

第6章 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壤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、水稲生理に影響する土壤成分として芳香族カルボン酸の関与を新たに提示した。この両者の関係を中心として湛水土壌の諸条件の変化から、麦わらなど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方策について言及した。

6-1 麦わら施用に伴う水稲の初期生育抑制の再現と土壤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、水稲生育は麦わら施用区で低下した。特に、生育初期(移植後約50日間)に抑制が顕著であった。移植から3週間頃の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壤中アンモニア態窒素は多かった。すなわち、生育抑制が継続している7月半ばの土壤中において、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、むしろ水稲の窒素吸収低下の要因は水稲の窒素吸収活性の低下であると推定した。また、水稲の窒素吸収活性の低下要因として水稲根系の未発達と、土壤中に生成する窒素吸収阻害物質を想定した。

水稲の窒素吸収活性低下の機構を明らかにするため、土壤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日における水稲の乾物あたりの ^{15}N 吸収量(窒素吸収活性)は小さく、土壤中の $^{15}\text{N}\cdot\text{NH}_4$ 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した。このように、麦わら施用による水稲の生育抑制には窒素の吸収活性や転流の阻害が関与していることが明らかとなった。

水稻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, 未同定の物質の一つはフェニル乳酸と推定したが, これも土壌から検出されたまだ報告がない物質である. これが確認されれば, 芳香族カルボン酸の生成経路の推定に役立つと考えられる. さらに, その他の芳香族カルボン酸(安息香酸以外)もほとんどは降雨後などの湿潤な畑土壌から見つかったものであり(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, 水稻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.

6-2 芳香族カルボン酸の濃度と水稻に対する生理活性

麦わら施用された水稻栽培圃場(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 59 μM , 2-フェニルプロピオン酸 11 μM , 3-フェニルプロピオン酸 5 μM であった. また, 第5章では3-フェニルプロピオン酸が 12 μM (第5-8(b)図), フェニル酢酸が 1 μM (第5-1図)の濃度で圃場の土壌溶液から計測された. 芳香族カルボン酸の水稻種子根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, 0.5 μM で24%の伸長阻害活性を示した. フェニル酢酸は 10 μM での阻害は小さかったが 40 μM の阻害活性は67%であった. 3-フェニルプロピオン酸は 40, 100 μM でそれぞれ水稻種子根の伸長を 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,

水稻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。

水稻の生長に対する作用を、100 μM 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、500 μM 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吸収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繋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¹⁵N を 24 時間吸収させた水稻では、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, 100 μM であった。また、転流の阻害は 1000 μM 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稻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伸長阻害濃度を上回った。また、3-フェニルプロピオン酸も条件によっては水稻種子根の伸長を 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 1 μM 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 100 μM 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稻の生理活性を阻害すると推定した。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 122 μM 、3-フェニルプロピオン酸 194 μM が計測された（未発表）。この濃度は水稻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、そこに水稻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.

水稻根の伸長に対する芳香族カルボン酸の作用はオーキシ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生るかどうかなど, 芳香族カルボン酸が水稻の生理に及ぼす作用の機作は未解明である. また, 高濃度 (100 から 1000 μM) の芳香族カルボン酸を処理した水稻は萎凋を示すなど, 水稻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関する過程に阻害作用を及ぼす可能性がある.

6-3 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質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, 培養実験ではクロ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°C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. このような結果は, 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を示唆している. 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・鉄塚（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した。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 が最も下がりきった頃に一致した。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無かった。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、未腐熟有機質資材が添加された時の急激な還元の前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がもっともらしいと推定している。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思われる。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 標識化合物を用いた実験が必要である。

6-4 水稻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、初回の麦わら施用は水稻の乾物生産、水稻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稻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。

透水性や土壌の攪拌程度を変化させた場合は水稻生育・窒素吸収活性阻害の強さと同

条件で集積した土壤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稻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壤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壤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、二価鉄濃度はわらを連用しても低下しないが、水稻の窒素吸収活性は連用により障害が軽減された。また、麦わら施用土壤の土壤溶液から鉄を除いた種子根試験で根の伸長阻害が生じたことなどから、二価鉄の生成が主要因とは考えにくい。

土壤中の揮発性脂肪酸の影響については過去 40 年間にわたって熱心な研究がなされた（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壤溶液中の濃度は 1mM 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、土壤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まらない例は多かった。揮発性脂肪酸の水稻根の伸長阻害活性は芳香族カルボン酸には及ばないものと考えられる。

還元状態の指標である Eh は水稻作付け期間中は中干し期を除いて改善されることはないが、水稻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壤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と推定した。

湛水土壤への新鮮有機物の施用によって、移植直後の水稻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 Ponnampereuma 1987）等が報告されている。しかし、いずれも活性が無い（川口 1978）か、極めて低濃度（Tsutsuki and Ponnampereuma 1987）であるために水稻生育への影響は無いと言われており、原因物質の特定が期待される。

本研究で主に検討した水稻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壤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。そのうち、土壤中アンモニア態窒素の低下が生じるのは湛水直後の数日に限られた。この期間は土壤温度によって異なるが、移植後 10 日以上では全く低下しないか、低下しても吸収抑制の比率と比較するとその割合は小さかった。

本研究では麦わら施用土壤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稻栽培圃場の土壤溶液において阻害濃度に至った例を示した。しかし、水稻の乾物生産や窒素吸収活性の低下を単独では説明できない。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ている。想定される要因のうち、本研究で発見した芳香族カルボン酸の作用は、土壤溶液中の濃度などから、麦わら施用歴のない土壤で見られるような強い生育抑制の主要因であろうと考えている。

麦わらを施用した水田における水稻の生育抑制の要因についてまとめると第6-1図の通りである。従来は未腐熟有機質資材による水稻の生育抑制は土壤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稻根の活力が低下し、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。本研究から、芳香族カルボン酸による窒素吸収阻害や水稻生理の攪乱などが主要因であり、高い土壤の EC や土壤中の酸素不足が付随的に関与するものと考えた。

6-5 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，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，麦わらを連用する，代かきを弱くするなどには現実的に実行可能な方法である。麦わらを連用することによる土壌管理上の大きな問題は無い。そこで，弱い代かき～無代かきを圃場における水稲栽培に適用する実際の管理法について言及する。

九州の有明海・諫早湾沿いに広く分布する干拓地や水郷地帯では重粘な土壌で水稲が作付けされている。このような土壌では透水性が極めて悪く，強還元の影響が現われやすいので，代かきを省略する栽培法が有効と考えた。代かきを省略すると作土層の通気性が保たれる利点があるが，一方で施肥窒素の溶脱や脱窒が増加する懸念がある。この問題を解決するためには 1)肥効調節型肥料の苗箱施用または 2)水稲移植時の肥効調節型肥料の側条施肥がある(金田 1995)。苗箱施用方式では，苗箱に粒状の肥効調節型肥料を播き，その上に催芽もみを播種し，覆土して育苗する。水稲根が伸長する時苗箱の底にある肥料の粒を巻き込むため，溶出した窒素は土壌層に拡散する前に吸収されきわめて施肥窒素の利用率が高い(金田ら 1994，金田 1995，金田・土屋 1997)。また，側条施肥では，苗箱施用方式で育苗中に生じる可能性のある塩害を回避することができる。

筆者らの実証試験でも，わら施用による生育抑制は慣行(硫酸アンモニウム分施)法では顕著であったが，肥効調節型肥料区(苗箱施用方式)では小さく，肥効調節型肥料処理間で比較すると無代かき処理の生育が良好であった(未発表)。しかし，九州の温度条件では窒素成分の溶出が早く，後半に窒素が不足するため，穂肥の追肥か基肥における肥効期間の異なる肥料のブレンドが肥料切れを回避するために必要と思われる。また，湛水までに施用資材中の易分解性成分を分解させれば芳香族カルボン酸濃度が低下すると推定している。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ろう。

従来の考え

現象	生育抑制・根伸長阻害				
要因	窒素飢餓(アンモニアの有機化)	EC, 二価鉄	揮発性 脂肪酸?	強還元?	その他

本研究の提案

現象	生育抑制・窒素吸収阻害*			
要因	窒素量** 低下	芳香族カルボン酸	EC, 二価鉄, 揮発性脂肪酸	酸素不足

* 窒素吸収量の低下は根量不足より吸収活性の阻害の影響が大きい

** 湛水直後に見られる窒素の有機化に伴う土壤中NH₄-Nの低下, 極短期間で終了する

第6-1図 麦わら施用による水稻の生育抑制とその要因についての従来の考えと本研究の提案