PETIS 法による植物試料中の水分動態のリアルタイム計測

横田 はる美[○] (東大院), 古川 純(東大院), 田野井 慶太朗(東大院)
上岡 志ほり(東大院), 松橋 信平(原研高崎), 石岡典子(原研高崎)
渡辺 智(原研高崎), 内田 博(浜松ホトニクス), 辻 淳憲(浜松ホトニクス)
伊藤 岳人(原研高崎), 水庭 千鶴子(原研高崎), 長 明彦(原研高崎)
関根 俊明(原研高崎), 橋本 昭司(原研高崎), 中西 友子(東大院)

Real-Time Analysis of Water Movement in Plant Sample by PETIS (Positron Emitting Tracer Imaging System)

H.Yokota, J.Furukawa, K.Tanoi, S.Ueoka, S.Matsuzaki, N.S.Ishioka, S.Watanabe, H.Uchida, A.Tsuji,
T.Ito, T.Mizuniwa, A.Osa, T.Sekine, S.Hashimoto and T.M.Nakanishi

ABSTRACT

To know the effect of drought stress on two cultivars of cowpea, drought tolerant (DT) and drought sensitive (DS), and to estimate vanadium treatment on plant activity, we performed real time ^{18}F labeled water uptake measurement by PETIS. Fluoride-18 was produced by bombarding a cubic ice target with 50 MeV protons using TIARA AVF cyclotron. Then ^{18}F labeled water was applied to investigate water movement in a cowpea plant. Real time water uptake manner could be monitored by PETIS. After the analysis by PETIS, we also measured the distribution of ^{18}F in a whole plant by BAS. When a cowpea plant was treated with drought stress, there was a difference in water uptake manner between DT and DS cultivar. When a cowpea plant was treated with V for 20 hours before the water uptake experiment, the total amount of ^{18}F labeled water absorption was found to be drastically decreased.

Keywords : positron emitting nuclide, water movement, plant

1. はじめに

植物生体内の水の挙動は、研究手法が未発達であることからこれまでのところ不明な点が多く残っている。当研究室では、 ^{18}F 標識水を用いて耐乾性植物ササゲにおける水の挙動を調べてきた。ササゲ (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) には、乾燥耐性種の cv.11979 と乾燥感受性種の cv.9357 がある。乾燥耐性種のササゲは初葉節と第一本葉節間の肥大部分が水分貯蔵の役割を果たしており、乾燥処理によりこの貯水組織から優先的に水分が他組織へ移行する¹⁾。一方、乾燥感受性種のササゲは茎も細く、貯蔵組織らしい肥大した茎が確認でき

ない。高崎原子力研究所の PETIS (Positron Emission Tracer Imaging System) は、植物を生きたままの状態 で測定・観察することが可能である。そこで、植物におけるリアルタイムの水分吸収動態を調べるため、ササゲの乾燥耐性種と感受性種を対象に乾燥処理後の水分吸収活性を比較検討することにした。また、バナジウム(V)による水分吸収の阻害についても検討した。

2. 材料および方法

Fig.1 に示すようなポジトロンイメージング計測は、トレーサーとして投与した核種から放出されるポジトロンが近傍の電子と結合して消滅し、反対方向に一对の γ

Overview of PETIS

Fig.1

線(511keV)を放出することを利用した計測手法である。対向配置した γ 線二次元入射位置検出器（以後、植物用ポジトロンカメラと呼ぶ）で同時計測することにより、同一の消滅事象のみによる γ 線を選択的に検出しており、ポジトロン消滅位置は、それぞれの検出器での γ 線検出位置を結ぶ線上と試料の設置面の交点となる。現時点ではカメラの撮影可能な範囲は大視野型が $150 \times 48 \text{ mm}$ で、小視野型が $50 \text{ mm} \times 48 \text{ mm}$ であり、空間分解能は約 2.4 mm である。また、カメラの視野は植物体全体をカバーすることができないため、多点式検出器を併用して視野の不足を補っている。撮影は地上部の茎および葉を中心にカメラを、根と初葉の間の茎に多点式検出器を設置して行なった。画像は Fig.1 の右下のようなものとして得られる。測定されたデータはコンピュータに蓄積され、計測後に任意の点における時系列グラフを用いた解析を行うことができる。

^{18}F 標識水は原子力研究所高崎研究所の AVF サイクロトロンで製造された²⁾。超純水をターゲットにした $^{16}\text{O}(\alpha, \text{pn})^{18}\text{F}$ 反応を用いて調製し、不純物は陽イオン交換樹脂を用いて取り除いた。製造は高崎原子力研究所アイソトープ部のスタッフによって行われた。

供試植物として用いた二種類のササゲは、湿らせたバーミキュライト中で発芽させ、発芽後2～3日で水耕に移し、3週間ファイトロン内で育成した植物から同程度に成長しているものを選んでサンプルとした。育成条件は温度 25°C 、湿度 70% 、照度 20000 lux であり、育成用の水耕液には MGR1 完全水耕液を用い³⁾、毎週交換した。選択されたサンプルは2枚の亚克力板に挟まれたガラス管付きのビニール袋に根が水耕液に浸され

た状態で設置され、対向して配置された一对の植物用ポジトロンカメラの中央に撮影部位を固定された。乾燥処理区は乾燥耐性種・感受性種共に測定開始の1時間前に根が浸してあった水耕液を抜き取り、ドラフトフード内に放置した後に撮影位置に固定した。ガラス管と ^{18}F 標識水の入ったバイアルを連結用チューブでつないだ後、シリンジを用いて密閉バイアル中の溶液に圧力をかけることにより水耕液の除去と ^{18}F 標識水の輸送を行った。 ^{18}F 標識水が根の入っている袋に到達した時点で測定を開始し、3分間標識水を吸収させた後、先と同様の方法で標識水とイオン交換水を入れ替えた。V 処理は乾燥感受性種に、測定開始の6、20時間前に $500 \mu\text{M}$ のバナジン酸を処理し、上記のように ^{18}F 標識水の輸送を行った。V 処理では標準水とイオン交換水の入れ替えは行なわなかった。それぞれ30分間測定を行ない、終了後はラジオルミノグラフィ(FUJIFILM, MacBAS-1500)による地上部の ^{18}F 分布の撮影を行った。

3. 結果および考察

Fig.2 は PETIS で得られた乾燥耐性種の画像である。コントロール区と乾燥処理区で吸収に大きな差は見られなかった。また、 ^{18}F をパルス的に投与したので、時間と共に茎の下部の ^{18}F は抜けていくことが期待されたが、完全になくなることはなく、30分経過した段階でもまだ残っていた。これは F^- イオンが導管の壁に吸着するもしくは導管から周囲の組織に浸出していることを示している。この連続画像から定点の γ 線放出量をトレースしたグラフでは、画像では見えにくかった茎の部分でのパルスがピークで示されており、茎を通過した ^{18}F が葉

Fig.2

に蓄積されていることもわかった。

Fig.3 は多点式検出器を用いて計測した結果である。多点式検出器は検出感度が高く、それを根と初葉の間の茎に設置したデータであり、根からの移動をよりはっきりと示すと考えられる。上図が乾燥耐性種のグラフであり、下図が乾燥感受性種のものである。乾燥耐性種ではコントロール区、乾燥処理区共にピークが見られ、乾燥処理区の方がコントロール区に比べピークが高く、 ^{18}F の吸収量が多いことが示されている。ピークの高さに差が現れたことについては後に考察する。感受性種では乾燥処理を施した後はピークが明らかでなくなっており、処理が吸水にダメージを与えていることが示された。ま

Fig.3

た、乾燥耐性種よりもコントロール区でピークが高く現れており、低負荷の状態においては感受性種のほうがコントロール区に比べ吸収能力が強い可能性も示唆された。

Fig.4 は乾燥耐性種・感受性種それぞれのコントロール区と乾燥処理区を PETIS による計測が終了した後に BAS で撮影したものである。ここでも耐性種は乾燥処理後にコントロール区とほぼ同様な吸収を見せ、また主に葉に吸い上げていることが示されている。それに対し、感受性種はコントロール区で特徴的な像が得られ、茎に多く吸収されていることが示されたが、乾燥処理を施した後は茎への吸着も見られなくなり葉への蓄積も減少していた。この感受性区で見られた茎への吸着が乾燥耐性種と関わっているかどうかは不明であるが、吸収した水を蒸散流によって葉まで吸い上げるだけでなく、茎の組

織にも分配していることが示されている。

6、20 時間バナジン酸を前処理した乾燥感受性種のササゲについても同様に計測を行なった。20 時間処理をすると、水分吸収量が大きく減少していた。

このように、植物中での分布などでは ^{18}F 標識水は植物の水分吸収動態をリアルタイムに計測するのに有効な手段であると考えられる。今回得られた乾燥耐性種・感受性種の乾燥ストレスに対する異なった反応が初葉節と第一本葉節間にある貯水組織によるものかどうかはわからなかったが、BAS 像から主に葉に ^{18}F が吸い上げられていたこと、乾燥処理により両種ともかなりしおれて見えること、また耐性種で導管内の水不足に由来すると考えられる吸い上げ速度の上昇が見られたことから、肥大組織の見られない乾燥感受性種で導管内の水が耐性種以上に不足し、通導組織における水の連続性が途切れて蒸散流に乗せて水分を吸収することが困難になったためではないかと考えられる。

以上のように PETIS を用いることにより植物中での水の移動を時間的な側面から検討することが可能であった。今後、このようにして明らかにされた水の移動が植物中における情報伝達を解明する一端となることを期待する。

Fig.4

A : Tolerant-Control B : Tolerant-Drought

C : Sensitive-Control C : Sensitive-Drought

横田はる美, 古川純, 田野井慶太郎, 上岡志ほり, 松橋信平, 石岡典子, 渡辺 智, 内田 博,
辻 淳憲, 伊藤岳人, 水庭千鶴子, 長 明彦, 関根俊明, 橋本正司, 中西友子

参考文献

- 1) T.M.Nakanishi, K.Don-Jin, T.Kitamura, R.Ishii,
M.Matsubayashi : Identification of Water Storage
Tissue in the Stem of Cowpea Plant(*Vigna unguiculata*
Walp.) by Neutron Radiography, J. of Radioanal. Nucl.
Chemi. Vol.242, No.2 (1999) pp.353-359
- 2) N.S.Ishioka, H.Matsuoka, S.Watanabe, A.Osa,
M.Koizumi, T.Kume, S.Matsubashi, T.Fujimura, A.Tuji,
H.Uchida, T.Sekine,
Production of positron emitters and application of their
labeled compounds to plant studies
J. Radioanal. Nucl. Chem., 239 (1999) 417-421
- 3) T.Fujiwara, M.Y.Hirai, M.Chino, Y.Komeda, S.Naito
Effects of Sulfur Nutrition on Expression of the Soybean
Seed Storage Protein Genes in Transgenic Petunia
Plant Physiol. 99 1992 263-268