

## 堆肥の長期連用で水田土壤に高い窒素固定活性を確認

～化学肥料の使用量削減に結び付く可能性も～

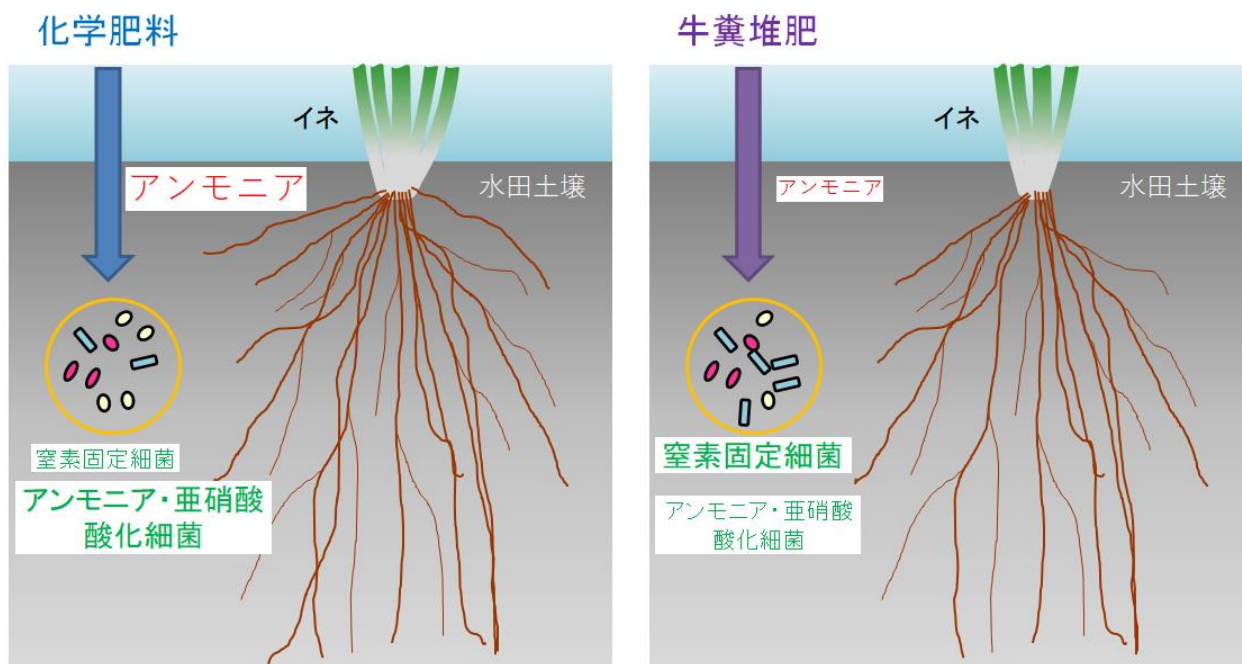
### 【発表のポイント】

- ・水田土壤への堆肥あるいは化学肥料の長期連用が土壤に及ぼす影響を調べた。
- ・堆肥の施用は土壤における窒素固定活性と細菌叢の多様性を高めた。
- ・化学肥料の施用は土壤のアンモニア含量とアンモニア酸化細菌の比率を高めた。

### ■研究概要

農学部・応用生命化学科の前田勇教授、生物資源科学科の平井英明教授と早川智恵助教、附属農場の高橋行継教授らの研究グループは、水稲の研究圃場で1991年から続く堆肥あるいは化学肥料の施用が土壤の窒素固定活性<sup>注1</sup>と細菌叢<sup>注2</sup>に及ぼす影響について明らかにしました。堆肥と化学肥料をそれぞれ施用してきた区画における土壤細菌叢の違いは、窒素化合物であるアンモニア<sup>注3</sup>と亜硝酸<sup>注4</sup>の酸化細菌の存在比において明確に認められました。また、堆肥区では細菌叢の多様性や窒素固定活性が高くなりました。堆肥の長期連用によるこれらの変化はイネ共生細菌の窒素固定能をも向上させ、その結果としてイネにおいて窒素固定を介してより多くの窒素が補われる可能性を示唆しています。

本研究成果は、6月16日、オンライン学術誌「Environments」で公開されました。



図「資材連用による水田のアンモニア含量と窒素循環に関与する細菌の存在比の変化」  
牛糞堆肥区ではアンモニア含量が比較的低く抑えられており、このことがアンモニアや亜硝酸の酸化細菌の存在比が低く、窒素固定細菌の存在比が高いことの一因となっていることが示唆されます。

## ■研究の背景

生物学的窒素固定は植物の成長に必要な窒素を、自然条件下におけるアンモニア合成を介して植物に供給します。窒素固定を触媒する酵素は、窒素固定細菌が有するニトロゲナーゼです。窒素肥料の原料であるアンモニアの化学合成には大量の化石燃料が消費されることから、窒素固定活性を高めることは化学肥料の使用量削減に貢献し、持続可能な農業の概念にも合致します。しかし、このような観点から見た場合に、水田において土壌に施用した資材が土壌細菌のニトロゲナーゼ活性や細菌叢にどのような影響を与えるのかはまだ明らかになっていません。そこで本研究では、1991年から続く長期の資材連用が、土壌細菌のニトロゲナーゼ活性と土壌細菌叢に対してどのような影響を与えるのかを調査しました。

## ■研究方法

土壌は附属農場の水稲栽培圃場（牛糞堆肥区と化学肥料区）から採取しました。ニトロゲナーゼ活性は、土壌をグルコース溶液とアセチレンと共にフラスコに封入し、反応により生成したエチレンをガスクロマトグラフィーで定量することで測定しました。土壌細菌叢解析は、土壌からビーズ破碎によりDNAを抽出し、このDNAを鋳型としたPCRにより16S rRNA遺伝子を増幅して行いました。遺伝子塩基配列の決定は、メタゲノム解析の受託サービスにより、データ解析はフリーウェアのmothurによりそれぞれ行いました。

## ■研究成果

ニトロゲナーゼ活性は夏冬ともに堆肥区の方が化学肥料区よりも高い結果となりました。堆肥区では化学肥料区よりも土壌細菌叢の多様性は増加した一方、土壌に含まれるアンモニアの含量は減少しました。ニトロゲナーゼ活性は高濃度のアンモニアにより抑制されます。したがって、アンモニア含量の低下は窒素固定細菌の増殖にとって有利に働くことが考えられます。土壌細菌叢の解析結果から、堆肥区と化学肥料区で土壌細菌叢に明らかな違いが生じていました。アンモニアおよび亜硝酸の酸化細菌が分類されるニトロスピラ綱細菌の土壌存在比は、化学肥料区よりも堆肥区で低くなりました。このことは土壌中のアンモニア含量の低下に起因する可能性が示唆されました。その一方で、多くの窒素固定細菌が分類される $\alpha$ -プロテオバクテリア綱細菌の土壌存在比は堆肥区で高くなりました。このことは堆肥区でニトロゲナーゼ活性が高くなった一因となっていると考えられます。

## ■今後の展望（研究のインパクトや波及効果など）

堆肥の長期連用により生ずる細菌叢の多様性増加と土壌アンモニアの含量低下が、堆肥区土壌のニトロゲナーゼ活性増加に寄与する可能性が示されました。これらの変化は、イネにおいても窒素固定を介してより多くの窒素が補給される可能性を示唆するものです。

## ■論文情報

論文名 : Adaptations of potential nitrogenase activity and microbiota with long-term application of manure compost to paddy soil

雑誌名 : Environments

著者 : Zhalaga Ao, Juan Xia, Honoka Seino, Katsuhiko Inaba, Yukitsugu Takahashi, Chie Hayakawa, Hideaki Hirai, and Isamu Maeda

URL: <https://doi.org/10.3390/environments10060103>

## ■用語説明

注1 細菌による空気中の窒素ガスをアンモニアに変換する反応の速度を表す指標となる。

注2 特定の環境に生息する細菌の網羅的な種類とそれらの構成比を表す。

注3 生物を構成する有機窒素化合物の基となる無機態の窒素化合物の一つである。

注4 アンモニアの酸化により生成し、更に酸化されると硝酸へと変換される。

#### ■英文概要

Biological nitrogen fixation complements nitrogen from fertilizers in crop plants under natural conditions. It also contributes to the reduction in chemical fertilizer (CF) utilization in cultivated lands, which fits the concept of sustainable agriculture. From this viewpoint, however, it is still unknown in paddy fields how soil bacterial nitrogenase and microbiota are affected by applied materials in the soil. Therefore, in this study, the effects of long-term material applications on potential nitrogenase activity and the microbiota of soil bacteria were investigated. The nitrogenase activity tended to be higher in manure compost (MC)-applied soils than in CF-applied soils in both summer and winter. Soil bacterial alpha diversity increased whereas soil ammonia availability decreased with the MC application. The dynamic response of soil bacterial microbiota was caused by the MC application. The abundance of *Nitrospira*, a class of ammonia and nitrite oxidation bacteria, was lower and the abundance of alpha-Proteobacteria was higher in the MC-applied soils than in the CF-applied soils. These results suggest that the alpha diversity increase and restricted availability of NH<sub>3</sub>-N might contribute to the increase in potential nitrogenase activity in the long-term MC-applied soils.

#### 本件に関する問い合わせ

(研究内容について)

国立大学法人 宇都宮大学 学術院 教授 前田 勇

TEL : 028-649-5477 FAX : 028-649-5477 E-mail : i-maeda@cc.utsunomiya-u.ac.jp

(報道対応)

国立大学法人 宇都宮大学 広報室 (広報係)

TEL : 028-649-5201 FAX : 028-649-5026 E-mail : kkouhou@miya.jm.utsunomiya-u.ac.jp