

冬期湛水が水田の土壌微生物群集に及ぼす影響

誌名	農業および園芸 = Agriculture and horticulture
ISSN	03695247
著者名	浅川, 晋 末國, 千佳 劉, 冬艷 秋田, 和則 宇野, 亨 田島, 亮介 伊藤, 豊彰 齋藤, 雅典
発行元	養賢堂
巻/号	91巻1号
巻号補足	
掲載ページ	p. 129-139
発行年月	2016年1月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター

Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council
Secretariat



冬期湛水が水田の土壤微生物群集に及ぼす影響

浅川 晋*・末國千佳*・劉 冬艶*・秋田和則**・
宇野 亨**・田島亮介**・伊藤豊彰**・齋藤雅典**

〔キーワード〕：水田，冬期湛水，有機栽培，土壤微生物

1. はじめに

水田の冬期湛水（ふゆみずたんぼ）は湿地の機能による水鳥の保全や不耕起栽培による春期の雑草抑制を目的として始められ（嶺田ら 2009, 伊藤ら, 2011），さらに水鳥だけでなくさまざまな水生生物の多様性維持・向上への寄与も期待されている（中西・沢田 2015）。

水田稲作は連作障害がない上に土壤の流亡が少ないなど，持続可能性が高く，加えて，灌漑水などからの天然の養分供給が多いことなどにより土壤の肥沃度が維持され，高い生産性を持つ優れた農業形態である。また，水田は洪水防止，水涵養，水質浄化，気温緩和，景観維持など環境保全に関わる多面的な機能を有するとともに，上述のように種々の水生生物や水鳥の多様性を保全する湿地としての重要性が認められている（西田 2015）。一方で水田は二酸化炭素よりも温室効果活性の高い地球温暖化ガスであるメタンの主要な発生源でもあり，地球環境に負荷を与える側面も持つ（浅川 2015）。

水田のこれらの種々の機能には水田に生息する微生物の働きが様々な形で関わっている。例えば，土壤中における有機物の分解，各種養分や元素の形態変化と物質循環など，水稻の生育や土壤肥沃度および水田環境の維持に微生物の活動が果たす役割は大きい。また，種々の水生生物の多様性を支える食物連鎖の出発点は田面水中の藻類などによる光合成であり，その他の様々な微生物等の働きが加わって食物連鎖が維持され生態系が成り立っている（浅川・村瀬 2010）。

我が国の水田では冬期湛水はしばしば有機栽培と組み合わせられて行われる（嶺田ら 2009）。有機栽培は農薬と化学肥料を使用せず，堆肥などの有機質資材を活用することにより作物を栽培し，有機物の循環利用，生物多様性の向上，環境の保全を目指す「人と生き物に優しい」農法である（Mäder et al. 2002）。有機栽培では化学肥料の代替として各種の有機質肥料が複数回施用される。有機質肥料の施用に伴う有機物供給に冬期湛水処理に伴う長期間の湛水が加わり，土壤の還元状態が維持されることにより土壤中の微生物群集に影響を及ぼす可能性が考えられる。Lopes et al. (2011) は，初めてポルトガルの試験水田において有機栽培下と慣行栽培下の土壤細菌群集を比較解析したが，それらの水田は冬期は落水されており，冬期湛水処理が水田の土壤微生物群集に及ぼす影響を調べた研究はなかった。

そこで，東北大学大学院農学研究科附属複合生態フィールド教育研究センター複合陸域生産システム部（川渡農場，宮城県大崎市）において開始された冬期湛水・有機栽培の試験水田圃場を対象として土壤微生物性の調査を行い，冬期湛水・有機栽培がそれらの群集構造に及ぼす影響を明らかにすることを試みた。具体的には，有機栽培・冬期湛水水田，有機栽培・冬期非湛水水田および対照の慣行水田のそれぞれの圃場より経時的に土壤を採取し，細菌，糸状菌，メタン生成古細菌について群集構成と存在量を分子生態学的手法により解析した。本稿ではその結果について紹介する。

2. 冬期湛水が水田土壤の細菌・糸状菌群集に及ぼす影響

冬期に飛来する水鳥の保護を目的に始められた水田の冬期湛水であるが，水生昆虫類・魚類（中西ら 2009），湿生植物（嶺田ら 2009），イトミミズ類

* 名古屋大学大学院生命農学研究科（Susumu Asakawa, Chika Suekuni, Dongyan Liu）

** 東北大学大学院農学研究科（Kazunori Akita, Toru Uno, Ryosuke Tajima, Toyooki Ito, Masanori Saito）

(伊藤ら 2011) などの他の水生生物に及ぼす影響が調査されている。また、冬期湛水による稲わら分解の促進 (Manley et al. 2005 ; Koger et al. 2013), 土壌の化学性や酵素活性への影響 (Koger et al. 2013) は報告されているが、土壌中の微生物群集への影響を調べた研究は見当たらない。上述のように, Lopes et al. (2011) は有機栽培水田の細菌群集を初めて解析したが、日本とは異なり冬期湛水处理が組み合わされた水田ではなかった。冬期湛水水田では湛水期間が年間で約 270 日にもなり、慣行栽培水田 (90~110 日) の 2~3 倍に達する。このような条件下の水田の土壌細菌・糸状菌群集を冬期非湛水水田と比較し、冬期湛水处理の影響を解析した。

1) 方法

(1) 供試圃場と土壌試料

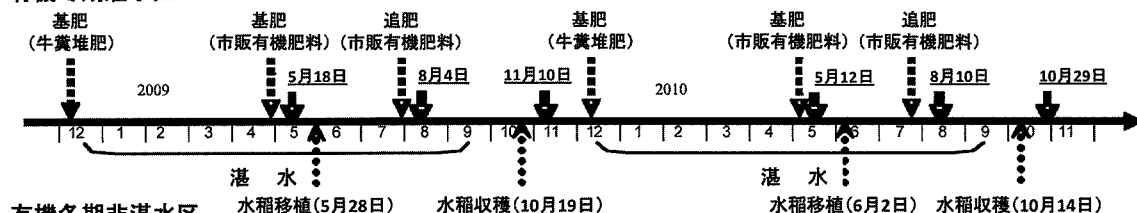
東北大学大学院農学研究科附属複合生態フィールド教育研究センター複合陸域生産システム部 (宮城県大崎市 [川渡], 非アロフェン質黒ボク土) の有機栽培試験水田圃場を用いた。本水田圃場では 2008 年より 12 月から 4 月の冬期の湛水处理が有機

栽培試験と組み合わせられ行われている。有機冬期湛水区, 有機冬期非湛水区, 慣行区 (各 2 反復, 1 区の面積 300~400m²) を対象として, 2009 年および 2010 年の水稻移植前, 生育中, 収穫後の計 6 回土壌を採取した。採取日は 2009 年 5 月 18 日, 8 月 4 日, 11 月 10 日, 2010 年 5 月 12 日, 8 月 10 日, 10 月 29 日である。圃場は 8 月には湛水状態, 10 月および 11 月には落水状態にあり, 5 月では有機冬期湛水区と有機冬期非湛水区は湛水状態, 慣行区は落水状態であった。圃場の水管理および栽培・施肥管理の詳細は図 1 に示した。土壌試料は各区の 4 か所より深さ 5~10 cm の作土層土壌を 100 ml 容のコアサンプラーで計 400~500 g 採取し混合した。なお, 2010 年 10 月 29 日には深さ 0~5 cm の作土表層部の土壌も同様に採取した。採取した土壌試料は研究室に持ち帰り, 2 mm の篩を通した後, 使用時まで -20 °C で保存した。

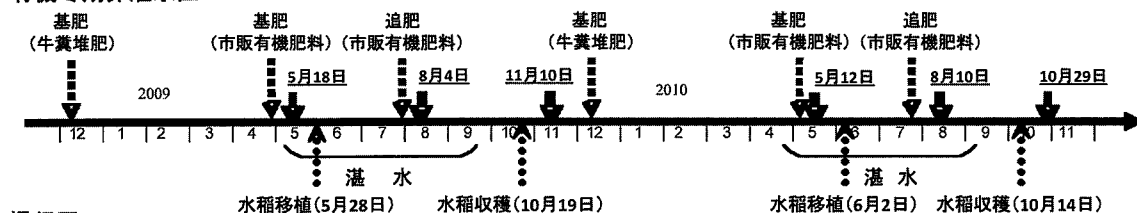
(2) 細菌および糸状菌群集の PCR-変性剤密度勾配ゲル電気泳動 (DGGE) 法による解析

森本・星野 (高田) (2008) を参考に, DNA 抽出

有機冬期湛水区



有機冬期非湛水区



慣行区

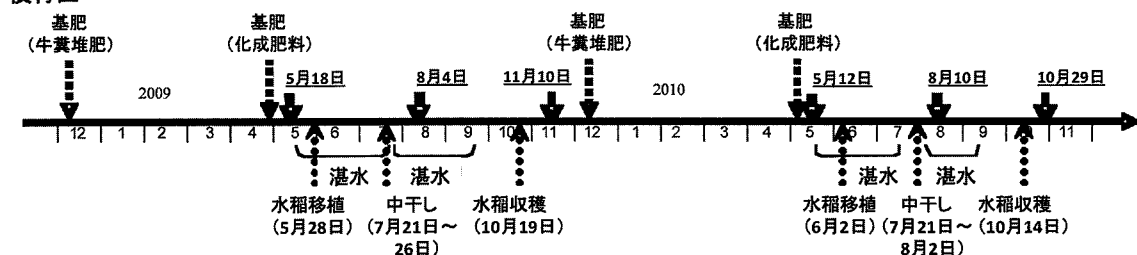


図1 供試圃場の水管理・施肥。土壌試料採取日は下線で示す
Liu et al. (2012) より許可を得て引用・改変。

と PCR-DGGE 解析を行った．土壤試料 0.4 g (湿重量) より FastDNA™ SPIN Kit for Soil (MP Biomedicals ; Santa Ana, CA, USA) を用いて DNA を抽出し, 16S rRNA および 18S rRNA 遺伝子を対象とした PCR-DGGE 法により細菌群集および糸状菌群集を解析した．PCR のプライマーとして細菌群集の解析には 357f-GC/517r (Muyzer et al. 1993), 糸状菌群集の解析には NS1/GCFung (May et al. 2001) を用いた．DGGE には Dcode Universal Mutation Detection System (Bio-Rad Laboratories ; Hercules, CA, USA) を用い, 変性剤濃度勾配と泳動温度・時間・電圧は細菌群集では 30~70 % (100 % : 7M 尿素, 40 %ホルムアミド [v/v]) と 60 °C・14 時間・100 V, 糸状菌群集では 20~45% と 60 °C・20 時間・50 V とした．泳動後ゲルを SYBR® Green I で染色して得たバンドパターンについて, 目視によりバンドの濃さを 4 段階で評価し, Black Box Program (青木 1996) を用いてクラスター分析および主成分分

析を行った．

2) 結果と考察

細菌群集の DGGE バンドパターンには有機冬期湛水区, 有機冬期非湛水区, 慣行区の間で差は見られず, 時期による顕著な変動も認められなかった (図 2 [なお, 各試験区の 2 反復間でバンドパターンに差が見られなかったため, それぞれ 1 圃場のパターンのみを示した])．DGGE パターンのバンドのデータに基づいたクラスター分析によっても時期や処理区に基づいて明確なクラスターに分かれる傾向は認められず, バンドパターン間の相違が小さいことが示唆された (図は示さず)．これらのことから, 冬期湛水や有機栽培が水田土壤の細菌群集構成に及ぼす影響は小さいと考えられた．

糸状菌群集の DGGE バンドパターンには圃場の湛水・落水の影響があり変動が見られた (図 3)．DGGE パターンのバンドのデータに基づいた主成分分析では, 2009 年および 2010 年ともに第一主成

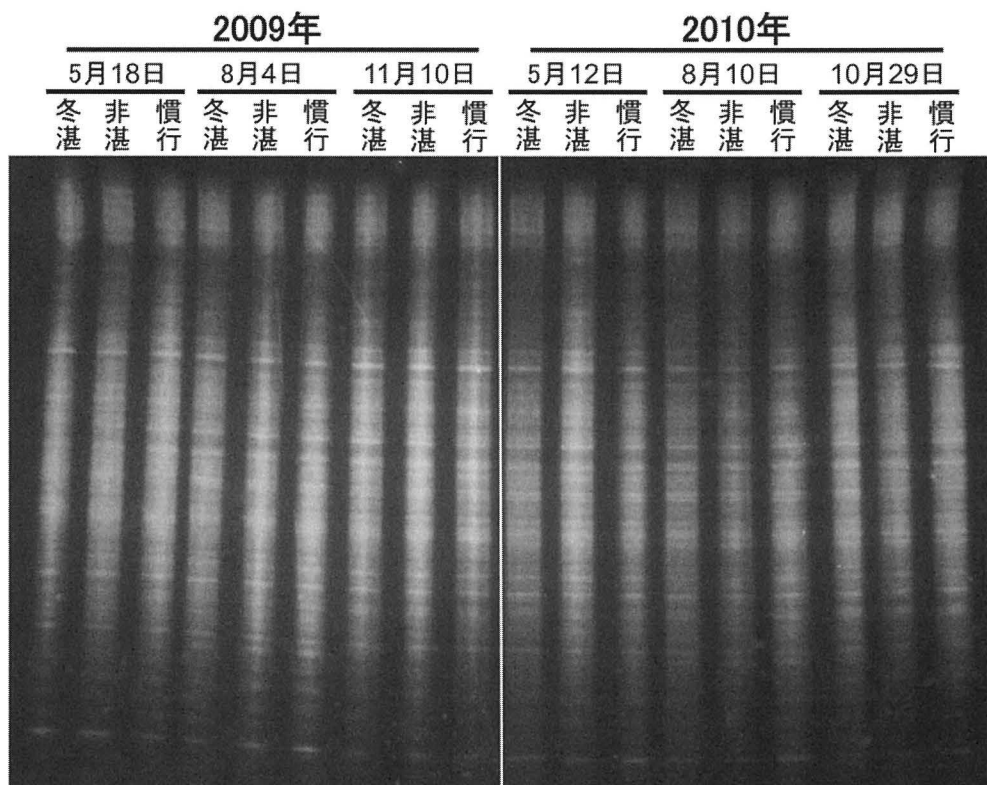


図 2 作土層土壤 (深さ 5~10cm) の細菌群集の DGGE バンドパターン
各処理区の 2 反復間でバンドパターンに大きな差が見られなかったため, それぞれ 1 圃場のパターンのみを示す．冬湛, 有機冬期湛水区 ; 非湛, 有機冬期非湛水区 ; 慣行, 慣行区．

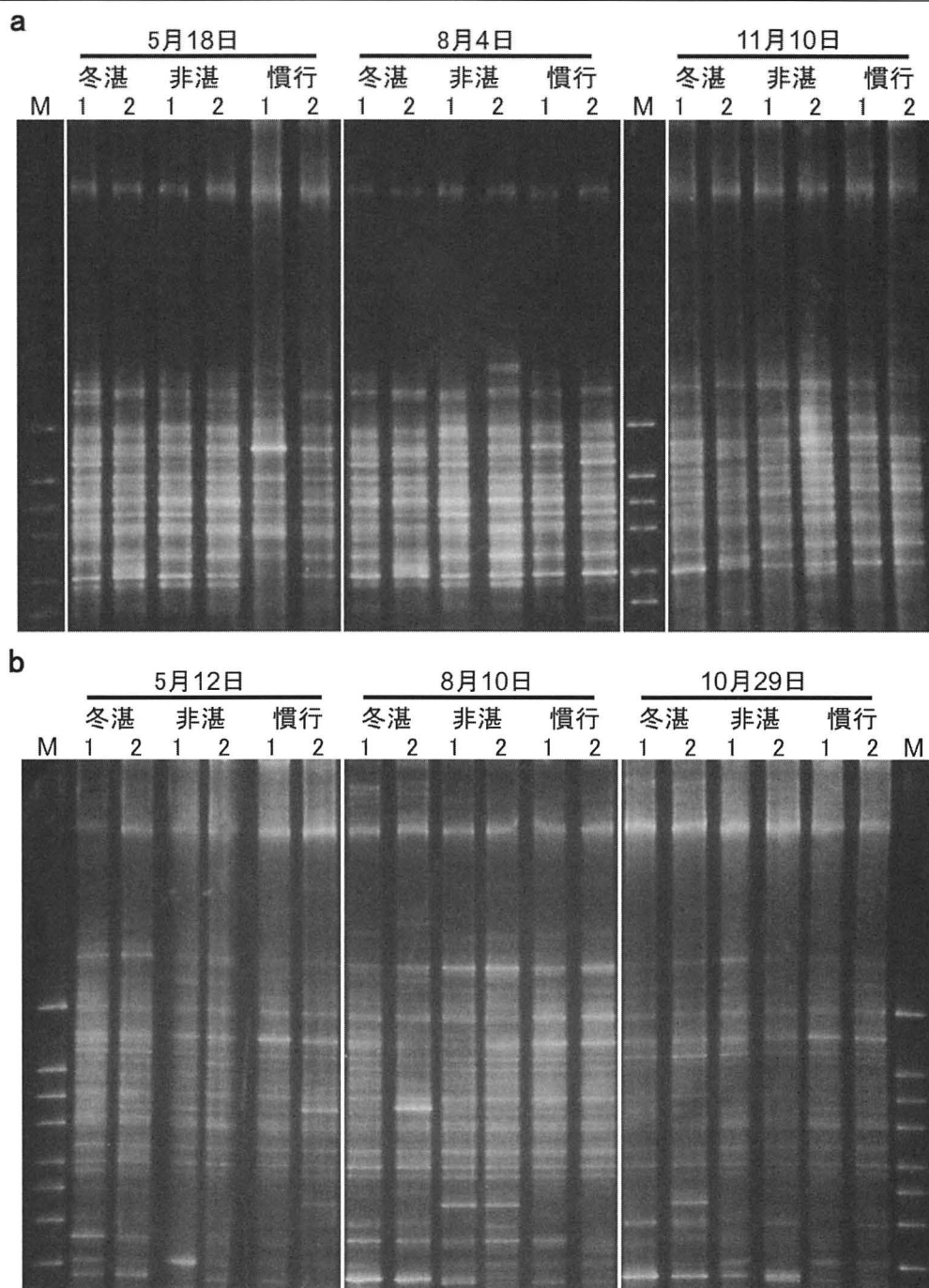


図3 作土層土壌（深さ5～10cm）の糸状菌群集のDGGEバンドパターン

(a) 2009年, (b) 2010年. 冬湛, 有機冬期湛水区; 非湛, 有機冬期非湛水区; 慣行, 慣行区;
M, マーカー; 1, 2は各処理区の反復を示す.

分により圃場の湛水状態と落水状態のバンドパターンが区分される傾向にあった(図4). DGGEパターンの7割程度のバンドが全サンプルに共通し

て存在しており, 主にバンドの濃淡の変化がそれらの変動に寄与していると考えられた. しかし, 細菌群集と同様に有機冬期湛水区, 有機冬期非湛水区,

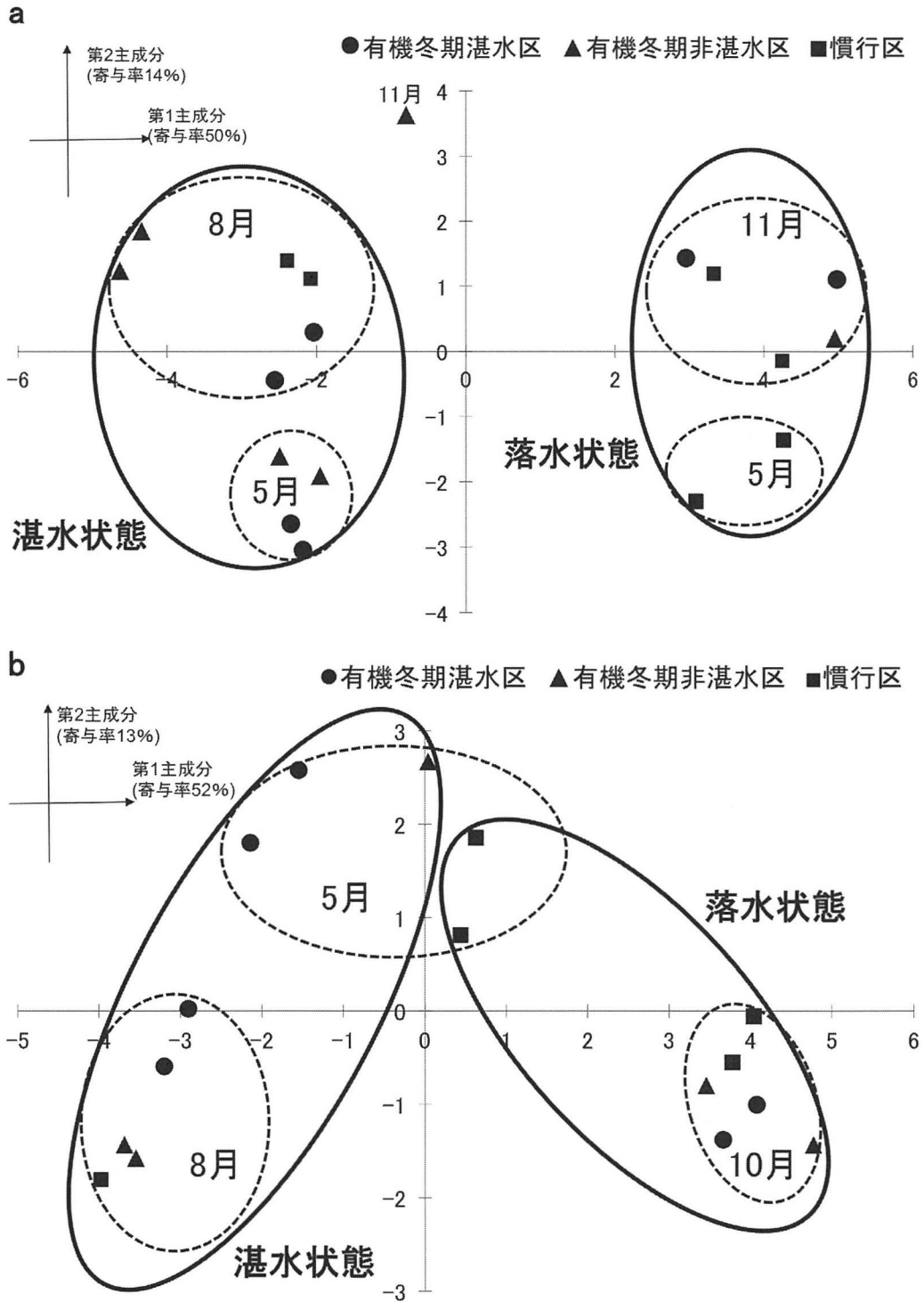


図4 作土層土壤（深さ5～10cm）の糸状菌群集のDGGEバンドパターンに基づく主成分分析
(a) 2009年, (b) 2010年.

慣行区の間でパターンに大きな差は見られなかった。水田土壌の糸状菌群集構成は採取時期や圃場の湛水・落水状態により変動が見られるものの、冬期湛水处理や有機栽培が群集構成に及ぼす影響はそれらの変動よりも小さいと考えられた。

作土層土壌では冬期湛水处理と有機栽培が水田の細菌および糸状菌群集構成に及ぼす影響は小さいことが明らかになったため、特徴的な微生物の生息部位として土壌表層に注目して解析を行った。2010年の落水後(10月29日)に採取した表層部(深さ0~5cm)の土壌について細菌および糸状菌群集のDGGE解析を行い、次表層(5~10cm)の土壌におけるDGGEバンドパターンと比較した。有機冬期湛水区の糸状菌群集のDGGEバンドパターンには表層と次表層との間で若干の違いが見られ(図は示さず)、パターンのバンドデータに基づくクラスター分析によっても表層の群集の違いが示された(図5, 6)。これは、有機冬期湛水区では長期間の湛水およびイトミミズ類の作用によるいわゆる“トロトロ層”の形成により表層には細粒質の粘土画分が多くなるのに対し、次表層には粗粒質の砂画分が多くなるためと考えられる。冬期湛水はこれらの土性の変化を介し、間接的に土壌表層部位の微生物群集構成の違いに影響を与えたと推察された。

以上のように、土壌表層部位の土性の変化に由来する間接的な影響を除けば、水田土壌の細菌および糸状菌群集に及ぼす冬期湛水处理の影響は小さいと考えられた。これまでに慣行水田圃場の作土層の細菌群集は中干しによる落水によってわずかな影響を受けたものの、年間を通じてきわめて安定していることが報告されており(Kikuchi et al. 2007)、長期間の湛水によっても水田土壌の細菌群集は大きな影響を受けないものと考えられた。一方、糸状菌群集については有機物施用や輪作間隔といった圃場管理の影響を大きく受け変化することが畑土壌を対象とした研究で明らかにされており(Suzuki et al. 2009, 2012)、本試験圃場では湛水・落水に伴う土壌条件の変化により群集構成が大きく影響を受けたと考えられた。この影響は2~3年間の冬期湛水处理が及ぼす影響よりもはるかに大きかったため、有機冬期湛水区と有機冬期非湛水区の間で糸状菌群集に差が認められなかったと推察された。

深さ0~5cmの土壌表層部に注目すると、有機冬期湛水区と有機冬期非湛水区・慣行区の間で細菌および糸状菌群集構成に違いが認められた。しかし、これは冬期湛水の直接的な微生物群集への影響というよりも、表層部の土性の変化を介した微生物群集への間接的な影響と考えられた。これらの変化は、

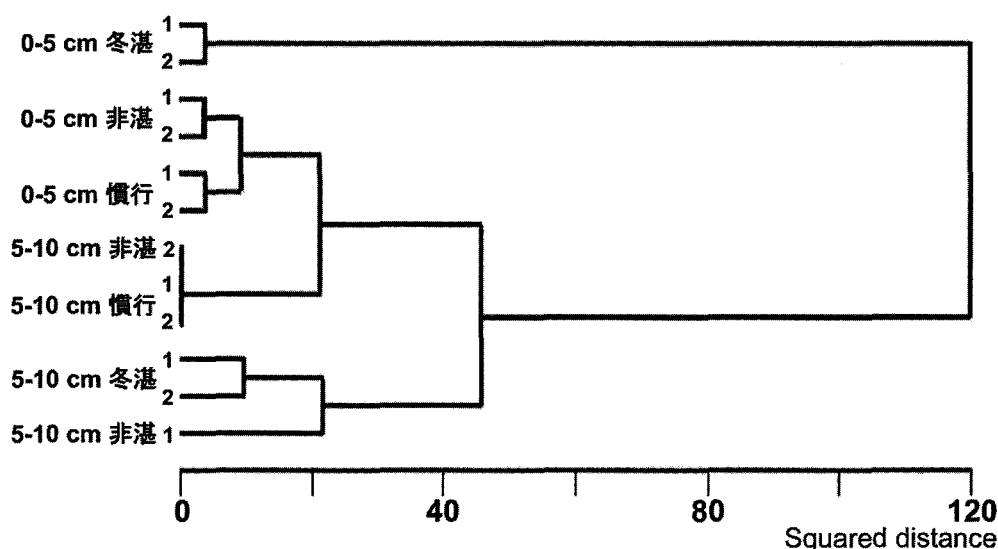


図5 表層部土壌(深さ0~5cm)および次表層部土壌(深さ5~10cm)(2010年10月29日採取)の細菌群集のDGGEバンドパターンに基づくクラスター分析(Ward法)
冬湛, 有機冬期湛水区; 非湛, 有機冬期非湛水区; 慣行, 慣行区; 1, 2は各処理区の反復を示す。

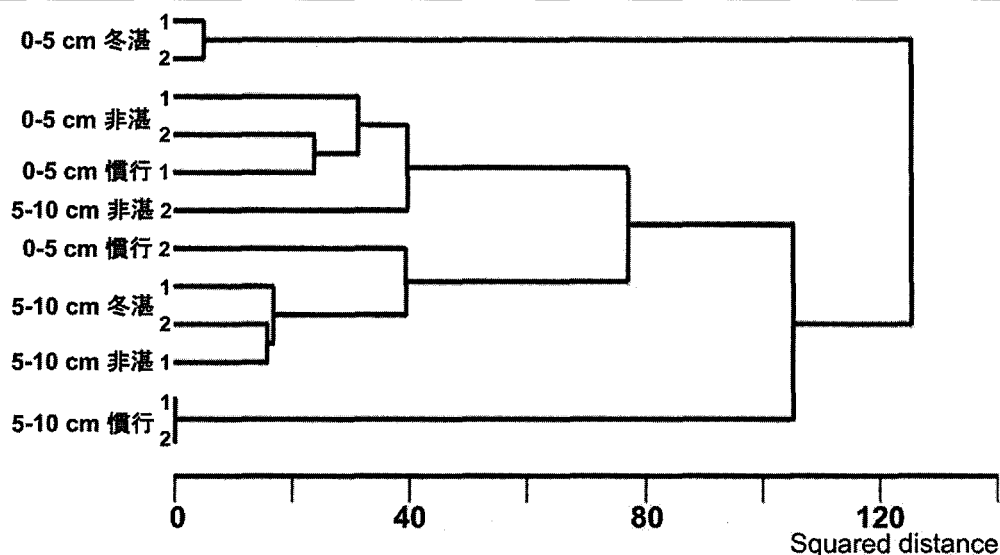


図6 表層部土壤（深さ0～5cm）および次表層部土壤（深さ5～10cm）（2010年10月29日採取）の糸状菌群集のDGGEバンドパターンに基づくクラスター分析（Ward法）
冬湛，有機冬期湛水区；非湛，有機冬期非湛水区；慣行，慣行区；1，2は各処理区の反復を示す。

水田土壤の表層部位で活動すると考えられる微生物群，例えばアンモニア酸化菌やメタン酸化菌などの群集構成や存在量に影響を及ぼし，物質代謝にも変化が生じる可能性が予想される。今後の調査が必要であろう。

なお，これらの結果は冬期湛水・有機栽培の試験開始2～3年後の比較的短期間の影響を解析したものである。今後，それらの処理がさらに長期間行われた場合に土壤微生物群集にどのような影響を及ぼすかについての解明が残されている。

3. 冬期湛水が水田土壤のメタン生成古細菌群集に及ぼす影響（Liu et al. 2012）

冬期湛水水田では収穫前後以外の期間は湛水下で管理されるため，年間の湛水期間が慣行栽培水田の2～3倍の約9ヶ月に達する。さらに，我が国では冬期湛水処理は有機栽培と組み合わせられて実施されることが多いため（嶺田ら 2009），冬期湛水処理前やイネの移植前に有機質肥料が施用される。これらの圃場管理は土壤の還元化とメタン生成基質の生成を促進すると考えられる。冬期湛水処理により稲作期間中あるいは年間のメタン発生量が増加すること（Fitzgerald et al. 2000, 松本ら 2002, 吉田ら 2010a, b）や冬期湛水期間中においてもメタン

発生が認められること（Cai et al. 2000, 2003；Fitzgerald et al. 2000）が報告されている。さらに，冬期非湛水水田よりも冬期湛水水田でより稲わらの分解が進んだ事例も知られている（Manley et al. 2005）。これらにより土壤中のメタン生成古細菌の活性が増加し，それに伴い群集構造が影響を受ける可能性が考えられる。そこで，2で用いた冬期湛水水田試験圃場のメタン生成古細菌の群集構成と存在量を調査し，冬期湛水処理の影響を解析した。

1) 方法

(1) 供試圃場と土壤試料

2に述べた圃場および土壤試料を供試した。

(2) メタン生成古細菌群集のPCR-DGGE法およびreal-time PCR法による解析

2で抽出したDNAを試料とし，細菌・糸状菌群集と同様にPCR-DGGE解析を行った。メタン生成古細菌の16S rRNA遺伝子を対象とし，PCRのプライマーには1106F-GC/1378Rを用い，変性剤濃度勾配と泳動温度・時間・電圧は32～62%と60℃・14時間・100Vとした（Watanabe et al. 2006）。

mcrA（methyl-coenzyme M reductase α subunit）遺伝子を対象としたreal-time PCR定量解析はWatanabe et al. (2010)に従って行った。プライマーには*mcrA-f/mcrA-r*（Luton et al. 2002）を用いた。3

菌株のメタン生成古細菌の分離株から調製した既知コピー数 ($10^1 \sim 10^7$ コピー) の *mcrA* (Watanabe et al. 2010) 遺伝子断片の混合物を用いて検量線を作成し、ブランクは滅菌水とした。

2) 結果と考察

メタン生成古細菌群集の DGGE バンドパターンには2年間にわたり、有機冬期湛水区、有機冬期非湛水区、慣行区の間で差は見られず、時期による変動も認められなかった (図7 [なお、各試験区の2反復間でバンドパターンに差が見られなかったため、それぞれ1圃場のパターンのみを示した])。これは、有機冬期湛水区と有機冬期非湛水区が湛水状態、慣行区が落水状態と圃場の水分状態が大きく異なる5月の試料でも同様であり、バンドパターンに違いは見られなかった。また、DGGE パターンのバンドのデータに基づいたクラスター分析によっても処理区や時期に基づいて明確なクラスターに分

かれる傾向は認められず、バンドパターンの類似性が高いことが示唆された (図は示さず)。これらのことから、冬期湛水や有機栽培が水田土壌のメタン生成古細菌群集構成に及ぼす影響は小さいと考えられた。

メタン生成古細菌の *mcrA* 遺伝子数には2年間にわたって有機冬期湛水区、有機冬期非湛水区、慣行区の間で有意な差は認められず、乾土 1 g 当たり $10^7 \sim 10^8$ コピーであった (図8)。また、遺伝子コピー数にサンプリング時期による違いも認められなかった。したがって、水田土壌のメタン生成古細菌群集の存在量に対しても冬期湛水や有機栽培は大きな影響を及ぼさないと考えられた。

慣行栽培が行われているイネーコムギの二毛作水田圃場で、土壌中のメタン生成古細菌群集構成と存在量が圃場の水管理に伴う水分状態の変化に関わらず年間を通じてきわめて安定していることが

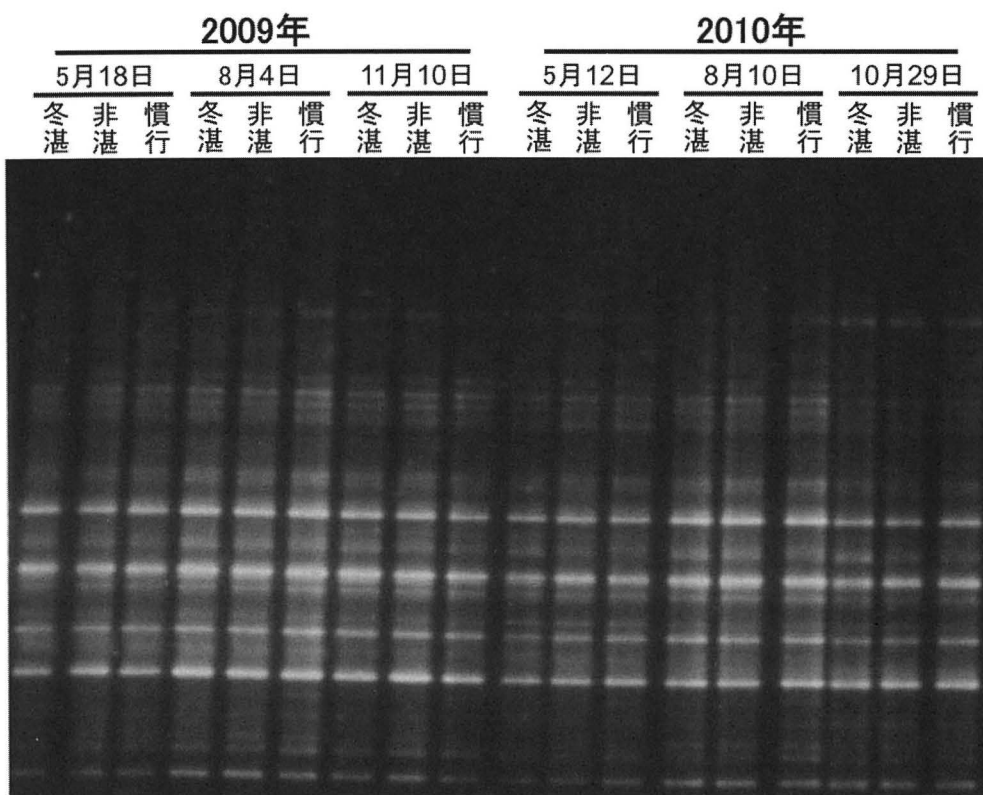


図7 作土層土壌 (深さ 5~10cm) のメタン生成古細菌群集の DGGE バンドパターン
各処理区の2反復間でバンドパターンに差が見られなかったため、それぞれ1圃場のパターンのみを示す。冬湛, 有機冬期湛水区; 非湛, 有機冬期非湛水区; 慣行, 慣行区。Liu et al. (2012) より許可を得て引用・改変。

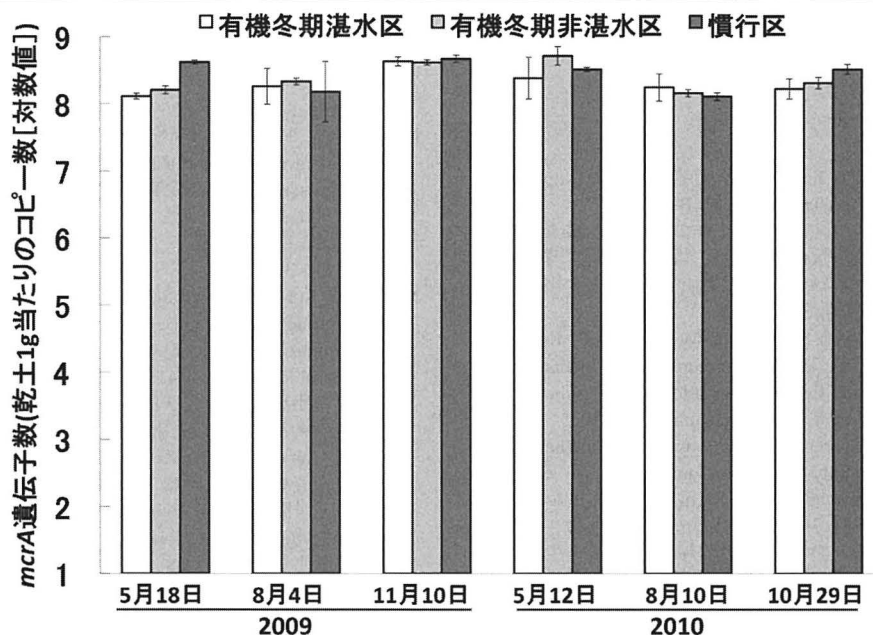


図8 作土層土壤(深さ5~10cm)のメタン生成古細菌群集の *mcrA* 遺伝子コピー数
縦棒は各処理区の2反復間の平均値の幅を示す。Liu et al. (2012) より許可を得て引用・改変。

報告されている(Asakawa and Hayano 1995; Asakawa et al. 1998; Watanabe et al. 2006, 2007)。また、気象庁のアメダスデータによると、調査圃場周辺地域の冬期湛水期間(12月~3月)の気温は-1~3℃程度と低かったため、冬期湛水前に施用された有機物の分解は冬期湛水期間中にはほとんど進まなかったと考えられる。これらのことにより、有機冬期湛水区では水稲移植前の4月~5月にはメタン発生が認められ、年間のメタン発生量が有機冬期非湛水区と慣行区よりも多いことが測定されているものの(未発表データ[秋田, 2011])、冬期湛水处理により水田土壤のメタン生成古細菌の群集構成と存在量は影響をほとんど受けなかったと考えられる。

Watanabe et al. (2009) が慣行栽培下の二毛作水田のメタン生成古細菌の *mcrA* 遺伝子の転写産物の解析により報告しているように、活性を有している菌群が変化し、処理区間のメタン発生量の違いに関係していた可能性が考えられる。今後 RNA レベルの解析が必要であろう。また、今回は調査を行っていないが、メタンの消失に関わる好気性細菌であるメタン酸化細菌が冬期湛水处理により影響を受け、メタン発生量に影響を及ぼしている可能性も考えられ、

今後の解析が必要と考えられる。

4. まとめ

冬期湛水は表層部土壤の土性の変化を介した間接的な影響を除けば、水田作土中の土壤微生物(細菌、糸状菌、メタン生成古細菌)の群集構成と存在量に大きな影響を及ぼさないことが明らかになった。これは水田生態系の持続性や恒常性を土壤生物性の面から示唆している知見ではないかと考えられ、環境保全や生物多様性の保全といった水田の機能を維持するという視点からは望ましいと評価できよう。ただし、今回の結果は開始後3年程度の試験圃場で得られたものであり、さらに長期間にわたり影響のモニタリングを続ける必要がある。また、土壤表層部位に特異的に生育し、物質代謝などの機能を有する微生物群についても影響の解析を行う必要がある。

謝辞

本研究の一部は農林水産省農林水産技術会議事務局のプロジェクト研究「土壤微生物相の解明による土壤生物性の解析技術の開発」(eDNA-07-101-1)

およびJSPS 科研費 23580089 の助成を受けて行われた。記して謝意を表する。

文献

- 青木繁伸 1996. Black-box: WWW でデータ解析. <http://aoki2.si.gunma-u.ac.jp/BlackBox/BlackBox.html>
- 浅川 晋 2015. 田んぼの土つくりの主役は、酸素を利用しない嫌気性の微生物。夏原由博編著 にぎやかな田んぼ イナゴが跳ね、鳥は舞い、魚の泳ぐ小宇宙. pp.72-78. 京都通信社, 京都。
- Asakawa, S., Akagawa-Matsushita, M., Morii, H., Koga, Y., and Hayano, K. 1998. Communities of methanogenic bacteria in paddy field soils with long-term application of organic matter. *Soil Biol. Biochem.* 30: 299-303.
- Asakawa, S. and Hayano, K. 1995. Population of methanogenic bacteria in paddy field soil under double cropping conditions (rice-wheat). *Biol. Fertil. Soils* 20: 113-117.
- 浅川 晋・村瀬 潤 2010. 水田の土壌環境と微生物相。根本正之編著 身近な自然の保全生態学—生物の多様性を知る—。pp.149-173. 培風館, 東京。
- Cai, Z.C., Tsuruta, H., Gao, M., Xu, H., and Wei, C. 2003. Options for mitigating methane emission from a permanently flooded rice field. *Global Change Biol.* 9: 37-45.
- Cai, Z.C., Tsuruta, H., and Minami, K. 2000. Methane emission from rice fields in China: Measurements and influencing factors. *J. Geophys. Res.* 105: 17231-17242.
- Fitzgerald, G.J., Scow, K.M., and Hill, J.E. 2000. Fallow season straw and water management effects on methane emissions in California rice. *Global Biogeochem. Cycles* 14: 767-776.
- 伊藤豊彰・川瀬莉奈・原 宏太・今 智穂美 2011. 冬期湛水・有機栽培水田の土壌動物—イトミミズの生態と機能—。土と微生物 65 : 94-99.
- Kikuchi, H., Watanabe, T., Jia, Z., Kimura, M., and Asakawa, S. 2007. Molecular analyses reveal stability of bacterial communities in bulk soil of a Japanese paddy field: Estimation by denaturing gradient gel electrophoresis of 16S rRNA genes amplified from DNA accompanied with RNA. *Soil Sci. Plant Nutr.* 53: 448-458.
- Koger, C.H., Zablotowicz, R.M., Weaver, M.A., Tucker-Patterson, M.R., Krutz, J.L., Timothy W. Walker, T.W., and Street J.E. 2013. Effect of winter flooding on weeds, soybean yield, straw degradation, and soil chemical and biochemical characteristics. *Am. J. Plant Sci.* 4: 10-18.
- Liu, D., Suekuni, C., Akita, K., Ito, T., Saito, M., Watanabe, T., Kimura M., and Asakawa, S. 2012. Effect of winter-flooding on methanogenic archaeal community structure in paddy field under organic farming. *Soil Sci. Plant Nutr.* 58: 553-561.
- Lopes, A.R., Faria, C., Prieto-Fernández, Á., Trasar-Cepeda, C., Manaia, C.M., and Nunes, O.C. 2011. Comparative study of the microbial diversity of bulk paddy soil of two rice fields subjected to organic and conventional farming. *Soil Biol. Biochem.* 43: 115-125.
- Luton, P.E., Wayne, J.M., Sharp, R.J., and Riley, P.W. 2002. The *mcrA* gene as an alternative to 16S rRNA in the phylogenetic analysis of methanogen populations in landfill. *Microbiology.* 148: 3521-3530.
- Mäder, P., Fließbach, A., Dubois, D., Gunst, L., Fried, P., and Niggli, U. 2002. Soil fertility and biodiversity in organic farming. *Science* 296: 1694-1697.
- Manley, S.W., Kaminski, R.M., Reinecke, K.J., and Gerard, P.D. 2005. Agronomic implications of waterfowl management in Mississippi ricefields. *Wildlife Soc. Bull.* 33: 981-992.
- 松本次郎・南山泰宏・赤堀 伸・高橋克征 2002. 有機物施用水田におけるメタンの発生抑制対策. *土肥誌* 73 : 315-318.
- May, L.A., Smiley, B., and Schmidt, M.G. 2001. Comparative denaturing gradient gel electrophoresis analysis of fungal communities associated with whole plant corn silage. *Can. J. Microbiol.* 47: 829-841.
- 嶺田拓也・小出水規行・石田憲治 2009. 水田における冬期湛水の導入による持続的な多面的機能の発揮 宮城県大崎市伸萌地区の生物相保全機能を事例とした考察. *農村計画学会誌* 27 : 335-340.
- 森本 晶・星野(高田)裕子 2008. PCR-DGGE 法による土壌生物群集解析法 (1) 一般細菌・糸状菌相の解析. *土と微生物* 62 : 63-68.
- Muyzer, G., de Waal, E.C., Uitterlinden, A.G. 1993. Profiling of complex microbial populations by denaturing gradient gel electrophoresis analysis of polymerase chain reaction-amplified genes coding for 16S rRNA. *Appl. Environ. Microbiol.* 59: 695-700.
- 中西康介・沢田裕一 2015. 水生生物のいのちの連鎖の鍵を握る水 ふゆみず田んぼと湿田の特徴。夏原由博編著 にぎやかな田んぼ イナゴが跳ね、鳥は舞い、魚の泳ぐ小宇宙. pp.102-108. 京都通信社, 京都。
- 中西康介・田和康太・蒲原 漢・野間直彦・沢田裕一 2009. 栽培管理方法の異なる水田間における大型水生動物群集の比較. *環動昆* 20 : 103-114.
- 西田瑞彦 2015. 田んぼと水田土壌が支えてきた「もの」と「こと」。日本土壌肥科学会編 世界の土・日本の土は今 地球環境・異常気象・食糧問題を土からみると. pp.79-89. 農村漁村文化協会, 東京。
- Suzuki, C., Nagaoka, K., Shimada, A., and Takenaka, M. 2009. Bacterial communities are more dependent on soil type than fertilizer type, but the reverse is true for fungal communities. *Soil Sci. Plant Nutr.* 55: 80-90.
- Suzuki, C., Takenaka, M., Oka, N., Nagaoka, K., and Karasawa, T. 2012. A DGGE analysis shows that crop rotation systems influence the bacterial and fungal communities in soils. *Soil Sci. Plant Nutr.* 58: 288-296.
- Watanabe, T., Kimura, M., and Asakawa, S. 2006. Community structure of methanogenic archaea in paddy field soil under double cropping (rice-wheat). *Soil Biol. Biochem.* 38: 1264-1274.
- Watanabe, T., Kimura, M., and Asakawa, S. 2007. Dynamics of methanogenic archaeal communities based on rRNA analysis and their relation to methanogenic activity in Japanese paddy field soils. *Soil Biol. Biochem.* 39: 2877-2887.
- Watanabe, T., Kimura, M., and Asakawa, S. 2009. Distinct members of a stable methanogenic archaeal community transcribe *mcrA* genes under flooded and drained conditions in Japanese paddy field soil. *Soil Biol. Biochem.* 41: 276-285.
- Watanabe, T., Wang, G., Taki, K., Ohashi, Y., Kimura, M., and

- Asakawa, S. 2010. Vertical changes in bacterial and archaeal communities with soil depth in Japanese paddy fields. *Soil Sci. Plant Nutr.* 56: 705-715.
- 吉田 磨・藤原沙弥香・牛山克己・今井 翔・窪田千穂 2010a. 北海道美唄市宮島沼周辺の早期湛水・有機栽培水田におけるメタン放出. *J. Rakuno Gakuen Univ.* 34 : 211-221.
- 吉田 磨・澤本卓治・藤原沙弥香・小林香雪・今井 翔・窪田千穂・岡崎祐樹・荻本拓史・牛山克己 2010b. 北海道美唄市宮島沼周辺の早期湛水・有機栽培水田における 2008-2009 年のメタン放出. *J. Rakuno Gakuen Univ.* 35 : 93-102.