

## トマト幼苗の施肥窒素に対する生育反応および窒素利用における品種特性の解析

|       |   |
|-------|---|
| メタデータ | 言語: Japanese<br>出版者:<br>公開日: 2019-03-22<br>キーワード (Ja):<br>キーワード (En):<br>作成者: 菊地, 直, 保科, 次雄, 木村, 武, 宮地, 直道, 山崎, 浩道, 梅宮, 善章, 木嶋, 伸行<br>メールアドレス:<br>所属: |
| URL   | <a href="https://repository.naro.go.jp/records/1688">https://repository.naro.go.jp/records/1688</a>   |

## トマト幼苗の施肥窒素に対する生育反応および窒素利用における 品種特性の解析<sup>†</sup>

菊地 直・保科 次雄\*・木村 武\*\*・宮地 直道\*\*\*  
山崎 浩道\*\*\*\*・梅宮 善章\*\*\*\*\*・木嶋 伸行\*\*\*\*\*

(平成20年10月30日受理)

## Growth and Nitrate Assimilation Characteristics of Tomato Cultivars Grown under Varying Nitrogen Levels

Sunao Kikuchi, Tsuguo Hoshina, Takeshi Kimura, Naomichi Miyaji,  
Hiromichi Yamazaki, Yoshiaki Umemiya and Nobuyuki Kijima

### I 緒言

トマトは主要な果菜類であるが、日本ではガラス室やビニルハウス等を利用した施設栽培が主流となっており、作付面積で55.3%、収穫量で71.5%を占めている(野菜・茶業試験場他, 2000)。また、トマト施設栽培においては、養液栽培が普及しつつあるものの、全施設栽培面積のうち9割以上は依然として土耕栽培である(農林水産生産局園芸課, 2005)。施設を用いた土耕栽培では、作物に吸収されずに残った養分による塩類集積が問題となっており(瀧ら, 1990)、灌水処理などにより除塩すると、除去された塩類が地下水や河川へ流入し、汚染の原因となることが指摘されている。特に窒素は、アミノ酸やタンパク質などを構成する重要な元素であり、施用量が収量に直接影響を及ぼすため施用量が過多になりやすいこと、アニオンである硝酸態窒素は、土壤に吸着されにくいため流亡しやすく環境への負荷が大きいこと、原油価格の高騰や原料の不足による肥料価格の上昇に対応し、農業生産コストの削減が必要なことなどから、作物の施肥窒素利用率の向上による施肥量の削減が必要である。栽培技術の改善により窒素施用量を削減する試みは多く

行われているものの(山崎ら, 1992; 北嶋, 1991; 結城, 1992; 岩波ら, 1995)、育種における品種選抜や、栽培現場での品種選抜において、窒素利用効率に関する品種特性については、これまでほとんど考慮されてこなかった。また、野菜の硝酸態窒素吸収および代謝機構を解明することは、窒素利用率の向上や、省施肥栽培に適した品種の選択・育成に重要であるが、野菜において、硝酸態窒素の吸収・同化における生理特性の品種間差に関する研究例は少ない。

本研究では、省施肥栽培技術の開発への利用と、省施肥栽培に適した品種の選択・育成に資するため、施肥窒素に対するトマトの生育特性ならびに窒素利用効率の品種間差異とその生理機構を明らかにすることを目的とした。

### II 材料および方法

#### 1 生育および窒素吸収の品種比較(試験1)

施肥窒素に対する反応が異なると推定される9品種('June Pink', 'Rianto', 'Early Cascade', 'San Remo', 'New Yorker', 'Bigset', 'Pioner', '強豊', 'おどりこり')

〒305-8666 茨城県つくば市観音台3-1-1

特命チーム員(資源循環・溶脱低減研究チーム)

\* 現 財団法人東京都農林水産振興財団 東京都農林総合研究センター

\*\* 現 農研機構 中央農業総合研究センター

\*\*\* 現 日本大学

\*\*\*\* 現 農研機構 東北農業研究センター

\*\*\*\*\* 農研機構 果樹研究所

\*\*\*\*\* 野菜・茶の食味食感・安全性研究チーム

<sup>†</sup> 本報告の一部は、1994, 1997, 1999年日本土壌肥料学会および2001年国際根研究会シンポジウムで講演した

を供試し、生育および窒素吸収の施肥窒素濃度に対する反応を調査した。催芽処理したトマト種子を粒状園芸培土（クレハ）に播種し、播種後20日目に黒ボク土を充填した700mL容ポリポットに移植した。黒ボク土には1,500mg-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>/L, 450mg-K<sub>2</sub>O/Lとなるように過リン酸石灰および塩化カリウムを混合した。窒素は硫酸で施用し、50, 100, 150（慣行量）mg-N/Lの3処理区を設け、各処理区とも3反復とした。適宜灌水しながら、所内ガラス室内で栽培し、移植後30日目に植物体を根も含めて採取した。採取した試料は、通風乾燥機で乾燥後、乾物重と全窒素含量を測定した。

## 2 窒素吸収・同化の品種比較（試験2）

試験1の結果に基づいて、施肥窒素に対する反応が異なっていたトマト4品種（'おどりこ', 'June Pink', 'Rianto', 'San Remo'）を供試し、窒素吸収・同化量に対する施肥窒素濃度の影響について比較を行った。催芽した種子をパーミキュライト・パーライト混合培地に播種し、20日間育苗した後、パーミキュライトを充填した1/10,000aポットに移植した。施肥は試験1と同様の設定とし、各処理区とも3反復とした。適宜灌水しながらガラス室内で栽培し、移植後30日目に植物体を根を含めて採取し、新鮮重および形態別窒素（硝酸態、可溶態、不溶態）含量を測定した。

## 3 硝酸還元酵素活性(NRA)の品種比較（試験3）

試験1, 2で用いた品種のうち、施肥窒素に対する反応や、窒素同化量が大きく異なっていた2品種（'おどりこ', 'June Pink'）を用いて、硝酸態窒素同化に最も重要である硝酸還元能力を比較した。催芽した種子をパーミキュライト・パーライト混合培地に播種し、20日間栽培した後、水耕栽培容器（30cm×30cm×15cm、水

耕液5L, 9個体/容器）へ移植した。水耕栽培は湛水液耕で行い、エアポンプとエアストーンを用いて常時通気を行った。水耕液は園試処方を参考に調製した（表-1）。20日間予備栽培した後、4mMの硝酸態窒素を含む培地に交換し（表-2）、24時間毎に植物体を3個体ずつ採取した。採取した植物体の葉と根の一部は、NRA測定に供し、残りは全窒素含量と硝酸態窒素含量の測定に用いた。育苗はガラス室内で、水耕は人工気象室（日長12時間、気温：明期25℃・暗期20℃、光強度300 μmol・m<sup>-2</sup>・s<sup>-1</sup>）で行った。

## 4 硝酸態窒素吸収に関する生理特性の比較（試験4）

トマト2品種（'おどりこ', 'June Pink'）をパーミキュライト・パーライト混合培地に播種し、ガラス室内で20日間栽培後、水耕栽培容器へ移植し、試験3と同様の方法で水耕栽培を行った。水耕栽培は人工気象室内で行い、14日間予備栽培した後、無窒素水耕液で2日間栽培した（表-2）。硝酸態窒素吸収活性の誘導および硝酸態窒素吸収・放出への影響を調査するため、硝酸態窒素濃度が異なる水耕液で24時間前処理を行った後、測定用水耕液に移し、硝酸態窒素吸収（net uptake, influx）速度および放出（efflux）速度を測定した。

\* net uptake=influx-efflux

### a influxの反応速度論的解析

硝酸態窒素濃度0.1mMの水耕液で前処理を行い、硝

表-2 水耕液交換スケジュール

| 成分  | 濃度      |
|---|---------|
| NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> ・2H <sub>2</sub> O                               | 1mM     |
| MgSO <sub>4</sub> ・7H <sub>2</sub> O  | 1mM     |
| CaCl <sub>2</sub> ・2H <sub>2</sub> O  | 2mM     |
| Fe-EDTA   | 50μM    |
| H <sub>3</sub> BO <sub>4</sub>  | 49μM    |
| MnSO <sub>4</sub> ・5H <sub>2</sub> O  | 8μM     |
| ZnSO <sub>4</sub> ・7H <sub>2</sub> O  | 0.77μM  |
| CuSO <sub>4</sub> ・5H <sub>2</sub> O  | 0.2μM   |
| (NH <sub>4</sub> ) <sub>6</sub> Mo <sub>7</sub> O <sub>14</sub> ・H <sub>2</sub> O | 0.016μM |

窒素濃度の調整にはKNO<sub>3</sub>とNaNO<sub>3</sub>を用い、カリウムは4mMとなるようにKClで調整した

pHは6.5に調整

| 試験3   |               |
|---|---------------|
| 水耕容器に移植   |               |
| 蒸留水   | 4日間           |
| 1/2濃度水耕液（無窒素）                                   | 2日間           |
| 標準水耕液（0.1mM NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> ）      | 4日間（2日ごとに交換）  |
| 標準水耕液（1mM NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> ）        | 8日間（2日ごとに交換）  |
| 無窒素水耕液  | 3日間           |
| 吸収試験用水耕容器に移植                                    |               |
| 試験4   |               |
| 水耕容器に移植   |               |
| 1/2濃度水耕液（無窒素）                                   | 2日間           |
| 標準水耕液（0.1mM NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> ）      | 10日間（2日ごとに交換） |
| 無窒素水耕液  | 2日間           |
| 前処理用水耕液   | 1日間           |
| a: 0.1mM NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>           |               |
| b: 0, 0.1, 1, 4 mM NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> |               |
| c: 0, 4, 10, 20 mM NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> |               |
| d: 0, 1, 4, 10 mM NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>  |               |
| 吸収試験用水耕容器に移植                                    |               |

酸態窒素吸収を誘導した後、<sup>15</sup>Nで標識した硝酸態窒素(99.2atom%)で0.01~10mMに濃度を調整した水耕液に移した(200mL容三角フラスコ、水耕液200mL、1個体/容器、各濃度3反復、以下b, c, dも同様)。処理開始後3時間目の植物体の重窒素濃度を測定し、influxの速度を算出した。1mM未満のKm値とVmax値はLineweaver-Burk法によって計算した。

#### b net uptakeに及ぼす硝酸態窒素濃度の影響

硝酸態窒素濃度の異なる水耕液(0, 0.1, 1, 4mM)で前処理し、1mMと4mMの硝酸態窒素を含む水耕液に移した。処理開始後4時間目まで30分ごとに水耕液を2mLずつ採取し、イオンクロマトグラフ(東ソー、IC-8020)で硝酸態窒素濃度を測定し、硝酸態窒素の減少量からnet uptake速度を算出した。

#### c influxに及ぼす水耕液硝酸態窒素濃度の影響

硝酸態窒素濃度0, 4, 10, 20mMの水耕液で前処理を行った後、<sup>15</sup>N標識硝酸態窒素で調製した水耕液(4mM)に移した。処理開始後3時間目の植物体の重窒素濃度を測定し、influx速度を算出した。

#### d effluxに及ぼす水耕液硝酸態窒素濃度の影響

硝酸態窒素濃度0, 1, 4, 10mMの水耕液で前処理を行った後、efflux測定用水耕液に移した。effluxの測定は、Aslamら(1994)の方法を参考に行い、efflux測定用水耕液には、水耕液に放出された硝酸態窒素の再吸収を防ぐため、1mMの亜硝酸態窒素を加えた。処理後4時間目まで30分ごとに水耕液を2mLずつ採取し、イオンクロマトグラフで水耕液の硝酸態窒素濃度を測定し、硝酸態窒素のefflux速度を算出した。

### 5 分析方法

#### a 全窒素含量

通風乾燥機で乾燥した植物体試料を粉砕器で微粉砕した後、0.5gをサリチル硫酸一過酸化水素法(ガニング変法)によって湿式分解し、50mLに定容した。分解液の窒素含量をケルダール蒸留法によって測定し、植物体中の全窒素含量を算出した。

#### b 形態別窒素含量

採取した植物体試料(全量)を乳鉢で磨砕し、99.5%エタノール50mLを加え、懸濁液を遠沈管に移した。70℃の湯浴中で30分間加熱し、10,000Gで10分間遠心分離

した後、上清を回収した。沈殿をエタノール10mLで洗浄し、再度遠心分離後、洗液を回収した。上清と合わせてロータリーエバポレーターで減圧乾固した後、脱塩水で再溶解し、25mLに定容した。調製液中の硝酸態窒素をイオンクロマトグラフで測定するとともに、調製液をガニング変法により分解し、ケルダール蒸留法で窒素含量を測定した。この値から硝酸態窒素含量を差し引いた値を可溶態窒素含量とした。抽出残渣も同様の方法で分解・蒸留して窒素含量を測定し、不溶態窒素含量とした。

#### c NRA

新鮮重を測定した植物体試料に酵素抽出用緩衝液(5mM EDTA, 1mM システイン, 1% ポリビニルピロリドン, 2% カゼイン / 25mM リン酸カリウム緩衝液 pH7.7)を加えて乳鉢で磨砕した。懸濁液を10,000Gで15分間遠心分離し、上清を粗酵素液とした。抽出操作は低温室内(4℃)で行った。粗酵素液0.2mL, 20mM 硝酸カリウム0.2mL, 2mM NADH 0.5mL, 100mM リン酸カリウム緩衝液(pH7.5) 0.5mL, 0.1mM FAD 0.2mL, 脱塩水0.4mLを混合し、30℃に設定したウォーターバス内で15分間静置後、生成した亜硝酸態窒素濃度をスルファニルアミド・α-ナフチルアミン法で比色定量し、NRAを算出した。

#### d 重窒素分析

植物体試料を通風乾燥機で乾燥し、微粉砕した後、ANCA-MS (Europa Scientific Co.)を用いて重窒素濃度および全窒素濃度を測定し、これらの値から硝酸態窒素吸収速度を求めた。

## III 結果

### 1 生育および窒素吸収の品種比較(試験1)

トマト苗の乾物重には品種間差が認められ、最も高い品種と最も低い品種の乾物重の差は約1.6~2倍となった(図-1A)。150mg/L区では、'San Remo', 'Pioner', 'おどりこ'で生育が良好で、'June Pink'と'Rianto'は他の品種と比べて劣っていた。50mg/L区では、'おどりこ'が最も生育が良く、'June Pink'が最も生育が劣った。窒素含量においても、乾物重ほど差は顕著ではなかったものの、最大約1.4倍の差が認められた(図-1B)。

ほとんどの品種において、窒素施用量に応じて窒素含量が増加したのに対し、'Early Cascade', 'San Remo', 'Bigset', 'Pioner', '強豊'では、窒素施用量の増加に伴っ

て生育量が増加したが、'New Yorker'と'おどりこ'は、100mg/L区でも150mg/L区とほぼ同等の生育を示し、'June Pink'と'Rianto'は、100mg/L区で最も良好な生育を示すなど、窒素含量とは異なる反応を示すことが明らかとなった。

乾物重を窒素含量で除して、窒素吸収量あたりの乾物生産効率として算出したところ、'June Pink'を除き、窒素施用量が多いほど乾物生産効率は低くなった(図-1C)。「San Remo」と「おどりこ」は、どの処理区においても、他品種と比べて乾物生産効率が高くなる傾向を示した。

以上の結果より、どの処理区においても乾物生産効率が高く、生育も良好な品種として'おどりこ'を、乾物生

産効率は高いが、生育において施肥窒素量による影響を受けやすい品種として'San Remo'を、乾物生産効率と生育が全般に低い傾向を示す品種として、'June Pink'と'Rianto'を選択し、試験2に供試した。

## 2 窒素吸収・同化の品種比較(試験2)

'おどりこ'と'San Remo'は施肥量の増加に伴って新鮮重も増加したが、'June Pink'と'Rianto'では100mg/L区が最も高く、150mg/L区では100mg/L区よりも低下した(図-2)。全窒素含量は、品種間の差は小さかったが、'おどりこ'が他の品種よりも全般に高い傾向を示した。また、全ての品種で施肥窒素量の増加に伴って、全窒素含量は増加し、硝酸態窒素も同様の傾向を示した。

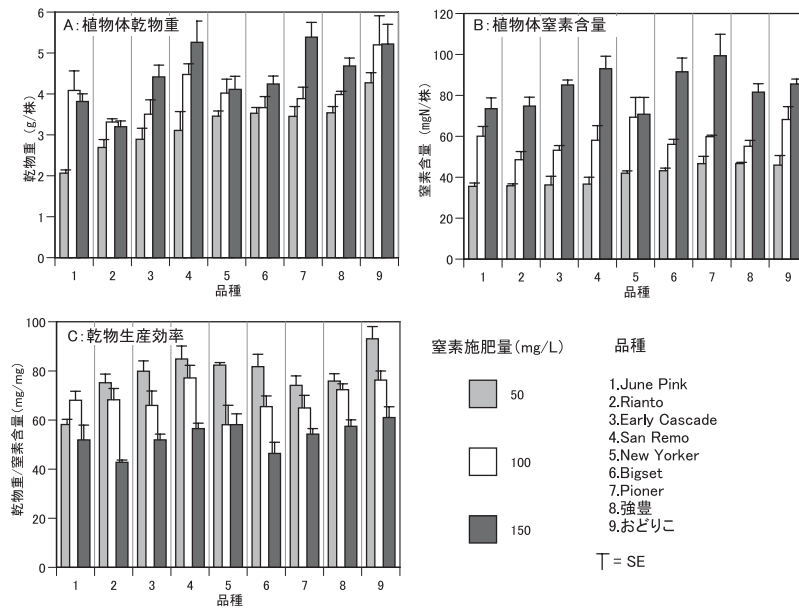


図-1 トマト苗の生育、窒素吸収、窒素吸収量あたりの乾物生産効率における品種間差異

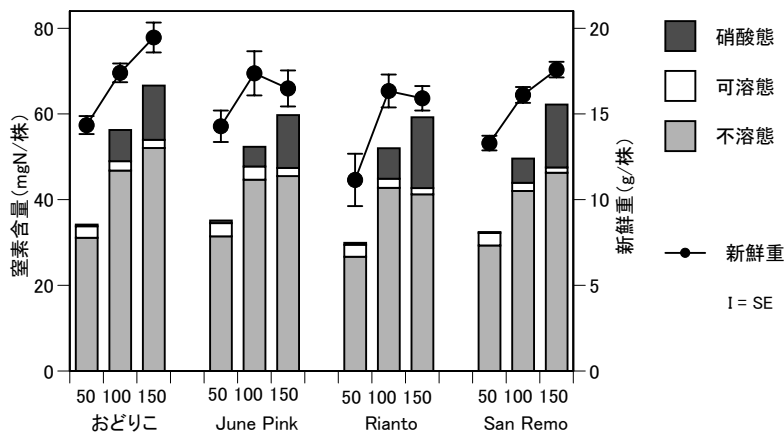


図-2 トマト苗の生育および形態別窒素含量の品種間差異

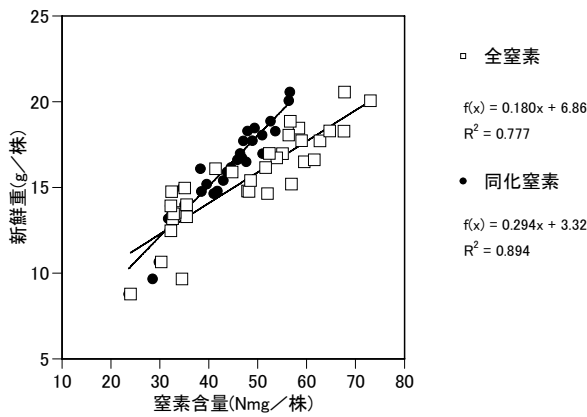


図-3 トマト新鮮重と全窒素・同化窒素含量の相関

可溶性窒素含量は、他の形態の窒素と比べて極めて少なく、施肥窒素量の増加により減少する傾向がみられたものの、減少量はわずかであった。不溶性窒素は'おどりこ'、'San Remo'は施肥量の増加に伴って増加したが、'June Pink'と'Rianto'では100mg/L区と150mg/L区との差は認められなかった。全窒素含量と同化窒素含量（可溶性窒素と不溶性窒素の和）と新鮮重との相関を調べたところ、同化窒素との相関が高く、窒素吸収量（全窒素含量）よりも同化された窒素量の方が生育への影響が大きい可能性が示された（図-3）。

### 3 硝酸還元酵素活性の品種比較（試験3）

4 mMの硝酸態窒素を含む水耕液で処理したトマトの全窒素含量は、'おどりこ'の方が全般に高く推移し、'June Pink'より硝酸態窒素の増加量が多かった（図-

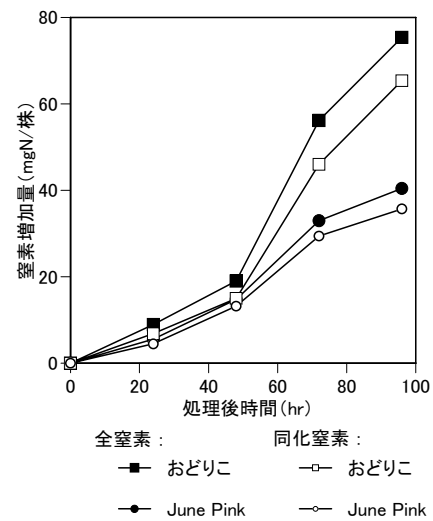


図-4 全窒素・同化窒素含量の増加量の推移  
\*処理開始時の値を基準とした増加量

4)。また、同化窒素含量も'おどりこ'の方が'June Pink'と比べて高く推移したことから、吸収した硝酸態窒素の還元量も高いことが示された。葉におけるNRAは、両品種とも上昇したが、'おどりこ'の方がNRAの上昇速度が高く、24時間目以降は'June Pink'よりもNRAは常に高く推移した（図-5）。根のNRAは24時間目では、'June Pink'の方が高い活性を示したが、48時間目以降は明確な品種間差は認められなかった。

### 4 硝酸態窒素吸収に関する生理特性の比較（試験4）

#### a influxの反応速度論的解析

'おどりこ'および'June Pink'における0.01mMから1

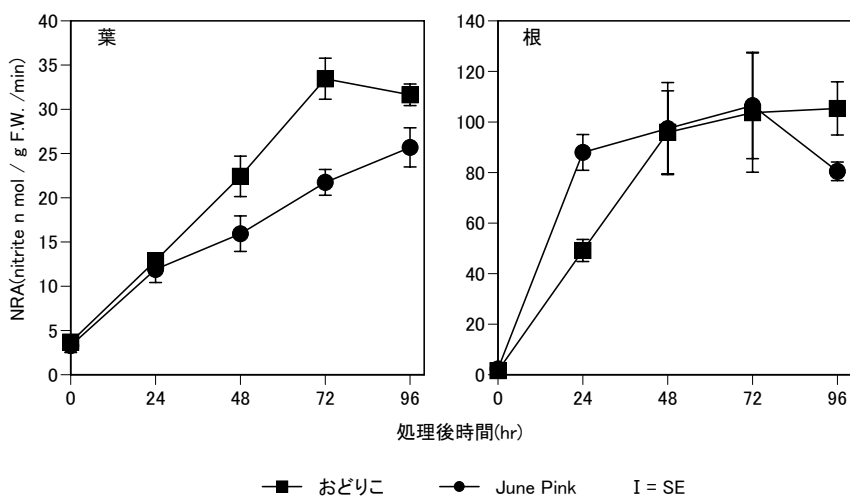


図-5 トマト苗の葉と根における硝酸還元酵素活性の比較



mMまでの範囲の硝酸態窒素influxは、Michaelis-Ment en式にあてはまる事が確認された(図-6 A). Km値は'June Pink'の方が低く、基質親和性は高かったが、Vmax値は'おどりこ'の方が39%高いことが示された. また、1 mM以上の濃度範囲(LATS領域)における硝酸態窒素influxも、'おどりこ'の方が全般に高い値となり、傾きも大きいことが示された(図-6 B).

b net uptakeに及ぼす水耕液硝酸態窒素濃度の影響  
1 mMの硝酸態窒素のnet uptakeは、両品種とも前処理濃度0 mMと比べて、0.1mMの方が高くなった(図-7 A, B). 前処理濃度がさらに高くなるとnet uptakeは低下した. 前処理濃度4 mMでは、両品種はほとんど差がなかったが、それ以外の濃度では、'おどりこ'の方がnet uptakeは高かった. 4 mMの硝酸態窒素

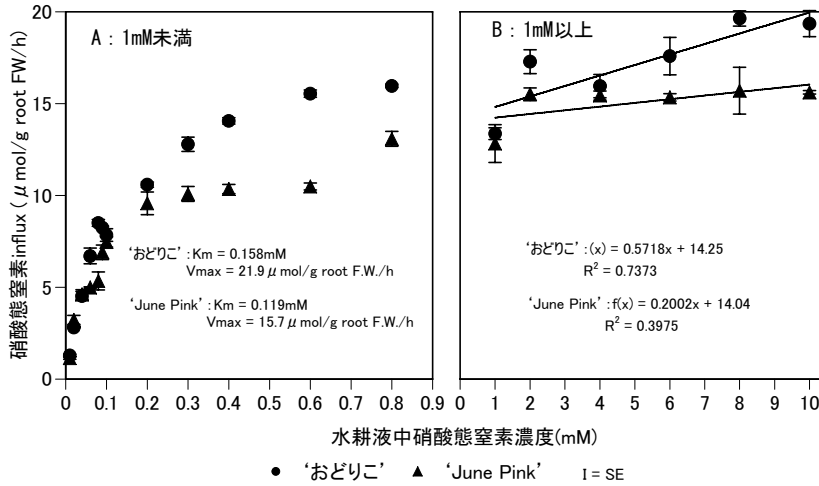


図-6 トマトのinfluxにおける品種間差異

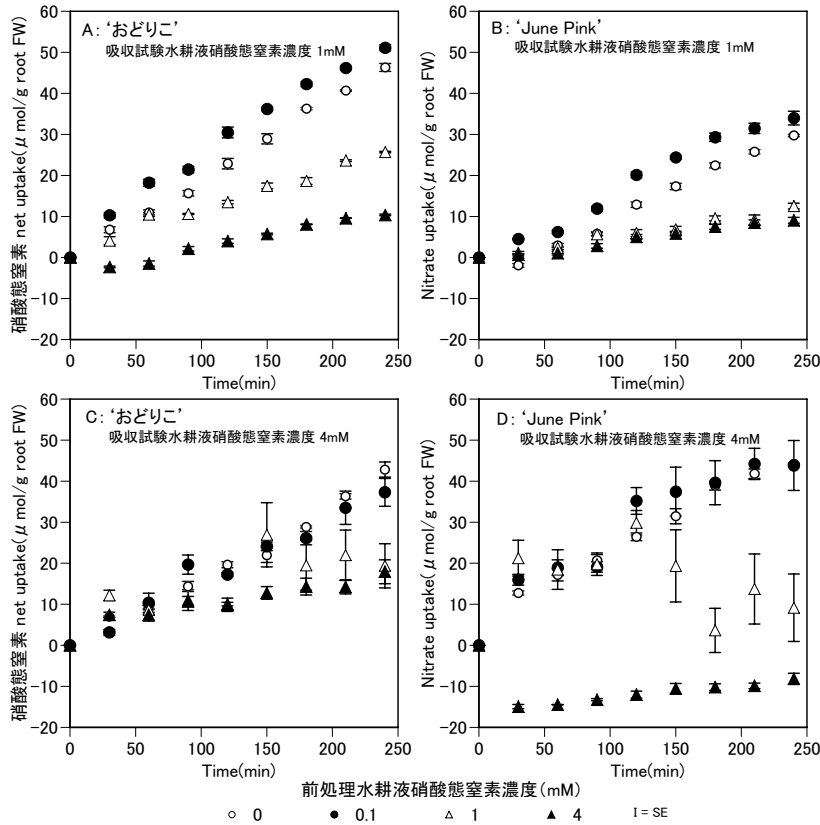


図-7 トマト苗のnet uptakeにおける前処理硝酸態窒素濃度の影響

素のnet uptakeは、前処理濃度が0 mMと0.1mMでは、両品種の差はほとんど認められなかったが、前処理の硝酸態窒素濃度が高くなると、'おどりこ'と比べて'June Pink'は大きく低下し、特に前処理濃度 4 mMで低下が著しかった (図-7 C, D)。

c influxに及ぼす水耕液硝酸態窒素濃度の影響

4 mM濃度におけるinfluxに対する、前処理の硝酸態窒素濃度の影響を調査したところ、'おどりこ'、'June Pink'とも前処理濃度の影響は、ほとんど認められず (図-8 A, B)，特に'June Pink'では、前処理の硝酸態窒素濃度の上昇によるinfluxの低下は認められなかった。

d effluxに及ぼす水耕液硝酸態窒素濃度の影響

effluxは、前処理濃度0mMでは、両品種とも処理開始後30分目以降はほとんど値が一定で、品種間の差も認められなかった (図-9 A, B)。その他の前処理濃度では、'June Pink'の方が'おどりこ'よりも全般に高い

傾向を示し、両品種とも前処理濃度が高くなるほどeffluxは高くなったが、'June Pink'の方が増加の割合が高く、差が大きくなった。また、処理開始後120分目以降、effluxはほとんど増加しなかったが、前処理濃度10mMの'June Pink'のみ、120分目以降もeffluxが増加する傾向を示した。

IV 考 察

作物の窒素肥料に対する生育反応は、品種によって異なることはよく知られているが、野菜における品種間差について詳細に検討された例は少ない。田中ら (1996) は、キャベツ10品種について品種比較を行い、収量および窒素吸収における施肥窒素量に対する反応が、品種により大きく異なることを明らかにしている。また、松永ら (2000) は、トマトのF1品種および固定品種15品種について、収量やその他の形質における施肥窒素に対する反応を調査し、収量・草丈・葉長等に品種間差が認められることを明らかにしている。本研究における栽培

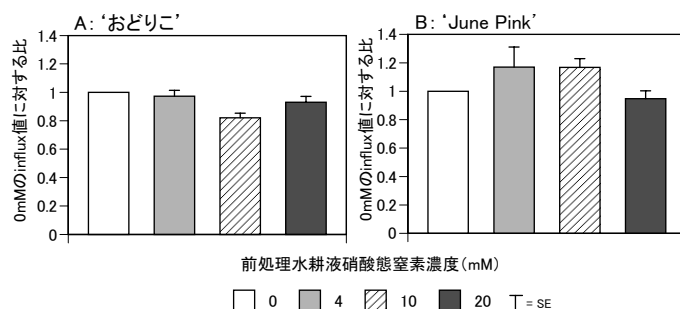


図-8 トマトのinfluxにおける前処理硝酸態窒素濃度の影響

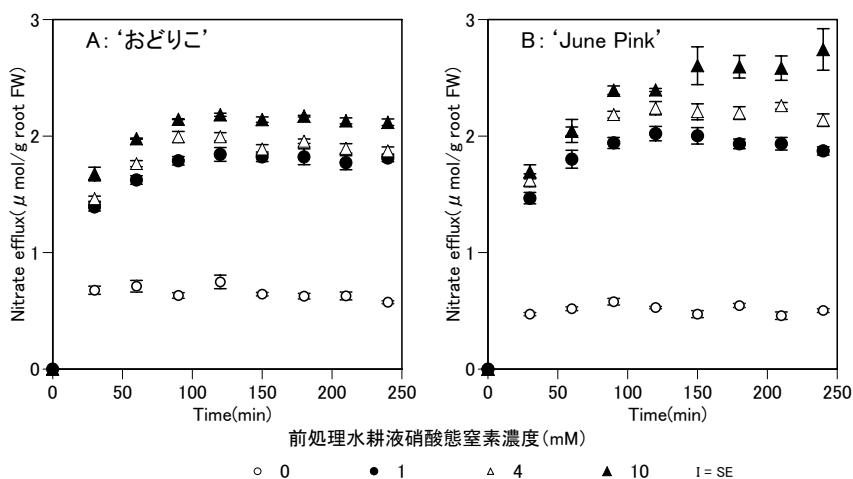


図-9 トマトのeffluxにおける前処理硝酸態窒素濃度の影響



試験でも、トマト9品種の苗の生育と窒素吸収量に顕著な品種間差が認められ、施肥窒素に対する反応も異なることが示された(図-1)。これらの品種間差は、窒素吸収における品種間差だけでなく、吸収した窒素あたりの乾物生産効率が品種間で異なることが、生育反応の差異に影響していることが示唆された。本試験では窒素を硫酸で施用したが、アンモニア態窒素は畑土壌中では速やかに硝化されるため、大部分が硝酸態窒素の形で吸収されたと推定される。吸収された硝酸態窒素は、植物体中で還元され、亜硝酸態窒素、アンモニア態窒素を経た後、アミノ酸やタンパク質など植物体の構成物質へと同化される。硝酸態窒素の同化は植物の一次生産機能を支配する最大要因の1つであるだけでなく、収量と品質を決定する重要な因子である(井田, 1996)ことから、形態別の窒素含量を測定し、窒素同化における品種間差について調査した。その結果、どの品種も全窒素含量は施肥量の変化に対応していたのに対し、不動態窒素含量は品種により大きく異なり、新鮮重の傾向とほぼ等しくなった(図-2)。また、新鮮重は、窒素吸収量(全窒素含量)よりも同化窒素(可動態+不動態)量との相関が高かったことから(図-3)、窒素吸収量あたりの乾物生産効率と生育反応に差が生じた理由として、窒素吸収量だけでなく、窒素同化能力の品種間差が大きく影響していると推定された。傾向が異なる2つの品種、'おどりこ'と'June Pink'を用いて、水耕栽培試験により窒素吸収・同化における生理特性を詳細に比較検討したところ、'おどりこ'は、'June Pink'よりも硝酸態窒素の吸収量が高いだけでなく、吸収した硝酸態窒素の同化量も高いことが明らかとなった(図-4)。硝酸還元酵素(NR)による硝酸の還元は、硝酸態窒素の同化における律速過程であり、硝酸態窒素同化において最も重要な反応である(中川, 1998)。そこで、NRAについて両品種の窒素同化量との関連を調べたところ、硝酸態窒素の同化量が高い'おどりこ'の葉におけるNRAは、同化量が低い'June Pink'よりも高く推移し(図-5)、NRAは窒素同化において品種間差が生ずる要因の一つとなると推定された。

ポット栽培試験や水耕栽培試験において、'おどりこ'と'June Pink'の窒素含量には大きな差があり、施肥窒素に対する反応も異なっていた。養分吸収能力は、根系の発達によるものと、生理的な要因によるものが考えられ、田中ら(1996)は、キャベツにおける窒素吸収の品種間差に、根系の形態の違いが影響している可能性を指摘している。今回、水耕試験によって根の形態を調査

したところ、'おどりこ'は'June Pink'と比べて根表面積が大きい傾向がみられたものの、形態的な根の形質は変動が大きく、品種の特性や窒素吸収との関連は明確ではなかった(データ略)。水耕栽培と土耕栽培では、根系分布や根形態の持つ意味が異なると推定されるが、少なくとも水耕栽培試験における'おどりこ'の硝酸吸収能力の高さは、根量や根形態の違いによるものではなく、生理的な要因の可能性が高いと推定されるため、窒素吸収特性について生理的な面から検討を行った。植物は硝酸態窒素を吸収(influx)するとともに、根から放出(efflux)しており、influxからeffluxを差し引いたものが植物体に取り込まれる硝酸態窒素量(net uptake)となる。植物における硝酸態窒素influxの初期速度は、概ね1mM以下ではMichaelis-Menten式で表される曲線を示すHATS(High affinity transport system)、それ以上の濃度域では、硝酸態窒素濃度に比例した直線を示すLATS(Low affinity transport system)に区別される(末吉, 2003)。HATSに関しては、オオムギやイネにおいてKm値で示される基質親和性に品種間差が認められること(長谷川, 1992; Hasegawaら, 1994)、窒素に対する生育反応が異なるワタの2つの品種群間でKm値とVmax値に差が認められること(Aslamら, 1997)が示されており、硝酸態窒素吸収機構の面から、窒素の利用効率の品種間差異を明らかにするために、HATSおよびLATSについて'おどりこ'と'June Pink'の比較を行った。トマトにおいても2つの吸収機構が存在することが報告されているが(Lauterら, 1996)、本研究においても、'おどりこ'と'June Pink'で1mM付近に境に、異なる吸収機構が存在することが確認された(図-6)。また、HATSについてMichaelis-Menten式により解析したところ、2つの品種のKm値とVmax値に差があることが示され、Km値は'おどりこ'の方が高く、基質親和性における優位性は認められなかったものの、'おどりこ'はVmax値が高く、またLATSにおいても吸収速度が高く、傾きも大きいことが明らかとなり、生理的に高い窒素吸収能力を持つことが示された(図-6)。

HATSには培地の硝酸態窒素で誘導される誘導性HATSと構成的HATSが存在し、誘導性HATSは、培地の硝酸態窒素によって誘導され、植物体内のアミノ酸によって抑制的に制御されることが知られており、その制御は細胞膜のイオンチャネル(Nitrate transporter: NRT)遺伝子の転写および転写後のレベルで作用していることが明らかとなっている(末吉, 2003)。LATSについては、高濃度あるいは長期間の硝酸態窒素処理によって、

抑制される (Siddiqiら, 1989 ; Kronzuckerら, 1995 ; Cerezoら, 2000) との実験結果から, 植物体の硝酸態窒素濃度によって抑制的に制御されると推定されている。また, efflux に関しても, オオムギを用いた試験で, efflux が誘導性であること, RNA とタンパク合成を必要とすることが示され, 体内の硝酸態窒素濃度の能動的制御に関わっていることが示唆されている (Aslamら, 1996)。前処理に用いる培地の硝酸態窒素濃度を変え, net uptake への培地中硝酸態窒素濃度の影響を調べたところ, 前処理濃度が 1 mM 以上になると HATS および LATS における net uptake は低下し, 特に 'June Pink' の LATS における低下が著しかった (図-7)。net uptake の低下は, influx の低下, もしくは efflux の増加によるものと推察されたが, influx においては, 前処理濃度の上昇による低下が認められず (図-8), 前処理濃度の上昇に伴う efflux の増加は, 'June Pink' の方が顕著であったことから (図-9), 培地中の硝酸態窒素濃度が高く維持される条件では, 'おどりこ' の方が 'June Pink' よりも efflux が低く, net uptake が 'June Pink' よりも高くなることから, 硝酸態窒素吸収効率に差が生じる原因となっていると推察された。'おどりこ' は 'June Pink' と比べ NRA が高く, 硝酸態窒素の還元能力が高いため, 体内の硝酸態窒素濃度が高まりにくく, 硝酸態窒素濃度を調整するための efflux が 'June Pink' よりも低く, 特に硝酸態窒素が高い条件で, その差が顕著になったと推定され, 多様な窒素条件下での, 'おどりこ' の良好な生育に寄与していることが示唆された。

本研究では, 幼苗期における特性を中心に調査を行ったが, 圃場において長期間栽培した場合でも, 'おどりこ' は, 'June Pink' と比べ, 生育, 窒素吸収量とも栽培期間を通して高く推移するなど, 幼苗期における性質は生育期間全般にわたって維持されることが確認されており (菊地ら, 1999), 幼苗の窒素吸収能力および窒素同化能力が, 窒素利用効率の高い品種の選抜指標となる可能性が示された。今後, 細胞レベルの硝酸態窒素動態や, 硝酸態窒素吸収や同化などについて, 遺伝レベルでの制御機構を解明することにより, 窒素利用効率の高い品種の選択・育成への寄与が期待できる。

## V 摘 要

トマト 9 品種を異なる窒素濃度 (50, 100, 150mg-N/L) で栽培したところ, 苗の生育と窒素吸収量に顕著な品種間差が認められ, 施肥窒素に対する反応も異なることが

示された。これらの品種間差は, 吸収した窒素あたりの乾物生産効率が品種間で異なることが, 生育反応の差異に影響していることが示唆された。乾物生産効率に影響していると推定される窒素同化について調査したところ, 新鮮重は同化窒素量との相関が高く, 窒素の吸収量だけではなく, 吸収した窒素の同化能力が品種で異なり, 窒素吸収量あたりの乾物生産効率と生育反応の差となっていることが示唆された。傾向が異なる 2 つの品種, 'おどりこ' と 'June Pink' を用いて比較検討したところ, 'おどりこ' は, 'June Pink' よりも硝酸態窒素の吸収量が高く, 吸収した硝酸態窒素の同化量も高いことが明らかとなった。硝酸還元酵素活性 (NRA) について両品種の窒素同化能力との関連を調べたところ, 'おどりこ' の葉における NRA は, 'June Pink' よりも高く推移し, NRA の差が窒素同化能力において品種間差が生ずる要因の一つとなっていると推定された。

硝酸態窒素吸収特性について生理的な面から検討を行い, 'High affinity transport system (HATS)' について Michaelis-Menten 式により解析したところ, 2 つの品種の Km 値と Vmax 値に差があることが示された。'おどりこ' は Vmax 値が高く, また Low affinity transport system (LATS) においても吸収速度が高く, 増加の傾きも大きいことから, 生理的に高い窒素吸収能力を持つことが示された。net uptake, influx, efflux に対する培地中硝酸態窒素濃度の影響を調べたところ, 前処理の硝酸態窒素濃度が 1mM 以上になると HATS および LATS における net uptake が低下し, 特に 'June Pink' における低下が著しかった。influx においては, 前処理濃度の上昇による低下が認められず, 前処理濃度の上昇に伴う efflux の増加は, 'June Pink' の方が顕著であった。これらの結果から, 培地中の硝酸濃度が高く維持される条件では, 'おどりこ' の方が 'June Pink' よりも efflux が低く, net uptake が 'June Pink' よりも高くなることから, 硝酸態窒素吸収効率に差が生じる原因となっていると推察された。

'おどりこ' は 'June Pink' と比べ NRA が高く, 硝酸態窒素の還元能力が高いため, 体内の硝酸態窒素濃度が高まりにくく, 硝酸態窒素濃度を調整するための efflux が 'June Pink' よりも低いと推定された。特に硝酸態窒素濃度が高い培地条件で, その差が顕著になったと推定され, 多様な窒素条件下での 'おどりこ' の良好な生育に寄与していることが示唆された。

## 引用文献

- 1) Aslam, M., R. L. Travis and R. C. Huffaker (1994) : Stimulation of Nitrate and Nitrite Efflux by Ammonium in Barley (*Hordeum vulgare* L.) Seedlings. *Plant Physiol*, 106(4), 1293-1301.
- 2) Aslam, M., R. L. Travis and D. W. Rains (1996) : Evidence for Substrate Induction of a Nitrate Efflux System in Barley Roots. *Plant Physiol*, 112(3), 1167-1175.
- 3) Aslam, M., K. Nielson, R. L. Travis and D. W. Rains (1997) : Nitrate Uptake, Efflux, and In Vivo Reduction by Pima and Acala Cotton Cultivars. *Crop Sci*, 37, 1795-1801.
- 4) Cerezo, M., V. Flors., F. Legaz and P. Garcia-Agustin (2000) : Characterization of the low affinity transport system for  $\text{NO}_3^-$  uptake by Citrus roots. *Plant Sci*, 160(1), 95-104.
- 5) 長谷川博(1992) : わが国オオムギ品種における硝酸イオン吸収のミハエリス=メンテン式による解析. 日作紀, 61(2), 251-256.
- 6) Hasegawa, H. and M. Ichii (1994) : Variation in Michaelis-Menten Kinetic Parameters for Nitrate Uptake by the Young Seedlings in Rice (*Oryza sativa* L.). *Breed. Sci*, 44(4), 383-386.
- 7) 井田正二(1996) : 窒素栄養の分子生物学的アプローチ2 硝酸塩と亜硝酸塩の同化. 土肥誌, 67(6), 707-715.
- 8) 岩波壽・荒木陽一・野口正樹(1995) : 肥料低減条件下におけるトマトの生育反応. 園学雑, 64(別2), 338-339.
- 9) 菊地直・山崎浩道・木嶋伸行・木村武(1999) : 窒素施肥に対する生育反応が異なるトマト品種における窒素同化能の比較. 土肥学会講演要旨集, 45, 125.
- 10) 北嶋俊和(1991) : 地下水硝酸汚染軽減のための施肥改善対策. 圃場と土壌, 23, 107-113.
- 11) Kronzucker, H. J., M. Y. Siddiqi and A. D. M. Glass (1995) : Kinetics of  $\text{NO}_3^-$  Influx in Spruce. *Plant Physiol*, 109(1), 319-326.
- 12) Lauter, F. R., O. Ninnemann, M. Bucher, J. W. Riesmeier and W. B. Frommer (1996) : Preferential expression of an ammonium transporter and of two putative nitrate transporters in root hairs of tomato. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 93(15), 8139-8144.
- 13) 松永啓・門馬信二(2000) : 低窒素施用下でのトマトの収量性並びに収量性と諸形質との関係. 野菜研報, 15, 107-114.
- 14) 中川弘毅(1998) : 野菜類の硝酸還元酵素の生化学. 日本食品科学工学会誌, 45(1), 1-9.
- 15) Siddiqi, M.Y., A. D. M. Glass, T. J. Ruth and M. Fernando (1989) : Studies of the Regulation of Nitrate Influx by Barley Seedlings Using  $^{13}\text{NO}_3^-$ . *Plant Physiol*, 90, 806-813.
- 16) 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, 48-56. 秀潤社.
- 17) 瀧勝俊・沖野英男(1990) : 県内トマト栽培施設における塩類蓄積の実態と硝酸態窒素の簡易測定法の検討. 愛知県総試研報, 22, 285-293.
- 18) 田中達也・嶋田永生(1996) : キャベツ3品種の肥料濃度反応特性と根系の発達. 土肥誌, 67(6), 619-625.
- 19) 山崎晴臣・六本木和夫(1992) : 葉柄汁液の硝酸態窒素によるトマトの栄養診断. 土肥要旨集, 38, 82.
- 20) 結城昭一(1992) : ダイコン・トマトの少農薬、少化学肥料栽培. 東北農業研究, 別5, 49-58.
- 21) 農林水産省生産局 園芸課(2005) : 園芸用ガラス室・ハウス等の設置状況.
- 22) 野菜・茶業試験場他(2000) : 平成12年度野菜・花き・茶業対策の概要.

## Growth and Nitrate Assimilation Characteristics of Tomato Cultivars Grown under Varying Nitrogen Levels

Sunao Kikuchi, Tsuguo Hoshina, Takeshi Kimura, Naomichi Miyaji,  
Hiromichi Yamazaki, Yoshiaki Umemiya and Nobuyuki Kijima

### Summary

Growth and nitrogen content were different among nine tomato cultivars grown under three nitrogen levels (50,100,150 mg-N/L). Applied nitrogen efficiency to growth was highest in 'Odoriko', and lowest in 'June Pink'. It was suggested that the difference in tomato growth was influenced not only by the difference of nitrogen uptake but also the difference of nitrogen efficiency ratio (dry weight per nitrogen content). A positive correlation between the tomato growth and the content of assimilated nitrogen was observed. Therefore, it was suggested that the ability of nitrogen assimilation was different among the cultivars, and that the difference in ability of nitrogen assimilation influenced the difference in the nitrogen efficiency ratio and growth.

We compared 'Odoriko' and 'June Pink' for nitrate ( $\text{NO}_3^-$ ) reduction, which is the most important step in nitrogen assimilation. It was shown that there were differences of nitrate reductase (NR) activity and rate of nitrate assimilation between the two cultivars.

We analyzed the kinetic properties of  $\text{NO}_3^-$  influx on high/low-affinity transport systems (HATS and LATS), and on the responses of net uptake, influx and efflux to external  $\text{NO}_3^-$  of pretreatments on LATS to clarify the  $\text{NO}_3^-$  uptake characteristics of the two cultivars. The  $V_{\text{max}}$  value on HATS and the slope of influx on LATS in 'Odoriko' were higher than in 'June Pink'. These results suggested that 'Odoriko' had a greater ability of  $\text{NO}_3^-$  influx.

The rates of decline on net uptake were different between the two cultivars in the experiment for analysis of the effects of pretreatment to  $\text{NO}_3^-$  net uptake on LATS. The rate of net uptake declined remarkably on 'June Pink' more than on 'Odoriko', especially in the 4 mM  $\text{NO}_3^-$  treatment. In order to clarify the mechanism for the difference in the effect on net uptake, we analyzed the effects of pretreatment to influx and efflux. The decline of influx on LATS was not shown in either cultivar. On the other hand, the efflux rates of 'June Pink' were higher than of 'Odoriko' in each of the treatments, and the differences in the efflux rate were extended with increased  $\text{NO}_3^-$  concentration in the pretreatments. These results indicated that the higher efficiency of  $\text{NO}_3^-$ -N utilization on 'Odoriko' was due to the lower efflux rate and the higher net uptake with high external  $\text{NO}_3^-$  levels. It was presumed that higher NR activity and ability of nitrate reduction on 'Odoriko' caused the lower efflux on 'Odoriko', and the extending of the difference on efflux at higher external  $\text{NO}_3^-$  levels.