

植物のアミノ酸吸収・代謝に関する研究*

二瓶直登 **

A Study of Amino Acids Absorption and Metabolism by Some Plants*

Naoto NIHEI**

目 次

| | | | |
|--|----|---|----|
| 第一章 緒 言..... | 1 | 第三節 アミノ酸の吸収・蓄積部位 | 31 |
| 第二章 有機質肥料の植物別施用効果および有機 態窒素の生育に対する影響の解析 | 4 | 第四節 リアルタイムオートラジオグラフィシス テムを用いたアミノ酸の吸収解析 | 33 |
| 第一節 はじめに | 4 | 第五節 アミノ酸の吸収速度 | 38 |
| 第二節 有機質肥料に対する各植物の反応 | 5 | 第六節 窒素環境の違いがアミノ酸吸収に及ぼす影響 | 40 |
| 第三節 有機質肥料の種類による施肥効果の相違 | 5 | 第七節 まとめ | 42 |
| 第四節 有機質肥料の根系発達への影響 | 10 | 第五章 直接吸収したアミノ酸の代謝とイネ幼植物 体内の蓄積分布 | 43 |
| 第五節 まとめ | 14 | 第一節 はじめに | 43 |
| 第三章 アミノ酸を单一窒素源とした栽培における アミノ酸の種類が生育に与える影響の解析 | 14 | 第二節 異なるアミノ酸ごとの吸収 | 43 |
| 第一節 はじめに | 14 | 第三節 直接吸収したアミノ酸の構成窒素および炭素 の地下部から地上部への移行およびアミノ酸 から得られるエネルギーについて | 47 |
| 第二節 異なるアミノ酸の濃度がイネ幼植物の 生育に及ぼす影響 | 15 | 第四節 異なる種類のアミノ酸ごとの代謝経路の違い | 56 |
| 第三節 異なるアミノ酸が植物の初期生育に及ぼす影響 | 18 | 第五節 まとめ | 65 |
| 第四節 異なるアミノ酸が無窒素栽培後のイネ 幼植物の生育に及ぼす影響 | 25 | 第六章 総合考察 | 67 |
| 第五節 まとめ | 25 | 第七章 摘 要 | 71 |
| 第四章 イネ幼植物のアミノ酸吸収の解析 | 26 | 謝 辞 | 72 |
| 第一節 はじめに | 26 | 引用文献 | 72 |
| 第二節 アミノ酸の直接吸収の証明 | 27 | Summary | 77 |

Key word : amino acid, glutamine, adosorption, metabolism, organic nitrogen

キーワード：アミノ酸、グルタミン、吸収、代謝、有機態窒素

第一章 緒言

1 有機農業を取り巻く環境

農業による環境負荷への懸念と、将来にわたる持続的な食糧生産を実現するために、農業が本来有する物質循環機能を活かした有機農業への取り組みが全国的に見直されている。有機農業に対する期待は確実に高まっているが、従来の農法に対しての減収や、その効果

のあいまいさから、国内の有機農業生産は停滞しており、有機農産物の需要拡大分は輸入有機農産物によってまかなわれているのが現状である。

このような中で、農林水産省は1992年に「新しい食料・農業・農村政策の方向」の中で、環境への負荷に配慮した持続的な農業の確立の必要性を初めて指摘した。その実現に向けて1999年に「持続性の高い農業生産方式の導入の促進に関する法律(持続農業法)」を公布し、

受理日 平成21年11月16日

*本論文は、東京大学大学院農学生命科学研究所審査学位論文を基に編集・加筆したものである。

**福島県農業総合センター作物園芸部

化学肥料や農薬などの投入を低く抑えた場合でも、有機質肥料等の施用により高品質な安定生産ができる技術の開発を急務としている。そして、2005年に閣議決定された「食料・農業・農村基本計画」では、環境保全を重視した施策の展開が基本方針に盛り込まれ、農産物残渣、未利用バイオマスの活用の促進が進められている。また、2006年には「有機農業の推進に関する法律」(推進法)が施行され、それに基づき農林水産省が公表した「有機農業の推進に係る基本的な方針」では有機農業の科学的解明や技術開発に対する試験研究機関の関与が強く求められている。

福島県でも、県の豊かな自然環境の保全と消費者が安心して購入できる農産物の生産をめざし、県をあげて安全で環境と共生する農業生産方式への転換を進めている。県では有機農業を普及・拡大させるため、2006年4月に福島県農業総合センター内に有機農業推進室を設置し、県内各方面部に有機栽培の技術実証圃場(2008年度、21カ所)を設けている。さらに、福島県は2006年9月にJAS法に基づく有機農産物の生産工程を認定できる登録認定機関として国の登録を受け、認定業務を開始し、有機農産物の生産・販売を行う上でのバックアップ体制も整えてきている。その一環として土作りと化学肥料・農薬の低減に一体的に取り組むエコファーマーの育成に努め、これまでに全国1位の18000名以上のエコファーマーが誕生している。県内の有機栽培面積は、JAS有機認定面積で215ha、同等の有機栽培面積が80ha、合計295ha(平成19年)である。栽培面積のうち約8割が水稻で占められており、残り約2割が野菜である。

また福島県農業総合センターでは、全国の公立農業試験研究機関に先駆け平成17年から有機栽培研究に取り組み、JAS有機規格に適合した有機栽培圃場(有機栽培2年経過圃場)を有している。センターで得られた成果は地方別に、技術移転セミナーを開催して農家や関係者に技術の移転を行っており、また年に数回、専門家を招聘し、有機農業セミナーも開催することで県内の有機農業の普及を推進している。

2 有機農業の種類

一般に有機農業といつても、化学的な肥料や農薬を使用しない栽培や、環境保全型の持続的農業などその概念は様々である。法律に基づく主な農産物や農業者の定義は以下の通りである。

- ・有機農産物：化学的に合成された肥料および農薬の使用を避けることを基本として播種または植え付け前2年以上(多年生植物の場合は、最初の収穫前3年以上)の間、堆肥等による土作りを行った圃場において生産

された農産物。1999年7月、「農林物資の規格化および品質表示の適正化に関する法律(JAS法)」の一部が改正され、2001年4月から、農産物や農産物加工品に「有機」と表示するには「有機JASマーク」を貼ることが義務付けられた。この「有機JASマーク」がない農産物と農産物加工食品に、「有機」、「オーガニック」などの名称の表示や、これと紛らわしい表示を付すことは法律で禁止されている。都道府県で認定機関となっているのは、福島県と岐阜県と石川県である(平成20年度)。

- ・特別栽培農産物：その農産物が生産された地域の慣行レベル(各地域の慣行的に行われている節減対象農薬及び化学肥料の使用状況)に比べて、節減対象農薬成分の使用回数が50%以下、化学肥料の窒素成分量が50%以下で栽培された農産物。2007年3月の「特別栽培農産物に係る表示ガイドライン」による。登録認証機関の認証を受けると、「県の認証票」を付して販売ができる。
- ・エコファーマー：「持続性の高い農業生産方式の導入に関する計画」を都道府県知事に提出して、当該導入計画が適当である旨の認定を受けた農業者(認定農業者)の愛称名。1999年7月に制定された「持続性の高い農業生産方式の導入の促進に関する法律(持続農業法)」に基づく。エコファーマーが導入計画に基づき生産した農産物を「エコ農産物」と呼び全国環境保全型農業推進会議(事務局：JA全中)が作成した「エコファーマーマーク」を付して販売できる。福島県はエコファーマー認定農業者が全国1位。

3 有機農業の普及上の問題点

有機農業における最も大きな技術的課題は施肥、そして病害虫と雑草の問題である。特に、化学肥料を使用できない有機農業では、有機質肥料の施用が作物の収量や品質に大きな影響を与える。有機質肥料は、地域で生産された有機物の利用を基本とし、堆肥や糞わら、魚かすや菜種かすなどその種類は多岐にわたる。福島県内の調査結果においても、有機質肥料の施用効果は、作物や年次、地域によって評価が異なり、統一的な見解が得られていない。有機農業はこのように地域の生態系の多様な要素の複雑な関係の上に成立していることから、実践農業者の技術が経験則として語られるが多く、これまで科学的分析に基づいて技術が汎用化されることが少ないという特徴がある。しかし、安全、安心な農作物の供給や、持続的な農業として期待される有機農業を普及・拡大するためには、農業技術として科学根拠に基づいた有機質肥料の施用効果を提示し、農業者が有機農業に取組み易くなると考えられる。

4 窒素施肥の重要性

植物が生長するためには 17 の必須元素が必要であり、そのうち三大元素と呼ばれる窒素、リン酸、カリウムを中心に施肥が行われている。特に、窒素は植物の体をつくるタンパク質、体内での様々な反応に寄与する酵素タンパク質、光合成の場となる葉緑体タンパク質の構成成分として、植物の生命維持に重要な役割をはたしている。このため、窒素は植物生長に最も重要な養分であり、植物の要求量が多く、土壤中で不足しがちで、植物生長の制限要因になりやすい元素である。

1843 年にリービッヒが「植物はその生長に際し、無機化合物のみ養分として与えればよい」とする無機栄養説を提唱し、化学合成による肥料が生産されるようになると、それまで使用されていた有機質肥料から化学肥料へ転換が急速に進んだ。化学肥料は有機質肥料に比べて省力的であり、施用効果も速やかに発現することから、作物の養分要求に応じて分施するなど適切な施肥管理を行いうことが可能となり、食料生産が増大した。化学肥料による生産性の向上が、19 世紀以降の爆発的な人口増加に対する食糧増産を支えた要因のひとつであることに疑う余地はない。しかし、化学肥料はその効果が速効的であるがゆえに作物による利用率は半分以下であり、過剰な肥料が地下水や河川水に移行し、地下水汚染を引き起こす等の環境問題も指摘されている。

5 有機質肥料から供給される窒素形態

有機質肥料の養分供給に関するこれまでの研究でも、無機栄養説に基づき有機質肥料から分解する無機化量(可給態窒素量)を予測する試みが行われている(山室 1988、上野ら 1990)。しかし、無機化量だけでは生育の説明が付かない事例も多々報告されている(Mattingly 1973, Matsumoto et al. 1999)。これは、土壤中の窒素は、無機態で存在するのはわずか 1% にすぎず、ほとんどが有機態で存在する(Nemeth et al. 1988)ことに起因すると考えられる。土壤に添加された有機物は、微生物による分解を受けタンパク質、ペプチド、アミノ酸を経て最終的に無機態窒素になる。つまり、土壤中では、様々な大きさ、形態の窒素が存在しており、有機農業では有機物や有機態窒素を積極的に施用するため、無機態窒素を施用する近代農業より有機態窒素の土壤中の存在量が多くなると推察される。そのため、有機農業での栽培では、特に、無機態窒素だけではなく有機態窒素の存在も考慮すべきであり、有機態窒素の吸収や無機態窒素との利用の違いを検討する必要があると考えられる。

6 有機態窒素に関する研究

有機態窒素の研究は古く、アミノ酸やペプチド、タン

パク質などについての植物生育に関する報告がいくつか寄せられている。Virtanen ら (1946) は、根粒菌を摂取していないマメ科植物は、アスパラギン酸、グルタミン酸をよく利用している可能性について報告した。Ghosh ら (1950) は、クローバーではアスパラギン、アラニン、ヒスチジン、フェニルアラニンが無機態窒素源より多く利用されたが、タバコではどのアミノ酸も利用されなかつたと報告している。楳ら (1966) は、水稻では γ -アミノ酪酸、グルタミン酸、グリシンによって無機態窒素と同等の生育を示し、フェニルアラニンでは 80% 程度の生育しかならないという報告や、有菌状態のオオムギにおいて、アルギニンやグルタミンなどで生育が旺盛になった報告(森 1979)もある。また、核酸の生育促進効果が、タバコ(藤原ら 1961)、裸麦(森 1986)、水稻(三井ら 1962、輪田 1959)で報告されている。また、山縣ら(1997)は、C/N 比を変えた米ぬかを施用した結果から、低分子有機態窒素に対するイネ(陸稻)の吸収能力はトウモロコシ、テンサイより高いことを示している。Matsumoto (1999) は、有機物施用によって分子量 8000 程度のタンパク様窒素が増加し、ニンジン、チンゲンサイ、陸稻、ソルガムはこの分画の窒素を吸収すると報告している。

さらに近年、野外で生育した植物が有機物を吸収・利用していることが証明されている。アラスカのツンドラの湿地では、低温と冠水による酸素不足のため、土壤微生物活性が抑制され、土壤の有機物分解が不十分となり、無機態窒素より多くのアミノ酸態窒素が存在している。こうした条件に生育しているスゲ属の植物は、アミノ酸を窒素源にしたときに最も良く生育することが報告されている(Chapin et al. 1993, Kielland 1994, Lipson 1998, Nasholm et al. 1998, Nordin 2001)。さらに同様な条件で生育する高山植物(Raab 1999)、牧草(Nasholm et al. 2000, Weigelt et al. 2005)についてアミノ酸の積極的な利用が報告されている。

また、高分子吸収のメカニズムとして、西澤ら (1980) は、根からヘモグロビンが、細胞膜のくびれこみ構造により吸収されることを証明している。また、アミノ酸が植物細胞を通り抜けることに関与するトランスポーター遺伝子が根表面でも発現している可能性についての報告がある(Hirner et al. 2006, Lee et al. 2007)。

このような研究事例の蓄積から、植物は無機態窒素だけでなく、有機態窒素も吸収、利用していることはある程度実証されていると言えよう。しかし、無機態窒素の吸収や利用に関する研究に比べて、有機態窒素に関する研究は未だ少なく、有機農業で栽培されている作物での有機態窒素の直接吸収、有機態窒素利用能の作物間差、有機態窒素と無機態窒素の利用上の違い等大きな研究課題が残されている。

7 本研究の位置づけ

本研究では有機態窒素としてアミノ酸を研究対象とした。アミノ酸は有機態窒素の最小単位でタンパク質を構築するものであり、アミノ酸の吸収特性を詳細に検討することが、有機態窒素研究、有機質肥料の施用効果の解明に繋がると考えたためである。これまで、アミノ酸が生育に与える影響に関して検討した事例はあるが、実際のアミノ酸の吸収部位、環境が吸収に及ぼす影響、吸収されたアミノ酸の代謝および窒素と炭素の利用について検討している事例は少なく、本研究ではこのアミノ酸の吸収代謝などを中心に実験を行った。

第二章において、まず有機質肥料の効果を検討し、有機質肥料の効果が、施用する作物によって異なるかを明らかにしようと試みた。また、土壤中の無機態窒素量と作物の窒素吸收量の比較も行った。無機態窒素以外の窒素、すなわち有機態窒素のアミノ酸が植物に与える影響を、第三章以降で検討した。

第三章では、タンパク質を構成するアミノ酸20種類を窒素源として、作物5種類の生育に与える影響を検討した。

第四章では、有機栽培で最も栽培面積が多いイネを用いて、その幼植物におけるアミノ酸吸収について、アミノ酸の直接吸収、吸収部位、吸収速度、生育時の窒素条件が吸収に及ぼす影響などを検討した。

第五章では、吸収したアミノ酸の代謝やアミノ酸由來の窒素や炭素の地上部／地下部の分配割合、アミノ酸から得られるエネルギーについて検討した。

最後に第六章において、アミノ酸の窒素源としての植物の生育促進効果、有機農業におけるその意味、今後の有機農業の展開において何が重要となるかを本研究から得られた知見として総合考察を行った。

第二章 有機質肥料の植物別施用効果および有機態窒素の生育に対する影響の解析

第一節 はじめに

地球温暖化に代表される地球規模の環境破壊に加え、近年の食の安全安心、高品質、健康志向から、持続的に地域資源の循環を基本とする有機農業が注目を集めている。化学肥料を使用しない有機農業では、養分供給や土壤物理性の改善を目的として有機質肥料を施用する。

有機質肥料は米糠、菜種粕、くず大豆などの植物性のものや、魚粕、鶏糞など動物性のもの、緑肥や堆肥、下水汚泥などその種類は様々であり、効果的な利用に当たっては個々の有機質肥料の肥効特性を理解することが重要である。有機質肥料は土壤に施用された後、微生物による分解過程を経て肥効が発現する。よって、有機質肥料の肥効の指標として、一定の水分含量で保温静置する室内インキュベーション法により無機化してくる窒素成分を測定する方法が主に行われている。この方法が用いられるのは、植物が吸収する窒素は、リーピッヒの無機栄養説以来、 NH_4^+ もしくは NO_3^- といった無機態窒素であると考えられてきたためである。よって、植物の窒素吸收量は、土壤中の無機態窒素量に比例すると一般的に予想される。

しかし、有機質肥料施用時に植物間に窒素吸收量の違いが認められるという報告もある。ローザムステッドで行われた試験報告では、緑肥の施用による窒素吸收量の増加割合が、バレイショ、テンサイで大きいのに対し、コムギでは小さく、オオムギではほとんど見られないなど、植物間により有機質肥料の効果が異なるという結果が示されている (Mattingly 1973)。また、有機質肥料として米糠入り稻わらの施用と化学肥料を比較した試験では、トウモロコシでは化学肥料区の窒素吸收量が多かったのに対し、イネでは米糠入り稻わら施用区の窒素吸收量が多い結果となった (山縣ら 1996)。さらに、菜種粕と硫酸アンモニウムを比較した試験では、菜種粕を施用した区ではニンジン、チングンサイ、ホウレンソウの生育が促進し、レタス、ピーマンは抑制されるという結果も得られている (Mastumoto 2000)。これらの報告にある植物の生育期間中の土壤中無機態窒素量は、米糠入り稻わら施用、菜種粕施用のいずれも、化学肥料施用土壤に比べて少なく保たれていた。以上の報告事例より、植物の窒素吸収特性は植物間で異なっており、土壤中の無機態窒素量が少ない場合でも窒素吸收量が多い事例も見られることから、植物によっては無機態窒素のみに窒素成分の吸収を依存していないことが示唆される。

土壤に施用された有機質肥料中の窒素成分は、微生物による分解により、一部は高度に重合された腐植物質となり長く土壤に留まるが、大部分は有機態窒素（タンパク質、ペプチド、アミノ酸）などを経て最終的に無機態窒素になる。つまり、土壤中には様々な形態の窒素が存在していることになり、植物が無機態窒素以外の形態の窒素を利用している可能性を考慮する必要があると思われる。

植物が自然界で有機態窒素を利用している事例も、いくつか報告されている。アラスカのツンドラの湿地では、低温と冠水により土壤中の酸素が不足するため、土壤微生物活性が抑制され、土壤の有機物分解が緩やかにしか進まないため、無機態窒素に比べ多くのアミノ酸態窒素が存在している。こうした条件で生育しているスゲ属の植物は、アミノ酸を窒素源にしたときに最も良く生育することが明らかにされている (Chapin et al 1993, Kielland 1994, Lipson et al. 2001, Nasholm et al.

1998, Nordin 2001)。また、松本ら(2003)は、易分解性の有機態窒素の評価として用いられる中性リン酸緩衝液抽出法で得られる分子量8,000のタンパク質様窒素が植物に直接吸収される可能性を指摘している。さらに山縣ら(1997)は、C/N比を変えた米ぬかを施用した結果から、低分子有機態窒素に対するイネ(陸稻)の吸収能力はトウモロコシより高い可能性を示している。

しかし、これまでの報告では植物の種類や有機質肥料は限定されたものであり、異なる有機質肥料の植物への効果を、無機態窒素、有機態窒素別で検討した事例は少ない。環境を保全しつつ、高い生産性を維持できる施肥管理技術を確立するためには、有機物施用時の個々の植物の窒素吸収特性を明らかにすることが望ましい。そのためには、有機物の無機化量を把握するだけではなく、有機態窒素が植物へ与える影響の把握が必要である。本章では、これまで報告されたデータを元に、福島県で実際に有機栽培されている植物と今後有機栽培での普及が期待できる植物について、市販や試作の有機質肥料を用いて植物の反応を調べた。さらに、有機質肥料の効果が異なる植物を用いて、土壤中の形態別の窒素量と生育についての検討を行った。また、有機質肥料の効果として、地上部の生育だけでなく根系の発達についても検討した。

第二節 有機質肥料に対する各植物の反応

(1) 目的

有機質肥料に対する植物別の反応を検討するために、13種類の植物に2種類の有機質肥料を与え生育試験を行った。

(2) 試験方法

供試植物は、

イネ科イネ (*Oryza sativa* L. 日本晴)

コムギ (*Triticum aestivum* L. ゆきちから)

マメ科 ダイズ (*Glycine max* L. ふくいぶき)

タデ科 ソバ (*Fagopyrum esculentum* 会津在来)

シソ科 エゴマ (*Perilla frutescens* var. *frutescens* 福島在来)

ウリ科 キュウリ (*Cucumis sativus* L. 金星117)

カボチャ (*Cucurbita moschata*)

ナス科 トマト (*Solanum lycopersicum* 桃太郎8)

ナス (*Solanum melongena*)

ピーマン (*Capsicum annuum* L.)

アブラナ科 チンゲンサイ (*Brassica rapa* var. *chinensis*)

アカザ科 ホウレンソウ (*Spinacia oleracea* L.)

キク科 レタス (*Lactuca sativa*)

を用いた。供試肥料は、福島県農業総合センターで米糠とくず大豆を発酵させて調整した試作有機質肥料(以

下有機1)と、フェザーミール、パーム灰、菜種粕、米糠、魚粕を原料とした有機JAS認定市販有機質肥料(商品名:ともだち 朝日工業、以下有機2)を用いた。供試肥料とその主成分を表2-2-1に示す。対照として硫酸アンモニア(以下硫安)を用いた。施肥量は、窒素成分で500 mg/kgとなるように肥料を添加し、リン酸、カリウムがそれぞれ500 mg/kgとなるようにリン酸二水素カリウムと塩化カリウムで不足分を補正した。供試肥料を土壤(バーミキュライトと焼土を4:1で混合)に混和し、最大容水量の70%に水分含量を調製し、1週間室温で混和したもの500 mLポットに詰め供試植物を播種した。発芽後、毎日灌水を行い、ガラスハウス内で28日間(2007年10月9日~11月6日)栽培した。収穫後の処理として植物は地上部と地下部に分け、80°Cで一晩乾燥させ実験サンプルとした。

(3) 試験結果と考察

図2-2-1に地上部の乾燥重量を示す。有機質肥料に対する生育は植物の種類によって大きく異なった。米糠とくず大豆を原料とした有機1を施用した区では、イネ、チンゲンサイが硫安を施用した区以上の生育を示し、ダイズ、ソバ、エゴマ、キュウリ、トマト、ピーマン、レタスは硫安区の生育の60%以下となった。

市販有機質肥料の有機2を施用した区では、イネ、コムギ、チンゲンサイ、ホウレンソウが硫安区と同等以上の生育を示し、キュウリ、トマト、ピーマン、ナス、レタスは硫安区の生育の60%以下となった。

有機質肥料間の比較では、ナスとチンゲンサイを除き、市販有機質肥料の有機2が米糠とくず大豆を原料とした有機1より生育が良くなった。

Matsumotoら(1999)によると、陸稻、チンゲンサイ、ソルガム、ニンジンは有機質肥料施用の効果が高いしており、本試験に用いた有機質肥料でも、イネ、チンゲンサイはその施用効果が高い結果となった。

第三節 有機質肥料の種類による施肥効果の相違

(1) 目的

有機質肥料の種類別の効果を検討した。供試植物は、第1節の結果から、有機質肥料の施用効果が硫安より高かったイネとチンゲンサイ、有機質肥料施用の効果が低かったキュウリとした。

(2) 試験方法

供試植物は、

イネ (*Oryza sativa* L. 日本晴)

チンゲンサイ (*Brassica rapa* var. *chinensis*)

キュウリ (*Cucumis sativus* L. 金星117)

表 2-2-1 供試肥料の原材料と成分

| 試験区名 | 原材料 | 供試肥料の成分 | | | | | | 栽培前土壤* | |
|--------|-------------------|---------|-------|-------|-------|--------|--------|--------|-----------|
| | | C/N | N (%) | P (%) | K (%) | Mg (%) | Ca (%) | pH | EC (mS/m) |
| 硫安 | 硫酸アンモニウム | | 21.0 | | | | | 5.48 | 0.88 |
| 有機 1** | 米糠(50%)+くず大豆(50%) | 6.8 | 6.0 | 2.9 | 3.4 | 0.5 | 0.4 | 5.72 | 0.85 |
| 有機 2 | 市販有機質肥料(商品名:ともだち) | 6.5 | 6.0 | 8.2 | 4.6 | 1.0 | 2.6 | 5.44 | 1.09 |

* 土壤と供試肥料を混和 7日後

** 福島県農業総合センターで一週間に一度ずつ切り返しながら約1ヶ月インキュベーション後、乾燥した

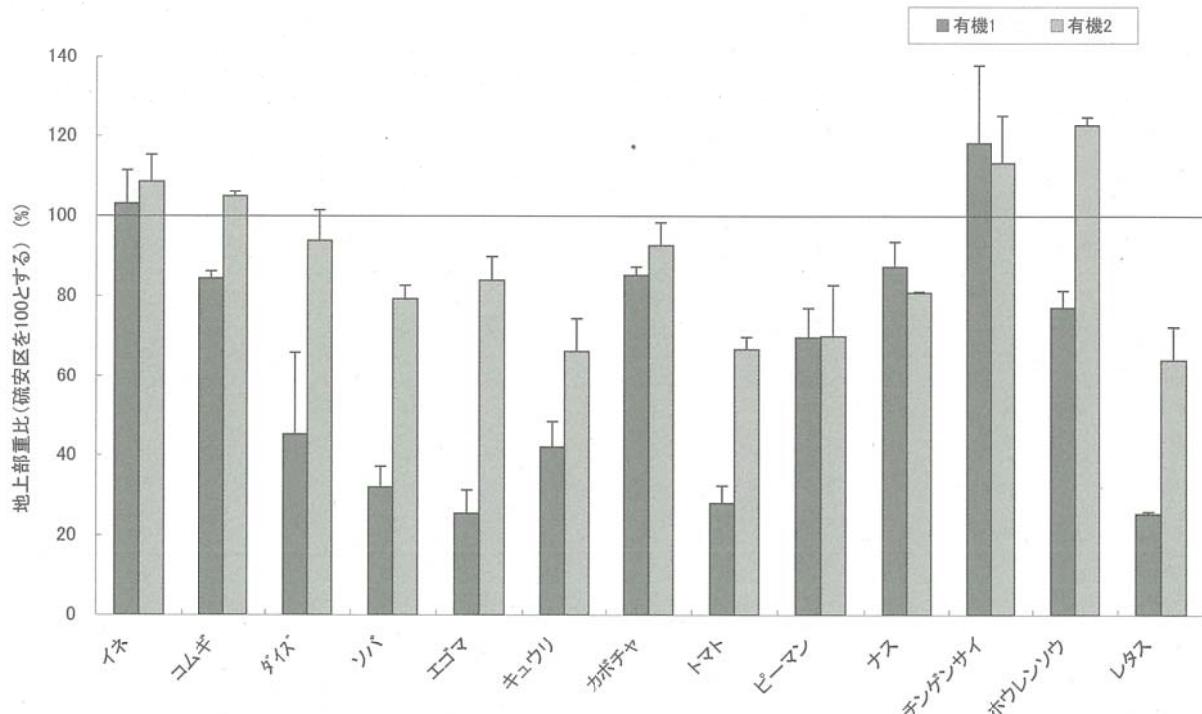


図 2-2-1 植物別の有機質肥料の種類に対する地上部重比

有機 1: 米ぬかと大豆かすを混和・インキュベーションして調整、有機 2: 有機 JAS 認定市販有機質肥料(商品名:ともだち)

無機窒素区の地上部重を 100 として示す エラーバーは標準偏差 (n=3)

を用いた。供試肥料とその主な成分を表 2-3-1 に示した。有機 1(牛糞を堆肥化)、有機 2(鶏糞を堆肥化)、福島県農業総合センターで作成した有機 3(米糠とくず大豆を混和、発酵)、有機 4(米糠と魚粕を混和、発酵)、有機 5(米糠と菜種粕を混和、発酵)、有機 JAS 認定の市販有機質肥料として有機 6(商品名:ともだち、朝日工業)、有機 7(商品名:有機アグレット、朝日工業)とした。対照として無窒素および硫酸アンモニア(以下硫安)施用区を設定した。施肥量は、窒素成分で 500 mg/kg となるように肥料を添加し、リン酸、カリウムがそれぞれ 500 mg/kg となるようにリン酸二水素カリウムと塩化カリウムで不足分を補正した。供試肥料を土壤(バーミキュライトと焼土を 4:1 で混合)に混和し、最大容水量の 70% に水分含量を調製し、水分条件が一定になるよう密封して、1 週間室温で静置した。このようにして作成した肥料入り土壤を 500 mL ポットに詰め、供試植物を播種した。発芽後、毎日灌水を行い、ガラスハウス内で 28 日間(2007

年 10 月 9 日～11 月 6 日) 栽培した。

植物を植えないポットを同様に設置し、播種後 7、14、28 日目に土壤分析用にサンプリングした。交換性無機態窒素量として、水抽出(1:5)した硝酸態窒素と、1 M KCl より抽出(1:10)したアンモニア態窒素量をオートアナライザー(ビーエルテック社)により比色定量した。また、全窒素量として、1/15 M 中性リン酸緩衝液抽出液にペルオキソ二硫酸カリウムを添加し高圧蒸気滅菌器を用いて酸化分解(120 °C で 15 分間処理)した後、比色定量した。収穫した植物は地上部と地下部に分け、80 °C で一晩乾燥させた。地上部の乾燥重量を測定後、小型粉碎器で粉碎し、元素分析機(SUMIGRAPH NC-220F)で窒素含有量を測定した。試験は 3 反復で行った。

(3) 試験結果

A 植物の生育量に対する有機質肥料の施用効果

図 2-3-1 に地上部の乾燥重量を示した。植物別の生育

表 2-3-1 供試肥料の原材料と成分

| 試験区名 | 原材料 | 供試肥料の成分 | | | | | | 栽培前土壤 * | |
|-------|----------------------|---------|-------|-------|-------|--------|--------|---------|-----------|
| | | C/N | N (%) | P (%) | K (%) | Mg (%) | Ca (%) | pH | EC (mS/m) |
| 無N | | | | | | | | 5.02 | 1.17 |
| 硫安 | 硫酸アンモニウム | | 21.0 | | | | | 5.48 | 0.88 |
| 有機1 | 牛ふん堆肥 | 15.5 | 1.2 | 3.8 | 4.0 | 0.8 | 1.4 | 5.88 | 0.51 |
| 有機2 | 鶏ふん堆肥 | 6.0 | 2.9 | 10.8 | 6.2 | 1.3 | 6.6 | 6.05 | 0.44 |
| 有機3** | 米糠(50%)+くず大豆(50%) | 6.8 | 6.0 | 2.9 | 3.4 | 0.5 | 0.4 | 5.72 | 0.85 |
| 有機4** | 米糠(50%)+魚粕(50%) | 5.5 | 6.4 | 10.4 | 2.5 | 1.0 | 3.3 | 5.50 | 1.45 |
| 有機5** | 米糠(50%)+菜種粕(50%) | 6.2 | 6.0 | 3.5 | 2.1 | 0.7 | 0.8 | 5.59 | 0.96 |
| 有機6 | 市販有機質肥料(商品名:ともだち) | 6.5 | 6.0 | 8.2 | 4.6 | 1.0 | 2.6 | 5.44 | 1.09 |
| 有機7 | 市販有機質肥料(商品名:有機アグレット) | 6.8 | 6.0 | 5.8 | 5.4 | 1.0 | 2.6 | 5.60 | 1.32 |

* 土壤と供試肥料を混和 7 日後

** 福島県農業総合センターで一週間に一度づつ切り返しながら約 1 ヶ月インキュベーション後、乾燥した

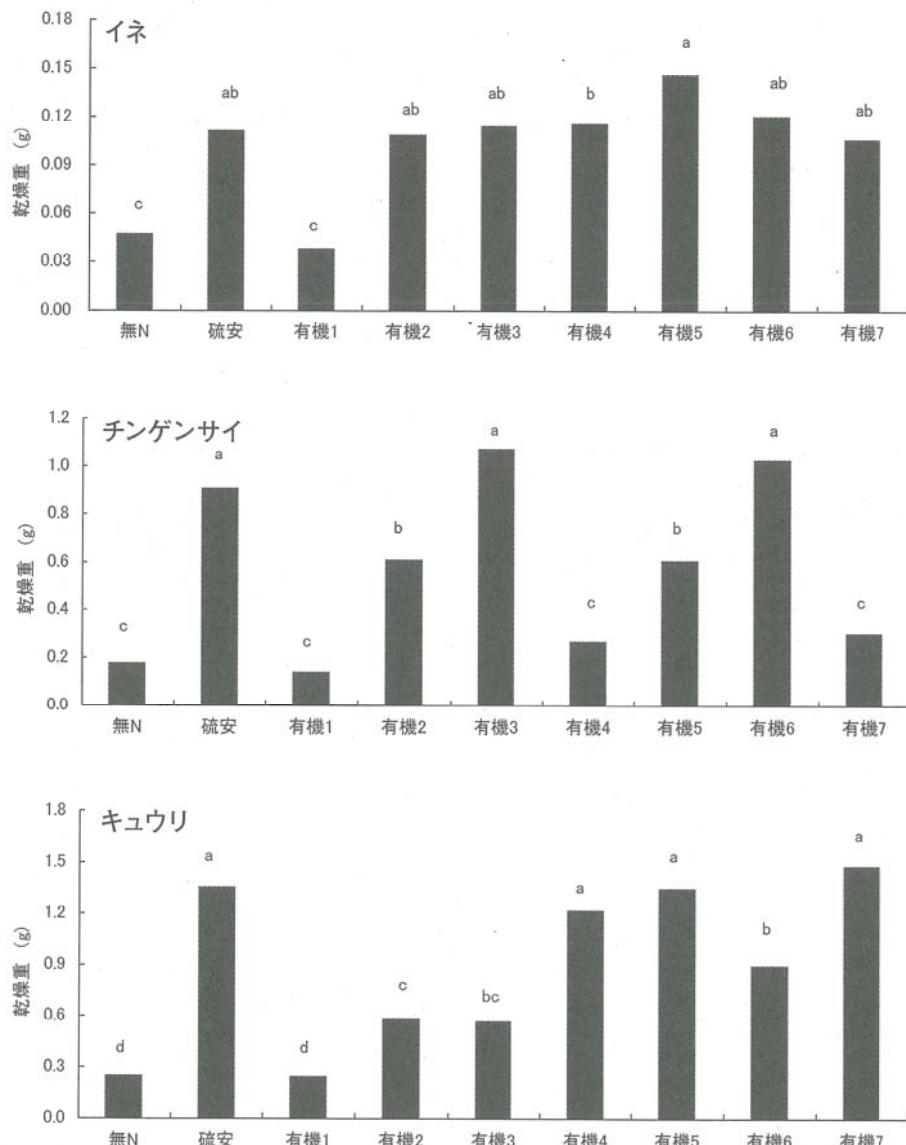


図 2-3-1 有機質肥料の種類に対するイネ、チンゲンサイ、キュウリの地上部乾燥重

硫安：硫酸アンモニウム、有機1：牛糞、有機2：鶏糞、有機3：米糠+くず大豆、有機4：米糠+魚粕、

有機5：米糠+菜種粕、有機6：市販有機質肥料(商品名:ともだち)、有機7：市販有機質肥料(商品名:有機アグレット)

同一のアルファベット間には Tukey 検定で 5% 水準で有意な差がないことを示す

では、イネの地上部重は有機1(牛糞堆肥)を施用した以外では、硫安区と同等以上の生育を示した。チンゲンサイは有機3(米糠と大豆を発酵)と、有機6(市販有機質肥料ともだち)で栽培した区で硫安区より生育が良かったが、有機1(牛糞堆肥)、有機4(米糠と魚粕を発酵)、有機7(市販有機質肥料 有機アグリ)で栽培した区では生育が劣った。キュウリでは有機4(米糠と魚粕を発酵)、有機5(米糠と菜種粕を発酵)、有機7(市販有機質肥料 有機アグレット)で栽培した区が硫安区と同等の生育となつた。

有機質肥料ごとの施用効果としては、有機1(牛糞堆肥)を施用した区は、どの植物も生育が劣った。有機2(鶏糞堆肥)を施用した区はイネでは硫安区と同等、チンゲンサイ、キュウリでは硫安区より生育が劣った。有機3(米糠とくず大豆を発酵)と有機6(市販有機質肥料 ともだち)を施用した区は、イネ、チンゲンサイでは硫安区と同等となり、キュウリでは生育が劣った。有機4(米糠と魚粕を発酵)と有機5(米糠と菜種粕を発酵)と有機7(市販有機質肥料 有機アグレット)を施用した区では、イネ、キュウリは硫安と同等の生育となつたが、チンゲンサイでは生育は劣つた。

B 有機質肥料を施用した土壤の無機態窒素量と リン酸緩衝液抽出窒素量

生育期間中の土壤の無機態窒素量とを図2-3-2に示した。硫安区の無機態窒素量は播種後7日では最も多かつたが、生育期間中に減少した。有機1(牛糞堆肥)、有機2(鶏糞堆肥)を施用した区の無機態窒素量は生育期間中硫安区より常に少なかつたが、有機2(鶏糞堆肥)を施用した区では播種後28日で増加した。他の有機質肥料の有機3、4、5、6、7施用区では硫安区並みの無機態窒素量であった。硫安区では生育期間中に無機態窒素が減少したが、これは灌水により土壤の硝酸態窒素が溶脱したためと考えられる。センターで作成した有機質肥料や市販有機質肥料は、作成の過程で発酵されることで一部は無機化が進んでおり、無機態窒素量が多くなつたと思われる。これに対し、牛糞と鶏糞を施用した土壤では、有機物の分解が進んでおらず、無機態窒素量が少なくなつたと考えられる。一般に鶏糞は牛糞より無機化が早いとされており、実際に播種後28日では無機態窒素量が増加していた。

生育期間中のリン酸緩衝液抽出窒素量(図2-3-2)は、硫安区では播種後7日が最も多くその後減少した。他の有機質肥料のリン酸緩衝液抽出窒素量を硫安区と比較すると、有機1(牛糞堆肥)を施用した区では常に少なかつた。有機2(鶏糞堆肥)を施用した区では播種後7日では硫安区より少ないが、その後は硫安区とほぼ同じであつ

た。有機3(米糠とくず大豆を発酵)を施用した区では、硫安区と同様に播種後から減少する傾向にあった。有機4(米糠と魚粕を発酵)、有機5(米糠と菜種を発酵)を施用した区では、播種後7、28日では硫安区とほぼ同じであった。市販有機質肥料の有機6、7では生育期間中、硫安区より常に多かつた。

C 土壤中の窒素の形態と植物の生育との関係

図2-3-3に、播種後14日目の交換性無機態窒素量と地上部窒素含有量を示した。イネ、チンゲンサイは無機態窒素量と地上部窒素含有量に相関は低いが、キュウリでは高い相関が見られた。このことからキュウリは主に無機態窒素を吸収して生育していると考えられる。イネでは、有機2(鶏糞堆肥)、有機3(米糠とくず大豆を発酵)、有機4(米糠と魚粕を発酵)、有機5(米糠と菜種かすを発酵)を施用した区では無機態窒素量が硫安区より少ないにも関わらず、窒素吸収量が同量以上だった。特に、有機2(鶏糞堆肥)では、無機態窒素量が硫安区の1/5程度しかないにも関わらず、窒素吸収はほぼ同じであった。

(4) 考察

松本(2003) や山縣(1997)によれば、イネやチンゲンサイは有機質肥料効果の高い植物とされているが、本試験の結果、チンゲンサイでも有機質肥料の種類によっては生育が阻害されるものもあることが分かった。図2-3-2より、リン酸緩衝液抽出窒素は、牛糞施用区を除き、有機質肥料の施用区では硫安区と同等以上に存在している。リン酸緩衝液抽出窒素は、重合度の低い易分解性の有機態窒素であり、その主なものは微生物菌体に由来するタンパク質様物質であると考えられている(樋口1981、松本2002)。丸本ら(1974)によつて、微生物菌体の細胞壁部分と易分解性有機態窒素のアミノ酸組成が一致することから、土壤から植物に供給される有機態窒素については菌体の細胞壁の寄与が大きいということが示唆されている。土壤中の無機態窒素量が硫安区より少ないにも関わらず、有機質肥料を施用したイネの地上部窒素含有量は硫安区と同量以上となることから、リン酸緩衝液抽出窒素、つまり易分解性の有機態窒素も利用していると考えられる。山縣ら(1997)も、イネは有機態窒素を直接吸収する能力が高いことを指摘しており、有機質肥料の施用で増加した易分解性の有機態窒素を吸収、利用するために、無機態窒素量が少ない区でも植物体内窒素含有量が高い可能性があると思われる。一方、チンゲンサイは、有機質肥料で生育が良いものもあれば悪いものもあった。この要因については判然としないが、魚粕には分解の際に発生する有機酸が

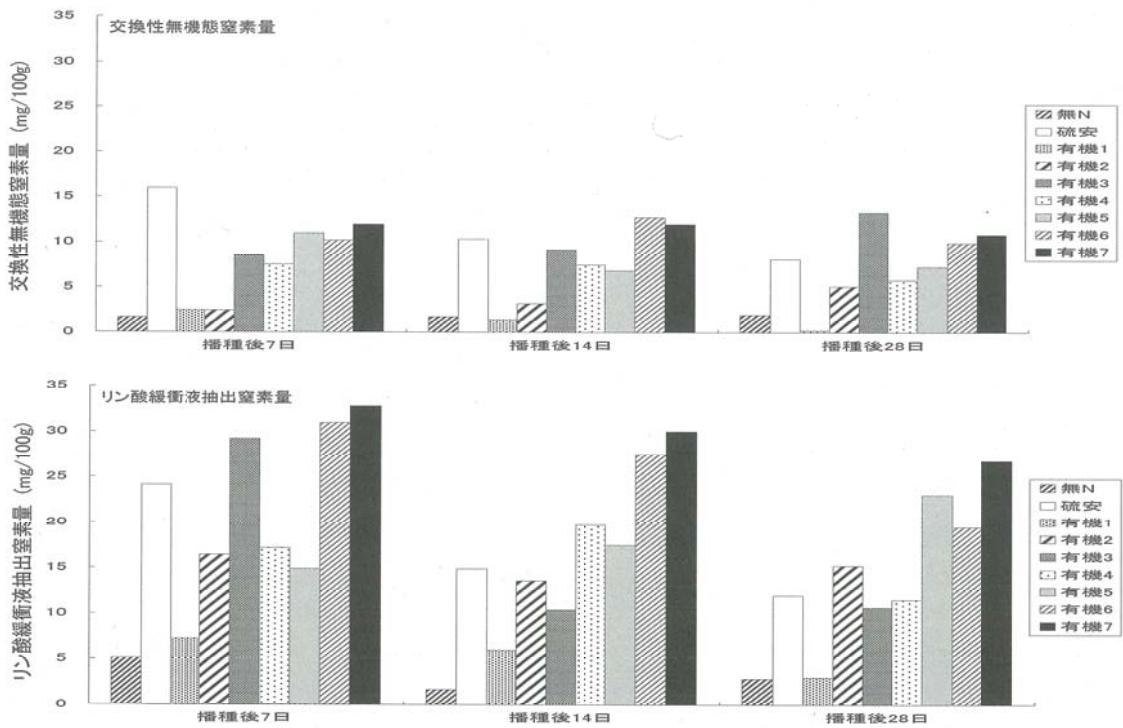


図 2-3-2 栽培期間中の交換性無機態窒素量（上段）とリン酸緩衝液抽出窒素量（下段）

硫安：硫酸アンモニウム、有機1：牛糞、有機2：鶏糞、有機3：米糠+くず大豆、有機4：米糠+魚粕、有機5：米糠+菜種粕
有機6：市販有機質肥料（商品名 ともだち）、有機7：市販有機質肥料（商品名 有機アグレット）

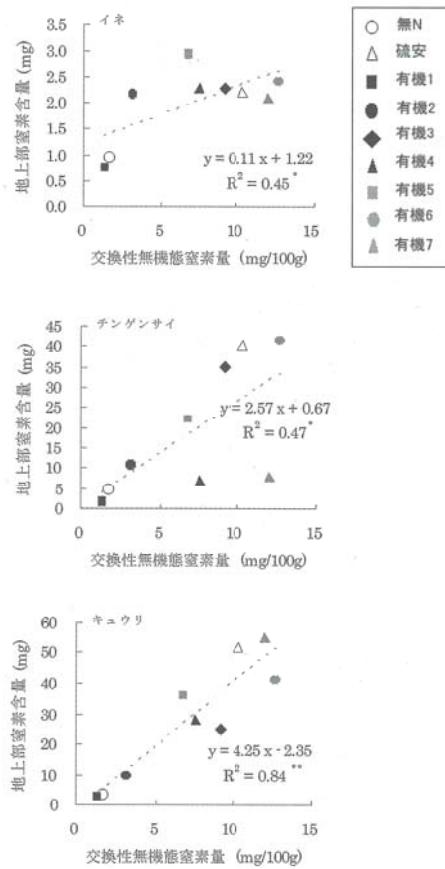


図 2-3-3 播種後 14 日目の交換性無機態窒素量と地上部窒素含量

硫安：硫酸アンモニウム、有機1：牛糞、有機2：鶏糞、有機3：米糠+くず大豆、有機4：米糠+魚粕、有機5：米糠+菜種粕、
有機6：市販有機質肥料（商品名 ともだち）、有機7：市販有機質肥料（商品名 有機アグレット）

**、* はそれぞれ 1%、5% 水準で有意差あり

初期成育を害する場合もあるとする報告(山根 2007) や、次章で検討する魚粕由来のある種のアミノ酸がチンゲンサイの生育を阻害した可能性も考えられた。また、チンゲンサイは根からクエン酸やシウ酸を放出して土壤に吸着している有機態窒素を吸収すると考えられている(松本 2002) が、有機質肥料の種類によっては土壤に供給される有機態窒素の形態が異なり、チンゲンサイが放出する有機酸では解離できず利用できなかった可能性が示唆された。

本試験の結果、植物の種類によっては同一肥料でも生育に差がみられ、それは植物が備えている養分利用機構が異なるためと言える。そのため、特に各種の原料の肥料を扱う有機農業などでは、それぞれの植物の養分利用機構を把握して、適切な施肥管理に努めることが必要と考えられる。

第四節 有機質肥料の根系発達への影響

(1) 目的

第二、三節では、植物と有機質肥料の種類別の効果について地上部生育を中心に検討したが、有機質肥料の施用が根系を発達させることは現場レベルではしばしば指摘されていることである(野村 1937、新田 1986)。有機質肥料の施用が根系発達を促す一因には、団粒構造の発達による物理性改善や養分供給特性の違いなどが考えられる。

本節では有機質肥料の養分供給が根系発達に与える影響を検討する目的で、土壤物理性が良好な黒ボク土を供試土壤として用いて、有機質肥料の種類が根系発達に及ぼす影響を検討した。

(2) 試験方法

供試植物は、

イネ (*Oryza sativa* L. 日本晴)

コムギ (*Triticum aestivum* L. ゆきちから)

ダイズ (*Glycine max* L. ふくいぶき)

チンゲンサイ (*Brassica rapa* var *chinensis*)

キュウリ (*Cucumis sativus* L. 金星 117)

を用いた。供試肥料とその主な成分を表 2-4-1 に示した。有機 1(鶴糞を堆肥化)、福島県農業総合センターで作成した有機 2(米糠とくず大豆を混和、発酵)、有機 3(米糠と魚粕を混和、発酵)、有機 4(米糠と菜種粕を混和、発酵)とした。対照として無窒素区および硫酸アンモニア(以下硫安) 施用区を設定した。施肥量は、窒素成分で 0.75 g/kg となるように肥料を添加し、リン酸、カリがそれぞれ 2.9 g/kg、1.6 g/kg となるように有機 JAS 認定有機質肥料(商品名:めぐみ P₂O₅ 27 %, K₂O 16 % エム・エー工業)と塩化カリウムで不足分を補正した。

供試肥料をふるい(3 mm × 3 mm) で粒度を調整した土壤(黒ボク土)に混和し、最大容水量の 70%に水分含量を調整製し、水分条件が一定になるように密封して、1 週間室温で静置した。

作成した肥料入り土壤 1.5kg を 1/10000 a ホワイトポット(底穴無し)に詰め、供試植物を播種した。発芽後、毎日灌水を行い、ガラスハウス内で 28 日間(2008 年 7 月 9 日～8 月 5 日)栽培した。

収穫した植物は地上部と地下部に分け、地下部は土壤から根を洗い出し写真撮影後、80°C で一晩乾燥させた。試験は 3 反復を行った。

(3) 試験結果と考察

有機質肥料別の地上部と地下部の乾燥重を図 2-4-1、各植物の生育と地下部の様子を図 2-4-2～6 に示した。各植物の生育は、第二、三節より旺盛だった。本実験の栽培期間が 7 月(第二、三節は 10 月)で平均気温が高かったこと、ポットの容量を大きくしたことで養分が十分に供給されたことが要因と思われる。有機質肥料別の地上部の効果として第三節とほぼ同等の傾向になった。第三節で供試しなかったコムギとダイズの有機質肥料に対する生育は、コムギはどの有機質肥料でも硫安区とほぼ同じ生育となった。ダイズでは、鶴糞施用の有機 2、米糠 + 菜種粕施用の有機 4 では生育が劣った。

有機質肥料の根系発達に与える影響は、地上部同様、植物や有機質肥料の種類で異なった。植物別でみると、イネやコムギは、硫安区より有機質肥料施用区で根系が発達した。ダイズでは、他の植物と異なり無窒素区の根系発達が最もよく、その他の根系はほぼ同じであった。チンゲンサイは全体的に根系発達が小さいが、地上部の生育と同様に米糠 + 大豆、米糠 + 菜種の有機 2、有機 5 で発達した。キュウリは地上部の生育が不良な鶴糞施用の有機 2 では根系が発達したが、その他の有機質肥料区では硫安区より劣った。

有機質肥料で根系発達の促進がみられなかったダイズ以外の植物で有機質肥料別の効果をみると、鶴糞は供試した有機質肥料の中では最も根系発達を促進した。米糠 + 大豆もキュウリを除き根系発達を促進した。米糠 + 魚粕はやや根系発達を阻害した。米糠 + 菜種粕も、根系発達を発達させる効果がみられた。

本試験の結果、有機質肥料の一部は根系発達を促す効果があることが明らかとなった。本試験では、物理性が良好な黒ボク土を供試土壤としており、また試験期間が肥料混和後約 1 ヶ月であることから、有機質肥料ごとの土壤物理性の差ではなく、有機質肥料の化学性が根系発達に影響を与えたものと考えられる。有機質肥料が根系発達に与える要因としては、肥料から供給される腐植

表 2-4-1 供試肥料の原材料と成分

| 試験区名 | 原材料 | C/N | 供試肥料の成分 | | | | | 栽培前土壤* | |
|--------|-------------------|-----|----------|----------|----------|-----------|-----------|--------|--------------|
| | | | N (%) | P (%) | K (%) | Mg (%) | Ca (%) | pH | EC (mS/m) |
| 無 N | | | | | | | | 7.44 | 0.30 |
| 硫安 | 硫酸アンモニウム | | 21.0 | | | | | 7.37 | 0.39 |
| 有機 1 | 鶏ふん堆肥 | 6 | 2.9 | 10.8 | 6.2 | 1.3 | 6.6 | 7.35 | 0.24 |
| 有機 2** | 米糠(50%)+くず大豆(50%) | 6.8 | 6.0 | 2.9 | 3.4 | 0.5 | 0.4 | 7.42 | 0.23 |
| 有機 3** | 米糠(50%)+魚粕(50%) | 5.5 | 6.4 | 10.4 | 2.5 | 1.0 | 3.3 | 7.33 | 0.29 |
| 有機 4** | 米糠(50%)+菜種粕(50%) | 6.2 | 6.0 | 3.5 | 2.1 | 0.7 | 0.8 | 7.29 | 0.20 |

* 土壤と供試肥料を混和 7 日後

** 福島県農業総合センターで一週間に一度づつ切り返しながら約 1 ヶ月インキュベーション後、乾燥した

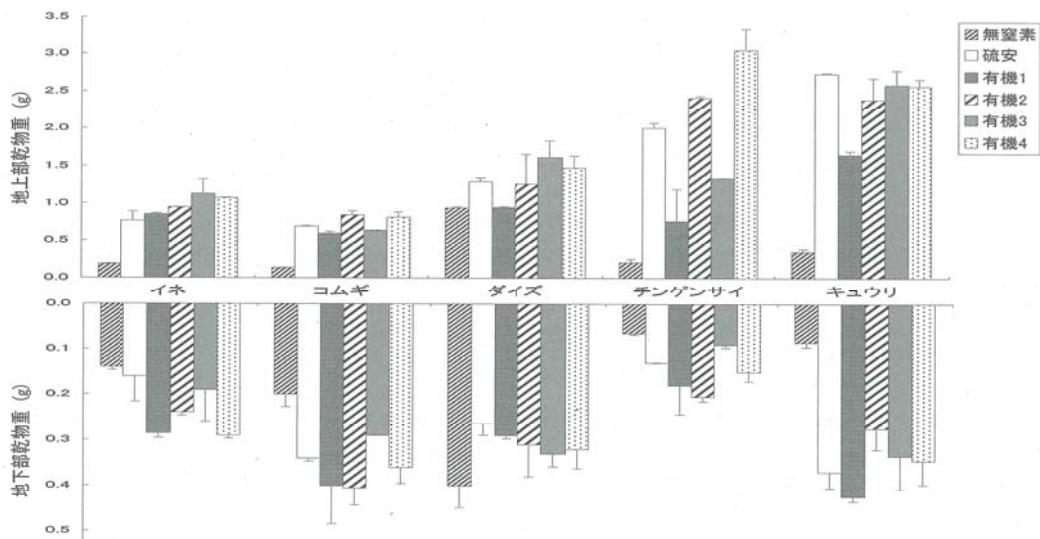


図 2-4-1 有機質肥料の種類に対する各植物の地上部・地下部乾物重

硫安: 硫酸アンモニウム、有機 1: 鶏糞、有機 2: 米糠 + くず大豆、有機 3: 米糠 + 魚粕、有機 4: 米糠 + 菜種粕、エラーバーは標準偏差 (n=3)



無窒素

硫安

有機1

有機2

有機3

有機4

図 2-4-2 異なる有機質肥料で栽培したイネの地上部・地下部の生育 (播種後 28 日間)

硫安: 硫酸アンモニウム、有機 1: 鶏糞、有機 2: 米糠 + 大豆粕、有機 3: 米糠 + 魚粕、有機 4: 米糠 + 菜種粕

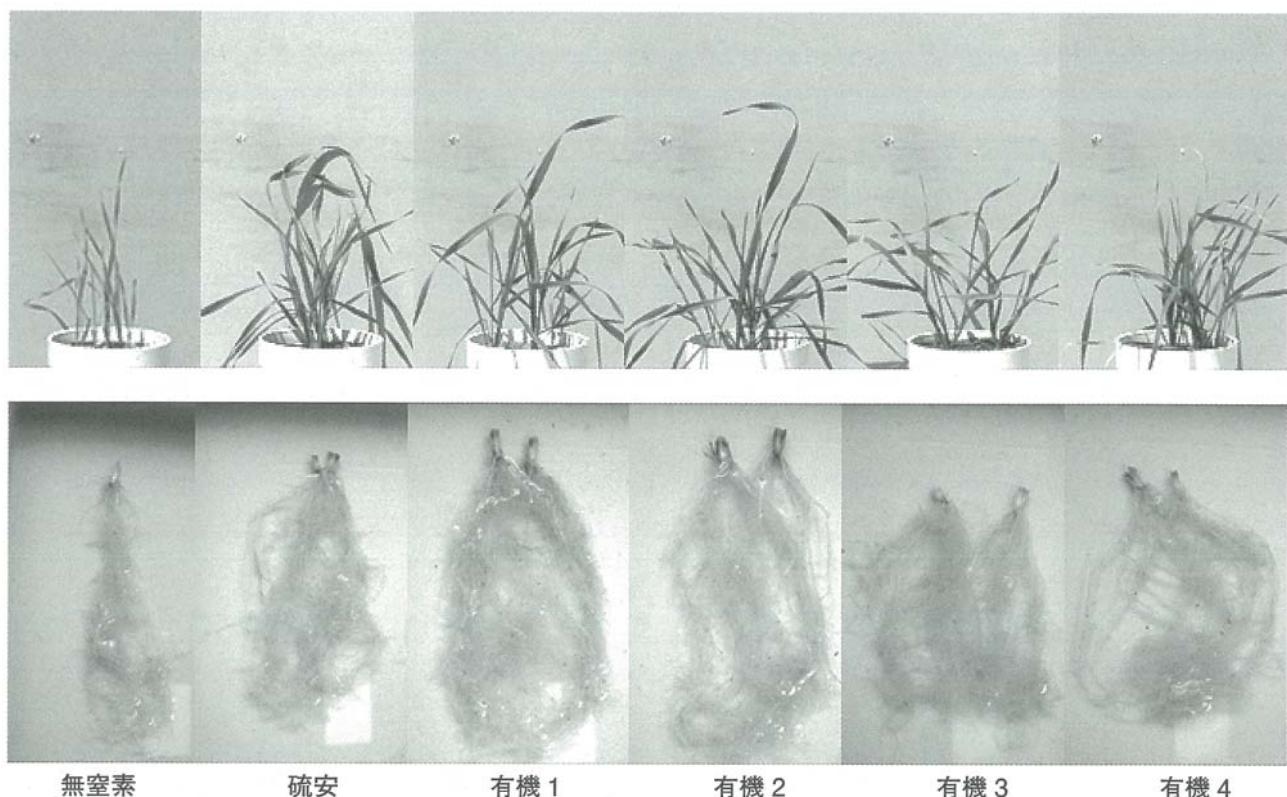


図 2-4-3 異なる有機質肥料で栽培したコムギの地上部、地下部の生育（播種後 28 日間）
硫安：硫酸アンモニウム、有機 1：鶏糞、有機 2：米糠 + 大豆粕、有機 3：米糠 + 魚粕、有機 4：米糠 + 菜種粕

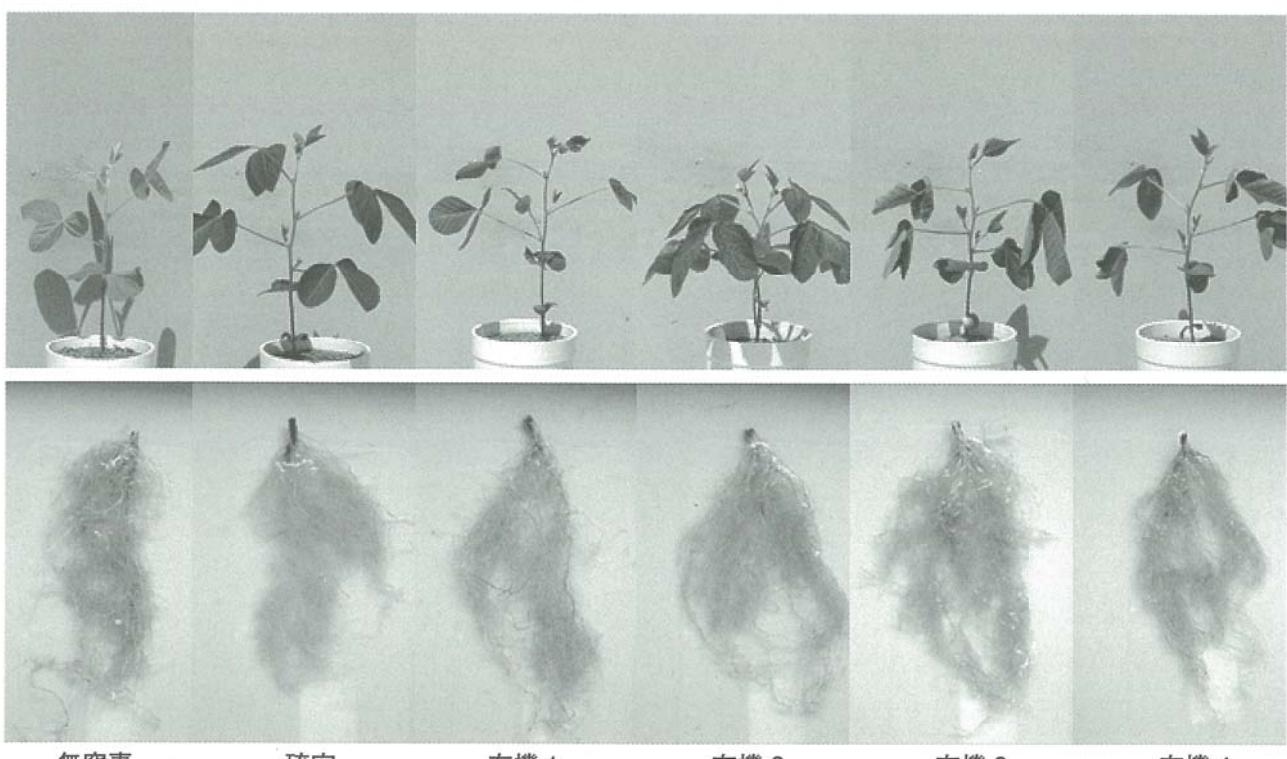


図 2-4-4 異なる有機質肥料で栽培したダイズの地上部、地下部の生育（播種後 28 日間）
硫安：硫酸アンモニウム、有機 1：鶏糞、有機 2：米糠 + 大豆粕、有機 3：米糠 + 魚粕、有機 4：米糠 + 菜種粕



図 2-4-5 異なる有機質肥料で栽培したチンゲンサイの地上部、地下部の生育（播種後 28 日間）

硫安:硫酸アンモニウム、有機 1:鶏糞、有機 2:米糠 + 大豆粕、有機 3:米糠 + 魚粕、有機 4:米糠 + 菜種粕

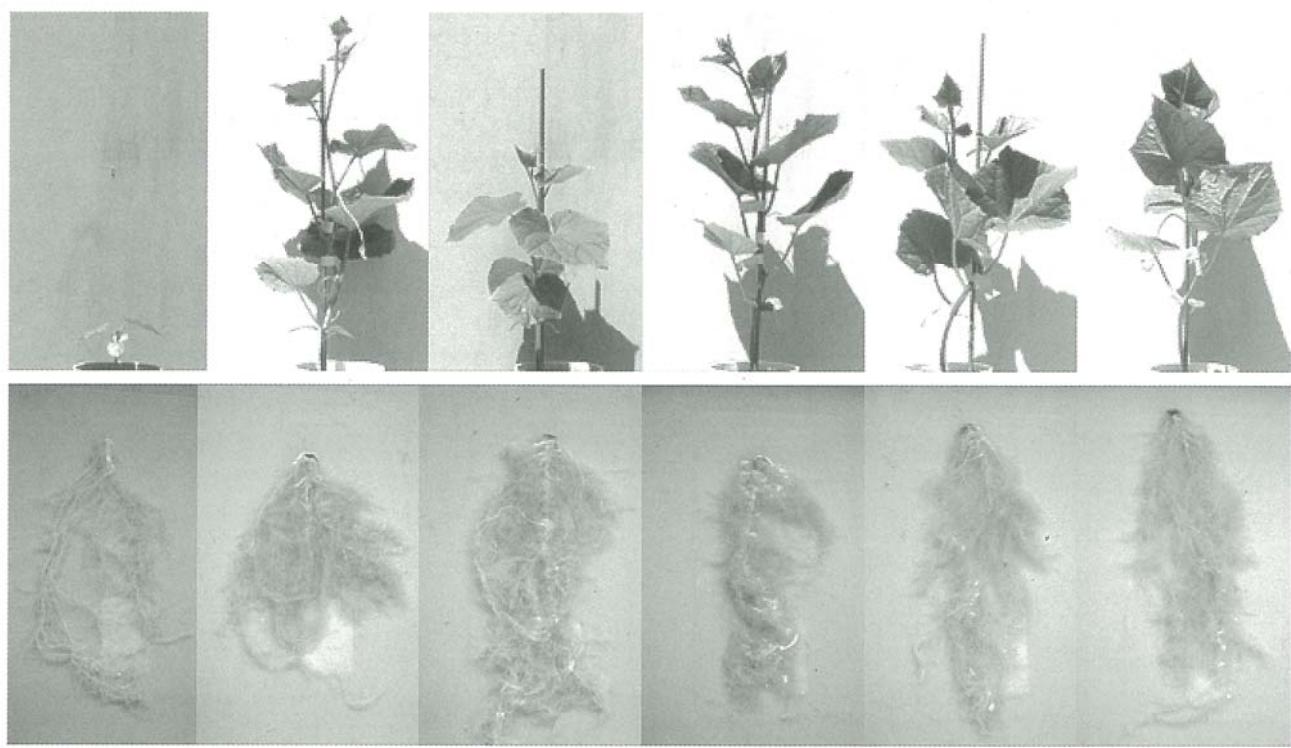


図 2-4-6 異なる有機質肥料で栽培したキュウリの地上部、地下部の生育（播種後 28 日間）

硫安:硫酸アンモニウム、有機 1:鶏糞、有機 2:米糠 + 大豆粕、有機 3:米糠 + 魚粕、有機 4:米糠 + 菜種粕

酸(明石ら 1975) や微生物相(新田 1986) の他、次章で検討するアミノ酸の一部にも根系発達を促進するものがあり、要因を特定することができない。第二節で有機態窒素の吸収が示唆されたイネでは有機質肥料施用による根系発達が顕著にみられたことから、有機質肥料から供給される有機態窒素の吸収が根系発達の要因になったことが示唆された。

第五節 まとめ

本章では、有機質肥料に対する植物間差や、有機質肥料別の植物への効果を地上部および地下部の発達から検討した。

植物別の有機質肥料の効果では、同じ有機質肥料を施用しても植物の種類によってその効果は異なった。イネ、コムギ、チンゲンサイは有機質肥料の施用で硫安と同等以上の生育を示し、形態的な特徴として、有機質肥料施用区では根系の発達がみられた。キュウリ、トマト、ピーマンでは有機質肥料を施用した区で生育が劣り、有機質肥料の施用効果が硫安より不良であることが示された。

次に、有機質肥料の種類を変えて試験を行った結果、有機質肥料の種類により植物生育への影響は異なった。土壤中の無機態窒素量と植物の窒素含有量を比較すると、キュウリでは無機態窒素量と窒素含有量で高い相関がみられたが、イネ、チンゲンサイでは相関は低かった。特にイネでは、生育期間中の無機態窒素量が硫安区より低かったにもかかわらず、牛糞堆肥施用区以外の有機質肥料施用区で硫安区より窒素吸収量が多かった。

また、有機質肥料の根系発達に与える影響は、地上部同様、植物や有機質肥料の種類で異なっていたが、イネやコムギは有機質肥料施用区で根系が発達していた。ダイズは施肥をすると根系が抑制された。有機質肥料の種類では、鶏糞や米糠 + 菜種粕で根系の発達がみられた。

この結果から、次章では有機態窒素に対する植物間差をさらに検討した。有機態窒素として本研究では、タンパク質の構成成分であり、有機物の無機化過程で必ず代謝、生成されるアミノ酸に着目することとした。

第三章 アミノ酸を单一窒素源とした栽培におけるアミノ酸の種類が生育に与える影響の解析

第一節 はじめに

第二章において、異なる有機質肥料を施用した場合、植物の種類によっては土壤中に有機質肥料から供給される無機態窒素量が少ないにもかかわらず窒素吸収量が多く生育がよい植物(イネなど)があり、これらは有機質肥料から供給される有機態窒素を吸収している可能性が考えられた。本研究は、有機農業の有効性を実証するため、その科学的根拠を捉えることを大きな目標としている。本章では有機質肥料の分解によって植物に供給されると考えられる有機態窒素の吸収・利用について、これまで多くの研究がなされている無機態窒素と比較を行う。これには有機態窒素が植物に直接吸収されることの実証が前提になるため、無菌的な条件下で単一の窒素源として有機態窒素を与え、植物の栽培実験を行った。有機態窒素には様々な種類がある。本研究では、タンパク質の構成成分であり、有機物の無機化過程で必ず代謝、生成されるアミノ酸に着目した。

植物によるアミノ酸の直接利用について植物の吸収特性を無機態窒素と比較した報告はこれまでに行われている。無菌条件下での試験では、Virtanen ら(1946)は、根粒菌を摂取していない豆は、アスパラギン酸、グルタミン酸をよく利用し、Ghosh ら(1950)は、クローバーにはアラニン、アスパラギン酸、グルタミン酸、トマトにはアラニン、アルギニン、アスパラギン、アスパラギン酸、グルタミン、グルタミン酸、グリシン、ヒスチジン、プロリンが無機態窒素源よりもよく利用され、タバコではどのアミノ酸も利用されなかったと報告している。Spoerl ら(1948)は、ユリの生育ステージ別の検討を行い、幼植物ではアルギニン、成熟期ではアスパラギン酸が良好な生育を示すとしている。楨ら(1966)はイネについて試験を行い、無機態窒素(硫酸アンモニウム)より生育が優るアミノ酸はないが、 γ -アミノ酪酸、グルタミン酸、グリシンでは無機態窒素と同等の生育を示すと報告している。また、無菌条件下での試験ではないが、森ら(1979)は、無機態窒素より生育が優ったアミノ酸として、ハダカムギではアルギニン、グルタミン、アスパラギン、リジン、セリン、グリシン、アラニン、シトルリン、オルニチンで、イネではグルタミン、アスパラギン、グリシン、アラニン、アルギニン、リジン、シトルリンと報告している。

以上のように、これまでにアミノ酸の植物生育への相関に関する報告はあるが、その検討は数種類のアミノ酸と無機態窒素との比較(Virtanen 1946、楨 1966)や、非滅菌条件下(森 1979)、食用植物以外(Spoerl 1948)

での検討である。本研究では有機農業の栽培植物を対象とするため、有機栽培面積の最も大きいイネや、土地利用型で今後の有機農業の普及が期待されるコムギやダイズ、有機態窒素の効果が高いとされるチングンサイおよび、反対に効果が低いキュウリを用いることとした。また、対象アミノ酸は、第二節の濃度に関する試験では光学異性体も含めた5種類とし、第三節の植物種類ごとのアミノ酸の影響を検討する試験ではタンパク質を構成する20種類全てについて同条件で行った。さらにアミノ酸の生育への影響を検討するため、無菌栽培とした。

第二節 異なるアミノ酸濃度がイネ幼植物の生育に及ぼす影響

(1) 目的

アミノ酸を単一窒素源として、光学異性体も含めた異なるアミノ酸5種類の窒素濃度がイネ幼植物に対する影響の検討を行った。

(2) 試験方法

供試植物はイネ (*Oryza sativa L.* 日本晴) を用いた。種子サンプルは糊殻を外し、玄米を5% 次亜塩素酸ナトリウムと1% tritonX の混合液で15分振とうし、新しい溶液と交換する操作を3回繰り返し行った。この滅菌操作後、滅菌水で完全に溶液が置換できるまで洗浄して寒天に播種し、28°Cで3日間保温して発芽させた。

窒素成分を抜いた改変木村氏B液(表3-2-1)を、121°C、20分のオートクレーブ処理により滅菌したものを基本の水耕液として用いた。窒素源として、アミノ酸溶液(L-グルタミン、L-アラニン、D-アラニン、L-セリン、L-バリン)と硫酸アンモニウム溶液をフィルター滅菌(ザルトリウス社 0.22μm シリンジフィルター)を行い、窒素濃度0、0.1、0.5、1、2、3、5、8mMとなるように添加し、25mLの水耕液を50mLのポリプロピレン製遠沈管(コーニング社)に作成した。この遠沈管の水面にポリプロピレン製ネットを浮かせて発芽種子を1個体ずつ移植した。この遠沈管を4本、組織培養用プラントボックス(60mm×60mm×100mm)に入れ、同型のプラントボックスを上からかぶせて無菌条件を維持できるように密封し生育させた。播種、移植作業はすべてクリーンベンチ内で行い無菌条件を維持した。通気性維持のため、上部に直径約8mmの穴にミリシールを貼った。試験連数は各4連とした。人工気象器にて、温度28°C、明16/暗8時間で移植後7日間無菌栽培した。収穫後、地上部と地下部に分け、新鮮重を測定した。また、硫酸アンモニア、グルタミン、アラニン、セリンで栽培した植物体は、地上部の乾燥重量を測定後、全窒素(%)をN/Cアナライザー(SUMIGRAPH NC-220F)で測定した。根長

はスキャナー(EPSON EXPRESSION 10000XL)上に重ならないように展開し、根長解析ソフト(WinRHIZO)で解析した。

表3-2-1 培地組成

・イネ用(改変木村氏B液)

| 用いた塩類 | (mg/L) | 成分 | (mg/L) | (mM) |
|--------------------------------------|--------|--------------------------------|--------|------|
| KH ₂ PO ₄ | 24.8 | P ₂ O ₅ | 13.0 | 0.09 |
| K ₂ SO ₄ | 15.9 | K ₂ O | 25.4 | 0.27 |
| KCl | 13.6 | CaO | 20.5 | 0.37 |
| CaCl ₂ ·2H ₂ O | 47.0 | MgO | 22.1 | 0.55 |
| MgSO ₄ ·7H ₂ O | 135.3 | Fe ₂ O ₃ | 2.5 | 0.01 |
| Fe-EDTA | 26.0 | | | |

(3) 試験結果と考察

異なる濃度のアミノ酸を窒素成分として与えて生育させたイネ幼植物の地上部と地下部の新鮮重を図3-2-1、窒素含有率と窒素吸収量を図3-2-2、根系の総根長を図3-2-3、直径別の根長を図3-2-4、窒素濃度1mMで生育させた根系の様子を図3-2-5に示した。まず、窒素の形態の差異が生育に与えた影響について結果を述べる。

硫酸アンモニアで生育：地上部重と窒素吸収量は、0.5～5mMまではほぼ同程度で、8mMでやや低下した。全窒素(%)は窒素濃度の増加に伴い5%程度まで增加了。地下部重、総根長は窒素濃度の増加に伴い低下した。

グルタミンで生育：濃度の上昇に伴い、地上部重、全窒素(%)、窒素吸収量は增加了。特に全窒素は、試験した中で最も高い8mMで6%まで增加了。地下部重と総根長は、1～2mMで生育が旺盛となった。また根系に与える影響についてはグルタミンで生育すると、特に直径0.1～0.2mmの細い側根の発生が促進されていた。

アラニンで生育：地上部重は1mM以上ではほぼ同等となったが、全窒素(%)、窒素吸収量は濃度の上昇に伴い增加傾向となった。地下部重、総根長は濃度に関わらず、ほぼ同等であった。

セリン、バリン、D-アラニンで生育：最も低い濃度の0.1mMから生育阻害がみられ、地上部重、地下部重、総根長とも無窒素区より低下した。

窒素の形態が生育に与える影響の比較では、地上部重は、同じ濃度ではグルタミン区 > 硫酸アンモニア区 > アラニン区 >> セリン区 > バリン、D-アラニン区となった。全窒素(%)、窒素吸収量も地上部重と同様な順であった。硫酸アンモニア区では8mMで窒素吸収量の低下もみられたが、グルタミン区では逆に窒素吸収量は增加了。また、地下部重、総根長はグルタミン区 > アラニン区 > 硫酸アンモニア区 > セリン区となり、特に、グルタミン区では直径0.2mm以下の細い側根の発生が促進されていた。

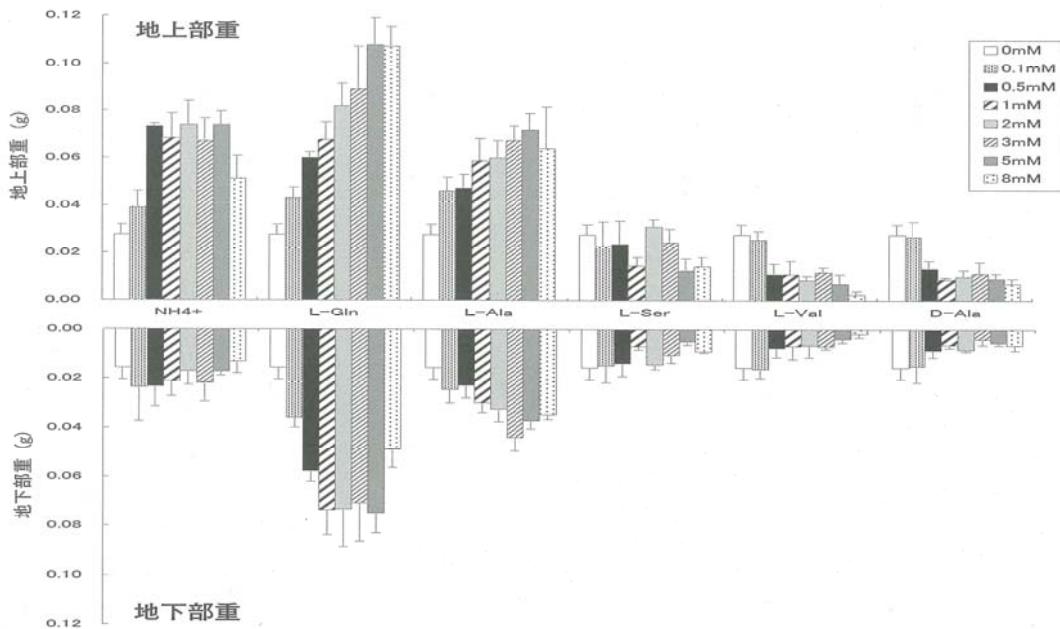


図 3-2-1 アミノ酸の種類と窒素濃度を変えて栽培したイネ幼植物の地上部重、地下部重
エラーバーは標準誤差($n=4$)

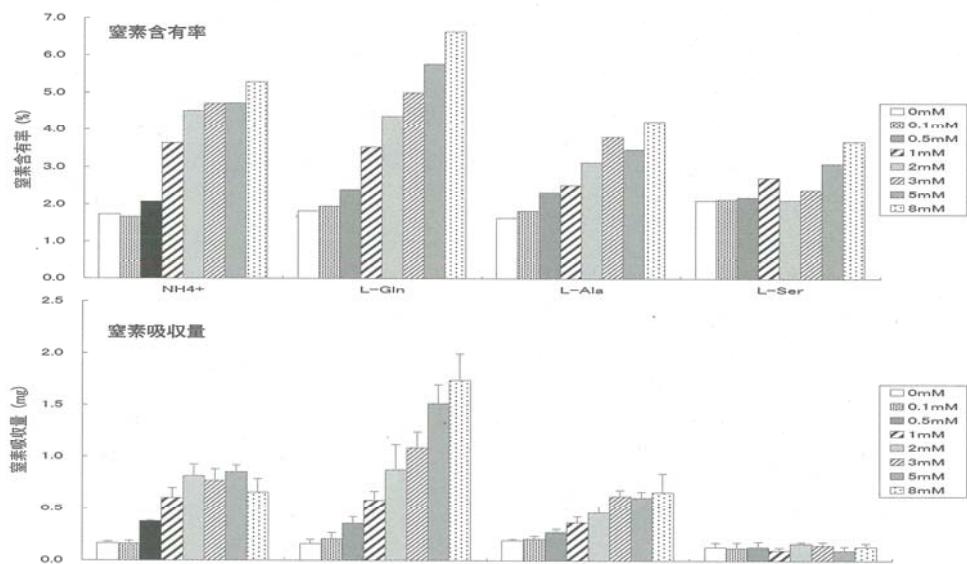


図 3-2-2 アミノ酸の種類と窒素濃度を変えて栽培したイネ幼植物の窒素含有率と窒素吸収量
データーバーは標準誤差 ($n=4$)

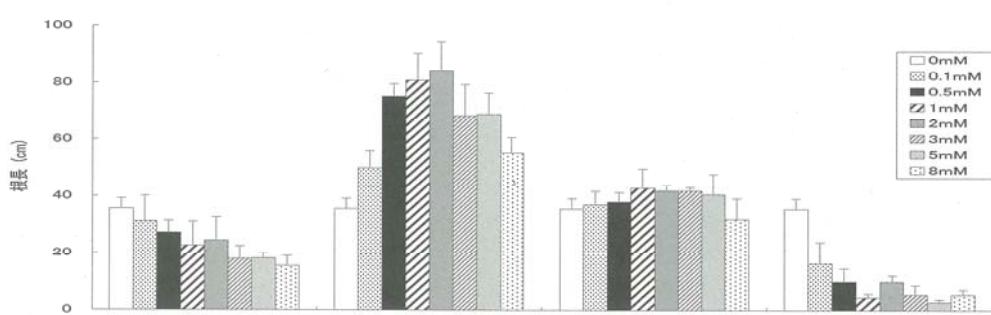


図 3-2-3 アミノ酸の種類と窒素濃度を変えて栽培したイネ幼植物の総根長
アラバババ標準偏差(±4)

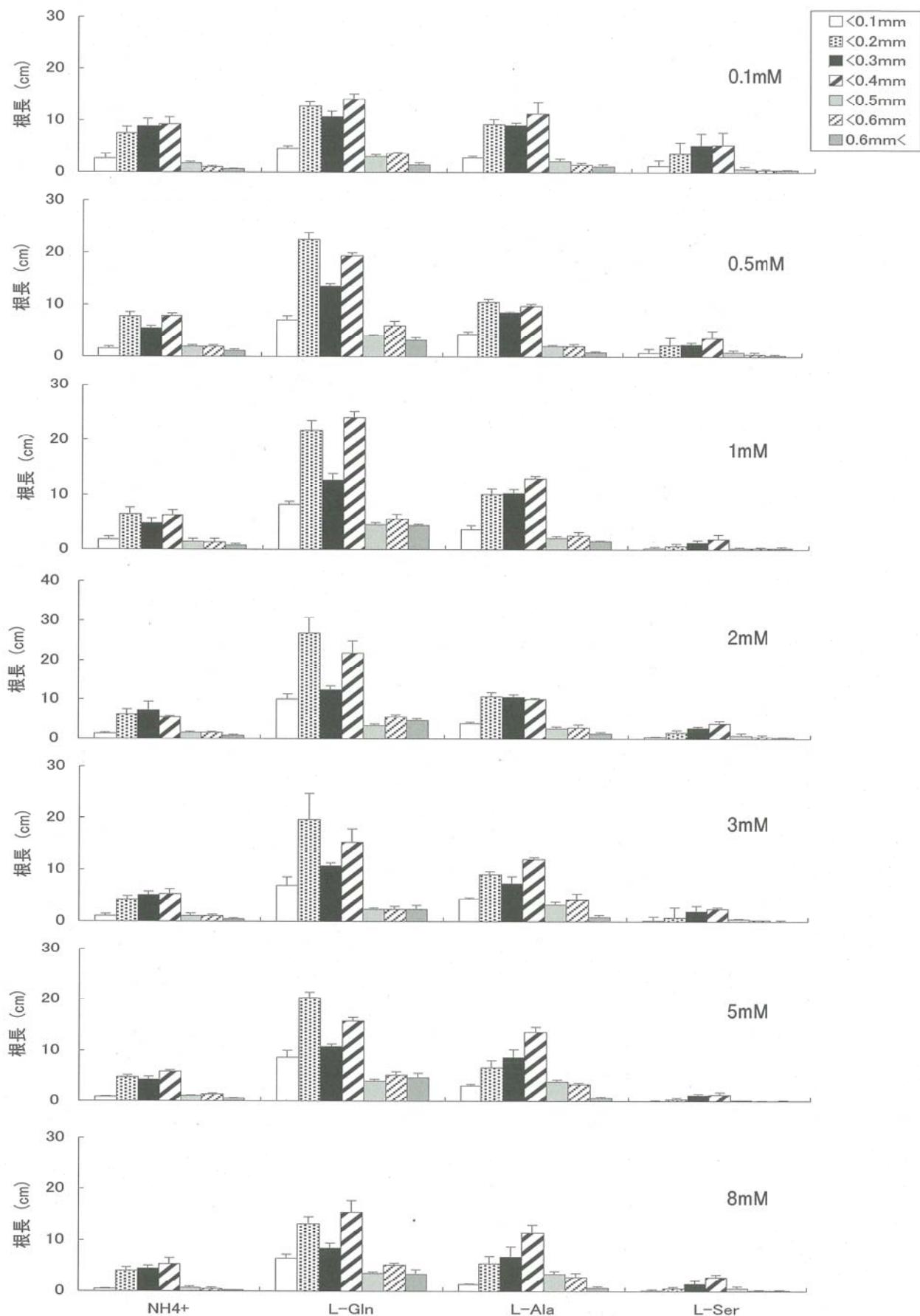


図 3-2-4 窒素濃度と窒素種類別のイネ幼植物根直徑ごとの根長
エラーバーは標準偏差 (n=4)

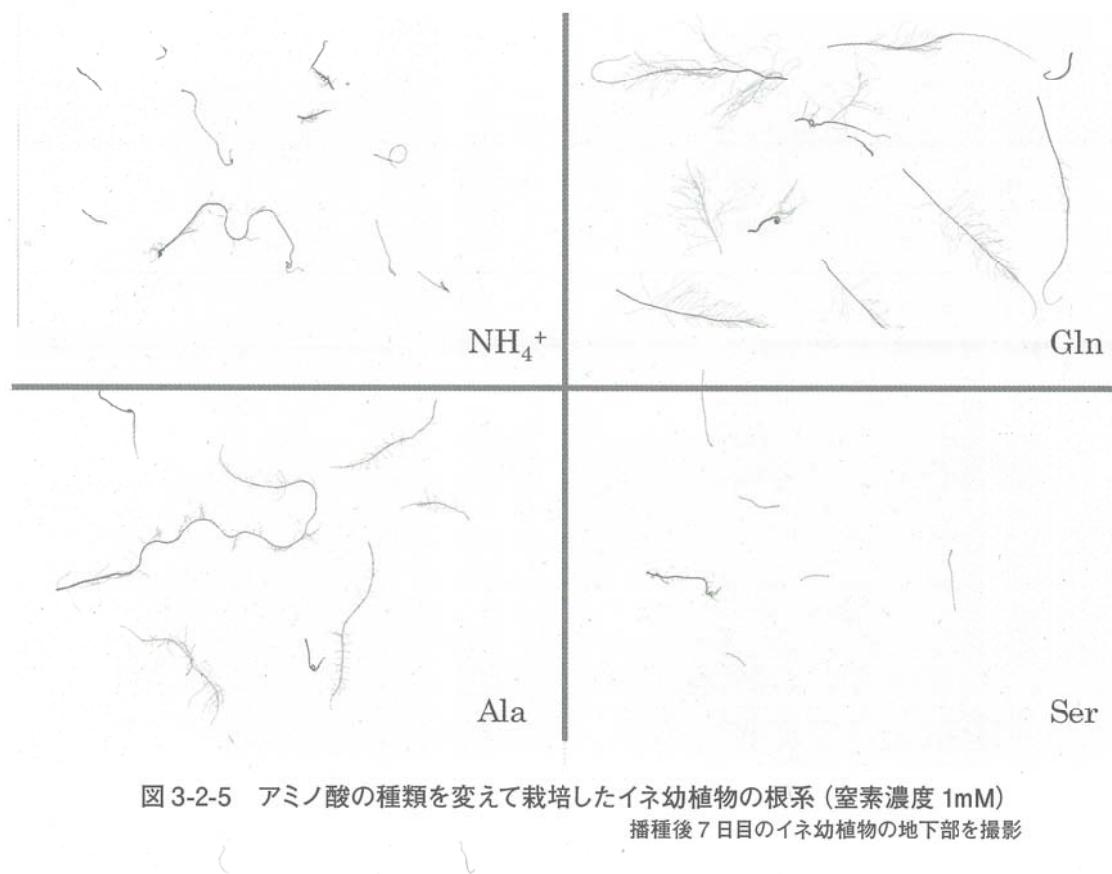


図 3-2-5 アミノ酸の種類を変えて栽培したイネ幼植物の根系 (窒素濃度 1mM)
播種後 7 日目のイネ幼植物の地下部を撮影

第三節で植物とアミノ酸と植物の種類を変えてさらに検討するが、本節の結果から濃度によらず窒素環境別の生育反応が見られることから、次節では栽培時の窒素濃度を生育期間中の総窒素吸収量に相当する 5mM として試験を行った。

第三節 異なるアミノ酸が植物の初期生育に及ぼす影響

(1) 目的

アミノ酸を单一窒素源とした場合の植物生育への影響をさらに詳細に検討するために、タンパク質を構成する 20 種類のアミノ酸を用いて、第二章で有機質肥料に対する反応が異なった植物 5 種類に対する生育を検討した。

(2) 試験方法

供試植物はイネ (*Oryza sativa L.* 日本晴)、コムギ (*Triticum aestivum L.* ゆきちから)、ダイズ (*Glycine max L.* ふくいぶき)、キュウリ (*Cucumis sativus L.* 金星 117)、チンゲンサイ (*Brassica rapa var chinensis* サカタのタネ) を用いた。

イネは糊殻を外し、玄米を 5 % 次亜塩素酸ナトリウムと 1 % tritonX の混合液で 15 分振とうし、新しい溶液と交換する操作を 3 回繰り返し行った。この滅菌操作後、滅菌水で完全に溶液が置換できるまで洗浄して寒天

に播種し、28 °C で 3 日間保温して発芽させた。ダイズは 80 % エタノールで 30 秒振とう後、1 % 次亜塩素酸ナトリウムで 30 秒振とうした。コムギ、チンゲンサイ、キュウリは 80 % エタノールで 30 秒振とう後、1 % 次亜塩素酸ナトリウムで 20 分振とうした。滅菌水で洗浄後、寒天に播種し、28 °C で 3 日間培養して発芽させた。なお、ダイズは移植直前に表皮を剥いて使用した。

培地として、イネは窒素抜き改変木村氏 B 液、イネ以外は窒素抜き改変 1/2 Hoagland 液を使用した(表 3-3-1)。これらの培地にイネは 5 % アガロース、イネ以外は 0.3 % ゲランガムを溶解し、121°C、20 分のオートクレーブ処理後、組織培養用プラントボックス (60 mm × 60 mm × 100 mm) に分注した。培地が凝固する前にフィルター滅菌した 5mM の各窒素源を添加した。窒素源として、タンパク質を構成する 20 種類のアミノ酸 (アラニン、アルギニン、アスパラギン、アスパラギン酸、システイン、グルタミン酸、グルタミン、グリシン、ヒスチジン、イソロイシン、ロイシン、リジン、メチオニン、フェニルアラニン、プロリン、セリン、スレオニン、トリプトファン、チロシン、バリン、全て L 型) と、硫酸アンモニウム、硝酸ナトリウム、無窒素区を設けた。添加する窒素源は HCl もしくは NaOH で pH を 5.5 に補正した。

プラントボックス内に、発芽種子をイネ、コムギは 5 個体、チンゲンサイ、キュウリは 3 個体、ダイズは 1 個

体移植した。イネ、コムギは同型のプラントポックス、その他の植物は密閉用の蓋をかぶせた。播種、移植作業はクリーンベンチ内で行った。通気性保持のため、上部に直径約8mmの穴を開けてミリシールでシールして無菌状態を維持した。試験は各3連で行った。人工気象器にて、温度28°C、明期16/暗期8時間の周期で移植後7日間無菌条件下で栽培試験を行った。収穫後、地上部と地下部に分け、新鮮重を測定した。80°Cで一晩乾燥させ地上部の乾燥重量を測定後、元素分析機(SUMIGRAPH NC-220F)で窒素吸収率と、ルートスキャナーで地下部の直径別根長を測定した。

表3-3-1 培地溶液組成

・イネ用(改変木村氏B液)

| 用いた塩類 | (mg/L) | 成分 | (mg/L) | (mM) |
|--------------------------------------|--------|--------------------------------|--------|------|
| KH ₂ PO ₄ | 24.8 | P ₂ O ₅ | 13.0 | 0.09 |
| K ₂ SO ₄ | 15.9 | K ₂ O | 25.4 | 0.27 |
| KCl | 13.6 | CaO | 20.5 | 0.37 |
| CaCl ₂ ・2H ₂ O | 47.0 | MgO | 22.1 | 0.55 |
| MgSO ₄ ・7H ₂ O | 135.3 | Fe ₂ O ₃ | 2.5 | 0.01 |
| Fe-EDTA | 26.0 | | | |

・イネ以外(改変Hoagland溶液)

| 用いた塩類 | (mg/L) | 成分 | (mg/L) | (mM) |
|--------------------------------------|--------|-------------------------------|--------|------|
| KH ₂ PO ₄ | 136 | P ₂ O ₅ | 71 | 0.50 |
| KCl | 298 | K ₂ O | 235.5 | 2.50 |
| CaCl ₂ ・2H ₂ O | 735 | CaO | 280.5 | 5.00 |
| MgSO ₄ ・7H ₂ O | 493 | MgO | 80.6 | 2.00 |
| H ₃ BO ₃ | 1.43 | | | |
| Na ₂ -EDTA | 1.67 | | | |
| FeSO ₄ ・7H ₂ O | 1.25 | | | |
| CuSO ₄ ・5H ₂ O | 0.04 | | | |
| MnCl ₂ ・4H ₂ O | 0.57 | | | |

(3) 試験結果

植物別の窒素吸収量を図3-3-1、根長を図3-3-2、地上部と地下部重の関係を図3-3-3に示した。植物別の供試したアミノ酸の影響として、窒素吸収量が無機態窒素(イネは硫酸アンモニウム、イネ以外は硝酸ナトリウム)区に対して120以上となるアミノ酸を生育促進するものとした。無窒素区以下の生育となるアミノ酸を生育阻害するものとした。さらに根系発達に及ぼすアミノ酸の影響も検討した。

A 植物別の反応

イネの生育: 生育を促進したアミノ酸は、アスパラギン(無機態窒素区に対するアミノ酸区の窒素吸収量比187以下同)、グルタミン(169)、アラニン(149)、グリシン(112)であった。生育を阻害したアミノ酸は、フェニルアラニン(12)、チロシン(12)、スレオニン(8)、イソロイシン(5)、

ロイシン(5)、バリン(4)、メチオニン(3)であった。根系発達については、グルタミン、アスパラギンでは種子根も側根も生長は旺盛であった。アラニン、アルギニン、グルタミン酸では種子根は生長したが、側根の生長は抑制されていた。グリシン、アスパラギン酸、プロリン、イソロイシンでは種子根の生長がやや抑制され、その他ではアミノ酸では生長そのものが阻害された。特に、トリプトファンは根表面が褐色化し、側根が全く発生しなかった。

チンゲンサイの生育: 生育を促進したアミノ酸は、グルタミン(122)、プロリン(118)、アスパラギン(112)であった。生育を阻害したアミノ酸は、ロイシン(7)、バリン(7)、チロシン(5)、メチオニン(2)、トリプトファン(1)、フェニルアラニン(0)、システイン(0)であった。根系発達に対する効果も、地上部の生育と同様に、グルタミン、アスパラギンが旺盛で、アラニン、アスパラギン酸、グルタミン酸、プロリンはやや発達していた。他のアミノ酸ではほとんど発達が見られなかった。

コムギの生育: 生育を促進したアミノ酸はグルタミン(151)、ヒスチジン(138)、アスパラギン(135)、アスパラギン酸(130)、アラニン(120)、プロリン(125)、グルタミン酸(123)であった。生育を阻害したアミノ酸はバリン(56)、チロシン(46)、システイン(37)、ロイシン(36)、トリプトファン(36)であった。根系発達については、イネと同様な傾向であったが、コムギではヒスチジンで根系の発達がみられた。

キュウリの生育: 生育を良好にしたアミノ酸は、グルタミン(122)のみであった。生育を阻害したアミノ酸は、トリプトファン(26)であった。根系は、グルタミンで最も発達し、アラニン、アスパラギン、アスパラギン酸、グルタミン酸でやや発達した。トリプトファンでは種子根の生長はみられず、根系はカルス状の塊となった。

ダイズの生育: ダイズの窒素吸収量は、ロイシン、トリプトファンは明らかにダイズの生育を抑制したが、他のアミノ酸は無機態窒素施用区とほぼ同程度に生育した。無窒素区の生育も、無機態窒素(硝酸ナトリウム)と同程度であった。一方、アミノ酸の根系発達への影響は窒素吸収量とは異なり大きな差がみられた。リジン、グルタミンの根長発達が旺盛となった。根系発達が阻害されたのはシステイン、メチオニンであり、種子根の生長のみであった。

B 植物間およびアミノ酸間の差異

植物間およびアミノ酸間の影響を検討するために、無機態窒素(イネでは硫酸アンモニア、その他は硝酸ナトリウム区)を100としてアミノ酸別の窒素吸収量をまとめたものを図3-3-4、また無機態窒素区に対する吸収が高いアミノ酸順に並べたものを図3-3-5に示した。

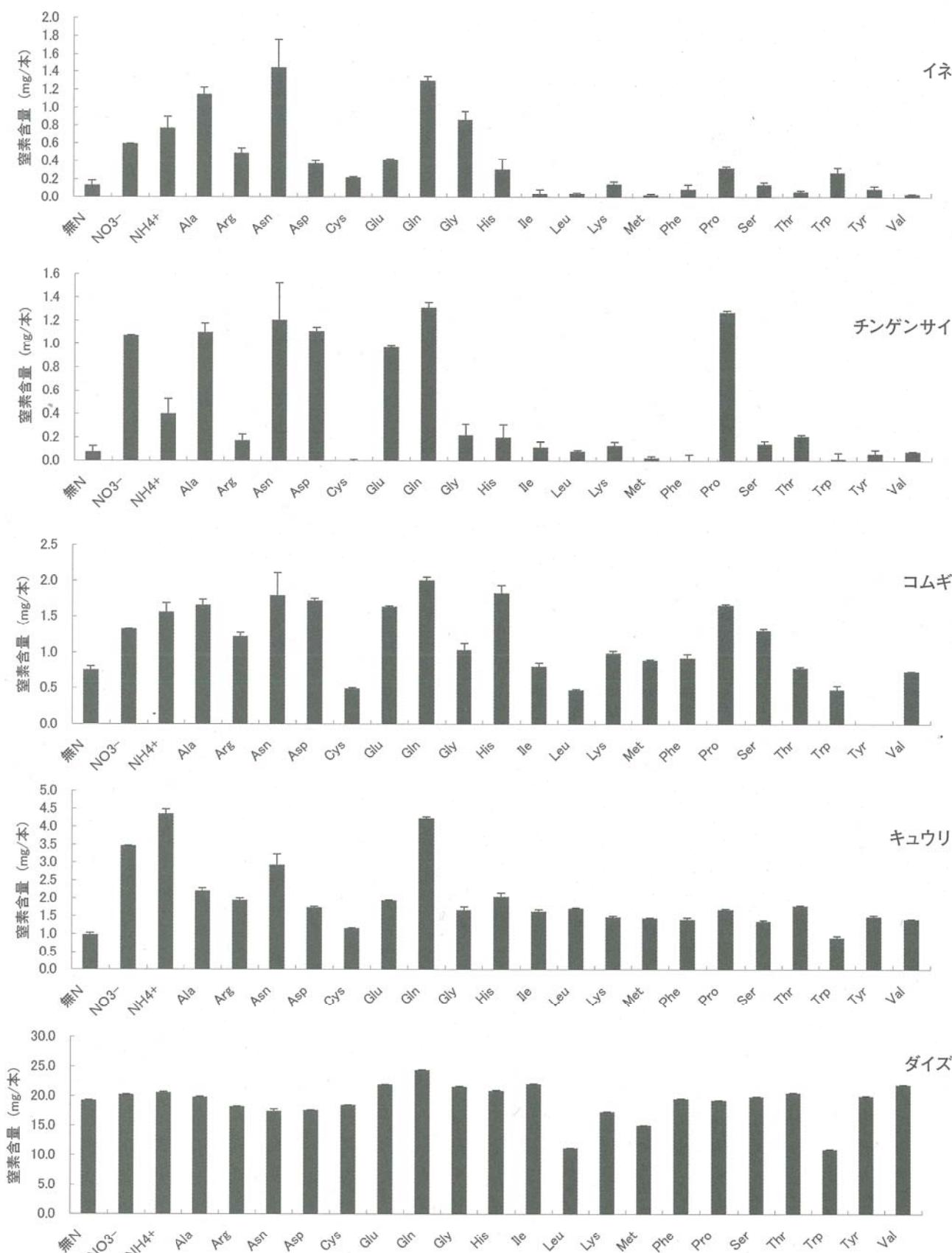


図 3-3-1 異なるアミノ酸を窒素源として生育した植物の窒素吸収量

エラーバーは標準偏差 (n=3)

Ala; アラニン、Arg; アルギニン、Asn; アスパラギン、Asp; アスパラギン酸、Cys; システイン、Gln; グルタミン、Glu; グルタミン酸、Gly; グリシン、His; ヒスチジン、Ile; イソロイシン、Leu; リオシン、Lys; リジン、Phe; フェニルアラニン、Pro; プロリン、Ser; セリン、Thr; スレオニン、Tyr; チロシン、Val; バリン

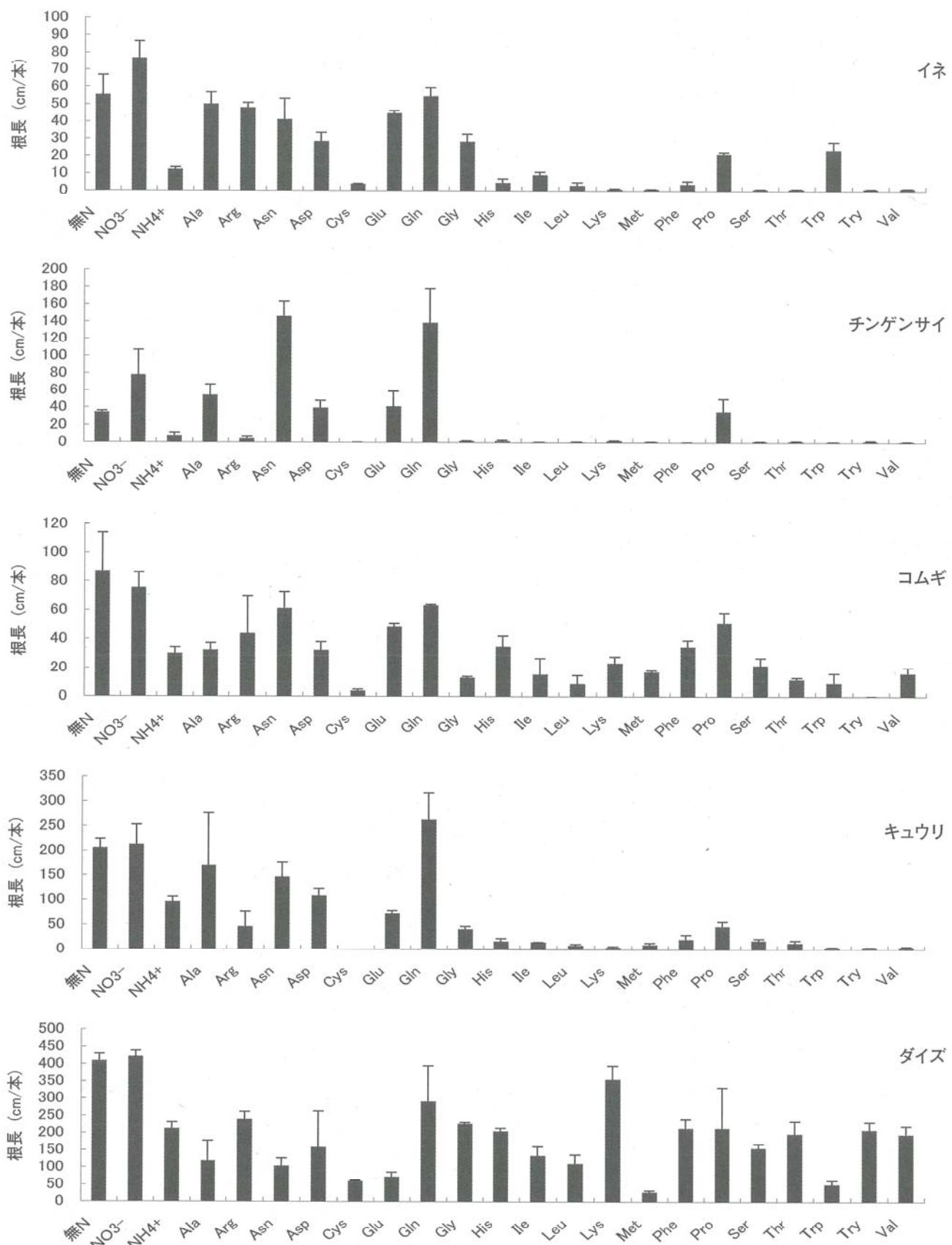


図 3-3-2 異なるアミノ酸を窒素源として生育した植物の総根長

エラーバーは標準偏差 (n=3)

Ala; アラニン、Arg; アルギニン、Asn; アスパラギン、Asp; アスパラギン酸、Cys; システイン、Gln; グルタミン、Glu; グルタミン酸、Gly; グリシン、His; ヒスチジン、Ile; イソロイシン、Leu; ロイシン、Lys; リジン、Phe; フェニルアラニン、Pro; プロリン、Ser; セリン、Thr; スレオニン、Tyr; チロシン、Val; バリン

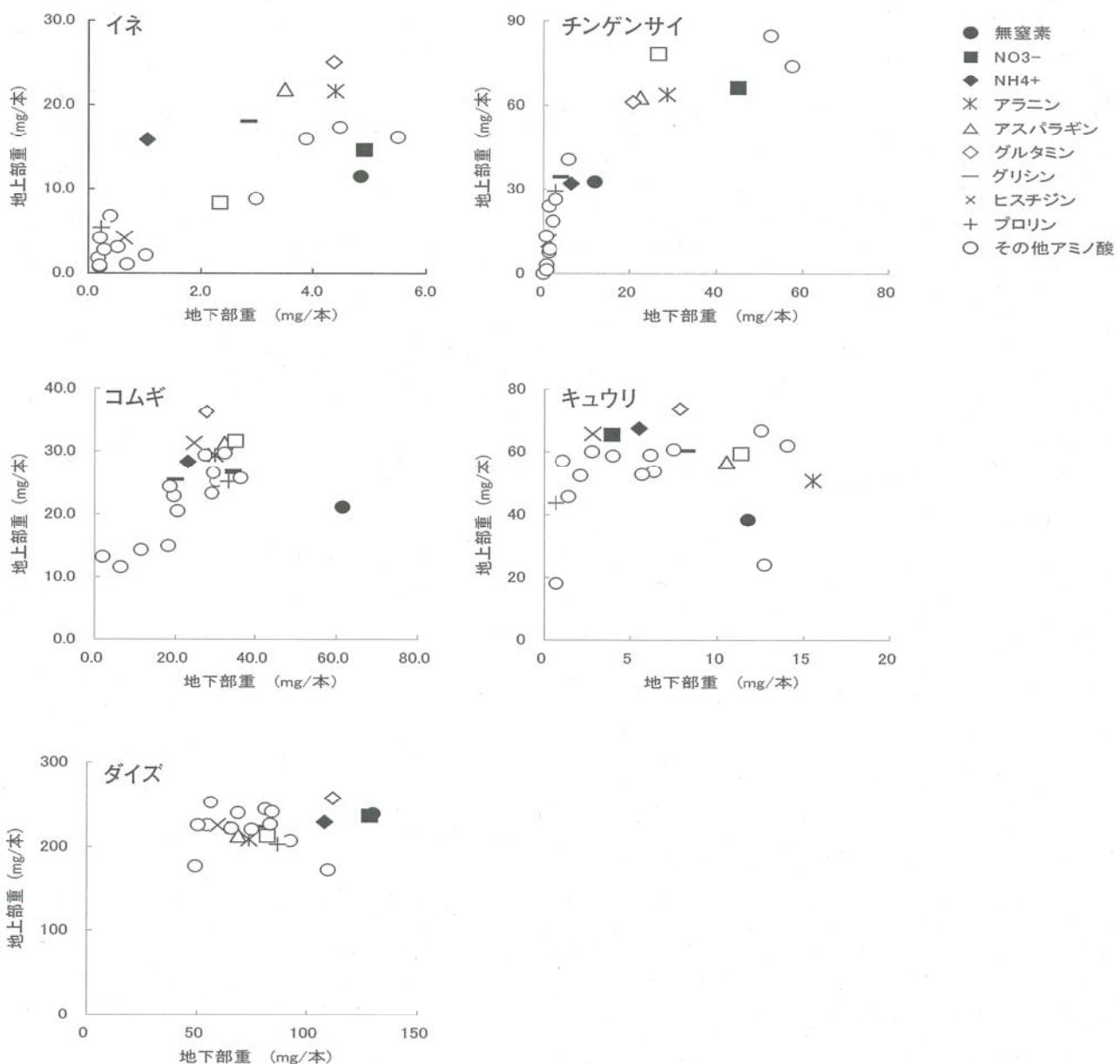


図 3-3-3 異なるアミノ酸を窒素源として生育した場合の植物別地上部重と地下部重の相関

植物間の比較をすると、アミノ酸に対して良好、不良の明確な差が見られたのは、イネ、チンゲンサイであり、それとは逆にアミノ酸間の差が判然としなかったのはダイズで、コムギとキュウリはその中間であった。ダイズの種子は他の植物に比べて大きく(ダイズ約30mg、イネ・コムギ約2mg、チンゲンサイ0.1mg、キュウリ0.5mg)、種子栄養が多いため、発芽後の初期成育において外部から吸収する窒素栄養の影響差が小さいことが原因であると考えられた。そこで、発芽後の培地への移植時に子葉をはずして、他植物で生育が良好であったグルタミン、アラニン、グリシンを窒素源として追試験を行った(図3-3-6)。その結果、子葉を外すと生育は種子有ダイズの1/5となった。しかし、窒素形態環境別の生育は種子の有無に関わらず、アミノ酸では生育の促進はみられなかつ

た。植物の種類により、アミノ酸の生育への影響が異なることはこれまでにも報告されている(Ghosh 1950)。しかし、今回20種類のアミノ酸それぞれを単一窒素源とした試験により、各アミノ酸の生育促進、阻害を特に窒素利用率、根系の発達を中心に明確にすることができた。この要因に関しては今後の課題であるが、植物は窒素成分の利用に関して好アンモニア植物、好硝酸植物に分類されることも知られており、アミノ酸の利用に関しても植物間差が存在すると考えられる。

アミノ酸間の比較をすると、全ての植物で無機態窒素より窒素含有量が増加したのはグルタミンであった。次いで、イネ、コムギ、チンゲンサイの三植物で窒素含有量が増加したのはアスパラギン、アラニンであり、その他二植物以上で無機態窒素より生育がよくなったのはア

図 3-3-4 各植物のアミノ酸別窒素含有量比

| | 無N | NO_3^- | NH_4^+ | Ala | Arg | Asn | Asp | Cys | Glu | Gln | Gly | His | Ile | Leu | Lys | Met | Phe | Pro | Ser | Thr | Trp | Tyr | Val |
|--------|----|-----------------|-----------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| イネ | 18 | 77 | 100 | 149 | 64 | 187 | 49 | 28 | 54 | 169 | 112 | 40 | 5 | 5 | 19 | 3 | 12 | 42 | 18 | 8 | 35 | 12 | 4 |
| チンゲンサイ | 7 | 100 | 37 | 102 | 16 | 112 | 103 | 0 | 90 | 122 | 20 | 19 | 11 | 7 | 12 | 2 | 0 | 118 | 13 | 19 | 1 | 5 | 7 |
| コムギ | 57 | 100 | 118 | 125 | 92 | 135 | 130 | 37 | 123 | 151 | 78 | 138 | 61 | 36 | 75 | 67 | 70 | 125 | 98 | 59 | 36 | 46 | 56 |
| キュウリ | 28 | 100 | 125 | 64 | 56 | 84 | 50 | 34 | 56 | 122 | 48 | 59 | 47 | 49 | 42 | 42 | 40 | 48 | 39 | 51 | 26 | 43 | 41 |
| ダイズ | 95 | 100 | 102 | 98 | 90 | 86 | 87 | 91 | 108 | 120 | 106 | 103 | 109 | 55 | 85 | 74 | 96 | 95 | 98 | 101 | 54 | 98 | 108 |

0~40 40~80 80~120 120~

無機態窒素(イネでは硫酸アンモニア、その他は硝酸ナトリウム区)を100として表示

図 3-3-5 各植物の窒素含有量に及ぼすアミノ酸の影響

| | 180 | 170 | 160 | 150 | 140 | 130 | 120 | 110 | 100 | 90 | 80 | 70 | 60 | 50 | 40 | 30 | 20 | 10 | 0 |
|--------|-----|-----|-----|-------------------|-------------------|------------------------|---------------------------------|------------------------------------|--------------------------------|-------------------|-------------------|------------------|-----|---------------------------------|---------------------------------|--------------------------|---------------------------------|--------------------------------|--|
| イネ | Asn | | Gln | | Ala | | | Gly | NH_4^+ | | | NO_3^- | Arg | Glu | Asp Pro His | Trp | Cys | Lys Ser 無N Try Phe | Thr Leu Ile Val Met |
| チンゲンサイ | | | | | | Gln | Pro Asn | Asp Ala NO_3^- | Glu | | | | | | NH_4^+ | Gly | Thr His Arg Ser Lys | Ile | Leu Val Trp Phe 無N Try Met |
| コムギ | | | Gln | His Asn Asp | Ala Pro Glu | NH_4^+ | NO_3^- | Ser Arg | | Gly Lys Phe | Met | Thr 無N Val | | | Cys Tyr Leu Try | | | | |
| キュウリ | | | | | | NH_4^+ Gln | | NO_3^- | | | Asn | | Ala | His Arg Glu Thr Asp | Leu Pro Gly Ile Phe | Lys Met Val Phe | Ser Cys 無N | Trp | |
| ダイズ | | | | | | Gln | Ile Glu Val Gly His | NH_4^+ NO_3^- | Try Ser Ala Phe 無N | Pro Cys Arg | Asp Asn Lys | Met | | Leu Trp | | | | | |

無機態窒素(イネでは硫酸アンモニア、その他は硝酸ナトリウム区)を100として表示

スパラギン酸、グルタミン酸、グリシン、プロリンであった。一方、無機窒素区より生育が阻害したのは、ダイズを除く四植物でトリプトファン、ロイシン、三植物でバリン、チロシン、メチオニンとなり、システィン、イソロイシン、リジン、フェニルアラニンで生育の阻害がみられた。植物別で特徴的なものとして、コムギではヒスチジンでの生育が他の植物とは異なり生育が良好であった。

(4) 考察

本試験と同様に、タンパク質を構成するアミノ酸に着目し、生育に与える影響を検討した試験として White (1937)、Steinberg (1947)、Ghosh (1950)、森 (1979) らの研究がある(表 3-3-2)。このうち森 (1979) は有菌状態ではあるがイネを用いて成熟期まで栽培している。本試験のイネの結果と比較すると、生育促進あるいは生育阻害するアミノ酸はほぼ同様な結果であったが、リジンは本試験結果と著しい違いがみられ、本試験では著しい根系の生育阻害がみられたが、森らの試験では生

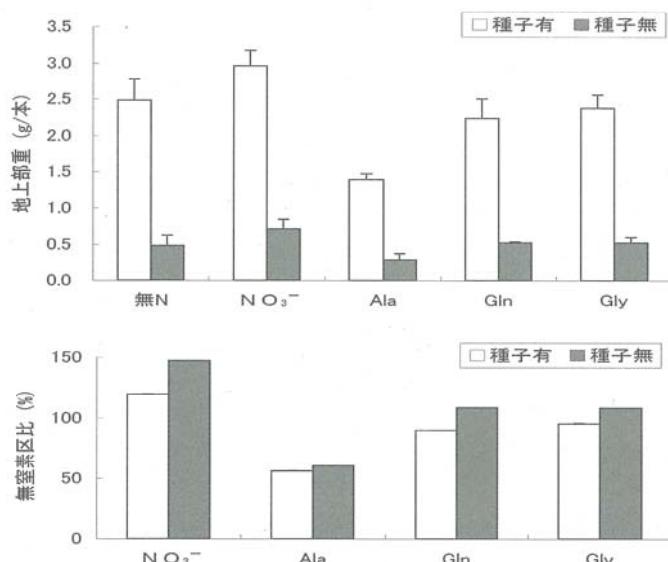


図 3-3-6 異なるアミノ酸を培地にしたダイズ地上部重における種子の影響 エラーバーは標準偏差 (n=3)

表 3-3-2 アミノ酸各種の生育に及ぼす影響についてのこれまでの報告

| 対照植物 | White 1937 | Steinberg 1947 | Ghosh 1950 | Ghosh 1950 | Ghosh 1950 | 森 1979 | 森 1979 |
|------------------------------|---------------|-------------------|---------------|---------------|---------------|------------|------------|
| 試験状態 | トマト根 | タバコ | 赤クローバー | トマト | タバコ | ハダカムギ | イネ |
| 培地 | 無菌 | 無菌 | 無菌 | 無菌 | 無菌 | 有菌 | 有菌 |
| 濃度 | アミノ酸 5 ppm | アミノ酸 各200 ppm | 窒素 3 mM | 窒素 2 mM | 窒素 3 mM | 最終的に10 ppm | 最終的に10 ppm |
| 無N | Cont. | Cont. | × | × | × | - | - |
| NO ₃ ⁻ | - | - | △ | △ | △ | Cont. | - |
| NH ₄ ⁺ | - | - | Cont. | Cont. | Cont. | × | Cont. |
| Ala | × | × | ○ | ○ | × | △ | ○ |
| Arg | × | △ | △ | △ | × | △ | △ |
| Asn | - | × | ○ | △ | × | △ | ○ |
| Asp | △ | × | △ | △ | × | × | × |
| Cys | - | - | - | × | × | × | △ |
| Glu | ○ | - | ○ | △ | × | × | △ |
| Gln | - | - | - | △ | × | △ | ○ |
| Gly | ○ | × | △ | △ | × | △ | ○ |
| His | △ | × | △ | △ | × | × | × |
| Ile | △ | × | △ | × | × | × | × |
| Leu | △ | × | × | × | × | × | × |
| Lys | ○ | × | △ | × | × | × | ○ |
| Met | △ | × | - | × | × | × | × |
| Phe | △ | × | △ | × | × | × | × |
| Pro | × | × | - | △ | × | × | × |
| Ser | △ | × | - | × | × | × | × |
| Thr | - | × | △ | × | × | × | × |
| Trp | × | × | - | × | × | × | × |
| Tyr | ○ | × | - | × | × | × | △ |
| Val | × | × | △ | × | × | × | × |

○: 標準区より生育促進 (Cont.より30%以上生育促進)

△: 標準区と生育同等 (Cont.の生育と±30%以内)

×: 標準区より生育抑制 (Cont.の生育より30%以上生育阻害)

-: 供試なし

それぞれの文献から作成

育促進を示している。この違いが、培地もしくは微生物の有無によるものか、窒素濃度によるものか、生育期間の違いによるものかは特定できない。Spoel (1948) は、生育ステージにより生育効果のあるアミノ酸の種類が異なることも報告しており、生育期間の違いが最も大きな要因と考えられた。

根系発達もアミノ酸の種類で影響が見られた。これまでの根系発達に関する窒素成分の報告は、窒素施肥量が多いと根群は小型化し、少ないと大型化する (川田 1982) ことや、硝酸は側根の発達を促進すること (Zhang et al 1998)、アンモニアは抑制する (三井ら 1964) などがあげられる。本試験でも、無窒素区、硝酸区では根系が発達し、アンモニア区では抑制された。アミノ酸を供試した中では、グルタミン、アスパラギンは根系の発達が促進され、アラニン、アルギニン、グルタミン酸では種子根は生長したが側根の生長は抑制された。Arabidopsis thaliana を用いた試験では、グルタミン酸は低濃度 (0.05-0.5mM) でも根の生長を抑制するという報告 (Filleur et al. 2005) もある。また、システイン、メチオニン、スレオニン、チロシン、バリンでは生育が阻害されていた。特にトリプトファンは根表面の褐色化やカルス状の発達がみられたが、これはトリプトファンがインドール酢酸の前駆体である (Muller et al. 1998) ことが関係していると考えられた。

第四節 異なるアミノ酸が無窒素栽培後のイネ幼植物の生育に及ぼす影響

(1) 目的

前節では、発芽直後からアミノ酸を含んだ培地で生育させて、各アミノ酸が植物生育へ与える影響を検討した。発芽直後は、植物生育にとって重要な期間であり、生育環境の影響を受けやすく、アミノ酸の生育へ与える影響が大きく現れたことが懸念される。そこで、本節では、発芽後無窒素条件で 6 日間生育したイネ幼植物に対するアミノ酸の影響を検討する。

(2) 試験方法

供試植物はイネ (*Oryza sativa* L. 日本晴) を用いた。第一節と同様に種子滅菌し、発芽したイネを窒素成分を抜いた改変木村氏 B 液で 6 日間無菌栽培した。6 日後、窒素濃度 0、25、100、1000μM のアミノ酸溶液 (グルタミン、アラニン、バリン) および塩化アンモニウム溶液に入れ替えた。試験連数は 4 連とした。人工気象器にて、温度 28°C、明 16 時間 / 暗 8 時間で移植後 7 日間無菌栽培した。収穫後、地上部と地下部に分け、新鮮重を測定した。

(3) 試験結果と考察

入れ替え後 7 日間各アミノ酸で生育した地上部と地下部の新鮮重を、溶液を入れ替えるときの地上部と地下部の新鮮重を 100 として図 3-4-1 に示した。

地上部、地下部とも同様な傾向を示した。塩化アンモニウムでは、濃度が高くなるほど生育は旺盛となった。グルタミン、アラニンも濃度が高くなるほど生育は旺盛となり、窒素濃度 1000μM では塩化アンモニウムより、生育が優った。バリンでは、濃度が高くなるほど生育が劣った。特に地下部の生育が劣った。

発芽後 6 日間生育したイネ幼植物へのアミノ酸の影響は、発芽から 28 日間無菌栽培した第三節の結果と同様な結果であった。

アミノ酸の種類別による生育や根系発達へ与える影響の違いについては、吸収や代謝の面から予想されている (楨 1966) が、明確な結論にはいたっていない。そこで、次章以降では、アミノ酸の生育に対する影響の違いを、促進するアミノ酸 (グルタミン、アラニン) と阻害するアミノ酸 (バリン、セリン) の同位体を用いて吸収や代謝について検討する。

第五節 まとめ

第三章では、アミノ酸が植物により窒素源として利用されるか、および生育を促進するかについて、5 種類のアミノ酸の影響を検討し、窒素濃度に関わらず、アミノ酸について植物生育に対する差が大きくみられることを明らかにした。次に、タンパク質を構成するアミノ酸 20 種類を窒素源として、植物 5 種類で検討した。その結果、アミノ酸の種類によって生育に与える影響は異なり、アミノ酸のみであっても無機態窒素を窒素源とした区と同等の生育を示すものもあった。植物の種類間でもアミノ酸に対する反応は異なり、イネ、チングンサイではアミノ酸間で反応の違いが大きく、ダイズでは生育の違いが明確に見られなかった。植物間で共通して無機態窒素と同等以上の生育を示したアミノ酸はグルタミンで、無窒素区と同等の生育がアラニン、アルギニン、アスパラギン酸、アスパラギン、グルタミン酸、グリシン、プロリンであった。逆に生育阻害を示したのはトリプトファン、ロイシン、バリン、チロシン、メチオニン、システイン、イソロイシン、リジン、フェニルアラニンであった。

アミノ酸の種類により生育の反応が大きく異なり、また有機農業の栽培面積が最も大きいイネについて、生育が無機態窒素より促進したグルタミン、無機態窒素並であったアラニン、生育阻害したセリン、バリンを用いて、アミノ酸の吸収、アミノ酸別の生育への影響等を今後検討することにした。