

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 5 日現在

機関番号：15101

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2014

課題番号：24780151

研究課題名(和文) 乾燥ストレス条件下における植物の生存戦略と微生物共生特性の解明

研究課題名(英文) Study on the characteristics of the survival strategy and symbiotic microorganisms of plants under drought stress

研究代表者

谷口 武士(Taniguchi, Takeshi)

鳥取大学・乾燥地研究センター・助教

研究者番号：10524275

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：乾燥ストレス条件下で生育する植物の生存戦略と共生微生物との関係に関する知見を得るため、雨季および乾季の植物生理と植物根内微生物に関する調査を行った。また、乾季の水供給後の植物生理と土壌微生物に関する調査を行った。乾季の水供給後に微生物活性は著しく増加し、窒素固定や硝化に関わる微生物が増加した。土壌中の純硝化速度や純窒素無機化速度は水添加によって増加したが、*Larrea tridentata*の樹冠下ではアンモニア態窒素濃度は減少しており、これは植物の吸収によると考えられた。このことは夏の降雨は乾燥地で生育する植物にとって、水のみならず、窒素の供給にも重要なイベントであることを示唆している。

研究成果の概要(英文)：Plant physiology and root endophytic microorganisms were examined in rainy season and dry season to obtain knowledge about the relationship between mechanism of drought stress tolerance of plants and the symbiotic microorganisms. In order to examine the effect of summer rain, plant physiology and soil microbes after water addition in dry season were also examined. Microbial activity drastically increased after water addition. Increase in nitrogen-fixing bacteria and ammonia oxidizing bacteria were observed. Net nitrification rate and net nitrogen mineralization rate were increased after water addition, but ammonium nitrogen in soil were decreased under the canopy of *Larrea tridentata*, indicating that the nitrogen was absorbed by the plant. The result indicates that summer rain is important not only for plant water uptake but also nitrogen uptake.

研究分野：微生物生態学

キーワード：乾燥ストレス 共生微生物 窒素 菌根菌 メタゲノム解析 乾燥地 浸透圧調節物質

### 1. 研究開始当初の背景

近年、気候変動に伴う生物群集への様々な影響が観察されている (Walther et al., 2002)。この研究例として、気温上昇に伴って、植物群集の分布が高度や緯度に沿って変化することが示されている (Kelly & Goulden 2008 など)。乾燥地においても気温上昇や降水量や降水パターンの変化が観察されており、南西アメリカでは、優占する樹木や灌木の枯死や分布域の変化も認められている (Hamerlynck & McAuliffe 2008 など)。

乾燥地は水や養分が制限された生態系であるため、ここで生育する植物は様々なストレス耐性メカニズムを持って生きている。このストレス耐性を高めるメカニズムの一つとして、微生物との共生が考えられる。乾燥地で植物と共生する微生物として菌根菌がよく知られているが、菌根菌以外にも様々な細菌や菌類が植物根内に存在する。これらの微生物タイプ(菌根菌、内生菌、内生細菌)は、それぞれ異なるメカニズムで植物の生存、生育、ストレス耐性に寄与していると考えられる。気候変動による植生への影響が懸念される中、植生の回復や枯死メカニズムの解明のためにも、このような微生物機能を明らかにすることは急務であるが、菌根菌を含むこれらの微生物が乾燥地で生育する植物にどの程度、どのような役割を果たしているのかについては不明な点が多い。

また、これまでの申請者による研究から、外生菌根群集が夏の季節風に伴う降雨に素早く反応し、降雨後 4~7 日で変化することが観察されており、共生微生物は非常に迅速に環境や植物生理に応答し、この共生微生物の変化が植物の成長、養分状態、ストレス耐性に影響していると推察される。また、南西アメリカにおける申請者の調査からは、塩類濃度の変化に伴って植物根内に存在する微生物タイプ(アーバスキュラー菌根菌(以下、AM 菌)、内生菌、内生細菌)の感染率や種多様性が変化することが分かってきた。これらの結果から、環境の変化に伴い、植物と共生する微生物タイプや微生物相は短期的に変化し、植物の環境への適応性に深く関与していると推察されるが、この点については不明である。

### 2. 研究の目的

気候変動に伴う気温や降水量の変化によって、乾燥地で生育する植物の枯死や分布域の変化が認められている。植物根中には様々なタイプの共生微生物(菌根菌、内生菌、内生細菌)が存在し、異なるメカニズムで植物の耐乾性に寄与していると考えられるが、まだ不明な点が多い。本申請研究では、植物の水利用特性や乾燥・脱水耐性関与物質と共生微生物タイプに関する調査を行い、乾燥ストレスの強度に伴う植物共生微生物タイプとその機能の変化を植物の生存戦略と関連付けて明らかにする。

### 3. 研究の方法

本申請研究では、アメリカ、カリフォルニア州に位置する Palm Springs に近い Boyd Canyon で調査を行う。調査地の標高は 290 m で、年降水量は約 150 mm、最高月平均気温は 39°C である。本調査地では灌木や草本が生育しており、灌木としては、*Encelia farinosa* (キク科)や *Larrea tridentata* (ハマビシ科)がよく観察される(図 1)。



図 1 *Encelia farinosa* (左)と *Larrea tridentata* (右)

いずれの樹種も浅い土壌層に吸収根を持ち、*L. tridentata* の根中には AM 菌はほとんど観察されないが、*E. farinosa* の根中には AM 菌がよく観察される(図 2)。

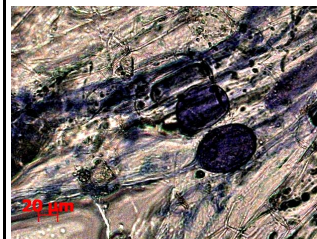


図 2 *Encelia farinosa* の AM 菌

また、*L. tridentata* は、厳しい乾燥ストレス条件下でも光合成を行うことができ、非常に強い乾燥ストレス耐性を持っている。一方、*E. farinosa* は、ストレス条件下では葉の形態と数を変え、耐乾性を高めている。これらの灌木を対象に、乾燥、および夏の降雨に対する植物根内微生物タイプの変化、およびこの微生物タイプの変化と植物生理(蒸散量、水利用効率、葉内窒素、浸透圧調節物質)との関係を調査する。

野外調査では、雨季、乾季、乾季の水供給後に植物生理(蒸散量、水利用効率、窒素量、浸透圧調節物質)と植物根内微生物(AM 菌、内生菌、内生細菌)に関する調査を行う。室内実験では、*E. farinosa* に AM 菌、内生菌、内生細菌を接種し、各共生微生物による植物への正の効果が水ストレスの強度に伴ってどのように変化するかを調査する。

### 4. 研究成果

樹種間の長期的な乾燥ストレス耐性と共生微生物相を比較するため、アメリカ、カリフォルニアの乾燥地に位置する調査地で、2012 年 4 月、10 月、2013 年 3 月に 9 樹種について葉と根のサンプリングを行った。葉の浸透圧調節物質である糖・糖アルコールに関する調査から、蓄積している糖の量や種類が植物種間で異なっており、植物が依存している浸

透圧調節物質は種によって異なることが示唆された。

また、*E. farinosa* と *L. tridentata* については2012年4月、10月、2013年3月、6月、10月に根と葉のサンプリングを行い、浸透圧調節物質と根内の微生物相に関する解析を行った。

乾季の水供給に対する植物とその関連微生物の応答について明らかにするため、調査地で優占した2樹種(*E. farinosa*、および *L. tridentata*)を対象に、樹冠下に約12.5 mmの降雨を想定した水処理を行い、微生物の活性と群集の変化、および無機態窒素の動態について調査を行った。

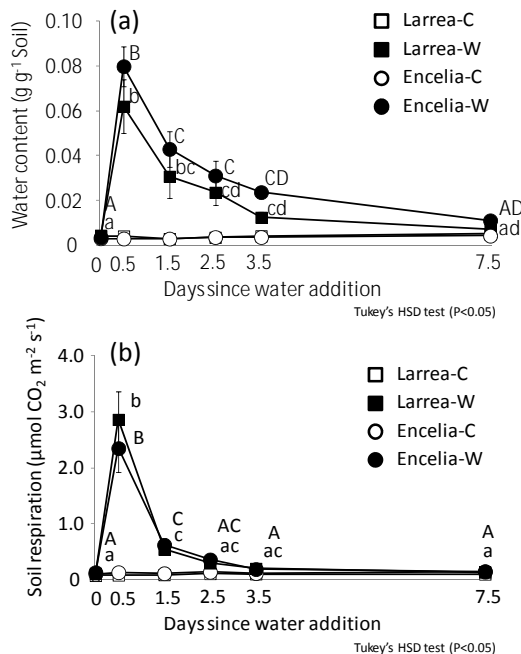


図3 *L. tridentata* と *E. farinosa* の無処理区 (C) および水添加処理区 (W) における (a) 土壌含水率と (b) 土壌呼吸速度

土壌含水率は水処理から半日後にはピークを示し、その後速やかに減少し、7.5日後には処理前と同じレベルに減少した (図 3a)。微生物活性として、水処理後の土壌呼吸を測定した結果、土壌呼吸は半日後にはピークを迎え、その後、急激に減少するパルス様の反応を示した (図 3b)。この反応は土壌含水率の変化と類似しており、土壌微生物の活性が土壌水分の増加によって一時的に急激に高まったことを示唆している。植物の光合成速度は水処理から4~7日後に上昇する傾向を示し、植物の反応は土壌微生物には遅れるが、比較的速やかに反応していた。

リアルタイムPCRによる解析においては、細菌、菌類、古細菌、窒素固定細菌、アンモニア酸化細菌、アンモニア酸化古細菌について解析を行った。この結果、降雨処理によって、窒素固定細菌、窒素酸化細菌の量が増加することが見出された (図 4)。

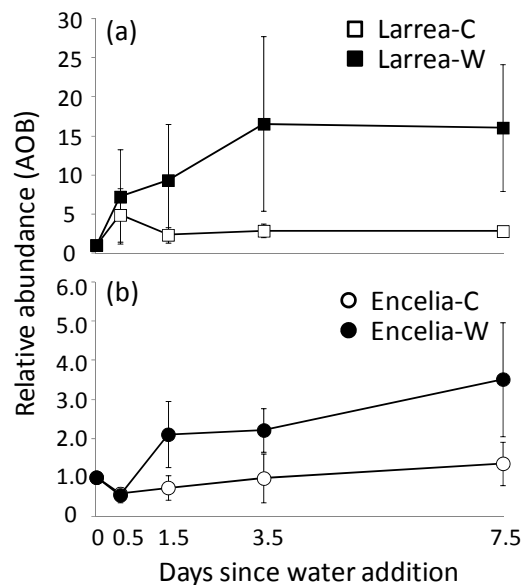


図4 (a) *L. tridentata* と (b) *E. farinosa* の無処理区 (C) および水添加処理区 (W) におけるアンモニア酸化細菌の相対量

土壌中の純窒素無機化速度と純硝化速度を測定したところ、水添加後に増加が認められた。しかしながら、土壌中のアンモニア態窒素濃度は *L. tridentata* で水添加後に有意に減少していた。これは個体サイズが大きく、根の吸収面積も大きい *L. tridentata* では土壌水分の増加に伴う水吸収が起こっていたためではないかと考えられた。一方で、より個体サイズが小さい *E. farinosa* ではアンモニア態窒素濃度の減少は認められなかった。

水添加前、および水添加後の2樹種の樹冠下土壌中の微生物相の変化を明らかにするため、次世代シーケンサー (Ion PGM) を用いたメタゲノム解析を行った。この結果、細菌、および古細菌については、降雨処理後、2樹種の双方について *Pseudomonas* 属菌の急速な増加とその後の減少が観察された。*Pseudomonas* 属菌は植物と関係の非常に強い微生物群であるため、植物の活性が向上する土壌水分と強い関係を持っている可能性が考えられる。また、水添加後、硝化に参与する *Nitrospira* 属菌の増加が認められ、これらの細菌が無機態窒素の増加に寄与していたと考えられた。このような降雨に伴う硝化細菌による硝化は植物が利用可能な土壌窒素量を増加させ、植物の窒素吸収にも貢献していると推察される。

*E. farinosa* を用いた栽培実験については、Deep Canyonの土壌を加えた処理区と加えない処理区で栽培試験を行い、土壌を含む処理区で成長、生存が良好な傾向が認められた。しかしながら、有用な微生物群を特定するような詳細な解析を進めるには至らず、この点は今後の研究課題である。

<引用文献>

Kelly AE, Goulden ML. (2008) Rapid shifts in plant distribution with recent climate change. 105:11823-11826.

Hamerlynck EP, McAuliffe JR (2008) Soil-dependent canopy die-back and plant mortality in two Mojave Desert shrubs. Journal of Arid Environments 72:1793-1802.

Walther et al. (2002) Ecological responses to recent climate change. Nature 416:389-395.

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 7件)

Taniguchi T., Acharya K., Imada S., Iwanaga F., Yamanaka N. (2015) Arbuscular mycorrhizal colonization of *Tamarix ramosissima* along a salinity gradient in the southwestern United States. Landscape and Ecological Engineering 11: 221-225, 査読有,  
DOI : 10.1007/s11355-014-0259-6

Iwanaga F, Acharya K., Imada S., Taniguchi T., Kawamura Y., Tanaka K., Mori H., Yamamoto F. and Yamanaka N. (2015) Osmolyte accumulation in leaves of *Tamarix ramosissima* growing under various soil conditions in the Colorado River basin. Landscape and Ecological Engineering 11: 199-207, 査読有,  
DOI : 10.1007/s11355-014-0265-8

今田省吾・谷口武士・岩永史子・Acharya, K.・山本福壽・山中典和 (2014) 北米大陸におけるアジア由来の侵略的本外來種の現状—アメリカ合衆国西部乾燥地域のタマリスク 総説 . 日本緑化工学会誌 42 , pp . 331-339、査読有

Mohamed Ahmed I.A., Ailijiang M., Mori N., Yamanaka N., Taniguchi T. (2014) Determination of  $\beta$ -alanine betaine and trimethylamine in bacterial culture and plant samples by capillary electrophoresis. Journal of Analytical Science and Technology 5:38, 査読有,  
DOI : 10.1186/s40543-014-0038-x

Mohamed Ahmed I.A., Eltayeb, M.M., Arima, J, Mori, N., Yamanaka N., Taniguchi T. (2014) Screening for enzymatic activities in the degradation pathway of homocholine by soil microorganisms. Australian Journal of Basic and Applied Sciences 8(2): 222-233, 査読有

Imada, S., Acharya, K., Li, Y.P., Taniguchi T., Iwanaga, F., Yamamoto, F., Yamanaka, N. (2013) Salt dynamics in *Tamarix ramosissima* in the lower Virgin River floodplain, Nevada. Trees 27:949-958, 査読有,  
DOI : 10.1007/s00468-013-0847-3

Imada, S., Taniguchi T., Acharya, K., Yamanaka, N. (2013) Vertical distribution of fine roots of *Tamarix ramosissima* in an arid region of southern Nevada. Journal of Arid Environments 92:46-52, 査読有,  
DOI : 10.1016/j.jaridenv.2013.01.006

〔学会発表〕(計 7件)

今田省吾, 舘野隆之輔, Acharya, K., 谷口武士, 山中典和 (2015年3月28日) 米国ネバダ州バージン川下流域の *Tamarix* 林における土壌の窒素無機化特性 . 第126回日本森林学会大会、北海道大学、札幌

今田省吾, 舘野隆之輔, 谷口武士, Acharya, K., 山中典和 (2015年3月21日) 米国乾燥地の *Tamarix* 優占林土壌における水分および塩分の変化が窒素循環に与える影響 . 第62回日本生態学会大会、鹿児島大学郡元キャンパス、鹿児島

谷口武士, 今田省吾, Ailijian Maimaiti, 山中典和, Michael Allen (2015年3月21日) 降雨が乾燥地で生育する2樹種の樹冠下土壌中の窒素と関連微生物量に与える影響 . 第62回日本生態学会大会、鹿児島大学郡元キャンパス、鹿児島

谷口武士 (2015年3月19日) 菌根菌と植物の相互作用が実生更新に与える影響について . 第62回日本生態学会大会、鹿児島大学郡元キャンパス、鹿児島

今田省吾・舘野隆之輔・谷口武士・Acharya, K.・山中典和 (2014年3月15日): アメリカ乾燥地 *Tamarix ramosissima* 林における土壌の窒素循環 . 第61回日本生態学会大会、広島国際会議場、広島

谷口武士・Michael Allen・Greg Douhan・Kunihiro Kitajima・山中典和 (2013年3月15日): 半乾燥地における夏の降雨への外生菌根群集の反応 . 第60回日本生態学会、静岡県コンベンションアーツセンター、静岡

Taniguchi T., Allen MF., Douhan GW., Kitajima K. and Yamanaka N. (8 January 2013) Effect of summer rain pulse on ectomycorrhizal community of *Quercus kelloggii* in California mixed-conifer forest. 7th International Conference on Mycorrhiza, India Habitat Centre, New Delhi, India

〔図書〕(計 2件)

谷口武士 (2014): 15講 サバンナおよび砂漠 - 脆弱で広大な生態系 - . 教養としての森林学 (井出雄二ら編, ISBN 978-4-8300-4127-3), 文英堂, pp. 151-160

谷口武士 (2014): 4 - 4 菌根共生を利用した耐乾・耐塩性苗木の生産・乾燥地を救う知恵と技術 (恒川篤史ら編, ISBN 978-4-621-08753-4), 丸善, pp. 66-67

〔産業財産権〕

○出願状況 (計 0 件)

○取得状況 (計 0 件)

〔その他〕

ホームページ等

<https://sites.google.com/site/luehuaxueyanjiushi/member/gu-kou-wu-shi>

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

谷口 武士 (TANIGUCHI, Takeshi)

鳥取大学・乾燥地研究センター・助教

研究者番号: 10524275

### (2) 研究分担者

なし

### (3) 連携研究者

なし

### (4) 研究協力者

今田 省吾 (IMADA, Shogo)

磯部 一夫 (ISOBE, Kazuo)

山中 典和 (YAMANAKA, Norikazu)

Ailijiang Maimaiti

Michael F. Allen