

先端研究助成基金助成金(最先端・次世代研究開発支援プログラム) 実績報告書

本様式の内容は一般に公表されます

研究課題名	温室効果ガスの高精度モニタリングと環境メタゲノミクスの融合によるN2O削減
研究機関・ 部局・職名	独立行政法人農業環境技術研究所・物質循環研究領域・主任研究員
氏名	秋山博子

1. 研究実施期間 平成23年2月10日～平成26年3月31日

2. 収支の状況

(単位:円)

	交付決定額	交付を受けた額	利息等収入額	収入額合計	執行額	未執行額	既返還額
直接経費	110,000,000	110,000,000	0	110,000,000	109,879,134	120,866	0
間接経費	33,000,000	33,000,000	0	33,000,000	32,963,740	36,260	0
合計	143,000,000	143,000,000	0	143,000,000	142,842,874	157,126	0

3. 執行額内訳

(単位:円)

費目	平成22年度	平成23年度	平成24年度	平成25年度	合計
物品費	556,500	22,955,909	21,249,587	19,986,598	64,748,594
旅費	0	0	912,470	905,500	1,817,970
謝金・人件費等	0	1,483,118	15,903,509	19,247,308	36,633,935
その他	0	1,241,735	4,192,499	1,244,401	6,678,635
直接経費計	556,500	25,680,762	42,258,065	41,383,807	109,879,134
間接経費計	166,950	7,704,229	12,677,419	12,415,142	32,963,740
合計	723,450	33,384,991	54,935,484	53,798,949	142,842,874

4. 主な購入物品(1品又は1組若しくは1式の価格が50万円以上のもの)

物品名	仕様・型・性能等	数量	単価 (単位:円)	金額 (単位:円)	納入 年月日	設置研究機関名
N2O同位体比モニタリングシステム	NFエンジニアリング NF-1001 1式	1	9,392,250	9,392,250	2014/2/14	農業環境技術研究所
核酸電気泳動装置	Bio-rad 170-9078J1	1	992,250	992,250	2013/1/24	農業環境技術研究所
ゲル撮影装置	Gel Doc XR Plus Labシステム	1	1,691,550	1,691,550	2013/1/24	農業環境技術研究所
小型冷凍器	クリメコ小型冷凍器	1	1,890,000	1,890,000	2013/2/26	農業環境技術研究所
PCR用サーマルサイクラー	Veriti 96well	1	956,970	956,970	2013/2/26	農業環境技術研究所
微生物用ファーメンタ	EYELA 249000 型式:M-1000A	1	508,725	508,725	2013/2/26	農業環境技術研究所
亜酸化窒素同位体分光計	CW-QC-TILDAS-SC-	1	20,475,000	20,475,000	2012/3/27	農業環境技術研究所

5. 研究成果の概要

本課題では実験室規模からフィールド規模においてN₂Oフラックス、安定同位体自然存在比解析、微生物遺伝子解析を組み合わせたN₂O発生メカニズムの解明を行った。国内で初めてレーザー分光N₂O同位体計を導入し、N₂O同位体自然存在比の連続測定手法を開発した。またN₂O発生ホットスポットからのDNA・RNAを抽出し、次世代シーケンサーを用いてN₂O発生微生物についての解析を行った。

その結果：

- ・土壌の種類によりN₂Oの発生経路が異なることにより、被覆肥料のN₂O削減効果が異なることを明らかにした。
- ・大雨後のN₂Oのバーストピークは脱窒が主なN₂O生成経路であることを明らかにした。
- ・強酸性土壌の茶園には新規なアンモニア酸化細菌(AOB)が存在することを示した。
- ・作物残渣から発生するN₂Oにおいて、糸状菌脱窒が重要であることを明らかにした。
- ・硝化抑制剤のターゲットとなるAOBとアンモニア酸化古細菌(AOA)において、施肥の種類により多様性や肥料への反応が異なることを明らかにした。

上記のように、モニタリング、同位体分析、メタゲノミクスという異分野の研究を融合させ、N₂O生成現象の全体像を明らかにする研究手法は、他の温室効果ガスやその他の物質循環研究にも応用が可能であることから、地球環境研究全般に波及効果が期待される。

課題番号

GS027

先端研究助成基金助成金(最先端・次世代研究開発支援プログラム) 研究成果報告書

本様式の内容は一般に公表されます

研究課題名 (下段英語表記)	温室効果ガスの高精度モニタリングと環境メタゲノミクスの融合によるN ₂ O削減
	Mitigation of N ₂ O Emissions by Linking Flux Monitoring and Metagenomics
研究機関・部局・ 職名 (下段英語表記)	独立行政法人農業環境技術研究所・物質循環研究領域・主任研究員
	Senior Researcher, Carbon and Nitrogen Cycles Division, National Institute for Agro-Environmental Sciences
氏名 (下段英語表記)	秋山 博子
	Hiroko Akiyama

研究成果の概要

(和文):

本課題では実験室規模からフィールド規模において N₂O フラックス、安定同位体自然存在比解析、微生物遺伝子解析を組み合わせた N₂O 発生メカニズムの解明を行った。国内で初めてレーザー分光 N₂O 同位体計を導入し、N₂O 同位体自然存在比の連続測定手法を開発した。また N₂O 発生ホットスポットからの DNA・RNA を抽出し、次世代シーケンサーを用いて N₂O 発生微生物についての解析を行った。このようにモニタリング、同位体分析、メタゲノミクスという異分野の研究を融合させ、N₂O 生成現象の全体像を明らかにする研究手法は、他の温室効果ガスやその他の物質循環研究にも応用が可能であることから、地球環境研究全般に波及効果が期待される。

(英文):

We investigated N₂O production pathways in soil from N₂O flux measurement, isotopomer analysis and DNA and RNA analysis of microbes. We developed continuous N₂O isotopomer monitoring method using by Quantum Cascade Laser Analyzer. We also extracted and analyzed DNA and RNA from soil. Our approach to combine different discipline to investigate N₂O production pathways can be used for other greenhouse gases and environmental research.

様式21

1. 執行金額 142,842,874円
 (うち、直接経費 109,879,134円、間接経費 32,963,740円)

2. 研究実施期間 平成23年2月10日～平成26年3月31日

3. 研究目的

一酸化二窒素（亜酸化窒素； N_2O ）は二酸化炭素の約 300 倍の温室効果があり、オゾン層破壊物質でもある。 N_2O の最大の人為的発生源は農業活動であり、その主要な発生源は農耕地への窒素肥料の施用である。今後も急激な人口増加による農業生産の増大に伴い、 N_2O 発生量は増加し続けると推定されている。しかし農耕地からの N_2O 発生は微生物による複数の窒素代謝経路の副産物として生成され、正確な発生量の測定と予測、ならびに効果的な低減技術の開発は十分でない。このため、発生メカニズムの解明とそれに基づく効果的な排出低減技術の開発は急務である。

N_2O は土壌中の微生物による脱窒および硝化の過程から主に発生する。純粋分離された微生物の N_2O 発生メカニズムが酵素・遺伝子のレベルまで明らかにされているにも関わらず、多くの微生物は培養不可能であるため環境中で実際に機能する N_2O 生成微生物とその具体的な代謝経路、代謝系の環境応答機構等は不明である。一方最近、環境中の DNA を丸ごと解析するメタゲノム解析が次世代シーケンサーの登場で可能になり、世界的に注目されているが、 N_2O 生成微生物を対象とした研究は行われていない。このため、本研究では様々な農耕地において N_2O 発生量のモニタリングと同時に土壌微生物等の解析を行う。

本研究においては、いままでは別々に行われてきた温室効果ガスフラックス測定とメタゲノミクスという異なる専門分野の研究を融合し、現象とメカニズムの総合的な理解を目指す(図1)。本研究は発生メカニズムの解明に基づく N_2O 発生削減技術の開発のための基礎的知見を得るものであり、農耕地で実際にどのような土壌微生物が N_2O 発生に関与しているかを明らかにし、 N_2O 発生削減技術の開発につなげる。

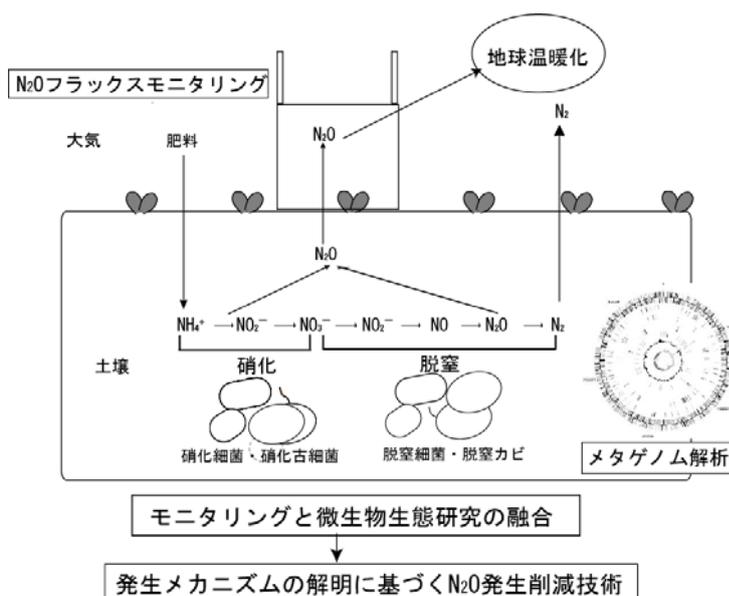


図1 異分野融合による N_2O 発生メカニズムの解明

4. 研究計画・方法

- (1)レーザー分光計を用いた N_2O 自然安定同位体比の連続測定技術を開発する。
- (2)モニタリングデータに基づき N_2O ホットスポットから高品質な DNA および RNA を抽出・精製して、メタゲノム解析およびメタトランスクリプトーム解析を行い機能している遺伝子群を定性・定量する一連の手法を開発する。
- (3) N_2O 発生が多い農耕地において(1)と(2)で確立した N_2O フラックスと安定同位体比のモニタリングと土壌メタゲノム解析を実施し、 N_2O 発生経路と微生物を特定しその特徴を明らかにする。
- (4) (3)で明らかにした遺伝情報に基づき mRNA 解析条件を設定し、 N_2O モニタリングと同時に mRNA 解析により N_2O 発生に関与する微生物と生成経路を短時間に特定する手法を開発する。
- (5) N_2O 発生経路や微生物の特徴に基づき、有機肥料や硝化抑制剤などの N_2O 削減における有効性をモニタリングと mRNA 解析で評価する。

5. 研究成果・波及効果

(1) N_2O 安定同位体自然存在比の連続測定法の開発

日本で初めて導入した亜酸化窒素同位体計(レーザー分光 N_2O 同位体計)を用いた N_2O 連続測定を実施し、大気濃度における測定手法を開発した。

(2) N_2O ホットスポットからの DNA・RNA 抽出・生成方法ならびにメタゲノム解析およびメタトランスクリプトーム解析手法の開発

N_2O モニタリングデータに基づき N_2O 発生のホットスポットを特定し、DNA および mRNA、rRNA を抽出した。高純度土壌 RNA 調製法を最適化し、解析に必要な純度と量の RNA を調製する方法を確立し、次世代シーケンサーを用いたメタゲノム解析およびメタトランスクリプトーム解析を行い機能している遺伝子群を定性・定量する一連の手法を確立した。

(3) N_2O フラックス、 N_2O 安定同位体比のモニタリングと土壌メタゲノム解析手法を用いた N_2O 発生経路と微生物の解析

① ^{15}N トレーサー法を用いた土壌インキュベーション実験

被覆肥料の N_2O の削減効果が土壌により大きく異なる(Akiyama et al. 2011)理由を明らかにすることを目的として実験を行った。黒ボク土および灰色低地土(WFPS55%)に尿素または被覆尿素を添加し、 N_2O 発生量、土壌中無機態窒素濃度、安定同位体比の測定を行った結果、灰色低地土では、硝化および脱窒からの N_2O 発生量は同程度であり、被覆尿素を添加した場合に硝化の寄与が増加した。一方、黒ボク土ではいずれの肥料においても硝化が主な N_2O 発生経路であった。これらの結果より、土壌により N_2O の発生経路が異なることが、被覆肥料の削減効果が異なる理由であると考えられた。

②大雨後の N₂O バーストピークとそのメカニズムの解明（土壌インキュベーション実験）

灰色低地土転換畑圃場において、大雨後に非常に大きな N₂O の発生（バーストピーク）を観測した。この発生メカニズムの解明のため、土壌インキュベーション実験を行った結果、大雨前に土壌が乾燥している場合にのみバーストピークが見られることが明らかになった（図 2）。自然安定同位体比の解析の結果、脱窒が主な発生源であることが明らかになった。

さらに、脱窒に関連する N₂O 発生関連遺伝子について DNA レベルで (*nirK*, *nirS*, *nosZ*) の存在量を調べた。その結果、灰色低地土では、*nirS* が主要な亜硝酸酸化酵素遺伝子であることを明らかにした。さらにこれらのデータに基づき、各遺伝子の mRNA を調べ *nirK* に比べて *nirS* の発現量が多いことを示した。また湛水と同時に脱窒関連遺伝子の DNA および mRNA が増加している（図 3）のに対し、N₂O 発生は湛水後に見られること（図 2）から、遺伝子の発現と N₂O 発生にはタイムラグがあることが明らかになった。この原因は N₂O 還元酵素 (*NosZ*) の合成の遅れ、酸素による失活および湛水によるガス拡散速度の低下によるものと考えられた。

(4) N₂O 発生に関与する微生物と生成経路を短時間に特定する解析法の開発

最近の次世代シーケンス技術の著しい進歩により、マイクロアレイに代えて次世代シーケンサーによるメタトランスクリプトーム解析と RT-定量 PCR を用いた定性的・定量的な解析が有効と考えられた。そこで (2) で確立した手法と RT-定量 PCR 法を用いて、N₂O 生成に重要な mRNA-*amoA* を解析し、施肥によりアンモニア酸化古細菌 (AOA) と細菌 (AOB) の反応性の違いを明らかにした。さら

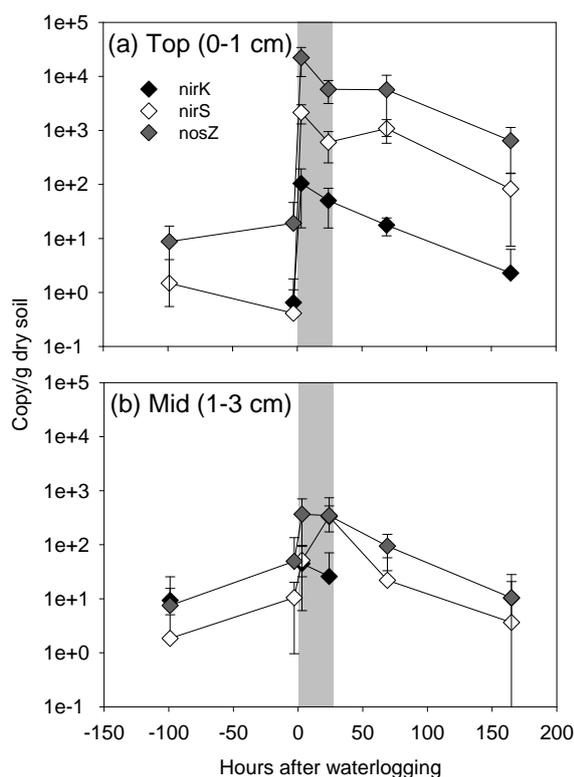


図 2 土壌湛水前後の N₂O 発生（バーストピーク）

湛水前の土壌が乾燥している場合のみ N₂O バーストピーク現象が起こることを解明

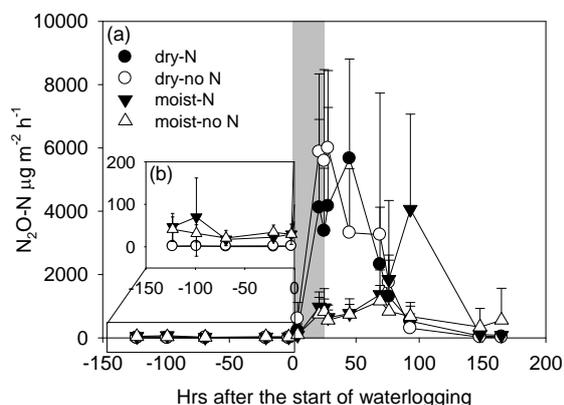


図 3 土壌湛水前後の mRNA 量の変化

土壌湛水と同時に脱窒関連 mRNA の増加

→mRNA の増加と N₂O 発生にはタイムラグ：原因は N₂O 還元酵素合成の遅れ、湛水によるガス拡散低下

に強酸性茶園土壌には新規なアンモニア酸化細菌が存在することを示した。このように土壌からの DNA、mRNA の抽出技術、次世代シーケンス技術（メタゲノミクス、トランスクリプトミクス）を組み合わせることにより、効率的に N₂O 発生微生物の生態を評価できた。

(5) N₂O フラックス連続モニタリング、安定同位体自然存在比、土壌微生物解析を組み合わせた N₂O 発生メカニズムの解明および削減技術の評価

①脱窒カビ培養実験および不耕起圃場における糸状菌脱窒の寄与の推定

近年、脱窒細菌だけでなく糸状菌も脱窒を行うことが明らかになった。しかし、環境中における糸状菌脱窒の重要性については不明であるため、この寄与を明らかにすることを目的として実験を行った。各種の糸状菌を培養した結果、糸状菌の種類により N₂O 発生量は大きく異なった。糸状菌脱窒経路からの N₂O 安定同位体比および SP の報告例はこれまでに 1 報のみであるが、圃場から分離した糸状菌を用いた本実験においても同程度の値が得られた。さらに、茨城大学不耕起圃場において採取した N₂O サンプルおよび同圃場から分離した脱窒カビの培養実験による N₂O の安定同位体自然存在比の比較を行った結果、圃場における N₂O の主な発生源は細菌脱窒であるが、カビ脱窒および硝化の寄与も一部あると推定された。

②作物残さから発生する N₂O 発生量および発生メカニズムの解明

作物残さは N₂O 発生源である可能性が指摘されているが、研究例は非常に少なく、その N₂O 発生メカニズムについては研究例がない。このため、野菜栽培圃場において、N₂O フラックスの連続モニタリングおよび安定同位体自然存在比測定を行った。その結果、キャベツやジャガイモ等の収穫残さが重要な N₂O 発生源であることを明らかにした。また、N₂O 安定同位体比の解析結果より、細菌脱窒およびカビ脱窒が N₂O の主な発生経路と推定された。ジャガイモ残渣からの糸状菌の分離を行い、残渣からの N₂O 発生において糸状菌脱窒が重要であることを明らかにした。

③硝化抑制剤のターゲットとなるアンモニア酸化菌の生態解明

圃場実験により、硝化抑制剤により AOB および AOA 菌数の増加が抑制され N₂O 発生が削減されることを示した。さらに硝化抑制剤の評価のターゲットとなる AOA および AOB について、施肥条件の異なる野菜畑土壌および茶園土壌を用い検討した。野菜畑のアンモニア酸化酵素遺伝子 (*amoA*) のメタゲノム解析から、AOB と AOA は化学肥料と有機肥料（牛糞堆肥）の施用で増加したが、それらの多様性は肥料の種類により異なり、肥料への反応も堆肥連用土壌と化学肥料連用土壌で異なることを明らかにした。また茶園土壌では pH によって存在する AOA と AOB の多様性、菌数が異なり、AOA と AOB の mRNA-*amoA* の発現量も異なることを示した。さらに pH3 程度の強酸性土壌に酸性環境に適応した AOB が存在することを見出した。これの結果は硝化抑制剤を評価するための指標として利用できると考えられる。

以上、圃場実験と圃場の現象を再現するためのインキュベーション実験を組み合わせ、同位体解析と微生物遺伝子解析を統合的に展開し、N₂O 発生削減のための発生メカニズム解明を行った。

6. 研究発表等

<p>雑誌論文 計 19 件</p>	<p>(掲載済み一査読有り) 計 13 件</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. <u>秋山博子</u>, 馬場光久, 河野憲治、地球環境, 日本土壤肥科学雑誌, 2011, 82(6), 578-585 2. Takada-Hoshino Y, Morimoto S, Hayatsu M, Nagaoka K, Suzuki C, Karasawa T, Takenaka M, <u>Akiyama H</u>, Effect of soil type and fertilizer management on archaeal community in upland field soils, <i>Microbes and Environment</i>, 2011, 26(4), 307-316 3. Shimomura Y, Morimoto S, Takada-Hoshino Y, Uchida Y, <u>Akiyama H</u>, Hayatsu M, Comparison among amoA Primers Suited for Quantification and Diversity Analyses of Ammonia-Oxidizing Bacteria in Soil, <i>Microbes and Environment</i>, 2012, 27, 94-98 4. Itakura M, Uchida Y, <u>Akiyama H</u>, Hoshino TY, Shimomura Y, Morimoto S, Tago K, Wang Y, Hayakawa C, Uetake Y, Sanchez C, Eda S, Hayatsu M, Minamisawa K (2013) Mitigation of nitrous oxide emissions from soils by <i>Bradyrhizobium japonicum</i> inoculation, <i>Nature Climate Change</i>, 3, 208-212 5. <u>Akiyama H</u>, Morimoto S, Hayatsu M, Hayakawa A, Sudo S, Yagi K (2013) Nitrification, ammonia-oxidizing communities, and N₂O and CH₄ fluxes in an imperfectly drained agricultural field fertilized with coated urea with and without dicyandiamide, <i>Biology and Fertility of Soils</i>, 49(2), 213-223 6. Yamamoto A, <u>Akiyama H</u>, Naokawa T, Yagi K (2012) Effect of lime-nitrogen application on N₂O emission from an Andosol vegetable field, <i>Soil Science and Plant Nutrition</i>, 58(2), 245-254 7. Uchida Y, Nishimura S, <u>Akiyama H</u> (2012) The relationship of water-soluble carbon and hot-water-soluble carbon with soil respiration in agricultural fields, <i>Agriculture Ecosystems & Environment</i>, 156, 116-122 8. Nishina K, <u>Akiyama H</u>, Nishimura S, Sudo S, Yagi K (2012) Evaluation of uncertainties in N₂O and NO fluxes from agricultural soil using a hierarchical Bayesian model, <i>Journal of Geophysical Research</i>, 117(G4), doi:1.1029/2012JG002157 9. Uchida Y, von Rein I, <u>Akiyama H</u>, Yagi K (2012) Contribution of nitrification and denitrification to nitrous oxide emissions in Andosol and from Fluvisol after coated urea application, <i>Soil Science and Plant Nutrition</i>, 59(1), 46-55 10. Uchida Y, <u>Akiyama H</u> (2013) Mitigation of postharvest nitrous oxide emissions from soybean ecosystems: a review, <i>Soil Science and Plant Nutrition</i>, 59(4), 477-487 11. Yamamoto A, <u>Akiyama H</u>, Naokawa T, Miyazaki Y, Honda Y, Sano Y, Nakajima Y, Yagi K (2014) Lime-nitrogen application affects nitrification, denitrification, and N₂O emission in an acidic tea soil, <i>Biology And Fertility of Soils</i>, 50(1), 53-62 12. Yamamoto A, <u>Akiyama H</u>, Naokawa T, Yagi K (2013) Lime-nitrogen application reduces N₂O emission from a vegetable field with imperfectly-drained sandy clay-loam soil, <i>Soil Science and Plant Nutrition</i>, 59(3), 442-449 13. Uchida Y, Wang Y, <u>Akiyama H</u>, Nakajima Y & Hayatsu M (2014) Expression of denitrification genes in response to a waterlogging event in a Fluvisol and its relationship with large nitrous oxide pulses <i>FEMS Microbiology Ecology</i>, doi: 10.1111/1574-6941.12309. <p>(掲載済み一査読無し) 計 4 件</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. <u>秋山博子</u>, 澤本卓治, 八木一行 (2011) 窒素循環と土壌からの N₂O 発生, <i>化学と生物</i>, (社)日本農芸化学会, 49(5), 335-340 2. 澤本卓治, <u>秋山博子</u> (2011) 農耕地土壌起源の N₂O 排出量算定方法, <i>生物と化学</i>, (社)日本農芸化学会, 49(6), 415-419 3. <u>秋山博子</u>, 早津雅仁 (2013) ダイズ根粒菌を活用した温室効果ガスの抑制, <i>ニューカントリー</i>, 北海道協同組合通信社, 707 4. <u>秋山博子</u> (2013) 土壌から発生する温室効果ガス メタンと一酸化二窒素, <i>遺伝</i>, 67(5), 547-551 <p>(未掲載一査読有り) 計 2 件</p>
------------------------	---

	<p>1. Yamamoto A, Uchida Y, <u>Akiyama H</u>, Nakajima Y (2014) Continuous and unattended measurements of the site preference of nitrous oxide emitted from an agricultural soil using quantum cascade laser spectrometry with intercomparison with isotope ratio mass spectrometry, Rapid Communications in Mass Spectrometry, in press</p> <p>2. <u>Akiyama H</u>, Morimoto S, Tago K, Hoshino Y, Nagaoka K, Yamasaki M, Karasawa T, Takenaka M, Hayatsu M (2014) Relationships between ammonia oxidizers and N₂O and CH₄ fluxes in agricultural fields with different soil types, Soil Science and Plant Nutrition, in press</p>
<p>会議発表 計 31 件</p>	<p>専門家向け 計 30 件</p> <p>1. <u>秋山博子</u>, 内田義崇, 早津雅仁, 森本晶, 星野裕子, 下村有美, 王勇, 荒木千尋, ダイズ畑における収穫期の亜酸化窒素の発生, 日本土壤肥料学会講演要旨 57, p174, 2011.8.8-9、つくば</p> <p>2. 星野裕子, 荒木千嘉, 森本晶, 下村有美, 内田義崇, 王勇, 早津雅仁, <u>秋山博子</u>, 稲葉尚子, 南澤究, 圃場栽培ダイズ根粒根圏におけるアンモニア酸化細菌及びアンモニア酸化枯細菌の動態解析, 第 27 回日本微生物生態学会大会 Program & Abstracts, p71, 2011.10.8-10, 京都</p> <p>3. 下村有美, 森本晶, 星野(高田)裕子, <u>秋山博子</u>, 内田義崇, 荒木千嘉, 王勇, 早津雅仁, 農耕地におけるアンモニア酸化細菌の群集構造解析に適した <i>amoA</i> プライマーの検討, 日本土壤肥料学会 講演要旨集, 57, p38, 2011.8.8-9、つくば</p> <p>4. 下村有美, 徳田進一, 多胡香奈子, 王勇, 星野(高田)裕子, 内田義崇, <u>秋山博子</u>, 早津雅仁, 異なる施肥条件により農耕地土壌に形成されたアンモニア酸化細菌の群集構造の比較解析, 第 27 回日本微生物生態学会大会 Program & Abstracts, 78, 2011.10.8-10, 京都</p> <p>5. 内田義崇, 西村誠一, <u>秋山博子</u>, ダイズ畑地土壌呼吸と高利用性基質の季節性 water soluble carbon, hot-water soluble carbon でどこまでわかるか?, 日本土壤肥料学会講演要旨集 57,p17 2011.8.8-9、つくば</p> <p>6. Uchida Y, von Rein I, <u>Akiyama H</u>, Nitrous oxide production processes in contrasting soils after fertiliser application - 15N-tracing study, 日本生態学会第 59 回全国大会, 2012.3.17-21、大津</p> <p>7. <u>秋山博子</u>, 内田義崇, 星野(高田)裕子, 下村有美, 森本晶, 多胡香奈子, 王勇, 早川(荒木)千嘉, 板倉学, 早津雅仁, 南澤究 (2012) N₂O 還元酵素活性を強化した根粒菌接種によるダイズ畑から発生する N₂O の削減 1 -異なる土壌における <i>nosZ</i> 強化株接種の効果, 日本土壤肥料学会 講演要旨集, 58, 181, 2012 年 9 月 4 日~6 日</p> <p>8. Uchida Y, Von Rein I, <u>Akiyama H</u> (2012) Changes in nitrification and denitrification potentials after coated urea application affect soil N₂O emissions from different soils - a ¹⁵N tracer study, 4th International Congress EUROSIL 2012, 1499, 2012 年 7 月 2-6 日</p> <p>9. 内田義崇, <u>秋山博子</u>, 星野(高田)裕子, 下村有美, 森本晶, 多胡香奈子, 王勇, 板倉学, 早津雅仁, 南澤究 (2012) N₂O 還元酵素活性を強化した根粒菌接種によるダイズ畑から発生する N₂O の削減 2 -黒ボク土畑における <i>nosZ</i> および <i>nosZ</i> 強化株接種の効果, 日本土壤肥料学会 講演要旨集, 58, 181, 2012 年 9 月 4 日~6 日</p> <p>10. 山本昭範, <u>秋山博子</u>, 直川拓司, 八木一行 (2012) 灰色低地土における N₂O 放出に与える石灰窒素の影響, 日本土壤肥料学会 講演要旨集, 58, 189, 2012 年 9 月 4 日~6 日</p> <p>11. 松浦江里, 須藤重人, <u>秋山博子</u>, 大浦典子, 岸本文紅, 田野中武志 (2012) ガスフラックス測定のための可搬型サンプリング草地(AGSS)の応用事例と課題 Applications and tasks in an automated gas sampling system for long-term monitoring of gas fluxes from soils (AGSS), 日本土壤肥料学会 講演要旨集, 58, 186, 2012 年 9 月 4 日~6 日</p> <p>12. Wang Y, Nagaoka K, Hayatsu M, Sakai Y, Tago K, Asakawa S, <u>Akiyama H</u>, Fujii T (2012) A novel method for RNA extraction from soil revealed <i>amoA</i> genes expressed in Andosols in response to ammonium sulfate treatment, JASME2012 The 28th Annual Meeting of the Japanese Society of Microbial Ecology, JK-ISME2012 The 4th Japan-Korea International Symposium on Microbial Ecology Program & Abstracts, PB-12, 2012 年 9 月 19 日~22 日</p> <p>13. Shimomura Y, Tokuda S, Tago K, Wang Y, Hoshino TY, Uchida Y, <u>Akiyama H</u>, Hayatsu M (2012) Analysis of community structure of ammonia oxidizing bacteria and archaea in agricultural soils under long-term application of chemical fertilizer and cow manure, JASME2012 The 28th Annual Meeting of the Japanese Society of Microbial Ecology, JK-ISME2012 The 4th Japan-Korea International Symposium on Microbial Ecology Program & Abstracts, 143 2012 年 9 月 19 日~22 日</p>

14. 星野裕子, 板倉学, 多胡香奈子, 秋山博子, 下村有美, 内田義崇, 森本品, 早川(荒木)千嘉, 早津雅仁, 南澤究 (2012) N₂O 還元酵素活性を強化したダイズ根粒菌の利用に向けた培養・接種・検出方法の確立, 日本土壌肥料学会 講演要旨集, 58, 180, 2012年9月4日~6日
15. 山本昭範, 秋山博子, 直川拓司, 八木一行 (2013) 石灰窒素が灰色低地土からの N₂O 放出に与える影響, 第60回日本生態学会大会, P2-456, 2013年3月5~9日
16. 内田義崇, 秋山博子 (2013) 畑地土壌からの N₂O ガス排出削減-新しい技術の必要性和可能性, 第60回日本生態学会大会, H2-25, 2013年3月5-9日
17. Akiyama H, Uchida Y, Hoshino Y, Shimomura Y, Morimoto S, Tago K, Wang Y, Hayakawa C, Itakura M, Minamisawa K (2013) Field experiment on mitigation of nitrous oxide emissions from soils by *Bradyrhizobium japonicum* inoculation: Effect of soil types, 18th international Congress on Nitrogen Fixation Program & Abstracts, 254, 2013年10月14-18日、宮崎
18. Akiyama H, Morimoto S, Tago K, Hoshino Y, Nagaoka K, Yamasaki M, Karasawa T, Takenaka M, Hayatsu M (2013) Ammonia oxidizer may have a more important role than methane oxidizers during methane oxidation in agricultural soils treated with N fertilizer, 3rd International Conference on Nitrification ICoN3, 562013年9月2日~5日、東京
19. 秋山博子, 森本品, 多胡香奈子, 星野(高田)裕子, 長岡一成, 山崎真嗣, 唐沢敏彦, 竹中眞, 早津雅仁 (2013) 窒素施肥畑土壌ではメタン酸化は主にアンモニア酸化菌が担っている可能性がある, 日本土壌肥料学会講演要旨集, 59, 2013年9月11日~13日、名古屋
20. Akiyama H, Itakura M, Uchida Y, Hoshino Y, Shimomura Y, Morimoto S, Tago K, Wang Y, Hayakawa C, Uetake Y, Sanchez C, Eda S, Hayatsu Minamisawa K (2013) A new approach to mitigate N₂O emissions from soy bean fields -Mitigation of soil N₂O emissions by *Bradyrhizobium japonicum* inoculation, Sustainable Intensification: The pathway to low carbon farming?, 67-69, 2013年9月25-27日、エジンバラ、英国
21. 星野(高田)裕子, 下村有美, 板倉学, 多胡香奈子, 秋山博子, 内田義崇, 森本品, 王勇, 早川(荒木)千嘉, 吉川博文, 松本貴嗣, 早津雅仁, 南澤究 (2013) N₂O 還元酵素活性を強化したダイズ根粒菌の高効率接種法の確立と圃場における追跡, 日本土壌肥料学会 講演要旨集, 59, P3-2-1, 2013年9月11日~13日、名古屋
22. Uchida Y, Akiyama H, Hayatsu M, Minamisawa K, Itakura M, Hoshino YT, Shimomura Y, Morimoto S, Tago K, Wang Y, Hayakawa C, Uetake Y, Sanchez D, Eda S (2013) Mitigation of nitrous oxide emissions from soils by *Bradyrhizobium japonicum* inoculation - a field study, 18th international Congress on Nitrogen Fixation Program & Abstracts, 121, 2013年10月14-18日、宮崎
23. Uchida Y, von Rein I, Akiyama H (2013) Contribution of nitrification and denitrification to nitrous oxide emissions in Andosol and in Fluvisol after coated urea application, 3rd International Conference on Nitrification ICoN3, 69, 2013年9月2日~5日、東京
24. Wang Y, Uchida Y, Akiyama H, Nakajima Y, Hayatsu M (2013) Expression of denitrification genes in response to a waterlogging event in soil, The 29th Annual Meeting of the Japanese Society of Microbial Ecology Program & Abstract, 105, 2013年10月22日~24日、鹿児島
25. 下村有美, 王勇, 廣野祐平, 野中邦彦, 秋山博子, 多胡香奈子, 早津雅仁 (2013) 土壌から分離した gamma-proteobacteria に属するアンモニア酸化細菌 *Nitrosococcus* sp. TAO のゲノム解析, 第29回日本微生物生態学会大会 Program & Abstracts, 106, 2013年10月22日~24日、鹿児島
26. 早津雅仁, 王勇, 下村有美, 廣野祐平, 野中邦彦, 秋山博子, 多胡香奈子 (2013) 土壌から分離した gamma-proteobacteria に属するアンモニア酸化細菌 *Nitrosococcus* sp. TAO の特徴, 第29回日本微生物生態学会大会 Program & Abstracts, 106, 2013年10月22日~24日、鹿児島
27. Shimomura Y, Tokuda S, Tago K, Wang Y, Akiyama H, Hayatsu M (2013) Effects of long-term fertilization on the abundance and community structure of ammonia-oxidizing archaea and bacteria in cabbage field soils, Third International Conference on Nitrification (ICoN3), 59, 2013年9月2日~5日、東京
28. Wang Y, Nagaoka K, Hayatsu M, Sakai Y, Tago K, Asakawa S, Akiyama H, Fujii T (2013) Development of a novel approach for RNA extraction from various soils and its application to the detection of amoA gene expression in Andosols, Third International Conference on Nitrification

	<p>(ICoN3), 55, 2013年9月2日～5日、東京</p> <p>29. Hayatsu M, Shimomura Y, Wang Y, Takeo A, Ito A, Hirono Y, Nonaka K, <u>Akiyama H</u>, Tago K (2013) Enrichment of acid-tolerant gamma-proteobacterial ammonia-oxidizing bacterium from strongly acidic soils, Third International Conference on Nitrification (ICoN3), 34, 2013年9月2日～5日、東京</p> <p>30. Uchida Y, Wang Y, <u>Akiyama H</u>, Hayatsu M (2013) Factors controlling large nitrous oxide pulses after waterlogging –linking field observed gas emissions and denitrification mRNA levels–, 日本土壌肥料学会講演要旨集, 59, 2013年9月11日～13日、名古屋</p> <p>一般向け 計1件</p> <p>1. 秋山博子 (2013) 温暖化に挑む、温室効果ガス発生制御技術のこれまでとこれから, 農業環境技術研究所30周年記念シンポジウム 21世紀の農業と環境, (独)農業環境技術研究所, 13-18</p>
図書 計3件	<p>1. <u>Akiyama H</u>, Uchida Y, Yamamoto A (2011) Mitigation options for methane and nitrous oxide from agricultural soil: From field measurement to evaluation of overall effectiveness, In: Understanding Greenhouse Gas Emissions from Agricultural Managements, American Chemical Society, pp165-178</p> <p>2. <u>秋山博子</u>(2014)、窒素施肥土壌からの N₂O の発生とその削減、農業技術大系、農文協、土壌と活用 VI+16,11,152-2</p> <p>3. <u>秋山博子</u>(2014)、窒素施肥土壌からの N₂O の発生とその削減、最新農業技術、農文協、pp199-20</p>
産業財産権 出願・取得 状況 計0件	<p>(取得済み) 計0件</p> <p>(出願中) 計0件</p>
Webページ (URL)	<p>・研究者 URL: http://www.niaes.affrc.go.jp/researcher/akiyama_h.html</p> <p>・農業環境技術公開セミナー in 静岡-生産性と環境保全を両立する茶園のエコ管理-の報告および写真は下記のサイトに掲載 http://www.niaes.affrc.go.jp/magazine/155/mgzn15501.html</p> <p>・サイエンスカフェ http://www.niaes.affrc.go.jp/project/niaes_model/event.html にレポートおよび動画を掲載</p>
国民との科学・技術対話の実施状況	<p>1. サイエンスカフェ「農業が地球を温める！？—畑から出る温室効果ガス—」、2011年10月16日(日)、ウィズガーデンつくば、一般対象、参加者23名：研究の背景から本プロジェクトの内容までをわかりやすく紹介した。発表中もおよび終了後も数多くの質問があり、本研究に大きな関心を持って頂けた。</p> <p>2. 2012年4月20日、農業環境技術研究所一般公開においてミニ講演会「農地から出る温室効果ガスを削減する」を午前、午後の2回行い、中学生～一般の方を対象に、30名×2回の一般向け公演を行った。</p> <p>3. 2012年1月22日、農業環境技術公開セミナー in 静岡-生産性と環境保全を両立する茶園のエコ管理-において、「農耕地土壌からの一酸化二窒素発生とその削減」のタイトルで茶農家や一般の方を対象に講演を行った。</p> <p>3. 2013年11月13日、作新学院高校、施設見学および講義「農業から発生する温室効果ガス」(午前、午後の2回、計約80名)を行った。</p> <p>4. 2013年8月9日、新潟薬科大学において出前授業「最先端・次世代研究の推進とワーク・ライフバランス」(半日)を行い、学部生(約30名)に研究紹介と相互ディスカッションを行った。</p> <p>5. 2013年12月13日、「温暖化に挑む、温室効果ガス発生制御技術のこれまでとこれから」の演題で「農業環境技術研究所30周年記念シンポジウム 21世紀の農業と環境」(新宿、東京)において講演を行った(来場者:約200名)</p>
新聞・一般雑誌等掲載 計2件	<p>1. 中日新聞、2014年1月24日、17面</p> <p>2. 環境新聞、2011年9月7日、20面、「温室効果ガスを自動採取」</p>
その他	

様式21

7. その他特記事項

なし