

(研究資料)

豆科肥料木根瘤菌の取扱いかたについて

(Research materials)

Directions for the Use of Artificial Cultures of Root Nodule

Bacteria (Leguminous Trees and Crops)

Seiji UEMURA

植 村 誠 次⁽¹⁾

I ま え が き

1888 年 BEIJERINCK が豆科の根瘤菌の純粋分離に成功して以来、豆科作物あるいは緑肥作物に対する根瘤菌の実地利用の問題は、農学者、栽培者の注目するところとなり、現在では豆科作物に対する根瘤菌の接種は、それらの収量の増加および品質の向上に著しい影響を与えるものとしてきわめて重視されるようになってきた。

林業では、飼肥料木あるいは、被覆植物としていろいろな豆科樹木・草が用いられており、しかもこれらは、多くの場合農地とは種々な点で比較にならないほど立地条件の悪い瘠悪林地、禿藪地、砂丘地等に播種あるいは植栽されているにもかかわらず、この問題はほとんど考慮されずに過ごされてきた。

最近林業方面においても、豆科飼肥料木についてはもちろん、苗畑の地力増進の見地から、休閑地に緑肥作物を栽培する際、人工培養根瘤菌を接種するのが常識となつてきた。したがつてこれら根瘤菌の取扱いかたについての説明書の要望も少なくないので、未完成の私案にすぎない部分も含まれるが、これについて簡単に記載することとした。

なお、豆科肥料木の根瘤菌は、まだ農作物の根瘤菌のごとく一般に普及しておらず、むしろ試験の段階にあり、自分でそれぞれの優良根瘤菌を分離培養をすることが必要な場合も考慮されるので、これについても付記することとした。

II 豆科根瘤菌の種類

豆科植物の種類および分布は、他科の植物に比して最も大きな位置を占めており、現在のところ³⁾⁴⁾、その種類も 450 余属、12,000 種内外が知られている。しかし一般には 1,000 種内外のものが研究の対象として取り扱われているにすぎない。

豆科植物は、オジギソウ亜科、ジャケツイバラ亜科、チョウケイカ亜科の 3 つの亜科に大別されており、その多くは根に根瘤を形成するが、一部の植物には本来根瘤を欠くものが見られている。ALLEN 氏

(1) 土壌調査部土壌微生物研究室長

ら⁹⁴⁾は、これまでに調査された約 1,200 種に及ぶ豆科植物のうち、本来根瘤を形成するものと欠除するものとの割合を第 1 表のごとくに示している。

すなわち約 10 %は根瘤を欠いており、特にジャケツイバラ亜科（本邦ではカワラケツメイ、ハカマカズラ、スオウ、オジギソウなどがこれに属している）のものに根瘤欠除のものが多く見受けられている。

第 1 表 根瘤形成および非形成の豆科植物の数

亜 科	亜 科 に 属 す る 属 数			調 査 さ れ た 種 の 数	
	根 瘤 形 成	根瘤非形成	未 調 査	根 瘤 形 成	根瘤非形成
オジギソウ亜科	18	1	11	118	12
ジャケツイバラ亜科	15	16	60	33	64
チョウケイカ亜科	149	5	154	912	57
総 数	182	22	225	1,063	133
同 百 分 率	42.4	5.1	52.5	88.9	11.1

(ALLEN および BALDWIN, 1954)

これら豆科植物の根瘤内に生息している細菌は、豆科根瘤菌あるいは単に根瘤菌とよばれ、いずれもリゾビウム (*Rhizobium*) 属に属するものとされており、1つの種類ではなく幾つかの種類が知られている。細菌学的にも種々の見地から分類されているが、主として実用的見地からは、交互接種群による分類方法が採用されている。

1. 交互接種群

相互に根瘤菌を交換しても根瘤を形成し得る植物群を交互接種群の植物といい、これに属する根瘤菌を交互接種群の根瘤菌と称する。現在までのところ、71 属、約 440 種の豆科植物について交互接種試験がなされ、その群数も 20 以上に区別されているが、一般に認められている交互接種群は第 2 表のようである。

すなわち、たとえばアズキ、ラッカセイ、アカシア類、エニシダ等は同一の第 7 群に属しているので、これらの根瘤菌は、それぞれ相互の寄主植物に対しては、根瘤を形成し得るものであるが、群を異にするニセアカシア、イタチハギ等に対しては根瘤を形成しえないし、またこの逆も根瘤を形成しえない。

なお、交互接種群による分類方法は、まだ完全なものではなく、一方の種類の根瘤菌のみが他の種類に対して根瘤を形成しうる場合もあることが報告されている。

2. 優良（有効）菌株と不良（無効）菌株

同一種類の根瘤菌、たとえば同一母樹の、あるいは同じ種類のニセアカシアから分離される根瘤菌にも、寄主植物との共生による窒素固定能力のきわめて大きな優良（有効）菌株と、ほとんど共生窒素固定を行わないか、あるいはむしろ寄生的の作用しかない不良（無効）菌株とがあり、また同一交互接種群の植物間においても、ある種類の有効菌株は他の植物に対しては無効菌株となる場合も報告されている。したがって、接種に用いる根瘤菌は、原則として信用ある配布先より入手した、その寄主植物の優良菌株を用いることが必要である。

第2表 交 互 接 種 群

群	交 互 接 種 群	細 菌 名	包 含 さ れ る 主 な る 植 物 名
第1群	アルファアルファ類	<i>Rhizobium meliloti</i>	アルファアルファ、スイートクロバー、コマツブウマゴヤシ、黄花スイートクロバー
第2群	クローバー類	<i>R. trifolii</i>	赤ツメクサ、白ツメクサ、アルサイククロバー、クリムソンクロバー
第3群	ビ ー 類	<i>R. leguminosarum</i>	エンドウ、ソラマメ、レンリソウ、コンモンベツチ、ニオイエンドウ
第4群	ビ ー ン 類	<i>R. phaseoli</i>	ガーデンビーン、インゲン類
第5群	ル ー ピ ン 類	<i>R. lupini</i>	黄花ルーピン、ハウチワマメ、セラデラ、白ルーピン
第6群	大 豆 類	<i>R. japonicum</i>	ダイズ
第7群	カ ウ ビ ー 類	<i>Rhizobium</i> sp.?	カウビー、ナタマメ、ラツカセイ、クズ、アズキ、ハギ、エニシダ、ネムノキ、アカシア類
第8群	ロ タ ス 属		ミヤコグサ
第9群	ダ レ ア 属		ダレア
第10群	イ ガ マ メ 属		イガマメ
第11群	<i>Strophostyles</i> 属		<i>Strophostyles helvola</i>
第12群	ニセアカシア属		ニセアカシア、青島トゲナシニセアカシア、英国トゲナシニセアカシア
第13群	<i>Amphicarpa</i> 属		<i>Amphicarpa monoica</i>
第14群	イ タ チ ハ ギ 属		イタチハギ類
第15群	タチレンゲソウ属		タチレンゲソウ、オウゴンハギ
第16群	ム レ ス ズ メ 属		ムレスズメ類

以上は FRED, BALDWIN および McCoy (1932) による分類であるが、その後種々追加されて 20 数種の群に達しており、本邦のレンゲソウも独立した群として取り扱われている。

III 土 壌 中 の 根 瘤 菌 の 分 布 (根瘤菌接種の必要な場合)

土壌中には必ずしもその寄主植物の根瘤菌がいるわけではなく、また存在していても不十分か、あるいは窒素固定能力の悪い不良根瘤菌が多く分布している場合もありうるわけで、したがってここに優良根瘤菌の接種が必要となってくるのである。

これまでの豆科作物に対する多数の試験結果では、次のような場所で栽培する際は、根瘤菌の接種が必要であるとされている^{1) 5)}。

- 1) かつて同種作物または交互接種群の1種が栽培されていない場合
- 2) 事前に栽培された同種作物の根に十分な根瘤形成がみられない場合
- 3) 休閑跡地あるいは非豆科作物を取り入れた輪作跡地
- 4) 不注意な取扱を受けて過度に掠奪されている土壌あるいは不良条件を是正した跡地

これらのことは、豆科肥料木の場合にも当然考慮されるべきことであり、特に肥料木の多くは一般に農地のそれに比べて物理的、化学的、微生物的に立地条件のきわめて悪い場所に播種または植栽される場合が多いので、根瘤菌の接種は一層必要と考えられる。

なお、これまでの研究報告によると、土壌条件の良い農地では、一度同種の豆科作物が栽培されると、その後7～8年間くらいはそれらの根瘤菌のかなりの数が、残存しているものであるが、土壌条件の悪い瘠悪地では、早い場合は2～3年以内で、大部分の根瘤菌が死滅してしまうとされており、したがって土壌条件の不良な所で肥料木を養苗または植栽する際は、その都度優良根瘤菌を接種することが望ましい。

Ⅳ 根瘤菌接種方法の種類

根瘤菌の接種方法も、最初は同種作物を繰り返し植栽した場所から、保菌土壌を客土するとか、播種の際に種子と混ずる土壌接種の方法が試みられたが、現在この方法は特殊な場合を除いては実施されていないが、これに代つて人工培養菌の接種方法が行われている。人工培養菌の接種は、客土接種に比べて、接種菌として共生窒素固定能力の著しい優良なものを選ぶことができること、普通種子に直接付着させるから初期に感染させることができること、客土接種のように有害昆虫、雑草種子、黴類、細菌類等の病原菌の移入を除くことができ、かつ大規模に、経済的に、容易に実施しうる等の利点がある。

なお、ソビエトでは、根瘤菌の人工培養が需要に応じきれないため、豆科作物の根系を貯蔵して、次に同種植物を栽培する際、根瘤菌接種の目的に用いている。

根瘤菌の人工培養製品としては、普通試験管内の寒天斜面上に培養した根瘤菌が用いられるが（写真3参照）、その他液体、固体（砂、泥炭）等に培養されたものもある。外国では古くからおもな豆科作物について、種々な市販名の人工培養菌が売り出されている（写真5, 6参照）。

Ⅴ 根瘤菌の分離方法

豆科植物は1年生のものはもちろん、多年生のものでも、大部分の根瘤の寿命は1年以内なので、分離にも時期があり、普通は最も根瘤が充実した春から夏にわたつて行う。秋から冬になると、大部分の種類の根瘤は崩壊してしまうものである。

1. 菌の分離操作

根瘤より根瘤菌を分離する方法については、これまでいろいろ発表されているが、ここでは主として、アメリカのウイスコンシン大学が採用している方法^{2) 3)}を参照して記載する。

a. まず若い苗木が濃緑色を呈して、十分窒素の供給されていると思われる苗木（親木）を選び、その根から太つて充実した、新鮮な色を帯びた根瘤を採集する。灰色あるいは褐色を帯びたものは古いものであるから、避けなければならない。

b. 次に、採集した根瘤は石鹼、刷毛、流水等で外部を十分洗淨したのち、ピンセットで昇汞水の1:500溶液（塩酸2.5cc、あるいは食塩1.0g、昇汞1.0g、水500cc）中に浸し、2～3分間放置すると、根瘤の表面に付着した微生物は死滅する。大体5分間くらいで十分であるが、ダイズの根瘤のように大粒のものは、30分間くらい浸しても内部の根瘤菌は死滅しない。

c. 殺菌した根瘤は、殺菌水でなん回も洗淨して昇汞水を洗い落す。このためにはグーチ坩堝を用い、根瘤を、昇汞水を入れた大きな皿中に坩堝と共に浸漬したのち、数回殺菌水で洗淨すると便利である。なお、この洗淨を簡単にするために、殺菌した硫酸アモニアの稀薄液で根瘤表面の昇汞水を除去する方法

もある。

d. 殺菌洗浄した根瘤は、ピンセットで取り出し、殺菌した針で一部を切り取り、針を組織中に入れて中の組織をえぐり取つて、これを殺菌したシャーレ中の殺菌水 1 滴中に移しさらに試験管中の溶融した寒天培地（40°C）を注いで十分均質に混じて扁平培養を行うか、またはえぐりとつた組織片を直接試験管内の溶融寒天培地に移して十分混じったのち扁平培養する。またこの他、殺菌した根瘤をあらかじめ日本紙に包んで乾熱殺菌しておいた乳鉢に移して磨砕し、それを殺菌水で稀釈し、その一部を試験管中の溶融寒天培地に移したのち、扁平培養を行う方法もある。もちろん稀釈する必要があるれば順次他の試験管内の溶融した寒天培地に 2 回、3 回と白金耳で移して寒天培地と十分混合して、扁平培養を行う。

e. 分離用培地としては次のものが一般に知られている。

i) 酵母浸出液マンニット寒天

K_2HPO_4 0.5 g, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.2 g, CaCO_3 3 g, NaCl 0.1 g, マンニット 10 g, 寒天 15~17 g, 酵母浸出液 100 cc, 蒸溜水 900 cc, pH 7.0

pH は NaOH または KOH で調整する。酵母浸出液とは澱粉を含まない圧搾酵母（筆者は粉末エビオスを使用している）に 10 倍重の水を加え室温に 1~2 時間放置してから、40~60 分間加熱殺菌した後、2~3 日間静置して上澄液をとる。筆者はマンニットの代りに葡萄糖を使用し、また時には CaCO_3 を除いたものを使用しているが、さしつかえはないようである。

ii) 土壌浸出液マンニット寒天

KH_2PO_4 0.5 g, マンニット 10 g, 寒天 15~17 g, 土壌浸出液 300 cc, 井水 700 cc, pH 7.0

土壌浸出液とは、肥沃な土壌 1 kg に水 1 l を加え、加圧釜で 15 lb で約 30 分間浸出させ、石灰を加えて濾過した黄色の透明液を指す。

iii) 硝酸塩マンニット寒天

KNO_3 0.5 g, KH_2PO_4 0.5 g, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.2 g, NaCl 0.1 g, FeCl_3 痕跡, MnSO_4 痕跡, マンニット 10 g, 寒天 15~17 g, 蒸溜水 1,000 cc, pH 7.0

以上の培地の中 i の培地はウイコンシン大学で培地—79 (Medium-79) と称して推奨しているもので、根瘤菌の発育にはきわめて良好である。

f. 扁平培養したシャーレはほぼ 20°C（雑菌の発育を抑えるために 20°C の低温が推奨されているが普通は 28°C で行う場合が多い）の定温器中に静置、ときどき検鏡して集落（コロニー）の発生状態を調べる。根瘤菌の種類により集落の発生に遅速があるが、早いものは 5~7 日目に、遅いものは 10~20 日を要する。集落が適当な大きさになつたら数回扁平培養を繰り返して純粋にし、試験管中の斜面培地に移して培養し、接種試験に供する。

g. 分離した菌が根瘤菌であるか否かは殺菌土壌（砂、寒天等）で無菌的に発芽させた寄主植物に接種し、その根瘤形成の成否により決定するのであるが、根瘤菌の分離に際してはしばしば根瘤菌と間違われやすい他の細菌、特にラジオバクター (*Agrobacterium radiobacter*) が出現する場合が多いので、その簡単な判別法として次の方法が利用されている。

すなわち、分離用培地にクリスタルヴァイオレットの 1:80,000 の濃度を加えたものは、扁平培養基上にラジオバクターは紫色の中心を有する縁の明りような大きな集落をつくるが、根瘤菌は平等に着色した小さい集落をつくるので区別される。また馬鈴薯培地において根瘤菌は色素の生成がないが、ラジオバ

クターは褐色を呈する。このほか牛乳培地では根瘤菌は着色がなく、表面近くに乳精をわずかに抽出するが、ラジオバクターは褐色の色素を生産する。

また分離の際、アグロバクテリウム・ツメファシエンシス (*Agrobacterium tumefaciens*) 等の土壌細菌と根瘤菌を区別するために、コンゴレツドの 1:400 の水溶液 10 cc を分注前の培地 1 l に加えて扁平培養すると、アグロバクテリウム・ツメファシエンシスは根瘤菌の白い集落に対して深紅色を呈するので、区別することができ、また土壌細菌の多くは色素の吸収が一般に著しいのである程度根瘤菌と区別し得るものである。

2. 根瘤菌の接種試験

分離された根瘤菌が確実にその寄主植物の根瘤菌であるか否か、あるいは優良菌であるかどうかを確実に決定するためには、寄主植物に対して接種試験を実施するものである。

接種試験²¹⁸⁾は塵埃等による自然感染のないところで行わなければならないが、通常植木鉢試験用のガラス室内に、さらに簡単なガラス覆を設ければ十分である。

内容 200~300 cc の色ガラス製あるいは陶製の鉢を用い、これに良く洗つて乾かした石英砂を満たし、その 15 %に相当するクローネの液またはその無窒素水排液を加え、紙覆をして 15 lb で 1 時間内外殺菌する。

次に寄主植物の種子を 0.1 %昇汞水に 5 分間程度浸して滅菌し、殺菌水で十分洗浄してから播種し、根瘤菌浮遊液(後述参照)を種子の上から注ぐ。なお同時に平行して無接種の対照試験を行う。

種子の発芽後紙覆を取り、必要に応じて殺菌水を加える。豆科作物ならば発芽後 1~1.5 カ月くらいで根瘤の着生の有無を判定できるが、樹木の場合はかなり遅れる場合が多い。

この他厳密な接種試験方法には、綿絎殺菌した大形試験管内の砂、あるいは寒天 (0.75%) 培地上で行う方法もある。

培地に加えるクローネの液は、普通無窒素の次の組成の保存混合物をあらかじめつづつて置いて、必要に応じて調製するのが便利である。

KCl 10 g, CaSO₄·2H₂O 2.5 g, MgSO₄·7H₂O 2.5 g, Ca₃(PO₄)₂ 2.5 g, FePO₄ 2.5 g

これらの塩を混合して乳鉢で細かく磨砕して保存する。

クローネ液：蒸溜水 1 l, 混合塩 1.5 g

クローネ寒天：クローネ液 1 l に寒天 7.5 g を加える。

このようにして分離決定された根瘤菌も菌株によっては、寄主植物に根瘤を形成する能力はあつても、その窒素固定に大差がありうるので、厳密な比較試験を行つて優良菌株を選び、人工接種用に使用することが必要である。

3. 根瘤菌の保存

接種に供する根瘤菌は、寒天培地に移植後あまり日数を経過しない(少なくとも 2~3 カ月以内)ものを使用すべきであるが、その保存法としては、培養試験管を風通しの良いかつ塵埃のたたない暗所に保ち約 3 カ月ごとに移植を行う。

菌株保存用培地としては、上記酵母浸出液マニット寒天培地か、あるいは同培地で、酵母浸出液を 10 cc に減量したものが適当である。

Ⅵ 豆科肥料木根瘤菌の接種方法

豆科肥料木は豆科作物と異なり多年生でかつ養成された苗木の多くは、立地条件の悪い瘠悪地、禿禿地、砂丘地等に造林される場合が多いので、種子接種のほかに苗木に対する接種の場合も考えられ、加うるに接種前に土壌条件のある程度の改善を先決問題とする場合も考えられる。したがって農業のそれに比べて今後さらに検討を必要とする多くの問題が残されている。

今最も普通に行われている試験管培養根瘤菌を用いて行う肥料木根瘤菌接種の方法を、種子と苗木の場合にわけて簡単に説明することとする。

1. 種子接種の方法

a. 肥料木種子の発芽促進法

豆科肥料木のおもなものとしては、ニセアカシア類、アカシア類、クズ、ハギ、エニシダ、イタチハギ、ネム等があげられるが、これらのうちイタチハギ、ネムを除いた他の樹種は、接種前に発芽促進を実施する。ただし、エニシダ、ハギは発芽促進を実施しないで播く場合もあり、また脱穀機で採種したハギの種子は、それ自身物理的発芽促進処理を受けているので、さらに発芽促進は行わない。

発芽促進法は人によつていろいろな方法が提唱されており、またその程度も樹種、硬粒の状態によつて多少加減をする必要があるが、今 1, 2 の例を示すと

i) 熱湯処理による発芽促進法

80°C の湯に 2～10 分間浸漬後直ちに冷水に入れる。ニセアカシア、アカシア類、クズは 5～10 分間エニシダ、ハギ等は 2 分間くらいが望ましい。

ii) 硫酸処理による発芽促進法

ピーカー中の種子に市販濃硫酸（98%）を種子が十分浸漬する程度に加えて掻きまぜ、2～3 分間放置する。次に掻きまぜながら少量の水を加え、一時 90°C 前後の発熱反応を起させて 2 分間放置した後、直ちに多量の水を加えて冷却し、数回にわたつて十分種子を洗浄する。本方法はニセアカシア、アカシア類、クズ等の比較的種皮の厚い硬粒種子に適用できるが、多量の種子の取扱いには不適當である。

なおこのほか、物理的に種皮を傷つける場合もある。発芽促進処理の終つた種子は吸水して数倍に膨れるので、膨れたら水を切つて新聞紙上に置き軽く乾燥させる。

b. 根瘤菌接種の方法

発芽促進を行つた種子は次の方法によつて根瘤菌の接種を行う（写真 4 参照）。

i) 根瘤菌を培養した試験管（なるべく新鮮な培養後 1 ヶ月程度のものが望ましい）内に少量の水（5～10 cc）を入れ、割箸等で静かに寒天面をなで、寒天上の粘り気のある白い塊（根瘤菌）を全部水の中に掻き落して水に浮遊させ、種子の容積の約 1 割くらいの水のなかに注ぎ白い塊がなくなるまで攪拌し、淡い均一な白濁の液になつたら種子に注ぎ掛け、種子の表面がその菌で完全に濡れるまで軽くまぜる。もし種子が濡れて播きたい時は、しばらく風乾し多少水が切れてから播く。なお接種した種子はできるだけ直射日光にさらさないように注意する。できれば接種後直ちに播種するのが望ましいが、翌日にまいてもさしかえない。ただし余り置くと他の微生物が発生し、また種子も腐敗するおそれがあるので注意を要する。

ii) 根瘤菌の種子に対する接種量は、豆科作物では 1 反歩に播種する種子量に対して培養試験管 1 本分

の根瘤菌で十分とされているが、肥料木の種子に対してはいくぶん多い目（1 l の種子に 2 本くらい）の接種を行うのが安全である。

なお、接種した種子は、播種の際、過磷酸石灰、硫酸、硫酸加里、消石灰等の鉱物質肥料の多量が直接種子に触れると接種した根瘤菌が死滅する恐れがあるので注意を要する。また土壌の酸度が強い場合は事前に播種床に石灰を施して置く必要がある。

2. 苗木接種の方法

豆科作物の根瘤菌の接種は、ほとんど種子接種によつて行われるものであるが、肥料木の苗木は、養苗法のいかんによつては、ほとんど根瘤の着生しないものも多数見受けられ、かつこれらはきわめて根瘤菌の分布が少ないと思われる瘠悪地に植栽される場合が多いので、苗木の定植の際の根瘤菌接種の問題は、一応実用的見地からも考慮されねばならない問題である。

しかしながら、この方面の実地利用はまだ試験の緒についたばかりで、効果的接種方法は今後の解決にまたねばならないが、筆者がこれまで実行してきた方法を参考のため記載する。

a. 植栽前に、日蔭に菰を払げて苗木を並べ約 2 l の水に 3～4 本分の根瘤菌を混じ、如露で根に灌水し、十分根に根瘤菌の浮遊液が行き渡るようにする。培養試験管 1 本分で大苗では 20 本内外、小苗で 40 本内外の苗木の接種に用いる。すなわち上記 2 l の根瘤菌浮遊液で 100 本内外の苗木に接種する。

b. 菰の上に掘土を適当に入れ、これに上述の根瘤菌浮遊液（この場合はいくぶん濃くする）を加えて多少うるおし、十分混んじてこれを苗木の根にまんべんなくまぶせる。

以上いずれも接種後日光に曝さないようにして直ちに植栽するのが望ましいが、山地の現場で実施したい時は、山出し前に実施しておいて一兩日のうちに植栽する。

またこれまでの経験では、苗畑および播種造林の際は、試験管培養の根瘤菌を用いても容易に接種を行うるが、山地植栽の際は本方法ではかなり制約される場合が多いので、砂、その他を用いて粉状に培養した根瘤菌の使用が至便であつて、この問題の解決が実用的見地からきわめて重要と思われる。

なお接種した苗木の植栽に際しては、種子接種の場合と同様、直接根に肥料が触れないように注意し、酸性土壌ならば事前に植穴に石灰を施して中和し、また物理的に不良な腐植質に乏しい土壌には、堆肥の施用、埋糞等を行つて、ある程度土壌の改良を計ることが必要である。

Ⅶ 根瘤菌の接種効果

根瘤菌の接種効果は、ある程度まで気候条件、耕種法、施肥状況に支配される場合が多いが、特に窒素分の欠乏した所や、根瘤菌の分布の少ない開墾地等においては非常に有効な効果をもたらすものであり、また同じ豆科作物を連作して比較的その根瘤菌の分布している所でも、優良菌株の接種は多くの場合接種費用を償つても余りある効果をあげるものである。今接種効果の 2, 3 の例をあげると、

NORMAN (1943) がダイズ (Mukden soybeans) について行つた、根瘤菌接種の効果が、その収量および品質に及ぼす影響の調査結果は第 3 表のようである。

すなわち接種区は単に収量の増加のみならず、その成分においても経済性を著しく高めている。

また松本氏が全国農事試験場において実施された数種の豆科作物についての接種による試験結果を取りまとめたものは、第 4 表のごとくである。

第3表 ムクデン・ダイズの収量および組成に対する接種効果（NORMAN 1943, p. 227）

			無 接 種	接 種	差
実	ダイズ収量	ブツシエル/エーカー	14.70	19.30	+4.60 ¹
	窒素含量	%	5.04	5.62	+0.58 ¹
	窒素量	ポンド/エーカー	44.40	65.20	+20.7 ¹
	蛋白質量	ポンド/エーカー	278.00	407.00	+130.00 ¹
	油質含量	%	21.41	20.25	-1.16 ¹
	油質量	ポンド/エーカー	189.00	235.00	+46.00 ¹
茎	茎の収量	ポンド/エーカー	4,183.00	4,382.00	+199.00
	窒素含量	%	0.43	0.52	+0.09
	窒素量	ポンド/エーカー	17.80	23.00	+5.20 ¹

印1は有意差大，ブツシエル=2斗1合，エーカー=4.08反，ポンド=120匁

第4表 数種豆科作物に対する接種効果

作物の種類			既 栽 培 地		新 栽 培 地	
			試 験 数	接種による 増収歩合	試 験 数	接種による 増収歩合
紫 雲 英			850	23%	182	70%
青 刈 大 豆			376	19	96	48
ル ー ビ ン			32	75	108	249
青 刈 蚕 豆			150	21	15	58
実 取 大 豆			280	16	159	29
実 取 蚕 豆			41	12	9	39

昭和31（1956）年に筆者が浜松営林署管内三ヶ日苗畑で，青刈大豆，クローバー，カウピーについて根瘤菌接種による収量試験を実施した結果は第5表のようである。

第5表 各1反歩当りの生重量（1956.6.1播種・1956.9.1刈取）

種 類	青 刈 大 豆	黄花クローバー	カ ウ ピ ー	備 考
試験区				
無施肥無接種区	341.5 貫	167.4 貫	357.3 貫	
無施肥接種区	376.0	241.6	533.3	
施肥無接種区	386.0	304.0	570.6	平方米当り，過磷酸石灰30匁
施肥接種区	408.0	338.0	634.0	硫酸5匁，硫酸加里5匁施肥 同 上

豆科肥料木に対する接種効果の試験は，ほとんどまだ実施されていないので確実な資料を提供しえないが，筆者⁹⁾が昭和28（1953）年にモリシマ・アカシア，メラノキシロン・アカシア，フサアカシアについて次の種子接種試験を行つた。すなわち

岡山県玉野市付近の花崗岩の瘠悪風化土壌を材料として，鉢試験により，モリシマ・アカシアの種子に根瘤菌接種試験を行つた結果は第6表のようである（写真7参照）。

また同年度静岡県田方郡宇佐美村の普通畑地に，アカシア属樹種の養苗を行つた際の，種子接種試験の結果は第7表のようである。

第 6 表 モリシマ・アカシア根瘤菌接種試験結果（播種後 103 日目）

試 験 区	平均苗高 cm	平均重量 g	平均根瘤 着 生 数	備 考
無 施 肥 無 接 種 区	3.6	1.0	2.9	4 鉢 平 均
無 施 肥 接 種 区	17.2	4.2	31.2	
施 肥 無 接 種 区	14.8	3.8	6.1	4 鉢平均：各鉢（土壌 2 kg 入）に 混合肥料（N：P ₂ O ₅ ：K ₂ O=1：4：2）3 g，生石灰 5 g 施用
施 肥 接 種 区	34.4	13.5	75.0	

第 7 表 苗畑によるアカシア属根瘤菌接種試験結果

樹 種	試験区	平均苗高 cm	平均重量 g	平均根瘤 着 生 数	備 考
フ サ ア カ シ ア	無 接 種	13.5	1.3	1.5	平方米当り硫酸 5 匁，過磷酸 石灰 60 匁，硫酸加里 10 匁， 生石灰 100 匁施肥 播種後 167 日目の調査結果
	接 種	25.6	5.2	50.0	
メラノキシロン・ アカシア	無 接 種	11.9	1.5	2.1	
	接 種	40.0	8.4	65.0	
モリシマ・アカシア	無 接 種	55.3	12.7	17.0	
	接 種	70.4	18.4	100 以上	

すなわちアカシア属樹種についての本試験結果では，玉野付近の瘠悪林土壌ではもちろん，比較的条件の良いと思われる土地でも，接種の結果えられる苗木の成長は著しいものがあり，一般に無接種区の苗木は成長悪く不揃いで，大小の差が著しいのにくらべて，接種区のは揃って旺盛な成長を示した。なお引き続き玉野付近の瘠悪林地において，アカシア属の樹種に根瘤菌接種による播種造林試験を実施した結果では，接種区と無接種区の苗の間に，その成長および根瘤着生数に著しい差異が認められた（写真 8 参照）。

これまでの例を見ても，豆科作物あるいは緑肥作物に対する人工培養菌の接種は，経済上多大の利益をもたらす場合が少なくないが，常に必ずしも良好に現われるとは限らず，平均して大体 80 %内外の効果が報告されている。

しかしながら豆科作物とは種々の点で性質を異にし，しかも多くの場合物理的，化学的，微生物的にきわめて条件の不利な瘠地に仕立てられる豆科肥料木に対する根瘤菌の接種効果については，上述のごとくわずかに 1，2 の例が報告されているにすぎなく，その実用的効果については，今後の試験結果の総合判断により決定せられるべきものであり，また各樹種についても優良根瘤菌の選択あるいは接種方法の技術的改良等今後幾多検討されるべき問題が控えている現状である。

付記 1. 豆科肥料木あるいは苗畑緑肥作物根瘤菌の利用を希望される方は，使用 1 カ月前までに，種類，播種量あるいは植栽本数等を記載の上，林業試験場宛申し込まれば試験用として種菌配布の求めに応じている。なお農作物の根瘤菌は普通県の農事試験場で配布を行つている。

付記 2. 非豆科肥料木すなわちハンノキ，ヤマモモ，グミ，モクマオウ属等の樹種にも根瘤が形成されるが，これらの根瘤菌は，豆科植物の根瘤菌とは異なり，いずれも放線菌（Actinomycetes）が主体をなすものとする説が有力視されているが，まだ学問的には解決されていない。したがって現在のところ，

これらの樹種の根瘤菌の接種を行うには、保菌土壌の客土、あるいは根瘤の磨砕物の接種によるより仕方がない。

VIII 肥料木（根瘤樹木）の施肥について

肥料木は一般樹種と異なり、共生遊離窒素固定作用を営む根瘤植物であつて、したがつてその養分関係も前者と多少趣を異にし、かつ根瘤菌接種の効果も、施肥のいかに影響されることが大きいので、以下主として、根瘤の形成および窒素固定作用の観点についての施肥の問題を、これまでに豆科作物について報告されている結果を参照して簡単に考察することとする。

1. 窒 素

それ自身空気中の窒素を養料とすることができるので、普通の土壌における窒素肥料の施肥はほとんど問題とされていない。多量の窒素養料の施肥は、根瘤の形成を阻止し、経済的にも著しい効果が見られない場合が多いので、播種の際窒素肥料の施肥は除外されることも少なくない。

しかし最近では、少量の窒素の存在は、かえつて根瘤の形成および寄主植物の成長を促進することがわかり、特に窒素分の少ない土壌では、播種後しばらくの間、すなわち発芽種子がある程度根瘤を形成するに至るまで、なかならず小粒種子のものほど、ある程度の窒素肥料を施肥することが必要とされている。

北米のラジノクローバー播種の例では、土壌条件に応じて、 $N:P_2O_5:K_2O$ の比率が $1:4:2$, $1:4:1$, $1:4:4$, $1:2:2$ 等の組成配合肥料を反当り 15~30 貫用いている。

肥料木の場合は、もちろんこれらの作物と同一に論じえないが、根瘤植物としての特質においてはほぼ類似の傾向にあるものとみなされるので、播種床に応じた窒素肥料の施肥はぜひ必要と考えられる。

これまでの肥料木の施肥試験の結果では、窒素肥料の多量施肥は、根瘤のほとんど着生しない脆弱な大苗ができ、しかも養苗中病虫害を受ける場合が多いので好ましくないようである。

2. 磷 酸

豆科植物にとつて、磷酸肥料はその収量ならびに根瘤の数と大きさを増加させる点で、最も重視されており、また本成分は根瘤中の窒素の含量を増加し、根瘤の生理的機能にも影響を与えるものと考えられている。

一方磷酸の施肥は、土壌中に存在する豆科根瘤菌の増殖ならびに運動性を著しくすることは、多数の学者が報告しているところで、この作用が根瘤数を増加させる一因と考えられている。したがつて磷酸の施肥は、 N , P_2O_5 , K_2O 3 要素のうち最も重視さるべきであつて、とくに磷酸吸収力の大きい粘土質あるいは火山灰質の瘠地土壌においては、他の要素に比べて多量の施肥が望ましい。

3. 加 里

加里と根瘤形成との関係は、磷酸程重視されていないが、元来加里は豆科植物の生育にとつても必須の要素であつて、この欠乏は葉脈ならびに葉縁に沿つて褐色斑点を生じ、一方根の肥大成長が阻止され、生理的には澱粉、糖類の合成および転移に影響を与えるものとされている。したがつて肥料木の健全な生育を期待するためには、適當の加里の施肥は当然考慮さるべき問題であり、最近瘠悪林地あるいは禿地等に肥料木植栽の際、磷酸と共に加里の施肥効果が注目されている。

4. 石 灰

豆科植物の栄養成分として、石灰は磷酸、加里ほど重視されていないが、本成分は作物の健全なる成長特に根瘤の形成および窒素固定作用の促進にも密接な関連があるものとみなされている。

一方、土壌の酸度は、豆科植物の栽培上最も重視されている因子の一つであつて、一部好酸性のルービン、セラデラ、ダイズ等を除いては、酸性土壌の中和のため、石灰の施用は最初に考慮されねばならぬ問題である。

豆科作物の多くは、一部のものを除いて大体 pH 6.0～6.5 くらいの間が最も良好な生育を示すものとされており、豆科樹木についての筆者の水耕培養の試験結果でもほぼ同様の傾向がうかがわれている。なお石灰の施肥は、豆科作物に窒素肥料を施した場合、その根瘤の形成を阻止するのを緩和する作用もあり、また3要素と同時に施した場合は、3要素のみを施したのに比べて一般に好ましい生育が期待しうる場合が多い。このほか石灰が土壌中の毒成分あるいは忌地現象を緩和する場合もあることが報告されている。

5. 微量元素

このほかに豆科作物の生育に関係あるものとして微量元素の問題があり、特にマンガン・硼素・モリブデン等が重視されている。

これらの元素が土壌中に欠乏している場合は、作物の生育を著しく害するかあるいは生育を不能にするものであつて、なかんずく硼素は根瘤の形成に、モリブデンは窒素固定作用に直接密接な関係があり、したがつてこれらの不足した土地では（外国ではときおり見受けられる）、対策として人為的に不足成分を補足することが必要とされている。なお石灰の多量施肥は、これら微量成分の不活性化、すなわち植物の養料としての不足をもたらす場合も生じ、逆にこれらの微量元素過多のところでは緩和作用をするものとみなされている。

6. 堆肥あるいは糞等の伏込みにについて

肥料木の播種あるいは植栽の際堆肥、糞等を伏せ込むことは、水分の保持、土壌微生物特に根瘤菌の増殖維持等の見地からきわめて好ましいことで、苗畑土壌の健全性を保つ上からも経費の許す限り施すべきである。

緑肥ならびに堆肥は肥料成分関係においてはほぼ理想的なため心配はないが、問題となるのは生糞、しだ等の伏込みであつて、これらは緑肥、堆肥等に比べて窒素の含量がきわめて少なく、0.2～0.5 %であつて、炭水化物に富んでいるため、伏込みと同時に幼植物を植栽あるいは播種すると、根と微生物との間に窒素養分の争奪が行われ、そのため植物の生育がきわめて阻害されることがあり、この争奪は瘠地においては3週間くらい続くものであると報告している人もある。したがつてこの種の窒素含量の少ない、炭水化物に富んだ植物の遺体を伏せ込むときは、同時に生ずる窒素養料の争奪を緩和するために少量の窒素を施すことが必要で、計算によると硫酸ならば伏せ込んだ糞の重量の20分の1程度の施用が望ましい。

なお理想としては、植栽または播種前2～3週間前に糞を埋めて、同時に前述の窒素養料と、さらに分解を促進させ、かつアンモニアの放散を防ぐために少量の過磷酸石灰を施して微生物による分解を促し、ある程度の分解が完了した後実施することが望ましい。

文 献

- 1) ALLEN, E. K. and ALLEN, O. N.: Biological aspects of symbiotic nitrogen fixation. Encyclopedia of plant physiology (Handbuch der Pflanzenphysiologie), VIII, Springer, Berlin, (1958) p. 48~118.
- 2) ALLEN, O. N.: Experiments in soil bacteriology. Univ. Wis. (1949)
- 3) ALLEN, O. N. and ALLEN, E. K.: A survey of nodulation among leguminous plants. Soil Sci. Soc. Amer. Proc., 12 (1947) p. 203~208.
- 4) ALLEN, O. N. and BALDWIN, I. L.: Rhizobia-legume relationships. Soil. Sci., 78 (1954) p. 415~427.
- 5) FRED, E. B., BALDWIN, I. L. and MCCOY, E.: Root nodule bacteria and leguminous plants. Univ. Wis. Stud. Sci., 5. (1932)
- 6) 小西亀太郎：理論実際緑肥提要，養賢堂，（1934）
- 7) 小西亀太郎：緑肥と根瘤菌の研究，朝倉書店，（1947）
- 8) 東京大学農学部農芸化学教室：実験農芸化学，上巻，朝倉書店，（1952）
- 9) 植村誠次：豆科樹木と根瘤菌に関する研究 I. 2, 3 アカシア属樹種における根瘤菌の接種効果について（予報），林試研報，68，（1954）p. 203~212
- 10) 植村誠次・岩川幹夫・北村嘉一・原敏男：肥料木の栄養生理に関する研究 I. 栄養条件を異にするモリシマ・アカシア，オオバヤシヤブシの水耕培養に関する 2, 3 の実験，林試研報，99，（1957）p. 1~24.
- 11) WILSON, P. W.: The biochemistry of symbiotic nitrogen fixation. Univ. Wis. Press, Madison, (1940)

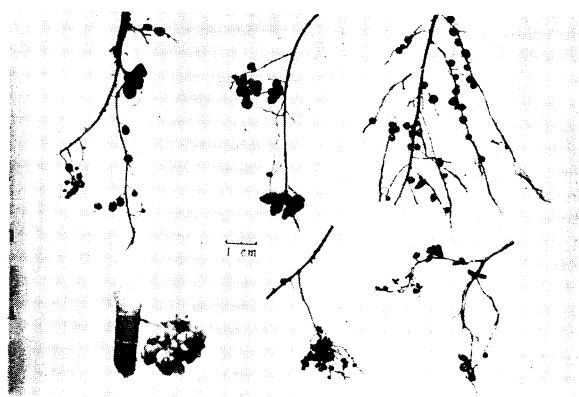


写真 1. 豆科肥料木の根瘤

上段左より モリシマ・アカシア, ニセアカシア, ヤマハギ
下段左より ネムノキ, イタチハギ, エニシダ



写真 2. ニセアカシアの根瘤菌 ×1350
(石炭酸フクシン染色)

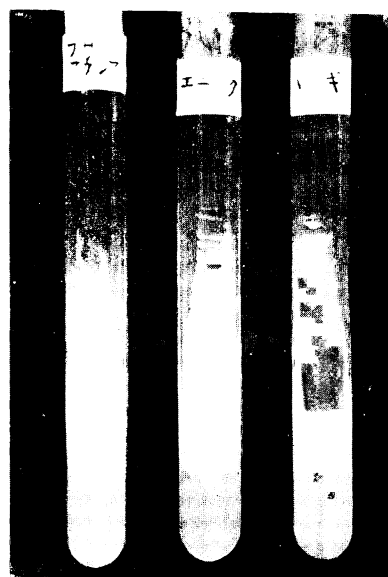


写真 3. 試験管培養根瘤菌

左より

フサアカシア, エニシダ, ヤマハギ

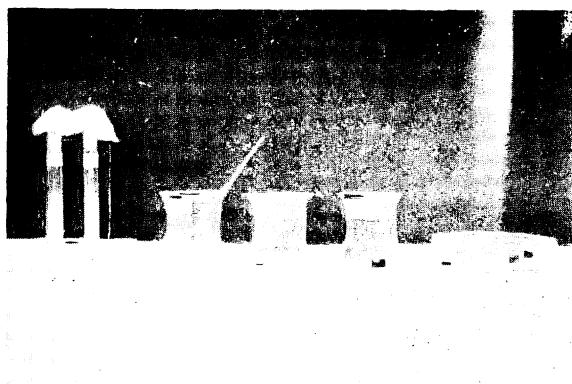


写真 4. 根瘤菌の接種方法

左より 1. ニセアカシア根瘤菌, 2. 同根瘤菌の浮遊液,
3. ニセアカシアの種子(発芽促進前), 4. 同発芽促進処理
後の種子, 5. 接種の完了した種子



写真 5. 市販の粉状培養根瘤菌（土壌
または泥炭粉末に培養）

FRED 等（1932）より引用

写真 6. 市販の液状あるいはゼリー状
培養根瘤菌 FRED 等（1932）
より引用

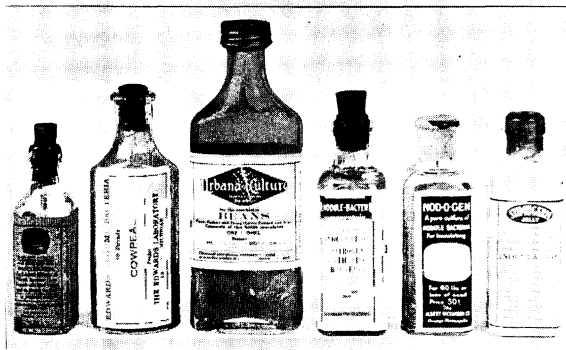


写真 7. モリシマ・アカシアの根瘤菌
接種試験（鉢試験）

左より 無施肥無接種区、無施肥接
種区、施肥無接種区、施肥接種区

（いずれも播種後 167 日目）

写真 8. モリシマ・アカシアの根瘤菌
接種試験

（現地直播試験：岡山県玉野市郊外
瘠患地）左 接種区、右 無接種
区（いずれも播種後 5 カ月目）

