

令和 2 年 6 月 12 日現在

機関番号：12601

研究種目：挑戦的研究(萌芽)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K19220

研究課題名(和文) 数理モデリングとの連携による開放系土壌に導入した微生物の生残性向上法の探索

研究課題名(英文) Exploring a way to increase the survival ratio of inoculated microorganisms in open soil system in corporation with mathematical modelings

研究代表者

大塚 重人(OTSUKA, Shigeto)

東京大学・大学院農学生命科学研究科(農学部)・准教授

研究者番号：10313074

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 5,000,000円

研究成果の概要(和文)：有用細菌を共接種細菌とあわせて開放系土壌に接種し、有用細菌の生残性を高める目的で研究を開始した。しかし、ネットワーク解析の結果に基づいて手法を変更し、低分子有機物を土壌に添加することにより、特定の土壌細菌の存在割合を増大させることに成功した。これにより、ランクサイズ分布に基づく群集構造の頑健性を維持したまま微生物群集機能を制御するための基礎的知見が得られた。添加する有機物と微生物機能の変化との関係は継続して調査中であるが、これまでに、植物根分泌物成分の添加により、微生物による土壌のリサイクルが高まる結果が得られている。

研究成果の学術的意義や社会的意義

開放系土壌における微生物機能の制御は困難であり、有用な微生物を土壌に投入しても生残せず、また機能を十分に発揮しないと考えられている。本研究では、土壌に微生物を投入するのではなく、元々生息している微生物の機能を制御できる可能性を見出した点で、応用的な意義が大きい。また、ありふれた低分子有機物の添加だけで土壌中の微生物群集構造やその群集機能を変化させられること、また、変化の仕方に数理的特異性が認められた点は、新たな研究分野の開拓につながる学術的意義を有している。

研究成果の概要(英文)：The original purpose of this study was to extend the survival time of a beneficial bacterium in an open soil system by inoculation with another "partner bacterium". But based on the results from network analyses, I changed the strategy and succeeded in increasing the proportion of particular soil bacteria in the community by amending low molecular organic matters into soil. By this, basic knowledge was obtained to control microbial community function with the robustness of the community structure being maintained based on the rank-size abundance. The relationship between an amended compound and the functional change is still under investigation, but so far I obtained a result that the amendment of a kind of plant root exudate compound into soil enhances the phosphorus circulation in soil driven by microorganisms.

研究分野：土壌微生物学

キーワード：土壌微生物 開放系土壌 微生物群集構造 微生物群集機能 制御 数理的特性

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

農地や汚染土壌における有用微生物の利用は低環境負荷な持続的農業や環境修復にとって潜在的に重要な技術である。東南アジアや南アジアの国々では、低コストの持続的農業を実現するために、リン可給化細菌、植物成長ホルモン生産細菌、自由生活型窒素固定細菌などの微生物の農地への導入研究が盛んに行われている。また、わが国の環境省と経済産業省は、「微生物によるバイオレメディエーション利用指針」を策定し、土壌微生物の働きを利用して土壌の汚染浄化を図るバイオレメディエーション技術を、将来の主要技術の一つと位置付けている。しかし、土壌微生物の群集構造(分類組成)は非常に頑健であることが示されており、導入した有用微生物が土着の微生物との競合に敗れ効果を発揮しづらいことが指摘されている。そこで、導入した微生物の生残性を高める技術や、開放系土壌における微生物群集の制御が重要となるが、開放系の土壌で特定の微生物の機能を高めることは、未だに困難な課題である。

もし、微生物の群集構造の微妙な変化の中から特定のパターンを抽出したり、それに基づいて群集における微生物の生残状況をシミュレーションしたりできれば、ある微生物の土壌における生残性を向上させたり、特定の微生物の存在割合を高められたりする可能性が期待される。しかしこのような詳細な分析は、現在我々が利用できる既往の統計ソフトウェアに群集構造のデータを放り込むだけでは実現できない。

数理生態学は、生態系の動態や統計的性質を数式によって取り扱うことによって、その現象の背後に隠れた法則性を明らかにするものである。これまで、マクロな生態系において数理生態学は一定の成果を取ってきたが、微生物生態への取り組みは非常に少なかった。土壌微生物の動態は複雑すぎるため、妥当な数理モデルを構築することはより困難だと考えられがちである。しかし、一個体の細菌の詳細な振る舞いの予測は困難だとしても、非常に多くの個体からなる土壌の細菌集団について何らかの平均値的な法則を見出すことは可能であると期待される。

2. 研究の目的

上記の背景のもと、本研究では、ネットワーク解析を用い、有用細菌と共接種して有用細菌の生残性を高めることができる補助細菌を特定し、それらの共接種により、有用細菌の生残率を高めることを第一の目的とした。さらに、土壌微生物の群集構造の数理的な特性を解析することにより、微生物群集構造に隠れた法則を明らかにし、群集機能を制御する方略の開拓も目指した。

3. 研究の方法

(1) 本研究では、代表的な土壌微生物として *Burkholderia* 属細菌を供試し、その生残性を高める手法の策定法を探った。すなわち、土着の *Burkholderia* 属細菌と相互作用が強い細菌分類群の候補の抽出を試みた。そのために、まず、土壌細菌群集構造の変動に見られる基本的なパターンを明らかにした。コントロール区に加え、数種の攪乱を与えた土壌区を用意し、8週間の培養を行った。2週ごとに土壌を分取、16S rRNA 遺伝子塩基配列の大量解読により、群集構造を解析した。攪乱に応じて群集構造はそれぞれ変化し、時間経過とともに回復・変化した。その際の各土壌細菌 OTU の増減を数値化し、ネットワーク解析を行って、*Burkholderia* 属細菌の増加に寄与すると考えられるパートナー的な細菌の選別を試みた。

(2) また、(1)の実験のデータを利用して、土壌に与えた攪乱が、土壌細菌群集構造をどのように変化させるのかを、分類組成解析、非計量多次元尺度解析、分類群構成割合の順位相関解析等によって精査した。

4. 研究成果

(1) ネットワーク解析により、特定の土壌で特定の条件下において、*Burkholderia* 属細菌の増加に連動して増加する細菌の存在が見出された(図1)。しかし、種類の異なる土壌において、また異なる条件を与えた場合においては、連動して増加する細菌も異なり、特定の細菌の挙動が *Burkholderia* 属細菌と連動するとは限らないことが示された。特定の土壌において特定の条件下でのみ *Burkholderia* 属細菌と相性の良い細菌を抽出しても研究の目的に合致しないと判断し、本実験(1)を中断した。そして、後述する実験で良い展開が得られたため、そのまま実験(1)を終了した。

(2) 実験(1)で行った土壌への攪乱の付与の中に、有機物や無機窒素化合物の添加があった。その時の土壌細菌群集構造の変化を解析した結果、ごく少量の低分子有機物の添加によって、土壌細菌群集

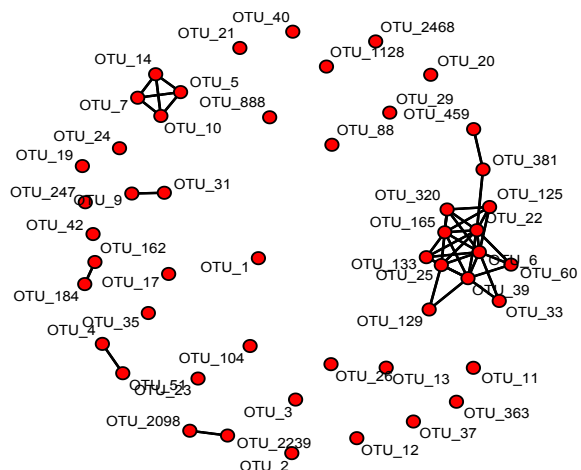


図1. 土壌細菌OTUの増減に基づくネットワーク解析結果の一例

を構成する一部の細菌のみの存在割合が急増し、種一菌数（ランクサイズアバンドランス）曲線が大きく乱れることが示された（図2）。またこの効果は添加してから数週間は持続することが明らかとなった。予測メタゲノム解析からは、この群集構造の変化により土壌微生物による物質循環機能に大きな変化は生じていないと推測された。

しかし、有機物の中でも、特にペクチンやガラクトuron酸の添加により増加した細菌が、データベース上の情報に基づきリン溶解能が高いと推測された（図3）。そこで、実際に土壌中のリンの形態と含量を測定したところ、これらの有機物の添加により、トルオーグ法で抽出される形態の土壌中無機態リンが減少し、代わりに微生物バイオマスリンが増加していることが示された。この結果は、上記の有機物添加により土壌の細菌群集構造が変化し、リン溶解能が高まり、無機態リンが減少してバイオマスリンに変換されたことを示唆している。さらに、有機物添加による群集構造変化が、添加後数週間以上を経ても容易に元に戻らず、効果が持続することも示された。

以上、本研究により、開放系土壌において微生物群集の機能を制御できる可能性が見出された。

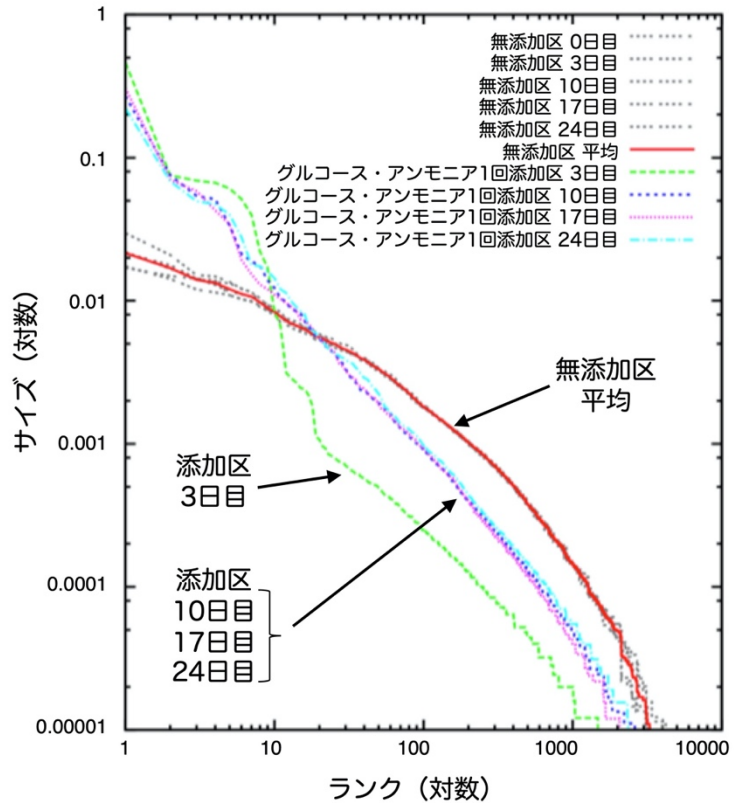


図2. 炭素源・窒素源添加区と無添加区（コントロール区）における土壌細菌群集のランクサイズ分布の比較（両対数グラフ）。

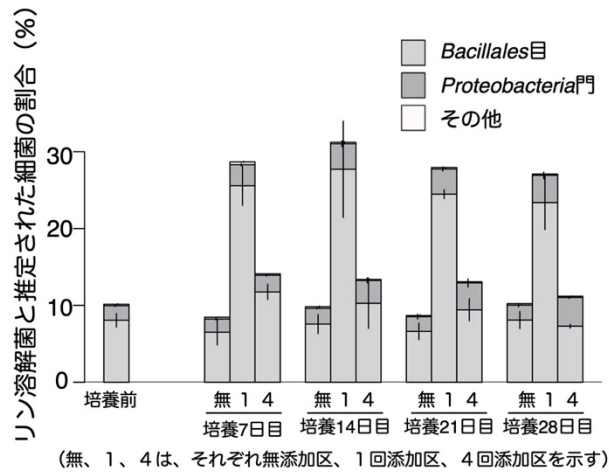


図3. 群集組成に占めるリン溶解菌と推定される細菌の割合

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔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 島田尚, 森野佳生, 美世一守, 大塚重人
2. 発表標題 土壌微生物群集構造の頑健性と可塑性II
3. 学会等名 日本物理学会第74回年次大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 島田尚, 森野佳生, 美世一守, 大塚重人
2. 発表標題 土壌微生物群集構造の頑健性と可塑性
3. 学会等名 日本物理学会（2017年秋季大会）
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 島田 尚, 美世一守, 大塚重人
2. 発表標題 土壌微生物の群集構造を数理で読み解く
3. 学会等名 日本微生物生態学会第33回山梨大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 小山友紀, 美世一守, 藤田一輝, 國頭 恭, 妹尾啓史, 大塚重人
2. 発表標題 植物根がペクチンを分泌する理由をめぐるもう一つのストーリー（微生物とリン循環の視点から）
3. 学会等名 日本土壌肥料学会2019年度静岡大会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

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
研究 分担 者	島田 尚 (SHIMADA Takashi) (90431791)	東京大学・大学院工学系研究科(工学部)・准教授 (12601)	