

無菌栽培でアミノ酸を窒素源としたときの作物の初期生育

二瓶直登¹⁾・増田さやか²⁾・田野井慶太郎²⁾・頼泰樹³⁾・中西友子²⁾

(¹⁾ 福島県農業総合センター作物園芸部, (²⁾ 東京大学大学院農学生命科学研究科, (³⁾ 秋田県立大学生物資源科学部)

要旨：有機態窒素の作物生育に与える影響を解明するために、単一窒素源としてタンパク質を構成する20種類のアミノ酸を用いて5種類の作物を無菌栽培し、各アミノ酸に対する作物毎の生育への影響を検討した。作物別の比較をすると、イネ、チンゲンサイでは、アミノ酸間の生育差が大きく、コムギ、キュウリはイネ、チンゲンサイよりアミノ酸間の生育差は小さかった。ダイズでは、アミノ酸間の生育差はほとんどみられなかった。アミノ酸別の比較をすると、アスパラギン、グルタミンでは、無窒素区より地上部乾物重、地上部窒素含量の増加がみられ、一方、システイン、メチオニン、ロイシン、バリンでは地上部乾物重や地上部窒素含量が無窒素区より低下した。そこで、アミノ酸濃度を変えた時の影響を調べるため、生育への影響が異なる5種類のアミノ酸を単一窒素源に選び、イネ幼植物に対する影響について検討した。その結果、グルタミンで生育したイネは窒素濃度増加に伴い地上部乾物重、地上部窒素含量は増大した。セリン、バリンで生育したイネは、低濃度から生育阻害がみられた。グルタミンは無機態窒素を代謝する際に最初に同化されるアミノ酸でもあるので、植物体内で濃度が高くても障害をおこさず、窒素源として効率的に利用されていると考えられた。セリン、バリンはグルタミンに比べてアミノ酸生成経路の末端で生成されるアミノ酸であるため、植物に吸収されても代謝されず植物体内で濃度が上がり、生育を阻害したものと考えられた。

キーワード：アミノ酸、アラニン、イネ、グルタミン、セリン、窒素濃度、バリン。

通常、植物が利用する窒素形態は、アンモニアや硝酸などの無機態窒素とされ、可給態窒素として無機化量の測定や、化学肥料の成分として利用されている。しかし、土壤中では、無機態窒素として存在する量はわずかで、ほとんどが有機態窒素として存在している。また、近年注目が集まる有機農業では、有機質肥料や有機物を散布するため、化学肥料を施用する近代農業より、土壤中の有機態窒素の割合が高まるものと推察される。有機物連用は場の遊離アミノ酸は、化学肥料連用は場の遊離アミノ酸より、1.3～1.6倍多くなるとの報告もある(佐藤・菅野 1985)。従って、未だ効果が不安定な有機質肥料の肥効を科学的に解明するためには、土壤中の無機態窒素だけではなく有機態窒素も考慮すべきであり、有機態窒素の吸収や肥効を検討する必要がある。しかし、植物生育に対する有機態窒素の研究は、無機態窒素の研究に比べて非常に少ない。現在までに、核酸の生育促進効果(藤原・黒沢 1961, 森 1986)、無機化量だけでは植物生育の説明が付かない事例(松本 2003)、低分子有機態窒素に対する植物間差(山縣ら 1997)などが報告されている。また、高分子吸収のメカニズムとして、西澤(1992)は、根からヘモグロビンを取り込ませ、それが細胞膜のくびれこみ構造によることを証明している。これらの報告により、植物は無機態窒素だけではなく、有機態窒素も吸収、利用していることが示唆されている。これら有機態窒素に関する難しさの一つに、対象とする有機態窒素を単一物質として扱うことがある。微生物による分解を受けた有機物は、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。その過程において、土壤

中には様々な大きさ、形態の有機態窒素が存在する。本研究では、土壤に存在する有機態窒素のうち、アミノ酸に着目することとした。アミノ酸は堆肥や動植物遺体の分解過程で必ず存在する有機態窒素であり、タンパク質を構成している窒素形態である。アミノ酸の吸収、利用を詳細に検討することが、有機態窒素研究、ひいては有機物の効果解明に繋がると考えたからである。アミノ酸に対する植物生育については、Virtanen and Linkol (1946) や Ghosh and Burris (1950) が無菌条件下で検討している。しかし、これまで試験されている作物は限られており、また、窒素濃度別のアミノ酸の影響に関する研究もわずかである。本研究では、有機態窒素の作物生育に与える影響を解明する第一歩として、単一窒素源としてタンパク質を構成する20種類のアミノ酸を用いて5種類の作物を無菌栽培し、各アミノ酸に対する作物毎の生育への影響を検討した。さらに、生育への影響が異なる5種類のアミノ酸を単一窒素源とし、イネ幼植物に対する窒素濃度の影響について検討した。

材料と方法

1. 窒素源としてアミノ酸を用いて生育した数種類の作物の初期生育

供試植物はイネ (*Oryza sativa* L.), コムギ (*Triticum aestivum* L.), ダイズ (*Glycine max* L.), キュウリ (*Cucumis sativus* L.), チンゲンサイ (*Brassica rapa var chinensis*) を用いた。1% 次亜塩素酸ナトリウムで種子を15分振とうし、28℃で48時間保温して発芽させた。

イネの培地は窒素抜き改変木村氏溶液 (P_2O_5 0.1 mM,

K₂O 0.3 mM, CaO 0.4 mM, MgO 0.6 mM, Fe₂O₃ 0.01 mM) に5%アガロースを溶解し、イネ以外の作物の培地は窒素抜き 1/2 Hogland 溶液 (P₂O₅ 0.5 mM, K₂O 2.5 mM, CaO 5.0 mM, MgO 2.0 mM) に0.3%ゲランガムを溶解して作成した。121℃、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100 ml ずつ分注した。0.2 μm フィルターに通して滅菌した各窒素濃縮液を、窒素濃度 5 mM とするように培地が凝固する前に添加した。窒素源はタンパク質を構成する 20 種類の各アミノ酸 (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, 硝酸ナトリウムとした。窒素源を添加しない区を設け、無窒素区とした。添加する窒素源は HCl もしくは NaOH で pH を 5.5 に補正した。なお、チロシンは溶解度が低い (0.038 g/100g, 20℃) ことから、窒素濃度を 3 mM とした。

各アミノ酸を窒素源とした作成ゲルに、発芽種子したイネ、コムギは 5 個体、チンゲンサイは 3 個体、キュウリ、ダイズは 1 個体をそれぞれ移植した。移植後、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、移植作業は全てクリーンベンチ内で行った。試験は各 3 反復で行い、温度 28℃、明期 16 時間 / 暗期 8 時間で 28 日間生育させた。地上部を収穫後、80℃で一晩乾燥させ乾物重を測定した。乾物重を測定後、全窒素を N/C アナライザー (SUMIGRAPH NC-220F, 住化分析センター) で測定した。ダイズについては、発芽後生長点を残して子葉を切り落とし、窒素源をアラニン, グルタミン, グリシン, 硝酸ナトリウムとして同様の試験 (窒素濃 5 mM) を行った。14 日間生育させ、地上部重 (新鮮重) を測定した。

2. 異なる窒素種類と窒素濃度で生育したイネ幼植物の初期生育

供試植物はイネ (*Oryza sativa* L.) を用いた。1%次亜塩素酸ナトリウムで種子を 15 分振とうし、28℃で 48 時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 (P₂O₅ 0.1 mM, K₂O 0.3 mM, CaO 0.4 mM, MgO 0.6 mM, Fe₂O₃ 0.01 mM) を、121℃、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。

0.2 μm フィルターに通して滅菌した各窒素濃縮液 (グルタミン, アラニン, セリン, バリン, 硫酸アンモニウム) を、窒素濃度 0, 0.1, 0.5, 1, 2, 3, 5, 8 mM となるように添加して 25 ml の水耕液を 50 ml の遠沈管 (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、その上に発芽種子を 1 個体ずつ移植し、コンテナ (60 mm×60 mm×100 mm) 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、移植作業は全てクリーンベンチ内で行った。試験連数は各 4 連とした。人工気象器にて、温度 28℃、明期 16 時間 / 暗期 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、硫酸アンモニウム, グルタミン, アラニン, セリンで栽培したイネ幼植物は、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-220, 住化分析センター) で測定し、スキャナー (EXPRESSION 10000XL, EPSON) と根長解析ソフト (WinRHIZO, Regent 社) で根長を解析した。

結 果

1. 窒素源としてアミノ酸を用いて生育した数種類の作物の初期生育

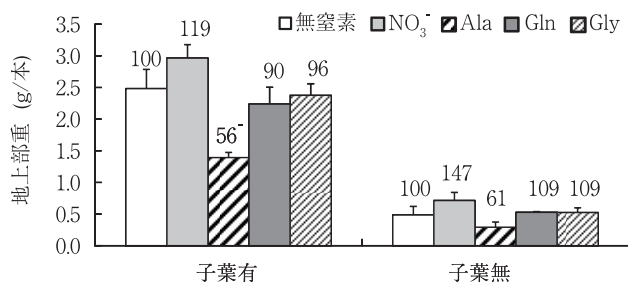
異なるアミノ酸で生育した作物別の草丈、地上部の乾物重、窒素含量を第 1 表に示した。地上部重について作物間の比較をすると、無窒素区より地上部重が増加したアミノ酸は、イネではグルタミン>アラニン, アスパラギン>アルギニン, アスパラギン酸, グルタミン酸, グリシンの 7 種類、チンゲンサイはグルタミン>アスパラギン酸, プロリン>アラニン, アスパラギン, グルタミン酸の 6 種類、コムギではグルタミン>アスパラギン, ヒスチジン, プロリンの 4 種類、キュウリではグルタミン>グルタミン酸, ヒスチジンの 3 種類であった。一方、無窒素区より地上部重が低下したアミノ酸は、イネではシステイン, 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, セリン, スレオニン, チロシン, バリンの 11 種類、チンゲンサイではシステイン, メチオニン, フェニルアラニン, トリプトファン, チロシン, バリンの 6 種類、コムギ, キュウリはなく、ダイズではシステイン, メチオニン, トリプトファンの 3 種類であった。アミノ酸間の比較をすると、グルタミンではイネ, チンゲンサイ, コムギ, キュウリの 4 種類、アスパラギンではイネ, チンゲンサイ, コムギ, グルタミン酸ではイネ, チンゲンサイ, キュウリの 3 種類、アラニン, アスパラギン酸, ヒスチジン, プロリンでは 2 種類の作物の地上部重が無窒素区より増加した。一方、システイン, メチオニンではイネ, チンゲンサイ, ダイズの 3 種類、フェニルアラニン, トリプトファン, チロシン, バリンでは 2 種類の作物で無窒素区より地上部重が低下した。

地上部の窒素含量について作物間の比較をすると、無窒素区より地上部窒素含量が増加したアミノ酸は、イネでは地上部乾物重を増加させたアミノ酸と同じ 7 種類、チンゲンサイでは地上部乾物重を増加させたアミノ酸 6 種類とスレオニンの 7 種類、コムギでは地上部乾物重を増加させたアミノ酸 4 種類とアラニン, アスパラギン酸, グルタミン酸, セリンの 8 種類、キュウリは地上部乾物重を増加させ

第1表 異なる窒素源と窒素濃度に対する各作物の初期生育.

	草丈 (cm)					地上部乾物重 (mg/個体)					地上部窒素含量 (mg/個体)				
	イネ	チンゲンサイ	コムギ	キュウリ	ダイズ	イネ	チンゲンサイ	コムギ	キュウリ	ダイズ	イネ	チンゲンサイ	コムギ	キュウリ	ダイズ
無窒素	12.4	1.7	13.7	3.5	11.9	11	11	21	38	163	0.1	0.1	0.8	1.0	13.4
Ala	26.8++	4.6++	15.4	4.8++	12.5	22++	21++	29	51	119	1.1++	1.1++	1.7++	2.2++	11.5
Arg	21.8++	1.9	13.2	3.2	11.5	16+	14	25	54	145	0.5++	0.2	1.2	2.0++	12.9
Asn	26.6++	4.4++	17.0	4.7++	12.0	22++	21++	31+	57	133	1.4++	1.2++	1.8++	2.9++	12.3
Asp	16.4+	5.2++	14.1	4.5++	15.5	17++	25++	29	62	164	0.4+	1.1++	1.7++	1.7	10.3
Cys	8.2-	0.4-	8.4-	0.9--	12.5	7-	1--	13	18	102--	0.2	0.0	0.5-	1.2	7.4
Glu	17.3++	5.1++	19.4+	4.7++	15.5	16+	20+	30	67+	129	0.4++	1.0++	1.6++	1.9+	11.4
Gln	29.7++	4.2++	18.2+	6.3++	15.3	25++	28++	36++	74++	179	1.3++	1.3++	2.0++	4.2++	17.7
Gly	22.6++	1.9	12.5	4.1	15.4	18++	11	25	60	139	0.9++	0.2	1.0	1.7	13.2
His	4.0--	1.4	17.4	4.1	11.9	4--	4	31+	66+	145	0.3	0.2	1.8++	2.0++	12.9
Ile	2.1--	1.1	7.5--	3.4	13.4	2--	8	23	59	151	0.1	0.1	1.0	1.6	12.1
Leu	1.9--	0.8	4.5--	3.8	13.3	1--	4	14	57	139	0.0	0.1	0.5-	1.8	10.1
Lys	4.2--	1.6	13.7	3.4	11.9	5--	10	25	44	128	0.2	0.1	1.0	1.5	10.4
Met	0.9--	0.4--	7.3--	3.6	4.5--	1--	1--	23	52	54--	0.0	0.0	0.9	1.4	4.1
Phe	3.0--	0.4--	12.5	3.2	15.3	3--	1--	26	59	158	0.1	0.0	0.9	1.4	11.5
Pro	6.6--	4.3++	17.6	2.9	11.6	8	26++	32+	59	123	0.3	1.3++	1.7++	1.7	10.5
Ser	3.1--	1.5	11.4	3.1	15.3	4--	6	26	53	140	0.1	0.1	1.3+	1.4	11.9
Thr	1.7--	1.1--	10.7--	3.5	13.2	2--	9	24	61	150	0.1-	0.2++	0.8	1.9++	13.2
Trp	10.3	0.3--	6.4--	3.5	10.7	9	0--	15	24	94--	0.3	0.0	0.5-	0.9	7.6
Tyr	1.8--	0.8--	7.3--	3.3	16.7++	3--	3--	23	60	160	0.1	0.1	0.5	1.5	12.1
Val	1.7--	0.7--	8.6--	3.7	16.9++	1--	3--	20	46	148	0.0--	0.1	0.7	1.4	12.1
NO ₃ ⁻	23.8++	4.9++	16.1	5.5++	12.1	15	22++	26	65+	163	0.6++	1.1++	1.3	3.5++	14.6
NH ₄ ⁺	27.4++	2.7+	16.0	5.5++	11.5	16+	11	28	67+	144	0.8++	0.4	1.6	4.4++	13.2

各処理の無窒素区を対照とした Dunnett 法により, ++, + は正, --, - は負の差が 1%, 5% 水準で有意であることを意味する.



第1図 異なるアミノ酸の培地で生育したダイズの子葉有無別の地上部重。

グラフ上の数字は、子葉有無別で無窒素区を100としたときの値。各処理の無窒素区を対照としたDunnet法により、*は負の差が1%水準で有意であることを意味する。

たアミノ酸3種類とアラニン、アルギニン、アスパラギン、スレオニンの7種類であった。イネ、チンゲンサイでは、地上部乾物重と地上部窒素含量において、無窒素区より増加するアミノ酸はほぼ同じであるものの、コムギ、キュウリでは、地上部乾物重より地上部窒素含量を増加させるアミノ酸が多かった。アミノ酸間の比較をすると、アラニン、アスパラギン、グルタミン、グルタミン酸ではダイズ以外の4種類、アスパラギン酸では3種類、アルギニン、ヒスチジン、プロリンでは2種類の作物で地上部窒素含量は増加し、システイン、ロイシン、スレオニン、トリプトファン、バリンでは地上部窒素含量が低下する作物もあった。

アミノ酸間の生育差が小さかったダイズにおいて、発芽後、生長点を残して子葉を外し同様の試験を行った(第1図)。子葉を外したダイズの地上部乾物重は子葉有ダイズの約1/5となったが、窒素形態別の生育は子葉有と同様に、アミノ酸での生育促進はみられなかった。

2. 異なる窒素種類と窒素濃度で生育したイネ幼植物の初期生育

異なる窒素源と窒素濃度で生育したイネ幼植物の初期生育結果を第2表と、直径別の総根長を第2図に示した。

アンモニアで生育したイネ幼植物の地上部乾物重は、窒素濃度0.5 mMまでは窒素濃度増加に伴い増加した。窒素濃度0.5~5 mMでは地上部乾物重は無窒素区の約2倍でほぼ同等の生育を示し、窒素濃度8 mMではやや低下した。地下部乾物重は、窒素濃度が増加するにしたがい低下した。地上部/地下部比は、窒素濃度の増加に伴い上昇した。総根長は、窒素濃度が高くなるほど減少した。グルタミンで生育したイネ幼植物の地上部乾物重と地上部窒素含量は、窒素濃度上昇に伴い増加し、窒素濃度5 mMでは無窒素区のそれぞれ約3倍、9.5倍であった。地下部乾物重は、2 mMまで窒素濃度に伴い増加し、その後8 mMまで一定値(無窒素区の約2倍)を保った。地上部/地下部比は、窒素濃度8 mM以外では0.9~1.5であった。根長は、窒素濃度2 mMまで直径0.2 mm以下の細い側根を中心に増加

し、より濃度が高くなると減少した。アラニンで生育したイネ幼植物は、窒素濃度が高くなると、地上部乾物重、窒素含量は増加し、窒素濃度5 mM以上では地上部乾物重が無窒素区の約2倍、地上部窒素含有量が3.8~4.7倍であった。地下部乾物重は、窒素濃度3 mM以上で無窒素区の約1.3~1.8倍であった。一方、総根長は濃度によらずほぼ一定であった。セリンで生育したイネ幼植物の地上部乾物重は窒素濃度3 mMまで、地下部乾物重は窒素濃度1 mMまで、無窒素とほぼ同等の生育であったが、それ以上の窒素濃度では無窒素区より低下した。

根長は、最も低濃度である0.1 mMにおいても低下した。バリンで生育したイネ幼植物の地上部乾物重は、窒素濃度の上昇に伴い、地上部乾物重、地下部乾物重とも低下した。根長は、ほとんど成長がみられなかったため測定しなかった。

考 察

窒素源として与えたアミノ酸の植物に対する影響を検討するため、アミノ酸20種類を単一窒素源とし、5種類の作物を用いて生育試験を無菌条件下で行った。作物別の生育では、イネ、チンゲンサイの地上部乾物重、地上部窒素含量は、アミノ酸間の差が大きかったが、ダイズでは、アミノ酸間で有意に差のあるアミノ酸は少なかった。ダイズの種子は他の植物に比べて大きく、種子栄養が多いため、発芽後の初期生育において外部から吸収する窒素栄養の影響が小さいことが原因でアミノ酸間の差が見られない懸念があった。そこで、発芽後子葉を外して生長点を残した状態のダイズについて、イネでは生育を促進したアミノ酸(グルタミン、アラニン、グリシン)を供試する試験を行った。その結果、子葉を外したダイズの生育は子葉有ダイズの約1/5となったが、窒素形態別の生育は子葉有と同様に、アミノ酸での生育促進はみられなかった。Ghosh and Burris (1950)は、クローバー、トマトでは無機態窒素源よりもよく生育したアミノ酸が存在したが、タバコではどのアミノ酸も生育は促進されなかったなど、本結果と同じく、植物の種類によりアミノ酸に対する影響は異なるという報告をしている。以上より、植物は無機態窒素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ように、アミノ酸の利用に関しても何らかの植物間差が存在すると思われる。その差異は生育環境の影響を受けている可能性がある。すなわち、アミノ酸の種類で生育に大きな違いがみられたイネやチンゲンサイは、有機態窒素が増加した土壤中で生育が良好であるとの報告(松本2003)がある。イネは還元状態の水田で生育し、チンゲンサイは冬作物である。還元状態の水田では、酸化状態の畑に比べて有機物が蓄積しやすく水溶性有機物は豊富にあり(高橋1979)、低温が続く冬期間は、土壤微生物の活性が低く、無機化速度が低下すると予測される。したがって、このような環境下で生育してきたイネやチンゲンサイは、土壤中に存在する無機態窒素以外の窒素源の吸収や利用の能力を獲得してきたと

第2表 異なる窒素源と濃度におけるイネ幼植物の生育.

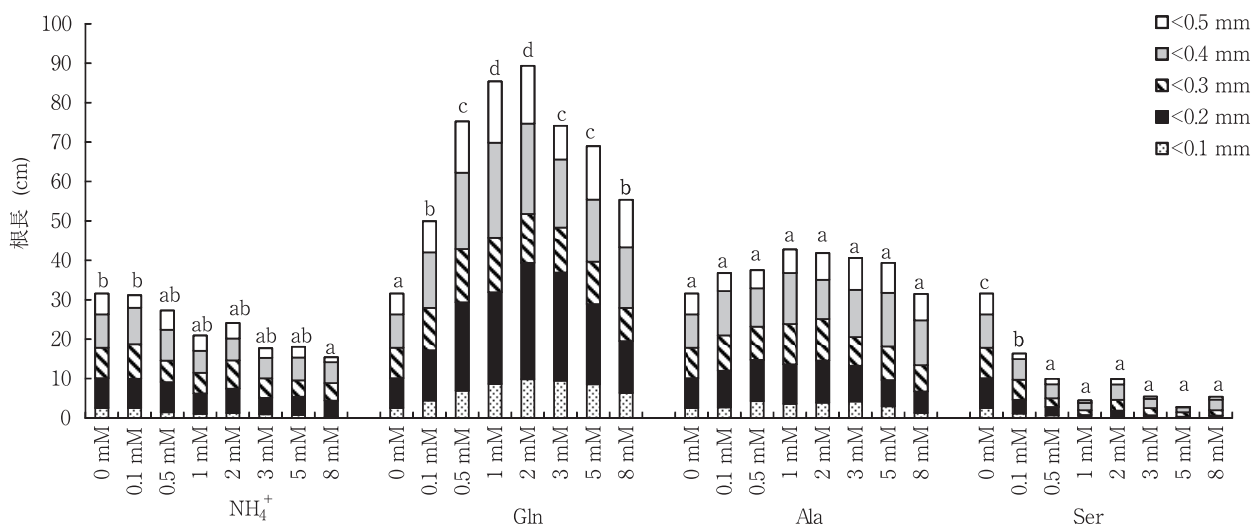
窒素源	窒素濃度 (mM)	草丈 (cm)	地上部乾物重 (mg/本)	地下部乾物重 (mg/本)	地上部乾物重/ 地下部乾物重	地上部窒素含量 (mg/本)
NH ₄ ⁺	0.0	9.0 a	9 a	6 a	1.5 a	0.16 a
	0.1	10.4 a	10 a	5 a	2.6 a	0.17 a
	0.5	13.7 bc	18 b	6 a	3.0 a	0.37 a
	1.0	13.4 bc	18 b	6 a	3.2 a	0.65 b
	2.0	14.0 c	18 b	4 a	4.1 b	0.80 b
	3.0	11.6 ab	16 b	4 a	4.2 b	0.77 b
	5.0	11.9 ab	18 b	4 a	4.3 b	0.85 b
	8.0	10.5 a	12 a	3 a	4.5 b	0.64 c
Gln	0.0	9.0 a	9 a	6 a	1.5 a	0.16 a
	0.1	10.3 ab	11 ab	9 ab	1.2 ab	0.20 ab
	0.5	11.8 bc	15 bc	14 cd	1.0 bd	0.35 bc
	1.0	11.9 bc	17 c	18 d	0.9 bd	0.58 cd
	2.0	13.9 cd	20 c	18 d	1.2 bcd	0.88 de
	3.0	14.2 cd	21 c	19 d	1.1 bcd	1.03 de
	5.0	15.2 d	26 d	18 d	1.5 ac	1.52 f
	8.0	14.9 d	26 d	12 bc	2.2 e	1.74 f
Ala	0.0	9.0 a	9 a	6 a	1.5 a	0.16 a
	0.1	10.7 ab	11 ab	7 ab	1.9 a	0.21 a
	0.5	11.7 bc	12 ab	6 a	2.1 a	0.27 a
	1.0	12.6 bc	15 bc	7 ab	2.0 a	0.36 a
	2.0	13.1 cd	16 c	8 ab	2.0 a	0.48 a
	3.0	13.3 cd	16 c	11 c	1.5 a	0.62 b
	5.0	14.1 d	18 c	9 bc	2.0 a	0.61 b
	8.0	13.7 cd	18 c	8 bc	1.9 a	0.75 b
Ser	0.0	9.0 c	9 c	6 c	1.5 a	0.16 a
	0.1	7.4 bc	8 c	5 bc	1.6 ab	0.16 a
	0.5	7.3 bc	8 c	4 bc	1.7 ab	0.17 a
	1.0	7.4 bc	8 c	4 bc	2.1 ab	0.18 a
	2.0	6.4 ab	8 c	3 ab	2.2 ab	0.16 a
	3.0	5.0 ab	6 ac	3 ab	2.4 bc	0.14 a
	5.0	3.4 a	3 ab	1 a	3.3 c	0.09 a
	8.0	3.0 a	4 abc	2 a	1.6 ab	0.13 a
Val	0.0	9.0 c	9 b	6 bc	1.5 a	
	0.1	5.0 bc	7 a	5 a	1.5 a	
	0.5	2.8 a	3 a	2 a	1.5 a	
	1.0	2.6 a	3 a	2 a	1.9 a	
	2.0	2.2 a	2 a	2 a	2.4 a	
	3.0	2.8 a	3 a	2 a	2.0 a	
	5.0	1.6 a	2 a	1 a	1.9 a	
	8.0	0.9 a	1 a	0 a	1.4 a	

同一窒素源内の同一記号は Tukey-Kramer 法 (5%水準) により有意差が無いことを示す.

も考えられる.

アミノ酸別の比較をすると, 無窒素区より地上部乾物重, 地上部窒素含量の増加がみられたのは, アラニン, アスパラギン, アスパラギン酸, グルタミン, グルタミン酸で, 特にイネやチンゲンサイでは, グルタミンやアスパラギンの地上部窒素含量は無機態窒素区よりも増加した. 一方,

システイン, メチオニン, ロイシン, バリンでは地上部乾物重や地上部窒素含量で無窒素区より低下がみられた. また, ヒスチジン, プロリン, トリプトファンは, 作物の種類によって生育の影響が異なった. これまでのアミノ酸投与に関する無菌条件下で行った試験では, 無機態窒素源よりも生育が促進したアミノ酸として, 根粒菌を接種してい



第2図 異なる窒素源と窒素濃度におけるイネ幼植物の直径別の根長。

同一窒素源内の同一記号は Tukey-Kramer 法 (5%水準) により有意差が無いことを示す。

ないエンドウマメでアスパラギン酸, グルタミン酸 (Virtanen・Linkol 1946), クローバーでアラニン, アスパラギン酸, グルタミン酸, トマトでアラニン, 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 (Ghosh・Burris 1950) などが報告されている。また, イネにおいては, 森 (1979) が有菌状態ではあるが成熟期まで栽培しており, 本試験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, リジンについては本試験の結果と違いがみられた。本試験では, リジンを供与すると地上部乾物重は無窒素区より低下したが, 森らの試験では生育促進を示していた。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乾物重の増加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, 有菌, 無菌の試験条件の他, 生育ステージの違いも関与していることが考えられた。

次に, 植物生育へのアミノ酸別の影響をさらに詳細に検討するため, 無窒素区より地上部乾物重, 地上部窒素含量が高まったアミノ酸 (グルタミン, アラニン) と低下したアミノ酸 (セリン, バリン) を用いて窒素濃度を変えた試験を行った。対照を無機態窒素のアンモニアとし, 供試作物はアミノ酸に対する生育差が大きかったイネを用いた。これまでの報告から, アンモニアは細胞内に高濃度存在すると濃度障害をおこし生育阻害を示すこと (三井・熊沢 1964) や, 窒素施肥量が多いほ場におけるイネの根群は小型化すること (川田 1982) が明らかとなっている。本試験でも, アンモニアで生育したイネの地上部乾物重, 地上部窒素含量は, 窒素濃度 0.5~5 mM ではほぼ同等であり, 窒素濃度 8 mM では低下した。一方, グルタミンで生育したイネは窒素濃度の増加に伴い地上部乾物重, 地上部窒素

含量は増大した。グルタミンは植物体内に多く存在する遊離アミノ酸でもあり, 無機態窒素を代謝する際に最初に同化されるアミノ酸である。したがって, 窒素源としてグルタミンを吸収してもアンモニアのような毒性がないため, 植物体内で濃度が高くても濃度障害をおこさないと考えられる。さらに, グルタミンで生育したイネは, アンモニアと異なり, 地上部のみでなく, 種子根や側根など地下部の発達もみられた (第2図)。窒素同化に光合成産物を必要としないグルタミンは, アンモニアに比べて効率的に利用されることが予想され, 特に地下部の発達に有利であると考えられる。アラニンで生育したイネの地上部は, 窒素濃度 5 mM まではアンモニアで生育したイネと同等で, 窒素濃度 8 mM ではアンモニアより優った。また, 地下部は窒素濃度の増加によりアンモニアのような低下は見られなかったが, 地上部, 地下部の生育ともグルタミンで生育したイネより劣っていた。アラニンも TCA 回路で生成されるアミノ酸であり, 吸収されたアラニンが, 植物体内で代謝され, アラニン由来の窒素が窒素源として有効に利用され, アンモニア並みの生育をしたものと考えられる。しかし, グルタミンほどの生育促進が見られなかったのは, アラニンが窒素同化の最初のアミノ酸ではないことから, グルタミンより劣ったと考えられる。

一方, セリン, バリンで生育したイネ幼植物は, 生育の阻害がみられた。セリンは, 解糖経路内の 3-ホスホグリセリン酸と光呼吸内でグリオキシル酸へのアミノ転移による経路により合成される。バリンは, ピルビン酸およびスレオニンからスレオニンデヒドラターゼによってつくられる 2-オキソ酪酸が基質となる (平井・斉藤 2001)。セリン, バリンはグルタミン, アラニンと比べて, アミノ酸生成経路の末端で生成されるアミノ酸であるため, 植物に吸収されてもそれを代謝できず植物体内で濃度が上がり, 生育を阻害したものと考えられる。また, バリンはセリンより低

濃度で阻害がみられたが、これは、セリンは解糖経路内でも合成されるため、低濃度では代謝され阻害はないが、バリンの合成は葉緑体内行われるため、地下部では代謝できず、蓄積され阻害がおこったのではないかと推測される。アミノ酸を直接圃場に投与した場合の、作物のアミノ酸利用率は、土壤微生物との競合もあり、数%との報告(山室ら 1999)もある。しかし、アラスカのツンドラの湿地など、無機態窒素よりアミノ酸態窒素が多く存在する環境下の植物は、アミノ酸を窒素源にしたときに最も良く生育する(Chapin et al 1993, Nasholm et al. 1998)ことも明らかになっている。さらに同様な条件で生育する高山植物(Raab・Lipson 1999)、牧草(Weigelt・Bardgett 2005)についてもアミノ酸の積極的な利用など、野外で生育する植物が有機態窒素を利用していることが報告されている。本実験は無菌栽培によるモデル試験であるが、普通作物のイネやコムギを用いた本試験でも、グルタミンなどいくつかの種類のアミノ酸では無機態窒素と同様に窒素源として生育することが十分可能であると考えられた。一方、バリンなど、低濃度からでも生育を阻害するアミノ酸が存在することも明らかにした。今後、堆肥や動植物遺体等を多用する場面では、タンパク質やペプチドなどの有機態窒素から供給されるアミノ酸の存在が作物の生育にとってますます重要になると予想される。したがって、アミノ酸と無機態窒素の植物生育に与える違いや、アミノ酸別の植物体内における代謝等について更なる検討が必要であると考えられる。

引用文献

- Chapin, F.S. III, Moilanen, L. and Kieland, K. 1993. Preferential use of organic nitrogen for growth by a non-mycorrhizal arctic sedge. *Nature*. 361 : 150-153.
- 藤原彰夫・黒沢諦 1961. たばこに及ぼす核酸物質施用の影響. 土肥誌. 32 : 315-318.
- Ghosh B.P., Burris R.H. 1950. Utilization of Nitrogenous Compounds by Plants. *Soil Science*. 70 : 187-203.
- 平井優美・斉藤和季 2001. 5.4 アミノ酸代謝. 山谷知行編, 代謝. 朝倉書店, 東京. 59-67.
- 川田信一郎 1982. 写真図説イネの根. 農文協, 東京. 74-77.
- 松本真悟 2003. 土壌の可給態窒素の実態と植物によるその特異的吸収. 島根農試研報 34 : 1-46.
- 三井進午・熊沢喜久雄 1964. 水稻根の生長に及ぼす各種窒素化合物, 特に硝酸態及びアンモニア態窒素の影響について. 土肥誌. 35 : 119-122.
- 森敏 1979. 植物の無機栄養説批判. 東京大学博士論文(国立国会図書館, 博士論文目録 UT51-56-J253).
- 森敏 1986. リボ核酸の裸麦の生育に対する顕著な肥効. 土肥誌. 57 : 171-178.
- Nasholm T., Ekblad A., Nordin A., Giesler R., Hogberg M. and Hogberg P. 1998. Boreal forest plants take up organic nitrogen. *Nature*. 392 : 914-916.
- 西澤直子 1992. 栄養ストレスと作物根の超微細構造に関する研究. 土肥誌. 63 : 263-265.
- Raab T.K., Lipson D.A. 1999. Soil Amino Acid Utilization among Species of the Cyperaceae. *Plant and Soil Processes. Ecology*. 80 : 2408-2419.
- 佐藤紀男・菅野義忠 1985. 水田における有機物と土壌改良資材の施用効果に関する研究. 福島農研報 24 : 1-15.
- Spoerl E., 1948. Amino Acids As Sources of Nitrogen for Orchid Embryos. *American Journal of Botany*. 35 : 88-95.
- 高橋英一 1979. 植物の栄養と環境 [21]. 農及園 54 : 1176-1182.
- Virtanen A.I., Linkol H. 1946. Organic Nitrogen Compounds as Nitrogen Nutrition for Higher Plants. *Nature*. 515 : 158.
- Weigelt A., Bardgett R.D. 2005. Preferential uptake of soil nitrogen forms by grassland plant species. *Oecologia*. 142 : 627-635.
- 山縣真人・中川建也・阿江教治 1997. ^{15}N 利用による米ぬか窒素吸収の植物間比較. 土肥誌. 68 : 291-294.
- 山室成一・上野秀人・高橋茂 1999. 水田および畑土壌における遊離アミノ酸の ^{13}C , ^{15}N トレーサー法による動態解析. 土肥誌. 70 : 739-746.

Initial Growth of Some Crops Grown in Amino Acid as Nitrogen Source under Aseptic Condition : Naoto NIHEI¹⁾, Sayaka MASUDA²⁾, Keitaro TANOI²⁾, Hiroki RAI³⁾ and Tomoko M. NAKANISHI²⁾ (¹⁾ Fukushima Agricultural Technology Center, 116 Shimonakamichi Takakura Hiwadamachi Kooriyama-shi Fukushima Japan; ²⁾ The University of Tokyo; ³⁾ Akita Prefectural University)

Abstract : The influence of the organic nitrogen on the growth of five plant species cultured in solution was examined. One amino acid selected from 20 amino acids that constitute protein was added to the culture solution as a sole nitrogen source. The growth of rice and chingensai (green pak choi, *Brassica rapa* var. *chinesis*) greatly varied with the kind of amino acid. The growth difference was smaller in wheat and cucumber than in rice or chingensai. However, the growth of soybean was not affected by the kind of amino acid. Asparagine and glutamine had a greater effect on growth than inorganic nitrogen. On the other hand, cysteine, methionine, and valine reduced the growth and nitrogen content of shoot. Then, five kinds of amino acids were selected to study the influence on the growth of rice seedlings. Glutamine increased the weight and nitrogen content of the shoot with the increase of concentration. Serine and valine was suppressed the growth of rice even at a low concentration. Since glutamine is an amino acid synthesized in the plant fertilized with inorganic nitrogen, it was suggested that glutamine was efficiently used as a source of nitrogen even at a high concentration. On the other hand, serine and valine are synthesized at the late stage of amino acid production. Therefore, it seems that they were not metabolized or accumulated in the roots, and inhibited rice growth.

Key words : Alanine, Amino acid, Glutamine, Nitrogen concentration, Rice, Serine, Valine.