大豆のチッソ代謝に関する研究

第3報 葉からのチッソおよびアミノ酸の転流におよぼす摘心処理の影響*

加 藤 泰 正

(信州大学繊維学部)

大豆成熟葉のチッソ含量はチッソの流入と流出の収支によつて動的に保たれているものと考えられる²⁾。したがつて、葉からのチッソの流出(転流)は葉のチッソ含量が実質的に減少する以前から常時潜在的に行われていると考えるべきであり、葉はこの種の転流を通じて他の器官、とりわけ成長部に対し有力なチッソ供給者としての役割を果している可能性がある。著者は前報³⁾において大豆茎頂の生長部分に送られるチッソのうち、根による日日の吸収に直接由来する部分は僅か20~30%程度にすぎず、のこり70~80%は体内よりの転流に由来すると指摘したが、このことは上述の可能性をある程度裏づけているように思われる。そこで本報では、葉と茎頂生長部がチッソ栄養に関してもいづゆる“source”と“sink”の関係にあるかどうかを確かめるため、葉からのチッソおよびアミノ酸の転流が茎頂生長部の除去(摘心処理)によつてどのように影響されるかを調べた。

実験方法

実験1 $1/2$ 濃度の Hoagland 培養液で水耕栽培した第2本葉完全展開期の大豆幼植物(品種 シナノメジロ)を供試材料とし、これをまず無摘心区と摘心区に分け、それぞれに対照と葉柄剥皮区(以下たんに剥皮区と呼ぶ)を設けた。ここに摘心処理は第2本葉節の直上で茎の頂部を除去したもの、また葉柄熱剥皮処理(以下たんに剥皮処理と呼ぶ)とは第1本葉および第2本葉各葉柄の組織の一部を熱で殺し篩管を閉鎖する操作をいい、これにより導管經由で葉に流入するチッソ量をとらえるとともに、対応する無処理の葉の全チッソ含量との比較からチッソの流出量(転流量)を推定した。以上の摘心および剥皮処理はいずれも午前6時に行い、同時に ^{15}N を含む培養液を与えて午後6時まで無通気で12時間 ^{15}N を吸収させた。試料は処理開始時(午前6時)および午後6時の2回に各区27個体あて採取し、植物体はその都度各部に分けて乾燥(85°C)したのち、前報^{2,3)}と同様にして全チッソ含量

および ^{15}N 存在比の測定を行つた。

なお上記実験1に使用した無摘心剥皮区の結果の一部はすでに第2報³⁾に報告済みであり、本報データの一部と若干重複する点のあることをお断りしておく。

実験2 実験1と同様の方法で得た第2本葉完全展開期の大豆幼植物を供試した。摘心および剥皮処理の方法ならびに処理開始時刻も実験1に準ずるが、剥皮処理を第2本葉葉柄のみに行つたこと、培養液に非標識チッソを用いたこと、およびチッソの吸収期間を午前6時から翌朝6時までの24時間としたことなどが異なる。処理開始時(午前6時)、処理後12時間目、および処理後24時間目にそれぞれ各区15個体より供試葉である第2本葉を採取し、乾物重、全チッソおよびタンパク態チッソの測定を行つた。また最終回の採取時には別に各区10個体から第2本葉を採取し、80%熱エタノールで抽出したのち抽出液中の遊離アミノ酸含量をアミノ酸自動分析装置(日立KL-3型)により分画定量した。

実験結果および考察

[I] 実験1

1. 吸収された ^{15}N の器官別分布

第1表は ^{15}N 供給後12時間に各区の植物体にとりこまれた ^{15}N の絶対量(^{15}N)と、その間の全チッソ含量の変化(ΔN , 負号の場合は減少を示す)を器官別に示したものである。個体当りの ^{15}N とりこみ量(第1表 ^{15}N の合計値)は無摘心、摘心のいずれにおいても剥皮区が対照区より低い傾向にあるが、各器官別の ^{15}N とりこみ量は茎を除き両区の間で大差はない。また摘心処理も個体当り ^{15}N とりこみ量を若干減少させたが、茎葉へのとりこみ量は無摘心区とほぼ同様で、根では逆に摘心区のととりこみ量が増加した。

2. 葉におけるチッソの流入と流出におよぼす摘心処理の影響

各葉のチッソ流入量および流出量(第2表)は第1表の数値より以下のようにして求めた。

(1) 流入量: 導管經由で葉に流入したチッソは剥皮

* 昭和49年9月2日受理

第1表 各処理区の植物体各部における ^{15}N のとりこみ量 (^{15}N)
および各部の全チッソ含量の変化 (ΔN) ($\text{N } \mu\text{g}$)

			初生葉	第 1 葉	第 2 葉	茎頂生長部	茎	根	合計
無摘心	対照区	^{15}N	39	118	188	133	262	179	919
		ΔN	—110	— 33	389	819	397	—516	946
	剝皮区	^{15}N	53*	112	161	123	209	169	827
		ΔN	— 93*	190	595	756	8	—427	1029
摘心	対照区	^{15}N	40	109	153		267	241	810
		ΔN	8	49	560		196	21	834
	剝皮区	^{15}N	63*	112	166		214	227	782
		ΔN	52*	185	589		29	—196	659

* 初生葉葉柄には剥皮処理を行っていない

無摘心剥皮区の第1葉および第2葉のデータは前報³⁾第5表（実験1）に発表済み

第2表 各葉のチッソの流入と流出におよぼす摘心処理の影響（実験1）

		流 入 (μg)			流 出 (μg)			正味の 変化 (μg)	
		¹⁵ N	¹⁴ N	計	¹⁵ N	¹⁴ N	計		
初 生 葉	無 摘 心	39 53	46*	—	46	—	148	148	—102
	摘 心	40 63	52*	—	52	—	22	22	30
第 1 本 葉	無 摘 心	112	78	190	**	223	223	—	33
	摘 心	112	73	185	3	133	136		49
第 2 本 葉	無 摘 心	161	434	595	**	206	206		389
	摘 心	166	423	589	13	16	29		560

* 初生葉には剥皮処理を行っていないので、 ^{15}N 流入量は対照区と剥皮区(第1表参照)の平均をとった

** 流入なしと認められるもの

無摘心区第1本葉および第2本葉の流入量については前報³⁾第5表（実験1）に発表済み

処理を施した葉（以下剥皮葉と呼ぶ）にすべて蓄積するものと仮定し、無摘心区、摘心区とも剥皮葉の ΔN をもってチッソの流入量とした。この ΔN (剥皮葉) すなわちチッソ流入量はつぎの2成分より成る。

i) ^{15}N : 培養液の ^{15}N に直接由来する部分で、剥皮葉の ^{15}N とりこみ量(第1表)で示される。

ii) ^{14}N : 体内の転流にもとづくチッソで、第1表より ΔN (剥皮葉) - ^{15}N (剥皮葉) を計算して求められる。

(2) 流出量: 第1表より ΔN (剥皮葉) - ΔN (対照葉) によって求められる。ただしこの値が0または負のときは事実上チッソの流出がなかったものと考ええる。

前記の流入量 ΔN (剥皮葉) は篩管經由で葉に流入するチッソを含まない。したがって篩管によるチッソ流入がある場合には、上記の方法で求めたチッソの流入および流出量は、いずれも篩管による流入分だけ低く見積られたものになる。なお初生葉には剥皮処理を施していないので、この場合流入量は ^{15}N のみ測定さ

れ、 ^{14}N については明らかでない。また初生葉の流出量は ^{15}N (初生葉) - ΔN (初生葉) によって求められる。しかしいずれにせよ初生葉では ^{14}N の流入が考慮されないため、流入、流出量ともその分だけ低く見積られていることになる。

以上の方法により無摘心と摘心区各葉のチッソ流入量および流出量を算出し、これらを取りまとめたのが第2表である。

まず無摘心区では日中すべての葉でチッソの流入と流出が同時に認められた(第2表)。流入量は上位葉ほど多く、流出量も概して上位葉で多いが、流入量に対する流出量の割合は逆に下位葉で高く、その結果初生葉や第1本葉ではやや流出超過となり、全チッソ含量はわずかながら低下した。一方摘心区では摘心処理による流入量への影響はほとんどみられなかったが、流出量はいずれの葉においても著しく減少し、その程度は無摘心区の約半分(第1本葉)から $1/4$ (初生葉および第2本葉) にもおよんだ。このように葉におけるチッソの流出は茎頂生長部を除去すると大幅に抑制さ

第3表 摘心および剥皮処理にともなう第2本葉の全チッソ，タンパク態チッソ
および可溶態チッソ含量の変化（1葉当り Nmg）

時 間	区	全チッソ	タンパク態 チッソ	可溶態 チッソ
実験開始時 (午前6時)	無摘心・対 照	10.87	8.48	2.39
12 時 間 後 (午後6時)	無摘心・対 照	11.49	8.73	2.76
	無摘心・剥 皮	11.77	9.26	2.51
	摘 心・対 照	12.02	8.91	3.11
	摘 心・剥 皮	11.96	8.89	3.07
24 時 間 後 (午前6時)	無摘心・対 照	11.15	8.70	2.45
	無摘心・剥 皮	12.27	9.24	3.03
	摘 心・対 照	11.54	9.17	2.37
	摘 心・剥 皮	12.07	9.32	2.75

数値は一定葉面積当りのチッソ含量を1葉当りに換算したもの

れることから、茎頂生長部は葉から転流するチッソの
主要な sink をなしているものと考えられる。

第2表から明らかなように、葉に流入するチッソは
 ^{15}N と ^{14}N の2つの成分より成るのに対し、葉から流
出するチッソはほとんど ^{14}N のみから成っている。す
なわち一度葉に流入した ^{15}N はほぼ完全に葉身内に保
持せられ、短時間のうちに葉から再流出することはい
ないといえる。一方この ^{15}N と同時に葉に流入していた
 ^{14}N のそのごの行動を直接知ることはできないが、両
者が全く別行動をとるとは考え難いことから、おそらく
 ^{14}N も ^{15}N と同様に葉身内に保持されたものと思わ
れる。このように考えると、第2表の葉に流入する
 ^{14}N と葉から流出する ^{14}N とは、明らかに別系統のチ
ッソの流れとして区別されねばならないであろう。す
なわち葉から流出する ^{14}N は、かつて葉の構成にあず
かつたと思われるチッソの一部が放出されたものであ
り、摘心処理はかかるチッソ放出を抑制したものと考
えられる。また以上の考察から無摘心区の葉のチッソ
はたえず更新されていることがうかがわれるが、茎頂
生長部はその更新速度を規制する主要な要因の一つと
見ることもできよう。

〔Ⅱ〕 実験 2

葉柄の篩管を熱で遮断した剥皮葉にあつては、本来
篩管を通つて転流すべきチッソ成分の大部分が葉身内
にとどまっていると考えられるから、剥皮葉中に蓄積
したチッソ成分を調べるにより、転流に参与して
いたチッソ化合物の形態もある程度知ることができ
ると思われる。実験2はこの方法によつてアミノ酸が転
流チッソ成分の一つであることを示すとともに、アミ
ノ酸の転流もまた摘心処理によつて大幅に抑制される
可能性を示したものである。

第4表 葉におけるチッソの流入と流出
におよぼす摘心処理の影響(実験 2)
(Nmg)

	昼 間		夜 間	
	流入	流出	流入	流出
無摘心区	0.91	0.28	0.50	1.12
摘 心 区	1.09	*	0.11	0.53

* 流出なしと認められるもの

1. 摘心処理がチッソの転流におよぼす影響の再 確認

本実験は1区当り供試個体数が少ないため、個体差
をできるだけ少なくする目的で、採取した第2本葉は
中央部を菱形のプラスチック板に沿つて一定面積に切
りとり、この定面積部分の全チッソ含量を各区の間で
比較する方法をとつた。切り取り部分の面積は全葉面
積の $\frac{1}{2}$ 強であつた。この方法によると、日中葉の水
分含量の減少にともない葉面積の縮小がある場合に
は、早期に比ベタ刻の計量値が過大に示される危険性
があるが、午後6時の採取時点で少なくとも葉のしお
れは一切認められなかつた。

第3表には各採取時における各区の第2本葉の全チ
ッソ，タンパク態チッソおよび可溶態チッソ含量を、
また第4表には第3表の全チッソ含量をもとに計算し
た無摘心区と摘心区のチッソ流入量および流出量を昼
夜別に示した。流入，流出量の計算は実験1の場合と
同様であるが、昼間の流量値は午前6時(処理開始時)
と午後6時の全チッソ含量(第3表)の比較から、ま
た夜間のそれは午後6時と翌朝6時の比較からそれぞ
れ算出した。以下結果についてのべる。

第4表より、無摘心区では昼間チッソの流入と流出

第5表 葉身の遊離アミノ酸含量におよぼす摘心および剥皮処理の影響
(1葉当り μ モル数)

	無摘心		摘心		無摘心対照を100としたときの相対値		
	対照	剥皮	対照	剥皮	無摘心・剥皮	摘心・対照	摘心・剥皮
アスパラギン酸	2.10	2.53	4.95	3.22	120	236	153
スレオニン	0.65	1.52	2.29	2.64	234	352	406
セリン	2.61	3.87	9.54	11.10	148	366	425
グルタミン酸	5.01	5.95	8.06	7.59	119	161	151
プロリン	0.44	0.54	1.00	0.57	123	227	129
グリシン	0.30	0.55	0.46	0.58	183	153	193
アラニン	8.07	8.09	13.27	10.39	100	164	129
バリン	0.29	0.30	0.90	0.46	103	310	159
イソロイシン	0.30	0.41	1.02	0.96	137	340	320
ロイシン	0.29	0.29	0.87	0.41	100	300	141
チロシン	—	0.15	—	—	—	—	—
フェニルアラニン	0.60	1.28	3.93	4.34	213	655	723
トリプトファン	0.11	0.15	0.45	0.13	136	409	118
リジン	0.22	0.19	0.23	0.26	86	105	118
ヒスチジン	2.18	2.37	2.55	1.59	109	117	73
アルギニン	0.13	0.16	0.48	0.54	123	369	415
全アミノ酸	23.30	28.35	50.00	44.78	123	215	192

がともに認められたが、摘心区では流入あるのみで流出は認め難かつた。これは実験1の結果を比較的良好に再現しており、ここに摘心処理が昼間における葉からのチッソの転流を効果的に抑制する事実を再確認することができた。一方夜間においては無摘心、摘心両区とも流入をはるかに上まわる流出がみられたが、ここでも摘心区の流出量は無摘心区の半分以下にすぎず、結局昼夜を通じてみても摘心区のチッソの転流が大幅に減少したことは明らかである。

2. 剥皮および摘心処理にともなう葉身の遊離アミノ酸含量の変化

アミノ酸が仮りに転流チッソの構成部分としてたえず葉から転流をつづけ、しかもその転流が摘心処理により抑制される関係にあるなら、これまでのべた全チッソの場合と同様アミノ酸もまた無摘心区では剥皮葉にのみ蓄積し、摘心区では対照葉と剥皮葉の両者において等しく蓄積するという現象がみられるはずである。

第5表は剥皮ならびに摘心処理後24時間目における各区第2本葉のアミノ酸含量を示したものであるが、まず全アミノ酸についてみると、無摘心区では剥皮葉が対照葉より約20%の増加を示しているのに対し、摘心区では対照葉、剥皮葉ともに全アミノ酸が著しく増加し、かつ増加率は剥皮葉よりむしろ対照葉で高いことがわかる。この結果はさきの予想とよく一致しており、したがって無摘心区においてはアミノ酸が葉か

ら転流していたと推定され、しかもこの転流は摘心処理により抑制されるものと考えられる。

以上のように摘心処理がアミノ酸の転流におよぼす影響は極めて大きいと考えられるが、個々のアミノ酸についてみるとその影響は必ずしも一様であるとはいえない。以下この点を考察してみよう。

まずアミノ酸の転流が行われていたとみられる無摘心区では、16種の遊離アミノ酸のうちリジンを除くほとんどのアミノ酸が剥皮葉中に増加したが、増加率は個々のアミノ酸で異なり、スレオニンを最高にフェニルアラニン、グリシン、セリンなどがとくに顕著な増加を示した(第5表)。アミノ酸は一般に生体内で相互変換を受けやすいため、剥皮葉中に増加したこれらのアミノ酸がただちに転流に関与していたアミノ酸を表わしているとはいえないが、増加率の高いアミノ酸は転流に関与していた可能性も高いと想像される。

つぎに、摘心区では対照葉、剥皮葉の双方でアミノ酸が全体的に増加したが、個々のアミノ酸についてみると、15種のうち9種は剥皮葉より対照葉で著しい増加を示し、反対に剥皮葉での増加が著しかつたものはスレオニン、セリン、グリシン、フェニルアラニン、リジンおよびアルギニンの6種にすぎなかつた(第5表)。したがってこれら6種のアミノ酸については一応転流に関与していた可能性が考えられるが、このうちリジンとアルギニンを除く4種は無摘心区の剥皮葉においても最も高い増加率を示したアミノ酸であ

り、このような一致から考えて、これら4種のアミノ酸は摘心の有無によらず葉から転流していたのではないかと推定される。上記4種のうちでもスレオニン、セリンおよびグリシンは光合成に付随して形成され、ただちに葉から転流する事実が知られており^{1,4,5)}、とくにセリンとグリシンは大豆幼植物を用いてこの点が確認されている^{1,5)}。またフェニルアラニンについても、その炭素骨格が光合成を通じて¹⁴CO₂から形成されることが大豆葉で明らかにされているが⁶⁾、転流の有無については不明である。

以上を要するに、摘心処理はアミノ酸の転流を全体として阻止する方向に強く作用するが、個々のアミノ酸についてみると摘心条件下でも転流を行っていたと思われるものが若干あり、これらのアミノ酸は葉のチッソ構成に関与した前歴をもつものというよりは、むしろ光合成の過程で副次的に生産されたアミノ酸であることの可能性が大きい。

摘 要

茎頂生長部の除去（摘心処理）が葉からのチッソおよびアミノ酸の転流におよぼす影響を調べ、大要以下のごとき結果を得た。

大豆成熟葉の全チッソ含量はチッソの流入と流出のバランスによつて保たれているが、摘心処理はチッソの流入にはほとんど影響せず、流出を著しく抑制した。またアミノ酸も大豆成熟葉からたえず転流してい

ることがうかがわれ、摘心処理はこのアミノ酸の転流も大幅に抑制するものと推定された。

引 用 文 献

1. CLAUSS, H., D. C. MORTIMER and P. R. GORHAM 1964, Time course study of translocation of products of photosynthesis in soybean plants. *Plant Physiol.* **39**: 269—273.
2. 加藤泰正 1973, 大豆のチッソ代謝に関する研究. 第1報 標識チッソと非標識チッソの体内における移行と代謝について, *日作紀* **42**: 154—163.
3. ——— 1973. 同第2報 植物体各部に移行した標識および非標識チッソの割合. *日作紀* **42**: 322—326.
4. KURSANOV, A. L. 1963. Metabolism and the transport of organic substances in the phloem. *Advan. Bot. Res.* **1**: 209—278.
5. NELSON, C. D., H. CLAUSS, D. C. MORTIMER, and P. R. GORHAM 1961. Selective translocation of products of photosynthesis in soybean. *Plant Physiol.* **36**: 581—588.
6. RACUSEN, D. W. and S. ARONOFF 1954. Metabolism of soybean leaves. VI. Exploratory studies in protein metabolism. *Arch. Biochem. Biophys.* **51**: 68—78.

Studies on Nitrogen Metabolism of Soybean Plants

3. Effects of topping on the export of nitrogen and amino acids from the leaves

Yasumasa Kato

(The Faculty of Textile Science and Technology, Shinshu University, Ueda)

Summary

Petiole tissues of mature leaves of soybean plants were killed by heat and the subsequent changes in total nitrogen and free amino acids content of the petiole-treated leaves were compared with those of the petiole-untreated leaves. During the experimental period there was a consistently higher accumulation of total nitrogen in the petiole-treated leaves than in the petiole-untreated leaves. When topping treatment (a removal of a growing region of the stem) was made to the plants, however, an accumulation of total nitrogen occurred in both the petiole-treated and petiole-untreated leaves to almost the same extent. These observations suggest that the nitrogen content of a mature leaf is maintained by a counterbalance of import and export of nitrogen and that the topping treatment reduces export without seriously affecting import. Similar results were obtained with total free amino acids, indicating that amino acids may be continuously translocated from the mature (pre-senescent) leaves and the translocation of amino acids could also be reduced by the treatment. From these results it may be concluded that source and sink relationship in respect to nitrogen metabolism may generally exist between mature leaves and a growing stem apex.