

# ダイズの根粒形成・窒素吸収機構と生産性向上に関する研究

佐藤 孝 (秋田県立大学 生物資源科学部)

t.sato@akita-pu.ac.jp

ダイズは日本の伝統的な食品の原料であるが、国内自給率は低迷しており生産性向上が重要な課題となっている。本研究はダイズの安定多収技術の構築を目的として研究を進めた。基礎的研究としてダイズの根粒形成制御機構および根粒形成と窒素吸収の関係について検討した。また、応用的研究として土壌環境とダイズの根粒形成・窒素固定活性の関係について解析するとともに、効果的な施肥技術について検討し、安定多収のための知見を得た。

## はじめに

ダイズなどのマメ科植物は根から土壌中の窒素化合物を吸収するだけでなく、土壌微生物の根粒菌と共生して窒素固定し、大気中の窒素分子を利用する。しかし、ダイズは土壌中に高濃度の窒素化合物(硝酸)が存在すると、根粒形成および窒素固定活性が著しく阻害される。また、ダイズは根粒菌が根に感染すると、その後の根粒の生長を抑制する自己制御機構(オートレギュレーション)を有している。近年、この機構を欠如した根粒超着生変異株が得られ、その解析に利用されている。これまでダイズの根粒形成制御機構は解明されておらず、硝酸による根粒形成阻害との関連についても明らかでなかった。

一方、土壌水分や酸素分圧などの土壌の物理的特性は、ダイズ-根粒菌共生系へ大きく影響し、とくに重粘土壌の水田転換畑では、ダイズ生産量の主要な決定因子となっている。本研究は、ダイズの根粒形成制御機構および土壌窒素の吸収と根粒形成との関係を解明し、重粘土水田転換畑において共生窒素固定を有効利用した、持続的かつ環境保全的なダイズ多収技術を構築することを目的として研究を進めた。

## 1. ダイズ根粒自己制御機構の解析

ダイズ根粒超着生変異株 NOD1-3 と、その親株 Williams から作成した単葉根の根粒形成を調べた。単葉根は器官としては葉身と根のみの系であるが、単葉根の根粒着生形態は NOD1-3、Williams それぞれの形質を維持していた(図1)。このことから、ダイズにおける根粒着生の制御は成熟した葉身によって支配されていることを証明した。また、その制御能力はすべての成熟した葉身が有していることを明らかにした<sup>1)</sup>。

次にダイズ根粒形成制御機構に関わる生理活性物質について検討した。アルファルファにおける培地硝酸による根粒形成阻

害は、植物ホルモンの一つであるエチレンが介在して根粒の生長が抑制されることが知られている。そこで、エチレンの作用阻害剤である STS をダイズ水耕培地へ投与し、根粒形成への影響を調べた。その結果、植物全乾物重に占める根粒の割合は STS 処理、および STS・硝酸処理で変化なかったことから、ダイズでは硝酸による根粒形成の阻害はエチレンを介在している可能性は低いと考えられた<sup>5)</sup>。

また、植物には病原菌に対する全身獲得抵抗性(SAR)があり、サリチル酸(SA)が器官間をシグナル伝達して誘導すると考えられている。ダイズ根粒超着生変異株 NOD1-3、NOD2-4 と、その親株 Williams を水

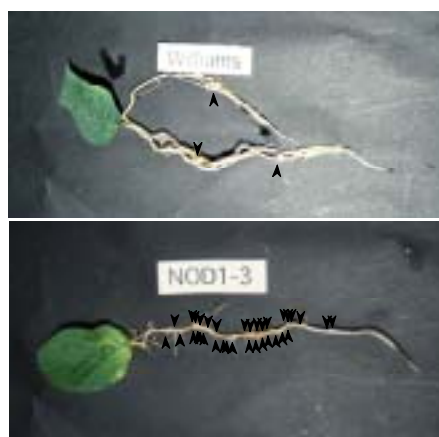


図1 WilliamsとNOD1-3から作成した単葉根の写真(▲:根粒)

耕栽培して、水耕培地に 100 $\mu$ M-SA を添加し、SA の根粒形成への影響を調べた。Williams では 100 $\mu$ M-SA 処理によりほとんど根粒は形成されなかったが、根粒超着生変異株 NOD1-3、NOD2-4 では阻害効果は小さく多数の根粒が形成された。また、根粒生育段階が進んだ状態では殆ど SA の効果がなく、根粒形成初期にのみ特異的に阻害効果を示していた。以上の結果より、SA はダイズ根粒形成制御機構に関係し、根粒形成初期過程において重要な役割を果たしていることが示された<sup>9)</sup>。

## 2. レグヘモグロビン定量法の開発と根粒の形態的、生理的特徴の制限因子

根粒内において酸素運搬機能を持つレグヘモグロビン (Lb) が存在し、ニトロゲナーゼの酸素による失活を防ぎ、呼吸に必要な酸素を根粒菌へ提供している。ダイズの場合は主な成分として Lba、Lbc<sub>1</sub>、Lbc<sub>2</sub>、Lbc<sub>3</sub> が存在している。これらの Lb 成分の定量分析を検討した結果、キャピラリーゾーン電気泳動法 (CZE)<sup>2)</sup> および等電点キャピラリー電気泳動法 (CIEF)<sup>8)</sup> を用いて、Lb 各成分を高感度で分離定量することに成功した。根粒内 Lb 成分の定量的解析により、ダイズの生育ステージにより Lb 濃度および Lb 各成分の存在比が変化すること<sup>4)</sup>、根圏への硝酸投与により Lb 濃度が減少し、成分比も変化することを明らかにした<sup>3)</sup>。

根粒超着生変異株に着生した根粒は大きさが小さく、根粒当たりの窒素固定活性が低い、Lb 濃度が低く成分比が異なる、感染域が小さいなど、親株の根粒と生理的・形態的特徴に違いがある。地上部の量と根粒着生数を親株と同等にした根粒超着生変異株の根粒の特徴は、親株の根粒の特徴と非常に類似していた。このことから、根粒超着生変異株の根粒の生理的・形態的特徴は遺伝的変異ではなく、個々の根粒への光合成産物の供給量が制限因子となっていることを明らかにした<sup>6)</sup>。

## 3. 根粒非着生と根粒着生ダイズにおける <sup>13</sup>N<sub>3</sub> と <sup>15</sup>N<sub>3</sub> を用いた硝酸吸収と移行の解析

ダイズにおける硝酸吸収と移行を調べるために、同質遺伝子系統の根粒着生ダイズ (T202) と根粒非着生ダイズ (T201) を水耕栽培し、<sup>13</sup>N または <sup>15</sup>N で標識した NO<sub>3</sub><sup>-</sup> を用いてトレーサー実験を行った。TIARA AVF サイクロトロンで作成した <sup>13</sup>N<sub>3</sub> を水耕培地へ投与した。第一本葉における吸収された <sup>13</sup>N 分布の経時的変化をポジトロンイメージング装置 (PETIS) で、植物全体像をバイオイメージングアナライザー (BAS) を用いて観測した。一方、同様の実験系において <sup>15</sup>N<sub>3</sub> を 1 時間供給し、各器官の <sup>15</sup>N 増加量を発光分光法により定量した。<sup>13</sup>N<sub>3</sub> 投与実験では、根から吸収された硝酸は短時間 (40 分) では根粒に殆ど移行されず、地上部では若い器官へ積極的に移行されていることが確認できた (図 2)。また、<sup>13</sup>N<sub>3</sub> 投与実験では根粒着生、非着生で硝酸吸収速度に大きな差は認められなかったが、<sup>15</sup>N<sub>3</sub> 投与実験の結果では、根粒非着生の方が各器官の <sup>15</sup>N 蓄積量は高く、根粒着生の有無で硝酸吸収速度に違いが見られた。<sup>15</sup>N<sub>3</sub> 投与実験では、根粒着生、非着生ともに硝酸前処理により硝酸吸収量に違いが認められたことから、ダイズは培地中硝酸の存在を感知し、硝酸吸収に関する機構を速やかに調節していると推察された<sup>7)</sup>。

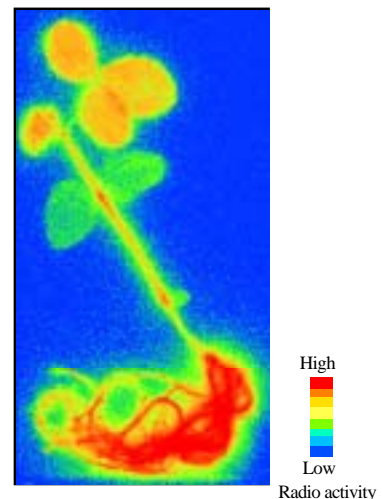


図2 BASで測定した<sup>13</sup>Nの分布画像

## 4. 重粘土壌の物理的特性がダイズの根粒形成および窒素固定活性に及ぼす影響

八郎潟干拓地内の重粘土水田転換初年目畑 (水田転換畑) と転換 13 年目畑 (畑作物連作畑) において、土壌の物理的特性がダイズの根粒形成と窒素固定活性に及ぼす影響について検討した。水田転換畑では土壌構造が未発達で、深さ約 40cm からグライ層が出現していたが、畑作物連作畑では土壌構造が発達してお

り、酸化層は深さ約 70cm まで発達していた。水田転換畑では透水性が悪く、降雨後の土壌は湿潤状態が続いたが、畑作物連作畑では作土層の土壌は速やかに乾燥した(図3)。また、畑作物連作畑では土壌構造の発達に伴い、土壌の粗孔隙および毛管孔隙が形成されているため、透水性が高くなるとともに土壌下層から表層への水分の供給が速やかに行われていた。根粒菌の宿主への感染は、土壌の物理性による影響は小さいと考えられたが、ダイズ根粒の肥大生長は水田転換畑で抑制されていた。ダイズ植物体の生育は、根粒形成状態、窒素固定活性に強く依存していた。これらの結果より、重粘土壤ではダイズの根粒形成および窒素固定活性は、土壌の物理的特性に大きく影響を受けことが示された<sup>10)</sup>。また、水田転換畑では下層への根の伸張が強く抑制され、養水分の吸収活性も低下していた<sup>11)</sup>。従って、重粘土壤では根粒の窒素固定活性を高く維持し、根圏の発達を抑制しない土壌環境を構築することが、ダイズ生産性の向上につながると考えられた。

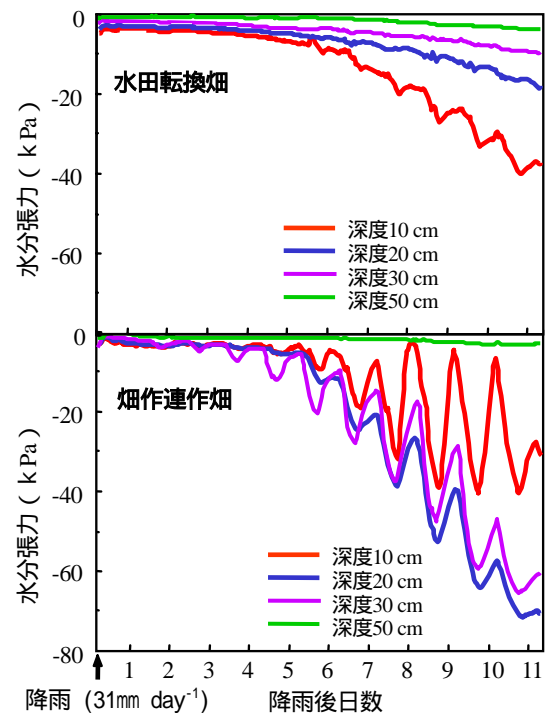


図3 降雨後の土壌水分状態の変化

## 5. 肥効調節型肥料の接触施肥がダイズの生育・収量に及ぼす影響

重粘土水田転換初年目畑において肥効調節型肥料(LPS)の接触施肥がダイズの根粒形成、生育、収量に及ぼす影響について検討した。肥効調節型肥料は2種類のシグモイド型(LPS60、LPS100)を用いた。接触施肥区は播種直前に種子直下に各LPS(N 8 g m<sup>-2</sup>)を条施肥し、種子が肥料に接触するように播種した。開花期においては、LPS100 接触施肥区で慣行栽培区よりも根粒着生数は減少したが、LPS60 接触施肥区では根粒形成阻害効果が小さく、窒素固定活性も最も高く維持されていた。開花期以降の生育はLPS60 接触施肥区において旺盛で、収量も慣行栽培と比較して同等以上の結果が得られた。従って、LPS60 接触施肥は根粒の窒素固定活性を高く維持し、収量増が期待できる施肥技術であると考えられた。

## 6. ダイズ生産性向上のために

ダイズの根粒形成制御機構の解明は、効果的な施肥技術の開発や品種改良のための重要な知見となる。また、重粘土地帯では土壌の物理的特性により根の吸収活性・根粒の窒素固定活性が抑制され、その対策についての技術は十分に確立されているとは言えない。従って、ダイズ生産性を向上させるには、植物栄養学的・生理学的な基礎的研究に加えて、植物-土壌の相互関係について詳細に検討する必要がある。そして、これらの知見が新しい農業技術に発展し、生産現場に反映できるように研究を進めていきたい。

## 謝辞

本研究は秋田県立大学生物資源科学部および新潟大学農学部において行われたものです。秋田県立大学生物資源科学部 佐藤敦教授には終始丁寧なご指導を頂きました。新潟大学農学部 大山卓爾教授には、卒論の指導に始まり現在に至るまで、懇切丁寧にご指導頂きました。秋田県立大学生物資源科学部 金田吉弘助

教授、東北大学農学部 高橋正助教授、新潟大学農学部 五十嵐太郎前教授、同 末吉邦助教授、同 高橋能彦助教授、同 大竹憲邦助手には多大なご助言とご支援を頂きました。また、日本原子力研究所高崎研究所、秋田県農業試験場、チッソ旭肥料株式会社の皆様には多大なご協力をいただきました。以上の方々には、心より感謝し厚く御礼申し上げます。

## 引用文献

1. 佐藤孝・八島裕幸・J.E.Harper・赤尾勝一郎・大山卓爾 (1997) ダイズ根粒超着生変異株と親株の単葉根における根粒形成と窒素固定, 土肥誌, 68 (4): 444-447 .
2. 佐藤孝・西脇俊和・大竹憲邦・大山卓爾 (1997) キャピラリー電気泳動法によるダイズ根粒レグヘモグロビン成分の定量, 土肥誌, 68 (5): 521-526 .
3. Nishiwaki T., Sato T., Yashima H., Ikarashi T., Ohyama T., Harper J.E., Akao S. and Kouchi H. (1997) Changes in concentration of leghemoglobin components in hypernodulation mutants of soybean. *Soil Sci. Plant Nutr.* 43: 1091-1096.
4. Sato T., Yashima H., Ohtake N., Sueyoshi K., Akao S., J.E.Harper and Ohyama T. (1998) Determination of leghemoglobin components and xylem sap composition by capillary electrophoresis in hypernodulating mutants of soybean cultivated in the field. *Soil Sci. Plant Nutr.* 44: 653-645.
5. Sato T., Nishiwaki T., Ohtake N., Sueyoshi K. and Ohyama T. (1999) Non-involvement of ethylene action on the nitrate inhibition of nodulation in hypernodulation soybean mutant and its parent cv. Williams. *Bull. Facul. Agric., Niigata Univ.* 51: 121-130.
6. Sato T., Yashima H., Ohtake N., Sueyoshi K., Akao S., J.E.Harper and Ohyama T. (1999) Possible involvement of photosynthetic supply to nodule characteristics changes in hypernodulating soybean mutant. *Soil Sci. Plant Nutr.* 45: 187-196.
7. Sato T., Ohtake N., Ohyama T., Ishioka N.S., Watanabe S., Osa A., Sekine T., Uchida H., Tsuji A., Matsuhashi S., Ito T., Kume T. (1999) Analysis of nitrate absorption and transport in non-nodulated and nodulated soybean plants with  $^{13}\text{NO}_3^-$  and  $^{15}\text{NO}_3^-$ . *Radioisotopes* 48: 450-458.
8. Sato T., Onoma N., Fujikake H., Ohtake N., Sueyoshi K. and Ohyama T. (2001) Changes in four leghemoglobin components in nodules of hypernodulating soybean (*Glycine max* [L] Merr.) mutant and its parent in the early nodule developmental stage. *Plant Soil* 237: 129-135.
9. Sato T., Fujikake H., Ohtake N., Sueyoshi K., Takahashi T., Sato A. and Ohyama T. (2002) Effect of exogenous salicylic acid supply on nodule formation of hypernodulating mutant and wild type of soybean. *Soil Sci. Plant Nutr.* 48: 413-420.
10. Sato T., Kaneta Y., Furuta N., Kobayashi H., Shindo H., Ota T. and Sato A. (2003) Effect of soil physical properties on soybean nodulation and  $\text{N}_2$  fixation at the early growth stage in heavy soil field in Hachirougata polder, Japan. *Soil Sci. Plant Nutr.* 49: 695-702.
11. 金田吉弘・佐藤孝・古田規敏・生野みどり・小林ひとみ・太田健・進藤勇人・佐藤敦 (2004) 重粘土転換畑における土壌水分環境がダイズの根圏活性に及ぼす影響, 土肥誌, 75 (2): 185-190 .

Studies on Soybean Nodulation and Nitrogen Absorption for Increase in Soybean Yield

Takashi Sato (Akita Prefectural University, Faculty of Bioresource Sciences)

t.sato@akita-pu.ac.jp