様　式　Ｃ－１９、Ｆ－１９、Ｚ－１９　（共通）

科研費 KAKENHI

科学研究費助成事業　　研究成果報告書

平成２６年　６月　５日現在

機関番号：８２１１０
研究種目：基盤研究(B)
研究期間：2011～2013
課題番号：２３３８０１５５

研究課題名（和文）作物根による物質吸収と分泌のリアルタイム画像化と定量的解析システムの開発

研究課題名（英文）Development of real-time imaging and quantitative analysis system on nutritional absorption and excretion by crop plant root

研究代表者
藤巻　秀（Fujimaki, Shu）

独立行政法人日本原子力研究開発機構・原子力科学研究部門・量子ビーム応用研究センター・グループリーダー

研究者番号：２０３５４９６２

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費）　14,900,000円、（間接経費）　4,470,000円

研究成果の概要（和文）：　根系による物質吸収と根からの物質分泌は、農業生産にとって最も重要な機能であるにもかかわらず、土中にあるため、従来、その機能を観測・解析することは困難であった。
　本課題では、ポジトロンイメージング等のラジオアイソトープ（RI）イメージング技術を基盤として、根と近傍領域のRIの撮像技術、動画像解析技術などを新たに開発することにより、こうした根の機能を動画像データとして捉え、定量的に解析評価する手法を確立した。さらにそれを利用してカドミウムやセシウム等の吸収や有機物の分泌に関する根の重要な機能や性質を解析・解明することに成功し、本手法が植物機能・農学の研究に効果的であることを示した。

研究成果の概要（英文）：　The nutritional absorption and excretion by plant root systems are one of the most important functions for agriculture; however, they are usually hidden under the ground and hardly analyzed by direct observations.
　In this study, novel methods of live imaging and kinetic analysis of absorption / excretion by the root were developed based on current radiotracer imaging technologies such as PETIS. Moreover, some important nutritional features and functions of plant root have been elucidated by using the established methods. For example, cadmium absorption by oilseed rape plants was directly observed using the newly developed root-zone imaging method, and we found that treatment of glutathione, a common tripeptide in a wide variety of organisms, onto the root induces cadmium excretion to the nutrient solution and thus suppresses cadmium uptake to the aboveground parts. These results demonstrated that our new methods are highly promising in the plant and agricultural sciences.

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　ポジトロンイメージング　PETIS　ガンマカメラ　根圏　吸収　分泌　元素動態

１．研究開始当初の背景

作物根の吸収と分泌、すなわち土壌中の養分あるいは有害物質を組織内に取り込み地上部に移行させる機能と、逆に根から土壌中に有機物等を分泌する機能こそは、農業上最も重要な植物機能であり、近年では、そのメカニズムを担うトランスポーター遺伝子等も明らかにされつつある。しかしながら、実際の根と近傍領域（根圏）における物質の動きを直接的・非破壊的に観測し、解析することとは、対象が地下部にあるため、極めて困難であった。

一方、我々のグループでは、炭素や窒素、カドミウム等の農業上重要な元素を対象に、その植物体内での移行をラジオアイソトープ（RI）を利用して非破壊的に観測する植物ポジトロンイメージング技術（PETIS）の開発・改良と、それを利用した植物研究を十年以上にわたって進めており、この分野で世界をリードしてきた。そこで本研究課題では、PETIS 等を応用して地下部における根の吸収／分泌機能を直接観測・解析する技術を開発することを着想した。ただし、従来、こうした RI 分布を撮像する研究において、RI トレーサを大量に投与する水耕培地と根系の領域は鉛ブロック等で遮蔽し、地上部のみを観測するのが常であったため、技術的な転換が必要とされた。

また、研究開始直前に東京電力福島第一原発事故が発生し、根の吸収機能を観測・解析すべき農業上重要な物質として放射性セシウムが加わった。しかし、PETIS でセシウム 137 を計測することは原理的に不可能であるため、植物根による放射性セシウムの吸収を画像化・解析するための新しい技術が必要とされた。

２．研究の目的

本研究課題では、生きたままの植物体の根組織と近傍領域における物質移動を非破壊的に動画像として捉え、作物の根による物質吸収と根からの物質排出（分泌）を定量的に解析する研究手法を確立することを目的とした。そのため、具体的には以下を行うこととした。

(1) 植物への RI トレーサの投与と、根の吸収／分泌の PETIS による計測と解析の手法を確立する。

(2) セシウム 137 の経根吸収を画像化可能な新しい計測技術を開発する。

(3) 技術のデモンストレーションとして、植物機能に関する具体的知見を得る。

３．研究の方法

上記の目的に対応して、次のような開発と研究を行った。

(1)①土壌と植物体地下部を保持しながら、植物の栽培とＲＩトレーサの投与、さらに画像化を可能にする「根箱装置」の設計と製作を行った。

②根系からの有機物分泌の画像化のため、茎葉部への効率的な C-11 標識二酸化炭素トレーサの自動投与を可能にする「トレーサガス供給システム」の設計と製作を行った。

(2)セシウム 137 の分布の画像化が可能な「植物用ガンマカメラ」の開発と植物実験を行った。

(3)カドミウムの経根吸収に対して、施肥や薬剤投与などの栽培条件が及ぼす影響を定量的に明らかにするため、特定の条件下における植物の水耕培地からのカドミウム吸収の様子を PETIS で直接撮像し、動画像データを解析した。

４．研究成果

(1) 植物への RI トレーサの投与と、根の吸収／分泌の PETIS による計測と解析の手法の確立

根と近傍土壌の直接撮像技術の構築のため、土壌と植物体地下部を保持しながら、植物の栽培とＲＩトレーサの投与、さらに画像化を可能にする「根箱装置」を開発した。複数種類の装置を設計し、アクリルなどを材料として製作し、これらを用いて植物体の土耕栽培を実施するなどして検討を重ねた結果、根系と土壌を簡単に分離可能なタイプの装置を完成した。また、植物体地上部への正確で安全かつ効率的な C-11 標識二酸化炭素トレーサの供給を可能にするため、「トレーサガス供給システム」の配管等のデザインを行い、実機を試作した。実証試験として、ダイズを栽培し根箱装置内で根系を発達させた後、トレーサガス投与システムによってダイズの葉に C-11 標識二酸化炭素トレーサを投与する実験を行った。その結果、ダイズの地上部から根系への光合成産物の移行と分配について、基部・主根・側根といった領域別に解析可能な動画像として得ることに成功し、さらに、根箱中の土壌から根系を分離することによって、根系から土壌中へ放出された有機物の分布を画像化することにも成功した（図 1）。

図１　（左）根箱装置、（中）根系への炭素転流、（右）土壌への分泌

画像データを解析した結果、光合成産物の供給量に対する有機酸等の分泌量の割合を、根系部位別に明らかにすることができた。これは、葉で固定された炭素が根系の特定の部分から有機酸等として分泌されるまでの過程を動画像データから定量的に追跡した世界初の成果であり、本報告書の作成時点において論文投稿準備中である。

(2) セシウム 137 の経根吸収を画像化可能な新しい計測技術の開発

医療分野で広く利用されているガンマカメラを元に、セシウム 137 由来の比較的高エネルギーで透過力の強いガンマ線に対応し、かつ、植物の根、葉などの器官の形状がある程度判別可能な画質を有する「植物用ガンマカメラ」を、神戸高専山本誠一教授（現・名古屋大学）と大阪大学渡部浩司准教授（現・東北大学）の協力を得て試作した（図 2）。これを用いて、セシウム高集積性植物の一種であるオオイタドリを用いて、放射性セシウムの経根吸収のイメージング実験を行い、動画像データから経根吸収の率を算出することに成功した（図 3）。その後、他の研究資金を得て、本試作機を元に、経根吸収に限定せず地上部各器官も観測することを目的とした、より視野が広く画質の良い改良型装置を開発・製作した。これにより、現在までにダイズ子実への放射性セシウムの移行の動態解析に成功している。この成果は国際植物栄養会議（イスタンブール、平成 25 年 8 月）で発表し、また、本報告書の作成時点において論文投稿準備中である。

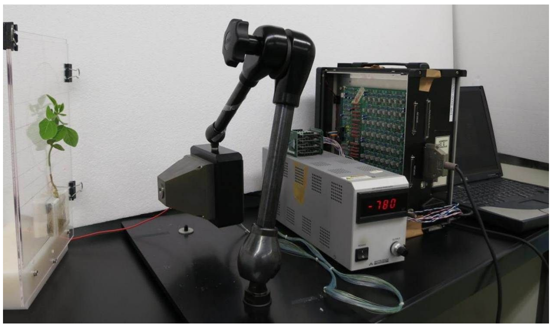

図 2　植物用ガンマカメラ試作機

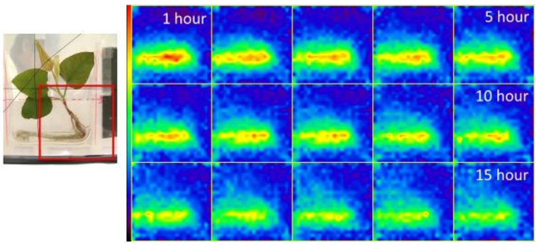

図 3　（左）供試植物（オオイタドリ）、（右）セシウム 137 の経根吸収の連続画像

(3) 開発技術を応用した植物機能の研究

植物根系への物質吸収過程を直接的にイメージングし、動画像解析により植物機能を明らかにする研究として、カドミウムを対象として以下の 3 件の課題を重点的に推進し、成果の論文発表を行った。

①生物界に広く存在するトリペプチドであるグルタチオンをアブラナの根に投与すると、カドミウムの地上部への吸収・移行が抑制されることを直接イメージングによって示した（図 4）。動画像データの解析により、吸収させたカドミウムの一部が根系から培地中に放出されるという現象も見出し、これが移行抑制のメカニズムの一つとして考えられると結論した。

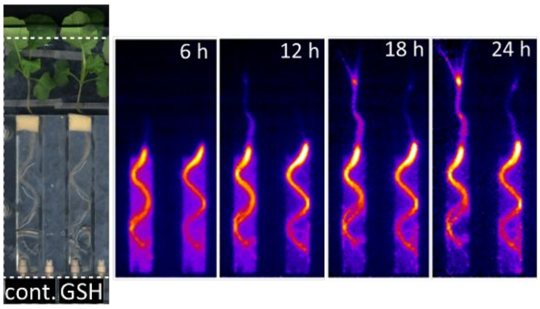

図 4　（左）アブラナ（対照区と GSH: グルタチオン投与区）、（右）経根吸収イメージングの連続画像

②重金属を高度に集積する植物である「セダム」を利用して、重金属で汚染された農地を浄化する研究が中国の研究機関によって行われている。セダムによるカドミウムの経根吸収と地上部への移行は、窒素肥料としてアンモニア態よりも硝酸態を施用した方が大幅に促進されることを、イメージングによって明らかにした（図 5）。

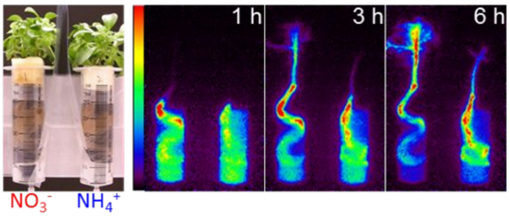

図 5　（左）セダム（硝酸態施用区とアンモニア態施用区）、（右）経根吸収イメージングの連続画像

③カドミウム超集積植物として知られるヘビノネゴザについて、体内のカドミウム輸送機構が機能するにはカドミウムと栄養元素が同時に吸収されることが必須であることなどを経根吸収イメージング解析によって証明した（図 6）。

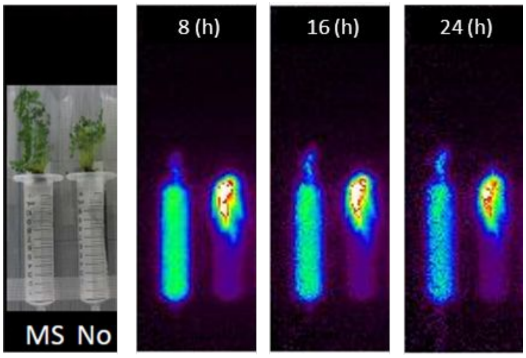

図 6　（左）ヘビノネゴザ（MS: 完全培地投与区と No: $CaCl_2$ 液のみの投与区）、（右）経根吸収イメージングの連続画像

以上、本研究課題開始時に掲げた「生きたままの植物体の根組織と近傍土壌における物質移動を動画像として捉え、作物の根の栄

養機能を定量解析するリアルタイムイメージング技術を確立する」という目標は、達成できたと考えている。

５．主な発表論文等

〔雑誌論文〕（計 5 件）

① Yoshihara, T., Suzui, N., Ishii, S., Kitazaki, M., Yamazaki, H., Kitazaki, K., Kawachi, N., Yin, Y.-G., Ito-Tanabata, S., Hashida, S.-n., Shoji, K., Shimada, H., Goto, F. and Fujimaki, S. (2013) A kinetic analysis of cadmium accumulation in a Cd hyper-accumulator fern, *Athyrium yokoscense*, and tobacco plants. *Plant Cell Environ.* **37**,1086-1096. 査読有 DOI: 10.1111/pce.12217

② Hu, P., Yin, Y.-G., Ishikawa, S., Suzui, N., Kawachi, N., Fujimaki, S., Igura, M., Yuan, C., Huang, J., Li, Z., Makino, T., Luo, Y., Christie, P. and Wu, L. (2013) Nitrate facilitates cadmium uptake, transport and accumulation in the hyperaccumulator *Sedum plumbizincicola*. *Environ. Sci. Pollut. Res.* **20**: 6306-6316. 査読有 DOI: 10.1007/s11356-013-1680-3

③ Nakamura, S., Suzui, N., Nagasaka, T., Komatsu, F., Ishioka, N.S., Ito-Tanabata, S., Kawachi, N., Rai, H., Hattori, H., Chino, M. and Fujimaki, S. (2013) Application of glutathione to roots selectively inhibits cadmium transport from roots to shoots in oilseed rape. *J. Exp. Bot.* **64**: 1073-1081. 査読有 DOI:10.1093/jxb/ers388

④ 鈴井　伸郎 (2013), 植物における放射性カドミウムの非破壊イメージング, *Radioisotopes* **62**, 61-63. 査読有

⑤ 尹　永根, 河地　有木(2012), 土壌－植物系における放射性セシウム動態のイメージング, 放射線と産業 **132**, 7-11. 査読無

〔学会発表〕（計 19 件）

① S. Fujimaki, Live-Imaging Technologies at Center Stage: Can They Provide Practical Answers in Plant Nutrition?, 8th International Conference on Isotopes（招待講演）, 2014 年 08 月 24 日～2014 年 08 月 29 日, Hyatt Regency Chicago（アメリカ・シカゴ）

② 藤巻　秀、植物ポジトロンイメージング（PETIS）の技術的概観、日本植物生理学会シンポジウム「ライブイメージング：RI が教えてくれる植物の元素動態」(招待講演)、2014 年 03 月 18 日、富山大学五福キャンパス（富山市）

③ 鈴井　伸郎、ＲＩイメージング技術を用いた植物体内におけるカドミウムの動態解析、第３１回 土・水研究会（招待講演)、2014 年 02 月 26 日、つくば国際会議場(つくば市)

④ 尹　永根、鈴井　伸郎、河地　有木、石井里美、小柳　淳、信濃　卓郎、藤巻　秀、ダイズ根系が根圏土壌へ分泌した有機物の可視化と定量解析、日本土壌肥料学会 2013 年度名古屋大会、2013 年 09 月 11 日～2013 年 09 月 13 日、名古屋大学東山キャンパス（名古屋市）

⑤ 鈴井　伸郎、石川　覚、伊藤　小百合、石井　里美、井倉　将人、安部　匡、倉俣　正人、河地　有木、藤巻　秀、根圏イメージングによるカドミウム動態のイネ品種間差の解析、日本土壌肥料学会 2013 年度名古屋大会、2013 年 09 月 11 日～2013 年 09 月 13 日、名古屋大学東山キャンパス（名古屋市）

⑥ 中村　進一、鈴井　伸郎、尹　永根、石井里美、河地　有木、頼　泰樹、服部　浩之、藤巻　秀、根に与えたグルタチオンが植物体内のカドミウム分配に及ぼす影響、日本土壌肥料学会 2013 年度名古屋大会、2013 年 09 月 11 日～2013 年 09 月 13 日、名古屋大学東山キャンパス（名古屋市）

⑦ 藤巻　秀、河地　有木、尹　永根、鈴井　伸郎、石井　里美、渡部　浩司、山本　誠一、植物体における放射性セシウム動態のガンマカメラを用いたイメージング、日本土壌肥料学会 2013 年度名古屋大会、2013 年 09 月 11 日～2013 年 09 月 13 日、名古屋大学東山キャンパス（名古屋市）

⑧ S. Fujimaki, N. Kawachi, Y.-G. Yin, N. Suzui, S. Ishii, H. Watabe, S. Yamamoto, Live-imaging of Radiocesium Transport in Plants, 17th International Plant Nutrition Colloquium, 2013 年 08 月 19 日～2013 年 08 月 22 日, Istanbul Convention and Exhibition Center（トルコ・イスタンブール）

⑨ N. Suzui, S. Ishikawa, S. Ito-Tanabata, S. Ishii, M. Igura, T. Abe, M. Kuramata, N. Kawachi, S. Fujimaki, Direct imaging and analysis of root uptake for cadmium using ^{107}Cd, 17th International Plant Nutrition Colloquium, 2013 年 08 月 19 日～2013 年 08 月 22 日, Istanbul Convention and Exhibition Center（トルコ・イスタンブール）

⑩ S. Nakamura, N. Suzui, Y.-G. Yin, S. Ishii, N. Kawachi, H. Rai, H. Hattori, S. Fujimaki, Effects of glutathione, applied to roots specifically, on Cd behavior in oilseed rape plants, 17th International Plant Nutrition Colloquium, 2013 年 08 月 19 日～2013 年 08 月 22 日, Istanbul Convention and Exhibition Center（トルコ・イスタンブール）

⑪ 藤巻　秀、植物体内の養分と有害物質の動きを画像化する「放射線イメージング技術」、東京理科大学基礎工学部公開セミナー（招待講演）、2013 年 07 月 19 日、東京理科大学葛飾キャンパス（東京都葛飾区）
⑫ 藤巻　秀、鈴井　伸郎ら、培地－根－地上部におけるカドミウム動態のライブイメージング、日本土壌肥料学会 2012 年 09 月 05 日～2012 年 09 月 05 日、鳥取大学（鳥取市）
⑬ 小柳　淳ら、ポジトロンイメージング技術を用いた幼少期シロイヌナズナにおける光合成産物の転流解析、日本土壌肥料学会 2012 年 09 月 05 日～2012 年 09 月 05 日、鳥取大学（鳥取市）
⑭ 井倉　将人ら、カドミウム極低コシヒカリ変異体のカドミウム吸収特性　－ポジトロンイメージング解析と吸収速度論解析－、日本土壌肥料学会 2012 年 09 月 05 日～2012 年 09 月 05 日、鳥取大学（鳥取市）
⑮ 河地　有木、尹　永根、鈴井　伸郎、石井里美、渡部　浩司、山本　誠一、藤巻　秀、ガンマカメラを用いた植物中放射性セシウムイメージングの試み、日本土壌肥料学会 2012 年 09 月 05 日～2012 年 09 月 05 日、鳥取大学（鳥取市）
⑯ 中村　進一、鈴井　伸郎、近藤　ひかり、河地　有木、尹　永根、石井　里美、頼　泰樹、服部　浩之、藤巻　秀、植物体の地上部へのカドミウムの移行と蓄積を抑制するグルタチオンの効果、日本土壌肥料学会 2012 年 09 月 05 日～2012 年 09 月 05 日、鳥取大学（鳥取市）
⑰ 藤巻　秀、土壌-植物系における放射性セシウムの動態の解析への取り組み、平成 24 年春季第 59 回応用物理学関係連合講演会シンポジウム（招待講演）、平成 24 年 3 月 15 日、早稲田大学（東京都）
⑱ 藤巻　秀、目に見えない放射線を測る技術、可視化する技術、その農地汚染問題への応用、文科省特別研究プロジェクト・しもつけバイオクラスターフォーラム「北関東の農耕地における放射性物質汚染の現状と対策」（招待講演）、平成 24 年 2 月 21 日、宇都宮大学（栃木県）
⑲ 藤巻　秀、放射性降下物の土壌から植物への移行解析と土壌浄化への取り組み、第６回高崎量子応用研究シンポジウム、平成 23 年 10 月 13 日、高崎シティギャラリー（群馬県）

〔その他〕
ホームページ等
① 独立行政法人日本原子力研究開発機構ＲＩイメージング研究グループ・ホームページ
http://www.taka.jaea.go.jp/rab_div/pnr/index_j.html
② 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（H26 年 4 月より量子ビーム応用研究センター）研究年報 "Annual Report QuBS 2013",
http://qubs.jaea.go.jp/annual/index.html

６．研究組織
(1) 研究代表者
藤巻　秀（FUJIMAKI, Shu）
独立行政法人日本原子力研究開発機構・原子力科学研究部門・量子ビーム応用研究センター・グループリーダー
研究者番号：２０３５４９６２

(2) 研究分担者
中村　進一（NAKAMURA, Shin-ichi）
秋田県立大学・生物資源科学部・准教授
研究者番号：００３２２３３９

信濃　卓郎（SHINANO, Takuro）
独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構・福島研究拠点農業放射線研究センター・センター長
研究者番号：２０２３５５４２

鈴井　伸郎（SUZUI, Nobuo）
独立行政法人日本原子力研究開発機構・原子力科学研究部門・量子ビーム応用研究センター・研究副主幹
研究者番号：２０３９１２８７

(3) 連携研究者
河地　有木（KAWACHI, Naoki）
独立行政法人日本原子力研究開発機構・原子力科学研究部門・量子ビーム応用研究センター・研究副主幹
研究者番号：７０４１４５２１

石井　里美（ISHII, Satomi）
独立行政法人日本原子力研究開発機構・原子力科学研究部門・量子ビーム応用研究センター・研究員
研究者番号：１０３９１２８６

尹　永根（YIN, Yong-Gen）
独立行政法人日本原子力研究開発機構・原子力科学研究部門・量子ビーム応用研究センター・博士研究員
研究者番号：５０６０９７０８