様　式　Ｃ－１９、Ｆ－１９－１、Ｚ－１９　（共通）

科学研究費助成事業　　研究成果報告書

平成 ３０ 年　 ６ 月 １８ 日現在

機関番号：１２１０２
研究種目：基盤研究(B)（一般）
研究期間：2013～2017
課題番号：２５２９２０８０

研究課題名（和文）放射性核種が樹木実生の重金属ストレス耐性に与える影響評価

研究課題名（英文）Evaluation of the effect of 137Cs on heavy-metal tolerance of tree seedlings

研究代表者
山路　恵子（YAMAJI, Keiko）

筑波大学・生命環境系・准教授

研究者番号：００４２００７６

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費）　　12,700,000円

研究成果の概要（和文）：重金属ストレス耐性が発達したリョウブ－内生菌共生系を対象に、内生菌の出現数、化学的機能への137Csの影響を解析することで137Csが実生の重金属ストレス耐性に与える影響を評価した。nMDS解析より土壌の137Cs濃度・重金属が内生菌出現数に影響することが示唆されたが、GLMM解析より有意に影響を与える変数は確認されなかった。数種の内生菌において、重金属・放射線耐性に関与する物質産生に137Csの正の影響が有意に確認された。以上より、重金属耐性に関与するリョウブ内生菌は137Csの影響をある程度受けるが出現数・化学的機能は維持され、植物の重金属耐性への寄与には大きな変動が生じないと示唆された。

研究成果の概要（英文）：Due to the accident at the Fukushima Daiichi nuclear power plant, large amounts of 137Cs have been released into the atmosphere. Generally, root endophytes enhance environmental stress in plants. We evaluated the effect of 137Cs on the symbiosis between C. barvinervis and root endophytes, which enhance heavy-metal tolerance of the plant, analyzing the effect of 137Cs on isolation frequency of endophytes and their chemical characteristics. nMDS analysis showed that the isolation frequency was influenced by 137Cs concentration in soil. In contrast, GLMM analysis clarified that the isolation frequency of each species was not significantly influenced by 137Cs. GLMM analysis also clarified that Zn detoxicants or melanin productions by several endophytes showed significantly positive correlation with 137Cs concentration. We conclude that 137Cs would not remarkably influence symbiosis between C. barbinervis and root endophytes under heavy-metal stress.

研究分野：森林・環境生態化学

キーワード：放射性 Cs　重金属　ストレス耐性　内生菌

1. 研究開始当初の背景

東日本大震災における福島第一原子力発電所の爆発事故により、放射性核種の広範囲での分散が新たな環境問題として浮上した。現在、森林地において落葉や土壌表層に高濃度の放射性 Cs が確認されている。土壌の微生物は森林生態系における炭素循環の要であり、様々な生物と共生し森林生態系の基礎を作る重要な役割を担っているが、放射性核種の影響を考えた場合、これら微生物種への影響を考慮する必要がある。放射線核種が微生物に影響する事例は特に菌類群集で調査されている（Zhdanova et al. 1995; 2000）。さらには菌糸体内に放射線核種を吸収、蓄積するといった現象の他、群集構造の変化や、いくつかの菌類の生育や挙動に影響する例も報告されている（Dighton et al. 2008）。

樹木実生は乾燥や栄養・光不足、病害などで簡単に枯死しやすく、実生がその土地で定着するには初期成長が重要なキーとなる。鉱脈上や鉱山跡地に形成された森林群落には特殊な森林植物生態系が存在するが、高濃度の重金属を含有する土壌で生育可能な樹木実生は、その生育初期過程で重金属に対する耐性能力を獲得したと考えられる。これまでの研究で研究代表者らは、鉱山跡地のリョウブ実生から、成長や重金属耐性を促進する特徴的な根部内生菌を数種類分離した。リョウブ実生にこれらの内生菌を接種したところ、1）根での重金属の高濃度吸収が抑制され、2) 無機栄養成分の吸収による成長促進が確認された。リョウブ実生は実生の段階で根に機能的な内生菌を共存させ、重金属ストレス耐性を増加させていることが解明された（渡部、2008）。特に重金属耐性を付与させた内生菌株は、重金属解毒物質を産生することで、ストレス耐性を高めていると考えられる。以上のように、重金属ストレス環境においては、樹木と内生菌は、非汚染土壌における樹木と根部内生菌の系よりも高度な相利的相互作用を発達させてきたと考えられる。こうした相互作用系に対する放射性物質の影響は全く評価されていない。

2. 研究の目的

本研究では、重金属ストレス耐性が発達した樹木―根部内生菌共生系を対象に、放射性 Cs の内生菌への影響、および内生菌が関与する樹木実生のストレス耐性における影響を解析することで、放射性 Cs が重金属汚染環境における樹木実生のストレス耐性に与える影響を評価した。事前調査により、内生菌による相互作用により重金属耐性を獲得していることが明らかになった、鉱山跡地に自生種であるリョウブを対象樹種として精査した。具体的には、放射性 Cs の濃度、重金属濃度の異なる 6 か所の調査地を設定し、リョウブ内生菌の種類相や化学的機能を分析して放射性 Cs や重金属が内生菌に与える影響を統計学的解析に基づき評価した。化学的機能としては、鉱山跡地のリョウブ根に Zn が高濃度で含有されていた点を踏まえ、1）リョウブの重金属耐性に関与すると考えられる Zn 錯体形成物質産生能、2）放射線ストレス下での菌の耐性・定着に関与すると考えられるメラニン色素産生能を分析した。また、人工的に内生菌に段階的にγ線を照射し、放射線が内生菌の生育や化学的機能に与える影響をより明確にした。

3. 研究の方法

（1）鉱山跡地及び福島周辺に自生するリョウブの含有元素及び内生菌の分離

①調査地及び試料採取

調査地は、茨城県及び群馬県の鉱山跡地の林地 3 地点（鉱山跡地 1、2、3）、福島第一原子力発電所から 50 km 圏内の林地 2 地点（福島 1、2）、県境の北茨城林地（北茨城）の合計 6 地点とした。2013 年～2016 年の成長期の夏期に、各調査地のリョウブ林から 5～10 年生のリョウブを 10 個体及びその根圏土壌を採取した。根圏土壌はリターと細根を除去し風乾後、2 mm の篩を通過させた。植物体は細根、枝、葉に分別し、水道水及び脱塩水で洗浄した。

②根圏土壌の含有無機元素分析

風乾土壌は HNO_3-$HClO_4$ 分解後、誘導結合プラズマ発光分光分析装置（ICP-OES）に供し元素分析を行った。測定元素は、Cu、Ni、Zn、Cd、Pb、Mn、放射性 Cs の植物吸収に関わるとされる K の合計 7 元素とした。また、根圏土壌の pH（H_2O）の測定も行った。

③植物体の含有無機元素分析

洗浄後の植物体は洗浄後、80℃で 48 時間乾燥させた。乾燥させた各試料は粉砕し、HNO_3 分解を行った。植物分解液は ICP-OES に供し、Cu、Ni、Zn、Cd、Pb、Mn 及び K の測定を行った。

④植物体、根圏土壌の含有 ^{137}Cs 分析

風乾細土及び乾燥植物体試料は電子天秤で重量を測定した後、50 mL 容の U9 容器に充填し Ge 半導体検出器を用いて ^{137}Cs の濃度を測定した。検出されたピーク面積を元に、^{137}Cs の濃度を算出し、放射能減衰計算式を用いて 2011 年 3 月 11 日時点での値を算出した。

⑤内生菌の分離及び出現頻度の解析

①で示した洗浄後の 60 個体の細根を内生菌分離に使用した。根の表面滅菌は 70 %エタノール及び 15 %過酸化水素水で処理して行った。滅菌水で洗浄後、滅菌済みの濾紙上で風乾し、替刃滅菌メスを用いて 10 mm 程度に切断した。切断した根を無作為に選び、1 % Malt extract（MA）培地上に置床し、室温暗所下で 1 カ月培養した。切片数はリョウブ 1 個体につき 150 切片、調査地 1 ヶ所につき 1500 切片、全調査地合計で 9000 切片を分離に使用した。培養後、出現した糸状菌コロニーを確認し、出現数・出現率を算出した。主要な内生菌であった 8 菌種 *Acephala* sp.、

Colletotrichum sp.、*Cryptosporiopsis ericae*、*Leptodontidium* sp.、*Lachnum* sp.、*Phialocephala fortinii*、*Rhizodermea veluwensis*、*Rhizoscyphus* sp.に着目し出現数・出現率を確認した。

（2）内生菌の機能解析

①内生菌の産生する Zn 錯体形成物質分析

不溶性 Zn 添加 MA 培地（以下、Zn 培地とする）は Martino et al.（2003）の方法に従って調製した。分離した主要な 8 菌種のうち出現率の低かった *Leptodontidium* sp.以外の 7 菌種において各菌種につき 6 菌株を試験に供した。MA 培地上で 23℃暗所下 2 週間培養した各菌株の生育先端をディスク（内径 5.5 mm）として打ち抜き、Zn 培地に接種した。23℃暗所下で培養し、7 日後及び 14 日後に各菌株の生育直径とクリアゾーンの直径をそれぞれ 2 方向からノギスで計測した。Zn 錯体形成物質産生能は、クリアーゾーン直径と生育直径の差を、生育直径で除した値で評価した。

②内生菌の産生するメラニンの分析

①で使用した菌株をメラニン色素産生能の測定に用いた（Chand et al., 2014）。各内生菌株を MA 培地で、23℃暗所下で 2 週間培養後、生育先端を Potato Dextrose（PDA）培地に接種し、23℃暗所下で 3 週間生育させた。その後、菌叢から 1~4 ディスク（内径 7 mm）打ち抜き、色素抽出を行った。各菌株につき 1 枚のシャーレから同様に打ち抜き、3 反復とした。抽出色素は、紫外可視分光光度計で 405 nm における吸光度を測定し、検量線によって定量した。各試料の測定値を菌のコロニー1 cm^2 当たりの量に換算し、メラニンの濃度（μg/ cm^2）を算出した。

（3）内生菌の出現頻度及び化学的機能に影響する環境要因の統計解析

①非計量多次尺度法（nMDS；Non-metric Multi-dimensional Scaling）によるデータ解析

解析には、3.2 で得られた根圏土壌 Pb、Cu、Zn 及び ^{137}Cs 濃度、主要な内生菌 8 菌種の出現数、各菌株の Zn 錯体形成物質産生能とメラニン色素産生量のデータを用いた。内生菌の出現数と Pb、Cu、Zn および ^{137}Cs 濃度から Bray-Curtis の非類似度指数を算出し、リョウブの個体差をマトリクスとして、nMDS 分析を行った。次に、重金属及び ^{137}Cs 濃度が内生菌の出現数に影響を及ぼしているかどうかについて parmutation（1000 回）による並べ替え検定を行い nMDS 上の分散への寄与率をベクトルで示し、有意であるか確認した。Zn 錯体形成物質産生能、メラニン色素産生量に関しても同様の解析を行った。解析には R（Ver. 3.2.1）パッケージの Vegan（Oksanen et al.，2015）の関数（ベクトル解析；envfit）を用いた。

②一般線形混合モデル（GLMM；Generalized linear mixed model）によるデータ解析

①において根圏土壌の Pb、Cu、Zn および ^{137}Cs 濃度が内生菌の出現数、Zn 錯体形成物質産生能、メラニン色素産生量に有意に寄与していることが確認されたため、それらと各菌種の出現数、Zn 錯体形成物質産生能、メラニン色素産生量との関係を GLMM により解析した。調査地点によって調査時期が異なることを考慮し、調査地点をランダム効果として組み込んだ。出現数との関係性に関しては GLMM（negative binomial、log、link function）により、各菌種についてリョウブの各個体の出現数を応答変数とし、土壌の Pb、Cu、Zn および ^{137}Cs 濃度を説明変数として解析した。Zn 錯体形成物質産生能とメラニン色素産生量に関しては、GLMM（gaussian、identity、link function）により、それぞれの結果の値を応答変数、土壌の Pb、Cu、Zn および ^{137}Cs 濃度を説明変数として解析した。パッケージはともに glmmadmb を用いた。

（4）γ 線照射による内生菌の生育及び化学的機能への影響

鉱山跡地 1 のリョウブ根から分離された内生菌に、段階的に γ 線照射を行い、菌の生育及び化学的機能の変動を調査することで重金属環境における内生菌に与える放射線の影響を解析することとした。出現頻度が高かった *Acephala* sp.、*Colletotrichum* sp.、*Cryptosporiopsis ericae*、重金属耐性への関与が明らかになった *Phialocephala fortinii*、*Rhizodermea veluwensis*、*Rhizoscyphus* sp.（渡部、2008）を選択した。各菌種につき 6 菌株選択し、MA 培地上で 23℃暗所下 2 週間前培養した各菌株の生育先端をディスク（内径 5.5 mm）として打ち抜き、1）MA 培地、2）Zn 培地、3）PDA 培地にそれぞれ接種した。接種後、すぐに γ 線照射を行った。反復数は 3 とした 。各培地に接種した菌株は線量の総量が 0 Gy、0.375 Gy、0.75 Gy、1.5 Gy となるように段階的に γ 線照射を行った。照射後、菌の生育、Zn 錯体形成物質産生能、メラニン色素産生量に関して分析を行った。

4．研究成果

（1）内生菌出現頻度に影響する環境要因解析

nMDS の結果を任意の 2 次平面に図 1 に示す。また、土壌の Pb、Cu、Zn および ^{137}Cs 濃度の nMDS 上の分散への寄与率をベクトルで示した。ベクトルの大きさより、土壌の Pb、Cu、Zn および ^{137}Cs 濃度は内生菌の出現傾向に対して有意に寄与していることが確認された（p<0.05）。チェルノブイリ原子力発電所の事故後の調査でも菌類の出現傾向が変化した報告は多くあり（Burlakova et al.，2001；Zhdanova et al.，2000）、^{137}Cs が内生菌の種類相に影響する可能性は十分に考えられた。また、内生菌の種類相は ^{137}Cs と重金属のどちらの要因も影響すると考えられたため、どの要因が強く影響するか解析する必要があった。そこで、内生菌の出現数に関して、土壌の Pb、Cu、Zn および ^{137}Cs 濃度を説明変数にした GLMM 解析を行ったが、すべての内生

菌種において出現数に有意に影響を与える変数は確認されなかった。

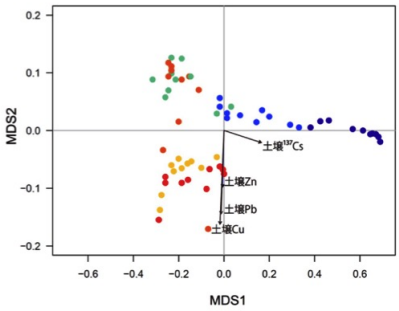

図 1 内生菌の出現数に関する nMDS 結果

内生菌の出現数と Pb、Cu、Zn および ^{137}Cs 濃度から Bray-Curtis の非類似度指数を算出し、2 次元上にプロットした。プロットが近いものは類似度が高いことを示す。矢印は Pb、Cu、Zn および ^{137}Cs 濃度のプロット内変異への寄与の方向および大きさを示す（p<0.05）。赤は鉱山跡地 1、オレンジは鉱山跡地 2、黄は鉱山跡地 3、水色は福島 1、青は福島 2、緑は北茨城の調査地データを示す。

以上のことから、各内生菌種の出現数は ^{137}Cs と重金属にある程度影響を受けて増減があるものの、全体としては糸状菌相に大きな変化がないことが示唆された。

（2）内生菌の化学的機能に影響する環境要因解析

nMDS の結果、Zn 錯体形成物質産生能、メラニン色素産生量に関しても土壌の Pb、Cu、Zn および ^{137}Cs 濃度が有意に寄与していることが確認された。Zn 錯体形成物質産生能とメラニン色素産生量に関して、土壌の Pb、Cu、Zn および ^{137}Cs 濃度を説明変数にした GLMM 解析を行った結果、*Acephala* sp. の Zn 錯体形成物質産生能と土壌 Pb 濃度に有意な負の相関、*Colletotrichum* sp. の Zn 錯体形成物質産生能と土壌 Pb に有意な正の相関、*Colletotrichum* sp. の Zn 錯体形成物質産生能と土壌 ^{137}Cs 濃度に有意な正の相関が確認された。放射線が菌類の代謝産物の合成に関わる遺伝子発現に影響するという報告があることから（Kimura et al.，2006）、Zn 錯体形成物質産生能に ^{137}Cs が影響した可能性が示唆された。菌の Zn 錯体形成物質産生能やシデロフォア産生能に対する Pb の影響に関する報告はないため今後関係性を把握していく必要がある。*Acephala* sp. においてはメラニン色素産生量と土壌 ^{137}Cs 濃度に有意な正の相関が確認された。メラニン色素は菌の放射線耐性に有用であると報告されている（Bohac et al.，1989）。紫外線と同様に菌が放射線の影響を受け放射線防御のためにメラニン色素産生量を増加させた可能性が考えられた。

以上の解析により、重金属耐性に関与すると考えられるリョウブ内生菌は放射性 Cs の影響をある程度受ける可能性が考えられたが、植物の重金属耐性への寄与には大きな変化がないとが考えられた。

（3）γ 線照射による内生菌の生育及び化学的機能への影響

Acephala sp.及び *P. fortinii* においては、γ 線の照射により生育が有意に増加・減少、変化がなかった菌株が確認された。*Colletotrichum* sp.、*C. ericae* 及び *Rhizoscyphus* sp. は γ 線の照射により生育が有意に増加、変化がなかった菌株が確認され、*R. veluwensis* は有意に減少、変化がなかった菌株が確認された。最大で 1.5 Gy という今回の照射レベルの放射線にはリョウブの内生菌株は耐性を有し生育できると考えられた。Zn 錯体形成物質産生能については、*Colletotrichum* sp.、*C. ericae* において γ 線照射により有意に増加・減少、変化がなかった菌株が確認された。メラニン色素産生量については、*Acephala* sp.及び *P. fortinii* において、γ 線照射により増加・減少する菌株が確認された。代謝変動は放射線による変異確率に従い発生する（Ragon et al, 2011）ことから、Zn 錯体形成物質やメラニンの産生への影響は均一でないと考えられた。

本研究により、重金属耐性に関与する主要なリョウブ内生菌は ^{137}Cs の影響をある程度受けるが出現数・生長・化学的機能は維持され、植物の重金属耐性への寄与には大きな変動が生じないという可能性が示唆された。今後は長期の低線量被ばくの菌への影響も検討する必要があると考える。

＜引用文献＞

① Bohac JD et al. 1989. The role of fungi in the biogenous migration of elements and in the accumulation of radionuclides. Agriculture Ecosystems & Environment 28: 31-34.

② Burlakova E et al. 2001. System of redox homeostasis in the radiation-induced genomic instability. Radiatsionnaia Biologiia Radioecologiia 41: 489-499.

③ Chand R et al. 2014. Role of melanin in release of extracellular enzymes and selection of aggressive isolates of *Bipolaris sorokiniana* in Barley. Current Microbiology 69: 202-211.

④ Dighton J et al. 2008. Fungi and ionizing radiation from radionuclides.FEMS Microbiology Letters 281: 109-120.

⑤ Kimura S et al. 2006. DNA microarray analyses reveal a post-irradiation differential time-dependent gene expression profile in yeast cells exposed to X-rays and γ-rays. Biochemical and Biophysical Research Communications 346: 51-60.

⑥ Martino E et al. 2003. Solubilization of insoluble inorganic zinc compounds by ericoid mycorrhizal fungi derived from heavy metal polluted sites. Soil Biology and Biochemistry

35: 133-141.
⑦ Oksanen et al. 2015. Package “vegan”. Community Ecology Package 631-637.
⑧ Ragon M et al. 2011. Sunlight-exposed biofilm microbial communities are naturally resistant to Chernobyl ionizing-radiation levels. PLoS One 6: e21764
⑨ Zhdanova NN et al. 1995. Changes in the micromycete communities in soil in response to pollution by long-lived radionuclides emitted in the Chernobyl accident. Mycological Research 98: 789-795.
⑩ Zhdanova NN et al. 2000. Fungi from Chernobyl: mycobiota of the inner regions of the containment structures of the damaged nuclear reactor. Mycological Research 104: 1421-1426.
⑪ 渡部裕美子 2008. 筑波大学大学院環境科学研究科修士論文.

５．主な発表論文等

〔雑誌論文〕（計 26 件：全て査読あり）

① Takahashi J et al. Tamura K (4 名・3 番目) 2018. Downward migration of radiocesium in an abandoned paddy soil after the Fukushima Dai-ichi Nuclear Power Plant accident. Journal of Environmental Radioactivity 182: 157-164.
② Okabe K, Masuya H, Kanzaki N. 2017. Unintentional introductions of microscopic organisms associated with forest insects. Biological Invasion doi: 10.1007/s10530-017-1507-0
③ Haruma T, Yamaji K, Masuya H, Hanyu K. 2017. Root endophytic *Chaetomium cupreum* promotes plant growth and detoxifies aluminum in *Miscanthus sinensis* Andersson growing at the acidic mine site. Plant Species Biology 33: 109-122.
④ Ando Y et al. Masuya H (5 名・2 番目) 2017. *Diaporthe toxicodendri* sp. nov., a causal fungus of the canker disease on *Toxicodendron vernicifluum* in Japan. Mycosphere 8: 1157-1168.
⑤ Masuya H, Ichihara Y, Aikawa T, Takahashi Y, Kubono T. 2018. Predicted potential distribution of *Sydowia japonica*. Mycoscience doi: 10.1016/j.myc.2018.02.009
⑥ Masuya H, Manabe R, Ohkuma M, Endoh R. 2016. Draft genome sequence of *Raffaelea quercivora* JCM11526, a Japanese oak wilt pathogen associated with the platypodid beetle, *Platypus quercivorus*. Genome Announcements 4(4): e00755-16.
⑦ Miller S, Masuya H, Zhang J, Walsh E, Zhang N. 2016. Real-time PCR detection of dogwood anthracnose fungus in historical herbarium specimens from Asia. PLoS ONE 11: e0154030.
⑧ Nakatsuka H, Tamura K. 2016. Characterization of soils under long-term crop cultivation without fertilizers: a case study in Japan. SpringerPlus 5: 283. doi: 10.1186/s40064-016-1917-y
⑨ Sanderson DCW et al. Tamura K (5 名・3 番目) 2016. Evaluating remediation of radionuclide contaminated forest near Iwaki, Japan, using radiometric methods. Journal of Environmental Radioactivity 162-163: 118-128.
⑩ Nakatsuka H, Oda M, Hayashi Y, Tamura K. 2016. Effects of fresh spent mushroom substrate of *Pleurotus ostreatus* on soil micromorphology in Brazil. Geoderma 269: 54-60.
⑪ Yamaji K, Watanabe Y, Masuya H, Shigeto A, Yui H, Haruma T. 2016. Root fungal endophytes enhance heavy-metal stress tolerance of *Clethra barbinervis* growing naturally at mining sites via growth enhancement, promotion of nutrient uptake and decrease of heavy-metal concentration. PLoS ONE 11: e0169089.
⑫ Yamaji K et al. (7 名・1 番目) 2016. Root endophytic bacteria of a ^{137}Cs and Mn accumulator plant, *Eleutherococcus sciadophylloides*, increase ^{137}Cs and Mn desorption in the soil. Journal of Environmental Radioactivity 153: 112-119.
⑬ Okimura S, Yamaji K, Hitsuma G, Mori S. 2015. Catechin production in roots of *Thujopsis dolabrata* var. *hondai* in soils on Mt. Hayachine with high Ni concentrations. Plant Root 9: 72-78.
⑭ Nagata S, Yamaji K, Nomura N, Ishimoto H. 2015. Root endophytes enhance stress-tolerance of *Cicuta virosa* L. growing in a mining pond of eastern Japan. Plant Species Biology 30: 116-125.
⑮ Oguma K, Tamura K, Kamijo T, Kawada K. 2015. Characteristics of soil under the forest steppe in Mongolia. Journal of Arid Land Studies 25: 145-148.
⑯ Teramage MT et al. Tamura K (6 名・6 番目) 2015. Atmospheric Pb-210 as a tracer for soil organic carbon transport in a coniferous forest, Environmental Science-Processes & Impacts 17: 110-119.
⑰ Takahashi J, Tamura K, Suda T, Matsumura R, Onda Y. 2015. Vertical distribution and temporal changes of Cs-137 in soil profiles under various land uses after the Fukushima Dai-ichi Nuclear Power Plant accident. Journal of Environmental Radioactivity 139: 351-361.
⑱ Yamashita S, Masuya H, Abe S, Masaki T, Okabe K. 2015. Relationship between the decomposition process of coarse woody debris and fungal community structure as detected by high-throughput sequencing in a

deciduous broad-leaved forest in Japan. PLoS ONE 10: e0131510.

㉑ Kusumoto D et al. Masuya H (15 名・2 番目) 2014. Comparison of sapwood discoloration in the logs of Fagaceae trees after inoculation with various virulent isolates of *Raffaelea quercivora*, the pathogen causing the mass mortality of Japanese oak trees. Plant Disease 99: 225-230.

㉒ Tsai IJ et al. Masuya H (8 名・3 番目) 2014. Comparative genomics of *Taphrina* fungi causing varying degrees of tumourous deformity in plants. Genome Biology & Evolution 6: 861-872.

㉓ Takemoto S, Masuya H, Tabata M. 2014. Endophytic fungal communities in the bark of canker-diseased *Toxicodendron vernicifluum*. Fungal Ecology 7: 1-8.

㉔ Palomares-Rius JE, Hirooka Y, Tsai IJ, Masuya H, Hino A, Kanzaki N, Jones JT, Kikuchi T. 2014. Distribution and evolution of glycoside hydrolase family 45 cellulases in nematodes and fungi. BMC Evolutionary Biology 14: 69.

㉕ Ikeda A, Matsuoka S, Masuya H, Mori AS, Hirose D, Osono T. 2014. Comparison of the diversity, composition, and host recurrence of xylariaceous endophytes in subtropical, cool temperate, and sub-boreal regions in Japan. Population Ecology 56: 289. doi:10.1007/s10144-013-0412-3.

㉖ Iimura Y et al. Tamura K (8 名・3 番目) 2013. Black humic acid dynamics during natural reforestation of japanese pampas graaa (*Miscanthus sinensis*). Soil Biology & Biochemistry 57: 60-67.

〔学会発表〕（計 11 件）

① 山路恵子. 2017. 内生菌が関与した重金属耐性獲得：リョウブ・ススキを例として. 菌根研究 2017 年度大会. 招聘講演.

② 山路恵子, 春間俊克, 升屋勇人. 2017. 内生菌との相互作用を利用した植物の重金属耐性と緑化利用への可能性：リョウブ・ススキを例として. 資源・素材 &EARTH 2017. 基調講演.

③ 春間俊克, 升屋勇人, 山路恵子. 2017. 機能解析から迫る根部内生菌の正体.環境微生物系学会合同大会 2017.招聘講演.

④ Yamaji K. 2017. Effect of ^{137}Cs on symbiosis between *Clethra barbinervis* and root endophytes under heavy-metal stress. The 29th Reimei International Workshop. 招聘講演.

⑤ 星美咲, 山路恵子, 升屋勇人. 2017. リョウブと内生菌の共生関係に影響する環境要因：重金属及び放射性 Cs. 第 64 回日本生態学会大会.

⑥ Yamaji K. 2016. Root endophytic bacteria of a ^{137}Cs and Mn accumulator plant, *Eleutherococcus sciadophylloides*, increase ^{137}Cs and Mn desorption in the soil. The 28th Reimei International Workshop. 招聘講演.

⑦ 春間俊克, 山路恵子, 升屋 勇人. 2015. 鉱山跡地に自生するススキ (*Miscanthus sinensis* Andersson.) の Al 耐性に関与する内生菌と解毒物質の探索. 第 62 回日本生態学会大会.

⑧ Haruma T, Yamaji K, Masuya H. 2015. Root endophytes in *Miscanthus sinensis* promote the Al-tolerance mechanism via increasing Fe absorption and producing siderophores. 8th International Conference on Mycorrhiza.

⑨ Hoshi M, Yamaji K, Masuya H. 2015. Effect of ^{137}Cs on the symbiosis between *Clethra barvinervis* and root endophytes. 8th International Conference on Mycorrhiza.

⑩ 升屋勇人, 星美咲, 春間俊克, 山路恵子. 2015. リョウブ根内生菌の多様性. 第 126 回日本森林学会大会.

⑪ 由井博, 山路恵子, 升屋勇人. 2014. リョウブの重金属耐性に関係する内生糸状菌と糸状菌内共生細菌の影響. 第 61 回日本生態学会大会.

〔図書〕（計 2 件）

① 山路恵子, 春間俊克. 2017. 第 6 章 汚染物質による森林の変化と菌類への影響.「森林科学シリーズ 第 10 巻 森林と菌類」升屋勇人, 滝久智（編）共立出版, 近日出版予定.

② 田村憲司, 辻村真貴, 山路恵子, 恩田裕一. 2015. 原発事故による放射性物質の長期的環境動態とその影響「巨大地震による複合災害—発生メカニズム・被害・都市や地域の復興—」八木勇治, 大澤義明（編）筑波大学出版会, pp. 137-155.

６．研究組織

(1)研究代表者

山路　恵子（YAMAJI, Keiko）
筑波大学・生命環境系・准教授
研究者番号：00420076

(2)研究分担者

田村　憲司（TAMURA, Kenji）
筑波大学・生命環境系・教授
研究者番号：70211373

升屋　隼人（MASUYA, Hayato）
国立研究開発法人森林研究・整備機構
森林総合研究所東北支所・チーム長
研究者番号：70391183

(4)研究協力者

星　美咲　（HOSHI, Misaki）
加藤　春圭（KATO, Haruka）
日下石　碧（NIKKESHI, Aoi）
春間　俊克（HARUMA, Toshikatsu）