

レンゲ,アカクローバー,ダイズの生育と根粒窒素固定能の発達に及ぼす硝酸態窒素の影響

誌名	日本土壤肥料学雑誌 = Journal of the science of soil and manure, Japan
ISSN	00290610
著者名	呉,健一 有馬,泰紘 平田,熙
発行元	日本土壤肥料学会
巻/号	61巻1号
掲載ページ	p. 34-41
発行年月	1990年2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



レンゲ、アカクロバー、ダイズの生育と根粒窒素固定能の 発達に及ぼす硝酸態窒素の影響

呉 健忠*・有馬泰紘*・平田 照*

キーワード マメ科植物, 硝酸態窒素, 根粒窒素固定, ^{15}N , 窒素集積量

マメ科植物根粒の形成と肥大および窒素固定活性は化合態窒素の存在によって大きく影響される^{1,2)}。その短期的な影響の機構については、化合態窒素施用による根粒への光合成産物の供給量の減少^{3,4)}や、硝酸態窒素の還元過程で生成される亜硝酸による根粒窒素固定酵素ニトロゲナーゼの阻害⁵⁾とレグヘモグロビン Fe(II) の Fe(III) への酸化による不活性化などがあげられている⁶⁾。ダイズでは、多量の、しかし、生育には不十分な量の窒素肥料を施用すると、根粒による窒素固定量を著しく減らして、植物窒素集積総量の減少をもたらす場合によっては、減収を引き起こすことも知られている^{7,8)}。一方、比較的少量の化合態窒素の施用はマメ科植物の初期生育を増進し、初期の根粒の発達や窒素固定能を抑制するものの、その後の根粒窒素固定に促進的な効果をもつことも報告されている^{9,10)}。このことは、マメ科植物の根粒窒素固定能に対する化合態窒素供給の影響は供給窒素のバクテリアやバクテロイドあるいは根粒への直接的な影響だけではなく、植物個体全体への影響を経て間接的に窒素固定の場にも及ぶ影響も大きいことを示している。実際のマメ科植物栽培にあたっては、これらの影響を総合的に考慮しなければならないが、このような総合的な影響は植物の成長に伴って刻々と変化するばかりではなく¹⁰⁾、マメ科植物の種類によっても一定の相違が認められると予想される。このため、各植物ごとにその特徴を明らかにすることは、マメ科植物の実際の栽培のうえからも、また、共生窒素固定に対する化合態窒素ストレス機構を解明するうえでも有意義であると考えられる。

レンゲは緑肥植物として古くから栽培されており、日本においても、今世紀30年代前後にその土壤中での分解過程、施用効果および施用方法などについて、かなりの研究がなされていた¹¹⁾。しかし、化学肥料の利用が急激に増加し、一般化した戦後には、レンゲの研究は

衰退消滅し、窒素固定研究が活発化した60年代以後にも、その対象として取り上げられた機会は少ない。日本においては、藤田らのレンゲの根粒窒素固定能に対する硝酸態窒素ストレスに関するもの^{12,13)}と笹川らの圃場条件下でのレンゲ根粒窒素固定能に関する報告¹⁴⁾が知られているのみである。藤田らはダイズ栽培種・野生種、シロクロバー、レンゲを異なる硝酸態窒素濃度下で水耕栽培し、各植物のなかでレンゲは硝酸態窒素施用による根粒窒素固定阻害が最も小さく、根粒窒素含有率が最も高いことを報告している¹²⁾。さらに、藤田らはダイズ栽培種・野生種、およびレンゲを水耕栽培し、栄養成長期に硝酸態窒素供給と炭酸ガス富化の処理を行い、硝酸態窒素施用による根粒窒素固定阻害の主要原因を比較検討した¹³⁾。レンゲでは根粒への光合成産物の供給不足と硝酸態窒素代謝産物による阻害に起因しており、ダイズ栽培種と野生種ではおもに後者にあることを結論している。

本報では、ダイズ根粒窒素固定能の発達に及ぼす基肥窒素施用の影響を調べた前報¹⁰⁾の手法に準じて、とくにレンゲに着目しながら、レンゲ、アカクロバー、ダイズの根粒窒素固定能の発達に対する基肥硝酸態窒素施用の影響を調べた結果について報告する。

1. 実験方法

1) 植物栽培

東京農工大学農場の水田風乾土 900 g を 10^{-4} a のポットに詰め、レンゲ (*Astragalus sinicus* L. 雪印種苗株式会社より)、アカクロバー (*Trifolium repen* L. 雪印種苗株式会社より) とダイズ (*Glycine max* L. 品種エンレイ) を栽培した。供試土壌の理化学性を第1表に示した。ポット当たりの窒素施用量はレンゲとアカクロバーについては 0, 50, 200 mg N の3段階、ダイズについては 0, 200 mg N の2段階とし (以下、N-0, N-50, N-200 と表わす)、 $\text{Ca}(^{15}\text{NO}_3)_2$ (^{15}N : 5.36 atom %) の形で、第2表のような組成の肥料とともに適量の蒸留水に溶解または懸濁して、風乾土に均一に混合した。各ポットの土壌 pH は CaCO_3 の添加により

* 東京農工大学肥科学研究室 (183 府中市幸町 3-5-8)
1989年4月27日受理
日本土壌肥科学雑誌 第61巻 第1号 p. 34~41 (1990)

第1表 供試土壌の理化学性

pH		CEC (meq/100 g)	NH ₄ ⁺ -N (mg/100 g)	NO ₃ ⁻ -N (mg/100 g)	T-C (%)	T-N (%)	C/N
H ₂ O	KCl						
6.05	5.47	17.5	2.1	2.2	3.07	0.28	11.0

第2表 1ポット当たりの施肥成分と施肥量 (g)

Ca(¹⁵ N ₂ O ₃) ₂ *	0 (N-0)	MgCl ₂ ·6H ₂ O	0.404
	0.293 (N-50)	CaCl ₂ ·2H ₂ O	1.051 (N-0)
	1.177 (N-200)		0.788 (N-50)
KH ₂ PO ₄	0.380		0 (N-200)
K ₂ SO ₄	0.104	CaCO ₃	1.352

* ¹⁵N : 5.36 atom %.

6.5(H₂O) になっている。種子は有効塩素量約1%の次亜塩素酸ナトリウム溶液で5分間滅菌し、蒸留水で洗浄後根粒菌濃厚懸濁液を接種した。用いた根粒菌は、レンゲ根粒菌 (*Rhizobium* spp.) NOKO-703, クローバー根粒菌 (*Rhizobium leguminosarum* biovar *trifolii*) NOKO-401, ダイズ根粒菌 (*Bradyrhizobium japonicum*) PNT 119 である。接種した種子は1ポット当たりレンゲとアカクローバーでは12粒、ダイズでは4粒播種し、発芽1週間後にレンゲとアカクローバーを8個体、ダイズを2個体に間引した。栽培は自然光ファイトロン(昼25℃、夜20℃、相対湿度60~80%)で3連で行った。栽培期間中、ポット水分は土壤最大含水量の60~80%の範囲に維持されるように脱塩水を随時にポットの上から補給した。

2) 試料採取と測定

レンゲとアカクローバーは播種後31日目(8月6日)と56日目(9月1日)に、ダイズは21日目(7月27日)と42日目(8月17日)に2回のサンプリングを行った。サンプリングに際しては、まず地上部を地際で切除して、続いて根部を採取し、ただちにアセチレン還元活性(ARA)の測定に供した。アセチレン約10%(v/v)の空気とともに25℃で30分間インキュベートし、生成したエチレンをガスクロマトグラフィー(FID)で定量した。ARA測定後、地下部を水道水と蒸留水で洗浄して、根と根粒に分け、葉と茎に分けた地上部とともに80℃で48時間通風乾燥した。乾燥試料は秤量後粉碎し、硫酸-過酸化水素により湿式分解した後¹⁵⁾、マイクロ-通気蒸留法¹⁶⁾と発光分光分析法により全窒素量と重窒素濃度を測定した¹⁷⁾。

2. 実験結果

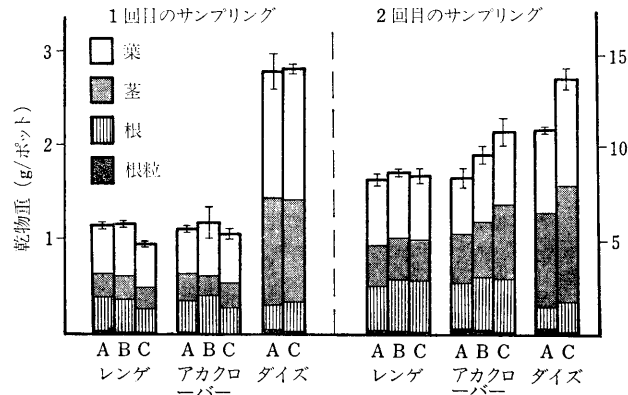
1) 植物の生育状況

植物体各部位の乾物重を第1図に示した。1回目のサンプリング時には、アカクローバーとダイズで各処理区間の有意差は認められず、レンゲでは、N-200区で小さかった。2回目のサンプリング時では、アカクローバーとダイズで窒素施用量が多いものほど大きかったが、レンゲでは各処理区間に有意な差はなかった。各器官への全乾物重の分布割合については、全般的にレンゲとアカクローバーで地下部への分布割合は茎よりやや大きい(茎へ21~26%、地下部へ25~31%)のに対して、ダイズでは茎への分布割合は地下部より著しく大きかった(茎へ39~41%、地下部へ9~11%)。また、1回目のサンプリング時では、各植物とも葉への乾物重の分布割合は窒素施用量の増加に従って上昇し、地下部、とくに根粒への分布割合は低下したが、2回目のサンプリング時では根粒への分布割合を別にすれば、このような傾向は判然としなくなった。

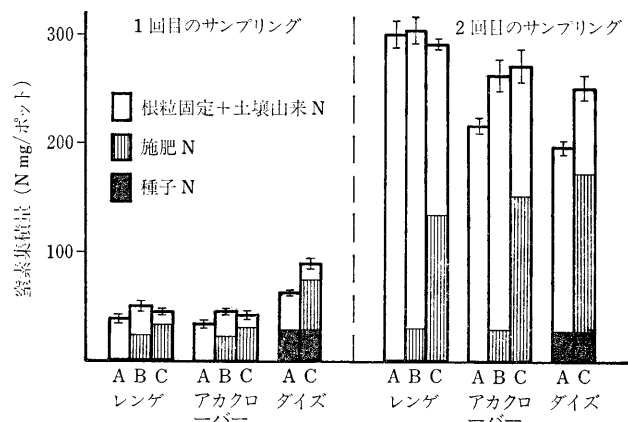
2) 植物の窒素集積状況

植物の起源別窒素集積量の推移を第2図に示した。1回目のサンプリング時では、すべての植物の全窒素集積量はN-0区で一番少ない。2回目のサンプリング時では、アカクローバーとダイズで培地への窒素施用量の増加に従って増加したが、レンゲでは各処理区間で有意な差は認められなかった。肥料由来窒素量は各植物とも硝酸態窒素施用量が多いほど多くなり、N-50区のアカクローバーを除いて根粒固定+土壤由来窒素は少なくなる傾向にあった。各器官への窒素分布パターンは全般的に乾物重の分布パターンと類似している。

植物全体および各器官の窒素含有率を第3表に示し



第1図 乾物重に対する硝酸態窒素施用の影響
A, N 無施用区; B, N 50 mg/ポット施用区;
C, N 200 mg/ポット施用区.



第2図 窒素集積量に対する硝酸態窒素施用の影響
A, N 無施用区; B, N 50 mg/ポット施用区; C,
N 200 mg/ポット施用区.

た. 各器官とも1回目の茎を除けば, レンゲで一番高く, 次いでほぼアカクロ-バー, ダイズの順である. 1回目のサンプリング時の窒素含有率は各植物ともN-0区で最も低く, 窒素施用によって上昇したが, 1回目から2回目のサンプリング時にかけては, N-0区のレンゲおよび他の植物の根粒を除くすべての器官の窒素含有率は低下に転じ, その低下の程度は窒素施用量が多いほど大きかった. その結果, 2回目サンプリング時の各器官窒素含有率の処理区間の差はきわめて小さくなった. 根粒の窒素含有率は各植物とも諸器官中で最も高く, とくにレンゲで著しく高かった. 根粒の窒素含有率に対する硝酸態窒素施用の影響は植物によって明確に異なる. ダイズでは窒素施用により根粒窒素含有率は低下したが, レンゲとアカクロ-バーでは上昇した. また, レンゲで,

N-50, N-200 と施用量が増加するにつれて徐々に上昇するのに対し, アカクロ-バーではN-200区で著しく上昇していた.

3) 根粒着生, 肥大および窒素固定状況

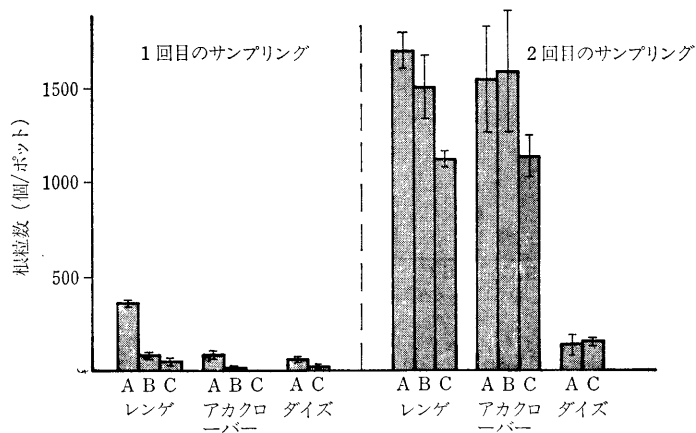
ポット当たりの根粒数と平均根粒重(根粒1個当たり乾物重)の推移は第3, 4図に示されている. 全体として, 根粒数はレンゲとアカクロ-バーで多く, 平均根粒重はダイズで大きかった. 各植物とも1回目のサンプリング時の根粒数は窒素施用区で著しく減少していたが, 2回目のサンプリング時では処理区間の差はきわめて小さくなった. ポット当たりの根粒乾物重(データの発表は省略)および平均根粒1個重は実験期間中で一貫して硝酸態窒素施用によって抑制され, その抑制程度はダイズで一番大きかった.

第3表 植物各部位の窒素含有率

(N%)

窒素施用量 (N mg/pot)		1回目のサンプリング			2回目のサンプリング		
		レンゲ	アカクローバー	ダイズ	レンゲ	アカクローバー	ダイズ
		0	葉	4.30	4.10	3.34	5.16
	茎	1.88	2.02	1.22	2.29	1.65	0.98
	根	2.68	2.32	1.82	2.73	2.00	1.79
	根粒	7.10	4.51	4.27	8.09	4.38	4.73
	全体	3.36	3.03	2.26	3.65	2.59	1.81
50	葉	5.76	5.18		5.14	4.08	
	茎	2.66	2.69		2.25	1.59	
	根	3.63	2.72		2.71	2.17	
	根粒	7.25	N. D.*		8.34	4.49	
	全体	4.44	3.87		3.55	2.74	
200	葉	5.91	5.14	4.09	5.13	3.91	2.64
	茎	2.88	2.95	2.15	2.04	1.34	1.08
	根	3.95	2.73	2.80	2.78	2.05	1.75
	根粒	8.70	N. D.	2.95	8.75	6.39	4.49
	全体	4.68	3.96	3.18	3.44	2.51	1.84

* N. D., 根粒採取不能のため欠測.



第3図 根粒着生数に対する硝酸態窒素施用の影響

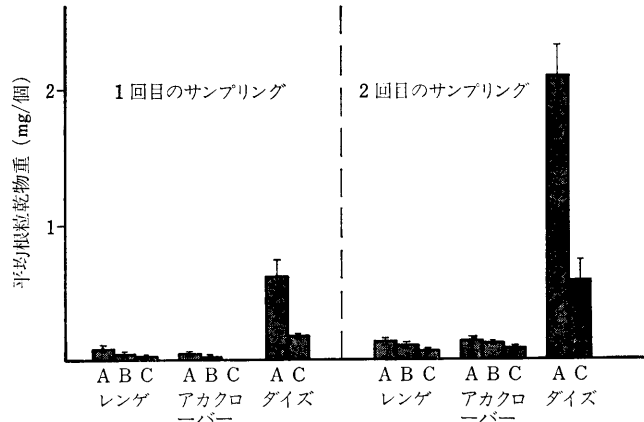
A, N 無施用区; B, N 50 mg/ポット施用区; C, N 200 mg/ポット施用区.

ポット当たりの根粒アセチレン還元活性(ARA)と根粒乾物重当たりのアセチレン還元活性(比活性, SARA)を第5図に示した。ARAは2回目のサンプリング時のアカクローバーを除いて、各植物ともN-0区で一番高く、窒素施用量の増加に従って低下し、その低下の程度は1回目のサンプリング時とくに大きかった。SARAは1回目のサンプリング時でARAと同様にN-0区で最も大きく、窒素施用によって強く抑制されたが、2回目のサンプリング時には逆に窒素施用量が多いものほど

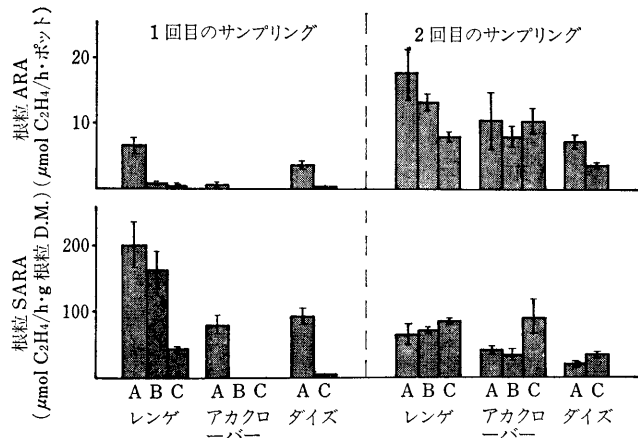
高かった。植物間の比較ではARAおよびSARAともにレンゲで最も高かった。また、1回目のサンプリング時のN-200区のアカクローバーでは、根粒数はきわめて少なく、しかも根粒形成初期の段階に留まり、根粒窒素固定活性は全然認められなかった。

3. 考 察

前報¹⁰⁾では、人工土壤(パーミキュライト)とアンモニア態窒素を用い、本報では水田由来の土壤と硝酸態窒



第4図 平均根粒乾物重に対する硝酸態窒素施用の影響
A, N 無施用区; B, N 50 mg/ポット施用区; C, N 200 mg/ポット施用区.



第5図 ポット当たりのアセチレン還元活性 (ARA) と根粒乾物重当たりのアセチレン還元活性 (SARA) に対する硝酸態窒素施用の影響
A, N 無施用区; B, N 50 mg/ポット施用区; C, N 200 mg/ポット施用区.

素を用いたが、ダイズの生育と根粒窒素固定能の発達に及ぼす化合態窒素の影響については概略共通の結果が得られ、アカクローバーもほぼ同様の傾向を示した。しかし、レンゲについては、草型や硝酸態窒素の吸収利用の経過はアカクローバーときわめて似ているにもかかわらず、生育と根粒窒素固定能の発達経過に対する硝酸態窒素の影響に関しては、アカクローバーとも異なる特徴を示した。以下には、本実験の結果をみながら、供試植物の生育と根粒窒素固定に及ぼす硝酸態窒素の影響について論議を行うことにする。

1回目のサンプリング時においては、各植物とも窒素施用の多少は窒素集積量には反映していた(第2図)。

全乾物重には有意な差は認められなかった(第1図)。このことはこの間の生育に窒素が制限因子となっていないことを示している。施用された硝酸態窒素の吸収と利用経過における植物種間の違いははっきりとみられた。すなわち、第4表にみられるように、1回目のサンプリング時にレンゲとアカクローバーの肥料由来窒素量はポット当たりN-50区でそれぞれの全窒素の集積量の45.4と45.7%を占め、同様にN-200区でも、レンゲ、アカクローバー、ダイズでそれぞれの植物全窒素集積量の70.1、70.6、50.3%を占めており、レンゲとアカクローバーはきわめて近い値を示し、ダイズとは異なっている。また、2回目のサンプリング時には、レンゲ、アカクロー

第4表 植物全窒素集積量に占める肥料由来窒素の割合 (%)

窒素施用量 (N mg/pot)		1回目のサンプリング			2回目のサンプリング		
		レンゲ	アカクロバー	ダイズ	レンゲ	アカクロバー	ダイズ
50	葉	48.1	45.8		10.3	12.6	
	茎	41.9	46.4		7.5	7.5	
	根	40.9	44.6		9.9	13.0	
	根粒	24.1	N. D.*		5.9	7.4	
	全体	45.4	45.7		9.5	11.5	
200	葉	70.8	70.2	48.0	52.1	62.0	57.9
	茎	72.3	72.9	54.5	42.3	56.1	61.2
	根	67.6	69.4	53.3	39.3	45.5	55.7
	根粒	63.0	N. D.	38.5	21.7	20.0	33.2
	全体	70.1	70.6	50.3	46.1	56.2	58.1

* N. D., 根粒採取不能のため欠測.

バーの肥料由来窒素量はポット当たり N-50 区で全窒素集積量の 9.5, 11.5% を占め, N-200 区ではレンゲ, アカクロバー, ダイズでそれぞれの全窒素集積量の 46.1, 56.2, 58.1% を占めており, レンゲではアカクロバー, ダイズと比べて, 全窒素に占める施肥由来窒素の割合は低いという特徴がみられた. 逆に, 根粒固定+土壌由来吸収窒素量についてみると, レンゲでは N-0 区で大きくて, ほとんど N-50, N-200 区的全窒素集積量と同じとなり, 窒素施用量の増加に伴い減少したが, 2回目のサンプリング時の N-50 区のアカクロバーだけは窒素施用に影響されなかった(第2図). 窒素施用は初期のレンゲとアカクロバーにおいて葉への窒素分布割合を増加させたが, ダイズにおいては, 茎への窒素分布割合を上昇させ, この点でもレンゲとアカクロバーはダイズとは異なる共通の特徴を示した. 根粒への窒素分布割合が硝酸態窒素施用によって減少する点ではいずれの植物種でも共通であった.

2回目のサンプリング時のアカクロバーとダイズにおいて窒素施用区の植物全乾物重は N-0 区より大きく, これらの N-0 区の植物では1回目から2回目のサンプリング時にかけて窒素が生育の制限因子になったことを示しており, 今までのシロクロバーとダイズに関する研究結果と一致している^{10,12)}. しかし, レンゲにおいては, 窒素施用による乾物重の増加は認められず, 藤田らの実験結果¹²⁾とは一致しなかった. すなわち, 第2図からみられるように, 2回目のサンプリング時のレンゲ植物の全窒素集積量には各処理区間で有意な差はなく, これは N-0 区のレンゲでも, 窒素施用区と同程度の生育に必要な窒素量を土壌窒素の吸収と根粒による空中窒素

固定によって集積できたからであろう.

マメ科植物の根粒窒素固定に対する化合態窒素の抑制作用についてはさまざまな研究が行われているが, その機構についてはまだ十分に整理されていない¹⁸⁾. 根粒窒素固定に対する化合態窒素の影響には植物種間差があることはすでに報告されており¹⁹⁾, 本実験からも, 3種類の植物の間でいくつかの相違点がみられた. 1回目のサンプリング時の各植物の根粒形成は, 培地への硝酸態窒素施用によって強く抑制され, その抑制程度はアカクロバーで一番大きかった. 2回目のサンプリング時では, N-50区のアカクロバーと N-200区のダイズの根粒数は N-0 区よりやや増加したのに対して, N-50, N-200 区のレンゲの根粒数は依然として N-0 区より少なかった(第3図). 各植物の根粒 ARA と SARA とも, 1回目のサンプリング時に N-50 区のレンゲ根粒 SARA を除けば硝酸態窒素の施用によって強く抑制された. ところが, 2回目のサンプリング時にはレンゲとダイズの ARA は窒素施用量の増加に伴い低下しているが, アカクロバーでは窒素処理区でも N-0 区とはほぼ同程度の ARA が観察された. 根粒窒素固定に対する化合態窒素処理の影響については, バクテリアやバクテロイドあるいは根粒そのものに及ぼす直接的な影響と, 植物全体の生育を経て根粒の生育と窒素固定能に及ぼす間接的な影響があると予想される. 本実験に用いられたレンゲとアカクロバー植物は, おおよそ類似の草型と硝酸態窒素の利用吸収経過を示しているにもかかわらず, 硝酸態窒素施用に対する根粒形成と窒素固定能の反応は著しく異なることから, それぞれの根粒には質的な違いがあるように思われる. また, 第1図からみられるように, 1回目から

2 回目のサンプリング時にかけて各植物地下部への乾物重分布率の増加は、N-0 区より N-50 と N-200 区で大きく、窒素施用区の植物においては、この間でより多くの光合成産物が地下部に転流し、それらの植物根粒比活性 (SARA) を上昇させたと推定される。

1 回目のサンプリング時の植物体全体の窒素含有率は、すべての種で硝酸態窒素の施用量が多いほど高かったが、2 回目のサンプリング時にはこのような傾向は判然としなくなった (第 3 表)。しかし、根粒の窒素含有率についてみると、1 回目と 2 回目のサンプリング時ともにレンゲとアカローバーで窒素施用量が多いものほど高かったのに対して、ダイズでは逆に低かった。さらに、2 回目のサンプリング時に、レンゲで根粒窒素含有率は窒素施用量の増加に従って徐々に上昇したのに対して、アカローバーでは N-50 区と N-200 区の間で急激な上昇がみられた。以上のような窒素施用に対する植物窒素含有率、とくに根粒の窒素含有率の反応は植物種と生育時期によって違うが、2 回目サンプリング時に植物種を問わず根粒窒素含有率と根粒 SARA との間に高い相関がみられ ($r=0.801$)、根粒窒素含有率が高いときに根粒の SARA も高いことがわかった。したがって、2 回目のサンプリング時のアカローバーにおいて、N-50 と N-200 区の間での根粒の窒素含有率の大きな違いは同時に根粒 SARA の大きな差異を伴っている。しかし、このような根粒 SARA と根粒窒素含有率の高い相関がみられる理由についてはなお不明であり、これからの検討課題である。

本実験の結果では、アカローバー、ダイズと比べてレンゲの根粒窒素固定能に対する硝酸態窒素の阻害程度が小さいということは認められず、藤田らの実験結果と一致しなかった。しかし、レンゲ根粒の窒素含有率は他の植物種と比べて顕著に高く、そして、培地への窒素施用によって上昇することなどの点では藤田らの結果と一致しており、すでに述べたように、レンゲ根粒がもつ高い ARA と SARA および高い窒素含有率はレンゲ根粒窒素固定系における大きな特徴であるといえよう。

4. 要 約

レンゲ、アカローバーとダイズを異なる硝酸態窒素濃度下でポット栽培し、植物生育、根粒形成、肥大および窒素固定状況を調査し、下記の結果を得た。

1) アカローバーとダイズの全乾物重と窒素集積量は培地への窒素施用によって増加したが、レンゲでは窒素施用による増加効果は認められなかった。肥料由来吸

収窒素量は、各植物とも硝酸態窒素施用量の増加に従って増加した。全窒素に占める肥料由来吸収窒素の割合については、1 回目のサンプリング時にレンゲとアカローバーはきわめて近い値をみせており、ダイズより大きい。2 回目のサンプリング時にはアカローバーとダイズに比べて、レンゲのほうが小さかった。

2) 各植物体の全窒素含有率は、1 回目のサンプリング時までもに硝酸態窒素施用によって上昇したが、2 回目のサンプリング時にはそのようなことはみられなくなった。

3) レンゲ植物全体および各器官の窒素含有率は最も高く、とくに根粒の窒素含有率は著しく高かった。そして、栽培全期間中において、レンゲとアカローバーの根粒窒素含有率は窒素施用量の増加に従って上昇したのに対して、ダイズでは低下した。

4) 培地への硝酸態窒素の施用は、1 回目のサンプリング時までには各植物の根粒形成、肥大および窒素固定能を強く抑制したが、2 回目のサンプリング時では N-200 区のアカローバーを除く植物の根粒 ARA は依然として阻害されているものの、SARA は逆に窒素施用量の多い植物ほど高かった。

5) いずれの植物種でも、根粒 SARA と根粒窒素含有率との間で高い正の相関がみられた。

文 献

- 1) 鎌田悦男：ダイズにおける根粒形成に関する生理形態的研究 (I)、窒素供給量と根粒発達について、日作紀, **25**: 145~146 (1957)
- 2) NELSON, L. M.: Variation in ability of *Rhizobium leguminosarum* isolates to fix dinitrogen symbiotically in the presence of ammonium nitrate. *Can. J. Microbiol.*, **29**, 1626~1633 (1983)
- 3) ORCUTT, F. S. and WILSON, P. W.: The effect of nitrate-nitrogen on the carbohydrate metabolism of inoculated soybeans. *Soil Sci.*, **39**, 289 (1935)
- 4) LATIMORE, M., Jr., GIDDENS, J. and ASHLEY, D. A.: Effect of ammonium and nitrate nitrogen upon photosynthate supply and nitrogen fixation by soybeans. *Crop Sci.*, **17**, 399 (1977)
- 5) TRINCHANT, J. C. and RIGAUD, J.: Nitrite inhibition of nitrogenase from soybean bacteroids. *Arch. Microbiol.*, **124**, 49 (1980)
- 6) RIGAUD, J. and PUPPO, A.: Effect of nitrite upon leghemoglobin and interaction with nitrogen fixation. *Biochem. Biophys. Acta*, **497**, 702 (1977)
- 7) WEBER, C. R.: Nodulating and non-nodulating soybean isolines. I. Agronomic and chemical attributes. *Agron. J.*, **58**, 43~46 (1966)
- 8) 田中 明・藤山英保・森谷和仁・Oka, E. I.: 大豆および菜豆の窒素施肥反応, 土肥誌, **49**, 406~411 (1978)
- 9) MAHON, J. D. and CHILD, J. J.: Growth response of

- inoculated peas (*Pisum sativum*) to combined nitrogen. *Can. J. Bot.*, **57**, 1687~1693 (1979)
- 10) 有馬泰紘：初期生育過程におけるダイズ根粒窒素固定の発達に及ぼす基肥窒素施用の影響，土肥誌，**58**，542~548 (1987)
- 11) 小野寺伊勢之助：紫雲英の土壤中における分解及び稲作に及ぼす影響，同上，**3**，49 (1929)
- 12) 藤田耕之助・尾形昭逸・松本勝士・阿江教治：ダイズの野生種・栽培種，レンゲおよびシロクローバーの窒素の固定，吸収に対する培地硝酸態窒素濃度の影響，同上，**56**，110~114 (1985)
- 13) 藤田耕之助・尾形昭逸・松本勝士：ダイズおよびレンゲの生育ならびに窒素固定に対する化合態窒素や炭酸ガス富化の影響，同上，**57**，8~12 (1986)
- 14) SASAKAWA, H.: Influence of environmental factors on nitrogen fixation activity in field grown Chinese milk vetch (*Astragalus sinicus* L.). *Jpn. J. Crop Sci.*, **56**, 577~581 (1987)
- 15) 水野直治・南 松雄：硫酸-過酸化水素による農作物中 N, K, Mg, Ca, Fe, Mn 定量のための迅速前処理法，土肥誌，**51**，418~420 (1980)
- 16) 有馬泰紘：マイクロ通気蒸留法によるアンモニア態，アミド態，亜硝酸態，硝酸態各窒素の分別定量と¹⁵N濃度測定への利用，同上，**49**，304~308 (1978)
- 17) 麻生末雄・石塚皓造・熊沢喜久雄・内藤 博：農学・生物学におけるアイソトープ実験法，p. 135~157，養賢堂，東京 (1982)
- 18) STREETER, J.: Inhibition of legume nodule formation and N₂ fixation by nitrate. *CRC Crit. Rev. Plant Sci.*, **7**(1), 1~23 (1988)
- 19) SENARATNE, R., AMORNIMOL, C. and HARDARSON, G.: Effect of combined nitrogen on nitrogen fixation of soybean (*Glycine max* L. Merrill) as affected by cultivar and rhizobial strain. *Plant Soil*, **103**, 45~50 (1987)

Influence of Nitrate Supply on the Plant Growth and Nodule Nitrogen Fixation Activity of Chinese Milk Vetch, Red Clover, and Soybean

Jianzhong WU, Yasuhiro ARIMA and Hiroshi HIRATA
(*Fac. Agric., Tokyo Univ. Agric. Technol.*)

The effects of nitrate supply on the growth and N₂-fixation of inoculated Chinese milk vetch (*Astragalus sinicus* L.), red clover (*Trifolium repens* L.), and soybean (*Glycine max* L.) were studied with soil pot experiment growing in the growth chamber for 42-56 days. Nitrate [Ca(¹⁵NO₃)₂] was applied as basal dressing at levels of 0, 50, 200 mg N/pot (10⁻⁴ a). The results obtained were as follows: 1) By the application of nitrate, red clover and soybean increased their total dry matter and N content, but milk vetch did not. 2) Among the plants, milk vetch had the highest N% in all organs, particularly in the nodules. 3) At the early stage, milk vetch and red clover showed almost the same ¹⁵N concentrations, which were higher than that of soybean. However, at the later stage, milk vetch had the lowest ¹⁵N concentration compared with the other two plants, reflecting its high nodule N₂-fixation activity. 4) The responses of nodule N% to nitrate supply were different among plant species. Milk vetch and red clover increased their nodule N% with increasing nitrate supply, but soybean lowered it. 5) At the early stage, the nodule formation and growth, ARA and SARA of all plants were strongly inhibited by the nitrate. At the final stage, conversely, higher SARA was found in all plants fed with nitrate although the dry matter of nodules and the ARA of these plants except red clover were still lower. 6) A high correlation ($r=0.801$) between SARA and nodule N% was observed in all plants.

Key words leguminous plant, N₂-fixation, ¹⁵N-nitrate, nitrogen accumulation, nodule

(*Jpn. J. Soil Sci. Plant Nutr.*, **61**, 34-41, 1990)