



禾本科作物の切断根による無機窒素の吸収並びに同化に関する研究（第1報）：アンモニア態窒素の吸収及び同化

伊沢， 悟郎

(Citation)

兵庫農科大学研究報告．農芸化学編, 5(1):1-16

(Issue Date)

1961-12

(Resource Type)

departmental bulletin paper

(Version)

Version of Record

(JaLCD0I)

<https://doi.org/10.24546/81008209>

(URL)

<https://hdl.handle.net/20.500.14094/81008209>



禾本科作物の切断根による無機窒素の吸収 並びに同化に関する研究

(第1報) アンモニア態窒素の吸収及び同化

伊 沢 伍 郎

Studies on the Absorption and Assimilation of Inorganic Nitrogen in Excised Roots of Cereal Plants

(Part 1) Absorption and assimilation of ammonia.

Goro IZAWA

I 緒 言

作物は、多くの場合無機窒素の形で生育に必要な窒素を肥料として施され、先ず根からこの無機窒素を吸収するのが一般であるが、根におけるこの無機窒素吸収過程を呼吸や炭水化物、有機酸代謝などの他の代謝との関連において解明することによつて、作物の根において無機窒素の吸収量を実際に支配している諸因子を一つ一つ解析することは、実際の施肥技術改善の上からも、その理論的な根拠を与える意味において、極めて重要な問題の一つである。この問題を正確に理解するためには、吸収過程ばかりではなく、吸収過程を経て根に入つてきた無機態窒素が、根中でその後どのような行動をとるか、果して同化(有機化)されるかどうか、もし同化されるとすれば、吸収過程と同化過程とは根中でどのように関連し合っているか、更に進んで、この吸収ならびに同化の両過程の進行を実際に支配している代謝反応は何か、といった点を解明して行かなければならない。また、このような根の無機窒素吸収ならびに同化過程が、 $\text{NH}_4\text{-N}$ と $\text{NO}_3\text{-N}$ で異なるかどうかという点も重要である。従来いろいろといわれてきた、 $\text{NH}_4\text{-N}$ と $\text{NO}_3\text{-N}$ に対する各種作物の対応も、^{1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 19, 20, 32)}このように両形態無機窒素の吸収過程と同化過程をお互に関連させながら、生理化学的に追究して行くことによつて、その本質の一端をうかがい知ることができであろう。以上のような観点から筆者は先ず、水稻ならびに裸麦の切断根を用いて、 $\text{NH}_4\text{-N}$ についての問題解明を企て、以下の如き実験を行なつたが、実験の説明に入る前に、生物における $\text{NH}_4\text{-N}$ の同化過程に関する従来の生化学的諸知見をふり返つてみよう。従来の生化学的諸知見によれば、生体内に入つた $\text{NH}_4\text{-N}$ は、先ずその大部分は、TCA-cycleのメンバーである α -ケトグルタル酸と、グルタミン

酸脱水素酵素の関与の下に結合しグルタミン酸になり、このグルタミン酸は更にアミノ基供与体となつて各種transaminaseの関与下で、体内における各種 α -ケト酸(ピルビン酸、オキザロ酢酸等)に自らのアミノ基を移転させることによつて相当する各種アミノ酸が形成されると同時に、各種アミノ酸の炭素鎖交換によつても、⁸⁾また種々のアミノ酸が生成せられる。^{13, 49)}植物においても実際にグルタミン酸脱水素酵素や各種^{8, 9)}transaminaseが¹⁰⁾広く分布していることが明らかとなり、cell freeの¹¹⁾発芽大豆ミトコンドリアのフラクションについての実験と同様、植物組織を用いた多くの $\text{N}^{15}\text{H}_4\text{-N}$ 使用実験も上の見解を支持しており、植物細胞によるアミノ酸合成のprimary productとしてのグルタミン酸の位置を強調している。¹²⁾しかしながら、これらの実験はcell-free preparationか、幼植物全体についての仕事が多く、実際に作物の根が $\text{NH}_4\text{-N}$ を同化することができるかどうか、同化できるとすればその過程は上述のような過程によつてのみ占められているのか、あるいは他の $\text{NH}_4\text{-N}$ 同化過程が共にoperateしていないか、いるとすればそれぞれの同化過程が全体の同化過程に占める割合は実際に如何なるものであるか。等という点については、特に水稻や裸麦の根については、はつきりしない点が多いのである。

一方、植物の根が無機要素を積極的に吸収する場合、根の呼吸が増進することは多くの研究者によつてすでに認められているが、 $\text{NH}_4\text{-N}$ の吸収に際しても同様のことが認められている。^{13, 14, 15)}また、窒素を餓状態にした酵母やクロレラ細胞に $\text{NH}_4\text{-N}$ を与えた場合にも著しい酸素消費が起こり、この著しい呼吸促進は $\text{NH}_4\text{-N}$ の吸収が行なわれている間中続くことも報告されている。¹⁶⁾このような $\text{NH}_4\text{-N}$ 吸収ならびに同化に関する生化学的諸知見は、この両過程がともに根の呼吸過程と密接にcou-

ple していることを強く暗示しているように思われる。従つて筆者は、水稻ならびに裸麦の根における $\text{NH}_4\text{-N}$ の吸収過程と同化過程との関連を、呼吸過程との関係において説明することが最も適切なことだと考えて本実験を行なつたのである。本実験の当面の目標は、上述の如く、水稻、裸麦の根における $\text{NH}_4\text{-N}$ の吸収過程と同化（有機化）過程が、呼吸を中心としてどのように関連し合っているかを説明する点にあるが、このような実験を遂行することによつて更に、①水稻、裸麦の根によつて吸収された $\text{NH}_4\text{-N}$ は、その場で同化（有機化）されるかどうか。②同化されるとすれば、吸収された根中の $\text{NH}_4\text{-N}$ の同化量を実際に根において支配している因子または反応は、どのようなものであるか。③吸収ならびに同化過程を含めて、根の $\text{NH}_4\text{-N}$ 吸収量を決定する制限要因は、普通の条件下にある根ではどのようなものであるか、という点を明らかにすることである。

尙本研究は名武昌人氏の援助を得て行つたもので記して深甚なる謝意を表する。

II 実験方法

(1) 栽培方法および実験材料の調整： 水稻（農林23号）および裸麦（赤神力）の種子をウスプルン 1,000 倍液で、水稻は5時間、裸麦種子は2時間消毒した後、よく水洗し、脱塩水で一昼夜通気を行ないながら浸漬した後、ビニール網上におき、一定温度 25°C の栽培箱の中で発芽させた。発芽は最初湿つた濾紙で覆い、発芽後これを取り除いて生育せしめた。発芽後は絶えず通気しながら脱塩水 4 l を含むポット上で栽培し、1日9時間、2,500 ルックスの照明下で $25\sim 30^\circ\text{C}$ の温度で14日～21日生育せしめた幼植物の根を、脱塩水でよく洗滌した後、根元から切断し、同一本数を同一重量になるように選別した。なお、二つの実験においては28日間生育させた幼植物の切断根を用いた。

(2) 呼吸および吸収実験： 選別された切断根は、清潔な濾紙で吸い取り、秤量後直ちに 0.067 M 磷酸緩衝液を入れたワールブルグ検圧計の容器中に入れ、1時間 endogenous respiration を測定後、側室から $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ の形で N として、 $8\mu\text{g atom}$ ($112\mu\text{g N}$) を、他の側室から種々の抗生物質、代謝阻害剤および基質などを実験の目的に応じて同時添加し、 $\text{NH}_4\text{-N}$ を吸収せしめると同時に、その間の呼吸量を測定した。呼吸の測定は直接法によつて酸素吸収のみを測定した。溶液の最終容量は 3.0 ml 。温度は 25°C 、吸収時間は4時間である。実験は少なくとも数回繰り返し、添加前の endogenous respiration の極端に大きいもの、および小さいものを除外した。

(3) 培地中および根中の遊離 $\text{NH}_4\text{-N}$ の定量： 4時間の吸収時間が終了した後、ワールブルグ容器の主室と側室とをよく混じた後、容器から根をとり出し、根は脱塩水で4回洗滌後、直ちに熱湯中に浸けて根中の遊離 $\text{NH}_4\text{-N}$ を抽出した。この熱湯による抽出は3回繰り返し、抽出液は合して、根中の遊離 $\text{NH}_4\text{-N}$ の定量に供した。一方、ワールブルグ容器中の溶液を 0.5 ml ずつ取り、培地中の $\text{NH}_4\text{-N}$ の定量に供した。 $\text{NH}_4\text{-N}$ の定量は indophenol 法により、いわゆる indophenol blue を発色せしめて $625\text{ m}\mu$ で比色した²¹⁾。なお基質ならびに阻害剤、抗生物質添加実験に際しては、その度ごとに添加物による発色阻害の有無を確かめた。

(4) $\text{NH}_4\text{-N}$ の吸収量、同化量、同化率： 吸収実験前後の培地中の差を以つて吸収量とした。 $\text{NH}_4\text{-N}$ および基質その他を一切添加しないで、他はすべて添加区と同じに処理した根の遊離 $\text{NH}_4\text{-N}$ と、添加区の $\text{NH}_4\text{-N}$ 吸収含量から、実際に測定した当該添加区の根中遊離 $\text{NH}_4\text{-N}$ 量を差引いた値をもつて、その処理区の $\text{NH}_4\text{-N}$ 同化量とした。また同化率は、同化量/吸収量 $\times 100$ をもつてした。同化率の値の変動は、吸収過程とは独立したところの同化過程そのものの活度の変化を示す尺度と考えた。

III 結 果

(1) 培地の pH の影響

第1表および第2表(i), (ii)に培地の pH が水稻および裸麦の根の $\text{NH}_4\text{-N}$ 吸収、同化ならびに呼吸に及ぼす影響についての結果を示している。両表から明らかなる如く initial pH 7.0 を最高として、それより低 pH になるにつれて呼吸量も、 $\text{NH}_4\text{-N}$ 吸収量も、従つて同化量も減少するが、同化率そのものも低下することを特に指摘しておかねばならない。両表はまた pH 7.0 区では4時間の吸収期間中に吸収された $\text{NH}_4\text{-N}$ の 90～95% が同化されたことを示している。

しかしこの同化率の値は、後の実験の control 区同化率にみられるように、用いた根の生理的活力の状態によつて多少のズレがあり、70%程度の同化率を示すこともあるが、いずれにしても吸収された $\text{NH}_4\text{-N}$ の大部分が根において同化されるらしいことは明らかであると考えられる。なお pH 7.0 区の final pH は 6.4 であつた。

(2) 吸収実験中における切断根中各窒素分劃の変動

吸収された $\text{NH}_4\text{-N}$ が同化された結果、根のいずれの窒素分劃が吸収期間中に増加するかを調べるために、吸収実験前後の裸麦切断根中各窒素分劃の量を測定した。結果は第3表に示した通りである。表から明らかなる如く、

第1表 培地の pH が水稻切断根の $\text{NH}_4\text{-N}$ の吸収, 同化および呼吸に及ぼす影響

水 稻	$\text{NH}_4\text{-N}$ 吸 収 量		$\text{NH}_4\text{-N}$ 同 化 量		$\text{NH}_4\text{-N}$ 同 化 率		呼 吸 量	
	$\text{mgN}/100\text{g}$ 乾根	pH7 を100としたときの指数	$\text{mgN}/100\text{g}$ 乾根	指 数	同化量/ $\%$ 吸収量	指 数	$\text{O}_2\text{ml}/100\text{g}$ 乾根	指 数
pH 3.0	195.3	41	136.4	31	69.9	75	657.	59
〃 4.0	196.9	41	156.4	35	79.4	85	767.	69
〃 5.0	314.9	66	274.1	62	87.0	93	786.	71
〃 6.0	340.8	72	307.6	70	90.3	97	903.	81
〃 7.0	474.7	100	442.1	100	93.1	100	1110.	100
〃 8.0	—	—	—	—	—	—	602.	54

備考: 21 日根 35 本, 25°C , $8\mu\text{g}$ atom N の $\text{NH}_4\text{-N}$ 添加, 4 時間実験

第2表 (イ) 培地の pH が裸麦切断根の $\text{NH}_4\text{-N}$ 吸収量, 同化および呼吸に及ぼす影響

裸 麦	$\text{NH}_4\text{-N}$ 吸 収 量		$\text{NH}_4\text{-N}$ 同 化 量		$\text{NH}_4\text{-N}$ 同 化 率		呼 吸 量	
	$\text{mgN}/100\text{g}$ 乾根	指 数	$\text{mgN}/100\text{g}$ 乾根	指 数	同化量/ $\%$ 吸収量	指 数	$\text{O}_2\text{ml}/100\text{g}$ 乾根	指 数
pH 3.0	16.19	33	6.79	15	41.9	46	830	63
〃 4.0	19.62	40	10.82	24	55.2	60	852	66
〃 5.0	24.71	51	20.00	45	81.0	89	949	73
〃 6.0	43.76	90	37.29	84	85.2	93	1147	88
〃 7.0	48.74	100	44.46	100	91.2	100	1269	100
〃 8.0	—	—	—	—	—	—	980	74

備考: 15 日根 15 本, 25°C , $8\mu\text{g}$ atom $\text{NH}_4\text{-N}$ 添加, 4 時間実験

第2表 (ロ) 培地の pH が裸麦切断根の $\text{NH}_4\text{-N}$ の吸収, 同化および呼吸に及ぼす影響

裸 麦	$\text{NH}_4\text{-N}$ 吸 収 量		$\text{NH}_4\text{-N}$ 同 化 量		$\text{NH}_4\text{-N}$ 同 化 率		呼 吸 量	
	$\text{mgN}/100\text{g}$ 乾根	指 数	$\text{mgN}/100\text{g}$ 乾根	指 数	同化量/ $\%$ 吸収量	指 数	$\text{O}_2\text{ml}/100\text{g}$ 乾根	指 数
pH 5.0	31.55	63	14.29	41	45.3	65	1009	78
〃 6.0	37.17	74	23.23	67	62.5	90	1258	99
〃 7.0	50.03	100	34.82	100	69.6	100	1298	100

備考: 17 日根 15 本, 25°C , $8\mu\text{g}$ atom $\text{NH}_4\text{-N}$ 添加, 実験時間 4 時間

第3表 裸麦切断根の incubation 期間中の窒素分割の変動

裸 麦	I NH ₄ -N吸収量 mgN/ /100g 乾根	II Soluble-N mgN/ /100g 乾根	III Insoluble-N mgN/ /100g 乾根	IV Total-N mgN/ /100g 乾根	V (IV+I) 仮定 Total-N mgN/100g / 乾根	VI 分 泌 量 (V-IV) mgN/100g / 乾根	VII 実測分泌量 mgN/ /100g 乾根
対 照	—	1069.5	1104.1	2173.6	—	—	—
pH 4.0	107.0	797.5	1075.5	1873.0	2280.6	407.6	461.7
〃 7.0	124.8	909.5	1086.0	1995.6	2298.4	302.8	241.2

備考 1 吸収実験を行なう前の根を対照とした

2 20日根8本, incubation 時間は5時間45分, 8μg atom NH₄-N 25°C で行なつた

pH 4.0区, 7.0区ともに培地から NH₄-N を吸収しているにも拘わらず, 根の可溶性窒素, 不溶性窒素はともに, 吸収実験開始前よりも減少しており, 従つて全窒素量も減少している。

これは実験期間中に吸収量を上廻る窒素量が NH₄-N 以外の, 例えばアミノ-N, アミド-N, ペプチド-N 其他の可溶性 N の形で根から培地へ分泌されたことを示すものである。この分泌量は実験前の根の全窒素量(第3表のIV列区)と, NH₄-N 添加区の吸収量(同表I列)との合量(同表V列)から, 当該添加区の全窒素量(同表IV列の両 pH 区)を差引いた値(同表VI列)として求められるが, この値は, 実際に実験終了時の培地の一定量を取り, 濃硫酸で分解後その NH₄-N を測定し, 根の吸収残りの培地中の NH₄-N を, この値から差引いた実際分泌量(同表VII列)と大差なく, 従つて用いた切断根では, 実験期間中に NH₄-N の吸収量を上廻る窒素量が, NH₄-N 以外の形で培地へ分泌されていることは確かであると思われる。第1, 2, 3表の結果は切断根においては, NH₄-N の吸収同化過程と, 根中蛋白質の加水分解および可溶性窒素化合物の培地への分泌過程とが, 同時に, しかも異つた道を通じて進行していることを明らかに示している。

(3) ペニシリン, クロランフェニコールの影響

この研究のすべての実験に用いられた切断根は, 最初, 種子をウスブルン消毒しただけで, 完全に無菌的に育てた幼植物から得られたものではなく, また吸収実験も完全に無菌的に行なわれたものではない。また根による NH₄-N の吸収量は実験前後の培地中の NH₄-N の差をもつて, 表わされている。従つて第3表の結果は, 切断根においては, 蛋白質の加水分解と分解産物の培地への分泌過程の方が一方的に行なわれていて, 培地中の NH₄-N の減少量をもつて表わされている根の NH₄-N 吸収量は, 実は培地中に汚染しているのかもわからない微生物によつて食われた部分に相当しているか, あ

るいは少なくともその部分が相当程度含まれているかも知れないという今一つの可能性を提供するものである。この疑問を解決するために, 培地にペニシリン, クロランフェニコールを添加したときの NH₄-N 吸収量, 同化量, 同化率ならびに呼吸量の変動を調べた。この実験の目的のためには, 培地中の微生物の生育は殆んど完全に抑えられるが, 根にはさほどの影響を与えないような量の抗生物質を与える必要がある。ペニシリンの抗菌スペクトルによれば, ペニシリン G. Na 塩は 1μ/ml の濃度でペニシリンが抗菌性をもつすべてのグラム陽性菌の生育を殆んど完全に抑えることができるといわれる。またクロランフェニコールは, その抗菌スペクトルによれば, 40γ/ml の濃度でクロランフェニコールが抗菌性をもつすべてのグラム陰性菌の生育を抑えることができると考えられる。これらことを考慮して, 裸麦根の場合はペニシリン 1μ/ml, クロランフェニコール 50γ/ml を, 水稻根の場合は更に濃度を増して, ペニシリン 1γ(1μ=0.6γ)/ml, クロランフェニコール 100γ/ml を与えた。水稻についての結果は第4表に, 裸麦についての結果は第5表に示してある。両表から明らかな如く, ペニシリン, クロランフェニコールの添加によつて, NH₄-N の吸収は少しも低下しないばかりか, 僅かに増加の傾向すら認められる。このことは測定された NH₄-N 吸収の一部は, 微生物の汚染に影響されたものかも知れないという可能性を完全に否定するものである。第5表に示す如く, 両抗生物質の添加による呼吸量の変動もまた認められない。しかしながら, 両表はまた両抗生物質の添加によつて NH₄-N の同化量ならびに同化率の低下が認められた。とくにペニシリンの添加により, 同化率は50%以下にまで低下した。これらの抗菌性物質が, 切断根の NH₄-N 吸収過程や呼吸過程には何等阻害的に働かないのに, NH₄-N の同化過程のみを選択的に阻害するということが注目値する。

第4表 ペニシリン、クロランフェニコールが水稻切断根の $\text{NH}_4\text{-N}$ の吸収および同化に及ぼす影響

水 稻	$\text{NH}_4\text{-N}$ の 吸 収 量		$\text{NH}_4\text{-N}$ の 同 化 量		$\text{NH}_4\text{-N}$ の 同 化 率	
	$\text{mgN}/100\text{g乾根}$	対照を100としたときの指数	$\text{mgN}/100\text{g乾根}$	指 数	同化量/吸収量 (%)	指 数
① 対 照	123.42	100	117.25	100	95.0	100
② ①+ペニシリン	130.79	106	59.64	51	45.6	48
③ ①+クロランフェニコール	145.56	118	104.85	89	72.0	76

備考：水稻 27 日根, 40 本, pH 6.0, 25 °C, 4 時間実験
 ペニシリン 1 γ /ml
 クロランフェニコール 100 γ /ml

第5表 ペニシリン、クロランフェニコールが裸麦切断根の $\text{NH}_4\text{-N}$ の吸収、同化および呼吸に及ぼす影響

裸 麦	$\text{NH}_4\text{-N}$ の吸収量		$\text{NH}_4\text{-N}$ の同化量		$\text{NH}_4\text{-N}$ の同化率		呼 吸 量	
	$\text{mgN}/100\text{g乾根}$	指数	$\text{mgN}/100\text{g乾根}$	指数	同化量/吸収量 (%)	指数	$\text{O}_2\text{ml}/100\text{g乾根}$	指数
① 対 照	64.38	100	44.95	100	69.8	100	882.4	100
② ①+ペニシリン	78.83	122	20.05	45	25.4	36	949.2	108
③ ①+クロランフェニコール	70.81	110	42.56	95	60.1	86	864.8	98

備考：15 日根 16 本, pH 7.0, 25 °C, 実験時間 4 時間
 ペニシリン 1 μ /ml
 クロランフェニコール 50 γ /ml
 対照は 根 + 磷酸緩衝液 + $\text{NH}_4\text{-N}$

第6表 DNP 濃度が水稻切断根の $\text{NH}_4\text{-N}$ 吸収、同化および呼吸に及ぼす影響

水 稻	$\text{NH}_4\text{-N}$ 吸 収 量		$\text{NH}_4\text{-N}$ 同 化 量		$\text{NH}_4\text{-N}$ 同 化 率		呼 吸 量	
	$\text{mgN}/100\text{g乾根}$	指数	$\text{mgN}/100\text{g乾根}$	指数	同化量/吸収量 (%)	指数	$\text{O}_2\text{ml}/100\text{g乾根}$	指数
① 対 照	293.6	100	241.0	100	82.09	100	1200	100
② ①+10 ⁻⁵ M. DNP	253.4	88	182.4	76	70.60	86	1401	117
③ ①+0.25.10 ⁻⁴ //	204.1	69	135.9	56	66.63	81	1501	125
④ ①+0.5.10 ⁻⁴ //	172.9	59	96.6	40	55.82	68	1556	130
⑤ ①+10 ⁻⁴ //	126.8	43	59.3	25	46.79	57	1368	114

備考：水稻 18 日 根 25 本, pH 6.0, 27 °C, 4 時間実験

(4) 2,4 - dinitrophenol の影響

次に oxidative phosphorylation の uncoupler として知られている 2,4 - dinitrophenol (DNP) が切断根の呼吸と $\text{NH}_4\text{-N}$ 吸収同化過程にそれぞれ如何なる影響を及ぼすかを示したのが、第6表(水稻)および第7表(裸麦)である。この両表に示された control を100としたときのそれぞれの指数を図示したのが第1図(水稻)および第2図(裸麦)である。これから明らかな如く、実験に供した濃度範囲では、DNPは切断根の呼吸を促進し、 $\text{NH}_4\text{-N}$ の吸収量、同化量、同化率を低下させる。すなわち、DNPは切断根の $\text{NH}_4\text{-N}$ 吸収過程を抑えるばかりでなく、同化過程そのものをも抑制することは明らかである。

次に $0.5 \times 10^{-4}\text{M}$ の DNP を添加した場合の水稻切断根の $\text{NH}_4\text{-N}$ 吸収量、同化量、同化率ならびに呼吸量の経時的变化を追求した結果を第8表に示した。それ

ぞれの時間の対照区を100としたときの各項目の指数を第8表から図示すれば、第3図が得られる。各時間ごとの試料が同一ではないから、この場合対照区に対する比較値(指数)が重要である。第3図は、 $0.5 \times 10^{-4}\text{M}$ 、DNPによつて呼吸が促進され、吸収量、同化量はともに低下するが、吸収量の低下がDNP添加後直ちに起こるのに反して、同化量の低下はDNP添加後約1時間を経て漸く起こり2時間では可成りの同化量の低下を示すが、しかしこれは殆んど吸収量低下からくるものであり、従つて同化率はDNP添加後1時間は上昇し、2時間を経るころより低下し初めることを示している。そしてDNP添加後におけるこの同化率上昇の内容は、吸収量の低下に比して、同化量の低下が極めて僅かなことに由来しているのであるから、DNP添加によつて最初の1時間に $\text{NH}_4\text{-N}$ の同化過程の活性が積極的に上昇したものとは考え難い。

第7表 DNPの濃度が裸麦切断根の $\text{NH}_4\text{-N}$ の吸収、同化および呼吸に及ぼす影響

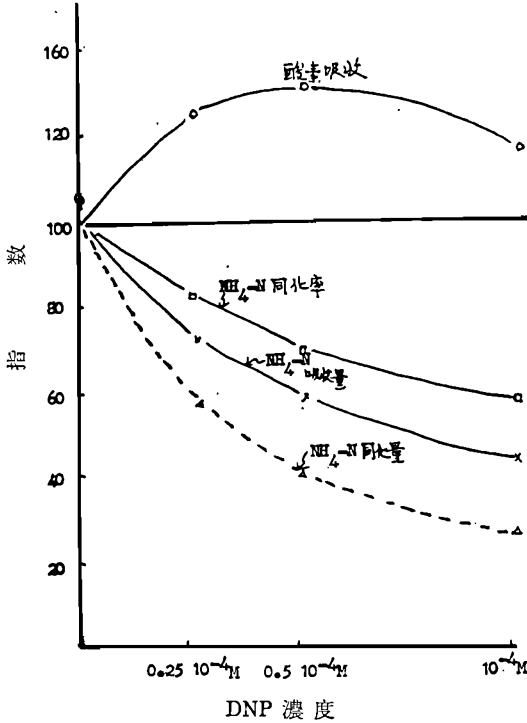
裸 麦	$\text{NH}_4\text{-N}$ 吸収量		$\text{NH}_4\text{-N}$ 同化量		$\text{NH}_4\text{-N}$ 同化率		呼 吸 量	
	mgN/ 100g乾根	指数	mgN/ 100g乾根	指数	同化量/ % 吸収量	指数	$\text{O}_2\text{ml}/$ 100g乾根	指数
① 対 照	145.0	100	138.5	100	95.5	100	876	100
② ①+0.25.10 ⁻⁴ M DNP	109.2	75	101.6	73	93.1	97	945	108
③ ①+0.50.10 ⁻⁴ M DNP	77.9	54	64.7	47	83.0	87	1044	119
④ ①+10 ⁻⁴ MDNP	37.7	26	20.3	15	54.0	57	1151	131

備考：15日裸麦 根17本、pH 6.0、25°C、4時間実験

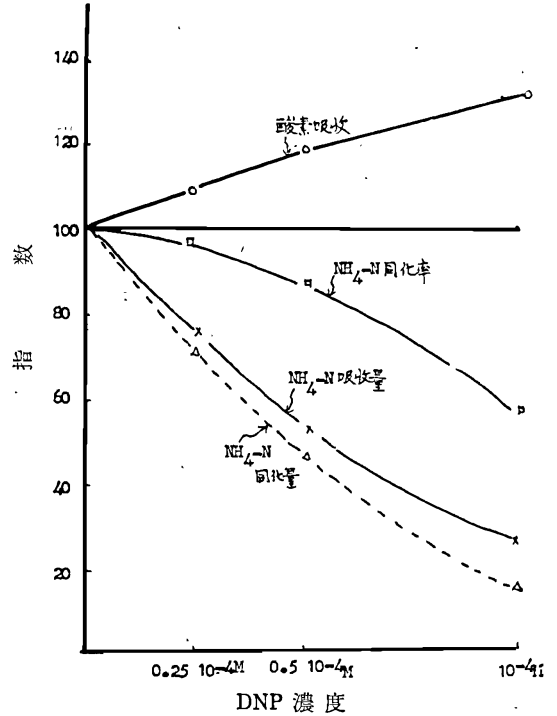
第8表 水稻切断根の $\text{NH}_4\text{-N}$ の吸収、同化および呼吸に及ぼすDNPの影響の経時的变化

水 稻	$\text{NH}_4\text{-N}$ 吸収量		$\text{NH}_4\text{-N}$ 同化量		$\text{NH}_4\text{-N}$ 同化率		呼 吸 量	
	mgN/ 100g乾根	指数	mgN/ 100g乾根	指数	同化量/ % 吸収量	指数	$\text{O}_2\text{ml}/$ 100g乾根	指数
1 時 間 対 照	96.1	100	95.9	100	99.71	100	251.2	100
〃 0.5.10 ⁻⁴ M.DNP	74.2	77	90.8	95	122.28	123	315.1	125
2 時 間 対 照	185.6	100	148.0	100	79.74	100	543.2	100
〃 0.5.10 ⁻⁴ M.DNP	116.0	63	95.7	65	82.55	104	722.1	133
4 時 間 対 照	293.6	100	241.0	100	82.09	100	1200.0	100
〃 0.5.10 ⁻⁴ M.DNP	172.9	59	96.5	40	55.82	68	1556.7	130

備考：水稻17日根34本、27°C、pH 6.0



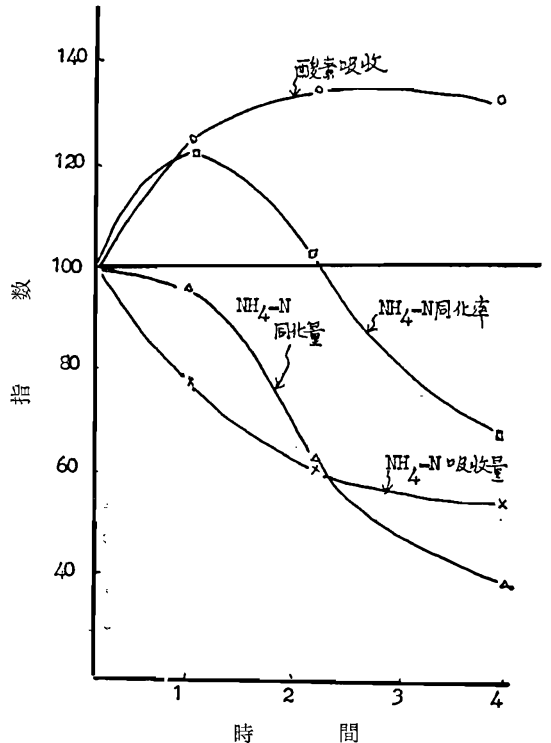
第1図 DNP が呼吸、 NH_4-N の吸収および同化に及ぼす影響 (水稻, 28° , 4時間)



第2図 DNP が呼吸、 NH_4-N の吸収および同化に及ぼす影響 (裸麦, 25° , 4時間)

(5) 各種呼吸阻害剤の影響

呼吸阻害剤として知られている KCN, $NaNO_3$, NaF, モノヨード酢酸, Na-Arsenite が切断根の NH_4-N 吸収ならびに同化過程と、呼吸過程に如何なる影響を及ぼすかを示したのが第9表 (水稻) および第10表 (裸麦) である。KCN の阻害は呼吸系のターミナル・オキシダーゼとして重金属酵素が関与していることを示すものであり、 $NaNO_3$ は低濃度では DNP 類似の uncoupler として、また高濃度ではターミナル・オキシダーゼ系の阻害剤として働くと考えられ、NaF は低濃度では phosphatase、高濃度では enolase などの阻害剤として知られ、モノヨード酢酸は三炭糖磷酸脱水素酵素、phospho-fructokinase の阻害剤として知られている。また Na-Arsenite は TCA-cycle において α -ケトグルタル酸からコルク酸に至る酸化的脱炭酸反応の強力な阻害剤として知られている。すなわち、以上を総合すれば、NaF, モノヨード酢酸は解糖作用の過程を阻害する解糖作用阻害剤、Na-Arsenite は TCA-cycle 阻害剤、KCN $NaNO_3$ は終末酸化酵素阻害剤として大別することができる。第9表および第10表から明らかなる如く、これらの阻害剤によつて、程度の差はあるが呼吸は一様に阻害さ



第3図 $0.5 \times 10^{-4} M$ DNP 添加による呼吸、 NH_4-N の吸収および同化の経時的変化 (水稻)

れている。このことは水稻、裸麦の根において、解糖作用 → TCA-cycle → 脱水素酵素系 → 重金属終末酵素系という呼吸系が明らかに存在していることを示すものであり、しかも $\text{NH}_4\text{-N}$ 吸収量もこれらの阻害剤によつて減少せしめられることは、 $\text{NH}_4\text{-N}$ の吸収過程が TCA-cycle を繞る呼吸系と密接な関係をもつていることを示すものである。水稻の NaF の場合を除いて吸

収量の低下は必然的に同化量の一般的低下をもたらすが、吸収量、同化量のこのような低下に比して、同化率の変動は阻害剤の種類によつてかなり特異的である。すなわち、解糖作用阻害剤や終末酸化酵素阻害剤では、裸麦の場合、同化率は低下しても10%以内であつて、吸収量の低下に比して極めて僅かであり、水稻の場合には同化率はむしろ上昇している。これに反して TCA-cycle 阻

第9表 KCN. マロン酸, NaF, MIA (モノヨード酢酸), Na-Arsenite の
水稻切断根の $\text{NH}_4\text{-N}$ の吸収, 同化および呼吸に及ぼす影響

水 稻		NH ₄ -N 吸収量		NH ₄ -N 同化量		NH ₄ -N 同化率		呼 吸 量	
		mgN/ 100g乾根	指数	mgN/ 100g乾根	指数	同化量/ 吸収量	% 指数	O ₂ ml/ 100g乾根	指数
A {	対 照	104.4	100	70.3	100	67.3	100	605.4	100
	10 ⁻² M KCN	22.8	22	19.8	28	86.8	129	249.5	41
	10 ⁻² M マロン酸	35.6	34	0.0	0	0	0	739.2	122
B {	対 照	190.0	100	143.9	100	75.7	100	1104.8	100
	10 ⁻³ M NaF	175.8	92	153.4	107	87.2	115	916.5	83
	10 ⁻³ M MIA	83.4	44	91.9	64	110.2	145	566.0	51
C {	対 照	213.2	100	170.1	100	79.7	100	736.8	100
	10 ⁻³ M Na-Arsenite	187.5	88	107.3	63	57.2	72	356.7	48
	10 ⁻⁴ M Arsenite	200.9	94	137.9	81	68.6	86	578.6	79

備考: A pH 7.0 29日 根35本, 27°C
B pH 7.0 21日 根28本, 27.5°C
C pH 7.0 21日 根35本, 25°C

第10表 KCN, NaNa, Na-Arsenite, MIA の裸麦の切断根の $\text{NH}_4\text{-N}$ の吸収,
同化および呼吸に及ぼす影響

裸 麦	$\text{NH}_4\text{-N}$ 吸収量		$\text{NH}_4\text{-N}$ 同化量		$\text{NH}_4\text{-N}$ 同化率		吸 収 量	
	mgN/ 100g乾根	指数	mgN/ 100g乾根	指数	同化量/ 吸収量 × 100	指数	$\text{O}_2\text{ml}/$ 100g乾根	指数
対 照	137.9	100	103.9	100	75.4	100	880.2	100
10 ⁻³ M KCN	91.4	66	64.3	62	70.3	93	578.2	66
10 ⁻³ M NaNa	82.9	60	56.0	54	67.6	90	840.5	95
10 ⁻³ M Na-Arsenite	105.1	76	49.4	48	47.0	62	463.5	53
10 ⁻³ M MIA	85.1	62	60.9	59	71.6	95	403.6	46

備考: 裸麦 14日 根 25本, pH 7.0, 25°C, 4時間実験

害剤では吸収量の低下に上廻るところの同化率の低下を招いている。この相違は、根による $\text{NH}_4\text{-N}$ の吸収過程と、吸収された $\text{NH}_4\text{-N}$ の同化過程とでは、TCA-cycle との関連の仕方が異なっているということを暗示しているものである。

(6) 糖および有機酸の影響

阻害剤の添加実験は、根による $\text{NH}_4\text{-N}$ の吸収ならびに同化過程がそれぞれ特徴的な仕方では TCA-cycle の回転と密接につながっていることを暗示しているが、TCA-cycle の基質となり得る蔗糖、ブドウ糖や、この他に TCA-cycle のメンバーである各種有機酸を添加した結果を第11表（水稻）および第12表（裸麦）に示している。両表は糖ならびに TCA-cycle メンバーの有機酸にの添加によつて、呼吸量も、 $\text{NH}_4\text{-N}$ の吸収量、同化量、同化率も上昇することを示している。しかしながら、呼吸量の増加は極めて僅かに認められるに

過ぎず、これに反して $\text{NH}_4\text{-N}$ の吸収量の増加は極めて著しい。同化率の上昇も吸収量の増加には及ばないが、呼吸量の増加に比してかなり大きいことに注目しなければならぬ。

IV 議 論

以上実験結果は、水稻、裸麦根の $\text{NH}_4\text{-N}$ 吸収、同化両過程と、呼吸との関係をかなり詳細に明らかにしたものである。以下順を追うて議論を進めていくことにする。

(1) 方法論についての吟味

本実験に用いた切断根の吸収期間中における $\text{NH}_4\text{-N}$ の吸収量と、根中の各窒素分割の変動を追求した結果は、切断根では、蛋白質の加水分解および分解生産物である有機窒素化合物の培地への分泌過程と、一方では逆に培地から根への $\text{NH}_4\text{-N}$ 吸収過程とが同時に、かつ異

第11表 蔗糖、ピルビン酸、 α ケトグルタル酸、コハク酸の添加が水稻切断根の $\text{NH}_4\text{-N}$ の吸収、同化および呼吸に及ぼす影響

水 稻	$\text{NH}_4\text{-N}$ 吸 収 量		$\text{NH}_4\text{-N}$ 同 化 量		$\text{NH}_4\text{-N}$ 同 化 率		呼 吸 量	
	mgN/ 100g乾根	指数	mgN/ 100g乾根	指数	同化量 吸収量 $\times 100$	指数	O ₂ ml/ 100g乾根	指数
対 照	132.9	100	95.7	100	72.0	100	638.4	100
10 ⁻² M 蔗 糖	329.4	248	307.7	321	93.4	130	754.1	101
10 ⁻² M ピルビン酸	482.9	363	434.9	454	90.0	125	651.3	120
10 ⁻² M α ケト グルタル酸	262.2	197	250.8	262	95.6	133	623.0	103
10 ⁻² M コハク酸	369.6	278	363.0	379	98.2	136	629.7	99

備考：水稻 21 日 根 20 本，pH 7.0，27°C，4 時間実験

第12表 蔗糖、ブドウ糖の添加が裸麦切断根の $\text{NH}_4\text{-N}$ の吸収、同化および呼吸に及ぼす影響

裸 麦		NH ₄ -N 吸 収 量		NH ₄ -N 同 化 量		NH ₄ -N 同 化 率		呼 吸 量	
		mgN/ 100g乾根	指数	mgN/ 100g乾根	指数	同化量 吸収量 × 100	指数	O ₂ ml/ 100g乾根	指数
A {	対 照	64.3	100	44.9	100	69.8	100	882.4	100
	10 ⁻² M 蔗 糖	199.7	310	161.1	358	80.7	116	987.5	113
B {	対 照	70.9	100	42.6	100	60.1	100	756.7	100
	10 ⁻² M ブドウ糖	111.8	158	81.9	192	73.3	122	809.4	107

備考： A は裸麦 15 日 根 16 本，pH 7.0，25°C，4 時間実験
B は裸麦 14 日 根 16 本，pH 7.0，25°C，4 時間実験

なつた道を通つて行なわれており、しかも分泌過程の方が吸収過程よりも優勢に行なわれていることを示しているが、更にまた、実験期間中に培地の全窒素は増加するの、培地中の $\text{NH}_4\text{-N}$ は、減少することから、培地へ分泌される窒素化合物の形態は、 $\text{NH}_4\text{-N}$ まで分解された形ではなく、含窒素有機化合物の形であることを示している。このように用いた切断根は、蛋白質加水分解および分解生産物の分泌という方向の代謝が優つているとはいえ、一方では恐らく別の行路を経て培地から $\text{NH}_4\text{-N}$ と吸収していることは殆んど確実と思われる。しかし本実験では、前述の如く、吸収実験前後の培地中の $\text{NH}_4\text{-N}$ の減少量をもつて $\text{NH}_4\text{-N}$ 吸収量としたため、培地に汚染しているかも知れない微生物によつて食われた部分も吸収量として含まれているという懸念がある。従つて用いた切断根では、 $\text{NH}_4\text{-N}$ の吸収能力はたとえあつても極めて僅かであつて、蛋白質の加水分解ならびに分解生産物の培地への分泌過程のみが一方的に行なわれているに過ぎず、 $\text{NH}_4\text{-N}$ の吸収同化過程についての実験材料としては適当でないということにもなりかねない恐れがある。しかしながら、この可能性は前述の如く、ペニシリン、クロランフエニコールの添加区における $\text{NH}_4\text{-N}$ 吸収量が、無添加対照区における吸収量よりも僅かに多いという傾向すら認められるから、この虞れは完全に否定されたものと考えられる。すなわち $\text{NH}_4\text{-N}$ 吸収量の測定方法として本実験に用いられた手段は正に当を得たものであり、 $\text{NH}_4\text{-N}$ 吸収量として示された値は、根によつて吸収された $\text{NH}_4\text{-N}$ の量を正しく表わしていると考えて差支えない。

さて、用いた切断根が実験材料として適当であり、 $\text{NH}_4\text{-N}$ の吸収量の測定方法も妥当であるとすれば、 $\text{NH}_4\text{-N}$ の同化量の測定が次に問題となる。同化量は前述の如く、 $\text{NH}_4\text{-N}$ 、基質その他を一切添加しないで他はすべて添加区と同様に処理した根の遊離 $\text{NH}_4\text{-N}$ 量と、添加区の $\text{NH}_4\text{-N}$ 吸収量との含量から、実際に測定した当該添加区の根中遊離 $\text{NH}_4\text{-N}$ 量を差引いた値として示されたから、吸収測定に問題がないとすれば、根中遊離 $\text{NH}_4\text{-N}$ を定量するまでに取られた処理が適当であつたかどうかという点に問題がしぼられてくる。すなわち、ここでは、根中の遊離 $\text{NH}_4\text{-N}$ の抽出に先立つて行なわれた洗滌回数と、次に行なわれた抽出の回数が適当であつたかどうかということになるであろう。本実験では、洗滌回数は脱塩水で4回、抽出回数は熱湯で3回行ない、特に3回目は鉋で根を細断して後に熱湯抽出を行なつた。洗滌回数についての検討はの場合特に行なわなかつたが、第二報の $\text{NO}_3\text{-N}$ についての同様

な方法論での洗滌回数検討実験からも、4回の洗滌回数は根表面に付着している $\text{NH}_4\text{-N}$ を完全に除くのに不足であつたとは思われぬ、また抽出回数は3回抽出液と4回抽出液の中の $\text{NH}_4\text{-N}$ が殆んど変わらないことを予備実験で確かめている。いずれにしても根中遊離 $\text{NH}_4\text{-N}$ の定量のためにとられた処理は不適当とは思われぬが、しかし絶対正しいと判定する基準はもちろん得られないから、すべての実験について、同じ洗滌回数、同じ抽出回数で処理することによつて、相対的に正しい値を得ることに努力した。またこの同化量の測定方法が適当であるということの間接的な証拠が、先の抗生物質添加実験から得られている。

ペニシリン、クロランフエニコールが、用いた濃度範囲で、根の呼吸量ならびに $\text{NH}_4\text{-N}$ 吸収過程に何等阻害的に働かないばかりか、むしろ僅かながら吸収過程を促進させる方向に働くのに反して、同化過程には著しく阻害的に働くことは先に指摘した通りである。ペニシリン、クロランフエニコールの作用機作については、明確でない点も多いが、ペニシリンは細菌の核酸代謝および蛋白質合成反応を阻害することによつて抗菌性を持ち、またクロランフエニコールはアミノ酸代謝や脂肪およびエステル代謝の阻害を行なうことによつて抗菌性を持つのではないかとされている。特にクロランフエニコールのアミノ酸代謝阻害の作用機作については、アンモニアの利用および結合型グルタミン酸の形成を阻害することによつて、蛋白質の合成を抑制すると考えられる証拠がある。^{34, 35)} 植物においても Webster は、えんどう幼植物の抽出液において 100~500 $\mu\text{g}/\text{ml}$ のクロランフエニコールがアミノ酸の蛋白質への incorporation を完全に阻害したことを述べている。³⁶⁾ これらのことはペニシリン、クロランフエニコールが、ともかくも無機 $\text{NH}_4\text{-N}$ の利用とアミノ酸生成、生成アミノ酸の蛋白質への incorporation とつながる一連の蛋白質合成反応のうちいずれかと、また、いくつかの反応に阻害的に働くことを示すものである。しかし植物の根においても類似の阻害反応が認められ、水稻や裸麦の根においては特にこれらの反応のうち、 $\text{NH}_4\text{-N}$ の有機化反応を選択的に阻害することが示された。このように微生物の作用機作と類似の作用機作が、水稻や裸麦の根についても認められたという事実は、本実験で用いた同化量の測定方法が当を得たものであり、正しく無機窒素の同化、アミノ酸合成という方向の過程が行なわれているという一つの証左であると考えられる。

(2) 培地の pH の影響と、組織の水準からみた $\text{NH}_4\text{-N}$ 同化の場所について

さて、第1表および第2表に示した通り、 $\text{NH}_4\text{-N}$ 吸収のための最適 pH は initial pH 7.0 区と判明したが、この区の final pH は 6.4 であったから、 $\text{NH}_4\text{-N}$ 吸収の最適の pH 条件は 6.5 付近と考えられる。しかして、この最適 pH 条件下では吸収した $\text{NH}_4\text{-N}$ の 90~95% が実験期間中に同化されたことを示している。この同化率の値は、用いた根の生理的活性の相違によつて実験の度に多少のズレはあるが、ともかく、水稻、裸麦の根は $\text{NH}_4\text{-N}$ を吸収した場合、その大部分を根で同化するものであつて、これらの作物の根は $\text{NH}_4\text{-N}$ に関して吸収器官であると同時に、同化器官であるといふことができる。^{27, 28, 29, 30, 31)} Bollard は多くの植物の xylem sap 中の窒素化合物を研究し、無機の形態としては NO_3^- が調査した植物のうち50%に見られたが、その量は少量に過ぎず、すべての植物はアミノ窒素とアミド窒素の形で存在し、無機窒素は吸収されて上部に移行する前に有機化されると主張している。尾崎氏は水耕栽培せる水稻に $(\text{N}^{15}\text{H}_4)_2\text{SO}_4$ を与え、1時間および6時間を経過したときに、葉および根中の蛋白質部分および非蛋白質部分の N^{15} の分布を追求め、1時間のものおよび6時間のいずれも根および葉においても N^{15} は蛋白質部分に殆んど見出されず、大部分が非蛋白質部分に存在することを証明した。³⁷⁾ これらの人々の見解は、 $\text{NH}_4\text{-N}$ 同化に関するこの実験結果を強く支持するものであり、また、水稻、裸麦などにおいても、 $\text{NH}_4\text{-N}$ は吸収されて茎葉部に運ばれる前に先ず有機化され、有機窒素の形で地上部に移行するものと思われる。このように $\text{NH}_4\text{-N}$ は水稻、裸麦の根によつて吸収され、そこで有機化されるのであるが、この同化の過程が、培地の pH によつて抑えられる傾向が見出されたことは注目し値する。すなわち、培地の pH が 7.0 より低くなるにつれて吸収量、同化量ならびに呼吸量が低下するばかりか、同化率そのものも減少することは第1表および第2表に示した通りである。このことは前述の如く、培地の pH が根による $\text{NH}_4\text{-N}$ の吸収過程と同様に、同化過程そのものをも抑えることを意味するものである。同様なことがタバコについて高橋、吉田氏によつて指摘されており、培養液の酸性によつてタバコ根に遊離 $\text{NH}_4\text{-N}$ が著しく増加することを認めている。³²⁾ さて根による $\text{NH}_4\text{-N}$ の吸収過程が、培地の pH によつて影響されるということは、吸収が培地と接触している根の表面細胞乃至は組織によつて行なわれるので当然と考えられるが、根の中で行なわれると考えられるところの同化過程自体が培地の pH によつて影響を受けるといふことは、根における $\text{NH}_4\text{-N}$ の同化過程が、吸収過程と同様に根の表面細胞乃至は表面組織

によつて行なわれることを強く暗示しているものであり、 $\text{NH}_4\text{-N}$ は根の表面細胞によつて吸収されると同時に、直ちにその場で有機化されるものと考えられるのである。

(3) $\text{NH}_4\text{-N}$ 吸収ならびに同化過程と oxidative phosphorylation との関係

上のような $\text{NH}_4\text{-N}$ の吸収、同化過程が根の呼吸過程と、それぞれどのような関係にあるかを、先ずエネルギー代謝の面から検討して行くことにする。

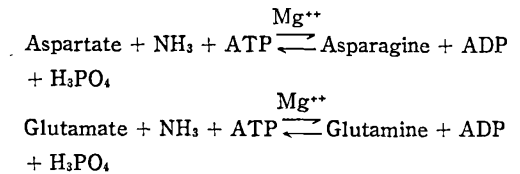
呼吸から生ずるエネルギーの大部分は、酸化過程において無機磷酸のエステル化を伴う ATP 生成作用を通じて ATP の energy rich phosphate bond に集積され、種々の合成反応に利用されると考えており、また DNP は呼吸による酸素消費は増大せしめるが、体内 ATP を減少せしめ、無機磷酸を増加せしめることは多くの研究者によつてすでに指摘されている。^{38, 39, 40)} 高等植物においても、このような oxidative phosphorylation が存在し、これが DNP によつて阻害されることは丸尾 Bonner⁴²⁾ などによつてすでに証明されている。従つて生体内において DNP によつて阻害を受けるすべての反応は、TCA-cycle の回転に伴う oxidative phosphorylation からの ATP に集積されたエネルギーを必要とする反応であるといふことができる。植物の根による積極的なイオン吸収が、DNP によつて阻害を受けることはすでに Ordin²⁵⁾ 等や三井氏らによつて明らかにされている。水稻および裸麦の $\text{NH}_4\text{-N}$ 吸収も DNP によつて阻害されることが、第6表および第7表ならびに第1図および第2図に示されている。しかしてまた、これらの図表は、実験を行なつた4時間の吸収期間で、吸収量と同様、同化率自体が DNP 添加によつて減少することを示している。このことは吸収過程ばかりでなく、根における $\text{NH}_4\text{-N}$ の同化過程そのものも、oxidative phosphorylation からのエネルギーを必要とする反応であるか、あるいは少なくともそのような反応を含んでいるということを示す一つの証左である。ここで $0.5 \times 10^{-4}\text{M}$. DNP 添加による経時的実験(第8表および第3図)をみると、 $\text{NH}_4\text{-N}$ の吸収量低下は、添加後直ちに起こるが、同化率は添加後最初は上昇し、2時間を過ぐる頃から漸く低下しはじめ、添加後4時間で、同化過程全体の率は約30%低下している。このことは $\text{NH}_4\text{-N}$ の積極的な吸収過程は、全面的に oxidative phosphorylation からエネルギーに依存する反応であるが、同化過程については、必ずしもそうではなく、oxidative phosphorylation からのエネルギーの要求の仕方が、吸収過程ほど直接的ではなく、呼吸に対するエネルギー代謝の面での結び付きが吸収過程と同化過程とで

は、かなり異つてゐることを示すものである。DNP 添加初期におけるこの一時的な同化率の上昇は、先にも指摘した通り、同化率上昇の内容から考えて、同化過程の活性が高まつたことを意味するものと考え難いが、しかし同化率に関するこの DNP 添加の経時的変化は、 $\text{NH}_4\text{-N}$ の同化過程が、実際根においては、oxidative phosphorylation からのエネルギーを必要としない反応と、これを強く必要とする反応から成立つており、 $\text{NH}_4\text{-N}$ 添加後の初期においては、前者の反応が無機 $\text{NH}_4\text{-N}$ 同化の主要な過程であるが、時間が経つにつれて後者の反応の全同化過程に占める割合が漸次多くなり、切断根においては $\text{NH}_4\text{-N}$ 添加後2時間ほどを過ぐる頃から漸くこの傾向が現われてくることを示すものと考えられる。

しからば、 $\text{NH}_4\text{-N}$ の第一次有機化反応のうち、oxidative phosphorylation からのエネルギーを必要としない反応と必要とする反応との実体は如何なるものであろうか。無機窒素同化の第一次生産物としては、一般にグルタミン酸が考えられているが、この他にグルタミンも植物体における $\text{NH}_4\text{-N}$ 同化の第一次生産物と考えられる証拠が数多く出されている。すなわち Yemm などは、大麦の根に無機窒素を同化させたところ、グルタミンが著しく増加し、しかも N^{15} を用いての実験でグルタミンが無機 N^{15} 同化の第一次生産物であることを確かめ Pleshkov などは、無機窒素を与えられた玉蜀黍の切断根で短時間にアミノ酸およびアミドを合成したが、特にグルタミンが一番最初に、しかも最も活発に根中に蓄積した生産物であることを認めた。⁴⁴⁾ Folks は酵母における $\text{N}^{15}\text{H}_4\text{-N}$ からの各アミノ酸およびアミドの生成について反応速度論的解析を行ない、 $\text{N}^{15}\text{H}_4\text{-N}$ 同化の第一次生産物はグルタミン酸とグルタミンであり、その他のアミノ酸は、グルタミン酸からのアミノ転位作用か、あるいはその結果生じた種々のアミノ酸の炭素鎖変換反応によつて生じたものであり、無機 $\text{NH}_4\text{-N}$ との直接結合によつて生ずる可能性はないこと、そしてこれらの関係は植物についても同様であろうと主張した。このように無機 $\text{NH}_4\text{-N}$ の第一次生産物としては、グルタミン酸とグルタミンが考えられるが、 $\text{NH}_4\text{-N}$ の直接の有機化反応としては、この他にアスパラギン酸からのアスパラギンの合成反応が考えられている。すなわち Webster はルービンの幼植物や、トマトの芽生え、ルービン幼植物の cell free 抽出液において aspartate と NH_3 からアスパラギンが合成されると見出ししている。⁴⁷⁾ 以上の事実は、 $\text{NH}_4\text{-N}$ 同化の第一次生産物としてグルタミン酸とそのアミドのグルタミンおよびアスパラギンがそ

の位置を占めることを示すものである。

それではこのグルタミン酸生成反応とアミド生成反応が oxidative phosphorylation に対して如何なる関係にあるであろうか。この問題についてはグルタミン酸生成反応は、oxidative phosphorylation からのエネルギーを必要としない反応と考えられており、⁴⁸⁾ これに反して、アミド生成反応は、ATP からのエネルギーを必要とするところの、エネルギー依存度の極めて高い反応であるということが明らかにされている。Welster および Varner ⁴⁷⁾ および Webster ⁴⁹⁾ はルービン幼植物の cell free 抽出液における aspartate と NH_3 からのアスパラギンの合成には ATP と Mg^{++} が不可欠であることを確かめ、更に Webster はグルタミンの合成においても ATP と Mg^{++} が不可欠の要因であることを確かめた。⁵⁰⁾ これらの両反応は次の如くであるとした。



実際の根においても、 $\text{NH}_4\text{-N}$ の有機化反応として、エネルギーを必要としないグルタミン酸生成反応と、エネルギーを必要とするアミド生成反応とが共存していると考えられる。先に著者が示した如く、 $\text{NH}_4\text{-N}$ を窒素源として育てた水稻や小麦の根に遊離アミノ酸およびアミドをペーパークロマトグラフィーで検索したところ、グルタミンとグルタミン酸が相対的に多く認められた事実は、このことを裏書きしたものであり、また著者が行なつた研究でグルタミンの方が常にアスパラギンよりも多かつたことは、^{54,55)} アミド合成反応としては、グルタミン合成反応の方が禾本科作物の稲、小麦では優勢に行なわれていることを示すものであるように思われる。

またグルタミン酸合成反応とアミド合成反応のうち、いずれの過程が、全 $\text{NH}_4\text{-N}$ 同化過程のうち、どれ程の割合を占めているかという問題は、恐らくそのときの根の生理状態、とくに体内の基質水準との関係において決定されるのであろう。吸収された $\text{NH}_4\text{-N}$ の量に比して、これを有機化すべき有効炭素量が根に十分に多量に存在するときには、 $\text{NH}_4\text{-N}$ は主としてグルタミン酸生成反応を通じて有機化されるが、逆に有効炭素量が $\text{NH}_4\text{-N}$ に比して相対的に少ない場合に、かつ根において遊離グルタミン酸量が多いときにはこの有効炭素は呼吸エネルギーとして消費される条件の下でアミド生成反応を通じて有機化されることになるのであろう。この辺の事情は先に述べた DNP 添加後の経時的実験（第

8表および第3図)によつて伺うことができる。すなわち、DNP 添加後直ちに、 $\text{NH}_4\text{-N}$ の吸収は低下しはじめるが、最初の間 $\text{NH}_4\text{-N}$ 吸収量に比して、体内の有効炭素量あるいは基質炭素量が相対的に多く、かつ、エネルギー代謝と切り離された物質代謝の面での呼吸の回転速度はむしろ DNP の添加によつて増加しているのであるから、このときの $\text{NH}_4\text{-N}$ 同化反応は、エネルギーを必要としない、かつ物質代謝の面でだけ呼吸と結びついたような反応、つまり、グルタミン酸生成反応が主であり、このような状態では、 $\text{NH}_3\text{-N}$ の同化量は $\text{NH}_4\text{-N}$ の吸収量を上廻ることになる。時間の経過につれて切断根内のグルタミン酸濃度が高まり、相対的に基質濃度が減少してくると、アミド生成反応が $\text{NH}_4\text{-N}$ 同化の第一次同化反応として登場してくるが、この反応は oxidative phosphorylation からのエネルギーを必要とする反応であるから、DNP の添加によつて抑えられ、DNP 添加後4時間では、同化率が対照区に比して30%程度低下するという結果を来すのであろう。これと類似の反応も全植物を用いての実験にも存在し、窒素給与量と、日照時間あるいは生育時期との関係で、 $\text{NH}_4\text{-N}$ の吸収量と根の炭水化合物あるいは有機酸代謝における炭素基質との相対的量によつて、植物根内の第一次 $\text{NH}_4\text{-N}$ の同化生産物として、グルタミン酸生成反応とグルタミン生成反応のいずれが優位を占めるかが決定されるものと考えられる。

これまでの議論によつて、水稻、裸麦の根による $\text{NH}_4\text{-N}$ の吸収過程は専ら oxidative phosphorylation からのエネルギーを必要とする反応であり、結局呼吸とはエネルギー代謝の面で結びついてゐるが、同化過程は oxidative phosphorylation からのエネルギーを必要としない反応と必見とする反応から成り、エネルギー代謝の面での呼吸との結びつきは、アミド合成反応との関連であることがほぼ明らかになつたものと思われる。しかしながら、アミドの前駆物質⁶¹⁾はそれぞれグルタミン酸またはアスパラギン酸であり、グルタミン酸は前述の如く、oxidative phosphorylation からのエネルギーを必要としない反応によつて形成され、アスパラギン酸もまた、オギザロ酢酸とグルタミン酸のアミノ転位作用によつて形成されると考えられているから、結局、oxidative phosphorylation からのエネルギーを必要としないところのグルタミン酸生成反応こそが、 $\text{NH}_4\text{-N}$ の同化反応としては第一義的なものと考えられるのである。そしてグルタミン酸およびアスパラギン酸の前駆物質はそれぞれ α -ケトグルタル酸およびオギザロ酢酸であり、両者は TCA-cycle のメンバーであるから、結局根に

おける $\text{NH}_4\text{-N}$ の同化過程は、呼吸とは物質代謝の面で第一義的に関連していると考えてもよいであろう。このことは窒素飢餓状態にしたクロレラ細胞に $\text{NH}_4\text{-N}$ を与えたとき、著しい呼吸(酸素消費)促進が起こるが、このときは呼吸(CO_2/O_2)⁶⁴⁾は、初めの1.0から0.6~0.8まで低下するという事実によつても裏づけられる。しかしながら、すべての植物体の xylem Sap 中に必ずアミドが多量に存在していることが明らかにされているが、このようにアミドは窒素の移行形態として見逃すことのできない重要性をもつものであり、先にも述べた如く、全植物の根において、かなり活発に、かつ多量に生成されている^{54, 55)}。この点から根におけるアミド生成を重要視しなければならないと考えるのである。

(4) 吸収、同化過程における TCA-cycle の意義と $\text{NH}_4\text{-N}$ 吸収量の制限因子について

上述した根における $\text{NH}_4\text{-N}$ の吸収ならびに同化両過程と、oxidative phosphorylation すなわち呼吸との結びつきは、呼吸阻害剤の添加実験によつて、一層明確にされる。この実験によつて、水稻、裸麦の根には解糖作用→TCA-cycle→脱水素酵素系→終末重金属酸化酵素系という呼吸系が明らかに存在し、しかも $\text{NH}_4\text{-N}$ の吸収および同化の両過程が、TCA-cycle の回転とそれぞれ異なつた仕方ではあるが、密接に関連していると考えられることは、先に述べた通りである。特に $\text{NH}_4\text{-N}$ の吸収量は解糖作用阻害剤、TCA-cycle 阻害剤および末端酸化酵素阻害剤の添加によつて、ことごとく低下するのに、同化率のみは解糖作用阻害剤および末端酸化酵素阻害剤の添加によつて極めて僅かしか低下しないか(裸麦)、あるいは却つて上昇し(水稻)、TCA-cycle 阻害剤の添加によつてのみ吸収量を上廻るところの著しい低下を来すことを先に指摘した。このことは、 $\text{NH}_4\text{-N}$ の根による吸収過程は、結局 TCA-cycle の回転とエネルギー代謝の面で関連しているが、同化過程は一次的に TCA-cycle と物質代謝の面で関連していることを示す有力な証拠である。すなわち解糖作用系や末端酸化酵素系がブロックされたときには、このときの呼吸阻害程度に応じて、TCA-cycle そのものの回転はもちろんにぶり、従つて吸収量ならびに同化量はそれぞれに応じて制限されるが、TCA-cycle そのものがブロックされたわけでないから、呼吸阻害程度に応じて制限された量だけ $\text{NH}_4\text{-N}$ が吸収され、TCA-cycle はこれを有機化(同化)するために炭素鎖を供給することは可能であり、このような有機化反応が、呼吸からのエネルギーを必要としない反応である限り、この条件下では同化量が低下しても、同化率は低下しない

のみでなく、吸収量の低下が著しい程、同化率は対照区を上廻る可能性さえ出てくるであろう。

もしそうであるとすれば、TCA-cycle そのものがブロックされた場合には、上述の関係は不可能であり、このときには $\text{NH}_4\text{-N}$ の吸収は当然抑えられるが、制限されて根に入ってきた $\text{NH}_4\text{-N}$ の同化過程そのものもまた抑えられるであろう。第9表および第10表に示した以上の如き結果は、 $\text{NH}_4\text{-N}$ の根における吸収過程が、TCA-cycle の回転とエネルギー代謝の面で専ら連結しているのに、同化過程は第一義的に、TCA-cycle と $\text{NH}_4\text{-N}$ の同化のための炭素鎖を供給するという物質代謝の面で連結していることを明らかに物語っている。

以上の議論によつて蔗糖、ブドウ糖および TCA-cycle のメンバーの添加によつて得られた第11表および第12表の結果は上述の論拠を証明したものである。この場合、呼吸量の増加が極めて僅かであることの理由としては第一に用いた根の基質水準が高く、そのため、糖や TCA-cycle のメンバーの添加による効果が酸素消費の上に現われなかつたのか、あるいは第二に TCA-cycle 以外の酸素吸収系が根に存在しているのか、またはその二つであるのかも分らないが、実験に用いた植物は1日9時間照明下で2~3週間育てた幼植物根で、切断後直ちに実験に供したものであるから、根の基質水準はかなり高かつたものと思われる。そしてこれらの基質の添加によつて、吸収量、同化量および同化率がいずれも著しく上昇したことは、根による $\text{NH}_4\text{-N}$ の吸収、同化過程が TCA-cycle の回転に密接に結びついていることを示す今一つの証拠である。しかしまた、用いた切断根の基質レベルがかなり高いと考えられるにも拘わらず、糖や TCA-cycle のメンバーの添加によつて、 $\text{NH}_4\text{-N}$ の吸収量が増大するということは、根における基質レベルだけが、 $\text{NH}_4\text{-N}$ の吸収量を決定する限定要因であることを明確に示すものである。すなわち、 $\text{NH}_4\text{-N}$ の場合、根内基質レベルが十分に高く、豊富なエネルギー供給によつて多量の $\text{NH}_4\text{-N}$ を吸収しても、吸収過程と同化過程とが、TCA-cycle という回転橋を連絡路として、恰も一本の道の如くに円滑に連絡しているから、吸収された $\text{NH}_4\text{-N}$ がそのままの形で根に蓄積することなく、次々に吸収過程の系外に落されるために、地上部から遮断され、各種の要素を受入れるべき space に限度のある切断根といえども、実験した時間内では、根の space が吸収量の制限要因となることもなく、回転橋の回転速度が速く、呼吸、同化両過程を連絡させる回数が多くなればなる程、 $\text{NH}_4\text{-N}$ の吸収量は必然的に多くなるのである。

以上は水稻、裸麦の切断根についての議論であるが、完全な植物の根においても、 $\text{NH}_4\text{-N}$ に関する限り、直接的には同様な反応が進行しているものと思われる。そしてまた、実際の根において、 $\text{NH}_4\text{-N}$ の積極的吸収量を支配している制限因子は根の基質レベルであり、より直接的には TCA-cycle の回転速度であることが明らかにされたものと思われる。

V 要 約

1日9時間2,500ルクスの照明下で、2~3週間脱塩水で育てた水稻（農林23号）、裸麦（赤神力）、の切断根を0.067M 磷酸緩衝液を含むワールブルグ容器中に入れ、 $\text{NH}_4\text{-N}$ （8 μg atom N）と抗菌性物質、各種代謝阻害剤、基質などを同時に添加して、4時間における $\text{NH}_4\text{-N}$ 吸収量、根中遊離 $\text{NH}_4\text{-N}$ 量、呼吸量を測定し、併せて $\text{NH}_4\text{-N}$ の同化量および同化率を算出した。得られた結果は次の如くである。

(1) 用いた切断根では、 $\text{NH}_4\text{-N}$ の吸収過程と逆に根の中の蛋白質加水分解および分解生産物たる有機窒素化合物の培地への分泌過程とが、同時にかつ、異なつた道を経て行なわれており、しかも加水分解物の分泌過程の方が優勢であつた。

(2) pH 7.0 を最適として培地の低 pH は、根の呼吸を低めて $\text{NH}_4\text{-N}$ の吸収を抑えるのみでなく、同化過程をも低下せしめる。水稻、裸麦の根は $\text{NH}_4\text{-N}$ の吸収に関しては吸収器官であると同時に、同化器官でもある。

(3) 根における $\text{NH}_4\text{-N}$ の同化過程は、根の表面細胞かあるいは表面組織において行なわれるという可能性がある。すなわち、根に吸収された $\text{NH}_4\text{-N}$ はその場で同化反応に投入されるものと思われる。

(4) ペニシリン、クロランフエニコールは、根の $\text{NH}_4\text{-N}$ 吸収反応には何等阻害的に働かないが、同化過程を著しく阻害する。

(5) DNP の添加実験は、根による $\text{NH}_4\text{-N}$ の吸収過程は、専ら oxidative phosphorylation からのエネルギーを必要とする反応であり、同化過程はこのようなエネルギーを必要とする反応と、必要としない反応から成立していることを暗示した。

(6) 解糖作用阻害剤、TCA-cycle 阻害剤、末端酸化酵素阻害剤の添加実験ならびに、蔗糖、ブドウ糖、ピルビン酸、 α -ケトグルタル酸、コハク酸などの基質、TCA-cycle メンバーの添加実験は、根における $\text{NH}_4\text{-N}$ の吸収過程が、TCA-cycle の回転とエネルギー代謝の面で結びついており、同化過程も多分アミド生

成という点で TCA-cycle の回転とエネルギー代謝の面で結びついているが、第一義的には TCA-cycle と物質代謝の面で結びついていることを示した。しかしながら、完全な植物の根では $\text{NH}_4\text{-N}$ の第一次同化反応としてアミドの生成反応を無視することができないことに論及した。

(7) 水稲、裸麦の切断根において、 $\text{NH}_4\text{-N}$ の吸収量を決定する制限要因は、根の基質水準であり、より直接的には TCA-cycle の回転速度そのものであることが推論された。

(肥科学講座, 昭 36. 8. 30 受理)

文 献

- 1) 渋谷・佐伯・片貝：熱帯農会誌, **7**, 183—196 (1935).
- 2) 渋谷・佐伯・片貝：熱帯農会誌, **7**, 277—288 (1935).
- 3) 渋谷・佐伯・片貝：熱帯農会誌, **8**, 18—27 (1936).
- 4) 渋谷・佐伯・片貝：熱帯農会誌, **9**, 1—11 (1937).
- 5) WEISSMAN, G. S. : *Amer. J. Bot.*, **46**, 339—346 (1959).
- 6) WALLACE, A. and MUELLER, R. T. : *Proc. Am. Soc. Hort. Sci.*, **69**, 182—8 (1957).
- 7) STEWARD, F. C. et. al. : Utilization of Nitrogen and its Compounds, 148—176 (1959).
- 8) BONNER, J., : *Plant Biochemistry*, 228—229 (1950).
- 9) BONE, D. H., : *Nature*, Suppl. No. **13**, 990 (1959).
- 10) WILSON, D. G., KING, K. W. and BURRIS, R. H., : *J. Biol. Chem.*, **208**, 863—874 (1954).
- 11) 赤沢・舟橋・瓜谷：農化, **27**, 849—852 (1953).
- 12) YEMM, E. W. and FOLKES, B. F., : *Ann. Rev. Plant Physiol.*, **9**, 245—280 (1958).
- 13) LUNDEGARTH, H., : *Nature*, **185**, 70—74 (1960).
- 14) EPSTEIN, E., : *Science*, **120**, 937—8 (1954).
- 15) HANDLEY, R. and OVERSTREET, R., : *Plant Physiol.*, **30**, 418—426 (1955).
- 16) 岡島・高城・日土肥, **26**, 323 (1955).
- 17) 管原・熊谷・志村：農化, **32**, 348—352 (1958).
- 18) IWAMOTO, K., and SUGIMOTO, H., : *Bull. Agr. Chem. Soc. Japan*, **22**, 410—419 (1958).
- 19) SYRETT, P. J., : *Physiol. Planta*, **8**, 924—939 (1955).
- 20) SYRETT, P. J., : *Physiol. Planta*, **9**, 19—27 (1956).
- 21) 波多野・桐田：化学の領域増刊, **34**, 46 (1958).
- 22) 東大農化教室：実験農芸化学, 上巻, 296, 307 (1960).
- 23) 関根・笹川・森田・高橋：化学の領域増刊, **20**, 101—106 (1955).
- 24) 三井・熊沢：日土肥, **27**, 439—442 (1957).
- 25) ORDIN, L. and JACOBSON, L., : *Plant. Physiol.*, **30**, 21—27 (1955).
- 26) NEILANDS, J. B., STUMPF, P. K. and STANIER, R. Y., : *Outline of enzyme chemistry*, 250, (1955).
- 27) BOLLARD, E. G., : *Chem. Abst.*, **53**, 4444 (1959).
- 28) BOLLARD, E. G., : *Australian J. Biol. Sci.*, **10**, 279—301 (1957).
- 29) BOLLARD, E. G., : *Australian J. Biol. Sci.*, **10**, 288—291 (1957).
- 30) BOLLARD, E. G., : *Australian J. Biol. Sci.*, **10**, 292—301 (1957).
- 31) BOLLARD, E. G., : *Nature*, **178**, 1189—1190 (1956).
- 32) 高橋・吉田：日土肥, **29**, 200—204 (1958).
- 33) 笹川：酵素化学の進歩, 第5集の1, 105—131 (1954).
- 34) WISSEMAN, C. L. F., LAY, H. L. F. and HAHN, F. E., : *Bact. Proc.*, 94, (1952).
- 35) GALE, E. F. and PAIME, T., : *Biochem. J.*, **48**, 298—301 (1951).
- 36) WEBSTER, G. C., : *Plant Physiol.*, **31**, 482 (1956).
- 37) OZAKI, K. and SASAKI, K., : *Soil and Plant Food.*, **2**, 25—27 (1956).
- 38) NEILANDS, T. B., STUMPF, P. K. and STANIER, R. Y., : *Outlines of enzyme chemistry*, 274—277 (1955).
- 39) 赤沢・瓜谷：化学の領域, 増刊, **20**, 194—201 (1955).
- 40) KANDLER, O., : *Physiol. Planta*, **11**, 675—684 (1958).
- 41) 丸尾・松橋：農化, **27**, 215—218 (1953).
- 42) BONNER, J. and MILLER, A., : *Arch. Biochem.*

- Biophys.*, **42**, 135 (1953).
- 43) 三井・熊沢：日土肥, **26**, 241 (1955).
- 44) YEMM, W. W. and WILLIS, A. J., : *New Phytologist*, **55**, 229—252 (1956).
- 45) PLESHKOV, B. P., SHMYREVA, T. V. and IVANKO, S., : *Biokhimiya* **24**, 408—413 (1959).
- 46) FOLKES, B. F., : Utilization of Nitrogen and its Compounds, 126—147 (1959).
- 47) WEBSTER, G. C. and VARNER, J. E., : *J. Biol. Chem.* **215**, 91—99 (1955).
- 48) ADLER, E., EULER, H. V., GUENTHER, G. and PLASS, M., : *Biochem. J.*, **33**, 1028—1045 (1939).
- 49) WEBSTER, G. C., : Nitrogen Metabolism in Plants, 67, (1958).
- 50) WEBSTER, G. C., : *Plant Physiol.*, **28**, 724—727 (1953).
- 51) NELSON, C. D. and KROTHOV, G., : *Canadian J. Bot.*, **34**, 423—433 (1956).
- 52) LEONARD, M. J. K. and BURRIS, R. H., : *J. Biol. Chem.*, **170**, 701—709 (1947).
- 53) HATTORI, A., : *J. Biochem. Tokyo*, **44**, 253—273 (1957).
- 54) 伊沢：兵庫農大研報, **5**, (農化編), 34—38 (1961).
- 55) 伊沢：兵庫農大研報, **5**, (農化編), 39—42 (1961).
- 56) 伊沢・名武：日土肥, **24**, 283—285 (1954).
- 57) 伊沢：兵庫農大研報, **3**, (農化編), 6—8 (1957).

Summary

The excised roots of rice plants (Norin 29) and barley (Akashinriki) which were cultured in deionized water during 2 or 3 weeks under 2500 lux illumination for 9 hours a day, were placed in Warburg vessels containing 0.067 M phosphate buffer and $\text{NH}_4\text{-N}$, antibiotics, inhibitors, and substrates were added to them. Then the measurements were made on the amounts of $\text{NH}_4\text{-N}$ absorption, the amounts of $\text{NH}_4\text{-N}$ in the roots and the respirations during 4 hours. At the same time, the amounts and the rates of $\text{NH}_4\text{-N}$ assimilation were calculated, and the following conclusions were obtained.

(1) In the medium, the absorption of $\text{NH}_4\text{-N}$ and the secretion process of hydrolysed protein, occurred simultaneously through different ways and the secretion process was rather dominant than the absorption process.

(2) Maximum respiration and $\text{NH}_4\text{-N}$ absorption were observed at initial pH 7.0 in the medium, and lower pH of the medium decreased not only respiration but also the assimilation of $\text{NH}_4\text{-N}$. Therefore, it is clear that the roots of cereal plants are at once the absorption organ of $\text{NH}_4\text{-N}$ and assimilation organ.

(3) It is considered that the assimilation of $\text{NH}_4\text{-N}$ takes place in the surface cells or surface tissues of roots, namely, $\text{NH}_4\text{-N}$ absorbed seems to be assimilated simultaneously at the same sites.

(4) Penicilline and chloramphenicol didn't exert an inhibitory influence on $\text{NH}_4\text{-N}$ absorption, but strikingly inhibited $\text{NH}_4\text{-N}$ assimilation.

(5) It was shown from the 2, 4-dinitrophenol experiments that the $\text{NH}_4\text{-N}$ absorption process is a reaction process which requires energy from oxidative phosphorylation, and that $\text{NH}_4\text{-N}$ assimilation process consists of two reactions, namely, one requiring energy and the other requiring no energy.

(6) In the experiments employing glycolytic, TCA-cycle-, terminal-oxidase inhibitors and the experiments using TCA-cycle members such as sucrose, glucose, pyruvic acid, α -keto-glutaric acid and succinic acid, it was shown that the absorption process of $\text{NH}_4\text{-N}$ in the roots is closely connected with TCA-cycle from the viewpoint of energy metabolism and that the assimilation probably connected with TCA-cycle from the viewpoint of energy metabolism in the course of amide formation but it seems primarily connected with TCA-cycle from the viewpoint of substance metabolism during the course of amino acid formation.

(7) The rate limiting factor for the absorption of $\text{NH}_4\text{-N}$ in the excised roots of rice plants and barley may be the concentration of substrates, that is, the speed of rotation of TCA-cycle itself.

(Laboratory of Fertilizers)