

水田および畑土壌における遊離アミノ酸の ^{13}C , ^{15}N トレーサー法による動態解析

誌名	日本土壌肥料学雑誌 = Journal of the science of soil and manure, Japan
ISSN	00290610
著者名	山室,成一 上野,秀人 高橋,茂
発行元	日本土壌肥料学会
巻/号	70巻6号
巻号補足	
掲載ページ	p. 739-746
発行年月	1999年12月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター
Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council
Secretariat



水田および畑土壌における遊離アミノ酸の

^{13}C , ^{15}N トレーサー法による動態解析*1

山室成一*2・上野秀人*3・高橋 茂*4

キーワード 遊離アミノ酸, ^{13}C , ^{15}N

1. はじめに

施用した有機物由来の遊離アミノ酸やペプチド、低分子有機酸等の直接吸収が作物生理に与える影響の検討がほとんどなされていないため、無機栽培に対する有機栽培の優位性が明確になっていない。ここでは、水田土壌または畑土壌に水稻、トマトを栽培して作物による遊離アミノ酸の直接吸収とアンモニアへの分解後の吸収について比較検討したので報告する。

2. 試験方法

1) 供試土壌

供試水田土壌は、中国農業試験場（広島県福山市）水田の細粒質灰色低地土（佐賀統，T-C 1.2%，T-N 0.11%，pH 6.4）の作土を採取し、攪拌・混合して均一化したものを使用した。また、供試畑土壌は、同試験場の転換畑土壌（T-C 1.0%，T-N 0.097%，pH 6.6）を採取し、同様に均一化したものを使用した。

2) 試験区の構成，施肥法，品種および試料採取

水田土壌供試区：ワグネルポット（0.02 m²）に 3.8 kg の水田土壌を入れ、水を加えて代かきをした後、1991 年 8 月 14 日に水稻（金南風）苗を移植し、ガラス室内で栽培した。使用アミノ酸処理を ^{13}C - ^{15}N 標識区と $^{15}\text{NH}_4$ トレーサー添加区との違いから、遊離アミノ酸（以下、アミノ酸と記す）の動態解析を行った。すなわち ^{13}C - ^{15}N アミノ酸施用， ^{15}N アミノ酸施用，アミノ

酸+ $^{15}\text{NH}_4$ トレーサー施用（ $^{15}\text{NH}_4\text{Cl}$ 使用）の 3 処理区を設けた。

^{13}C - ^{15}N アミノ酸施用では ^{15}N と $1\text{-}^{13}\text{C}$ の二重標識アラニン区（ $\text{CH}_3\text{CH}(^{15}\text{NH}_2)^{13}\text{COOH}$ ，Ala- $1\text{-}^{13}\text{C}$ - ^{15}N 区と略す。実際には $\text{CH}_3\text{CH}(^{15}\text{NH}_2)\text{COOH}$ ， $\text{CH}_3\text{CH}(\text{NH}_2)^{13}\text{COOH}$ ， $\text{CH}_3\text{CH}(\text{NH}_2)\text{COOH}$ の混合物を使用。これは， $\text{CH}_3\text{CH}(^{15}\text{NH}_2)^{13}\text{COOH}$ と $\text{CH}_3\text{CH}(\text{NH}_2)\text{COOH}$ の混合物の使用より同位体効果が小さく，安価である。以下同様），同アスパラギン酸区（Asp- $1\text{-}^{13}\text{C}$ - ^{15}N ），同グルタミン酸区（Glu- $1\text{-}^{13}\text{C}$ - ^{15}N ，グルタミン酸ナトリウム水和物として施用），同ロイシン区（Leu- $1\text{-}^{13}\text{C}$ - ^{15}N ），同セリン区（Ser- $1\text{-}^{13}\text{C}$ - ^{15}N ）の 5 区を設けた。

^{15}N アミノ酸施用では， ^{15}N 標識アラニン区（ $\text{CH}_3\text{CH}(^{15}\text{NH}_2)\text{COOH} + \text{NH}_4\text{-N}$ （14.01 mg）施用（ $\text{NH}_4\text{-Cl}$ 使用），Ala- ^{15}N 区と略す。以下同様），同アスパラギン酸区（Asp- ^{15}N 区），同グルタミン酸区（Glu- ^{15}N 区），同ロイシン区（Leu- ^{15}N 区），同セリン区（Ser- ^{15}N 区）の 4 区を設けた。

アミノ酸+ $^{15}\text{NH}_4$ トレーサー施用では，アラニン，アスパラギン酸，グルタミン酸，セリンのそれぞれにアンモニアトレーサー（99.43 atom% ex. $^{15}\text{NH}_4\text{-N}$ として 15.00 mg を施用，14.01 mg N に相当）を添加した。以下それぞれ Ala+ $t^{15}\text{N}$ 区，Asp+ $t^{15}\text{N}$ 区，Glu+ $t^{15}\text{N}$ 区，Ser+ $t^{15}\text{N}$ 区と略す。

合計 13 種類のアミノ酸処理はそれぞれ 100 mL の水に溶かした後，8 月 27 日にポット土壌へ表層施用した。 ^{13}C - ^{15}N アミノ酸施用の 5 処理区については 9 月 9 日に水稻を採取し， ^{15}N アミノ酸施用の 4 区およびアミノ酸+ $^{15}\text{NH}_4$ トレーサー施用の 4 区は 9 月 3 日に水稻および土壌を採取した。前処理および ^{15}N 分析は前報¹⁾と同様の方法で行い，アミノ酸由来窒素およびトレーサーアンモニア由来窒素の土壌残存量，アンモニア態窒素量，水稻吸収量および脱窒量を求めた。

*1 本報告の一部は，1992 年 3 月，日本土壌肥科学会新潟大会において発表した。

*2 中国農業試験場（現在，佐賀大学農学部 840-8502 佐賀市本庄町本庄 1）

*3 同上（現在，愛媛大学農学部附属農場 799-2424 北条市八反地甲 498）

*4 同上（現在，農業研究センター 305-8666 つくば市観音台 3-1 1）

1997 年 12 月 11 日 受付・1999 年 1 月 14 日 受理

日本土壌肥科学雑誌 第 70 巻 第 6 号 p. 739~746 (1999)

第 1 表 水田土壤中に施用したアミノ酸態窒素とアンモニア態窒素の動態

試験区	土壌中 ^{15}N			土壌中 $\text{NH}_4\text{-}^{15}\text{N}$			水稻吸収 ^{15}N			同化 割合*	脱窒 割合
	土壌 N (mg/pot)	atom%ex.	存在割合 (%)	$\text{NH}_4\text{-N}$ (mg/pot)	atom%ex.	存在割合 (%)	水稻 N (mg/pot)	atom%ex.	存在割合 (%)		
Ala- ^{15}N	2810	0.147	53.9**	73.81	2.964	28.5	141.7	2.392	44.2	25.4	1.9
Ala+t ^{15}N	2607	0.280	52.4***	73.22	4.995	26.3	146.7	4.152	43.7	26.1	3.9
Asp- ^{15}N	2869	0.201	56.1	56.71	5.658	31.2	123.3	3.140	37.6	24.9	4.6
Asp+t ^{15}N	2939	0.264	55.7	55.18	7.696	30.5	122.2	4.521	39.7	25.2	4.6
Glu- ^{15}N	2836	0.172	52.4	71.04	3.681	28.1	128.4	2.692	38.7	24.3	8.9
Glu+t ^{15}N	2761	0.268	53.1	68.41	5.959	29.2	111.3	4.384	35.0	23.9	11.9
Ser- ^{15}N	2806	0.111	47.9	48.95	2.612	19.6	166.6	1.786	45.6	28.3	6.5
Ser+t ^{15}N	2854	0.273	55.9	45.65	7.923	26.0	136.2	4.419	43.2	29.9	0.9

各アミノ酸の施用量は 400.0 mg, その中に下記の ^{15}N が含まれている。

Ala の ^{15}N 量は, 7.77 mg N, Asp のそれは 10.44 mg N, Ser のそれは 6.61 mg N 相当量の 98.63 atom%ex. ^{15}N , また, Glu のそれは 9.45 mg N 相当量の 94.63 atom%ex. ^{15}N , t ^{15}N は 14.01 mg N 相当量 (N は自然界の窒素を示す) の 99.43 atom%ex. ^{15}N を施用。

* 土壌微生物による取込み・同化割合, ** $[(2810 \times 0.147) / 98.63] / 7.77 \times 100 = 53.9$, *** $[(2607 \times 0.280) / 99.43] / 14.01 \times 100 = 52.4$.

第 2 表 水稻によるアミノ酸 $\text{RCH}(\text{NH}_2)\text{COOH}$ の ^{13}C , ^{15}N 吸収

試験区	水稻 部位	乾物量 (g)	C 量 (mg)	^{13}C atom%ex.	C 相当量 (mg)	^{13}C 吸収 (%)	N 量 (mg)	^{15}N atom%ex.	N 相当量 (mg)	^{15}N 吸収 (%)
Ala	葉身	3.99	1520	0.030	0.466		129.1	2.122	2.78	
	葉鞘	3.05	1119	0.038	0.434		41.3	1.923	0.81	
	根	1.82	610	0.031	0.195		19.1	1.836	0.36	
	全体	8.86	3249	0.033	1.095	5.5*	189.5	2.050	3.94	50.7**
Asp	葉身	3.31	1177	0.022	0.264		101.5	3.432	3.53	
	葉鞘	3.07	1158	0.046	0.544		36.5	3.287	1.22	
	根	1.90	534	0.042	0.229		15.9	3.056	0.49	
	全体	8.28	2869	0.035	1.037	7.7	153.9	3.359	5.24	50.2
Glu	葉身	3.43	1308	0.019	0.254		131.5	2.618	3.64	
	葉鞘	3.07	1093	0.042	0.469		52.7	2.414	1.34	
	根	1.91	608	0.029	0.180		21.5	2.211	0.50	
	全体	8.41	3009	0.029	0.903	7.4	205.7	2.536	5.48	58.0
Ser	葉身	3.28	1290	0.036	0.474		109.1	2.073	2.29	
	葉鞘	2.72	989	0.034	0.343		37.4	1.940	0.74	
	根	1.85	557	0.028	0.159		18.5	1.800	0.34	
	全体	7.85	2836	0.034	0.976	5.7	165.0	2.012	3.37	50.9
Leu	葉身	2.74	1089	0.061	0.679		90.7	3.550	3.40	
	葉鞘	2.34	833	0.074	0.630		31.1	3.492	1.11	
	根	1.36	381	0.067	0.261		14.2	3.292	0.48	
	全体	6.44	2303	0.067	1.57	11.5	136.0	3.510	4.99	47.6

各アミノ酸の施用量は 400.0 mg, その中に下記の ^{13}C , ^{15}N が含まれている。

Ala : 19.98 mg C 相当量の ^{13}C 97.89 atom%ex., 7.77 mg N 相当量の ^{15}N 98.63 atom%ex.

Asp : 13.42 mg C 相当量の ^{13}C 97.89 atom%ex., 10.44 mg N 相当量の ^{15}N 98.63 atom%ex.

Glu : 12.14 mg C 相当量の ^{13}C 97.89 atom%ex., 9.45 mg N 相当量の ^{15}N 94.63 atom%ex.

Ser : 17.00 mg C 相当量の ^{13}C 97.89 atom%ex., 6.61 mg N 相当量の ^{15}N 98.63 atom%ex.

Leu : 13.62 mg C 相当量の ^{13}C 97.89 atom%ex., 10.59 mg N 相当量の ^{15}N 94.63 atom%ex.

* $[(3249 \times 0.033) / 97.89] / 19.98 \times 100 = 5.5$.

** $[(189.5 \times 2.050) / 98.63] / 7.77 \times 100 = 50.7$.

第3表 トマトによるアミノ酸 $\text{RCH}(^{15}\text{NH}_2)^{13}\text{COOH}$ の ^{13}C 、 ^{15}N 吸収

試験区	^{13}C			^{15}N		
	全C量 (mg/pot)	atom%ex.	吸収割合 (%)	全N量 (mg/pot)	atom%ex.	吸収割合 (%)
Ala	1273	0.006	0.4	90.3	2.567	30.2
Asp	1205	0.010	0.9	87.7	2.439	20.8
Glu	1392	0.011	1.3	88.1	2.485	24.5
Ser	1216	0.011	0.8	97.8	1.580	23.7
Leu	1200	0.017	1.5	69.0	2.546	17.5

アミノ酸の施用量は400.0 mg.

Ala, Asp, Glu, Ser, Leu の ^{13}C 、 ^{15}N のC、N相当量とそれらのatom%ex. は第2表のそれと同じ.

畑土壌供試区：水田土壌の場合と同様に、2 mm のふるいを通した3 kg の畑土壌を0.02 m² ポット5個にそれぞれ入れ、草丈15 cm 程度のトマト（桃太郎）苗を10月2日に移植し、ガラス室内で栽培した。10月14日 Ala-1- ^{13}C - ^{15}N 、Asp-1- ^{13}C - ^{15}N 、Glu-1- ^{13}C - ^{15}N 、Leu-1- ^{13}C - ^{15}N 、Ser-1- ^{13}C - ^{15}N を100 mL の水に溶かして各ポットにそれぞれ表層施用した。10月28日に草丈40 cm 程度になった植物体を根ごと採取し、根は洗浄して付着土壌を取り除いた。水稻の場合と同様に、 ^{13}C 、 ^{15}N 分析をし、 ^{13}C 、 ^{15}N の吸収割合を求めた。

両土壌供試区のアミノ酸施用量、 ^{13}C 、 ^{15}N 量およびそれらのatom%ex. は第1表、第2表、第3表に示した。

3) 水田土壌におけるトレーサー $^{15}\text{NH}_4\text{-N}$ の同化、脱窒、水稻吸収割合

(1) 同化割合：水田土壌に施用した $\text{NH}_4\text{-N}$ の短期間における動態は、主に水稻による吸収と土壌微生物による取込み（＝同化）、脱窒に分けられ、いわゆる粘土鉱物や高分子腐植物質による固定は小さいと考えられる。特に供試土壌は花崗岩を母材とし、有機物含量も少ないため、本試験における固定の影響は無視できると考えられる。また水田作土中では、 $\text{NO}_3\text{-N}$ は $\text{NH}_4\text{-N}$ の1/1000 程度しか存在しておらず²⁾、 $\text{NO}_2\text{-N}$ は5 か月間に0.9～3.4 g ha⁻¹ 程度しか揮散がない³⁾ ことから、土壌中には微量しか存在していないと考えられる。また、 $\text{N}_2\text{O-N}$ は一時的にごくわずしか検出されない⁴⁾ ので、 $\text{NO}_x\text{-N}$ プールの量は無視できると考えられる。以上のことから、 $^{15}\text{NH}_4\text{-N}$ を土壌に施用し、その1週間後までに土壌微生物によって同化された ^{15}N の割合は、次のように表される。

^{15}N の同化割合

$$= (\text{土壌中の } ^{15}\text{N 量} - \text{土壌中の } ^{15}\text{NH}_4\text{-N 量}) / \text{施用 } ^{15}\text{N 量}$$

施用したトレーサー $^{15}\text{NH}_4\text{-N}$ のうち、1週間内に再無機化（微生物が取り込み、同化し、さらに微生物の死滅とともに分解されてアンモニアを放出）する量は4%程度であると報告されている⁵⁾ ので、ここではこれを無視した。

(2) 水稻吸収割合：水稻吸収割合は次式から求めた。

$$\text{水稻吸収割合} = \text{水稻吸収 } ^{15}\text{N 量} / \text{施用 } ^{15}\text{N 量}$$

(3) 脱窒割合：本研究はポット試験であるので溶脱はなく、前述したように、 NH_3 や NO_x の揮散はいずれも無視できる。以上のことから ^{15}N の脱窒割合を下記の式から求めた。

^{15}N の脱窒割合

$$= (\text{施用 } ^{15}\text{N 量} - \text{土壌中の } ^{15}\text{N 量} - \text{水稻吸収 } ^{15}\text{N 量}) / \text{施用 } ^{15}\text{N 量}$$

4) アミノ酸の作物による直接吸収割合とアンモニアへの分解後の吸収割合の求め方

アミノ酸の中で、アンモニアへの分解が非常に速いグリシン ($\text{CH}_2^{15}\text{NH}_2^{13}\text{COOH}$ や $^{13}\text{CH}_2\text{NH}_2\text{COOH}$) を最高分けつ期に施用し、10日後に水稻の ^{13}C 、 ^{15}N 吸収割合を求めたところ、 ^{15}N の吸収割合は33.0%、2- ^{13}C の吸収割合は1.5%⁶⁾、カルボキシル基の1- ^{13}C のそれはほとんど0%であった⁷⁾ と報告されている。1- ^{13}C の吸収は $\text{CH}_2\text{NH}_2^{13}\text{COOH}$ 、 $\text{CH}_3^{13}\text{COOH}$ 、 H^{13}COOH として吸収されたと考えられるが、グリシンの場合この1- ^{13}C の吸収がほとんどなかったことはグリシンからの脱炭酸は非常に速く、土壌中で炭酸としてとどまらず、すみやかに CO_2 として空气中に揮散することを示している。すなわち、グリシンからの分解物 H^{13}COOH の吸収は0に近いと考えられる。一般のアミノ酸と比べて土壌中では分解が速いグリシンは、分解物 CH_4 、 $\text{CH}_3\text{-COOH}$ および $\text{CH}_2(\text{NH}_2)\text{COOH}$ として吸収されると考えられるが、前述した知見から CH_4 としての吸収が大部分であると考えられる。グリシンと比べて他のアミノ

酸の分解はそれほど速くはないので、 $\text{RCH}_2^{13}\text{COOH}$ の吸収は比較的多く、また R^{13}CH_3 プールの大きさは、 CH_4 プールに比べてかなり小さいと考えられるので、 RCH_3 の吸収はわずかである。したがって、一般のアミノ酸 $\text{RCH}(\text{NH}_2)^{13}\text{COOH}$ は、ほとんどが $\text{RCH}_2^{13}\text{COOH}$ と $\text{RCH}(\text{NH}_2)^{13}\text{COOH}$ として吸収されると考えられる。また、アラニンの場合、 $\text{CH}_3\text{CH}^{15}\text{NH}_2^{13}\text{COOH}$ から $^{15}\text{NH}_4\text{-N}$ への脱アミノ反応速度と脱カルボキシル基反応速度とを比較してみると、後者の方が速いことがわかった⁸⁾。またさらに、 $^{13}\text{CH}_3$ 部分の炭素を $3\text{-}^{13}\text{C}$ 、 ^{13}CH 部分の炭素を $2\text{-}^{13}\text{C}$ 、 $^{13}\text{COOH}$ 部分の炭素を $1\text{-}^{13}\text{C}$ と略記するが、それらの分解速度は $1\text{-}^{13}\text{C} > 3\text{-}^{13}\text{C} > 2\text{-}^{13}\text{C}$ であった⁸⁾。したがって、ここではグリシンを除く一般のアミノ酸の直接吸収割合はその $1\text{-}^{13}\text{C}$ の吸収割合から、また、アンモニアへの分解後の吸収割合はアミノ酸- $1\text{-}^{13}\text{C}$ - ^{15}N の ^{15}N 吸収割合から ^{13}C 吸収割合を差引いた値として求めた。

5) 試料の ^{13}C 、 ^{15}N atom% 測定

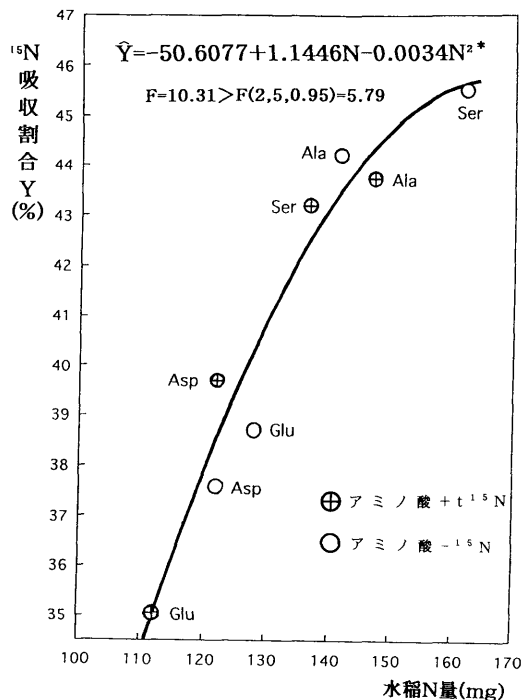
試料の ^{13}C atom% 測定は赤外分光法 ($^{13}\text{CO}_2$ アナライザー EX・130S 型を使用した) で行った。試料の ^{13}C 測定が数点進むごとに 1 点の割合で自然存在比を測定し、測定法の安定性を確認した。試料の ^{15}N atom% 測定は発光分光分析精密測定法⁹⁾ で行った。

3. 試験結果および考察

1) 表層施用したアミノ酸- ^{15}N とトレーサー $^{15}\text{NH}_4\text{-N}$ の 1 週間後における土壌微生物による同化割合、脱窒割合、および水稻吸収割合

分けつ盛期に表層追肥したアミノ酸- ^{15}N 区と t^{15}N 区の 1 週間後の土壌微生物による同化割合、脱窒割合および水稻による吸収割合を第 1 表に示した。アミノ酸- ^{15}N を施用してから 1 週間目までに土壌中で無機化蓄積してきた $^{15}\text{NH}_4\text{-N}$ の存在割合 (施用したアミノ酸- ^{15}N に対する割合) はセリンで 19.6%、アラニン、アスパラギン酸、グルタミン酸で 28.1~31.2% であり、セリンでやや低かったが、その他のアミノ酸では同程度であった。また、 t^{15}N の土壌中における存在割合 (トレーサー施用 1 週間後の値であるので、現存 $^{15}\text{NH}_4\text{-N}$ の中には t^{15}N を微生物が取込み同化した後に再無機化したものがわずかに含まれていると考えられる^{5,10)}) は 26.0~30.5% と、施用 1 週間後のアミノ酸由来のアンモニア残存割合とあまり相違がなかった。

次に、アミノ酸由来窒素の水稻吸収割合はアスパラギン酸とグルタミン酸施用区で 37.6 と 38.7%、アラニンとセリンで 44.2 と 45.6% であった。また、 t^{15}N の水稻



第 1 図 水稻採取時の水稻 N 量と ^{15}N 吸収割合の関係

吸収割合もアスパラギン酸とグルタミン酸施用区で 39.7 と 35.0%、アラニンとセリン施用区で 43.7 と 43.2% であり、同じアミノ酸施用区のアミノ酸- ^{15}N と t^{15}N の水稻吸収割合にあまり相違がなかった。第 1 図はアミノ酸- ^{15}N とアミノ酸+ t^{15}N 区的水稻による ^{15}N 吸収割合 $Y(\%)$ と水稻試料採取時の水稻 N 量 (mg) の関係を図示したものである。⊕はアミノ酸+ t^{15}N 区、○はアミノ酸- ^{15}N 区のそれであり、 Y の N に対する回帰曲線が $\beta_0 + \beta_1\text{N} + \beta_2\text{N}^2$ という形を取るものと仮定し、この線型 2 次回帰モデル式の推定量を回帰分析により求めた。

この F 値は 10.31 であった。10.31 > $F(2,5,0.95) = 5.79$ より、ここに示す ^{15}N 吸収割合の推定値は危険率 5% 水準で有意であった。 ^{15}N 施用時の水稻の N 吸収量が近似するものを供試するほど、 t^{15}N と各アミノ酸 ^{15}N の水稻吸収割合はより近似する値をとるものと考えられる。これらの結果により、危険率 5% の水準で t^{15}N と各アミノ酸- ^{15}N の水稻吸収割合が同じであるといえる。

次に、施用した各アミノ酸- ^{15}N の試料採取時の土壌微生物による同化割合は 24.3~28.3% であり、いずれ

のアミノ酸ともに同程度であった。また、各 $t^{15}\text{N}$ の同化割合は、セリン施用区で29.9%とやや高かったが、アスパラギン酸、グルタミン酸、アラニン施用区では23.9~26.1%であり、アミノ酸由来の同化割合とほとんど同様な値であった。以上のように、アミノ酸態 ^{15}N 区の施用1週間後における $^{15}\text{NH}_4\text{-N}$ の存在割合がアミノ酸+ $t^{15}\text{N}$ 区と同様であったことは土壌中でのアミノ酸のアンモニアへの分解がかなり速く、施用直後にほとんどアンモニアになってしまったためと考えられる。

2) 水稲によるアミノ酸 $\text{RCH}(^{15}\text{NH}_2)^{13}\text{COOH}$ の ^{13}C 、 ^{15}N 吸収割合

ここでは水田土壌中における施用アミノ酸- $1\text{-}^{13}\text{C}$ とアミノ酸+ $t^{15}\text{N}$ の存在割合の推移について、水稲によるアミノ酸 $\text{RCH}(^{15}\text{NH}_2)^{13}\text{COOH}$ の ^{13}C 、 ^{15}N 吸収割合から検討したい。

分けつ盛期に標識アミノ酸を表層施用して13日後の ^{13}C と ^{15}N の水稲吸収割合を第2表に示した。 $1\text{-}^{13}\text{C}$ の吸収割合から判断した水稲によるアミノ酸の直接吸収割合はアラニンで5.5、アスパラギン酸で7.7、グルタミン酸で7.4、セリンで5.7%であり、ロイシンでは11.5%であった。 $1\text{-}^{13}\text{C}$ の吸収割合はR側鎖の炭素原子数が1個のアラニン、セリンより、2個のアスパラギン酸、3個のグルタミン酸でやや高く、4個あるロイシンで最も高いという傾向が見られた。すなわち、R側鎖の炭素原子数が多いアミノ酸ほど $1\text{-}^{13}\text{C}$ を含むカルボキシル基の分解が遅いと考えられる。 ^{15}N 吸収割合はアラニンで50.7、アスパラギン酸で50.2、セリンで50.9%であり、ほぼ同じ値であったが、これらに比べてグルタミン酸では58.0%とやや高く、ロイシンでは47.6%とやや低かった。これは水稲採取時の水稲 N 量と ^{15}N 吸収割合の関係(第1図)の結果から、試料採取時のGlu区の水稲 N 量がAla区、Asp区、Ser区に比べて大きく、Leu区に比べて小さかったことが影響していると考えられる。 ^{15}N と $1\text{-}^{13}\text{C}$ の吸収割合の差から求めた、アミノ酸- ^{15}N の $^{15}\text{NH}_4\text{-N}$ への分解後の吸収割合は、アラニン- ^{15}N の吸収割合50.7から $1\text{-}^{13}\text{C}$ の吸収割合を差し引いて45.2、アスパラギン酸で42.5、グルタミン酸で47.2、セリンで45.2%と同程度であったが、ロイシンでは36.1%とやや低かった。

前述したように、アミノ酸- ^{15}N と $t^{15}\text{N}$ の吸収割合はほとんど同じ値が得られている(第1表)。アラニンを例にすると、Ala- ^{15}N 施用1週間後の ^{15}N 吸収割合は44.2%であり、Ala+ $t^{15}\text{N}$ のそれも43.7%であった。このことから、Ala- ^{15}N はアミノ酸のまま水稲に直接吸収されたものとアンモニアに分解された後に吸収されたもの

の吸収割合(それぞれの現存 ^{15}N 量に対する吸収量)はほぼ同じ様であると推論された。しかし、施用13日後のAla- $1\text{-}^{13}\text{C}$ の吸収割合は5.5%、Ala- ^{15}N の吸収割合は50.7%であったことから、Ala- $1\text{-}^{13}\text{C}$ が短時間のうちに、水稲や微生物に直接取り込まれたり、分解されて $1\text{-}^{13}\text{C}$ は $^{13}\text{CO}_2$ となり、速やかに揮散したと考えられる。一方、残存しているAla- ^{15}N は時間とともに分解されて $^{15}\text{NH}_4\text{-N}$ になり、Ala- ^{15}N とともに微生物による取込み・同化と硝化・脱窒、水稲による吸収へと移行していったと考えられる。それにもかかわらず、Ala- ^{13}C や、Ala- ^{15}N の存在量に対する水稲の吸収量の割合と $t^{15}\text{N}$ 存在量に対する水稲の吸収量の割合にはほとんど相違がないと考えられる。

ここで、施用したアミノ酸- $1\text{-}^{13}\text{C}$ と $t^{15}\text{N}$ の土壌中における存在割合の推移を検討したい。

ある与えられた期間のスタート時を t_0 、期間内の任意の時を t 、 ^{13}C が土壌中にわずかに現存している状態を施用時の1%($t^{15}\text{N}$ の場合、分けつ盛期に施用した $^{15}\text{N}_0$ がわずかに残存している量はその1%前後¹⁰⁾であるので、ここでは1%残存とした)とし、その時を t_m 、終時を t_n (t_0 から1週間以内)とする。また、 t_0 時に水田土壌中に施用されたアミノ酸- $1\text{-}^{13}\text{C}$ および $t^{15}\text{N}$ の量を $^{13}\text{C}_0$ および $^{15}\text{N}_0$ 、それらの t 時における量を ^{13}C および ^{15}N 、 t_m 時における量を $^{13}\text{C}_m$ および $^{15}\text{N}_m$ 、 t_n 時における量を $^{13}\text{C}_n$ および $^{15}\text{N}_n$ とすると、 $t^{15}\text{N}$ の現存割合の推移は $^{15}\text{N}/^{15}\text{N}_0=e^{-k't}$ で示される¹¹⁾。同様に、アミノ酸- $1\text{-}^{13}\text{C}$ の現存割合の推移は $^{13}\text{C}/^{13}\text{C}_0=e^{-k't}$ で示される。 k および k' は定数である。すると、 t_m 時には、次式が成立する。

$$^{13}\text{C}_m/^{13}\text{C}_0=e^{-k't_m}=0.01 \quad (1)$$

Ala- $1\text{-}^{13}\text{C}$ の場合、 t_0 から t_m 時の任意の t 時における ^{13}C の存在量に対する吸収量の割合を P_c (t_0 から t_m までの時間は短時間であると考えられるので P_c は一定とする)とすると、 t 時における微小時間 Δt の水稲 ^{13}C 吸収割合は $(^{13}\text{C}/^{13}\text{C}_0)\Delta t \cdot P_c=(e^{-k't}\Delta t) \cdot P_c$ であるので、Ala- $1\text{-}^{13}\text{C}$ の吸収割合0.055との間には次式が成立する。

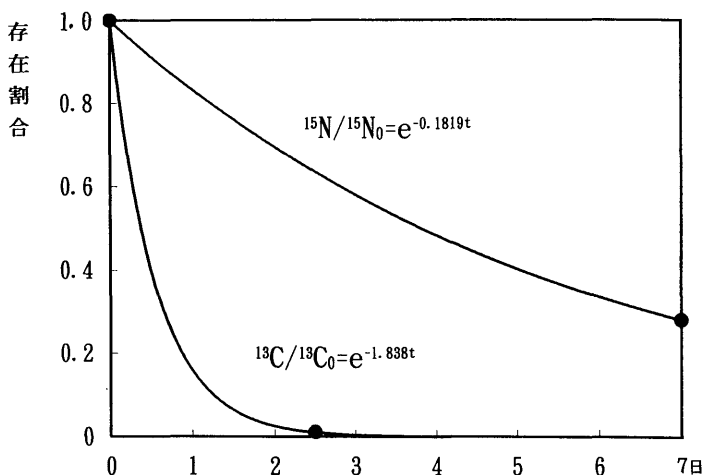
$$\left(\int_0^{t_m} e^{-k't} dt\right) \cdot P_c=0.055 \quad (2)$$

②式は $(e^{-k't_m}-1) \cdot P_c/(-k')=0.055$ となり、これを整理し、

$$0.99 P_c=0.055 k' \quad (2')$$

が得られる。

同じく、 $t^{15}\text{N}$ の施用7日後における土壌中の平均存在割合は0.280であるので、 $e^{-k \times 7}=0.280$ となり、 $k=$

第2図 土壌中における Ala-1- ^{13}C と $t^{15}\text{N}$ の存在割合の推移

0.1819 となる。t 時における ^{13}C および ^{15}N 存在量に対する水稻の ^{13}C および ^{15}N 吸収量の割合を Pc および Pn とすると、前述したように、Pc と Pn の間にはほとんど相違がないと考えられる。

さらに $t^{15}\text{N}$ の平均吸収割合は 0.404 であるので、次式が成立する。

$$\left(\int_0^7 e^{-0.1819t} dt\right) \cdot \text{Pn} = 0.404 \quad (3)$$

③式から $\text{Pn}(=\text{Pc}) = 0.1021$ が得られる。これを②'式に代入して、 $k' = 1.838$ となる。これを①式に代入すると、 $t_m = 2.51$ 日が得られる。同様に、Asp-1- ^{13}C の場合は、

$$\left(\int_0^{t_m} e^{-k' t} dt\right) \cdot \text{Pc} = 0.077$$

とおき、同様に計算すると、 $t_m = 3.41$ 日となる。この結果をもとに、土壌中における Ala-1- ^{13}C と $t^{15}\text{N}$ の存在割合の推移は第2図のとおりである。さらに、セリン、グルタミン酸、ロイシンでは t_m は 2.60 日、3.37 日、5.24 日になる。これは、 $\text{RCH}(\text{NH}_2)\text{COOH}$ のカルボキシル基の脱炭酸速度は一般に R 側鎖の炭素原子の数の多いほど遅いということを示すものであった。

このように、施用されたアミノ酸は 1 日でその 2 割程度になり、2～3 日でほとんどアンモニアに分解して、吸収されているものと考えられる。施用 1 週間後におけるアミノ酸 ^{15}N と $t^{15}\text{N}$ の存在割合が同じような値を示したことは、水稻による吸収割合も同じような値を示したことは土壌中での各アミノ酸のアンモニアへの分解が 2～3 日程度で行われたことを示すとともに、施用アミ

ノ酸- ^{15}N は施用 1 週間後ではアミノ酸- ^{15}N としては存在せず、 $^{15}\text{NH}_4\text{-N}$ になってしまっていると考えられるので、第1表の各アミノ酸区の土壌中 ^{15}N 存在割合から $^{15}\text{NH}_4\text{-N}$ 存在割合を減じて算出される同化割合は、アミノ酸+ $t^{15}\text{N}$ 区の ^{15}N 同化割合と同じで微生物によって取込み・同化されたことを意味する。

3) トマトによるアミノ酸 $\text{RCH}(\text{NH}_2)^{13}\text{COOH}$ の ^{13}C 、 ^{15}N 吸収割合

移植 12 日後に表層施用したアミノ酸-1- ^{13}C の施用 14 日後の ^{13}C と ^{15}N の吸収割合は第3表のとおりである。1- ^{13}C 吸収割合からアミノ酸の直接吸収割合は、アラニンで 0.4、アスパラギン酸で 0.9、グルタミン酸で 1.3、セリンで 0.8、ロイシンで 1.5% となり、水稻に比べ非常に低かった。1- ^{13}C 吸収割合はアラニン < セリン < アスパラギン酸 < グルタミン酸 < ロイシンの順になると考えられる。一方、 ^{15}N 吸収割合はアラニンで 30.2、アスパラギン酸で 20.8、グルタミン酸で 24.5、セリンで 23.7、ロイシンで 17.5% であり、アラニンを除いて、ほとんど 20% 前後の値であり、水稻の ^{15}N 吸収割合に比べてかなり低かった。 ^{15}N と 1- ^{13}C の吸収割合の差から、アミノ酸のアンモニアへの分解後の吸収割合を求めると、アラニンでやや高く 29.8%、ロイシンでやや低く 16.0% であったが、その他のアミノ酸では 20～23% 程度であった。水田土壌に施用したアミノ酸の ^{13}C 吸収割合/ ^{15}N 吸収割合から求めた水稻による直接吸収割合はアミノ酸由来窒素の全吸収量の 10.8～24.4% であったのに対して、畑土壌に施用したアミノ酸のトマトによる直接吸収割合は、アミノ酸由来窒素の全吸収量の

1.3~8.6%とかなり低かった。畑土壌は、湛水状態の水田土壌と比べて酸素が入りやすいため微生物によるアミノ酸の分解がはげしいので、上述の値が小さいと考えられる。土性が同じでも施用有機物の種類や量の相違、灌水と水分ストレス栽培による土壌水分の変化、超深耕から不耕起までの耕起法の相違、土壌中で分解の遅い地力増強作物の鋤込みなどによる土壌孔隙の変化など多くの人為的相違が生じやすい。このため、畑作物によるアミノ酸 $1-^{13}\text{C}-^{15}\text{N}$ 吸収割合の検討はさらに明確な条件設定に基づいて行われる必要があると考えられる。

4) 有機態窒素の吸収と有機栽培との関係

以上の結果から、植物の養分吸収における施用アミノ酸の直接吸収の寄与は少ないことが明らかになった。そこで水田土壌中における遊離アミノ酸プール（以後、アミノ酸プールと記す）の推移をもとに、土壌中におけるアミノ酸-Nの吸収と有機栽培との関係について論議したい。

水田土壌中におけるアミノ酸プールの推移は、アンモニアプールのそれに比べておよそ1/10程度¹²⁾である。前述したように、水稻の栄養生長中期に施用したアミノ酸 $1-^{13}\text{C}-^{15}\text{N}$ の $^{13}\text{C}/^{15}\text{N}$ 吸収比はおよそ1/10程度であった。

水田での土壌有機-Nの推移と有機物堆肥施用との関係を見ると、 2 kg m^{-2} の連年施用数年経過後では化学肥料($\text{NH}_4\text{-N}$ 肥料)連年施用区に比べて土壌全窒素量は、暖地で1割(未発表)、北陸で2割程度上昇¹³⁾(作土層の上昇として現れるので、これ以上と考えられる)し、それ以後はその水準で維持されると考えられる。したがって、水田での有機物連用栽培と無機栽培(前年度の稲かぶ $200\sim 300\text{ g m}^{-2}$ が毎年入る)におけるN吸収の相違は温暖地および暖地では1~2割程度有機栽培で高いと考えられる。しかし、全窒素吸収に占めるアミノ酸-Nの吸収は、1/100~1/50程度の吸収増にしかない¹²⁾ので有機態窒素吸収の面から見て有機栽培が無機栽培に比べて明らかに優っているとはいえないと考えられる。

本試験では畑土壌における施用アミノ酸の直接吸収割合は水田土壌のそれに比べてかなり低い結果であり、アミノ酸の吸収から見て有機吸収という点で優位性はないが、多量施用された有機堆肥の無機化N発現による持続的N吸収という利点があり、この点で有機栽培は無機栽培より優位と考えられる。

4. 要 約

作物によるアミノ酸の直接吸収とアンモニア等への分

解後の吸収等について、アスパラギン酸、セリン、グルタミン酸、アラニン、ロイシンを供試し、 ^{13}C 、 ^{15}N トレーサー法で検討した。

1) 水田土壌にアミノ酸 ^{15}N または $\text{NH}_4\text{-}^{15}\text{N}$ を施用し、両区の1週間後における土壌中アンモニア存在割合、同化、脱窒、吸収の割合を比較検討したところ、それぞれそれほど相違が見られなかった。

2) 分けつ盛期の水稻におけるアミノ酸の直接吸収割合は5.5~7.7%程度と推定された。また、アンモニアへの分解後の吸収割合は42.5~47.2%程度と考えられた。モデル式により、施用されたアミノ酸は2~3日程度でアンモニアにほとんど分解されたと推定された。また、アミノ酸 $\text{RCH}(\text{NH}_2)\text{COOH}$ のカルボキシル基の分解はR側鎖の炭素原子数が多いほど遅くなる傾向が見られた。アミノ酸の存在量に対する吸収量の割合はアンモニアのそれとほとんど同じであると考えられた。

3) 一番花開花直前のトマトにおける施用14日後のアミノ酸の直接吸収割合は0.4~1.9%と非常に低かった。また、アンモニアへ分解後の吸収割合は16.0~29.8%程度であった。畑に施用したアミノ酸由来の全吸収窒素量に対する直接吸収の割合は、1.3~8.6%であり、畑での値が水田でのそれに比べてかなり低かった。

文 献

- 1) 山室成一：水田土壌中における施肥窒素の有機化、脱窒および水稻による吸収，土肥誌，**52**，141~148 (1981)
- 2) 農林水産省北陸農業試験場土壌肥料第2研究室昭和57年度試験成績，湛水前の土壌水分条件が酸化層・還元層の分化発達に及ぼす影響，p. 31~39
- 3) 伊藤滋吉・飯村康二：水田土壌中における窒素の動態に関する研究(第3報)，一稲作期間における $\text{NH}_3\text{-N}$ 、 $\text{NO}_2\text{-N}$ の揮散量について，土肥要旨集，**23**，88 (1977)
- 4) 飯村康二：硝化と脱窒，水田土壌学，山根一郎編，p. 193~201，農山漁村文化協会，東京 (1982)
- 5) 山室成一：水田における窒素の無機化と有機化，脱窒，吸収の動態に関する ^{15}N トレーサー法の理論的アプローチと水稻窒素吸収量予測，九州農試報，**27**，1~64 (1991)
- 6) 農林水産省北陸農業試験場土壌肥料第1研究室昭和53年度試験成績，水稻生育に対する土壌の可溶性窒素化合物の影響に関する研究，グリシンとアンモニアが水稻の生育に与える影響，p. 7~14
- 7) 山室成一・上野秀人・高橋 茂：フリーアミノ酸の無機化，有機化，作物への直接・間接吸収等の動態，土肥要旨集，**38**，89 (1992)
- 8) 山室成一・辻 和記：水田土壌中におけるアラニンの炭素と窒素の動態，1999年度九州支部春季講演会要旨集4番 (1999)
- 9) Yamamuro, S.: The accurate determination of nitrogen-15 with an emission spectrometer. *Soil Sci. Plant Nutr.*, **27**, 405~419 (1981)
- 10) 山室成一：表層および全層施肥 $\text{NH}_4\text{-N}$ と土壌無機化窒素の有機化，脱窒および水稻による吸収，土肥誌，**57**，13~

- 22 (1986)
- 11) 山室成一：水田における窒素の動態に関する ^{15}N トレーサー法の理論的展開，同上，**59**，531～532 (1988)
- 12) 山室成一：水田土壌中の遊離アミノ酸の定量法とその動態，同上，**51**，131～135 (1980)
- 13) 山室成一：細粒質強グライ土水田における土壌無機化窒素の動態と堆肥6年連用との関係，同上，**57**，551～557 (1986)

**Fate of Free Amino Acids in Paddy and Upland Soils
by Using ^{13}C and ^{15}N Tracer Techniques**

Shigekazu Yamamuro¹, Hideto Ueno² and Shigeru Takahashi³

(*Chugoku Agric. Exp. Stn., present addresses ; ¹Saga Univ.,*

²Exp. Farm, Ehime Univ., ³Natl. Agric. Res. Cent.)

Direct and indirect (=through decomposition) uptakes of free amino acids (FAA) by rice and tomato plants were investigated by using ^{13}C - and ^{15}N -labeled aspartic and glutamic acids, serine, leusine and ammonium as tracers.

1) One week after the surface application of amino acid-N or $\text{NH}_4\text{-N}$ to paddy soil, the amounts of ammonium remaining in the soil, assimilated ammonium, denitrificated ammonium and amounts taken up by plants were similar.

2) From 5.5 to 7.7% of the FAA applied was absorbed directly by rice plants, and from 42.5 to 47.2% of that was indirectly absorbed as ammonium after decomposition. It is suggested that the FAA degraded to ammonium around 2 or 3 d and the $1\text{-}^{13}\text{C}$ absorption rates of the FAA ($\text{RCH}(\text{NH}_2)^{13}\text{COOH}$) were high in proportion to the number of carbon atoms of the R side-chain.

3) The absorption rate of N derived from the FAA by tomato plants was lower than that by rice plants, namely, from 0.4 to 1.9% in direct-uptake and from 16.0 to 29.8% in indirect-uptake. Percentage of direct-uptake of the FAA in upland soil was much lower than that in the paddy field.

Key words ^{13}C , free amino acid, ^{15}N

(Jpn. J. Soil Sci. Plant Nutr., **70**, 739-746, 1999)