

科学研究費助成事業（基盤研究（S））公表用資料
〔令和4（2022）年度 中間評価用〕

令和4年3月31日現在

研究期間：2020年度～2024年度
課題番号：20H05679
研究課題名：水田土壌の窒素供給力を支える鉄還元菌窒素固定の学術的基盤解明と低窒素農業への応用

研究代表者氏名（ローマ字）：妹尾 啓史（SEN00 Keishi）
所属研究機関・部局・職：東京大学・大学院農学生命科学研究科・教授
研究者番号：40206652

研究の概要：水田土壌が有する自律的な窒素供給力（窒素肥沃度）の維持機構の根幹をなすと考えられる「鉄還元菌窒素固定」について、微生物生態学的基盤を固めるとともに、土壌の窒素供給力への寄与ならびに制御要因を明らかにする。それらの知見に基づいて、鉄還元菌窒素固定を増強して少ない窒素施肥量で十分な水稻収量を得る新しい土壌管理方法を考案・検証して低窒素肥料農業技術につなげる。

研究分野：土壌学・植物栄養学

キーワード：水田土壌、窒素固定、鉄還元菌、窒素供給力、窒素肥沃度、低窒素肥料農業

1. 研究開始当初の背景

土壌の窒素供給力（窒素肥沃度・地力）は農業に不可欠である。「稲は地力でとる」と言われるように、水田土壌には窒素供給力を自律的に維持する高い能力が備わっているが、そのメカニズムは不明であった。土壌への窒素供給経路として土壌微生物による窒素固定がある。我々は近年、最新の解析手法を用いて水田土壌で機能している窒素固定微生物を網羅的に調べた。その結果、水田土壌の優占種でありながら窒素固定への関与が全く注目されていなかった「鉄還元菌」による窒素固定が水田土壌の窒素供給力の根幹である可能性を見出した。さらに、水田土壌から鉄還元菌を分離し窒素固定能を確認した。水田土壌における鉄還元菌窒素固定の学術的全体像の解明を推進する段階にある。一方、現代の食糧生産は窒素肥料によって支えられているが、大量の窒素施肥は水質汚濁や温室効果ガスの発生など、地域および地球環境に悪影響を及ぼす。この問題を解決するためには窒素施肥を低減して環境汚染を最小限に抑えつつ最大の水稻生産を得る農業技術（低窒素肥料農業）を開発することが必要である。

2. 研究の目的

本研究では、鉄還元菌窒素固定菌の土壌における生態、土壌の窒素供給力への寄与、窒素固定の制御要因など、鉄還元菌窒素固定の学術的基盤の構築を行う。それに基づいて、鉄還元菌窒素固定を高め、少ない窒素施肥量で十分な水稻収量を得る土壌管理方法を考案・検証して低窒素肥料農業技術の基礎知見とする。

3. 研究の方法

I. 水田土壌における鉄還元菌窒素固定の学術的基盤解明

まず、鉄還元菌窒素固定菌の生態を明らかにする。水田土壌からの鉄還元菌窒素固定菌のさらなる分離を進め、基本的性状解析ならびにゲノム解析を行う。日本各地・世界の水田土壌メタゲノムデータを再解析し、水田土壌の鉄還元菌窒素固定菌の詳細な群集組成を調べる。次に、鉄還元菌窒素固定の土壌窒素供給力への寄与を解明する。土壌における鉄還元菌による窒素固定量を測定するとともに、水田における鉄還元菌窒素固定の季節変動を調査する。さらに、鉄還元菌窒素固定を制御する環境要因を解析する。稲わらや刈り株の分解に由来する炭素化合物ならびに水稻根の分泌物が鉄還元菌窒素固定に及ぼす影響を調べる。土壌の鉄還元菌窒素固定活性に影響を及ぼすイネ遺伝子を同定するとともに、水田環境の土壌窒素供給力の維持に必須な植物の応答を明らかにする。一方、水田土壌で鉄還元菌窒素固定菌が呼吸の電子受容体として用いる鉄の形態ならびに還元された鉄の形態を各種の分析法により明らかにする。

II. 鉄還元菌窒素固定の低窒素農業への応用

上記のI. で得られた知見に基づいて、水田土壌の鉄還元菌窒素固定の活性を高めて土壌の窒素供給力を向上する土壌管理手法を考案する。室内系実験および野外圃場試験によって土壌管理手法を検証する。

4. これまでの成果

I. 水田土壌における鉄還元菌窒素固定の学術的基盤解明

鉄還元菌窒素固定菌の分離株の性状解析を行い、系統分類を整理し、新規鉄還元菌を報告した。また、窒素固定遺伝子情報の拡充から、土壌等の環境中の窒素固定細菌群集組成解析のマーカー遺伝子として *nifD*

や *nifK* が適していることを見出した。これを用いて世界の土壌の窒素固定細菌群集のメタゲノム解析を行い、水田以外の耕作地や底泥にも鉄還元窒素固定菌が生息していることを示した。

水田土壌で活発に窒素固定を行っている微生物を安定同位体プローブ法によって調べた。鉄還元菌が水田土壌における窒素固定のキープレーヤーであること、その窒素固定活性は土壌への鉄資材の散布により増強されることを明らかにした。また、鉄還元菌の窒素固定活性は特に湛水期に高いことを見出した。

水田土壌マイクロゾムの解析から、土壌への稲わら添加が鉄還元菌窒素固定活性の発現に重要であることが明らかになった。稲わらの構成成分や微生物による分解産物が鉄還元窒素固定菌に利用されていると考えられた。安定同位体炭素で標識した稲わらを水田土壌に添加した実験から、鉄還元菌が稲わら分解にも重要な役割を果たしていることが示唆された。このことは鉄還元窒素固定菌の分離株でも確認された。イネのゲノム関連解析 (GWAS) に最適化された 198 品種について土壌中の鉄還元菌の割合を指標とした GWAS を行い、土壌中の鉄還元菌の割合と関連する 4 つのゲノム領域を明らかにした。鉄還元窒素固定菌は土壌中の鉄酸化物を呼吸に用いる。水田土壌における鉄の形態とその変化を解析し、鉄還元菌が利用しやすい低結晶性鉄鉱物が多く存在し、土壌の酸化還元の変動に伴い溶存態二価鉄の低結晶性鉄鉱物への結晶化が繰り返されることが示された。

II. 鉄還元菌窒素固定の低窒素農業への応用

水田土壌マイクロゾムの解析から、土壌中の低結晶性鉄鉱物量を高く維持すると鉄還元菌窒素固定を持続的に増強できることを見出した。新潟試験圃場において、土壌への鉄資材の散布によって土壌の窒素固定活性が高まり、水稻の生育、窒素吸収量、収量が増加すること、鉄資材の効果は少なくとも 4 年間は持続することが明らかになった。中国試験圃場において、窒素施肥量を慣行よりも削減すると収量が減少したが、鉄資材の施用により減少は回復・緩和の傾向にあることが複数年にわたり確認された。

5. 今後の計画

I. 水田土壌における鉄還元菌窒素固定の学術的基盤解明

鉄還元窒素固定菌の分離・性状解析・ゲノム解析を継続する。鉄還元菌窒素固定遺伝子データベースを構築して水田土壌の鉄還元窒素固定菌の群集組成データを拡充する。

水田土壌における鉄還元菌窒素固定の季節変動の調査を継続する。

鉄還元菌窒素固定の制御要因としての稲わらに由来する炭素を利用している土壌細菌群の解析を継続するとともに、土壌における稲わら分解産物を同定する。土壌中の鉄還元菌の割合を指標とした GWAS で検出した 4 つのイネゲノム領域について、土壌中の鉄還元菌の割合を増強する遺伝子の同定を進める。

水田土壌における鉄の形態変化についての各種機器分析法を用いた解析を継続する。

II. 鉄還元菌窒素固定の低窒素農業への応用

水田土壌の鉄還元菌窒素固定活性を高める鉄化合物の特定を室内実験により継続する。

土壌への鉄資材の施用による鉄還元菌窒素固定強化と窒素供給力向上、低窒素肥料水稻生産の実証の圃場試験を新潟と中国において継続する。バングラデッシュにおいて新たに圃場試験を開始する。

6. これまでの発表論文等 (受賞等も含む)

Undervalued pseudo-*nifH* sequences in public databases distort metagenomic insights into biological nitrogen fixers.

Kazumori Mise, Yoko Masuda, Keishi Senoo, Hideomi Itoh. *mSphere* (査読有) 6(6), 2021

Genome-based taxonomic rearrangement of the order *Geobacterales* including the description of *Geomonas azotofigens* sp. nov. and *Geomonas diazotrophica* sp. nov. Zhenxing Xu, Yoko Masuda, Xueding Wang, Natsumi Ushijima, Yutaka Shiratori, Keishi Senoo, Hideomi Itoh. *Frontiers in Microbiology* (査読有) 737531, 2021

Geomesophilobacter sediminis gen. nov., sp. nov., *Geomonas propionica* sp. nov. and *Geomonas anaerohicana* sp. nov., three novel members in the family *Geobacteraceae* isolated from river sediment and paddy soil. Zhengcheng Zhang, Zhenxing Xu, Yoko Masuda, Xueding Wang, Natsumi Ushijima, Yutaka Shiratori, Keishi Senoo, Hideomi Itoh. *Systematic and Applied Microbiology* (査読有) 44(5), 126233, 2021

水田土壌における鉄還元菌窒素固定の学術的基盤解明と低窒素農業への応用: 低炭素社会の実現を目指して. 妹尾啓史・増田曜子・伊藤英臣・白鳥豊・大峽広智・Xu Zhenxing・山中遥加・石田敬典・高野諒・佐藤咲良・Shen Weishou. *土と微生物* (査読有) 75(2), 60-65, 2021

鉄で土を肥やす～水田土壌における窒素固定の新たな役者「鉄還元菌」の発見と応用～. 妹尾啓史・大峽広智. *肥料時報* (査読無) 2021 年度第 3 号, 7-27, 2021

水田土壌における窒素固定の新たな役者「鉄還元菌」の発見と低窒素肥料農業への応用. 妹尾啓史. *作物生産と土づくり* (査読無) 2021 年 2・3 月号, 51-55, 2021

チソ固定の新たな役者 鉄還元細菌が田んぼを肥やす. 妹尾啓史. *現代農業* (査読無) 2020 年 10 月号, 88-91, 2020

7. ホームページ等

<https://park-ssl.itc.u-tokyo.ac.jp/soil-cosmology/> (研究代表者の研究室ホームページ)