

# 草地における生物窒素固定

誌名	日本草地学会誌
ISSN	04475933
著者名	吉田,重方
発行元	日本草地学会
巻/号	34巻1号
掲載ページ	p. 20-28
発行年月	1988年5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



# 草地における生物窒素固定

吉田 重方

## Biological Nitrogen Fixation in Grassland

Shigekata YOSHIDA

### I 緒 言

生物の生命維持に不可欠なタンパク質の主要構成元素である窒素は作物の生産の場においても収量を律する重要な要因として働いていることは周知のとおりである。

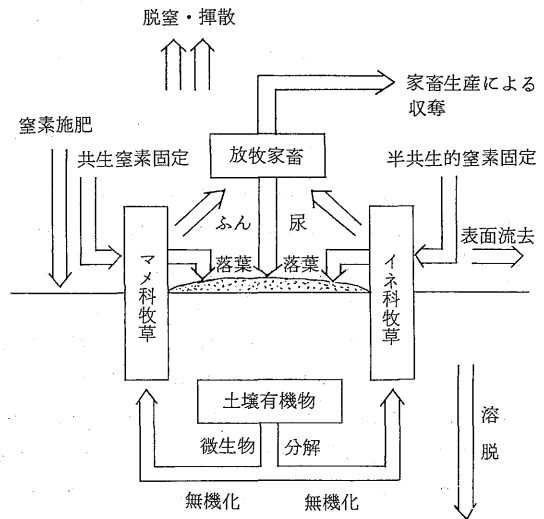
しかし、植物が利用できる窒素はアンモニアや硝酸態窒素であり、大気に無尽蔵に存在する分子状窒素は利用できない。それを利用できるものはごく少数の細菌とラン藻およびそれら微生物と共生した特定の植物種にかぎられる。この機能を生物窒素固定能と呼び、作物の生産性向上に役立てようとする試みが古くから経験的に行われてきた。

一方、Harber-Bosch 法によるアンモニア合成法が開発されたために多量の化学窒素肥料が安価に利用されるようになった現代農業では、生物生産の場における生物窒素固定能の価値は相対的に下落する傾向にある。しかし、化学合成法による分子状窒素の固定には多大な化石エネルギーを要すること、化学窒素肥料の過用が農耕地外への2次的環境汚染を誘起する原因となること、および食糧増産を最も必要とする発展途上国にとって化学窒素肥料の使用が財政上困難なことが多いことなどから、上記の生物窒素固定の有効利用が見なおされつつある。なかでも、草地ではその他の農耕地に比べて生物窒素固定に対する依存度が高く、同機能は草地における窒素循環上からも重要な位置を占めている。

### II 草地における窒素循環と生物窒素固定系

イネ・マメ混生放牧地における窒素動態が第1図に示してある。草地における生物窒素固定の主体はマメ科草による共生窒素固定であるが、それ以外にも土壌中の有機物をエネルギー源とした単生窒素固定細菌（ヘテロトロフ）による腐生的窒素固定、生根からの根分泌物を利用した根圏や根面上の単生菌による半共生的窒素固定および土壌表面上に繁茂するラン藻や光合成細菌などの無機栄養微生物（オートトロフ）などによる窒素固定、さらに大気圏においても茎葉面から溶出する植物分泌物を利用した窒素固定などが行われていることが知られている。

名古屋大学農学部附属農場 (470-01 愛知県東郷町)



第1図 放牧混生草地における窒素の流れ

### III 窒素固定微生物

生物窒素固定、すなわち生物による分子状窒素のアンモニアへの還元は窒素固定酵素（ニトロゲナーゼ）と呼ばれる酵素（Mo, Fe および Fe を含む2つのタンパクより構成される）によって行われるが、これをもつ生物は細菌、放線菌、ラン藻などの原核生物（プロカリオット）に限られる。

それらの生物は窒素固定の様式やエネルギーの獲得方法の違いからいくつかの種類に分類することができる<sup>66)</sup>。そのうち、草地では根粒菌とマメ科牧草との協同作用によって形成される根粒による共生窒素固定が最も重要であることはすでに記した。

根粒菌には多種多様な性質をもつものがある。マメ科植物種に対する根粒菌の根粒着生能を基準にして根粒菌の分類が古くから行われてきた。この分類を交互接種群（Cross inoculation groups）による群分けと呼び、白クローバ、赤クローバなどクローバ群の植物に根粒を着生するものをクローバ根粒菌（*Rhizokium trifolii*）、アルファルファやコマメツブウマゴヤシなどのアルファルファ群の植物に根粒を着生するものをアルファルファ根

粒菌 (*R. meliloti*), エンドウ, ベッチ, ソラマメなどエンドウ群の植物に根粒を着生するものをエンドウ根粒菌 (*R. leguminosarum*), ダイズ, ツルマメなどダイズ群の植物に根粒を着生するものをダイズ根粒菌 (*R. japonicum*) というように分類されている。

さらに, 上記の各群に属さない多くのマメ科植物は根粒着生の可否に基づいて, Cowpea 群, Lotus 群, レンゲソウ群など多種の群に分類されてきたが, 熱帯性マメ科草本, 木本植物を多数含むカウピー群の植物種に着生する根粒から分離される根粒菌は多様な性質をもち Species としては認められない。

農業上最も重要な機能が着生根粒の窒素固定能であることから, 根粒着生の可否を基準にした上記の交互接種群による分類法は実用上有益であるが, 菌学上の分類からは多くの難点をもつ。1984 版 Bergey の細菌分類書<sup>51)</sup>によると, 根粒菌 (*Rhizokiaceae*) は宿主植物に対する根粒着生能のほかに菌の生育速度, DNA の塩基含量 (シトシン+グアニン), 生酸反応, 糖代謝などの違いを基準にして *Rhizobium* と *Bradyrhizobium* に 2 分されている。前者はイーストマンニット培地での生育が早く, 培地を酸性化するものであり, これには *R. leguminosarum*, *R. meliloti* および *R. loti* があり, 従前の *R. trifolii*, *R. phaseoli* は *R. leguminosarum* biovar *trifolii*, *R. leguminosarum* biovar *phaseali* として分類されている。また, 後者はイーストマンニット培地での生育が遅く, かつ培地をアルカリ化するものであり, これには従前のダイズ菌やカウピ菌が属し, それぞれ *Bradyrhizobium japonicum*, *Bradyrhizobium* sp. (*Cowpea*) として示されている。

#### IV 草地における窒素固定の場

微生物は地圏, 水圏, 大気圏のいずれにも生存する。

草地の窒素固定微生物も牧草根の影響する根域に多く増殖するが, その影響の及ばない非根圏域にも生存する。

さらに, 牧草地上部の茎葉面においても窒素固定微生物がいる。以下, 窒素固定微生物の働く場と草地における窒素固定の様相を記す。

##### 1. 根 粒

マメ科植物根などに形成される根粒によって行われる共生窒素固定は外部の環境変動に対して最も安定した形の窒素固定系である。窒素固定根粒は複雑な数段階の過程を経てマメ科植物根に形成される。すなわち, 植物根圏や根面における根粒菌の増殖過程, 根粒菌の植物根への感染と感染した菌による根粒形成過程, 形成した根粒

の窒素固定体制の確立過程を順序よく経て最終的にヘモグロビンを有する有効窒素固定根粒ができ上がる。

これらマメ科植物に根粒を誘起する微生物は *Rhizokiaceae* 科, *Rhizokium* 属および *Bradyrhizokium* 属であることはすでに記したとおりである。しかし, マメ科植物種すべてに根粒が着生するというものではなく, さらに根粒を着生する植物種であっても遺伝的に根粒着生能を欠損したものが存在することも知られている<sup>99)</sup>。また, ごく希れな例ではあるが, マメ科根粒菌が *Parasponia rugosa* のような他科の植物に根粒を着生することを認めた報告もある<sup>4)</sup>。

一方, 根粒はマメ科以外のモクマオウ, ヤマモモ, カバノキ, グミ, クロウメモドキ, ドクウツギ, バラ, ツツジ, ソテツ, マキ, コウヤマキの各科の植物にも窒素固定根粒が着生する。これら非マメ科植物根粒に内生する微生物は *Streptomyceceae* と異った別の放線菌 (*Actinomycetales*) に属するため *Frankiaceae* 科, *Frankia* 属と分類され, これにより根粒を誘起する植物を *Frankia* 植物と呼んでいる<sup>37, 52, 89)</sup>。

##### 2. 根 圏

植物根圏には根分泌有機物や根組織の離脱物が存在するために多くの微生物が棲みつきやすい状況にある。ある種の植物には特定の窒素固定微生物が優勢的に棲みついている。このような植物根圏や植物根面で行われる窒素固定を半共生的窒素固定 (Associative nitrogen fixation) と呼ぶ。水稻, トウモロコシ, ソルガムなどの主要なイネ科作物以外にも Perennial ryegrass, Rhodesgrass, South africa pigiongrass, *Eragrostis ferruginea*, *Stachys sylvatica*, *Plantago asiatica* など牧・野草などにおいても半共生的窒素固定能が認められている<sup>32, 86, 96)</sup>。

窒素固定に関与する微生物としては *Azotobacter*, *Azospirillum*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Bacillus* などが知られている。しかし, 上記の半共生的窒素固定能はマメ科植物などの根粒の共生窒素固定能に比べて顕著に低く, かつ環境変動に対しても影響され易い。したがって, 草地での草生産上, 評価し得る水準にあるか否かは疑問である。

なお, 一般に半共生的窒素固定は  $C_3$  植物に比べて  $C_4$  植物で高く, また水稻のような湿性植物の中に高い活性を示すものが多く存在する傾向にある。その傾向は窒素固定にかかわる微生物がヘテロトロフであるために多量の根分泌有機物をエネルギー源として必要とし, かつ低酸素分圧条件がニトロゲナーゼ活性の発現に有利に働くことによるのであろう。

### 3. 非根圏

植物生根からの根分泌物などの影響を受けない非根圏には根圏に比べて栄養要求性の低い微生物が多く棲みついている。そこでは土壤有機物をエネルギー源として利用するヘテロトロフによる腐生的窒素固定と光・化学エネルギーを利用するオートトロフによる独立栄養的窒素固定が行われている。

一方、生物窒素固定には多量のエネルギーを必要とする<sup>81)</sup>。

エネルギー効率は *Azotobacter* では 10~20 mgN, *Klebsiella* では 50 mgN, *Clostridium* では 5~10 mgN/g・C であり、270 mgN/g・C の根粒菌と共生関係にあるエンドウ根粒などの共生窒素固定に比べて顕著に低い<sup>81,84)</sup>。したがって、これらヘテロトロフによる 5~20 kg の窒素の固定には 1t 以上の易分解性有機炭素が必要となる。しかも土壤中の易分解性有機炭素が窒素固定微生物以外の土壤生物によっても消費されるために非根圏でのヘテロトロフによる腐生的窒素固定もあまり期待できない。さらに、ヘテロトロフによる草地での窒素固定は土壤有機物含量のみならず、有機物の C/N や土壤の酸素供給度合などによっても大きく影響を受けることも報告されている<sup>15)</sup>。

これに対して、草地のリターや土壤表層に局在する窒素固定ラン藻やコケと共生するラン藻などのオートトロフによる窒素固定は<sup>13,29,92)</sup> 土壤中の有機物の影響を受けず、とくに水分供給の安定した場所では活発に機能しているものとみなされる<sup>70)</sup>。日本のシバ草地では混生するヤハズソウと同程度の窒素量が<sup>106)</sup>、また水分供給が良いために藻類の繁茂した放牧地では 4 kg/10 日/ha の窒素固定が評価されている<sup>71)</sup>。

### 4. 葉 圏

植物の茎葉から溶出する糖やアミノ酸などの有機物を利用して増殖する多類の微生物がいる。当然、その中には窒素固定微生物もいる。これまでに植物茎葉面から分離された窒素固定微生物には *Azotobacter* spp., *Beijerinckia* spp., *Derxia*, *Pseudomonas*, *Azotomonas*, *Flavobacterium*, *Klebsiella*, *Bacillus* spp., *Clostridium*, *Cyanophyceae*, *Lichens* などが知られている<sup>77)</sup>。茎葉面溶出物の C/N は植物種や植物齢のみならず植物の生育環境によって異なるが、窒素固定の発現には一般に C/N の高い環境が望ましい。顕著に高い窒素固定能を示す熱帯性植物である Guatemala grass (*Tripsacum lexi* Nash) では葉鞘水の C/N が 658 と高く、そこでの窒素固定にかかわっている微生物は *Azotobacter* や *Beijerinckia* ではなく、*Enterobac-*

*teriaceae* のものであること、および  $8 \times 10^{-3}$  mgN/植物体/5 日間、263 gN/ha/4 日間程度の窒素を固定していることが報告されている<sup>82)</sup>。また、上記と同様な葉面での窒素固定微生物の生息や窒素固定がいくつかの草地牧草においても確認されている。

葉圏微生物は根圏や非根圏微生物に比べて養水分の供給が不安定な条件下で生棲し、かつ外部環境の変動を受けやすい状態下にあるため、それらによる窒素固定が根域で行われている窒素固定以上に草地生産上評価に値するものとはみなし難い。しかし、生態系における窒素固定の 1 つの経路であることには変りない。なお、これに類するものとして *Aeshrynomene indica* や *Sesbania* 茎粒による共生窒素固定<sup>6,20,100)</sup>、ある種の木本植物の皮目粒での半共生窒素固定<sup>101)</sup> などが知られている。

## V. マメ科牧草の生育環境と窒素固定

マメ科畑作物の場合と異なり草地ではマメ科牧草を単播して栽培するほかに、他科の牧草、とくにイネ科牧草と混生栽培する。さらに、それら牧草の地上部は放牧家畜や農業機械によって生育途中で刈り取られ、その後再生する過程をくり返す。しかも、一般に草地は畑地に比べて立地環境の劣悪なところに分布している。

したがって、草地のマメ科牧草の生育や窒素固定はマメ科畑作物に比べて環境の影響を強く受ける状況にある。

ここでは、特に草地に生育するマメ科牧草をとりまく自然および人為的環境に焦点を合わせ、根粒着生や窒素固定に対する影響をとりまとめた。

### 1. 土壤養分

一般に宿主植物の生育にとって望ましい範囲内での土壤養分の富化は根粒着生や窒素固定に対しても促進的に働くことが多い。それは主に植物の生育増進を介して生ずるが、養分のなかには植物生育と根粒着生や窒素固定との間に最適養分量に大きな差異のあるもの、根粒着生や窒素固定に対して特異的に抑制するものなどがある。ここでは、そのような根粒着生や窒素固定に対して特徴的影響をおよぼす土壤養分や 2, 3 の土壤因子について記す。

1) 土壤 pH, アルミニウム, マンガン, カルシウム  
好石灰植物と言われるマメ科植物の多くは酸性土壤条件下において生育が抑制されると言われている。その原因の 1 つには土壤酸性による根粒着生や窒素固定の抑制がある<sup>39)</sup>。土壤酸性に対する耐性は草種によって異なり一般に熱帯性のものに比べて温帯性のものが弱い傾向にある<sup>66)</sup>。なかでも、アルファルファは耐酸性が顕著に弱く耐酸性アルファルファの育成が望まれる<sup>10)</sup>。

根粒菌種にも土壌酸性に対する耐性に差異があり、生育の早い菌種は遅い菌種に比べて耐性が弱い<sup>9)</sup>。

植物の生育、根粒着生および窒素固定に対する土壌酸性の抑制原因には  $H^+$  イオン自体以外にアルミニウムイオンやマンガンイオンの過剰、カルシウムや可給態りん酸の不足およびモリブデンなどの微量必須養分の可給度の低下などが深くかかわっている。

通常の土壌酸性下では土壌溶液中のアルミニウム濃度が数 ppm 以上に高まることは希れであり、その影響調査は培養液にアルミニウムイオンを添加した条件下で検討したものが多い。

それによると、草種によって程度の差はあるが、一般にアルミニウムは地上部の生育や根の伸長生長を抑制するとみられている。しかし、草種のなかには低濃度のアルミニウムの存在によって生育が促進する *S. humilis* や窒素固定の高まる *C. pubescens*, *M. atropurpureum* のようなものもある<sup>9,68)</sup>。

土壌酸性によって誘起するマンガン過剰も植物体の生育抑制を介して根粒着生や窒素固定を抑制する要因の1つである。

これとは逆にカルシウムは土壌反応を矯正することによって酸性土壌下でのアルミニウムやマンガン過剰害を防ぎ、植物体の生長促進を介して2次的に根粒着生や窒素固定を高める効果を示す<sup>69)</sup>。さらにカルシウムには上記の効果以外にも直接的に根粒着生を促がして窒素固定にかかわっているとする報告もある<sup>38,56,58)</sup>。上記の2つのカルシウムの効果を厳密に区別することは困難であるが、一般にカルシウムの働きが土壌や生育培地の pH が低いほど強く、さらに根粒の形成段階においてカルシウムの施用効果の現われ方が著しく異なることから2つの作用のあることが推察される。すなわち、弱酸性域 (pH<5.5) では、カルシウムは宿主植物の生長よりも根粒の着生にとって多量に必要であり、その必要時期は菌接種3日以内というきわめて初期に存在するという<sup>8,58,65)</sup>。このことは、カルシウムが根粒着生過程のなかでも、根粒組織の発達よりも根粒菌の感染時に高濃度に必要とすることを意味する。

さらに、弱いカルシウム欠乏を呈したサブクローバ根では窒素固定能が低下するため、カルシウムは着生根粒の機能を介しても窒素固定にかかわっているとみなされるが、その機作は不明である<sup>12)</sup>。

## 2) りん酸、イオウ、カリウム

りん、イオウ、カリウムは窒素固定よりも植物の生育にとって多量に要求される元素である。これらの欠乏は一般に根粒重や根粒数の減少をきたす。これに関しては

*S. humilis*, *Lablab purpureus* に対するりん酸 *T. subterranean*, *L. purpureus*, *Clitoria ternatea* に対するイオウなどについての試験がある<sup>10,23,108,109)</sup>。なお、りん酸施用による根粒着生の増進は植物体の生長増加に対応しており、その効果は根粒部への炭水化物の供給増加を通じて働いているものとみなされる。

酸性土壌下では有効態りん酸が欠乏していることが多く、そのような条件下ではりん酸資材の施用による根粒着生や窒素固定の改善が高く期待される<sup>28,104)</sup>。また、カリウムは植物体の浸透圧調整や諸酵素のコファクターとして働くが、窒素固定とのかかわりははっきりしない。

## 3) 化合態窒素

化合態窒素の施用が根粒の着生や窒素固定を顕著に抑制することを示した報告は多数ある<sup>21,55)</sup>。その原因には窒素施用に伴い根部から根粒部への炭水化物の供給低下によるものと窒素固定酵素であるニトロゲナーゼ活性の低下によるものがある。また、根粒菌の植物根への感染自体を抑制する作用も知られている<sup>88)</sup>。しかし、長期的にみた場合、少量の窒素施用は植物体の生長を促がし、逆に窒素固定量を高めて収量増加に結びつくことが多い。

したがって、マメ科作物の作付に際してはスタータ窒素として適量の窒素肥料を施用することが望ましい<sup>26,43,44)</sup>。

また、混播草地に対する窒素施用はイネ科牧草の草丈を高め、混生するマメ科牧草の光環境を悪化させて窒素固定を抑制することが多いが、それとは逆に窒素固定が促進することもある<sup>41,42,45)</sup>。後者は混生イネ科牧草によって根粒着生や窒素固定に抑制的に働く土壌窒素、とくに硝酸態窒素が吸収されて低下することによるものと推察されている。

## 4) 微量元素

窒素固定酵素であるニトロゲナーゼはモリブデンと鉄を構成元素として含んでいることはすでに記した。モリブデンは硝酸還元酵素の構成元素でもあるが、窒素施肥条件下に比べて無施肥条件下で栽培した植物体の方がモリブデンに対する感応性が高く、同要素が窒素固定に直接に関与していることがうかがえる<sup>10)</sup>。

鉄は窒素固定酵素を構成する2つのタンパク質、すなわち Fe-タンパク、Fe-Mo タンパクの構成元素であるとともに根粒内で同酵素が酸素によって失活することを防ぐ働きをもつレグヘモグロビンの構成元素でもある。

しかし、鉄は上記の窒素固定機能に必要なとする以上に植物にとって要求性の高い微量必須元素である<sup>14,85)</sup>。

コバルト、銅はモリブデンと同様に植物の生育よりも窒素固定にとって要求性の高い要素である。

コバルトは現在、植物に対する必須元素として認めら

れていないが、根粒菌の増殖には必要である<sup>57)</sup>。窒素栄養を根粒による固定窒素に依存したマメ科植物では高いコバルト要求性を示す<sup>3,16,74)</sup>。B<sub>12</sub> コエンザイムは構成元素としてコバルトを含み、コバルト欠乏したルーピン根粒ではバクテロイドが少なく、バクテロイド当りのDNA量も低いため、B<sub>12</sub> コエンザイムを要求するリボヌクレオチドリダクターゼを介して窒素固定に関与しているらしい。

また、根粒内の B<sub>12</sub> 含量はバクテロイド数やレグヘモグロビン含量とも高い相関が認められている<sup>18)</sup>。

銅はアスコルビン酸オキシダーゼ、フェノラーゼ、サイトクロームオキシターゼなどの酵素の構成元素であるが、共生窒素固定とのかかわりは不明である。しかし、銅欠乏したサブローバでは根の生長や根粒の着生が貧弱であり、それらの根には2次根にしか根粒が着生しないこと、銅施用によって主根にまで多数の根粒が着生することなどが知られている<sup>31)</sup>。さらに、単位根粒重当りの窒素固定活性が銅欠乏によって低下することも報告されており<sup>83)</sup>、銅は根粒着生、着生根粒の機能を介して窒素固定にかかわっているとみられる。一方、銅に対するマメ科牧草の感応性は草種によって異なり、熱帯マメ科牧草のなかでは *Desmodium uncinatum* が最も低く、*Stylosanthes guyanensis* が最も高いことが知られている<sup>7)</sup>。

また、ホウ素は植物体や根粒の細胞分裂に必要であり、ホウ素欠乏根粒では正常な機能を示さない。

アエンや塩素などの微量必須元素と根粒着生、窒素固定との直接的な関係は明らかでない。

## 2 温度

窒素固定に対する温度の影響は主に宿主植物の生育を介して発現する。極端な高低温は施用窒素に依存した植物よりも根粒による固定窒素に依存した植物に強く影響する<sup>63)</sup>。そのことは植物による化合態窒素の吸収よりも窒素固定に多くのエネルギーを要し、温度依存性が高いことから当然である。そのため、根粒の窒素固定に大きく依存できない春先の低温時にはスタータ窒素として少量の窒素施肥が必要であるが温度感応性は草種によっても異なる<sup>44,49)</sup>。

熱帯性マメ科では 25~33°C に、温帯性マメ科では 20~25°C に生育に対する最適温度域があり、窒素固定に対する最低限界温度は前者で 10°C、後者で 2°C と差異があることが知られている<sup>69)</sup>。さらに、熱帯性マメ科草種間でも温度感応性に大きな差異があり、タウンビルスタイロが窒素固定に対して最も高い温度を必要とすることが報告されている<sup>65)</sup>。

また、温度の影響は古くより気温、地温に分けて調査され、低温下のクローバの根粒着生や窒素固定が高温下のものに比べて地上部の温度の影響を強く受け、低地温下では根粒依存植物よりも施肥窒素依存植物の方が気温の影響を受けやすいものとみられる<sup>24,25,72)</sup>。

## 3 光

窒素固定に対する光の影響は主に宿主植物から根粒への光合成産物の供給を介して生ずる。マメ科牧草の窒素固定能の日変化や季節変化および低照度下における活性低下は上記の原因によるものであり、刈取時における1過的な窒素固定能の低下も光合成産物の供給低下に基因するところが多い<sup>59,69)</sup>。根粒部へ供給されるエネルギー物質の給源として緑葉で光合成された炭水化物や貯蔵炭水化物が考えられているが、その寄与は前者の方が高いことを示唆する個体植物を用いた多数の刈取試験がある<sup>27,47,102)</sup>。しかし、植物個体を用いた試験では、根粒着生や窒素固定に対する直接的な光合成産物の影響を評価することは困難である。

より直接的な評価法として切断葉から発生させた根や器官培養したマメ科植物根を用いて調査する試験法がある<sup>54,103)</sup>。とくに後者を用いた方法で窒素固定>根粒着生>根生長の順に光合成産物である糖の要求性が高いことが認められている。このことは上記の逆順にエネルギー消費が大きいことを意味する。

混播草地のマメ科牧草の光環境は共存牧草の草丈やそれを律する土壌養分および刈取などの人為的行為などによって刻々と変動するため、根の生育や根粒の着生が良好であったとしても十分に窒素固定能が発揮できない状態にある植物も存在すると考えられる。

さらに、根粒着生が近赤外光によって抑制され、その抑制が赤色光によって打ち消されること、近赤外光が根粒着生の初期形成過程において鋭敏に働くことなどが報告されている<sup>53,54)</sup>。草丈の高いイネ科牧草の緑葉を通して受光する草丈の低い混生マメ科牧草はより多くの近赤外光を受けるため光合成産物の低下を通して働くもの以外にも窒素固定に不利な条件にあるとみなされる<sup>76,90)</sup>。

## 4 水分

窒素固定に対して望ましい土壌水分の範囲は植物の生育と同様に圃場容水量の 60~75% 程度であり、極端な土壌水分の不足は生育抑制やそれに伴う光合成の低下を通して窒素固定を低下させる<sup>22,30)</sup>。土壌水分欠乏に対する耐性は草種によって異なり、一般に *Stylosanthes-cabrar*, *S. viscosa* などの熱帯性マメ科草は他のものに比べて強い耐性をもつ傾向にあることが知られている<sup>60)</sup>。

これとは逆に、水分過剰は根粒部への酸素供給を制限するために窒素固定を低下させる。根粒の酸素要求量は根に比べて著しく高いため、過湿となり易い水田転換畑などでマメ科作物の窒素固定が高く機能しないのは上記のことが原因している<sup>67)</sup>。また、上記のような過湿条件下にある根粒ではバクテロイド組織に対する皮層部の割合が高まるなどの形態変化を生じていることを認めた報告もある<sup>62,87)</sup>。また、*Sesbania* や *Aeschynomene americana*, *A. indica* のような排水不良地でも良く生育するマメ科草では過湿条件下でも良好に窒素固定を行っており<sup>5,80)</sup>、それに必要な窒素や酸素の供給が主に植物茎葉の通気組織を通して行われていることが *A. indica* を用いて確かめられている<sup>105,107)</sup>。

### 5 土壤空気

草地は畑地に比べて耕起されることが少なく、かつ放牧家畜や大型機械などの重量物が導入されることが多いために土壤の緊密化が起りやすい。その結果、作土への空気の流入や土壤中での拡散が制限される。さらに、多量に存在する根の呼吸消耗のために酸素分圧が低下し、下層土では嫌氣的になりやすい状態にある<sup>78)</sup>。

とくに傾斜をもつ草地の下位部では水分過多も加わり、作土の酸素分圧の低下も起りやすい。マメ科根粒の酸素消費量は根に比べて顕著に高い<sup>1)</sup>。

さらに、根粒による窒素固定に対する最適酸素分圧は  $pO_2$  0.2 よりも高く、作土の酸素分圧の低下が窒素固定能の発現の制限要因となっている可能性がある<sup>13,98)</sup>。

当然、上記のような緊密な土壤条件下では根粒着生自体も抑制されるため、それを通した植物体の窒素固定の低下も起る。そのような条件下では土壤空気中の炭酸ガス濃度も高まる。窒素固定に対する炭酸ガスの影響については、個体植物では光合成産物の増加によって高まるとする報告がある<sup>98)</sup>。しかし、切り離れた根粒を用いた試験では酸素分圧  $pO_2$  0.3 以上で効果的でなく、それ以下の酸素分圧下では炭酸ガスは窒素固定に効果的に働くことが知られている<sup>14)</sup>。したがって、低酸素-高炭酸ガス状態になり易い草地土壤では炭酸ガスによる窒素固定の制御が起こっている可能性もある。

### 6 刈取と再生

放牧家畜や農業機械による地上部の切除は光合成や地下部の貯蔵性炭水化物含量を減し、根粒への光合成産物の供給制限を通して窒素固定を抑制する。したがって、刈取強度の強いほど窒素固定は阻害され、さらに、強度な地上部の損傷は着生根粒自体の崩壊や離脱をまねく。それに引続く刈取後の根粒着生や窒素固定能の回復も刈取強度の強いものほど遅れる傾向を示すが、地上部の生

育回復に先行して比較的早く回復する<sup>48,50,103)</sup>。また、地上部の切除は根粒のニトロゲナーゼによる水素発生の増加による窒素固定効率の低下や根粒の可溶性タンパクやヘモグロビン含量の低下を引き起こして窒素固定能を抑制することも知られている<sup>27,50)</sup>。

一般にクローバなどの草丈の低いマメ科牧草の混生する草地では強度の放牧や刈取がマメ科牧草に対する光環境の改善を通して窒素固定に有利に働き、これとは逆に草丈の高いマメ科牧草にとっては不利に働くものとみられる<sup>19)</sup>。さらに、家畜の放牧や大型刈取機械の草地への導入は上記以外にも土壤の緊密化を招き、根粒着生の抑制や窒素固定能の低下を通して抑制的に働くこともある<sup>93)</sup>。

### 7 病原性微生物

カビ、細菌、ビールスなど病原性微生物の感染も草地のマメ科牧草の窒素固定に影響する。それには2つのかかり方がある。その1つは、罹病したためにマメ科牧草の生育が抑制され、間接的に窒素固定が低下する場合である。他の1つは病害虫によって直接的に窒素固定に関与する根粒着生などが障害される場合である。

前者は主に茎葉病害虫によるものである。これに対して後者は土壤細菌、糸状菌、線虫および土壤昆虫などによるものであり<sup>26)</sup>、アルファルフアに対する *Fusarium oxysporum*<sup>79)</sup> や *Phytophthora*<sup>87)</sup> などによるものが知られている。なお、これら有害病害虫による害作用の除去に種子の薬剤処理が望ましいが、さらに薬剤と薬剤に耐性をもつ根粒菌を併用した種子処理が有望と考えられる<sup>17,75)</sup>。

## VI 根粒菌の人工接種と土壤中における行動

マメ科牧草のもつ窒素固定能を効果的に利用して草生産を上げるためには、その機能が十分に発揮できるように外部環境を改善することが必要であるが、さらに、植物体が高い窒素固定能をもつ根粒菌によって感染し、根粒を着生する必要がある。そのために古くより有効根粒菌の人工接種法が試みられてきたことは周知のとおりである。根粒菌の接種効果は土壤の理化学的要因のみならず土着根粒菌の存在や菌数などによって影響され、一般に土着菌に比べて接種菌の能力が高いときに発現し易いとされている。ダイズの場合、ダイズの未作付畑やダイズ栽培から年数を経過した土着根粒菌密度が  $10^2/g$  程度に低下した畑地では接種効果は認められるが、土壤中の菌密度が高いときには接種効果が判然としないことが知られている<sup>35,95)</sup>。また、薬剤耐性菌を接種マーカー菌として用いた根粒菌の回収試験などから、土耕栽培植物の

根粒着生に対して接種菌は期待するほどかかわっていないとする報告もある<sup>36)</sup>。さらに、根粒菌の接種効果の発現には接種方法や土壌の違いなども大きく関係することが知られている<sup>94)</sup>。

## VII ま と め

草地における生物窒素固定の主体はマメ科牧草による共生窒素固定である。どの程度の窒素が固定されるかについては牧草の生育している草地の土壌環境や混生-単生、放牧地-採草地などの草地管理上の差異、降雨や気温などの気象条件によって大きく異なることはすでに記した。一方、マメ科牧草根に感染して根粒を形成する根粒菌のもつ窒素固定能の良否も草地における窒素固定量を律する重要な要因である。

したがって、マメ科牧草をとりまく外部環境を着生根粒が窒素固定能を十分に発現できるように管理すると同時に牧草根における根粒着生が窒素固定能の高い有効根粒菌で起こることが望ましい。そのために上記の根粒菌の人工接種法が必要となるが、根粒菌のなかには窒素固定反応の過程で放出される水素を再利用できる機能をもつ菌株、いわゆる  $Hup^+$  菌の存在が知られている<sup>34,11,88)</sup>。

これらの菌株は上記の機能をもたない  $Hup^-$  菌株に比べてエネルギー効率が高く、牧草生産上有益と考えられる。将来、上記のような特性をもつ窒素固定能の高い菌株のなかから、土着根粒菌や他の土壌微生物との競合に強い、かつ種々の環境ストレスに抗する機能をかねそなえた菌株を選び、あるいは作出し、それを接種菌として有効に利用することが草地における省資源的、省エネルギー的草生産上意義あるものと思われる。

## 引用文献

- 1) 阿江教治・仁柴宏保 (1983) 土肥誌 54, 453.
- 2) 阿江教治 (1985) 農業及園芸 60, 679.
- 3) AHMED, S. and H. J. EVANS (1960) *Proc. Natl. Acad. Sci., USA* 47, 24.
- 4) AKKERMANS, A.d.I., S. ABDULKADIR, S. and M.J. TRINCK (1978) *Plant Soil* 49, 711.
- 5) ALBECHT, S.I., J.M. BENATT and K.H. QUESENBERRY (1981) *Plant Soil* 60, 309.
- 6) ALAZARD, D (1985) *Appl. Env. Microbiol.*, 50, 732.
- 7) ANDREW, C.S. and P.M. THORNE (1962) *Aust. J. Agric. Res.*, 13, 821.
- 8) ANDREW, C.S. (1976) *Aust. J. Agric. Res.*, 27, 611.
- 9) ANDREW, C.S., A.D. JOHNSON and R.L. SANDLAND (1973) *Aust. J. Agric. Res.*, 24, 325.
- 10) ANDERSON, A.J. and D. SPENCER (1950) *Aust. J. Sci. Res.*, 83, 431.
- 11) 有馬泰紘・南沢 究・熊沢喜久雄 (1981) 土肥誌 52, 114.
- 12) BANATH, C.L., E.A.N. GREENWOOD and J.F. LONERAGAN (1966) *Plant Physiol.*, 41, 760.
- 13) BERGERSEN, F.J. (1962) *J. Gen. Microbiol.*, 29, 113.
- 14) BERGERSEN, F.J. (1971) *Ann. Rev. Plant Physiol.*, 22, 121.
- 15) BROUZES, R., C.I. MAYFIELD and R. KOOWLES (1971) *Plant Soil Special Vol* 481.
- 16) CHATEL, D.L., A.D. ROBSON, J.W. GARTRELL and M.J. DILWORTH (1978) *Aust. J. Agric. Res.*, 29, 1191.
- 17) DIATLOF, A., J.A.G. IRWIN and J.L. ROSE (1983) *Aust. J. Exp. Agr. Hust.*, 23, 87.
- 18) DILWORTH, M.J., A.D. ROBSON and D.L. CHATEL (1958) *New Phytol* 83, 63.
- 19) DONALD, C.M. (1963) *Adv. Agron.*, 15, 1.
- 20) DREYFUS, B.L. and Y.R. DOMMERGUES (1981) *FEMS Microbiol. Lett.* 10, 313.
- 21) 藤田耕之輔・尾形昭逸・松本勝士・阿江教治 (1985) 土肥誌 56, 110.
- 22) FRED. d.d., I.L. BALDWIN and E. MCCOY (1932) Root nodule bacteria and leguminous plant (Madison).
- 23) GATES, C.T. (1974) *Aust. J. Bot.*, 22, 45.
- 24) GIBSON, A.H. (1967) *Aust. J. Biol. Sci.*, 20, 1087.
- 25) GIBSON, A.H. (1976) in *Proc. 1st. Int. Sym. on Nitrogen Fixation*. Eds Washington state Univ. press. 440.
- 26) GIBSON, A.H. (1977) In *Atratisse on dinitrogen fixation Sec. W Agronomy and Ecology* (ed. Hardy. R.W.H. and A.H. Gibson) p. 393 John Wiley and Sons. New York.
- 27) GORDON, A.J., G.J.A. RYLE, D.F. MITCHELL, K.H. LOWRY and C.E. POWELL (1986) *Ann. Bot.*, 58, 141.
- 28) GRAHAM, P.H. and J.C. ROSUS (1979) *Agron. J.* 71, 927.
- 29) GRANHALL, U. (1974) In *Nitrogen fixation by free-living micro-organisms* (ed. STEWART. W.T.P.) p. 189 Cambridge Univ. Press Cambridge. London.
- 30) Habish, A.A. (1970) *Plant Soil* 11, 1.
- 31) HALLSWORTH, E.G. (1958) In *Nutrition of the legumes*. (ed. HALLSWORTH, E.G.) Butterworths Scient. Publ., London 183.
- 32) HARRIS, D and P.J. DART (1973) *Soil Biol. Biochem.* 5, 277.
- 33) HENZELL, E.F. (1970) *Proc. 11th Int. Grassl. Congr.* p.A. 112.
- 34) HOCH, G.E., H.N. LITTLE and R.H. BURRIS (1957) *Nature* 179, 430.
- 35) 石井忠雄・岩淵晴郎・松代平治 (1985) 土肥誌 56, 43.
- 36) 石井忠雄・関口久雄・丸山芳治 (1987) 土肥誌 58, 7.
- 37) 石沢修一 (1974) 微生物と植物生育 p. 199 博友社. 東京.
- 38) 磯井俊行・山本幸男 (1987) 土肥誌 58, 405.
- 39) JO, J., S. YOSHIDA and R. KAYAMA (1980) *J. Japan. Grassl. Sci.*, 25, 326.
- 40) JO, J., S. YOSHIDA and R. KAYAMA (1980) *J. Japan. Grassl. Sci.*, 26, 174.
- 41) JO, J., S. YOSHIDA and R. KAYAMA (1985) *J. Japan. Grassl. Sci.*, 30, 351.
- 42) 川本康博・増田泰久・五斗一郎 (1987) 日草誌 33, 1.



- 43) 北村征生・西村修一・田中重行 (1977) 日草誌 23, 145.
- 44) 北村征生・西村修一 (1978) 日草誌 24, 128.
- 45) 北村征生・西村修一 (1979) 日草誌 25, 35.
- 46) 北村征生・西村修一 (1980) 日草誌 26, 53.
- 47) 北村征生・鮫島宗明・阿部二郎 (1981) 日草誌 27, 277.
- 48) 北村征生・福山喜一 (1982) 日草誌 27, 304.
- 49) 北村征生・阿部二郎 (1982) 日草誌 28, 154.
- 50) 北村征生 (1983) 日草誌 29, 55.
- 51) KRIEG, N.R. and J.G. HOLT (1984) *Bergey's manual of systematic bacteriology*. 1 p. 234 Williams and Wilkins Co., Baltimore. London.
- 52) LECHEVALIER, M.P. (1984) *Plant Soil* 78, 1.
- 53) LIE, T.A. (1969) *Plant Soil* 30, 391.
- 54) LIE, T.A. (1971) *Plant Soil* 34, 663.
- 55) LIE, T.A. (1976) *In The biology of nitrogen fixation* (ed. A. QUISPÉL) p. 555 North-Holland Publishing Co. Amsterdam.
- 56) LONERAGAN, J.F. (1959) *Aust. J. Biol. Sci.*, 12, 26.
- 57) LOWE, R.H. and H.I. EVANS (1962) *J. Bacteriol.*, 83, 210.
- 58) LOWTHER, W.L. and J.F. LONERAGAN (1968) *Plant Physiol.*, 43, 1362.
- 59) MASTERSON, C.L. and P.M. MURPHY (1976) *In Symbiotic nitrogen fixation in plants* (ed. P.S. Nutman) p. 299 Cambridge Univ. Press.
- 60) MCCOWN, R.L. and B.H. WALL (197) *Aust. CSIRO. Div. Trop. Crops Past. Div. Rep.* 100.
- 61) MINCHIN, F.R. and J.S. PATE (1973) *J. Exp. Bot.*, 24, 257.
- 62) Minchin, F.R. and D.J. Summer (1976) *Plant Soil* 45, 113.
- 63) MULDER, E.G., T.A. LIE and A. HOUWERS (1977) *In A treatise on dinitrogen fixation. Section IV Agronomy and Ecology* (ed. R.W.F. HARDY and A.H. GIBSON) p. 221 John Wiley and Sons New York.
- 64) MULDER, E.G. (1975) *In Nitrogen fixation by free-living micro-organisms*. p. 19 (ed. STEWART, D.W.P) Cambridge Univ. Press Cambridge, London.
- 65) MUNNS, D.N. (1970) *Plant Soil* 32, 90.
- 66) MUNNS, D.N., R.L. FOX and L. KOCH (1977) *Plant Soil* 46, 591.
- 67) 中村道徳 (1980) 生物の生産機能の開発 文部省特定研究成果報告書 p. 112.
- 68) OGATA, S., K. FUGITA and K. MORISHIMA (1986) *Soil Sci. Plant Nutr.*, 32, 27.
- 69) PATE, J.S. (1977) *In A treatise on dinitrogen fixation. Section IV Biology*. (ed. R.W.F. HARDY and W.S. SILVER) 473 John Wiley New York.
- 70) PAUL, E.A., R.J.K. MYERS and W.A. RICE (1971) *Plant Soil Special Vol.* 495.
- 71) PORTER, L.K. and GRABLE, A.R. (1969) *Agron. J.* 61, 521.
- 72) POSSINGHAM, J.V., D.V. MOGE and A.J. ANDERSON (1964) *Plant Physiol.*, 39, 501.
- 73) REDDY, G.B. and J. GIDDENS (1981) *Soil Biol. Biochem.* 13, 537.
- 74) ROBSON, A.D. and G.R. MEAD. (1980) *Aust. J. Agric. Res.*, 31, 109.
- 75) ROGER, J. and J. GIDDENS (1984) *Agr. J.*, 76, 599.
- 76) ROBERTSON, G.H. (1966) *Ecology* 47, 640.
- 77) RUIDEN, J. (1974) *In Nitrogen fixation by free-living micro-organisms*. (ed. STEWART, W.T.P.) p. 85 Cambridge Univ. Press. Cambridge. London.
- 78) 沢田泰男 (1982) 土と微生物 24, 1.
- 79) 沢田泰男 (1982) 草地試研報 22, 19.
- 80) SCHAEDE, R. (1940) *Planta* 31, 1.
- 81) SCHUBERT, K.R. (1982), The energetics of biological nitrogen fixation. workshop summaries, I. p. 1 Plant physiology (published by American Soc. of Plant Physiologists).
- 82) SILVER, W.S. (1977) *In A treatise on dinitrogen fixation. Section VI* (ed. HARDY, R.W.F. and W.S. SILVER) p. 153 John Wiley and Sons. New York.
- 83) SNOWBALL, K., A.D. ROBSON and J.F. LONERAGAN (1980) *New Phytol.* 85, 63.
- 84) SPRENT, J. I. (1969) *Planta* 38, 227.
- 85) STEFL, E.I. (1977) *In Recent development in nitrogen fixation* (ed. Newon W., J.R. Postgate and C. Rodrigues-Barrueco) p. 69 Academic Press. London.
- 86) 高橋英一 (1980) 生産機能の開発 (中村道徳編) p. 215 学会出版センター.
- 87) TAN, C.Y. and K.W. TAN (1986) *Plant Soil* 94, 133.
- 88) TANNER, J.W. and I.C. ANDERSON (1964) *Plant Physiol.*, 39, 1039.
- 89) 植村誠次 (1980) 生物窒素固定 (中村道徳編) p. 58 学会出版センター.
- 90) VEGINA, P.E. and D.K.W. BOULTER (1966) *Can. J. Botan.* 44, 1267.
- 91) VINCENT, L.M. (1965) *Soil Nitrogen* (Amer. Soc. Agron., Madison. wis.).
- 92) VLASSIK, K., E.A. PAUL and R.E. HARRIS. (1973) *Plant Soil* 38, 637.
- 93) VOORHEES, W.B., V.A. CARLSON and C.G. SENST (1976) *Agr. J.*, 68, 976.
- 94) 渡部良明・神津茂子・吉田富男 (1987) 土肥誌 58, 159.
- 95) WATANABE, Y. and T. YOSHIDA (1986) *Soil Sci. Plant Nutr.*, 32, 59.
- 96) 渡辺 巖 (1980) 科学 50, 294.
- 97) WEST, C.P., K.W. STEELE and E.A. HALLIGUN (19 ) *Proc. 15th IGC* 457.
- 98) WILSON, P.W. (1940) *The biochemistry of symbiotic nitrogen fixation* p. 114 Wisconsin Univ. Press.
- 99) WILLIAMS, L.F. and D.L. LYNCH (1954) *Agron. J.*, 46, 28.
- 100) YATAZAWA, M. and S. YOSHIDA (1979) *Physiol. Plant.*, 45, 293.
- 101) YATAZAWA, M., G.G. HAMBELL and F. UCHINO (1983) *Soil Sci. Plant Nutr.*, 29, 285.
- 102) 吉田重方・谷田沢道彦 (1977) 日草誌 23, 6.
- 103) 吉田重方・谷田沢道彦 (1977) 日草誌 23, 14.
- 104) 吉田重方 (1981) 文部省特定研究 “生物生産の場における生理的・化学的制御” 昭和 57 年度研究報告集録 p. 101.
- 105) 吉田重方 (1982) 熱帯農業 26, 74.
- 106) YOSHIDA, S. (1984) *J. Japan. Grassl. Sci.*, 30, 145.
- 107) 吉田重方・笹川英夫・フィ・チ・トルン (1985) 熱帯農業 29, 226.

- 
- 108) ZAROUG, M.G. and D.W. MUNNS (1979) *Plant Physiol.*, 53, 319.      109) ZAROUG, M.G. and D.W. MUNNS (1980) *Plant Soil* 55, 243.

(昭和62年7月3日受理)

---