

異なった土壤環境におけるダイズ根粒菌の接種効果*¹

東田 修司*² 奥村 正敏*² 沢口 正利*²

十勝地方の土壤条件の異なる圃場11カ所でダイズ根粒菌の接種試験を行い、その根粒形成におよぼす環境要因の影響を検討した。供試した圃場の土着根粒菌数は乾土1g当り $10^2 \sim 10^5$ の範囲であり、土壤が過湿の場合に少ない傾向であった。また、土着根粒菌の競合力は本試験で供試した接種根粒菌A1017よりも高い傾向であった。接種菌による根粒着生割合は試験地によって大きくばらついた。これには、土着根粒菌の密度よりも、むしろ土壤環境条件が大きく影響していた。すなわち、土壤水分条件が過湿、あるいは過乾の圃場では接種菌由来の根粒形成割合が低い傾向にあり、これらの圃場では、接種菌の土壤中での減少割合が大きかったものと推定された。また、土着根粒菌の競合力が特に大きな圃場では、土壤水分が中庸でも、接種菌由来の根粒形成割合が低い傾向であった。これらの結果から、接種菌の土壤中での生存能力、競合力を高めることによって、より接種効果を向上させ得ると考えた。

I はじめに

ダイズは高蛋白な子実を生産するため窒素吸収量が多く、また、マメ類の中では、根粒菌による生物窒素固定への依存度が最も高い作物と言われている¹⁶⁾。子実300kgを生産するための窒素吸収量は30kgにも達しており、これをすべて化学肥料で供給するのは、経済的にも、施肥法等労力的にも効率的とは言えない。それ故、生物窒素固定の増強やその有効利用を図ることが効果的であり、それがダイズ生産性向上にもつながるものと考えられる。

今日まで、根粒菌による窒素固定を最大に利用しつつ後期に必要な窒素を追肥の形で補給する技術や⁹⁾、根粒の初期着生や窒素固定力を高めるためのりん酸増肥技術が発表されてきた¹³⁾。また、十勝地方におけるダイズに対する施肥窒素量は標準で10a当り1.5kgと低く押えられており、いわば根粒固定窒素依存型の栽培法がとられてきてい

る。これらの技術は、その土壤に生息する土着根粒菌の窒素固定力を可能な限り発揮させ、それを利用しようとするものである。

一方、ダイズに着生する根粒菌にも数多くの種類があり、その種類によって、窒素固定力に差があるため、根粒菌とダイズによって作られる共生系の窒素固定力にも大きなばらつきが生じる^{10, 14)}。そのため、栽培法改善等で根粒の活躍し易い環境を整えても、そこに生息する土着根粒菌の窒素固定力が低い場合には、十分な生産性の向上が得られないことになる。そこで、より能力の高い有効根粒菌を接種して、土着根粒菌による根粒を有効菌によるものに置き換え、効率的な窒素固定を行わせることが重要となる。

近年、ダイズ有効根粒菌として、 H_2 -uptake hydrogenase 系を有する根粒菌が注目されている。根粒菌は窒素固定の際に H_2 を発生するが、この系を有する菌は、その H_2 を回収して再びエネルギー源として利用できる能力を有しており、本道のように日射エネルギーに制約のある場合、特に有効である可能性がある。

このような高能力根粒菌の導入法として、高橋ら¹⁹⁾は、2段接種法を開発し、土着菌が高密度に生息している土壤でも、ある程度の接種菌によ

1988年6月30日受理

*¹ 本報告の一部は、1988年日本土壤肥科学会神戸大会で発表した。

*² 北海道立十勝農業試験場, 082 河西部芽室町

表1 試験地の土壌条件

試験地 番 号	土 壌 型	作 土 の 性 質			下層の礫層 (出現位置-cm)	土壌水分* (%)	ダイズ 作付歴	前 作
		深さ(cm)	礫の有無	土 性				
1	褐色低地土	30	有り	L	なし	28	10年以前	テンサイ
2	灰色低地土	35	なし	C	なし	26	なし	アズキ
3	褐色低地土	35	富む	SL	有り(35~68)	17	10年以前	テンサイ
4	褐色低地土	40	富む	SL	有り(40~)	13	3 年 前	アズキ
5	厚層多腐植質黒ボク土	32	なし	L	なし	32	3 年 前	テンサイ
6	淡色黒ボク土	32	なし	SL	なし	30	4 年 前	テンサイ
7	褐色低地土	18	含む	L	有り(63~)	24	6 年 前	テンサイ
8	厚層多腐植質黒ボク土	25	なし	L	なし	46	4 年 前	テンサイ
9	厚層多腐植質黒ボク土	27	なし	L	なし	36	10年以前	テンサイ
10	泥 炭 土	27	なし	CL	なし	51	1 年 前	ダイズ
11	淡色黒ボク土	28	なし	SL	有り(60~)	30	8 年 前	エンバク

*5月11日に測定

る根粒形成が得られることを示した。しかし、接種した根粒菌由来の根粒形成割合は、年次・試験地によって異なっており、必ずしも一様ではなかった。これは、土壌の理化学性・微生物性などの土壌環境要因が大きく影響していたためと考えられる。以上のことを踏まえて、筆者らは、圃場条件下での接種根粒菌の活動に影響を及ぼす環境要因を明らかにすることは、有効根粒菌による根粒形成を安定的に得るための方策を確立するために不可欠であると考えた。そこで、十勝地方において、土壌条件の異なる11カ所の試験地で有効根粒菌の接種試験を実施し、その結果から接種菌による根粒形成を規制している要因について検討を加えた。

II 試験方法

1. 圃場での接種試験

(1) 試験圃場

土壌条件の異なる十勝管内11カ所の圃場(表1)で1987年度にダイズ根粒菌の接種試験を実施した。特に試験地3, 4は作土の礫含量が高く下層まで礫層・砂層が連続しているため過乾に陥りやすい土壌であった。同じ褐色低地土でも試験地1, 7は作土の礫含量が少なく、土性は壤土質であった。逆に試験地10は保水性過多の泥炭土であり、過湿条件の土壌であった(表1)。

(2) 品種・菌株、圃場管理法

供試ダイズ品種は「トヨスズ」、根粒菌はA

1017を用いた。本菌株は H_2 -uptake hydrogenase 系を有する株であり南沢ら¹⁵⁾によってその有効性が検討されている。A1017の菌体ペーストをバーライトに混ぜて、1g当り 10^{10} の菌数を含むように調整したものを接種剤として用い、播種時畦に作条に施用した。接種量はダイズ1株当り接種剤1g、根粒菌数にして 10^{10} である。播種操作は、整畦、施肥、覆土、播種、接種剤施用、覆土、鎮圧の順に行った。施肥量は1.5-11-7.5(N-P₂O₅-K₂O)kg/10aであり、市販のダイズ用化成肥料を用いて作条に施用した。

播種は5月下旬、収穫は10月中下旬に行い、7月28日には、ダイズ生育と根粒形成についての調査を行った。

(3) 根粒識別法

ダイズに形成された根粒がA1017によるものか否かは高橋ら¹⁸⁾の報告した抗原(根粒ジュース)・抗体(ウサギ血清)の凝集反応を用いて判別した。凝集反応を起こした根粒数を供試根粒数で除したものを接種菌由来の根粒形成割合とした。本試験では1区当り50個の根粒について凝集反応を試みた。

2. 抗血清の調製

A1017をマンニトール・酵母エキス培地⁵⁾で4日間培養し、集菌後、生理食塩水で5回洗浄した。それを約 10^{10} /mlの菌数になるように生理食塩水に懸濁し、沸騰水中で10分間煮沸してから容量1.5mlの小型サンプルチューブに分けて、冷凍保

存した。それを1週間ごとに5回ウサギの後肢に筋肉注射した。アジュバンドは特に用いなかった。最終注射の1週間後に全量採血し、常法⁵⁾により血清を得た。得られた抗血清は512倍に希釈した場合でもA1017の菌体懸濁液と明確な凝集反応を起こした。

3. 供試圃場の理化学性・微生物性測定法

(1) 土着根粒菌数

100ml容量のUV サンプルビンにバームキュライトを入れ湿熱滅菌した。それに3%過酸化水素+50%エタノールで表面殺菌したダイズ「トヨスズ」種子を3粒播種し、発芽後間引いて1ビン当り1個体にするとともに、10倍づつ数段階に希釈した土壤抽出液を1希釈段階につき5連で接種した。30日間25℃、人工照明下で栽培後、引きぬいて根粒着生の有無を調べ、最確法によって土壤中の根粒菌数を求めた。

(2) 土着菌の競合力

5,000分の1アール磁製ポットによく洗浄したバームキュライトを詰め、オートクレープで殺菌後、前項と同様の方法で殺菌したダイズ「トヨスズ」を5粒播種した。ダイズ出芽後、1ポット当り2本に間引き、同時に土着根粒菌を含んだ土壤および1g当り 5×10^6 のA1017を含んだパーライトを、1ポット当り1g:10g, 5g:5g, 10g:1gの3段階の重量比で接種した。ダイズは子実肥大の前期(播種後60日)に収穫し、乾物・N吸収量を求めた。同時にダイズに形成された根

粒を採取し、1.5ml容量のサンプルチューブ中で生理食塩水(0.8%)を加え、綿棒で磨砕して、根粒ジュースを調整した。根粒がA1017由来のものか否かは、圃場での接種試験の場合と同様の方法を用いて判別した。

(3) 一般理化学性・微生物性

供試圃場の理化学性・微生物性を表2に示した。一般理化学性は常法に従って分析した。細菌数・クリスタルバイオレット耐性細菌数・糸状菌数はそれぞれ卵アルブミン培地・クリスタルバイオレット添加卵アルブミン培地・ローズベンガル培地を用いた希釈平板法で測定した⁵⁾。

III 結 果

1. 圃場でのA1017由来根粒形成割合と収量

十勝地方では過去にダイズの作付頻度が高かったため、土壌中には、その土壤環境条件に適合した土着根粒菌が生息している。そのため、生育中期の根粒着生量は、接種によって特に増加する傾向を示さなかった(図1)。試験地間では、礫質低地土の試験地4で最も根粒着生が悪く、土壤窒素供給量が多いと考えられる厚層多腐植質黒ボク土(試験地5, 8, 9)でも着生した根粒重が少ない傾向であった。反対に、根粒着生が最も良好であったのは、褐色低地土の試験地7であった。

7月28日に調査したA1017由来の根粒形成割合は、4-38%と試験地によってばらついていた。最も低かったのは、泥炭土の試験地10であり、逆

表2 試験地の土壤化学性・微生物性

試験地 番 号	全炭素 (%)	土壌pH	細 菌 数 ($\times 10^6$ /土)	CV耐性菌数 ($\times 10^6$ /土)	糸 状 菌 数 ($\times 10^6$ /土)	土着根粒菌数 ($\times 10^4$ /土)
1	3.6	5.5	13.9	0.64	6.2	3
2	1.8	5.6	12.0	0.40	2.0	3
3	1.3	5.7	6.2	0.40	4.2	2
4	0.6	5.5	10.2	1.32	6.0	2
5	4.0	5.5	13.0	1.25	6.3	18
6	2.1	5.9	11.7	—	7.8	1
7	3.6	5.2	12.4	0.96	10.7	5
8	9.4	5.0	10.0	1.42	8.6	0.2
9	7.7	5.3	13.9	0.96	7.7	0.8
10	9.8	5.5	7.9	0.82	6.6	0.02
11	2.3	5.7	11.3	0.57	5.2	2

(5月11日採土)

に最も高かったのは、細粒質灰色低地土の転換畑である試験地2であった。図1に示した7月28日時点のA1017由来根粒形成割合は、A1017の能力を発揮する上で必ずしも十分に高いとは言えない。しかし、7月下旬から8月にかけて、接種菌由来の根粒形成割合が急激に低下することが知られており¹⁹⁾、これを勘案すれば、6月中旬から7月上・中旬におけるA1017由来根粒形成割合が50%を越える試験地もあったものと推察された。

一方、収穫期における無接種区ダイズ窒素吸収量に対する接種区の窒素吸収量は、11カ所の試験地中9カ所で増加しており、子実収量も窒素吸収量の増大を反映していた(図2)。H₂-uptake hydrogenaseの系を有する根粒菌を接種することによって、ダイズの収量・窒素含有率および窒素吸収量が増加するとの報告があり^{7,15)}、本試験でもその傾向が裏付けられた。さらに、7月中旬、収穫期における無接種区の窒素吸収量に対する接

種区の増加率は、A1017由来の根粒形成割合と弱いながら正の相関関係を示しており(図3)、土着根粒菌由来の根粒がA1017由来のものに置き換って、ダイズ・根粒菌による共生系全体の窒素固定効率が高まり、収量向上に結び付く可能性が示された。

2. 供試圃場の土着根粒菌数

接種根粒菌の競合相手となる土着根粒菌数は、乾土1g当り $10^2 \sim 10^5$ の幅があり、試験地によって大きくばらついていた(表2)。最も多かったのは、明暗渠排水によって改善された厚層多腐植質黒ボク土(試験地5)であり、最も少なかったのは、泥炭土(試験地10)であった。また、過去においてダイズ作付歴のない水田転換3年目畑(試験地2)でも、土着根粒菌数は 10^4 /gと標準

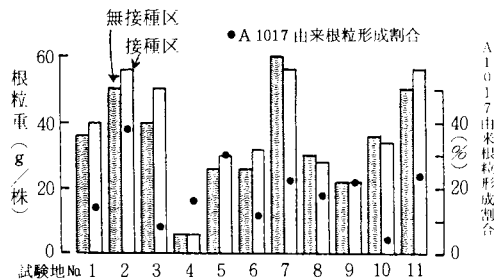


図1 根粒着生量とA1017由来根粒形成割合 (7月28日調査)

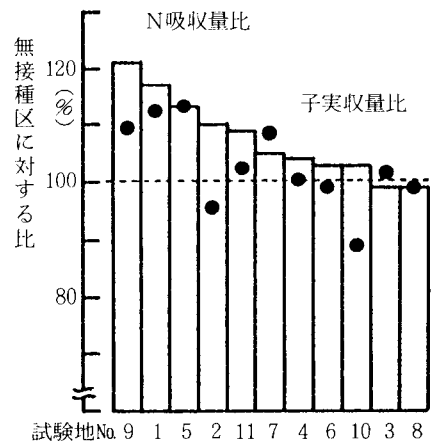


図2 A1017接種区のN吸収量と子実収量

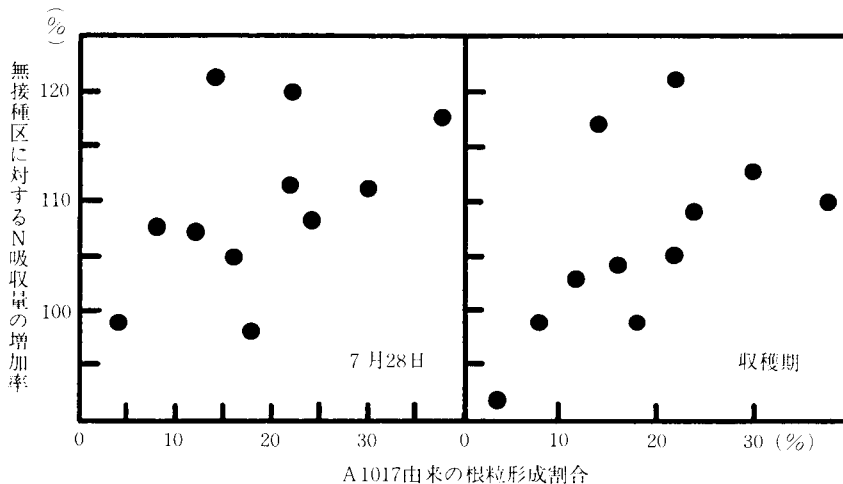


図3 A1017由来根粒形成割合とダイズN吸収量の増加率

的な数値を示し、無接種区であっても根粒の着生は特に劣っていなかった。

上記の転換畑の例を含め、過去10年間ダイズが作付けされていなかった圃場（試験地1, 3, 9）でも根粒着生が特に低い傾向は認められず、逆に前年にダイズを作付けした連作圃場（試験地10）では土着根粒菌数が最も低いなど、本試験で測定した土着根粒菌数と、過去のダイズ作付歴との間には関連性がみられなかった。

上勝のように、いずれの圃場でも過去に高頻度でダイズの作付けが行われた場合、土着根粒菌数は、むしろ根粒菌生育環境としての土壤条件に左右されると考えられる。土着根粒菌数と各種土壤要因の関係を検討したところ、土壤水分と一定の関係が認められた。すなわち、土壤水分が30%前後を境に、土着根粒菌数は過湿・過乾いずれの側でも低下する傾向が伺われた（図4）。このように、土壤の環境条件によって根粒菌数が異なる。

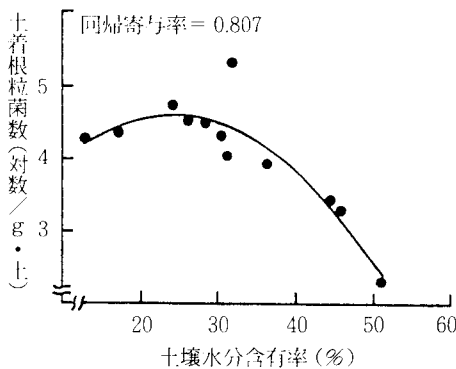


図4 土着根粒菌数と土壤水分の関係

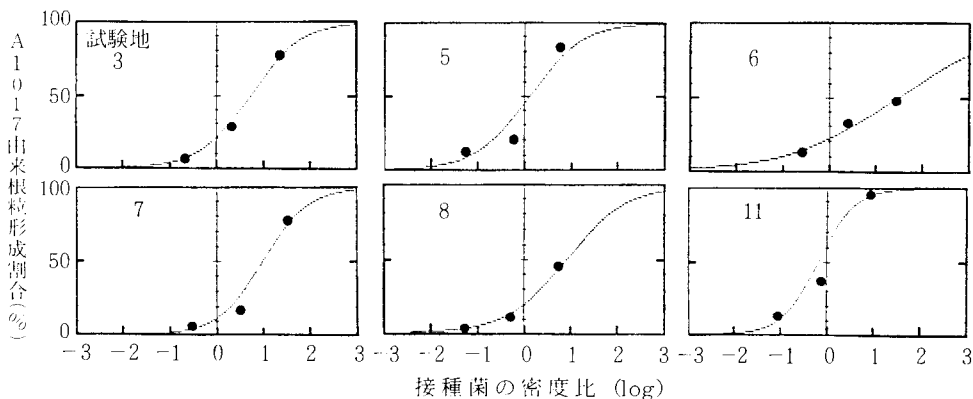


図5 接種菌密度比とA1017由来根粒形成割合の関係

方、8月28日に測定した根粒菌数は、いずれの試験地でも、5月11日の測定よりも増加しており（表3）、ダイズ根圏で根粒菌が増加していることが示された。

3. A1017と土着根粒菌の競合力の定量的把握

ダイズに2種類の根粒菌を同数接種しても、根粒が必ずしも同数ずつ形成されるとはかぎらず、一方が優先する場合のあることが知られている。従って、根圏域内に生息する根粒菌が根粒を形成できるか否かには、根粒菌数のみならず、根粒菌の質的要因が大きく関与することになる。本試験ではこれを単位根粒菌数当りの競合力として捉え、この競合力をAmerger^{1,2)}の根粒菌競合モデル（式1）を用いて数量化した。

$$\log(N_A/N_B) = \log C_{AB} + K \log(I_A/I_B) \quad \cdots \text{式1}$$

N_A , N_B : それぞれの菌由来の根粒形成割合

I_A , I_B : それぞれの菌の根圏域での密度比

C_{AB} : 競合力パラメーター（大きいほど N_A の根粒菌の競合力が大きい。 $C_{AB} = 1$ の場合、両根粒菌の競合力が等しい）。

K : 傾き（大きいほど、接種菌密度比と根粒形成割合との関係が急激になる）。

この式を利用する場合、根圏域での根粒菌の密度比をいかに正確に求めるかが問題となる。通常の土壤系では、2菌株を接種後、その土壤条件に、より適合した菌株の生存程度が大きくなり、両菌の密度比に変化が生じる。このため、接種時の密度比をそのまま式1に代入した場合、競合力パラメーター： C_{AB} は、供試した土壤での両菌の生存性を要因として含んでしまうことになる。この要因を可能な限り消去するため本試験では培地と

して殺菌バームキュライトを用い、また発芽したダイズに直接接種を行った。

式1に、土着根粒菌 (N_A) と A1017 (N_B) の接種密度比 (I_A/I_B) を変えて接種した場合の A1017 由来根粒形成割合および、希釈頻度法によって求めた両菌の密度比 (8月28日測定) を最少2乗法であてはめ (図5)、競合力パラメーター (C_{AB})、傾き (K) を求めた。両菌の競合力が等しいときは $C_{AB} = 1$ となり、密度比 1 : 1 ($\log 1/1 = 0$) で接種したときの両菌によって形成された根粒数割合も 1 : 1 となる。表3に土着根粒菌と A1017 間の C_{AB} 、 K を取りまとめて示した。また、より具体的な目安として、接種密度比 1 : 1 の場合の土着根粒菌由来根粒形成割合も併記した。

8月28日の土着根粒菌密度は5月11日測定よりも増加しているが、これは、土壌採取時期が8月

であるため環境ストレス (主に過湿) が緩和されていることと、ダイズ根圏で根粒菌が増殖したためであろう。

本試験の結果、土着菌の A1017 に対する C_{AB} は試験地11を除いて1以上であり、一般に土着根粒菌のダイズ「トヨスズ」の根粒形成に際しての競合力は A1017 よりも高いことが示された。

N 論 議

十勝地方のようにダイズ作付歴の長い地帯では、その土壌条件に適合した土着根粒菌が生息しているが、その窒素固定力は必ずしも高いとは限らない^{10,14)}。そのため、より高能率なダイズ・根粒菌の共生窒素固定系を得るためには、土着菌によって形成される根粒をいわゆる有効菌によるものに置き換えることが必要になる。しかし、すでに土着菌が生息している圃場で有効菌による根粒を安定的に形成させることは容易ではない^{6,12)}。

図5に示したように、2種類の根粒菌の混在系における根粒着生は、基本的には両菌の密度比の関数で表わされる。この2種類の菌の一方を土着菌、もう一方を接種菌に置き換えてみると、接種菌によるある程度の根粒着生を得ためには、ダイズの根圏域に土着菌に匹敵する密度の接種菌を確保しなければならないことが理解できる。また、式1は図5に示すようにS字曲線を描いており、密度比が極端に片寄っている場合には、両菌の密度比を少々変えても、根粒形成割合に及ぼす影響は小さい。同様のことは Bohlool ら³⁾ によっても

表3 土着根粒菌の競合力

試験地 番 号	土着根粒菌数 ($10^6/g \cdot \text{土}$)	C_{AB}	K	接種密度比1 : 1 の場合の着生率
3	2.8	4.0	0.66	80
5	2.6	1.2	0.76	55
6	0.5	7.1	0.86	88
7	0.6	3.6	0.38	78
8	0.7	3.8	0.80	80
11	1.8	0.6	1.11	38

注1. 8月28日採土

注2. C_{AB} : 根粒菌の競合力パラメーター

注3. K: 傾き

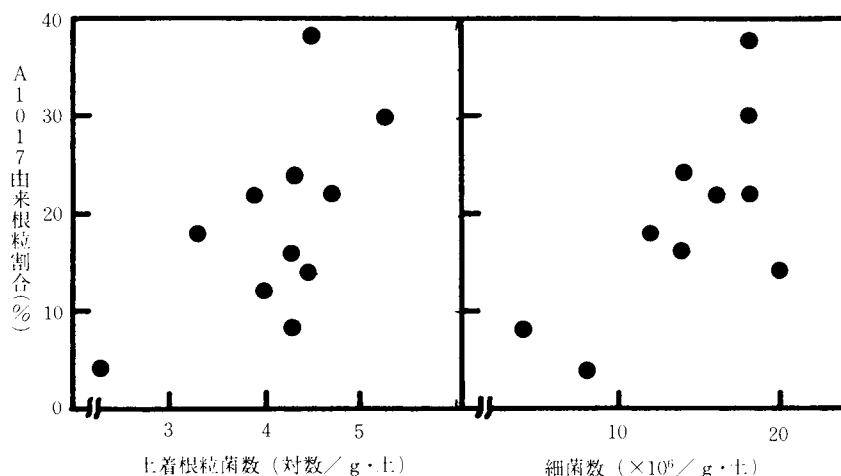


図6 A1017由来根粒形成割合の規制要因 (土壌微生物性)

報告されている。このような観点に立って、Weaverら²⁰⁾は根圏域の容量を考慮し、ダイズに接種菌由来の根粒を50%以上形成させるためには、土壌1g当りに生息する土着根粒菌数の1,000倍の数の根粒菌を接種することが必要であるとしている。本試験では、すべての試験地で一定数のA1017を接種しているの、試験地毎のA1017由来根粒形成割合は、土着菌密度が低い場合に高くなるはずである。しかし、図6に示すように、A1017由来根粒形成割合と土着根粒菌数の間には、逆に弱いながら正の相関関係が認められた。

この矛盾を理解する上で考慮しなければならない要因は、土壌中での接種根粒菌の減少である。通常の土壌系で播種時に接種を行う場合、式1の接種菌としては、接種した菌数そのものではなく、接種した菌数のうち、根粒形成の初期にダイズ根圏内に生存していた菌の数を当てなければならない。土壌に接種された根粒菌は、土壌の微生物的な緩衝作用のため急激に減少することが報告されている^{3,11)}。特に、slow growerであり腐生能力が比較的低いと考えられるダイズ根粒菌の場合、この傾向が大きい可能性がある。

十勝地方のように、過去にダイズ作付け頻度の高かった土壌での土着菌数の多寡は、その土壌が根粒菌にとってどれだけ好適な環境であるかを反映していると考えられる。その前提に立てば、土着根粒菌密度の低い圃場では、接種菌にとっても同様に劣悪な条件であるために、接種菌数の低下程度も大きく、逆に、土着根粒菌密度の高い圃場では、接種菌数の低下程度が小さかった可能性が指摘される。本試験での接種菌数はダイズ1株当り 10^{10} であり、土着菌密度より著しく高かったの、A1017由来根粒形成率が土着根粒菌数と弱いながら正の相関を示したものと推察された。

A1017由来根粒形成割合は、土壌中の細菌数とも、やはり弱いながら正の相関関係を示しており(図6)、根粒菌の生存に影響を与える要因は、一般の細菌数に影響を与える要因とも共通している可能性が示された。

土壌中の根粒菌の生存に影響を与える環境因子として、小沢は¹⁷⁾地温、土壌pH、塩類濃度、土壌水分等を挙げている。これらの要因の中で、地温は本試験が地域的に十勝中央部の限られた範囲で行われているので、大きな要因ではないと考

えられる。土壌pHも試験地での平均が5.5であり、極端な酸性側でないことから除外できる。水分条件は、図4に示したように、土着根粒菌数を規制している要因の1つであることと、さらに礫質の褐色低地土であり土壌水分含有率の低かった試験地3、4でA1017由来根粒形成割合が小さかったことから、本試験地間の接種菌生存性に影響を与える要因の1つと考えられた。そこで、播種期の土壌水分含有率の低い試験地の順にA1017由来根粒形成割合を並べ替えたところ、水分含有率の高い試験地や、低い試験地で、A1017着生割合が低く、中間で高い試験地が多い傾向であった(図7)。この傾向は、本試験地の土着根粒菌数が過湿、過乾条件で低かったこととも符合している。根粒菌や、根粒菌の含まれるグラム陰性菌が、乾燥に対する耐性の低いことは他にも報告されている^{4,8)}。一方、根粒菌は好気性であるので、多水分条件下では、土壌空気中の酸素分圧が低下して、生存性が低下するものと推察された。このような、環境ストレスに対しての耐性を接種用根粒菌の選抜要因に組み入れることは、効率的な根粒菌接種にとって必要な条件の1つと言える。

土壌中での生存性の選抜に当っては、根粒菌にとって当該地方で特に問題となるストレス要因を洗い出し、それに耐性を有する菌を選び出すべきである。また、別の方法として、接種菌の担体・包埋剤等を利用して、環境ストレスから接種菌を保護するような接種方式をとることも一考の余地がある。

次に、単位根粒菌数当りの競合力を表わすパラメーター： C_{AB} について検討を加える。このパ

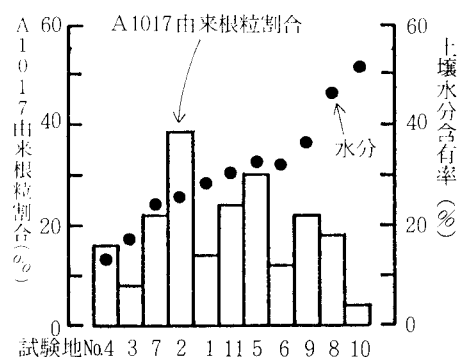


図7 A1017由来根粒形成割合と土壌水分の関係

ラメーターは、根粒菌の根との接触から根粒形成までの、各種プロセスを包含したパラメーターである。ダイズの側からみると、宿主であるダイズが根粒菌を選ぶ上での親和性の尺度とも言える。このため、 C_{AB} は2種の根粒菌株間で常に一定ではなく、宿主であるダイズの系統・品種によって変化する性質のものである。

この競合力パラメーター； C_{AB} とA1017由来根粒形成割合は、弱いながら負の相関関係を示し(図8)、土着菌の競合力が特に大きい場合、A1017由来の根粒形成が阻害されていることを物語っていた。また、図7で、試験地1.6は土壌水分が中庸でありながらA1017由来根粒形成割合が小さかった。このうち、試験地6の土着菌競合力パラメーター； C_{AB} は7.1であり(表3)、測定した中では最も大きかったため、A1017由来の根粒形成割合が小さかったものと推察される。以上から、土着菌に対する接種菌の C_{AB} を高めることも、根粒菌接種を効率的に行うために必要であると言える。

競合力パラメーター； C_{AB} は、第3の根粒菌を介して、直接競合関係を実測していない2菌株間の C_{AB} を大まかに推定できる性質を有している²⁾。すなわち、A菌対S菌の $C_{AS} = 3$ 、B菌対S菌の $C_{BS} = 6$ であったとすると、 $C_{AB} = 3/6 \div 0.5$ となる。さらに、競合を行わせる菌の比を1:1にした場合には、 $\log(1/1) = 0$ となるので、 $C_{AB} = N_A/N_B$ となり、接種密度比1水準

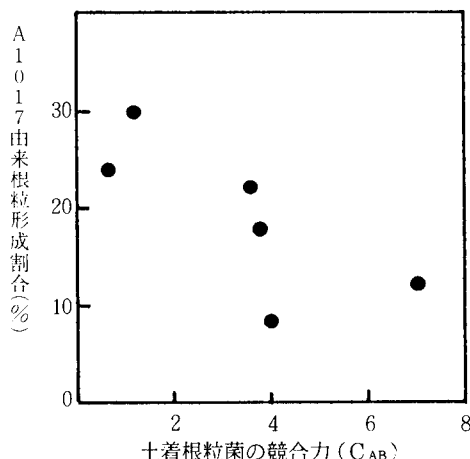


図8 土着根粒菌の競合力とA1017由来根粒形成割合の関係

で C_{AB} を求めることができる。これを応用すれば、ある標準となる菌を介して、競合力の高い菌を選抜することが可能であろう。

土着菌の生存している圃場で根粒菌接種を行っても、接種菌による十分な根粒形成が得られない例が報告されているが、これに関与している要因は明らかにされていない場合が多い。本報告では、この要因を、接種菌がダイズに付着する以前の土壌中での生存性と、次のステップとしての土着根粒菌との競合の2要因に分離し、両者とも重要であることを述べた。現在までの有効菌の選抜は主に無菌条件での接種による収量性に基づいて行われてきた。しかし、本試験の結果、土着根粒菌の置き換えをねらって接種を行う場合には、それらの性質の他に、土壌中での生存性や競合力の高い菌を選抜して用いる必要性が示された。

謝 辞 本稿の取りまとめに当って、十勝農試後木利三場長、中央農試環境資源部大崎玄佐雄部長、同畑作部野村信史部長には御校閲と御指導をいただいた。十勝農協連農産化学研究所高橋利和氏、沢崎明弘氏には接種剤の提供等の御協力をいただいた。各位に心から感謝の意を表する。

参 考 文 献

- 1) Amarger, N.; Lobreau, J. P. "Quantitative study of nodulation competitiveness in *Rhizobium* strains". Appl. Envir. Microbiol. **44**, 583-588 (1982).
- 2) Amarger, N. "Evaluation of competition in *Rhizobium* spp". In Klug, M. J. et al (ed), Current Perspectives in Microbial Ecology. American Society for Microbiology, Washington, D. C., 1984, p.300-305.
- 3) Bohlool, B. B.; Schmidt, E. L. "Persistence and competition aspects of *Rhizobium japonicum* observed in soil by immunofluorescence microscopy". Soil Sci. Soc. Amer. Proc. **37**, 561-564 (1973).
- 4) Chen, M.; Alexander, M. "Survival of soil bacteria during prolonged desiccation". Soil Biol. Biochem. **5**, 213-221 (1973).
- 5) 土壤微生物研究会編. "土壤微生物研究法". 養賢堂, 1980. 431-434 p.
- 6) Ellis, W. R.; Ham, G. E.; Schmidt, E. L., "Persistence and recovery of *Rhizobium japonicum*

- inoculum in a field soil". *Agron. J.* **76**, 573–576 (1984).
- 7) Hanus, F. J.; Albrecht, S. L.; Zablotowicz, R. M.; Emerich, D. W.; Russel, S. A.; Evans, H. J. "Yield and N content of soybean seed as influenced by *Rhizobium japonicum* inoculations possessing the hydrogenase characteristic". *Agron. J.* **73**, 368–372 (1981).
 - 8) 服部勉. "土壌の団粒構造と微生物". 東北大農研報, **18**, 159–193 (1967).
 - 9) 北海道農務部編. "昭和55年普及奨励ならびに指導参考事項". 1980, p. 345–352.
 - 10) 石井忠雄, 岩淵晴郎, 松代平治. "北海道内主要畑土壌に棲息するダイズ根粒菌の密度および窒素固定能". 日土肥誌, **56**, 43–48 (1985).
 - 11) 石井忠雄. "蛍光抗体法による土壌中の根粒菌の生態観察". 土と微生物, **28**, 21–26 (1986).
 - 12) 石井忠雄, 関口久雄, 丸山芳治. "マーカー菌法による接種根粒菌の根粒形成の推定". 日土肥誌, **58**, 7–11 (1987).
 - 13) 熊谷秀行, 大崎玄佐雄. "根粒窒素の利用によるダイズの収量向上に関する研究". グリーンエネルギー計画成果シリーズ II系(物質固定) No. 8, 農林水産技術会議事務局. 1986, p. 33–46.
 - 14) 松代平治. "マメ科植物と根粒菌". 微生物活性と地力. 出井嘉光監修. ホクレン・全農札幌支所, 1978, p. 68–85. (土づくり特集第4号)
 - 15) 南沢究, 有馬泰紘, 田中裕之, 熊沢喜久雄. "水素回収系を持つダイズ根粒菌の接種効果". 日土肥誌, **56**, 292–299 (1985).
 - 16) 西宗昭, 斎藤元也, 金野隆光, 藤田勇. "十勝地方の主要畑土壌に栽培されたマメ類の窒素固定量と子実収量". 北海道農試研報, **137**, 81–106 (1983).
 - 17) 小沢隆司. "土壌中の根粒菌の競合的根粒形成". 土と微生物, **31**, 39–52 (1988).
 - 18) 高橋利和, 伊藤晃, 鈴木裕志. "有用根粒菌と宿主作物の相互作用". グリーンエネルギー計画成果シリーズ II系(物質固定) No. 8, 農林水産技術会議事務局. 1986, p. 92–106.
 - 19) 高橋利和, 沢崎明弘, 伊藤晃. "有効根粒菌接種技術の改善". グリーンエネルギー計画成果シリーズ II系(物質固定) No. 19, 農林水産技術会議事務局. 1988, p. 92–106.
 - 20) Weaver, R. W., Frederick, L. R. "Effect of inoculum rate on competitive nodulation of *Glycine max* L. Merrill. I. Greenhouse studies". *Agron. J.* **66**, 229–232 (1974).

Effectiveness of *Bradyrhizobium japonicum* Inoculation under Different Soil Conditions of the Tokachi District

Shuji HIGASHIDA*, Masatoshi OKUMURA*,
and Masatoshi SAWAGUCHI*

Summary

Inoculation of effective rhizobia strains could be of potential benefit to soybean yield, even though soybean rhizobia are already present in fields in the Tokachi district. However, field studies on introduced rhizobia have shown that inoculation does not always preclude nodulation by indigenous rhizobia. The objective of this study was to determine the factors that affect the nodulation of inoculated strains in the Tokachi district and to investigate ways of increasing inoculation efficiency. The inoculation study was conducted in 11 fields in the Tokachi district, using *Bradyrhizobium japonicum* strain A1017, which possess the H_2 -uptake hydrogenase system. The inoculation rate was 10^{10} rhizobia per plant and the perlite inoculum was applied to soil in rows.

The number of indigenous rhizobia in the experimental plots ranged between 10^2 and 10^5 per gram soil as determined by plant dilution technique. The number was low in cases where the soil was extremely dry or wet. The maximum percentage of nodules formed by strain A1017 was 36% and the lesser 4% in these fields. The rate of N accumulation by the inoculated soybean relative to the uninoculated one rose as the percentage nodules formed by A1017 increased. The percentages of nodules produced by A1017 were positively correlated with the numbers of indigenous rhizobia and numbers of soil bacteria, implying factors that affect adversely to indigenous rhizobia also make a bad effect on the persistence of introduced rhizobia. Since the percentage of A1017 nodules was low in fields that were extremely dry or wet soil, one of the factors controlling the persistence of the inoculated strain might be the soil water condition. Also, the high competitiveness of indigenous rhizobia restricts the percentage of A1017 nodulation. These results indicate that the effectiveness of inoculation must be increased by introducing a strain that has competitiveness and persistence ability in the soil.

* Hokkaido Prefectural Tokachi Agricultural Experiment Station, Memuro, Hokkaido, 082 Japan.