

# グリーンアジア レポートシリーズ

No.3

## BNI 技術

21 世紀地球規模課題に対する遺伝学に基づく解決策

飛田 哲



グリーンアジア



グリーンアジアレポートシリーズ No. 3

## **BNI 技術**

21 世紀地球規模課題に対する遺伝学に基づく解決策

飛田 哲<sup>1, 2</sup>

1 日本大学

2 国立研究開発法人 国際農林水産業研究センター

2023 年 11 月



**グリーンアジア**

©国立研究開発法人国際農林水産業研究センター（国際農研（JIRCAS）），2023

このレポートは、農林水産省「みどりの食料システム基盤農業技術のアジアモンスーン地域応用促進事業」の下で「グリーンアジア」プロジェクトとして実施された研究に基づき、国際農研のスタッフが外部からの協力を得て作成したものです。本報告で述べられている考えや意見は著者のものであり、必ずしも国際農研のものではありません。本報告中の表記や資料の提示は、それぞれの国や地域の法的地位や発展段階、あるいは境界線に対する国際農研の意見や支持、承認を示すものではありません。

本報告は、読者の理解の一助として、英語で執筆された次の報告を和訳したものです。詳細な情報や微妙なニュアンスについては、原文を参照してください。

Tobita S. (2023) BNI Technology: a genetics-based solution to global challenges in the 21st century. *Green Asia Report Series*, No. 3. Japan International Research Center for Agricultural Sciences (JIRCAS)

## 権利と許可



本報告の利用条件は、クリエイティブ・コモンズ 表示 4.0 国際 (CC BY 4.0)

<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/> に準拠します。利用者は下記を含むクリエイティブ・コモンズライセンスの条件にて、本報告を複製・配布・翻案することができます。

**表示** – 出典とライセンスを明記してください。飛田哲 (2023)、BNI 技術 —21 世紀地球規模課題に対する遺伝学に基づく解決策—、グリーンアジア レポートシリーズ、No. 3。国立研究開発法人国際農林水産業研究センター、License: CC BY 4.0.

<https://www.jircas.go.jp/ja/publication/gars-j/3>

**第三者のコンテンツ** – 国際農研は必ずしも本報告のコンテンツの各要素に対する所有権を保有してはいないため、本報告の内容の内、第三者が所有する個々の要素又は部分を使用しても第三者の権利を侵害することにはならないと保証するものではありません。もしそうした侵害に対して申立てが起きた場合、全責任を負うのは使用者となります。本報告の要素の再利用を希望する場合、そうした再利用に対する許可取得の必要性の有無の判断、及び著作権者からの許可取得は、再利用者の責任において行うものとします。要素の例としては図表や画像が挙げられますが、これに限定されるものではありません。

# 目次

序文 .....	iv
要旨 .....	v
1: 現在の環境における窒素 .....	1
1.1: ハーバー・ボッシュ法による反応性窒素の大量生成 .....	1
1.2: 豊富な窒素化学肥料による緑の革命 .....	2
1.3: 窒素利用効率の停滞 .....	3
1.4: 危機に瀕する地球の窒素循環 .....	4
2: 生物学的硝化抑制 (BNI) .....	6
2.1: 硝化と脱窒による土壌中の窒素変換 .....	6
2.2: 合成硝化抑制剤 .....	7
2.3: BNI 現象の発見 .....	7
2.4: BNI 能力の高い遺伝資源のスクリーニング .....	8
2.5: BNI 能力が高い植物 .....	9
1) <i>Brachiaria humidicola</i> (クリーピング・シグナルグラス) .....	9
2) ソルガム .....	11
3) コムギ .....	12
4) トウモロコシ .....	13
5) イネ .....	14
6) その他の植物種 .....	15
3: BNI 技術の展開に向けて .....	16
3.1: 「遺伝的緩和戦略」としての BNI 技術 .....	16
3.2: BNI 効果のさらなる証明の必要性 .....	17
3.3: BNI 技術の事前影響評価 .....	18
3.4: 国際 BNI コンソーシアム .....	19
3.5: 持続可能な開発のための BNI 技術 .....	20
4: 結論 .....	22
参考文献 .....	23

## 序文

生物的硝化抑制（Biological Nitrification Inhibition: BNI）は、土壌中の硝化プロセスを抑制する植物の特殊な機能である。ラテンアメリカの草原や西アフリカの湿潤なサバンナで自然現象として発見された。グントゥール V.スバラオ博士の率いる国際農林水産業研究センター（JIRCAS）の研究者たちによる多大な努力のおかげで、この現象は集中的に研究され、農業技術として開発された。BNI 技術は、農業における窒素のより効率的な利用を通じて、持続的食料生産や気候変動の緩和といった喫緊の世界的課題の解決に貢献することができる。

農林水産省（MAFF）は「みどりの食料システム戦略（みどり戦略）」を打ち出し、2050 年に向けていくつかの数値目標を掲げているが、その一つが化学肥料の使用量を 30%削減することである。BNI 技術は、日本発のイノベーションとして、窒素利用効率が高く、環境負荷の少ない「スーパー」植物品種を開発するための「持続可能な生産」に位置づけられている。

本報告書では、BNI 技術の背景、コンセプト、メカニズム、独自性、機会、および制約について述べる。BNI は新しい技術であるため、BNI をよりよく理解するために、専門的かつ高度な領域についても言及しているが、何か難解な点があれば、それは著者の責任である。このレポートが、読者の BNI 技術に対する理解を助けるならば、著者にとって大きな喜びである。

## 要旨

陸上生態系における窒素汚染や地球規模での気候変動に見られるように、地球の窒素循環はすでに地球の限界を越えて拡大している。その大きな理由は、近代農業が窒素化学肥料由来の窒素に大きく依存していることにある。確かに窒素化学肥料は緑の革命以降の農業を支える技術である。しかし土壌中では急速に硝化が進むため、施肥された窒素肥料の半分以上は作物に利用されずに環境中に失われ、農業生産システムにおける窒素利用効率（Nitrogen Use Efficiency: NUE）は低い。硝化の抑制は NUE を向上させ、より多くの窒素が土壌に留まり、作物に利用されるようにするための鍵である。これは、農作物の増産と気候変動の緩和という地球規模の 2 大課題の解決にそれぞれ貢献する。

生物的硝化抑制（BNI）とは、主に根から出る特殊な化学化合物が硝化プロセスの主要な酵素をブロックすることによって硝化を抑制する植物の機能である。BNI は、合成硝化抑制剤（Synthetic Nitrification Inhibition: SNI）よりも、コスト、効果、人体や環境に対する安全性、農家の入手・利用のしやすさの点で優れていると考えられている。高い BNI 能力を持つ植物や作物が見つかっており、そのほとんどはイネ科（Poaceae、Gramineae）に属している。生物的硝化抑制物質（BN Inhibitors）がいくつか同定されており、ブラキアリア牧草（*Brachiaria humidicola*）由来のブラキアラクトン（brachialactone）、ソルガム由来のソルゴレオン（sorgoleone）、トウモロコシ由来のゼアノン（zeanon）などがある。世界で最も施肥量の多い作物のひとつであるコムギについては、野生の近縁種オオハマニンク（*Leymus racemosus*）に高い BNI 能力があることが発見され、染色体置換によって Munal などの国際的なコムギ品種に BNI 形質が導入された。BNI 能を獲得した Munal は、元の Munal よりも大きく硝化を抑制し、土壌窒素をより効率的に利用する能力を持つという特徴があった。BNI-Munal は現在、BNI を付与したインドの国内エリートコムギ品種開発のためのドナー材料として使用されている。

BNI 技術は植物由来の新技术であるため、事前影響分析によってその可能性と限界を認識しておくことが肝要である。BNI コムギのパフォーマンスに関する既存の情報（例えば、酸性土壌側のやや低い pH に対する嗜好性など）を用いて、BNI コムギに適した地域を世界地図に落とし込んだ。また、土壌-植物-大気の連続体における窒素化学種の理論的動態と、現地観測による経験的データに基づくシミュレーションモデルによって、BNI 技術の効果を数値で示すことも重要である。BNI 技術が農業生産の向上、窒素汚染、および気候変動の緩和に与える効果は明らかである。





# 1: 現在の環境における窒素

## 1.1: ハーバー・ボッシュ法による反応性窒素の大量生成

窒素は、タンパク質、核酸、色素、神経伝達物質を構成し、すべての生物学的システムにとって最も不可欠な元素のひとつである。窒素は地球の対流圏に豊富に存在し、どこにでもある。窒素のほとんどは、2つの窒素原子が強く三重結合した  $N_2$  ( $N \equiv N$ ) の形で存在する。 $N_2$  ガスは安定していて反応性がないため、生物は空気中の窒素を直接利用することができない。これに対し、生物学的に利用可能な窒素は反応性窒素 (Nr) に分類され、無機態のアンモニア ( $NH_3$ ) や窒素酸化物 ( $NO_x$ )、有機態窒素など、 $N_2$  ガス以外のすべての窒素形態が含まれる。Nr は、自然条件下では、マメ科植物の共生微生物による生物学的窒素固定 (Biological Nitrogen Fixation: BNF) を通じてアンモニウム-N が生成、あるいは雷や山火事などの高エネルギー事象による大気沈着によって窒素酸化物 ( $NO_x$ ) が生成し、非反応性  $N_2$  から変換される。すべての生物は、地球上に存在する希少な Nr に依存しており、それはかつての農業システムにおいても同様であった。作物の栄養源となる窒素源は、緑肥、動物・人間の排泄物、グアノ、硝石のみであった。そのため、20世紀初頭に人類がアンモニアの大量生産法を獲得するまで、農業生産性は停滞していた。この方法はハーバー・ボッシュ法 (2人の発明者、フリッツ・ハーバーとカール・ボッシュにちなんで命名された) と呼ばれ、空気中の窒素を使ってアンモニア ( $NH_3$ ) を工業規模で生産するのに使われる。このプロセスは三重結合を切断するために高温高压の条件下で進行するため、大量のエネルギー (全世界のエネルギー消費量の1%に相当) を必要とする (Capdevila-Cortada, 2019)。

ハーバー・ボッシュ法が導入されて以来、人類はアンモニアを望むだけ生産することが可能になった。アンモニアの用途は多様では、化学肥料、火薬、その他の窒素含有化学物質の多用途な供給源である。したがってハーバー・ボッシュ法は、人為的活動や自然生態系への Nr の投入量を劇的に増加させる。アンモニアの年間世界工業生産量は、2021年には1億5,000万トン窒素 (150 TgN) と推定され (USGS, 2023年)、その80%が窒素肥料 (主に尿素) の製造に使用されている。現代の農業と食糧供給は、この人為的な窒素に大きく依存している。Erismannら (2008) は、人類の約50%がハーバー・ボッシュの窒素生産によって生かされていると推定している。彼らはまた、バイオエネルギーとバイオ燃料の生産拡大におけるハーバー・ボッシュ窒素の影響力の増大についても言及している。

## 1.2: 豊富な窒素化学肥料による緑の革命

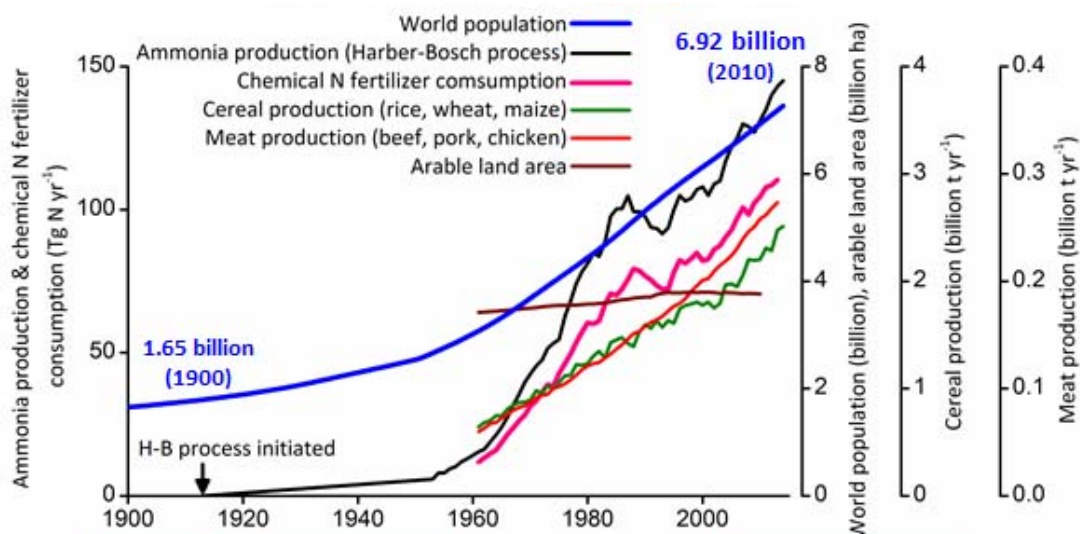


図 1. 1900 年から 2000 年までのアンモニア生産量、窒素肥料消費量、農業生産量と世界人口増加の関係 (Hayashi et al. 2021)

歴史的には、ハーバー・ボッシュ窒素の農業的利益は、1940 年代から 1960 年代にかけて起こった「緑の革命」の一環として実現された。半矮性遺伝子を導入して育成されたコムギとイネの高収量品種は、従来の品種よりも高い窒素施肥量に対応して、倒伏することなく収量が高く安定していた。これらの品種は、十分な化学窒素肥料とともに普及した。その結果、コムギとコメの生産量は大幅に増加し、アジアにおける食糧危機を回避し、増加する世界人口を支えることができた。1940 年代にはコムギの輸入国であったメキシコは、1950 年代には自給を達成し、1960 年代にはコムギの輸出国となった。現在、インド、パキスタン、ネパールの穀倉地帯となっているインド亜大陸北部のヒンドゥスタン平野に、灌漑システムとともに高収量コムギ品種が導入された。フィリピンは、緑の革命の恩恵を受けた最初の国であり、「奇跡のイネ」と呼ばれた品種 IR8 は窒素肥料と農薬を使い、これまでの品種と比較して収量が 2 倍になった。フィリピンの成功は、1970 年代には東南アジア、1980 年代には南アジアの他のコメ生産国にも波及した。注目すべきは、緑の革命は高収量品種によってのみ達成されたわけではなく、ハーバー・ボッシュ法によって地元農家が化学的窒素肥料を入手しやすくなったことである。図 1 はその因果関係を示している。耕作可能地は過去 1 世紀にわたって増えていないことから、世界の人口増加は、食料（作物と肉）の生産量、つまり単位面積当たりの食料生産量の増加によって支えられている。そして食料生産量は、ハーバー・ボッシュ法による窒素肥料生産量に比例している (Hayashi et al. 2021)。緑の革命によって、農業システムはいくつかの点で変化した。さまざまな作物、特にマメ科作物による多角的な作付体系が衰退し、作物栽培は畜産から切り離された。これらが、作物生産が化学窒素肥料への依存度を高めている理由である。

### 1.3: 窒素利用効率の停滞

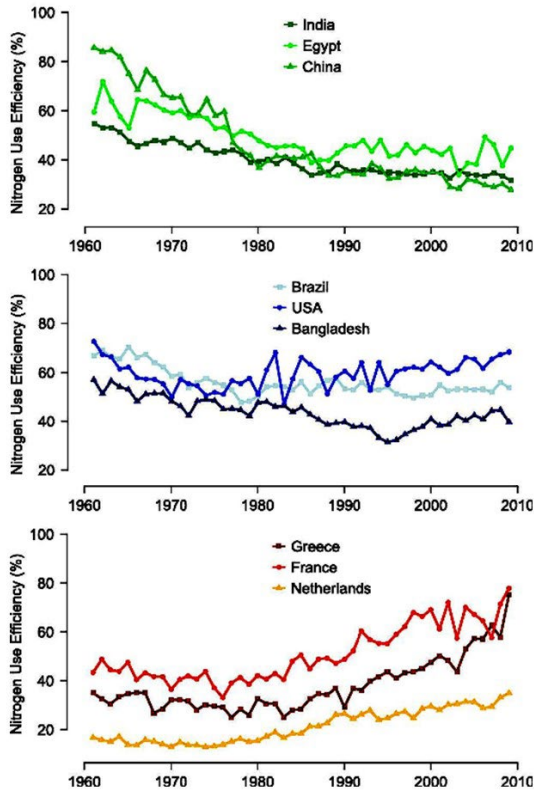


図 2. 過去 50 年間の窒素利用効率の変化 ; 国別比較 (Lassaletta et al. 2014)

窒素利用効率 (NUE) は、農業システムにおける窒素の投入量に対する作物による利用量の比率として定義される。Lassaletta ら (2014) は、食糧農業機関 (FAO) のデータベースを用いて、過去 50 年間の 124 カ国の NUE を算出した。彼らは、全窒素投入量のうち合成窒素 (化学肥料) の比率が高い国よりも、共生菌による固定窒素 (BNF) の比率が高い国の方が NUE の高いことを示唆している (図 2)。地域スケールでの窒素収支は、Zhang ら (2015) によって推定され、2010 年の NUE はサハラ以南のアフリカが最も高く 72%、次いで米国+カナダ (68%)、旧ソ連 (62%) となっている。作物間で NUE を比較すると、比較的高率の窒素肥料を施肥したイネとコムギの NUE は約 40% と低かったが、ダイズの NUE は 80% と高かった。NUE は 1960 年代初期には 65% であったが、1980 年代には約 45% に減少し、近年は約 47% で安定していることが示されている (Lassaletta et al. 2014)。図 3 は、2011 年~2015 年のデータセットを用いた窒素収支の定量的推定を示しており、作物による窒素同

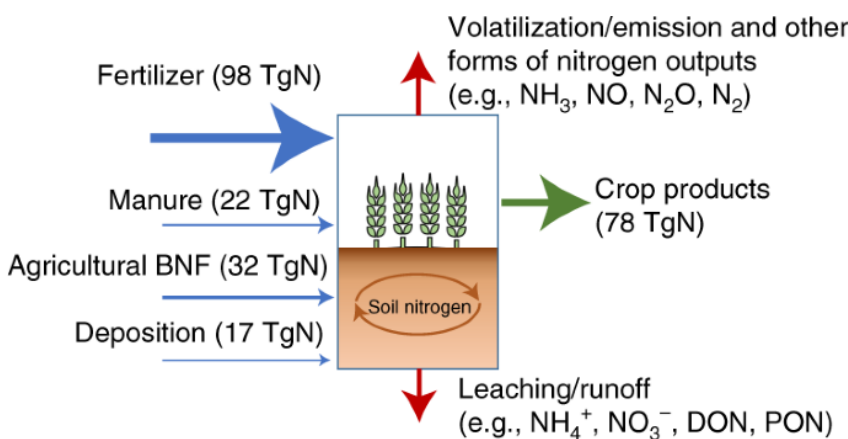


図 3. 農業生産システムにおける世界の窒素収支の定量的推定 (Zhang et al. 2021)

化量はわずか 78 TgN/年であるのに対し、農地への窒素投入量は、合成窒素肥料 (98 TgN) と堆肥 (22 TgN) の施肥、BNF (32 TgN) と大気沈着 (17 TgN) からなる合計 169 TgN/年である (Zhang et al. 2021)。これは、農地に供給された窒素の半分以上 (54%) が作物に利用されず、収穫されないことを意味する。この未利用窒素のうちごく

一部は土壌有機窒素として取り込まれるが、大部分は周辺環境に失われる。根域からの窒素の損失は経済的に大きな影響を及ぼし、その額は年間 170 億米ドルに上る (Subbarao et al. 2006a)。窒素は、揮発した  $\text{NH}_3$  として大気中に放出され、 $\text{NO}$ 、 $\text{N}_2\text{O}$ 、 $\text{N}_2$  として排出され、無機態窒素 ( $\text{NH}_4^+$  と  $\text{NO}_3^-$ ) と有機態窒素 (溶存態と粒子状) として水圏に放出される。 $\text{N}_2$  ガスを除き、環境中に排出される他の化学的窒素種は  $\text{Nr}$  である。

#### 1.4: 危機に瀕する地球の窒素循環

地球全体では、自然プロセスにおいて年間 203 TgN の  $\text{Nr}$  が生成されている。例えば、海洋生態系では 140 TgN、陸上生態系では 58 TgN が BNF によって生成され、雷によって 5 TgN が生成されている (Fowler et al. 2013)。この量の  $\text{Nr}$  は地球システムによって管理され、脱窒 (安定した  $\text{N}_2$  ガスに戻る)、および土壌や海への沈着によって、地球の窒素循環は維持されてきた。しかし現代では、農地での BNF (60 TgN) と化石燃料の燃焼 (30 TgN) に加えて、工業的な窒素固定 (すなわち、肥料の原料となるアンモニアを製造するハーバー・ボッシュ法) という人為的なプロセスによって 120 TgN もの大量の窒素が追加的に生成されている (計年間 210 TgN) (Fowler et al. 2013)。自然起源の  $\text{Nr}$  と人為起源の  $\text{Nr}$  を合わせて 400 TgN もの反応性窒素が地球規模の窒素循環に組み込まれると、地球システムは地球全体の窒素の適切な量 (または比率) を維持できなくなる。そのため、Rockström ら (2009) および Steffen ら (2015) は、他の地球システムプロセスと比較して、地球規模の窒素循環はすでに限界 (または不確実地帯) を超えており、生物多様性の損失とともに高いリスクにさらされていると認識している (図 4)。

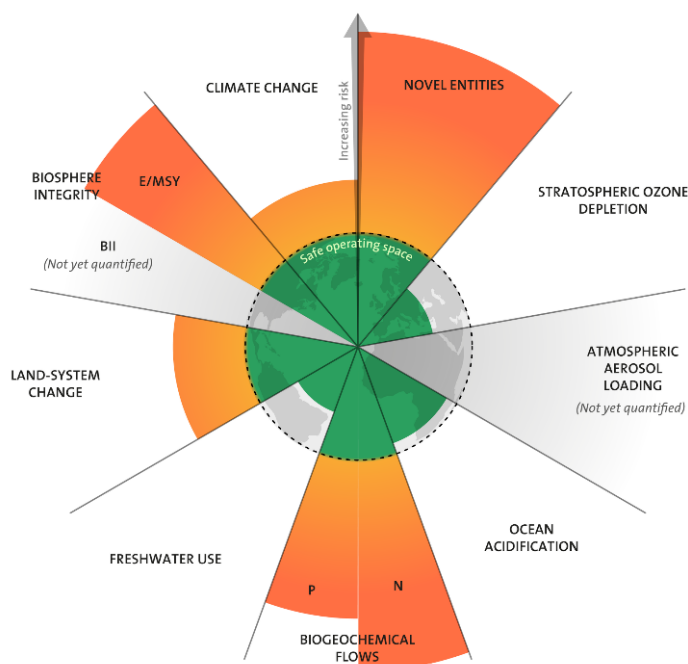


図 4. 地球システムプロセスの限界 (Steffen et al. 2015)

生態系における過剰な量の  $\text{Nr}$  種は有害な影響を及ぼす。例えば、水質はアンモニウム態窒素や硝酸態窒素、溶存または粒子状の有機態窒素によって悪化し、大気は  $\text{NO}$  や  $\text{N}_2\text{O}$  ガスによって汚染され、特に後者は強力な温室効果ガス (GHG) として気候変動を加速させる。したがって、地球上の窒素負

荷の増大に注意を払い、Nr によるこのような脅威を軽減するための対策を実施しなければならない。さらに重要なことは、農業が窒素生成の 75% に寄与していることで、影響を受けやすい生態系における窒素循環のリスクが高いことの主要な理由となっている。低い NUE はその証拠で、したがって、反応性窒素 Nr の悪影響を軽減するためには、農業技術によって NUE を改善することが喫緊の課題である。本質的に、NUE の改善は作物の需要を満たすための適切な窒素の使用につながる。したがって、持続可能な窒素利用は、増加する世界人口の食料安全保障をも保証する。

Udvardi ら（2021）がレビューしているように、これまでの研究により NUE を改善するための技術がいくつか開発されている。これには以下が含まれる。(i) 土壌への窒素供給と作物による窒素需要の時間的・空間的同期の改善（分割窒素施用など）、(ii) 新規配合（ポリスチレン被覆肥料、緩効性肥料など）または有効な阻害剤（ウレアゼ阻害剤、硝化阻害剤）を含むことによる窒素肥料の利用効率向上、(iii) 無機窒素（化学）肥料と有機窒素を基本とする肥料（堆肥や作物残渣）の混合、(iv) 作物や土壌・環境をモニタリングしビッグデータを活用する精密農業（ドローンや GreenSeeker<sup>®</sup>を使用）、(v) BNF の強化やマメ科植物の導入、および (vi) 植物と微生物との相互作用に基づく NUE を高めるための作物育種。

以下では、NUE を改善するための生物的硝化抑制（BNI）技術を強調するが、これは前段で述べたように (vi) に分類される。BNI 技術は、植物が本来持っている能力、すなわち BNI 能力を活用して硝化を抑制するユニークな技術である。土壌中の窒素の変換メカニズムの理解に基づけば、施用された窒素のかなりの量が無駄になり土壌から環境へと失われてしまう理由と、それを BNI 技術によって緩和できることを説明することができる。

## 2: 生物的硝化抑制 (BNI)

### 2.1: 硝化と脱窒による土壌中の窒素変換

環境に失われる窒素は、全窒素投入量の 10%~20%を占める揮発性アンモニア (NH<sub>3</sub>) を除いて、もっぱら地下の微生物の生化学的 (酵素的) 活性によって土壌から発生するため (van Grinsven et al. 2015)、NUE の改善には、農地土壌中の窒素化学種の変換を把握することが重要である。図 5 は、土壌中の窒素の化学種の経路を示しており、アンモニウム態窒素 (化学肥料、ならびに BNF、堆肥、作物残渣などの肥料以外の窒素投入に由来する) が硝酸態窒素に移行し (硝化系: nitrification; 左半分)、その後、硝酸態窒素が NO、N<sub>2</sub>O、および N<sub>2</sub> に還元される (脱窒系:

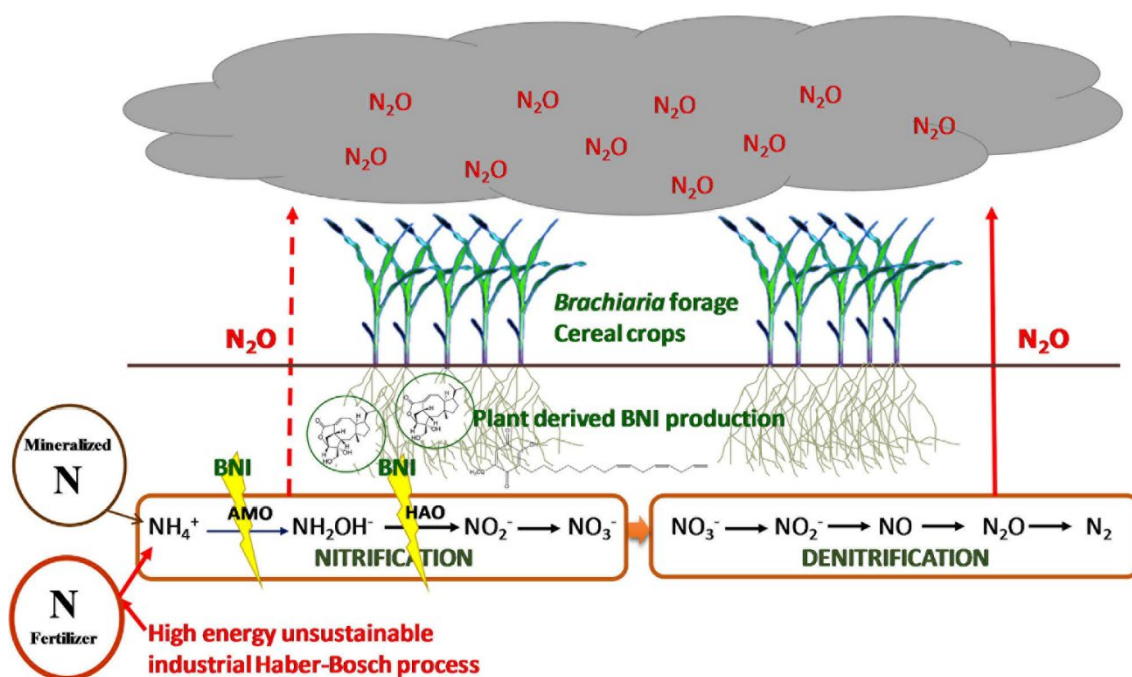


図 5. 生化学的プロセスによる土壌中の窒素化学種の変化。BNI によるブロック部位も示した (JIRCAS 提供)

denitrification; 右半分)。窒素化学肥料に大きく依存する現代の農業では、NH<sub>4</sub><sup>+</sup>から NO<sub>3</sub><sup>-</sup>への硝化速度は 10 日未満と推定される (Subbarao and Searchinger, 2021)。陰イオンである NO<sub>3</sub><sup>-</sup>は陽イオンの NH<sub>4</sub><sup>+</sup>とは異なり、一般的に土壌表面と結合しないため、土壌水の流れに沿って地下水に容易に溶出し、あるいは含窒素ガス (N<sub>2</sub>O および N<sub>2</sub>) を発生する脱窒経路に入る。植物生理学の観点からは、一年生作物の生育にとってこのような状況は好ましくない。無機態窒素 (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>と NO<sub>3</sub><sup>-</sup>

の両方) はほとんど、窒素肥料の施肥時期と施肥場所を考慮しない限り、最も需要の高い根の周囲から失われてしまうからである。これは NUE が低いことの直接的な証左であり、 $\text{NH}_4^+$ をより長く根圏に留めておくことができれば、NUE を改善することができる根拠でもある。

硝化経路における  $\text{NH}_3$  の酸化反応は、アンモニア酸化細菌 (ammonia-oxidizing bacteria: AOB)、アンモニア酸化古細菌 (ammonia-oxidizing archaea: AOA)、亜硝酸酸化細菌 (nitrite-oxidizing bacteria: NOB) という3つのグループの土壌微生物によって行われている。最初の2つのグループは、 $\text{NH}_3$  から  $\text{NH}_2\text{OH}$  (ヒドロキシルアミン) への変換と  $\text{NH}_2\text{OH}$  から  $\text{NO}_2^-$  (亜硝酸) への変換を担っており、それぞれ対応する酵素アンモニアモノオキシゲナーゼ (AMO) とヒドロキシルアミノキシドレダクターゼ (HAO) によって触媒される。NOB は、図 5 にあるように、NXR (亜硝酸オキシドレダクターゼ [NOR]) と共に  $\text{NO}_2^-$  から  $\text{NO}_3^-$  への変換に関与している。これらの微生物や酵素の活動が阻害されると、硝化速度は低下する。

## 2.2: 合成硝化抑制剤

ニトラピリン (NP)、ジシアンジアミド (DCD)、3,4-ジメチルピラゾールホスフェート (DMPP) などの合成化学物質は硝化を阻害することができる。使用法や推奨用量は異なるが、これらの阻害剤は硝化プロセスの第一段階である AMO をターゲットとしている。Ayiti と Babalola (2022) が要約しているように、これらの合成硝化抑制剤にはいくつかの欠点がある。例えば、適用の難しさ、高コスト、環境汚染、作物としての安全性、一過性 (水で簡単に洗い流される)、差別的効果などであり、これらは以下の小節で述べるように生物的硝化抑制 (BNI) と比較して大きな欠点である。

## 2.3: BNI 現象の発見

BNI 現象に関する最初の研究 (Ishikawa et al. 2003) に記載されているように、コロンビアのカリに本拠を置く国際熱帯農業センター (CIAT) の研究者が、1983 年コロンビアとブラジルの *Brachiaria humidicola* (クリーピング・シグナルグラスとしても知られる熱帯イネ科牧草) (写真 1) の畑では一般的に土壌中の硝酸態窒素の濃度が低いことを発見した。彼らは他の熱帯飼料用牧草との比較研究を行い、*B. humidicola* による土壌中の硝化抑制の可能性を指摘した。さらに、*B. decumbens* と *Melinis minutiflora* と



写真 1. コロンビアのクリーピング・シグナルグラス (*Brachiaria humidicola*) の放牧地 (©AgroActivo)

は対照的に、このイネ科牧草は窒素化学肥料の施肥にあまり反応しないことが観察された。その後、Guntur Venkata Subbarao 博士率いる JIRCAS の研究チームはこの現象を捉え、最終的に生物の作用によって硝化が抑制されること、すなわち BNI（生物的硝化抑制）のコンセプトの確立に成功した。彼らは土壌培養実験において、*B. humidicola* の根の滲出液によって MPN（最確数）法で推定した土壌中の AOB 個体数が減少し、硝化が抑制（ $\text{NO}_3^-$  の生成を遅延）されることを示したのである。（Ishikawa et al. 2003）。

ラテンアメリカの熱帯草原における BNI 現象に関する最初の報告（Ishikawa et al. 2003, Subbarao et al. 2006b）と時を同じくして、フランスのグループも、西アフリカ、コートジボワールの湿潤熱帯サバンナのイネ科植物 *Hyparrhenia diplandra* (Hack.) Stapf の根滲出液のアレロパシーによる硝化阻害の可能性を報告している（Lata et al. 2004）。生態学的な観点からは、サバンナの自然生態系の機能において、硝化プロセスが植物の窒素獲得と窒素喪失に重要な役割を果たしており、硝化が低いままなのは、おそらくいくつかのサバンナ植物種の硝化抑制能力のためであり、これは窒素が制限された環境で生育するための適応形質であることが示された（Lata et al. 2004）。

硝化速度の定量的評価は、BNI 研究にとって極めて重要である。Subbarao ら（2006b）は、植物-土壌系における AT 単位（ATU）で表した硝化阻害活性を検出・定量化するために、組換え型 *Nitrosomonas europaea* を用いた生物発光アッセイを確立した。1ATU は、合成硝化阻害剤であるアリルチオ尿素（AT） $0.22\mu\text{M}$  による  $\text{NO}_2^-$  産生阻害と定義された。この新しいプロトコルを用いて、*B. humidicola* の根から放出された 20 ATU の BNI 活性が、55 日間の培養中に  $\text{NO}_3^-$  の生成を完全に阻害し、50 日間土壌中で安定的に機能することが確認された。*Nitrosomonas* の AMO と HAO の両酵素経路は、BNI 活性によって効果的にブロックされた。したがって、このアッセイは、植物の根の滲出液または抽出物中の BNI 活性の特性評価および測定のための効果的な方法として使用されている。

## 2.4: BNI 能力の高い遺伝資源のスクリーニング

JIRCAS の BNI 研究チームは、BNI 活性の検出と定量化のための生物発光アッセイを標準化し、特定の作物（植物）種または品種のスクリーニングを集中的に推進してきた。2000 年代初頭に開始された CIAT との共同研究では、いくつかの熱帯の食用および飼料用作物を対象に BNI 能を試験した（Subbarao et al. 2007b）。主なマメ科作物（ダイズ、ササゲ、インゲンマメなど）の根滲出液は、ラッカセイを除いて検出可能な阻害活性を示さなかった。試験した穀類の中では、ソルガムが最も高い比活性（ $5.2 \text{ ATU/g}$  根乾燥重量）を示し、次いでトウジンビエが続いた。3 大穀物（コムギ、トウモロコシ、イネ）およびオオムギのいずれも硝化阻害を示さなかった。牧草に関しては、試験したすべての牧草種に阻害活性が認められた。これらの中で、*Brachiaria humidicola* が最も高い BNI 活性を示し、*B. decumbens* が最も高い比活性（ $18.3 \text{ ATU/g}$ ）を示した。他の牧草、例えば *Brachiaria brizantha*、*Pennisetum maximum*、*Melinis minutiflora*、*Lolium perenne* は、硝化をそれ



ほど抑制しなかった。したがって、生物的硝化抑制は様々な植物種で観察される広範な現象であり、おそらく窒素制限環境において植物の BNI 活性（すなわち BNI 能力）を高めるために進化した形質であろうと推測された。

また、*B. humidicola* 系統内の BNI 活性を調査したところ、広い変動範囲（ATU/g で 46.3～6.5）を示した（Subbarao et al. 2007b）。もしこれが他の食用作物にも当てはまるのであれば、このような差異、すなわち遺伝的多様性をより高い BNI 能力を持つ作物品種を育種するために利用することができ、第二に、その違いは BNI 能力の要因となる遺伝子を特定するのに役立つであろう。

根の滲出液または破碎物の BNI 活性（ATU として表される）の評価により、植物種または品種／系統の BNI 能力についてのスクリーニングが実施された。BNI は、AOB や AOA といった土壌中の硝化菌が行う硝化過程の生化学的プロセスに影響を与える。したがって BNI の存在により、植物根圏の AOB と AOA の個体数（*amoA* 遺伝子の発現によって測定される）が抑制されるはずである。さらに、BNI は、植物由来の生物的硝化抑制作用を持つ特定の化合物が、AMO 酵素や HAO 酵素に影響を与えるメカニズムに基づく現象である（図 5）。したがって、その化合物の単離、濃縮、特性評価、構造決定、最終的な同定に関する研究は、BNI の物理的証拠を得るための効果的な研究方法である。

次の章では、広範に調査されている BNI 能力の高い植物（BNI 植物）について紹介する。加えて、BNI 能力を活用した農業技術の開発への示唆も論じている。

## 2.5: BNI 能力が高い植物

### 1) *Brachiaria humidicola* (クリーピング・シグナルグラス)

BNI 現象は、クリーピング・シグナルグラス（creeping signal grass）別名コロニビアグラス（Koronivia grass）で初めて報告された。学名は *Brachiaria humidicola* (Rendle) Schweick（最近の分類では *Urochloa humidicola* (Rendle) Morrone and Zuloaga）と称される。ラテンアメリカの牧草地（約 1 億 1,800 万ヘクタール）で広く利用されている熱帯牧草で、アフリカが原産地である。その BNI 活性（ATU）は、これまでに調査されたすべての植物の中で最も高い。

すなわち、*B. humidicola* 牧草地は、定着後 3 年以内に土壌中の AOB および AOA の菌数を抑制し、土壌からの亜酸化窒素（ $N_2O$ ）ガスの排出量がダイズや他の牧草（*Panicum maximum* およ

び *Brachiaria hybrid cv. Murato*) の栽培土壌と比較して有意に低いことが報告された。*B. humidicola* の BNI 能については種内変異も報告されており、2 品種 (BH-679 と BH-16888) がアンモニアの酸化を強く抑制した (Subbarao et al. 2009)。*BNI* 活性は低 pH 環境では安定で、 $\text{NH}_4^+$  の利用可能性が高まると誘発・維持された (Subbarao et al. 2007a)。ジテルペノイドの一種であるブラキアラクトン (図 6) は、*B. humidicola* の根滲出液に含まれる生物的硝化抑制物質 (biological nitrification inhibitors: BNI 物質) として同定され、AMO のみを阻害し、HAO は阻害しないことが示されている (Subbarao et al. 2009)。

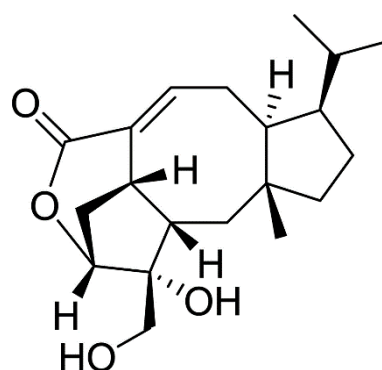


図 6. ブラキアラクトン (©PNAS)

放牧システムでは通常、牧草には窒素化学肥料を与えず、土壌に施用される窒素は家畜の糞尿など限られた量のみである。したがって、*B. humidicola* の高い BNI 能力の利点は、単一栽培の放牧システムでは完全には発揮されないだろう。*B. humidicola* の BNI 能力を利用するには、トウモロコシ (飼料用) やコム (食用) のような無機態窒素肥料を多く与える穀類を植える前に、牧草をプレクロップまたはカバークロップとして農牧輪作体系に導入し、農業生産システム全体の NUE を向上させることが効果的であろう。このような場合、BNI 物質は土壌に蓄積し、長期間活性を維持しなければならない。*B. humidicola* 牧草地を長期 (15 年間) 維持してきた圃場では、トウモロコシ-ダイズの輪作を繰り返してきた圃場と比較してトウモロコシの穀物収量が向上し、BNI 物質のが蓄積したことにより NUE も増加した (Moreta et al. 2013)。*B. humidicola* による BNI の残存効果が調査され、トウモロコシの単作を継続した場合と比較して、*B. humidicola* 導入 1 年後にトウモロコシの収量と窒素吸収量が有意に増加したが、これはおそらく残存効果が減少した一方硝化が低下したことによるだろう (Karwat et al. 2017)。

*B. humidicola* の植物組織内には、他にも BNI 活性物質が存在することが報告されている。根組織からはフェルラ酸メチルや p-クマル酸メチルなどのポリフェノール化合物が検出されており (Gopalakrishnan et al. 2007)、地上部組織にはリノール酸や  $\alpha$ -リノレン酸などの脂肪酸が含まれる (Gopalakrishnan et al. 2009)。したがって、この熱帯イネ科植物の BNI 能力は、植物体の分解に伴って放出される BNI 物質を使って広がる可能性がある。*B. humidicola* を含む作付システムでは、根の量やターンオーバー (写真 2)、あるいは耕起時に地上部を土壌へ



写真 2. 水耕栽培の *Brachiaria humidicola* 植物 (JIRCAS 提供)

の取り込みを考慮する必要がある (Nakamura, et al. 2020)。

優れた農業上のパフォーマンスと高い BNI 能力を両立させるために、CIAT の研究チームによって *Brachiaria humidicola* の育種が集中的に実施されてきた (Villegas et al. 2020)。*B. humidicola* はこれまで調査された植物の中で最も高い BNI 能力を有していることから、硝化抑制物質であるブラキアラクトンの放出に関与する遺伝子領域を特定できれば、BNI 能力を他の作物にも拡大する可能性がある。対照的な BNI 能力の低い *B. humidicola* 系統との交配から得られた集団をマッピングし、QTL (量的形質遺伝子座) 解析を用いて遺伝学的解析が行われている。

## 2) ソルガム

ソルガム (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) は、世界で 5 番目に重要な穀物である。乾燥・半乾燥熱帯地域で栽培され、その総面積は 4,000 万ヘクタールを超え、収穫量は全世界で約 6,000 万トンである (FAOSTAT, 2023)。ソルガムは、重い粘土質土壌から軽い砂質土壌まで、幅広い種類の土壌で栽培することができる。適応できる土壌 pH は 5.0~8.5 と幅広い。

ソルガムは、雑草に打ち勝つアレロパシー (他感作用) を示すことが知られているが、これまでの研究で BNI 能力に関しても最も有望な穀物として認識されてきた (Subbarao et al. 2007b)。ソルゴレオン (図 7) は、ソルガムの根の滲出液に含

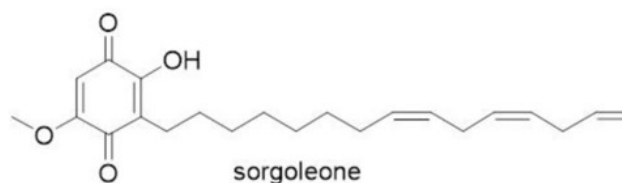


図 7. ソルゴレオン (JIRCAS 提供)

まれるアレロパシー化合物で、バイオ除草剤としての可能性を探る多くの研究の対象となってきた。ソルゴレオンはソルガム根の滲出液の疎水性画分から BNI 物質として単離・同定され、サクラネチンと 3-(4-ヒドロキシフェニル)プロピオン酸メチルは親水性画分から単離された (Subbarao et al. 2013a)。ソルゴレオンはソルガム根滲出液中の BNI 活性の大部分を説明することから、ソルゴレオンの放出による土壌微生物群集への影響が調べられた。ソルゴレオンを多量に放出されると、AOA 数 (AOB は含まない) と土壌の硝化が抑制される可能性が報告された (Sarr et al. 2020)。

ソルガム属の異なる品種・系統間で BNI 能力の違いが観察されており、BNI 活性とソルゴレオンの放出量との間には、非常に強い正の相関があることが実証されている (Tesfamariam et al. 2014)。したがって、BNI 活性 (ATU) の評価よりも比較的簡便な方法であるソルガム植物からのソルゴレオンの滲出量を定量することで、BNI 能が高いソルガム品種・系統を迅速にスクリーニングすることができる。ソルゴレオンを多量に放出する能力を持つソルガム系統の育種は、栽培中の生物的硝化抑制を改善する戦略的な方法となりうる (Sarr et al. 2020)。JIRCAS とインドのテランガナ州パタンチェルに本部を置く国際半乾燥熱帯作物研究所 (ICRISAT) との共同研究において、アフリカの半乾燥地域の栽培品

種を含む世界のソルガム遺伝資源のミニコアコレクションの BNI 能力の大小が評価された。BNI 形質の遺伝的解析を通じて、優れたソルゴレオンの滲出に関する対立遺伝子が同定されれば、ソルガムにおける BNI 能力の向上と拡大が可能となるであろう (Subbarao et al. 2013b)。

### 3) コムギ

世界の穀物生産における NUE の平均値は、20 年間 33%と低いままである (Raun & Johnson, 1999)。生産量第 2 位の作物であるコムギ (*Triticum aestivum* L.) は、世界の全窒素肥料の 18%以上を必要としており、この割合は 2014 年まで作物の中で最大であった (IFA, 2022)。したがって、コムギ生産システムにおける NUE を改善することは、環境への窒素漏出を削減するための世界的な主要課題であるといえる。この問題に対処するため、JIRCAS とメキシコのエル・バタンに拠点を置く国際トウモロコシ・コムギ改良センター (CIMMYT) の科学者たちは、数多くのコムギ品種を対象に BNI 能力の評価を行った。残念なことに、現在までのところ、コムギの遺伝資源の中には際立った BNI 能力は見出されていない (Subbarao et al. 2007b)。コムギの改良のために野生近縁種からの外来遺伝子を探索する一環として、日本のコムギ育種家／遺伝学者のグループは、コムギの野生近縁種である



写真 3. ブルガリアの *Leymus racemosus* の自然個体群 (©Bulgarian Flora Online)

*Leymus racemosus* L. (写真 3、和名オオハマニンニク) が高い BNI 能力を持ち、土壌の硝化を効果的に抑制することを発見した (Subbarao et al. 2007c)。 *L. racemosus* の BNI 能力を、外来遺伝子に由来する好ましくない影響なしに栽培コムギに導入するために、*Leymus* から BNI 能力の乗った最小の染色体断片を導入した種間雑種系統の選抜に多大な努力が払われてきた。最終的に、遺伝的および穀物品質の標準としてよく用いられる古いコムギ品種である「チャイ

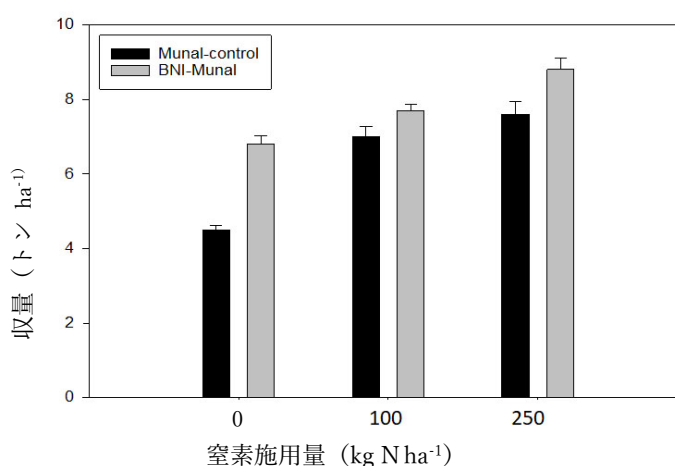


図 8. コムギ品種 Munal と BNI-Munal の異なる窒素施用量に対する収量反応 (JIRCAS 提供)

ニーズ・スプリング」を背景にしつつ、高い BNI 能力を示す *Leymus* 染色体を持つコムギの遺伝的ストック (Lr#n-SA と呼ばれる) が得られた。その後、この優れた遺伝子を国際的なコムギ栽培品種である「Munal」と「Roelfs」と交配し、BNI 能を持つ「BNI-Munal」と「BNI-Roelfs」の作出に成功した (Subbarao et al. 2022)。このことは、作物とその野生近縁種との間の遺伝的障壁がうまく取り除かれたことを示している。しかし、O'Sullivan ら (2016) によって報告されたように、エリートコムギ品種の NUE を改善するための遺伝的ソースとして、既存のコムギ在来種の BNI 能力を探索する価値は依然としてある。

圃場栽培した「BNI-Munal」の根域から採取した土壌を用いた室内培養試験では、土壌の硝化活性、特に AOA による硝化活性は抑制され、 $N_2O$  の排出が減少した。日本の実験圃場では、窒素無投入を含む複数の窒素施肥条件下で、「BNI-Munal」の穀物収量が「Munal」より優れており、「獲得した」な BNI 能力 (図 8、写真 4) によって NUE が向上し、窒素施肥量を減らしても同じ収量が得られる可能性がある。製



写真 4. コムギ品種 Munal (右) と BNI-Munal (左) の出穂期の外観 (JIRCAS 提供)

パン性の面でも、穀物の品質に悪影響はなかった (Subbarao et al. 2022)。したがって、「BNI-Munal」そのものは、適応次第で窒素効率の高いコムギ栽培品種としてコムギ畑に普及させることが可能である。一方 BNI 能を提供する育種材料として用い、特定の環境や経済的要件におけるエリートコムギ品種において窒素効率の高い系統を育成することで、世界的な窒素危機に対する可能な解決策となるだろう。

#### 4) トウモロコシ

今世紀に入り、トウモロコシ (*Zea mays* L.) は収穫量では世界で最も栽培されている作物となった (FAOSTAT, 2023)。そのため現在、化学的に生産される窒素肥料の 20%以上がトウモロコシに、次いでコムギに使用されている (IFA, 2022 年)。トウモロコシ栽培システムの NUE が改善されればその影響はたいへん有益であるため、BNI 能を持つトウモロコシが長い間望まれていた。そして 2017 年、JIRCAS の化学者である吉橋忠博士がスイートコーンの市販品種 (ハニーバンタム) の根系において BNI 活性を発見した。

それ以来、トウモロコシの BNI 活性について短期間に集中的な研究が行われてきた。Otaka et al. (2022) は、根滲出液から 2 種類の疎水性 BNI 化合物を単離・同定し、そのうちの 1 種類は新しいナフトキノンで「ゼアノン」と命名され (図 9)、強い硝化抑制作用を示したことが報告されている ( $ED_{50} = 2 \mu\text{M}$ ;  $2 \mu\text{M}$  のゼアノンが ATU で定量される硝化活性の半分を抑制することを示す)。もうひとつは、HDMBOA として知られるベンゾキサジノイドで、中庸な硝化抑制作用 ( $ED_{50} = 13 \mu\text{M}$ ) を示した。また、根の組織には、もう一つのベンゾキサジノイドである HMBOA、HDMBOA の配糖体など、他の BNI 活性化化合物も同定された。これらの知見に基づき、トウモロコシにおける BNI のメカニズムが植物化学の観点から議論されている (Otaka et al. 2022)。

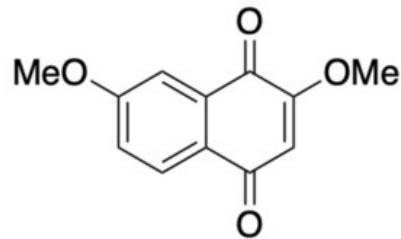


図 9.ゼアノンの化学構造 (©Springer)

## 5) イネ

イネ (*Oryza sativa* L.) は世界中で栽培されており、東アジア、東南アジア、および南アジアの人々の主食である。この地域の人口増加を支えるため、コメは大量の化学肥料を使って生産されており、その使用量は世界の 15% を占めている (IFA, 2022 年)。他の穀類作物と同様、イネの NUE は 30% ~ 50% と低いことが認められている (Patra et al. 2021)。また、水稻の根圏では AOA を中心とするアンモニア酸化活性 (*amoA* 遺伝子) の重要性が報告されていることから (Chen et al. 2008)、嫌気的環境が支配的な水田であっても、アンモニアの揮発に加えて硝化も窒素の喪失に関与している可能性がある。

中国科学院のグループは、幅広い遺伝子型の違いを持つイネの根滲出液で BNI 活性を調査し、1,9-デカンジオール (図 10) という化合物が、アンモニア酸化経路の AMO を阻害する硝化抑制化合物として同定された (図 5) (Sun et al. 2016)。さらなる研究により、1,9-デカンジオールは合成硝化抑制剤である DCD よりも効果的であり、特に酸性赤色土壌からの  $\text{N}_2\text{O}$  排出を減少させることが示された (Lu et al. 2019)。

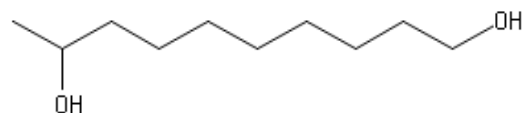


図 10. 1,9-デカンジオール (© J-Global)

## 6) その他の植物種

これまでのところ、BNI 能力を向上させた植物遺伝資源の研究・報告は、野生近縁種や自然植生種を含んでも、ほとんどイネ科植物に限られている。近年、オーストラリアの研究チームが、アブラナ科の野生ダイコン (*Raphanus raphanistrum*)、ヒゲナガスズメノチャヒキ (*Bromes diandrus*)、野生カラスムギ (*Avena fatua*)、一年生ライグラス (*Lolium rigidum*) などの雑草の BNI 能力について報告したが、その中で野生ダイコンが最も高い BNI 能力を示し、*B. humidicola* (BNI のポジティブコントロール) の BNI 能力をも上回った。その他の雑草は、O'Sullivan et al. (2017) の評価プロトコルによる限り、同様の BNI 能力であった。Jankeら (2018) も、オーストラリア原産の植物である *Hibiscus splendens* と *Solanum echinatum* の根滲出液がソルガムと同様の BNI 活性を示したと報告している。

ラテンアメリカでは、比較的多量の窒素肥料が施され近代的に集約的に管理されている牧草地において、牛肉や牛乳の生産に最も有望な飼料作物であるギニアグラス (*Megathyrsus maximus* または *Panicum maximum*) に関する研究が CIAT グループによって発表された。彼らは、*M. maximus* の系統間で BNI 能力に大きなばらつきがあることを発見し、硝化速度の低い系統では、硝化速度の高い系統と比較して、AOB の存在量が少なく、 $N_2O$  の排出量が減少していることを示した (Villegas et al. 2020)。

BNI 現象は、生態学、作物栽培学、微生物学、植物化学、雑草学、環境科学など多くの研究分野で注目されており、植物の BNI 能力に関してより多くの証拠が発表されることが期待される。JIRCAS によって 2015 年に、持続可能な開発のための BNI 国際コンソーシアムが設立された。コンソーシアム以外にも、EU が資金提供する SusCrop-ERA-NET の一部である CATCH-BNI (Vanderschuren and Thonar, 2021) など、植物のこのユニークな能力を探求するための国際的な研究活動がいくつか策定され、実施されている。

### 3: BNI 技術の展開に向けて

#### 3.1: 「遺伝的緩和戦略」としての BNI 技術

BNI 技術の目標は、BNI 能力の高い植物を大規模に適用することにより、低硝化、低 N<sub>2</sub>O 排出、高窒素効率の農業生産システムを開発することである。

前章で見たように、BNI 能力とは、根からの滲出物や、分解された根および/または地上部から放出される化合物などの硝化抑制物質によって、土壤中の硝化プロセスを抑制する植物の能力である。BNI 能力の高い植物とそれらの硝化抑制物質を表 1 に示す。

表 1. 現在までに研究されている BNI 能力を持つ植物と生物的硝化抑制物質

植物種	起源	硝化抑制物質	化学的性質	作用機序（阻害する酵素）
<i>Brachiaria humidicola</i>	根滲出液 根組織	ブラキアラクトン	疎水性	AMO & HAO
	根組織	フェルラ酸メチル	疎水性	AMO
		p-クマル酸メチル	疎水性	AMO
	シュート組織	リノール酸	疎水性	AMO & HAO
		α-リルン酸	疎水性	AMO & HAO
ソルガム	根滲出液	ソルゴレオン	疎水性	AMO & HAO
		サクラネチン	親水性	AMO & HAO
		3-(4-ヒドロキシフェニル)プロピオン酸メチル	親水性	AMO
トウモロコシ	根滲出液	ゼアノン	疎水性	(調査中)
		HDMBOA	疎水性	(調査中)
	根抽出物	HMBOA	疎水性	(調査中)
		HDMBOA-β-グルコシド	疎水性	(調査中)
イネ	根滲出液	1,9-デカンジオール	疎水性	AMO

いくつかの硝化抑制物質が同定されているが、そのほとんどは硝化プロセスの主要酵素（AMO と HAO）をブロックすることが科学的に証明されている。その結果、生産システムの窒素利用効率が改善され、より多くの窒素が土壌に長く留まり、環境中に放出される窒素が少なくなる。



BNI 技術は「植物」そのものを用いるものであり、合成された硝化抑制化合物を使用しないことが特徴である。BNI 技術のこのコンセプトは、第一に普及の面で実用的である。なぜなら、農家は同じ作物栽培を行い、作物品種を強化された BNI 能を持つ作物に置き換えるだけで、追加費用なしで化学窒素肥料の散布量の削減による余剰が期待できるからである。さらに、BNI 能を持つ植物は、疎水性化合物や親水性化合物といった化学的屬性の異なる硝化抑制物質の‘カクテル’を生産することから、BNI 技術は植物レベルでの応用に優れている。

したがって、BNI 能力の高い作物品種こそが BNI 技術の重要な要素である。それゆえ、BNI 技術は農業からの温室効果ガス排出を削減する「遺伝的緩和戦略」とも呼ばれている (Subbarao et al. 2017)。

前述したように、現在、有望な作物品種がいくつか存在する。しかし、BNI 技術の可能性と適用性をより広範な地域に拡大し、NUE が低い作物種（食用、牧草、エネルギー）を増やすための育種努力を続けるべきである。具体的には、より高い BNI 能力の育種は、1) 対象作物の BNI 能を持つ品種／系統の遺伝的ストックの拡大（例：ソルガム研究）、および BNI 形質の新規供給源としての野生近縁種の利用（例：コムギ研究）、2) マーカー支援選抜のための BNI 形質に連鎖する遺伝マーカーの利用（例：*Brachiaria* およびソルガム研究）、および 3) 生物学的硝化抑制物質の加速生産のための将来のゲノム／遺伝子編集、によって達成することができる。

### 3.2: BNI 効果のさらなる証明の必要性

BNI 技術の適用には、いくつかの方法がある。BNI 能を持つ作物は、多様な農業生産システムに組み込むことができる。食用のコムギ、食用・飼料用・エネルギー用のトウモロコシとソルガムは、そのほとんどが毎年、単作か、他の作物との輪作あるいは休閑と交替しながら栽培されている。牧草地は伝統的に牛肉や牛乳用の放牧地として管理されてきたが、より持続可能な形で強化された林業畜産（silvopastoral）システムや農業林業畜産（agrosilvopastoral）システムで管理される場合もある。BNI 技術を導入し、これらの農業生産システムの NUE を改善することができるが、BNI の利点を明確に示す必要がある。たとえば、システムへの窒素投入量を減らしても、生産性と窒素吸収量は変わらず、しかし土壌からの  $N_2O$  排出が減少し、根圏深部への窒素溶出が減少することで、環境面でのメリットを示すことができる。

窒素動態を決定する定量的シミュレーションモデルにおいて、BNI のプラスの効果を実証することも重要である。モデルを確立するためには、土壌中の窒素化学種 ( $NH_4^+$ 、 $NO_3^-$ ) や微生物活動、土壌特性や地上部の環境などをモニタリングしてデータを取得し、モデルを理論的・実証的に説明する必要がある。それによって、特定の場所と作物管理条件において作物が吸収する窒素の量、地下水に溶出する窒素の量、 $N_2O$  として排出される窒素の量をシミュレートし、BNI 技術の利点を推定することができる。

BNI 技術は高い関心を集めることから、BNI 技術の利点や影響は、特に地球環境の観点から、ライフサイクルアセスメント（LCA）手法を用いて事前評価されるべきである。

### 3.3: BNI 技術の事前影響評価

BNI の技術はまだ発展途上であると一般的に理解されている。このような新興技術は、実験室や試験圃場レベルでしか機能しないことが多く、農民圃場、家庭、市場、または政府レベルで利用可能なデータは限られている（Cuccurachi et al. 2018）。BNI 技術の将来実績を予測するシナリオを用い、その技術に適用可能な場所を定義し、その技術の実用性と有効性を高めるようなアイデアを見つけること、すなわち事前のライフサイクルアセスメント（LCA）を行うことで、新たな技術をスケールアップすることには価値がある。

BNI 技術のいくつかのオプションの中で、BNI-コムギと BNI-牧草は、実用化の準備が最も進んでいると考えられている。JIRCAS のエコノミストであるレオン博士は、CIMMYT と共同で BNI コムギ技術の事前 LCA を実施した（Leon et al. 2021）。彼らは、BNI 能を持つ作物による硝化抑制と  $N_2O$  排出削減率の証拠に基づいたシナリオを使用した。すなわち、BNI 能を持つコムギ植物が 2050 年までに硝化を 40%効果的に抑制できること、根からの硝化抑制物質の放出は、深さ 30cm の土壌 pH5.5~7.0 で起こることを見出した。硝化が 40%抑制された場合、圃場レベルでの窒素施肥と LC-GHG 排出（肥料生産に伴う GHG 排出を含む）は、それぞれ 15.0%と 15.9%削減され、NUE は 16.7%改善されることが示された（Leon et al. 2021）。

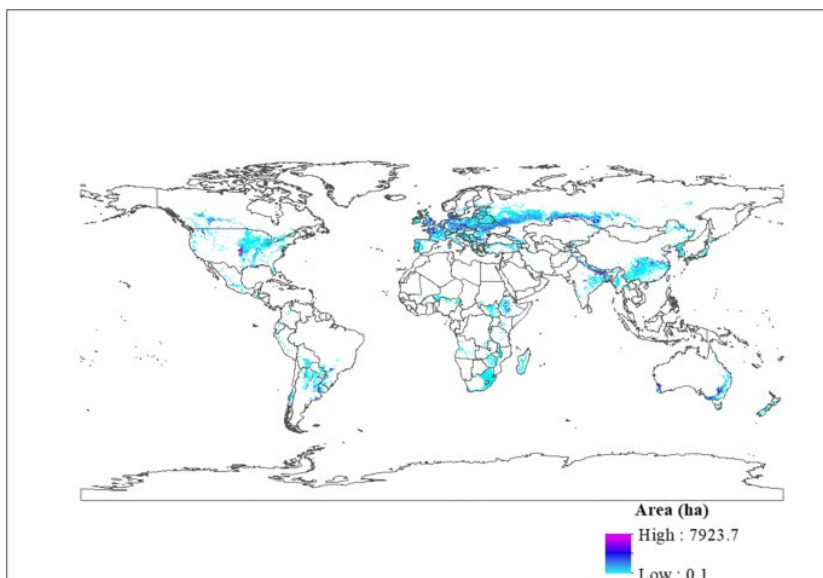


図 11. BNI コムギに適した地域（Leon et al. 2021）

地域別では、肥料による GHG の削減率はサハラ以南のアフリカが最も高く、次いでヨーロッパと中央アジアと推定された。これらの地域は BNI 能を持つ作物により適していると考えられたからである。しかし、GHG 排出量が最も多い南アジアは、土壌の pH が高いため、BNI コムギに適した面積は比較的少ない（図 11）。したがって、アルカリ土壌に適応し

た BNI 能を持つコムギ品種を開発することは、BNI 研究の一つの大きな課題である。事前評価の LCA

手法は、BNI 技術の他のオプション（作物）にも適用されるべきである。それは、将来的な環境便益を評価するためだけでなく、この技術の限界の可能性を特定するとともに、技術を更に改良することによって限界を克服するための研究が何であるかを発見することができるからでもある。BNI ソルガムについては、ICRISAT と共同で事前 LCA 研究が開始されている。

最近、インドの科学者たちは、ポットでの予備実験において、BNI 能を持つコムギ系統の生育と収量が、対応する非 BNI 品種と比較して、pH の高い土壌（約 8.0）下でも良好であることを観察した（Dr. Ajay Bhardwaj、私信）。もしこれが、正確なデータに基づいて圃場条件下でも再現されるなら、BNI 技術の適用範囲は、図 11 に示すものに比べより多くのコムギ生産地域に拡大するだろう。一方、土壌中の BNI 作用の分子および生化学的メカニズム、特に硝化抑制物質と土壌中の硝化酵素 AMO および HAO との相互作用は、土壌 pH の広い範囲で起こる。

### 3.4: 国際 BNI コンソーシアム

2015 年 3 月 2～3 日につくば市の JIRCAS で開催された国際 BNI ワークショップには、4 つの CGIAR 研究プログラム[Climate Change, Agriculture, and Food Security (CCAFS)、WHEAT、Dryland-Cereals、Livestock-Fish]を実施する 4 つの CGIAR センター（CIAT、CIMMYT、ICRISAT、ILRI）、および日本の国立農業研究機関や大学から 40 名の研究者が参加した。JIRCAS は CGIAR のパートナーとともに、持続可能な開発のための BNI 研究コンソーシアムを結成し、JIRCAS が招集と調整の役割を果たした。その後、コンソーシアムの研究者、すなわち CGIAR センターとヨーロッパ、日本、アジア、およびアメリカの先進研究機関とともに、世界資源研究所（WRI）や国際窒素イニシアチブ（INI）といった科学＋政策の連携分野の専門家を招いて、2 年に一回会議を開催してきた。この会議では BNI 技術に関連する情報や研究成果を交換し、いくつかの方向、すなわち BNI の



写真 5. 2018 年 10 月 25 日、26 日につくばで開催された第 3 回国際 BNI ミーティング出席者の集合写真

能力を新しい作物に拡大すること、BNI のメカニズムに関する知識を深めること、行政の関心を集めることで BNI 技術を現地で実現すること、そして BNI が世界の農業の最大の課題の 2 つである食料の安定増産と環境改善に役立つ証拠を蓄積することを目的に、研究戦略を議論しあつた (Searchinger et al. 2018)。

### 3.5: 持続可能な開発のための BNI 技術

人間や地球上の他のすべての生物にとって、窒素は諸刃の剣である。生命は窒素栄養塩 (反応性窒素) から恩恵を受けるが、窒素余剰 (同じく反応性窒素) は環境に悪影響を及ぼす。したがって、持続可能な未来のためには、窒素を適切に管理しなければならない。農業システムにおいて、食料増産と環境への影響の最小化は喫緊の課題である。現代の農業は窒素化学肥料に大きく依存しているが、一方相当量の窒素が使用されずに環境に放出されている。従って、農業システムにおける窒素利用効率 (NUE) の改善は、これらの課題に対する全体的かつ正当な解決策である。NUE を改善することは、国連 2030 アジェンダの持続可能な開発目標 (SDGs)、具体的には食料生産に関する第 2 目標「飢餓をゼロに」、環境に関する第 13 目標「気候変動に具体的対策を」と第 14 目標「海の豊かさを守ろう」に直接貢献する。

BNI 技術は、農業システムにおける NUE を改善するための効果的かつ実用的な選択肢であるため、SDGs の 2、13、14 に貢献する。また、BNI 技術は、化学肥料の持続可能な利用を促進することから、第 12 目標「作る責任、使う責任」、多様性に富んだ陸上植物の機能に基づく技術であることから、第 15 目標「陸の豊かさを守ろう」にも貢献する。

農業の持続可能な発展を目指し、農林水産省は 2021 年に「みどりの食料システム戦略—食料・農林水産業の生産力向上と持続性の両立をイノベーションで実現する—」を立ち上げた (農林水産省、2021 年)。この戦略の複数の目標のうち、2050 年までに化学肥料の使用を 30%削減するという目標が掲げられている。この目標を含むすべての目標は、CO<sub>2</sub> (GHG) 排出量ゼロを達成するという「みどり戦略」全体の目標に貢献する。BNI 技術は、日本発のイノベーションとして、「持続可能な生産」というパートに位置づけられ、NUE が高く、環境への負荷が少ない「スーパー」植物品種の開発を目指している。BNI 技術の影響は日本においても大きな価値があると想定されるが、事前評価はまだ行われていない。日本で BNI 技術を実現するためには、大学だけでなく、国や県の農業研究センターと研究ネットワークを組織する必要がある。

最後に、日本のJIRCASとボーローグ南アジア研究所（BISA）、インド農業研究評議会（ICAR）の二国間プロジェクト、SATREPS プロジェクト「BNI 技術の展開によるヒンドゥスタン平野における窒素利用効率の高いコムギ生産システムの確立」（科学技術振興機構、2022年）が2022年に正式に開始されたことを紹介したい。インドは緑の革命の恩恵を最も



**写真6. インド、ビハール州サマステイプールにおける BNI-Munal と地元エリート品種の交配用遺伝子材料の増殖（BISA 提供）**

受けている国であり、特にヒンドゥスタン平野は、現在 14 億人（最新統計）の人口の穀倉地帯（コムギとコメ）として知られている。コムギの場合、農家はこの地域で作物が必要とする以上に、非常に多量の窒素肥料を施用している（Sapkota et al. 2020）。したがって、この地域で BNI 能を持つコムギを導入し、低い NUE（30%未満）を改善することは十分に意義がある。最終的にこのプロジェクトは、BNI-コムギを導入した畑の窒素施肥量が 30%以下でも収量が減少しないことを実証することを目標としている。プロジェクトの第一段階は、「BNI-Munal」または「BNI-Roelf」をいくつかのプロジェクトサイトで地域のエリート品種と交配することにより、地域の環境と市場の要求に適応しつつ BNI 能を持つエリートコムギ品種を開発することである。さらに、インドでは農家が尿素肥料を使いすぎているため、中央政府は窒素肥料の消費と輸入を減らすという具体的な政策を掲げている（NITI Aayog, 2015）。これはこのプロジェクトの政治的なバックアップとなっており、そのことから研究成果（BNI 能を持つローカルエリートコムギ系統）は社会にスムーズに導入される、すなわち系統が登録され、推奨品種として配布され、それらは農民によって受け入れられることが期待される。

## 4: 結論

- 土壌中の硝化プロセスを抑制することは、窒素利用効率（NUE）を向上させ、より多くの窒素が根圏にとどまって作物に利用され、失われる窒素を減らすための鍵である。これは同量またはより少ない窒素施肥で作物生産を増加させ、21 世紀の地球規模の課題である窒素汚染と気候変動を最小限に抑えることにつながる。
- 生物的硝化抑制（BNI）とは、根やシュートから出る特殊な化学化合物（生物的硝化抑制物質[BNI<sub>s</sub>]）によって硝化プロセスを抑制する植物の機能であり、コムギ、トウモロコシ、ソルガムなどの主要穀物を含むいくつかのイネ科植物で観察されている。
- BNI 技術の導入は、農業生産システムにおける NUE 改善を通じて、食料安全保障（SDG2）と気候変動（SDG13）という喫緊のグローバル課題の解決に貢献することが期待されている。
- BNI の機能は、主に土壌 pH が中性から酸性で、アンモニアが発生しやすい条件下で発現する。したがって、BNI 技術をより広い地域に拡大するためには、さらなる研究が必要である。
- BNI 技術の影響を明らかにするためには、土壌-植物-大気の連続体における窒素化学種の理論的動態に基づくシミュレーションモデルを構築するために、より多くの証拠と現場からのデータが必要である。
- BNI 能を持つ作物品種、例えば最も進んでいるコムギは、低硝化、低 N<sub>2</sub>O 排出、高窒素利用効率の農業生産システムを開発するために普及させることができる。

## 参考文献

- Ayiti, O.E. and Babalola, O.O. (2022) Factors influencing soil nitrification process and the effect on environment and health. *Front. Sust. Food Sys.* 6, Article 821994
- Capdevila-Cortada, M. (2019) Electrifying the Haber–Bosch. *Nature Catalysis*, 2, 1055
- Chen, X.-P. et al. (2008) Ammonia-oxidizing archaea: important players in paddy rhizosphere soil? *Environ. Microbiol.* 10(8) 1978-1987
- Cucurachi, S. et al. (2018) Ex-ante LCA of emerging technologies. *Procedia CIRP*, 69, 463-468
- Erisman, J.W. et al. (2008) How a century of ammonia synthesis changed the world. *Nature Geoscience*, 1, 636-638
- FAOSTAT (2023) Sorghum. <https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL>. (last browsed on 19 Feb 2023)
- Fowler, D. et al. (2013) The global nitrogen cycle in the twenty-first century. *Philos.Trans.Royal Soc. B*, 368, 20130164
- Gopalakrishnan, S. et al. (2007) Nitrification inhibitors from the root tissues of *Brachiaria humidicola*, a tropical grass. *J. Agric. Food Chem.*, 55, 1385-1388
- Gopalakrishnan, S. et al. (2009) Biological nitrification inhibition by *Brachiaria humidicola* roots varies with soil type and inhibits nitrifying bacteria, but not other major soil microorganisms. *Soil Sci. Plant Nutr.*, 55, 725-733
- Hayashi, K. et al. (2021) History of nitrogen discovery and its human use (in Japanese). In “Nitrogen and environmental science,” pp. 10-13, Asakura Shoten, ISBN978-4-254-18057-2
- IFA (2022) Fertilizer use by crop and country for the 2017-2018 period. International Fertilizer Association (IFA), Paris, France, <https://www.ifastat.org/consumption/fertilizeruse-by-crop>. (last browsed on 20 Feb 2023)
- Ishikawa et al. (2003) Suppression of nitrification and nitrous oxide emission by the tropical grass *Brachiaria humidicola*. *Plant Soil*, 255, 413-419
- Janke, C.K. et al. (2018) Biological nitrification inhibition by root exudates of native species, *Hibiscus splendens* and *Solanum elaeagnifolium*. *Peer J*, e4960 <https://doi.org/10.7717/peerj.4960> (last browsed on 12 Feb 2023)
- 科学技術振興機構 (2022) 植物の力で肥料の無駄を減らし、地球の窒素循環を健全化せよ！ SATREPS プロジェクト紹介。 [https://www.jst.go.jp/global/kadai/r0308\\_india.html](https://www.jst.go.jp/global/kadai/r0308_india.html) (last browsed on 03 Dec 2023)
- Karwat, H. et al. (2017) Residual effect of BNI by *Brachiaria humidicola* pasture on nitrogen recovery and grain yield of subsequent maize. *Plant Soil* 420, 389-406
- Lassaletta, L. et al. (2014) 50 year trends in nitrogen use efficiency of world cropping systems; the relationship between yield and nitrogen input to cropland. *Environ. Res. Lett.*, 9: 105011. Doi: 10.1088/1748-9326/9/10/105011
- Lata, J.-C., et al. (2004) Grass populations control nitrification in savanna soils. *Funct. Ecol.*, 18, 605-611
- Leon, A., et al. (2021) An ex-ante life cycle assessment of wheat with high biological nitrification inhibition capacity. *Environ. Sci. Pollut. Res.*, 29, 7153-7169
- Lu, Y. (2019) Effects of the biological nitrification inhibitor 1,9-decanediol on nitrification and ammonia oxidizers in three agricultural soils. *Soil Biol. Biochem.* 129, 48-59
- Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries (2021) “Strategy for Sustainable Food Systems, MeaDRI.” [https://www.maff.go.jp/e/policies/env/env\\_policy/meadri.html](https://www.maff.go.jp/e/policies/env/env_policy/meadri.html) (last browsed on 28 Feb 2023)
- Moreta, D.E. et al. (2013) Biological nitrification inhibition (BNI) in *Brachiaria* pastures: A novel strategy to improve eco-efficiency of crop-livestock systems and to mitigate climate change. In “Proceedings of XXII International Grassland Congress, pp. 980-981
- Nakamura, S. et al. (2020) The contribution of root turnover on biological nitrification inhibition and its impact on the ammonia-oxidizing archaea under *Brachiaria* cultivations. *Agronomy*, 10, 1003; doi:10.3390/agronomy 10071003
- NITI Aayog (2015) Raising Agricultural Productivity and Making Farming Remunerative for Farmers. An occasional paper, Government of India, pp. 46
- O’Sullivan, C.A. et al. (2016) Identification of several wheat landraces with biological nitrification inhibition capacity. *Plant Soil*, 404, 61-74
- O’Sullivan, C.A. et al. (2017) Biological nitrification inhibition by weeds: wild radish, brome grass, wild oats and annual ryegrass decrease nitrification rates in their rhizospheres. *Crop Pasture Sci.*, 68, 798-804
- Otake, J. et al. (2022) Biological nitrification inhibition in maize – isolation and identification of hydrophobic inhibitors from root exudates. *Biol. Fert. Soils*, 58, 251-264
- Patra, B. et al. (2021) Genetics of nitrogen use efficiency (NUE) in rice. *Bio. Res. Today*, 3(11), 1083-1085
- Raun, W.R. and Johnson, G.V. (1999) Improving nitrogen-use efficiency for cereal production. *Agron. J.*, 91, 357-363

- Rockström, J. et al. (2009) Planetary boundaries: Exploring the safe operating space for humanity. *Ecol. Soc.*, 14, 32
- Sapkota, T.B. et al. (2020) Identifying optimum rates of fertilizer nitrogen application to maximize economic return and minimize nitrous oxide emission from rice-wheat systems in the Indo-Gangetic Plains of India. *Arch. Agron. Soil Sci.*, 66(14), 2039-2054
- Sarr, et al. (2020) Sorgoleone release from sorghum roots shapes the composition of nitrifying populations, total bacteria, and archaea and determines the level of nitrification. *Biol. Fert. Soils*, 56, 145-166
- Searchinger, T. et al. (2018) "Creating a sustainable food future: A menu of solutions to feed nearly 10 billion people by 2050." World Resources Institute, Washington DC, USA, ISBN 978-1-56973-953-6
- Steffen, W. et al. (2015) Planetary boundaries: Guiding human development on a changing planet. *Nature*, 347,
- Subbarao, G.V. et al. (2006a) Scope and strategies for regulation of nitrification in agricultural systems--- Challenges and opportunities. *Crit. Rev. Plant Sci.* 25, 1-33
- Subbarao, G.V. et al. (2006b) A bioluminescence assay to detect nitrification inhibitors released from plant roots: a case study with *Brachiaria humidicola*. *Plant Soil*, 288, 101-112
- Subbarao, G.V. et al. (2007a)  $\text{NH}_4^+$  triggers the synthesis and release of biological nitrification inhibition compounds in *Brachiaria humidicola* roots. *Plant Soil*, 190, 245-257
- Subbarao, G.V. et al. (2007b) Biological nitrification inhibition (BNI) – is it a widespread phenomenon? *Plant Soil*, 294, 5-18
- Subbarao et al. (2007c) Can biological nitrification inhibition (BNI) genes from perennial *Leymus racemosus* (Triticeae) combat nitrification in wheat farming? *Plant Soil* 299, 55-64
- Subbarao, G.V. et al. (2009) Evidence for biological nitrification inhibition in *Brachiaria* pastures. *PNAS*, 106(41), 17302–17307
- Subbarao, G.V. et al. (2013a) Biological nitrification inhibition (BNI) activity in sorghum and its characterization. *Plant Soil*, 366, 243-259
- Subbarao, G.V. et al. (2013b) A paradigm shift towards low-nitrifying production systems: the role of biological nitrification inhibition (BNI). *Ann. Bot.* 112, 297-316
- Subbarao, G.V. et al. (2017) Genetic mitigation strategies to tackle agricultural GHG emissions: The case for biological nitrification inhibition technology. *Plant Sci.*, 262, 165-168
- Subbarao, G.V. and Searchinger, T.D. (2021) A "more ammonium solution" that mitigates nitrogen pollution, boosts crop yields. *PNAS* 118(22): e2107576118.
- Subbarao, G.V. et al. (2022) Enlisting wild grass genes to combat nitrification in wheat farming: A nature-based solution., *PNAS* 118(35): e2106595118
- Sun, L. et al. (2016) Biological nitrification inhibition by rice root exudates and its relationship with nitrogen-use efficiency. *New Phytol.* 212, 646-656
- Tesfamariam, T. et al. (2014) Biological nitrification inhibition in sorghum: the role of sorgoleone production. *Plant Soil*, 379, 325-335
- Udvardi, M. et al. (2021) A research road map for responsible use of agricultural nitrogen. *Front. Sust. Food Sys.*, 5, Article 660155
- USGS (2023) Nitrogen (fixed)—ammonia, USGS Mineral Commodity Summaries, January 2023. (last browsed on 3 Feb 2023)
- Vanderschuren, H. and Thonar, C. (2021) CATCH-BNI: Improved nitrogen use efficiency in agriculture by CATCH crops as producers of Biological Nitrification Inhibitors. [https://www.catch-bni.uliege.be/cms/c\\_8303948/en/catchbni-about](https://www.catch-bni.uliege.be/cms/c_8303948/en/catchbni-about) (last browsed on 12 Feb 2023)
- van Grinsven, H.J.M. et al. (2015) Losses of ammonia and nitrate from agriculture and their effect on nitrogen recovery in the European Union and the United States between 1900 and 2050. *J. Environ. Qual.*, 44, 356–367
- Villegas, D. et al. (2020) Biological nitrification inhibition (BNI): phenotyping of a core germplasm collection of the tropical forage grass *Megathyrsus maximus* under greenhouse conditions. *Front. Plant Sci.*, 11, Article 810
- Zhang, X. et al. (2015) Managing nitrogen for sustainable development. *Nature*, 528, 51-59
- Zhang, X. et al. (2021) Quantification of global and national nitrogen budgets for crop production. *Nature Food*, 2, 529-540







国立研究開発法人  
国際農林水産業研究センター

〒305-8686 茨城県つくば市大わし1-1  
Tel. 029-838-6313 Fax. 029-838-6316

<https://www.jircas.go.jp/ja/greenasia/report>

