



Title	作物の生産性と炭素・窒素化合物の再構成における呼吸の役割
Author(s)	信濃, 卓郎
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(農学)
Dissertation Number	乙第5316号
Issue Date	1998-03-25
DOI	https://doi.org/10.11501/3137279
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/32989
Type	doctoral thesis
File Information	shinano.pdf



作物の生産性と炭素・窒素化合物の
再構成における呼吸の役割

信濃卓郎

1997 年

目 次

略語	1
第 1 章 緒論	
第 1 節 乾物生産の作物間比較	2
第 2 節 窒素栄養と乾物生産性	6
第 3 節 乾物生産における呼吸の意義	8
第 4 節 呼吸の機能的分類	9
第 5 節 基質レベルからみた呼吸の分類	13
第 6 節 炭素化合物および窒素化合物の挙動と乾物生産の関係	14
第 2 章 作物の生育に伴う炭素・窒素化合物の再構成過程の解析	
第 1 節 炭素・窒素化合物が登熟中に葉と茎から収穫部位に再構成される機作の作物間差	18
第 2 節 炭素・窒素化合物の再構成過程に及ぼす窒素、リン、カリウム欠乏の影響	15
第 3 節 炭素・窒素化合物の再構成過程に及ぼす窒素処理の影響	51
第 4 節 各種作物の発芽時における炭素・窒素化合物の再構成過程	68
第 5 節 要約	83
第 3 章 乾物生産と呼吸の関係の作物間比較	
第 1 節 各種作物における収穫部位の生長効率	84
第 2 節 収穫部位における CO_2 の再固定機構の量的解析	
3-2-1 収穫部位の光合成能と Phosphoenolpyruvate carboxylase 活性	97
3-2-2 収穫部位に注入した ^{14}C -化合物の挙動	100
3-2-3 収穫部位に同化した $^{14}\text{CO}_2$ の挙動	102
第 3 節 イネ、ダイズ、サイトウの作物体の生長効率	
3-3-1 栄養成長期のイネ、ダイズ、サイトウ作物体の生長効率	109
3-3-2 登熟期のイネ、ダイズ作物体の生長効率	117
第 4 節 要約	121
第 4 章 呼吸の機能的役割の評価	
第 1 節 初期光合成産物呼吸と貯蔵物質呼吸のイネおよびダイズ間比較	123

第2節	イネ、ダイズ、サイトウの葉に同化した ^{14}C 化合物の挙動	
4-2-1	イネ、ダイズ、サイトウの葉に同化した $^{14}\text{CO}_2$ 、 ^{14}C -スクロース および ^{14}C -アスパラギンの挙動.....	132
4-2-2	イネとダイズの葉の生理的維持状態が取り込ませた ^{14}C 化合物の 挙動に及ぼす影響.....	140
第3節	発芽に伴う炭素・窒素関係の制御	
4-3-1	発芽に伴う呼吸活性の変化.....	151
4-3-2	発芽中の子実に注入した ^{14}C -化合物の挙動.....	153
4-3-3	発芽時の呼吸による炭素-窒素バランスの制御.....	155
第4節	要約.....	164
第5章	総合考察	
第1節	作物の構成成分の分解、転流、再合成と乾物生産性.....	165
第2節	呼吸の機能的役割の再評価.....	171
第6章	要約	
第1節	炭素化合物と窒素化合物の再構成過程の作物間差.....	177
第2節	乾物生産と呼吸の関係.....	178
謝辞		181
引用		182

1911?? ? 略号

Rubisco, Ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase

PEPC, Phosphoenolpyruvate carboxylase

SPS, Sucrose phosphate synthase

EDTA, Ethylenediamine tetra acetate ?

MIA, Mono iodo acetate ?

CBB, Coumassie brilliant blue

BSA, Bovine serum albumin

HI (DW) , Harvest index of dry weight (g g^{-1})

HI (N) , Harvest index of accumulated nitrogen (g g^{-1})

Nc (h.o.) , Nitrogen content of harvesting organ (%)

NE, Nitrogen efficiency (g g^{-1})

CGR, Crop growth rate ($\text{g cm}^{-2} \text{ day}^{-1}$)

RGR, Relative growth rate ($\text{g g}^{-1} \text{ day}^{-1}$)

IRGA, Infrared red gas analyzer

SDS, Sodium dodecyl sulfate

PB, Phosphate buffer

SP, Soluble protein

第1章 緒論

1-1. 乾物生産の作物間比較

1972年から1994年にかけての全世界における主要作物の単位面積当たり収量の変遷を第1図に示した。単位面積当たりの収量はすべての作物で年とともに増加しているが、先進国と発展途上国の間に格差がみられるほか、同じ先進国同士の間でも例えばフランスのコムギと日本のコムギのように著しい差が未だに存在している。また、これらの作物の中でトウモロコシはC₄植物であるために他作物に比較して収量が高いと理解できるものの、同じC₃植物の間にも著しい収量差がみられ、特にイネ科とマメ科の収量差が顕著である。そこで、本論文はC₃植物であるイネ科とマメ科の生産性の違いに特に着目し、生産性に違いをもたらす生理的機構を解明しようとしたものである。

作物の収量は

$$Y = TDW \times HI \text{ --- eq. 1-1)}$$

で表すことができる。ここで、Yは収量、TDWは全乾物重、HIは収穫指数で全乾物重に占める収穫部位重の比率である。つまり、収量を高めるためには作物体の全乾物重を高めることおよび、収穫指数を高めることの2点が重要となる。収穫指数はバレイショ、ビートの根菜類で高く、イネ科とマメ科では大差ない。多収の育種戦略として収穫指数を高めることがあげられている¹⁾が、収穫指数はイネ科とマメ科でほとんど差がなく、収量に大きな差異が生じるのは主として全乾物重の違いに基づいている。C₃植物の中でイネ科に比べてマメ科で全乾物重が小さい理由として、生育期間と乾物生産速度の違いが考えられるが、生育期間はおおむね同一であるので、この違いは主に乾物生産速度に起因しているとみなされる。

作物の乾物重増加の直接的な原動力は光合成であるが、生産性をガス交換能から評価すると、乾物増加速度は光合成で獲得した炭素量と呼吸により消費した炭素量の差として表すことができる。葉の光合成能に影響する生理的要因としては葉位、葉齢および窒素、リン、カリウムなどの無機養分含有率などが、環境要因としては光、温度、水などがあげられ、作物の生産はこれらの要因の影響を直接的あるいは間接的に強く受けている。それ故、イネ科とマメ科の生産性の違いは、光合成能がマメ科で低いことに起因す

Fig. 1-1-a Change in the yield (kg ha^{-1}) of major cereals during 1972 to 1994.

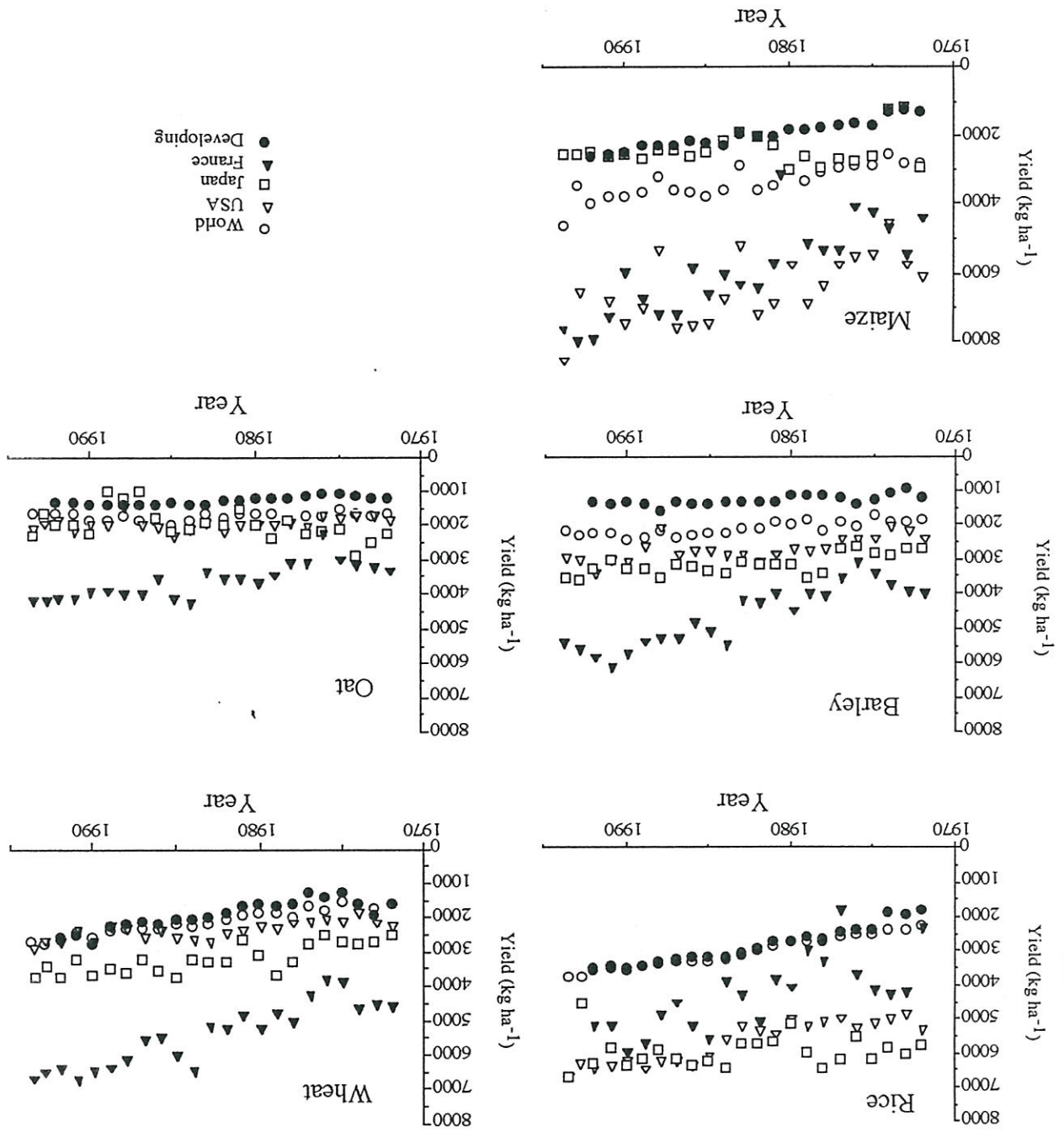
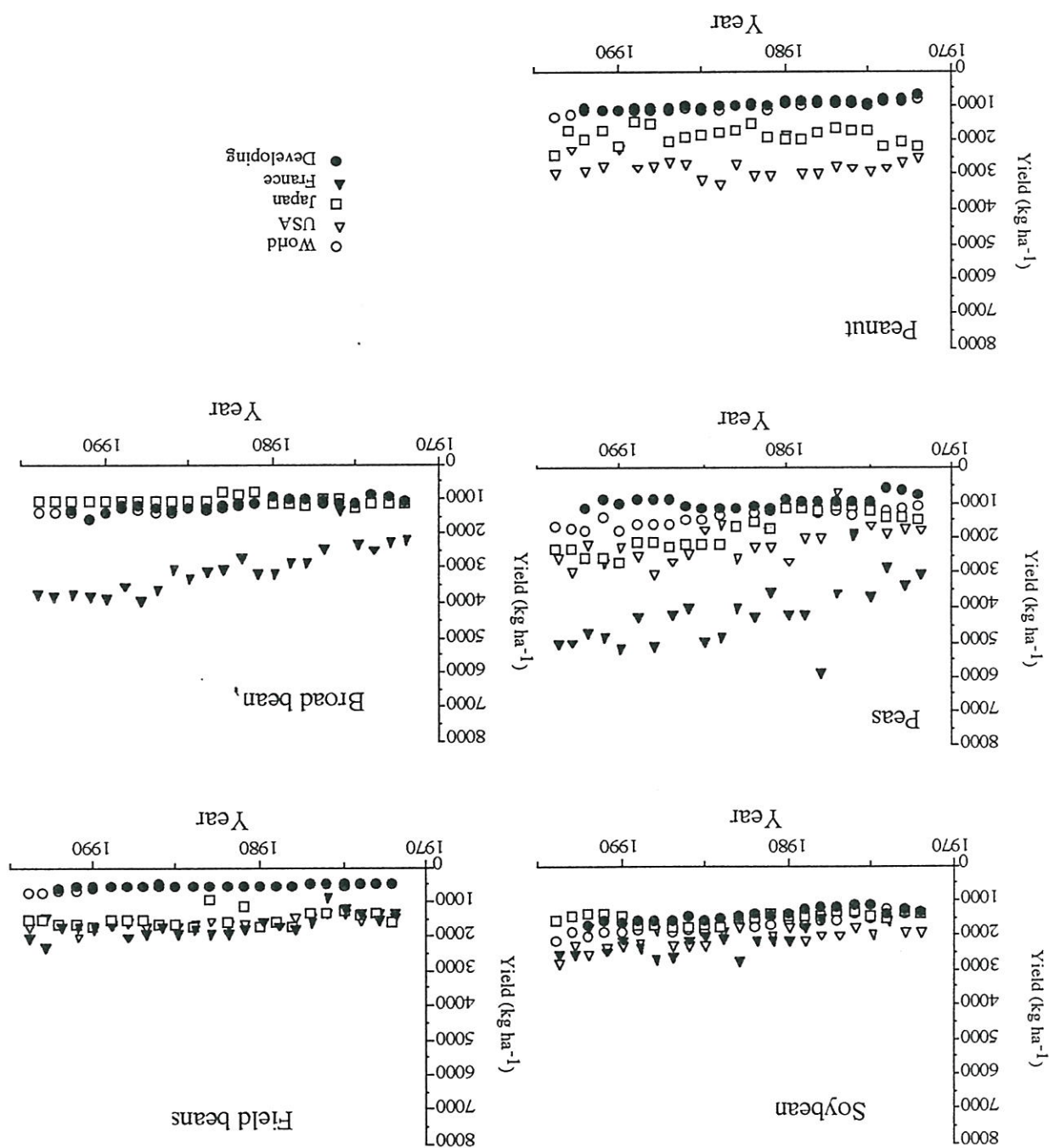


Fig. 1-1-b Change in the yield (kg ha^{-1}) of major pulses during 1972 to 1994.



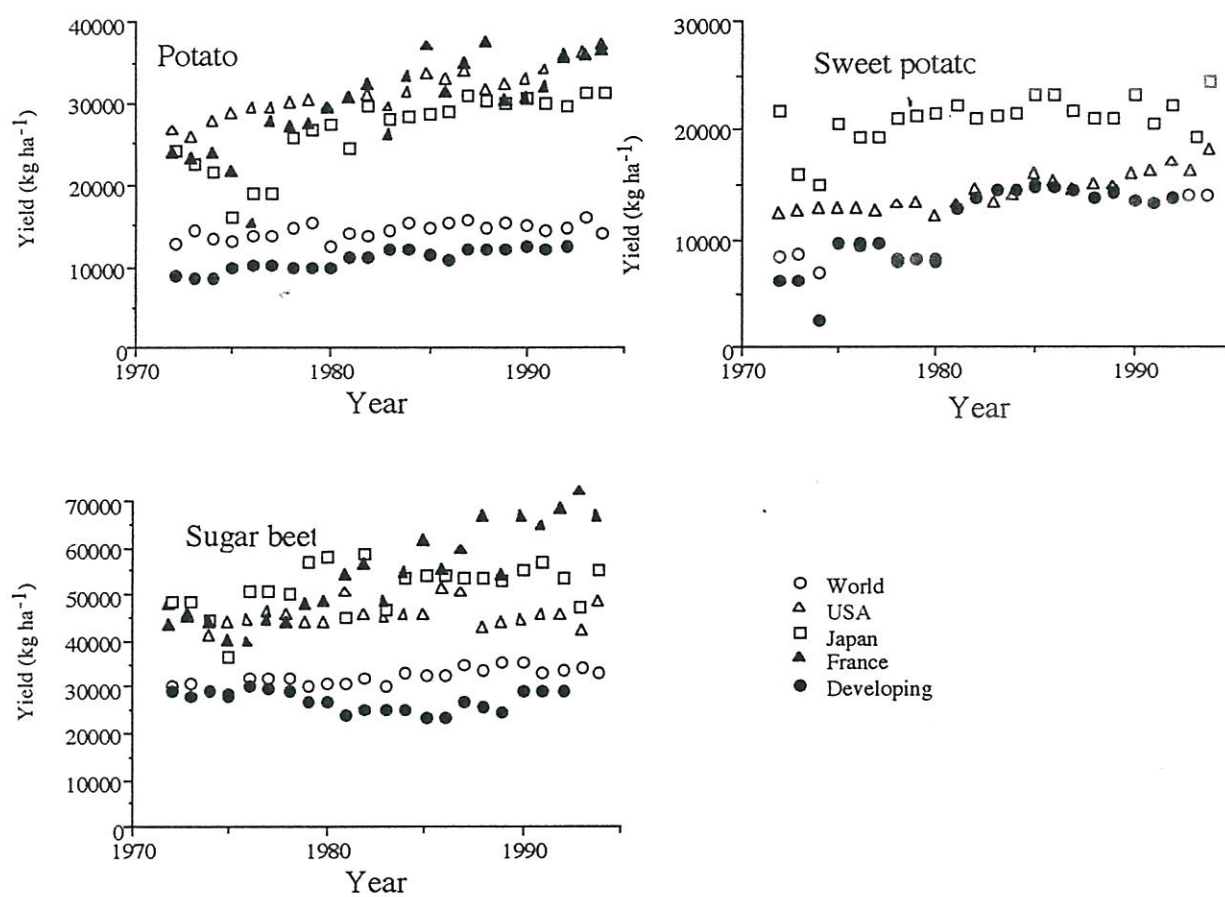


Fig. 1-1-c Change in the yield (kg ha⁻¹) of potato, sweet potato and sugar beet during 1972 to 1994.

るか、呼吸能がマメ科で高いことに起因するか、あるいはその両者に起因することが予想される。

1-2. 窒素栄養と乾物生産性

作物の乾物生産（光合成能）は窒素により強く制御されることが明らかにされている²⁾。窒素は植物体内でタンパク質を構成し、各種酵素などの機能を通して乾物生産に直接的に関わっている。光合成能は葉面積当たりの窒素含有率の上昇に伴って直線的に高まることがイネ³⁻⁹⁾、コムギ¹⁰⁻¹²⁾、ダイズ¹³⁻¹⁷⁾、サイトウ¹⁸⁾などで報告されているが、ある窒素含有率以上では頭打ちになることも報告されている^{9, 14, 19, 20)}。このとき光合成能は光合成の鍵酵素であるRibulose-1,5-bisphosphate carboxylase /oxygenase (Rubisco)の量と活性により調節されていることが広く認められており^{5, 18, 21, 25)}、老化の際の光合成能の低下が窒素の葉からの転出に伴うRubisco量の減少に起因するとの報告もある¹⁷⁾。しかしながら、Rubisco量と収量に相関がないことがバレイショ²⁶⁾や野生ダイコン²⁷⁾で報告されており、これらの例では窒素供給量の増大に伴って相互遮蔽が著しくなるためにRubiscoの量の効果が相殺されると考えられている。老化に伴う光合成能の低下にはRubiscoの量よりもRubiscoの活性の影響が大きいこと^{28, 29)}や、むしろクロロフィル含量の低下との相関が高いことも報告されている^{17, 30, 31)}。ただし、生育を通して解析した場合に、Rubiscoの量が光合成能より作物の乾物生産に対して重要な要因となっていることも指摘されている³²⁾。

Rubiscoは地球上で最も多量に存在しているタンパク質あると考えられており³³⁾、植物の葉の細胞質に多量に存在することが1972年にSinger et al.³⁴⁾により報告された。例えば、葉の細胞質中のRubisco含有率はオナモミで23%、ハウレンソウで28%、タバコで30-39%、トマトで33%、エンドウで43%に達すると報告されている³⁴⁾。Rubiscoは通常可溶性タンパク質に分類されており、可溶性タンパク質中に占める割合は、イネでは51%²³⁾、55%³⁵⁾、コムギでは47%³¹⁾、48%³⁶⁾、25%³⁷⁾、43%³⁸⁾、トウモロコシでは35%³⁹⁾、8%³⁷⁾、オオムギでは46%⁴⁰⁾、79%⁴¹⁾、サイトウでは45%⁴²⁾、バレイショでは44%³⁷⁾など、品種、栽培条件などにより異なるが、平均的にみると約50%に達する。全窒素に対するRubisco態窒素の割合は、イネで28%³⁵⁾、ダイズで20%⁴³⁾、ハウレンソウで16%⁴³⁾とかなり高い。ただし、活性を持つRubiscoが不溶性タンパク質画分にも含まれていることも報告されて

おり⁴⁴⁾、実際のRubisco量はさらに多いと考えられる。

一般に、 C_3 植物では C_4 植物と比較して可溶性タンパク質当りのRubisco量が2倍以上であることが多いが^{37, 38, 45)}、 C_4 植物においても維管束鞘細胞のみに限ってみると C_3 植物の場合と近くなることも指摘されている⁴⁶⁾。また葉の窒素は、老化に伴って他部位へ再転流され、この時可溶性タンパク質は活発に分解されるが⁴⁷⁻⁵⁰⁾、特にRubiscoタンパク質が他の可溶性タンパク質より優先的に分解されることがイネ²²⁾、コムギ^{36, 41, 51)}、オオムギ^{41, 52)}、ササゲ⁵³⁾で報告されている。

Rubiscoは登熟前の作物体では、特に明所下で合成された場合には他の可溶性タンパク質とは異なってターンオーバーを受けにくいことが少なくとも C_3 植物では知られているが^{36, 41, 48, 51, 52)}、老化後の分解が速いことから、その光合成の鍵酵素としての役割の他に貯蔵タンパク質としての役割を持つことも指摘されている^{40-42, 52, 53-55)}。ただし、窒素の供給量を多くした場合に葉の窒素のRubiscoへの分配が高まるという報告⁵⁷⁻⁵⁹⁾がある一方で、変化が小さいとする報告もある^{22, 60)}。オオムギ、ダイズでは可溶性窒素当りのRubisco量が窒素供給量の増加により減少することも観察されており⁴¹⁾、Rubiscoの貯蔵タンパク質としての役割には疑問も持たれている。

C_4 植物であるトウモロコシでは窒素の供給量を増すことによりRubisco集積量は増えるものの、可溶性タンパク質当りのRubisco量はむしろ減少し⁶¹⁾、 C_3 植物とは異なり明所下でもターンオーバーを他の可溶性タンパク質と同様に受けることから⁶²⁾、 C_4 植物ではRubiscoが特に貯蔵タンパク質的役割を果たしているとは考えにくい。従来、Rubiscoの貯蔵タンパク質的役割の根拠として、その1/2近くが酵素として機能していないとの考えがあるが^{42, 46, 60)}、*in vivo*での細胞内 CO_2 濃度の検討から機能していないRubiscoは存在していないとの考えもあり¹⁰⁾、さらに検討を要する。また、様々な植物種についてRubiscoの酵素的性質を検討したJordan and Ogren⁶³⁾は、イネとダイズではその性質はほぼ同様であることを指摘していることから、イネとダイズの乾物生産速度の違いをRubiscoの性質の違いから説明することは困難である。

マメ科作物はイネ科作物と比較して乾物生産能が低く、また、吸収した窒素量に対応する乾物の集積量はイネ科の作物に比較してマメ科ではかなり低い²⁾。吸収窒素量当たりの乾物生産量がマメ科で低いのは、マメ科ではイネ科に比べて吸収した窒素量当たりの

光合成能が低いか、あるいは呼吸能が高いことによると考えられる。これまでの研究結果ではC₃植物の単葉光合成能は前述したように種間差が小さいが、環境調節室内の光飽和状態で測定された葉面積当たりの最大光合成能は、ダイズとイネの比較⁶⁴⁾、あるいはエンドウとコムギの比較では⁶⁵⁾、窒素含有率当たりの光合成速度（葉面積ベース）がやや低いことが報告されている。ただ、これらの測定は最適条件下で行われていることから、実際の栽培条件下と対応できるかどうかについては明らかではない。

1-3. 乾物生産における呼吸の意義

乾物生産能を支配するもう一つの要因は呼吸である。呼吸能に関しては組織中の窒素濃度が高まるにつれて乾物重当たりの呼吸速度が高まることが観察されているが⁶⁶⁻⁷¹⁾、呼吸に関与していない窒素化合物がかなり多量に含まれることも指摘されており⁷²⁾、窒素濃度と呼吸速度の間に関係が無いとの報告も多い⁷³⁻⁷⁵⁾。また、圃場条件下では組織中の窒素濃度と呼吸能がかならずしも正に相関していないこともTanaka and Yamaguchi⁷⁶⁾により報告されており、この実験例ではむしろ生育時期の影響を強く受けていた。

単位重当りの生長速度が生育時期や器官で異なっているように、呼吸速度に関しても同様のことが言える。生育時期に関してみれば、生長速度や呼吸速度は概して若い時期に高い。すなわち若い時期には細胞が活発に増殖を続けるが生育の進行に伴い骨格的な組織や維持に関わる組織の割合が増加し、その結果単位重当りの生長速度や呼吸速度は低下すると考えられる。

光合成能と呼吸能は密接に関連すると考えられることから、全植物体について光合成と呼吸の関係について多くの研究がなされている。生育のある時点に光合成により獲得された炭水化物が植物体を構成する際の効率を評価するために、Monteith⁷⁷⁾とMcCree and Troughton⁷⁸⁾は真の光合成速度(P_g)に対するみかけの光合成速度(P_n)の比(P_n/P_g)を用いた。これと類似した概念である生長効率（乾物増加量／（乾物増加量＋呼吸量））がTanaka & Yamaguchi⁷⁶⁾により提案されている。生長効率は単に植物体全体に適用されるだけでなく、各器官に対しても応用される。ペレニアルライグラスの乾物生産を高める育種上の手段として、生長効率の高い系統の選抜が試みられ、良好な結果が得られたことが報告されている^{72, 121, 122)}。

イネ科とマメ科の比較という観点から生長効率を評価すると、イネ科に関してはその炭素の流出入と乾物集積に関する研究が数多くなされており、生長効率は0.50~0.80の範囲に収まるとされている(Table 1-1)。一方、マメ科に関する報告は極めて少なく、ガス交換能で評価した測定値ではダイズで0.65⁸⁰⁾および0.53-0.59¹⁰⁰⁾、サイトウで0.55¹⁰¹⁾、アズキの黄化幼苗で0.70-0.75¹⁰²⁾という報告があるにすぎない。ダイズではイネと比較して全植物体の呼吸量に占める葉の呼吸量の割合が高いことが知られている¹²³⁾が、いずれにしても、いまだ明瞭な結果は得られていない。

1-4. 呼吸の機能的分類

乾物生産にとって呼吸は重要であることから、呼吸を機能的に分ける手法が提案されている。Pirt¹²⁴⁾によれば、Duclauxが1918年に単細胞の微生物に対してこの手法をあてはめたのが最初であるという。植物においてはMcCree¹²⁵⁾が経験的に以下の式を導き、呼吸を機能的に分けることができるとした。

$$R = kP + cW \text{ ----- eq. 1-2)}$$

ここで、Rは24時間の呼吸量、Pは24時間の総光合成量、Wは植物体の乾物重であり、kとcは定数でそれぞれ $g\ g^{-1}$ 、 $g\ g^{-1}\ day^{-1}$ で表示され、kPは炭酸同化能に関わる呼吸であり、cWは乾物重に関わる呼吸である。Thornley¹²⁶⁾はPirt¹²⁴⁾の分析を用いて、理論的に1-2式と同等の式を、Hesketh et al.¹²⁷⁾はHiroi and Monsi¹⁰⁹⁾のデータを解析して同等の式を導き、Thornley¹²⁶⁾は呼吸を生長呼吸と維持呼吸に機能的に分けることが可能であると指摘した。つまり、呼吸を新たな植物体の生長に使われる呼吸と既に存在している植物体の維持（タンパク質のターンオーバーなど）に使われる呼吸の2種類に分けることができるとの考え方である。実際には、直接それらの呼吸を正確に分けて測定することは不可能であるが、Starvation method^{128, 129)}、regression method^{109, 125)}、mature tissue method¹²¹⁾、light intensity method^{130, 131)}、¹⁴C method⁹⁰⁾などが提案されている。

Starvation methodは植物体を暗所に置き、直後の呼吸を生長呼吸と維持呼吸の含量とし、ある期間放置した後一定となったときの呼吸速度を維持呼吸速度とする方法である。Regression methodは相対生長速度と乾物重当たりの呼吸速度の相関関係からy切片を求めてこの値を維持呼吸とする方法である。Mature tissue methodは葉の生長が最大展開に達し、停止した後はもはや生長呼吸は進行せず、維持に関わる呼吸のみが機能して

Table 1-1 Growth efficiency reported in literatures.

	Crop	GE	Reference
Gramineae	Rice	0.60	79
		0.60	76
		0.65	80
		0.43-0.66	81
	Wheat	0.50-0.60	82
		0.40-0.54	83
		0.60	84
		0.68	85
		0.53	86
		0.70-0.74	87
		0.67-0.78	88
	Barley	0.34	89
		0.50-0.60	90
		0.65	91
		0.50	92
		0.50	93
		0.55	94
		0.67-0.73	87
		0.77-0.78	95
	Maize	0.65	80
		0.67-0.78	96
		0.56	91
		0.50-0.60	97
	Sugar cane	0.50-0.80	98
Leguminosae	Soybean	0.65, 0.85	80
		0.80-0.87	99
		0.53-0.59	100
	Field bean	0.55	101
	Adzuki bean	0.54-0.68	102
		0.70-0.75	102
Root crops	Sweet potato	0.50	103
	Potato	0.60	104
		0.30, 0.40-0.50	105
Pastures	Perrenial ryegrass	0.55	106
	Lolium multifloram	0.67-0.88	107
	Italian ryegrass	0.50	93
	Alfalfa	0.59	85
Other crops	Cotton	0.33-0.54	108
		0.50-0.65	108
	Sunflower	0.70-0.80	109
		0.75	110
	Jerusalem artichoke	0.75	111
	Rape	0.76-0.82	112-115
		0.60	116-120

いるという考え方で維持呼吸を求める方法である。Light intensity method は光照度を変えた時のガス交換能を測定し、乾物増加速度が0になった時のガス交換能から維持呼吸を推定する方法である。 ^{14}C methodは植物体に $^{14}\text{CO}_2$ を同化し、その後の放出パターンを2つの減衰する指数関数曲線にあてはめることにより、同化直後の速い放出速度のPhase 1と遅い放出速度のPhase 2に分け、これが生長呼吸と維持呼吸に対応するという考え方である。

大崎と田中¹³²⁾は植物体全体に $^{14}\text{CO}_2$ を同化させ、その後の呼吸による ^{14}C の放出を経時的

に測定した。彼らはRyle et al.⁹⁰⁾と同様に ^{14}C の放出は2つのPhaseに分けられることを確認し、植物体を構成する成分への分配からこの2つのPhaseは基質を異にする2種類の呼吸に基づくと考えることが可能であることを指摘している。すなわち、同化直後からほぼ24時間にわたって急速に放出される $^{14}\text{CO}_2$ は初期光合成産物に由来するものであり、これがThornley¹²⁶⁾が言うところの生長呼吸に対応する呼吸であり、遅い放出速度で長期間にわたって放出される $^{14}\text{CO}_2$ は貯蔵物質に由来する呼吸であり、これが維持呼吸にほぼ対応すると考えた。同様のことはFarrar⁹²⁾も指摘しており、Phase 1が可溶性炭水化物、Phase 2は貯蔵炭水化物に由来する呼吸であると考え、生長呼吸、維持呼吸という機能的な区別は適切ではなく、区画的なものにすぎないと指摘している。このことは、生長呼吸として測定されている呼吸は初期光合成産物呼吸であるのに対し、維持呼吸として測定されている呼吸は貯蔵物質呼吸であることを示唆しており、呼吸を生長呼吸と維持呼吸に分けて測定することの正当性について疑問を提起している。

一方、Penning de Vries et al.¹³³⁾とPenning de Vries¹³⁴⁾は、生化学的な経路に基づいた理論的な解釈から、生長呼吸と維持呼吸を算出し、特にストレスの無い状況では膜を通過するイオン勾配の維持と、タンパク質のターンオーバーの重要度が高いことを指摘している。同様にAmthor¹³⁵⁾も維持呼吸に関わる生理的な要因がイオンの吸収、タンパク質の維持、構造化合物の維持や転流にあるとし、それぞれの寄与度から主にイオンの吸収とタンパク質の維持に関わる呼吸が特に重要であるとしている。ただし、de Visser⁷³⁾はPenning de Vries¹³⁴⁾のタンパク質の維持のコストに対して再検討を加え、新たにaminoacyl-tRNA synthetaseによるアミノ酸の認識と修正の機構¹³⁶⁾、タンパク質がまず13-30残基多く翻訳された後に修飾されること¹³⁷⁾、およびその後メチル化、リン酸化などの様々な修飾を受けることなどを考慮して、光エネルギーを利用していない組織では、タンパク質の生合成と維持に従来の考えよりも多くのエネルギーが必要ではないかと報告している。ただし、葉では光エネルギーを直接利用した硝酸の還元が進行するので¹³⁸⁾、タンパク質の生合成と維持に要するエネルギーコストをそのまま適用できないのではないかと考えられている¹³⁹⁾。また、McDermitt and Loomis¹⁴⁰⁾は植物体がC, H, O, N, Sから構成されているとして、電荷保存の法則に則り植物体の元素含有量からそれに必要なグルコース量を算出できることを指摘し、Glucose equivalentと称した。Williams et al.¹⁴¹⁾はこの考えに

に基づき、様々な植物の収穫部位のGlucose equivalentを測定し、Penning de Vries^{133, 134)}が算出した生化学的な経路から予想される生合成に要するグルコース量(Production value)との比較を行ったところ、Production value/Glucose equivalentは収穫部位の様々な組成にもかかわらずほぼ0.88で変化がないことを報告している。このことは作物種による生合成経路に違いがほとんどないことを示唆するものである。

生長呼吸は植物体を構成する際に必要とされる呼吸であるので、植物体構成成分と密接な関係にあると考えられている。植物の構成成分は大きく分類すると、タンパク質、炭水化物、脂肪、灰分に分けられるが、多くのイネ科作物ではその収穫部位に炭水化物を多量に集積するのに対して、マメ科作物ではタンパク質と種によっては脂肪も多く集積する。イネとトウモロコシの収穫部位の生長効率は0.70^{142, 143)}、ダイズの生長効率は0.45¹⁴⁴⁾と報告されている。収穫部位の生長効率がダイズでイネやトウモロコシより低いことはその収穫部位の成分組成が異なることによる可能性が考えられる。つまり、Penning de Vries et al.¹³³⁾やPenning de Vries¹³⁴⁾による生化学的な経路による試算によると、タンパク質の合成に要するエネルギー、ひいては呼吸の量は、炭水化物の合成に要するそれより多く、脂肪の合成に際してはタンパク質の合成に必要とする呼吸量より多くの基質を必要とすることが明らかになっている。この考えに基づくと、1gのグルコースからの合成量はProduction Valueと定義され、タンパク質、脂肪、炭水化物でそれぞれ0.40g (硝酸を窒素源とした場合)、0.33g、0.83gである。この考えに基づきSinclair and De Wit¹⁴⁵⁾は100gの光合成産物からイネでは75g、ダイズでは50gの収穫部位が合成されることを試算している。Yamaguchi⁸⁰⁾は同様にイネ、トウモロコシ、ダイズの各種構成成分の合成経路が概ね同様であると考え、最小二乗法を用いて1gのグルコースから合成される各種成分の量を求め、転換効率(Conversion efficiency)として定義した。これに基づくと転換効率はタンパク質では0.38、脂肪では0.31、炭水化物では0.84であるとし、ダイズの生産性がイネ、トウモロコシに比較して低いのは子実で多量のタンパク質と脂肪を合成するため、登熟期に収穫部位で多量の呼吸による炭水化物の消費が進行するためであると結論している。これらの値は生化学的な経路から推測した値ときわめてよい一致を示しているとした。しかしながら、Vertregt and Penning de Vries¹³⁹⁾はタンパク質のProduction Valueは葉における光エネルギーの硝酸還元への関与を考慮すると0.56になると修正を行ってお

り、作物の生産性をガス交換能から解明するには植物体全体のエネルギー収支も当然考慮すべきであると考えられる。

ある成分組成の合成に基づく乾物生産効率の考えは、逆に発芽時には脂肪のようなエネルギー源になるような化合物や、タンパク質のような窒素源になるような化合物の含有率が高い種子から発芽してくる茎、葉、根の生長効率は高くなることを予想させる。Tanaka and Yamaguchi⁷⁶⁾は、イネ、トウモロコシ、ダイズの種子の暗所における発芽時の生長効率を乾物重の変化から推察し、その値がダイズでイネ、トウモロコシに比較して高いのはダイズではタンパク質や脂肪を多量に子実を集積するためであると考察した。

1-5. 基質レベルからみた呼吸の分類

Tanaka and Osaki¹⁴⁶⁾が実施したイネ、コムギ、トウモロコシ、バレイショの比較において、特にダイズでは初期光合成産物呼吸および貯蔵物質呼吸のいずれもが大きかった。ダイズにおける呼吸による多量の $^{14}\text{CO}_2$ 放出は収穫部位がまだ形成されていない地上部最大期以前にすでに認められ、ダイズでは特にタンパク質や脂肪をまだ多量に貯蔵していない段階で高い呼吸活性があることを示しており、単純に化合物の生合成の面から呼吸を評価することには疑問が持たれる。

全呼吸に対する維持呼吸の比率は、生育時期^{147, 148)}や様々な環境要因ならびに生理的要因により変動を受けるが^{135, 149)}、植物体内の窒素含有率もその要因の一つになりうる。維持呼吸速度と窒素含有率の間には正の相関関係があるとする報告^{73, 150, 151)}と、ないとする報告^{73, 150)}があり、相関があってもその勾配がかなり小さいことが知られている⁷³⁾。また、根では維持呼吸の占める割合が高いことが報告されているが^{107, 110, 152-156)}、維持呼吸の中でもイオン吸収に関わる呼吸の割合が高いことが推定されている^{152, 157)}。根における高いみかけの維持呼吸能に関してLambers¹⁵⁸⁾は、生長や維持に関わっていない呼吸が働いているためではないかと指摘している。Lambers¹⁵⁸⁾の言うところのAlternative pathwayに基づくシアン耐性呼吸はAlternative respiration（以降副次呼吸と訳す）と呼ばれ、ミトコンドリアの電子伝達系のユビキノン以降のリン酸化を行わないために通常1モルのグルコースから36モルのATPが生成されるのに対し、副次呼吸による場合は12モルのATPが生成されるのみであると考えられ、この機構は過剰な炭素を酸化するエネルギーオーバーフロー

機構として考えられている^{158, 159)}。

また、最大展開葉のようなATPの利用が盛んで構造的な炭素骨格への炭素の利用が少ない状況下では、呼吸系以外からの脱炭酸は少ないと考えられる¹⁶⁰⁾。このような組織では代謝機能が追いつかなかったり、基質が不足するということではなく、特にATPの利用速度により呼吸速度が規定されると考えられている¹⁶¹⁻¹⁶⁴⁾。一方、展開中の若い葉のように炭素骨格を急速に生合成する組織では、炭素骨格を合成する際に発生するNADHが過剰になると考えられ、このために、解糖系やTCA回路が阻害を受ける。副次呼吸にはこれを防ぐ役割があるのではないかと考えられている¹⁶⁵⁾。このような副次呼吸による電子伝達系レベルでの調節には、この他にもミトコンドリアマトリックスのNADHレベルが高い場合に機能する電子伝達系複合体Iのバイパス¹⁶⁶⁾、ATPが過剰に存在するときに脂肪酸生成に共役してATPをADPにエネルギーの放出なしに転換する機能¹⁶⁷⁾も報告されている。また、炭水化物においてもスクロースを葉の液胞内に一時的に蓄積することに伴う、無駄なエネルギーの利用も報告されており¹⁶⁸⁾、生長呼吸以外の呼吸を単純に維持的要因にすることには疑問が持たれる。実際、副次呼吸は根でその機能が認められているが¹⁶⁹⁻¹⁷¹⁾、根の全炭水化物消費量の14-25%に過ぎないとの報告もあり¹⁷²⁾、呼吸の機能的な役割の概念に組み込むのには問題があるとの指摘もある¹⁴⁸⁾。

1-6. 炭素化合物および窒素化合物の挙動と乾物生産との関係

登熟期における葉からの炭素の流れを解析するために、Hada et al.¹⁷³⁾はイネの止葉に¹⁴C-[U]-スクロースと¹⁴C-[U]-グルタミンを吸収させ、その後の¹⁴Cの挙動を調査した。スクロースを構成する炭素は葉ではあまり代謝されず、収穫部位に運ばれそこで主にデンプン合成に利用され、一部は収穫部位で呼吸により消費された。一方、グルタミンの構成炭素の多くは同化葉において活発に呼吸により消費され、あるいは他の化合物に組み込まれた後に収穫部位に転流した。このように葉のタンパク質の炭素の少なくとも一部はイネの登熟に際して呼吸により消費されていると予想される。Osaki and Tanaka¹³²⁾はイネにおいて登熟期に光合成により獲得された炭素が急速に収穫部位に転流されることを観察し、収穫部位を構成する炭素の大部分が登熟期に獲得された炭素に由来しているとみなした。同様なことはコムギ¹⁷⁴⁾、トウモロコシ^{175, 176)}、ダイズ¹⁷⁷⁾においても報告され

ている。一方、収穫部位を構成している窒素の多くは地上部最大期までの茎葉に蓄積されたタンパク質がアミノ酸に分解されて再転流してくるものに由来している^{58, 178-184)}。以上の点から貯蔵物質呼吸と葉におけるタンパク質代謝の間に密接な関係があることが推定されている¹⁸⁵⁾。従来はタンパク質の分解はエネルギー要求性の過程とは考えられていなかったが⁸⁸⁾、Woolhouse and Jenkins¹⁸⁶⁾により、その過程がエネルギー要求性であることが指摘され、実験的にも確認されている¹⁸⁷⁻¹⁹⁰⁾。イネ科のように子実に炭水化物を集積する作物とマメ科のようにタンパク質、脂肪を集積する作物では葉からの炭素の流れにも違いがあることが予想されるが、この点に関しては明らかではない。

植物は主に葉において光合成により獲得した炭素と、根により吸収した無機養分を用いて各種化合物を合成し、植物体を構築する。一度作物体を構成した化合物は分解されずに安定して存在しているのではなく、分解されて葉から新規の生長部位や収穫部位に運ばれている。これらの転流化合物は維管束系のうち特に篩管を經由して運ばれる。

篩管液の採取方法としては花房から採取する方法¹⁹¹⁾、樹木の樹皮を切除して採取する方法^{192, 193)}、茎の表皮を切除して採取する方法¹⁹⁴⁾、篩管に切れ込みを入れて採取する方法¹⁹⁵⁻¹⁹⁸⁾、導管液の混入をできるだけ防ぐために発育中の子実の先端から採取する方法¹⁹⁹⁻²⁰¹⁾、アブラムシの口吻から採取する方法²⁰²⁾、切除した葉の葉柄から採取する方法²⁰³⁾、切除した葉の葉柄をEDTA溶液に浸漬して採取する方法²⁰⁴⁻²⁰⁷⁾などが開発されている。またダイズの種皮中に集積する篩管液を集める方法^{208, 209)}、コムギの内胚乳に貯まる篩管液を集める方法^{210, 211)}も報告されている。アブラムシの口吻から篩管液を採取する方法は宿主特異性の問題はあるが、先端が篩管内に達したアブラムシの口吻をレーザーを用いて切断して液を採取することから最も精度が高いと考えられる。この方法は現時点ではヤナギ^{212, 213)}やエンドウ²¹⁴⁾から篩管液を採取するために用いられており、同様にウンカを用いてコムギ^{211, 215, 216)}、イネ²¹⁶⁻²²²⁾などで実験が行われている。Weibull et al.²²³⁾はこれらの方法を比較して、EDTAなどのキレート剤を用いた結果がアブラムシを利用する結果と良く一致することを指摘している。

篩管液中に含まれる化合物のうち主体をなすのは、炭素化合物ではスクロース、窒素化合物ではグルタミン酸、アスパラギン酸、グルタミンおよびアスパラギンを主体としたアミノ酸、アミド類である。このような特徴的な転流形態を維持するためには茎葉

のタンパク質がアミノ酸レベルに分解されてそのまま運ばれるとは考えにくく、葉中のタンパク質がアミノ酸に分解された後、葉あるいは篩管液中で上記の転流形態に変換されてから転流されているとみなすことができる。実際、glutamine synthetase(GS)に関する最近の研究によれば、2種類あるGSの1つは篩管細胞に局在していることが示されており^{224, 225)}、葉の細胞内で分解されたタンパク質がアンモニア分子となり篩管に入る直前にグルタミン酸となることが免疫学的に示されている。

タンパク質の分解物の主体を占めていると考えられるグルタミンが葉において活発に代謝されることから¹⁷³⁾、貯蔵物質呼吸の基質としてのタンパク質の役割に興味を持たれる。Osaki et al.^{226, 227)}はイネの止葉先端より¹⁴Cでラベルしたスクロース、アスパラギン、アスパラギン酸、グルタミンおよびグルタミン酸を同化させ、その挙動を追跡した結果、スクロースを構成する炭素は同化後48時間目で約1/2が収穫部位に移行し、糖やデンプンの合成のために用いられた。これに対し、アスパラギンを構成する炭素も約1/2が収穫部位に移行したが、移行後、呼吸による消費や他の化合物への組み換えも活発に起こっていた。また止葉における呼吸による損失はスクロース<アミノ酸<アミドの順であった。Kolderup²²⁸⁾はコムギの穂首から種々の¹⁴C-アミノ酸を同化させた結果、収穫部位のタンパク質への同化したアミノ酸の¹⁴Cの回収率はOsaki et al.の結果^{226, 227)}と著しく異なっており、イネと小麦の収穫部位のタンパク質組成に著しい差がないことから、止葉から吸収させた場合と穂首から吸収させた場合では代謝のされ方が異なることが推定される。このことは特にアミノ酸やアミドの葉から収穫部位への再転流系において、葉における活発な呼吸を伴う代謝が炭素バランスを考えるうえで重要となることを示唆している。ただ、このような転流に伴う物質代謝の研究は主にイネ科に関して行われており、前述したマメ科の乾物生産速度の低さとの直接的な関連性についてはいまだ明らかではない。

以上のような知見をもとにして、本研究は各種作物における乾物生産の違いを呼吸代謝の面から評価することを目的とし実施した。第2章では、各種作物の様々な生育段階における植物体内の炭素化合物および窒素化合物の質的、量的変動を解析することにより、炭素と窒素の組み換えが生育に伴ってどのように進行しているかを明らかにした。第3章では収穫部位と作物体全体の乾物増加速度と呼吸速度の関係を定量的に評価し、

成分組成の変化と呼吸の対応関係を解析した。第4章では第2、3章で、乾物生産と呼吸代謝の関係がイネ科作物とマメ科作物間で大きく異なったことから、特にこの両科作物を対象とし、呼吸を基質レベルの違いから解析して、作物体全体の炭素と窒素のバランスを制御する機能における呼吸の役割を明らかにした。

第2章 作物の生育に伴う炭素・窒素化合物の再構成過程の解析

作物の生産性は通常炭素と窒素のバランスから考えられており、これまでに極めて多数の炭素代謝、窒素代謝の研究がなされてきた。しかしながら炭素と窒素の協調的な関係と作物の生産性を結び付けた包括的な研究はこれまでなされていない。一般に光合成速度は葉の窒素含有率と高い相関関係にあることが知られており、このことは高い光合成能を維持するには根からの十分な窒素吸収が維持されていなければならないことを意味している。一方、登熟に際し、収穫部位には多量の炭素と窒素が集積する。収穫部位に集積する炭素の大部分は登熟中に同化された炭素により占められることが知られるが¹⁴⁶⁾、一方、収穫部位に集積する窒素に関しては登熟前に茎葉に蓄積していた窒素が再転流したもの (a) と、登熟中に吸収されたもの (b) が存在し、a と b の比率は a の方が高いことが知られている。このように、葉は登熟期に炭素を活発に同化すると共に、収穫部位に窒素を活発に供給するという相反する2面性を持っている。つまり、光合成能を高く保つためには葉の窒素含有率を高く保たなければならない。一方、根により吸収された無機態窒素は作物体内でタンパク質となり作物の生理機能を維持している。作物体を構成する要素はC、H、Oがそのほとんどを占めているが、HとOは水に由来し、Cは光合成により獲得された2酸化炭素に由来する。

このように炭素と窒素は相互に密接に結び付き合っているが、本章では生育に伴う体内の炭素化合物と窒素化合物の流れを解析し、作物の生育に伴う炭素・窒素化合物の再構成過程の解析を行う。

2-1. 登熟期における炭素・窒素化合物の再構成機構の作物間差

作物の登熟期において収穫部位の肥大のために茎葉から収穫部位に多量の無機養分が転流する。本節ではこの過程における炭素と窒素の挙動について詳細に解析することを目的として、実験を実施した。

実験方法

1. 供試作物、栽培方法および試料採取法

イネ、春播コムギ（以下コムギ）、トウモロコシ、ダイズ、バレイショを供試した。北海道大学内圃場において窒素、リン、カリウムを硫酸アンモニウム、過リン酸石灰、硫酸カリウムでN、 P_2O_5 、 K_2O としてそれぞれ100kg ha⁻¹を全層施肥した。各作物の品種、

Table 2-1 Varieties, planting date, planting density, and plant number per hill.

Crop	Variety	Planting date	Density (cm x cm)	Plant number per hill
Rice	Michikogane	May 27*	30x30	2
Spring wheat	Haruyutaka	April 28	370(grains m ⁻²)	-
Maize	P3732	May 23	60x30	1
Soybean	Kitamusume	May 23	60x20	3
Potato	Dansyakuimo	April 28	60x30	2

*Transplanting date in rice

栽培法をTable 2-1に示した。試料採取は各作物の栄養生長期、地上部最大期、登熟中期、収穫期に行い（Table 2-2）、葉、茎および収穫部位（イネ、コムギでは穂、トウモロコシでは雌穂、ダイズでは莢実、バレイショでは塊茎）に分けた。試料は各部位とも新鮮物で約50 g採取し、直ちに液体窒素で凍結し凍結乾燥後に微粉碎して各種分析に供試した。その他の試料は80℃で72時間通風乾燥し、秤量した。なお、ダイズ、バレイショでは枯死葉、枯死葉柄も落下直前に採取し試料に含めた。ただし、アミノ酸およびアマイド（以

Table 2-2 Date of sampling of Experiment 2-1.

Crop	Planting date	Vegetative stage	Maximum shoot growth stage	Mid-maturation stage	Harvest
Rice	27-May	16-Jul	30-Aug	30-Aug	27-Sep
Spring wheat	28-Apr	14-Jun	27-Jun	28-Jul	6-Aug
Maize	23-May	13-Jul	5-Aug	25-Aug	8-Oct
Soybean	23-May	12-Jul	10-Aug	30-Aug	28-Sep
Potato	28-Apr	21-Jun	4-Jul	25-Jul	14-Sep

下アミノ酸類と称する）および窒素画分の分析に関してはいずれの作物においても枯死葉、葉柄は試料に含めなかった。また、体内構成成分および窒素画分の分析においては収穫部位をイネ、コムギではもみ殻と子実に、トウモロコシでは穂軸と子実に、ダイズでは莢と子実に分けた。

2. 粗成分分析

1) 糖・デンプン

糖・デンプンの分析は凍結乾燥試料約200mgを精秤し、25mlの熱80%エタノールを加え、3,000rpmで遠心後上澄液を集める操作を3回行い、得られた上澄液を遊離の糖画分とし、この残渣に含まれるデンプンを30mlの30%過塩素酸で分解し、3,000rpmで遠心後上澄液を集める操作を3回行い、得られた上澄液をデンプン画分とし、遊離の糖画分は沸騰水中の湯せんにより濃縮した後、それぞれをアンスロン法²²⁹⁾でグルコースを標準として定量した。

2) 粗繊維

セルロース、ヘミセルロース、リグニンの分析は酵素法²³⁰⁾とデタージェント法^{231, 232)}を組み合わせて行った。ここで中性デタージェント繊維にはセルロース、ヘミセルロース、リグニンが、酸性デタージェント繊維にはセルロースとリグニンが含まれるとした。まず試料からタンパク質とデンプンを除くために脱脂試料0.1gに0.1Mのリン酸緩衝液(pH 6.0)を5ml加え、耐熱性の α -アミラーゼである Termamyl 120L (Novo Laboratories, Inc.) を10 μ l加えて沸騰水中に20分間浸けた。その後、0.285Mの水酸化ナトリウム溶液を1ml加え、液温を60°Cにした後、pH7.5のリン酸緩衝液に溶かしたプロテアーゼ (Sigma No. P-5380) を0.5mg加え、60°Cで1時間振盪した。次に0.329 Mのリン酸を1ml加え、アミログルコシダーゼ (Sigma No. A-9913) を30 μ l加え60°Cで1時間振盪した。このように前処理した試料に10mlの中性デタージェント溶液を加え1時間沸騰水中につけ、この溶液を0.5 gの酸洗浄セライト (Kanto Chemical) を敷いたグーチルツボを用いてろ過した。残渣は熱水 (90-100°C) で3度洗浄し、続いてアセトンで2度洗浄した。風乾後に、105°Cで恒量し、これを中性デタージェント繊維とした。酸性デタージェント繊維を得るために脱脂試料0.1gに10mlの酸性デタージェント溶液 (20 g cetyltrimethyl ammonium bromide を1N 硫酸中に含む溶液) を加え、1時間沸騰水中につけた。中性デタージェント繊維の場合と同様にグーチルツボに集め、洗浄した後に105°Cで恒量し酸性デタージェント繊維とした。この酸性デタージェント繊維に72%硫酸溶液を滴加し、1時

間放置することを3回繰り返し、上記と同様に洗浄秤量し、これをリグニンとした。さらに正確を期するためにそれぞれの画分に含まれる無機化合物の量を525°Cで5時間焼却して秤量し、それぞれの画分中から差し引いた。

3) 粗脂肪

粗脂肪は1 g の試料をソックスレー抽出器を用いてジエチルエーテルで24時間抽出し、重量法により測定した。

4) タンパク質

タンパク質は全窒素量をケルダール法で測定した後に6.25を乗じてタンパク量とした。従来作物種により窒素量からタンパク質量を算出する時の係数を変えることもあったが(例えばイネで5.95、コムギで5.83、ダイズで5.71²³³)、各種作物の各生育時期、各器官での全タンパク態のアミノ酸組成が作物間においてさえほとんど変化しないことから全体的にタンパク質を扱う場合は一定の係数(6.25)を乗じた方がより正確と考えられる。

5) 粗灰分

粗灰分は試料1 g を525°Cで5時間以上焼却して秤量した。

6) その他の画分

その他の画分は乾物から糖、デンプン、繊維、粗脂肪、粗タンパク、粗灰分を差し引いた残量を示す。

3. 窒素の画分

1) 画分別窒素

200mg の試料を乳鉢中で80%エタノールと石英砂ですりつぶし、24時間4°Cに放置した後に3,000rpmで20分間遠心分離した。この操作を3回繰り返し、得られた上澄液をエタノール画分とした。同様に別の試料を乳鉢中で100mMのリン酸ナトリウム緩衝液(pH7.5)と石英砂ですりつぶし、24時間4°Cで放置した後に12,000rpmで20分間遠心分

離した。この操作を3回繰り返し、得られた上澄液をリン酸ナトリウム緩衝液 (PB) 画分とした。このPB画分の残渣に3% (w/v) sodium dodecy sulfate (SDS) 溶液を加え、沸騰水中に1時間放置して室温まで冷却後3,000rpmで20分間遠心分離した。この操作を3回繰り返し、得られた上澄液をSDS画分とし、残渣を不溶性画分とした。エタノール画分とPB画分ビーカーに移した後にそれぞれ5mlの濃硫酸を加え、約130°Cのホットプレート上で加温濃縮した後にケルダール分解した。残渣画分はそのままケルダール分解し、SDS画分は全窒素から以上の画分の差し引きで決定した。エタノール画分には別に測定した硝酸態窒素を計算で加えた。このようにして得られた各画分中エタノール画分には無機態窒素、遊離アミノ酸、アミド、プロラミンが含まれ、PB画分からエタノール画分を差し引いた画分には可溶性タンパク質が含まれ、この画分を以降SP画分とする。SDS画分には主に膜に結合したタンパク質が含まれ、残渣画分には細胞壁と強固に結合したタンパク質等が含まれると考えられる。

2) アミノ酸、アミドの画分

試料300gにサルコシンを内部標準として加えた後に80%エタノールを加え、4°Cで24時間放置した後に3,000rpmで20分間遠心後、上澄液を集める操作を3回繰り返し、可溶性画分と不溶性画分に分けた。可溶性画分は遊離アミノ酸画分として40°Cで減圧乾固し、5mlの0.02Nの塩酸に溶かしてNo.5Cの濾紙でろ過し、アミノ酸分析機 (Hitachi 835 型) で各種アミノ酸を分析、定量した。タンパク態のアミノ酸組成は試料100mgに10mlの6N塩酸を加え、窒素ガスで封入した後に105°Cで24時間加水分解し、その後塩酸臭がなくなるまで減圧乾固と脱塩水への溶解を繰り返し、最終的に0.02N塩酸に溶解し、No.5Cの濾紙でろ過した後に遊離のアミノ酸と同様に各種アミノ酸を分析定量した。タンパク態アミノ酸組成は全アミノ酸量から遊離のアミノ酸量を差し引いて決定した。なおこの操作の過程でアスパラギンとグルタミンのアミドは分解されてアスパラギン酸とグルタミン酸になるため、それぞれのアミノ酸とアミドが1対1で存在していると仮定して計算した。

結 果

1. 乾物重

収量 (g m^{-2}) はイネで540、コムギで600、トウモロコシで780、ダイズで300、バレイショで910でほぼ標準的な生育をしたと考えられた (Table 2-3)。収穫期の全乾物重 (g m^{-2}) はトウモロコシで1820と大きく、次いでイネ、コムギで1300から1400、バレイショで1000、ダイズで650と小さかった。地上部最大期から収穫期にかけて茎葉重はトウモロコシではやや増加し、イネ、コムギではほぼ一定であり、ダイズ、バレイショでは減少した。

Table 2-3 Dry weight (g m^{-2}) of each organ at maximum shoot growth (MSG) stage and harvest.

Crop	Leaves		Stems		Harvesting organs ¹⁾	Whole plant	
	MSG stage	harvest	MSG stage	harvest	harvest	MSG stage	harvest
Rice	181	177	529	583	540	809	1416
Spring wheat	171	101	381	497	600	646	1277
Maize	248	223	486	702	781	738	1820
Soybean	198	52	275	188	302	550	655
Potato	107	56	91	35	912	418	1003

2. 窒素含有率

葉の窒素含有率 (%) は地上部最大期でコムギ、バレイショで3.8-4.1と高く、ダイズで3.5、イネ、トウモロコシで2.1-2.3と低かったが、収穫期にはイネ科作物 (イネ、コムギ、トウモロコシ) で0.8-0.9まで低下し、ダイズ、バレイショでは1.3と比較的高く推移した (Table 2-4)。

茎の窒素含有率は地上部最大期ではバレイショで1.6と高く、コムギで1.3とそれに次ぎ、イネでは0.5と低かった。収穫期では、バレイショで0.8と高く、イネ科作物では0.3-0.4と低かった。

収穫期における収穫部位の窒素含有率はダイズで6.2と特に高く、コムギで2.0、イネ、

Table 2-4 Nitrogen content (%) of each organ at maximum shoot growth (MSG) stage and harvest.

Crop	Leaves		Stems		Harvesting organs
	MSG stage	harvest	MSG stage	harvest	harvest
Rice	2.09	0.78	0.49	0.43	1.33
Spring wheat	3.80	0.89	1.33	0.26	2.00
Maize	2.27	0.88	0.68	0.34	1.04
Soybean	3.52	1.27	0.95	0.51	6.23
Potato	4.07	1.31	1.55	0.82	1.12

トウモロコシ、バレイショでは1.0-1.3と低かった。

3、窒素集積量

収穫期の窒素集積量 (gN m^{-2}) はダイズで21と最大であり、次いでコムギ、トウモロコシで13から14、イネ、バレイショで11と少なかった (Table 2-5)。窒素の集積量は最大期から収穫期にかけてダイズでは増加し、イネ、トウモロコシ、バレイショでも増加したが、わずかな増加にとどまり、その集積は小さかった。コムギ、ダイズ、バレイショの葉と茎の窒素集積量は登熟期間に急速に低下した。

Table 2-5 Amount of accumulated nitrogen (g m^{-2}) of each organ at maximum shoot growth (MSG) stage and harvest.

Crop	Leaves		Stems		Harvesting organs	Whole plant	
	MSG stage	harvest	MSG stage	harvest	harvest	MSG stage	harvest
Rice	3.78	1.38	2.59	2.51	7.18	6.38	11.07
Spring wheat	6.50	0.90	5.07	1.29	12.00	11.57	14.19
Maize	5.63	1.96	3.30	2.39	8.12	8.93	12.47
Soybean	6.97	0.66	2.61	0.96	18.81	9.58	20.43
Potato	4.35	0.73	1.41	0.29	10.21	5.77	11.24

4. 収穫部位への再転流率 (N-redistribution rate) と茎葉からの窒素の寄与率 (N-contribution rate)

茎葉に集積した窒素が地上部最大期から収穫期にかけて減少した量はコムギ、ダイズ

Table 2-6 N-redistribution rate and N-contribution rate in leaves and stems during maturation.

	Rice	Spring wheat	Maize	Soybean	Potato
Leaves and Stems					
N-redistribution rate ^a	38.9	81.1	51.2	83.1	82.2
N-contribution rate ^b	34.5	78.3	56.3	42.3	46.5
Leaves					
N-redistribution rate ^c	63.5	86.2	65.1	90.5	83.0
N-contribution rate ^d	33.4	46.8	45.1	33.5	35.5
Stems					
N-redistribution rate ^e	3.1	74.6	27.6	63.4	79.6
N-contribution rate ^f	1.1	31.5	11.2	8.8	11.1

a: N-redistribution rate=(amount of nitrogen of leaves and stems at MSG stage - amount of nitrogen of leaves and stems at harvest) / (amount of nitrogen of leaves and stems at MSG stage) x 100.

b: N-contribution rate=(amount of nitrogen of leaves and stems at MSG stage - amount of nitrogen of leaves and stems at harvest) / (amount of nitrogen of harvesting organs at harvest) x 100.

c: N-redistribution rate=(amount of nitrogen of leaves at MSG stage - amount of nitrogen of leaves at harvest) / (amount of nitrogen of leaves at MSG stage) x 100.

d: N-contribution rate=(amount of nitrogen of leaves at MSG stage - amount of nitrogen of leaves at harvest) / (amount of nitrogen of harvesting organs at harvest) x 100.

e: N-redistribution rate=(amount of nitrogen of stems at MSG stage - amount of nitrogen of stems at harvest) / (amount of nitrogen of stems at MSG stage) x 100.

f: N-contribution rate=(amount of nitrogen of stems at MSG stage - amount of nitrogen of stems at harvest) / (amount of nitrogen of harvesting organs at harvest) x 100.

で8から9gN m⁻²と多く、次いでトウモロコシ、バレイショで4から5gN m⁻²、イネで2gN m⁻²と少なかった (Table 2-4)。

そこで一度作物体を構成した窒素のどの程度の割合が収穫部位に収穫期までに転流したのかを再転流率 (N-redistribution rate) として Table 2-6 に示した。再転流率は葉ではコムギ、ダイズ、バレイショで83-91%と高く、イネ、トウモロコシでは63-64%で、茎ではコムギ、ダイズ、バレイショで63-80%と高く、トウモロコシで28%、イネでは3%と低い (Table 2-6)。イネ、トウモロコシでは葉が、コムギ、ダイズ、バレイショでは葉と茎が登熟に際して収穫部位へ移行する窒素の主要な一時的貯蔵部位と考えることができる。

収穫部位を構成する窒素のどの程度の割合が地上部最大期までに茎葉に集積したかを寄与率 (N-contribution rate) として Table 2-6 に示した。コムギで78%、トウモロコシで56%、ダイズ、バレイショで42-47%、イネで35%であり、みかけ上コムギ、トウモロコシで茎葉構成窒素が収穫部位で利用される割合が高く、イネではこの割合が低く、登熟中に吸収した窒素の収穫部位窒素に占める割合が高かった。

5. 体内構成成分の変遷

地上部最大期の葉の構成成分組成はイネ、コムギ、トウモロコシで類似しており、セルロース、ヘミセルロースの含有率が15-30%と高く、粗タンパク質が登熟中期にかけて特に低下し、粗繊維 (セルロース、ヘミセルロース、リグニン) の割合が高まった (Fig. 2-1)。ダイズとバレイショも比較的類似しており、デンプンと「その他」の画分の割合がイネ科の作物に比較して高かった。登熟中期にかけて粗タンパク質の割合が低下し、セルロースと「その他」の画分が高まった。

茎では地上部最大期にはイネでデンプンと粗繊維の割合が高く、バレイショとトウモロコシで糖と粗繊維の割合が高かった。特にセルロースは地上部最大期において最低のバレイショでも20%、ダイズでは50%を占めた。ヘミセルロースはバレイショで6%と低かったが、他の作物では20%前後で、登熟中期にかけてバレイショとコムギで上昇し、他の作物ではほとんど変化しなかった。

収穫部位の構成成分組成は地上部最大期にはイネ、コムギでは粗繊維の割合が高く、ト

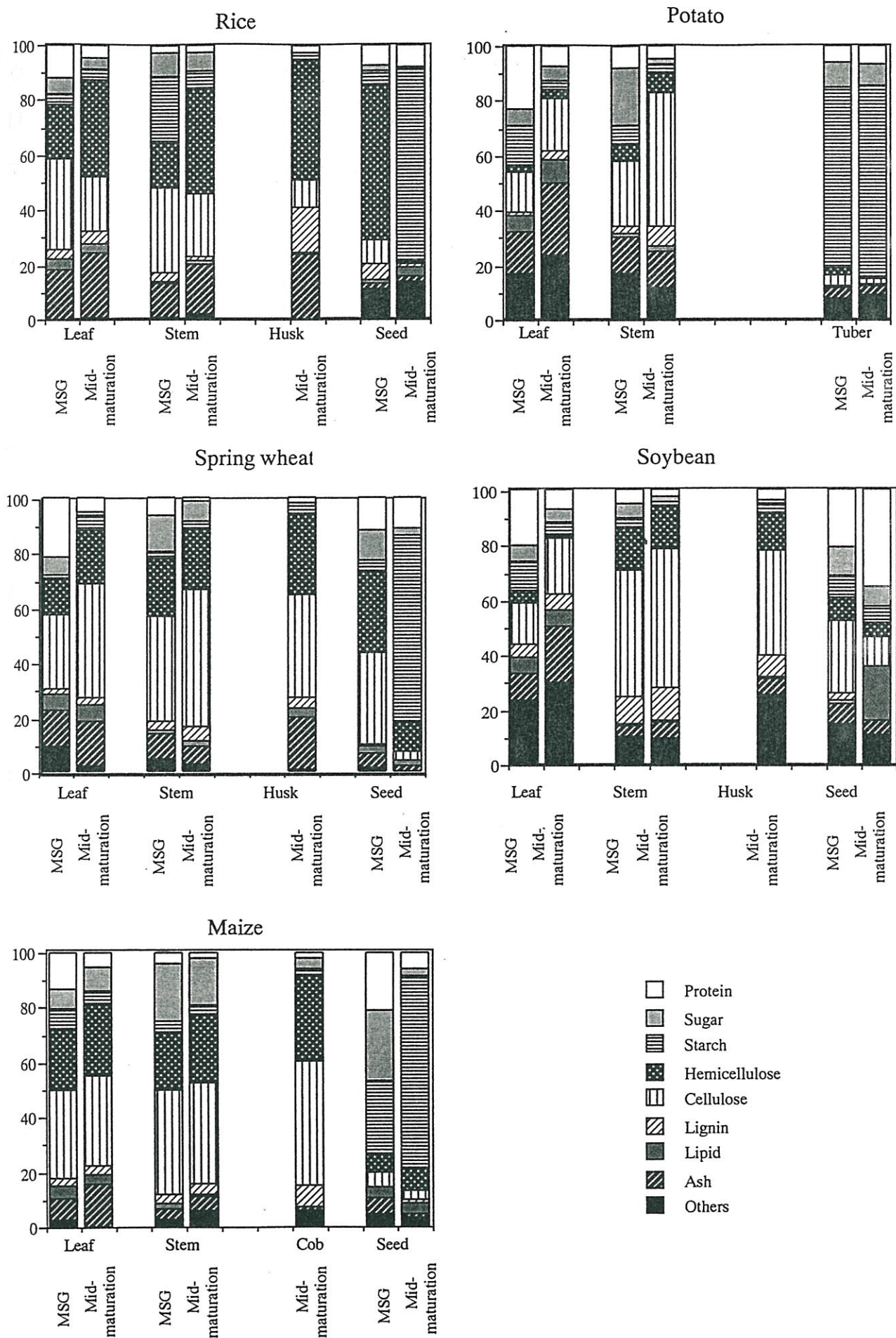


Fig. 2-1 Composition of crude chemical components.

ウモロコシでは糖とデンプンが、ダイズではタンパク質とセルロースが、バレイショではデンプンが多かった。登熟中期ではダイズ以外の作物ではデンプンの割合が約80%であった。ダイズでは特にタンパク質が約30%と特に高く、粗脂肪も約20%と高かった。

6. 画分別窒素

葉ではいずれの作物でもエタノール画分は生育期間を通じて7から22%であり、その変動は比較的小さかった (Fig. 2-2)。SP画分は栄養生長期にはコムギ、ダイズ、バレイショで54から59%と高く、イネで49%、トウモロコシで38%と低かった。いずれの作物でも生育の進行に伴って低下する傾向があった。SDS画分は栄養生長期にはイネ、トウモロコシで43%と高く、バレイショで38%、ダイズで31%であり、コムギで25%と低かった。SP画分と同様に生育の進行に伴って、その割合は低下した。残渣画分は栄養生長期においてはいずれの作物でも2-7%と低かったが、生育の進行に伴ってその割合は高まり、収穫期には18% (トウモロコシ) -24% (イネ) と高まった。

茎では特に生育の早い段階でエタノール画分の割合が高く、トウモロコシ、ダイズ、バレイショでは栄養生長期で39-46%と全窒素の約1/2を占めた。これらの作物では生育の進行に伴い10-18%まで低下したが、イネ、コムギではあまり変わらなかった。SP画分の割合は葉のそれと比較するとトウモロコシと登熟中期および収穫期のバレイショではほとんど同様であったが、他の作物および生育前半のバレイショでは葉より低かった。イネ、コムギ、ダイズでは生育の進行に伴いやや低下する傾向を示し、トウモロコシ、バレイショでは変わらなかった。SDS画分は栄養生長期のイネでは41%と高く、コムギで27%であり、トウモロコシ、ダイズ、バレイショでは13-16%と低かった。生育の進行に伴う変動はイネ、ダイズ、バレイショでは小さく、コムギでは低下した。一方、トウモロコシでは逆にやや上昇した。残渣画分は葉と同様に栄養生長期には3 (トウモロコシ) -12% (イネ) と低く、収穫期には13 (トウモロコシ) -42% (ダイズ) と高まった。

収穫部位では地上部最大期のイネ、コムギ、トウモロコシ、ダイズでは子実以外の殻などを含むので除くと、エタノール画分に関してはイネ、ダイズでは登熟中期に8から13%と低く、ハルコムギ、トウモロコシ、バレイショでは28-30%と高かった。その割合は生育の進行に伴いバレイショで43%と高まり、トウモロコシでは27%ほとんど変化せず、

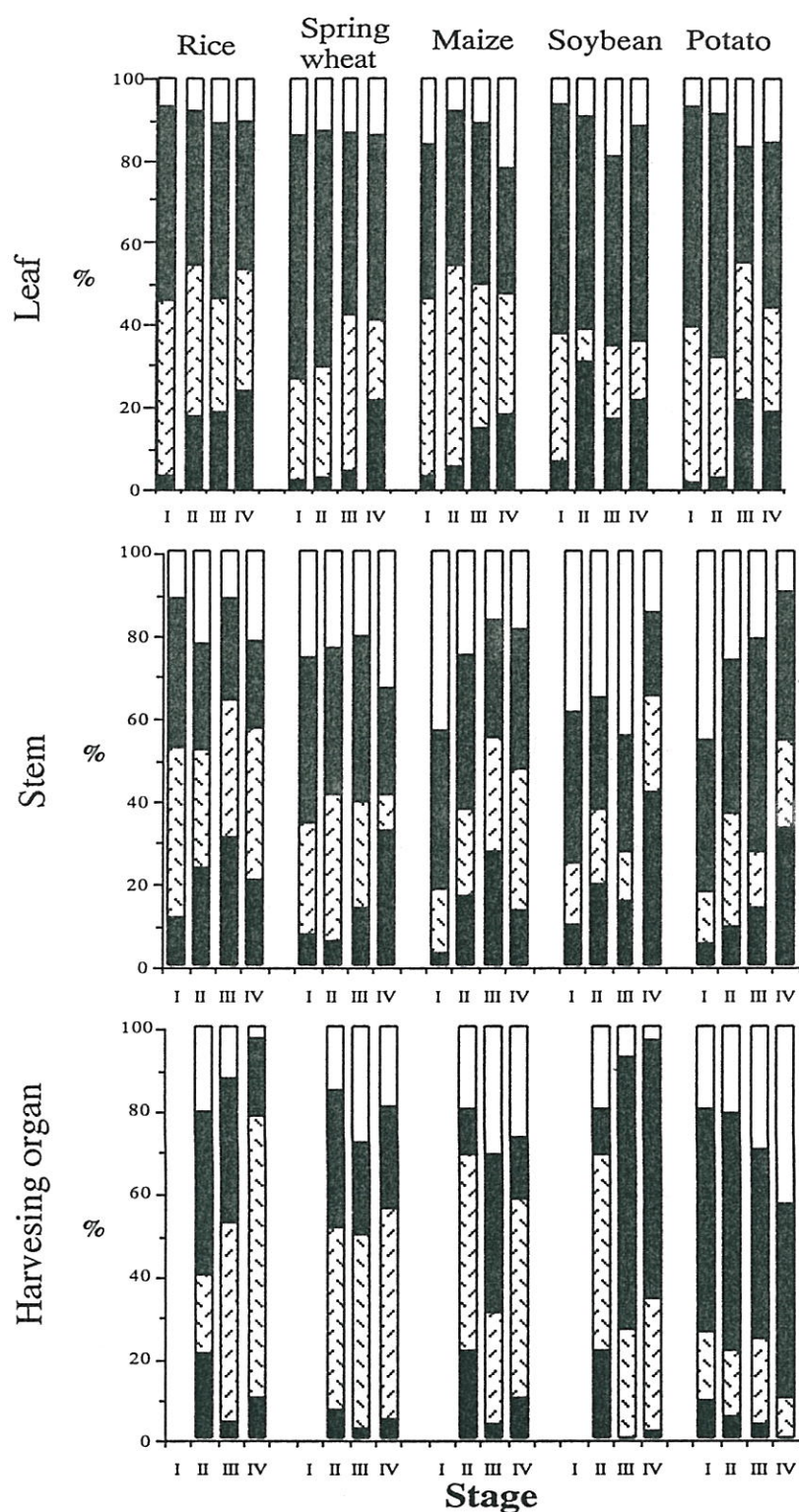


Fig. 2-2 Percentage of fractionated nitrogen during the growth
 Stage I, II, III, IV represent vegetative growth stage, maximum shoot growth stage, mid-maturation stage, and harvesting stage, respectively.
 □ EtOH, ■ SP, ▨ SDS, ■ Residue.

コムギでは19%、イネとダイズでは3%に低下した。バレイショは栄養生長期から収穫部位が形成されているが、この時期から生育に伴ったエタノール画分の増大が観察された。

SP画分は登熟中期ではイネ、コムギ、トウモロコシで22-35%と少なく、バレイショで46%、ダイズで66%と高かった。収穫期にイネとトウモロコシはそれぞれ19%、15%に減少し、コムギで25%、ダイズで63%、バレイショで47%と変わらなかった。SDS画分はイネ、ハルコムギで47%と高く、トウモロコシ、ダイズで26-27%バレイショで21%と低かった。収穫期にはイネで68%、ハルコムギで51%、トウモロコシで48%、ダイズで33%、バレイショで9%となり、バレイショ以外の作物ではその存在割合が高まり、イネ科作物でダイズ、バレイショよりもこの画分の存在割合が多い傾向が示された。残渣画分はイネ、トウモロコシの収穫期、バレイショの栄養生長期では約10%あったが、他の時期および他の作物ではいずれも5%未満と低かった。

7. 登熟中期の遊離アミノ酸組成

登熟中期の遊離アミノ酸類の中では各作物、各器官ともにアスパラギン酸、アスパラ

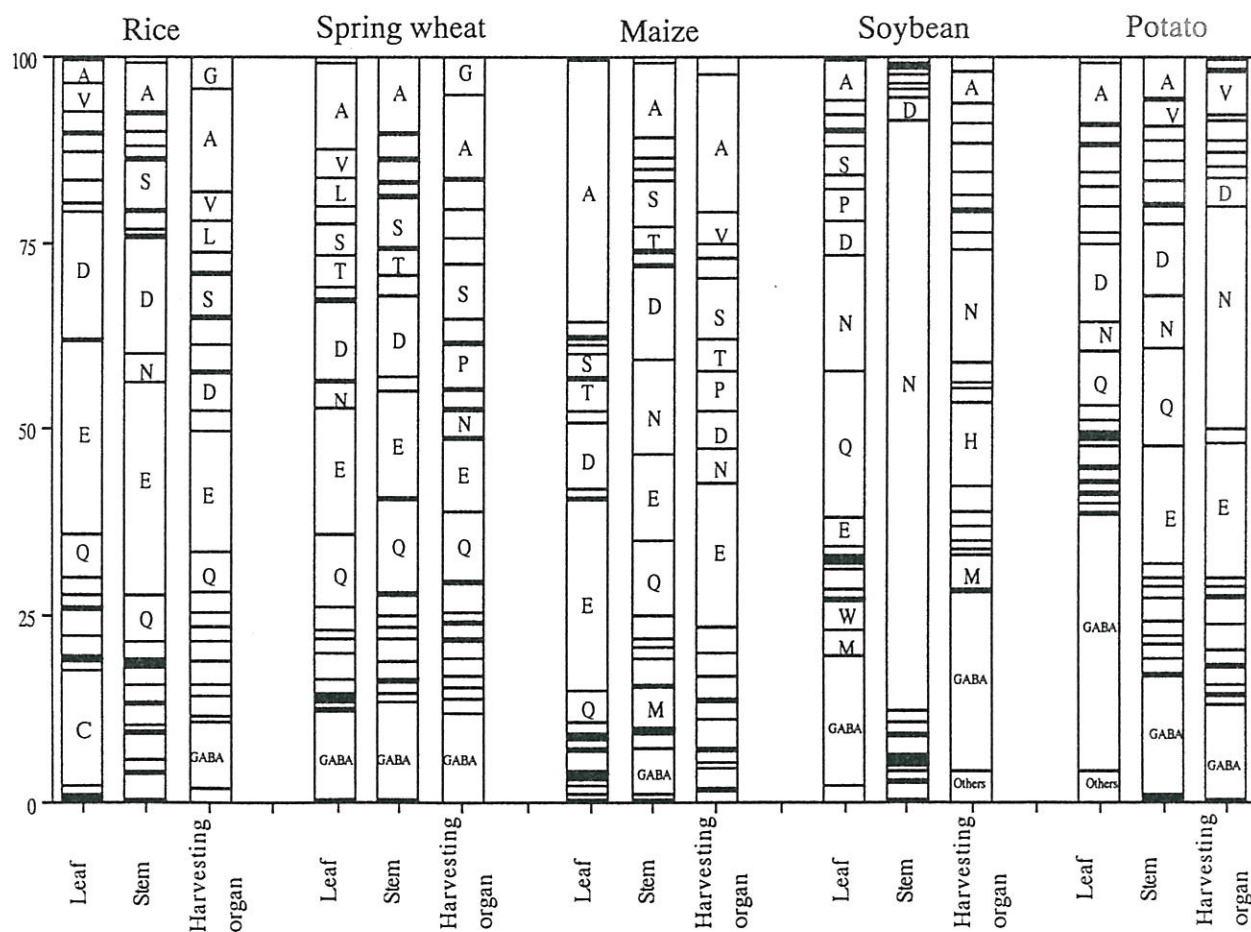


Fig. 2-3 Percentage of free amino acids at mid-maturation stage (Total free amino acids = 100). G, Glycine; A, Alanine; V, Valine; L, Leucine; I, Isoleucine; S, Serine; T, Threonine; P, Proline; D, Aspartic acid; N, Asparagine; E, Glutamic acid; Q, Glutamine; K, Lysine; H, Histidine; R, Arginine; F, Phenylalanine; Y, Tyrosine; C, Cysteine; W, Tryptophan; M, Methionine; GABA, γ -aminobutyric acid; others, Other amino acids.

ギン、グルタミン酸、グルタミンの占める割合が著しく高かった (Fig. 2-3)。その他のアミノ酸ではアラニンがイネの子実、コムギ、トウモロコシの各器官、ダイズ、バレイショの葉に、バリンがバレイショの塊茎に、セリンがイネの茎、ダイズ、トウモロコシの茎と子実に、プロリンがコムギとトウモロコシの子実に、ヒスチジンがダイズの子実に、システイン (アミノ酸分析計ではシスチンの位置に検出されたが、植物体においての遊離の存在形態はシステインと考えられる) がイネの葉に、 γ -アミノ酪酸がイネの子実、コムギ、ダイズ、バレイショの各器官に高く認められた。

8. 登熟中期のタンパク態アミノ酸組成

各作物で葉と収穫部位で比較すると、コムギの収穫部位でグルタミン+グルタミン酸の割合が若干高いことを除くと極めて類似しており、作物間でもよく類似していた (Fig.

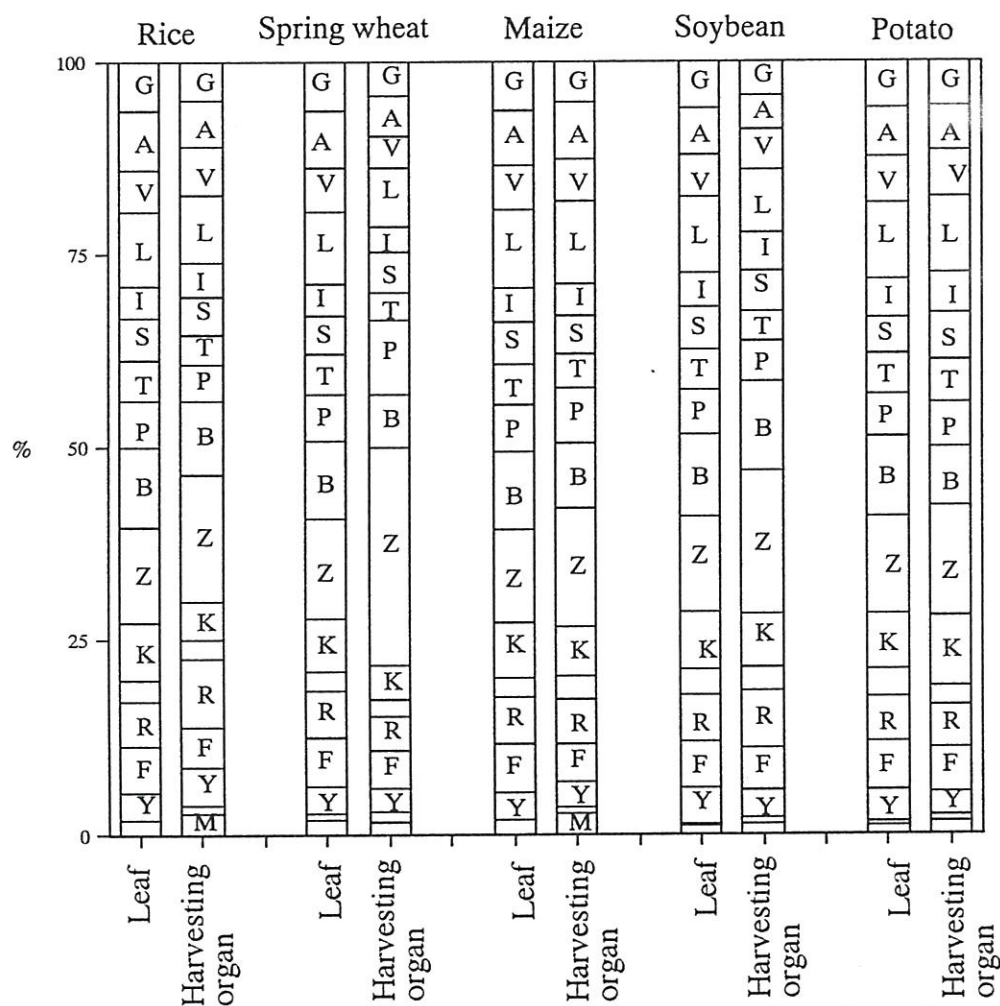


Fig. 2-4 Percentage of protein amino acids at mid-maturation stage (Total protein amino acids = 100). G, Glycine; A, Alanine; V, Valine; L, Leucine; I, Isoleucine; S, Serine; T, Threonine; P, Proline; B, Aspartic acid + Asparagine; Z, Glutamic acid + Glutamine; K, Lysine; H, Histidine; R, Arginine; F, Phenylalanine; Y, Tyrosine; M, Methionine; C-C, Cysteine.

2-4)。遊離アミノ酸組成と比較すると、タンパク態アミノ酸の組成は異なっており、どの作物でも両部位ともに各種アミノ酸が比較的均等に存在していた。

考 察

1. 生育に伴う化学的組成の変化

多くの作物は地上部最大期まで栄養生長を続け、光合成により獲得した炭素と根から吸収した窒素を茎葉に集積する。茎葉に蓄積された窒素の一部は収穫部位の形成にともない、収穫部位に転流するが、同時に地上部最大期以降の登熟期に獲得された炭素、窒素も収穫部位に運ばれる。イネ、コムギ、トウモロコシ、ダイズ、サイトウ、バレイショ、ビートを用いた研究^{236, 146)}では地上部最大期までに茎葉に集積した炭素の多くは呼吸により損失され、収穫部位に再転流する割合は少ないことを示している。つまり収穫部位を構成する炭素の多くは登熟中に同化された炭素に依存することになる。一方、窒素に関してみると、収穫部位を構成する窒素のほとんどが地上部最大期までは茎葉を構成していた窒素化合物に由来していることがイネ、ダイズ、バレイショで明らかにされている²³⁷⁻²³⁹⁾。このような登熟期における炭素と窒素の関係をより詳細に検討した。

従来、イネでは茎葉中の繊維質の化合物であるセルロース、ヘミセルロース、リグニンはほとんど分解されないことが報告されている²³⁴⁾。これらの繊維質の化合物は主に細胞壁を構成していると考えられるが、実際、細胞壁が分解されるとの報告もある²³⁵⁾。Fig. 2-1にみられるように、セルロースとヘミセルロースの含有率はイネ、コムギ、トウモロコシで高かった。一方、ダイズとバレイショではこれらの含有率は低く、粗灰分と「その他」の割合が高かった。茎ではどの作物でもセルロースとヘミセルロースの含有率は高かった。登熟期間中に茎の重量はイネ、コムギ、トウモロコシでむしろ増加し、ダイズ、バレイショでは低下した。ダイズ、バレイショにおいてその粗成分組成の変化をみると、タンパク質、糖、デンプン画分のみならず各粗繊維画分も低下した。このようにダイズ、バレイショでは登熟に際して細胞壁成分までも含めて分解が進行していることが示された。収穫期にかけて葉の乾物重は低下していくが、葉の細胞壁成分である粗繊維画分の全体に占める割合変化が小さかったことから、細胞壁を構成する成分も分解し、

再転流に関与していることも考えられた。

2. 登熟期における茎葉から収穫部位への窒素の再転流

ダイズは他の作物と異なって、収穫期までに集積した全窒素集積量が 21gN m^{-2} と他作物の $11\text{--}14\text{gN m}^{-2}$ と比較して多かった (Table 2-4)。また地上部最大期以降に吸収された窒素量の全吸収量に対する割合は他作物で $10\text{--}30\%$ であったのに対して 50% に達した。収穫部位の窒素含有率も他作物で $1\text{--}2\%$ 程度であるのに対し約 6% と著しく高かった。このようにダイズの窒素要求量は他の作物に比較して著しく大きい。

収穫期において収穫部位に集積した窒素は、地上部最大期までに茎葉に集積した窒素の再転流窒素と地上部最大期以降に吸収され転流されてきた窒素に分けることができる。地上部最大期までに茎葉に集積した窒素のうち収穫部位へ再転流した割合は窒素の再転流率で示される (Table 2-6)。窒素の再転流率はコムギ、ダイズ、バレイショで高く、イネ、トウモロコシではあまり大きな値ではなかった。また収穫部位に集積した窒素量に占める茎葉から再転流してきた窒素のみかけの割合は窒素の寄与率で示され、コムギで高く、トウモロコシ、ダイズ、バレイショでそれに次ぎ、イネで低かった。イネとトウモロコシにおける地上部最大期の葉あるいは茎の窒素含有率は他作物と比べて低く、両作物では茎葉が収穫部位に対して窒素のソースとしてあまり強くは働いていなかったと考えられ、このことが再転流率および寄与率が低かったことにつながっているものと考えられた。コムギでは再転流率および寄与率のいずれも高く、収穫部位の形成にともない、収穫部位の窒素のソースとして茎葉の窒素が適宜供給されていたとみなされる。一方、ダイズとバレイショでは再転流率は高いが寄与率は小さい。このことはダイズとバレイショのいずれも茎葉の窒素の大部分が収穫部位に供給されることを示すとともに、ダイズでは地上部最大期以降も窒素の吸収が著しいことから登熟期間の根の窒素吸収能が高く維持されていたものと考えられ、収穫部位の窒素の要求量が著しく大きいと考えられる。バレイショではこの期間の窒素の吸収はダイズのように多くはなく、再転流率が高く、寄与率が低いのはバレイショの栄養生長と生殖生長が同時に進行するというこの作物の特性により導かれたものと考えられる。

登熟期間中の葉と茎の窒素画分の変動はダイズの茎を除くといずれの作物でも小さかった。このことは茎葉の窒素が収穫部位に転流するに際して、特にいずれかの画分(遊離の窒素画分、可溶性の画分、膜画分、壁画分)が優先的に分解されて運ばれるということはダイズの茎を除くと生じていないといえる(Fig. 2-2)。ダイズの茎では遊離の窒素画分と可溶性の画分の減少が著しかったが、これはダイズの子実の窒素に対する要求性が高いことによると考えられる。

3. 茎葉から収穫部位への再転流過程における窒素化合物の再構成

先にも示したが窒素の吸収はダイズ以外の4作物では地上部最大期以降登熟中期にかけてほとんど停止したことから、少なくとも登熟中期以降に収穫部位に集積した窒素の大半は茎葉を一度構成した窒素の再転流物とみなすことが可能である。窒素は再転流に際してタンパク質が分解して遊離アミノ酸になり、篩管を經由して収穫部位に運ばれ、そこで再度タンパク質に再合成されると考えられる。そこで、この時期の葉、茎、収穫部位の遊離アミノ酸組成がそれぞれの部位における転流形態を反映していると考えた。イネの登熟過程における遊離アミノ酸の再構成についてOsaki et al.²³⁹⁾が調べた結果では、その変動は小さかった。

登熟中期の葉と茎に含まれる遊離アミノ酸の中で主要なものはどの作物でもアスパラギン酸、アスパラギン、グルタミン酸、グルタミンであった(Fig. 2-3)。茎ではダイズで特徴的にアスパラギンが多く、アラニンがコムギとトウモロコシで、 γ -アミノ酪酸がコムギ、ダイズ、バレイショで多く認められた。このようにどの作物でもアスパラギン酸、グルタミン酸、およびそれらのアミドが多いという特徴はあるが、作物による若干の違いが存在した。本実験で得られたこれらの組成と同様な方法によりこれまでに報告されたイネ²³⁹⁾、トウモロコシ²⁴⁰⁾、ダイズ²³⁷⁾、バレイショ^{238, 240)}に関する結果を比較するとよく一致しており、少なくとも登熟中の転流形態は極めて安定しているとみなされる。

一方、タンパク態のアミノ酸組成はコムギの収穫期の収穫部位においてグルタミン+グルタミン酸の割合がやや高いという違いはあるものの、器官、作物の違いによらず極めてよく一致しており、アスパラギン+アスパラギン酸、グルタミン+グルタミン酸においてアミノ酸とアミドがタンパク質の中においてもほぼ均等に存在していると仮定

するならば、全ての構成アミノ酸がほぼ均等に存在しているといえる (Fig. 2-4)。

組織を80%エタノールで抽出した画分には篩管液以外にも茎の細胞質中に含まれる遊離アミノ酸なども含まれていると考えられる。ウンカの口吻を用いて登熟中の篩管液をほぼ純粋に採取したと考えられる実験^{217, 218, 220)} で得られた結果は篩管液にアスパラギン酸、アスパラギン、グルタミン酸、グルタミンが多く含まれることを示していたことから、本実験で得られた値もほぼ篩管液の値を代表しているものとみなされる。葉の遊離アミノ酸組成と茎の遊離アミノ酸組成を比較すると、イネとコムギではほぼ一致していたのに対し、トウモロコシ、ダイズ、バレイショではかなりの違いが存在した。茎の遊離のアミノ酸組成が転流形態と考えられることから、葉のタンパク質が分解して転流形態に再構成される機構には作物間に違いがあると考えられた。

このようにタンパク態のアミノ酸組成は作物種に関らずで極めてよく一致しているのに対し、転流形態の遊離のアミノ酸組成は異なっていた。このことはアミノ酸組成が窒素の転流過程で大きく変動することを示している。この変化はアミノ酸の骨格となる炭素と窒素の関係に影響を与えるものであり、かなりのエネルギーの損失をともなうと予想される。

2-2. 炭素・窒素化合物の再構成過程に及ぼす窒素、リン、カリウム欠乏の影響

作物の生育は様々な環境要因により大きく変化する。本節では特に各種必須元素の中で主要な窒素、リン、カリウムの欠乏が生じている圃場において、作物体内の炭素・窒素化合物の再構成の機構がどのような影響を受けるのかを検討した。

実験方法

1. 供試作物、栽培方法および試料採取法

1988年に北海道大学における窒素(N)、リン(P)、カリウム(K)を施与したControl区、-N区、-P区、-K区からなる3要素試験区(要素欠乏区)に硫酸、過リン酸石灰、硫酸加里をN、 P_2O_5 、 K_2O としてそれぞれの区に対応させて 100kg ha^{-1} の割合で全層施肥した。なお、この3要素試験区は1914年から74年間にわたり維持されてきた褐色低地土の圃場であり、岡島・今井²⁴⁾によれば各要素欠如区における土壌溶液中の当該要素の濃度は極めて低いことが報告されている。実験には春播コムギ(以下コムギ)、トウモロコシ、ダイズ、バレイショを供試した。栽培様式をTable 2-7に示した。前節と同様の方法で各作物の栄養生長期、地上部最大期、登熟中期、収穫期に試料採取を行った(Table 2-7)。試料は新鮮物を約50g採取し、直ちに液体窒素で凍結し、凍結乾燥後に微粉碎して各種分析に供試した。その他の試料は 80°C で72時間通風乾燥し、秤量した。

Table 2-7 Date of sampling of Experiment 2-2.

Crop	Planting date	Vegetative stage	Maximum shoot growth stage	Mid-maturation stage	Harvest			
					0N	100N	-P	-K
Rice	27-May	16-Jul	30-Aug	30-Aug	27-Sep	27-Sep	27-Sep	27-Sep
Spring wheat	28-Apr	14-Jun	27-Jun	28-Jul	19-Aug	6-Aug	11-Aug	6-Aug
Maize	23-May	13-Jul	5-Aug	25-Aug	8-Oct	8-Oct	8-Oct	8-Oct
Soybean	23-May	12-Jul	10-Aug	30-Aug	24-Sep	28-Sep	21-Sep	1-Oct
Potato	28-Apr	21-Jun	4-Jul	25-Jul	14-Sep	14-Sep	14-Sep	4-Sep

2. Rubiscoの抽出

圃場レベルで採取した植物体の葉のRubisco含量を抽出するためには凍結乾燥した試料が適していることが示された。従来Rubiscoの抽出には新鮮な葉を凍結した後直ちに抽出

実験に供試する方法が採用されているので、予備実験で凍結乾燥した試料と凍結新鮮葉の抽出効率を比較した。栄養生長期の完全展開葉から500mgを採取し、凍結した後そのまま抽出する試料と凍結乾燥した後に抽出する試料を用意した。抽出液として100mM Tris-HCl 緩衝液 (pH 7.8) に1mM EDTA, 10mM 2-mercaptoethanol, 10mM $MgCl_2$, 1mM MIA, 10 μ M leupeptine, 12.5% を含む緩衝液を抽出液として用いた。抽出液10mlと酸で洗った後に脱塩水で洗浄し、さらに550°Cで2時間焼却した後に冷却した石英砂を試料に加え、氷上で乳鉢と乳棒を用い摩砕した。摩砕液を3,000gで15分間遠心分離した後に、上澄液を採取した。残渣に同じ抽出液を5ml 加えよく攪拌し同様に遠心分離して上澄液を得る操作を2回行ない、得られた上澄液をすべて集めた後に25mlにメスアップし、これより1mlを採取し15,000gで20分間4°Cで遠心分離して得られた上澄液をRubisco抽出液とし、分析まで-50°Cで保存した。

抽出液はSDSで処理した後に電気泳動し、CBBで染色した。Rubisco Large subunitのバンドをゲルから切り取り、ホルムアミドで抽出した後に、595nmの波長でホウレンソウのRubiscoで検量線を作成して定量した²⁶⁵⁾。抽出液中の可溶性タンパク質量の定量のためにBioRad Protein Assayを使い、BSAで検量線を作成して定量した。

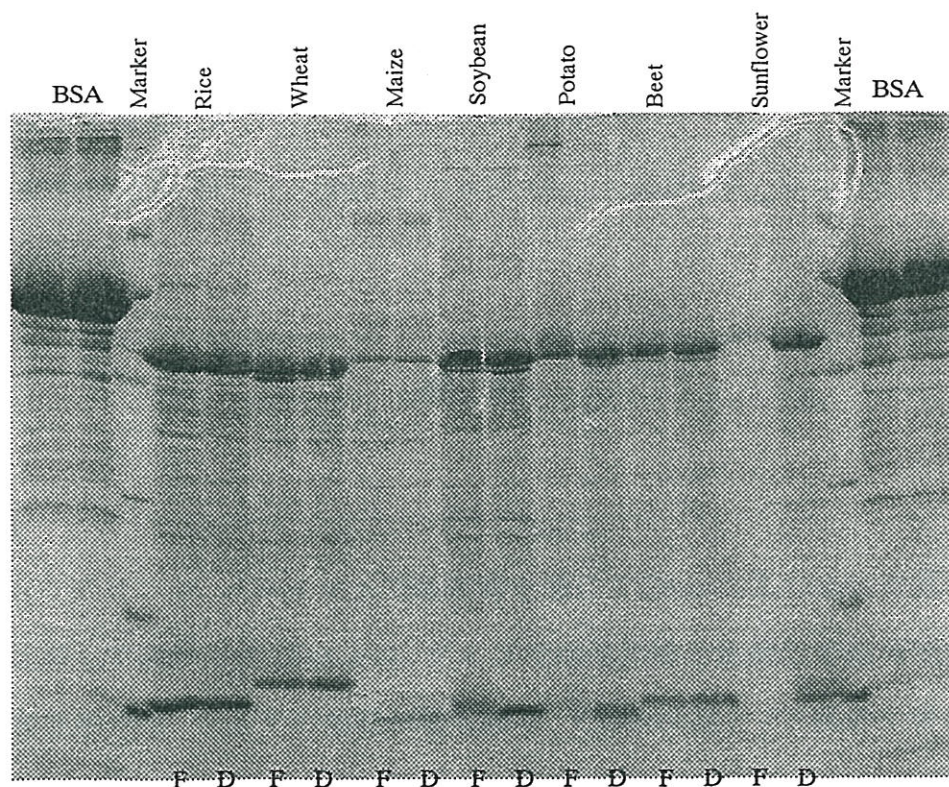


Fig. 2-5 Gel electrophoresis (SDS-PAGE) of total leaf proteins.
F: Frozen sample, D: Freeze dried sample. Extracted amount of leaf was same in both sample.

Fig. 2-5 にイネ、コムギ、トウモロコシ、ダイズ、バレイショ、ビート、ヒマワリの凍結試料と凍結乾燥試料のRubisco抽出効率を示した。この結果によると、いずれの作物でも凍結乾燥試料からのRubiscoを含む可溶性タンパク質の抽出効率が高く、特にヒマワリで顕著であった。電気泳動パターンは明確であり、タンパク質分解酵素の関与は低いと考えられた。以上のことからRubiscoの抽出と可溶性タンパク質の抽出には凍結乾燥試料が適していることが示された。また、抽出液から leupeptin を除いても抽出効率は変わらなかったが、抽出後時間を置くと特にコムギ、ヒマワリでは Rubisco の分解が認められた。

3. 窒素含有率、可溶性タンパク態窒素含有率とクロロフィル含有率の測定

全窒素と可溶性タンパク態窒素量はセミマイクロケルダール法で測定した。Rubisco抽出液に終濃度が10%になるように trichloroacetic acid を加え、沈殿を集め、沈殿を5% trichloroacetic acid で洗浄して得られた沈殿を可溶性タンパク質とした。

クロロフィルは新鮮葉1gを精秤し、100mlの100%エタノールでポリトロンを用いて抽出した。抽出液はチーズクロスを用いて濾過し、4°C、10,000gで20分間遠心し分離し、上澄液を集めた。クロロフィル (a+b) 濃度は649nm (A_{649}) と665nm (A_{665}) の吸光度から eq. 2-1 を用いて決定した。

$$\text{クロロフィル (a+b) (mg l}^{-1}\text{)} = 6.10 (A_{665} + 20.04 (A_{649})) \text{ --- eq. 2-1}$$

結 果

1. 乾物重

コムギ、トウモロコシ、バレイショでは生育を通じてControl区的全乾物重の集積が要素欠乏区に比較して高かった (Fig. 2-6)。ダイズでは他作物と比較して処理間差が比較的小さく、生育後半では-N区での生育が最も勝り、Control区と-P区の生育はあまり変わらず-K区の生育がやや悪かった。ダイズ以外の作物では-N区の生育が最も劣り、コムギとバレイショでは-P区と-K区の差は小さかった。トウモロコシでは-N区と-P区

の生育が同程度に低かった。収穫期においてControl区を100としたときの各区の全重相対値は-N区ではコムギ、トウモロコシ、バレイショでは25-33と低く、ダイズで115と高く、-P区ではコムギ、ダイズで85-89とやや低く、トウモロコシ、バレイショで68-70と低く、-K区では-P区と同様の傾向であり、コムギ、ダイズで85-87とやや低く、トウモロコシ、バレイショでは32-47と低かった (Table 2-8)。茎葉および収穫部位の相対値は全重相対値とほぼ同様の傾向であったが、ダイズの-K区では全重相対値の85と比較して117と茎葉相対値が高く、収穫部位の相対値が57と低かった。乾物重の処理間差と比較すると乾物の収穫指数の処理間差は小さかった。

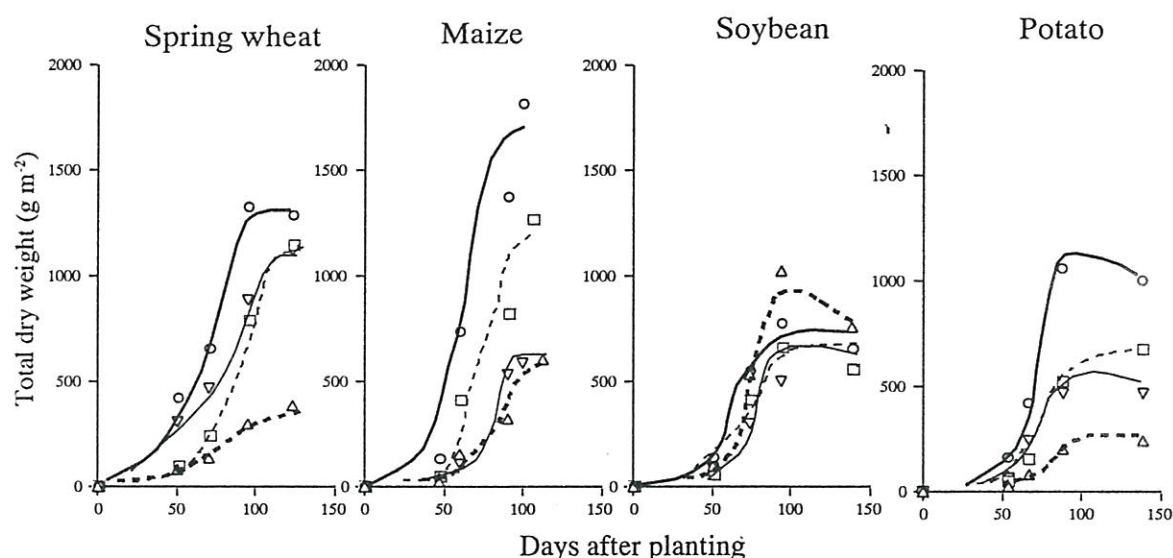


Fig. 2-6 Effect of -N, -P, -K treatment on the accumulation of dry weight.

○ : Control, △ : -N, ▽ : -P, □ : -K

Table 2-8 Relative dry weight at harvest in -N, -P, and -K treatments (control treatment = 100).

Crop	Treatment	Leaves and stems	harvesting organs	Whole plant	Harvest index
Spring wheat	Control	100(598*)	100(600)	100(1277)	0.47
	-N	31	28	30	0.44
	-P	88	88	89	0.46
	-K	83	91	87	0.49
Maize	Control	100(925)	100(781)	100(1820)	0.52
	-N	28	40	33	0.50
	-P	58	81	70	0.50
	-K	27	38	32	0.51
Soybean	Control	100(240)	100(302)	100(658)	0.46
	-N	122	106	115	0.43
	-P	89	82	85	0.44
	-K	117	57	85	0.31
Potato	Control	100(91)	100(912)	100(1003)	0.91
	-N	20	25	25	0.93
	-P	45	70	68	0.94
	-K	73	46	47	0.90

* In the parenthesis the absolute value is shown (g m^{-2}).

2. 各種養分含有率の変遷

窒素、リン、カリウムの含有率(%)は葉、茎のいずれにおいても当該要素の欠乏区において最も低かった (Table 2-9)。ただし、ダイズの -N 区では特に窒素含有率は低下しなかった。各養分とも生育の前半での含有率が高く、収穫期にかけて低下した。当該要素含有率は -N 区の葉では Control 区に比較して低く、特にトウモロコシでは 0.97 と Control 区 (2.27) の 1/2 以下であった。-P 区の葉ではコムギ、バレイショでは 0.42-0.49 と Control 区の 0.37-0.40 より高く、トウモロコシ、ダイズでは変わらなかった。-K 区では Control 区に比較してコムギ、トウモロコシでやや低く、ダイズ、バレイショで高かった。

Table 2-9 Nitrogen, phosphorus, potassium content (%) of leaves and stems at maximum shoot growth stage.

Crop	Treatment	Leaf			Stem		
		N	P	K	N	P	K
Spring wheat	Control	3.71	0.38	3.04	1.19	0.28	2.78
	-N	2.03	0.26	2.76	0.69	0.24	2.13
	-P	4.15	0.24	3.08	1.92	0.17	3.75
	-K	3.19	0.42	0.98	1.05	0.28	1.19
Maize	Control	2.27	0.20	1.52	0.67	0.11	1.06
	-N	0.97	0.11	1.95	0.55	0.19	2.52
	-P	2.27	0.26	1.87	0.90	0.10	1.71
	-K	2.03	0.32	0.41	2.75	0.27	0.62
Soybean	Control	3.51	0.21	1.35	0.93	0.12	1.02
	-N	3.86	0.19	2.13	1.14	0.10	2.01
	-P	3.52	0.14	1.83	1.16	0.07	1.35
	-K	3.96	0.26	0.46	1.74	0.18	0.40
Potato	Control	3.96	0.27	2.81	1.34	0.21	3.74
	-N	2.99	0.35	4.32	1.02	0.61	6.32
	-P	4.91	0.17	4.51	2.34	0.13	6.75
	-K	4.64	0.29	0.85	2.32	0.13	1.22

3. 窒素集積量の変遷

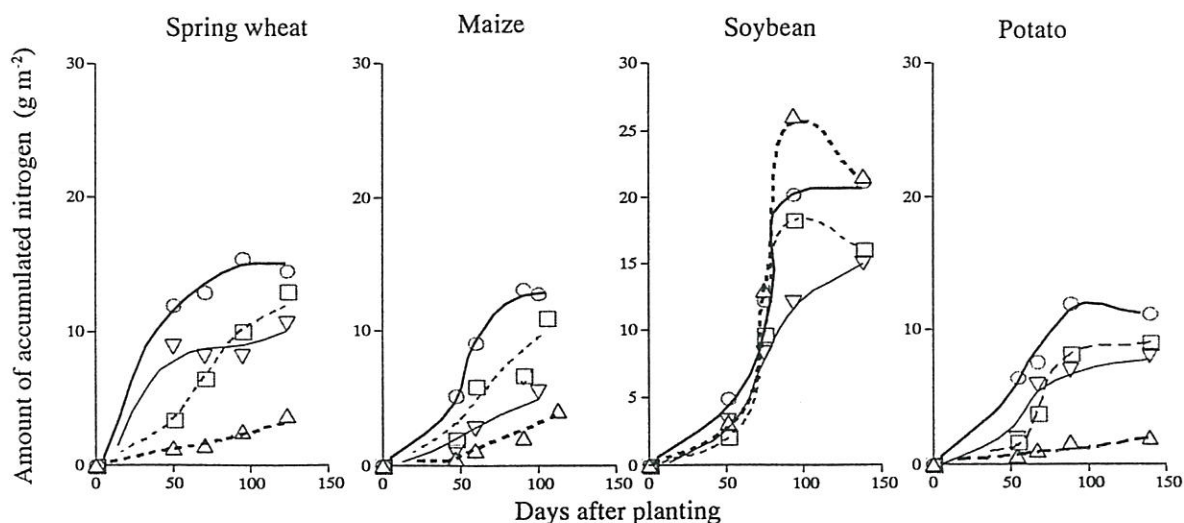


Fig. 2-7 Effect of -N, -P, -K treatment on the accumulation of nitrogen in plant.

O : Control, Δ : -N, ▽ : -P, □ : -K

窒素集積のパターンはほぼ乾物のそれと類似した (Fig. 2-7)。

4. 収穫期における窒素、リン、カリウムの集積量

1) 窒素

収穫期における全窒素集積量は -N 区ではダイズで Control 区とほぼ同様であり、他の 3 作物では Control 区に比較して著しく小さかった (Table 2-10)。トウモロコシの -K 区では全窒素集積量が著しく小さかったが、トウモロコシの -P 区および他の作物の -P、-K 区においては Control 区よりやや小さい程度であった。

2) リン

全リン集積量は -P 区ではいずれの作物でも Control 区より小さかった。-N、-K 区においてもダイズ以外の作物では Control 区よりも小さく、ダイズでは Control 区と変わらなかった。

3) カリウム

全カリウム集積量は -P 区ではいずれの作物でも -K 区で Control 区よりも小さかった。-N 区ではダイズ以外の作物では Control 区よりも小さかったが、ダイズでは Control 区の約 2 倍の値であった。-P 区では Control 区と大差なかった。

Table 2-10 Amount of nitrogen, phosphorus, potassium accumulated in plant (g m^{-2}) at harvest..

Crop	Treatment	N	P	K
Spring wheat	Control	14.4	2.85	10.6
	-N	3.7	0.74	2.7
	-P	12.9	1.64	11.5
	-K	10.5	2.04	6.8
Maize	Control	12.8	2.14	12.0
	-N	4.1	1.32	6.1
	-P	11.0	1.57	9.8
	-K	5.5	0.64	2.4
Soybean	Control	21.1	1.58	7.8
	-N	21.5	1.42	14.4
	-P	16.2	1.02	9.1
	-K	15.0	1.35	2.9
Potato	Control	11.2	2.01	15.4
	-N	1.9	0.74	5.5
	-P	9.1	0.92	12.7
	-K	8.1	0.84	4.6

5. 窒素の利用・分配のパラメーター

Tanaka et al.²⁶⁷⁾ により定義された eq. 2-2 にしたがって窒素の利用・分配におよぼす各種

養分欠乏の影響を検討した (Table 2-11)。

$$Y = N \text{ (w.p.)} \times NE = N \text{ (w.p.)} \times HI \text{ (N)} / NC \text{ (h.o.)} \text{ --- eq.2-2}$$

ここで、Yは収量、N (w.p.) は全窒素集積量、NEは窒素利用効率、HI (N) は窒素に関する収穫指数、NC (h.o.) は収穫部位の窒素含有率である。Table 2-11 に示すように HI (N) は -K 区において Control 区と比較してやや小さい傾向はあるものの、処理間差は小さかった。NC (h.o.) は Control 区と比較して、-N 区では低く、-P 区ではダイズ以外ではやや高く、-K 区ではコムギで低く、トウモロコシでは変わらず、ダイズ、バレイショでは高かった。NEはコムギでは処理間差は小さく、トウモロコシでは Control 区と比較して -N 区で高く、ダイズでは -K 区で低く、バレイショでは -N 区で高く、-P 区と -K 区、特に -K 区で低かった。

Table 2-11 Parameter of nitrogen utilization and distribution

Crop	Treatment	Parameter		
		NE(gDW gN ⁻¹)	HI(N)	NC(h.o.)(%)
Spring wheat	Control	41.8	0.83	1.99
	-N	46.0	0.85	1.84
	-P	41.0	0.84	2.04
	-K	52.4	0.83	1.58
Maize	Control	60.9	0.63	1.04
	-N	76.3	0.67	0.88
	-P	57.7	0.72	1.25
	-K	55.0	0.59	1.07
Soybean	Control	14.3	0.89	6.22
	-N	14.9	0.84	5.65
	-P	15.4	0.88	5.71
	-K	11.5	0.76	6.64
Potato	Control	81.2	0.91	1.12
	-N	115.1	0.88	0.77
	-P	70.4	0.92	1.31
	-K	52.2	0.80	1.53

6. 全窒素に占める遊離アミノ酸の割合

葉における全窒素に対する遊離アミノ態窒素の割合は、コムギの -K 区、バレイショの -N、-P 区でそれぞれの Control 区と比較して高かったが、その他の処理区、作物では処理間差は小さかった (Table 2-12)。茎ではトウモロコシの -P 区では Control 区と比較して高く、コムギの -N 区、ダイズの -N、-P 区で低かったがその他の処理区、作物では処理間差は小さかった。作物間ではダイズの茎において -N 区以外では 15 から 26% とかなり高かった。収穫部位ではトウモロコシの -N、-K 区で Control 区より著しく高く、ダイズの -K 区で高く、バレイショの -N 区で低かった。作物間では特にバレイショにおい

て-N区以外では29から35と極めて高く、遊離のアミノ態窒素が貯蔵的役割を果たしていた。

Table 2-12 Ratio (%) of free amino acids nitrogen to total nitrogen.

Crop	Treatment	Leaf	Stem	Harvesting organs
Spring wheat	Control	4.6	4.7	9.3
	-N	5.8	1.0	9.5
	-P	4.4	6.6	11.6
	-K	12.8	3.9	8.1
Maize	Control	2.1	7.9	10.3
	-N	2.4	9.7	21.2
	-P	2.5	29.7	14.5
	-K	1.8	8.4	25.3
Soybean	Control	2.5	25.7	3.3
	-N	2.5	7.3	2.6
	-P	1.9	15.3	3.7
	-K	2.3	24.0	8.2
Potato	Control	2.1	5.5	29.2
	-N	7.5	6.5	16.0
	-P	5.1	6.8	30.5
	-K	3.8	3.2	34.9

7. 登熟中期のアミノ酸組成

遊離アミノ酸およびタンパク態アミノ酸組成は葉、収穫部位では処理の影響をほとんど受けなかった (Fig. 2-8, 9)。茎では葉と収穫部位の場合と比較すると処理の影響がみられ、トウモロコシの-P区ではアスパラギン酸の割合が少なく、 γ -アミノ酪酸が著しく多く、ダイズの-N区ではアスパラギンがControl区の79%と比較して約50%と少なく、バレイショの-K区ではアスパラギン酸、グルタミン酸が減少し、それぞれのアミドが増加した。一方、タンパク態アミノ酸組成は部位、処理、種による違いがほとんど認められなかった。

8. 葉の Rubisco 集積量

全ての作物で処理に関わらず、葉のRubisco集積量は栄養生長期から地上部最大期にかけて最大値に達した (Fig. 2-10)。Rubisco集積量はコムギ、トウモロコシ、バレイショでは-N区で最も小さく、Control区で最も大きかった。ダイズでは-N区で最も大きく、-P区で最も小さかった。コムギとトウモロコシではControl区と-P区間のRubisco集積量の差は生育の後半により顕著となった。ダイズ以外の作物では-P区でその集積速度が他の処理区に比較して小さかった。Control区でのRubiscoの最大の集積量はダイズ>コム

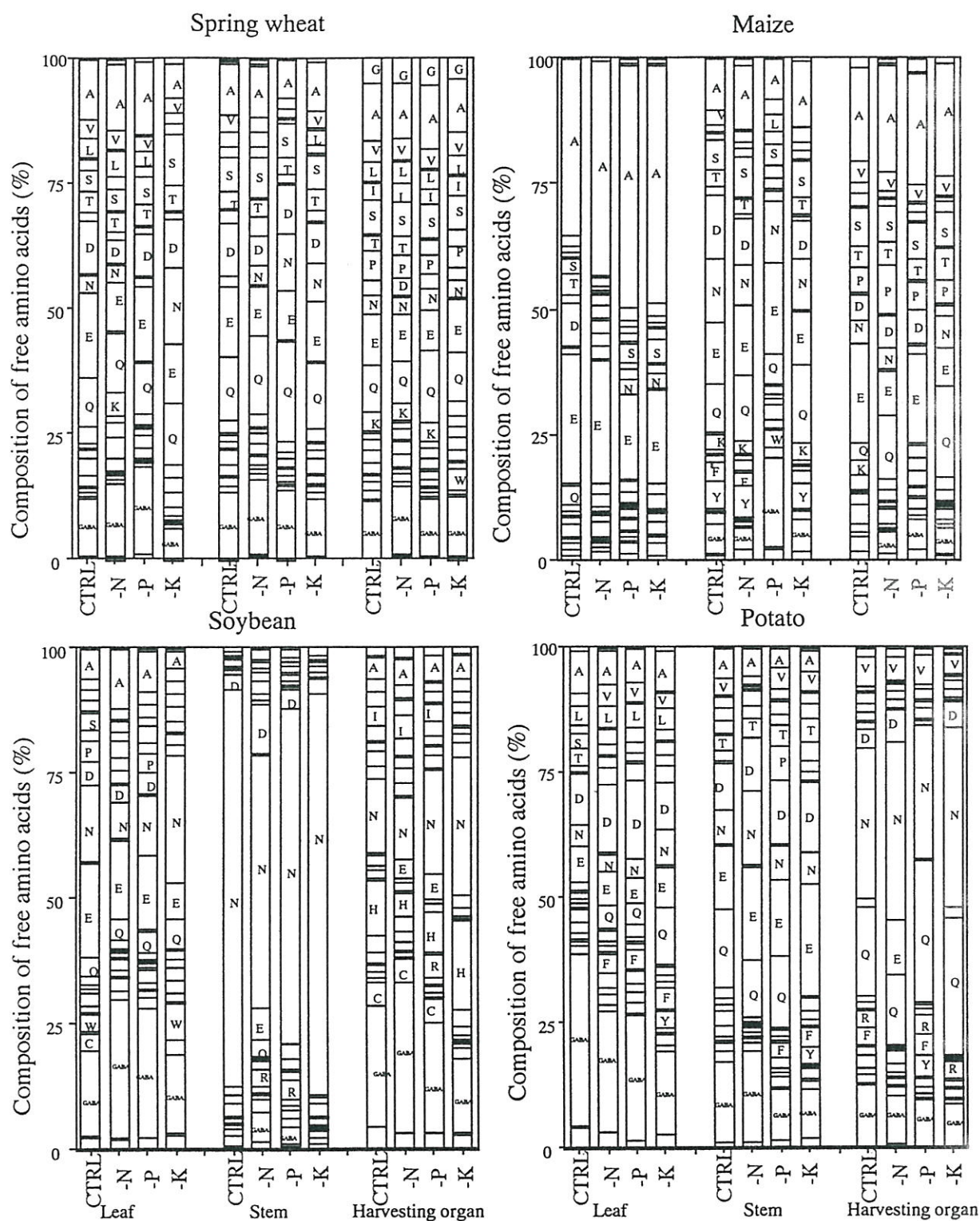


Fig. 2-8 Percentage of free amino acids at mid-maturation stage (Total free amino acids = 100). G, Glycine; A, Alanine; V, Valine; L, Leucine; I, Isoleucine; S, Serine; T, Threonine; P, Proline; D, Aspartic acid; N, Asparagine; E, Glutamic acid; Q, Glutamine; K, Lysine; H, Histidine; R, Arginine; F, Phenylalanine; Y, Tyrosine; C, Cysteine; W, Tryptophan; M, Methionine; GABA, γ -aminobutyric acid; others, Other amino acids.

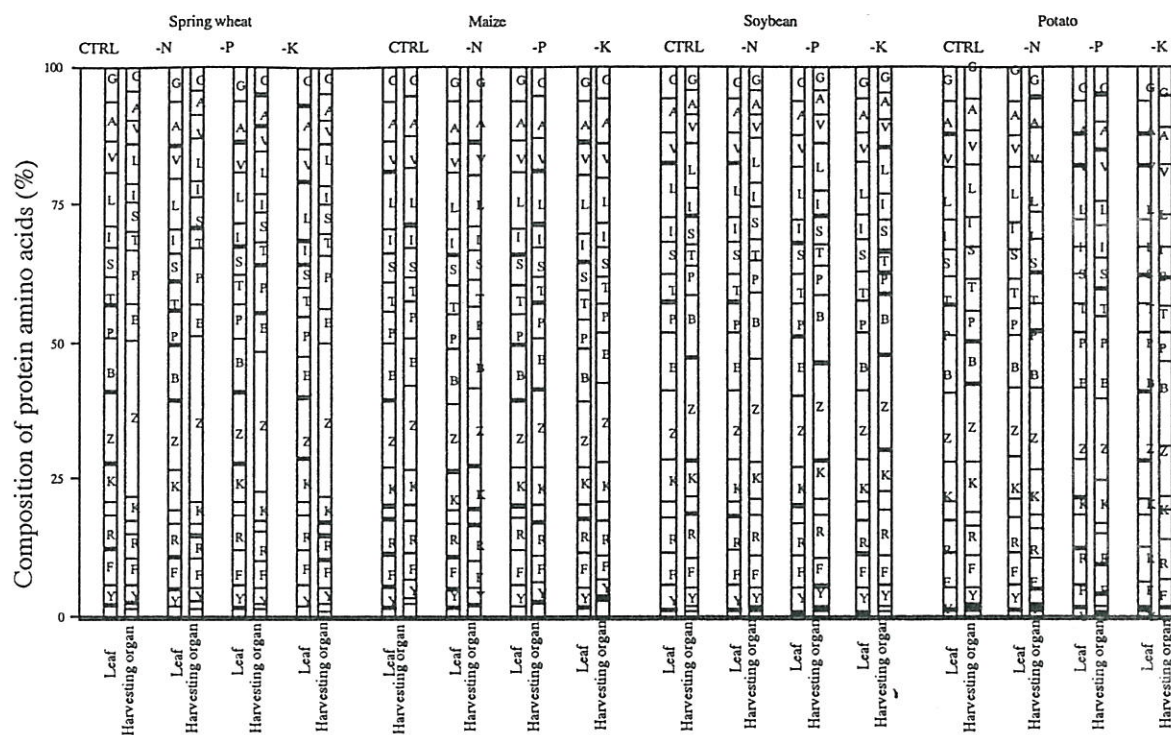


Fig. 2-9 Percentage of protein amino acids at mid-maturation stage (Total protein amino acids = 100). G, Glycine; A, Alanine; V, Valine; L, Leucine; I, Isoleucine; S, Serine; T, Threonine; P, Proline; B, Aspartic acid + Asparagine; Z, Glutamic acid + Glutamine; K, Lysine; H, Histidine; R, Arginine; F, Phenylalanine; Y, Tyrosine; M, Methionine; C-C, Cystine.

ギ=バレイシヨ>トウモロコシの順であり、トウモロコシで特に小さかった。

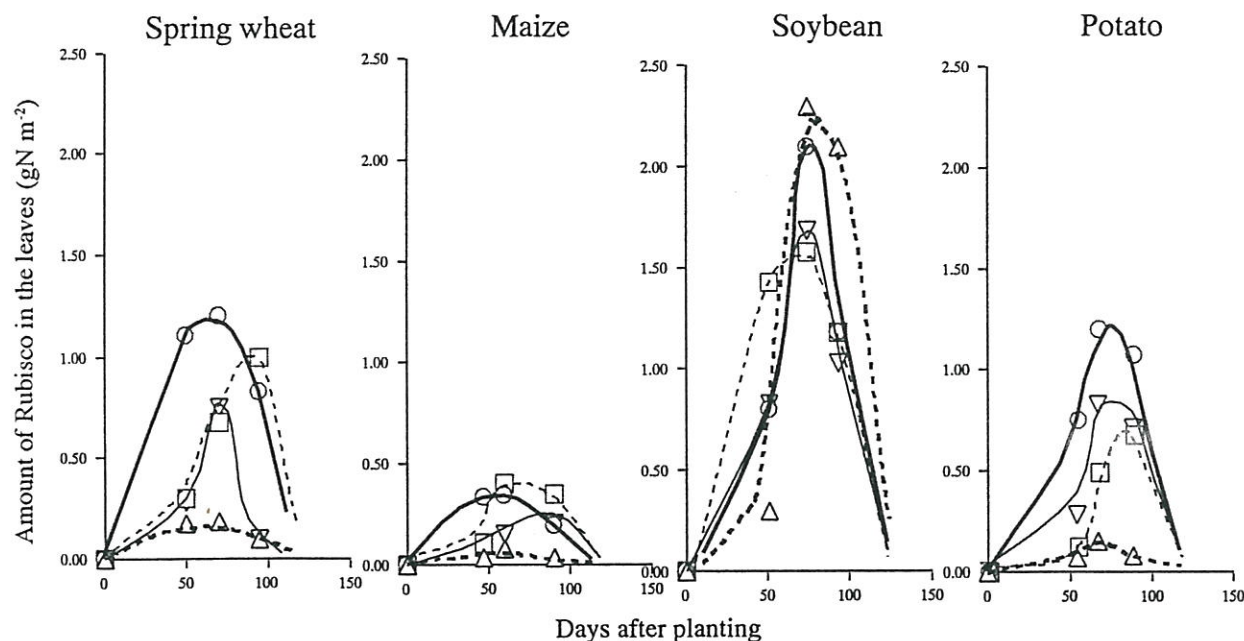


Fig. 2-10 Effect of -N, -P, -K treatments on the accumulation of Rubisco in the leaves.

9. 葉の全窒素に占める Rubisco 態窒素の割合

トウモロコシ、ダイズ、バレイショでは生育時期、処理による変化は小さかった (Table 2-13)。ハルコムギでは Control 区、-N 区、-P 区では生育時期、処理による変化は小さかったが、-K 区では栄養生長期と登熟初期に低かった。

Table 2-13 Ratio of Rubisco-N to total-N in the leaves of spring wheat, maize, soybean, and potato (g Rubisco-N g⁻¹total-N).

Crop	Treatment	Growth stage		
		Vegetative	MSG	Early maturation
Spring wheat	Control	0.174	0.188	0.176
	-N	0.176	0.238	0.134
	-P	0.156	0.208	0.316
	-K	0.058	0.220	0.034
Maize	Control	0.086	0.054	0.026
	-N	0.058	0.058	0.022
	-P	0.074	0.094	0.098
	-K	0.136	0.108	0.046
Soybean	Control	0.234	0.296	0.246
	-N	0.128	0.336	0.290
	-P	0.092	0.320	0.240
	-K	0.172	0.330	0.242
Potato	Control	0.186	0.288	0.294
	-N	0.190	0.305	0.311
	-P	0.100	0.200	0.228
	-K	0.270	0.268	0.284

MSG, maximum shoot growth stage.

10. クロロフィルに対する Rubisco 態窒素の比率

クロロフィルに対する Rubisco 含有量の比率のはコムギでは -N 区と -P 区ではいずれの生育ステージにおいても Control 区と大差なかったが、-K 区では栄養生長期と登熟初期に極めて低かった (Table 2-14)。

トウモロコシは -K 区では各生育時期とも Control 区より高く、-N 区では Control 区と大差なく、-P 区では登熟初期に Control 区より高かった。Control 区、-N 区、-K 区では生育に伴って低下し、-P 区ではほぼ一定に保たれていた。

ダイズでは栄養生長期では Control 区と -K 区において -N 区あるいは -P 区よりも高く、地上部最大期では Control 区以外で高まった。Control 区では生育を通してほぼ一定に保たれていた。

バレイショでは栄養生長期の処理間の差は比較的小さく、地上部最大期にかけていず

れの処理区でも高まった。

Table 2-14 Ratio of Rubisco-N to chlorophyll content in the leaves of spring wheat, maize, soybean, and potato (g Rubisco-N gChlorophyll⁻¹).

Crop	Treatment	Growth stage		
		Vegetative	MSG	Early maturation
Spring wheat	Control	0.73	0.69	0.61
	-N	0.74	1.07	0.67
	-P	0.73	0.79	0.89
	-K	0.22	0.78	0.14
Maize	Control	0.29	0.13	0.06
	-N	0.20	0.21	0.09
	-P	0.29	0.26	0.27
	-K	0.77	0.39	0.22
Soybean	Control	1.21	1.35	1.33
	-N	0.73	1.43	1.66
	-P	0.56	1.54	1.19
	-K	1.08	2.09	1.41
Potato	Control	0.96	1.36	1.07
	-N	0.89	2.00	1.00
	-P	0.61	1.23	0.94
	-K	1.00	1.39	1.67

MSG, maximum shoot growth stage.

1 1 . 地上部最大期の Rubisco 態窒素およびクロロフィルに対する CGR の比率

コムギの Control 区と -N 区、トウモロコシの -N 区と -K 区、ダイズの -P 区では各作物での他の処理区に比較して高かった (Table 2-15)。バレイショでは処理間差は小さかった。Control 区ではトウモロコシ>コムギ>バレイショ>ダイズの順で高かった。

地上部最大期のクロロフィルに対する CGR の比率はコムギとバレイショの -N 区、トウモロコシの -N、-K 区、ダイズの -P、-K 区で他の処理区よりも高かった (Table 2-15)。C 区ではバレイショ>コムギ=トウモロコシ>ダイズの順であった。

考 察

窒素の欠乏症状として全窒素に占める遊離化合物態窒素の割合が低下することが知られている^{60, 242-244)}。また窒素欠乏下では特に下位葉のタンパク質の分解、再転流が高まる²⁴⁵⁾。リン欠乏では窒素欠乏の場合とは逆に遊離態窒素の割合が高まり^{242, 246, 247)}、これは主にアミノ酸からタンパク質への合成過程が阻害されることに起因すると報告されている²⁵⁷⁾。カリウム欠乏においてもリン欠乏時と同様に茎葉に遊離態窒素化合物が蓄積するが

Table 2-15 Effect of -N, -P, and -K treatments on CGR per amount of Rubisco-N and CGR per unit amount of chlorophyll at the MSG stage.

Crop	Treatment	CGR per unit amount of Rubisco-N	CGR per unit amount of chlorophyll
		(gDW gRubisco ⁻¹ d ⁻¹)	(gDW gChlorophyll ⁻¹ d ⁻¹)
Spring wheat	Control	30.1	20.8
	-N	33.9	36.0
	-P	21.7	17.0
	-K	22.3	17.4
Maize	Control	89.5	11.2
	-N	128.0	37.4
	-P	63.0	15.9
	-K	119.0	46.1
Soybean	Control	6.2	8.4
	-N	4.5	6.4
	-P	13.2	20.2
	-K	7.4	15.4
Potato	Control	22.0	29.8
	-N	36.0	55.6
	-P	21.7	26.7
	-K	12.7	17.6

242, 248, 261)、この場合は転流過程の阻害と考えられている^{249, 250-252)}。

このように窒素、リン、カリウムが欠乏することにより窒素の代謝や転流が乱されることが知られているが、これらの要素の欠乏が作物の生産と窒素の利用・分配に与える影響を与えるかについては不明な点が多い。本実験で使用した3要素試験区は実験年までに74年間にわたって窒素、リン、あるいはカリウムを施与せずに作物を栽培してきた圃場であり、岡島・今井²⁴¹⁾の報告によれば土壌溶液中の当該要素含有率は極めて低い値であり、長年の栽培試験の結果からもほぼ定常的な養分欠乏状態に至っていると考えられる。まず、炭素・窒素の利用・分配に対してこれらの要素欠乏が及ぼす影響について検討する。

各要素欠乏区における収穫期の茎葉重と収穫部位重をControl区と比較した時の低下割合はほぼ同様であり、結果として乾物に関する収穫指数は各作物において処理による影響をあまり強くは受けなかった (Fig 2-6, Table 2-8)。つまり乾物の分配機構は要素欠乏の影響を強く受けないとみなされ、要素欠乏による光合成能の低下があるとしても²⁵³⁻²⁵⁵⁾、収穫部位への光合成産物の転流・分配割合はほとんど影響を受けていなかったと考えられる。

窒素に関してみると収穫期の全作物体の窒素集積量は、-N区においてダイズを除いた各作物で少なく、特にバレイショでは極めて少ない (Fig. 2-7)。一方、-P、-K区におい

ではその窒素含有率も Control 区と比較してほぼ同じかむしろ高く、収穫期の全窒素集積量もそれぞれの処理における乾物集積量の低下と同程度にとどまった (Table 2-9)。窒素集積は生育に対応して進行しており、圃場レベルでのリンあるいはカリウム欠乏による窒素集積に対する阻害効果は認められなかった。

窒素の利用・分配のパラメーターによると、窒素利用効率 (NE) はバレイショ以外では処理による差は小さく、バレイショでは -N 区で高まり、-K 区で低下した (Table 2-11)。バレイショはその生育の特性上、栄養生長と生殖生長が平行して進行するため要素欠乏の影響を強く受けたと考えられる。この作物では乾物重に関する収穫指数 (HI (DW)) がいずれの処理区においても 0.90 以上と他の作物の倍近く高く (Table 2-8)、光合成能の要素欠乏による影響を収量においても強く反映したともみなされる。窒素集積量に関する収穫指数 (HI (N)) は -K 区で Control 区と比較してやや低下する作物も見られるが、処理間差は小さかった (Table 2-8)。収穫部位の窒素含有率 (NC (h.o.)) に関しては特に傾向としてあげられるのは -N 区において小さいという点である。このようにバレイショ以外の作物の NE、全作物での HI (N) は比較的安定しており、要素欠乏により窒素の利用・分配の機構は大きくは変動しなかったと考えられる。

窒素代謝に関しては、遊離アミノ酸組成は作物のみならず器官の間で特徴的な傾向が認められた (Fig. 2-8)。特徴的な点を挙げると、トウモロコシの葉でアラニンが、ダイズの茎でアスパラギンが、バレイショの収穫部位でアスパラギンとグルタミンのアマイドが多く認められた。トウモロコシの茎では -P 区で γ -アミノ酪酸が多く、ダイズの茎の -N 区でアスパラギンが少なく、バレイショでは -K 区で葉のアマイドが多く、茎のアスパラギン酸が少なく、-N 区でグルタミン酸が多かった。全般的な傾向として、これらの組成に対して各要素欠乏の及ぼす影響は小さかったが、同様のことはソルガムにおいても報告されている²⁵⁶⁾。一方、タンパク態のアミノ酸組成は処理による影響を全く受けず、作物間、器官間でもコムギの収穫部位においてグルタミン+グルタミン酸の割合がやや高いことを除くと極めてよく一致していた (Fig. 2-9)。

-K 区の茎の窒素含有率がコムギ以外の作物で地上部最大期において Control 区の約 2 倍と高かった (Table 2-9)。コムギにおいては -K 区でもカリウム吸収量が他作物より多く、カリウム欠乏があまり強く進行していなかったものと考えられる。そのため茎の窒

素含有率もあまり高まらなかったと考えられる。コムギ以外の作物では登熟中期の-K区の茎に窒素の集積が見られたが、茎の全窒素に占める遊離アミノ酸態窒素の割合、および遊離アミノ酸組成は処理による変化は小さいことから窒素の代謝異常が起きたとは考えにくい。むしろ、カリウム欠乏により作物の生育が衰えたにも関わらず、窒素集積能があまり低下しないために生育に必要以上の窒素の集積が起こり、茎に一時的に貯蔵・集積したものと考えられる。

Rubisco-Nの集積は乾物集積のパターンとほぼ類似しており、ダイズ以外ではControl区で高かった。葉の全窒素に対するRubisco-Nの比率を生育を追ってみると、地上部最大期においてはいずれの作物でも処理間差が小さかった (Table 2-13)。しかしながら、栄養生長期においてはいずれの作物でもRubisco-Nの全窒素に対する比率はControl区に比較して要素欠乏区で上昇あるいは低下し、一定の傾向は認められなかった。このような生育初期における養分欠乏によるRubiscoへの窒素の投資の変化は対処的な変化とも考えられるが、地上部最大期にかけてほぼ一定の値に収束していった。また、登熟初期においてもこの比率は変動を示し、その理由の一つとしては再転流に対する養分欠乏の影響も考えられる。いずれにしても窒素のRubisco-Nへの分配に関しても養分欠乏による変動は何らかの安定化作用を受けているものと考えられた。

Table 2-14に示すように、葉の窒素に対するRubisco-Nの比率の処理による変動に比較して、クロロフィルに対するRubisco-Nの比率はより大きく変動した。すなわちRubiscoとクロロフィルは養分欠乏に対して同調していなかった。

乾物生産におけるRubiscoの役割を評価するのにeq. 2-3を導入した。

$$\text{CGR} = (\text{CGR/Rubisco}) \times \text{Rubisco} \text{ --- eq. 2-3}$$

Table 2-15に示すように、-N区では特にトウモロコシとバレイショではCGR/Rubiscoの値がControl区に比較して著しく高まり、窒素欠乏により減少したRubisco量を補償していると考えられた。-P区ではCGR/RubiscoはコムギとトウモロコシではControl区に比較して約30%低下したが、ダイズでは2倍に高まり、バレイショでは変化がほとんどなかった。-K区ではハルコムギとバレイショではCGR/Rubiscoは低下し、トウモロコシではやや高まり、ダイズでは変化しなかった。このように乾物生産におけるRubiscoの役割は処理により変動を示すものの、窒素の分配の機構はかなり安定な機構であると考えら

れた。

これまでの報告によるとリン欠乏、カリウム欠乏のいずれにおいてもアマイド^{242, 247, 249, 258)}、アルギニン^{246, 249, 259)}、特にカリウム欠乏ではプトレシン²⁶⁰⁾といった炭素／窒素比が低い窒素化合物などが多く集積する傾向が報告されており、窒素代謝、炭素代謝に著しい変動が起こっていることが指摘されている。しかしながら、これらの実験は主に水耕栽培により、極めて厳しい欠乏条件下で調査した結果であり、圃場実験のように登熟まで育てることは不可能と考えられ、このことが本実験とは異なる結果を示したものと考えられる。

つまり本実験のような圃場レベルで認められる要素欠乏状態では当該要素集積能と乾物生産能は著しく低下するが、窒素の分配・利用機構および窒素の代謝機構は要素欠乏により引き起こされた収量の著しい低下を説明するほど大きく変動はしなかった。ダイズは窒素固定を行うため、-N区を例外とすれば、いずれの作物においてもこの傾向は同様であった。従って、登熟に際して、茎葉の構成窒素化合物が分解され、茎を経て収穫部位で再合成される過程は極端な養分欠乏条件下でないかぎり、変動するような機構ではないと考えられた。

2-3. 炭素・窒素化合物の再構成過程に及ぼす窒素処理の影響

窒素は作物の生産性を強く支配しており、体内の窒素含有率は施肥窒素レベルにより容易に変化する。そこで本節では体内の窒素含有率の変動が炭素・窒素化合物の再構成過程にどのような影響をもたらすのかを解析した。前節では、窒素欠乏処理によって炭素・窒素化合物の再構成過程はほとんど影響されないことを示したが、本節では窒素を多量に施与した場合の反応に重点をおいて調査した。

実 験 方 法

供試作物、栽培方法および試料採取法

1988年に2-1節と同様な方法でイネ、春播コムギ（以下コムギ）、トウモロコシ、ダイズ、バレイショを栽培した。窒素処理として0 kgN ha⁻¹ (0N区)、100 kgN ha⁻¹ (100N区)、300 kgN ha⁻¹ (300N区)、600 kgN ha⁻¹ (600N区)を設け、それぞれに対応する窒素を硫酸として施与し、各区にリン、カリウムを過リン酸石灰、硫酸カリウムでP₂O₅、K₂Oとしてそれぞれ100 kg ha⁻¹の割合で全層施肥した。なお600N区は300 kgN ha⁻¹を基肥として施用し、地上部最大期に残りの300 kgN ha⁻¹（硫酸）を液肥として追肥した。播種日、試料

Table 2-16 Sampling days after sowing at each growth stage in crops.

Crop	Growth stage						
	Vegetative stage	MSG stage	Mid-maturation stage	Harvest			
				N application (kg ha ⁻¹)			
				0	100	300	600
Rice*	50	75	95	123	123	131	131
Spring wheat	47	60	81	113	100	111	116
Maize	51	74	94	138	138	138	138
Soybean	50	79	99	124	128	128	128
Potato	54	67	88	139	139	121	121

* In rice, sampling days were followed after transplanting.

採取日を Table 2-16 に示した。

試料採取方法は2-1節に準じた。なお、ダイズについてはアミノ酸類の他にアラントインおよびアラントイン酸（以下アラントイン類）を分析した。アラントイン類窒素、硝酸態窒素、アンモニア態窒素の分析に関しては登熟中期までは枯死葉、枯死葉柄は試料に加えなかった。硝酸態窒素含有量を安藤・緒方の方法²⁶²⁾に従い求め、ケルダール法で求

めた値と合わせて全窒素量とした。アンモニア態窒素は試料を脱塩水で30分間浸透抽出した後、抽出液を3,000rpmで30分間遠心分離し、得られた上澄液を微量拡散法とフェノールニトロプルシッド法を組み合わせ測定した。ダイズについては脱脂した試料を用いアンモニアと同様に抽出した上澄液を用いてアラントイン、アラントイン酸をYangらの方法²⁶³⁾で測定した。窒素の画分に関しても2-1節と同様に行ったが、硝酸態窒素をエタノール画分に加えて計算した。Rubiscoの分析は2-2節に準じた。

結 果

1. 収量と収穫指数

100 N区の収量 (g m^{-2}) はイネで540、ハルコムギで600、トウモロコシで781、ダイズで302、バレイショで912であり、平均的な収量と比較してハルコムギが高く、他の作物ではほぼ同様であった (Table 2-17)。収穫時の全重は100 N区と比較して0 N区ではダイズ以外の作物で1/4-1/2と低く、ダイズではやや多かったほか、300 N区ではバレイショでは変わらず、イネ、ハルコムギ、トウモロコシでやや多く、ダイズでは75%も多かった。600 N区では300 N区とほぼ同様であった。

収穫指数はイネで低く、バレイショで高く、窒素処理によりトウモロコシの0 N区で

Table 2-17 Dry weight (kg ha^{-1}) of the leaves, stems and grains or tubers at harvest and harvest index of dry weight.

Crop	N-application (kgN ha^{-1})	Leaves and stems	Grains or tubers	Total	Harvest index of dry weight
Rice	0	479	281	760	0.37
	100	876	540	1416	0.38
	300	964	606	1570	0.39
	600	927	492	1419	0.35
Spring wheat	0	211	169	380	0.44
	100	677	600	1277	0.47
	300	775	688	1463	0.47
	600	883	607	1490	0.41
Maize	0	294	315	609	0.52
	100	1039	781	1820	0.43
	300	1280	955	2235	0.43
	600	1350	952	2302	0.41
Soybean	0	434	321	755	0.43
	100	353	302	655	0.46
	300	618	529	1147	0.46
	600	602	518	1120	0.46
Potato	0	18	228	246	0.93
	100	91	912	1003	0.91
	300	177	855	1032	0.83
	600	171	867	1038	0.84

やや高く、バレイショの300N、600N区で低かったが、イネ、コムギ、ダイズではほとんど変化しなかった。

2. 生育に伴う乾物重の変遷

100 N区における全乾物重の集積はイネ、トウモロコシでは収穫期まで継続したが、コムギ、ダイズ、バレイショでは登熟中期で頭打ちとなった (Fig. 2-11)。0N 区ではイネ、コムギ、トウモロコシでは収穫期まで乾物集積が続いたが、他の作物では登熟中期で頭打ちとなった。300N 区ではバレイショは登熟中期で頭打ちとなったが、他の作物では収穫期まで全乾物重が増加した。600 N区では300 N区とほぼ同様の傾向であった。

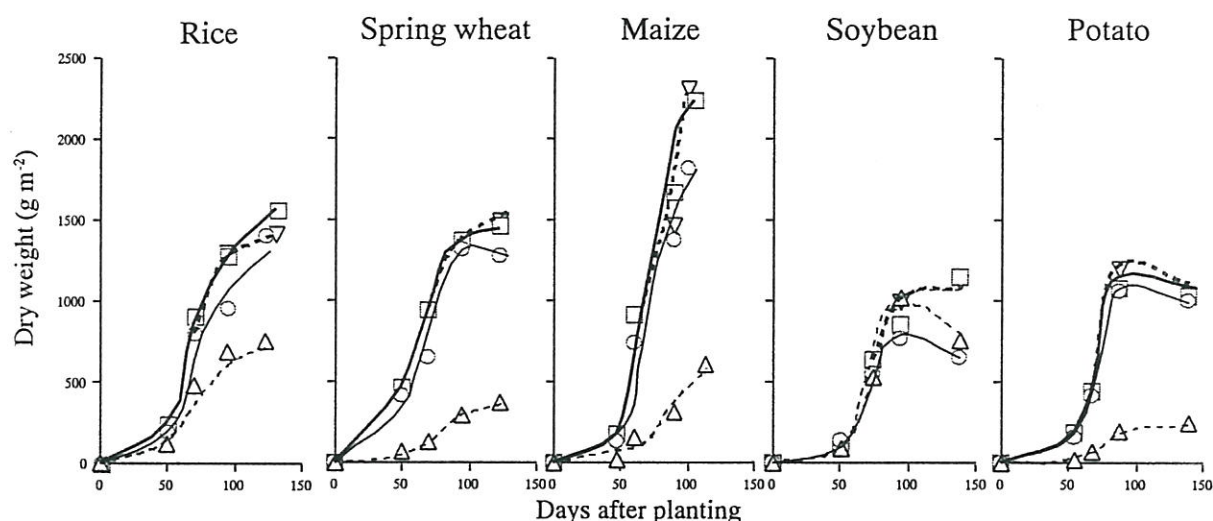


Fig. 2-11 Effect of nitrogen application on dry weight accumulation.

○ : Control, Δ : 0N, ▽ : 300N, □ : 600N

全乾物重はダイズ、バレイショ以外の作物では窒素施肥量の増大にともない増加した。ダイズでは登熟中期までは処理間で大差なく、収穫期で300 N、600 N区で高くなった。バレイショでは0 N区で常に低かったが、100 N区と300 N区の間の差は小さかった。いずれの作物においても300 N区と600 N区の差は小さかった。

収穫部位はバレイショ以外の作物では地上部最大期前後から肥大を開始し、登熟中期以降急速に集積した。バレイショでは栄養生長期からすでに収穫部位の肥大が開始した。

3. 窒素含有率の変遷

茎葉の窒素含有率はいずれの作物においても生育に伴って低下する傾向が認められた

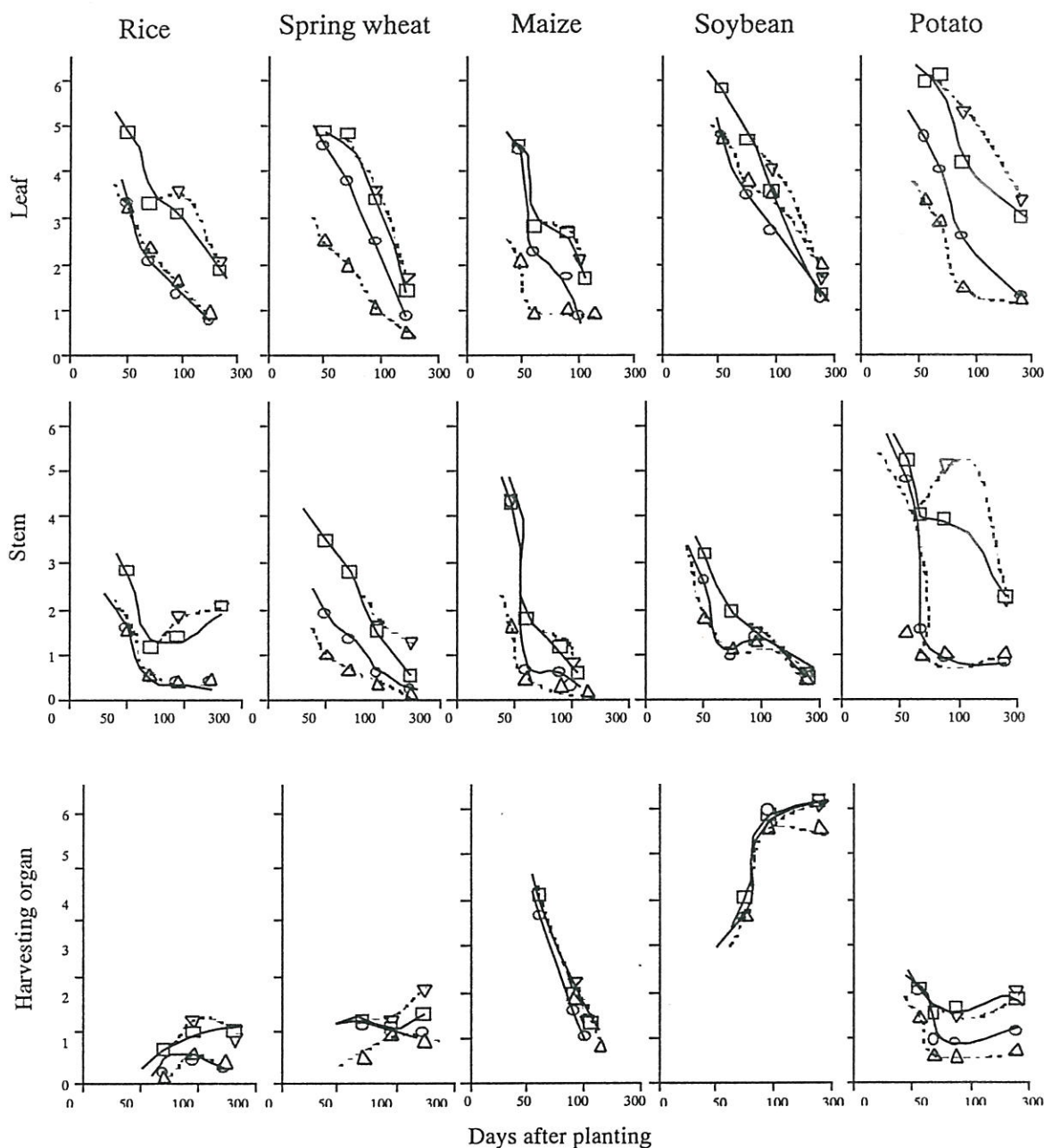


Fig. 2-12 Change in the nitrogen content of each organ.

○ : Control, △ : 0N, ▽ : 300N, □ : 600N

が、イネの茎においては地上部最大期以降に0、100 N区では不変で、300、600 N区ではむしろ高まり、茎に窒素を集積した (Fig. 2-12)。イネ、ダイズ以外の作物では窒素施与量が増すにつれて茎葉の窒素含有率が上昇した。イネでは0 N区と100 N区の差は小さかったが、ダイズではむしろ0 N区で100 N区よりもやや高く推移した。

収穫部位の窒素含有率は窒素施与量が多い処理区で若干高かったが、茎葉と比較するとその上昇割合は極めて小さかった。

4. 窒素集積量の変遷

100N区における窒素の集積はイネでは収穫期まで窒素集積が続いたが、他の作物では登熟中期まで継続した後頭打ちとなった (Fig. 2-13)。0N区ではイネ、ダイズでは登熟中期で頭打ちとなったが、他の作物では収穫期まで窒素集積が継続した。300N区ではイネ、ダイズでは収穫期まで窒素集積が続き、コムギでは地上部最大期で、トウモロコシ、バレイショでは登熟中期で頭打ちとなった。600N区ではイネ、ダイズ、バレイショでは登熟中期に300N区より窒素集積量が高かったが、収穫期には300N区と大差なかった。なお、この際バレイショでは窒素の集積量が著しく減少し、降雨による流亡も考えられたが、その原因は明らかではない。コムギでは300N区と比較して収穫期まで高めに推移した。トウモロコシでは収穫期まで集積が続いた。

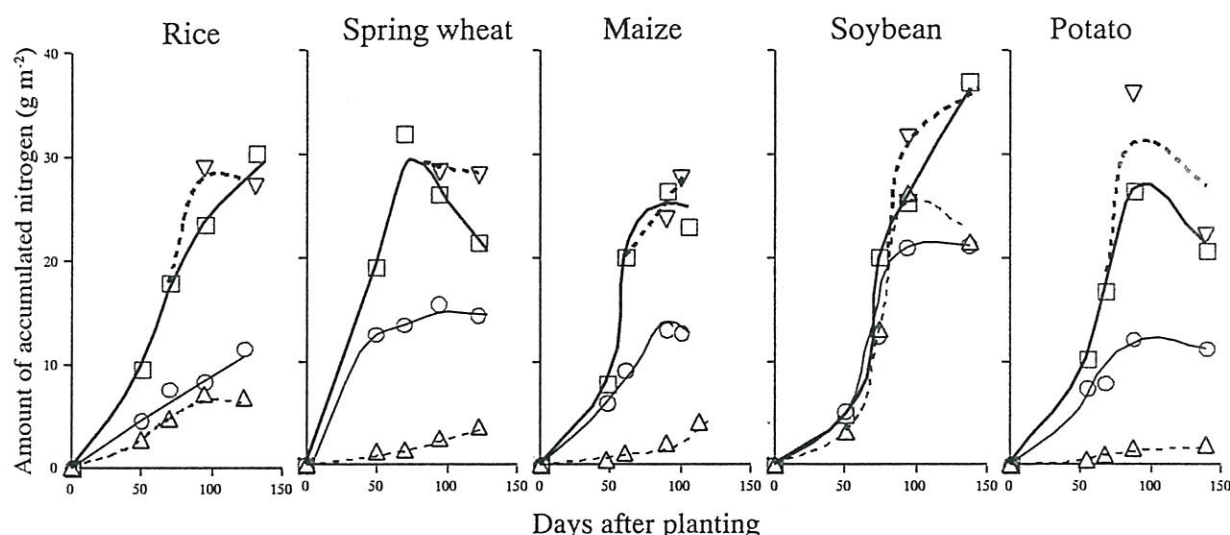


Fig. 2-13 Effect of nitrogen application on the accumulation of nitrogen.

○ : Control, Δ : 0N, ▽ : 300N, □ : 600N

300N区では、収穫期の窒素集積量は、ダイズ>イネ>トウモロコシ、コムギ、バレイショの順であったが、地上部最大期においてはコムギ>ダイズ、トウモロコシ>イネ、バレイショの順であった。

いずれの作物においても収穫部位への窒素の集積は、地上部最大期前後から開始し、収穫期まで継続するが、特に登熟中期以降の集積速度が大きかった。ダイズ以外の作物では窒素施与量の増加に伴って、収穫期に茎葉に残る窒素量が増大した。

5. 窒素の収穫指数

100 N区における窒素の収穫指数 (HI (N)) は、ダイズ、バレイショ、ハルコムギ>トウモロコシ、イネの順であった (Table 2-18)。0 N区と100 N区間のHI (N) の違いは小さく、いずれの作物でも0.05以下であった。また、HI (N) はイネ、コムギ、トウモロコシでは100 Nから600 Nへと窒素レベルを高めるに伴い低下したが、ダイズとバレイショでは窒素施肥量に関わらずほぼ一定であった。

Table 2-18 Harvest index of nitrogen.

Crop	N application (kg N ha ⁻¹)	Harvest index of nitrogen
Rice	0	0.60
	100	0.62
	300	0.40
	600	0.33
Spring wheat	0	0.85
	100	0.83
	300	0.74
	600	0.60
Maize	0	0.67
	100	0.63
	300	0.55
	600	0.48
Soybean	0	0.84
	100	0.89
	300	0.88
	600	0.86
Potato	0	0.89
	100	0.91
	300	0.78
	600	0.78

6. 茎葉からの収穫部位への窒素の再転流率と収穫部位への寄与率

1) 再転流率

地上部最大期から収穫期にかけて減少した茎葉の窒素量を地上部最大期の茎葉の集積窒素量で割りその再転流率を求めると、100 N区ではコムギ、ダイズ、バレイショ>トウモロコシ>イネの順であった (Table 2-19)。コムギ、トウモロコシ、バレイショは0Nから100Nへと施肥窒素量の増加に伴って、寄与率も高まったが、イネとダイズではその変化は小さかった。100 Nから300 Nにかけてイネとバレイショでは低下し、他の作物では変化しなかった。また、300 Nから600 Nへと高まるとハルコムギとトウモロコシでも低下した。

2) 寄与率

葉と茎に集積した窒素が地上部最大期から収穫期にかけて減少した量の収穫部位の窒素中に占める割合(寄与率)は、100 N区ではコムギ>トウモロコシ>ダイズ、バレイショ>イネの順であった (Table 2-19)。コムギ、トウモロコシ、バレイショでは施肥窒素量が0Nから300 Nへと高まるに伴って寄与率が高まった。イネでは0Nから100 Nにかけての変動は小さく、それ以上の施肥により低下した。ダイズでは窒素レベルの変化にはほとんど影響を受けなかった。ダイズとバレイショ以外の作物では300N以上の施肥により低下した。

Table 2-19 N-redistribution rate and N-contribution rate in leaves and stem during maturation.

Crop	N application kg ha ⁻¹	N-redistribution rate	N-contribution rate
Rice	0	37.6	34.3
	100	39.0	32.5
	300	—	—
	600	—	—
Spring wheat	0	58.3	21.9
	100	81.1	76.8
	300	81.3	146.4
	600	63.2	106.1
Maize	0	—	—
	100	51.2	54.0
	300	50.2	75.6
	600	32.2	45.4
Soybean	0	75.5	39.7
	100	83.1	40.7
	300	80.7	40.9
	600	78.8	40.5
Potato	0	68.6	27.7
	100	82.2	46.5
	300	67.1	58.9
	600	65.4	53.5

7. 画分別窒素

葉ではSP画分とSDS画分がダイズを除いた作物ではその大半を占めており、ダイズではSDS画分が少なく、SP画分と残渣画分が多かったが、処理の影響は小さかった (Fig. 2-14)。

茎ではダイズ以外の作物では全窒素に対するエタノール画分の窒素割合が100N以上の施肥により著しく高まった。ダイズは他作物と比較して低窒素レベルからエタノール画分の窒素割合が約50%と高かった。エタノール画分の窒素割合が高まるに連れてイネ、ハルコムギ、バレイショではSDS画分と残渣画分の両者が低下し、トウモロコシでは残

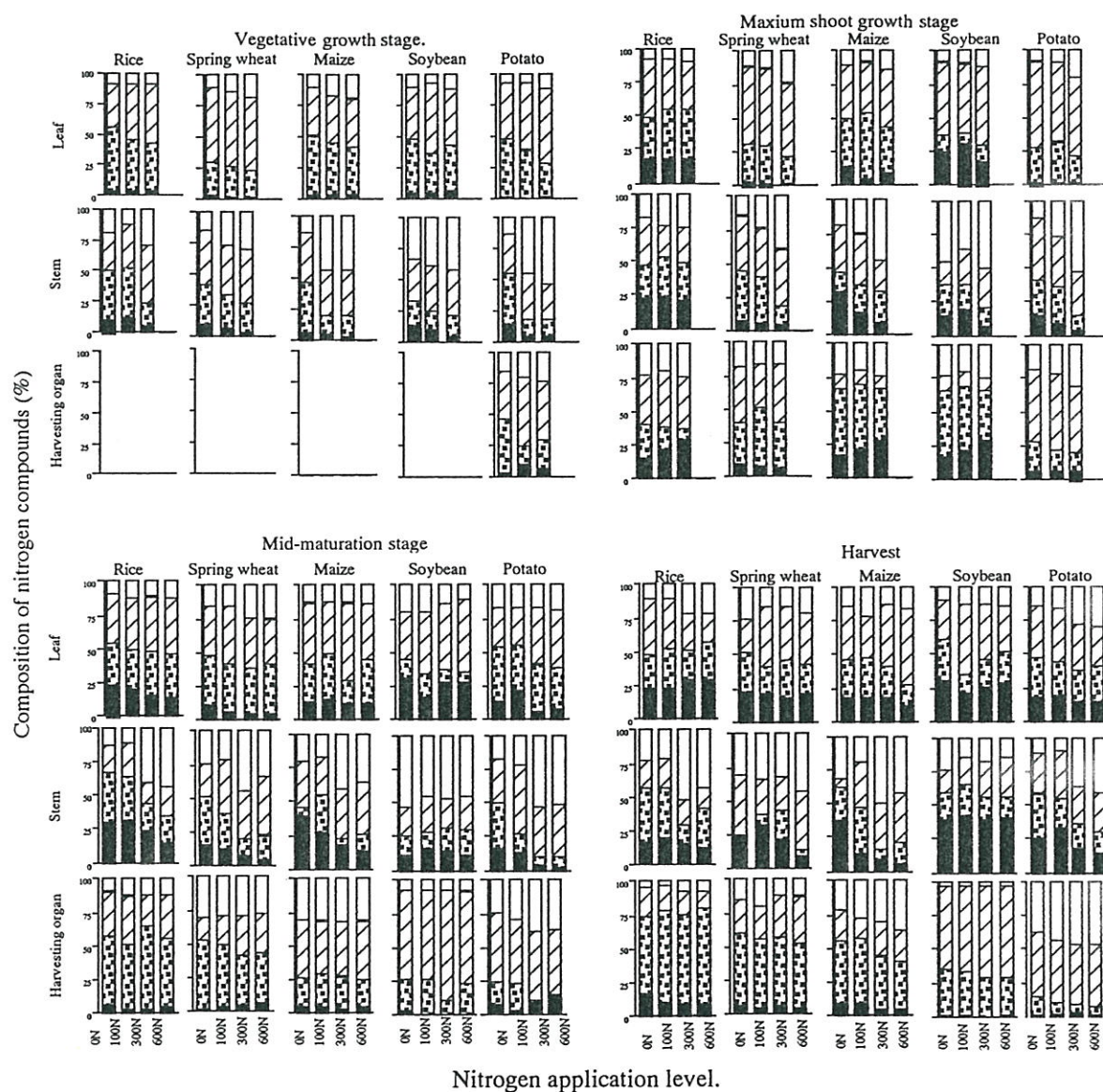


Fig. 2-14 Effect of nitrogen application on the composition of nitrogen compounds.

□ 80% ethanol soluble-N
 ▨ soluble protein-N
 ▩ 3% sodium dodecyl sulfate soluble-N
 ■ residual-N

渣画分が低下した。

収穫部位ではバレイショ以外の作物では窒素処理の影響はほとんど認められなかった。バレイショでは窒素施肥量を高めるとエタノール画分の割合が高まり、SDS画分の割合が低下した。

8. 登熟中期における遊離の各種窒素化合物の画分

登熟中期の各作物の葉、茎および収穫部位についてエタノール画分中の遊離の低分子窒素化合物の画分として遊離アミノ酸類、アンモニア態、硝酸態、アラントイン類（ダ

イズのみ) を分析した (Table 2-20)。

葉における全窒素に対する遊離アミノ酸態窒素とアンモニア態窒素の割合は、イネでは窒素レベルにより変化しなかった。コムギでは窒素レベルが高まるに伴って、硝酸態窒素の割合が上昇し、トウモロコシではアンモニア態窒素の割合が600 Nで上昇した。イネとトウモロコシでは全窒素に対する硝酸態窒素の割合は施肥窒素レベルに関わらず、trace-1.1%と低かった。コムギとバレイショでは硝酸態窒素の割合は0 N区と100 N区では0.1-2.4%と低く、300 N区と600 N区では6.8-11.5%と高かった。ダイズでは硝酸態窒素の割合は100 N区でのみ高く (9.2%)、他の窒素レベルでは trace-0.7%と低かった。

茎ではイネ、ダイズ、コムギにおいて全窒素に対する遊離アミノ酸態窒素の割合が施肥窒素レベルが上昇するに伴って上昇し、トウモロコシとバレイショではあまり変化しなかった。アンモニア態窒素の割合はいずれの作物でも低かった。硝酸態窒素の割合はイネでは trace-0.5%と極めて低く、一方コムギの300 N区と600 N区ではそれぞれ28.4%と13.5%、トウモロコシでも同様に19.3%と11.6%、バレイショでは37.0%と37.8%と著しく高く、ダイズでは100 N区で12.3%と高かった。ダイズでは100 N区においてアラントイン類窒素の割合も高かった。

収穫部位においては、イネ、コムギ、ダイズでは施肥窒素レベルが全窒素中に占める各画分の割合におよぼす影響は小さかった。トウモロコシでは、遊離アミノ酸態窒素およびアンモニア態窒素の0 N区での割合がそれぞれ21.2%、6.8%で、他の窒素レベル区 (10.0-11.5%および2.3-3.7%) に比べ高かった。バレイショでは、施肥窒素レベルが上昇するに伴い遊離アミノ酸態窒素の占める割合が16.0-39.2%と上昇した。

Table 2-20 Composition of nitrogen compounds in 80% ethanol soluble fraction at mid-maturation stage.

Crop	N application kgNha ⁻¹	Leaf				Stem				Harvesting organ			
		Free amino acids-N	Ammonium -N	Nitrate -N	Allantoin -N	Free amino acids-N	Ammonium -N	Nitrate -N	Allantoin -N	Free amino acids-N	Ammonium -N	Nitrate -N	Allantoin -N
Rice	0	0.3	0.6	trace	ND	4.0	2.2	trace	ND	2.2	0.6	trace	ND
	100	0.3	0.7	trace	ND	3.6	0.0	trace	ND	3.4	0.7	trace	ND
	300	0.5	0.3	trace	ND	28.0	1.4	trace	ND	4.1	0.0	trace	ND
	600	0.5	0.5	0.3	ND	45.7	1.6	0.5	ND	4.3	0.5	trace	ND
Spring wheat	0	8.1	0.9	trace	ND	1.0	2.4	2.4	ND	9.5	0.5	trace	ND
	100	5.3	0.4	2.4	ND	4.7	trace	1.7	ND	9.2	1.5	trace	ND
	300	5.8	0.6	9.1	ND	5.9	0.6	28.4	ND	8.3	1.4	0.5	ND
	600	2.0	0.3	11.5	ND	10.6	0.6	13.5	ND	3.0	4.1	0.5	ND
Maize	0	2.9	0.0	trace	ND	9.7	2.8	0.0	ND	21.2	6.8	trace	ND
	100	2.4	0.6	0.6	ND	7.8	1.6	1.6	ND	10.0	3.7	trace	ND
	300	3.0	0.4	1.1	ND	13.4	0.8	19.3	ND	10.5	3.7	trace	ND
	600	3.5	2.6	0.7	ND	14.0	0.8	11.6	ND	11.6	2.3	trace	ND
Soybean	0	2.6	0.6	trace	1.7	7.4	3.0	0.7	5.2	2.6	0.9	trace	0.7
	100	2.4	0.4	9.2	0.7	22.5	2.2	12.3	17.4	3.3	0.2	0.2	0.8
	300	3.4	0.3	0.6	1.4	29.5	0.0	7.7	9.2	3.3	0.5	trace	0.7
	600	2.9	1.0	0.7	1.5	29.0	0.7	9.5	7.4	4.0	0.5	trace	0.5
Potato	0	7.5	1.9	0.6	ND	6.4	0.9	0.9	ND	16.0	1.5	trace	ND
	100	2.1	0.8	0.4	ND	5.2	1.1	6.5	ND	29.2	1.1	trace	ND
	300	6.0	0.9	6.8	ND	5.1	0.5	37.0	ND	30.5	1.2	1.2	ND
	600	4.6	0.8	9.2	ND	7.7	0.4	37.8	ND	39.2	2.0	2.0	ND

Data are expressed as the percentage of total nitrogen.

ND: not determined.

9. 登熟中期の遊離アミノ酸組成

登熟中期の葉の遊離アミノ酸組成はイネ以外の作物では施肥窒素レベルによる変動が小さかった (Fig. 2-15)。ただし、高窒素施肥区ではアスパラギンがやや高まった。イネでは窒素レベルが高まるにつれてシステインの割合が0 N区の29.5%から600 N区の7.5%に低下した。

茎では施肥窒素レベルが上昇するのに伴ってイネとダイズではアスパラギン、バレイショではアスパラギンとグルタミンの割合が上昇した。この時の変化は100 N区と300 N区の間で最も著しかった。これらのアミドの割合の上昇に伴ってイネではグルタミン酸、バレイショでは γ -アミノ酪酸の割合が低下した。収穫部位では窒素処理の影響は小さかった。

10. 登熟中期のタンパク態アミノ酸類組成

登熟中期におけるタンパク態のアミノ酸組成はコムギの収穫部位でグルタミン+グルタミン酸の割合がやや高いことを除くと、作物間、器官間、処理間の差は小さかった (Fig. 2-16)。

11. 葉の Rubisco 態窒素量の変遷

コムギ、トウモロコシ、バレイショでは0NでのRubisco態窒素の集積量は極めて小さかった (Fig. 2-17)。イネにおける0N区の集積量は100Nに比べると少なかったが、地上部最大期以降の0N区と100N区の差は小さかった。ダイズでは0N区と100N区の差は小さかったが、300Nと600Nでは著しく増加した。300N区と600N区の間 Rubisco 集積量の差はいずれの作物においても無視できる程度であった。100N区において最大のRubisco集積量はコムギでは栄養生長期に、他の作物では地上部最大期に得られた。

12. 全窒素に対する Rubisco 態窒素の割合

全窒素に対するRubisco態窒素の割合はトウモロコシでは生育を通じていずれの処理区においても0.10以下と低かった (Table 2-21)。イネ、ダイズ、バレイショではこの値は

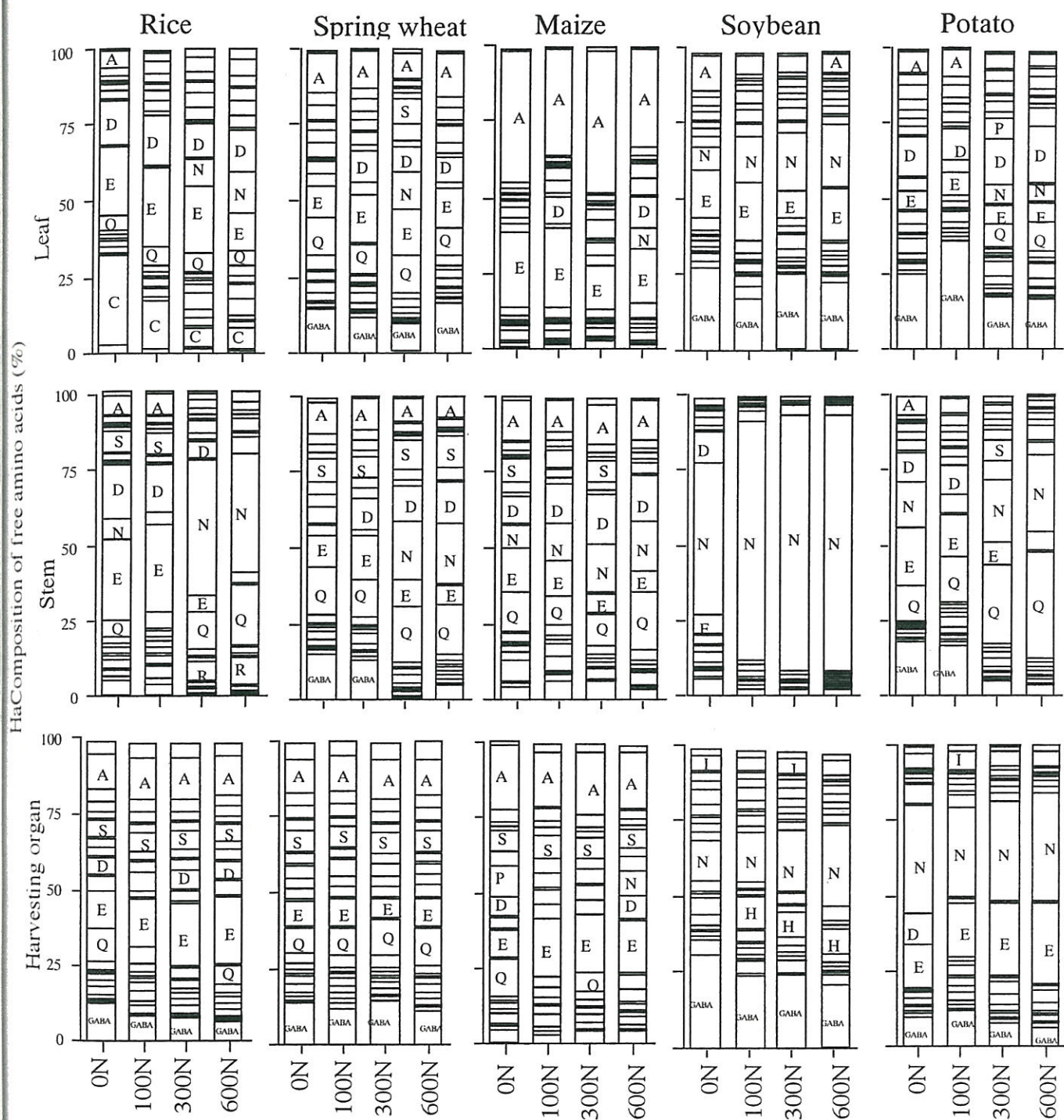


Fig. 2-15 Effect of nitrogen application on the composition of free amino acids (Total free amino acids = 100). G, Glycine; A, Alanine; V, Valine; L, Leucine; I, Isoleucine; S, Serine; T, Threonine; P, Proline; D, Aspartic acid; N, Asparagine; E, Glutamic acid; Q, Glutamine; K, Lysine; H, Histidine; R, Arginine; F, Phenylalanine; Y, Tyrosine; C, Cysteine; W, Tryptophan; M, Methionine; GABA, g-aminobutyric acid; others, Other amino acids.

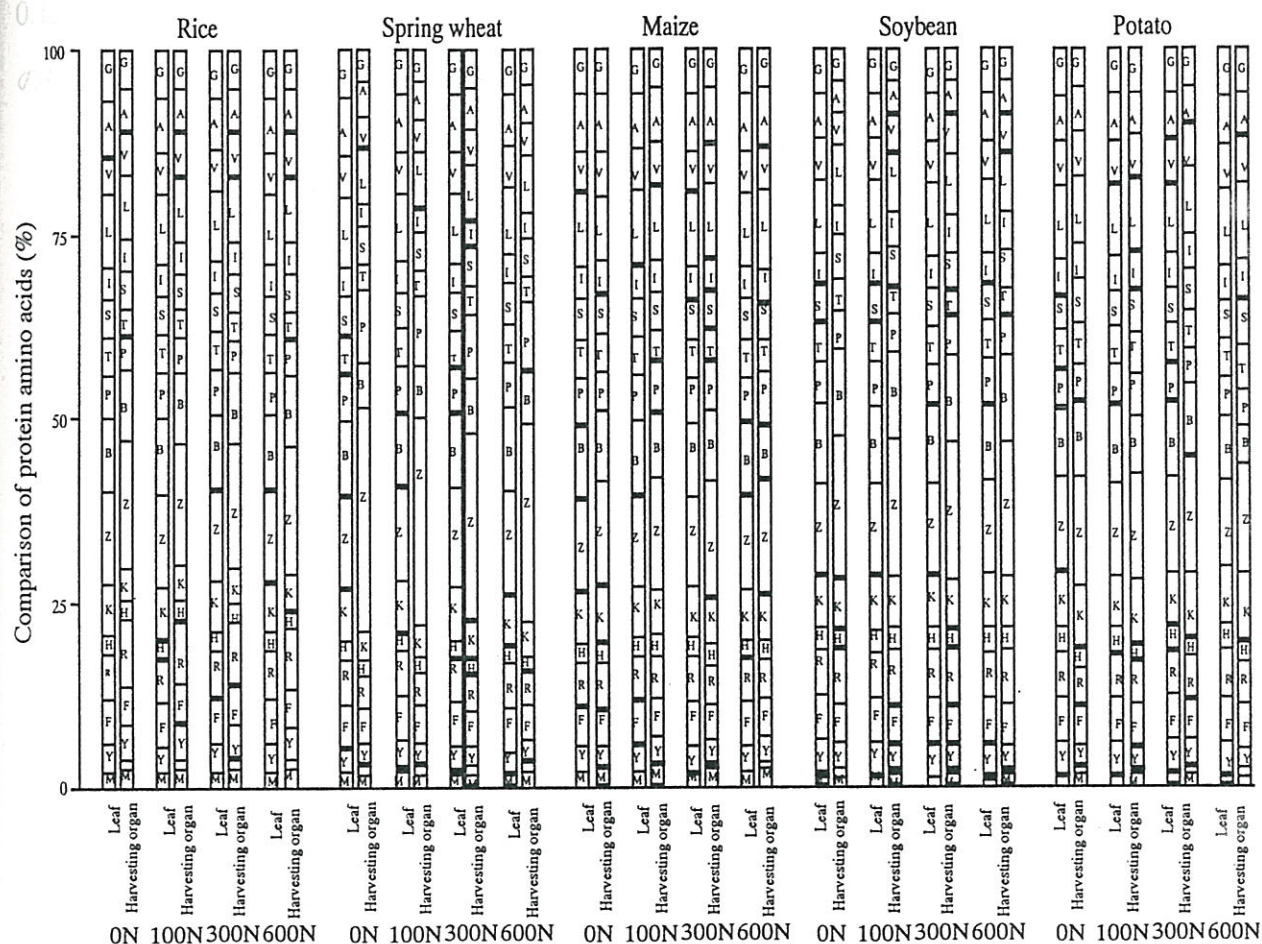


Fig. 2-16 Effect of nitrogen application on the composition of protein amino acids (Total protein amino acids = 100). G, Glycine; A, Alanine; V, Valine; L, Leucine; I, Isoleucine; S, Serine; T, Threonine; P, Proline; B, Aspartic acid +, Asparagine; Z, Glutamic acid +, Glutamine; K, Lysine; H, Histidine; R, Arginine; F, Phenylalanine; Y, Tyrosine; M, Methionine; C-C, Cystine.

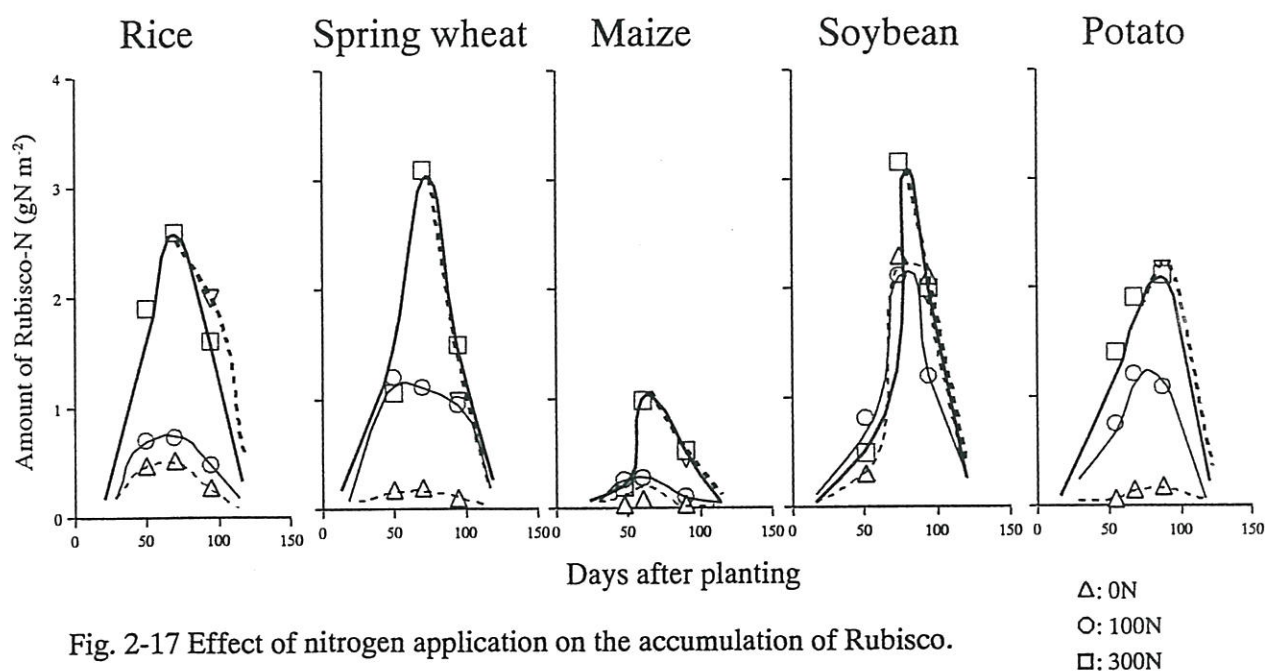


Fig. 2-17 Effect of nitrogen application on the accumulation of Rubisco.

0.12 から 0.33 の間にあり、コムギではイネ、ダイズ、バレイショより低かった。いずれの作物でも窒素処理の影響は明確ではなかった。

Table 2-21 Ratio of Rubisco-N to total-N in leaves (g Rubisco-N g⁻¹total-N)

Crop	Nitrogen application rate (kgN ha ⁻¹)	Growth stage		
		Vegetative	MSG	Md- maturation
Rice	0	0.270	0.324	0.230
	100	0.244	0.186	0.266
	300	0.314	0.260	0.186
	600			0.186
Spring wheat	0	0.176	0.238	0.134
	100	0.168	0.184	0.172
	300	0.108	0.214	0.184
	600			0.088
Maize	0	0.058	0.058	0.022
	100	0.082	0.054	0.026
	300	0.046	0.100	0.056
	600			0.042
Soybean	0	0.128	0.336	0.290
	100	0.230	0.296	0.224
	300	0.138	0.320	0.300
	600			0.222
Potato	0	0.190	0.305	0.311
	100	0.186	0.280	0.294
	300	0.218	0.214	0.278
	600			0.168

1 3 . クロロフィル集積量に対する Rubisco 態窒素の割合

0Nのクロロフィル集積量に対するRubisco態窒素の割合はイネとトウモロコシでは地上部最大期まではほぼ一定であり、その後低下し、コムギ、バレイショでは地上部最大期まで上昇し、その後低下した (Table2-22)。ダイズでは地上部最大期まで上昇しその後ほぼ一定に保たれた。作物間でみると、特にトウモロコシで他の作物より低かった。100N区での割合はトウモロコシを除く各作物とも生育を通してほぼ一定であったがトウモロコシでは生育に伴って低下した。300N区ではイネとダイズでは生育に伴って上昇し、コムギ、トウモロコシ、バレイショでは生育に伴って地上部最大期まで高まった後に低下した。600N区での値は収穫期において300N区よりも小さかった。

1 4 . 地上部最大期の Rubisco 態窒素およびクロロフィル量当たりの CGR

トウモロコシ以外ではRubisco態窒素当たりのCGRは100N区と0N区で同様であった (Table2-23)。トウモロコシでは0N区で100N区のほぼ2倍の値であった。いずれの作物でも100Nで300Nよりも高かった。100N区ではトウモロコシで特に高く、イネとコムギ

Table 2-22 Ratio of Rubisco-N to chlorophyll in leaves (g Rubisco-N g⁻¹chlorophyll).

Crop	Nitrogen application rate (kgN ha ⁻¹)	Growth stage		
		Vegetative	MSG	Early maturation
Rice	0	1.240	1.310	0.790
	100	0.960	0.710	0.900
	300	1.360	0.810	0.570
	600			0.580
Spring wheat	0	0.740	1.070	0.670
	100	0.730	0.710	0.610
	300	0.450	1.010	0.720
	600			0.410
Maize	0	0.200	0.210	0.090
	100	0.290	0.130	0.060
	300	0.190	0.290	0.140
	600			0.080
Soybean	0	0.730	1.430	1.660
	100	1.210	1.350	1.330
	300	0.860	1.640	1.800
	600			0.960
Potato	0	0.890	2.000	1.000
	100	0.960	1.360	1.070
	300	1.290	1.420	1.340
	600			0.800

Table 2-23 Effect of nitrogen application on CGR per unit amount of Rubisco-N and CGR per unit amount of chlorophyll at the MSG stage.

Crop	Treatment	CGR per unit amount of Rubisco-N (gDW g ⁻¹ Rubisco d ⁻¹)	CGR per unit amount of chlorophyll (gDW g ⁻¹ Chlorophyll d ⁻¹)
Rice	0	27.8	36.3
	100	33.6	24.0
	300	12.0	9.7
Spring wheat	0	33.8	36.0
	100	30.1	20.8
	300	9.9	10.0
Maize	0	128.0	37.4
	100	89.5	11.2
	300	41.2	11.8
Soybean	0	4.5	6.4
	100	6.2	8.4
	300	5.0	8.1
Potato	0	36.0	55.6
	100	24.0	29.8
	300	14.6	20.7

で次ぎ、バレイショ、ダイズの順であった。

クロロフィル当たりのCGRはイネ、コムギ、バレイショでは窒素の供給量が高まるにつれて低下した (Table 2-23)。トウモロコシでは100N区と300N区の差はなかったが、0N区で高かった。ダイズでは他の作物に比較して低く、処理間差は小さかった。

考 察

栄養生長期までに茎葉に蓄積されたタンパク質は、収穫部位の登熟に伴い、急速に分解、再転流し、収穫部位に運ばれ再度タンパク質を構成する。本実験はこの過程に対して窒素施肥量が及ぼす影響を作物間で比較したものである。

全乾物集積量はダイズ以外の作物では0 N区で小さかった (Table 2-17, Fig. 2-11) が、 100kgN ha^{-1} 以上の施肥による乾物重の増加はわずかであった。バレイショを除けば地上部最大期以降の茎葉乾物重の減少は小さく、窒素レベルの影響も小さかった。バレイショでは他の作物に比較してHI (DM) が著しく高く、登熟期間中に塊茎の肥大のために、茎葉の乾物が活発に利用されたと考えられる (Table 2-17)。HI (DM) がいずれの作物においてもほぼ一定に保たていたことは、作物体内の窒素栄養に影響を受けにくい制御機構が働いていることを示している。

窒素に関しては窒素レベルが 300NkgN ha^{-1} までは全作物体への窒素の集積量は増加した (Fig. 2-13)。地上部最大期までに茎葉に集積した窒素は、その後イネの高窒素区、トウモロコシの0N区以外では窒素処理に関わらず低下し、収穫部位に再転流した。イネの高窒素区では登熟中期以降強度の倒伏を起こしており、生理的にかなり異常な状態になっていたと思われる。収穫部位に集積した窒素に対する茎葉の窒素の寄与率から判断すると、イネ以外の作物では茎葉から収穫部位への窒素の再転流は多量の窒素施与により抑制されなかった (Table 2-19)。窒素レベルを高めるにつれて茎葉の窒素の再転流率がイネでは低下し、コムギでは上昇したことから、収穫部位を構成している窒素源は両作物で高窒素施肥区においては異なると推定される。

HI (N) はイネ、コムギ、トウモロコシでは0 N、100 N区で300 N、600 N区より低かった。このことはこれらの作物においては多量の窒素を吸収したときには窒素の利用あるいは窒素の分配に遅延が生じていたと考えられる。過剰な窒素により遊離のアミノ酸類や硝酸の集積が起こることはこれまでも報告されており^{55, 244, 263)}、本実験でもイネとダイズの茎に遊離アミノ酸類の集積が、バレイショでは硝酸の集積が、コムギとトウモロコシにおいてはその両者の集積が確認された (Table 2-20)。これらの低分子の窒素化合物の茎への集積は一時的に窒素が茎に集積することを示しており、特に遊離アミノ酸

がたまるようなイネ、コムギ、トウモロコシの場合には葉の窒素化合物がアミノ酸に分解されて再転流して収穫部位へ運ばれる途中で蓄積しているとみなされ、HI (N) を低下させた原因と考えられた。

地上部最大期以降の窒素の吸収は、収穫部位に蓄積される窒素量を説明するほど多くはないことから、収穫部位を構成する窒素は地上部最大期以前に茎葉に一度集積された窒素と地上部最大期以降に根から吸収された窒素の両方から構成されることが考えられる。葉と収穫部位の登熟中期における画分別窒素割合と遊離のアミノ酸組成は施肥窒素レベルにより大きな変動を受けなかったことから (Figs. 2-14, 15)、アミノ酸代謝自体は基本的には窒素処理の影響を強くは受けていないと考えられる。

2-1節で認められたように、葉のタンパク質は、分解して遊離アミノ酸になり、茎を転流し、収穫部位に運ばれ、そこで再度タンパク質を構成する。タンパク質のアミノ酸組成は器官、作物によらず極めて良く一致したが、遊離アミノ酸は器官間で著しく異なっていた (Fig. 2-15)。また遊離アミノ酸の組成とタンパク態アミノ酸の組成も著しく異なっていた (Figs. 2-15, 16)。このことは、葉のタンパク質が分解し収穫部位のタンパク質を構成するに際し、タンパク質を構成していたアミノ酸がそのまま運ばれるのではなく、転流の前後において著しい骨格の再構成を起こしていることを示すものである。葉および収穫部位における遊離アミノ酸組成がそれぞれタンパク質の分解、合成の場面での代謝を反映していると考え、その代謝機構は施肥窒素レベルによってはあまり変動しないことが示された。

そのような安定な機構が存在するにも関わらず高窒素施肥処理でHI (N) がイネ、コムギ、トウモロコシでは低下したのは茎のエタノール画分に含まれる窒素の割合が高まることによると考えられた (Table 2-18)。この画分にはイネとダイズでは遊離のアミノ酸類、バレイショでは硝酸、コムギとトウモロコシではその両者が窒素を過剰に吸収したときの一時的な貯蔵形態として存在した。

葉の窒素含有率は、窒素処理により大きく変動したが (Fig. 2-12)、バレイショの0N区を除くといずれの作物でも窒素処理により葉の全窒素に対するRubisco-Nの割合は300Nまではあまり変動せず、この割合はかなり安定した機構により制御されていると考えられた (Table 2-21)。しかしながら、地上部最大期に300N区にさらに300NkgN ha⁻¹を追肥

した600N区では、全窒素に対するRubisco-Nの割合は低下し、極端な量の窒素の供給はRubiscoの集積に対して負の影響があるものと考えられる。クロロフィルは光集光性タンパク質の量の指標になると考えられ²⁶⁴⁾、クロロフィルも光合成の重要な指標になると考えられる。全般的にみて、クロロフィルに対するRubiscoの比率は生育に伴って低下することから、クロロフィルとRubiscoの分解は同調していないとみなされた (Table 2-22)。

*in vitro*で完全に活性化させた時のRubiscoの比活性は生育時期や窒素施与により変化せず、Rubiscoの活性はRubisco activaseによる活性化と2-carboxyl arabinitol-1-phosphateによる不活性化により調節されているのではと考えられている²⁶⁸⁾。このような機構は*in vivo*でも機能していると考えられる。地上部最大期のCGR/Rubiscoはダイズ以外の作物においては100N区に比べて300N区で著しく高い (Table 2-23)。乾物集積量はこれらの処理であまり大きな違いを示さなかったことから、窒素施肥量が増大することに伴って不活性化したRubiscoの割合が増加していることが予想される。

トウモロコシで観察されるRubisco当たりの高いCGRは、トウモロコシがC₄植物に属しているためである。また、ダイズではこの値が小さく、呼吸による損失が大きいことが予想される。一方、クロロフィル当たりのCGRはイネ、コムギ、バレイショでは300N区に比べ100N区で優り、ダイズとトウモロコシでは差が認められなかった (Table 2-23)。このように、Rubiscoとクロロフィルでは乾物生産に対する役割が異なっていた。

窒素の施与により葉の窒素集積量は高まるが、葉の窒素に対するRubisco-Nの比率はあまり変化しなかった。Rubisco当たりの乾物生産速度が窒素の施肥により低下することから、窒素の過剰な施肥により乾物の増加が起こらないことは明らかである。

2-4. 各種作物の発芽時における炭素・窒素化合物の再構成過程

登熟期間とは逆に発芽時には収穫部位に蓄積された貯蔵物を利用して新たに作物体を再構成する。本節ではこの時の炭素・窒素の分解、再構成の機構を解析した。

実験方法

栽培方法

イネ、秋播コムギ（以下コムギ）、トウモロコシ、ダイズ、サイトウ、ラッカセイを供試し、その種子を有効塩素濃度が0.01%の次亜塩素酸ナトリウム溶液で10分間殺菌した。その後、イネ、コムギ、トウモロコシは連続通気している培養液中に1夜浸漬した後に、ダイズ、サイトウ、ラッカセイはそのままバーミキュライトに播種した。用いた品種はTable 2-25に示した。バーミキュライトには培養液を適宜かけ、萌芽まで暗所（25℃）に放置した。培養液の組成はNのみについて NH_4NO_3 を0と60ppmの2処理区を設定した。後の組成は次のように統一した。すなわち、P (NaH_2PO_4) 2ppm、K (K_2SO_4 : KCl = 1 : 1) 30ppm、Ca (CaCl_2) 50ppm、Mg (MgSO_4) 20ppmおよび微量元素としてFe、Mn、B、Zn、Cu、Moをそれぞれ2、0.5、0.5、0.2、0.01、0.005ppmとした。出芽後は温室内で自然光下で生育させた。試料採取は播種時（I期）、出芽時（II期）、栄養生長期（III期）に行い（Table 2-25）、試料は全て凍結乾燥し、秤量後微粉碎し分析に供試した。2-1節に従って粗成分分析（粗タンパク質、粗脂肪、糖・デンプン、セルロース、ヘミセルロース、リグニン、粗灰分）、遊離およびタンパク態アミノ酸、窒素化合物の分画を行い、2-3節に従って、アラントイン、アンモニア態、硝酸態の分析を行った。

Table 2-25 Variety, and sampling day (days after sowing) of each crop.

	Variety	Stage II	Stage III
Rice	Michikogane	7	18
Winter wheat	Chihokukomugi	3	12
Maize	Pionner 3732	4	13
Soybean	Kitamusume	4	16
Field bean	Hokkaikintoki	7	17
Peanut	Nakateyutaka	9	19

結 果

1. 乾物重

発芽に伴い、種子重は低下し、茎葉、根重が増加した (Fig. 2-18)。II期とIII期にかけ、イネ、コムギ、サイトウでの乾物重の低下がトウモロコシ、ダイズ、ラッカセイよりも大きかった。II期ではトウモロコシの根において-N区の生育が+N区を優ったことを除くと窒素処理の影響は特に認められなかった。III期においては子実の乾物重の低下を0 N区と60 N区で比較すると、60 N区で低下が大きかったのは、イネ、ラッカセイで、逆に小さかったのは、トウモロコシ、ほぼ同じであったのはコムギ、ダイズ、サイトウであった。一方、他部位では60 N区で大きかったのはイネであり、小さかったのはハルコムギとトウモロコシであり、ダイズ、サイトウ、ラッカセイ、バレイショではほとんど変わらなかった。トウモロコシではIII期においても特に0N区で根重が大きく、コムギは逆に茎葉重が大きかった。イネでは60N区で茎葉重が大きかった。他の作物では器官間の差に窒素処理は特に影響を及ぼしていなかった。

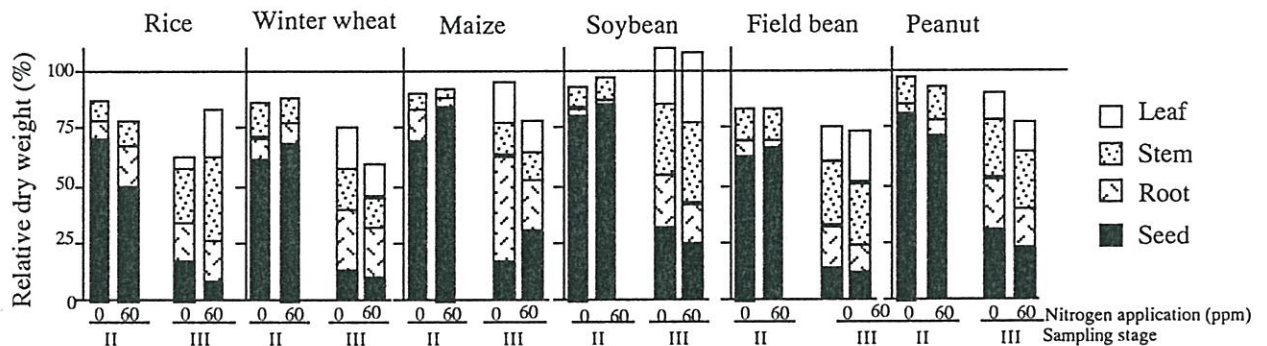


Fig. 2-18 Successive change of dry weight at germination. Seed dry weight before germination = 100 (%).

2. 窒素集積量

II期では窒素の全集積量はI期とほぼ同様であった (Fig. 2-19)。III期では60 N区ではコムギとラッカセイでは窒素の集積量が減少したことから培地への窒素化合物の放出があったと考えられる。トウモロコシ、ダイズ、サイトウでは集積量は変化は小さかった。栽培中に窒素が新たに集積されたのはイネのみであった。0 N区と比較して、イネ、サイトウ、バレイショの葉、トウモロコシの根では60 N区でより多くの窒素が分配されていた。

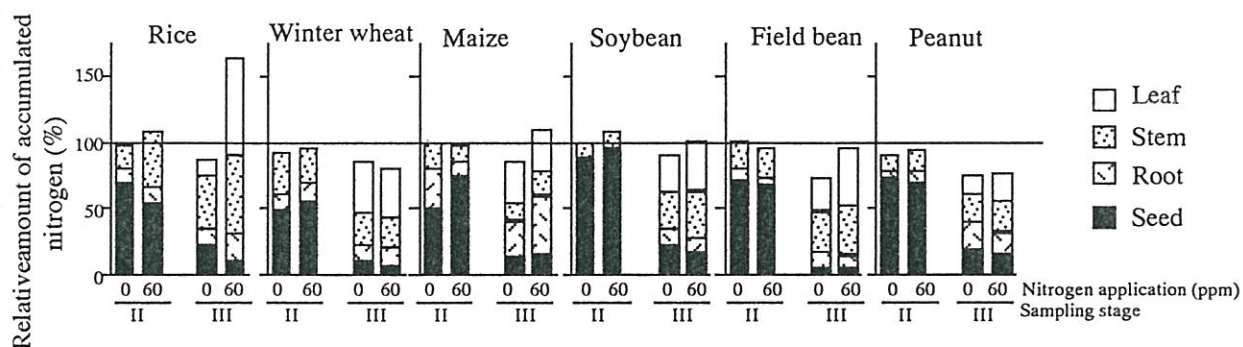


Fig. 2-19 Successive change of amount of accumulated nitrogen at germination.
Amount of nitrogen contained in seed before germination = 100%.

3. 窒素含有率の変遷

発芽前の種子 (I期) の窒素含有率 (%) は、イネ科作物では1.37-2.14 と低く、マメ科作物では3.59-5.88 と高かった (Table 2-26)。種子は発芽に伴って、II 期ではイネ、ダイズ、サイトウではほとんど変わらず、コムギ、トウモロコシ、ラッカセイでは低下した。

Table 2-26 Successive change of nitrogen content (%) at germination.

Crop	Stage	0N					60N				
		Seed	Leaf	Stem(hvpocotvl)	Root	Seed coat	Seed	Leaf	Stem(hvpocotvl)	Root	Seed coat
Rice	I	1.37					1.37				
	II	1.32		3.29	1.68		1.45		3.09	1.84	
	III	1.98	3.53	2.33	0.84		1.79	4.74	2.19	1.58	
Winter wheat	I	2.14					2.14				
	II	1.72		4.74	2.68		1.81		4.97	3.19	
	III	1.53	4.51	2.81	1.22		1.31	5.49	3.64	1.40	
Maize	I	1.75					1.75				
	II	1.25		5.68	3.50		1.56		5.23	3.99	
	III	1.50	3.02	1.73	1.00		0.92	3.88	2.76	3.42	
Soybean	I	5.88					5.88				
	II	6.21		6.65	6.07		6.44		6.85	6.27	
	III	5.45	6.25	5.34	2.75	1.16	5.13	7.12	6.13	3.34	1.25
Field bean	I	3.59					3.59				
	II	4.03		5.79	4.46		3.77		6.02	5.50	
	III	2.38	6.26	3.88	2.49	0.71	2.22	7.17	5.07	3.52	0.79
Peanut	I	4.41					4.41				
	II	4.02		4.65	5.14		4.30		4.73	5.20	
	III	2.72	5.42	3.81	3.86	2.37	3.01	7.06	4.71	3.78	2.34

II期ではサイトウを除くと茎で根よりも窒素含有率が高く、サイトウでは逆に根で高かったが、特に窒素処理の影響は認められなかった。III期ではいずれの作物でも葉の窒素含有率が高く、この傾向は特に+N区において顕著であった。窒素処理の影響は幾つかの例外を除けばいずれの部位でも+N区で高い傾向があった。

4. 体内構成粗成分の変遷

I期の種子の構成成分割合からデンプンがその大半を占めるイネ科各作物とタンパク質含量が高いマメ科各作物に分けられる。マメ科作物はさらにデンプン含量も高いサイトウ、粗脂肪含量が比較的高いダイズ、極めて多いラッカセイに分けることができる (Fig. 2-20)。発芽に伴い、イネ科作物、サイトウではデンプン画分が著しく減少し、イネ、コムギでは粗繊維画分の割合が高まり、トウモロコシではペクチン様物質が多く含まれると考えられる「その他」の画分の割合が高まり、サイトウでIII期において糖の割合が高まった。ダイズ、ラッカセイでは粗脂肪の画分がIII期においてほとんど消失し、ダイズでは他の画分の減少割合は同様であったが、ラッカセイではIII期において「その他」の画分の割合が高まった。全般的な傾向としていずれの作物でも茎で粗タンパク質画分が高く、次いで葉、根の順となった。

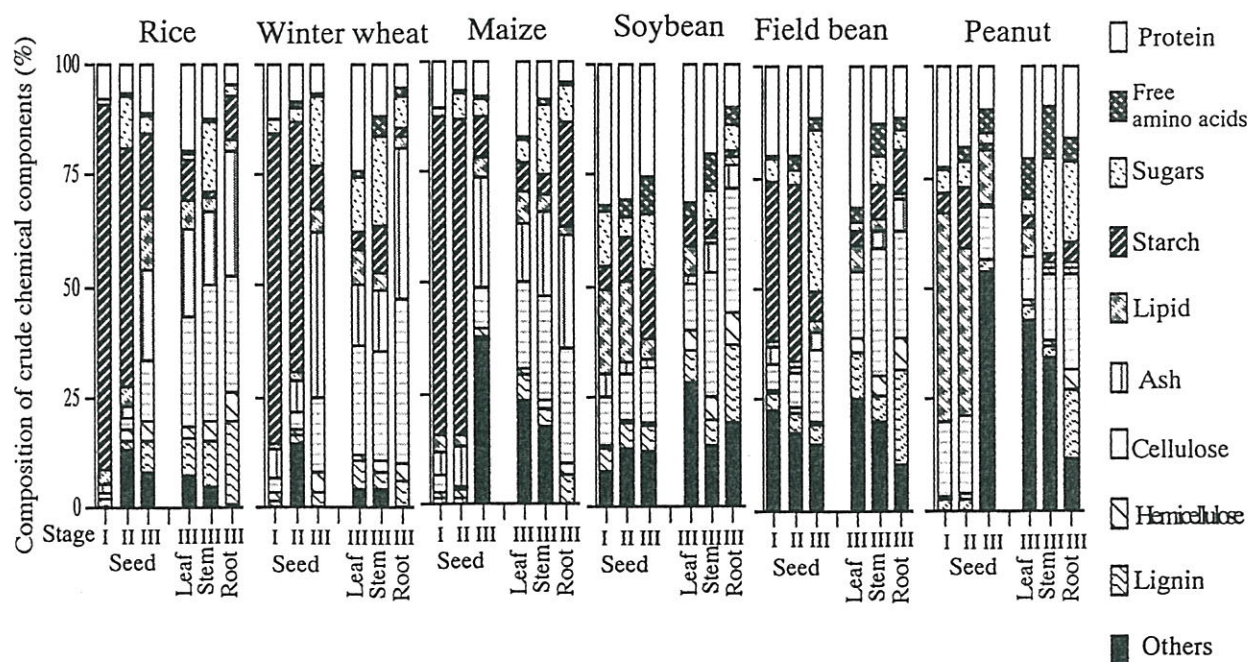


Fig. 2-20 Composition of crude chemical components (%).

5. 画分別窒素

1) 種子

種子においてはI期のイネ科作物ではSDS画分が多く、マメ科作物ではSP画分とSDS画分がほぼ1/2づつを占めていた (Fig. 2-21)。生育の進行に伴って、イネ科作物では特にSDS画分の割合が低下し、残渣画分の割合が増加した。マメ科作物ではSP画分の割合が減少し、エタノール画分が著しく高まった。窒素処理の影響は特に明白な傾向は認められなかった。

2) 茎

茎ではいずれの作物でもエタノール画分が多く、イネ、トウモロコシでは生育の進行に伴ってエタノール画分が低下したが、他の作物では変わらなかった。イネ科作物ではSDS画分が多いが、マメ科作物でもSDS画分とSP画分がほぼ同程度存在していた。窒素処理の影響は明らかではなかった。

3) 根

いずれの作物でもII期においてはエタノール画分の占める割合が高く、生育を追ってこの画分が低下し残渣画分の割合が高まった。

4) 葉

葉の画分別窒素組成はラッカセイ以外の作物ではほぼ同様であり、SDS画分がその大半を構成していた。ラッカセイではSDS画分のほかにもエタノール画分の割合が高かった。

6. 遊離の各種窒素化合物組成

転流形態の窒素化合物は、遊離アミノ酸、無機窒素化合物と考えられるので、低分子窒素化合物のほとんどが含まれると考えられるエタノール画分における各種低分子窒素化合物の割合を示したのがFig. 2-22である。低分子窒素化合物としては、遊離アミノ酸類、アンモニア、硝酸、アラントイン類 (マメ科作物のみ分析) を求め、差し引きで残った部分を「その他」とした。「その他」の画分には80%エタノールで可溶となるタンパク質 (プロラミン)、ペプチド等が含まれると考えられる。

イネ科作物ではI期の種子では「その他」が大半を占め、残りは遊離アミノ酸であった。

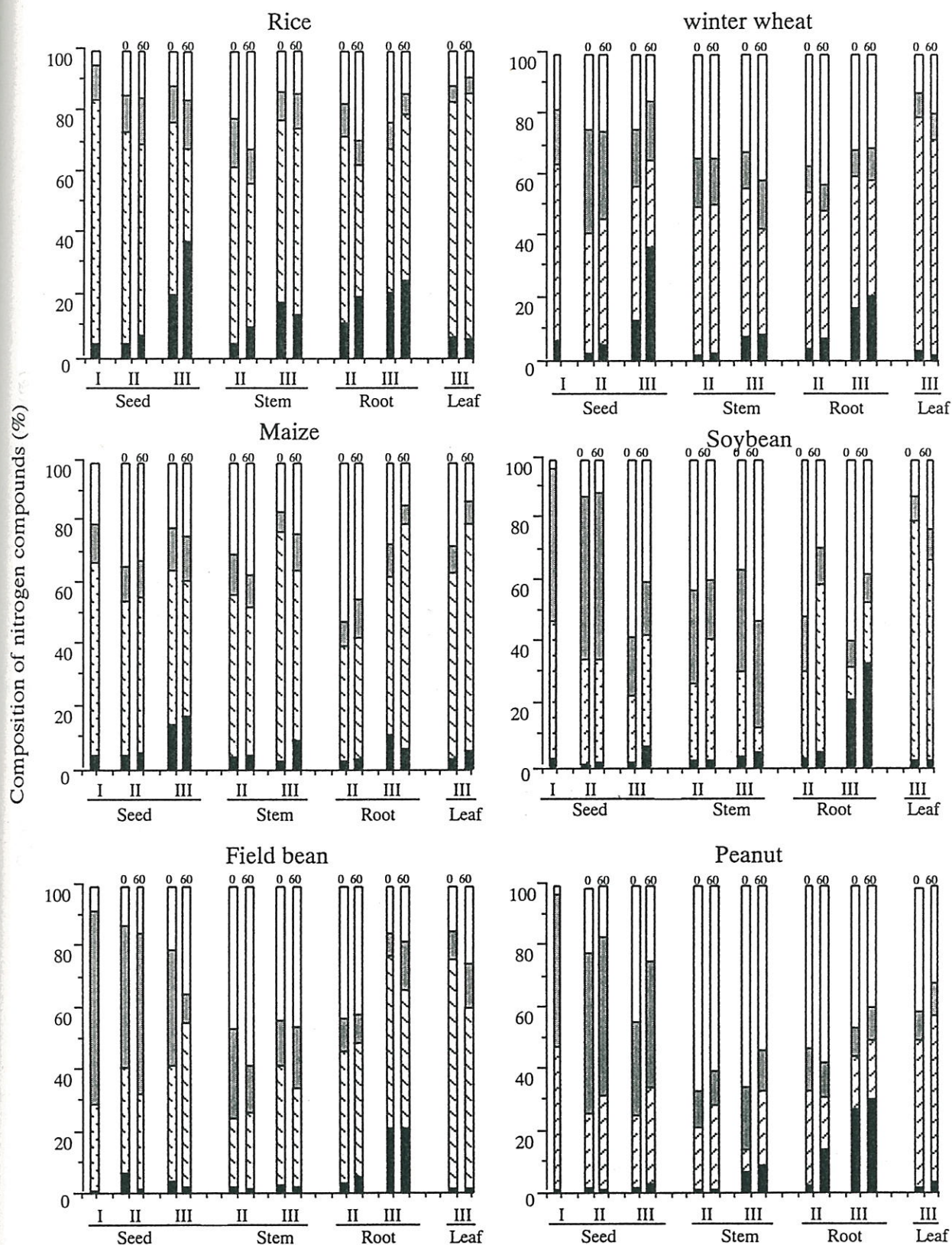


Fig. 2-21 Successive change in the composition of nitrogen.

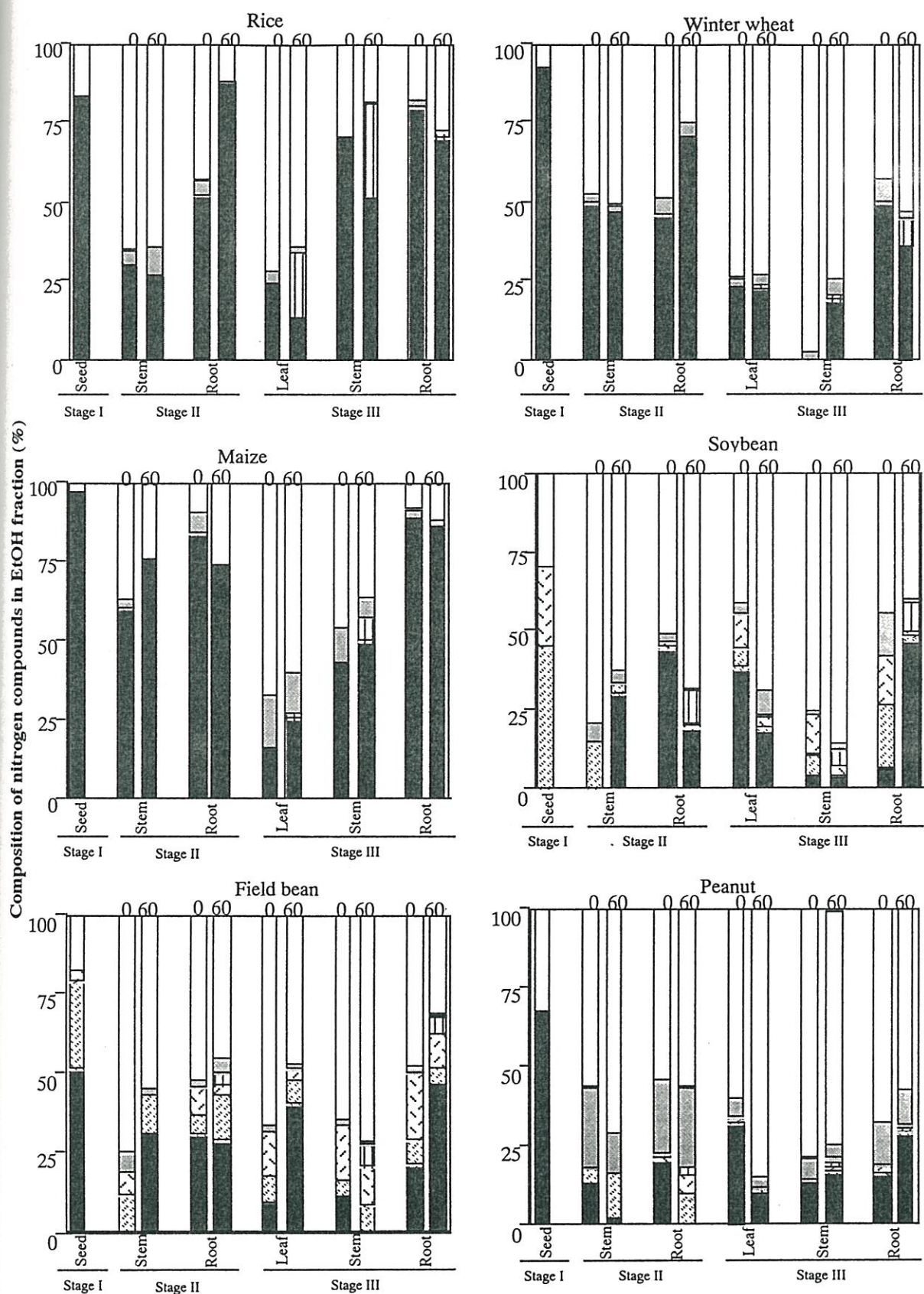


Fig. 2-22 Composition of free nitrogen compounds in Ethanol

□ Free amino acids ■ Ammonium ▨ Nitrate ▩ Allantoin
 ▤ Allantoinic acid ■ Others

発芽にともない、遊離アミノ酸類が高まり、アンモニア態窒素もわずかに検出された。茎では遊離アミノ酸類が多く、イネ、トウモロコシの+N区では硝酸態窒素も検出された。葉ではコムギでは遊離アミノ酸類が多く含まれたが、イネ、トウモロコシでは「その他」が大半を占めた。

マメ科作物ではI期の種子ではイネ科作物に比べて遊離のアミノ酸の割合が比較的高く、ダイズ、サイトウではアラントイン類が存在し、ダイズではエタノール画分を遊離アミノ酸類とアラントイン類が占めた。発芽に伴い、遊離アミノ酸の割合が特に増大した。ラッカセイではアンモニア態も多く検出された。茎では遊離アミノ酸類が大半を占め、+N区ではダイズ、サイトウでは硝酸態窒素が検出された。葉では「その他」の画分の割合が高いが、遊離アミノ酸も多く含まれていた。

7. 遊離アミノ酸組成

1) 種子

I期の種子の遊離アミノ酸はイネではアスパラギン、グルタミン酸が多く、コムギではアスパラギン、トリプトファン、トウモロコシではアスパラギン、プロリン、ダイズではアスパラギン酸、グルタミン酸、アルギニン、サイトウではアスパラギン、グルタミン酸、アルギニン、ラッカセイではグルタミン酸の割合が高かったが、いずれもその含有量は極めて少なかった (Fig. 2-23)。

II、III期の種子の遊離アミノ酸組成はイネ科作物ではタンパク態のアミノ酸組成と大きく変わらず、生育時期による違いは小さかった。ダイズとサイトウではタンパク態のアミノ酸組成と著しく異なり、アスパラギンが圧倒的に多く、ラッカセイではタンパク態のアミノ酸組成と比較して、プロリン、4-メチレングルタミンの存在が多かった。

2) 茎

II期の茎の遊離アミノ酸組成はいずれの作物でもアスパラギンの割合が高かったが、特にコムギ、トウモロコシ、ダイズでは50%以上と高かった。III期ではイネでグルタミンの割合が低下し、トウモロコシの-N区ではアスパラギンの割合が低下してタンパク態のアミノ酸組成に近くなった。マメ科の3作物ではアスパラギンの割合が著しく高まった。

3) 根

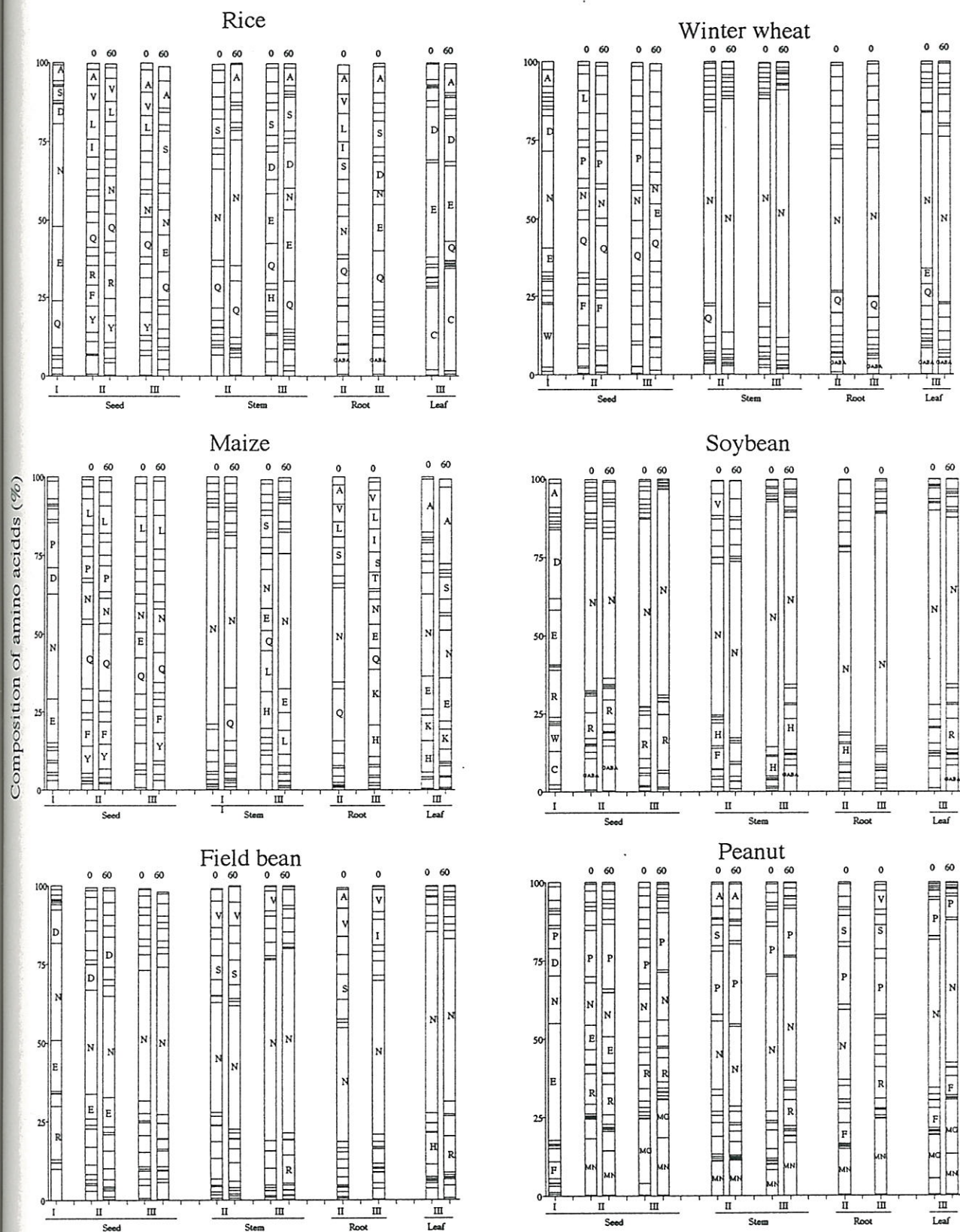


Fig. 2-23 Composition of free amino acids (total amount is 100). G, glycine; A, alanine; V, valine; L, leucine; I, isoleucine; S, serine; T, threonine; P, proline; D, aspartic acid; N, asparagine; E, glutamic acid; Q, glutamine; K, lysine; H, histidine; R, arginine; F, phenyl alanine; Y, tyrosine; M, methionine; W, tryptophan; C, cysteine; GABA, γ -amino butyric acid; MG, 4-methylene glutamic acid; MN, 4-methylene glutamine; others, other amino acids.

根の遊離アミノ酸組成は-N区においてのみ調査した。イネ科作物ではコムギは茎の遊離アミノ酸組成と極めてよく似ていたが、イネとトウモロコシのII期においてはむしろ種子のそれに近かった。ただし、III期に至っては茎の組成と類似していた。マメ科作物では茎の組成と類似していた。

4) 葉

葉の遊離アミノ酸組成はコムギ、およびマメ科の作物ではアスパラギンが1/2近くを占めていた。イネではアスパラギン酸、グルタミン、システイン、トウモロコシではアラニン、アスパラギンが多かった。窒素処理の影響は特に認められなかった。

8. タンパク態アミノ酸組成

種子のタンパク態のアミノ酸組成と葉のアミノ酸組成を比較すると、種子で若干グルタミン+グルタミン酸の割合が高かったが、その組成は極めてよく似ていた。作物間の比較においてもコムギの種子のグルタミン+グルタミン酸の割合がやや多いことを除け

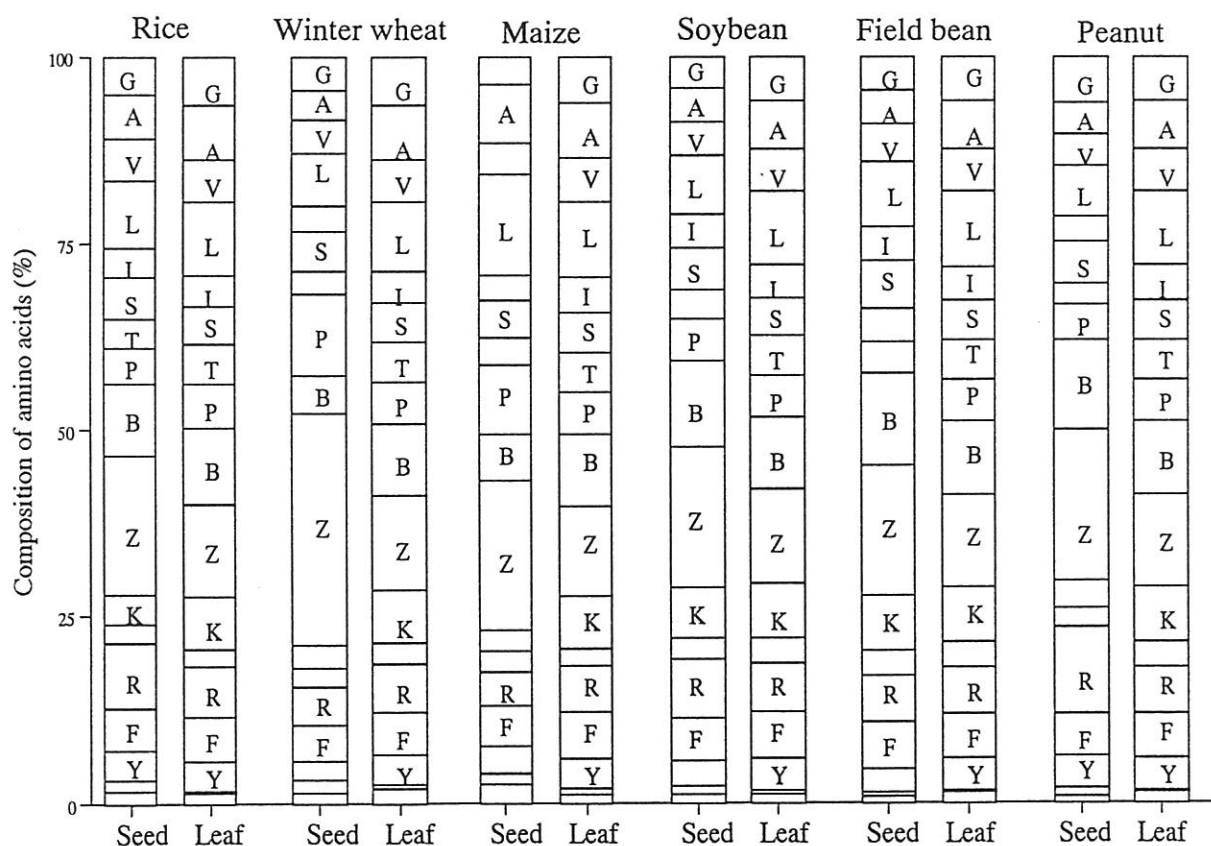


Fig. 2-24 Composition of protein amino acids (total amount is 100). G, glycine; A, alanine; V, valine; L, leucine; I, isoleucine; S, serine; T, threonine; P, proline; B, aspartic acid + asparagine; Z, glutamic acid + glutamine; K, lysine; H, histidine; R, arginine; F, phenyl alanine; Y, tyrosine; M, methionine; C-C, cystine.

ば作物間差は認められない。

考 察

発芽時には種子中の成分が分解・転流して葉・茎・根を構成することから、登熟期の過程の逆の過程とみなすことができる。暗所・無窒素条件で発芽させれば新たに出現する葉・茎・根の構成成分は全て種子に由来することになる。発芽時に光合成を行わせたり、窒素の供給量を変えることにより、葉・茎・根を構成する炭素・窒素化合物の種子由来の割合を変化させることも可能と考えられる。また、ある器官のタンパク質が分解して、転流し、他の器官でタンパク質に再構成される過程でアミノ酸組成が著しく変化することからアミノ酸の炭素・窒素骨格は著しい組み換えを伴い、この際多量の炭素が呼吸により消費されていると考えられるが、この過程はほとんど解明されていない。そこで、発芽時の単純な系について炭素・窒素化合物の再構成機構の詳細な知見を得る必要がある。

発芽時における窒素供給の有無が窒素化合物の組成にどのような影響をおよぼすかについてまず考えると、全乾物重、全窒素集積量ともにII期ではほとんど窒素処理の影響を受けておらず、種子の貯蔵物質主体で生育が進行していたとみなされる (Figs. 2-18, 19)。III期の全乾物重は-N区に比較して+N区で高いのはイネのみであり、ダイズ、サイトウでは変わらず、その他の作物ではむしろ低下したことから、その他の作物では窒素施与により炭水化物の消費が同化を上回っていた。III期の全窒素量が-N区に比べて+N区で多くなったのはイネ、トウモロコシ、ダイズ、サイトウでその他の作物ではほとんど変化しなかった。なお、III期では植物体中から若干窒素が流出している作物もあり、+N区ではみかけ上窒素吸収が無い場合でも、実際には窒素吸収は起こっていた可能性が強い。このように、III期における全乾物重、窒素含有量に及ぼす窒素処理の影響は、作物により異なっているが、窒素含有率は葉・茎・根において+N区において-N区より高い傾向が認められた。このように、窒素施与により窒素含有率は高まるものの、画分別窒素割合はほとんど変化せず、アミノ酸組成は3期のトウモロコシの茎で窒素処理の影響が認められたものの、他ではほとんど変化しなかった (Fig. 2-23)。従って、以上のよ

うに窒素処理により窒素含有率が変動することから、乾物（主に炭水化物）と窒素の量的関係は窒素処理の影響を受けるが、窒素の代謝過程自体はほとんど影響を受けないと考えられた。

根から吸収された無機態窒素の中で、硝酸態窒素は茎で集積がみられるが、II期、III期ともこの割合はほとんど変化しないことから、一部をたえず貯蔵しながら硝酸還元がバランスよく進行している（Fig. 2-22）。アンモニア態窒素の集積は特に認められなかった。一方、III期には+N区では茎に硝酸の集積が認められることから、窒素は種子と根から供給され、前者はタンパク質の分解したものであり、後者は無機態窒素である。そこで、種子中でのタンパク質の再合成はあまり起きないと考えられることから、種子中の遊離アミノ酸組成に及ぼす窒素処理の影響は小さいとしても、茎、葉および根では窒素処理により遊離アミノ酸組成が大きく変動することが期待された。しかしながら、基本的に各作物とも各栄養器官における遊離アミノ酸組成は窒素処理の影響をほとんど受けなかった。III期のトウモロコシの遊離アミノ酸組成では-N区でアスパラギンが少ないが、-N区の茎窒素含有率が1.7%と著しく低かったことから、転流窒素が枯渇していたことが原因とも考えられる。なお、茎中のアミノ酸は導管、篩管中のものと、茎の細胞の細胞質中のものが含まれ、本実験ではこれらを区別して論ずることは出来ないが、茎において、1) アミノ酸組成への窒素施与および生育時期の影響がほとんど無いこと、2) エタノール可溶性窒素画分割合がタンパク質合成が主体である葉のそれと比較して数倍あり、葉とアミノ酸組成が異なること、3) 茎と同様に通導組織が主体と考えられる根のエタノール可溶性窒素割合、アミノ酸組成が茎のそれと極めて類似していたことなどから、茎のアミノ酸組成は転流中のアミノ酸組成を強く反映していると考えられる。

以上のことから、窒素処理が硝酸態窒素以外の窒素化合物の組成におよぼす影響は小さかったので、-N区について各種化合物組成の作物・器官差および時期による変動について考察する。なお、窒素処理が各種炭素化合物の構成割合に及ぼす影響については特に調べなかったが、圃場で登熟期について調べた報告によると、窒素施与の影響はほとんど認められていない。

粗成分組成および繊維成分について検討する。I期（播種時）の種子の粗成分を各作物間で比較すると、イネ科作物で炭水化物が圧倒的に多く、ダイズで粗タンパク質、サイ

トウで粗タンパク質、炭水化物、および「その他」、ラッカセイで粗タンパク質、粗脂肪が多い。II期（出芽時）からIII期にかけて、炭水化物含有率の高いイネ科作物で炭水化物割合が急激に低下し、ダイズ、サイトウでは組成の変化は小さく、各成分とも比較的均等に分解され、ラッカセイでは粗脂肪が選択的に分解され、「その他」の画分が増加した。しかし、ラッカセイにおいても他の粗成分割合は発芽にともない大きく変化することではなく、「その他」を粗脂肪由来と考えるならば、発芽に伴う組成の変化は小さいと言える。以上のことは発芽により各作物の種子重は著しく減少し、イネ科作物では炭水化物（デンプン）の減少が優先的に起こるが、マメ科作物では各成分がほぼ均等に分解されたことを示している。III期の葉の粗成分割合はいずれの作物でも粗繊維が多く、マメ科作物では他に粗タンパク質と、「その他」が多かった。根の粗成分割合は各作物とも茎の組成に似ているが、茎よりは全般に粗繊維割合がやや高かった。

以上のように、葉・茎・根の粗成分を各作物で比較すると、イネ科作物ではマメ科作物に比べて、粗繊維の割合が高く、粗タンパク質割合が低かった。圃場レベルでのイネ、コムギ、トウモロコシ、ダイズの各構成成分の変動について2-1節の結果と比較してみると、収穫部位と種子の一致は当然であるが、登熟前後の各作物の茎葉の粗成分組成は粗タンパク質量が発芽時のそれに比べて低い以外はいずれの場合でも粗繊維の割合が高く良く似ており、茎葉では発芽時から収穫期に至るまで粗成分組成がほぼ一定に保たれることが示唆された。

次に窒素化合物について検討する。発芽に伴って種子において、マメ科作物ではエタノール画分の割合が著しく高まるが、イネ科作物では変わらない。種子から転流した窒素は茎を通り葉に運ばれるが、茎と根のエタノール画分の割合は各作物とも葉に比べて茎で高く、マメ科作物でイネ科作物より高い。圃場レベルの窒素の画分の変動と比較すると、茎葉のエタノール画分は発芽時では高く推移しているが、登熟期においても低分子の窒素化合物が茎で葉よりも存在する割合が高い傾向があり、この傾向は作物体の窒素栄養状態が過剰のときにより顕著であるので、茎葉の窒素が分解し収穫部位に転流されるに際して、茎に低分子の窒素が集積していると考えられ、発芽時の挙動に類似した。

種子遊離アミノ酸組成は各作物ともII期とIII期でほとんど変化しないことから、種子のタンパク質が分解して他の器官に転流する際にたえずこの組成が保たれる機構が存在

していると考えられる。茎においても茎の窒素含有率が低い3期のトウモロコシ以外ではII期、III期を通してアミノ酸組成はほとんど変化しないことから、窒素が欠乏しないかぎり茎のアミノ酸組成も一定に保たれる機構が存在するものと考えられる。発芽に伴って、種子の遊離アミノ酸組成はイネ科作物では比較的タンパク態のアミノ酸組成に近い組成であり、アミノ酸組成の変化は小さい。一方、マメ科作物ではタンパク態アミノ酸組成に比べてダイズとサイトウにおいてはアスパラギン、ラッカセイにおいてはプロリン、4-メチレングルタミン酸、4-メチレングルタミンの割合が高まり、タンパク質が分解・転流するに際して、著しいアミノ酸組成の変化を伴う。次にアミノ酸は茎を通して根や葉へ転流することや、先に述べた理由から茎の遊離アミノ酸組成は転流形態のアミノ酸組成を強く反映していると考えられる。茎の遊離アミノ酸組成はイネ科作物ではアスパラギンが著しく増加し、種子の組成と異なることから葉から茎への転流課程でアミノ酸代謝が活発に行われ、マメ科作物、バレイショでは種子の組成とあまり変わらないことから、種子から茎にそのままの組成で流入しているものと考えられる。葉の遊離アミノ酸組成はマメ科作物では茎のそれに近かったが、イネでシステイン、トウモロコシではアラニンが多く、全般に茎から葉へ転流するに際してのアミノ酸組成の変化は小さい。また根の遊離アミノ酸組成は茎とほぼ同様であった。

転流窒素は篩管を通して運ばれるが、篩管のアミノ酸の組成を直接調べた結果によると、イネではアスパラギン酸、アスパラギン、グルタミン酸、グルタミン、セリン^{217, 218)}、コムギではグルタミン酸、アスパラギン酸、セリン²²²⁾、あるいはグルタミン²¹⁰⁾、ダイズではアスパラギン、グルタミン²⁰⁹⁾が多いことが報告されている。このような組成は栽培条件により変動すると考えられるが²²⁰⁾、アミノ酸類の主体を占めるのはアスパラギン酸、アスパラギン、グルタミン酸、グルタミンであると言える。発芽時の茎の遊離アミノ酸組成もアスパラギンやグルタミンが圧倒的に多いことから、一部は導管や茎の細胞質が含まれるものの、基本的には篩管の組成を反映しているものと考えられる。コムギを除けば登熟期に報告されている値²³⁷⁻²⁴⁰⁾と本報の発芽期の値を比較してもこれら4種のアミノ酸類の割合はほぼ同様であった。

以上から、発芽で種子の構成成分が分解されて栄養器官を構成する過程と登熟期に茎葉の構成成分が分解されて収穫部位を構成する過程とを比較すると、両過程は粗成分組

成、タンパク態アミノ酸組成、窒素の転流形態からみると同様な再構成機構が進行しているとみなすことができる。しかし、作物により炭素・窒素化合物の構成成分の変動が異なることから、これらの再構成過程は作物ごとに明らかにする必要がある。しかしながら、イネ科作物内、マメ科作物内ではその組成は比較的似ていた。イネ科作物とマメ科作物について各成分の特性をまとめると次のようになる。1) 種子の粗成分はイネ科作物で炭水化物が低下するが、マメ科作物では各成分組成は変わらず、各成分とも均等に分解され、2) 葉・茎・根の粗成分割合によるとイネ科作物で粗繊維の割合が高く、マメ科作物で粗タンパク質の割合が高く、3) 葉・茎・根の繊維成分の中で、イネ科作物ではヘミセルロース、セルロースの割合が高く、マメ科作物ではセルロースの割合が高く、4) 茎と根の遊離窒素割合はイネ科作物でマメ科作物に比べて低く、5) 種子の遊離アミノ酸組成は種子のタンパク態アミノ酸組成と比べてイネ科作物で比較的似ており、マメ科作物で著しく異なり、6) 茎の遊離アミノ酸組成は種子の遊離アミノ酸組成と比較してイネ科作物で著しく異なり、マメ科作物ではほぼ同じであった。このように同一科内では発芽に伴う各器官の組成変化は極めて似ており、種子を分解・転流し、他の器官を再構成する機構は、イネ科作物内、マメ科作物内の中ではほぼ同一と考えられた。

2-5. 要約

作物の乾物生産は吸収した養分と、体内に蓄積されている養分の再循環によって制御されている。作物間で比較すると、窒素当たりの乾物生産性は種により大きく異なっていることが知られており、特にマメ科作物ではイネ科作物や根菜類に比較して、窒素当たりの乾物生産性が低い。従来、マメ科作物の生産性の低さは収穫部位に多量のタンパク質や脂肪の蓄積、および、根粒の着生のためにより多くのエネルギーを必要とするためであると考えられてきた。しかしながら、上記のマメ科の特性は生育ステージに関係なく一貫しており、また栄養状態にも影響を受けないことから²⁾、エネルギー論に基づく解析は再検討を必要とした。本研究では特に個体内の構成成分の再構成過程を呼吸代謝に結び付けて解析するという、新たな方法で解析を試みた。本章では、各種作物を供試し、異なる生育ステージでの体内の炭素と窒素の挙動を化合物レベルで調査することにより、各作物の炭素・窒素化合物の再構成特性を明らかにすることを目的とし、以下の結果を得た。

1. 作物の登熟過程において茎葉を構成している炭素化合物と窒素化合物はそのままの形態では移動せず、葉で一度分解再構成され、新規合成部位に再転流後さらに再構成された。
2. 作物間で比較すると、炭素・窒素化合物の再構成は特にマメ科作物で活発であった。
3. 炭素化合物と窒素化合物の転流形態と再構成過程に対する作物の栄養状態の影響は小さく、この再構成の過程は安定した機構であった。
4. タンパク態アミノ酸組成は、種、生育ステージ、栄養状態によってほとんど影響を受けず、部位間でも類似していた。
5. これらの機構は登熟期のみならず発芽過程においても認められたことから、作物の基本的な生理機構の一つであると考えられた。
6. タンパク態アミノ酸と遊離アミノ酸の組成が著しく異なることから、特に窒素化合物の再構成に伴い大幅な炭素化合物と窒素化合物の組み換えが進行していた。

第3章 乾物生産と呼吸の関係の作物間比較

第2章から明らかになったように、作物はその生育過程において構成化合物を組み換えつつ、新規部位を生長させる。炭素・窒素化合物の再構成には作物間差が存在し、特に窒素化合物の再転流に伴い、著しい組み換えが認められた。マメ科作物では転流形態のアミノ酸組成の炭素／窒素比が低いことから、茎葉において一度窒素化合物から炭素分子が脱炭酸していることが推定された。この過程が植物の呼吸代謝、ひいては乾物生産性と結び付いていることが予想される。そこで第3章では、各種作物の呼吸代謝について乾物生産性と結び付けた解析を行う。Osaki et al.²⁾ は各種の作物の乾物生産性を窒素の吸収量をベースにして比較した結果、マメ科作物においてイネ科作物に比較して生産性が低いことを明らかにした。この傾向は生育ステージを通して変わらず、またマメ科作物において根粒菌の着生の有無の影響を受けなかった。従来、マメ科作物における乾物生産性の低さは、窒素固定に要するエネルギーと収穫部位にタンパク質、脂肪を高含有率で蓄積するためにその合成に要するエネルギーが多いことによると考えられてきたが⁸⁰⁾、この概念からはOsaki et al.²⁾ の見出した結論は説明できない。そこで、第3章では生合成が活発に行われる収穫部位の呼吸と乾物増加量および構成化合物の構成割合を詳細に調査することにより、エネルギー論的に収穫部位の呼吸量が説明されるか否かを検証し、続いて栄養生長期、収穫期の作物体全体についても調査した。

3-1. 各種作物の収穫部位の生長効率

収穫部位を構成する成分はおおまかにタンパク質、脂肪、炭水化物に分類されるが、それぞれの存在割合は種により大幅に異なっている。そこで、本節では生化学的な生合成過程から予測されるエネルギー必要量と実際の呼吸による炭素の放出量を比較した。

実験方法

1. 栽培方法

Table 3-1 Outline of the growth conditions.

Crop	Variety	Date of planting	Planting space for hill (cm x cm)	Planting density per hill
Rice	Michikogane	25 Apr (24 May)* 1991	30 x 15	2
Winter wheat	Chihokukomugi	8 Sep 1988	20	250 grains m ⁻²
Barley	Ryoufuu	11 May 1991	30	300 grains m ⁻²
Oat	Zenshin	11 May 1991	30	300 grains m ⁻²
Maize	Pioneer 3732	16 May 1989	20 x 30	1
Sorghum	403	16 May 1989	60	80 grains m ⁻²
Soybean	Kitamusume	14 May 1991	30x30	3
Field bean	Hokkaikintoki	14 May 1991	40x30	2
Lupin	Kievskij mutant	14 May 1991	30x30	2
Pea	Sanjunichi-kinusayaendou	14 May 1991	30x30	2
Aduzki bean	Benidainagon	14 May 1991	30x30	2
Chick pea	ICPL 316	21 May 1991	30x30	1
Peanut	Nakateyutaka	10 May (1 June)* 1991	40x30	1
Potato	Dansyakuimo	7 May 1991	50x20	1
Sunflower	Hokuren	8 May 1991	40x30	1
Safflower	Togenashi	9 May 1991	30x20	1
Flax	Reina	9 May 1991	30x20	1
Rape	Andor	9 May 1991	30x20	1
Castor bean	Akabahima	10 May 1991	60x40	1
Cotton	Dwarf	10 May 1991	30x20	1

* Date of transplanting.

実験は1989年と1991年に行った。1989年には秋播コムギ（以下コムギ、播種は1988年）、トウモロコシ、ソルガムを供試し、1991年にはイネ、オオムギ、エンバク、ダイズ、サイトウ、ルーピン、エンドウ、アズキ、ヒヨコマメ、ラッカセイ、バレイショ、ヒマワリ、ベニバナ、アマ、ナタネ、ヒマ、ワタを供試した。品種、播種日、栽植様式はTable 3-1に示した。窒素、リン、カリウムを硫酸、過石、硫酸でN、P₂O₅、K₂Oとしてそれぞれ100kg ha⁻¹を全層施肥した。開花後の収穫部位を4から5日毎にサンプリングした。

2. 呼吸の測定

収穫部位はイネ、コムギ、オオムギ、エンバク、ソルガムでは穂、ダイズ、サイトウ、ルーピン、エンドウ、アズキ、ヒヨコマメ、ラッカセイでは莢、トウモロコシは種子、ヒマワリは花床と種子、ベニバナ、アマ、ナタネ、ワタは果実、バレイショは塊茎を用いた。呼吸はそれぞれの収穫部位に適した大きさのチャンバーの中で、暗所で偏差型赤外線ガス分析計（1989年は日立-堀場のModel EIA-2、1991年はLi-corのLI-6200）で呼吸速度を通気法で測定した¹⁴²⁾。1989年には呼吸速度を昼の12時と夜の0時に測定し、生育を追って比較したが、一定温度当りでは差が認められなかったもので、値は平均値で示してある。呼吸速度は測定日の平均気温における速度にQ₁₀=2として換算した。温度は熱電

対で測定した。

呼吸速度の測定に当り、1989年の各作物および1991年のバレイショ、ヒマワリ、ベニバナ、ヒマはカミソリあるいは鋭利な鋏を用いて植物体より切断した。バレイショとラッカセイに関しては土壌より採取後水道水で丁寧に洗浄した。1991年の呼吸の測定は携帯用の赤外ガス分析計でバレイショ、ヒマワリ、ベニバナ、ヒマ以外の作物では植物体から切断せずに直接呼吸速度を測定した。植物体から収穫部位を切除した場合の呼吸に対する影響はイネ科作物では観察されなかったが、マメ科作物では切除後30秒以内に約2倍に高まることが観察された（資料省略）。

3. 粗成分分析

粗タンパク質、粗脂肪、粗灰分の分析は各作物について登熟後期に行った。炭素と熱量の分析を1989年に登熟初期 (stage 1)、登熟中期 (stage 2)、登熟後期 (stage 3) に行った。各成分の分析方法は2-1節に準じる。炭水化物の含有割合は全体から粗タンパク質、粗脂肪、粗灰分の割合を差し引いた割合で表した。炭素含有率はC/Nコーダー（柳本製作所 Model MT-500）を用い、馬尿酸を標準として決定した。熱量はカロリメーター（小川精器 Model OSK-150）を用い、安息香酸を標準として決定した。

結 果

1. 相対生長速度

収穫部位の相対成長速度 ($\text{g g}^{-1} \text{ day}^{-1}$) は3つのタイプに分類された (Figs. 3-1a, b, c)。1つ目のタイプは最初低く、その後急速に高まり、生育の後半にかけて次第に低下する。第1のタイプに含まれるのは、イネ、コムギ、オオムギ、トウモロコシ、ソルガム、ダイズ、ナタネ、バレイショ、ヒマワリ、ベニバナである。2つ目のタイプは最初から高く、次第に低下していくもので、エンドウ、ヒヨコマメ、ラッカセイ、ヒマ、アマ、ワタがこれに含まれる。3番目のタイプは生育の初期に低く、次第に高まり、その後一定となるものでエンバク、サイトウ、ルーピン、アズキが含まれる。

相対生長速度の最大値はイネ、コムギ、オオムギ、エンバク、ソルガム、ダイズ、サ

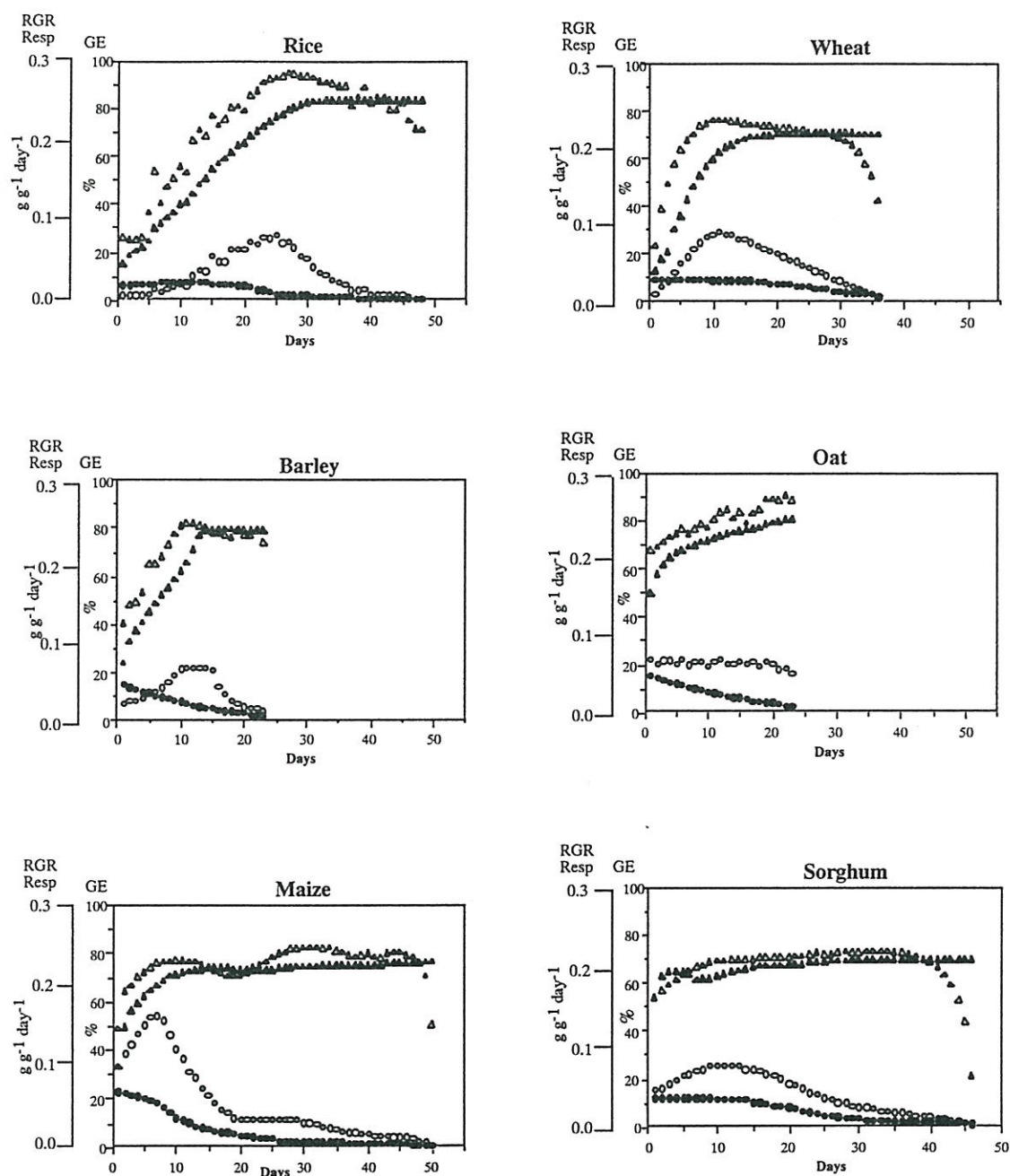


Fig. 3-1a Comparison of relative growth rate, respiratory rate, GE₁ and GE₂. (*Gramineae*)

- RGR($\text{g g}^{-1} \text{day}^{-1}$)
- Resp($\text{g g}^{-1} \text{day}^{-1}$)
- △ GE₁(%)
- ▲ GE₂(%)

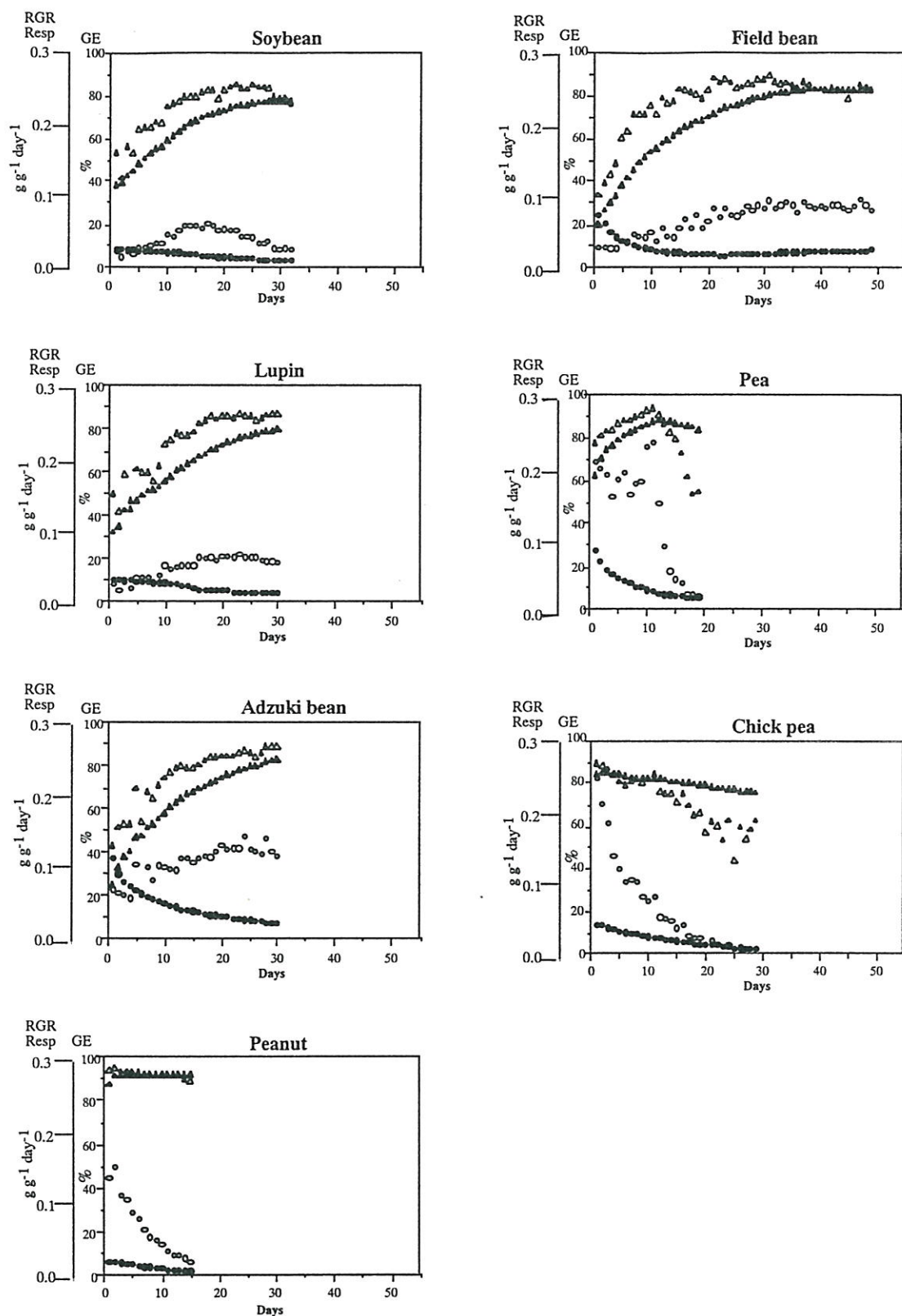


Fig. 3-1b Comparison of relative growth rate, respiratory rate, GE₁ and GE₂. (*Leguminosae*)

- RGR($\text{g g}^{-1} \text{day}^{-1}$)
- Resp($\text{g g}^{-1} \text{day}^{-1}$)
- △ GE₁(%)
- ▲ GE₂(%)

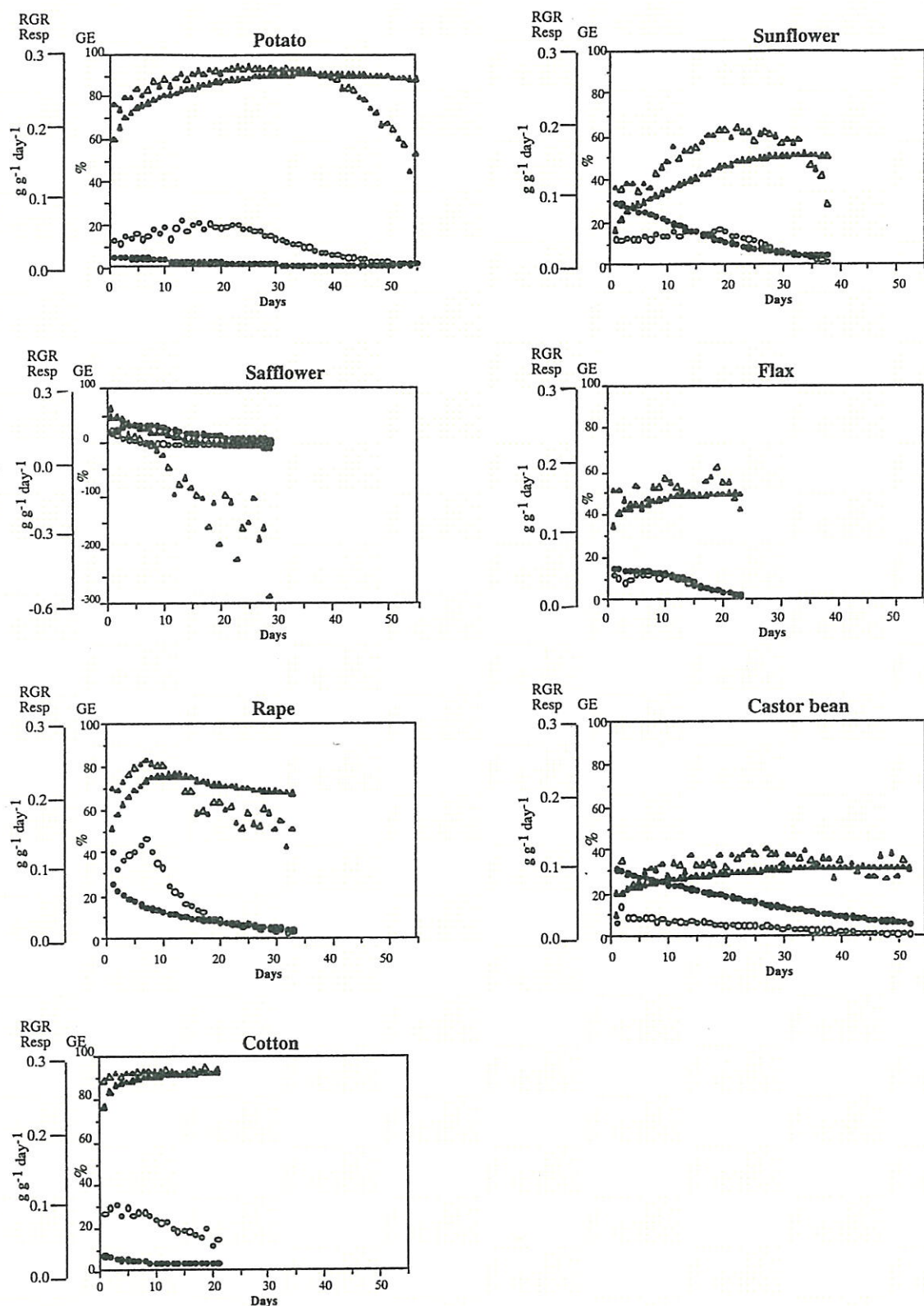


Fig. 3-1c Comparison of relative growth rate, respiratory rate, GE₁ and GE₂. (other crops except for Gramineae and Leguminosae)

- RGR($\text{g g}^{-1} \text{day}^{-1}$)
- ◻ Resp($\text{g g}^{-1} \text{day}^{-1}$)
- △ GE₁(%)
- ▲ GE₂(%)

イトウ、ルーピン、バレイショ、ベニバナ、ヒマ、アマ、ワタで0.05-0.10の間であった。トウモロコシ、アズキ、ラッカセイ、ナタネでは0.10-0.20の間であり、エンドウとヒヨコマメでは0.20-0.30の間であった。

2. 呼吸速度

いずれの作物でも呼吸速度 ($\text{g g}^{-1} \text{ day}^{-1}$) は初期に高く、生育を追って次第に低下した (Figs. 3-1a, b, c)。最大値はトウモロコシ、サイトウ、エンドウ、アズキ、ラッカセイ、ナタネ、ヒマ、ヒマワリ、ベニバナで0.05から0.10であり、トウモロコシ以外のイネ科作物、ダイズ、ルーピン、ヒヨコマメ、アマ、ワタでは0.01-0.05の範囲であり、バレイショでは0.01以下であった。

3. 生長効率

生長効率 (GE) は以下のように定義される。

$$GE_1 = \text{RGR} / (\text{RGR} + \text{Resp}) \quad \text{--- eq. 3-1}$$

$$GE_2 = \Sigma \text{RGR} / (\Sigma \text{RGR} + \Sigma \text{Resp}) \quad \text{--- eq. 3-2}$$

ここでRGRは相対生長速度、Respは呼吸速度を示す。 ΣRGR と ΣResp はそれぞれ登熟開始期からのRGRとRespの積算値である。つまり、 ΣRGR は登熟期間の乾物の集積量に相当する。作物に集積した各種成分と生長効率を対応するときにはeq. 3-2で示される生長効率を用いた方がより適切であると考えられる。Figs. 3-1a, b, cで示されるように GE_1 と GE_2 の違いは生育の初期と終期を除けばほとんど変わらないことから GE_2 を用いて考察を行う。

ヒヨコマメ、ラッカセイ、ベニバナを除いた各作物では GE_2 は生育に伴って次第に高まり、イネ科作物では0.75-0.85で一定となり、マメ科作物、ワタ、バレイショでは0.80-0.90で一定となり、ナタネでは0.70、ヒマワリとアマでは0.50、ヒマでは0.30で一定となった。ベニバナでは開花期以降 GE_2 は低下し、生育の後半では負の値となったが、これは果実の乾物重が次第に低下したためである。

4. 粗成分組成

イネ科作物とワタでは粗タンパク質は9-13%であり、粗脂肪は5%以下であった (Table 3-2)。マメ科作物では粗タンパク質はイネ科作物の2-3倍の多さであり、粗脂肪はダイズとラッカセイでそれぞれ20%と30%と高かったことを除くと5%以下であった。その他の作物では粗タンパク質の含有量は10-20%であり、粗脂肪の含有量はヒマワリとヒマで約40%、ベニバナ、アマ、ナタネで20%、ワタで3%、バレイショで0.1%であった。

いずれの作物でも粗灰分の含有量は5%以下であった。炭水化物の含有量は100%からの差し引きで示されるので、イネ科作物、バレイショ、ワタでは80-90%、ベニバナとダイズとラッカセイを除いたマメ科作物では65-80%、ダイズ、ラッカセイ、ヒマワリ、アマ、ナタネ、ヒマでは40-65%であった。

Table 3-2 Composition (%) of chemical component in the harvesting organs at harvest.

Crop	Protein	Lipid	Carbohydrate	Ash
Rice	10.5	2.2	82.8	4.5
Winter wheat	11.3	1.7	82.2	4.8
Barley	13.2	3.5	81.3	2.0
Oat	12.5	4.7	80.3	2.5
Maize	10.2	4.1	84.2	1.5
Sorghum	8.8	3.5	84.9	2.8
Soybean	31.4	20.1	44.4	4.1
Field bean	19.2	2.4	75.5	2.9
Lupin	25.1	4.1	67.4	3.4
Pea	23.3	1.5	72.3	2.9
Aduzki bean	21.6	1.3	74.7	2.4
Chick pea	17.3	5.1	75.0	2.6
Peanut	19.3	30.4	48.4	1.9
Potato	10.1	0.1	87.1	2.7
Sunflower	13.4	41.9	41.4	3.3
Safflower	15.7	16.3	65.2	2.8
Flax	18.8	22.0	56.4	2.8
Rape	20.0	22.8	52.4	4.8
Castor bean	19.0	37.4	39.9	3.7
Cotton	13.9	2.9	79.8	3.4

5. 炭素含有率

生育を通じてイネ科作物の収穫部位の炭素含有率 (%) は42-45であった (Table 3-3)。ただし、イネ科作物の中でイネとコムギは比較的低かった。マメ科作物ではサイトウとルーピンでは44-46であり、ダイズでは登熟の初期には45であったが、登熟中期から終期にかけて48に高まった。ヒマワリでは炭素含有率が56-57と最も高かった。バレイショでは生育を通じて41であった。

6. 熱量

イネ科作物では収穫部位の熱量 (J kg^{-1}) は生育を通じて17.6-18.1であった (Table 3-3)。マメ科作物ではダイズでは18.5から21.0に高まり、サイトウ (17.6-18.1)、ルーピン (18.7-19.1) では生育を通して変わらなかった。ヒマワリでは登熟初期から極めて高く (24.8)、登熟の進行に伴ってさらに26.9まで高まった。バレイショでは生育を通じて16.8と最も低かった。

炭素含有率と熱量の間には

$$\text{HC} = 0.5813 \times \text{C} - 1.745 \quad (r^2 = 0.920^{**}) \quad \text{--- eq. 3-3}$$

の関係が認められた。ここでHCは熱量 (J kg^{-1})、Cは炭素含有率 (%) である。

Table 3-3 Total carbon content and heat of combustion in the harvesting organs at growth stage I, II, and III.

Crop	Growth stage	Date	Total carbon (%)	Heat of combustion (J Kg^{-1})
Rice	I	22-Aug	42.8	17.65
	II	1-Sep	43.1	17.54
	III	13-Sep	43.0	17.56
Winter wheat	I	27-Jun	41.8	17.48
	II	11-Jul	42.3	17.38
	III	22-Jul	43.6	17.33
Maize	I	28-Aug	43.2	18.15
	II	13-Sep	45.5	18.18
	III	28-Sep	45.0	18.20
Sorghum	I	26-Aug	44.8	18.00
	II	11-Sep	44.0	18.03
	III	21-Sep	44.6	18.12
Soybean	I	16-Aug	44.9	18.39
	II	26-Aug	48.1	20.19
	III	5-Sep	48.3	21.06
Field bean	I	31-Jul	43.5	17.95
	II	5-Aug	43.5	17.86
	III	10-Aug	43.5	17.76
Lupin	I	3-Aug	45.3	18.65
	II	13-Aug	45.9	18.89
	III	24-Aug	45.8	19.13
Sunflower	I	19-Aug	56.4	24.69
	II	27-Aug	57.3	27.00
	III	6-Sep	56.7	26.92
Potato	I	18-Jul	40.7	16.95
	II	23-Jul	40.9	16.91
	III	2-Aug	40.7	16.82

考 察

圃場で育てた20種の作物の収穫部位の呼吸速度と乾物重の変遷から生長効率を算出した。収穫部位を植物体から切り離したときに、収穫部位の呼吸速度がマメ科作物では2倍

程度に高まることが観察されたことから（資料省略）、可能な限り着生状態で携帯型の赤外線ガス分析機を用いて呼吸速度を測定した。1976年のHarveyの報告²⁷⁰⁾によれば、エンドウの莢には高濃度のガス状の2酸化炭素が含まれていることが報告されている。これによれば通常の大気中の2酸化炭素濃度の10-150倍の2酸化炭素が含まれていることから、マメ科作物で収穫部位を切断したときに認められた急速な2酸化炭素の放出はこのことが関与していたものと予想される。バレイショ、ヒマワリ、ベニバナ、ヒマでは切断の影響は確認されず、これらの作物に関しては収穫部位を切断して得た結果を利用した。

栄養生長期の全作物体を用いてその炭素バランスから生長呼吸と維持呼吸に関して行われた様々な研究が報告されているが¹³¹⁾、収穫部位の生長効率に関する研究は少ない。これまで、化学組成が生長効率あるいは生長呼吸を決定していると考えられており¹⁴⁵⁾、収穫部位は作物によりその化学組成が多岐にわたることからその生長効率には興味を持たれる。これまでに報告されている収穫部位の生長効率はコムギとオオムギで70-80%^{87, 88)}、ワタで60-75%¹⁰⁸⁾、イネ、トウモロコシで70%、ダイズで45%^{80, 143, 144)}と報告されている。

エネルギー収支から考えると、異なる組成の収穫部位を持つ作物間の比較を単に乾物重からのみ評価するのは正確ではない。そこで炭素について再計算した相対生長速度と呼吸速度を用いて生長効率を算出しGE_cとした。GE_cと化学成分組成を用いて各粗成分の合成のための炭素ベースでの転換効率を計算した。そのためにまずそれぞれの粗成分の炭素含有率を3-4式に基づき非線形モデルで解を得た。また、この際、粗灰分の60%が無機物であるとの報告²⁷¹⁾に基づき灰分含有率を元の含有率に0.6を乗じた値とし、さらにタンパク質、脂肪、炭水化物の含有率を灰分がない状態として再計算した。

$$P/C (P) + L/C (L) + C/C (C) = TC \text{ ---eq. 3-4}$$

ここでP、L、Cはそれぞれタンパク質、脂肪、炭水化物の含有率を示し、C (P)、C (L)、C (C)はタンパク質、脂肪、炭水化物の炭素含有率の逆数である。TCは全炭素含有率である。3-4式を解いて得た解はC (P)、C (L)、C (C)それぞれ1.79、1.30、2.38であった。この逆数が炭素含有率になるので、それぞれ55.9%、76.9%、42.0%となった。このようにして得た値と例えばトウモロコシ種子の貯蔵タンパク質であるZeinの炭素含有率(55.2%)、植物油脂の代表であるグリセリトリオレイン酸(77.4%)、セルロース

(43.9%) と比較すると極めてよく一致している。

3-4 式の右式の TC を燃焼熱 (J kg^{-1}) に置き換えることにより、各成分の燃焼熱を推定することが可能であり、得られた解は 4.33、2.53、5.85 であった。すなわち、タンパク質、脂肪、炭水化物の燃焼熱はそれぞれ 23.1 、 39.6 、 17.1 J kg^{-1} となった。食品成分表²⁷²⁾ によればそれぞれ 23.4 、 39.1 、 17.6 J kg^{-1} でありよく一致した。

このように得られた各成分の炭素含有率を用いて炭素に関するグルコースベースでの転換効率 (グルコースの 1g の炭素から合成される各成分の炭素量) は 3-5 式により決定される。

$$\text{Pc/CEc (P)} + \text{Lc/CEc (L)} + \text{Cc/CE (C)} = \text{TC} + 100 \times (100 - 100 \times \text{GEc/GEc} \text{ ---eq. 3-5})$$

ここで Pc、Lc、Cc はタンパク質、脂肪、炭水化物それぞれの炭素ベースでの含有割合であり、CEc (P)、CEc (L)、CEc (C) はそれぞれの成分の転換効率である。このモデルを用いて、非線形モデルで解を得ようとしたが、収束せず解は得られなかった。これは収穫部位の成分組成の大きな変化に対し、生長効率の変化がヒマワリなどを除いた作物では、ほとんど差が無かったためと考えられる。

生化学的な代謝系から推測されている転換効率はタンパク質で 0.56、脂肪で 0.33、炭水化物で 0.83 である¹³⁹⁾。窒素に関しては、硝酸還元は葉において呼吸により得られるエネルギーを用いるのではなく光エネルギーによる直接的な還元を受けるとし、その転流形態がアミドであると仮定した。この生化学的に推測された転換効率を用いることにより生長効率は 3-6 式より逆算することが可能である。

$$\text{P}/0.56 + \text{L}/0.33 + \text{C}/0.83 = 100 + 100 \times (100 - 100 \times \text{GEpv}) \text{ --- eq. 3-6}$$

このようにして得られた GE_{pv} は成分組成から生化学的に推定された生長効率と見なされ Table 3-4 にまとめた。GE_{pv} はイネ科、バレイショ、ワタ、ダイズとラッカセイを除いたマメ科で 0.70 以上であり、ダイズとラッカセイおよびその他の作物では 0.49-0.63% であった。

GE₂ と GE_{pv} を比較するとマメ科、特にダイズとラッカセイの GE₂ が GE_{pv} より高くなった。一方イネ科では GE₂ と GE_{pv} の差は小さく、このことはマメ科では莢において一度発生した 2 酸化炭素の再固定が働いていることも考えられた。ベニバナでは GE_{pv} に比較して GE₂ が著しく低くなった。これはベニバナの果実の乾物重が開花期において最大値に

Table 3-4 Comparison among GE_2 , GE_c , and GE_{pv} .

Crop	GE_2	GE_c	GE_{pv}
Rice	0.83	0.84	0.77
Winter wheat	0.70	0.72	0.77
Barley	0.79	0.80	0.74
Oat	0.81	0.82	0.73
Maize	0.76	0.78	0.75
Sorghum	0.70	0.72	0.76
Soybean	0.77	0.80	0.57
Field bean	0.82	0.83	0.74
Lupin	0.80	0.82	0.70
Pea	0.84	0.85	0.73
Adzuki bean	0.83	0.84	0.74
Chick pea	0.76	0.78	0.72
Peanut	0.92	0.94	0.53
Potato	0.89	0.90	0.79
Sunflower	0.51	0.59	0.49
Safflower	-0.11	-0.14	0.63
Flax	0.50	0.56	0.58
Rape	0.67	0.72	0.58
Castor bean	0.32	0.39	0.50
Cotton	0.92	0.93	0.75

達していたためである。開花期までに集積した乾物は登熟を通して様々な組成に変化していったと推定される。

ラッカセイの GE_2 は GE_{pv} と比較すると極めて高かった。1989年にラッカセイ3品種（ナカテユタカ、白油、千葉半粒）を用いてその収穫部位の GE_2 を植物体から切り離す方法で測定しており、 GE_2 はナカテユタカで0.77%、白油で0.71%、千葉半粒で0.82%であり、それぞれの脂肪含有率は29.2%、31.3%、27.6%であった。ただし、この時得られた値は無傷で測定した GE_2 と比較して約0.15低いと考えられる。しかしいずれにしても、その高い脂肪含有率に対応するような GE_2 は得られなかった。このように、特に脂肪の多い収穫部位を持つ作物ではその収穫部位の GE_2 は概して理論的な生長効率（ GE_{pv} ）とかけ離れていることが多かった（ダイズ、ラッカセイ、ベニバナ、ヒマ）。一方、低脂肪含有率の作物では GE_2 と GE_{pv} は比較的似ていた。このようなばらつきのために、それぞれの化学成分の転換効率を非線形モデルで解を得ることが出来なかったと考えられる。高脂肪含有作物では真の生産効率を得るには収穫部位へのエネルギーあるいは基質の供給システムを考慮しなければならない。これに関与する機構としてはPhosphoenolpyruvate carboxylase (PEPC) や carbonic anhydrase の関与が考えられ、Smith et al.²⁷³⁾ の報告によれば脂肪の合成にPEPCが関与しているとされており興味深い。

結論として、相対生長速度と暗呼吸の関係は単純に化学組成に基づく合成過程からの

みに調節されてはおらず、実験データから各成分の転換効率を算出することは出来なかった。しかしながら、みかけの GE_2 がマメ科とイネ科でほぼ同じであったことは注目に値する。一般的にダイズの生産性が低いのは子実に高濃度でタンパク質や脂肪を蓄積するためであると考えられてきた。つまり、これらの化合物の合成のためにはより多くのエネルギーが必要である。硝酸の光還元を考慮に入れた production value の理論的な値¹³⁹⁾に基づけば、ダイズの GE_{pv} は0.57で、イネの GE_{pv} と比べて0.10程度低いのみである。さらにダイズ、ラッカセイ以外のマメ科ではタンパク質が10%程度、イネ科よりも高いが、 GE_2 はほぼ同様であった。これらのことはマメ科での低生産性は茎葉での呼吸速度が高いためと考えられた。

3-2. 収穫部位における CO_2 の再固定機構の量的解析

3-2-1. 収穫部位の光合成能と Phosphoenolpyruvate carboxylase 活性

収穫部位により光合成が行われることがこれまでも知られており、また、収穫部位には PEPC 活性が存在し、これが収穫部位内で発生した CO_2 の再獲得のために働いているという考えがある。前節では、収穫部位から放出される炭素量はその構成成分から予想される量より少ないことを示したが、収穫部位による CO_2 再固定の機構の関与の有無を確認する必要がある。そこで、本研究ではこの点を解析検討した。

実 験 方 法

1. 栽培方法

実験は 1991 年に行った。イネ、オオムギ、エンバク、ダイズ、サイトウ、ルーピン、エンドウ、アズキ、ヒヨコマメ、ラッカセイ、バレイショ、ヒマワリ、ベニバナ、アマ、ナタネ、ヒマ、ワタを供試した。品種、播種日、栽植様式は第 3-1 表に示した。窒素、リン、カリウムを硫酸、過石、硫酸で N 、 P_2O_5 、 K_2O としてそれぞれ 100kg ha^{-1} を全層施肥した。開花後の収穫部位を 4 から 5 日毎にサンプリングした。

2. 光合成速度の測定

収穫部位はイネ、オオムギ、エンバクでは穂、ダイズ、サイトウ、ルーピン、エンドウ、アズキ、ヒヨコマメ、ラッカセイでは莢、ヒマワリは花床と種子、ベニバナ、アマ、ナタネ、ワタは果実、バレイショは塊茎を用いた。4 から 5 日毎に携帯型赤外線ガス分析計 (Li-cor, Model LI-6200) を用い、それぞれの収穫部位に適した大きさのチャンバーの中で晴天下で測定した。ラッカセイ、ヒマ、ヒマワリ、バレイショは植物体に収穫部位が付着したままでチャンバーの中に入れることが困難であったため鋭利なナイフで切断して測定に供したが、それら以外の作物では植物体に着生した状態で光合成速度の測定を行った。

3、Phosphoenolpyruvate carboxylase (PEPC) の活性測定

PEPC活性は4から5日毎に採取した収穫部位を用いて測定した。活性はGhosh et al.²⁷⁴⁾の方法に若干の変更を加えて行った。約 500mg の新鮮組織を 0.37mmol L^{-1} MgSO_4 溶液中に浸漬し、液体窒素で凍結後 -80°C で保存した。凍結試料を 1 ml の氷冷抽出緩衝液 (50mmol L^{-1} Hepes-KOH (pH7.0), 1mmol L^{-1} Na_2EDTA , 10mM dithiothreitol, 5mmol L^{-1} 6-amino-n-hexanoic acid, 1mmol L^{-1} benzamidine hydrochloride, 1mmol L^{-1} phenylmethane-sulphonyl fluoride, 1% (w/v) polyvinylpolypyrrolidone) で摩砕抽出した。抽出液は 17,000 g で 1 分間遠心後、上澄液を粗酵素液とした。粗酵素液のタンパク質濃度を bovine serum albumin を標準タンパク質として Bio-Rad protein assay (Bio-Rad) で決定した。粗酵素液は $25\text{ }\mu\text{g protein} / 50\text{ }\mu\text{L}$ になるように同じ緩衝液で希釈した。200 μL 反応緩衝液 (100mmol L^{-1} Hepes-KOH (pH 8.0), 10mmol L^{-1} MgCl_2 , 10mmol L^{-1} L-glutamic acid, 0.1mmol L^{-1} Na_2EDTA , 30mmol L^{-1} NaHCO_3 , $18.5\text{ Bq NaH}^{14}\text{CO}_3$ ($13.4\text{ GBq mmol}^{-1}\text{ CO}_2$), 20mmol L^{-1} phosphoenolpyruvate) と 50 μL の希釈した抽出液とをバイアル中で混合した。酵素反応は 250 μL 6mol L^{-1} 酢酸を加えて停止させた。バイアルは蓋を開けたままドラフト中に 12 時間放置した後に 250 μL のシンチレーターである ACS II (Amersham) を加えた。 ^{14}C 量は液体シンチレーションカウンター (Aloka Model LSC-502) で測定した。

結 果

1. PEPC 活性

収穫部位の PEPC 活性 ($\text{mgC gDW}^{-1}\text{ h}^{-1}$) は用いた全ての作物において認められた (Fig. 3-2)。ただし、その活性はラッカセイ、ヒマワリ、ヒマ、ワタで 0.001 以下と低かった。エンバク、ベニバナ、アマでは 0.001 から 0.003 であり、イネ、オオムギ、サイトウ、ルーピン、エンドウ、アズキ、ヒヨコマメ、バレイショ、ナタネでは 0.003 以上であった。イネ、ダイズ、ベニバナ、アマでは活性は登熟初期に高く、次第に低下していった。オオムギ、エンバク、エンドウでは登熟後半に活性が高まった。その他の作物では活性は登

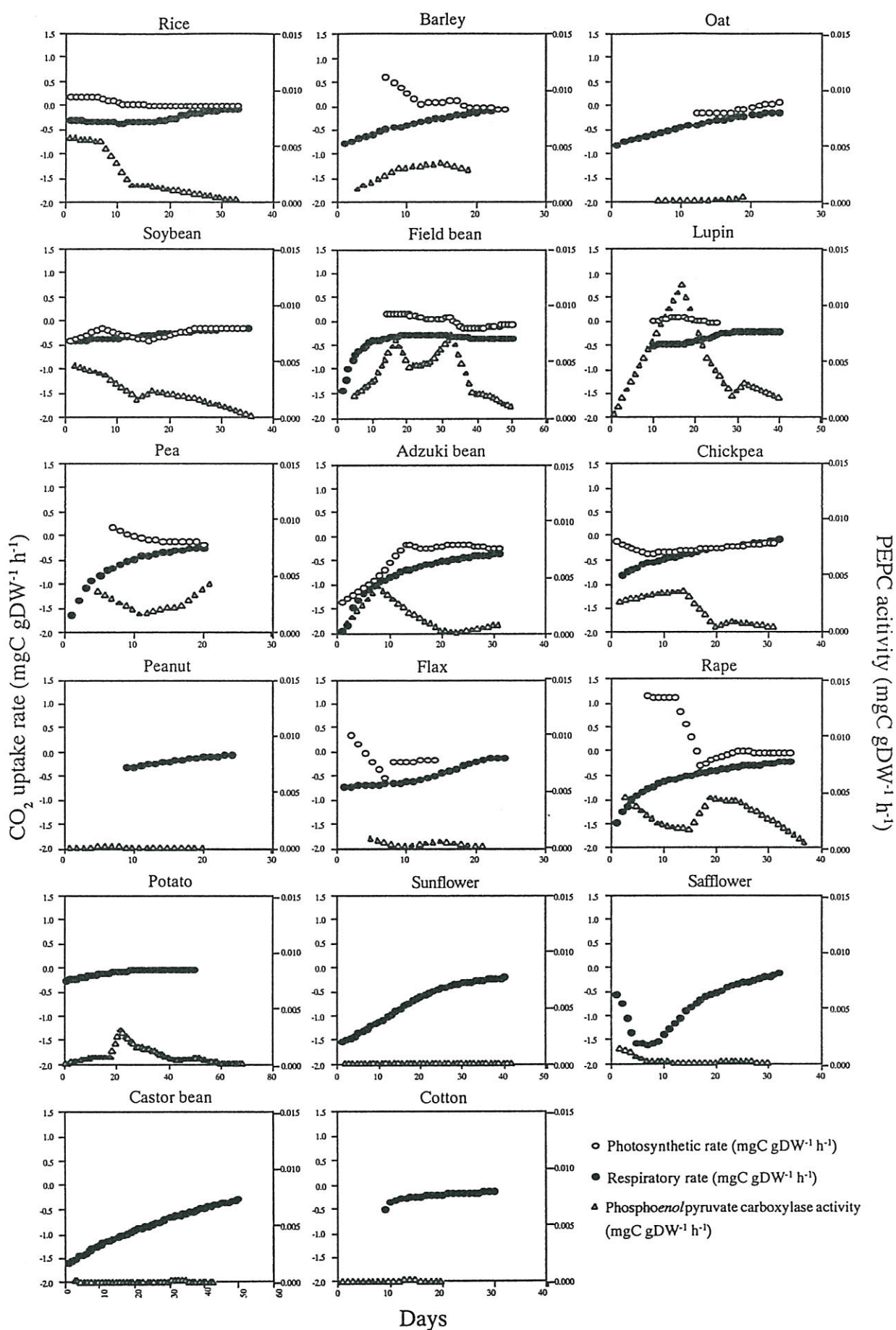


Fig. 3-2 Photosynthetic rate, respiratory rate and PEPC activity of harvesting organ.

熟中期まで高く保たれ、その後低下した。

2. 光合成速度

みかけの光合成速度 ($\text{mgC gDW}^{-1} \text{h}^{-1}$) は登熟初期においてイネ、オオムギ、サイトウ、エンドウ、ヒヨコマメ、ナタネ、アマにおいて正であった (Fig. 3-2)。その速度はナタネで 1.14 と高かった以外は 0.2-0.3 であり、生育の進行に伴って低下し、イネ科作物、ナタネでは 0 となり、マメ科作物とアマでは負の値となった。その他のマメ科作物のエンドウ、ダイズ、アズキでは登熟を通して負の値であり、アズキでは初期に -1.34 と特に低く、生育を追って高まった。ルーピンでは登熟を通してほぼ 0 であった。

3. 呼吸速度

呼吸速度 ($\text{mgC gDW}^{-1} \text{h}^{-1}$) は Fig. 3-2 に $Q_{10}=2$ として昼の平均温度のときの呼吸速度に換算して示した。ここで呼吸速度は負の値として表示されている。登熟初期にいずれの作物においても高く、生育を追って低下した。登熟初期においてアズキで他の作物と比較して高めであった。

3-2-2. 収穫部位に注入した ^{14}C -化合物の挙動

3-2-1の結果から収穫部位の呼吸によって放出される CO_2 が再固定される割合は小さいことが明らかとなり、再固定の分を考慮にいれても収穫部位から放出される炭素量は合成の過程から予想される量より少なかった。そこで、本研究では収穫部位に ^{14}C をラベルした炭素化合物を取り込ませ、その挙動を調査した。

実験方法

イネとダイズの種子を次亜塩素酸ナトリウム溶液 (有効塩素濃度 0.01%) に 10 分間つけて殺菌した。イネの種子は 1990 年の 5 月 9 日に培養液中のサンランネット上に播種した。培養液の組成は N (NH_4NO_3); 30 mg L^{-1} 、P (NaH_2PO_4); 2 mg L^{-1} 、K (K_2SO_4 : KCl

= 1:1); 30 mg L⁻¹, Ca (CaCl₂); 50 mg L⁻¹, Mg (MgSO₄); 20 mg L⁻¹ で微量元素として Fe, Mn, B, Zn, Cu, Mo をそれぞれ 2, 0.5, 0.5, 0.2, 0.01, 0.005 mg L⁻¹ で加えた。pH は 0.1 mmol L⁻¹ 水酸化ナトリウム溶液で 5.3 に一日 2 回調節した。ダイズの種子は、バーミキュライトに 6 月 4 日に播種した。イネの第 3 葉期、ダイズの第 2 葉期に 12 個体を 50 L の培養液の入った 56 L 容プラスチックコンテナに移植した。イネとダイズは別々のコンテナに移植した。培養液の組成は上に示したものと同一であり、pH は 5.3 に一日 2 回調節した。ダイズでは連続通気して育てた。開花期 (イネで 8 月 2 日、ダイズで 7 月 16 日) にそれぞれ 12 L 容器に 1 個体ずつ移植した。

登熟中期 (イネで 8 月 22 日、ダイズで 8 月 12 日) に収穫部位 (イネで穂、ダイズで莢) を茎に接続している部分から鋭利なカッターで切断し、切断面をただちに 0.37 kBq の ¹⁴C- [U] - スクロース (0.19 MBq mmol⁻¹) あるいは ¹⁴C- [U] - アスパラギン (4.78 MBq mmol⁻¹) を含む 50mM リン酸緩衝液 (pH 7.5) に 1 時間晴天下で浸漬した。同化終了後ただちに浸漬した部分を脱塩水で洗浄し、¹⁴CO₂ の放出パターンを測定した。同化した収穫部位をガラス筒で覆い、1.5 L min⁻¹ で吸引し、発生する ¹⁴CO₂ を捕集液 (monoethanolamine : ethanol = 1:4) で回収し、シンチレーターを加えた後に液体シンチレーションカウンターで ¹⁴C 量を測定した。収穫部位は液体窒素で凍結後凍結乾燥し、秤量、粉碎した。試料中の ¹⁴C 量は Osaki and Tanaka (1978) の方法にしたがって決定

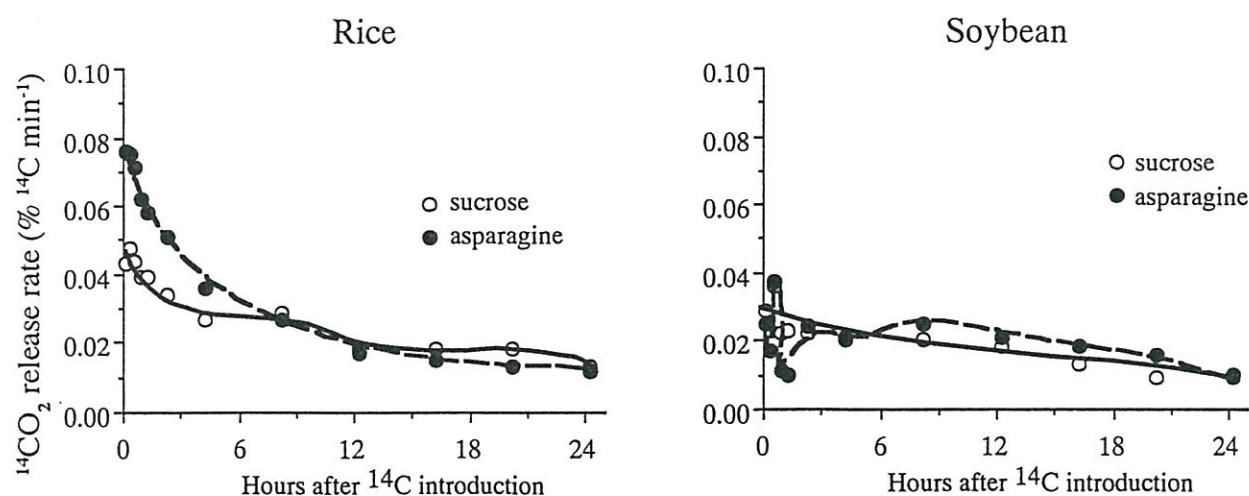


Fig. 3-3 Respiratory release of carbon from introduced ¹⁴C-sucrose and ¹⁴C-asparagine to harvesting organ.

した。

結 果

^{14}C -[U]-スクロースあるいは ^{14}C -[U]-アスパラギンを同化後24時間で呼吸により放出される ^{14}C 量はイネではそれぞれ33.5%と36.4%であり、ダイズではそれぞれ23.7%と22.4%であった。それぞれの作物において同化した化合物の違いは小さく、イネでダイズに比較してより多くの呼吸による $^{14}\text{CO}_2$ の放出が認められた (Fig. 3-3)。

3-2-3. 収穫部位に同化した $^{14}\text{CO}_2$ の挙動

収穫部位に光合成あるいはPEPC活性によりみかけ上取り込まれた炭素が実際にどのように代謝されるのかを明らかにするため、収穫部位に $^{14}\text{CO}_2$ を取り込ませ、その挙動を調査した。

実 験 方 法

イネの第6葉期の苗、およびダイズの種子を北海道大学の温室内で12 Lの土壌を詰めた13 Lポットに1992年の6月11日に移植および播種した。それぞれのポットには褐色低地土 (pH 6.0) をいれ、 0.2 g L^{-1} ずつのN、 P_2O_5 、 K_2O を硫酸アンモニウム、硫酸カリウム、過リン酸石灰で与えた。イネは常に湛水状態で育て、ダイズはポットの下から適宜水を供給した。収穫部位への同化は暗所および明所それぞれ8月20日と27日に登熟初期のものに対して行った。植物体に着生した状態で収穫部位を透明な1Lのポリエチレンバック中で $^{14}\text{CO}_2$ を1mlの $0.37\text{ kBq NaH}^{14}\text{CO}_3$ ($2.06\text{ GBq mmol}^{-1}$)を含む 0.18 mM NaHCO_3 に5mlの過塩素酸を加えて発生させた。同化は1時間行い、同化後の $^{14}\text{CO}_2$ の放出を3-2-3節で示した方法と同様に測定した。24時間後に同化収穫部位とそれとソース-シンク関係をなす葉、およびそれ以外の部分を分け、液体窒素で凍結後凍結乾燥し、秤量、粉碎した。試料中の ^{14}C 量は 大崎と田中の方法¹³²⁾ にしたがって決定した。

結 果

暗所で $^{14}\text{CO}_2$ を収穫部位に同化した時にイネでは171,369 (decay per minute, DPM)、ダイズでは117,792DPMの ^{14}C が取り込まれ、明所ではそれぞれ3,831,138DPM、7,654,594DPMが取り込まれた。同化後24時間の間の呼吸による ^{14}C の放出はイネでは全同化量の26.8%を明所では占め、暗所では83.8%を占めた。ダイズではそれぞれ21.4%

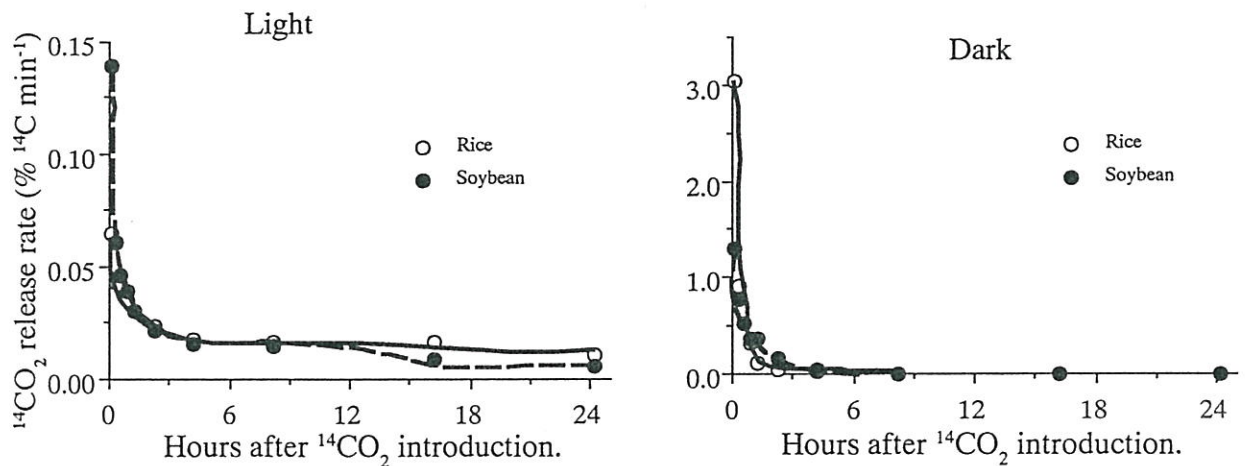


Fig. 3-4 Respiratory release of assimilated $^{14}\text{CO}_2$ to the harvesting organ.

と84.3%を占めた。 $^{14}\text{CO}_2$ の放出速度は両作物とも同化直後に高くその後急速に低下した (Fig. 3-4)。

考 察

収穫部位の粗成分組成はイネ科作物とマメ科作物で大きく異なるがその生長効率は両科で変わらなかったことを3-1節で述べた。生化学的な知見に寄ればタンパク質や脂肪の合成に必要なエネルギーは炭水化物の合成に必要なエネルギーよりも大きいとされている¹³⁹⁾。しかしながら、実験的に求められた生長効率は理論的に求められた値とは異なって両科で大差が認められなかった。この違いを説明する理由の1つに収穫部位において呼吸により放出された CO_2 の再固定の働きが考えられる。実際収穫部位においてもRubiscoと C_4 光合成系のPEPCやmalate dehydrogenaseの活性がサイトウ²⁷⁵⁾とエンドウ²⁷⁶⁾で報

告されている。C₄関連酵素の活性は収穫部位で葉よりも高く、一方、Rubiscoの活性は収穫部位で低く、葉で高かった。このため少なくともマメ科作物においては再固定の活性が高いことが期待される。

真の生長効率を算出するためにPEPCにより再固定されるCO₂量をPEPCの活性から算出し、再固定されたCO₂の量をR (PEPC) とすると生長効率はeq. 3-6のように示される。

$$GE_{PEPC} = W / (W + R + R (PEPC)) \quad \text{--- eq. 3-6}$$

この実験では理論的に算出した生長効率 (GE_{PV}) と実験的に求めた生長効率を比較するために炭素ベースで算出し、Table 3-5 に示した。Table 3-5 に示した値は3-1節で得た値

Table 3-5 Comparison of growth efficiency of carbon among GE_{PV}, GE₂, and GE_{PEPC}

Crops	GE _{PV}	GE ₂	GE _{PEPC}
Rice	0.77	0.85	0.82
Barley	0.75	0.82	0.77
Oat	0.76	0.80	0.80
Soybean	0.62	0.81	0.77
Field bean	0.75	0.84	0.80
Lupin	0.73	0.82	0.75
Pea	0.75	0.85	0.82
Adzuki bean	0.75	0.84	0.84
Chick-pea	0.73	0.77	0.74
Peanut	0.62	0.94	0.94
Potato	0.80	0.90	0.86
Sunflower	0.58	0.63	0.63
Safflower	0.68	0.01	0.01
Flax	0.65	0.61	0.60
Rape	0.63	0.72	0.67
Castor bean	0.58	0.42	0.42
Cotton	0.76	0.92	0.92

とやや異なっているがこの実験ではPEPCの活性測定の為にサンプリングした期間についての値を示しているためである。

イネ科作物 (イネ、オオムギ、エンバク)、サイトウ、ルーピン、ヒヨコマメ、バレイショ、ヒマワリ、ワタでは再固定の系を考慮にいたしたGE_{PEPC}と生化学的な推定値GE_{PV}の間の差は10%以下となった。しかしながらその他の作物、とくにダイズとラッカセイにおいてはGE_{PEPC}はGE_{PV}と比較して15-20%も高い。PEPC活性はイネでは外穎と内穎において²⁷⁷⁾、コムギでは果皮、のぎ、穎において²⁷⁸⁾、オオムギでは果皮において²⁷⁹⁾、ダイズでは莢において²⁸⁰⁾、エンドウでは莢外皮と種皮において^{276, 270, 281)}、ヒヨコマメでは莢外皮において²⁸²⁾、ワタでは綿毛において²⁸³⁾認められている。いずれの作物でもPEPCの

活性は収穫部位中でかなり局在している。また、収穫部位でPEPCが働いていることを示唆するデータとして $\delta^{13}\text{C}$ の値の比較から葉や茎に比べて収穫部位では $\delta^{13}\text{C}$ の値が小さくなっていることからRubiscoに比較して同位体分別効果の小さいPEPCが炭素獲得に働いていることが考えられている。収穫部位におけるPEPCの働きは収穫部位中の CO_2 を再固定するためではないかと考えられているが^{270, 284, 285}、本論文での定量的な結果からPEPCの乾物生産における役割を評価するとその貢献はあまり大きいとはいえない。さらにここで得られた値は*in vitro*に得られた値であり、*in vivo*に比較すると基質も十分に与えてることも考えられ、実際の貢献度はさらに低いことも想定される。

C_3 植物においてPEPCは CO_2 の再固定という直接的な役割の他に、光合成により獲得された炭素をスクロースとアミノ酸骨格に分配する調節において、特にアミノ酸骨格に炭素を分配するために働いていることがChampigny and Foyer²⁸⁶により提案されており、収穫部位においてもそのような効果も期待される。また、 C_4 植物であるトウモロコシにおいても、同様にアミノ酸骨格への炭素の供給を行っているとのデータが得られている²⁸⁷。今後収穫部位におけるPEPCの役割はこのような観点からも考慮する必要があると考えられる。

収穫部位の光合成速度は収穫部位と大気における炭素の流れの差し引きを示しており、正の値を示したときには収穫部位中で発生した CO_2 が大気に放出される前に再固定されている可能性も高い。Flin et al.²⁸⁵とWullshleger and Oosterhuis²⁸⁸はそれぞれエンドウとワタの収穫部位に明所下で $^{14}\text{CO}_2$ を注入する実験を行った。エンドウではpodwallにワタではcapsule wallに多量の ^{14}C が固定されることを報告している。本研究ではイネ科作物では登熟の初期において活発な光合成が認められたが、マメ科作物では登熟を通じて負の値を示していた。Quebedeau and Chollet²⁸⁹により指摘されているようにこのことはマメ科作物において真の光合成速度が低いということにはならない。なぜならば、真の光合成速度は見かけの光合成速度と明所下での呼吸速度の和であり、本実験においても夜間の呼吸能を明所下の呼吸能と同じと仮定して真の光合成速度を算出するとダイズとアズキを除いた作物では正の値となった。ダイズとアズキでは登熟初期においても光合成速度は負の値を示し、このことは光合成能が本当に小さいのか、あるいは明所下の呼吸速度が暗所下の呼吸速度と比較して高いということが予想される。

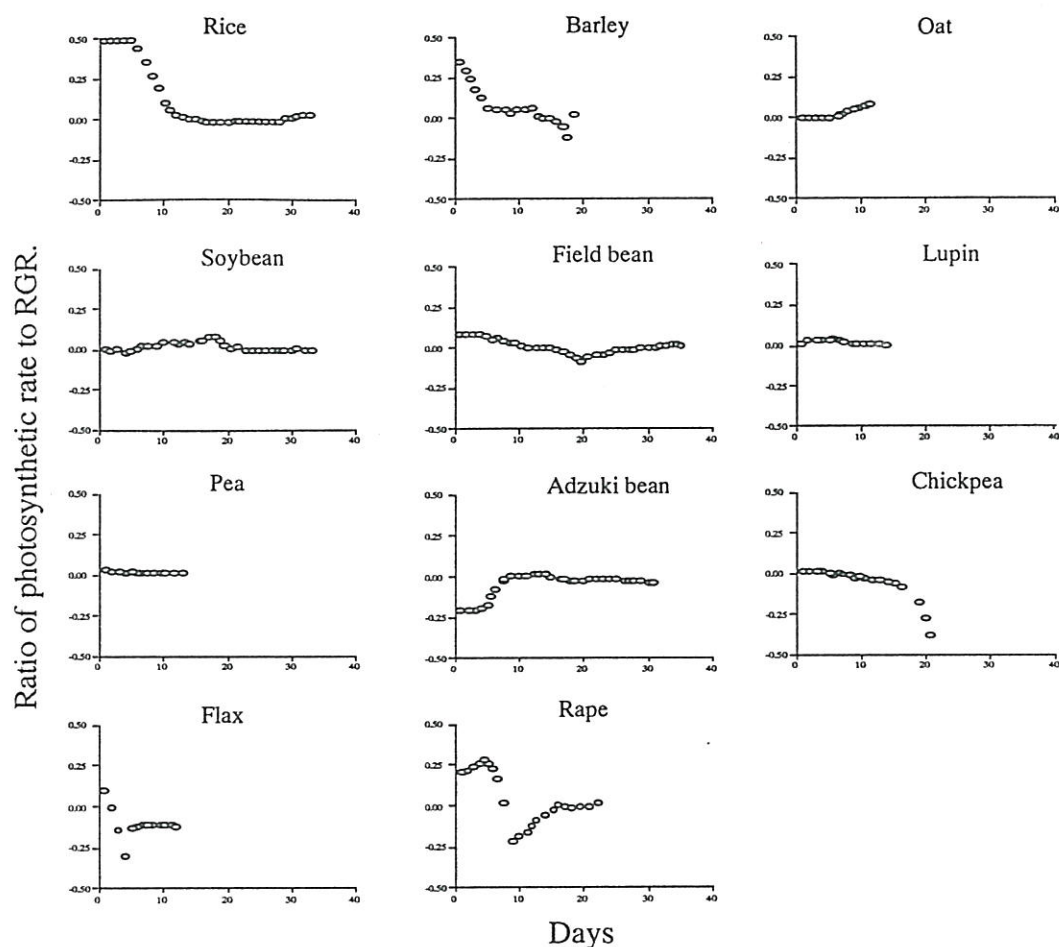


Fig. 3-5 Contribution ratio of photosynthetic rate ($\text{gC gDW}^{-1} \text{d}^{-1}$) of harvesting organ to the relative growth rate ($\text{gC gDW}^{-1} \text{d}^{-1}$) of harvesting organ.

Fig. 3-5に相対生長速度に対する光合成速度の比率を示した。比率はイネ科作物とナタネでは登熟初期に高い（オオムギを除くと0.25以上）。一方マメ科作物においてはサイトウとルーピンでは登熟初期に約0.10であり、ダイズ、エンドウ、アズキ、ヒヨコマメでは0.10以下であった。このように収穫部位の乾物生産に対する光合成の貢献度は全登熟期間を考えると必ずしも高くないとみなされる。

光合成も一見呼吸により放出された CO_2 を再固定することが考えられることからその生長効率に対する役割を考察すると、まず収穫部位に集積した乾物重はeq. 3-7により示される。

$$W = S + P + R \text{ --- eq. 3-7)}$$

ここでWは集積した乾物重、Sはソースから供給された基質量、Pは光合成により大気中から固定された初期光合成産物量とすると生長効率はeq. 3-8のように示すことが可能である。

$$GE = W / (S + P) = W / ((W - P + R) + P) = W / (W + R) \text{ --- eq. 3-8}$$

このように光合成能で示されている活性が収穫部位の外側から収穫部位により固定される初期光合成産物量のみを示しているのならば生長効率は変わらない。しかしながら、収穫部位の内部で発生した CO_2 の一部が大気中に放出される以前に光合成により再固定されることは当然予想され、そのような再固定は生長効率を低下させる。またもし明所下での呼吸速度が暗所下の呼吸速度よりも高いのなら生長効率はさらに低くなる。

ラッカセイの例を考えると、その実測の生長効率は0.94とその組成から予測される生長効率0.62に比べてかなり高い。ラッカセイのPEPC活性は低く、またその収穫部位も地下部に位置していることから、ラッカセイでは CO_2 の再固定によりその実測の生長効率の高さを説明することは難しい。このことはさらに転流化合物の検討も必要であることも推察される。実際、ATPなどの高エネルギー物質の存在が篩管中に認められており、篩管中のenergy chargeは0.90以上と極めて高いことが報告されている^{289, 290)}。このこと

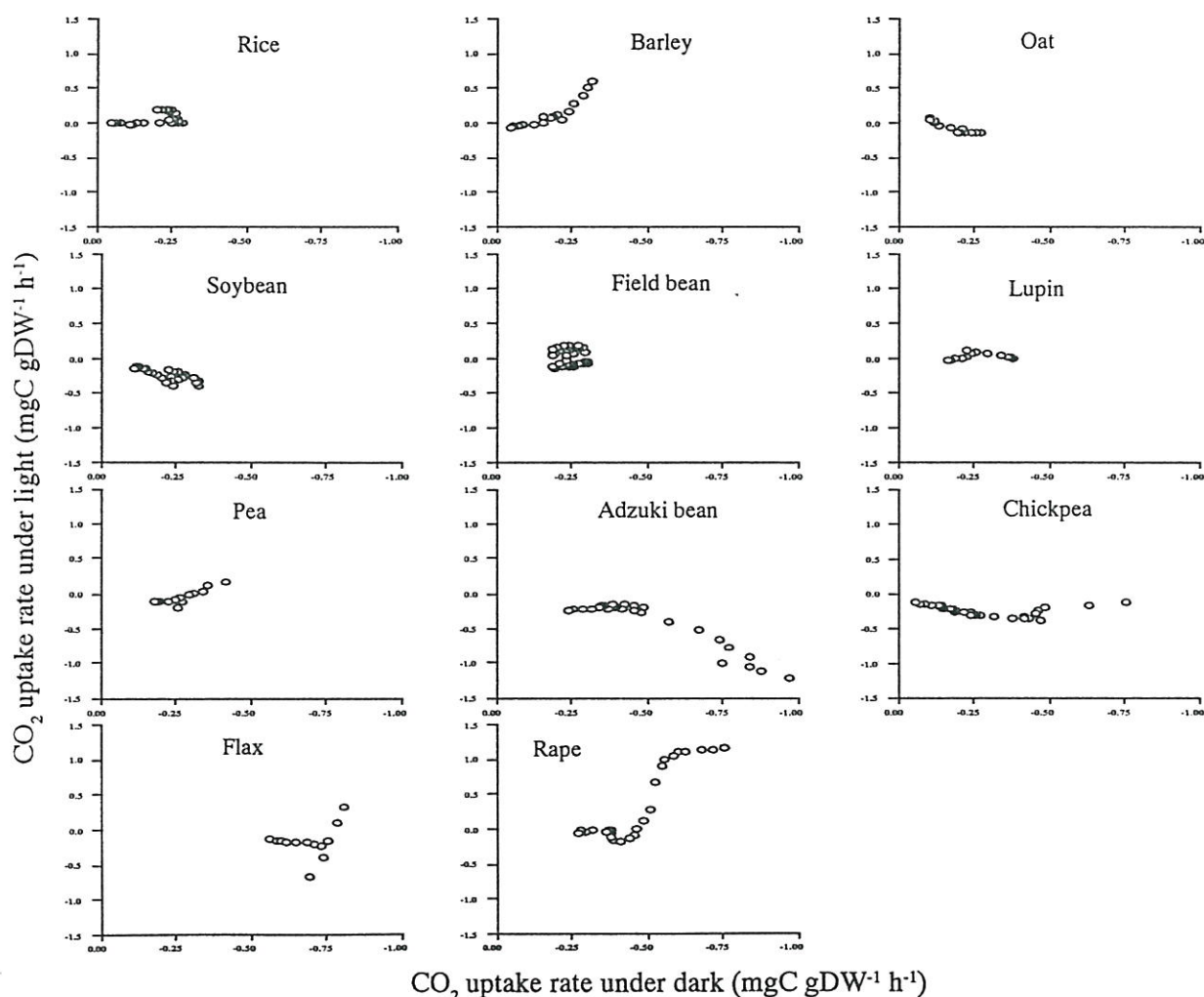


Fig. 3-6 Relationship between CO_2 uptake rate under light and dark conditions.

からもさらなる研究が要求される所である。

明所下での CO_2 吸収速度と暗所下での CO_2 吸収速度の関係を Fig. 3-6 に示した。アズキ、アマ、ナタネを除くと明所下での CO_2 吸収速度の変化は小さいのに対して、暗所下では大きく変動する。そのため、生育を通じて明所下の CO_2 吸収速度と暗所下での CO_2 吸収速度の比率は大きく変動する。一方、この際の収穫部位の粗成分組成には大きな変動はないことから（資料省略）、Yamaguchi⁸⁰⁾ が提案したような収穫部位において炭素バランスを呼吸速度と成分組成から単純にモデル化することは困難とみなされる。

イネにおいてもダイズにおいても収穫部位に同化した ^{14}C -[U]-スクロースあるいは ^{14}C -[U]-アスパラギンは活発に呼吸により消費された。しかしながら同化したのがスクロースあるいはアスパラギンのいずれにおいても、全同化量に対する ^{14}C の放出量はイネでダイズの約1.5倍となった。このことはダイズにおいては収穫部位に転流してきた化合物の呼吸による損失が小さいことを示している。そしてこのことはダイズでみかけの生長効率が高いという事実ともよく当てはまる。収穫部位が固定した $^{14}\text{CO}_2$ の呼吸による損失はイネで27%、ダイズで21%であり、葉に同化した場合に比較して2-2.5倍も高い値を呈していた。収穫部位では収穫部位自身で獲得した光合成産物をより多く呼吸により放出するようである。

一度葉に固定された ^{14}C の呼吸による消費はダイズでイネよりも明所下で高かったが、収穫部位での ^{14}C の呼吸による消費はあまり変わらなかった。暗所下で同化された量は少なく、そのほとんどが24時間以内に呼吸により放出された。明所下と比べ残存割合がかなり異なることから再固定の過程が光環境によりも変化することが想定された。

収穫部位は種によりその化学組成の成分割合が著しく異なっていることから、成長速度、呼吸速度、タンパク質、炭水化物、脂肪といった粗成分組成からそれらの合成に必要なエネルギーの要求量を計算することが可能であると考えられたが、単純な炭素の出入りからは簡単に評価できないことが考えられた。

3-3. イネ、ダイズ、サイトウにおける作物体の生長効率

3-3-1. 栄養生長期のイネ、ダイズ、サイトウにおける作物体の生長効率

前節において収穫部位における呼吸と生合成の関係を解析した結果、作物種の中で特にイネ科作物とマメ科作物間でその呼吸と乾物生産の関係に関わる特性が大きく異なることが示された。マメ科作物では生合成の過程から予想されるより少ない炭素の放出量しか認められなかった。このことは収穫部位以外の部位における呼吸と乾物生産の関係をより詳細に調査する必要があることを示すものである。

実 験 方 法

イネ、ダイズ、サイトウを供試した。それぞれの種子を次亜塩素酸ナトリウム溶液(0.01%有効塩素)に10分間浸漬した後、イネは培養液を含むサランネット上に、ダイズとサイトウはバーミキュライトにそれぞれ、1991年度は8月20日、9月6日に播種した。培養液の組成はN (NH_4NO_3); 30 mg L^{-1} 、P (NaH_2PO_4); 2 mg L^{-1} 、K (K_2SO_4 : $\text{KCl} = 1:1$); 30 mg L^{-1} 、Ca (CaCl_2); 50 mg L^{-1} 、Mg (MgSO_4); 20 mg L^{-1} および微量元素としてFe、Mn、B、Zn、Cu、Moをそれぞれ2、0.5、0.5、0.2、0.01、0.005 mg L^{-1} で与えた。pHは0.1N NaOHで一日2回5.3に合わせた。イネ、ダイズ、サイトウはそれぞれ9月5日、24日、27日にプリンカップを用いて56L容器に移植して前培養し、9月20日、30日、10月3日にそれぞれ窒素濃度を5、30、90 mg L^{-1} に設定した56L容器に移植し、窒素処理区とした。1容器に12個体を移植し、ダイズとサイトウでは培養液を連続通気した。

1993年はイネとダイズをそれぞれ5月1日と18日に播種し、発芽した幼苗を5月25日に30 mg L^{-1} Nを含む培養液の入った56L容器に移植した。生育条件は1991年度と同様である。前培養後6月1日に360L容器に48個体になるように移植した。このとき窒素レベルを5、15と30 mg N L^{-1} と設定しそれぞれ5N、15N、30N区とした。

1991年は処理開始後5日目から、1993年は6月1日からその後20-30日間にわたって呼吸速度を測定した。呼吸速度は地上部と根部の間を仕切り、暗所にて通気法により赤外

線ガス分析機（日立・堀場, Model EIA-2）で測定し¹⁴³⁾、測定後植物体を 80℃で通風乾燥し秤量後、粉碎して各種分析に供試した。呼吸速度は温室の気温と培養液の水温を経時的に熱電対を用いて測定し、 $Q_{10}=2$ として測定時の呼吸速度から換算した。作物体の窒素の分析はケルダール法で求め 6.25 を乗じてタンパク質量とした。脂肪はソックスレーを用いて抽出した後に重量法で、灰分は 550℃で 5 時間灰化後の重量から求めた。熱量をカロリーメーター（Ogawaseiki, Model OSK-150）にて求め、3-3 式を用いて炭素含有率に換算した。

単葉呼吸速度は最大展開葉について携帯用光合成測定装置(Koitoseisakujo, Model KIP-9010) を用いて 1991 年に測定した。夜間測定し、25℃に換算して示した。

生長効率は 2 つの方法で求めた。1 つは実験を通した乾物の集積量と放出された CO_2 量を基質が CH_2O に由来すると考えて求めた重量から、1 つは生育のある時点での相対生長速度と呼吸速度から $GE=RGR/(RGR+Respiratory\ rate)$ として求めた。

結 果

1. 気候条件

1991 年は大気温度、水温ともに生育時期を追って緩やかに低下した。実験の後半では水温が気温よりも低く推移した (Fig. 3-7)。1993 年は気温、水温ともに実験の進行に伴って次第に高まった。水温は実験開始直後は気温よりも低かったが、1 週間後には違いは認められなかった。日長は 10 月 15 日で 11.5 時間、6 月 15 日で 15.5 時間であった。

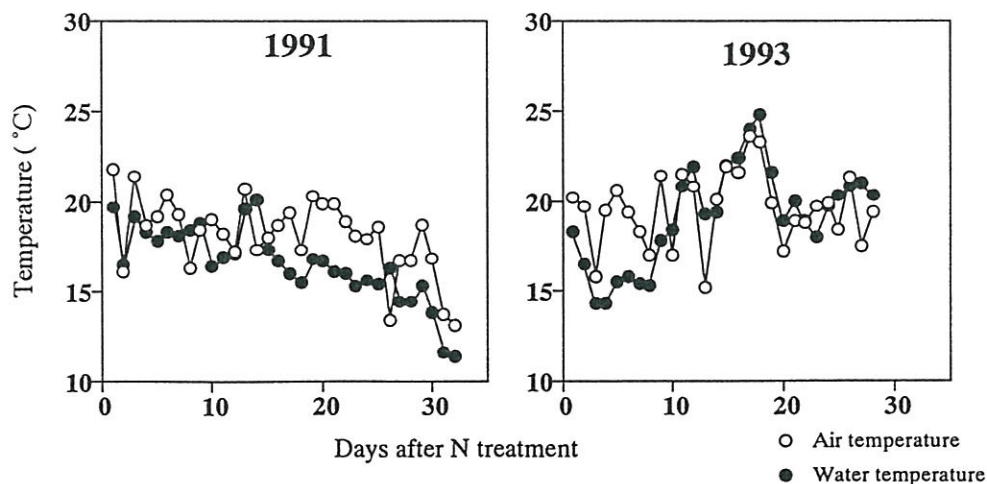


Fig. 3-7 Changes in temperatures during growth in 1991 and 1993.

2. 乾物重

1991年度はいずれの作物でも地上部の乾物重は指数関数的に推移し、根部ではほぼ直線的に増加した (Fig. 3-8)。1993年度は地上部と根部のいずれにおいても指数関数的に上昇した。イネとダイズに比較してサイトウでは地上部の乾物重の増加割合が根部のそれよりも大きかった。窒素処理の乾物増加に及ぼす影響はイネとダイズにおいては明白ではなかった。サイトウの5N区では乾物の増加は30Nや90N区に比較して小さかったが、30N区と90N区の差は小さかった。

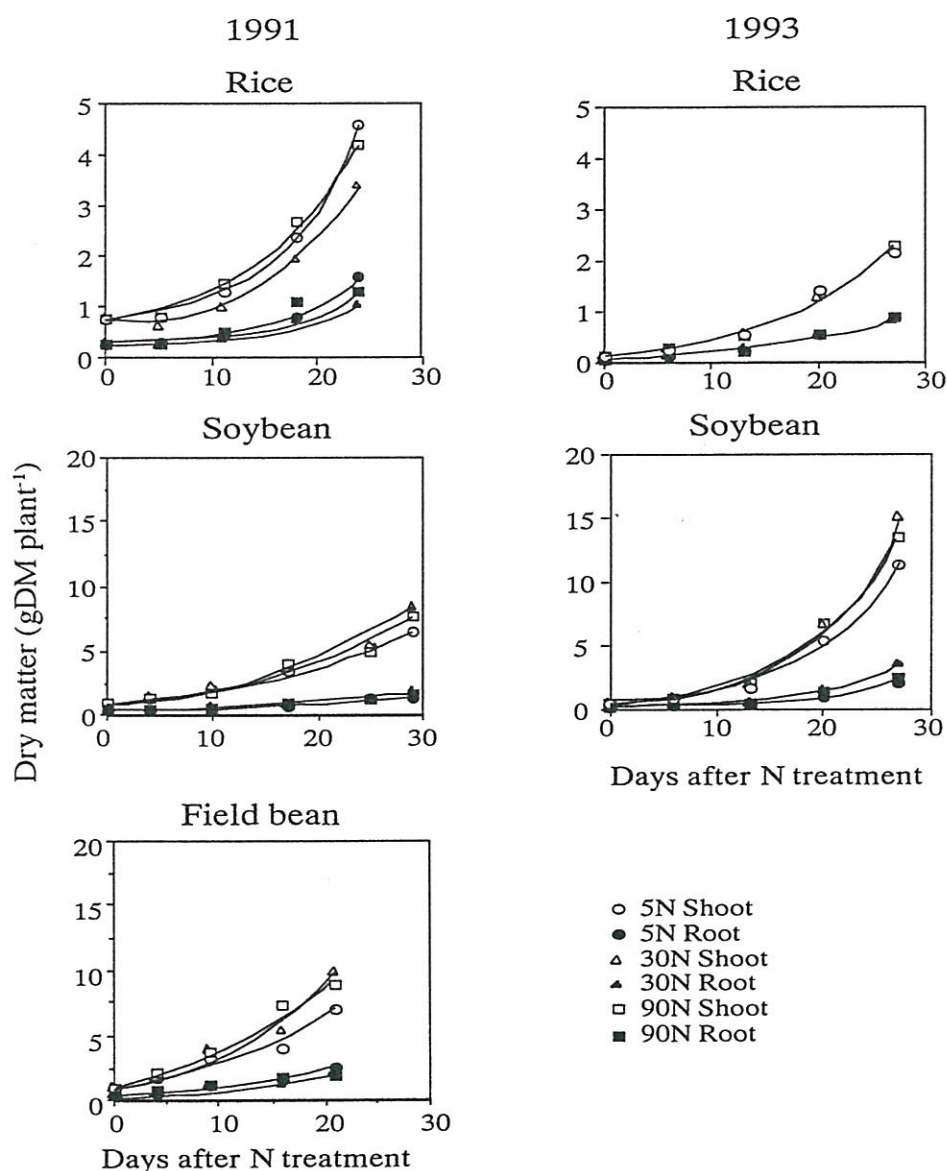


Fig. 3-8 Changes in the amount of dry matter increase during growth in 1991 and 1993.

3. 窒素集積量

窒素集積量の変遷は乾物重のそれとほとんど同様であった (Fig. 3-9)。

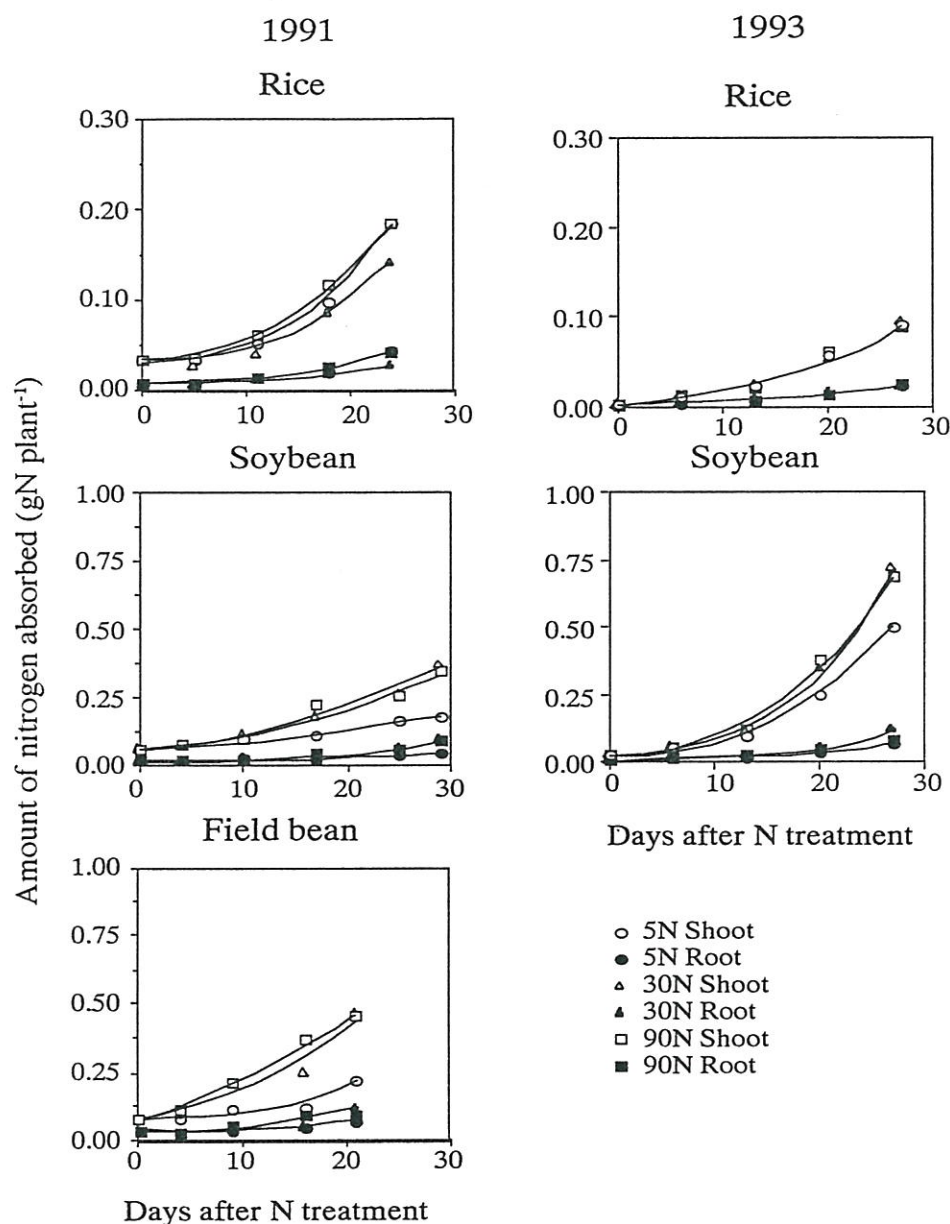


Fig. 3-9 Changes in the amount of nitrogen accumulated during growth in 1991 and 1993.

4. 25°C換算した呼吸速度の変化

1991年度においてイネでは茎葉の呼吸速度 ($\text{gCH}_2\text{O gDW}^{-1} \text{d}^{-1}$) は処理開始時に比較的小さく、その後高まりほぼ一定となった (Fig. 3-10)。根の呼吸速度は茎葉の呼吸速度に比較して生育を通して高かった。茎葉の最大値は0.08で、根の最大値は0.15であった。窒素レベルの呼吸速度におよぼす影響は茎葉では認められなかったが、根では30N区で

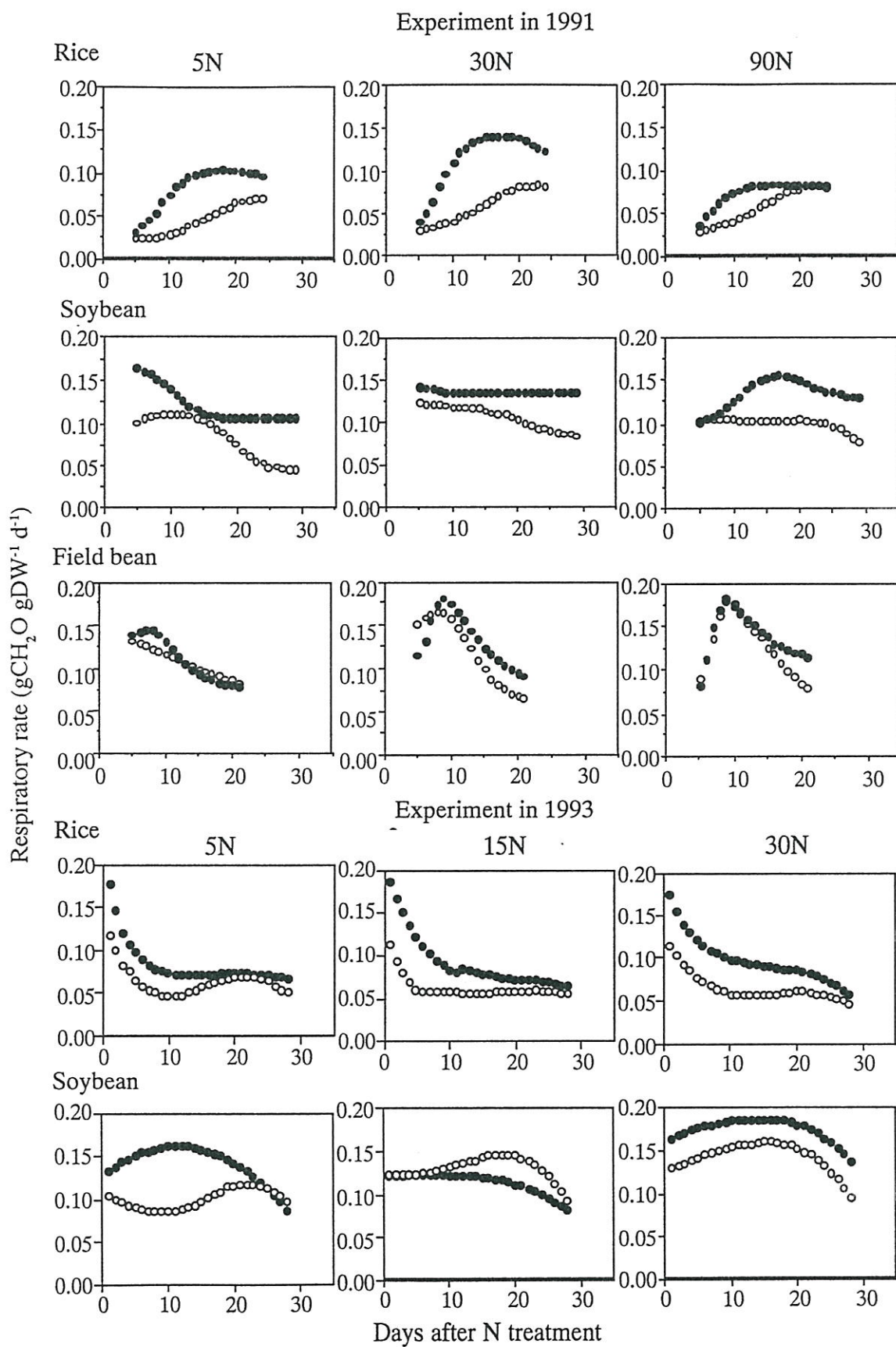


Fig. 3-10 Changes in respiratory rate at 25°C in shoot and roots during growth in 1991 and 1993. Open circle indicates shoot and closed circle roots.

5N区、90N区と比較して高かった。ダイズでは茎葉、根とも処理開始時には呼吸速度は0.10-0.15の間であり、茎葉では生育の進行に伴って徐々に低下した。根部では地上部と比較すると比較的高く保たれていた。実験の終了時には5Nの呼吸速度は地上部、根部ともに30N区、90N区と比較して低かった。サイトウでは呼吸速度は処理開始時には茎葉と根ともに0.08-0.15の間であり、生育の進行とともに5N区では徐々に低下した。30N区、90N区では処理の中期に0.16-0.18まで高まった後に急速に低下した。茎葉の呼吸速度は根の呼吸速度に近い値であり、 $5N < 30N < 90N$ 区の順で高まった。根の呼吸速度は3作物で比較的近い値であったが、茎葉の呼吸速度はダイズとサイトウでイネよりも高かった。

1993年度において1991年度と最も異なった点はイネの処理初期において観察された。呼吸速度は窒素処理にかかわらず最初に高く(約0.20)、その後急速に低下してほぼ一定となった。イネの呼吸速度はダイズに比べて生育を通してみると低かった。

5. 生長効率

相対生長速度と呼吸速度から求められた生育を追った生長効率は1991年度はイネでは0.65-0.80の間であった (Fig. 3-11)。生長効率は生育を追って緩やかに低下し、最終的な生長効率は30N区、90N区と比較して5N区で約0.06高かった。30N区と90N区の生長効率の違いは小さかった。ダイズでは生長効率は最初低く(0.30)、その後徐々に高まり0.55-0.60になった、処理開始時には90N区では5N、30N区よりわずかに高かったが、最終的な生長効率は5N区で30N区、90N区より0.05高かった。サイトウでは生長効率は処理開始時には5Nと30N区で0.35と低く、90N区で0.52であった。5N区と30N区では生育を追って生長効率が徐々に0.60まで高まった。90N区では生育を通して0.50から0.55の間を変動した。

1993年度はイネとダイズの生長効率は処理期間中比較的一定に保たれていた。両作物とも生長効率は30N区でやや高かった。イネの生長効率は0.70-0.75、ダイズでは0.50-0.60であった。

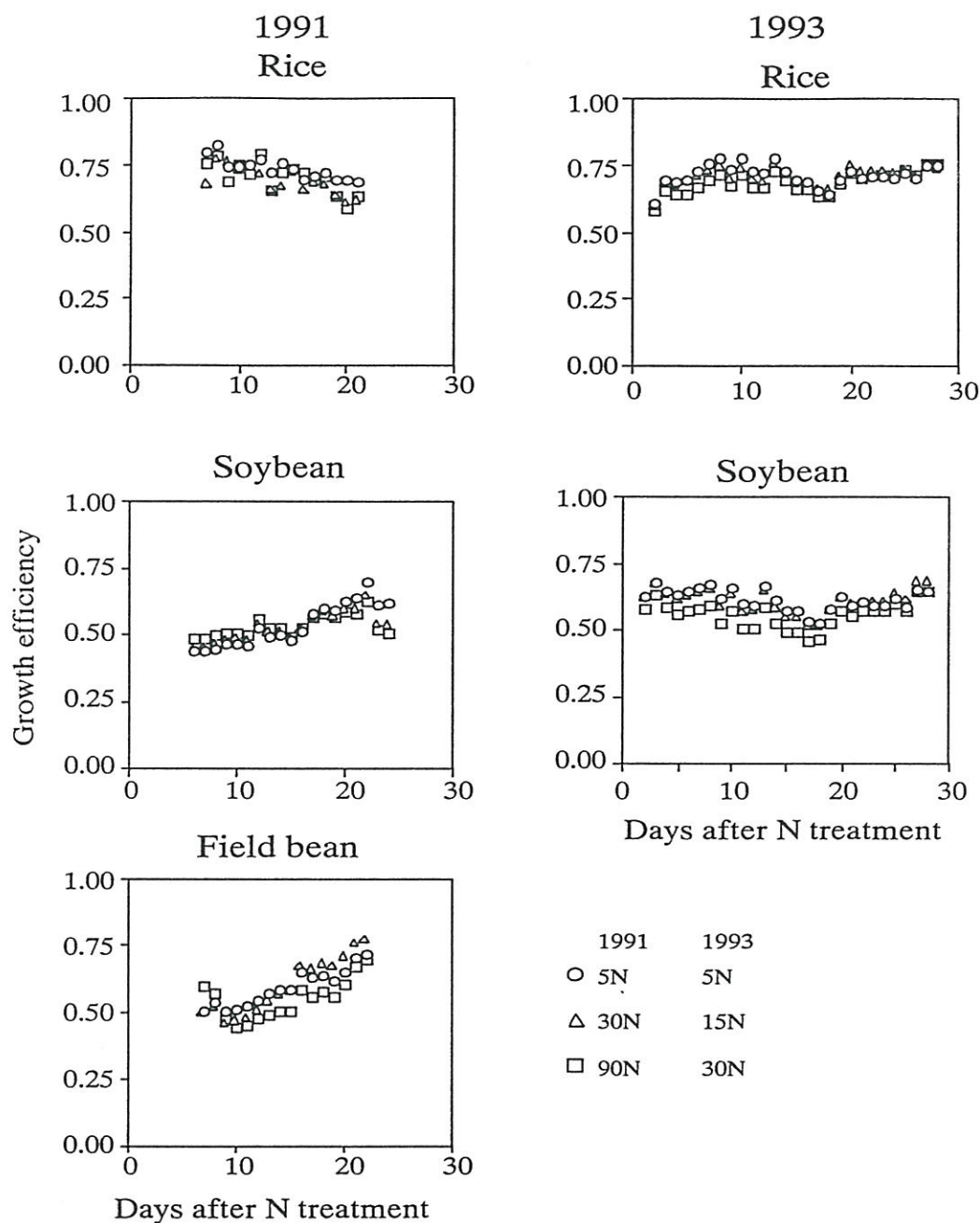


Fig. 3-11 Changes in the growth efficiency of whole plant during growth in 1991 and 1993.

6. 構成成分組成

1991年のイネでは葉、茎、根で窒素処理レベルが高まりにつれてタンパク質、脂肪の含有率が高まり、これに応じて炭水化物と灰分の含有率が低下した (Table 3-4)。器官間ではタンパク質は葉で多く、茎と根では差が無かった。ダイズではタンパク質は葉と根で同様であり、茎ではその1/2-1/3程度であった。脂肪は葉で他部位よりも若干高いものの、最大で2%程度であった。灰分は窒素含有率が高まるにつれて低下し、炭水化物は5N

区で高く、30、90N区で変わらず、器官間では茎で高く、葉と根では変わらなかった。サイトウではタンパク質は窒素処理レベルが高まるにつれて高まり、葉と根で茎より高く、5N区では葉でより高くなった。脂肪は葉でやや高かったが、最大で4%程度であった。灰分は葉、根において高く、窒素レベルが高まると低下した。炭素含有率はいずれの作物でも葉でやや高かった。高窒素処理区では低窒素処理区より若干高くなる傾向があるものの、その差は小さいかった。作物間の差は認められなかった。

1993年では作物体の粗構成成分組成におよぼす窒素処理の影響は1991年とほぼ同様であったが、ダイズの窒素含有率が1991年に比較して高かった。

Table 3-4 Composition (%) of chemical components and carbon content at the last sampling.

Crop	1991							1993					
	N level	Organ	Protein	Lipid	Carbohydrate	Ash	Carbon	N level		Protein	Lipid	Carbohydrate	Ash
Rice	5N	Leaf	28.6	0.43	54.1	16.84	42.7	5N	Leaf	32.8	0.55	61.9	7.85
		Stem	16.0	1.09	73.8	9.08	41.8		Stem	20.4	1.07	73.0	9.28
		Root	17.3	0.23	64.3	18.21	43.6		Root	16.4	0.56	76.3	11.27
		Whole plant	20.5	0.65	64.9	14.00	42.6		Whole plant	23.4	0.75	75.8	9.37
	30N	Leaf	29.9	1.29	54.4	14.42	44.1	15N	Leaf	33.8	0.91	60.9	7.30
		Stem	20.1	1.46	70.1	8.34	42.2		Stem	20.5	1.49	72.1	9.91
		Root	17.1	0.43	61.4	21.03	38.5		Root	17.3	0.43	77.1	8.70
		Whole plant	22.8	1.16	62.6	13.4	42.0		Whole plant	24.4	0.99	74.6	8.65
	90N	Leaf	33.0	1.61	52.6	12.83	45.9	30N	Leaf	31.8	1.47	62.5	7.02
		Stem	20.5	2.79	68.1	8.64	43.2		Stem	17.4	1.05	75.3	10.38
		Root	18.3	0.55	71.6	9.59	43.9		Root	17.5	1.13	74.0	12.23
		Whole plant	24.8	1.81	62.9	10.50	44.4		Whole plant	22.6	1.22	76.2	9.70
Soybean	5N	Leaf	21.9	2.07	64.4	11.65	43.3	5N	Leaf	40.3	3.73	49.6	10.69
		Stem	10.6	0.88	80.7	7.79	44.4		Stem	14.2	0.92	80.2	7.76
		Root	21.8	0.35	61.9	15.98	41.0		Root	21.6	0.89	72.5	8.33
		Whole plant	18.1	1.38	69.4	11.10	43.3		Whole plant	26.5	2.12	71.4	9.10
	30N	Leaf	31.3	1.65	56.9	10.19	45.2	15N	Leaf	40.0	3.87	51.8	7.26
		Stem	19.6	0.69	72.2	7.50	44.0		Stem	16.8	1.52	75.9	9.63
		Root	31.9	0.39	54.3	13.45	40.9		Root	22.1	0.51	60.0	28.95
		Whole plant	27.9	1.13	61.0	9.96	44.1		Whole plant	28.5	2.42	69.0	12.15
	90N	Leaf	33.3	1.36	58.8	6.51	46.8	30N	Leaf	42.3	4.02	47.7	9.95
		Stem	19.4	0.72	74.8	5.12	44.8		Stem	17.6	0.92	79.2	3.81
		Root	35.9	0.98	54.8	8.30	42.9		Root	20.8	0.76	58.3	33.54
		Whole plant	29.3	1.09	63.2	6.37	45.5		Whole plant	30.1	2.40	67.5	11.32
Field bean	5N	Leaf	24.9	3.74	52.8	18.58	41.5	5N	Leaf	40.3	3.73	49.6	10.69
		Stem	11.6	1.57	75.8	11.06	42.1		Stem	14.2	0.92	80.2	7.76
		Root	15.5	0.80	62.3	21.37	40.5		Root	21.6	0.89	72.5	8.33
		Whole plant	18.3	2.29	62.4	17.00	41.4		Whole plant	26.5	2.12	71.4	9.10
	30N	Leaf	34.4	1.83	47.8	15.97	44.4	15N	Leaf	40.0	3.87	51.8	7.26
		Stem	20.7	1.08	65.4	12.78	42.8		Stem	16.8	1.52	75.9	9.63
		Root	34.2	0.25	48.0	17.52	40.4		Root	22.1	0.51	60.0	28.95
		Whole plant	30.7	1.34	52.6	15.40	43.2		Whole plant	28.5	2.42	69.0	12.15
	90N	Leaf	36.1	3.80	46.2	13.92	44.2	30N	Leaf	42.3	4.02	47.7	9.95
		Stem	23.3	1.32	65.1	10.27	42.9		Stem	17.6	0.92	79.2	3.81
		Root	31.1	0.35	56.4	12.18	42.5		Root	20.8	0.76	58.3	33.54
		Whole plant	31.7	2.52	53.2	12.61	43.5		Whole plant	30.1	2.40	67.5	11.32

7. 単葉呼吸能 (1991 年)

イネの呼吸速度 ($\mu \text{ mol CO}_2 \text{ m}^2 \text{ h}^{-1}$) は処理を通じて非常に小さく、0-0.025 前後であり、窒素処理間差は認められなかった (Fig. 3-12)。ダイズ、サイトウではイネよりもや

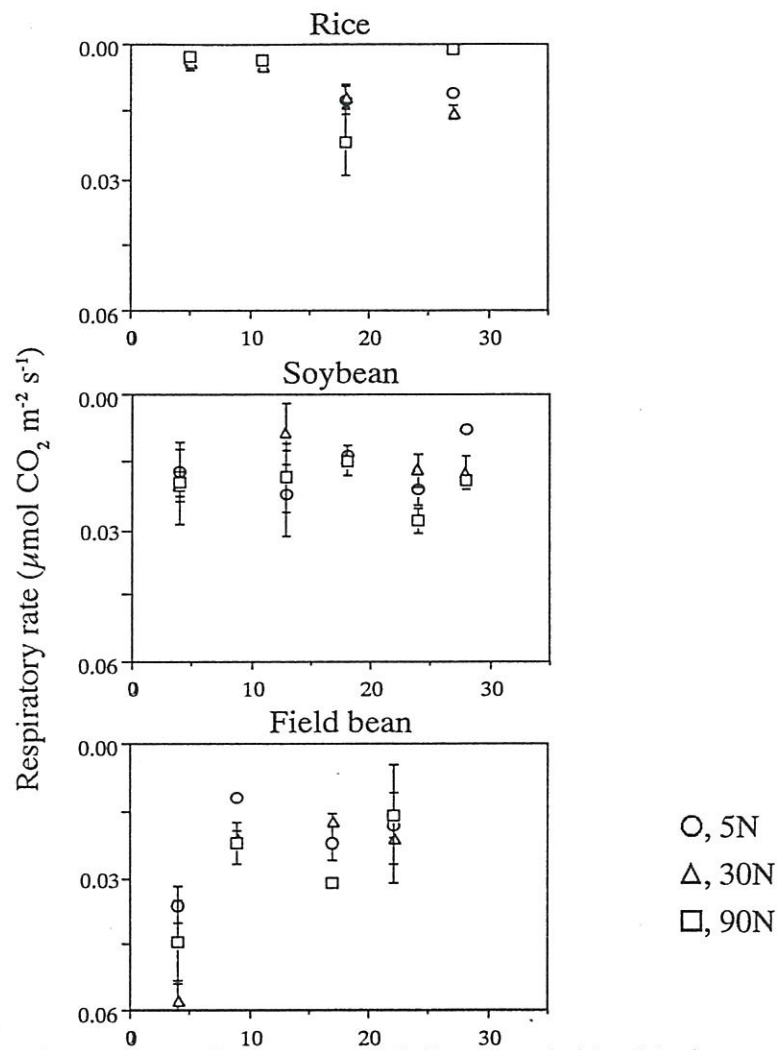


Fig. 3-12 Change in respiratory rate of fully expanded leaf during growth in 1991.

や大きく、1前後であり、窒素処理間差は認められなかった。

3-3-2. 登熟期のイネ、ダイズにおける作物体の生長効率

3-3-1の結果からイネとダイズおよびサイトウを比較すると、植物体の構成成分組成が作物間で大きく変わらない栄養生長期においてマメ科作物の2種では呼吸による茎葉からの炭素の放出量が多いことが示された。そこで、本研究では登熟期におけるイネとダイズの作物体全体の呼吸を調査した。

実験方法

イネとダイズを供試した。それぞれの種子を次亜塩素酸ナトリウム溶液 (0.01% 有効塩素) に 10 分間浸漬した後、イネは培養液を含むサランネット上に、ダイズはバーミキュライトにそれぞれ、1991 年度は 5 月 1 日、5 月 28 日に播種した。培養液の組成は N (NH_4NO_3); 30 mg L^{-1} 、P (NaH_2PO_4); 2 mg L^{-1} 、K (K_2SO_4 : $\text{KCl} = 1 : 1$); 30 mg L^{-1} 、Ca (CaCl_2); 50 mg L^{-1} 、Mg (MgSO_4); 20 mg L^{-1} および微量元素として Fe、Mn、B、Zn、Cu、Mo をそれぞれ 2、0.5、0.5、0.2、0.01、0.005 mg L^{-1} で与えた。pH は 0.1N NaOH で一日 2 回 5.3 に合わせた。イネとダイズはそれぞれ 6 月 1 日、10 日にプリンカップを用いて 56L 容器に移植した。1 容器に 12 個体を移植し、ダイズでは培養液を連続通気した。

イネは 8 月 2 日、ダイズは 7 月 16 日に 12L ポットにそれぞれ一個体を移し、水耕を続けた。イネは 8 月 22 日まで、ダイズは 8 月 12 日まで育て、この期間中の乾物重増加と呼吸速度の変遷を調査した。また、乾物重測定開始時と実験終了時に作物体を採取し全体の乾物重、窒素、粗脂肪、粗灰分を定量した。呼吸速度は暗所にて通気法により赤外線ガス分析機 (日立・堀場, Model EIA-2) で測定し、測定後植物体を 80°C で通風乾燥し秤量後、粉碎して各種分析に供試した。なお、根部に関しても大気中において測定を行った。呼吸速度は温室の気温を経時的に熱電対を用いて測定し、 $Q_{10}=2$ として測定時の呼吸速度から換算した。作物体の窒素の分析はケルダール法で求め 6.25 を乗じてタンパク質量とした。脂肪はソックスレーを用いて抽出した後に重量法で、灰分は 550°C で 5 時間灰化後の重量から求めた。熱量をカロリメーター (小川精器, Model OSK-150) にて求め、3-3 式を用いて炭素含有率に換算した。

生長効率は実験を通した乾物の集積量と放出された CO_2 量を基質が CH_2O に由来すると考えて求めた重量から求めた。

結 果

1. 乾物重の変遷

イネ、ダイズの両作物とも登熟の進行に伴って頭打ちとなった (Fig. 3-13)。

2. 呼吸速度の変遷

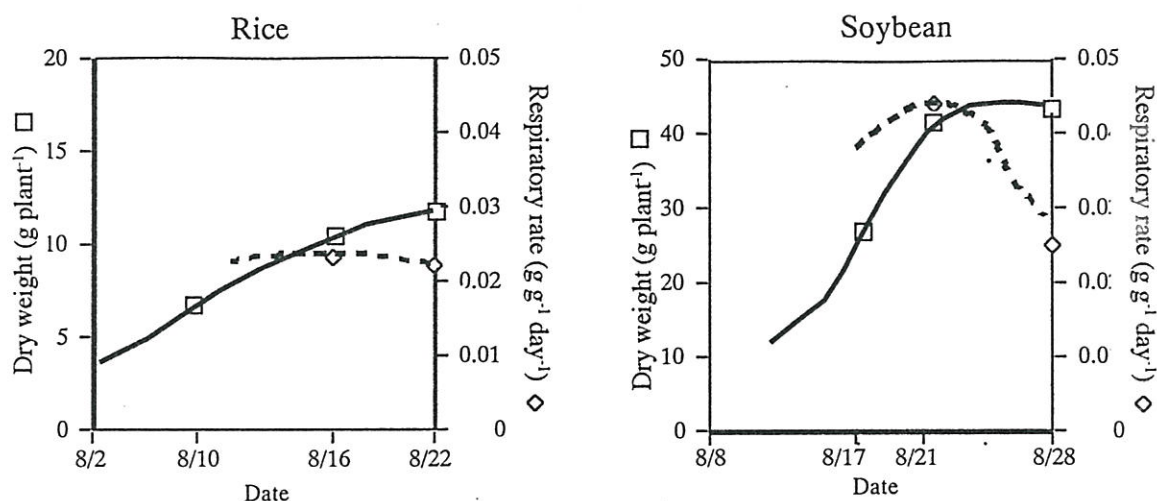


Fig. 3-13 Successive change in dry weight and respiratory rate of rice and soybean during maturation stage.

ダイズでイネよりも高く推移していた (Fig. 3-13)。

3. 構成成分の変遷

違いが認められたのは窒素含有率 (%) のみで、ダイズで約 3.5 とイネの 2.3 に比較して高かった。

Table 3-5 Composition of crude chemical component(%).

Crop	Sampling date	Nitrogen	Carbon	Lipid	Ash
Rice	10-Aug	2.29	44.7	1.4	5.5
	22-Aug	2.33	43.0	2.0	6.5
Soybean	17-Aug	3.66	44.9	1.5	8.0
	28-Aug	3.40	44.6	2.0	7.2

考 察

乾物ベースの生長効率は全植物体でみた時に実験の終了時（栄養生長期の末期）イネでダイズとサイトウに比較して約 0.10 高いことが示され、生長効率は窒素の施与量が高い時にやや低くなることが作物あるいは年度によらず観察された。このようなイネ科作物でマメ科作物より生長効率高いという結果はイネにおいて生産性が高いということ

と密接に結びついていると考えられる。1991年は実験の進行に伴って呼吸速度が高まり乾物に関する生長効率も低下したが、この傾向は1993年の実験においては観察されなかった。

化学成分の組成を粗タンパク質、粗脂肪、粗炭水化物に分けて考えた。これらの粗成分の炭素含有率を3-1節の結果から求めたそれぞれ55.8、76.9、42.0%として炭素ベースの生長効率を計算することが可能である。これに基づいて計算した生長効率に関してTable 3-5に示した。炭素に関する生長効率 GE_c は GE_{dw} に比較して約0.10-0.15高いがダイズとサイトウにおいてその生長効率はイネに比較していぜんとして低かった。Vertregt and Penning de Vries¹³⁹⁾に基づく生合成経路により得られた粗成分組成の合成に必要なグルコース量から生長効率を評価すると3-9式のように示される。なお、Laffite and Loomis²⁹¹⁾の報告にしたがって粗灰分は40%炭水化物を含むと考え、この分を補正し、さらに無機養分の吸収に必要なエネルギーを考えずに灰分を含まないよう状態での各粗成分組成を用いて計算する。

$$GE_{pv} = 100 / (\text{protein}\% / 0.56 + \text{lipid}\% / 0.33 + \text{carbohydrate}\% / 0.81) \quad \text{--- eq. 3-9}$$

1991年度においては作物間の粗成分組成には大きな違いは認められず、1993年においてはダイズの葉でイネの葉に比較してタンパク質含有率が約10%ほど高かったが、計算された GE_{pv} はイネとダイズで大差はなかった。このように実測の生長効率 GE_{dw} でみられたイネとダイズ、サイトウの間の0.10-0.15の違いは粗化学組成の成分の生合成の効率からは求められなかった。

呼吸速度は地上部、根部ともイネでダイズあるいはサイトウよりも低い傾向にあり、この傾向は特に地上部において顕著であった。単葉の呼吸速度はダイズとサイトウで窒素処理に関わらずイネよりも高く、マメ科作物での低い生長効率を説明する因子の一つであると考えられる。一方、光合成速度は C_3 植物ではほとんど変わらないと報告されている²⁹²⁾。さらにコムギとエンドウを比較するとコムギの単葉の光合成速度の方がやや高いとの報告もある¹²⁾。このようにマメ科作物の低い生長効率は主に葉における光合成能という面もあることが考えられるが、高い呼吸能がかなり重要な意味を持っていることが考えられる。しかしながらこのような機構はいまだに明らかになっていない。

従来、イネ科作物とマメ科作物の生産性の違いはそれらのタンパク質含有率の違いに

より一般に説明されていた⁸⁰⁾。これはマメ科作物ではタンパク質合成と維持のためにより多くのエネルギーが必要であるとの考え方に基づいている¹³³⁾。しかしながら今回得た結果からはイネ科作物とマメ科作物の間でその粗成分組成の値は栄養生長期においてはきわめて良く似ており、さらに作物体の窒素含有率の生長効率に与える影響も認められなかった。これらのことはイネ科作物とマメ科作物では葉あるいは全植物体において呼吸の機構が異なるが、生長効率と維持呼吸の概念からは説明できないことを示している。

イネでは特に栄養生長期の初期に1991年の生長効率が1993年に比較して約5%高かったが、ダイズではこの傾向は逆であった。2つの実験の最終的な生長効率はほぼ同様であったが、実験年度においてみられた特に初期の違いは主に気候の影響と考えられる。つまり日長あるいは温度といったことが影響を与える場面もあると考えられるが詳細は現時点では不明である。

3-3-2節の実験は水耕で行った実験であるため開花期（イネで8月10日、ダイズで8月17日）以降もかなりの乾物の集積が特にダイズで認められた。そのため、畑で観察される乾物集積パターン、窒素集積パターンとはかなり異なっていると考えられる。また、植物体全体でみたときにダイズでは脂肪の集積が数値としては観察されなかった。しかしながらタンパク質含有量がダイズでイネの約1.5倍と高く、また、この期間の窒素の集積の大半は子実集中していた。そのため、測定期間中の各種成分の集積量から算出した生長効率 GE_{pv} はイネで0.74、ダイズで0.55となった。これに対し実測の生長効率 GE_{dw} はイネで0.70、ダイズで0.47とダイズで若干低かった3-2節で明らかにしたようにイネとダイズの収穫部位の生長効率は約0.80と変わらず、このことは収穫部位以外の生長効率が極めて低いことを意味している。

3-4. 要約

各種作物の生産性の違いを解析するために、乾物生産性を強く制御する因子として特に呼吸に着目した。植物の呼吸は生長に関わる生長呼吸と、維持に関わる維持呼吸に機能的に分けて解析されることが多い。この両呼吸を正確に分けて測定することは不可能であるが、本章では各種化合物の生化学的な合成経路から、それらの化合物の合成に要求されるエネルギー量を求める方法¹³⁹⁾を用いていわゆる生長呼吸を評価した。維持的要因の小さい収穫部位を供試して、いわゆる生長呼吸と乾物生産との関係を検討し、またエネルギー要求量の多いタンパク質含有率を変えた栄養生長期の植物体を供試して同様に検討を加え、以下の結果を得た。

1. 収穫部位の呼吸速度と乾物増加速度から算出した生長効率はイネ科とマメ科で70-80%と変わらず、油脂作物ではそれぞれの脂肪含有率に対応して低かった。
2. 収穫部位の構成成分の集積量と呼吸の関係は生合成によるエネルギー要求量からは説明できず、特にマメ科の各作物種においては呼吸による炭素の放出量が少なかった。
3. 収穫部位自体の炭素獲得能力を光合成能およびPEPC活性から評価し、真の呼吸量を推定したが、その割合は小さく、マメ科の特性を説明するものではなかった。
4. 栄養生長期および登熟期の茎葉の生長効率は、イネに比較してマメ科（ダイズ、サイトウ）で低く、この時の体内の構成成分割合の違いでそれを説明することはできなかった。
5. 培地の窒素濃度を変えてイネとダイズを栽培し、両作物のタンパク質含有率を同じレベルにした状態で比較してもダイズでイネより生長効率が低かった。

第4章 呼吸の機能的役割の評価

前章で実施した各種作物の各部位における呼吸と生長の関係に関する研究において、呼吸によって放出される炭素量はその部位の生合成過程に伴うエネルギー要求量からは説明できないことが明らかになった。収穫部位においては、特にイネ科作物では生合成に要求される呼吸量に近い呼吸が認められたのに対し、マメ科では生合成に要求される呼吸量より少ない呼吸量であった。一方、作物体の生長効率はその成分組成に大差がない場合でもマメ科でイネより低かった。これらのことから、特にイネ科とマメ科の生長と呼吸のバランスの違いをさらに解析することにより、作物の呼吸の生理的役割をより明確にすることが可能と考えられる。

4-1. 初期光合成産物呼吸と貯蔵物質呼吸のイネとダイズ間比較

これまでの多くの研究では呼吸を機能的に生長呼吸と維持呼吸に分けるという概念が広くとられており、この考え方に基づけば生長効率の違いは全呼吸に対する維持呼吸の比率の違いにより説明されうる。そこで、Osaki and Tanaka²³⁶⁾、Farrar⁹²⁾ に従い同化炭素の経時的な放出パターンから呼吸を基質レベルから分類するための解析を試みた。イネ科とマメ科の代表として、それぞれイネとダイズを供試した。

実 験 方 法

イネ (*Oryza sativa* L. var. Michikogane) とダイズ (*Glycine max* (L.) Merr. var. Kitamusume) を供試した。1988年6月7日に、イネは第6葉期の苗を4Lの土が入っている4.5Lポットに移植し、ダイズは12Lの土が入っている13Lポットに播種した。各ポットには褐色森林土 (pH 6.0) を入れ、 0.2g L^{-1} でN、 P_2O_5 、 K_2O をそれぞれ硫酸アンモニウム、過リン酸石灰、過硫酸カリウムをあらかじめ施与した。イネは生育を通じて湛水条件で育て、ダイズはポットの下から適宜水を供給した。植物体は収穫期 (イネは10月7日、ダイズは9月30日) まで育てた。 $^{14}\text{CO}_2$ の同化は良く晴れた日の真昼に1時間行っ

た。植物体を透明なポリエチレンバック（イネで10L、ダイズで20L）で覆い、バックの中で5mlの0.18mM NaHCO₃と1.85 kBqのNaH¹⁴CO₃ (2.06 GBq mmol⁻¹)を混合して¹⁴CO₂を発生させた。

¹⁴CO₂は栄養生長期（7月11日）、地上部最大期（8月16日）、登熟中期（9月1日）に両作物とも同化した。栄養生長期に同化した場合、同化2日後、地上部最大期、収穫期にサンプリングを行った。地上部最大期と登熟中期に同化を行った時には同化2日目と収穫期にサンプリングを行った。採取した試料は葉、茎、根（ダイズの場合には根粒も含む）、収穫部位（イネでは穂、ダイズでは莢）に解体し、液体窒素で凍結後、凍結乾燥し、秤量、粉碎した。¹⁴C量はOsaki and Tanaka²³⁶⁾の方法に準じた。全窒素はケルダール法で決定した。低分子化合物（主に遊離アミノ酸、糖、有機酸）を抽出するために、300mgの凍結乾燥試料に30mlの80% (v/v) 冷エタノールを加え、24時間抽出し、1500gで遠心分離する。残渣に対し、同上の抽出をさらに2回行い、得られた全上澄液をまとめて濃縮乾固した。残渣は真空乾燥した後に約100mgを密閉試験管に精秤し、6N HClを10倍量加え窒素ガスで充填し105°Cで24時間加水分解した。塩酸分解物は塩酸臭が無くなるまで減圧乾固を行い、これをイオン交換樹脂（Dowex 50-X8, 200-400mesh, H⁺-form）でアミノ酸画分を分別してタンパク態アミノ酸とした。

このようにして得た残渣画分中の¹⁴C量はOsaki and Tanaka²³⁶⁾に準じて決定した。タンパク態アミノ酸画分中の¹⁴C量は、一部を液体シンチレーションバイアルに取り、トルエンシンチレーターを加えて、液体シンチレーションカウンター（Aloka Model LSC-502）にて測定した。エタノール画分中の¹⁴C量は全体の¹⁴C量から残渣画分の¹⁴C量を差し引いて決定した。残渣画分の¹⁴Cからタンパク態アミノ酸画分中の¹⁴Cを差し引いた¹⁴Cを炭水化物画分の量とした。炭水化物画分には主にデンプンや細胞壁構成成分（セルロース、ヘミセルロース、リグニン）が含まれていると考えられた。各時期における呼吸による¹⁴Cの放出量は同化2日後の値からの低下分と考えた。実験は2反復で行い、平均値で示した。

結 果

1. 乾物重

収穫期において全乾物重 (g pot^{-1}) はイネで96、ダイズで240であった。収穫期の全乾物重に対する各器官の乾物重の変遷をFig. 4-1で示した。全乾物重は両作物とも登熟中期に最大となった。地上部、根部とも登熟中期まで著しく増加した。

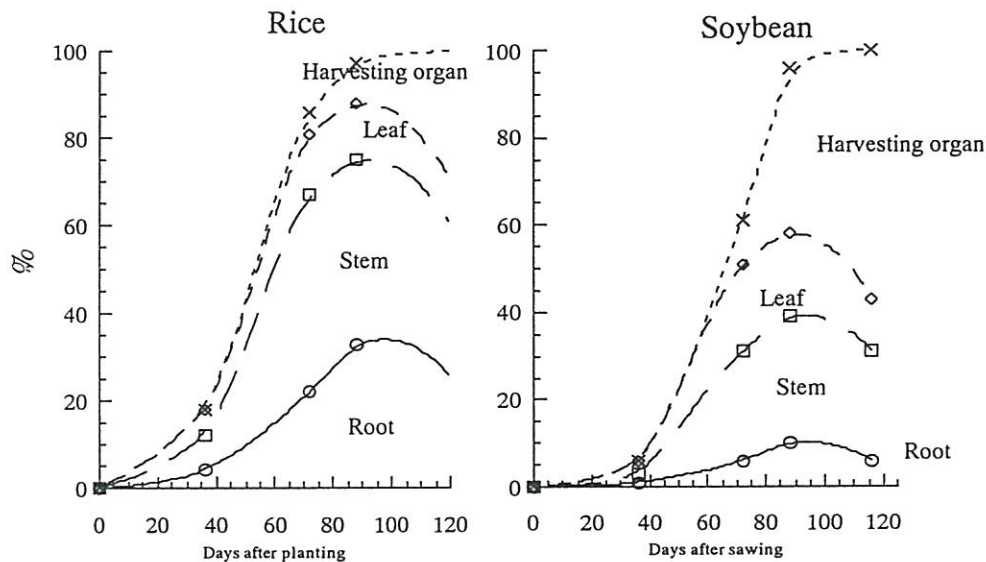


Fig. 4-1 Relative dry weight at successive growth stage.

2. 窒素の集積量

収穫期の全窒素集積量 (g pot^{-1}) はイネで0.88、ダイズで7.1であった。Fig. 4-2にその変遷を示した。地上部の窒素集積量は地上部最大期まで増加し、その後低下した。地上部最大期以降における茎葉の低下速度はダイズでイネよりも大きかった。根部の窒素集

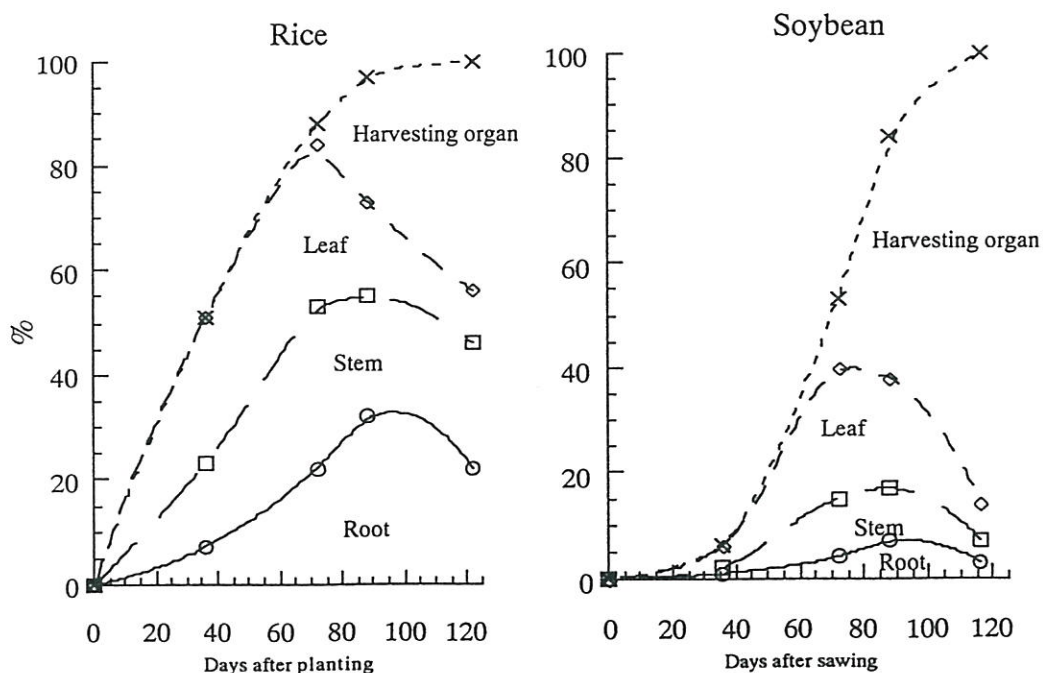


Fig. 4-2 Relative amount of accumulated nitrogen at successive growth stage.

積量は地上部に比べ、遅れて最大となった。

3. 窒素含有率

生育の初期においては葉、茎、根の中で葉が最も高かった (Fig. 4-3)。イネではこれらの部位で地上部最大期前に窒素含有率が急速に低下したが、ダイズでは地上部最大期以降に急速に低下した。収穫部位の窒素含有率はイネでは生育を通して一定であったが、ダイズでは生育に伴って高まった。

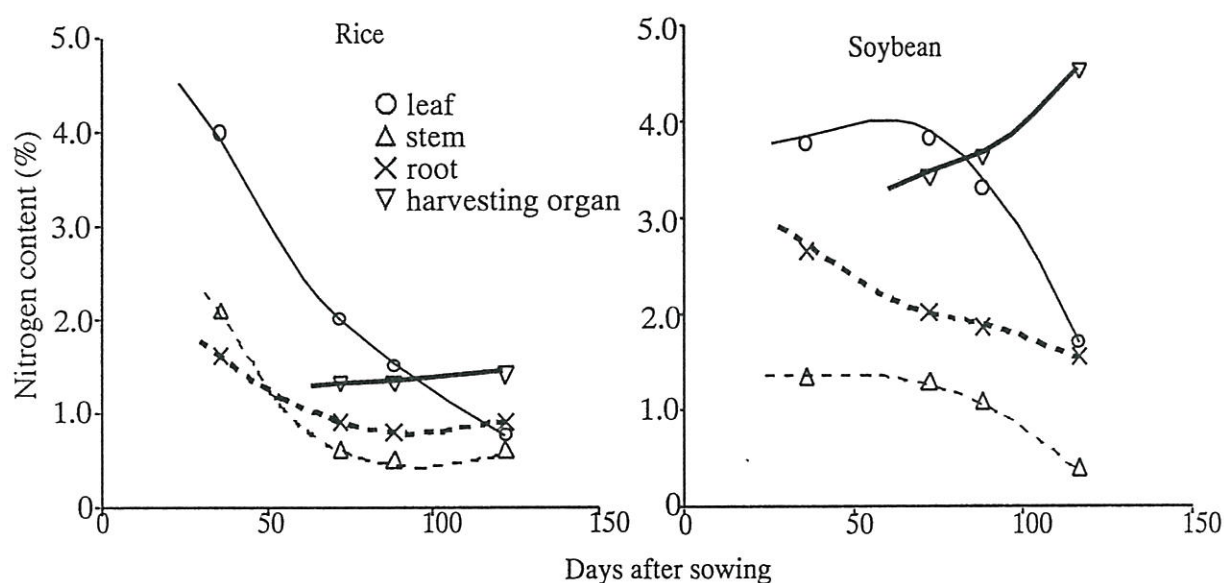


Fig. 4-3 Nitrogen content of each organ in rice and soybean at successive growth stage.

4. ^{14}C の各部位および呼吸への分配

同化後2日目の全 ^{14}C 量に対する各サンプリング時期の部位別および呼吸への分配割合を Fig. 4-4 に示した。イネでは $^{14}\text{CO}_2$ を栄養生長期に同化した場合、同化2日目において36%が葉に、58%が茎に分配された。葉の含有率は地上部最大期にかけて高まり、その後低下した。一方、茎に関しては生育に伴って低下し、その一部が葉に再転流した。呼吸による ^{14}C の放出量は生育に伴って増加した。収穫期において ^{14}C は葉、茎、収穫部位にそれぞれ30、18、9%分配した。収穫期までに全 ^{14}C の37%が呼吸により失われた。根での変化は小さかった。イネで地上部最大期に $^{14}\text{CO}_2$ を同化した場合、 ^{14}C は同化後2日

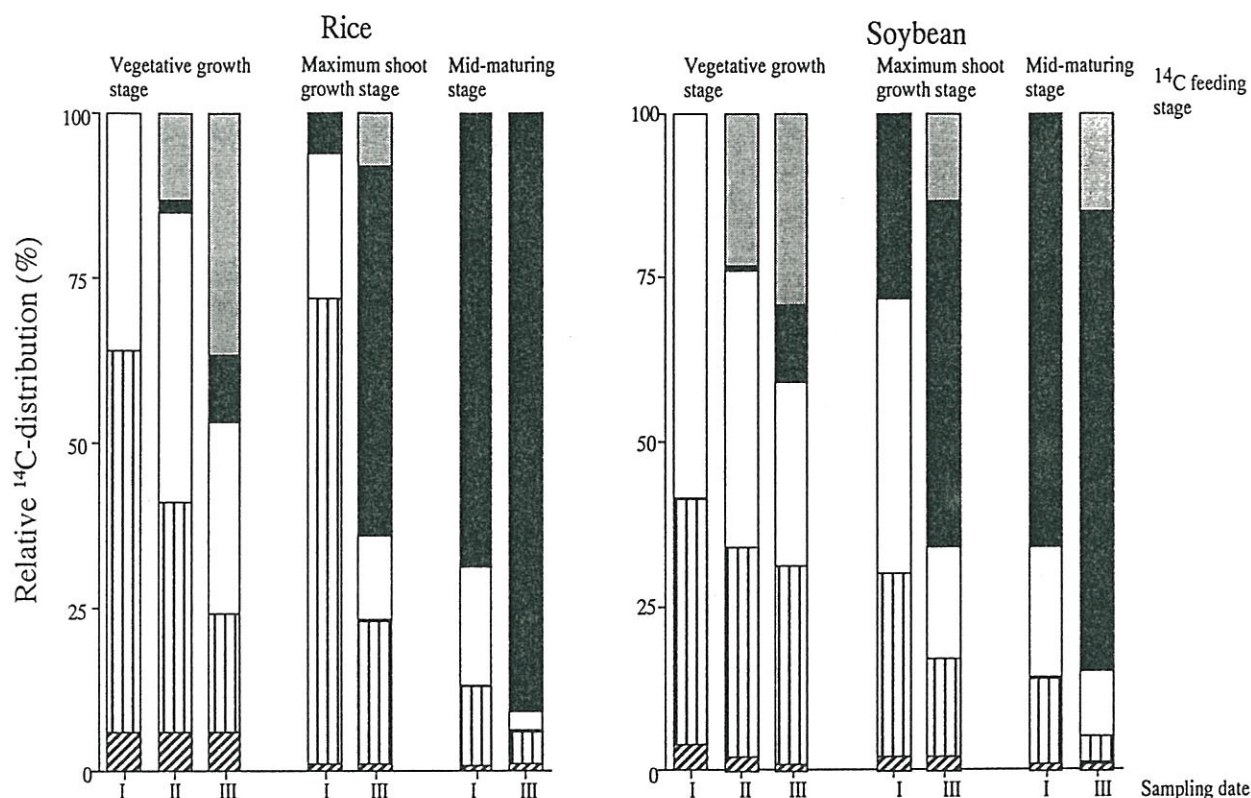


Fig. 4-4. Relative ^{14}C -distribution percentage in each organ.

The amount of ^{14}C is expressed as total amount at 2 days after feeding is 100%. I; 2 days after feeding, II; MSG (maximum shoot growth stage), III; harvest.

目において茎に71%が分配された。このうち63%が収穫期までに他部位に転流、あるいは呼吸により失われた。同化2日目において葉に残存した ^{14}C も収穫期までに多量に失われた。同化2日目に植物体に存在した ^{14}C の8%が収穫期までに呼吸により失われた。 $^{14}\text{CO}_2$ を登熟中期に同化した場合 ^{14}C は同化2日目において収穫部位に69%、収穫期では91%存在した。同化2日目に葉と茎に存在した ^{14}C は減少した。呼吸による損失は認められなかった。

ダイズでは $^{14}\text{CO}_2$ を栄養生長期に同化させた場合、同化2日目において葉に58%、茎に37%残存した。生育に伴って葉の ^{14}C 量は低下したが、茎の ^{14}C 量の変化は小さかった。同化2日目の地上部に残存した ^{14}C の23%が地上部最大期までに呼吸により失われたが、その後収穫期までに失われたのは5%であった。同化後2日目の13%が収穫部位へ転流した。 $^{14}\text{CO}_2$ を地上部最大期に同化した場合、同化2日後の葉への残存割合はイネよりも大きかった。葉および茎の ^{14}C は生育に伴って低下し、同化2日目に残存した ^{14}C の13%が

収穫期までに呼吸により失われた。 $^{14}\text{CO}_2$ を登熟中期に同化した場合、同化2日目の収穫部位への ^{14}C の分配割合は66%で収穫期には71%となった。同化2日目の ^{14}C 量の15%が収穫期までに呼吸により消費された。

5. ^{14}C の各化合物への分配

葉では同化2日目のタンパク態アミノ酸への ^{14}C の分配は、ダイズでイネよりも高く、この傾向は特に $^{14}\text{CO}_2$ を生育後半で同化するほど顕著であった (Table 4-1)。栄養生長期に $^{14}\text{CO}_2$ を同化した場合、イネの葉におけるタンパク態アミノ酸中の ^{14}C 量は地上部最大期まではほぼ一定であり、その後収穫期まで低下した。一方、ダイズでは葉におけるタンパク態アミノ酸中の ^{14}C 量は地上部最大期までに約1/2に低下し、その後収穫期まで低下を続けた。地上部最大期あるいは登熟中期に $^{14}\text{CO}_2$ を同化した場合、同化2日目の葉のタンパク態アミノ酸中の ^{14}C 量は収穫期まで両作物で急速に低下したが、その低下はイネに比べダイズでより大きかった。葉のエタノール可溶性画分中の ^{14}C 量の減少速度は全ての時期においてイネでダイズより高かった。 $^{14}\text{CO}_2$ を栄養生長期に同化した場合、イネでは葉中の炭水化物に含まれる ^{14}C 量は地上部最大期まで増加し、その後一定となったが、ダイズでは生育に伴って低下した。

茎では $^{14}\text{CO}_2$ を栄養生長期に同化した場合のタンパク態アミノ酸中の ^{14}C の量はイネの同化2日目と地上部最大期でやや高かった以外は、いずれの場合もかなり小さい値であった。茎のエタノール可溶性画分中の ^{14}C 量は、イネでダイズよりも大きかった。茎の炭水化物中の ^{14}C 量は、両作物とも $^{14}\text{CO}_2$ を栄養生長期および地上部最大期に同化した場合の同化2日目に高かった。しかしながら登熟中期に同化した場合には極めて少なかった。イネでは栄養生長期に同化した場合には炭水化物中の ^{14}C 量は生育に伴って低下したが、他時期に同化した場合にはほぼ一定に保たれた。一方、ダイズに同化した場合には $^{14}\text{CO}_2$ を与えた時期にかかわらず、一定に保たれていた。

収穫部位では収穫期のタンパク態アミノ酸画分中の ^{14}C 量が最大になったのは、イネでは $^{14}\text{CO}_2$ を地上部最大期に同化した場合であったが、ダイズでは登熟中期に同化した場合であった。 $^{14}\text{CO}_2$ を与えた時期にかかわらず、常にダイズでイネよりもタンパク態アミノ酸中の ^{14}C 量が高かった。

Table 4-1 Distribution of ^{14}C to ethanol-soluble, protein, and carbohydrate fractions in each organ of rice and soybean.

		Rice					Soybean									
Organ	¹⁴ C feeding stage	Vegetative			MSG		Mid-maturing		Vegetative			MSG		Mid-maturing		
	Sampling stage Fraction	2 DAF	MSG	Harvest	2 DAF	Harvest	2 DAF	Harvest	2 DAF	MSG	Harvest	2 DAF	Harvest	2 DAF	Harvest	
Leaves	Ehanol-soluble	12.8	2.6	2.2	9.4	2.1	14.1	1.7	18.1	13.9	11.6	16.1	10.2	14.7	6.4	
	Protein	15.2	14.4	2.2	4.4	0.4	1.7	0.3	18.6	9.8	4.4	10.1	1	5.5	0.8	
	Carbohydrate	8.4	27.4	25.3	8.2	5.6	2.6	1.8	21.6	18.1	12.6	16.1	5.7	0	3.1	
Stems	Ehanol-soluble	20.7	10.5	3.1	37.5	0.3	11.4	0.0	9.9	4.1	1.5	4.7	0.9	9.5	2.4	
	Protein	10.5	7.6	2.5	3.1	0.6	0.6	1.0	2.7	2.5	0.6	3.4	0.4	1	0.2	
	Carbohydrate	26.5	16.3	12.9	30.0	25.1	0.3	3.8	24.9	25.4	27.7	19.5	13.1	2.2	1.9	
Roots	Ehanol-soluble	2.5	3.7	0.7	0.8	0.1	0.1	0.1	0.4	0	0	0.2	2.3	0.6	0	
	Protein	3.1	2.9	3.4	0.4	0.8	0.2	0.5	2.6	0.9	0.6	2.1	0.3	0.6	0.1	
	Carbohydrate	0.3	0.0	1.6	0.0	0.6	0.0	0.0	1.3	0.8	0.2	0.1	0	0	0.1	
Harvesting organs	Ehanol-soluble	-	0.3	0.6	2.5	0.0	39.5	0.3	-	0.8	4.6	6.4	2.2	39.3	12.1	
	Protein	-	0.4	3.2	0.6	9.9	3.1	6.8	-	0.6	5.6	4.1	14.4	12.5	23	
	Carbohydrate	-	0.7	5.6	3.2	46.2	26.4	83.8	-	0.3	2.7	17.4	36.1	14.2	35.5	
Whole plant	Ehanol-soluble	36.0	16.7	6.6	50.2	2.7	65.3	2.1	28.5	18.7	17.8	27.3	15.6	64.1	20.8	
	Protein	28.8	25.3	11.2	8.5	11.8	5.6	8.4	23.9	13.7	11.1	19.7	16.1	19.5	24.1	
	Carbohydrate	35.2	44.3	45.3	41.4	77.5	29.2	89.4	47.7	44.6	43.2	53	54.9	16.4	40.5	
Respiration	-	13.7	36.9	-	8.0	-	0.0	-	22.9	27.9	-	13.4	-	14.6		
Total		100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100	100	100	100	100	100	100	

MSG: maximum shoot growth stage, 2DAF: 2 days after feeding.

両作物ともそれぞれの時期に同化した時の炭水化物の ^{14}C 量は生育に伴って増加した。また、収穫期の収穫部位の ^{14}C 炭水化物量は生育に伴って高まり、同化時期にかかわらずイネでダイズよりも多かった。

考 察

登熟期前に茎葉に一度組み込まれた炭素および窒素化合物が登熟に際して収穫部位に転流され再構築される。この過程においてマメ科では地上部最大期以降、茎葉の細胞壁構成成分（セルロース、ヘミセルロース、リグニン）がかなり分解されるのに対し、イネ科ではあまり分解されなかった（2-1節）。一方、窒素化合物の茎葉から収穫部位への再転流に際して、各部位の遊離アミノ酸組成は大きく変動し、特に葉および収穫部位のタンパク態のアミノ酸組成は類似しているが途中の転流形態に相当するとみなされる茎の遊離アミノ酸組成はタンパク態のアミノ酸組成と比較して大幅に異なった（2-1節）。それ故、葉のタンパク質が分解して他部位へ再転流する際に、アミノ酸を構成する炭素と窒素は大幅な組み換えを起こしていると想定される。この章では再転流過程での炭素と窒素の挙動を調べるために生育の各時期に一度作物の構成成分に取り込まれた ^{14}C の生育を追った変動を調査した。

Figs. 4-1、4-2で示すように、一度茎葉に取り込まれた炭素および窒素は登熟にともない収穫部位に再転流した。この時、Fig. 4-4で ^{14}C の呼吸による放出パターンをイネ科とマメ科で比較すると大きく異なっていた。 $^{14}\text{CO}_2$ を栄養生長期に同化した場合、ダイズでは地上部最大期までに多量の ^{14}C が呼吸により失われたが、イネでは地上部最大期以降に多くの ^{14}C が呼吸により失われた。 $^{14}\text{CO}_2$ を地上部最大期および登熟中期に同化した場合にはダイズで収穫期までに多くの ^{14}C が呼吸により失われた。

$^{14}\text{CO}_2$ を栄養生長期に同化したとき、葉の中の ^{14}C -炭水化物はイネでは地上部最大期まで高まった (Table 4-1)。一方、ダイズでは生育に伴って低下した。葉とは対照的に茎の ^{14}C -炭水化物ではイネでは生育に伴って低下し、ダイズではやや高まった。 $^{14}\text{CO}_2$ を地上部最大期に同化したとき、葉と茎の ^{14}C -炭水化物は両作物とも生育に伴って低下した。ただしこの時低下速度はダイズでイネよりも高く、両作物とも茎で葉よりも低かった。 $^{14}\text{CO}_2$ を登熟中期に同化したとき、両作物とも茎葉での炭水化物への ^{14}C の分配は少なかった。

このように葉で炭水化物に組み込まれた ^{14}C は、ダイズでより活発に分解され、転流され、この傾向は特に生育の初期で顕著であった。しかしながら、茎の炭水化物に組み込まれた ^{14}C は、栄養生長期のイネを除くと、その再転流速度は葉に比べて低かった。これらの結果は2-1節で認められたダイズではイネに比べ葉において多量の細胞壁構成成分 (炭水化物) が分解し、茎では両作物ともあまり分解されなかったという観察結果と一致している。

$^{14}\text{CO}_2$ を栄養生長期に同化したとき、イネでは葉のタンパク質に組み込まれた ^{14}C の割合は地上部最大期まで一定でその後低下した (Fig. 4-4)。一方、ダイズでは地上部最大期までにその約50%が失われ、その後も低下した。このことはダイズの栄養生長期と両作物の登熟期において ^{14}C -タンパク質のターンオーバー、転流、分解が活発に進行していることが予想される。茎のタンパク質に取り込まれた ^{14}C の減少速度はイネでダイズよりも高かった。 $^{14}\text{CO}_2$ を登熟中期に同化した場合、葉の ^{14}C -タンパク質は両作物とも生育に伴って著しく低下した。同化2日目ではダイズでイネよりも高かった。また茎では葉よりも小さかった。

このように、葉のタンパク質に取り込まれた ^{14}C 量はダイズでイネよりも多く、葉のタ

ンパク質のターンオーバーがダイズでイネよりも生育を通して大きかったと考えられる。さらに、栄養生長期のイネの茎で多量の ^{14}C がタンパク質に取り込まれたことから、茎が積極的にタンパク質を集積することができるとみなされる。

イネに比べ、ダイズでは ^{14}C -タンパク質、 ^{14}C -炭水化物からの ^{14}C の損失が多いこと、栄養生長期の葉で ^{14}C のタンパク質と炭水化物への再構築がかなり顕著であるようなことから、これらの化合物を基質としていると考えられている「貯蔵物質呼吸」のダイズにおける活発な働きが予想された。このように炭素の放出は、収穫部位のタンパク質の合成に要するエネルギー要求量よりも、茎葉の呼吸により支配される面が強いものと判断される。ダイズではイネに比べて葉と茎のタンパク質に組み込まれる割合が高いことから、 ^{14}C 放出（貯蔵物質）はタンパク質の代謝とタンパク質のターンオーバーが関与することが考えられた。

4-2. イネ、ダイズ、サイトウの葉に同化した ^{14}C 化合物の挙動

4-2-1. イネ、ダイズ、サイトウの葉に同化した $^{14}\text{CO}_2$ 、 ^{14}C -スクロースおよび ^{14}C -アスパラギンの挙動

前節の結果からイネに比較してダイズでは茎葉の貯蔵物質が呼吸により失われる割合が高く、貯蔵物質呼吸が多いことが明らかとなった。貯蔵物質呼吸には維持呼吸の基質も含まれていると考えられていることから、葉における呼吸代謝を基質レベルからさらに調査した。作物を長期間暗所におくと生長はほぼ停止し、この状態にある作物は維持的であると考えられる。そこで、作物の生長の状態を維持的にするために作物体を長期間（2日以上）暗所に置いた。この方法によれば作物の初期光合成産物呼吸もほぼ完全に無くなることが知られており、呼吸基質が貯蔵物質に限定されている状況にあると考えられる。一方、明所下で同化した光合成産物はまず初期光合成産物呼吸として主に生長呼吸として使われると考えられることから、これらの化合物の炭素骨格の挙動を調査した。

実 験 方 法

イネ (*Oryza sativa* L. var. Michikogane)、ダイズ (*Glycine max* (L.) Merr. var. Kitamusume)、サイトウ (*Phaseolus vulgaris* L. var. Hokkaikintoki) の種子を次亜塩素酸ナトリウム溶液 (0.01% 有効塩素) に10分間浸漬して殺菌した。イネの種子は1990年の5月9日に培養液に浮かせたサランネット上に播種した。培養液の組成は N (NH_4NO_3); 30 mg L^{-1} 、P (NaH_2PO_4); 2 mg L^{-1} 、K (K_2SO_4 : $\text{KCl} = 1:1$); 30 mg L^{-1} 、Ca (CaCl_2); 50 mg L^{-1} 、Mg (MgSO_4); 20 mg L^{-1} および微量元素として Fe、Mn、B、Zn、Cu、Mo をそれぞれ 2、0.5、0.5、0.2、0.01、0.005 mg L^{-1} で与えた。pH は 0.1N NaOH で一日2回 5.3 に合わせた。ダイズとサイトウの種子はそれぞれ1990年の6月の4日と7月の4日にバーミキュライトに播種した。イネでは第3葉期、マメ科では第2葉期に50Lの培養液を入れた56L容のプラスチックコンテナに12個体ずつ移植した。培養液の組成は前述の通りで

ある。pHは1日2回5.3に調整し、ダイズとサイトウの場合には連続通気した。

開花期（イネで8月2日、ダイズで7月16日、サイトウで8月10日）にそれぞれの植物体を1個体ずつ12Lポットに移植した。この時窒素処理区として窒素を含まない0N区と、窒素を60 mg L⁻¹含む60N区を設定した。

¹⁴CO₂をイネ、ダイズ、サイトウでそれぞれ8月19日、8月9日、8月27日に同化した。イネの止葉およびマメ科では完全展開葉を1Lの透明なポリエチレンパックでつつみ、このバック中で¹⁴CO₂を0.18 mmol L⁻¹ NaHCO₃ (0.37 kBq NaH¹⁴CO₃ (2.06 GBq mmol⁻¹))と5mLの300mg L⁻¹ HClO₄を混合して発生させた。同化終了後ただちに同化葉とそれに対応する収穫部位を、植物体に着生したままの状態別々のガラス管にいれ、アスピレーターで0.5L min⁻¹で吸引し、発生する¹⁴CO₂量を24時間にわたって測定した。発生した¹⁴CO₂はエタノール：モノエタノール（4：1）溶液約15mlを通すことで回収した。この液を20mlに定容した後に、この中の2mlをトルエンシンチレーターに入れて液体シンチレーションカウンター（Aloka Model LSC-502）を使って¹⁴C量を決定した。同化後自然光下に置いた処理と、暗室に置いた処理を設けた。

¹⁴C- [U] -スクロースと¹⁴C- [U] -アスパラギンの吸収は、イネとダイズでそれぞれ8月20日と10日に行った。両化合物の吸収は波田ら¹⁷³⁾の方法に準じ、イネでは止葉、ダイズでは最大展開葉の先端を水中で剃刀により切断し、直ちに自然光下で1時間0.37 kBq ¹⁴C- [U] -スクロース (0.19 GBq mol⁻¹)あるいは¹⁴C- [U] -アスパラギン (4.78 GBq mol⁻¹)を含む50mMのリン酸緩衝液 (pH 7.5) にその先端部を浸漬した。同化は午前9時から10時の間に行った。同化開始から1時間後、脱塩水で浸漬部分をよく洗浄し、暗所に移動し、その後24時間の呼吸による¹⁴CO₂の放出速度を測定した。

24時間目の呼吸の測定が終了した時点で植物体を採取し、同化葉、それに対応した収穫部位（イネでは穂、ダイズでは同化葉に隣接した莢）、他の葉、他の収穫部位、茎、根に分け、液体窒素で凍結した後に凍結乾燥し、秤量後粉碎した。¹⁴Cの測定はOsaki and Tanaka²³⁶⁾の方法に若干の修正を加えて行なった。すなわち、バイアルに取った試料に75 μlの脱塩水を加えた後にNCS II (Amersham) を0.5 mlと酢酸30 μlを加え50°Cで16時間振盪し、室温まで冷却後、脱色剤として1gの過酸化ベンゾイルをトルエン5mlに溶解した溶液の上澄液0.15mlを加え、50°Cで30分間浸透し、その後0.5mlの過酸化水素水

を加え1晩放置した後にトルエンシンチレーターを加えた。

糖、有機酸、遊離アミノ酸、タンパク態アミノ酸、多糖類の分画には凍結乾燥試料約100mgを精秤し、すり鉢に石英砂とともにとり、氷冷した4mlの100mmol L⁻¹のリン酸緩衝液 (pH7.5) で摩砕し、18,500gで20分間遠心し、上澄液を集めた。残渣を同様に2回抽出し、得られた上澄液はすべてまとめて、ロータリーエバポレーターを用いて約1mlになるまで40°Cで濃縮した。この液を1.5mlのエッペンチューブに取り沸騰水中で可溶性タンパク質を沈殿させるために15分間加熱した。室温まで冷却後18,500gで20分間遠心して上澄液を集めた。残渣に1mlの脱塩水を加え、同様に上澄液を得る操作を2回行なった。上澄液はDowex 50-X8 (200-400mesh, H⁺-form) とDowex 1-X8 (200-400mesh, Cl⁻-form) を用いて糖、有機酸、アミノ酸画分に分画した。

可溶性タンパク質と残渣をまとめて蓋付き試験管に取り、窒素ガスで封入し、6N塩酸中で105°C24時間加水分解した。分解物に含まれる塩酸はエバポレーターにより濃縮、溶解を繰り返すことにより除去した。タンパク態のアミノ酸画分を4-1節にしたがって得た。

それぞれの画分は濃縮した後に液体シンチレーションカウンターで¹⁴C量を決定した。組織中の全¹⁴C量から、各画分の¹⁴C量を差し引いた結果残った¹⁴C量を「その他」とし、ここにはデンプンや細胞壁成分が含まれると考え、多糖類画分とした。窒素含有率はケルダール法で決定した。

すべての実験は2反復で行ない、結果は平均値で示した。

結 果

1. 窒素含有率

それぞれの期間の窒素含有率はいずれの作物においても60N区で0N区よりやや高かった (Table 4-2)。0Nでは生育に伴って低下したが、60N区ではイネとダイズでは各器官とも変化はなく、サイトウでは茎の窒素含有率が高まった。

Table 4-2. Nitrogen contentn (%) at successive growth stage.

Crop	Stage	N treatment	Leaves	Stems	Roots	Ears or pods
Rice	Flowering	30N	3.94	1.35	1.60	
	Maturing	0N	2.87	0.92	1.24	1.40
		60N	5.00	2.24	1.79	1.88
	Harvest	0N	1.60	0.65	1.09	1.19
		60N	4.00	2.04	1.91	1.99
Soybean	Flowering	30N	4.65	1.35	1.60	
	Maturing	0N	1.85	0.73	1.72	3.18
		60N	4.55	2.58	4.30	3.82
	Harvest	0N	1.28	0.58	1.51	2.60
		60N	3.85	2.43	4.09	3.71
Field bean	Flowering	30N	5.94	2.84	5.22	
	Maturing	0N	4.01	1.83	3.59	4.50
		60N	6.15	2.95	5.38	5.03
	Harvest	0N	2.99	1.34	2.18	2.32
		60N	5.08	4.74	4.79	4.44

2. $^{14}\text{CO}_2$ 同化後の $^{14}\text{CO}_2$ の放出

イネでは0N区と60N区で同化葉あるいは対応している穂からの $^{14}\text{CO}_2$ の放出速度に違いは認められなかった (Fig. 4-5)。同化直後に同化葉からの放出速度は暗所でも明所でも高く、その後急速に低下した。

ダイズとサイトウでも同化直後の同化葉からの急速な $^{14}\text{CO}_2$ の放出が認められ、窒素、

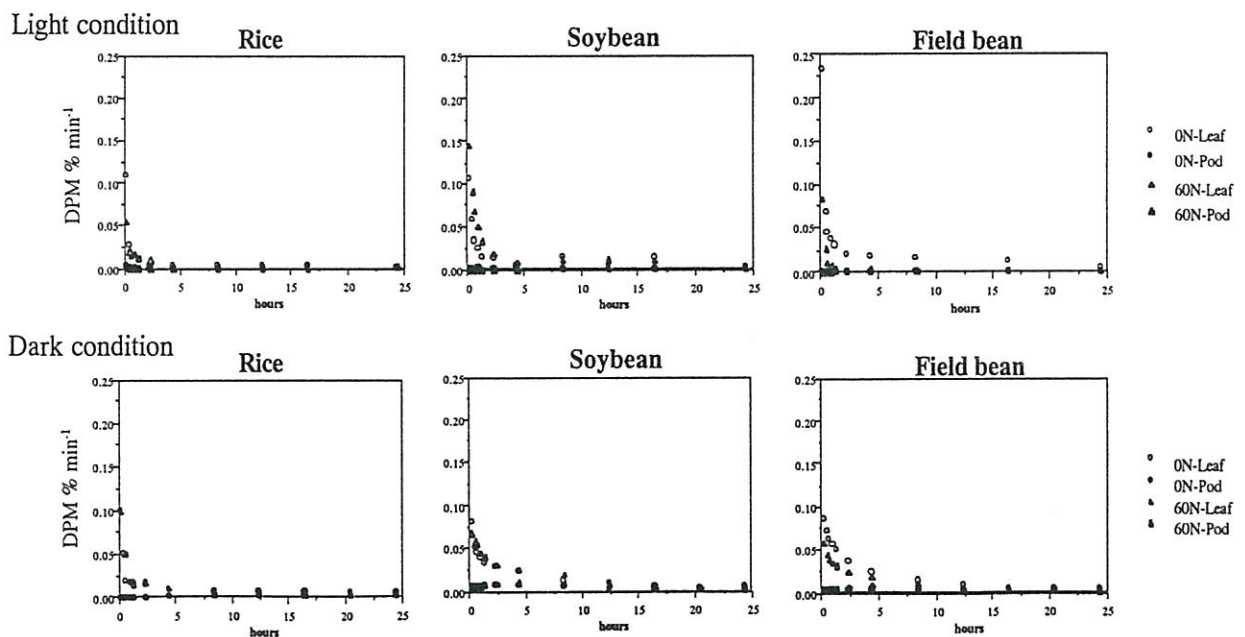


Fig. 4-5 $^{14}\text{CO}_2$ release rate from leaf and sink organs after $^{14}\text{CO}_2$ assimilation.

光条件にかかわらず急速に低下した。対応している収穫部位からの $^{14}\text{CO}_2$ の放出は暗所下においてイネでは同化後4時間、両マメ科作物では同化直後から認められ、約12時間後に最大値に達した。放出速度は暗所下よりも明所下でかなり小さかった。

3. $^{14}\text{CO}_2$ 同化24時間後における ^{14}C の各器官への分配と呼吸への分配

イネでは同化した ^{14}C のほとんどは同化葉、それに対応する収穫部位、および茎に残存した (Table 4-3)。その他の部位に含まれる割合は明所下で10%以下、暗所下ではほとんど認められなかった。暗所の0N区では対応する収穫部位への ^{14}C の分配は24時間目に植物体に残存した ^{14}C のおよそ1/2を占め、同化葉に残存した割合は28%であった。一方、光条件下あるいは窒素を与えた場合は、収穫部位に分配された割合は暗所下では2

Table 4-3 ^{14}C distribution (%) into respiration and other organs after $^{14}\text{CO}_2$ assimilation.

Crop	Light condition after assimilation	N treatment	Leaves assimilated	Sink ear or pod*	Other leaves	Stem	Root	Other ears or pods	Respiration by leaf assimilated	Respiration by ear or pod
Rice	Ligh	0N	44.1	18.9	1.2	24.1	0.3	0.6	8.5	2.3
		60N	46.3	4.6	3.9	29.6	2.5	0.1	11.0	2.0
	Dark	0N	27.9	51.4	0.3	5.8	0.1	0.1	8.1	6.3
		60N	44.5	33.1	0.3	6.6	0.1	0.0	10.4	5.0
Soybean	Ligh	0N	56.7	7.9	0.8	4.9	1.5	8.1	19.0	1.1
		60N	46.6	8.0	0.2	8.0	3.4	12.3	20.4	1.1
	Dark	0N	34.2	11.3	0.3	20.8	9.3	8.0	12.3	3.8
		60N	28.1	18.9	0.9	9.3	14.2	5.5	16.2	6.9
Field bean	Dark	0N	33.8	37.1	0.2	5.4	0.2	0.1	14.9	8.2
		60N	34.2	34.1	1.9	3.1	0.4	0.1	17.4	8.9

* Sink ear or pod: ear or pod beside the leaf where $^{14}\text{CO}_2$ was assimilated.

%、明所下では5-6%であった。

ダイズでは窒素条件によらず明所では約1/2の残存した ^{14}C の約半分が同化葉に存在し、8%が対応する収穫部位に分配された。暗所では窒素処理によらず約30%の ^{14}C が同化葉に残存し、0N区では11%、60N区では19%が対応する収穫部位に分配された。同化葉からの呼吸の放出にともなう $^{14}\text{CO}_2$ の放出は60Nで0Nよりもやや高く、さらにそれぞれ暗所に比べ明所ではイネの2倍、1.5倍と高かった。対応する収穫部位からの $^{14}\text{CO}_2$ の放出は明所では1%と低く、暗所では4から7%とやや高かった。

サイトウでは窒素処理にかかわらず、同化葉と対応する収穫部位に約34-37%の ^{14}C が残存した。同化葉からの呼吸による $^{14}\text{CO}_2$ の放出はイネとダイズより多かった。対応する

収穫部位からの呼吸による $^{14}\text{CO}_2$ の放出は暗所において窒素処理によらず約10%であった。

4. $^{14}\text{CO}_2$ 同化24時間後における各構成成分への ^{14}C の分配

イネでは窒素処理に関わらず明所下では約60%が糖に分配され、約30%が多糖類に分配されていた (Fig. 4-6)。暗所下では糖への分配は低くなり (0 Nで30%、60Nで15%)、多糖類への分配が高まった (0Nで55%、60Nで15%)。同様の傾向は対応する収穫部位においても認められ、明所下で多糖類の画分へ50%が分配されるのに対し、暗所下では

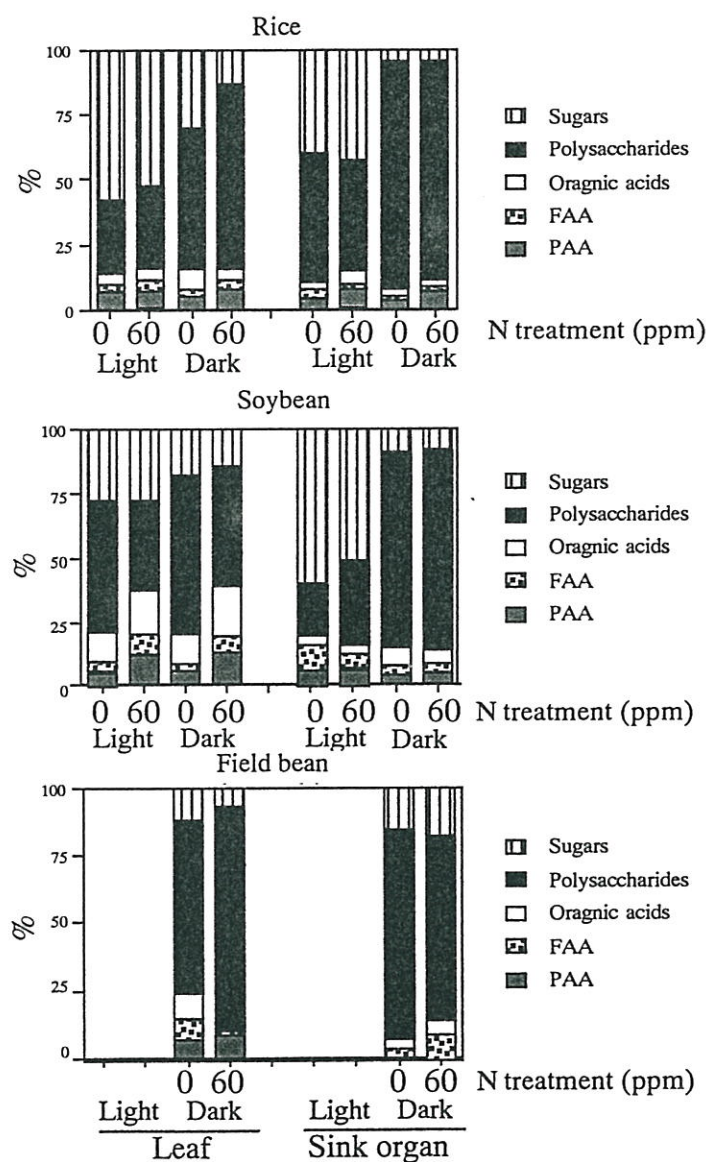


Fig. 4-6 ^{14}C distribution into each chemical component in the leaf assimilated and the sink organs after $^{14}\text{CO}_2$ assimilation.

90%に達した。

ダイズでは明所下の0N区において全同化 ^{14}C のうち約30%が糖に分配され、50%が多糖類に分配された。アミノ酸、有機酸、タンパク質への分配は60N区で0N区の約2-3倍に高まり、これに対応して多糖類への分配が低下した。明所に比べ、暗所では糖への分配が低かった。収穫部位では50-60%の ^{14}C が明所下では窒素処理にかかわらず糖に分配された。しかしながら、暗所下では糖への分配は10%であり、多糖類への分配は80%となった。ダイズでは有機酸への ^{14}C の分配がイネに比べて、特に同化葉において窒素処理に関わらず高かった。

サイトウでは同化葉、対応する収穫部位で多糖類への ^{14}C の分配は70-80%と高かった。同化葉では10-15%の ^{14}C がタンパク質に分配された。

5. ^{14}C -スクロースあるいは ^{14}C -アスパラギンを同化し、た後の $^{14}\text{CO}_2$ の放出

スクロースを同化した場合には、イネでは同化葉からの $^{14}\text{CO}_2$ の放出は同化直後に高く、その後急速に低下した (Fig. 4-7)。この時の窒素レベルの影響は認められなかった。ダイズでも同様の傾向を示した。収穫部位からの $^{14}\text{CO}_2$ の放出は同化直後から認められ、ダイズでイネよりも高かった。

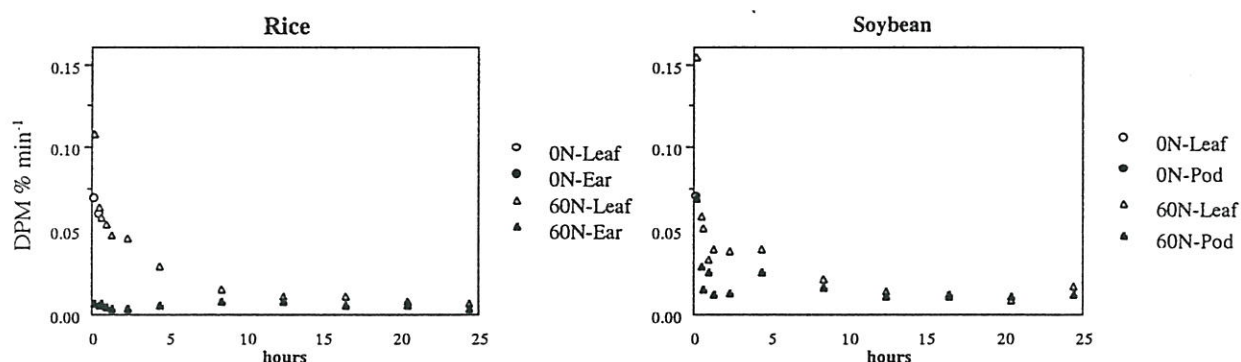


Fig. 4-7 $^{14}\text{CO}_2$ release rates in the dark after ^{14}C -[U]-sucrose introduction to the flag leaf of rice and the fully expanded leaf of soybean.

アスパラギンを同化した場合には、イネではスクロースを同化した場合と同様の挙動を示した (Fig. 4-8)。一方、ダイズではスクロースを同化した場合に比較してアスパラギンを同化した場合には放出速度が低かった。収穫部位からの ^{14}C の放出は同化直後から認められ、イネでは0N区でダイズでは60N区でやや高かった。

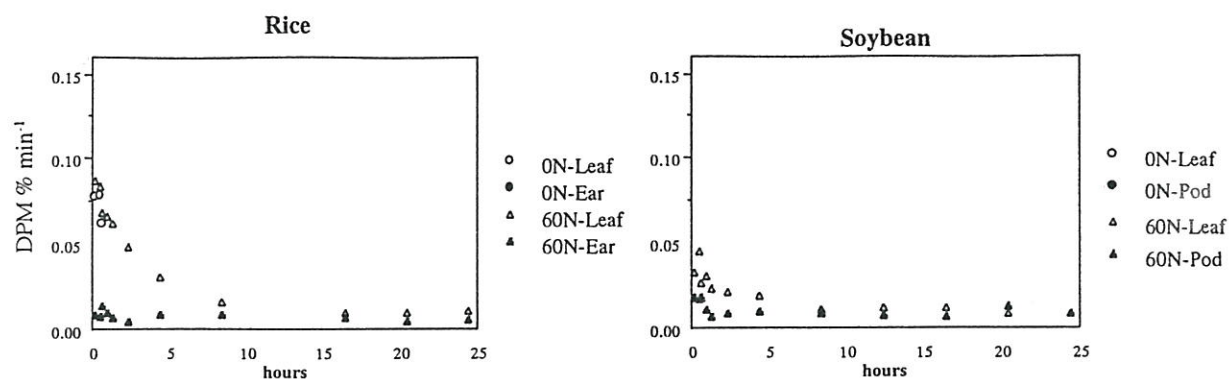


Fig. 4-8 $^{14}\text{CO}_2$ release rates in the dark after ^{14}C -[U]-asparagine introduction to the flag leaf of rice and the fully expanded leaf of soybean.

6. ^{14}C -スクロースを同化した葉の24時間後の ^{14}C の分配

イネでは同化葉に残った ^{14}C の割合と対応した収穫部位に移行した割合は0N区と60N区で変わらなかった (Table 4-4)。同化葉からの呼吸による $^{14}\text{CO}_2$ の放出割合は60N区では33%であり、この値は0N区の約1.5倍であった。シンクからの $^{14}\text{CO}_2$ の放出は窒素処理に関わらず10%以下であった。

ダイズでは同化葉に残った ^{14}C 、対応した収穫部位に分配された ^{14}C の割合は0N区で60N区よりも高く、一方、同化葉と対応した収穫部位からの $^{14}\text{CO}_2$ 放出速度は60Nで0Nよりも高かった (Fig. 4-7)。全体の同化量に対する同化葉からの $^{14}\text{CO}_2$ の放出速度はイネとダイズで大きな違いは認められなかったが、対応した収穫部位での放出量はダイズでイネの2-3倍であった。

Table 4-4 ^{14}C distribution* (%) into respiration and organs at 24h after ^{14}C -sucrose and ^{14}C -asparagine introduction to the leaf in rice and the maximum expanded leaf in soybean.

Introduced compounds	Crop	N treatment	Source leaf	Sink organ	Respiration by source leaf	Respiration by sink organ
Sucrose	Rice	0N	33.9	34.9	22.7	8.6
		60N	30.4	29.3	32.5	7.9
	Soybean	0N	42.4	14.3	26.2	17.2
		60N	33.5	10.6	33.0	23.0
Asparagine	Rice	0N	32.7	12.1	34.9	17.4
		60N	47.2	12.1	30.2	10.7
	Soybean	0N	62.7	4.8	22.8	9.9
		60N	35.0	29.3	21.0	14.0

* ^{14}C distribution into each fraction was calculated as the percentage of the sum of ^{14}C in each fraction.

7. ^{14}C -アスパラギンを同化した葉の24時間後の ^{14}C の分配

イネでは ^{14}C -アスパラギンを同化した葉の24時間後の ^{14}C の残存割合は60N区で0N区の約1.4倍と高かった。一方、シンクの ^{14}C の割合は60N区に比べて0N区で約1.6倍と高かった (Table 4-4)。同化葉の呼吸による $^{14}\text{CO}_2$ の放出速度は60N区で0N区よりもやや高かった (Fig. 4-8)。一方シンクでは窒素処理に関わらず11%-17%であった。

ダイズでは同化葉に残る ^{14}C の量は0N区で63%と高く、60N区の約1.7倍であった。これに対応してシンクへの分配割合は0N区できわめて低かった。同化葉における呼吸による $^{14}\text{CO}_2$ の放出速度は0N区と60N区で同様であったが、シンクからの放出は60N区で0N区よりも高かった。

4-2-2. 長期間暗所下に置かれたイネとダイズの葉における ^{14}C 化合物の挙動

長期間暗所に置いた作物の葉、および生長が完全に停止した葉では生長呼吸が停止し、呼吸は維持呼吸のみによりまかなわれていると考えられている。そこで、 ^{14}C をラベルした化合物をイネとダイズの葉に取り込ませ、その挙動を調査することにより、維持的と考えられる状態における代謝を調査する。

実 験 方 法

1993年4月28日にイネ (*Oryza sativa* L. var. Michikogane) 種子を播種し、5月21日に10Lポットに移植し湛水状態で育てた。ダイズ (*Glycine max* (L.) Merr. var. Kitamusume) では種子を5月28日に10Lポットに播種した。イネは湛水状態で育てた。N、P、Kはそれぞれ 0.2 g l^{-1} をN、 P_2O_5 、 K_2O として硫酸アンモニウム、過リン酸石灰、硫酸カリウムで施用し、土に混ぜたが、窒素処理として施肥(+N)区と窒素のみ無施肥(-N)区を設定した。

イネは7月28と29日に、ダイズは8月6と7日に ^{14}C -スクロース、あるいは ^{14}C -アミノ酸混液を最大展開葉 (イネは主茎の第6葉、ダイズは第5葉の頂小葉) に4-2節の方法

と同様な方法で取り込ませた。この際、同化の4日前より暗室に置いた処理を設けた。同化は午前11:00-12:00に暗所で行い、同化後は暗所に放置した。 ^{14}C -スクロースは0.37GBq (23.0GBq mmol⁻¹)、 ^{14}C -アミノ酸混液は0.37GBq (2.07GBq milliatom carbon⁻¹)を用いた。 ^{14}C -アミノ酸混液は0.37GBq中にL-Alanine; 29.6、L-Arginine; 25.9、L-Aspartic acid; 29.6、L-Glutamic acid; 46.2、Glycine; 14.8、L-Histidine; 5.55、L-Isoleucine; 18.5、L-Leucine; 51.8、L-Lysine; 22.2、L-Phenylalanine; 29.6、L-Proline; 18.5、L-Serine; 14.8、L-Threonine; 18.5、L-Tyrosine; 14.8、L-Valine; 29.6MBq含まれるように調整されてある試薬を用いた。なお、この構成割合は一般的な作物のタンパク質の構成アミノ酸割合とほぼ同一である。

同化直後に同化葉を脱塩水でよく洗浄し、水をふき取った後に放出される $^{14}\text{CO}_2$ 量を24時間にわたって測定した。放出される $^{14}\text{CO}_2$ の捕集方法は4-2-1節に準じた。24時間測定した後、イネでは同化葉、主茎のその他の葉、分けつ、茎および根、ダイズでは第5葉(同化葉)とそれ以外の葉、第5葉における分枝、その他の葉と茎および根に分けてそれらに含まれる ^{14}C 量を4-2-1節に準じて測定した。

同化葉に関しては糖、有機酸、遊離アミノ酸、タンパク態アミノ酸、その他の画分に前報に従い抽出溶液をリン酸緩衝液から80%エタノールに変更して分画した。抽出溶液を変更することにより目的とする画分への分画効率に変化はなかった(資料省略)。

また、上記と同様に育てたイネを供試し7月30日に第3葉、8月1日に第6葉に ^{14}C -スクロースを同様に同化し、その後の $^{14}\text{CO}_2$ の放出経過、各種画分への分配を調査した。無窒素処理は設けなかった。

結 果

1. 乾物重

イネ、ダイズとも同化実験への供試時期がほぼ同時なので、全体の平均値でTable 4-5に示した。イネでは4日間の暗処理による乾物重への大きな影響は認められず、窒素施肥区ではいずれの部位も乾物重が大きかった。ダイズでは暗所に4日間置いた個体と明所に置いた個体では後者で葉と根の乾物重がやや大きかった。窒素処理の影響は明白ではな

かった。

2. 窒素含有率

窒素含有率も全体の平均値で Table 4-5 に示した。イネとダイズのいずれの作物でも +N 区で -N 区よりも各部位の窒素含有率は高かったが、イネで差が大きかった。

Table 4-5 Dry weight and nitrogen content of each organ in rice and soybean.

Crop	Light treatment	Nitrogen treatment	DW (g pl ⁻¹)				N (%)		
			Leaf	Stem	Root	Total	Leaf	Stem	Root
Rice	Dark	-N	0.65	1.06	1.24	2.95	2.70	1.17	0.60
		+N	1.32	1.50	1.35	4.17	5.21	3.05	1.17
	Light	-N	0.62	1.15	1.29	3.06	2.47	1.01	1.13
		+N	1.45	1.67	1.21	4.33	5.06	2.62	1.75
Soybean	Dark	-N	1.06	1.02	0.64	2.72	5.12	2.25	2.79
		+N	1.05	0.92	0.65	2.62	5.59	2.89	2.87
	Light	-N	1.23	0.97	0.83	3.03	4.75	1.58	2.30
		+N	1.18	1.04	0.89	3.11	5.40	2.85	3.03

3. ¹⁴CO₂ の放出速度

全同化量に対する呼吸による¹⁴Cの放出速度を示した。イネでは、スクロース同化の場合、最大展開葉に同化した場合、同化前の光条件が明条件、暗条件のいずれの場合でも同化直後から活発に呼吸による放出を伴っていた (Fig. 4-9)。ただし、イネの明条件は同化後約30-60分後に掛けて一度高まった後に急速に低下した。窒素処理による影響はほとんど認められなかった。

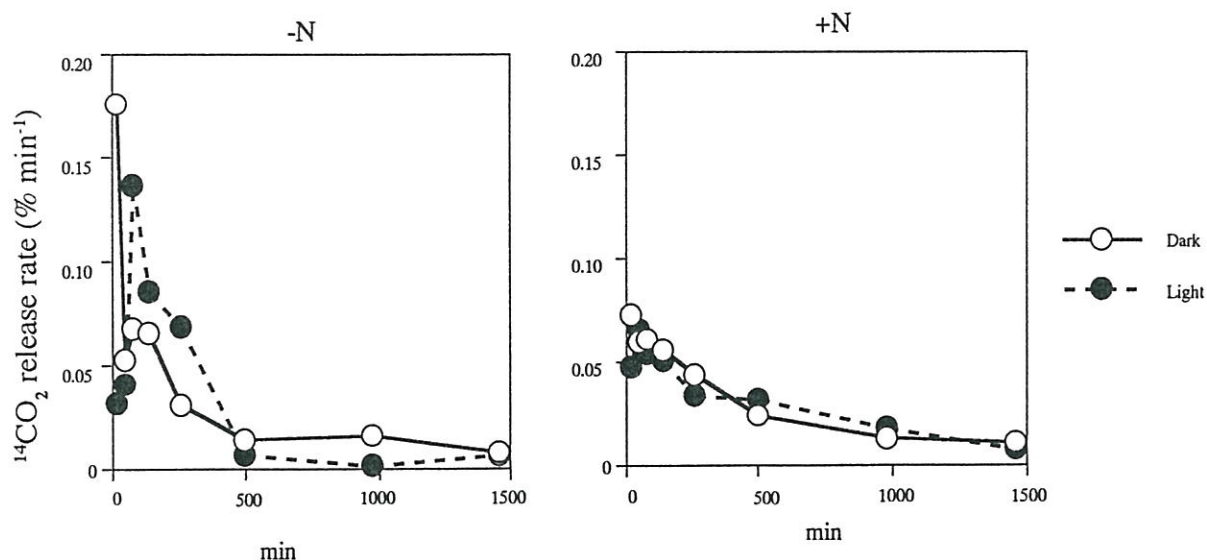


Fig. 4-9 ¹⁴CO₂ release rate of the ¹⁴C-sucrose introduced fully expanded leaf of rice.

下位葉に同化した場合、明条件と暗条件で大きな違いが認められた (Fig. 4-10)。いずれの場合も同化直後から $^{14}\text{CO}_2$ の放出が認められ、明条件では上位葉と比較的高い類似性が認められたが、暗条件では上位葉と比較して同化直後の放出速度がやや緩慢であった。

アミノ酸混液同化の場合、明条件と暗条件の差はほとんど認められなかった (Fig. 4-

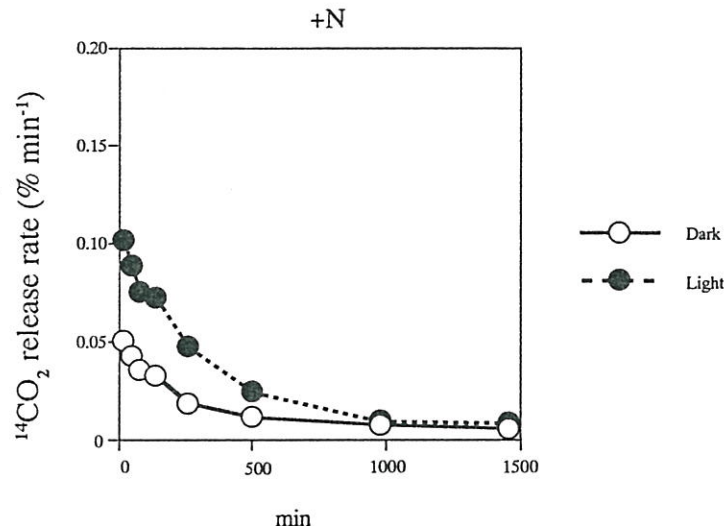


Fig. 4-10 $^{14}\text{CO}_2$ release rate of the ^{14}C -sucrose introduced lower leaf of rice.

11)。-N区では光条件に関わらず同化直後に同化葉からの呼吸による $^{14}\text{CO}_2$ がやや高かったが、約120分以降には差が認められなかった。放出速度は特に同化直後においてはスクロース同化でアミノ酸混液同化の場合に比較して高かった。

ダイズでは、スクロース同化の場合 +N区では光条件の影響は全くみられず、同化直後から緩やかに放出された (Fig. 4-12)。-N区においては同化前に暗条件下の処理では同

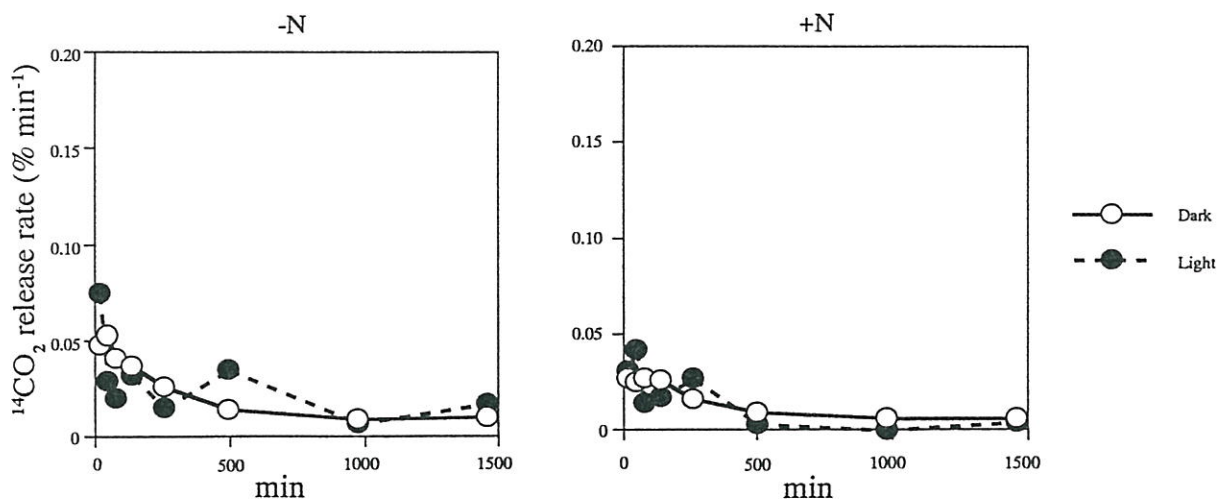


Fig. 4-11 $^{14}\text{CO}_2$ release rate of the ^{14}C -amino acid mixture introduced expanding leaf of rice.

化後約6時間にわたって $^{14}\text{CO}_2$ の放出速度が高く保たれた。これに対して明条件処理においては同化直後に放出速度が高いがその後急速に低下し一定となった。

アミノ酸混液同化の場合、同化約6時間あとも $^{14}\text{CO}_2$ 放出速度が高まりその後急速に低下し一定となった (Fig. 4-13)。この傾向は光条件、窒素処理によりは変化しなかった。全体的に窒素処理に関わらず暗条件でやや放出速度が高めに推移した。

4. 呼吸、他器官への ^{14}C の分配

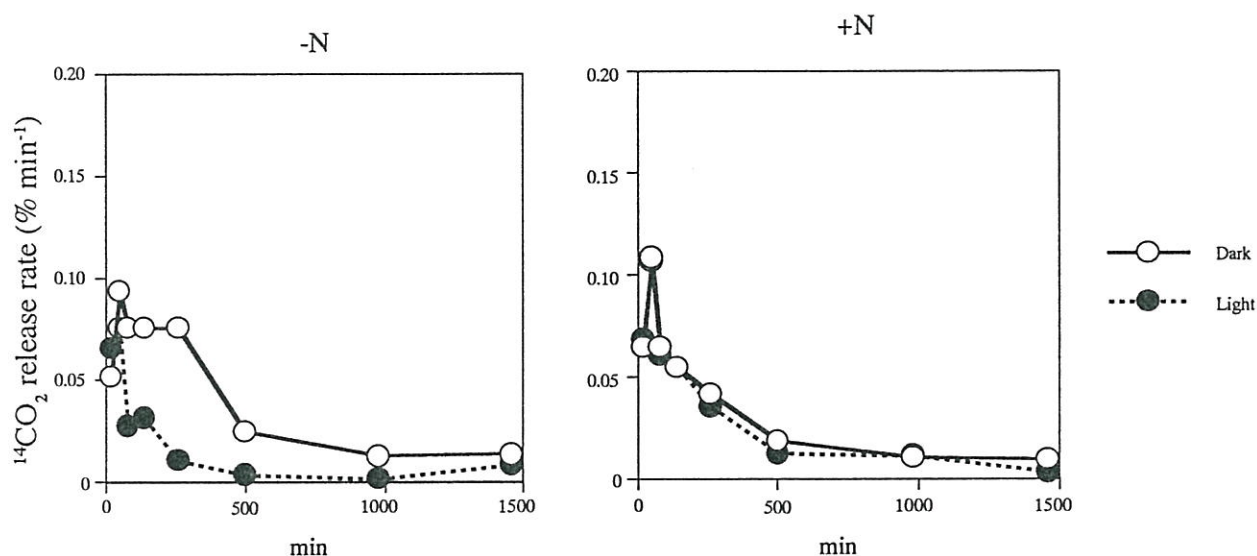


Fig. 4-12 $^{14}\text{CO}_2$ release rate of the ^{14}C -sucrose introduced expanding leaf of soybean.

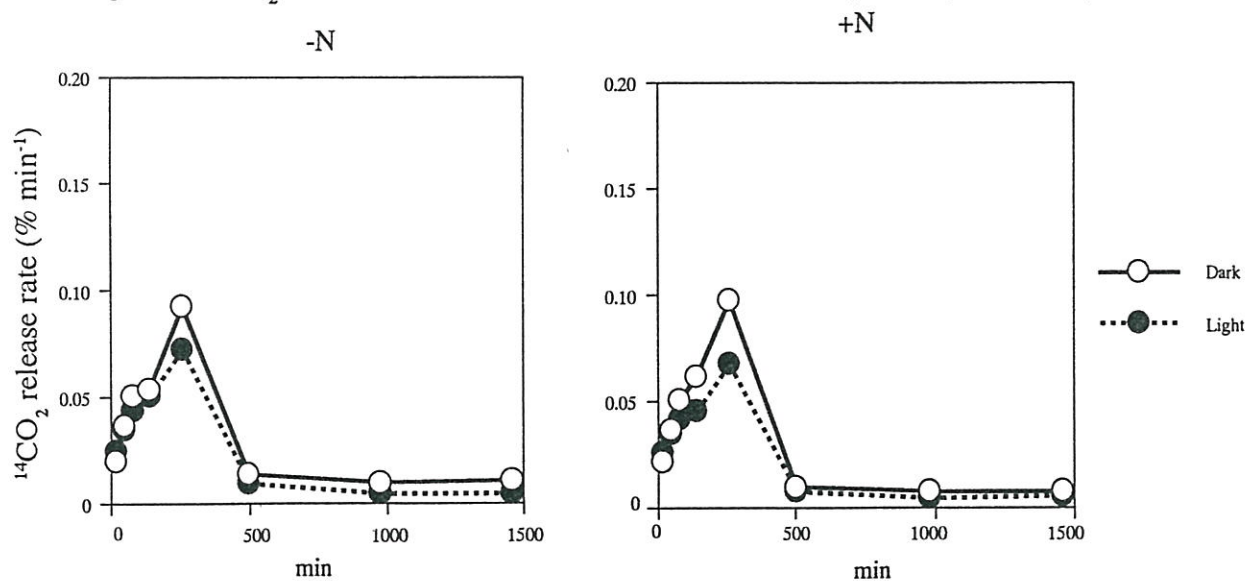


Fig. 4-13 $^{14}\text{CO}_2$ release rate of the ^{14}C -amino acid mixture introduced expanding leaf of soybean.

Table 4-6に示すように、呼吸への分配はイネではスクロース同化の場合0.30-0.36で処理による差はあまり明白ではなかった。アミノ酸混液同化の場合は光条件による違いは小さかったが、-N区 (0.24-0.29) において +N区 (0.10-0.14) よりも高かった。

イネにおいて下位葉に同化した場合、暗条件で0.26であり、明条件では0.54と約2倍の値になった。

ダイズではスクロース同化の場合、+N区では0.30-0.35で暗条件でやや明条件よりも高いが、-N区では明条件では0.14であるのに対し暗条件では0.46と著しく高かった。アミノ酸混液の同化の場合、窒素処理に関わらず暗条件で高く、-N区では0.26-0.28、+N区では0.36-0.38であった。

他器官への ^{14}C の分配はイネの下位葉同化、ダイズのアミノ酸混液同化の場合を除いて明条件で高く、イネではこの傾向は +N区においてより顕著に認められた。

Table 4-6 ^{14}C distribution ratio into respiration and organs at 24 h after ^{14}C compound introduction.

Crop	Introduced compounds	Leaf position	Treatment				
			Light	Nitrogen	Respiration	Other organs	Leaf for introduction
Rice	Sucrose	Upper	Dark	Low N	0.35	0.06	0.59
				High N	0.30	0.03	0.67
			Light	Low N	0.36	0.31	0.33
				High N	0.35	0.58	0.07
	Amino acid mixture	Lower	Dark	High N	0.26	0.08	0.65
			Light	High N	0.54	0.05	0.41
		Upper	Dark	Low N	0.24	0.01	0.75
				High N	0.15	0.07	0.79
Soybean	Sucrose	Upper	Light	Low N	0.29	0.13	0.58
				High N	0.10	0.59	0.31
	Amino acid mixture	Upper	Dark	Low N	0.38	0.02	0.61
				High N	0.36	0.11	0.52
			Light	Low N	0.28	0.01	0.71
				High N	0.26	0.03	0.71

5. 同化直後の同化葉での各種化合物への分配 (イネについてのみ観察)

光条件により違いが観察されたのは明条件では糖へほぼ同化産物の1/2が分配されるのに対し、暗条件では糖と遊離のアミノ酸画分へ約1/4が分配されていた (Fig. 4-14)。多糖類への分配は光条件に関わらず約1/4であった。

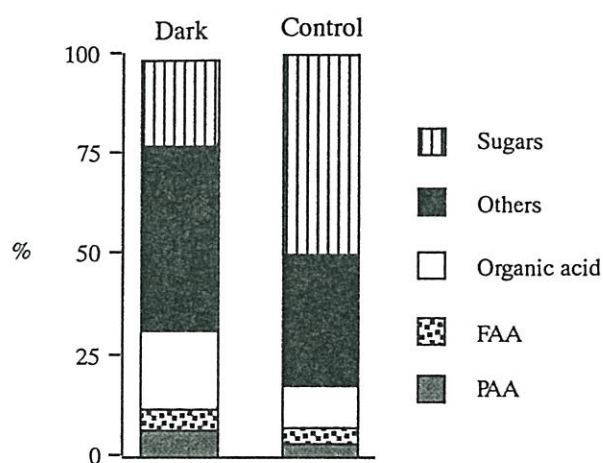


Fig. 4-14 ^{14}C -distribution into each chemical component in the source leaf of rice just after ^{14}C -sucrose introduction.

6. 同化24時間目の同化葉での各種化合物への分配

イネのスクロース同化の場合、明条件では糖への分配が29-38%と暗条件の4-15%に比べて高く、逆に多糖類の画分への分配は暗条件で47-50%であるのに対し明条件で27-37

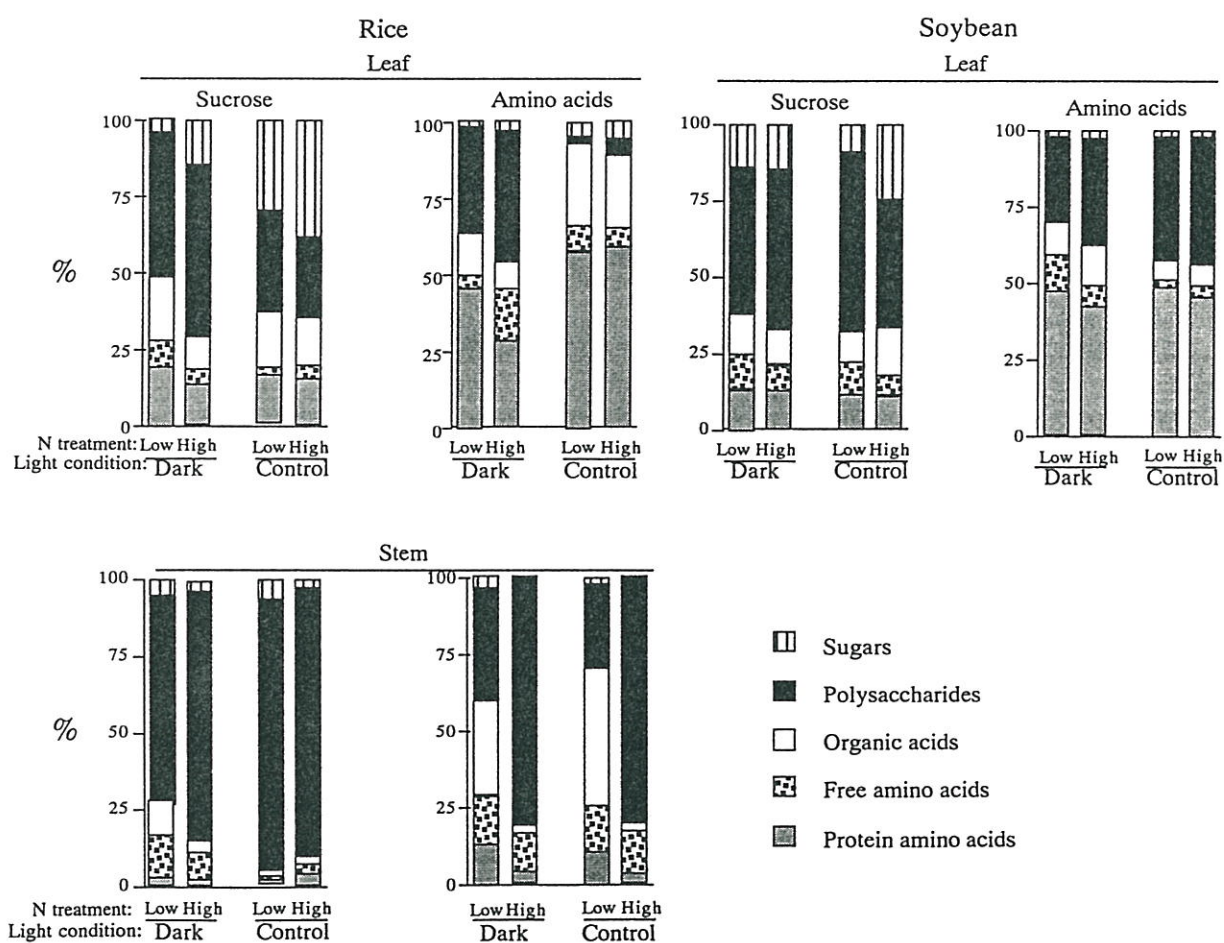


Fig. 4-15 ^{14}C -distribution to chemical components in the source leaf and stem at 24h after $^{14}\text{CO}_2$ assimilation (^{14}C -distribution in stem of soybean was negligible).

%と低かった (Fig. 4-15)。有機酸あるいはタンパク態アミノ酸へは10-20%、遊離のアミノ酸へは10%以下の分配であった。

イネのアミノ酸混液同化の場合、糖への分配は6%以下と少なかった。窒素処理の影響は明確ではなく、明条件では暗条件と比べて有機酸が9-14%に対して24-27%と高く、タンパク態アミノ酸は28-46%に対して57-59%と高かった。これに対して多糖類へは明条件では5%以下と低く、暗条件では35-43%と著しく高かった。遊離のアミノ酸への分配は暗条件の+N区を除いては10%以下と低く、暗条件の+N区では約17%とやや高かった。

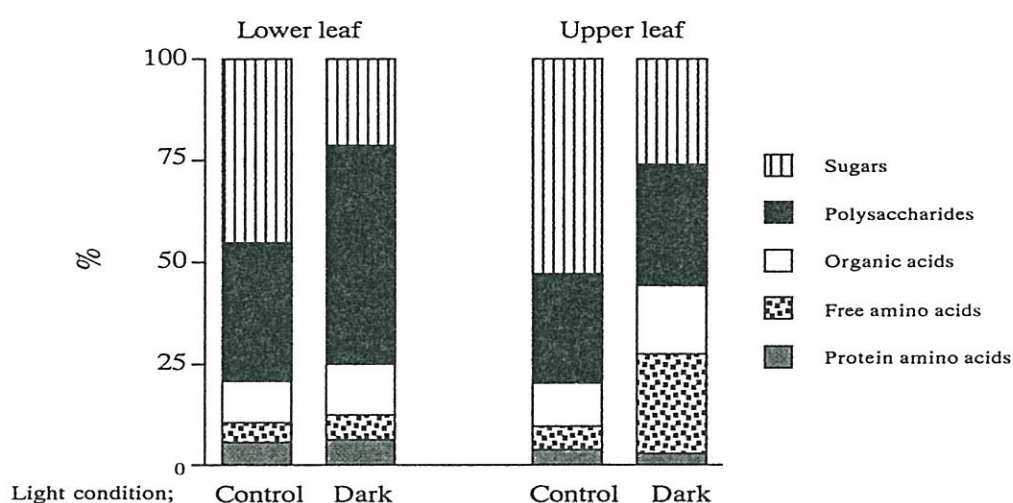


Fig. 4-16 ¹⁴C-distribution (%) into each chemical component in the source leaf after 24h.

た。イネの下位葉へのスクロース同化の場合でも同様の傾向を示していた (Fig. 4-16)。

ダイズのスクロース同化の場合、明条件の+N区において25%とやや高いことを除くと有機酸、糖、遊離のアミノ酸、タンパク態アミノ酸への分配は5-15%程度であり、処理間の違いは光、窒素に関わらず明確ではなかった。その他の画分への分配は約50-60%であった。

ダイズのアミノ酸混液同化の場合、糖への分配は2%以下と非常に少なかった。有機酸と遊離のアミノ酸画分への分配は暗条件でそれぞれ11-13%、7-12%と明条件の6-7%、3-4%に比べてやや高めであり、これに対してその他の画分では暗条件で28-35%であるのに対して明条件では41-42%と高かった。タンパク態アミノ酸への分配は約40-50%で処理間の差は明確ではなかった。

考 察

マメ科の収穫部位には多量のタンパク質や脂肪が含まれているために、呼吸によりエネルギーを生産するために多量の炭水化物を失うと考えられており¹³⁹⁾、実際Yamaguchi⁸⁰⁾はダイズの収穫部位の生長効率が0.45であると報告している。しかしながら、3-1節で示したようにダイズの収穫部位の生長効率を再測定した結果は0.77となり、この値はイネ(0.83)よりもわずかに低いに過ぎなかった。一方、栄養生長期の全植物体の生長効率はイネに比べてマメ科では0.10-0.15低い。このようにマメ科での光合成産物の呼吸による損失は、収穫部位よりもむしろ葉や茎において高いと考えられる。この葉や茎で認められる高い光合成産物の損失は窒素栄養によって変化しなかった。このことはマメ科においてタンパク質合成のために多量の炭水化物が呼吸によって消費されるとは考えられないことを示している。それ故、イネと比較したときのダイズあるいはサイトウの葉に取り込ませた¹⁴C化合物の挙動が特に茎葉での呼吸による代謝との関連で注目される。

イネとダイズにおいてその収穫部位を構成する窒素化合物の大半は茎葉に一度集積した化合物が分解して転流してきたものとみなされる。このとき、窒素化合物の挙動は「葉のタンパク質」→「葉の遊離アミノ酸」→「茎の遊離アミノ酸」→「収穫部位の遊離アミノ酸」→「収穫部位のタンパク質」により摸式化できる。この過程に伴う炭素/窒素の比率をそれぞれの構成アミノ酸組成から算出すると、イネでは葉から収穫部位まではほとんど変化しない(3.0-3.4)のに対し、ダイズでは葉の遊離アミノ酸では3.1であったが茎では1.9と急激に低下し、収穫部位の遊離アミノ酸で2.7、タンパク質では3.0と再度高まる。この違いはダイズではアスパラギンが窒素の転流形態の主体を占めているためと考えられる。これらの転流形態の呼吸による利用のされ方がイネとダイズでは異なっていることが推定される。このような炭素/窒素バランスの変化と呼吸との関係も考えられる。

¹⁴C-[U]-アスパラギン同化後5時間までの¹⁴CO₂の放出速度はイネで高く、このことはイネではアスパラギンが活発にまず別の化合物に代謝されていることを反映していると考えた(Fig. 4-8)。しかしながら、¹⁴CO₂放出速度が同化終了後5時間目以降はイネとダイズで変わらないことから、葉において一度転流形態あるいは葉の構成成分などに代謝

された ^{14}C -化合物が呼吸による使われる割合は、イネでもダイズでもほぼ同様と考えられた。 ^{14}C -[U]-スクロースを同化した後の $^{14}\text{CO}_2$ の放出はイネとダイズで類似しており、このことはスクロースの転流の機構がイネとダイズで大きく変わらないことを示していることも考えられる (Fig. 4-7)。収穫部位では ^{14}C -[U]-スクロースを同化した後5時間までの $^{14}\text{CO}_2$ 放出速度はダイズでイネよりも高かった (Fig. 4-7)。しかしながら収穫部位からの呼吸による ^{14}C の放出はダイズでイネよりもわずかに高かったのみである。これらのことは収穫部位の生長効率がイネとダイズで大差がなかった結果 (Table 3-4) と一致する。

転流形態とみなされるスクロースとアスパラギンと比較して、光合成により獲得された炭素の挙動はイネとダイズでかなり異なっていた。ダイズでは光合成により獲得された $^{14}\text{CO}_2$ の挙動は明所と暗所のいずれでも呼吸により多量に失われていたが、特に明所下において暗所下よりも多く失われ、イネでは明暗処理の差がなかったことと大きく異なる (Fig. 4-4)。その原因として1つは光呼吸系の関与が考えられる。ダイズでは光合成速度に対する光呼吸 (20%酸素レベルでの光合成速度と2%レベルでの光合成速度の違いが相当するとしている) の割合は42-46%であるのに対し^{293, 294)}、コムギでは28-35%⁶⁰⁾、イネでは23% (Imaizumi et al.²⁷⁷⁾ の Table 1 と 2 から算出) と小さい。光呼吸はグリシンからのアンモニア分子の放出と結びついていることから²⁹⁵⁾、光呼吸とアミノ酸代謝の強い結び付きが考えられている²⁹⁶⁾。

このようにダイズでの明所下における初期光合成産物の呼吸による活発な放出はその一部は葉の高い光呼吸速度により説明できる可能性がある。ダイズではイネと比較して同化直後の $^{14}\text{CO}_2$ の放出速度の低下がやや遅いこともそのことを支持していると考えられる。また、ダイズでは同化葉からの $^{14}\text{CO}_2$ の放出が、最初の数時間の急速な放出後もイネより高く推移していた。このことは光呼吸系のみならず、アミノ酸代謝や有機酸代謝に関わる他の代謝活性も高く保たれていることを示唆する。暗所においてもダイズでイネよりも同化葉からの $^{14}\text{CO}_2$ の放出が多かったことから、呼吸代謝と直接的に関与しているTCAサイクルの活性が暗所で高く維持されていたと考えられる。ダイズ、サイトウの収穫部位における呼吸による $^{14}\text{CO}_2$ の放出が少なかったことから、マメ科の収穫部位の生長効率が高かったことが確認された。

Champigny and Foyer²⁸⁶⁾ は光合成により獲得された炭素のスクロースあるいはアミノ酸への分配を決めるのは sucrose phosphate synthase (SPS) と PEPC の活性であるという考えを示し、これが光と硝酸により調節されているのではないかと考察した。本実験から明条件下で光合成により固定された $^{14}\text{CO}_2$ はダイズでは有機酸、アミノ酸、タンパク質に分配されており、60N区でより顕著であったが、イネではこのような傾向は認められなかった (Fig. 4-5)。このことは Champigny and Foyer²⁸⁶⁾ の仮定にしたがえば、ダイズでは SPS 活性よりも PEPC 活性が高いということを示しているものと考えられる。

このように、イネ科に比較したときのマメ科の低い生産性は、主に茎葉の呼吸速度が高いことに起因すると考えられ、特に暗条件下よりも明条件でイネ科とマメ科の違いが大きくなった。このことは光呼吸速度が高いことも考えられたが、有機酸やアミノ酸への同化炭素の分配も著しかったことから、このような化合物の合成のために炭素が積極的に使われる系の存在も推定された。0N区では窒素の供給がないため、葉の窒素含有率が著しく低下したが、それにもかかわらず、光合成により獲得された炭素の窒素化合物への分配はダイズの0N区でイネの60N区より多かった。それゆえ、光合成により獲得された炭素の窒素化合物と有機酸への分配の機構のイネとダイズの差異は窒素条件により大きく変動しなかった。したがって、イネとダイズでは同化炭素の分配機構に違いが存在していると考えられた。

4-3. 発芽に伴う炭素・窒素関係の呼吸による制御

実験 4-3-1. 発芽に伴う呼吸活性の変化

前章および前節の結果からマメ科作物では葉からの呼吸による多量の炭素の放出がその生産性を低下させていることが示された。また、第2章で示したようにマメ科作物では茎葉を構成した化合物（特にタンパク質）が分解された後、他の部位に再転流する割合が高いということを考え合わせると、茎葉のタンパク質がアミノ酸やアミドなどに分解され、転流される過程が呼吸と結び付いていることが予想された。そこで、様々な成分組成を持つ種子を供試し、その発芽の過程における呼吸と炭素・窒素の再構成がどのような関係にあるかを調査した。

実 験 方 法

トウモロコシ (*Zea mays* L. var. Pioneer 3732)、ダイズ (*Glycine max* (L.) Merr. var. Kitamusume) の種子を HgCl_2 500 倍溶液で 20 分間殺菌した後、バーミキュライトを入れたプリンカップに播種した。25°C の暗所恒温室内で栽培し、播種後 1 日目から 14 日目まで 24 時間毎に 5 から 10 作物体を採取し、これらを一括して呼吸速度と乾物重を測定した。呼吸の測定はまず植物体全体の呼吸速度を測定した後に種子とその他の部分を鋭利なカミソリで切り離した後、種子の呼吸速度を測定し、その差し引きから種子以外の新規植物体の呼吸速度を求めた。呼吸速度は偏差型赤外ガス分析計（日立 - 堀場 Model EIA-2）で通気法により測定した。乾物重は種子とそれ以外の新規生長部位に分け、それぞれを 80°C で 2 日間通風乾燥した後に重量を決定した。熱量の測定はカロリーメーター（小川精器、OSK-150）で測定し、3-3 式で炭素含有率を決定した。乾物重の測定は 2 反復、呼吸速度の測定は 3 反復で行い、その平均値を示した。

結 果

1. 乾物重の変遷

トウモロコシ、ダイズの両作物とも発芽に伴い全乾物重は次第に低下した (Fig. 4-17)。

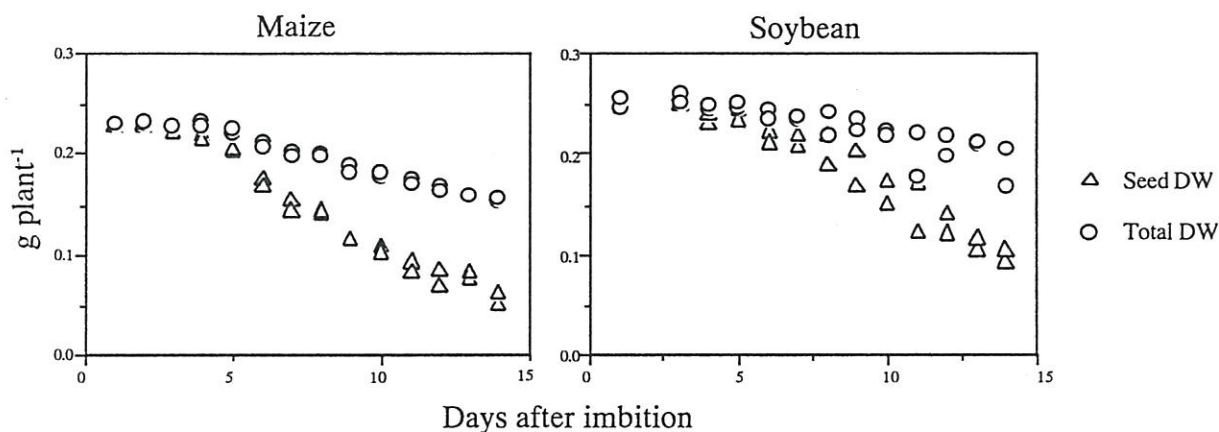


Fig. 4-17 Successive change of dry weight at germination under dark conditions.

種子重の低下に伴って、新規合成部位の全乾物重に占める割合が高まり、播種後2週間目にはトウモロコシでは2/3、ダイズでは1/22を占めた。

2. 呼吸速度の変遷

トウモロコシでは種子の呼吸速度は発芽に伴って徐々に高まり、播種後約1週間で頭打ちとなり、その後やや低下した (Fig. 4-18)。新規合成部位は発芽後3から5日目にかけて

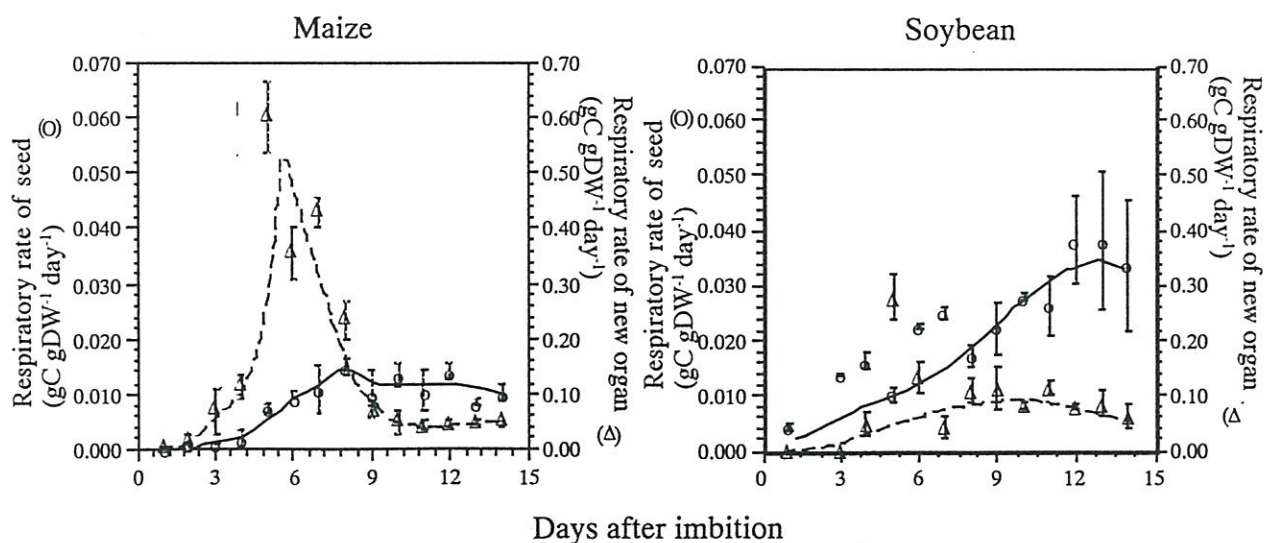


Fig. 4-18 Successive change of respiratory rate during germination under dark conditions.

高まり、約8日目からは約 $0.10 \text{ (gC gDW}^{-1} \text{ day}^{-1})$ でほぼ一定となった。

ダイズでは種子の呼吸速度は発芽に伴って徐々に高まり続け2週間目には約 $0.040 \text{ (gC gDW}^{-1} \text{ day}^{-1})$ となりトウモロコシより高くなった。新規生長部位の呼吸速度は発芽後2日目に最大となり、その後急速に低下した。

3. 熱量 (J g^{-1}) の変遷

種子においては両作物とも生育を通じて変化は小さく (Fig. 4-19)、トウモロコシでは約 $19,000 \text{ J g}^{-1}$ 、ダイズでは $23,000 \text{ J g}^{-1}$ であった。生長部位ではトウモロコシでは生育を通じて変化は小さく、種子より $200\text{--}400 \text{ J g}^{-1}$ 小さい値であった。ダイズでは発芽直後では $19,000$ と種子よりも著しく小さくその後もさらに低下し約 $17,000 \text{ J g}^{-1}$ で一定となった。

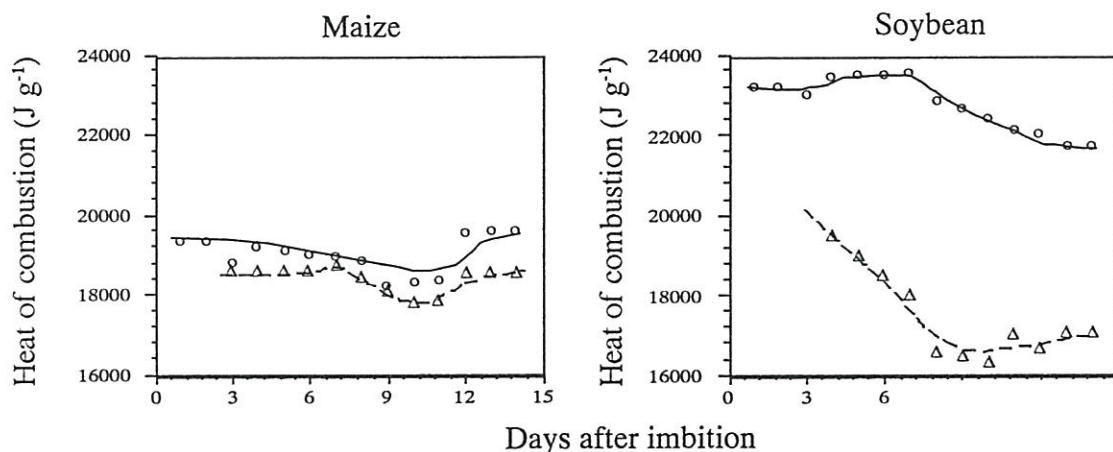


Fig. 4-19 Successive change of heat of combustion during germination.

○ Seed
Δ New organ

実験 4-3-2. 発芽中の子実に注入した ^{14}C -化合物の挙動

4-3-1節の実験においてトウモロコシとダイズでは、発芽時の種子と種子以外の新規合成部位での炭素の利用のされ方に違いが認められた。そこで、この違いを明らかにするために ^{14}C でラベルされた各種化合物を発芽中の種子 (トウモロコシでは胚乳、ダイズでは子葉) に注入し、その代謝を調査した。

実験方法

4.4-1と同様に育てたトウモロコシとダイズを用いた。発芽後5日目の幼植物の種子部に ^{14}C -[U]-スクロース ($0.19 \text{ MBq mmol}^{-1}$)、 ^{14}C -[U]-アスパラギン ($4.78 \text{ GBq mmol}^{-1}$)、 ^{14}C -[U]-グルタミン ($10.5 \text{ GBq mmol}^{-1}$)、 ^{14}C -[U]-グルタミン酸 ($10.0 \text{ GBq mmol}^{-1}$)、 ^{14}C -[U]-セリン ($6.33 \text{ GBq mmol}^{-1}$) あるいは $^{14}\text{CO}_2$ で育てた藻類のタンパク質の分解物のアミノ酸混液 (0.37 GBq ($2.07 \text{ GBq milliatom carbon}^{-1}$))を用いた。 ^{14}C -アミノ酸混液は 0.37 GBq 中にL-Alanine; 29.6、L-Arginine; 25.9、L-Aspartic acid; 29.6、L-Glutamic acid; 46.2、Glycine; 14.8、L-Histidine; 5.55、L-Isoleucine; 18.5、L-Leucine; 51.8、L-Lysine; 22.2、L-Phenylalanine; 29.6、L-Proline; 18.5、L-Serine; 14.8、L-Threonine; 18.5、L-Tyrosine; 14.8、L-Valine; 29.6 MBq が含まれている。それぞれの化合物を $0.37 \text{ kBq } \mu\text{L}^{-1}$ の溶液になるように 100 mM 磷酸緩衝液 ($\text{pH } 7.5$) で調整し、 $5 \mu\text{L}$ をマイクロシリンジを用いて種子に直接注入した。注入後1、2、4、8、16、24、48、72時間後に種子とそれ以外の部位に分けて凍結後凍結乾燥し、粉碎し、 ^{14}C 量を4-2-1節の方法に従い決定した。実験は全て暗所の 25°C の恒温室内で行った。

結果

注入した ^{14}C 化合物の挙動

トウモロコシでは同化後急速に茎葉に同化した ^{14}C -化合物が運ばれ、同時に呼吸にも著しく利用された (Fig. 4-20)。その挙動はグルタミンとグルタミン酸で類似しており、72時間後では種子に残存した ^{14}C 量は注入した量の5%以下であり、呼吸により70%以上が失われた。

スクロース、アミノ酸混液を注入した場合も種子に残存した割合は5%以下と少なかったが、呼吸による放出は60%程度であった。アスパラギン、セリンを注入した場合には種子から失われる速度が他の化合物の場合と比較して緩やかであり、72時間後でも10%程度種子に残存した。呼吸による放出はアスパラギンで50%、セリンでは20%程度であった。

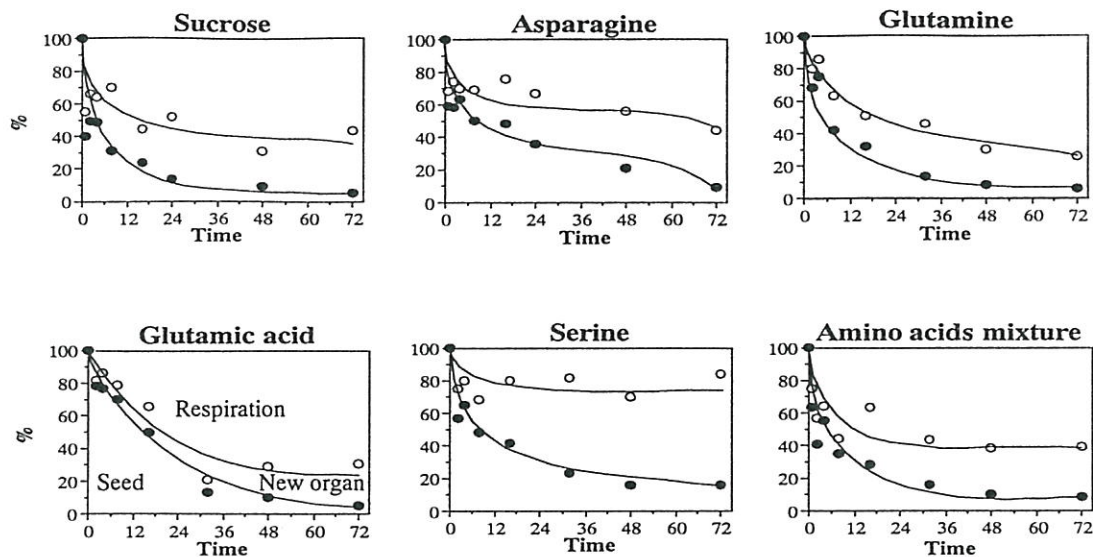


Fig. 4-20 Distribution of introduced ^{14}C -compounds in the germinating seed of maize.

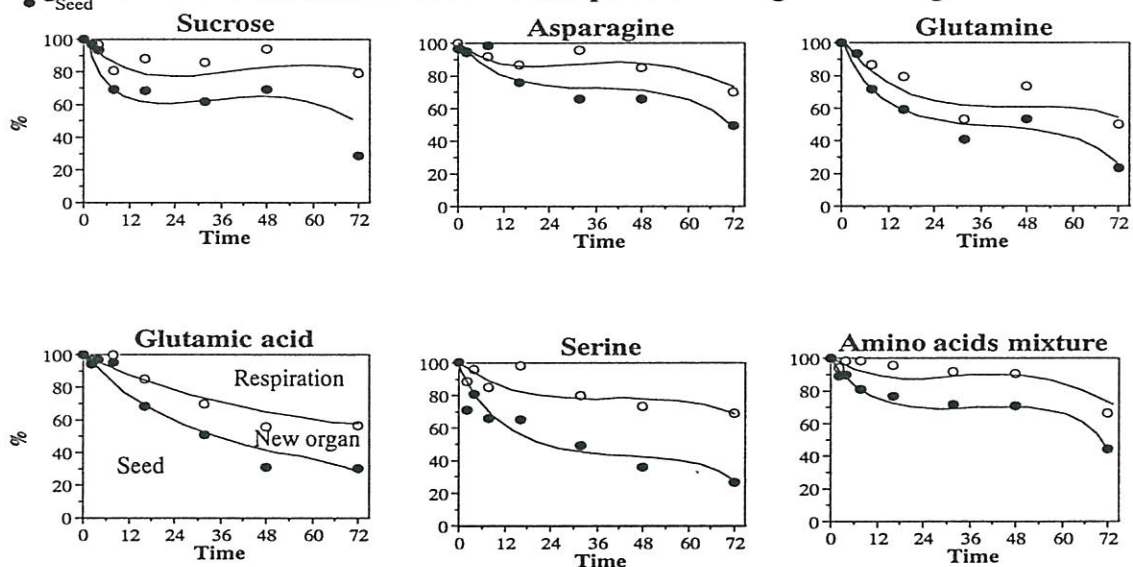


Fig. 4-21 Distribution of introduced ^{14}C -compounds in the germination seed of soybean.

ダイズではグルタミンとグルタミン酸の挙動は類似しており、子実に残存したのは72時間後に30%、呼吸で40-50%が失われた (Fig. 4-21)。スクロース、アミノ酸混液、アスパラギンの挙動は類似しており、種子に50%程度残存し、呼吸で20-30%が失われた。セリンは種子に20%程度残存するのみであったが呼吸で失われた量は30%程度であった。

実験 4-3-3. 発芽時の呼吸による炭素一窒素バランスの制御

これまでの研究で、作物の呼吸は機能的に生長呼吸と維持呼吸に明確には分類されず、両者が単独で機能しないことを明らかにしてきた。また、呼吸が体内の炭素一窒素バラ

ンスと密接に結び付いている側面があることから、発芽時の呼吸と炭素—窒素バランスの関係について調査した。

実 験 方 法

実験1と同様に前処理を施したイネ (*Oryza sativa* L. var. Michikogane)、コムギ (*Triticum aestivum* L. var. Chihokukomugi)、オオムギ (*Hordeum vulgare* L. emend. Lam. var. Ryoufuu)、エンバク (*Avena sativa* L. var. zenshin)、トウモロコシ (*Zea mays* L. var. P3732)、ソルガム (*Sorghum bicolor* Moench var. 403)、ダイズ (*Glycine max* (L.) Merr. var. Kitamusume)、アズキ (*Phaseolus angularis* L. var. Benidainagon)、サイトウ (*Phaseolus vulgaris* L. var. Hokkaikintoki)、ソラマメ (*Vicia faba* L. var. Wase-soramame)、ベニバナインゲン (*Phaseolus coccineus* L. var. Kounouen)、エンドウ (*Pisum sativum* L. var. Sanjyunichi kinusaya endou)、ルーピン (*Lupinus albus* kievskij mutant)、ピーナッツ (*Arachis hypogaea* L. var. Nakateyutaka)、ヒマワリ (*Helianthus annuus* L. var. Hokuren)、ベニバナ (*Carthamus tinctorius* L. var. Togenashi)、ヒマ (*Ricinus communis* L. var. Akabahima) を供試した。殺菌した種子は24時間連続通気した滅菌水道水中に浸漬した後に、滅菌したバーミキュライトとパーライトの1:1混合培地に播種し、滅菌した脱塩水を散布した。播種後培地は25℃の暗室に置いた。播種後7日から14日の間に植物体を採取し、種子(子葉)と新規に合成された部位に分けて80℃で通風乾燥した後にC/Nコーダー (CHN-O-RAPID, Heraeus) を用いて炭素と窒素の含有量を決定した。

結 果

発芽に伴う炭素／窒素比の変遷をTable 4-7に示した。発芽前の種子の炭素／窒素比は作物種により大きく異なり、一般にイネ科で高く、マメ科や油脂作物で低い。しかしながら、発芽に伴って新規に形成される部位の炭素／窒素比は種子の違いに比べると著しく小さくなる。特にイネ科作物では種子と新規合成部位の間の炭素／窒素比の差が大きかった。

Table 4--7 Change in dry weight, carbon content, nitrogen content, and C/N ratio at germination.

Species	DW (mg plant-1)			Carbon content (%)			Nitrogen content (%)			C/N ratio				
	Start	End SD	S/R	Start	End SD	End S/R	Start	End SD	End S/R	Start	End SD	avg. SD	End S/Rdelta C/N	
C3 gramineae														
Rice	22.10	15.45	5.26	43.57	42.98	34.60	1.61	1.51	3.67	27.06	28.46	27.76	9.43	18.34
Wheat-1	44.10	12.51	6.54	43.81	44.63	36.38	2.20	1.50	4.87	19.91	29.85	24.88	7.47	17.41
Wheat-2	35.66	13.94	13.90	42.55	45.28	39.32	3.19	2.77	4.50	13.34	16.34	14.84	8.74	6.10
Barley-1	43.40	12.51	21.44	43.92	44.25	39.33	2.06	1.28	3.97	21.32	34.71	28.01	9.91	18.11
Barley-2	29.75	6.25	16.36	44.06	41.76	37.28	2.17	1.68	3.06	20.30	24.86	22.58	12.18	10.40
Oat	15.45	6.26	5.92	46.29	45.53	37.92	2.13	1.62	4.54	21.73	28.10	24.92	8.35	16.57
C4 gramineae														
Maize	302.09	214.48	57.40	41.77	44.01	39.64	1.72	1.26	3.70	24.28	35.07	29.68	10.73	18.95
Sorghum	29.50	12.30	6.54	45.14	44.13	39.02	2.47	1.98	5.66	18.28	22.29	20.28	6.89	13.39
Leguminosae														
Soybean	356.60	277.58	54.33	51.13	48.52	38.47	6.90	7.47	8.43	7.41	6.50	6.95	4.56	2.39
Peanut	865.00	526.00	144.00	59.05	51.70	43.50	4.59	5.97	5.48	12.86	8.66	10.76	7.94	2.82
Field bean	641.45	377.97	196.90	44.17	43.13	40.83	3.64	3.07	6.26	12.15	14.05	13.10	6.53	6.57
Adzuki bean	125.30	76.57	29.45	42.37	41.92	41.72	3.66	3.73	6.31	11.58	11.24	11.41	6.61	4.80
Scarlet runner bean	983.90	609.90	184.60	44.14	43.22	40.60	3.98	3.93	6.73	11.09	11.00	11.04	6.03	5.01
Pea	243.87	156.08	52.43	42.54	42.35	42.14	3.71	3.07	6.63	11.47	13.82	12.64	6.36	6.28
Lupin	229.88	103.45	91.95	43.41	46.22	40.42	7.19	7.81	8.12	6.04	5.92	5.98	4.98	1.00
Oil seed														
Castor bean	232.40	179.57	39.86	61.78	50.43	41.90	4.52	4.66	5.78	13.67	10.82	12.25	7.25	5.00
Safflower	14.00	6.00	8.55	58.63	43.95	33.35	6.82	8.16	6.98	8.60	5.39	6.99	4.78	2.21
Sunflower	45.31	19.26	20.16	57.08	51.08	37.22	4.11	5.46	2.92	13.89	9.36	11.62	12.75	-1.12

Start, before germination; End SD, seeds at the end of the experiment; End S/R, shoot and root at the end of the experiment; delta C/N, difference of the C/N ratio between seed (aveaged value during the experiment) and shoot + root. (at the end of the experiment).

考 察

トウモロコシに比較してダイズでは種子中のタンパク質、脂肪の含有率が高い。実験に用いた品種の場合、3-1節で示したようにトウモロコシではタンパク質及びその他の窒素化合物は10.7%、糖・デンプンは73.9%、粗脂肪は4.0%、粗繊維は10.1%であり、ダイズではそれぞれ32.9、18.0、18.6、17.0である。このような組成を基質として生長する部位の組成はそれぞれ22.2、26.2、4.4、29.4および35.0、22.9、2.3、16.0%となり、いずれも種子の組成とは異なるものの、特にトウモロコシでは種子に比較して生長部位で窒素含有率の上昇と炭水化物含有率の低下が顕著である。Vertregt and Pennin de Vries¹³⁹⁾により算出された生化学的な経路に基づく定数により評価される理論的な生長効率はトウモロコシで0.70、ダイズで0.68となる。本実験の熱量と乾物重の変遷の結果からトウモロコシでは炭素として種子から76mgCが失われ、生長部位には43mgCが集積したことから差し引き36mgCが呼吸により失われたことになる。実測の呼吸速度からはこの期間、

種子で6.6mgC、生長部位で35.8mgCが放出されたことになり総量で6.4mgCの違いが認められるが呼吸速度の測定による誤差と考え補正し、種子で5.0mgC、生長部位で31.0mgCが呼吸により放出されたとみなした。この値を用いて生長部位の生長効率を算出すると0.58となり組成から予想される生長効率よりも0.10低い。一方、ダイズでは熱量と乾物重から種子で84mgCが失われ、生長部位で45mgCが獲得され、差し引き39mgCが呼吸により放出された。実測の呼吸速度からは種子で20mgC、生長部位で17.7mgCが放出され、合わせて37.7mgCが呼吸で放出されたとみなされ、これは熱量と乾物重から求めた炭素の減少量とほぼ一致したがトウモロコシと同様に補正して生長効率を求めると0.71となり、この値は組成から予想される値とほぼ等しい。トウモロコシにおける生長効率の低さは生長に直接結び付かない呼吸による炭素の放出を示唆する。このことを支持する報告としてATP生産効率の低い副次呼吸経路がトウモロコシの発芽時に観測されていることである²⁹⁷⁾。これによれば全呼吸の70%を占めるとされるが、その生理的意義は不明であるとしている。ダイズでは発芽時において副次呼吸経路が存在することは認められているものの²⁹⁸⁾、その全呼吸に占める量的な意義はかなり小さいと報告されている²⁹⁹⁾。トウモロコシで多大な副次呼吸経路が関与することは種子から生長部位へ窒素化合物が転流するに際して炭素と窒素の著しい組み換えに伴う余剰の炭素がこの系により放出されることが予想される。つまり、トウモロコシでの生長効率の低さは直接エネルギー生産に結び付いていない呼吸が多いためと考えられる。この呼吸の役割としては、トウモロコシでは種子の窒素含有率が生長部位の窒素含有率よりも低く、窒素を濃縮する機構の1つと考えられる。そこで実際の炭素の減少量と生化学的に評価される生化学的な合成経路に基づいた Penning de Vries¹³⁴⁾ の計算式に基づく4-1式により、新規に合成される化合物の組成から放出される炭素量を推定する方法 ($\Delta C(CE)$) を比較した。ただし、この際、窒素含有率に6.25を乗じた値をタンパク質とし、これ以外の部分は便宜的に全て炭水化物とした。発芽時に新規に合成されるタンパク質の窒素の基質は、子実のタンパク質であるが、発芽に際し一度分解し、主にアスパラギンの形態で転流された後に再度代謝されて使われるとみなされる。そこで、タンパク質の合成に際してはアンモニアが基質として考えた。

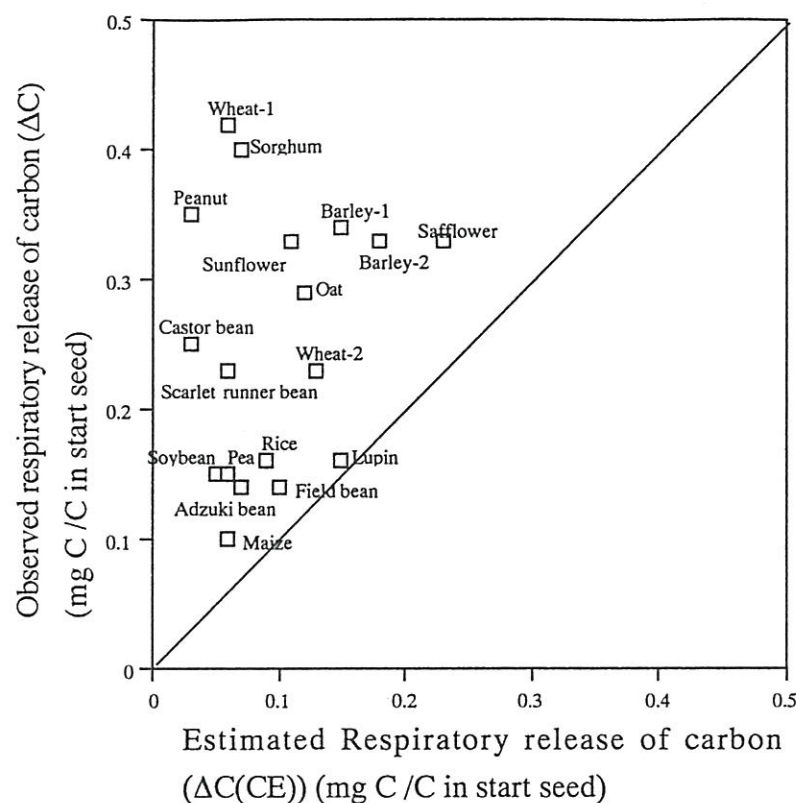


Fig. 4-22 Comparison of estimated and observed respiratory release of carbon during germination.

$$\Delta C(CE) = (\text{Protein content in new organ}/0.62 + \text{Carbohydrate in new organ}/0.83) \times 0.40 - C \text{ in new organ} \quad \text{--- eq. 4-1)}$$

実際に全植物体の炭素分析の結果から得られる炭素の減少量と4-1式から算出される炭素の放出量をプロットしたのがFig. 4-22である。 $\Delta C(CE)$ により推定される炭素の放出量が実測の炭素の減少量よりもかなり小さいことが明らかである。エネルギーバランスの観点からすると、ヒマワリやベニバナは高エネルギー物質である脂肪を多量に種子に蓄積している。これに対しコムギやソルガムは主に炭水化物を種子に蓄積している。このことはヒマワリとベニバナに比較してコムギとソルガムでは種子に貯蔵されているエネルギー量が少ないことを意味している。一方、これら4種の作物の種子の炭素/窒素比は約18であり、エネルギー転換効率からのみ新規合成部位の発生に伴う炭素の放出を考えるとヒマワリとベニバナではコムギとソルガムに比較して炭素の放出（エネルギーの放出）が少ないと考えられるが、実測の結果とは異なっていた。

一方、ダイズではトウモロコシとは異なり、全呼吸の約1/2が種子でなされている。こ

の種子における多大な呼吸は組織が子葉という点でトウモロコシと異なるが、乾物重が著しく減少すること、また、暗所で行った実験であることから、ソースとしての機能が中心であったとみなされる。窒素化合物の点から考察するとトウモロコシもダイズも発芽時の茎の遊離アミノ酸のほとんどをアスパラギンが占めることから(2-4節)、窒素の転流形態はアスパラギンと考えられるが、ダイズの種子の遊離アミノ酸組成は茎のそれと類似しているのに対し、トウモロコシの種子の遊離アミノ酸組成はむしろタンパク質の組成に類似した。トウモロコシでは種子において呼吸活性は低く、分解に重点が置かれており、新たな化合物(転流形態)への合成は胚盤あるいは茎に運ばれてからなされていることが推測される。一方、ダイズでは種子のタンパク質のアミノ酸組成と遊離アミノ酸組成は著しく異なっており、活発な合成が種子中で進行しており、呼吸活性の高さの間に関連があると考えられる。またダイズでは生長部位と種子においてタンパク質含有率が変わらない。しかしながらダイズの種子の炭素含有率は50%と著しく高く、これは脂肪に起因している。脂肪は分解してGlycerolを生じこれがAcetylCoAを經由して種子中でグリオキシル酸回路により脱炭酸を起こしつつスクロースに代謝されることが知られている^{300, 301)}。

ダイズではそのため生長部位に関して生長効率を求めれば生化学的に予想される値とほぼ等しいものとみなされる。Yamaguchi⁸⁰⁾によれば発芽時の生長効率は乾物重ベースでトウモロコシで0.65、ダイズで0.85と乾物重の変遷から評価しているが、そもそも種子の基質たる組成が大幅にトウモロコシとダイズで異なることから正しい評価がなされたとはいえない。生化学的な理論値からすると生長部位の生長効率はいずれも70%程度と予想され、生長部位に入ってくる基質が同じであれば、合成の面からは乾物増加量に対する呼吸量は等量であると予想される。しかしながら実測の生長効率はトウモロコシで低く、ダイズではほぼ同じであった。このことは新規成長部位での呼吸量を生合成の過程から説明しようとする、ダイズとトウモロコシで生合成経路が大幅に異なることを意味するが、そのような報告はこれまで皆無である。生合成を伴わない呼吸を当然考慮にいれなければならない。呼吸を機能的に分ける考え方からすれば、生長呼吸の他に維持呼吸を考慮すればよいわけであるが、発芽時のように生長が急速に進行しているような組織において生長に要する呼吸量の倍近い呼吸を維持に必要とすることは考え

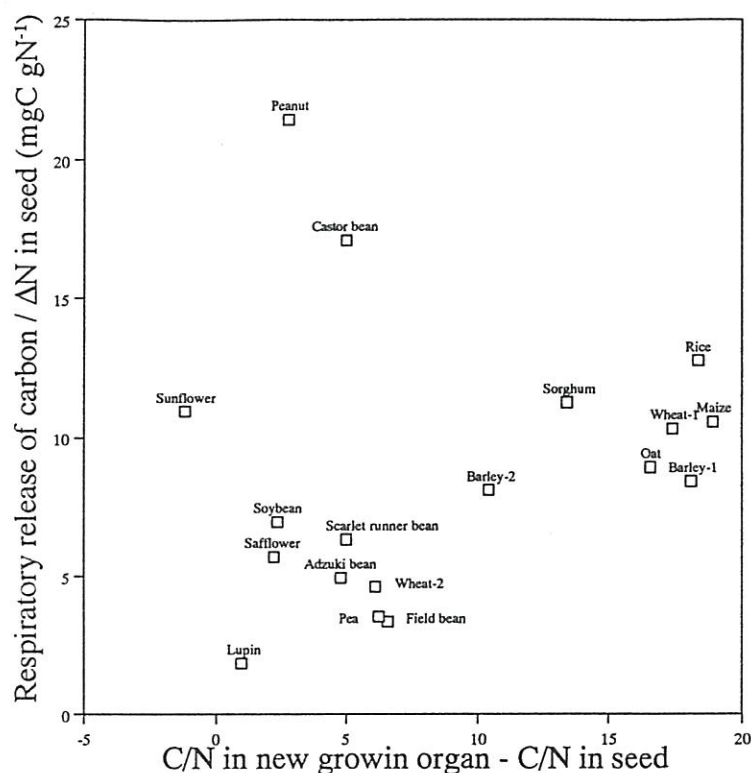


Fig. 4-23 Relationship between change in C/N and respiratory release of carbon.

られない。

発芽に伴い種子中に存在するタンパク質は分解され、遊離のアミノ酸となって転流される。この時タンパク質のアミノ酸組成は大幅に組み換えられ、アスパラギンを主体とする転流形態の遊離アミノ酸となり運ばれる。タンパク質の炭素／窒素比に比べて転流形態の炭素／窒素比は低く、窒素化合物に結合している炭素の一部は少なくとも一時的にはずされる。この際に一部のアミノ酸は活発に呼吸に利用されていることが考えられる。そこで、Fig. 4-23に種子の炭素／窒素比と新規合成部位の炭素／窒素比の差と呼吸により放出された炭素の量（ここでは移行した窒素量に対しての値として評価した）を示した。この結果から、脂肪の多く含まれている幾つかの植物種を除いた場合に炭素／窒素比の差が大きいほど呼吸量が多い関係が認められた。脂肪が多く含まれる種子では炭素／窒素比の差があまり大きくないにも関わらず多量の炭素が放出されていた。これらの種子ではグリコール酸回路を経由する際の代謝過程で脱炭酸が生じているものと考えられ、そのため、脂肪という高エネルギー化合物を多量に含んでいても呼吸量は多くなったものと推定された。

また生長部位においては炭素／窒素比が高まり、この時には炭素と窒素の組み換えに伴った呼吸活性の高まりが進行するのか、それともタンパク質への炭素の取り込みに伴い有効に炭素骨格が利用されるのかについては、現時点では部位別の呼吸による ^{14}C 放出量は明らかではないことから不明である。注入した ^{14}C 化合物の挙動はトウモロコシと比較してダイズではアスパラギン、セリンに関しては種子からの移行割合が小さかったが、それ以外のスクロース、グルタミン、グルタミン酸、アミノ酸混液に関してはほぼ同様に移行した (Figs. 4-16, 4-17)。しかしながら呼吸により失われた ^{14}C の割合はセリン以外のいずれの化合物でもダイズで著しく少なかった。

アミノ酸混液をタンパク質が分解された状態を代表しているとみなしたときに、トウモロコシ、ダイズのいずれにおいてもアスパラギンと比較して呼吸により失われる割合が小さかった (Figs. 4-20, 4-21)。しかしながらセリンの挙動は生長部位に運ばれるのに比べて呼吸に利用される割合は極めて小さく、アミノ酸の種類によっては代謝のされ方が異なることが考えられる。このことは必ずしも分解されないということの意味するのではなく、その炭素骨格の代謝のレベルで生じている可能性もある。

しかしながらアスパラギンの挙動をみると両作物とも活発に茎葉に運ばれるのに対し呼吸による損失は比較的少なかったもののセリンよりも多い。このことはセリンが種子中でアスパラギンになってから運ばれると考えるとつじつまが合わない。一部のアミノ酸はそのまま運ばれることを示唆するが、さらに転流形態の検討などを行わなければ明らかなことはいえない。いずれにしてもトウモロコシでこれらの ^{14}C 化合物の呼吸による使われ方が多いということは呼吸速度の測定結果と一致した。このことはダイズではスクロース、アスパラギンといった主要な転流形態の呼吸による代謝が低いことを示す。

登熟中においても ^{14}C - [U] - スクロースと ^{14}C - [U] - アスパラギンを葉や収穫部位の基部より吸収させて呼吸による放出や他の化合物への分配を調査した結果によると、ダイズではイネに比べてこれらの化合物の収穫部位での代謝活性はあまり高くなく (3-2節)、また、収穫部位の生長効率はデンプン合成を主体とするイネなどとほぼ同じ値を示した (Table 3-4)。一方、ダイズの葉では乾物生産能に比較して呼吸能が高く、 $^{14}\text{CO}_2$ を同化すると暗所および明所下ともイネに比べて多量に $^{14}\text{CO}_2$ として放出され (Table 4-3)、残存したものも有機酸とタンパク質画分への取り込み割合が高かった (Fig. 4-6)。このように、

一度アミノ酸に構成された化合物が転流し、生長部位で再構成される過程で活発な炭素の組み換えが起こるが、呼吸による消費はあまり大きくないために、収穫部位においては炭水化物を合成するか、タンパク質を合成するかにかかわらず生長効率は類似していた。一方、葉においては、ダイズなどのマメ科作物では光合成により獲得された炭素がアミノ酸に多く分配され、この時同時に呼吸による放出が多いものと考えられる。このように、窒素代謝については光合成と密接に関連した過程と一度構成された窒素化合物の再構成過程とを区別して考える必要性があり、発芽時の過程は窒素化合物の再構成という点において収穫期の茎葉から収穫部位への窒素の再構成の機構と類似した。ただし、トウモロコシで生長部位の生長効率が低かったのは、種子中で転流形態への転換が進行していたためと考えられた。

このように発芽時の呼吸による炭素の放出は生合成に伴うもので説明される部分はその一部分であり、窒素の種子から新規生長部位への再転流に伴った分解の過程が重要な意味を持っていることが示された。

4-4. 要約

生長効率の違いは体内の構成成分の組成からは説明することが出来なかったことから、特にイネ科とマメ科の呼吸特性の違いをより詳細に明らかにするために呼吸を基質レベルから解析した。植物の呼吸は基質レベルからは初期光合成産物呼吸と貯蔵物質呼吸に分けることが可能であり²³⁶⁾、それぞれが生長呼吸と維持呼吸に対応している。そこで、本章ではイネ科の代表としてイネを、マメ科の代表としてダイズを供試して、両呼吸の量的評価と、呼吸の機能的役割を評価、比較した。また、発芽時の各種作物の呼吸代謝と炭素／窒素バランスの変化との関連性を調査し、以下の結果を得た。

1. イネと比較してダイズでは一度茎葉でタンパク質、炭水化物を構成した炭素の呼吸により使われる割合が生育の進行に伴って上昇し、貯蔵物質呼吸が生育を通じて高く機能した。
2. ダイズでは初期光合成産物呼吸、貯蔵物質呼吸の両者ともにイネと比較して多く、これには光呼吸系、明所下の暗呼吸、暗所下の暗呼吸のいずれもが関与していると考えられた。
3. 維持的な状態に作物を置いた場合の呼吸基質の代謝は、活発に生育している状態でのそれとほとんど変わらなかったことから、生長呼吸と維持呼吸は本質的に区別できないものであると考えられた。
4. 生長、維持呼吸の概念からは説明できない炭素／窒素バランスの制御のための呼吸が特に発芽時に顕著に観察されることを明らかにした。
5. 作物は発芽時の種子から茎葉、根、栄養生長期の茎葉から新たに合成される茎葉、登熟期の茎葉から収穫部位と生育を通して分解、転流、合成の過程が平行して進行している。窒素と炭素のバランスに着目してこの過程を観察すると、特にマメ科作物において窒素をより濃縮する機構が生育を通じて存在することが明らかとなり、この機構に呼吸代謝が関与していた。

第5章 総合考察

5-1. 作物の構成成分の分解、転流、再合成と乾物生産性

本論文ではまず各種作物の生育に伴う、構成成分組成の変動を詳細に調査した。その結果、収穫部位にデンプンを多く集積するイネ科作物や根菜類と、タンパク質を多く集積するマメ科作物で構成成分の分解、転流、再合成の機構が異なることが解明された。マメ科作物では窒素収穫指数が高く、茎葉から収穫部位への窒素の再転流も多く、特に生育を通して考えた場合に、一度茎葉の構成成分となった窒素の挙動がイネ科とマメ科で異なっていた。窒素は植物体内でタンパク質を構成し、各種酵素となり様々な代謝系の中心となって機能している。単葉の光合成能は葉の単位葉面積当たりの窒素濃度に強く依存し、正の直線関係を示すことが認められているが^{6, 65, 67, 302-308}、実際の圃場条件においては生育時期や葉齢³⁰⁹⁻³¹¹)によって同じ窒素濃度でも光合成速度が大きく異なっていることも知られている。このことは作物の炭素と窒素の調節は内的のみならず、外的な環境要因によっても強く変動するものと推察される。しかしながら、多年度の様々な生育条件で得られたデータを統合して検討した結果、各作物にはそれぞれ特有の炭素-窒素関係が存在していることが示された²⁾。マメ科ではイネ科に比較して単位窒素吸収量当たりの乾物生産効率が低く、窒素当たりの光合成能がマメ科で低いこと、呼吸能がマメ科で高いこと、あるいはその両者の結果を反映しているものと考えられる。また、イネ科においては施肥窒素量に応じてこの関係が変わることが示され、窒素の供給量が多くなると、吸収窒素量当たりの乾物生産効率が低下した。

このような窒素と乾物生産性の関係を解明しようとする研究はこれまでも多数行われており、Ingestad and Ågren³¹²⁾は水耕栽培で樹木の幼植物を供試する実験系を用いて、相対生長速度と植物体全体の養分含有率の関係が直線で示されるとし、

$$dW/dt = P_n \times N \quad \text{--- eq. 5-1)}$$

の関係をみいだした。ここで、 P_n はnutrient productivityと定義され、養分含有率(N)と相対生長速度を直線回帰させた場合の傾きに対応する。この式はOsaki et al.²⁾が圃場で栽培したマメ科において観察した関係と同様である。一方、イネ科作物に関してはこの

関係式は成立しないことが知られている。また、Greenwood et al.³¹³⁾ は圃場で生育させた様々な作物の生育解析を通して以下の式を導いた。

$$\ln (N\%) = a + b \times \ln (W) \quad \text{--- eq. 5-2}$$

この式は $\ln W = c \times \ln (N) + d$ に置き換えることが可能であり、このことは Ingestad and Ågren³¹²⁾ の場合と同様に、吸収した窒素当たりの乾物生産能は直線関係で表されることを意味している。Greenwood et al.³¹³⁾ によると、解析に用いたデータには乾物重の著しく多い場合のデータが除かれていることを記載しており、イネ科作物において観察される生育に伴う指数関数的な関係は解析の対象に入っていない。

このように、現在広く窒素と乾物の関係を表すのに用いられているモデルは圃場で観察される作物、特にイネ科作物や根菜類の挙動を説明するのには不適切であった。イネ科作物とマメ科作物の最も顕著な違いは、吸収した窒素量に対する乾物生産の反応性であり、イネ科作物では指数関数的に近似されるのに対し、マメ科作物で直線的になるのはマメ科作物では窒素当たりの呼吸が多いためと推定される。このことは、マメ科作物では生長効率が栄養生長期から低いことと対応している。マメ科作物でイネ科作物に比べて乾物生産量が小さいことの説明として、しばしばマメ科が子実に多量のタンパク質や脂肪を蓄積するためであると説明されてきた^{80,145)}。つまり、タンパク質や脂肪を合成するには生化学的なエネルギー論からすると多量のエネルギー、すなわち呼吸を要求するからである^{133,134)}。そして、作物の体内を転流する化合物の形態が低分子であり、登熟期においては生合成は子実において行われており、それに要する呼吸も子実で発生すると考えられてきた。しかしながら、本実験から得られた結果からは、植物体の構成成分組成に大きな違いがない栄養生長期においても、マメ科作物の効率が低いことが示された (Fig. 3-11)。また、登熟期において収穫部位の呼吸量は従来考えられていたほど多くはなかった (Table 3-4)。このことはマメ科作物での低い乾物生産性は子実において呼吸量が多いためではなく、茎葉においての呼吸量が乾物生産量に対して多いことが原因である。このことは従来生合成に基づいて理論的な解釈がなされてきた呼吸の概念からは、説明出来ないことを意味している。

乾物生産効率の違いを説明する要因の一つには、光合成能の違いを考慮する必要がある。中村¹³⁴⁾ によるとマメ科の作物では葉面積当たりの窒素含有率に対する光合成能はイ

ネ科に比較してやや低いことが報告されている。圃場レベルでもこのような傾向が認められるかどうかについては疑問点があるが、これは葉の中の窒素の分配に違いがあるためであると解釈されている。これには、いくつかの原因が考えられる。一つはRubiscoのCarboxylation/Oxygenation 活性の比率 (Ksp) あるいは、活性の絶対量がイネとダイズで異なること、もう一つは暗呼吸能が日中も強く働いていることなどである。Rubiscoの活性が作物間で大きく異なることは考えにくく、実際、Kspに関しては広範な植物種においてほぼ同一の値であることが報告されている^{63,315)}。ただし、Kspに関しては *in vitro* の酵素活性から評価された値であり、実際の植物中ではクロロプラスト内の2酸化炭素濃度が異なることも想定される。そのため、実際の植物の葉の中でも Ksp が一定であるかについては明らかではない。Rubisco の量はダイズでむしろ高く (Figs. 2-10, 2-17)、マメ科の光合成能が低いとしてもこれはRubiscoの活性が低いためではなく、暗呼吸能との差し引き、あるいは光呼吸が高いためであると考えられる。CGR/Rubisco はダイズでイネよりも低いことから (Tables 2-15, 2-23)、光合成能よりも、呼吸能の違いが重要であると考えられた。

呼吸に基づく乾物生産効率の解析のために生長効率を用いたが、生長効率で評価する呼吸にはいわゆる生長呼吸と維持呼吸の両者が含まれている。そのため、生合成が主体であると考えられる収穫部位の生長効率を3-1節において調べた結果では、マメ科以外の油脂植物ではその構成成分組成に応じて生長効率が低くなった。すなわち生長効率は生合成により多くのエネルギーを要求する脂肪の含有率の高さに応じて低下した。しかしながら、マメ科作物では油脂の多いピーナッツ、ダイズも含めて、生長効率はイネ科の各種作物と大差がなかった。一方、植物体全体で生長効率を評価すると、マメ科作物でイネよりも低かった (Fig. 3-11)。体内の構成成分組成に大差のない栄養生長期においてもマメ科で低いことは、マメ科作物では茎葉での呼吸能が高く、このことがマメ科作物の生産性を低下させる主因であると判断された。

このように各種作物の乾物生産効率の比較から、特にマメ科の呼吸代謝が他の作物と大きく異なっていることから、以後イネ科とマメ科を中心に考察を進める。

呼吸は大きく暗呼吸と光呼吸に分けられるが、暗呼吸は一般にエネルギー生産に関与する呼吸として評価される。暗呼吸として測定される呼吸には、通常のシトクローム系

や解糖系などの脱炭酸の過程の他に副次呼吸も存在するが、生長効率の評価から生合成に必要な呼吸が植物体の呼吸の6 - 8割程度を占めていると想定される。光呼吸はRubiscoのoxygenase活性に基づいており、炭素経済からのみ考えるとcarboxylase活性により固定した炭素を放出する機構であることから、負の因子として考えられることが多い。窒素代謝と呼吸の関係に関しては、特に光呼吸との直接的な結びつきがKeys et al.²⁹⁵⁾によって指摘されており、4-2節においても明らかなように特にダイズにおいて同化後の高い放出速度の維持はこの系の関与が示唆される(Fig. 4-5)。ダイズではイネと比較して、葉に $^{14}\text{CO}_2$ を同化したときに、同化後約1日間の間に放出される呼吸量が多かった。大崎と田中¹³²⁾によれば、この呼吸は初期光合成産物呼吸に相当している。初期光合成産物は体構成産物呼吸、貯蔵物質生産呼吸、同化後1時間の呼吸から構成されていると考えられている。これ以外の呼吸はすべて貯蔵物質呼吸と定義し、呼吸を基質の面から大きく2つに分けた。この初期光合成産物呼吸の中で、同化後1時間の呼吸に関しては、同化直後から急速に放出され、その代謝速度が特に速いことから、光呼吸系との関連性が想定される。4-2節で観察された、同化後1時間から1時間半の間の著しい呼吸による ^{14}C の放出がこれに相当しているとみなされる(Fig. 4-5)。

光呼吸系はクロロプラスト、パーオキシソーム、ミトコンドリアにまたがり、炭素に関してはサイクルを形成しているが、窒素について考えてみると、グリオキシル酸は2分子のグルタミン酸からアンモニア分子を受け取り2分子のグリシンを生じ、この2分子のグリシンがミトコンドリアで2酸化炭素とアンモニア分子、パーオキシゾームでも同様に2分子の2酸化炭素とアンモニア分子を発生する。こうして生じたアンモニア分子はアミノ酸合成に利用されることが考えられる。1分子の新規アミノ酸を生じるには1分子のグルタミン酸が要求され、1分子の2酸化炭素の発生がこの過程で生じる。グルタミン酸は α -ケトグルタル酸に転換されることからTCA回路とも密接につながり合っている。このように、ダイズで光呼吸系の関与が強いと考えられることは、窒素の転流が葉の中における炭素代謝と窒素代謝のバランスを変えている可能性が考えられる。

また、植物にはこのような呼吸系以外に生産性に直接関与していないと考えられている副次呼吸系が存在しており、この呼吸では電子伝達系でユビキノンを電子が流れず、その結果産生されるATP量が1/3になるとされている。副次呼吸系が特に働いてい

ると報告されているのは、発芽時であり、全呼吸の70%近くにもなっていることがトウモロコシで報告されている²⁹⁾。本論文では直接この呼吸系による基質の損失量は測定していないが、発芽時においては、生合成の系がその代謝系の大半を占めていると考えられるにも関わらず、生合成の系から予想される呼吸量よりもはるかに多い乾物、すなわち炭素の損失が認められた (Fig. 4-22)。このことは、生化学的な経路から考えると合成に必要なグルコース量は子実に貯蔵されている基質よりも少ないことを示しており、そのため、不必要な基質を消費することにより、ATPの過剰を防ぎ、代謝系にフィードバック障害がかかるのを防ぐ機能があると考えられる。

発芽の過程は新規合成部位に窒素を送り込むために種子のタンパク質を分解して転流する (Figs. 2-23, 2-24)。この際、窒素の転流形態が炭素／窒素比の低いアミド（主にアスパラギン）であり、さらに新規合成部位の窒素含有率が種子より高い場合には、多量の炭素分子が種子中で余剰になると判断される。発芽の際の呼吸のかかなりの割合がこの経路における脱炭酸によるものとみなされる。この基質としてタンパク質、デンプンなどが分解されて利用されていると考えられるが、種子に¹⁴C化合物を注入し、その利用を調べた実験からはスクロースに比較してアミノ酸混液を注入した場合に呼吸による利用量は変わらず、アミノ酸の種類によってはスクロースよりも多く呼吸されたことから (Fig. 4-21)、タンパク質が呼吸基質として重要な役割を持っていると考えられた。栄養生長期の葉においてもアミノ酸混液を構成するアミノ酸の炭素は活発に呼吸に利用されたことから (Table 4-6)、この植物体内の構成成分の再構成に伴う呼吸は、発芽時にのみ機能しているのではなく、作物の生育を通じて働いており、この呼吸がマメ科作物の生産性を低下させている要因の一つと考えられた。

第2章から、炭素化合物、窒素化合物の再構成過程は作物体内の栄養状態が変化しても大きく変化せず、生育を通して大きく変動することのない、極めて安定した機構であることが解明された。これに基づくとマメ科作物では再構成の程度がイネ科作物に比較して高いことが示された。またマメ科では特に一度タンパク質にまで組み込まれた炭素が生育を通じて徐々に放出されることが認められたことから (Fig. 4-4)、マメ科作物では茎葉からの多量の呼吸による炭素の放出機構に、体内の構成成分の再構成に伴う炭素／窒素比の調節機構が関与している程度が大きいと考えられた。

タンパク質を構成するアミノ酸組成は種、処理、部位に関わらず、遊離アミノ酸の違いに比較してきわめて安定した値であった (Figs. 2-4, 2-9, 2-16, 2-24)。タンパク質が分解、再転流する際にタンパク質の構成アミノ酸の炭素-窒素の組み換えによって炭素骨格が窒素分子から遊離されることが推定され、特にマメ科作物でその程度が大きいと考えられる。タンパク質の炭素/窒素比は個々のタンパク質レベルでは様々なアミノ酸組成に基づき変化することもありうるが、作物のある器官全体で比較したときにはそのアミノ酸組成がほぼ同じであり、器官間、作物間、生育時期などによってもほとんど変化せず、その値はほぼ3.4である (Figs. 2-4, 2-9, 2-16, 2-24 から算出)。一方、転流形態に関して考えてみると標準的な生育をしているイネでは約3.2であるのに対し、ダイズではアスパラギンがその主体を占めるために約1.9と極めて低くなる (Figs. 2-3, 2-8, 2-15, 2-23 から算出)。もちろんイネにおいても転流形態の遊離アミノ酸組成とタンパク態のアミノ酸組成は大幅に異なっているが、グルタミン、グルタミン酸といったアスパラギンに比較して炭素/窒素比の高いアミノ酸が多く、その他のアミノ酸もダイズに比べると多く含まれているために炭素/窒素比は高い。このようにマメ科作物では生育を通して窒素を濃縮して、転流、貯蔵する機構が存在し、この機構と再構成過程における呼吸の多さが結び付いていることが考えられる。

葉に ^{14}C でユニフォームラベルしたアミノ酸混合物を取り込ませた場合に、特に呼吸によって多くの ^{14}C が放出されたダイズでは有機酸画分にも多くの ^{14}C が分配されていたことから、TCA回路を経由しているとみなされ、エネルギー代謝との密接な結びつきが考えられる。 ^{14}C でユニフォームラベルされた混合アミノ酸をイネとダイズの葉に同化した時の24時間の呼吸による放出量はイネでは10%なのに対し、ダイズでは約40%と高かったことも上記の考え方を裏付けする (Table 4-6)。

以上のように、ダイズでは呼吸がイネより高かった。そしてこの呼吸の基質としては初期光合成産物呼吸および貯蔵物質呼吸のいずれもが多かった。初期光合成産物呼吸の基質としては遊離の糖類、あるいはより代謝されやすいと考えられる有機酸への分配がダイズで多かったことから考えると (Fig. 4-6)、同化された炭素のかなりの量が構造的な部分に分配されないで遊離の状態で存在していたものと考えられる。そのため、ダイズでは同化後長時間にわたって $^{14}\text{CO}_2$ の放出が続いていたと考えられる (Fig. 4-5)。このよ

うな初期光合成産物の分配、呼吸による利用のされかたは連続的で、積算的であるので、ダイズでは明所および暗所下での呼吸が高いことが予想された。一方、植物体全体に最大期および登熟中期に $^{14}\text{CO}_2$ を同化した場合に、ダイズではイネに比較して貯蔵物質（遊離ではない炭水化物およびタンパク質）を由来とする基質を用いた呼吸が多く、ダイズでは茎葉で一度構成された化合物が再転流する際に呼吸によって消費されていることが認められた (Fig. 4-4)。このことから、ダイズでは初期光合成産物および貯蔵物質を利用した呼吸のいずれも多いことが明らかである。

このような構成成分を基質としていると考えられる呼吸は貯蔵物質呼吸としてとらえられており、Osaki and Tanaka²³⁶⁾ および Farrar⁹²⁾ の考え方に従えば植物の維持呼吸にほぼ対応していると考えられる。植物の維持呼吸はタンパク質のターンオーバー、イオンの吸収、転流などがその主体であると考えられているが、炭素／窒素比の調節のための炭素の放出はエネルギー代謝とも結びついていると考えられるものの、実際の生長では、維持呼吸への要求量を上回っていると推定された。このことは、これまでの呼吸を機能的に生長呼吸と維持呼吸に分類するという手法に問題があると同時に、植物の呼吸が生長と維持に分類することが妥当か否かという点を解明する必要が生じた。

5-2 呼吸の機能的役割の再評価

5-1節に示したように、作物の呼吸には体内の炭素－窒素バランスの制御のために行われる脱炭酸の過程も含まれていると考えられた。このことはマメ科の各種作物のように、生育の中で体内の構成成分の分解、再転流が多い作物で、呼吸効率が低いということを説明するものであった。このことは同時に、作物の呼吸を機能的に生長呼吸と維持呼吸に分類してきた従来の概念に、問題があることを示している。次に生長呼吸と維持呼吸に関しての概念に対して再検討を試みる。植物の呼吸を機能的に分ける考え方は、Pirts¹²⁴⁾ が微生物において提出した概念を導入した Thornley¹²⁶⁾ による。これによれば呼吸は生長呼吸と維持呼吸に分けられる。また、McCree¹²⁵⁾ は様々なデータから呼吸が次式のように表されることを導いた。

$$R=kP+cW \text{ --- eq. 5-10)}$$

(ここで、R は呼吸速度、P は光合成速度、W は乾物重、k と c は係数)

Thornley¹²⁶⁾ は McCree の経験的に得られた式の k と c がそれぞれ生長呼吸係数と維持呼吸係数に対応していることを指摘した。つまり、生長速度を規定する呼吸とある時点の植物体重によって規定される呼吸の 2 つがあることから、植物においても生長呼吸と維持呼吸が明確に区別されるとした。生長呼吸は主に植物体を構成する各種の生体化学成分 (タンパク質、炭水化物、脂肪) の合成に関与しており、維持呼吸はタンパク質のターンオーバー、イオン吸収、膜機能の維持などに関与していると考えられている¹³⁴⁾。特にタンパク質のターンオーバー (修復と更新の両者を含む) が維持呼吸の全体に占める割合が 50-60% であり、高いという理論的な推定が Penning de Vries¹³⁴⁾ によってなされている。ただし、最近の報告ではタンパク質のターンオーバーが維持呼吸全体に占める割合が 20-35% 程度とかならずしも高くないことも報告されている³¹⁷⁻³¹⁸⁾。個々の植物種において窒素含有率 (窒素のおよそ 7 割がタンパク質であるとみなされている³¹⁹⁾) と維持呼吸速度の間には直線的な関係が存在していることが報告されており^{65, 150, 151, 320-322)}、Ryan^{323, 324)} によれば広範囲な植物種において窒素含有率と維持呼吸速度は直線的な相関関係にあることを報告している。しかしながらその一方で、必ずしもそのような関係をとらないことも報告されている⁷⁰⁾。

そこで、まずこれまで考えられている維持呼吸の概念をその測定法から吟味してみると、生長呼吸と維持呼吸は直接分けて測定することは不可能であることから、全呼吸から維持呼吸を差し引く形での評価が多くなされている。維持呼吸速度の決定には主に植物体の生長が停止して、維持の機能のみが強く働いている状態の呼吸速度を測定するという考え方が取られており、その方法には starvation method^{128, 129)}、regression method^{109, 125)}、mature tissue method¹²¹⁾、light intensity method^{130, 131)}、¹⁴C method⁹⁰⁾ があげられる。Regression method は乾物増加速度と呼吸速度の関係は乾物増加速度がほぼ一定の時には直線関係で示されることが多くの報告から示されている。この時、乾物増加速度が 0 になる点が維持呼吸速度に相当するとの考えである。しかしながら、大崎と田中³²⁵⁾ の報告によると、生育期間を幾つかに分ける、あるいは生育期間の取り方によりこの関係を取ると傾きが大きく変動し、この関係は容易に変動することから、regression method による呼吸の機能的な分類は適当ではないと考えられている。Starvation method に関しては

4-2節で示したように、2日間の暗処理によっても葉に取り込まれたスクロースの各種構成成分への分配割合に大きな変動が無いことから、暗処理による呼吸速度の低下は生長呼吸のみが低下するとの考え方はあてはまらないことが解明された。Mature tissue methodに関しては4-2節でイネの下位葉に吸収させたスクロースの分配に上位葉との大きな違いが認められなかったことから、基本的な代謝的な側面には大きな変化が生じていなかったと考えられる。 ^{14}C methodは一度取り込まれた ^{14}C の呼吸による放出速度の変化のパターンからコンパートメント解析を行うが、これによって呼吸基質を2種類に分けることが可能なことが Ryle⁹⁰⁾ および大崎と田中³²⁵⁾ によって報告されている。Ryle⁹⁰⁾ は2種類の呼吸基質が生長呼吸と維持呼吸に対応していることを指摘している。生長呼吸と維持呼吸が異なる基質に基づく呼吸であるとの考え方に基づけば、先に示した各種の生長呼吸と維持呼吸の算出法に関しても、これらの方法は基質レベルでの違いに基づいている。例えば starvation method、あるいは light intensity method は生長呼吸に使われる基質（初期光合成産物、可溶性の糖）の量と維持呼吸に使われる基質（貯蔵物質、構成単位の炭水化物）の量の変化に対応しており、regression method も異なる生長速度に基づくことから光合成能ひいては初期光合成産物の量に対応している。このように、 ^{14}C method により基質レベルの変化から生長呼吸と維持呼吸を評価することが可能である。この概念に基づき大崎と田中³²⁵⁾ は従来の生長呼吸と維持呼吸の値との比較を行い、貯蔵物質の一部が生長呼吸にも使われていることを解明し、生長呼吸と維持呼吸が基質レベルで明確に区別される物ではないことを示した。このことは生長呼吸と維持呼吸を基質レベルの変化から推定することが不適切であることを示している。

維持に関する要因の中で、エネルギー的にその主要な部分を占めている項目はタンパク質の維持とイオンの吸収と考えられている¹³¹⁾。暗所に放置することにより、生長の停止に伴い、イオン吸収もほぼ停止した状態となっていると考えられることから、暗所下での呼吸は主にタンパク質の維持に関わる呼吸であると考えられる。生長が止まり、維持のみが進行するとき、生合成系であるデンプンや構成成分の合成は止まり、タンパク質の維持に必要なエネルギーを解糖系を經由して発生し、有機酸プールからの遊離アミノ酸を利用して、タンパク質の更新を行う。そのため、暗条件が十分に長く続いた場合には作物体内における物質代謝の挙動はほぼ維持に関する機構のみが進行しており、生

合成系はほぼ停止していることが予想される。つまり、タンパク質や有機酸に対する分配は量的に少ないとしても、デンプンなどの構成成分に対する分配はほとんどないと考えられる。このような状態の葉に対して、スクロースあるいはアミノ酸を取り込ませた時に、呼吸、タンパク質への分配のみならず、糖、有機酸、その他の炭水化物画分にも積極的に分配された。すなわちみかけ上生長呼吸が停止しているような組織においても、生長呼吸が盛んである組織においても、呼吸を含め各構成成分への分配率に大きな違いを見いだすことが出来ないことから、みかけ上生長が停止している組織においても、基本的な生合成に関する代謝系は生長中の植物体と同様に機能していた。このことはそもそも生長と維持というものを呼吸の中で分けて考えることが出来ないということを示している。このような状態における呼吸速度は実際の所、生育には反映しておらず、組織の中での分解と合成の結果を示していると考えられる。

温度の影響について考察すると、維持呼吸は生理的に正常な状態を維持できる温度の範囲においては Q_{10} がほぼ2であり^{110, 326-328)}、温度の上昇に伴って指数関数的に上昇する。一方、生長呼吸に関しても維持呼吸と同様に温度の影響を受けるが、生合成の効率あるいは植物体の組成が温度によって影響を受けない限り、生長係数は一定であるとJohnson and Thornley³²⁹⁾によって指摘されている。この考えに基づき温度に対する生長効率の変化を考えると、維持呼吸の占める割合が温度の上昇に伴って高まることになり生長効率は低下する。しかしながら、第3章の結果から明らかなように、温度の大きく異なった年次間においても、生長と呼吸量は安定した関係を保っており、生長効率はほぼ一定であった (Fig. 3-11)。このことから、温度に関して植物体の重さに対応した維持呼吸が生長とバランスをくずして増大する現象は認められなかった。

また、維持の過程にはタンパク質の関与が非常に大きいことが指摘されており^{131, 134)}、タンパク質濃度すなわち窒素含有率が異なる場合にその生長効率の変動することが予想される。イネとダイズを供試して窒素レベルを変えた実験では、これに基づく組織中の窒素含有率の変動に対応するような生長効率の違いは認められず、タンパク質の量の変化に応じて生長に際して放出される呼吸量は生長量当たりでは変化しないことが示された (Fig. 3-11)。植物体の全呼吸と窒素の間に相関が認められなかったことはWilson¹²¹⁾ および Woledge and Pearse³³⁰⁾ によっても報告されている。

発芽の過程は、生合成の場であることから、維持に関する呼吸はないと考えられるにも関わらず生長呼吸から予想されるよりもはるかに多くの呼吸が放出されていた。この現象は維持呼吸の概念からは説明されず分解の機構と、新規生長部位に必要な窒素に対して過剰な炭素を放出する機構が重要な役割を果たしていた。

以上の結果から、従来呼吸を生長呼吸と維持呼吸に機能的に分けてきた考え方は方法論としても現象論としても実際の植物の生産の場面においてはあてはまらないことが明らかとなった。維持的な過程が存在するとしても、生長過程との区別化はなされていないと考えられた。5-1節に述べたように植物の呼吸にはタンパク質の分解と転流形態への転換に伴う、炭素と窒素の組み換えに基づく脱炭酸の過程が重要な役割を持つ場面がある。この過程に基づく呼吸は従来の考え方に従えば貯蔵物質呼吸あるいは維持呼吸の範疇に分類されるが、5-2節に述べたように植物において呼吸は生長と維持に機能的に分類はされないことから、生長過程、維持過程などの生理的状态に影響を受けない構成的な機構であると考えられた。マメ科のように転流形態の炭素／窒素比が低く、窒素の再転流量が多い植物では呼吸量を増大させ、そのために生長効率が低かったと考えられた。また、マメ科では初期光合成産物の有機酸、遊離アミノ酸への分配が多く、呼吸により活発に代謝されていたことから、窒素代謝系と呼吸代謝系の強い結び付きが示唆された。すなわち、マメ科では炭素よりも窒素の蓄積、利用がイネ科に比較して活発であった。

以上の結論から、植物の生育に伴う呼吸にはタンパク質の分解に伴った脱炭酸の寄与を無視して考えられないことが明らかである。従来このような生長呼吸ではない呼吸はその組織の維持に関わるものであり、これらの呼吸の生長における積極的な意味付けはあまりなされていない。窒素の濃度調節のための炭素の放出という考え方は従来の維持呼吸の概念とは相いれないところがあると考えられる。しかしながら、呼吸には窒素のより有効な蓄積、転流のために余剰となる炭素骨格を排出するという側面があることが解明された。

マメ科の生産性を高めるためには、一つには作物の窒素利用効率、生長効率を変化させずに窒素の吸収能を生育を通して高く維持するという対策があるが、この方法では多量の施肥を必要とし、効率の面では必ずしも有効ではない。別の方策としてはタンパク

質の分解過程での脱炭酸を小さくするために、転流形態のアミノ酸・アミド全体の炭素／窒素比を高める方法がある。これは転流先での窒素の要求量に対して炭素の要求量を高めることと同調する必要がある。イネ科作物では特に収穫部位に炭水化物を大量に蓄積するように進化しているとみなされ、その特性が高い乾物生産性につながっていると判断された。

第6章 要約

マメ科作物の乾物生産能はイネ科作物、根菜類に比較して低い。従来、マメ科作物にみられる乾物生産能の低さは第1に根粒の着生によること、第2に収穫部位にタンパク質や脂肪を多量に蓄積するためであると考えられてきた。本研究は、作物体内の構成成分が再構成される課程が種によって異なっていることに着目し、作物の生産性ならびに炭素化合物と窒素化合物の再構成過程における呼吸の役割を明らかにすることを目的として実施した。

1. 炭素化合物と窒素化合物の再構成過程の作物間差

1) 各種作物における発芽時の種子から新規合成部位への炭素化合物（デンプン、糖、細胞壁構成成分、脂肪）と窒素化合物（タンパク質、遊離アミノ酸）の再構成過程では、いずれの作物でも活発な分解と合成が認められた。炭素化合物の転流形態は主にスクロースであり、窒素化合物は遊離アミノ酸であるため、各種構成成分は種子で一度分解し、スクロースあるいは遊離アミノ酸として転流し、新規合成部位で再度各種構成成分を構成した。

2) 各種作物における登熟期の茎葉から収穫部位への炭素化合物と窒素化合物の再構成過程においても、発芽時と同様に活発な分解と合成が認められた。収穫期における窒素化合物の再構成の割合は、イネ科作物に比較してマメ科作物で高かった。

3) 発芽後の再構成過程に対する圃場レベルの窒素、リン、カリウム欠乏条件や窒素の過剰条件の影響は小さかった。このことから、再構成過程は作物種に特有のものであって極めて安定した機構であり、作物の生産性を制御する重要な要因であると推定された。

4) タンパク態のアミノ酸組成は作物種、生育ステージ、栄養状態に関らずほぼ一定であった。このことは個々のタンパク質レベルでは様々なアミノ酸組成を持つタンパク質が存在しても、全体的な組成のバランスを一定にする機構が個体一組織の中に存在することを示唆している。

5) 転流形態のアミノ酸組成は種によって異なるが、炭素／窒素比の小さいアミド（アスパラギン、グルタミン）あるいはそれに対応したアミノ酸（アスパラギン酸、グルタミン酸）が主体であり、タンパク態のアミノ酸組成とは大幅に異なった。したがって、タンパク質が分解し、転流する際にタンパク質を構成する各アミノ酸はそのまま転流せず、主にアスパラギン、グルタミン、アスパラギン酸、グルタミン酸に代謝されて転流される。さらに転流先において再度様々なアミノ酸に生合成された後にタンパク質に再合成される。この過程において大幅な炭素と窒素の組み換えが進行していると考えられた。特にマメ科作物では転流形態のアミノ酸、アミドの炭素／窒素比が低いため、タンパク質の構成アミノ酸がこれらの化合物に転換する際に脱炭酸に伴う呼吸がその特性に結び付いていることが予想された。そこで、各種作物の呼吸と生産性の関係について調査した。

2. 乾物生産と炭素・窒素化合物の再構成における呼吸の役割

1) 維持呼吸の関与が小さいと考えられる収穫部位の呼吸はほぼ生長呼吸に対応していると考え、その粗成分組成からそれぞれの生化学的な生合成経路に基づくエネルギー要求量を算出した。このように求めた呼吸量と実測呼吸量を対応させた結果、特にマメ科の各作物において実測呼吸量が少なかった。このようなことから特にマメ科の呼吸特性を解明するためにイネ科と比較しつつさらに調査を行った。

2) 栄養生長期、収穫期のいずれにおいても、植物体全体の生長効率（乾物生産量 / （乾物生産量 + 呼吸量））はダイズでイネより低かった。特に栄養生長期において、培地の窒素供給量を変化させることによってイネとダイズの体内の構成成分をほぼ同一にしても、生長効率はダイズでイネより低かった。ダイズの呼吸量は構成成分組成から算出した生化学的な生合成経路に基づく呼吸量より多いことから生長呼吸では説明できず、また体内のタンパク質含有率の変動による影響をほとんど受けなかったことから、維持呼吸によっても説明されなかった。

3) 呼吸基質を初期光合成産物と貯蔵物質に分けて、両者の使われ方をイネとダイズで評価したところ、生育を通じてダイズで初期光合成産物呼吸、貯蔵物質呼吸のいずれも

が多かった。 $^{14}\text{CO}_2$ を同化させ、その後の放出パターンと体内の構成成分への ^{14}C の組み込みを調査した結果、ダイズでは特にタンパク質画分が貯蔵物質呼吸に強く関与した。また、同化直後の ^{14}C の呼吸による放出パターンを調べた結果、光呼吸と同時に明所下の暗呼吸能がダイズで高かった。この時、窒素代謝系への同化炭素の分配がイネと比較してダイズで高かった。

4) 長期間暗所に置いた植物体の葉ならびに生長が停止している自然光下で生育した植物体の下位葉に ^{14}C 化合物を取り込ませ、その挙動を調査したところ、生育が旺盛な組織における代謝とほぼ同様であった。

5) 以上の結果から、生長呼吸と維持呼吸はあくまでも概念上のものであり、実際の植物の呼吸では本質的に生長呼吸と維持呼吸を区分けすることが困難であると理解された。さらに実際の植物体においては生長呼吸、維持呼吸の定義からは説明のされない呼吸が存在することが考えられた。

6) 発芽時の呼吸は、新規合成部位の生合成に基づく生長呼吸と比較して著しく多く、この傾向は特に種子と新規合成部位の炭素／窒素比が大幅に異なるイネ科作物でマメ科作物に比較してより顕著に観察された。発芽の際の呼吸のかなりの割合がこの経路における脱炭酸によるものとみなされ、基質としてタンパク質、デンプンなどが分解されて利用されていると考えられた。種子に ^{14}C 化合物を注入し、その利用を調べた結果ではスクロースに比較してアミノ酸混液を注入した場合に呼吸による利用率は変わらず、アミノ酸の種類によってはスクロースより多く呼吸されたことから、タンパク質が呼吸基質として重要な役割を持っていると考えられた。タンパク質が分解、再転流する際にタンパク質の構成アミノ酸の炭素－窒素の組み換えによって炭素骨格が窒素化合物から遊離されることが推定される。

7) 栄養生長期のイネとダイズの葉に ^{14}C でユニフォームラベルしたアミノ酸混合物を取り込ませた場合に、特に呼吸によって多くの $^{14}\text{CO}_2$ が放出されたダイズでは有機酸画分にも多くの ^{14}C が分配されていたことから、 $^{14}\text{CO}_2$ の放出はTCA回路を経由しているとみなされ、エネルギー代謝との密接な結びつきが考えられた。 ^{14}C でユニフォームラベルされたアミノ酸混合物をイネとダイズの葉に同化した時の24時間の呼吸による放出率はイネで10%なのに対し、ダイズでは約40%と高かったことから、栄養生長期の葉においても

植物体内の構成成分の再構成に伴う呼吸は活発に働いており、この呼吸がマメ科作物の生産性を低くする主要因であると考えられた。このようにマメ科作物では茎葉からの多量の呼吸による炭素の放出機構に、体内の構成成分の再構成に伴う炭素／窒素比の調節機構が関与している程度が大きく、生育を通して窒素を濃縮して、転流、貯蔵する機構と結び付いていた。

以上の結果から、同じ乾物量を生産するのに必要とされる呼吸量は特にマメ科の作物で多い。これまで、この現象は生合成に伴う生長呼吸および高タンパク質の組成を維持するための維持呼吸が多いためと考えられてきたが、本研究から作物体内の炭素化合物と窒素化合物の再構成過程に伴う炭素の放出によるところが大きいことが明らかになった。この再構成過程に伴う炭素の放出はいずれの作物種にも存在したが、マメ科で強く働いており、このことがマメ科の乾物生産性を低下させる主因であると結論される。

謝辞

本研究を遂行し、取りまとめるのに際し、終始ご懇切に、多大なご指導を賜り、また本論文をご校閲していただいた北海道大学大学院生物生産資源学専攻作物生産生物学講座但野教授には心から感謝いたします。本論文をご校閲いただいた北海道大学農学部生物機能化学科生物化学講座本間守教授、北海道大学大学院生物生産資源学専攻作物生産生物学講座中世古公男教授には厚くお礼申し上げます。また、北海道大学大学院生物生産資源学専攻園芸緑地学講座大崎満助教授には本研究を直接ご指導していただき、数々の貴重な示唆を受けました。また、往々にして脱線しそうになる研究の方向性を度々修正していただき心から感謝しております。

実験を遂行する上で、特に圃場実験全般を管理していただいた浦山勝技官には公私ともどもお世話になり、感謝の言葉ありません。3-2節の実験は小松一彦さんとの共同研究により行われたものであり、この場を借りて感謝いたします。研究室の学生、大学院生の方々、事務官の方々には公私を含めて多岐にわたり、ご迷惑をかけ、色々と相談にのっていただきました。一人一人の皆さんのお名前を心に思い浮かべて感謝の気持ちを述べさせていただきます。

東京農工大学小池孝良助教授、現在ICRISATで働いている中村卓司さんには、研究面で様々な相談にのっていただき心から感謝しております。

また、研究生生活をかげながらに支えて、応援してくださった「つくし」、「一富士」の皆様への感謝の言葉は足りません。さらに研究環境の改善に多大なる貢献をしていただいた松本義昭氏の援助には心から感謝しております。

長年の研究生生活を支援してくださいました父信濃俊郎、母信濃通代、そして兄弟、親戚の方々に心から感謝いたします。最後になりましたが、実験、論文取りまとめ等の研究面全てにおきまして、深遠なる理解と、有意義な助言を持ちまして家庭との両立を成立してくれた妻 Mitsue Mori Shinano に限りない感謝をささげます。そして、息子 Leo、娘 Emily は研究を遂行する上で心のはげみになりました。本当にありがとう。

引用文献

- 1) Gifford, R.M., Thorne, J.H., Hitz, W.D., and Giaquinta, R.T. 1984: Crop Productivity and Photoassimilate partitioning. *Science*, **225**, 801-808
- 2) Osaki M., Shinano, T., and Tadano, T. 1992: Carbon-Nitrogen Interaction in Field Crop Production. *Soil Sci Plant Nutr.*, **38**, 553-564
- 3) Yoshida, S. and Coronel, V. 1976: Nitrogen nutrition, leaf resistance, and leaf photosynthetic rate of the rice plant. *Soil Sci. Plant Nutr.*, **22**, 207-214, 1976
- 4) 村田吉男 1961: 水稻の光合成とその栽培学的意義に関する研究, 農業技術研究所報告 D 第9号, 1-169
- 5) 内田直次、伊藤亮一、村田吉男 1980: 作物の葉における光合成機能の発達と衰退に関する研究, 日作紀, **49**, 127-134
- 6) Field, C. and Mooney, H.A. 1986: The photosynthesis-nitrogen relationship in wild plants. In: Givnish T.J. (ed) On the economy of form and function. Cambridge University Press, Cambridge, pp 25-55
- 7) 長田明夫 1966: 水稻品種の光合成能力と乾物生産との関係, 農業技術研究所報告 D 第14号 117-188
- 8) Takano, Y. and Tsunoda, S 1971: Curvilinear regression of the leaf photosynthetic rate on leaf nitrogen content among strains of *Oryza* species. *Japan J. Breed*, **21**, 69-76
- 9) Uchida, N., Wada, Y., and Murata, Y. 1982: Studies on the changes in the photosynthetic activity of a crop leaf during its development and senescence. II. Effect of nitrogen deficiency on the changes in the senescing leaf of rice. *Jpn. J. Crop Sci.*, **51**, 577-583
- 10) Evans, J.R. 1983: Nitrogen and photosynthesis in the flag leaf of wheat (*Triticum aestivum* L.), *Plant Physiol.*, **72**, 297-302
- 11) Osman, A.M. and Mithorpe, F.L. 1971: Photosynthesis of wheat leaves in relation to age, illuminance and nutrient supply. II. Results. *Photosynthetica*, **5**, 61-70
- 12) Makino, A. and Osmond, C.B. 1991: Effects of nitrogen nutrition on nitrogen partitioning between chloroplasts and mitochondria in pea and wheat. *Plant Physiol.*, **96**, 355-362

- 13) Lugg, D.G. and Sinclair, T.R. 1981: Seasonal changes in photosynthesis of field-grown soybean leaflets. 2. Relation to nitrogen content. *Photosynthetica*, **15**, 138-144
- 14) Boote, K.J., Gallaher, R.N., Robertson, W.K., Hinson, K., and Hammond, L.C. 1978: Effect of foliar fertilization on photosynthesis. Leaf nutrition, and yield of soybean. *Agron. J.*, **70**, 787-791
- 15) 小島睦男、福井重郎、渡辺巖 1965: 大豆の子実生産に関する研究 第2報 肥料養分および葉令が光合成におよぼす影響ならびに定温・定照度下における光合成の日変化について, 日作紀, **33**, 437-441
- 16) Sesay, A. and Shibles, R. 1980: Mineral depletion and leaf senescence in soya bean as influenced by foliar nutrient application during seed filling. *Ann. Bot.*, **45**, 7-55
- 17) Wittenbach, V.A., Ackerson, R.C., Giaquinta, R.T., and Hebert, R.R. 1980: Changes in photosynthesis, ribulose biphosphate carboxylase, proteolytic activity, and ultrastructure of soybean leaves during senescence. *Crop Sci.*, **20**, 225-231
- 18) Seemann, J.R., Sharkey, T.D., Wang, J., and Osmond, C.B. 1987: Environmental effects on photosynthesis, nitrogen-use efficiency, and metabolite pools in leaves of sun and shade plants. *Plant Physiol.*, **84**, 796-802
- 19) Nevins, D.J. and Loomis, R.S. 1970: Nitrogen nutrition and photosynthesis in sugar beet (*Beta vulgaris* L.). *Crop Sci.*, **10**, 21-25
- 20) Wong, S.C. 1979: Elevated atmospheric partial pressure of CO₂ and plant growth. I. Interactions of nitrogen nutrition and photosynthetic capacity in C₃ and C₄ plants. *Oecologia*, **44**, 68-74
- 21) Medina, E. 1971: Effect of nitrogen supply and light intensity during growth on the photosynthetic capacity. *Carnegie Inst. Wash. Yearbook*, **70**, 551-559
- 22) Makino, A., Mae, T., and Ohira, K. 1983: Photosynthesis and ribulose 1,5-bisphosphate carboxylase in rice leaves. Changes in photosynthesis and enzymes involved in carbon assimilation from leaf development through senescence. *Plant Physiol.*, **73**, 1002-1007
- 23) Sage, R.F., Percy, R.W., and Seemann, J.R. 1987: The nitrogen use efficiency of C₃ and C₄ plants. III. Leaf nitrogen effects on the activity of carboxylating enzymes in *Chenopodium album* and *Amaranthus retroflexus*. *Plant Physiol.*, **85**, 355-359

- 24) 折谷隆志、円佛利康、葭田隆治, 1979: 作物の窒素代謝に関する研究 第16報 水稻各品種における光合成, 葉面生長とN代謝との関係, 日作紀, 48, 10-16
- 25) Smillie, R.M. 1962: Photosynthetic & respiratory activities of growing pea leaves. *Plant Physiol.*, 37, 716-721
- 26) Firman, D.M. and Allen, E.J. 1988: Field measurements of the photosynthetic rate of potatoes grown with different amounts of nitrogen fertilizer. *J. Agric. Sci.*, 111, 85-90
- 27) Koppers, M., Koch, G., and Mooney, H.A. 1988: Compensating effects to growth of changes in dry matter allocation in response to variation in photosynthetic characteristics induced by photoperiod, light and nitrogen. *Aust. J. Plant Physiol.*, 15, 287-298
- 28) Hall, N.P., Keys, A.J., and Merrett, M.J. 1978: Ribulose-1,5-diphosphate carboxylase protein during flag leaf senescence. *J. Exp. Bot.*, 29, 31-37
- 29) Bolton, J.K. and Brown, R.H. 1980: Photosynthesis of grass species differing in carbon dioxide fixation pathways V. Response of *Panicum maximum*, *Panicum Milioides*, and tall fescue to nitrogen nutrition. *Plant Physiol.*, 66, 97-100
- 30) Camp, P.J., Huber, S.C., Burke, J.J., and Moreland, D.E. 1982: Biochemical changes that occur during senescence of wheat leaves. I. Basis for the reduction of photosynthesis. *Plant Physiol.*, 70, 1641-1646
- 31) Wittenbach, V.A. 1979: Ribulose biphosphate carboxylase and proteolytic activity in wheat leaves from anthesis through senescence. *Plant Physiol.*, 64, 884-887
- 32) Osaki, M., Morikawa, K., Matsumoto, M., Shinano, T., Iyoda, M., and Tadano, T. 1993: Productivity of high-yielding crops. III. Accumulation of ribulose 1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase and chlorophyll in relation to productivity of high-yielding crops. *Soil Sci. Plant Nutr.*, 39, 399-408
- 33) Ellis, R.J. 1979: The most abundant protein in the world. *Trends Biochem. Sci.*, 4, 241-244
- 34) Singer, S.J., Eggman, L., Campbell, J.M., and Wildman, S.G. 1952: The proteins of green leaves. IV. A high molecular weight comprising a large part of the cytoplasmic proteins. *J. Biol. Chem.*, 197, 233-239
- 35) Makino, A., Mae, T., and Ohira, K. 1984: Relation between nitrogen and ribulose-1,5-

- bisphosphate carboxylase in rice leaves from emergence through senescence. *Plant Cell Physiol.*, **25**, 429-437
- 36) Wittenbach, V.A. 1978: Breakdown of ribulose bisphosphate carboxylase and change in proteolytic activity during dark-induced senescence of wheat seedlings. *Plant Physiol.*, **62**, 604-608
- 37) Ku, M.S., Shmitt, M.R., and Edwards, G.E. 1979: Quantitative determination of RuBP carboxylase-oxygenase protein in leaves of several C₃ and C₄ plants. *J. Exp. Bot.*, **30**, 89-98
- 38) Pheloung, P. and Brady, C.J. 1979: Soluble and fraction 1 protein in leaves of C₃ and C₄ grasses. *J. Sci. Food Agric.*, **30**, 246-250
- 39) Sugiyama, T., Mizuno, M., and Hayashi, M. 1984: Partitioning of nitrogen among ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase, phosphoenolpyruvate carboxylase, and pyruvate orthophosphate dikinase as related to biomass productivity in maize seedling. *Plant Physiol.*, **75**, 665-669
- 40) Kleinkopf, G.E., Huffaker, R.C., and Matheson, A. 1970: A simplified purification and some properties of ribulose 1,5-diphosphate carboxylase from barley. *Plant Physiol.*, **46**, 204-207
- 41) Friedrich, J.W. and Huffaker, R.C. 1980: Photosynthesis, leaf resistances, and ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase degradation in senescing barley leaves. *Plant Physiol.*, **65**, 1103-1107
- 42) Racusen, D. and Foote, M. 1965: Protein synthesis in dark-grown bean leaves. *Can. J. Bot.*, **43**, 817-824
- 43) Seeman, J.R. and Berry, J.A. 1982: Interspecific differences in the kinetic properties of RuBP carboxylase protein. *Carnegie Inst. Wash. Yearbook*, **81**, 78-83
- 44) Crafts-Brandner, S.J., Salvacci, M.E., and Egli, D.B. 1991: Fruit removal in soybean induces the formation of an insoluble form of ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase in leaf extracts. *Planta*, **183**, 300-306
- 45) Sage, R.F. and Pearcy, R.W. 1987: The nitrogen use efficiency of C₃ and C₄ plant. II. Leaf nitrogen effects on the gas exchange characteristics of *Chenopodium album* L. and *Amaranthus retroflexus* L. *Plant Physiol.*, **84**, 959-963

- 46)Huffaker, R.C. and Peterson, L.W. 1974 : Protein turnover in plants and possible means of its regulation. *Annu. Rev. Plant Physiol.*, **25**, 363-392
- 47)Martin, C. and Thimann, K.V. 1972: The role of protein synthesis in the senescence of leaves. 1. The formation of protease. *Plant Physiol.*, **49**, 64-71
- 48)Peterson, L.W., Kleinkopf, G.E., and Huffaker, R.C. 1973: Evidence for lack of ribulose 1,5-diphosphate carboxylase in barley leaves. *Plant Physiol.*, **51**, 1042-1045
- 49)Wittenbach, V.A. 1977: Induced senescence of intact wheat seedlings and its reversibility. *Plant Physiol.*, **59**, 1039-1042
- 50)Dungey, N.O. and Davies, D.D. 1982: Protein turnover in the attached leaves of non-stressed and stressed barley seedlings. *Planta*, **154**, 435-440
- 51)Wittenbach, V.A. 1979: Ribulose biphosphate carboxylase and proteolytic activity in wheat leaves from anthesis through senescence. *Plant Physiol.*, **64**, 884-887
- 52)Peterson, L.J. and Huffaker, R.C. 1975 : Loss of ribulose 1,5-diphosphate carboxylase and increase in proteolytic activity during senescence of detached primary barley leaves. *Plant Physiol.*, **55**, 1009-1015
- 53)Peoples, M.B., Pate, J.S., and Atkins, C.A. 1983: Mobilization of nitrogen in fruiting plants of a cultivar of cowpea. *J. Exp. Bot.*, **34**, 563-578
- 54)Millard, P. 1988: The accumulation and storage of nitrogen by hervaceous plants. *Plant Cell Environ.*, **11**, 1-8
- 55)Millard, P. and Catt, J.W. 1987: The influence of nitrogen supply on the use of nitrate and ribulose 1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase as leaf nitrogen stores for growth of potato tubers (*Solanum tuberosum* L.). *J. Exp. Bot.*, **39**, 1-11
- 56)Peterson, L.W. and Huffaker, R.C. 1975: Loss of ribulose 1,5-diphosphate carboxylase and increase in proteolytic activity during senescence of detached primary barley leaves. *Plant Physiol.*, **55**, 1009-1015
- 57)Blenkinsop, P.G. 1974: The effects of nitrate supply and grain reserves on fraction I protein level in the first leaf of barley. *J. Exp. Bot.*, **25**, 913-926
- 58)Gregory, P.J., Marshall, B., and Biscoe, P.V. 1981: Nutrient relations of winter wheat. 3. Nitrogen

- uptake, photosynthesis of flag leaves and translocation of nitrogen to grain. *J. Agric. Sci.* **96**, 539-547
- 59) Terashima, I. and Evans, J.R. 1988: Effects of light and nitrogen nutrition on the organization of the photosynthetic apparatus in spinach. *Plant Cell Physiol.*, **29**, 143-155
- 60) Lawlor, D.W., Boyle, F.A., Kendall, A.C., and Keys, A.J. 1987: Nitrate nutrition and temperature effects on wheat: Enzyme composition, nitrate and total amino acid content of leaves. *J. Exp. Bot.*, **38**, 378-392
- 61) Sugiyama, T. and Hirayama, Y. 1983: Correlation of the activities of phosphoenolpyruvate carboxylase and pyruvate, orthophosphate dikinase with biomass in maize seedlings. *Plant Cell Physiol.*, **24**, 783-387
- 62) Simpson, E. 1981: Measurement of protein degradation in leaves of *Zea mays* using ^3H acetic anhydride and tritiated water. *Plant Physiol.*, **67**, 1214-1219
- 63) Jordan, D.B. and Ogren, W.L. 1981: Species variation in the specificity of ribulose biphosphate carboxylase/oxygenase. *Nature*, **291**, 513-515
- 64) Makino, A., Mae, T., and Ohira, K. 1988: Relationship between nitrogen and the limiting factors for the photosynthetic rate under ambient air conditions in soybean leaves. Comparison with wheat and rice. *Jpn. J. Soil Sci. Plant Nutr.*, **59**, 377-381
- 65) Makino, A. and Osmond, B. 1991: Effects of nitrogen nutrition on nitrogen partitioning between chloroplasts and mitochondria in pea and wheat. *Plant Physiol.*, **96**, 355-362
- 66) Volenec, J.J., Nelson, C.J., and Sleper, D.A. 1984: Influence of temperature on leaf dark respiration of diverse tall fescue genotypes. *Crop Sci.*, **24**, 907-912
- 67) Hirose, T. and Werger, M.J.A. 1987: Nitrogen use efficiency in instantaneous and daily photosynthesis of leaves in the canopy of a *Solidago altissima* stand. *Physiol. Plant.*, **70**, 215-222
- 68) Pons, T.L., Schieving, F., Hirose, T., and Werger, M.J.A. 1990: Optimization of leaf nitrogen allocation for canopy photosynthesis in *Lysimachia vulgaris*: In Lambers, H., Cambridge, M.L., Konings, H., and Pons, T.L. (eds), Causes and Consequences of Variation in Growth Rate and Productivity of Higher Plants, pp. 175-186. SPB Academic Publishing, The Hague

- 69) Makino, A. and Osmond, C.B. 1991: Effects of nitrogen nutrition on nitrogen partitioning between chloroplasts and mitochondria in pea and wheat. *Plant Physiol.*, **96**, 355-362
- 70) Byrd, G.T., Sage, R.F., and Brown, R.H. 1992: A comparison of dark respiration between C₃ and C₄ plants. *Plant Physiol.*, **100**, 191-198
- 71) Van der Werf, A., Van Nuenen, M., Visser, A.J., and Lambers, H. 1993: Effect of N-supply on the rates of photosynthesis and shoot and root respiration of inherently fast- and slow-growing monocots. *Physiol. Plant.*, **89**, 563-569
- 72) Wilson, D. 1982: Response to selection for dark respiration rate of mature leaves in *Lolium perenne* and its effects on growth of young plants and simulated wards. *Ann. Bot.*, **49**, 303-312
- 73) De Visser, R., Spitters, C.J.T., and Bouma, T.J. 1992: Energy cost of protein turnover: Theoretical calculation and experimental estimation from regression of respiration on protein concentration of full-grown leaves. In Lambers, H. and van der Plas, L.H.W (eds), Molecular, Biochemical and Physiological Aspects of Plant respiration, pp. 493-508. SPB Academic Publishing bv, The Hague, The Netherlands
- 74) McCullough, D.E. and Hunt, L.A. 1993: Mature tissue and crop canopy respiratory characteristics of rye, triticale and wheat. *Ann. Bot.*, **72**, 269-282
- 75) Irving, D.E. and Silsbury, J.H. 1987: A comparison of the rate of maintenance respiration in some crop legumes and tobacco determined by three methods. *Ann. Bot.*, **59**, 257-264
- 76) Tanaka, A. and Yamaguchi, J. 1968: The growth efficiency in relation to the growth of the rice plant. *Soil Sci. Plant Nutr.*, **14**, 110-116
- 77) Montheith, J.L. 1966: The photosynthesis and transpiration of crops. *Exp. Agr.*, **2**, 1-14
- 78) McCree, K.J. and Thoughton, J.H. 1966: Prediction of growth rate at different light levels from measured photosynthesis and respiration rates. *Plant Physiol.*, **41**, 559-566
- 79) Cock, J.H. and Yoshida, S. 1973: Photosynthesis, crop growth, and respiration of a tall and short rice varieties, *Soil Sci. Plant Nutr.*, **19**, 53-58
- 80) Yamaguchi, J. 1978: Respiration and the growth efficiency in relation to crop productivity. *J. Fac. Agric. Hokkaido Univ.*, **59**, 59-129

- 81) Yamaguchi, J., Watanabe, K., and Tanaka, A. 1975: Studies on the growth efficiency of crop plant (part 4). Respiratory rate and the growth efficiency of various organs of rice and maize. *J. Soil Sci. Manure, Jpn.*, **46**, 113-119
- 82) Ruchkenbauer, P. 1975: Photosynthetic and translocation pattern in contrasting winter wheat varieties. *Ann. Appl. Biol.*, **79**, 351-359
- 83) Pearman, I., Thomas, S.M., and Thorne, G.N. 1981: Dark respiration of several varieties of winter wheat given different amounts of nitrogen fertilizer. *Ann. Bot.*, **47**, 535-54
- 84) Austin, R.B., Edrich, J.A., Ford, M.A., and Blackwell, R.D. 1977: The fate of the dry matter, carbohydrates and ^{14}C lost from the leaves and stems of wheat during grain filling. *Ann. Bot.*, **41**, 1309-1321
- 85) King, R.W. and Evans, L.T. 1967: Photosynthesis in artificial communities of wheat, lucerne, and subterranean clover plants. *Aust. J. Biol. Sci.*, **20**, 623-635
- 86) Hodges, T. and Kanemasu, E.T. 1977: Modelling daily dry matter production of winter wheat. *Agron. J.*, **69**, 974-978
- 87) Thorne, G.N. 1969: Photosynthesis of ears and flag leaves of wheat and barley. *Ann. Bot.*, **29**, 317-329
- 88) Rawson, H.M. and Evans, L.T. 1971: The contribution of stem reserves to grain development in a range of wheat cultivars of different height. *Aust. J. Agric. Res.*, **22**, 851-863
- 89) Biscoe, P.V., Scott, R.K., and Monteith, J.L. 1975: Barley and its environment. 3. Carbon budget of the stand. *J. Appl. Ecol.*, **12**, 269-293
- 90) Ryle, G.J.A., Cobby, J.M., and Powell, C.E. 1976: Synthetic and maintenance respiratory losses of $^{14}\text{CO}_2$ in unculm barley and maize. *Ann. Bot.*, **40**, 571-586
- 91) Ryle, G.J.A., Brockington, N.R., Powell, C.E., and Cross, B. 1973: The measurement and prediction of organ growth in a unculm barley. *Ann. Bot.*, **37**, 233-246
- 92) Farrar, J.F. 1980: Allocation of carbon to growth, storage and respiration in the vegetative barley plant. *Plant Cell Environ.*, **3**, 97-105
- 93) Mogensen, V.O. 1977: Field measurements of dark respiration rates of roots and aerial parts in Italian ryegrass and barley. *J. Appl. Ecol.*, **14**, 243-252

- 94) Gordon, A.J., Ryle, G.J.A., Mitchell, D.F., and Powell, C.E. 1982: The dynamics of carbon supply from leaves of barley plants grown in long or short days. *J. Exp. Bot.*, **33**, 241-250
- 95) Gordon, A.J., Ryle, G.J.A., and Powell, G.J.A. 1977: The strategy of carbon utilization in unicum barley. I. The chemical fate of photosynthetically assimilated ^{14}C . *J. Exp. Bot.*, **28**, 1258-1269
- 96) Heichel, G.H. 1971: Confirming measurements of respiration and photosynthesis with dry matter accumulation. *Photosynthetica*, **5**, 93-98
- 97) Koshkin, E.I., Motorina, M.V., and Tret'yakov, N.N. 1987: Respiration and productivity of corn under conditions of different radiation regimes. *Soviet Plant Physiol.*, **34**, 220-228
- 98) Glover, J. 1973: The dark respiration of sugar-cane and the loss of photosynthate during the growth of a crop. *Ann. Bot.*, **37**, 845-852
- 99) Hume, D.J. and Criswell, J.G. 1973: Distribution and utilization of ^{14}C -labelled assimilated in soybeans. *Crop Sci.*, **13**, 519-524
- 100) Ojima, M. 1963: Improvement of leaf photosynthesis in soybean varieties. *Bull. Nat. Inst. Agric. Sci. Japan*, **D23**, 97-154 (in Japanese)
- 101) Monteith, J. L. 1962: Measurement and interpretation of carbon dioxide fluxes in the field. *Neth. J. Agric. Sci.*, **10**, 334-346
- 102) Yokoi, Y., Kumura, M., and Hogetsu, K. 1978: Quantitative relationships between growth and respiration. I. Components of respiratory loss and growth efficiencies of etiolated red bean seedlings. *Bot. Mag. Tokyo*, **91**, 31-41
- 103) Kato, S., Kobayashi, H. Houjyou, Y. 1971: 甘しょー葉挿し植物における ^{14}C - 光合成産物の転流, 日作紀, 40, 別号, 111-112
- 104) Winkler, E.W. 1971: Kartoffelvau in tirol. II. Photosynthesevermogen und respiration von verschiedenen kartoffelsorten. *Potato Res.*, **14**, 1-18
- 105) Gawronska, H., Dwelle, R.B., Pavsek, J.J., and Rowe, P. 1984: Partitioning of photoassimilates by four potato clones. *Crop Sci.*, **24**, 1031-1036
- 106) Robson, M.J. 1982: The growth and carbon economy of selection lines of *Lolium perenne* cv. S23 with differing rates of dark respiration. 2. Grown as young plants from seed. *Ann. Bot.*,

- 107)Hansen, D.G. and Jensen, C.R. 1977: Growth and maintenance respiration in whole plants, tops, and roots of *Lolium multiflorum*. *Physiol. Plant.*, **39**, 155-164
- 108)Baker, D.N., Hesketh, J.D., and Duncan, W.G. 1972: Simulation of growth and yield in cotton: 1. Gross photosynthesis, respiration, and growth. *Crop Sci.*, **12**, 431-435
- 109)Hiroi, T. and Monsi, M. 1964: Physiological and ecological analyses of shade tolerance of plants. 4. Effects of shading on distribution of photosynthate in *Helianthus annuus*. *Bot. Mag.*, Tokyo, **77**, 1-9
- 110)Szaniawski, R.K. and Kielkiewsicz, M. 1982: Maintenance and growth respiration in shoots and roots of sunflower plants grown at different root temperatures. *Physiol. Plant.*, **54**, 500-504
- 111)Kimura, M., Yokoi, Y., and Hogetsu, K. 1978: Quantitative relationships between growth and respiration. II. Evaluation of constructive and maintenance respiration in growing *Heliantus tuberosum* leaves. *Bot. Mag.*, Tokyo, **91**, 43-56
- 112)Inanaga, S. and Kumura, A. 1974: ナタネの物質生産に関する研究 第1報 生育に伴う ナタネ個体群の光合成能ならびに呼吸能の推移, 日作紀, **43**, 261-266
- 113)Inanaga, S., Kumura, A., and Murata Y. 1979: ナタネの物質生産に関する研究 第2報 果実層の光合成、物質生産特性, 日作紀, **48**, 260-264
- 114)Inanaga, S., Kumura, A., and Murata Y. 1979: ナタネの物質生産に関する研究 第3報 果実の光合成・呼吸特性および炭素収支, 日作紀, **48**, 265-27
- 115)Inanaga, S., Kumura, A., and Murata Y. 1980: ナタネの物質生産に関する研究 第4報 個体群の光合成、呼吸の日変化, 日作紀, **49**, 489-494
- 116)Biscoe, P.V., Clark, J.A., Gregson, K., McGowan, M., Monteith, J.L., and Scott, R.K. 1975: Barley and its environment. 1. Theory and practice. *J. Appl. Ecol.*, **12**, 227-257
- 117)Gregson, K. and Biscoe, P.V. 1975: Barley and its environment. 2. Strategy for computing. *J. Appl. Ecol.*, **12**, 259-267
- 118)Biscoe, P.V., Gallagher, J.N., Littleton, E.J., Monteith, J.L., and Scott, R.K. 1975: Barley and its environment. 4. Sources of assimilate for the grain. *J. Appl. Ecol.*, **12**, 295-318

- 119) Gallangher, J.N., Biscoe, P.V., and Scott, R.K. 1974: Barley and its environment. 5. Stability of grain weight in barley. *J. Appl. Ecol.*, **12**, 319-336
- 120) Biscoe, P.V., Incoll, L.D., Littleton, E.J., and Ollerenshaw, J.H. 1977: Barley and environment. 7. Relationships between irradiance, leaf photosynthetic rate and stomatal conductance. *J. Appl. Ecol.*, **14**, 293-302
- 121) Wilson, D. 1975: Variation in leaf respiration in relation to growth and photosynthesis of *Lolium*. *Ann. Appl. Biol.*, **80**, 323-338
- 122) Robson, M.J. 1982: The growth and carbon economy of selection lines of *Lolium perenne* cv. S23 with differing rates of dark respiration. 1. Grown as simulated swards during a regrowth period. *Ann. Bot.*, **49**, 321-329
- 123) Kumura, A. and Naniwa, I. 1965: Studies on dry matter production of soybean plant. I. Ontogenic changes in photosynthetic and respiratory capacity of soybean plant and its parts. *Jpn. J. Crop Sci.*, **33**, 467-472
- 124) Pirt, S.J. 1965: The maintenance energy of bacteria in growing cultures. Proceedings of the Royal Society of London, Series B 163, 224-231
- 125) McCree, K.J. 1970: An equation for the rate of respiration of white clover plants grown under controlled conditions. In Setlik, I (ed), Prediction and Measurement of Photosynthetic Productivity, pp. 221-229. Centre for Agricultural Publishing and Documentation, Wageningen.
- 126) Thornley, J.H.M. 1970: Respiration, growth and maintenance in plants. *Nature*, **227**, 304-305
- 127) Hesketh, J.D., Baker, D.N. and Duncan, W.G. 1971: Simulation of growth and yield in cotton: respiration and the carbon balance. *Crop Sci.*, **11**, 394-398
- 128) McCree, K.J. 1974: Equations for the rate of dark respiration of white clover and grain sorghum, as functions of dry weight, photosynthetic rate, and temperature. *Crop Sci.*, **14**, 509-514
- 129) McCree, K.J. and Silsbury, J.H. 1978: Growth and maintenance requirements of white clover as a function of daylength. *Crop Sci.* **18**, 22-25
- 130) Fernandez, C.J. 1977: Differences in carbon economy among five grain sorghum cultivars. MS Thesis, Texas A&M University.
- 131) Amthor, J.S. 1989: In Respiration and Crop Productivity. pp.71. Springer-Verlag New York

Inc.

- 132) 大崎満、田中明, 1978: 水稻における同化 ^{14}C の残存率, 土肥誌, **49**, 217-220
- 133) Penning de Vries, F. W. T., Brunsting, A. H. M., and Van Laar, H. H. 1974: Products, requirements and efficiency of biosynthesis: a quantitative approach. *J. Theor. Biol.*, **45**, 339-377
- 134) Penning de Vries, F.W.T. 1975: Use of assimilates in higher plants. In Cooper, J.P. (ed), *Photosynthesis and Productivity in Different Environments*, pp. 459-480. Cambridge Univ. Press, Cambridge.
- 135) Amthor, J.S., 1984: The role of maintenance respiration in plant growth., *Plant, Cell Environ.*, **7**, 561-569
- 136) Cramer, F. and Freist, W. 1987: Molecular recognition by energy dissipation, a new enzymatic principle: The example isoleucine-valine. *Accounts. Chem. Res.* **20**, 79-84
- 137) Chrispeels, M.J. 1991: Sorting of proteins in the secretory system. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* **42**, 21-53
- 138) Beevers, L. and Hageman, R.H. 1969: Nitrate reduction in higher plants. *Annu. Rev. Plant Physiol.*, **20**, 495-522
- 139) Vertregt, N. and Penning de Vries, F.W.T. 1987: A rapid method for determining the efficiency of biosynthesis of plant biomass. *J. Theor. Biol.*, **128**, 109-119
- 140) McDermitt, D.K. and Loomis, R.S. 1981: Elemental composition of biomass and its relation to energy content, growth efficiency, and growth yield. *Ann. Bot.*, **48**, 275-290
- 141) Williams, K., Percival, F., Merino, J., and Mooney, H.A. 1987: Estimation of tissue construction cost from heat of combustion and organic nitrogen content. *Plant Cell Environ.*, **10**, 725-734
- 142) 山口淳一、田中明 1970: 作物の生長効率に関する研究 (第2報)、トウモロコシの生育に伴う生長効率の変遷, 土肥誌, **41**, 73-77
- 143) 山口淳一、渡部幸一郎、田中明, 1975: 作物の生長効率に関する研究 (第4報)、水稻およびトウモロコシの器官別呼吸能および生長効率, 土肥誌, **46**, 113-119
- 144) 山口淳一、河内和彦、田中明, 1975: 作物の生長効率に関する研究 (第5報)、大豆の生育各時期における生長効率および水稻・トウモロコシとの比較における子実生

産能, 土肥誌, **46**, 120-125

- 145) Sinclair, T.R. and De Wit, C.T. 1975: Photosynthate and nitrogen requirements for seed production by various crops. *Science*, **189**, 565-567
- 146) Tanaka, A. and Osaki, M. 1983: Growth and behavior of photosynthesized ^{14}C in various crops in relation to productivity. *Soil Sci. Plant Nutr.*, **29**, 147-158
- 147) Hirota, O. and Takeda, T. 1978: Studies on utilization of solar radiation by crop stands. III. Relationships between conversion efficiency of solar radiation energy and respiration of construction and maintenance in rice and soybean plant populations. *Jpn. Jour. Crop Sci.*, **47**, 36-343
- 148) Stahl, R.S. and McCree, K.J. 1988: Ontogenetic changes in the respiration coefficients of grain sorghum. *Crop Sci.*, **28**, 111-113
- 149) Van der Werf, A., Kooijman, A., Welschen, R., and Lambers, H. 1988: Respiratory energy costs for the maintenance of biomass, for growth and for ion uptake in roots of *Carex diandra* and *Carex acutiformis*. *Physiol. Plant.*, **72**, 483-491
- 150) Jones, M.B., Leafe, E.L., Stiles, W., and Collett, 1978: Pattern of respiration of a perennial ryegrass crop in the field. *Ann. Bot.*, **42**, 693-703
- 151) McCree, K.J. 1983: Carbon balance as a function of plant size in sorghum plants. *Crop Sci.* **22**, 822-827
- 152) Veen, B.W. 1980: Energy costs of ion transport. In Rains, D.W., Valentine, R.C., and Holoander, C. (eds). Genetic engineering of osmoregulation. Impact on plant productivity for food, chemicals, and energy. Plenum Press N.Y. pp. 187-195
- 153) Hanen, G.K. 1980: Diurnal variation of root respiration rates and nitrate uptake as influenced by nitrogen supply. *Physiol. Plant.*, **48**, 421-427
- 154) Hansen, G.K. 1979: Influence of nitrogen form and nitrogen absence on utilization of assimilates for growth and maintenance in tops and roots of *Lolium multiflorum*. *Physiol. Plant.* **46**, 165-168
- 155) Lamber, H. 1979: Efficiency of root respiration in relation to growth rate, morphology and soil composition. *Physiol. Plant.*, **46**, 194-202

- 156) Szaniawski, R.K. 1981: Growth and maintenance respiration of shoot and roots in Scots pine seedlings. *Zeitsh. Pflanzenp.*, **101**, 391-398
- 157) Bouma, T. J. and De Visser, R. 1993: Energy requirements for maintenance of ion concentrations in roots. *Physiol. Plant.*, **89**, 133-142
- 158) Lambers, H. 1982: Cyanide-resistant respiration : A non-phosphorylating electron transport pathway acting as an energy overflow. *Physiol. Plant.*, **55**, 478-485
- 159) Lambers, H., Day, D.A. and Azcón-Bieto, R. 1983: Cyanide-resistant respiration in roots and leaves. Measurements with intact tissues and isolated mitochondria. *Physiol. Plant.* **58**, 148-154
- 160) Amthor, J.S. 1994: Higher plant respiration and its relationships to photosynthesis. *In* Ecophysiology of photosynthesis, Springer-Ecol St. 100, pp. 71-101
- 161) Beevers, H. 1970: Respiration in plants and its regulation. *In* Setlik, I (ed), Prediction and Measurement of Photosynthetic Productivity, pp. 209-214. Centre for Agricultural Publishing and Documentation, Wageningen.
- 162) Copeland, L and Turner, J.F. 1987: The regulation of glycolysis and the pentose phosphate pathway. *In* Davies, D.D. (ed), The Biochemistry of Plants, Vol. 11, Biochemistry of Metabolism, pp. 107-128. Academic Press, San Diego
- 163) Dry, I.B., Bryce, J.H., and Wiskich, J.T. 1987: Regulation of mitochondrial respiration. *In* Davies, D.D. (ed), The Biochemistry of Plants, Vol. 11, Biochemistry of Metabolism, pp. 213-252 Academic Press, San Diego
- 164) Farrar, J.F. and Williams, M.L 1991: The effects of increased atmospheric carbon dioxide and temperature on carbon partitioning, source-sink relations and respiration. *Plant, Cell Environ.*, **14**, 819-830
- 165) Ap Rees, T. 1988: Hexose phosphate metabolism by nonphotosynthetic tissues of higher plants. *In* Preiss, J. (ed), The Biochemistry of Plants, Vol. 14, Carbohydrates.
- 166) Bryce, J.H., Azcón-Bieto, J., Wiskich, J.T., and Day, D.A. 1990: Adenylate control of respiration in plants: the contribution of rotenone-insensitive electron transport to ADP-limited oxygen consumption by soybean mitochondria. *Physiol. Plant.*, **78**, 105-111

- 167)Fricaud, A. Walters, A.J., Whitehouse, D.G., and Moore, A.L. 1992: The role(s) of adenylate kinase and the adenylate carrier in the regulation of plant mitochondrial respiratory activity. *Biochim. Biophys. Acta*, **1099**, 253-261
- 168)Huber, S.C. 1989: Biochemical mechanism for regulation of sucrose accumulation in leaves during photosynthesis. *Plant Physiol.*, **91**, 656-662
- 169)Azcón-Bieto, J., Lambers, H., and Day, D.A. 1983: Effect of photosynthesis and carbohydrate status on respiratory rates and the involvement of the alternative pathway in leaf respiration. *Plant Physiol.*, **72**, 598-603
- 170)Lambers, H., Szaniawski, R.K., and de Visser, R. 1983: Respiration for growth, maintenance and ion uptake. An evaluation of concepts, methods, values and their significance. *Physiol. Plant.*, **58**, 556-563
- 171)Day, D.A., de Vos, O.C., Wilson, D., and Lambers, H. 1985: Regulation of respiration in the leaves and roots of two *Lolium perenne* populations with contrasting mature leaf respiration rates and crop yields. *Plant Physiol.*, **78**, 678-683
- 172)De Visser, R. 1985: Efficiency of respiration and energy requirements of N assimilation in roots of *Pisum sativum*. *Physiol. Plant.*, **65**, 209-218
- 173)波田啓子、大崎満、田中明 1988: 登熟期の水稻の止葉から吸収したグルタミンおよびスクロースの挙動, 土肥誌, **59**, 210-212
- 174)Bell, C.J. and Incoll, L.D. 1990: The redistribution of assimilate in field-grown winter wheat. *J. Exp. Bot.*, **41**, 929-960
- 175)Cliquet, J.B, Deléens, E., and Mariotti, A. 1990: C and N mobilization from stalk and leaves during kernel filling by ^{13}C and ^{15}N tracing in *Zea mays* L. *Plant Physiol.*, **94**, 1547-1553
- 176)Prioul J,L., Reyss, A., and Schwebel-Dugué, N 1990: Relationships between carbohydrate metabolism in ear and adjacent leaf during grain filling in maize genotypes. *Plant Physiol. Biochem.* **28**, 485-493
- 177)Yamagata, M., Kouchi, H., and Yoneyama, T. 1987: Partitioning and utilization of photosynthate produced at different growth stages after anthesis in soybean (*Glycine max* L. Merr.). Analysis by long-term ^{13}C -labelling experiments. *J. Exp. Bot.*, **38**, 1247-1259

- 178) Williams, R.F. 1955: Redistribution of mineral elements during development. *Annu. Rev. Plant Physiol.* **6**, 25-42
- 179) 大崎満、半田友子、田中明 1988: ダイズの登熟過程における炭素・窒素化合物の挙動, 土肥誌, **59**, 196-198
- 180) 大崎満、小松里香、田中明 1988: バレイショの茎葉から塊茎への物質転流に伴う炭素・窒素化合物の再編成, 土肥誌, **59**, 266-271
- 181) 大崎満、波田啓子、田中明 1988: 水稻の登熟過程における葉タンパク質の子実タンパク質への再編成, 土肥誌, **59**, 272-278
- 182) Below, F.E., Christensen, L.E., Reed, A.J., and Hageman, R.H. 1981: Availability of reduced N and carbohydrates for ear development of maize. *Plant Physiol.*, **68**, 1186-1190
- 183) Swank, J.C., Below, F.E., Lambert, R.J., and Hageman, R.H. 1982: Interaction of carbon and nitrogen metabolism in the productivity of maize. *Plant Physiol.*, **70**, 1185-1190
- 184) 石塚喜明、田中明 1952: 水稻の生育経過に関する研究 (第2報) 各種有機成分の水稻生育経過に伴う消長, 土肥誌, **23**, 113-116
- 185) 大崎満、田中明 1979: 水稻の呼吸基質としての”初期光合成産物”と”貯蔵物質”, 土肥誌, **50**, 540-546
- 186) Woolhouse, H.W. and Jenkins, G.I. 1983: Physiological responses, metabolic changes and regulation during leaf senescence. In Dale, J.E. and Milthorpe, F.L. (eds), *The Growth and Functioning of Leaves*. Cambridge: Cambridge University Press, pp. 449-487
- 187) Dalling, M.S. 1987: Proteolytic enzymes and leaf senescence. In Thomson, W.W., Nothnagel, E.A., and Huffaker, R.C. (eds), *Plant Senescence. Its Biochemistry and Physiology*. Amer. Soc. Plant Physiol., Rockville. pp. 54-70.
- 188) Hershko, A. 1988: Ubiquitin-mediated protein degradation. *J. Biol. Chem.*, **263**, 15237-15240
- 189) Summers, M., McBride, B.W., and Milligan, L.P. 1988: Components of basal energy expenditure. In Dobson, A. and Dobson, M.J. (eds), *Aspects of Digestive Physiology in Ruminants*. Comstock Publ. Ass. Ithaca, London, pp. 257-285
- 190) Jabben, M., Shanklin, J., and Vierstra, R.D. 1989: Red light-induced accumulation of ubiquitin-phytochrome conjugates in both monocots and dicots. *Plant Physiol.*, **90**, 380-384

- 191)Tammes, P.M.L. and van Die, J. 1964: Studies on the phenomenon of bleeding and the composition of the exudate. *Acta Bot. Néerl.*, **13**, 76-83
- 192)Crafts, A.S. and Crisp, C.E. 1971: Phloem exudation. *In* Phloem transport in plants. Freeman, W.H. and Co, San Francisco. pp. 65
- 193)Ziegler, H. 1956: Untersuchungen uber die leitung und sekretion der assimilate. *Planta*, **47**, 447-450
- 194)Milburn, J.A. 1970: Phloem exudation from castor bean: Induction by massage. *Planta* **95**, 272-276
- 195)Pate, J.S. 1973: Uptake, assimilation and transport of nitrogen compounds by plants. *Soil Biol. Biochem.* **5**, 109-119
- 196)Hall, S.M. and Baker, D.A. 1972: The chemical composition of *Ricinus* phloem exudate. *Planta*, **106**, 131-140
- 197)Hocking, P.J. 1980: The composition of phloem exudate and xylem sap from tree tobacco (*Nicotiana glauca* Grah.). *Ann. Bot.*, **45**, 633-643
- 198)Zimmermann, M.H. 1957: Translocation of organic substances in trees I. The nature of the sugars in the sieve tube exudate of trees. *Plant Physiol.*, **32**, 288-291
- 199)Atkins, C.A., Pate, J.S., and Sharkey, P.J. 1975: Asparagine metabolism-key to the nitrogen nutrition of developing legume seeds. *Plant Physiol.*, **56**, 807-812
- 200)Pate, J.S., Sharkey, P.J., and Lewis, O.A.M. 1974: Phloem bleeding from legume fruits- A technique for study of fruit nutrition. *Planta*, **120**, 229-243
- 201)Pate, J.S., Sharkey, P.J., and Lewis, O.A.M. 1975: Xylem to phloem transfer of solutes in fruiting shoots of legumes, studied by a phloem bleeding technique. *Planta*, **122**, 11-26
- 202)Kennedy, J.S. and Mittler, T.E. 1953: A method for obtaining phloem sap via the mouth-parts of aphids. *Nature*, **171**, 528
- 203)Leonard, O.A. and Glenn, R.K. 1968: Translocation of assimilates and phosphate in detached bean leaves. *Plant Physiol.*, **43**, 1380-1388
- 204)King, R.W. and Zeevaart, J.A.D. 1974: Enhancement of phloem exudation from cut petioles by chelating agents. *Plant Physiol.*, **53**, 96-103

- 205) Dickson, R.E. 1977: EDTA-promoted exudation of ^{14}C -labelled compounds from detached cottonwood and bean leaves as related to translocation. *Can. J. For. Res.*, **7**, 277-284
- 206) Fellow, R.J., Egli, D.B., and Leggett, J.E. 1978: A pod leakage technique for phloem translocation studies in soybean (*Glycine max* (L) Merr). *Plant Physiol.* **62**, 812-814
- 207) Tulley, R.E. and Hanson, A.D. 1979: Amino acids translocated from turgid and water-stressed barley leaves. I. Phloem exudation studies. *Plant Physiol.*, **64**, 460-466
- 208) Thorne, J.H. and Rainbird, R.M. 1983: An in vivo technique for the study of phloem unloading in seeds. *Plant Physiol.*, **72**, 268-271
- 209) Rainbird, R.M., Thorne, J.H., and Hardy, R.W.F. 1984: Hardy role of amides, amino acids, and ureides in the nutrition of developing soybean seeds. *Plant Physiol.*, **74**, 329-334
- 210) Fisher, D.B. and Macnico, P.K. 1986: Amino acid composition along the transport pathway during grain filling in wheat. *Plant Physiol.*, **82**, 1019-1023
- 211) Fisher, D.B. and Gifford, R.M. 1986: Accumulation and conversion of sugars by developing wheat grains VI. Gradients along the transport pathway from the peduncle to the endosperm cavity during grain filling. *Plant Physiol.*, **82**, 1024-1030
- 212) Mittler, T.E. 1958: Studies on the feeding and nutrition of *Tuberolachnus salignus* (Gmelin) (Homoptera, Aphididae). II. The nitrogen and sugar composition of ingested phloem sap and secreted honeydew. *J. Exp. Biol.*, **35**, 74-84
- 213) Peel, A.J. and Weatherley, P.E. 1959: Composition of sieve-tube sap. *Nature*, **184**, 1955-1956
- 214) Barlow, C.A. and Randolph, P.A. 1978: Quality and quantity of plant sap available to the pea aphid. *Ann. Entomol. Soc. Am.* **71**, 46-48
- 215) Hayashi, H. and Chino, M. 1986: Collection of pure phloem sap from wheat. *Plant Cell Physiol.*, **27**, 1387-1393
- 216) 茅野充、林浩昭、藤原徹, 1988: 篩管による物質転流と生長, 化学と生物, **26**, 318-324
- 217) Fukumorita, T. and Chino, M. 1982: Sugar, amino acid and inorganic contents in rice phloem sap. *Plant Cell Physiol.*, **23**, 273-283
- 218) Chino, M., Hayashi, H., and Fukumorita, T. 1987: Chemical composition of rice phloem sap

- and its fluctuation. *J. Plant Nutr.*, **10**, 1651-1661
- 219) Hayashi, H. and Chino, M. 1985: Nitrate and other anions in the rice phloem sap. *Plant Cell Physiol.*, **26**, 325-330
- 220) Chino, M., Hayashi, H., and Fukumori, T. 1986: Cation and anion composition of rice phloem sap. *In Phloem Transport*, pp. 463-464. Alan R. Liss, Inc.
- 221) 茅野充、林浩昭、篩管液の分析、ぶんせき、1987、1、54-58
- 222) Hayashi, H. and Chino, M. 1986: Effect of nitrogen nutrition and light on the chemical composition of rice phloem sap. *In Phloem Transport*, pp. 465-468. Alan R. Liss, Inc.
- 223) Weibull, J., Ronquist, F., and Brishammar, S. 1990: Free amino acid composition of leaf exudates and phloem sap. A comparative study in oats and barley. *Plant Physiol.*, **92**, 222-226
- 224) Yamaya, T., Hayakawa, T., Tanasawa, K., Kamachi, K., Mae, T., and Ojima, K. 1992: Tissue distribution of glutamate synthase and glutamine synthetase in rice leaves. Occurrence of NADH-dependent glutamate synthase protein and activity in the unexpanded, nongreen leaf blades. *Plant Physiol.*, **100**, 1427-1432
- 225) Hayakawa, T., Yamaya, T., Mae, T., and Ojima, K. 1993: Changes in the content of two glutamate synthase proteins in spikelets of rice (*Oryza sativa*) plants during ripening. *Plant Physiol.*, **101**, 1257-1262
- 226) Osaki, M., Koyanagi, A., and Tadano, T. 1992: Behavior of carbon from sucrose and asparagine after introduction to flag leaf of rice plant during ripening. *Soil Sci. Plant Nutr.*, **38**, 527-535
- 227) Osaki, M., Koyanagi, A., and Tadano, T. 1992: Behavior of carbon from asparagine, aspartic acid, glutamine, and glutamic acid after introduction to flag leaf of rice plant during ripening. *Soil Sci. Plant Nutr.*, **38**, 537-543, 1992
- 228) Kolderup, F. 1979: Interconversions of amino acids in maturing wheat grains in seed protein improvement in cereals and grain legumes. Vol. 1, IAEA-SM-230/62, pp.187-203
- 229) Trevelyan, W.E. and Harrison, J.S. 1952: Studies on yeast metabolism. 1. Fractionation and microdetermination of cell carbohydrates. *Biochem. J.*, **50**, 298-303
- 230) Prosky, L., Asp, N. -G., Furda, I., De Vries, J.W., Schweizer, T.F., and Harland, B.F. 1985: Determination of total dietary fiber in foods and food products: collaborative study. *J. Assoc.*

- 231) Van Soest, P.J. 1963: Use of detergents in the analysis of fibrous feeds. II. A rapid method for the determination of fiber and lignin. *Assoc. Off. Anal. Chem.*, **46**, 829-835
- 232) Van Soest, P.J. and Wine, R.H. 1967: Use of detergents in the analysis of fibrous feeds. IV. Determination of plant cell-wall constituents. *Assoc. Off. Anal. Chem.*, **50**, 50-55
- 233) 科学技術庁資源調査室・資源調査所編、改訂 日本食品アミノ酸組成表, 1986
- 234) Ishizuka, Y. and Tanaka, A. 1952: Biochemical studies on the life history of rice plants. Part 2. Synthesis and translocation of organic constituents. *Jpn. J. Soil Sci. Plant Nutr.*, **23**, 113-116
- 235) Nock, L.P. and Smith, C.J. 1987: Identification of polysaccharide hydrolases involved in autolytic degradation of *Zea* cell walls. *Plant Physiol.*, **84**, 1044-1050
- 236) Osaki, M. and Tanaka, A. 1978: The ^{14}C -retention percentage in the rice plant. *Jpn. J. Soil Sci. Plant Nutr.*, **49**, 217-220
- 237) Osaki, M., Handa, T., and Tanaka, A. 1988: Behavior of carbon- and nitrogen-compounds during ripening in soybean. *Jpn. J. Soil Sci. Plant Nutr.*, **59**, 190-196
- 238) Osaki, M., Komatsu, R., and Tanaka, A. 1988: Reformation of carbon- and nitrogen-compounds during the translocation of materials from the shoot to the tubers in potato. *Jpn. J. Soil Sci. Plant Nutr.*, **59**, 266-271
- 239) Osaki, M., Hada, K., and Tanaka, A. 1988: Reconstruction of the leaf-proteins into grain-proteins during ripening in the rice plant. *Jpn. J. Soil Sci. Plant Nutr.*, **59**, 272-278
- 240) Osaki, M., Yoshimura, A., and Tanaka, A. 1991: Comparison of the behavior of carbon and nitrogen compounds during ripening between maize and potato. *Jpn. J. Soil Sci. Plant Nutr.*, **62**, 282-290
- 241) 岡島秀夫・今井弘樹 1977: 牧草三要素試験跡地のトウモロコシ生育と土壌の化学性について、北大農邦文紀要, **10**, 206-218
- 242) Mulder, E.G. and Bakema, K. 1956: Effect of nitrogen, phosphorus, potassium and magnesium nutrition of potato plants on the content of free amino-acids and on the amino-acid composition of the protein of the tubers. *Plant Soil*, **7**, 135-166
- 243) Hoff, J.E., Jones, C.M., Wilcox, G.E. and Castro, M.D. 1971: The effect of nitrogen fertilization

- on the composition of the free amino acid pool of potato tubers. *Am. Potato J.*, **48**, 390-394
- 244) Millard, P. 1986: The nitrogen content of potato (*Solanum tuberosum* L.) tubers in relation to nitrogen application - The effect on amino acid composition and yield. *J. Sci. Food Agric.*, **37**, 107-114
- 245) 堀口毅・樗木直也 1986: 窒素欠如処理および上位葉への尿素の供給がダイズ幼植物の蛋白質代謝と窒素の転流に及ぼす影響, 土肥誌, **57**, 474-480
- 246) Rabe, E and Lovatt, C.J. 1986: Increased arginine biosynthesis during phosphorus deficiency : A response to the increased ammonia content of leaves. *Plant Physiol.*, **81**, 774-779
- 247) Gleiter, M.E. and Parker, H.E. 1957: The effect of phosphorus deficiency on the free amino acids of alfalfa. *Arch. Biochem. Biophys.*, **71**, 430-436
- 248) Ishiduka, Y. and Takagishi, S. 1962: たばこ植物の加里欠乏症に関する研究 (第2報) 窒素源を異にした場合の欠乏症発現に伴う窒素及び炭水化物代謝の変動, 日本土壤肥料学雑誌. **33**, 32-36
- 249) 松阪泰明・白井昭登・今泉吉郎 1962: 水稻のカリ欠乏に関する研究 (第4報) カリ欠乏水稻に集積する異常窒素化合物について, 日本土壤肥料学雑誌. **33**, 177-180
- 250) Hartt, C.E. 1969: Effect of potassium deficiency upon translocation of ^{14}C in attached blades and entire plants of sugarcane, *Physiol. Plant.* **44**, 1461-1469
- 251) Hartt, C.E. 1970: Effect of potassium deficiency upon translocation of ^{14}C in detached blades of sugarcane, *Physiol. Plant.* **45**, 183-187
- 252) Mengel, K., Secer, M., and Koch, K. 1981: Potassium effect on protein formation and amino acid turnover in developing wheat grain, *Agron. J.*, **75**, 74-78
- 253) Watanabe, H. and Yoshida, S. 1970: Effects of nitrogen, phosphorus, and potassium on photophosphorylation in rice in relation to the photosynthetic rate of single leaves, *Soil Sci. Plant Nutr.*, **16**, 163-166
- 254) 田中明・原徹夫 1971: 単葉光合成能の栄養生理学的研究 (第2報) トウモロコシにおける単葉光合成能とリン栄養との関係, 土肥誌. **42**, 300-303
- 255) 田中明・原徹夫 1972: 単葉光合成能の栄養生理学的研究 (第3報) トウモロコシにおける単葉光合成能とカリ栄養との関係, 土肥誌. **43**, 132-136

- 256) 折谷隆志・松本栄一 1988: SORGHUM 属作物の窒素代謝に関する研究 第 1 報 カリウムとリン欠乏条件下における基肥窒素レベルの相違と窒素追肥がソルゴーの再生長と窒素代謝に及ぼす影響, 日作紀. **57**, 655-665
- 257) Kakie, T. 1969: Effect of phosphorus deficiency on the photosynthetic carbon dioxide fixation-products in tobacco plants. *Soil Sci. Plant Nutr.*, **15**, 245-251
- 258) Jones, L.H. 1966: Carbon-14 studies of intermediary metabolism in potassium-deficient tomato plants, *Can. J. Bot.*, **44**, 297-307
- 259) Ranjan, S., Pandey, R.M., Srivastava, R.K., and Laloraya, M.M. 1962: Effect of phosphorus deficiency on the metabolic changes in free amino-acids in certain leguminous crop plants, *Nature*. **193**, 997-998
- 260) Coleman, R.G. and Richards, F.J. 1956: Physiological studies in plant nutrition XVIII. Some aspects of nitrogen metabolism in barley and other plants in relation to potassium deficiency, *Ann. Bot.*, **20**, 393-409
- 261) 松阪泰明・白井昭登・今泉吉郎 1962: 水稻のカリ欠乏に関する研究 (第 3 報) カリ欠乏水稻の養分吸収および代謝の異常性について (その 2), 土肥誌. **33**, 173-180
- 262) 安藤忠男・尾形昭逸 1980: 硝酸態窒素の微量迅速定量法, 土肥誌. **51**, 48-54
- 263) Matsumaru, T., Yoneyama, T., Ishizuka, J., and Matsuoka, Y. 1987: Effect of excessive nitrogen supply on the growth and nitrogen metabolism of crops (Part 1). Growth of tomato plants affected by large application of nitrogen. *Jpn. J. Soil Sci. Plant Nutr.*, **58**, 465-472
- 264) Green, B.R. 1988: The chlorophyll-protein complexes of higher plant photosynthetic membranes : just what green band is that?, *Photosyn. Res.*, **15**, 3-32
- 265) Makino, A., Mae, T., and Ohira, K. 1986: Colorimetric measurement of protein stained with coomassie brilliant blue R on sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis by eluting with formamide., *Agric. Biol. Chem.*, **50**, 1911-1912
- 266) Sugiyama, T., Mizuno, M., and Hayashi, M. 1984 : Partitioning of nitrogen among ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase, *p*ahophosphoenolpyruvate carboxylase, and pyruvate orthophosphate dikinase related to biomass productivity in maize seedlings. *Plant Physiol.*, **75**, 665-669

- 267) Tanaka, A., Yamaguchi, J., Miura, S., and Tamaru, H. 1984: Comparison of fertilizer nitrogen efficiency among field crops, *Soil Sci. Plant Nutr.*, **30**, 199-208
- 268) Servaites, J.C. 1989: Inhibition of ribulose 1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase by 2-carboxyarabinitol-1-phosphate. *Plant Physiol.*, **92**, 867-870
- 269) Young, E.G. and Conway, C.F. 1942: On the estimation of allantoin by the Rimini-Shryver reaction. *J. Biol. Chem.*, **142**, 839-853
- 270) Harvey, D.M., Hedley, C.L., and Keely, R. 1976: Photosynthetic and respiratory studies during pod and seed development in *Pisum sativum* L. *Ann. Bot.*, **76**, 993-1001
- 271) Lafitte, H.R. and Loomis, R.S. 1988: Calculation of growth yield, growth respiration and heat content of grain sorghum from elemental and proximal analyses. *Ann. Bot.*, **62**, 353-361
- 272) 科学技術庁資源調査局 1969: 食品分析表, 大蔵省出版, 東京
- 273) Smith, A.J., Rinne, R.W., and Stif, R.D. 1989: Phosphoenolpyruvate carboxylase and pyruvate kinase involvement in protein and oil biosynthesis during soybean seed development. *Crop Sci.*, **29**, 349-353
- 274) Ghosh, S., Gepstein, S., Glick, B. R., Heikkila, J. J., and Dumbroff, E. B. 1989: Thermal regulation of phosphoenolpyruvate carboxylase and ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase in C₃ and C₄ plants native to hot and temperate climates. *Plant Physiol.*, **90**, 1298-1304
- 275) Crookston, R.K., O'Toole, J., and Ozbun, J.L. 1974: Characterization of the bean pod as a photosynthetic organ. *Crop Sci.*, **14**, 708-712
- 276) Hedley, C.L., Harvey, D.M., and Keely R.J. 1975: Role of PEP carboxylase during seed development in *Pisum sativum*. *Nature*, **258**, 352-354
- 277) Imaizumi, H., Usuda, H., Nakamoto, H., and Ishihara, K. 1990: Changes in the rate of photosynthesis during grain filling and the enzymatic activities associated with the photosynthetic carbon metabolism in rice panicles. *Plant Cell Physiol.*, **31**, 835-843
- 278) Singal, H.R., Sheoran, I.S., and Singh, R. 1986: In vivo enzyme activities and products of ¹⁴CO₂ assimilation in flag and ear parts of wheat (*Triticum aestivum* L.) *Photosynth. Res.*, **8**, 113-122
- 279) Duffus, C.M. and Rosie, R. 1973: Some enzyme activities with the chlorophyll containing

- layers of the immature barley pericarp. *Planta*, **114**, 219-226
- 280)Quebedeux, B. and Chollet, R. 1975: Growth and development of soybean (*Glycine max* [L.] Merr.) pods. *Plant Physiol.*, **55**, 745-748
- 281)Sinha, S.K. and Sane, P.V. 1976: Relative photosynthetic rate in leaves & fruit wall of pea. *Ind. J. Exp. Biol.*, **14**, 592-594
- 282)Singal, H.R., Sheoran, I.S., and Singh, R. 1976: Products of photosynthetic $^{14}\text{CO}_2$ fixation and related enzyme activities in fruiting structures of chick-pea. *Physiol. Plant.*, **66**, 457-462
- 283)Basra, A.S. and Malik, C.P. 1983: Dark metabolism of CO_2 during fibre elongation of two cottons differing in fibre lengths. *J. Exp. Bot.*, **34**, 1-9
- 284)Atkins, C. A. and Pate, J. S. 1977: An IRGA technique to measure CO_2 content of small volumes of gas from the internal atmospheres of plant organs. *Photosynthetica*, **11**, 214-216
- 285)Flinn, A.M., Atkins, C.A., and Pate, J.S. 1977: Significance of photosynthetic and respiratory exchanges in the carbon economy of the developing pea fruit. *Plant Physiol.*, **60**, 412-418
- 286)Champigny, M. and Foyer, C. 1992: Nitrate activation of cytosolic protein kinases diverts photosynthetic carbon from sucrose to amino acid biosynthesis. *Plant Physiol.*, **100**, 7-12
- 287)Foyer, C.H., Noctor, G., Leleandais, M., Lescure, J.C., Valadier, M.H., and Horton, P. 1994: Short-term effects of nitrate, nitrite and ammonium assimilation on photosynthesis, carbon partitioning and protein phosphorylation in maize. *Planta*, **192**, 211-220
- 288)Wullshleger, S.D. and Oosterhuis, D.M. 1990: Photosynthetic and respiratory activity of fruiting forms within the cotton canopy. *Plant Physiol.*, **94**, 463-469
- 289)Hayashi, H. and Chino, M. 1990: Chemical composition of phloem sap from the uppermost internode of the rice plant. *Plant Cell Physiol.*, **31**, 247-251
- 290)Ohsima, T., Hayashi, H., and Chino, M. 1990: Collection and chemical composition of pure phloem sap from *Zea mays* L. *Plant Cell Physiol.*, **31**, 735-737
- 291)Lafitte, H.R. and Loomis, R.S. 1988: Calculation of growth yield, growth respiration and heat content of grain sorghum from elemental and proximal analyses. *Ann. Bot.*, **62**, 353-361
- 292)Mooney, H.A. and Field, C.B. 1989: Photosynthesis and plant productivity - Scaling to the biosphere. In *Plant biology* vol. 8 "Photosynthesis", Ed. W. R. Briggs, p. 19-44, Alan R. Liss,

Inc., New York

- 293) Samish, Y.B., Palla, Jr.J.E., Dornhoff, G.M., and Shibles, R.M. 1972: A reevaluation of soybean leaf photorespiration. *Plant Physiol.*, **50**, 28-30
- 294) Hofstra, G. and Hesketh, J.D. 1969: Effect of temperature on the gas exchange of leaves in the light and dark. *Planta*, **85**, 228-237
- 295) Keys, A.J., Bird, I.F., Cornelius, M.J., Lea, P.J., Wallsgrove, R.M., and Mifflin, B.J. 1978: Photorespiratory nitrogen cycle. *Nature*, **25**, 741-743
- 296) Joy, K.W. 1988: Ammonia, glutamine, and asparagine: A carbon-nitrogen interface. *Can. J. Bot.*, **66**, 2103-2109
- 297) Leprince, O., van der Werf, A., Deltour, R., and Lambers, H. 1992: Respiratory pathways in germinating maize radicles correlated with desiccation tolerance and soluble sugars. *Physiol. Plant.*, **85**, 581-588
- 298) Obenland, D., Diethelm, R., Shibles, R., and Stewart, C. 1990: Relationship of alternative respiratory capacity and alternative oxidase amount during soybean seedling growth. *Plant Cell Physiol.*, **31**, 897-901
- 299) Siedow, J.N. and Girvin, M.E. 1980: Alternative respiratory pathway. Its role in seed respiration and its inhibition by propyl gallate. *Plant Physiol.*, **65**, 669-674
- 300) Beevers, H. 1956: Utilization of glycerol in the tissues of the castor bean seedling. *Plant Physiol.*, **31**, 440-445
- 301) Beevers, H. 1957: Incorporation of acetate-carbon into sucrose in castor bean tissues. *Biochem. J.* **66**, 23-24
- 302) Nátr, L. 1975: Influence of mineral nutrition on photosynthesis and the use of assimilates. In *Photosynthesis and productivity in different environments*, J.P. Cooper, Ed. pp. 537-555. Cambridge Univ. Press, London.
- 303) Gulmon, S.L. and Chu, C.C. 1981: The effects of light and nitrogen on photosynthesis, leaf characteristics, and dry matter allocation in the chaparral shrub, *Diplacus aurantiacus*. *Oecologia*, **49**, 207-212
- 304) Hirose, T. and Kitajima, K. 1986: Nitrogen uptake and plant growth. I. Effect of nitrogen

- removal on growth of *Polygonum cuspidatum*. *Ann. Bot.*, **58**, 479-486
- 305) Hirose, T., Werger, M.J.A., Pons, T.L., and van Rheenen, J.W.A. 1988: Canopy structure and leaf nitrogen distribution in a stand of *Lysimachia vulgaris* L. as influenced by stand density. *Oecologia*, **77**, 145-150
- 306) Hirose, T., Werger, M.J.A., and Van Rheenen, W.A. 1989: Canopy development and leaf nitrogen distribution in a stand of *Carex acutiformis*. *Ecology*, **70**, 1610-1618
- 307) Sinclair, T.R. and Horie, T. 1989: Leaf nitrogen, photosynthesis, and crop radiation use efficiency: A review. *Crop Sci.*, **29**, 90-98
- 308) Evans, J.R. 1989: Photosynthesis and nitrogen relationships in leaves of C_3 plants. *Oecologia*, **56**, 341-347
- 309) Murata, Y. 1961: Studies on the photosynthesis of rice plants and its culture significance. *Bull. Natl. Inst. Agric.*, **D-9**, 1-169
- 310) Hayami, K. 1982: Studies on the physiological and ecological characteristics of high yielding rice variety with high fertilizer response 1. The effect of nitrogen supply on the photosynthetic characteristics of high yielding rice variety with high fertilizer response. *Bull. Tohoku Natl. Agric. Exp. Stn.* **67**, 43-75
- 311) Field, C. 1983: Allocating leaf nitrogen for the maximization of carbon gain: leaf age as a control on the allocation program. *Oecologia*, **56**, 341-347
- 312) Ingestad, T. and Ågren, G.I. 1992: Theories and methods on plant nutrition and growth. *Physiol. Plant.*, **84**, 177-184
- 313) Greenwood, D.J., Gastal, F., Lemaire, Draycott, A., Millard, P., and Neeteson, J.J. 1991: Growth rate and %N of field grown crops: Theory and Experiments. *Ann. Bot.*, **67**, 191-190
- 314) 中村卓司 1996 : イネ科作物とマメ科作物における炭素・窒素相互関係の作物間差の解析 (博士論文)
- 315) Ogren, W.L. 1984: Photorespiration: Pathways, regulation, and modification. *Annu. Rev. Plant Physiol.*, **35**, 415-422
- 316) Osaki, M. 1995: Ontogenetic changes of N, P, and K contents in individual leaves of field crops. *Soil Sci. Plant Nutr.*, **41**, 429-438

- 317) Bouma, T.J., De Visser, R., Janssen, J.H.J.A., De Kock, M.J., Van Leeuwen, P.H., and Lambers, H. 1994: Respiratory energy requirements and rate of protein turnover in vivo determined by the use of an inhibitor of protein synthesis and a probe to assess its effect. *Physiologia Plantarum* **92**, 585-594
- 318) Barneix, A.J., Cooper, H.D., Stulen, I., and Lambers, H. 1988: Metabolism and translocation of nitrogen in two *Lolium perenne* populations with contrasting rates of mature leaf respiration and yield. *Physiologia Plantarum* **72**, 631-636
- 319) Lexander, K., Carlsson, R., Schalen, V., Simonsson, A., and Lundborg, T. 1970 : Quantities and qualities of leaf protein concentrates from wild species and crop species grown under controlled conditions. *Ann. Appl. Biol.*, **66**, 193-216
- 320) Kawahara, T., Hayiya, K., Takeuti, I., and Sato, A. 1976 : Relationship between respiration rate and nitrogen concentration of trees. *Jpn. Jour. Ecol.*, **26**, 165-170
- 321) Merino, J., Field, C., and Mooney, H.A. 1982 : Construction and maintenance costs of Mediterranean-climate evergreen and deciduous leaves. I. Growth and CO₂ exchange analysis. *Oecologia*, **53**, 203-213
- 322) Waring, R.H., McDonald, A.J.S., Larsson, S., Ericsson, T., Wiren, A., Arwidsson, E., Ericsson, A., and Lohammar, T. 1985 : Differences in chemical composition of plants grown at constant relative growth rates with stable mineral nutrition. *Oecologia*, **66**, 157-160
- 323) Ryan, M.G. 1991 : The effect of climate change on plant respiration. *Ecol. Applications*, **1**, 157-167
- 324) Ryan, M.G. 1995 : Foliar maintenance respiration of subalpine and boreal trees and shrubs in relation to nitrogen content. *Plant Cell, Environ.*, **18**, 765-772
- 325) 大崎満, 田中明 1979: 水稻の呼吸基質としての“初期光合成産物”と“貯蔵物質”, 土肥誌, **50**, 540~546
- 326) McCree, K.J. & Amthor, M.E. 1982 : Effects of diurnal variation in temperature on the carbon balances of white clover plants. *Crop Sci.* **22**, 822-827.
- 327) Nilovskaya, N.T. and Smirnov, M.O. 1983 : Influence of environmental factors on

components of dark respiration in wheat. *Sov. Plant Physiol.*, 30, 819-823

- 328) Kase, M. and Catsky, J. 1984 : Maintenance and growth components of dark respiration rate in leaves of C_3 and C_4 plants as affected by leaf temperature. *Biologia Plantarum*, 2, 461-470
- 329) Johnson, I.R. and Thornley, J.H.M. 1985 : Temperature dependence of plant and crop processes. *Ann. Bot.*, 55, 1-24
- 330) Woledge, J. and Pearse, P.J. 1985 : The effect of nitrogenous fertilizer on the photosynthesis of leaves of a ryegrass sward. *Grass and Forage Sci.*, 40, 305-309