

# 土壌改良材の水田土壌微生物への影響および水質浄化機構の研究

## Effect of montmorillonite on soil microbes and water quality in rice field

大西 純一<sup>\*1</sup>・石崎 守治<sup>2</sup>

Jun-ichi Ohnishi<sup>1</sup>, Moriji Ishizaki<sup>2</sup>

<sup>1</sup> 埼玉大学大学院理工学研究科生命科学部門

Division of Life Science, Graduate School of Science & Engineering

<sup>2</sup> 石崎商店株式会社

Ishizaki Shoten Co. Ltd.

### Abstract

Montmorillonite is successfully used as a soil improvement agent in paddy field and vegetables/fruits field by Ishizaki Shoten. We are investigating the effectiveness and the basal mechanism of its beneficial effect. This article reports the preliminary analysis of comparing the microbial (bacteria and archaea) flora of the soils of the montmorillonite-amended rice field and control field.

#### はじめに

土壌細菌は土壌の物理的性質に影響を与えることで作物の根系環境に大きな影響を与え、ひいては作物生産に好影響を与えると考えられる。筆頭報告者は、長年大学内の畑でトウモロコシを栽培して、土地がやせてくると、窒素肥料をいくら投入してもうまく生育しないことを体験してきた。この土地がやせるということは、もしかすると土壌微生物のバランスの影響ではないかと考え、土壌微生物（細菌と菌根菌）の状態をモニターする研究を志した。

幸い、石崎商店の協力により、モンモリロナイトを主成分とする土壌改良材が使用できるので、これによる作物の生育改善と土壌微生物の変化の関係を調べようとしている。

18年度の研究成果(18年度地域共同研究センター紀要第7号)を承けて、さらにモンモリロナイトが水田土壌細菌に与える影響を検討した。実際に、稲刈り後の土採取時に観察すると、対照水田では硫化水素ガスが発生した真っ黒な土であるのに対し、施用水田では団粒構造を構成した土で、切株の根もしっかり生きていることが確認された(<http://www.saitama-u.ac.jp/ohnishi/Labo/PaddyField.htm>)。

さらに稲の成長期での湛水の水質が、対照水田と比較して窒素・リン量とも低く、浄化されていることを知り、水質についての詳細な研究を開始しようとしている。後者については、まだ十分なデータが蓄積していないので、20年度以降さらに研究を行う。この報告書では、前者について現状での結果を概括する。

詳細な実験手法については、18年度報告書を参照されたい。

なお、この結果は、主として理工学研究科博士前期課程生命科学専攻分子生物学コース古山雅智氏の研究成果であることを付記しておく。

#### 結果と考察

筑西市において、モンモリロナイトを毎年土壌に添加(100 g/m<sup>2</sup>)している水田と、隣の通常農法の水田より平成18年9月と19年7月に土壌を採取し、総DNAを抽出した。これより、16S rRNA小サブユニット遺伝子の部分領域をPCR法により増幅し、ランダムに各50個クローン化し、その塩基配列を決定、系統解析することにより土壌に存在する真正細菌(Bacteria)および古細菌(Archaea)の分布を決定した。

\* 〒338-8570 さいたま市桜区下大久保 255

電話：048-858-3397 FAX：048-858-3384

Email：ohnishi@molbiol.saitama-u.ac.jp

### 古細菌の分析結果

Fig. 1 に古細菌の系統樹を示す。A+で始まるクローン名が土壌改良剤投入区から得られたものを、A-で始まるものが対照区より得られたものを表す。0.05 と表示した横線の長さが、5%の塩基の違いを表す。塩基配列の違いが2%以下のクローンを同一種と見なして、1つの枝にまとめた。また、分布を把握しやすいように、5角形の記号（黒塗りは+、白抜きは-）1つがクローン1つを表すように、名前後に配置した。また、右端に細菌の分類群名を加えた。Crenarchaeota の *Nitrosopumilus* 近縁種が対照区に特異的で、逆に Rice Cluster-III に属する種が投入区に特異的に分布しているように見える。統計学的解析によれば、古細菌群では、現在の採取クローン数で、種の多様性をかなり表現できていると推測される。

### 真正細菌の分析結果

最終ページ Fig. 2 に得られた真生細菌配列の系統関係を示す。B+で始まるクローン名が土壌改良剤投入区から得られたものを、B-で始まるものが対照区より得られたものを表す。0.02 と表示した横線の長さが、2%の塩基の違いを表す。塩

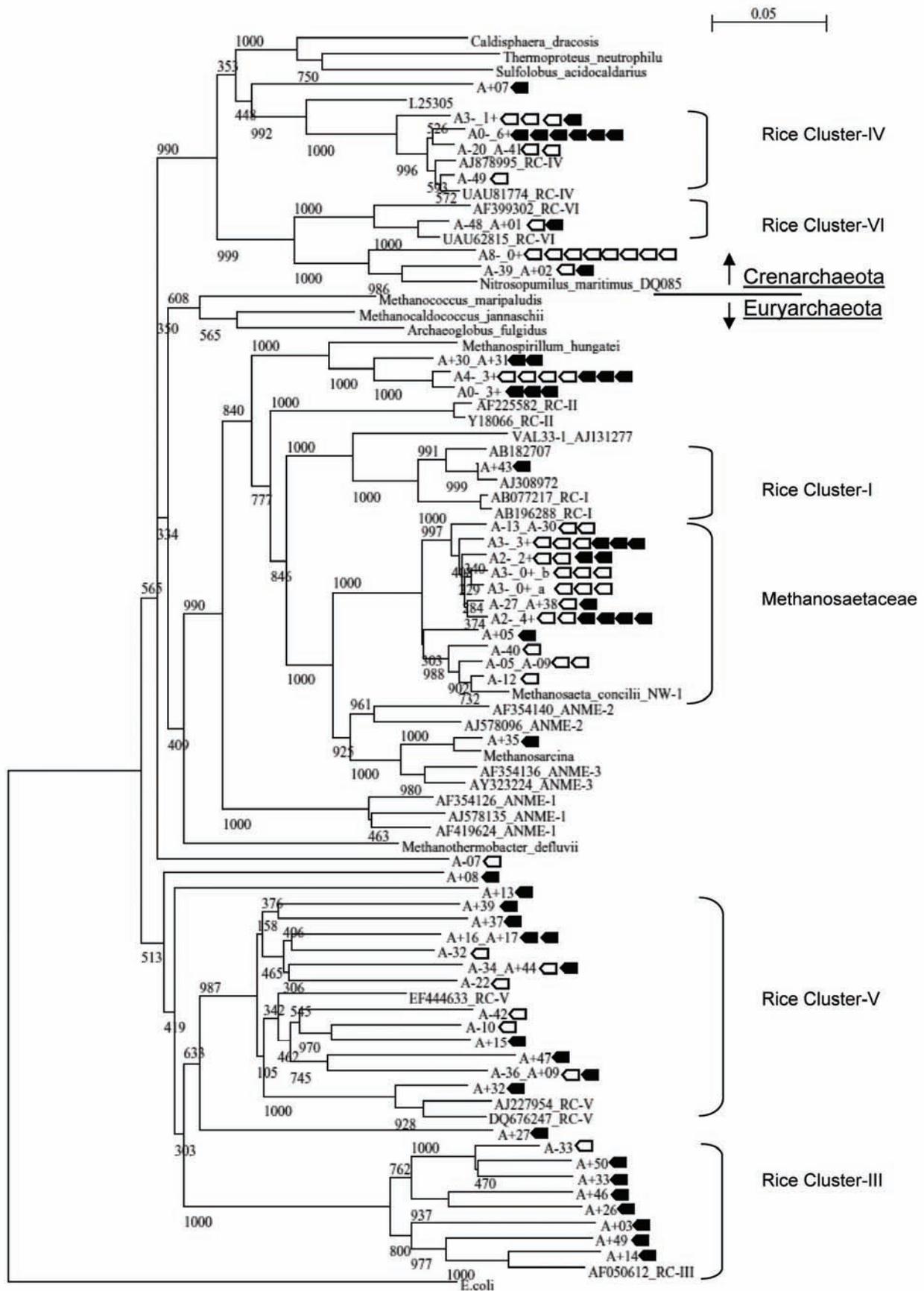
基配列の違いが4%以下のクローンは同一種と見なして、1つの枝にまとめた。

細菌の上位分類群で、それに帰属されるクローン数の多いものをあげると、添加細菌群では18%、無添加細菌群では36%が Chloroflexi/Anaerolineae に属し、添加細菌群では22%、無添加細菌群で10%が Acidobacteria に属していた。投入区では  $\alpha$ -Proteobacteria, Nitrospirae が、対照区では Bacteroides/Chlorobi が特に集積しているようだ。また、硫化水素が発生する原因になる硫酸還元活性を有する種を含む  $\delta$ -Proteobacteria では、*Bdellovibrio* 近縁種が対照区に特異的である可能性があるが、いずれも検出数が少ない。統計学的解析によれば、50個という現在のクローン数では、存在する細菌の系統を網羅していない可能性が高い。

### 20年度以降の予定

水田の水質改善を実験的に検証すると共に、その原因となっている微生物を検索する。そのためにも、特に細菌の分析クローン数を増やす必要がある。

Fig. 1 Archaeal Tree



枝分れ部分の数字は Bootstrap 値(≤1000)であり、大きいほど信頼性が高いことを表す。

Fig. 2 Bacterial Tree

