

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)  
実施状況報告書(平成25年度)**

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N <sub>2</sub> O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. 当該年度の研究目的**

これまでの研究において、N<sub>2</sub>O 発生ポテンシャルの高い圃場を選定し、フィールドスケールでの N<sub>2</sub>O の安定同位体比およびサイトプレファランス (SP) のモニタリング方法およびメタゲノム解析方法を確立した。平成 25 年度は農作物残さからの N<sub>2</sub>O の発生メカニズムを解明し、N<sub>2</sub>O 生成微生物の生態への影響と削減効果を検証するとともに、化学資材による硝化抑制機構をメタトランスクリプトーム解析により解明し、その効果を評価する。以上により、発生機構に基づいた N<sub>2</sub>O 制御方法を提案する。

**2. 研究の実施状況**

①農作物残さは N<sub>2</sub>O 発生源である可能性が指摘されているが研究例は少なく、その N<sub>2</sub>O 発生メカニズムは未解明である。本研究では、キャベツやジャガイモ等の野菜収穫残さが重要な N<sub>2</sub>O 発生源であることを明らかにした。また化学肥料と堆肥を施用後の N<sub>2</sub>O 安定同位体比の測定を行なった結果、硝化、細菌脱窒、カビ脱窒の 3 つの発生経路が関与しており、施肥後の気象変化に伴いこれらの寄与が変化することを明らかにした。また収穫後の N<sub>2</sub>O 発生の高い時期に分離したカビの N<sub>2</sub>O 発生ポテンシャルが高いことから、収穫残さからの N<sub>2</sub>O の発生経路としてカビ脱窒が重要であると考えられた。またこれらの N<sub>2</sub>O 発生ポテンシャルが高いカビは *Fusarium* 属に属していた。これらのことから、圃場における N<sub>2</sub>O の発生には、同時に複数の発生経路が関与しており、N<sub>2</sub>O の発生削減のためにはこれらの複数の経路からの発生を同時に抑えることが必要と考えられた。

②われわれはこれまでに、豪雨直後に大量の N<sub>2</sub>O が発生することを見出した。この一時冠水による N<sub>2</sub>O 大量発生の実験レベルでの再現系を確立し、mRNA を土壌深度別に解析して、土壌表層における脱窒遺伝子の発現が重要であることを明らかにした。また堆肥連用土壌と化学肥料連用土壌に硫酸を添加した場合、アンモニア酸化菌の mRNA-*amoA* の定量から、堆肥連用区ではアンモニア酸化古細菌 (AOA) が化学肥料施用区ではアンモニア酸化細菌 (AOB) が強く反応することを示した。さらに N<sub>2</sub>O 発生量が多い茶園土壌の mRNA-*amoA* の定量から土壌 pH によって AOA-*amoA* と AOB-*amoA* の発現量が異なり、特に pH3 程度まで強酸性化した土壌では、両者の発現量が低いことから、新規なアンモニア酸化菌の存在が推定された。この菌の分離を試み酸性環境に適応した新規なアンモニア酸化細菌の分離に成功した。

以上、同位体解析と微生物遺伝子解析を統合的に展開し、目標を達成した。

3. 研究発表等

<p>雑誌論文 計 7 件</p>	<p>(掲載済み一査読有り) 計 4 件</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Uchida Y, Akiyama H (2013) Mitigation of postharvest nitrous oxide emissions from soybean ecosystems: a review, <i>Soil Science and Plant Nutrition</i>, 59(4), 477-487</li> <li>2. Yamamoto A, Akiyama H, Naokawa T, Miyazaki Y, Honda Y, Sano Y, Nakajima Y, Yagi K (2014) Lime-nitrogen application affects nitrification, denitrification, and N<sub>2</sub>O emission in an acidic tea soil, <i>Biology And Fertility of Soils</i>, 50(1), 53-62</li> <li>3. Yamamoto A, Akiyama H, Naokawa T, Yagi K (2013) Lime-nitrogen application reduces N<sub>2</sub>O emission from a vegetable field with imperfectly-drained sandy clay-loam soil, <i>Soil Science and Plant Nutrition</i>, 59(3), 442-449</li> <li>4. Uchida Y, Wang Y, Akiyama H, Nakajima Y &amp; 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.</li> </ol> <p>(掲載済み一査読無し) 計 1 件</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 秋山博子 (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</li> </ol> <p>(未掲載一査読有り) 計 2 件</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Yamamoto A, Uchida Y, Akiyama H, 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, <i>Rapid Communications in Mass Spectrometry</i>, in press</li> <li>2. Akiyama H, Morimoto S, Tago K, Hoshino Y, Nagaoka K, Yamasaki M, Karasawa T, Takenaka M, Hayatsu M (2014) Relationships between ammonia oxidizers and N<sub>2</sub>O and CH<sub>4</sub> fluxes in agricultural fields with different soil types, <i>Soil Science and Plant Nutrition</i>, in press</li> </ol>
<p>会議発表 計 15 件</p>	<p>専門家向け 計 14 件</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 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 <i>Bradyrhizobium japonicum</i> inoculation: Effect of soil types, 18th international Congress on Nitrogen Fixation Program &amp; Abstracts, 254, 2013 年 10 月 14-18 日、宮崎</li> <li>2. 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, 56, 2013 年 9 月 2 日~5 日、東京</li> <li>3. 秋山博子, 森本晶, 多胡香奈子, 星野(高田)裕子, 長岡一成, 山崎真嗣, 唐沢敏彦, 竹中真, 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</li> <li>4. 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 N<sub>2</sub>O emissions from soy bean fields -Mitigation of soil N<sub>2</sub>O emissions by <i>Bradyrhizobium japonicum</i> inoculation, <i>Sustainable Intensification: The pathway to low carbon farming?</i>, 67-69, 2013 年 9 月 25-27 日、エジンバラ、英国</li> <li>5. 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, 森本晶, 王勇, 早川(荒木)千嘉, 吉川博文, 松本貴嗣, 早津雅仁, 南澤究 (2013) N<sub>2</sub>O 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</li> <li>6. 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 <i>Bradyrhizobium japonicum</i> inoculation - a field study, 18th international Congress on Nitrogen Fixation Program &amp; Abstracts, 121, 2013 年 10 月 14-18 日、宮崎</li> <li>7. 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</li> </ol>

様式19 別紙1

	<p>8. 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 &amp; Abstract, 105, 2013年10月22日～24日、鹿児島</p> <p>9. 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 <i>Nitrosococcus sp.</i> TAO のゲノム解析, 第29回日本微生物生態学会大会 Program &amp; Abstracts, 106, 2013年10月22日～24日、鹿児島</p> <p>10. 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 <i>Nitrosococcus sp.</i> TAO の特徴, 第29回日本微生物生態学会大会 Program &amp; Abstracts, 106, 2013年10月22日～24日、鹿児島</p> <p>11. 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</p> <p>12. 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 (ICoN3), 55, 2013年9月2日～5日、東京</p> <p>13. Hayatsu M, Shimomura Y, Wang Y, Takeo A, Ito A, Hirono Y, Nonaka K, Akiyama H, 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>14. Uchida Y, Wang Y, Akiyama H, Hayatsu M (2013) Factors controlling large nitrous oxide pulses after waterlogging –linking field observed gas emissions and denitrification mRNA levels–, 日本土壤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, 12月13日、東京</p>
<p>図書 計2件</p>	<p>1. 秋山博子(2014)、窒素施肥土壌からの N<sub>2</sub>O 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>2. 秋山博子(2014)、窒素施肥土壌からの N<sub>2</sub>O の発生とその削減、最新農業技術、農文協、pp199-202</p>
<p>産業財産権 出願・取得状 況 計0件</p>	<p>(取得済み) 計0件</p> <p>(出願中) 計0件</p>
<p>Webページ (URL)</p>	<p>農業環境技術研究所 研究者情報: <a href="http://www.niaes.affrc.go.jp/researcher/akiyama_h.html">http://www.niaes.affrc.go.jp/researcher/akiyama_h.html</a></p>
<p>国民との科 学・技術対話 の実施状況</p>	<p>1. 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>2. 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>3. 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>
<p>新聞・一般雑 誌等掲載 計0件</p>	
<p>その他</p>	

4. その他特記事項

実施状況報告書(平成25年度) 助成金の執行状況

本様式の内容は一般に公表されず

1. 助成金の受領状況(累計) (単位:円)

	①交付決定額	②既受領額 (前年度迄の 累計)	③当該年度受 領額	④(=①-②- ③)未受領額	既返還額(前 年度迄の累 計)
直接経費	110,000,000	69,960,000	40,040,000	0	0
間接経費	33,000,000	20,988,000	12,012,000	0	0
合計	143,000,000	90,948,000	52,052,000	0	0

2. 当該年度の収支状況 (単位:円)

	①前年度未執 行額	②当該年度受 領額	③当該年度受 取利息等額 (未収利息を除 く)	④(=①+②+ ③)当該年度 合計収入	⑤当該年度執 行額	⑥(=④-⑤) 当該年度未執 行額	当該年度返還 額
直接経費	1,464,673	40,040,000	0	41,504,673	41,383,807	120,866	0
間接経費	439,402	12,012,000	0	12,451,402	12,415,142	36,260	0
合計	1,904,075	52,052,000	0	53,956,075	53,798,949	157,126	0

3. 当該年度の執行額内訳 (単位:円)

	金額	備考
物品費	19,986,598	N2O同位体比モニタリング装置、理化学用消耗品等
旅費	905,500	国内外学会参加
謝金・人件費等	19,247,308	ポスドク人件費、研究補助者賃金
その他	1,244,401	研究機器修理・保守、学会参加費等
直接経費計	41,383,807	
間接経費計	12,415,142	
合計	53,798,949	

4. 当該年度の主な購入物品(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
				0		
				0		