

論文審査の結果の要旨および担当者

報告番号	※	第	号
------	---	---	---

氏 名 岡本 卓哲

論 文 題 目

Enhancing nitrogen-fixing capacity of plant-soil system in rice paddy field with low fertility

(貧栄養土壌水田におけるイネ・土壌の窒素固定能の増強)

論文審査担当者

主 査 名古屋大学教授 近藤 始彦

委 員 名古屋大学教授 浅川 晋

委 員 名古屋大学教授 江原 宏

委 員 名古屋大学教授 村瀬 潤

委 員 名古屋大学准教授 矢野 勝也

委 員 名古屋大学講師 杉浦 大輔

委 員 国際農林水産業研究センター主任研究員 辻本 泰弘

論文審査の結果の要旨

別紙 1 - 2

研究の背景と目的

水田は肥沃度の維持能力が高く、その一因として空気中の窒素分子を植物の栄養源となるアンモニアに細菌が変換する「生物学的窒素固定（以下、窒素固定）」能力の高さが挙げられる。貧栄養土壌かつ窒素肥料の施肥が不十分であるイネ生産現場では特に窒素固定の有効な活用が期待される。水田におけるイネ栽培系ではイネ体内、根圏および土壌中に生息する窒素固定細菌による寄与があるとされ、これらを総合的に向上することが効果的と考えられる。窒素固定は多くのエネルギーを消費し、炭素源を必要とすることから体内および土壌では炭素源の種類や量が窒素固定能に影響することが想定される。これまでにイネの体内では茎部で窒素固定能が高いこと、また品種間で体内の窒素固定能に変異があることが報告されているがその要因や原因遺伝子には不明が多い。イネの茎における窒素固定は糖蓄積に応じて高まる可能性があるが、窒素固定の主体となる菌叢や、茎の中の部位は依然不明である。また窒素固定はリンを必要とし、その触媒となるニトロゲナーゼ酵素はモリブデンや鉄を含有しているため、これらの要素が窒素固定能に影響することも知られる。水田土壌では、有機物やリン肥料、鉄等の金属含有資材の施用が窒素固定能を増強するとの報告もあるが、熱帯土壌を含む幅広い土壌での検証はされていない。

これらの背景をうけて本研究では、低肥沃土壌の窒素固定の総合的な増強に資するため、熱帯由来の土壌や品種を用いながら、イネおよび土壌の窒素固定の変動要因を解明しようとした。イネ体内については茎における窒素固定に着目し、その品種間差異やメカニズムを炭素利用および窒素固定細菌叢の組成から解析した。さらに、窒素固定能力の高い *Oryza glaberrima* の染色体断片置換系統群 (CSSLs) を利用し、高い窒素固定能力に関与する遺伝子領域の同定を試みた。土壌については金属元素を含む鋳造副産物を水田土壌に施用した際の窒素固定の向上効果を評価した。最後に、肥沃度の低い水田の代表例として、マダガスカルに着目し、マダガスカルの主力品種の窒素固定能を評価するとともに、炭素源とリンおよび現地で入手可能な堆肥を施用した場合の土壌窒素固定の促進効果とその要因を解析した。以下にその結果の要旨を示す。

イネ茎部の窒素固定の菌叢解析と炭素源の関係

茎部の窒素固定部位を明らかにするため出穂期のイネの茎の基部を $^{15}\text{N}_2$ ガスに暴露し、微細部位ごとの ^{15}N 量を解析した。その結果、不伸長茎部の外側が窒素固定の高い部位として機能していることが明らかになった。さらに、不伸長茎部の外側には、メタンを利用するメタン酸化細菌と、*Paraburkholderia* sp.等の糖を利用する細菌が多く存在したことから、窒素固定はこれらの細菌がメタンと糖を消費しながら行われていたと考えられた。次いで活性の高かった葉鞘では、*Paraburkholderia* sp.

論文審査の結果の要旨

別紙 1 - 2

や *Sagittula* sp. が主体であり、主に糖類を基質とすることが推察された。これらの結果より部位により主体となる菌叢やその基質が異なる可能性を示した。

茎部窒素固定能の品種間差異と遺伝要因

イネの茎の窒素固定活性と糖濃度が異なる品種間の窒素固定細菌叢を調べたところ、多くの菌種は品種間で共通であり、*Paraburkholderia* sp. や *Bradyrhizobium* sp. など糖資化性を持つ菌種が主体であることが認められた。一方で、窒素固定活性の高かった *O. glaberrima* の CG14 では *Kosakonia* sp. が特異的に高い傾向があるなど、品種に特有の菌種も存在することも示された。また窒素固定活性に関与する QTL を明らかにするために *O. sativa* を遺伝的背景とし、*O. glaberrima* 由来の染色体断片を持つ 2 種類の CSSLs を栽培し、茎の窒素固定活性を評価した。その結果 *O. sativa* 親品種よりも高い活性を持つ系統が存在した。それらの系統における *O. glaberrima* 由来の染色体断片置換位置は第 2、6、7、8、11、12 染色体の一部にそれぞれ存在し、*O. glaberrima* の窒素固定能の高さは複数の遺伝要因により制御されている可能性が示された。

水田土壌の窒素固定に及ぼす鑄造副産物の影響

水田土壌において、鑄物工程から産出される 5 種類の副産物を日本の 3 地点の水田土壌に施用した場合の窒素固定能への影響を土壌培養実験によってアセチレン還元能 (ARA) および $^{15}\text{N}_2$ 法によって評価した。好気・光所条件と嫌気・暗所条件下の 2 条件で評価を行った結果、1 種類の資材が好気・光条件下でセルロースとともに施用することで窒素固定能の促進効果を示した。この資材は鉄を多く含み、またモリブデンも含むことからこれらの要素が好気・光所条件における窒素固定の促進に関与する可能性が示唆された。

マダガスカルの水田土壌における窒素固定能の向上

貧栄養土壌が優占するマダガスカルの主力水稻品種の一つである X265 を圃場栽培し、生育期間中の窒素固定活性を ARA で評価した。結果、X265 は日本の多収水稻品種北陸 193 号よりも ARA の積算値から推定された栽培期間の総窒素固定量が高いことが分かった。すなわち、X265 は低肥沃度の環境により適応し、高窒素活性イネ品種の育種素材として利用できる可能性が明らかになった。また、マダガスカルの多くの農家が生産する牛糞、稲藁、ブサカ草 (*Aristida* sp.) および土壌を主原料とした堆肥の施用が窒素固定に及ぼす効果について、炭素源 (セルロース) とリンの施用と比較しながら、マダガスカルの 4 地点の水田土壌を用いて評価した。表層を模した好気・光所条件と下層を模した嫌気・暗所条件下で土壌培養実験を行った。

その結果、炭素源 (セルロース) の添加により窒素固定能が促進されたが、表層条件では特にリンも制限要因となっていることが明らかになった。マダガスカル土壌で比較的高い活性を示す土壌が存在したが、無機態窒素の低さが一因と推察され

論文審査の結果の要旨

別紙 1 - 2

た。一方で、堆肥については窒素固定の促進は認められたものの効果は小さく、今回の土壌培養の期間ではこの堆肥は十分に分解されていないことも明らかになったため、今後、堆肥の分解特性などからより効果的に窒素固定を向上できかつ収量向上につながる堆肥の作出法と施用法の確立が必要と考えられた。

総合考察・結論

本研究によって、イネの茎の窒素固定は不伸長茎部の外側が高いこと、そこではメタンと糖を利用する細菌が窒素を固定していることが示唆された。また、イネ品種間の菌叢解析により品種固有の菌種がある一方で、多くの細菌の品種間での共通性を明らかにした。さらに、*O.sativa* の窒素固定能の向上に有効と思われる *O. glaberrima* がもつ染色体部位を同定した。またマダガスカルでは、現地品種の X265 は窒素固定能が高く、現地の貧栄養水田土壌では炭素源やリン施用が窒素固定を促進する可能性を示した。水田土壌の窒素固定能に関しては、鑄造過程副産物が好気・明所条件下で窒素固定を促進することが明らかとなった。実用に際しては、マダガスカルのような遊離酸化鉄を多く含み鉄過剰障害の可能性のある土壌を含めて多様な土壌で土壌特性にあった資材の利用が求められる。これらの結果は今後、貧栄養水田土壌において、イネと土壌の窒素固定を同時に評価する必要性とその向上の可能性を示唆するものである。本研究の結果をもとに茎など体内の窒素固定量の高い品種や窒素固定を促進できる堆肥が開発されれば、肥沃度の低い水田での窒素固定量の向上と、コメ収量の増加や農家の経営改善につながることを期待される

本研究はこれまでほとんど知見がなかったイネ茎部の窒素固定の動態や関与する可能性のある菌叢に関して新たな知見をもたらすとともに、マダガスカルの土壌を対象に層位別の土壌の窒素固定能の制限要因を明らかにすることで熱帯に広く分布する低肥沃度土壌での窒素固定の増強策の構築に資する基礎的情報をもたらした。したがって、本委員会は本論文が博士（農学）の学位論文として十分な価値を有すると認め、論文審査に合格と判定した。