Kobe University Repository : Kernel

PDF issue: 2025-07-26

植物根ペントースリン酸経路の亜硝酸による活性化：イネ根とオオムギ根の比較

王子，善清
脇内，成昭
岡本，三郎

(Citation)
神戸大学農学部研究報告,16(2):517-521

(Issue Date)
1985-01-31

(Resource Type)
departmental bulletin paper

(Version)
Version of Record

(JaLCDOI)
https://doi.org/10.24546/00225573

(URL)
https://hdl.handle.net/20.500.14094/00225573

KOBE UNIVERSITY

神大農研報 (Sci. Rept. Fac. Agr. Kobe Univ.) 16:517－521, 1985

植物根ペントースリン酸経路の亜硝酸による活性化

—— イネ根とオオムギ根の比較 ——

王子善清*・脇内成昭*・岡本三郎*

(昭和59年8月10日受理)

NITRITE ACTIVATION OF PENTOSE PHOSPHATE PATHWAY IN PLANT ROOT

——Comparison between Rice Root and Barley root——

Yoshikiyo OJI, Nariaki WAKIUCHI and Saburo OKAMOTO

Abstract

Using rice and barley roots which have different ability to assimilate nitrite, physiological effects of nitrite were investigated at the faces of respiratory metabolism.

In both roots, increases of respiratory quotient and CO_2 release and decrease of C_6/C_1 ratio were observed in the presence of nitrite. The addition of nitrite to the culture medium resulted in increases of the activities of glucose-6-phosphate and 6-phosphogluconate dehydrogenases. These data show nitrite activates the pentose phosphate pathway in plant root.

Decreased activities of nitrite reductase and glucose-6-phosphate and 6-phosphogluconate dehydrogenases resulted from the prolonged nitrite culture in rice roots but not in barley roots. Nitrite reductase activity of barley roots was higher than that of rice ones. It is suggested that the low capability of rice root to assimilate nitrite is associated with a restricted amount of nitrite reductase.

緒　言

これまでの筆者らの無機態窒素同化に関する一連の実験の中で，イネは亜硝酸態窒素を与えられると生育が極端に劣り，亜硝酸障害が出現して根は腐敗状を呈し，やがて枯死に至るの[5,7]に対して，オオムギは外観上異常なく生育し，亜硝酸態窒素を根で還元，アンモニア化し，さらにそれをグルタミン，アスパラギンの形態に変換することによって亜硝酸を解毒利用できるとの結論に達した[6]。

このようにイネとオオムギでは亜硝酸態窒素に対するレスポンスが著しく異なるのであるが，その原因として一つには，根中亜硝酸還元酵素量の違い，また一つには亜硝酸還元のための還元力供給系としてのペントースリン酸経路の活性——この経路で代謝されるグルコースの割合及びグルコース－6－リン酸脱水素酵素(G6PDH)並びに6－ホスホグルコン酸脱水酵素(6PGDH)によるNADPH生成能——の違いなどが考えられるが，本研究では，イネ根とオオムギ根を供試して，この両面から亜硝酸の生理作用を堀り下げることを試みた。

* 植物栄養学研究室

実験材料及び方法

1) 根の酸素吸収量，炭酸ガス放出量及びC_6/C_1比の測定

本農学部付属のファイトトロンの人光照明室（12000ルックス，明25℃暗20℃サイクルは12時間）で水道水のみにて生育させた発芽後8日目のイネ（日本晴）およびオオムギ（関東二条2号）根を供試して，ワールブルグの直接法[10]（pH 5.0以下の場合）を用いて，28°C，pH 4.8（3.3 mM リン酸緩衝液）の条件下で，酸素吸収量，炭素ガス放出量を定量した。

また，呼吸系に占めるペントースリン酸経路の割合を推定するため，〔1－^{14}C〕グルコース及び〔6－^{14}C〕グルコースを，フラスコ当たり0.05 μCi（コールドグルコースは終末濃度1 mM）添加し，〔^{14}C〕グルコース

の吸収率を求めるとともに，副室中の15%KOH（0.2 ml)に吸収された〔^{14}C〕炭酸ガスを回収し，C_6/C_1比を求めた。実験時間は1時間である。^{14}Cの測定はPackard TRI-CARB液体シンチレーションスペクトロメータ（3330型）を用いて，BarrowとGriffithsの方法[2]に準拠して行った。

2) G6PDH及び6PGDH活性の測定

アンモニア態窒素を8 ppmとした春日井氏水耕液（他の要素は，P_2O_5 4，K_2O 6，CaO 0.8，MgO 1.2，Fe_2O_3 0.2 各ppm である。ただし鉄源としては塩化第二鉄の代わりにクエン酸鉄を用いた）にて8日間，上述の人工照明室で生育させたイネおよびオオムギの幼植物を供試して，4 mM$NaNO_2$を水耕液に追加したときの根のG6PDHおよび6PGDHの活性の消長を調べた。すなわち，それぞれの切断根4 gに石英砂2 g，2mM EDTAと50mMメルカプトエタノールを含む50 mMイミダゾール塩酸緩衝液(pH 7.8)を12ml加え，乳鉢を用いて冷所で磨砕した。4層のガーゼでろ過したホモジネートを15000g，4℃で30分間遠心分離し，得た上澄を粗酵素液として，GlockとMcLeanの方法[3]に基づき，日立124型ダブルビーム分光光電光度計を用いて，NADPの還元を340nmで追跡，記録することによって，G6PDH及び6PGDH活性を測定した。

3) 根の亜硝酸還元酵素活性の測定

硝酸態窒素濃度を20ppmとして上述のように生育させた発芽後8日目の幼植物を供試して，4 mM$NaNO_2$を水耕液に追加した場合の根の亜硝酸還元酵素活性の消長を検討した。すなわち，0.1 Mトリス塩酸緩衝液（pH 8.2, 2mM EDTA，5mMシスティンを含む）にて磨砕，ろ過，遠心分離を行って得た上澄を供して，井田ら[4]の方法に従って亜硝酸還元酵素活性を測定した。

第1表 イネ及びオオムギ根の呼吸に及ぼす亜硝酸の影響

供試植物	添加物	酸素吸収量 (μl／g 新鮮重／時間)	炭酸ガス放出量 (μl／g 新鮮重／時間)	呼吸商
イネ根	−	398 (100)	400 (100)	1.01
	10mMグルコース	464 (116)	437 (109)	0.94
	10mMグルコース +4mM $NaNO_2$	386 (97)	460 (115)	1.19
オオムギ根	−	383 (100)	415 (100)	1.08
	10mMグルコース	459 (120)	497 (120)	1.08
	10mMグルコース +4mM $NaNO_2$	504 (131)	643 (155)	1.28

第2表 グルコン酸（10mM）共存下におけるイネ及びオオムギ根の呼吸に及ぼす亜硝酸の影響

供試植物	$NaNO_2$ (4 mM)	酸素吸収量 (μl／g新鮮重／時間)	炭酸ガス放出量 (μl／g新鮮重／時間)	呼吸商
イネ根	−	330 (100)	338 (100)	1.02
	+	309 (94)	409 (121)	1.32
オオムギ根	−	378 (100)	396 (100)	1.05
	+	459 (121)	564 (142)	1.23

結果及び考察

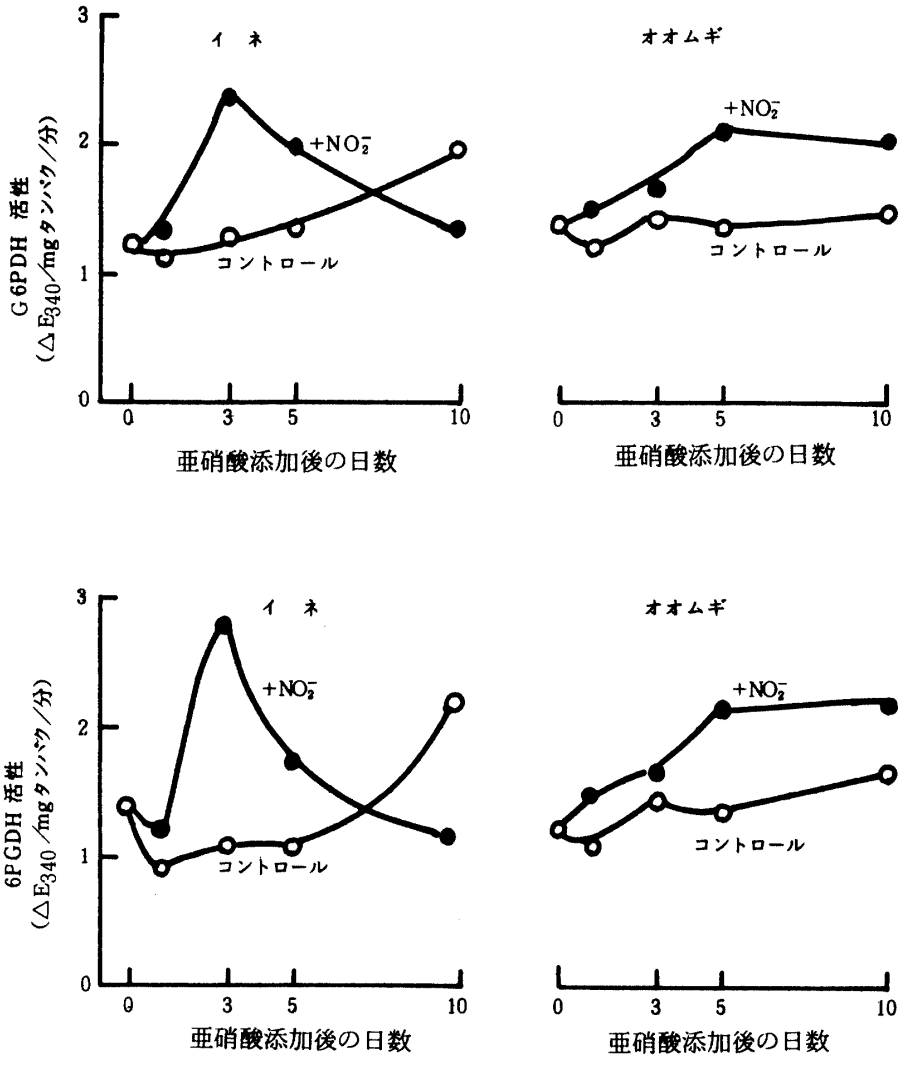
1.イネ及びオオムギ根の呼吸とC_6/C_1比に及ぼす亜硝酸の影響

両植物根の酸素吸収及び炭酸ガス放出に対する亜硝酸の影響を比較したのが第1表である。いずれの根においても，グルコースはこれらに対して類似の影響（若干の促進）をもち，したがってグルコース無添加の場合と呼吸商がほとんど変わらなかった。しかし，亜硝酸を同時に添加すると呼吸商に著しい増大が認められた。これは両植物根に共通して認められたが，この増大の中味はイネ根とオオムギ根で状況が異なっている。すなわち，イネ根では，炭酸ガス放出量の増加のほかに呼吸商の分母となる酸素吸収量の低下も増大の原因であるが，オオムギ根では，酸素吸収量の増加も起こり，それ以上に炭酸ガス放出量が増加するために呼吸商が増大したのである。

次に，グルコン酸の共存下における亜硝酸の影響を検討した結果

第3表　イネ及びオオムギ根における〔^{14}C〕グルコースからの〔^{14}C〕CO_2の放出とC_6/C_1比に及ぼす亜硝酸の影響

供試植物	添加物	添加グルコースの^{14}Cの位置	〔^{14}C〕グルコース吸収量（%）	〔^{14}C〕CO_2の放出割合（%）	C_6/C_1比
イネ根	−	1	20.1	5.38	0.51
		6	19.4	2.77	
	4mM $NaNO_2$	1	11.8	8.97	0.36
		6	11.6	3.17	
オオムギ根	−	1	24.3	4.59	0.56
		6	20.5	2.59	
	4mM $NaNO_2$	1	8.9	10.33	0.23
		6	10.3	2.35	



第1図　イネ及びオオムギ根のG6PDH活性と6PGDH活性に対する亜硝酸（4mM）添加培養の影響

が第2表である。グルコン酸は組織内でリン酸化されペントースリン酸経路を経由して，グルコースが同経路で代謝される場合と同じように代謝される[1]と考えられる物質であるが，同表より明らかなように，亜硝酸はグルコン酸の共存下においても呼吸商を増大させ，その増大の中味はグルコース共存下の場合と同じであるが，炭酸ガス放出は一層顕著となった。

さらに，〔1−^{14}C〕グルコース及び〔6−^{14}C〕グルコースを与えたときに放出される〔^{14}C〕炭酸ガスを測定し，C_6/C_1比を調べた結果を第3表に示した。両植物根において亜硝酸はグルコースの吸収量を半減させたが，〔1−^{14}C〕グルコースからの〔^{14}C〕炭酸ガス放出をイネでは65%，オオムギでは100%以上増大させ，一方〔6−^{14}C〕グルコースからの〔^{14}C〕炭酸ガス放出にはほとんど影響を与えなかったので，C_6/C_1比はイネ根で0.36，オオムギ根で0.23に低下した。すなわち，亜硝酸はペントースリン酸経路を経由して流れるグルコース代謝系を著しく促進した。

2. イネ及びオオムギ根のG6PDHと6PGDH活性に及ぼす亜硝酸の影響

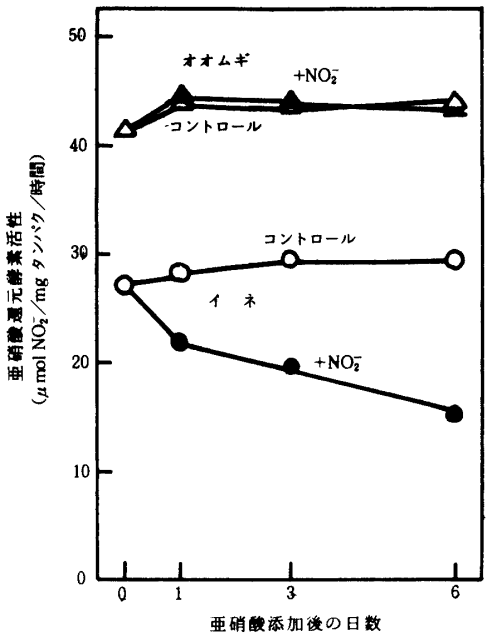
春日井氏水耕液に亜硝酸を4mM添加したときの両植物根におけるG6PDH活性並びに6PGDH活性の消長を比較検討した結果が第1図である。イネ根のG6PDH活性は亜硝酸添加により急増し，3日目に最高に達したあと急減し，10日目ではコントロール区の70%にまで低下した。これに対して，オオムギ根では10日目でも高いレベルであった。同じ傾向が6PGDH活性にも認められ，イネ根で

は10日目でコントロール区の50%に低下したのに対してオオムギ根では常に高いレベルであった。

亜硝酸はいずれの植物根においてもG6PDH及び6PGDH活性の増大をもたらすが，イネではこれが一時的であり，オオムギでは継続的であることがわかる。

3. イネ及びオオムギ根の亜硝酸還元酵素活性に及ぼす亜硝酸の影響

第2図に示したように，亜硝酸添加培養により，イネ根の亜硝酸還元酵素活性が急速に低下し，6日目には半減した。しかし，オオムギ根ではこのようなことが認められなかった。同図のコントロール区の活性を比較すると明らかなようにオオムギ根の亜硝酸還元酵素活性はイネ根のそれより60%程度高く，オオムギ根は同酵素をイネ根に比べ多量に含んでいると考えられる。



第2図 イネ及びオオムギ根の亜硝酸還元酵素活性に対する亜硝酸（4mM）添加培養の影響

植物根は亜硝酸還元酵素とそれへの電子供与系を有しているので，大なり小なり有毒な亜硝酸を同化利用できる。しかし，その能力は植物種によって著しく異なっている。本研究に供試したイネとオオムギは植物分類上は同じ科に属する植物種であるが，亜硝酸の同化利用能の点では対照的な植物である。

両植物根に対する共通した亜硝酸の生理作用として，

(1) 炭酸ガス放出の増大と呼吸商の上昇
(2) C_6/C_1比の低下
(3) G6PDH及び6PGDH活性の増加

といった，ペントースリン酸経路を経由した糖分解の流れが増大することが認められた。これらの現象は，本来有毒な亜硝酸が与えられたときにこれを処理（還元同化）するための植物根の代謝的適応として合目的に理解できる。

しかし，イネ根とオオムギ根の亜硝酸の還元同化能には歴然とした差異があり，その能力の劣るイネ根では次のような亜硝酸の害作用が認められた。

(1) 酸素吸収の低下
(2) 一時的なG6PDH，6PGDH活性増大後の急激な活性低下
(3) 亜硝酸還元酵素活性の低下

このような現象はオオムギ根では観察されないことであった。この差異の一因が亜硝酸還元酵素自体の量的な差異に関連すると推察された。第2図より明らかなように，オオムギ根はイネ根に比べて6割以上酵素量が多かったのである。

亜硝酸同化能は亜硝酸還元酵素量のみによって決定されるわけではないが，イネ根においても亜硝酸還元酵素の電子供与系と考えられるペントースリン酸経路が活性化され，しかもNADPH供給系酵素の活性増大を伴なうのであるが，亜硝酸は別の場面で害作用を呈し，やがて亜硝酸還元酵素活性の低下，NADPH供給系の活性低下，酸素吸収の低下となって亜硝酸の害作用が現われてくる。そしてついには亜硝酸障害が顕在化するのではないかと考えられる。これに対してオオムギ根では亜硝酸還元酵素量が多く，ペントースリン酸経路の活性増大に伴なうNADPH供給系の増大が亜硝酸還元と密接にカップルしており，亜硝酸の還元同化が円滑に進行していると推察される。

植物の根における亜硝酸還元機構の詳細は現在なお不明であるが，ペントースリン酸経路により生成するNADPHが還元力の給源となっていることを示唆する証拠を我々は得ている[8,9]。この意味でペントースリン酸経路の諸酵素，亜硝酸還元酵素などを含む細胞内オルガネラといわれている根のプラスチットを材料にしてこの問題に取り組めば，有益な知見が得られるのではないだろうか。

要　約

亜硝酸同化利用能の対照的であるイネおよびオオムギの根を供試して，亜硝酸の生理作用を比較検討した。

亜硝酸を添加すると，両植物根において呼吸商，炭酸ガス放出が高まり，C_6/C_1比が低下した。グルコース－6－リン酸脱水素酵素および6－ホスホグルコン酸脱水素酵素活性も増大し，ペントースリン酸経路が亜硝酸によっ

て活性化されることがわかった。

しかし，亜硝酸培養をつづけたイネ根では，亜硝酸還元酵素活性および両脱水素酵素活性の低下が認められた。亜硝酸還元酵素含量の多いオオムギ根では，このようなことが認められないので，イネ根の亜硝酸同化能の劣る一因は亜硝酸還元酵素含量が少ないことに基因すると推察した。

文　献

1) ASHIHARA, H. and A. KOMAMINE : *Phytochem.*, **14**, 95-98, 1975.

2) BARROW, A. and L. A. GRIFFITHS : *Anal. Biochem.*, **74**, 246-250, 1976.

3) GLOCK, G. E. and P. MCLEAN : *Biochem. J.*, **55**, 400-408, 1953.

4) IDA, S., E. Mori and Y. MORITA, : *Planta*, **121**, 213-224, 1974.

5) 王子善清：土肥誌，**47**，6－7，1976.

6) 王子善清・岡本三郎：神大農研報，**14**，349-353，1981.

7) 王子善清・脇内成昭・伊沢悟郎：土肥誌，**47**，172-177，1976.

8) 王子善清・渡辺睦生・高祖明・柴野佐代子・岡本三郎：日本植物生理学会1984年度講演要旨集，**24**，91，1984.

9) 王子善清・渡辺睦生・脇内成昭・岡本三郎：日本土壌肥料学会講演要旨集，**30**，99，1984.

10) 吉川春樹・小倉安之・関根隆光・森田茂廣・高橋甫：ワールブルグ検圧計，化学の領域，増刊13号，137−138，南江堂，東京，1954.