

窒素は、根から吸収する無機養分のうち最も大切な栄養元素で、窒素の過不足が作物の生長や収量、品質に与える影響は極めて大きい。いまだに世界の多くの国々では、窒素肥料を与えることが経済的に困難なため低収量のまま留まっている地域が多い。一方、わが国では、窒素の多施用による多収を追求してきた結果、園芸作物などでは、作物の吸収する窒素をはるかに上回る窒素が慣習的に与えられ続けている場合もある。現在、窒素の過剰施肥による硝酸地下水汚染や河川の水質汚濁などが、大きな社会問題になっており、窒素の過剰施肥を改めるとともに作物の施肥窒素の利用効率を高めることが求められている。このような目的のためには、肥効調節型肥料の開発など肥料自体の改良や施肥法の改善とともに、植物の窒素の栄養生理について十分理解することが緊要であると思われる。

窒素は、畑状態では主に硝酸イオンとしてまた水田など還元土壌ではアンモニア（主にアンモニウムイオン）として根から吸収される。これらの窒素は、根や葉でアミノ酸に同化された後、タンパク質、核酸、ヘム、クロロフィル、アミン、その他多種多様な生命を維持する上で不可欠な生体成分やアルカロイドなど二次代謝産物の合成に用いられる。植物は、硝酸かアンモニアのいずれかを与えた時の生育の良否から好アンモニア植物（稲、里芋、茶）、好硝酸植物（多くの畑作物）に分類されている。アンモニアは硝酸より即効性がある反面過剰害がでやすい。一方、硝酸は植物体内に大量に集積しても比較的無害で、そのまま体内を移動できるが、還元のためにエネルギーを余分に必要とする。アンモニアによって生育が悪くなる植物では、根内に流入したアンモニアを同化しきれず、有害なレベルまで蓄積してしまう場合が多い。特に夏期など高温の時にはアンモニアによる根腐れを生じやすいので注意を要する。また、酸性培地に弱い植物ではアンモニアの吸収に伴い培地のpHが酸性になることによって酸性障害が起こる場合がある。一方、好アンモニア性は、硝酸を吸収代謝する能力が低く窒素不足に陥ったり、培養液のアルカリ化により鉄欠乏を生じたり養分吸収バランスがくずれるなどが原因と考えられる。実際、好アンモニア植物の代表である稲でも硝酸を吸収代謝することができるが、アンモニアの方が迅速に吸収代謝される。また、チューリップをアンモニアと硝酸の両者を含む培養液で水耕栽培すると、両窒素源ともに利用するが、アンモニアがまず先に利用されその後硝酸が吸収された。硝酸やアンモニアの吸収に伴うpH変化の二次的影響も大きく、好硝酸植物のキュウリをpH自動調節装置でpH 5.0 ± 0.2 に設定して水耕栽培した場合、アンモニア単独でも硝酸に劣らない良好な生育が見られた¹⁾。ダイズも、畑作物で好硝酸性植物であるが、水耕栽培で1mMの硝酸またはアンモニアを与え、吸収速度と各器官への分配を調べた結果、投与4時間後にはアンモニアの方が硝酸の2倍吸収され、グルタミンへの取り込みも活発であったが、24時間後の吸収量、葉、茎、根、根粒への分配率は、アンモニアと硝酸ではほぼ同様であった²⁾。好硝酸性植物でもアンモニア障害が起こらない程度の低濃度のアンモニアを与えた場合には、多くの場合良好に生育すると思われる。同じ植物でもpHによって硝酸とアンモニアの吸収割合が変わる事が知られており、一般にpHが低下するにつれて、硝酸の吸収が早まり、アンモニアの吸収が遅くなる。

高等植物が陸上に適応し進化する過程で、根、茎、葉、花、種子などを分化してきた。根は、土壤中に張りめぐらされ地上部を支えるとともに、養水分を吸収するという植物にとってきわめて大切な働きをしている。成熟した根は、横方向にみて外側から、表皮、皮層、中心柱に分かれている。表皮は一層の細胞層からなる根の最外層の組織で外界との接点である。表皮の一部の細胞は根毛を発達させ吸収表面積を拡大している。表皮のすぐ内側には緩く詰まった数層からなる皮層細胞組織がある。養水分は、1図のように根の表皮細胞や根毛から細胞内に吸収されたり、また、表皮細胞の細胞壁や細胞間の隙間など（フリースペース）をマスマフローや拡散によって流入する。後者のような細胞外の移動はアポプラスト輸送と呼ばれている。ただし、この水や養分の自由な移動は、皮層最内層で中心柱と接している内皮組織に妨げられる。内皮の細胞壁の放射方向の壁にはスベリンが沈着して不透水性のカスパー線形成し、さらに内皮の細胞壁は肥厚しているため、アポプラスト輸送による水や養分の通過の障壁となっている。したがって、内皮を通過するにはいったん細胞質内に吸収され、細胞と細胞をつなぐ原形質連絡を通して中心柱へ移動する必要がある。この様な養分の移動はシンプラスト輸送と呼ばれている。シンプラスト輸送の原動力は原形質流動で、移動速度は4cm 時間⁻¹とかなり早いと見積もられており³⁾、厚さ1mm程度の細胞層は数分で通過できることになる。培地中の養分は、表皮や根毛で細胞内に取り込まれたり、もしくは、アポプラスト輸送により根内に入った養分が皮層細胞から細胞質内に吸収され、皮層細胞間をシンプラスト輸送により移動し中心柱内へ入ることができる。中心柱で、水や養分は木部柔細胞から細胞外に再度放出され導管経由で地上部へと運ばれる。

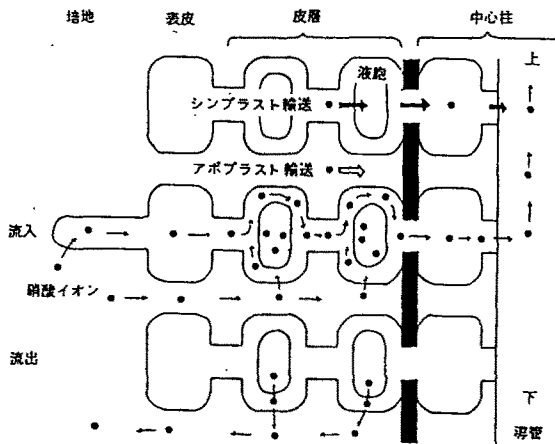


図1 根内の硝酸イオンの動き ● 硝酸イオン

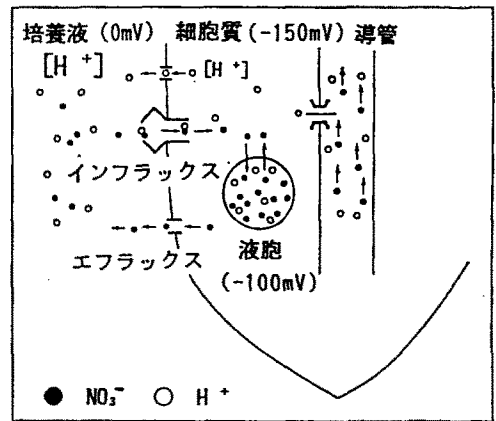


図2 高等植物の根の硝酸吸収機構

植物の根はストローのように培養液をそのまま吸い上げているのではなく、必要な養分を選択的に吸収している。養分吸収の選択は養分が細胞膜を通過する過程でおこる。細胞膜はリン脂質二重層でできておりイオンを通しにくいいため、養分の多くは細胞膜にある特定のタンパク質（キャリアまたはトランスポータ）に媒介されて細胞膜を通過する。養分の吸収されやすさは、細胞内外のイオンの電気化学ポテンシャル、すなわち内外のイオン濃度差と膜電位差により影響され

る。細胞内は、外液に比べて150mV程度負に帯電しており、さらに、細胞壁は壁を構成するペクチン等のカルボキシル基に由来する負電荷を持っているため、カチオン(H^+ 、 K^+ 、 NH_4^+ 、 Ca^{2+} など)は根に取り込みやすい状態にあるが、アニオン(NO_3^- 、 Cl^- など)を吸収するにはかなり厳しい条件となっている。カチオンであるアンモニウムは、特別にエネルギーを使わなくても細胞内に取り込みやすい。そのため、アンモニアは窒素肥料として即効性があると同時に、過剰に流れ込み障害をおこすこともある。一方、畑作物が利用する主な窒素源である硝酸についてみると、土壤中の硝酸濃度は一般に低く、また根の生理状態はアニオン吸収をしにくい状態なので、植物は硝酸を積極的に吸収する仕組みを発達させた⁴⁾。図2に示すように水素イオン(H^+)の助けをかりて硝酸イオンを細胞内に取り込んでいる。この過程にはエネルギーを必要とし、植物の根の細胞は呼吸によって作られるATPのエネルギーを用いてプロトンポンプを駆動し H^+ を細胞の中から外へくみだし、膜の内外に H^+ イオン濃度勾配と電位差をつくる。 H^+ 濃度勾配と膜電位差に引き寄せられて、 H^+ イオンが細胞外から細胞内へ流入するのに伴って NO_3^- が一緒に細胞内へ取り込まれると考えられている。 H^+ 濃度勾配を打ち消す阻害剤を培地に添加すると硝酸の取り込みは直ちに停止した。これらの結果は、細胞内外の H^+ ポテンシャル差が NO_3^- 吸収の駆動力であることを支持する。

硝酸もアンモニアも細胞膜にある特定のキャリアまたはトランスポータと呼ばれるタンパク質に媒介されて細胞内に取り込まれると考えられているが、その構造や機構はまだ不明の点が多い。品種や栽培地の異なる大麦で、培地濃度と吸収速度から調べたアンモニアと硝酸の K_m 値(吸収速度が最大速度の半分に低下する濃度で基質に対する親和性を表す)は、アンモニアで平均約20 μM (17-28 μM)、硝酸に対しては、64 μM (7-187 μM)であり、硝酸の吸収特性は品種や生息地によりアンモニアより変異が大きかった⁵⁾。培地の硝酸濃度と吸収速度の関係について多くの植物で調べられているが、ダイズでは培地硝酸濃度と硝酸吸収速度の関係は、培地硝酸濃度100 μM 程度まではほぼ一定速度で吸収し、それより低くなると徐々に低下し、19 μM で約半分になった(K_m 値19 μM)。一方、高濃度域では20mMまで硝酸吸収速度は変わらなかった。この結果は、ダイズの根では低濃度の硝酸に親和性のある一種類のトランスポータによって吸収が媒介されていることを示唆している。オオムギやアラビドプシスの植物では、高濃度域で吸収の促進が見られることから低親和性と高親和性の2系統のトランスポータが硝酸吸収に関与していると予想されている⁶⁾。硝酸のトランスポータをはじめ膜の輸送タンパク質は精製が困難で分子生物学的な解析がほとんど進んでいない。1993年にアラビドプシスの低親和性硝酸トランスポータの遺伝子構造が初めて報告された⁷⁾が、より重要な高親和性のトランスポータについては構造も機能も全く不明である。高等植物における硝酸のトランスポータの構造と機能の解明は今後の課題であろう。

最近、植物の根は、硝酸を吸収しつつ一方で根から排出していることが注目されている。わざわざエネルギーを利用してまで吸収した硝酸をまた根外へ放出することは無駄のようにも見えるが、実際¹⁵N標識した硝酸培地で栽培したダイズ植物を非標識培地に移すと根から¹⁵Nの流出(エフラックス)が観察された。硝酸の流出は初め早い流出が数分間続き、後やや緩やかな流出が10分程度見られその後さらにゆっくりとした持続的な流出が観察された⁸⁾。初めのはやい放出は細胞壁などアポプラスト内の硝酸の拡散による根からの流出、二番目の流出は細胞質から、ま

た三番目の流出は液胞からの流出と仮定し、コンパートメント解析した結果を図3に示す。この時の正味の NO_3^- 吸収速度は、 2.5mgN時間^{-1} である。エフラックスがどのような機構かは分かっていないが、硝酸吸収速度の微調整に関係しているとも予想されている。

植物の窒素吸収を制御している要因についても不明な点が多い。ダイズを水耕栽培し、培養液中の硝酸濃度と蒸散量を定期的に測定し、硝酸吸収速度の日変化を調べたところ、4図のような吸収経過をしめた⁸⁾。面白いことに自然条件では、照度、温度、など環境要因が時々刻々と変化しているにもかかわらず、 NO_3^- 吸収速度は昼間もしくは夜間とも時刻によらず一定であった。ただし、夜間の吸収速度は昼間より遅く約2/3程度であった。また、朝と夕方といった硝酸吸収の停止が観察された。培地からの ^{15}N 標識硝酸の地上部への移動を調べた結果から、窒素の移動もやはり昼夜のリズムを示し、夜より昼の方が早かった。ここで興味深いのは、ダイズの硝酸吸収は極めて自律的に行われており、また、水分の移動とは独立していることである。また、ほとんど蒸散のない夜間であっても硝酸の吸収と移動が継続していることは注目し得る。このような硝酸吸収の日変化リズムは、連続暗条件下の植物や地上部を切除した根でもしばらく繰り返されてことから、根自身が昼夜を感知して硝酸吸収速度を自己制御しているらしい。そのメカニズムは良く分からないが、根を一定温度におくと硝酸吸収リズムが消失したことから根は温度変化から昼夜を認識している可能性が示唆された。植物のNR活性は硝酸により誘導される酵素であり、また葉におけるその活性は昼夜のリズムを示す。このような植物の生理的リズムに同調した硝酸の吸収や輸送が根自身の制御により行われていることは興味深い。根の中の硝酸濃度も日変化リズムを示し夜間の方が昼間より濃度が高かった。根の温度による昼夜の認識については、植物の温度検知—情報伝達機構が、全く分かっていないので、解釈に苦慮するが、類似の現象として、鉄欠乏オオムギが、朝にムギネ酸を放出する機構も根の温度センサーにより温度の変化を検出して制御されており⁹⁾きわめて興味深い。植物の根は、恐らく地上部からの光合成産物や昼夜を認識できるシグナルの受容とともに、根自身が温度変化を察知し昼夜を検知しているようだ。

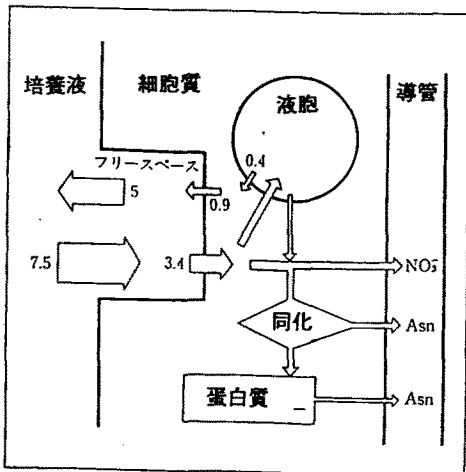


図3 ダイズ根における硝酸のインフラックスとエフラックスの推定速度 (単位 mgN 時間^{-1})

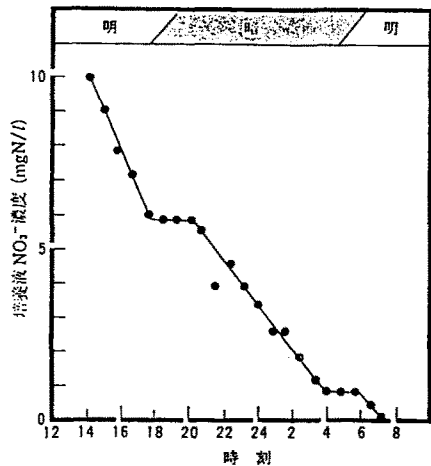


図4 ダイズ根の硝酸吸収速度の日変化

植物は根から吸収した硝酸やアンモニアのような無機窒素を有機化合物に変換する。根から吸収したアンモニアは直ちに根で同化され、硝酸は、根や葉で硝酸還元酵素 (NR) の働きにより NO_2^- に還元され、後に亜硝酸還元酵素 (NiR)の作用でアンモニアに還元される。アンモニアは毒性が高いため、通常、直ちにグルタミン合成酵素(GS)の作用でグルタミンへと同化される。さらにグルタミンは2-オキソグルタル酸と反応し、2分子のグルタミン酸を生成する。この作用を触媒する酵素はグルタミン酸合成酵素(GOGAT)と呼ばれる。これらの過程では、還元力 [NAD(P)H]、エネルギー[ATP] およびアンモニアを受容するための炭素骨格 [有機酸] が必要であり、根に供給された光合成産物の代謝を通じて得ることができる。植物におけるアンモニア同化は、根でも葉でも根粒でもこのGS/GOGAT経路で初めに同化されるが、部位により発現しているGS遺伝子が異なっており、細胞質局在性のGS₁と葉緑体などプラスチド内に存在するGS₂が知られている。長年、植物のアンモニア同化は主にグルタミン酸脱水素酵素(GDH)によって同化されると信じられてきた。どちらの系でもアンモニアは最終的にグルタミン酸に同化される点では変わらず、エネルギー的にはGS/GOGAT系の方が一分子のアンモニアの同化に一分子のATPを余分に消費する。しかしながら、GSはGDHよりはるかに低い濃度のアンモニアを同化できる能力があり、毒性の強いアンモニアを迅速に同化するには適している。また、生成したグルタミンは、核酸塩基、ウレイド、アルギニン、アパラギン、トリプトファン、ヒスチジンなどの前駆体であり、窒素の貯蔵形態や移動形態としても利用される。以上の理由によりこの系が植物のアンモニア初期同化に採用されたのであろう。

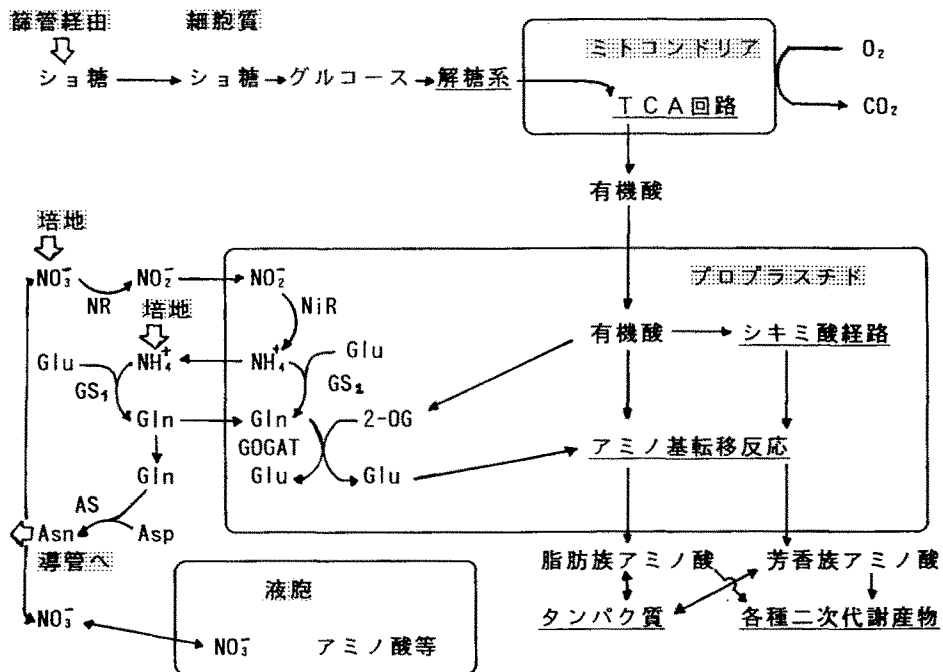


図5 植物根内の窒素代謝

Glu グルタミン酸、Gln グルタミン、Asp アスパラギン酸、Asn アスパラギン、
 2-OG 2-オキソグルタル酸、NR 硝酸還元酵素、NiR 亜硝酸還元酵素、
 GS グルタミン合成酵素、GOGAT グルタミン酸合成酵素、AS アスパラギン合成酵素

窒素の同化は細胞内の細胞質とオルガネラで分担しておこなわれている（5図）。硝酸は細胞質のNRで還元され NO_2^- となり、 NO_2^- は、葉では葉緑体、根ではプロプラスチド（原色素体）内のNiRで還元されアンモニアを生じる。アンモニアは葉では葉緑体内のGS₂で同化されるが、根粒や根では細胞質のGS₁でグルタミンに同化される。ただし、亜硝酸還元により生成したアンモニアはプラスチドのGS₂により同化されている可能性も示唆されている。生成したグルタミンは、プラスチドのGOGATでグルタミン酸に転換される。このように、無機窒素の初期同化過程は細胞質とプラスチドで代謝の分担が行われている。さらに、対応する有機酸はTCA回路やシキミ酸経路などから供給され、アミノ基転移酵素により各種のアミノ酸を合成しうる。各種のアミノ酸は、タンパク質、核酸、ヘムなど窒素を含む各種体内成分の材料として用いられる。また、多くのアミノ酸が各種アルカロイドなど二次代謝産物の合成に関連している。

窒素は根で多種多様な化合物に代謝されるが、導管を通して輸送される窒素の形態は比較的単純である。茎を根元で切断して導管液を採取してその成分組成を調べると、硝酸、アミド、アミノ酸、ウレイドなど比較的低分子の窒素成分が主体で、タンパク質など高分子成分は少ない。硝酸については、植物種や生育時期、培地硝酸濃度により導管輸送窒素に占める割合が異なり、根と葉の硝酸還元割合による。根粒のついていない開花期ころのダイズでは、導管窒素の約半分が硝酸であるが、チューリップでは、大部分の硝酸が根で還元されるため、導管液には検出されなかった。

ダイズにおいて、¹⁵N硝酸で標識した培地に移してから15分後には導管液に¹⁵Nが検出されたことから、硝酸の一部は根に吸収後速やかに導管に至り、地上部へ運ばれている。一方、ダイズの根で吸収した窒素の一部は、アミノ酸特にアスパラギンに代謝され導管中を輸送される。アスパラギンは、アスパラギン合成酵素により、グルタミンのアミド基がアスパラギン酸に転移されて合成され、速やかに導管へ送られる。また、根のタンパク質へも窒素は取り込まれるが、根のタンパク質はターンオーバーにより分解され、やはりアスパラギンとして地上部へ送られる。一方、硝酸培地でダイズを栽培すると根の中にかなり大量の硝酸（5-10mgN gDW）を集積する。これは、液胞内に蓄えられているものと考えられる。蓄積した硝酸は、植物を無窒素培地に移すと2-3日程度で完全に消費される。遺伝的に根粒を着生できないダイズにおいて窒素欠乏状態が進行すると、導管液中のアスパラギンの割合が低下し、アスパラギン酸が増加した。¹⁰⁾ 導管液成分は根の窒素栄養条件を反映するものと考えられる。

ダイズの根粒で窒素固定により初めに生じるのは硝酸還元同様アンモニアであり、また、そのアンモニアがGS/GOGAT系で同化されている点も共通であるが、ダイズの根粒ではその後、窒素はウレイド（アラントイン酸とアラントイン）となり宿種にわたされる点が大きく異なる。なぜ根から吸収した窒素がアスパラギンなどを主成分とするのに、根粒で固定した窒素はウレイドで輸送されるかという疑問に対する回答は得られていない。しかしながら、ダイズにおいて窒素固定由来の窒素と吸収窒素由来の窒素の移動形態の差異を利用して、どちらの窒素源にどの程度依存しているかを推定することができ、相対ウレイド法と呼ばれている¹¹⁾。この方法は導管液成分濃度を測定することにより容易に窒素固定と吸収窒素の利用割合を推定でき、施肥法の改善などで大役役に立つ。

篩管は、地上部からの光合成産物の移動路として重要であり、ダイズでは、ショ糖が主な光合

成産物として地上部から根へ送られる。篩管はその他、カリウムを大量に含み、またアミノ酸など窒素化合物も多く含有している。これは、根の生長点など自力で吸収が行えない部位に窒素を供給し生長を促すために必要と考えられる。硝酸やウレイドは地上部から根への篩管移動には用いられず、アスパラギンやその他のアミノ酸が主体である。

根は短期または長期的な窒素の貯蔵部位としての役割を持つことがある。木本植物など永年植物では、冬に窒素を根に集積し、春の萌芽時に生長部位に移動することが知られている。チューリップなど秋植え春萌芽型の球根植物も冬期、根に約 80-90mgN gDW ときわめて大量の窒素を蓄える¹²⁾。この時窒素の主成分はグルタミンで、大部分が球根由来ではなく、培地から吸収した窒素に由来していた。吸収窒素のうちアンモニアはそのまま、また硝酸は還元された後、根のGSによりグルタミンとなりそのまま春まで根に貯蔵されていることが分かった。根分け法により根を二群に分け、一方の根にのみ窒素培地につけると窒素の集積は窒素を与えた根にだけ見られ、無窒素培地内の根へはほとんど分配されていなかった¹³⁾。また、根を縦方向に二分割し、根上部と根下部にそれぞれ、窒素培地と無窒素培地を与えたところ、やはり、窒素を与えた部位にのみ大量の窒素が集積した。これらの結果は、チューリップの根では吸収部位の細胞でそのまま窒素を蓄えていることを示す。この冬に根に貯めこんだ窒素は萌芽以降茎葉部の発育に利用される。

同様にダイズを上下二段重ねのポットを用いて栽培し、上部根はバーミキュライトで無窒素栽培し、根下部には水耕で硝酸を与える栽培を行ったところ、硝酸の集積は直接硝酸培地と接触している根下部でのみ認められた¹⁴⁾。ダイズの根において、硝酸を与えるとかかなり高濃度に硝酸を蓄積するが、この場合も主に吸収部位近傍の皮層細胞の液胞に貯め、同じ根の別の部位や他の根には集積しない。これらの結果は根の条件を一部変え、役割分担によりより良い生育をさせる事が可能であることを示唆している。

参考文献

- 1) 森次益三・川崎利夫: 土肥誌、48、243-247 (1977)
- 2) Ohya, T. et al.: Soil Sci. Plant Nutr., 35, 9-20 (1989)
- 3) 熊沢喜久雄・西沢直子: 植物の養分吸収 (東京大学出版) (1976)
- 4) 大山卓爾: 化学と生物、29、433-443 (1991)
- 5) Bloom, A. J.: in "Physiology and determination of crop yield" 303-309 (1994)
- 6) Siddiqi, M. Y. et al.: Plant Physiol., 93, 1426-1432 (1990)
- 7) Tsay, Y-F. et al.: Cell, 72, 705-713 (1993)
- 8) Ohya, T. et al.: Soil Sci. Plant Nutr., 35, 33-42 (1989)
- 9) 高城成一: 金属関連化合物の栄養生理 (博友社) 6-51 (1990)
- 10) Ohtake, N. et al.: Soil Sci. Plant Nutr., 41, 95-102 (1995)
- 11) 大山卓爾他: 農業および園芸、67、1157-1164 (1992)
- 12) Ohya, T. et al.: Soil Sci. Plant Nutr., 31, 581-588 (1985)
- 13) 北島信行他: 土肥誌、62、64-70 (1991)
- 14) 大山卓爾他: 新潟大学農学部研究報告、45、107-115 (1993)