

根粒超着生ダイズ品種の開発及び生理・  
栽培的特性の解明

高 橋 幹

## 目次

略号一覧	1
緒言	2
第1章 根粒超着生ダイズ品種作系4号の開発	7
第1節 根粒超着生ダイズ品種作系4号の開発とその基本特性の解明	7
第2節 作系4号の親子鑑定	24
第2章 根粒超着生ダイズ品種作系4号の生理・生態的特性の解明	32
第1節 根粒着生と窒素固定能	32
第2節 植物体内窒素含有率，光合成速度及び乾物生産特性	41
第3節 根粒非着生条件下での生育特性	55
第4節 後作への効果	63
第3章 作系4号の水田転換畑における多収化栽培技術の検討	73
第1節 水田転換畑への適応性の検討	73
第2節 次世代型ダイズ栽培法：不耕起狭畦栽培への適応性と多収化技術	80
総合考察	94
摘要	100
謝辞	104
引用文献	105

## 略号一覧

CTAB ; セチルトリメチルアンモニウムブロマイド (Cetyl trimethyl ammonium bromide)

DNA ; デオキシリボ核酸 (Deoxyribonucleic acid)

EMS ; エチルメタンスルホン酸 (Ethyl methanesulfonate)

IBDU ; イソブチルアルデヒド縮合尿素 (Isobutylenediurea)

LAI ; 葉面積指数 (Leaf Area Index)

LAR ; 葉面積比 (Leaf Area Ratio)

LRR ; ロイシンに富む反復配列 (Leucine-Rich Repeat)

NAR ; 純同化率 (Net Assimilation Rate)

RGR ; 相対生長率 (Relative Growth Rate)

SSR ; 単純反復配列 (Simple Sequence Repeat)

USDA ; アメリカ合衆国農務省 (United States Department of Agriculture )

## 緒言

ダイズの国内生産量は 2003 年現在 232,200t、作付け面積は 151,900ha（うち 129,000ha が水田転換畑）で、1970 年以降では比較的高い水準にある。しかし、ダイズの輸入量は 517 万 t であり、自給率は 4 %に過ぎない。ダイズの用途の 75%は製油用であり、この用途にはほとんど輸入ダイズが使用されている。一方、国産ダイズは豆腐・油揚げ用（国産ダイズの 48%）、味噌用（14%）、納豆用（13 %）が主な用途になっている。製油用を除いた食用自給率は 22 %に上昇するが、それでも低い水準にあり、食料の安全保障の観点から自給率を引き上げることが望まれている。

一方、10a 当たり子実収量（単収）を 5 年の移動平均でみると、1988 年までは上昇を続けて 175kg に達したが、それ以降 1994 年にかけて 148kg まで一旦減少し、その後は上昇傾向を続けて、2003 年現在では 177kg に回復している。しかし、ダイズの 2 大生産国であるアメリカ合衆国とブラジルの単収は最近 5 カ年の平均でそれぞれ 250kg、257kg であり、日本の単収はこれより約 30%低い。また、年次による変動も大きく、最近では 2000 年に過去最高の 192kg を記録したが、冷害年であった 2003 年には 153kg となっている。

こうした中、2000 年 3 月に農林水産省が策定した「食料・農業・農村基本計画」では、2010 年におけるダイズの生産目標として、作付面積 113,000ha、生産量 250,000t、単収 221kg が掲げられている。関係者の努力により作付面積では既に目標が達成されているが、単収については目標との間にまだ隔たりがあり、生産量も単収の変動のために安定的には達成されていない。

一方、品質面では、国産ダイズは消費者及び豆腐、味噌、納豆等の製造業者から高い評価を受けている。特に、食品に安全・安心を求める傾向が強まっている近年、国産ダイズは消費者に高い需要がある。しかし、食品製造業者からは、品質の一層の向上と均一化が強く求められている。国産ダイズの大部分は食品製造業者による加工を経て消費されるので、食品製造業者の要望に応える「売れるダイズ作り」の重要性が高まっている。

以上のように、国産ダイズは消費者の需要は高いが、高品質ダイズの安定生産は達成されていない。単収の低さと不安定性はダイズの作付けを減少させる原因となり、生産量の不安定性に起因する供給量と価格の不安定性は、食品製造業者に国産ダイズの使用を躊躇させる原因となる。国産ダイズを生産を発展させて自給率向上を達成するためには、高品質ダイズの安定多収化のための品種及び栽培技術の開発が極めて重要である。

では、ダイズの安定多収化のために何をすべきなのか、まず、ダイズの作物としての特徴を考えてみたい。ダイズの子実中のタンパク質含有率は品種、栽培条件等で変動するが、30～53%（平均40%）と全作物中で最も高い（平1987）。Sinclair and de Wit (1975)は主要な24種類の作物を光合成量当たりの子実生産量（子実生産効率）と光合成量当たりの窒素要求量で4群に分類した。第1群は子実生産効率が高く、窒素要求量が少ないイネ、トウモロコシなどの穀類で、この群が最も収量が高い。第2群は脂質が多いため子実生産効率は低いが、窒素要求量は少ないナタネ、ヒマワリなどの油料作物、第3群は脂質が少なく子実生産効率は高いが、窒素要求量が多いエンドウ、キマメなどのマメ科作物、そして第4群は脂質が多いため子実生産効率が低く、かつ窒素要求量も高い群で、これに属する唯一の作物がダイズである。ダイズの子実生産効率は24種類の作物中、下から6番目と低く、かつ窒素要求量は最も高い。そのため、ダイズの多収化のためには、光合成量増大のための草型の改良などが求められる一方、タンパク質の構成元素である窒素をいかに多量に集積するかが大きな鍵になる（桑原1986）。

ダイズ子実100kgを生産するのには約7～9kgの窒素を要するので、収量400kg/10aのためには28～36kgの窒素が必要となる（星1982）。しかも、ダイズは生育前期の乾物生産量・窒素集積量が小さいため、開花期以降に全集積量の7～8割の窒素を集積させる必要がある（平井1961, Hanway and Weber 1971, 石井1984）。

ダイズに集積される窒素は肥料窒素、土壌窒素、根粒菌による固定窒素の3種に分けられる。このうち固定窒素が全集積窒素に占める割合は、土壌、気象等の条件により大きく変動するが、わが国の場合には概ね2～8割に分布し、平均すると5割程度といわれる（Yoneyama et al. 1986）。多くの作物では多肥栽培が近年の収量向上に貢献してきたが、ダイズの場合、窒素肥料の多用は根粒着生と窒素固定の阻害を生じ、必ずしも窒素集積量と収量の増加に結びつかない（桑原1986）。したがって、ダイズの特徴である根粒菌の窒素固定機能を最大限活用することは、環境との調和を図りながら、ダイズの生産性を向上させる有効な手段と考えられる。

ダイズにおける窒素固定の活用について、根粒菌の側からはエネルギー利用効率が高く、窒素固定能力の高い根粒菌の選抜とその接種が行われている（赤尾1989, 横山・蒲生1989）。例えば、有馬ら（1981）はニトロゲナーゼの作用によって消費されたエネルギーの一部を回収する系（水素回収系）を持つ、エネルギー効率の高い根粒菌を選抜した。南沢ら（1985）は水素回収系を持つ根粒菌を接種した結果、水素回収系を持たない菌を接種した場合に比べて、窒素固定量やダイズの乾物重が大きくなることを明らかにした。また、十勝農業協同組合連合会農産化学研究所では、水素回収系を持つ根粒菌の接種効果試験などを経て優良菌株を選抜し、根

粒菌資材として製品化している（松代 1997）。

施肥技術の面からは、窒素の基肥多量施用による根粒着生、窒素固定阻害を抑えつつ、窒素要求量の高い生育後期に窒素を供給できるように、窒素追肥、緩効性窒素施肥、局所施肥、深層施肥等が試みられている。

窒素追肥について、星ら（1978）は窒素追肥の時期、窒素の形態、施肥位置等を検討し、開花期以降アンモニア態窒素を畦間施用することが、ダイズの収量向上に効果的なことを報告している。渡辺ら（1983）は開花期 10 日後に  $12 \text{ g m}^{-2}$  の硫安追肥を 12 品種に実施した結果、ダイズの増収率には品種間差があり、 $0.1 \sim 13.2\%$ であったと報告している。また、渡辺（1982）は全国 34 都府県で行われた追肥試験のデータを総括した結果、102 試験例の増収効果は $-17\% \sim +32\%$ （平均  $3.2\%$ ）であり、追肥量が  $5 \text{ g m}^{-2}$  以上で、かつ圃場肥沃度の指標となる無追肥区の収量が  $400 \text{ g m}^{-2}$  以下の場合には、追肥による増収効果が比較的現れやすいと述べている。

緩効性窒素施肥について、酒井（1990）は本葉 7 葉期頃の中耕培土時に被覆尿素を  $6 \text{ g m}^{-2}$  程度施肥することにより、ダイズが  $10 \sim 16\%$ 増収したことを報告している。また、岡・高橋（1989）は標準施肥に加えて、緩効性窒素 IBDU を  $10 \sim 12 \text{ g m}^{-2}$  基肥に使用することでダイズ収量が 3 カ年平均で  $11\%$ 増加したと報告している。

局所施肥について田中ら（1981）は、根箱内の窒素肥料濃度の高い部分では根粒着生が抑制されるが、窒素肥料濃度の低い部分では同一個体でも窒素固定活性が高いことから、窒素施肥部位を限ることで、窒素固定との共存が可能になると推論している。

深層施肥について、高橋（1996）は基肥として 100 日溶出型の被覆尿素を播種位置から 20cm 下に条施すると、窒素固定活性は阻害されず、施肥窒素も生育後半に吸収され、ダイズ収量が  $10 \sim 23\%$ 増加することを明らかにした。

こうした中、ダイズ側から窒素固定の活用を図る試みとして注目されたのが、1980 年代半ばから各国で作出された根粒超着生系統（スーパーノジュレーション系統）のダイズである（Carroll et al. 1985a, 1985b, Gremaud and Harper 1989, Akao and Kouchi 1992）。これらの系統は原品種に比べて、根粒数が  $5 \sim 10$  倍以上に達する。また、通常のダイズは無機態窒素の存在下で根粒着生、窒素固定能が低下するが、根粒超着生系統はこうした条件下でも根粒数が減少しにくい性質（硝酸態窒素耐性）を持っている。これらの特徴から、根粒超着生系統は通常の品種が持つ根粒着生に関する自己調整機構を欠いていると考えられており、根粒着生の制御機構を解明するための材料として有用である。

また、研究材料としての有用性だけでなく、多量の根粒に基づく高い窒素固定能力や硝酸態

窒素耐性を、実際の農業におけるダイズの多収化や土壌窒素の保存に活かすことにも期待が持たれ、そのための研究が行われてきた。

しかし、根粒数が通常品種の2倍程度の中間的根粒超着生系統の中には収量が通常品種に近いものがあるものの、通常品種の数倍以上の根粒を着生する根粒超着生系統は総じて生育・収量が通常品種より劣った。例えば、品種 Bragg から作出した根粒超着生系統について、Hussain et al. (1992), Song et al. (1995), Zhao et al. (1998) は、それぞれ圃場試験を行った結果、子実収量は原品種>中間的根粒超着生系統>根粒超着生系統の順であったと報告している。また、品種 Williams から作出した根粒超着生系統について、Wu and Harper (1991), Pracht et al. (1994) は、根粒超着生系統の収量は Williams または Williams82 より 10 ~ 41 %劣ったと述べている。

一方、根粒超着生系統は、必要な窒素の多くの部分を窒素固定に依存し、土壌からの窒素吸収が少ないことから、土壌中に窒素を残すことにより、後作物の生育・収量を改善する効果が想定された (Hansen et al. 1989)。この窒素の保存効果について、Song et al. (1995) は中間的根粒超着生系統は後作のオオムギの収量やエンバクの乾物重を増加させたが、根粒超着生系統でこの効果が確認されたのはエンバクの乾物重の場合のみであったとし、Zhao et al. (1998) は根粒超着生系統は後作のオオムギの収量を増加させる効果があったとし、Maloney and Oplinger (1997) は中間的根粒超着生系統には後作のコムギの収量に対する効果はなかったとしている。このように、根粒超着生系統の栽培によって後作に増収効果が認められることがあるが、効果がない場合もあるというのが諸外国でのこれまでの研究結果であった。

根粒超着生系統の生育・収量が劣る原因としては、光合成産物が多量の根粒の形成とその維持及び窒素固定に大量に消費されることや、根系が小さいために養分及び水の吸収量が少ないこと等が考えられているが (Gremaud and Harper 1989, Hansen et al. 1989, Ohyama et al. 1993, Takahashi et al. 1995), 根粒超着生以外の好ましくない突然変異が生じて、生育収量を低下させているという説もある (Pracht et al. 1994)。

我が国では関東・北陸から中国地方までの広い地域に適応する代表的なダイズ品種「エンレイ」から、Akao and Kouchi (1992)によって、エチルメタンスルホン酸(EMS)を用いた人為突然変異を利用して根粒超着生系統「En6500」が作出された。しかし、この系統も生育量が原品種より顕著に小さく、栽培条件により、へこみ粒・しわ粒が多発する等の短所を持っている。著者らによる水耕実験の結果、En6500 の根重当たりの硝酸態窒素吸収能はエンレイに比べて劣っていないことから、En6500 の生育量や硝酸態窒素吸収量の抑制には多量の根粒による炭水化物の消費と根の吸収部位の減少が関与していると考えられた (Takahasi et al. 1995)。しかし、

同じ実験で根粒菌を接種しない条件下でも、生育抑制程度は軽減されるものの、En6500 の生育量はエンレイより明らかに劣るため、En6500 では根粒超着生以外の不利な遺伝的変異が生じている可能性が示唆された。このような欠点を持つことから、根粒超着生ダイズはこれまで実用品種として利用されることはなかった。

本研究は、このような背景のもとに根粒超着生ダイズ系統の実用性を検討する目的で行った。第1章では、En6500 を元にして、根粒超着生形質を維持しながら、劣った形質を改良し、農業的実用性を高めたダイズ品種の開発を図った。第2章では、第1章で作出した根粒超着生ダイズ品種「作系4号」の各種の生理生態的特性の解明を図った。第3章では、我が国のダイズ作付け面積の85%を占める水田転換畑への適応性を検討するとともに、省力的でかつ土壤有機物保存等の効果が想定される次世代型の栽培法、不耕起狭畦栽培への適応性と多収化栽培技術を明らかにしようとした。



## 第1章 根粒超着生ダイズ品種作系4号の開発

根粒超着生系統はダイズと根粒菌の共生的窒素固定をいっそう活用するために開発されたが、実際には根粒数が原品種の数倍以上ある根粒超着生系統は、生育や収量が原品種より劣り、農業的に注目されているものはなかった(Herridge et al. 1990, Wu and Haper 1991, Hussain et al. 1992, Pracht et al. 1994, Song et al. 1995, Zhao et al. 1998, Herridge and Rose 2000)。

わが国では品種エンレイから、EMS を用いた人為突然変異を利用して根粒超着生系統 En6500 が作出された(Akao and Kouchi 1992)。しかし、この系統も生育量が顕著に小さく(Takahashi et al. 1995, 大矢・石井 1999)、栽培条件によって充実しないへこみ粒が多発する等の欠点を持っていた。また、En6500 は根粒が着生しない根粒菌非接種水耕栽培でも生育量が顕著に劣ることから(Takahashi et al. 1995)、根粒超着生と直接関係しない劣った遺伝的性質を持っている可能性が示された。

そこで、第1節では En6500 の根粒超着生形質を維持しながら、それ以外の劣った性質を除去し、生育・収量等の農業的形質を改良したダイズ系統の開発を図った。また、その結果得られた品種「作系4号」について、普通畑での収量性・乾物生産等の基本的な特性を明らかにしようとした。

一方、作系4号の特性を解明するための実験(第1章第1節及び第2章)の結果、生育ステージの進行が遅い等、根粒超着生形質以外にも En6500 及びエンレイと異なる点があった。そこで、作系4号の多収化に関わる遺伝的要因を明らかにする一助として、第2節では SSR マーカー分析によって作系4号の遺伝子型を調べた。

### 第1節 根粒超着生ダイズ品種作系4号の開発及び基本特性の解明

エンレイから作出された従来の根粒超着生系統 En6500 には、根粒超着生以外にもその生育・収量を抑制する遺伝的変異が生じていると考えられたので(Takahashi et al. 1995)、エンレイとの戻し交配により、優良な根粒超着生系統の育成を図った。また、その結果開発した品種作系4号について、基本的な乾物生産、収量特性を普通畑試験で調べた。

#### 材料及び方法

### 1) 根粒超着生ダイズ系統「En-b0-1」及び作系4号の育成経過

ダイズ品種エンレイを母，エンレイ種子のEMS処理により作出された根粒超着生の突然変異系統En6500を父として1992年に人工交配し，F<sub>1</sub>種子25粒を得た。1994年春期にF<sub>2</sub>世代244個体をポット栽培し，根粒超着生の性質を示した57個体のうちの41個体の種子(F<sub>3</sub>)を1994年夏期に圃場で系統栽培し，生育・収量が優れた系統を選抜して「En-b0-1」と命名した。

このEn-b0-1(F<sub>5</sub>)約900個体を1995年に圃場で栽培した結果，他の個体に比べて，生育や着莢数が特に優れ，成熟期がやや遅い個体を数個体認めた。それらを個体ごとに採種して系統栽培し，生育・収量が最も優れたものを選抜して，これに「En-b0-1-2」の系統名を付した。遺伝的固定を図った後，2002年に作系4号に改称し，品種登録を出願した(出願番号14688，品種名は「関東100号」に変更予定)。

### 2) 供試系統

圃場における生育と子実収量に関する試験には，根粒超着生品種作系4号とエンレイを供するとともに，年次・圃場によってエンレイ由来の他の根粒超着生系統やエンレイ由来の根粒非着生系統「En1282」(Francisco and Akao 1993)を用いた。

### 3) 栽培方法

耕種概要を表1-1に示した。試験は茨城県つくば市にある農林水産省農業研究センター(当時)の普通畑圃場(淡色黒ボク土)で1996年から1998年までの3カ年実施した。栽植様式は畦幅70cm×株間10cm，1株1本立(栽植密度m<sup>2</sup>当たり14.3個体)とした。施肥は化成肥料でN-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>-K<sub>2</sub>Oそれぞれm<sup>2</sup>当たり3，10，10gを，基肥で作土層(約18cm深)に全面施用した。播種は1996年6月18日，1997年6月17日，1998年6月16日に行った。試験区の規模は，1996年は1.8 m<sup>2</sup> 2反復，1997年は15 m<sup>2</sup> 3反復，1998年は22 m<sup>2</sup> 3反復で，いずれも乱塊法で実施した。

### 4) 調査方法

ダイズの開花始以降の生育段階はFehr et al. (1971)によってR1からR8まで分けられている(表1-2)。1997，1998年の開花期(生育段階のR2)と葉面積指数(LAI)がほぼ最大になる時期(最大繁茂期，R3～R4，以下R3.5と表記する)及び成熟期(R8)に採取調査を行った。採取した植物体は主茎長，節数を調査したのち，部位別に分解し，葉面積

表 1 - 1    ダイズ圃場試験の耕種概要 (1996 ~ 1998 年)

	1996	1997	1998
播種日	6.18	6.17	6.16
反復	2	3	3
1 区面積 (m <sup>2</sup> )	1.8	15	22
畦幅 (cm)	70	70	70
株間 (cm)	10	10	10
栽植密度 (本 m <sup>-2</sup> )	14.3	14.3	14.3
窒素 (N g m <sup>-2</sup> )	3	3	3
リン酸 (P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> g m <sup>-2</sup> )	10	10	10
カリ (K <sub>2</sub> O g m <sup>-2</sup> )	10	10	10
サンプリング時期	R8	R2, R3.5, R8	R2, R3.5, R8
成熟期の採取面積 (m <sup>2</sup> )	1.0	2.6	3.4

表 1－2 Fehr ら (1975) によるダイズの生殖生長期の生育ステージ表示

略号	生育段階
R1	開花始
R2	開花期
R3	莢伸長初期
R4	莢伸長期
R5	子実肥大初期
R6	子実肥大期
R7	成熟初期
R8	成熟期

を自動葉面積計（AAC-400，林電工）で測定した。試料は 75℃で 48 時間乾燥後，乾物重を測定した。

根粒の調査は 1997 年の最大繁茂期に，1 系統当たり 3 個体 ×3 反復を深さ 15cm まで掘り取り，視認できる根粒を根から取り，数を数え，乾燥後秤量した。葉の窒素含有率は乾燥した試料を微粉碎後，酸素循環燃焼－ガスクロ分析方式による窒素炭素分析装置(スミグラフ NC-800，住化分析センター)で測定し，窒素含有率を乾物ベースで算出した。成熟期の収量調査は，1996 年は 1 処理区につき 1.0 m<sup>2</sup>，1997 年は 2.6 m<sup>2</sup>，1998 年は 3.4 m<sup>2</sup>に含まれるダイズを収穫して行った。

## 結果

### 1) 収量特性

1996 年の子実収量を図 1－1 に示した。供試した品種・系統は En6500，作系 4 号，En-b0-1，エンレイ/En6500 の後代 (F<sub>8</sub>) 3 系統，及びエンレイ/En6500//エンレイ///エンレイの後代 (F<sub>4</sub>) の 65 系統，計 71 の根粒超着生系統及びエンレイである。En6500 の収量は著しく低く，エンレイと En6500 を交配した後代の根粒超着生系統は，いずれも En6500 に比べて収量が高かった。大部分の根粒超着生系統はエンレイより低収であったが，一部の系統はエンレイと同等以上の収量を示した。特に作系 4 号は際だって多収であった。

1996 年の結果を受け，1997 年，1998 年は多収性を示した作系 4 号とエンレイ，En6500，中位の収量を示した根粒超着生系統 En-b0-1 および根粒非着生系統 En1282 を用いて実験を行った。作系 4 号の収量は 1997 年と 1998 年にはエンレイとほぼ同等で有意差がなかった (表 1－3)。これに対して，En6500 の収量はエンレイより 62 %低く，En-b0-1 も 15～19 %低い傾向にあった。

収量構成要素についてみると，作系 4 号ではエンレイに比べ 1997 年には百粒重が多い一方，着莢数が少なかった。1998 年はその逆であったが，着莢数と百粒重がともに劣る年次はなかった。一方，En-b0-1 はエンレイに比べて着莢数が少ない傾向にあり，En6500 は着莢数が少ないことに加えて，子実が充実しないへこみ粒が多発し，百粒重が顕著に小さかった (表 1－3)。

### 2) 根粒着生

最大繁茂期 (R3.5) における個体当たりの根粒数はエンレイの 128 個に比べて，En6500，

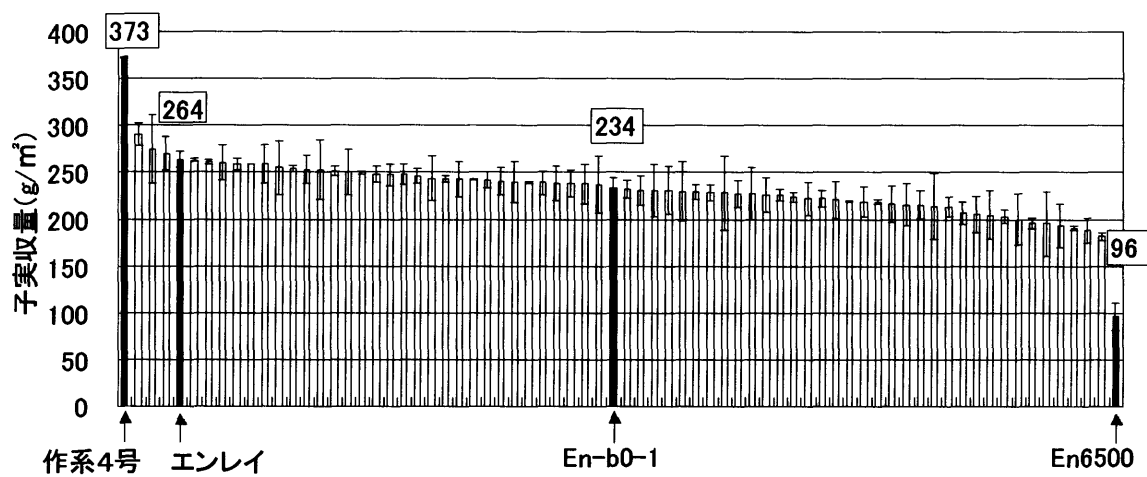


図1-1 圃場（普通畑）におけるダイズ品種・系統の子実収量（1996年）。  
エンレイ，及びエンレイ由来の根粒超着生の71系統。  
縦線は平均値の標準誤差(n=2)。

表 1－3 圃場におけるダイズ品種・系統の収量及び収量構成要素

年次	品種・系統	子実収量 (g m <sup>-2</sup> )	着莢数 (m <sup>-2</sup> )	一莢内粒数	百粒重 (g)
1997 年					
	作系 4 号	463 a	790 ab	1.74 a	33.7 a
	En-b0-1	382 a	709 ab	1.72 a	31.4 ab
	En6500	180 b	609 b	1.75 a	17.0 c
	エンレイ	474 a	864 a	1.76 a	31.6 ab
	En1282	431 a	819 ab	1.75 a	30.0 b
1998 年					
	作系 4 号	388 a	739 a	1.59 c	33.0 bc
	En-b0-1	364 a	598 a	1.94 a	31.5 c
	エンレイ	427 a	651 a	1.79ab	36.5 a
	En1282	386 a	634 a	1.72bc	34.9 ab

1) 同一年の各項目において、同じアルファベットが付いていない  
 平均値は Tukey の HSD 検定による 5%水準の有意差がある。

En-b0-1, 作系 4 号では 11 ～ 14 倍を示し、個体当たりの根粒重はエンレイ (0.19g) に比べて 6 ～ 7 倍を示した (表 1 - 4)。このことから、En6500, En-b0-1, 作系 4 号はいずれも、中間的根粒超着生系統でなく、真の (または極度の) 根粒超着生系統と判断された。なお、これらの根粒超着生系統の根粒の 1 粒重はいずれもエンレイ (1.46mg) より小さかった。

### 3) 生育特性

1996 年の生育初期 (播種 34 日後, 開花 9 ～ 15 日前) の主茎長と子実収量との関係を図 1 - 2 に示した。主茎長と収量とは、供試品種・系統全体としては正の相関 ( $r = 0.50^{**}$ ) を示したが、作系 4 号は収量が高く En6500 は収量が低いために、この相関関係からはずれていた。この結果は、これら 2 系統がエンレイを含む他の系統と相当異なる特徴を持つことを示している。1996 年の成熟期における茎莢重と収量も正の相関 ( $r = 0.81^{**}$ ) を示し、作系 4 号の成熟期の茎莢重、収量は供試系統中最大であった (図 1 - 3)。これらの結果から、作系 4 号は初期生育は中庸であるが、その後の生育が旺盛であることが示唆された。

この作系 4 号の生育の特徴は、1997 年の結果 (図 1 - 4) にも明瞭に示されていた。すなわち、作系 4 号の地上部乾物重は、開花期 (R2) にはエンレイ比 68 %であったが、最大繁茂期 (R3.5) には 85 %、成熟期 (R8) には 104 %となった。これに対して En6500 と En-b0-1 の地上部乾物重は成熟期においても、それぞれ 52 %と 81 %であった。一方、最大繁茂期 (R3.5) における莢実重は、作系 4 号では他の品種・系統より明らかに小さかった (表 1 - 5)。

各品種・系統の葉面積指数の推移も地上部乾物重と似たパターンを示した (図 1 - 5)。1997 年における作系 4 号の開花期 (R2) の LAI はエンレイ比 69 %と小さかったが、最大繁茂期 (R3.5) にはエンレイ比 85 %まで増大していた。一方、En6500 の LAI は最大期でエンレイ比 41 %、En-b0-1 の LAI は同 65 %で、著しく小さかった。1998 年においても、作系 4 号は最大期にはエンレイ比 89 %の葉面積を確保していた (データ略)。これを葉面積生長速度からみると、作系 4 号は開花期から最大繁茂期 (R2 から R3.5) の同速度が供試系統中で最も大きい傾向を示した (表 1 - 5)。

開花期 (R2) から最大繁茂期 (R3.5) までの RGR (相対生長率) と NAR (純同化率) はエンレイに比べて根粒超着生の 3 系統の方が高い傾向にあったが、有意差はほとんど認められなかった (表 1 - 5)。



表 1－4 圃場におけるダイズ品種・系統の根粒着生状況 (1997 年)

品種・系統	根粒数 (個体当)	根粒重 (個体当 g)	根粒 1 粒重 (mg)
作系 4 号	1748 a	1.14 a	0.67 b
En-b0-1	1484 b	1.35 a	0.91 b
En6500	1443 b	1.11 a	0.79 b
エンレイ	128 c	0.19 b	1.46 a

1) 8 月 19 日 (R3.5) に調査した各品種 9 個体の平均値。  
 同じアルファベットが付いていない値は Tukey の  
 HSD 検定による 5%水準の有意差がある。

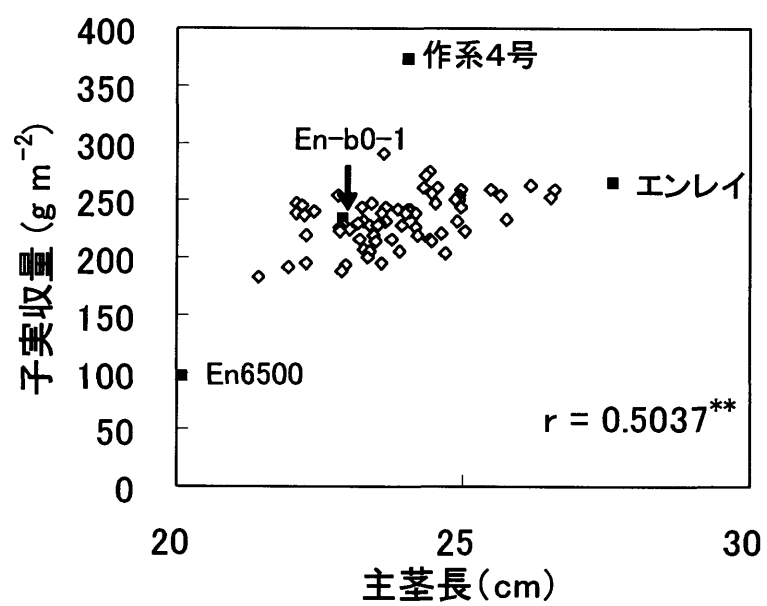


図1-2 播種34日後のダイズ品種・系統の主茎長と子実収量との関係（1996年）

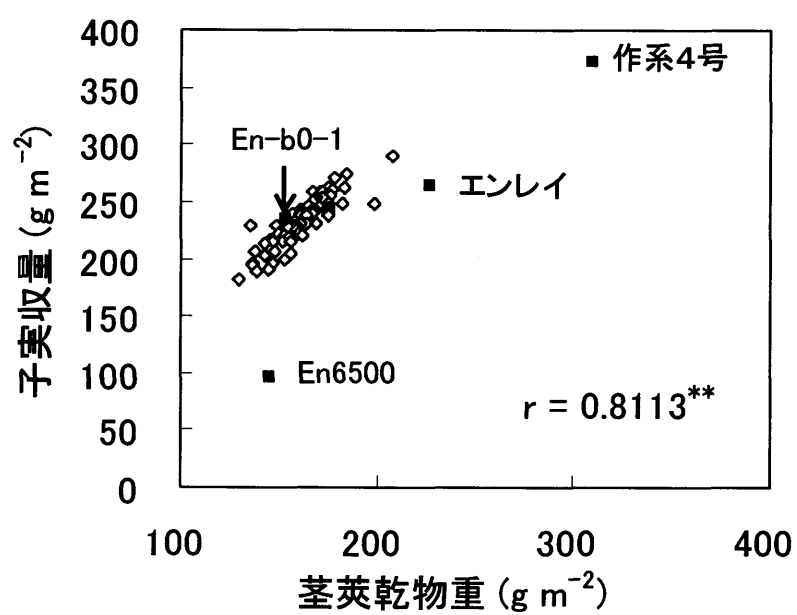


図 1－3 成熟期 (R8) におけるダイズ品種・系統の茎莢重と子実収量との関係 (1996 年)

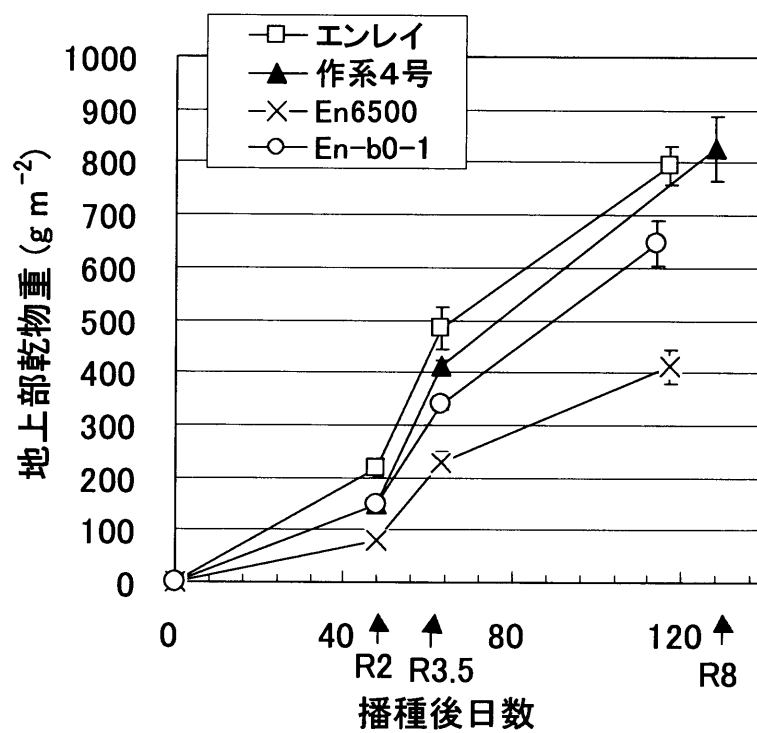


図 1 - 4 ダイズ品種・系統の地上部乾物重の推移 (1997 年)。  
縦線は平均誤差 (n=3)。

表 1－5 圃場におけるダイズ品種・系統の乾物生産特性

年次 品種・系統	茎葉乾物重			莢実 乾物重 R3.5 (g m <sup>-2</sup> )	葉面積 生長速度 R2-R3.5 (m <sup>2</sup> m <sup>-2</sup> d <sup>-1</sup> )	RGR R2-R3.5 (g g <sup>-1</sup> d <sup>-1</sup> )	NAR R2-R3.5 (g m <sup>-2</sup> d <sup>-1</sup> )	LAR R2-R3.5 (m <sup>2</sup> g <sup>-1</sup> )
	R2	R3.5	R8					
	(g m <sup>-2</sup> )	(g m <sup>-2</sup> )	(g m <sup>-2</sup> )					
1997								
作系 4 号	149 b	410 ab	828 a	0 c	0.210 a	0.0679 a	4.17 ab	0.0163 a
En-b0-1	149 b	340 bc	646 ab	24 a	0.119 a	0.0553 a	3.56 ab	0.0155 a
En6500	79 c	227 c	411 b	19 a	0.088 a	0.0701 a	4.66 a	0.0151 a
エンレイ	217 a	482 a	794 a	9 b	0.194 a	0.0532 a	3.27 b	0.0163 a
En1282	185 ab	451 ab	746 a	7 bc	0.196 a	0.0599 a	3.66 ab	0.0163 a
1998								
作系 4 号	163 b	437 b	725 a	18 c	0.126 a	0.0492 a	3.16 a	0.0156 a
En-b0-1	178 b	466 b	592 a	124 a	0.065 ab	0.0486 a	3.47 a	0.0140 a
エンレイ	297 a	661 a	767 a	99 a	0.035 b	0.0398 a	2.99 a	0.0135 a
En1282	268 a	572 ab	692 a	69 b	0.048 ab	0.0378 a	2.51 a	0.0152 a

1) 同一年の各項目において、同じアルファベットが付いていない平均値は Tukey の HSD 検定による 5%水準の有意差がある。

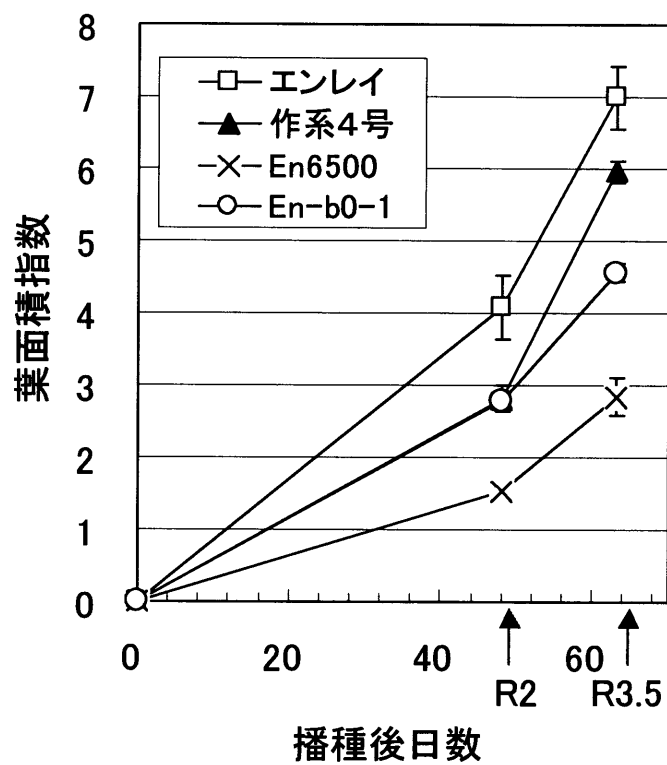


図1-5 ダイズ品種・系統の葉面積指数の推移（1997年）。  
縦線は平均誤差（n=3）。

表 1-6 ダイズ品種・系統の形態的特性と生育ステージの進行 (1996 ~ 1998 年)

年次	品種・系統	主茎長 (cm)	主茎節数 (個体当)	分枝節数 (個体当)	総節数	開花期 (R2)	黄葉期 (R7) (播種後日数)	成熟期 (R8)
1996	作系 4 号	--- <sup>2)</sup>	---	---	---	48 a	116 a	132 a
	En-b0-1	---	---	---	---	43 b	97 c	110 c
	En6500	---	---	---	---	44 b	107 b	115 b
	エンレイ	---	---	---	---	43 b	99 c	112 bc
1997	作系 4 号	59.7 a	16.6 a	23.1 a	39.6 a	48 a	119 a	128 a
	En-b0-1	46.3 ab	13.3 c	18.1 ab	31.4 bc	43 c	103 c	114 b
	En6500	33.3 b	12.5 d	14.7 b	27.2 c	44 b	---- <sup>3)</sup>	117 b
	エンレイ	54.9 a	13.9 bc	24.7 a	38.6 ab	43 c	108 b	117 b
	En1282	49.0 a	14.1 b	24.1 a	38.1 ab	44 b	108 b	118 b
1998	作系 4 号	66.9 ab	15.8 a	22.7 a	38.6 a	47 a	120 a	134 a
	En-b0-1	51.0 c	13.2 c	15.6 b	28.8 b	42 c	99 c	111 c
	エンレイ	69.4 a	13.9 b	23.0 a	36.9 a	43 bc	107 b	119 b
	En1282	59.8 b	13.9 bc	22.3 a	35.8 a	43 b	106 b	121 b

1) 同一年の各項目において、同じアルファベットが付いていない平均値は Tukey の HSD 検定による 5%水準の有意差がある。

2) 未調査。

3) 莢先熟のため測定不能。

最大繁茂期 (R3.5) の葉の窒素含有率は、1997 年は作系 4 号 5.05 %, エンレイ 5.02 % でほとんど差がなかったが、1998 年は作系 4 号 5.86 %, エンレイ 5.26 % で作系 4 号の方が高かった (データ略)。

成熟期における主茎長は、En-b0-1 と En6500 はエンレイに比べて短かったが、作系 4 号ではエンレイ比 96 ~ 109 % とほぼ等しかった (表 1 - 6)。En-b0-1 と En6500 は分枝の発達が悪かったため、個体当たり総節数についても劣ったが、作系 4 号ではエンレイ比 103 ~ 105 % とやや優った (表 1 - 6)。

作系 4 号の開花期はエンレイに比べて 4 ~ 5 日遅く、成熟期は 11 ~ 20 日遅かった (表 1 - 6)。

## 考察

3 カ年の圃場試験の結果、今回開発した根粒超着生ダイズ品種作系 4 号は、高い収量性を示した。この結果は、従来報告されている根粒超着生ダイズ系統の子実収量あるいは地上部乾物重が通常の品種より明らかに劣っていたのと対照的であった。これまで、根粒超着生系統には農業的価値がほとんど認められていなかったが、今回の作系 4 号の地上部乾物重、着莢数、あるいは子実収量の値は、根粒超着生系統の農業あるいは育種における利用を検討する価値があることを示している。

作系 4 号は、全体的に収量水準の低かった 1996 年にはエンレイより 40 % 近く収量が高かった。一方、全体的に収量水準の高かった 1997 年と 1998 年にはエンレイの収量と同程度であった。1997 年と 1998 年の根粒非着生系統 En1282 の収量はエンレイ比で 90 % を超えていることから、供試圃場は窒素肥沃度が非常に高かったと考えられ、このため高い窒素固定能を活かそうとする作系 4 号の特長が現れにくかった可能性がある。

作系 4 号の収量向上には、いくつかの要因が関与したと考える。第 1 には En6500 が持っていた子実が充実せずに百粒重が著しく劣る性質が、作系 4 号では解消されたことである (表 1 - 3)。第 2 には、栄養生長が著しく改善されたことであり、地上部乾物重、最大 LAI、個体当たり総節数の増加は、着莢数増加等を通じて増収に結びついたと考えられる。作系 4 号は、特に生育後半における生長量が他の根粒超着生系統に比べて大きかった。1996 年において、作系 4 号の初期生育量は、播種 34 日後の主茎長の値に見られるように供試系統中の中位であったが (図 1 - 2)、その後の著しい生育促進によって、茎莢重・



子実収量とも供試品種・系統中の最高値を示した（図 1－3）。1997 年，1998 年における乾物重及び葉面積指数も作系 4 号が開花期以降に旺盛に生育することを示した（図 1－4，図 1－5，表 1－5）。

作系 4 号の開花期以降の生育パターンの特徴は，さらに次の 2 時期にわけてみることができる。第 1 の時期は，開花期（R2）から最大繁茂期（R3.5）にかけての栄養生長と生殖生長が並行して進む時期である。この期間の作系 4 号の葉面積の増加速度は，エンレイを含めた他の供試系統の中で最も大きい傾向にあり，一方，R3.5 の時点での莢実重は明らかに小さかった（表 1－5）。すなわち，作系 4 号は炭水化物を莢実の生長より栄養生長に優先して分配させた。作系 4 号は生育初期から前期の生育量がエンレイより小さかったが，この R2 から R3.5 の茎葉の旺盛な生育で，それ以前の少ない生育量を補っていると考えられた。

第 2 の時期は，最大繁茂期（R3.5）から黄葉期（R7）に至る時期である。作系 4 号は，R3.5 の莢実重は供試系統中で最小であったにもかかわらず（表 1－5），その後の莢実重の増加速度が大きく，かつ生育期間が延びたことによって，最終的に高い子実収量を得ていた（図 1－4，表 1－3，表 1－6）。

光合成速度の指標となる NAR は，本実験では R2 から R3.5 の期間のデータのみであるが，その期間において作系 4 号は他の根粒超着生系統とともにエンレイより高い傾向を示した（表 1－5）。また，R3.5 において作系 4 号はエンレイに近い葉面積指数を持ちつつ葉の窒素含有率がエンレイと同等以上を示したことから，R3.5 の時点でも高い光合成速度が維持されていたことが推察される。それに加えて，作系 4 号は登熟期間が長く，葉が緑色を保った期間も長かった（表 1－6）。これらの結果は，莢実が生長する期間において作系 4 号の光合成能が高く保たれていたことを示唆している。光合成能の維持は莢実への炭水化物の供給，並びに根粒への炭水化物供給によって窒素固定が維持されることを通じて，作系 4 号の莢実生長を支えたことが推察される。

以上のように，新たに作出された根粒超着生品種作系 4 号は，これまでの根粒着生系統 En6500 に比べて，圃場における生育・収量が顕著に改善され，特に収量水準の低い条件ではエンレイを越える収量を示した。作系 4 号の収量性改善の原因として，①子実が正常に充実し百粒重が増大したこと，②開花期間の栄養生長量の多さが初期生育量の少なさを補なって，着莢数が増加したこと，③莢実生長期において，比較的高い葉面積指数と葉の窒素含有率が確保されるため，光合成産物の生産とそれをエネルギー源とする窒素固定の

増大が可能になったことが考えられた。

こうした作系 4 号の開発という根粒超着生系統の改良の成功は、低収圃場におけるダイズ増収の可能性を広げるものと考ええる。これを実現するためには、作系 4 号の遺伝的要因を解明するとともに、各生育段階における窒素固定能や光合成能等、生理的機能の特徴をさらに明らかにする必要がある。

## 第 2 節 作系 4 号の親子鑑定

新たに開発した根粒超着生ダイズ品種作系 4 号は、エンレイから作出された従来の根粒超着生系統 En6500 に比べて、子実収量が顕著に高く、エンレイと同等あるいはそれ以上であった。

この原因として作系 4 号の根粒超着生に関わる遺伝子に変異が生じた可能性が考えられる。これまで、根粒超着生に関わる遺伝子としては、ミヤコグサにおいて、レセプターキナーゼをコードする *HAR1* (Krusell et al. 2002, Nishimura et al. 2002a) と RING-finger モチーフを持つロイシンジッパータンパクをコードする *ASTRAY* (Nishimura et al. 2002b) の 2 つが単離されている。これらの遺伝子は根粒着生の自己調整機構に関わっており、その機能が失われると根粒が多量に着生する。ダイズでは En6500 において *HAR1* 遺伝子のホモログである *NTS1* 遺伝子の塩基配列を調べたところ、LRR ドメインと膜貫通領域の間に終止コドンが入っていることが明らかにされた (Nishimura et al. 2002a)。この変異は、En6500 に由来する作系 4 号においても保存されていることが確認されている (荒井ら 2004)。このように、作系 4 号の根粒超着生に関わる遺伝子は En6500 から変化していないが、エンレイとの戻し交配によって、En6500 の生育不良が大幅に改善された遺伝的要因は不明のままであった。

一方、作系 4 号の特性を解明するための実験 (第 1 章第 1 節及び第 2 章) の結果、根粒超着生形質以外にもエンレイと異なる点があった。例えば、開花期間中に莢実の生長より栄養生長が旺盛なこと、主茎節数が 1～2 節多いこと、根粒非着生条件下でも生育ステージの進行がエンレイより遅いことなどである。これらの特徴が根粒超着生形質と組み合わせることで、作系 4 号の生育・収量の改善に影響していることが推察された。これらの En6500 及びエンレイとの相違点は En6500 をエンレイに戻し交配したことのみで生ずるとは考えにくい。そこで、作系 4 号の多収化に関わる遺伝的要因を明らかにする一助として、

2003 年に SSR マーカー分析によって作系 4 号の遺伝子型を調べた。

## 材料及び方法

供試ダイズは 2003 年に茨城県つくば市の独立行政法人農業技術研究機構作物研究所の  
所内圃場（淡色黒ボク土）において本章第 1 節と同一の耕起，施肥，栽植法により栽培し  
た。播種日は 2003 年 6 月 16 日であった。供試品種は第 1 段階では作系 4 号，エンレイ，  
En6500，En-b0-1 とした。第 2 段階では自然交雑の可能性を検討するため，タチナガハ，  
タマホマレ等 4 品種を加えた。播種 1～2 ヶ月後の各品種 4，5 個体から展開後数日程度  
の若い葉を採取し，DNA 抽出の試料とした。凍結保存した試料を乳鉢で粉砕し，CTAB  
法（Murray and Thompson 1980）によって DNA を抽出し，サーマルサイクラーで DNA を  
増幅した。増幅した DNA 溶液を 1 × TBE バッファーの 8 %ポリアクリルアミドゲル電気  
泳動で分離し，臭化エチジウムで染色して泳動パターンを得た。USDA が開発したダイズ  
SSR マーカー（Cregan et al. 1999）を用い，作系 4 号と他の品種・系統との多型を調べた。

## 結果

### 1) 作系 4 号とエンレイ等との比較

無作為に選んだ 208 個の SSR マーカーを用いて遺伝子型を調べた。その結果，エンレ  
イと En6500，En-b0-1 の間で多型を示したマーカーはそれぞれ 1 個であったのに対し，エ  
ンレイと作系 4 号との間で多型を示したマーカーは 23 個であった（表 1－7）。作系 4 号  
が En-b0-1 に直接由来するならば，エンレイおよび他の 2 系統と非常に近縁なはずである。  
しかし，作系 4 号が多くの変異性を持っていることから，作系 4 号は，育成過程において  
他の品種・系統と自然交雑して得られた種子の後代である可能性が考えられた。

### 2) 自然交雑の可能性と花粉親の検討

まず，育成経過を再点検した。もしも，自然交雑が生じたとしたら，根粒超着生形質は  
劣性一遺伝子支配であるため（Gresshoff et al. 1988, Kokubun and Akao 1994），F<sub>1</sub> 世代の  
表現型は野生型（通常の根粒着生）となる。作系 4 号の開発中には収穫時に根を抜き取り，  
根粒着生量を確認していた。しかし，圃場では根粒着生量の確認を確実に行ったのに対し，

表 1－7 無作為に選んだ 208 個の SSR マーカーに対する遺伝子型

品種・系統名	エンレイ型	非エンレイ型
En6500	207/208	1/208 <sup>2)</sup>
En-b0-1	207/208	1/208 <sup>2)</sup>
作系 4 号	185/208	23/208

- 1) 斜線の右に試供したマーカーの数，左にそれぞれの遺伝子型と一致したマーカーの数を示した。
- 2) En6500，En-b0-1 において非エンレイ型を示したマーカーは同一のマーカーである。

ポット栽培した世代では、土が固まり根系が十分に抜き取れなかった場合には、主根基部周辺の密生した根粒を見て根粒超着生と判定した。この段階で野生型を根粒超着生型と誤判定した可能性があると考えられた。作系 4 号の元となった個体は 1995 年の夏期に圃場で選抜されており、その前の世代は種子増殖のため冬期に温室でポット栽培していた。これらのことから、自然交雑が生じたとすると、ポット栽培の一つ前の世代を栽培した 1994 年夏期の圃場で生じた可能性が高いと考えられた。そこで、この年に作系 4 号育成圃場から半径約 200m 以内の圃場で栽培したダイズ品種を調べた結果、エンレイ、En6500 及びその両者の交配後代以外に 42 品種あることがわかった。さらに、作系 4 号の熟期、粒重、葉形、種皮色等の形質をもとに、花粉親の可能性が最も高い 4 品種を検討する候補として選んだ。

その 4 品種、すなわち、タチナガハ、フクユタカ、ナカセンナリ、タマホマレについて作系 4 号の遺伝子型と比較したところ、エンレイと多型を示した 23 マーカーの全てにおいて、タマホマレの遺伝子型は作系 4 号と一致した（表 1－8）。さらに、それまでの実験でエンレイと多型を示したマーカーの近傍にある多型を示しやすいと考えられる未検討の 94 個のマーカーについて、作系 4 号の遺伝子型を調べたところ、全てのマーカーにおいてエンレイかタマホマレのどちらかと一致した（表 1－9）。

以上の結果から作系 4 号の花粉親はタマホマレである可能性が極めて高いことが明らかになった。この結果から考えられる作系 4 号の育成系譜を図 1－6 に示す。

## 考察

ダイズの自家受粉率は高いが、圃場試験において、品種、年次によって最大 2.6 %が自然交雑することが報告されている（Ahrent and Caviness 1994）。自然交雑は、距離が近い個体との間で生じやすいが、自然交雑が生じたと考えられる 1994 年において、母である En-b0-1 とタマホマレの距離は最短部で 2.5m であったことが当時の圃場図から確かめられた。一方、エンレイ、En6500、この 2 者の交配後代及びタマホマレ以外で、En-b0-1 からもっと近くで栽培されていた品種は、8.4m 離れていた。こうした状況証拠は、作系 4 号が En-b0-1 とタマホマレの自然交雑に由来する確率が極めて高いという本節の実験結果を強く支持している。

エンレイの遺伝的背景をもった根粒超着生変異体にタマホマレが交雑したことが、開花

表 1－8 作系4号の多型マーカーに対する花粉親候補4品種の遺伝子型

品種名	エンレイ型	作系4号型	その他
タチナガハ	5/13	1/13	7/13
フクユタカ	2/13	1/13	10/13
ナカセンナリ	2/23	8/23	13/23
タマホマレ	0/23	23/23	0/23

- 1) 斜線の右に試供したマーカーの数, 左にそれぞれの遺伝子型と一致したマーカーの数を示した。

表 1 - 9 作系4号の遺伝子型

	エンレイ型	タマホマレ型	エンレイ・タマ ホマレ共通型	その他
作系4号	14/94	28/94	52/94	0/94

- 1) 表1, 表2で使っていないSSRマーカーで, 表1, 表2でエンレイと多型を示したマーカーの近傍のマーカー, すなわちエンレイと多型を示しやすいと考えられるマーカー94個を用いて遺伝子型を比較した。
- 2) 斜線の右に試供したマーカーの数, 左にそれぞれの遺伝子型と一致したマーカーの数を示した。

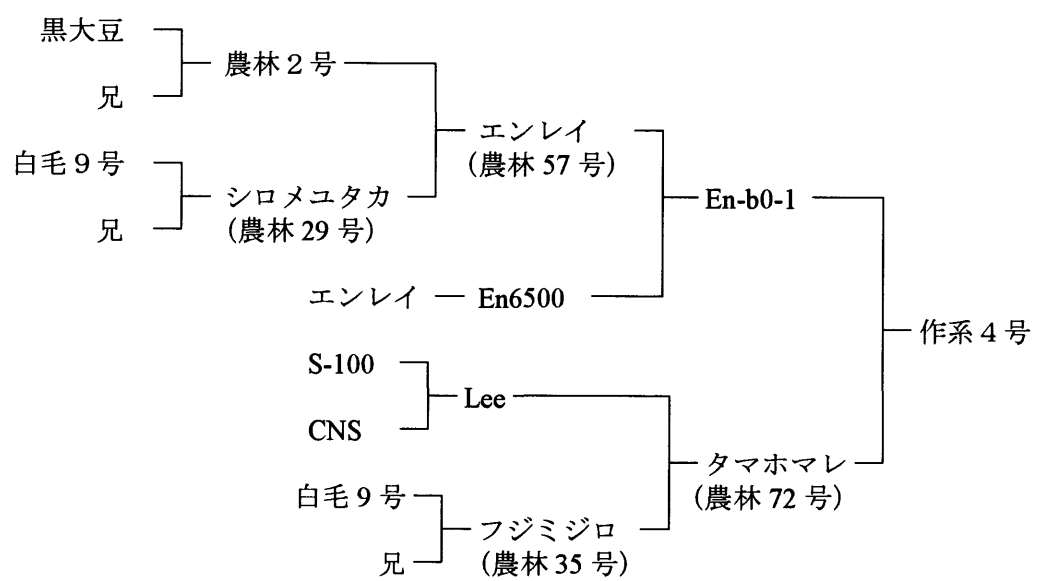


図1－6 作系4号の系譜



期間における旺盛な栄養生長による乾物重の確保等，収量向上に関わる優良な遺伝的性質を作系4号にもたらしたと考えられる。

図1－6に示したように，エンレイとタマホマレは父方の祖父母が同一であるため，類似した性質も多く持っていると考えられるが，当然異なる性質も持っている。作系4号の育成過程における自然交雑が明らかになったのはごく最近（2003 年秋）であるため，本論文においては多くの場合，エンレイを作系4号の比較品種として使っているが，明らかになった以降はタマホマレも含めて比較検討を行った。さらに，考察に当たってもタマホマレの特性との関係を常に考慮した。

## 第2章 根粒超着生ダイズ品種作系4号の生理・生態的特性の解明

根粒数が通常品種の数倍以上になる根粒超着生ダイズ系統は、高い窒素固定能力と収量性が期待されながら、生育・収量が通常の品種より劣るのが一般的であったが、著者らはダイズ品種エンレイの根粒超着生突然変異系統 En6500 をもとに、生育・収量等を改善した根粒超着生品種作系4号を開発した(第1章)。普通畑試験において、作系4号は En6500 より著しく多収で、エンレイとほぼ同等の生育・収量を示し、特に、土壌、気象条件等により全体の収量水準の低い条件下ではエンレイより収量がまさる傾向にあった。作系4号の基本特性については、第1章の圃場試験により調べたが、さらに窒素固定能、光合成能など各種特性の詳細を明らかにすることは、作系4号の活用場面を広げ、また、新たな根粒超着生品種を開発するために重要であると考えられる。

従来の根粒着生系統では、根粒着生量の多さが必ずしも高い窒素固定能に結びついていない (Day et al. 1986, Eskew et al. 1989, Wu and Harper 1991)。そこで第1節では、作系4号の窒素固定能力を、生育時期別の窒素固定活性(アセチレン還元能)と生育期間を通じた窒素固定量によって調べた。次に、窒素要求量が最も高い子実肥大期にダイズの窒素固定能が高い場合、子実肥大期の葉の光合成能が高く保たれることが予想されるので、生殖生長期間における作系4号の植物体内の窒素含有率、葉のクロロフィル含有率、光合成速度、及び乾物生産特性を第2節で調べた。また、En6500 は根粒非着生条件下においてもエンレイより茎葉と根の生長が顕著に劣り、根粒超着生以外にも劣った遺伝的性質を持つと考えられたが (Takahashi et al. 1995)、このような性質が作系4号で改善されたかどうかを第3節で検討した。最後に、根粒超着生系統の持つ長所として、後作物に窒素を残し、その生育を改善する効果が提唱されているが (Hansen et al. 1989)、諸外国での実験では、この効果の有無について結果が分かれている。第4節では作系4号が後作におよぼす影響について検討した。

### 第1節 根粒着生と窒素固定能

本節では作系4号の根粒着生や窒素固定活性等における特徴をエンレイと比較することで明らかにしようとした。1998年には生育時期別の根粒着生状況と窒素固定活性(アセチレン還元能)を調べ、2002年には重窒素標識肥料を用いて窒素固定量を調べた。

## 材料及び方法

### 1) 供試した品種・系統

エンレイ，作系 4 号及び根粒非着生系統 En1282 を用いてポット試験を実施した。En1282 は人為突然変異によってエンレイから作出された (Francisco and Akao, 1993)。

### 2) 栽培方法

ポット試験は深型 1/5000a ワグネルポット (ポットの内径 16cm，高さ 35cm，容量 7L) に淡色黒ボク土 6kg を充填して実施した。肥料は N,  $P_2O_5$ ,  $K_2O$  をそれぞれポット当たり 0.6, 5, 2g 施用した。2002 年は窒素施肥を 0.6g と 2.4g の 2 水準とし，3.08atom%の重窒素標識肥料を用いた。播種は 1998 年 6 月 30 日，2002 年 7 月 2 日に行い，根粒菌菌株 A1017 を接種した。1 ポットに 8 粒播種し，1 ポット 1 本立に間引きした。1998 年は各品種・系統当たり 33 個体を，2002 年は 5 個体を栽培した。通常は屋外で栽培し，降雨時にはガラス室内に移動させた。灌水は生育時期に応じて，生育初期は数日おきに，中期からは毎日 1 ～ 2 回，十分に実施した。

### 3) アセチレン還元能の測定

1998 年の開花期 (R2-R2.5) から 5 回，窒素固定活性の指標であるアセチレン還元能を測定した。1 時期の測定には 4 ポットを使用した。ダイズの根系をポットから取り出してすみやかに土を落とし，地上部を着けたまま，根系を開放型ガス交換速度測定チェンバー (容積 900ml) に入れて測定した (Minchin et al., 1983)。時間の経過によるアセチレン還元能の低下を防ぐため，根系の抜き取りから測定装置にセットするまで 5 分以内で行った。測定では，空気 90 %にアセチレンガス 10 %を加えた気体をソーダ石灰で炭酸ガスを除去した後に，流量 1 L/min で導入した。予備実験の結果を踏まえて，エチレン生成速度が最大になると考えられるアセチレンガス導入 4, 5, 6 分後にチェンバーから出た空気の一部をシリンジで採取して，ガスクロマトグラフィー (GC7A，島津製作所，ポラパック N カラム) でエチレン生成量を測定し，3 回の測定値の最大値からアセチレン還元能を算出した。

### 4) 地下部全体，根及び根粒の呼吸速度の測定と推定

アセチレン還元能測定と同時に地下部の呼吸速度を測定した。根系を入れたチャンバーから排出されたガスの炭酸ガス濃度を赤外線ガス分析計 (SPB-H2，島津製作所) で連続的に測定し，値が安定したアセチレン導入 5 分後の値を用いて地下部全体の呼吸速度を算出した。根粒非着生系統 En1282 の根重と根の呼吸速度との関係を調べた結果，両者には有意

な比例関係が認められたため、回帰直線を求めた。En1282 の根重と根の呼吸速度との関係が他の品種にも当てはまると仮定して、この回帰直線を使って各品種の根の呼吸速度を推定し、地下部全体の呼吸速度から根の呼吸速度の推定値を差し引いた値を根粒の呼吸速度とした。

#### 5) 由来別の窒素集積量の測定と推定

2002 年に重窒素標識肥料を用いて栽培した成熟期の植物体を、子実、莢、落葉＋葉柄、茎、根＋根粒に分解し、75℃ 48 時間乾燥後に乾物重を測定したのち、微粉碎した。これらの試料について、酸素循環燃焼－ガスクロ分析方式による窒素炭素分析装置(スミグラフ NC-800, 住化分析センター)で窒素を分析し、窒素含有率を乾物ベースで算出した。さらに、試料を昭光通商株式会社にて依頼分析し、各部位の重窒素の比率を求めた(使用機器: DELTA plus XP, サーモフィニガン社)。重窒素の比率から、各部位の施肥由来の窒素量を求めた。次に、根粒非着生系統 En1282 における施肥由来窒素と土壌由来窒素の比が他の 2 品種で同一と仮定して、土壌由来窒素の集積量を算出し、さらに、窒素の全集積量から施肥由来窒素量と土壌由来窒素量を差し引いて、窒素固定由来の窒素量を算出した。

### 結果

#### 1) 生育ステージの進行

エンレイに比べて、作系 4 号の開花期は 1 日遅いだけであったが、成熟期は 12 日遅かった(表 2-1)。

#### 2) 根粒着生

個体当たりの根粒数はエンレイでは播種 58 日後(生育段階 R4.5)に最大値に達し、79 日までは同様の値だった。また、作系 4 号では播種 68 日後(R5)に最大値に達し、その後若干減少した。最も差の大きかった播種 68 日後の作系 4 号の根粒数はエンレイの 8.5 倍であった(図 2-1 A)。

個体当たり根粒重は、エンレイでは播種 58 日後に最大値の 1.4g に達した。一方、作系 4 号では播種 68 日後にほぼ最大値の 3.4g に達したが、以後も微増した。播種 68 日後の作系 4 号の根粒重はエンレイの 2.5 倍であった(図 2-1 B)。しかし、根粒の 1 個重は作系 4 号ではエンレイの約 30 %と小さかった(データ略)。

#### 3) 個体当たりアセチレン還元能と根粒の比活性の推移

表 2 - 1    ダイズ品種の開花期，成熟期と調査日における生育ステージ(1998 年)

品種・系統	開花期 (播種後日数)	成熟期 (播種後日数)	播種後日数				
			41	58	68	79	88
作系 4 号	38	112	R2	R4	R5	R6	R6.5
エンレイ	37	100	R2.5	R4.5	R5.5	R6	R6.5

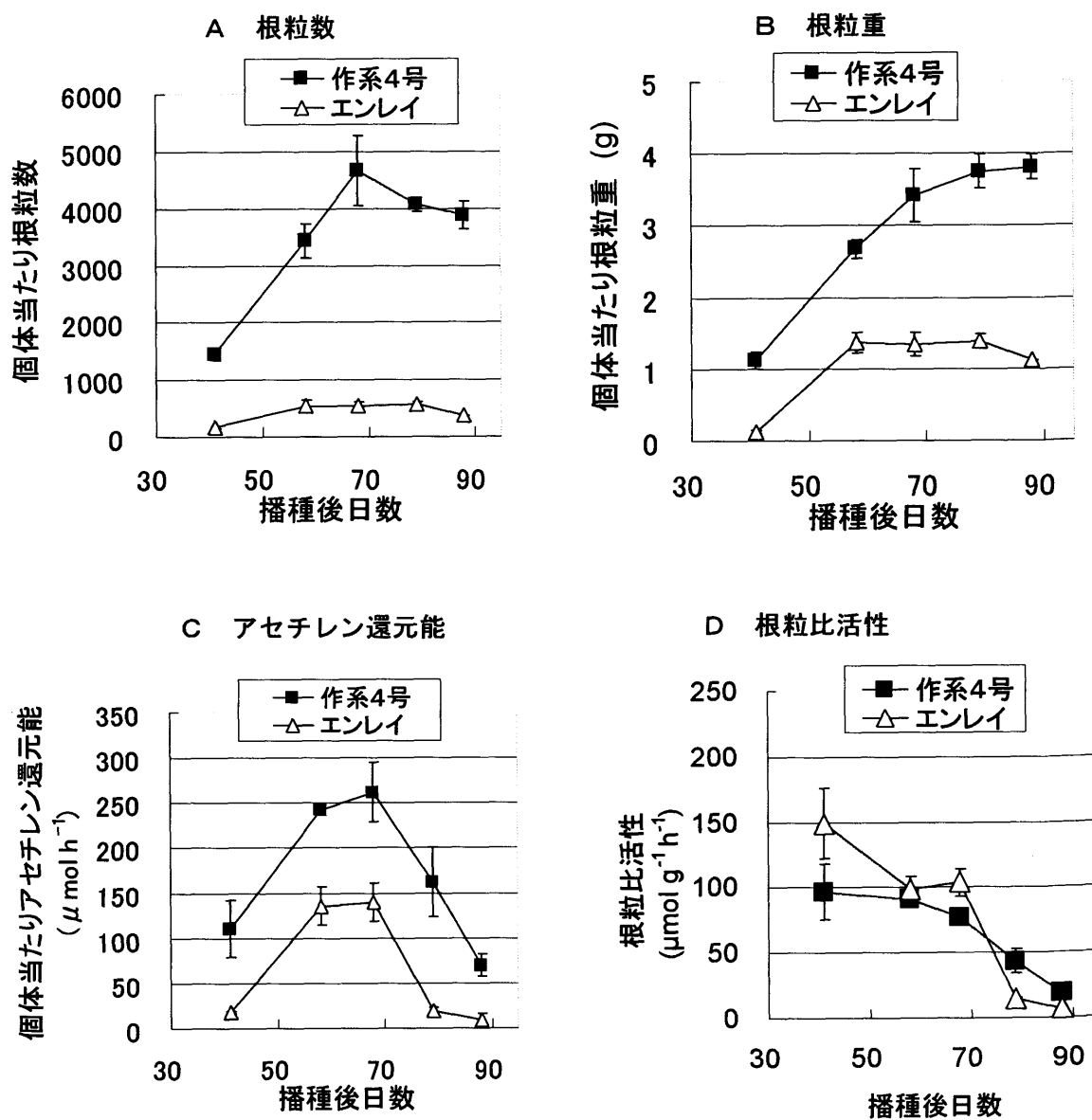


図2-1 作系4号とエンレイにおける根粒数 (A), 根粒重 (B), 個体当たりアセチレン還元能 (C), 及び根粒比活性 (D) の推移 (1998 年)。縦線は標準誤差 (n=4)。

作系 4 号は調査した全期間を通じて、窒素固定活性の指標である個体当たりアセチレン還元能がエンレイより高かった（図 2-1 C）。特に播種 79 日後（R6）の両品種の差が顕著であった。

根粒比活性（単位根粒重当たりのアセチレン還元能）は、調査した播種 41 日後（R2-R2.5）以降、2 品種とも低下していった（図 2-1 D）。作系 4 号に比べてエンレイでは高く推移したが、播種 79 日後（R6）を過ぎると、エンレイの比活性の急激な低下に伴い、作系 4 号の方が高くなった。

#### 4) 地下部の呼吸速度

地下部全体（根＋根粒）の呼吸速度は、調査期間を通じて作系 4 号が高く、エンレイ、En1282 の順に低くなった（図 2-2 A）。根粒呼吸速度の推定値（図 2-2 B）は、窒素固定活性（図 2-1 C）と極めて似た推移を示した。また、この推定値から算出した根粒呼吸速度当たりのアセチレン還元能（窒素固定のエネルギー利用効率）は、エンレイの方が作系 4 号より高い傾向にあったが、差は有意でなかった（図 2-2 C）。

#### 5) 由来別窒素集積量

2002 年の実験では、窒素全集積量は窒素施肥量にかかわらず作系 4 号がエンレイより多く、また、両品種とも窒素施肥量が多い方が多かった（図 2-3 A）。窒素固定量（固定窒素由来の窒素集積量）は窒素施肥量にかかわらず作系 4 号がエンレイより多かった（図 2-3 A）。また、エンレイでは窒素施肥量が増加すると窒素固定量が減少したが、作系 4 号では逆に増加した。作系 4 号の窒素固定依存率、すなわち、窒素全集積量中の窒素固定量の比率も、窒素施肥 0.6g の場合にはエンレイ 84%に対して 90%、窒素施肥 2.4g の場合にはエンレイ 64%に対し 75%と、エンレイより高かった。一方、作系 4 号の施肥窒素集積量は、窒素施肥 0.6g の場合にはエンレイ 0.49g に対して 0.41g、窒素施肥 2.4g の場合にはエンレイ 1.84g に対し 1.74g と、エンレイより少ない傾向にあり、土壌窒素集積量も、窒素施肥 0.6g の場合にはエンレイ 0.30g に対して作系 4 号 0.25g、窒素施肥 2.4g の場合にはエンレイ 0.34g に対し 0.32g と、エンレイより若干少なかった（図 2-3 A）。

#### 6) 部位別窒素集積量

品種、施肥条件にかかわらず、子実中の窒素集積量が窒素全集積量の大部分（75 ～ 82 %）を占めた（図 2-3 B）。品種間を比較すると、作系 4 号の窒素集積量は地上部、地下部のすべての部位において、施肥条件にかかわらずエンレイより大きかった。また、両品種とも窒素 2.4 g 区の方が 0.6g 区より各部位の窒素集積量が大きかった。

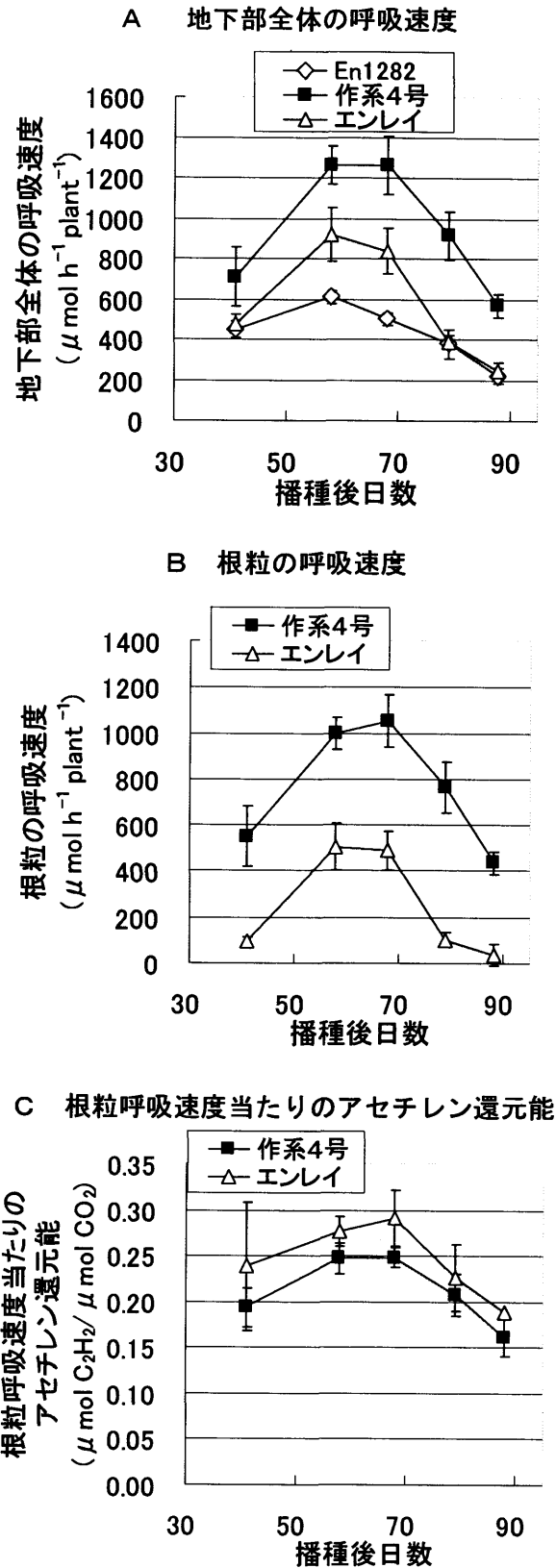


図2-2 作系4号とエンレイにおける地下部全体の呼吸速度 (A), 根粒の呼吸速度 (B), 根粒呼吸速度当たりのアセチレン還元能 (C) の推移 (1998年)。縦線は標準誤差 (n=4)。



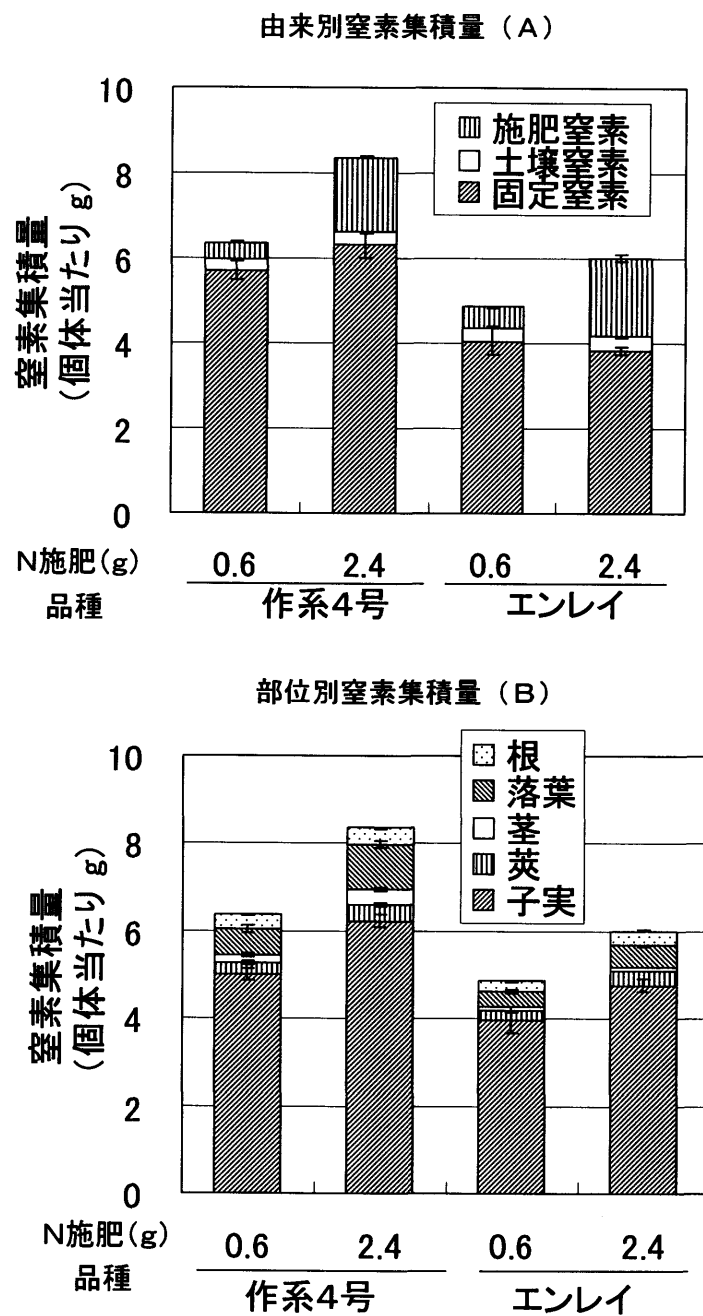


図2-3 ダイズ品種の由来別窒素集積量 (A) と部位別窒素集積量 (B) (2002 年)  
縦線は標準誤差 (n=3)。

## 考察

作系4号の個体当たりの窒素固定活性（アセチレン還元能）は開花期以降の全期間を通じてエンレイより明らかに高かった（図2-1C）。根粒超着生系統は、根粒着生量が多いことから個体当たりの窒素固定能力が高いことが期待されてきた。しかし、これまで作出された多くの根粒超着生系統については、播種30日後程度の生育初期においては個体当たりの窒素固定能が原品種より高いという報告が多いが（Gremaud and Harper 1989, Haider et al. 1991）、生育後期の差は明らかでないか（Eskew et al. 1989, Wu and Harper 1991）、原品種より低くなることが報告されている（Day et al. 1986）。これと対照的に、作系4号は生育後期に至っても個体当たりアセチレン還元能が高いという特長を示した。ダイズは子実の肥大する生育後期の窒素要求量が大きく、この期間の窒素供給能力が収量の大きな制限要因であると考えられている（Sinclair and de Wit 1975）。この最も重要な時期に、作系4号が高い窒素固定活性を示したことは注目すべきことであり、作系4号は根粒超着生系統に期待される高窒素固定能に基づく多収の潜在力を持つと考えられた。

一方、作系4号の根粒の比活性はエンレイに比べやや低く、播種68日後で約75%であった（図2-1D）。根粒超着生系統 En6500 や nts382 については、多量の根粒を着生するものの、そのサイズは小さく、かつ機能的に未熟な根粒が多く、比活性が低いことが報告されており、それは過剰な根粒に光合成産物が十分分配されないためとされている（Day et al. 1987, Sato et al. 1999）。このことから、根粒超着生系統では根粒の維持に多くの炭水化物が消費され、根粒の呼吸速度当たりのアセチレン還元能が低いことが予想されたが、作系4号はエンレイよりやや低いものの有意差がなかった（図2-2C）。このような根粒比活性及び根粒の呼吸速度当たりのアセチレン還元能の測定結果から、作系4号は個体当たりの根粒重がエンレイの2.5倍にも達するにもかかわらず、窒素固定効率が比較的高く保たれていたと判断された。

重窒素標識窒素を使用して算出した個体当たりの窒素固定量については、作系4号はエンレイに比べて、窒素施肥0.6g区では40%、窒素施肥2.4g区では64%多かった（図2-3A）。個体当たりアセチレン還元能が作系4号で2倍近く高かったことに比べれば差は縮小したが、この窒素固定量の品種間差も明瞭であり、作系4号の窒素固定能力の高さが確認できた。アセチレン還元能測定に際しては、前日が晴天の方が還元能が高い等の

報告をふまえ、窒素固定の潜在能力が最大限発揮されるような測定条件を選んだため、重窒素を用いて全生育期間の積算窒素固定量を測定した本実験より品種間差が拡大したと考えられた。

作系4号の窒素固定量がエンレイより多かった一方で、土壌窒素及び施肥窒素の集積量はいずれも、作系4号はエンレイに比べて窒素施肥0.6g区では16%、窒素施肥2.4g区では5%少ない傾向にあり、特に土壌窒素については品種間に有意差が認められた。このことから、作系4号はエンレイに比べて土壌窒素と施肥窒素をより多く土壌中に残すと考えられる。また、作系4号では子実に集積する窒素もエンレイより多かったが、それ以外の部位、すなわち作物残渣中の集積窒素量もエンレイより明らかに多かった(図2-3B)。圃場でコンバイン収穫した場合、これらの残渣はすべて畑に残るので、圃場への窒素還元の点では、作系4号跡の方が有利と考えられる。

以上のように、多量の根粒を着生する作系4号は、生育全期間を通じて個体当たりの窒素固定能が高かった。第1章第1節の圃場試験では、収量水準が低い場合に作系4号の収量が優れる傾向があったが、本節で示した作系4号の個体当たり窒素固定能の特に子実肥大期における優位性が、これに関与したと考えられる。また、窒素固定量が多い一方、土壌窒素と施肥窒素の吸収量が少ない傾向にあるため、後作への窒素保存効果が期待できる結果が示された。この点については、本章第4節で検討する。

## 第2節 植物体内窒素含有率、光合成速度及び乾物生産特性

本章第1節で示したように、作系4号は個体当たり窒素固定能力が開花期(R2)から子実肥大期(R6)に至るまで、通常の品種エンレイより高い特徴を持っている。この期間の窒素供給能力が高い作系4号では、植物体の窒素含有率や光合成能力等の葉の機能が高く維持されていることが期待される。本節では、作系4号の植物体中の各部位の窒素含有率、葉身のクロロフィル含有率、光合成速度及び乾物生産量をエンレイ等と比較し、作系4号の高い窒素固定能力に起因する有利性を明らかにしようとした。

### 材料及び方法

#### 1) 供試品種

1998年と1999年は作系4号とエンレイを供試した。当初、作系4号はエンレイとエン

レイ由来の根粒超着生突然変異系統である En6500 との交配後代と考えられていたが、作系 4 号の育成過程で自然交雑が生じており、その花粉親がタマホマレであることを 2003 年に明らかにした（第 1 章第 2 節）。このため、2004 年にはこの 2 品種にタマホマレを加えて実験を行った。

## 2) 栽培方法

1998 年 6 月 30 日と 1999 年 7 月 2 日に淡色黒ボク土 6kg を充填した深型 1/5000a ワグネルポット（内径 16cm, 高さ 35cm, 容量 7L）に播種し、根粒菌菌株 A1017 を接種した。2004 年は淡色黒ボク土 8kg を充填したプラスチックポット（内径 23cm, 高さ 25cm, 容量 10L）に 3 月 29 日に播種した。各年とも N, P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>, K<sub>2</sub>O をそれぞれポット当たり 0.6, 2, 5g 施用した。各年とも 1 ポットに 8 粒播種し、初生葉展開期に 1 ポット 1 本立に間引きした。1 品種につき 1998 年は 33 ポット、1999 年は 8 ポット、2004 年は 5 ポットを栽培した。1998 年と 1999 年は通常は網室で栽培し、降雨時にはガラス室内に移動させた。2004 年は気温 27 ～ 35 °C の温室内で栽培し、日長を 14 時間以上になるよう補光した。灌水は生育時期に応じて、生育初期は数日おきに、中期からは毎日 1 ～ 2 回行った。なお、灌水により養分が流亡しないように受皿を敷いて、排水孔より流出した水はポット内に戻した。

## 3) 部位別乾物重の調査

1998 年の開花始（R2-R2.5）から成熟期（R8）までの 6 時期に、1 品種当たり 4 個体を採取し、葉、茎＋葉柄、莢実、根、根粒に分解した。75 °C 48 時間乾燥後に乾物重を測定した。

## 4) 作物体窒素含有率の測定

乾燥させた各試料を微粉碎した後、酸素循環燃焼－ガスクロ分析方式による窒素炭素分析装置（スミグラフ NC-800, 住化分析センター）で分析し、窒素含有率を乾物ベースで算出した。

## 5) 光合成速度と葉のクロロフィル含有率（SPAD 値）の測定

1998 年の播種 75 日後（R5.5）、1999 年の播種 61 日後（R4）と播種 83 日後（R6）、及び 2004 年の播種 44 日後（R4.5）以降の数時期に、主茎の最上位完全展開葉から 1 節下の複葉の中央小葉の光合成速度を携帯型光合成蒸散測定装置（SPB-H2, 島津製作所）で測定した。測定は光合成有効放射量が、900  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  以上の晴天時の 9 時～12 時に行った。

光合成速度測定時に測定葉の SPAD 値を葉緑素計（SPAD-502, ミノルタ）で測定し、クロロフィル含有率とみなした。また、それ以外の開花始以降の数時期に、主茎の最上位

完全展開葉から1節下の中央小葉のSPAD値を測定した。

#### 6) 収量及び収量構成要素

成熟期に各品種6個体(1998年, 1999年)または5個体(2004年)を収穫し, 個体当たりの着莢数, 一莢内粒数, 百粒重, 個体当たりの子実収量を測定した。子実収量と百粒重は水分15%ベースで算出した。

### 結果

#### 1) 窒素含有率の推移

調査した播種41日後(開花期, R2-R2.5)以降, エンレイ, 作系4号とも生育が進むに従って葉身の窒素含有率は低下したが, 常に作系4号の方がエンレイより高かった(図2-4A)。エンレイでは播種68日(R5.5)以降, 急速に低下したのに対して, 作系4号は播種88日後(R6.5)でも4%程度の窒素含有率を保っていた。

茎+葉柄の窒素含有率の品種間差は播種68日後以降明瞭になった(図2-4B)。エンレイでは播種58日後を過ぎると, 減少が始まったが, 作系4号では播種79日後(R6)まで含有率が増加し, その後減少した。

莢実の窒素含有率はエンレイでは播種41日後以降緩やかに増加し, 成熟期には5.6%に達した(図2-4C)。作系4号の莢実の窒素含有率はエンレイより約8日遅れて緩やかに増加し始め, 成熟期には6.0%に達した。成熟期の子実の窒素含有率は, エンレイ7.6%に対して作系4号は7.9%と高かった(データ略)。

#### 2) 葉のクロロフィル含有率(SPAD値)の推移

エンレイでは播種後68日以降, 子実の急速な肥大が生ずるとともに, SPAD値が急速に低下した。しかし, 作系4号では子実が急速に肥大した播種68日後から88日後の期間においても高いSPAD値を保っていた(図2-5)。2004年にタマホマレを加えて行った実験においても, 作系4号は開花期以降の全期間を通じて, SPAD値が最も高かった(図2-6)。

#### 3) 光合成速度

1999年の莢伸長期(播種61日後)における主茎上位葉の光合成速度の品種間差は明らかでなかったが(図2-7B), 生育が進んだ子実肥大期, すなわち1998年の播種75日

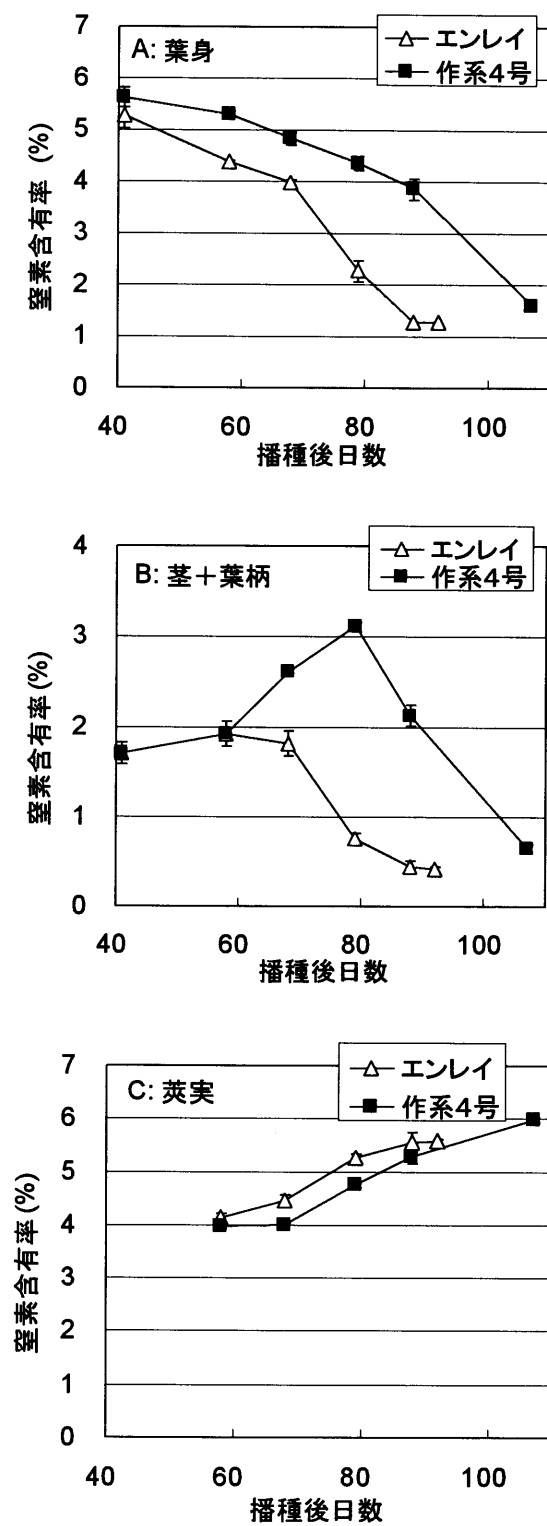


図2-4 作系4号とエンレイの葉身(A), 茎+葉柄 (B), 莢実 (C) の窒素含有率の推移 (1998)。縦線は標準誤差(n=4)。

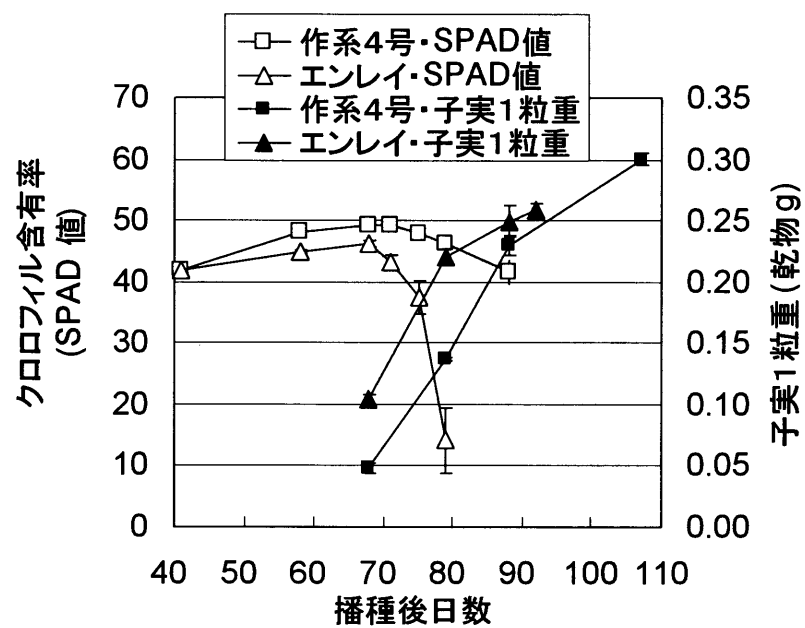


図2-5 作系4号とエンレイのクロロフィル含有率（SPAD 値）と子実の平均1粒重の推移（1998年）。縦線は標準誤差（n=4）。

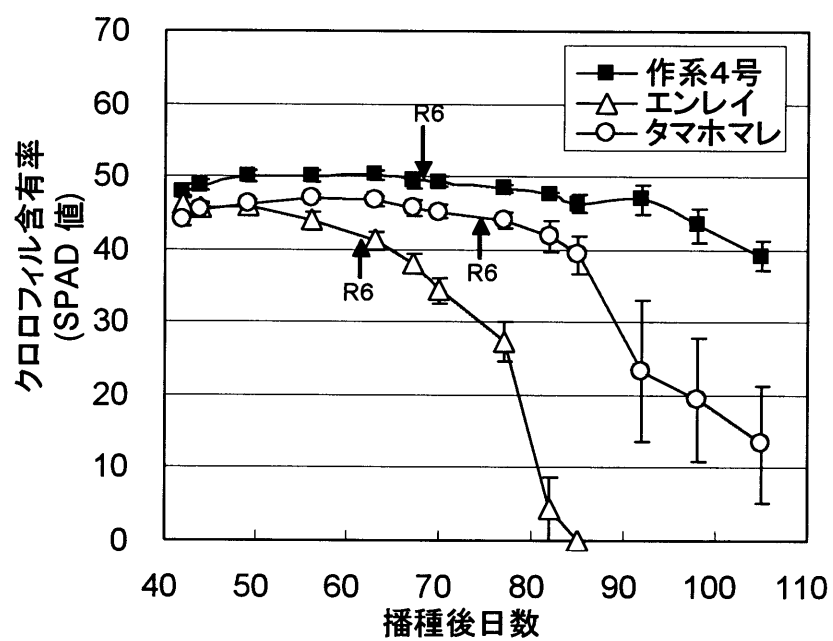


図2-6 作系4号、エンレイ及びタマホマレのクロロフィル含有率 (SPAD 値) の推移 (2004 年)  
矢印は各品種が子実肥大期 (R6) に達した日。縦線は標準誤差 (n=5)



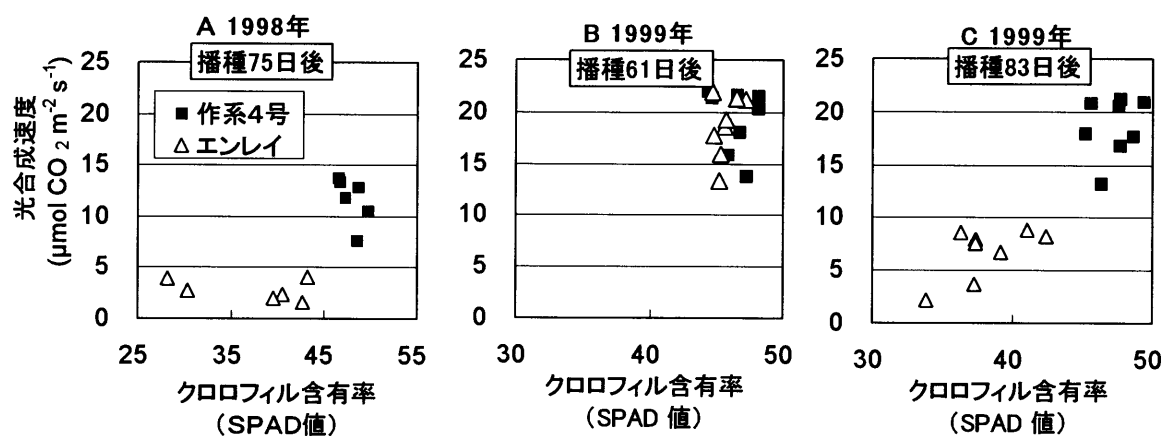


図2-7 作系4号とエンレイの1998年播種75日後(A)と1999年播種61日後(B), 83日後(C)におけるクロロフィル含有率(SPAD値)と光合成速度の関係。

後及び 1999 年の播種 83 日後における光合成速度は SPAD 値と同様に作系 4 号がエンレイより明らかに高かった (図 2-7 A, C)。2004 年にタマホマレを加えて行った実験においても、作系 4 号は子実肥大が始まる播種 44 日後以降の全期間を通じて、光合成速度が最も高かった (図 2-8)。

#### 4) 乾物重の推移

1998 年の作系 4 号の地上部の生長は、生育中期まではエンレイに比べ緩慢で、地上部乾物重のエンレイに対する比率は播種 41 日後 (R2-R2.5) には約 50 %であったが、生育後期、特に子実肥大期 (播種 79 日後) 以降にこの比率は上昇し、成熟期の地上部重はエンレイと同程度になった (図 2-9 A)。茎葉の生長と莢実の生長が並行して進む播種 41 日後から 58 日後までの期間に、作系 4 号の葉身の重量は 6.8 g 増加し、エンレイの 5.6g より多かったが (図 2-9 B)、逆に莢実重の増加はエンレイの 11.4g に対して 43 %の 4.9g と少なかった (図 2-9 D)。また、葉身重についてはエンレイでは播種 68 日後に最高値 15.1g に達すると落葉により直ちに減少に転じたのに対して、作系 4 号では播種 58 日後に最高値 11.6g に達した後、播種 88 日後まで、高い値を保っていた (図 2-9 B)。作系 4 号の莢実重は播種 79 日後まではエンレイより小さかったが、その後エンレイでは莢実重の増加がほとんど止まったのに対して、作系 4 号では増加し続けて、成熟期の莢実重はエンレイと同程度となった (図 2-9 D)。

根の乾物重については作系 4 号はエンレイより生育期間を通じて小さかったが、特に播種 41 日後にはエンレイの約 40 %と小さく、その後は約 60 %で推移した (図 2-10 A)。一方、作系 4 号の根粒重は著しく大きかったため、根重と根粒重の合計である地下部全乾物重は作系 4 号とエンレイで同程度であった (図 2-10 B)。

#### 5) 窒素集積量

ダイズの地上部の窒素集積量は、1998 年の結果では播種 79 日後までは地上部乾物重と同様にエンレイの方が作系 4 号より多かったが (データ略)、成熟期(R8)には作系 4 号の方が多かった (表 2-2)。2004 年の成熟期における地上部と地下部を合わせた窒素の全集積量は、作系 4 号が最も多く、次いでタマホマレ>エンレイ> En1282 の順であった (表 2-2)。

#### 6) 収量及び収量構成要素

作系 4 号の子実収量をエンレイと比較すると、1998 年の実験ではやや多かったが有意差はなかった (表 2-2)。1999 年と 2004 年の作系 4 号の子実収量は、エンレイより明

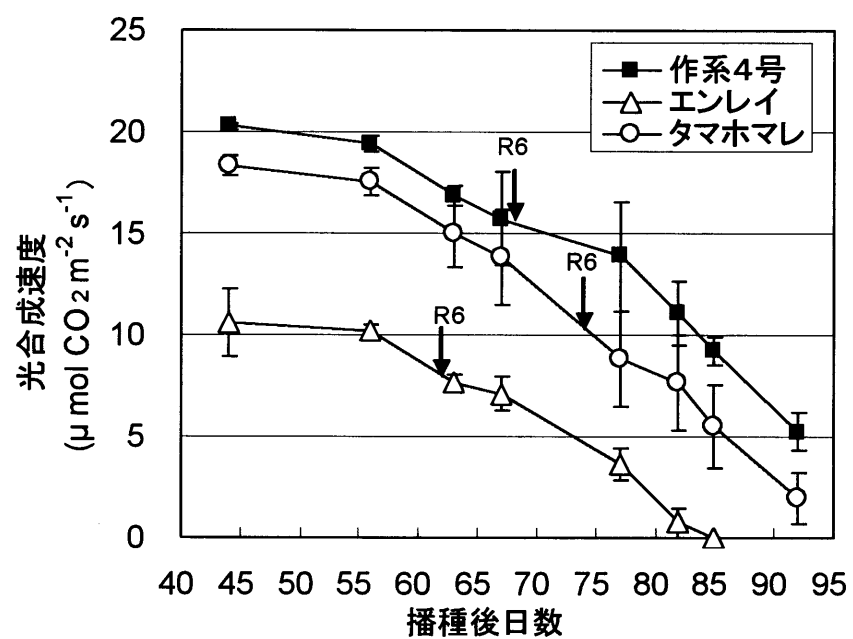


図 2－8 作系 4 号，エンレイ及びタマホマレの光合成速度の推移（2004 年）  
矢印は各品種が子実肥大期（R6）に達した日を示す。縦線は標準誤差（n=5）

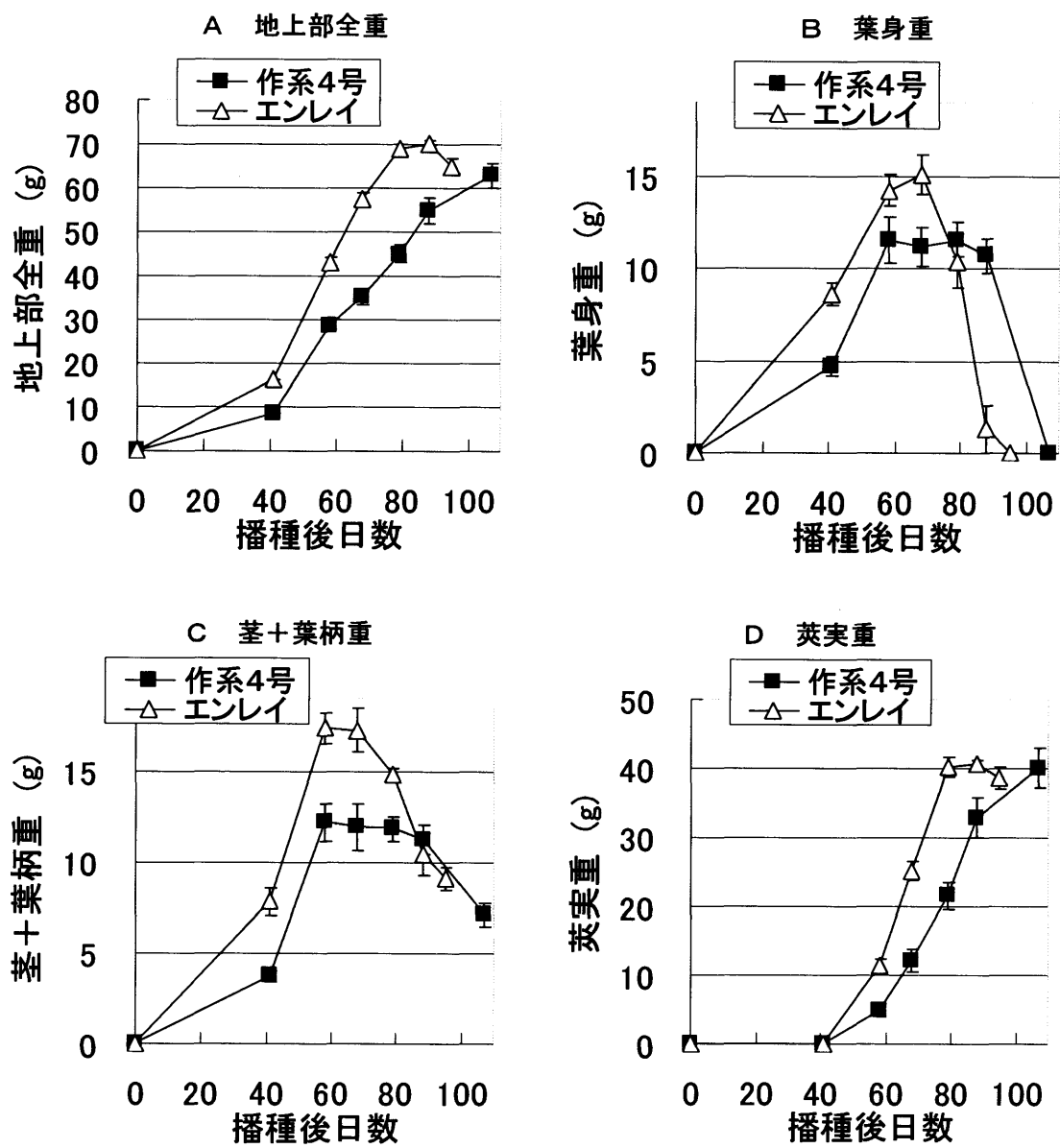


図2-9 作系4号とエンレイの地上部の部位別乾物重の推移(1998年)。  
地上部全重(A)、葉身重(B)、茎+葉柄重(C)、莢実重(D)。  
地上部全重には落葉を含む。縦線は標準誤差(n=4)。

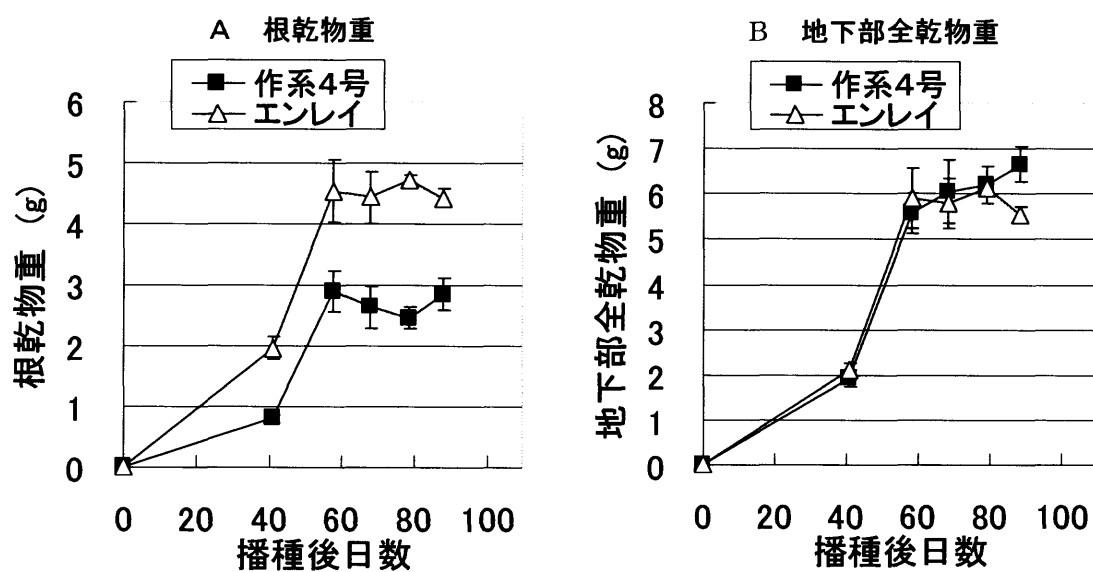


図 2 - 1 0 作系 4 号とエンレイの根乾物重 (A) と地下部全乾物重 (B ; 根 + 根粒) の推移 (1998 年)。縦線は標準誤差 (n=4)。

表 2-2 ダイズ品種・系統の子実収量, 収量構成要素及び窒素集積量 (1998, 1999, 2004 年)。

年次	品種・系統	子実収量 (個体当 g)	着莢数	一莢内粒数	百粒重 (g)	窒素集積量 <sup>2)</sup> (g)
1998	作系 4 号	34.8 (2.4)	52.0 (3.5)	1.90 (0.02)	35.3 (0.6)	2.60 (0.17)
	エンレイ	32.0 (1.1)	56.5 (2.5)	1.88 (0.05)	30.3 (0.7)	2.33 (0.09)
1999	作系 4 号	65.8 (3.5)	105.7 (4.6)	1.84 (0.02)	33.8 (0.2)	---- <sup>3)</sup>
	エンレイ	54.6 (3.4)	104.7 (6.5)	1.92 (0.03)	27.4 (0.7)	----
2004	作系 4 号	50.3 (3.4)	90.2 (4.9)	1.82 (0.03)	30.6 (0.4)	5.77 (0.42)
	エンレイ	37.5 (0.4)	53.3 (1.0)	1.82 (0.03)	38.7 (0.6)	4.04 (0.26)
	タマホマレ	42.7 (1.3)	98.6 (6.8)	1.74 (0.06)	25.1 (0.7)	5.11 (0.16)
	En1282	19.3 (0.8)	49.8 (1.7)	1.70 (0.06)	22.8 (0.5)	1.22 (0.04)

1) カッコ内は標準誤差 (1998 年: n=4, 1999 年: n=6, 2004 年: n=5)

2) 1998 年は地上部のみ, 2004 年は地上部+地下部の合計。

3) 未調査。

らかに多かった。作系4号の着莢数は1998年と1999年にはエンレイと同程度であったが、2004年には明らかに優った。一方、作系4号の百粒重は1998年と1999年にはエンレイより大きかったが、2004年には逆に小さかった。両品種の一莢内粒数の差は小さかった。2004年のタマホマレとの比較では、作系4号の方が収量と百粒重がまさり、着莢数と一莢内粒数は同程度であった。

## 考察

葉身中の窒素含有率は、開花期(播種41日後)以降、常に作系4号の方がエンレイより高い値を示した(図2-4A)。特に子実肥大初期(播種68日後)以降播種88日後まで、エンレイより20日間長く高い値が維持されていた。なお、図2-5に示した子実の平均1粒重の推移から読みとると、作系4号では生育ステージの進行が約8日エンレイより遅かったが、両者の生育ステージを合わせるために8日を差し引いたとしても、作系4号では葉身の窒素がエンレイより約12日間高水準に保たれていた。

ダイズの子実肥大期間の窒素要求量は各種作物の中でも最も高いため、根及び根粒を通じて供給される限界を超え、茎葉の窒素を子実に転流させる「自己破壊」が生ずるといわれている(Sinclair and de Wit, 1975)。作系4号の個体当たり窒素固定活性は、開花期以降の生育期間を通じてエンレイより高く、特に、子実肥大期における差が顕著なことを本章第1節で明らかにした。上述のように作系4号において、葉身の窒素含有率が高く保たれたことは、生育後期の窒素固定能力が高いため自己破壊が生じにくかったことを示唆している。作系4号の茎の窒素含有率も子実肥大初期に一旦上昇し、この時期における窒素供給力の高さを示していた(図2-4B)。

莢伸長期以降の主茎上位葉のクロロフィル含有率(SPAD値)も、作系4号が高かった(図2-5)。両品種の生育ステージを合わせるため、子実の平均1粒重を指標に比較すると、エンレイでは1粒重が0.10gに達した播種68日後以降SPAD値が急速に低下し、0.22gに達した播種79日後には14.1にまで減少した。一方、作系4号では1粒重が0.14gの時点(播種79日後)では葉のSPAD値はほとんど低下せず、0.23gに達した播種89日後にもSPAD値が41.7を保っていた。また、作系4号より晩生の花粉親のタマホマレを加えた2004年の実験では、同じ生育ステージ、あるいは、同じ暦日における比較で、作系4号は常に供試品種中で最高のSPAD値を示した(図2-6)。このように、作系4号

の SPAD 値が高いのは単にエンレイより晩生で生育ステージの進行が遅いためではなく、同じ生育ステージにおいてもエンレイ及びタマホマレより高いことが明らかになった。

作系 4 号の光合成速度も他の品種に比べて高い傾向を示した。子実肥大期においては、エンレイでは SPAD 値と光合成速度がともに低下したのに対して、作系 4 号では高い水準が維持されていた（図 2-7 A, C）。タマホマレを加えた 2004 年の実験においても、作系 4 号の光合成速度は供試品種中で最高であった（図 2-8）。強光下では一般的には光合成速度とクロロフィル含有率は相関を示さないが、生育の進行に伴う光合成速度の変化はクロロフィル含有率と相関を示すことが知られている（村田 1979）。本節においても子実肥大期のエンレイでは葉から子実への窒素の転流により葉が老化し、クロロフィル含有率とともに光合成速度が低下したが、作系 4 号では、自己破壊が早期に生じなかったため、SPAD 値と光合成速度が共に高く維持されたと考えられた。

作系 4 号の生長は、特に開花期までの生育前期においては緩慢で、開花期の地上部重はエンレイの約 50 %と顕著に小さかった（図 2-9 A）。開花期以降に生長が活発になり、特に子実肥大期の生長量はエンレイ以上であった。これは、第 1 章第 1 節の圃場試験の場合と類似していた。作系 4 号では平均 1 粒重の増加が長期間続き（図 2-5）、百粒重が増大したことも（表 2-2；1998 年）、子実肥大期における高い乾物生産性を示していた。前節で認められた作系 4 号の高い窒素固定能力が植物体内窒素含有率、SPAD 値及び光合成速度を高め、その結果、子実肥大期における旺盛な乾物生産が可能になったと考えられる。また、逆に光合成速度が高まったことで、根粒への炭水化物の供給量が増えて、高い窒素固定活性の維持にも役立ったと考えられる。

ただし、この 1998 年の実験では作系 4 号の成熟期の地上部全重と子実収量はエンレイ並に留まり、乾物生産における有利性は子実肥大期にしか明瞭に認められなかった（図 2-9、表 2-2）。子実収量がエンレイより顕著に大きかった 1999 年、2004 年（表 2-2）の実験では、作系 4 号の生育後期における高い植物体内窒素含有率、SPAD 値及び光合成速度に基づく高い乾物生産性が、より強くあるいは長期間発揮されたと推察された。

一方、開花期以降の茎葉の生長と莢実の生長が同時進行する時期には、第 1 章第 1 節の圃場試験と同様に、作系 4 号は莢実の成長より茎葉の生長を優先させた（図 2-9 B, C, D）。第 1 章第 2 節で作系 4 号の花粉親はタマホマレであることを明らかにしたが、開花期以降の分枝節数の増加はタマホマレ＞作系 4 号＞エンレイの順に大きかったことから（データ略）、開花期間に栄養生長を優先させる作系 4 号の特性はタマホマレに由来する



と推察された。

ところで、茎葉の窒素含有率は、着莢数、粒数などの窒素のシンクの大きさとも関係する。もし、着莢数が少なければ転流先の少ない窒素は茎葉に留まる。このような場合には葉の窒素含有率が高く維持されたとしても、多収を期待することはできない。しかし、本実験で作系4号はエンレイ、タマホマレに比べて同等以上の着莢数を示しており、窒素のシンクは小さくなかった。その結果、作系4号の子実収量はエンレイ、タマホマレ以上であった（表2-2）。

以上のように、生育後期の窒素固定能力に優れる作系4号においては、葉では開花期以降、茎では子実肥大初期以降の窒素含有率が高く保たれ、特に子実肥大期において、葉の窒素含有率とクロロフィル含有率が高く維持されているために、光合成速度が高かった。これらのことが、作系4号における子実肥大期を中心とする生育後期の乾物生産量や収量の高さに貢献していると考えられた。

### 第3節 根粒非着生条件下での生育特性

通常品種の数倍以上の根粒を着生する根粒超着生ダイズ系統は、従来、生育・収量が通常の品種より劣ったが、その原因として多量の根粒形成とその根粒における窒素固定に相当量の炭水化物を消費されること及び根系の発達が劣るため養水分の吸収量が劣ることが指摘されている（Gremaud and Harper 1989, Hansen et al. 1989, Ohyama et al. 1993, Takahashi et al. 1995）。しかし、根粒超着生系統 En6500 では、根粒非着生条件下でも生育・収量が通常の品種より著しく劣るため、生育・収量を抑制する根粒超着生以外の要因があると考えられる。

著者らが En6500 をもとに開発した根粒超着生品種作系4号はエンレイに比べて開花期以前の生長は緩慢であるが、開花期間の栄養生長とその後の生殖生長が旺盛な特徴を持つことを明らかにした（第1章第1節、第2章第2節）。

本節では、作系4号を根粒非着生条件下で栽培することにより、同条件下における生育抑制の有無、開花期以降の旺盛な生長と根粒着生の関係などを明らかにしようとした。

### 材料及び方法

### 1) 供試品種・系統

実験は 1997 年と 1998 年の 2 カ年行った。1997 年にはエンレイ、根粒超着生系統 En6500, En-b0-1, 作系 4 号の計 4 品種・系統を、1998 年にはエンレイと作系 4 号の 2 品種を供試した。

### 2) 栽培方法

栽培は根粒非着生条件とするためポットによる水耕で行った。種子を 70 %エタノールで 12 分間、3 %過酸化水素水で 3 分間、表面滅菌した後、バーミキュライトを充填した容積 800mL のガラスびんに、1 びん当たり 8 粒を播種した。昼 28 °C(14 時間)/夜 23 °C(10 時間)、光合成有効放射  $830\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  の人工光グロースチェンバーで 7 日間生育させた後、初生葉展開中の生育の揃った幼植物をワグネルポットに移植して、同じグロースチェンバー内で通気水耕栽培した。1997 年は 1/5000a 深型ポット(容量 7L), 1998 年は 1/2000a ポット(容量 13L) を使用し、水耕液は窒素成分以外は赤尾・河内 (1989) の水耕液の組成を用い、播種 33 日後 (開花始) までは 1/2 倍濃度で、それ以降は標準濃度で使用した。無機態窒素として硝酸カリウムを与え、水耕液の硝酸態窒素濃度は 1997 年は生育期間を通して  $5 \text{ mol m}^{-3}$ , 1998 年は播種 33 日後まで  $5 \text{ mol m}^{-3}$ , それ以降は  $10 \text{ mol m}^{-3}$  とした。水耕液は 1997 年は 2 日ごとに、1998 年は 7 日ごとに交換した。

### 3) 調査方法

1997 年は播種 33 日後 (開花期, R2) と 102 日後 (子実肥大期, R6) に各品種・系統 4 ポットずつを採取した。1998 年は播種 33 (R2), 54 (R3), 75 日後 (R5), 及び成熟期 (R8, エンレイ播種 127 日後, 作系 4 号播種 141 日後) に各品種 4 ポットずつを採取して、部位別乾物重、形態的形質等を調査した。

## 結果

### 1) 地上部の生長

1997 年の結果では、播種 33 日後 (R2) における En6500 と En-b0-1 の地上部乾物重はエンレイに比べて顕著に劣ったが、作系 4 号はエンレイ比 93 %で、有意差はなかった (表 2-3)。また、播種 102 日後の作系 4 号の地上部重はエンレイ比 140 %と優り、En-b0-1 と En6500 が小さかったのと対照的であった。1998 年も同様に、播種 33 日後及び 54 日後における作系 4 号の地上部全重及び茎葉重はエンレイより劣ったが、播種 75 日後以降は

表 2－3 根粒非着生条件下におけるダイズ品種・系統の諸形質（1997 年）

品種・系統	地上部乾物重		根乾物重		T/R 比	
	33 日後 <sup>1)</sup>	102 日後	33 日後	102 日後	33 日後	102 日後
エンレイ	24.4 (2.7)	150.3 (13.7)	5.1 (0.5)	47.5 (9.1)	4.77 (0.06)	3.32 (0.29)
En6500	11.1 (0.4)	99.0 (15.8)	1.8 (0.0)	12.6 (3.5)	5.99 (0.10)	8.76 (1.12)
En-b0- 1	17.9 (1.7)	124.3 ( 9.2)	2.9 (0.2)	13.9 (1.6)	6.19 (0.20)	9.22 (0.97)
作系 4 号	22.8 (1.5)	211.0 ( 8.9)	4.2 (0.4)	49.9 (4.9)	5.51 (0.34)	4.34 (0.34)

1)播種後日数

2)かっこ内は標準誤差(n=4)。

エンレイより優った（図 2-11）。

## 2) 分枝の発達

1997 年の播種 102 日後の分枝節数は En6500 と En-b0-1 では顕著に劣ったが、作系 4 号はエンレイ比 108 %と優る傾向にあった（表 2-4）。1998 年には、エンレイでは分枝節数の増加が播種後 54 日（開花後約 3 週間）で頭打ちになったが、作系 4 号では分枝節数の増加、すなわち分枝の発達と新葉の出現がさらに続き、成熟期の分枝節数はエンレイ比 157 %であった（図 2-12A）。なお、主茎節数もエンレイより作系 4 号が多かった（データ略）、主茎節数と分枝節数の和である個体当たりの総節数も作系 4 号がまさった。

## 3) 根の生長

根乾物重は、地上部乾物重より品種・系統間差が明瞭であった。1997 年の播種 33 日後（R2）における根乾物重は作系 4 号ではエンレイ比 81 %，En-b0-1 では同 57 %，En6500 では同 36 %となった（表 2-3）。また、各系統の地上部重と根重の比（T/R 比）は En-b0-1 > En6500 > 作系 4 号 > エンレイの順であった（表 2-3）。播種 102 日後の根重は、作系 4 号ではエンレイとほぼ等しくなったが、En-b0-1 ではエンレイ比 29 %，En6500 では 26 %とエンレイとの差が拡大した。この時期の T/R 比も播種 33 日後と同様に、En-b0-1 と En6500 が著しく高かった。

1998 年の根乾物重の推移もこれと類似し、生育中期の播種 75 日後までの作系 4 号の根乾物重はエンレイより小さかったが、成熟期にはエンレイより大きくなった（図 2-12B）。

## 4) 莢実の生長

1997 年は成熟期以前の播種 102 日後の採取で実験を終了した。1998 年の実験においては、作系 4 号の莢実重は播種 75 日後にはエンレイ比 79 %と小さかったが、その後逆転し、成熟期の莢実重はエンレイ比 158 %（図 2-11）、子実重は同 133 %（データ略）であった。

## 5) 開花期・成熟期

1997 年の開花期は、エンレイに比べて En6500 と En-b0-1 では 1 日早く、作系 4 号では 2 日遅かった（表 2-4）。1998 年においては作系 4 号の開花期はエンレイより 1 日遅く、成熟期は 14 日遅かった（データ略）。

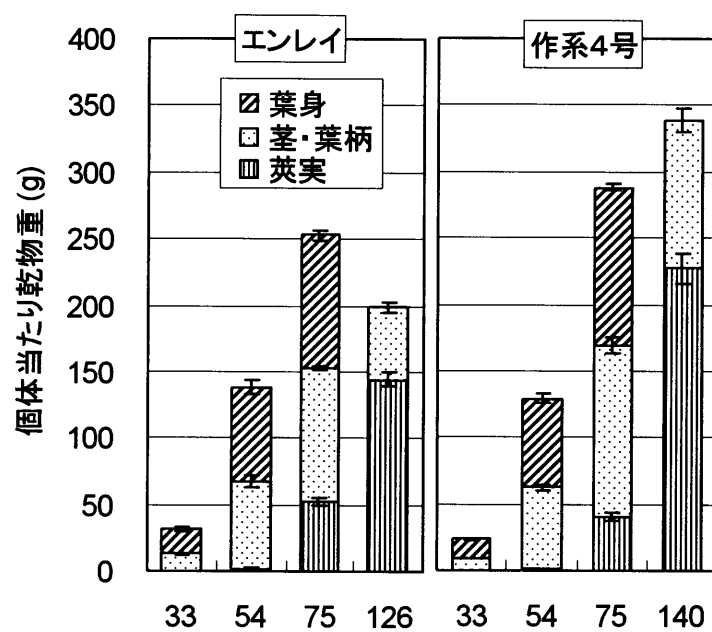


図 2 - 1 1 根粒非着生条件下における作系 4 号とエンレイの地上部部位別乾物重 (1998 年)。縦線は標準誤差 (n=4)。

表 2－4 根粒非着生条件下におけるダイズ品種・系統の諸形質（1997 年）

品種・系統	分枝節数		開花期 (播種後日数)
	33 日後 <sup>1)</sup>	102 日後	
エンレイ	46.5 (3.2)	70.5 (7.1)	34.3 (0.6)
En6500	23.7 (1.3)	41.8 (4.0)	33.3 (0.3)
En-b0-1	29.0 (2.1)	45.0 (5.1)	33.5 (0.5)
作系 4 号	44.0 (3.2)	76.3 (2.2)	36.3 (0.4)

1) 播種後日数

2) かっこ内は標準誤差(n=4)。

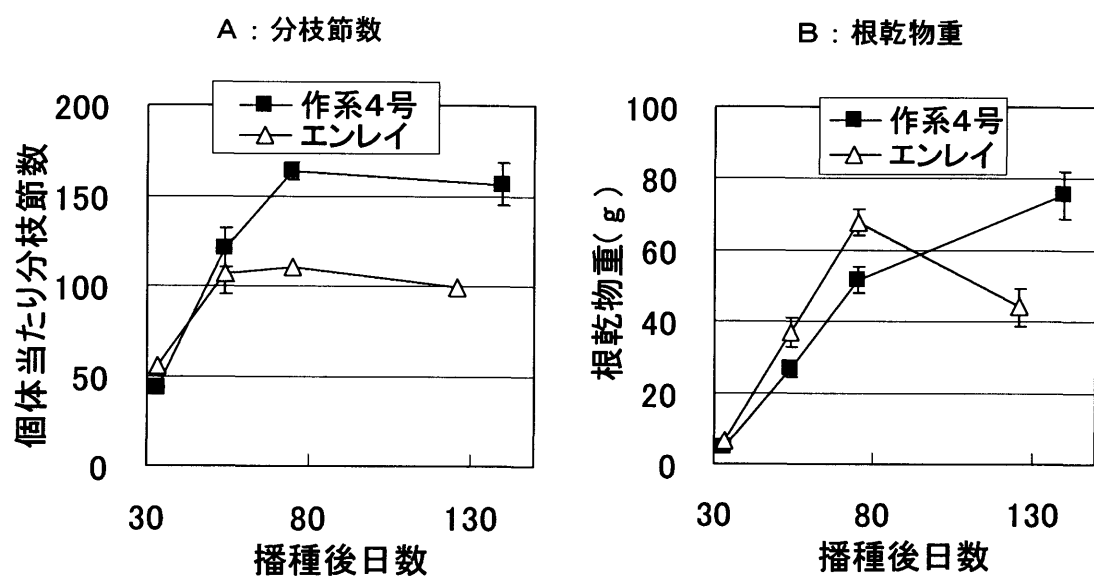


図 2 - 1 2 根粒非着生条件下における作系 4 号とエンレイの分枝節数 (A) 及び根乾物重 (B) の推移 (1998 年)。  
縦線は標準誤差 (n=4)。

## 考察

著者らの既報 (Takahashi et al. 1995) の結果では、開花期 (R2) における根粒超着生系統 En6500 の生育は根粒非着生条件下においてもエンレイより劣った。この劣った形質が、根粒超着生形質と遺伝的に分離でき、改善可能なのか、あるいは分離が困難なものなのかは、根粒超着生系統の遺伝的改良を図る上で重要である。

本節の根粒非着生条件下において、En6500 が持つ生育量の小ささは、En-b0-1 である程度改善されたが、En-b0-1 もエンレイに比べると、生育量、特に根量が少なかった (表 2-3)。一方、作系 4 号では、生育前半には根量がエンレイより少ないが、生育後半にはエンレイより多くなった (表 2-3, 図 2-12B)。また、茎葉重、分枝節数の推移が示すように開花期間の栄養生長量が多く (図 2-11, 図 2-12A)、かつ、開花期、成熟期の遅延が認められた (データ略)。

ダイズの根粒超着生系統の生長量、特に根量が通常の品種より少ないことは、品種 Bragg や Williams 由来の系統で多く報告されている (Day et al. 1986, Gremaud and Harper 1989, Ohyama et al. 1993)。また、マメ科のミヤコグサでも同様に、根粒超着生系統は根粒非着生条件下でも主根が短く、分枝根数が多く、根の総量が少ない等の異常な特徴を示す (Wopereis et al. 2000)。これらの根の小ささが、根粒超着生系統の生育と収量を制限していると考えられている。すなわち、根粒超着生系統は窒素栄養の相当の部分を固定窒素に依存することができるが、窒素以外の養分及び水は根からの吸収に全面的に依存するので、根量の大小がダイズの生育に大きく影響すると考えられる。

本節では根粒非着生条件下で作系 4 号が通常の品種エンレイ以上の大きな根量を持つことが示された。この特徴が従来の根粒超着生系統に比べて作系 4 号が高い乾物生産や多収を示すことに大きく関わっていると考えられる。

一方、根粒非着生条件下で、作系 4 号ではエンレイに比べ、根量の多さに加えて開花期間の茎葉の旺盛な生育や開花期と成熟期の遅延などが見られた。これらはエンレイと異なる遺伝的背景に基づいていると考えられる。著者らはその後の実験から、作系 4 号の花粉親がタマホマレであることを見だし (第 1 章第 2 節)、根粒を着生させる条件下で作系 4 号が開花期以降に茎葉の生長を優先させる特徴については、タマホマレに由来する可能性があることを指摘した (第 2 章第 2 節)。本節で明らかになった作系 4 号の良好な根系発達についてもタマホマレに由来している可能性が考えられる。タマホマレとエンレイを



比較した土耕ポット試験の結果では、成熟期における根＋根粒の乾物重はタマホマレがエンレイより多かった（第2章第2節，データ略）。ともに通常の品種であるタマホマレとエンレイの根粒重はほぼ同等と考えられることから、根重そのものもタマホマレの方がエンレイより多かったと推察され、この形質が作系4号に受け継がれたものと考えられる。

以上のように、根粒非着生条件下で En6500 が示した生育量の小ささは、作系4号では大きく改善され、特に生育後半にはエンレイより大きくなる傾向を示した。これらには根粒超着生とは別にタマホマレ由来の遺伝的性質が関与していると考えられる。こうした性質が根粒が着生する条件下でも機能し、作系4号の生育収量の向上に影響したと考えられる。特に、根量の増大は養水分の吸収能力を高めることによって、開花期間の旺盛な茎葉の生育を可能にし、高い窒素固定能力の活用を通じて、高い収量性を可能にしたと考えられる。これらの結果は、根粒超着生系統に通常品種を掛け合わせるにより、生育、特に根の生育を大幅に改善することができることを示した最初の例である。

#### 第4節 後作への効果

ダイズの根粒超着生系統が持つ有用性の一つとして、収穫後の土壤中に窒素を残し、後作物の生育を改善する効果が提唱されている (Hansen et al. 1989)。この効果について、Song et al. (1995)は、根粒着生数が通常品種の2倍程度の中間的根粒超着生系統は後作のオオムギの子実収量やエンバクの乾物重を増加させたが、根粒着生数が通常の5～6倍以上の根粒超着生系統でこの効果が確認されたのはエンバクの乾物重の場合のみであったとしている。一方、Bragg 由来の根粒超着生系統 PS55 は収量は低いが後作のオオムギの収量を増加させる効果があったと報告されている (Zhao et al. 1998)。また、Maloney and Oplinger (1997) は、系統 CM158 由来の中間的根粒超着生系統の後作コムギの収量に対する効果はなかったとしている。このように根粒超着生系統が後作の生育・収量に及ぼす影響については、結果が分かれている。

本節では新たに開発した根粒超着生品種作系4号について、その栽培が後作のトウモロコシの生育、窒素吸収等におよぼす影響を明らかにしようとした。

#### 材料及び方法

### 1) 実験 1 (1999 年～2000 年)

1999 年 7 月 2 日から前作として、作系 4 号及びエンレイをポット栽培した。栽培方法は第 2 章第 2 節と同様である。なお、収穫後、植物体の地上部はすべて取り去った。処理区として、地下部（根と根粒）を篩で取り去って、土を同じポットに再充填する区（6 反復）と、地下部を残したまま土を攪拌してポットに再充填する区（4 反復）の 2 種類を設けた。後作であるトウモロコシ用に  $P_2O_5$ 、 $K_2O$  それぞれポット当たり 2、5g を基肥で施用し、窒素は施肥しなかった。

トウモロコシの栽培については、2000 年の 7 月 13 日に品種「パイオニア 33G26」（118 日タイプ）を播種し、出芽後間引いて、1 ポット 1 本立とした。通常は網室、雨天時はガラス室内で栽培し、水は十分与えた。前作のダイズ栽培時と同様に、養分が流亡しないように受皿を敷いて、排水孔より流出した水はポット内に戻した。

生育中に草丈を測定し、成熟後には地上部を刈り取り、75℃で 48 時間乾燥後、乾物重を測定した。また、試料を微粉碎した後、酸素循環燃焼－ガスクロ分析方式による窒素炭素分析装置(スミグラフ NC-800, 住化分析センター)で分析し、窒素含有率を求めた。

### 2) 実験 2 (2002 年～2003 年)

前作ダイズについては、2002 年の 7 月 2 日から作系 4 号とエンレイを栽培した。栽培方法は第 2 章第 1 節に示したとおり、深型 1/5000a ワグネルポット（容量 7L）を用い、窒素施肥には重窒素標識硫酸を使用した。収穫後、地上部と地下部を取り去り、同一処理の 3 ポットの土壌を混合・攪拌して、1/5000a ワグネルポット（容量 3.3L）5 ポットに 3kg ずつを充填した。後作であるトウモロコシ用に  $P_2O_5$ 、 $K_2O$  それぞれポット当たり 2、5g を基肥で施用した。

トウモロコシの栽培については、2003 年の 6 月 26 日に品種「パイオニア 3352」（118 日タイプ）を播種し、その他の管理は実験 1 と同様に行った。

調査は実験 1 と同様に、生育中には草丈を、成熟後には地上部及び地下部の乾物重と植物体の窒素含有率を測定した。さらに、安定同位体比測定用質量分析計（DELTA plus XP, サーモフィニガン社）を用いて試料中の窒素の質量を分析し、トウモロコシ植物体中の窒素のうち、前作ダイズに施用した重窒素標識肥料の割合を算出した。

### 3) 実験 3 (2004 年)

前作ダイズについては 2004 年の 3 月 29 日から作系 4 号、エンレイ、根粒非着生系統 En1282 及びタマホマレを栽培した。栽培方法は第 2 章第 2 節と同様である。収穫後、地

上部と地下部を取り去り、土壌を攪拌して、同じポットに再充填した。後作トウモロコシ用に  $P_2O_5$ 、 $K_2O$  それぞれポット当たり 2、5g を基肥で施用した。

トウモロコシの栽培については、2004 年の 7 月 31 日に品種「パイオニア・ディア HT」（88 日タイプ）を播種した。その後の管理と調査は実験 1 と同様であった。

## 結果

### 1) 実験 1（2000 年）

後作のトウモロコシの草丈をみると、生育時期やダイズ根の持ち出しの有無にかかわらず、作系 4 号跡のトウモロコシの方が、エンレイ跡より 8 ～ 18cm 高かった（表 2－5）。根持ち出しの有無の差はなかった。

トウモロコシの成熟期の地上部乾物重は、ダイズ根の持ち出しの有無にかかわらず、作系 4 号跡の方が、エンレイ跡より大きかった。根持ち出しの有無による差はなかった（表 2－5）。

トウモロコシの成熟期の地上部窒素集積量は、ダイズ根の持ち出しの有無にかかわらず、作系 4 号跡のトウモロコシの方が、エンレイ跡より明らかに多かった。根持ち出しの有無の差は有意でなかったが、作系 4 号の場合には根を持ち出さない場合の方が多い傾向にあった（表 2－5）。

### 2) 実験 2（2003 年）

後作トウモロコシの草丈は播種 35 日後から 76 日後に至るまで、作系 4 号跡の方がエンレイ跡より高かった（表 2－6）。また、両品種とも、ダイズ栽培時の窒素施肥量が多い方が、トウモロコシの草丈が高かった。

トウモロコシの成熟期の地上部乾物重は、前作ダイズの施肥量にかかわらず、作系 4 号跡の方がエンレイ跡より大きかった（表 2－6）。作系 4 号跡ではダイズ栽培時の施肥量が多い方がトウモロコシの乾物重が大きかったが、エンレイ跡ではこの差は明らかでなかった。地上部と地下部を合わせた全乾物重もこれと類似した傾向にあった（表 2－6）。

トウモロコシの成熟期の地上部窒素集積量は、前作ダイズの施肥量にかかわらず、作系 4 号跡の方がエンレイ跡より有意に多かった（表 2－7）。両品種跡ともダイズ栽培時の施肥量が多い方がトウモロコシの窒素集積量が大きい傾向にあったが、有意な差はなかった。地上部と地下部を合わせた窒素全集積量も同じ傾向にあったが、ダイズ栽培時の施肥

表 2-5 前作ダイズ品種の栽培がトウモロコシの生育に及ぼす影響(実験 1, 2000 年)

ダイズ根残渣	前作品種	草丈		地上部乾物重 (個体当 g)	地上部窒素集積量 (個体当 mg)
		45日後 <sup>1)</sup> (cm)	133日後 (cm)		
無	作系 4 号	113.8 (1.6)	157.0 (0.9)	43.0 (1.8)	170 ( 8)
	エンレイ	102.2 (1.2)	144.2 (2.1)	33.5 (1.1)	123 ( 6)
有	作系 4 号	117.8 (3.0)	151.8 (3.1)	44.4 (2.2)	187 (11)
	エンレイ	99.5 (4.6)	144.3 (7.0)	31.6 (1.8)	115 ( 3)

1) 播種後日数

2) かつこ内は標準誤差 (根無 : n=6, 根有 : n=4)

表 2－6 前作ダイズ品種の栽培がトウモロコシの生育に及ぼす影響(実験 2，2003 年)

前作施肥量	前作品種	草丈			地上部乾物重 (個体当 g)	全乾物重 (個体当 g)
		35 日後 <sup>1)</sup> (cm)	56 日後 (cm)	76 日後 (cm)		
N 0.6g	作系 4 号	78.9 (1.0)	85.4 (1.3)	94.1 (3.1)	20.0 (0.6)	25.6 (0.7)
	エンレイ	72.8 (0.3)	78.4 (1.0)	83.4 (2.6)	15.6 (0.8)	20.1 (0.9)
N 2.4g	作系 4 号	82.2 (0.7)	89.5 (0.3)	102.3 (2.0)	23.6 (0.8)	30.9 (1.2)
	エンレイ	75.2 (0.4)	79.4 (0.5)	91.7 (2.0)	16.1 (0.7)	21.3 (0.7)

1) 播種後日数

2) かつこ内は標準誤差 (n=5)

表 2－7 前作ダイズ品種の栽培がトウモロコシの生育に及ぼす影響(実験 2, 2003 年)

前作施肥量 前作品種	地上部 窒素集積量 (個体当 mg)	窒素全集積量 (個体当 mg)	前作施肥由来 窒素集積量 (個体当 mg)	土壌窒素由来 窒素集積量 (個体当 mg)	前作施肥由来 <sup>1)</sup> 窒素の比率 (%)
N 0.6g					
作系 4 号	71.6 (2.4)	114.1 (2.8)	5.4 (0.2)	108.8 (2.6)	4.7 (0.1)
エンレイ	59.6 (1.1)	90.6 (2.7)	4.1 (0.3)	86.5 (2.5)	4.5 (0.2)
N 2.4g					
作系 4 号	78.9 (6.1)	125.9 (4.1)	15.0 (0.5)	110.9 (3.7)	11.9 (0.1)
エンレイ	61.7 (3.3)	101.3 (3.4)	12.1 (0.3)	89.2 (3.1)	12.0 (0.2)

1) 前作施肥由来窒素集積量／窒素全集積量の比率

2) かつこ内は標準誤差 (n=5)

量が多い方が有意に多かった（表 2－7）。

トウモロコシが集積した窒素のうち、前作ダイズに施用した窒素肥料に由来する割合を調べた結果、前作への窒素施肥量が 0.6 g であった場合には、エンレイで 4.5 %，作系 4 号で 4.7 %に過ぎず、極めて低かった（表 2－7）。前作施肥量が 2.4 g の場合にはこの割合が上昇したが、それでもエンレイで 12.0 %，作系 4 号で 11.9 %であった。また、作系 4 号とエンレイとの間で違いは見られなかった。

### 3) 実験 3（2004 年）

トウモロコシの草丈の推移を図 2－13 に示した。播種 40 日後頃から、前作ダイズ品種が草丈におよぼす影響が明瞭になった。草丈は作系 4 号跡≒エンレイ跡＞タマホマレ跡＞En1282 跡の順であった。

トウモロコシの成熟期の地上部乾物重及び地上部と根を合わせた全乾物重は、草丈と同じく作系 4 号跡≒エンレイ跡＞タマホマレ跡＞En1282 跡の順であった（表 2－8）。

トウモロコシの地上部窒素集積量及び根も合わせた窒素全集積量も草丈及び乾物重と同様の傾向を示した。すなわち、作系 4 号跡とエンレイ跡とでは差がなく、タマホマレ跡ではこれらより若干少ない傾向にあり、En1282 跡では最少であった（表 2－8）。

## 考察

3 カ年の実験のうち、ダイズの残渣を地上部、地下部とも取り去った条件下で比較すると、作系 4 号跡のトウモロコシは実験 1 と実験 2 ではエンレイ跡に比べて草丈、乾物重、窒素集積量がまさったが（表 2－5，表 2－6，表 2－7），実験 3 ではエンレイ跡との差が認められなかった（図 2－13，表 2－8）。これまでの報告でも、根粒超着生系統の栽培が後作の生育・収量に及ぼす影響については、結果が分かれている。本節の場合、3 つの実験の間でどのような条件の差があったのか考察する。

要因として考えられるのは、ダイズ栽培時の作物体への窒素集積量や子実収量の違いによる土壌中の残存窒素量の違いである。植物体全体の窒素集積量（落葉、根系を含む）は、実験 2 では作系 4 号はエンレイ比 131 %，実験 3 では 143 %であった（第 2 章第 2 節）。実験 1 には窒素集積量のデータがないが、窒素の約 80 %は子実を集積するため子実収量で比較すると、実験 1 では作系 4 号はエンレイ比 119 %，実験 2 では 129%，実験 3 では 134 %であった。このように、実験 1，2 に比べて、実験 3 の作系 4 号は子実収量のエンレ

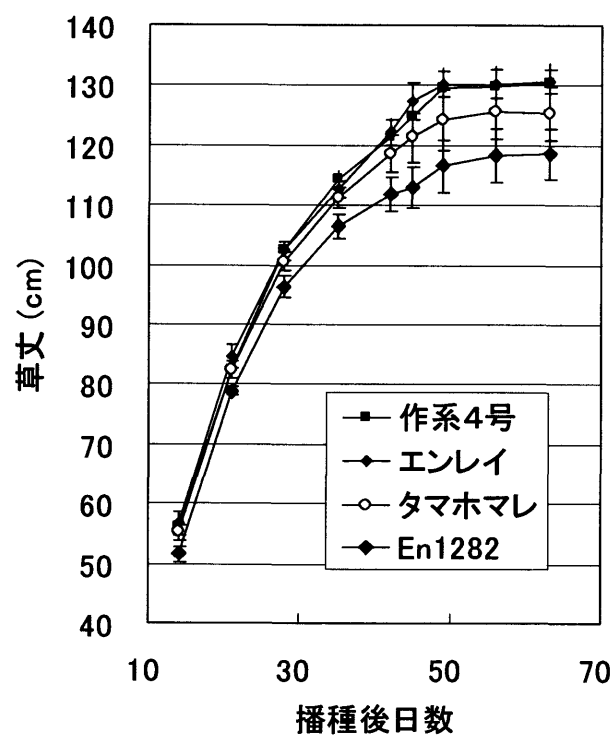


図 2 - 1 3 前作ダイズ品種・系統がトウモロコシの草丈に及ぼす影響(実験 3, 2004 年)  
縦線は標準誤差 (n=5)



表 2－8 前作ダイズ品種・系統の栽培がトウモロコシの生育に及ぼす影響(実験 3, 2004 年)

前作品種・系統	地上部乾物重 (個体当 g)	全乾物重 (個体当 g)	地上部窒素集積量 (個体当 mg)	窒素全集積量 (個体当 mg)
作系 4 号	39.7 (2.4)	47.8 (2.9)	146 ( 6)	201 ( 8)
エンレイ	38.2 (0.9)	46.7 (1.3)	140 ( 6)	195 ( 7)
タマホマレ	35.7 (2.4)	43.0 (2.8)	133 (13)	185 (13)
En1282	31.9 (1.8)	38.9 (2.3)	107 ( 6)	156 (10)

1) かつこ内は標準誤差 (n=5)

イ比が高く、多量の窒素を集積していた。このため、土壌窒素と施肥窒素をエンレイと同等に吸収し、後作のために残した窒素量がエンレイと変わらなかった可能性がある。逆に実験 1 ではエンレイに対する増収率が比較的低かったため、後作の生育促進効果が実験 1 ～ 3 の中で最も大きかったと考えられる。このように、後作トウモロコシの生育は前作ダイズの窒素吸収量に影響される。しかし、本節の 3 つの実験において、作系 4 号はエンレイに比べて後作の生育を同等、あるいはそれ以上にする効果を示すことが明らかとなった。

実験 3 におけるタマホマレ跡との比較では、作系 4 号跡のトウモロコシの生育が若干優る傾向にあった（図 2-13, 表 2-8）。タマホマレ栽培時の子実収量や窒素集積量は作系 4 号に比べて劣っていたが、窒素固定量が作系 4 号より少ないために、より多くの土壌窒素及び施肥窒素を吸収したためと考えられる。

実験 1 において、前作のダイズの地下部残渣を残した場合と取り除いた場合を比較した。その結果、両者に大きな差はなかったが、作系 4 号については地下部残渣があった方が、後作のトウモロコシの窒素集積量が多い傾向にあった（表 2-5）。また、地上部の残渣は本節の実験ではすべて持ち出したが、実際の圃場においてコンバイン収穫した場合には、子実以外の部分は圃場に還元される。地上部、地下部をあわせた残渣部分の個体当たり窒素集積量は、本章第 1 節の 2002 年の実験結果では、作系 4 号の方がエンレイより 55 ～ 72 % 多かった。これらが土壌に還元された場合、作系 4 号跡の方が土壌の窒素肥沃度が高まり、後作の生育にさらに有利と考えられる。

実験 2 においては、ダイズに重窒素標識窒素を施与することによって、後作の生育を促進するのが、前作施肥由来の窒素なのか、土壌由来の窒素なのかを検討した（表 2-7）。その結果、作系 4 号跡のトウモロコシは前作施肥由来、土壌由来いずれの窒素も、エンレイ跡より 24 ～ 33 % 多く集積していたが、作系 4 号跡におけるトウモロコシ集積窒素のエンレイ跡と比べた増加分は、6 ～ 12 % が施肥窒素由来、88 ～ 94 % が土壌窒素由来であった。すなわち、作系 4 号跡では主に土壌由来の窒素が後作物の生育を促進していると考えられた。

### 第3章 作系4号の水田転換畑における多収化栽培技術の開発

前章までに根粒超着生品種作系4号を開発し、次のような優れた特徴を明らかにした。研究所内の普通畑圃場における試験結果からは、作系4号はエンレイ並の収量性があり、収量水準が低い場合にはエンレイを越える傾向にあることを明らかにした（第1章）。ポット試験の結果からは、作系4号は開花期以降の全期間を通じて窒素固定能力が高いこと、そのため子実肥大期の葉から子実への窒素の転流に伴う葉の機能低下が生じにくく、光合成速度が高く保たれ、生育後期の乾物生産性に優れ、子実収量が高いこと、また、窒素固定量が多い反面、土壌窒素と施肥窒素の吸収量が少ない傾向にあり、土壌中に窒素を残すことで後作物の生育を改善する効果があることなどを明らかにした（第2章）。これらの作系4号の特徴は、従来ほとんど認められていなかった根粒超着生品種の農業での利用を検討する価値があることを示している。

本章では、我が国のダイズ作付け面積の約85%を占める水田転換畑で作系4号を栽培し、その収量性などを検討することにより、多収化栽培技術の開発を図った。第1節では作系4号を耕起栽培し、乾物生産特性、収量性などをエンレイと比較した。第2節では、水田転換畑における作系4号の安定多収化をさらに図るため、省力的栽培法として注目され、かつ、初期生育の劣る作系4号の短所を補うことが予想された不耕起狭畦栽培に対する作系4号の適応性を検討した。

#### 第1節 水田転換畑への適応性の検討

作系4号の圃場での収量性、乾物生産特性については第1章第1節において研究所内の普通畑（淡色黒ボク土）で3ヶ年検討し、開花期以降の栄養生長量の多さが初期生育量の少なさを補なうこと、収量は従来の根粒超着生系統 En6500 に比べて極めて多収で、通常の品種エンレイ並みであり、収量水準が低い場合にはエンレイと比較して多収を示すことを明らかにした。

ここで、わが国のダイズ生産の現状を見てみると、2003年度の全国のダイズ作付け面積151,900haの内、85%に相当する129,000haが水田転換畑で占められている。このため、根粒超着生品種の農業での利用を考える上で、水田転換畑での検討は必須である。

そこで本節では作系4号を茨城県南部の水田転換畑現地圃場で2カ年耕起栽培し、生育

途中の乾物生産特性、収量性等をエンレイと比較し、水田転換畑への適応性を検討した。

## 材料及び方法

### 1) 供試品種

根粒超着生品種作系 4 号，エンレイ，根粒非着生系統 En1282 の 3 種類を 1997，1998 年の 2 カ年供試した。

### 2) 栽培方法

栽培方法の概要を表 3-1 に示した。栽植様式は 1997 年は畦幅 60cm×株間 10cm，1998 年は畦幅 30cm×株間 20cm で，2 カ年とも 1 株 1 本立(栽植密度㎡当たり 16.7 個体)とした。化成肥料で N-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>-K<sub>2</sub>O をそれぞれ㎡当たり 3，12，12g 基肥で施用した。播種は 1997 年 6 月 15 日，1998 年 6 月 24 日に行った。1997 年は中耕培土を実施し，1998 年は無中耕無培土で栽培した。試験区の規模は，1997 年は 10 m<sup>2</sup> 3 反復，1998 年は 11 m<sup>2</sup> 4 反復で，いずれも乱塊法で実施した。

### 3) 使用圃場

本試験は茨城県稲敷郡新利根町南太田の水田転換畑現地圃場（泥炭土，山土客土）で実施した。なお，この現地では水田期間 2 年＋畑期間 2 年の田畑輪換を実施しており，1997 年は畑転換 2 年目の圃場，1998 年は畑転換 1 年目の圃場をそれぞれ使用し，前作物はいずれもオオムギであった。

### 4) 調査方法

1997 年は開花期（R2）と最大繁茂期（R3.5）に，1998 年は最大繁茂期に生育中の採取調査を行った。成熟期の収量等の調査は，1997 年は 1 処理区につき 2.6 m<sup>2</sup>，1998 年は 2.9 m<sup>2</sup>に含まれるダイズを収穫して行った。

## 結果

### 1) 生育・乾物生産特性

作系 4 号の開花期はエンレイに比べて 2～3 日遅く，成熟期はエンレイに比べて 9～11 日遅かった（表 3-2）。作系 4 号の主茎長はエンレイより 13～27 %短かったが，主茎節数はエンレイより 1.4 節多く，分枝数，個体当たり分枝節数及び総節数はエンレイと有

表 3－1 水田転換畑におけるダイズの耕種概要  
(茨城県新利根町現地圃場。1997, 1998 年)

	1997	1998
播種日	6.15	6.24
反復	3	4
1 区面積 (m <sup>2</sup> )	10	11
畦幅 (cm)	60	30
株間 (cm)	10	20
栽植密度 (本 m <sup>-2</sup> )	16.7	16.7
窒素 (N g m <sup>-2</sup> )	3	3
リン酸 (P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> g m <sup>-2</sup> )	12	12
カリ (K <sub>2</sub> O g m <sup>-2</sup> )	12	12
サンプリング時期	R2, R3.5, R8	R3.5, R8
成熟期の採取面積 (m <sup>2</sup> )	2.6	2.9

表 3 - 2 水田転換畑におけるダイズ品種・系統の形態的特性及び生育ステージの進行  
(1997, 1998 年)

年次	品種・系統	主茎長 (cm)	主茎節数	分枝節数 (個体当)	総節数 (個体当)	開花期 (R2)	黄葉期 (R7) (播種後日数)	成熟期 (R8)
1997	作系 4 号	60.4 b	16.0 a	19.5 a	35.5 a	46 a	119 a	130 a
	エンレイ	69.8 a	14.6 b	17.9 ab	32.5 ab	43 b	108 b	121 b
	En1282	63.0 b	14.8 b	14.1 b	28.9 b	43 b	103 c	116 c
1998	作系 4 号	43.2 b	--- <sup>2)</sup>	---	---	43 a	108 a	120 a
	エンレイ	59.4 a	---	---	---	41 b	95 b	109 b
	En1282	43.6 b	---	---	---	42 a	93 c	107 b

1) 同一年の各項目において、同じアルファベットが付いていない平均値は Tukey の HSD 検定による 5%水準の有意差がある。

2) 未調査。

意差がなかった。

1997 年の作系 4 号の地上部乾物重は、開花期 (R2) にはエンレイ比 53 %であったが、生育後期の乾物生産が旺盛で、最大繁茂期 (R3.5) には 65 %、成熟期 (R8) には 95 % となった (表 3-3)。すなわち、第 1 章第 1 節の普通畑と同様に、水田転換畑における作系 4 号の生育前～中期の生長量はエンレイより小さいが、後半の旺盛な生育によってエンレイとの差が縮まって成熟期には同程度となった。この傾向は 1998 年も同様であった。

一方、最大繁茂期 (R3.5) における作系 4 号の莢実乾物重は、エンレイより明らかに小さかった (表 3-3)。1997 年の作系 4 号の開花期 (R2) の葉面積指数 (LAI) はエンレイ比 52 %と小さかったが、最大繁茂期にはエンレイ比 81 %が確保され、また、1998 年の最大繁茂期にはエンレイ比 96 %の葉面積が確保されていた。

1997 年の開花期から最大繁茂期までの RGR (相対生長率) と NAR (純同化率) はエンレイに比べて作系 4 号の方が高い傾向にあったが、有意差は認められなかった (表 3-3)。

また、最大繁茂期の葉の窒素含有率は、1997 年は作系 4 号で 5.08 %、エンレイ 4.63 %、1998 年は作系 4 号で 5.44 %、エンレイ 5.18 %で、作系 4 号の方がエンレイより高かった (データ略)。

## 2) 収量特性

作系 4 号の子実収量は 1997 年と 1998 年ともエンレイと有意差がなかったが、比較的低収だった 1998 年にはエンレイより勝り、高収だった 1997 年には劣る傾向にあった (表 3-4)。作系 4 号はエンレイに比べ着莢数はまさるが、百粒重が劣る傾向にあった。

## 考察

水田転換畑現地圃場での作系 4 号の生育の特徴は、研究所内の普通畑の場合と類似していた。すなわち、作系 4 号の生育前期の生長量はエンレイより小さいが、開花期 (R2) 以降、急速な葉面積の拡大等によって栄養生長量を確保し、成熟期にはエンレイと同程度の乾物生産量を示した (表 3-3)。作系 4 号の子実収量は平均するとエンレイ並であったが、1998 年にはエンレイより勝り、1997 年には劣る傾向にあった (表 3-4)。同時に供試した根粒非着生系統 En1282 の収量は、1997 年には  $271\text{g m}^{-2}$  (エンレイ比 53 %) であるのに対して、1998 年には  $106\text{g m}^{-2}$  (エンレイ比 36 %) と低収であった。これは 1997 年に比べて 1998 年の転換畑において、ダイズに利用可能な土壌由来の窒素量が少なかった

表 3-3 水田転換畑におけるダイズ品種・系統の乾物生産特性 (1997, 1998 年)

年次 品種・系統	地上部乾物重			莢実 乾物重 R3.5 (g m <sup>-2</sup> )	葉面積指数		葉面積 生長速度		NAR R2-R3.5 (g m <sup>2</sup> d <sup>-1</sup> )	LAR R2-R3.5 (m <sup>2</sup> g <sup>-1</sup> )
	R2	R3.5	R8		R2	R3.5	R2-R3.5	R2-R3.5		
	(g m <sup>-2</sup> )	(g m <sup>-2</sup> )	(g m <sup>-2</sup> )				(m <sup>2</sup> m <sup>-2</sup> d <sup>-1</sup> )	(g g <sup>-1</sup> d <sup>-1</sup> )		
1997										
作系 4 号	141 b	357 b	832 a	0 b	2.73 b	5.28 b	0.196 a	0.0709 a	4.26 a	0.0167 a
エンレイ	268 a	546 a	880 a	7 a	5.24 a	6.54 ab	0.100 a	0.0545 a	3.64 a	0.0151 b
En1282	247 a	511 a	574 b	3 b	4.90 a	6.81 a	0.147 a	0.0560 a	3.50 a	0.0160 ab
1998										
作系 4 号	--- <sup>2)</sup>	416 a	543 a	74 a	---	4.71 a	---	---	---	---
エンレイ	---	603 a	566 a	133 a	---	4.92 a	---	---	---	---
En1282	---	423 a	252 b	63 a	---	4.20 a	---	---	---	---

1) 同一年の各項目において、同じアルファベットが付いていない平均値は Tukey の HSD 検定による 5%水準の有意差がある。

2) 未調査。



表 3-4 水田転換畑におけるダイズ品種・系統の収量及び  
収量構成要素 (1997, 1998 年)

年次	品種・系統	子実収量 (g m <sup>-2</sup> )	着莢数 (m <sup>-2</sup> )	一莢内粒数	百粒重 (g)
1997	作系 4 号	475 a	857 a	1.77 a	31.2 ab
	エンレイ	511 a	781 a	1.84 a	35.6 a
	En1282	271 b	546 b	1.81 a	27.5 b
1998	作系 4 号	305 a	647 a	1.70 a	27.9 a
	エンレイ	294 a	566 b	1.67 ab	31.1 a
	En1282	106 b	341 c	1.57 b	19.6 b

1) 同一年の各項目において、同じアルファベットが付いていない  
平均値は Tukey の HSD 検定による 5%水準の有意差がある。

ことを反映していたと考えられる。1997 年は転換 2 年目、1998 年は転換初年目の別の圃場であるため、転換後の年数やその年次の気象条件の差に基づく土壌窒素の無機化量の違い、及び圃場の元来の窒素肥沃度の差等が、影響していたと考えられる。1998 年のような土壌窒素が利用されにくい低収条件下で、作系 4 号はエンレイより収量が若干上回る傾向にあったが、これは第 1 章第 1 節の普通畑において、低収年次に作系 4 号の収量がエンレイより優れたことと同様の傾向であった。

普通畑の試験と異なっていた結果は、主茎長がエンレイより短いことであった（表 3-2）。特に 1998 年はエンレイより 16cm も短かったが、これにはこの年の栽植様式が狭畦（30cm）・広株間（20cm）であったことが影響したと推察される。すなわち、広株間では生育初期の個体間競合が生じにくい、特に初期生育量の小さい作系 4 号でこの影響が大きく、節間伸長が少なくなり、主茎長が短くなったと考えられる。

また、本実験では、第 2 章第 2 節の 1998、1999 年のポット実験とは異なり、作系 4 号の子実肥大が長期間続いて百粒重が大きくなることはなかった（表 3-4）。生殖生長後半における百粒重の増大は、シンクの大きさ、すなわち、それ以前に確保された粒数、着莢数に影響されるので、作系 4 号の着莢数が多かった本実験では、葉の窒素含有率が高く、高い光合成能を維持できたとしても、百粒重は増大しにくかったものと考えられる。

以上のように、水田転換畑における 2 カ年の耕起栽培において、作系 4 号は普通畑と類似した生育・乾物生産特性を示した。収量性もエンレイにほぼ匹敵し、特に比較的低収の条件下ではエンレイよりやや多収傾向を示した。しかし、作系 4 号の一層の安定多収を確保するには、初期生育量が小さい等の短所を補うような、作系 4 号に適した栽培管理技術を開発する必要があると考えられた。

## 第 2 節 次世代型ダイズ栽培法：不耕起狭畦栽培への適応性と多収化技術

前節の結果を踏まえ、作系 4 号の一層の安定多収化のための栽培管理技術として不耕起狭畦栽培に着目した。

不耕起狭畦栽培は、前作のコムギ、オオムギ等を収穫した後の水田転換畑を耕起せずにダイズを播種し、しかも従来より狭い畦幅で栽培してダイズによる畦間の遮蔽を促進することで雑草の発生を抑制し、除草目的でもある中耕培土作業も省略する栽培法である。この方法は、労働時間やエネルギー消費を節約できる、梅雨の合間の土壌水分が高い状態で

も播種作業ができる、有機物の過度の消耗が抑制されるなどの利点を持つため注目されている（濱田 1993, 浜口 1998, 唐橋 1998, 小柳 1998）。しかし、不耕起栽培は根域が浅くなる、土壌窒素の無機化が抑制されるなどが原因となり、土壌窒素が利用されにくい側面も持っている。

このような土壌窒素が利用されにくい条件下では、根が小型ながら根粒が多量に着生する作系 4 号は、高い窒素固定能力を活かして収量を向上させることが期待できる。また、作系 4 号は根が小型なため、土壌が乾燥した場合に生育抑制等の害を受けやすいと考えられるが、転換畑における不耕起栽培は、乾燥時にも土壌水分が高く維持される傾向にあり、作系 4 号に適した栽培法であると想定される。さらに、狭畦栽培は、畦間を狭くするため同一栽植密度条件下では株間が広がり、初期の個体間競合が生じにくく、初期生育を促進する必要のある作系 4 号に適する可能性がある。

本節ではこれらの技術を組み合わせ、水田転換畑における作系 4 号の多収化栽培技術の開発を図った。

## 材料及び方法

### 1) 試験区の構成

#### (a) 供試品種

2000 ～ 2003 年の 4 カ年、作系 4 号及びエンレイを供試した（実験 1）。2004 年には作系 4 号の花粉親であることが 2003 年に判明したタマホマレを加え、作系 4 号及びエンレイと比較した（実験 2）。

#### (b) 耕起栽植法

2000 ～ 2004 年の 5 カ年、慣行栽培法と不耕起狭畦栽培法とを比較した。慣行栽培区（以下、耕起標準畦幅区と呼ぶ）は畦幅 60cm、栽植密度約 17 本/m<sup>2</sup>で、ロータリーシードで耕起・播種し（耕深約 15cm）、開花前に中耕培土を実施した。不耕起狭畦栽培区は畦幅 30cm、栽植密度約 27 本/m<sup>2</sup>で、農研センター式不耕起播種機で播種し、中耕培土は行わなかった。なお、両栽培法とも機械播種のため、栽植密度は年次により若干異なった。

#### (c) 窒素施肥法

2000 ～ 2005 年の 5 カ年、施肥は 2 水準で行い、標準施肥区には N-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>-K<sub>2</sub>O: 3-12-12(g

m<sup>2</sup>)を基肥で施用した。窒素増肥区には標準施肥に加え、N10g m<sup>-2</sup>を硫酸アンモニウムで播種2～3日後に畦間の表面に施用した。ただし、2000年のみN12g m<sup>-2</sup>を硝酸アンモニウムで施用した。

#### (d) 畦幅

不耕起条件下でのみ、不耕起標準畦幅区(60cm)と不耕起狭畦区(30cm)を2000, 2001, 2003年の3カ年比較した。

#### (e) 栽植密度

2002年には、不耕起狭畦条件下でのみ、不耕起狭畦標準密度区(19本/m<sup>2</sup>)と不耕起狭畦区(26本/m<sup>2</sup>)を比較した

以上のように、品種、耕起栽植法、窒素施肥法の3要因を組み合わせた試験を毎年実施し、年次によって畦幅、栽植密度の要因を補足的に組み合わせた。2000年～2003年は3反復、2004年は4反復で実施した。1区面積は31～52 m<sup>2</sup>であった。

### 2) 使用圃場

前節と同様に茨城県稲敷郡新利根町南太田の水田転換畑現地試験圃場(泥炭土水田、山土客土)で実施した。ここでは畑期間2年+水田期間2年の田畑輪換が行われているので、2000年は畑転換初年目圃場(オオムギ跡)、2001年は前年と同一の転換2年目圃場(コムギ跡)、2002年は前年と異なる畑転換初年目圃場(コムギ跡)、2003年は前年と同一の転換2年目圃場(コムギ跡)、2004年には前年と異なる転換2年目圃場(オオムギーダイズーコムギ跡)を使用した。

### 3) 播種日

2000年6月8日、2001年6月26日、2002年6月21日、2003年6月27日、2004年6月23日であった。

### 4) 調査方法

2000～2004年は開花期(R2)と最大繁茂期(R3.5)及び成熟期(R8)の3回、2004年は開花期(R2)と成熟期(R8)の2回、採取調査を行った。採取面積は生育途中の調査は1区約1.2 m<sup>2</sup>、成熟期調査は約3.6 m<sup>2</sup>とした。採取した植物体は75℃で48時間乾燥後、乾物重を測定した。子実収量、百粒重は水分15%ベースで算出した。

## 結果

### 実験1：エンレイと比較した作系4号の不耕起狭畦栽培への適応性（2000～2003年）

#### 1）開花期（R2）における生長量

m<sup>2</sup>当たり地上部乾物重（以下、乾物重と略す）は、同一施肥条件で比較すると両品種とも耕起標準畦幅区に比べて不耕起狭畦区で大きかった（表3－5）。増加率は、エンレイでは4ヶ年平均で29～33％であるのに対して、作系4号では131～136％と著しく高かった。不耕起狭畦区の栽植密度は耕起標準畦幅区に比べて約60％高かったため、エンレイでは個体当たり乾物重が18～21％減少したが、作系4号では密植にもかかわらず、25～48％増加した。

窒素増肥によって両品種とも乾物重が増加した（表3－5）。増加率はエンレイでは11～14％、作系4号ではこれより高く22～25％であった。

品種間で比較すると耕起栽植法、施肥法にかかわらず、作系4号の方がエンレイより乾物重が小さかった（表3－5）。

不耕起栽培における狭畦区と標準畦幅区を比べると、両品種とも狭畦区で乾物重が増加した（表3－6）。増加率はエンレイでは23％、作系4号で29％であった。

不耕起狭畦栽培における栽植密度が乾物重に及ぼす影響は明らかでなかった（表3－7）。

#### 2）最大繁茂期（R3.5）における生長量

不耕起狭畦区と耕起標準畦幅区の乾物重の差は、開花期に比べて両品種とも小さくなった。作系4号では不耕起狭畦区の方が依然58～61％高かったが、エンレイでは差が10％以下になった（表3－5）。

窒素増肥による乾物重の増加率は、作系4号では開花期とほぼ同等の25～26％であったが、エンレイでは開花期より差が小さくなった（表3－5）。

品種間で比較すると耕起栽植法、施肥法にかかわらず、作系4号の方がエンレイより乾物重が小さかったが、両品種の差は開花期より縮小した（表3－5）。

不耕起栽培における狭畦による乾物重の増加効果は両品種とも開花期より小さくなり、有意差がなくなった（表3－6）。

不耕起狭畦栽培における密植による乾物重の増加は認められず、減少する傾向にあった（表3－7）。

表 3-5 水田転換畑における耕起・栽植法及び施肥法がダイズ品種の生育収量に  
およぼす影響 (2000-2003 年の 4 ヶ年平均)

耕起栽植法 施肥法	品 種	R2 乾物重 (g m <sup>-2</sup> )	R2 個体当 乾物重 (g)	R3.5 乾物重 (g m <sup>-2</sup> )	子実収量 (g m <sup>-2</sup> )	着莢数 (m <sup>-2</sup> )	一莢内粒数	百粒重 (g)
耕起標準畦幅								
標準肥	作系 4 号	91 b *	5.1 b *	307 b + *	254 b *	517 b *	1.67 a	30.0 b
標準肥	エンレイ	228 a + *	13.1 a + *	582 a + *	309 a	596 a	1.70 a	31.3 a
-----								
N 増肥	作系 4 号	111 b *	5.8 b *	388 b + *	258 b *	563 a *	1.62 b *	29.1 b *
N 増肥	エンレイ	260 a + *	14.3 a + *	648 a +	325 a	611 a	1.75 a	31.1 a
-----								
不耕起狭畦								
標準肥	作系 4 号	210 b + *	6.4 b + *	493 b + *	358 a + *	720 a + *	1.71 a	29.6 a
標準肥	エンレイ	304 a + *	10.3 a + *	635 a *	328 b	638 b	1.75 a	30.3 a +
-----								
N 増肥	作系 4 号	262 b + *	8.6 b + *	613 a + *	389 a + *	772 a + *	1.71 a *	30.4 b *
N 増肥	エンレイ	336 a + *	11.7 a + *	662 a	332 b	634 b	1.69 a	31.6 a +

- 1) 品種間差：異なるアルファベットが付いた値は，同一施肥法の同一耕起栽植法条件下で，5 % 水準の有意差がある (Bonferroni 法, 以下同じ)。
- 2) 施肥法間差：+印が付いた値は，同一品種の同一耕起栽植法条件下で，5 % 水準の有意差がある。
- 3) 耕起栽植法間差：\*印が付いた値は，同一品種の同一施肥法条件下で，5 % 水準の有意差がある。

表 3－6 畦幅が水田転換畑の不耕起栽培におけるダイズ品種の生育収量におよぼす影響  
(2000, 2001, 2003 年の 3 ケ年平均)

畦幅	品種	R2 乾物重 (g m <sup>-2</sup> )	R3.5 乾物重 (g m <sup>-2</sup> )	子実収量 (g m <sup>-2</sup> )	着莢数 (m <sup>-2</sup> )	一莢内粒数	百粒重 (g)
標準畦幅	作系 4 号	181 b *	519 b	346 a *	663 a *	1.70 b	31.5 a *
標準畦幅	エンレイ	264 a *	626 a	338 a	617 b	1.76 a	31.9 a
狭畦	作系 4 号	234 b *	565 b	378 a *	750 a *	1.71 a	30.3 b *
狭畦	エンレイ	325 a *	668 a	331 b	612 b	1.77 a	31.4 a

1) 標準畦幅 60cm, 狭畦 30cm。

2) 施肥法をこみにした平均値。

3) \*印が付いた値は, 同一品種の畦幅間に 5 %水準の有意差がある (Bonferroni 法, 以下同じ)。

4) 異なるアルファベットが付いた値は, 同一畦幅条件下で, 品種間に 5 %水準の有意差がある。

表 3－7 栽植密度が水田転換畑の不耕起狭畦栽培における  
ダイズ品種の生育・収量におよぼす影響 (2002 年)

栽植密度	品種	R2 乾物重 (g m <sup>-2</sup> )	R3.5 乾物重 (g m <sup>-2</sup> )	子実収量 (g m <sup>-2</sup> )
標準密度	作系 4 号	213 b	556 b	359 a
標準密度	エンレイ	312 a	653 a	333 b
密植	作系 4 号	242 b	517 b	362 a
密植	エンレイ	306 a	590 a	329 b

- 1) 栽植密度：標準 19 本／m<sup>2</sup>，密植 26 本／m<sup>2</sup>。
- 2) 施肥法をこみにした平均値。
- 3) 両品種のすべての項目において栽植密度間に有意差はない (Bonferroni 法 5 %水準)。
- 4) 異なるアルファベットが付いた値は，同一栽植密度条件下で品種間差に 5 %水準の有意差がある (Bonferroni 法 5 %水準)。



### 3) 収量及び収量構成要素

作系4号の子実収量は、耕起標準畦幅区に比べて不耕起狭畦区で顕著に増大し、4ヶ年の平均で標準施肥条件下では41%、窒素増肥条件下では51%増加した(表3-5)。収量構成要素からみて、この増収は着莢数の増加によるところが大きく、窒素増肥条件下では一莢内粒数と百粒重の増加も影響していた(表3-5)。一方、エンレイでは不耕起狭畦栽培による増収効果はなかった。

窒素増肥による増収は作系4号の不耕起狭畦区でのみ見られ、増収率は9%であり、着莢数の増加に起因していた(表3-5)。

品種間で比較すると、耕起標準畦幅区ではエンレイの収量が高かった(表3-5)。一方、不耕起狭畦区では作系4号の方が多収であった。全処理区の中で最高値を示した不耕起狭畦・窒素増肥区の作系4号の収量(389 g m<sup>-2</sup>)は、同一栽培法のエンレイ(332 g m<sup>-2</sup>)より17%高く、慣行栽培法(耕起標準畦幅・標準施肥区)のエンレイ(309 g m<sup>-2</sup>)より26%高かった。なお、不耕起狭畦区で作系4号の収量がまさったのは着莢数が多いことに起因していた(表3-5)。

不耕起栽培における狭畦による増収は作系4号でのみ認められ、増収率は9%であり、着莢数の増加に起因していた(表3-6)。

不耕起狭畦栽培における密植による増収効果はなかった(表3-7)。

以上のように、4カ年にわたる現地転換畑圃場における試験の結果、作系4号は不耕起、狭畦、窒素基肥増肥を組み合わせた栽培方法の改善によって初期の生長量(開花期の乾物重)が確保され、それに伴って子実収量が増加した。図3-1に示すように、作系4号の開花期乾物重と子実収量の間には直線的な関係が認められたが、エンレイではこの傾向は認められなかった。

## 実験2：タマホマレを加えて比較した作系4号の不耕起狭畦栽培への適応性(2004年)

### 1) 開花期(R2)における生長量

2004年の各品種の不耕起狭畦区のm<sup>2</sup>当たり乾物重は、耕起標準畦幅区に比べて大きかった(表3-8)。その増加率はタマホマレで40~67%、エンレイで37~52%であるのに対して、作系4号では203~297%で、作系4号では差が顕著であった。2004

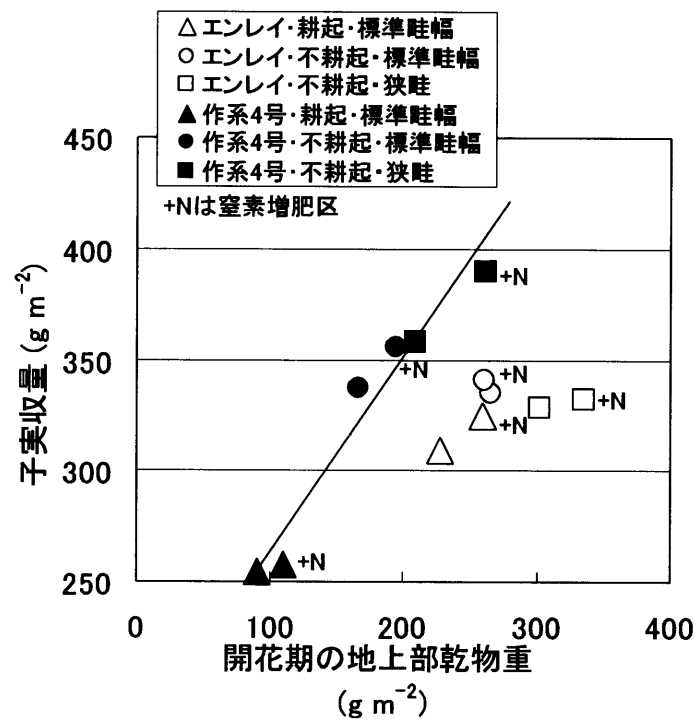


図3-1 ダイズ品種の開花期乾物重と子実収量  
(2000～2003年の4カ年平均。不耕起・標準畦幅  
のみ2002年不実施のため3カ年平均)。

表 3-8 水田転換畑における耕起・栽植法及び施肥法がダイズ品種の生育収量に及ぼす影響 (2004 年)

耕起栽植法	施肥法	品種	R2 乾物重 (g m <sup>-2</sup> )		R2 個体当乾物重 (g)	子実収量 (g m <sup>-2</sup> )
耕起標準畦幅						
	標準施肥	作系 4 号	68 b *		4.9 b *	163 b *
	標準施肥	エンレイ	268 a *		19.3 a *	258 a
	標準施肥	タマホマレ	251 a *		18.6 a *	257 a *
-----						
	N 増肥	作系 4 号	79 b *		5.8 b *	210 b *
	N 増肥	エンレイ	278 a *		19.5 a *	289 a
	N 増肥	タマホマレ	242 a *		19.1 a *	290 a
-----						
不耕起狭畦						
	標準施肥	作系 4 号	207 b + *		7.2 b + *	292 b *
	標準施肥	エンレイ	366 a + *		14.2 a + *	300 ab
	標準施肥	タマホマレ	350 a + *		14.2 a + *	368 a *
-----						
	N 増肥	作系 4 号	312 b + *		11.6 b + *	297 ab *
	N 増肥	エンレイ	424 a + *		16.1 a + *	244 b
	N 増肥	タマホマレ	405 a + *		18.6 a + *	322 a

- 1) 品種間差：同じアルファベットが付いていない値は、同一耕起栽植法の同一施肥法条件下で、5%水準の有意差がある (Bonferroni 法, 以下同じ)。
- 2) 施肥法間差：+印が付いた値は、同一品種の同一耕起栽植法条件下で、5%水準の有意差がある。
- 3) 耕起栽植法間差：\*印が付いた値は、同一品種の同一施肥法条件下で、5%水準の有意差がある。

年の不耕起狭畦区の栽植密度は耕起標準畦幅区に対して約 90 %増であり、タマホマレとエンレイの不耕起狭畦区では耕起標準畦幅区より個体当たり乾物重が減少したが、作系 4 号では密植にもかかわらず、個体当たり乾物重が増加した（表 3－8）。

乾物重に及ぼす窒素増肥の影響は、不耕起狭畦条件下ではいずれの品種でも認められた（表 3－8）。増加率はタマホマレとエンレイでは共に 16 %であったが、作系 4 号ではこれらより大きく 51 %であった。

品種間で乾物重を比較すると、耕起栽植法、施肥法にかかわらず、作系 4 号が他の 2 品種より小さかった。

## 2) 収量

作系 4 号の子実収量は、耕起標準畦幅区に比べて不耕起狭畦区で増大し、標準施肥条件下では 79 %，窒素増肥条件下では 41 %増であった（表 3－8）。タマホマレの標準施肥条件下においては耕起標準畦幅区に比べて不耕起狭畦区で 43 %の増収が認められた。タマホマレの窒素増肥区及びエンレイでは耕起栽植法間に有意差はなかった。

施肥法による収量差はいずれの条件下でも認められなかった。

品種間では、耕起標準畦幅条件下においては作系 4 号の収量がタマホマレ及びエンレイに比べて有意に低かった。不耕起狭畦条件下においてはタマホマレの標準施肥区の収量が最も高く、同条件下の作系 4 号の収量との間に有意差があった。

## 考察

本節では、次世代型省力栽培法として注目される不耕起狭畦栽培法への作系 4 号適応性を検討し、この栽培法によるさらなる多収化技術の開発を目指した。

作系 4 号の短所として、生育初期から前期の生長量が小さいことが挙げられるが、いくつかの栽培方法の改善によって開花期の乾物重を確保すると、それに伴って子実収量が増大する傾向が作系 4 号では認められ、エンレイではこの傾向は明瞭でなかった。以下、それぞれの栽培法が初期の生長量と収量に与えた影響を中心に考察する。

### 1) 不耕起栽培の影響

作系 4 号は生育初期の生長量が小さいが、その程度は年次や圃場によって異なり、特に、少雨・乾燥時にこの現象が強まる傾向が観察された。根粒が着生する条件下では作系 4 号

の根量はエンレイに比べて少ない（第2章第2節）。このことから、特に根が未発達な生育初期に土壌が乾燥した場合、作系4号はエンレイより水分ストレスを受けやすいと考えられた。

今回使用した新利根町の圃場において、土壌の乾燥時には不耕起圃場の方が耕起圃場より土壌水分が高く保たれるという結果が得られている（伊藤ら未発表）。本節の実験において、作系4号の不耕起狭畦区では耕起標準畦幅区に比べて約2.3倍の開花期乾物重があった（表3-5）。不耕起狭畦区が耕起標準畦幅区より約60%密植であったこと、及び不耕起条件下で狭畦区が標準畦幅区より約30%開花期乾物重がまさったことを差し引いても、作系4号では不耕起による開花期乾物重の増大効果があったと判断された。これは、不耕起圃場では下層からの毛管上昇により、根が分布する比較的浅い土層の水分が高く保たれたためと推察された。水田転換畑では多くの場合、深い土層は比較的湿潤であるので、下層からの水分上昇の効果が現れやすいと考えられた。

一方、耕起標準畦幅区で行った中耕培土が不耕起狭畦区では省略されたことも作系4号の初期生長量増加に効果があったと推察される。中耕培土には、除草効果、倒伏防止効果のほか、土壌の通気性の向上や不定根等の新根の発生を通じてダイズの生育・収量の向上に効果があるという報告が多いが（加藤ら1957、福井ら1959、石井ら1983）、増収効果が認められなかったり減収したという結果も報告されている（島田1985）。

作系4号の場合、少ない根がようやく伸長したところに中耕培土を行うことにより、根が切断されて養水分が極端に供給されにくくなることが推測される。また、本実験では中耕培土作業を一般品種と同一方法で行っているため、初期生育量の小さい作系4号の茎葉は、1/3近くが培土に埋まる場合があった。さらに、作系4号は中耕培土時に畦間がほとんど遮蔽されてないため、中耕培土がかえって雑草の繁茂を助長して大幅な減収につながった年次（2003年）もあった。以上のように、作系4号の生育にとっては慣行の中耕培土が逆効果になる場合が多いと考えられた。

## 2) 窒素増肥の影響

基肥窒素の増量施用によって、作系4号、エンレイとも開花期乾物重が増加したが、その効果は作系4号の方が顕著であった（表3-5）。窒素増肥の効果として、第一にはいわゆるスタート窒素として、窒素固定が本格的に機能しない初期の生育段階の生長を促進することが考えられる。この効果が作系4号とエンレイに現れたと考えられた。第二には

初期の根粒着生を抑制し、根粒への炭水化物供給を減少させることによって、作系4号の栄養生長を促進した可能性がある。根粒超着生系統・品種には、土壤中の無機態窒素による根粒着生阻害が生じにくい性質があるが、それにも限度があり、高濃度の無機態窒素を培地に与えると根粒着生が抑制される (Takahashi et al. 1995)。

根粒超着生品種に期待される役割の一つに、高い窒素固定能力を活かして施肥量を低減することがある。本節に示した生育促進のための窒素増肥はこれには合致しない。しかし、窒素施肥に極めて反応しにくいことが、ダイズ収量の向上を困難にしている一大原因であるので (桑原 1986)、一定の施肥により効果的に生育・収量が改善できるならば、その利用も考慮されるべきであろう。ただし、本実験では処理の効果を明瞭にする目的で多量の窒素増肥を行っているが、今後は施肥量や、より株元に近づける等の施肥位置の検討を通じて、増収効果を維持しながら施肥量を減らすことが重要と考える。

### 3) 不耕起条件下における狭畦栽培の影響

作系4号、エンレイとも、不耕起狭畦区では不耕起標準畦幅区より開花期乾物重が増加した。ただし、その程度は作系4号の方が顕著であった (表3-6)。同一栽植密度条件下では狭畦にすることにより株間が広がり、株間競合が生ずる時期を遅らせることができるので、初期生長量の増大に効果があったと考えられた。また、雑草防除の観点からは、畦間は早期に遮蔽されることが望まれるが、特に初期生長量の小さい作系4号では、この点でも狭畦の方が有利と考えられた。

### 4) 不耕起狭畦条件下における密植の影響

不耕起狭畦条件下における密植は生長量増加及び増収に効果が認められなかった (表3-7)。本実験は、播種は大型機械で行い、不耕起播種は通常の播種に比べて出芽・苗立ちが不安定になることがあるため、播種量を多めに設定した。結果として、4カ年を通じて不耕起狭畦区は耕起標準畦幅区より60%程度の密植となったが、2002年の試験の結果では上記のように密植による増収は認められなかった。このことと倒伏防止の観点から、不耕起播種における出芽率の不安定性を考慮したとしても、播種量を標準栽植密度に近づける方が望ましいと考えられた。

### 5) 作系4号の収量性

2000 年から 2003 年の 4 カ年平均で作系 4 号の収量をエンレイと比較すると、耕起区では劣ったが、不耕起狭畦区では逆にエンレイより収量が優り、最も多収の不耕起狭畦・窒素増肥区では同じ栽培法のエンレイより 17 %、慣行栽培法のエンレイより 26 %多収になった。

一方、2004 年のタマホマレを含む試験では、作系 4 号の不耕起狭畦・標準施肥区の収量はタマホマレより劣り、エンレイとの収量差もみられなかった。2004 年の試験でタマホマレの成熟期は作系 4 号より 11 日遅かった（データ略）。第 2 章第 2 節のポット試験で成熟期の遅いタマホマレより作系 4 号の方が多収であったように、成熟期のみが収量を決めるわけではないが、生育期間が長いことは収量性に対して有利に働いたと考えられる。また、2004 年の作系 4 号の不耕起狭畦・窒素増肥区の開花期乾物重は、2000 ～ 2003 年の 4 カ年平均値と比べても高かったことから、この区で作系 4 号の収量が伸びなかったことは、開花期以降の生育に原因があると考えられる。2004 年は 10 月上旬は降水量が多く日照が少なかったが、このような気象条件のために、子実肥大期に光合成能が高い作系 4 号の特長が活かされなかった可能性が考えられた。

以上のように、水田転換畑における作系 4 号の不耕起狭畦栽培への適応性及び安定多収化技術を検討した結果、作系 4 号には不耕起狭畦栽培への適応性があると判断された。作系 4 号では初期の生長量（開花期の乾物重）の増大に伴って子実収量が増大する傾向が認められ（図 3 - 1）、土壌水分が高く保たれる不耕起条件、同一栽植密度では株間が広いことため初期生育の個体間競合が緩和される狭畦条件、初期生育を促進し根粒の過剰着生を抑制する窒素基肥増肥栽培法を組み合わせることにより、初期生長量が増大し、慣行の耕起栽培法より顕著に多収になることが明らかとなった。これらの栽培法の組み合わせにより、作系 4 号の収量は 4 カ年平均で同じ栽培法のエンレイより 17 %、慣行栽培法のエンレイより 26 %多収になった。しかし、年次によっては不耕起狭畦栽培によってもエンレイとの収量差がなく、タマホマレの収量に及ばない場合があった。このため、作系 4 号をエンレイやタマホマレに替えて普及させるには、不耕起狭畦栽培における収量性だけでは優位性が若干弱く、さらに、後作への影響、熟期の違い、子実中のカドミウム含有率の低さ（Arao et al. 2003）等を総合的に考慮して判断することが重要と考えられた。

## 総合考察

### (1) 根粒超着生品種開発の意義

多収のために窒素を多量に集積する必要があるダイズにおいて、窒素固定を活用する手段として注目されたのが、1980年代半ばから各国で作出された根粒超着生系統のダイズである(Caroll et al. 1985, Gremaud and Harper 1988, Akao and Kouchi 1992)。これらの系統は、通常の品種に比べて数倍以上の根粒を着生するので、これに基づく高い窒素固定能力を実際の農業におけるダイズの多収化や後作のための土壌窒素の保存に活用することが期待された。

しかし、これまで作出された根粒超着生系統の生育・収量は通常の品種に及ばなかった(Herridge et al. 1990, Wu and Haper 1991, Hussain et al. 1992, Pracht et al. 1994, Song et al. 1995, Zhao et al. 1998, Herridge and Rose 2000)。この原因としては、多量の根粒の形成、維持、窒素固定のために炭水化物を消費することや、根粒の多量形成と引き替えに根量が少なくなること等が考えられている(Gremaud and Harper 1989, Hansen et al. 1989, Ohyama et al. 1993, Takahashi et al. 1995)。個体当たりの窒素固定能力も、生育の前期には高いが(Gremaud and Harper 1989, Haider et al. 1991)、生育後半になると優位性が認められないことが報告されている(Eskew et al. 1989, Wu and Harper 1991, Day et al. 1986)。

根粒超着生と関わりない劣った形質が生育抑制に関与している可能性もあることから(Pracht et al. 1994)、根粒超着生系統と通常の品種との交配も試みられたが、通常の5～6倍以上の真の意味での根粒超着生品種の開発はこれまで世界的に成功していなかった。根粒数が通常の2倍程度の中間的根粒超着生系統からは唯一、品種「Nitrobean60」がオーストラリアで開発されているが、この品種も広く普及はしていない。

また、根粒超着生系統が収穫後の土壌中に窒素を残し、後作物の生育を改善する効果についてもいくつかの報告があるが、効果の有無についての結果が分かれている(Song et al. 1995, Zhao et al. 1998, Maloney and Oplinger 1997)。

このように世界的に根粒超着生系統の農業的価値がほとんど認められていない状況下で、生育収量が大幅に改善された品種、作系4号が育成された意義は大きい。作系4号は第3章第2節で示したように適切な栽培方法を用いれば、通常品種のエンレイ以上の収量を得ることが可能である。作系4号は根粒超着生系統に当初期待された農業上での利点を有すると考えられる初の根粒超着生品種である。作系4号は現在、種苗法に基づ



く品種登録を出願中である（出願番号 14688、品種名は「関東 100 号」に変更予定）。

## （２）作系４号の優れた基本的特徴

### １）開花期間の栄養生長

作系４号の収量改善の一要因として、本研究では栄養生長と生殖生長が並行して進む開花期間中の茎葉の生長量が増大したことが考えられた。開花期間の良好な栄養生長は、根粒超着生系統の一般的な欠点である生育初期からの多量の根粒形成による生育前期の栄養生長量不足を補う効果がある。藤田・田中(1980)は、炭水化物のソースであり窒素のシンクである地上部の生育量の大小はダイズの窒素固定能を制御する重要な要因であると報告している。すなわち、地上部の生育改善によって、葉面積が増加することは、根粒形成及び根粒における窒素固定のために必要な光合成産物のソースの増加を意味し、また着花・着莢部位である節数の増加は、根粒で固定された窒素のシンクである莢数の増加に密接に関係している。多量の根粒の潜在的窒素固定能力が引き出されるためには、一定以上の地上部の生育が確保されることが必要と考えられ、作系４号はこの点で優れていると考える。

### ２）根量

根粒超着生系統は一般に根量が少ない。ミヤコグサの根粒超着生系統は根粒非着生条件下でも根の総量が少ない等の異常な特徴を示すと報告されているが (Wopereis et al. 2000), 根粒非着生条件下で、エンレイと遺伝的背景が近いと考えられる En-b0-1 の根量がエンレイより著しく少ないことから、ダイズでも同様の現象が生じている可能性がある。一方、作系４号は、根粒非着生条件下ではエンレイを上回る根量であった。根の発達は養水分の吸収を通じて、個体全体の生育を左右するので、根量の増加が作系４号の収量等の改善に果たした役割は大きいと考えられる。

なお、作系４号の根量の増加と開花期間中の旺盛な栄養生長は、根粒非着生条件下でも見られることなどから、花粉親タマホマレ由来の性質であると推察された。これらの性質が加わることで、根粒超着生品種である作系４号の持つ潜在的な高い窒素固定能力が発揮されて、生育、収量の改善が可能になったと考えられる。

### ３）窒素固定能力

アセチレン還元法による窒素固定活性や重窒素標識肥料を用いた窒素固定量の測定結果から（第２章第１節）、作系４号はエンレイに比べて個体当たりの窒素固定能力が顕著に高いことを実証した。タマホマレとはアセチレン還元能等の比較を行っていないが、第２

章第2節で示した根粒非着生系統 En1282 の窒素集積量を使って、差引法により窒素固定量を推定すると、タマホマレ 3.89g に対し作系4号は 4.55g と多いことがわかった。また、作系4号は通常の品種より土壌窒素及び施肥窒素の吸収量が少ないことから、タマホマレとの窒素固定量の差は差引法で見積もられるよりもさらに大きかったと推察される。

このような、作系4号の窒素固定能力の高さは、第2章第2節に示したように、特に生育後期のダイズの窒素要求量が高い時期に、茎葉の窒素含有率や葉のクロロフィル含有率、及び光合成速度がエンレイ、タマホマレより高い結果をもたらしたと考えられる。高い光合成能が維持されることで、根粒への炭水化物の供給も確保されるので、窒素固定能力もまた高く保たれると考えられる。言い換えれば、Sinclair と de Wit (1975) が提唱した自己破壊、すなわち子実肥大のために茎葉から大量の窒素が子実に転流し、光合成能をはじめとするダイズのソース機能が低下する現象が、作系4号では生じにくいと考えられる。これこそが、諸作物中でも窒素要求性の最も高いダイズの収量を向上させうる、作系4号の優れた特徴であると考えられる。

### (3) 作系4号の収量性

では、実際の収量性はどうかであろうか。第2章第2節に示したように、ポット試験においては作系4号はタマホマレやエンレイ以上の子実収量を示し、ポテンシャルとしての能力の高さが明らかにされた。一方、圃場においては、年次、圃場の種類、栽培法などによりエンレイに比べて多収を示す場合とそうでない場合があった。ポット試験のように、土壌水分、気温等の環境条件が良好に保たれる場合には、作系4号は窒素固定の高い潜在能力を活かせるが、圃場条件下では必ずしもその能力を活かせない場面があると考えられた。

第3章第2節では、省力的栽培法として注目されている転換畑での不耕起狭畦栽培への適応性を検討した。その結果、①土壌水分が高く保たれる不耕起、②同一栽植密度では株間が広いため初期生育の個体間競合が緩和される狭畦、③初期生育を促進し、根粒の過剰着生を抑制する基肥窒素増肥栽培の三つを組み合わせ、初期生長量を増大させることによって、作系4号では同じ栽培法のエンレイより4カ年平均で 17 %、慣行栽培法のエンレイより 26%多収になった。作系4号の収量は初期生長量の増加にしたがって増加する特徴を示したが、この場合には高い窒素固定能力を活かすことができたと考えられる。一方、エンレイではこの傾向は認められなかったが、エンレイでは子実肥大期の窒素供給が

制限要因になっているためと推察された。このように、次世代型省力栽培法として注目されている不耕起狭畦栽培においては、作系4号の能力を十分発揮でき、エンレイを超える収量が得られることが示された。

一方、圃場におけるタマホマレとの収量比較は、タマホマレが花粉親と判明した後の2004年に実施した。1カ年のみの結果であるが、この試験では作系4号のタマホマレに対する収量の優位性はみられなかった。タマホマレは作系4号に比べて晩生であるために、収量性に関しては有利であり、作系4号の子実肥大期の天候不順もあって、晩生の有利性をを超えるほど作系4号の窒素固定の潜在能力が十分発揮されなかったと考えられた。

#### (4) 作系4号の収量性以外の優位性

##### 1) 熟期

では、タマホマレに対して収量性以外に作系4号の利点はあるであろうか。その一つとして、熟期の早さが挙げられる。研究所内圃場における3カ年平均値では、タマホマレの成熟期11月5日に対して、作系4号は10月27日と9日早かった。農業現場で普及しているコンバイン収穫では、脱粒性を高め、茎の水分による汚粒発生を防ぐため、成熟期より10日から2週間程度遅く収穫する必要がある。上記の成熟期から関東地方でのコンバイン収穫適期を推測すると、作系4号では11月6～10日であるが、タマホマレでは11月15日～19日となる。ダイズ・コムギの作付け体系は広く採用されているが、関東地方のコムギの播種適期は11月上～中旬とされている。ダイズの収穫やコムギ播種に数日要することを考慮すると、作系4号ならばコムギの適期播種が可能だが、タマホマレでは困難と考えられる。

##### 2) 豆腐適性

国産大豆の約50%は豆腐、油揚げに使われており、豆腐用としての適性は品種の重要な評価基準である。タマホマレは子実のタンパク質含有率が低いため、豆腐収率が低く、固まりにくいので、豆腐製造業者の評価が低い。2002年における作系4号、エンレイ、タマホマレの子実のタンパク質含有率を示したのが表4-1である。圃場、播種期の異なる3条件下で、作系4号はタマホマレよりタンパク質含有率が1割程度高かった。また、豆腐用品種であるエンレイと比較しても高かった。

さらに、作系4号の豆腐用としての適性を検討するため、2002年と2004年の2回、豆腐店に依頼して作系4号とエンレイの豆腐を作り、研究所一般公開時の来訪者を対象に、

表 4－1 異なる 2 カ所の研究所内圃場で収穫したダイズ品種の  
子実中の粗タンパク質含有率（％）（2002 年）

圃場	播種期	作系 4 号	エンレイ	タマホマレ
H C <sup>2)</sup>	早播	47.1	45.4	42.6
	標準播	46.2	43.4	40.6
H B <sup>2)</sup>	標準播	46.3	45.3	42.3

1) 近赤外線分析装置による測定値。窒素含有率× 6.25 で算出。

2) 研究所内圃場の記号，2 カ所とも淡色黒ボク土普通畑。

品種名を伏せて試食に供し、どちらが好ましいか選択してもらった。その結果、硫酸カルシウムを凝固剤に用いた 2002 年には回答数 429 の内の 57.3 %が作系 4 号を選択し、塩化マグネシウムを凝固剤に用いた 2004 年には回答数 757 の内の 70.5 %が作系 4 号を選択した。豆腐適性としては消費者の好みだけでなく、豆腐収率や凝固しやすさ等、豆腐製造業者にとっての適性も重要であるため、今後の詳細な検討が必要ではあるが、計 1200 名近くが参加した試食において、豆腐適性が高いとされるエンレイより作系 4 号の豆腐が好ましいと選択した人が明らかに多かったことは、作系 4 号の豆腐用品種としての高い適性を示していると判断できる。

### 3) 後作への影響

根粒超着生ダイズ品種に期待される、もう一つの利点である後作に及ぼす影響については、ダイズの残渣を除いた条件下での実験で、作系 4 号栽培時のエンレイに対する増収率が約 3 割以下ならば、作系 4 号跡のトウモロコシの生育の方がエンレイ跡より優る傾向が示された(第 2 章第 4 節)。また、作系 4 号の残渣中の窒素量はエンレイより多いので(第 2 章第 1 節)、残渣が土壌が還元される場合には作系 4 号跡の優位性が増すと考えられる。これらの結果は条件の整えられたポット試験の結果であるので、後作に対する効果についてはさらに圃場で検討していく必要があると考える。

以上のように、本研究ではダイズの安定多収化を目的として根粒超着生のダイズ新品種を開発し、その特性を検討した。その結果、新品種作系 4 号は、高い窒素固定能力と生育後期にクロロフィル含有率、光合成速度が低下しにくい等の特徴を持ち、通常の品種以上の子実収量が得られることをポット試験で明らかにした。さらに、水田転換畑での圃場試験においては、次世代型栽培法である不耕起狭畦栽培への適応性が高いことと多収化栽培技術を明らかにした。この品種の実用化のためには、耐病虫性、用途別品質など、さらに広範な検討が必要であるが、これまで農業的価値が顧みられなかった根粒超着生形質の実用化への道を開いた意義はたいへん大きいと考える。

## 摘要

本研究では、第1章において、既存の根粒超着生系統 En6500 の根粒超着生形質を維持しながら、それ以外の劣った形質を改良して農業的実用性を高めたダイズ品種の開発を図った。第2章において、第1章で作出した根粒超着生ダイズ品種「作系4号」の詳細な特性の解明を図った。第3章において、我が国のダイズ作付け面積の大部分を占める水田転換畑への適応性を検討し、さらに、省力的でかつ土壤有機物の保持効果が想定される次世代型の栽培法、不耕起狭畦栽培への適応性とこの条件下での多収栽培技術を明らかにしようとした。得られた結果の概要は次の通りである。

## 第1章

著者らの既報から、En6500 の生育・収量が劣るのは、根粒超着生性のみが原因でないと考えられたことから、原品種エンレイ等との交配により En6500 の遺伝的改良を図り、新しい根粒超着生品種作系4号を開発した。

- (1) 3ヶ年の普通畑試験において、作系4号は En6500 に比べて極めて多収であり、収量水準が低い場合にはエンレイと比較しても多収を示す傾向にあった。
- (2) 作系4号の収量性改善の原因として、1) 子実が正常に充実して百粒重が増大したこと、2) 開花期間の栄養生長量が多いため、初期生育量が小さいことが補われて、着莢数が増加したこと、3) 莢実生長期において、比較的高い葉面積指数と葉の窒素含有率が確保されるため、光合成産物の生産とそれをエネルギー源とする窒素固定の増大が可能になったことが考えられた。
- (3) 作系4号には開花期間の栄養生長等にエンレイと異なる性質が見られたため、SSR マーカー分析によって作系4号の遺伝子型を調べた。その結果、作系4号とエンレイとの間で多型を示すマーカーが多く、育成過程で自然交雑が起きた可能性が考えられた。そこで、育成経過を再検討し、花粉親の可能性のある品種を含めたマーカー分析を進めた結果、作系4号の母はエンレイと En6500 の交配後代である En-b0-1 であり、父はタマホマレであることが明らかになった。

## 第2章

生育・収量が改善された根粒超着生品種作系4号の生理・生態的特性をポット試験で詳細に検討した。

(1) 作系4号の個体当たりの窒素固定活性（アセチレン還元能）は開花期以降の全期間を通じてエンレイより高く、特に生育後期にその差が顕著であった。また、全生育期間で積算した窒素固定量及び窒素固定依存率もエンレイより大きかった。一方、土壌窒素吸収量と施肥窒素吸収量はエンレイより少なく、作物残渣に含まれる窒素量は多かったことから、作系4号の方が土壌中の窒素保持の点で有利なことが示唆された。

(2) 作系4号の葉の窒素含有率は開花期以降エンレイより高く、茎の窒素含有率は子実肥大初期以降高かった。葉のクロロフィル含有率はエンレイやタマホマレでは子実肥大初期以降に急速な低下がみられたが、作系4号では子実肥大後期まで高い値が保持された。葉の高い窒素含有率やクロロフィル含有率を反映して、子実肥大期における光合成速度も作系4号では他品種より高かった。作系4号は子実肥大期の窒素固定能力が高いので、葉から子実への窒素の転流に伴う葉の機能低下（いわゆる自己破壊）が生じにくいと考えられた。これを反映して、作系4号の乾物生産量は開花期までは少ないが、子実肥大期を中心とした生育後期には多かった。作系4号の子実収量及び窒素全集積量はエンレイ及びタマホマレ以上の値を示した。

(3) 根粒非着生条件下での水耕ポット試験の結果、既存の根粒超着生系統 En6500, En-b0-1 の地上部重及び根重はエンレイより明らかに劣ったが、作系4号では開花期には若干劣るものの、生育中期以降はエンレイよりまさった。また、作系4号はエンレイに比べて開花期と成熟期が遅れた。このような特徴は、花粉親のタマホマレに由来すると推定され、根粒超着生品種の欠点である茎葉と根の生育量の不足を補い、生育収量を改善する効果があると考えられた。

(4) 作系4号栽培が後作に及ぼす影響を検討した結果、作系4号栽培時の比較品種に対する増収率が約3割以下ならば、作系4号跡のトウモロコシの生育の方がエンレイ跡、タマホマレ跡より優る傾向にあった。作系4号跡地のトウモロコシ吸収窒素の増加分は88～94%が土壌窒素由来であり、特に土壌窒素の後作への保持効果が作系4号では高かった。以上はダイズの残渣を除いた条件下の結果であるが、残渣が土壌が還元される場合には残渣窒素量の多い作系4号跡の優位性が増す可能性が示唆された。

### 第3章

根粒超着生ダイズ品種の実用化を図る上で、我が国のダイズ作付け面積の 85 %を占める水田転換畑への適応性の検討は必須である。茨城県稲敷郡新利根町の現地転換畑で作系 4 号の収量性と省力的栽培法として注目されている不耕起狭畦栽培への適応性を検討した。

(1) 1997 年、1998 年の水田転換畑における耕起栽培では、作系 4 号はエンレイより初期生長量が小さいが、開花期間の栄養生長量が多いために、生長量が補われて成熟期にはほぼ同等となり、収量もエンレイ並であった。以上から、作系 4 号は転換畑栽培に対してエンレイ並の適性を持つが、初期生長量が小さい等の短所を補うような栽培管理技術をさらに開発する必要があると考えられた。

(2) 前項の結果を受け、水田転換畑における作系 4 号の一層の多収化を図るため、省力的でかつ土壌有機物の保持効果が想定される次世代型の栽培法、不耕起狭畦栽培への適応性と、この条件下での多収化栽培技術を 2000 年～ 2003 年の 4 年間検討し、以下の結果を得た。1) 不耕起狭畦栽培条件下で、作系 4 号は慣行の耕起標準畦幅栽培条件下より開花期までの初期生長量が多くなった。不耕起狭畦に窒素基肥の増量施用を組み合わせることにより、作系 4 号の初期生長量はさらに増大した。2) 作系 4 号の収量は初期生長量の増加にしたがって増加する傾向を示したが、エンレイではこの傾向は認められなかった。3) 不耕起、狭畦、窒素増肥を組み合わせることによって、作系 4 号の収量は 4 カ年平均で同じ栽培法のエンレイより 17 %、慣行栽培法のエンレイより 26 %多収になった。4) 作系 4 号は初期生長量が小さく、特に根量が少ないため生育初期の乾燥害を受けやすい欠点を持つが、土壌水分が高く保たれる不耕起、同一栽植密度では株間が広いこと初期生育の個体間競合が緩和される狭畦栽培、初期生育を促進し根粒の過剰着生を抑制する窒素基肥増肥栽培を組み合わせた結果、初期生長量が確保され、生育後期の高い窒素固定能が活かされて多収になったと考えられる。

(3) 2004 年に 1 ケ年、水田転換畑における収量性をタマホマレと比較した結果、ポット試験とは異なり、作系 4 号のタマホマレに対する収量の優位性は認められなかった。タマホマレは作系 4 号より晩生であるために、収量性に関しては有利であるが、この圃場試験では、莢実形成期の天候不順もあって作系 4 号の窒素固定の潜在能力が十分発揮されなかったと考えられた。



ただし、作系4号はタマホマレと比較すると、1) 熟期が早いためダイズーコムギの作付け体系に容易に導入できる、2) タマホマレは子実のタンパク質含有率が低いため豆腐製造業者の評価が低い、作系4号の子実のタンパク質含有率は高い、3) ポット試験の結果では、作系4号跡の方がタマホマレ跡より後作トウモロコシの生育が促進される傾向にある、などの利点がある。したがって、品種の選択においては収量性のみでなく、これらの諸条件を総合的に考慮して判断することが重要と考えられた。

以上を要するに、本研究では、ダイズの安定多収化を目的として、既存の根粒超着生系統の欠点を改良して実用性を高めた根粒超着生品種作系4号を世界で初めて開発し、作系4号の種々の生理・生態的特性を明らかにするとともに、水田転換畑条件下での次世代型栽培法である不耕起狭畦栽培への適応性と多収化栽培技術を明らかにした。

## 謝辞

本研究の遂行及び論文のとりまとめに当たって、懇切丁寧にご指導くださいました東京大学大学院農学生命科学研究科教授大杉立博士に心から感謝申し上げます。

本研究全般にわたって終始ご指導と激励をくださいました独立行政法人農業・生物系特定産業技術研究機構中央農業総合研究センター関東東海総合研究部長の有原丈二博士に深く感謝致します。

根粒超着生ダイズ研究の初歩からご指導くださり、また、自ら作出された根粒超着生ダイズ系統 En6500 と根粒非着生系統 En1282 の種子を、本研究のためにご提供くださいました宮崎大学教授赤尾勝一郎博士に深く感謝申し上げます。

本研究の開始時のご指導と全般にわたってのご助言をくださった東北大学大学院教授国分牧衛博士，SSR マーカー分析をご指導をくださいました千葉大学教授原田久也博士に感謝申し上げます。

本研究の遂行に当たり多大なご協力とご助言をくださいました独立行政法人農業・生物系特定産業技術研究機構作物研究所の島田信二博士，高橋良二博士，中山則和博士，山本亮博士，島村聡博士，中村卓司博士，金榮厚博士，同機構中央農業総合研究センターの浜口秀生主任研究官，独立行政法人緑資源機構の大矢徹治博士，筑波大学大学院の野原努氏に感謝致します。

また、現地試験の実施に当って多大なご協力をくださいました茨城県稲敷郡新利根町の太田新田営農組合の皆様，研究所内外での試験実施に当たって多大なご協力をくださいました独立行政法人農業・生物系特定産業技術研究機構中央農業総合研究センター業務第1科，業務第2科の職員の皆様，同機構作物研究所豆類栽培研究室の非常勤職員の皆様に感謝申し上げます。

## 引用文献

- Ahrent, D. K., and C. E. Caviness 1994. Natural cross-pollination of twelve soybean cultivars in Arkansas. Crop Sci. 34: 376-378.
- 赤尾勝一郎・河内 宏 1989. 根粒菌によるダイズ根毛カーリングの顕微鏡観察. 土肥誌 60: 53-55.
- 赤尾勝一郎 1989. 生物窒素固定研究における最近の成果(8)有用根粒菌の接種技術. 農及園 64: 79-82.
- Akao, S. and H. Kouchi 1992. A supernodulating mutant isolated from soybean cultivar Enrei. Soil Sci. Plant Nutr. 38: 183-187.
- 荒井三千代・林正紀・高橋幹・島田信二・原田久也 2004. 多収性根粒超着生ダイズにおける NTS1 遺伝子の解析. 育種学研究 6(別 1) : 48.
- Arao, T., N. Ae, M. Sugiyama and M. Takahashi 2003. Genotypic differences in cadmium uptake and distribution in soybeans. Plant Soil 251: 247-253.
- 有馬泰紘・南沢究・熊沢喜久雄 1981. 空気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探索. 土肥誌 52: 114-118.
- Carroll, B. J., D. L. McNeil and P. M. Gresshoff 1985a. A supernodulation and nitrate-tolerant symbiotic (*nts*) soybean mutant. Plant Physiol. 78: 34-40.
- Carroll, B. J., D. L. McNeil and P. M. Gresshoff 1985b. Isolation and properties of soybean [*Glycine max* (L.) Merr.] mutants that nodulate in the presence of high nitrate concentrations. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 82: 4162-4166.

- Cregan, P. B., T. Jarvik, A. L. Bush, R. C. Shoemaker, K. G. Lark, A. L. Kahler, N. Kaya, T. T. VanToai, D. G. Lohnes, J. Chung and J. E. Specht 1999. An integrated genetic linkage map of the soybean. *Crop Sci.* 39: 1464-1490.
- Day, D.A., H. Lambers, J. Bateman, B. J. Carroll and P. M. Gresshoff 1986. Growth comparisons of a supernodulating soybean mutant and its wild type parent. *Physiol. Plant.* 68: 375-382.
- Day, D. A., G. D. Price, K. A. Schuller and P. M. Gresshoff 1987. Nodule physiology of a supernodulating soybean mutant. *Aust. J. Plant Physiol.* 14: 527-538.
- Eskew, D.L., J. Kapuya and S. K. A. Danso 1989. Nitrate inhibition of nodulation and nitrogen fixation by supernodulating nitrate-tolerant symbiosis mutants of soybean. *Crop Sci.* 29: 1491-1496.
- Fehr, W.R., C. E. Caviness, D. F. Burwood and J. S. Pennington 1971. Stages of development descriptions for soybean, *Glycine max* (L.) Merrill. *Crop Sci.* 11: 929-931.
- Francisco, P. B. Jr. and S. Akao 1993. Autoregulation and nitrate inhibition of nodule formation in soybean cv. Enrei and its nodulation mutant. *J. Exp. Bot.* 44: 547-553.
- 藤田耕之輔・田中明 1980. 大豆の窒素固定能支配要因の接木試験による解析. *土肥誌* 51: 23-26.
- 福井重郎・小島睦男・鎗水寿 1959. 大豆の培土が落蕾・落花・落莢に及ぼす影響. *日作紀* 27: 377-378.
- Gremaud, M. F. and J. E. Harper 1989. Selection and initial characterization of partially nitrate tolerant nodulation mutants of soybean. *Plant Physiol.* 89: 169-173.
- Gresshoff, P. M., A. Krotzky, A. Mathews, D. A. Day, K. A. Schuller, J. Olsson, A. C. Delves

- and B. J. Carroll 1988. Suppression of the symbiotic supernodulation symptoms of soybean. J. Plant Physiol. 132: 417-423.
- Haider, J., A. K. M. A. Hussain, M. Ikeda, T. Yamakawa and J. Ishizuka 1991. Effects of nitrate application on growth, nodulation, and nitrogen fixation of nitrate-tolerant mutants of soybean. Soil Sci. Plant Nutr. 37: 521-529.
- 濱田千裕 1993. ダイズ不耕起播種技術の開発と栽培の安定化. 日作紀 62 : 470-474.
- 浜口秀生 1998. 不耕起播種, 狭畦, 無中耕・無培土栽培におけるダイズの生育・収量. 農研センター研資. 37 : 163-166.
- Hansen, A. P., M. B. Peoples, P. M. Gresshoff, C. A. Atkins, J. S. Pate and B. J. Carol 1989. Symbiotic performance of supernodulating soybean mutants during development on different nitrogen regimes. J. Exp. Bot. 40: 715-724.
- Hanway, J. J. and C.R.Weber 1971. Accumulation of N,P, and K by soybean (*Glycine max* (L.) Merrill) plants. Agron. J. 63 : 406-408.
- Herridge, D., F. J. Bergersen and M. B. Peoples 1990. Measurement of nitrogen fixation by soybean in the field using the ureide and natural  $^{15}\text{N}$  abundance methods. Plant Physiol. 93: 708-716.
- Herridge, D. and I. Rose 2000. Breeding for enhanced nitrogen fixation in crop legumes. Field Crops Res. 65: 229-248.
- 平井義孝 1961. 大豆無機栄養に関する調査第1報. 生育に伴う吸収移動経過について. 北海道立農試集報 7 : 47-57.
- 星忍・石塚潤爾・仁紫宏保 1978. 窒素質肥料の追肥が大豆の生育と子実生産に及ぼす影響.

北海道農試研報 122: 13-54.

星忍 1982. ダイズの窒素固定と生育・収量. 根粒の窒素固定—ダイズの生産向上のために—. 博友社. 東京. pp.5-33.

Hussain, A. K. M. A., T. Yamakawa, M. Ikeda and J. Ishizuka 1992. Effects of nitrogen application on growth and yield of nitrate-tolerant mutants of soybean. J. Fac. Agr., Kyushu Univ. 37: 133-138.

石井和夫・斉藤雅典・赤尾勝一郎 1983. 大豆の養分吸収に及ぼす培土の効果. 東北農業研究 33: 103-104

石井和夫 1984. 東北地域におけるダイズに対する肥培管理(2). 農及園 59: 1500-1502.

唐橋需 1998. 大豆不耕起播種技術の研究経過. 農研センター研資 37: 153-155.

加藤一郎・川原政夫・内藤文男・谷口利策 1957. 大豆の培土に関する研究—第Ⅲ報大豆の溢泌現象とこれより見た培土による不定根発生の効果—. 東海近畿農試研報栽培部 5: 118-128.

Kokubun, M. and S. Akao 1994. Inheritance of supernodulation in soybean mutant En6500. Soil Sci. Plant Nutr. 40: 715-718.

Krusell, L., L. H. Madsen, S. Sato, G. Aubert, A. Genua, K. Szczyglowski, G. Duc, T. Kaneko, S. Tabata, F. de Bruijn, E. Pajuelo, N. Sandal and J. Stougaard 2002. Shoot control of root development and nodulation is mediated by a receptor-like kinase. Nature 420: 422-426.

桑原真人 1986. ダイズの多収条件と窒素代謝(1). 農及園 61: 473-479.

Maloney, T. S. and E. S. Oplinger 1997. Yield and nitrogen recovery from field-grown supernodulating soybean. *J. Prod. Agric.* 10: 418-427.

松代平治 1997. マメ科植物根粒菌技術研究史. pp 1-286. 十勝農業協同組合連合会. 北海道.

南沢 究・有馬泰紘・田中裕之・熊沢喜久雄 1985. 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.

Minchin, F.R., J. F. Witty, J. E. Sheehy and M. Müller 1983. A major error in acetylene reduction assay: Decreases in nodular nitrogenase activity under assay conditions. *J. Exp. Bot.* 34: 641-649.

村田吉男 1979. 20. 光合成. 内部要因と光合成. 「農学大事典」 pp.788-795. 農学大事典編集委員会編. 養賢堂. 東京.

Murray, M. G. and W. F. Thompson 1980. Rapid isolation of high molecular weight plant DNA. *Nucl. Acid Res.* 8: 4321-4325.

Nishimura, R., M. Hayashi, G. J. Wu, H. Kouchi, H. Imaizumi-Anraku, Y. Murakami, S. Kawasaki, S. Akao, M. Ohmori, M. Nagasawa, K. Harada and M. Kawaguchi 2002a. HAR1 mediates systemic regulation of symbiotic organ development. *Nature* 420: 426-429.

Nishimura, R., M. Ohmori, H. Fujita and M. Kawaguchi 2002b. A Lotus basic leucine zipper protein with a RING-finger motif negatively regulates the developmental program of nodulation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 99: 15206-15210.

Ohyama, T., J. C. Nicholas and J. E. Harper 1993. Assimilation of  $^{15}\text{N}_2$  and  $^{15}\text{NO}_3^-$  by partially nitrate-tolerant nodulation mutants of soybean. *J. Exp. Bot.* 44: 1739-1747.

大矢徹治・石井龍一 1999. ダイズ品種エンレイの根粒超多量着生体 En6500 における生育特性と窒素利用効率. 日作紀 68 : 278-282.

岡啓・高橋幹 1989. 北海道におけるダイズ栽培の現状と多収化. 農業技術 44 : 113-117.

小柳敦史・南石晃明・土田志郎・長野間宏 1998. 汎用水田において耕起および不耕起栽培したコムギ, ダイズ, および水稻の根の垂直分布の解析. 日作紀. 67 : 49-55.

Pracht, J.E., C. D. Nickell, J. E. Harper and D. G. Bullock 1994. Agronomic evaluation of non-nodulating and hypernodulating mutants of soybean. Crop Sci. 34: 738-740.

Sato, T., H. Yashima, N. Ohtake, K. Sueyoshi, S. Akao and T. Ohyama 1999. Possible involvement of photosynthetic supply in changes of nodule characteristics of hypernodulating soybeans. Soil Sci. Plant Nutr. 45: 187-196.

酒井孝雄 1990. 大豆に対する緩効性窒素肥料の技術. 農業技術. 45: 367-370.

島田信二 1985. 転換畑大豆における中耕培土の効果 (2). 農業及び園芸. 60: 569-573.

Sinclair, T.R. and C. T. de Wit 1975. Photosynthate and nitrogen requirements for seed production by various crops. Science. 189: 565-567.

Song, L., B. J. Carroll, P. M. Gresshoff and D. F. Herridge 1995. Field assessment of supernodulating genotypes of soybean for yield, N<sub>2</sub> fixation and benefit to subsequent crops. Soil Biol. Biochem. 27: 563-569.

平春枝 1987. 高含硫アミノ酸含量品種の育種. 農研センター総合農業研究叢書 10 : 328-350.

Takahashi, M., M. Kokubun and S. Akao 1995. Characterization of nitrogen assimilation in a supernodulating soybean mutant En6500. Soil Sci. Plant Nutr. 41: 567-575.

高橋能彦 1996. 水田転換畑におけるダイズに対する深層施肥法の開発と安定多収効果の開発.



新潟農試研報. 41: 53-104.

田中明・斉藤豊 1981. 根箱を用いたダイズに対する窒素肥料施肥位置の研究. 土肥誌 52: 469-474.

渡辺巖 1982. 大豆に窒素追肥は必要か 昭和 54 ～ 56 年各県農試の成績概要から. 農業技術. 37 : 491-495.

渡辺巖・中野寛・田淵公清 1983. 大豆の窒素追肥技術 第 1 報 登熟初期の追肥が収量, 収量構成要素および子実の蛋白含有率におよぼす影響. 日作紀. 52 : 291-298.

Wopereis, J., E. Pajuelo, F. B. Dazzo, Q. Jiang, P. M. Gresshoff, F. J. De Bruijn, J. Stougaard and K. Szczylowski 2000. Short root mutant of *Lotus japonicus* with a dramatically altered symbiotic phenotype. *Plant J.* 23: 97-114.

Wu, S. and J. E. Harper 1991. Dinitrogen fixation potential and yield of hypernodulating soybean mutants: A field evaluation. *Crop Sci.* 31: 1233-1240.

横山正・蒲生卓磨 1989. 生物窒素固定研究における最近の成果(19) ダイズの窒素固定能向上に関する USDA の研究戦略. 農及園. 64 : 1429-1435.

Yoneyama, T., H. Nakano, M. Kuwahara, T. Takahashi, I. Kambayashi and J. Ishizuka 1986. Natural <sup>15</sup>N abundance of field grown soybean grains harvested in various locations in Japan and estimate of the fractional contribution of nitrogen fixation. *Soil Sci. Plant Nutrition* 32 : 443-449.

Zhao, L., L. Song, F. P. C. Blamey, S. Fukai and B. J. Carroll 1998. Yield and N<sub>2</sub> fixation of backcrossed supernodulating soybean mutants. *Proceeding of the Ninth Australian Agronomy Conference, Wagga Wagga.* pp. 375-378.