

## 論文審査の結果の要旨

申請者氏名 二瓶 直登

審査対象となる論文では、有機質肥料の施用効果解明への第一歩として、タンパク質の構築単位であり有機態窒素の無機化過程で必ず生成されるアミノ酸の植物による直接利用について解析を行っている。概要は以下のとおりである。

- ① 有機質肥料の植物別施用効果および有機態窒素の生育に対する影響の解析
- ② アミノ酸を単一窒素源とした栽培におけるアミノ酸の種類が生育に与える影響の解析
- ③ アミノ酸の直接吸収の証明、吸収過程のリアルタイムイメージング解析による吸収速度ならびに特性の解析
- ④ 直接吸収したアミノ酸の代謝と植物体内の蓄積分布の解析

以上の実験により、植物へのアミノ酸直接吸収と吸収したアミノ酸の植物体内での利用の経路の解明、また無機態窒素を吸収した場合との相違点などについて考察している。

### ① 有機質肥料の植物別施用効果および有機態窒素の生育に対する影響の解析

有機栽培がよく行われる植物について、数種類の有機質肥料を施用した栽培試験を行い、有機質肥料の効果は植物の種類により大きく異なること、また根系発達も、地上部同様、植物や有機質肥料の種類で大きく異なることを明らかにした。

土壌の無機態窒素量と植物の窒素吸収量を比較すると、特に、イネの有機質肥料施用区では無機態窒素施用区より生育期間を通しての土壌の無機態窒素量が少ないにもかかわらず、窒素含有量が多いという結果から、イネが無機態窒素のみではなく、有機態窒素をも吸収して生育していることが示唆した。

### ② アミノ酸を単一窒素源とした栽培におけるアミノ酸の種類が生育に与える影響の解析

タンパク質を構成するアミノ酸 20 種類を窒素源として、5 種類の植物 (イネ、コムギ、チンゲンサイ、ダイズ、キュウリ) を無菌的に栽培し、アミノ酸の生育に対する効果は植物の種類で異なることを明らかにした。ダイズはアミノ酸の種類により、生育に大きな差は見られなかったが、イネ、チンゲンサイ、コムギ、キュウリでは一部のアミノ酸が無機態窒素と同等の生育を示す一方で、アミノ酸によっては強い生育阻害を引き起こすなど、生育に対して正負の大きな影響が見られたことを報告している。無機態窒素以上の生育を示したのは Gln、Ala、Asn で、逆に Trp、Leu、Val、Tyr、Met、Cys、Ile、Lys、Phe では強い生育阻害が見られた。

### ③ アミノ酸の直接吸収の証明、吸収過程のリアルタイムイメージングおよび吸収速度、特性の解析

アミノ酸の直接吸収を証明するため、 $^{15}\text{N}$  と  $^{13}\text{C}$  の安定同位体二重標識 Gln を吸収させた後、地上部と地下部のそれぞれから遊離アミノ酸を抽出し、質量分析による測定を行い、溶液中の Gln は

根から直接吸収されることを明らかにした。

アミノ酸の吸収過程や吸収部位をリアルタイムオートラジオグラフィシステムで検討し、連続的なアミノ酸吸収のイメージングから、イネの根が溶液中の Gln を吸収する過程を解析し、Gln の吸収活性が主に根端部分において高いことが示した。

Gln の吸収速度はミカエリス・メンテン式にあてはまり、 $K_m$  値は  $200 \mu\text{M}$ 、 $V_{max}$  値は  $2.9 \mu\text{mol/g/h}$  であることを明らかにした。また、極低濃度でも積極的な吸収を示すため、土壌中のアミノ酸でも吸収できる可能性を示唆した。さらに、異なる窒素環境で生育したイネ幼植物の Gln 吸収を測定したが、いずれの処理においても吸収量に差はみられないため、Gln 吸収に関与する能動輸送のシステムは、常時発現しているものと推察した。

#### ④ 直接吸収したアミノ酸の代謝と植物体内の蓄積分布の解析

吸収された Gln は、 $\text{NH}_4^+$  の窒素同化と同様に GS-GOGAT 経路に取り込まれ、他のアミノ酸合成の窒素源として使用されたことを明らかにした。Gln は地上部からの同化産物を使用せずに速やかに窒素をタンパク質合成へ使用することが可能であり、特に地下部において取り込んだ窒素を根系発達に効率よく利用すること、さらに、Gln の分解から生育に必要なエネルギーも供給されていることが、無機態窒素との異なる点であることを明らかにした。

他のアミノ酸として、Ala が植物体内で利用されるためには、Gln へ一度代謝しなければならないこと、Val は代謝され生成されるアミノ酸が Leu のみであり、他のアミノ酸等へは代謝が進まないため体内で蓄積してしまい、生育を阻害したものを明らかにした。

本論文により、植物はいずれの種類のアミノ酸も吸収するが、吸収後の代謝過程により、窒素源として植物生育に与える影響を与えるかどうかが決まることを明らかにした。一部のアミノ酸では、無機態窒素と同等以上の生育促進効果が示され、また、極低濃度でも植物がアミノ酸を吸収したことから、通常低濃度とされている土壌においてもアミノ酸を吸収していることを指摘している。従って、土壌のアミノ酸濃度を高める堆肥や有機質肥料を施用する有機農業の施肥管理技術の確立には、窒素の無機化量だけでなく、分解過程で生成するアミノ酸の植物生育への影響がより一層重要な要素になることを初めて明らかにした。

よって審査委員一同は本論文が博士(農学)の学位論文として価値あるものと認めた。