

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 16 日現在

機関番号：16301

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2014

課題番号：24780013

研究課題名(和文) 施用窒素形態の比率の最適化に向けたイネ根における窒素吸収の生理学的機作の解明

研究課題名(英文) Eco-physiological analysis of nitrogen uptake of rice root under different combinations of inorganic nitrogen

研究代表者

荒木 卓哉 (Araki, Takuya)

愛媛大学・農学部・准教授

研究者番号：10363326

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：施用窒素形態としてアンモニア態窒素と硝酸態窒素の比率を変化させた場合のイネ根からの窒素吸収，地上部への輸送および地上部での利用の動態ならびに作用機作を根内硝酸還元およびアンモニア同化に関連する窒素代謝および葉における光合成特性に関連させて解析した。全乾物重および窒素吸収速度は無機態窒素の施用比率をアンモニア態窒素40%，硝酸態窒素60%とした条件の時に最大となった。異なる無機態窒素施用条件における生態型間の比較を行ったところ，いずれの生態型においても硝酸態窒素施用条件でアンモニア態窒素施用条件より乾物生産，根長，および根の表面積で高い値を示した。

研究成果の概要(英文)：Ammonium-nitrogen is considered main nitrogen nutrition for cultivated rice (*Oryza sativa* L.). However, with changeable irrigation by "alternate wet and drainage" in lowland, role of nitrate-nitrogen form in paddy rice attracted more attention. To obtain high yield, nitrogenous inorganic fertilizer has been applied increasingly, resulting in detrimental impacts on environment. Therefore, improving nitrogen use efficiency of rice with decreasing inorganic nitrogen application should be concerned. Total dry weight, nitrogen transport rate and root length were found the highest under the condition of 40% ammonium and 60% nitrate. These parameters of 100% nitrate showed higher value than those of 100% ammonium. Any ecotype, japonica, indica and tropical, grown under 100% nitrate showed better growth than that under 100% ammonium.

研究分野：作物学

キーワード：イネ アンモニア態窒素 硝酸態窒素 乾物生産 窒素吸収

1. 研究開始当初の背景

現在、アジア開発途上国を中心とする地域での人口爆発に対応できるコメの生産拡大が求められている。また気候変動に伴い、農業生産のための資源(土壌、水、養分)の不足が生じ、食料としてのコメが不足する食糧危機が想定されている。一方で、食糧不足解決へ向けた水田への化学肥料や農薬等の多投入は、流域環境の化学物質汚染を進行させている。イネの生産力維持と流域環境の化学物質汚染抑制を同時に進行させることが、今日イネ生産諸国が抱える重要な課題である。本課題解決のためには、イネの窒素利用効率の向上が最も効果的かつ有望な戦略である。すなわち、イネの窒素利用効率を向上させることが、化学肥料節減下における生産力を確保し、流域環境への化学物質の流入抑制を可能にする。また、窒素に関しては、2003年に持続的な食糧生産に伴う窒素利用の最適化と窒素負荷の環境への影響の最小化を目的とした International Nitrogen Initiative(INI)が発足され、世界的に窒素に関連する諸問題に関心が集まっている。

イネの窒素利用効率向上へのアプローチとして、光合成の窒素反応性に着目して研究を進めてきた。光合成過程は、大別して、光エネルギーを化学エネルギーに変換する光化学系とそのエネルギーを利用して炭水化物生産を行う炭酸固定系の2つの系で構成される。イネの葉内窒素は27%がRubisco(炭酸固定の鍵酵素)に、また24%が光化学系を構成するタンパク質に配分されている。したがって、光化学系と炭酸固定系間の窒素分配が、光合成の窒素利用効率に影響を及ぼすことが予想され、光合成系における光捕集(ソース)および炭酸固定系(シンク)のバランスを適正に保持すること重要である。これまでに低窒素施肥に対して特徴的な乾物生産反応を示すイネ2品種を対象に標準濃度以下の窒素濃度条件を設けて栽培、実験を行った結果、栽培環境の変化に対応して1.光合成系の光捕集(ソース)と炭酸固定系(シンク)のバランスをさせていること、2.バランスを変化させることで光阻害(光合成能力の低下の主要因で光化学系で生産した化学エネルギー量が炭酸固定系で消費できるエネルギー量を上回る状態)を緩和させること、3.低窒素条件下において、Rubiscoは炭酸固定能力の維持だけでなく、酸素固定(光呼吸代謝)能力を把握することも重要であることを明らかにした。

本研究ではイネの窒素利用効率向上へのアプローチとして根における施用窒素形態、すなわちアンモニア態窒素と硝酸態窒素の吸収比率について着目したい。イネは好アンモニア性作物であり、窒素を主にアンモニア態として吸収する。しかし、近年還元状態の水田においても硝酸態窒素を多く吸収していることが報告されている。また、施用窒素形態を全てアンモニア態とした場合よりも

硝酸態を少量加えた方が窒素吸収量および乾物生産量が増加したことも報告されている。イネにおける硝酸吸収に関しては根の硝酸イオン輸送タンパク質(NRT)が確認されており、NRT2が根局在性のタンパク質があることが明らかとなっている。アンモニウム同化に関してはグルタミン合成酵素(GS)とグルタミン酸合成酵素(GOGAT)が関与しており、上述の通り根の呼吸と密接に関与している。しかしながら、施用窒素形態の適正な比率および硝酸態窒素のイネへの生理学的機作は未だ明らかになっていない。そこで本研究では、イネ根への施用窒素形態としてアンモニア態窒素と硝酸態窒素の比率を変化させた場合の、根の窒素吸収と同化、地上部への窒素輸送および地上部における窒素利用(光合成能力)に関する生理学的機作を解明するとともに、施用窒素形態の最適比率を明らかにし、その比率の最適化に基づいた栽培管理技術の高度化を目指す。

2. 研究の目的

上記のような背景から、施用窒素形態としてアンモニア態窒素と硝酸態窒素の比率を変化させた場合のイネ根からの窒素吸収、地上部への輸送および地上部での利用の動態ならびに作用機作を根内硝酸還元およびアンモニウム同化に関連する窒素代謝および葉における光合成特性に関連させて解明し、その意義に基づいて施用窒素形態の適正な比率を指標とした環境保全型栽培管理技術を目指した重要な手がかりを得ることを目的とする。

3. 研究の方法

(1) 施用無機態窒素の最適比率に関する検討

供試材料としてイネ(*Oryza sativa* L.)日本晴(*japonica*)とKasalath(*indica*)を用いた。播種後27日目に吉田氏液を満たした遠沈管(40mL)に移植した。その際、窒素濃度は2.86mM(吉田氏液の標準窒素濃度)とした。窒素源として硫酸アンモニウム、硝酸カルシウムおよび硝酸カリウムを用い、異なる無機態窒素の供給割合で栽培するために、アンモニア態窒素(NH₄⁺-N):硝酸態窒素(NO₃⁻-N)を100:0,80:20,60:40,50:50,40:60,20:80および0:100の割合で混合した7条件区を設けた(それぞれ100:0区,80:20区,60:40区,50:50区,40:60区,20:80区および0:100区)。カルシウムおよびカリウムは、窒素に付随して供給された量を考慮して、吉田氏液中のこれら成分の濃度を調整した。遠沈管内の水耕液は毎日交換し、pHを5.0とした。移植後29日目に調査を行った。植物固体の根を栽培時と同様の水耕液に浸し、7:00~16:00の測定前後の重量および窒素濃度の変化に基づいて、蒸散速度および窒素吸収速度を算出した。また、測定終了後に個体を採取し、根と地上部の乾物重と窒素含量を測定し

た．各条件において5反復行った．

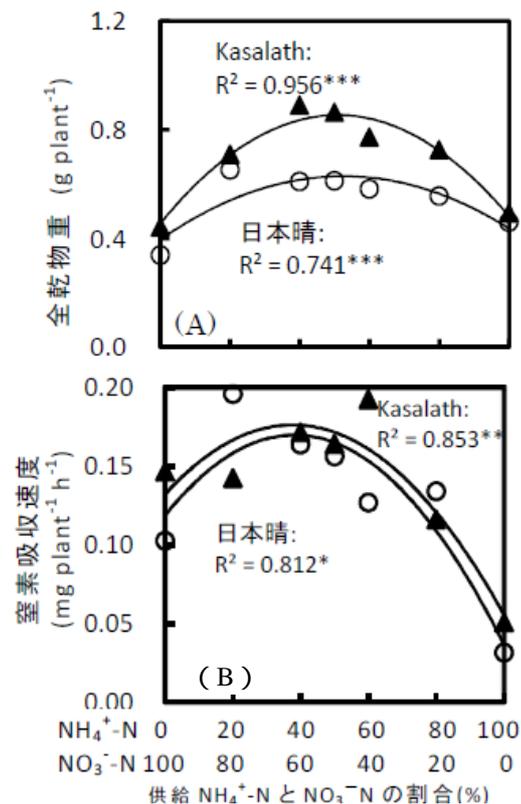
(2)異なる無機態窒素の施用による乾物生産，窒素吸収および根の形態的特性の検討
供試材料として NIAS コアコレクション 69 品種 (*japonica*; 4 品種, *indica*; 52 品種, *tropical japonica* 10 品種, 不明; 3 品種) を用いた．播種後 21 日目に窒素源を改変した吉田氏液を遠沈管 (50mL) に満たして移植した．その際，窒素濃度は 2.86mM (吉田氏液の標準窒素濃度) とした．窒素源として硫酸アンモニウム，硝酸カルシウムおよび硝酸カリウムを用い，アンモニア態を窒素単独施用した場合 ($\text{NH}_4^+\text{-N}$ 区) と硝酸態窒素を単独施用した場合 ($\text{NO}_3^-\text{-N}$ 区) の 2 条件を設けた．カルシウムおよびカリウムは，窒素に付随して供給された量を考慮して，これら成分の濃度を調整した．遠沈管内の水耕液 (40mL) は毎日交換し，移植後 14 日目に調査を行った．植物体を栽培時と同様の水耕液に浸し，重量法により 7:00 ~ 16:00 の蒸散速度を評価した．また，測定前後の遠沈管内の溶液 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 濃度および $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 濃度を RQ フレックス (Merck 社) で測定し，窒素吸収速度を算出した．測定終了後に個体を採取し，根と地上部に分けて 80 °C で乾燥後に乾物重を測定するとともに，窒素含量を測定した (Sumika NC-80, 住友化学)．各条件において 5 反復を行った．

4. 研究成果

(1) 施用無機態窒素の最適比率に関する検討

全乾物重は日本晴において $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 単独供与の方が $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 単独供与よりも有意に高くなった．これに対し，Kasalath においては両条件において差が認められなかったことから，Kasalath は日本晴よりも $\text{NO}_3^-\text{-N}$ に高い嗜好性を有することが明らかとなった．また，両品種ともに $\text{NH}_4^+\text{-N}$ と $\text{NO}_3^-\text{-N}$ を同時に供与した場合の乾物重は，単独供与の場合と比べて，地上部においては両品種ともに，根においては Kasalath において有意な増加が認められた．窒素蓄積量は，全乾物重と同様に $\text{NH}_4^+\text{-N}$ と $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 同時供与の場合に単独供与よりも有意に高い値を示した．窒素吸収速度は両品種において $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 単独供与に対して， $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 単独供与および混合供与の場合に有意に高くなった．全乾物重，窒素吸収量速度および窒素蓄積量は供給無機態窒素の混合割合に対して変化した (第 1 図)．すなわち，全乾物重および窒素吸収速度は日本晴よりも Kasalath において変異が大きく，混合割合が 40:60 ~ 50:50 で両品種ともに最大値を示した．窒素蓄積量は両品種において同様の傾向を示したが，いずれの無機態窒素供給条件において Kasalath が高かった．また，無機態窒素の混合割合が 40:60 ~ 50:50 の時に最大値を示した．全乾物重と窒素蓄積量との間に両品種ともに有意な正の相関が認め

られた．また，窒素吸収速度は，日本晴では根の乾物重と根乾物重あたりの窒素吸収速度との有意な正の相関が認められ，Kasalath では根乾物重あたりの窒素吸収速度と有意な正の相関が認められたことから，無機態窒素の吸収には根の大きさと生理活性が関与していることが推察された．

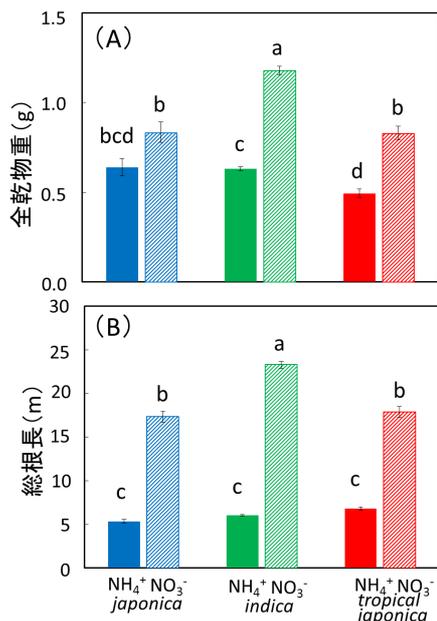


第 1 図．異なる無機態窒素供給割合条件における全乾物重(A)および窒素吸収速度(B)．

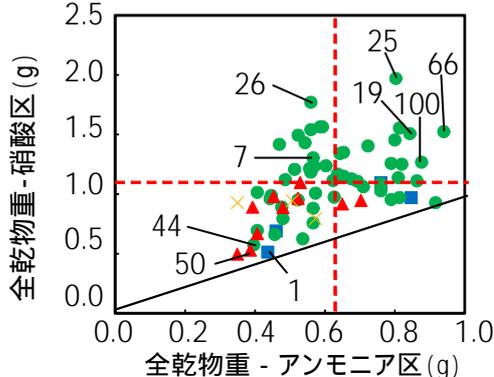
*,**および***は，5%，1%および0.1%レベルで有意であることを示す．

(2)異なる無機態窒素の施用による乾物生産，窒素吸収および根の形態的特性の検討
全乾物重はいずれの生態型も硝酸区においてアンモニア区よりも有意に高い，もしくは高い傾向にあり (第 2 図)，T/R 比は硝酸区において有意に低くなった．総根長，根表面積および根体積は，硝酸区において有意に高い値を示した．このことから，硝酸態窒素施用条件において根の成長は促進することが示唆された．生態型を比較すると，*indica* は両窒素処理区において *japonica* および *tropical japonica* よりも乾物生産に優れており，特に硝酸区において有意に高かった．一方，*japonica* と *tropical japonica* は乾物生産および根の諸形質において両生態型間で有意差は認められなかったが，根表面積あたりの窒素吸収速度では *japonica* がアンモニア区で，*tropical japonica* が硝酸区で有意に高い値を示した．これらのことから，乾物生産および窒素吸収能力は，アンモニア区では *indica* および *japonica*，硝酸区では *indica* および *tropical japonica* で高くなると示された．品種間比較では，硝酸区において高い生育を

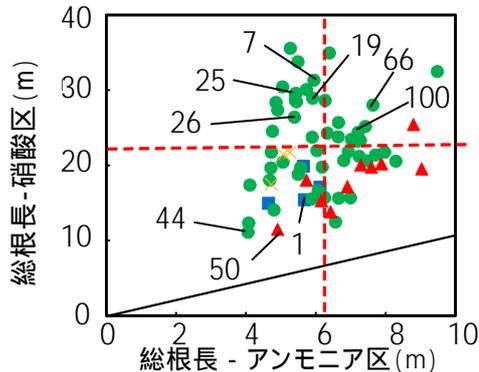
示す品種として Davao1 (第3, 4 図中の番号 7), Jhona2 (26) および Muha (25), 両窒素処理区において低い傾向を示す品種として日本晴 (1), Basilanon (44) および Rexmont (50), 高い傾向を示す品種として Deng Pao Zhai (19), Bingala (66) および Vandaran (100) が挙げられた。アンモニア区において安定して高い傾向を示す品種は得られなかった。



第2図. 各窒素処理区における全乾物 (A) および総根長 (B). 異なる英小文字は, 5%水準で有意差があることを示す.



第3図. アンモニア区と硝酸区における全乾物重の関係. 図中の番号は, 農林生物資源研究所世界のイネコアコレクションのIDを示す.



第4図. アンモニア区と硝酸区における総根長の関係. 図中の番号は, 農林生物資源研究所世界のイネコアコレクションのIDを示す.

5. 主な発表論文等

(研究代表者, 研究分担者及び連携研究者には下線)

(学会発表)(計5件)

Phan Thi Hong Nhung, 新家千春, 荒木卓哉, 杉本秀樹, 岡三徳, 望月俊宏 Effect of rhizosphere temperature on the growth and root development of rice plants (*Oryza sativa* L.) grown by hydroponics with different nitrogen forms. The 8th Asian Crop Society Association Conference, Vietnam National University of Agriculture, Vietnam, 2014年9月24日

Phan Thi Hong Nhung, 新家千春, 荒木卓哉, 杉本秀樹, 岡三徳, 望月俊宏 異なる無機態窒素の施用がイネ用植物体の乾物生産, 窒素吸収および根の形態特性に及ぼす影響. 日本作物学会第238回講演会, 愛媛大学2014年9月10日

濱岡範光, 荒木卓哉, 上野修 異なる窒素濃度並びに窒素形態に対する野生イネ *Oryza nivara* の光合成および乾物生産特性の反応. 日本作物学会第236回講演会, 鹿児島大学2013年9月10日

新家千春, Phan Thi Hong Nhung, 荒木卓哉, 濱岡範光, 杉本秀樹, 岡三徳 農林生物資源研究所 (NIAS) コアコレクションを用いたイネ幼植物体の異なる無機態窒素の施用形態に対する乾物生産および窒素吸収の品種間変異. 日本作物学会第236回講演会, 鹿児島大学2013年9月10日

新家千春, Phan Thi Hong Nhung, 荒木卓哉, 杉本秀樹 異なる無機態窒素の割合で栽培したイネの乾物生産および窒素吸収に関する品種間比較. 日本作物学会第235回講演会, 明治大学2013年3月28日

6. 研究組織

(1) 研究代表者

荒木 卓哉 (ARAKI, Takuya)

愛媛大学・農学部・准教授

研究者番号: 10363326