

水田に於ける磷酸還元について

(第 1 報)

坪 田 五 郎

On the Phosphate-Reduction in the Paddy Field

(1)

By

Gorō Tsubota

目 次

I. 結 言	1	IV. 磷酸還元に関与する土壤細菌	8
II. 模型水田土壤に於ける脱磷現象 (Dephosphorification) について	2	V. 綜合考察及び摘要	11
III. 液体培養基中の磷酸還元	6	VI. 引用文献	13
		英文摘要	14

I 緒 言

水田に於ける磷酸還元についての信頼すべき報告は、筆者が調査し得た範囲では見出せなかつた。本報告を刊行するに当り、敬愛する一先輩より筆者が耳にした⁽¹⁾⁽⁴⁾ 磷酸還元に関する唯一の研究者はソ聯のK.I.Rudakovである。しかしこれとても、original reportを入手するすべとてなく、実験の詳細については不明であるが、水田に関するものではないと思われる。

筆者は水田に於ける磷酸問題を究明中、Rudakov とは全く独立に湛水下の土壤中に於ける磷酸還元の可能性を推定した。

すなわち磷酸還元系列として過去に知られた磷化合物から、磷酸—亜磷酸—次亜磷酸—磷化水素の三段階を想定し、各々の生成熱、 ΔH から大略の酸化還元電位 E_0' を算出すると第1表の如くであつて、必ずしも自然界に於ける不可能な酸酵現象とは思われない。

表 1 表 磷酸系列の酸化還元電位
Table 1. Redoxpotential between phosphate-series

Reaction	E_0' (v)	ΔH
$H_3 PO_4 \text{ --- } H_3 PO_3$	-0.38 (-0.20)*	-17.5
$H_3 PO_3 \text{ --- } H_3 PO_2$	-0.67 (-0.50)**	-30.9
$H_3 PO_2 \text{ --- } PH_3$	-0.34	-31.3

Note :

(*) N.A.Lange : Handbook of Chemistry (1956)

(**) G.Charlot : L'analyse Qualitative et les R'eactions en Solution (1957)

しかして此のことは水田還境に於て、土壤肥科学的に重大な意義を持つものと考えられる。乃ち湛水下の水田土壤に於て磷酸の還元が行われれば、土壤による磷酸の吸収固定以外の磷酸不可給態化の一場面が懸念され、加えて亜磷酸、次亜磷酸は既に水稻に有害との藤原らの報告⁽²⁾もあり、phosphine 迄還元されるならば、このもの、脱磷現象の程度、植生に及ぼす毒性等種々考究されねばならない。

そこで筆者は昭和32年以後同僚諸氏と共に多少の実験を行つた。今回は筆者が東京大学農学部坂口研究室に留学中実施した次の3項目

1. 模型水田に於ける脱磷現象
2. 液体培養液中の磷酸還元
3. 磷酸還元に関与する土壤細菌

に就て報告を行うものである。

東京大学留学中懇篤な指導を賜つた同校農学部教授坂口博士、有馬博士に深く感謝する。其の間終始激励と研究遂行上の便宜を与えられた栃木県農業試験場今村場長に深甚なる謝意を表す。

又本研究の実施に当り有益な助言を与えられた東北大学教授藤原博士、東京大学教授弘法博士、三井博士、助教授辻村博士、同中村道德氏、農林省農業技術研究所山中博士に謝意を呈する。

尚本研究の一部を分担実施された星静、羽生幌、三宅信、土山豊、宮脇謙三の諸氏に厚く感謝する。

Ⅱ 模型水田土壤に於ける脱磷現象 (dephosphorification) について

水田土壤に於ては湛水下還元の進行に伴う微生物的代謝の結果磷酸還元現象も起り得ると考え、湛水土壤からの発生gas中に磷酸還元の最終生産物としてのphosphineを検出しようとした。

a. 実験の部

1. 供試土壤

栃木県宇都宮市今泉町の腐植質火山灰水田、佐野市堀米町の古成層を母材とする沖積二毛作田の作土層より採取し、それぞれの生細土を実験に供した。(以下宇都宮及び佐野土壤と略称する。)

表2 供試土壌の物理性

Table 2. Mechanical properties of sampling soils

	Sand(%) 2~0.2mm	Fine sand(%) 0.2~0.02mm	Silt(%) 0.02~0.002mm	Clay(%) <0.002mm	Soil Classes	Apparent Specific gravity
Utsunomiya	12.61	28.42	28.20	12.55	L	0.716
Sano	16.1	32.3	30.6	21.0	CL	1.055

表3 供試土壌の化学性

Table 3. Chemical properties of sampling soils

	PH	C (%)	N (%)	Al ₂ O ₃ (%)	Fe ₂ O ₃ + Fe O (%)	Mn ₂ O ₃ (mg/100g)	SiO ₂ (%)
Utsuno- miya	6.05	5.67	0.44	13.83	4.66	17.00	47.58
Sano	6.42	1.95	0.22	14.12	8.42	76.42	54.02

C.E.C. (me/100g)	Absorptive coeff. of P ₂ O ₅	Effect of air- drying of the soil before flooding	Effect of temperature elevation on the mineralisation of nitrogen
33.75	1992	18.11	22.85
20.83	504	8.35	10.09

供試土壌の一般的性質は第2～3表の如くである。これらの分析結果から、供試土壌宇都宮は容積比重軽く、磷酸吸収係数は極めて高く、腐植質火山灰土壌の特性を示しているに反し、佐野は有機物中量で鉄、満俺量は多く、乾土効果、温度上昇効果も中庸な沖積土の性質を示している。

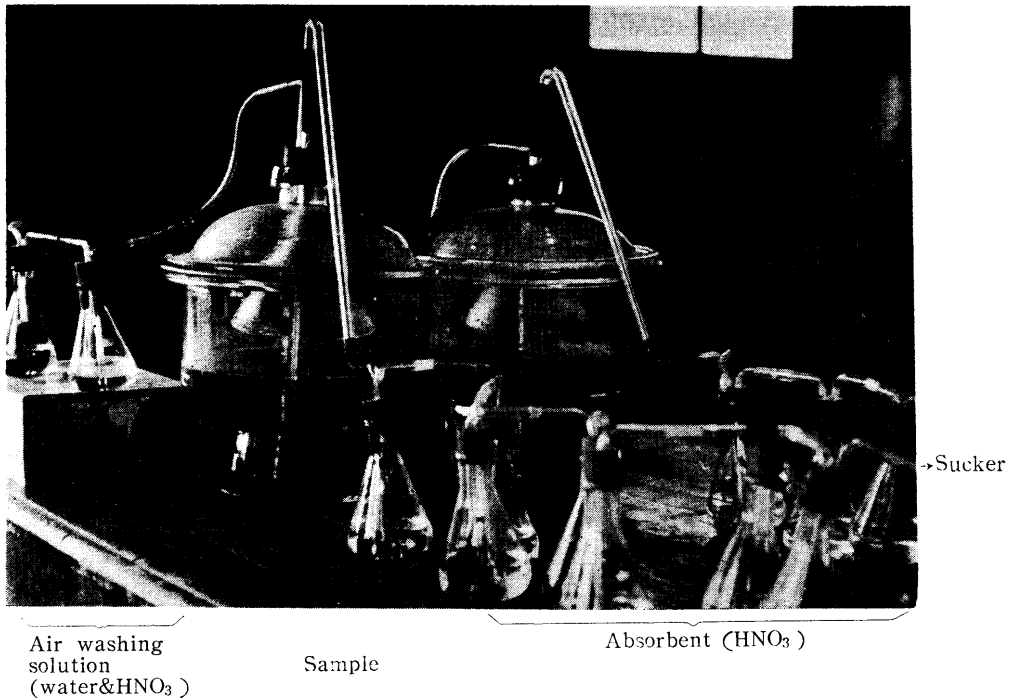
2. 実験方法

径23cmのdesiccatorに供試土壌(2mm篩選)1kg, 速成堆肥(昭和32年夏作速成堆肥)10g, (NH₄)₂HPO₄ 4.205gを添加し良く攪拌した後灌水した。

吸引装置としては第1図の如くし、desiccatorの蓋には内部に漏斗を逆に装置し、発生gasを可及的移動し易くした。吸収瓶は200cc容とし取外しの出来る様にした。

才1図 吸引装置

Fig 1. The apparatus for aspiration



desiccatorには覆をかぶせ孵卵電球を入れて一定の温度に保ち、発生する gas を空気と共に sucker を用いて1l/1min. で吸引した。

一定期間後、吸収瓶のHNO₃を蒸発乾固し、N.H₂SO₄に溶解し、酸度に留意し乍らDeniges 法でPO₄を定量した。

3. 実験結果

(1) 脱磷作用の有無

1957年度は11月7日にⅡの2の改良した吸引装置に宇都宮土壌を供試し、所定の如く堆肥並に(NH₄)₂HPO₄を施肥した。灌水后土壌からの発生gasを空気と共に16日間吸引したが全装置は覆をかぶせ孵卵電球で24°Cに保った。此の際第1番目の吸収瓶(5N.HNO₃ 200cc容)に捕捉された磷量は第4表の通りであった。

才4表 模型水田の脱磷量(生土壌1kg当P₂O₅γ)

Table 4. Amount of dephosphorification in the model paddy field (P₂O₅γ/soillkg)

Soil sample	Date	0~3 days	3~9 days	9~16days
Utsunomiya*		2.8	35.6	67.4

Remarks : 1. In the case of one absorbent

2. * This field was fertilized annually with organic fertilizers and manures.

(2) 脱磷作用と温度

1957年11月25日に上記吸引装置に宇都宮並に佐野土壤を供試し、所定の如く堆肥並に $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ を施肥した。装置の温度は各土壤について室温(10~13°C)区と24°C区を設けた。湛水后土壤からの発生gasを空気と共に42日間吸引し、第1、第2の硝酸(5N.)吸収瓶に捕捉された燐量を2週間毎に定量した。

才5表 脱磷作用に及ぼす温度の影響(生土壤1kg当 $\text{P}_2\text{O}_5\gamma$)

Table 5. Effect of temperature on dephosphorification ($\text{P}_2\text{O}_5\gamma/\text{soillkg}$)

Temp. °C	Soil sample	Date	0~14days	14~28days	28~42days
10~13°C	Utsunomiya		24.9	20.7	37.8
			Room temp.	Sano	18.7
24°C	Utsunomiya		39.2	80.3	48.2
			Sano	34.5	41.0

Remarks :

1. In the case of two absorbent
2. These fields were fertilized annually with organic fertilizers and manures.

b. 論議及総括

湛水後の土壤から発生するgas中に3~16日の間 P_2O_5 として約102 γ の燐化合物を検出した。此の量は僅少ではあるが Deniges法の P_2O_5 定量法の精度(1 γ 迄)より見て脱磷現象を実証し得る数値である。phosphomolybdateの還元によつて生ずる molybdic blue色を比色する際のPhはDickmann S.R.& De Turk.E.E.の方法に倣つて厳密に規正してあるから silico molybdateの発色の懸念はないが、念の為 H.Lewis Kahler 法によつて珪酸を検出したがnegativeであつた。尚検液に臭化na処理を行い砒素化合物の有無を検討したが molybdic blue色に差異は無かつた。

燐化合物のうちgas状のものは燐化水素、弗化燐、沃化燐等のhalogen化合物、meta燐酸があるが、halogen化物は極めて不安定、meta燐酸は低温では昇華しないので硝酸により酸化捕捉したものはphosphineであると推定される。

phosphineとすればalcohol, ether, Cu_2Cl_2 に溶解するので、absorbentに之等のものを用い検討したが、酸化並に発色過程が困難なので断念した。又このものゝ水に対する溶解度は低く、熱水には全く溶解しないことも認めた。

一方此の実験の吸引並に捕捉装置には種々の不備な点が存在する。例えば desiccatorに充填した土層が薄いこと及び空気で土壤からの発生gasを流動して来ること等は desiccator内の土壤を相当酸化的に取扱つたことになり、酸化剤として使用した硝酸の酸化力が弱いことから捕捉し切れなかつた部分が相当量あることを想定しなくてはならない。

後者の検討のため実験3の(1)の1聯(吸収瓶4箇)について湛水1週間後に hot5N. HNO_3 で捕捉した燐量を測定した結果は次表の如くであつた。

才6表 脱磷量と捕捉吸収瓶数との関係

Table 6. Correlation between dephosphorification and number of absorbents

Soil sample	Order of absorbent	I	II	III	IV
Utsunomya		31.2	21.2	14.5	8.9

乃ち吸収瓶順位と捕捉量との関係は瓶順位にしたがつて漸減した。

尚、実験3の(2)から温度により土壌の種類により磷酸還元の程度に差異のあることが認められ、此の実験の範囲では温度の高い方が、又土壌の種類では腐植質土壌の方が脱磷量が多いことが分る。

此の様な現象が実際の水田土壌中で起り得る可能性は推定に難くない。

Rudakov によれば磷酸の損失は phosphine の生成によるとしているものが多い⁽⁴⁾が直接にこのものを証明した人はまだいない。

Ⅲ 液体培養基中の磷酸還元

或種の土壌細菌(或は細菌群)が磷酸を還元することが推定されるので、嫌気液体培養基に土壌細菌を接種して培養基中の磷酸を還元するや否やを検討した。

a. 実験の部

1. 実験方法

培養液の内容については後程検討することにし、一応下記組成の培養液を作つた。

才7表 供試培養液の組成(1立中瓦)

Table 7. Composition of medium A (g.per l)

Na-lactate	K ₂ HPO ₄	KH ₂ PO ₄	MgCl ₂ ·6H ₂ O	CaCl ₂	Yeast extract	Asparagine	FeCl ₂
10.0	7.0	3.0	0.3	0.2	0.2	2.0	a trace

Ph 7.0

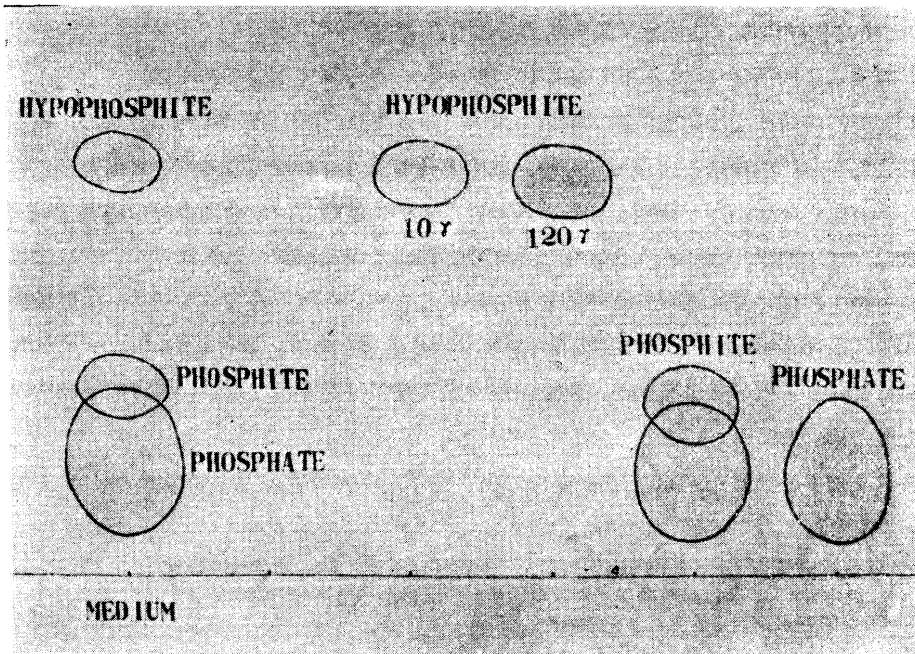
此の液をよく混和し、硬く綿栓を施した三角瓶内瓶頸部まで満たし(200cc)、常法に従い間断殺菌する。これに少量(1cc)の土壌浸出液を接種し、流動 paraffin で重層して真空 desiccatorに入れ30°Cに1週間保ち菌の集殖を計つた。

此の増菌培養基は一聯はⅡの2項吸引装置内で脱磷量を測定、一聯は paper chromatography(Bonnin & Sue法)で orthophosphate, phosphite, hypophosphite を分離した。

2. 実験結果

1958年3月24日増菌用培地(medium A)に宇都宮土壌浸出液1ccを接種した。1週間増菌後培養液を供試した。Bonnin & Sue 法による paper chromatography の結果は次の如くであつた。展開用試料としては増菌培養液は0.03cc、対照として試薬 H₃PO₄, H₃PO₂ 溶液を用いた。

才2図 磷化合物の paper chromatogram
 Fig. 2. Paper chromatogram of phosphorus-compounds



才8表 RF 値
 Table 8. RF values

Date	Sample	H ₃ PO ₄	H ₃ PO ₃	H ₃ PO ₂
March	24			0.08~0.19
April	2	0.08~0.19	0.20~0.30	0.41~0.57
				0.44~0.56

Amount of dephosphorification-P 104.6 γ (P₂ O₅ /medium200cc)

此の分析結果から orthophosphate を用いた培養液中に増菌1週間后には可成りの phosphite, hypophosphite が存在することが分る。

又、一方脱磷量としては培養开始后 1week→2weeks の間培養基200ccからP₂O₅換算104.6γの磷の気脱を認めた。

b. 論議及総括

模型水田土壤に於て dephosphorification を確認したので、磷酸還元過程に於ける中間生成物の認定と磷酸還元に関与する土壤細菌(或は細菌群)を検索するため、嫌気液体培養基に土壤細菌を接種して培養基中の磷酸を還元するや否やを検討した結果、増菌1weekで orthophosphate を用いた培養液中に可成りの phosphite, hypophosphite の生成されることを認めた。

此の chromatography (Bonnin&Sue法) では orthophosphate と phosphite の spot が稍重るので phosphite の量的推定は困難であるが hypophosphite は大略 (培養基に当初与えた orthophosphate の) 5~7% の燐量を示した。

此の場合にも脱燐量は hypophosphite の order から見て僅少である。

Rudakov の研究では燐酸は嫌気細菌によつて還元され、3日間に50%が亜燐酸、次亜燐酸に、約1%が phosphine に還元される。此の過程の強さは培地中の有機物と還元条件に支配される。堆肥の分解に際し燐酸が著しく失われるという観察では、85%水分の堆肥で22.3%に及ぶと云う energy 的にみると燐酸還元は微生物にとつて硝酸や硫酸還元のような生理的意義は持ち得ず、酸化還元過程の総体的影響の結果この反応が起るのではないか。酪酸酸酵に際し全体的に過剰 energy を生じ燐酸還元が起り得ると考えた⁽⁴⁾。筆者も Rudakov の energy の見解に反対するものではないが、燐酸の還元損失量の甚だ多い点については実験条件等について今後の検討に俟ちたいと思う。

以上培養液中の燐酸が還元される過程に少くとも phosphite, hypophosphite を経過することを論じた。

培養液調整に当り予備的実験として C source, P 濃度, Ph, 培養温度等検討し, Ph は略中性, C, P は余り多過ぎれば塩類濃度の関係から増菌を阻害すること, 温度は 30°C 附近が適当であることを認めた。

IV 燐酸還元に関与する土壤細菌

燐酸還元に関与する土壤細菌 (或は細菌群) を見出す目的で分離培養を行う一方培養電位の低い酸酵菌類の中で著名菌について培養基の燐酸を還元するや否やを検討した。

a. 実験の部

1. 実験方法

(1) 菌の分離培養

表9表 分離及保存用培地の組成 (1立中瓦)

Table 9. Composition of Agar culture medium B (g. per l)

Na-lactate	K ₂ HPO ₄	KH ₂ PO ₄	MgCl ₂ ·6H ₂ O	CaCl ₂	Yeast extract	Asparagine	F ₂ Cl ₂	Agar
10.0	7.0	3.0	0.3	0.2	0.2	2.0	a trace	18.0

Ph 7.0

上記組成の分離用高層寒天を煮沸水浴中でとかし湯舟で45°~50°Cに保つておく。Ⅲの1の増菌培養基に先端を封じた細長い滅菌毛細管をつけ、これをとけている分離用高層寒天に指し込んでよく混ぜる。この毛細管をそのまま次の高層寒天に入れて同様によく混ぜる。この操作をくり返して1毛細管から10本次々に混和しながら移植してゆく。接種の終つた培地は一旦75°Cに10分間加熱して無孢子雑菌を淘汰し、直ぐ冷やして固まらせ、30°Cで1週間培養した。

次に硝子管を切つて鈎菌し(生じた集落は顕微鏡で観察、形の違つた集落は全部分離し)、増加用培地に移し1週間30°Cに保つ。此の操作を3回反復、増菌用培地に集殖后には毎回Ⅱの2の装置で脱燐量を測定し、之を指標として菌を純粹にした。

此の実験の過程で分離培養した菌株が所謂酪酸生成菌であることが判明したので(酪酸臭甚だし)、Winogradskyの無窒素液⁽⁶⁾に1週間30°Cで培養しその窒素固定能を測定した。

(2) 培養電位の低い醗酵菌類の磷酸還元

培養電位の低い醗酵菌類の中次の8種

- Lactobacillus casei
- Streptococcus lactis
- 硫酸還元菌
- Aerobactor { polymyxa
 { macerans
- Escherichia coli
- Clostridium { acetobutylicum
 { butylicum

を撰び第7表の増菌用培地に1週間培養し、Ⅲのa.1.に従つて培養液をpaper chromatographyで phosphite, hypophosphite を検索した。

2. 実験結果

(1) 菌の分離培養

高層寒天分離培養法で稀釈培養を反復、脱燐現象を指標として菌を純粹にした。得られた菌株の諸性質は第10表の如くであつた。

才10表 菌株の諸性質
Table 10. Properties of the Strain isolated

細胞	胞子	鞭毛	染色	酸素要求	発育適温	最適PH	同化性物質	分解生産物	生理作用
桿菌	卵形	馬毛	anilin glycogen	-	30°C 附近	7.附近	glucose fructose lactose lactic acid starch	CO ₂ gas H ₂ butyric acid formic acid propionic acid acetic acid	窒素を固定する 磷酸塩を還元する
菌端は鈍円 孤立 2個連結 連鎖	紡錘形細 胞の中央 部、又は 偏在		Gram陽性						

分離した菌は桿状を呈し vibrio であつた。嫌気性菌であるが偏性嫌氣的とは思われない。培地の炭素源としては葡萄糖、果糖、乳糖、乳酸、澱粉はいずれも有効である。窒素源として ammonium 塩, asparagine も試みたが無窒素液にもよく繁殖する。最適温度 30°C、PHは 7.0附近であつた。分解生産物としてはCO₂、低級脂肪酸が多く特に酪酸臭顯著である。

此の菌を Winogradskyの無窒素液に30°Cで1週間集殖しその窒素固定量と glucose 消費量を測定した結果は第11表の通りであつた。尚同表中の Clostridium pasteurianum は対照として用いたものである。

表11表 菌の窒素固定量と glucose 消費量

Table 11. Amount of nitrification and consumed glucose

	Sample I	Sample II	Clostridium pasteurianum
a. Amount of consumed glucose (g)	3.6	3.7	7.0
b. Amount of nitrification (mg)	9.0	9.2	25.4
Ratio b : a	2.4	2.5	3.6

(2) 培養電位の低い酸酵菌類の燐酸還元

供試した 8 菌株の燐酸還元作用の有無は次表 (第12表) の通りである。

表12表 菌の 燐 酸 還 元 作 用

Table 12. Bacterial strains with reference to phosphate reduction

Strains	Products reduced	Phosphite	Hypophosphite
Lactobacillus casei		—	—
Streptococcus lactis		—	—
Sulphate-reducing bacteria		—	—
Aerobacter { polymyxa		—	—
{ macerans		—	—
Escherichia coli		+	+
Clostridium { acetobutylicum		—	—
{ butyricum		+	+

乃ち供試した 8 菌株の内培養電位の最も低い、Escherichia coli と Clostridium butyricum が燐酸還元を行うことを認めた。

b. 論 議 及 総 括

燐酸還元に関与する土壌細菌 (或は細菌群) を見出す目的で土壌菌の分離培養を行った。無胞子雑菌の淘汰と、高層寒天分離培養法での稀釈培養を反復し、脱燐現象を指標として菌を純粋にした。その結果得られた菌がClostridium属であつたことは分離の方法から見ても当然であらうが、このものは所謂酪酸生成菌であり窒素固定能力をもつこと、その培養電位は低く、燐酸還元作用も有することは湛水下水田土壌の還元進行にあずかる微生物代謝過程に重要な意義をもつものと思われる。

一方、培養電位の低い著名菌について培養基の燐酸を還元するや否やを検討した結果Escherichia coli と Clostridium butyricum が燐酸還元を行うことを認めた。この両菌類の培養電位は共に-420mv (Ph7.0)⁽⁵⁾であつて甚だ低い。

尚之等の菌以外にも燐酸還元を行う細菌類が存在する可能性は否定出来ない。

尚 Rudakov は大腸菌 (Bact. coli communior) 類似の菌が燐酸の還元を起すとしている。⁽¹⁾

V 総合考察及び摘要

a. 総合考察

1) 水田土壤に於ける磷酸の還元について

Ⅱ、Ⅲの実験結果より湛水下の水田土壤に於ける磷酸還元現象を推論したが、正磷酸より phosphine に至る過程について考察する。

磷酸還元系列 $\overset{\text{(1)}}{\text{H}_3\text{PO}_4} \xrightarrow{\text{(2)}} \text{H}_2\text{PO}_3 \xrightarrow{\text{(3)}} \text{H}_3\text{PO}_3 \xrightarrow{\text{(4)}} \text{H}_3\text{PO}_2 \xrightarrow{\text{(5)}} \text{P} \rightarrow \text{PH}_3$ 中の orthophosphate \rightarrow hypophosphate は P の原子価数 V \rightarrow IV の変化を伴い、Eh -940mV (ph7.0) であるから経過し難い反応と考えられる。(2)の orthophosphate \rightarrow phosphite は Eh -200mV (ph7.0) で普通水田土壤中では容易に此の条件は得られる。従つて orthophosphate は還元され先ず phosphite を生ずると推察され、又実際にⅢの実験で phosphite を検出し得た。

次に(3)の phosphite \rightarrow hypophosphite は Eh -500mV (ph7.0) で水田土壤としては稍低い価ではあるが局部土壤では有り得る電位である。又 Krebs cycle 中の α -keto-glutaric acid \rightarrow succinic acid の Eh -600mV と対比すれば可能な反応経路であると云える。

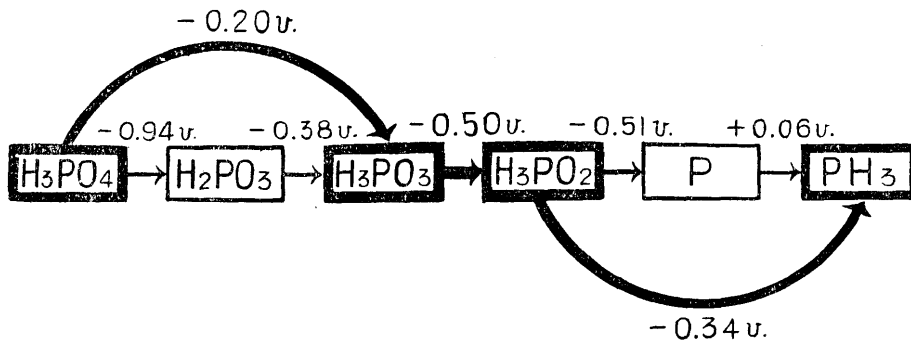
(4)の遊離Pの生成は無理と考えられることゝ、hypophosphite は発生機の水素により容易に還元され phosphine を生ずることから(5)の hypophosphite \rightarrow phosphine 過程を経るものと推定されるが、此の場合のEhは-340mV (Ph7.0) で水田土壤中では部分的に存在する電位であることは上述した。

一般に P(V)/P(IV)/P(III)/P(I)/P(0)/P(III) の反応は偽平衡であると云われる⁽³⁾。之に反し上述の反応が進行する事実より見て P(V)/P(III)/P(I)/P(III) の間に還元酵素の作用を推定することが出来る。

又Ⅲ実験によれば増菌1週間て培養基に当初与えた Orthophosphate の 5~7%の磷量の hypophosphite が認められたのに対し phosphine の収量が甚だ低い。此の点に就ては今後 phosphite, hypophosphite, 特に phosphine の生物に対する害作用を考究する必要があるらう。

才3図 磷酸還元経路

Fig. 3. Reductive proceeding of phosphorus-compounds



2) 磷酸還元に関与する土壤細菌

IVの実験より土壤細菌中 *Escherichia coli*, *Clostridium butyricum* が磷酸還元に関与することを認めたが、之等の菌以外にも本現象に関与する細菌類が存在する可能性はある。

之等の醱酵菌類の培養電位は第13表⁽⁵⁾の通りであつて一応第2図経路の redox systems の potential に近い値を示しているが、各平衡段階に就ての酵素化学的研究は今后に俟たねばならない。

才13表 培養電位の低い菌類

Table 13. Bacteria which produce the low redoxpotential in their medium

Strains	Method	Ph	Temp. (°C)	O. R. P.	
				Eh (mV)	rH
<i>Lactobacillus delbrueckii</i>	E+R	3.9~6.3	30	-60~-214	5.0~6.0
	E	4.6~5.5	30	+71~-166	5.0~12.2
<i>Lactobacillus bulgoricus</i> <i>Lactobacillus acidophilus</i> <i>Lactobacillus bifidus</i>		7.1	37	-150	9.3
	<i>Aerobacter polymyxa</i>	6.8	37	-230~-200	6~7
	<i>Aerobacter macerans</i>	6.8	37	-300~-270	4~4.8
<i>Clostridium saccharobutyricum</i>	N ₂ bubbling	E	5.0	-274	1.0
	N ₂ O ₂ (1.4%) bubbling	E	5.2	-224	3.0
<i>Clostridium acetobutylicum</i>	glucose	E	0	+20~+115	0.7~3.8
	mannit	E	0	+40~+350	1.3~11.4
	arabinose	E	0	+50	1.6
	Ca-gluconate	E	0	0~+30	0~1.0
	Cane sugar(N ₂) bubbling	E	0	+50~+130	1.6~4.2
	"	E	4.6~5.3		0.8~2.0
<i>Clostridium butyricum</i>	glucose	E	4.2		1.0
<i>Clostridium butyricum</i>	E	7.0		-420	0
<i>Echerichia coli</i>	E+R	7.0		-420	0

Remarks

E : electric method

E+R : electric method with indicator

b. 摘 要

1) 試験の目的——湛水下の水田土壤に於て磷酸の還元が行われれば、土壤肥料的に重大な意義を持つものと考えられるので此の間の消息を明らかにしようとした。

2) 研究の方法——室内実験を主な研究手段とし、模型水田土壤に於ける脱磷作用、液体培養基中の磷酸還元については土壤肥料的に磷酸還元に関与する土壤細菌については土壤微生物学的に考究した。

3) 模型水田土壤に於ける脱磷作用—— desiccator を利用した模型水田土壤から発生する gas 中の磷化合物を硝酸で酸化捕捉し、脱磷現象を確認した。尚土壤の種類及び温度と脱磷量についても簡単な実験を行い腐植質土壤の方が脱磷量多く、温度は実験の範囲内では高い方が多いことを明らかにした。

4) 液体培養基中の磷酸還元——嫌気液体培養基に土壤細菌を接種し菌の繁殖を計つた結果、orthophosphate を用いた培養液中に増菌1週間後に可成りの phosphite, hypophosphite を認めた。培養液中の磷酸が還元される過程に少くとも phosphite, hypophosphite を経過することを論じた。

5) 磷酸還元に関与する土壤細菌——培養電位の低い醗酵菌中 Clostridium butyricum, Escherichia coli が磷酸還元に関与することを認めた。

本研究の一部は農林省農林漁業試験応用研究費によるものである。銘記して農林水産技術会議今泉研究調整官、振興局研究部岩永、小西研究企画管理官に深謝する。

尚本実験に供試した諸菌株は下記より譲渡を受けた。謹んで謝意を呈する。

東京大学理学部化学科 田宮(信男)博士: Clostridium pasteurianum

同 上 石本 博士: 硫酸還元菌

東京大学農学部応用微生物研究所	:	{	Lactobacillus casei
			Streptococcus lactis
			Aerobacter { polymyxa
			{ macerans
			Escherichia coli
			Clostridium { acetobutylicum
			{ butyricum

VI 引 用 文 献

- (1) E.N.Mishustin (1956) Soilfertility and Microorganisms : 93. Moskva.
- (2) 藤原彰夫、菊地武三、谷地源一郎 (1948)、化学構造と肥料効果の關係について (才1報) 磷酸日土肥19 : 106-108
- (3) G.Charlot (1957) L'analyse Qualitative et les R'eactions en Solvtion (曾根興三、田中元治訳、定性分析化学II : 430. 1958)
- (4) M.B.Fedoror (1954) Soil Microbiology : 238-240. Moskva.
- (5) 本江元吉 (1958) 醗酵と酸化還元電位(1)農化誌 32 : A104
- (6) Winogradsky (1893) Compt. rend. l'Ac 116 : 1385.

On the Phosphate-Reduction in the Paddy Field

By

Gorō Tsubota

Summary

If the reduction of phosphates takes place in flooded paddy field, this phenomenon might have a great significance from the standpoint of manure utilization in the soil. In this case, besides the fixation of phosphate owing to the absorption by soil, transformation of phosphates to their unavailable forms by plants is also suspected. Further, presumed products of phosphate reduction, phosphite and hypophosphite are known to be toxic to plants. And if phosphate is to be reduced so far as to phosphine, the degree of this dephosphorification and their toxicities to the physiology of plants should be investigated.

To make clear the above mentioned situation, the following laboratory experiments were carried out.

- 1) Dephosphorification in a paddy field model
- 2) Phosphate reduction in liquid medium
- 3) Soil microbiological study with special reference to the various bacterial strains which have the ability to reduce phosphate.

The results obtained were as follow :

- 1) Dephosphorification was manifested by trapping phosphorus compounds in the evolved gas in a oxidized form in nitric acid solution, using a paddy field model in desiccator.

Among the different types of soil investigated, more amount of dephosphorification was observed in the soil rich in humus.

And higher temperature seemed to favour the dephosphorification.

- 2) A few soil as source of bacteria was inoculated in the reductive medium. After incubating for one week, considerable amount of phosphite and hypophosphite could be detected in the medium which had contained orthophosphate as a constituent.

Accordingly, the possibility was discussed that the reduction of phosphate proceeds at least via phosphite and hypophosphite.

- 3) It was demonstrated that, among the bacteria which produce the low redox-potential in their medium, such as *Clostridium butyricum* and *Escherichia coli* take part in the phosphate reduction.