

窒素肥料の利用効率向上と環境負荷低減化に向けた  
新世代サステイナブル硝化抑制剤の開発

28004A

分野

適応地域

〔研究グループ〕

農研機構高度解析センター、農業環境変動研究センター

〔研究総括者〕

農研機構 山崎 俊正

〔研究タイプ〕

一般型 Aタイプ

〔研究期間〕

平成28年～30年(3年間)

キーワード 肥料、硝化抑制剤、一酸化二窒素削減、地球温暖化、肥効向上

## 1 研究の目的・終了時の達成目標

窒素肥料の損失を防止し温室効果ガス一酸化二窒素の発生を削減するために、硝化菌(アンモニア酸化細菌)の有する標的硝化酵素(ヒドロキシルアミン酸化還元酵素HAO)の立体構造情報と土壌メタゲノム情報に基づいて、培養不可能菌を含む多様なアンモニア酸化細菌(AOB)に効く、広スペクトラムHAO標的型硝化抑制剤を世界に先駆けて開発することを達成目標とする。

## 2 研究の主要な成果

- ① 多様なHAOをモデル標的として広スペクトラム分子標的型硝化抑制剤の開発戦略を策定し、構造ベース創薬法によりHAO標的型硝化抑制剤の基本骨格4種類を取得し、その作用機構を解明した。
- ② HAO反応で生成する電子を測定するレサズリン法と亜硝酸を測定するDAN法を確立して、世界で初めて、精製酵素、生菌、土壌懸濁液でのハイスループットHAO阻害剤選抜を可能にし、HAO阻害剤287種を取得した。
- ③ メタゲノム解析で土壌の主要アンモニア酸化細菌(AOB)を明らかにし、新規なAOBを発見してHAO阻害剤設計に必要な情報を得た。さらに、HAO標的型硝化抑制剤2種類が土壌硝化能を80%以上抑制することを証明した。

## 公表した主な特許・論文

- ① 特許権:PCT/JP2017/001522特許名:酸化還元酵素の活性測定方法(山崎俊正、西ヶ谷有輝:農研機構)
- ② Nishigaya, Y. et al. Optimized inhibition assays reveal different inhibitory responses of hydroxylamine oxidoreductases from beta- and gamma-proteobacterial ammonium-oxidizing bacteria. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 476, 127-133 (2016)
- ③ Hayatsu, M. et al. An acid-tolerant ammonia-oxidizing g-proteobacterium from soil. *ISME J.* 1130-1141 (2017)

## 3 今後の展開方向

- ① フィールドレベル、農業現場で実証試験を行いHAO標的型硝化抑制剤の高度化を図る。
- ② 単剤の製品化、被覆肥料との混合による新規窒素制御型肥料など次世代型硝化抑制資材として上市する。

## 【今後の開発目標】

- ① 2年後(2021年)は、フィールドレベルで実証試験を行いHAO標的型硝化抑制剤を高度化する。
- ② 5年後(2022年)は、農業現場で実証試験を行いHAO標的型硝化抑制剤を実用化・製品化する。
- ③ 最終的には、窒素肥料の損失の防止・一酸化二窒素発生の削減を達成する。

## 4 開発した技術シーズ・知見の実用化により見込まれる波及効果及び国民生活への貢献

- ① HAO標的型硝化抑制剤が実用化されることにより、現行の硝化抑制剤入り窒素肥料や被覆肥料が新規硝化抑制剤入り肥料に置き換わる。
- ② 窒素損失の防止、肥料の削減、施肥労力の削減、水系汚染、温室効果ガス一酸化二窒素発生防止に役立ち、我が国のCOP21の国際的目標の達成にも貢献する。即ち、生産者と消費者の要望に応えることが出来る。

# (28004A) 窒素肥料の利用効率向上と環境負荷低減化に向けた新世代サステイナブル硝化抑制剤の開発

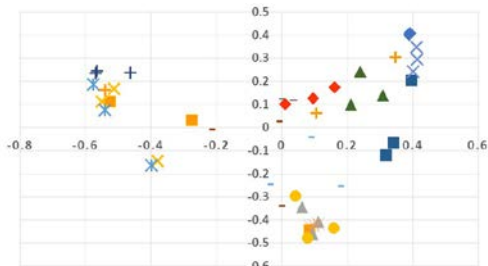
## 研究終了時の達成目標

窒素肥料損失防止・温室効果ガス一酸化二窒素発生削減のために、硝化菌の標的酵素の立体構造情報に基づいて、硝化抑制剤を開発する

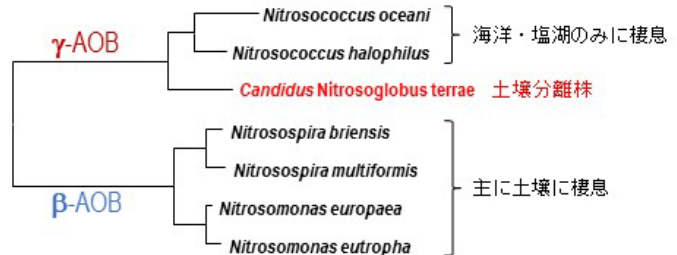
## 研究の主要な成果

### 【農耕地土壌の硝化特性の解明と広域評価】

国内農耕地のアンモニア酸化細菌の多様性を解明し、新規なアンモニア酸化細菌を発見



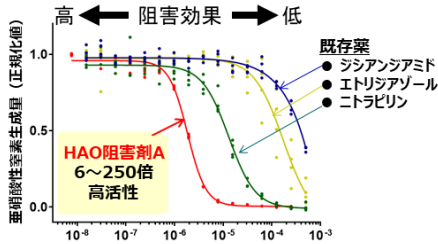
各地茶園のβ-アンモニア酸化細菌の多様性解析  
▲+：静岡、■：京都、◆：滋賀、▲×\*：福岡、○×\*：佐賀、+—◆：鹿児島  
同一記号は同一園場を表す。β-AOBの多様性は園場間の差が大きく、肥培管理などの影響を強く受けると推測される。



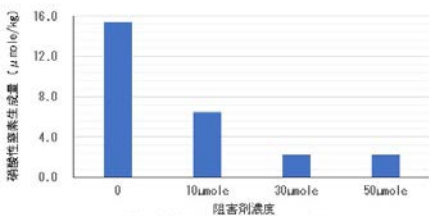
新規分離菌と既知のアンモニア酸化細菌の分類学的位置付け  
赤字が新規に発見したアンモニア酸化細菌

### 【HAO標的型硝化抑制剤の設計と評価】

基本骨格4種類とその誘導体の創出に成功



アンモニア酸化細菌に対する阻害効果



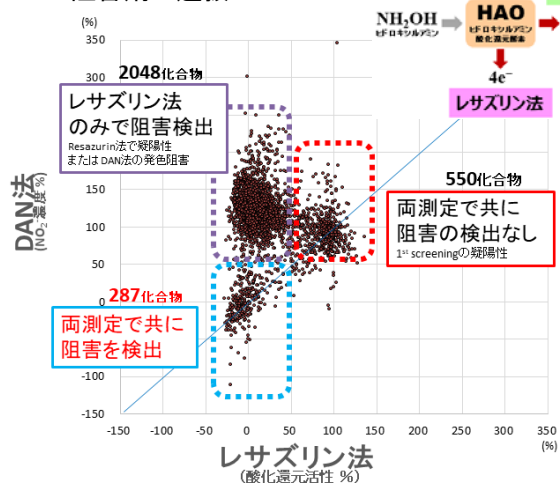
HAO阻害剤Aの土壌硝化抑制効果

### 【HAO阻害剤のハイスループットスクリーニング】

ハイスループット薬剤選抜・評価法を確立

多様な基本骨格構造を持つ287のHAO阻害剤を取得

HAO阻害剤の選抜



## 今後の展開方向

フィールドレベル、農業現場で実証試験を行いHAO標的型硝化抑制剤の高度化を図り、次世代型硝化抑制資材として上市する。

## 見込まれる波及効果及び国民生活への貢献

窒素損失の防止、肥料の削減、施肥労力の削減、農産物の品質向上と価格低下が可能になると同時に、水系汚染、温室効果ガス一酸化二窒素発生防止に役立ち、我が国のCOP21の国際的目標の達成にも貢献する。