

## 科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成25年6月5日現在

機関番号：82110  
 研究種目：若手研究（B）  
 研究期間：2011～2012  
 課題番号：23780264  
 研究課題名（和文）ポジトロンイメージングによるダイズ植物における窒素栄養動態解析  
 研究課題名（英文）Analysis of kinetics of nitrogen fixation in soybean plants by positron imaging system  
 研究代表者  
 石井 里美（ISHII SATOMI）  
 独立行政法人日本原子力研究開発機構・量子ビーム応用研究部門・研究員  
 研究者番号：10391286

研究成果の概要（和文）：ダイズ植物の根粒の行う窒素固定、及び固定された窒素化合物の移動をポジトロンイメージングによって非侵襲的、定量的に解析することを目的としている。以前、窒素固定を観察することができたが、放射エネルギーが不十分であったために固定窒素の移動は観察できなかった。そこで、高放射能、高純度の $^{13}\text{N}_2$ ガスを製造するための新しい方法を確立した。 $^{13}\text{N}_2$ ガスの製造時に残留する二酸化炭素を除去し、副生成物である $^{13}\text{N}_2\text{O}$ を還元し、高純度の $^{13}\text{N}_2$ ガスを100 MBq以上の収量で回収することができた。可能な新しい製造方法を確立した。また、このダイズ植物の根に投与し、ポジトロンイメージングを行った結果、根粒にシグナルが認められ、窒素固定、固定された窒素化合物の移動のイメージングを観察することができた。

研究成果の概要（英文）：Nitrogen is the most important nutrient for plants. Soybean plants can utilize nitrogen (N) from atmospheric  $\text{N}_2$  fixed by nodules which is symbiotic organ of leguminous plants with rhizobium.

The purpose of our study is to visualize and analyze the  $\text{N}_2$  fixation in the nodules and transport to the aerial part noninvasively and quantitatively. A much higher radioactivity of the tracer, more than 100 MBq, was required for visualization of the transport of fixed nitrogen to the aerial part. In this study, we started to develop a fully new production method to produce a tracer gas with high radioactivity and purity by reduction of  $\text{N}_2\text{O}$  to  $\text{N}_2$  directly.

The target  $\text{CO}_2$  gas was irradiated with proton ions as conventional methods to obtain  $^{13}\text{N}$  nuclide through the  $^{16}\text{O}(\text{p}, \alpha)^{13}\text{N}$  nuclear reaction. The irradiated gas was introduced to a line of the new purification system. The remaining  $\text{CO}_2$  was absorbed in soda-lime, and  $^{13}\text{N}_2\text{O}$ , a byproduct of the irradiation, was instantly reduced to  $^{13}\text{N}_2$  by heated Cu beads. The resultant pure  $^{13}\text{N}_2$  was mixed properly with nonradioactive  $\text{N}_2$ ,  $\text{O}_2$  and Ar. We fed the tracer gas to the underground part of soybean plants for 10 min and collected the serial images for one hour by PETIS. As a result, we finally obtained the image of transport to the aerial part successfully.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	3,200,000	960,000	4,160,000

研究分野：農学

科研費の分科・細目：農業工学・農業情報工学

キーワード：非破壊計測、ダイズ、根粒、窒素固定

### 1. 研究開始当初の背景

マメ科植物は根に根粒という器官を着生する。根粒は、窒素固定細菌の一種である根粒菌の感染により形成される。根粒は空気中の窒素を固定し、固定された窒素化合物を地上部へ輸送している。これは、マメ科植物の窒素栄養の獲得機構として主要なものであり、子実の収量を左右する重要な役割を果たしている。植物の地上部から輸送されてきた光合成産物は、根粒における窒素固定のエネルギー源として、さらに窒素化合物の炭素骨格として必要である。そのため、こうした根粒の機能は光条件などの環境要因に左右されやすい。したがって、窒素固定および固定された窒素化合物の輸送の環境応答性を定量的に理解し、栽培条件の最適化に応用することは農業生産の向上のために重要である。窒素固定や窒素化合物の地上部への輸送に関する研究は、これまで安定同位体である窒素 15( $^{15}\text{N}$ )を用いて行われてきた。しかし、安定同位体の計測には、植物体を分解する必要があり、光条件や土壌中の硝酸量等、さまざまな環境変化に対する窒素固定の応答の様子を、植物が生きたままの状態で連続的に観察することは不可能であった。この計画は窒素 13 標識窒素トレーサー ( $^{13}\text{N}_2$  トレーサー) と PETIS を用いて、生きた植物の根粒における窒素固定及び窒素化合物の輸送を連続的に観察し、環境への応答性を明らかにしようとするものである。本研究では、これまでの成果を更に発展させ、根粒の窒素固定及び窒素化合物の移行に対する定量的解析手法の開発と、窒素固定および窒素化合物の輸送の環境応答性に関する解析を目指す。

### 2. 研究の目的

ダイズ植物における根粒の窒素固定及び固定された窒素化合物の輸送は、光条件等の環境変化や栽培条件により多大な影響を受けることから、生育に必要な窒素栄養源及び子実の収量を十分に獲得する上で、これらの環境応答性を明らかにすることは極めて重要である。これまでに、ポジトロンイメージング技術により、根粒の窒素固定を非侵襲的に可視化することに世界で初めて成功している。本研究では、この技術をさらに発展させることにより、根粒の窒素固定及び窒素化合物の輸送の環境応答性を解析することを目的とする。固定された窒素化合物がダイズの葉や実へ移動する様子は観察できていなかったが、この移動を観察するためには、100 MBq 以上の  $^{13}\text{N}_2$  ガスが必要であると考えられる。これまでの精製方法では十分量の回収が困難であったため、本研究では、高純度の  $^{13}\text{N}_2$  ガスを

100 MBq 以上の収量で回収可能な新しい製造方法を確立することを試みた。

### 3. 研究の方法

$^{13}\text{N}_2$  ガスは、 $^{16}\text{O}(\text{p}, \alpha)^{13}\text{N}$  の核反応を利用して  $^{13}\text{N}$ (半減期 10 分) を製造した。CO<sub>2</sub> をターゲットチャンバーに充填し、18.3MeV の陽子ビームを 5 $\mu\text{A}$  で 10 分間照射した。照射済みのガスから二酸化炭素を取り除くために、ソーダライムを用いた。また、これまで問題となってきた不純物である  $^{13}\text{N}_2\text{O}$  を還元するために、600 度に熱した還元銅を用いた。ソーダライムを詰めた石英管を上流に、還元銅を詰めた石英管を下流に接続し、還元銅の管のみを電気炉で 600 度に熱するシステムを構築した (図 1)。このシステムに照射後のガスを通過させ、回収した。このガスの成分をガスクロマトグラフィーで分析し、放射エネルギーを測定した。

さらに、非放射性的酸素や窒素ガスを混合し、 $^{13}\text{N}_2$  ガストレーサーとした。ダイズ植物の根にガストレーサーを 10 分間投与し、水面を上昇させて追い出した後、ポジトロンイメージング装置によって撮像した。

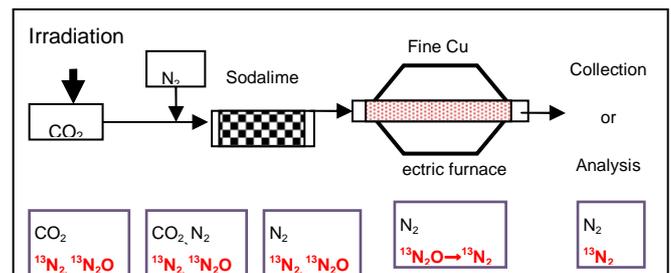


図 1 精製の概略図

CO<sub>2</sub> をターゲットとしてビームを照射し、ソーダライムを用いて未反応の二酸化炭素を除去した。その後、電気炉で 600 度に加熱した銅を通過させ回収した。一部は成分を同定するためにガスクロマトグラフィーに導入した。

#### 4. 研究成果

図1に示すようなシステムを構築し、これを用いて照射したガスの精製を行うことにより約100MBqの $^{13}\text{N}_2$ ガスを回収することができた。また、回収したガスの成分をガスクロマトグラフィーを用いて分析した結果、窒素のみのピークが認められ、 $\text{CO}_2$ 、 $^{13}\text{N}_2\text{O}$ のピークは認められなかった。(図2)

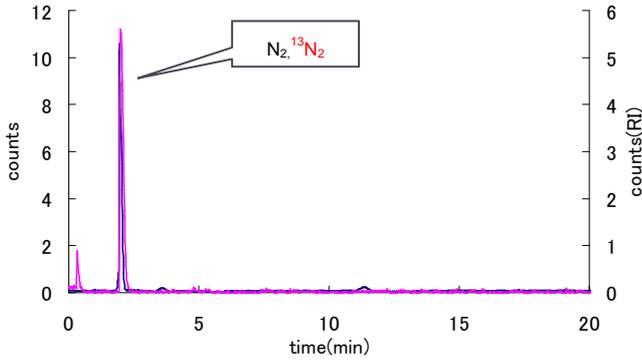


図2 精製したガスの分析結果

赤線:放射性成分、青線:非放射性成分

$\text{N}_2$  (2 min)のみが検出され、 $\text{CO}_2$  (12 min)や  $\text{N}_2\text{O}$  (17 min)は検出されなかった。

すなわち本精製方法により  $\text{CO}_2$  が除去され、 $^{13}\text{N}_2\text{O}$  が  $^{13}\text{N}_2$  に完全に還元されていることがわかった。

また、ダイズ植物の根に投与し、ポジトロンイメージングを行った結果、根粒に強いシグナルが認められるとともに、茎にも  $^{13}\text{N}$  シグナルが認められた。固定された窒素化合物の移動のイメージングに成功した(図3)。

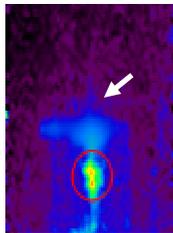


図3 ポジトロンイメージングの結果: 赤丸は根粒の部分を示す。白矢印は茎の位置を示す。

本製造方法で製造した高純度の  $^{13}\text{N}_2$  トレーサを用いて、固定された窒素化合物の移動のイメージングをおこない、この結果を元に、定量的な解析を進めていきたい。また、トレーサ投与時の空気の組成を変化させるなど、根粒の窒素固定の環境を変える実験を行い、根粒の窒素固定及び窒素化合物の輸送の環境応答性を解析していきたい。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 0 件)

[学会発表] (計 0 件)

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

○取得状況 (計 0 件)

[その他]

なし

6. 研究組織

(1)研究代表者

石井 里美 (ISHII SATOMI)

独立行政法人日本原子力研究開発機構・量子  
ビーム応用研究部門・研究員

研究者番号：10391286