

## 乾物生産量と蒸発散量の測定を介したダイズ (*Glycine max* (L.) Merr.) の共生窒素固定量の評価

角明夫<sup>1)</sup>・森彩恵<sup>1)</sup>・村田和代<sup>1)</sup>・朝比奈愛<sup>1)</sup>・郡山朋子<sup>1)</sup>・下敷領耕一<sup>1)</sup>・矢ヶ崎和弘<sup>2)</sup>・箱山晋<sup>1)</sup>

(<sup>1)</sup> 鹿児島大学農学部, (<sup>2)</sup> 長野県中信農業試験場)

**要旨:** 乾物生産量と蒸発散量の測定を介して共生窒素固定量を評価する可能性を探るために、根粒着生に関するダイズの同質遺伝子系統、T201 (根粒非着生系統) と T202 (根粒着生系統) をそれぞれ3段階および5段階の窒素 (N) 施用条件下で栽培した。T201 の葉緑素含量 (SPAD 値) は T202 より低く推移し、また両系統の差は無 N から多 N 区へと順次拡大した。さらに、根粒重 (Ndw) と SPAD 値における系統間・処理区間差が大きくなるにつれて、乾物生産量 (DM) と蒸発散量 (ET) の間の量的関係における違いが拡大した。生育期間中の DM と ET との間には1次回帰式で表せる関係が認められ、DM が0のときを仮定した ET ( $ET_{w=0}$ ) は T201 よりも T202 で大きく、また T201 における  $ET_{w=0}$  は地面蒸発量 ( $E_0$ ) にほぼ一致した。一方、N 施用量により T202 の Ndw と  $ET_{w=0}$  はともに変動し、両者には密接な関係が認められた。T201 と T202 の間の  $ET_{w=0}$  差 ( $\delta ET_{w=0}$ ) から推定した DM 差 ( $\delta W$ ) と両系統間の N 集積量の差から評価した固定 N 量との間に有意な正の相関関係が認められた ( $P < 0.001$ )。これらの結果は N 固定のエネルギー・コストに着目した共生窒素固定量の推定が可能であることを示している。

**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、蒸発散、ダイズ、窒素施肥。

効率的な窒素固定能を有する根粒菌の採用と接種は、過去 40 年間にブラジルで生じたダイズ生産量の飛躍的増大に大きく貢献したとの指摘がなされている (Alves ら 2003)。そして、近年、‘環境にやさしい’ また ‘持続可能な’ などのキーワードを冠した食料生産技術の構築に向けて、共生窒素固定の利用が再び注目されてきている (van Kessel and Hartley 2000)。しかしながら、Alves ら (2003) の指摘にも関わらず、いくつかを例外とすれば (Mpepereki ら 2000)、マメ科作物の窒素 (N) 固定能の強化に向けられた努力が報われた事例は極めて限られている (Herridge and Rose 2000)。この原因の一つとして、Herridge and Rose (2000) は、マメ科作物による N 固定量を圃場レベルで評価する方法が現時点では必ずしも万全ではないことをあげている。N 固定量の評価精度の向上を図ることは、N 固定能の強化に向けた種々の試みの基礎となるばかりでなく適切かつ合理的な肥培管理を実施するためにも重要である。しかしながら、N 固定量は4つの基礎的要因、すなわち 1) 宿主と寄生生物の組み合わせ (宿主特異性)、2) N を蓄積する宿主植物の能力 (シンク力)、3) 土壌中の可給態 N 量、4) 気象学的、水文学的、土壌学的な環境諸要因、の影響を強く受けて時間的および空間的に大きく変動する (van Kessel and Hartley 2000) ためにその評価は難しい。van Kessel and Hartley (2000) は、一圃場内にあっても収穫物中 N に占める固定 N の割合は計測地点のわずかな違いによって <sup>15</sup>N 希釈法を用いたときには 5~98%、また <sup>15</sup>N 自然同位体法を用いたときには 41~100% と大きく変動し、しかも両法の測定値間に有意な相関関係は認められなかったとの結果 (Androsff ら 1995, Stevenson ら 1995) を引用している。ここから導かれる一つの推論は、‘点’ にすぎな

い一部の計測値から圃場全体の N 固定量を評価することは危険であるということである。

著者らは、既報 (2003) において、‘単位土地面積当たり’ で評価され、かつ比較的簡便かつ安価で測定できる ‘乾物生産量’ と ‘蒸発散量’ の計測を通して N 固定量を推定できる可能性があることを報告した。本報では、この点についてさらなる検証を加えるとともに物質生産的観点からその成立過程を論議する。

### 材料および方法

実験は、2002年6月4日から9月30日にかけて、鹿児島大学農学部附属農場に設置した雨除けハウスにおいて、根粒着生に関するダイズの同質遺伝子系統、T201 (根粒非着生系統) と T202 (根粒着生系統) を用いて実施した。

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、以後11日間育成した苗を、乾土重量で4.43 kg ずつの土壌を詰めた8L容器に1ポットにつき1個体の割合で定植した。なお、充填した土壌は8 mm 以下になるように篩い別した砂壤土であり、このとき人為的な根粒菌接種はとくに行わなかった。

T201 に対して3段階 (I, II および IV 区)、また T202 に対して5段階 (I, II, III, IV および V 区) の窒素施肥処理を行った。すなわち、I 区では窒素 (N) 無施用とし、II 区と III 区、および IV 区と V 区に対しては、基肥として、それぞれ 0.2 g および 1.0 g の N を施用した。燐酸 ( $P_2O_5$ ) と加里 ( $K_2O$ ) の施用量は、全処理区について、それぞれ 0.8 g ずつとした。N 源としては硝酸アンモニウムを、また  $P_2O_5$  源および  $K_2O$  源としては燐酸二水素カルシウムと塩化カリウムを使用し、これらの施肥は土壌を容器に充填す

際に土壌と十分に混和することによって行った。また、Ⅲ区、Ⅳ区およびⅤ区に対しては定植後45日目に当たる7月30日にそれぞれ0.2g、0.5gおよび0.7gのNを追肥し、さらにⅤ区に対しては定植後76日目に当たる8月30日にも0.7gのNを追肥した。これらのN追肥にあたっては硝酸カルシウムを使用した。従って、最終的な1ポット当たりのN施用量はそれぞれ0(I)、0.2(Ⅱ)、0.4(Ⅲ)、1.5(Ⅳ)および2.4g(Ⅴ)となる。各々の系統および処理区についてそれぞれ45ポットを割り当てるとともに、別に4ポットを裸地状態で管理した。

蒸発散量および蒸発量の測定は、定植後4日目に当たる6月19日から重量法によって行った。このとき、ポット内土壌水分は60~70%の土壌含水比の範囲に収まるように、毎日、給水管理した。この土壌水分範囲は、蒸発量が土壌水分条件に律速されない恒率蒸発過程にある(角ら2003)。生体重と乾物重の調査は、それぞれ栄養生長後期、着莢期、莢肥大期、および黄葉期に相当する定植後44日目(7月29日)、65日目(8月19日)、89日目(9月12日)、および107日目(9月30日)に、各々の処理区の10個体

ずつを対象として行った。このとき、併せて根粒数および根粒重についても調査した。さらに、定植から10日後にあたる6月25日から1週間ごとに葉緑素計(ミノルタ社、SPAD-502)を用いて葉緑素含量を測定するとともに、各生育時期に採取した植物試料および土壌試料についてセミマイクロケルダール法による窒素分析を行った。

なお、十分な栄養生長を確保する目的で、電照ランプ(TOKI, 100V75W)の16球を用いて、定植から7月24日までの期間について20時間日長(18時00分~22時00分および2時00分~7時00分の照明)下で管理した。日長処理後からの開花や子実肥大、成熟は正常に進行し、また生育ステージの進展に対する日長処理の影響に関して系統間および処理間の差異は認められなかった。

### 結果および考察

第1表に、各調査時期までの乾物生産量(DM)を示した。なお、ここでの乾物重に根粒は含まれていない。定植後44日目におけるⅡ区でのDMがT201で有意に大きかったことを除けば、DMはT201よりT202で大きい傾向にあった。

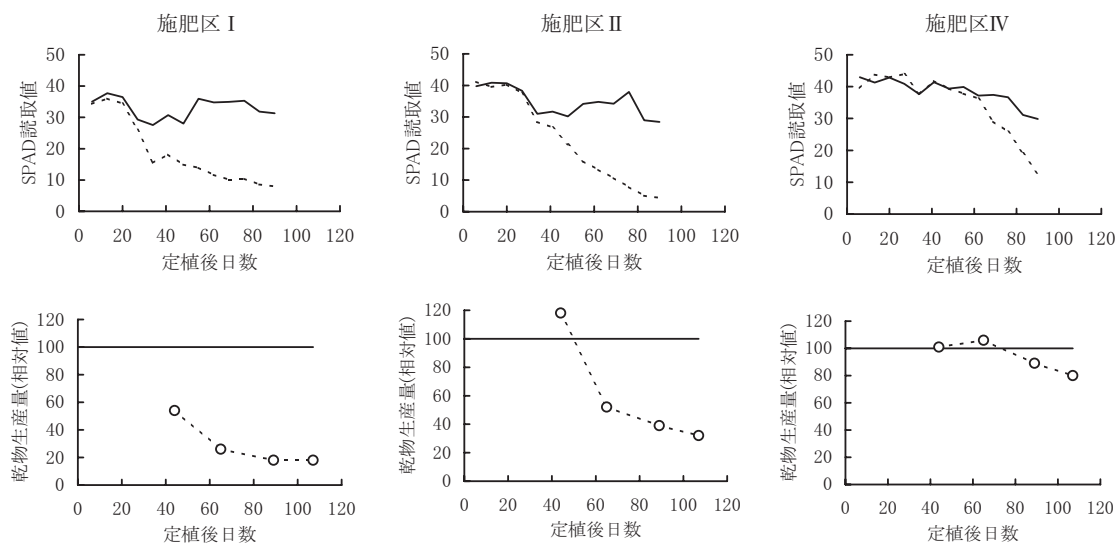
第1表 系統と施肥レベルの違いが乾物生産量(g plant<sup>-1</sup>)<sup>\*1</sup>に及ぼす影響。

系 統	T202(根粒着生系統)				T201(根粒非着生系統)			
	施 肥 レ ベ ル <sup>*2</sup>				施 肥 レ ベ ル <sup>*2</sup>			
定植後日数	I	Ⅱ	Ⅲ	Ⅳ	I	Ⅱ	Ⅲ	Ⅳ
44	10.27 c	15.00 b	13.56 b	20.22 a	20.02 a	5.61 d	17.75 a	20.37 a
65	39.19 d	54.51 c	54.65 c	77.73 b	91.63 a	10.54 f	28.52 e	82.66 b
89	55.66 d	76.03 c	89.41 bc	112.90 ab	125.58 a	10.42 f	30.25 e	101.15 b
107	60.86 d	82.83 c	81.99 c	113.92 b	131.99 a	11.16 f	26.48 e	91.67 c

\*1: 乾物生産量の中に根粒重は含まない。

\*2: N施用量; 0(=0+0+0)g pot<sup>-1</sup> [ I ], 0.2(=0.2+0+0)g pot<sup>-1</sup> [ Ⅱ ], 0.4(=0.2+0.2+0)g pot<sup>-1</sup> [ Ⅲ ], 1.5(=1.0+0.5+0)g pot<sup>-1</sup> [ Ⅳ ], 2.4(=1.0+0.7+0.7) g pot<sup>-1</sup> [ Ⅴ ] (括弧内の数字は順に基肥、定植後45日目と76日目の追肥量を示す)。

同一調査日について同じアルファベットをもつ平均値間には、LSD 5%レベルで有意差なし。



第1図 T201(根粒非着生系統)とT202(着生系統)の間のSPAD読取値(上段)と乾物生産量(下段)の推移の比較。

破線と実線はそれぞれT201とT202を表し、また乾物生産量の推移はそれぞれの調査時期におけるT202の値を100としたときの相対値で示されている。

第1図に、葉緑素含量 (SPAD 読取値, 以下 SPAD 値と表記) と T202 の DM に対する T201 のその割合の推移を示した。時間の経過に伴って、T201 の SPAD 値は T202 より低く推移するようになり、また両系統の SPAD 値の差は N 施用量の少ない I 区から順次拡大した。これとほぼ連動して、T201 と T202 の間の DM 差が拡大する傾向を示した。両系統ともに N 施用量の増加に伴って DM が増大した (第1表) ことを考え併せると、植物体への N 供給量の差が DM 差の律速要因であったと結論できよう。翻って、これらの事実は T202 ではさかんに N 固定が行われていたことの証明でもある。

各調査時期に着生していた根粒重 (Ndg) を第2表に示した。当然のことながら、T201 に根粒の着生は認められなかった。T202 における Ndg は着莢期～莢肥大期にかけて最大になるとともに、N 施用量との関連性も示唆された。すなわち、定植後 44 日目には I 区において、65 日目には II 区において、また 89 日目には III～IV 区においてそれぞれ Ndg の最大値が認められた。化合態 N とりわけ硝酸態 N の施用は、根粒の着生を強く阻害する (Tanner and Anderson 1963, 藤田・田中 1982, 藤田ら 1985, Streeter 1988, Eskew ら 1989, Francisco and Akao 1993)。定植後 44 日目において I 区で Ndg が最大となったのは、このような化合態 N による根粒着生の阻害を免れた結果であろう。一方で、子実とともに光合成産物の重要なシンクを構成する根粒の着生は、光合成産物供給の多少によっても影響され

る (Lawn and Brun 1974, Rabie and Kumazawa 1979)。そして光合成産物供給の側面だけに立脚すれば、DM の違いから推察されるように、高 N 条件であることが根粒の着生にとって促進的に作用する。このようにして化合態 N による阻害から免れた II 区から III～IV 区へと、順次、Ndg が最大となる条件が高 N 側へと移行したと考えられる。

第3表に、各調査時期までの蒸発散量 (ET) を示した。N 施用量に伴う ET の変化および系統間差異の様相は、DM で認めた傾向とほぼ類似するものであった。第2図は、DM と ET との関係を示している。定植後 44 日目には、DM と ET との関係において T201 と T202 の間に違いは認められなかったが、時間が経過するに伴って T202 は同一の DM に達するのに T201 より多くの蒸発散を必要とするようになった。なお、T201 で認められた直線関係の y 切片、すなわち DM が 0 と仮定したときの ET ( $ET_{w=0}$ ) は各々の時点までの裸地面蒸発量 ( $E_0$ ) にほぼ対応した。第2図は 10 個体平均値を用いたときの DM と ET の間の関係であったが、第3図は全調査個体を込みにしたときの DM と ET との関係の一例を示している。第2図と同様、同一の乾物生産を行うのに T202 が T201 より多くの水を消費するという関係がいずれの N 施用条件下でも明瞭に認められた。共分散分析によって、T201 で得られた回帰直線と T202 における各々の N 施肥条件下での回帰直線が同一とみなせるかどうか検討したところ、回帰直線の '傾斜' に関して違いは認められないが、'高さ' は有意に異なると

第2表 系統と施肥レベルの違いが根粒着生量 ( $g\ plant^{-1}$ ) に及ぼす影響。

系 統	T202 (根粒着生系統)					T201 (根粒非着生系統)			
	施 肥 レ ベ ル*					施 肥 レ ベ ル*			
定植後日数	I	II	III	IV	V	I	II	IV	
44	0.61 a	0.42 b	0.42 b	0.01 c	0.01 c	0 c	0 c	0 c	
65	2.68 b	3.08 a	2.82 ab	1.86 c	2.43 b	0 d	0 d	0 d	
89	1.51 b	2.04 ab	2.57 a	2.53 a	2.06 ab	0 c	0 c	0 c	
107	0.55 b	0.97 a	0.61 b	0.53 b	1.01 a	0 c	0 c	0 c	

\*: N施用量; 0(=0+0+0)  $g\ pot^{-1}$  [I], 0.2(=0.2+0+0)  $g\ pot^{-1}$  [II], 0.4(=0.2+0.2+0)  $g\ pot^{-1}$  [III], 1.5(=1.0+0.5+0)  $g\ pot^{-1}$  [IV], 2.4(=1.0+0.7+0.7)  $g\ pot^{-1}$  [V] (括弧内の数字は順に基肥, 定植後45日目と76日目の追肥量を示す)。

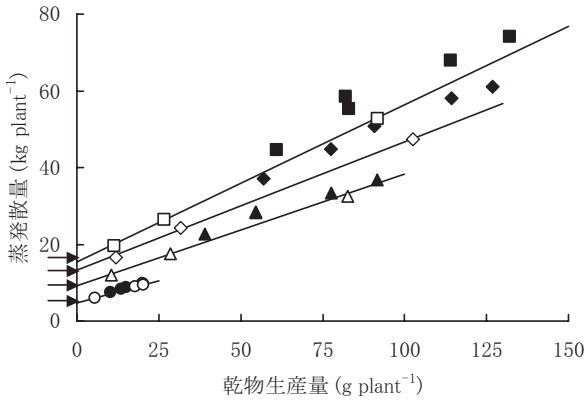
同一調査日について同じアルファベットをもつ平均値間には、LSD 5%レベルで有意差なし。

第3表 系統と施肥レベルの違いが蒸発散量 ( $kg\ plant^{-1}$ ) に及ぼす影響。

系 統	T202 (根粒着生系統)					T201 (根粒非着生系統)			
	施 肥 レ ベ ル*					施 肥 レ ベ ル*			
定植後日数	I	II	III	IV	V	I	II	IV	
44	7.50 c	8.79 b	8.44 b	9.69 a	9.74 a	6.08 d	8.92 b	9.44 ab	
65	22.63 d	28.47 c	28.34 c	33.38 b	36.77 a	12.07 f	17.46 e	32.45 b	
89	36.85 d	44.51 c	50.42 b	57.68 a	60.66 a	16.19 f	23.94 e	46.97 bc	
107	44.63 e	55.40 cd	58.53 c	68.12 b	74.31 a	19.78 g	26.46 f	52.91 d	

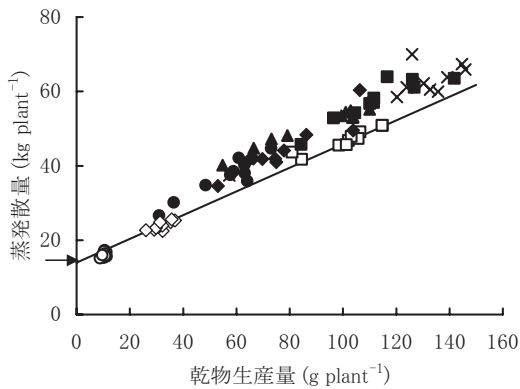
\*: N施用量; 0(=0+0+0)  $g\ pot^{-1}$  [I], 0.2(=0.2+0+0)  $g\ pot^{-1}$  [II], 0.4(=0.2+0.2+0)  $g\ pot^{-1}$  [III], 1.5(=1.0+0.5+0)  $g\ pot^{-1}$  [IV], 2.4(=1.0+0.7+0.7)  $g\ pot^{-1}$  [V] (括弧内の数字は順に基肥, 定植後45日目と76日目の追肥量を示す)。

同一調査日について同じアルファベットをもつ平均値間には、LSD 5%レベルで有意差なし。



第2図 乾物生産量と蒸発散量との関係。

○, ●; 定植後44日目: △, ▲; 定植後65日目:  
◇, ◆; 定植後89日目: □, ■; 定植後107日目  
それぞれ白抜き, 黒塗りの記号はT201とT202を表  
し, また図中の直線はT201で認められた関係を示す。  
矢印は裸地面蒸発量を示す。



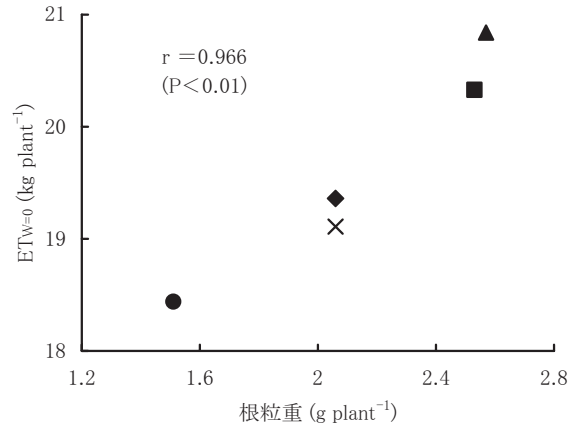
第3図 乾物生産量と蒸発散量との関係 (定植後89日目)。

○, ◇, および□は, それぞれ窒素施肥レベル I, II,  
IVにおけるT201の, また●, ◆, ▲, ■および×は, それ  
ぞれ窒素施肥レベル I, II, III, IV, およびVにおける  
T202の測定値を示す。また, 図中の直線は, T201で認め  
られた関係を表す。矢印は裸地面蒸発量を示す。

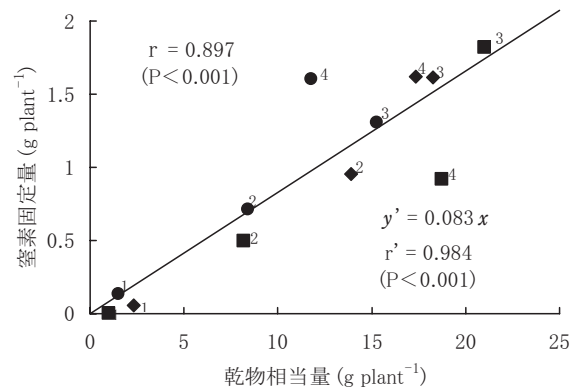
(T201とT202の各々窒素施肥レベルにおける回帰直線の比較)  
傾斜の比較 高さの比較  
 $F_{5,68} = 1.23$  (ns)  $F_{5,73} = 23.16$  ( $P < 0.001$ )

の検定結果が得られた。さらに, ‘高さ’の違いを  $ET_{w=0}$  に代表させ, N施用条件によって生じた  $ET_{w=0}$  および  $Ndg$  の違いを相互に関係づけてみたところ, 両者の間には有意で高い正の相関関係が認められた (第4図)。根粒の着生とN固定作用が  $ET_{w=0}$  差の出現と密接に関連していたことを示している。

このような現象が生じる原因として, われわれは以下の物質生産的過程を考えた。まず, 光合成量と呼吸量の差し引きとして決まる ‘総乾物生産量’ と ET との間の量的関係において系統間・処理間の差異は小さかったと仮定する。その後 T202 では, T201 で必要とされる硝酸還元によるアンモニア生成などのエネルギー・コストに加えて根粒



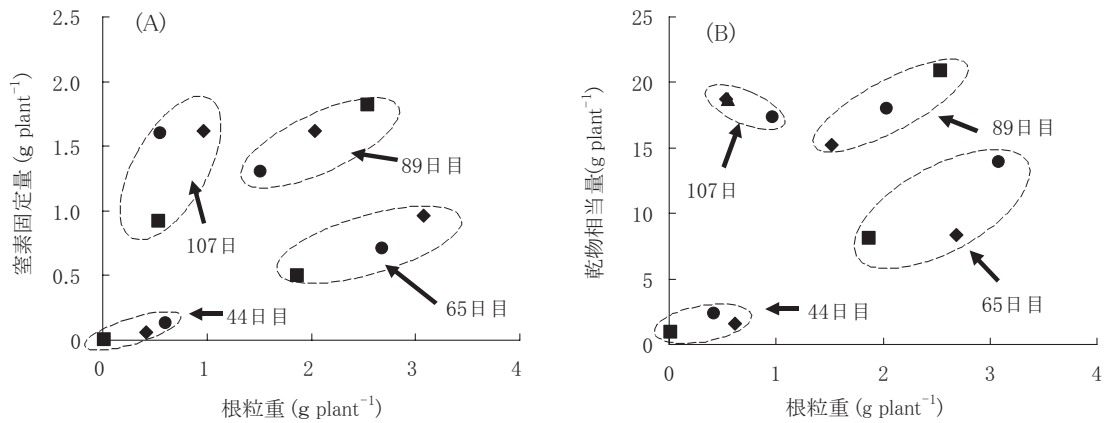
第4図 根粒重と乾物生産量が0と仮定したときの蒸発散量 ( $ET_{w=0}$ )との関係 (定植後89日目)。  
記号は第3図におけるそれらと同じである。



第5図 窒素固定のために失われた乾物相当量と窒素固定量との関係。

●, ◆および■は, それぞれ窒素レベル I, II, IVを示す。  
また, 肩付数字の1, 2, 3, 4は, それぞれ栄養生長後期,  
着莢期, 莢肥大期, および黄葉期における測定値であるこ  
とを表す。さらに,  $r$  は全てを込みにした場合における相関  
係数を, また  $r'$  は落葉の著しかった黄葉期における測定値を  
除いたときの相関係数である。回帰式は, 黄葉期を除いたとき  
のものであるが, 込みにした場合においても大きくは異ならな  
かった ( $y = 0.082x$ )。

の形成と維持さらに窒素固定のための物質/エネルギー・コストを必要とするので, T202の‘実乾物生産量 (すなわち DM)’は T201における‘総乾物生産量’よりそれらのためのコスト分だけ小さくなる。この場合, T202では, ‘実乾物生産量’と ET との関係が, N固定のために配分・消費された (すなわち, 減少した) 乾物相当量だけ T201におけるそれより上方にシフトする。すなわち, 同一の DM に達するのに T202は T201より多くの ET を必要とする。このような仮定が正しければ, 同一の蒸発散量の下における乾物生産量の差 ( $\delta W$ )こそN固定のためのエネルギー・コストにほかならず, また  $\delta W$ は T201と各々のN施用条件下における T202の間の  $ET_{w=0}$  差 ( $\delta ET_{w=0}$ )と蒸散係数 (TC, 第3図における‘傾斜’)とから求めることができる (角ら 2003)。



第6図 根粒重と窒素固定量 (A) および窒素固定のために失われた乾物相当量 (B) との関係。

●, ◆および■は, それぞれ窒素レベル I, II, IVを示し, また破線での4つの囲みは, それぞれ定植後44, 65, 89, および107日目における結果を示す. なお, 縦軸の窒素固定量は定植から各時期までの値である.

第5図に,  $\delta W$  と両系統の間の N 集積量の差 (以下 N 差法と記す, Unkovich and Pate 2000) から推定した N 固定量との関係を示した. 両者の間には, 全調査時期を込みにしても有意な正の相関関係 ( $r = 0.897, P < 0.001$ ) が認められたのみならず, 落葉に伴って生じた誤差が大きかったと考えられる黄葉期の測定結果を除外した場合には相関係数はさらに高まった ( $r = 0.984, P < 0.001$ ). この回帰式から推定される N 固定コストは, 既報 (角ら 2003) で述べたように, Ryle ら (1979) や Schubert (1982) が報告した 240~260 MJ kg<sup>-1</sup>N に近似するものであった.

さらに第5図には, 栄養生長後期においては I 区で, 着莢期においては II 区で, また莢肥大期においては IV 区へと発育の進展に伴って N 固定量が最大となる N 施用条件が高 N 側へとシフトした傾向も現れている. これは Ndg で認められた結果と一致するが, その量的関係は生育時期によって異なり, 栄養生長後期から着莢期へ, さらに莢肥大期へと発育の進展に伴って単位根粒重あたりの N 固定量が高まった (第6図 A). この時間的経過は生殖生長の開始期以降, N 固定速度が増加するとの既往の結果 (Zapata ら 1987a, Zapata ら 1987b, Rabie and Kumazawa 1979) とも一致する. ところで, Ndg と N 固定のために消費された乾物相当量との関係 (第6図 B) に注目すると, N 固定速度の大きかった着莢期から莢肥大期においてはそれぞれ根粒重の 3~5 倍および 8~10 倍もの乾物重に相当する光合成産物が消費されていたことがわかる. このことは, 根粒の形成のための物質コストとしてよりもその維持と N 固定のためのエネルギー・コストとして使用される光合成産物の割合はるかに大きかったことを示唆している.

定植後 44 日目の II 区における DM が T202 よりも T201 で有意に大きかったこと, また有意差は認められなかったものの定植後 44 日目~65 日目の IV 区における DM も T201 で大きい傾向にあった (第1表) ことは, 恐らく, N 固定のエネルギー・コストが上述したように非常に高価である

ことを反映しているのだろう. すなわち, 土壌と肥料から植物体へ十分な N 供給がなされる段階では N 固定作用はむしろ物質生産的損失として作用する側面を内包している可能性がある. 反面で, この高価なコストを支払うことによって T202 は乾物生産に対する N 不足の影響から免れることができ, さらにその結果として高い乾物生産力と旺盛な蒸発散力を維持することが可能となる (第1図). 大きい蒸発散損失を伴って生産された T202 の光合成産物の一部は, さらなる N 固定のためのコストとして再び配分・消費される. このようにして T201 と T202 の間の 'DM - ET 関係' の量的差異は N 固定量の増大に伴って次第に拡大する. 第5図に示された関係は, N 固定植物にみられるこのような乾物生産プロセスに基づいていると判断される.

## 引用文献

- Alves, B.J.R., R.M. Boddy and S. Urquiaga 2003. The success of BNF in soybean in Brazil. *Plant Soil* 252 : 1-9.
- Androsoff, G.L., C. van Kessel and D.J. Pennock 1995. Landscape-scale, estimates of N<sub>2</sub> fixation by *Pisum sativum* by nitrogen-15 natural abundance and enriched isotope dilution. *Biol. Fertil. Soils* 20 : 33-40.
- 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パーの窒素の固定, 吸収に対する培地硝酸態窒素濃度の影響. *土肥誌* 56 : 110-114.
- Herridge, D. and I. Rose 2000. Breeding for enhanced nitrogen fixation

- in crop legumes. *Field Crops Res.* 65 : 229–248.
- 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.
- Mpepereki, S., F. Javaheri, P. Davis and K.E. Giller 2000. Soyabeans and sustainable agriculture. Promiscuous soyabeans in southern Africa. *Field Crops Res.* 65 : 137–149.
- Rabie, R.K. and K. Kumazawa 1979. Effect of nitrate application and shade treatment on the nitrogen fixation and yield of soybean plant. *Soil Sci. Plant Nutr.* 25 : 467–476.
- 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.
- Stevenson, F.C., J.D. Knight and C. van Kessel 1995. Dinitrogen fixation in pea controls and the landscape-and micro-scale. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 59 : 1603–1611.
- Streeter, J. 1988. Inhibition of legume nodule formation and N<sub>2</sub> fixation by nitrate. *CRC Crit. Rev. Plant Sci.* 7 : 1–23.
- 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 2003. 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. *日作紀* 72 : 333–338.
- 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 N<sub>2</sub> fixation by annual legumes. *Field Crops Res.* 65 : 211–228.
- van Kessel, C. and C. Hartley 2000. Agricultural management of grain legumes: has it led to an increase in nitrogen fixation ? *Field Crops Res.* 65 : 165–181.
- Zapata, F., S.K.A. Danso, G. Hardarson and M. Fried 1987a. Time course of nitrogen fixation in field-grown soybean using nitrogen-15 methodology. *Agron. J.* 79 : 172–176.
- Zapata, F., S.K.A. Danso, G. Hardarson and M. Fried 1987b. Nitrogen fixation and translocation in field-grown fababean. *Agron. J.* 79 : 505–509.

**Estimation of the Amount of Symbiotic Nitrogen Fixation through the Measurements of Dry Matter Production and Evapotranspiration in Soybean (*Glycine max* (L.) Merr.)** : Akio SUMI<sup>1)</sup>, Sae MORI<sup>1)</sup>, Kazuyo MURATA<sup>1)</sup>, Ai ASAHINA<sup>1)</sup>, Tomoko KORIYAMA<sup>1)</sup>, Koichi SHIMOSHIKIRYO<sup>1)</sup>, Kazuhiro YAGASAKI<sup>2)</sup> and Susumu HAKOYAMA<sup>1)</sup> (<sup>1)</sup> *Fac. of Agri., Kagoshima Univ. 890-0065, Japan;* <sup>2)</sup> *Nagano Chushin Agr. Exp. Sta.*)

**Abstract** : To investigate the possibility of estimating symbiotic nitrogen fixation through the measurements of dry matter production and evapotranspiration, we grew two isogenic lines of soybeans, non-nodulating line T201 and nodulating line T202 under three and five levels of nitrogen (N) application, respectively. The chlorophyll content (SPAD value) of T201 was lower than that of T202, and the difference between them expanded successively from the nil to high-N plot. As the difference in nodule dry weight (Ndw) and SPAD value became large between the two lines and among N application treatments, the difference in quantitative relationships between dry matter production (DM) and evapotranspiration (ET) became conspicuous. The value of ET (ET<sub>w=0</sub>) when DM was zero, which was determined from the regression lines, was higher in T202 than in T201, and ET<sub>w=0</sub> found in T201 corresponded nearly to evaporation from the bare soil surface (E<sub>0</sub>). Both ET<sub>w=0</sub> and Ndw in T202, on the other hand, varied with the amount of N application, and they were connected closely with each other. The difference in DM between T201 and T202 ( $\delta W$ ) calculated from the difference in ET<sub>w=0</sub> ( $\delta ET_{w=0}$ ) was correlated significantly and positively with the amount of fixed nitrogen estimated from the difference between the accumulated N in the two lines (P<0.001). These results suggest that the amount of symbiotic nitrogen fixation can be estimated from DM and ET by paying attention to its energy cost.

**Key words** : Dry matter production, Evapotranspiration, Nitrogen fertilizer application, Nodulation, Non-nodulating line, Soybean, Symbiotic nitrogen fixation.