

葉面散布による種子中モリブデン (Mo) の富化がダイズ (*Glycine max* L. Merr.) の根粒超着生系統の根粒着生, 窒素固定, 生育ならびに収量に及ぼす影響

浜口秀生¹⁾・渡邊和洋¹⁾・松尾和之²⁾・梅本雅¹⁾・高橋幹¹⁾・渡邊好昭¹⁾・伊藤一幸³⁾

(¹⁾ 農業・食品産業技術総合研究機構, ²⁾ 国際農林水産業研究センター, ³⁾ 神戸大学大学院農学研究科)

要旨: モリブデン (Mo) は豆類の根粒窒素固定に必須の元素である。ダイズは生育初期に必要な Mo を種子に依存しており, 生育初期から根粒を多量に着生する根粒超着生ダイズは普通の根粒着生を行う品種に比べ多くの Mo が必要と考えられる。これまで行われた超着生ダイズの圃場研究では種子の Mo 含量は考慮されなかった。そこで本研究では, 種子の Mo 含量富化が超着生ダイズの生育と収量に及ぼす影響を検討した。Mo 含量富化種子は, 前世代の R5 (子実肥大始期) にモリブデン酸ナトリウムの 0.3 g L^{-1} 水溶液を散布量 100 mL m^{-2} で 2 度, 葉面散布して生産した。エンレイとその超着生変異体 En6500 と改良された超着生系統の En-b0-1 と関東 100 号について Mo 含量富化種子 ($5.5\text{--}15.1 \text{ mg kg}^{-1}$) と対照種子 ($0.3\text{--}2.2 \text{ mg kg}^{-1}$) に由来する植物体の根粒着生, 窒素固定, 収量を比較した。超着生系統では Mo 富化種子由来の植物体は対照種子由来のものに比べ個体当たりの根粒着生量は少ないが, 根粒の Mo 含量が高く, 茎乾物のウレイド含量も高かった。Mo 富化種子由来の植物体の収量は対照の 1.3 から 2 倍であった。エンレイでは Mo 富化種子と対照種子に由来する植物体の間に根粒着生量の差はなかったが, 前者の収量は後者より 10% 多かった。種子 Mo 富化は超着生ダイズの超着生を部分的に抑制し, 生育, 収量を大幅に改善すると考えられた。

キーワード: 根粒超着生, 種子, ダイズ, 窒素固定, 富化, モリブデン, 葉面散布。

1980 年代後半にダイズでは, 高濃度の硝酸の存在下でも根粒を着生し窒素固定を行うことができ, 普通型親品種に比べ多量の根粒を着生する突然変異系統が作出された (Carrol ら 1985, Gremaund and Harper 1989)。これらの超着生系統や改良された系統について, 圃場での評価試験が行われたが, 超着生系統の収量は普通品種にやや劣ると報告されている (Wu and Harper 1991, Pracht ら 1994, Song ら 1995, Maloney and Oplinger 1997)。

日本ではエンレイから根粒超着生変異体 En6500 が作出された (Akao and Kouchi 1992)。En6500 は根粒超着生以外に子実が十分に肥大しない, 生育量が著しく小さい等の劣悪な形質を伴っており, それらを改良するためにエンレイを交配して根粒超着生系統である En-b0-1 と En-b0-1-2 が作出された (Takahashi ら 2003a)。En-b0-1-2 は作系 4 号と命名され, 関東 100 号として品種登録された (高橋ら 2003b)。関東 100 号は, En-b0-1 にタマホマレが自然交雑したことが後に判明している (山本ら 2004)。関東 100 号には初期の生育量が小さい, 根の発達が悪いなどの不利な特性があるが, 基肥の窒素を増施した不耕起狭畦密植栽培条件では関東 100 号の収量はエンレイより高かった (高橋 2005)。

モリブデン (Mo) は植物の硝酸還元酵素, キサンチンデヒドロゲナーゼや根粒のニトロゲナーゼの必須元素である (Kaiser ら 2005)。したがって, 生育初期から根粒を着生し続ける超着生系統は普通に根粒着生を行う品種に比べ多くの Mo を必要とすると考えられる。また, ダイズは生育初期の Mo を種子に依存する (石塚 1982) とされること

から, 根系の発達が野生型親品種に比べ劣る超着生系統は, 土壌から利用可能な Mo 量がより少なく, 種子中の Mo 含量はより重要と考えられる。上述の根粒超着生系統の圃場試験では種子 Mo 含量や Mo 施肥について検討はされていない (Wu and Harper 1991, Pracht ら 1994, Song ら 1995, Maloney and Oplinger 1997, Takahashi ら 2003a, 高橋ら 2003b, 高橋 2005)。そこで我々は種子 Mo 含量富化が根粒超着生系統の根粒着生, 根粒の活性, 生育, 収量に及ぼす影響について検討した。

材料と方法

1. 圃場

茨城県つくばみらい市の中央農業総合研究センターの圃場で試験を実施した。土壌の種類は灰色低地土であり, 可給態 Mo 含量は 0.3 mg kg^{-1} であった。試験圃場の作付け体系は水稻-コムギ-ダイズの水田輪作であった。

2. Mo 富化種子の生産

2004 年と 2005 年に正常な根粒着生を行うダイズ品種エンレイと根粒超着生ダイズ系統の関東 100 号, En-b0-1, En6500 を無肥料条件で不耕起栽培した。Mo 富化種子はダイズの発育ステージ R5 期 (子実肥大始期, Fehr and Caviness 1977) とその 2 週間後にモリブデン酸二ナトリウム二水和物の 0.3 g L^{-1} 水溶液を 100 mL m^{-2} , 家庭園芸用小型スプレーで葉面散布して生産し, 得られた種子を Mo 富化種子とした。一方, Mo の葉面散布を行わないダイズから得た種子を対照種子とした。以後, 大豆の発育ステー

ジの区分は Fehr and Caviness (1977) に従って記述する。収穫した種子の一部は高速振動試料粉碎機（(株) シー・エム・ティ）で微粉碎した。試料 0.25 g に硝酸、過酸化水素を加えマイクロウェーブ試料分解装置（マイルストーンゼネラル社 ETHOS-1）で分解後、希硝酸で 25 mL にし、ICP 発光分析装置（島津製作所 ICPS-7510）で種子 Mo 含量を定量した。

3. 栽培法

上記の方法で生産したエンレイと超着生 3 系統の Mo 富化種子と対照種子を無肥料で不耕起栽培した。栽植様式は条間 30 cm, 株間 15 cm, の 22 個体 m^{-2} とした。播種日は 2005 年が 6 月 27 日で、2006 年が 6 月 29 日であった。各試験区の大きさは、2005 年が 10 畦、畦長 3 m の 9 m^2 、2006 年が 8 畦、畦長 4.5 m の 10.8 m^2 とした。2005 年は播種 44 日後に 5 個体を掘り取り、葉、茎、根、根粒に分解し、80℃で通風乾燥し、乾物重を測定した。調査時の発育ステージの分類は 4 品種・系統とも R2 期（開花盛期）であった。2006 年は播種 56 日後に 5 個体を掘り取った。発育ステージは関東 100 号が R3 期（着莢始）で、他の品種・系統は R5 期であった。葉、茎、莢、根および根粒の乾物重と着生数を測定した。ただし、莢重は長さ 2 cm 以上の莢を対象にしたため R3 期の関東 100 号では測定しなかった。2006 年ダイズの植物体および 2005 年と 2006 年の根粒の Mo 含量を種子に準じて測定した。ただし、根粒の Mo

含量はそれぞれの処理区について 2 反復をひとまとめにして測定した。茎乾物中のウレイド含量は、石塚 (1972) の方法にしたがって茎乾物の微粉碎物からウレイドを水抽出し、Yong-Conway 法 (1942) によってウレイドを定量した。R8 期（成熟期）に 2005 年は 3 m^2 のダイズを、2006 年は 4.5 m^2 のダイズを刈り取り、子実収量を求めた。

4. 統計解析

品種を主区、Mo 富化処理の有無を副区とする 2 反復の分割区法で試験を実施した。ただし、2006 年の莢重については R5 期に達していなかった関東 100 号を除いて解析を行った。同じ種子 Mo 条件での品種間差、同一品種条件で Mo 富化の有無の処理間差を検定した。また、根粒の Mo 含量については反復をひとまとめにして分析したため、年次をブロックとして分散分析を行った。統計解析は JUSE-StatWorks/V4.0（株式会社日本科学技術研修所、東京都渋谷区）で実施した。

結 果

1. Mo 富化種子の生産

Mo を葉面散布しなかった根粒超着生系統から収穫した種子の Mo 含量は 2006 年の En-b0-1 を除き 1 mg kg^{-1} に満たなかった。エンレイは 1 mg kg^{-1} より高かった。Mo を葉面散布したダイズから収穫した種子の Mo 含量はエンレイと超着生 3 系統ともに無散布より高くなった。葉面散布した根粒超着生系統の Mo 含量は En6500 を除き普通品種に比べ低い傾向があった（第 1 表）。

2. ダイズの生育と根粒

2005 年（播種 44 日後）および 2006 年（播種 56 日後）に採取した地上部重はエンレイに比べ超着生の 3 系統は対照区、Mo 富化区ともに小さかった。超着生系統間の比較では En6500 が他の 2 系統より劣る傾向があった。Mo 富化により地上部重は増加する傾向があり、その程度は超着生系統で大きく、関東 100 号では有意差が認められた（第 2 表、第 3 表）。葉重、茎重、莢重は地上部全体とほぼ同じ傾向を示した（データ略）。

根重は 2 カ年ともに超着生系統がエンレイより有意に小

第 1 表 供試ダイズ種子のモリブデン含量 mg kg^{-1} 。

根粒着生	品種系統	2005 年 *1		2006 年 *2	
		対照	富化 *3	対照	富化
正常	エンレイ	2.0	15.1	1.4	10.1
超着生	En6500	0.6	14.1	0.5	14.6
	En-b0-1	0.3	10.0	2.2	8.8
	関東 100	0.4	9.2	0.8	5.5

*1：2004 年に生産した種子を 2005 年の栽培試験に使用した。

*2：2005 年に生産した種子を 2006 年の栽培試験に使用した。

*3：富化種子は 0.03% のモリブデン酸ナトリウム水溶液をダイズの R5 期 (Fehr and Caviness, 1977) に 2 週間間隔で 2 回散布した。1 回の散布量は 100 mL m^{-2} であった。

第 2 表 種子モリブデン富化 *1 が播種 44 日後のダイズの部位別の乾物重に及ぼす影響 (2005 年)。

根粒着生	品種系統	地上部重 g plant^{-1}		根重 g plant^{-1}		根粒 g plants^{-1}	
		対照	富化	対照	富化	対照	富化
正常	エンレイ	12.55 aA *2	14.16 aA	1.56 aA	1.53 aA	0.32 bA	0.35 bA
超着生	En6500	1.42 bA	2.03 cA	0.25 cA	0.26 cA	0.45 bA	0.35 bA
	En-b0-1	4.21 bA	5.26 bA	0.56 bA	0.54 bcA	0.95 aA	0.69 aB
	関東 100 号	3.72 bB	6.18 bA	0.57 bB	0.79 bA	1.07 aA	0.69 aB

*1：モリブデン含量は第 1 表に示した。

*2：同じ列内で後ろに同じ英小文字が続く場合、また、同じ行内で同じ英大文字が続く場合それらの数字には 5% 水準で有意差はない。

第3表 種子モリブデン富化*¹が播種56日後のダイズの部位別乾物重に及ぼす影響 (2006年).

根粒着生	品種系統	地上部重 g plant ⁻¹		根重 g plant ⁻¹		根粒 g plants ⁻¹	
		対照	富化	対照	富化	対照	富化
正常	エンレイ	16.51 aA* ²	18.44 aA	1.38 aA	1.32 aA	0.41 dA	0.37 cA
超着生	En6500	2.51 bA	5.48 cA	0.38 bA	0.62 cA	0.86 cA	0.56 bB
	En-b0-1	4.31 bA	7.92 bcA	0.58 bA	0.65 cA	1.26 bA	0.62 bB
	関東100号	3.29 bB	10.41 bA	0.48 bB	0.97 bA	1.39 aA	0.93 aB

*¹: モリブデン含量は第1表に示した.*²: 同じ列内で後ろに同じ英小文字が続く場合, また, 同じ行内で同じ英大文字が続く場合それらの数字には5%水準で有意差はない.第4表 種子モリブデン富化*¹が播種56日後のダイズの根粒数と根粒の1個あたりの重さに及ぼす影響 (2006年).

根粒着生	品種系統	個体当たり根粒数 plant ⁻¹		根重当たり根粒数 g ⁻¹		根粒1個重* ² mg	
		対照	富化	対照	富化	対照	富化
正常	エンレイ	109 cA* ³	102 cA	80 cA	78 cA	3.70 aA	3.58 aA
超着生	En6500	394 bA	529 bA	1052 bA	865 aA	2.22 bA	1.07 bB
	En-b0-1	657 aA	568 bA	1139 abA	889 aA	1.95 bA	1.11 bB
	関東100号	648 aB	884 aA	1369 aA	870 aB	2.15 bA	1.11 bB

*¹: 供試種子のモリブデン含量は第1表に示した.*²: 個体当たりの根粒重を根粒数で除した値.*³: 同じ列内で後ろに同じ英小文字が続く場合, それらの数字の間には有意差はない, また, 同じ行内で同じ英大文字が続く場合それらの数字には有意差はない.

さかった. 超着生系統間の比較では En6500 は En-b0-1 と関東100号に比べ小さい傾向があり, 2006年の対照区を除き En6500 と関東100号の差は有意であった (第2表, 第3表). また, 同一品種における Mo 富化区と対照区の根重を比較すると, 2005年 (播種44日後) の場合, 関東100号は前者が後者より大きかったが, 他の品種では差がなかった (第2表). しかし, 2006年 (播種56日後) の場合, 超着生系統の Mo 富化区の根重は対照区より大きい傾向があり, 関東100号で差は有意であった. エンレイでは有意な差はなかった (第3表).

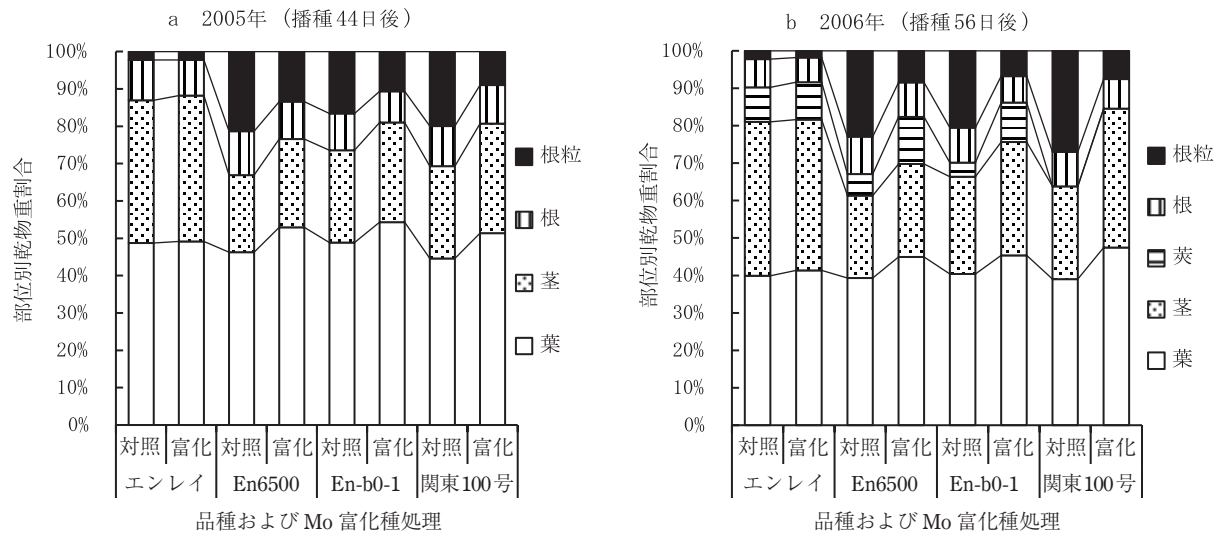
2005年 (播種44日後) における個体当たりの根粒重は, 超着生の En-b0-1 と関東100号はエンレイと超着生の En6500 より有意に大きかった. エンレイと En6500 の根粒重には差はなかった (第2表). 2006年 (播種56日後) においては超着生3系統の個体当たりの根粒重はエンレイより大きかった. 超着生系統間の比較では対照区の場合 En6500 は関東100号, En-b0-1 より小さい傾向があった. Mo 富化区の場合, 関東100号と他の2系統との差は有意であった (第3表). 同一品種・系統における Mo 富化区と対照区の個体当たりの根粒重を比べると, 超着生系統では前者が後者よりも小さく, それらの差は2005年の En6500 を除き有意であった. しかし, エンレイの場合, 両者に有意差はなかった (第2表, 第3表). 2006年の個体当たりの根粒数を見ると超着生3系統はエンレイより大きかった. 超着生系統間の比較では対照区の場合 En6500

は関東100号, En-b0-1 より少なく, Mo 富化区では関東100号と他の2系統より多かった. また, 超着生系統の Mo 富化区における根粒数は対照区に比べ減少しておらず, 関東100号の場合, 増加した (第4表). 根重あたりの根粒数は対照区, Mo 富化区ともに超着生系統はエンレイより多かった. 超着生系統の場合, 対照区に比べ Mo 富化区の根重あたり根粒数は少なく, 関東100号では両区の差は有意であった (第4表). 根粒一個当たりの重量は対照区と Mo 富化区ともにエンレイに比べ超着生系統が有意に小さかった. 超着生系統の根粒一個当たりの重量には Mo 富化区と対照区の間には有意差が認められ, Mo 富化区は対照区の約半分となった. エンレイでは Mo 富化の有無で一個当たりの重量に大きな差はなかった (第4表).

3. 部位別の乾物重割合

第1図に2005年 (播種44日後) および2006年 (播種56日後) の器官別の乾物重の割合を示した. また, それらの分散分析の結果を第5表に示した. 対照区の葉の割合は品種・系統間の差は小さく2005年で45%程度, 2006年で40%程度であった. 対照種子と富化種子を比較すると超着生系統は後者が5パーセントポイント程度高かったが, エンレイでは両者の差異は認められなかった.

エンレイの茎の割合は対照区, Mo 富化区ともに40%程度であった. 超着生系統の茎の割合は対照区では20から25%で, エンレイに比べ低かった. 超着生系統の Mo 富化



第1図 種子モリブデン富化が部位別の乾物重割合に及ぼす影響。

調査時の発育ステージは、a が全て品種が R2（開花盛期）であった。また、b は関東 100 号が R3（着莢始期）で他は R5（子実肥大始期）であった。

第5表 部位別乾物重割合の分散分析結果。

要因	2005 年				2006 年				
	葉	茎	根	根粒	葉	茎	莢	根	根粒
品種系統 (V)	** ¹	**	**	**	n.s. ²	**	n.s.	+	**
種子富化 (Mo)	**	**	**	**	**	**	**	**	**
交互作用 (V*Mo)	+	n.s.	n.s.	*	*	**	n.s.	n.s.	**

*1: **, *, + はそれぞれ F 検定の結果が 1, 5, 10% 水準で有意であることを示す。

*2: n.s. は F 検定の結果が有意でないことを示す。

区では対照区に比べ増加する傾向があり、特に 2006 年の関東 100 号では 37% でエンレイ並であった。

根の割合には品種・系統間の差は小さく 2005 年で 10% 程度、2006 年で 8 から 10% 程度であったがエンレイが低い傾向があった。対照区は Mo 富化区に比べ全ての品種で減少する傾向があった。

根粒重の割合は品種や Mo 富化処理の有無により異なった。エンレイは Mo 富化の有無にかかわらず 2% 程度であった。Mo 含量の低い対照区の超着生系統は 2005 年で 15 から 20%、2006 年で 20 から 30% であるのに対し、Mo 富化区の超着生系統は 2005 年が 10% 前後、2006 年が 10% 弱であり、Mo 富化処理により超着生系統の根粒重の割合は大きく減少した。

4. 根粒窒素固定

根粒の窒素固定の指標として茎乾物中のウレイド含量を測定した。R2 期に測定した 2005 年についてみると、ウレイド含量は対照区では有意差はないものの En6500 と En-b0-1 はエンレイよりわずかに高く、関東 100 号は低かった。Mo 富化区では超着生系統がエンレイより有意に高かった。同じ品種・系統の Mo 富化区と対照区を比較すると、前者

がウレイド含量は高い傾向があり、超着生系統では有意差があった。関東 100 号の R3 期、他の 3 品種の R5 期に測定した 2006 年のウレイド含量は、対照区ではエンレイは超着生 3 系統より有意に高かった。Mo 富化区では En-b0-1、En6500 はエンレイと関東 100 号に比べ有意に高かった。関東 100 号とエンレイの差は有意ではなかった。同じ品種・系統の Mo 富化区と対照区の比較では全品種で前者が有意に高かった（第 6 表）。

対照区の根粒の Mo 含量をみると、エンレイと超着生系統との間に有意な差が認められたが、超着生系統間には差はなかった。Mo 富化区ではエンレイに比べ超着生の関東 100 号は有意に低かったが、En6500 と En-b0-1 はエンレイと同程度であった。種子 Mo 富化により根粒の Mo 含量は増加する傾向があり、超着生系統では有意差が認められた（第 7 表）。2006 年における根の Mo 含量は Mo 富化区、対照区ともにエンレイが超着生系統より高かった。Mo 富化により根の Mo 含量は増加する傾向があり、エンレイ、関東 100 号では有意差があった。また、葉の Mo 含量も種子富化で増加する傾向があった（第 7 表）。茎の Mo 含量は根粒、根、葉に比べ低く、Mo 富化区の一部を除き検出されなかった（データ略）。

第6表 種子モリブデン富化*1が茎乾物のウレイド含量に及ぼす影響.

根粒着生	品種系統	ウレイド ($\mu\text{M g}^{-1}$)			
		2005 年		2006 年	
		対照	富化	対照	富化
正常	エンレイ	11.5 aA*2	16.2 bA	56.8 aB	85.5 bA
超着生	En6500	13.4 aB	47.6 aA	24.4 bB	116.3 aA
	En-b0-1	14.5 aB	42.5 aA	26.8 bB	120.8 aA
	関東 100 号	5.0 aB	35.5 aA	9.7 bB	63.9 bA

*1: 供試種子のモリブデン含量は第1表に示した.

*2: 同じ列内で後ろに同じ英小文字が続く場合, また, 同じ行内で同じ英大文字が続く場合それらの数字には5%水準で有意差はない.

第7表 種子モリブデン富化*1がダイズの根粒, 根および葉の Mo 含量に及ぼす影響.

根粒着生	品種系統	根粒 ($\mu\text{g g}^{-1}$)						根 ($\mu\text{g g}^{-1}$)		葉 ($\mu\text{g g}^{-1}$)	
		2005 年		2006 年		平均値		2006 年		2006 年	
		対照	富化	対照	富化	対照	富化	対照	富化	対照	富化
正常	エンレイ	3.24	4.04	3.14	3.92	3.19 aA*2	3.98 aA	0.47 aB	0.62 aA	0.21 aA	0.28 aA
超着生	En6500	0.65	5.01	0.45	2.88	0.55 bB	3.95 aA	0.26 aA	0.37 bA	0.24 aA	0.35 aA
	En-b0-1	0.97	3.67	0.61	2.79	0.79 bB	3.23 abA	0.23 bA	0.32 bA	0.22 aA	0.33 aA
	関東 100 号	0.67	2.69	0.43	1.72	0.55 bB	2.21 bA	0.24 bB	0.39 bA	0.05 aB	0.27 aA

*1: 供試種子のモリブデン含量は第1表に示した.

*2: 同じ列内で後ろに同じ英小文字が続く場合, また, 同じ行内で同じ英大文字が続く場合それらの数字には5%水準で有意差はない.

第8表 種子モリブデン富化*1がダイズの子実収量 (g m^{-2}) に及ぼす影響.

根粒着生	品種系統	2005 年		2006 年	
		対照	富化	対照	富化
正常	エンレイ	393 aA*2	439 aA	334 aA	360 aA
超着生	En6500	63 cB	141 cA	65 cB	137 bA
	En-b0-1	248 bB	328 bA	214 bB	293 aA
	関東 100 号	228 bB	380 abA	253 bB	356 aA

*1: 供試種子のモリブデン含量は第1表に示した.

*2: 同じ列内で後ろに同じ英小文字が続く場合, また, 同じ行内で同じ英大文字が続く場合それらの数字には5%水準で有意差はない.

5. 収量

2005 年の対照区の収量はエンレイが超着生系統より多かった. 超着生の3系統を比較すると En6500 は他の2品種より少なく, En-b0-1 と関東 100 号には有意差がなかった. 2005 年の Mo 富化区ではエンレイに比べ En6500, En-b0-1 は低かったが関東 100 号との差は有意ではなかった. 超着生の3系統を比べると関東 100 号と En-b0-1 に比べ En6500 は有意に低かったが, 関東 100 号と En-b0-1 との差は有意ではなかった. 全ての品種・系統で対照区に比べ Mo 富化区は増収する傾向があった. Mo 富化による増収程度は, エンレイが 12% で, 超着生品種では En6500 で 124%, En-b0-1 で 32%, 関東 100 号で 67% であった. 超着生系統の場合, 5% 水準で有意差が認められた (第8表).

2006 年の対照区では, En6500 は他の3品種に比べ有意

に低かった. En-b0-1, 関東 100 号はエンレイより有意に小さかった. Mo 富化区では, En6500 は他の3品種に比べ有意に低かった. En-b0-1 はエンレイ, 関東 100 号より約 60 g m^{-2} 少なかったものの, 差は有意ではなかった. 関東 100 号とエンレイには差はなかった. 全ての品種・系統で対照区に比べ Mo 富化区は増収する傾向があった. Mo 富化による増収程度は, エンレイが 8%, 超着生系統では En6500 で 111%, En-b0-1 で 37%, 関東 100 号で 41% であった. 超着生系統では 5% 水準で有意差が認められた (第8表).

考 察

ダイズは生育初期に必要な Mo を種子に依存しており, 発芽後, 種子の Mo は根部に転流し根粒に集中し, 土壌からの Mo 吸収の開始は着蕾期以降になるといわれている (石

塚 1982). 生育初期から多量の根粒を着生し続ける超着生ダイズにとって種子の Mo 含量は普通の根粒着生を行うダイズに比べより重要であると考えられる. しかしながら, 超着生ダイズの収量性評価を目的とした圃場試験が実施されたが (Wu and Harper 1991, Song ら 1995, Maloney and Oplinger 1997, Takahashi ら 2003a, 高橋ら 2003b, 高橋 2005), 種子の Mo 含量に着目した例はない. そこで我々は種子の Mo 含量が根粒超着生ダイズの根粒着生, 根粒の窒素固定活性, 生育, 収量に及ぼす影響について検討した.

1. Mo の葉面散布と種子の Mo 含量

Harris ら (1965) らは Mo 含量が 0.6 から 22.4 mg kg^{-1} と異なるダイズ種子に対する Mo の種子処理の収量に対する効果を検討したところ 2.6 mg kg^{-1} を超える種子は Mo の種子処理の増収効果が現れなかったことを報告している. 本実験に供試した対照種子の Mo 含量は, 普通品種エンレイ, 超着生 3 系統ともにこの 2.6 mg kg^{-1} より低いことから, 種子処理の効果が発現する水準の Mo 含量であったと考えられる (第 1 表). 一方, Mo を葉面散布したダイズから収穫した種子の Mo 含量は全ての品種・系統で 2.6 mg kg^{-1} の倍以上であった (第 1 表).

2. 地上部生育

超着生系統の地上部重はエンレイを下回る値を示した (第 3 表). また, 超着生系統間の比較では En6500 の生育は En-b0-1, 関東 100 号よりも劣る傾向を示し (第 3 表), これらの現象は Takahashi ら (2005) の報告と同様の結果を得た. 全ての品種・系統で Mo 富化区の地上部重は対照区を上回り, その程度は超着生系統で大きかった. Mo 富化区は対照区に比べ根粒の窒素固定が盛んであったことが (第 6 表) 生育量増大の要因の一つと推定される. 超着生系統の場合, Mo 富化区では根粒重や根粒重の全乾物重に対する割合も対照区に比べ減少していることから (第 3 表, 第 1 図), 根粒着生や維持にかかわる光合成産物の消費が抑制されたことも要因の一つと考えられよう. また, Mo 富化区の超着生系統の地上部重や根重の増加分は根粒重減少分を超えており (第 2 表, 第 3 表). このことは Mo 富化区の超着生系統における根粒窒素固定活性の増加に伴う光合成産物の消費量の増加がダイズ植物体の生長に悪影響を及ぼすものではないことを示している.

3. 地下部の生育

超着生系統の個体当たりの根粒数は Mo 富化の有無にかかわらずエンレイに比べ 4~8 倍多かった (第 4 表). Mo 富化区の根重当たりの根粒数は, 正常な根粒着生を示すエンレイでは対照区とほぼ同じであったのに対し, 超着生系統では対照区の 60~80% に減少しており, 種子 Mo 富化は超着生系統の根粒超着生を部分的に抑制したと考えられた (第 4 表).

Suzuki ら (2004) はミヤコグサ (*Lotus japonicas*) にアブシジン酸 (ABA) 合成を阻害する Abamine を施用すると根粒数が増加したことから, 低い ABA 濃度は根粒着生を促進すると報告している. Bandana ら (2009) はミヤコグサを用いた根分け法実験で ABA 処理による根粒着生阻害は局所的で根粒着生のオートレギュレーションには直接関係しないと報告している. ABA の合成経路には Mo を必須とする酵素が含まれていること (Kaiser ら 2005), Mo 富化区の根粒やダイズの根や葉の Mo 含量は対照区を上回ったことから, Mo 富化区の ABA 濃度が対照区に比べ高かった可能性も考えられる. オートレギュレーションが働くエンレイでは個体当たりおよび根重当たりの根粒数に Mo 富化処理の有無の差がなく, オートレギュレーションを欠く超着生系統において Mo 富化区の根重当たりの着生数が対照区に比べ減少したのは ABA 濃度の影響かもしれない.

根量が劣った 2005 年の En6500 をのぞいて, 超着生系統の個体当たりの根粒重は Mo 富化の有無にかかわらずエンレイに比べ大きかった (第 2 表, 第 3 表). しかし, 超着生系統の場合, Mo 富化区の根粒 1 個重が対照区の 5 割程度であったため Mo 富化区の個体当たりの根粒重は対照区より小さくなった (第 2 表, 第 3 表, 第 4 表).

ダイズの超着生変異系統 nts382 は根粒菌接種量を減らすと根粒超着生が抑制され, 着生する根粒の数, 量および大きさが野生型親品種の Bragg に近くなることが報告されている (Day ら 1987). 本研究における種子 Mo 富化による超着生の抑制は, 前述のように部分的で, 根粒 1 個重も減少したことから (第 4 表), 少量接種による超着生の抑制とは異なる現象と考えられる. 超着生系統は多量の根粒を着生するため光合成産物の供給が不足し未成熟で小さいといわれている (Day ら 1987). しかし, 本研究の Mo 富化区の超着生ダイズは対照区に比べ葉身の乾物重の割合が 5 パーセントポイント高いにもかかわらず, 根粒の乾物重の割合が約半分であったことから, 種子 Mo 富化による根粒 1 個重の減少は光合成産物の供給の不足とは異なる理由で生じたと考えられる (第 1 図, 第 4 表).

4. 根粒窒素固定

Takahashi ら (2005) は, ポット実験で En6500 や En-b0-1 の個体当たりのアセチレン還元量が生育初期にはエンレイを上回るものの生育後期においては下回るのに対し, 関東 100 号の個体当たりのアセチレン還元量は生育初期のみならず後期においてもエンレイより高いと報告している. また, 野原ら (2005) は, 圃場条件で溢泌液の相対ウレイド値から, 窒素同化量に占める根粒固定窒素の割合は関東 100 号がエンレイより高いとしている.

本研究では根粒の窒素固定の指標として, 溢泌液中のウレイド濃度と高い相関がある茎乾物から抽出したウレイド濃度を用いた (石塚 1972). 対照区では En6500 と En-b0-1 の茎乾物中のウレイド含量は播種 44 日後に測定した 2005

年ではエンレイよりわずかに高く、播種56日後に測定した2006年ではエンレイより低かった。関東100号の茎乾物中のウレイド含量は両年ともエンレイに劣った(第6表)。これらの結果はTakahashiら(2005)や野原ら(2005)の報告と異なった。超着生系統の地上部重当たりの根粒重はTakahashiら(2005)のポット試験に比べて約3~5倍あり、光合成産物が十分配分されなかったため窒素固定が抑制された可能性が考えられる(第2表, 第3表)。また、根粒のMo含量が1.9, 3.5および8.7 mg kg⁻¹のインゲンマメの窒素固定を比較すると、1.9 mg kg⁻¹で劣ったという報告があり(Brodrick and Giller 1991)、対照区の超着生系統のMo含量は1 mg kg⁻¹未満であったことも根粒の窒素固定に影響したと考えられる(第7表)。Mo富化区のウレイド含量は2006年の関東100号を除き超着生系統がエンレイを上回った(第6表)。2006年の関東100号の茎乾物中のウレイド濃度が低かったのは根粒のMo含量が低かったことと(第7表)、茎の乾物重が増えたこと(第3表, 第1図)の影響と考えられる。

同一品種でMo富化区と対照区の茎のウレイド含量を比較すると、全品種で前者が高い傾向があり、超着生系統では有意差が認められた(第6表)。これは、Mo富化区では根粒重の減少で葉重に対する根粒重の比が小さくなり(第2表, 第3表, 第1図)、光合成産物の供給が増したと考えられることと、根粒のMo含量が高まったこと(第7表)が理由と考えられる。超着生系統の根粒窒素固定比活性の低さの理由の一つとして未成熟な小さい根粒を多量に着生することが指摘されている(Dayら1987)。Mo富化区の超着生系統は対照区に比べより小さい根粒をより少量着生したにもかかわらずウレイドが増加したことから、根粒中のMo含量の上昇が窒素固定に大きく寄与することが示唆された。このため、圃場における超着生ダイズの根粒窒素固定能の発揮には根粒のMo含量を高めることが重要であり、Moの葉面散布などによって種子Mo含量を高めることが有効であると考えられた。

5. 収量

対照区の収量はエンレイが超着生系統を上回った。同じ品種・系統では対照区に比べMo富化区は増収した。2カ年の平均増収割合はエンレイが10%であるのに対し、超着生品種ではEn6500で117%, En-b0-1で35%, 関東100号で54%に達した(第6表)。しかし、Mo富化条件において、関東100号はエンレイと同等の収量を示したが、上回ることはなかった(第8表)。高橋(2005)は、エンレイに比べ初期の生育が劣る関東100号を、基肥窒素を増施した不耕起狭畦密植栽培することで、生育量を改善しエンレイを上回る収量を得ている。本報告で関東100号の収量がエンレイを超えなかったのは基肥施用と基肥窒素増施をしなかったためかもしれない。Harrisら(1965)は種子Mo含量が2.6 mg kg⁻¹を超えるダイズはMoの種子処理に

反応しないとしている。しかし、Gurley and Giddens (1969)は0.5, 19, 48 mg kg⁻¹の種子を供試し、Mo含量が高いほど高い収量を得たことを報告しており、近年の報告でも2.6 mg kg⁻¹よりも高いMo含量の種子で増収している(Compoら2009)。本実験で用いた関東100号のMo富化種子のMo含量はエンレイに比べ低いことから(第1表)、種子Mo含量を高めることで関東100号はさらに収量が増す可能性も考えられる。

以上のように、種子Mo富化は根粒超着生ダイズの過剰な根粒着生を部分的に抑制し、根粒のMo含量を高めることで、根粒の窒素固定を促進し、超着生ダイズの生育と収量を大幅に改善することが明らかとなった。

謝辞: En6500の種子を分譲していただいた故赤尾勝一郎博士に感謝いたします。また、作物の管理、調査にご協力いただいた中央農業総合研究センター業務2科の職員、契約職員、同じく研究室の契約職員の方に感謝いたします。

引用文献

- Akao, S. and Kouchi, H. 1992. A supernodulating mutant isolated from soybean cultivar Enrei. *Soil Sci. Plant Nutr.* 38: 183-187.
- Bandana, B., Chan, P.K. and Gresshoff, P.M. 2009. A novel ABA insensitive mutant of *Lotus japonicus* with a wilted phenotype displays unaltered nodulation regulation. *Molecular Plant* 2: 487-499.
- Brodrick, S.J. and Giller, K.E. 1991. Root nodules of *Phaseolus*: efficient scavengers of molybdenum for N₂-fixation. *J. Exp. Bot.* 42: 679-686.
- Caroll, B.J., McNeil, D.L., and Gresshoff, P.M. 1985. Isolation and properties of soybean [*Glycine max* (L.) Merr.] mutants that nodulate in the presence of high nitrate concentrations. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 82: 4162-4166.
- Compo, R.J., Araujo, R.S. and Hungria, H. 2009. Molybdenum-enriched soybean seeds enhance N accumulation, seed yield and seed protein content in Brazil. *Field Crops Res.* 110: 219-224.
- Day, D.A., Price, G.D., Schuller, K.A. and Gresshoff, P.M. 1987. Nodule physiology of supernodulating soybean (*Glycine max*) mutant. *Aust. J. Plant Physiol.* 14: 527-538.
- Fehr, W.R. and Caviness, C.E. 1977. Stage of soybean development. Iowa state university, Ames, Iowa Special Report 80.
- Gremaud, M.F. and Harper, J.E. 1989. Selection and initial characterization of partially nitrate-tolerant mutant of soybean. *Plant Physiol.* 89: 169-173.
- Gurley, W.H. and Giddens, J. 1969. Factors affecting uptake, yield response, and carryover of molybdenum in soybean Seed. *Agron. J.* 61: 7-9.
- Harris, H.B., Parker, M.B. and Johnson, B.J. 1965. Influence of molybdenum content of soybean seed and other factor associated with seed source on progeny response to applied molybdenum. *Agron. J.* 57: 397-399.
- 石塚潤爾 1972. 北海道の大豆の生育および子実たんばくの生成における可溶性窒素成分の栄養生理学的意義. *北海道農試研報* 101: 51-121.
- 石塚潤爾 1982. 2. マメ科穀類. 田中明編, 比較作物栄養生理. 学会出版センター, 東京. 160-175.

- Kaiser, B.N., Gridley, K.L., Brady, J.N., Phillips, T. and Tyerman, S.D. 2005. The role of molybdenum in agricultural plant production. *Ann. Bot.* 96: 745-754.
- Maloney, T.S. and Oplinger, E.S. 1997. Yield and nitrogen recovery from field-grown supernodulating soybean. *J. Prod. Agric.* 10: 418-424.
- 野原努・中山則和・高橋幹・丸山幸夫・島田信二・有原文二 2005. 相対ウレイド法を用いた高土壌窒素条件下におけるダイズ窒素固定依存度の品種間差異. *日作紀* 74: 316-324.
- Pracht, J.E., Nickell, C.D., Harper, J.E. and Bullock, D.G. 1994. Agronomic evaluation of non-nodulating and hypernodulating mutants of soybean. *Crop Sci.* 34: 738-740.
- Song, L., Carroll, B.J., Gresshoff, P.M. and Herridge, D.F. 1995. Field assessment of supernodulating genotypes of soybean for yield, N₂ fixation and benefit to subsequent crops. *Soil Biol. Biochem.* 27: 563-569.
- Suzuki, A., Akune, M., Kogiso, M., Imagama, Y., Osuki, K., Uchiumi, T., Higashi, S., Han, S., Yoshida, S., Asami, T. and Abe, M. Control of number by the phytohormone abscisic acid in the roots of two leguminous species. 2004. *Plant Cell Physiol.* 45: 914-922.
- Takahashi, M., Arihara, J., Nakayama, N. and Kokubun, M. 2003a. Characteristics of growth and yield formation in the improved genotype of supernodulating soybean (*Glycine max* L. Merr.). *Plant Prod. Sci.* 6: 112-118.
- 高橋幹・有原文二・中山則和・国分牧衛・島田信二・高橋浩司・羽鹿牧太 2003b. 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., Shimada, S., Nakayama, N. and Arihara, J. 2005. Characteristics of nodulation and nitrogen fixation in the improved supernodulating soybean (*Glycine max* L. Merr.) cultivar 'Sakkei 4'. *Plant Prod. Sci.* 8: 405-411.
- 高橋幹 2005. 根粒超着生ダイズの特性と実用化への試み. *日本土壤肥料学会編, ダイズの生産・品質向上と栄養生理*. 博友社, 東京. 107-128.
- Wu, S. and Harper, J.E. 1991. Dinitrogen fixation potential and yield of hypernodulation soybean mutant: 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の作系4号の親子鑑定. *育種学研究* 6: 149-151.
- Young, E.G. and Conway, C.F. 1942. On the estimation of allantoin by the Rimini-Schryver reaction. *J. Biol. Chem.* 142: 839-853.

Effects of Molybdenum (Mo) in the Seed Enriched by Foliar Application in the Preceding Generation on Nodulation and Yield of Supernodulating Soybean (*Glycine max* L. Merr.) Lines : Hideo HAMAGUCHI^{*1)}, Kazuhiro WATANABE¹⁾, Kazuyuki MATSUO²⁾, Masaki UMEMOTO¹⁾, Motoki TAKAHASHI¹⁾, Yoshiaki WATANABE¹⁾ and Kazuyuki ITOH³⁾ (¹⁾National Agriculture and Food Research Organization, 3-1-1, Kanonndai, Tsukuba, Ibaraki, Japan; ²⁾Japan International Research Center for Agricultural Science; ³⁾Graduate School of Agricultural Science Kobe University)

Abstract : Molybdenum (Mo) is essential for nitrogen fixation in legume nodules. In the early developmental stages, soybean (*Glycine max* L. Merr.) relies on Mo present in seed for growth and nodulation. Supernodulating soybeans may require a larger amount of Mo than normally nodulating soybeans. However, previous field studies on supernodulating soybeans have not focused on seed Mo content. Therefore, in the present study, we examined the effect of seed Mo enrichment on the growth and yield of supernodulating soybean. Seed Mo content of the normally nodulating variety 'Enrei' and its supernodulating lines 'En6500', 'En-b0-1', and 'Kanto 100' was increased by foliar application of Mo at the R5 (beginning of seed filling) stage of the preceding generation. Nodulation, nitrogen fixation, growth, and yield of plants grown from Mo-enriched seeds were compared with those of plants grown from control seed. In the supernodulating lines, nodule mass of plants grown from Mo-enriched seeds was smaller than that from control seeds. However, nodule Mo content and stem ureide content of the former were higher than those of the latter. The yield of plants grown from Mo-enriched seeds was 1.2–2 times that of plants grown from control seeds. In the normally nodulating variety 'Enrei', no significant difference was observed in nodule mass; however, the yield of plants grown from Mo-enriched seed was 10% higher than that of plants grown from control seeds. These results indicate that Mo enrichment of seed of supernodulating soybean partially suppresses supernodulation and improves nitrogen fixation, plant growth, and yield.

Key words : Enrichment, Foliar application, Molybdenum, Nitrogen fixation, Seed, Soybean, Supernodulation.