【解説】

エンドファイティック窒素固定 第3タイプの植物-微生物窒素固定システム

安藤象太郎^{*1}, 大脇良成^{*2}, 後藤匡裕^{*3}, 米山忠克^{*4}

1997年本誌「今日の話」欄に「サトウキビ茎葉での窒素固定」と題し、エンドファイト（植物体内菌）による窒素固定の可能性について紹介した⁽¹⁾。その後、サトウキビのようにマメ科でない植物でも、生物的窒素固定によって農業上無視できない量の窒素を獲得していることが明らかになってきた。この窒素固定は、植物体内に生息する窒素固定菌によるもので、共生的窒素固定、根圏協同的窒素固定とは区別して、エンドファイティック協同的窒素固定システムとも呼ぶべきものである。いくつかの植物で窒素固定量の推定がなされ、多様な窒素固定エンドファイトの関与が示唆されている。

3つの植物-微生物窒素固定システム

植物-微生物による第1のタイプの窒素固定システムの研究は、1888年の Hellrigel と Hilfarth による根粒が窒素固定サイトであることの発見と Beijerinck によるエンドウからの根粒形成菌の単離に始まる。多くのマメ科植物の根粒に根粒菌、そしていくつかの本本植物の根

粒に放線菌フランキアが共生する (symbiotic) タイプである (図1)。

第2のタイプは植物根圏（根の表面と根のごく近傍の土壌）における窒素固定システムである。1972年ブラジルの Döbereiner らは、サトウキビや牧草の根圏には、*Spirillum* (後に *Azospirillum* と改名) を含む窒素固定菌が特異的に生息して窒素固定をしていると報告した⁽²⁾。1970年から1980年代にかけて、緑の革命を担った作物であるイネ、コムギ、トウモロコシなどの根圏での窒素固定の証明と関与微生物の研究がなされた。さらに、1990年代には非マメ科植物への根粒形成の試みもなされた。植物（主にイネ科）の根圏で根から分泌される有機化合物をエネルギー源として窒素固定活性を発現する微生物の生息が知られるようになった。特に水稻根圏では窒素固定酵素（ニトロゲナーゼ）反応を阻害する酸素分圧は低く、生物的窒素固定の環境は好ましいものとなっている。これらは根圏協同的 (rhizosphere-associative) システムと呼ばれた (図2)。

1988年ブラジルの Cavalcante と Döbereiner がサトウキビ茎汁液から単離した *Acetobacter* (現在 *Gluconacetobacter diazotrophicus*) は植物体内に生息する (エンドファイティック) 窒素固定菌であった⁽³⁾。筆者らは1994年から、この窒素固定が有意に圃場栽培の作物生産

Endophytic Nitrogen Fixation — The Third Type of Nitrogen-fixing System between Plant and Microbe

^{*1}Shotaro ANDO, ^{*2}Yoshinari OHWAKI, ^{*3}Masahiro GOTO, ^{*4}Tadakatsu YONEYAMA, ^{*1}独立行政法人農業・生物系特定産業技術研究機構畜産草地研究所, ^{*2}同機構中央農業総合研究センター, ^{*3}明治製菓(株), ^{*4}東京大学大学院農学生命科学研究科

図1 ■ 共生的窒素固定システム

図2 ■ 根圏協同的窒素固定システム

図3 ■ エンドファイティック協同的窒素固定システム

に寄与しているか否かについての調査を、マメ科作物における窒素固定の寄与の大きさを計測するのに使われる¹⁵N 自然存在比法を用いて開始した。本法によって2000年までに、サトウキビ (C₄ 植物)⁽⁴⁾、サツマイモ (C₃ 植

物)⁽⁵⁾、パイナップル (CAM 植物)⁽⁶⁾ で高い窒素固定の可能性を示す結果を得た。この窒素固定をエンドファイティック協同的 (endophytic-associative) システムと呼びたい (図3)。

以上3つの窒素固定システムのうち、圃場レベルでの窒素固定活性が最も高いのは共生的システム、次いでエンドファイティック協同的システム、そして最も小さいのは根圏協同的システムである。植物への寄与もこの順である⁽⁷⁾。

3つの窒素固定システムで高い窒素固定活性が発現されるためには、窒素固定のために十分なエネルギー源(炭水化物)が供給されることと、窒素ガスの還元を行なうニトロゲナーゼ反応環境が低酸素分圧に維持されることが必要である。エネルギー供給からみると、根圏協同的システムでは、根から分泌される炭水化物を根圏で生息する多くの菌が競合し、窒素固定菌が利用できる割合は低いと考えられる。エンドファイティック協同的システムでは、細胞から植物細胞間へ浸出される糖、有機酸、アミノ酸などを利用する。サトウキビ、サツマイモ、パイナップルは糖や有機酸を多量に生産し、細胞外に放出する。また篩管を経て多量に茎や、イモ果実などに送られる。細胞間や篩管とその周辺に窒素固定菌が生息すれば、エネルギー源は豊富である。しかし、根から感染したエンドファイト窒素固定菌は、根組織の細胞間(アポプラスト)や導管に分布するとの証拠が多く出されている^(8~10)。今のところ、篩管あるいはその周辺の細胞での窒素固定菌の確かな存在は報告されていない。しかし、篩管にはファイトプラズマのような小さな遺伝子——おそらく進化過程で退化した——をもった細菌の存在が知られている。篩管周辺での窒素固定菌の探索は興味深い課題である。

酸素分圧を考えると、根粒内のニトロゲナーゼ周辺では数 nM の低酸素濃度となっている。根圏についてみると、水稻の根圏では低酸素環境であるが、他の陸生植物の根圏の酸素分圧は高い。植物組織の細胞間や通導系では、組織外より酸素濃度は低く、特に篩管は酸素濃度が低い。組織の糖、有機酸濃度が高くなるとさらに低い酸素濃度となる。

固定した窒素の植物による利用を考えると、根粒により固定された窒素の 95% がアミノ酸として植物に移動し、短期に利用される。根圏の窒素固定では、固定された窒素は菌の分解によってアミノ酸として放出され、植物はその一部(約 20%)を利用する。一方、エンドファイトが固定した窒素の利用についての解析は進んでいない。窒素固定システムから想像すると、エンドファイト菌が固定した窒素は菌の分解によってアミノ酸として放出され、通導系を移行して植物に利用されると考えられる。パイナップルで見られるように、CAM 植物に窒素固定をするエンドファイトが生息するとすれば、乾燥地

のサボテンなどによる貧窒素栄養条件下での窒素獲得戦略として興味深い。

窒素固定システムの進化からみると、最初植物根圏に生息していた窒素固定菌が、植物根より放出される炭水化物をエネルギー源として得て窒素固定活性が生じた(根圏協同窒素固定システム)。植物からの炭水化物には窒素固定菌の根粒形成遺伝子の発現に関わるシグナル分子があり、根粒菌と植物の遺伝子の共同作業により根粒形成、そして共生窒素固定システムとなった。一方、根細胞間隙や葉の気孔などから窒素固定菌が植物体内に侵入し、体内で生息するようになりエンドファイティック協同的窒素固定システムとなった。

エンドファイティック窒素固定の見積もり

エンドファイティック窒素固定はどのくらい農業生産に寄与しているのだろうか。その評価を行なうためには、土壌で生育する植物が実際にどのくらいの量の窒素を固定しているかを知ることが重要である。ここでは、窒素固定量(窒素固定寄与率)の測定方法を解説し、これまでに報告されたエンドファイティック窒素固定量の見積もりを紹介したい。

1. 窒素固定量(寄与率)の測定方法

a. 窒素バランス法

栽培前の土壌と種子(栄養体)に含まれる全部の窒素量を測定しておき、栽培終了時に植物体中に集積した全窒素量および土壌に残存する窒素量を測定する。土壌と種子由来の窒素に対して植物体中に集積した窒素量が多ければ、その差が窒素固定量となる。原理は非常に単純だが、植物体中に集積する窒素量に比べて土壌に含まれる全窒素量は多いため、土壌からの吸収量を正確に測定するのはかなり難しい。予備栽培により土壌窒素量を減らすなどの工夫が必要であり、また脱窒やアンモニア揮散などによる土壌窒素の減少を補正しないと誤差の要因になる。

b. 重窒素希釈法

土耕や水耕で培地から供給される窒素を重窒素(¹⁵N)で標識し栽培する。植物が空中窒素を固定すると、植物体中の¹⁵N存在比が低下する(希釈される)ことを利用して窒素固定の寄与率を測定する。この方法は、コンクリート枠圃場、土耕ポット、水耕などさまざまな栽培条件に適応できるため、窒素固定の見積もりに広く利用されている。土壌で栽培する場合は、対照として窒素固定を行わない植物を同じ環境で栽培する必要がある。窒

素固定を測定する植物と窒素固定を行なわない対照植物で土壌から吸収する窒素の同位体比が異なる場合、窒素固定の見積りに誤差が生じる。

c. 重窒素自然存在比法

重窒素希釈法と原理は同じであるが、 ^{15}N で標識された窒素源を用いるのではなく、自然に存在する物質の ^{15}N 濃度(^{15}N 自然存在比)の変異を利用する。通常、土壌の窒素は大気窒素(N_2)に比べてわずかであるが高い ^{15}N 自然存在比をもつことが多い。空中窒素の固定による植物の ^{15}N 自然存在比の低下を同位体比質量分析計により測定し、窒素固定の寄与率を推定する⁽¹¹⁾。この方法は、特別な処理を行なう必要がないため、圃場におけるエンドファイティック窒素固定の寄与の推定に利用することができる。重窒素希釈法の場合と同様に、誤差を少なくするために類似の根系発達特性や窒素吸収パターンをもつ対照作物を選ぶことが必要である。

d. 重窒素ガスの取り込み

^{15}N で標識した窒素ガスの植物への取り込みは、窒素固定の直接的な証拠となる。エンドファイトによる窒素固定は植物全体で行なわれ、マメ科植物の根粒で行なわれる共生的窒素固定に比べ比活性が低いため、窒素ガスの取り込みを見るためには高 ^{15}N 濃度の $^{15}\text{N}_2$ ガスに数十時間曝露する必要がある。長期間植物個体をガスに曝露するためには、それに用いる CO_2 や O_2 分圧、光や温度条件の制御が必要となる。また、純度の高い高 ^{15}N 濃度の $^{15}\text{N}_2$ ガスは高価である。このような制限から、 $^{15}\text{N}_2$ ガスの取り込みによりエンドファイティック窒素固定を測定した報告は少ない。

2. エンドファイティック窒素固定の見積もり

a. サトウキビ

サトウキビの窒素固定量の見積もりは、ブラジルの研究者らにより始められた。ブラジルにおけるサトウキビの施肥量は $0\sim 60\text{ kg ha}^{-1}$ 程度であり、一方収穫物などによる窒素の持ち出しは $80\sim 100\text{ kg ha}^{-1}$ になる。しかし、多くのサトウキビ栽培土壌では窒素肥沃度の低下は見られず、サトウキビの生物学的窒素固定が推測された⁽¹²⁾。土耕ポットを使った窒素バランス法による解析では、サトウキビ一個体が21カ月の栽培中に土壌と肥料から吸収した窒素が約 10 g であったのに対して、植物体に集積した窒素は約 35 g であり、差し引き約 25 g が窒素固定と考えられた⁽¹³⁾。この値を圃場に換算すると、年間約 200 kg ha^{-1} の窒素がサトウキビにより固定された計算になる。また、コンクリート枠圃場で ^{15}N で標識した有機物を用いて、 ^{15}N 希釈法と窒素バランス法によ

り年間 170 kg ha^{-1} 以上の窒素固定が見積もられた⁽¹⁴⁾。これらの報告の中では、サトウキビの窒素固定量が品種により大きく異なることも明らかになっている。窒素固定量の大きな品種の中には、ブラジルで広く栽培されている経済品種も含まれており、農家圃場サトウキビ栽培における窒素固定の寄与も示唆された。その後のブラジルの農家圃場における調査では、 ^{15}N 自然存在比法により $0\sim 72\%$ ^(4,15)の窒素固定寄与率が推定された。ブラジルの他では、フィリピン、タイ、日本(沖縄)でも ^{15}N 自然存在比法によりサトウキビの窒素固定が報告されたが^(4,16)、オーストラリアのサトウキビ圃場では、大きな窒素固定の寄与は認められなかった⁽¹⁷⁾。これらの地域差の要因は明らかではないが、ブラジルでは窒素肥沃度の低い土壌で品種が選抜されてきたため、多くのブラジル品種は高い窒素固定能力を示す可能性が指摘されている⁽¹²⁾。

サトウキビの窒素固定は水耕実験でも確認され、 ^{15}N 希釈法により、日本のサトウキビ品種(NiF-8)に集積した窒素のうち、葉では約20%、茎では14%、根では26%が窒素固定に由来することが報告された⁽¹⁸⁾。 $^{15}\text{N}_2$ ガスの曝露実験は*G. diazotrophicus*を接種したサトウキビで行なわれ、24時間で茎および根の全窒素のそれぞれ0.4%と0.2%の取り込みが認められた⁽¹⁹⁾。しかし、固定した窒素が植物に移行しているかどうかは、短時間の曝露実験では明らかになっていない。サトウキビの無菌苗に5種類の窒素固定菌を接種した後、400日間土耕ポットで栽培した実験では、非接種サトウキビに比べて26%の乾物重の増加と約30%の窒素固定の寄与が認められ、固定窒素の一部が宿主作物へ利用されたものと考えられた⁽²⁰⁾。

b. サトウキビ以外のイネ科作物

イネ科作物の窒素固定については古くから知られているが、その多くは根圏協同的システムによるものと考えられてきた。根圏協同的システムによる作物への窒素固定の寄与は低く、圃場では必要窒素のせいぜい2~5%と推定されている⁽²¹⁾。しかし、一部の熱帯イネ科作物では、比較的高い窒素固定の寄与が報告されており、エンドファイティック窒素固定の可能性が指摘されている。*Brachiaria*属牧草は、ブラジルの亜熱帯サバンナ(セラード)草地の約85%に栽培されており、その多くは窒素施肥が行なわれていないにもかかわらず長期間生産力を維持している。コンクリート枠や圃場での栽培で、*Brachiaria*属牧草に集積した窒素のうち30~40%が空中窒素由来であることが報告されており、これは年間約 $30\sim 45\text{ kg ha}^{-1}$ の窒素固定量に相当する^(22,23)。サトウ

キビに比べると、*Brachiaria* 属牧草の窒素固定量は少ないが、ブラジルの放牧草地では牛により摂取された窒素の約 90% が糞尿の形で草地に還元されることを考えると、この固定量も草地における窒素バランスの維持に大きな役割を果たしている可能性がある。パキスタンのパンジャブ地方に生育する耐塩性のイネ科植物、Kallar grass (*Leptochloa fusca* L.) からは窒素固定エンドファイトが単離されているが、温室でのポット栽培試験の結果から、年間 34 kg ha⁻¹ に相当する窒素固定量が推定されている⁽¹⁰⁾。

c. 双子葉作物

双子葉作物におけるエンドファイティック窒素固定の見積もりは、現在までのところサツマイモやパイナップルなど少数の例のみである。サツマイモは古くから痩せ地で育つことが知られており、現在の日本における栽培でも窒素施肥量は 20~30 kg ha⁻¹ 程度と少ない。¹⁵N 自然存在比法による推定では、圃場で栽培したサツマイモで最大 40% 程度の窒素が空中窒素の由来であることが報告された⁽⁵⁾。サトウキビと同様にサツマイモも品種により窒素固定の寄与率が異なるが、その差は不安定であり遺伝的な効果は明確でない⁽²⁴⁾。タイで栽培されたパイナップルでは、調査した 40 点のサンプルのうち 36 点で窒素固定が認められ、¹⁵N 自然存在比法により推定された窒素固定寄与率は平均 43% であった⁽⁶⁾。双子葉作物のエンドファイティック窒素固定はまだ報告が少ないが、今後の研究により新たな窒素固定作物が見つかる可能性がある。

窒素固定エンドファイトの探索と接種試験

1. 多様な窒素固定エンドファイト

サトウキビが生物的窒素固定によって窒素を獲得していることに注目したブラジルの研究者たちは、まずサトウキビの根圏で窒素固定菌を探索し、多様な窒素固定菌を分離した⁽¹²⁾。しかし、根圏協同的窒素固定だけではサトウキビの窒素固定量を説明することができなかったため、窒素固定菌の探索の対象をサトウキビの体内にまで広げた。こうして最初にサトウキビの植物体内から分離された窒素固定菌が *Acetobacter diazotrophicus* (後に *Gluconacetobacter diazotrophicus* に改名) である。*G. diazotrophicus* はサトウキビの茎・葉・根から分離され、サトウキビの茎の中と同様に濃い濃度 (10%) のシロ糖溶液中で旺盛に増殖し、シロ糖を資化して酸性物質を産出する⁽³⁾。

G. diazotrophicus に続き、植物体内から多様な窒素固

定菌が分離された。サトウキビからは *Herbaspirillum* 属、*Burkholderia* 属、*Azospirillum* 属の窒素固定エンドファイトが⁽²⁵⁾、Kallar grass からは *Azoarcus* spp. が⁽²⁶⁾、サツマイモからは *G. diazotrophicus*⁽²⁷⁾、*Klebsiella* 属^(28, 29)、*Pantoea* 属⁽³⁰⁾の窒素固定エンドファイトが、それぞれ分離されている。宿主の範囲を広げると、イネからは *Azospirillum* 属⁽³¹⁾、*Azoarcus* 属⁽²⁶⁾、*Bradyrhizobium* 属⁽³²⁾、*Herbaspirillum* 属⁽³³⁾、*Pantoea* 属⁽³⁴⁾、*Pseudomonas* 属⁽³⁵⁾、*Rhizobium* 属⁽³⁶⁾、*Serratia* 属⁽³⁷⁾などのきわめて多様な窒素固定エンドファイトの分離が報告されている。また、ススキや野生イネからは嫌気性の *Clostridium* 属の窒素固定エンドファイトが分離されている⁽³⁸⁾。筆者らは、培養を経ずに窒素固定エンドファイトを検出するために、サトウキビとパイナップルから抽出した DNA を鋳型とした *nifH* (窒素固定) 遺伝子の PCR 増幅を行ない、*Bradyrhizobium* および *Klebsiella* の *nifH* 遺伝子と相同性の高い *nifH* 配列を繰り返し検出した⁽³⁹⁾。

植物に害を及ぼさず、植物病原菌としての症状を植物に示させることなく、植物の中に生息しているこれらの菌は、植物体内菌 (エンドファイト) と呼ばれる。サトウキビ、サツマイモ、パイナップルは栄養繁殖作物であるため、いったん植物内に定着した窒素固定エンドファイトは、栄養体を通じて次の世代に移行すると考えられる。

2. 菌の感染経路と感染部位

こうした窒素固定エンドファイトは、どのようにして植物体に侵入し、植物体のどこを棲み処としているのだろうか。また多様な窒素固定エンドファイトのうちで、どの菌が窒素固定において主要な役割を果たしているのだろうか。単子葉、双子葉植物を問わず、植物体の内部に微生物が生息しているのは一般的であること、さらに、植物に内生しているのは窒素固定菌だけではなく、窒素固定菌でない菌のほうが優占していることが知られている⁽⁴⁰⁾。そうであれば、根から侵入し地上部に移行する能力は、多くの菌が広く有していると考えられる。根の近傍の土壌に一般的に生息している *Azospirillum* 属、*Klebsiella* 属、*Rhizobium* 属、*Clostridium* 属、*Bradyrhizobium* 属などの窒素固定菌がエンドファイトとして分離、検出されることも、こうした能力が広く共有されていることを示唆している。

窒素固定エンドファイトとして分離された *G. diazotrophicus*、*Herbaspirillum seropedicae*、*Azoarcus* spp. は、いずれも土壌からは分離されない種であるため、最

初にどこから感染したかは不明ではあるが、菌の感染経路を調べるために根にこれらの菌を接種すると、共通した感染過程を示した⁽⁴¹⁾。すなわち、側根の分岐点にできた側根と皮層細胞の隙間から侵入し、細胞間隙を通して根の中心部まで侵入する。さらに木部や通気組織を通して地上部に移動する。接種菌の存在が確認されたり、窒素固定遺伝子の発現が確認されたりした部位は、細胞間隙、木部、通気組織、死んだ細胞であり、これまでのところ生きている細胞内では見つかっていない。植物細胞内にバクテロイドとなった窒素固定菌が共生している共生的窒素固定システムとの大きな違いである。

また、根から侵入し地上部に移行する能力を、多くの菌が有していると考えられることから、主要な役割を果たしている窒素固定菌が、同じ宿主であっても違ったり、複数であったりしていても不思議ではない。主要な役割を果たせるかどうかは、侵入後の定着と増殖の能力に大きく影響されると考えられる。生長点培養によって作製した無菌のサトウキビに、サトウキビから分離した5種類の窒素固定エンドファイトを様々な組み合わせで接種した試験において、5種類の菌をすべて混ぜた場合が窒素固定の寄与率が最も高いという結果が示されている⁽²⁰⁾。この結果もまた、主要な窒素固定エンドファイトが複数の場合もありうるという考えの傍証であると考えられる。

3. 固定窒素の植物への移行

生長点培養によって作製した無菌のサトウキビに *G. diazotrophicus* を接種したところ、窒素固定によると考えられる ¹⁵N で標識した窒素ガスの取り込みが見られたが、取り込まれた重窒素は菌体に存在していると考えられた。一方、窒素固定能欠損変異株を接種したところ、窒素ガスの取り込みは見られず、窒素固定は行なわれていなかった。しかし、変異株を接種したサトウキビでも無接種のサトウキビと比べると、生育の促進が見られたことから、*G. diazotrophicus* は植物ホルモン生産能などの窒素固定能以外の植物生育促進効果ももつと考えられた⁽¹⁹⁾。

Kallar grass に *Azoarcus* spp. の野生株と窒素固定能欠損変異株を接種したところ、野生株のほうが窒素を多く獲得し、¹⁵N 自然存在比の低下も見られた。また、野生株を接種した根でのみ *Azoarcus* spp. の窒素固定遺伝子の発現が見られ、活発に窒素固定が行なわれていることが示された。しかし、その Kallar grass から *Azoarcus* spp. を再分離することはできず、*Azoarcus* spp. は植物体中で培養が困難な状態に変化して窒素固定を行

なっていると考えられた⁽¹⁰⁾。この結果は、植物体中で窒素固定をしていても培養が困難なために、従来の培養法では見逃している窒素固定菌が存在する可能性を示しており、大変興味深い。

このように、組織内での窒素固定遺伝子の発現や、重窒素ガスの取り込みは観察されているが、これまでのところ、固定された窒素が菌体に留まるのではなく、植物に移行していることを示すデータは、1つを除いてない。それは、*G. diazotrophicus* を酵母と混合培養し固定窒素の酵母への移行をモデル的に示した実験である⁽⁴²⁾。窒素固定エンドファイトが生きている細胞で見つかっていないことも合わせて考えると、これまでに知られているエンドファイティック窒素固定は、根圏協同的窒素固定システムの場合を植物体内に拡張したものとするのが妥当であり、エンドファイティック共生的窒素固定ではなく、エンドファイティック協同的窒素固定システムと呼ぶのがふさわしいと考えられる。

エンドファイティック窒素固定は、窒素の投入量が少なくてもある程度の収量を得ることができるいくつかの作物において、その持続的生産に寄与してきたと考えられる。一方、自然生態系におけるエンドファイティック窒素固定の探索と評価は、大きな未知のフィールドとして残されている。

本研究は科学研究費（基盤 B）および農林水産技術会議の「生物機能を活用した環境負荷低減技術の開発プロジェクト」の支援を受けた。

文献

- 1) 米山忠克：化学と生物，**35**, 402 (1997).
- 2) J. Döbereiner, J. M. Day & P. J. Dart: *Plant Soil*, **37**, 191 (1972).
- 3) V. A. Cavalcante & J. Döbereiner: *Plant Soil*, **108**, 23 (1988).
- 4) T. Yoneyama, T. Muraoka, T. H. Kim, E. V. Dacanay & Y. Nakanishi: *Plant Soil*, **189**, 239 (1997).
- 5) T. Yoneyama, J. Terakado & T. Masuda: *Biol. Fertil. Soils*, **26**, 152 (1997).
- 6) S. Ando, S. Meunchang, P. Wadisirisuk & T. Yoneyama: *Acta Hort.*, **529**, 203 (2000).
- 7) T. Yoneyama: "Plant-Microbe Interaction", Chonnam National University, 2002, p. 33.
- 8) T. Egner, T. Hurek & B. Reinhold-Hurek: *Mol. Plant-Microbe Interact.*, **11**, 71 (1998).
- 9) E. K. James, F. L. Olivares, A. L. M. de Oliveira, F. B. dos Reis Jr., L. G. da Silva & V. M. Reis: *J. Exp. Bot.*, **52**, 747 (2001).
- 10) T. Hurek, L. L. Handley, B. Reinhold-Hurek & Y. Piché: *Mol. Plant-Microbe Interact.*, **15**, 233 (2002).
- 11) G. Shearer & D. H. Kohl: *Aust. J. Plant Physiol.*, **13**, 699 (1986).
- 12) R. M. Boddey, S. Urquiaga, B. J. R. Alves & V. Reis: *Plant Soil*, **252**, 139 (2003).
- 13) E. Lima, R. M. Boddey & J. Döbereiner: *Soil Biol. Bio-*

- chem., **19**, 165 (1987).
- 14) S. Urquiaga, K. H. S. Cruz & R. M. Boddey : *Soil Sci. Soc. Am. J.*, **56**, 105 (1992).
 - 15) R. M. Boddey, J. C. Polidoro, A. S. Resende, B. J. R. Alves & S. Urquiaga : *Aust. J. Plant Physiol.*, **28**, 889 (2001).
 - 16) 安藤象太郎 : 農業技術, **59**, 208 (2004).
 - 17) I. M. Biggs, G. R. Stewart, J. R. Wilson & C. Critchley : *Plant Soil*, **238**, 21 (2002).
 - 18) C. A. Asis, M. Kubota, H. Ohta, Y. Arima, Y. Ohwaki, T. Yoneyama, K. Tsuchiya, N. Hayashi, Y. Nakanishi & S. Akao : *Soil Sci. Plant Nutr.*, **48**, 283 (2002).
 - 19) M. Sevilla, R. H. Burris, N. Gunapala & C. Kennedy : *Mol. Plant-Microbe Interact.*, **14**, 358 (2001).
 - 20) A. L. M. Oliveira, S. Urquiaga, J. Döbereiner & J. I. Baldani : *Plant Soil*, **242**, 205 (2002).
 - 21) 米山忠克, 赤尾勝一郎 : 日本土壌肥科学雑誌, **69**, 403 (1998).
 - 22) R. M. Boddey & R. L. Victoria : *Plant Soil*, **90**, 265 (1986).
 - 23) 中村卓司, 菅野 勉, 大脇良成, 石川隆之, C. H. B. Miranda & M. C. M. Macedo : 日本土壌肥科学雑誌, **73**, 421 (2002).
 - 24) 大脇良成, 藤原伸介 : 農業技術, **57**, 399 (2002).
 - 25) V. M. Reis, J. I. Baldani, V. L. D. Baldani & J. Döbereiner : *Crit. Rev. Plant Sci.*, **19**, 227 (2000).
 - 26) T. Hurek & B. Reinhold-Hurek : *J. Biotechnol.*, **106**, 169 (2003).
 - 27) M. A. Paula, V. M. Reis & J. Döbereiner : *Biol. Fertil. Soils*, **11**, 111 (1991).
 - 28) M. A. Paula, J. O. Siqueira & J. Döbereiner : *Revista Brasileira Ciência Solo*, **17**, 349 (1993).
 - 29) K. Adachi, M. Nakatani & H. Mochida : *Soil Sci. Plant Nutr.*, **48**, 889 (2002).
 - 30) C. A. Asis & K. Adachi : *Lett. Appl. Microbiol.*, **38**, 19 (2003).
 - 31) M. Bacilio-Jiménez, S. Aguilar-Flores, M. V. del Valle, A. Pérez, A. Zepeda & E. Zenteno : *Soil Biol. Biochem.*, **33**, 167 (2001).
 - 32) C. Chaintreuil, E. Giraud, Y. Prin, J. Lorquin, A. Bâ, M. Gillis, P. de Lajudie & B. Dreyfus : *Appl. Environ. Microbiol.*, **66**, 5437 (2000).
 - 33) A. Elbeltagy, K. Nishioka, T. Sato, H. Suzuki, B. Ye, T. Hamada, T. Isawa, H. Mitsui & K. Minamisawa : *Appl. Environ. Microbiol.*, **67**, 5285 (2001).
 - 34) Y. Feng, D. Shen, X. Dong & W. Song : *Plant Soil*, **255**, 435 (2003).
 - 35) H. Rediers, V. Bonnetcarrière, P. B. Rainey, K. Hamonts, J. Vanderleyden & R. De Mot : *Appl. Environ. Microbiol.*, **69**, 6864 (2003).
 - 36) Y. G. Yanni, R. Y. Rizk, V. Corich, A. Squartini, K. Ninke, S. Philip-Hollingsworth, G. Orgambide, F. de Bruijn, J. Stoltzfus, D. Buckley, T. M. Schmidt, P. F. Mateos, J. K. Ladha & F. B. Dazzo : *Plant Soil*, **194**, 99 (1997).
 - 37) P. Gyaneshwar, E. K. James, N. Mathan, P. M. Reddy, B. Reinhold-Hurek & J. K. Ladha : *J. Bacteriol.*, **183**, 2634 (2001).
 - 38) K. Minamisawa, K. Nishioka, T. Miyaki, B. Ye, T. Miyamoto, M. You, A. Saito, M. Saito, W. L. Barraquio, N. Teamroong, T. Sein & T. Sato : *Appl. Environ. Microbiol.*, **70**, 3096 (2004).
 - 39) S. Ando, M. Goto, S. Meunchang, P. Thongra-ar, T. Fujiwara, H. Hayashi & T. Yoneyama : *Soil Sci. Plant Nutr.*, **51**, 303 (2005).
 - 40) B. Reinhold-Hurek & T. Hurek : *Trends Microbiol.*, **6**, 139 (1998).
 - 41) E. K. James : *Field Crops Res.*, **65**, 197 (2000).
 - 42) E. H. Cojho, V. M. Reis, A. C. G. Schenberg & J. Döbereiner : *FEMS Microbiol. Lett.*, **106**, 341 (1993).

くらしの中の化学と生物

日本農芸化学会 編

1 今話題のくすり 開発の背景と薬効

岩村 徹・荻野重男・松本和男・山田靖宙 編
四六・240頁・定価1680円 (本体1600円)

2 お酒のはなし 酒はいきもの

塚越規弘・栗山一秀・井上 喬 編
四六・240頁・定価1631円 (本体1553円)

3 ヒット食品開発の発想と技術

五十嵐脩・上野川修一 編
四六・224頁・定価1680円 (本体1600円)

4 世界を制覇した植物たち 神が与えたスーパーファミリー ソラナム

大山莞爾・天知輝夫・坂崎 潮 編
四六・302頁・定価1890円 (本体1800円)

5 ヒット化粧品 美を創る技術を解き明かす

岩村 徹・大場健吉・田中宗男・田原定明・樹田文八 編
四六・300頁・定価1890円 (本体1800円)

6 何を食ったらよいのか 氾濫する情報にふりまわされないために

杉本悦爾・伏木 亨・野口 忠・垣沼淳司・桐山修八 編
四六・170頁・定価1680円 (本体1600円)

7 遺伝子組換え食品 新しい食材の科学

大澤勝次・田中宥司 編
四六・320頁・定価1890円 (本体1800円)

8 人に役立つ微生物のはなし

羽柴輝良 編
四六・280頁・定価1890円 (本体1800円)

学会出版センター (Japan Scientific Societies Press, JSSP)