

**3P-151 Construction of artificial organic soil based on SOFIX (soil fertile index)**

○Kanyou Ngamsomsuke, Sachie Horii, Masaki Mukai, Dinesh Adhikari, Motoki Kubo  
(Dept. Biotechnol., Fac. Life Sci., Ritsumeikan Univ.)  
kubo@sk.ritsumei.ac.jp

[Introduction] Nitrogen (N) circulation is one of the most important microbial processes in an organic agricultural system. Recently a novel method "Soil Fertile Index (SOFIX)" was developed to evaluate the soil fertility taking into consideration the several chemical and microbial characteristics. This study was carried out to prepare a SOFIX database of agricultural soils and construct the artificial soil for plant production.

[Methods and results] A total of 126 soil samples were collected and analyzed for total carbon (C), total N, C/N ratio, total bacterial number,  $\text{NH}_4^+$  oxidizing activity, and  $\text{NO}_2^-$  oxidizing activity. Only 23 samples showed a high nitrification activity in which the total bacteria was above  $4.0 \times 10^8$  cells  $\text{g}^{-1}$  soil, and the  $\text{NH}_4^+$  and  $\text{NO}_2^-$  oxidation activities were above 50%. The SOFIX values of C/N ratio between 8-15, the amounts of TC and TN of more than 30,000 mg  $\text{kg}^{-1}$  and 3,000 mg  $\text{kg}^{-1}$ , respectively, were considered favorable for the higher nitrification activities in these soils. Based on these values and SOFIX guidelines, artificial soils were constructed by mixing various materials including polyvinyl alcohol (PVA) sponge, zeolite, verdenite, perlite, vermiculite, black volcanic soil, and red soil at various ratios amended with cow manure 10% (w/v). When komatsuna (*Brassica rapa*) was cultivated in these soils under controlled conditions, the combination of verdenite:zeolite:PVA mixed at the ratio of 81:9:10 (v/v/v) gave the highest plant growth with an average of 29.6% increase compared to a commercial chemical soil.

**Construction of artificial organic soil based on SOFIX (soil fertile index)**

○Kanyou Ngamsomsuke, Sachie Horii, Masaki Mukai, Dinesh Adhikari, Motoki Kubo  
(Dept. Biotechnol., Fac. Life Sci., Ritsumeikan Univ.)

**Key words** nitrogen circulation activity, SOFIX, artificial soil, *Brassica rapa*

**3P-153 農地土壌における土壌肥沃度（全炭素量、全窒素量、C/N比）の解析と、硝化活性の促進**

○向 真樹, 松野 敏英, Adhikari Dinesh, 久保 幹  
(立命館大院・生命科学)  
kubo@sk.ritsumei.ac.jp

**【背景・目的】**

環境微生物は、土壌中の様々な物質循環に関与している。肥沃な農地土壌は、環境微生物による物質循環が良好であることが知られている。特に、農地土壌では、窒素循環の指標の一つである硝化活性が重要である。硝化活性は、土壌中の総炭素量 (TC)、総窒素量 (TN)、C/N比と密接な関係があることが知られている。本研究では、農地土壌中の環境微生物数、炭素、窒素、炭素と窒素の存在割合を分析し、これらのパラメータが土壌の硝化活性に与える影響を評価した。

**【方法・結果】**

農地土壌 126 サンプルについて、総細菌数、TC、TN、C/N比、亜硝酸酸化活性、アンモニア態窒素量、硝酸態窒素量、亜硝酸態窒素量、アンモニア態窒素量の減少比、亜硝酸態窒素の減少比等の項目を計測し、それぞれの項目間の相関関係を分析した。TCと総細菌数との相関係数 ( $R^2$ ) は 0.14 であった。総細菌数と TC および TN との  $R^2$  はそれぞれ 0.26、0.23 であったため、総細菌数と TC および TN との間には相関関係が示唆された。126 サンプル中 81 サンプル (64%) で C/N 比が 8 ~ 15 の間に分布していた。我々は、これらの分析データから、硝化活性が良好な農地土壌を、TC : 30,000mg/kg soil, TN : 3,000mg/kg soil, C/N : 8 ~ 15 と定義した。これらの定義が農地の硝化作用に良好な条件であるかを確かめるために、従来の施肥基準で化学肥料を施肥した土壌 (従来土壌) と、TC、TN、C/N比を調整した土壌 (調整土壌) を作成し、それぞれ硝化活性を比較する実験を行った。この実験で、従来土壌よりも、調整土壌で高い硝化活性が見られた。

**Analysis of soil fertilities (TC, TN, and C/N ratio) in agricultural soils and improvement of nitrification**

○Masaki Mukai, Toshihide Matsuno, Dinesh Adhikari, Motoki Kubo  
(Grad. Sch. Life Sci., Ritsumeikan Univ.)

**Key words** nitrification, carbon/nitrogen ratio

**3P-152 Isolation and identification of phytate degrading bacteria and their contribution to phytate mineralization in soil**

○Dinesh Adhikari, Sachie Horii, Masaki Mukai, Motoki Kubo  
(Dept. Biotechnol., Fac. Life Sci., Ritsumeikan Univ.)  
kubo@sk.ritsumei.ac.jp

[Introduction] Phosphorus (P) is one of the most limiting nutrients for plant growth in agricultural soils. A better understanding of P cycling in an agricultural soil is necessary for the sustainable management of this nutrient. Thus, this study was carried out to investigate various chemical and microbial aspects of P cycling in agricultural soils.

[Methods and results] Amounts of total, organic and inorganic P in 10 agricultural soil samples were analyzed. Since a large proportion (57.8%) of the total P in the soils was in organic form, a method was developed to evaluate the mineralization rate of organic P, by adding phytate in the soil, and analyzing the change in water soluble P content after incubating it for 3 days. Moreover, the relationship between the phytate mineralization activity and bacterial biomass in 60 agricultural soils was also investigated, where the activity ranged from 0 to 61.7% (average: 18.8%), with a  $R^2$  value of 0.11. Phytate degrading bacteria were isolated from the soil environment, and identified as *Pseudomonas rhodesiae* JT29, JT32, JT33, JT34, JT35, *Pseudomonas* sp. JT30, and *Flavobacterium johnsoniae*, JT31. When *P. rhodesiae* JT29 and *F. johnsoniae* JT31 were inoculated into the agricultural soils, the phytate mineralization activities were increased up to 16 and 27 times, respectively.

[Conclusions] Promotion of effective phytate degrading bacterial strains could improve the P management in agricultural soils in a sustainable way.

**Isolation and identification of phytate degrading bacteria and their contribution to phytate mineralization in soil**

○Dinesh Adhikari, Sachie Horii, Masaki Mukai, Motoki Kubo  
(Dept. Biotechnol., Fac. Life Sci., Ritsumeikan Univ.)

**Key words** phytate mineralization activity, phytate degrading bacteria, *Pseudomonas*, *Flavobacterium*

**3P-154 次世代シーケンス解析における解析塩基長とデータベースが細菌相解析に及ぼす影響**

○富田 順子, 高橋 俊輔, 西岡 かおり, 久田 貴義, 西島 美由紀  
(テクノスルガ・ラボ)  
junko.tomita@tecsrg.co.jp

次世代シーケンサー (NGS) による細菌相の解析は、従来のクローニングや DGGE よりも短時間で希少な細菌の検出も可能であることから、近年、最も有用な手法として注目されている。さらに、NGS のバージョンアップに伴い解析塩基長も延長されていることから、今後、菌種推定の精度も増すことが期待される。他方、NGS により得られた大量のデータを活かし切れないケースも多い。現在、無償で提供される種々のソフトには、種まで推定するものは無いが、細菌相解析では特に種の識別は重要である。そこで、16S rDNA を対象とした NGS 解析における解析塩基長およびデータベースが細菌相の種の識別に及ぼす影響について比較検証した。データベースは、細菌の基準株の塩基配列のみを収録した当社アポロン DB および RDP Classifier を比較対象として用いた。

人の唾液および糞便から DNA を抽出し、16S rDNA の 200bp (V3 領域)、300bp (V4 領域)、450bp (V3+V4 領域) について PCR 増幅を行い、これを用いて Miseq により解析を行った。Miseq により得られたデータを、それぞれのデータベースにより相同性検索を行い、細菌相を比較した。その結果、RDP Classifier による解析では、属レベルの分類群の推定に止まるが、アポロン DB では、種レベルでの解析が可能となった。また、アポロン DB を用いた場合では、解析塩基長が長くなるにつれ、種の識別の割合が高くなった。このことから、より長い解析塩基長とアポロン DB を NGS 解析に用いることで、細菌相解析における菌種推定の精度が上がると思われる。

**Effects the length of 16S rDNA sequences and databases on the bacterial community analysis by NGS.**

○Tomita Junko, Takahashi Shunsuke, Nishioka Kaori, Hisada Takayoshi, Nishijima Miyuki  
(TechnoSuruga Laboratory Co., Ltd.)

**Key words** next generation sequencer, bacterial community analysis