施用窒素形態がブルーベリーの生育並びに 葉中窒素成分濃度に及ぼす影響

高溝 正*・杉山信男

東京大学農学部 113 東京都文京区弥生

Effects of N Forms on Plant Growth and Fractions of
Leaf N in Rabbiteye Blueberries

Tadashi TAKAMIZO and Nobuo SUGIYAMA

Faculty of Agriculture, University of Tokyo, Yayoi, Bunkyo-Ku, Tokyo 113

Summary

The effects of N forms on the growth and concentrations of N fractions in plant parts were studied in order to evaluate the assimilating capability of rabbiteye blueberry plants for NH_4 and NO_3 . One-year-old rooted cuttings were grown in sand culture at 3 levels of N and at 3 levels of pH with NH_4 , NH_4NO_3 or NO_3 as N sources.

The dry weight of plant tops was reduced at 14 ppm N supplied as any of 3 N forms. At 56 ppm and 140 ppm N, NH_4NO_3 -fed plants grew better than NH_4 - and NO_3 -fed ones. At pH 4 and 5.5, there was no difference of growth between NH_4 -fed and NO_3 -fed plants, but at pH 7 NH_4 -fed plants were larger than NO_3 -fed ones.

NH_4 -fed plants had higher concentrations of total N and soluble N than NO_3 -fed ones. In NH_4 -fed plants, free NH_4 concentrations in leaves increased much more than amide-N concentrations as N supply was increased. In NO_3 -fed plants NO_3 accumulated scantily in leaves and roots even at 140 ppm N. NO_2 was not detected in any part of a plant.

These results showed that blueberry plants did not assimilate NH_4 efficiently nor absorb NO_3 sufficient for sustaining growth, which is distinctly different from such NH_4 -loving plants as rice and tea.

緒 言

ブルーベリーは硝酸態窒素 (NO_3) よりもアンモニウム態窒素 (NH_4) を窒素 (N) 源として砂耕した場合に生育が良い(1, 11, 12). このような作物は好アンモニウム性作物と呼ばれ、イネやチャは代表的な好アンモニウム性作物とされる。高橋(10)は、イネやチャが NH_4 を与えた場合に生育が優れ、 NO_3 を与えた場合に生育が劣る原因として、これらの作物は NH_4 を同化する能力が高く、過剰の NH_4 を与えた場合に体内に遊離の NH_4 が蓄積しにくいこと、硝酸還元酵素活性が低く、 NO_3 のみを与えた場合には、生育を維持するのに十分な量の NH_4 を生成できないことを挙げている。ブルーベリーは他の木本植物に比べ、葉の硝酸還元酵素活性が低いことが明らかにされているが(8)、 NH_4 同化能力や NO_3

を与えた場合に NO_3 や亜硝酸がどの程度蓄積するかについては、まだ検討されていない。本研究では、培養液中のN形態がブルーベリーの生育と葉中N成分濃度に及ぼす影響を調べ、ブルーベリーが高橋(10)の挙げた上記の特性を持っているか、否かを明らかにしようとした。

材料及び方法

培養液中のN形態とともにN施用濃度あるいは培養液 pH を変え、ラビットアイ・ブルーベリー (*Vaccinium ashei* Reade cv. Tifblue) を砂耕した。N 形態は NH_4 , NH_4NO_3 , NO_3 の3種類とし、 NH_4 源として硫酸アンモニウム、 NO_3 源として硝酸ナトリウムを用いた。N 施用濃度を 14, 56, 140 ppm に変えた実験では pH を 5.5 とし、pH を 4, 5.5, 7 に変えた実験では N 施用濃度を 56 ppm とした。

4月13日に石英砂を詰めた 1/5,000 a ワグナーポットに、1ポット当たり1個体の挿し木1年生苗を移植し

1989年7月31日 受理

* 現在：草地試験場 栃木県那須郡西那須野町

た。処理開始は5月14日で、8月5日(濃度実験)または8月26日(pH実験)に実験を打ち切った。1処理5ポットを用いた。培養液量は2lとし、1日2回ポットの下底から与えた。培養液はNの外に水1l当たりP: 31, K: 78, Ca: 80, Mg: 24, Fe: 3, B: 0.5, Mn: 0.5, Cu: 0.02, Zn: 0.05, Mo: 0.01mgを加えて調製した。培養液のpHは毎日調節し、6日ごとに更新した。収穫した植物体は葉、茎、根に分け、葉は凍結乾燥し、茎と根は70℃で通風乾燥した。試料は乾物重を測定後、処理ごとにまとめて粉砕し、分析に用いた。可溶性Nは、乾物試料1gを60mlの熱水で3.5分間抽出し、還元鉄を用いて NO_3^- を NH_4^+ に還元した後、ケルダール法によって測定した。熱水抽出液中の NH_4^+ とアミド態Nは微量拡散法で測定した。亜硝酸は試料を塩化アンモニウム緩衝液で抽出し、また NO_3^- はこの液をカドミウムカラムで還元してから、スルファニル酸と1-ナフチルアミン-7-スルホン酸で発色させ、530nmの吸光度を測定して求めた。分析は各サンプルにつき2回以上行い、平均値を求めた。

結 果

1. N施用濃度を変えた実験

N施用濃度14ppmの場合には、いずれのN形態でも生育は悪く、地上部乾物重に差は見られなかった(第1図)。施用濃度を56, 140ppmに高めると、 NH_4NO_3 区では地上部乾物重が有意に増加したが、 NH_4 区と NO_3 区では有意な増加は見られなかった。 NH_4 区では施用濃度を140ppmに高めると、晴れた日には新梢の先端がしおれ、しおれが著しい場合には葉焼けが発生した。また、 NO_3 区では施用濃度を140ppmに高めると、新葉にクロシガが発生した。

乾物当たりの葉中全N濃度は、施用濃度が14ppmの場合にはN形態によらず、9~10 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ であった(第2図)。施用濃度を140ppmに高めると、全N濃度は NH_4 区では19 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 、 NH_4NO_3 区では16 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ に上昇したが、 NO_3 区では12 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ に止まった。

葉中可溶性N濃度は、施用濃度14ppmの場合、0.6~0.7 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ でN形態による差は見られなかったが、56または140ppmに高めると、全N濃度同様、 NH_4 区と NH_4NO_3 区では濃度が上昇した(第3図上)。 NH_4 区では施用N濃度を高めると、葉中 NH_4 濃度は著しく上昇し、施用濃度140ppmの場合には1 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ を越えたが、葉中アミド態N濃度の上昇はごくわずかであった(第3図中、下)。図には示さないが、葉中 NO_3^- 濃度はいずれのN形態でも低く(50 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 以下)、また培養液中の NO_3^- 濃度を高めても、葉中 NO_3^- 濃度の上昇は認

Fig. 1. Effect of the form and level of N supply on the dry weight of plant tops in rabbit-eye blueberries. Columns with the same letter are not significantly different at 5% level, by LSD test.

Fig. 2. Effect of the form and level of N supply on the concentration of total N in leaves of rabbit-eye blueberries. Columns represent means of 2 determinations on the composite sample of 5 plants in each treatment.

められなかった。根の NO_3^- 濃度も葉と同様低かったが、葉とは異なり、培養液中の NO_3^- 濃度を高めると約2倍に上昇した(第4図)。亜硝酸はいずれの部位でも検出できなかった。

2. pHを変えた実験

地上部乾物重はいずれのpHでも NH_4NO_3 区で最大であった(第5図)。 NH_4 区と NO_3 区の比較では、pH7の場合には NH_4 区の方が地上部乾物重が多かったが、pH4と5.5では両区の差は明らかでなかった。 NH_4 区では晴れた日には新梢の先端がしおれ、葉焼けが発生した。葉焼けの程度は特にpH4の場合に激しかった。また、 NO_3 区では培養液pHを5.5または7に高

Fig. 3. Effect of the form and level of N supply on the concentrations of (a) soluble N, (b) NH₄-N, and (c) amide-N fractions in leaves of rabbiteye blueberries. Column means are as in Fig. 2.

Fig. 4. Effect of the form and level of N supply on the concentration of NO₃-N in roots of rabbiteye blueberries. Column means are as in Fig. 2.

めると、新葉にクロロシスが発生した。

乾物当たりの葉中全 N 濃度はいずれの pH でも NH₄ 区が最高で、NO₃ 区が最低であった (第 6 図)。また、NH₄ 区及び NH₄NO₃ 区では pH 4 及び 5.5 に比べ、pH 7 で全 N 濃度が低かった。

葉中可溶性 N 濃度は NH₄ 区で高く、特に pH が 4 と 5.5 の場合に高かった (第 7 図上)。可溶性 N の中では NH₄ の蓄積が顕著で、アミド態 N の増加はわずかであった (第 7 図中、下)。これに対して、NH₄NO₃ 区と NO₃ 区では pH による可溶性 N 濃度の差は明らかではなかった (第 7 図上)。図には示さないが、葉中及び根中 NO₃ 濃度はいずれの N 形態でも低く (50 µg·g⁻¹ 以下)、また pH による NO₃ 濃度の違いは明らかでなかった。いずれの部位においても亜硝酸は検出されなかつ

Fig. 5. Effect of N form and pH on the dry weight of plant tops in rabbiteye blueberries. Columns with the same letter are not significantly different at 5% level, by LSD test.

Fig. 6. Effect of N form and pH on the concentration of total N in leaves of rabbiteye blueberries. Column means are as in Fig. 2.

た。

考 察

代表的な好アンモニア性作物であるイネやチャは、根圏に過剰の NH₄ が存在すると、これをアスパラギンやテアニンなどのアミド態 N に変え、遊離の NH₄ が体内に蓄積しないようにして、NH₄ 害を回避すると考えられている (10)。しかし、本実験の結果、ブルーベリーでは NH₄ 施用濃度を高めると、葉中 NH₄ 濃度は著しく上昇するがアミド態 N 濃度の上昇はごくわずかであることが明らかとなった。また、石垣 (5) によれば、チャでは NH₄ 施用濃度を 100 ppm に高めても葉に障害は現れなかったが、本実験のブルーベリーでは、N 施用濃度を 56 ppm にすると、NH₄ 区では葉焼けが発生した。したがって、ブルーベリーではイネやチャとは異なり、過

Fig. 7. Effect of N form and pH on the concentrations of (a) soluble N, (b) $\text{NH}_4\text{-N}$, and (c) amide-N fractions in leaves of rabbiteye blueberries. Column means are as in Fig. 2.

剰の NH_4 が存在する場合に、これをアミド化合物に変えてアンモニア害を回避する機構が十分機能していないと思われた。

玉田と岩田(11)はN形態と施用濃度を変えてラビットアイ・ブルーベリー 'Homebell' を砂耕し、施用濃度 28 ppm 以上の場合には NH_4 区よりも NH_4NO_3 区の生育が優れることを明らかにしたが、本実験の結果はこれと良く一致した。これに対し、玉田と岩田(12)及び Townsend(13)は施用 N 形態を変え、N 濃度をそれぞれ 56 と 21 ppm にそろえてハイブッシュ・ブルーベリーを砂耕し、 NO_3 区のみが生育が劣り、 NH_4 区と NH_4NO_3 区に差がないことを明らかにしている。したがって、ラビットアイ・ブルーベリーはブルーベリーの中では NH_4 同化能力の弱い種なのかも知れない。

本実験の NO_3 区では N 施用濃度を 140 ppm に高めても、葉中全 N 濃度は $12 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ にしか高まらなかったが、Spiers(9)によれば、ラビットアイ・ブルーベリーでは葉中全 N 濃度が $14\sim 15 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ の場合には N 不足の状態であるとされる。

王子と伊沢(7)は好アンモニア性作物のイネと好硝酸性作物のキュウリを比較し、イネはキュウリに比べ、硝酸還元酵素活性が低く、体内の NO_3 蓄積量が多く、有機態 N 濃度が低いことを明らかにし、 NO_3 を与えた場合にイネの生育が劣るのは、 NO_3 から NH_4 への同化段

階が制限され、N 不足に陥るためであると推論している。ブルーベリーでは、 NO_3 還元が主として根で行われると考えられている(4)。本実験では、根の硝酸還元酵素活性を測定していないが、Dirr ら(2)によれば、ブルーベリーの根における *in vivo* の硝酸還元酵素活性は $0.048 \mu\text{mol}\cdot\text{gFW}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ である。これは王子と平田(6)がイネの根で求めた硝酸還元酵素活性、 $0.3 \mu\text{mol}\cdot\text{gFW}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ に比べてもかなり低い。

ブルーベリーの根における乾物当たりの NO_3 濃度は、培養液中の NO_3 濃度を高めると、 $16.6 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ から $37.5 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ へ上昇した。乾物率を基に、乾物当たりの濃度を汁液当たりに換算すると、 $37.5 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ は 4.6 mM に相当する。一方、王子と伊沢(7)によれば、イネの場合には培養液中の NO_3 濃度を高めると、根の汁液当たりの NO_3 濃度は 86 mM に達した。このようにブルーベリーの場合、多量の NO_3 を与えたにもかかわらず、根の NO_3 濃度はイネほど高まらなかった。この原因として、ブルーベリーではイネに比べ、 NO_3 吸収能が低く、そのため硝酸還元酵素活性が低くても NO_3 が蓄積しにくかった可能性が考えられる。Youngdahl ら(14)はイネの NO_3 吸収速度は NH_4 吸収速度に比べるとやや劣るが、生育を維持するには十分であると述べている。しかし、ブルーベリーでは、 NH_4 と NO_3 について、根重または根長当たりの吸収速度を比較した結果は見当たらない。

硝酸還元酵素は誘導酵素であり、 NO_3 吸収が抑えられるような条件下では、その活性は低い(3)。また、上述したようにブルーベリーでは多量の NO_3 を与えても根に NO_3 は蓄積しなかった。したがって、 NO_3 のみを N 源とした場合にブルーベリーが N 不足に陥り、生育が劣ったのは、硝酸還元酵素活性が低く、 NO_3 から NH_4 への同化が制限されたのではなく、根の NO_3 吸収能が低いためと推測される。

摘 要

ブルーベリーの NH_4 及び NO_3 同化能力を明らかにする目的で、施用 N 形態とともに培養液の N 濃度または pH を変えて、ラビットアイ・ブルーベリーを砂耕し、生育と体内 N 成分濃度を調べた。

施用 N 濃度が 14 ppm の場合には、いずれの N 形態でも生育が悪く、N 形態間で生育に有意差は認められなかった。56 ppm または 140 ppm では、 NH_4 区や NO_3 区よりも NH_4NO_3 区で生育が優れた。

pH 7 の場合には NH_4 区の方が NO_3 区よりも生育が優れたが、pH 4 と 5.5 の場合には両区間に有意差は認められなかった。

施用 NH_4 濃度を高めると、 NH_4 区では、葉中 NH_4 濃度が著しく高まったが、アミド態N濃度の上昇はわずかであった。施用 NO_3 濃度を 140 ppm に高めても、葉、根ともに NO_3 は蓄積しなかった。亜硝酸はいずれの部位においても検出されなかった。

以上の結果は、ブルーベリーが過剰の NH_4 を同化する能力が劣り、 NO_3 を吸収する能力が劣る作物であることを示すものと思われた。

謝 辞 本実験は岩田正利名誉教授のご指導の下に行われたものである。ここに厚くお礼申し上げます。また、本論文作成に当たり、貴重なご助言を頂いた崎山亮三教授に感謝致します。

引用文献

1. CAIN, J. C. 1954. A comparison of ammonium and nitrate nitrogen for blueberries. *Proc. Amer. Soc. Hort. Sci.* 59: 161-166.
2. DIRR, M. A., A. V. BARKER and D. N. MAYNARD. 1972. Nitrate reductase activity in the leaves of the highbush blueberry and other plants. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 97: 329-331.
3. GUERRERO, M. G., J. M. VEGA and M. LOSADA. 1981. The assimilatory nitrate-reducing system and its regulation. *Annu. Rev. Plant Physiol.* 32: 169-204.
4. HAYNES, R. J. and K. M. GOH. 1978. Ammonium and nitrate nutrition of plants. *Biol. Rev.* 53: 465-510.
5. 石垣幸三. 1971. 茶樹に対するアンモニア態窒素と硝酸態窒素の比較 (第1報). 窒素濃度の影響. 茶業技術研究. 42: 27-34.
6. 王子善清・平田正博. 1976. イネとキュウリの硝酸還元能の差異. 植物の無機態窒素同化に関する比較栄養生理的研究. 土肥誌. 47: 178-182.
7. 王子善清・伊沢悟郎. 1974. インタクト植物による無機窒素の吸収ならびに同化に関する研究 (第4報). $\text{NH}_4\text{-N}$ および $\text{NO}_3\text{-N}$ の利用性における水稲とキュウリの差異, 特にその代謝的背景. 土肥誌. 45: 341-351.
8. SMIRNOFF, N., P. TODD and G. R. STEWART. 1984. The occurrence of nitrate reduction in the leaves of woody plants. *Ann. Bot.* 54: 363-374.
9. SPIERS, J. M. 1983. Element leaf content and deficiency symptoms in rabbiteye blueberries: 1. Nitrogen. *J. Plant Nutr.* 6: 1059-1071.
10. 高橋英一. 1984. 好アンモニア性と好硝酸性. 施肥農業の基礎. p. 68-73. 養賢堂. 東京.
11. 玉田孝人・岩田正利. 1974. 各種窒素形態の施用濃度がラビットアイ・ブルーベリーの生育ならびに無機成分濃度に及ぼす影響. 園学要旨. 昭49秋: 64-65.
12. 玉田孝人・岩田正利. 1976. 施用窒素形態がラビットアイならびにハイブッシュ・ブルーベリーの生長および無機成分濃度に及ぼす影響. 園学要旨. 昭51秋: 18-19.
13. TOWNSEND, L. R. 1967. Effect of ammonium nitrogen and nitrate nitrogen, separately and in combination, on growth of highbush blueberry. *Can. J. Plant Sci.* 47: 555-562.
14. YOUNGDAHL, L. J., R. PACHECO, J. J. STREET and P. L. G. VLEK. 1982. The kinetics of ammonium and nitrate uptake by young rice plants. *Plant and Soil* 69: 225-232.