J. Jpn. Soc. Soil Phys.
土壌の物理性
No. 141 p.57 ～ 63 (2019)

植物共生科学から考える農耕地生態系の物質循環と持続的農業

池田成志 [1]

Geochemical cycles and sustainability of agricultural ecosystems from a view point of plant microbiology

Seishi IKEDA[1]

Abstract: Diverse microorganisms are living as endophytes in plant tissues and as epiphytes on plant surfaces in nature. Analytical methods for plant associated bacterial community have been advanced by combining a bacterial cell enrichment procedure and culture-independent analyses in microbial ecology. In the present review, the ecological significance of plant microbiomes is briefly summarized. Then, the results for interdisciplinary works on the global diversity of bacteria associated with rice plants with different nitrogen application levels and symbiotic genotypes are discussed. A subpopulation of *Alphaproteobacteria*, such as *Rhizobiales* bacteria, was likely to be regulated through both the regulation systems for the nitrogen and the symbiosis signaling pathways, suggesting that each of crops accommodate a taxonomically characteristic microbial community through unknown plant-microbe communications. The significance and perspectives of community-based approaches are discussed to achieve sustainable agricultural system by a better understanding of plant-microbe interactions.

Key Words : microbial community analysis, geochemical cycles, phytosphere, rice paddy field, symbiosis

1. はじめに

農業の生産性向上のために土壌に施用された化学肥料は全てが植物に吸収されるわけではなく，一部は環境中に流出する．結果として，農耕地のリン酸蓄積問題のように多くの化学物質について必要以上の過剰な施用が行われやすく，生産者への労力とコストの増大，資源やエネルギーの枯渇・浪費，地球規模での環境破壊等の多面的問題を引き起こしている．既に，窒素やリン酸の化学肥料の大量消費は地球全体の物質循環能力を明らかに超えていると指摘されており（Steffen et al., 2015），これらの化学肥料の利用削減は喫緊の課題である．特に大量の化学窒素肥料に支えられた現代農業は温室効果ガスであるメタンや一酸化二窒素の主要な発生源であり（Montzka et al., 2011），海外と比較して多くの化学窒素肥料を施用する日本の水田はメタンの大きな発生源として国際的にも問題視されている（秋山・八木, 2010）．

植物共生科学は植物と共生微生物（群）の相互作用の解明を研究目的とするが，腸内細菌に代表されるヒトの共生細菌群集の研究によりヒトの健康科学が大きく変貌したように，近年の植物共生科学研究の新しい展開は従来の農学研究や農業のあり方を大きく変える可能性がある．筆者らの研究グループは，イネ（Ikeda et al., 2014a; Okubo et al., 2014），ダイズ（Ikeda et al., 2010b），テンサイ（Tsurumaru et al., 2015）等の作物について群集レベルでの微生物生態的研究を行い，植物と細菌群集の相互作用や共生細菌が物質循環に果たす役割を明らかにしてきた．本稿では，最初に植物共生の生態学的意義を簡単に整理して示したい．次に，筆者らのグループによって開発した植物共生微生物分析法の概略と，当該手法を適用した実例として，水田生態系の物質循環において重要な役割を持つと考えられるイネ共生細菌群集の研究を紹介する．最後にそれらの知見を活用した持続的農業の構築のための問題解決や技術開発等への可能性について私見を紹介したい．

2. 共生微生物研究の農学的意義と農業微生物研究の現状

農業生産における共生微生物の存在意義（機能）を大きく要約すると以下の 4 点になる．1 番目は，共生微生物を通した土壌から植物への養分吸収の促進機能が挙げられる．数億年前に植物が水域から離れて乾燥した陸地に進出した時点では，植物が容易に根を通して養分を吸収することができる現在のような土壌は地球上に存在しなかったと考えられており，土壌から養分を吸収するためには根において微生物との共生が必須だったと考えられている（Redecker et al., 2000）．

2 番目は共生微生物の存在を介した植物における病虫害に対する防御・軽減機能である．この機能は，植物組織という場を巡って病原微生物と生態的に競合する有用共生微生物の能力と位置付けることができる．3 番目は宿主植物が受ける理化学的な各種の非生物的なストレスを軽減する機能である．微生物との共生を通して，植物が有害な理化学的ストレス（温度，塩濃度，浸透圧，各種の重金属や化学物質等）に対する適応性を強化できることは良く知られている．

[1]Hokkaido Agricultural Research Center, NARO. Corresponding author: 池田成志，農研機構 北海道農業研究センター.
2019 年 1 月 27 日受稿　2019 年 3 月 xx 日受理

4 番目は共生微生物の機能を介して農産物の品質・経済価値を向上させる機能である．このような機能についての報告例はまだ少ないが，微生物との共生により農産物の香りや色，薬用植物等の生理活性成分の増加等の効果が得られることが知られている．

以上のように，従来の基礎科学的な知見から植物と微生物との共生により宿主植物の環境適応力を高めたり，宿主植物に多様な有用機能を付与したりすることは可能であると考えられるが，*Bt* 剤のような一部の例外を除いて農業現場での微生物利用は化学肥料や化学農薬と比べて信頼のある技術とはなり得ていない（池田, 2016）．このような農業微生物研究の現状の大きな原因の 1 つとしては，従来までの農業微生物の研究成果の多くが室内や温室等の実験的環境の結果に基づいたもので，農業現場とかけ離れた研究の形にあると考えられる．即ち，有用微生物を農業現場で安定的かつ効果的に活用するためには，基盤的な情報として農耕地での土壌微生物や植物共生微生物の全貌や，多様な環境要因と微生物群集との相互作用を解明することが必須であると思われる．

3. 植物共生微生物群集の網羅的解析技術

医学研究としてヒト共生細菌の多様性や機能性の重要性が Human Microbiome Project（HMP）（http://commonfund.nih.gov/hmp/）で明らかにされたように，農学分野においても「Plant Microbiome Project」を今後展開するべき段階に来ている．国際的にも 2015 年に植物圏生態系（Phytobiome）の学際的な農業研究の重要性と推進が提示され（http://www.phytobiomes.org/），国内においても 2017 年に戦略プロポーザルとして「植物と微生物叢の相互作用の研究開発戦略」が発行され（CRDS-FY2016-SP-01），植物共生微生物について群集レベルでの研究の機運が高まっている．

一方で，最近まで植物共生微生物群集の多様性や機能性を培養せずに分析することは非常に困難であった．このような問題解決のため，筆者らは約 10 年前に植物共生細菌群集を解析するための手法を考案し（Ikeda et al., 2009; 池田ら, 2016），世界に先駆けて植物共生微生物群集について自在に DNA レベルでの解析を行うことを可能とした（Fig. 1）．本法はリボソーマル遺伝子のような特定の系統情報遺伝子の解析に基づいた単純な多様性解析だけではなく，メタゲノム解析（Ikeda et al., 2014a）やプロテオミクス解析（Bao et al., 2014a），細菌細胞濃縮画分からの分離培養（Anda et al., 2011）等にも利用できる．慎重に実験を行えば共生微生物群集のメタトランスクリプトームやメタボローム解析も可能であろう．また，研究当初に細菌細胞濃縮法と命名したが，実際には植物共生糸状菌類の多様性解析にも利用可能であることも確認している（筆者，未発表データ）．一方で，本法の問題点として，微生物細胞を物理的に回収するために比較的大量の植物組織が必要であること，実験操作が比較的複雑かつ長時間になること，植物組織に強固に付着している微生物細胞の濃縮が困難な可能性等が挙げられる．なお，ここで紹介した筆者らの手法の技術譲渡により，植物共生微生物群集の DNA 調製，多様性解析，メタゲノム解析等の一連の作業についての委託サービスを国内の遺伝子分析受託企業（株式会社生物技研，神奈川県厚木市）との共同研究を通して開発中である．さらに，多検体の迅速な解析に対応可能な共生微生物細胞濃縮法の簡易版の開発も検討中である．

上述のような非培養法に基づいた群集レベルでの共生微生物の解析が可能になることの農業・食品分野における研究上の意義は大変大きい（池田ら, 2013）．なお，さらに近年になり人工核酸を用いた特異的なプライマーと PCR の利用により植物由来 DNA の増幅を抑制した植物共生微生物の多様性解析法が提案されている（Lundberg et al., 2013; 池永ら, 2016）．特に，Lundberg らの方法は実験の手間とコストの負担が小さいことから系統情報に基づいた単純な多様性解析の場合は有用性が高いと思われる．

4. イネ根圏共生細菌群集の解析による水田の物質循環系の解明

水田は，強力な温室効果を持つメタンの主要な発生源であり，人類活動に由来するメタン放出量の約 20 % に

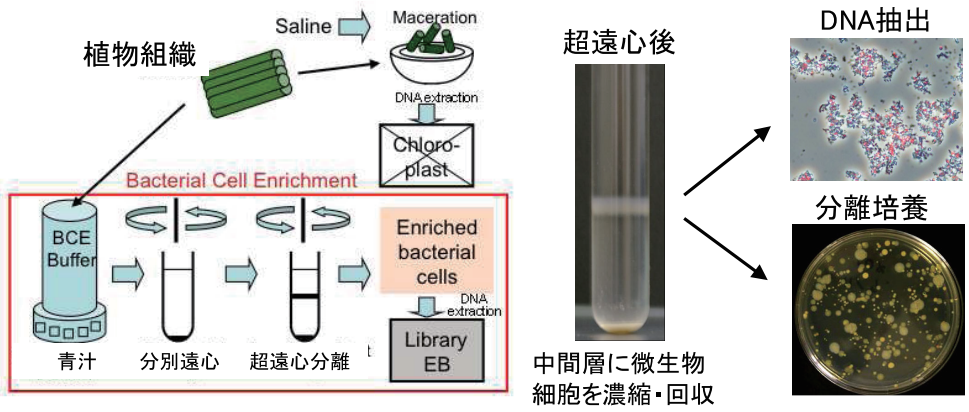


Fig. 1 植物共生微生物分析法の概略.

達する可能性があることから，水田からのメタン発生量の削減技術の開発は温暖化問題における主要な課題となっている（Montzka et al., 2011）．特に日本の水田は開発途上国と比べて大量の窒素肥料の施肥が行われているが，化学窒素肥料の施肥はイネの収量を向上させるだけでなく，水田から放出されるメタン発生量を増加させることから（Banger et al., 2012），高収量と低環境負荷の両立を実現する適切な施肥管理の必要性が指摘されている（Ju et al., 2009）．現時点では水田からのメタン生成を微生物学的に制御することは困難と考えられている．一方，メタン酸化に関与する細菌群は施肥管理や宿主植物の遺伝子型の影響を強く受けることが筆者らによる一連の研究で近年明らかにされ，メタン酸化細菌群の制御を通したメタン発生量の削減の可能性が見えてきた．

窒素施肥量により病虫害の発生が大きく変わることはよく知られているが，筆者らのグループは窒素施肥量により植物共生微生物の群集構造も大きく変化することを明らかにした．即ち，窒素施肥量の多い条件では *γ-proteobacteria* の割合が増加し，逆に窒素施肥量の少ない条件では *α-proteobacteria* の割合が増加するという現象をダイズの地上部やイネ根など大きく異なる作物種や組織で見出した（Ikeda et al., 2010a; Ikeda et al., 2014a）．窒素の施肥レベルの違いで上記の 2 つの菌群が競合する第一の要因としては窒素栄養分に対する植物や微生物間の競合が考えられる．高栄養要求性（Copiotrophic な性質）の細菌群が多く属する *γ-proteobacteria* は高窒素施肥条件の窒素含量が高く養分も豊富にある植物組織で速く増殖できる能力を持つことで生態的に有利になると考えられる．一方，低栄養要求性（Oligotrophic な性質）の *α-proteobacteria* は低窒素施肥条件の窒素含量が低く養分が少ない植物組織に適応していると考えられる．

詳細な多様性解析の結果，低窒素施肥条件下の水田ではメタン酸化やメタノール酸化等の C1 化合物の代謝に関与すると考えられる *Methylosinus* 属や *Bradyrhizobium* 属，*Burkholderia* 属等の特定の種の割合がイネ根圏で大きく増加することが判明し，水田生態系における窒素施肥レベルがメタン発生に大きな影響を与える可能性が示唆された（Ikeda et al., 2014a）．これらの菌群は低栄養条件に適応しているが故に高窒素施肥条件においては，増殖速度が遅く，窒素固定活性も阻害される．

水田土壌中におけるメタン酸化細菌には *γ-proteobacteria* 綱に属する I 型と *α-proteobacteria* 綱に属する II 型の 2 種類のメタン酸化細菌群が存在する．メタン酸化細菌は一般的にメタンを酸化して得られるメタノールを資化する能力も持つが，高いメタノール濃度には耐えることはできない．そのため，イネ根圏では一定量以上のメタノールを除去するためにメタノール酸化能を持つ *Bradyrhizobium* 属，*Burkholderia* 属等と共生していると考えられた．

上述したようなイネ根圏の多様性解析の結果を受けてメタゲノム配列中の窒素固定や，メタンの生成，酸化に関わる遺伝子の頻度が調べられた（Ikeda et al., 2014a）．その結果，窒素固定遺伝子は高窒素施肥条件よりも低窒素施肥条件で多く検出される傾向にあった（1.5 倍）．メタン生成に関わる酵素（methyl-coenzyme M reductase）をコードする *mcr* 遺伝子は低窒素施肥条件より高窒素施肥条件で高い頻度で検出され（2.8 倍），窒素施肥量が多いとイネ根圏でのメタンの生成量が多くなることが示唆された．一方，メタン酸化に関わる酵素をコードする遺伝子 *pmo*（particulate methane monooxygenase），*mmo*（soluble cytoplasmic methane monooxygenase）の頻度は慣行の窒素施肥条件よりも低窒素施肥条件で高く（それぞれ 28.8 倍と 27.5 倍），低窒素施肥条件の根圏では慣行の窒素施肥条件よりも活発にメタン酸化が起きていることが示唆された．さらに ^{13}C 標識メタン投与法で測定した結果からも低窒素施肥条件のイネ根圏において活発に窒素固定やメタン酸化が起きていることを支持する結果が得られた．以上の結果から，II 型メタン酸化細菌は水田土壌中でメタンを酸化するだけでなく，メタン酸化にリンクした形で窒素固定も行っていることから，II 型メタン酸化細菌群は水田土壌における炭素と窒素の循環に関与し，持続的農業を考える上で大変重要な生態的役割を担っていると考えられた．

窒素の施肥レベルが共生微生物の多様性に影響を与える第二の要因として，CSP（Common Symbiosis Pathway）のような植物による有用微生物制御系の発現レベルが土壌の養分状態に依存して変動することが考えられる（Ikeda et al., 2010a）（Fig. 2）．大変興味深いことに，イネで CSP 中の *OsCCaMK* 遺伝子が破壊されると，共生微生物群集内で *α-proteobacteria*，特に *Methylosinus* 属や *Bradyrhizobium* 属が含まれる Rhizobiales 目全体の菌群の割合が大きく減少し，これらの菌群が CSP の遺伝的制御下にある可能性が示唆された（Ikeda et al., 2011）．そこで，水田から放出されるメタンの量を測定したところ，低窒素施肥条件下で野生型イネと比較して変異ホモ型個体からのメタン発生量が多いことが判明した（Bao et al., 2014b）．

同時に，低窒素施肥条件の根共生細菌群集と根圏土壌のメタゲノムについて methane monooxygenase 遺伝子のひとつである *pmoA* のコピー数を調べた結果，*OsCCaMK* 遺伝子の変異ホモ型個体よりも野生型個体で多く検出された．*pmoA* 遺伝子のクローンライブラリー解析の結果，I 型と II 型のそれぞれのメタン酸化細菌群において根圏に特異的な未知の菌群由来と思われる種レベルの OTU（Operational Taxonomic Unit，操作的分類単位）を多数検出した．I 型メタン酸化細菌が根組織や根圏土壌にも多く共生することや，II 型メタン酸化細菌群よりも未知の I 型メタン酸化細菌群がイネの *OsCCaMK* の遺伝子型の影響をより強く受けることが示唆されたことは予想外の大変興味深い結果であった．また，^{13}C 標識メタン投与法によるイネへのメタン由来の炭素の取り込み活性の測定の結果からも，変異ホモ型個体よりも野生型個体の方においてメタン酸化が活発に起きていることが示された．さらに，低窒素施肥条件で栽培された *OsCCaMK* 遺伝子の野生型個体の根共生細菌群集のメタプロテオーム解析では，*Methylosinus*，*Methylocystis* 属細菌の methane monooxygenase や *Methylosinus*，*Methylocystis*，*Bradyrhizobium* 属細菌の methanol dehydrogenase と類似度の高いタンパク質が検出され，上述したような C1 化合物の代謝に関与する微生物遺伝子群がイネ根圏において実際に発現していることが示され

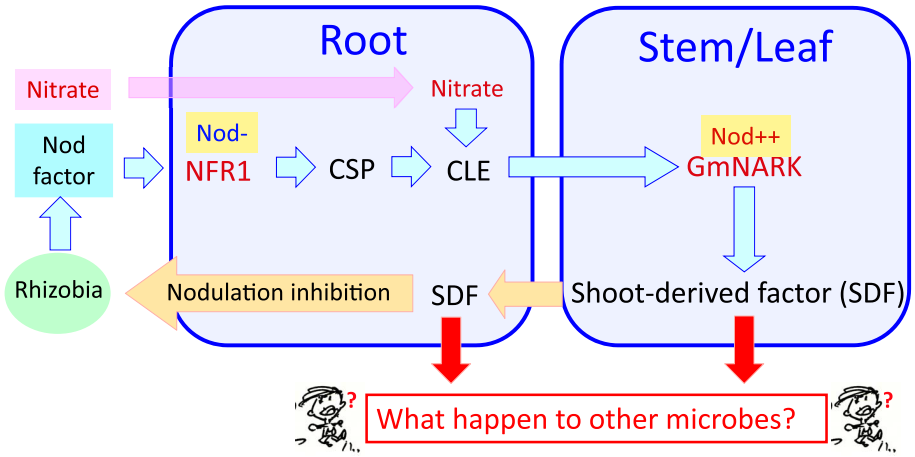


Fig. 2 ダイズにおける根粒菌制御系の概略．NFR1，CLE，GmNARK はそれぞれ根粒菌制御に関わるダイズ遺伝子，CSP は複数の遺伝子からなる根粒菌と菌根菌の両方の共生に必須の情報伝達系（Common Symbiosis Pathway）を示す．NFR1 と GmNARK が変異すると，それぞれ根粒非着生（Nod-）と根粒超着生（Nod++）の表現型になる．根粒菌や菌根菌のような有用微生物の根への感染が一定数に達すると，それ以上の共生を抑制するために根粒菌や菌根菌の感染を制御する物質（SDF）が葉で生合成され，根に移行して有用菌の感染を阻害すると考えられている．一方，過剰な施肥等により土壌溶液中の硝酸態窒素が一定以上の濃度になると，制御系の途中の CLE 以下の情報伝達が活性化され，根粒菌の感染レベルに関係なく共生を阻害する．

た．以上の結果から，低窒素施肥条件での *OsCCaMK* 遺伝子の野生型個体のメタン放出量が少なくなる理由のひとつは，根圏細菌群集内における細菌群集の多様性が高まるとともに，メタン酸化細菌群の存在割合が増加した結果，メタン酸化量が多くなったことにあると結論づけられた．

また，上記の低窒素施肥条件で栽培された *OsCCaMK* 遺伝子の野生型と変異ホモ個体の地上部の窒素安定同位体自然存在比（δ^{15}N）を測定したところ，野生型個体の方が小さい値を示し（Bao et al., 2014a），*OsCCaMK* 遺伝子野生型個体はホモ変異個体よりも空中窒素固定量が多いと推定された．そこで，低窒素施肥条件の *OsCCaMK* 遺伝子の野生型個体の根共生細菌のメタプロテオーム解析も行ったところ，メタン酸化細菌 *Methylosinus*, *Methylocystis* 由来のニトロゲナーゼ（*nifHDK*）が最も多く検出された（Bao et al., 2014a）．

以上の *OsCCaMK* 遺伝子の変異体を利用した一連の実験結果は，低窒素施肥条件のイネ根圏では *OsCCaMK* 遺伝子を介した C1 化合物代謝微生物群との共生を通してメタン酸化や窒素固定が積極的に起こっていることを示唆している．我々の実験では，I 型メタン酸化細菌群は宿主の *OsCCaMK* 遺伝子の情報伝達系を介した制御を強く受けたが，土壌窒素の影響は見えなかったことから Fig. 2 以外の微生物制御機構があるのかもしれない．一方，主に *α-proteobacteria* 綱に属する II 型メタン酸化細菌群は窒素施肥の影響を強く受けていると考えられることから，Fig. 2 のマメ科作物と類似した情報伝達系を介してイネからの制御を受けている可能性がある．

5. 共生微生物群集構造の形成に及ぼす環境要因の解明

水田で生成されるメタンの主要な炭素源は，イネが光合成により固定した炭素である（Tokida et al., 2011）．生成されたメタンは，大気中に放出される過程でイネ根を通り，一部が C1 化合物資化性細菌の菌体成分へと代謝される．さらに，C1 化合物資化性細菌は C1 化合物代謝で得たエネルギーを用いて窒素固定を行い，固定された窒素の一部がイネに吸収される．このような炭素や窒素の循環サイクルを促進することにより，農耕地生態系外への炭素，窒素の流出が抑えられる．その結果，流出分の窒素を肥料で補う必要が少なくなり，窒素施肥量の削減，環境汚染の低減化が期待できるはずである（Fig. 3）（大久保ら, 2016）．しかし現実には，単純に窒素施肥を減らすだけでは現在のイネの生産性を維持することは困難であり，生産性の維持と窒素施肥の削減を両立するためには，有用細菌の共生を阻害しない栽培技術の構築が必要である．

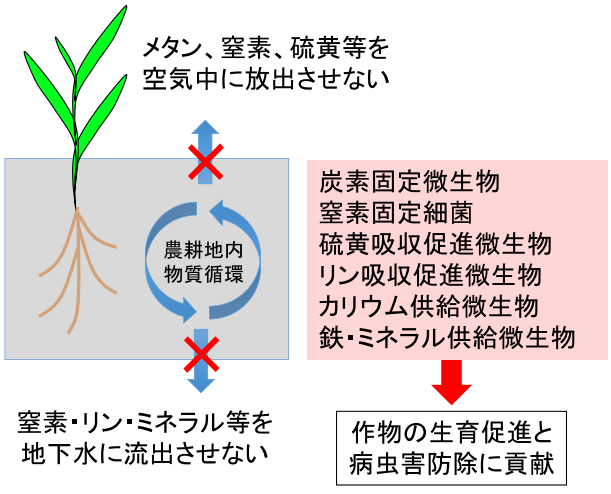


Fig. 3 有用微生物を利用した持続的農業の概念図．

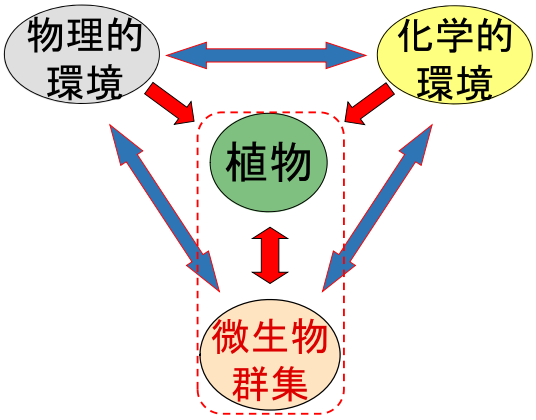


Fig. 4　共生微生物研究の複雑性の概念図．物理的環境（気温，湿度，光条件等）と化学的環境（肥料，資材，農薬等）は植物の生理状態に影響を与えるだけでなく，土壌微生物や共生微生物の多様性や機能性にも強い影響を及ぼす．したがって，多様な理化学的な環境要因の下で植物と微生物群集の相互作用は固定的なものではなく，「揺らぎがある」ことを認識する必要がある．

植物共生系全体への CSP や Fig. 2 のような情報伝達系の関与を結論づけるには更なる検証が必要であるが，上述したようにイネに共生する *α-proteobacteria* が窒素施肥と CSP 中の *OsCCaMK* 遺伝子の両方から強い影響を受けることは全く異なる栽培環境で生育するイネとマメ科作物との間に類似した微生物制御機構が存在することを示唆しており，基礎科学的にも大変興味深い（Minamisawa et al., 2016）．このような推察が正しければ，有機物の施用による地力窒素の強化や，分肥や緩効性肥料等を利用した肥料ストレスの軽減等の栽培管理によって共生系の有用機能を最大限に活用することで収量の確保とメタン発生量の削減の両立の可能性があると考えられる．また，そのような栽培条件で窒素固定やイネへの生育促進等に積極的に関与する有用微生物群の選抜・利用や，それら有用微生物との共生能力，有機物利用能力等を強化した植物育種等を今後検討することも持続的農業の構築のために重要であると思われる．

本稿では詳しくは述べないが，窒素肥料の施用量の違いだけではなく，窒素肥料の化学構造も共生細菌の群集構造に大きな影響を与える可能性がある（Ikeda et al., 2014b）．また，イネ共生細菌群集の多様性や機能性は施肥管理だけでなく水温や土壌の種類等の環境条件の変化にも敏感に反応する（Edwards et al., 2015; Ikeda et al., 2015, Okubo et al., 2014）．これらのことから，土壌への有機物や土壌改良資材の施用を通して土壌の理化学性を改変し，土壌微生物や共生微生物の多様性や機能性を制御することにより合理的に化学肥料や化学農薬の施用量を削減することは可能であると考えられる（Fig. 4）．実際に筆者の研究グループでは米ぬかや液体肥料のような有機物施用による根圏土壌微生物相の制御を介した土壌病害の防除に成功している（富濵ら, 2018; Tomihama et al., 2016）．大変残念ながら国内での研究は非常に少ないが，農薬が共生系に及ぼす影響の評価なども有用微生物の安定的かつ効果的な利用のために大変重要な基盤的情報であることも強調しておきたい．

以上のような多様な環境要因下における植物と共生微生物群集の相互作用の解明は近年まで非常に困難な課題であったが，本稿で紹介したような植物共生微生物の分析法やフィールドモニタリング技術の組み合わせにより比較的容易に検討可能な段階に達しつつある（Fukatsu and Hirafuji, 2005；平藤, 2014）．野外においてもモニタリングされた環境データや植物の生育状態から，有用微生物（群）との共生を阻害しない持続的農業に適した栽培条件を導きだすための数理的手法の構築も検討可能な時代になりつつあると考えられる．

6. おわりに

持続的農業の実現には，農耕地生態系内であらゆる物質をできるだけ循環させることが必要であり，物質循環を担う微生物，特に根圏微生物の共生系を壊さない栽培管理法の構築が重要であると考えられる（Fig. 3）．植物は，物質循環を担う微生物と共生する能力を進化的に獲得してきたと考えられるが，それらの進化的背景は現代農業において活用されていない．しかしながら，本稿で述べたように有用微生物群との共生を促進する栽培・環境制御技術の開発，そのような持続的農業のための技術革新の余地は十分にあると筆者は考える．農業現場において有用微生物を人間の都合の良い形で安定的かつ効果的に利用するためには，それらの微生物が積極的に定着し，有用機能を発揮してくれるような物理的，化学的，そして生物的環境条件を人間が整えることが重要であると思われる．そのような環境条件の解明に土壌物理学関係者からも今後数多く参加されることを期待したい．

謝辞

本研究の一部は科研費基盤研究（A）「植物共生微生物のメタゲノム解析による物質循環機能の解明」（23248052），重要形質領域研究「イネと微生物の遺伝子ネットワークの解明（PMI − 0002）」，内閣府戦略的イノベーション創造プログラム（SIP）「次世代農林水産業創造技術」（管理法人：生研支援センター），および本研究は，JST, CREST, JPMJCR1512（フィールドセンシング時系列データを主体とした農業ビッグデータの構築と新知見の発見）の支援を受けたものである．東北大学の南澤究教授には植物共生研究についてのご指導を頂き深く感謝致します．また，研究にご協力を頂いた東北大学南澤研の諸氏，特に大量の配列データの解析に協力を頂いた大久保卓博士，つくばみらい FACE（Free Air CO_2 Enrichment）の関係者の皆様に深く感謝申し上げます．

引用文献

秋山博子, 八木一行 (2010): 農環研ニュース, 88: 6–7.

Anda, M., Ikeda, S., Eda, S., Okubo, T., Sato, S., Tabata, S., Mitsui, H. and Minamisawa, K. (2011): Isolation and genetic characterization of *Aurantimonas* and *Methylobacterium*

strains from stems of hypernodulated soybeans. Microbes and Environments, 26: 172–180.

Bao, Z., Okubo, T., Kubota, K., Kasahara, Y., Tsurumaru, H., Anda, M., Ikeda, S. and Minamisawa, K. (2014a): Metaproteomic identification of diazotrophic methanotrophs and their localization in root tissues of field-grown rice plants. Applied and Environmental Microbiology, 80: 5043–5052.

Bao, Z., Watanabe, A., Sasaki, K., Okubo, T., Tokida, T., Liu, D., Ikeda, S., Imaizumi-Anraku, H., Asakawa, S., Sato, T., Mitsui, H. and Minamisawa, K. (2014b): A rice gene for microbial symbiosis, *Oryza sativa CCaMK*, reduces CH_4 flux in a paddy field with low nitrogen input. Appl. Environ. Microbiol., 80, 1995–2003.

Banger, K., Tian, H. and Lu, C. (2012): Do nitrogen fertilizers stimulate or inhibit methane emissions from rice fields? Global Change Biology, 18: 3257–3267.

Edwards, J., Johnson, C., Santos-Medellín, C., Lurie, E., Podishetty, N.K., Bhatnagar, S., Eisen, J.A. and Sundaresan, V. (2015): Structure, variation, and assembly of the root-associated microbiomes of rice. Proceedings of the National Academy of Sciences of United States of America, 112: E911–920.

Fukatsu, T. and Hirafuji, M. (2005): Field monitoring using sensornodes with a web server. Journal of Robotics and Mechatronics, 17: 164–172.

平藤雅之 (2014): 情報科学による農業のイノベーション（CV+PR+ML における情報統合, 及び, 農業への応用）. 電子情報通信学会技術研究報告. PRMU, パターン認識・メディア理解, 114: 45–49.

池田成志 (2016): 作物圏共生微生物の生態研究の現状と農業・食品産業への応用の可能性. 日本土壌肥料学雑誌, 87: 373–382.

Ikeda, S., Kaneko, T., Okubo, T., Rallos, L.E., Eda, S., Mitsui, H., Sato, S., Nakamura, Y., Tabata, S. and Minamisawa, K. (2009): Development of a bacterial cell enrichment method and its application to the community analysis in soybean stems. Microbial Ecology, 58: 703–714.

Ikeda, S., Okubo, T., Anda, M., Nakashita, H., Yasuda, M., Sato, S., Kaneko, T., Tabata, S., Eda, S., Momiyama, A., Terasawa, K., Mitsui, H. and Minamisawa, K. (2010a): Community- and genome-based views of plant-associated bacteria: plant-bacterial interactions in soybean and rice. Plant Cell and Physiology, 51: 1398–1410.

Ikeda, S., Okubo, T., Kaneko, T., Inaba, S., Maekawa, T., Eda, S., Sato, S., Tabata, S., Mitsui, H. and Minamisawa, K. (2010b): Community shifts of soybean stem-associated bacteria responding to different nodulation phenotypes and N levels. ISME Journal, 4: 315–326.

Ikeda, S., Okubo, T., Takeda, N., Banba, M., Sasaki, K., Imaizumi-Anraku, H., Fujihara, S., Ohwaki, Y., Ohshima, K., Fukuta, Y., Eda, S., Mitsui, H., Hattori, M., Sato, T., Shinano, T. and Minamisawa, K. (2011): The genotype of the calcium/calmodulin-dependent protein kinase gene (*CCaMK*) determines bacterial community diversity in rice roots under paddy and upland field conditions. Applied and Environmental Microbiology, 77: 4399–4405.

池田成志, 大久保 卓, 鶴丸博人, 南澤 究 (2016): 植物共生細菌群集のメタゲノム解析. 監修: 服部正平, 「メタゲノム解析実験プロトコール」, pp. 124–130. (株) 羊土社.

Ikeda, S., Sasaki, K., Okubo, T., Yamashita, A., Terasawa, K., Bao, Z., Liu, D., Watanabe, T., Murase, J., Asakawa, S., Eda, S., Mitsui, H., Sato, T. and Minamisawa, K. (2014a): Low nitrogen fertilization adapts rice root microbiome to low nutrient environment by changing biogeochemical functions. Microbes and Environments, 29: 50–59.

Ikeda, S., Suzuki, K., Kawahara, M., Noshiro, M. and Takahashi, N. (2014b): An assessment of urea-formaldehyde fertilizer on the diversity of bacterial communities in onion and sugar beet. Microbes and Environments, 29: 231–234.

Ikeda, S., Tokida, T., Nakamura, H., Sakai, H., Usui, Y., Okubo, T., Tago, K., Hayashi, K., Sekiyama, Y., Ono, H., Tomita, S., Hayatsu, M., Hasegawa, T. and Minamisawa, K. (2015) Characterization of leaf blade- and leaf sheath-associated bacterial communities and assessment of their responses to environmental changes in CO_2, temperature, and nitrogen levels under field conditions. Microbes and Environments, 30: 51–62.

池田成志, 鶴丸博人, 大久保 卓, 岡崎和之, 南澤 究 (2013): 植物共生科学の新展開と農学研究におけるパラダイムシフト. 化学と生物, 51: 462–470.

池永 誠, 川内智裕, 境 雅夫 (2016): 分子生態学的手法を用いた植物共存細菌の多様性解析法の確立と新たな研究展開. 土と微生物, 70: 23–34.

Ju, X.T., Xing, G.X., Chen, X.P., Zhang, S.L., Zhang, L.J., Liu, X.J., Cui, Z.L., Yin, B., Christie, P., Zhu, Z.L. and Zhang, F.S. (2009): Reducing environmental risk by improving N management in intensive Chinese agricultural systems. Proceedings of the National Academy of Sciences of United States of America, 106: 3041–3046.

Lundberg, D.S., Yourstone, S., Mieczkowski, P., Jones, C.D. and Dangl, J.L. (2013): Practical innovations for high-throughput amplicon sequencing. Nature Methods, 10: 999–1002.

Minamisawa, K., Imaizumi-Anraku, H., Bao, Z. Shinoda, R., Okubo, T. and Ikeda, S. (2016): Are symbiotic methanotrophs key microbes for N acquisition in paddy rice root? Microbes and Environments, 31: 4–10.

Montzka, S.A., Dlugokencky, E.J. and Butler, J.H. (2011); Non-CO_2 greenhouse gases and climate change. Nature, 476: 43–50.

大久保 卓, 池田成志, 南澤 究 (2016): 植物共生細菌群集を利用した持続的農業. 土と微生物, 70: 10–16.

Okubo, T., Tokida, T., Ikeda, S., Bao, Z., Tago, K., Hayatsu, M., Nakamura, H., Sakai, H., Usui, Y., Hayashi, K., Hasegawa, T., and Minamisawa, K. (2014): Effects of elevated carbon dioxide, elevated temperature, and rice growth stage on the community structure of rice root-associated bacteria. Microbes and Environments, 29: 184–90.

Redecker, D., Kodner, R. and Graham, L.E. (2000): Glomalean fungi from the Ordovician. Science, 289: 1920–1921.

Steffen, W., Richardson, K., Rockström, J., Cornell, S.E., Fetzer, I., Bennett, E.M., Biggs, R., Carpenter, S.R., de Vries, W., de Wit, C.A., Folke, C., Gerten, D., Heinke, J., Mace, G.M., Persson, L.M., Ramanathan, V., Reyers, B. and Sörlin, S. (2015): Planetary boundaries: Guiding human development on a changing planet. Science, 347: 736.

Tokida, T., Adachi, M., Cheng, W., Nakajima, Y., Fumoto, T., Matsushima, M., Nakamura, H., Okada, M., Sameshima, R. and Hasegawa, T. (2011): Methane and soil CO_2 production from current-season photosynthates in a rice paddy exposed to free-air CO_2 enrichment. Global Change Biology, 17: 3327–3337.

Tomihama, T., Nishi, Y., Mori, K., Shirao, T., Iida, T., Uzuhashi, S., Ohkuma, M. and Ikeda, S. (2016): Rice bran amendment suppresses potato common scab by increasing antagonistic bacterial community levels in the rhizosphere. Phytopathology, 106: 719–728.

富濵 毅, 白尾 吏, 森 清文, 菅 康弘, 三星暢公, 紀岡雄三, 野口勝憲 (2018): 大麦発酵濃縮液の種いもコーティング処理によるジャガイモそうか病の種いも伝染の抑制. 日本土壌肥料学雑誌, 89: 31–36.

Tsurumaru, H., Okubo, T., Okazaki, K., Hashimoto, M., Kakizaki, K., Hanzawa, E., Takahashi, H., Asanome, N., Tanaka, F., Sekiyama, Y., Ikeda, S. and Minamisawa, K. (2015): Metagenomic analysis of the bacterial community associated with the taproot of sugar beet. Microbes and Environments, 30: 63–69.

要　　旨

農業に起因した環境汚染やエネルギーの浪費を抑制するための手段として有用微生物の活用は以前から長く期待されてきた．しかしながら，効果が不安定であることから農業現場での利用は停滞している．このような現状を打破し，有用微生物の機能を利用した持続的な農業体系を構築するためには，それら微生物が根圏土壌や植物組織に積極的に定着し，有用機能を発揮するような環境条件を人間が整えることが重要である．そのために，物質循環を通した宿主植物と共生微生物（群集）の相互作用を解明すること，関係する代謝機能や代謝物質等の研究を進めること，それら相互作用に影響を及ぼす環境因子を特定することが必要である．以上のような知見を活用し，微生物群集の制御・利用技術の開発をすることが持続的農業の構築に寄与すると期待される．

キーワード：共生，植物圏，水田，地球化学的物質循環，微生物群集構造解析