

## カビに魅入られて

堀 越 孝 雄\*

カビというと、暗いじめじめしたところに生息し、ミズムシ・タムシなどの真菌症の原因になり、梅雨の頃には食品や壁の表面に青・ピンク・黒色などのしみをつくって繁殖するなど、あまり良いイメージはもたれていないと思う。しかし、カビは地球環境にはなくてはならない生物であり、分類学的には我々動物にきわめて近い生物でもある。

カビは正式には真菌類と言い、きのこや酵母も仲間であり、植物、動物とならんで進化した真核（DNAの収蔵器官である核を有する）の多細胞生物である。

真菌類の特徴は直径が数ミクロンの菌糸、あるいはそれらが放射状に網目をつくり延び広がった菌糸体として存在することである。これは、真菌類の主な住み処である貧栄養で不均質な土壤環境への適応である。養分の少ない環境から効率的に養分を吸収するために体を細くして容積当りの表面積を広げ、さらに水分・空気・養分などの環境がミクロスケールで不連続的に変化する土壤中で生息するために単細胞ではなく連続性のある多細胞の菌糸として存在している。

真菌類は陸上生態系では植物に次ぐバイオマス（生物量）を有する。例えば、ヒトは動物としてはバイオマスが多い方であるが、それでも40 kgの人が250人/km<sup>2</sup>の密度で存在すると仮定すると平米当たり10 gにしかならないが、真

菌類は森林や肥沃な畑の土壤中には数kg/m<sup>2</sup>のオーダーで存在する。大量に存在するうえに細く代謝活性が高いので仕事量が大きくなり、生態系の分解者たりうるのである。植物の純一次生産量（総光合成量から植物が呼吸で消費した量を減じた量、純一次生産量で新しい葉・枝・根をつくり幹を太らして成長する）の1/2~2/3は、それらが枯死した時に最終的に真菌類の呼吸により分解・無機化されCO<sub>2</sub>にまで還元される（有機物の乾燥重量の約45%は炭素Cなので、一般に有機物の動態・循環はCのそれとして表わされる）。

現在、真核生物は遺伝子（DNA）の塩基配列や鞭毛の形態などから8つの巨大系統群に分類されている。真菌類は動物とともにオピストコンタ（後方に鞭毛を有する生物の意）巨大系統群に属しており、多分10~数億年前（生命は約40億年前に出現）に動物と分岐した系統分類学的に動物にきわめて近い生物である。似たもの同士なので真菌類のみを標的とする薬剤の開発が難しく、ミズムシなどの表在性真菌症の薬物治療が困難なゆえんでもある。

著者は、卒業研究でカビと付き合い始めて以来40数年間、進学や就職で何度か縁が切れたものの‘魅入られた’ようにカビを研究対象としてきた。ここではその付き合いの中で学んだことや感じたことを織り交ぜながら研究史の概略を紹介したい。

\* 広島経済大学経済学部教授

## 1. セファロスポリウムによる菌類の発育促進 (卒業論文)

京都大学農学部農林生物学科の4年に進級し、応用植物学講座に所属した。テーマを模索しながら取りあえずいろいろな真菌類をペトリ皿で培養していたところ、たまたまペトリ皿に紛れ込んで(実験としては失敗)赤色のコロニーをつくった真菌類が本来の培養対象のマメザヤタケという真菌類の菌糸の成長やきのこの形成を促進していることを発見した。紛れ込んだのはセファロスポリウムという真菌類であった。

その後セファロスポリウムによる真菌類の発育促進効果について調べ、セファロスポリウムは他の何種類かの真菌類の成長やきのこの形成を促進すること、培地の養分の濃度や組成、pHなどを変えても効果が見られることなどを明らかにした。さらに、セファロスポリウムの培養液に効果があることから、効果はセファロスポリウムが分泌する何らかの化合物によること、この有効成分は熱に安定で、透析膜を通過することから低分子であることなどが分かった。有効成分を精製するためにペーパークロマトグラフィ法(水と有機溶媒に対する親和度の差に従って培養液中の成分を分けるもの)で分けてみるとある特定のバンドに活性のあることも分かった。

卒論研究は結構楽しく興味のおもむくままに熱中した。これが真菌類に魅入られたきっかけである。

自然界では様々な生物がけん制し合ったり助け合ったり、互いに影響を及ぼし合いながら生存している。我々の体表面に生息する微生物(主に細菌)間でもそのようなやり取りが不断に行われているのだろう。著者は卒論研究の際にその自然界の営みの一端をペトリ皿の中に垣間見たのだ。ちなみに、1929年英国のフレミング A. Fleming がブドウ球菌をペトリ皿で培養中偶

然混入したアオカビがブドウ球菌の発育を抑制していることを発見したことが、ペニシリン発見の端緒となったことは良く知られている。

卒論研究を進める中で生物現象を掘り下げるための化学の必要性を痛感し、大学院は農芸化学専攻放射生化学研究室に進学した。修士課程で与えられたテーマは、フィチン酸という化合物の生合成経路の中間体を突き止めるというものであったが、結局目的の物質は精製できなかった。

## 2. アミスギタケの傘形成の光誘導に関する研究 (博士論文)

博士課程に進学しやはり目に見える生物現象から研究に入りたいと思い、当時体制の簡単な粘菌やきのこ(科学的には子実体という)が形態形成や細胞分化の研究のモデル生物として使われていたこともあり、アミスギタケというきのこを用いて研究を行うことにした。

アミスギタケは試験管内で容易に子実体をつくり、実験室で培地に植え継ぎながら長期間保存していても変異せず遺伝的に安定であった。さらに、子実体のつぼみ(原基という)の形成と傘の形成に光が必要で、原基から子実体の柄に発育した段階で暗所に移すと柄が伸び続ける(もやしのようなになる)だけで傘はできず、原基の形成と傘の形成を切り離して研究することができた。そこで、形成部位が柄の先端に限定でき、暗所で徒長させた柄を使うと光をあて始めて約24時間目に揃って(同調的に)傘を形成させることができるので、光で誘導される傘の形成に焦点をあてて研究を進めることにした。

博士論文ではおよそ次のようなことを明らかにした:徒長した柄に光をあてると24時間目に柄の先端が鈍尖頭型から平坦になり(この状態を傘原基と呼ぶことにする)、この状態になると以降暗所に移しても36時間後には成熟した傘と

なりその下面から胞子が散布された。光は100ルクス程度の弱い光で良く、光感受部位は柄の先端 1 mm 以内の部位であった。傘形成に対する光の波長の効果を調べ‘作用スペクトル’を作成した。近紫外から紫外・青の光が有効で、この領域に4つの効果極大ピークが確認されたが、各ピークにおける光強度-応答直線の傾きが等しいことからおそらく単一の光受容体由来すると考えられた (Kitamoto et al., 1974)。

さらに傘原基形成過程を詳しく調べると、24時間連続的に光をあてる必要はなく、光照射開始後 1-8 時間目は光が不必要で、傘原基形成は 0-1 時間目の第 1 光要求過程、1-9 時間目の光を要求しない過程、9-24 時間目の第 2 光要求過程という 3 つの過程を経て進行することが分かった (Horikoshi et al., 1974)。第 1 光要求過程は数ルクスの光でスイッチ・オンになり、光スイッチ的に反応し、第 2 過程では光を強くすると傘原基形成が促進される量的な過程であった。

さらに、これらの過程の温度感受性、細胞レベルでの形態学的な変化、DNA や RNA の代謝などを調べ、傘原基形成過程を生物学的・生理学的レベルで総合的に捉えようとした。

結局、博士論文では、傘原基形成に決定的に関わる物質あるいは光を吸収する物質を特定できたわけではなく、ただスイッチ・オンになってからの結果の過程をあれこれの方法で調べただけに終わった。しかし、一方、本来投与すれば傘がぱっとできるような特別な物質があるわけではなく、環境シグナルを感知・応答し、いろいろな代謝系が変化したその総和として顕著な形の変化が起こるのではないかと考えた。

さらに、傘の形成過程を形態学的あるいは光学・電子顕微鏡などを用い詳細に観察して感じたことは、遺伝子に傘や胞子を造りなさいという詳細な情報が書き込まれているわけではなく、単に柄先端外周部の生理的に活性の高い菌糸の細胞分裂が活発になり、そのようにしてできた

細胞が密に接着し合うことにより、柄周辺部と中心部の伸長速度にずれが生じ、必然的・物理的にひだ(しわ)ができ、傘が展開するのではないかということであった。

近年、多くの生命現象は、我々が考えているほど複雑な情報やメカニズムに支配されているわけではなく、シンプルな原則にもとづいて生起していることが明らかになりつつある。遺伝子に書かれているのはタンパク質をつくる情報のみであったということはその好例のように思う。

大学院修了後、宮崎医科大学の一般教育の化学の助手として採用され、菌類を含めた微生物や種々の生体物質による重金属濃縮という研究に7年間携わり、カビとの直接的な縁は一時途切れた。

### 3. 生態系の物質循環における真菌類や細菌などの微生物の役割の解明

1984年、広島大学総合科学部環境科学コースの微生物生態学担当の助教授として公募採用された。赴任当時、総合科学部は創立いまだ10年目であり清新の気にあふれており、環境科学コースでは生態学、生理学、化学、地理学などのスタッフが種々のテーマのもとに共同研究を展開しており、そのような雰囲気と研究スタイルに大いに触発された。そして、生態系の物質循環における真菌類や細菌などの微生物の働きを調べることをテーマとすれば、自らの微生物生態学の研究も発展させ、共同研究にも貢献できるのではと考えた。

#### 3.1 山林火災後の植生回復と微生物

著者が広島大学に赴任した1980年代当時、温暖寡雨な広島県の瀬戸内海沿岸地方では毎年のように数百~1,000 ha 規模の山林火災が発生していた。

火災後、植生の地上部は焼死し、林床の腐植なども焼失するが、植生の地下部や埋土種子は生残し、放置しておいても自然な植生の回復がみられる。自然に植生が回復できるのは、地中に主に腐植の形の有機物が、それとともに微生物も長期間残存するからでもある(堀越, 1989)。

ちなみに、熱帯林では一度地上の植生が破壊されると、植生は回復せず後に砂漠が残る。熱帯地方では植物の光合成生産力も高いが、高温で微生物活性も高いために土壌中の有機物含量は少ない。地上の植生が失われ地上からの有機物の供給が断たれると、土壌中の有機物は短時間で分解・無機化され、生じた無機栄養塩類も集中的な降雨により溶脱され、砂漠が残る。

山林火災後の土壌中の微生物バイオマスの変化を、大学院生や卒論学生ともども、クロロホルム燻蒸法(土壌中の微生物をクロロホルム蒸気で殺菌し、その後培養すると土壌孔隙の中などで生残した微生物が死滅微生物を基質として増殖し、呼吸量が増える。増加呼吸量はもともと存在した微生物量に比例することにもとづく方法)で調べた。その結果、生重量で1~4トン/haの微生物バイオマスが存在することが分かった(Tateishi and Horikoshi, 1995)。この量は火災前後でほとんど変化せず、火災後もほとんど一定の値を維持していた。真菌類と細菌の比率はおよそ7:3であった。

最近、植物が吸収する窒素 N、リン P、カリウム K などの栄養塩類のほとんどは一度土壌中の微生物に吸収されその細胞を構成していたものであることが明らかになってきた。細胞を構成していても、微生物は一定時間でターンオーバーしているので、植物は微生物が死滅した時に細胞外に放出されたものを吸収すればよい。環境中の栄養塩類をある時にある分だけ吸収してしまうのではなく、微生物バイオマスが小出ししてくれるものを‘腹8分目’で吸収できることになる。さらに、N 肥料は一般には硝酸

イオン  $\text{NO}_3^-$  などの陰イオンとして存在しており、表面の大部分が負の荷電を帯びている粘土粒子などには吸着されず降雨で溶脱されやすい。しかし、微生物体中に保持されていれば溶脱されることもない。つまり、微生物バイオマスは植物の栄養塩類の一時的貯蔵庫であり、その大きさは土壌の肥沃度の一つのメルクマールであると言える。立石(1995)の試算によると、上記の調査地においてもバイオマス中には火災後の植物の再生をまかなうのに充分な量の P や K などの栄養塩類が保持されているという。

### 3.2 カナダ北方林の炭素循環における土壌微生物群集の役割の解明

1993-96年、国際共同研究 BOREAS (The Boreal Ecosystem-Atmosphere Study 北方生態系-大気研究)の一環として、カナダ、サスカチュワン州のクロトウヒ林で、中坪孝之博士や大学院生と蚊の猛攻に悩まされながら植物起源有機物の分解におよぼす温度の影響などについて調べた。富士山亜高山帯でも比較調査をした。

北半球高緯度地方には極を円周状に取り囲むように針葉樹からなる北方林が広がる。北方林は低温のため生産力は低いが微生物の分解活性も小さいために地下には地球全体の土壌有機炭素(有機物の腐植の形で)の1/4が貯留されており、炭素の大きな吸収源の一つになっている。また、この地方は温暖化した場合に、たとえば全球平均で2.8°C上昇と予測された場合でも3.5-4.5°C上昇するというように温暖化の影響を強く受けると考えられている。気温上昇により地下の有機炭素の分解が促進されて大量の  $\text{CO}_2$  が発生し、そのことが温暖化をさらに促進して…という悪循環を招く恐れがある(このようなフィードバック効果が気候変動の将来予測を難しくしている)。

### 3.2.1 カナダのクロトウヒ林土壌における炭素循環

森林生態系では、土壌に流入する死滅した葉・枝・根・剥離樹皮・動物などの形（リター）での有機-炭素 C 量（土壌への炭素インプット；純一次生産量に近似）と微生物の呼吸による分解により発生する CO<sub>2</sub>-C 量（土壌からのアウトプット）は釣り合っている（林床の落葉や枯枝などの有機物層の厚さは季節的な変動はあるがほぼ一定である）と考えられている。しかし、調査地のクロトウヒ林土壌では 0.23~0.77 トン C/ha・年ほど発生 CO<sub>2</sub>-C 量が多かった（Nakane et al., 1997; Uchida et al., 1998）。これは、死滅生物体（リター）以外の形での炭素の流入があることを示唆する。著者らは、死滅生物体-微生物分解を経由する炭素の流れ以外に、生きた植物根に共生する真菌類（菌根菌）を経由する炭素の流れが相当あると考えた。このことが後に著者を菌根研究に向かわせる一因になった。

### 3.2.2 植物起源有機物の分解におよぼす温度の影響

土壌中の微生物の有機物分解活性が、将来温暖化した場合にどのような影響を受けるのかについては通常実験室の変温環境下などで調べられている。このような場合、温度が 10°C 上昇した時に反応速度が何倍速くなるのかを表す指標 Q<sub>10</sub> 値は、一般の化学反応と同じように 2~3 になる。しかし、自然界では温度は時間をかけて上昇し、分解に関わる微生物も分解される有機物（基質）の化学的性質も変化するので、実験室における測定のみでは自然界で実際に起きていることは測れないとも考えられる。

そこで、共同研究者の中坪孝之博士は、温度が異なる広範囲な地域に生育するイワダレゴケに着目し、その枯死体の分解におよぼす温度の影響を自然条件下で調べた（Nakatsubo et al., 1997）。そのために、北緯 54° のカナダ・サスカ

チュワン州・キャンドルレイクと同 60° のストーニーラピッド（両地点は約 600 km 離れている）、および富士山亜高山地帯の 1,700~2,400 m の 4 地点の計 6 カ所に調査地を設けた。

その結果、各調査地の月平均気温の積算値とイワダレゴケ枯死体の分解率の間には

$$Y (\text{分解率}) = 2.31 \exp (0.028 X (\text{気温}))$$

で表される関係があり、Q<sub>10</sub> 値は 7.1~9.4 となった。他の研究者もハワイのマウナロア山でフトモモの枯死体を用いて大きな Q<sub>10</sub> 値を得ている。寒冷地で実際に野外で測定するとなぜ Q<sub>10</sub> 値が大きくなるのかはよく分からない。

Q<sub>10</sub> 値が 7.1~9.4 の場合、温度が 1°C 上昇するだけで分解率は約 25% 上昇する。このことは、北半球高緯度地方が、温暖化による有機物の分解促進・CO<sub>2</sub> 発生-地球規模の温暖化のさらなる促進という悪循環を引き起こす可能性のあることを示唆する。

## 4. 菌根の生態学

カナダの調査で生きた植物根-共生真菌類経由の炭素の流れが相当あるらしいことに気づいたことなどもあり、十数年前から植物根と真菌類の共生体である菌根に興味をもち研究を始めた。このテーマは京都大学の卒論研究の際の恩師である故浜田稔先生のご専門でもあり、期せずして原点に返ったわけで、めぐり合わせの面白さを感じている。

菌根を最初に観察し命名したのは、19世紀後半ベルリン農科大学のフランク A. B. Frank 教授である。陸上植物種の約 8 割が根に菌根を形成しており、形態的特徴および共生する植物と真菌類の種類から 7 つのタイプに分けられている（Smith and Read, 2008）。最も一般的で、約 7 割の植物種にみられるのがアーバスキュラー菌根である。この菌根では、共生真菌類が植物と真菌類の間での物質交換器官であるアーバスキュル arbuscule 樹枝状体（効率的に物質交換を行うた

めに表面積を広くしている)を植物細胞内につくる。VA菌根と言う旧称でも良く知られている。

マツタケ、ホンシメジなどの大型のきのこをつくり我々になじみが深いのは、マツ科、カバノキ科、ブナ科など約3%の植物種がつくる外生菌根である。この菌根では、共生真菌類は植物細胞を物質交換器官であるハルティッヒネット<sup>1</sup>で包むが細胞内には侵入しない。

菌根では、植物から共生真菌類に光合成産物の糖類などが、真菌類から植物には細い菌糸で集めた水や無機塩類などが供給されている。

#### 4.1 植物の海からの上陸と菌根

植物が海から上陸したのは大気中の酸素濃度が現在の1/10になり、成層圏にオゾン層が形成され紫外線が地上に降り注がなくなった4億数千万年前(すでに地球の歴史46億年の9割が経過している)のオルドビス紀中期である。

原始的な維管束植物の仮根中に共生真菌類の存在が確認されていること、さらに当時の陸上環境は荒涼とした砂漠であり植物の栄養塩類は少なく、植物自身も養分吸収のための細根が未発達であったという状況証拠から、すべての植物は根に真菌類を共生させて上陸したと考えられている。共生真菌類が養分吸収を助けなかったら、植物は上陸できず陸上は砂漠のままだったろう。

化石から初期の菌根はアーバスキュラー型であったことが分かる。他のタイプの菌根はその後植物が内陸に進出してゆく過程でアーバスキュラー型に替り共生するようになったのだろう。ちなみに、外生菌根は約1億年前の白亜紀に出現したと考えられている(参照:堀越, 2000)。

#### 4.2 菌根菌を経由する炭素の流れ

かつては、植物などの光合成によりCO<sub>2</sub>から

有機物に変換されて生物体に固定された炭素のほとんどは、生物が死滅した後に微生物により分解・無機化されCO<sub>2</sub>に還元されて循環していると考えられていた。しかし、カナダでの研究結果は、生きた植物から枯死植物体を経由することなく直接共生真菌類に供給され、共生真菌類の呼吸によりCO<sub>2</sub>に還元される炭素が相当大きな比率を占めていることをうかがわせた。

カナダクロトウヒ林における微生物の呼吸による土壌からのCO<sub>2</sub>-Cアウトプット量と死滅生物体(大部分植物起源)の形での土壌への有機物-Cインプット量の差の値を用い、微生物のうち7割を真菌類であると仮定すると、アウトプットCO<sub>2</sub>-Cに対する共生真菌類と腐生真菌類の貢献比率はばらつきが大きい15:85~50:50であると推定できる。

土壌中の共生性と腐生性の真菌類バイオマス<sup>2</sup>を区別して測定することが現時点では困難なので、著者らは、実験系での根内外の共生真菌類バイオマスの比、自然界での植物根内の共生真菌類バイオマスを求めることにより野外の土壌中の共生真菌類バイオマスの推定を試みた(Fujiyoshi et al., 2000)。データは限定的で精度は低い<sup>3</sup>が、自然界での共生性と腐生性の真菌類のバイオマス比は5:5くらいではないかと考えている。土壌表面からは息する生物の呼吸に由来するCO<sub>2</sub>の発生がみられるが、およそ1/2は植物根、1/2が微生物由来である(土壌動物由来は無視できると考える)。さらに、呼吸に対する真菌類と細菌の寄与率を2:1、共生性と腐生性の真菌類のそれを1:1とすると、土壌から呼吸で発生するCO<sub>2</sub>の1/6は共生真菌類由来と考えることができる。

#### 4.3 植物を繋ぐ菌根菌ネットワーク

菌根共生の場合、パートナーの植物も菌類も共生相手に対する選り好み<sup>4</sup>があまり強くない。たとえば、マツはマツタケを始めハツタケ、ア

ミタケなど数十種類の真菌類と共生し、一方マツタケ菌はアカマツ、コメツガなどの針葉樹やある種の広葉樹と共生することが知られている。そのために、ある真菌類が同じ植物種の異なった個体間、さらには異種植物の個体間を菌糸体ネットワークで繋ぎ、その間で光合成産物の糖などのやり取りが行われていることが分かってきた (Simard et al., 1997)。菌糸体ネットワークで繋がっている2つの個体の一方が陽当たりのよい場所で活発に光合成を行っておりもう一方が被陰されていると、活発に光合成をしている個体から被陰個体に糖などが供給されるという。

かつて、同一場所に生育する植物達は光・栄養塩類などをめぐって競争関係にあると考えられてきた。しかし、地下の共生真菌類を通して見ると植物達の異なった面が見えてくる。植物達は生育に困難が生じたときには互いに糖などをおすそ分けし助け合っている可能性があるのだ。たとえば、生育季節が異なる植物間で、ある季節には活発に光合成を行っている A 植物から不活発な B 植物に糖などが供給され、別の季節には逆に B 植物から A 植物にというようにである。成熟した個体から光合成も養分吸収も充分にできない若い個体に光合成産物が供給されている可能性もある。このような場合、生態系として考えると、競争関係にあるよりも物質生産は向上し、幼個体などの生残率が向上することにより多様性も増すことになる。

van der Heijden et al. (1998) は、自然生態系を模したマイクロゾムの実験系で、地下のアーバスキュラー菌根菌の種多様性を増すと地上の植物群落の多様性、生産性および変化に対する適応性が増大することを明らかにした。すなわち、共生真菌類種の多様性が増すほど植物も多様な真菌類と共生でき、菌糸体ネットワークも発達し、系全体の生産性や多様性が増すというのである。

かつて、地下の生物の世界は複雑で不均一なために研究対象としてクリアーなデータが出づらく‘地下ブラックボックス’として敬して(?)遠ざけられてきた。しかし、地下の真菌類から地上の現象を見ることにより今まで見えなかったことが見えてくる。真菌類の研究は奥が深く、汲めども尽きせぬ面白さがある。

## 引用文献

- Fujiyoshi M, Nakatsubo T, Ogura S and Horikoshi T. 2000 Estimation of mycelial biomass of arbuscular mycorrhizal fungi associated with the annual legume *Kummerowia striata* by ergosterol analysis. *Ecol Res* **15**: 121-131.
- Horikoshi T, Kitamoto Y and Kasai Z. 1974 Effect of light on the initiation of pileus formation in a basidiomycete, *Favolus arcularius*. *Plant Cell Physiol* **15**: 903-911.
- 堀越孝雄 1989 山火事ときのこと. 遺伝 **43**: 40-45.
- 堀越孝雄 2000 第6章 地球環境と土の菌類. 土壤微生物学会編: 新・土の微生物(6), 博友社, pp. 155-176.
- Kitamoto Y, Horikoshi T and Suzuki A. 1974 An action spectrum for photoinduction of pileus formation in a basidiomycete, *Favolus arcularius*. *Planta (Berl.)* **119**: 81-84.
- Nakane K, Kohno T, Horikoshi T and Nakatsubo T. 1997 Soil carbon cycling at a black spruce (*Picea mariana*) forest stand in Saskatchewan, Canada. *J Geophys Res* **102**: 28, 785-28, 793.
- Nakatsubo T, Uchida M, Horikoshi T and Nakane K. 1997 Comparative study of the mass loss rate of moss litter in boreal and subalpine forests in relation to temperature. *Ecol Res* **12**: 47-54.
- Simard SW, Perry DA, Jones MD, Myrold DD, Durall DM and Molina R. 1997 Net transfer of carbon between ectomycorrhizal tree species in the field. *Nature* **388**: 579-582.
- Smith SE and Read DJ. 2008 *Mycorrhizal symbiosis*, 3rd ed. Academic Press.
- 立石貴浩 1995 広島大学博士論文: アカマツ林火災跡地の土壌微生物バイオマスの測定.
- Tateishi T and Horikoshi T. 1995 Microbial biomass in the soils of burned and unburned Japanese red pine forests in the Setouchi District, Western Japan. *Bull Jap Soc Microb Ecol* **10**: 9-20.
- Uchida M, Nakatsubo T, Horikoshi T and Nakane K. 1998 Contribution of micro-organisms to the carbon dynamics in black spruce (*Picea mariana*) forest soil in Canada. *Ecol Res* **13**: 17-26.
- van der Heijden MGA, Klironomos JN, Ursic M,

Moutoglis P, Streitwolf-Engel R, Boller T, Wiemken A and Sanders IR. 1998 Mycorrhizal fungal diversity determines plant biodiversity,

ecosystem variability and productivity. *Nature* **396**: 69-72.