*) では、リン酸欠乏処理後に多量のリン酸を与えると、数時間のうちに何と乾重の 10%

近くにも及ぶポリリン酸が液胞に蓄積される³⁶⁾、AM 菌においてもリン酸欠乏状態の菌糸では驚異的なスピードでポリリン酸が合成される³⁷⁾ ことが知られている。ところが最近、イリノイ大学のグループが真核生物のポリリン酸代謝についていくつかの重要な知見を報告した。彼らは原虫 (Protozoa) や細胞性粘菌、単細胞緑藻類などの真核微生物の細胞から次々と acidocalcisome と呼ばれるカルシウムを多く含む酸性のオルガネラを精製し、ここに共通してポリリン酸が多量に蓄積されていることを示した³⁸⁻⁴⁰⁾。さらに、中南米でシャーガス病という病気を引き起こす原虫の *Trypanosoma cruzi* から単離した acidocalcisome を ATP 存在下でインキュベートし、*in vitro* でポリリン酸を合成させることに成功した⁴¹⁾。筆者らも AM 菌の菌糸からポリリン酸が蓄積されているオルガネラの精製を進めていたところ、このオルガネラの精製過程における挙動が acidocalcisome のそれに極めて類似していることを見出したが、現在までのところ、このオルガネラの完全精製には至っていない。植物へリン酸を供給する微生物、言い換えれば陸上生態系における一次生産を支える微生物においてポリリン酸が果たす役割を考えると、真核生物におけるポリリン酸合成のメカニズムを AM 菌をモデルに明らかにすることの意義は大きいと言える。

3. 宿主方向へのリン酸長距離輸送

1) リン酸の輸送速度

AM 菌によって取り込まれたリン酸は、隔壁を欠く菌糸中をポリリン酸の形で移動し植物根まで運ばれると考えられている。³²P を用いたリン酸輸送速度の研究によると、リン酸は外生菌糸中を $2 \times 10^{-10} \sim 10^{-7} \text{ mol P cm}^{-2} \text{ s}^{-1}$ のレベルの速度で移動する⁴²⁻⁴⁴⁾ と計算されている。これら計算値は宿主植物に移行した ³²P の量をもとに、菌糸の断面積当たりとして推定されており、巨視的 (菌根系) なリン酸輸送を考える上で重要な値である。しかし実際には、外生菌糸内のリン酸の移動は、根の方向だけではなく逆方向にも起こっている⁴⁴⁾。すなわち、菌根

における正味のリン酸の流れは、巨視的にはリン酸シンク能の高い植物根に向かっているが、個々の菌糸レベルではリン酸の移動は双方向で起こっていると考えられる。では細胞レベルで見た場合、リン酸（ポリリン酸）は菌糸内のどこに蓄えられ、そしてどのように輸送されているのだろうか。

5 2) ポリリン酸顆粒- リン酸輸送の古典的モデル-

多価陰イオンに対して特異的な色素であるトルイジンブルーに対する染色性から、ポリリン酸は液胞内に顆粒状で存在すると考えられた^{27,45)}。X線分析電顕から、この顆粒にはリン²⁷⁾に加えてカルシウム⁴⁶⁾も含まれていたことから、ポリリン酸はカルシウムと結合することにより、結晶として菌糸内に存在していると考えられた。Coxら²⁷⁾によると、ポリリン酸顆粒が原形質流動 (12.6 cm h^{-1}) とほぼ同じ速度で移動すると仮定した場合、リン酸の移動速度は $2.7 \times 10^{-8} \text{ mol P cm}^{-2} \text{ s}^{-1}$ と計算される。原形質流動がリン酸輸送に関係することは、原形質流動を阻害するサイトカラシンBにより宿主地上部へ³²Pが移行しなくなることや⁴⁷⁾、リン酸輸送量が原形質流動を示す菌糸数と高い相関を示すこと⁴⁴⁾などから示唆されている。これら一連の研究から、リン酸輸送の主体は顆粒状のポリリン酸と長い間考えられてきた。

3) “溶けてる” or “顆粒” ?- ポリリン酸論争-

Ashfordらは外生菌根を形成するコツブタケ (*Pisolithus tinctorius*) の培養菌糸を急速凍結-凍結置換法で固定し、X線分析電顕で液胞中でのリンの存在様式を調べたところ、化学固定試料で観察されるリンを含む顆粒構造は認められず、リンは液胞全体に均一に分布していた^{48,49)}。急速凍結-凍結置換法は化学固定に比べ、細胞をより生体に近い状態で固定できる方法であり、コツブタケにおいてポリリン酸は主要なリンの形態⁵⁰⁾であることから、彼らはポリリン酸が液胞中に顆粒ではなく分散して存在していると考えた。さらに、自然条件下で共生状態にある菌糸の液胞では、リンのほかにイオウも検出されることから、

ポリリン酸は多量のタンパクなどとも共存していることが予想されている⁴⁹⁾。

この Ashford らのグループによる研究に対して、Bücking と Heyser⁵¹⁾ は同じコツブタケの生細胞でも液胞に顆粒状の構造を観察しており、急速凍結-凍結乾燥法で固定した試料を用いて、それら顆粒にはリンが含まれることを X 線分析電顕で示した。ポリリン酸が液胞内で顆粒（沈殿）として存在しているとすれば、酵素による分解を受けにくく、長距離を安定的に輸送するためには都合が良い反面、代謝回転速度が遅くなる分、速やかに宿主に渡すことができない。沈殿するか否かは液胞内でのポリリン酸の濃度や鎖長、対イオンの量や種類にも影響を受けると考えられることから、今後、培養条件、特にリン酸添加量とポリリン酸合成、顆粒生成の有無などとの関係を調べる必要があるだろう。

4) 新しいリン酸輸送モデルへの細胞生物学的アプローチ

簡単に培養できる外生菌根菌では、菌糸内部の構造がより生体に近い状態で観察できるようになり、従来、球状のものばかりと考えられてきた液胞は、実は球状のものとそれをつなぐ管状のものからなることが明らかとなってきた⁵²⁾。

コツブタケの菌糸先端では管状液胞が発達しており、基部に行くにつれ球状の液胞が見られるようになり、それらは互いに管状液胞によってつながっていた。これらの液胞構造はコツブタケの純粋培養菌糸だけではなく、自然条件下で共生状態にある菌糸⁵³⁾や、他の担子菌、子囊菌、接合菌類、卵菌類など幅広い分類群で観察されている⁵⁴⁾。一般に液胞は酸性と考えられているが、コツブタケの液胞は pH 4.3-7.5 と酸性から中性までの広い pH 範囲をとっていた⁵⁵⁾。コツブタケの管状液胞は動的であり、原形質流動とは独立した動きで双方向的に伸縮運動をしたり、脈を打つような蠕動(ぜんどう)運動様の動きが観察されている^{56,57)}。また、管状液胞は球状液胞から伸長し隣接する球状液胞と融合することもあり、さらに球状液胞をつなぐ管状液胞に沿って小型の液胞が移動することも観察されている (<http://bioscience.babs.unsw.edu.au/fungus/>)。液胞のこのような

運動性や、管状液胞が隔壁孔を通り隣接する細胞と連絡すること⁵⁶⁾、さらに液胞にポリリン酸が存在することなどから、これらの管状液胞-球状液胞系は単なるリン酸の貯蔵器官ではなく、リン酸の長距離輸送を担っているものと推察されている⁵⁸⁾。

- 5 AM 菌においても、生体を慎重に扱う工夫により発芽菌糸、外生菌糸、内生菌糸のそれぞれで管状液胞の観察に成功した⁵⁹⁾。コツブタケのものとは異なり、蛍光色素 DFFDA で染色された *Gigaspora margarita* の管状液胞は束状に菌糸長軸に沿って伸び、非常に高密度に分布していた。これら管状液胞の運動性は不明であるものの、この構造は菌糸体積の大部分を占めており、外生菌根菌と同様に AM 菌においてもリン酸の長距離輸送に関わっているとすれば興味深い。

ポリリン酸合成には液胞内外のプロトン勾配の形成が必要との仮説^{28, 34, 60)}や、*In vivo* ³¹P NMR 解析でポリリン酸が酸性コンパートメントに存在していたこと⁶¹⁾などから、AM 菌菌糸に存在する管状液胞以外の酸性の細胞小器官の検索を行ったところ、動物細胞のリソソーム検出に用いられる LysoTracker という蛍光染色剤により染まる小胞構造が観察された⁶²⁾。この小胞（酸性小胞）は直径が約 0.5 μm であり、菌糸内に多数分布し、原形質流動に従い菌糸内を双方向に移動していた。酸性小胞については、まだ存在が明らかとなっただけであり、ポリリン酸蓄積の有無などは不明である。

4. 宿主-共生菌インターフェイスにおける物質交換メカニズム

- 20 1) 物質輸送のターミナル——樹枝状体

樹枝状体（アーバスキュール）は根の皮層細胞内に形成されるが、宿主の細胞膜は破られておらず、ペリアーバスキュラー膜と呼ばれる植物の細胞膜に囲まれている（図）⁶³⁾。樹枝状体はきわめて細かく分岐した器官であり、近接して対面している両者の細胞膜の表面積は非常に大きいため、この樹枝状体周辺で菌と植物間の物質交換が行われていると推測されてきた。

では果たして本当にそうなのであろうか。まずは樹枝状体から植物細胞への物質の輸送から考えていきたい。前述のように細胞膜を介した物質の能動輸送には細胞膜 H^+ -ATPase (P-ATPase) が関与していることが多く、植物のペリアーバスキュラー膜を介したリン酸の取込み機構を考える上で P-ATPase の働きは極めて重要である。植物において、このポンプは根における養分の吸収、篩部における物質輸送、気孔の開閉などにおける駆動力を生み出している⁶⁴⁻⁶⁸⁾。P-ATPase をコードする遺伝子群は植物では数多く単離されており、これらは multi gene family を構成している。個々のアイソフォームは生育段階によって細胞特異的・組織特異的にそれぞれ異なる発現パターンを示す⁶⁹⁾。細胞化学的観察により、ペリアーバスキュラー膜は高い P-ATPase 活性を持つのに対し、同一細胞においても樹枝状体に面していない部分では P-ATPase 活性が低いことが以前から分かっていた⁷⁰⁾。最近、2 種類の P-ATPase 遺伝子が樹枝状体を含む皮層細胞において発現することがタバコにおいて明らかになり、それらにコードされるタンパク質はペリアーバスキュラー膜に局在してた⁷¹⁾。これらのことは、ペリアーバスキュラー膜においては物質の能動輸送が活発に行われており、樹枝状体から放出された物質がこの膜を介して植物に取り込まれることを強力に示唆している。

2) ポリリン酸からリン酸への変換

外生菌糸で吸収されたリン酸はポリリン酸に変換後、樹枝状体まで運ばれると、再びオルトリン酸に加水分解され、植物に供給されると考えられている⁴⁾。その根拠となったのは、樹枝状体においてアルカリホスファターゼ (ALP) の活性が高いことが組織化学的観察により示されていたからである⁷²⁻⁷⁴⁾。しかしその後、ALP の特異的阻害剤である Be^{2+} を用いた解析により、AM 菌の ALP は、グルコース 6-リン酸やトレハロース 6-リン酸などの糖リン酸に対する基質特異性が高く、ポリリン酸は加水分解しなかったことから、ALP はポリリン酸代謝よりむしろ糖

代謝に関与している可能性が示唆されている⁷⁵⁾。最近、この ALP の遺伝子が単離されたことから⁷⁶⁾、その機能も明らかになるものと期待される。

AM 菌は至適 pH と組織局在性の異なる 2 種類のポリリン酸加水分解活性を持っている。外生菌糸には、中性に至適 pH を持ち長鎖のポリリン酸との親和性が高い
5 活性が、また、内生菌糸には酸性に至適 pH を持ち短鎖のポリリン酸との親和性の高い活性が存在している³⁴⁾。中性に至適 pH のある酵素は、性質が酵母の PPX と似ていることから、PPX であると考えられているものの、その細胞内での局在は不明である。一方、酸性で機能するポリリン酸加水分解酵素は阻害剤を用いた実験から酸性ホスファターゼ (ACP) であると考えられている。この ACP は、
10 液胞に局在していること^{73, 74, 77)}から、樹枝状体におけるポリリン酸の加水分解への関与が示唆されている。

3) AM 菌から植物へのリン酸の移行

樹枝状体からのリン酸放出のメカニズムは不明である。これまで AM 菌で単離されているリン酸トランスポーターは外生菌糸でのみ発現しているため^{17, 18)}、
15 れとは別の輸送体が樹枝状体に存在しているのではないかと推測されており、その遺伝子の単離が期待されている。一方、トランスポーターを介したリン酸の積極的な放出メカニズム以外にも、樹枝状体の膜の透過性の変化（例えば P-ATPase の失活）によるリン酸の漏出など受動的メカニズムで放出される可能性も否定できない。

20 樹枝状体から放出されたリン酸は、前述の P-ATPase の駆動力を使ってペリアーバスキュラー膜に存在するリン酸トランスポーターを通じて植物に取り込まれる (図)。樹枝状体周辺の皮層細胞で発現していることが最初に確認されたリン酸トランスポーター遺伝子は、トマト (*Lycopersicon esculentum*) の *LePT1* であった⁷⁸⁾。しかし、*LePT1* は樹枝状体周辺に特異的ではなく、根冠、中心柱⁷⁹⁾、
25 葉の柔組織²³⁾でも発現していることが知られていた。その後、バレイショ

(*Solanum tuberosum*)、タルウマゴヤシ(*Medicago truncatula*)、イネ (*Oryza sativa*) から、樹枝状体周辺の皮層細胞で特異的に発現するリン酸トランスポーター遺伝子、*StPT3*⁸⁰⁾、*MtPT4*⁸¹⁾、*OsPT11*⁸²⁾がそれぞれ単離された。これらの遺伝子はいずれも樹枝状体周辺でのみ発現し、特に *MtPT4* にコードされているタンパク質は、ペリアーバスキュラー膜に局在していたことから、これら輸送体は AM 菌から植物へのリン酸の移行に特化した機能を持っていると考えられる。樹枝状体の寿命は菌の種類にもよるが 6~10 日程度であり、形成されては崩壊していき^{83,84)}。興味深いことに、*MtPT4* タンパク質は形成初期の樹枝状体や崩壊した樹枝状体周辺のペリアーバスキュラー膜では観察されず、成熟した（最も大きく展開した）樹枝状体周辺でのみ観察される⁸¹⁾。さらに、ペリアーバスキュラー膜における P-ATPase 活性も同様なパターンで観察され⁸⁵⁾、*MtPT4* タンパク質の発現パターンと同調していた。これらのことから、成熟した樹枝状体においてリン酸の移行が最も盛んであることは、ほぼ間違いない。

4) 植物から AM 菌への炭素化合物の移行

AM 菌は植物にリン酸を供給する一方、植物から炭素化合物を受け取ることは以前から知られていたが、どのような炭素化合物がどこで AM 菌に取り込まれるのかは長い間謎であった。近年、放射性同位元素や安定同位体を用いた解析により、ヘキソース、特にグルコースが主な炭素源であると考えられるようになってきた^{77,86-88)}。

植物体内における糖の移動形態は主に二糖類のスクロースであるのに対し、AM 菌に供給されるのは単糖類のヘキソースであるとする、スクロースはどのような経路でヘキソースに変換されるのであろうか。最近、AM 菌と共生したタルウマゴヤシにおいて、スクロース合成酵素の遺伝子 (*MtSucSI*) が菌周辺の皮層細胞において発現することが明らかになった⁸⁹⁾。この酵素は一分子のスクロースと UDP から UDP-グルコースとフルクトースをそれぞれ一分子ずつ生成する酵

素（逆反応も触媒する）であり、植物体内でのスクロース分配において鍵となる酵素である⁹⁰⁾。このことから、*MtSucSI*によってスクロースは分解され、ヘキソースとしてAM菌に供給されるスキームが推定できる。ただし、ヘキソースの供給にはスクロースをグルコースとフルクトースに加水分解する活性を持ち、

5 スクロース合成酵素と同様、スクロース分配の鍵酵素として働くインベルターゼが関与している可能性も十分考えられる。

植物からのヘキソースの放出に関しても未だ不明な点が多い。AM菌と共生状態にあるタルウマゴヤシにおいては、ヘキソーストランスポーター遺伝子 (*Mtst1*) が菌周辺の皮層細胞において発現し⁹¹⁾、おそらくこの遺伝子の産物を

10 通じて植物からAM菌に対してヘキソースが供給されると推測される。ただし、菌周辺では皮層細胞の代謝活性が高まっていることから⁹²⁾、この部位で *Mtst1* が発現するのは、活発化した代謝を維持するために、より多くのヘキソースが供給されるためであるとも解釈される。どちらの推測が正しいのか、むしろ両者とも正しいのかもしれない。*Mtst1*は菌周辺の皮層細胞以外の篩部繊維細胞や

15 根端細胞においても発現しており、これはこの遺伝子が複数の機能的役割を担っていることをうかがわせる。ただし、AM菌との共生特異的に発現するヘキソーストランスポーター遺伝子が存在する可能性も否定できない。

AM菌によるヘキソースの取り込みはリン酸の受け渡し同様に樹枝状体で行われているという仮説がある。しかし、樹枝状体の細胞膜におけるP-ATPaseの活

20 性は低く⁷⁰⁾、逆に、植物細胞間隙の内生菌糸のP-ATPase活性が高いことから、ヘキソースは細胞間隙の内生菌糸において取り込まれるという仮説⁹³⁾が主流になりつつある(図)。AM菌において、ヘキソースの取り込みに関与するヘキソーストランスポーターの遺伝子は未だ単離されていない。しかし近年、外生菌根菌の *Amanita muscaria*⁹⁴⁾ やサビ病菌 *Uromyces fabae*⁹⁵⁾ など植物に共生もしくは

25 寄生する菌類からこの遺伝子が単離されており、これらの配列を基にAM菌のへ

キソーストランスポーター遺伝子の単離も可能かもしれない。

5. 菌糸末端方向への炭素化合物輸送と利用

内生菌糸で取り込まれたヘキソースは、まずトレハロースやグリコーゲンなどに変換され、これらが細胞質のヘキソース濃度を緩衝する役目を果たす (図

- 5 ⁹⁶⁾。ヘキソースの代謝には解糖系よりもむしろペントースリン酸回路が優占している^{77,87)}。一方、内生菌糸で取り込まれた炭素のうち、脂質 (トリアシルグリセロール) に変換されるものの割合も大きく⁸⁷⁾、合成された脂質は細胞内に脂肪体 (lipid body) として貯蔵される⁹⁷⁾。菌糸の中の脂肪体の密度は根近傍の外生菌糸で高く、根から遠ざかるほど低くなる現象が観察されている⁹⁷⁾。脂肪体は外生菌糸中を移動する過程で代謝され、結果として菌糸先端部位でその密度が減少すると考えられる。事実、外生菌糸ではグリオキシル酸回路が活発であることから⁹⁸⁾、脂質がエネルギー生成の基質として相当の比重を占めていることが示唆される。しかし、安定同位体を用いた詳細な検討から、現在ではグリコーゲンも脂質と同等か、それ以上の基質プールであると考えられている⁹⁹⁾。ソースである内生菌糸からシンクとしての外生菌糸にこれら炭素化合物が輸送されると、グリコーゲンの場合は加リン酸分解を受けて、また、脂質の場合は β -酸化、グリオキシル酸回路、糖新生と経てヘキソースを生じ⁹⁹⁾、一部はペントースリン酸回路で代謝される⁹⁶⁾ほか、TCA 回路を経由してアミノ酸の炭素骨格として利用されたり、細胞壁の成分であるキチンの合成や、一時的な基質プールであるトレハロースの合成に利用される⁹⁹⁾。AM 菌の糖や脂質代謝に関する研究には、この菌が人工培養できないという謎を解き明かす鍵が隠されている。現在、炭素代謝に関わる酵素の遺伝子がいくつか単離されてきており、この問題にアプローチする下地が整いつつある。

6. 温故知“最新”的研究——隔壁があってはならない?——

- 25 本稿では物質代謝や輸送機構といった、極めて基礎的な分野の研究の進捗状

況について述べたが、この他にも取り組むべき重要な基礎的、応用的課題が数多く残されている。AM 菌には高等な菌類が持っているような細胞の隔壁が無く、一つの胞子には数百から数千個の核が存在することに加え、それぞれの核が同質ではない（ヘテロカリオンである）可能性が指摘されている¹⁰⁰。このことは、

5 現在主流となっている様々な遺伝学的アプローチを困難にしている。しかし、逆の見方をすれば、未知の部分が多く、魅力的な研究素材とも言える。また、AM 菌は単独での純粋培養が困難であるため、分離・増殖・同定といった一般微生物学でごく当たり前に行われる作業に相当の時間（根気？）と若干のコツを要する。この点については、近年、国内外における AM 菌ジーンバンクも整備さ

10 れつつあり、また、リボソーム RNA 遺伝子の塩基配列情報も充実してきていることから、同定の信頼性も向上した。一方、フィールドに目を向ければ、この菌が環境や生態系を維持する上でいかに重要な役割を担っているかを再認識させられる。たとえば養分の極端に少ない荒れ地に最初に侵入する植物の多くは、AM 菌との共生なしでは定着できない。また、酸性やアルカリ性、乾燥地などの

15 ストレス土壌にはそれぞれの環境に適応した土着の AM 菌が生息しており、これらは遺伝子源として極めて重要である。農業の場面では、これまで過剰に施用されたために農耕地に蓄積してきたリン酸を高度に利用し、環境負荷を減らすためには、この共生システムの利用が必須である。

AM 菌は 4 億年前から生き続けてきた、いわば“古い”菌である。この菌の作

20 る共生系のメカニズムを理解し、“新しい”知見から独創的な技術を確立するためには、植物栄養学や植物生理学、土壌微生物学だけではなく、細胞生物学や生態学、栽培学、遺伝育種学など幅広い分野の研究者間の“隔壁の無い”協力関係が重要な鍵となることは間違いない。

- 1) Schuessler, A., Schwarzott, D. and Walker, C. : A new fungal phylum, the Glomeromycota: Phylogeny and evolution. *Mycol. Res.*, **105**, 1413-1421 (2001)
- 2) Taylor, T. N., Remy, W., Hass, H. and Kerp, H. : Fossil arbuscular mycorrhizae from the early Devonian. *Mycologia*, **87**, 560-573 (1995)
- 3) Simon, L., Bousquet, J., Levesque, R. C. and Lalonde, M. : Origin and diversification of endomycorrhizal fungi and coincidence with vascular land plants. *Nature*, **363**, 67-69 (1993)
- 4) Smith, S. E. and Read, D. J. : Mycorrhizal symbiosis, Academic Press, San Diego, Carifornia (1997)
- 5) Smith, F. A., Jakobsen, I. and Smith, S. E. : Spatial differences in acquisition of soil phosphate between two arbuscular mycorrhizal fungi in symbiosis with *Medicago truncatula*. *New Phytol.*, **147**, 357-366 (2000)
- 6) Shibata, R. and Yano, K. : Phosphorus acquisition from non-labile sources in peanut and pigeonpea with mycorrhizal interaction. *Appl. Soil Ecol.*, **24**, 133-141 (2003)
- 7) Yao, Q., Li, X., Feng, G. and Christie, P. : Mobilization of sparingly soluble inorganic phosphates by the external mycelium of an abuscular mycorrhizal fungus. *Plant Soil*, **230**, 279-285 (2001)
- 8) Koide, R. T. and Kabir, Z. : Extraradical hyphae of the mycorrhizal fungus *Glomus intraradices* can hydrolyse organic phosphate. *New Phytol.*, **148**, 511-517 (2000)
- 9) Tarafdar, J. C., Yadav, R. S. and Meena, S. C. : Comparative efficiency of acid phosphatase originated from plant and fungal sources. *J.*

- Plant Nutr. Soil Sci.*, **164**, 279–282 (2001)
- 10) Joner, E. J. and Johansen, A. : Phosphatase activity of external hyphae of two arbuscular mycorrhizal fungi. *Mycol. Res.*, **104**, 81–86 (2000)
- 5 11) Ezawa, T. and Yoshida, T. : Acid phosphatase specific to arbuscular mycorrhizal infection in marigold and possible role in symbiosis. *Soil Sci. Plant Nutr.*, **40**, 655–665 (1994)
- 12) Dodd, J. C., Burton, C. C., Burns, R. G. and Jeffries, P. : Phosphatase activity associated with the roots and the rhizosphere of plants
10 infected with vesicular–arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytol.*, **107**, 163–172 (1987)
- 13) Ezawa, T., Hayatsu, M. and Saito, M. : A new strategy for acquisition of P in arbuscular mycorrhiza: up-regulation of secreted acid phosphatase gene in the host plant, 4th International Conference on
15 Mycorrhiza, Montreal, Canada (2003)
- 14) Duff, S. M. G., Sarath, G. and Plaxton, W. C. : The role of acid phosphatases in plant phosphorus metabolism. *Physiol. Plant.*, **90**, 791–800 (1994)
- 15) Smith, F. W. : The phosphate uptake mechanism. *Plant Soil*, **245**,
20 105–114 (2002)
- 16) Zvyagil'skaya, R., Parchomenko, O., Abramova, N., Allard, P., Panaretakis, T., Pattison-Granberg, J. and Persson, B. L. : Proton- and sodium-coupled phosphate transport systems and energy status of *Yarrowia lipolytica* cells grown in acidic and alkaline conditions.
25 *J. Membrane Biol.*, **183**, 39–50 (2001)

- 17) Harrison, M. J. and Van Buuren, M. L. : A phosphate transporter from the mycorrhizal fungus *Glomus versiforme*. *Nature*, **378**, 626–629 (1995)
- 18) Maldonado-Mendoza, I. E., Dewbre, G. R. and Harrison, M. J. : A phosphate transporter gene from the extra-radical mycelium of an arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices* is regulated in response to phosphate in the environment. *Mol. Plant-Microbe Interact.*, **14**, 1140–1148 (2001)
- 19) Reid, R. J., Mimura, T., Ohsumi, Y., Walker, N. A. and Smith, F. A. : Phosphate uptake in *Chara*: Membrane transport via Na/Pi cotransport. *Plant Cell Environ.*, **23**, 223–228 (2000)
- 20) Versaw, W. K. and Metzenberg, R. L. : Repressible cation-phosphate symporters in *Neurospora crassa*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **92**, 3884–7 (1995)
- 21) Martinez, P. and Persson, B. L. : Identification, cloning and characterization of a derepressible Na⁺-coupled phosphate transporter in *Saccharomyces cerevisiae*. *Mol. Gen. Genet.*, **258**, 628–638 (1998)
- 22) Chiou, T. J., Liu, H. and Harrison, M. J. : The spatial expression patterns of a phosphate transporter (*MtPT1*) from *Medicago truncatula* indicate a role in phosphate transport at the root/soil interface. *Plant J.*, **25**, 281–293 (2001)
- 23) Muchhal, U. S. and Raghothama, K. G. : Transcriptional regulation of plant phosphate transporters. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **96**, 5868–5872 (1999)

- 24) Tawarayama, K., Hashimoto, K. and Wagatsuma, T. : Effect of root exudate fractions from P-deficient and P-sufficient onion plants on root colonisation by the arbuscular mycorrhizal fungus *Gigaspora margarita*. *Mycorrhiza*, **8**, 67-70 (1998)
- 5 25) Kornberg, A., Rao, N. N. and Ault-Riché, D. : Inorganic polyphosphate: A molecule of many functions. *Ann. Rev. Biochem.*, **68**, 89-125 (1999)
- 26) Callow, J. A., Capaccio, L. C. M., Parish, G. and Tinker, P. B. : Detection and estimation of polyphosphate in vesicular-arbuscular mycorrhizas. *New Phytol.*, **80**, 125-134 (1978)
- 10 27) Cox, G., Moran, K. J., Sanders, F., Nockolds, C. and Tinker, P. B. : Translocation and transfer of nutrients in vesicular-arbuscular mycorrhizas. III. polyphosphate granules and phosphorus translocation. *New Phytol.*, **84**, 649-659 (1980)
- 28) Ezawa, T., Smith, S. E. and Smith, F. A. : P metabolism and transport
15 in AM fungi. *Plant Soil*, **244**, 221-230 (2002)
- 29) Solaiman, M., Ezawa, T., Kojima, T. and Saito, M. : Polyphosphates in intraradical and extraradical hyphae of an arbuscular mycorrhizal fungus, *Gigaspora margarita*. *Appl. Environ. Microbiol.*, **65**, 5604-5606 (1999)
- 20 30) Ohtake, H., Kato, J., Kuroda, A., Wu, H. and Ikeda, T. : Regulation of bacterial phosphate taxis and polyphosphate accumulation in response to phosphate starvation stress. *J. Biosci.*, **23**, 491-499 (1999)
- 31) Wurst, H., Shiba, T. and Kornberg, A. : The gene for a major
25 exopolyphosphatase of *Saccharomyces cerevisiae*. *J. Bacteriol.*, **177**,

- 898–906 (1995)
- 32) Rodrigues, C. O., Ruiz, F. A., Vieira, M., Hill, J. E. and Docampo, R. : An acidocalcisomal exopolyphosphatase from *Leishmania major* with high affinity for short chain polyphosphate. *J. Biol. Chem.*, **277**, 50899–50906 (2002)
- 5
- 33) Sethuraman, A., Rao, N. N. and Kornberg, A. : The endopolyphosphatase gene: Essential in *Saccharomyces cerevisiae*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **98**, 8542–8547 (2001)
- 34) Ezawa, T., Smith, S. E. and Smith, F. A. : Differentiation of polyphosphate metabolism between the extra- and intraradical hyphae of arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytol.*, **149**, 555–563 (2001)
- 10
- 35) Ezawa, T., Smith, S. E. and Smith, F. A. : Enzyme activity involved in glucose phosphorylation in two arbuscular mycorrhizal fungi: indication that polyP is not the main phosphagen. *Soil Biol. Biochem.*, **33**, 1279–1281 (2001)
- 15
- 36) Trilisenko, L. V., Andreeva, N. A., Kulakovskaya, T. V., Vagabov, V. M. and Kulaev, I. S. : Effect of inhibitors on polyphosphate metabolism in the yeast *Saccharomyces cerevisiae* under hypercompensation conditions. *Biochemistry (Moscow)*, **68**, 577–581 (2003)
- 20
- 37) Ezawa, T., Cavagnaro, T. R., Smith, S. E., Smith, F. A. and Ohtomo, R. : Rapid accumulation of polyphosphate in extraradical hyphae of an arbuscular mycorrhizal fungus as revealed by histochemistry and a polyphosphate kinase/luciferase system. *New Phytol.*, **161**, 387–392 (2004)
- 25

- 38) Marchesini, N., Ruiz, F. A., Vieira, M. and Docampo, R. :
Acidocalcisomes are functionally linked to the contractile vacuole
of *Dictyostelium discoideum*. *J. Biol. Chem.*, **277**, 8146–8153 (2002)
- 39) Ruiz, F. A., Marchesini, N., Seufferheld, M., Govindjee and Docampo,
5 R. : The polyphosphate bodies of *Chlamydomonas reinhardtii* possess
a proton-pumping pyrophosphatase and are similar to acidocalcisomes.
J. Biol. Chem., **276**, 46196–46203 (2001)
- 40) Rodrigues, C. O., Ruiz, F. A., Rohloff, P., Scott, D. A. and Moreno,
S. N. J. : Characterization of isolated acidocalcisomes from
10 *Toxoplasma gondii* tachyzoites reveals a novel pool of hydrolyzable
polyphosphate. *J. Biol. Chem.*, **277**, 48650–48656 (2002)
- 41) Ruiz, F. A., Rodrigues, C. O. and Docampo, R. : Rapid changes in
polyphosphate content within acidocalcisomes in response to cell
growth, differentiation, and environmental stress in *Trypanosoma*
15 *cruzi*. *J. Biol. Chem.*, **276**, 26114–26121 (2001)
- 42) Cooper, K. M. and Tinker, P. B. : Translocation and transfer of
nutrients in vesicular–arbuscular mycorrhizas. *New Phytol.*, **81**,
43–52 (1978)
- 43) Pearson, V. and Tinker, P. B. : Measurement of phosphorus fluxes in
20 the external hyphae of endomycorrhizas; in *Endomycorrhizas*, ed.
Sanders, F. E., Mosse, B., and Tinker, P. B., p. 277–287, Academic
Press, London (1975)
- 44) Nielsen, J. S., Joner, E. J., Declerck, S., Olsson, S. and Jakobsen,
I. : Phospho-imaging as a tool for visualization and noninvasive
25 measurement of P transport dynamics in arbuscular mycorrhizas. *New*

- Phytol.*, **154**, 809–819 (2002)
- 45) Cox, G., Sanders, F. E., Tinker, P. B. and Wild, J. A. :
Ultrastructural evidence relating to host-endophyte transfer in a
vesicular-arbuscular mycorrhiza; in *Endomycorrhizas*, ed. Sanders,
5 F. E., Mosse, B., and Tinker, P. B., p. 297–312, Academic Press,
London (1975)
- 46) Peterson, R. L. and Howarth, M. J. : Morphometric and energy
dispersive X-ray analysis of polyphosphate distribution in the VAM
fungus *Glomus versiforme* associated with leek. *Symbiosis*, **11**, 63–71
10 (1991)
- 47) Cooper, K. M. and Tinker, P. B. : Translocation and transfer of
nutrients in vesicular-arbuscular mycorrhizas. IV. effect of
environmental variables on movement of phosphorus. *New Phytol.*, **88**,
327–339 (1981)
- 15 48) Orlovich, D. A. and Ashford, A. E. : Polyphosphate granules are an
artefact of specimen preparation in the ectomycorrhizal fungus
Pisolithus tinctorius. *Protoplasma*, **173**, 91–102 (1993)
- 49) Ashford, A. E., Vesk, P. A., Orlovich, D. A., Markovina, A. L. and
Allaway, W. G. : Dispersed polyphosphate in fungal vacuoles in
20 *Eucalyptus pilularis*/*Pisolithus tinctorius* ectomycorrhizas. *Fungal*
Genet. Biol., **28**, 21–33 (1999)
- 50) Ashford, A. E., Ryde, S. and Barrow, K. D. : Demonstration of a short
chain polyphosphate in *Pisolithus tinctorius* and the implications
for phosphorus transport. *New Phytol.*, **126**, 239–247 (1994)
- 25 51) Bücking, H. and Heyser, W. : Elemental composition and function of

- polyphosphates in ectomycorrhizal fungi - an X-ray microanalytical study. *Mycol. Res.*, **103**, 31-39 (1999)
- 52) Hyde, G. J. and Ashford, A. E. : Vacuole motility and tubule-forming activity in *Pisolithus tinctorius* hyphae are modified by
5 environmental conditions. *Protoplasma*, **198**, 85-92 (1997)
- 53) Allaway, W. G. and Ashford, A. E. : Motile tubular vacuoles in extramatrical mycelium and sheath hyphae of ectomycorrhizal systems. *Protoplasma*, **215**, 218-225 (2001)
- 54) Rees, B., Shepherd, V. A. and Ashford, A. E. : Presence of a motile
10 tubular vacuole system in different phyla of fungi. *Mycol. Res.*, **98**, 985-992 (1994)
- 55) Rost, F. W. D., Shepherd, V. A. and Ashford, A. E. : Estimation of vacuolar pH in actively growing hyphae of the fungus *Pisolithus tinctorius*. *Mycol. Res.*, **99**, 549-553 (1995)
- 15 56) Shepherd, V. A., Orlovich, D. A. and Ashford, A. E. : Cell-to-cell transport via motile tubules in growing hyphae of a fungus. *J. Cell Sci.*, **105**, 1173-1178 (1993)
- 57) Cole, L., Orlovich, D. A. and Ashford, A. E. : Structure, function, and motility of vacuoles in filamentous fungi. *Fungal Genet. Biol.*,
20 **24**, 86-100 (1998)
- 58) Ashford, A. E. : Dynamic pleiomorphic vacuole systems: are they endosomes and transport compartments in fungal hyphae?; in *Advances in Botanical Research*, ed. Callow, J. A., p. 119-159, Academic Press, San Diego (1998)
- 25 59) Uetake, Y., Kojima, T., Ezawa, T. and Saito, M. : Extensive tubular

- vacuole system in an arbuscular mycorrhizal fungus, *Gigaspora margarita*. *New Phytol.*, **154**, 761-768 (2002)
- 60) Ogawa, N., Derisi, J. and Brown, P. O. : New components of a system for phosphate accumulation and polyphosphate metabolism in
5 *Saccharomyces cerevisiae* revealed by genomic expression analysis. *Mol. Biol. Cell*, **11**, 4309-4321 (2000)
- 61) Rasmussen, N., Lloyd, D. C., Ratcliffe, R. G., Hansen, P. E. and Jakobse, I. : ³¹P NMR for the study of P metabolism and translocation in arbuscular mycorrhizal fungi. *Plant Soil*, **226**, 245-253 (2000)
- 10 62) Saito, K., Kuga-Uetake, Y. and Saito, M. : Acidic vesicles in living hyphae of an arbuscular mycorrhizal fungus, *Gigaspora margarita*. *Plant Soil*, (in press)
- 63) Bonfante, P. and Perotto, S. : Strategies of arbuscular mycorrhizal fungi when infecting host plants. *New Phytol.*, **130**, 3-21 (1995)
- 15 64) Serrano, R. : Structure and function of plasma membrane ATPase. *Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, **40**, 61-94 (1989)
- 65) Sussman, M. R. and Harper, J. F. : Molecular biology of the plasma membrane of higher plants. *Plant Cell*, **1**, 953-960 (1989)
- 66) Sussman, M. R. : Molecular analysis of proteins in the plant plasma
20 membrane. *Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, **45**, 211-234 (1994)
- 67) Palmgren, M. G. : Proton gradients and plant growth: Role of the plasma membrane H⁺-ATPase; in *Advances in Botanical Research*, **28**, 1-70, Academic Press, San Diego (1998)
- 25 68) Michelet, B. and Boutry, M. : The plasma membrane H⁺-ATPase - a highly

- regulated enzyme with multiple physiological functions. *Plant Physiol.*, **108**, 1-6 (1995)
- 69) Sze, H., Li, X. H. and Palmgren, M. G. : Energization of plant cell membranes by H⁺-pumping ATPases: Regulation and biosynthesis. *Plant Cell*, **11**, 677-689 (1999)
- 5
- 70) Gianinazzi-Pearson, V., Smith, S. E., Gianinazzi, S. and Smith, F. A. : Enzymatic studies on the metabolism of vesicular arbuscular mycorrhizas .5. Is H⁺-ATPase a component of ATP hydrolyzing enzyme activities in plant fungus interfaces? *New Phytol.*, **117**, 61-74 (1991)
- 10
- 71) Gianinazzi-Pearson, V., Arnould, C., Oufattole, M., Arango, M. and Gianinazzi, S. : Differential activation of H⁺-ATPase genes by an arbuscular mycorrhizal fungus in root cells of transgenic tobacco. *Planta*, **211**, 609-613 (2000)
- 72) Tisserant, B., Gianinazzi-Pearson, V., Gianinazzi, S. and Golotte, A. : *In planta* histochemical staining of fungal alkaline phosphatase activity for analysis of efficient arbuscular mycorrhizal infections. *Mycol. Res.*, **97**, 245-250 (1993)
- 15
- 73) Gianinazzi, S., Gianinazzi-Pearson, V. and Dexheimer, J. : Enzymatic studies on the metabolism of vesicular arbuscular mycorrhiza .3. Ultrastructural localization of acid and alkaline phosphatase in onion roots Infected by *Glomus mosseae* (Nicol and Gerd). *New Phytol.*, **82**, 127-& (1979)
- 20
- 74) Ezawa, T., Saito, M. and Yoshida, T. : Comparison of phosphatase localization in the intraradical hyphae of arbuscular mycorrhizal fungi, *Glomus* spp. and *Gigaspora* spp. *Plant Soil*, **176**, 57--63 (1995)
- 25

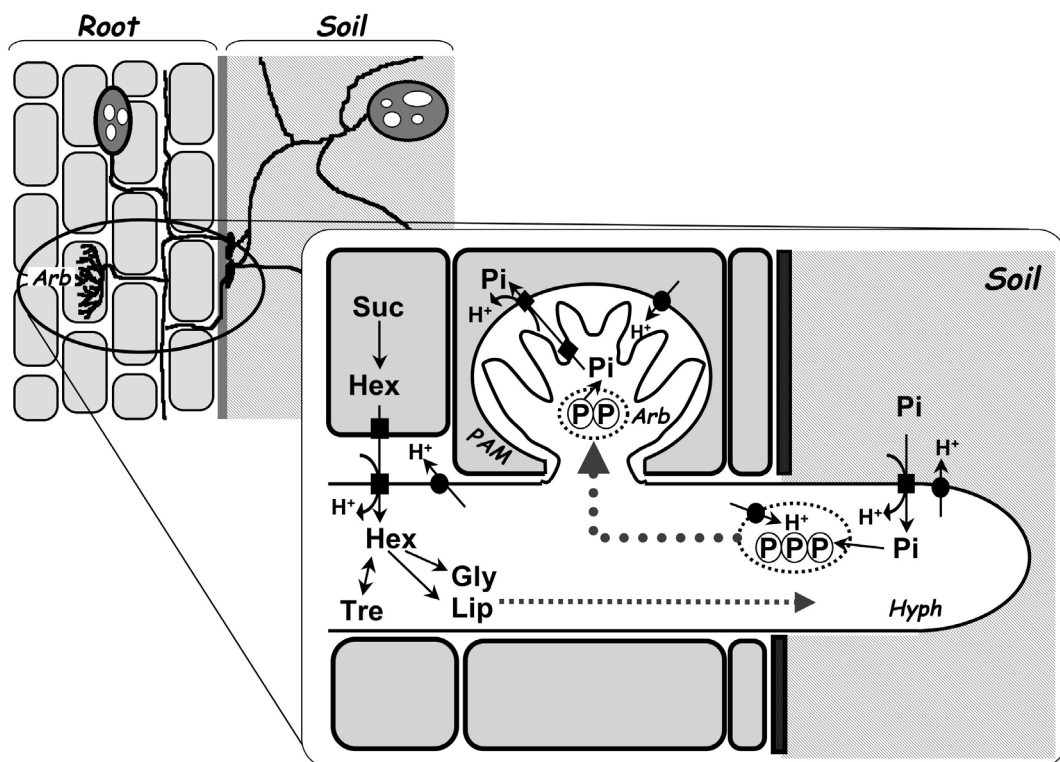
- 75) Ezawa, T., Kuwahara, S., Sakamoto, K., Yoshida, T. and Saito, M. : Specific inhibitor and substrate specificity of alkaline phosphatase expressed in the symbiotic phase of the arbuscular mycorrhizal fungus, *Glomus etunicatum*. *Mycologia*, **91**, 636-641 (1999)
- 5 76) Aono, T., Maldonado-Mendoza, I. E., Dewbre, G. R., Harrison, M. J. and Saito, M. : Expression of alkaline phosphatase genes in arbuscular mycorrhizas. *New Phytol.*, **162**, 525-534 (2004)
- 77) Saito, M. : Enzyme activities of the internal hyphae and germinated spores of an arbuscular mycorrhizal fungus, *Gigaspora margarita*
10 Becker & Hall. *New Phytol.*, **129**, 425-431 (1995)
- 78) Rosewarne, G. M., Barker, S. J., Smith, S. E., Smith, F. A. and Schachtman, D. P. : A *Lycopersicon esculentum* phosphate transporter (*LePT1*) involved in phosphorus uptake from a vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus. *New Phytol.*, **144**, 507-516 (1999)
- 15 79) Daram, P., Brunner, S., Persson, B. L., Amrhein, N. and Bucher, M. : Functional analysis and cell-specific expression of a phosphate transporter from tomato. *Planta*, **206**, 225-233 (1998)
- 80) Rausch, C., Daram, P., Brunner, S., Jansa, J., Laloi, M., Leggewie, G., Amrhein, N. and Bucher, M. : A phosphate transporter expressed
20 in arbuscule-containing cells in potato. *Nature*, **414**, 462-466 (2001)
- 81) Harrison, M. J., Dewbre, G. R. and Liu, J. Y. : A phosphate transporter from *Medicago truncatula* involved in the acquisition of phosphate released by arbuscular mycorrhizal fungi. *Plant Cell*, **14**, 2413-2429 (2002)
- 25 82) Paszkowski, U., Kroken, S., Roux, C. and Briggs, S. P. : Rice phosphate

- transporters include an evolutionarily divergent gene specifically activated in arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **99**, 13324–13329 (2002)
- 83) Toth, R. and Miller, R. M. : Dynamics of arbuscule development and
5 degeneration in a *Zea mays* mycorrhiza. *Amer. J. Bot.*, **71**, 449–460 (1984)
- 84) Alexander, T., Meier, R., Toth, R. and Weber, H. C. : Dynamics of arbuscule development and degeneration in mycorrhizas of *Triticum aestivum* L and *Avena sativa* L with reference to *Zea mays* L. *New Phytol.*,
10 **110**, 363–370 (1988)
- 85) Krajinski, F., Hause, B., Gianinazzi, P. V. and Franken, P. : *Mtha1*, a plasma membrane H⁺-ATPase gene from *Medicago truncatula*, shows arbuscule-specific induced expression in mycorrhizal tissue. *Plant Biol.*, **4**, 754–761 (2002)
- 15 86) Shachar-Hill, Y., Pfeffer, P. E., Douds, D., Osman, S. F., Doner, L. W. and Ratcliffe, R. G. : Partitioning of intermediary carbon metabolism in vesicular- arbuscular mycorrhizal leek. *Plant Physiol.*,
108, 7–15 (1995)
- 87) Pfeffer, P. E., Douds, D. D., Becard, G. and Shachar-Hill, Y. : Carbon
20 uptake and the metabolism and transport of lipids in an arbuscular mycorrhiza. *Plant Physiol.*, **120**, 587–598 (1999)
- 88) Solaiman, M. D. Z. and Saito, M. : Use of sugars by intraradical hyphae of arbuscular mycorrhizal fungi revealed by radiorespirometry. *New Phytol.*, **136**, 533–538 (1997)
- 25 89) Hohnjec, N., Perlick, A. M., Puhler, A. and Kuster, H. : The *Medicago*

- truncatula* sucrose synthase gene *MtSucS1* is activated both in the infected region of root nodules and in the cortex of roots colonized by arbuscular mycorrhizal fungi. *Mol. Plant-Microbe Interact.*, **16**, 903-915 (2003)
- 5 90) Salerno, G. L. and Curatti, L. : Origin of sucrose metabolism in higher plants: when, how and why? *Trends Plant Sci.*, **8**, 63-69 (2003)
- 91) Harrison, M. J. : A sugar transporter from *Medicago truncatula*: Altered expression pattern in roots during vesicular-arbuscular (VA) mycorrhizal associations. *Plant J.*, **9**, 491-503 (1996)
- 10 92) Snellgrove, R. C., Splittstoesser, W. E., Stribley, D. P. and Tinker, P. B. : The distribution of carbon and the demand of the fungal symbiont in leek plants with vesicular arbuscular mycorrhizas. *New Phytol.*, **92**, 75-87 (1982)
- 93) Smith, S. E. : Transport at the mycorrhizal interface. *Mycorrhizal News*, **5**, 1-3 (1993)
- 15 94) Nehls, U., Wiese, J., Guttenberger, M. and Hampp, R. : Carbon allocation in ectomycorrhizas: identification and expression analysis of an *Amanita muscaria* monosaccharide transporter. *Mol. Plant-Microbe Interact.*, **11**, 167-176 (1998)
- 20 95) Voegele, R. T., Struck, C., Hahn, M. and Mendgen, K. : The role of haustoria in sugar supply during infection of broad bean by the rust fungus *Uromyces fabae*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **98**, 8133-8138 (2001)
- 96) Bago, B., Pfeffer, P. E. and Shachar-Hill, Y. : Carbon metabolism and transport in arbuscular mycorrhizas. *Plant Physiol.*, **124**, 949-957
- 25

(2000)

- 97) Bago, B., Zipfel, W., Williams, R. M., Jun, J., Arreola, R., Lammers, P. J., Pfeffer, P. E. and Shachar-Hill, Y.: Translocation and utilization of fungal storage lipid in the arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Plant Physiol.*, **128**, 108-124 (2002)
- 5
- 98) Lammers, P. J., Jun, J., Abubaker, J., Arreola, R., Gopalan, A., Bago, B., Hernandez-Sebastia, C., Allen, J. W., Douds, D. D., Pfeffer, P. E. and Shachar-Hill, Y.: The glyoxylate cycle in an arbuscular mycorrhizal fungus. carbon flux and gene expression. *Plant Physiol.*, **127**, 1287-1298 (2001)
- 10
- 99) Bago, B., Pfeffer, P. E., Abubaker, J., Jun, J., Allen, J. W., Brouillette, J., Douds, D. D., Lammers, P. J. and Shachar-Hill, Y.: Carbon export from arbuscular mycorrhizal roots involves the translocation of carbohydrate as well as lipid. *Plant Physiol.*, **131**, 1496-1507 (2003)
- 15
- 100) Kuhn, G., Hijri, M. and Sanders, I. R.: Evidence for the evolution of multiple genomes in arbuscular mycorrhizal fungi. *Nature*, **414**, 745-748 (2001)



図, 江沢ほか

図. アーバスキュラー菌根におけるリン酸および炭素の代謝と輸送. Arb, 樹枝状体; Hyph, 菌糸; PAM, ペリアーバスキュラー膜; Suc, スクロース; Hex, ヘキソース; Tre, トレハロース; Gly, グリコーゲン; Lip, 脂質.