Methane-oxidizing bacteria in rice paddy field ecosystem: investigation bycultivation method and Fluorescence *in situ*Hybridization (FISH)

ディアノウ ディエリ<sup>1</sup>、上野 千穂子<sup>2</sup>、小木曽 拓也<sup>2</sup>、木村 眞人<sup>2</sup>、○浅川 晋<sup>2</sup>
<sup>1</sup>ブルキナファソ国立科学技術研究センター、<sup>2</sup>名古屋大院生命農

Key words: Methane-oxidizing bacteria, Rice paddy field ecosystem, Cultivation, FISH

Rice paddy field isone of the major sources of atmospheric methane and methane-oxidizing bacteria (MOB)could play an important role in the mitigation of its emission from paddyfields. Based on phylogenetic, physiological, morphological, and biochemicalcharacteristics, MOB are divided into two major subclasses: theγ-andα-subclasses of the Proteobacteria anddesignated as type I and type II MOB, respectively. Studies based on molecularapproaches (PLFA, FISH, DGGE, RFLP) provided accurate information on *in situ*MOB diversity, communitystructure and abundance in rice paddy fields. However, the physiological traitsand the species composition of MOB populations in this ecosystem are notdocumented well. This study aimed to identify type I and type II MOB from ricefields by cultivation and FISH techniques.

Weobtained 18 MOB cultures from floodwater, soil, surface soil, rhizosphere soil, roots, stems and stumps in a Japanese rice field. Based on the pmoAsequence analysis, five cultures belonged to Methylomonas and Methylocal dum (type I MOB), and thirteen to Methylocystis (type II MOB). Strain FW12E-Y, closely related to Methylomonas methanica, was successfully isolated from the floodwater. FISH applied to the compartments using group-specific, 16S rRNA-targeted probes (M $\alpha$ 450,M $\gamma$ 84 and M $\gamma$ 705) revealed the presence of both type I and type II MOB, although the methods of cells extraction and purification from the soil samples needed to be improved.

Inconclusion, cultivable type I and type II MOB were present in all the paddyfield compartments. Further investigation is needed to characterize these novelisolates, especially the type I MOB. asakawa@agr.nagoya-u.ac.jp

1A-2 □ □頭発表

インドネシア・マレーシアの油ヤシプランテーション土壌中の有機物分解と温室効果ガス生成 ○大久保 史奈¹、犬伏 和之¹、川上 明日香²、ジュマディ オスラン³、メリング ルリ⁴、河西 英一⁵ ¹千葉大院園芸研究科、²千葉大園芸学部、³マカッサール大理数学部、⁴サラワク農業省、⁵IHI

Key words: Empty Fruit Bunch, greenhouse gas, organic matter decomposition, soil enzyme activity

東南アジアでは、主要産業のひとつとして油ヤシによるパーム油産業があるが、パーム油製造過程でアブラヤシ空果房(EFB: Empty Fruit Bunch)が未利用バイオマスとして大量に発生し野外廃棄されているため、環境への影響が問題視されている。特に、EFB は炭素含有率・含水率が高いため、野外放置処理が土壌微生物の活動を活発化させ、有機物分解の最終生産物のひとつであるメタンや二酸化炭素などの温室効果ガス生成を促進させることが危惧される。そこで本研究では、現地の EFB 廃棄状態・施肥をモデルとした培養試験を行い、EFB・尿素添加が土壌の有機物分解、温室効果ガス生成に与える影響、およびこれらに関与する微生物について調査した。【材料および方法】インドネシア、マレーシアのアブラヤシプランテーション内の土壌 5g に対し、EFB 0.5g(土壌重量の 10%)、尿素溶液 0.5mL、滅菌水 0.5mL をそれぞれ添加した試験区を設け、30℃、暗所、好気的条件の下、11 週間の試験管培養実験を行なった。1 週間ごとに温室効果ガス(メタン、二酸化炭素、亜酸化窒素)発生量を測定し、また、土壌理化学性、EFB 分解に関わる酵素、微生物群集構造の経時的変化を調査した。【結果】EFB(含水率 63.3%)の土壌への添加により、EFB 由来の水分が加わり、一時的に嫌気的な土壌微環境が引き起こされ、メタン生成が増大した。特に、無機質のインドネシア土壌(全炭素 0.91%)でメタン生成量が最大となった。一方で泥炭土からなる有機質のマレーシア土壌(全炭素 47.9%)の方が、二酸化炭素放出量・酵素活性ともに高くなった。

f-okubo@graduate.chiba-u.jp