

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*

抄 録

各種の作物の中で子実中のタンパク質含有率が最も高い作物であるダイズで多収を得るには、多量の窒素をダイズに集積させることが必要である。多くの根粒を着生する根粒超着生系統のダイズには、高い窒素固定能力をダイズの多収化や土壌窒素の保持に活かすことが期待された。しかし、根粒数が通常の5～10倍以上の根粒超着生系統は、生育・収量が通常の品種より劣るのが一般的であった。本研究では、既存の根粒超着生系統「En6500」の欠点を改良して、収量性を高めた根粒超着生品種「作系4号」(旧「En-b0-1-2」、現「関東100号」)を開発した。また、生育期間を通じて個体当たりの窒素固定能力が高く、子実肥大期の葉の窒素含有率や光合成速度が高いことなど、作系4号の生理的特性を明らかにした。さらに、作系4号は水田転換畑での次世代型栽培法である不耕起狭畦栽培への適応性が高く、この栽培法により慣行栽培法よりも多収が得られることを明らかにした。

キーワード：窒素固定、ダイズ、不耕起栽培、品種、光合成、根粒超着生、収量、スーパーノジュレーション

*現 国際農林水産業研究センター
本稿は東京大学審査学位論文に一部加筆修正したものである。

Abstract

Soybeans must accumulate large amounts of nitrogen (N) during reproductive growth due to the high protein content of their seeds. Supernodulating soybean lines, which produce several times more nodules than conventional genotypes, were initially expected to enhance soybean productivity and reserve more N for subsequent crops through their higher N-fixing ability. Existing supernodulating lines bearing over 5-10 times as many nodules as conventional lines have proven inferior, however, to conventional cultivars in growth and yield. We developed an actively growing, high-yielding supernodulating soybean cultivar, "Sakukei 4" (previously "En-b0-1-2", now "Kanto 100"), by improving conventional supernodulating genotype "En6500". We confirmed the physiological properties of Sakukei 4, such as its high N-fixing ability through the growing season, its high leaf N content, and its high photosynthetic rate during seed filling. We also demonstrated that Sakukei 4 is highly adaptable to no-tillage and narrow-row cultivation in upland fields converted from paddies, producing a higher yield than in conventional cultivation.

Key words : nitrogen fixation, no-tillage, photosynthesis, root nodule, soybean (*Glycine max* L. Merr.), supernodulation, cultivar, yield.

目次

略号一覧	53
I 緒 言	53
II 根粒超着生ダイズ品種作系4号の開発	56
1 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	57
1) 材料及び方法	57
2) 結果	58
3) 考察	62
2 作系4号の親子鑑定	64
1) 材料及び方法	64
2) 結果	64
3) 考察	66
III 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	66
1 根粒着生と窒素固定能	67
1) 材料及び方法	67
2) 結果	68
3) 考察	71
2 植物体内窒素含有率、光合成速度及び乾物生産特性	72
1) 材料及び方法	72
2) 結果	73
3) 考察	74
3 根粒非着生条件下での生育特性	78
1) 材料及び方法	78
2) 結果	79
3) 考察	80
4 後作への効果	81
1) 材料及び方法	81
2) 結果	82
3) 考察	84
IV 作系4号の水田転換畑における多収化栽培技術の検討	85
1 水田転換畑への適応性の検討	86
1) 材料及び方法	86
2) 結果	87
3) 考察	87
2 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	89
1) 材料及び方法	89
2) 結果	90
3) 考察	92

V 総合考察	94
1 根粒超着生品種開発の意義	94
2 作系 4 号の優れた基本的特徴	95
1) 開花期間の栄養生長	95
2) 根量	95
3) 窒素固定能力	95
3 作系 4 号の特徴に及ぼす花粉親タマホマレの影響	96
4 作系 4 号の収量性	96
5 作系 4 号の収量性以外の優位性	97
1) 熟期	97
2) 豆腐適性	97
3) 後作への影響	97
6 本研究後の作系 4 号に関する研究	98
VI 摘要	98
1 根粒超着生ダイズ品種作系 4 号の開発	99
2 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	99
3 作系 4 号の水田転換畑における多収化栽培技術の検討	100
謝 辞	101
引用文献	101
Summary	106

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)

I 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。国産ダイズの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（Hanway and Weber 1971、平井1961、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用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の制御と、窒素固定の阻害を抑えつつ、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12g/m²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、0.1～13.2%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%～+32%（平均3.2%）であり、追肥量が5

gm^{-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 400gm^{-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 6gm^{-2} 程度施肥することにより、ダイズが10～16%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～ 12gm^{-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10～23%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 (Akao and Kouchi 1992、Carroll *et al.* 1985a、1985b、Gremaud and Harper 1989)。これらの系統は原品種に比べて、根粒数が5～10倍以上に達する。また、通常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、Hus-sain *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、Pracht *et al.* (1994)、Wu and Harper (1991) 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量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 (Takahashi *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Ⅱ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Ⅲ章では、第Ⅱ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Ⅳ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。

本研究は著者が農林水産省農業研究センター、農業・生物系特定産業技術研究機構作物研究所、国際農林水産業研究センターに在籍している間に行ったもので、学会誌などに公表した部分を含め (Takahashi *et al.* 2003、高橋ら 2003、Takahashi *et al.* 2005a、Takahashi *et al.* 2005b、山本ら 2004)、東京大学審査学位論文としたものである。

なお、同論文完成後も作物研究所では作系 4 号に関する研究が続けられた。その結果は順次公表中であるので (Nakamura *et al.* 2005a、中村ら 2005b、島村ら 2005、島村ら 2006、山本ら 2005)、これを受けて本稿は考察等を一部加筆修正した。

Ⅱ 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、Herridge and Rose 2000、Hussain *et al.* 1992、Pracht *et al.* 1994、Song *et al.* 1995、Wu and Haper 1991、Zhao *et al.* 1998)。

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Ⅱ章第1節及び第Ⅲ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。

1 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

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。

1) 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_1 種子25粒を得た。1994年春期に F_2 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_3)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_5)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。品種名は2005年に「関東100号」に変更され、同年12月7日に品種登録された(登録番号13531)。

(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^2 当たり14.3個体)とした。施肥は化成肥料でN- P_2O_5 - K_2O それぞれ m^2 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^2 2反復、1997年は15 m^2 3反復、1998年は22 m^2 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莖長、節数を調査したのち、部位別に分解し、葉面積を自動葉面積計(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、

表 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 (㎡)	1.8	15	22
畦幅 (cm)	70	70	70
株間 (cm)	10	10	10
栽植密度 (本 m ⁻²)	14.3	14.3	14.3
窒素 (N g m ⁻²)	3	3	3
リン酸 (P ₂ O ₅ g m ⁻²)	10	10	10
カリ (K ₂ O g m ⁻²)	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 (㎡)	1.0	2.6	3.4

1) 本表はPlant Prod. Sci. (Takahashi *et al.* 2003) より一部を改変し転載した。

表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

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㎡、1997年は2.6㎡、1998年は3.4㎡に含まれるダイズを収穫して行った。

2) 結果

(1)収量特性

1996年の子実収量を図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 (F₈) 3系統、及びエンレイ/En6500//エンレイ///エンレイの後代 (F₄) 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及び根粒非着生系統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年には百粒重が大きい一方、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、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。

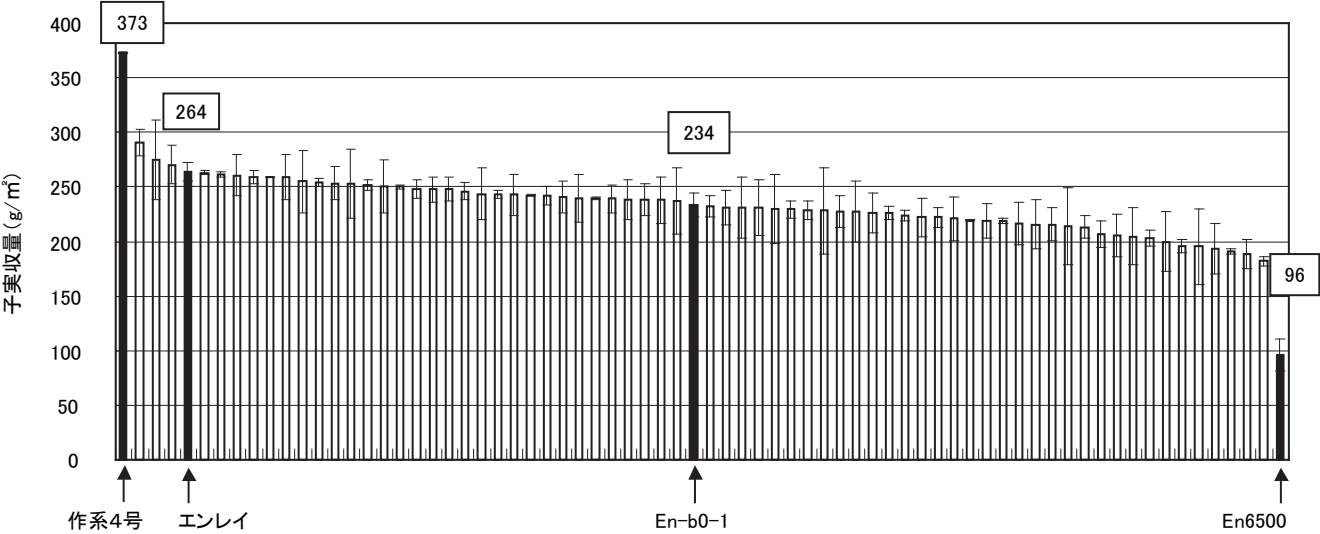


図1 圃場（普通畑）におけるダイズ品種・系統の子実収量（1996年）。
エンレイ、及びエンレイ由来の根粒超着生の71系統。
縦線は平均値の標準誤差(n=2)。
本図はPlant Prod. Sci. (Takahashi *et al.* 2003) より一部を改変し転載した。

表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 ⁻²)	着莢数 (m ⁻²)	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	1.79 ab	36.5 a
	En1282	386 a	634 a	1.72 bc	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。
2) 本表はPlant Prod. Sci. (Takahashi *et al.* 2003) より一部を改変し転載した。

表 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。
 2) 本表はPlant Prod. Sci. (Takahashi *et al.* 2003) より一部を改変し転載した。

(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 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 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。

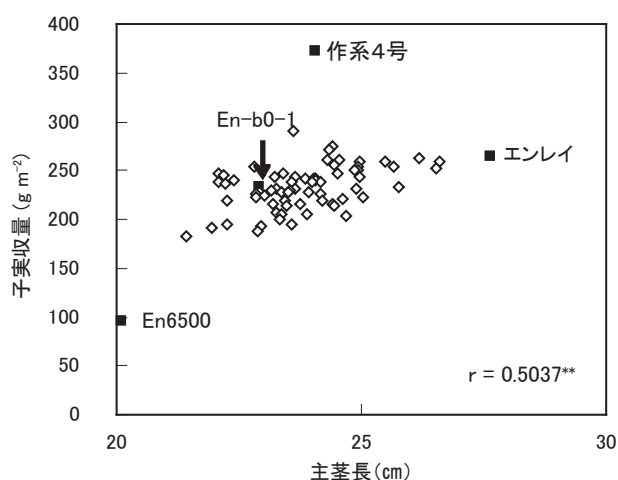


図 2 播種34日後のダイズ品種・系統の主茎長と子実収量との関係 (1996年).
 本図はPlant Prod. Sci. (Takahashi *et al.* 2003) より一部を改変し転載した。

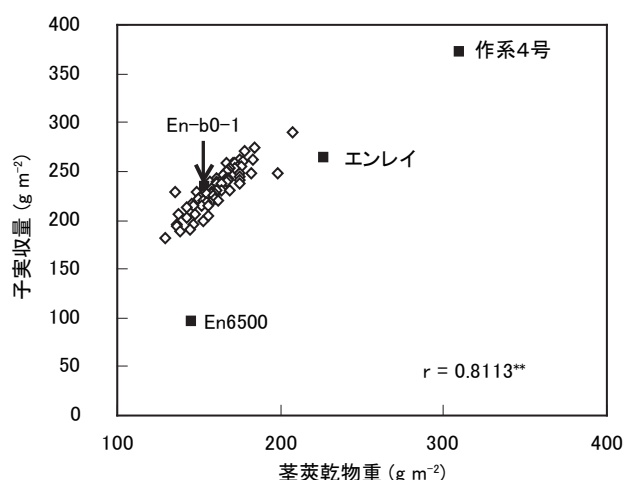


図 3 成熟期 (R8) におけるダイズ品種・系統の茎莢重と子実収量との関係 (1996年).
 本図はPlant Prod. Sci. (Takahashi *et al.* 2003) より一部を改変し転載した。

この作系 4 号の生育の特徴は、1997年の結果 (図 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 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5）。

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6）。En-b0-1とEn6500は分枝の発達がエンレイより劣ったため、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%とややまさった（表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6）。

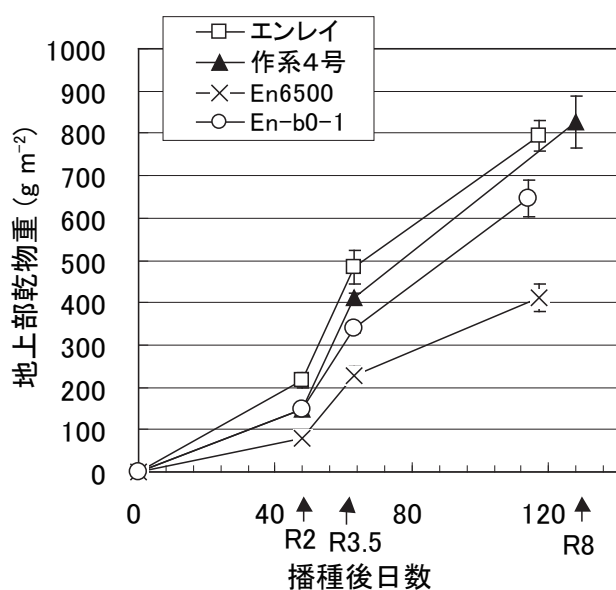


図4 ダイズ品種・系統の地上部乾物重の推移（1997年）.
縦線は平均誤差（n=3）。
本図はPlant Prod. Sci. (Takahashi *et al.* 2003) より一部を
改変し転載した。

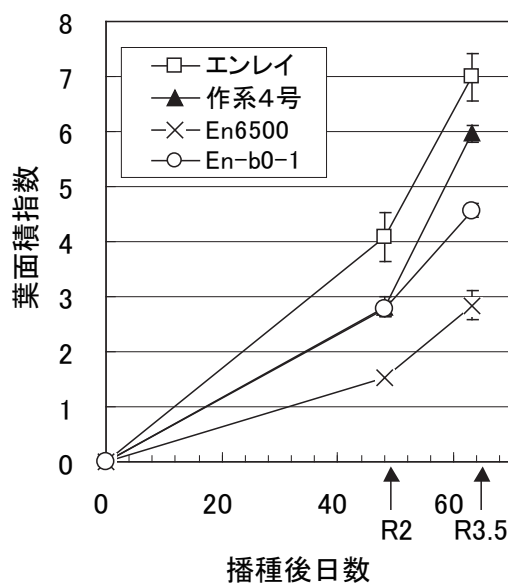


図5 ダイズ品種・系統の葉面積指数の推移（1997年）.
縦線は平均誤差（n=3）。
本図はPlant Prod. Sci. (Takahashi *et al.* 2003) より一部を
改変し転載した。

表 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 (gm ⁻²)	葉面積 生長速度 R2-R3.5 (m ² m ⁻² d ⁻¹)	RGR R2-R3.5 (gg ⁻¹ d ⁻¹)	NAR R2-R3.5 (gm ⁻² d ⁻¹)	LAR R2-R3.5 (m ² g ⁻¹)
	R2	R3.5	R8					
	(gm ⁻²)	(gm ⁻²)	(gm ⁻²)					
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。

2) 本表はPlant Prod. Sci. (Takahashi *et al.* 2003) より一部を改変し転載した。

表 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	主茎節数	分枝節数	総節数	開花期 (R2)	黄葉期 (R7)	成熟期 (R8)
		(cm)	(個体当)	(個体当)			(播種後日数)	
1996								
	作系 4 号	--- ²⁾	---	---	---	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	---- ³⁾	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。

4) 本表はPlant Prod. Sci. (Takahashi *et al.* 2003) より一部を改変し転載した。

3) 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%近く収量が高かつ

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号の特徴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日後の主莖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2)、その後の著しい生育促進によって、莖莢重・子実収量とも供試品種・系統中の最高値を示した(図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4、図5、表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の莖葉の旺盛な生育で、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4、表3、表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、これまでの根粒超着生系統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。En6500に比べて作系4号の収量性が改善された原因として、(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と考えられた。

2 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 *HARI* (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 *HARI* 遺伝子のホモログである *NTSI* 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 (Arai *et al.* 2005)。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 II 章第 1 節及び第 III 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さることで、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エンレイを En6500 に戻し交配したことのみに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。

1) 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碎し、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 1xTBE 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。

2) 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 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 (Gress-

表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 ⁹⁾
En-b0-1	207/208	1/208 ⁹⁾
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。
- 3) 本表は育種学研究（山本ら 2004）より転載した。

hoff *et al.* 1988、Kokubun and Akao 1994)、F₁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、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6に示す。

表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。
- 2) 本表は育種学研究（山本ら 2004）より転載した。

表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7、表8で使っていないSSRマーカーで、表7、表8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。
- 3) 本表は育種学研究（山本ら 2004）より転載した。

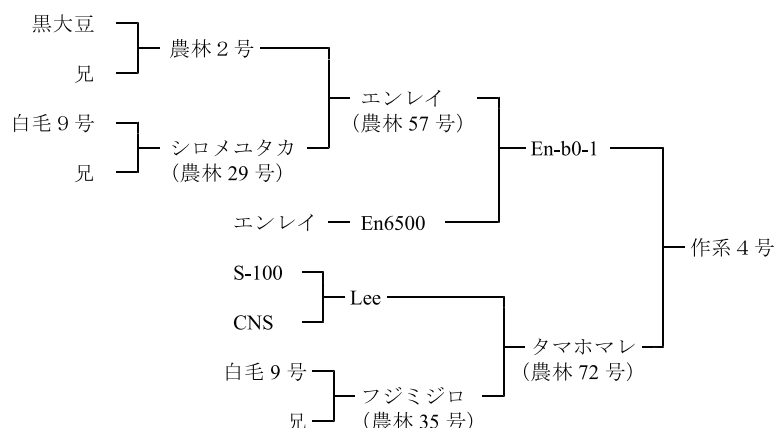


図 6 作系 4 号の系譜

本表は育種学研究 (山本ら 2004) より転載した。

3) 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。

図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。エンレイに比べてタマホマレは晩生で、また、多収を示す傾向にある。タマホマレの遺伝的性質は、根粒超着生性と独立して作系4号の収量性に関与するとともに、開花期間における旺盛な栄養生長による生育量の確保等により作系4号の個体当たりの窒素固定活性を増強することを通じて、収量性に関与したと推察される。これらについては後述する。

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本研究のごく後期 (2003年秋) であったため、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。

Ⅲ 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Ⅱ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Ⅱ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っている。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。

1 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。

1) 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7 L) に淡色黒ボク土6 kgを充填して実施した。肥料はN、P₂O₅、K₂Oをそれぞれポット当たり0.6、5、2 g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。根系を入れたチェ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。

表10 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

1) 本表は Plant Prod. Sci. (Takahashi *et al.* 2005a) より一部を改変し転載した。

2) 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 10)。

(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 7 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 1.4 g に達した。一方、作系 4 号では播種 68 日後にほぼ最大値の 3.4 g 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 7 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

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 7

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た（図7D）。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8A）。根粒呼吸速度の推定値（図8B）は、窒素固定活性（図7C）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8C）。

(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9A）。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つ

た（図9A）。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9A）。

(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9B）。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2.4g区の方が0.6g区より各部位の窒素集積量が大きかった。

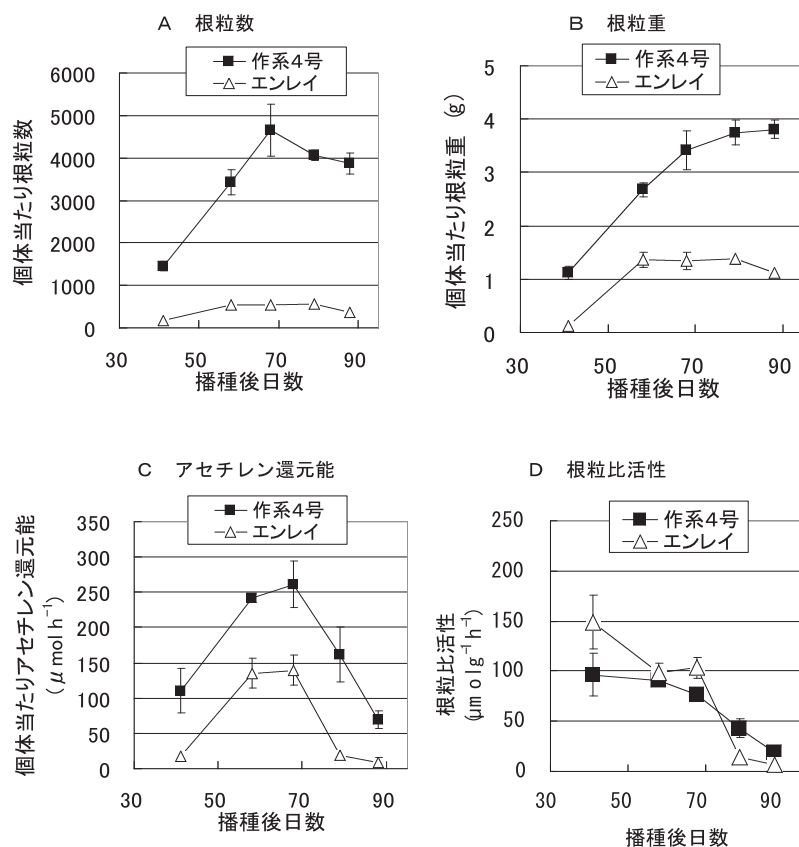


図7 作系4号とエンレイにおける根粒数 (A)、根粒重 (B)、個体当たりアセチレン還元能 (C)、及び根粒比活性 (D) の推移 (1998年)。縦線は標準誤差 (n=4)。
本図はPlant Prod. Sci. (Takahashi *et al.* 2005a) より一部を改変し転載した。

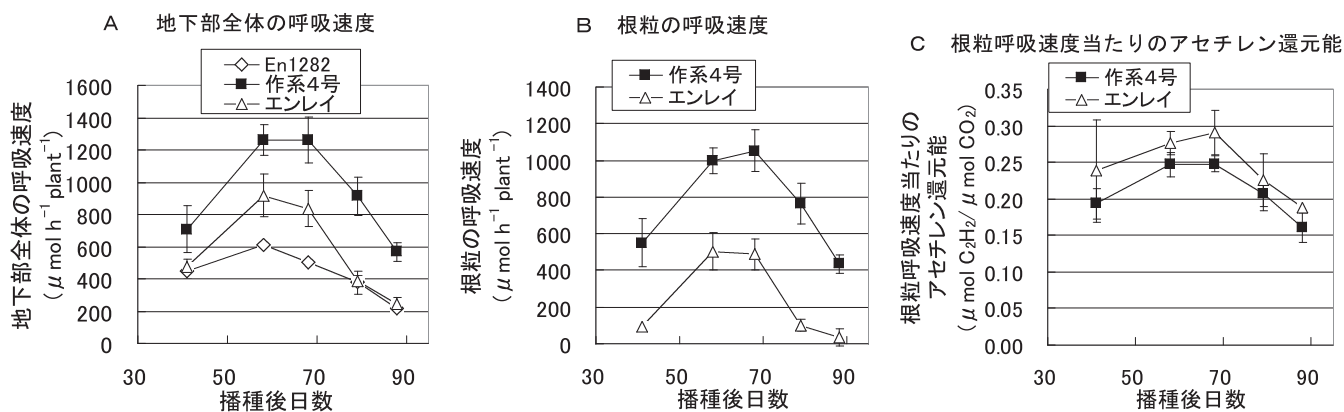


図8 作系4号とエンレイにおける地下部全体の呼吸速度 (A)、根粒の呼吸速度 (B)、根粒呼吸速度当たりのアセチレン還元能 (C) の推移 (1998年)。縦線は標準誤差 (n=4)。
本図はPlant Prod. Sci. (Takahashi *et al.* 2005a) より一部を改変し転載した。

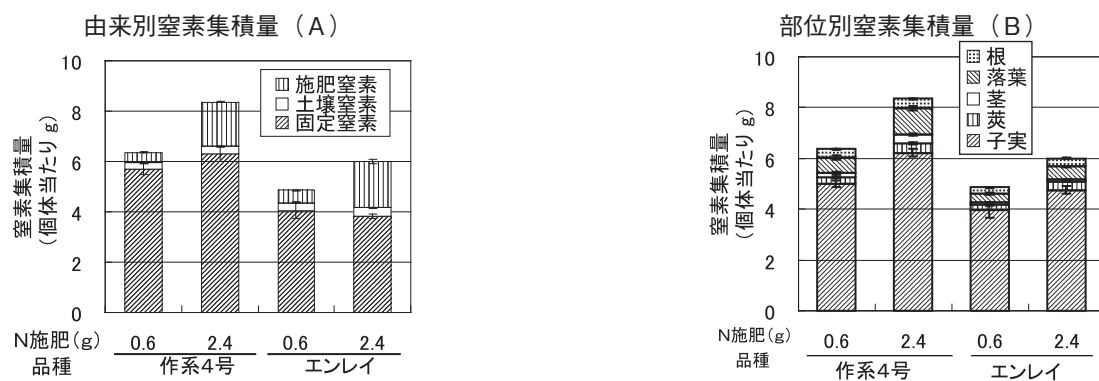


図9 ダイズ品種の由来別窒素集積量 (A) と部位別窒素集積量 (B) (2002年). 縦線は標準誤差(n=3)。

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7C）。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る。根粒超着生系統に期待されてきた収量性への寄与が実際にあるとすれば、窒素要求量が大きい時期の窒素固定活性が高いことが、それを実現するための必要条件となるからである。

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7D）。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8C）。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0.6 g区では40%、窒素施肥2.4 g区では64%多かった（図9A）。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踏まえ、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

ずれも、作系 4 号はエンレイに比べて窒素施肥 0.6 g 区では 16%、窒素施肥 2.4 g 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 号では子実を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 9 B)。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。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。

2 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強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。

1) 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 II 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 6 kg を充填した深型 1 / 5000a ワグネルポット (内径 16cm、高さ 35cm、容量 7 L) に播種し、根粒菌菌株 A1017 を接種した。2004 年は淡色黒ボク土 8 kg を充填したプラスチックポット (内径 23cm、高さ 25cm、容量 10 L) に 3 月 29 日に播種した。各年とも N、P₂O₅、K₂O をそれぞれポット当たり 0.6、2、5 g 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℃ 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℃ 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も、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。

2) 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10A）。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10B）。エンレイでは播種58日後（R4.5）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10C）。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）。

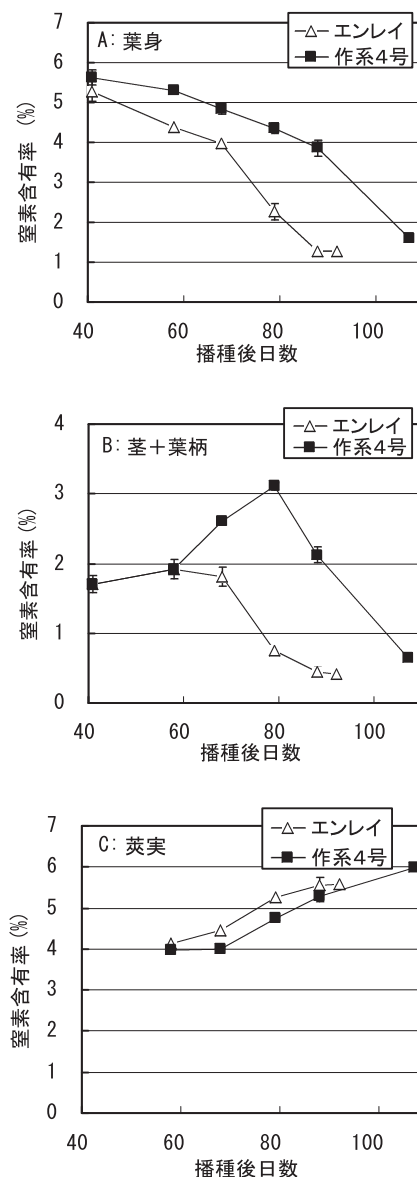


図10 作系4号とエンレイの葉身(A)、茎＋葉柄(B)、莢実(C)の窒素含有率の推移(1998)。

縦線は標準誤差(n=4)。

本図はPlant Prod. Sci. (Takahashi *et al.* 2005b) より一部を改変し転載した。

(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11)。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12)。

(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13B)、生育が進んだ子実肥大期、すなわち1998年の播種75日後及び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13A、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14)。

(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15A)。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6.8g増加し、エンレイの5.6gより多かったが(図15B)、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15D)。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15B)。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15D)。

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16A)。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16B)。

(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11)。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11)。

(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11)。1999年と2004年の作系4号の子実収量は、エンレイより明らかに多かった。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年には明らかに多かった。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。

3) 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10A)。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、第II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、タマホマレはエンレ

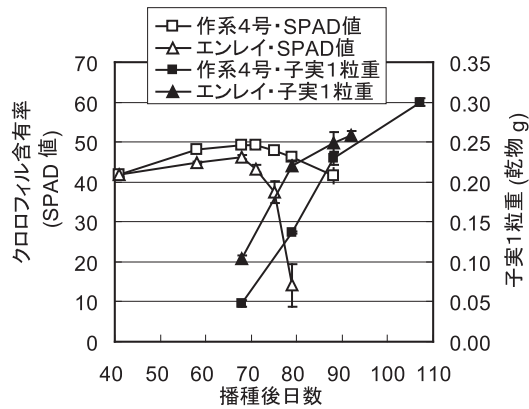


図11 作系4号とエンレイのクロロフィル含有率（SPAD値）と子実の平均1粒重の推移（1998年）。縦線は標準誤差(n=4)。本図はPlant Prod. Sci. (Takahashi *et al.* 2005b) より一部を改変し転載した。

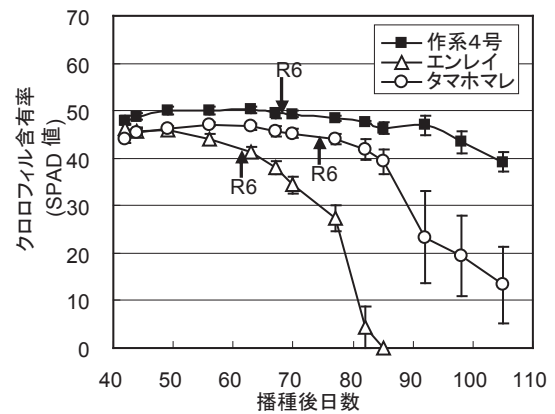


図12 作系4号、エンレイ及びタマホマレのクロロフィル含有率（SPAD値）の推移（2004年）。矢印は各品種が子実肥大型（R6）に達した日。縦線は標準誤差（n=5）。本図はPlant Prod. Sci. (Takahashi *et al.* 2005b) より一部を改変し転載した。

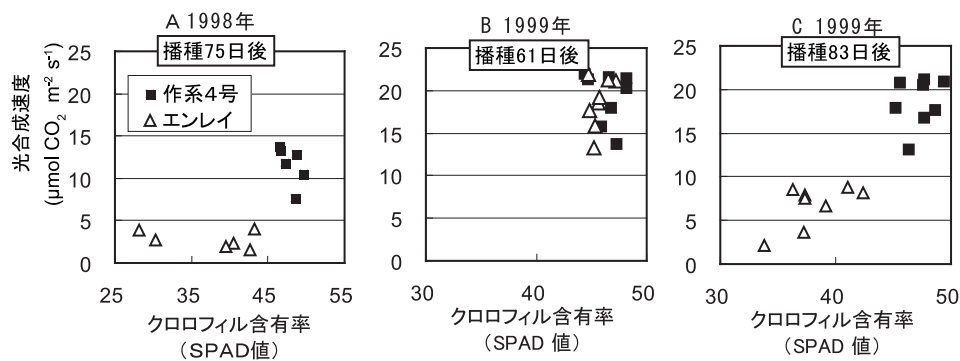


図13 作系4号とエンレイの1998年播種75日後（A）と1999年播種61日後（B）、83日後（C）におけるクロロフィル含有率（SPAD値）と光合成速度の関係。本図はPlant Prod. Sci. (Takahashi *et al.* 2005b) より一部を改変し転載した。

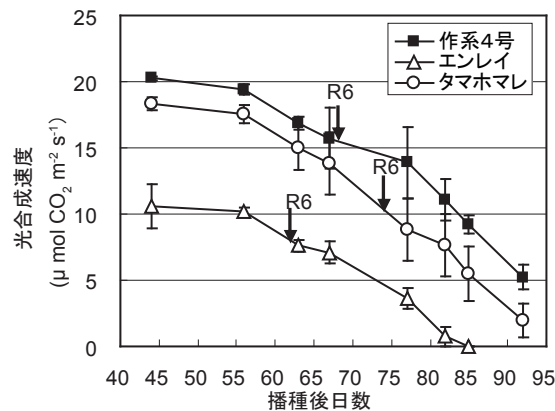


図14 作系4号、エンレイ及びタマホマレの光合成速度の推移（2004年）。矢印は各品種が子実肥大型（R6）に達した日を示す。縦線は標準誤差(n=5)。本図はPlant Prod. Sci. (Takahashi *et al.* 2005b) より一部を改変し転載した。

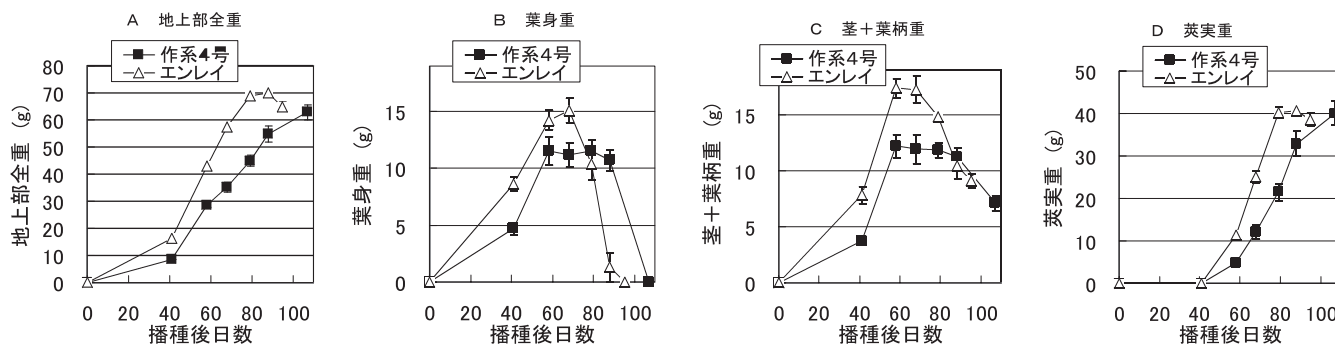


図15 作系4号とエンレイの地上部の部位別乾物重の推移 (1998年)。

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)。

本図はPlant Prod. Sci. (Takahashi *et al.* 2005b) より一部を改変し転載した。

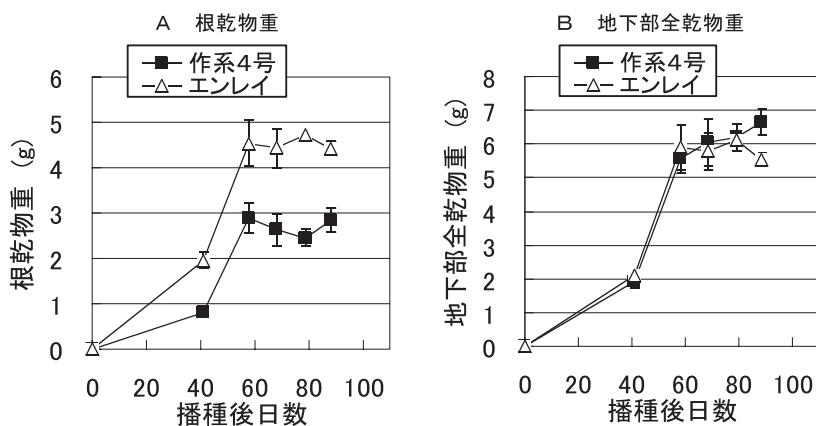


図16 作系4号とエンレイの根乾物重 (A) と地下部全乾物重 (B; 根+根粒) の推移 (1998年)。縦線は標準誤差(n=4)。

本図はPlant Prod. Sci. (Takahashi *et al.* 2005b) より一部を改変し転載した。

表11 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 ²⁾ (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)	----
	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) かつこ内は標準誤差 (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。

4) 本表はPlant Prod. Sci. (Takahashi *et al.* 2005b) より一部を改変し転載した。

イより晩生であるため、作系4号の生育ステージの進行はエンレイより遅い。図11に示した子実の平均1粒重の推移から読み取ると、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10 B)。

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11)。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、同じ生育ステージ及び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12)。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13A、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14)。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15A)。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Ⅱ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11)、百粒重が増大したことも (表11; 1998年)、子実肥大期における高い乾物生産性を示していた。作系4号の花粉親である晩生品種タマホマレは、開花期から成熟期までの期間が長いので、生育後期に作系4号の乾物生産量が大きいことには、タマホマレ由来の遺伝的要因が関与したと推察されるが、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たことも、子実肥大期における旺盛な乾物生産に関与したと考えられる。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15、表11)。子実収量がエンレイより顕著に大きかった1999

年、2004年（表11）の実験では、作系4号の生育後期における高い乾物生産性が、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Ⅱ章第1節の圃場試験と同様に、作系4号は莢実の生長より茎葉の生長を優先させた（図15B、C、D）。2004年の実験において、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程度かそれ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11）。

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、花粉親である晩生・多収性のタマホマレ由来の遺伝的要因とともに、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の多さや収量の高さに関与していると考えられた。

3 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Ⅱ章第1節、第Ⅲ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。

1) 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℃（14時間）／夜23℃（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 mol m^{-3} 、1998年は播種33日後まで 5 mol m^{-3} 、それ以降は 10 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。

2) 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12）。また、播種102日後の作系4号の地上部重はエンレイ比140%とまさり、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日後以降はエンレイよりまさった（図17）。

表12 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 ¹⁾	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)。

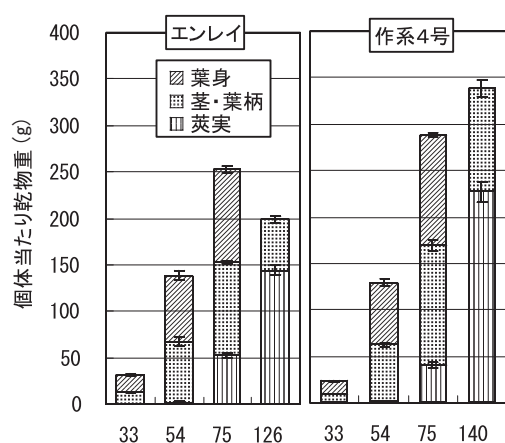


図17 根粒非着生条件下における作系4号とエンレイの地上部部位別乾物重（1998年）。縦線は標準誤差 (n=4)。

(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%とまさる傾向にあった（表13）。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18A）。なお、主茎節数もエンレイより作系4号が多かったので（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。

表13 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 ¹⁾	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)。

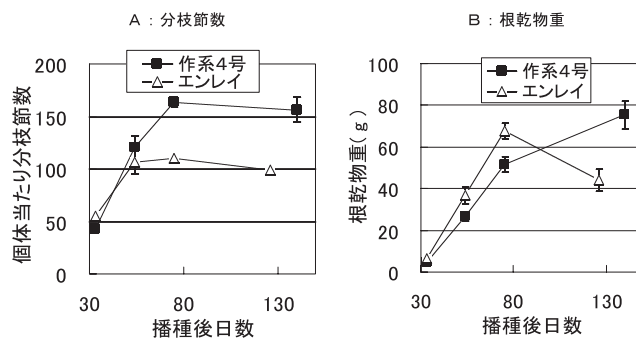


図18 根粒非着生条件下における作系4号とエンレイの分枝節数 (A) 及び根乾物重 (B) の推移 (1998年). 縦線は標準誤差 (n=4)。

(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12)。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12)。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18B)。

(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17)、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13)。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)。

3) 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12)。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12、図18B)。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17、図18A)、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Ⅱ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Ⅲ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Ⅲ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、根粒超着生系統と通常品種の交雑により、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。

4 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、結果が分かっている。

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。

1) 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Ⅲ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、5 g 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Ⅲ章第 1 節に示したとおり、深型 1 / 5000a ワグネルポット (容量 7 L) を使い、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 3.3 L) 5 ポットに 3 kg 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、5 g 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Ⅲ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、5 g 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。

2) 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 8～18 cm 高かった (表 14)。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 14)。

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 14)。

(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 15)。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15）。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15）。

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16）。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量が多い方が有意に多かった（表16）。

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0.6g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16）。前作施肥量が2.4g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。

表14 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 ¹⁾ (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) カッコ内は標準誤差（根無：n=6、根有：n=4）

表15 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 ¹⁾ (cm)	56日後 (cm)	76日後 (cm)		
N0.6g	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)
N2.4g	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) カッコ内は標準誤差（n=5）

表16 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	地上部	窒素全集積量	前作施肥由来	土壌窒素由来	前作施肥由来 ¹⁾
前作品種	窒素集積量 (個体当mg)	(個体当mg)	窒素集積量 (個体当mg)	窒素集積量 (個体当mg)	窒素の比率 (%)
N0.6g					
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)
N2.4g					
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) カッコ内は標準誤差 (n=5)

表17 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) カッコ内は標準誤差 (n=5)

(3)実験3 (2004年)

トウモロコシの草丈の推移を図19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17)。

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17)。

3) 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14、表15、表16)、実験3ではエンレイ跡との差が認められなかった(図19、表17)。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Ⅲ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%は子実に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良かったため、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まさる傾向にあった(図19、表17)。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14)。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16)。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した増加分は、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。

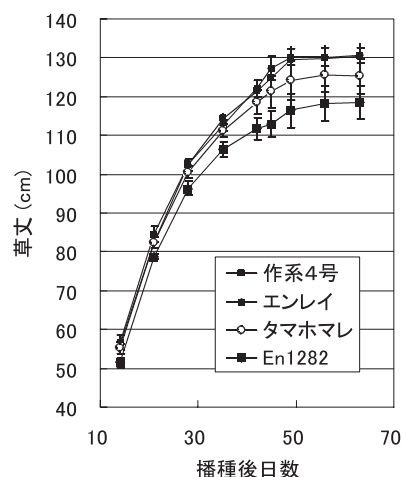


図19 前作ダイズ品種・系統がトウモロコシの草丈に及ぼす影響(実験3、2004年)。縦線は標準誤差(n=5)

IV 作系4号の水田転換畑における多収化栽培技術の検討

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II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ること、生育後期の乾物生産性に優れ、子実収量が高い傾向にあること、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III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。

1 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Ⅱ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。

1) 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18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-P₂O₅-K₂O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㎡3反復、1998年は11㎡4反復で、いずれも乱塊法で実施した。

表18 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 (㎡)	10	11
畦幅 (cm)	60	30
株間 (cm)	10	20
栽植密度 (本 m ⁻²)	16.7	16.7
窒素 (N g m ⁻²)	3	3
リン酸 (P ₂ O ₅ g m ⁻²)	12	12
カリ (K ₂ O g m ⁻²)	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 (㎡)	2.6	2.9

1) 本表はPlant Prod. Sci. (Takahashi *et al.* 2003) より一部を改変し転載した。

(3)使用圃場

本試験は茨城県稲敷郡新利根町（現稲敷市）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㎡、

1998年は2.9m²に含まれるダイズを収穫して行った。

2) 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19)。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20)。すなわち、第Ⅱ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20)。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20)。

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 low 収だった1998年にはエンレイよりまさり、高収だった1997年には劣る傾向にあった(表21)。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。

3) 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

表19 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	--- ²⁾	---	---	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。

3) 本表はPlant Prod. Sci. (Takahashi *et al.* 2003) より一部を改変し転載した。

表20 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 (gm ⁻²)	葉面積指数		葉面積 生長速度 R2-R3.5 (m ² m ⁻² d ⁻¹)	RGR R2-R3.5 (gg ⁻¹ d ⁻¹)	NAR R2-R3.5 (gm ⁻² d ⁻¹)	LAR R2-R3.5 (m ² g ⁻¹)
		R2	R3.5	R8		R2	R3.5				
		(gm ⁻²)	(gm ⁻²)	(gm ⁻²)							
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	--- ²⁾	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。

3) 本表はPlant Prod. Sci. (Takahashi *et al.* 2003) より一部を改変し転載した。

表21 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 (gm ²)	着莢数 (m ²)	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。

2) 本表はPlant Prod. Sci. (Takahashi *et al.* 2003) より一部を改変し転載した。

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20)。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まさり、1997年には劣る傾向にあった(表21)。同時に供試した根粒非着生系統En1282の収量は、1997年には271g m⁻²(エンレイ比53%)であるのに対して、1998年には106g 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Ⅱ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まさっ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19)。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Ⅲ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21）。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はほぼ匹敵し、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。

2 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、梅雨の合間の土壤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、土壤窒素の無機化が抑制されるなどが原因となり、土壤窒素が利用されにくい側面も持っている。

このような土壤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、土壤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、乾燥時にも土壤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がある作系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。

1) 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。

b) 耕起栽培法

2000～2003年の4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/m²で、ロータリーシーダで耕起・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/m²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

2000～2003年の4カ年、施肥は2水準で行い、標準施肥区にはN-P₂O₅-K₂O：3-12-12(g m⁻²)を基肥で施用した。窒素増肥区には標準施肥に加え、N10g m⁻²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⁻²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/㎡) と不耕起狭畦区 (26本/㎡) 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。1区面積は31～52㎡で、3反復で実施した。

(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) 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日であった。

(4) 調査方法

開花期 (R2) と最大繁茂期 (R3.5) 及び成熟期 (R8) の3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㎡、成熟期調査は約3.6㎡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。

2) 結果

(1) 開花期 (R2) における生長量

㎡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22)。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%高かったので、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22)。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22)。

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23)。増加率はエンレイでは23%、作系4号では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24)。

(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22)。

窒素増肥による乾物重の増加率は、作系4号では開花期とはほぼ同等の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22)。

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22)。

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23)。

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24)。

(3) 収量及び収量構成要素

表22 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			R2	R2	R3.5				
	施肥法	品種	乾物重	個体当 乾物重	乾物重	子実収量	着莢数	一莢内粒数	百粒重
			(gm ²)	(g)	(gm ²)	(gm ²)	(m ²)		(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23 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ヶ年平均)

畦幅	品種	R2	R3.5	子実収量 (gm^{-2})	着莢数 (m^{-2})	一莢内粒数	百粒重 (g)
		乾物重 (gm^{-2})	乾物重 (gm^{-2})				
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24 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	R3.5	子実収量 (gm^{-2})
		乾物重 (gm^{-2})	乾物重 (gm^{-2})	
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/m²、密植26本/m²。
- 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)。

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22)。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22)。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22)。

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22)。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^{-2})は、同一栽培法のエンレイ(332 g m^{-2})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^{-2})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22)。

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23)。

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24)。

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20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。

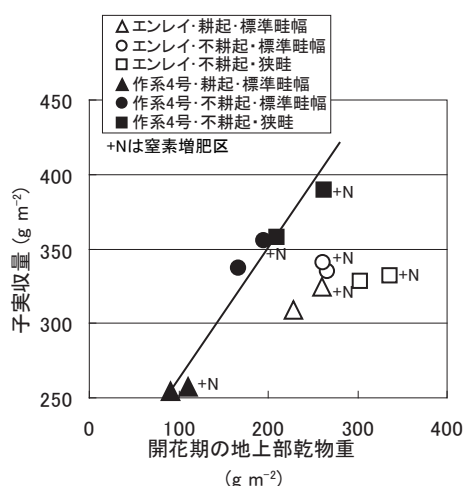


図20 ダイズ品種の開花期乾物重と子実収量。
(2000～2003年の4カ年平均。不耕起・標準畦幅のみ2002年不実施のため3カ年平均)。

3) 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号の適応性を検討し、この栽培法によるさらなる安定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(第三章第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・私信)。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22)。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いないため、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22）。窒素増肥の効果として、第一にはいわゆるスタータ窒素として、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、土壌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23）。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24）。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まさり、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、島村ら(2006)によれば、タマホマレを含む圃場試験を行った結果では、2004年の作系4号の不耕起狭畦・窒素増肥区の収量はタマホマレと有意差がなく、不耕起狭畦・標準施肥区の収量はタマホマレより劣り、また、2005年の不耕起狭畦区の作系4号の収量は施肥条件に関わらずタマホマレより劣った。第Ⅲ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、タマホマレの成熟期は作系4号より約10日遅いため、生育期間が長いことが収量性に対して有利に働くと考えられる。また、2004年の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る。また、2005年の結果について島村ら(2006)は、この年の播種期が通常より1ヶ月程度遅れたために作系4号の生育量が十分に確保されなかったことを低収の原因として推察している。しかし、原因がいずれにある

にせよ、第Ⅲ章第2節のポット試験と異なり、圃場試験においてはタマホマレに対する作系4号の収量の優位性は現在まで認められていない。

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20)、土壤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、不耕起狭畦区において、作系4号の収量がタマホマレを超えなかった試験結果(島村ら2006)も報告されている。このため、作系4号をエンレイやタマホマレに替えて実用栽培する可能性を考える場合には、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。

V 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(Akao and Kouchi 1992, Carroll *et al.* 1985, Gremaud and Harper 1988)。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、Herridge and Rose 2000、Hussain *et al.* 1992、Pracht *et al.* 1994、Song *et al.* 1995、Wu and Haper 1991、Zhao *et al.* 1998)。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 (Day *et al.* 1986、Eskew *et al.* 1989、Wu and Harper 1991)。

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壤中に窒素を残し、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 (Maloney and Oplinger 1997、Song *et al.* 1995、Zhao *et al.* 1998)。

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IV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号は根粒数が通常の5～6倍以上の真の意味での根粒超着生系統として初めて、農業における利用を検討する価値があることを示した品種である。作系4号は2005年に「関東100号」と改称し、同年12月7日に品種登録

された (登録番号13531)。

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。

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Ⅲ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Ⅲ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、差引法により個体当たりの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Ⅲ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 and 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することにより、光合成能をはじめとするダイズのソース機能が低下し、収量性を制限する現象が、作系4号では生じにくいと考えられる。

3 作系4号の特徴に及ぼす花粉親タマホマレの影響

前節で述べた作系4号の特徴である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。

タマホマレはエンレイに比べて晩生であり、一般的に多収の傾向を示す。山本ら(2005)や島村ら(2006)が考察しているように、これらの性質をタマホマレから受け継いだことが、根粒超着生性とは関わりなく、作系4号の収量性の向上に寄与している可能性は高いと考える。

しかし、第Ⅲ章第2節のポット試験で、作系4号の葉身のクロロフィル含有率、光合成速度、窒素集積量、子実収量がタマホマレよりまさった実験結果は、少なくとも土壌水分等の環境条件が整ったポット栽培においては、タマホマレ由来の根量の多さや開花期間中の旺盛な栄養生長等の性質と組み合わせることで、作系4号の持つ根粒超着生形質に基づく高い潜在的窒素固定能力が発揮されたことが、生育、収量の改善に寄与したことを示唆していると考ええる。

4 作系4号の収量性

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Ⅳ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こと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、エンレイではこの傾向は認められなかった。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、島村ら(2006)によれば、圃場でタマ

ホマレとの収量比較を行った2カ年の試験結果では、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るが、先に述べたように環境条件が整えられたポット試験と異なり、圃場ではタマホマレの晩生の有利性を超えるほど作系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る。

5 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き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耕地の有効利用等の観点から推奨されているが、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25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、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。

表25 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 ²⁾	早播	47.1	45.4	42.6
	標準播	46.2	43.4	40.6
H B ²⁾	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。

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まさる傾向が示された(第Ⅲ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Ⅲ章第1節)、残渣が土壤に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。

6 本研究後の作系 4 号に関する研究

本研究は2004年度までの実験結果をまとめたものであるが、その後も農業・生物系特定産業技術研究機構作物研究所では、作系 4 号に関する研究が続けられた。その結果の一部は講演要旨等として公表済みであるが (Nakamura *et al.* 2005a、中村ら 2005b、島村ら 2005、島村ら 2006、山本ら 2005)、詳細はさらに論文として公表されていくと考えられるので、これらに注目していただきたい。

農業・生物系特定産業技術研究機構が発行した冊子「第 1 期の主な研究成果と第 2 期の主な研究内容」(2006) には、「期待されながら成果とならなかった事例」の見出しのもとに「作系 4 号の根粒超着生形質は生産性向上には寄与しないと推察されるが、後作の生育にプラスの影響が期待できる」と述べられている。同冊子には詳細な説明はないが、作系 4 号の収量性にタマホマレ由来の複数の遺伝子が関与していると考えられること (山本ら 2005)、圃場ではタマホマレを超える収量を示さなかったこと (島村ら 2006)、根が小型なため土壤が乾燥した場合に生育抑制等の害を受けやすいこと、ダイズ黒根腐病に感受性であること (Tazawa *et al.* 2001) などを考慮し、作系 4 号の根粒超着生形質を農家でのダイズの生産性向上に貢献させるのは困難と判断したと考えられる。

本研究では、ポット試験のように環境が整え

られた条件下では、作系 4 号の根粒超着生形質が収量向上に寄与したと考えられる結果を得たが、圃場条件下では作系 4 号には確かに前述したような不安定要因がある。

しかし、根粒超着生系統 En-b0-1 とタマホマレの交雑により、根量の増加や開花後の栄養生長量の増加といった根粒超着生系統に有利な性質が取り込まれたことによって、実用化の検討に値する品種、作系 4 号が開発されたことには意義があると考ええる。このような性質をさらに強化する育種によって、作系 4 号よりさらに実用性を高めた根粒超着生品種が得られるかどうか、前述の冊子に述べられている「後作の生育にプラスの影響が期待できる」特徴を将来の持続型農業に生かせるか否かの鍵になると考える。

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、ポット試験においては、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、後作物の生育を改善する傾向があることを明らかにした。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。根粒超着生品種の実用化のためには、耐病虫性、用途別品質などの広範な検討と生産性の一層の安定化が必要であるが、本研究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大きいと考える。

VI 摘要

本研究では、第 1 に、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 に、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 に、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。

1 根粒超着生ダイズ品種作系4号の開発

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。

2 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

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、土壤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号の方が土壤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ため、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。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。生育後期の乾物生産が旺盛なことには、晩生品種タマホマレ由来の遺伝的要因とともに、葉の機能低下が生じにくいことが関与したと考えられた。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、タマホマレ跡よりまさる傾向にあった。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、残渣が土壌に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。

3 作系 4 号の水田転換畑における多収化栽培技術の検討

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（現稲敷市）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ため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) 作系 4 号のタマホマレに対する圃場での収量の優位性は確認されなかったが、収量性以外の観点で作系 4 号とタマホマレを比較すると、(1) 熟期が早いためダイズ - 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。実用栽培の可能性を検討するには、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であると考えられた。

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品種作系 4 号を、根粒数が通常の 5 ~ 10 倍以上のタイプとしては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っ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っ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文二博士に深く感謝の意を表する（組織名、所属は本研究が終了した2005年3月当時。以下同様）。

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っ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っ

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っ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博士に感謝の意を表する。

また、現地試験の実施に当って多大なご協力をくださった茨城県稲敷郡新利根町（現稲敷市）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っ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生理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.
Arai, M., M. Hayashi, M. Takahashi, S. Shi-

mada and K. Harada (2005) Expression and sequence analysis of systemic regulation gene for symbiosis, *NTS1/GmNARK* in supernodulating soybean cultivar, Sakukei 4. *Breed. Sci.*, 55, 147-152.
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) 空气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}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, 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. 十勝農業協同組合連合会. 北海道. 286pp.
- 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」. 農学大事典編集委員会編. 養賢堂. 東京. 788-795.
- Murray, M. G. and W. F. Thompson (1980) Rapid isolation of high molecular weight plant DNA. *Nucl. Acid Res.*, 8, 4321-4325.
- Nakamura, T., Y. Kim, S. Shimamura, R. Yamamoto, N. Nakayama, S. Shimada, T. Nohara, M. Takahashi and T. Ohyama (2005a) Characterization of growth and nitrogen utilization in supernodulating soybean, "Sakukei 4". Abstracts of 10th Intntl. Congr. of SABRAO, Tsukuba, G-6.
- 中村卓司・金栄厚・島村聡・山本亮・中山則和・野原努・高橋幹・島田信二・大山卓爾 (2005b) ダイズ根粒超着生品種「作系4号」の生理的特性解明. 土肥学会講演要旨集, 51, 102.
- 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.
- 農業・生物系特定産業技術研究機構 (2006) 第1期の主な研究成果と第2期の主な研究内容. 農業・生物系特定産業技術研究機構. 25.
- 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). 農及園, 60, 569-573.
- 島村聡・高橋幹・野原努・中村卓司・中山則和・山本亮・金栄厚・島田信二 (2005) 土壌硬度が根粒超着生ダイズの生育および収量に及ぼす影響. 日作紀, 74 (別1), 340-341.
- 島村聡・高橋幹・野原努・中村卓司・中山則和・山本亮・金栄厚・島田信二 (2006) 圃場条件下における根粒超着生ダイズ「作系4号」と親品種との収量性比較. 日作紀, 75 (別1), 330-331.
- 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_2 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.
- 高橋幹・有原丈二・中山則和・国分牧衛・島田信二・高橋浩司・羽鹿牧太 (2003) 根粒超着生ダイズ品種「作系4号」の育成. 作物研報 4, 17-28.
- Takahashi, M., J. Arihara, N. Nakayama and M. Kokubun (2003) Characteristics of growth and yield formation in the improved genotype of supernodulating soybean (*Glycine max* L. Merr.). Plant Prod. Sci., 6, 112-118.
- Takahashi, M., S. Shimada, N. Nakayama and J. Arihara (2005a) Characteristics of nodulation and nitrogen fixation in the improved supernodulating soybean (*Glycine max* L. Merr.) cultivar 'Sakukei 4'. Plant Prod. Sci., 8, 405-411.
- Takahashi, M., N. Nakayama and J. Arihara (2005b) Plant nitrogen levels and photosynthesis in the supernodulating soybean (*Glycine max* L. Merr.) cultivar 'Sakukei 4'. Plant Prod. Sci., 8, 412-418.
- 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.
- Tazawa, J., M. Takahashi, K. Usuki, K. Katayama and H. Yamamoto (2001) Relation between soybean nodulation and incidence of root necrosis caused by *Calonectria crotoniae*. Proc. of 6th Sympo. of Intntl. Soc. of Root Res., Nagoya, 414-415.
- 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・田渕公清（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. Szczyglowski (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.
- 山本亮・高橋良二・原田久也・高橋幹・島田信二（2004）根粒超着生変異品種作系4号の親子鑑定. 育種学研究, 6, 149-151.
- 山本亮・高橋良二・原田久也・高橋幹・中村卓司・中山則和・島村聡・島田信二（2005）根粒超着生ダイズ品種作系4号の遺伝解析. 日作紀, 74（別2）, 354-355.
- 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 ^{15}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 Nutr.*, 32, 443-449.
- Zhao, L., L. Song, F. P. C. Blamey, S. Fukai and B. J. Carroll (1998) Yield and N_2 fixation of backcrossed supernodulating soybean mutants. *Proceeding of the Ninth Australian Agronomy Conference, Wagga Wagga*, 375-378.

Development of a Supernodulating Soybean Cultivar and Studies on its Physiological and Agronomic Properties.

Motoki TAKAHASHI*

Summary

Supernodulating soybean genotypes bearing over 5-10 times as many nodules as conventional genotypes were initially expected to enhance soybean productivity and reserve more nitrogen (N) for subsequent crops through higher N-fixing ability, but yields of existing supernodulating lines have proven inferior to those of conventional lines.

We attempted to breed promising supernodulating genotypes by improving a conventional supernodulating genotype “En6500”, and then succeeded in developing the actively growing, high-yielding cultivar “Sakukei 4” (previously “En-b0-1-2”, now “Kanto 100”). We studied the physiological properties of this cultivar, the adaptability of this cultivar to cultivation in upland fields converted from paddies, and cultivation maximizing this cultivar’s advantageous properties. Our results were as follows:

1. Supernodulating soybean cultivar Sakukei 4 development

Supernodulating cultivar Sakukei 4, which features improved growth and yield, was developed by crossing the supernodulating line “En6500”, a mutant of cultivar “Enrei”, with conventional nodulating cultivars. We then studied the cultivar’s properties in upland field cultivation.

- 1) Three-year field experiments with Sakukei 4 showed that its yield was much greater than that of En6500. It even tended to yield more than Enrei when the overall yield was low.
- 2) Sakukei 4’s improved yield was largely due to (1) better seed filling, (2) vigorous vegetative growth during flowering, and (3) a high leaf area index and leaf-N content enabling it to produce more photosynthates enhancing N fixation and dry matter accumulation during pod and seed development.
- 3) Because some properties of Sakukei 4 differed genetically from those of Enrei, in addition to supernodulation, we studied the difference in genetic background of Sakukei 4 and Enrei using SSR markers. We found that natural crossing had occurred early in Sakukei 4 breeding and that the pollen parent was the cultivar “Tamahomare”. This means that Sakukei 4 is the progeny from an Enrei/En6500//Tamahomare cross.

2. Clarification of physiological and ecological properties of supernodulating soybean cultivar Sakukei 4

We studied physiological and ecological properties of Sakukei 4 in detail in pot trials.

- 1) Sakukei 4's acetylene reduction activity (ARA) per plant – a good index of N-fixing – was higher than in Enrei throughout the growing season. After the seed-filling stage, the difference in ARA between genotypes was especially notable. The amount of fixed N and the dependence on N fixation were also higher in Sakukei 4 than in Enrei. In contrast, the amount of absorbed N derived from fertilizer and soil was lower in Sakukei 4 than in Enrei, whereas the amount of N in plant residue was larger. These results suggest that Sakukei 4 saves more N in the field and benefits N absorption in subsequent crops.
- 2) Leaf-N content after the flowering stage and stem-N content after the seed-filling stage were higher in Sakukei 4 than in Enrei. Chlorophyll content (SPAD value) in Enrei and Tamahomare decreased rapidly after the seed-filling stage but remained high in Sakukei 4 until the late seed-filling stage. Sakukei 4's photosynthetic rate also tended to be higher than that of Enrei and Tamahomare after seed filling began. Sakukei 4 may not translocate large amounts of nitrogen from leaves to seeds during seed filling because of high N-fixing ability and may thus maintain high photosynthetic rate. Sakukei 4's vigorous grain growth during seed filling presumably results from this high photosynthetic ability, and several genetic factors derived from Tamahomare. The seed yield and N accumulated in Sakukei 4 were greater than in Enrei or Tamahomare.
- 3) Under non-nodulating conditions by hydroponics without *Rhizobium* inoculation, the dry weight of shoots and roots in En6500 and En-b0-1 was lower than those in Enrei throughout the growing season. In contrast, the dry weight of shoots and roots in Sakukei 4 was greater than those in Enrei after intermediate growth, although lower before that stage. Flowering and maturation for Sakukei 4 were later than those of Enrei, even under non-nodulating conditions. These properties of Sakukei 4 are thought to have come from Tamahomare and to effectively compensate for reduced shoot and root growth – a common disadvantage in supernodulating genotypes.
- 4) In pot trials conducted to confirm that Sakukei 4 saves more N in soil for subsequent crops, maize plants grown after Sakukei 4 accumulated more dry matter and N than those grown after Enrei, except in cases where Sakukei 4 yielded over 30% more than Enrei. From 88 to 94% of the increased accumulated N in maize grown after Sakukei 4 was derived from soil N. These experiments were conducted after removing all soybean residue. Because the amount of N in residue in Sakukei 4 exceeded that in Enrei, the promotion by Sakukei 4 of the growth of subsequent crops is expected to increase when soybean residue is plowed in soil.

3. Development of appropriate Sakukei 4 cultivation techniques in upland fields converted from paddies

The adaptability of Sakukei 4 to upland fields converted from paddies must be confirmed because 85 % of Japan's soybean crops are planted in such fields. We con-

ducted experiments to optimize Sakukei 4's cultivation in upland fields converted from paddies in Shintone Town (now Inashiki City), Ibaraki Prefecture.

- 1) Field experiments with conventional tillage were conducted in 1997- 1999. Sakukei 4's total dry weight was lower than that of Enrei during early growth, but its total dry weight at maturity and yield were similar to those of Enrei thanks to its vigorous vegetative growth during flowering. Cultivation had to be optimized, however, to promote early growth to raise its yield.
- 2) Field experiments in 2000-2003 showed that no-tillage, narrow rows, and increased basal N application effectively enhanced early growth and seed production in Sakukei 4. Unlike Enrei, the higher Sakukei 4's dry matter production before flowering, the higher its seed yield.

No-tillage helps maintain high soil moisture under dry conditions in upland fields converted from paddies. Narrow rows, i.e., wide interhill spacing, promotes early plant growth because of decreased interplant competition. Increasing basal N application also promotes early soybean growth while controlling excessive nodulation. The combination of these treatments increased Sakukei 4's early growth to where it yielded 17% more than Enrei grown the same way and 26% more than Enrei cultivated conventionally.

- 3) Sakukei 4's yield has not been shown in field trials to be superior to that of Tamahomare, but it has at least 3 advantages over Tamahomare: (1) Sakukei 4 is easily introduced into soybean-wheat cropping system because it matures earlier; (2) Tamahomare's low seed protein content makes it less popular among tofu makers, unlike Sakukei 4, whose seed protein content is high; (3) pot trials have shown that Sakukei 4 promotes the growth of subsequent crops.

In discussing the potential of Sakukei 4 for commercial cultivation, not only yield, but also various aspects such as mentioned above should be taken into consideration.

* Japan International Research Center for Agricultural Sciences.

