

図 5-5-1 ¹⁵N 標識アミノ酸を吸収させたイネ幼植物中の 24 時間後の ¹⁵N の形態

第六章 総合考察

1 研究の発端

化学肥料の多投や農薬の使用による環境負荷が懸念される中、将来に渡る持続的な食糧生産を維持するため、環境にやさしい有機農業が見直されつつある。有機農業では、有機質肥料の肥効発現が作物の収量や品質に大きな影響を与えるが、その効果は、個々の経験による部分が大きく、安定した肥効が得られないことも多い。有機農業による農産物生産を普及・拡大するためには、科学的根拠に基づいた施肥技術を提示し、肥料の効果を効率的に引き出すことにより、農業者が有機農業に取り組みやすくする必要が考えられる。

作物栽培において生育を最も大きく左右する養分は窒素であるが、従来、有機質肥料の窒素肥効を予測する試みは、リービッヒの無機栄養説に基づき、土壤微生物の分解により完全に無機化した NH₄⁺、NO₃⁻ を測定することが行われている。その一方で、土壤中生成した無機態窒素量と作物の生育が比例していない事例 (Matsumoto 1999) や、ツンドラ地帯の森林や牧草がアミノ酸を積極的に吸収・利用している報告 (Chapin et al. 1993, Nasholm et al. 1998) もあり、無機化された窒素のみを評価する従来の方法で有機質肥料を施用した土壤をはたして適切に評価できているのかについて疑問をもった。

有機質肥料は土壤に施用された後、微生物の分解によりタンパク質、ペプチド、アミノ酸を経て最終的に無機

態窒素となる。したがって、有機質肥料を使用する有機栽培圃場では、化学肥料を施用する慣行栽培より、その分解過程で生成する低分子の有機態窒素が多く存在している。しかし、実際の有機栽培作物や今後普及が期待できる作物について、有機態窒素の生育への影響、吸収特性、吸収後の代謝に関する研究はこれまでほとんど行われていなかった。

そこで本研究では、植物別の有機質肥料の効果解明に向け、タンパク質の構築単位であり有機態窒素の無機化過程で必ず生成されるアミノ酸の植物による直接利用について解析を行い、植物へのアミノ酸直接吸収と、吸収したアミノ酸の植物体内での利用の経路を特定し、また無機態窒素を吸収した場合との相違点などについて検討した。

2 植物生育に対する有機態窒素の影響

有機栽培がよく行われる植物について、数種類の有機質肥料を施用した栽培試験を行った結果、有機質肥料の効果は植物の種類により大きく異なり、イネ、コムギ、チンゲンサイは有機質肥料の施用効果が高く、キュウリ、トマト、ピーマンでは低いという結果が得られた。Matsumotoら (1999) によると、陸稲、チンゲンサイ、ソルガム、ニンジン是有機質肥料施用の効果が高いとしており、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。

地上部同様、特に根系の発達について、植物や有機質肥料の種類で大きく異なり、特にイネとコムギでは有

機質肥料を施用すると根系も非常によく発達するという結果が得られた。本試験は、ポット試験であったが、実際の有機実践農家の経験や、福島県農業総合センターで実際に有機栽培したイネの根(図6-1)の生育がよかった事例とも合致しており、有機物や有機質肥料を施用すると根系が旺盛に発達することが実証できた。

この試験において、土壌の無機態窒素量と植物の窒素吸収量を比較した結果、キュウリでは無機態窒素量と窒素吸収量に高い相関がみられたが、イネ、チンゲンサイでは相関はなく、特に、有機質肥料施用区では無機態窒素施用区より生育期間を通しての土壌の無機態窒素量が少ないにもかかわらず、イネの窒素含有量は多く、イネは無機態窒素のみではなく、有機態窒素も吸収して生育していることが示唆された。

次に有機態窒素の無機化過程で必ず生成されるアミノ酸を単一窒素源として無菌栽培を行った。その結果、アミノ酸の種類によってはアミノ酸単独であっても作物は生育可能であり、アミノ酸の種類によっては向き態の窒素と同等もしくはそれ以上の生育を示すことが明らかになった。特にイネ、チンゲンサイではアミノ酸の種類で生育に対して正負の大きな影響が見られ、また、グルタミンやアスパラギンでは特に種子根や側根の生長促進が見られ、細胞分裂が活発な根端において主に吸収、蓄積していることが明らかになった。

酸素の供給が制限される還元状態や低温では、微生物活性が下がり、有機物の完全分解が起らず、アミノ酸や有機酸といった低分子の有機物が蓄積しやすいことが従来指摘されている。イネは還元状態で生育してきた植物であり、チンゲンサイやコムギは冬作物であることから、そのような環境に適応していく過程において有機態窒素をより有効に利用する形質を獲得してきたであろうことが示唆される。

3 植物生育に対するアミノ酸種類の影響

アミノ酸の生育への影響は種類によって一様ではなかった。一部のアミノ酸が無機態窒素と同等の生育を示す一方で、アミノ酸によっては強い生育阻害を引き起こすなど、生育に対して正負の大きな影響が見られた。無機態窒素以上の生育を示したのはグルタミンで、無機態窒素とほぼ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、プロリンで得られた。逆に強い生育阻害はトリプトファン、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。

生育が良好であったグルタミン、アラニン、阻害したバリンについて、吸収や代謝実験を行った結果、アミノ酸を吸収した後の代謝の概要は図6-2のように考えられた。

吸収されたグルタミンは、アンモニイオンの窒素同化とほぼ同様にGS-GOGAT経路に取り込まれ、グルタミン酸、アスパラギン酸へアミノ基が転移し、他のアミノ酸合成の窒素源として使用されたと考えられ、アラニンを吸収したイネ幼植物では、吸収されたアラニンはグルタミンにアミノ基を転移させ、その後はグルタミンと同様な代謝経路となっていると考えられた。一方、バリンは、代謝して生成される遊離アミノ酸がロイシンのみであり、他のアミノ酸等へは代謝が進まないため体内で蓄積してしまい、生育を阻害したものと推測された。

以上の結果から、植物はいずれの種類のアミノ酸も吸収するが、吸収後の代謝過程により、植物生育により影響を与えるかどうかが決まると推察される。

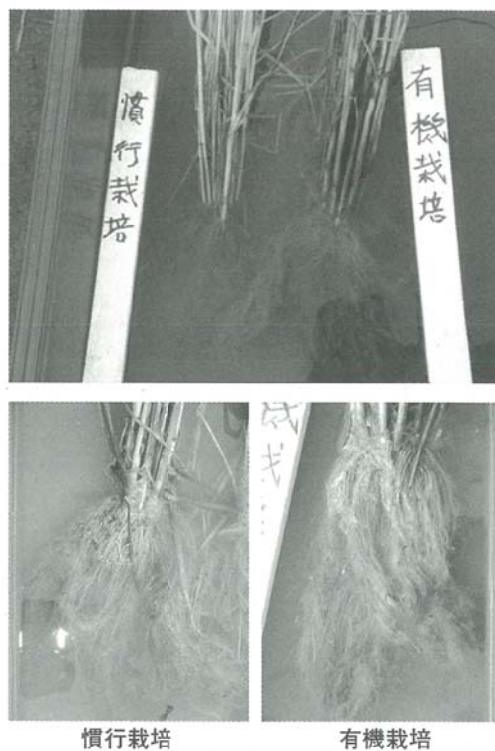


図 6-1 福島県農業総合センターで栽培された慣行栽培と有機栽培のイネの根

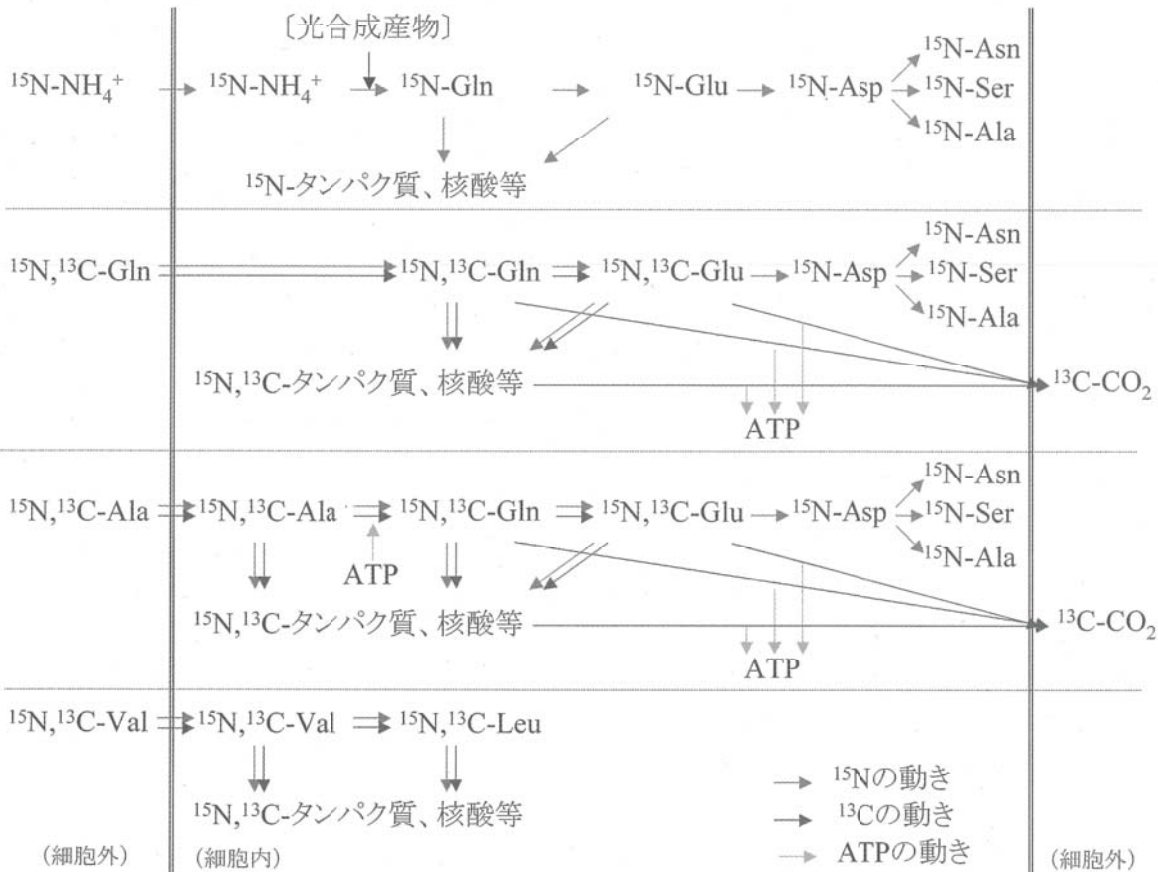
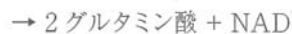
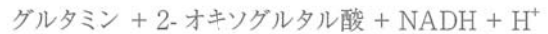
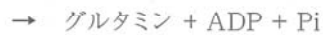
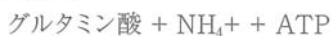


図 6-2 ^{15}N 標識アミノ酸を吸収させたイネ幼植物中の 24 時間後の ^{15}N の形態

4 有機態窒素の特徴

植物にとっての有機態窒素を利用するとなぜ生育が無機態窒素よりも促進されたりするのか?特に根系の発達には明らかに促進されている。その要因を明らかにするため、安定同位体標識のアミノ酸によるトレーサー実験を行った。グルタミン態窒素はアンモニウムイオンと比較すると、地下部での存在率が高く、90%近くが遊離アミノ酸として存在せず、タンパク質合成等に利用されていたと思われる。グルタミン態窒素は、窒素同化の最初の段階において地上部からの光合成産物を必要とせず、地上部からの同化産物の供給に制限されことなくタンパク質や核酸などに比較的早く変換できることが示唆された。また、グルタミン態炭素は、24 時間後には半分以上が植物体から失われており、窒素をアミノ基転移により利用した後は、TCA サイクル等を経由し、二酸化炭素として放出されることが示唆された。

吸収したアミノ酸の炭素部分の呼吸により得られるエネルギーは、試算の結果、植物全体の生長に必要なエネルギーの 4.1 ~ 9.4% に相当することが明らかになった。無機態窒素は吸収後、グルタミンに変換されるのに、以下のように



地上部の同化産物 (TCA 回路) からの 2-オキシグルタル酸や ATP および NADH (もしくは Fd red) が必要である。それに対し、アミノ酸を吸収した場合これらの同化産物及びエネルギーを必要とせず、さらには炭素部分の呼吸によりエネルギーが供給される。

同化産物などの節約のみならず、エネルギー源としても使われることは植物の生育促進において非常に大きく、このような効果により地下部の生育が促進されたと考えられる。

以上のように、グルタミンは地上部からの同化産物を使用せずに速やかに窒素をタンパク質合成へ使用することが可能であり、さらに、炭素部分の呼吸によりエネルギーを得ることができるため、特に地下部において、取り込んだ窒素を根系発達に効率よく利用できていると結論づけられた。

有機農業で栽培した植物は根系の発達がよいことや、冷害時でも安定して収量が得られることが経験則的に知られている。この要因として、これまで、有機質肥料による土壌物理性の改良や、微生物相の多様化による

生物性の改善(新田 1986)、有機酸の溶出(麻生 1971)などが指摘されているが、それに加え本研究の結果により、有機質肥料から分解されるアミノ酸が、窒素源としてのみならず、光合成産物(炭素源)の一部を代替することにより植物栄養面から根系発達を促している可能性を示すことができた。現場レベルでの吸収実験が必要であるが、有機質肥料の効果の解明につながる成果であると考えられる。

5 有機農業におけるアミノ酸の寄与について

本結果より、植物によってはいくつかのアミノ酸を窒素源としての生育が可能であり、無機態窒素以上の生育も可能であることが示された。本試験の結果から、有機態窒素の価値、および有機質肥料の効果的な利用に対する課題を考える。

水田土壌での遊離アミノ酸態窒素はアンモニア態窒素に対しておおよそ1/5から1/100であるが、土壌100g当たり窒素として0.1~1mg(70 μ mol~700 μ mol/kg soil)で存在している。土壌中では多くの種類のアミノ酸が低濃度で混在しており、主要なアミノ酸は、アラニン、グリシン、セリン、グルタミン酸、アスパラギン酸、 γ -アミノ酪酸が多いことが示されている(加藤 1970、佐藤 1984)。

しかし、アミノ酸を土壌に施肥し、その施用効率の低さから植物のアミノ酸吸収に関して否定的な報告もある(D. L. Jones et al. 2005、山室ら 1999)。これらの報告は、アミノ酸をそのまま施用したという実験であり、アミノ酸を直接一度に施用しても微生物の分解を受けて無機化してしまうことで、投入量に対し、施用効率は当然低くなる。

その一方で、アンモニア態窒素が著しく低下する時期でも土壌中のアミノ酸量は、低濃度であるが一定のレベル(70~140 μ mol/kg soil)を保っている報告(高橋 1979)や、堆肥の施用で土壌中のアミノ酸含量が、化学肥料区の1.2~1.6倍に増加する報告(佐藤 1984)もある。また、加藤(1970)は、水田土壌の透水性中の遊離アミノ酸濃度は56 μ Mであり、圃場でのアミノ態窒素の値をもとに含水比70%として換算すると70~600 μ Mとなると報告している。したがって、水田土壌中の標準的な各アミノ酸濃度は1~50 μ Mと考えられ、4章で行った放射性同位体アミノ酸を用いたトレーサー実験の結果から、植物はアミノ酸を吸収していることが予想される。

また、土壌微生物のアミノ酸に対する K_m 値7.2~233 μ M(D. Lipson et al. 2001)と比較しても、本研究で得られたイネの K_m 値は54~200 μ Mであり、土壌微生物を競合しながらも吸収できることが可能であると

みなされた。

有機質肥料を積極的に施用する有機農業では、土壌中のアミノ酸量も有意に増加し、従来の研究からはその濃度も持続的に維持されると考えられ、窒素の供給源の一翼を担っていることが強く示唆される。

本研究により、土壌のアミノ酸濃度を高める堆肥や有機質肥料を施用する有機農業の施肥管理技術の確立には、窒素の無機化量だけでなく、分解過程で生成するアミノ酸がより一層重要な要因になることが明らかとなった。

今後、有機質肥料の施用においては、

- (1) 無機態窒素に加え、アミノ態窒素のモニタリング
- (2) 有機質肥料の分解により供給される有効アミノ酸率や阻害アミノ酸率などの指標の導入
- (3) 有機質肥料に効果のある作物の体系的な分類が重要であることが示され、これらをより詳細に検討することで効率的な有機質肥料の種類やその施用法を示していくことにより、確実に効果のある有機農業の実践が可能になると考えられる。

第七章 摘要

有機質肥料の効果解明への第一歩として、有機態窒素の無機化過程で必ず生成されるアミノ酸の植物による直接利用について、植物へのアミノ酸直接吸収と、吸収したアミノ酸の植物体内での利用経路について検討した。

1. 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

- (1) 有機栽培がよく行われる植物について、数種類の有機質肥料の効果を調べるために栽培試験を行った。栽培試験の結果、有機質肥料の効果は植物の種類により大きく異なり、イネ、コムギ、チンゲンサイは有機質肥料の施用効果が高く、キュウリ、トマト、ピーマンでは低かった。また根系の発達も、地上部同様、植物や有機質肥料の種類で大きく異なり、特にイネとコムギでは有機質肥料を施用すると根系も非常によく発達した。
- (2) 土壌の無機態窒素量と植物の窒素吸収量を比較すると、キュウリでは無機態窒素量と窒素吸収量に高い相関がみられたが、イネ、チンゲンサイでは相関はなかった。特に、有機質肥料施用区では無機態窒素施用区より生育期間を通しての土壌の無機態窒素量が少ないにもかかわらず、イネの窒素含有量が多いという結果が得られ、イネが無機態窒素のみではなく、有機態窒素をも吸収して生育していることが示唆された。

2. アミノ酸を単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

- (1) タンパク質を構成するアミノ酸 20 種類を窒素源として、5 種類の植物（イネ、コムギ、チンゲンサイ、ダイズ、キュウリ）を無菌的に栽培した。その結果、ダイズはアミノ酸の種類により、生育に大きな差は見られなかったが、イネ、チンゲンサイ、コムギ、キュウリでは一部のアミノ酸が無機態窒素と同等の生育を示す一方で、アミノ酸によっては強い生育阻害を引き起こすなど、生育に対して正負の大きな影響が見られた。イネ幼植物で無機態窒素以上の生育を示したのはグルタミンで、無機態窒素とほぼ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、プロリンで得られた。逆にトリプトファン、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は強い生育阻害が見られた。
- (2) 根系発達に関してもアミノ酸の影響が強く見られた。イネでは、グルタミン、アスパラギンの施用で種子根や側根の生長が旺盛になった。本結果より、植物によ

てはアミノ酸を窒素源としての生育が可能であり、無機態窒素以上の生育も可能であることが示された。また生育がよかったアミノ酸はいずれも植物体内に比較的多く含まれるアミノ酸であることから、植物がアミノ酸を直接吸収し、速やかに代謝、利用していることが予測された。

3. アミノ酸の直接吸収の証明、吸収過程のリアルタイムイメージングおよび吸収速度、特性の解析

- (1) イネ幼植物を用い、アミノ酸の直接吸収の証明を試みた。地下部に加え、地上部でも二重標識グルタミンの存在が確認されたこと、栽培後の溶液中には無機態窒素や他のアミノ酸などが検出されなかったことから、溶液中のグルタミンは根から直接吸収されることを明らかにすることができた。
- (2) アミノ酸の吸収過程や吸収部位を検討するため、植物体中の物質動態を非破壊的にリアルタイムで画像化するリアルタイムオートラジオグラフィシステムを用い、連続的なアミノ酸吸収のイメージングをおこなった。イネの根が溶液中のグルタミンやアラニンを吸収する過程を撮影し、画像解析から、アミノ酸の吸収及び利用活性が主に根端部分において高いことが示された。
- (3) アミノ酸の吸収は膜輸送を介していると考えられることから、グルタミンとアラニンの溶液濃度を変えた吸収実験を行った。吸収速度はミカエリス・メンテン式にあてはまり、グルタミンの K_m 値は $199.7\mu\text{M}$ 、 V_{max} 値は $2.9\mu\text{mol/g/h}$ 、アラニンの K_m 値は $54.0\mu\text{M}$ 、 V_{max} 値は $1.2\mu\text{mol/g/h}$ であった。
- (4) アミノ酸は、 $10\mu\text{M}$ 以下という低濃度でも積極的な吸収を示したことから、土壌中のアミノ酸が微量な場合でも吸収できる可能性が示された。
- (5) 植物がどのような条件でこのアミノ酸吸収機構を発現しているかを検討するため、異なる窒素環境（グルタミン、 NH_4^+ 、無窒素）で生育したイネ幼植物のグルタミン吸収を測定した。その結果、いずれの処理においても減少率、吸収量に差はみられず、グルタミン吸収に関与する能動輸送のシステムは、窒素欠乏や根圏のグルタミンに反応して発現するのではなく、常時発現しているものと推察された。

4. 吸収したアミノ酸の代謝と植物体内の蓄積分布の解析

- (1) イネ幼植物は、吸収量に差はあるがいずれの種類のアミノ酸も吸収した。
- (2) 吸収されたグルタミンは、グルタミン酸、アスパラギン酸へアミド基が転移し、他のアミノ酸合成の窒素源として使用されたと考えられた。また、吸収されたアラニンはグルタミンにアミノ基を転移させ、その後はグル

タミンと同様な代謝経路となっていると考えられた。

- (3) グルタミンとして吸収された窒素は、窒素同化の最初の段階において地上部からの光合成産物を必要しないことから、地上部からの同化産物の供給に制限されることなく生育に貢献できることが考えられる。
- (4) グルタミンで吸収した炭素は、24時間後には約半分が植物体から消失しており、窒素をアミノ基転移により利用した後は、呼吸により二酸化炭素として放出されることが示唆された。
- (5) 吸収されたグルタミンから得られるエネルギーは生長に必要なエネルギーの4.1~9.4%に相当した。生育に必要な全エネルギーからグルタミンの分解で得たエネルギーを差し引いた量は、アンモニアで生育したイネ幼植物と同等になるため、グルタミンの吸収及び代謝にはエネルギー消費が少なく、グルタミンから得られるエネルギーが、そのまま生育にプラスされたと考えられる。
- (6) グルタミンは地上部からの同化産物を使用せずに速やかに窒素をタンパク質合成へ使用することが可能であり、呼吸により炭素部分も使用することで、特に地下部において取り込んだ窒素を根系発達に効率よく利用することが、無機態窒素との異なる点と考えられた。
- (7) 吸収されたバリンは、代謝して生成されるアミノ酸がロイシンのみであり、他のアミノ酸等へは代謝が進まないため体内で蓄積してしまい、生育を阻害したものと推測された。
- (8) 本研究により、土壌のアミノ酸濃度を高める堆肥や有機質肥料を施用する有機農業の施肥管理技術の確立には、窒素の無機化量だけでなく、分解過程で生成するアミノ酸の植物生育への影響がより一層重要な要素になることを明らかにした。

謝 辞

本研究の過程において、終始的確で示唆に富んだご指導と格別のご鞭撻を賜った東京大学大学院中西友子教授に、深甚なる感謝を捧げます。

秋田県立大学頼泰樹助教には、研究の取り組みから論文作成まで、長期間にわたりひとかたならぬご指導と、親身なご助言、力強い励ましを賜りました。心から感謝申し上げます。

菅家文左衛門博士には、本研究に取り込むきっかけを作って頂き、研究を進める上では具体的な示唆とご指導を多く頂きました。謹んで謝意を表します。東京大学大学院田野井慶太郎助教には、本研究における議論・検討に当たって、ご教示ならびに丁寧なご指導を終始いただきました。厚く御礼申し上げます。

本研究を進めるについては、多くの方々のお世話になりました。実験でひとかたならぬご協力をいただいた東京大学大学院増田さやか氏、野田章彦氏、放射線植物生理学研究室の皆様には、深く感謝申し上げます。

本研究は福島県職員として働きながらまとめたものです。松川裕福島県農林水産部次長には、本研究を進める上で、多大なる励ましとご配慮をいただきました。酒井孝雄農林水産部研究開発室長、園田高広博士には、有機農業における現場での問題点、実験上のアドバイスを頂きました。大和田正幸部長には、論文をまとめるにあたり貴重なご意見を賜りました。岡徳三所長、荒川市郎部長、瓜田章二博士、遠藤あかり氏、大橋一博氏、渡邊かよ子氏、鈴木健一氏、佐藤麗華氏、佐野智子氏、作物園芸部畑作科の皆様をはじめ福島県農業総合センターの方々には業務のかたわら、本論文をまとめるにあたり、暖かい励ましとご協力を頂きました。厚く御礼申し上げます。

そして何より、本研究は、家族の理解と支えのおかげで遂行できたものです。社会人としての研究生活を誰よりも励まし、丈夫な体を授けてくれた母と、研究過程で病に倒れてしまいましたが、研究を続ける勇気を与えてくれた父に感謝いたします。

最後に、研究の全期間を通じ、苦勞をかけた妻すみ子に心からの感謝をいたします。

引用文献

第一章

- 山室成一, 1988, 水田における窒素の動態に関する¹⁵Nトレーサー法の理論的展開, 土肥誌, 59, 538-548
- 上野正夫, 佐藤之信, 熊谷勝己, 大竹俊博, 1990, 速度論的解析法による土壌窒素発現予測システム, 土肥誌, 61, 273-281
- Mattingly, G.E.G. 1973 The Woburn organic manuring experiment. II. Design, crop yields and nutrient balance, 1964-72. Rothamsted Exp. Stat. Rep., 98-133
- Matsumoto S., Ae N., Yamagata M., 1999 Nitrogen uptake response of vegetable crops to organic materials, Soil Sci. Plant Nutr., 45 269-278
- Nemeth K., Bartels M., Vogel M., and Mengel K. 1988 Organic nitrogen compounds extracted from arable and forest soils by electro-ultrafiltration and recovery rates of amino acids. Biol. Fert. Soils 5, 271-275
- Virtanen A. I., Linkol H. 1946 Organic Nitrogen

- Compounds as Nitrogen Nutrition for Higher Plants, *Nature* 515 158
- Ghosh B.P., Burris R.H. 1950 Utilization of Nitrogenous Compounds by Plants, *Soil Science* 70, 187-203
- 榎 鏞吉・山口益郎・奥田東 1966 無菌液耕培養下での水稲幼植物の生育に及ぼすアミノ酸の影響. 高等植物の生育に及ぼす有機物の影響(第2報) 土壤肥料学会誌 第37号 311-314
- 森敏 1979 植物の無機栄養説批判 東京大学博士論文
- 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
- 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
- 三井進午 1962 水稲の冷害防止に対する核酸の有効性に関する研究, *土肥誌*, 33, 497-500
- 輪田潔 1959 水稲の出穂遅延に対する核酸施用の有効度について, *日作紀*, 27, 171-172
- 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
- Kieland, K. 1994 Amino acid absorption by arctic plants: implications for plant nutrition and nitrogen cycling, *Ecology*, 75, 2373-2383
- Lipson D., Nasholm T., 2001 The unexpected versatility of plants: organic nitrogen use and availability in terrestrial ecosystems, *Oecologia*, 128, 305-316
- 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
- Nordin A., Hogberg P, Nasholm T., 2001 Soil nitrogen form and plant nitrogen uptake along a boreal forest productivity gradient, *Oecologia*, 129, 125-133
- T.K. Raab, D.A. Lipson, 1999, Soil Amino Acid Utilization among Species of the Cyperaceae: Plant and Soil Processes, *Ecology*, 80, 2408-2419
- Nasholm T., K. H. Danell, P. Hogberg, 2000, Uptake of organic nitrogen in the field by four agriculturally important plant species, *Ecology*, 81, 1155-1161
- Weigelt A., R.D. Bardgett, 2005, Preferential uptake of soil nitrogen forms by grassland plant species, *Oecologia*, 142, 627-635
- 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, 63, 263-265
- Hirner A., F. Ladwing, H. Strnsky, S. Okumto, M. Keinath, A. Harms, W. B. Frommer, W. Koch, 2006, Arabidopsis LHT1 Is a High-Affinity Transporter for Cellular Amino Acid Uptake in Both Root Epidermis and Leaf Mesophyll, *The Plant Cell*, 18, 1931-1946
- Lee Y. H., J. Foster, J. Chen, L. M. Voll, A. P. N. Weber, M. Tegeder, 2007, AAP1 transports uncharged amino acids into roots of Arabidopsis, *The Plant Journal*, 50, 305-319
- Rai H., Kanno S, Hayashi Y, Ohya T., Nihei N., Nakanishi T., 2008 Development of real-time autoradiography system to analyze the movement of the compounds labeled by β -ray emitting nuclide in a living plant. *Radioisotope in press*.

第二章

(第一節)

Mattingly, G.E.G 1973 The Woburn organic manuring experiment. II. Design, crop yields and nutrient balance, 1964-72. Rothamsted Exp. Stat. Rep., 98-133

山縣真人・阿江教治・大谷卓 1996 植物の生育反応に及ぼす有機態窒素の効果 日本土壤肥料学会誌 第67号 第4号 345-353

Matsumoto S., Ae N., Yamagata M., 2000 Possible direct uptake of organic nitrogen from soil by Chingensai (*Brassica campestris* L.) and Carrot (*Daucus carota* L.). *Soil Biol. Biochem.*, 32, 1301-1310

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

Kieland, K. 1994 Amino acid absorption by arctic plants: implications for plant nutrition and nitrogen cycling, *Ecology*, 75, 2373-2383

Lipson D., Nasholm T., 2001 The unexpected versatility of plants: organic nitrogen use and availability in terrestrial ecosystems, *Oecologia*, 128, 305-316

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

Nordin A., Hogberg P, Nasholm T., 2001 Soil nitrogen form and plant nitrogen uptake along a boreal

forest productivity gradient, *Oecologia*, 129, 125-1332

- 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 鳥根県農業試験場研究報告 34 1-46
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 日本土壌肥料学会誌 第 68 号 第 3 号 291-294

(第二節)

- Matsumoto S., Ae N., Yamagata M., 1999 Nitrogen uptake response of vegetable crops to organic materials, *Soil Sci. Plant Nutr.*, 45 269-278

(第三節)

- 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 鳥根県農業試験場研究報告 34 1-46
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 日本土壌肥料学会誌 第 68 号 第 3 号 291-294
樋口太重 1981 緩衝液による有機化窒素および土壌有機態窒素の抽出特性 日本土壌肥料学会誌 第 52 号 481-489
松本真悟・阿江教治 2002 有機態窒素は本当に吸収されない? 化学と生物 40 710-712
丸本卓哉・古川謙介・吉田堯・原田登五郎 1974 土壌の易分解性有機物に対する微生物体およびその細胞壁の寄与について 日本土壌肥料学会誌 第 45 号 23-28
山根忠昭 2007 農業技術体系肥料編土壌施肥編 252-263 農文協

(第四節)

- 野村満義 1937 種々の肥料がトマトの根群に及ぼす影響 園芸学学会誌 8 (1) 178-185
新田恒雄 1986 有機物施用による根圏微生物の制御 有機物研究の新しい展望 博友社 43-84
明石和夫・長谷川功・小嶋博文・矢崎仁也 1975 植物根の生理活性物質に関する研究 (第 2 報) 水稻幼植物根の生理活性におよぼすニトロフミン酸の影響について 日本土壌肥料学会誌 第 46 号 175-179

第三章

(第一節)

- Virtanen A. I., Linkol H. 1946 Organic Nitrogen Compounds as Nitrogen Nutrition for Higher Plants, *Nature* 515 158

Ghosh B.P., Burris R.H. 1950 Utilization of Nitrogenous Compounds by Plants, *Soil Science* 70, 187-203

Spoerl E., 1948 Amino Acids As Sources of Nitrogen for Orchid Embryos, *American Journal of Botany* 35 88-95

榎 鏞吉・山口益郎・奥田東 1966 無菌液耕培養下での水稻幼植物の生育に及ぼすアミノ酸の影響. 高等植物の生育に及ぼす有機物の影響 (第 2 報) 土壌肥料学会誌 第 37 号 311-314

森敏 1979 植物の無機栄養説批判 東京大学博士論文

(第三節)

White P.R., 1937 Amino Acid in the Nutrition of Excised Tomato Roots, *Plant Physiology* 12, 793-802

Steinberg R. 1947 Growth Responses to Organic Compounds by Tobacco Seedlings in Aseptic Culture, *J. Agricultural Research* 75 81-92

Ghosh B.P., Burris R.H. 1950 Utilization of Nitrogenous Compounds by Plants, *Soil Science* 70, 187-203

森敏 1979 植物の無機栄養説批判 東京大学博士論文
Spoerl E., 1948 Amino Acids As Sources of Nitrogen for Orchid Embryos, *American Journal of Botany* 35 88-95

川田信一郎 1982 写真図説イネの根 農村漁村文化協会 74-77

Zhang H.M., Forde B.G. 1998 An Arabidopsis MADS box gene that controls nutrient-induced changes in root architecture. *Science* 279 407-409

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 土壌肥料学会誌 第 35 巻 119-122

Filleur S., Walch-Liu P., Gan Y., Forde B.G. 2005 Nitrate and glutamate sensing by plant roots., *Biochemical Transactions* 33 283-286

Muller A., Hillenbrand H., Weiler E.W., 1998 Indole-3-acetic acid is synthesized from L-tryptophan in roots of *Arabidopsis thaliana*. *Planta* 206 362-369

(第四節)

榎 鏞吉・山口益郎・奥田東 1966 無菌液耕培養下での水稻幼植物の生育に及ぼすアミノ酸の影響. 高等植物の生育に及ぼす有機物の影響 (第 2 報) 土壌肥料学会誌 第 37 号 311-314

第四章

(第一節)

- Nasholm T., K.H.Danell, P.Hogberg 2000 Uptake of organic nitrogen in the field by four agriculturally important plant species, *Ecology* 2000, 81 (4), 1155-1161
- Weigelt A., Bol R., R.D.Bardgett 2005 Preferential uptake of soil nitrogen forms by grassland plant species, *Oecologia* 142 627-635
- Nasholm T., J. Persson 2001 Plant acquisition of organic nitrogen on boreal forests, *Physiologia Plantarum* 111, 419-426
- Persson J., T. Nasholm 2001 A GC-MS method for determination of amino acid uptake by plants 113, 352-358
- Nasholm T., K.H.Danell, P.Hogberg 2001 Uptake of glycine by field grown wheat, *New Phytologist* 150, 59-63
- Nasholm T., A. Ekblad, A. Nordin, R. Giesler, M. Hogberg, P. Hogberg 1998 Boreal forest plants take up organic nitrogen, *Nature* 392, 914-916
- Ohlund J., T. Nasholm 2001 Growth of conifer seedlings on organic and inorganic nitrogen sources, *Tree Physiology* 21, 1319-1326
- 森田明雄、田中辰明、原野雅子、横田博実 2004 水耕栽培条件下でのチャにおけるアミノ酸吸収, 土肥誌 75 (6), 678-684
- 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¹³C,¹⁵Nとレーザー法による動態解析, 土肥誌 70 (6), 739-746
- Orte P.H., M.J.Ibarz, J. Cacho, V.Ferreira 2003 Amino Acid Determination in Grape Juices and Wines by HPLC Using a Modification of the 6-Aminoquinolyl-N-Hydroxysuccinimidyl Carbamate (AQC) Method, *Chromatographia* 58, 29-35

(第二節)

- Clarkson, D. T. and Sanderson, J. 1978 *Plant Physiol.*, 61, 731-736
- Colmer T. D. and Bloom A. J. 1998 A comparison of net NH₄⁺ and NO₃⁻ fluxes along roots of rice and maize, *Plant Cell Environment*, 21, 240-246
- Sharp, R. E., Hsiao, T. C., and Silk, W. K. 1990 Growth of the maize primary root at low water potentials, *Plant Physiol.* 93, 1337-1346
- Taylor, A. R. and Bloom, A. J. 1998 A mm onium,

nitrate and proton fluxes along the maize root. *Plant Cell Environ.* 21, 1255-1263

吉田武彦、中村正治 1968 水稻根の各部位における⁸⁶Rb及び³²P吸収能の差異について, 土肥誌 39 253-257

巽二郎 1998 根の事典, 345-347

(第三節)

- Rai H., Kanno S, Hayashi Y, Ohya T., Nihei N., Nakanishi T., 2008 Development of real-time autoradiography system to analyze the movement of the compounds labeled by β -ray emitting nuclide in a living plant. *Radioisotope* in press.
- Nakanishi N, Bughio. N, Matsushashi S, Ishioka N, Uchida H, Tsuji A, Osa A, Kume T, Mori S, 1999 J .Exp. Bot.50, 637-643
- Yoneyama T., Y. Akiyama, K. Kumazawa, 1977 Nitrogen uptake and assimilation by corn root. *Soil Sci. Plant Nutr.* 23, 85-91
- Oaks A., 1966 Transport of amino acids to the maize root. *Plant Physiol.* 41 173-180

(第四節)

- Crawford N.M, Glass A.D.M., 1998 Molecular and physiological aspects of nitrate uptake in Plants, *Trend. Plant Sci.*, 3, 389-395
- 末吉邦 2003 無機窒素トランスポーター, 植物の膜輸送システム, 秀潤社, 48-56
- Von Wiren N., Gazzarrini S., Gojoin A., Frommer W.B., 2000 The molecular physiology of ammonium uptake and retrieval, *Curr. Opin. Plant Biol.*, 3, 254-261
- 斎木里文・園田裕・池田亮・山口淳二 2002 植物の根に関する諸問題 [102] 根のアンモニウムイオン取り込むに参与する遺伝子群, 農業および園芸, 77, 39-47
- Fischer W.N., B. Andre, D. Rentsch, S. Krolkiewicz, M. Tegeder, K. Breitzkreuz, W. Frommer, 1998, *Trend in Plant Science*, 3 (5), 188-195
- 柿沼喜己 2003 アミノ酸トランスポーター, 植物の膜輸送システム, 秀潤社, 48-56
- Hirner A., F. Ladwig, H. Strnsky, S. Okumto, M. Keinath, A. Harms, W. B. Frommer, W. Koch, 2006, *Arabidopsis LHT1 Is a High-Affinity Transporter for Cellular Amino Acid Uptake in Both Root Epidermis and Leaf Mesophyll*, *The Plant Cell*, 18, 1931-1946
- Svennerstam H., U. Ganeteg, C. Bellini, T. Nasholm,

- 2007 Comprehensive Screening of Arabidopsis Mutants Suggests the Lysine Histidine Transporter 1 to Be Involved in Plant Uptake of Amino Acids, *Plant Physiology*, 143, 1853-1860
- 池田亮・園田裕・山口淳二 2000 植物の根に関する諸問題〔79〕根の側根形成と窒素の取り込みに関する遺伝子群, *農業および園芸*, 75, 301-308
- Kielland K., 1994 Amino Acid Absorption by Arctic Plants: Implication for Plant Nutrition and Nitrogen Cycling, *Ecology*, 75 (8), 2373-2383
- Soldal T., P. Nissen, 1978 Multiphasic Uptake of Amino Acid by Barley Roots, *Physiol. Plant*, 43, 181-188
- Jamtgard S., T. Nasholm, 2008 Characteristics of amino acid uptake in barley, *Plant Soil*, 302, 221-231
- Wang M.Y., Y. Siddiqi, T. J. Ruth, A. D. M. Glass, 1993 A mm onium Uptake by Rice Roots. *Plant Physiol.*, 103, 1259-1267
- Youngdahl L.J., R. Pacheco, J. J. Street, P.L.G. Vlek, 1982 The kinetics of amm onium and nitrate uptake by young rice plants, *Plant and Soil*, 69, 225-232
- 佐藤紀男・菅野善忠 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, *福島県農業試験場報告*, 24, 1-15
- (第五節)
- 末吉邦 2003 無機窒素トランスポーター, 植物の膜輸送システム, 秀潤社, 48-56
- 榊原均・山谷知行 2002 窒素代謝, 植物代謝工学ハンドブック, 366-379
- 斎木里文・園田裕・池田亮・山口淳二 2002 植物の根に関する諸問題〔102〕根のアンモニウムイオン取り込むに關与する遺伝子群, *農業および園芸*, 77, 39-47
- 第五章**
- (第一節)
- 山谷知行 2001 代謝, 朝倉書店, 53-58
- 彦坂幸毅 1999 植物の環境応答, 秀潤社, 160-170
- Mori, S. and N. Nishizawa 1979 Nitrogen Absorption by plant root from the culture medium where organic and inorganic nitrogen coexist. *Soil Sci. Plant Nutri.* 25, 51-58
- 米山忠克・熊沢喜久雄 1972 水稻幼植物に吸収された $^{15}\text{NO}_3\text{-N}$ 、 $^{15}\text{NH}_4\text{-N}$ の体内分布における相異について, *土肥誌*, 43, 329 ~ 332
- (第三節)
- Tanaka A. and J. Yamaguchi 1986, The growth efficiency in relation to the growth of the rice plant., *Soil Sci. Plant Nutr.*, 14, 110-116
- Yamaguchi J. 1978, Respiration and the growth efficiency in relation to crop productivity. *J. Fac. Agric. Hokkaido Univ.*, 59, 59-129
- Penning de Vries, A. H. M. Brunsting and H. H. van Laar, 1974, Products, Requirements and Efficiency of Biosynthesis: A quantitative approach., *J. Theor. Biol.*, 45, 339-377
- Sinclair, T. R. and De Wit, C. T. *Science*, 189, 565-567, 1975
- 三崎旭、山田靖宙、角田万里子 1993, 生化学, 培風館, 108-110
- Youngdahl L.J., R. Pacheco, J. J. Street, P.L.G. Vlek, 1982 The kinetics of amm onium and nitrate uptake by young rice plants, *Plant and Soil*, 69, 225-232
- 第六章**
- 高橋英一 1979 植物の栄養と環境〔21〕, *農業および園芸*, 54, 96 ~ 102
- 新田恒雄 1986 有機物施用による根圏微生物の制御 有機物研究の新しい展望 博友社 43-84
- 麻生末雄、山口武則 1971 フミン酸の肥効発現に関する研究(第7報) 作物根の伸長と活力におよぼすニトロフミン酸の影響, *土肥誌*, 42, 291 ~ 294
- 加藤忠司 1970 水田土壌の水溶性有機物に関する研究(学位論文) 京都大学
- 佐藤紀男、菅野善忠 1984 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, *福島県農業試験場研究報告*, 24, 1 ~ 15
- D. L. Jones, J. R. Healey, V. B. Willett, J. F. Farrar, A. Hodge, 2005, Dissolved organic nitrogen uptake by plants-an important N uptake pathway?, *Soil Biology Biochemistry*, 37, 413 ~ 423
- 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 とレーザー法による動態解析, *土肥誌*, 70, 739 ~ 746.
- D. Lipson, T. Nasholm, 2001. The unexpected versatility of plants; organic nitrogen use and availability in terrestrial ecosystems, 128, 305 ~ 316

A Study of Amino Acids Absorption and Metabolism by Some Plants

Naoto NIHEI

We present absorption and metabolism of glutamine by some plants. Rice, wheat, soybean, qing-geng-cai, and cucumber were grown in a culture solution, each containing different kind of 20 amino acids as nitrogen sources under sterile condition. There was a large difference in growing and root development according to the kind of amino acids supplied. Growing was well when glutamine, asparagine or alanine was supplied to the root. Especially, in the case of glutamine, the seminal roots and lateral roots were developed well. On the other hand, inhibition of the growing and root development were shown when cysteine, histidine, isoleucine, leucine, lysine, methionine, phenylalanine, serine, threonine, tyrosine and valine were supplied.

Then the glutamine absorption manner was analyzed applying ^{14}C -labeled glutamine, using the real-time imaging system we developed. The uptake amount of glutamine was steadily increased at the root tip. However, in the middle of the root, glutamine uptake curve reached plateau after 10 hours, suggesting that the glutamine uptake and accumulation were active at root tip, while the glutamine was only passing through the middle part of the root.

To analyze metabolism of glutamine in the plant, doubly labeled glutamine with stable isotopes were used. It was found that the amount of nitrogen derived from glutamine was higher than that of NH_4^+ in roots. In the case of glutamine uptake, the profile of amino acids in root was rather constant compared to those when the other kind of amino acids were supplied, which suggested the smooth assimilation of absorbed glutamine. Since the absorbed glutamine was estimated to be the starting material for the amino acid synthesis, the utilization of nitrogen from glutamine was supposed to induce good morphological development of roots.