

氏名	王 博茜
本籍（国籍）	中華人民共和国
学位の種類	博士（農学）
学位記番号	連研第 738 号
学位授与年月日	平成 31 年 3 月 22 日
学位授与の要件	学位規則第 5 条第 1 項該当課程博士
研究科及び専攻	連合農学研究科 寒冷圏生命システム学
学位論文題目	<b>Structure and functions of root microbiome and implications for sustainable agricultural system（根マイクロバイオームの構造と機能 –持続可能な農業システムへ向けて–）</b>
学位審査委員	主査 弘前大学教授 杉山 修一 副査 大和田 琢二(帯広 教授),笹部 美知子(弘前 准教授),上村 松生(岩手 教授)

### 論文の内容の要旨

Plant microbiome is the collective genomes of microorganisms living in association with plants. It has been demonstrated that members of plant microbiome contribute to plant growth, plant nutrition acquisition and productivity, as well disease suppression. Soil as an enormous microbe reservoir closely touches plant roots and provides an opportunity to establish root microbiome. Soil microbial community has been suggested to play roles in promoting plant growth and suppressing soil borne disease. However, our understandings on plant root microbiome, soil microbial community and their effects on plant productivity and health are still unclear.

The purposes of this study were to (1) clarify the assembly rules of root microbiomes by plants, (2) to investigate the effects of soil and root microbiomes on plant productivity, (3) to understand the mechanisms behind suppression of soil born disease by crop rotation from activity of microbiome belowground. Addressing these questions will provide important information on basic science such as plant science and ecology as well as development of sustainable agricultural system.

**(1)Soil productivity and structure of bacterial and fungal communities in unfertilized arable soil:** Structure of microbial communities in soil and root was analyzed with next-generation sequencing (Illumina Miseq) using 16S rRNA V4 region for bacteria and ITS II region for fungi. We investigated microbial communities in 11 unfertilized arable soils extending over 1000 km in eastern Japan. At the same time, maize were grown in each of these soils and the relationships between soil functions including maize dry weight and microbiomes in soil and maize root were investigated.

Soil bacterial communities shared many operational taxonomic units (OTUs) among

farms. An ordination plot based on correspondence analysis revealed convergent distribution of soil bacterial communities across the farms, which seemed to be a result of similar agricultural management practices. Although fungal communities showed lower richness and a lower proportion of shared OTUs than bacterial communities, community structure between the farms tended to be convergent. On the other hand, root communities had lower richness and a higher abundance of specific taxa than the soil communities. Two soil functions, decomposition activity and soil productivity, were extracted by principal component analysis (PCA) based on eight soil properties. Soil productivity correlated with N mineralization rate,  $P_2O_5$ , and maize growth, but not with decomposition activity, which is characterized by C turnover rate, soil organic C, and microbial mass. Soil productivity showed a significant association with community composition, but not with richness and mass of soil microbial communities. Soil productivity also correlated with the abundance of several specific taxa, both in bacteria and fungi. Root communities did not show any clear correlations with soil productivity. These results demonstrate that community composition and abundance of soil microbial communities play important roles in determining soil productivity.

**(2) Phylogenetic history and root microbiome structures in twenty plant families:** Twenty plants from different families covering the most range of angiosperm phylogeny including monocots and dicots, crops and flower plants, were planted into identical unfertilized arable soil and structure of root microbiomes were examined. Bacterial root microbiomes have distinctive composition from soil community, while fungal root microbiomes have similar structure to soil community. Plant root microbiomes largely diffused among plant species even when grown under identical soil. Twenty plant species preferred different OTUs and this preference characterized the interspecific difference in bacterial root microbiomes. The assembly of bacterial root community is more strongly regulated by phylogenetic hierarchy than fungal community. Beta-proteobacteria and Gamma-proteobacteria showed a close association with host plant phylogeny. Although plant phylogenetic evolution didn't play important roles in the assembly of fungal microbiomes, the present study suggests that symbiotic association with mycorrhizae seems to play important role in structuring fungal microbiomes across plant phylogenetic evolution.

**(3) The effect of crop rotation on clubroot disease resistance through changes of soil microbial community and root microbiome:** Chinese cabbage seedlings were transplanted in soils after the growth of 20 plant families in the previous chapter to imitate crop rotation and spores of clubroot pathogen (*Plasmodiophora brassicae*) were infected to each soil. Preceding crops had great effects on constitution of soil microbiome, which also altered structure of root microbiomes in Chinese cabbage. The differences in disease damage (DSI) of clubroot among 20 preceding crops were the most evident at the 4<sup>th</sup> week. The pathogen density at the earlier stage (the 3<sup>rd</sup> week) was the main cause of differences in disease damage among preceding crop treatment. The pathogen density (the 3<sup>rd</sup> week) was mainly determined by the two key microbes, Bacillales and Rhizobiales, which were mutually

exclusive in the root community. The former bacteria had a negative effect and the latter bacteria had a positive effect on pathogen density. In addition to these two key microbes, many bacterial groups were involved into suppression of disease damage through two mechanisms: competitive suppression of pathogen proliferation and activation of plant immune response. Our results demonstrate that crop rotation can work as defense mechanisms by inducing changes in microbiome structure in soil and root.

The results in this study prove that microbiomes in soil and plant root are very effective means for the development of low input sustainable agricultural system.

(和文要旨)

Microbiome(微生物叢)とはある場所に存在する微生物全体を意味し、ヒトや植物などの宿主生物との関わりやその中で発現する遺伝子なども含む広い概念である。植物の葉や茎、根の表面と内部には細菌と真菌を含む多様な微生物群集が棲息していることが知られており、これらの植物マイクロバイオームが土壌からの栄養塩獲得や植物の生長と発育、病害防除などの多くの機能と関連していることが知られている。しかしながら、植物マイクロバイオームがこれらの機能にどのように関係しているかの詳細なメカニズムはよく分かっていない。本研究は、植物栽培と次世代シーケンスを利用した微生物群集解析により、持続可能な農業におけるマイクロバイオームの可能性を探ったものである。植物の根におけるマイクロバイオームは根周辺に棲息する微生物の侵入と定着を通じて形成されるが、本研究では、特に、(1)この形成過程に宿主植物がどのように関わっているか、(2)異なるマイクロバイオームより成る土壌で栽培された植物が栄養塩獲得や成長にどのように影響を受けるか、(3)輪作は土壌病害防除に有効な方法であるが、輪作が根のマイクロバイオームの変化を通じてどのように病害を抑制しているかを究明した。

## 論文審査の結果の要旨

本研究は、根における Microbiome(微生物叢)の構造と作物生産や病害抵抗性に与える影響を次世代シーケンスを利用した微生物群集解析により調査したものである。本論文で得られた概要は以下の通りである。

- (1) 関東以北の長期無肥料栽培を行っている 1000km 以上離れた 11 カ所の畑土壌について、細菌と真菌の群集構造を比較した。Illumina 社製 Miseq を用い、リボソーム RNA の特定領域（細菌は rRNA V4 領域、真菌は ITS II 領域）の塩基配列から解析した。土壌の細菌群集はサイト間で収斂する傾向にあり、高い類似性が見られた。無施肥の土壌で生育させたトウモロコシの乾燥重を土壌生産力の指標とし、関連する要因を調べたところ、土壌の窒素無機化力が最も高い相関を示した。土壌の生産性は土壌の全微生物量と相関を示さなかったが、特定の細菌目の割合と高い相関を示し、これらの細菌は土壌の無機窒素供給力に関係すると思われた。
- (2) 同一土壌に異なる 20 科に属する植物を栽培し、生育後の各植物の根のマイクロバイオームの構造を比較した。細菌群集は宿主植物の進化系統と密接な関係が見られたが、真菌にはそのような関係が見られなかった。宿主植物の系統に影響を受けた細菌としてベータプロテオバクテリア、ガンマプロテオバクテリアと放線菌(Actinobacteria)があげられる。このことから、

植物進化の過程で根は土壌中の特定の微生物を選好してきたことが示された。

(3) 畑作栽培における輪作の土壌病害抑止効果を土壌と根のマイクロバイオーームから解析した。20の異なる科に属する植物栽培後の土にハクサイの実生を移植し、同時にアブラナ科野菜の重要土壌病害であるネコブ病菌の胞子を接種し、その後のハクサイの病害度と根のマイクロバイオーーム構成を調べた。その結果、キク目やセリ目の植物の栽植後の土壌ではネコブ病が抑えられ、イネ目の後作では病害が大きい傾向が見られた。これら植物の栽植後の土壌で育ったハクサイ根のマイクロバイオーームは大きく異なり、根にバチルス目の細菌が多いほどネコブ病菌のハクサイ根での増殖は抑えられ、病害も抑制されることが分かった。ネコブ病菌抑制以外に、植物の病害発生を抑制する微生物群も多く見付き、輪作による土壌病害抑制には多くの微生物が複雑に関与していることが明らかとなった。これらの結果は、低投入で持続可能な作物栽培システムに土壌と根のマイクロバイオーームは非常に有効であることを示している。

以上の結果は、科学的に高い新規性を有していることから、本審査委員会は、「岩手大学大学院連合農学研究科博士が初論文審査基準」に則り審査した結果、本論文を博士（農学）の学位論文として十分価値のあるものと認めた。

学位論文の基礎となる学術論文

Wang, B, Adachi, Y, Sugiyama, S (2018)

Soil productivity and structure of bacterial and fungal communities in unfertilized arable soil. PLoS ONE 13(9): e0204085.