農研機構
NARO 国立研究開発法人 農業・食品産業技術総合研究機構

水田への麦わら施用に伴う芳香族カルボン酸の生成と水稲の生育抑制機構に関する研究

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 公開日: 2019-03-22 キーワード (Ja): キーワード (En): Aromatic acids, Growth inhibition, Nitrogen immobilization, Nitrogen uptake inhibition, Rice plants, Tracer ^15N, Wheat straw 作成者: 田中, 福代 メールアドレス: 所属:
URL	https://doi.org/10.24514/00001909

水田への麦わら施用に伴う芳香族カルボン酸の生成と水稲の生育抑制機構に関する研究

田中福代[1)]

（2001年９月６日　受理）

要　　旨

田中福代（2002）水田への麦わら施用に伴う芳香族カルボン酸の生成と水稲の生育抑制機構に関する研究。九州沖縄農研報告　**40**：33－78。

稲麦二毛作田における麦わらの施用はしばしば水稲の生育抑制に繋がる。これは，土壌中のアンモニア態窒素が土壌微生物により有機化されることにより生じる，水稲に吸収可能な窒素の不足（窒素飢餓）が原因とされてきた。本研究ではこの説の問題点を指摘し，生育阻害物質の観点から麦わら施用に伴う水稲の生育抑制機構を解析した。麦わらを施用した湛水土壌の土壌溶液から得た水稲根の伸長阻害画分を検索し，芳香族カルボン酸類（安息香酸，フェニル酢酸，2-フェニルプロピオン酸，3-フェニルプロピオン酸，4-フェニル酪酸）と揮発性脂肪酸類を同定し，これらの水稲栽培圃場における濃度を測定した。土壌から検出された芳香族カルボン酸の水稲根伸長阻害活性は2-フェニルプロピオン酸＞フェニル酢酸＞3-フェニルプロピオン酸＞安息香酸であった。水稲の窒素吸収阻害活性は，2-フェニルプロピオン酸が検定した芳香族カルボン酸中で最も低い濃度(1μM)で示された。圃場において種子根伸長と窒素吸収の両者を阻害する濃度の2-フェニルプロピオン酸が検出された。土壌中アンモニア態窒素の減少が生じる期間は，湛水直後の数日に限られ，水稲の吸収抑制の比率と比較するとその割合は小さかった。麦わら施用に伴う水稲の生育抑制に関与する諸要因の中で，芳香族カルボン酸の集積は重要な要因であると推定した。

キーワード：^{15}N トレーサー，水稲，生育抑制，窒素飢餓，窒素吸収阻害，芳香族カルボン酸，麦わら。

目　　次

Ⅰ　緒　　言……33
Ⅱ　麦わら施用土壌における水稲の生育抑制と生育阻害物質の同定・定量……36
　１．麦わら施用水田における水稲の生育経過と土壌中アンモニア態窒素濃度……36
　　１）材料と方法
　　２）　結果と考察
　２．麦わら施用土壌の土壌溶液からの水稲根伸長阻害物質の検索……41
　　１）材料と方法
　　２）結果と考察
　３．麦わら施用土壌における水稲生育と芳香族カルボン酸の濃度……46
　　１）材料と方法
　　２）結果と考察
　４．まとめ……49
Ⅲ　芳香族カルボン酸による水稲生育と窒素吸収の阻害……49
　１．各種芳香族カルボン酸の水稲生育に対する阻害活性……49
　　１）材料と方法
　　２）結果と考察
　２．水耕栽培された水稲の芳香族カルボン酸による生育抑制……52
　　１）材料と方法
　　２）結果と考察
　３．まとめ……55
Ⅳ　芳香族カルボン酸の集積に影響する諸要因……55
　１．施用有機質資材の種類と土壌溶液中芳香族カルボン酸濃度の経時変化……55

本論文は筑波大学へ提出した学位論文を編集したものである
九州沖縄農業研究センター水田作研究部水田土壌管理研究室：〒833－0041　福岡県筑後市和泉496
１）現，中央農業総合研究センター

1）材料と方法
2）結果と考察
2．土壌の培養温度，種類，水分条件による芳香族カルボン酸の集積の特徴……57
1）材料と方法
2）結果と考察
3．まとめ……60
Ⅴ　水稲の生育抑制・窒素吸収阻害と芳香族カルボン酸の消長……60
1．土壌の麦わら施用歴の影響……61
1）材料と方法
2）結果と考察
2．土壌の代かき強度の影響……64
1）材料と方法
2）結果と考察
3．耕起深度の影響……68
1）材料と方法
2）結果と考察
4．まとめ……70
Ⅵ　総合考察……70
1．麦わら施用に伴う水稲の初期生育抑制の再現と土壌溶液からの芳香族カルボン酸の検出……70
2．芳香族カルボン酸の濃度と水稲に対する生理活性……71
3．芳香族カルボン酸の集積条件の特徴と推定される生成過程……72
4．水稲の生育抑制と窒素吸収阻害の条件 …73
5．生育抑制緩和策……74
Ⅶ　摘要……74
引用文献……75

Ⅰ　緒　　言

九州北部に位置する筑後，佐賀平野は古くから開けた水稲の一大産地であると同時に，ビール麦とめん用小麦の産地であり，九州最大の穀倉地帯である。この地域における稲－麦の作付体系では大麦の収穫が５月中下旬，小麦では５月下旬～６月初旬であり，水稲の移植期はその直後の６月中下旬である。このため，麦の収穫から水稲移植までの期間は短い。さらに，近年，消費者のおいしいお米への期待の高まりや，自主流通米への入札制度の導入を受けて，生産農家では水稲の移植を急ぐ傾向がいっそう高まっている。この結果，麦を収穫した後，早ければ１～２週間で水稲を移植する。その際，収穫残渣である麦わらの処分が急がれることになる。麦わらはかつては家畜や茶畑の敷わらとして売られるなど，圃場外へ持ち出されることも多かったが，現在では輸入わらとの競争により需要が低下している。また，兼業農家が多いので堆肥化されることも少ない。不要となった麦わらを焼却すると煙害やN_2Oなどの地球温暖化ガスの放出やダイオキシン類の生成が懸念される。

このような背景から，麦わらの水田へのすきこみが勧められる。これは，麦わらを圃場全体に散布し，耕起，湛水，代かきを行ったのち水稲を移植するものである。この麦わらのすきこみには地力の維持や土壌の物理性の改善効果が期待され，堆肥に代わる資材としての利用価値は高い。しかしながら，麦わらなどの未熟有機質資材の水田への直接施用は，しばしば水稲の初期生育を抑制する。特に湛水までの期間が短いほど障害は大きい。このことが，水田への麦わら施用の普及上の大きな妨げとなっている。

全国的にも有機質資材の施用が原因と見られる水稲の生育異常が報告されている。埼玉県大里村では，1978年以来麦わら施用水田やイタリアンライグラスの跡地で水稲に異常穂が発生し，大問題となった（志賀ら1983，六本木ら1986，1987）。この障害は穂は出るもののほとんどが不稔や奇形になるなど様々な障害がみられ，易分解性有機物の量が多く，メタン生成活性の高い土壌に多く発生した（志賀ら1983）。これと同様の症状は近畿中国地域でも報告された（脇本ら1989，辻・吉村1992）。この現象の主要因は，コンバインの普及などの結果，圃場に多量に持ち込まれた未熟の有機質資材が還元土壌で分解される過程で生じた中間代謝産物と推定された。しかし，その物質の特定には至っておらず（志賀ら1983），六本木ら（1986）は栄養生理の面からの検討が必要としている。実際的には，障害の回避策が検討され，マンガンの施用や穂首分化期の落水などにより異常穂の発生は抑えられるようになった（六

本木ら1987)。

また，佐賀県では麦跡作の水稲に，下位節間が栄養生長期に伸長し，その上位節から節根が出現する二段根が発生し，養分吸収の異常が示された（福田ら1988)。しかし，その発生の機構は未だ明らかではない。

さらに，1990年代初頭には糖蜜を主成分とするペースト肥料の施用により滋賀県北部の早植水稲を中心に初期生育抑制が発生した（辻2000a，b，c)。その症状は移植後30～40日ころに分げつと草丈の伸長が停止し下葉が黄化する現象であった。これは，辻（2000b，c）によって，ペースト中の糖蜜の分解により土壌中の硫酸基が硫化物態に還元され，一次的に不可給化するためと報告された。

このように，未熟有機質資材を圃場に施用すると土壌の物質代謝が急激に変化し，作物の生育や品質に悪影響を及ぼすことが頻繁に見られる。しかし，このような土壌中の物質代謝の変化や，それに伴う作物の反応が解明された例は少ない。

これまで，新鮮有機物の施用下における水稲の生育抑制はさまざまに検討がなされて来た。特に，施用された有機質資材中の易分解性有機物を土壌微生物が資化して急激に増殖するとき，土壌中のアンモニア態窒素を多量に取りこむ結果，水稲の利用できる窒素量が減少するという「窒素飢餓説」が主に支持されてきた（Gotoh and Onikura 1971，Rao and Mikkelsen 1976，橋元1977，高井・三好1977)。しかし，近年，有機質資材を施用した水田でアンモニア態窒素が低下しない例がいくつか報告されている（諸遊ら1981，前田1983，安藤ら1986, Adachi et al. 1997)。また，揮発性脂肪酸や二価鉄などによる生育阻害要因についての研究（滝嶋ら1960，滝嶋1962a，b，Lynch1977）が多数行われた。滝嶋ら（1960）は揮発性脂肪酸と根の伸長阻害の関連について水耕実験で詳細な検討を行い，圃場では実際に生じないような高濃度の有機酸存在下で養分吸収の低下が生じたと報告している。Gotoh and Onikura（1971）は稲わらを土壌に1.5t／10a 添加したとき，水稲の生育が明らかに抑制されていても，酢酸とプロピオン酸の濃度は阻害を引き起こす濃度以下であったとしている。すなわち，揮発性脂肪酸や二価鉄などは，高濃度では生育阻害を生じさせうるが，圃場における土壌溶液中濃度が水稲に生じた阻害を説明できる濃度にまで高まる報告はなかった。

このように未熟有機物施用下で水稲生育が抑制される現象の機構は未だ解明されていない。このため，土壌の窒素炭素代謝や理化学性の変化と養分吸収との関連を解析し，さらに水稲生育との関係を明らかにする必要がある。本研究は，生育阻害物質の観点から，麦わらを中心に未熟有機質資材の施用が水稲の生育に及ぼす影響を解析し，水稲の生育抑制の機構を明らかにしたものである。

本研究は　1987年から1996年にかけて九州農業試験場水田利用部（現九州沖縄農業研究センター水田作研究部）において行ったものであり，既に発表したもの（Tanaka 1990, Tanaka et al. 1990, Tanaka and Nishida 1996，Tanaka and Nishida 1998，田中・小野2000）に，未発表の内容を加筆し，新たに取りまとめたものである。

本論文の取りまとめに際し，ご指導とご助言を賜った筑波大学教授　臼井健二博士に深く感謝申し上げる。また，有益なご助言とご校閲を戴いた元農業研究センター土壌肥料部栄養診断研究室長（現東京大学教授）米山忠克博士に厚くお礼申し上げる。重窒素の取り扱いと分析法のご指導を賜り，終始ご助言を戴いた元水田利用部水田土壌管理研究室（佐賀大学教授）山室成一博士にお礼申し上げる。

本研究の遂行にあたり終始ご助言と激励を戴いた元環境第二部土壌肥料第一研究室長　早坂猛氏，元水田利用部水田土壌管理研究室長　吉野喬博士，井田明氏，脇本賢三氏，元畑地利用部　吉田澪博士にお礼申し上げる。本研究の遂行にあたり終始ご指導を戴き，本論文の取りまとめにあたりご校閲を賜った元環境第二部土壌肥料第一研究室（現中央農業総合研究センター）小野信一博士，水田土壌管理研究室長土屋一成博士に感謝する。

本研究は西田瑞彦主任研究官（現東北農業研究センター）のご協力を得て行った。また，辻是好技官，吉武貞雄技官，佐野周作技官，山口政義技官，山内捷恵氏，堤妙子氏のご支援により遂行することができた。記して厚くお礼申し上げる。

最後に，本論文の取りまとめにあたりご協力と激励を戴いた中央農業総合研究センター土壌肥料部栄養診断研究室　藤原伸介博士，大脇良成博士，寺門純子博士，相曽淑恵氏，泉水信子氏，筑波大学大学院松丸泰郷氏，岡田英樹氏に心よりお礼申し上げる。

Ⅱ　麦わら施用土壌における水稲の生育抑制と生育阻害物質の同定・定量

麦の収穫後，圃場に散布された麦わらは，耕起と同時に土壌に鋤きこまれ，短期間で湛水，代かき，水稲移植が行われる。このような圃場管理下では水稲の初期生育が抑制されることが多く，その最も顕著な症状は茎数や草丈の増加が遅れ，葉色が薄いなど窒素欠乏様を呈することである。この原因は長らく土壌中のアンモニア態窒素の不足によるものとする説が主流であった（Gotoh and Onikura 1971，Rao and Mikkelsen1976，橋元 1977，高井・三好 1977）。ところが，麦（稲）わらを施用した土壌においてアンモニア態窒素は減少していないという報告がなされた（諸遊ら1981，前田1983，安藤ら1986）。彼らはこれを土壌中に何らかの窒素吸収阻害要因が生じたためと推定したが，その要因は解析していない。このように，わら類を施用した湛水土壌中におけるアンモニア態窒素の起源や短期的な動態，土壌中に存在する窒素吸収阻害要因については未解明のまま残されている。本章では，麦わらを施用した水田土壌における水稲生育の阻害を窒素吸収と根の伸長阻害から解析し，阻害物質を同定，定量した。

1．麦わら施用水田における水稲の生育経過と土壌中アンモニア態窒素濃度

本研究の初めに，麦わら施用に伴う水稲の生育抑制現象の再現と土壌中アンモニア態窒素濃度と水稲生育の抑制の関連性を確認する目的でコンクリート枠およびポットを用いた栽培試験を行った

1）材料と方法

(1) 水田への麦わら施用による水稲の生育抑制現象

細粒グライ土（佐賀県和鹿島干拓の土壌）と細粒灰色低地土（九州農業試験場（筑後））を充填したコンクリート枠（1 m×1 m，深さ2 m）をそれぞれ4個ずつ用いた。各土壌に麦わら（アサカゼコムギ）0，0.5，1，2kg（風乾重）の施用区を設けた。1987年6月11日に麦わら散布，耕起，入水し16日に施肥，代かきを行った。水稲（品種レイホウ）を18日に移植した。水稲は一株3本植えとし，条間25cm 株間14cm の28株 /m^2の栽植様式とした。肥料は化成肥料を用いて基肥N，P_2O_5，K_2O をそれぞれ7g/m^2施用した。追肥はN, K_2O を7月10日（移植後22日），8月14日（同57日）に各3g/m^2施用した。

土壌試料は6月29日（移植後11日），7月27日（同39日），8月13日（同55日），9月2日（同75日）に採取し，土壌重の10倍量（体積）の10%（w/v）KCl溶液で土壌中アンモニア態窒素を抽出した。また，水稲の生育は湛水後53日間の草丈，茎数の推移で評価した。

(2) 麦わら施用土壌における水稲の窒素吸収阻害

水稲の栽培：供試材料として水稲品種レイホウを1/5000aポットに3本/株を1991年6月23日に移植した。場内圃場から採取し，未風乾で5 mmの篩で調製した細粒灰色低地土（乾土相当で2.5kg）を移植前日にポットに充填し，これにN，P_2O_5，K_2O がそれぞれ100mgになるように $(NH_4)_2SO_4$ と PK 化成肥料を添加し全層に混ぜた後，湛水，代かきした。麦わらは無施用と施用の2処理とし，施用区には土壌充填前に1 cmの裁断した麦わら20gを混合した。追肥として8月12日に40mgのNとK_2Oを$(NH_4)_2SO_4$とKCl溶液で表層に施肥した。実験は2反復とした。

トレーサー ^{15}N 添加および分析法：7月11日（移植17日後，生育初期）と8月26日（出穂6日前，穂ばらみ期）に$^{15}N-NH_4Cl$（^{15}N99.4atom%）の水溶液をシリンジを用いてポットあたり18.7mgのNを全層に注入した。トレーサー添加の24時間後に土壌および水稲を採取した。水稲は初めに地上部と根を切り離し，^{15}N の体内移動を防いだ。続いて土壌を良く混合してから未風乾のまま全量を2 mmで篩過し，その一部を適宜（約500g）採取した。土壌に残った根は極力回収した。土壌のアンモニア態窒素量は10%（w/v）KClで抽出し，全窒素量は土壌をケルダール分解した後に蒸留，滴定により分析した。また，それぞれの窒素について^{15}N 存在比（atom%）をYamamuro（1981）に従いN－150発光分析計（日本分光）を用いて測定した。

^{15}N 処理を行った日（7月11日，8月26日）はいずれも快晴で，日射量は20.0と21.7MJ/cm^2であった。

(3) 生育初期における土壌中アンモニア態窒素の動態と窒素吸収阻害活性の変化

九州農試圃場から採取した細粒灰色低地土800g（乾土相当）に稲わら0 gまたは8g，N，P_2O_5，K_2O 各10mg 相当量の $(NH_4)_2SO_4$, $Na_2HPO_4.12H_2O$, KCl を施用し，1L のポット内で充分撹拌しながら湛水

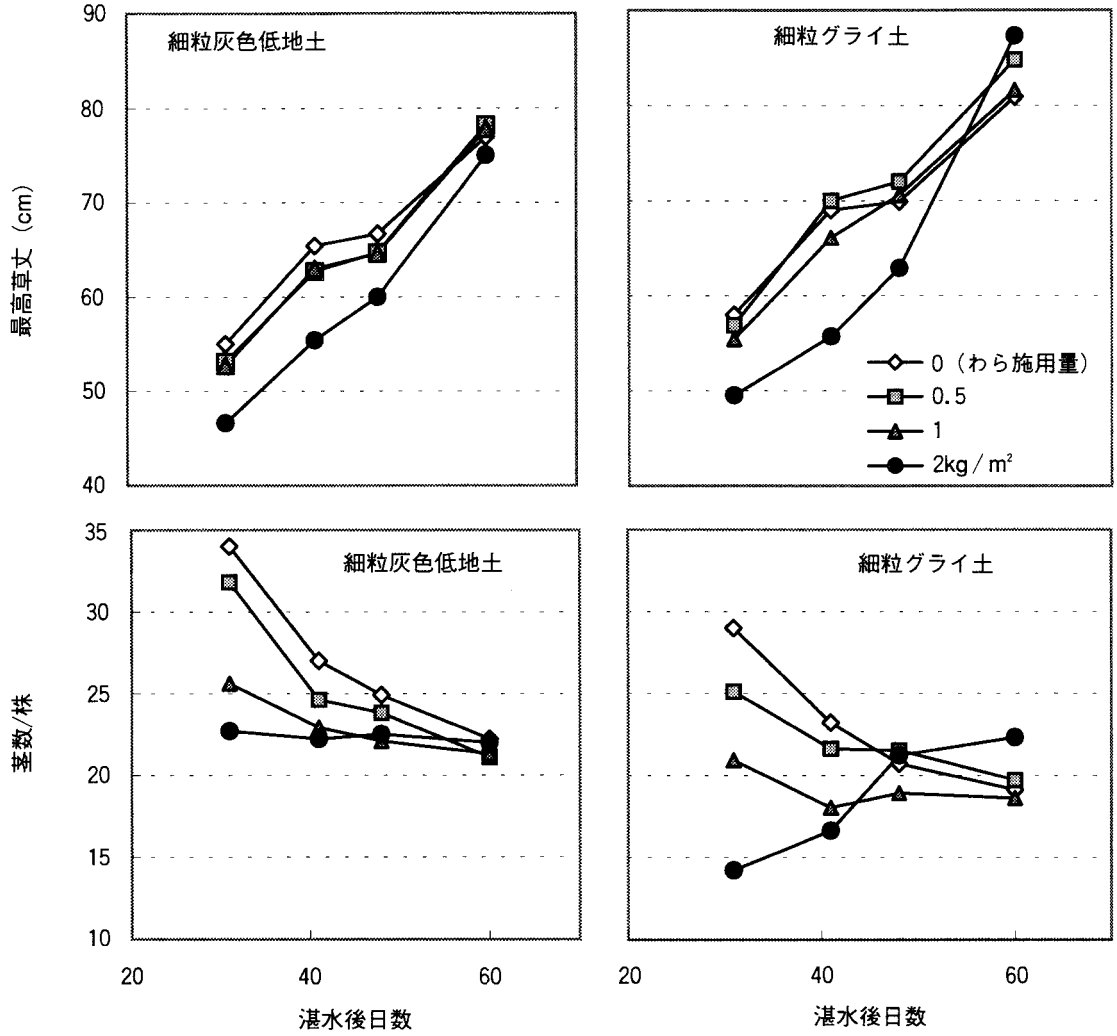
した。これに1995年５月17日に水稲（レイホウ）を移植した。５月19，25，30日，6月７日にトレーサー ^{15}N（^{15}N30.0atom％（$(NH_4)_2SO_4$）を用いて水稲の窒素吸収活性，アンモニア態窒素の動態を解析した。５月19日に回収したポットのみ基肥窒素（５月17日施用分）をトレーサー ^{15}N（10mgN）に変更し，基肥窒素の分配を解析した。５月25日以降の回収分は基肥は非トレーサーで与え，採取の24時間前にトレーサー ^{15}N（10mgN）をシリンジで全層施用した。水稲と土壌全量を回収し，直ちに水稲の根を切り離した。土壌は直ちにKCl抽出とケルダール分解を行い，それぞれアンモニア態窒素と全窒素の分析試料とした。これらについて，水稲の乾物重と窒素吸収量，土壌のアンモニア態窒素量と有機化量を測定した。各試料の ^{15}N 存在比の測定は発光法（YAMAMURO 1981）により行った。

２）結果と考察

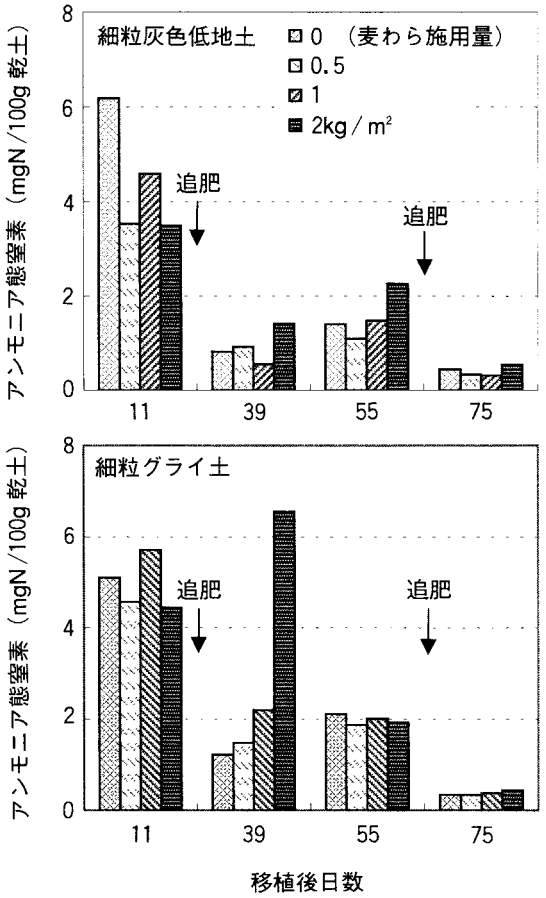
(1) 水田への麦わら施用による水稲の生育抑制現象

水稲の草丈及び茎数からみると，両土壌とも麦わら施用量に応じて生育が抑制され，特に生育初期の抑制が顕著であった（第１図）。しかし，移植53日後にはほとんど回復し，阻害要因が解消したことが推察できた。

移植後11日の土壌中のアンモニア態窒素量（第２図）は細粒灰色低地土では麦わら施用によって低下したが，細粒グライ土では一定の傾向は認められなかった。移植後39日では細粒グライ土において麦わら施用量が多いほど土壌中アンモニア態窒素は多かった。特に，最も生育抑制が強い麦わら２ kg/m^2 施用区で顕著であった。細粒灰色低地土でも，麦わら２ kg/m^{2}区の残存量が最も多く，麦わら施用に伴



第１図　麦わら施用量および土壌の種類による水稲生育（最高草丈，茎数）の相違



第２図　土壌中のアンモニア態窒素の経時変化

う土壌中アンモニア態窒素の低下は認められなかった。

これらの結果を総合すると，麦わら施用による水稲の生育抑制は麦わらの施用量や土壌の種類の影響が大きいことが示唆された。土壌の種類では細粒灰色低地土より細粒グライ土において，わら施用量は多いほど抑制は強く表われた。また，生育抑制が強い区ほど移植後39日における土壌中アンモニア態窒素の残存量が多い傾向を示した。細粒グライ土のわら２ kg/m²施用区では移植後39日に6.5mg/100g乾土のアンモニア態窒素が存在した。これは，中間追肥施肥前に土壌に存在したアンモニア態窒素4.4mg/100g乾土に施肥窒素量を上乗せした量の約7.4mg/100g乾土の88％に匹敵する。KClで抽出される土壌中アンモニア態窒素は，施肥や有機態窒素の無機化による増加量と初期量の合計から，植物による吸収，微生物による同化と，脱窒，水による流亡を差し引いた残りである（山室1988a，b）。アンモニア態窒素が施肥後も長期間にわたり高濃度を維持しているということは，アンモニア態窒素の植物，微生物による取込みが少なかったことを示唆する。この現象は，水稲の生育抑制が土壌中のアンモニア態窒素の不足によるとする，従来の窒素飢餓説（Gotoh and Onikura 1971，Rao and Mikkelsen 1976）と矛盾する。しかし，アンモニア態窒素の存在量だけでは窒素の挙動を明らかにすることは困難であるため，トレーサー実験が必要と考えられた。

（2）麦わら施用土壌における水稲の窒素吸収阻害

水稲の生育経過を第１表に示した。７月11日（移植後17日）の乾物重は地上部では麦わら施用により約29％低下したが，根では９％の増加であった。全窒素吸収量は地上部は46％の低下，根では10％の増加であった。ここで，トレーサー^{15}Nはある時点において土壌に存在したアンモニア態窒素の動態を示すのに対し，^{14}Nは基肥および土壌から無機化した窒素の動態を示すものである。基肥施用直後では土壌由来の無機態窒素は少ないので，^{14}Nの挙動は基肥の挙動にほぼ一致するものと考えられる。麦わら施用区の地上部と根の^{14}N全吸収量は無施用区に対して41％減少し，移植後17日の間には麦わら施用による水稲の生育抑制と窒素吸収量の低下が同時に生じたことが明らかとなった。このことは，特に根よりも地上部で顕著であった。

穂ばらみ期（８月26日）になると，麦わら施用区の乾物重は麦わら無施用区より小さかった。窒素吸収量はほぼ同等となり，結果的に窒素含有率は麦わら施用区が優った。また，第１回のサンプリング以後の生長量は麦わら施用区の方が大きかった。これらのことから，穂ばらみ期には水稲の生育抑制は終息し，回復過程にあるものと考えられる。

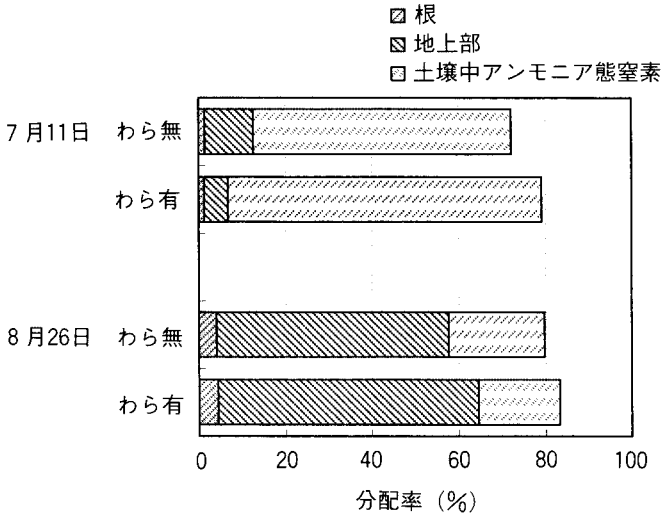
第３，４図にトレーサー^{15}Nの24時間後の根，地上部，土壌中アンモニア態窒素への分配および水稲乾物あたりのトレーサー^{15}N吸収量，すなわち窒素吸収活性の指標を示した。７月11日における，麦わら施用区の水稲のトレーサー^{15}N吸収量は無施用区の54％まで低下し，水稲乾物あたりのトレーサー^{15}N吸収量は36％低下した。この時，土壌中アンモニア態窒素の^{15}N残存率は，麦わら施用区の方が22％多かった（第３図）。^{15}Nの添加から回収までの期間（24時間）には，有機化した^{15}Nの再無機化はないと考えられる。このことから，移植17日後の水稲による窒素吸収量の低下が土壌中アンモニア態窒素の減少によるものではないことは明らかとなった。また，

第１表　麦わら施用が水稲の生育および窒素吸収に及ぼす影響（ポット試験）

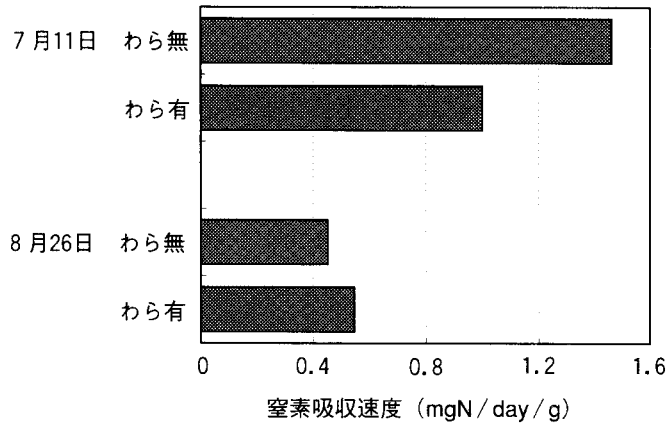
生育時期	わら施用	地上部 乾物重 g／pot	地上部 窒素* 吸収量 mg／pot	地上部 窒素 含有率 %	根 乾物重 g／pot	根 窒素* 吸収量 mg／pot	根 窒素 含有率 %	計 乾物重 g／pot	計 窒素* 吸収量 mg／pot
７月11日	無	1.30	42.9	3.46	0.317	4.2	1.73	1.62	47.1
	有	0.93	23.3	2.61	0.348	4.5	1.41	1.28	27.8
８月26日	無	17.2	201	1.17	6.13	34.0	0.567	23・9	224
	有	16.3	187	1.22	5.80	41.0	0.618	22.1	228

注）*窒素は土壌基肥由来窒素（^{14}N）のみを示した。トレーサー^{15}N分は第３図に示した。

麦わら施用区の根量は無施用区に比べ増加した（第１表）ことから，窒素吸収量の低下は根量の不足によって引き起こされたものでもないといえる。これらの結果から判断すると，移植17日後に認められた，麦わら施用による24時間の窒素吸収量の低下は，水稲の窒素吸収活性の低下が主であったと考えられる（第４図）。

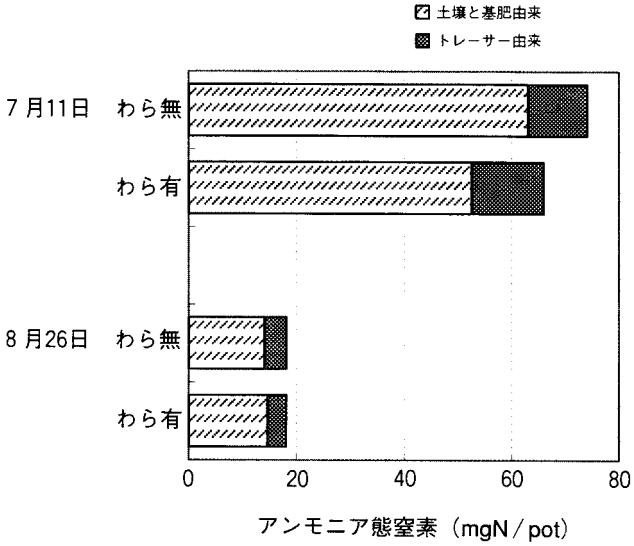


第３図　24時間後のトレーサー^{15}Nの分配



第４図　トレーサー^{15}N吸収速度

第５図に土壌に存在するアンモニア態窒素量を^{14}N（土壌と基肥由来）とトレーサー^{15}N由来に分けて示した。７月11日の^{14}Nは麦わら施用により17%低下しており，湛水直後（トレーサー^{15}N処理以前）に麦わら施用により一時的な土壌中アンモニア態窒素の減少があったと考えられる。麦わら区における^{14}N，すなわち土壌・基肥由来の土壌中アンモニア態窒素の低下はポット当たり10mgに対して，水稲による窒素吸収量（第１表）の低下は20mgであった。アンモニア態窒素濃度が０～２ mg/100g乾土の範囲では，水稲によるアンモニア態窒素の吸収量は濃度に比例するとされている（山室1989）。もし，トレーサー^{15}N施用以前の窒素吸収量の低下が土壌中アンモニア態窒素の低下によるものであれば，水稲の^{14}N吸収量の低下割合はアンモニア態^{14}Nの低下割合に近似するはずである。土壌中のアンモニア態^{14}Nの低下よりも吸収された^{14}Nの低下が大きかった現象は，土壌中アンモニア態窒素の低下が，基肥と



第５図　土壌中のアンモニア態窒素量

土壌由来の窒素に関しても，水稲による吸収量の低下の主要因でないことを示している。このことから，土壌中アンモニア態窒素の有機化促進（窒素飢餓）現象が認められたのは移植直後であり，極めて短期間に終息したことを示すものと考えられる。

さらに，麦わら施用区での水稲のトレーサー ^{15}N 吸収量の低下を詳しく見ると，根では13%にすぎないのに対し，地上部では49%であった（第３図）。これは吸収された^{15}N の地上部への移行が低下していることを示している。根から地上部への窒素の輸送は導管の蒸散流やアミノ酸の合成と関連しており，麦わら施用により吸水や蒸散になんらかの異常が生じたか，あるいは，エネルギーや窒素代謝のような基礎的な生理活性が損なわれたものと推定される。いずれにしても，麦わらの施用は直接土壌と接している根の伸長や窒素吸収だけでなく，水稲体全体の生理を乱したものと推定される。

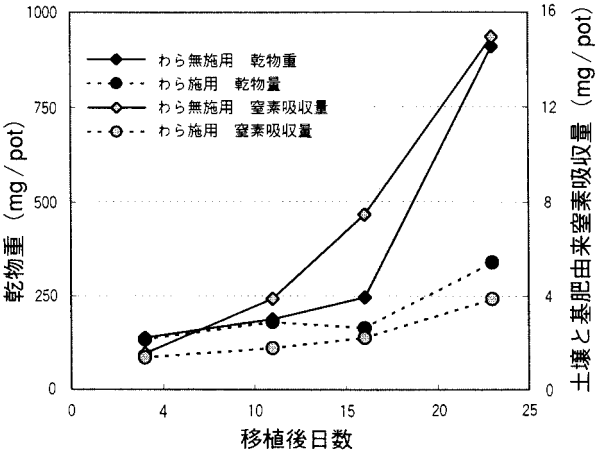
穂ばらみ期（８月26日）では第３～５図に示す全ての項目が改善された。水稲の^{15}N 吸収量，^{15}N 吸収活性では麦わら区が上回った。また，^{15}N の根から地上部への輸送量も麦わら区が多かった。この時期には乾物重はほぼ同等まで回復していたことから，阻害作用は穂ばらみ期までに解消したことが確認された（第１表）。

(3) 生育初期における土壌中アンモニア態窒素の動態と窒素吸収阻害活性の変化

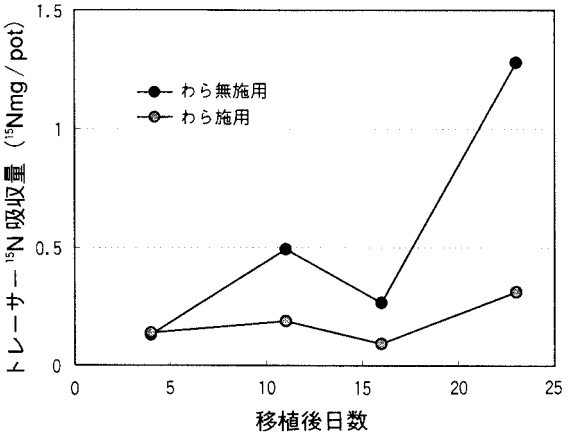
第６図に水稲の乾物重と窒素吸収量の推移を示した。わら施用により乾物重および窒素吸収量の増加が抑制された。両者とも移植４日後の差は小さかったが，乾物重では16日目で，水稲の土壌と基肥由来窒素の吸収量はそれより早い11日で顕著な影響が認められ，時間を追ってその差は拡大した。

第７図には土壌全層に添加されたトレーサー ^{15}N の24時間の吸収・分配を示している。このうち，第１回目のサンプリングのみは基肥を^{15}N 標識したものであり，基肥の極初期（４日間）の動態を示す。これ以降は，基肥は^{14}N で与えたポットに^{15}N トレーサーを添加してその24時間後にサンプリングしたものであり，^{15}N の動態は^{15}N トレーサーが施用された時点での土壌中アンモニア態窒素の水稲への吸収，有機化，脱窒等の活性を示すものと考えられる。

基肥窒素については，移植後４日間の吸収（第７図）はわら施用の有無に拘らずほぼ同等であったが，



第６図　乾物重および窒素吸収量の変化

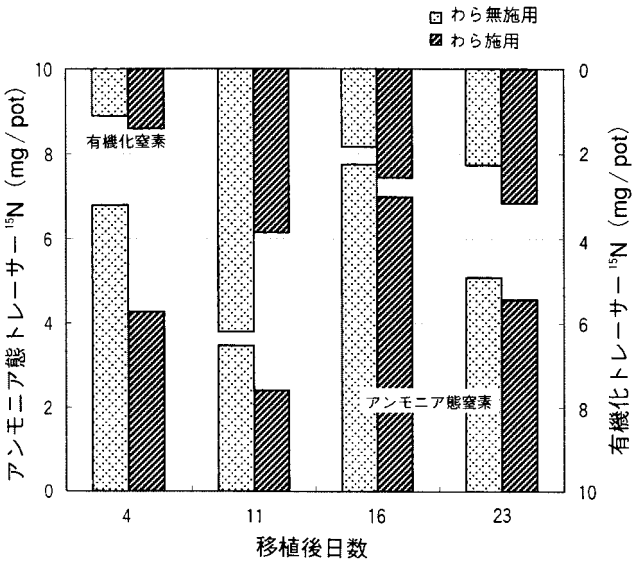


第７図　水稲のトレーサー ^{15}N 吸収

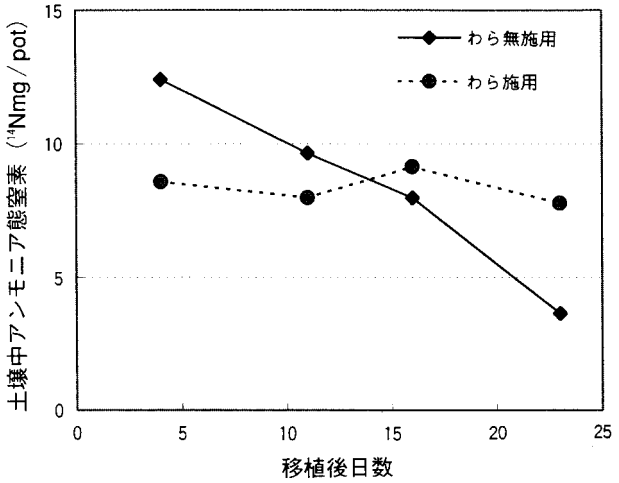
土壌中の分布（第８図）を見ると，わら施用区ではアンモニア態での残存量は小さく，有機態は大きい。このことから，基肥窒素は直ちに土壌微生物によって有機化され，その量はわら施用により増加したものの，水稲の窒素吸収にはこの土壌中分布の相違は影響しなかったと考えられる。

移植後11日以降のトレーサー ^{15}N の水稲による吸収量は，わら施用区では無施用区に比べて明らかに劣った（第７図）。土壌中アンモニア態窒素へのトレーサー ^{15}N の分配を見るとわら施用区の方が少ない（第８図）が，その量はトレーサー ^{15}N の水稲による吸収の低下に比べてはるかに少なかった。これらから移植後11日以降においても土壌中窒素の有機化は水稲における窒素吸収量低下の直接の要因とは考えられない。

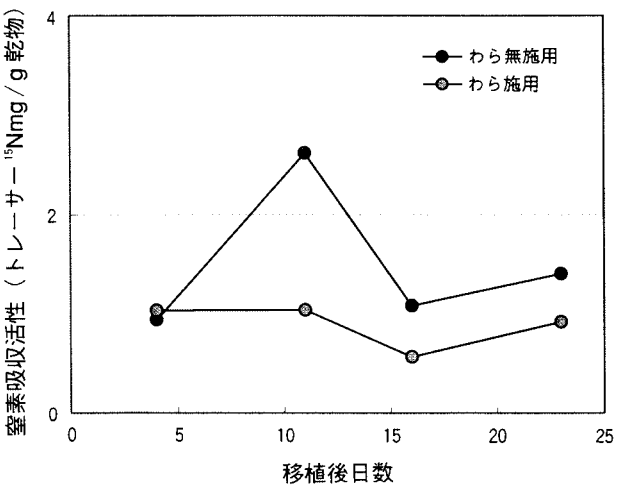
第９図に土壌中の基肥と土壌由来のアンモニア態窒素の推移を示した。わら無施用区の基肥と土壌由



第８図　土壌におけるトレーサー ^{15}N の分配



第９図　土壌と基肥由来のアンモニア態窒素の推移



第10図　窒素吸収活性の推移

来アンモニア態窒素量は直線的に減少しており，水稲吸収と有機化が一定速度で進行した結果と考えられる。一方，わら施用区では移植４日後は無施用区より少なく初期の有機化が促進されたものと推定されるが，その後低下せず，窒素の有機化と吸収が停滞したことを示唆している。すなわち，土壌中のアンモニア態窒素が不足したのはごく初期のみであったというトレーサー ^{15}N の結果を支持するものと考えられる。

第10図に水稲乾物あたりのトレーサー ^{15}N 吸収量（水稲の窒素吸収活性）を示した。この数値は移植後４日目には差が無かったが，11日目以降わら施用区が無施用区に比べて大きく低下した。これから，土壌中にアンモニア態窒素がわら施用区にも存在しているにもかかわらず吸収されない現象は，水稲の窒素吸収活性の低下によるものと考えられる。

以上から，基肥窒素の有機化はわら施用により促進されたが，この現象は短期間で終了し，水稲の窒素吸収量低下は土壌中アンモニア態窒素の低下ではなく窒素吸収阻害作用によるものであり，その要因は土壌中に存在するものと考えられる。

２．麦わら施用土壌の土壌溶液からの水稲根伸長阻害物質の検索

Ⅱ－1．において，水稲の生育抑制の原因となる窒素吸収量の低下には吸収阻害の影響が大きいことが明らかとなった。この阻害要因は土壌中に存在すると考えられる。そこで，麦わらを施用した水田土壌中の成分からこの原因となる物質を検索した。

１）材料と方法

(1) 阻害フラクションの分画

土壌培養：1/5000a のポット内で未風乾土壌（細粒灰色低地土）２ kg に化成肥料（N, P_2O_5, K_2O 各320mg）と小麦わら粉末30g を混合，充填し，湛水，代かきを行った。30℃で14日間培養した。対照として麦わら無添加のものを同様に培養した。

分画：培養土壌の土壌溶液200mL を遠心分離（1000×g，10分）で集め，0.45μm のメンブランフィルターを通過させた。そのうち60ml を希塩酸で pH2に調製し，ジエチルエーテル120ml で２回抽出した。このジエチルエーテルをあわせ，60ml の水で洗った後，無水硫酸ナトリウム上で乾燥した。ジエチルエーテルを減圧下溜去し60ml の水に溶解して酸性画分とした。別の土壌溶液60ml を希水酸

化ナトリウム溶液でpH10に調製し，酸性画分と同様にジエチルエーテルで抽出操作を行い，得られた水溶液を塩基性画分とした。残りの土壌溶液は種子根伸長試験と阻害物質同定のために保存した。

幼植物検定：検定に用いる水稲（品種レイホウ）種子は予め殺菌剤（ベンレートT）で消毒し，48時間吸水したものを用いた。バットに水を充分含んだろ紙2枚を敷き，種子をならべ，軽く覆いをして25℃の暗所に2日間置いた。この種子の中から種子根長が5－7mmのものを集め検定に供した。50ml容のビーカーにろ紙を敷き，土壌溶液及び酸性画分，塩基性画分をpH6に調製したもの10mlを入れ，10個の選別された水稲種子をならべた。これに覆いをかけ，暗所30℃で静置した。20時間後に取り出し種子根長を計り，伸長率を次式のように計算した。

$$E = 100 - (L_{(s)} - 6) / (L_{(c)} - 6) \qquad \text{（第1式）}$$

ここで，$L_{(s)}$は被検液中の種子根の長さ，$L_{(c)}$はコントロール（pH6，井戸水）における種子根の長さであり，簡便のため検定開始時の種子根の長さを平均値の6 mmとした。

(2) 阻害成分の検索

上記の水田土壌の土壌溶液の酸性画分に含まれる物質の同定を行った。また，1．のコンクリート枠試験において採取した土壌溶液の酸性画分についても同様の分析を行った。すなわち，細粒グライ土を充填した枠に，小麦わら2kg/m^{2}を施用し水稲を栽培した土壌から，移植11日後に土壌溶液を減圧下ポーラスカップを通じて採取したものである。酸性画分にはカルボン酸，フェノール類が含まれると考えられるので，揮発性脂肪酸についてはHPLC（高速液体クロマトグラフ），芳香族カルボン酸やフェノールについてはメチルエステル化処理の後，GC/MS（ガスクロマトグラフ－質量分析計）で分析した。

HPLC：土壌溶液4 mlに約0.1Mの水酸化ナトリウム溶液を数滴滴下しアルカリ性としてホットプレート上で乾固した。これに0.1%リン酸0.2mlを加えて溶解し0.45μmのメンブランフィルターでろ過した。液体クロマトグラフはHITACHI638-50を使用し，カラムC-610H上で0.1%リン酸溶液（流速1ml/min）により分離し，UV210nmでモニターした。

GC/MS：土壌溶液の酸性画分の一部にジアゾメタンを添加してメチルエステルとした。メチル化された酸性画分は少量のn-ヘキサンに溶かし，その1μLをGC/MSで分析した。GC/MS（DX-300，日本電子）はイオン化電圧70eV，EI（electron impact mode）により分析した。注入口とイオン源温度は210℃とし，キャリアガスはヘリウム（1ml/min）で，スプリットレスとした。カラムは無極性のキャピラリーカラム（ov-1 bonded，0.25mm i. d.，25m，ガスクロ工業）を使用した。昇温条件は，各クロマトグラムに示した。

(3) 土壌溶液中の脂肪酸および芳香族カルボン酸の定量

水稲栽培圃の土壌溶液中のギ酸，酢酸，プロピオン酸，n-酪酸，吉草酸，イソ-吉草酸とフェニルプロピオン酸を分析した。

分析方法：HPLCにより（2）と同様に行った。RT（リテンションタイム）90分のピークは2-フェニルプロピオン酸と3-フェニルプロピオン酸の混合物であったが，ここでは便宜的に3-フェニルプロピオン酸の検量線を用いて定量した。

サンプルは1．において枠試験の麦わら施用土壌から採取し冷凍保存した土壌溶液と2．の培養土壌の土壌溶液を用いた。

2）結果と考察

(1) 阻害フラクションの分画

水稲の種子根伸長の検定結果を第2表に示した。対照（水）に対する麦わら施用土壌の土壌溶液における伸びは18.5%にとどまり，顕著な阻害活性を示した。また，麦わら無添加土壌の土壌溶液は64.7%

第2表　土壌溶液およびその画分と水稲根伸長率

a）

サンプル	対照	土壌溶液	
		麦わら無施用	麦わら施用
伸長（mm）	13.9	9.0	2.6
伸長率	100	64.7	18.5

b）

サンプル	対照	酸性画分
伸長（mm）	11.0	8.1
伸長率	100	73.6

c）

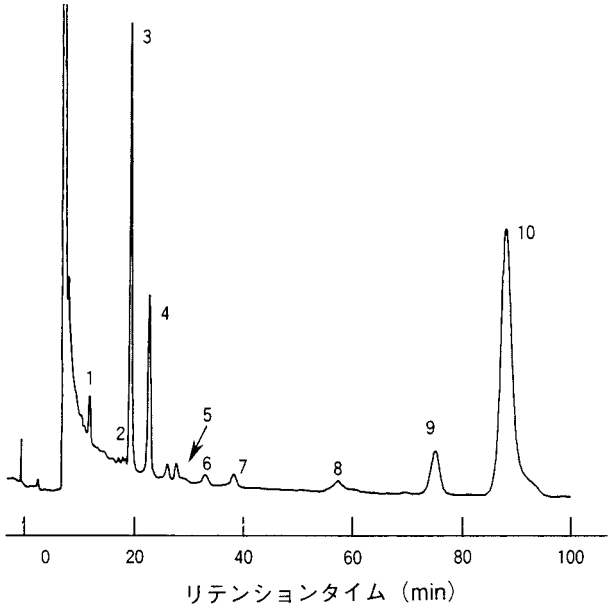
サンプル	対照	塩基性画分
伸長（mm）	9.3	15.8
伸長率	100	169.9

で，水に対しては抑制的であったが，麦わら施用土壌と比較すると抑制は小さかった。麦わら施用土壌の土壌溶液の酸性画分における伸長は73.6％であった。一方，塩基性画分は169.9％と伸長を促進した。

種子根の伸長は培地からの養分をほとんど必要としないので，伸長阻害は生理的な作用によると考えられる。本実験結果から，わら施用土壌溶液に含まれる阻害成分は主に酸性画分に存在すると考えた。以降は酸性画分の分析を進めることにした。

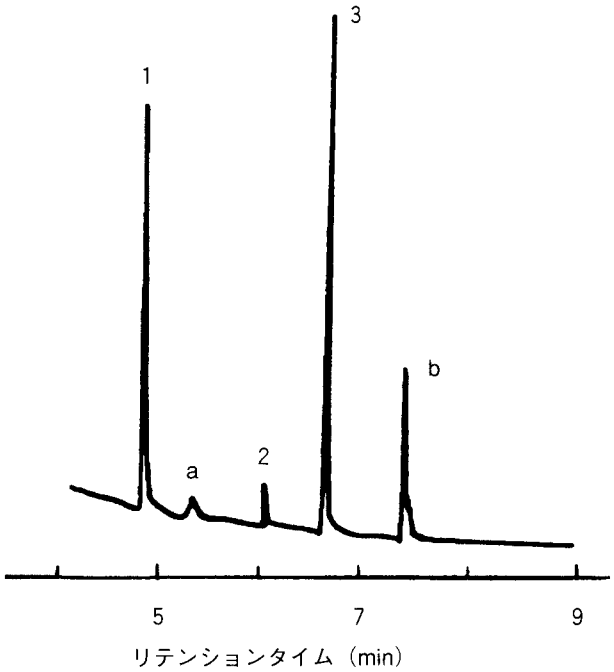
(2) 阻害成分の検索

第11図にわら添加培養土壌から採取した土壌溶液の低級脂肪酸のHPLCによるクロマトグラムを示した。脂肪酸のうち最大のピークはRT20分に認められた。この物質は標準試薬のRTと比較して，酢酸であった。その他に，ギ酸，プロピオン酸，n-酪酸，イソ-吉草酸が検出された。また，オキシ酸の領域にピークが認められ，酒石酸と推定した。これらはいずれも滝嶋（1962a）により土壌中の濃度が測定されているものであり，本実験においてもその存在が再確認された。また，RT90分に未知の大きなピークが認められた。



第11図　麦わらを添加して湛水培養した土壌溶液のHPLCのクロマトグラム

1：酒石酸，2：ギ酸，3：酢酸，4：プロピオン酸，5：酪酸，6：イソ-吉草酸，7，8，9：unknown，10：unknown（フェニルプロピオン酸）

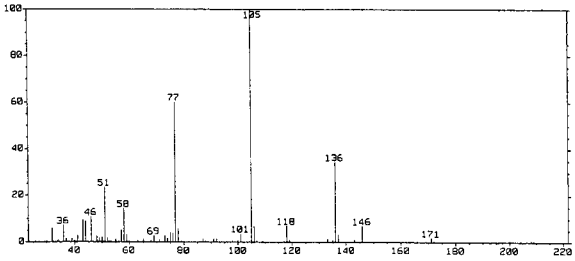


第12a図　培養土壌の土壌溶液のマスクロマトグラム

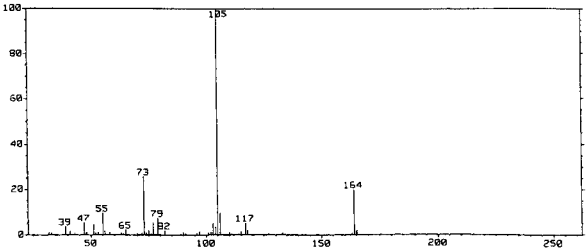
GC条件
カラム温度60℃（2 min）→150℃
昇温速度　16℃／min

各ピークについては第12b図にマススペクトルと同定された物質名を示した。
ピークa，bは誘導体化試薬由来。

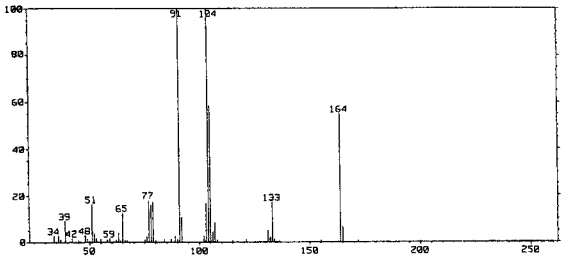
(1)　安息香酸



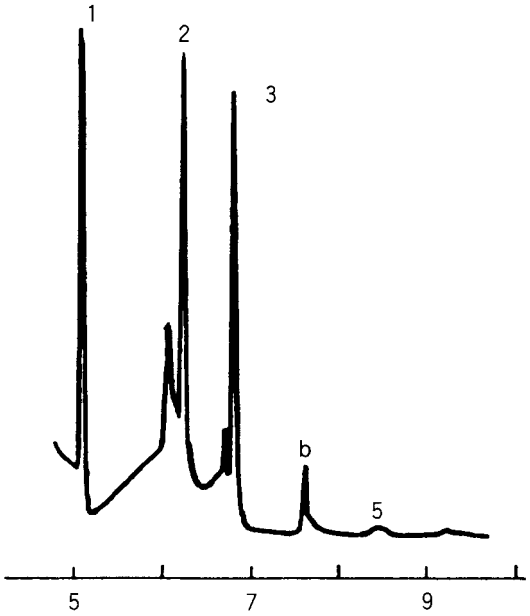
(2)　2-フェニルプロピオン酸



(3)　3-フェニルプロピオン酸



第12b図　ピーク1，2，3（第12a図）のマススペクトル



第13図　水田に設置した枠内の土壌溶液のマスクロマトグラム
GC 条件
カラム温度60℃（2 min）→150℃
昇温速度　32℃/min
ピーク No.1，2，3，b は第12図（a）1，2，3，b と一致した。
No.4，5のマススペクトルを第３表に示した。

第12図に培養土壌の土壌溶液，第13図に水稲を栽培している枠から採取した土壌溶液酸性画分をメチル化処理し，得られた GC/MS のクロマトグラムを示した。阻害フラクションの分画に用いた土壌溶液からは安息香酸，2-フェニルプロピオン酸，3-フェニルプロピオン酸が検出された。また，第13図からは第12図の酸に加えて，ピーク No.4として2-ヒドロキシ安息香酸（サリチル酸）が検出された。以上の物質の同定はマススペクトルと標準試薬の RT の同一性によった。ピーク No.5として，マススペクトルから3-(ヒドロキシフェニル)プロピオン酸あるいはフェニル乳酸の存在が示唆されたが，水酸基の位置を決定できず，同定には至っていない。また，HPLC で検出された強い UV 吸収を持つピーク（第11図ピーク10, RT90分）を分取し，同様にメチル化して GC/MS で分析したところ，2-フェニルプロピオン酸および3-フェニルプロピオン酸の混合物であった。

酸性画分にメチル化処理をしないサンプルについても同様の分析をおこなったが，メチルエステルのピークは検出されなかった。このことから，上記の物質は土壌溶液中ではメチルエステルではなく，酸として存在していることが確認された。

芳香族カルボン酸類は滝嶋ら（1960）によって，土壌中に存在すれば水稲根の伸長に大きな阻害作用を持つであろうと予測されたが，今日まで水田土壌から検出されていなかった。一方，畑土壌ではシバムギの地下茎を分解させたものの中からフェニル酢酸が検出されている（Lynch et al. 1980）。また，Lynch（1977）は小麦わらを水耕液中で嫌気的に分解させて生成する酸を分析し，3-フェニルプロピオン酸を検出しているが，非常に低濃度なので大麦の生育に影響はないだろうとしている。さらに，土壌腐植の生成過程の研究から，フェノール性水酸基を持つカルボン酸の土壌における消長が調べられている（Shindo and Kuwatsuka 1975，進藤・鍬塚1978）。しかし，水田における水稲の生育阻害に関与する物質という視点で，芳香族カルボン酸が検出されたのは本研究が初めてである。とくに，2-フェニルプロピオン酸は土壌中の成分としては新規物質であった。これらの各物質による水稲根の伸長に対する作用性の検定および土壌溶液中濃度の定量が必要と考えられた。

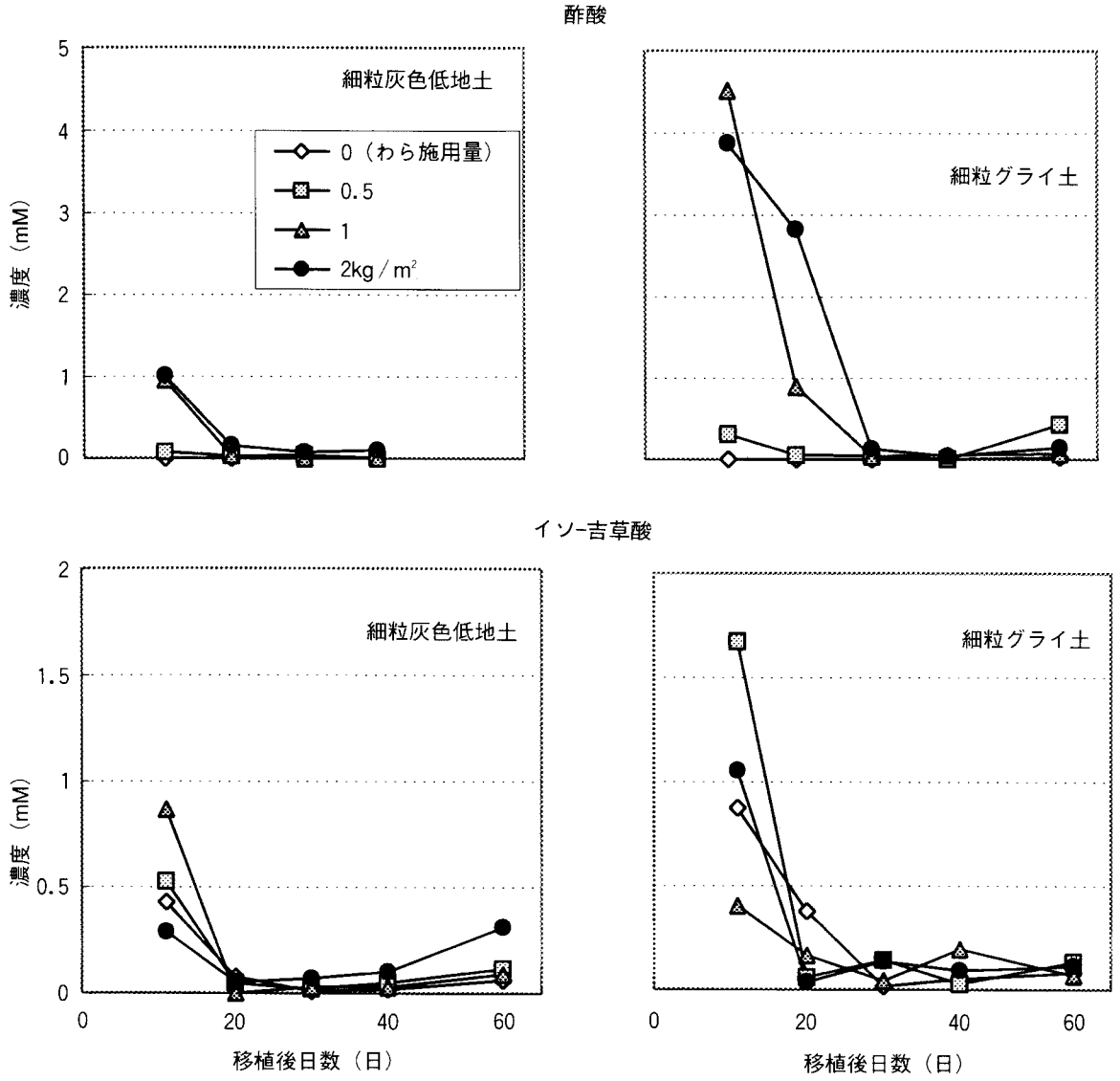
(3) 土壌溶液中の脂肪酸および芳香族カルボン酸濃度の定量

土壌溶液中の揮発性脂肪酸のうち高濃度で検出された酢酸とイソ-吉草酸の濃度は移植後２週間以内に最高濃度に達した（第14図）。細粒グライ土においては麦わら施用量が1kg/m^{2}以上では酢酸が滝嶋

第３表　マスクロマトグラム（第13図）におけるピークのマススペクトル

No.	イオンピーク（基準ピークに対する％）	同定された物質名（一般名）
4	42(11), 44(12), 51(15), 57(7), 59(9), 71(10), 73(100), 77(12), 91(10), 104(13), 105(27), 122(20), 135(5), 152(7)	2-ヒドロキシ安息香酸（サリチル酸）
5	43(24), 44(11), 45(21), 47(10), 63(7), 65(22), 75(5), 82(7), 93(12), 121(100), 149(20), 152(10), 180(33)	2-ヒドロキシ(3-フェニル)プロピオン酸（フェニル乳酸）

注）物質は誘導体化処理しない遊離酸を示した。

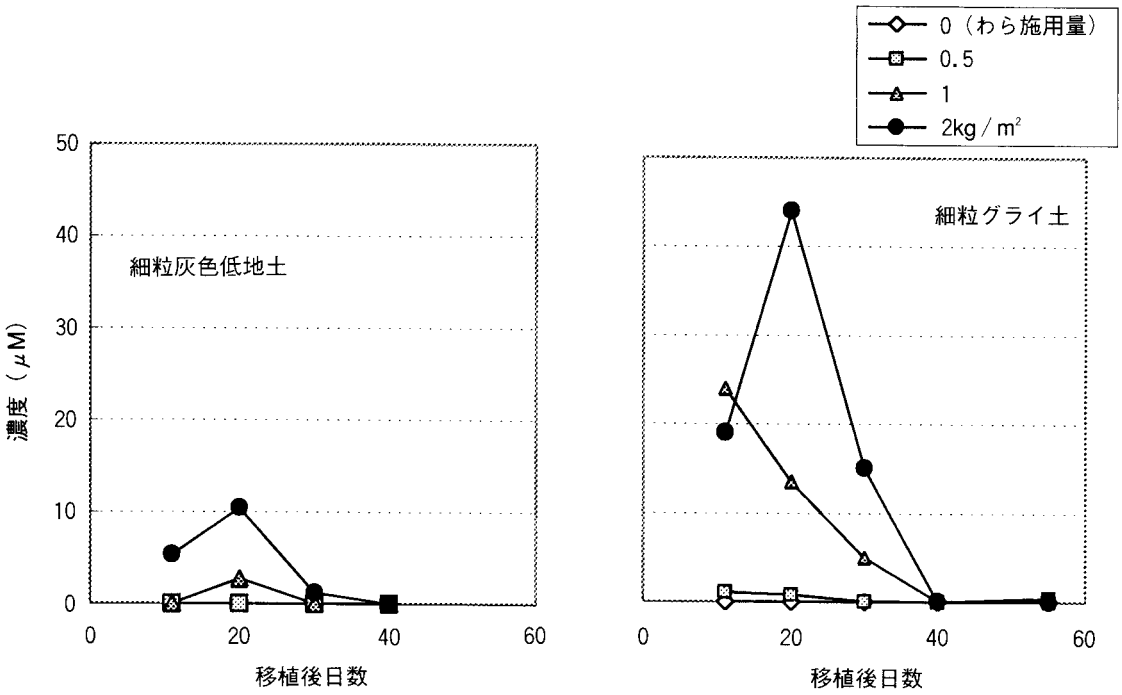


第14図　麦わら施用量と揮発性脂肪酸濃度

（1962a）の指摘する種子根伸長阻害濃度（3.1mM，16％阻害）を上回った。濃度はわら施用量に応じて高い傾向があり，わら無施用では微量であった。イソ-吉草酸の場合は，麦わら無施用の場合でも定量可能な濃度や種子根伸長阻害濃度以上に集積する場合があり，わら施用量や水稲の生育抑制との関連は認められなかった。土壌間の比較では細粒グライ土の方が高い傾向があった。ギ酸，プロピオン酸，n-酪酸，n-吉草酸は低濃度で経過した。

土壌溶液中のフェニルプロピオン酸濃度（第15図）は全量が3-フェニルプロピオン酸と仮定して，便宜的に3-フェニルプロピオン酸を単独に用いた検量線により算出した。このため，精度に欠けるが，およその傾向を見ることは可能と判断した。フェニルプロピオン酸の濃度は，細粒灰色低地土よりも強グライ土の方が測定期間を通じて高く，また，麦わら施用量が多いほど高かった。これらは水稲の生育抑制の傾向と良く一致していた。フェニルプロピオン酸の最高濃度は45μMであったが，このピークには2-フェニルプロピオン酸と3-フェニルプロピオン酸が重なっている。両者は作用性が異なる可能性が高いと考えられることから，これらの物質の水稲生育に対する生理作用を評価するには2-フェニルプロピオン酸と3-フェニルプロピオン酸の分離分析法とその阻害活性が検討される必要がある。

供試した二つの土壌を比較すると細粒グライ土の方が粘土含量が高く透水性が小さい。このようなことが芳香族カルボン酸と揮発性脂肪酸濃度や水稲の



第15図　麦わら施用量とフェニルプロピオン酸濃度

生育抑制の強さに影響していると推定される。これらの関連や，土壌溶液中の酸性物質の生成とその濃度が持つ水稲に対する生理的意義についてⅢ以降で詳しく検討する。

3．麦わら施用土壌における水稲生育と芳香族カルボン酸の濃度

前節２.において麦わらを施用した水田土壌から新たな阻害物質である芳香族カルボン酸類が検出された。水稲栽培圃場における芳香族カルボン酸の水稲生育阻害への影響を評価するために，土壌溶液中の濃度の分析法を開発した。

１）材料と方法

(1) GC/MS を用いた芳香族カルボン酸定量法の開発

芳香族カルボン酸の抽出および誘導体化反応：土壌溶液（0.1～6mL）は0.45μm のメンブランフィルターを通し，10mL 容のスクリューバイアルに採った。これに1M の水酸化ナトリウム溶液0.2mL を添加し，ホットプレート上で蒸発乾固させた。残渣上に0.2mL の精製水を添加して溶解し，8M の塩酸0.2mL で酸性とし，クロロホルムで芳香族カルボン酸を抽出した。まず3.5mL のクロロホルムを添加し，室温で60分激しく振とうし，クロロホルム層をミニバイアルに移し，水層を2mL のクロロホルムで再度抽出した。クロロホルム層を合わせ，溶媒を減圧下溜去した。この残渣にジアゾメタンを添加しメチルエステルとした。このクロロホルムを50μL まで濃縮し，200μL の酢酸エチルを加え，0.8μL を GC/MS に注入し分析した。

別に，安息香酸，2-フェニルプロピオン酸，3-フェニルプロピオン酸，4-フェニル酪酸をそれぞれ40～2000ng 相当量を水溶液としてバイアルに採り，同様の方法で処理し検量線を作成した。

装置：GC/MS は JMS-DX300（日本電子）を用いた。キャピラリーカラムは無極性のジメチルポリシロキサン（ov-1 bonded，0.25mm i.d.，25m length，0.3μm df，ガスクロ工業）を用いた。カラムオーブンは60℃で１分保った後，210℃まで32℃/min の比率で昇温した。注入口，インレット，イオン源は全て230℃に設定した。注入は45秒間のスプリットレスとした。キャリアガスはヘリウムを用い，流速は1mL/min とした。質量分析部の条件は以下の通りである。イオン化電流300A，イオン化モード：EI（電子衝撃） 70eV，加速電圧：３ kV，分解能：1000。また，検出はそれぞれの分子イオンピークを用いる SIM（Selectrd Ion Monitoring）法によった。すなわち，安息香酸メチル：136，2-フェニルプロピオン酸メチル：164，3-フェニルプ

ロピオン酸メチル：164，4-フェニル酪酸メチル：178とした。

水溶液からの回収率：4種の芳香族カルボン酸の等量混合物を調整し，各800ng相当量をバイアルに添加した。これを乾固し上述の方法に従い抽出しピーク面積（$A_{extarct}$）を求めた。また，4種の芳香族カルボン酸の等量クロロホルム溶液を調整し，800ng相当量をバイアルに採り，減圧下溶媒を溜去した。これを，ジアゾメタンによりメチル化したものについて同様の操作でピーク面積（A_{std}）を求めた。この比率から抽出率（R%）を算出した。計算式は次式の通りである

$$R = (A_{extarct}) / (A_{std}) \times 100 \qquad (第2式)$$

添加回収実験：0.2kg/m^{2}の麦わらを施用した水田土壌からポーラスカップを通じて減圧により土壌溶液を採取した。0.45μmのメンブランフィルターを通し，1mLずつバイアルに添加した。これに4種の芳香族カルボン酸の等量混合物（各800ng）を添加し，各濃度を求めた（V_{added}）。また，芳香族カルボン酸試薬を添加していない土壌溶液の芳香族カルボン酸濃度（V_{blank}）を求め，次式により回収率R（%）を算出した。5反復で行った。

$$R = (V_{added} - V_{blank}) / 800 \times 100 \qquad (第3式)$$

(2) 水稲栽培圃場における脂肪酸および芳香族カルボン酸の濃度と水稲生育抑制

供試水稲の耕種概要，生育調査，土壌分析試料の採取：1988年に九州農業試験場の化学肥料単用圃場作土に80cm×80cm×20cmの鉄枠を挿入し，水稲（品種レイホウ）を栽培した。麦わら640g施用区と麦わら無施用区を設けた。各区にN，P_2O_5，K_2O各7g/m^{2}相当量の化成肥料を湛水土壌に施用し，麦わらとともに作土層全体に混合した。わら施用の3日後（6月23日），揃った水稲苗（3本植え）15株/枠（栽植密度23.4株/m^2）移植した。

生育調査および試料採取：生育は7月8，18，28日，8月11日と10月19日に枠内の全株（n＝15）について茎数を調査した。また，酸性物質測定のための試料は枠内の作土にポーラスカップを挿入し，減圧下に採取した土壌溶液を用いた。土壌溶液の採取は6月25日，30日，7月5日，14日に行った。

揮発性脂肪酸は前節2.に述べたHPLC法により，芳香族カルボン酸は3.(1)で開発したGC/MS法により定量した。

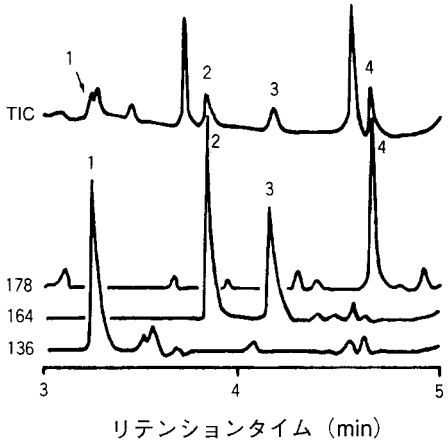
2）結果と考察

(1) GC/MSを用いた芳香族カルボン酸定量法の開発

芳香族カルボン酸4種のメチルエステルのTIM（Total Ion Monitoring）とSIMによるクロマトグラムを第16図に示した。メチル化に伴い添加されたジエチルエーテルが一部注入試料に残存するため，ピークがややブロードであったが，それぞれのピークはSIMにより完全に分離した。また，40～2000ngにおける各芳香族カルボン酸の相関係数（r^2）は安息香酸：0.9997，2-フェニルプロピオン酸：0.9995，3-フェニルプロピオン酸：0.9992，4-フェニル酪酸：0.9977であった（n＝5）。これらの結果からこの定量法は改善の余地はあるものの土壌溶液中の芳香族カルボン酸分析に応用可能と判断した。

第4表に水溶液からの芳香族カルボン酸の抽出率を示した。2-フェニルプロピオン酸，3-フェニルプロピオン酸，4-フェニル酪酸では82.7から98.7%で，良好な結果を示した。安息香酸は4種の中で最も低かったが，これは最も水溶性が高いためと考えられた。

土壌溶液への添加回収実験の結果（第5表）では安息香酸が最も低く91.1%で，他は100%を上回る結果となった。特に4-フェニル酪酸では26%の過大評価となり，測定値に対して誤差を見込んで評価す



第16図　芳香族カルボン酸標準試薬のTIMおよびSIM

注）ピーク1：安息香酸メチル
ピーク2：2-フェニルプロピオン酸
ピーク3：3-フェニルプロピオン酸
ピーク4：4-フェニル酪酸

第４表　水溶液からの芳香族カルボン酸の回収率

芳香族カルボン酸	回収率（%）
安息香酸	68.1
2-フェニルプロピオン酸	82.7
3-フェニルプロピオン酸	98.7
4-フェニル酪酸	98.0

第５表　土壌溶液からの添加回収実験

芳香族カルボン酸	分析値（ng）	回収率（%）	変動係数
安息香酸	795±65	91.1	12.20
2-フェニルプロピオン酸	876±42	109.5	7.18
3-フェニルプロピオン酸	1086±32	109.9	4.71
4-フェニル酪酸	1014±21	126.6	3.33

べきであると考えられた。変動係数は安息香酸で大きく4-フェニル酪酸では小さかった。これは，メチル化した場合に安息香酸メチルでは揮発性が高くなるため変動が大きくなるものと考えられた。

親水性の小さいクロロホルムを抽出溶媒とすることにより，ジエチルエーテルなどでの脂溶性物質の抽出に一般的な無水硫酸ナトリウムなどでの脱水の操作を省略できた。このため，絶対検量線法により定量が可能となり，簡便で実測に充分な定量法が開発された。しかしながら，安息香酸の回収率が低いこと，安息香酸メチルの揮発性が高く再現性が劣るなどの問題もある。更に厳密な分析方法を確立するには内部標準法を検討する必要があろう。また，メチル化試薬由来のジエチルエーテルのためにバンドの広がりが生じており，相関係数やダイナミックレンジに影響を与えていると見られる。

以上のように，若干の問題は残るものの，本法は土壌溶液中の芳香族カルボン酸濃度を定量するには充分な精度の分析方法と考えられた。

（2）水稲栽培圃場における脂肪酸および芳香族カルボン酸の濃度と水稲生育抑制

麦わらを施用した水稲栽培圃場から得た土壌溶液中の揮発性脂肪酸と芳香族カルボン酸濃度の３反復の実測値とその平均値を第６表に示した。揮発性脂肪酸は初期に濃度が高く，時間経過とともに低下する傾向があった。また，酢酸以外の揮発性脂肪酸の集積は小さかった。滝嶋ら（1960）の阻害濃度に至るサンプルは見られなかった。一方，芳香族カルボン酸は揮発性脂肪酸よりも濃度は低く経過したが，７月中旬まで集積が見られた。対照の麦わら無施用区では酢酸，イソ-吉草酸，安息香酸が検出されたが低濃度で経過した。

揮発性脂肪酸，芳香族カルボン酸ともに枠の内部でもサンプリングの場所によりばらつきが非常に大きく，また，同一サンプル内で各成分の濃度が同調して変動する傾向が見られた。このため，3反復の数字とそれらの平均を示した。土壌は本来不均一である上に，麦わらの添加で分布はいっそう不均一となる。また，麦わら無施用の圃場においても偶然前作刈り株のそばで採取すれば濃度が高まる可能性があり，ばらつきの原因となる。これらから，水稲栽培圃場の土壌溶液における平均濃度を正確に推定するのは困難である。ここでは，集積しうる可能性という観点から最高濃度に注目し，次章以降で検討す

第６表　麦わら施用水田における土壌溶液中の酸性物質濃度

ａ）揮発性脂肪酸（mM）

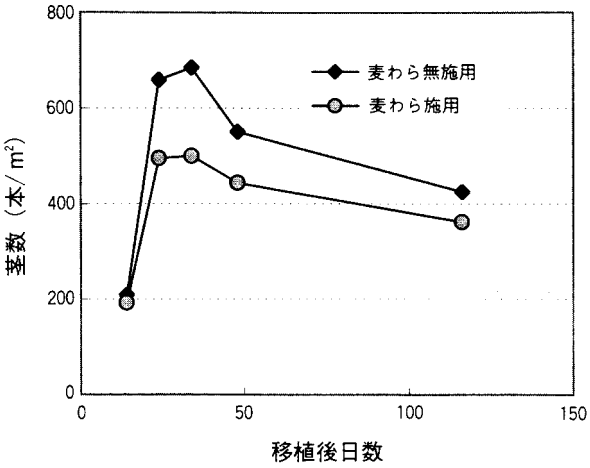
揮発性脂肪酸	６月25日（移植２日後）				６月30日（移植７日後）				７月５日（移植12日後）				７月14日（移植21日後）			
酢酸	0.39	0.57	0.15	(0.37)	0.26	＊	＊	(0.26)	0.74	0.06	0.13	(0.31)	－	0.02	－	(0.02)
プロピオン酸	0.08	0.08	tr	(0.08)	－	＊	＊	－	0.07	0.5	－	(0.29)	－	－	－	－
酢酸	0.23	0.04	tr	(0.14)	－	＊	＊	－	－	－	－	－	－	－	－	－
イソ吉草酸	0.17	0.02	tr	(0.10)	0.27	＊	＊	(0.27)	－	－	－	－	－	－	－	－

注）tr：微量，－：検出されず，＊：欠測。３反復の実測値と（平均）。

ｂ）芳香族カルボン酸（μM）

芳香族カルボン酸	６月25日（移植２日後）				６月30日（移植７日後）				７月５日（移植12日後）				７月14日（移植21日後）			
安息香酸	－	5.82	0.47	(3.15)	4.16	2.56	1.70	(2.81)	3.66	59.4	4.15	(22.4)	1.90	27.8	6.57	(12.1)
2-フェニルプロピオン酸	0.70	1.10	0.44	(0.74)	0.91	0.85	0.40	(0.72)	0.22	3.77	0.51	(1.50)	11.32	0.99	0.62	(4.31)
3-フェニルプロピオン酸	3.34	4.81	1.49	(3.21)	1.43	1.95	1.90	(1.76)	1.24	5.38	1.82	(2.81)	0.99	1.91	1.13	(1.34)
4-フェニル酪酸	－	－	－	－	－	－	－	－	－	－	－	－	－	－	－	－

注）：検出されず。３反復の実測値と（平均）。



第17図　麦わら施用の有無と水稲の茎数の推移

る生理活性の評価のための知見とした。

第17図に水稲の茎数の変化を示した。麦わら施用による減少は７月初め（移植後14日）には小さかったが，その後下旬まで大きくなった。また，麦わら区の最終的な穂数は少ないものの，最高分けつ期の茎数に対する有効茎歩合は10％以上高かった。生育抑制は７月後半（移植後20～30日頃）に最も強く，８月には抑制が緩和されていたと考えられる。

芳香族カルボン酸類は７月上旬から中旬にかけて濃度が高かったと見られる（第６表）が，生育抑制はそれよりもやや遅れて現われた。これは阻害要因が生じてから水稲の生育に可視的に影響が現われるには時間がかかるためと推定された。

４．まとめ

麦わら施用区の土壌における湛水46日後のアンモニア態窒素濃度は，麦わら無施用区より大きくなった。この時の水稲は茎数，草丈ともに麦わら施用区が劣っており，水稲の生育抑制は窒素飢餓によるものではなく，生育阻害あるいは窒素吸収阻害物質の存在が示唆された。また，佐賀の干拓地から採取した細粒グライ土の方が筑後平野の細粒灰色低地土より生育抑制の程度が大きく，アンモニア態窒素の残存量も多かったことから，土壌の種類や透水性など土壌の物理性が生育抑制に関与することも示唆された。

土壌にトレーサー ^{15}N を施用して短時間の土壌中アンモニア態窒素の分配を検討した２つの実験から，基肥として施用したアンモニアは麦わら施用により有機化が促進されたが，この有機化促進は麦わら施用の極初期（10日以内）で生じた。わら施用により水稲の窒素吸収が最も阻害される時期の土壌中アンモニア態窒素量はわら施用区の方が無施用区より大きかった。また，わら施用区の水稲のトレーサー ^{15}N 吸収量，水稲の窒素吸収速度は小さかった。以上の点から，麦わら施用による水稲の窒素吸収量の低下において，窒素の有機化とこれに起因するアンモニア態窒素の不足は主要因ではないことが明らかとなり，水稲根の窒素吸収活性の寄与が大きいものと考えられた。

麦わらを施用した湛水土壌から得た土壌溶液を分画し，水稲根の伸長阻害活性は酸性画分が最も高いことがわかった。土壌溶液の酸性画分を検索し，芳香族カルボン酸類と揮発性脂肪酸が同定された。また，これまで土壌から検出されたことがない芳香族カルボン酸である2-フェニルプロピオン酸が検出された。

麦わら施用水田における酸性物質濃度の推移と水稲の生育経過を解析した結果，酢酸，プロピオン酸，酪酸，イソ-吉草酸が検出されたが，滝嶋ら（1960）の阻害濃度には至らなかった。1988年の圃場における芳香族カルボン酸の最高濃度は安息香酸，2-フェニルプロピオン酸，3-フェニルプロピオン酸でそれぞれ59，11，5μM であった。

Ⅲ　芳香族カルボン酸による水稲生育と窒素吸収の阻害

前章Ⅱでは，麦わら施用による水稲の窒素吸収量の低下は窒素吸収過程に原因があり，酸性物質が関与しているものと推定した。揮発性脂肪酸の水稲に対する阻害作用は既に調べられている（滝嶋ら1960）。これに対して，芳香族カルボン酸は本研究で水田から初めて検出されたものであり，その水稲に対する阻害作用はこれまで未知であった。Ⅲでは，芳香族カルボン酸の水稲に対する作用性について，根の伸長阻害と窒素吸収阻害の２つの観点から検討する。

１．各種芳香族カルボン酸の水稲生育に対する阻害活性

土壌中に存在する物質の水稲への作用は根を介して生じると考えられる。このため，まず根の伸長に対する生理活性を検討した。また，水耕法により芳香族カルボン酸が水稲生育に及ぼす影響を調査した。

１）材料と方法

（1）阻害物質の種子根伸長に対する活性評価

種子根試験法：滝嶋ら（1960）の種子根試験法に若干の修正を加えて検定方法とした。土壌溶液から検出された成分について，単独で約1μMから10mM, pH 6の希釈系列を井戸水を用いて適宜調製した。肥料成分は加えなかった。第18図に検定に用いた装置を示した。ネットを上面に図のようにはったチューブ（ポリ塩化ビニル製，高さ12cm，径5cm）を500mLのトールビーカーに設置し，被検液を500mL加えた。ネットには予め水稲種子20個を根がネットの下に出るように並べた。この種子はⅡ章の2。の検定と同様に準備したものを用いた。水稲種子を被検液に浸してからポリ袋で全体を覆い，被検液の蒸発を防いだ。これを30℃のチャンバーに入れ，暗所で二日間静置した。これの根長を計り伸長率を第1式に従い計算した。なお，対照はpH 6に調製した井戸水とした。検定開始時の種子根の長さは7 mmとした。

（2）水耕栽培された水稲の芳香族カルボン酸による生育抑制

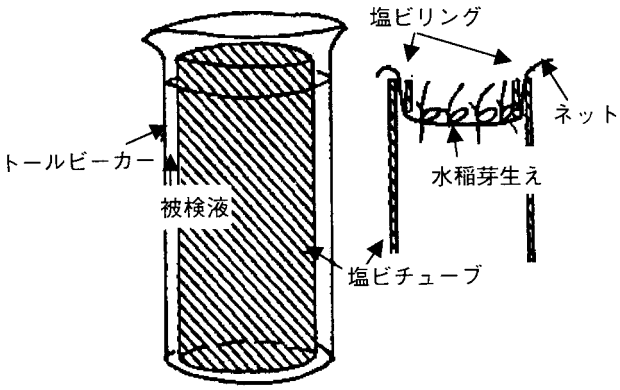
栽培方法：水稲種子を水に浸漬後，育苗箱に3個体ずつ播種した。14日後に水稲苗の土壌を除去し，井戸水で3日間馴化し，水耕液に移して5日間生育させた。これを規定の濃度の3-フェニルプロピオン酸など芳香族カルボン酸を含む春日井氏の水耕液（吉羽1990）に移し，12日間育てた。3反復とし，pHは希塩酸と希水酸化ナトリウム水溶液を用いて1日に2回ずつ調製した。また，水耕液は3日毎に交換した。芳香族カルボン酸処理開始から12日後に回収し，地上部については直ちに通風乾燥し，乾物重を測定後分析に供した。窒素吸収量はNCアナライザー（住友化学）を用いて分析した。根は直ちにホルマリンで固定し，最長根長を測定した後，切断してルートスキャナーで総根長を測定した。

実験1は3-フェニルプロピオン酸（10～1000μM）について，実験2は100μMの安息香酸，2-フェニルプロピオン酸，4-フェニル酪酸，1-ナフタリン酸について検定を行った。芳香族カルボン酸無添加を対照とした。

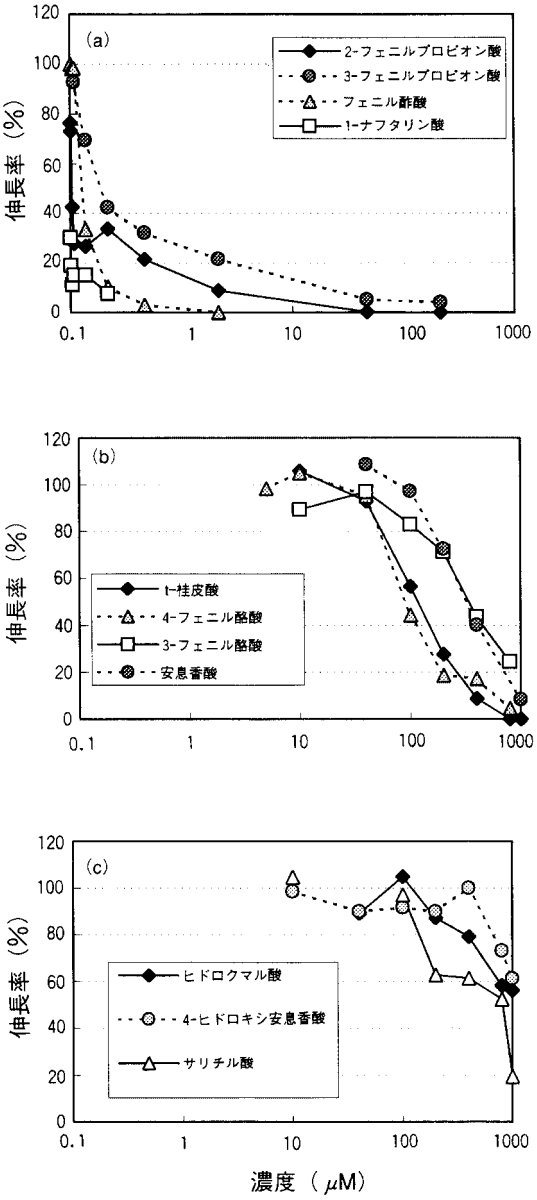
2）結果と考察

（1）阻害物質の種子根伸長に対する活性評価

第19図に芳香族カルボン酸の種子根伸長阻害活性を示した。また，第20図に主な芳香族カルボン酸の構造を示した。このうち，第19（a）図は検定を

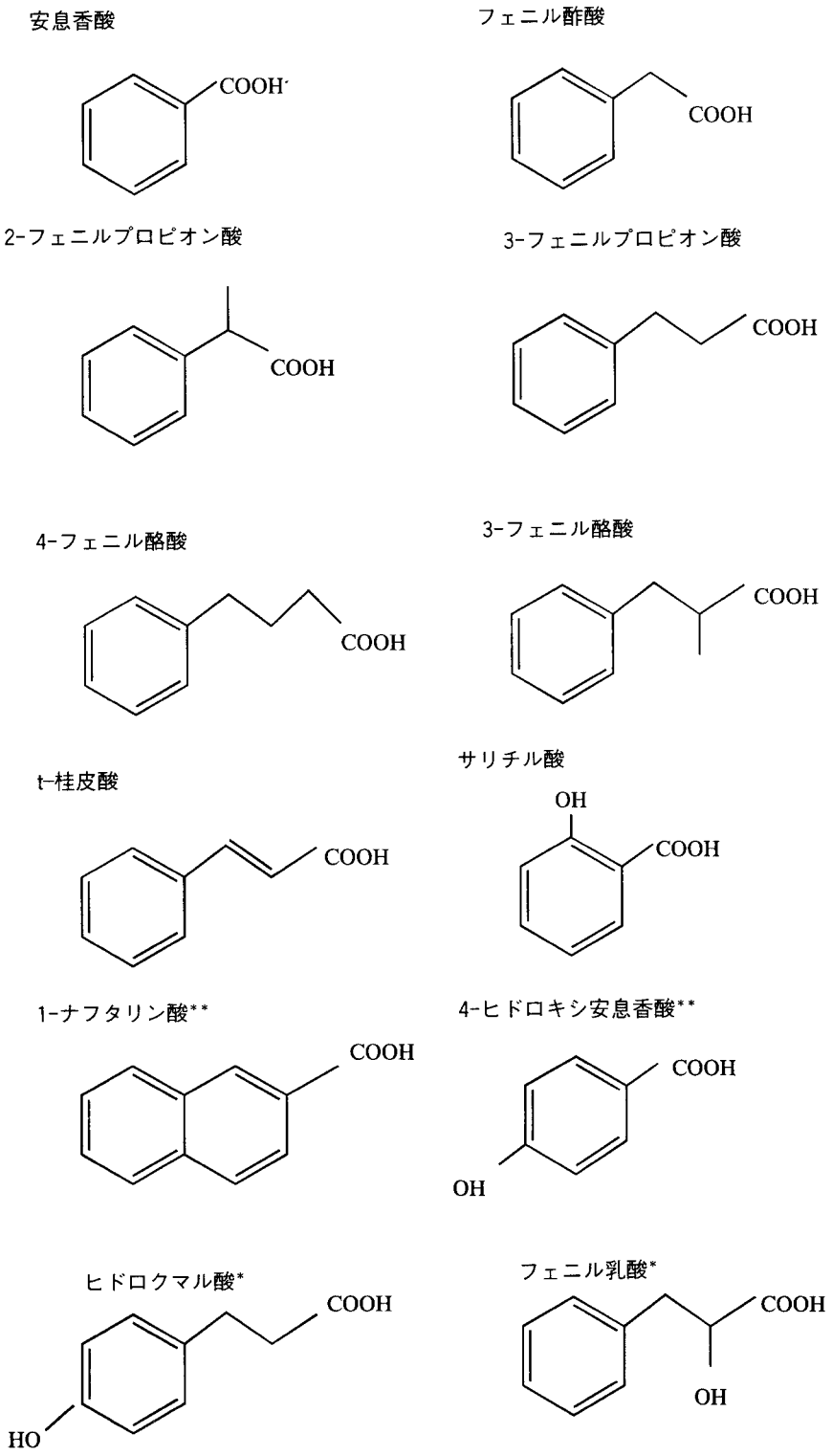


第18図　種子根試験法



第19図　芳香族カルボン酸の水稲種子根伸長阻害活性

行った芳香族カルボン酸の中で阻害活性が強い酸のグループを示した。この中では1-ナフタリン酸＞2-フェニルプロピオン酸＞フェニル酢酸＞3-フェニルプロピオン酸と続いた。これらはいずれもフェノール基を持たないという特徴があった。また，2-フェニルプロピオン酸とフェニル酢酸では，阻害を示す最低濃度は2-フェニルプロピオン酸の方が小さかったが，40～100 μM の間で逆転し，濃度が高くなるとフェニル酢酸の活性が上回った。なお，フェニル酢酸はⅡ章の２つの土壌溶液試料では同定できな



第20図　土壌から検出された主な芳香族カルボン酸とその類似物質の構造

注）*推定（OH の位置未確認）。**土壌からは検出されていない。

かったが，後述する試料中から検出されている（Ⅳ章）。また，1-ナフタリン酸は0.5μMで伸長率は30%と低く，検定した中で最強の阻害活性を示した。1-ナフタリン酸は合成オーキシンである1-ナフタリン酢酸の側鎖の炭素が一個少ないものであり，オーキシン様の根の伸長阻害は想定された。なお構造上興味ある物質のため検定に加えたが，土壌からは検出されていない。

第19（b）図は土壌中から検出された芳香族カルボン酸とその異性体のうち，活性が弱いものを示した。4-フェニル酪酸と3-フェニル酪酸では分枝のない4-フェニル酪酸の阻害活性が強く，フェニルプロピオン酸とは逆の結果となった。また,3-フェニルプロピオン酸の直鎖部分が二重結合した*t*-桂皮酸は3-フェニルプロピオン酸よりも，4-フェニル酪酸と阻害作用が類似していた。3-フェニル酪酸は土壌中から検出されたが，まれであった。

第19（c）図は植物残渣の抽出や土壌腐植過程で比較的高頻度で認められる酸類であり，フェノール性水酸基を持つものを検定した。これらはいずれも１μM程度の低濃度では活性がなく，100μM以上で初めて阻害作用を示した。有機物の腐植化過程や堆肥化過程においては，フェノール性酸がしばしば検出される（Shindo and Kuwatsuka 1975）が，水稲根の伸長に対してみる限り阻害活性は強くなかった。

以上のように，種々の芳香族カルボン酸について水稲種子根の伸長に及ぼす阻害活性を検定したが，この幼植物を用いた検定に加えて，さらに生育ステージの進んだ植物体において阻害作用を検討する必要があると考えた。

２．水耕栽培された水稲の芳香族カルボン酸による生育抑制

3-フェニルプロピオン酸の濃度と水稲生育の関係を第７（a）表に示した。地上部の生育は100μMで抑制が現れ，特に，乾物重や窒素含量の低下が顕著であった。一方，根は50μMで総根長と最長根長の両方が低下し，特に，最長根長の低下が大きかった。（1）の，種子根試験法において40，100μMにおける根の伸長率はそれぞれ69，42%であり（第19図），ほぼ同様の結果が得られた。

100μMの各種芳香族カルボン酸溶液中における水稲根の生育を第７（b）表に示した。2-フェニルプロピオン酸と1-ナフタリン酸が強い阻害活性を示し，地上部乾物重，窒素含量が大きく低下した。さらに，この２物質では茎葉乾物重の低下割合に比べて窒素含量の低下割合が著しく，窒素吸収過程が阻害されたことが推定された。また，根において最長根長，総根長ともに低下しており，特に総根長の低下が顕著であった。安息香酸では草丈，茎葉乾物重

第７表　水耕栽培された水稲に対する芳香族カルボン酸の作用

a）3-フェニルプロピオン酸を添加した水耕液における水稲の生育（実験１）

3-フェニルプロピオン酸濃度（μM）	草丈 cm	茎数 本／ポット	乾物重 mg	窒素含量 mg	総根長 m	最長根長 cm
0(対照)	50.7 (100)	7.3 (100)	887 (100)	38.0 (100)	66.0 (100)	19.7 (100)
10	52.0 (103)	7.7 (105)	953 (108)	41.1 (108)	66.9 (101)	23.3 (119)
50	51.3 (101)	7.7 (105)	990 (113)	44.5 (117)	57.2 (87)	14.7 (74)
100	44.7 (89)	6.3 (87)	660 (75)	27.9 (73)	46.8 (71)	11.4 (58)
500	37.7 (74)	6.0 (82)	580 (65)	22.5 (59)	57.3 (86)	10.5 (53)

注）（　）内の数字は対照を100とした指数。

b）芳香族カルボン酸を添加した水耕液における水稲の生育（実験２）

添加物質	草丈 cm	茎数 本／ポット	乾物重 mg	窒素含量 mg	総根長 m	最長根長 cm
無添加（対照）	38.5 (100)	7.3 (100)	737 (100)	33.2 (100)	43.6 (100)	19.7 (100)
安息香酸	39.2 (102)	9.0 (123)	823 (112)	38.5 (116)	48.6 (111)	17.3 (88)
2-フェニルプロピオン酸	26.0 (68)	6.0 (47)	347 (47)	11.9 (36)	16.5 (38)	13.0 (66)
4-フェニル酪酸	32.7 (85)	8.0 (83)	610 (83)	29.0 (87)	35.0 (80)	11.0 (56)
1-ナフタリン酸	26.2 (68)	3.7 (41)	303 (41)	10.6 (32)	14.5 (33)	14.3 (73)

注）（　）内の数字は対照を100とした指数。芳香族カルボン酸は全て100μM。

および窒素含量，総根長に差がないかまたは増加し，最長根長のみ低下した。4-フェニル酪酸では最長根長が著しく低下し，その他の項目にも緩やかな阻害がみられた。安息香酸と4-フェニル酪酸では実験１の3-フェニルプロピオン酸と同じく最長根長の低下が総根長の低下より大であった。

以上の結果から，芳香族カルボン酸の水稲根に対する作用性について検討した。実験１，２ともに最長根長の低下が総根長の低下より大であったことから，根に対する作用が緩やかな濃度域では，既に発生している節根の伸長に対しては阻害的に働き，新たな発生に対しては阻害しないか，むしろ促進するのではないかと考えられる。また，安息香酸や低濃度（50μM 以下）の３-フェニルプロピオン酸が一部の項目に対しては促進的に働いた。これらは外因性オーキシンの根に対する作用性（増田1977）と一致するものである。また，芳香族カルボン酸の一部（フェニル酢酸など）はオーキシン様物質として報告されている（Aberg1963）。以上の点から，水田土壌から検出された芳香族カルボン酸類は，インドール酢酸に比較するとはるかに弱いものの，水稲に対してオーキシン様の作用を示しているものと推定した。

検出された芳香族カルボン酸の水稲根の伸長阻害活性には物質間で非常に大きな差異がある。また，第19図には種々の芳香族カルボン酸について行った種子根伸長試験の結果が示してあるが，フェノール性水酸基を持つものは，持たないものと比較して活性が低下する傾向があった。これは Aberg（1963）が指摘したように，芳香族カルボン酸の構造が根におけるオーキシンレセプターへの親和性や作用性に関して強く影響するためと考えられる。

本実験では各酸ともに圃場で検出された濃度より高い濃度に設定しており，さらに土壌中では水耕に比べて緩衝作用が働くことも想定されるので，現実の土壌においてこのような強い症状は生じないと考えられる。しかしながら，実際にこれらの物質が土壌中に一定の濃度以上に集積すればオーキシン様作用を示し，根を通じて水稲の生理を撹乱する可能性はある。

2．水耕栽培された水稲における芳香族カルボン酸による窒素吸収阻害活性の検定

Ⅱにおいて根量の低下が無くても窒素吸収量の低下が認めらたことから，芳香族カルボン酸に直接的な窒素吸収活性の阻害作用があるか否かを調べるため，芳香族カルボン酸存在下の窒素吸収活性を水耕実験により検討した。

１）材料と方法

水稲苗：水稲（レイホウ）の種子は３個体／株としてポット苗用の苗箱に播種し温室に置いた。発芽後，温室から出して26日間育てた。この苗の土壌を水流で除去し水耕液に移す前に48時間井戸水で馴化した。水耕液は春日井氏の組成（吉羽1990）を基準の1/2濃度で用いた。発泡スチロール板に直径1.5cm の穴をあけ，これに水稲苗の根を通してポリエステル綿で支持し，コンテナの水耕液に浮かせて栽培した。水耕液の pH は0.1M の塩酸と水酸化ナトリウム水溶液を用いて5.5に調節した。

トレーサー ^{15}N 吸収実験：芳香族カルボン酸処理区は2-フェニルプロピオン酸１μM（2P1），10μM（2P10），3-フェニルプロピオン酸100μM（3P100），1000μM（3P1000），安息香酸100μM（BA100），1000μM（BA1000）とした。無添加を対照区とした。

よく揃った水稲の苗を選び，一株毎に標準の1/2濃度の春日井氏水耕液または所定の芳香族カルボン酸を含む春日井氏水耕液350ml を用いてトールビーカーで栽培した。一区５反復とし，水稲を支持した発泡スチロールをビーカーの縁に載せ，水耕液には根だけが接するようにした。ビーカーの側面はアルミホイルで遮光した。水稲苗の^{15}N 処理は40時間とし，15，24時間後に pH を5.5に調整した。^{15}N 処理後に水稲体の根と地上部を切り離し流水および蒸留水で洗浄した。この試料を70℃で乾燥・粉砕しケルダール分解した。窒素含量は蒸留・滴定により求めた。^{15}N 存在比（atom%）は発光分析法（Yamamuro 1981）により分析した。

処理期間中に吸収された窒素（Ntr）と処理開始時に存在した窒素（Nn）は次の２式で計算される。

$$Ntr = Ntot \times (Nr / 100) \times (100 / 9.93) \quad \text{（第４式）}$$

$$Nn = Ntot - Ntr \quad \text{（第５式）}$$

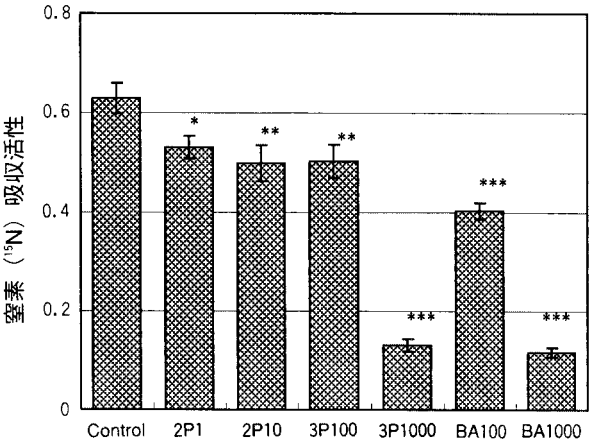
ここで，Nr はその^{15}Natom% excess（＝^{15}Natom% －0.37），Ntot は水稲の全窒素吸収量，である。また，9.93は使用した^{15}N トレーサーの^{15}Natom%10から自然存在比0.366を差し引いたものである。

２）結果と考察

（2）の水耕実験により，芳香族カルボン酸の処理により乾物重を初めとする水稲の諸生育が抑制された。本実験では根量への影響を排除した窒素吸収阻害活性を検定するのが目的であるから，検定期間の長さは生育（乾物重）に差が現れない程度の短時間に設定する必要がある。BA1000，3P1000等の乾物重は対照より小さい傾向があった（データ省略）が，いずれの処理区も対照との有意差は検出されなかった。このことから，処理時間は充分短かったと考えられる。また，安息香酸と3-フェニルプロピオン酸の高濃度処理（1000μM）では水稲体の葉の萎凋が認められ，吸水または水の移動が妨げられたものと考えられる。

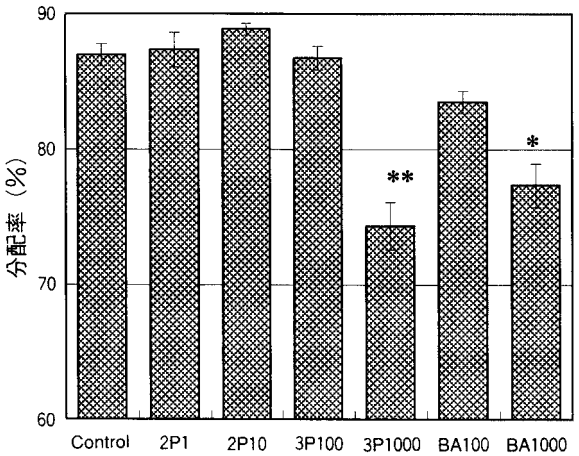
第21図に^{15}N 処理期間中の窒素吸収活性を示した。ここでは，窒素吸収活性は処理開始時に含まれた窒素量に対する処理期間中に吸収した窒素の比率で表した。一般的には乾物に対する処理期間中の窒素吸収量を比較するが，前節1．で明らかにしたように，芳香族カルボン酸により根の伸長が阻害されると，乾物を基準とした数値は曖昧なものとなる。しかし，個体差の影響を小さくするために，水稲のサイズを評価の基準に入れることは必要である。トレーサー^{15}N を施用した水耕実験では処理開始前に水稲が持っていた窒素量が計算できる（第５式）。そこで，芳香族カルボン酸による根の伸長阻害作用の影響を受ける前の窒素量により，水稲体のサイズによる差を消去する方法が最も適切と考えた。この計算値によって評価すると，芳香族カルボン酸処理区では窒素吸収活性の阻害が認められた。特に，2-フェニルプロピオン酸の阻害活性は強く，1μM で阻害活性を示した。また，安息香酸では100μM の時，有意（p ＝0.001）な阻害が示された。さらに，1000μM の安息香酸と3-フェニルプロピオン酸処理では全個体ともに萎凋し，窒素吸収活性も対照の30％以下と顕著に低下した。

第22図に吸収したトレーサー^{15}N の地上部への分配率を示した。これは吸収した窒素の根から茎葉への転流活性を示している。高濃度（1000μM）の安息香酸と3-フェニルプロピオン酸で窒素の転流が阻害された。この結果はⅡ章において麦わら施用土壌で育てた水稲は吸収された窒素の地上への転流が低下していたこととも一致する。なお，2-フェニルプロピオン酸は設定した濃度が安息香酸などの1/100であった。この濃度では窒素吸収は阻害するものの転流への影響は軽微であった。



第21図　水稲の窒素（^{15}N）吸収に対する芳香族カルボン酸の作用

注１）バーは SE（n ＝５）を表す。
２）窒素吸収活性は処理前の水稲の含有窒素に対する処理期間中に吸収した窒素の比。
３）＊，＊＊，＊＊＊はそれぞれ対照との差が Dunnet の検定により p ＝0.05，p ＝0.01，p ＝0.001の水準で有意であることを示す。
４）２P１：１μM 2-フェニルプロピオン酸，２P10：10μM 2-フェニルプロピオン酸，３P100：100μM 3-フェニルプロピオン酸，３P1000：1000μM 3-フェニルプロピオン酸，BA100：100μM 安息香酸，BA1000：1000μM 安息香酸



第22図　吸収された^{15}N の地上部への分配

注１）バーは SE（n ＝５）を表す。
２）＊＊は対照との差が Dunnet の検定により p ＝0.01の水準で有意であることを示す。
３）2P1：１μM2-フェニルプロピオン酸，2P10：10μM2-フェニルプロピオン酸，3P100：100μM3-フェニルプロピオン酸，3P1000：1000μM3-フェニルプロピオン酸，BA100：100μM 安息香酸，BA1000：1000μM 安息香酸

このように，土壌中から検出した芳香族カルボン酸は水稲の窒素吸収や転流を阻害することが一部で確認された。窒素吸収阻害活性の強さは，検定した３物質の中では2-フェニルプロピオン酸の活性が最も強く，この結果は根の伸長阻害活性の結果と同様であった。また，転流については安息香酸と3-フェニルプロピオン酸の1000μMという高濃度で認められた。これらの物質が生育，養水分吸収，蒸散など水稲の生理に多面的な影響を及ぼすことが示された。さらに，Ⅱ－1．の水稲栽培試験において，窒素の吸収や転流の低下が認められている。現実に麦わらを施用した土壌で栽培した水稲では芳香族カルボン酸により窒素吸収阻害が生じていると考えられる。転流については圃場における土壌溶液から検出される濃度と芳香族カルボン酸による阻害濃度の間に差があるため，転流阻害現象への芳香族カルボン酸の関与は明確とはならなかった。

水稲体が萎凋した処理区のみで，明らかな窒素の転流抑制が認められたことから窒素吸収や転流阻害の機構には，吸水，蒸散流の上昇やアンモニアのアミノ酸への同化などの阻害が関連している可能性が考えられる。あるいは，根において芳香族カルボン酸との接触がエネルギー代謝など水稲の生理全体に関る代謝過程の撹乱を引き起こしているかもしれない。Marambe and Ando（1993）は，家畜糞堆肥の水抽出物やこれに含まれる長鎖脂肪酸（パルミチン酸，ステアリン酸等）がソルガムの発芽を阻害する機構を解析する過程で，これらとの接触は種子中のATP含量を低下させることを見出している。芳香族カルボン酸においてもエネルギー代謝と結び付いた阻害が生じているかもしれない。芳香族カルボン酸の水稲生理に対する作用性やその機構は興味がもたれる。これらを明らかにするには生理実験が必要であろう。

３．まとめ

水稲種子根の伸長阻害活性を有する土壌溶液の酸性画分から検出された芳香族カルボン酸類について，種子根伸長阻害活性を検定した。土壌から検出された成分の阻害順位は2-フェニルプロピオン酸＞フェニル酢酸＞3-フェニルプロピオン酸＞4-フェニル酪酸＞3-フェニル酪酸＞安息香酸であった。

代表的な芳香族カルボン酸を添加して水耕栽培を行った。阻害活性の強度は種子根検定で認められた活性と近似しており，作用性の強度の順序も一致した。また，阻害活性は地上部よりも根に鋭敏に現われ，低濃度域では根の伸長が抑制されても発根が促進されたと見られる処理区もあった。このような現象から芳香族カルボン酸による水稲根の伸長阻害の作用機作はオーキシン様と推定した。

芳香族カルボン酸の水稲への窒素吸収阻害活性を検討し，2-フェニルプロピオン酸は１μM，安息香酸と3-フェニルプロピオン酸は100μMで阻害活性が認められた。また，安息香酸と3-フェニルプロピオン酸の1000μM溶液では吸収された窒素の地上部への転流が阻害された。このことは，水稲栽培試験（Ⅱ章）において，窒素の吸収や転流の低下が認められたことと一致しており，麦わらを施用した土壌で栽培した水稲では芳香族カルボン酸により窒素吸収阻害が生じていると考えられる。

Ⅳ　芳香族カルボン酸の集積に影響する諸要因

本研究で水稲の根伸長および窒素吸収の阻害活性を有する芳香族カルボン酸を水田土壌から初めて検出した。また，圃場の土壌溶液において2-フェニルプロピオン酸が水稲根伸長や窒素吸収を阻害する濃度に至ることを明らかにした。このように，芳香族カルボン酸類がわら類を施用した水田圃場における水稲の生育抑制に寄与している可能性は極めて高いため，本章では培養実験により芳香族カルボン酸類の生成の特徴を解析し，また，芳香族カルボン酸の前駆体や生成経路について検討した。

１．施用有機質資材の種類と土壌溶液中芳香族カルボン酸濃度の経時変化

麦わら施用に伴い湛水土壌中に芳香族カルボン酸が生成することを明らかにしてきた。ここでは，芳香族カルボン酸を生じ得る資材を検索し，特徴づけ，その結果から芳香族カルボン酸の起源の推定を試みた。

１）　材料と方法

実験１：有機質資材を添加した湛水土壌の培養実験

九州農業試験場内圃場（細粒灰色低地土）から採取した未風乾土壌　（乾土換算で30g），種々の有機質資材一種類ずつ各0.6g（乾物）とN，P_2O_5，K_2Oのそれぞれ40mg相当量の（$(NH_4)_2SO_4$，NaH_2PO_4，KClを混和し，100mL容のガラス製遠沈管に入れ水

を添加して撹拌し湛水状態として，上部をポリエチレン製フィルムで覆い，30℃で培養した（各区２連）。有機質資材は麦わら（アサカゼコムギ），稲わら（レイホウ），オガクズ，稲わら堆肥，グルコース，セルロース粉末であり，無添加を対照とした。グルコースとセルロース粉末は試薬（和光純薬工業）を用い，その他の資材は粉砕後２mmの篩を通過した粉末を用いた。培養開始から5，12，20，30，40日後に採取し，遠心分離（1000×g，10分）により土壌溶液（上清）を採取した。この土壌溶液を0.45μmのメンブレンフィルターを通過させた試料について，Ⅱ－3.に示した方法で土壌溶液の芳香族カルボン酸を分析した。

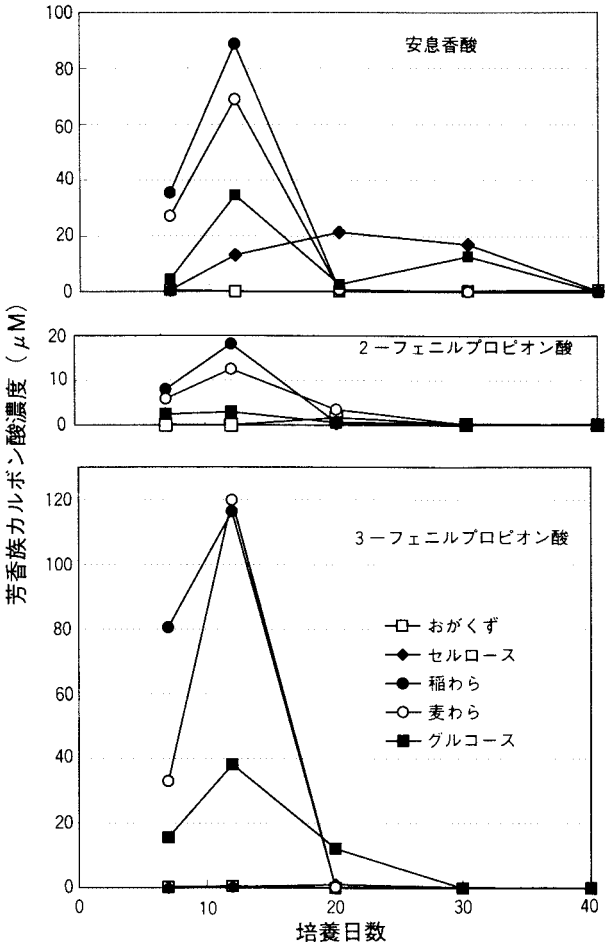
実験２：有機質資材の浸水嫌気培養実験

300mL容の三角フラスコ内にN，P_2O_5，K_2Oのそれぞれ48mg相当量を含む化成肥料と有機質資材の麦わら（アサカゼコムギ），稲わら（レイホウ），レンゲ，稲わら堆肥，グルコース，セルロースを各区５g（乾物）の粉末を入れ，窒素ガスを通気した精製水200mL，を添加した。実験１の土壌培養実験と同様の土壌を懸濁液（5g/100mL）とし，それぞれのフラスコに１mL添加して土壌微生物を接種した。三角フラスコは二本のガラス管（ゴム管付き）を通したゴム栓で封をし，培養開始時にガラス管から窒素ガスを通気しフラスコ内の雰囲気を窒素ガスに置換し，ゴム管を封じ，30℃で培養した。

培養開始から14日後にフラスコ内の懸濁液を採取し，0.45μmのメンブレンフィルターを通過させたものを分析用試料とした。土壌溶液の芳香族カルボン酸は，土壌懸濁液のろ液試料0.2mLを，濃縮を省略して直接クロロホルムで抽出し，GC/MS－SIMにより分析した。

２）結果と考察

第23図に実験１の各種有機質資材を添加して湛水培養した土壌溶液中の，3種の芳香族カルボン酸（安息香酸，2-フェニルプロピオン酸，3-フェニルプロピオン酸）の濃度変化を示した。各芳香族カルボン酸濃度は稲わら，麦わら，グルコースの三者の添加土壌ではいずれも培養開始から14日後（グルコース添加の2-フェニルプロピオン酸のみ７～14日の期間）にピークがあり，20日後には低下した。このうち，稲わらと麦わら添加土壌では前者の方がやや高濃度で推移した。一方，セルロース添加土壌で，



第23図　各種有資材を添加した湛水土壌溶液中の芳香族カルボン酸（安息香酸，2-フェニルプロピオン酸，3-フェニルプロピオン酸）濃度の経時変化

注）対照，稲わら堆肥については定量限界以下であった。

第８表　各種有機物を添加した浸水培養14日目における3-フェニルプロピオン酸濃度

添加有機物	3-フェニルプロピオン酸濃度（μM）
麦わら	14.0
稲わら	23.5
レンゲ	93.0
グルコース	29.5
セルロース	tr
稲わら堆肥	tr
無添加（対照）	tr

注）tr：定量限界（10μM）以下

安息香酸は20日後に最大値の21μMを示し，30日後も18μMの濃度を維持した。また，2-フェニルプロピオン酸と3-フェニルプロピオン酸は20日後に最大となったが，両者とも稲わら，麦わら添加区に比べ

て低濃度であった。稲わら堆肥添加土壌および資材無添加の対照区では，芳香族カルボン酸濃度は定量限界以下で経過した。

第８表に実験２の浸水嫌気培養14日目の3-フェニルプロピオン酸の濃度を示した。3-フェニルプロピオン酸はレンゲの培養で最も高濃度に集積した。稲わら，麦わら，グルコースの培養ではレンゲの1/3から1/6の濃度であった。複雑な構成成分からなる植物残渣のわら類やレンゲだけでなく，単純な物質であるグルコースの添加でも3-フェニルプロピオン酸が生成し，しかも麦わらの２倍以上の濃度であった。ここではサンプルの濃縮を省略したので定量限界が10μM 以上と高濃度になっているものの，セルロース，稲わら堆肥，資材無添加（対照）の培養では定量限界に及ばず，明らかな差が生じた。レンゲを培養した区で最も濃度が高まったのは，レンゲには他の資材よりも易分解性の窒素が多く含まれるため，培養初期から微生物活動が非常に活発となったことによるものと考えている。

これまで，土壌で検出される芳香族カルボン酸の研究は，刈り株マルチのような有機質資材を表層施用した畑土壌（McCalla and Norstadt 1974），有機物が腐熟した後の腐植を生成しつつある過程（Shindo and Kuwatsuka 1975，進藤・鍬塚 1978，山根1982a，Tsutsuki and Ponnamperuma 1987）でのフェノール性化合物の挙動についてが主流であった。このことから，麦わらを施用した湛水土壌から検出される芳香族カルボン酸も，わらのリグニンの分解産物との解釈も有り得た（草野・小川1974）。しかし，第23図に見るように，ベンゼン環を含まない有機質資材のグルコースやセルロースを添加して土壌を湛水培養しても芳香族カルボン酸が生じ，逆に，細胞壁を構成するリグニン含量が最も高いオガクズ添加土壌での3-フェニルプロピオン酸の集積は少なかった。このことから，3-フェニルプロピオン酸等の芳香族カルボン酸は植物体を構成するリグニン等のフラグメントに由来するものが主要な給源ではないことが推定された。また，有機質資材の浸水嫌気培養では，グルコースの培養液から3-フェニルプロピオン酸が検出された（第８表）。この浸水嫌気培養系には土壌微生物接種のため少量の土壌懸濁液が添加されているだけなので，3-フェニルプロピオン酸は土壌腐植由来でないと考えられた。これらの結果から，芳香族カルボン酸は土壌腐植や植物体の構成成分（リグニンなど）の浸出物やそのフラグメントに由来するものでなく，有機物の施用で増殖した微生物の代謝産物であると推定された。

Lynch et al.（1980）はシバムギ（*Agropyron repens*）の地下部を土壌と培養し，嫌気分解でフェニル酢酸を含む10種類の酸を検出したが，好気条件では酸は集積しなかったとしている。また，Patrick（1971）は有機物施用による畑作物の生育抑制は，気相（酸素）が少ないか高水分の土壌条件下で生じる推定している。以上のことから，芳香族カルボン酸が還元状態での代謝産物であることの可能性が高いと示唆され，代謝経路や生成条件の解析の手掛かりとなるものであると考えられた。

このような芳香族カルボン酸の集積条件やその消長は佐藤・山根（1965），長野間・諸遊（1985）が報告した有機質資材の施用に伴う酢酸・プロピオン酸等の揮発性脂肪酸の生成とかなりよく一致する。これは揮発性脂肪酸と同じく，芳香族カルボン酸も土壌微生物の代謝（発酵）過程で生成するためと考えられる。

２．土壌の培養温度，種類，水分条件による芳香族カルボン酸の集積の特徴

芳香族カルボン酸の水稲への生育抑制作用を軽減するためには，その集積条件を明らかにする必要がある。そこで，培養実験により，土壌温度，土壌の種類，水分条件による芳香族カルボン酸濃度の推移の相違を検討した。

１）　材料と方法

実験３：培養温度の影響

場内の化学肥料単用区の未風乾土壌を30g（乾土換算）と６ｇの麦わら粉末（乾物）と，N，P_2O_5，K_2O 各6.4mg 相当量を含む化成肥料の粉末をビーカーで混ぜあわせ湛水し，20，30，40℃の３段階の温度で培養した。経時的にビーカーを取り出し，土壌溶液を遠心分離により採取しメンブランフィルターを通したものを分析用試料とした。1．の実験２と同様の簡易法によって3-フェニルプロピオン酸濃度を分析した。また，HPLC により揮発性脂肪酸（酢酸，プロピオン酸）の濃度を分析した。さらに，Eh（酸化還元電位）を測定した（鬼鞍・後藤1970）。

実験４：土壌の種類の影響

場内の化学肥料単用区から採取した埴壌土，佐賀

県有明干拓から採取した重埴土，熊本県阿蘇外輪の水田圃場から採取した黒ボク土，福岡県農業試験場の水田圃場から採取した砂壌土について，未風乾で２ mm 以下に調製した土壌試料400g（乾土相当）に８ g の乾燥麦わら粉末と，N，P_2O_5，K_2O 各6.4mg 相当量を含む化成肥料の粉末をビーカーで混合し，30℃で湛水培養した。また，麦わら無添加の対照区を設けた。培養土壌を経時的に取り出し，3-フェニルプロピオン酸濃度を簡易法（1．の実験２と同様）で分析した。また，Eh を測定した（鬼鞍・後藤 1970）。

実験５：水分条件の影響

場内の化学肥料単用区の土壌を採取し未風乾のまま２ mm 以下に調製した。この30g（乾土相当）と0.6g の麦わら粉末と，N，P_2O_5，K_2O 各6.4mg 相当量を含む化成肥料の粉末をビーカーで混合し，これに乾土重の60，100，150％の水を添加し，よく撹拌した。なお，この土壌の最大容水量は82％であった。土壌粒子が沈降してから，土壌表面または表面水にポリ塩化ビニリデン製シートを密着させ，さらに容器の上部をポリエチレン製の袋で覆い，30℃で静置培養した。培養11日と15日後の培養土壌について，芳香族カルボン酸（安息香酸，2-フェニルプロピオン酸，3-フェニルプロピオン酸）の濃度を測定した。

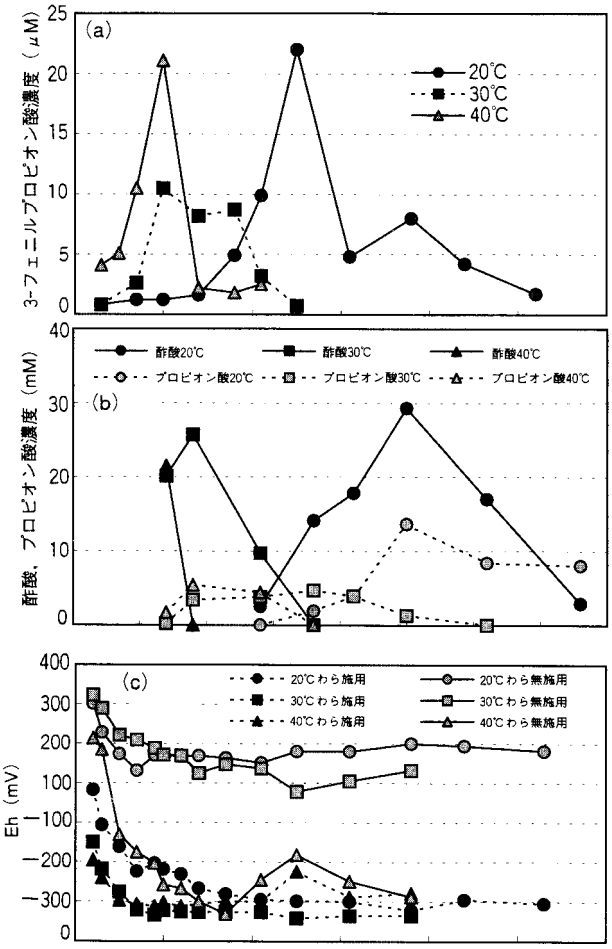
２）結果と考察

第24（a）図に3-フェニルプロピオン酸の濃度の経時変化を示した。高い培養温度（40˚C）においては3-フェニルプロピオン酸の集積は早く起こり，３日目には４ μM，10日目に最高となり，15日目には低濃度となった。一方，低温の20℃では14日目にピークが立ち上がり始め，25日目に最高濃度であった。その後は緩やかに低下し，44日目に４ μM となった。30℃では両者の中庸の傾向を示した。仮に４ μM 以上を3-フェニルプロピオン酸が集積している状態とすると，20℃では集積期間が24日，30℃では７日，40℃では８日であった。また，最高濃度は20℃で22 μM，30℃では10.5 μM，40℃では21 μM であった。

酢酸，プロピオン酸（第24（b）図）ともに，高温でピークが早く現われ，消失も早かった。これは，3-フェニルプロピオン酸と同様の結果であった。揮発性脂肪酸のピークの継続期間は低温で長かった。20℃のプロピオン酸最高濃度は30℃，40℃の約３倍であった。

以上の点から，培養土壌温度の揮発性脂肪酸と3-フェニルプロピオン酸の集積に対する影響は一致し，温度が高いと集積の開始も消失も早かった。逆に，低温（20℃）では集積が始まる時間は遅いが集積期間は長くなり，曲線下面積で推定される積算濃度も大きくなった。これらのことは，3-フェニルプロピオン酸や揮発性脂肪酸による水稲への生育抑制効果は，低温で影響が強くなることを示唆している。

第24（c）図に各処理区の酸化還元電位（Eh）を示した。40℃のわら施用処理では培養開始から２日後に－95mV,5日後に－195mV まで低下し,その後は約－200mV の付近で安定した。30℃でもわら施用処理では40℃より約１日遅れで低下し，－230mV 付近で安定した。また，20℃では低下の勾配が緩や



第24図　麦わら添加土壌を湛水下，20，30，40℃で培養した時に集積した3-フェニルプロピオン酸（a），酢酸とプロピオン酸（b）の濃度と Eh（c）の変化

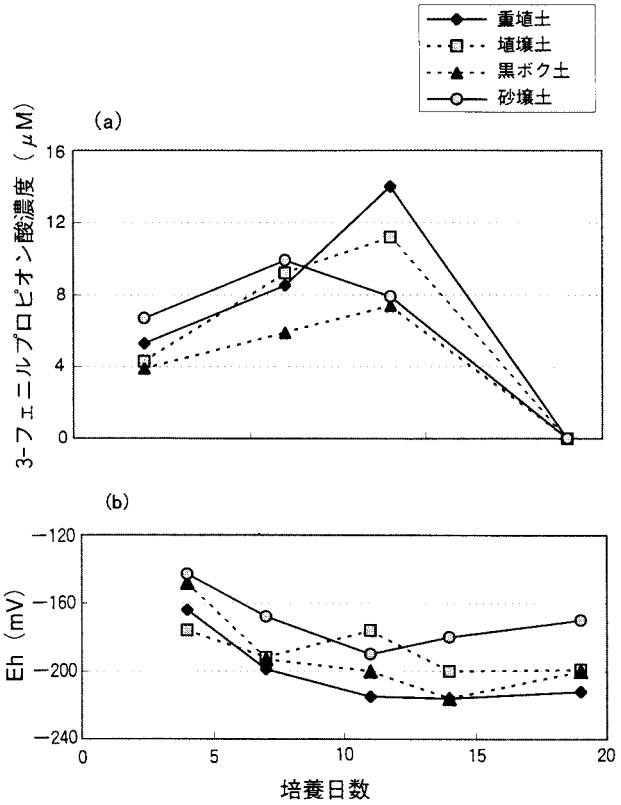
かで，－100mV に低下するのは30℃と比べて５日遅れ，－200mV になるのは２週間以上遅れた。わら無添加の場合，40℃の培養では Eh は大きく低下し，14日後には－200mV まで低下した。その後わら添加区とは異なり，Eh は安定せず－100から－200mV の間で変動した。20℃と30℃ではほぼ＋100mV 以上を維持し，強い還元状態には至らなかった。

3-フェニルプロピオン酸，揮発性脂肪酸の集積が認められるのは40℃では Eh が－140mV，30℃では－176から－221mV，20℃では－160から－170mV であった。またこれらの有機酸が最高濃度に至った時の Eh はそれぞれ，－202，－223，－199mV であり，Eh が最も低く安定になった時であった。しかし，その後の Eh は安定していたが，有機酸の濃度は低下した。

わら無添加でも40℃で培養すると Eh は急速に低下し，培養開始から一週間以降は20℃のわら添加区と同等以下まで低下した。しかし，3-フェニルプロピオン酸などの有機酸の顕著な蓄積はなかった。このことから，40℃では化学的な反応や温度上昇による土壌有機物の分解が主体となって Eh が低下すると考えられた。3-フェニルプロピオン酸の集積には生物的過程が関っており，集積には有機質資材の添加が不可欠と推定された。また，有機酸は還元が進んだ状態で生成し始め，さらに Eh の低下に伴って濃度が高くなることから，土壌中では電子のアクセプターとなっているものと推定される。Eh が最低値を示した時とピーク時期が一致することは生成過程を推定する上で興味深い。

第25（a）図に麦わらを添加した４種類の土壌における3-フェニルプロピオン酸の濃度変化を示した。また，培養初期の砂壌土における濃度が高かったが，濃度の低下が早く，14日目には重埴土と埴壌土で高濃度になった。また，黒ボク土は全期間を通じて最も低濃度であった。黒ボク土は火山灰など有機質の成分が多く含まれ多孔質であるともに主要粘土鉱物が陰イオン吸着性のアロフェンであることから，他の土壌と比べて陰イオン吸着容量が高いと考えられている（山本1994）。このため，黒ボク土の土壌溶液中で3-フェニルプロピオン酸濃度が低く推移したのは生成量が少ないのでなく，土壌への吸着により土壌溶液への溶解量が少なくなったと考えられる。

この実験では重埴土と埴壌土を比較すると，3-フェニルプロピオン酸の最高濃度がやや重埴土で高

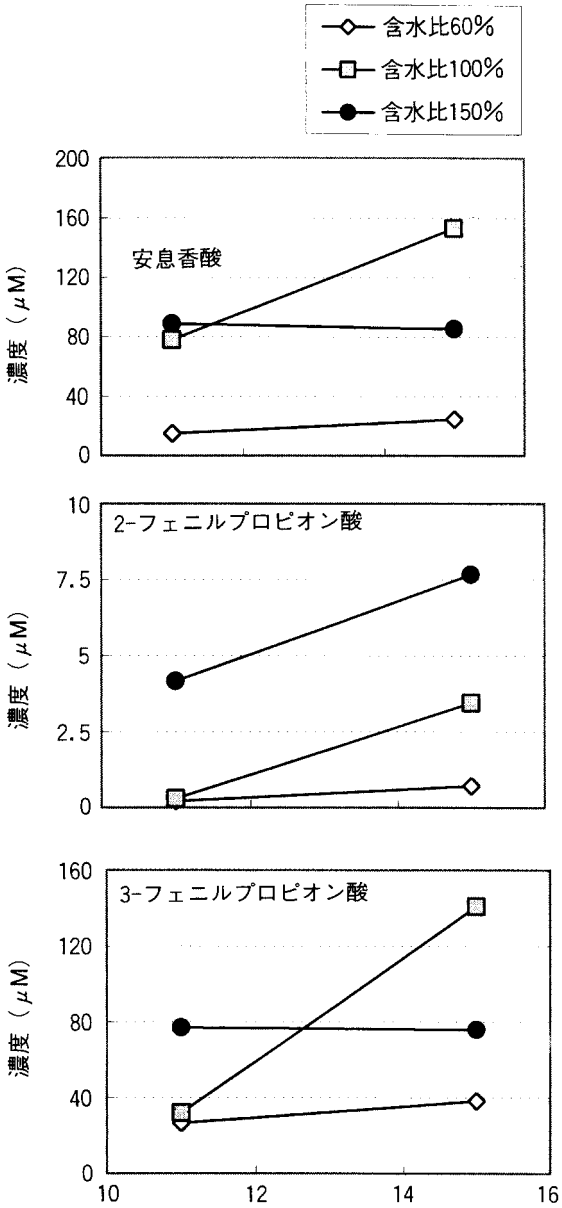


第25図　土壌の種類が麦わら施用による3-フェニルプロピオン酸の集積（a），Eh（b）の変化に及ぼす影響

かったが，それ以外はほぼ同等であった。同じ土壌を供試したⅡの試験（第15図）では，約３倍の差があった。この差異は，Ⅱでは無底のため両者の透水に差が生じたのに対し，本培養実験が有底の容器であったので透水が無く，土壌溶液の3-フェニルプロピオン酸濃度は微生物活性や陰イオン吸着容量の差を反映したものと推定した。透水のある条件（Ⅱ）では3-フェニルプロピオン酸の作土下への溶脱や透水による酸素の供給で還元の進行の緩和による集積の軽減効果が陰イオン吸着容量の効果を上回ったものと推察される。

第25（b）図に土壌の Eh の推移を示した。3-フェニルプロピオン酸濃度と比較して見ると重埴土では Eh は11日にほぼ最低の数値に到達したが，3-フェニルプロピオン酸の濃度はさらに14日まで増加した。他の３土壌は，Eh が最低値に達した時に3-フェニルプロピオン酸が最大濃度であった。

第26図に麦わら添加土壌において水分状態が芳香族カルボン酸の集積に及ぼす影響を示した。各酸とも含水比60％のとき11日から15日にかけての濃度は



第26図　麦わら施用土壌の含水比を60，100，150％とした時の芳香族カルボン酸の集積

低く経過した。また，含水比100％では11日から15日にかけて増加したが，150％では11日と15日の安息香酸と3-フェニルプロピオン酸の濃度には変化はないが，2-フェニルプロピオン酸の濃度が増加した。

含水比60％は畑状態で多数の粗孔隙が存在した。100％では湛水状態となり，培養開始時には表面水が存在した。150％では終始完全な湛水状態であり，混合，撹拌の時に土壌粒子が充分分散したので，充填は最も密であったと観察された。このように，含水比60％の土壌では気相が多く，また通気性も高いために土壌還元は緩やかに進行し，各芳香族カルボン酸は低濃度で推移したものと考えられる。一方，湛水状態となった100％と150％の土壌では還元が急速に進行し，このため芳香族カルボン酸濃度が上昇したと推定される。

3．まとめ

Ⅳでは培養実験によって施用有機物の種類，培養温度，土壌の種類，水分状態による土壌溶液中芳香族カルボン酸の集積量の相違を解析した。有機質資材による芳香族カルボン酸の集積は，易分解性成分の多いわら類で濃度が高くなり，難分解性成分が主であるオガクズ添加区では低濃度であった。このことから，芳香族カルボン酸は有機物の施用で増殖した微生物の代謝産物であり，資材の易分解性有機成分量に依存して集積するものと推定された。

培養温度の差については，高温では集積が始まる時期は速いが消失も速く，低温（20℃）で集積期間は長くなり，積算濃度もこれに応じて高くなった。これらのことから，芳香族カルボン酸や揮発性脂肪酸による水稲への生育抑制は低温における影響が強くなることが示唆された。

土壌の種類では，埴壌土と重埴土では3-フェニルプロピオン酸濃度は同様の変化を示したが，黒ボク土では低濃度で推移した。これらは土壌による芳香族カルボン酸生成量や陰イオン吸着能の相違によるものと考えられた。一方，砂壌土では早く集積し，低下の時期も早かった。

畑条件の水分状態では，湛水条件下に比べて芳香族カルボン酸集積量ははるかに小さかった。また，水分の多い状態で混合した土壌では土壌粒子の密な充填が観察され，芳香族カルボン酸の集積開始が早まった。

芳香族カルボン酸の集積が開始する時のEhの値は土壌によって固有であるが，同一土壌間ではほぼ一定であり，土壌還元が進んだ時と一致した。また，最高濃度はEhが－200mV程度と最も低下し，安定になる時期とほぼ一致した。

Ⅴ　水稲の生育抑制・窒素吸収阻害と芳香族カルボン酸の消長

これまで本論文で，未熟麦わらの施用により，土壌中に水稲の根の伸長，窒素吸収を阻害する物質が生成すること，この生育阻害物質は有機物を施用した土壌において特徴的に集積する芳香族カルボン酸であり，その土壌中濃度と組成は土壌条件によって

パターンが異なることを明らかにした。本章では，諸条件下の土壌に栽培された水稲の生育抑制や窒素吸収阻害活性と芳香族カルボン酸の集積条件の関連を解析する。

1．土壌の麦わら施用歴の影響

有機物の連用歴に応じて水稲の生育抑制が軽減されることが観察されている。また，土壌中の揮発性脂肪酸濃度が低下した例が報告され，土壌の微生物相の変化が関与していると推定されている（長野間・神田1985）。そこで，芳香族カルボン酸についても，麦わら連用歴と集積濃度の関係について調査した。

1）材料と方法

(1) 水稲生育

1989年～1990年に九州農業試験場内の有機物連用試験の無機質肥料単用区（28年），麦わら連用区（5年）に2種類の大きさの鉄枠を埋設し，水稲（品種：レイホウ）を栽培した。枠は80cm×80cm（16cm×27cm，15株）と15cm×30cmの栽植様式枠（1株）の2種類で，これに麦わら（約5cmの切片，1kg/m^2）と化成肥料（N，P_2O_5，K_2O各7g/m^2相当量）を湛水状態で添加し作土層全体に混合した。翌日，大きさの揃った3本植えの水稲ポット苗を移植した。また，それぞれの土壌に麦わら無施用の対照区を設けた。80cm×80cm枠では茎数及び収量調査を行った。栽植様式枠は1990年のみ設置し，経時的に枠を掘りあげ，乾物重の推移を調査した。また，栽植様式枠から採取した土壌を1000×gで遠心分離して上清の土壌溶液を採取し，メンブランフィルター（0.45μm）でろ過後，芳香族カルボン酸の分析に供した。実験は2反復とした。なお，麦わら連用区はイタリアンライグラス（根）連用区から麦わらに変更した圃場であった。

別途，麦わら連用区土壌と化学肥料単用区土壌各300g（乾土相当）の生土と麦わら粉末6gを混和し，N，P_2O_5，K_2O各60mg相当を添加した。これを500mLのガラス製試薬瓶中で湛水し，よく撹拌した。各土壌に麦わら無添加区を設け計4処理とし，各試薬瓶に8本ずつの白金電極を挿入し，上部をポリエチレン製の袋で覆い，30℃で静置保温した。これらのEhを経時的に測定した（鬼鞍・後藤1970）。

(2) 窒素吸収活性

九州農業試験場内の麦わら施用歴のない一つの水田圃場に4つの区を設け，1991年にそのうちの1区に麦わらを800kg/10a施用した。1992，1993年に麦わら施用区を1区ずつ追加し，麦わら施用歴0，1，2，3の処理区を準備した。1994年4月にこの圃場から麦わら施用歴0，1，3回の処理区の土壌を採取した。500mLのプラスチック製ポットを用い，それぞれの土壌（乾土相当500g）に当年の麦わら施用（5g）の有無を設け，Na_2HPO_4とKClでP_2O_5，K_2O各50mg相当量を水溶液として添加し湛水し（6月22日），水稲（品種レイホウ）を移植した（6月25日）。基肥窒素は与えなかった。7月4日，20日の朝にトレーサー^{15}N溶液（^{15}N50.2atom%の$(NH_4)_2SO_4$，Nとして5mg）をシリンジで全層に注入し，その24時間後に水稲と土壌を採取した。^{15}NはYamamuro（1981）の方法により発光分析器（N－150，日本分光）で分析した。また，水稲の栽植のないポットを同様に準備し，7月5日に各ポットから土壌を採取し，遠心分離（1000×g，10分）により土壌溶液を集めた。この土壌溶液について，芳香族カルボン酸（安息香酸，フェニル酢酸，2-フェニルプロピオン酸，3-フェニルプロピオン酸，4-フェニル酪酸）の濃度をⅡ－3.に準じて測定し，GC/MS装置はHP5972（ヒューレットパッカード社）に変更した。

2）結果と考察

(1) 水稲生育

80cm枠の1989年の生育調査および収量調査の結果を第9表に示した。7月11日には水稲の茎数は麦わら連用土壌では当年の麦わら施用区で無施用を上回った。7月11日以降には麦わら施用歴の有無に拘らず，水稲の茎数は当年の麦わら施用により減少し，麦わら連用土壌の方が施用歴のない土壌よりも茎数が多く推移した。また，もみ重，精玄米重，わら重ともに麦わら連用土壌・麦わら無施用＞麦わら連用土壌・麦わら施用＞非連用土壌・麦わら無施用＞非連用土壌・麦わら施用の順であった。このように，麦わら連用土壌での生育・収量は非連用土壌より概ね良好であったと考えられる。

1990年の茎数（第10（a）表）を見ると，1989年（第9表）と比べて連用・非連用に拘らず麦わら施用による初期の低下が著しかった。第10（b）表には掘り上げた稲株（栽植様式枠）の生育初期における乾物重の推移を示している。わら連用歴のない土

第９表　麦わら連用歴の有無と茎数および収量の変化（1989年　80×80cm 枠実験）

（a）茎数　　（茎数　本／m²）

土　壌									
麦わら連用歴	試験時の麦わら施用	７月11日		７月19日		８月１日		10月17日	
－	－	317		566		586		371	
	＋	304	(0.96)	500	(0.88)	544	(0.93)	353	(0.95)
＋	－	309		630		735		473	
	＋	322	(1.04)	537	(0.85)	670	(0.91)	424	(0.90)

＋：施用，－：無施用

（b）収量調査

土　壌		乾　物　重（g/ m²）						精玄米重 (g/m²)		もみわら比	
麦わら連用歴	試験時の麦わら施用	もみ		わら		（合計０					
－	－	618		500		1118		556		1.23	
	＋	552	(0.89)	393	(0.79)	946	(0.85)	501	(0.90)	1.41	(1.15)
＋	－	831		528		1360		759		1.57	
	＋	718	(0.86)	501	(0.95)	1220	(0.90)	659	(0.87)	1.43	(0.91)

注）＋：施用，－：無施用。カッコ内の数字はわら施用／わら無施用の比率

第10表　麦わら施用歴の有無と茎数，乾物重，収量（1990年）

（a）茎数　　（茎数　本／m²）

土　壌						
麦わら連用歴	試験時の麦わら施用	７月11日	７月20日	７月30日	８月９日	10月３日
－	－	335	633	592	513	339
	＋	149(0.45)	312(0.49)	517(0.87)	524(1.02)	314(0.93)
＋	－	326	588	602	526	402
	＋	172(0.53)	351(0.60)	540(0.90)	566(1.08)	354(0.88)

注）＋：施用，－：無施用（80cm 枠×1，n＝15）

（b）乾物量　　（乾物　g／株）

土　壌		７月３日		７月11日		７月24日	
麦わら連用歴	試験時の麦わら施用	茎葉	根	茎葉	根	茎葉	根
－	－	0.36	0.12	1.95	0.5	11.4	2.39
	＋	0.26(0.71)	0.09(0.78)	1.23(0.63)	0.4 (0.79)	5.87(0.51)	1.43(0.60)
＋	－	0.33	0.11	1.43	0.43	10.7	2.53
	＋	0.28(0.85)	0.08(0.75)	0.83(0.58)	0.31(0.71)	5.91(0.55)	1.58(0.62)

注）＋：施用，－：無施用（栽植様式枠×2，n＝２）

（c）収量調査

土　壌		乾　物　重（g/ m²）			精玄米重 (g/m²)	もみわら比
麦わら連用歴	試験時の麦わら施用	もみ	わら	合計		
－	－	794	1000	1794	650	0.794
	＋	833(1.05)	859(0.86)	1692(0.94)	676(1.04)	0.97 (1.22)
＋	－	710	882	1592	665	0.806
	＋	942(1.33)	984(1.12)	1926(1.21)	728(1.09)	0.957(1.19)

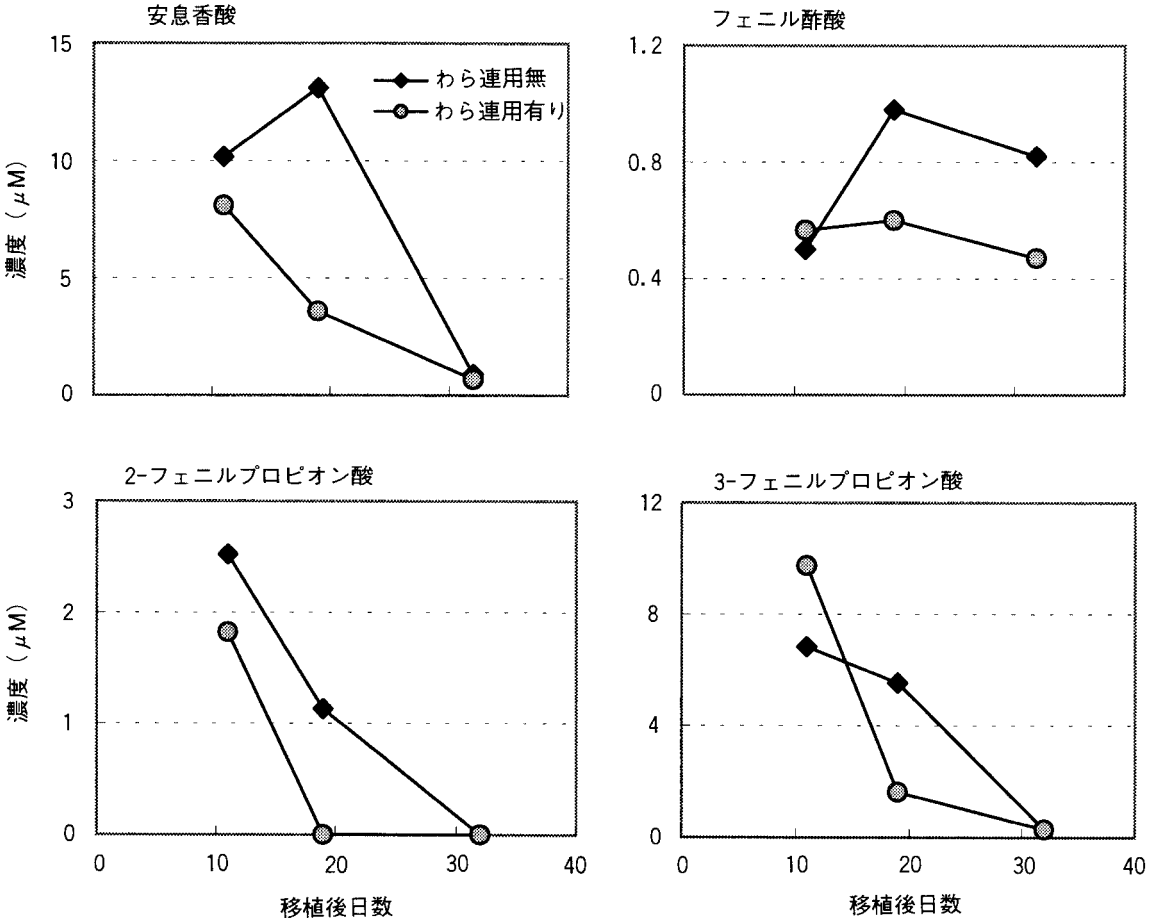
注）＋：施用，－：無施用，（80cm 枠×1，n＝15）。カッコ内の数字はわら施用／わら無施用の比率

壌の対照区の生育が良好であるが，わら施用による生育抑制は施用歴のある土壌より大きかった。80cm枠の収量調査の結果（第10（c）表）は，もみと精玄米重は両土壌ともわら施用区が良好であった。また，わら生産量は非連用土壌ではわら施用により抑制されたが，連用土壌ではわら施用により無施用を上回った。

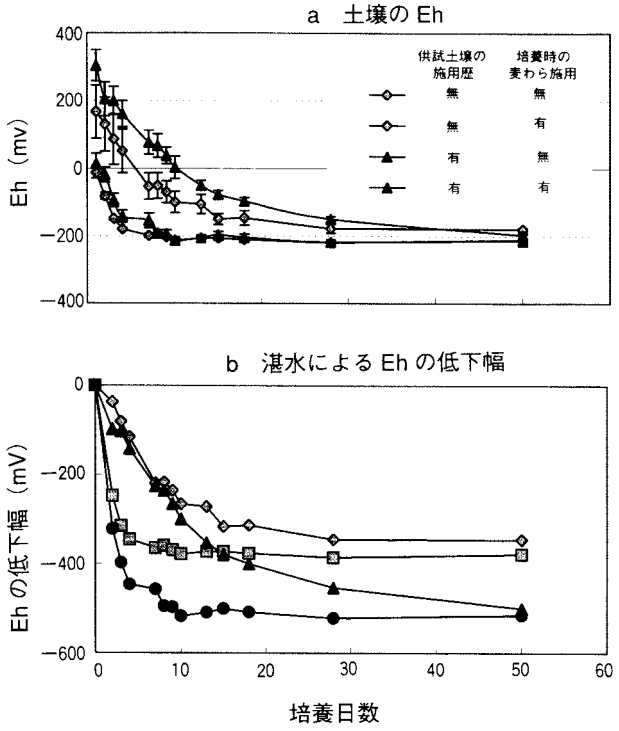
栽植様式の枠の土壌から得た土壌溶液中の芳香族カルボン酸濃度の推移を第27図に示した。7月3日（移植11日後）のサンプリングでは安息香酸と2-フェニルプロピオン酸の濃度は麦わら連用歴のない土壌で高く，フェニル酢酸と3-フェニルプロピオン酸濃度は逆に麦わら連用土壌が高かった。7月11日（移植19日後）以降には分析した全ての酸において麦わら連用土壌は連用歴のない土壌を下回った。また，両土壌ともに麦わら無施用区では芳香族カルボン酸の集積は認められなかった。

以上の結果から，わら連用土壌と非連用土壌では当年麦わら施用による生育抑制の機作や養分供給のパターンが異なることが示唆された。わら連用により生育抑制は軽減され阻害機構の変化と養分供給力の好適化が考えられた。Yoo et al.（1992）によれば，この有機物連用試験における麦わら連用土壌は，非連用に比べて窒素供給量や腐植含量に富む。麦わら連用区における芳香族カルボン酸濃度（第27図）が非連用区より低く経過したことは，麦わら連用区において乾物生産の抑制が緩和されていることと一致すると考えられる。一方で，当年の麦わら施用による乾物重の低下割合は7月24日に最も大きかったが，芳香族カルボン酸濃度はそれ以前の7月前半（移植後11～20日）に最高濃度となった。これは，阻害物質の作用が乾物重に現われるにはタイムラグが生じるためと推定した。

第28図に有機物連用圃場から採取した土壌に麦わら添加の有無を設けて培養した時のEhの変化を示した。連用により土壌のEhは培養時における麦わら添加の有無に関らず高くなった。しかし，湛水開始時におけるわら無添加処理の土壌のEhからのわ



第27図　土壌の麦わら施用歴と土壌溶液の芳香族カルボン酸濃度（1990）



第28図　麦わら施用歴の有無と土壌の Eh の変化
注）b は湛水直後の値を基準とした低下幅を示した

ら施用による低下幅や低下速度は連用土壌の方が大きかった（第28（b）図）。これは麦わら連用土壌における微生物の活性が非連用土壌より高いことを示唆し，麦わら連用により芳香族カルボン酸濃度が低下したこととも一致する。

（2）窒素吸収活性

芳香族カルボン酸と水稲の生育抑制の関係を解析する目的で，水稲の窒素吸収活性と土壌溶液中芳香族カルボン酸濃度の分析を同時に行った。

第11表に水稲苗の乾物および土壌中のアンモニア態窒素現存量（^{15}N を除く），第12表にトレーサー ^{15}N の施用24時間後の分配を示した。移植11日後（７月６日）には乾物重は麦わら施用により30～７％，窒素吸収量は47～32％低下した。また，土壌中のアンモニア態－^{14}N は両土壌ともにわら施用区の方が多かった。トレーサー ^{15}N の水稲吸収速度は麦わら施用により減少し，わら連用土壌では低下が軽減された。特に，わら施用土壌における茎葉への分配は連用歴に応じて増加した。また，麦わら施用土壌における乾物あたりのトレーサー ^{15}N 吸収量は非連用土壌が最も低い1.68mg/g で，連用歴が長いほど高かった。さらに，吸収されたトレーサー ^{15}N の茎葉への分配率の低下から，わら施用による転流の阻害が認められたが，これも連用により改善された。未利用のトレーサー ^{15}N の割合は施用歴一回を除きわら施用区の方が大きかった。

７月５日の芳香族カルボン酸濃度を第13表に示した。安息香酸を除くと，わらの施用回数が増すと芳香族カルボン酸の濃度が低下した。安息香酸のみは過去の麦わら施用歴１回の土壌溶液が最も高かった。また，安息香酸，フェニル酢酸，3-フェニルプロピオン酸では，麦わら施用歴３回の土壌で顕著に低下した。このように，わら連用に伴い芳香族カルボン酸濃度が低下したことと，７月５日のトレーサー ^{15}N の挙動から見た窒素吸収活性の比率の低下が軽減された（第12表）ことはよく一致している。また，2-フェニルプロピオン酸は水耕実験で示された水稲の窒素吸収阻害濃度に達した。これらのことから，麦わら施用による窒素吸収量の低下に対する芳香族カルボン酸の寄与が示唆された。

７月21日の乾物重はわら施用歴０，１回ではわら無施用の方が大きかったが，３回土壌ではわら施用処理の方が大きく，全処理の中で最大であった（第11表）。窒素吸収については各土壌とも無施用と同等まで回復を示した（第11表）。また，施用歴３回の土壌において茎葉，根ともに吸収量が大きかった。トレーサー ^{15}N の挙動（第12表）もわら施用歴０の土壌の吸収量，吸収活性ともに７月５日より改善した。また，土壌溶液中の芳香族カルボン酸濃度はいずれも１μM 以下であり（図表略），窒素吸収活性の阻害が緩和されたこととも一致した。

以上の結果から，麦わらの連用により麦わら施用に伴う生育抑制および窒素吸収量の低下は緩和された。また，窒素吸収の低下要因は土壌に存在する芳香族カルボン酸などによる吸収阻害が重要な因子であることが確認された。

２．土壌の代かき強度の影響

同量の麦わらを施用しても，代かき時の水分状態によって水稲の生育抑制の程度が全く異なることが観察されている。そこで，ポット試験において代かきを想定して撹拌の強度に３段階を設け，水稲の窒素吸収活性の相違を検討した。

なお，Ⅳ章の培養実験において，麦わらより稲わらの方が土壌に添加されたときに生成する芳香族カルボン酸濃度が高い傾向があった。そこで，この実

第11表　水稲乾物重，窒素吸収量および土壌中アンモニア態窒素量

採取時期	土壌（麦わら施用回数）	麦わら施用	乾物重（g）						窒素吸収量（mg）[1]						アンモニア態窒素[1]	
			茎葉	比率[2]	根	比率[2]	計	比率[2]	茎葉	比率[2]	根	比率[2]	計	比率[2]	mg／pot	比率[2]
7月5日	0	－	0.321		0.087		0.408		6.27		0.851		7.12		3.43	
	0	＋	0.213	0.66	0.075	0.86	0.288	0.706	2.95	0.47	0.837	0.98	3.79	0.53	6.88	2.01
	1	－	0.291		0.100		0.391		5.74		0.623		6.36		4.54	
	1	＋	0.249	0.86	0.085	0.85	0.334	0.854	3.57	0.62	0.780	1.25	4.35	0.68	6.35	1.40
	3	－	0.302		0.077		0.379		5.71		0.870		6.58		5.89	
	3	＋	0.254	0.84	0.098	1.27	0.352	0.929	4.28	0.75	0.846	0.97	5.13	0.78	7.81	1.32
7月21日	0	－	1.04		0.778		1.82		10.9		4.65		15.6		24.6	
	0	＋	0.92	0.88	0.560	0.72	1.48	0.813	12.3	1.13	4.54	0.98	16.9	1.08	28.8	1.17
	1	－	1.12		0.804		1.92		12.4		5.58		18.0		25.7	
	1	＋	0.98	0.88	0.585	0.73	1.56	0.815	12.1	0.98	4.85	0.87	17.0	0.94	30.1	1.17
	3	－	1.03		0.756		1.79		12.2		5.08		17.3		30.6	
	3	＋	1.21	1.17	0.695	0.92	1.90	1.065	18.9	1.55	5.80	1.14	24.7	1.43	31.3	1.02

注）1）アンモニア態窒素はトレーサー分を除く
　　2）わら施用／わら無施用の比率

第12表　トレーサー窒素の分配

採取時期	土壌（麦わら施用回数）	麦わら施用	水稲吸収（mg）								茎葉転流比率[3]	比率[1]	土壌アンモニア態窒素	
			茎葉	比率[1]	根	比率[1]	計	比率[1]	乾物比[2]	比率[1]			mg／pot	比率[1]
7月5日	0	－	1.039		0.059		1.098		2.69		0.947		1.73	
	0	＋	0.419	0.40	0.068	1.15	0.487	0.44	1.68	0.62	0.861	0.91	2.21	1.28
	1	－	0.824		0.049		0.874		2.24		0.943		2.44	
	1	＋	0.515	0.62	0.060	1.21	0.575	0.66	1.74	0.77	0.896	0.95	1.78	0.73
	3	－	0.930		0.059		0.989		2.63		0.940		1.14	
	3	＋	0.574	0.62	0.076	1.29	0.651	0.66	1.85	0.71	0.883	0.94	2.11	1.85
7月21日	0	－	1.436		0.179		1.616		0.89		0.889		0.50	
	0	＋	1.436	1.00	0.287	1.60	1.724	1.07	1.16	1.31	0.833	0.94	1.10	2.21
	1	－	1.848		0.301		2.149		1.12		0.860		0.73	
	1	＋	1.429	0.77	0.322	1.07	1.751	0.82	1.12	1.00	0.816	0.95	1.00	1.37
	3	－	2.063		0.258		2.321		1.30		0.889		0.81	
	3	＋	1.840	0.89	0.312	1.21	2.152	0.93	1.13	0.86	0.855	0.96	0.66	0.81

注）1）わら施用／わら無施用の比率
　　2）全トレーサー窒素吸収量／乾物重：窒素吸収活性
　　3）トレーサー窒素含量（茎葉）／全トレーサー窒素含有量

第13表　土壌溶液中の芳香族カルボン酸濃度（μM）（7月5日）

麦わら施用回数*	安息香酸	フェニル酢酸	2-フェニルプロピオン酸	3-フェニルプロピオン酸	4-フェニル酪酸
0	20.10	7.68	6.11	54.32	2.00
1	29.74	1.78	5.43	35.77	1.79
3	15.12	1.98	3.56	2.93	0.19

注）＊供試土壌を圃場から採取した時の回数，本実験での施用により＋1になる

験は新鮮有機物の効果を強調するために，稲わらを用いて行った。

1）　材料と方法

場内で採取した細粒灰色低地土800g（乾土相当）に稲わら0gまたは8gとN10mg，K_2O，P_2O_5各40mg相当量の$(NH_4)_2SO_4$，Na_2HPO_4，KClを混合し1Lのポットに充填し，湛水した。土壌の攪拌強度を次の3段階（無，中，強）に設定した。「無攪拌」では土壌全量とわらをビニール袋内でよく振り混ぜてからポットに移し，水を上から注いだ。「中攪拌」では土壌に飽和容水量より多い850mLの水を加えてから全体を攪拌した。「強攪拌」では土壌に少しずつ水を添加して練り合わせ，ほぼ飽和状態でよく攪拌してからさらに水を追加した。各処理とも湛水状態を保つよう，土壌粒子が沈降した後で表面水を適宜追加した。

1995年5月17日に水稲（品種レイホウ）を移植し，5月29日，6月6日にNとして10mgのトレーサー^{15}N（30.0atom％$(NH_4)_2SO_4$）をシリンジで無作為に土壌全層に注入した。5月30日，6月7日に水稲と土壌全量を回収し，直ちに水稲の根を切り離

した。土壌については10％のKCl溶液で抽出してアンモニア態窒素とし，ケルダール分解で全窒素とした。乾物重，水稲窒素吸収量及び土壌の窒素有機化量，土壌残存アンモニア量，土壌三相分布（湛水11日後）を測定した。^{15}Nの存在比の測定は発光法（YAMAMURO1981）により行った。

２）結果と考察

第14表に５月30日と６月７日の水稲の乾物重と窒素吸収量，土壌中アンモニア態窒素に対する各撹拌強度とわら施用の影響を示した。乾物重の合計を見ると，5月30日（移植13日後）には，わら無施用では撹拌の強度にかかわらずほぼ同様であったが，わら施用の場合には撹拌が強いほど生育が劣った。６月７日（移植21日後）になると，わら無施用土壌における水稲生育は，無撹拌では撹拌処理をした２区と比較して顕著に劣ったが，わら施用区では撹拌するほど乾物重が低下した。また，土壌由来のアンモニア態窒素量はわら施用の有無にかかわらず撹拌処理区の方が無撹拌土壌よりも多い傾向があり，土壌の機械的処理効果（原田ら1964）により土壌窒素の無機化が多かったことが推定される。これは初期（５月30日）において顕著であった。また，各撹拌程度において，わら施用処理の土壌中アンモニア態窒素量はわら無施用処理に比べて顕著に多かった。

第14表に示した窒素吸収量は土壌および基肥由来窒素の吸収量と考えることができる。わら無施用土壌では，撹拌強度が高いほど窒素吸収量が大きく，わら施用では逆に撹拌強度が高い方が窒素吸収は劣った。一方，根においてはわら施用処理では撹拌強度が増すと窒素吸収量が低下したが，わら無施用

第14表　水稲乾物重，窒素吸収量および土壌中アンモニア態窒素量

時期	撹拌強度	稲わら施用	乾物重（mg/pot）						窒素吸収量[1]（mg/pot）						アンモニア態窒素[1]（mg/pot）
			茎葉	比率[2]	根	比率[2]	計	比率[2]	茎葉	比率[2]	根	比率[2]	計	比率[2]	
5月30日	無	－	181		73.5		255		5.48		0.99		6.47		3.90
	無	＋	158	0.87	76.5	1.04	234	0.92	2.63	0.48	1.01	1.02	3.64	0.56	8.07
	中	－	201		44.6		245		6.70		0.59		7.29		6.41
	中	＋	131	0.65	55.6	1.25	187	0.76	2.23	0.33	0.67	1.14	2.90	0.40	9.06
	強	－	195		51.2		247		6.84		0.61		7.45		7.97
	強	＋	118	0.61	46.5	0.91	165	0.67	1.61	0.24	0.60	0.99	2.21	0.30	9.14
6月7日	無	－	445		307.7		752		8.15		3.37		11.52		3.07
	無	＋	235	0.53	134.4	0.44	369	0.49	3.29	0.40	1.51	0.45	4.80	0.42	8.88
	中	－	612		399.7		1012		12.22		4.37		16.59		3.05
	中	＋	222	0.36	120.0	0.30	342	0.34	3.85	0.32	1.42	0.33	5.27	0.32	8.04
	強	－	614		295.9		910		11.97		2.99		14.96		3.63
	強	＋	206	0.34	133.7	0.45	340	0.37	2.62	0.22	1.25	0.42	3.87	0.26	7.77

注）１）トレーサー窒素分を除く
　　２）わら施用／わら無施用の比率

第15表　トレーサー^{15}Nの土壌と水稲における分配

時期	撹拌強度	稲わら施用	水稲吸収（mg/pot）						茎葉の転流[2]		土壌（mg/pot）			
			茎葉	比率[2]	根	比率[2]	計	比率[2]		比率[2]	アンモニア態	比率[2]	有機化	比率[2]
5月30日	無	－	0.31		0.059		0.37		0.842		5.52		2.17	
	無	＋	0.18	0.58	0.068	1.16	0.25	0.67	0.725	0.86	6.94	1.26	2.10	0.97
	中	－	0.31		0.038		0.35		0.893		6.72		2.18	
	中	＋	0.12	0.37	0.027	0.72	0.14	0.41	0.813	0.91	6.43	0.96	1.55	0.71
	強	－	0.24		0.023		0.27		0.913		7.75		1.84	
	強	＋	0.08	0.33	0.014	0.59	0.09	0.35	0.853	0.93	6.99	0.90	2.55	1.39
6月7日	無	－	1.04		0.307		1.35		0.772		5.32		1.82	
	無	＋	0.38	0.36	0.113	0.37	0.49	0.36	0.768	0.99	6.78	1.27	1.36	0.75
	中	－	1.18		0.402		1.58		0.745		5.30		1.33	
	中	＋	0.29	0.25	0.066	0.16	0.36	0.23	0.816	1.09	4.53	0.85	3.26	2.46
	強	－	1.01		0.267		1.28		0.791		5.09		2.26	
	強	＋	0.22	0.22	0.088	0.33	0.31	0.24	0.718	0.91	4.57	0.90	3.15	1.39

注）１）トレーサー窒素含量（茎葉）／全トレーサー窒素含有量
　　２）わら施用／わら無施用の比率

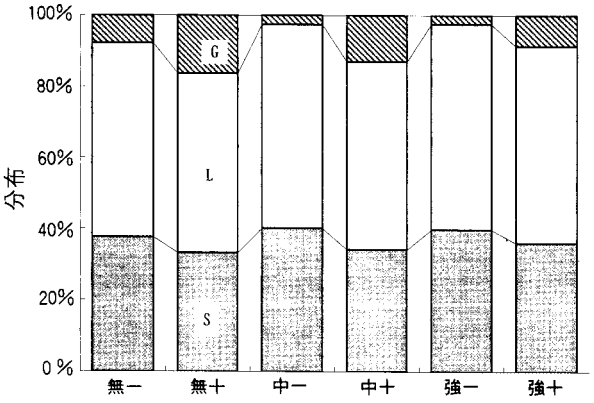
第16表　撹拌強度と土壌溶液中の芳香族カルボン酸濃度

採取日	撹拌強度	芳香族カルボン酸濃度（μM）				
		安息香酸	フェニル酢酸	2-フェニルプロピオン酸	3-フェニルプロピオン酸	4-フェニル酪酸
5月30日	無	5.02	3.18	3.88	30.46	−
	中	3.58	1.87	3.81	19.69	−
	強	4.61	1.71	4.44	21.63	−
6月7日	無	31.72	1.71	5.19	25.71	2.17
	中	36.17	1.36	4.12	6.84	2.14
	強	43.41	1.08	2.80	1.60	4.61

処理の土壌における窒素吸収量と土壌撹拌の関係は判然としなかった。

第15表にトレーサー ^{15}N 吸収量を示した。第一回目のトレーサーは移植12日後の5月29日に与え，その24時間後に回収した。わら施用区では無施用に比べて ^{15}N 吸収割合が劣り，その抑制程度は撹拌が強い程大きかった。6月7日も1回目と同様の傾向であった。吸収された窒素の転流を，全トレーサー ^{15}N 吸収量に対する茎葉に移動したトレーサーの比率で示した。稲わらを施用すると，撹拌程度にかかわらず窒素の茎葉への転流は低下した。しかし，撹拌強度とトレーサー ^{15}N の茎葉への移動阻害の強さとの関係は判然としなかった。一方，5月30日の土壌中のアンモニア態でのトレーサー ^{15}N の残存割合は稲わら施用により中と強撹拌でそれぞれ5，10%低下した。無撹拌では低下は認められなかった。トレーサー ^{15}N の有機化割合は，土壌撹拌の強い区はわら施用区の方が大きいが，撹拌処理を行わないとわら施用区の方が小さくなった。5月30日には，稲わら施用により水稲によるトレーサー ^{15}N 吸収割合は撹拌無区でわら無施用の67%，強撹拌区で35%程度まで低下した。稲わら施用区では施肥窒素の有機化の促進と水稲の窒素吸収阻害の両者が起こり，さらに，撹拌の強度により両者の寄与率のバランスが異なると考えられる。

第16表に土壌溶液中の芳香族カルボン酸の濃度を示した。5月30日には2-フェニルプロピオン酸の濃度が窒素吸収阻害濃度域に達していた。また，強撹拌で最も高濃度であった。一方，安息香酸，フェニル酢酸，3-フェニルプロピオン酸では無撹拌で濃度が最高であった。6月7日には安息香酸の濃度が上昇した。また5月30日には検出されなかった4-フェニル酪酸が2.1から4.6μMの濃度で検出された。安息香酸と4-フェニル酪酸は撹拌強度が増すほど高濃度であった。一方，2-フェニルプロピオン酸と3-フェニルプロピオン酸では撹拌強度の小さい時に高濃度であった。また，2-フェニルプロピオン酸は5月30日の測定に比べて濃度は同レベルであったが3-フェニルプロピオン酸の場合は中，強撹拌と比べ大幅に低下していた。このように，芳香族カルボン酸濃度の撹拌強度による変化は各カルボン酸によりパターンが異なり，一定の傾向を見出すのは困難であった。このことは，撹拌レベルの相違による生育抑制の差には芳香族カルボン酸とは別の要因の奇与があることを示唆している。各処理における三相分布を第29図に示した。撹拌が強いほど固相率が増し気相率が減少する傾向が認められた。また，稲わら施用処理では無施用よりも気相率が高くなった。わら施用区では強撹拌により気相は低下したが，これは団粒構造の分散が生じ，土壌が密充填になったためと推定した。経験的に，わら施用区では土壌の透



第29図　撹拌強度（無，中，強）と稲わら施用（＋）無施用（−）の三相分布への影響
注）G：気相　L：液相　S：固相

水性が湛水後の時間経過とともに低下することを観察しており，土壌間の毛管連絡が切断され易いものと推察している。このようなことから，強撹拌土壌では気相が減少しており，透水による酸素の供給も減少すると考えられる。撹拌強度の差は，結果的には湛水時の酸素量と透水による酸素供給を制限することになり，水稲の生育抑制の程度に影響するものと考えられる。

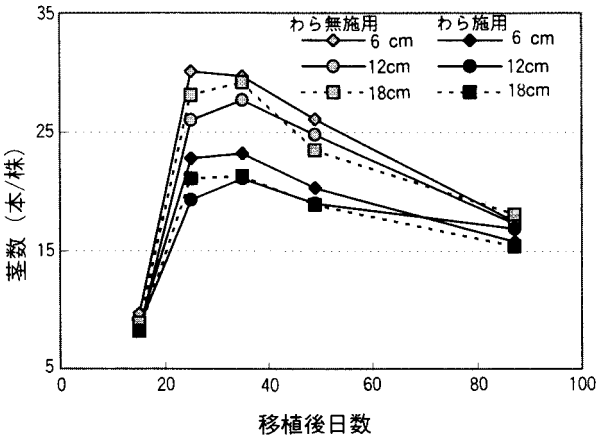
3．耕起深度の影響

土壌を深耕すると，土壌に対する麦わらの比率が浅耕に比べて低下することになる。これにより，施用量を減少したことと同様の効果が期待される。そこで，耕起深度を３段階に設定して同量の麦わらを施用した場合の水稲の生育経過および土壌中の揮発性脂肪酸と芳香族カルボン酸濃度を検討した。

１）材料と方法

九州農業試験場の化学肥料単用圃場に80cm×80cmの鉄枠を設置した（1988年）。耕起深度を３段階（６，12，18cm）に設定し，それぞれに麦わら640g施用区（1t/10a相当）と麦わら無施用区を設けた。各区に化成肥料のN，P_2O_5，K_2O各５ g/m^{2}相当量を湛水状態の土壌に添加し，麦わらとともに作土層全体に混合した。翌日の６月23日に揃った水稲苗（三本植え）（品種レイホウ）を15株／枠（栽植密度23.4株／m^2）移植した。追肥は７月８日に４ g/m^2，8月19日に６ g/m^{2}相当量のN，K_2Oを化成肥料で与えた。

生育は７月８日，18日，28日，8月11日と10月19日に枠内の全株（n＝15）について茎数を調査した。また，揮発性脂肪酸と芳香族カルボン酸濃度測定のため枠内の作土にポーラスカップを挿入し減圧により土壌溶液を採取した。土壌溶液の採取は６月25日，30日，7月５日，14日に行った。揮発性脂肪酸はHPLC法（Ⅱ－2.）により，芳香族カルボン酸はGC/MS法（Ⅱ－3.）により定量した。



第30図　耕起深度と水稲茎数の推移

２）結果と考察

水稲の茎数の変化を第30図に示した。移植25日後の茎数はわら施用の有無にかかわらず，耕起深度が6cmと浅くても良好な生育を示し，12cm区が最も劣った。その後，わら無施用区では収穫期までに耕起深度による差は小さくなった。わら施用区では耕起深度6cm処理区において茎数が最も多く経過したが，87日後には12cm区が上回った。わら無施用処理において生育初期には耕起深度が浅い方が生育が良好であったのは，根系が未発達の段階では施肥窒素の土壌中濃度が高いことが，水稲の吸収にとって有利であったためと考えられる。

第17表に収量を示した。わら無施用区では耕起深度が深いほどもみ収量および全乾物収量が増加した。これは，深耕による土壌由来の窒素の供給量が多く収量が増加したものと考えられる。一方，麦わら施用区では逆に耕起深度が浅いときに最も乾物生産量が高かった。浅耕（6cm）区ではわら施用区のもみ

第17表　耕起深度と水稲収量

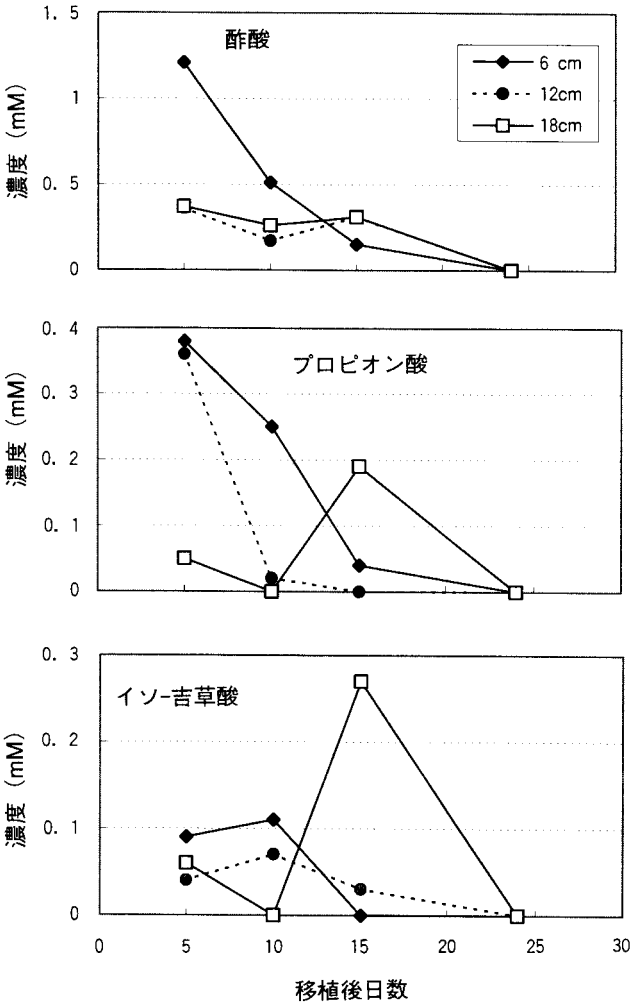
処理		乾物収量（kg/10 a）			もみ／わら比
耕起深度	わら	もみ重	茎葉	全乾物	
6cm	－	408	425	833	0.96
	＋	380（0.93）	329（0.77）	709（0.85）	1.16
12cm	－	420	413	833	1.02
	＋	338（0.80）	316（0.77）	654（0.79）	1.07
18cm	－	455	427	882	1.07
	＋	356（0.78）	334（0.78）	690（0.78）	1.07

注）カッコ内はわら施用／わら無施用の比率

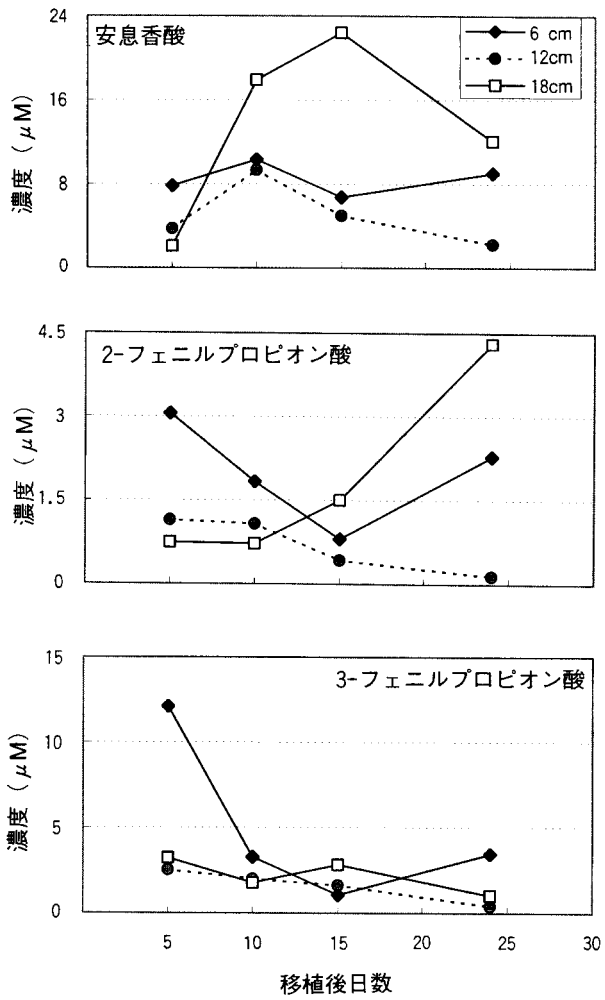
／わら比が高く，もみ収量が高くなった。これは同化した炭水化物，窒素化合物の子実への転流が効率的であったことを示している。12cm，18cm の区では6cm 処理区に比べて全乾物重，もみ／わら比ともに小さく，乾物生産が小さかった上に土壌や麦わら由来の窒素供給が生育後期に大きくなるなど水稲の窒素吸収パターンとうまく一致しなかったものと推定した。

土壌溶液中の揮発性脂肪酸酸と芳香族カルボン酸の濃度を測定した（第31図）。いずれの揮発性脂肪酸（酢酸，酸酸，プロピオン酸，イソ-吉草酸）も，移植５～10日後には耕起深度6cm の区の濃度がもっとも高く経過した。また，6cm 区では耕起深度が深い処理に比べて速やかに消失した。耕起深度18cm 処理区では6cm，12cm 区より遅れて集積のピークが発現した。これらの酸の濃度は滝嶋による根の伸長阻害濃度（滝嶋ら1960）と比較すると低く経過した。芳香族カルボン酸は，揮発性脂肪酸酸と同様に，初め耕起深度6cm の処理区でもっとも高かった。しかし，時間が経過すると深耕（18cm）区の安息香酸と2-フェニルプロピオン酸濃度が高まった。2-フェニルプロピオン酸は水稲根の伸長（0.5μM）と窒素吸収（１μM）を阻害する濃度であった。揮発性脂肪酸や芳香族カルボン酸の生成量は耕起深度が浅いときに高く推移すると予測されたが，イソ-吉草酸，安息香酸，2-フェニルプロピオン酸では異なる結果となった。この原因は，耕起深度が深くなると作土層下部では浅耕区よりも地温が低く経過するためと推定した。すなわち，低温により有機酸の集積開始は遅れるが，低濃度で長期間持続したものと考えられた。また，微生物活性が低い下層土が混入することなども生成から分解に時間を要した一因ではないかと考えている。

水稲の生育経過とわら施用土壌中の芳香族カルボ



第31(a)図　耕起深度の異なる圃場における揮発性脂肪酸の推移



第31(b)図　耕起深度の異なる圃場における芳香族カルボン酸の推移

ン酸の消長を比較すると，茎数調査を始める前の移植後15日の濃度は耕起深度６cmの処理で高く，深耕（18cm）区が徐々に濃度を高めた。特に，阻害活性の高い2-フェニルプロピオン酸でこの傾向がはっきりしていた。また，揮発性脂肪酸も初期の浅耕区の濃度が高く経過した。24日目の2-フェニルプロピオン酸は阻害濃度（0.5μM）以上のレベルだった。また，その濃度は耕起深度18cm処理で最も高く経過し，この区における水稲茎数が低く経過したことと一致した。芳香族カルボン酸の集積は生育前期（移植後１～４週）にピークがあると考えられる。茎数の減少は移植から20～40日頃に最も厳しく，芳香族カルボン酸のピークからはやや遅れていたが，障害が認められるにはタイムラグがあるためと考えられる。

なお，各耕起深度ともに麦わら無施用区での揮発性脂肪酸と芳香族カルボン酸濃度は，麦わら施用区に比べて低濃度で推移し，検出されないか，水稲の根の伸長や窒素吸収に影響しない濃度であった。

４．まとめ

圃場の水稲に麦わらなどの新鮮有機質資材を施用する際，土壌管理により水稲の生長の抑制程度が大きく変化することが観察されている。ここで明らかにされた有機質資材施用による生育抑制が大きくなる条件は，1）過去に新鮮有機物の施用歴がない，２）強い代かきが挙げられる。また，Ⅳの芳香族カルボン酸生成条件やⅡにおける枠試験なども考慮すると，3）施用する有機質資材の易分解性有機成分が多い，4）低温での有機物施用，5）透水性の低い土壌での施用が想定される。このほか，耕起深度を変化させると生育阻害は初期には浅耕区で大きかったが，後期には深耕区で大きくなった。一方，土壌中のアンモニア態窒素の挙動をみると，窒素吸収活性の阻害が顕著な時期に窒素の有機化の促進は認められないか，窒素吸収阻害割合に比べて小さかった。このことから，わら施用による水稲の窒素吸収量の低下の主要因は，土壌窒素の有機化に起因するアンモニア態窒素の不足ではなく，水稲の窒素吸収活性や根量の低下であると推定した。

上述の土壌・栽培条件におけるわら施用による水稲生育抑制や窒素吸収活性阻害の大きさと，土壌溶液の芳香族カルボン酸濃度の関係は，対応関係がある場合と，対応が認められない場合があった。芳香族カルボン酸濃度と水稲生育抑制が対応したのは１）土壌の麦わら施用歴，2）土壌の耕起深度，3）施用有機質資材の種類であった。土壌の撹拌（代かき）の強さは土壌の物理性，特に気相率や酸素供給量に関与する項目であるが，乾物重や窒素吸収活性に大きく影響したものの，土壌溶液中の芳香族カルボン酸濃度への影響は小さかった。これらの結果から，水稲の窒素吸収阻害要因について次のように推定した。

１．芳香族カルボン酸（特に2-フェニルプロピオン酸）はわら施用土壌の土壌溶液中で窒素吸収や水稲根の伸長阻害濃度に高頻度で達した。その濃度は各種土壌条件下の水稲の窒素吸収活性の低下とも連動していることから，芳香族カルボン酸は水稲の生育抑制に関与している。

２．土壌の物理性は土層内への酸素の供給に関与し，わら類施用条件下における水稲の窒素吸収活性に影響する。

３．有機物施用による水稲の生育抑制にはこれらの要因が複合的に関与している。

Ⅵ　総合考察

水田に施用された有機質資材が腐熟しないまま，代かきと水稲の移植が行われると，水稲の初期生育はしばしば抑制される。その際，最も顕著な症状は水稲の窒素吸収量の低下である。従来，その主な原因は，微生物との競合による土壌中アンモニア態窒素の不足（窒素飢餓）と考えられてきた。しかし，本研究でいわゆる窒素飢餓だけでは窒素吸収量の低下を説明できないことを明らかにし，水稲の生理に影響する土壌成分として芳香族カルボン酸の関与を新たに提示した。また，水稲栽培圃場における芳香族カルボン酸の濃度や湛水土壌の諸条件の変化が水稲の生育抑制に及ぼす影響などから，新鮮有機物施用に伴う水稲生育抑制の機構を解析し，さらに，ここで得た知見を農業現場における水稲栽培に応用するための具体的留意点について言及した。

１．麦わら施用に伴う水稲の初期生育抑制の再現と土壌溶液からの芳香族カルボン酸の検出

コンクリート枠での栽培試験において，水稲の生育は麦わら施用区で低下した。特に，生育初期（移植後約30日間）に抑制が顕著であった。移植から３週間頃の中間追肥後の細粒グライ土では，麦わら施

用量が多いほど土壌中アンモニア態窒素は多かった。この現象は，生育抑制が継続している７月半ばの土壌中において，アンモニア態窒素の減少を水稲の窒素吸収量低下の原因であるとする従来の説（Gotoh and Onikura1971，橋元1977）と矛盾している。この結果から，水稲の窒素吸収低下の主要因は水稲の窒素吸収活性の低下によることが示された。また，水稲の窒素吸収活性の低下要因として土壌中に生成する窒素吸収阻害物質の存在と水稲根系の未発達が関与しているものと考えられた。

水稲の窒素吸収活性低下の機構を明らかにするため，土壌に施されたトレーサー ^{15}N の24時間後の分布を調べたところ，麦わら施用区では移植後17日における水稲^{15}N 吸収速度（窒素吸収活性）は小さく，土壌中の$^{15}N-NH_4$は大きかった。また，根が吸収したトレーサー ^{15}N のうち，茎葉へ転流した比率も麦わら施用により低下することを明らかにした。

水稲の生育が抑制された麦わら施用湛水土壌の土壌溶液の根伸長阻害画分の分析から芳香族カルボン酸の安息香酸，2-フェニルプロピオン酸，3-フェニルプロピオン酸を同定した。このほか，分析した多数の麦わら施用湛水土壌の土壌溶液からフェニル酢酸，4-フェニル酪酸，*t*-桂皮酸，サリチル酸を同定した。2－フェニルプロピオン酸は土壌中の成分としては本研究で初めて見つかったものである。また，その他の芳香族カルボン酸（安息香酸以外）の検出例はほとんどは降雨後などの湿潤な畑土壌であり（Toussoun et al.　1968），水田土壌から検出されたのは初めてである。

土壌溶液の根の伸長阻害画分からは揮発性脂肪酸の酢酸，ギ酸，プロピオン酸，n-酪酸，イソ-吉草酸，n-吉草酸も検出された。既に滝嶋ら（1960），佐藤・山根（1965），Lynch（1977）により有機資材施用土壌中の揮発性脂肪酸については詳細な検討がなされている。しかし，その濃度は生育抑制を説明しうる濃度には達しなかった。このため，これらが主要な阻害要因とは考え難いが，水稲の生育抑制がこれらの物質の濃度変化と対応していることは注目される。

２．芳香族カルボン酸の濃度と水稲に対する生理活性

麦わら施用された水稲栽培圃場（1989年）から採取された土壌溶液の芳香族カルボン酸濃度を分析した結果，その最高濃度は安息香酸59μM，2-フェニルプロピオン酸11μM，3-フェニルプロピオン酸５μMであった。また，Ｖ章では3-フェニルプロピオン酸が12μM（第31（b）図），フェニル酢酸が１μM（第27図）の濃度で計測された。芳香族カルボン酸の水稲種子根の伸長に対する阻害作用は，土壌溶液から検出されたものの中では2-フェニルプロピオン酸が最も強く，0.5μMで24％の伸長阻害活性を示した。フェニル酢酸は10μMでの阻害は小さかったが40μMの阻害活性は67％であった。3-フェニルプロピオン酸は40，100μMでそれぞれ水稲の種子根の伸長を31，57％阻害した。なお，従来のフェノール性酸の分析は土壌を水やアルカリ性試薬，有機溶媒で抽出するものであった（Shindo and Kuwatsuka 1975）。しかし，本研究では，水稲に対する作用は土壌粒子に吸着している成分は関与が小さいと考えて土壌溶液中に溶存している濃度で考察した。

水稲の生育に対する作用を，100μMの芳香族カルボン酸を含む水耕栽培で検討したところ，土壌から検出されたカルボン酸の中では，2-フェニルプロピオン酸が最も強い阻害活性を示し，地上部，根ともに乾物重，窒素含有量が大きく低下した。生育抑制が強い2-フェニルプロピオン酸，1-ナフタリン酸，500μMの3-フェニルプロピオン酸では，地上部乾物重の低下割合に比べて窒素含有量の低下割合が著しく，窒素吸収過程になんらかの阻害があったことが推定された。一方，阻害活性が弱い濃度では地上部の窒素含量は総根長と相関が高く，根量の低下が直接窒素吸収量の低下につながったものと考えられた。

芳香族カルボン酸を含む水耕液でトレーサー ^{15}N を24時間吸収させた水稲では，2-フェニルプロピオン酸，安息香酸，3-フェニルプロピオン酸のいずれも窒素吸収阻害活性を示し，阻害作用が確認された最低濃度はそれぞれ1，100，100μMであった。また，転流の阻害は1000μM処理の安息香酸と3-フェニルプロピオン酸で認められた。

これらの幾つかの方法で得られた水稲の生育に対する阻害活性を土壌溶液の芳香族カルボン酸濃度と比較した。2-フェニルプロピオン酸の土壌溶液濃度はしばしば種子根の伸長が阻害される濃度を上回った。また，3-フェニルプロピオン酸も条件によって

は水稲種子根の伸長を30％弱阻害する濃度に至った。土壌溶液中の2-フェニルプロピオン酸濃度は窒素吸収を阻害する濃度の１μMを上回った。しかし，安息香酸と3-フェニルプロピオン酸は窒素吸収阻害濃度の100μMには至らなかった。このような点から，芳香族カルボン酸，特に2-フェニルプロピオン酸が土壌溶液中で水稲の生理活性を阻害する主要な物質であると推察される。なお，圃場に埋設したわら束の搾汁液においては，安息香酸122μM，3-フェニルプロピオン酸　194μMが計測された（未発表）。この濃度は水稲の種子根伸長阻害率が安息香酸で60％，3-フェニルプロピオン酸で約79％と評価された。また，両者ともに窒素吸収阻害濃度を上回った。わら近傍では芳香族カルボン酸濃度が高くなっていると推定され，そこに水稲が移植された場合には，高濃度の芳香族カルボン酸によって，その株の生育は顕著に阻害されると推定される。さらに，土壌溶液は数種の芳香族カルボン酸や揮発性脂肪酸が同時に存在する多成分系の試料である。土壌溶液中のフェノール性酸は各成分の濃度が阻害作用未満であっても混合系では相乗効果により阻害活性が認められている（Cannell and Lynch 1984）。水田土壌中の芳香族カルボン酸についても相加効果あるいは相乗効果が阻害活性を高めている可能性が高いと考えられる。

水稲根の伸長に対する芳香族カルボン酸の作用は構造と活性の特徴からオーキシン様作用と考えられた。しかし，窒素吸収阻害活性についても根の伸長と同じレセプターを介しているかどうかなど，水稲生育抑制における作用機作は未解明な点が多い。また，高濃度（100～1000μM）の芳香族カルボン酸を処理した水稲は萎凋を示すなど，水稲の生理の基本的な機能に大きな障害を与えると推定された。堆肥中の長鎖脂肪酸（ステアリン酸など）はトウモロコシやソルガムの種子中のATP濃度を低下させ，発芽や呼吸を抑制すると報告されている（Marambe and Ando 1993）。芳香族カルボン酸も，このような基礎代謝にかかわる過程に阻害作用を及ぼす可能性が推察される。

３．芳香族カルボン酸の集積条件の特徴と推定される生成過程

麦わらを施用した枠試験においては，細粒グライ土は細粒灰色低地土より顕著に土壌溶液中の芳香族カルボン酸濃度が高かったが，培養実験では同程度であった。これは同じ土壌でも透水の有無で芳香族カルボン酸の生成，集積量が異なることを示している。また，培養実験では黒ボク土において芳香族カルボン酸が低濃度で経過したが，この原因はアロフェンの高い陰イオン吸着能により酸が吸着されたためと推定した。

芳香族カルボン酸の集積しやすい土壌条件は，湛水，低透水性であった。また土壌温度は高い方が早期に集積が見られるが，20℃程度の低温において集積の開始は遅いものの集積期間が長く積算濃度が高かった。さらに，有機物を連用した土壌では集積のピークが早期に見られ，低濃度で経過した。

施用有機質資材では，資材中に易分解性成分（デンプン，タンパク質など）を多く含む場合に濃度が高くなり，微生物による分解性の低いものでは生成が遅れるか，または集積量が少なかった。このことから，芳香族カルボン酸の起源は微生物の代謝産物であることが示唆された。従来，土壌中に存在する芳香族化合物は，植物を構成するリグニンの切れ端や，その合成過程のシキミ酸経路の代謝過程にある化合物が湛水条件で蓄積したと考えられてきた。しかし，本論文で同定された芳香族カルボン酸は，フェノール性水酸基を持たないものが大部分であり，新鮮有機物施用に伴って生成する芳香族カルボン酸は，進藤・鍬塚（1978）が報告している植物遺体から腐植への変遷過程にあるフェノール性物質とは別の経路で生成するものと考えられた。

芳香族カルボン酸は麦わら，稲わら，レンゲのような植物遺体や，グルコースやセルロースのような芳香族とは全く異なる構造の資材を添加した土壌や培養液でも集積が認められた。また，温度や施用する有機質資材を変化させても，集積が開始する時の土壌のEhは土壌によってほぼ一定であり，芳香族カルボン酸が最高濃度に至って低下を始める時は，Ehが最も低下した頃に一致した。逆に，有機質資材を添加しなくても40℃という高温で湛水状態にあるとEhは有機質資材添加と同程度まで低下したが，芳香族カルボン酸の集積は認められなかった。これらから，芳香族カルボン酸の生成は植物のリグニンや土壌の腐植由来ではなく，未熟有機質資材が添加された時の急激な還元の進行における土壌微生物の代謝産物であると考えられる。

芳香族カルボン酸の起源および生成経路は，3-フェニルプロピオン酸についてはフェニルピルビン酸からの発酵過程で生成するのではないかと考えている。安息香酸は植物成分や微生物代謝産物の芳香族化合物の分解過程で多様な経路から生成すると考えられる。2-フェニルプロピオン酸や側鎖の炭素数が偶数の物質であるフェニル酢酸やフェニル酪酸が3-フェニルプロピオン酸を経由するのかあるいは別の経路から生成するのかなどは不明である。培養土壌中に生成する芳香族カルボン酸の起源と生成経路を解析するには^{13}C などの標識化合物を用いた実験が必要である。

4．水稲の生育抑制と窒素吸収阻害の条件

低い透水性と酸素不足，強い代かき，施用歴のない土壌への麦わら施用は水稲の乾物生産，水稲の根の伸長活性または窒素吸収活性を低下させた。また，易分解性有機炭素含量の多い資材の添加は乾物重の増加を阻害した。これらの傾向は土壌溶液中の芳香族カルボン酸の生成条件とよく対応した。また，耕起深度を変えた試験では芳香族カルボン酸濃度と水稲の生育抑制はよく一致したが，これらと耕起深度の関係は時期によって変化したため，好適な耕起深度は明解とはならなかった。

透水性や土壌の撹拌程度を変化させた場合は水稲の生育・窒素吸収活性の阻害の強さと同条件で集積した土壌溶液の芳香族カルボン酸濃度は必ずしも一致しなかった。このことは，麦わら施用における水稲根伸長抑制について芳香族カルボン酸の関与はあるが，単一の要因ではないことを示すものであった。また，これらはいずれも土壌への酸素の供給に大きく関与する項目であり，酸素の根への直接の生理的作用や物質代謝を介した間接的な作用が影響していると推定され，興味深い。

新鮮有機物が添加された土壌中の二価鉄濃度が高まることが知られ（滝嶋1962b，諸遊ら1981），鉄過剰により根の伸長が阻害され生育抑制に至ると考えられている。二価鉄が根の伸長の阻害濃度に及んだ例は諸遊ら（1981）によって報告されている。しかし，わらを連用すると水稲の窒素吸収阻害や生育抑制は軽減されるが，二価鉄濃度には変化は生じなかった。また，麦わら施用土壌の土壌溶液から鉄を除いた被検液中での種子根の伸長阻害が認められたことなどから，二価鉄の生成が主要因とは考えにくい。

土壌中の揮発性脂肪酸の影響については過去40年間にわたって多くの研究がなされた（滝嶋ら1960，佐藤・山根1965，Gotoh and Onikura 1971，Lynch 1977）。特に酢酸は注目されたが，1.5t/10a の稲わらを施用し，生育抑制が生じた場合でも土壌溶液中の濃度は 1 mM 以下で，根の伸長を抑制する濃度には至らなかった（Gotoh and Onikura 1971）。本研究における分析では，土壌溶液中の酢酸が阻害濃度に至った時には，芳香族カルボン酸類も同時に検出され根の伸長や窒素吸収を阻害する濃度に達していた。逆に，2-フェニルプロピオン酸が阻害濃度を越えていても揮発性脂肪酸濃度が阻害濃度とならない例は多かった。芳香族カルボン酸に比較すると揮発性脂肪酸の水稲根の伸長阻害への寄与は小さいものと考えられる。

還元状態の指標である Eh は水稲作付期間中は中干し期を除いて改善されることはないが，水稲生育の抑制は生育ステージが進むと軽減された。また，わらを連用すると Eh の低下幅は大きくなったが生育の抑制は軽減された。これらのことから，生育初期に起る急激な生育抑制には Eh 低下の寄与は小さいと判断した。しかし，このような Eh の低さや酸素供給量の少なさは，根の呼吸などの健全性に影響すると考えられる（吉田1982）。特に，わらを連続施用した土壌で芳香族カルボン酸濃度が低下しても，生育阻害が完全には解消されないが，これは強還元，低酸素状態における根の活性の低下によるものと推定された。

湛水土壌への新鮮有機物の施用によって，移植直後の水稲の活着はしばしば遅滞し，窒素吸収量低下や乾物生産低下の要因ともなる。この活着の遅れは湛水直後窒素吸収阻害に先立って生じると考えられ，この時期に生成する物質は CO_2，H_2，CH_4，N_2等のガス類（佐藤・山根1965），アルコール，アルデヒド（Tsutsuki and Ponnamperuma 1987）等が報告されている。しかし，いずれも活性がない（川口1978）か，極めて低濃度（Tsutsuki and Ponnamperuma 1987）であるために水稲の生育への影響はないと言われており，原因物質の特定が期待される。

水稲における窒素吸収量の低下要因は，窒素吸収力の低下と土壌中アンモニア態窒素の低下という二つの要因が考えられる。従来は未熟有機質資材によ

る水稲の生育抑制は土壌中アンモニア態窒素の低下が主要因であり，さらに強還元状態では水稲根の活力が低下し，生成する揮発性脂肪酸により根の伸長が阻害されると考えられてきた。しかし，このアンモニア態窒素の有機化は極めて短期間で終息し，いわゆる「窒素飢餓」は窒素吸収量低下の主要因とはなり得ない。このため，窒素吸収力の低下について検討してきた。しかしながら，水稲の乾物生産や窒素吸収活性の低下を単独で説明できる要因は無く，有機物施用の条件や時間経過によっていくつかの要因が関与し，その寄与率が変化すると考えられる。本研究では麦わら施用土壌に特徴的に生成する芳香族カルボン酸類が窒素吸収と根の伸長に阻害活性を持つことを示し，2-フェニルプロピオン酸が水稲栽培圃場の土壌溶液において阻害濃度に至った例を示した。これらから芳香族カルボン酸による窒素吸収阻害や水稲生理の撹乱の水稲生育抑制に対する寄与は大きいと推定される。特に，麦わら施用歴のない土壌で生じる強い生育抑制においては芳香族カルボン酸の影響が大きいと考えられた。

5．生育抑制緩和策

麦わら施用土壌での生育抑制の主要因である芳香族カルボン酸の集積条件，土壌・栽培管理による水稲の生育阻害活性の相違を検討してきた。本研究から，生育抑制を緩和するための土壌管理法として，麦わらなど新鮮有機物は連用する，土壌の透水性を改善する，代かきは弱く（または省略）する，生育抑制に強い品種を栽培する，湛水までに施用資材中の易分解性成分を分解させる，または生育阻害活性が低下してから移植する，などが提案できる。これらのうち，麦わらの連用は比較的簡単に採用されうる方法である。また，肥効調節型肥料の苗箱または側状施肥などと併用すれば代かきを弱くしても，施肥窒素の利用率を維持することができると報告されている（金田ら1994，金田1995，金田・土屋1997）。これらの手法を圃場・栽培条件に合わせて選択することにより，新鮮有機物を施用しながら水稲の安定生産を図ることが可能である。

Ⅶ　摘　　要

北部九州の稲麦二毛作田では麦収穫残渣は湛水直前に水田にすき込まれることがある。この作業体系ではしばしば水稲の初期生育が抑制される。本研究ではトレーサー ^{15}N による土壌中アンモニア態窒素の挙動の解析と生育阻害物質の観点から麦わら施用に伴う水稲の生育抑制機構を解析した。

1．水稲の生育抑制が最も強い時期の麦わら施用土壌におけるアンモニア態窒素濃度は，麦わら無施用区より高くなることがあり，生育阻害物質の関与が示唆された。麦わらを施用した湛水土壌より採取した土壌溶液から，水稲根の伸長阻害物質として芳香族カルボン酸類と揮発性脂肪酸類を検出した。麦わらを施用した水稲栽培圃場における芳香族カルボン酸の最高濃度は安息香酸が59μM，フェニル酢酸が1μM，2-フェニルプロピオン酸が11μM，3-フェニルプロピオン酸が12μMであった。

2．土壌から検出された芳香族カルボン酸の水稲根伸長阻害活性は2-フェニルプロピオン酸＞フェニル酢酸＞3-フェニルプロピオン酸＞安息香酸であった。2-フェニルプロピオン酸では0.5μMで阻害活性が認められた。芳香族カルボン酸は水稲の窒素吸収活性を阻害し，特に2-フェニルプロピオン酸は1μMで窒素吸収を阻害した。

3．培養実験によると，施用有機質資材の易分解性有機成分量に対応して芳香族カルボン酸の集積量が変化した。高温条件（40℃）では芳香族カルボン酸の集積の開始，消失時期とも速く，低温（20℃）では集積期間が長く積算濃度は高かった。土壌の種類では，芳香族カルボン酸生成量や陰イオン吸着能の相違が土壌溶液濃度に影響すると推定した。土壌水分の影響では，湛水状態で芳香族カルボン酸の集積量が多かった。麦わら連用土壌では非連用土壌より芳香族カルボン酸の濃度が低く，集積の時期は早まった。芳香族カルボン酸は有機物の施用で増殖した微生物の代謝産物と考えられた。

4．有機質資材施用による生育抑制が大きくなる条件は，過去に新鮮有機物の施用歴がない，透水性が低い，代かきが強い，有機質資材中の易分解性有機成分が多い，土壌温度が低いことであった。

5．土壌中アンモニア態窒素の減少が生じる期間は，湛水直後の数日に限られており，吸収抑制の比率と比較すると，その減少の割合は小さく，窒素吸収活性の阻害が吸収量低下の主要因と推定した。特に，わら施用歴のない土壌に初めて新鮮有機物を施用したときに生じる強い阻害においては，土壌中に集積した芳香族カルボン酸の寄与が大きいと推定し

た。

引用文献

Aberg, B., (1963) Studies on plant growth regulators. XIX. Phenylacetic acid and related substances. Lantbrukshogsk. Ann. **29**, 3 -43.

Adachi, K. and Chaitepcs, W.C. and Senboku, T. (1997) Promotive and inhibitory effects of rice straw and cellulose application on rice plant growth in pot and field experiments. *Soil Sci. Plant Nutr*. **43**, 369 -386.

安藤　豊・庄子貞雄・及川　勉・菅野忠教（1986）水田土壌中での稲わらの分解と窒素の挙動，土肥誌 **57**；359-364

Cannell, R.Q. and Lynch, J.M. (1984) Possible adverse effects of decomposing crop residues on plant. In :Organic matter and rice (International Rice Research Institute), International Rice Research Institute, Los Banos, 455-475p.

福田　守・米山忠克・関谷信一郎・甲木章・徳安雅行（1988）ムギ作付け跡水稲における“二段根”の発生，土肥誌　**59**；206-209.

Glass, A.D.M., (1973) Influence of phenolic acids on ion uptake. 1. Inhibition of phosphate uptake. *Plant Physiol*. **51**; 1037-1041

Gotoh, S. and Onikura Y., (1971) Organic acids in flooded soil receiving added rice straw and their effect on the growth of rice. *Soil Sci. Plant Nutr*. **17**; 1-8.

原田登五郎・林　龍三・近本明雄（1964）土壌の機械的処理効果と土壌窒素の無機化促進効果，土肥誌 **35**；21-24

橋元秀教（1977）有機物施用の理論と応用，129-155p，農山漁村文化協会，東京.

金田吉弘（1995）新農法への挑戦－生産・資源・環境との調和－，（庄子貞雄編）210-216p，博友社，東京.

金田吉弘・粟崎弘利・村井　隆（1994）肥効調節型肥料を用いた育苗箱全量施肥による水稲不耕起栽培，土肥誌　**65**；385-391.

金田吉弘・土屋一成（1997）稲わらすき込み湿田における水稲の生育・窒素吸収に及ぼす育苗箱全量施肥の効果，土肥誌　**68**；185-188.

草野　秀・小川和夫（1974）作物体に含まれるフェノール性酸について，土肥誌　**45**；29-36.

Lynch, J. M., Hall, K. C., Anderson, H. A. and Hepburn, A., (1980) Organic acids from the anaerobic decomposition of *Agropyron Repens rhizomes*. *Phytochemistry*. **19**, 1846-1847.

Lynch, J.M., (1977) Phytotoxicity of acetic acid produced in the anaerobic decomposition of wheat straw. *J. Appl. Bacteriol*. **42**; 81-87

前田乾一（1983）水田に施された窒素の行動の定量的評価，農研センター研報　**1**；121-192.

Marambe, B. and Ando, T., (1993) Identification and biological activity of germination-inhibiting long-chain fatty acids in animal-waste composts. *Plant Cell Physiol*. **34**, 605-612.

増田芳雄（1977）植物生理学，培風館，東京，257-267p.

McCalla, T.M. and Norstadt, F.A., (1974) Toxicity problems in mulch tillage. *Agric. Environ*. **1**, 153-174 .

諸遊英行・長野間宏・神田健一（1981）麦わら施用が水稲の生育と土壌中の化学変化に及ぼす影響（1）水稲に対する麦わら連用試験，農事試研報　**35**；179-205.

長野間宏・諸遊英行（1985）麦わら施用が水稲の生育と土壌中の化学変化に及ぼす影響（2）有機物施用歴が，麦わら施用にともなう有機酸の生成・分解に及ぼす影響，農研センター研報　**5**；39-53.

鬼鞍　豊・後藤重義（1970）土壌養分分析法，（土壌養分測定法編集委員会編）65p，養賢堂，東京.

Patrick, Z. A., (1971) Phytotoxic substances associated with the decomposition in soil of plant residues. *Soil Sci*. **111**, 13-18.

Rao, D.N. and Mikkelsen, D.S., (1976) Effect of rice straw incorporation on rice plant growth and nutrition. *Agron. J*. **68**, 752-755.

六本木和夫・秋本俊夫・鈴木清司（1986）水稲異常生育に対する回避対策について，土肥誌　**57**；80－84.

六本木和夫・秋本俊夫・鈴木清司（1987）水稲異常生育に対するマンガン施用の改善効果，土肥誌　**58**；616－618.

佐藤和夫・山根一郎（1965）水田土壌中における有機物の分解と有機酸，ガスの生成，東北大農研報 **17**；17－24.

佐藤和夫・山根一郎（1973）湛水土壌の土壌溶液に関する研究（2），土壌溶液の成分濃度の変化，土肥誌　**44**；246-250.

志賀一一・大山信雄・鈴木正昭（1983）二毛作水田における水稲の異常穂発生の要因，土肥誌　**54**；383-388.

Shindo, H. and Kuwatsuka, S., (1975) Behavior of phenolic substances in the decaying process of plants II Changes of phenolic substances in

decaying process of rice straw under various conditions. *Soil Sci. Plant Nutr.* **21**, 215-225.

進藤晴夫・鍬塚昭三（1978）稲わらリグニン中の加水分解性フェノール成分，土肥誌 **49**；165-166

高井康雄・三好 洋（1977）土壌通論，166p，朝倉書店，東京.

滝嶋康夫（1962a）水稲の根系障害における有機酸と２価鉄の問題，1土壌有機酸による障害，農園**37**；473-479.

滝嶋康夫（1962b）水稲の根系障害における有機酸と２価鉄の問題，２土壌中の二価鉄による障害，農園**37**；641-646.

滝嶋康夫・佐久間 宏・千葉守男（1961）水田土壌中の有機酸代謝と水稲生育阻害性に関する研究，（第６報）蔗糖添加による有機酸の生成と生育阻害作用，土肥誌 **32**；390-394.

滝嶋康夫・塩島光洲・有田 裕，（1960）水田土壌中の有機酸代謝と水稲生育に関する研究２．有機酸の根生長並びに養分吸収阻害，土肥誌 **31**；441-446.

TANAKA, F., (1990) Method of determination of some aromatic acids in soil solution from paddy fields by gas chromatography-mass spectrometry. *Soil Sci. Plant Nutr.* **36**, 425-430.

TANAKA, A and NAVASERO, S.A., (1966) Chlorosis of the rice plant induced by high pH of culture solution. *Soil Sci. Plant Nutri.* **12**, 213-219.

TANAKA, F. and NISHIDA, M., (1996) Inhibition of nitrogen uptake by rice after wheat straw application determined by tracer $NH_4^{+-15}N$. *Soil Sci. Plant Nutr.* **42**, 587-591.

TANAKA, F. and NISHIDA, M., (1998) Inhibitory effects of aromatic acids on nitrogen uptake and transport in rice (*Oryza sativa* L.) plants cultured on hydroponics. *Soil Sci. Plant Nutr.* **44**, 691-694.

TANAKA, F., ONO, S. and HAYASAKA, T. (1990) Identification and evaluation of toxicity of rice root elongation inhibitors in flooded soils with added wheat straw. *Soil Sci. Plant Nutr.* **36**, 97-103.

田中福代・小野信一（2000）有機質資材を施用した水田土壌における芳香族カルボン酸の集積と起源および水稲の生育阻害．土肥誌，**71**，350-355.

TOUSSOUN, T. A., WEINHOLD, A.R., LINDERMAN, R.G. and Patrick, Z.A., (1968) Nature of phytotoxic substances produced during plant residue decomposition in soil. *Phytopathology* **58**, 41-45.

辻 藤吾（2000a）ペースト肥料による水稲の初期生育抑制障害と障害に対する資材の施用効果，土肥誌 **71**；454-463.

辻 藤吾（2000b）水稲の硫黄欠乏による栄養障害と硫黄吸収特性，土肥誌 **71**；464-471.

辻 藤吾（2000c）水稲の初期生育抑制障害発生に伴う水田土壌中の硫黄含量の変化とその実態，土肥誌 **71**；472-479.

辻 藤吾・吉村真弓（1992）水稲の異常穂の発生に関する一事例，近畿中国農研**84**；６-8.

TSUTSUKI, K. and PONNAMPERUMA, F. N., (1987) Behavior of anaerobic decomposition products in submerged soil. *Soil Sci Plant Nutr.* **33**, 13-33.

山本一彦（1994）土壌のイオン交換と養分吸収力 土壌・植物栄養・環境事典，（松坂泰明・栗原淳編）82-83p，博友社，東京.

YAMAMURO, S., (1981) The accurate determination of nitrogen-15 with an emission spectrometer. *Soil Sci. Plant Nutr.* **27**, 405-419.

山室成一（1988a）水田における窒素の動態に関する^{15}Nトレーサー法の理論的展開，土肥誌 **59**；538-548.

山室成一（1988b）インキュベーションおよび圃場における地力窒素の動態と水稲窒素吸収量予測，土肥誌 **59**；549-556.

山室成一（1989）^{15}Nトレーサー法による水稲根の活力診断，土肥誌 **60**；445-450.

山根一郎（1978）川口桂三郎編，水田土壌学，316-321p，養賢堂，東京.

山根一郎（1982a）水田土壌学（山根一郎編）140-141p，農山漁村文化協会，東京.

山根一郎（1982b）水田土壌学（山根一郎編）173-174p，農山漁村文化協会，東京.

YOO, C.H., SO, J.D., IDA, A., TANAKA, F. and NISHIDA, M., (1992) Effect of long-term organic matter application on the fine textured paddy soils of double cropping system in temperate area. *J. Korean Soc. Soil Sci. Fert.* **25**, 325-333.

吉羽雅昭（1990）植物栄養実験法，（植物栄養実験法編集委員会編)3-4p，博友社，東京.

吉田武彦（1982）水田土壌学（山根一郎編）295-298p，農山漁村文化協会，東京.

脇本賢三・梶本晶子・伊藤信（1989）近畿中国地域における水稲の異常穂発生実態と土壌条件の解析，中国農研報 **5**；45-63.

Formation of Aromatic Acids and Growth Inhibition of Rice (*Oryza sativa* L.) Plants in Flooded Soils with Wheat Straw Added

Fukuyo TANAKA[1)]

Summary

The application of fresh wheat or barley straw often inhibits the growth of paddy rice plants (*Oryza sativa* L.) in the early stages. This inhibition is generally attributed to a deficiency of available N in soils with straw added, due to considerable N assimilation by the soil microbes. Some recent reports suggested a nutrient uptake inhibition in rice plants that was not caused by or related to nutrient deficiency in the soil due to assimilation with soil microbes. Thus, the mechanism of rice growth inhibition as a result of wheat straw application has yet to be clarified beyond dispute. Studies on the formation of inhibitors of rice plant growth and N behavior in flooded soils with wheat straw added were carried out as described below to clarify the mechanism.

1. Identification of aromatic acids as inhibitors of root elongation and N uptake by rice plants cultivated in soils with wheat straw added

Rice plants were cultivated with and without the application of wheat straw. The growth and N uptake of rice plants were reduced in the plots with wheat straw compared to the plots without straw. However, a larger amount of KCl-extractable N was present in the soil of the plots with straw application after 46 days of flooding, along with severe growth inhibition. In another experiment, plants and soils were sampled after 24 hours of $^{15}NH_4^+$ application to the soil. Rice plants from soil with straw had accumulated less ^{15}N seventeen days after straw application, and the soil at that time contained more NH_4^+ than plants from soil without straw application. It was obvious that the decrease in N uptake by rice plants after wheat straw addition was reduced from N uptake inhibition and not from N deficiency due to assimilation by soil microbes.

2. Evaluation of the inhibitory effects of aromatic acids on rice plants' physiology

We tested the inhibitory effect of fractions and individual substances obtained from soil solutions on rice root elongation. Solutions collected from flooded soil incubated with wheat straw inhibited rice root elongation, particularly the fraction that could be extracted with diethylether under acidic conditions. The acidic fraction contained aliphatic acids and aromatic acids, such as benzoic acid (BA), phenylacetic acid (PAA), 2-phenylpropionic acid (2PPA), 3-phenylpropionic acid (3PPA), 3-phenylbutyric acid (3PBA), 4-phenylbutyric acid (4PBA), 2-hydroxybenzoic acid, and *t*-cinnamic acid. The results of a bioassay with aromatic acids indicated strong inhibition of rice seedling growth, particularly for 2PPA and 3PPA. Further examinations were performed using ^{15}N-tracer in hydroponics to determine whether aromatic acids inhibit

Department of Lowland Farming Research, National Agricultural Research Center for Kyushu Okinawa Region, Chikugo, Fukuoka 833-0041 Japan.
Presemt address :
1）National Agricultural Research Center (NARC)

N uptake and transport in rice plants. All aromatic acids tested inhibited ^{15}N uptake by rice plants at concentrations of 1 (2PPA) and 100μM（3PPA and BA）. Inhibitions of N transport from roots to tops by 3PPA and BA was observed at concentrations of 10 and 1000μM, respectively.

The concentrations of aromatic acids in soil solutions were determined by GC/MS. The highest concentrations in samples from rice fields (1988-1990) were 59μM (BA), 1μM (PAA), 11μM (2PPA), and 12μM (3PPA).

3. Effect of soil properties and incubation conditions on the accumulation of aromatic acids in a soil solution

The effects of soil conditions and the quality of organic matter on the accumulation of aromatic acids were examined by incubating soils with wheat straw. Aromatic acids were found to be metabolite products of microbial fermentation in reduced soils. A lower (20℃) soil temperature stimulated the accumulation of aromatic acids more than a higher (40℃) temperature. Accumulations were larger in flooded than in unflooded soil. The accumulation of aromatic acids was smaller when straw was applied to soil that had already undergone five previous straw applications than when straw was added to soil without previous straw applications.

4. Conclusion

The growth of rice plants under various conditions in fields or pots correlated with the aromatic acids concentration results of incubation experiments. These inhibitory effects of aromatic acids on rice plants and the patterns of their accumulation provide an important explanation for the N uptake inhibition that occurred in paddy soils with fresh wheat straw added. It was indicated that some physical properties such as the gaseous phase ratio and water permeability, which can be changed by soil management methods such as puddling or irrigation techniques, also effect inhibition of rice plant growth.

Key words: Aromatic acids, Growth inhibition, Nitrogen immobilization, Nitrogen uptake inhibition, Rice plants, Tracer ^{15}N, Wheat straw.