

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 5 月 16 日現在

機関番号：82502

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26511011

研究課題名(和文) イネのセシウム吸収変異体の解析と原因遺伝子同定

研究課題名(英文) Analysis of rice mutants with altered cesium absorbing ability and identification of responsible genes

研究代表者

長谷 純宏 (Hase, Yoshihiro)

国立研究開発法人量子科学技術研究開発機構・高崎量子応用研究所 放射線生物応用研究部・上席研究員(定常)

研究者番号：70354959

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：炭素イオンビーム照射由来のイネの変異集団から、水耕栽培によりセシウム吸収能力の異なる変異体を選抜した。選抜条件の最適化、後代でのガンマカメラによる放射性セシウム動態の撮像、ポット栽培した植物体の藁及び籾に含まれる非放射性セシウム量の評価を行った。No.312系統は野生型に比べてセシウム吸収量が低い可能性が示唆されたが、明確なデータを得るには至らなかった。

研究成果の概要(英文)：Rice mutants with altered cesium absorbing ability were screened from mutagenized population by carbon-ion irradiation. Optimization of screening condition, imaging analysis of radiocesium transport by the gamma camera, evaluation of the amount of non-radioactive cesium in straw and rice grain of the progeny plants grown in pots, were performed. Although clear evidence was not obtained, No.312 strain was suggested to have a reduced cesium absorbing ability than the wild type.

研究分野：放射線遺伝育種学

キーワード：セシウム イネ 突然変異 イオンビーム

### 1. 研究開始当初の背景

東日本大震災に伴う東京電力福島第一原発の事故により、福島県を中心として広範囲の土地が放射性降下物によって汚染された。特に問題となるのは半減期の長い放射性セシウムである。震災以降、特にイネへの放射性セシウムの移行について多くのデータが積み重ねられ、カリウムを適切に施肥することによってセシウムの吸収を効果的に抑制できることが示された。しかしながら、植物のセシウム吸収・輸送に関わる遺伝子についての知見は依然として少なく、セシウム低吸収性の作物が作出された実例もない。植物のセシウム吸収機構を理解し、セシウム低吸収性の遺伝資源を作出することは、放射性セシウムの移行低減に対する更なる安全対策ならびに「カリウム施肥をいつまで続けなければならないのか？」という問題の解決に貢献するものと考えられる。

### 2. 研究の目的

研究代表者は、イオンビーム照射によってイネのセシウム低吸収性変異体及び高吸収性変異体を一次選抜した。本研究ではこれらの変異体の生理学的特性をイメージング技術等を用いて解析するとともに原因遺伝子の同定を進めることを目的とする。

### 3. 研究の方法

コシヒカリの種子に量子科学技術研究開発機構高崎量子応用研究所のイオン照射研究施設において 320 MeV 炭素イオンビームを 40 Gy 照射した。これらの種子を温室で育成し、個体毎に次世代の種子 (M2 系統) を採種した。

水耕栽培によって安定セシウム (非放射性セシウム) の吸収能力を評価するため、底に穴を開けた 96 穴プレートに胚が上側になるようにイネ種子を配置し、発泡スチロールを取り付けて水面に浮かぶようにした上で、水道水で 10 日間、室温で発芽させた。各 M2 系統について 8 粒の種子を使用した。播種後 10 日目から 17 日目まで、50 ppb の安定セシウムを含む水稲水耕用培養液 (木村氏 B 液、1/4 濃度) で育成した。最新展開葉を 1 枚採取して新鮮重量を測定した後、フッ素樹脂製の試験管内で 1 ml の濃硝酸を用いてドラフト内で分解乾固した。温度プログラムは、80 30 分、110 1 時間、140 1 時間、80 10 時間とした。その後、1 ml の 0.1 mol/L 硝酸で再溶解した溶液のセシウム濃度を原子吸光分析装置 (iCE3400, Thermo Fisher Scientific) で測定した。採取する部位や葉の葉位、水耕液中での育成期間等については次項で記載するように適宜変更した。また、本研究開始初期の一次選抜以降は、水耕液の pH を安定させるため、MES (pH 5.4、終濃度 20 mM) を添加した。

No.312 系統の後代については、後述するようにガンマカメラによる放射性セシウムの

根から地上部への移行の観察、ならびに、1/5000a ワグネルポットで栽培した個体のわら及びもみに含まれる安定セシウムの量を野生型と比較した。

### 4. 研究成果

計 462 系統 (約 2,700 個体) の M2 について、前項に記載したように水耕栽培によって安定セシウムの吸収能力を評価し、10 系統から低吸収候補個体、7 系統から高吸収候補個体を一次選抜した。特に No.312 系統は、8 個体中 3 個体の濃度が低く、単一劣勢因子による変異形質であるという考えとも矛盾しないことから有望と考えられた (図 1)。

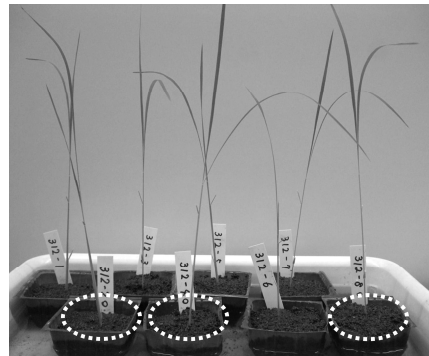


図 1 炭素イオンビーム照射により一次選抜したイネのセシウム低吸収候補個体 (丸印で示した個体)。同じ親株に由来する 8 個体の内、丸印で示した 3 個体のセシウム濃度が低い。

しかしながら、一次選抜した個体から得た M3 種子を育成し、同じ方法でセシウム吸収能力を評価したところ、変異形質が固定されたとされる系統を確認することができなかった。従って、何らかの要因によって測定誤差が生じた可能性が考えられた。一次選抜では、播種後 10 日目のイネを安定セシウムを含む水耕液で 7 日間育成 (計 17 日間育成) した後の最新展開葉に含まれる新鮮重量あたりのセシウム量を評価した。考えられる要因として、葉位によるセシウム濃度への影響について検討するため、播種から計 17 日間または計 21 日間育成したイネの葉位別のセシウム量を評価した (図 2)。安定セシウムを含む水耕液での育成はいずれも育成期間の最後の 3 日間とした。これは、別の試験検討結果から、根から吸収されたセシウムは 2 日間程度で最新展開葉に十分に到達していることが示唆されたことから、吸収速度も含めて評価するという観点ならびに水耕液の pH の安定性を考慮して、安定セシウムを含む水耕液での育成期間を当初の 7 日間より短縮した方が良いと考えられたからである。その結果、最新展開葉の葉位が高いほどセシウム濃度が高い、すなわち、第 2 葉より第 3 葉、第 3 葉より第 4 葉の方が濃度が高い傾向が認められ、胚乳栄養に依存する発芽初期に比べて、根系が発達するに伴ってセシウム吸収能力が高まることが示唆された。一方、葉位毎

に見ると、葉重量とセシウム濃度には相関があり、葉位を揃えればセシウム吸収量は適切に評価できると考えられた。変異体の選抜では、できるだけ早期に且つ安定して形質を評価することが望ましいが、第2葉は発達期間が短く、個体間の生育に差が生じ易い変異集団においては、発達期間がより長い第3葉で評価するのが適切と判断した。さらに、第3葉を採取する際に第4葉の伸長が目視で確認できない個体では、第3葉へのセシウムの移行量が多くなる傾向が認められたため、第4葉の有無を合わせて確認することが誤差を最小限に留める上で必要と考えられた。

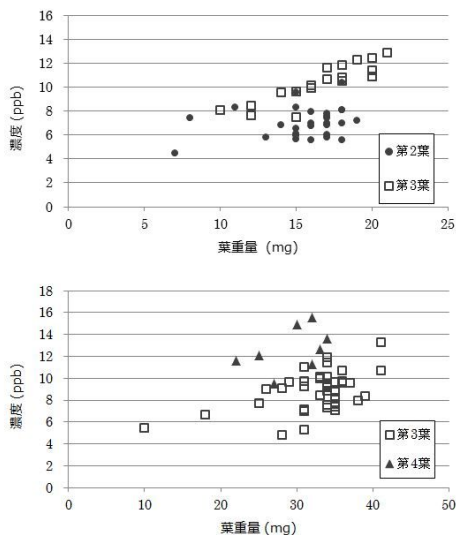


図2 採種した葉の新鮮重量と酸分解した溶液のセシウム濃度との関係  
(上段)10日間水道水で発芽させた後、7日間(上段)または11日間(下段)水耕液で育成した個体から葉を採取した。いずれも育成期間の最後の3日間に安定セシウムを含む水耕液で育成した。

新たに作成した計820系統(約4,800個体)のM2種子を水耕栽培し、15系統から低吸収候補個体を、27系統から高吸収候補個体をそれぞれ選抜した。さらに、選抜した個体の自殖によって得た次世代種子を育成し、形質の固定を評価した。特に葉色に変異が見られる系統については、次世代の全個体がセシウム濃度が低く、一次選抜の形質が固定されることが確認された(図3)

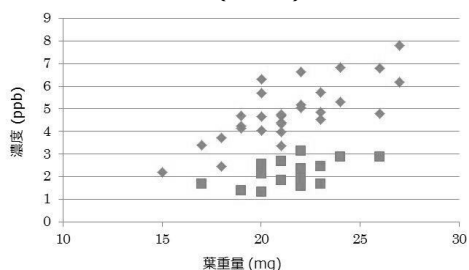


図3 一次選抜したM2個体の自殖次世代個体の葉中のセシウム濃度  
葉色に変異が見られた系統( )では、全ての個体のセシウム濃度が他の個体に比べて低い。

連携研究者らが開発したガンマカメラを用いて、No.312系統とコシヒカリにおける放射性セシウムの移行を観察した(図4)。ガンマカメラは、ピンホールカメラの原理に基づき、ガンマ線を遮る重厚なコリメーターならびにシンチレーターアレイと光電子増倍管を組み合わせた検出器から構成され、植物体内での放射性セシウムの動態を初めて画像化することに成功したものである(引用文献)。一次選抜した個体No.312-8の自殖によって得たM3世代の種子及びコシヒカリの種子を育成し、播種後約25日の時点で生育ステージが揃っている2個体を選び、水耕液を入れた50mlチューブに設置した後、放射性セシウムを水耕液に加えた。コシヒカリでは6時間で基部でのシグナルが確認されたのに対して、312-8では12~24時間程度必要であり、野生型に比べて根から基部への移行速度が2/3程度に遅いことが示唆された。

一般に、低カリウム濃度条件ではセシウムの吸収が促進されるため、低吸収の特性をより顕著に確認できると考えられる。そこで、通常に比べて1/2及び1/4のカリウム濃度条件でNo.312系統を水耕栽培し、部位毎のセシウム濃度を測定した(表1)。基部及び第2葉については、No.312系統と野生型の差は明確ではなかったが、第3葉及び第4葉については、特に1/4濃度条件で低い傾向が認められた。

さらに、No.312-4の後代及びNo.312-8の後代のセシウム吸収能力を評価するため、ワグネルポットで栽培した個体のわら及びもみに含まれる非放射性セシウムの含量を調査した。各系統6個体をビニルハウス内で栽培し、地上部を収穫後、乾燥させた植物体を粉碎した。粉碎した各個体のわら100mg及びもみ50mgを濃硝酸で分解した後、各1ml及び0.5mlの0.1N硝酸に再溶解した溶液を原子吸光で評価した。コシヒカリに比べてNo.312系統は同等あるいはやや低い濃度を示したが、統計的に有意な差とは言えなかった。

表1 ポット栽培したイネのわら及びもみを酸分解した溶液の非放射性セシウムの濃度

部位	サンプル名	濃度(ppb, 平均値±標準偏差, n=6)
わら	コシヒカリ	3.5±1.0
	No.312-4	3.5±1.3
	No.312-8	2.9±1.2
もみ	コシヒカリ	3.3±1.2
	No.312-4	2.7±0.7
	No.312-8	2.4±0.4

各系統を6個体ずつ1/5000aワグネルポットで栽培し、収穫及び乾燥したわら及びもみを粉碎した試料を酸分解した溶液の濃度を測定した。わらは各100mg、もみは各50mg使用し、1N硝酸で分解した後、それぞれ1ml及び0.5mlに再溶解した。

以上の結果から、当初の一次選抜方法には測定誤差を生む要因が多く含まれていたが、最適化することにより、セシウム吸収能力の異なる個体を幼苗の段階で選抜できることが示された。No.312系統はコシヒカリと同等の生育を示し、セシウム吸収量が低い可能性があるが、明確なデータを得るには至らなかった。

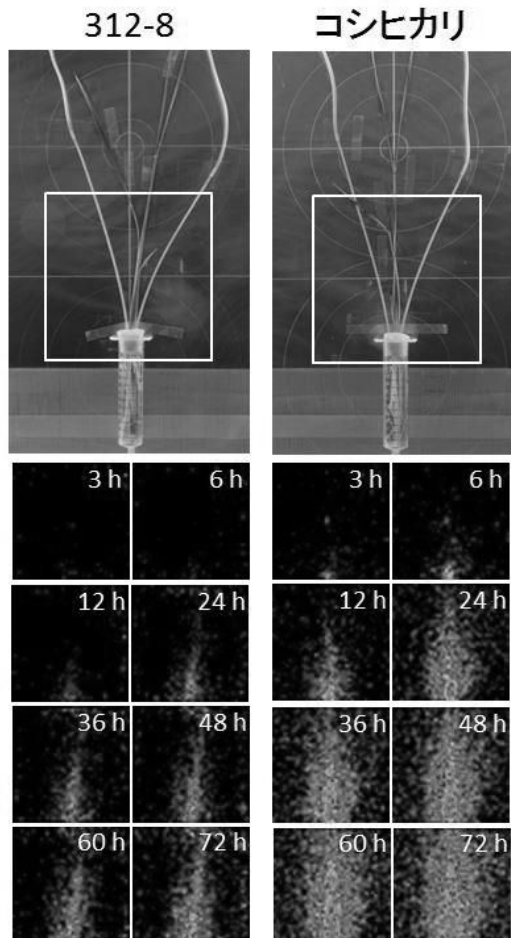


図4 ガンマカメラによる放射性セシウムの植物体内移行の撮像  
 (上段) 白線で囲んだ部分が視野、(中段) 3時間を1フレームとして撮像した画像、(下段) 経過時間と地上部へ移行した放射性セシウム量との関係

<引用文献>

藤巻 秀、放射性セシウムの植物体内移行のガンマカメラによる解析、放射線と産業、138、2015、pp. 2 - 6

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計1件)

大野 豊、長谷 純宏、佐藤 勝也、野澤 樹、鳴海 一成、イオンビーム育種技術による植物・微生物のセシウム吸収特性の改変、放射線と産業、査読無、138、2015、pp. 8 - 9、  
<http://www.rada.or.jp/radi&indu/hsma ga.html>

〔学会発表〕(計1件)

長谷 純宏、酒庭 秀康、大野 豊、イオンビーム照射集団からのセシウム低吸収性イネ変異体の選抜、第10回高崎量子応用研究シンポジウム、平成27年10月9日、高崎シティーギャラリー(群馬県・高崎市)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

長谷 純宏 (HASE, Yoshihiro)  
 国立研究開発法人量子科学技術研究開発機構・高崎量子応用研究所 放射線生物応用研究部・上席研究員  
 研究者番号：70354959

(2) 連携研究者

藤巻 秀 (FUJIMAKI, Shu)  
 国立研究開発法人量子科学技術研究開発機構・高崎量子応用研究所 放射線生物応用研究部・上席研究員  
 研究者番号：20354962