

令和 6 年 6 月 11 日現在

機関番号：12102

研究種目：基盤研究(A)（一般）

研究期間：2019～2023

課題番号：19H01161

研究課題名（和文）鉱山跡地の自生植物と土着微生物を利用した新しい緑化技術の構築

研究課題名（英文）Construction of new greening method using native plants and indigenous microorganisms on the mine site

研究代表者

山路 恵子（YAMAJI, Keiko）

筑波大学・生命環境系・教授

研究者番号：00420076

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 33,100,000円

研究成果の概要（和文）：鉱山跡地で自生している草本・樹木を対象に、宿主植物と微生物との相互作用を利用した新たな緑化技術の開発を目指した。鉱山跡地の自生植物に特有の生理生態の解明、植物に共生する微生物の生理特性の解明を行い、接種試験により微生物が関与した植物の重金属耐性機構を解明した。さらに、機能的微生物を利用したカプセルの構築や電界印加による植物への影響を明らかにすることで、新たな緑化技術に繋がる基礎的知見を得た。

研究成果の学術的意義や社会的意義

植物における重金属耐性機構の解明は、国内外で多くの研究者によって行われてきたが、実験室内でモデル植物や微生物を共生させる実験系での事例が多い。重金属を高濃度に含む特殊な環境で適応してきた植物と土着微生物の共生系に着目する本研究は学術的にも新規性が高い。また、様々な学問分野の研究者が加わり、植物本来の能力や現地での共生系に沿った解析を行うため、応用的にも重要な知見を提供でき、実際の環境での植物や微生物との共生系を利用した環境低負荷型の緑化技術を可能とすると考えられる。

研究成果の概要（英文）：We aimed to develop a new greening technique using the interaction of microorganisms with herbaceous plants and trees growing naturally at former mine sites. We elucidated specific physiological-ecological function to the native plants at former mine sites, the physiological characteristics of the microorganisms symbiotic with the plants, and the mechanism of heavy metal tolerance in the plants involving the microorganisms through inoculation tests. Furthermore, by constructing capsules using functional microorganisms and clarifying the effects of electric field application on plants, we showed basic knowledge, which would lead to new greening technique.

研究分野：環境生態化学

キーワード：重金属 植物 微生物 緑化技術

## 様式 C-19、F-19-1、Z-19（共通）

### 1. 研究開始当初の背景

日本列島は豊かな鉱物資源に恵まれ、日本各地では多数の鉱山開発が行われてきた。長年に渡り日本の経済発展に貢献してきたが、高度経済成長期に次々と閉山した。現在も鉱山跡地では、重金属を高濃度含有し酸性を呈することが多く、環境基準値を遵守した坑廃水処理を多大なコストをかけ、企業や自治体を実施する現状にある。鉱山跡地での緑化を推進することは、植物が根で土壌粒子や重金属を固定することによる系外への重金属の飛散防止、植物の保水・蒸発散機能による降雨の浸透防止が生じるため坑廃水量の削減、などへの貢献が期待でき、坑廃水処理コスト削減につながる重要な課題と言える。

重金属の一部は植物にとって生育に必須な微量必須栄養元素でもあるが、過剰な重金属の存在は生育阻害を引き起こし、植物に障害を与える。鉱山跡地の土壌環境は、植物にとって過酷な環境と言え、植物が定着するのに困難である。しかしそのような鉱山跡地においても、自ら侵入し生育を可能とした植物（自生植物）が多数存在することがわかっており、そういった植物は、重金属に対して生理的にも生態的にも適応していると考えられている。つまり、重金属を過剰吸収したとしても体内での毒性を軽減させる何らかの機能（重金属耐性）を獲得した植物種のみが生き残ることが可能である、と言える。申請者らは、鉱山跡地を対象とし、重金属を体内に高濃度蓄積するのにも関わらず自生を可能とした植物の重金属耐性機構について生態化学的手法により研究を遂行してきた。その結果、鉱山跡地に自生する植物の中には、1) 植物自身が有する能力により重金属耐性を獲得している種、2) 根の組織内部に生息する根圏微生物（内生菌）によって、重金属耐性を獲得している種、が存在することを明らかにした。以上から、鉱山跡地における植物と微生物の相互作用を考慮することは重要であると考えられる。

### 2. 研究の目的

本課題は、国内の鉱山跡地を対象とし、自生している遷移初期草本および樹木を対象に、各植物の重金属耐性に関係している土着微生物と宿主植物との相互作用を利用した新たな緑化技術の開発を目指すものである。具体的には下記の2点からなる。1) 鉱山跡地に自生する植物の生理特性を明らかにし、微生物の機能及び植物への影響を明らかにする。さらに、植物への微生物接種試験を行い、植物における重金属耐性のメカニズムを総合的に解明する。2) 得られた知見を統合し、機能性微生物を植物へ持続的に定着させるための新たな緑化技術を開発する。

植物における重金属耐性機構の解明は、国内外で多くの研究者によって行われてきたが、実験室内でモデル植物や微生物を共生させる実験系での事例が多い。重金属を高濃度に含む特殊な環境で適応してきた植物と土着微生物の共生系に着目する本研究は学術的にも新規性が高い。また、様々な学問分野の研究者が加わり、植物本来の能力や現地での共生系に沿った解析を行うため、応用的にも重要な知見を提供でき、実際の環境での植物や微生物との共生系を利用した環境低負荷型の緑化技術を可能とすると考えられる。

### 3. 研究の方法

#### (1) 鉱山跡地に自生する植物の生理特性及び微生物の機能解析

対象植物の根域土壌を採取し、土壌環境分析法（土壌環境分析法編集委員会、1997）に準じて土壌の物理性の測定及び化学性の分析を行った。調査地によっては土壌断面調査を実施した。土壌調査ハンドブック改訂版（日本ペドロロジー学会、1997）に従って、1m またはその範囲内で可能な深さまで試坑を作製し、土壌断面形態を記載した。土壌薄片は永塚・田村（1986）の方法に従って作製した。土壌薄片の観察には偏光顕微鏡を用いた。また土壌薄片の記載は Bullock et al.（1985）に準じた。

対象植物は主に生長期の夏季に採取を行った。採取した植物体は水道水・Millipore 水で十分に洗浄後、各組織に分け乾燥した。乾燥後、粉碎した植物試料は酸分解し、植物体に含まれる含有元素濃度を誘導結合プラズマ発光分光分析により定量した。重金属元素の局在観察は SEM-EDX や、それぞれの元素に特有の染色方法に準じて行った。重金属元素の高濃度蓄積が確認された植物部位は根であったことから、根に含まれる重金属無毒化物質（フェノール性化合物や有機酸）の定性・定量を高速液体クロマトグラフィーやガスクロマトグラフィー質量分析計（誘導体化試料の分析）で行った。

微生物の分離は、夏期に採取した対象植物の根を表面殺菌し培地に置き培養することで行った。出現頻度が高かった微生物については、DNA 解析により種同定を行った。また、植物の重金属耐性を高めると考えられる微生物の機能として、有害元素の無毒化を行う化合物（シデロフォア）の産生能を確認した。高い産生能を示した微生物の無毒化物質については、各種クロマトグラフィーによって単離し、核磁気共鳴分析、質量分析計などの機器分析により同定した。さらに、機能性微生物と判断された菌種については植物への接種試験を行った。滅菌した現地土壌において対象植物（滅菌した苗）に微生物を接種した。一定期間栽培後、苗の生長量や重金属蓄積量を確認することで、微生物が関与した対象植物の重金属耐性機構を解析した。

根の重金属無毒化物質のイメージングについては手法開発を行った。生理活性物質局在イメージング手法を確立するために、組織内局在が別の方法でおおよそ既知となっているスギの防御

物質を対象とし、マトリクス支援飛行時間型質量分析計 MALDI-TOF-MS を使用した解析を実施した。また、マトリクス噴霧せずに詳細な化合物の局在部位を明らかにするため、飛行時間型二次イオン質量分析装置 (TOF-SIMS) により、樹木組織の切片上の catechin の局在イメージングを行った。さらに、重金属錯体の検出についても手法開発を行った。ヒバに含まれるヒノキチオールは、重金属錯体形成し沈殿生成するため、ヒバ材による重金属吸着の可能性が考えられる。そこで、マンガンまたは銅溶液に浸漬したヒバ材を用いた重金属吸着を試行し、ヒノキチオール錯体の関与を MALDI-TOF-MS イメージングにより明らかにした。

#### (2) 微生物定着素材開発・電界印加による植物の生長促進、重金属耐性向上の検討

金属耐性付与効果を示す微生物を効率的に鉱山跡地現地で自生する植物に定着させるための高分子素材及び手法を開発した。アニオン性高分子電解質 (多糖類、化学修飾セルロース) 溶液で微生物の保護を行った後、反対電荷のカチオン性高分子電解質溶液と混合しポリイオンコンプレックス形成することで、微生物を封入したマイクロカプセルを調製した。また、対象植物にマイクロカプセルを添加することで現地での移植試験を実施した。移植 1-2 年後に、苗の生長量、植物の元素濃度、金属無毒化物質の測定、機能性微生物の定着効果を解析し、微生物感染及び非感染の苗で比較解析した。

また、電界印加による植物の生長促進および重金属耐性向上の検討を実施した。電界印加により生長促進が確認されているカイワレダイコンを用いて電界印加による生長促進メカニズムの解明を行った。

### 4. 研究成果

#### (1) 鉱山跡地に自生する植物の重金属耐性機構及び機能性微生物の解析

多くの鉱山跡地に自生が確認されているススキ、アカマツ、アオキ、ヨシ、ヨモギなどに着目し、その重金属耐性に関して機能性微生物が関与する耐性機構を、1) 植物や微生物による重金属無毒化物質の産生、2) 微生物による植物の生長促進及び重金属耐性増強、の点から明らかにした。鉱山跡地の調査地は 5 箇所設定した。

##### ①ススキ・アカマツの重金属耐性機構及び機能性微生物の解析

鉱山跡地の集積場において、パッチ状にススキの自生が確認され、ススキパッチ内にはアカマツ実生の定着が確認された。ススキのパッチ内外で個体識別したアカマツ実生の生残を 4 年に渡って調査したところ、パッチ内でのアカマツ実生の生残数がパッチ外と比べて多いことが明らかとなった。さらに、ススキのパッチはマルチ効果を示すことで地温の日較差を低減することが判明し、パッチはアカマツ実生の定着に適した環境であると考えられた。また、ススキ及びアカマツ実生は根に高濃度の鉄を蓄積しており、ススキ根においては chlorogenic acid、アカマツ根においては catechin や condensed tannin などの重金属無毒化物質の産生が確認された。アカマツ実生の根から微生物の分離を行ったところ、ススキのパッチ内に生育するアカマツ実生から高頻度で分離された内生菌の中には、ススキの根の内生菌と共通するものが存在していた。分離した内生菌の 1 種は、ススキにおけるストレス (地温および重金属) 耐性向上に寄与することが明らかとなったことから、ススキがパッチ内のアカマツ実生に機能性微生物を供給している可能性が考えられた。アカマツへの本菌の影響については、さらなる検討が必要である。

上記は発表論文 Haruma et al. (2023)、学会発表 松代ら (2024) の成果を基にまとめた。

##### ②アオキの重金属耐性機構及び機能性微生物の解析

アオキは鉱山跡地の落葉混交林の林床に自生が確認され、夏季・冬季に細根に高濃度の亜鉛を蓄積していることが明らかになった。さらに、林冠が開く冬季にも光合成を行い炭素獲得をしていること、根の抗酸化物質である aucubin 及び citric acid が亜鉛の毒性軽減に寄与していること、皮層細胞においては根の共生菌や内生糸状菌の菌糸が亜鉛の蓄積部位となっていることが確認された。糸状菌菌糸における亜鉛蓄積は植物細胞にとっては亜鉛の隔離に繋がるため、毒性軽減になると考えられた。以上からアオキは、夏季と冬季において上記の耐性機構を維持することで鉱山跡地での定着を可能としていると考えられた。さらに、根から主要な内生糸状菌として分離された *Pezicula ericae* は isoavenaciol 及び 7-hydroxy-isoavenaciol を産生することが機器分析により明らかになった。内生糸状菌 *P. ericae* は亜鉛を無毒化する isoavenaciol 及び 7-hydroxy-isoavenaciol を産生することで、アオキの根に蓄積している亜鉛に対する毒性軽減に関与する可能性が考えられた。

上記は発表論文 Doyama et al. (2021) 及び Doyama et al. (2023) の成果を基にまとめた。

##### ③ヨシの重金属耐性機構及び機能性微生物の解析

ヨシは鉱山跡地の鉱さいたいせき場で自生が確認され、節根に高濃度の鉄、マンガン及びウランを蓄積していることが明らかになった。さらに、節根の抗酸化物質として 3-O-feruloylquinic acid が検出されたことから、本化合物は重金属の毒性軽減に寄与していると考えられた。また、表層及び皮層の最外層には鉄及びマンガンの酸化物の蓄積が確認されたことから、これら酸化物の形成は地上部への鉄及びマンガンの移行抑制に繋がると示唆された。節根から分離された

内生糸状菌は金属元素の毒性を軽減するシデロフォアを産生することが確認されたことから、内生糸状菌がヨシの重金属耐性を向上させる可能性が示された。今後は、ヨシを用いた接種試験を実施することで内生糸状菌の影響を明らかにする必要がある。

上記は学会発表 大熊ら (2024) の成果を基にまとめた。

#### ④ヨモギの重金属耐性機構及び機能性微生物の解析

ヨモギは鉱山跡地において緑化植物として植栽されている植物である。調査地の鉱山跡地においては、周囲の緑化地点から種子が供給され定着したと考えられるヨモギが生育している。ヨモギの根には高濃度のアルミニウム、鉄、銅が検出され、重金属の毒性を低減させるフェノール性化合物である *chlorogenic acid*、*4-feruloylquinic acid*、*3,5-dicaffeoylquinic acid* が根において検出された。ヨモギの根から微生物を分離した結果、重金属耐性に関与するとされる *dark-septa endophytes* として *Paraphoma*、*Phialocephala*、*Cadophora*、*Acephala* 属糸状菌が分離され、これらの内生菌がヨモギにおける重金属耐性に寄与する可能性が考えられた。今後は、ヨモギを用いた接種試験を実施することで内生糸状菌の影響を明らかにする必要がある。

上記は発表論文 Xingyan et al. (2021)、学会発表 Lu et al. (2022) の成果を基にまとめた。

#### ⑤根から分離した微生物の種類と解析

リョウブでは *Rhizoderma*、ヤマウルシでは *Ilyonectria* と *Lachnum*、ススキでは *Phialocephala* 属菌が重金属無毒化物質の産生能を有していたことから、植物の重金属耐性に重要な種類と考えられた。また、鉱山跡地に自生するリョウブ、ヒサカキ、アセビ、シロダモ、アオキの根から内生菌を分離した結果、全種に共通して優占的に *P. ericae* が検出された。本種はシデロフォアを産生することから重金属土壌において宿主植物の重金属耐性に関連している可能性がある。ウラン鉱山跡地に自生するオノエヤナギの根の内生菌の種類を調査した結果、酵母の 1 種と *Phialocephala* が優占していた。さらには、鉱山跡地の集積場に自生するアカマツ、ススキの根から糸状菌の分離を行ったところ、これまでアカマツ、ススキの根における内生が確認されていなかった菌類が複数確認され、それらの多くは未記載種であった。このことは調査地の特殊性を示すものであり、それらの機能については今後も調査する必要がある。

上記には学会発表 升屋ら (2022) 及び Lu et al. (2022)、発表論文 Haruma et al. (2023) 及び Doyama et al. (2023) の成果が含まれる。

#### ⑥根の重金属無毒化物質のイメージングの手法開発：生理活性物質のイメージング

実験の結果、スギの防御物質の局在を可視化することができた (図 1a)。本手法は重金属無毒化物質の組織局在イメージングにも有効な手法と考えられたが、一方で化合物によりイメージングの可否があることも明らかになり、目的化合物ごとに測定方法を改良する必要がある。次に、ブナ当年生実生の胚軸に病原菌を接種し、4 週間後の生残実生の接種部位の切片を TOF-SIMS により分析した結果、*catechin* のフラグメントイオンの可能性がある *m/z* 152 が検出されたが、局在は鮮明ではなかったため、今後は *cryo-TOF-SIMS* による局在イメージングを試行する必要がある。また、マンガンまたは銅溶液に浸漬したヒバ材を用いた分析の結果、MALDI-TOF-MS により銅-ヒノキチオール錯体が心材で検出された (図 1b) ことから、本手法は錯体検出にも有効と考えられた。

上記には学会発表 市原ら (2024) の成果が含まれる。

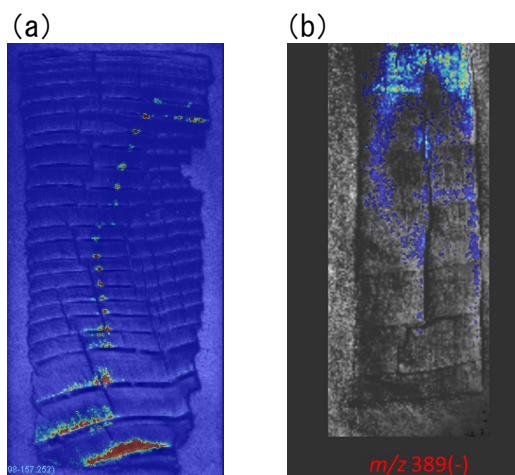


図 1 生理活性物質のイメージング結果  
(a) スギの防御物質の分布 (b) 銅-ヒノキチオール錯体の分布

#### ⑦その他：鉱山跡地における植生発達について

鉱山跡地における露天採掘跡地における植生の発達について、植物生理学的視点に加えて土

壤学的な視点からも検討を行った。覆土は、有害物質の安全性を確保し植生を回復させるために、鉱山跡地で用いられる一般的な方法である。調査地である露天採掘跡地では、残土と中和した製錬残渣を埋めた後に覆土をしているが、その後36年が経過してもススキが優占しており樹木の定着が進んでいない。そこで、本調査地における樹木の定着を阻害する要因について検討した。土壌調査の結果、優占種であるススキはA層を形成し、炭素含有量、交換性陽イオン、空隙率などの土壌の物理化学的特性を改善することによって、樹木の定着を助長していると考えられた。しかし覆土にはBg層が確認され水はけが悪い状態になっており、アカマツとタニウツギの根の生長が阻害されていることが確認された。また、アカマツとタニウツギの根は10,000 mg/kgを超える高濃度のFeを蓄積していたことから、根における鉄の蓄積及び酸素欠乏によりこれら樹木の生育が抑制されていると示唆された。

本調査地において、コケ（スギゴケ類）群落、ススキ群落、カヤツリグサ群落およびツゲ群落下の最表層の形態を比較したところ、湿性な立地に優占しているカヤツリグサ群落では、O層からの腐植の浸潤がA層の下方へと続いているのに対し、ツゲ群落やコケ群落ではA層への腐植の浸潤がほとんど観察されなかった。地点間でのO層の形態及びA層への漸移形態がかなり異なっていることが明らかとなった。研究地点間では、土壌化学性には顕著な差は認められなかった。pHについては、両地点はすべて弱酸性を示した。表層土壌は有機物に富み、CECの値も高いものであった。塩基の割合では、圧倒的にカルシウムイオンが多かった。また、土壌薄片観察から、植生が発達しているほど土壌の微細構造も発達していることがわかった。全孔隙の割合は全地点で40–50%となり、土壌の孔隙面積が高いことを示した。基本有機組成分は、植物根または植物器官の水平断面と思われる黄褐色、赤褐色のものが存在した。以上のことから、立地環境、特に、水分環境が植生の発達に影響を及ぼし、また、植生の発達程度によって表層土壌の理化学性等に大きな影響を与えるということが示唆された。

上記は発表論文 Doyama et al. (2023)、学会発表 Qi ら (2021, 2024) の成果を基にまとめた。

## (2) 微生物定着素材開発・電界印加による植物の生長促進、重金属耐性向上の検討

### ①微生物定着素材開発

数 mm サイズのアルギン酸カプセルに微生物を包括し、そのカプセルを植物の根に接種することで、植物根への微生物の効率的な定着と植物の生長促進を確認した。以上の緑化手法に関わる成果については特許出願中である。また、土壌の団粒・凝集機能を有する高分子電解質複合体の凝集誘発機能について、線状のシンプルな高分子電解質には見られない物性を有する高分子電解質マイクロゲルと高分子電解質複合体の凝集誘発機能を解析し、粒子凝集過程における高分子電解質マイクロゲルと高分子電解質複合体の粒子表面への吸着と凝集速度の関係について明らかにした。さらに、高分子電解質マイクロゲルと高分子電解質複合体の土壌の改良材へ応用した場合の有利性を土壌の保水性と土壌の粒度分布から考察した。

上記には発表論文 Ilyasov et al. (2020) の成果が含まれる。

### ②電界印加による植物の生長促進、重金属耐性向上の検討

Cd 蓄積植物であるハクサンハタザオおよびウンリュウヤナギに生長促進を引き起こす強度の電界を印加したところ、ハクサンハタザオではバイオマス量の増加が確認されたが、Cd の蓄積挙動には影響が確認されなかった。ウンリュウヤナギについては電界印加による根の伸長が確認されたため、植樹時の活着率向上や根圏範囲の増大による Cd 吸収の増加が見込める結果となった。また、ススキに電界を印加した場合には、一定の電界強度で有害元素の植物体中の濃度が増加する傾向が確認された。以上のことから、植物種ごとに適切な強度で電界を印加することで、生長促進のみならず重金属耐性の向上が期待できると考えられた。さらに、カイワレダイコンへの電界印加前後の RNA トランスクリプトーム解析を行った結果、ジャスモン酸の生合成などのストレスへの応答やアブシジン酸への応答遺伝子の発現亢進、細胞壁の生合成やキシログルカンの代謝プロセスに関与する遺伝子の発現抑制が確認された。多くの植物種において軽度のストレス応答によって生長が促進する事例が報告されており、適切な電界印加強度はストレスの耐性機構に寄与する可能性が示唆された。

上記には学会発表 榎本ら (2022)、菅原ら (2022)、横溝ら (2021)、増野ら (2021) の成果が含まれる。

## <引用文献>

- Bullock P. et al. (1985) Handbook for soil thin section description. International Society of Soil Science.  
土壌環境分析法編集委員会 (1997) 土壌環境分析法. pp. 427. 博友社、東京。  
永塚鎮男、田村憲司 (1986) 日本生態学会 36: 163–168。  
日本ペドロロジー学会 (1997) 土壌調査ハンドブック改訂版. pp.169. 博友社、東京。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計43件（うち査読付論文 41件 / うち国際共著 2件 / うちオープンアクセス 20件）

1. 著者名 Doyama Kohei, Yamaji Keiko, Haruma Toshikatsu, Ichihara Yu, Tamura Kenji, Jiang Qi, Tsunashima Yasumichi, Fukuyama Kenjin, Yasutaka Tetsuo	4. 巻 362
2. 論文標題 Vegetation at the former open-pit Ningyo-toge mine, 36 years after closure treatment: Impact of soil cover on woody plant establishment and dominance of the perennial herb <i>Miscanthus sinensis</i>	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Journal of Environmental Management	6. 最初と最後の頁 121292 ~ 121292
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jenvman.2024.121292	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Haruma Toshikatsu, Doyama Kohei, Lu Xingyan, Noji Kenta, Masuya Hayato, Arima Takahiko, Tomiyama Shingo, Yamaji Keiko	4. 巻 18
2. 論文標題 <i>Miscanthus sinensis</i> contributes to the survival of <i>Pinus densiflora</i> seedlings at a mining site via providing a possible functional endophyte and maintaining symbiotic relationship between <i>P. densiflora</i> and endophytes from high soil temperature stress	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 PLOS ONE	6. 最初と最後の頁 1~21
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.pone.0286203	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Doyama Kohei, Haruma Toshikatsu, Hishiyama Shojiro, Kato Atsushi, Masuya Hayato, Yamaji Keiko	4. 巻 206
2. 論文標題 Isoavenaciol and 7-hydroxy-isoavenaciol: Zn-chelating metallophores produced by root-endophytic <i>Pezizula ericae</i> in a Zn-accumulating plant, <i>Aucuba japonica</i>	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Phytochemistry	6. 最初と最後の頁 113547 ~ 113547
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.phytochem.2022.113547	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 山路恵子, 土山紘平, 春間俊克, 盧星燕, 谷内美月, 松代雄太, 黒澤陽子, 森茂太, 山縣三郎, 富山眞吾	4. 巻 70
2. 論文標題 鉱山跡地の緑化地点における6年間の植生変化及び影響する環境要因	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 環境資源工学会誌	6. 最初と最後の頁 134 ~ 140
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.4144/rpsj.70.134	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Haruma Toshikatsu, Doyama Kohei, Lu Xingyan, Arima Takahiko, Igarashi Toshifumi, Tomiyama Shingo, Yamaji Keiko	4. 巻 12
2. 論文標題 Oosporein Produced by Root Endophytic Chaetomium cupreum Promotes the Growth of Host Plant, Miscanthus sinensis, under Aluminum Stress at the Appropriate Concentration	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Plants	6. 最初と最後の頁 36 ~ 36
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/plants12010036	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Kurosawa Yoko, Mori Shigeta, Wang Mofei, Pedro Ferrio Juan, Nishizono Tomohiro, Yamaji Keiko, Koyama Kohei, Haruma Toshikatsu, Doyama Kohei	4. 巻 131
2. 論文標題 Ontogenetic changes in root and shoot respiration, fresh mass and surface area of Fagus crenata	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Annals of Botany	6. 最初と最後の頁 313 ~ 322
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/aob/mcac143	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Haruma T., Yamaji K., Masuya H.	4. 巻 73
2. 論文標題 Phialocephala fortinii increases aluminum tolerance in Miscanthus sinensis growing in acidic mine soil	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Letters in Applied Microbiology	6. 最初と最後の頁 300 ~ 307
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/lam.13514	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Lu Xingyan, Yamaji Keiko, Haruma Toshikatsu, Yachi Mitsuki, Doyama Kohei, Tomiyama Shingo	4. 巻 11
2. 論文標題 Metal Accumulation and Tolerance in Artemisia indica var. maximowiczii (Nakai) H. Hara. and Fallopia sachalinensis (F.Schmidt) Ronse Decr., a Naturally Growing Plant Species at Mine Site	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Minerals	6. 最初と最後の頁 806 ~ 806
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/min11080806	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Doyama Kohei, Yamaji Keiko, Haruma Toshikatsu, Ishida Atsushi, Mori Shigeta, Kurosawa Yoko	4. 巻 16
2. 論文標題 Zn tolerance in the evergreen shrub, Aucuba japonica, naturally growing at a mine site: Cell wall immobilization, aucubin production, and Zn adsorption on fungal mycelia	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 PLOS ONE	6. 最初と最後の頁 1~15
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.pone.0257690	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Smagin Andrey, Panova Irina, Ilyasov Leonid, Ogawa Kazuyoshi, Adachi Yasuhisa, Yaroslavov Alexander	4. 巻 138
2. 論文標題 Water retention in sandy substrates modified by cross linked polymeric microgels and their complexes with a linear cationic polymer	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Applied Polymer Science	6. 最初と最後の頁 50754~50754
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/app.50754	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Yoko Kurosawa Shigeta Mori Mofei Wang Juan Pedro Ferrio Keiko Yamaji Kohei Koyama Toshikatsu Haruma Kohei Doyama	4. 巻 36
2. 論文標題 Initial burst of root development with decreasing respiratory carbon cost in Fagus crenata Blume seedlings	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Plant Species Biology	6. 最初と最後の頁 1-11
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/1442-1984.12305	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Leonid O Ilyasov, Kazuyoshi Ogawa, Irina G Panova, Alexander A Yaroslavov, Yasuhisa Adachi	4. 巻 36
2. 論文標題 Initial-Stage Dynamics of Flocculation of Cationic Colloidal Particles Induced by Negatively Charged Polyelectrolytes, Polyelectrolyte Complexes, and Microgels Studied Using Standardized Colloid Mixing	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Langmuir	6. 最初と最後の頁 8375-8383
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.langmuir.0c00619	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する



1. 著者名 Haruma Toshikatsu, Yamaji Keiko, Ogawa Kazuyoshi, Masuya Hayato, Sekine Yurina, Kozai Naohumi	4. 巻 14
2. 論文標題 Root-endophytic Chaetomium cupreum chemically enhances aluminium tolerance in Miscanthus sinensis via increasing the aluminium detoxicants, chlorogenic acid and oosporein	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 PLoS ONE	6. 最初と最後の頁 1-16
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.pone.0212644	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 山路 恵子、春間 俊克	4. 巻 144
2. 論文標題 機能性微生物が関与した鉱山跡地・自生植物の金属耐性機構	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 土壌の物理性	6. 最初と最後の頁 33~37
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.34467/jssoilphysics.144.0_33	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計83件(うち招待講演 20件/うち国際学会 18件)

1. 発表者名 土山紘平、山路恵子、春間俊克
2. 発表標題 鉱山跡地に自生するアオキの根面微生物と内生菌の機能
3. 学会等名 日本生態学会第71回大会
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 松代雄太、山路恵子、盧星燕、土山紘平、春間俊克、谷内美月、升屋勇人、富山眞吾
2. 発表標題 鉱山集積場において、内生菌が関与したススキのストレス耐性機構の解明
3. 学会等名 日本生態学会第71回大会
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 春間俊克、山路恵子、土山紘平、盧星燕、野路建太、升屋勇人、有馬孝彦、富山眞吾
2. 発表標題 鉦山跡地に自生するススキによるアカマツ実生の定着促進機構の解明
3. 学会等名 日本生態学会第71回大会
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 黒澤陽子、森茂太、山路恵子、小山耕平、西園朋広、春間俊克、土山紘平
2. 発表標題 地上部・地下部呼吸の成長に伴うシフト - 樹木にみられる統一性 -
3. 学会等名 日本生態学会第71回大会
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 Jiang Qi, Kenjin Fukuyama, Yasumichi Tsunashima, Maki Asano, Keiko Yamaji, Kenji Tamura
2. 発表標題 The screening of manganese oxidizing bacteria and manganese oxidizing characteristics in soils under the abandoned field mining area
3. 学会等名 The 71st Annual Meeting of Ecological Society of Japan
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 盧星燕、山路恵子、土山紘平、小川和義
2. 発表標題 鉦山跡地の移植実験において根の内生菌がススキの生長および重金属耐性に及ぼす影響
3. 学会等名 日本生態学会第71回大会
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 大熊美結、盧星燕、谷内美月、中本幸弘、土肥輝美、香西直文、福山賢仁、網嶋康倫、升屋勇人、坂口綾、山路恵子
2. 発表標題 鉱さいたい積場のヨシの重金属耐性と重金属蓄積に関する内生糸状菌の化学的機能
3. 学会等名 日本生態学会第71回大会
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 菅原 一輝、Wiyono Christine、柳川 勝紀
2. 発表標題 鉱山緑化樹としてのキリおよびセンダンの根圏微生物叢とIAA生産活性の比較
3. 学会等名 資源・素材学会2024年度春季大会
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 升屋勇人、安藤裕萌、春間俊克、富山真吾、野路建太、山路恵子
2. 発表標題 鉱山廃水の中和澱物堆積地に生育するアカマツの根内生菌
3. 学会等名 日本菌学会第66回大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 菅原一輝、田中航海、加藤茂、鈴木誠一
2. 発表標題 鉱山跡地緑化樹としての早生桐活用のための生育可能pHおよび有害元素耐性の評価
3. 学会等名 資源・素材2023年度春季大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Yuta Matsushiro, Keiko Yamaji, Xingyan Lu, Kohei Doyama, Toshikatsu Haruma, Hayato Masuya, Shingo Tomiyama
2. 発表標題 The effect of root-endophytic <i>Aquapteridospora</i> sp. on metal-tolerance of <i>Miscanthus sinensis</i> , naturally growing at a storage site.
3. 学会等名 INTECOL 2022 Frontiers in Ecology: Science & Society (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Kohei Doyama, Keiko Yamaji, Toshikatsu Haruma, Hayato Masuya, Shojiro Hishiyama, Atsushi Kato
2. 発表標題 Functions of metabolites produced by the root endophyte, <i>Pezizula ericae</i> , infecting <i>Aucuba japonica</i> , naturally growing at a mine site
3. 学会等名 INTECOL 2022 Frontiers in Ecology: Science & Society (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Xingyan Lu, Kohei Doyama, Toshikatsu Haruma, Shingo Tomiyama, Hayato Masuya, Keiko Yamaji
2. 発表標題 Elucidation of heavy metal tolerance in <i>Artemisia indica</i> var. <i>maximowiczii</i> growing at a mine site, considering root endophytic fungi
3. 学会等名 INTECOL 2022 Frontiers in Ecology: Science & Society (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Toshikatsu Haruma, Kenta Noji, Kohei Doyama, Lu Xingyan, Hayato Masuya, Saburo Yamagata, Shingo Tomiyama, Keiko Yamaji
2. 発表標題 A dark-septa endophyte might enhance survival rate of <i>Pinus densiflora</i> seedlings in <i>Miscanthus sinensis</i> patches at a storage site
3. 学会等名 INTECOL 2022 Frontiers in Ecology: Science & Society (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 黒澤陽子、森茂太、西園朋広、山路 恵子、小山耕平、八木光晴、春間俊克、土山紘平
2. 発表標題 ブナ属3種に統一的な根系へのエネルギー配分スケーリング
3. 学会等名 日本生態学会第70回大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 榎本 梨央、加藤 茂、鈴木 誠一、菅原 一輝
2. 発表標題 植物の電気インピーダンスと生長促進に最適な交流電界強度との関係
3. 学会等名 資源・素材学会2022年度春季大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 飯塚 葵子、加藤 茂、鈴木 誠一、菅原 一輝
2. 発表標題 蛍光測定による植物根圏のpH分布および微生物局在性の同時可視化技術の確立
3. 学会等名 資源・素材学会2022年度春季大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 菅原 一輝、榎本 梨央、横溝 仁道、鈴木 誠一
2. 発表標題 交流電界印加による植物の生理機能亢進とその作用メカニズムの解明
3. 学会等名 有機エレクトロニクス研究会（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 土山紘平、山路恵子、春間俊克
2. 発表標題 鉦山跡地に自生するアオキと内生菌 <i>Pezicula ericae</i> の機能
3. 学会等名 日本生態学会第69回大会 自由集会（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 山路恵子
2. 発表標題 植物-微生物複合共生系を利用した新たな緑化対策技術調査」の可能性
3. 学会等名 日本生態学会 関東地区会 公開オンラインシンポジウム 休廃止鉦山の坑廃水処理のGreen Remediationを考える（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 春間俊克、山路恵子、野路建太、土山紘平、盧星燕、升屋勇人、黒沢陽子、森茂太、富山眞吾
2. 発表標題 鉦山集積場に自生するススキが関与したアカマツ実生の生残要因の解明
3. 学会等名 日本生態学会第68回大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 土山紘平、山路恵子、春間俊克、升屋勇人
2. 発表標題 鉦山跡地に自生するアオキの金属耐性と内生菌 <i>Pezicula ericae</i> の関与
3. 学会等名 日本生態学会第68回大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Jiang Qi, Kenji Tamura, Maki Asano, Kenjin Fukuyama, Junko Takahashi, Keiko Yamaji
2. 発表標題 Macro and Micromorphological Characteristics of Soils under the Abandoned Fields of Mines, Ningyo-toge, Japan.
3. 学会等名 日本ペドロロジー学会2021年度大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 横溝仁道、菅原一輝、魏書君、簡梅芳、加藤茂、鈴木誠一
2. 発表標題 交流電界印加による植物の生長促進メカニズム解明のための比較トランスクリプトーム解析
3. 学会等名 資源・素材学会 2021年度春季大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 増野小太郎、菅原一輝、加藤茂、鈴木 誠一
2. 発表標題 休廃止鉱山の自然回帰に資するススキへの電界印加による生長促進および重金属耐性向上の検討
3. 学会等名 資源・素材学会 2021年度春季大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 黒澤陽子、森 茂太、王莫非、西園朋広、小山耕平、山路恵子
2. 発表標題 ブナ実生～成木でシフトする根系/地上部比(重量・表面積・呼吸)と水利用効率
3. 学会等名 日本生態学会第68回大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 森茂太、黒澤陽子、王莫非、山路恵子、西園朋広、小山耕平、石田厚
2. 発表標題 草本、木本の個体根系/地上部呼吸比のスケーリング
3. 学会等名 日本生態学会第68回大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 小川 和義、イリヤソフ レオニド、パノヴァ イリーナ、ヤロスラヴォフ アレキサンダー、足立 泰久
2. 発表標題 高分子電解質複合体および高分子ミクロゲルによるコロイド粒子の凝集の動力学
3. 学会等名 第71回コロイドおよび界面化学討論会（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Toshikatsu Haruma, Keiko Yamaji, Kazuyoshi Ogawa, Hayato Masuya, Yurina Sekine, Naofumi Kozai
2. 発表標題 Root endophytic <i>Chaetomium cupreum</i> increased Al tolerance in <i>Miscanthus sinensis</i> growing at an old mine site.
3. 学会等名 Asian Mycology Congress 2019（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Kohei Doyama, Keiko Yamaji, Toshikatsu Haruma
2. 発表標題 Mechanism of heavy-metal tolerance in shade plant <i>Aucuba japonica</i> via the possible function of root-endophytes
3. 学会等名 Asian Mycology Congress 2019（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2019年



〔図書〕 計0件

〔出願〕 計1件

産業財産権の名称 微生物、植物成長補助剤、及び植物の生育方法	発明者 石本（山路）恵子， 小川和義，土山紘平， 堀内健吾，瀬元祐希	権利者 国立大学法人筑 波大学，独立行 政法人工ネル
産業財産権の種類、番号 特許、特願2023-212830	出願年 2023年	国内・外国の別 国内

〔取得〕 計0件

〔その他〕

休廃止鉱山の新たな緑化対策等に関するガイダンス <a href="https://www.meti.go.jp/policy/safety_security/industrial_safety/sangyo/mine/portal/report/ryokuka_guidance1.pdf">https://www.meti.go.jp/policy/safety_security/industrial_safety/sangyo/mine/portal/report/ryokuka_guidance1.pdf</a>
--

#### 6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	小川 和義 (OGAWA Kazuyoshi) (60375433)	筑波大学・生命環境系・助教  (12102)	
研究分担者	田村 憲司 (TAMURA Keinji) (70211373)	筑波大学・生命環境系・教授  (12102)	
研究分担者	升屋 勇人 (MASUYA Hayato) (70391183)	国立研究開発法人森林研究・整備機構・森林総合研究所・主任研究員 等  (82105)	
研究分担者	市原 優 (ICHIHARA Yu) (10353583)	国立研究開発法人森林研究・整備機構・森林総合研究所・主任研究員 等  (82105)	

6. 研究組織（つづき）

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	春間 俊克  (HARUMA Toshikatsu)  (40836417)	国立研究開発法人森林研究・整備機構・森林総合研究所・任期付研究員    (82105)	
研究分担者	菅原 一輝  (SUGAWARA Kazuki)  (60792405)	北九州市立大学・国際環境工学部・講師    (27101)	
研究分担者	森 茂太  (MORI Shigeta)  (60353885)	山形大学・農学部・客員教授    (11501)	
研究分担者	井上 千弘  (INOUE Chihiro)  (30271878)	東北大学・環境科学研究科・教授    (11301)	
研究分担者	石田 厚  (ISHIDA Atsushi)  (60343787)	京都大学・生態学研究センター・教授    (14301)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関