

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 4 年 6 月 16 日現在

機関番号：62611

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18H03413

研究課題名(和文) 急変する北極ツンドラ生態系における土壌微生物の多様性と機能・応答性の解明

研究課題名(英文) Diversity, function and response of soil microorganisms in a rapidly changing Arctic tundra ecosystem

研究代表者

内田 雅己 (Uchida, Masaki)

国立極地研究所・国際北極環境研究センター・准教授

研究者番号：70370096

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,660,000円

研究成果の概要(和文)：カナダ東側森林限界付近の地点(KW、北緯55度)から、ツンドラが優先する地点(PI、北緯72度)、および両地点の中程に位置する地点(SAL、北緯62度)の土壌細菌群集の多様性と機能について調査した。SALの土壌サンプルで最も高い微生物の多様性が確認された。細菌の群集構造は、SALとKWの2つのクラスターを形成したが、PIは明確な分離パターンを示さなかった。機能遺伝子については3地点で異なっていた。本研究結果は、それぞれの緯度に生育している細菌群集と機能遺伝子に地点間差が認められ、緯度勾配との関係性は示されなかったことから、環境変動への多様性と機能的応答は場所毎に異なる可能性を示した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

北極域ツンドラ生態系における土壌微生物の多様性や生態系における機能は未解明の部分が多く、学術的解明が急がれている。本研究は緯度の違いを利用して温度環境の異なるカナダ北極域で土壌微生物の多様性と機能について遺伝子の側面から明らかにした。

土壌細菌群集の多様性と機能については、温度環境との間に明瞭な関係は認められなかったことから、温暖化に対する土壌細菌群集の応答はそれぞれの場所により異なることが示唆され、生態系の保全方法に有益な情報を提供した。また、本研究実施のために解析した細菌群集のデータは、今後の温暖化などの環境変化によって細菌群集がどのように変化するかを知るための貴重な基礎データとなった。

研究成果の概要(英文)：Soil bacterial community diversity and function were investigated from a site near the eastern Canadian forest limit (KW, 55°N) to a site where tundra prevails (PI, 72°N) and a site midway between the two sites (SAL, 62°N). Bacterial communities at Sal were the most diverse and the least diverse in the KW. The bacteria community structure was the most distinct between Sal and KW. The functional gene contents involved in key biogeochemical cycles were different at the three sites. The results have shown that there were different bacterial communities thriving at each latitude. Additionally, the functional gene from the active fraction of the bacteria community also showed significant latitudinal differences and this includes some of the genes that are involved in the biogeochemical cycling. This shows that the response of bacterial community to the Arctic warming as well as their contribution to the biogeochemical cycle in the Arctic region are happening at a finer latitudinal scale.

研究分野：生態学

キーワード：極地

## 1. 研究開始当初の背景

近年、北極域では地球温暖化等の急激な環境変動に伴い、北極海の海氷やグリーンランド氷床は研究者の予測を上回る速度で減少している。北極海を取り巻くように分布している北極ツンドラ生態系においても、気温の上昇、氷河の後退、凍土の融解が進行している (IPCC, 2013)。その影響は生物にも現れており、森林の北進、ほ乳類や鳥類の分布や移動経路の変化などが報告されている (Meltotte, 2013)。上記に対して、土壤微生物は生態系において有機物分解を初めとして多岐に渡り重要な役割を担っているにも関わらず、サイズが小さく検出が困難なため、ほ乳類や鳥類、維管束植物などと比較すると生物多様性の情報は著しく少ない (Meltotte, 2013)。また、温暖化影響評価については、オープントップチャンバーなどを野外に設置して、温暖化に対する生物の応答の研究が盛んに実施されているが、オープントップチャンバーは風を遮るため、植物や土壌からの蒸発散については自然条件と大きく異なることや、長期的なモニタリングを必要とすることなどが指摘されている。土壤微生物は、世代交代が速いため、環境変動に伴いいち早く応答している可能性がある。実際、南極半島において温度と土壤微生物群集構造との関係を調査した結果、微生物種は温度に応答していることや、その応答は種間で異なることが報告されている (Newsham et al., 2015)。また、土壤微生物の中には、有機物を植物が利用可能な形態に無機化するものや、土壌中の無機塩類や水分などを植物に供給するもの、また、窒素固定するものなど植物の定着・成長に貢献する微生物が存在する。一方、土壤微生物の活動により温室効果ガスが大気中に放出され、温暖化に正のフィードバックを引き起こす可能性も指摘されている。このように土壤微生物は、多様な機能を持ち、生態系において重要な役割を担っている。しかしながら、土壤微生物がどのような代謝機能を担い、生態系の物質循環や構造・機能にどの程度関与しているのか、そして環境変動が土壤微生物に与える影響、さらにはそれらが環境に与える影響については、知見が著しく乏しい状況であった。

## 2. 研究の目的

本申請課題では、生物多様性の基礎データとしての土壤微生物の種多様性の把握、および生態系に及ぼす土壤微生物の潜在的および発現している機能をグローバル・ライントランセクトで調査することにより、広範囲な異なる緯度における土壤微生物の種多様性と機能の相違を明らかにする。さらに、グローバル・ライントランセクトで得られる温度環境等と土壤微生物の種多様性および生態系での役割との関係を明らかにすることを目的とした。

## 3. 研究の方法

カナダ東部の北緯 55 度 - 72 度の間に、3 地点 (クジュアラピック (Kuujuarapik-Whapmagoostui、亜北極、北緯 55 度)、サルイット (Salluit、低緯度北極、北緯 62 度)、ポンドインレット (Pond Inlet、高緯度北極、北緯 72 度) の調査地を設定した。各調査地における

試料の採取時期は生育期間（7 - 10月）に統一し、季節変化によって生じる微生物の種組成や発現のバイアスを極力抑えた。150 mのライントランゼクトを植生や環境の異なる場所に設定し、土壌試料はそれぞれのライントランゼクトからランダムに採取した。採取の際は、有機物層表面から約5cmの深さまでの土壌試料を採取したのち遺伝子保存溶液に入れ、遺伝子（DNA・RNA）の抽出まで冷凍保存した。各調査地につき、クジュアラピックは200点、サルイット225点、ポンドインレット216点の試料を採取した。加えて、土壌特性分析用の試料を採取し、土壌中の全炭素・全窒素、pH、可給態の窒素濃度を測定した。

土壌サンプルから遺伝子（DNA・RNA）抽出を行ったのち、微生物の分子系統の指標遺伝子領域をPCR法で増幅した。増幅された遺伝子領域は、国立極地研究所現有の次世代シーケンサー（Miseq、イルミナ）で解読した。得られた遺伝子配列解析パイプライン（QIIME2, DADA2）を用いて、遺伝子型による分類および遺伝子型の存在割合を明らかにした。これらをDNAデータベース（Silva, NCBI, UNITE等）に登録された既知の遺伝子配列と比較し、微生物種を特定した。多様性解析については、統計ソフトR（version3.5.1）を利用した。調査地内および調査地間におけるDNAとRNAの相違を解析したのち、サンプル間の類似度・非類似度を推定し、環境要因との関係の解析に用いた。土壌微生物群集の生態系における機能を解明するため、抽出したDNAおよびRNAをマイクロアレイ分析に供し、各調査地における土壌微生物の炭素、窒素、硫黄、リンなどの動態、エネルギー代謝、金属ホメオスタシス等に関与する約1500の機能遺伝子を保持しているのか確認した。

#### 4．研究成果

##### （1）遺伝子レベルにおける細菌の組成と多様性

土壌中の16S rRNA遺伝子を解析した結果、低緯度北極のサルイットで最も多様性が高く、亜北極クジュアラピックのサンプルで最も多様性が低かった（図1.A）。先行研究では低緯度北極と比較すると高緯度北極の方が細菌の多様性が高いという報告があったが、今回得られた結果では、緯度の高いポンドインレットよりも、低緯度北極のサルイットの多様性が高い結果となった。関連する環境勾配や人為的攪乱によって、多様性は変化する可能性が報告されていることから（Neufeld and Mohn, 2005）、今後調査事例を増やして微生物多様性の実態について解析を進める必要のあることが判明した。

主成分分析では2つのクラスターが確認された。1つのクラスターは低緯度北極のサルイット、もう一つは亜北極のクジュアラピックだった（図1.B）。これらの結果から、クジュアラピックとサルイットの細菌の群集構造（多様性）は異なっていることが考えられた。一方、高緯度北極にあるポンドインレットの細菌は明確なクラスターを構成せず、主成分分析で示されたクジュアラピックとサルイットに似た値をとっていたことから、それら2地点両方の群集構造に

近い可能性が示唆された。

3地点における細菌群集の主な違いを図2に示す。Acidobacteriia 綱、Actinobacteria 綱、Alphaproteobacteria 綱、Ktedonobacteria 綱および Phycisphaerae 綱の平均相対的存在量は、亜北極のクジュアラピックで最も低く、低緯度北極のサルイットで最も高かった。反対に、Blastocatellia 綱、Gammaproteobacteria 綱、Planctomycetacia 綱および Verrucomicrobia 綱は、クジュアラピックにおいて高い値を示した。これらの細菌群は、先行研究で示唆されているように、北極地域で典型的な分類群であった(Tas *et al.*, 2018)。しかしながら、上位10 綱の細菌の組成と存在量は、3地域で異なっていた。このことは、3地域における細菌群集の機能は異なる可能性があることを示唆した。そこで、GeoChip 5.0M マイクロアレイを用いて、これら3地点に存在するさまざまな機能遺伝子を検出した。

## (2) 微生物の機能遺伝子の組成と多様性

GeoChip 5.0M マイクロアレイを用いた機能的遺伝子シーケンシングのために、各サンプリング領域からランダムに選択した5つのサンプルから、遺伝子(DNA、RNA)を抽出した。検

出された機能遺伝子のほとんどは細菌に由来するが、真菌およびウイルスに由来する遺伝子も検出された。金属ホメオスタシス(Metal Homeostasis)とストレス(Stress)に関する機能遺伝子は、土壌サンプルから検出された主要な遺伝子だった(図3)。炭素循環(Carbon Cycling)、窒素(Nitrogen)、硫黄(Sulfur)、リン(Phosphorus)など生物地球化学的サイクルに関与する機能遺伝子も検出された。炭素動態に関する機能遺伝子の数は、窒素、硫黄およびリンの動態に関する機能遺伝子数よりも多かった(図3)。

遺伝子カテゴリーレベルで

は、DNA および RNA (cDNA) サンプルは、独自のクラスターを形成したクジュアラピック(KW)の3サンプルを除いて、サンプリング地点に関係なくそれぞれのクラスターを形成した。DNA に

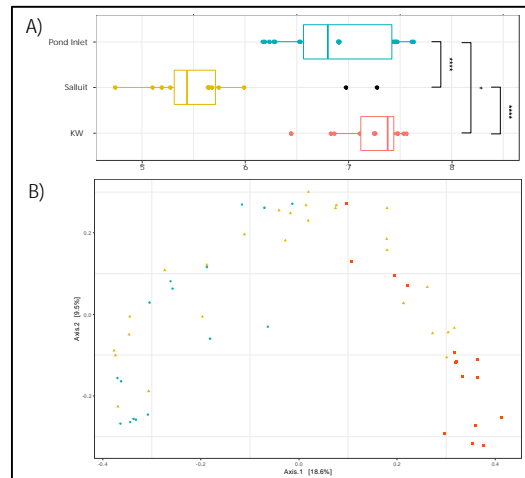


図1. A) 細菌のアンプリコンシーケンスレベルにおけるシャノン多様性指数。B) Bray-Curtis 非類似度指数に基づく細菌16S rRNA 遺伝子の ASV レベルでの主成分分析 (PCoA)。

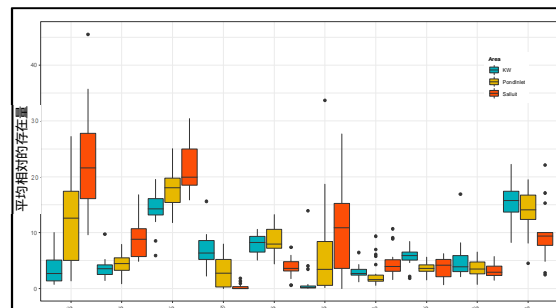


図2. クジュアラピック(KW)、サルイット(Salluit)、およびポンドインレット(Pond Inlet)から採取した土壌サンプルに含まれる土壌細菌群集。Class(綱)の分類学的レベルでの上位10の細菌群の平均相対存在量。

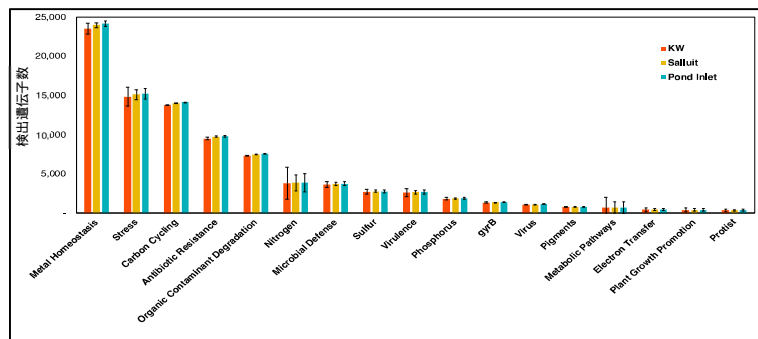


図3. Geochip 5.0M 機能遺伝子マイクロアレイを使用して、異なる遺伝子カテゴリーで検出された機能遺伝子の数。

よって形成された明確なクラスターはなかったが、RNA (cDNA) では3つの異なる地点にクラスターが認められた。要約すると、サルイットでの炭素循環に関与する RNA (cDNA) サンプルの遺伝子は、クジュアラピックの遺伝子よりも有意に低かった。一方、ポンドインレットにおける有機汚染物質の分解に関与する遺伝子は、クジュアラピックの遺伝子よりも有意に高かった。一方、ポンドインレットでの色素形成に関与する遺伝子は、クジュアラピックよりも有意に低かった。

本研究結果は、細菌群集はそれぞれの緯度で異なっていることを示した。さらに、実際に活性が認められる機能遺伝子も有意な地点間差を示した。これには生物地球化学的循環に関与する遺伝子の一部が含まれる。これらの結果は、北極圏の温暖化に対する細菌群集の応答と北極域の生物地球化学サイクルへの寄与がより細かい緯度スケールで起こり、温暖化における土壌細菌群集の変化は、それぞれの場所における細菌群集の変化として生じる可能性を示唆している。本研究で収集されたデータは、今後の温暖化における微生物群集の変化を明らかにする上で、貴重なベースラインデータとなるため、データジャーナルに公開した(Shu et al., 2021, 2022)。

#### 引用文献

- IPCC (2013) Climate Change 2013: The Physical Science Basis. Contribution of Working Group I to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change. Stocker TF, Qin D, Plattner G-K, Tignor M, Allen SK, et al, Cambridge, United Kingdom and New York, NY, USA: Cambridge University Press.
- Meltofte H (Ed.) Arctic Biodiversity Assessment: Status and Trends in Arctic Biodiversity; CAFF International Secretariat: Akureyri, Iceland, 2013; pp. 1-678.
- Neufeld JD, Mohn WW (2005) Unexpectedly high bacterial diversity in arctic tundra relative to boreal forest soils, revealed by serial analysis of ribosomal sequence tags. *Appl Environ Microbiol.* 71:5710-5718. doi: 10.1128/AEM.71.10.5710-5718.2005.
- Newsham K, Hopkins D, Carvalhais L, Fretwell, P, Rushton S O'Donnell A, Dennis P (2015) Relationship between soil fungal diversity and temperature in the maritime Antarctic. *Nature Climate Change.* 6. 10.1038/nclimate2806.
- Tas N, Prestat E, Wang S, Wu Y, Ulrich C, Kneafsey T, Tringe SG, Torn MS, Hubbard SS, Jansson JK (2018) Landscape topography structures the soil microbiome in arctic polygonal tundra. *Nat Commun* 9: 777-018-03089-z.
- Wong SK, Kaneko R, Masumoto S, Kitagawa R, Mori AS, Uchida M (2021) Soil microbial composition and diversity in the Low Arctic tundra of Salluit. *Polar Data Journal* 5: 54-59.
- Wong SK, Kaneko R, Masumoto S, Kitagawa R, Mori AS, Uchida M (2022) Functional gene composition of soil microbial communities across a latitudinal gradient in the Arctic region. *Polar Data Journal* 6: 1-8.

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 2件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Tsuji Masaharu, Tanabe Yukiko, Vincent Warwick F., Uchida Masaki	4. 巻 69
2. 論文標題 Vishniacozyma ellesmerensis sp. nov., a psychrophilic yeast isolated from a retreating glacier in the Canadian High Arctic	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology	6. 最初と最後の頁 696 ~ 700
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1099/ijsem.0.003206	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 Tsuji Masaharu, Tanabe Yukiko, Vincent Warwick F., Uchida Masaki	4. 巻 69
2. 論文標題 Mrakia hoshinonis sp. nov., a novel psychrophilic yeast isolated from a retreating glacier on Ellesmere Island in the Canadian High Arctic	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology	6. 最初と最後の頁 944 ~ 948
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1099/ijsem.0.003216	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 Shota Masumoto, Ryo Kitagawa, Keita Nishizawa, Ryo Kaneko, Takashi Osono, Motohiro Hasegawa, Yasuo Imura, Akira S. Mori, Masaki Uchida	4. 巻 5
2. 論文標題 Plant species and biomass, soil respiration, soil environment data on Whapmagoostui-Kuujuarapik, Quebec, Canada	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Polar Data Journal	6. 最初と最後の頁 80 ~ 88
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.20575/00000029	査読の有無 無
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 Shu-Kuan Wong, Ryo Kaneko, Shota Masumoto, Ryo Kitagawa, Akira S. Mori, Masaki Uchida	4. 巻 5
2. 論文標題 Soil Microbial Composition and Diversity in the Low Arctic Tundra of Salluit	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Polar Data Journal	6. 最初と最後の頁 54 ~ 59
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.20575/00000026	査読の有無 無
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 Masumoto Shota, Kitagawa Ryo, Nishizawa Keita, Kaneko Ryo, Osono Takashi, Hasegawa Motohiro, Matsuoka Shunsuke, Uchida Masaki, Mori Akira S	4. 巻 97
2. 論文標題 Functionally explicit partitioning of plant diversity reveal soil fungal assembly in the subarctic tundra	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 FEMS Microbiology Ecology	6. 最初と最後の頁 fiab129
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/femsec/fiab129	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 Shu-Kuan Wong, Ryo Kaneko, Shota Masumoto, Ryo Kitagawa, Akira S. Mori, Masaki Uchida	4. 巻 6
2. 論文標題 Functional Gene Composition of Soil Microbial Communities Across a Latitudinal Gradient in the Arctic Region	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Polar Data Journal	6. 最初と最後の頁 1~8
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.20575/00000034	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 -

[学会発表] 計10件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 10件)

1. 発表者名 Osono M., Matsuoka S., Doi H., Masumoto S., Kitagawa R., Nishizawa K., Tanaka K., Hasegawa M., Hobara S., Mori A., Uchida M.
2. 発表標題 Taxonomic, functional, and phylogenetic diversity of fungi in a forest-tundra ecotone in Quebec.
3. 学会等名 The 10th Symposium on Polar Science (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Uchida M., Kaneko R.
2. 発表標題 A preliminary study of microbial function in the soil at Canadian sub-Arctic.
3. 学会等名 The 10th Symposium on Polar Science (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Uchida M., Wong S.K., Kaneko R.
2. 発表標題 Soil microbial functions at the Canadian sub-Arctic.
3. 学会等名 Colloque annuel du CEN 2020 (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Matsuoka S., Doi H., Masumoto S., Kitagawa R., Nishizawa K., Tanaka K., Hasegawa M., Osono T., Hobara S., Mori A.S.
2. 発表標題 Fungal diversity in a forest-tundra ecotone in Canadian Low Arctic.
3. 学会等名 Sixth International Symposium on Arctic Research (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Masumoto, S., Kitagawa, R., Kaneko, R., Nishizawa, K., Iimura, Y., Osono, T., Hasegawa, M., Uchida M., Mori, A.S.
2. 発表標題 Effect of plant community structure on soil respiration of tundra ecosystem through multiple ecosystem functions in Canadian Arctic.
3. 学会等名 ArcticNet, Arctic Scientific Meeting 2018 (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Kitagawa, R., Kaneko, R., Hasegawa, M., Matsuoka, S., Masumoto, S., Nishizawa, K., Osono, T., Uchida, M., Mori, A.S.
2. 発表標題 Change in multi-taxa communities along an environmental gradient in the Canadian subarctic tundra.
3. 学会等名 ArcticNet, Arctic Scientific Meeting 2018 (国際学会)
4. 発表年 2018年



1 . 発表者名 Tsuji, M., Tanabe, Y., Vincent W.F., Uchida M.
2 . 発表標題 Fungal diversity on a retreating glacier area on Ellesmere Island in the Canadian High Arctic.
3 . 学会等名 The 9th Symposium on Polar Science ( 国際学会 )
4 . 発表年 2018年

1 . 発表者名 Kaneko, R., Kitagawa, R., Nishizawa, K., Mori, A.S., Masumoto, S., Uetake, J., Tsuji, M., Uchida, M.
2 . 発表標題 Soil bacterial communities and environments in the Canadian subarctic tundra.
3 . 学会等名 The 9th Symposium on Polar Science ( 国際学会 )
4 . 発表年 2018年

1 . 発表者名 Kaneko, R., Kitagawa, R., Nishizawa, K., Mori, A.S., Masumoto, S., Uetake, J., Tsuji, M., Uchida, M.
2 . 発表標題 Bacterial communities and diversities in tundra soils from Canadian Arctic.
3 . 学会等名 ArcticNet, Arctic Scientific Meeting 2018 ( 国際学会 )
4 . 発表年 2018年

1 . 発表者名 Osono, T., Tanaka K., Matsuoka S., Kitagawa R., Masumoto, S., Nishizawa, K., Hasegawa, M., Uchida, M., Mori, A.S.
2 . 発表標題 Assessment of fungal diversity on plant litter in a subarctic tundra.
3 . 学会等名 The 9th Symposium on Polar Science ( 国際学会 )
4 . 発表年 2018年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 Osono T., Matsuoka S., Hobara S., Hirose D., Uchida M.	4. 発行年 2019年
2. 出版社 CRC Press	5. 総ページ数 152
3. 書名 Diversity and Ecology of Fungi in Polar Region: Comparisons between Arctic and Antarctic Plant Remains.	

〔産業財産権〕

〔その他〕

<p>研究活動紹介  <a href="https://www.instagram.com/mu_arctic/">https://www.instagram.com/mu_arctic/</a>                  高緯度北極ツンドラ生態系に及ぼす気候変動の影響  <a href="https://www.researchinvalbard.no/project/6256">https://www.researchinvalbard.no/project/6256</a>                  国立極地研究所陸上生物研究チーム  <a href="http://polaris.nipr.ac.jp/~penguin/Terrestrial/index.php">http://polaris.nipr.ac.jp/~penguin/Terrestrial/index.php</a>                  リサーチマップ  <a href="https://researchmap.jp/m_uchida">https://researchmap.jp/m_uchida</a>                  北極圏ツンドラ  <a href="http://akkym.net/about/arctic/">http://akkym.net/about/arctic/</a></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
研究分担者	大園 享司 (Osono Takashi) (90335307)	同志社大学・理工学部・教授  (34310)	
研究分担者	森 章 (Mori Akira) (90505455)	横浜国立大学・大学院環境情報研究院・准教授  (12701)	

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1件

国際研究集会 Functions of the Arctic Tundra Ecosystem Under Rapid Environmental Change	開催年 2018年～2018年
---	--------------------

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