

ダイズの「乾物生産量－蒸発散量関係」に着目した 共生窒素固定量推定の可能性

角明夫*・箱山晋・村上晃平・朝比奈愛・村田和代・桑原廣隆・片山忠夫
(鹿児島大学)

要旨：根粒着生および共生窒素固定量における差異を誘導することを目的として、ダイズ品種、鶴の子を多窒素（多 N）と少窒素（少 N）の 2 条件下で栽培した。多 N 条件では、化合態窒素の施用による根粒の着生阻害が確認された。根粒着生の差異は同質遺伝子系統 T 201（根粒非着生系統）と T 202（根粒着生系統）を供試することによって誘導された。根粒着生量の違いが拡大したとき、乾物生産量（W）と蒸発散量（ET）の間の量的関係に有意差が認められるようになった。回帰直線の「高さ（ $ET_{w=0}$ 、W が 0 のときの ET）」は N 条件によって異なり、多 N 条件より少 N 条件で、また T 201 より T 202 で大きくなった。蒸散係数（ $\Delta ET/\Delta W$ ）は、N 条件や系統の違いには影響されなかった。T 202 と T 201 の間の $ET_{w=0}$ 差（ $\delta ET_{w=0}$ ）に基づいて算出した乾物重差（ δW 、 $\delta W = \delta ET_{w=0} \div \Delta ET/\Delta W$ ）は、差引法によって推定した共生窒素固定量と比例関係にあった。以上の結果から、 $ET_{w=0}$ の差異は窒素固定のために必要とされたエネルギーコストの差異を代表している可能性がある」と結論した。

キーワード：乾物生産、共生窒素固定、根粒着生、根粒非着生系統、硝酸阻害、蒸発散、ダイズ。

光合成作用に関連して起こる CO_2 交換と蒸散作用における H_2O の交換の流れは、方向を逆にするものの交換経路の多くを同じくするので、共通の法則により支配される部分が多い。従って、乾物生産量（W）と蒸発散量（ET）の間にも高い正の相関関係が認められるのが一般的である。著者らは、この W と ET の間の関係に注目したとき、イネとソルガムとでは回帰係数（蒸散効率（ $\Delta W/\Delta ET$ ）あるいは蒸散係数（ $\Delta ET/\Delta W$ ））は大きく異なるが、切片（ $W=0$ の下での蒸発散量、 $ET_{w=0}$ ）は両種ともに土壌面蒸発量（ E_s ）とほぼ一致したことを報告した。しかしながら、ダイズでは、開花期以降次第に、 $ET_{w=0}$ が E_s を大きく上回るようになった。このようなダイズで認められた特徴は根粒着生の急増期とほぼ一致して現れ、また矮性系統より根粒着生が著しかった正常系統で明瞭に認められたことから、共生窒素固定作用との何らかの関連性が推察された（角・片山 2001）。

ところで、根粒着生と窒素固定活性は化合態窒素とりわけ硝酸態窒素の施用によって阻害されることが知られているが（Tanner and Anderson 1963, 藤田・田中 1982, Streeter 1988, Eskew ら 1989）、蒸散効率あるいはその逆数としての蒸散係数は窒素施用量の違いによっては容易に変化しない（角・片山 2000）。以上の知見を背景にして本研究では、まず、窒素施用量の多少によって共生窒素固定作用を制御したとき、その影響が $ET_{w=0}$ の違いとして検出されるかどうかを確認しようとした。次いで、根粒着生系統と非着生系統とを供試し、根粒着生の有無が $ET_{w=0}$ の違いと関連しているかどうかについても検証した。その結果、 $ET_{w=0}$ の違いが共生窒素固定作用の多少や有無と密接に関連している可能性が示されたのでその概要を報告する。

材料および方法

実験は、2000 年から 2002 年にかけて鹿児島大学農学部附属農場に設置した雨よけハウスにおいて実施した。

実験 1. ダイズ品種「鶴の子」種子を 2000 年 5 月 23 日に、培地としてパーミキュライトを詰めたセルトレイに 1 粒ずつ置床し、定植日まで育成した。6 月 1 日に、乾土重量で 6.4 kg の砂壤土を充填した 8 L 容器に育成苗を定植し、直ちに水消費量の測定を開始した。窒素条件として、多窒素区（多 N 区）と少窒素区（少 N 区）の 2 区を設定し、それぞれに対して 9 ポットを与えた。両区ともに N, P_2O_5 , K_2O を 1 ポット当たり 0.2 g ずつ施用し、多 N 区に対してはさらに硝酸アンモニウムを用いて N 成分量で 1.0 g を添加した。これらの施肥は土壌を容器に充填する際に土壌と十分に混和することによって行った。多 N 区に対しては 6 月 30 日と 7 月 30 日に 1.8 g と 0.5 g の N をそれぞれ硝酸アンモニウムおよび硝酸石灰の形で追肥した。

ポット内土壌水分を、蒸発量が土壌水分条件によって律速されない土壌水分範囲（恒率蒸発過程、供試土壌において含水比 30% 以上）に収まるように管理し、またそのために給水した水量を蒸発散量とした。定植日と莢肥大期（8 月 9 日）に掘取り調査を行い、根粒数と根粒重および植物生体重と 85 °C で 72 時間以上通風乾燥後の重量（乾物重）を測定した。

実験 2. ダイズ品種「鶴の子」種子を 2001 年 6 月 1 日に、培地としてパーミキュライトを詰めたセルトレイに 1 粒ずつ置床し、定植日まで育成した。6 月 9 日に、乾土重量で 5.9 kg の砂壤土を充填した 8 L 容器に育成苗を定植し、直ちに水消費量の測定を開始した。窒素条件として、多窒素区（多 N 区）と少窒素区（少 N 区）の 2 区を設定

し、それぞれに対して40ポットを与えた。硝酸アンモニウムを用いてNを少N区に対しては1ポット当たり0.2g、また多N区に対しては0.8g施用した。P₂O₅とK₂Oに関しては両区ともに0.8gずつとし、実験1と同様、土壌と十分に混和して与えた。多N区に対してはさらに7月11日に0.7gの窒素を追肥した。ポット内土壌水分の管理および蒸発散量の測定は実験1と同様に行った。掘取り調査は、定植日、着莢期(7月11日)、莢肥大期(8月6日)および登熟中期(9月5日)に実施した。また、ポット内部の窒素収支を把握するために、植物試料ならびに土壌試料に対してセミマイクロケルダール法による窒素分析を行った。

実験3. 同質遺伝子系統、T201(根粒非着生系統)とT202(根粒着生系統)の種子を2002年6月4日に、培地としてパーミキュライトを詰めたセルトレイに1粒ずつ置床し、定植日まで育成した。6月15日に、乾土重量で4.4kgの砂壌土を充填した8L容器に育成苗を定植し、6月19日から水消費量の測定を開始した。施肥量は、両系統ともに基肥としてN、P₂O₅、K₂Oをそれぞれ1ポット当たり1.0g、0.8g、0.8gずつとした。Nに関しては7月30日にさらに0.5gずつを追肥した。なお、供試ポット数はそれぞれの系統に対して45とした。ポット内土壌水分の管理法および蒸発散量の測定法は実験1および実験2と同様に行い、また掘取り調査は定植日、栄養生長後期(7月29日)、着莢期(8月19日)、莢肥大期(9月12日)に実施した。また、植物試料ならびに土壌試料に対してセミマイクロケルダール法による窒素分析を行った。

第1表 窒素条件の違いが根粒の着生数および着粒重に及ぼす影響(実験1, 莢肥大期)。

処理区	着生数(/個体)	着粒重(g/個体)
少N区	242.8	1.86
多N区	33.3	0.19
有意差	*	***

*: t検定による5%水準の有意差あり。

***: t検定による0.1%水準の有意差あり。

第2表 窒素条件の違いが根粒の着生数および着粒重に及ぼす影響(実験2, 着莢期・莢肥大期・登熟中期)。

生育時期	着 莢 期		莢 肥 大 期		登 熟 中 期	
処理区	着生数(/個体)	着粒重(g/個体)	着生数(/個体)	着粒重(g/個体)	着生数(/個体)	着粒重(g/個体)
少N区	37.3	0.55	163.2	3.71	53.8	0.61
多N区	19.6	0.16	57.8	0.61	28.5	0.30
有意差	**	***	**	***	**	**

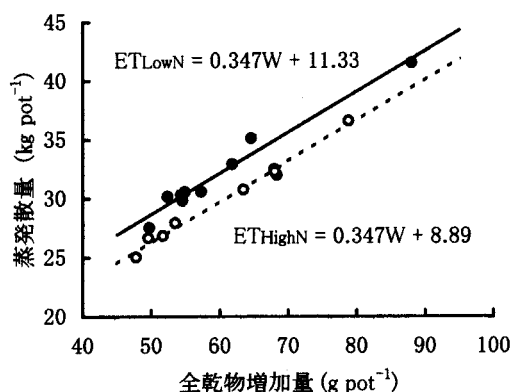
** : t検定による1%水準の有意差あり。

*** : t検定による0.1%水準の有意差あり。

結 果

実験1. 2000年の莢肥大期に測定した根粒数と根粒重を第1表に示した。多N区における根粒着生は、数において少N区の約1/7、また重量にして約1/10と強く抑制されていた。第1図は、測定開始から莢肥大期に至る期間中のWとETとの関係を示している。両処理区を込みにしてみてもWとETとは高い正の相関関係にある($r=0.937$)が、少N区では同じWでみたときのETが多N区より大きい傾向にあった。共分散分析によって2つの条件における回帰直線が同一とみなせるかを検定した結果、'傾斜(すなわち蒸散係数)'には違いはないものの、'高さ'に関して有意差があることが示された。すなわち、少N区では同じWを獲得するのに多N区より多くのETを必要とした。

実験2. 多N条件による根粒着生の阻害は2001年の実験においても確認された(第2表)。この阻害は着莢期、莢肥大期および登熟中期のいずれの時期においても認められたが、根粒の着生量および処理区間差はともに莢肥大期



第1図 全乾物増加量(W)と蒸発散量(ET)との関係(実験1)。

—●—, 少N区; ---○---, 多N区。

〈少N区と多N区の間での回帰直線の比較〉

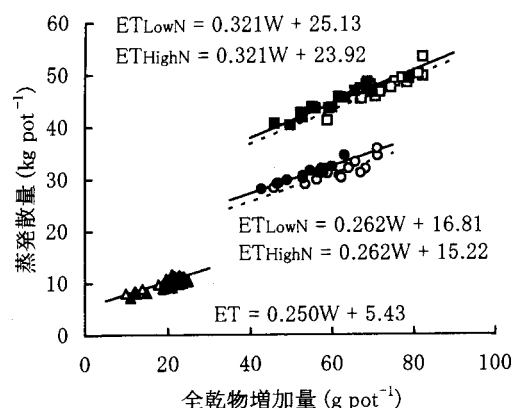
傾斜の比較

高さの比較

$F_{1,14}=0.11$ (ns)

$F_{1,15}=72.11$ ($P<0.001$)

図中の回帰直線は、「傾斜に違いは認められないが、高さは有意に異なる」との検定結果に従って記入した。



第2図 全乾物増加量 (W) と蒸発散量 (ET) との関係 (実験2)。

三角、円および四角はそれぞれ着莢期、莢肥大期、登熟中期を、また黒塗りと中抜き記号は少N区と多N区を示す。

〈少N区と多N区間の回帰直線の比較〉

傾斜の比較 高さの比較

着莢期: $F_{1,18}=0.50$ (ns) $F_{1,19}=0.14$ (ns)

莢肥大期: $F_{1,22}=0.06$ (ns) $F_{1,23}=16.26$ ($P<0.001$)

登熟中期: $F_{1,27}=1.59$ (ns) $F_{1,28}=6.60$ ($P<0.05$)

図中の回帰直線は、着莢期に関しては「処理区間差は認められない」との、また莢肥大期と登熟中期に関しては「傾斜に違いは認められないが、高さは有意に異なる」との検定結果に従って記入した。

においてもっとも大きく現れた。測定開始から各生育期に至る期間中のWとETとの関係を第2図に一括して示した。根粒の着生数が37 (少N区)～20 (多N区)と少なくまた処理区間差も小さかった着莢期には、W-ET関係に対するN条件の影響は検出されなかった。しかし、莢肥大期には実験1で認められたと同様、‘高さ’に関して有意差が認められ、またこの差異は登熟中期にも引き続いて認められた。

実験3. 非着生系統T201においては、当然のことながら、いずれの生育期でも根粒の着生は全く認められなかった。一方、着生系統T202では、栄養生長後期には著しく少なかったが、着莢期から莢肥大期にかけて根粒の着

生が認められた (第3表)。測定開始から各生育期に至る期間中のWとETとの関係を第3図に示した。両系統ともに根粒の着生が全く、あるいはほとんど認められなかった栄養生長後期においてはT201とT202ともにWとETの関係は1つの直線で表せた。しかし、着莢期には同じWに達するのにT202がT201より多くのETを要する傾向が出現し、この傾向は莢肥大期においてさらに拡大した。‘傾斜’はいずれの時期においてもT201とT202の間で異ならず、また着莢期と莢肥大期において有意に‘高さ’が異なるとの検定結果が共分散分析によって得られた。

考 察

メカニズムは必ずしも明確にはなっていないが、化合態窒素の施用が共生窒素固定作用を阻害することに関してはこれまで多くの報告がなされている (Tanner and Anderson 1963, 藤田・田中 1982, 藤田ら 1985, Streeter 1988, Eskewら 1989, Francisco and Akao 1993)。実験1と実験2は、化合態窒素の施用によって生ずるこのような阻害的作用を利用して共生窒素固定作用を制御しようと試みたものであり、この目的は多N区と少N区間の根粒着生数および着粒重に明確な違いが現れたことによって確認されたものと考えられる (第1表・第2表)。さらに、実験3では根粒非着生系統 (T201) と着生系統 (T202) を供試することによって、根粒着生に違いを生じさせた (第3表)。この場合、当然のことながら、T201に関しては窒素固定がなかったとみなされる。

既報において、著者らはソルガムを供試して、W-ET関係における傾斜 ($\Delta ET/\Delta W$) はN条件にほとんど影響されなかったことを報告した (角・片山 2000) が、ダイズに関しても蒸散係数に対するN条件の影響は検出されなかった (第1図、第2図)。また、蒸散係数はT201とT202の間でも異ならなかった。これは両系統が遺伝的に近いことの1つの反映でもあろう。これらの結果は翻って、蒸散係数が根粒着生の多少や有無に影響されなかったことを示すと解することもできる。

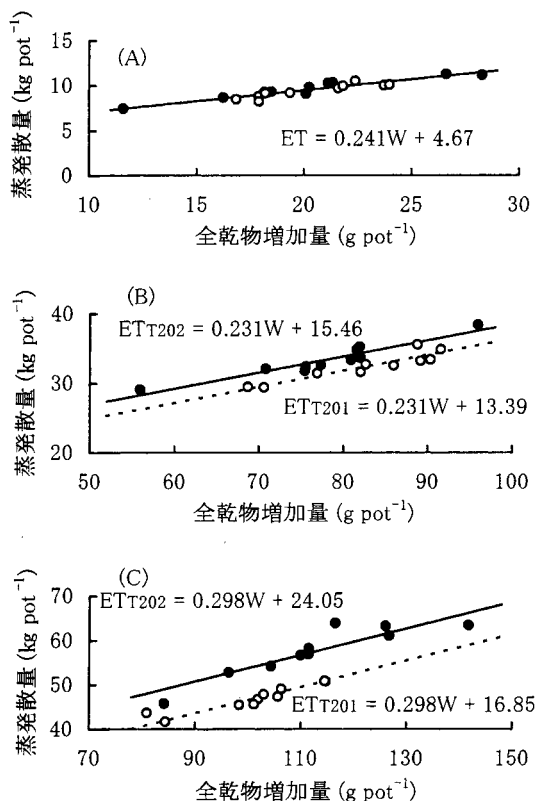
第3表 根粒着生系統 (T202) と非着生系統 (T201) との根粒着生数および着粒重の比較 (実験3, 栄養生長後期・着莢期・莢肥大期)。

生育時期	栄養生長後期		着 莢 期		莢 肥 大 期	
	着生数 (/個体)	着粒重 (g/個体)	着生数 (/個体)	着粒重 (g/個体)	着生数 (/個体)	着粒重 (g/個体)
T202	4.7	0.01	153.7	1.86	261.6	3.07
T201	0	0	0	0	0	0
有意差	**	*	***	***	***	***

*: t検定による5%水準の有意差あり。

**: t検定による1%水準の有意差あり。

***: t検定による0.1%水準の有意差あり。



第3図 全乾物増加量 (W) と蒸発散量 (ET) との関係 (実験3)。

上段から、それぞれ播種後55日目 (A)、76日目 (B) および100日目 (C) における関係を、また黒塗りと中抜き
の記号はそれぞれ根粒着生系統 (T202) と根粒非着生系統 (T201) を表す。

〈着生系統と非着生系統の間の回帰直線の比較〉

傾斜の比較 高さの比較

55日目: $F_{1,16} = 0.29$ (ns) $F_{1,17} = 3.74$ (ns)

76日目: $F_{1,16} = 0.004$ (ns) $F_{1,17} = 31.59$ ($P < 0.001$)

100日目: $F_{1,16} = 1.05$ (ns) $F_{1,17} = 59.31$ ($P < 0.001$)

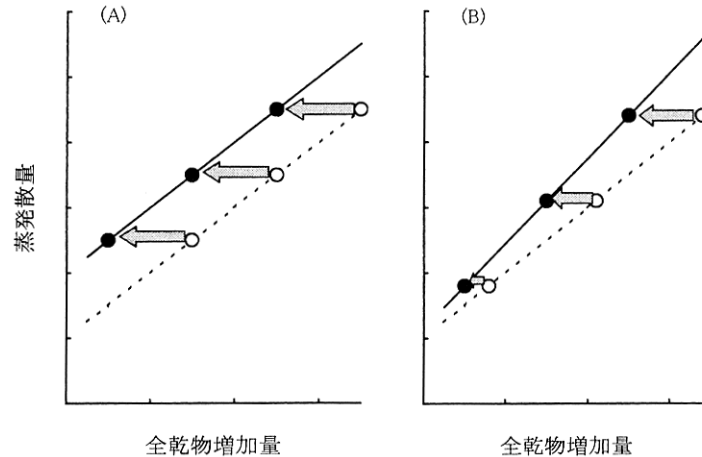
図中におけるそれぞれの回帰直線は、55日目においては「傾斜および高さともに有意差は認められない」、また76日目と100日目においては「傾斜に違いは認められないが、高さは有意に異なる」との検定結果に従って記入した。

W-ET 関係に対する N 条件や系統の違いの影響は、いずれの実験においても回帰直線の「高さ」の差として特異的に検出された (第1図～第3図)。しかもその差は、根粒着生量の増大と処理間および系統間における差の拡大と連動して顕在化する傾向にあったことから (第2図, 第3図), 根粒着生および共生窒素固定作用との関連性が推察される。この点を論ずる前に, $ET_{w=0}$ のもつ概略的な意味あいを確認しておく必要がある。 $ET_{w=0}$ は $W=0$ における ET を意味するので, 直接的には乾物生産に関わらずに失われた ET ということになる。ET は, 植物体中を流れた後で気孔を中心として植物体表面から失われる部分 (蒸散量) と植物体を経ずに土壌表面から直接に失われた部分 (蒸発量) とから構成されており, また W と ET

の間の直線関係は基本的には気孔を介してなされる植物体内への CO_2 流入 (光合成) と植物体からの H_2O の流出 (蒸散) によって成立していると考えられるので, $ET_{w=0}$ は蒸散量を差し引いた土壌面蒸発量を反映すると考えるのが自然である。実際に, 実験1において同時に測定したポット裸地面からの平均蒸発量は 11.45 kg であり, この値は多 N 区と少 N 区におけるそれぞれの $ET_{w=0}$, 8.89 (95%信頼区間; 7.98–9.79) kg と 11.33 (95%信頼区間; 9.59–13.06) kg に近い。この傾向は実験2や実験3でもほぼ同様に認められ, また著者らが既報においてソルガムやイネで認めた結果とも一致する (角・片山 2001)。

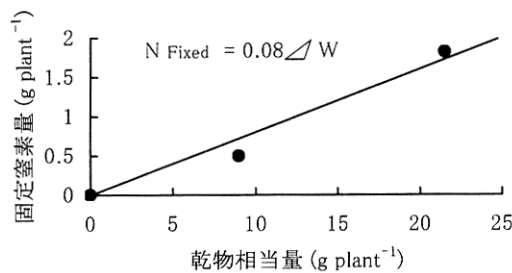
それではどうして物理現象として決定されるべき $ET_{w=0}$ に処理間あるいは系統間で有意差が認められたのであろうか? まず, 植物体の大きさとそれに伴う土壌表面上の微気象環境の相違によって土壌面蒸発量に違いが生じたことが考えられるが, 両処理区における平均植物体重はそれぞれ 61.3 g (多 N 区) と 60.0 g (少 N 区) と異ならなかった (実験1) ことからこの可能性は低いと考えられる。代わりうる可能性として, 著者らは以下に記す過程を反映していると考えた。まず, 第4図に模式的に示すように, W と ET の間の基本的関係は N 条件や系統の違いに関わらず一定であったと仮定する。第2図における着莢期や第3図における栄養生長後期でみられた関係はこれにあたる。多 N 条件下や非着生系統 T201 では根粒着生が少～無で, 窒素固定のために配分される同化産物もまた少～無であるので, W と ET の間の基本的関係は大きくは変化しない。一方, 少 N 条件下や着生系統 T202 では N に対する作物体の需要増大を補うべくバクテロイド中できかに窒素固定がなされるようになり, 反面でそれに見合う光合成産物が宿主側から供給される。この場合, ET はすでに決まっているにも関わらず, W のみが, 見かけ上, 左側 (第4図における矢印側) へ移行するため, W-ET 関係はあたかも上方へとシフトしたようにみえることになる。バクテロイドから宿主へ向けての窒素供給量が植物体重に比例する, 裏返せば植物体重が大きいほどバクテロイドへ向けての光合成産物供給量もまた大きくなっているならば, W-ET 関係における傾斜 (蒸散係数) が変化し第4図 B の如くの現象が予想されるが, 結果として (第1図～第3図), 処理間および系統間で傾斜に関して有意差は認められなかった (第4図 A)。そこで, 植物体重と固定窒素量 (またそれに必要な光合成産物供給量) との相互関係は同一の生育ステージではさほど明瞭ではなかったとの仮定をおくことにすると, 窒素固定のために配分された乾物量 (dw) は $ET_{w=0}$ の差を蒸散係数で除すことによって算出することができる。例えば, 実験1では $7 \text{ g dw} [= (11.33 - 8.89) \text{ kg } H_2O \div 0.347 \text{ kg } H_2O \text{ g}^{-1} \text{ dw}]$ である。

実験3の結果を用いて, 上述の手順で算出した $ET_{w=0}$ 差から算出した乾物相当量と固定窒素量との関係を検討した (第5図)。ここでの固定窒素量は差引法 (根粒着生系



第4図 生産された乾物の一部分を窒素固定のために配分・消費された場合に予想される全乾物増加量－蒸発散量関係の変化に関する2つの概念図。

---○---は窒素固定のための乾物分配がなかった場合を、—●—は窒素固定のために生産された乾物の一部が消費された場合を表し、左側の(A)図は乾物生産量と窒素固定コストの間の相互依存性が小さい場合を、右側(B)図は乾物生産量が大きいかほど固定窒素量ひいてはそのコストも増大する場合を示している。



第5図 無効蒸散量に相当する乾物量 (ΔW) と固定窒素量 (N_{Fixed}) との関係 (実験3)。

左側から栄養生長後期、着莢期、莢肥大期へと変化している。

統 T 202 における吸収窒素量－非着生系統 T 201 の吸収窒素量) によって求めたものである (Unkovich and Pate 2000)。生育ステージの進展に伴う $ET_{w=0}$ 差の拡大傾向は固定窒素量の増大と密接に関係しており、また窒素固定コストを代表する傾斜は $12.4 \text{ gdw g}^{-1}\text{N}$ と見積もられた。乾物重当たりの平均エネルギー価は植物の種類によって異なるものの耕地生態系における値はほぼ $0.017 \text{ MJ g}^{-1}\text{dw}$ とみなされている (Lieth 1975) ので、これはおよそ $210 \text{ MJ kg}^{-1}\text{N}$ に相当する。この窒素固定コストは、 $240 \sim 260 \text{ MJ kg}^{-1}\text{N}$ とする Ryle ら (1979) や Schubert (1982) の試算値に近い。‘ $ET_{w=0}$ 差から導かれる乾物相当量は共生窒素固定量の違いと密接に関係している’との結論は、実験2の結果に対しても同様に適用することができた。

共生窒素固定量の推定法の1つであるアセチレン還元法は、窒素固定のキー酵素であるニトロゲナーゼ活性に注目したものであり、また他の方法は、測定原理の違いはあるものの、いずれも植物体中の窒素 (N 差法、 ^{15}N 希釈

法、 ^{15}N 自然同位体法)、あるいは導管中を流れる窒素化合物 (ウレイド法) の直接的な分析を基本としている。これらに対して、本研究の結果は「窒素固定のための物質/エネルギーコスト」に焦点を当てることによって共生窒素固定量の推定ができること、さらには $ET_{w=0}$ の違いがその指標の1つとなりうることを示している。

謝辞：本研究に供試した T 201 と T 202 の種子を譲与していただいた長野県中信農業試験場畑作育種部研究員矢ヶ崎和弘氏に深く感謝いたします。

引用文献

- 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.
- Francisco, P.B. and S. Akao 1993. Autoregulation and nitrate inhibition of nodule formation in soybean cv. Enrei and its nodulation mutants. *J. Exp. Bot.* 44 : 547–553.
- 藤田耕之輔・田中明 1982. ダイズにおける窒素の固定・吸収・転流に対する化合窒素の影響. *土肥誌* 53 : 30–34.
- 藤田耕之輔・尾形昭逸・松本勝士・阿江教治 1985. ダイズの野生種・栽培種、レンゲおよびシロクロバーの窒素の固定、吸収に対する培地硝酸態窒素濃度の影響. *土肥誌* 56 : 110–114.
- Lieth, H. 1975. Modeling the primary productivity of the world. In Lieth, H. and R.H. Whittaker eds., *Primary Productivity of the Biosphere*. Springer, New York. 237–263.
- Ryle, G.J.A., C.E. Powell and A.J. Gordon 1979. The respiratory costs of nitrogen fixation in soybean, cowpea, and white clover. *J. Exp. Bot.* 30 : 135–144.
- Schubert, K.R. ed. 1982. *The Energetics of Biological Nitrogen*

- Fixation. Am. Soc. Plant Physiol., Rockville, Maryland. 1—30.
- Streeter, J. 1988. Inhibition of legume nodule formation and N₂ fixation by nitrate. CRC Crit. Rev. Plant Sci. 7 : 1—23.
- 角明夫・片山忠夫 2000. 土壌水分に対するソルガムの初期生育反応に及ぼす窒素施肥と日射の影響. 日作紀 69 : 513—519.
- 角明夫・片山忠夫 2001. 矮性遺伝子利用による干害回避性の付与と水利用の効率化. 日作紀 70 : 418—424.
- Tanner, J.W. and I.C. Anderson 1963. An external effect of inorganic nitrogen in root nodulation. Nature 198 : 303—304.
- Unkovich, M.J. and J.S. Pate 2000. An appraisal of recent field measurements of symbiotic N₂ fixation by annual legumes. Field Crops Res. 65 : 211—228.

Estimation of the Amount of Symbiotic Nitrogen Fixation Based on the Relationship between Dry Matter Production and Evapotranspiration in Soybean : Akio SUMI, Susumu HAKOYAMA, Kohei MURAKAMI, Ai ASAHINA, Kazuyo MURATA, Hirotaka KUWAHARA and Tadao C. KATAYAMA (*Fac. of Agr., Kagoshima Univ., Kagoshima 890-0065, Japan*)

Abstract : The quantitative relationship between dry matter production (W) and evapotranspiration (ET) was examined in soybean cv. Tsurunoko cultivated in 8 L containers fertilized with a large amount of inorganic nitrogen (high N), where nodulation was poor, and with a small amount of N (low N), where nodulation was abundant. It was also examined in two isogenic lines; non-nodulating line T201 and nodulating line T202. The value of ET when W was zero ($ET_{W=0}$), which was determined from the regression lines, was higher in the plants fertilized with a low N than with a high N, and in T202 than in T201. The transpiration coefficient ($\Delta ET/\Delta W$) was not influenced by N level and was nearly the same in T201 and T202. Difference in W between T201 and T202 (δW) calculated from the difference in $ET_{W=0}$ ($\delta ET_{W=0}$) was correlated with the amount of fixed nitrogen estimated in N difference method. These results suggest that the difference in $ET_{W=0}$ between T201 and T202 represents the energy cost of nitrogen fixation.

Key words : Dry matter production, Evapotranspiration, Nitrate inhibition, Nodulation, Non-nodulating mutant, Soybean, Symbiotic nitrogen fixation.
