

## 自己評価報告書

平成23年4月20日現在

機関番号：10101

研究種目：基盤研究(A)

研究期間：2008～2011

課題番号：20248033

研究課題名(和文) 根圏有機物シンク形成に連動する根圏生物複合系の高度負荷環境緩和機構の検証と利用

研究課題名(英文) Investigation for functionalities of rhizo-biocomplex to minimize highly adverse conditions in association with organic sink in the rhizosphere and its utilization in agricultural use

研究代表者

橋床 泰之 (Hashidoko Yasuyuki)

北海道大学・大学院農学研究院・教授

研究者番号：40281795

研究分野：環境農学

科研費の分科・細目：境界農学・環境農学

キーワード：窒素固定, 菌体外酵素, 生物的硝化抑制, 負荷環境緩和, コンソーシアム形成, 熱帯泥炭, シアノバクテリア, IAA 産生

## 1. 研究計画の概要

負荷土壌に対処する根圏生物複合系の機能性解明を目指して、酸性耐性糸状菌-窒素固定菌系、根面細菌-菌糸分岐誘導卵菌系、亜酸化窒素生細菌-樹木根系、外生菌根菌-単生窒素固定細菌系、アーバスキュラー菌根菌-植物根面菌系、多環式芳香族分解細菌コンソーシアム系、抗生物質産生菌-作物根圏等の根圏生物複合系の土壌環境負荷量の緩和能力を精査し、複合系の核をなす微生物がどのようにしてその複合系を維持・統御し、根面環境改善能を発揮するのかを明らかにする研究である。二者あるいは三者同盟系について、それぞれの菌相と機能を追跡し、何によってこの三者複合系が強酸性条件下での宿主植物の生育を亢進できるのかを解明する。また、根圏から得られた環境負荷耐性細菌群の各種菌体外高分子に着目し、これらが根圏有機物シンク形成と土壌負荷環境の緩和・改変にどのような役割を果たしているかを検討する。さらには、熱帯泥炭地での土壌からの窒素のロスを抑え込んでいる植物樹種の根滲出物が亜酸化窒素生成細菌の活動に及ぼす影響を見ている。

## 2. 研究の進捗状況

ソテツ根に含まれるジアシルグリセロールが、ソテツ・サンゴ状根を形成して窒素固定に関わるシアノバクテリア、*Nostoc punctiforme* 糸状体コロニーを運動性の連鎖体(ホルモゴニア)へ分化誘導することを発見した。これは一連の窒素飢餓反応を引き金とした、細胞膜内のフォスファチジルコリンから窒素ならびにリン酸の回収に伴うジ

アシルグリセロール蓄積とその表皮細胞の根表層からの脱落による、表皮周辺の *N. punctiforme* に対する初期共生誘導シグナルであると考えられる。また、マレーシア、サラワク州、ムカ近郊の塩性貧栄養性硬質粘土土壌に生育するニッパヤシが、その気道の発達した根内に窒素固定能の高い *Burkholderia vietnamiensis* を保持し、その分離株は sucrose を炭素源として非常に高いアセチレン還元を示すことを明らかにした。一方、熱帯泥炭土壌に自生する *Shorea balangeran* 幼木根から分離した細菌のうち、*Serratia* 属分離菌株1株がL-トリプトファンを極めて選択性良く IAA へ変換できること、また *Burkholderia* 属分離菌株ではポリフェノール存在下でインドールを効率よく分解し、そのヘテロ環芳香族窒素原子を利用できることを明らかにした。IAA は木質泥炭土壌という高負荷土壌での植物根の発達を促し、インドール分解は根面細菌の抗生物質耐性に重要な役割を果たすことから、これら細菌は幼木の泥炭適応戦略の一部を担うと考えられた。幾つかの根面細菌は周辺の細菌群集の増殖を促すが、この多様性の維持が病原性細菌の暴走を抑制し、根の物質循環を動かす駆動力として機能していることを、イネ根病原菌と拮抗菌との相互作用研究、あるいはアブラナ根の糸状菌拮抗菌の二次代謝シグナルの研究から明らかにできた。これらは亜酸化窒素生成細菌にも共通した機構であった。

## 3. 現在までの達成度

①当初の計画以上に進展している。

(理由) 根の根圏微生物の多様性が根圏の有機物シンクを高める部分は、多くの事例から疑いの余地がないほどに研究結果を蓄積できた。これには脱窒阻害や菌相多様化因子の特定、代謝系のトレードオフや藍藻分化誘導因子の特定など、画期的かつ基盤研究として極めて興味深い成果を含む。

#### 4. 今後の研究の推進方策

これまで積み重ねてきた極めて質の高い結果を、国際雑誌に投稿する。データの質は、RT-PCR の導入によって格段に高いレベルに達してきた。これまでのデータのうち、特にソテツのホルモゴニア誘導因子、ならびに根圏での亜酸化窒素抑制については、遺伝子発現レベルでの検証に取りかかる予定である。最終年度の初めにあたり、学術論文6報を現在投稿準備中である。

#### 5. 代表的な研究成果

(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5件)

1) Atiqur Rahman, Irnayuli R. Sitepu, Sui-Yan Tang, and Yasuyuki Hashidoko. Salkowski's reagent test as a primary screening index for functionalities of rhizobacteria isolated from wild dipterocarp saplings naturally growing on medium-strongly acidic tropical peat soil. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, 74 (11), 2202-2208 (2010). (査読有り)

2) Sui-Yan Tang, Shintaro Hara, Lulie Melling, Goh Ka Joo, and Yasuyuki Hashidoko. *Burkholderia vietnamiensis* isolated from root tissues of nipa palm (*Nypa fruticans*) in Sarawak, Malaysia, proved to be its major endophytic nitrogen-fixing bacterium. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, 74 (9), 1972-1975 (2010). (査読有り)

3) Abhinandan Deora, Yasuyuki Hashidoko and Satoshi Tahara. Antagonistic effects of *Pseudomonas jessenii* against *Pythium aphanidermatum*: Morphological, ultrastructural and cytochemical aspects. *Journal of Basic Microbiology*, 48, 71-81 (2008). (査読有り)

4) Yasuyuki Hashidoko, Fumiaki Takakai, Yo Toma, Untung Darung, Lulie Melling, Satoshi Tahara, and Ryusuke Hatano. Emergence and behaviors of acid-tolerant

*Janthinobacterium* sp. that evolves N<sub>2</sub>O from deforested tropical peatland. *Soil Biology and Biochemistry*, 40, 116-125 (2008). (査読有り)

5) Ryosuke Tamura, Yasuyuki Hashidoko, Noriko Ogita, Suwido H. Limin and Satoshi Tahara. Requirement for particular seed-borne fungi for seed germination and seedling growth of *Xyris complanata*, a pioneer monocot in top soil-lost tropical peatland in Central Kalimantan, Indonesia. *Ecological Research*, 23 (3), 573-579 (2008). (査読有り)

[学会発表] (計5件)

1. ソテツと *Nostoc* sp. の共生によるソテツ・サンゴ状根形成に関わるシグナル物質の検索. 田中慎人, 嵯浜 靖子, 橋床 泰之. 第45回植物化学調節学会年次大会, 2010年11月1-2日(神戸, 神戸大学百年記念会館)

2. ニッパヤシ根圏に生息する *Burkholderia* 属細菌群の系統分析とそれらの窒素固定能の検定. 橋床 泰之, Sui-Yan Tang, Lulie Melling, Kah-Joo Goh. 日本土壌肥料学会大会, (札幌, 北大農学部), 2010年9月7日(口頭発表6-5)

3. Genetic analysis of active N<sub>2</sub>O-emitting bacteria from tropical peat soils for their nitrous oxide reductase gene. Y. Hashidoko, H. Takeda, U. Darung, L. Melling, and R. Hatano. 19th The World Congress of Soil Science. 4-8 August 2010, Brisbane Convention and Exhibition Centre, Brisbane, Australia (Poster).

4. Peroxynitrite scavenging activity of betalains isolated from beetroot and its reaction products. Makiko Maeda, Yasuko Sakihama, Yasuyuki Hashidoko. *Plant Biology* 2009, July 18-22, (Hawaii Convention Center, Honolulu), P60039

5. Preliminary structure determination of water insoluble polysaccharide extracted from soil bacteria. J. Wongchawalit, Y. Hashidoko, M. Okuyama, H. Mori, S. Chiba, A. Kimura. 8th Carbohydrate Bioengineering Meeting, May 10-13, 2009 (Ischia, Italy).

[図書] (計0件)

[産業財産権]

○出願状況 (計0件)