

論文

中性子で放射化した植物試料のオートラジオグラフィ

小山元子* 谷崎良之*

The autoradiographic observation of neutron activated plant samples

Motoko KOYAMA and Yoshiyuki TANIZAKI

Abstract Imaging Plate(IP) is a radiography apparatus of applying photostimulable luminescence. IP has some advantages in comparison with X-ray film, for example, high sensitivity, wide latitude and high fidelity for radiations. The high sensitivity of IP makes it possible to observe the distribution of short-lived nuclides. We obtained autoradiographs of Azuki bean cuttings. In the basal region of Azuki bean cuttings, the intensity of autoradiographs of indole acetic acid(IAA)-treated samples were higher than that of water- and Gibberellin(GA)-treated ones. The high intensity parts of IAA-treated cuttings were extended upwards. The high intensive imaging of basal region treated in IAA indicated that high elemental concentrations were in existence for adventitious root formations. The measurement results by γ -ray spectrometry showed that the Ca content in the Azuki bean cuttings basal region increased in IAA treatment. It seems that the cell division for adventitious root formation needs Ca. In Azuki bean epicotyls, Ca content showed an increase to basal region, though Mg content increased to upper region.

Keywords Imaging plate, Autoradiography, Neutron activation, Adventitious root, Azuki bean cuttings

1. はじめに

イメージングプレート (IP) は、医療用 X 線フィルムに代わるものとして 1983 年に発表された。IP は X 線フィルムより放射線に対する感度が高く、広いラティテュードがあり、入射放射線に対して画像強度が直線性を持つ、画像がデジタル情報であり画像処理が容易であるといった優れた特性を持っている。これらの IP の特性、利点を生かす利用が様々な分野で行われている。¹⁾

我々は、IP が高感度であることを利用し、中性子で放射化した試料のオートラジオグラフィにより、特に短半減期核種の二次元分布を知ること、及び画像から元素の定量情報を得ることを試みてきた^{2)~4)}。IP では、放射線のエネルギー弁別、核種の同定は出来ないため、 γ 線スペクトロメトリーによる元素分析とあわせて用いる必要がある。

この方法(我々は放射化イメージング法と称している)により、植物の形態形成における微量元素の動態を知ることが目的に、アズキ上胚軸からの不定根形成を材料に植物ホルモン処理による微量元素の変化を調べた。

2. 実験方法

2.1 オートラジオグラフィ

植物材料として、アズキ芽生えを用いた。アズキ種子をパーミキュライト上に播種し、明所 27.5°C で 6 日間生育させ、植物長約 11cm の芽生えを得た。芽生えを頂芽より 30mm 下で切り、さらにその下 40mm を切り、長さ 40mm の切り枝を作成した。これを、水、インドール酢酸 (IAA)、ジベレリン (GA) 水溶液 (各 1 ppm) にさし、さらに明所 27.5°C で 1,3,5,7 日間生育させた。オートラジオグラフィ用試料は、この切り枝を洗浄後、熱固定し乾燥させ押し葉標本とした。これらの試料を、京都大学原子炉実験所黒鉛設備圧気輸送管 (熱中性子 4×10^{11} n/cm²·sec) で 10 分間中性子照射した。照射後ただちにマイラーフィルムで覆い、IP (富士写真フィルム社、SR-2025) に 1 分間密着露光させた。さらに一定時間の冷却後、再び露光を行った。露光した IP は、イメージングアナライザ (富士写真フィルム社、BAS-5000MAC) で読み取り、放射能分布画像を得た。これらの画像から、第一葉、頂芽、茎の PSL 値 (IP における画像強度を表す相対値) を求めた。一定量の Na 溶液を滴下したろ紙を試料と同時に放射化し、使用したすべての IP に植物

*精密分析技術グループ

試料と同時に露光し、露光間の補正を行った。

2.2 γ線スペクトロメトリ

オートラジオグラフィ用試料と同様に生育、処理したアズキ切り枝(各処理について50本)を、基部から10mm毎に切りとり、80℃で2日間乾燥させた。重量測定後、清浄なポリエチレン袋に封入し試料とした。これらの試料を、京都大学原子炉実験所原子炉圧気輸送管 Pn3 施設(熱中性子 2.3×10^{13} n/cm²·sec)で30秒間、中性子照射した。照射後ただちに100秒間γ線計測を行い、短半減期核種を定量した。

3. 結果

3.1 不定根形成における植物ホルモンの影響

アズキ上胚軸基部から形成される不定根数は、既報⁶⁾のように、IAA 処理により増加し、GA 処理により減少した(図1)。また、IAA 処理による不定根の増加に際して、不定根形成部位は、上胚軸上方に拡大した。

3.2 植物試料のオートラジオグラフィ

中性子放射化後、IPに密着露光させたアズキ切り枝(切り枝作成直後、及び作成後植物ホルモン処理5日間)のオートラジオグラフィ像を図2に示す。切り枝作成直後では、画像強度にほとんど差が見られないが、5日目の切り枝では基部の画像強度が高くなった。画像は示さないが、切り枝作成後の時間経過とともに基部の画像強度は増加し、水処理7日目の不定根が形成した基部で特に顕著な増加を示した。また、不定根形成を促進するIAA 処理により基部の画像強度はさらに高くなり、基部から上方に画像強度の高い部分が拡大していた。これは、IAA により発根域が上方へ拡大する現象とよく一致した。GA は、不定根の形成を押さえることが知られているが、GA 処理した切り枝では、水処理よりも時間経過による基部の画像強度の増加は少なかった。

これらの画像から、各切り枝の10mm毎のPSL値(図3)を、また基部については2mm毎のPSL値を求めた

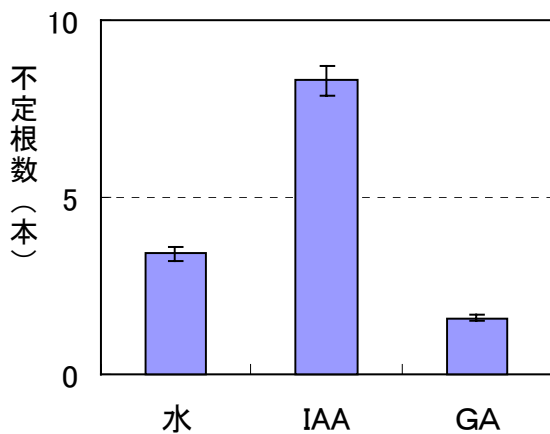


図1 IAA, GA 処理による不定根形成数

(図4)。いずれの切り枝でも、基部のPSL値が時間とともに増加した。水処理とGA処理はほぼ同様のPSL値を示した。IAA処理では、基部10mmのPSL値の増加が大きかった。切り枝上部でややPSL値が高い場合があったが、これは、切り枝の熱固定等の際に、植物中の組織から水溶性物質が漏れたためと考えられ、切り枝下部でも同様のことが起こっていると考えられる。試料調製に

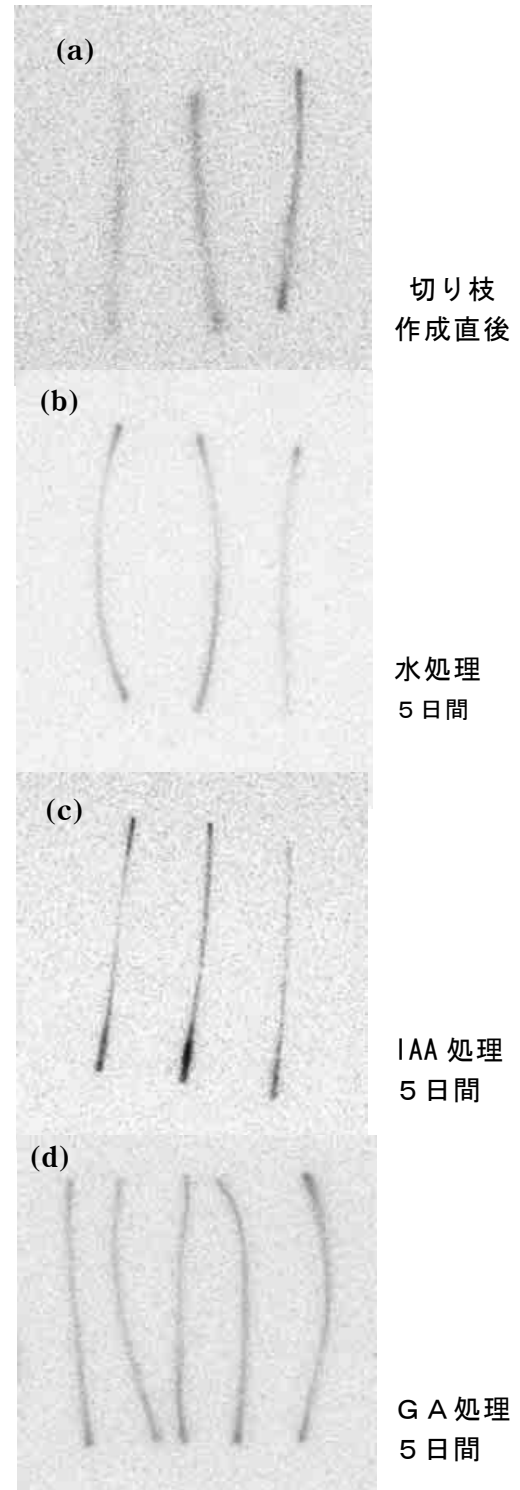


図2 アズキ切り枝のオートラジオグラフィ像
試料数：a-cについて3本、dは5本

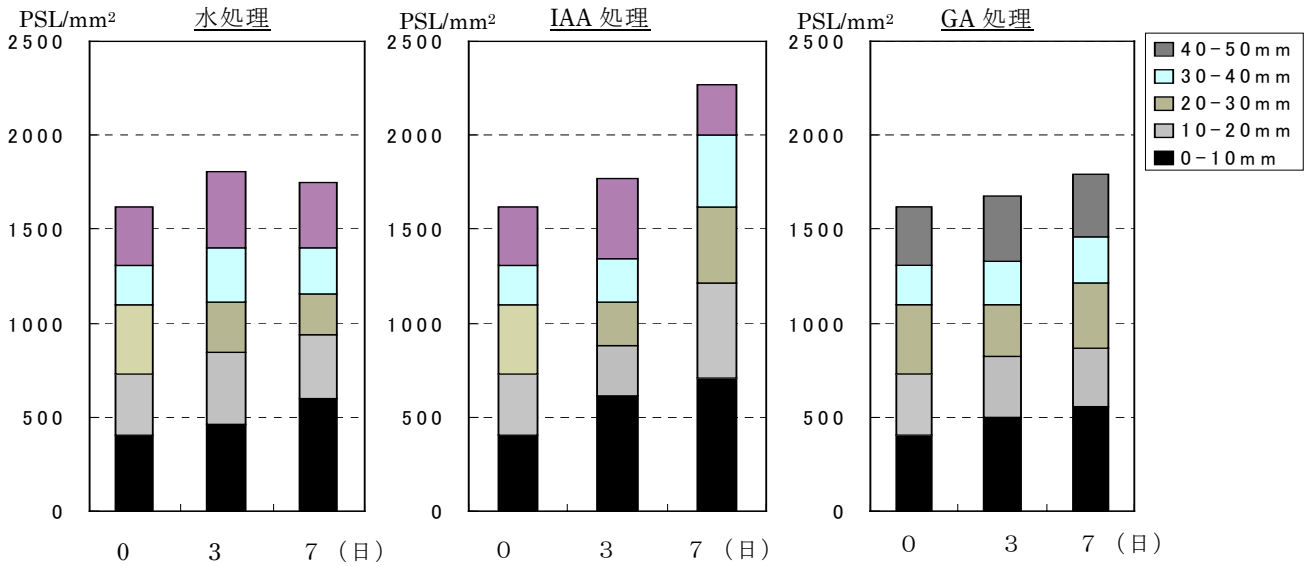


図3 アズキ上胚軸全体の植物ホルモン処理による PSL 値

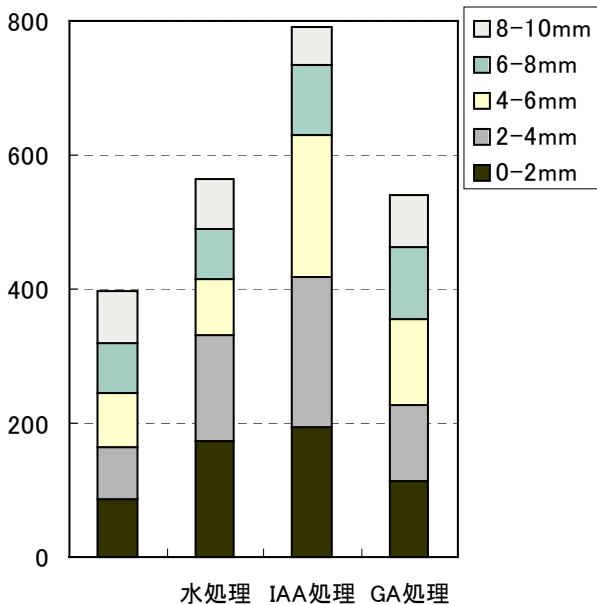


図4 切り枝基部の PSL 値 (7日目の切り枝)

際しての、植物体の切断方法を検討する必要がある。

切り枝作成直後の茎では、切り口である 0mm から 10mm までどの 2mm においてもほぼ等しい PSL 値が得られた。水処理, IAA 処理では、切り口に近い部分の PSL 値が増加し, IAA 処理では 0-6mm での増加が堅調であり, これは不定根形成部位と一致するものであった。GA 処理では、どの 2mm でも PSL 値の変化の差が小さかった。

照射後 4 時間を経過した後に露光した画像では、植物体全体の PSL 値は急激に減少した。これは、この部分の画像強度をもたらした短寿命核種が減衰した結果であり、特にその減少は基部から 2-4mm の部分で顕著であった。

3.3 γ線スペクトロメトリによる分析

オートラジオグラフィにより、切り枝基部の不定根形成がおこる部分に短寿命核種を生成する元素が多く含まれることが推測された。そこで、切り枝基部から 10mm の部分の短寿命核種をγ線スペクトロメトリにより定量した。切り枝作成後、水処理した切り枝では、時間経過とともに多くの元素は減少する傾向を示した。特徴的な分布を示した Ca, Mg について図 5 に示す。IAA 処理では、時間経過とともにほとんどの元素は減少したが、Ca のみは増加した。GA 処理においては元素量の変化は水処理のものとはほぼ同様であった。

特に IAA 処理を行った切り枝での Ca の増加は顕著であった。不定根形成において Ca が果たす役割については、不定根数の増加や Ca 阻害剤による不定根の生長阻害などいくつかの報告があり⁵⁾、IAA による不定根形成の促進過程で Ca を要求するために Ca 量の増加が顕著であったと考えられる。GA 処理では元素量は水処理とほぼ同様であった。GA は、アズキにおいては不定根形成のための細胞分裂の遅延や、それに続く根を形成するための細胞分裂を阻害することによって、不定根形成をおさえることが報告されている⁶⁾。IAA 処理による Ca 量の増加は、根の形成に際しての細胞分裂にかかわるもののほか、その後の根の伸長発達過程にもかかわるものと推測される。

切り枝全体での元素量について、特徴的な分布をした Ca と Mg について図 6 に示す。Mg は切り枝の基部から上部へとその量が高くなっているが、Ca は基部の含量が高い。これらは、植物の極性、導管、篩管の転流など様々な要因が考えられる。また、不定根形成の影響のほか伸長成長やエイジングなどの多くの生理状況が関与してい

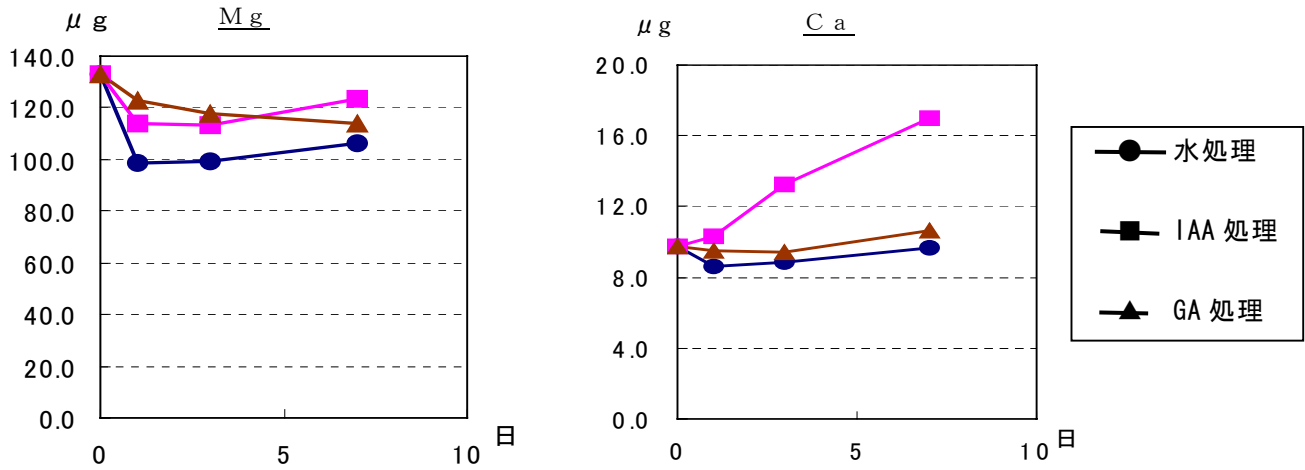


図5 アズキ切り枝基部10mmに含まれるMg, Caの変化

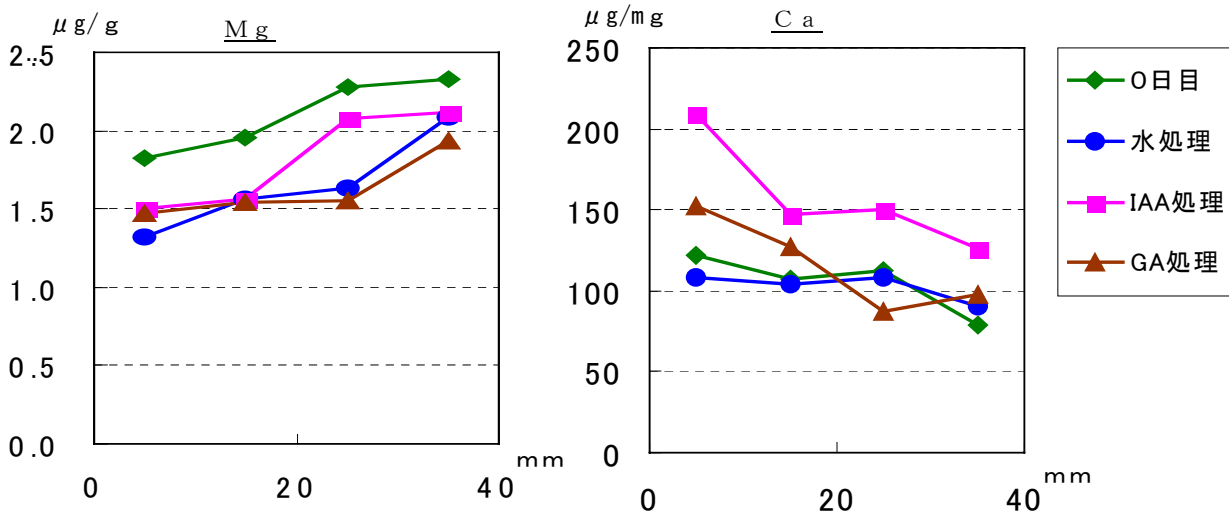


図6 切り枝全体のMg, Caの分布

ることが予想され、今後さらに検討する予定である。

4. まとめ

植物の形態形成過程における微量元素の変化について、アズキ上胚軸からの不定根形成を材料に分析した。切り枝の不定根形成過程で短半減期核種の増加が放射化イメージング法により確認できた。核種分析により、MgとCaは、切り枝全体での分布に違いのあることがわかった。さらに不定根形成を促進するIAA処理により、不定根形成部位でCaが増加するという知見が得られた。不定根形成を阻害するGA処理では、水処理とほぼ同様な変化を示すことがわかった。

謝辞

本実験は、京都大学原子炉実験所共同利用研究により行った。お世話になった高田実弥先生をはじめ関係各位に御礼申し上げます。

参考文献

- 1) 宮原諄二：第34回理工学における同位元素研究発表会要旨集，日本アイソトープ協会，208-314 (1997)。
- 2) 小山元子他：京都大学原子炉実験所第33回学術講演会報文集，153-157 (1999)。
- 3) 小山元子他：京都大学原子炉実験所第34回学術講演会報文集，160-164 (2000)。
- 4) 小山元子他：京都大学原子炉実験所第36回学術講演会報文集，177-181 (2001)。
- 5) J.bellamine et al.: Plant Growth Regulation, 26 : 191-193 (1998)。
- 6) M.Mitsujashi-kato et al.: Plant Cell Physiol, 19,393-398 (1978)。

(原稿受付 平成15年7月31日)