

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 5 月 30 日現在

機関番号：12601

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2016

課題番号：15K18761

研究課題名(和文)植物体内における無機元素の輸送は道管と篩管のどちらが速いのか？

研究課題名(英文)Visualization of ion movements in plants

研究代表者

杉田 亮平 (Sugita, Ryohei)

東京大学・大学院農学生命科学研究科(農学部)・特任助教

研究者番号：60724747

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は、植物の道管、篩管における元素輸送の解析を目的とした、RIライブイメージング技術の高度化である。本研究では篩管流の働きを止め、道管流のみ働いている状態で元素輸送の解析を行った。その結果、シロイヌナズナの花茎におけるMg輸送は道管流が大きな割合を占めることを示せた。Pにおいては、輸送速度が半減した。さらには、道管輸送の解析を目的として、光が植物の輸送にどのような影響を与えるかを解析した。解析には $^{28}\text{Mg}$ 、 $^{32}\text{P}$ 、 $^{42}\text{K}$ 、 $^{45}\text{Ca}$ 、 $^{137}\text{Cs}$ を用いた。その結果、Pは水の流れに伴って輸送されること、Mg、K、CaおよびCsは水の流れに依存しないことを示された。

研究成果の概要(英文)：To understand ion movement in plants, we have been developing an live imaging system using radioisotopes. Each ion moves via xylem and phloem in plants. To understand ion transport mechanisms in plants, it is important to study xylem and phloem flow separately. So we tried to visualize only xylem flow using heat girdling treatment. The results show that magnesium was transported mainly via the xylem, while the phloem contribution is scarce. On the other hand, phosphate transport via the phloem was slower than via the xylem. As a second step, we tried to visualize only xylem flow in rice in dark conditions. Magnesium and calcium transport are not influenced by light. On the other hand, phosphate transport in shoot was sensitively influenced by light. This results show that phosphate was transported via the xylem and phloem. On the other hand, the phloem contributions of magnesium, potassium, calcium, and cesium are scarce.

研究分野：農芸化学

キーワード：イメージング RI ライブイメージング 元素輸送 RRIS

### 1. 研究開始当初の背景

根により吸収された養分元素は道管、篩管により植物体の隅々まで輸送・分配されるが、その分布様式は元素により様々である。これは、各植物組織において必要とする元素量がそれぞれ異なるためと考えられるが、分配がどのように制御されているかは未解明のままである。各元素がどのような経路で、どのくらいの量ならびに速さで輸送・分配されるのかを理解することは、分配の制御メカニズムの解明につながる。これらを解明するためには各元素の輸送を道管、篩管それぞれにおいて解析する必要があるが、基礎的なデータが不足している。道管輸送ならびに篩管輸送を解析する手段が限られているためである。従来、道管輸送の解析には、茎の基部側を切断し、切り口から漏れ出てきた溶液を採取することで行われてきた。ただし植物地上部を失うため、道管輸送に大きく関わる葉の蒸散が失われる。篩管輸送の解析には、吸汁昆虫が利用されてきた。篩管液を吸っている昆虫の口針をレーザー等で切り、口針の切り口から出てくる液を採取することで篩管液の解析ができる。ただし、口針が非常に微細なため、切り口から出てくる篩管液量は非常に少なく、篩管液の採取に時間を要する。これらの解析手法では、道管液や篩管液に含まれる各元素濃度を測定することはできるものの、輸送量、輸送速度を解析するには不向きである。

輸送動態の解析には、放射性同位体 (RI) を用いることで定量的かつ経時的に解析できるライブイメージングが強力なツールである。そこで本研究では、リアルタイム RI イメージングシステム (RRIS) を独自に開発してきた (Nakanishi et al., 2009 JRNC)。ライブイメージング装置は国内外を通じて数少ない。RRIS は線や軟 X 線等を検出することから、半減期が長い核種 ( $^{14}\text{C}$ ; 5700 年) の利用が可能である他、RI を市販での購入が可能であり、選択範囲が広い。それゆえ、実用化・汎用化でき

れば、多くの研究施設で導入可能である。

### 2. 研究の目的

本研究目的は、道管および篩管における元素の輸送速度の解析であり、道管輸送と篩管輸送を分別して可視化する技術の開発である。解析対象とする植物は、シロイヌナズナおよびイネであり、必須元素や有害元素など様々な核種を用い道管輸送、篩管輸送をそれぞれ可視化する。これらの多様な核種の可視化は、線や軟 X 線等を検出できる RRIS ならではの研究である。

### 3. 研究の方法

道管、篩管それぞれにおける輸送速度を解析するためには、道管輸送と篩管輸送とを分別する必要がある。RRIS の画像分解能はミリオーダーであり、道管輸送と篩管輸送とを分別して同時に撮影することができない。そこで以下の通り、2 種類の実験を行った。

#### (1) 篩管切除による道管流の解析

篩管を加熱処理により切除し、道管輸送のみを可視化した。加熱処理は半田ごてを用いた。篩管切除の検証には、主に篩管により輸送される  $^{14}\text{C}$  スクロースを用いた。

#### (2) 蒸散流の抑制による元素輸送解析

道管は主に水と養分を輸送し、その駆動力は根圧、および蒸散である。篩管は水と養分および光合成産物を輸送し、その駆動力は光合成産物であるスクロースの濃度勾配によるものである。すなわち蒸散および光合成は光の影響を大きく受ける。そこで道管流における 5 つの元素、Mg, P, K, Ca および Cs の輸送解析を目的として、RRIS を用いて  $^{28}\text{Mg}$ ,  $^{32}\text{P}$ ,  $^{42}\text{K}$ ,  $^{45}\text{Ca}$  および  $^{137}\text{Cs}$  の明環境から暗環境への変化に対する応答性を解析した。まず初めに、各 RI 添加後、消灯により明期 (0 h-5 h) から暗期 (5 h-10 h) に変え、 $^{28}\text{Mg}$ ,  $^{32}\text{P}$ ,  $^{42}\text{K}$ ,  $^{45}\text{Ca}$  および  $^{137}\text{Cs}$  の動態を可視化した。次に、植物地上部および根における RI 量の経時的变化を解析するため、取得した画像を基に、各植

物個体の地上部および根それぞれの RI 量を算出し、消灯を行った RI 吸収開始後 5 h を 1 とした相対値としてグラフを作成した。さらには、明期(3 h-5 h)、および暗期(5 h-7 h)における検量線の傾きを算出した。

#### 4. 研究成果

(1) まず始めに加熱処理により篩管流が止まること、篩管流を止めても植物が生育している、つまり道管流は機能を維持していることを確認した。具体的には、花茎を加熱処理したシロイヌナズナのロゼット葉のみに  $^{14}\text{C}_2$  を添加し、加熱処理より上部に  $^{14}\text{C}$  光合成産物が輸送されるかを解析した。その結果、加熱処理部位より上部全域において  $^{14}\text{C}$  光合成産物は検出されなかった。そこで、同様の加熱処理を行ったシロイヌナズナの根に  $^{28}\text{Mg}$ 、および  $^{32}\text{P}$  を添加し、RRIS にて撮像した(図 1)。その結果、 $^{28}\text{Mg}$  においては輸送にほとんど影響は見られず、Mg の輸送はほとんどが道管経路であることが示された。一方で  $^{32}\text{P}$  においては輸送速度が半減することが示された(図 2)。

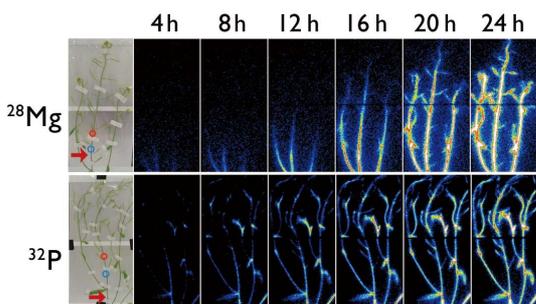


図 1  $^{28}\text{Mg}$  および  $^{32}\text{P}$  における道管輸送。赤矢印は加熱処理による篩管切除部位を表す

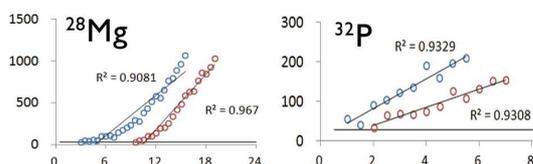


図 2  $^{28}\text{Mg}$  および  $^{32}\text{P}$  蓄積解析  
青丸：道管+篩管、赤丸：道管のみ

(2) 蒸散流の抑制による元素輸送解において、 $^{137}\text{Cs}$  は根においては消光からの増加がほとんど見られず、検量線の傾きは照射に比べて優位に減少した(図 3 a, 4 a)。一方で shoot においては消光による影響はなく、増加し続けた。この結果から、セシウムは根における吸収過程においては光の影響を大きく受ける一方で、植物体内に吸収された後の輸送に関しては光の影響を受けないことが示唆された。K においては shoot および root ともに消光による影響は見られなかった(図 3 a, 4 a)。 $^{45}\text{Ca}$ 、 $^{28}\text{Mg}$  においても shoot および root ともに消光による影響は見られなかった(図 3 bd, 4 bd)。 $^{32}\text{P}$  においては、消光による反応は速やかであり、shoot および root ともに蓄積が抑制された(図 3 c, 4 c)。消光による蒸散の応答は分単位レベルであることから、 $^{32}\text{P}$  の輸送に蒸散は大きく影響していることが予想された。そこで、蒸散量を測定した結果、消灯後 5h 目には、光をつけていた場合と比較して 57%減少した。つまり、植物体内での元素輸送において、P は水の流れに伴って輸送されている一方で、Mg, Ca, K および Cs の輸送は水の流れに影響を受けないと考えられる。なお、 $^{45}\text{Ca}$  においては、 $^{45}\text{Ca}$  添加後 3h からはほとんど根のシグナル値は増加しなかった(図 4 d)。この結果は、根から吸収された  $^{45}\text{Ca}$  と根に存在する  $\text{Ca}^{2+}$  の入れ替わりが早いことが考えられる。さらには、地上部においては継続的に増加していることから、余剰の  $^{45}\text{Ca}$  が地上部へ輸送されていると考えられる。

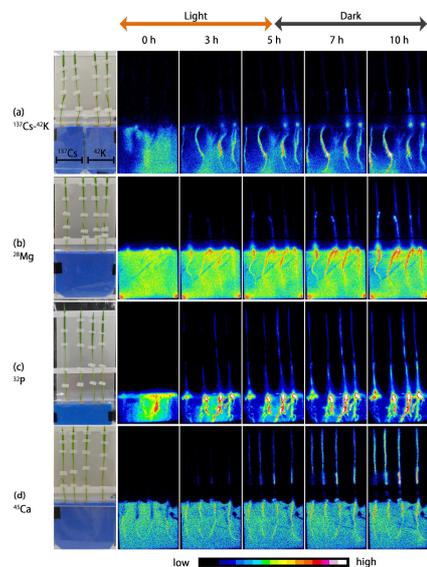


図3 光の有無による輸送動態の影響。  
各RI添加後0-5 hは光を照射し、5 h-10 h  
は消光環境下で撮影した。

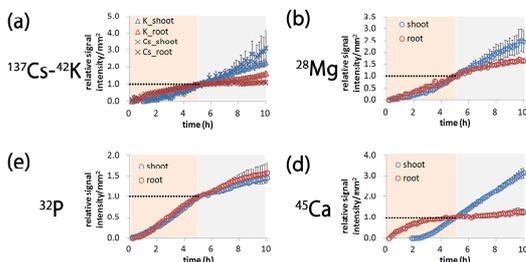


図4 地上部および根における各核種の経時的変化  
図3を基に(a)  $^{137}\text{Cs}$  および  $^{42}\text{K}$ , (b)  $^{28}\text{Mg}$ , (c)  $^{32}\text{P}$ ,  
(d)  $^{45}\text{Ca}$  における蓄積量を算出した。

シグナル値は核種添加後5h目を1とした相対値  
本研究では、RRISを用いて、道管流のみの元  
素輸送の可視化技術の構築による、道管流、  
篩管流における元素輸送の解析、光量の変化  
に応じた元素輸送を解析し、上記の知見を得  
ることができた。

## 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 2件)

Sugita, R.; Kobayashi, N.I.; Hirose,  
A.; Iwata, R.; Suzuki, H.; Tanoi, K;  
Nakanishi, T.M, Visualization of how

light changes affect ion movement in  
rice plants using a real-time  
radioisotope imaging system, Journal  
of Radioanalytical and Nuclear  
Chemistry, 査読有, 312, 2017, 717-723  
DOI: 10.1007/s10967-017-5193-2

Sugita, R.; Kobayashi, N.I.; Hirose,  
A.; Saito, T.; Iwata, R.; Tanoi, K.;  
Nakanishi, T. M, Visualization of  
Mineral Elements Uptake and the  
Dynamics of Photosynthates in  
Arabidopsis by a Newly Developed  
Real-Time Radioisotope Imaging System  
(RRIS), Plant and Cell Physiology, 査  
読有, 57, 2016, 743-753

DOI: <https://doi.org/10.1093/pcp/pcw>  
056

[学会発表](計 8件)

杉田 亮平; 小林 奈通子; 廣瀬 農; 田  
野井 慶太郎; 中西 友子, 放射性同位  
元素を利用した植物体内イオンのライ  
ブイメージング, 第11回NIBBバイオイ  
メージングフォーラム, 2017年2月14  
日-2017年2月15日, 基礎生物学研究所  
(愛知県岡崎市)

Sugita R.; Kobayashi N. I.; Hirose A.;  
Tanoi K.; Nakanishi T.M,  
Visualization of Mineral Elements  
movement and the Dynamics of  
Photosynthates in Plants by a Newly  
Developed Real-Time Radioisotope  
Imaging System (RRIS), The 17th  
International Workshop on Plant  
Membrane Biology (IWPMB2016), 2016  
年6月5日-6月10日, Maryland (USA),  
Sugita R.; Kobayashi N. I.; Hirose A.;  
Iwata R.; Tanoi K.; Nakanishi T.M,  
VISUALIZATION OF THE UPTAKE OF THE  
ELEMENTS AND THE DYNAMICS OF  
PHOTOSYNTHATES DERIVED FROM  $^{14}\text{CO}_2$  IN  
PLANTS BY REAL-TIME RADIOISOTOPE  
IMAGING SYSTEM, The 1st International  
Conference on Radioanalytical and  
Nuclear Chemistry (RANC-2016), 2016  
年4月10日-4月15日, Budapest  
(Hungary)

杉田 亮平; 小林 奈通子; 廣瀬 農; 田  
野井 慶太郎; 中西 友子, 非破壊 RI イ  
メージングによる植物中元素動態の可  
視化, 日本土壌肥料学会 2015年度京都

大会, 2015 年 9 月 9 日, 京都大学(京都府京都市)  
杉田 亮平; 小林 奈通子; 菅野 里美;  
廣瀬 農; 田野井 慶太郎; 中西 友子,  
リアルタイム RI イメージングシステム  
を用いた植物根における元素輸送解析,  
第 52 回アイソトープ・放射線研究発表会,  
2015 年 7 月 9 日, 東京大学(東京都文京区)

〔その他〕

ホームページ

<http://park.itc.u-tokyo.ac.jp/radio-plantphys/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

杉田 亮平 (SUGITA, Ryohei)

東京大学・大学院生命科学研究科・特任助教

研究者番号: 60724747