

水稻における鉄高濃度培地からの鉄の 吸収・移動に及ぼすリンの影響*

山内益夫**・吉田昌一***

昭和59年7月31日受付

The Effects of Phosphate on the Iron Absorption and Translocation of Rice Plant in High Iron Nutrient Solution

Masuo YAMANOUCHI** and Shouichi YOSHIDA***

The iron was higher concentrated in the top of a phosphorous deficient rice plant than in a normal one, although the deficient roots had a higher ability of iron oxidation. The concentration of the deposited iron on roots decreased with the increasing of the deposited phosphate below about 0.1% deposited phosphorous but increased with the increasing of the deposited phosphate above 0.1% deposited one.

The red-brown color of rice roots with the deposited iron changed to light gradually lowering the ratio of the deposited Fe/the deposited P.

緒 言

作物体あるいは培地の無機栄養状態によって、水稻における鉄過剰症の発現が変化することに関しては、いくつかの報告があり、但野が要約している⁰⁾。

リンについては、無リン酸培養液に、高濃度の鉄を加えると、完全培養液に鉄を加えた場合より、鉄過剰症が発現しやすくなることが観察されている¹⁾。また、湛水土壌においても、リン酸の過剰施与は水稻の鉄クロロシスの発現を助長することが報告されている²⁾。

作物体のリン栄養状態と鉄の吸収や代謝との関連について、水稻を対象とした場合、リン不足では鉄排除能は小さくなり⁰⁾、また、過剰のリン酸は体内で鉄を不活性化すると指摘もなされている⁰⁾。

一般に、水稻の根には鉄が沈着し赤褐色を呈することが多く、その鉄は、ゲータイト(α -FeOOH)あるいはレピドロサイト(γ -FeOOH)を主体とするといわれている³⁾。

しかし、根圏にリンが多量に存在する場合は、鉄はリンと結合した形で存在する可能性も考えられる。その場合は、鉄が酸化型で存在したとしても、根は赤褐色を呈さないこととなるものと思われる。

本報では、高濃度の鉄を含む培地からの水稻による鉄の吸収・移動に対するリンの影響を、より明確にするために、以下の点について検討した。

- 1) 根の赤褐色の色調がリンの存在で如何に変わるか
- 2) 根の鉄酸化力、鉄の吸収・移動等がリンの栄養状態で如何に変動するか

* 本報告の概要は1981年12月関西土肥学会で報告した。

** 鳥取大学農学部農芸化学科作物栄養学研究室

Department of Agricultural chemistry, Faculty of Agriculture, Tottori University

*** 故人：元国際イネ研究所（フィリピン）

The deceased: Formerly the International Rice Research Institute

実験方法

栽培：水稻「ヤマビコ」の14日苗を用い、前処理として、リン欠除（-P系列）と20ppm P添加（+P系列）の2段階を設け、14日間水耕栽培した。そのうち、試験 a) では、各系列をさらに5等分し、本処理として、0, 3, 5, 10と20ppm Pの5段階を設け、それぞれに200ppm Feとなる

ように硫酸第一鉄を添加して、水耕栽培を経続した。また、試験 b) では、試験 a) と同様の前処理ののち、本処理の培地 P 濃度として、0, 0.1, 0.5と1.0ppm P (NaH₂PO₄を使用)の4段階を設け、それぞれに200ppm Feとなるように硫酸第一鉄を添加して、水耕栽培した。試験 c) は、前処理と本処理の培地 P 処理濃度として、第1表に示した10通りの組み合わせを設けて、水耕栽培を行った。

第1表 実験C)の処理の概要

系 列	前処理無リン酸				前・本処理同一				本処理無リン酸			
前 処 理 P 濃 度 (ppm)	0	0	0	0	0	3	10	20	0	3	10	20
本 処 理 P 濃 度 (ppm)	0	3	10	20	0	3	10	20	0	0	0	0

前処理14日間、本処理3日間、本処理は全て200ppm Feを含む

いずれの試験においても、PとFe以外の要素の培養液濃度 (ppm) は共通で、NH₄-N20, NO₃-N20, K40, Ca40, Mg40, Mn0.5, B0.2, Zn0.1, Mo0.05, Cu0.01である。なお、前処理のFe濃度は0.2ppmとした。

栽培は8 l入りの容器 (32×28cm) に、一容器当たり7 lの培養液を入れ、発泡スチロール板の蓋をし、一容器当たり40個体を立毛させた。前処理栽培時は培養液のpHは毎朝5に調節し、7日毎に更新した。本処理栽培時は培養液調整時にpHを5とし、2日毎に更新した。

栽培は、各2反復で、いずれも鳥取大学農学部構内のガラス室で行ない、本処理ののち3日あるいは7日で調査、収穫した。

分析：1規定(N)硫酸可溶性鉄及びリン…供試苗の根を流水で素早く洗ったのち、50mlのN硫酸を入れた試験管 (φ24×200mm) に根が完全に漬かるように挿入し、根の赤褐色がなくなるまで10分間放置した。そののち、作物体を取り出し、流水で洗浄したのち、地上部と根に分け、乾燥秤量して分析に供した。

硫酸に溶解したFeとPを原子吸光法と比色法で、それぞれ定量した。これらを、それぞれ沈着鉄あるいは沈着リンと表現し、それに溶出後の根のFeあるいはPを加えた分を、根の鉄あるいはリンと表現して区別した。これらの溶出操作、分析は各試料とも5~10反復で行なった。なお、一部の硫酸溶出試料につき、ジピリジル法でFe(II)を測定した。

鉄酸化力…YAMADAらの方法⁷⁾を一部改変して用いた。すなわち、根を冷所で乳鉢を用いて磨砕し、粗酵素を抽出し、冷却遠心器を用い1000Gで遠心分離した上澄50mlを粗酵素液とした。粗酵素液3ml, 0.2M酢酸緩衝液 (pH5.5) 5mlと2mg Fe(II)を含むFe溶液 (モール

塩) 1mlとを混じ、30℃で1時間反応させた。そして、5N硫酸1mlを加え、反応を停止させるとともに、生じた水酸化第二鉄を溶解させた、その一定量を取り、Fe(III)をロダンカリ法で測定した。結果は、Fe(II)を加える前に、反応液を10分間煮沸して酵素を失活させたあと、Fe(II)を加えて同じ様に反応させたあとのFe(III)生成量を、空値として差し引いた値で示した。粗酵素抽出は各区2連、反応操作は各粗酵素当り3連で行なった。粗酵素液中の蛋白量はLowy法⁸⁾で測定し、鉄酸化力は、Fe(III)生成量 (μg)/蛋白1mg・1hrで示した。

本部溢液の採取と溢液の鉄濃度…栽培時と同じ要領で200ppm Fe (FeSO₄)を含む培養液 (加えたP処理濃度の詳細は結果の項で示す) に苗条を立て、室内に4時間放置後、根ざわから4cm上部で茎葉を切断し、あらかじめ重量を測定した綿とビニールシートを用いて、切口を覆い、18時間、30℃の恒温器内に放置後、重量法で綿に捕捉された溢液量を測定した。次いで、50ml容の容器に溢液を含む綿を入れ、N/10塩酸10mlでFeを抽出し、溶液中のFeを原子吸光法で測定した。溢液の採取、測定は各10反復で行なった。

結 果

2週間の前処理栽培期間中の水稻の生育は(実験 a), 培地のリンの有無によって、大きな差はなかった(第2表)。+P系列の地上部のP含有率は1.01%で-P系列の4.4倍であり、逆に、Fe含有率は2/5であった。沈着リンは+P系列では1642ppm Pで、-P系列の12.8倍であったが、根のリン含有率は2.8倍に過ぎなかった。また、沈着リンの根のリンに対する割合は、+P系列でも33%に

第2表 鉄処理開始時の試料の性質

P処理 ppm	草丈 cm	根長 cm	分けつ数 本/個体	乾物重 (mg/本)		地上部含有率		沈着・含有率		根含有率	
				地上部	根	P (%)	Fe (ppm)	P (ppm)	Fe (ppm)	P (%)	Fe (ppm)
0	32±1	25±1	3.4±0.5	324±111	118±15	0.23±0.01	220±47	128±16	2005±359	0.18±0.01	2331±432
20	33±1	25±0.3	3.8±1.0	308±253	129±26	1.01±0.03	84±14	1642±163	2054±497	0.50±0.03	2200±570

過ぎず、Fe の場合の86あるいは93%に比べ著しく低かった。根の鉄及び沈着鉄含有率はP処理による差は小さかった。

第3表 沈着鉄と沈着リン含有率

前処理 P (ppm)	本処理 P (ppm)	沈着P %	沈着Fe (%) Fe(III)+Fe(II)	沈着Fe/ Fe(III)	沈着P
0	0	0.02	4.80	4.72	240
0	3	0.33	4.03	3.93	12
0	5	0.49	3.24	3.08	6.6
0	10	1.12	3.20	3.10	2.9
0	20	2.02	3.54	3.47	1.8
20	0	0.08	3.31	3.16	41
20	3	0.59	3.30	3.22	5.6
20	5	1.10	3.46	3.38	3.1
20	10	1.66	3.70	3.58	2.2
20	20	1.95	3.70	3.59	1.9

実験 a) の本処理7日目の試料、含有率はいずれも乾物当り。

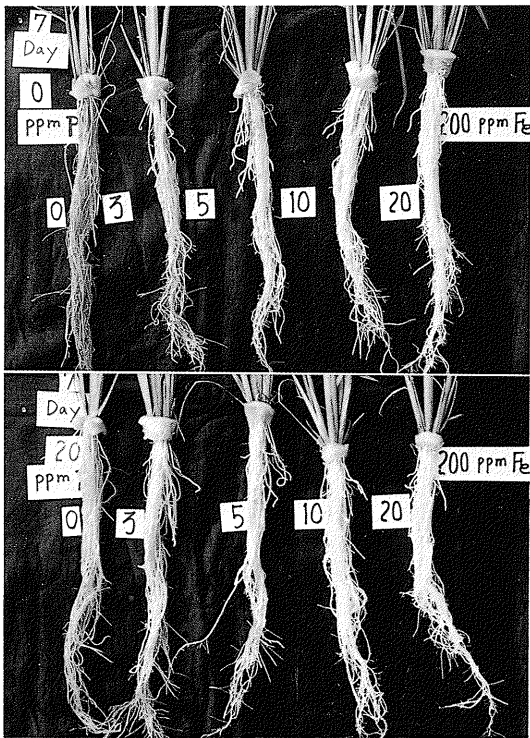


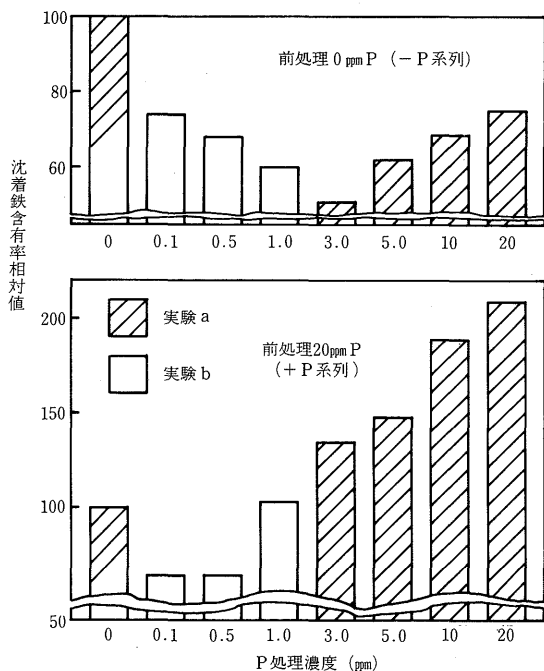
写真1 鉄沈着による根の色調に及ぼすリンの影響

上：前処理無リン酸，下：前処理20ppm P
本処理のリン酸濃度：0、3、5、10、20ppm P
本処理後7日目の状態

根の表面の赤褐色の色調を実験 a) の本処理開始後7日目の状態で見ると(写真1)、同一の前処理系列では、本処理の培地P濃度の上昇にともなって淡くなった。また、同じ本処理濃度でのp前処理間の比較では、いずれも-P系列の方が+P系列より赤味が濃かった。ただし、本処理10あるいは20ppm P処理区では、両系列間の差は小さかった。

沈着鉄は(第3表)、いずれの区も95%以上がFe(III)の型で存在し、その酸化型の存在割合のP処理間差は小さかった。-P系列では、本処理のP濃度が10ppm Pまでは、P処理濃度の上昇にともない沈着鉄含有率は低下した。しかし、-P系列の5ppm P以上の処理濃度区あるいは+P系列の区では、沈着鉄含有率の処理間差は小さかった。従って、根の赤褐色の色調と沈着鉄含有率の間には、この場合、並行関係になかった。しかし、沈着鉄含有率/沈着リン含有率の比と根の赤褐色の色調との間には、あきらかな関連が認められた(写真1、第3表)。すなわち、その比が大きいほど、赤褐色が濃く、その比が小さくなるに伴って色調は淡くなり、2以下ではほとんど赤味が認められなかった。

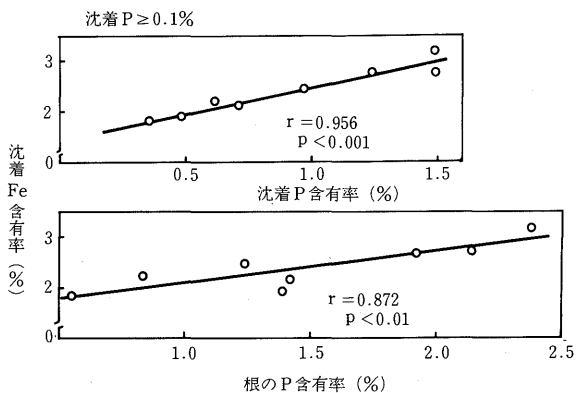
リン酸第二鉄のFe/P比は1.8であり、黄白色を呈する。そして、0-20区(前処理0ppm P-本処理20ppm P区)、20-10区と20-20区のFe/P比は、いずれも1.8に近く、根も極く薄い黄白色を呈していることより、これらの処理区では、沈着Fe(III)の大部分がPと結合した型で存在する可能性が強いと思われた。



第1図 沈着鉄含有率におよぼすリン処理の影響

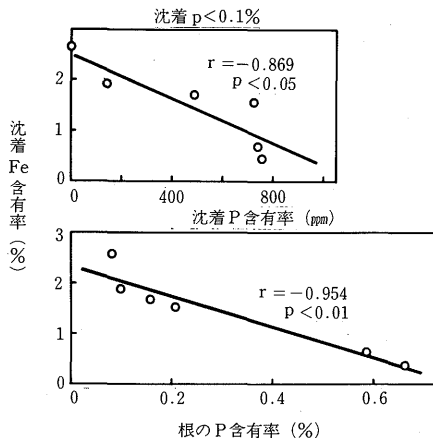
前処理14日, 本処理3日 (200ppm Fe)
 実験 a, b における沈着鉄含有率 0-0区: 3.62% (a), 2.62% (b), 20-0区: 1.46% (a), 0.69% (b)

本処理3日目の根の沈着鉄含有率を, 実験 a), b) それぞれの0-0区あるいは20-0区の値を100とした相対値で第1図に示した。-P 系列では, 本処理の培地 P 濃度が 3 ppm P までは, P 処理濃度の上昇にともなって沈着鉄含有率は低下し, それ以上の P 濃度では処理濃度の増加にともなって上昇した。一方, +P 系列では本処理の P 濃度が 0.1と 0.5 ppm の間までは, P 処理濃度の上昇で沈着



第2図 沈着リンあるいは根のリン含有率と沈着鉄含有率の関係 (1)

鉄含有率は低下し, それ以上の P 処理濃度では, 処理濃度の上昇にともなって上昇した。



第3図 沈着リンあるいは根のリン含有率と沈着 Fe 含有率の関係 (2)

根の沈着リンあるいは根のリン含有率と沈着鉄含有率の間関係を見ると(第2, 3図), 実験 a) では沈着リン含有率が 0.1% 以上で, 沈着鉄含有率と沈着リンあるいは根のリン含有率の間に高い正の相関関係が認められ, その相関係数は前者 (0.956) の方が後者 (0.872) より高かった。実験 b) では沈着リン含有率が 0.1% 未満で, 沈着鉄含有率と沈着リンあるいは根のリン含有率の間に高い負の相関関係が認められ, その相関係数は後者 (-0.954) が前者 (-0.869) より高かった。

第4表 生育, 鉄酸化力, 溢泌液の鉄濃度および鉄とリン吸収におよぼすリンの影響

系	前処理 P (ppm)	本処理 P (ppm)	乾物重 (mg/本)		鉄酸化力* (ppm)	溢泌液 Fe (ppm)	Fe 含有率		Fe 移行率 (%)	P 含有率	
			地上部	根			地上部 (ppm)	根 (ppm)		地上部 (%)	根 (%)
無リン処理	0	0	640	276	451	63.4	534	3457	26	0.15	0.12
	0	3	740	318	423	32.0	489	2727	29	0.24	0.16
	0	10	840	350	400	24.3	388	4248	18	0.25	0.24
	0	20	1000	374	370	21.4	328	6118	11	0.22	0.36
同前・本処理	0	0	640	276	451	63.4	534	3457	26	0.15	0.12
	3	3	760	298	472	32.0	399	2180	32	0.29	0.20
	10	10	820	305	307	24.0	273	4835	13	0.45	0.44
	20	20	900	340	259	21.2	224	5458	14	0.54	0.48
無リン・本処理	0	0	640	276	451	63.4	534	3457	26	0.15	0.12
	3	0	840	352	391	40.2	440	3850	21	0.21	0.17
	10	0	900	340	377	43.7	408	2749	28	0.38	0.20
	20	0	1000	360	338	42.3	291	2298	26	0.50	0.34

* $\mu\text{gFe}/\text{蛋白 } 1\text{mg} \cdot \text{hr}$, 前処理14日間, 本処理3日間

実験 c)の本処理 3 日目の試料について、乾物重、鉄酸化力、溢泌液の鉄濃度、作物体の鉄とリン含有率を第 4 表に示した。前処理による生育差はほとんどなかったが、3 日間の本処理で、前処理無リン酸系列、前・本処理同一系列、本処理無リン酸系列のどの系列においても、前処理あるいは本処理いずれかまたは両方で加えられた P 濃度が高い程、生育は旺盛となる傾向を示した。ただし、根の乾物重の処理間差は地上部のそれより小さかった。

鉄酸化力は、前・本処理同一系列の 3-3-200 区を除き、各系列内で、P 処理濃度が高い程低い。系列間では、3-3-200 区を除き、前処理無リン酸系列 > 本処理無リン酸系列 > 前・本処理同一系列の順であった。

木部溢泌液は本処理と同一の培地に根を漬して採取したが、その鉄濃度は、本処理での培地 P 濃度を変えた系列では、いずれも 0-0-200 区の 63.4 ppm Fe から、P 処理濃度の上昇にともなって、0 (あるいは 20)-20-200 区の約 21 ppm Fe まで低下したが、前処理の P 処理濃度差による影響は小さかった。

地上部鉄含有率は、本処理に P を添加した系列では、本処理の P 処理濃度の上昇にともなって、前処理無リン酸系列では 524 ppm (0-0-200 区) から 328 ppm Fe (0-20-200 区) へ、前・本処理同一系列では 534 ppm から 224 ppm Fe (20-20-200 区) へ低下し、本処理無リン酸系列では前処理の P 処理濃度の上昇にともない 534 ppm から 291 ppm Fe (20-0-200 区) へ低下した。各系列間では、前・本処理同一系列の鉄含有率が平均 358 ppm Fe で、他の 2 系列 (418 ppm Fe 以上) よりやや低い傾向を示した。

根の鉄含有率は、本処理に P を添加した系列では、前処理の如何にかかわらず、本処理 0 ppm P 区が 3 ppm P 区より高く、また、3 ppm より培地 P 濃度が高い場合は、P 処理濃度の上昇にともなって高まった。本処理無リン酸系列では、前処理 P 濃度が 3 ppm 以上で、P 処理濃度の上昇にともない逆に低下した。

鉄の地上部への移行率は、本処理 P 濃度が 10 ppm 以上で 11~8% と非常に低くなり、また、前処理の P 処理濃度の影響は小さいことが、本処理無リン酸系列の区間差が小さいことからうかがわれる。

地上部リン含有率は、前培養の P 処理濃度の影響を強くうけ、0.15% (0-0-20 区) から 0.54% (20-20-200 区) まで、両系列とも P 処理濃度の上昇にともなって高まった。しかし、前処理無リン酸系列では、本処理で 3~20 ppm P まで P 添加量を増加しても、地上部リン含有率は、ほとんど変らなかった。

根のリン含有率は、P の添加時期の如何にかかわらず、

P 処理濃度の上昇にともなって高まった。系列間では、前処理無リン酸系列と本処理無リン酸系列が類似した含有率を示し、前・本処理同一系列がやや高かった。

水稻には過剰の鉄が地上部へ侵入するのを防ぐ機構があり、高濃度の活性な鉄を含む培地で栽培すると、それらの機構が活発に働きだすといわれている。そして、その機構として、根の鉄酸化力、根の鉄排除能と根の鉄保持能があげられている⁹⁾。リン酸はこの三つの機構それぞれに関与している。すなわち、0-0-200 区は鉄酸化力は高く、0-3-200 区あるいは 3-3-200 区より根の鉄含有率も高く、移行率はやや低くなっているにもかかわらず、溢泌液の鉄濃度は高く、地上部鉄含有率も高い。従って、リン不足によって、鉄排除能が弱まったことが示唆される。また、本処理の P 処理濃度が高い場合は、鉄酸化力は弱くても、根の鉄保持能が著しく高まり、移行率が低下し、溢泌液鉄濃度の低下により地上部の鉄含有率は低くなる。

以上のように、全体としては P 処理は地上部の鉄含有率に対して複雑な影響を与え、3 系列の各区の地上部鉄含有率の多寡を一義的に説明しうるリンの効果を挙げることはできない。

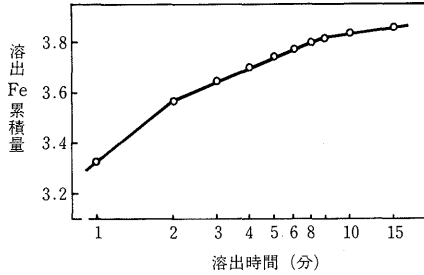
考 察

根の表層に沈着している鉄と、より内層の細胞に取り込まれている鉄を完全に分別して抽出することは困難であり、その判定も難しい。しかし、-P 系列の根中のリンは、細胞の果粒等にとりこまれて存在する割合が比較的高くなるであろうと予想されたとおり、根のリンに対する沈着リンの割合が 7% 以下であり、一方、その色調から沈着部への存在割合が高いと思われる鉄は 86% を占めたという結果 (第 2 表) と次の実験結果から、1 N 硫酸 10 分間で溶出された鉄をもって沈着鉄としても、結果に大きな矛盾は生じないと判断した。

すなわち、20 日苗を 7 日間 200 ppm Fe を含む完全培地で栽培した苗条の根を、1 N 硫酸 50 ml を含む試験管に漬し 1 分間放置後、取り出して再度新たな硫酸に根を漬す操作をくり返した。その溶出された鉄の累積量の対数を溶出時間の対数に対してプロットすると (第 4 図)、2 分と 8 分に変曲点が認められた。2 分間では肉眼的にまだ強い赤褐色が残っており、極く新しい時期に沈着した鉄のみが溶けたことを示すものと思われる。また、8 分以上では、より内部からの溶出が主体となったものと思われる。この実験では 1 分毎に硫酸を更新しているのだから、更新しない場合は溶出速度が遅くなることを考慮して 10 分

間という時間を用いた。沈着鉄は沈着後の時間の経過とともに溶解しなくなるので、処理日数の異なる試料の比較には注意が必要であるが、同一処理日数の試料の比較にはこの溶出時間でさしつかえないものと思われる。

logΣFe (μg/本)



第4図 IN 硫酸による鉄溶出時間と溶出鉄の累積量の関係 x軸は対数日盛

水稻の根の鉄酸化力は、Fe(II)を酸化・沈着して体内に過剰のFe(II)が入るのを防御する機構として評価されている⁶⁾。しかし、本実験の場合、根の鉄酸化力と根の鉄含有率との間には、むしろ負の相関関係が認められた(第4表)。これは、根の細胞内あるいは根の表層近くで、リンが鉄の酸化・沈着に対して少なくとも二つの異なる役割を發揮することによると思われる。その一つは、根のリン含有率が高まることによる鉄酸化の低下であり(第4表)、他は、リン酸と鉄の結合による鉄の根表層への局在化である(第4表)。

この二つのリンの作用の結果として沈着鉄含有率が決まる。すなわち、沈着リン含有率が0.1%未満では沈着鉄含有率は、リン含有率が低い程、つまり、鉄酸化力が高い程、高くなる(第2図)。この場合、沈着リン含有率よりも全リン含有率を用いた方が、沈着鉄含有率との間の相関係数が高くなることは、生理活性にかかわるリンがより関連が強いことを示しているのかもしれない。他方、沈着リンが0.1%以上では、リン含有率の上昇にともない、鉄酸化力が低下するにもかかわらず、沈着あるいは根の鉄含有率は上昇する(第3図、第4表)。この場合は、沈着リン含有率の方が根のリン含有率よりも、沈着鉄含有率との間に高い相関係数を示し、リン酸の鉄との結合力が強い影響力を示す領域になると推察される。この後者のリンの作用は、培養液中に鉄とリンが共存しているときにあらわれる効果であり、体内リンの効果が小さいことは、本処理無リン酸系列で、(第4表)前処理のP濃度が高くても、根の鉄含有率が高まらないことからうかがわれる。

以上のような沈着鉄に及ぼすリンの影響は、比較的短

い期間にあらわれる現象である。本処理7日目では沈着鉄の処理間差は小さくなる(第3表、第1図)。特に、+P系列では本処理のP処理間の差は小さくなった。これは、鉄が根へ沈着する速度が、沈着鉄の増加にともなって遅くなることによるものと思われるが、その原因は現在の所、不明である。

但野は⁶⁾塩化ナトリウム高濃度培地では、対照区に比べ鉄排除能は変化しないが、鉄酸化力は弱まり、結果として地上部の鉄含有率が高まったことから、鉄酸化力と鉄排除能は別の機作によるとした。本実験においては、リン不足によって鉄酸化力は高まるにもかかわらず、地上部の鉄含有率も高まる例を認め、これは鉄排除能が弱まった結果であろうと推論した。このことから、酸化機構とは一部あるいは完全に独立した鉄排除能が存在するという但野の見解を支持する。

要 約

水稻根の鉄沈着による赤褐色の程度は、沈着したFe/P比によって強く影響され、その比が小さくなる程淡くなった。

水稻幼植物の根の沈着鉄は、沈着リン含有率が0.1%までは、リン含有率の上昇にともなって減少し、0.1%以上のリン含有率では、リン含有率の上昇にともなって増加した。これは、リンが少ない程、根の鉄酸化力が増加することと、培地リン濃度が高いほど、根の表層に鉄が局在化しやすいという、二つの異なる作用の総和の結果と考えられる。

地上部鉄含有率は、培地リン濃度が低いほど高くなるのは、根の鉄酸化力が弱くなったためでも、地上部への移行性が特に高まるためでもない。

文 献

- 1) 馬場尅・田島公一：水稻の赤枯病に関する栄養生理的研究, VI. 過剰の二価鉄が水稻の生育・養分吸収および体内代謝に及ぼす影響. 日作紀29, 47~50 (1960)
- 2) Brown, J. C. Holenes, R. S. Shapiro, R. E., and Specht, A. W.,: Effects of phosphorous and copper salts on iron chlorosis of rice in flooded and non flooded soil and the associated enzymatic activity. *Soil Sci.*, 79, 363-372 (1955)
- 3) Chen, C. C., Dixon, J. B., and Turner, F. T.,: Iron coatings on rice roots - Mineralogy and quantity influencing factors. *Soil Sci. Soc. Am.*

- J.*, 44, 635~639 (1980)
- 4) 水島三一郎・赤堀四郎：蛋白質化学②(初版) 共立出版 (1954) p. 120
 - 5) 岡島秀夫・木村次郎：水稻における磷酸及び鉄養分の吸収機構に関する研究 (第2版) 東北農研彙報3, 1~10 (1951)
 - 6) 但野利秋：水稻の鉄過剰障害対策に関する作物栄養学的研究. 北大農邦文紀要30, 22~64 (1976)
 - 7) Yamada, N, and Ota, Y., : Study on the respiration of crop plants. (7) Enzymatic oxidation of ferrous iron by root of rice plants. 日作紀26, 205-210 (1958)