

東南アジアの水田土壌中における 窒素固定微生物の分布

小林達治・高橋英一

Distribution of the Nitrogen-Fixing Microorganisms in the Paddy Soils of Southeast Asia

by

Michiharu KOBAYASHI and Eiichi TAKAHASHI

1 はじめに

東南アジアにおける米の栽培はほとんど水田土壌を用いて行なわれ、またほとんど無肥料に近い状態で栽培が続けられているが、長年月にわたり低収量ながら収穫を上げてきた。

植物の栄養素として最も大切な窒素は一般的に言って土壌から流亡したり脱窒しやすく、また耕作を通してどんどん取去られてゆく。

東南アジアの水田地帯における土壌環境では窒素供給は雨水などから若干供給されることはあっても大部分微生物による窒素固定によるものと考えられるが、それに関する報告はほとんどなく、それら熱帯地方における稲作技術の改良方法をするには是非ともまずその分布状態から研究を進める必要があるように思われた。

ここに報告する結果は1965年8月の1カ月間にわたり調査した微生物数の分布結果で、バンコック市にあるウイルス研究所で

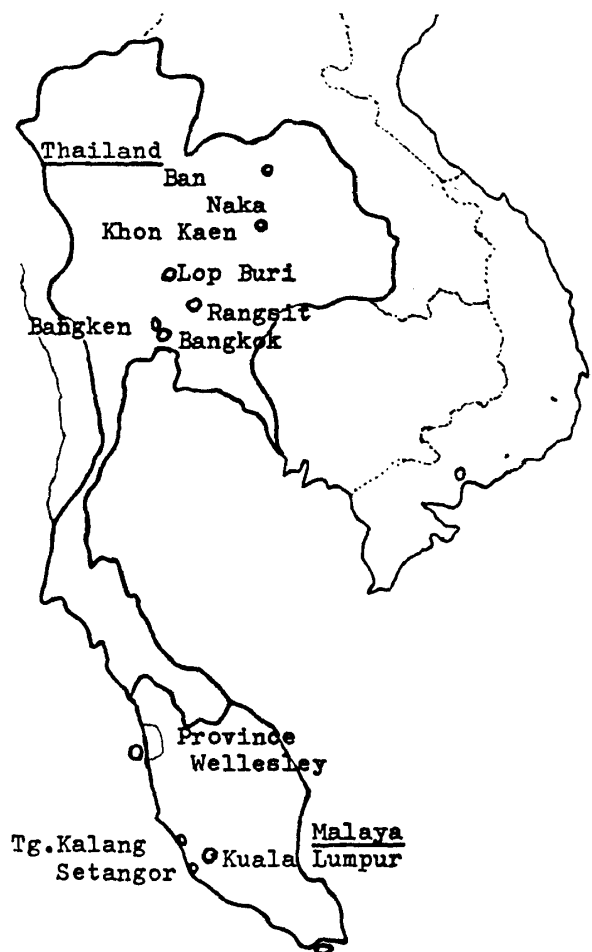


Fig. 1 Sampling Sites in Thailand and Malaya

実験を行ない, また一部のものについては土壌を日本へ持帰り詳細に検討したものである。対象とした土壌はタイ国6点, マラヤ14点, フィリピン4点, 台湾1点であった。なおタイとマラヤにおける調査地点は図1のごとくである。

2 実験方法

供試土壌: 表層土(深さ3~5cm位まで)を使用した。

微生物の種類: 表1に示してあるような培養基組成で8種類について検討を加えた。菌種の確認のために光学顕微鏡を使用した。

微生物数: 希釈法が使用された。硝化菌については培養液中に生産された亜硝酸を Sulfanilamide 法により発色さすことにより確認した。¹⁴⁾

熱帯地方においてはタイ国北東部のごとく雨期と乾期が明瞭に区別され人工灌漑水の使用が可能でない所は別としてほとんど一年を通じて栽培しうるものである。従って採取した時の水稻生育時期は表2に示すごとく全く異ったものであった。

フィリピンにおける供試土壌は International Rice Research Institute において実験中の土壌と全く同じものを使用した。(1964, Annual Report⁸⁾ 参照) 台湾の土壌は台北市郊外にある一農家の水田より採取したものであった。

3 結果

タイ

表3に示してあるように窒素固定 Photoautotrophs の計測値は $10^3 \sim 10^4$, 非窒素固定 Photoautotrophs は $10^3 \sim 10^5$ であった。光合成細菌のうち Thiorhodaceae は $+ \sim 10^1$ (+は存在を意味する), Athiorhodaceae は $10^3 \sim 10^4$ であった。窒素固定有機栄養細菌では好気性のものが $10^4 \sim 10^6$, 嫌気性のものが $10^3 \sim 10^6$ であった。硝化菌については $10^3 \sim 10^6$, タン白分解菌 $10^4 \sim 10^6$ であった。一般的にいてタイ国では微生物数はむしろ低いということが出来よう。

マラヤ

表3に示されるように窒素固定 Photoautotrophs は $10^4 \sim 10^6$, 非窒素固定 Photoautotrophs は $10^3 \sim 10^5$ であった。光合成細菌のうち Thiorhodaceae は $+ \sim 10^2$, Athiorhodaceae は $10^1 \sim 10^5$ であった。窒素固定有機栄養細菌では好気性のものが $10^3 \sim 10^7$, 嫌気性のものが $10^4 \sim 10^6$ であった。硝化菌については $10^2 \sim 10^7$, タン白分解菌 $10^5 \sim 10^8$ であった。マラヤで採取した土壌はかなり肥沃で Tg. Kalang (1) では20年間以上ほとんど無肥料のままで栽培しているにもかかわらず, その収量は一向に減少していなかった。この土壌において窒素固定 Photoautotrophs は 10^6 , Athiorhodaceae は 10^5 , 窒素固定有機栄養細菌のうち好気性のものは 10^7 とそれぞれかなり多い菌数を示した。

Table 1 Composition of cultural medium (g/l)

I. Medium for nitrogen fixing algae		
		Cultural condition
Na ₂ HPO ₄	0.0082	Aerobic, light
KCl	0.0086	
MgCl ₂ ·6H ₂ O	0.0209	
Na ₂ SO ₄	0.0146	
CaCl ₂ ·2H ₂ O	0.0359	
Fe-citrate	0.003	
Citric acid	0.003	
Na ₂ CO ₃	0.020	pH 6.8
Na ₂ SiO ₃ ·9H ₂ O	0.0582	
II. Medium for non-nitrogen fixing algae (Chlorella etc.)		
KNO ₃	2.53	Aerobic, light
K ₂ HPO ₄	1.00	
MgSO ₄ ·7H ₂ O	1.00	
CaCl ₂ ·2H ₂ O	0.155	
FeSO ₄	0.0015	
Na ₂ CO ₃	0.15	
		pH 6.8
III. Medium for Thiorhodaceae		
NH ₄ Cl	0.2	Anaerobic, light
KH ₂ PO ₄	0.5	
MgCl ₂ ·6H ₂ O	0.2	
Na ₂ CO ₃	0.3	
Na ₂ S·9H ₂ O	1.0	
		pH 8.0-8.5
IV. Medium for Athiorhodaceae		
KH ₂ PO ₄	0.8	Anaerobic, light
MgCl ₂ ·6H ₂ O	0.2	
NaCl	0.1	
(NH ₄) ₂ SO ₄	0.3	
Na-Butyrate	3.0	
Yeast extract	0.05	
Na ₂ CO ₃	0.3	

V. Medium for heterotrophic nitrogen fixers (Aerobes)		
		Cultural condition
K ₂ HPO ₄	0.8	pH 7.0
KH ₂ PO ₄	0.2	
MgSO ₄ ·7H ₂ O	0.2	
CaSO ₄ ·2H ₂ O	0.01	
Mannitol	10.0	
VI. Medium for heterotrophic nitrogen fixers (Anaerobes)		
K ₂ HPO ₄	0.8	pH 7.0
KH ₂ PO ₄	0.2	
MgSO ₄ ·7H ₂ O	0.2	
CaCl ₂ ·6H ₂ O	0.01	
Sucrose	20.0	
VII. Medium for nitrifiers (Walker's medium)		
(NH ₄) ₂ SO ₄	0.5	pH 8.0
K ₂ HPO ₄	0.07	
MgSO ₄ ·7H ₂ O	0.05	
CaCl ₂ ·2H ₂ O	0.05	
Na ₂ CO ₃	(5% w/v) 0.4 ml	
EDTA*	(5% w/v) 1.0 ml	
Fe ₂ (SO ₄) ₃ ·6H ₂ O	(0.4% w/v) 1.0 ml	
VIII. Medium containing 1.0% beef extract		
K ₂ HPO ₄	0.8	pH 7.0
MgSO ₄ ·7H ₂ O	0.2	
CaSO ₄ ·2H ₂ O	0.01	
Beef extract	10.0	
Yeast extract	0.01	

* EDTA : ethylendiamine tetraacetic acid

* EDTA : ethylenediamine tetraacetic acid

Table 2 Sampling position and condition of soil

Position	Condition
<i>Thailand</i>	
Bangken (1)	Flooded for 2 months, not planted
Bangken (2) (double crops)	Harvesting, took out flood water, 2 weeks before sampling
Rangsit	Flooded for 3 weeks, just transplanted
Lop Buri	Flooded for one month, transplanted 20 days before sampling
Khon Kaen	Dried, not planted
Ban Naka	Flooded in rain water, sometimes dried, transplanted about one month before sampling
<i>Malaya</i>	
Federal experimental station, Jalan Kebun, Setangor	Ditch soil in peat-bog
Tg. Kalang (1)	Flooded, height of rice plant 50 cm, (tillering stage)
Tg. Kalang (2)	Dried, soybean planted
Province Wellesley	
P.W. (11)	Just flooded in rain water, not planted
P.W. (12)	Not flooded, not planted
P.W. (13)	Flooded, booting stage, 2 crops
P.W. (14)	Flooded, just before harvest, 2 crops
P.W. (15)	Flooded, before harvest, 2 crops
P.W. (16)	Flooded, before harvest, 2 crops
P.W. (17)	Flooded, before transplanted
P.W. (18)	Flooded, before transplanted
P.W. (19)	Not planted, grass growing
P.W. (20)	Flooded, just transplanted
P.W. (21)	Flooded, not planted
<i>Philippines</i>	
Maahas clay (1) (No nitrogen added for 2 years)	Flooded, tillering stage, 2 crops
Maahas clay (2) (60 kg-N/ha/ one season)	Flooded, tillering stage, 2 crops
Maahas soil No. 27	Flooded in pot, not planted
Luisiana soil	Flooded in pot, not planted
<i>Taiwan</i>	Flooded, tillering stage

Table 3 Microbial counts in soils (numbers/g)

Microorgan- isms* Soils	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII
<i>Thailand</i>								
Bangken (1)	5.5×10^4	5.5×10^4	+	5.5×10^3	5.5×10^4	5.5×10^4	5.5×10^3	5.5×10^5
Bangken (2)	5.9×10^4	5.9×10^4	5.9×10	5.9×10^4	5.9×10^5	5.9×10^5	5.9×10^6	5.9×10^6
Rangsit	3.2×10^4	3.2×10^3	3.2×10	3.2×10^3	3.2×10^6	3.2×10^4	3.2×10^5	3.2×10^6
Lop Buri	3.3×10^4	3.3×10^5	+	3.3×10^4	3.3×10^6	3.3×10^6	3.3×10^4	3.3×10^5
Khon Kaen	2.0×10^4	2.0×10^4	2.0×10	2.0×10^3	2.0×10^5	2.0×10^3	2.0×10^5	2.0×10^5
Ban Naka	3.4×10^3	3.4×10^3	3.4×10	3.4×10^3	3.4×10^5	3.4×10^4	3.4×10^4	3.4×10^4
<i>Malaya</i>								
Peat-bog	5.0×10^6	5.0×10^4	5.0×10	5.0×10^4	5.0×10^6	5.0×10^5	5.0×10^3	5.0×10^7
Tg. Kalang (1)	9.0×10^6	9.0×10^5	9.0×10	9.0×10^5	9.0×10^7	9.0×10^4	9.0×10^4	9.0×10^6
Tg. Kalang (2)	2.7×10^4	2.7×10^4	2.7×10	2.7×10^2	2.7×10^7	2.7×10^5	2.7×10^7	2.7×10^6
P.W. (11)	2.8×10^4	2.8×10^4	2.8×10	2.8×10^4	2.8×10^4	2.8×10^5	2.8×10^3	2.8×10^6
" (12)	6.7×10^4	6.7×10^3	6.7×10	6.7×10	6.7×10^5	6.7×10^5	6.7×10^7	6.7×10^8
" (13)	4.8×10^4	4.8×10^4	4.8×10	4.8×10^4	4.8×10^6	4.8×10^4	4.8×10^4	4.8×10^6
" (14)	7.7×10^5	7.7×10^5	7.7×10	7.7×10	7.7×10^6	7.7×10^5	7.7×10^4	7.7×10^5
" (15)	1.1×10^6	1.1×10^5	1.1×10^2	1.1×10^2	1.1×10^6	1.1×10^5	1.1×10^5	1.1×10^7
" (16)	4.8×10^4	4.8×10^4	+	4.8×10^3	4.8×10^3	4.8×10^5	4.8×10^4	4.8×10^5
" (17)	6.0×10^6	6.0×10^5	+	6.0×10^5	6.0×10^4	6.0×10^6	6.0×10^2	6.0×10^7
" (18)	1.4×10^5	1.4×10^5	1.4×10^2	1.4×10^2	1.4×10^7	1.4×10^6	1.4×10^5	1.4×10^8
" (19)	5.3×10^4	5.3×10^3	5.3×10	5.3×10	5.3×10^4	5.3×10^5	5.3×10^2	5.3×10^8
" (20)	1.3×10^5	1.3×10^4	+	1.3×10^3	1.3×10^7	1.3×10^5	1.3×10^4	1.3×10^6
" (21)	4.8×10^4	4.8×10^4	4.8×10	4.8×10^4	4.8×10^6	4.8×10^6	4.8×10^4	4.8×10^7
<i>Philippines</i>								
Maahas clay (1)	8.8×10^3	8.8×10^5	+	8.8×10^4	8.8×10^5	8.8×10^6	8.8×10^3	8.8×10^5
Maahas clay (2)	5.6×10^4	5.6×10^4	+	5.6×10^3	5.6×10^6	5.6×10^5	5.6×10^4	5.6×10^7
Maahas soil No. 27	1.0×10^4	1.0×10^4	+	1.0×10^4	1.0×10^6	1.0×10^6	1.0×10^4	1.0×10^6
Luisiana soil	7.1×10^4	7.1×10^4	7.1×10^4	7.1×10^6	7.1×10^5	7.1×10^4	7.1×10^5	7.1×10^6
<i>Taiwan</i>	4.2×10^5	4.2×10^5	+	4.2×10^4	4.2×10^4	4.2×10^5	4.2×10^3	4.2×10^6

*Microorganisms, I, II, III, IV, V, VI, VII, and VIII. See Table 1.

フィリピン

窒素固定 Photoautotrophs は $10^3 \sim 10^4$, 非窒素固定 Photoautotrophs は $10^4 \sim 10^5$ であった。光合成細菌のうち Thiorhodaceae は $+ \sim 10^4$, Athiorhodaceae は $10^3 \sim 10^6$ であった。窒素固定有機栄養細菌のうち好気性のもの $10^5 \sim 10^6$, 嫌気性のもの $10^4 \sim 10^6$ であった。硝化菌については $10^3 \sim 10^5$, タン白分解菌 $10^5 \sim 10^7$ であった。

台湾

表 3 に示してあるように微生物数としては大体普通なもので窒素固定 Photoautotrophs 10^5 , 非窒素固定 Photoautotrophs 10^5 , 光合成細菌のうち Thiorhodaceae は $+$, Athiorhodaceae は 10^4 であった。窒素固定有機栄養細菌のうち好気性のもの 10^4 , 嫌気性のもの 10^5 , 硝化菌 10^3 , タン白分解菌 10^6 であった。

4 討 論

東南アジアにおいて水稻はほとんど化学肥料を与えることもなく栽培されており当然水田土壌中の微生物群も、それら化学肥料を大量に施用する地方とは異なっていることが予想された。最近、このような熱帯地方における土壌微生物に関する研究はフィリピンの IRRI で開始されたが、タイ、マラヤその他では未だ研究されていない。

畑土壌で稲作が行なわれた場合、その土壌の肥沃性は年々減少してゆくのに湛水状態にした場合にはなぜ収量が減じないのであろうか？ その理由は複雑であるがまず第一の理由として窒素固定微生物の活躍をあげることが出来る。湛水状態土壌においては、多数の窒素固定ラン藻⁹⁾や光合成細菌が生存し、他の有機栄養微生物と共生関係を持ちながら太陽光線の光エネルギー利用のもとに空気中の窒素ガスをアンモニア態窒素に固定し^{4),10)}、またその他の栄養物をその植物に供給するのである。

熱帯地方では最低温度は高く太陽光線にも恵まれており窒素固定ラン藻²⁾や光合成細菌の生育には実に好条件なのである。将来大量の化学窒素肥料を与えるようになるとしても土壌中の微生物群についての知識を持つことは必要なことである。というのは日本のような大量の化学肥料を与える土壌においても非常にたくさんの窒素固定菌が生存し⁵⁾、土壌肥沃性に貢献しその化学窒素肥料はそれらの微生物によっていろいろ変型されるからである。

この報告は主として窒素固定微生物の調査に集中した。しかし化学肥料をやるようになった場合の窒素化合物の変型ということも考慮する意味で硝化菌とタン白分解菌も調べられた。その結果は表 3 に示してある。硝化菌は $10^2 \sim 10^7$ で湛水状態土壌で少なく畑状態土壌に多い。これは全く日本においても同様の現象である。しかしながら窒素肥料が与えられた場合には硝化現象は日本におけるよりもずっと大きいであろう。なぜなら灌漑という点で、また高温とか農

民の化学肥料に対する知識その他の点で条件があまりにも異なるからである。

マラヤにおける稲作はタイにおけるものとかなり異なっている。タイでは収穫後の稲藁は水牛の飼料にするか燃焼してしまうが、マレーでは大抵、農民は稲藁そのままを自然の肥料として直接土壌中にすき込んでしまう。それでその有機物の分解ということが重要な問題となってきた。というのは最近稲の萎縮病がマラヤの北西部 Province Wellesley 地方その他では¹¹⁾つばつあらわれてきているからである。

それらの水田は数百年以上は耕作が続けられてきているといわれ、その病気の原因は次のような理由によるのであろうと考えられている。即ち 1) ネマトーダ 2) 微量要素欠乏 3) ウイルス、そのうち最近ウイルス説が最も有力視されてきた。(そのウイルスはウンカ等の昆虫が媒介するといわれている¹¹⁾。)

しかしながら新しく“ジャングル”をきり開いていった隣接地帯ではそのようなウイルスを持った昆虫が多数飛来してくるのにもかかわらず容易にその病気に感染しない。従って他の理由にも原因があるのではなかろうか。

事実、我々がかような病気の発生する水田を調査しに行った所、酸化鉄の被膜が水面にギラギラ浮いた状態にあり、その土壌中からは腐敗臭をともしうガスが発生していた。従って直接的な原因でないとしても間接的には、タン白分解菌もまたその病気発生の遠因になっているかもしれないと考えられた。それ故それら微生物についても調査してみた。その結果は表3に示されている。これらの表からタン白質分解菌数と Penyakit Merah 病(その地方ではそのように呼ぶ。Penyakit Merah は赤い病気という意味で主要な徴候は葉が退色して矮小し感染後は大きくならないか枯れてしまう)との間には相関関係があるように思われる。その発生地域では 10^8 と他の健全な地域に比べてその菌数はかなり多くなっている。従ってかようなタン白分解菌がその病気の直接原因ではないにしても間接的な影響、即ちそれら微生物によって生産された毒性物質(H_2S , 有機酸, その他アミン類等)の植物根に与える悪影響もまた遠因になっているものと考えられた。つまり稲は不健康な状態になり、ウイルスにおかされやすくなるのである。

微生物の同定についてはかなり詳細に研究したが余りにも複雑になるという理由から8種類に限り行なわれた。

藻類の同定には“Manual of Phycology (15)”が、細菌の同定には“Bergey's Manual of Determinative Bacteriology (1)”が使用され、顕微鏡観察の結果窒素固定菌としてラン藻では Tolypothrix と Nostoc が、有機栄養細菌では好気性のものとして Azotobacter が、嫌気性のものとしては Clostridium が認められた。光合成細菌のうち Athiorhodaceae では Rhodopseudomonas と Rhodospirillum がまた Thiorhodaceae では Chromatium が確認さ

れた。

特に興味のある現象では *Athiorhodaceae* と *Azotobacter* との共生関係が実際に認められたことである。¹²⁾ 窒素固定性好気的有機栄養細菌用培地に 30°C で好氣的に照明していると最初白色ないし黄色の有機栄養細菌が生育してくるが次第にその培地は赤色に変化してゆくことが観察される。即ち前者は *Azotobacter* の生育によるものであり、後者は *Athiorhodaceae* によるものであることが証明出来た。しかしそのような共生関係のある土壌は次の土壌にしか見出されなかった。(表 2 参照)

タイでは Bangken (1), Lop Buri, Rangsit

マラヤでは Tg. Kalang (1), No. 17, 18, 20 の各土壌

フィリピンでは Maahas clay (2 年間窒素肥料を与えてない土壌)

Maahas soil No. 27

Luisiana soil

台湾では台北市郊外土壌

かような *Azotobacter* と *Athiorhodaceae* の共生的共存関係の認められる土壌は湛水にしてから 1 週間後に始まり水稻の生育時期の間ずっと認められ、水稻が成熟時期になるとその共生関係は認められなくなってしまう。従ってそのような共生現象と水稻の生育時期との間には何らかの相関関係があるものと考えさせられた。即ち *Azotobacter* と *Athiorhodaceae* との共存系においてはそれぞれ単独の場合より数倍から十数倍窒素固定が促進されることを認めているので、^{10), 12)} そのような共生関係により窒素固定を大いに促進しその固定された窒素化合物を水稻の生育のために供給しているのかもしれない。

藻類や光合成細菌は他の菌類に比較して菌数はそれほど多くない。しかしながらそれらの光合成微生物の土壌中での意義は多数存在する細菌よりも重要でないと簡単に言い切ることはできない。というのは稀釈法では本当の数を計測することはできないからである。³⁾

窒素固定ラン藻は多細胞で繊維状につらなっており普通は塊って層状をなしている。その細胞個体はそれぞれ分裂能力をもっている。しかしながらその細胞数を計測する場合には稀釈法ではいかにしても完全に 1 個体に分離することは出来ない。光合成細菌においても同様に細胞は粘質物を分泌し、お互いにくっつき合った状態になることがしばしばある。

特に先述したように他の微生物と共生関係を作り、窒素固定が非常に促進されるようになると両者の微生物はお互いに粘質物を出し合い塊状となる。⁶⁾ 従って 1 個体を完全に分離しえないので実際の菌数は計測できないということになる。よって種々の微生物による窒素固定の重要性は稀釈法による計測数のみでは討論しえないということが出来よう。

光合成微生物のうち緑色の藻類など(緑色硫黄細菌を含める)は太陽光線の当たる表層のみ

にしか生存していないが紅色の光合成細菌は光の当たらない深さ 8 cm の暗黒条件下でもよく生育しているということを見出している⁷⁾ので紅色の光合成細菌の活躍範囲は緑色のものより広いと考えられる。

最後に 6 カ月間採取土壌を保存していた場合どのようにその菌数は変化するかを記述しておこう。(保存条件は 9 月から翌年 2 月まで 30°C~7°C まで変化する室温に放置しておいたもので、それら採取土壌はポリエチレン製瓶にしっかり密閉し、光の当たらない所に保存しておいた。)

- i) タン白分解菌は漸次 $10^1 \sim 10^2$ 増大した。勿論土壌によっては若干異にするものはあったが大体このような傾向になった。
- ii) 硝化菌は湛水状態土壌ではわずかに減少するが乾燥から湿った状態土壌では $10^1 \sim 10^2$ 増大した。
- iii) 光合成細菌は $10^2 \sim 10^3$ 程度減少した。即ち非常に死滅しやすい菌であることが見出された。
- iv) 有機栄養性窒素固定菌については好気性および嫌気性のものともほとんど変化はなかった。
- v) 藻類については窒素固定性、非窒素固定性のものとも 10^1 程度減少した。

5 要 旨

この研究は東南アジア（タイ、マラヤ、フィリピン、台湾）の水田土壌における微生物分布を調査したものでその結果は次のごとくであった。

(1) 窒素固定性微生物

タイ	藻類 $10^3 \sim 10^4$, Athiorhodaceae $10^3 \sim 10^4$, 有機栄養性好気菌 $10^4 \sim 10^6$, 嫌気菌 $10^3 \sim 10^6$
マラヤ	藻類 $10^4 \sim 10^6$, Athiorhodaceae $10 \sim 10^5$, 有機栄養性好気菌 $10^3 \sim 10^7$, 嫌気菌 $10^4 \sim 10^6$
フィリピン	藻類 $10^3 \sim 10^4$, Thiorhodaceae + $\sim 10^4$, Athiorhodaceae $10^3 \sim 10^6$, 有機栄養性好気菌 $10^5 \sim 10^6$, 嫌気菌 $10^4 \sim 10^6$
台湾	藻類 10^5 , Athiorhodaceae 10^4 , 有機栄養性好気菌 10^4 , 嫌気菌 10^5

- (2) 光合成細菌は東南アジアの土壌に広く分布していることが見出された。特に Athiorhodaceae は Azotobacter と共存することが出来、一種の共生関係 (Mutualistic Symbiosis) を持っており、乾燥土壌においても生存するということが確認された。

6 謝 辞

この研究は京都大学東南アジア研究センターの援助により遂行出来た。特に自然科学部門主任芦田譲治教授は本調査の実施を支持して下さい、農業生産班担当の川口桂三郎教授ならびに本岡武教授は本調査を推薦して下さい。ここに深甚なる謝意を表する。

また現地調査に際しては次の方々に御援助頂いた。ここに芳名をしるして感謝の意を表する次第である。

福井捷郎氏(タイ)

川上潤一郎氏, Dr. Nr. Siew Kee (マレー)

高村泰雄氏, Dr. Ian C. MacRae (フィリピン)

王西華教授(台湾)

参 考 文 献

- 1) Breed, R. S. *et al.* 1957 *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. 7th ed. Williams and Wilkins Co., Baltimore, Md., U.S.A.
- 2) De, P. K. 1939 "The role of blue-green algae in nitrogen fixation in rice-fields," *Proc. Roy. Soc. B.*, 127 : 121-139.
- 3) Hattori, T. 1966 "On the distribution of bacterial cells in soil aggregate," *J. Sci. Soil. and Manure, Japan*, 37 : 302-304.
- 4) Ishizawa, S. and H. Toyoda. 1964 "Microflora of Japanese soils, Part. 4 ; Microflora of paddy soils," *Soil Sci. and Plant Nutrition*, 10 : 151-162.
- 5) Kobayashi, M. unpublished data.
- 6) Katayama, T., M. Kobayashi, and A. Okuda. 1965 "Nitrogen fixation in mixed culture of photosynthetic bacteria with other heterotrophic bacteria," *Soil Sci. and Plant Nutrition*, 11 : 176-179.
- 7) Kobayashi, M. unpublished data.
- 8) MacRae, I. C. 1964 *Annual Report*, 242-256, The International Rice Research Institute, Los Banos, Laguna, Philippines.
- 9) Okuda, A. and M. Yamaguchi. 1965 "Nitrogen-fixing microorganisms in paddy soils (Part 2), Distribution of blue-green algae in paddy soils and the relationship between the growth of them and soil properties," *Soil and Plant Food*, 2 : 4-7.
- 10) Okuda, A. and M. Kobayashi. 1963 "Symbiotic relation between *Rhodopseudomonas capsulatus* and *Azotobacter vinelandii*," *Mikrobiologiya* (USSR), 32 : 936-945.
- 11) Ou, S. H. 1965 "Rice diseases of obscure nature in tropical Asia with special reference to 'Mentek' disease in Indonesia," *International Rice Commission Newsletter*, 14 : No. 2, June, 4-10 and 1964 *Annual Report*, 128-156, The International Rice Research Institute, Los Banos, Laguna, Philippines.
- 12) Okuda, A. and M. Kobayashi. 1961 "Production of slime substance in mixed cultures of *Rhodopseudomonas capsulatus* and *Azotobacter vinelandii*," *Nature*, 192 : 1207-1208.
- 13) Singh, R. N. 1950 "Reclamation of 'Usar' lands in India through blue-green algae," *Nature*, 165 : 325-326.
- 14) Shinn, M. B. 1941 "Colorimetric method for determination of nitrite," *Ind. Eng. Chem., Anal., Ed.*, 13 : 33-35.
- 15) Smith, G. M. 1951 *Manual of Phycology*, Chronica Botanica Co., Waltham, Mass., U.S.A.
- 16) Watanabe, A. 1951 "Production in cultural solution of some amino acids by the atmospheric nitrogen-fixing blue-green algae," *Arch. Biochem. Biophys.*, 34 : 50-55.