北海道の主要なダイズ品種の15N自然存在比と窒素固定能

誌名	北海道農業試験場研究報告 = Research bulletin of the Hokkaido National Agricultural Experiment Station
ISSN	03675955
著者名	金森,哲夫 米山,忠克 西尾,隆 藤本,堯夫
発行元	北海道農業試験場
巻/号	148号
掲載ページ	p. 157-167
発行年月	1987年3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

〔北海道農試研報
148, 157—167 (1987)〕

北海道の主要なダイズ品種の ^{15}N 自然存在比と窒素固定能†

金森哲夫* 米山忠克** 西尾 隆*** 藤本堯夫***

I 緒 言

ダイズはその生育日数，収穫部位の生育日数，群落構造などから，イネ科作物や根菜類に比べて収量ポテンシャルが低いと考えられている（田中, 1982）．また，ダイズの生育及び養分吸収の特徴として，①子実生産のために多量の窒素が必要であり，その大部分は根粒による固定窒素に依存している．②他の作物に比べ，初期生育の速度が低い．③栄養生長と生殖生長が開花始期以降，数週間以上にわたって重複する，などがあげられる．

ダイズの多収を考える場合，いかに多量の窒素をダイズに吸収，集積させるかが重要であり，そこで根粒の窒素固定能の占める役割は大きい．これまでに，マメ科作物の根粒を対象として窒素固定能の測定法について報告し，$^{15}N/^{14}N$ 同位体自然存在比（$\delta^{15}N$ 値）測定による窒素固定寄与率の推定が可能なことを明らかにした（金森, 1986; WADA ら, 1986）．

本稿では，北海道の主要なダイズ品種の根粒着生，窒素固定能，収量性の違いなどについて品種間比較を行い，また，最近注目されているダイズ子実や根粒の $^{15}N/^{14}N$ 同位体自然存在比を測定し，窒素固定能との関連性について検討した結果について報告する．

昭和 61 年 11 月 18 日受理

* 畑作部火山灰土壌研究室（現四国農業試験場栽培部）

** 農業生物資源研究所機能開発部（現農業研究センター土壌肥料部）

*** 畑作部火山灰土壌研究室

† 本研究は昭和60年度日本土壌肥料学会金沢大会で発表した

II 試験方法

圃場試験は 1983 年（冷・湿害年），1984 年（高温年）の 2 カ年実施した．根粒着生については両年の結果を示したが，そのほかは 1984 年の試験結果を示す．

1) 供試土壌

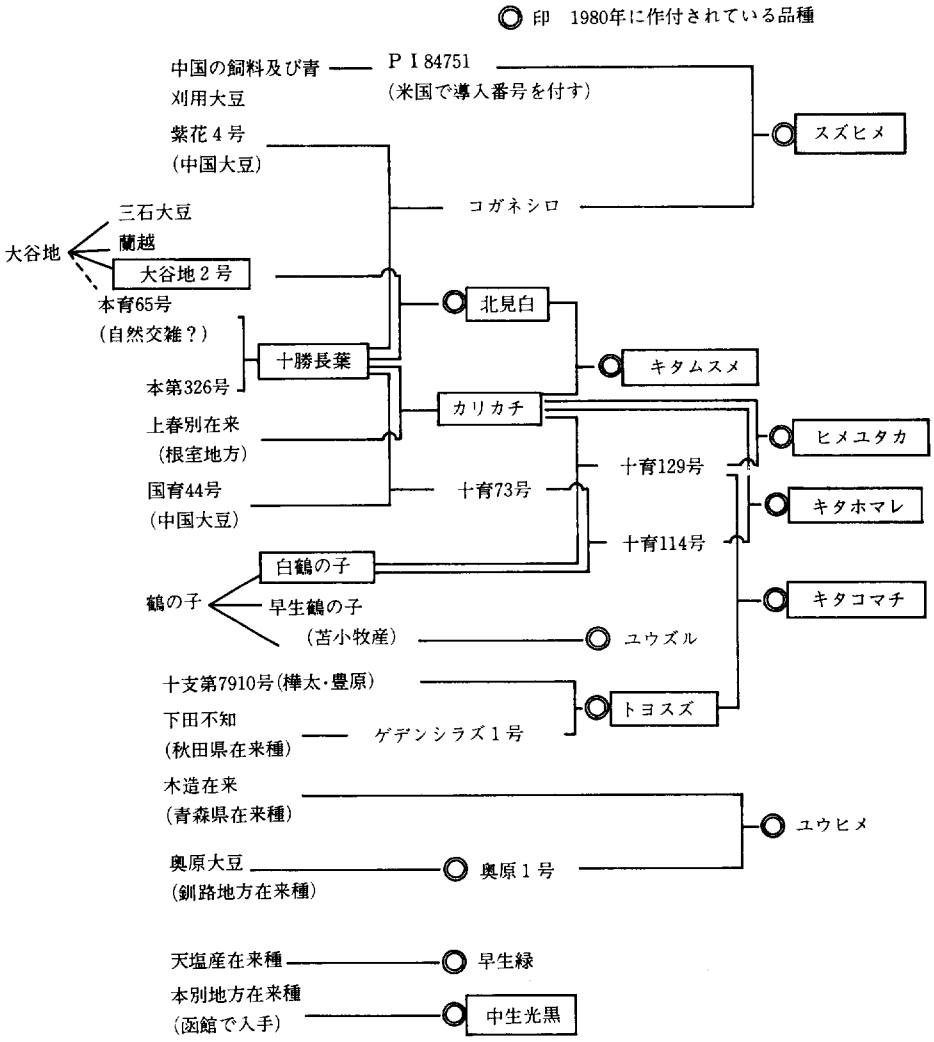
栽培試験は 1984 年 5 月～10 月に畑作部精密圃場において実施した．用いた土壌は北海道十勝地方に広く分布する褐色火山灰性土（Andosol brown）で窒素含量 0.19%，炭素含量 1.72%，pH 5.80 である．この土壌は一般に作物に対する窒素供給力が低いとされている（西宗ら, 1982）．

2) 供試品種

北海道で作付されている主要な品種のうち，①大谷地 2 号（1923），②白鶴の子（1934），③十勝長葉（1954），④カリカチ（1959），⑤北見白（1956），⑥トヨスズ（1966），⑦キタムスメ（1968），⑧ヒメユタカ（1976），⑨キタコマチ（1978），⑩スズヒメ（1980），⑪キタホマレ（1980），⑫中生光黒（1933），⑬Tol—1（1976），⑭Tol—0（1976）を供試した（第 1 図）．( )内は品種採用年次を示す．⑬，⑭は Isogenic lines であり，「Tol—0」は根粒非着生系統である（佐々木, 砂田, 1978）．

3) 耕種概要

施肥量 $N-P_2O_5-K_2O-MgO=3-15-9-4.6$ (kg/10a) を全量，作条基肥として 5 月 22 日に施用し，畦間 60 cm，株間 25 cm，1 株 2 本立てとして播種を行った．



第1図　北海道ダイズ主要品種の系統図
（□内の品種を供試した）

4）　窒素固定能の測定

生育の途中，開花期（7月23日），幼莢期（8月6日），生育最大期（8月29日）に採取した試料について，主茎長，葉面積の測定を行い，風乾試料について乾物重及び全窒素濃度（ガンニング変法）の測定を行った．各品種の窒素固定能は根粒非着生系統の窒素吸収量との差から推定した（金森，1986）．

開花期と幼莢期に地上部を切断した分離根についてアセチレン還元能を測定した（金森，1986；西宗ら，1983）．

5）　$^{15}N/^{14}N$ 同位体自然存在比の測定

開花期，幼莢期，生育最大期の根粒と，生育最大期の莢実，収穫期の子実について，$^{15}N/^{14}N$ 同位体自然存在比（$\delta^{15}N$ 値）を精密質量分析計（Finnigan Mat 250）により測定した（金森，1986）．測定値は

次のように δ^{15}N (‰) で示した．

$$\delta^{15}\mathrm{N}=\left\{\frac{R(\text{試料})}{R(\text{標準})}-1\right\}\times 1000,\qquad R={}^{15}\mathrm{N}/{}^{14}\mathrm{N}$$

なお，N_2 の標準には大気の N_2 を用いた．

Ⅲ　結果と考察

1）ダイズ品種と根粒着生

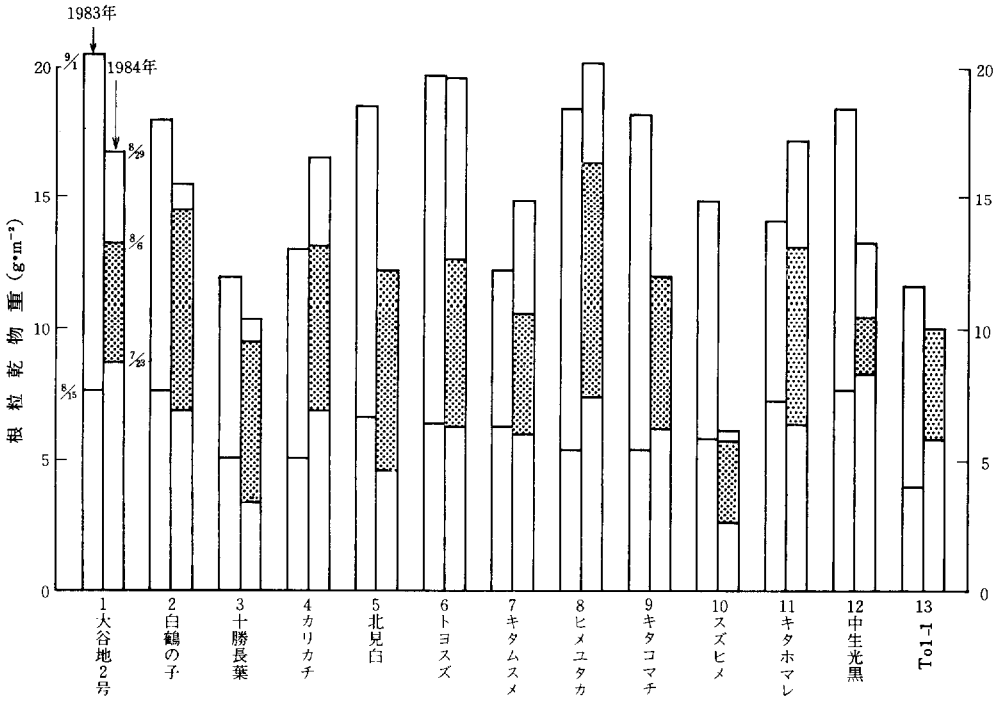
ダイズ各品種の根粒着生量を第2図に示した．根粒着生は品種により異なった反応を示し，冷・湿害年（1983），高温年（1984）ともに，「トヨスズ」，「ヒメユタカ」，「大谷地2号」が高い水準を示し，「十勝長葉」，「Tol—1」で劣っていた．高温年で着生が良好となる品種（カリカチ，キタムスメ，ヒメユタカ，キタホマレ）と，逆に劣る品種（スズヒメ，北見白，キタコマチ）がみられた．全般的にみて，開花期（1983年は8月15日，1984年は7月23日）までは，二，三の例外を除いてほぼ同程度の発達を示しているが，開花期以降における根粒の発達度合は品種間で異なり，「トヨスズ」，「ヒメユタカ」，「キタホマレ」で優れていた．

1984年の根粒肥大経過を根粒1個重でみると（第3図），根粒サイズは「キタムスメ」が小粒であるのに対して，「白鶴の子」，「トヨスズ」，「ヒメユタカ」，「キタコマチ」などは開花期までに既に肥大が相当進み，生育最大期には9 mg/個を超えた．このような根粒発達の良否は後述する窒素固定能に当然反映される．

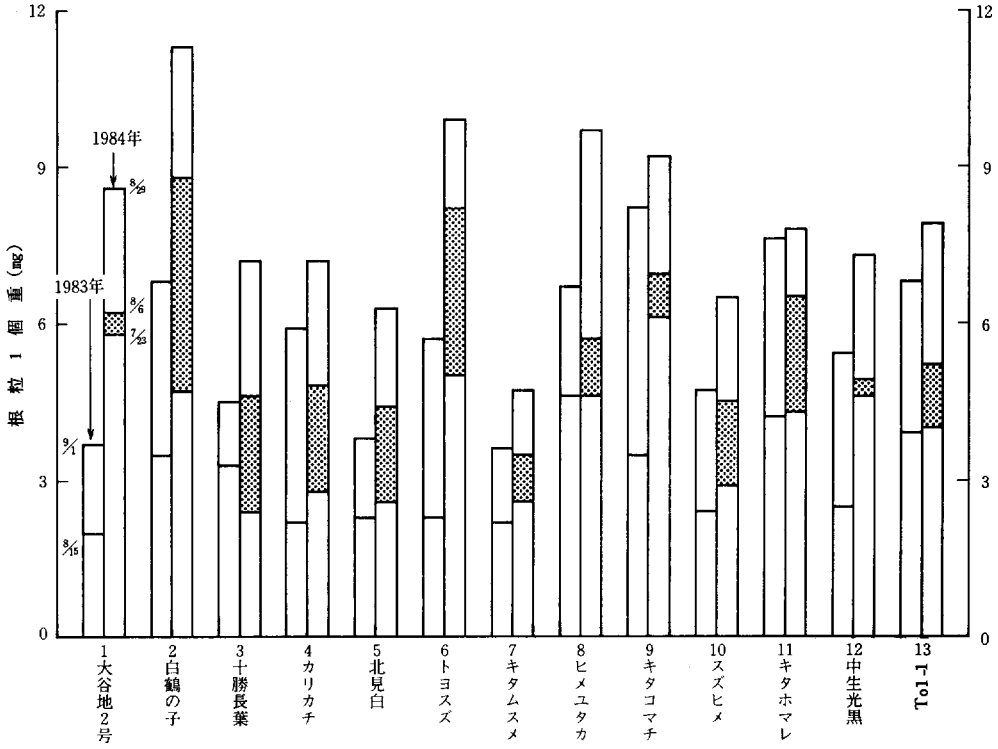
一方，着生した根粒が窒素固定能を十分に発揮するためには，地上部からの光合成産物（エネルギー）の供給が十分になされる必要がある．生育時期別に葉重と根粒着生量との関係を第4図に示した．全体としてみると，開花期から幼莢期，生育最大期にかけて直線関係が認められ，根粒着生量の多い品種，例えば，「ヒメユタカ」，「白鶴の子」，「トヨスズ」，「キタホマレ」などでは葉の乾物生産が大きく，炭水化物の供給条件が良好になっているものと思われる．

2）ダイズ品種と窒素固定能

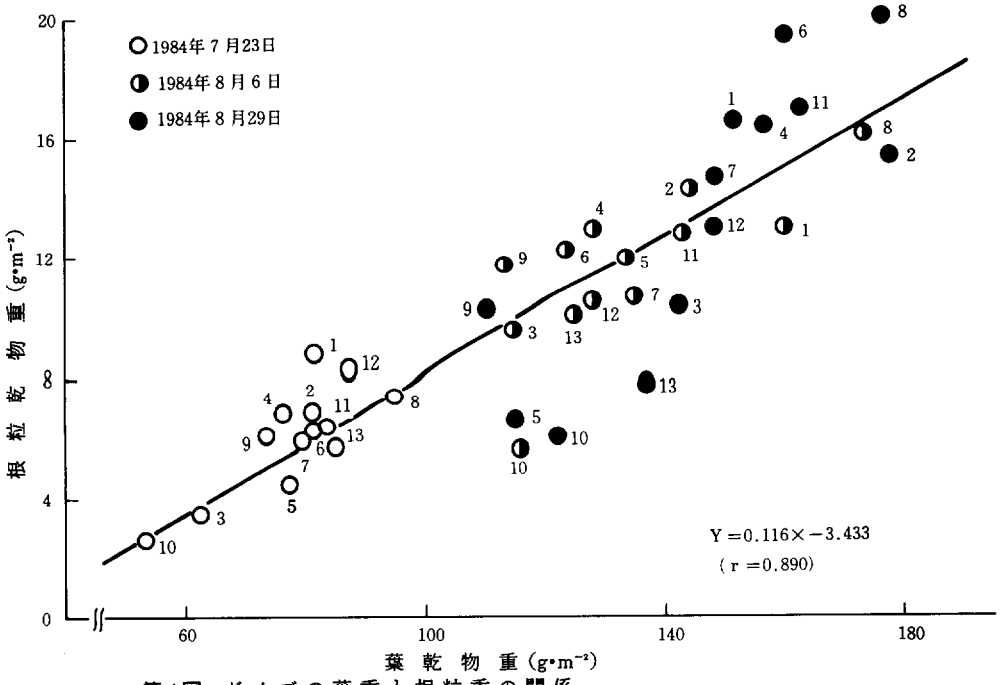
ダイズ各品種の根粒による窒素固定活性をアセチレン還元法で測定した結果を第5, 6, 7図に示した．



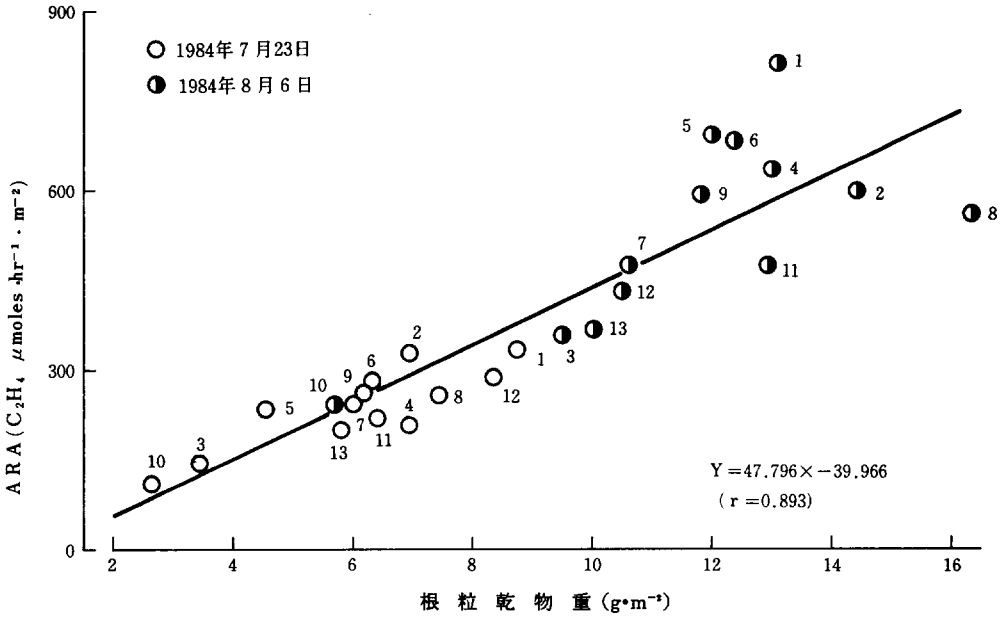
第2図　ダイズ品種の根粒着生（図中の数字は調査月日）



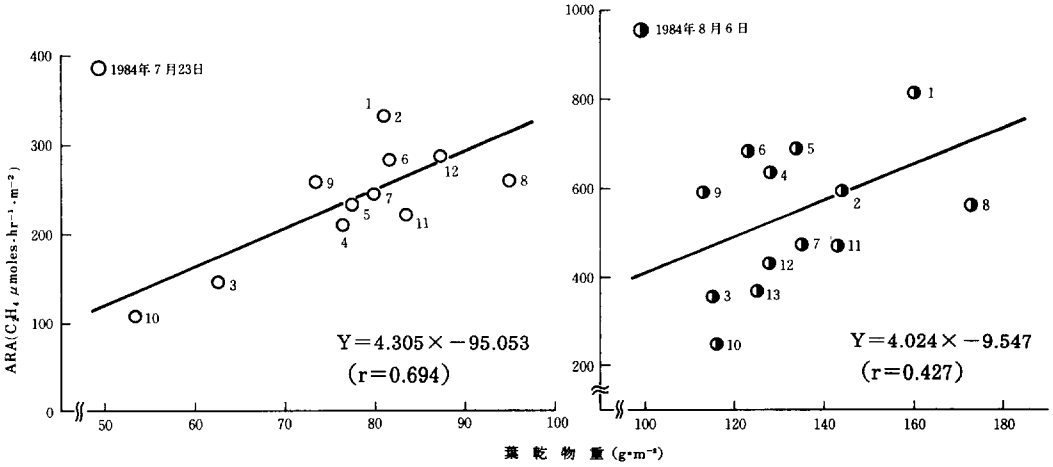
第3図　ダイズ根粒の肥大経過（1個重）（図中の数字は調査月日）



第4図　ダイズの葉重と根粒重の関係
図中の番号は第1図のダイズ品種の番号を示し，以下の図も同様である．



第5図　ダイズの根粒着生量と窒素固定能の関係
ARA：アセチレン還元能



第6図　ダイズの葉重と窒素固定能の関係

ダイズ根粒のアセチレン還元能（ARA, m^{-2}）は根粒着生量を反映して，「大谷地2号」，「白鶴の子」，「カリカチ」，「北見白」，「トヨスズ」，「ヒメユタカ」，「キタコマチ」で高く推移し，「スズヒメ」，「十勝長葉」，「Tol—1」で劣っていた（第5図）．全体としてみると，根粒重とARAの間には正の関係（r＝0.893）が認められる．また，単位根粒重（g）当たりのARAは「大谷地2号」，「北見白」，「トヨスズ」，「キタコマチ」で高かった（データは示さなかった）．

一方，根粒の発達は地上部の生育と関連し，その増加量はCGR（作物生長速度）と正の関係にあり，CGRとARAはほぼ対応すると言われる．ダイズの葉重とARA（m^{-2}）の関係を第6図に示した．開花期では比較的高い正の相関が認められるが，幼莢

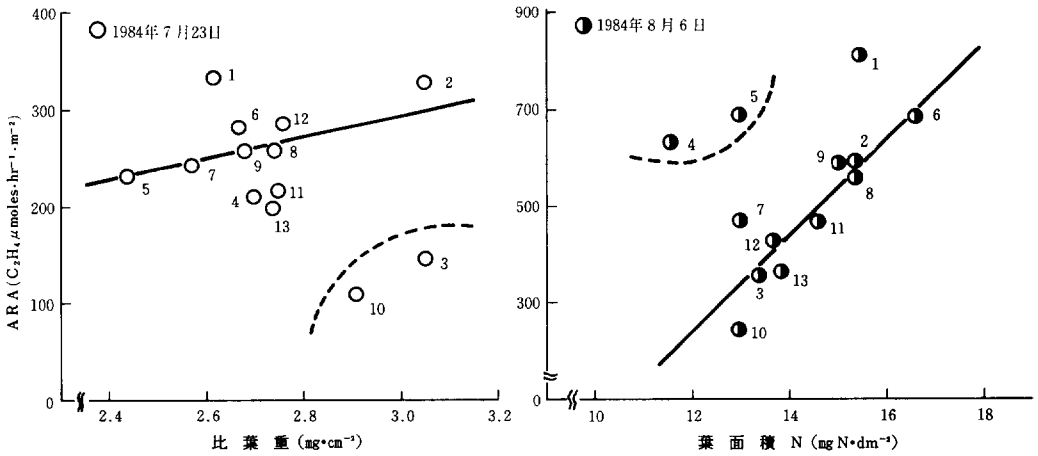
期では相関は低くなる．これは，生育中期以降はダイズ品種によって葉の生育量の度合がかなり異なってきて，それに伴ってエネルギーの供給条件に質的な差となって表れ，同じ葉重でもARAに対する寄与の違いが生ずるものと思われる．この点に関しては，ダイズ葉の光合成機能，炭水化物の量あるいはその代謝回転などの面から詳細に検討する必要がある．以下に幾つかの検討結果を示す．

葉の機能について，光合成能の指標の一形質として扱われる比葉重（単位葉面積当たりの葉重），あるいは葉面積N（単位葉面積当たりの窒素含有量）と根粒のARAとの関係を第7図に示した．比葉重とARAは開花期では長葉の系統である「十勝長葉」，「スズヒメ」を除くと高い相関が認められる．比葉重は葉の厚さを示す指標と考えられるが，生育中期以降になると両者の関係は判然としなかった．「十勝長葉」，「スズヒメ」の根粒着生，根粒活性が劣る理由は本実験から明らかにすることはできない．根粒菌と宿主作物との相互関係は，作物の種類，品種，根粒菌株が互いに複雑に組み合わさっており，長葉の系統と丸葉の系統において適応関係に違いがあるのか，あるいは地上部と根粒との間のC, N関係に帰因するのか，については今後の研究に待たねばならない．

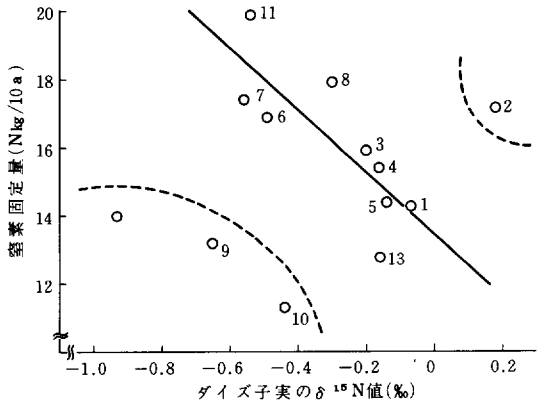
また，葉面積NとARAとの間には幼莢期において高い相関が認められる（第7図）．ダイズの光合成能力の遺伝的特性を比較した小島らの結果によれば，高い光合成能力を示すダイズの葉は，一般的には葉が厚く，葉面積Nの多い葉といわれる（小島，川嶋，1970）．群落構造の面からも多肥多収性品種の葉は直立して短く，厚い濃緑色の特性を備える必要がある．葉面積Nの多いことは光合成に関与する生理的諸活性が高いこと，クロロフィル含量の多いことも示しており，光合成能力に関連する形質の一つとして比葉重とともにダイズの選抜に利用されている（LUGG & SINCLAIR, 1979）．以上のような葉の量的，質的な機能は根粒の窒素固定能と密接に関連していることが伺われた．

3）ダイズ品種の $^{15}N/^{14}N$ 同位体自然存在比と窒素固定能

近年，$^{15}N/^{14}N$ 同位体自然存在比（$\delta^{15}N$ 値）を測定する方法がダイズの窒素固定の評価に盛んに取り入れられて，窒素固定の寄与率の推定や根粒内での窒素代謝の解析に利用されるようになってきている（金森，1986；WADAら，1986；KOHL & SHERER, 1980；KOHLら，1980；SHEARERら，1980；YONEYAMAら，1984）．根粒非着生品種「Tol—0」との窒素吸収量の差から求めた各品種のみかけの窒素固定量とダイズ子実の $\delta^{15}N$ 値との関係を第8図に示した．ダイズ地上部の平均的な $\delta^{15}N$ 値は子実について得られており（WADAら，1986；SHEARERら，1980），



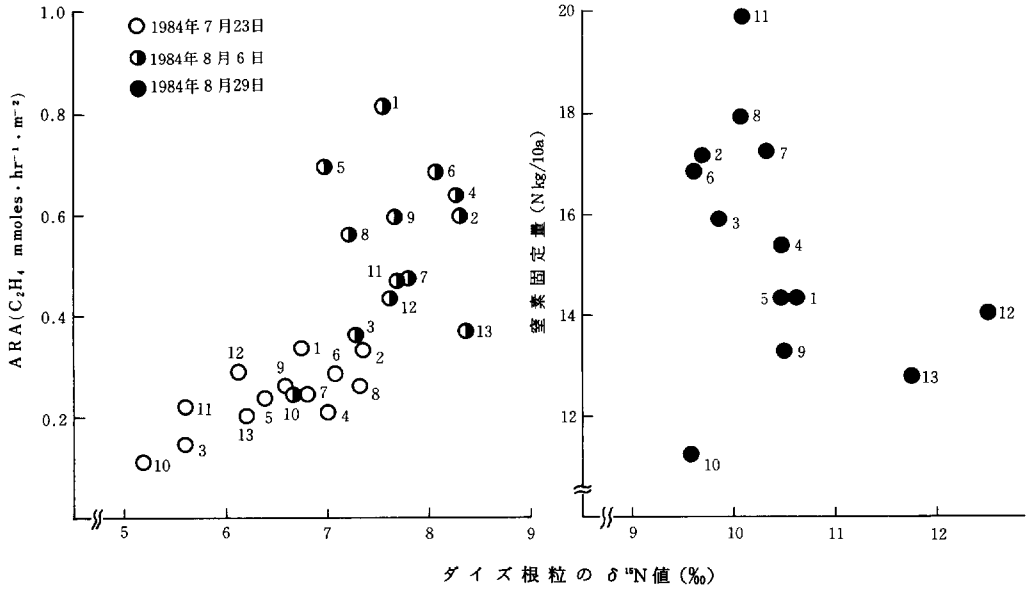
第7図　ダイズの比葉重，葉面積Nと窒素固定能の関係
比葉重：単位葉面積当たりの葉重
葉面積N：単位葉面積当たりの窒素含有量



第8図　ダイズ子実の ^{15}N/^{14}N 同位体自然存在比（δ^{15}N 値）と窒素固定量の関係
窒素固定量：根粒着生品種と非着生品種（Tol-0）との窒素集積量の差

子実の δ^{15}N 値は二，三の例外を除いて窒素固定量の増大に伴って低くなる傾向が認められる．子実の δ^{15}N は固定窒素の寄与率（%）の Index と考えることができ，見掛けの窒素固定量から求めたダイズ各品種の固定窒素の寄与率（%）と子実 δ^{15}N との間でも，第8図と同様な関係が認められた．自然の ^{15}N 濃度差を利用した ^{15}N 希釈法の原理から考えると，δ^{15}N 値の低下は二，三の例外はあるものの，窒素固定の増大を意味するものと考えてよいと思われる．直線性からはずれる品種のうち，②「白鶴の子」は極晩性，⑫「中生光黒」は晩生品種，⑨「キタコマチ」，⑩「スズヒメ」は中生の早という品種特性があるが，これが第8図での例外を生む主要因とは考え難い．水耕栽培のような純系を使っての実験と異なり，圃場試験という自然の複雑な系での結果であり，子実集積窒素の δ^{15}N 値については相当な変異のあることは予想される．

窒素固定の場である根粒の δ^{15}N 値と ARA あるいは窒素固定量との関係を第9図に示した．ダイズ根粒の δ^{15}N 値は開花期，幼莢期，生育最大期と，生育の経過とともに高まっている．ARA と根粒の δ^{15}N 値の関係は開花期では正の相関が認められるが，幼莢期になると δ^{15}N 値は8前後の値に収れんして，ARA との関係は認められなくなる．更に，生育最大期になると δ^{15}N 値は10〜11となって，窒素固定量との関係は全く認められなくなる．ダイズの窒素固定能（ARA）は開花期から子実肥大中期にかけて最大となり，生育最大期には急速に低下することが一般的に認められている．根粒で固定された窒素は茎葉あるいは子実へ逐次転流され，根粒活性が衰退してくる生育後期には根粒の δ^{15}N 値は窒素代謝の

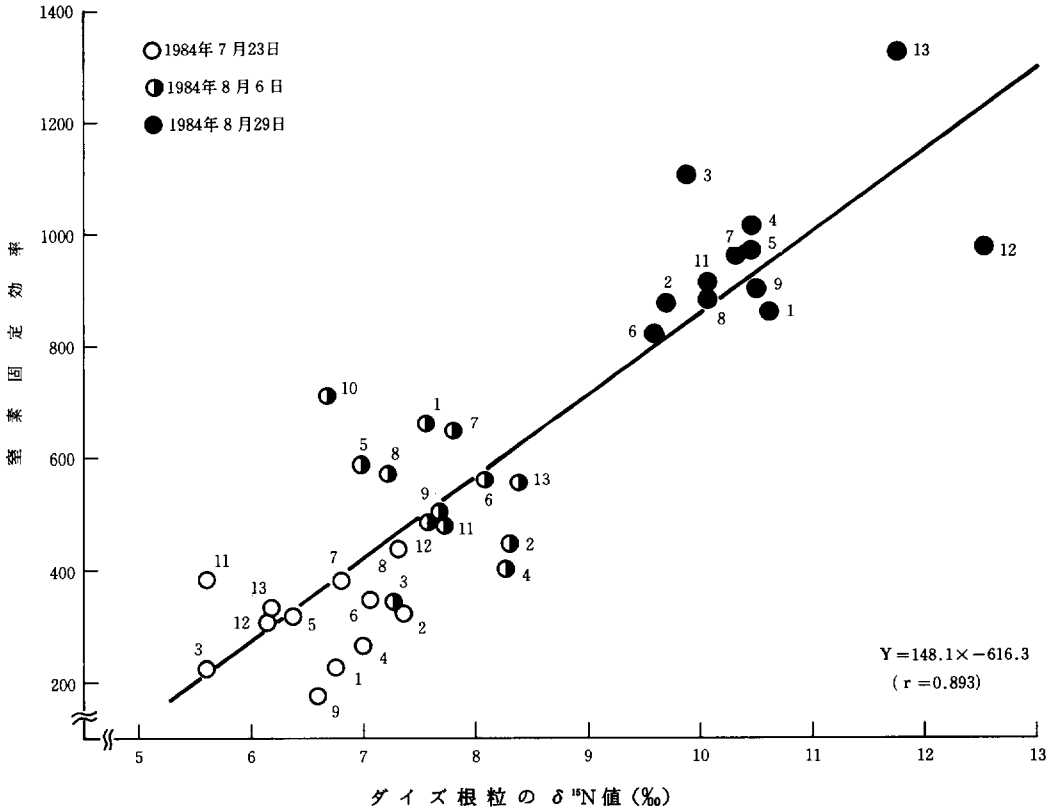


第9図　ダイズ根粒の ^{15}N/^{14}N 同位体自然存在比（δ^{15}N 値）と窒素固定能の関係

過程でNの同位体分別を受けた結果として，一定の値に収れんしてくるものと推察される．SHEARERら（1984）はダイズ根粒における^{15}Nの濃縮について，その度合は根粒の大きさに比例し，根粒組織の構成に利用されるNと，根粒から転流される化合物（ウレイド）の生成に利用されるNとの同位体分別の違いに起因すると推論している．更に，YONEYAMAら（1984）はこの^{15}N濃縮は根粒のN_2固定部位であるバクテロイド中で起こっていることを報告している．根粒中における^{15}Nの分別機構については，N_2固定の代謝産物の^{15}N濃度を測定することによってより明確にできるものと思われる．

根粒のδ^{15}N値と窒素固定との関係について，KOHLら（1983）は水耕栽培したダイズで両者の間に正の相関があることを示している．第10図に根粒のδ^{15}N値と根粒の窒素固定効率との関係を示した．ここでいう窒素固定効率は根粒中の窒素1g当たりの窒素固定量を示すもので，言いかえれば，根粒の大きさ当たりの窒素固定量と考えられる．第10図から，両者の関係は全体としてみれば高い正の相関が成立するが，しかしながら，生育時期別にみると，特に着莢期（8月6日）ではむしろ負の相関を示しており，生育時期によっては^{15}N濃縮一分別機構に生理代謝的変化が起こっていることも考えられる．KOHLら（1983）の結果は播種後53日のデータのみであり，生育時期による違いについては言及することはできない．

以上のように，ダイズ子実のδ^{15}N値は窒素固定の増大に伴って低下する傾向があるのに対して，根粒のδ^{15}N値は根粒の成熟に伴って高まり，根粒の窒素固定効率と比較的高い相関を示したが，これらの詳細な機作については今後の研究に待たねばならない．また，窒素固定量と最も高い相関を示すパラメーターについては未だ十分なデータはない．ARAは時々刻々の窒素固定活性であり，δ^{15}Nは集積した窒素のうちの固定窒素を反映するものと考えられ



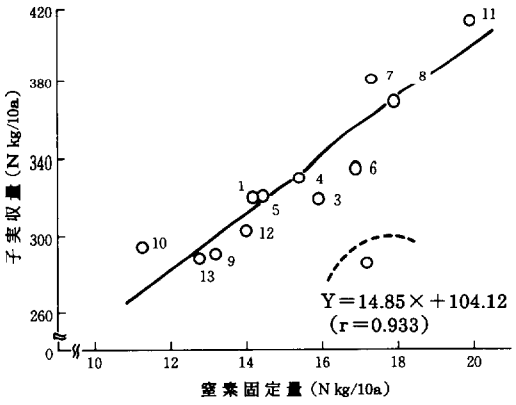
第10図　ダイズ根粒の^{15}N/^{14}N同位体自然存在比（δ^{15}N値）と根粒の窒素固定効率
窒素固定効率：根粒中の窒素（mg）当たりの窒素固定量（mg）

るが，これらについては本実験に加えて，一つの標準品種について各種の条件下（例えば，施肥，土壌，根粒菌の接種，水分環境，気象環境など）から得られる N_2 固定比率の異なるダイズを供試するなどして，^{15}N 自然存在比との関係を詳細に解析してみる必要があると思われる．

4）ダイズ品種の窒素固定能と子実生産性

ダイズ各品種の窒素固定量と子実収量の関係を第11図に示した．子実収量は290 kg/10a から最高414 kg/10a まで，品種によって大きな違いが認められた．また，根粒非着生品種「Tol—0」の窒素吸収量との差から求めた各品種のみかけの窒素固定量は11 kg/10aから最高20 kg/10aまで，品種による違いが認められ，窒素集積量の多い「キタホマレ」，「ヒメユタカ」，「キタムスメ」，「トヨスズ」などで窒素固定能の高いことが伺われた．

新，旧主要品種の根粒着生について調べられた結果によると，現在の栽培品種（ヒメユタカ，トヨスズ，キタムスメ，北見白）は旧品種に比べ根粒着生及び窒素固定能（ARA）が高い傾向にあり，多収品種の選抜に根粒の窒素固定能が生かされていることが示唆されている（熊谷ら，1983）．ダイズ品種の窒素固定量と子実収量の関係は第11図から明らかなように正の相関が認められ（r＝0.933），多収品種ほど根粒の窒素固定に依存する度合が高いと考えられた．



第11図　ダイズ品種の窒素固定量と子実収量の関係
窒素固定量：根粒非着生品種（Tol-0）との窒素集積量の差

Ⅳ 摘　　要

北海道の主要なダイズ品種を圃場栽培し，根粒着生，窒素固定能，窒素集積量，子実収量，子実及び根粒の $^{15}N/^{14}N$ 同位体自然存在比を調査，測定し，下記の結果を得た．

1）ダイズ各品種の根粒着生は開花期まではほぼ同程度の発達を示しているが，開花期以降における発達の度合は茎葉の生育量を反映して，「トヨスズ」，「ヒメユタカ」，「キタホマレ」で優れていた．

2）ダイズ根粒のアセチレン還元能（ARA）は根粒着生量を反映し，根粒重と ARA の間に正の相関が認められ，また，比葉重（開花期），葉面積N（幼莢期）とも高い相関が認められた．

3）ダイズ子実の $^{15}N/^{14}N$ 同位体自然存在比（$\delta^{15}N$ 値）は窒素固定の増大に伴って低くなる傾向が認められた．また，ダイズ根粒の $\delta^{15}N$ 値は生育の経過とともに高まり，根粒の窒素固定効率と高い正の相関が認められた．

4）ダイズ各品種の見かけの窒素固定量と子実収量の関係から，多収品種ほど根粒の窒素固定に依存する度合が高いと考えられた．

謝　　辞

本研究の遂行に当たって御指導頂いた前畑作部長大久保隆弘博士（現農業研究センター），同中山兼徳博士（現日本植物調節剤研究協会）に深く感謝の意を表するとともに，本報告の御校閲をいただいた畑作部長茨木和典博士，農芸化学部長飯村康二博士に感謝の意を表します．

引 用 文 献

1）金森哲夫（1986）：窒素固定能の測定法．農及園，**61**，705—710，811—816．

2）KOHL, D. H. and SHEARER, G. (1980): Isotopic fractionation associated with symbiotic N_2-fixation and uptake of NO_3^- by plants. *Plant Physiol.*, **66**, 51—56.

3）KOHL, D. H., SHEARER, G. and HARPER, J. E. (1980): Estimates of N_2 fixation based on differences in the natural abundance of ^{15}N in nodulating and non-nodulating isolines of soybeans. *Plant Physiol.*, **66**, 61—65.

4) KOHL, D. H., BRYAN, B. A. and SHEARER, G. (1983): Relationship between N_2-fixing efficiency and natural ^{15}N enrichment of soybean nodules. *Plant Physiol.*, **73**, 514—516.

5) 小島睦男，川嶋良一（1970）：大豆の子実生産に関する研究 第8報 F_2において光合成能力を異にしたF_3系統の光合成能力の比較．日作紀，**39**，440—445.

6) 熊谷秀行，大崎亥佐雄，野村 琥（1983）：アセチレン還元法の圃場適応性の検討．「窒素固定菌の環境適応機作」，グリーンエナジー計画成果シリーズ，II系（物質固定），p. 23—37.

7) LUGG, D. G. and SINCLAIR, T. R. (1979): A survey of soybean cultivars for variability in specific leaf weight. *Crop Sci.*, **19**, 887—892.

8) 西宗 昭，斎藤元也，金野隆光，藤田 勇，宮沢数雄（1982）：十勝に分布する肥沃度の異なった土壌におけるテンサイの生育解析．北海道農試研報，**133**，31—60.

9) 西宗 昭，金野隆光，斎藤元也，藤田 勇（1983）：十勝地方の主要畑土壌に栽培されたマメ類の窒素固定量と子実収量．北海道農試研報，**137**，81—106.

10) 佐々木紘一，砂田喜与志（1978）：大豆の根粒着生に関するIsogenic lines "Tol—0", "Tol—1" の育成について．北海道立農試集報，**39**，12—18.

11) SHEARER, G., KOHL, D. H. and HARPER, J. E. (1980): Distribution of ^{15}N among plant parts of nodulating and non-nodulating isolines of soybeans. *Plant Physiol.*, **66**, 57—60.

12) SHEARER, G., BRYAN, B. A. and KOHL, D. H. (1984): Increase of natural ^{15}N enrichment of soybean nodules with mean nodule mass. *Plant Physiol.*, **76**, 743—746.

13) 田中 明（1982）：生産性・生育経過・養分要求量．「作物比較栄養生理」p. 113—136. 学会出版センター.

14) WADA, E., IMAIZUMI, R., KABAYA, Y., YASUDA, T., KANAMORI, T., SAITO, G. and NISHIMUNE, A. (1986): Estimation of symbiotically fixed nitrogen in field grown soybeans: An application of natural $^{15}N/^{14}N$ abundance and a low level ^{15}N-tracer technique. *Plant & Soil*, **93**, 269—286.

15) YONEYAMA, T., YAMADA, N., KOJIMA, H. and YAZAKI, J. (1984): Variations of natural ^{15}N abundances in leguminous plant and nodule fractions. *Plant & Cell Physiol.*, **25**, 1561—1565.

[Res. Bull. Hokkaido Natl Agric. Exp. Stn, 148, 157—167 (1987)]

Variations of Natural ^{15}N Abundance and N_2-Fixing Activities among Soybean Varieties in Hokkaido

Tetsuo KANAMORI*, Tadakatsu YONEYAMA**, Takashi NISHIO*** and Takao FUJIMOTO****

Summary

Development of root nodules, N_2-fixing activity, nitrogen accumulation, grain yields and natural abundance of ^{15}N were investigated by field experiments using 14 varieties of soybeans cultured in Tokachi districts, Hokkaido. Results obtained are summarized as follows.

1) The dry weight of the root nodules was similar among varieties before flowering stage. However, the rates of nodule growth were related to the mass of soybean shoots during pod-setting and pod-filling stages. Especially, var. Toyosuzu, Himeyutaka and Kitahomare had high yield of root nodules.

2) Acetylene reducing activity (ARA) of the root nodules increased with an increase of nodule weight, and high positive correlations were observed between ARA and specific leaf weight or leaf nitrogen content.

3) Natural ^{15}N abundance of soybean grains from 13 varieties tended to decrease with an increase of N_2 fixed. A ^{15}N enrichment occurred in the root nodules and the degree was strongly correlated with nodule mass or N_2-fixing efficiency (mg N fixed per mg N in the nodules).

4) The grain yields from 13 varieties of soybeans increased with an increase of N_2 fixed.

* Dept. of Upland Farming, Hokkaido National Agricultural Experiment Station (Present address: Agronomy Division, Shikoku National Agricultural Experiment Station)

** Dept. of Soils and Fertilizers, National Agriculture Research Center

*** Dept. of Upland Farming, Hokkaido National Agricultural Experiment Station