# 根粒菌は単独で窒素固定を行うのか

仲尾華暖・三原菜々美(兵庫県立三田祥雲館高等学校)

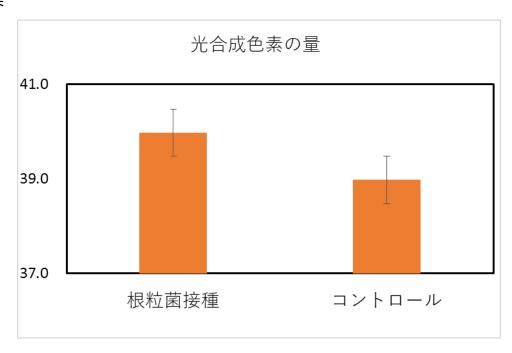
#### 序論

根粒菌はマメ科植物と共生し、窒素固定を行っている。すなわち根粒菌は宿主植物の根に根粒を形成し、その中で大気中の窒素からアンモニウムイオンを合成している。熊本県立八代清流高等学校の村添、緒方、安田らは蒸留水中で培養した根粒菌が単独で窒素固定を行い、その培養液が非マメ科植物の成長を促進することを示した(2015)。しかし根粒菌が窒素固定を行うためには宿主からエネルギー源となるグルコースをもらわなければならない。私たちは根粒菌が土壌の中で単独で窒素固定を行うのか疑問に思った。そこで本校の畑で栽培されたダイズより根粒菌を単離、培養してダイズに接種し、光合成色素への影響を調べた。また根粒菌培養液を加えた土壌で、アンモニウムイオン濃度が変化するのかをパックテストを使って調べることにした。私たちは根粒菌は単独では窒素固定をし、その結果、土壌中のアンモニウムイオン濃度が増加するのではないかと予想した。

## 実験 1

- (1) 培養チューブをオートクレープにかけて滅菌する
- ② ダイズ種子を 20 個用意し、そのうちの 10 個はさらし粉とエタノールで 5 分ずつ消毒する。 残りの 10 個は根粒菌の培養液を入れ、根粒菌を感染させる。
- ③ 操作②の種子を培養チューブに播種する。
- ④ 設定温度25度の人工気象器の中で約1か月育てる。
- ⑤ それぞれの葉の光合成色素の量を葉緑素計で測る。

# 結果

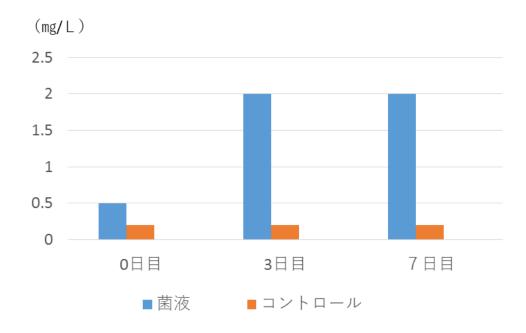


グラフの縦軸は波長 650 nm 付近の吸光度を示す。それぞれ 1 0株の平均値を示した。

## 実験2

- ① 本校の畑の土をビーカーにとり、滅菌し、根粒菌の菌液を加えたものと加えていないものを用意する。
- ② 土壌中のアンモニウムイオンをパックテストで測る。
- ③ 36℃で静置する。
- ④3日後と7日後のアンモニウムイオン濃度を測定する。

## 結果



グラフより何も操作をしていないビーカーでは変化が見られないのに対して、菌液を加えた土壌では3日間でアンモニウムイオン濃度が約4倍になっていることが分かった。

### 考察

本校の畑より単離した根粒菌は、実験1よりダイズの葉に含まれる光合成色素が増加していることから、葉の窒素含量が多くなることが確かめられた。

実験2より根粒菌を加えた土壌ではアンモニウムイオン濃度が増加した。しかし根粒菌が単独で窒素固定をした結果とは断定できない。なぜなら滅菌したとしても土壌中には死骸などの有機物が存在しており、根粒菌がそれらを分解してアンモニウムイオンが発生した可能性もあるためである。

根粒菌が土壌中で単独で窒素固定を行っているかどうかを調べるためには窒素固定の働きを直接測定する方法を考えなければならない。

実験2では、実験用に用意していた土が固まり、混ぜにくくなり、3回目の測定の時には上の方の土しか取れず、正確な数値を測ることができなかった。次は採取した土に水を一定量加え、泥状にしたうえでよく混ぜられるようにし、正確な数値が測れるようにしたい。また、得られた数値は肉眼で、色の指標見本と比較したが、デジタルカメラで撮影し、画像のRGB値を比較するなどより正確な数値を出したい。