

令和 5 年 6 月 19 日現在

機関番号：15101

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2020～2022

課題番号：20K06126

研究課題名（和文）根部内生微生物群集の形成プロセスを介した乾燥地植物の適応度向上に関する研究

研究課題名（英文）Research on improvement of dry land plant fitness by root endophytic microbial community assembly process

研究代表者

谷口 武士（TANIGUCHI, Takeshi）

鳥取大学・乾燥地研究センター・准教授

研究者番号：10524275

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,400,000円

研究成果の概要（和文）：アメリカ、カリフォルニア州のコロラド砂漠で生育する植物の根に共生する微生物群集と機能について調査を行った。砂漠植物の根への微生物の感染は季節や機能性と関係しており、冬は窒素固定細菌、そして夏はアーバスキュラー菌根菌の感染が促進されていた。また、砂漠植物の成長は土壌含水率5%でも微生物の存在によって促進されており、乾燥条件下でも微生物が重要であることが示された。葉の代謝物やイオンを調べたところ、湿潤、乾燥条件下で違いが認められ、これは微生物群集にも影響する一方で、微生物群集による影響を受けていると考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

植物の根に共生する微生物は植物の生育や土壌形成に重要であるが、その乾燥ストレス条件下での重要性と機能については不明な点が多かった。また、実際のフィールドにおける農業や環境修復に微生物を用いる際、実験室で得られるような効果を得られないケースも多い。本研究では、根の部位別に乾燥、および湿潤条件下で植物の成長と関与する微生物機能に着目することで、乾燥条件下でも微生物機能は重要であること、そして季節ごとに植物と共生する有用微生物は異なることを明らかにした。この知見は、季節による環境の変化を考慮した複数種の微生物利用によって、フィールドでの微生物の効果が高まることを示すものである。

研究成果の概要（英文）：The microbial community and function of symbiotic microbial communities on the roots of plants growing in the Colorado Desert, California, USA, were investigated. Microbial infection of desert plant roots was related to season and functionality, with nitrogen-fixing bacteria in winter and arbuscular mycorrhizal fungi promoted in summer. Growth of desert plants was also promoted by the presence of microorganisms even at 5% soil moisture content, indicating that microorganisms are important even under arid conditions. Leaf metabolites and ions were examined and differences were observed under wet and dry conditions, suggesting that these were influenced by the microbial community while also affecting the microbial community.

研究分野：微生物生態学

キーワード：Nitrogen-fixing bacteria Mycorrhizal fungi Drought Metagenome Drylands Desert plant Metabolome Ionome

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

1. 研究開始当初の背景

乾燥地は水や養分が制限された厳しいストレス環境であるが、この乾燥地においても土壌中には様々な微生物が存在し、物質循環などの重要な生態系機能を果たしている。一部の土壌微生物は、植物根内でも生息しており、このような微生物を「根内生微生物」と呼んでいる。細菌（内生細菌）と菌類（内生菌）の両方がこの根内生微生物として普遍的に植物根に存在し、植物に養水分吸収、耐乾性、耐塩性、耐病性向上などの利益をもたらす。

上記の植物への微生物機能は根に感染する微生物種やその集合である微生物群集によって異なる (e.g. van der Heijden et al., 1998 Nature)。従って、この微生物群集の変化と微生物機能を結びつけることは、微生物が関与する生態系プロセスや機能の理解に非常に重要である。近年、次世代シーケンサーを用いたメタゲノム解析によって、野外における根内生微生物群集に関する情報が蓄積されてきている。しかしながら、微生物機能に関する研究には多大な労力を要するため、窒素循環などの一部の微生物機能を除くと、微生物群集と機能を結びつけた研究は限られている。この限られた報告の中で、乾燥条件下では乾燥ストレスに対する植物の適応性を向上させる土壌細菌群集が形成されることが報告されている (Lau and Lennon, 2012 PNAS; Marasco et al., 2012 PLOS ONE)。このメカニズムとして、乾燥した土壌環境に適応的な微生物群集が形成され、これが根圏土壌や根内で機能した可能性が考えられる。この環境への適応性による微生物群集形成に加えて、宿主植物による制御も根圏微生物群集形成に寄与する (Kiers et al., 2011 Science; Fuchslueger et al., 2014 New Phytol) (図 1)。しかしながら、菌根菌を除いた内生菌や内生細菌などの乾燥地でも植物への重要性が高い根内生微生物の群集形成に関する研究はほとんど行われていない。また、植物による直接的な微生物群集の制御は、植物の適応度を高める方向に進むことが予想されるが、この微生物群集の形成プロセスと微生物機能との関係は不明である。そこで本研究では、「根内生微生物群集の形成プロセスは乾燥地植物の適応度向上に寄与しているのか？」という学術的問いを設定した。

2. 研究の目的

厳しいストレス環境である乾燥地においても植物根内には微生物が存在し、植物の環境への適応性向上に寄与している。この植物の適応性向上メカニズムの解明は、乾燥地生態系の理解や環境修復の観点から、基礎的、そして応用への橋渡しとなる知見として重要である。本研究では、乾燥地植物の根内生微生物群集の形成プロセスとして、微生物の水分環境への適応性と宿主植物による制御に着目し、「根内生微生物群集の形成プロセスは乾燥地植物の適応度向上に寄与しているのか？」について明らかにする。根内生微生物として、乾燥地でも重要性が高い内生細菌と内生菌を対象とし、環境への適応性と宿主植物に好適な機能性に基づく微生物の選抜が起こっているという仮定のもと、乾燥地では耐乾性に優れ、かつ植物への機能性に優れた微生物が環境と植物に選抜されて植物根内で優占し、乾燥地植物の個体適応度を向上させているという仮説の検証を目指した。

3. 研究の方法

本研究では、調査地であるアメリカ、カリフォルニア州にある Boyd Deep Canyon Desert Research Center における野外調査を行う予定であったが、コロナウイルスの影響で調査や土壌採取を行うことが困難であった。従って、過去に採取した植物・土壌サンプルを利用した分析とガラス室における育成実験を行うことで、根内生微生物群集の形成プロセスと乾燥地植物の適応度向上の関係を明らかにすることとした。

研究(1) コロラド砂漠における砂漠植物の根内生微生物群集とその機能

過去にコロラド砂漠で生育する植物 6 種の根から夏と冬に抽出した微生物 DNA を用いて、16S rDNA および ITS 領域を対象としたメタアンプリコン解析を実施した。これらのデータを用いて、微生物の植物への感染メカニズムと微生物機能の関係について、Sloan による中立モデルと微生物機能との関係について解析を行った。

研究(2) 砂漠での植物への土壌微生物の効果

過去に採取したアメリカのコロラド砂漠の土壌とここで生育するキク科植物 (*Encelia farinosa*) を用いて、乾燥条件 (土壌含水率 5%) のもと、土壌微生物を土壌希釈する処理区を設けた。具体的には採取土壌をオートクレーブ殺菌した土壌と混ぜることによって含まれる微生物量を 10 分の 1、1000 分の 1、100,000 分の 1、100,000,000 分の 1 に希釈した処理区を設け、それぞれの微生物希釈土壌で育成した植物の乾燥重量、葉の水分状態、炭素および窒素安定同位体比について調査を行った。また、GC-MS による葉の代謝物、およびイオノーム解析を行った。微生物の接種試験による厳密な微生物機能の検証を行うため、根圏土壌および根から細菌と菌類の分離培養を行った。

研究(3) 異なる水分条件下における砂漠植物の根内生微生物と根の代謝物解析

過去に調査地から採取した土壌を用いて、異なる水分条件下（土壌含水率 10%、土壌含水率 5%）でキク科植物、*Encelia farinosa* を 3 か月間育成し、根圏土壌、細根、そして主根のサンプリングを行った。また、植物の形質として、各器官別乾燥重量、葉の浸透圧、葉面積、葉の炭素および窒素安定同位体比、葉に含まれる元素分析、そして根の代謝物について調査を行った。細根については、細菌と真菌のメタアンプリコン解析を行った。

4. 研究成果

研究(1) コロラド砂漠における砂漠植物の根部内生微生物群集とその機能

乾燥する夏と湿潤な冬に優占する根内微生物について、DESeq2 による解析を行った (図 1)。

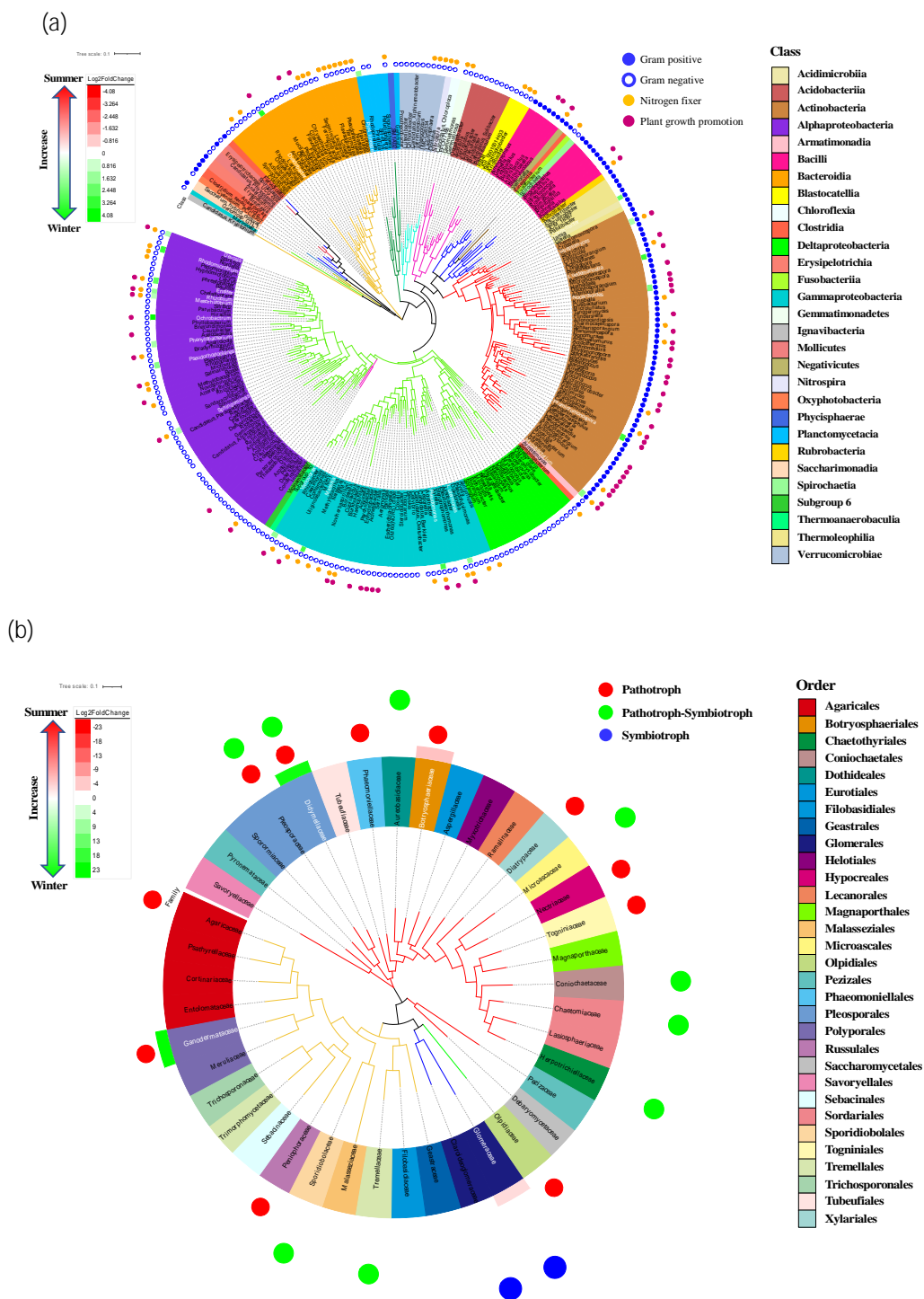


図 1 夏、あるいは冬に根で増加した (a) 細菌の属、および真菌の科 (b)

細菌はグラム染色、窒素固定、植物の成長促進、真菌は病害、病害 - 共生、共生の機能情報を系統樹まわりの丸で示している。

この結果、細菌では *Conexibacter*, *Devosia*, *Dyadobacter*, *Ensifer*, *Luedemannella*, *Luteimonas*, *Massilia*, *Mesorhizobium*, *Mycobacterium*, *Nocardioides*, *Ochrobactrum*, *Phenylobacterium*, Pir4 lineage in the family Pirellulaceae, *Promicromonospora*, *Pseudomonas*, *Pseudorhodoplanes*, *Rhizobium*,

Rhodocyclidium, *Sphingomonas*, *Streptomyces*, *Variovorax* が冬に増加し、夏に有意に増加する属は認められなかった。この増加を示した細菌には、窒素固定 (52%) および植物の成長促進細菌 (66.7%) が多く含まれていた。また、真菌については、Didymellaceae ($\log_2\text{FoldChange} = 21.96$, adjusted P value < 0.001) と Ganodermataceae ($\log_2\text{FoldChange} = 23.05$, adjusted P value < 0.001) は冬に増加した一方で、Botryosphaeriaceae ($\log_2\text{FoldChange} = -5.37$, adjusted P value = 0.027) と Glomeraceae ($\log_2\text{FoldChange} = -3.03$, adjusted P value = 0.027) は夏に増加した。Glomeraceae はアーバスキュラー菌根菌であり、夏にこの植物に有用な微生物の増加が確認された。

次に Sloan 中立モデルへの細菌および真菌の当てはまりを夏と冬のそれぞれにおいて評価した。また、中立モデルで説明できない OTU の機能性について解析を行った。細菌および真菌の結果を図 2、図 3 に示す。

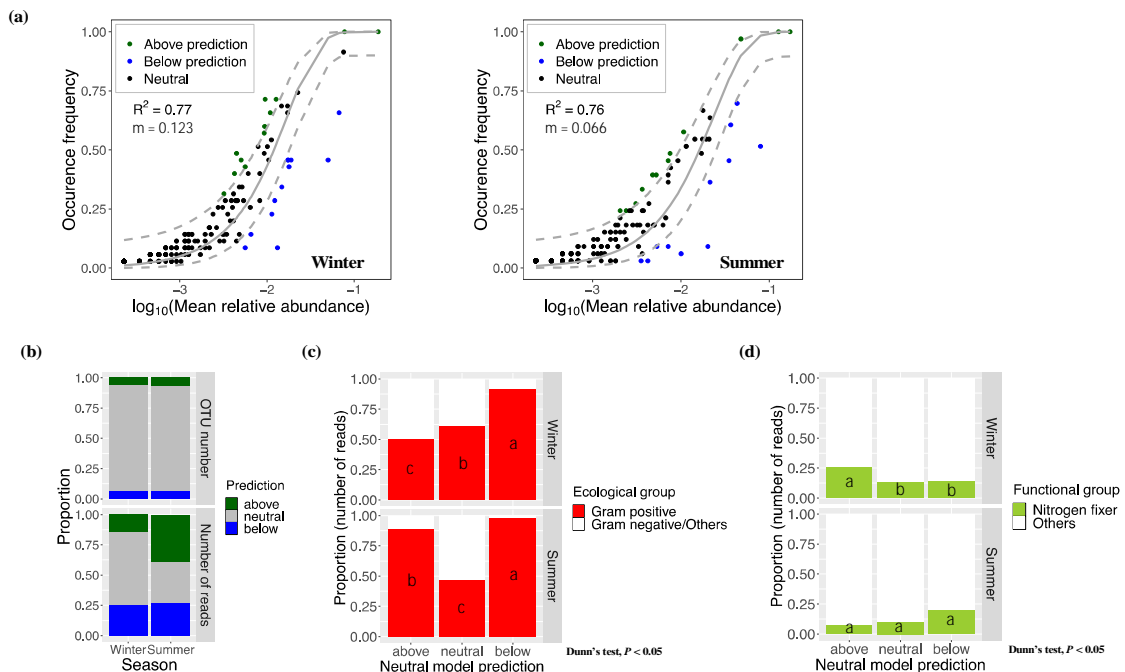


図 2 (a)細菌の中立モデルへの適合性と(c,d)モデルで予想される以上、モデルの予測範囲、モデルで予想される以下の出現頻度を示した OTU の機能性

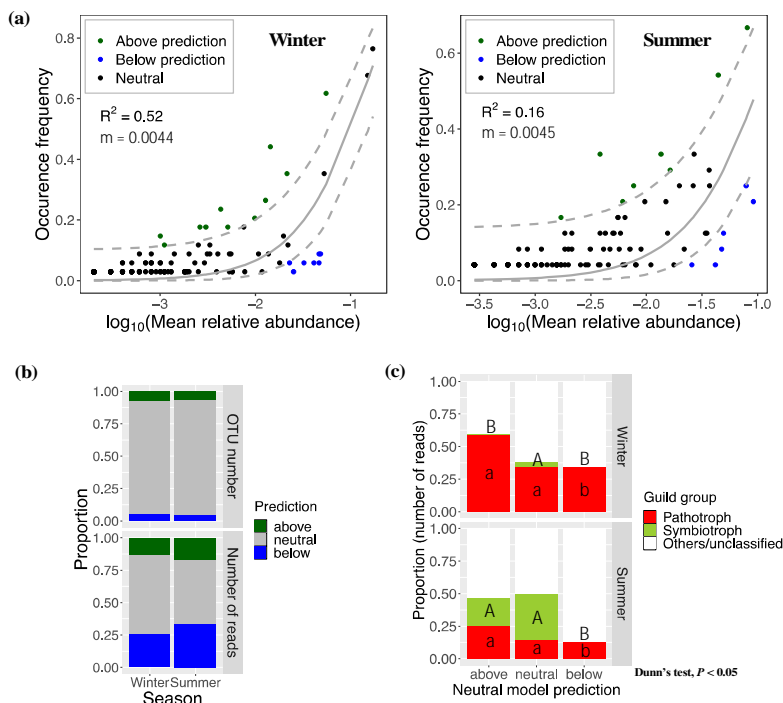


図 3 (a)真菌の中立モデルへの適合性と(c)モデルで予想される以上、モデルの予測範囲、モデルで予想される以下の出現頻度を示した OTU の機能性

細菌については、夏と冬ともに中立モデルへの適合性が高く ($R^2=0.77$ in winter, $R^2=0.76$ in summer)、量的に多い細菌が高い頻度で植物に感染することが確認された。一方で、中立モデル

での予想以上の感染を示した機能微生物について解析したところ、窒素固定細菌の感染は冬にモデルでの予想範囲および予想以下よりも高くなっており、窒素固定細菌と植物の相互作用が冬の感染に影響している可能性が示された。

真菌については、夏と冬の両方において中立モデルへの適合性が低く ($R^2=0.52$ in winter, $R^2=0.16$ in summer) 存在量だけでは根への感染を説明できないことが示された。機能性との関係では、夏に共生するアーバスキュラー菌根菌の感染がモデルで予想される以上、あるいは予想通りで予想以下よりも高く、夏に菌根菌と植物の相互作用が感染に影響している可能性が示された。

研究(2) 砂漠での植物への土壌微生物の効果

植物の乾燥重量は土壌希釈が低い、すなわち土壌微生物量が多い土壌で高い値を示し、10分の1希釈では100,000,000分の1希釈と比べて有意に高い乾燥重量が得られた。この結果は、乾燥地土壌でも微生物の存在は植物にプラスに作用していることを示している。また、地上部/地下部重量比と葉の全炭素は10分の1処理区で高い傾向にあった。イオノーム解析から、土壌微生物量の多い処理区では、少ない処理区と比べ、植物体中のリンが多いことが分かった。植物体中の窒素には差が認められなかったことから、本実験では土壌微生物が植物のリン吸収に重要であり、これが植物バイオマスの違いにも反映されていたと考えられた。

研究(3) 異なる水分条件下における砂漠植物の根部内生微生物と根の代謝物解析

乾燥条件下では、植物の乾燥重量、地上部/地下部重量比が減少するとともに葉の全炭素、全窒素、炭素安定同位体比が増加し、乾燥ストレスをかけた実験を行えたことが確認できた。また、土壌水分条件によって代謝物組成は有意に異なっており、乾燥条件下で増加、そして減少する根の代謝物が検出された。マレイン酸、フマル酸、リンゴ酸、トレオン酸、キシロースなどが減少する一方で、メレジットース、シトルリン、アスパラギン酸、トレオニン、イソロイシン、プロリン等の増加が認められた。イオノーム解析については、植物体中のリン、硫黄、カリウムは大きく変化しなかったものの、マンガン、コバルト、ニッケル、銅、鉄は土壌が乾燥した条件下で多く認められる傾向にあった。また、根の微生物のDNAを抽出し、16SrDNA および ITS 領域のメタアンプリコン解析を行った。今後、これらの微生物データと植物の生理生態情報を統合して、乾燥および湿潤条件下で重要な微生物とその機能に関する詳細を明らかにする予定である。

また、多くの細菌と真菌が分離培養されており、DNA のシーケンス解析から、Actinobacteria, Alphaproteobacteria, Bacii, Bacterioidetes, Betaproteobacteria, Gammaproteobacteria, Themoleophlia に属する多様な細菌を得ることができていた。ここには、調査地のコロラド砂漠における微生物ネットワークの中心であった *Streptomyces* 属細菌も数種類含まれていた。

研究期間全体を通して、新型コロナウイルスの影響で室内実験を中心とした研究内容への変更を余儀なくされたものの、根圏および根内の微生物群集と砂漠植物の生理生態的特性に関するデータを回収するとともに、過去のデータ解析によって、乾燥および湿潤条件下での微生物群集形成には微生物の機能特性が重要であることを見出すことができた。また、実験の遅れから、室内実験結果の詳細なデータ解析、および分離培養した微生物菌株を用いた接種実験を実施することができなかった。これらのデータ解析や微生物を用いた接種試験による植物—微生物間相互作用の理解は今後、進めていく予定である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計10件（うち査読付論文 10件／うち国際共著 7件／うちオープンアクセス 5件）

1. 著者名 Taniguchi Takeshi, Akaji Yasuaki, Yamato Masahide, Kusakabe Ryota, Goomaral Altansukh, Undarmaa Jamsran, Yamanaka Norikazu	4. 巻 136
2. 論文標題 Dominance of arbuscular mycorrhizal fungi is key for Mongolian steppe management under livestock grazing, as indicated by ecosystem multifunctionality	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Ecological Indicators	6. 最初と最後の頁 108686 ~ 108686
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ecolind.2022.108686	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 Kataoka Ryota, Akashi Mami, Taniguchi Takeshi, Kinose Yoshiyuki, Yaprak Ahmet, Turgay Oguz	4. 巻 22
2. 論文標題 Metabolomics Analyses Reveal Metabolites Affected by Plant Growth-Promoting Endophytic Bacteria in Roots of the Halophyte Mesembryanthemum crystallinum	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 11813 ~ 11813
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms222111813	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 Nakayama Masataka, Imamura Shihomi, Tatsumi Chikae, Taniguchi Takeshi, Tateno Ryunosuke	4. 巻 155
2. 論文標題 Microbial functions and soil nitrogen mineralisation processes in the soil of a cool temperate forest in northern Japan	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Biogeochemistry	6. 最初と最後の頁 359 ~ 379
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s10533-021-00830-7	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 Tatsumi Chikae, Taniguchi Takeshi, Hyodo Fujio, Du Sheng, Yamanaka Norikazu, Tateno Ryunosuke	4. 巻 12
2. 論文標題 Survival Rate, Chemical and Microbial Properties of Oak Seedlings Planted with or without Oak Forest Soils in a Black Locust Forest of a Dryland	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Forests	6. 最初と最後の頁 669 ~ 669
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/f12060669	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 Tatsumi Chikae, Taniguchi Takeshi, Du Sheng, Chen Qiuwen, Yamanaka Norikazu, Otsuki Kyoichi, Tateno Ryunosuke	4. 巻 110
2. 論文標題 Differences in the short-term responses of soil nitrogen and microbial dynamics to soil moisture variation in two adjacent dryland forests	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 European Journal of Soil Biology	6. 最初と最後の頁 103394 ~ 103394
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ejsobi.2022.103394	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 Nakahara Hiroki, Matsuzoe Naotaka, Taniguchi Takeshi, An Ping	4. 巻 17
2. 論文標題 Effect of Burkholderia sp. and Pseudomonas spp. inoculation on growth, yield, and absorption of inorganic components in tomato 'Micro-Tom' under salinity conditions	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Plant Interactions	6. 最初と最後の頁 277 ~ 289
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/17429145.2022.2035439	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 Akaji Yasuaki, Inoue Tomomi, Taniguchi Takeshi, Baba Shigeyuki	4. 巻 472
2. 論文標題 Arbuscular mycorrhizal fungal communities of a mangrove forest along a salinity gradient on Iriomote Island	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Plant and Soil	6. 最初と最後の頁 145 ~ 159
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s11104-021-05193-4	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 Tatsumi Chikae, Imada Shogo, Taniguchi Takeshi, Du Sheng, Yamanaka Norikazu, Tateno Ryunosuke	4. 巻 176
2. 論文標題 Soil prokaryotic community structure is determined by a plant-induced soil salinity gradient rather than other environmental parameters associated with plant presence in a saline grassland	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Arid Environments	6. 最初と最後の頁 104100 ~ 104100
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jaridenv.2020.104100	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 Tatsumi Chikae, Hyodo Fujio, Taniguchi Takeshi, Shi Weiyu, Koba Keisuke, Fukushima Keitaro, Du Sheng, Yamanaka Norikazu, Templer Pamela, Tateno Ryunosuke	4. 巻 11
2. 論文標題 Arbuscular Mycorrhizal Community in Roots and Nitrogen Uptake Patterns of Understory Trees Beneath Ectomycorrhizal and Non-ectomycorrhizal Overstory Trees	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Frontiers in Plant Science	6. 最初と最後の頁 583585 ~ 583585
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fpls.2020.583585	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 Taniguchi Takeshi, Yuzawa Toshiki, HuiPing Mao, Yamamoto Fukuju, Yamanaka Norikazu	4. 巻 163
2. 論文標題 Plantation soil inoculation combined with straw checkerboard barriers enhances ectomycorrhizal colonization and subsequent growth of nursery grown Pinus tabulaeformis seedlings in a dryland	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Ecological Engineering	6. 最初と最後の頁 106191 ~ 106191
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ecoleng.2021.106191	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

〔学会発表〕 計4件(うち招待講演 0件/うち国際学会 0件)

1. 発表者名 大上迪士・中山理智・横部智浩・谷口武士・館野隆之輔
2. 発表標題 冷温帯林の小集水域における渓流水質と渓流水中の微生物の関係
3. 学会等名 日本森林学会第133回大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 濱本亨・寺本宗正・Richa HU・谷口武士
2. 発表標題 鳥取砂丘の異なる植生に伴う土壌微生物群集の変化
3. 学会等名 日本生態学会第69回全国大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 赤路康朗・井上智美・高津文人・谷口武士
2. 発表標題 塩ストレスがヒルギ科マングローブ二種の菌根共生と養分吸収に及ぼす影響
3. 学会等名 日本生態学会第69回全国大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 赤路康朗, 井上智美, 谷口武士, 馬場繁幸
2. 発表標題 ニッチが異なるヒルギ科二種の菌根共生と細根形態様式
3. 学会等名 第68回日本生態学会大会
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 日本沙漠学会（分担執筆：谷口武士）	4. 発行年 2020年
2. 出版社 丸善出版	5. 総ページ数 534
3. 書名 沙漠学事典	

〔産業財産権〕

〔その他〕

<p>鳥取大学乾燥地研究センターホームページ https://www.alrc.tottori-u.ac.jp/japanese/ 個人研究紹介 http://www.alrc.tottori-u.ac.jp/staff303/biseibutu/lu_li.html Google scholar https://scholar.google.co.jp/citations?user=P-ofv2gAAAAJ&hl=ja&oi=ao 鳥取大学乾燥地研究センターホームページ https://www.alrc.tottori-u.ac.jp/japanese/</p>

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
--	---------------------------	-----------------------	----

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			
米国	University of California, Riverside			