

## 人工酸性雨の散布部分の違いがダイズの生長と 共生窒素固定におよぼす影響

王 先 裕・津 田 誠・谷 山 鉄 郎

(三重大学生物資源学部)

1996年11月22日受理

**要 旨:** 酸性雨は、ダイズの地上部に接触することによって植物体と根粒に抑制的な影響を与えると考えられた。これを確かめるために、ダイズ品種奥原早生を1/5000 aポットに植え、ビニールハウス内で栽培し、人工酸性雨を葉のみ、土壌のみ、および通常の人工酸性雨処理として両方に散布した。人工酸性雨のpHは、2.7, 3.5, 4.5とし、対照として水道水 (pH 7.0) を散布する区を設け、播種後15日目から36日目まで毎日散布した。開花期 (播種後36日目) 調査の結果、葉面積、みかけの光合成速度および根の乾物重は、葉および両方の散布では人工酸性雨のpHが低いほど低下したが、土壌のみの散布ではほとんど変わらなかった。一方、根粒の数、生体重、共生窒素固定速度 (アセチレン還元速度) は、散布部分が異なってもpHの低下に伴い同程度低下した。アセチレン還元速度は、光合成速度よりも主として根粒数・根粒重と関係があった。また、根粒の数と生体重は、根の乾物重と相関が見られた。以上より、ダイズの生長と共生窒素固定は、酸性雨が地上部に接触することによって抑制されると同時に、根の生長が抑制されるため共生窒素固定速度が低下すること、土壌のみの散布でも根粒に抑制的な影響を与えることがわかった。

**キーワード:** アセチレン還元活性, 共生窒素固定, 光合成, 根粒, 酸性雨, ダイズ。

**Reduction of Growth and Symbiotic Nitrogen Fixation in Soybean as Affected by the Site of Simulated Acid Rain Application:** Xianyu WANG, Makoto TSUDA and Tetsuro TANIYAMA (*Faculty of Bioresources, Mie University, Tsu. 514, Japan*)

**Abstract:** Reductions of growth and symbiotic nitrogen fixation were studied in soybean exposed to simulated acid rain (SAR) applied to different sites. Soybean cultivar Okuharawase was grown in 1/5000a pots under a rain shelter. The plants were exposed to SAR from 15 days after sowing (DAS) to the flowering stage at 36 DAS. The sites of SAR application were foliage, soil and both foliage and soil, and the pH of SAR used was 2.7, 3.5, 4.5 and 7.0 (control). At the flowering stage, leaf area per plant, apparent photosynthetic rate and root dry weight per plant decreased in proportion to decrease in the pH of SAR. The degree of decrease was similar between the plants exposed to SAR in foliage and soil and those in foliage, but the application of SAR to soil alone did not cause any change in the parameters. There was a consistent reduction in the number of nodules per plant, the fresh weight of nodules per plant and the rate of symbiotic nitrogen fixation, or acetylene reduction activity (ARA) regardless of the site of SAR application. ARA decreased in proportion to the decrease in the number and fresh weight of nodules. The root dry weight significantly correlated with nodule number or nodule fresh weight. The reduction of growth and symbiotic nitrogen fixation in plants with exposure to SAR in foliage was similar to that with exposure in both foliage and soil, whereas SAR applied to soil alone suppressed nodulation only.

**Key words:** Acetylene reduction activity, Acid rain, Nodule, Photosynthesis, Soybean, Symbiotic nitrogen fixation.

酸性化した雨が降る酸性雨現象は、主に工業化に伴い大気中に排出された酸性物質が雨水中に入り込むことによって起こる<sup>27)</sup>。酸性雨現象ははじめにヨーロッパや北アメリカのように高度に工業化した地域で報告されたが、現在では中国においても工業化に伴い雨が酸性化している<sup>8)</sup>。酸性雨は森林衰退など生態系へ悪影響を与えると同時に、農作物にも被害を与える<sup>21,26)</sup>。ダイズは、日本および中国で重要な作物であるが、とくに中国では1028万ヘクタールに作付けされ、1633万トンの収穫量を上げる重要な作物である<sup>7)</sup>ため、酸性雨がダイズに被害を与えるかどうか心配される。

酸性雨がダイズにおよぼす影響に関するこれまでの研究では、ダイズの収量が酸性雨によって抑制されるかどうかについて、一致した結果が得られていない。すなわち、ダイズ収量は人工酸性雨を与えてもあまり変わらないとするもの<sup>1,11,12,18,22)</sup>と、低下するもの<sup>3,4,5,6)</sup>の両方がある。ただ、多数の研究結果を比較する<sup>11)</sup>と、ダイズ収量が低下しない場合でも、茎葉や根の生長が抑制されることが多いことから、酸性雨は、一般に、ダイズの生長に悪影響を与えると考えられる。

ダイズは窒素を多く含む作物で、生育には多量の窒素を必要とする<sup>10,29)</sup>。収量は空中窒素固定量に比

例して増加する傾向にある<sup>10)</sup>ので、根粒菌による窒素固定は収量の安定と向上に重要である。

ダイズ根粒の着生、生長および活性には、大気汚染物質が抑制的に作用すると言われている。例えば、オゾンを経験すると根粒数と窒素固定が抑制され<sup>14,24,28)</sup>、抑制はオゾンが地上部に悪影響を与えるために起こるとされている<sup>2,24,28)</sup>。人工酸性雨処理によってダイズの根粒数が低下した例<sup>17,23)</sup>をみると、窒素固定活性を示すアセチレン還元活性は、1根粒当たりでは逆に高くなり、ダイズ個体当たりの還元速度は変わらなかった。また、酸性雨は地上部に直接的に悪影響を与える<sup>16)</sup>ので、根粒数の低下は地上部の生長抑制を介してもたらされると考えられる。ダイズ根粒の着生や活性は、光合成の低下とともに抑制される<sup>19)</sup>ため、酸性雨は地上部の光合成を抑制している可能性も高い。

以上より、ダイズに酸性雨を与えると、根粒の着生、生長、および活性の抑制と光合成の抑制が同時に生ずると予想される。また、このような抑制は、酸性雨を経験した地上部のみに与えても起こると考えられる。しかし、このことを確かめた報告は見当たらない。そこで、本研究ではそのことを明らかにしようとして、ダイズの葉または土壌、あるいは両方に酸性雨を与え、ダイズの生長と共生窒素固定速度を調べた。

## 材料と方法

### 1. 栽培方法

実験は、1993年に三重大学生物資源学部の実験圃場で行った。供試したダイズは品種奥原早生で、6月10日に水田土壌を詰めた排水口付きの5000分の1アールのワグネルポットにポット当たり種子3個を播種した。種子には播種直前に市販のダイズ用根粒菌（十勝農業協同組合連合会、農産化学研究所製）を接種した。播種後11日目に間引きを行い、ポット当たり1個体とした。播種後、ポットは天井のみ透明ビニールを張ったハウスに置き、自然の降雨がかからないようにした。

### 2. 人工酸性雨処理

日本の酸性雨の主たる成分は、 $\text{SO}_4^{2-}$ 、 $\text{NO}_3^-$ および $\text{NH}_4^+$ 、 $\text{Ca}^{2+}$ である。報告された酸性雨（pH 3.2～pH 3.7）および平均的な雨（pH 4.7）の成分<sup>25)</sup>を参考にして、人工酸性雨の成分を第1表のように決定した。なお、人工酸性雨のpHは2.7、3.5、4.5の3段階、対照は水道水（pH 7.0）であ

った。

人工酸性雨の処理は、播種後15日目に開始した。処理部位は、葉のみ、土壌のみ、葉と土壌の両方の3区分であった。葉の処理は、小型噴霧器で葉面が十分に濡れるまで溶液を散布した。散布は、毎日午前6時から9時に行い、土壌にかからないようにした。葉への散布量は、葉面積 $1\text{ cm}^2$ 当たり $1.38 \pm 0.23\text{ mm}^3$ （平均±標準誤差、 $n=7$ ）であった。土壌処理では播種後31日目まではポット当たり $50\text{ cm}^3$ の人工酸性雨溶液を土壌に与え、その後測定日の播種後36日目まではポット当たり $100\text{ cm}^3$ を与えた。葉と土壌の処理では、葉のみ、土壌のみの両処理を行った。また、葉のみの処理個体には、土壌処理と同じ量の水道水を与えた。以上のように処理をした結果、処理開始から測定日まで与えられた人工酸性雨の降雨量は、葉のみで $6.6\text{ mm}$ 、土壌のみで $67.5\text{ mm}$ 、葉と土壌で $74.1\text{ mm}$ であった。日平均では、葉のみで $0.30\text{ mm}$ 、土壌のみで $3.07\text{ mm}$ 、両方への処理で $3.37\text{ mm}$ と換算された。酸性雨の研究で通常行われる人工酸性雨処理は、葉と土壌に雨がしかかるので本実験の葉と土壌の処理が通常の処理に対応する。なお、他に灌水を行わなかったが、植物体に水欠乏の徴候は認められなかった。

### 3. みかけの光合成速度の測定

播種後36日目に上位完全展開葉のみかけの光合成速度を測定した。測定は個体当たり1頂葉とし、処理区当たり7葉について行った。測定時間は、12時30分から14時20分までの間で、光量子密度は平均 $1700\text{ }\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ であった。光合成速度は、携帯式光合成蒸散同時測定装置（島津製作所製SPB-H2A）で測定した。測定面積 $6.1\text{ cm}^2$ のチャンバーを用い、通気速度は $385\text{ cm}^3\text{ min}^{-1}$ であった。

### 4. 共生窒素固定速度の測定

共生窒素固定速度は、吉田・谷田沢<sup>30)</sup>を参考にしてアセチレン還元法で測定した。光合成を測定した後、根の土を洗い落とし、根粒が着生したままの根

Table 1. Ionic concentration of the simulated acid rain solution at various pH levels.

pH	$\text{SO}_4^{2-}$	$\text{NO}_3^-$	$\text{NH}_4^+$	$\text{Ca}^{2+}$
	$\mu\text{mol L}^{-1}$			
4.5	38.6	23.4	29.8	17.3
3.5	212.9	184.8	152.8	77.2
2.7	1173.2	1460.3	784.8	345.1

全体を縦横 30 cm の塩化ビニール製の袋に封入した。同時にガラス管 (直径 18 mm, 長さ 100 mm) とゴム栓 2 個を封入した。袋は別のガラス管を通して気体の入れ替えが可能になっており, これを通して根封入後直ちに元の空気を抜き取った。そして, アセチレン 100 cm<sup>3</sup> と空気 900 cm<sup>3</sup> を袋内に導入, 攪拌した。2 時間反応させた後, 袋内のガラス管の両端をゴム栓で封じた。ガラス管内の気体をゴム栓を通してマイクロシリンジで採取し, 生成エチレン量を測定した。分析には島津製作所製ガスクロマトグラフィー GC-7A を用いて, 下記の条件で行った。充填剤: 活性アルミナ (60~80 メッシュ), カラム: 3 m×3.2 mm ガラスカラム, キャリヤー・ガス: N<sub>2</sub> 50 mLmin<sup>-1</sup>, カラムおよび検出器温度: 150 °C, 検出器: FID。なお, 測定は処理区当たり 3 個体 (3 反復) であった。また, 測定時期は, 窒素固定が最も活発であるとされている開花期<sup>31)</sup> であった。

## 5. 乾物と葉面積

アセチレン還元速度を測定した根を袋から取り出し, 根粒を根から取り外した。直ちに根粒の生体重を電子天秤で測定し, 根粒を数えた。根粒をはずした根を通風乾燥器に入れ, 70 °C で 3 日以上通風乾燥した後, 乾物重を測定した。地上部は, 小葉の基部で切り取り, 葉とその他に分け, 自動面積計で葉面積を測定した。

## 結 果

### 1. 分散分析

測定した形質の分散分析の概要を第 2 表に示した。有意水準 5% で判断すると, 根粒当たりのアセ

チレン還元活性を除けば, いずれの形質にも人工酸性雨の pH の効果が認められた。人工酸性雨の散布部分の効果が見られたのは, 個体当たり葉面積, みかけの光合成速度, 個体当たり根の乾物量, 個体当たり根粒生体重であった。人工酸性雨の pH と散布部分の相互作用が認められたのは, みかけの光合成速度と 1 粒根当たりの重さの 2 項目であった。

### 2. 葉面積, みかけの光合成速度および根の乾物重

個体当たりの葉面積は, 人工酸性雨の pH が低くなるほど減少した (第 1 図 a)。葉のみの散布による抑制効果は, 葉と土壌の両方に散布した場合と同程度であったものの, 土壌のみに散布したときの抑制効果は, わずかであった。同様の傾向は, みかけの光合成速度と根の乾物重についても見られた (第 1 図 b,c)。ただし, みかけの光合成速度は, pH 4.5 の人工酸性雨を与えるとかえって増加した。

### 3. 根粒, アセチレン還元速度

個体当たり根粒数と根粒生体重は, ともに人工酸性雨の pH が低くなるほど抑制された (第 2 図)。個体当たりの根粒生体重では人工酸性雨による抑制効果は, 葉と土壌に人工酸性雨を散布したとき最も大きかった。個体当たりのアセチレン還元速度も, 人工酸性雨の pH が低いほど抑制された。

1 根粒当たりの生体重は, 人工酸性雨の pH が低くなるほどかえって増加した (第 3 図)。1 根粒当たりのアセチレン還元活性は, pH が低いほど低下するように見えるが, 統計的に有意ではなかった。

### 4. 形質間の対応関係

個体当たりのアセチレン還元速度は, 異なる散布部分の値を込みにして, 個体当たり根粒数と個体当たり根粒生体重とに高い相関関係があった (第 4 図

Table 2. Summary of analysis of variance for the effect of simulated acid rain (SAR) and its application site on growth and symbiotic nitrogen fixation in soybean.

Measurement	Probability		
	Source of variance		
	p H	Application site of SAR	Interaction
Leaf area per plant	0.002	0.002	0.105
Apparent photosynthetic rate	0.000	0.018	0.000
Root dry weight per plant	0.000	0.010	0.538
Number of nodules per plant	0.000	0.670	0.188
Nodule fresh weight per plant	0.000	0.038	0.345
Acetylene reduction activity	0.001	0.266	0.794
Fresh weight per nodule	0.004	0.268	0.017
Acetylene reduction activity per nodule	0.087	0.150	0.712

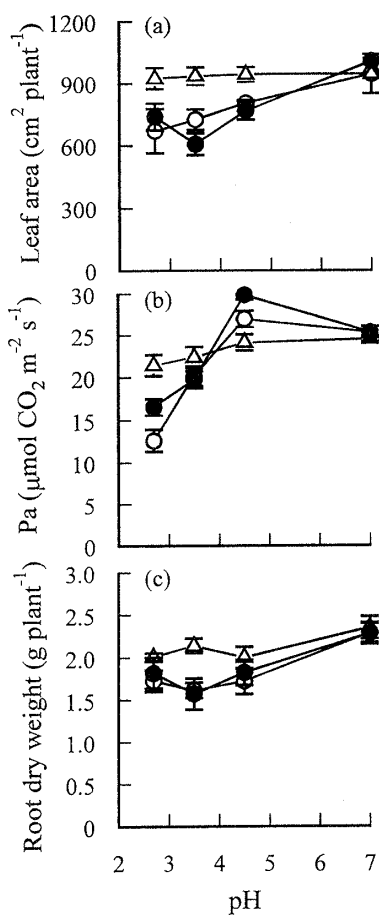


Fig. 1. Leaf area (a), apparent photosynthetic rate (Pa) (b) and root dry weight (c) as affected by the pH of simulated acid rain and its application site in soybean. Values are means of three (leaf area and root dry weight) and seven (apparent photosynthetic rate) measurements. Vertical bars indicate the upper and lower limits of one standard error of the mean. Application sites were foliage (●), soil (△) and both foliage and soil (○).

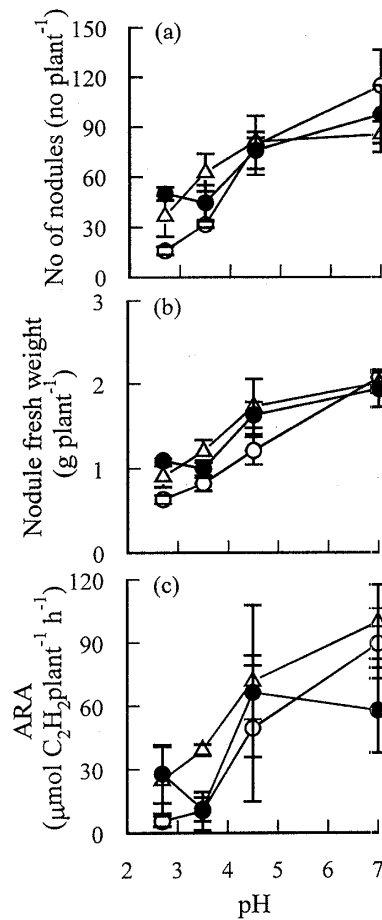


Fig. 2. Number of nodules (a), nodule fresh weight (b) and acetylene reduction activity (ARA) (c) as affected by the pH of simulated acid rain and its application site in soybean. Value is the mean of three measurements. Symbols are the same as in Fig. 1.

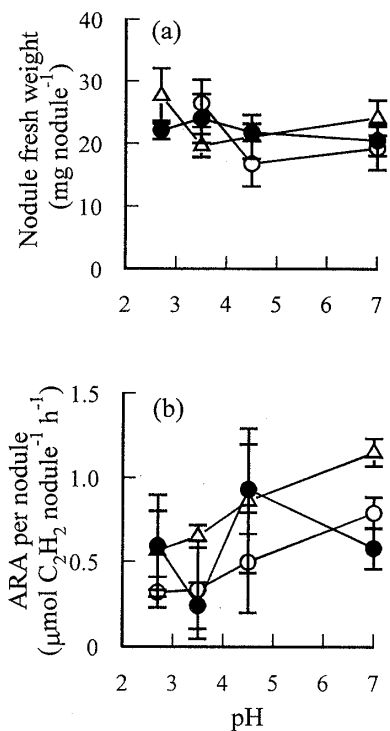


Fig. 3. Fresh weight per nodule (a) and acetylene reduction activity (ARA) per nodule (b) as affected by the pH of simulated acid rain and its application site in soybean. Values and symbols are the same as in Fig. 2 and Fig. 1, respectively.

a, b). 散布部分ごとの回帰直線を参考のために示した。次に、個体当たりのみかけの光合成速度の近似値として葉面積とみかけの光合成速度との積を算出し、個体当たりアセチレン還元速度との関係を第4図cに示した。算出した積の値が大きいほどアセチレン還元速度が大きい傾向がみられた。しかし、この関係は、第4図a,bで見られた関係ほど強くなかった。なお、ここでは図示しなかったが、個

体当たりアセチレン還元速度と個体当たり葉面積およびみかけの光合成速度との相関係数は、それぞれ0.697と0.670で第4図cの場合より小さかった。

個体当たり葉面積および根の乾物重と個体当たり根粒数との関係を第5図に示した。ここでも、参考のため散布部位ごとの回帰直線を図示した。人工酸性雨を土壌のみに散布した場合には、葉面積がほとんど変わらないにもかかわらず、根粒数は大きく減少した(第5図a)。人工酸性雨を葉のみ、あるいは葉と土壌への散布により、根粒数は葉面積の減少とともに低下する傾向がみられた。ただし、葉と土壌に散布した場合の方が、葉面積の低下に比べて根粒数の低下が大きかった。異なる散布部分の値を込みにして回帰直線を求めたところ、土壌のみおよび

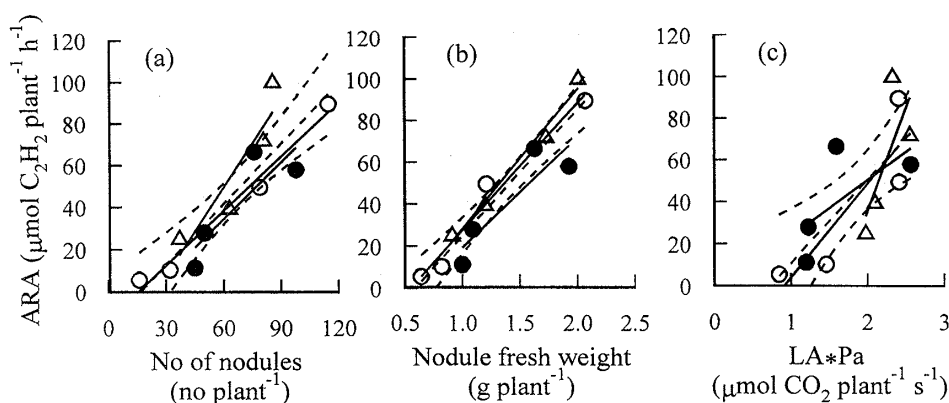


Fig. 4. Relationship of acetylene reduction rate (ARA) to the number of nodules (a), nodule fresh weight (b) and the product of leaf area and apparent photosynthetic rate ( $LA * Pa$ ) (c) in soybean subjected to simulated acid rain.

Values and symbols are the same as in Fig. 2 and Fig. 1, respectively. Broken lines and curves indicate regression including all data and its upper and lower limits of 95% confidence interval, respectively. Regression lines are;

$$(a) y = 0.96x - 16.1 \quad (r^2 = 0.798), \quad (b) y = 60.1x - 37.2 \quad (r^2 = 0.896)$$

$$(c) y = 39.8x - 29.0 \quad (r^2 = 0.569)$$

Regression coefficients are significant at 5% level. For reference, regressions within application site are shown as solid lines.

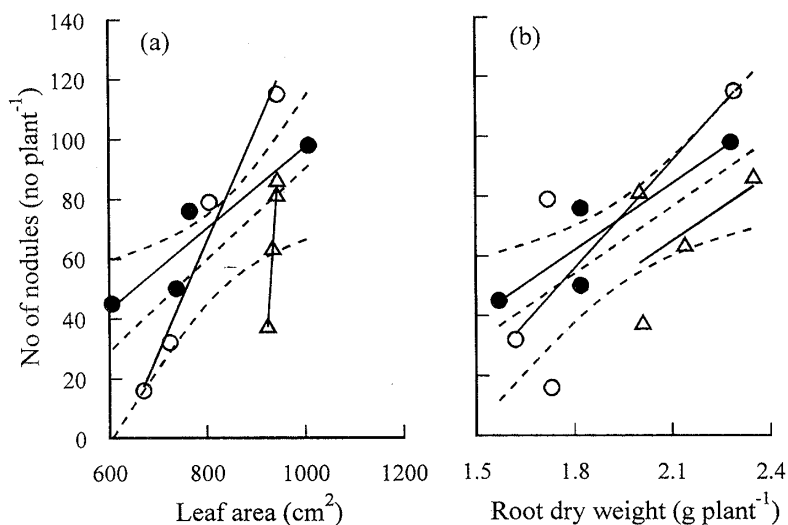


Fig. 5. Relationship of the number of nodules to leaf area (a) and root dry weight (b) in soybean subjected to simulated acid rain.

Values and symbols are the same as in Fig. 2 and Fig. 1, respectively. Broken lines and curves indicate regressions including all data and their upper and lower limits of 95% confidence interval, respectively. Regression lines are;

$$(a) y = 0.15x - 62.7 \quad (r^2 = 0.469), \quad (b) y = 75.6x - 82.2 \quad (r^2 = 0.490)$$

Regression coefficients are significant at 5% level. For reference, regressions within application site are shown as solid lines.

葉と土壤に散布した場合の傾向は、全体の傾向と大きく異なった。一方、根の乾物重と根粒数との関係を見ると、散布部分ごとの傾向と全体の傾向はおおむね同じであった（第5図b）。第5図のa, b両図の回帰係数は統計的に有意であったけれども、決定

係数は0.5に満たない小さいものであった。ここでは図示しなかったが、個体当たり根粒生体重についても上述の根粒数と同様の傾向があった。すなわち、根の乾物重と根粒の生体重の間には散布部分を込みにして同じ関係があったが、個体当たり葉面

積と根粒の生体重との場合には、散布部分ごとに関係が異なる傾向を示した。

### 考 察

ダイズをポットで栽培し、異なる部分に人工酸性雨を散布した。葉のみに人工酸性雨を散布するだけで、ダイズの生長と共生窒素固定速度は通常の人工酸性雨処理（葉と土壌の両方散布）と同程度抑制された（第1, 2図）。一方、土壌のみに人工酸性雨を散布した場合には、葉面積および根などダイズの生長は、ほとんど変わらなかった。したがって、既報<sup>16)</sup>のように酸性雨がダイズに与える影響は、主として地上部への接触によってもたらされることが確かめられた。

根粒の数とその生体重については、葉面積とは明瞭な関係は認められなかったが、根の乾物重とは関係が認められた（第5図）。根の乾物重は葉のみ、および葉と土壌への酸性雨処理で減少しており（第1図）、人工酸性雨による根粒数とその生体重の低下は、根の生長抑制に起因すると考えられた。ただ、土壌のみに人工酸性雨を散布した場合には、根の乾物重がほとんど変わらないものの、根粒数・根粒重が大きく抑制された（第2図）。このことから、根粒の着生・生長は、土壌に浸透した人工酸性雨によっても直接左右されるものと考えられた。

個体当たりアセチレン還元速度は、根粒の数と生体重との間に高い正の相関関係が見られた（第4図a,b）。個体当たりアセチレン還元速度は個体当たりみかけの光合成速度（葉面積とみかけの光合成速度との積）とも相関が見られたが、前二者との相関ほど強くなかった（第4図c）。このことから、本研究では個体当たりアセチレン還元速度の低下は、光合成速度よりも主として根粒数・根粒重に支配されていると考えられた。

人工酸性雨によって根粒数が抑制されることは、温室での実験ではすでに報告されている<sup>17,23)</sup>が、圃場実験では根粒数は人工酸性雨によって変わらなかったとの報告もある<sup>9)</sup>。このような結果の違いは、野外で育てた植物の方が温室で育てた植物よりも酸性雨に影響されにくい傾向がある<sup>21)</sup>ためだと考えられている。また、野外の圃場では、ポットなどで栽培される温室条件よりも根が土壌深くまで生長しており、土壌中の根系の分布によっても影響されると思われる。人工酸性雨を与えると、土壌の表層から酸性化していく<sup>15)</sup>ため、根が深く張る野外

の圃場条件では根粒数は、人工酸性雨が土壌に与えられても抑制されなかった可能性が考えられた。なお、1根粒当たりの生体重は人工酸性雨のpHが低いと増加した（第3図a）が、1根粒当たりのアセチレン還元活性の増加<sup>23)</sup>は、本研究では確認できなかった（第3図b）。

根粒菌の生長・活性は、培地のpHが低下すると抑制されることが知られている<sup>13)</sup>。本研究では土壌pHの変化は測定しなかったが、人工酸性雨を土壌のみに散布したとき見られた根粒への抑制効果は、土壌pHとの関係が大きいと考えられる。一方、人工酸性雨による土壌の酸性化の程度は、土壌によって異なる<sup>20)</sup>ため、人工酸性雨を土壌のみへ散布したときの根粒の変化も、土壌によって異なると考えられた。

以上のことから、ダイズの生長と根粒の着生、生長および活性は、人工酸性雨を葉のみに散布しても抑制されること、土壌のみの散布でも根粒の着生と窒素固定速度に抑制効果があることがわかった。人工酸性雨を土壌に散布することによる根粒への直接的な影響は、土壌によって変わると思われる。また、人工酸性雨を散布する部分を地上部と土壌に分けて、ダイズ植物体と根粒への影響を調べることにより、酸性雨の影響をより深く理解することができ、これまでの結果の不一致を統一的に説明できる可能性が考えられた。

### 引用文献

1. Banwart, W.L., R.L. Finke, P.M. Porter and J.J. Hassett 1990. Sensitivity of twenty soybean cultivars to simulated acid rain. *J. Environ. Qual.* 19: 339–346.
2. Blum, U. and D.T. Tingey 1977. A study of the potential ways in which ozone could reduce root growth and nodulation of soybean. *Atmospheric Environment* 11: 737–739.
3. Evans, L.S., K.F. Lewin, C.A. Conway and M.J. Patti 1981. Seed yields (quantity and quality) of field-grown soybeans exposed to simulated acid rain. *New Phytol.* 89: 459–470.
4. ———, ———, ———, and E.A. Cunningham 1983. Productivity of field-grown soybeans exposed to simulated acid rain. *New Phytol.* 93: 377–388.
5. ———, ———, and M.J. Patti, 1984. Effects of simulated acidic rain on yields of field-grown soybeans. *New Phytol.* 96: 207–213.
6. ———, ———, E.M. Owen and K.A. Santucci 1986. Comparison of yields of several cultivars of

- field-grown soybeans exposed to simulated acid rain. *New Phytol.* 102: 409—417.
7. FAO 1995. *Production Year Book 1994*. FAO, Rome. 106—107.
  8. 全 浩 1991. 中国における酸性雨の現状とこれからの課題. *大気汚染学会誌* 26: 283—291.
  9. Heagle, A.S., R.B. Philibeck, P.F. Brewer and R. E. Ferrell 1983. Response of soybeans to simulated acid rain in the field. *J. Environ. Qual.*, 12: 538—543.
  10. 星 忍 1982. ダイズの窒素固定と生育・収量. 日本土壤肥料学会編, 根粒の窒素固定. 博友社, 東京. 5—33.
  11. ——— and J.E. Miller 1981. Productivity of field-grown soybeans exposed to acid rain and sulfur dioxide alone and in combination. *J. Environ. Qual.* 10: 473—478.
  12. Irving, P.M. 1983. Acidic precipitation effects on crops: a review and analysis of research. *J. Environ. Qual.* 12: 442—453.
  13. 石澤修一 1953. 豆科植物の根粒菌に関する研究. I. 人工培地上の諸特性 その 4. pH と生育. *土肥誌* 24: 41—44.
  14. Jones, A.W., C.L. Mulchi and W. J. Kenworthy 1985. Nodule activity in soybean cultivars exposed to ozone and sulfur dioxide. *J. Environ. Qual.* 14: 60—65.
  15. 小林卓也・河野吉久・中山敬一 1991. ダイズの生育・収量におよぼす人工酸性雨の影響. *農業気象* 47: 83—90.
  16. ———・—————・————— 1992. ダイズの無機成分吸収におよぼす人工酸性雨の影響. *農業気象* 48: 11—18.
  17. Kohno Y. and T. Kobayashi 1989. Effect of simulated acid rain on the growth of soybean. *Water, Air and Soil Pollution* 43: 11—19.
  18. Kuja, A. and M. Dixon 1989. A study to determine effects of simulated acidic rain on yield of field-grown soybeans. *Water, Air and Soil Pollution* 45: 301—314.
  19. Lawn, R.J. and W.A. Brun 1974. Symbiotic nitrogen fixation in soybeans. I. Effect of photosynthetic source-sink manipulation. *Crop Sci.* 14: 11—16.
  20. 三輪 誠・伊豆田猛・戸塚 績 1996. 酸性雨による土壌酸性化に伴うアルミニウムの溶出と、その樹木に対する影響. *生物化学* 48: 10—17.
  21. 野内 勇 1990. 酸性雨の農作物および森林木への影響. *大気汚染学会誌* 25: 295—312.
  22. Porter, P.M., W.L. Banwart, J.J. Hassett and R.L. Finke 1987. Effects of simulated acid rain on yield response of two soybean cultivars. *J. Environ. Qual.* 16: 433—437.
  23. Shriner, D.S. and J.W. Johnston 1981. Effects of simulated, acidified rain on nodulation of leguminous plants by *Rhizobium* spp. *Environ. Exp. Bot.* 21: 199—209.
  24. Smith, G., C. Neyra and E. Brennan 1990. The relationship between foliar injury, nitrogen metabolism, and growth parameters in ozonated soybean. *Environ. Pollut.* 63: 79—93.
  25. 玉置元則・小山 功・関口恭一・村野健太郎 1989. 酸性雨研究の現状と今後の話題. *大気汚染学会誌* 24: 445—453.
  26. Taniyama, T. and S. Saito 1981. Studies on injurious effects of air pollutants on crop plants. X VI. Effects of acid rain on apparent photosynthesis and grain yield of wheat, barley and rice plants. *Rept. Environment Sci., Mie Univ.* 6: 87—101.
  27. 谷山鉄郎 1989. 恐るべき酸性雨. 合同出版. 1—143.
  28. Tingey, D.T. and U. Blum 1973. Effect of ozone on soybean nodules. *J. Environ. Quality* 2: 341—344.
  29. Vest, G., D.F. Weber and C. Sloger 1973. Nodulation and nitrogen fixation. In Caldwell, B.E. ed., *Soybeans: Improvement, Production, and Uses*. Academic Press, New York. 353—390.
  30. 吉田重方・谷田沢道彦 1977. ラジノクローバの再生過程における共生窒素固定能の変動—アセチレン還元法による調査. *日草誌* 28: 6—13.
  31. Zapata, F., S.K.A. Danso, G. Hardarson and M. Fried 1987. Time course of nitrogen fixation in field-grown soybean using nitrogen-15 methodology. *Agron. J.* 79: 172—176.