

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 9 日現在

機関番号：12101

研究種目：基盤研究(B)

研究期間：2012～2014

課題番号：24310003

研究課題名(和文)三宅島2000年噴火後の土壌微生物生態系回復過程の解析

研究課題名(英文) Analysis of pioneer microbial community and vegetation recovery in the volcanic deposits from the Miyake-jima 2000 eruption

研究代表者

太田 寛行(Ohta, Hiroyuki)

茨城大学・農学部・教授

研究者番号：80168947

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,500,000円

研究成果の概要(和文)：数多くの火山がある我が国では、火山噴火による生態系の破壊と回復のサイクルが繰り返えされてきた。その生態系回復過程の研究は、火山噴火に対する生態系の応答を明らかにする学術的な面だけでなく、火山噴火被害地域の復旧・復興に資する情報を提供するものである。本研究では、三宅島2000年噴火後に設定した調査地点の植生調査と火山灰堆積物の理化学分析と微生物分析によって、初成土壌生成、植生発達、土壌微生物群集の関係を明らかにした。特に、初成土壌に窒素と炭素を供給する役割を担う細菌相の遷移、植生の発達に対応して起こる土壌微生物の遷移とパイオニア植物根圏の微生物の遷移について、詳細に解明した。

研究成果の概要(英文)：Volcanic eruptions offer great opportunities for understanding of terrestrial ecosystem formation. In this study, we investigated the 2000 eruption-affected sites and analyzed the newly exposed volcanic substrates in the island of Miyake. Our results showed that iron-oxidizing chemolithoautotrophic bacteria were pioneer microbes and played an important role in the input of carbon and nitrogen from the atmosphere. We identified *Miscanthus condensatus* as a major pioneer plant after the 2000 eruption. The rhizosphere bacterial community of this plant was predominated by Beta- and Gammaproteobacteria and gradually replaced by Alphaproteobacteria and Actinobacteria in response to the increase in the plant cover percentage. *Bradyrhizobium*, *Rhizobium*, *Granulicella*, and *Arthrobacter* were assumed as key microbes in the pioneer plant colonization. In conclusion, our study revealed the relationships between soil formation, vegetation development, and microbial community structure.

研究分野：環境毒性化学

キーワード：土壌微生物 三宅島2000年噴火 植生遷移 エンドファイト リボソームRNA遺伝子 微生物遷移 荒廃地再生

1. 研究開始当初の背景

三宅島雄山 2000 年噴火の特徴は、世界でも類を見ない大量の火山ガス（主成分は二酸化硫黄）の放出が 10 年以上も継続したことであり、三宅島の森林全体の約 60% が被害を受けた。当研究代表者のグループは、植生については 2001 年から、土壤微生物については 2003 年から調査を開始し、以下のことを明らかにしてきた：(1)火山ガスの影響で植生が回復しない地点の火山灰堆積物の細菌群集を解析した結果では、鉄酸化細菌が主体となる化学合成無機栄養代謝が主要なエネルギー代謝系であり、通常の土壌とは全く異なる微生物生態系であった。(2)植生率が異なる 3 地点の火山灰堆積物を対象として、2009 年から始めた微生物群集構造分析では、3 地点試料で共通する細菌グループは限られており、地点試料特異的な細菌グループが大半を占める群集構造であることがわかった。このことから、火山灰堆積物の微生物群集形成では、地上部の植生に大きく影響されることが推察された。

2011 年 9 月の現地調査では、火山ガスの噴出量減少にともない火山ガスで抑えられていた植生回復が一気に進む段階に差し掛かっていると状況が観察され、2011 年以降は、地上部の変化に対応して地下部の微生物生態系も大きく変化することが推察された。したがって、この数年間の調査と分析によって、初成土壌生成の様態が明らかになることが期待された。

2. 研究の目的

数多くの火山がある我が国では、火山噴火による生態系の破壊と回復のサイクルが繰り返えされてきた。その生態系回復過程の研究は、火山噴火に対する生態系の応答を明らかにする学術的な面だけでなく、火山噴火被害地域の復旧・復興に資する情報を提供するものである。本研究は、これまでの研究をさらに発展させるものであり、新生火山灰から始まる土壌形成の初期過程における微生物の役割と植物-微生物間の相互作用を明らかにすることを目的とした。具体的には、以下の点の解明を目指した：(1)初成土壌生成と植生発達との関係を捉える。(2)植物の侵入にともない、OY 地点の堆積物細菌群集のなかで優勢であった鉄酸化細菌等のグループの種類構成と個体群密度がどのように変化したかを解析し、化学合成無機栄養代謝から従属栄養代謝へシフトする状況を捉える。また、窒素循環に関わる遺伝子群の種類構成を分析して、土壌形成初期における窒素循環を担う微生物群の遷移を明らかにする。(3)植物の侵入が起きた地点部位の根圏及び非根圏の土壤微生物群集構造を解析して、侵入植物

の生育と関係する微生物群を特定する。また、その後の植生変化と火山灰堆積物微生物群集の変化について解析し、植物-土壌微生物間の相互作用の様態を明らかにする。

3. 研究の方法

本研究は、三宅島内で、火山ガスの影響を強く受けてきた観測地点（OY 地点）と火山ガスの影響が比較的少なく、標高傾度に沿ってパッチ状の草本から低木林の段階に達する 3 観測地点（IG7、IG8、IG9 地点）について分析した。また、対照として、噴火の影響を受けなかった森林土壌（CL 地点）も併せて分析した。IG7、IG8、IG9 の 3 地点は三宅島西部、伊ヶ谷地区の同一尾根上に位置し、いずれも噴火直後には裸地となった地点である。2011 年時点の植生は、IG7 がパッチ状ハチジョウススキ草原、IG8 はハチジョウススキ草原、IG9 はオオバヤシャブシ林となっていた。分析項目は、植生調査、堆積物の化学分析、微生物群集解析、植物根共生系状菌の分析、呼吸活性の測定である。微生物群集解析では、従来の培養法と土壌 DNA を用いた 16S rRNA 遺伝子等のクローンライブラリー解析に加えて、メタゲノム解析を行い、火山噴火堆積物の微生物生態系の遺伝子全般について網羅的に解析した。また、植物共生系状菌の分析では、菌株を分離してコレクションを作り、有用菌株の選択を行った。

4. 研究成果

(1) 初成土壌生成と植生発達との関係

土壌断面

土壌断面形態は IG7 と IG8 地点試料では大きな変化は見られなかったが、植生が最も発達していた IG9 地点試料において 2007 年には見られなかった A 層が表層に見られ、この 4 年間で土壌生成が進んでいたことが明らかとなった。

水溶性陽イオン量・ SO_4^{2-} 量

IG7 と IG8 地点試料では、 Ca^{2+} が 13.83 ~ 16.07 cmolc kg⁻¹ 乾土と高い層位が見られ、 Ca^{2+} が集積していることがわかった。断面ごとに見るとどのイオンも堆積火山灰層で多く、埋没層では少ない結果となり、下層になるにつれて値は減少した。水溶性 SO_4^{2-} は、IG7 地点試料の C2d、C3 層、IG8 の C2dg、C4 層において 13.96 ~ 15.88 cmolc kg⁻¹ 乾土と、他の地点や層位に比べて非常に大きな値となり、これらの層に SO_4^{2-} が集積していることがわかった。

土壌微細形態

土壌薄片観察から、主たる微細構造は、IG7 地点試料が亜角塊状構造、IG8 地点試料が海綿状構造、IG9 が軟粒状構造であった(図 1)。また、IG8 と IG9 地点試料では、植物根やより分解の進んだ有機物が多く確認でき、さら

に 2007 年の試料の分析では確認できなかった土壌動物の排泄物が新たに確認された(図 2)。このことからこの 4 年間に土壌動物が侵入したということがわかった。これらの結果から、火山灰堆積地における A 層の生成には植生がある程度発達し、その後土壌動物が侵入することが必要であるということが示唆された。

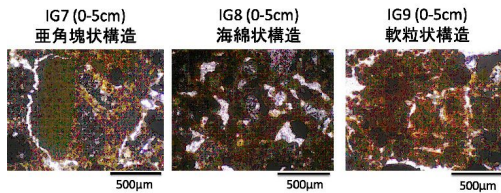


図 1 微細形態観察 (構造の比較)

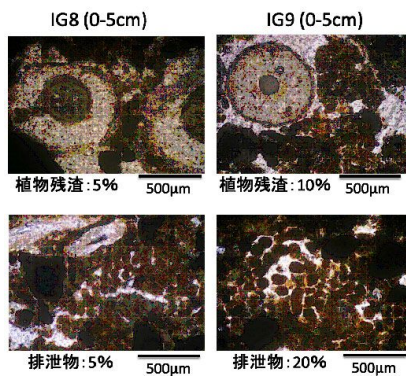


図 2 微細形態観察 (有機物とペドフィーチャーの比較)

IG7 地点試料では、有機物とペドフィーチャーは観察されなかった。

(2) 新生火山灰堆積物中での CO₂ 固定と窒素固定細菌の遷移

堆積後 3.5 年、6.6 年、9.5 年の火山灰堆積物の微生物生態系をメタゲノム解析した結果、火山灰堆積後 3.5 年では、鉄酸化細菌が大気中の炭酸ガスと窒素ガスを固定して増殖し、無機質な火山灰堆積物に有機物をもたらすパイオニア微生物であることを明らかにした。また、その CO₂ 固定代謝は、カルビン回路が主体で、還元的 TCA 回路が副的に働いていることが示された(図 3)。カルビン回路の代謝を担う主要な細菌は、*Acidithiobacillus ferrooxidans*、還元的 TCA 回路は *Leptospirillum ferrooxidans* が主要な担い手として同定された。火山灰堆積後 6.6 年と 9.5 年の試料では、これらの鉄酸化細菌の割合は漸次減少した。カルビン回路の主要な担い手は引き続き *A. ferrooxidans* であったが、還元的 TCA 回路では別種の *Leptospirillum* 属細菌が主要となった。一方、窒素固定遺伝子で見ると、鉄酸化細菌の割合は、火山灰堆積後 6.6 年の試料で大きく減少し、従属栄養性の様々な窒素固定細菌種の割合が増加した

(図 3)。OY 地点では、火山灰堆積後 9.5 年立っても植生の回復は見られなかったが、本研究によって、土壌微生物生態系は、鉄酸化細菌を主要とした無機独立栄養細菌のグループから様々な従属栄養細菌のグループに遷移していることが示された。

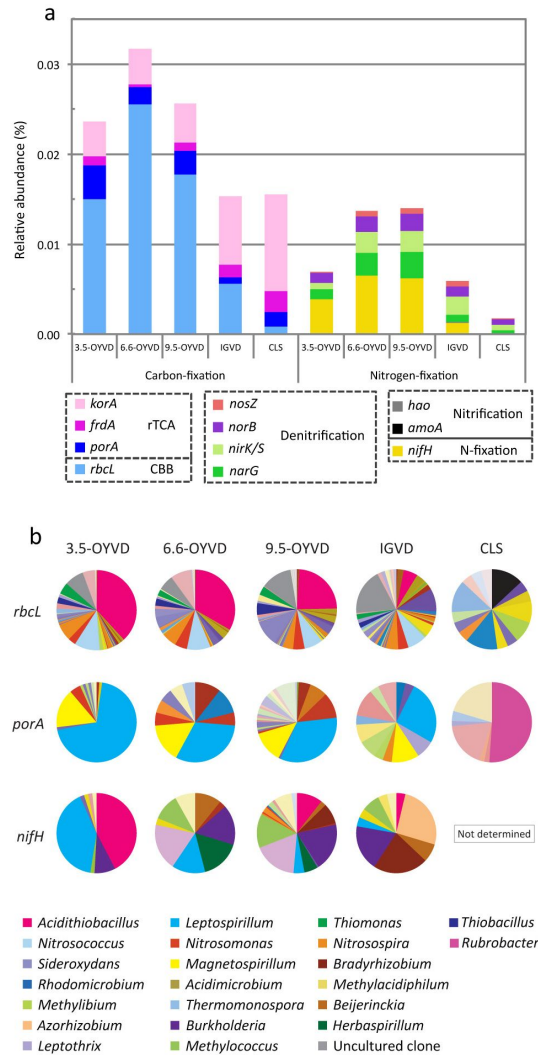


図 3 三宅島 2000 年噴火火山灰堆積物中の微生物生態系における CO₂ 固定と窒素固定に関わる遺伝子の動態: a, 遺伝子相対量の時間変化; b, 遺伝子由来菌種の解析

三宅島の 4 つの地点(OY、IG7、IG8、IG9)から火山灰堆積物から、植物と共生していることが報告されている Dark-septate endophytic fungi (DSE)の分離を試みた。その結果、分離頻度は 18 ~ 27% (OY, 27%; IG7, 18%; IG8, 23%; IG9, 20%) で、DSE の存在が示された。そのなかでも、DSE として一般的に見られる *Phialocephala* 属菌を始め、*Heteroconium* 属菌、新規 DSE の *Scolecobasidium* 属菌が潜在的に存在することがわかった。

(3) パイオニア植物根圏の微生物生態系 パイオニア植物であるハチジョウススキ

(*Miscanthus condensatus*)の根圏微生物を解析した結果、ハチジョウススキの植被率の増加にともない、*Betaproteobacteria* と *Gammaproteobacteria* の細菌から *Alphaproteobacteria* と *Actinobacteria* のグループにシフトすることが推察された。*Alphaproteobacteria* のなかでは、特に *Bradyrhizobium*、*Rhizobium* が正の相関を示し、*Actinobacteria* では *Arthrobacter* が特徴的であった。また、*Acidobacteria* の *Granulicella* も増加する傾向にあった。これらの結果より、初成土壌形成におけるパイオニア植物の出現に係わる微生物が特定されたと言える。

(4) IG9 地点での土壌生成と微生物群集構造の関係

前述したように、IG9 地点試料において 2007 年には見られなかった A 層が表層に見られ(図4) この4年間で土壌生成が進んでいたことが明らかとなった。そこで、各層位試料を採取し、細菌群集の構造解析(T-RFLP プロファイリング)を行った。その結果、土壌層位形成にともなって、細菌群集構造も大きく変化することが示唆された(図5)。

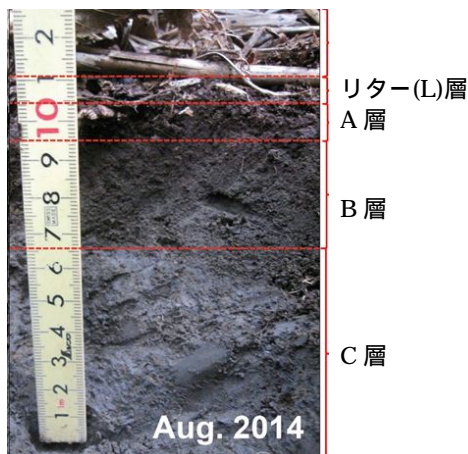


図4 IG9 地点の土壌断面(2014年8月)

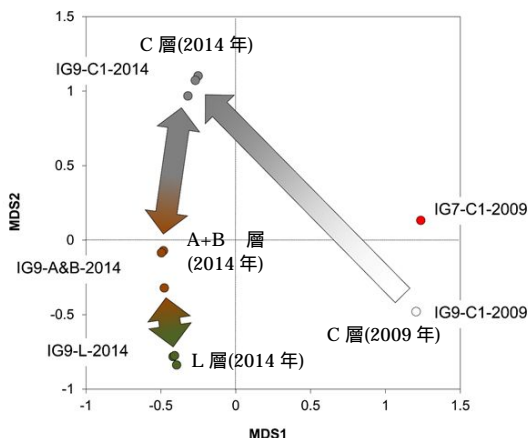


図5 IG9 地点の土壌断面試料の16S rRNA 遺伝子の T-RFLP プロファイルに基づく多次元尺度法解析

5. 主な発表論文等

(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3件)

太田寛行、『土壌細菌の分類および群集解析に関する研究』、日本土壌肥科学雑誌、85、393-396、2014、査読有

Yong Guo, Reiko Fujimura, Yoshinori Sato, Wataru Suda, Seok-won Kim, Kenshiro Oshima, Masahira Hattori, Takashi Kamijo, Kazuhiko Narisawa, Hiroyuki Ohta, “Characterization of Early Microbial Communities on Volcanic Deposits along a Vegetation Gradient in the Island of Miyake, Japan”, *Microbes and Environments*, 29, 38-49, 2013, 査読有

Reiko Fujimura, Yoshinori Sato, Tomoyasu Nishizawa, Kenshiro Oshima, Seok-Won Kim, Masahira Hattori, Takashi Kamijo, Hiroyuki Ohta, “Complete genome sequence of *Leptospirillum ferrooxidans* strain C2-3 isolated from fresh volcanic ash deposit on the island of Miyake, Japan”, *Journal of Bacteriology*, 194, 4122-4123, 2012, 査読有

〔学会発表〕(計26件)

太田寛行、『土壌を創る微生物の力 - 火山噴火後の環境再生』、日本土壌微生物学会 2015 年度大会・市民公開シンポジウム、2015. 5. 23、つくば国際会議場(茨城県・つくば市)。

太田寛行、西澤智康、『土壌生成プロセスにおける微生物の役割』、日本土壌微生物学会 2015 年度大会、2015. 5. 22、つくば国際会議場(茨城県・つくば市)。

上條隆志、『火山遷移に伴う森林発達と環境形成性』、日本生態学会第 62 回大会、2015. 3. 19、鹿児島大学(鹿児島県・鹿児島市)。

鷹野綾、田村憲司、上條隆志、川越みなみ、『三宅島2000年噴火火山灰堆積地における表層土壌の微細形態学的特徴』、ペドロジー学会2015年度大会、2015. 3. 15、筑波大学東京キャンパス(東京都・文京区)。

Yong Guo, Reiko Fujimura, Yoshinori Sato, Tomoyasu Nishizawa, Takashi Kamijo, Hiroyuki Ohta, “Change in rhizosphere microbial community of *Miscanthus condensatus*, a pioneer plant on recent Miyake-jima volcanic deposit, during the vegetation development”, 環境微生物系学会合同大会2014, 2014. 10. 22-23, アクオシティ浜松(静岡県・浜松市)。

Yong Guo, Reiko Fujimura, Yoshinori Sato, Tomoyasu Nishizawa, Takashi Kamijo, Hiroyuki Ohta, “Molecular analysis of microbial communities associated with roots

of pioneer grass *Miscanthus condensatus* at different colonization stages on recent Miyake-jima volcanic deposit”, 日本土壤肥料学会2014年度東京大会, 2014. 9. 10、東京農工大学 (東京都・小金井市)。

太田寛行, 『土壤細菌の分類および群集解析に関する研究』, 日本土壤肥料学会2014年度東京大会記念講演会, 2014. 9. 10、たましんTISURUホール(東京都・立川市)。

Hiroyuki Ohta, Reiko Fujimura, Momoko Sato, Yoshinori Sato, Tomoyasu Nishizawa, Takashi Kamijo, “Iron-oxidizing chemolithoautotrophy contributes to the input of C and N from the atmosphere to the early acidic volcanic environment in the Island of Miyake, Japan”, The 15th International Symposium on Microbial Ecology, 2014. 8. 26, ソウル (韓国)。

Yong Guo, Reiko Fujimura, Yoshinori Sato, Tomoyasu Nishizawa, Takashi Kamijo, Hiroyuki Ohta, “Bacterial and fungal communities associated with roots of a pioneer grass, *Miscanthus condensatus*, colonized the recent volcanic deposits in the Island of Miyake, Japan”, The 15th International Symposium on Microbial Ecology, 2014. 8. 26, ソウル (韓国)。

Hiroyuki Ohta, Reiko Fujimura, Yong Guo, Tomoyasu Nishizawa, Yoshinori Sato, “Microbial ecology in early soil development”, The 6th Korea-Japan-Taiwan International Symposium on Microbial Ecology, 2014. 8. 24, ソウル (韓国)。

Hiroyuki Ohta, Reiko Fujimura, Yong Guo, Yoshinori Sato, Tomoyasu Nishizawa, Wataru Suda, Seok-Won Kim, Kenshiro Oshima, Masahira Hattori, Takashi Kamijo, “Early microbial succession in recent unvegetated volcanic deposits of Miyake-jima Island, Japan”, 20th World Congress of Soil Science, 2014. 6. 13, 済州市 (韓国)。

Hiroyuki Ohta, Yong Guo, Reiko Fujimura, Yoshinori Sato, Takashi Kamijo, “Early microbial succession on volcanic deposits along a vegetation gradient in the Island of Miyake, Japan”, The 6th International Congress of East Asian Federation of Ecological Societies (EAFES), 2014. 4. 10, 海南省 (中国)。

Yong Guo, Reiko Fujimura, Yoshinori Sato, Tomoyasu Nishizawa, Takashi Kamijo, Hiroyuki Ohta, “Root-associated microbial diversity of a pioneer grass, *Miscanthus condensatus*, on the recent volcanic deposits in the Island of Miyake, Japan”, The 6th International Congress of East Asian Federation of Ecological Societies (EAFES), 2014. 4. 10, 海南省 (中国)。

太田寛行, 藤村玲子, 『三宅島噴火後の土壌微生物相変遷のメタゲノムの解析』, 農

業環境技術研究所30周年記念セミナー、2014. 3. 7、秋葉原コンベンションホール (東京都・千代田区)。

佐藤桃子, 藤村玲子, 佐藤嘉則, 上條隆志, 太田寛行, 『SIP (Stable Isotope Probing) 法を用いた三宅島火山灰堆積物における微生物群集構造の解析』, 第29回日本微生物生態学会大会, 2013. 11. 23-24、鹿児島大学 (鹿児島県・鹿児島市)。

Yong Guo, Reiko Fujimura, Ken Hosokawa, Momoko Sato, Yoshinori Sato, Tomoyasu Nishizawa, Takashi Kamijo, Hiroyuki Ohta, “Characterization of microbial communities associated with the pioneer plant *Miscanthus condensatus* colonized the fresh volcanic deposits in the Island of Miyake, Japan”, 第29回日本微生物生態学会大会, 2013. 11. 23-24、鹿児島大学 (鹿児島県・鹿児島市)。

白井絵里香, 太田寛行, 成澤才彦, 『三宅島における植生回復と菌類エンドファイトの関わりについて』, 第29回日本微生物生態学会大会, 2013. 11. 23-24、鹿児島大学 (鹿児島県・鹿児島市)。

Yong Guo, Reiko Fujimura, Yoshinori Sato, Wataru Suda, Kenshiro Oshima, Masahira Hattori, Takashi Kamijo, Hiroyuki Ohta, “Characterization of Early Soil Microbial Communities along an Elevational Transect from Unvegetated to Woody Site in the Island of Miyake, Japan”, 21st International Symposium on Environmental Biogeochemistry, 2013. 10. 13-18, 武汉市 (中国)。

Yong Guo, Reiko Fujimura, Yoshinori Sato, Wataru Suda, Kenshiro Oshima, Masahira Hattori, Takashi Kamijo, Hiroyuki Ohta, “Changes in microbial communities along vegetation transect on newly deposited volcanic ash in the Island of Miyake, Japan”, 日本土壤微生物学会2013年度大会, 2013. 6. 20, 東京農工大学 (東京都・府中市)。

⑳ 菅原優, 上條隆志, 吉田智弘, 黛絵美, 加藤和弘. 『三宅島2000年噴火後の植生発達と植物リター分解及び土壌動物相の関係』, 日本生態学会第60回大会, 2013. 3. 6、静岡県コンベンションアーツセンター (静岡県・静岡市)。

㉑ 鷹野綾, 田村憲司, 川越みなみ, 東亮太, 上條隆志, 『三宅島2000年噴火火山灰堆積地の初期土壌生成』, 日本生態学会第60回大会, 2013. 3. 6、静岡県コンベンションアーツセンター (静岡県・静岡市)。

㉒ 藤村玲子, 金錫元, 佐藤嘉則, 須田互, 西澤智康, 大島健志朗, 服部正平, 上條隆志, 太田寛行, 『メタゲノム解析から明らかにされた三宅島初成土壌微生物生態系の遷移』, 第28回日本微生物生態学会大会, 2012. 9. 20、豊橋技術科学大学 (愛知県・豊橋市)。

- ②③ 臼井絵里香、太田寛行、成澤才彦、『三宅島2000年噴火後の植生回復への菌類エンドファイトの関わりについて』、第28回日本微生物生態学会大会、2012. 9. 20、豊橋技術科学大学（愛知県・豊橋市）。
- ②④ Yong Guo, Reiko Fujimura, Yoshinori Sato, Wataru Suwata, Kenshiro Oshima, Masahira Hattori, Takashi Kamijo, Hiroyuki Ohta, “Effect of vegetation cover on bacterial diversity of volcanic deposits in Miyake-jima, Japan”, 日本土壌肥料学会2012年度鳥取大会, 2012. 9. 4, 鳥取大学(鳥取県・鳥取市)。
- ②⑤ Yong Guo, Reiko Fujimura, Yoshinori Sato, Kenshiro Oshima, Masahira Hattori, Takashi Kamijo, Hiroyuki Ohta, “Bacterial community of the fresh volcanic deposits on barren land, grassland, and woodland in the Island of Miyake, Japan, as revealed by pyrosequencing-based analysis of 16S rRNA genes”, 14th International Symposium on Microbial Ecology, 2012. 8. 21, コペンハーゲン（デンマーク）。
- ②⑥ Reiko Fujimura, Seok-Won Kim, Yoshinori Sato, Wataru Suda, Tomoyasu Nishizawa, Kenshiro Oshima, Masahira Hattori, Takashi Kamijo, Hiroyuki Ohta, “Metagenomic analysis of pioneer microbial community in young volcanic ash deposit on the island of Miyake, Japan” , 14th International Symposium on Microbial Ecology, 2012. 8. 21, コペンハーゲン（デンマーク）。

6 . 研究組織

(1)研究代表者

太田 寛行 (OHTA HIROYUKI)

茨城大学・農学部・教授

研究者番号：80168947

(2)研究分担者

成澤 才彦 (NARISAWA KAZUHIKO)

茨城大学・農学部・教授

研究者番号：90431650

上條 隆志 (KAMIJO TAKASHI)

筑波大学大学院・生命環境科学研究科・教授

研究者番号：10301079

(3)連携研究者

難波 謙二 (NANBA KENJI)

福島大学・共生システム理工学類・教授

研究者番号：70242162

(4)研究協力者

郭 永 (Yong Guo)

東京農工大学大学院・連合農学研究科・博士課程学生