

優良ダイズ根粒菌に関する研究

誌名	日本土壌肥料学雑誌 = Journal of the science of soil and manure, Japan
ISSN	00290610
巻/号	583
掲載ページ	p. 291-292
発行年月	1987年6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



優良ダイズ根粒菌に関する研究

南 沢 究*

マメ科植物と根粒菌による共生窒素固定は、食糧・環境・エネルギー問題をかかえる今日、きわめて重要な課題となってきた。特に化石エネルギーおよび窒素肥料の節約という点から、現存する窒素固定系をより効率化しようとする試みが、根粒菌側・植物側から数多くなされてきている。その中で筆者は、根粒菌側の明確な遺伝形質で、窒素固定効率上昇に寄与すると考えられる Hup 系 (Uptake, hydrogenase 系) にまず着目した。Hup 系を持つ根粒バクテロイドでは、ニトロゲナーゼにより不可避免的に生成する分子状水素を再酸化しており、窒素固定系の効率化に貢献するものと期待されている。

そこで、日本のダイズ根粒菌保存株から得られた Hup⁺ 株と Hup⁻ 株の両グループの接種効果およびその際のダイズ植物体と根粒の生理的比較を行った。Hup⁺ 株ダイズ根粒菌 6 菌株と Hup⁻ 株 4 菌株の接種効果を、滅菌パーミキュライトを用いて栄養生長初期まで無窒素培養液で栽培することによって調べた。窒素固定量は、Hup⁺ 株接種により 35% 増加しており、一方根粒の窒素量・乾物量はそれほど増加していなかったため、根粒当りの窒素固定能も上昇していることが明らかになった。また、Hup⁺ 株接種により光合成器官である葉身を含めた地上部の窒素量・乾物重が増加していたので光合成量も増加しているものと考えられ、光合成と窒素固定の相乗作用が起こっているものと推察された。トレーサー法、溢液採取法を用いて Hup⁺ 株・Hup⁻ 株接種ダイズにおける固定窒素の同化と移行について比較したところ、同化速度・みかけの窒素移行速度は、Hup⁺ 株接種ダイズの方が大きい傾向が認められた。

用いた Hup⁻ 株ダイズ根粒菌には従来優良とされてきた根粒菌株 2 菌株を含んでおり、また、供試した Hup⁺ 株・Hup⁻ 株の Hup 系以外の遺伝的性質は適度に分散していると考えられたので、上述の現象を起こしたおもな要因は、Hup 系の存在による窒素固定効率の上昇にあると考えられた。

次に、土着ダイズ根粒菌として Hup⁻ 株が支配的であ

る茨城大学附属農場の畑土壌を用いて土耕栽培したダイズに対する Hup⁺ 株の接種効果を調べたところ、Hup⁺ 株接種ダイズの水素発生は減少し、RE (エネルギー利用相対効率)¹⁾ は 90% 以上となったので、Hup⁺ 株ダイズ根粒菌は確かに根粒を形成していたが、Hup⁻ 株土着根粒菌もある程度根粒形成に関与していたと考えられた。このような状況下においても、ダイズ植物体の窒素集積量は Hup⁺ 株接種の方が大きく、また、器官別にみると、Hup⁺ 株接種により葉身の窒素量の増加する傾向が認められ、葉身の単位面積当りのクロロフィル量は Hup⁺ 株接種により明らかに高くなった。このように滅菌パーミキュライト栽培実験で観察された Hup⁺ 株による窒素固定量の増加傾向は、本土耕栽培実験でも認められた。また、Hup⁺ 株接種菌の土壌中での残存性を調べてみたところ、前接種歴が Hup⁺ 株 (A1014, A1017, J1B118) であった土壌で栽培した 2 作目のダイズ根粒の RE が 90% 以上となり、前作時接種 Hup⁺ 株根粒菌は土壌中に残存して根粒を形成しうることもわかった。

種々の根粒菌株によって形成された根粒中の遊離窒素化合物を分析していたところ、筆者は、Hup⁻ 株形成ダイズ根粒にしばしば集積し、Hup⁺ 株形成ダイズ根粒に少ない塩基性アミノ化合物 (Compound X) が存在することに気がついた。この Compound X は、ダイズ植物体の根粒以外の器官には微量しか存在せず、根粒内では、サイトソール画分に多く存在した。そこで、Compound X は根粒の水素代謝に何らかの関係があるのではないかと考え、Compound X の構造決定を行った。

水素発生ダイズ根粒 1 kg より精製を行ったところ、73 mg の Compound X 塩酸塩の結晶が得られた。元素分析・NMR・滴定の結果より、Compound X はセリノール (2-アミノ-1,3-プロパンジオール) であると推定されたので、IR・NMR・HPLC・GC/MS にて標品のセリノールと Compound X を比較したところ、まったく同じスペクトル・クロマトグラムが得られ、Compound X はセリノールであることが判明した。また、セリノールと構造異性体の関係にある 3-アミノ-1,2-プロパンジオール (3APD) も微量成分として根粒に含まれていることも判明した。

Chemical Abstracts によって、1907 年から現在まで

* みなみさきわむ；昭和 58 年東京大学農学部農学系研究科 (博) 中退。
現在、茨城大学農学部 (300-03 茨城県稲敷郡阿見町阿見 3998)

の報告を調べたところ、生体中に遊離のセリノールが存在するという報告はサトウキビ葉に関する一報のみであり、3APD については一報も見あたらなかった。両アミノプロパンジオール（セリノール、3APD）ともきわめて簡単な構造の化合物であるにもかかわらず、生体物質としてはきわめて珍しいアミノアルコールであることがわかった。

根粒におけるセリノールの生理的役割は何であるのか、水素代謝との関連はあるのか、アミノプロパンジオールの生合成系はどのようにになっているのか、根粒におけるアミノプロパンジオールの合成部位はバクテロイドであるかなど興味ある問題は多くあるが、ここでは優良ダイズ根粒菌の選抜という観点からセリノールとリゾビトキシンとの関連について述べる。

リゾビトキシンは、ある種の *Bradyrhizobium* 属根粒菌が生産する毒素であり、リゾビトキシン生産能の高いダイズ根粒菌を接種された宿主ダイズは、リゾビトキシンによって新葉がクロロシスやネクロシスを起こし生育が完全に阻害されてしまう。ダイズ根粒菌の一部がなぜこのような毒素を生産するのかは明らかではないが、根粒菌が宿主植物に対して示す病原性の一側面とも考えられる。リゾビトキシンはセリノールとホモセリンが脱水縮合して3位に二重結合が入った構造をしており、また、リゾビトキシンとセリノールの分布はともにダイズ根粒とカウピー型の根粒に限られていることより、何らかの代謝上の関係があるのではないかと考えられた。

そこで、11の異なる血清型の菌株を含むダイズ根粒菌40菌株を対象に、Hup型・形成根粒のセリノール含量・リゾビトキシン含量等を調べたところ、Hup型・セリノール集積型・リゾビトキシン生産能の間に興味ある現象が見出され、ダイズ根粒菌株を以下のように3つのタイプに分けることができた。

タイプ	Hup型	セリノール濃度 ($\mu\text{mol/g}$)	株数	リゾビトキシン 生産株数
I	-	0.60~6.00	18	7
II	-	0.004~0.53	5	0
III	+	0.004~0.53	17	0

リゾビトキシン生産株が、タイプI、すなわち Hup-

型でセリノール集積タイプのダイズ根粒菌のみに限られ、その出現頻度は約4割に達していた。供試したダイズ根粒菌は、11の異なる血清型の菌株から Hup+ 株と Hup- 株がほぼ同数になるように選択してあるので、この結果は数百菌株の結果にも匹敵すると考えられる。得られたリゾビトキシン生産菌の分離土壌は、沖縄、鳥取、栃木、新潟と全国各地に分布しており、これらの菌株によって形成された根粒を持つダイズ植物体は程度の差こそあれ多少の生育阻害を被っていた。セリノールとリゾビトキシンの詳細な代謝上の関係は現在検討中であるが、リゾビトキシンは、Hup+ 株根粒菌のヒドロゲナーゼの誘導を低濃度で抑制することもわかってきている。

以上の全体の結果より、優良ダイズ根粒菌の具備すべき遺伝形質として、窒素固定効率を高める Hup 系の保有と、宿主ダイズの生育を阻害しないリゾビトキシン非生産性があげられるが、Hup+ 株はすべてリゾビトキシン非生産株なので、実用上は、優良ダイズ根粒菌として Hup+ 株を中心に選抜していくことが望ましいことがわかった。

おもな業績

- 1) 有馬泰紘・南沢 究・熊澤喜久雄：空气中で水素発生を示さないダイズ根粒を形成する根粒菌の検索，土肥誌，**52**，114~118 (1981)
- 2) MINAMISAWA, K., ARIMA, Y. and KUMAZAWA, K.: Transport of Fixed Nitrogen from Soybean Nodules Inoculated with H₂-Uptake Positive and Negative *Rhizobium japonicum* Strains. *Soil Sci. Plant Nutr.*, **29**，85~92 (1983)
- 3) MINAMISAWA, K., ARIMA, Y. and KUMAZAWA, K.: Unidentified Compound Specifically Accumulated in Soybean Nodules Formed with H₂-Uptake Negative *Rhizobium japonicum* Strains. *Soil Sci. Plant Nutr.*, **30**，435~444 (1984)
- 4) 南沢 究・有馬泰紘・田中裕之・熊澤喜久雄：水素回収系を持つダイズ根粒菌の接種効果，土肥誌，**56**，292~299 (1985)
- 5) MINAMISAWA, K. and WATANABE, H.: Serinol (2-Amino-1, 3-Propanediol) and 3-Amino-1, 2-Propanediol in Soybean Nodules. *Plant Cell Physiol.*, **27**，1109~1116 (1986)