

博士論文の要旨及び審査結果の要旨

氏名 NGUYEN VAN PHI HUNG  
 学位 博士 ( 農学 )  
 学位記番号 新大院博 ( 農 ) 第 134 号  
 学位授与の日付 平成 26 年 3 月 24 日  
 学位授与の要件 学位規則第 4 条第 1 項該当  
 博士論文名 Analysis of Nitrogen Fixation and Transport in Soybean (*Glycine max* (L.) Merr.) using Nitrogen Isotopes as Tracer  
 (窒素同位体トレーサー法を用いたダイズの窒素固定と輸送の解析)

論文審査委員 主査 教授・大山 卓爾  
 副査 教授・末吉 邦  
 副査 教授・高橋 能彦  
 副査 准教授・大竹 憲邦  
 副査 日本原子力研究開発機構 量子ビーム応用研究部門  
 グループリーダー・藤巻 秀

博士論文の要旨

ダイズ(*Glycine max* (L.) Merr. 品種 Williams)における窒素固定速度と固定窒素の初期移動について安定同位体の  $^{15}\text{N}$  標識窒素ガスを用いて追跡した。播種 36 日後 (栄養生長期) と 91 日後 (子実肥大期) において根粒が着生したダイズの根部に  $^{15}\text{N}_2$  を含む空気を 1 時間曝露した。曝露直後を 0 時間後とし、通常为非標識空気に戻して 1、3、7 時間後に植物をサンプリングした。植物乾物重あたりの 1 時間あたり窒素固定速度は、播種 36 日後に  $86\mu\text{g/g DW}$  で、播種 91 日後の  $19\mu\text{g/g DW}$  を上回った。播種 91 日の植物では、 $^{15}\text{N}_2$  曝露直後には、固定窒素の 90% が根粒に分布しており、根基部根粒が 78% と、根中間部根粒 12%、根端部根粒 0.1% より高かった。非標識の大気に戻してから、根粒の  $^{15}\text{N}$  は、90% から 7% に低下し、その分の  $^{15}\text{N}$  は、根 (14%)、茎 (54%)、葉 (12%)、莢 (10%)、子実 (4%) と特に茎に高く分布した。根端部に、固定窒素がほとんど分布しなかったことは、地上部から地下部への固定窒素の再循環が固定後 7 時間ではほとんど起きていないことを示した。

次に、ポジトロン放出核種である  $^{13}\text{N}$  標識窒素ガスを用いた窒素固定活性と移動の解析を日本原子力研究開発機構量子ビーム応用研究部門で実施した。当部門では、ポジトロン放出核種トレーサーイメージングシステム (PETIS) を用いて、植物体内のポジトロン放出核種の二次元分布を継時的に連続画像として追跡できる装置を開発した。根粒着生ダイズの根部に  $^{13}\text{N}_2$  を 10 分間投与した後、投与 20 分後に茎に放射能の分布が確認できた。本実験では、固定窒素の移動を初めて観察した。さらに、 $^{13}\text{N}_2$  投与後の植物を PETIS 測定後、イメージングプレートを用いたオートラジオグラフィで観察したところ、 $^{13}\text{N}$  が地上部を移動している様子が明瞭に観察された。放射能は、成熟葉にはほとんど移動しておらず、展開中の若い葉と頂芽に多く移行した。この結果は、これまで考えられていた様に、固定窒素は導管中を葉の蒸散流によって運搬されるだけでなく、茎の途中で導管から篩管に乗り換えて上部器官に移動していることを示唆した。これは、固定窒素の移動に関するこれまでの定説を覆す重要な発見である。

次に、根圏の酸素分圧による窒素固定と移動について、 $^{13}\text{N}_2$ と酸素濃度(0%、10%、20%)の混合ガスを、ダイズ地下部に曝露した。酸素濃度20%で最も高い窒素固定活性を示し、0%で最も低かった。根粒からの固定窒素の移行率を計算したところ、酸素濃度によらず一定であった。このことは、低酸素濃度は、窒素固定速度は低下させるが、その後の固定窒素の移動には影響を与えないことを示す。

#### 審査結果の要旨

論文審査委員会を開催し、論文へのコメント、意見交換を行い、本論文の特記すべき事項として、以下の点があげられた。

ダイズ(*Glycine max* (L.) Merr. 品種 Williams)における窒素固定速度と固定窒素の初期移動について安定同位体の $^{15}\text{N}$ 標識窒素ガスを用いて追跡した。播種91目の植物では、1時間の $^{15}\text{N}_2$ 曝露直後には、固定窒素の90%が根粒に分布していた。非標識の大気に戻してから、8時間後に葉、根粒の $^{15}\text{N}$ 分布は、90%から7%に低下し、その分の $^{15}\text{N}$ は、根(14%)、茎(54%)、葉(12%)、莢(10%)、子実(4%)と特に茎に高く分布した。

次に、ポジトロン放出核種である $^{13}\text{N}$ 標識窒素ガスを用いた窒素固定活性と移動の解析を日本原子力研究開発機構量子ビーム応用研究部門で実施した。ポジトロン放出核種レーザーイメージングシステム(PETIS)を用いて放射能の移動を観察した結果、根粒着生ダイズの根部に $^{13}\text{N}_2$ を10分間投与した後、投与20分後に茎に放射能の分布が確認できた。一方、硝酸とは異なり、成熟した下位葉には、ほとんど分布しなかった。このことから、固定窒素の主成分であるウレイド(アラントインとアラントイン酸)は、茎において導管から篩管に移動しているという新しい仮説を提出した。

本研究は、ダイズの窒素固定と固定窒素の移動について、新たな知見を得たものであり、高く評価される。また、本論文に記載されている内容の一部は、本人を筆頭著者とし *Soil Science and Plant Nutrition* 誌 59 巻、888-895 ページ (2013) に掲載された。

よって、本論文は、博士(農学)の学位論文として十分であると認定した。