

アブラナ科植物を含む緑肥植物が放出する 二次代謝産物による N₂O 生成脱窒細菌制御の検証

応用生物科学専攻 生命分子化学講座 生態化学生物学 西山 隆晃

1. 背景と目的

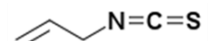
脱窒過程で農地から生成する亜酸化窒素(N₂O)が、近年、大きな問題となっている。N₂Oは強い温室効果を示すばかりでなく、オゾン層破壊の主因ともなっており、IPCC2014の報告書によると、畑地土壌がその主要な発生源になっている。土壌からのN₂O放出は、圃場への窒素施肥量、年間気温、土壌温度、年間降水量、土壌水分量、作付け、土壌有機物量、腐植酸量、土壌pH、さらには栽培作物種、ならびに収穫法など、様々な要因が関係するが、その全貌は明らかとなっていない。本研究では、緑肥として汎用される植物体が産生する二次代謝産物中に、N₂O生成を抑制あるいは促進するものを探索し、畑地からのN₂O放出抑制技術の開発を目指した。

2. 方法

緑肥として鋤込まれる植物の地上部や根が土壌脱窒細菌のN₂O生成に対する影響を評価するため、幾つかのカラシ油配糖体を多く含むハツカダイコン (*Raphanus sativus* var. *sativus*) とキガラシ (*Brassica juncea*) 芽生え抽出物について、ガスクロバイアル中の硝酸塩添加ゲル培地を用いたN₂O放出細菌培養法による検定を行った。人工気象室内で10日間育成した約2000本のハツカダイコンとキガラシ芽生えを地上部と地下部に分け、それぞれをMeOH抽出し、抽出物は濃縮後、メタノール可溶部とメタノール不溶水可溶部に分画した。本研究室で分離された2種類の高N₂O生成土壌細菌、*Pseudomonas* 属細菌 05CFM 15-6D 株(北海道黒ボク土コーン根圏から分離)と *Burkholderia* 属細菌 112-30S-B2 株(インドネシア熱帯泥炭土壌から分離)を検定に用い、それぞれの緑肥芽生え抽出物をバイアル当たり芽生え4~20本相当量でN₂O生成アッセイ用培地10mlに添加した。また、市販されているカラシ油(isothiocyanate 類)をそれぞれMeOHに溶解して調製した定モル溶液を用い、終濃度20~300 μMで、N₂O放出試験に供し、それぞれの脱窒細菌の各種 isothiocyanate 類に対する応答を調べた。

3. 結果と考察

キガラシおよびハツカダイコンを使用した実験では、*Pseudomonas* 属脱窒細菌に対して特にキガラシ芽生え地上部抽出物のMeOH可溶部がN₂O生成を強く抑制 ($P < 0.01$) する一方で、ハツカダイコン芽生え地上部水可溶部は有意にN₂O生成を促進した ($P < 0.01$)。各種 isothiocyanate 類を添加した試験により、allyl isothiocyanate と butyl isothiocyanate 添加区では *Pseudomonas* 属細菌 05CFM 15-6D 株に対しそれぞれ 30 μM, 80 μM を最小 N₂O 放出阻害濃度として、N₂O 生成を有意に抑制することが示された。これらの抑制効果は液体培養試験でも再現性が認められ、OD₆₆₀ 値から、両化合物には静菌作用があり、菌体増殖量の低下と代謝抑制の相乗効果によって N₂O 放出が減少すると考えられた。以上の結果を受け、N₂O 生成のホットスポットとなる畑地に対して、緑肥としてキガラシを栽培し、これを土壌に鋤き込むことで土壌脱窒細菌の活動を制御できる可能性が示された。この biofumigation は持続可能型農業システムによる N₂O 抑制法の一選択肢として期待できる。



allyl isothiocyanate



butyl isothiocyanate