

根粒菌による温室効果ガスの削減 —ダイズ畑から出るN₂Oの新しい削除技術—

物質循環研究領域 秋山 博子 生物生態機能研究領域 早津 雅仁

世界初の微生物を利用したN₂O削減技術

一酸化二窒素（亜酸化窒素：N₂O）は二酸化炭素の約300倍の温室効果を持つ強力な温室効果ガスで、現在の温室効果への寄与はCO₂、メタンについて3番目に大きいことが知られています。また、N₂Oはオゾン層の破壊の原因物質でもあります。産業革命以前のN₂O濃度は270ppbv（1ppbvは体積比で10億分の1）でしたが、現在の大気中濃度は約319ppbvであり、急激に増加しつつあることが知られています。

N₂Oの人為的発生源のうち、最大のものは農業であり、肥料を使用した土壌や家畜排せつ物の堆肥化の過程などから出るN₂Oの量は、地球全体の人為的発生量の約40～60%を占めると推定されています。このため、農耕地から発生するN₂Oを削減する技術の開発は重要な課題となっています。今までに、肥料の種類を変える（硝化抑制剤入り肥料の利用）等によるN₂Oの削減方法が提案されていますが、農業現場へ

の普及には至っていません。一方、微生物のなかにはN₂Oを窒素ガス（N₂）に還元するものが知られており、この微生物が持つN₂O還元酵素を用いてN₂Oを削減できる可能性が指摘されていましたが、これを実際に野外で実証した例はありませんでした。今回、（独）農業環境技術研究所（農環研）と東北大学の共同研究により、世界で初めて微生物を使ってN₂Oを削減する方法を開発しました。

N₂OをN₂（窒素ガス）に還元する根粒菌

農耕地において、N₂Oはおもに化学肥料や有機肥料の使用や、作物の収穫残さから発生しています。一方、ダイズには細菌の一種である根粒菌が共生し、根に作った根粒（写真1）という共生組織で、空気中の窒素を植物が利用できる形に変えています。ダイズ畑においては、収穫期にダイズの根についている窒素分の豊富な根粒が崩壊する（腐）ことにより、多くのN₂O

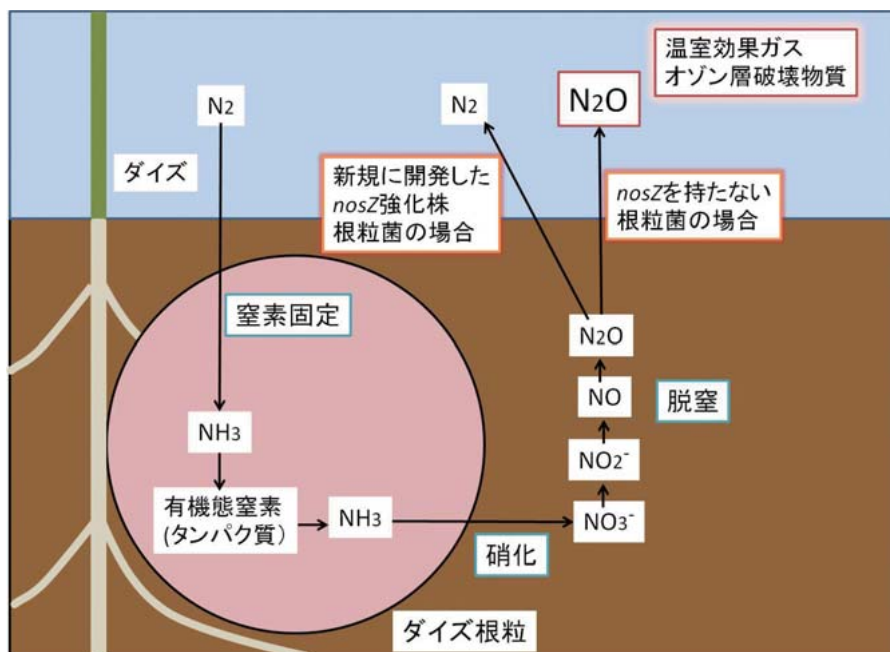


図1 根粒菌によるN₂O削減

N₂O還元酵素を持たない土着根粒菌の場合は、ダイズ根粒が崩壊する際にN₂Oを多く発生するが、開発した根粒菌は、N₂OをN₂（窒素ガス）に変換する。



写真1 ダイズ根に着生している根粒

この根粒の中に根粒菌という微生物が共生して、ダイズに窒素を供給している。

が発生しています。

東北大学では、これまでの研究で、根粒菌のなかにはN₂O還元酵素を持つものと持たないものがあることを明らかにしました。さらにN₂O還元酵素を持つ根粒菌によって作られる根粒がN₂Oを除去することも発見しました。これらの研究過程で、N₂O還元酵素の活性を高めることにより、ダイズ畑から発生するN₂Oを抑制できるのではないかと考えました(図1)。

一方、農環研では、農耕地から出るN₂Oを精密に測定する技術や、環境中の微生物をDNAレベルで追跡する手法を開発していました。農耕地土壌から発生するN₂Oの量は季節変動が大きいため、それを精度良く定量するためには、高頻度に年間を通して測定することが望ましいと考えられます。しかし、一般的な手動の測定法では多大な労力がかかり、測定頻度や期間を十分にとることが困難です。そこで、農環研では、高頻度かつ通年測定が可能な自動連続モニタリング装置を用いた高精度モニタリング法や、より小型で低コストながら、自動でサンプル採集を行う可搬型ガスサンプリング装置を開発していました。

微生物によるN₂O削減技術を開発するには、細胞レベルで起こる現象をほ場で評価する必要、すなわち、ゲノムサイエンスからフィールドサイエンスに至る広範

困な研究手法を統合的に展開する必要があります。そこで、東北大と農環研が共同でN₂O削減技術の開発に取り組みました。

実験室から農家規模の畑へ

まず、東北大はN₂O還元酵素の活性を元株の7~11倍に上昇させたダイズ根粒菌(*nosZ*強化株、*nosZ*はN₂O還元酵素遺伝子のこと)を開発しました。さらに、この根粒菌を接種したダイズを実験室内で栽培し、インキュベーション実験により、開発した根粒菌がN₂O濃度を減少させることを証明しました。

これを受けて、実際の農地でN₂Oの発生を削減できるかどうかについて、農環研のほ場で実証試験を行いました。実験室での実験結果をほ場で再現するにあたっての課題は、根粒菌の接種を大規模で効率よく行う方法、および接種した根粒菌が実際のダイズ畑においてどの程度根粒を形成するかを検定する方法の開発でした。日本の食生活に欠かせないダイズは日本中で古くから栽培されてきており、日本の土壌中には土着のダイズ根粒菌がたくさん住んでいます。このため、培養した根粒菌をほ場にまいてダイズ種子を植



写真2 *nosZ*強化株ダイズ根粒菌の接種

えても、まいた根粒菌はほとんど根粒を作ることができず、土壌に数多く生息している土着の根粒菌が根粒を形成してしまいます。この問題を解決するため、私たちは、パーミキュライトや土壌を詰めた生分解性のポットにダイズ種子を植え、*nosZ*強化株ダイズ根粒菌を培養液ごと直接種子に滴下しました(写真2)。この方法により、目的とする根粒菌に効率よく根粒を作らせることに成功しました。さらに、このダイズ苗を2週間程度育苗し、ほ場に移植して栽培を行いました。接種した根粒菌がほ場で栽培しているダイズの根にどの程度根粒を作っているかを検定する方法については、東北大と共同でゲノム情報による検定法を開発しました。この検定により、接種した根粒菌がほ場で栽培しているダイズの根に根粒を形成していることが確認できました。

これらの方法を用いて、まず小規模ほ場(*nosZ*活性を欠いた土着ダイズ根粒菌が大多数を占める黒ボク土)で実験を行いました。この実験では、*nosZ*強化株を用いることで収穫後のN₂O発生を無処理にくらべて43%削減できました。次に農家規模のほ場(黒ボク土)で試験をしたところ、*nosZ*強化株を用いることに

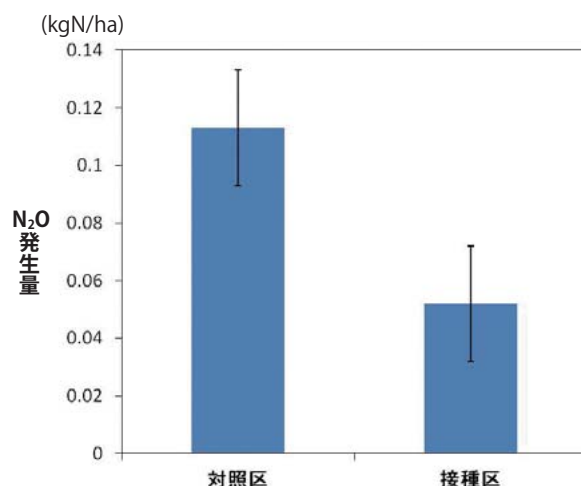


図2 根粒菌の接種によるダイズ収穫後N₂O発生削減

より、収穫後のN₂O発生を47%削減することに成功しました(写真3、図2)。

削減技術の実用化に向けて

ここ数年、ヨーロッパ諸国においても根粒菌を使ったN₂O削減の研究が始まるなど、世界的に微生物を利用したN₂O削減技術への期待が高まっています。しかし、私たちは、N₂O還元酵素を強化した根粒菌を育成しほ場規模の実証実験によりN₂Oの削減を証明するなど、世界をリードしています。今後は、この技術の実用化に向けて、根粒菌のダイズへの接種方法の改良などの研究を進めていく予定です。



写真3 根粒菌を接種したダイズほ場およびN₂O発生量モニタリング装置