

1  
2  
3  
4  
5  
6  
7

水田土壌の機能と微生物群集構造

浅川 晋

名古屋大学大学院生命農学研究科  
〒464-8601 名古屋市千種区不老町

1 **Community structure of functional microorganisms in**  
2 **paddy field soil**

3

4 **Susumu Asakawa**

5

6 **Graduate School of Bioagricultural Sciences, Nagoya**  
7 **University, Chikusa, Nagoya 464-8601, Japan**

8

9 **Key Words: nitrogen, methanogenesis, microbial**  
10 **community, paddy field, soil function**

11

## 1 1 . はじめに

2 水田には洪水防止，水涵養，水質浄化，気温緩和，  
3 景観維持など多面的な機能<sup>30)</sup>が知られているが，最も  
4 重要な機能と役割はいうまでもなく，水稻の生産であ  
5 る。水田土壌の物理的・化学的・生物的な種々の作用  
6 や働きが水稻の生産を支えている。それらの水田土壌  
7 の働きの中で，無機養分としての窒素の供給や稲わ  
8 ら・堆肥といった有機物の分解など，土壌微生物の活  
9 動が重要な役割を果たしている場面は少なくない。

10 水田は，水稻の栽培期間中，湛水されることが，他  
11 の農耕地とは著しく異なる点である（図1）。湛水にと  
12 もなって生じる作土の還元化と表面水（田面水）の存  
13 在は，他の耕地土壌には見られない水田土壌生態系の  
14 特徴であり，水田土壌で生じる物理的・化学的・生物  
15 的な作用だけでなく，生息する微生物群集にも大きな  
16 影響を及ぼす<sup>25)</sup>。

17 ここでは，水稻生産を支える土壌の機能として，最  
18 も重要な無機養分である窒素の形態変化に注目し，水  
19 田土壌における窒素代謝に関連する様々な微生物群集  
20 の研究例を紹介する。それとともに，還元的な土壌中  
21 における特徴的な物質代謝として，有機物分解の最終  
22 過程に位置づけられるメタン生成を取り上げ，反応に  
23 関わる微生物群集について，これまでの研究事例を紹  
24 介する。これらの研究の中で，それぞれの代謝の鍵と  
25 なる微生物群や，反応に重要な役割を果たしている微

1 生物間の相互作用について，明らかにされた知見と未解明  
2 のまま残されている点をも含めて述べたい。

3

## 4 **2 . 窒素代謝に関連する微生物群集**

### 5 **1 ) 有機態窒素の無機化**

6 土壌中の有機態窒素から生じた無機態窒素は，水稻  
7 が吸収する窒素量の半分程度を占めており<sup>27,44,50)</sup>，地  
8 力窒素と呼ばれる。そのため，地力窒素の発現量と無  
9 機化パターンの把握は水稻の栽培・施肥管理にとって  
10 重要であり，古くから現在まで数多くの研究が行われ  
11 てきた<sup>34)</sup>。地力窒素の主要な給源は，微生物バイオマ  
12 スに由来するタンパク態と考えられている。したがっ  
13 て，土壌中のバイオマス窒素の無機化は，主として，  
14 タンパク質のプロテアーゼ分解によるアミノ酸生成と  
15 それに続く，アミダーゼ，リアーゼ，オキシダーゼな  
16 どによるアミノ酸からのアンモニア生成とみなすこと  
17 ができる。このうち，第一段階を触媒するプロテアー  
18 ゼが，硝化・脱窒を含むそれ以降の反応速度を律速す  
19 る鍵酵素と考えられている<sup>14,15)</sup>。

20 このように，有機態窒素の無機化あるいは地力窒素  
21 の発現，特に第一段階のタンパク態窒素のプロテアー  
22 ゼ分解は水稻生産にとって極めて重要な過程であるが，  
23 これらの代謝を担う微生物群集は全くといっていいほ  
24 ど研究されていない。唯一の例が，渡邊らにより行わ  
25 れた，土壌プロテアーゼ生産微生物に関する一連の研

1 究<sup>56-63)</sup>である。水田土壌のプロテアーゼの主な供給  
2 源が細菌であるとの知見<sup>13,16)</sup>に基づき，細胞外プロテ  
3 アーゼ生産能の高い菌株の分離に有効なアゾコール平  
4 板培地<sup>59)</sup>を用いて，水稻栽培期間に水田土壌からプロ  
5 テアーゼ生産性の細菌・放線菌の分離を行ったところ，  
6 得られたプロテアーゼ生産菌の大部分が *Bacillus* 属細  
7 菌であった<sup>56)</sup>。さらに，これらの分離株の中で，高い  
8 酵素生産能を持つ *Bacillus* 属菌株のプロテアーゼの酵  
9 素学的特性が，水田土壌から抽出したプロテアーゼの  
10 酵素特性とよく一致したこと<sup>57,58)</sup>，水稻栽培期間中の  
11 水田土壌におけるプロテアーゼ生産性の *Bacillus* 属細  
12 菌の動態とプロテアーゼ活性の変動の間に有意な相関  
13 が認められたこと<sup>60)</sup>より，水田土壌のプロテアーゼ生  
14 産を担う主要な微生物群が *Bacillus* 属細菌であると結  
15 論した。また，*Bacillus* 属細菌の増殖時（栄養細胞）  
16 と孢子形成期で生産されるプロテアーゼのタイプが異  
17 なり，*Bacillus* 属細菌の形態変化が土壌プロテアーゼ  
18 活性の制御機構の一つであると推定された<sup>62)</sup>。上述し  
19 たように，水稻の吸収窒素量の半分程度を供給するた  
20 め，水稻生産のために最も重要な水田土壌の機能とい  
21 っても過言ではない地力窒素の発現に関し，その鍵微  
22 生物群を明らかにした極めて重要な知見である。

## 23 2) 硝化と脱窒

24 酸化層，還元層およびその境界を含む水田表層部に  
25 おける硝化・脱窒現象は施肥窒素の肥効に関わる重要

1 な代謝過程であり，塩入松三郎・青峰重範<sup>42,43)</sup>により  
2 発見され，深層施肥あるいは全層施肥法の開発へとつ  
3 ながったことは有名である。

4 硝化の第一段階はアンモニアから亜硝酸を生成する  
5 アンモニア酸化作用であり，主として独立栄養性のア  
6 ンモニア酸化細菌により行われる<sup>17,26)</sup>。アンモニア酸  
7 化の第一段階（アンモニアのヒドロキシルアミンへの  
8 酸化）を触媒するアンモニアモノオキシゲナーゼ遺伝  
9 子（*amoA*）および *Betaproteobacteria* に属するアンモ  
10 ニア酸化細菌（*Nitrosospira* と *Nitrosomonas*）を対象  
11 とした 16S rRNA 遺伝子のそれぞれに特異的なプライ  
12 マーが開発され，様々な環境中における独立栄養性ア  
13 ンモニア酸化細菌の群集構造が解析されている<sup>26)</sup>。愛  
14 知県安城農業技術センターの水田圃場あるいは同圃場  
15 の水田土壌を用いたポット試験・マイクロコズム実験よ  
16 り得られた試料（作土<sup>21)</sup>，稲わら<sup>20)</sup>，田面水<sup>39)</sup>，土  
17 壌表層<sup>33,39)</sup>，水稻根<sup>18)</sup>，ミジンコ<sup>35)</sup>）について，こ  
18 れらの PCR プライマーを用いた DGGE 解析を行ったと  
19 ころ，既知の菌株とは類縁性が低い一部の断片以外は  
20 全て *Nitrosospira* に近縁であった（図 2）。水田生態系  
21 では，*Nitrosospira* に近縁なアンモニア酸化細菌が主  
22 要であることを示しており，水田以外の土壌生態系に  
23 おけるこれまでの多くの研究結果と一致した<sup>17,26)</sup>。

24 硝化の第二段階は亜硝酸の硝酸への酸化で，  
25 *Nitrobacter*, *Nitrococcus*, *Nitrospina*, *Nitrospira* が亜硝

1 酸酸化細菌として知られている<sup>41,47)</sup>。これらはそれぞれ、  
2 *alpha* および *gamma* サブグループの *Proteobacteria*  
3 門、*Acidobacteria* に近縁な未確定の分類群（当初は  
4 *Deltaproteobacteria* とされていた）、*Nitrospira* 門と、  
5 系統的に離れた分類群に属している<sup>41)</sup>。また、分離培  
6 養が難しく、分離例が少ないこともあり、環境中にお  
7 ける亜硝酸酸化細菌の群集解析手法は一般的なものとな  
8 っていないが、最近になって排水処理系、水環境、  
9 底質などでは *Nitrospira* の重要性が認識されつつある  
10 <sup>41)</sup>。培養法を用いた研究も含め、水田土壤に生息する  
11 亜硝酸酸化細菌群集はほとんど明らかにされていない  
12 が、水田の作土<sup>22)</sup>や植物遺体<sup>29)</sup>に生息する真正細菌  
13 全体を対象とした DGGE 法による解析では、*Nitrospira*  
14 に近縁な配列が得られている。水田土壤においても  
15 *Nitrospira* が亜硝酸酸化細菌の主要な菌群であること  
16 が示唆されるが、さらにデータを蓄積する必要がある  
17 う。

18 脱窒は硝酸あるいは亜硝酸が酸素の代わりに呼吸の  
19 ために電子受容体として利用され、一酸化窒素、一酸  
20 化二窒素（亜酸化窒素）、分子状窒素へと還元される嫌  
21 氣的な過程であり、細菌および糸状菌を含む広範囲の  
22 通性嫌気性微生物（脱窒菌）により行われる<sup>17)</sup>。各過  
23 程の酵素群とコードする遺伝子が *Pseudomonas* などの  
24 代表的な菌株を用いて明らかにされており<sup>17,65,66)</sup>、こ  
25 れらの酵素遺伝子、特に亜硝酸還元酵素（*Nir*）や一酸

1 化二窒素還元酵素（Nos）の特定のサブユニットをコ  
2 ードする遺伝子に対する特異的プライマーを用いて、  
3 様々な環境中の脱窒菌群集の解析が行われている  
4 <sup>5,8,48</sup>）。水田土壌の脱窒菌群集を解析した研究はこれま  
5 でのところ見当たらないが、これらの手法を用いた分  
6 子生態学的研究が今後進むものと期待される。一方、  
7 分離・培養法の改良により、畑下層土では、系統的に  
8 既知の脱窒菌とは類縁性の低い菌株を含む低栄養性の  
9 脱窒菌群が主要であったとの報告<sup>12)</sup>があり、水田土壌  
10 でも脱窒菌の培養・分離を併せて行う必要があるだろう。

### 11 3) 窒素固定

12 水田の田面水と作土の最表層部には光合成窒素固定  
13 微生物が生息している<sup>23,55</sup>）。これは、耕地土壌におけ  
14 る窒素固定菌の分布や生態面からみた場合、水田の特  
15 徴といえよう。中でもシアノバクテリア（ラン藻）に  
16 よる窒素固定が古くから注目され、水田土壌の窒素肥  
17 沃性維持に重要な役割を果たしていると考えられてい  
18 る<sup>3,51</sup>）。シアノバクテリアによる窒素固定量は一作当  
19 たり数〜80 kgN ha<sup>-1</sup>とされ<sup>38</sup>）、九州農試（筑後市）  
20 の水田圃場における測定例では、約25 kgN ha<sup>-1</sup>の値が  
21 報告されている<sup>36</sup>）。培養や観察によって水田には  
22 *Tolypothrix, Anabaena, Nostoc, Calothrix*などのシアノ  
23 バクテリアが生息することが明らかにされている  
24 <sup>53,54</sup>）が、このような生態学的研究よりはむしろ、接種  
25 や窒素固定量の把握と水稻への効果などシアノバクテ



1 リアの利用に重点を置いた研究が数多く行われてきた  
2 3,24,38,51,55)。最近, シアノバクテリアの 16S rRNA 遺  
3 伝子に特異的なプライマーを用いた DGGE 法により,  
4 水田作土のシアノバクテリアの群集構造が解析され,  
5 Subsection I~IV に属するシアノバクテリアが得られ  
6 ている<sup>45)</sup>。水田の作土表層部に施用された稲わらを対  
7 象にして, 同様の手法を用いて行った解析では,  
8 Subsection III および IV の糸状体シアノバクテリアが  
9 主として検出された<sup>4)</sup>。

10

### 11 3. メタン生成に関与する微生物群集

12 メタン生成は還元条件下の作土での有機物の嫌氣的  
13 な最終分解過程として古くから研究されており, 近年  
14 では温室効果ガスの発生過程としても注目されている  
15 <sup>2)</sup>。メタン生成は絶対嫌気性のメタン生成古細菌によ  
16 り行われる。水田土壌に生息するメタン生成古細菌と  
17 しては, これまでに表 1 に示した属の菌株が分離され  
18 ており, 目 (Order) としては, *Methanobacteriales*,  
19 *Methanosarcinales*, *Methanomicrobiales* に属する菌群  
20 であった<sup>1,10,31,32,49)</sup>。遺伝子を用いた解析では, これ  
21 ら 3 目に加えて, 既知の培養菌の分類群と類縁性の低  
22 い, Rice cluster I と呼ばれる配列群が得られており  
23 <sup>11,64)</sup>, これらが水田土壌のメタン生成古細菌の主要な  
24 菌群であると考えられる。なお, ごく最近 Rice cluster  
25 I に属するメタン生成古細菌が培養・分離された<sup>19)</sup>。

1       メタン生成反応はメタン生成古細菌単独で進行する  
2       ばかりでなく，様々な嫌気微生物との共生系によっ  
3       ても進行する。その中で，最も有名な例  
4       は "*Methano-bacillus omelianskii*"<sup>6)</sup>で，メタン生成古  
5       細菌と水素生成真正細菌との水素を介した種間水素転  
6       移と呼ばれる栄養共生関係に基づくメタン生成共生系  
7       である<sup>40)</sup>。水田土壌においても，プロピオン酸などか  
8       らこのような共生系を介して生成される水素が，メタ  
9       ン生成反応に重要な役割を果たしていると考えられて  
10      いる<sup>9)</sup>。最近，水田土壌でプロピオン酸を分解する共  
11      生系の微生物群集を安定同位体プロービング (SIP) 法  
12      により解析した研究<sup>28)</sup>が報告されたが，関与する微生  
13      物の分離培養が困難なこともあり，群集を構成する微  
14      生物についての知見は未だ十分ではない。森田ら (未  
15      発表) はプロピオン酸を基質とした培地に水田土壌を  
16      接種し，継代培養を行って得られた集積培養液につい  
17      て，DGGE 法により培養液中に存在する真正細菌群集  
18      を解析した。*Syntrophomonas* や *Syntrophobacter* など，  
19      これまでに酪酸やプロピオン酸などの低級脂肪酸を分  
20      解するメタン生成共生系で知られている水素生成真正  
21      細菌群<sup>40)</sup>に近縁な配列は得られなかったものの，  
22      Bacteroidetes に属する *Proteiniphilum acetatigenes* に  
23      近縁な配列が得られた。*P. acetatigenes* は，プロピオ  
24      ン酸を分解する，*Syntrophobacter sulfatireduence* と  
25      *Methanobac-terium formicicum* からなるメタン生成共

1 共生系から得られた菌株で，自身はプロピオン酸の分解  
2 もメタンの生成も行わないが，この共生系に共存する  
3 ことにより，プロピオン酸分解とメタン生成を促進す  
4 ることが明らかにされている<sup>7)</sup>。DNA解析のみからの  
5 推定であるため，さらに研究が必要であるが，水田土  
6 壌のプロピオン酸分解共生系においても同様の共生的  
7 ともいえる相互作用が働いている可能性を示唆する結  
8 果である。これまで，共生では二者生物間の関係が主  
9 に研究されてきたが，このような三者の微生物からな  
10 る共生的な相互作用が，メタン生成共生系のみならず，  
11 水田土壌の様々な代謝に関与しているのかもしれない。

12

#### 13 4. おわりに

14 窒素代謝とメタン生成という，水田土壌では古くか  
15 ら多くの研究が行われてきた代謝過程を中心に述べた  
16 が，鍵となる微生物群や反応に関わる相互作用につい  
17 て，亜硝酸酸化・脱窒やメタン生成共生系の例のよう  
18 に，不明な点もまだ多く残されている。加えて，嫌気  
19 的アンモニア酸化<sup>46)</sup>や硫酸イオン<sup>52)</sup>及び硝酸イオン  
20 <sup>37)</sup>の還元と共役した嫌气的メタン酸化など新たな反  
21 応経路や共生系が近年になって他の嫌気生態系で見つ  
22 かっており，水田土壌でもこれらの微生物反応が行わ  
23 れているか，また，どのような微生物群が関わってい  
24 るのか興味深い。今後の研究の進展に期待したい。分  
25 子生態学的手法の発達により微生物群集構造の解析は

1 かつてより容易に行えるようになった。一方で，土壤  
2 中における機能や微生物間の相互作用を明らかにする  
3 ためには，上記のプロテアーゼ生産菌や Rice cluster I  
4 に属するメタン生成古細菌，あるいは畑下層土におけ  
5 る低栄養性脱窒菌などのように，菌の分離・培養を併  
6 せて行っていく必要がある。

7

8

### 要旨

9 水田の最も重要な機能と役割は水稻の生産である。  
10 水稻生産を支える様々な水田土壤の働きの中で，土壤  
11 微生物の活動が重要な役割を果たしている場面は少な  
12 くない。その中で，最も重要な無機養分である窒素の  
13 代謝と，有機物分解に関わる嫌気的な物質代謝である  
14 メタン生成を取り上げ，それぞれの代謝や反応に関わ  
15 る微生物群集についてこれまでの研究と残された問題  
16 点を整理した。地力窒素発現の鍵となるプロテアーゼ  
17 生産（タンパク分解），アンモニア酸化，メタン生成を  
18 担う主要な微生物群集が明らかにされており，それぞ  
19 れ *Bacillus* 属細菌，*Nitrosospira* および 3 目と未分類  
20 のメタン生成古細菌群（*Methanobacteriales*，  
21 *Methanosarcinales*，*Methanomicrobiales*，Rice cluster  
22 I）であった。一方，亜硝酸酸化，脱窒，メタン生成共  
23 生系では，反応に関わる鍵微生物群や相互作用につい  
24 て不明な点が多く残されており，今後さらに研究が必  
25 要である。

1

2

## 引用文献

- 3 1) 浅川晋 (1998) メタン生成古細菌の特徴と水田土壌  
4 における生態, 土と微生物, **52**, 33-39
- 5 2) 浅川晋 (2005) 水田における物質循環, 土壌サイエンス  
6 入門, 三枝正彦・木村真人編, p.74-84, 文永堂, 東京
- 7 3) 浅沼修一・齋藤雅典 (2003) 窒素はどこからきたの  
8 か? -窒素固定研究の歩み-, 新・土の微生物(10)研究  
9 の歩みと展望, 日本土壌微生物学会編, p.171-191,  
10 博友社, 東京
- 11 4) 浅利直子・石原利恵・中嶋泰則・木村真人・浅川晋  
12 (2005) 水田土壌表層部の稲わらに生息するシアノバ  
13 クテリアの群集構造の解析, 第21回日本微生物生態  
14 学会講演要旨集, p.143
- 15 5) Baker G and Tiedje JM (2003) Nitric oxide reductase  
16 (*norB*) genes from pure cultures and environmental  
17 samples. *Appl. Environ. Microbiol.*, **69**, 3476-3483
- 18 6) Bryant MP, Wolin EA, Wolin MJ, Wolfe RS (1967)  
19 *Methanobacillus omelianskii*, a symbiotic association  
20 of two species of bacteria. *Arch. Mikrobiol.*, **59**, 20-31
- 21 7) Chen S, Dong X (2005) *Proteiniphilum acetatigenes*  
22 gen. nov., sp. nov., from a UASB reactor treating  
23 brewery wastewater. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, **55**,  
24 2257-2261
- 25 8) Chèneby D, Hallet S, Mondon M, Martin-Laurent F,

- 1 Germon JC, Philippot L (2003) Genetic  
2 characterization of the nitrate reducing community  
3 based on *narG* nucleotide sequence analysis. *Microb.*  
4 *Ecol.*, **46**, 113-121
- 5 9) Conrad R, Babbel M (1989) Effect of dilution on  
6 methanogenesis, hydrogen turnover and interspecies  
7 hydrogen transfer in anoxic paddy soil. *FEMS*  
8 *Microbiol. Ecol.*, **62**, 21-28
- 9 10) Dianou D, Miyaki T, Asakawa S, Morii H, Nagaoka K,  
10 Oyaizu H, Matsumoto S (2001) *Methanoculleus*  
11 *chikugoensis* sp. nov., a novel methanogenic archaeon  
12 isolated from paddy field soil in Japan, and DNA-DNA  
13 hybridization among *Methanoculleus* species. *Int. J.*  
14 *Syst. Evol. Microbiol.*, **51**, 1663-1669
- 15 11) Großkopf R, Stubner S, Liesack W (1998) Novel  
16 euryarchaeotal lineage detected on rice roots and in  
17 the anoxic bulk soil of flooded rice microcosms. *Appl.*  
18 *Environ. Microbiol.*, **64**, 4983-4989
- 19 12) Hashimoto T, Whang K-S, Nagaoka K (2006) A  
20 qualitative evaluation and phylogenetic  
21 characterization of oligotrophic denitrifying bacteria  
22 harbored in subsurface upland soil using improved  
23 culturability. *Biol. Fertil. Soils*, **42**, 179-185
- 24 13) Hayano K (1993) Protease activities in paddy field  
25 soil: Origin and some properties. *Soil Sci. Plant Nutr.*,

- 1       **39**, 539-546
- 2   14) 早野 恒一 (1995) 耕地 土 壤 の 窒 素 地 力 と プ ロ テ ァ ー  
3       ぜ, 化 学 と 生 物, **33**, 173 ~ 180
- 4   15) 早野 恒一 (1997) 植 物 の 窒 素, リ ン 栄 養 と 微 生 物,  
5       新・土の微生物(2)植物の生育と微生物, 土 壤 微 生 物  
6       研 究 会 編, p.133 ~ 165, 博 友 社, 東 京
- 7   16) Hayano K and Watanabe K (1990) Characterization of  
8       extracellular protease in paddy field soils. Proceeding  
9       of 14th International Congress of Soil Science, Vol.  
10      III. p.270-271
- 11   17) 早津 雅仁 (2002) 土 壤 微 生 物 と 物 質 循 環 2. 硝 酸 性 窒  
12      素 の 動 態 ・ 処 理 と 土 壤 微 生 物, 土 肥 誌, **73**, 323 ~ 329
- 13   18) Ikenaga M, Asakawa S, Muraoka Y and Kimura M  
14      (2003) Phylogenetic study on CTO primer-amplified  
15      ammonia-oxidizing bacteria and  $\beta$ -*Proteobacteria*  
16      associated with rice roots grown in a flooded paddy  
17      soil. *Soil Sci. Plant Nutr.*, **49**, 719-727
- 18   19) 井 町 寛 之 (2006) 難 培 養 性 メ タ ン 生 成 古 細 菌 Rice  
19      Cluster I の 分 離 と 特 性, 土 と 微 生 物, **60**,
- 20   20) Jia Z, Sugano A, Asari N, Tun CC, Ishihara R,  
21      Asakawa S and Kimura M (2005) Molecular  
22      characterization of methane oxidizing bacteria  
23      inhabiting rice straw incorporated into paddy field.  
24      土 肥 要 旨 集, **51**, 40
- 25   21) Jia Z, Kikuchi H, Watanabe T, Asakawa S and Kimura

- 1 M (submitted for publication) Molecular  
2 identification of methane-oxidizing bacteria in rice  
3 field soil. *Biol. Fertil. Soils*
- 4 22) 菊地弘泰・渡邊健史・Jia Z・木村真人・浅川晋(2005)  
5 水田作土中の真正細菌群集構造の PCR-DGGE 法によ  
6 る解析, 土肥要旨集, **51**, 41
- 7 23) 金澤晋二郎(1982)水田土壌の生物, 水田土壌学,  
8 山根一郎編, p.233~279, 農文協, 東京
- 9 24) Kimura M (2005) Populations, community  
10 composition and biomass of aquatic organisms in the  
11 floodwater of rice fields and effects of field  
12 management. *Soil Sci. Plant Nutr.*, **51**, 159-181
- 13 25) Kimura M and Asakawa S (2006) Comparison of  
14 community structures of microbiota at main habitats in  
15 rice field ecosystems based on phospholipid fatty acid  
16 analysis. *Biol. Fertil. Soils*, DOI  
17 10.1007/s00374-005-0057-2
- 18 26) Kowalchuk GA and Stephen JR (2001)  
19 Ammonia-oxidizing bacteria: a model for molecular  
20 microbial ecology. *Annu. Rev. Microbiol.*, 485-529
- 21 27) 小山雄生(1975)<sup>15</sup>N 利用による水田土壌窒素肥沃  
22 度測定の実際と生産力, 土肥誌, **46**, 260~269
- 23 28) Lueders T, Pommerenke B, Friedrich MW (2004)  
24 Stable-isotopic probing of microorganisms thriving at  
25 thermodynamic limits: syntrophic propionate



- 1       oxidation in flooded soil. *Appl. Environ. Microbiol.*,  
2       **70**, 5778-5786
- 3   29) Matsuyama T, Nakajima Y, Matsuya K, Ikenaga M,  
4       Asakawa S, Kimura M (submitted for publication)  
5       Bacterial community in plant residues in a Japanese  
6       paddy field estimated by RFLP and DGGE analyses.  
7       *Soil Biol. Biochem.*
- 8   30) 陽捷行(1998)農林生態系の環境保全機能と環境影  
9       響, 環境保全と農林業, 陽捷行編著, p.1~17, 朝倉  
10      書店, 東京
- 11   31) 水上里美・武田潔・赤田辰治・藤田隆(2001)水田  
12      土壤の糸状性酢酸利用性メタン生成菌の分布と特徴,  
13      土肥誌, **72**, 633~641
- 14   32) Mizukami S, Takeda K, Akada S, Fujita T (2006)  
15      Isolation and characteristics of *Methanosaeta* in paddy  
16      field soils. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **70**, 828-835
- 17   33) Murase J, Itoh K, Kano M and Kimura M (2003)  
18      Molecular analysis of  $\beta$ -proteobacterial ammonia  
19      oxidizer populations in surface layers of a submerged  
20      paddy soil microcosm. *Soil Sci. Plant Nutr.*, **49**,  
21      909-913
- 22   34) 日本土壤肥料学会編(1990)水田土壤の窒素無機化  
23      と施肥, 博友社, 181p, 東京
- 24   35) Niswati A, Murase J, Asakawa S and Kimura M  
25      (2004) Analysis of communities of ammonia oxidizers,

- 1 methanotrophs, and methanogens associated with  
2 microcrustaceans in the floodwater of a rice field  
3 microcosm. *Soil Sci. Plant Nutr.*, **50**, 447-455
- 4 36) 小野信一・古賀汎(1984)水田土壌表層における窒  
5 素の自然集積とラン藻による窒素固定, 土肥誌, **55**,  
6 465~470
- 7 37) Rafhoebarsing AA, Pol A, van de Pas-Schoonen KT,  
8 Smolders AJP, Ettwig KF, Rijpstra WIC, Schouten S,  
9 Damsté JSS, Op den Camp HJM, Jetten MSM, Strous M  
10 (2006) A microbial consortium couples anaerobic  
11 methane oxidation to denitrification. *Nature*, **440**,  
12 918-921
- 13 38) Roger PA, Ladha JK (1992) Biological N<sub>2</sub> fixation in  
14 wetland rice fields: estimation and contribution to  
15 nitrogen balance. *Plant Soil*, **141**, 41-55
- 16 39) 芝垣武俊・中嶋泰則・松家一夫・浅川晋・村瀬潤・  
17 木村真人(2004)田面水中のアンモニア酸化細菌に関  
18 する研究: 分子生物学的手法による田面水からのア  
19 ンモニア酸化菌の検出の試み, 土肥要旨集, **50**, 293
- 20 40) Schink B (1997) Energetics of syntrophic  
21 cooperation in methanogenic degradation. *Microbiol.*  
22 *Mol. Biol. Rev.*, **61**, 262-280
- 23 41) Schramm A (2003) In situ analysis of structure and  
24 activity of the nitrifying community in biofilms,  
25 aggregates and sediments. *Geomicrobiol. J.*, **20**,

- 1 313-333
- 2 42) 塩入松三郎・青峰重範(1937)水田状態の土壌中に  
3 おけるアンモニア態窒素の消長について, 土肥誌,  
4 **11**, 389-392
- 5 43) 塩入松三郎・青峰重範(1938)湛水状態の土壌中に  
6 おける窒素の形態変化, 土肥誌, **12**, 406-410
- 7 44) 庄子貞雄・前忠彦(1984)無機養分と水の動態, 作  
8 物の生態生理, 佐藤庚・山崎耕宇・庄子貞雄・前忠  
9 彦・秋田重誠・中條博良・玖村敦彦・渡辺和之著,  
10 p.97-171, 文永堂, 東京
- 11 45) Song T, Mårtensson L, Eriksso T, Zheng W,  
12 Rasmussen U (2005) Biodiversity and seasonal  
13 variation of the cyanobacterial assemblage in a rice  
14 paddy field in Fujian, China. *FEMS Microbiol. Ecol.*,  
15 **54**, 131-140
- 16 46) Stous M, Fuerst JA, Kramer EHM, Logemann S,  
17 Muyzer G, van de Pas-Schoonen KT, Webb R, Kuenen  
18 JG, Jetten MSM (1999) Missing lithotroph identified  
19 as new planctomycete. *Nature*, **400**, 446-449
- 20 47) Teske A, Elm E, Regan JM, Toze S, Rittmann BE and  
21 Stahl DA (1994) Evolutionary relationships among  
22 ammonia- and nitrite-oxidizing bacteria. *J. Bacteriol.*,  
23 **176**, 6623-6630
- 24 48) Throbäck IN, Enwall K, Jarvis Å, Hallin S (2004)  
25 Reasseing PCR primers targeting *nirS*, *nirK* and *nosZ*

- 1 genes for community surveys of denitrifying bacteria  
2 with DGGE. *FEMS Microbiol. Ecol.*, **49**, 401-417
- 3 49) Tonouchi A (2002) Isolation and characterization of  
4 a mobile hydrogenotrophic methanogen from rice  
5 paddy field soil in Japan. *FEMS Microbiol. Lett.*, **208**,  
6 239-243
- 7 50) 鳥山和伸・関矢信一郎(2006)水稲の施肥, 肥料の  
8 事典, 尾和尚人・木村真人・越野正義・三枝正彦・  
9 但野利秋・長谷川功・吉羽雅昭編, p.222~230, 朝  
10 倉書店, 東京
- 11 51) 辻村茂男(2000)土壌藻類の働きと利用, 新・土の  
12 微生物(7)生態的に見た土の原生動物・藻類, 日本土  
13 壌微生物学会編, p.127~158, 博友社, 東京
- 14 52) Valentine DL, Reeburgh WS (2000) New perspective  
15 on anaerobic methane oxidation. *Environ. Microbiol.*,  
16 **2**, 477-484
- 17 53) Watanabe A (1959) Distribution of nitrogen-fixing  
18 blue-green algae in various areas of south and east  
19 asia. *J. Gen. Appl. Microbiol.*, **5**, 21-29
- 20 54) Watanabe A, Yamamoto Y (1971) Algal nitrogen  
21 fixation in the tropics. *Plant Soil*, Special Volume,  
22 403-423
- 23 55) 渡辺巖・Roger PA (1983)水田土壌の窒素固定微生  
24 物の動態, 微生物の生態 11 変動と制御をめぐって,  
25 微生物生態研究会編, p.31~53, 学会出版センター,

- 1 東京
- 2 56) Watanabe K and Hayano K (1993a) Distribution and  
3 identification of proteolytic *Bacillus* spp. in paddy  
4 field soil under rice cultivation. *Can. J. Microbiol.*,  
5 **39**, 674-680
- 6 57) Watanabe K and Hayano K (1993b) Source of soil  
7 protease in paddy fields. *Can. J. Microbiol.*, **39**,  
8 1035-1040
- 9 58) Watanabe K and Hayano K (1994) Source of soil  
10 protease based on the splitting sites of a polypeptide.  
11 *Soil Sci. Plant Nutr.*, **40**, 697-701
- 12 59) Watanabe K, Asakawa S and Hayano K (1994)  
13 Evaluation of extracellular protease activities of soil  
14 bacteria. *Soil Biol. Biochem.*, **26**, 479-482
- 15 60) Watanabe K and Hayano K (1995) Seasonal variation  
16 of soil protease activities and their relation to  
17 proteolytic bacteria and *Bacillus* spp. in paddy field  
18 soil. *Soil Biol. Biochem.*, **27**, 197-203
- 19 61) Watanabe K and Hayano K (1996) Seasonal variation  
20 in extracted proteases and relationship to overall soil  
21 protease and exchangeable ammonia in paddy soils.  
22 *Biol. Fertil. Soils*, **21**, 89-94
- 23 62) Watanabe K and Hayano K (1996) Mechanisms of  
24 production of soil protease by proteolytic *Bacillus*  
25 *subtilis* in wetland rice soil. *Biol. Fertil. Soils*, **21**,

- 1        109-113
- 2    63) 渡邊克二・早野恒一(1996)土壤中のプロテアーゼ  
3        生産微生物, 土と微生物, **47**, 9~22
- 4    64) Watanabe T, Kimura M, Asakawa S (2006)  
5        Community structure of methanogenic archaea in  
6        paddy field soil under double cropping (rice-wheat).  
7        *Soil Biol. Biochem.*, **38**, 1264-1274
- 8    65) 山本勇(2000)脱窒を担う細菌と遺伝子群, 化学と  
9        生物, **38**, 301~308
- 10   66) Zumft WG (1997) Cell biology and molecular basis  
11        of denitrification. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.*, **61**,  
12        533-616
- 13

1 表 1 水田土壌から分離されたメタン生成古細菌の種  
2 類

目	属
Methanobacteriales	<i>Methanobacterium</i>
	<i>Methanobrevibacter</i>
Methanosarcinales	<i>Methanosarcina</i>
	<i>Methanosaeta</i>
Methanomicrobiales	<i>Methanoculleus</i>
	<i>Methanospirillum</i>

1 図のタイトル

2

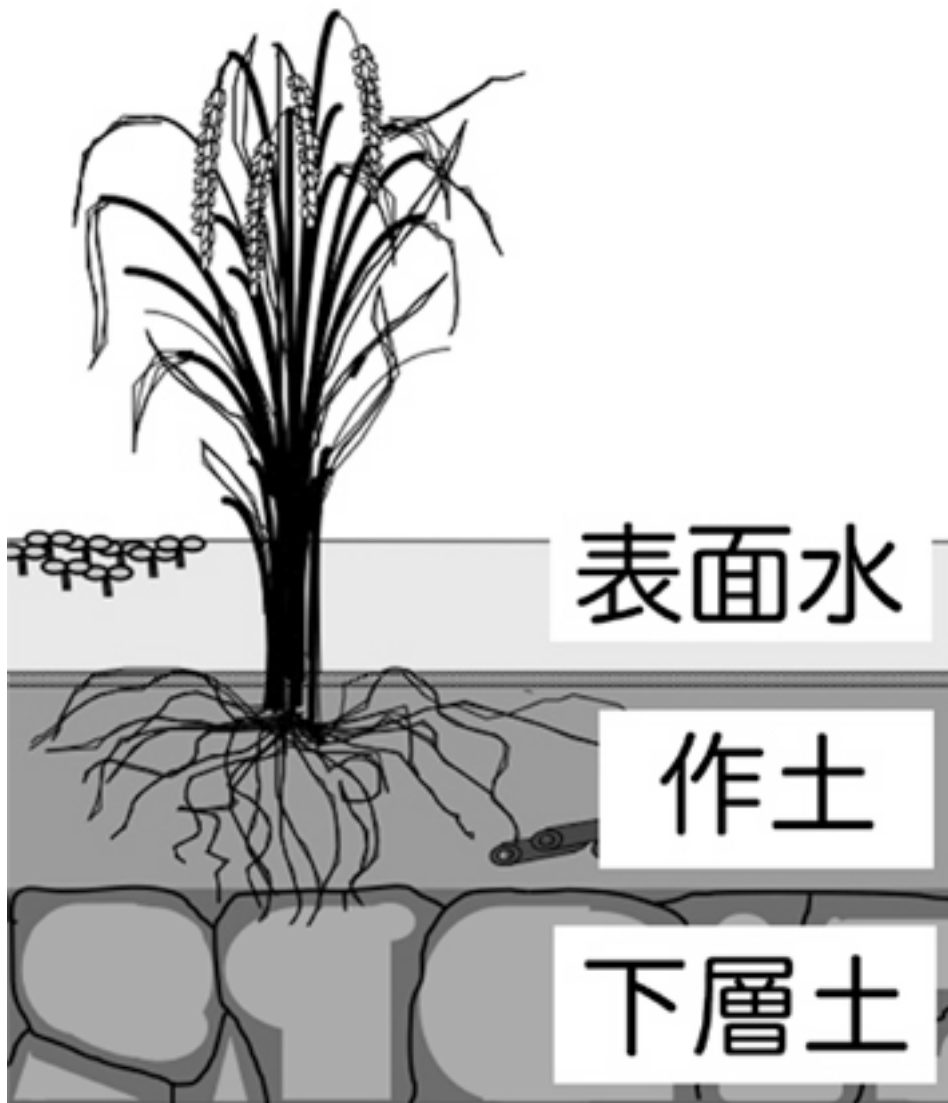
3 図 1 水田生態系の構造（模式図）

4

5 図 2 水田生態系を構成する各部位に生息するアンモ  
6 ニア酸化細菌の DGGE 解析により得られた配列の系統  
7 関係。a. *amoA* 配列に基づく系統樹， b. 16S rDNA 配列  
8 に基づく系統樹。系統樹は近隣結合法により作成した。

9





1  
2  
3  
4

图 1

図 2

