

## トウモロコシの生物的硝化抑制（BNI）の鍵となる物質を同定

BNI 活性を有するトウモロコシ根分泌物の親水性画分から見出される MBOA は硝化菌の増殖を抑制し、土壌由来の硝酸発生量を減少させる。トウモロコシ根が産生するベンゾキサジノイド類は土壌中で最終的に MBOA に変換されることから、MBOA はトウモロコシの強力な BNI 活性物質である。

キーワード：BNI、トウモロコシ、ベンゾキサジノイド

### 背景・ねらい

近代農業は、工業生産された窒素を多量投入することで増収を図ってきたが、トウモロコシやコムギなどの農地に施肥された窒素肥料の50%以上は、作物に利用されず農地外へと流出している。この窒素流出の大きな原因は、硝化菌による「硝化」であり、温室効果ガス排出や水質汚染など、窒素損失に起因する様々な問題を引き起こしている。本研究では作物が根から物質を分泌し硝化を抑制する現象「生物的硝化抑制(Biological Nitrification Inhibition = BNI)」に着目している。根の分泌物は水への溶けやすさによって、疎水性と親水性に分類される。水に溶けにくい疎水性 BNI 物質（令和3年度国際農林水産業研究成果情報 A05「トウモロコシ根の生物的硝化抑制(BNI)物質の発見」）は根圏で効果的である一方、親水性物質は水に溶けることで土壌中の広い範囲に分布し、硝化抑制の効果をより強く発揮する。トウモロコシ根由来親水性 BNI 物質の同定を行うことで、地球に優しく高効率な BNI を活用したトウモロコシ生産システムの確立に繋げる。

### 成果の内容・特徴

1. トウモロコシを30日間水耕栽培した後、根の親水性分泌物を採取し、BNI 活性を持つ親水性画分を得る。BNI 活性の強さを指標にし、高速液体クロマトグラフィー(HPLC)による分離・精製により、BNI 物質を単離できる。
2. 同定できる MBOA の BNI 活性は ED50= 0.76  $\mu\text{M}$ （活性を50%抑制する実効濃度）であり、トウモロコシ根分泌物としてこれまでに報告された BNI 物質よりも強力な作用を持ち、全 BNI 活性に最も大きく貢献できる（図1）。
3. MBOA は硝化菌の硝化と増殖を強く抑制する（図2）。
4. 土壌培養試験において、MBOA の硝化抑制能は土壌添加後（スタート）から4日間確認できたが、培養5日目以降その硝化抑制能は減少する。土壌培養試験中、MBOA の濃度は時間依存的に減少し5日目には検出されないことを見出せる。MBOA の硝化抑制能は土壌微生物による MBOA の分解に伴い減少すること

が見出せる（図3）。

5. トウモロコシの BNI は、3種の BNI 物質（疎水性：ゼアノンと HDMBOA、親水性：MBOA）によって発現する。多量に産生される疎水性 BNI 物質 2-hydroxy-4,7-dimethoxy-1,4-benzoxazin-3-one (HDMBOA) は土壌中でより強力な BNI 活性を有する MBOA に変換される。この変換は、分解しやすい化学構造を有するベンゾキサジノイド類の HDMBOA がより安定した構造の MBOA に迅速に自動変換される化学反応である。さらに根内部に蓄積したベンゾキサジノイド類の HDMBOA- $\beta$ -グルコシド（HDMBOA にグルコースが結合した化学構造）も生物（植物・微生物）の糖分解酵素によって高い BNI 活性を持つ HDMBOA に変換された後、MBOA に化学的に自動変換される。以上のことから、MBOA はトウモロコシの BNI の主要な役割を持つ（図4）。

### 成果の活用面・留意点

1. 土壌中で MBOA 自身も分解される一方で、トウモロコシ根から新たに供給されることから安定的な BNI の発現が期待できる。
2. 世界で栽培されるトウモロコシの BNI 活性は BNI 物質を指標に強化することが期待できる。
3. 品種間における BNI 物質量の比較や BNI 物質の分泌メカニズムの解明、圃場試験などを実施する必要がある。

### その他

予算区分：交付金 [A3 BNI システム（第5期）]

研究期間：2021~2023年度

研究担当者：大高潤之介、吉橋忠（生物資源・利用領域）・グントゥール・ヴェンカタ・スバラオ、ミンリー・ジャン（生産環境・畜産領域）、小野裕嗣（農研機構・高度分析研究センター）

発表論文等：Otaka et al. (2023) *Plant and Soil* 489: 341–359: <https://doi.org/10.1007/s11104-023-06021-7>

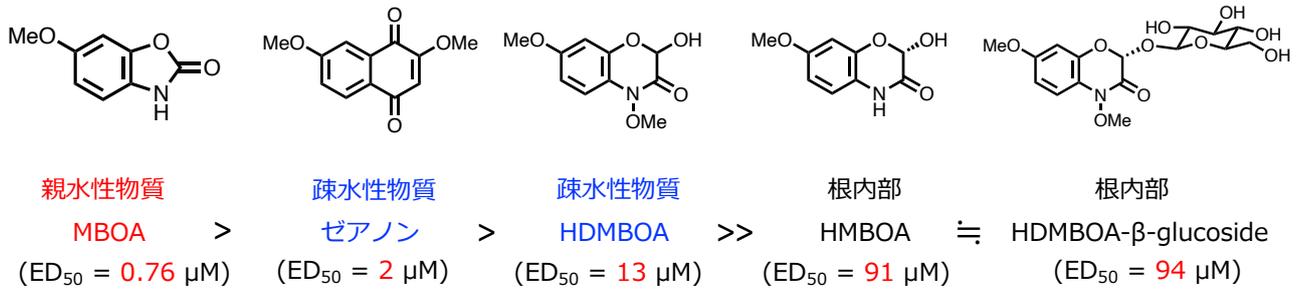


図1 トウモロコシの根から同定した BNI 物質の化学構造と活性の強さ

各 BNI 物質名の括弧の中は硝化菌に対する BNI 活性の強さを示す。数値が小さいほど活性が強い。

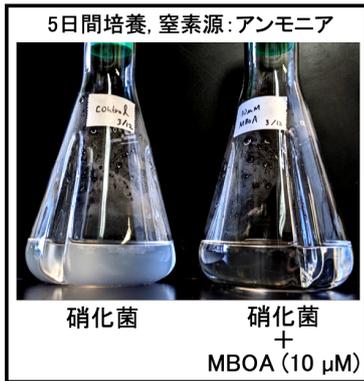


図2 MBOAの硝化菌の生育に与える影響

増殖した硝化菌によって白濁した液体培地（左）と、MBOA 存在下で強力に増殖阻害された硝化菌（右）。

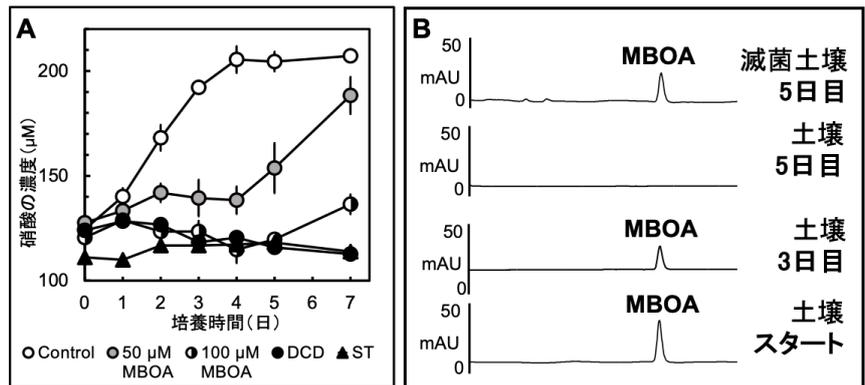


図3 土壌培養試験における MBOA の硝化抑制能と安定性

MBOA 添加条件下で土壌を培養し、硝酸と MBOA の濃度を経時的に測定した。0 日目はサンプルを添加してから 1 時間後の結果である。(A) Control = MBOA を加えていない条件, DCD = 化学硝化抑制剤・ジシアンジアミドを添加した条件, ST = 滅菌土壌を培養した条件。(B) 土壌培養液中の MBOA の濃度を HPLC により分析した結果、MBOA の存在を示すピーク値は培養期間に依存して減少したが、滅菌土壌では確認できなかった。

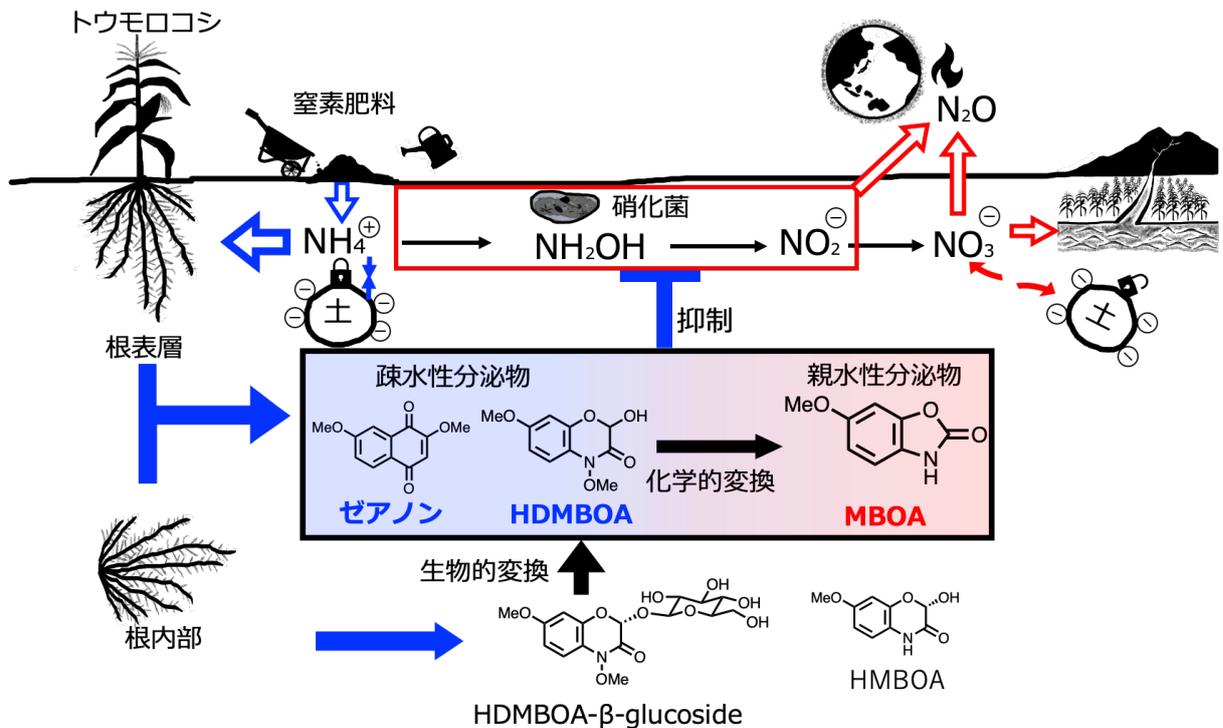


図4 トウモロコシの BNI メカニズム

鍵となる MBOA を含める 3 種の BNI 物質によってトウモロコシの BNI は発現する。

図表は Otaka et al. (2023) © The Author(s) 2023 より転載/改変して作成