

土壤および牧草のCoとそのビタミンB₁₂の関連

篠原 功*・黒瀬 忍**・原田 勇*

Relationships between Cobalt and Vitamin B₁₂ in the Soil and the Forage Crops

Isao SHINOHARA, Shinobu KUROSE
and Isamu HARADA
(May, 1985)

コバルト (Co) はビタミン B₁₂ の構成元素で、この B₁₂ 欠乏症は反芻家畜の貧血、食欲不振や増体量低下をもたらすことが知られている^{1,2,7,8,10}。

われわれは先に「土壤の Co 供給と牧草の Co 吸収特性」について検討し、土壤の 0.1 N 塩酸抽出 Co 含量と牧草の Co 濃度との間に強い関連のあることを認めた。また牧草に対する土壤の Co 供給力は道央の成因別土壤間に差異のあることを確認したが、一方、牧草は Co 施与により Co 濃度を上昇させることを明かにした。

今回は、これらの成因別土壤および牧草の B₁₂ を bioassay 法により定量し、先の Co との関連について検討した。以下にその概要を記述する。

実験材料ならびに方法

1) 供試土壤および牧草は先の「土壤の Co 供給と牧草の Co 吸収特性」の材料と同じで、草地土壤の長期栄養管理に関する研究のため用いたものである。すなわち道央の成因を異にする4種土壤；〔野幌重粘性洪積土壤（以下洪積土壤と呼ぶ）、石狩川河成沖積土壤（以下沖積土壤と呼ぶ）、美幌高位泥炭土壤（以下泥炭土壤と呼ぶ）および植苗粗粒性火山土壤（以下火山土壤と呼ぶ）〕に造成したアルファルファ草地とオーチャードグラス草地の造成5年目の、土壤と牧草である。

2) 土壤および牧草の Co 定量法；本研究に用いた Co 定量値のほとんどは「土壤の Co 供給と牧草の Co 吸収特性」⁵⁾ の研究で得られた値であり、追加定量値については前者と同

* 酪農学科，土壤肥科学研究室

Laboratory of Soil Science and Plant Nutrition. The College of Dairying, Ebetsu, Hokkaido 069, Japan

** 現在：北海道農業改良普及員

様の方法によって求めたものである。

3) 土壌および牧草のビタミン B₁₂ の定量法 (bioassay 法); pH 4.5 の酢酸塩緩衝液を用いて試料 (土壌または牧草) よりコバラミン (ビタミン B₁₂) を遊離し, この不安定なコバラミンをシアン化ナトリウムの存在下で安定したシアノコバラミンに変え, その希釈液にビタミン B₁₂ 要求生育菌 (*Lactobacillus Leichmannii* ATCC 7830 菌株) を接種培養して, その生育量を比濁法で測定することによりビタミン B₁₂ を定量した^{3,4,9)}。

結果および考察

1) 表層土壌および牧草の B₁₂ 濃度とその相互関係

成因別土壌の B₁₂ 含量は Fig. 1 に示したごとく最低 1.7~最高 9.0 ppb/乾土であった。そのアルファルファ栽培土壌の順位では洪積土壌 (9.0 ppb) > 火山土壌 (5.0 ppb) > 沖積土壌 (3.0 ppb) = 泥炭土壌 (3.0 ppb) であり, オーチャードグラス栽培土壌では火山土壌 (6.0 ppb) > 沖積土壌 (2.0 ppb) = 泥炭土壌 (2.0 ppb) > 洪積土壌 (1.7 ppb) であった。

またこれらの土壌に生育した牧草の B₁₂ 濃度は Fig. 1 に示したごとくアルファルファ乾物中で最低 32~最高 90 ppb の範囲を示し, その成因別土壌間の順位は洪積土壌 > 沖積土壌 > 泥炭土壌 > 火山土壌であり, オーチャードグラスのそれは最低 32~最高 78 ppb で, 沖積土壌 > 洪積土壌 > 泥炭土壌 > 火山土壌であった。

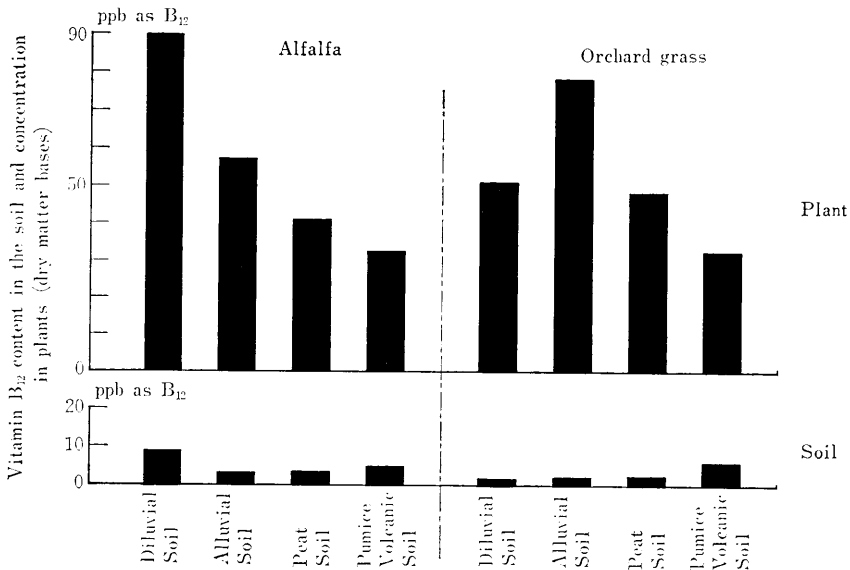


Fig. 1. Vitamin B₁₂ content in soils and concentration in the plant grown on 4 different soils.

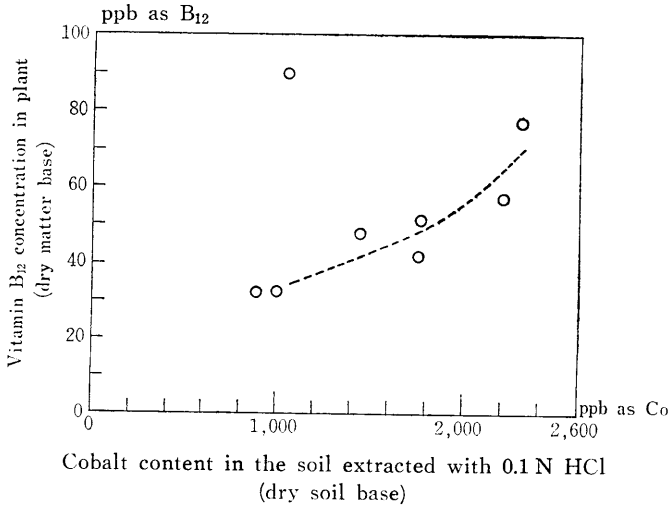


Fig. 2. Relationship between cobalt content in the soil and vitamin B₁₂ concentration in the plant.

これらのことから土壤と牧草の B₁₂ 濃度との間には一定の関係は見いだせなかったが、牧草の B₁₂ 濃度と土壤の植物吸収可能 Co (0.1 N 塩酸抽出) 含量の間には Fig. 2 に示したごとく強い関連が認められた。しかし、このうち洪積土壤のアルファルファの B₁₂ と土壤の植物吸収可能な Co 含量との関連はほとんど認められなかった。このことは先に報告した「土壤の Co 供給と牧草の Co 吸収特性」の検討結果においてもアルファルファの乾物中 Co 濃度と土壤の植物吸収可能な Co 含量間の相関はオーチャードグラスに比較して弱かったことを考慮すると、この両牧草間の差異は先の報告でも指摘したように両牧草の根圏分布の相違と関連しているのではないかと考えられる。

2) 成因別土壤の B₁₂, 有効 Co および全 Co の土層分布

そこでこれら成因別土壤の層位別土壤の Co および B₁₂ 含量を定量した。その結果は Fig. 3 に示したごとくで、洪積土壤の表層からかなりの深さ (40 cm) までの植物吸収可能な Co 含量が比較的低いのに対して B₁₂ 含量の高いことが認められた。しかし、これまで植物吸収可能 Co としてきた 0.1 N 塩酸抽出 Co 含量および全 Co 含量は、土層が深くなっても沖積土壤を除き他は表層の Co 含量とほとんど変化が認められない。また火山土壤の下層で植物吸収可能な Co 含量の高まりが認められるが、この土層は埋没腐植層のためと考えられた。

これらのことから、土壤の B₁₂ 含量と牧草の B₁₂ 濃度との間には強い関連があることを示唆しているものと考えられた。

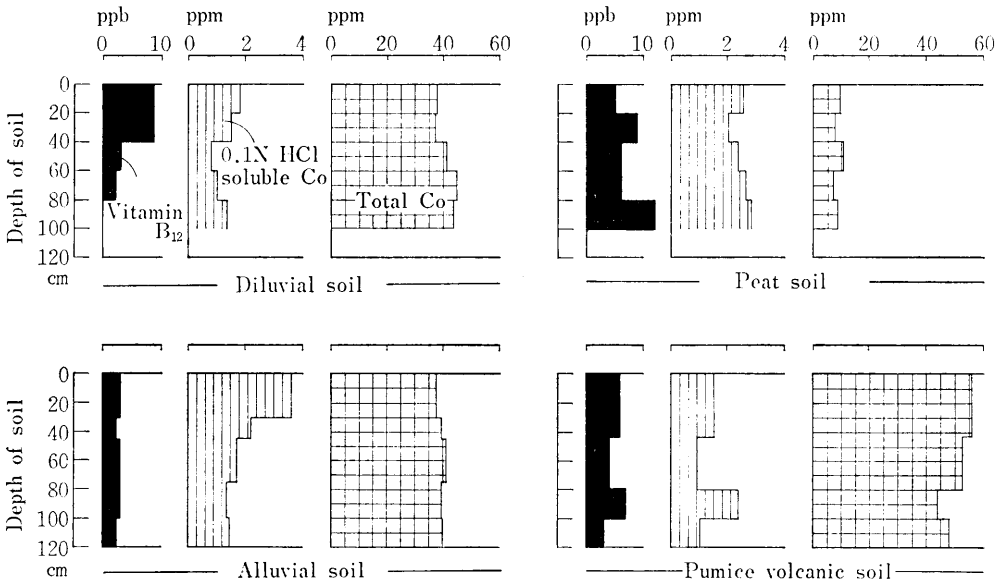


Fig. 3. Distribution of cobalt and vitamin B₁₂ in four different soils.

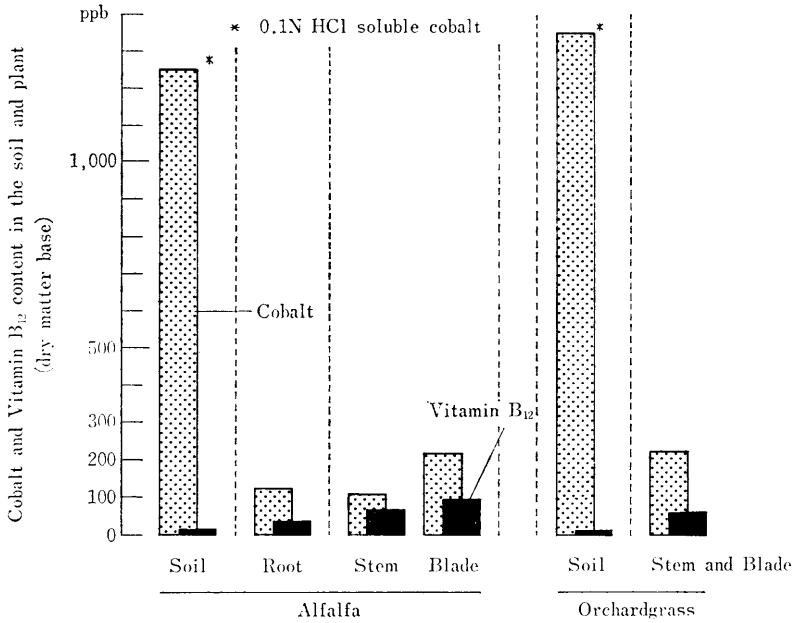


Fig. 4. Vitamin B₁₂ content in the soil and vitamin B₁₂ concentration in parts of the forage.

3) 土壤および牧草の部位別 Co 濃度とビタミン B₁₂ 濃度

別途調査した土壤および牧草の部位別 Co 濃度と B₁₂ 濃度は Fig. 4 のごとくである。すなわち、牧草の Co 濃度は土壤の 0.1 N 塩酸抽出 Co 含量の約 10 分の 1~5 分の 1 程度の濃度であるが、牧草のビタミン B₁₂ 濃度は土壤のそれに比べかなり高くなっており、とくにアルファルファの葉部で 95 ppb であった。このことからビタミン B₁₂ は微量ではあるが牧草の地上部に集積していることが明らかとなった。しかし、この調査数値から、このように土壤に比較してかなり高い牧草のビタミン B₁₂ は牧草体内での生合成なのか、土壤起源のものかについては明らかでない。もちろん、一般的には、ビタミン B₁₂ は微生物によって合成されていることが知られている。また、反芻家畜は Co が供給されれば第一胃内の微生物によって B₁₂ が合成されるため、牧草によるビタミン B₁₂ 供給の必要はないと考えられている。しかし土壤-牧草間の物質移動を検討するうえでは牧草のビタミン B₁₂ の起源は興味あるところである。

4) 挿し木水耕法による牧草の Co および B₁₂ 吸収実験

そこで、別途草地に栽培されたアルファルファを生長点から約 20 cm までの植物体を殺菌蒸留水に Co と B₁₂ を調整した三角フラスに挿し、ガラス室で 1 週間培養して Co と B₁₂ を測定した結果は Fig. 5 に示したごとくであった。すなわち Co 添加のみでは牧草の Co 濃度は上昇するが B₁₂ 濃度は上昇せず、牧草の B₁₂ 濃度は B₁₂ 供給によってのみ上昇した。

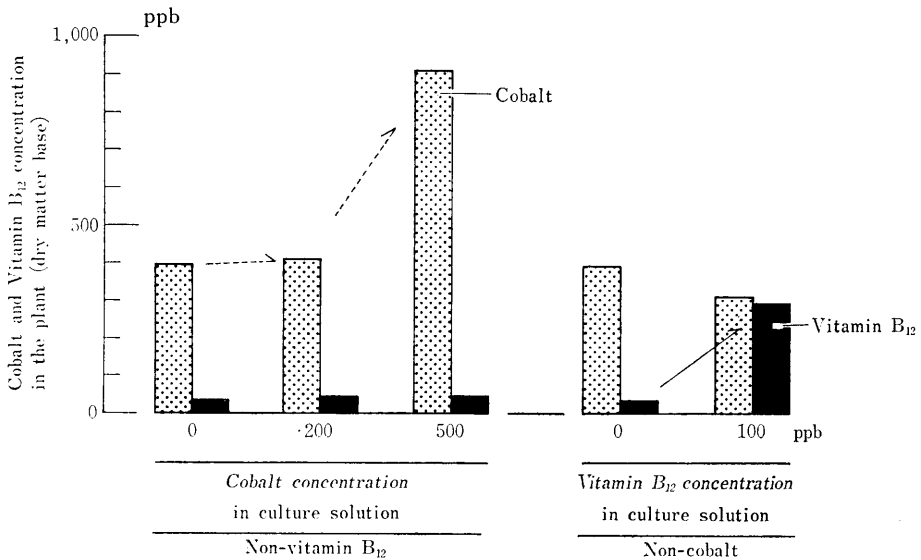


Fig. 5. Concentration of cobalt and vitamin B₁₂ absorbed by alfalfa in a hydroponic experiment.

以上のことから、牧草の Co および B₁₂ は栽培土壌の植物吸収可能 Co 含量と関連していると考えられたが、牧草中の B₁₂ は牧草中での生合成と考えるよりは、土壌起源のものであることが示唆された。このことは 1961 年、Jagodin B. A.⁶⁾ によって指摘されている見解と一致するものであり、植物のビタミン B₁₂ の吸収パターンを一層確認したものと考えている。

摘 要

道央の成因別土壌および牧草の B₁₂ の濃度を bioassay 法 (*Lactobacillus Leichmannii* ATCC 7830 菌株) により定量して、Co との関連について検討した結果、以下のことが明らかになった。

1) 成因別土壌の B₁₂ 含量は乾土中 1.7~9.0 ppb で、そのアルファルファ栽培土壌の順位では洪積>粗粒火山>河成沖積=高位泥炭であり、オーチャードグラス栽培土壌では粗粒火山>河成沖積=高位泥炭>洪積であった。

2) 牧草の B₁₂ 濃度はアルファルファ乾物中 32~90 ppb で洪積>河成沖積>高位泥炭>粗粒火山であり、オーチャードグラス乾物中では 32~78 ppb で河成沖積>洪積>高位泥炭>粗粒火山であった。

3) 牧草の B₁₂ 濃度と土壌の B₁₂ 含量の間には一定の関係は見いだせなかったが、牧草の B₁₂ 濃度と土壌の 0.1 N 塩酸抽出 Co 含量の間にはかなり高い正の相関が認められた。

4) 牧草の Co 濃度は土壌のそれに比較してかなり低かったが、ビタミン B₁₂ 濃度は牧草が土壌よりもかなり高く、とくにアルファルファ葉部で高かった。

5) 一方、「挿し木水耕法」によるアルファルファへの Co および B₁₂ 供給実験の結果では、Co 添加のみでは牧草の Co 濃度は上昇するが B₁₂ 濃度は上昇せず、牧草の B₁₂ 濃度は B₁₂ 供給によってのみ上昇した。

以上のことから、牧草の Co および B₁₂ は栽培土壌の植物吸収可能な Co 含量と関連していると考えられたが、牧草中の B₁₂ の起源は牧草中での生合成と考えるよりは土壌起源のそれであることが示唆された。

謝 辞

本研究におけるビタミン B₁₂ の定量に当たっては本学酪農微生物学研究室の菊地政則助教授のご指導を戴いた。ここに記して感謝の意を表する。

文 献

- 1) Flodh, H. (1970); Distribution and kinetics of CoCl₂ and labelled B₁₂ using autoradiography and impulse counting. /Mills, C. F.; Trace Element Metabolism in Animals. p. 67-96. E & S Livingstone.
- 2) 原田 勇 (1979); 牧草の栄養と施肥, p. 46, 養賢堂.
- 3) Horwitz, William (1980); Official Methods of Analysis of the Association of official Analytical Chemists p. 784-785.
- 4) オズボーン, R. D. フォーフト, P. 共著, 吉川誠次監訳 (1980); 食品栄養分析, p. 248-251, 講談社.
- 5) 篠原 功・中川浩一・原田 勇 (1985); 土壌の Co 供給と牧草の Co 吸収特性. 酪農大紀要, 11, p. 225-233.
- 6) シュコーリニク, Ja. M. 著, 原田竹訳, 藤原彰夫監修 (1982); 植物の生命と微量元素, p. 298-319, 農文協.
- 7) Smith, R. M. and Gawthorne, J. M. (1974); The biochemical basis of deficiencies of zinc, manganese, copper and cobalt in animals. /Nicholas, D. J. D. and Adrian R. Egan; Trace elements in soil-plant-animal system. p. 243-258. Academic press, Inc.,
- 8) Underwood, E. J. 著, 日本化学会訳編 (1975); 微量元素“栄養と毒性”, p. 137-167, 丸善.
- 9) ビタミン B₁₂ 定量小委員会 (1960); 血中ビタミン B₁₂ 定量法, ビタミン, 19, p. 438-445.
- 10) 山崎 博 (1969); 微量元素と多量要素, p. 152, 博友社.

Summary

The relationships between cobalt and vitamin B₁₂ in four different soils of Hokkaido and forage crops were investigated. The content of vitamin B₁₂ were determined by bioassay with *Lactobacillus Leichmannii* ATCC 7830.

The results of this investigation were as follows;

1) Vitamin B₁₂ content in four different soils were from 1.7 to 9.0 ppb. The descending order of alfalfa soil, was Nopporo diluvial > Uenae pumice volcanic > Shinotsu alluvial = Bibai peat soil, and of orchardgrass soil, was Uenae pumice volcanic > Shinotsu alluvial > Bibai peat soil = Nopporo diluvial soil.

2) Vitamin B₁₂ concentration of the forage crops grown in these four soils were from 32 to 90 ppb for alfalfa, and the descending order of the concentration of the plants was Nopporo diluvial > Shinotsu alluvial > Bibai peat > Uenae pumice volcanic soil; and it was from 32 to 78 ppb for orchardgrass; and the descending order of the plants was Shinotsu alluvial > Nopporo diluvial > Bibai peat > Uenae pumice volcanic soil.

3) There were no relationships between vitamin B₁₂ concentration of the forage crops and vitamin B₁₂ content of soil, but relationships existed between vitamin B₁₂ concentration of the forage crops and content of cobalt extracted from the soil by 0.1 N hydrochloric acid.

4) The cobalt concentration of forage crops was much lower than the cobalt content of soils, but vitamin B₁₂ concentration of the forage crops was higher than these of the soils.

5) The results of the experiment with cobalt and vitamin B₁₂ supplied from hydro-culture solution to the cut slips of alfalfa plant increased the cobalt concentration in the plants and was unchanged as for as the vitamin B₁₂ uptake of the same alfalfa plant. The vitamin B₁₂ of alfalfa plant increased only when the vitamin B₁₂ was added to the culture solution.

Therefore, it was summarized that available cobalt content in the soil influenced on the cobalt and vitamin B₁₂ of the forage crops, and suggested that the origion of vitamin B₁₂ of forage crops was supplied from soil rather than from the synthesis of plants.