

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 5 月 24 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究（B）

研究期間：2008～2011

課題番号：20380087

研究課題名（和文）中国の鉱山性荒廃地における微生物多様性を活用した植生回復に関する研究

研究課題名（英文）Phytoremediation of heavy-metal contaminated soils in mining areas in China using mycorrhizal fungi

研究代表者

練 春蘭 (LIAN CHUNLAN)

東京大学・アジア生物資源環境研究センター・准教授

研究者番号：40376695

研究成果の概要（和文）：野外調査で、重金属鉱山荒廃地（中国の安徽省銅陵銅鉱山、江蘇省湯山銅鉱山、江西省德興銅鉱山と湖南省湘潭マンガン鉱山、冷水江チタン鉱山、花垣鉛・亜鉛鉱山、桃林鉛・亜鉛鉱山）で定着している菌根菌の群集構造と植生回復への影響を明らかにした。室内実験で、菌根菌 50 種を用いて、それぞれ重金属への耐性（Cu、Zn、Pb、Ni、Cd）がある菌種を明らかにした。また、菌根菌による重金属耐性の促進メカニズムも調べた。

研究成果の概要（英文）：In field investigations, mycorrhizal fungal communities in different mine tailings and heavy-metal contaminated soils in the central south China and effects of mycorrhizal fungal infection on hose-tree growth on the tailings were investigated. As a result, a phylogenetically diverse communities associated with Masson pine and different structures of mycorrhizal fungal communities among different mine sites were found. In laboratory investigations, the heavy-metal tolerances (Cu, Zn, Pb, Ni, Cd) of 50 ectomycorrhizal fungal species were screened and some species which would be available for revegetation in mine tailings and heavy-metal contaminated soils were detected. Furthermore, response mechanisms of ectomycorrhizal fungus-host trees to different heavy-metal stresses were also investigated.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2008 年度	3,600,000	1,080,000	4,680,000
2009 年度	2,700,000	810,000	3,510,000
2010 年度	2,800,000	840,000	3,640,000
2011 年度	2,000,000	600,000	2,600,000
年度			
総計	11,100,000	3,330,000	14,430,000

研究分野：農学

科研費の分科・細目：森林学・森林科学

キーワード：重金属鉱山性荒廃地、菌根菌、植生回復、重金属汚染、森林再生、外生菌根菌、菌根菌群集構造、DNA 解析

1. 研究開始当初の背景

中国における重金属鉱山資源の開発と利用は、中国ばかりでなく日本の経済発展にとっても不可欠なものとなっている。しかしその一方で、かつての日本と同じく、鉱山

やその周辺地域での乱開発による重金属汚染は極めて深刻で、喫緊に解決すべき大きな課題となっている。鉱山の乱開発は植生と耕地を直接破壊するだけでなく、鉱石の洗浄で生じる未処理の廃水が河川と土壌を

汚染する。また、砂礫など大量の固形廃棄物が広大な土地に山積みされ、雨水による風化によって重金属が溶出し、周辺の広い土地を汚染する。現在、中国で放置された鉱山跡地は300万ヘクタール以上にのぼり、汚染による経済損失は毎年90億元(約1500億円)に達している。

鉱山性荒廃地から溶出する有害物質を軽減するには、植生による被覆によって雨水での急激な風化を防ぐことが重要である。また、植生が回復することによって植物体や土壌有機物へ有害物質が固定されることも有害物質の溶出抑制に繋がる。こうしたことから、草本植物を使った植生回復の試みが一部で行われている。しかし、より安定した植生被覆を形成する樹木を使うことにより、より大きな溶出抑制効果が期待できる。また、草本植物よりも遥かに大きなバイオマスを持つ樹木は、体内への有害物質の固定量も大きい。こうしたことから、鉱山性荒廃地における森林の再生は汚染問題の効果的な解決法の一つである。

主要な樹木の根には菌根菌という土壤微生物が共生している。菌根菌から供給される養分は植物にとって不可欠なものであり、菌根菌と共生しない樹木が野外において生き残ることは無い。通常の森林であれば、菌根菌の感染源は豊富に存在し、そこで発芽した実生も直ちに菌根菌と共生することができる。しかし、鉱山跡地のような一次遷移地では、菌根菌の感染源が無いことが、最大の樹木の定着阻害要因となることが知られている。また、鉱山跡地は土壌中の重金属含量も多いが、菌根菌は植物の重金属耐性を向上させることができる。こうしたことから、菌根菌を利用することにより、より効果的な鉱山性荒廃地での森林再生が可能になるものと考えられる。

2. 研究の目的

鉱山性の汚染土壌にも適した菌根菌を調べる必要があるが、これまでに行われた研究のほとんどはごく限られた菌種を用いた室内での接種実験である。実験室の人工的な環境下で良い結果を示した菌根菌が必ずしも現地で優れた効果を示すとは限らない。そこで、現地環境にも適応できる菌種を知ることは極めて重要である。しかし、鉱山性汚染土壌での菌根菌を調べた研究例は極めて少なく、どのような菌根菌が実際に定着しているのかすら、ほとんど分かっていない。また、汚染地域に生息する菌根菌が野外での植物の成長や重金属耐性・集積にどのように影響するかについての知見も存在しない。鉱山性荒廃地において、樹木による植生回復を効果的に行うためには、現地で定着している菌根菌の群集構造を明

らかにし、植生回復過程に菌根菌がどのように関与しているのかを明らかにしなければならない。本研究では、野外調査によって現地で定着している菌根菌の群集構造と植生回復への影響を明らかにするとともに、野外で得られた知見に基づいた室内実験によって菌根菌による重金属耐性の促進メカニズムを明らかにすることを目標とする。

3. 研究の方法

本研究では、野外調査と室内実験を行う。野外調査では、(1)中国での異なる重金属鉱山性荒廃地(湖南省湘潭市マンガン鉱山、冷水江市チタン鉱山、桃林と花垣の亜鉛・鉛鉱山、安徽省銅陵銅尾鉱山、江西省德興銅鉱山、江蘇省湯山銅鉱山)に複数の樹木種と共生する菌根菌の群集組成を調べることに、(2)植物の定着初期における菌根菌の重要性を明らかにするために、未感染の樹木苗を鉱山性荒廃地現地に植え、経時的に苗の根を採集し、菌根菌を調べることを行う。室内実験では、(1)荒廃地に発生する菌根性キノコから菌株を分離すること、(2)野外調査で得た結果を基について、各荒廃地に特異な菌根菌を単独、複数種混合接種と本研究のために独創的に考案した複数種隔離接種に植物に接種し、耐性促進の生理的メカニズムと菌根菌多様性の影響を調べる。詳細の研究計画は年度ごとに次のように実施する。

4. 研究成果

(1) 異なった重金属鉱山性荒廃地における菌根菌群集構造の解析

中国の安徽省銅陵市銅鉱山、江蘇省湯山市銅鉱山、江西省德興市銅鉱山と湖南省湘潭市マンガン鉱山、冷水江市チタン鉱山、花垣市鉛・亜鉛鉱山、岳陽市桃林鉛・亜鉛鉱山の荒廃地と周辺の植生非破壊地に生育している馬尾松とコナラ属から菌根を分離した。その結果、一般的な森林と比べ、汚染地では、菌根菌感染率は低く(34%)、種の多様性も低いことが分かった。また、それぞれの採集した土壌と植物のサンプルの重金属含量を測定した。この結果については、Mnを除き、菌根菌群集構造に他の重金属の影響(Pb, Zn, Cd, Cu)はなく、土壌の組成と養分が影響していることが明らかとなった。また、德興市銅鉱山荒廃地から、採集した外生菌根菌の中から、重金属銅に耐性のある2種を分離した。

(2) 樹木苗の定着と成長に対する外生菌根菌の影響

安徽省銅陵市銅鉱山と湖南省湘潭市マンガン、二カ所の尾鉱荒廃地に菌根菌(*Pisolithus* spp.、*Cenococcum geophilum*、*Laccaria laccata*)に感染した当年生実生(ア

カマツ、*Quercus* spp.)を植え、その生存調査を行った。*Quercus* spp.については、生存率は感染と未感染の間で有意差が見られなかった(60%)。一方、アカマツでは、感染した実生の生存率(40%)は未感染(5%)と比べ、顕著に高かった。しかし、尾鉱荒廃地に移植9ヶ月後、いずれの実生の根には、生存の菌根菌が検出されなかった。

(3) 菌糸培養実験系を用いた異なる外生菌根菌種の銅(Cu)、亜鉛(Zn)、鉛(Pb)、ニッケル(Ni)とカドミウム(Cd)の耐性メカニズムの解明

50種の外生菌根菌について、それぞれの重金属への耐性を調べた結果、菌種によってそれぞれの重金属への耐性が異なることが分かった。菌糸の成長量を指標として各菌種の耐性を評価したところ、高濃度のCu、Zn、Pb、NiとCdに耐性があった菌種はそれぞれ、7、10、9と9種であった。これらの菌種は鉱山性荒廃地における森林再生に利用できる可能性がある。また、7菌種は高濃度の銅に耐性を示す一方で、高濃度の亜鉛に耐性がなかったことと、10種は高濃度の亜鉛に耐性を示すが、高濃度の銅に耐性がなかったことが明らかにされた。このことから、外生菌根菌は高濃度の銅と亜鉛に異なる耐性機構を持つことと推定した。

(4) 樹木と外生菌根菌共生系を用いた菌根菌共生系の銅耐性メカニズムの解明

菌根菌感染と未感染のアカマツ苗の成長に対する銅ストレスの影響を調べた。菌根菌は2種、銅の処理は5レベルを用いた。菌根菌未感染処理では、375~1500 mg Cu/kg soilの処理で、対照処理と遜色ない成長と光合成速度を示した。3000 mg Cu/kg soilの処理では、成長と光合成速度ともに減少した。菌根菌感染処理では、低濃度(375、750 mg Cu/kg soil)では、成長と光合成速度に減少が見られなかったが、高濃度(1500、3000 mg Cu/kg soil)では、顕著な減少が見られた。これらの結果から、高濃度の銅ストレス条件下で、菌根菌感染により、樹木の銅耐性を向上させることはなかったことを明らかにした。

(5) 外生菌根菌間の相互作用に対する重金属の影響

これまでの研究では単独種を対象とした実験が多く行われてきたが、自然環境下では複数の菌種が共生することが一般的である。この研究では、競争を想定して同一根系に複数種を接種する方法で、異なる重金属処理における菌根菌間の相互作用のメカニズムを解明した。10本のアカマツの苗それぞれに、異なる10種の菌根菌を接種し、次に菌根菌を接種したアカマツの苗を5種類の重金属(Pb、Ni、Cu、Zn、Cd)のストレス下で育て、外生菌根菌間の相互作用を調べた。ミズ

ナラについても同一の条件で研究を行った。処理後6カ月で、いずれの処理でも、*Pisolithus* sp、*Laccaria*と*Cenococcum geophilum*の菌根で8~90%を占める実生が多く、他の種の菌根が殆ど観察されなかった。このことから、外生菌根菌間の相互作用に対する重金属の影響はないかもしれない。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計4件)

- ① Peng KJ, Luo CL, You WX, Lian CL, Li XD, Shen ZG 2008 Manganese uptake and interactions with cadmium in the hyperaccumulator-*Phytolacca Americana*. *Journal of Hazardous Materials*, 154, 674-681. 審査有
- ② Zhang HX, Lian CL, Shen ZG 2009 Proteomic identification of small, copper-responsive proteins in germinating embryos of *Oryza sativa*. *Annals of Botany*, 103, 923-930. 審査有
- ③ Liu XQ, Peng KJ, Wang AG, Lian CL, Shen ZG 2010 Cadmium accumulation and distribution in populations of *Phytolacca americana* L. and the role of transpiration. *Chemosphere*, 78, 1136-1141. 審査有
- ④ Huang J, Nara K, Lian C, Zong K, Peng K, Xue S, Shen Z 2012 Ectomycorrhizal fungal communities associated with Masson pine (*Pinus massoniana* Lamb.) in Pb-Zn mine sites of central south China. *Mycorrhiza*. Online first. 10.1007/s00572-012-0436-0. 審査有

[学会発表] (計5件)

- ① Yahua CHEN, Kazuhide NARA, Chunlan LIAN. 2010. Effect of Ectomycorrhizal Fungi on Copper Tolerance of Pine Seedlings. 第121回日本森林学会大会. 筑波
- ② Jian Huang, Kun Zong, Kejian Peng, Shengguo Xue, Yahua Chen, Kazuhide Nara, Chunlan Lian. 2010. Mycorrhizal fungal community in heavy metal-contaminated soils and mine tailing in Hu'nan province of China. 第121回日本森林学会大会. 筑波

- ③ Kun Zong, Jian Huang, Yahua Chen, Kazuhide Nara, Chunlan Lian, Zhenguo Shen. 2010. Effect of ectomycorrhizal colonization on seedling survivals of *Pinus densiflora* and *Quercus spp.* in copper mine tailings. 第121回日本森林学会大会. 筑波
- ④ 蘇玉, 奈良一秀, 陳亜華, 練春蘭. 2010. 外生菌根菌の菌糸成長に対する重金属の影響. 第121回日本森林学会大会. 筑波
- ⑤ 宗昆, 奈良一秀, 練春蘭. 2012. カドミウムストレス下における外生菌根菌45株の菌糸成長とカドミウム吸収について. 第123回日本森林学会大会. 宇都宮

[図書] (計0件)

[産業財産権]

○出願状況 (計0件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
出願年月日:
国内外の別:

○取得状況 (計0件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
取得年月日:
国内外の別:

[その他]

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

練春蘭 (LIAN CHUNLAN)
東京大学・アジア生物資源環境研究センター・准教授
研究者番号: 40376695

(2) 研究分担者

奈良一秀 (NARA KAZUhide)
東京大学・新領域創成科学研究科・准教授

研究者番号: 60270899

(3) 研究協力者

沈振国 (SHEN ZHENGUO)
中国南京農業大学・生命学院・教授
陳亜華 (CHEN YAHUA)
中国南京農業大学・生命学院・教授
薛生国 (XUE SHENGUO)
中国中南大学・冶金科学与工程学院・教授
彭克儉 (PENG KEJIAN)
中国湖南省環境保護研究院・副主任研究員
黄建 (HUANG JIAN)
東京大学・大学院農学生命科学研究科・大学院生
蘇鈺 (SU YU)
東京大学・大学院農学生命科学研究科・大学院生
宗昆 (ZONG KUN)
東京大学・大学院農学生命科学研究科・大学院生