

氏名(本籍)	わた 渡	なべ 部	よし 良	とも 朋 (福島県)
学位の種類	農学博士			
学位記番号	博甲第523号			
学位授与年月日	昭和63年3月25日			
学位授与の要件	学位規則第5条第1項該当			
審査研究科	農学研究科			
学位論文題目	ダイズ根粒菌の土壤-植物系における挙動に関する研究			
主査	筑波大学教授	農学博士	大羽	裕
副査	筑波大学教授	農学博士	石塚	皓造
副査	筑波大学教授	ph.D.	吉田	富男
副査	筑波大学教授	ph.D.	勝屋	敬三

論文の要旨

ダイズ (*Glycine max*) は通常 Yeast-Extract Mannitol (YEM) 培地上での生育が遅い型のダイズ根粒菌 (*Bradyrhizobium japonicum*) と共生し、このダイズ-ダイズ根粒菌共生系を有効に機能させることはダイズ生産の為に必須のことである。高い窒素固定能を持つ共生系をダイズ生育期間を通して形成、保持するための技術が必要となるが、ダイズ根粒菌が土壤中でどのように挙動し機能しているかという点については不明の点が多い。特にわが国においては、根粒菌の挙動についての研究は殆どなされていないのが現状である。

本研究は、ダイズ根粒菌の有効利用の立場から、接種ダイズ根粒菌の根粒形成寄与率や土壤中での菌数推移等の土壤中及びダイズ植物根圏での挙動について調べ根粒菌の接種効果との関連について検討し、更に、土着ダイズ根粒菌の有効利用の観点から、土着ダイズ根粒菌の類別を行い、土着ダイズ根粒菌の性質について検討したものである。

1) 接種ダイズ根粒菌のダイズ根圏での挙動と接種効果との関連

接種根粒菌の根粒形成への寄与率を、ストレプトマイシン耐性変異株を標識接種根粒菌として用いることで把握し、接種効果との関連を検討した。ダイズ品種エンレイを黒ボク土(土着根粒菌は殆ど存在せず)あるいは淡色黒ボク土(土着根粒菌が存在する)をいれたポットで栽培し、その播種の際、接種根粒菌 A-1016str⁺をビートモスを担体として(ビートモス接種源)あるいは YEM 液体培地のまま(液体接種源)種子直下に接種した。その結果、黒ボク土において両接種源接種区でダイズ生育中期からの根粒の発達及び窒素固定能の発現がみられ、子実収量にも集積窒素量にも

接種効果が認められ、また、接種根粒菌による根粒形成率がほぼ100%と高かった。淡色黒ボク土では、接種根粒菌の根粒形成寄与率は両接種源接種区で殆ど同じであり、全体で34から47%であった。無接種区での根粒形成量は接種源接種区とほぼ同じであり、子実収量に関して有為な接種効果は認められなかった。

上記の供試2土壤に直接接種した A-1016str⁺の生存率を追跡した結果、供試土壤中での接種根粒菌の生存率は淡色黒ボク土で低く、播種後2週目以降では黒ボク土での生存菌数レベルが2オーダー高かった。

更に、ダイズ根圏土壌中における接種根粒菌数の消長の追跡を行い、固定窒素量との関連を検討した。接種方法として前述の2種類の接種源をそれぞれ種子直下に接種するものと（局所接種区）土壌全体に混合（全体接種区）するもの計4種類を用いた。この結果、高い菌数の場合には根粒形成寄与率も増加することが認められた。黒ボク土では、両局所接種区で接種菌数が高く推移し根粒形成寄与率も高く、更に根粒重も増加し窒素固定能も高かったが、両全体接種区では菌数が低く推移し、根粒重や窒素固定能も低かった。淡色黒ボク土では、液体接種源接種区で菌数が高く推移し根粒形成寄与率が高くなったが、集積窒素量増加への効果は明らかでなかった。ビートモス接種源区では菌数が低く推移し、ビートモス接種根粒菌の生存に効果が無かったことが示された。

以上の結果から、接種根粒菌の生存率及び菌数のレベルは根粒形成寄与率と密接な関係を持つことが示された。即ち土着根粒菌が多く存在する土壌では接種根粒菌による根粒形成寄与率が低く有意な接種効果が現れにくいことが、更に根粒形成寄与率は接種根粒菌の生存率が低い場合には低くなることが示された。

2) 各種土壌中におけるダイズ根粒菌の生存及び生息状態

土壌の種類と接種根粒菌の生存率との関係を明らかにするために、来歴が異なる各種土壌中に直接接種した場合の接種根粒菌の生存率を追跡した。また同時に土壌中での接種根粒菌の状態を蛍光抗体法を用いて観察し、接種根粒菌の生存との関連をした。

接種根粒菌として A-1016str⁺及び対照として窒素固定能を示さない無効（ineffective）根粒菌 A-1014str⁺を用いた。供試した土壌は北海道及び茨城県から採取した計10種の黒ボク土及び淡色黒ボク土であった。接種根粒菌の生存率に土壌間の差が認められたが、土壌の来歴の違い（畑、林地及び水田）や炭素及び窒素含量の違いとの関連は明らかでなく、個々の土壌は固有の接種根粒菌生存レベルを示した。A-1016str⁺と A-1014str⁺の生存率は2、3の例外を除いて有意な差はなく、有効及び無効の違いは単生状態にある菌の生存には大きな影響を与えないと考えられた。

蛍光抗体法による観察の結果、生存率の良好な土壌では土壌粒子表面で根粒菌が多く生息しているのが観察され、土壌中での生息状態と良好な生存率とは関連性があることが示唆された。

3) 土着ダイズ根粒菌の類別及び性質

土着根粒菌が多く存在する場合には有意な接種効果が認められないことから、各種土壌中にどのような土着根粒菌が存在しているかを調べるために、Intrinsic antibiotic resistance（以下IAR）を比較することで類別を試み、土着根粒菌の性質を調べた。

北海道及び茨城の計10種の土壌を入れたポットでダイズを栽培し、形成全根粒から土着根粒菌を分離した。分離した土着根粒菌株の10種類の抗生物質への IAR パターンを比較することによって類別した。その結果、各種の土壌に特徴的な IAR パターンを有する優占的土着根粒菌群が存在することが示された。北海道の4土壌から分離された土着根粒菌株の IAR パターンは計43であり、黒ボク土で IAR-H-6 及び IAR-H-16グループが優占的であった。淡色黒ボク土では IAR-H-43グループが優占的であった。茨城の4土壌では計27パターンであり、黒ボク土での優占グループは IAR-I-21グループであった。淡色黒ボク土(畑地)では IAR-I-23グループが優占的であった。

土着根粒菌と市販根粒菌株を含む保存根粒菌株5種の抗血清及び優占的 IAR グループに属する土着根粒菌株14種の抗血清との反応を調べた結果、保存菌株の抗血清との反応では、僅かな土着根粒菌株が NIAS-J5033菌株抗血清と反応したが他の4種の市販根粒菌株抗血清と反応するものは皆無であり、土着根粒菌は市販根粒菌とは異なるものであることが示された。優占的 IAR グループに属する土着根粒菌株抗血清との反応の結果は同じ IAR グループ内で同一の反応を示すものが多く、IAR による類別の信頼性の高さが示された。

土着根粒菌の窒素固定能を測定した結果、優占的 IAR グループに属する土着根粒菌株は全て水素発生 (Hup^-) 菌株と推定され、それらの殆どは水素非発生 (Hup^+) 菌株に対して低い窒素固定能を示すのみであったが、いくつかの土着根粒菌は Hup^- 菌株にもかかわらず市販根粒菌と同等の窒素固定能を有していた。

土着根粒菌の脱窒能を測定したところ、供試した土着根粒菌株の殆どは脱窒能を持っており、IAR による類別で優占的とされた土着根粒菌株とそれ以外の菌株との間に明確な関係は無く、優占的土着根粒菌群が各土壌で生存してきたことと脱窒能との関連は明らかではなかった。しかし、殆どの土着根粒菌株が脱窒能を有していたことから、農業生態系における根粒菌の脱窒の意義の解明が待たれる。

審 査 の 要 旨

本研究はダイズの生育、生産に必須であるところの根粒菌の、土壌-植物系における挙動について詳細に検討したものである。

その結果、従来、市販根粒菌の人工接種がダイズの生育、生産に高い効果をもたらすものと考えられていたが、実際には、市販根粒菌の土壌中での生存率が低く、接種効果が少ないことが明らかとなった。その一要因が、土壌中に元々存在する土壌固有の土着根粒菌が優占的に定着していることであることがわかった。

この種の研究は、研究手法の困難性の為に、従来殆ど行われなかったが、本研究では根粒菌の直接追跡方法及び土着根粒菌の類別方法の改良を行い、それを用いて根粒菌の土壌-植物系における挙動追跡を可能にした。本研究では、この研究分野における基礎的知見が得られ、今後の根粒菌の

有効利用に役立つものである。

よって、著者は農学博士の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。