

根圏における重金属汚染土壌の浄化 (Ⅱ) バイオレメディエーションと菌根菌

稲葉 尚子・竹中 千里

名古屋大学大学院生命農学研究科

要旨: 重金属汚染土壌の浄化方法として最近注目されているバイオレメディエーションとファイトレメディエーションに関し、2回にわけて簡単に紹介する。本編はその後編であり、バイオレメディエーションの可能性や、菌根菌の利用性についてまとめる。

キーワード: 菌根菌, 重金属汚染, バイオレメディエーション, 微生物

1. はじめに

今回は、微生物による重金属のバイオレメディエーションについて得られている知見をまとめる。なかでも、植生との関わりにおいて重要なはたらきをもつ根圏の微生物、特に菌根菌について取り上げる。

土壌中の高濃度の重金属は、微生物や微生物の関与する作用に有害な影響を与える。土壌中の重金属が微生物や微生物活性に与える影響については、Bååth (1989) や Giller et al.

(1998) の総説に詳しくまとめられている。土壌微生物の中で土壌と植物根を直接つなぐのは菌根菌であり、菌根菌は植物にとっての重金属の利用性や毒性において、非常に重要な役割を果たしている (Leyval et al., 1997)。Leyval et al. (1997) による総説は、重金属-菌根菌間の相互作用における様々な現象、すなわち、菌根菌の発生に重金属が与える影響、菌根菌の重金属耐性、菌根菌が植物の重金属吸収や移行に及ぼす影響などを論じたものであり、菌根菌の菌糸や、内生・外生菌根の重金属に対する耐性、吸収、蓄積にはたらく機構を網羅している。また、汚染土壌でのバイオレメディエーションの担い手としての可能性についても論じている。今回はこの総説を中心に、菌根菌によるバイオレメディエーションについて紹介する。

2. 重金属と微生物

Zn, Cu, Mn, Ni, Co などの重金属は生物にとって、微量必須元素、超微量元素であり、植物の成長に重要な役割を果たしているが、過度に高濃度の重金属は一般に有害であるとされている。重金属の毒性は微生物そのものに影響を及ぼし、微生物が媒介する土壌中のプロセスに

も影響する。

微生物への重金属の影響に関しては、個体数、バイオマス、種構成、多様性などの観点から研究が行われている。しかし、各研究ごとに実験環境などが違っているので、総括的な結論は得られていない。細菌・菌類の数量的データはコロニーの計数によって見積もるのが通例であるが、研究者ごとに培地の栄養濃度、重金属濃度にばらつきがあり、結果も様々である。従来行われてきた研究では、培地の高すぎる栄養塩濃度が原因で、コロニー数が汚染の影響を反映していないことが多いが、Nordgren et al.

(1986) のように培地の栄養濃度を下げれば、コロニーの計数は土壌の呼吸速度や酵素活性に比べ、より感受性の高い指標となることが分かっている。種構成や多様性についても同様で、系統的な結論は得られていないが、高濃度の重金属汚染土壌では *Penicillium* など糸状菌が相対的に増加することが報告されている (山本ら, 1981 など)。

一方、様々な土壌中のプロセスに関与する微生物の活性は、重金属汚染の影響を受けるとされている。そうした土壌中のプロセスとしては、リター分解や、土壌呼吸、窒素の無機化、酵素活性などが挙げられる。微生物の活性が低下すると、リターの分解速度が低下し、リターの量的損失が減少することによるリター層の増加などの現象として表れる。重金属汚染のみられる精錬所付近でのこうした事例が、Coughtrey et al. (1979) や Freedman and Hutchinson (1980a) によって報告されている。また Strojjan (1978) は、重金属のリター分解速度への影響は時間とともに増大することを示しており、それは分解が進行した過程であるリ

グニン分解過程が、重金属の影響を受けやすく、重金属の存在によってリグニン分解が促進されることが原因であろうと示唆されている (Berg et al., 1991). 一般には、低レベルの重金属汚染では CO₂ 放出への影響はほとんどないが、高レベルになると土壤の呼吸速度が低下するとされている (e.g. Ebregt and Boldewijn 1977; Freedman and Hutchinson, 1980a, b). 炭素の無機化に関しては、汚染直後から急激な CO₂ 増加が始まるまでのタイムラグの時間という観点からいくつか研究されている。タイムラグは呼吸速度同様に重金属の毒性に対する感受性が高く、汚染レベルが高くなるにつれてタイムラグが長くなることが Nordgren et al. (1988) や Dumestre et al. (1999) などによって報告されている。

また、Nの無機化はC同様、汚染レベルと負の相関関係にあり、土壤中の重金属濃度が低くても顕著な影響が現れると報告されている (Tyler, 1975).

重金属汚染の指標として、土壤中の様々な酵素活性の測定も行われている。その中でも、酸性フォスファターゼ活性が汚染の良い指標であることが知られており、Tyler (1974) によれば、重金属汚染濃度がバックグラウンドの3から5倍程度の汚染レベルにおいて、酸性フォスファターゼ活性の低下が確認されている。また、ウレアーゼも酸性フォスファターゼ同様、重金属汚染の指標となることが報告されている (Tyler, 1974).

3. 重金属のバイオレメディエーション

バイオレメディエーションは、主に微生物の分解能を利用するもので (宮下, 2000), トリクロロエチレンやPCBなど有機塩素化合物で汚染された土壤の浄化には実際に適用されている例もみられる。しかし、重金属は分解して消滅することがないため、期待される浄化の効果は多少複雑なものとなる。現場への適用については、まだ実験段階である。

3-1. 酸化・還元による毒性低下

重金属は化学形態により、生物に対する毒性が異なる。したがって重金属が生物に対して毒性のない形態に変化すれば、浄化の効果が得られる。重金属に対して耐性を持ち、重金属を還元することにより得られるエネルギーを呼吸などに用いている微生物が、こうした機構の担い手となる。

こうした微生物のうちよく知られているの

は、毒性の高い6価クロムを、毒性のほとんどない3価クロムに還元する *Enterobacter cloacae* H0-1 の例である (藤江, 1995). 6価クロムは硫酸イオンのアナログとして細胞内に取り込まれ、強い酸化力で細胞の増殖を阻害する。しかし、H0-1 の細胞壁は酸素や有機物、老廃物は通過させることができるが有毒な6価クロムは入り込めないような防御機構を持っており、6価クロムの還元は細胞壁表面で進行する。H0-1 はメッキ工場からの6価クロム排水の処理に実際に用いられている。

また、有害な Hg²⁺ を無害で揮散しやすい Hg⁰ へ還元する水銀耐性菌、TeO₃²⁻ を Te⁰ へ還元するテルル耐性菌、4価と6価のセレンを Se⁰ に還元する糸状菌の例などが知られている (広木, 1999; 宮下, 2000).

3-2. 微生物による可溶化

土壤中の重金属は、可溶化することにより除去できる。この方法はバイオリーチング法として、低品質の鉱石から重金属を効率よく抽出する方法として古くから用いられてきた (Bosecker, 1997). その目的に利用されてきた微生物として *Thiobacillus* や *Leptospirillum* が挙げられる。微生物を介した可溶化のメカニズムとして、直接反応と間接反応があり、直接反応としては、パイライトなどの硫化物が微生物により可溶性の硫酸第二鉄となるような反応が考えられている。間接反応では、不溶性の4価のUが微生物によって生成した硫酸第二鉄と反応して可溶性の6価のUに酸化されるといった反応が示されている (Bosecker, 1997). この方法は、実際に Cu, U, Au の抽出に工業的に用いられている。

3-3. 生物的吸着または細胞バイオマスや分泌物による不動化

重金属を微生物の体表面や体内に吸着させて、土壤中に遊離する重金属が他の生物に利用されないようにするという方法である。

重金属は細胞表層や粘液層、細胞外のマトリックスに非特異的に吸着する。また、細胞内に吸収され、高分子の金属結合タンパク質と結合して、生物的に不活性な状態で蓄積されたり、重金属イオンが不溶性の酸化物や硫化物となって沈殿する (広木, 1999).

White et al. (1998) は3-2と3-3の原理を組み合わせた重金属汚染土壤のバイオレメディエーションを報告している。その方法は、

硫黄酸化バクテリアによって生成した硫酸により重金属を可溶化し、次に硫黄還元バクテリアにより重金属を硫化物として不動化し、それを回収するというものである。彼らはこの方法により Pb 以外の重金属 (Cd, Cr, Co, Cu, Mn, Ni, Zn) について 90%以上の回収率で除去できることを報告している。

一方、ここに示した重金属汚染土壌のバイオレメディエーションには、起こりうる副作用がいくつか挙げられる。一つは、メチル基が付加することによるメチル化である。メチル化すると重金属は揮散しやすくなり、毒性が増す。例えば水銀はメチル化により毒性が 10-100 倍増加する。スズ、鉛、ヒ素などは微生物により容易にメチル化する。また、3-3. のような手法では土壌中に遊離する汚染物質の濃度は低減しても、食物連鎖を通じて生物濃縮するおそれもある。さらに、根本的な問題点として、3-3. のように微生物体内に重金属を固定したとしても、環境浄化に利用するためには、菌体を回収するシステムが必要である。汚水処理の場合は比較的容易であるが、土壌中の微生物菌体を直接分離・回収することは困難である。このように、微生物を用いた重金属浄化方法の実用化には、まだ解決すべき課題が山積している。

4. 菌根菌と重金属汚染

菌根菌を重金属のバイオレメディエーションという観点から積極的に利用していく際、菌根菌の共生によりファイトレメディエーションの効果を高める、あるいは菌根への重金属蓄積により植物への影響を低減する効果を十分に活用することが必要である。重金属汚染土壌に生育する高等植物は一般に菌根性であり、菌根は植物にとって重金属耐性だけでなく、水分や栄養の獲得において重要なカギとなる (Meharg and Cairney, 2000)。そこで、菌根菌と重金属の相互関係についてこれまでに報告されている知見を、菌根菌の種類 (VA 菌根, 外生菌根, エリコイド菌根) ごとにまとめて、菌根菌を用いたバイオレメディエーションの可能性を論じる。

4-1. VA 菌根菌

<重金属汚染土壌中の発達>

鉱山廃石土には菌根菌の接種源がほとんど存在しないにもかかわらず、菌根を形成する草本種は形成しない種よりも、汚染された鉱山地域に活着できる (Shetty et al., 1994)。 *Medicago sativa* を用いた実験では、Zn と Pb

を含む鉱山廃石と汚泥中で、周辺の非汚染土壌に比べ VA 菌の孢子数は減少したが、感染は可能であることが報告されている (Diaz and Honrubia, 1993)。また他の例では、炭鉱の廃石と、VA 菌の無性芽を含有する泥炭を施用したオイルサンドくずの混合土上の *Agropyron trachycaulum* に菌根菌が存在するのに対し、オイルサンドくずを施用しない場合には菌根菌の存在が確認されなかったことが報告されている (Zak and Parkinson, 1982)。こうした例から、菌根菌との共生によって、宿主植物側は重金属耐性や他の有益な効果を受け取っているのではないかということが示唆される。

また、溶鉱炉からの大気性沈着物質により汚染された海岸砂丘では、菌根をもつ *Festuka rubra* や *Calamagrostis epigejos* が活着すること (Dueck et al., 1986)、亜鉛製錬所周辺の Zn・Cd による汚染区域では、VA 菌と共生する *Agrostis capillaris* が優先的に自生すること (Griffioen et al., 1994) などの報告から、VA 菌には重金属耐性があることが示されている。

Weissenhorn et al. (1995a) は汚泥施用された農地の全 Cd 濃度と、トウモロコシの根における菌根の発達には相関関係がみられず、また、根中の重金属濃度と菌根の発達にも関係がみられなかったのに対し、有機物、pH、陽イオン交換能、P 含有量など、土壌の他の要素と菌根の発達には関係がみられたことを報告している。さらに、重金属汚染土壌と非汚染土壌において、菌根菌の感染力は NH_4NO_3 によって抽出される Cd・Zn 量とは負の相関関係にあった (Leyval et al., 1995) という報告例もある。こうした結果から、菌根の発達には、土壌中の全金属濃度よりも、重金属の生物学的利用性や可溶性が重要であることが示唆される。

<重金属吸収・蓄積>

宿主植物から切り離して培養できないので、菌体固有の重金属吸収量を調べるのは困難であるが、放射性同位体を用いた実験では、菌糸による Zn の蓄積、移行は種によって異なる傾向を示し (Burkert and Robson, 1994; Cooper and Tinker, 1978)、Cd は土壌から植物根に移行される (Joner and Leyval, 1997) ことが報告されている。

<重金属耐性とそのメカニズム>

VA・外生菌根の区別に限らず、耐性のメカニズムは次のようなものである。

- ①「回避」 吸収量の減少, 排出量の増加, 細胞壁の外で錯体を形成, 有機酸の放出などにより, 重金属の吸収を抑制する.
- ②「耐性」 細胞内で金属結合性蛋白質や高分子リン酸塩により, あるいは液胞内でキレートさせることにより, 体内の重金属濃度が高くても生存できる.

Cd 耐性菌 (*Glomus mosseae* P2 など) を分離し, Cd 施用土壌や重金属汚染土壌において胞子の発芽実験を行い, 耐性を調査したところ, Cd は胞子発芽後の菌糸の成長よりも, 発芽自体を抑制することが分かった (Weissenhorn et al., 1993, 1994). また, 植物根と菌糸を区画化した実験 (Joner and Leyval, 1997) でも, 100 mg kg⁻¹ の Cd を土壌に添加した場合, 菌糸の長さには影響がみられなかったが, 胞子は未発達のままであったことが報告されている. このことから, 胞子の発芽を抑制する濃度と菌糸の成長を抑制する濃度との間に明らかな差があることが示唆される.

また, VA 菌の重金属耐性のメカニズムはまだ解明されていないが, 耐性は変化するのではないかと考えられている. Co 耐性菌は, 長年にわたる Zn 汚染土壌の施用により, Cd, Zn に対する耐性を獲得することが報告されている (Weissenhorn et al., 1994). また, 雑多な菌を Cd 施用土壌で培養し, それらの Cd 耐性を調査したところ, Cd 施用開始後 1 年間だけ耐性が増したことが報告されている (Weissenhorn et al., 1994). さらに, 重金属を含まない土壌で育てた耐性植物 *G. mosseae* は新たな耐性を獲得することはなかったと報告されている (Leyval et al., 1997).

<重金属の植物の移行に与える影響>

菌根菌による植物体への吸収については, 増加・減少の両方の結果が報告されている. 重金属汚染土壌でのトウモロコシを用いたポット実験では, 菌根形成により, 植物体の現存量が増加し, 地上部・根中の Cd, Cu, Zn 濃度が減少する場合と, 植物体の成長, 重金属吸収ともに影響がみられない場合が確認された (Weissenhorn et al., 1995b). こうした結果の違いは, 根の密度や植物が生育した条件, 菌根菌の種によって生じると結論づけられている. また, Dueck et al. (1986) は, 高濃度の Zn 硫酸塩を施用した砂土壌を用いたポット実験

(*Festuca rubra.*, *Calamagrostis epigejos*: *G. fasciculatum*) で, 菌根形成により植物の成長への負の影響は軽減したが, 地上部・根中ともに, Zn 濃度には影響がなかったと報告している.

植物の重金属吸収に VA 菌が与える影響は, 重金属ごとに特有であり, その濃度にもよるのではないかということも示唆されている. Schüepp et al. (1987) はトウモロコシやレタスの地上部中の Cd, Zn 濃度は土壌中の重金属濃度が高い時は菌根形成によって減少したが, 重金属濃度が低い土壌では Cd 吸収は減少し, Zn 吸収は増加したと報告している. さらに, El-Kherbawy et al. (1989) は土壌 pH も関係していると述べている. アルファルファを用いた実験で, 土壌の pH が高い時は DTPA によって抽出される重金属が減少し, VA 菌による Cd, Zn, Mn 吸収が増加するのに対し, pH が低い時は植物体の地上部への重金属の吸収が減少すると報告している.

<菌根性植物の重金属耐性とそのメカニズム>

Joner and Leyval (1997) は根系における菌による Cd の不溶化の可能性を挙げている. また, 細胞内の菌糸, 特に液胞中のリン酸塩を多く含む物質に蓄積されていることを示す ESI などによる画像が報告されている (Turnau et al., 1993).

4-2. 外生菌根菌

<重金属汚染土壌中の発達>

外生菌根菌について, 汚染土壌でのほたらきなどはほとんど知られていないが, 一般に増殖が抑制されると考えられている (Dixon and Buschena, 1988). スウェーデンでのフィールド調査では, 土壌の重金属汚染の程度が激化するにつれ, 子実体の数・種が顕著に減少することが明らかになった (Rühling and Söderström, 1990). また, 重金属ストレスにより子実体の成熟度が低下する種もあるが, 非汚染生態系では稀にしか存在しない種では, 逆に成熟度が増加するものもある (Rühling et al., 1984).

<重金属吸収・蓄積>

外生菌根菌は子実体に多量の重金属を蓄積でき, その蓄積能は種によって異なる (Gast et al., 1988). また, 重金属の種類によっても異なり, Cd は高濃度に蓄積されるが, Pb は排除される. Zn と Cu は濃度が同程度であり, 必須元素なので吸収に関して調整が行われてい

るのではないかと考えられる (Gast et al., 1988). Hg を鉱山地域の土壤中濃度の 60 倍まで蓄積する外生菌根も見いだされている (Bargagli and Baldi., 1984). Gast et al. (1988) は土壌要因を考慮に入れた調査から、菌体内の重金属濃度の主要な決定因子は土壌の要素ではなく、種間の差であると示唆している。

<重金属耐性とそのメカニズム>

重金属耐性は種によって異なり、*A. muscaria*・*Hebeloma crustuliniforme* は多種より Cd, Zn に対して高い耐性をもつ (Willenborg et al., 1990)。また、*A. muscaria* は調査された菌種の中で Cd, Zn に対し最も高い耐性を示した (Colpaert and Van Assche., 1992)。汚染土壌由来の菌は非汚染土壌由来の菌より高い重金属耐性をもつ (Colpaert and Van Assche., 1992) が、重金属耐性菌は非汚染土壌からも分離され、重金属耐性に関して幅広い遺伝的変異も存在する (Wilkinson and Dickinson., 1995)。また、重金属間の相互作用が存在することも確認されており、Zn が同時に存在する時、Cd の外生菌根菌に対する毒性が緩和されることが分かっている (Colpaert and Van Assche., 1992)。

耐性のメカニズムはイオン交換、錯体形成、沈殿、結晶化などによる重金属の吸着・蓄積だとされている (Mullen et al., 1992)。特殊な蛋白質と重金属の結合による蓄積は *Cortinarius* による Cs の例、*Tricholoma album* による Tl の例 (Bakken and Olsen., 1990; Seeger and Schweinhaut., 1981) などが報告されている。

菌体に重金属が吸収されると、植物体への細胞内への蓄積や、その細胞質内のはたらきを与える影響が減少する (Brown and Wilkins., 1985; Denny and Wilkins., 1987)。Denny and Wilkins (1987) は *P. tinctorius* において、Zn は主に菌糸の外側で、細胞壁や粘性の物質と結合して存在することを報告している。Tam (1995) は、菌細胞は菌糸を毒性重金属の吸収から守る重要な防御壁だと述べ、そのメカニズムは菌の細胞壁の構成物質であるキチン質やメラニンなどの色素と重金属との結合だとしている。

また、結晶体の形成は有機酸の分泌と関係しており、重金属存在下で増加することがしゅう酸カルシウムの例で報告されている (Cromack et al., 1979)。また、菌糸

(*P. tinctorius*) 中の高分子リン酸塩の粒子における金属の蓄積がストレスを軽減する現象が Cu, Zn で確認されている (Tam, 1995)。一方、この際、Al, Ni, Cd, Cr, Hg については明らかな効果は認められなかった。

また、Turnau et al. (1994) によって報告された EELS (electron energy loss spectroscopy) と ESI (electron spectroscopic imaging) による画像を見ると、*Pisolithus arrhizus* の菌糸中の重金属は主に細胞壁上の色素物質中に存在し、Cd, Cu, Ti, N, S はシステインを多く含む蛋白質を含有する液胞中に存在する、P 濃度の高い無形、または球状の物質と結合して存在することが確認される。

Gast (1988) は *P. involutus* などの細胞の膜組織において Cu や Zn など微量必須元素については移行・調整の機構がはたらき、Cd に対しては排出の機構がはたらくのではないかと示唆している。

<重金属の植物への移行に与える影響>

樹木の重金属吸収に外生菌根菌が及ぼす影響は、Wilkins (1991) によってレビューされているが、その中で彼は菌によって効果に差はあるものの、菌根は地上部の組織内の重金属濃度を減少させることができると結論づけている。こうした作用は Zn, Ni, Cu について確認されている。

Dixon and Buschena (1988) は *Pinus banksiana* と *Picea glauca* による重金属吸収の実験において、*S. luteus* が葉中の Cd, Ni, Pb, Zn の濃度を軽減させたと報告している。しかし、これは菌根形成が可能なレベルの重金属濃度の土壌においてであって、実験中最も高い濃度の重金属を添加した土壌では菌根の形成が妨げられている。さらに、Bucking and Heyser (1994) は *S. bovinus* は周辺環境の Zn 濃度が低い時は *Pinus sylvestris* の根・葉中への吸収を増加させるが、Zn 濃度が高い時は葉中の濃度が減少すると報告している。また、同様の効果は他の菌根菌では得られず、菌によって輸送を減少させる能力に差があるとしている。

また、Colpaert and Van Assche (1993) は低濃度の Cd を添加する実験で、*P. sylvestris* の Cd 吸収に 9 種の外生菌根菌が与える影響を比較した時、すべての種において菌根を形成しない植物体よりも葉や茎中の Cd 濃度が低かったが、根においては明らかな差はみられなかったと報告している。

＜菌根性植物の重金属耐性とそのメカニズム＞

外生菌根においては、その主な重金属との結合部位は、余剰な菌糸の細胞壁である(Denny and Wilkins, 1987; Galli et al., 1994). Cd 汚染土壌では、菌根菌の生成する余剰菌糸の密度によって、その生存が左右される(Colpaert and Van Assche, 1993). すなわち、個々の菌糸から拡散する Cd 量が減少すれば、宿主植物への供給が減少する。よって、余剰菌糸を多く生成する外生菌根菌ほど、宿主植物から重金属を排除できる(Colpaert and Van Assche, 1987). また、Cd によって根の周囲で菌根菌糸密度の増加が誘導される(Darlington and Rauser, 1988).

菌根性の *Betula* における Zn 毒性の軽減は、菌糸表面への Zn の吸着に因るものであり、このように土壌の液相中の Zn 濃度が減少すれば植物の吸収も減少する(Denny and Wilkins, 1987). 重金属は菌糸の細胞壁の負に帯電したサイト、特に余剰菌糸や菌糸の外部の多糖の粘性物質に吸着する。

菌の外皮は植物根を保護するはたらきも持っている(Dixon and Buschena, 1988). カラミン(酸化第二鉄の混じった酸化亜鉛)廃棄物から分離された *Rhizopogon roseolus* / *P. sylvestris* の菌根菌はフィルター効果を持っており、菌体内で重金属の濃度勾配がみられた(Turnau et al., 1996). すなわち、菌套の外側で最も高く、ハルティッヒネット(外生菌根に見られる構造で、菌糸が根の皮層細胞の間隙に侵入し、網目状を呈している構造)でもっとも低くなっていた。こうした現象は菌套の外側に主に排出される、電気的に不伝導性の色素などの物質と関連している。

また、菌根のどこか固有の部分だけでなく、菌根菌によって生成されるすべての菌バイオマス(担孢子体、余剰菌糸、菌糸の外皮、死骸など)が重金属と結合でき、生物学的利用性や宿主植物に対する毒性を減少させることができる(Colpaert and Van Assche, 1993).

植物を重金属の毒性から守る他のメカニズムの仮説もいくつか挙げられている。菌根菌による根圏の改良(Dixon and Buschena, 1988)、重金属と陰イオンの相互関係、菌体または宿主植物体の細胞内における重金属のしゅう酸塩の沈殿や、カスパー線による、細胞膜外の輸送の抑制などである。また、菌と宿主植物の融和性こそより重大であるとする考えもある(Denny and Wilkins, 1987).

4-3. エリコイド菌根菌

エリコイド菌根菌についての研究はまだ少ないようである。

Cu, Zn を施用した砂土壌で生育した *Calluna vulgaris*, *Vaccinium macrocarpon*, *Rhododendron ponticum* では、重金属濃度が地上部で減少し、根で増加した例や(Bradley et al., 1981, 1982), エリコイド菌のコロニー形成は VA 菌よりも効果的な排出機構をもつこと(Bradley et al., 1981)などが報告されている。

5. バイオレメディエーションへの可能性

前回、ファイトレメディエーションを扱った際に、phytostabilization(植物による土壌安定化)というメカニズムを挙げたが、この手法に用いられる植物には、根中で重金属を不動化すること、地上部での重金属の蓄積が少ないことが望まれるため、重金属と結合し、その植物の地上部への移行を制限することができる菌根菌は大きな関心が持たれている。別のメカニズム phytoextraction(植物による吸収)の方は、重金属を吸収させる植物、すなわち、重金属を蓄積しやすい植物が多くは *Thlaspi caerulescens* など非菌根性のアブラナ科であり、菌根菌の出番は今のところなさそうである。

しかしながら、今まで挙げてきた研究例から考えると、菌根菌を用いたバイオレメディエーションは、この二つのファイトレメディエーションと関連したものになる可能性が高い。すなわち、菌根菌のなんらかのはたらきにより、
(1) 重金属を植物根中により多く吸着させ、土壌中に遊離する重金属の濃度を下げる
(2) 重金属を植物体の地上部により多く吸収させ、その地上部を刈り取ることでより多くの重金属をその土壌から除去できる
というものであろう。

また、通常なら植生の入らないくず鉱の堆積土に VA 菌を混合した接種物を施用することにより、絶対寄生菌により栄養を得る *Andropogon gerardii* が成長し、非汚染土壌では菌根なしでも良好に生育し、条件的に寄生菌から栄養を得ている *Festuca arundinacea* もこの土壌では菌根により生育が有利になった(Hetrick et al., 1994). このことは菌根菌と化学肥料の組み合わせが、くず鉱堆積土、またさらに過度の負担に対し、植生の活着を可能にすることを示唆する。菌根による利益は重金属耐性の増加のみならず、くず鉱堆積土のような貧栄養、水分を保持する力が低い環境での植

物の栄養状態の向上とも関連している。

菌根菌の中には重金属の毒性から植物を守るものが存在し、一方、宿主植物は汚染土壌において、生存に有利な条件を菌に与える。菌根でのこうした相利関係は、非菌根性植物や、独立して生活する微生物のような単一の生命体よりも、よりバイオレメディエーションに適しているであろう。

引用文献

- Bååth, E. 1989. Effects of heavy metals in soil microbial processes and populations (a review). *Water Air Soil Pollut.* 47:335-379.
- Bakken, L.R., Olsen, R.A. 1990. Accumulation of radiocaesium in fungi. *Can. J. Microbiol.* 36:704-710.
- Bargagli, R., Baldi, F. 1984. Mercury and methylmercury in higher fungi and their relation with sulphur in a Cinnabar mining area. *Chemosphere* 13:1059-1071.
- Berg, B., Ekbohn, G., Söderström, B., Staaf, H. 1991. Reduction of decomposition rates of scots pine needle litter due to heavy-metal pollution. *Water Air Soil Pollut.* 59:165-177.
- Bosecker, K. 1997. Bioremediation: metal solubilization by microorganisms. *FEMS Microbiol. Rev.* 20:591-604.
- Bradley, R., Burt, A.J., Read, D.J. 1981. Mycorrhizal infection and resistance to heavy metal toxicity in *Calluna vulgaris*. *Nature* 292:335-337.
- Bradley, R., Burt, A.J., Read, D.J. 1982. The biology of mycorrhiza in the Ericaceae. VII. The role of mycorrhizal infection in heavy metal resistance. *New Phytol.* 91:197-209.
- Brown, M.T., Wilkins, D.A. 1985. Zinc tolerance of mycorrhizal *Betula*. *New Phytol.* 99:101-106.
- Bucking, H., Heyser, W. 1994. The effect of ectomycorrhizal fungi on Zn uptake and distribution in seedlings of *Pinus sylvestris* L. *Plant Soil* 167:203-212.
- Burkert, B., Robson, A. 1994. ⁶⁵Zn uptake in subterranean clover (*Trifolium subterraneum* L.) by three vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi in a root-free sandy soil. *Soil Biol. Biochem.* 26:1117-1124.
- Colpaert, J.V., Van Assche, J.A. 1987. Heavy metal tolerance in some ectomycorrhizal fungi. *Funct. Ecol.* 1:415-421.
- Colpaert, J.V., Van Assche, J.A. 1992. The effects of cadmium and the cadmium-zinc interaction on the axenic growth of ectomycorrhizal fungi. *Plant Soil* 145:237-243.
- Colpaert, J.V., Van Assche, J.A. 1993. The effects of cadmium on ectomycorrhizal *Pinus sylvestris*. *Plant Soil* 143:201-211.
- Cooper, K.M., Tinker, P.B. 1978. Translocation and transfer of nutrients in vesicular-arbuscular mycorrhizas. II. Uptake and translocation of phosphorus, zinc and sulphur. *New Phytol.* 81:43-52.
- Cromack, K.Jr, Sollins, P., Graustein, W.C., Speidel, K., Todd, A.W., Spycher, G., Li, C.Y., Todd, R.L. 1979. Calcium oxalate accumulation and soil weathering in mats of the hypogeous fungus *Hysterangium crassum*. *Soil Biol. Biochem.* 11:463-468.
- Coughtrey, P.J., Jones, C.H., Martin, M.H., Shales, S.W. 1979. Litter accumulation in woodlands contaminated by Pb, Zn, Cd and Cu. *Oecologia* 39:51-60.
- Darlington, A.B., Rauser, W.E. 1988. Cadmium alters the growth of the ectomycorrhizal fungus *Paxillus involutus*: a new growth model accounts for changes in branching. *Can. J. Bot.* 66:225-229.
- Denny, H.J., Wilkins, D.A. 1987. Zinc tolerance in *Betula* spp. IV. The mechanism of ectomycorrhizal amelioration of zinc toxicity. *New Phytol.* 106:545-553.
- Diaz, G., Honrubia, M. 1993. Infectivity of mine soils from southeast Spain. 2. Mycorrhizal population levels in spoilt sites. *Mycorrhiza* 4:85-88.
- Dixon, R.K., Buschena, C.A. 1988. Response of ectomycorrhizal *Pinus banksiana* and *Picea glauca* to heavy metals in soil. *Plant Soil* 105:265-271.
- Dueck, T.A., Visser, O., Ernst, W.H.O., Schat, H. 1986. Vesicular-arbuscular mycorrhizae decrease zinc-toxicity to grasses growing in zinc-polluted soil. *Soil Biol. Biochem.* 18:331-333.
- Dumestre, A., Sauve, S., McBride, M. Baveye, P., Berthelin, J. 1999. Copper speciation and microbial activity in long-term contaminated soils. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 36:124-131.

- Ebregt, A., Boldewijn, J.M.A.M. 1977. Influence of heavy metals in spruce forest soil on amylase activity, CO₂ evolution from starch and soil respiration. *Plant Soil* 47:137-148.
- El-Kherbawy, M., Angle, J.S., Heggo, A., Chaney, R.L. 1989. Soil pH, rhizobia, and vesicular-arbuscular mycorrhizae inoculation effects on growth and heavy metal uptake of alfalfa (*Medicago sativa* L.). *Biol. Fertil. Soils* 8:61-65.
- Freedman, B., Hutchinson, T.C. 1980a. Effects of smelter pollutants on forest leaf litter decomposition near a nickel-copper smelter at Sudbury, Ontario. *Can. J. Bot.* 58:1722-1736.
- Freedman, B., Hutchinson, T.C. 1980b. Pollutant input from the atmosphere and accumulations in soils and vegetation near a nickel-copper smelter at Sudbury, Ontario, Canada. *Can. J. Bot.* 58:108-132.
- 藤江幸一 1995. 還元細菌で有毒6価クロムを処理。児玉徹・大竹久夫・八木修身編, 地球をまもる小さな生き物たち。技法堂出版。pp148-153.
- Galli, U., Schuepp, H., Brunold, C. 1994. Heavy metal binding by mycorrhizal fungi. *Physiol. Plant.* 92:364-368.
- Gast, C.H., Jansen, E., Bierling, J. and Haanstra, L. 1988. Heavy metals in mushrooms and their relationships with soil characteristics. *Chemosphere* 17:789-799.
- Giller, K.E., Witter, E., Mcgrath, S.P. 1998. Toxicity of heavy metals to microorganisms and microbial processes in agricultural soils: a review. *Soil Biol. Biochem.* 30:1389-1414.
- Griffioen, W.A.J., Ietswaat, J.H., Ernst, W.H.O. 1994. Mycorrhizal infection of an *Agrostis capillaris* population on a copper contaminated soil. *Plant Soil* 158:83-89.
- Hetrick, B.A.D., Wilson, G.W.T., Figge, D.A.H. 1994. The influence of mycorrhizal symbiosis and fertilizer amendments on establishment of vegetation in heavy metal mine spoil. *Environ. Pollut.* 86:171-179.
- 広木幹也 1999. 重金属と微生物。日本土壤微生物学会編, 新・土の微生物(4) 環境問題と微生物。博友社, 東京。pp5-28.
- Joner, E.J., Leyval, C. 1997. Uptake of ¹⁰⁹Cd by roots and hyphae of a *Glomus mosseae/Trifolium subterraneum* mycorrhiza from soil amended with high and low concentrations of cadmium. *New Phytol.* 135:353-360.
- Leyval, C., Singh, B.R., Joner, E.J. 1995. Occurrence and infectivity of arbuscular mycorrhizal fungi in some Norwegian soils influenced by heavy metals and soil properties. *Water Air Soil Pollut.* 84:203-216.
- Leyval, C., Turnau, K., Haselwandter, K. 1997. Effect of heavy metal pollution on mycorrhizal colonization and function: physiological, ecological and applied aspects. *Mycorrhiza* 7:139-153.
- Meharg, A.A., Cairney, J.W.G. 2000. Co-evolution of mycorrhizal symbionts and their hosts to metal-contaminated environments. *Adv. Ecol. Res.* 30:69-112.
- 宮下清貴 2000. 微生物機能を利用したバイオレメディエーション。日本土壤肥料学会編, 植物と微生物による環境修復。博友社, 東京。pp77-100.
- Mullen, M.D., Wolf, D.C., Beveridge, T.J., Bailey, G.W. 1992. Sorption of heavy metals by the soil fungi *Aspergillus niger* and *Mucor rouxii*. *Soil Biol. Biochem.* 24:129-135.
- Nordgren, A., Kauri, T., Bååth, E., Söderström, B. 1986. Soil microbial activity, mycelial lengths and physiological groups of bacteria in heavy metal polluted area. *Environ. Pollut.* 41:89-100.
- Nordgren, A., Bååth, E., Söderström, B. 1988. Evaluation of soil respiration characteristics to assess heavy metal effects on soil microorganisms using glutamic acid as a substrate. *Soil Biol. Biochem.* 20:949-954.
- Rühling, A., Bååth, E., Nordgren, A., Söderström, B. 1984. Fungi in metal contaminated soil near the Gusum Brass Mill, Sweden. *Ambio.* 13:34-36.
- Rühling, A., Söderström, B. 1990. Changes in fruitbody production of mycorrhizal and litter decomposition macromycetes in heavy metal polluted coniferous forests in North Sweden. *Water Air Soil Pollut.* 49:375-387.
- Seeger, R., Schweinshaut, P. 1981. Vorkommen von Caesium in höheren Pilzen. *Sci. Total Environ.* 19:41-49.
- Shetty, K.G., Banks, M.K., Hetrick, B.A., Schwab, A.P. 1994. Biological characterization of a southeast Kansas mining site. *Water Air Soil Pollut.* 78:169-177.

- Schüepp, H., Dehn, B., Sticher, D. 1987. Interaktionen zwischen VA-Mykorrhizen und Schwermetallbelastungen. *Angew Bot.* 61:85-95.
- Strojan, C.L. 1978. Forest leaf litter decomposition in the vicinity of a zinc smelter. *Oecologia* 32:203-212.
- Tam, P.C.F. 1995. Heavy metal tolerance by ectomycorrhizal fungi and metal amelioration by *Pisolithus tinctorius*. *Mycorrhiza* 5:181-188.
- Turnau, K., Kottke, I., Oberwinkler, F. 1993. Localization of toxic elements in mycorrhizal roots of *Pteridium aquilinum* collected from dust treated experimental plots. *New Phytol.* 123:313-324.
- Turnau, K., Dexheimer, J., Botton, B. 1994. Element distribution in *Pisolithus tinctorius* mycelium treated with cadmium dust. *Ann. Bot.* 74:137-142.
- Turnau, K., Kottke, I., Dexheimer, J. 1996. Toxic element filtering in *Rhizopogon roseolus*/*Pinus sylvestris* mycorrhizas collected from calamine dumps. *Mycol. Res.* 100:16-22.
- Tyler, G. 1974. Heavy metal pollution and soil enzymatic activity. *Plant Soil* 41:303-311.
- Tyler, G. 1975. Heavy metal pollution and mineralisation of nitrogen in forest soils. *Nature* 255:701-702.
- Weissenhorn, I., Leyval, C., Berthelin, J. 1993. Cd-tolerant arbuscular mycorrhizal (AM) fungi from heavy-metal polluted soils. *Plant Soil* 157:247-256.
- Weissenhorn, I., Glashoff, A., Leyval, C., Berthelin, J. 1994. Differential tolerance to Cd and Zn of arbuscular mycorrhizal (AM) fungal spores isolated from heavy metal-polluted and unpolluted soils. *Plant Soil* 167:189-196.
- Weissenhorn, I., Mench, M., Leyval, C. 1995a. Bioavailability of heavy metals and arbuscular mycorrhiza in a sewage sludge amended sandy soil. *Soil Biol. Biochem.* 27:287-296.
- Weissenhorn, I., Leyval, C., Belgy, G., Berthelin, J. 1995b. Arbuscular mycorrhizal contribution to heavy metal uptake by maize (*Zea mays* L.) in pot culture with contaminated soil. *Mycorrhiza* 5:245-251.
- White, C. Sharman, A.K., Gadd, G.M. 1998. An integrated microbial process for the bioremediation of soil contaminated with toxic metals. *Nature Biotech.* 16:572-573.
- Wilkins, D.A. 1991. The influence of sheathing (ecto-) mycorrhizas of trees on the uptake and toxicity of metals. *Agric. Ecosyst. Environ.* 35:245-260.
- Wilkinson, D.M., Dickinson, N.M. 1995. Metal resistance in trees: the role of mycorrhizae. *Oikos* 72:298-300.
- Willenborg, A., Schmitz, D., Lelley, J. 1990. Effects of environmental stress factors on ectomycorrhizal fungi in vitro. *Can. J. Bot.* 68:1741-1746.
- 山本広基, 達山和紀, 江川宏, 古田敏行 1981. 銅汚染土壤中の微生物相. *土肥誌* 52:119-124.
- Zak, J.C., Parkinson, D. 1982. Initial vesicular-arbuscular mycorrhizal development of slender wheatgrass on two amended mine spoils. *Can. J. Bot.* 60:2241-2248.