九州大学学術情報リポジトリ
Kyushu University Institutional Repository

トマト植物に対するアンモニウム過剰の影響 : 第3報 アンモニウム過剰下における炭水化物代謝の変動

脇本, 賢三
農林水産省中国農業試験場

山田, 芳雄
九州大学農学部植物栄養・肥料学教室

https://doi.org/10.15017/22171

出版情報：九州大學農學部學藝雜誌. 39 (4), pp.121-126, 1985-03. 九州大學農學部
バージョン：
権利関係：

九大農学芸誌 (Sci. Bull. Fac. Agr., Kyushu Univ.)
第39巻 第4号 121-126 (1985)

トマト植物に対するアンモニウム過剰の影響

第3報 アンモニウム過剰下における炭水化物代謝の変動

脇本賢三*・山田芳雄
九州大学農学部植物栄養・肥料学教室
(昭和59年9月3日 受理)

Effect of Ammonium Excess on Tomato Plants

III. Changes of Carbohydrate Metabolismunder Ammonium Excess

KENZO WAKIMOTO and YOSHIO YAMADA
Laboratory of Soil Fertility and Plant Nutrition, Faculty of Agriculture,
Kyushu University 46-02 Fukuoka 812

緒言

第1報(脇本・山田, 1985)で報告したように NO_3-N を含む培養液で培養したトマト幼植物に比べて NH_4-N 培養植物では, 根, 葉身ともにカタラーゼ活性, ポリフェノールオキシダーゼ活性が高かつた. 同時に組織中には高濃度の NH_4-N の集積が見られた. また第2報(脇本・山田, 1985)では, NO_3-N または NH_4-N を含む培養液でトマトを培養すると, NO_3-N 培養植物に比べて NH_4-N 培養植物で根, 葉身ともに酸素吸収, 炭酸ガス放出のいずれの速度も大きいことが認められた. 組織中の NH_4-N 含量が高い程これらの速度も大きかつた. このようにトマトでは組織中に高濃度の NH_4-N が集積すると呼吸に関連した酵素活性や呼吸速度が高まることがわかつた. またこのような条件下では NH_4-N で培養した植物は葉色が濃く, 生育はしだいに抑制され, 後期にはクロロシスが見られた.

本報で述べる実験は, アンモニウムにより生育障害をおこしている植物体の炭水化物代謝の変動を調べ, 生育抑制, 呼吸昂進との関係を明らかにするためにおこなつたものである.

材料および方法

1. 炭水化物含量の経時変化

a) 植物体の培養および試料採取方法

NO_3-N 50 ppm の水耕培養液で第7葉の出葉期までトマト植物を前培養し, 引き続き NO_3-N 50 ppm, NH_4-N 50 ppm, NH_4-N 100 ppm を含む培養液で継続培養し, 経時的に葉身を採取して炭水化物の定量に供した. 植物体の採取時間は, 1日のうちで糖含量が最も高いと考えられている午前11時から午後1時の間におこなつた.

b) 組織中の NH_4-N 含量の測定

前報のとおりコンウェイ法(高井・伊藤, 1963)により NH_4-N を定量し, 新鮮物1g当たりの μg で表示した.

c) カリウム含量の測定

新鮮葉1gを硫硝酸分解し, 定容とした後, 炎光分析によりカリウムを定量し, 乾物当たりの百分率で表示した.

d) 炭水化物含量の測定

新鮮葉4gを80%エタノールで数回加熱抽出し, 抽出液を減圧下40°Cで濃縮し, 熱水で溶解後一定量にした. 本溶液について還元糖はそのまま, 非還元糖は4%の硫酸溶液で加水分解後に定量した. 粗デンプンは試料の熱エタノール抽出残査を磨砕後水200 mlと25%の塩酸20 mlを加え, 煮沸している湯浴上で2時間30分加熱してデンプンの糖化をおこなつた後定量した. 糖の定量は Schaffer and Somogyi 法(奥田, 1959)に従つておこなつた.

2. 糖の日変化

NO_3-N 50 ppm を含む培養液でトマト幼植物を前

* 現農林水産省中国農業試験場

培養し，引き続き NO_3-N 100 ppm または NH_4-N 100 ppm を含む培養液で培養して6日目に葉身および根を採取し糖の定量に供した．採取時間は午前8時，12時，午後4時，8時とした．糖の定量は前記と同様の方法でおこなつた．

3. インベルターゼ活性の測定

新鮮葉 2 g に蒸留水を加え，海砂とともに磨砕し，遠心分離（8,000 rpm，10分間）して得た上澄液を用いて活性を測定した．方法は2％スクロース溶液に上記の粗酵素液を加え 30°C の恒温器中で反応させ，生成した還元糖を定量し，2 g の新鮮葉が4時間に生成したグルコース量として表示した．

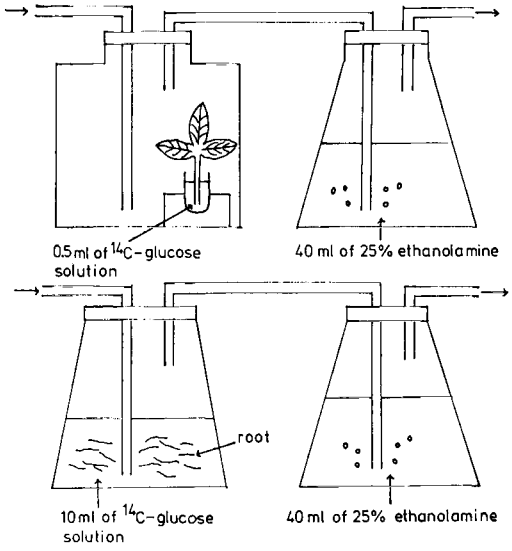

Fig. 1. Methods of feeding ^{14}C-glucose to leaves and roots of tomato plants fed with different sources of nitrogen.

4. ^{14}C-グルコースの代謝

前記2と同様の条件で培養した植物を6日目に採取し，グルコース-1-^{14}C (G-1-^{14}C) とグルコース-6-^{14}C (G-6-^{14}C) を図1のように与えて代謝させた．いずれも暗所で1時間吸収させた．キャリヤーとして 10^{-4}M のグルコース溶液を用いた．葉身はグルコースを供与してから1時間後に葉柄から切り離し，熱エタノール中に入れて反応を止め，数回抽出の後 ^{14}C の測定に供した．^{14}C-グルコースを供与中に生成した $^{14}CO_2$ は25％エタノールアミンに吸収させて ^{14}C を測定した．根では1時間吸収させたのち 2N硫酸溶液を添加して反応を止め，水中に溶存している $^{14}CO_2$ を追い出して2分間気相を吸引し捕集した．根をとり出し，蒸留水で洗浄したのち熱エタノール中に入れ，数回抽出して ^{14}C の測定に供した．C_6/C_1 は G-6-^{14}C を供与した時生成した $^{14}CO_2$ の百分率を G-1-^{14}C を供与した時に生成した $^{14}CO_2$ の百分率で除して求めた．

実験結果

1. NH_4-N およびカリウムの含量

表1は窒素給源を異にして培養したトマト幼植物の NH_4-N およびカリウム含量の測定結果である．NH_4-N を含む培養液でトマト幼植物を培養すると，葉中の NH_4-N 含量は2日目ですでに 100 ppm を越え，最高 200 ppm 以上まで高まつた．カリウム含量は NH_4-N を含む培養液で培養すると NO_3-N 培養に比べてやや低い傾向が認められた．

2. 炭水化物含量の経時変化

図2は窒素給源を異にした培養液で培養したトマト幼植物中の炭水化物含量の経時変化を示したものである．還元糖含量の変化についてみると，2日目で NO_3-N 培養植物より NH_4-N 培養植物の方が含量が高く，経時的に含有率差は大きくなつた．培養液中の NH_4-N の濃度が高い程還元糖の蓄積も大きかつた．非還元糖，粗デンプンについても還元糖の場合と類似の傾向であつた．

Table 1. Contents of NH_4-N and K_2O in leaves of tomato plants fed with different sources of nitrogen

Day	NH_4-N (μg per g f. w.)			K_2O (% of dry matter)		
	N* 50	A 50	A 100	N 50	A 50	A 100
0	30	30	30	3.5	3.5	3.5
2	32	145	110	3.6	3.0	3.7
4	30	130	225	4.1	3.7	3.8
8	29	100	160	4.2	3.6	3.6

* N 50, A 50 and A 100 are abbreviations for the cultures with NO_3-N 50 ppm, NH_4-N 50 ppm and NH_4-N 100 ppm solution, respectively

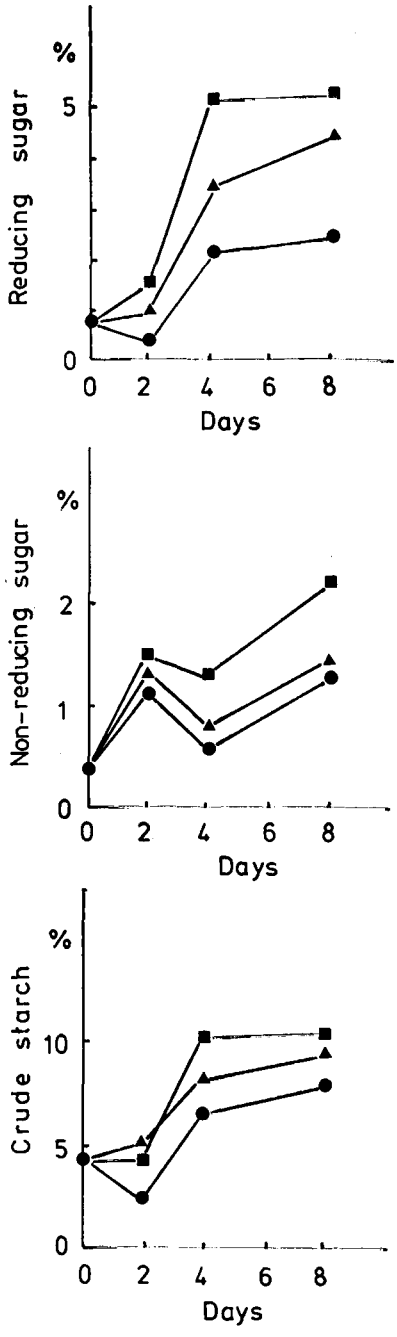

Fig. 2. Changes of carbohydrate contents in leaves of tomato plants fed with different sources of nitrogen.

●—●: NO_3-N 50 ppm,
▲—▲: NH_4-N 50 ppm,
■—■: NH_4-N 100 ppm

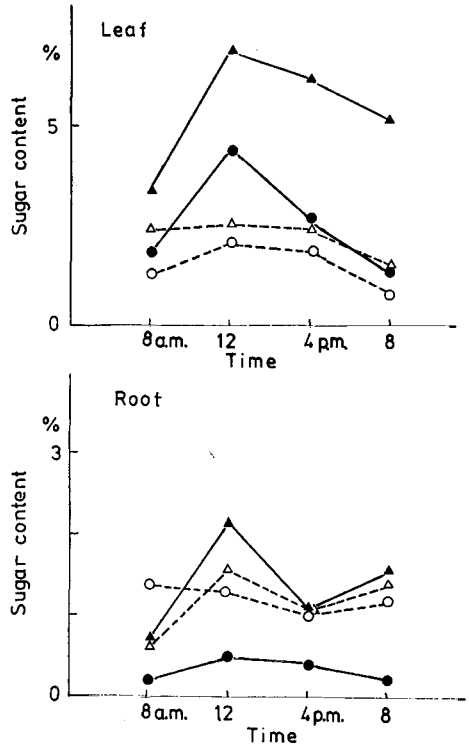

Fig. 3. Diurnal changes of reducing and non-reducing sugar contents in leaves and roots of tomato plants fed with different sources of nitrogen.

●, ○: NO_3-N 100 ppm,
▲, △: NH_4-N 100 ppm
—— : Reducing sugar,
- - - - : Non-reducing sugar

3. 糖含量の日変化

図3は葉身および根の糖含量の日変化を示したものである．採取日の天候は晴天であつた．葉身の還元糖の日変化は，朝まだ日照量が少ない時には低く，12時には最高となつた．NH_4-N 培養の場合 NO_3-N 培養よりいつの時点でも含量は高く，また12時以降の含量の低下率はやや小さかつた．非還元糖は還元糖の場合程日変化は大きくないが，NH_4-N 培養植物の方が NO_3-N 培養植物よりいつの時点でも含量が高かつた．根では NO_3-N 培養植物より NH_4-N 培養植物で還元糖含量は高く，特に12時において顕著に高かつた．非還元糖含量については NH_4-N 培養植物でやや高い傾向を示した．

4. インベルターゼ活性

葉身における糖の代謝にかかわる酵素であるインベルターゼ活性を測定した結果（図4），NO_3-N 培養植

Table 2. Effect of nitrogen sources on ^{14}C-glucose metabolism in tomato plants. The nitrogen concentration in culture solution was 100 ppm. Leaves and roots were sampled six days after treatments. ^{14}C-glucose was fed for 60 min in darkness.

N source		^{14}C-glucose	Distribution of ^{14}C (%)			
			CO_2	Soluble	Insoluble	C_6/C_1
NO_3-N	Leaf	G-1-^{14}C	14.4	72.3	13.3	0.42
		G-6-^{14}C	6.1	57.5	36.4	
	Root	G-1-^{14}C	30.7	33.1	36.2	0.60
		G-6-^{14}C	18.4	25.0	56.6	
NH_4-N	Leaf	G-1-^{14}C	15.0	59.5	25.5	0.27
		G-6-^{14}C	4.0	72.2	23.8	
	Root	G-1-^{14}C	33.5	39.6	26.9	0.21
		G-6-^{14}C	7.3	60.0	32.3	

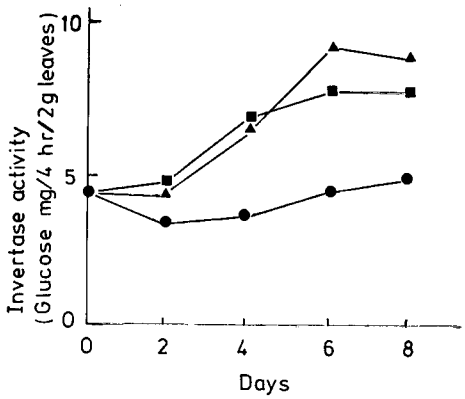

Fig. 4. Changes of invertase activity of leaves of tomato plants fed with different sources of nitrogen.

●—●: NO_3-N 50 ppm,
▲—▲: NH_4-N 50 ppm
■—■: NH_4-N 100 ppm

物に比べ NH_4-N 培養植物の方が活性は高く，経時的に高まる傾向が認められた．しかし本酵素活性と培養液中の NH_4-N 濃度との間には明瞭な関係はみられなかつた．

5. ^{14}C-グルコースの代謝

グルコース代謝系の中で EMP 系 (Embden-Meyerhoff-Parnas Pathway) と HMP 系 (Hexose-monophosphate Shunt) のどちらの経路を多く通つて代謝されるかを知るために，G-1-^{14}C と G-6-^{14}C を供与して C_6/C_1 を計算すると（表2），葉身でも根でも NH_4-N 培養植物で低下する傾向が認められた．特に根において低下の程度が大であつた．また，葉身においては G-1-^{14}C または G-6-^{14}C から不溶性画分への ^{14}C のとり込みは一定傾向を示さなかつたが，根においてはいずれも NH_4-N 培養植物の方が不溶性画分へのとり込みが小さかつた．

考　　察

NH_4-N を含む培養液でトマト幼植物を培養すると NO_3-N 培養植物に比べカリウム含量がやや低かつた．アンモニウムとカリウムは極めて競合し易いイオンであり，拮抗作用によつてアンモニウム培養植物で吸収がある程度抑制されたものと考えられる．しかし極端な低下ではなく，カリウム欠乏との関係については考慮しなくてよいものと判断される．

NH_4-N 培養植物で還元糖，非還元糖が高くなつた理由としては，イ）糖の分解が阻害されている，ロ）糖の転流が阻害されている，ハ）糖からの高分子の炭水化物への合成が阻害されている，などの要因が考えられる．第2報（脇本・山田，1985）で観察された呼吸の増大は糖の消費を促進したことを物語るものであるから，糖の代謝阻害は考え難い．また糖の転流については，少なくとも根への転流は根中の全糖の蓄積から判断して阻害されているとは考え難い．従つて葉身，根中の還元糖，非還元糖の蓄積は高分子の炭水化物の合成が阻害されたためにおきたものと推察される．

本試験では粗デンプン含量も NH_4-N 培養植物で高かつたが，これは NH_4-N 培養植物では生育が阻害されるので，デンプンの合成総量を比較するとデンプン合成も抑制されていたと推察できる．デンプン合成については，Matsumoto *et al.* (1969) がキュウリのアンモニウム過剰障害の実験で，アンモニウム過剰下ではキュウリ葉のデンプン含量は低下することを観察し，これは UDPG からデンプンへの過程が阻害されたために起こると推察している．本実験ではデンプン含量については彼らの結果と一致しなかつた．以上の

結果から NH_4-N 培養の場合に葉身において経時的に糖含量が高まることが認められたが，糖がどのように転流利用されているかは明らかでなかつたので，1日のうちでの糖含量の変化を調べた．その結果葉身では NH_4-N 培養植物で糖の蓄積が認められた．根においても12時頃には顕著に還元糖が蓄積した．物質の転流に関する従来の知見（ボナー・ゴールストン，1973）によると転流の最も旺盛な時は昼間の光合成のさかんな時であり，夜は顕著に減少する．また転流物質の大部分は糖であり，その中でもスクロースが大部分をしめている．これらのことから NH_4-N 培養植物の根における12時頃の還元糖含量の顕著な蓄積は根での非還元糖から還元糖への加水分解の増大も影響しているのではないかと考えられる．根での測定結果はないが，葉身ではインベルターゼ活性が NH_4-N 培養植物で高まる事実を認めた．本酵素活性の増大は葉身での還元糖の蓄積に一役を荷うものであり，また根での本酵素活性増大の可能性も想定させる．このように呼吸基質である糖が NH_4-N 培養植物で高く維持されているということは，葉身，根の呼吸速度の増大とも密接に関係しているのではないかと推察される．

グルコースは EMP 系と HMP 系を通つて代謝される場合の二つが考えられる．G-1-^{14}C を供与した時はに EMP 系を通つた場合も HMP 系を通つた場合もいずれも $^{14}CO_2$ を放出する．一方，G-6-^{14}C を与えた時には EMP 系を通る場合は G-1-^{14}C と同じであるが，HMP 系を通つた場合は $^{14}CO_2$ は生成されない．このことから C_6/C_1 の値が小さくなれば，グルコースは EMP 系よりもむしろ HMP 系を多く通つて代謝されたと考えられる．本実験では C_6/C_1 は葉身でも根でもいずれも NH_4-N 培養植物の方が NO_3-N 培養植物よりも低い値を示した．このことから NH_4-N 培養植物ではグルコース代謝の変動を起していることがわかる．また HMP 系の活性化はシキミ酸系路の活性化と関連して組織の褐変ともつながつており，特にアンモニウム過剰による根の褐変現象との間に深い関係を有するものと推察される．

要　　約

1. NO_3-N 培養植物より NH_4-N 培養植物では葉身，根共に還元糖含量が増加することが認められた．非還元糖，粗デンプン含量についても同様の傾向であつた．また培養液中の NH_4-N 濃度が高い程増大した．

2. 葉身の還元糖については，含量はいずれの時間でも NH_4-N 培養植物の方が高く，12時以降の低下は NH_4-N 培養植物でやや小さい傾向を示した．

3. 葉身のインベルターゼ活性は NO_3-N 培養植物に比べ NH_4-N 培養植物で高く，処理開始後6日目頃まで増加の傾向を示した．本酵素活性の増大は葉中の還元糖の蓄積とも深くかかわつていると推察した．

4. NH_4-N 培養植物での葉身中および根中における糖含量の増大はそれぞれの器官の呼吸促進の一要因になつていると推察した．

5. G-1-^{14}C と G-6-^{14}C の供与試験から，NH_4-N 培養植物では葉身および根のグルコース代謝経路として HMP 系が活性化されていることを指摘した．

文　　献

ボナー・ゴールストン 1973 植物の生理，岩波書店，東京，130-149頁

Matsumoto, H., N. Wakiuchi and E. Takahashi 1969 The suppression of starch synthesis and the accumulation of uridine diphosphoglucose in cucumber leaves due to ammonium toxicity. *Physiol. Plant.*, **22**: 537-545

奥田 東 1959 植物栄養学実験，朝倉書店，東京，109頁

高井康雄・伊藤啓子 1963 水田土壌中のアンモニア拡散分析におけるアルカリ剤の検討．土肥誌，**34**: 209-214

脇本賢三・山田芳雄 1985 トマト植物に対するアンモニウム過剰の影響．第1報 窒素給源の相違がトマト幼植物の二・三の呼吸関連酵素活性に及ぼす影響．九大農学芸誌，**39**: 107-113

脇本賢三・山田芳雄 1985 トマト植物に対するアンモニウム過剰の影響 第2報 アンモニウム過剰下における呼吸の変動．九大農学芸誌，**39**: 115-120

Summary

More carbohydrates such as reducing sugars, non-reducing sugars and crude starch in leaves were accumulated in NH_4-N fed plants than in NO_3-N fed plants. The amount of reducing sugars accumulated in NH_4-N fed plants was about twice as much as in NO_3-N fed plants. More reducing and non-reducing sugars were also accumulated in roots of NH_4-N fed plants than in those of NO_3-N fed plants, and more reducing sugars in roots were accumulated between 8 a. m. and noon in NH_4-N fed plants than in NO_3-N fed ones.

Invertase activity in leaves was higher in NH_4-N fed plants than in NO_3-N fed plants. It was consequently presumed that the increase of invertase activity had a close relation to the accumulation or reducing sugars in NH_4-N fed plants.

It was also presumed that HMP shunt is playing greater part in the course of glucose metabolism in NH_4-N fed plants than EMP pathway, judging from the result of experiment of feeding with glucose-1-^{14}C and glucose-6-^{14}C.