

令和 5 年 6 月 1 日現在

機関番号：13901

研究種目：基盤研究(B)（海外学術調査）

研究期間：2017～2020

課題番号：17H04619

研究課題名（和文）西アフリカ内陸盆地水田における鉄過剰障害イネ根圏の鉄還元・酸化微生物の調査・解析

研究課題名（英文）Characterization of iron-reducing and iron-oxidizing microorganisms in rice rhizosphere under iron-toxic conditions in inland valley paddy fields of West Africa

研究代表者

浅川 晋（ASAKAWA, Susumu）

名古屋大学・生命農学研究科・教授

研究者番号：50335014

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 12,300,000円

研究成果の概要（和文）：還元条件下の水田土壌で生成する高濃度の二価鉄により生じるイネの鉄過剰障害は熱帯地域等で水稻生産に大きな被害を与えている。本研究では鉄過剰水田のイネ根圏の鉄代謝関連微生物に注目した。西アフリカ、ブルキナファソのKou盆地の鉄過剰水田圃場の障害発生および未発生イネの根圏土壌、根およびバルク土壌試料を対象に微生物群集の解析を行い、日本国内の鉄過剰障害非発生の通常水田圃場由来の試料と鉄還元・酸化微生物の特徴を比較した。イネの鉄過剰障害発生の有無に関わらず、鉄過剰水田圃場の水稻根圏では二価鉄含量の多さを反映し、鉄酸化細菌に対して鉄還元細菌が優占する微生物群集が形成されていることを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

実際にイネの収量低下の大きな被害が発生している西アフリカの内陸盆地の鉄過剰水田を対象に、水稻根圏の鉄還元・酸化微生物群集を調査・解析し、二価鉄を酸化し過剰害軽減への寄与が期待される鉄酸化菌よりも、過剰害の主要因である二価鉄を生成する鉄還元菌が優占していることを初めて明らかにした。この知見は、鉄過剰水田において鉄代謝関連微生物の活性を制御・利活用し、イネの鉄過剰被害を軽減する方策を考える上で極めて重要かつ有用と考えられる。

研究成果の概要（英文）：Iron toxicity in rice caused by higher contents of ferrous iron generated under anoxic conditions brings about severe deterioration of paddy rice production in some areas of the tropics. This research project focused on the microorganisms involved in the redox cycle of iron in the rhizosphere of rice under iron toxic conditions. Microbial community structures of iron reducers and oxidizers were investigated in the bulk and rhizosphere soil and root samples of rice plants with and without the symptoms of iron toxicity in an iron-toxic paddy field in the Kou valley, Burkina Faso, West Africa. The characteristics of the communities of iron reducers and oxidizers were compared with those in a paddy field in Japan without iron toxicity. Irrespective of the symptoms of iron toxicity in rice, a clear predominance of iron reducers over iron oxidizers was revealed in the rice rhizosphere in the iron-toxic paddy field, which corresponded well to the higher contents of ferrous iron in the soil.

研究分野：土壌微生物学

キーワード：土壌学

## 1. 研究開始当初の背景

イネの鉄過剰障害は還元条件下で生じる高濃度の二価鉄 ( $Fe^{2+}$ ) により引き起こされる。地質、土壌の  $Fe^{2+}$  生成活性、 $Fe^{2+}$  のイネの根による吸収と地上部への移行、イネの生理状態など、鉄過剰障害の発生に関わる要因については、これまでに数多くの研究が行われ膨大な知見が得られている。しかし、現在でもなお鉄過剰障害は水稲生産に大きな被害をもたらしており、収穫が皆無となるケースも珍しくない<sup>1)</sup>。

鉄過剰障害が発生する水田土壌環境は、主に河口沿岸域の酸性硫酸塩土壌と、熱帯湿地地域の酸性の粘土質・有機質土壌および内陸盆地土壌の3つに大別される。世界的には、約400万haの酸性硫酸塩土壌、約500万haの内陸盆地土壌の水田で鉄過剰障害が発生しており、これら二つの土壌が主要な問題土壌である<sup>1)</sup>。特に、西アフリカの湿潤地域およびマダガスカルの高地に位置する湿田が内陸盆地土壌の水田面積の7割を占める。風化が進み、酸化鉄含量が高く、酸性の土壌に立地するこれらの水田では、盆地を取り囲む傾斜地からの流下水が集まり、湛水に伴う還元の進行により、土壌溶液中に高濃度の  $Fe^{2+}$  が生成される。苗移植直後に土壌溶液中の  $Fe^{2+}$  濃度が急激に上昇すると、激しい鉄過剰障害が生じ、収穫が皆無となり、大きな問題となる<sup>1)</sup>。

鉄過剰障害への対策技術には、圃場の排水による  $Fe^{2+}$  の酸化、酸性土壌への石灰施用、リン酸、カリウム、亜鉛、有機物などの施肥、耐性品種の利用などがあり、耐性品種の利用は、経済的成本および環境負荷の面でもっとも有利であり、重要視されている。しかし、ポット試験や圃場試験で選抜された耐性品種が農家圃場では耐性を示さない例や、ある地域で鉄過剰耐性を示す品種が他の地域では耐性を示さない例が知られており、大きな問題となっている。現状では、耐性品種の栽培により鉄過剰障害を克服するには至っておらず、イネの鉄過剰への耐性のメカニズムに対する理解が未だ不十分であることが原因として指摘されている<sup>1)</sup>。

鉄過剰に対し、根圏での  $Fe^{2+}$  の酸化、根細胞膜による  $Fe^{2+}$  の選択排除、根や茎組織あるいは葉のアポプラストへの  $Fe^{2+}$  の隔離、シンプラストでの  $Fe^{2+}$  により生じる酸化ストレスの除去など、イネは様々な部位で異なるメカニズムにより耐性を発現する。根圏における  $Fe^{2+}$  の酸化は、土壌溶液中の  $Fe^{2+}$  のイネへの吸収経路の第1段階として、耐性発現部位の中で重要である。イネは地上部から根へ空気を輸送し、根圏へ酸素が供給され、 $Fe^{2+}$  は酸化される。そのため、根の高い酸化力(根圏への酸素供給能)が根圏での耐性発現には必要であり、耐性品種選抜の指標の一つとなりうる。根圏では、化学的酸化とともに鉄酸化細菌による生物的酸化が大きな役割を果たし、耐性発現に寄与していると予想されるが、その実態は明らかとなっていなかった。

鉄過剰障害の主要因である  $Fe^{2+}$  は、湛水による土壌の還元化の進行に伴い、広範囲の微生物群が三価鉄(酸化鉄)を還元し生成する。鉄還元微生物の活性が鉄過剰障害に重要な役割を果たしており、これまで鉄過剰水田の菌数が培養法により調査されているが、主要な鉄還元微生物群集の詳細は明らかにされていなかった。一方、鉄酸化細菌は酸素で  $Fe^{2+}$  を三価鉄へ酸化して生育するため、イネの根圏で鉄過剰障害の軽減に大きく寄与している可能性があるが、イネ根圏における生息数や種類など群集の特徴が調査された例はなかった。

## 2. 研究の目的

鉄過剰障害の主要因である  $Fe^{2+}$  の生成に関わる鉄還元微生物と鉄過剰障害軽減への寄与が期待される鉄酸化細菌について、西アフリカの内陸盆地水田土壌を対象に、障害耐性発現のための重要部位であるイネ根圏において、主要な菌群の種類と生息数などを調査解析する。鉄過剰障害の軽減のため、それら微生物群を制御あるいは利活用する方策を探り、障害発生予測や対策技術の確立のため基盤となる知見を得ることを目的とした。

## 3. 研究の方法

2017年～2019年の雨季後期に西アフリカ、ブルキナファソのKou盆地の鉄過剰障害発生地域の水田圃場(図1)より、障害発生および未発生イネの根圏土壌と根およびバルク土壌の試料を採取した。各試料よりDNAを抽出し、16S rRNA遺伝子のアンプリコン配列解析による細菌群集組成の調査、定量PCR法による鉄還元細菌と鉄酸化細菌の存在量の調査を行った。鉄還元細菌については培養法(MPN法)による菌数の調査も併せて行った。また、土壌の理化学性と灌漑水、表面水、土壌溶液中の  $Fe^{2+}$  濃度の分析を行った。さらに、比較として、日本国内の鉄過剰障害非発生の通常の水田に



図1. 調査水田圃場(2019年)

ついても同様の解析を行った。

#### 4. 研究成果

##### (1) 土壌の理化学性

鉄過剰水田の土壌では日本の水田土壌よりも、全炭素・全窒素量と遊離酸化鉄含量が高く、陽イオン交換容量 (CEC) と塩基飽和度が低かった。Ca、Mg、K 等の交換性塩基含量と有効態リン酸含量は日本の水田土壌と比べると極めて低い値を示した。

##### (2) 灌漑水、表面水、土壌溶液中の $Fe^{2+}$ 濃度

土壌溶液および表面水中の  $Fe^{2+}$  濃度は日本の水田における測定値よりも高く、土壌溶液中の  $Fe^{2+}$  濃度は  $70 \text{ mg L}^{-1}$  以上の値を示し、内陸盆地水田での鉄過剰障害土壌の下限值<sup>1)</sup>  $20 \text{ mg L}^{-1}$  を上回っていた。一方、灌漑水中の  $Fe^{2+}$  濃度は低く、灌漑用水から直接  $Fe^{2+}$  が水田に供給されている兆候は調査時期には認められなかった。

##### (3) 鉄過剰水田に特徴的な細菌群

16S rRNA 遺伝子のアンプリコン配列解析結果に基づき、鉄過剰水田と日本の通常水田の細菌群集組成を比較した。日本の通常水田と比較し、鉄過剰水田のイネ根圏土壌の群集を特徴づける細菌として *Deltaproteobacteria* や *Firmicutes* に属する嫌気性細菌群が見出された。特に、鉄還元細菌を含む *Anaeromyxobacteraceae* および *Geobacteraceae* の両科の相対存在比率は鉄過剰水田のイネ根圏土壌で日本の通常水田の根圏土壌よりも高かった。一方、微好気性鉄酸化細菌の *Gallionella* 属を含む *Gallionellaceae* 科の相対存在比率は日本の通常水田のイネ根で鉄過剰水田の根圏よりも高かった。

##### (4) 鉄還元細菌と鉄酸化細菌の存在量と存在量比

定量 PCR 法により、*Geobacteraceae* 科および *Anaeromyxobacteraceae* 科鉄還元細菌および *Gallionellaceae* 科鉄酸化細菌の 16S rRNA 遺伝子を対象とした定量解析を行った。バルク土壌、イネ根圏土壌およびイネ根における *Geobacteraceae* 科および *Anaeromyxobacteraceae* 科鉄還元細菌の存在量は  $10^8 \sim 10^{10}$  コピー  $g^{-1}$  乾土あるいは乾重、*Gallionellaceae* 科鉄酸化細菌の存在量は  $10^5 \sim 10^7$  コピー  $g^{-1}$  乾土および  $10^6 \sim 10^8$  コピー  $g^{-1}$  乾重であった。*Gallionellaceae* 科鉄酸化細菌に対する *Geobacteraceae* 科鉄還元細菌の存在量比は、バルク土壌、イネ根圏土壌およびイネ根のいずれにおいても、日本の通常水田と比べ鉄過剰水田で 10 倍程度高かった。また、*Gallionellaceae* 科鉄酸化細菌に対する *Anaeromyxobacteraceae* 科鉄還元細菌の存在量比は、バルク土壌とイネ根圏土壌で、通常水田よりも鉄過剰水田で 10 倍程度高かった (表 1)。

表 1. 鉄過剰水田と通常水田における鉄酸化細菌に対する鉄還元細菌の存在量比 (中央値)<sup>\*</sup>

		<i>Geobacteraceae</i> / <i>Gallionellaceae</i>	<i>Anaeromyxobacteraceae</i> / <i>Gallionellaceae</i>
バルク土壌	鉄過剰水田	$4.11 \times 10^3$	$1.46 \times 10^4$
	通常水田	$3.15 \times 10^2$	$3.16 \times 10^2$
根圏土壌	鉄過剰水田	$2.59 \times 10^3$	$7.69 \times 10^3$
	通常水田	$4.08 \times 10^2$	$2.39 \times 10^2$
根	鉄過剰水田	$1.07 \times 10^2$	$4.46 \times 10^1$
	通常水田	$1.41 \times 10^1$	$4.28 \times 10^1$

<sup>\*</sup>根の *Anaeromyxobacteraceae* / *Gallionellaceae* 以外の値は 1% 水準で有意差あり。

##### (5) 鉄還元菌の生菌数

MPN 法により求めた鉄還元菌の計数値には、有意差はなかったものの、バルク土壌、イネ根圏土壌およびイネ根のいずれにおいても、日本の通常水田と比べ鉄過剰水田で高い傾向を示した。特に根では  $10^7 \text{ g}^{-1}$  乾重を越える菌数値を示す場合があった。

##### (6) まとめ

細菌群集組成解析および定量 PCR 法による存在量解析により、通常水田と比較して鉄過剰水田のイネ根圏では、鉄酸化細菌に比べ鉄還元細菌が優占する微生物群集が形成されていることが明らかになった。培養法による計数結果から、特に根では活性を有する鉄還元菌が高密度で生息している可能性が示唆された。これらの結果は、鉄過剰水田の土壌溶液中の高い  $Fe^{2+}$  濃度を反映していると考えられた。

##### (7) 今後に向けて

2022 年度に現地共同研究者に、国際農林水産業研究センターおよび国際協力機構の現地の事情に詳しい研究者等を加え、取りまとめのセミナーを行った。得られた成果に基づき、圃場の排水による酸化条件の確保の可能性、土壌の CEC や交換性塩基等の養分状態の改善の必要性などについて議論し、鉄過剰障害の対策技術確立に向けた今後の研究の方向性について検討した。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 浅川 晋	4. 巻 75
2. 論文標題 日本人の主食 お米の生産を支える微生物	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 土と微生物	6. 最初と最後の頁 66-69
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.18946/jssm.75.2_66	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 -

1. 著者名 浅川 晋	4. 巻 59
2. 論文標題 イネの生育を支える水田の微生物と物質循環	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 温古知新	6. 最初と最後の頁 117-122
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	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 -

〔学会発表〕 計11件（うち招待講演 2件/うち国際学会 3件）

1. 発表者名 浅川 晋
2. 発表標題 日本人の主食 お米の生産を支える微生物
3. 学会等名 日本土壌微生物学会2021年度大会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 加藤健斗, 川口晃平, 尾賀俊哉, 伴 佳典, Cecile Otoïdoba, Adama Sawadogo, Issa Wonni, Leonard Ouedraogo, Jean Didier Zongo, Dayeri Dianou, 浅川 晋, 渡邊健史
2. 発表標題 鉄過剰障害発生水田の水稲根圏の鉄酸化菌および鉄還元菌の存在量
3. 学会等名 日本土壌肥料学会2021年度北海道大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 浅川 晋
2. 発表標題 水田生態系の成り立ち：イネの生育を支える物質循環と微生物
3. 学会等名 第11回CSJ化学フェスタ2021（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 渡邊健史, 加藤健斗, 川口晃平, 尾賀俊哉, 伴 佳典, Cecile Harmonie Otoidobiga, Adama Sawadogo, Issa Wonni, Leonard Ouedraogo, Jean Didier Zongo, Dayeri Dianou, 浅川 晋
2. 発表標題 ブルキナファソ鉄過剰障害発生水田の細菌群集構造の特徴
3. 学会等名 日本土壌肥料学会2022年度東京大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 渡邊健史・伊藤舞香・浅川 晋
2. 発表標題 水稻根に生息する微好気性鉄酸化細菌の分離
3. 学会等名 日本土壌微生物学会2019年度大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Nakagawa, K., Murase, J., Asakawa, S. Watanabe, T.
2. 発表標題 Involvement of microaerophilic iron-oxidizing bacteria in the iron-oxidizing process at the surface oxidized layer of flooded paddy field soil
3. 学会等名 14th International Conference of the East and Southeast Asia Federation of Soil Sciecne Societies (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 加藤健斗・尾賀俊哉・伴 佳典・Otoïdobiga Cecile・Sawadogo Adama・Wonni Issa・Ouedraogo Leonard・Zongo Jean Didier・Dianou Dayeri・浅川 晋・渡邊健史
2. 発表標題 水稻根圏の鉄の酸化還元反応に関わる微生物群集に関する研究 (1) 微好気性鉄酸化細菌群集の解析
3. 学会等名 日本土壤肥料学会中部支部第99回例会・中部土壤肥料研究会第109回例会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 加藤健斗・尾賀俊哉・伴 佳典・Otoïdobiga Cecile・Sawadogo Adama・Wonni Issa・Ouedraogo Leonard・Zongo Jean Didier・Dianou Dayeri・浅川 晋・渡邊健史
2. 発表標題 水稻根圏の鉄の酸化還元反応に関わる微生物群集に関する研究 (2) 鉄還元菌群集の解析
3. 学会等名 日本土壤肥料学会中部支部第99回例会・中部土壤肥料研究会第109回例会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 加藤健斗, Adama SAWADOGO, Cecile OTOIDOBIGA, Dayeri DIANOU, 浅川 晋, 渡邊健史
2. 発表標題 西アフリカ鉄過剰障害発生水田土壤中の鉄酸化・還元菌群集の解析
3. 学会等名 日本土壤肥料学会2018年度大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Kato, K., Naruse, T., Ban, Y., Yoshida, T., Funao, T., Kato, T., Namikawa, M., Takahashi, T., Nishida, M., Asakawa, S., Watanabe, T.
2. 発表標題 Microaerophilic iron-oxidizing bacterial community in the bulk soil and rhizosphere of paddy field
3. 学会等名 21th World Congress of Soil Science (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Takeshi Watanabe, Susumu Asakawa
2. 発表標題 Molecular ecological analysis of community structure of microaerophilic iron-oxidizing bacteria in paddy field soil
3. 学会等名 13th International Conference of East and Southeast Asia Federation of Soil Science Society (ESAFS) (国際学会)
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 浅川 晋 (分担執筆; 木村 真人、南條 正巳 編)	4. 発行年 2018年
2. 出版社 文永堂出版	5. 総ページ数 360
3. 書名 土壌サイエンス入門 第2版	

〔産業財産権〕

〔その他〕

<p>システム上入力できないが、科研費を使用して開催した国際研究集会の開催年は2022年である。 学会発表欄に記載した日本土壌微生物学会2021年度大会での招待講演は市民公開シンポジウムでの講演発表であり、講演内容がマイナビ農業の農業ニュース (<a href="https://agri.mynavi.jp/2021_07_21_163830/">https://agri.mynavi.jp/2021_07_21_163830/</a>) で紹介された。</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	渡邊 健史  (WATANABE Takeshi)  (60547016)	名古屋大学・生命農学研究科・准教授    (13901)	

## 6. 研究組織（つづき）

	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
研究協力者	ディアノウ デイエリ  (DIANOUE Dayeri)		
研究協力者	オトイドビガ セシール ハーモ ニイ  (OTOIDOBIGA Cecile Harmonie)		
研究協力者	オウエドゥラゴ レオナルド  (OUEDRAOGO Leonard)		
研究協力者	ウォニイ イッサ  (WONNI Issa)		
研究協力者	サワドゥグウ アダマ  (SAWADOOGO Adama)		
研究協力者	加藤 健斗  (KATO Kento)		
研究協力者	川口 晃平  (KAWAGUCHI Kohei)		
研究協力者	小島 久恵  (KOJIMA Hisae)		

6. 研究組織（つづき）

	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
研究協力者	尾賀 俊哉  (OGA Toshiya)		
研究協力者	伴 佳典  (BAN Yoshinori)		
研究協力者	ゾンゴ ジャン ディディア  (ZONGO Jean Didier)		

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 Seminar on characterization of iron-reducing and iron-oxidizing microorganisms in rice rhizosphere under iron-toxic conditions in irrigated lowland paddy fields in Burkina Faso	開催年 2021年～2021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			
ブルキナファソ	INERA	ISSTA	ノルベール・ゾンゴ大学	他1機関
ブルキナファソ	国立科学技術研究センター	Joseph KI-ZERBO大学		