

実施課題番号：2007A1947

実施課題名：マイクロビーム蛍光X線イメージングによる高集積植物体内のヒ素動態解明

実験責任者所属機関及び氏名：株式会社フジタ 技術センター エンジニアリング開発部 北島信行

使用ビームライン：BL37XU

実験結果：

1. 目的

イノモトソウ属のモエジマシダ (*Pteris vittata* L.) はヒ素の高集積植物として知られており、その植物体地上部に毒性重金属元素であるヒ素を高濃度で蓄積できる能力を持つ。我々のこれまでの研究によって、モエジマシダに吸収されたヒ素が葉の周縁部に濃集し、孢子嚢へのヒ素移行が抑制されることが判っているが、従来の測定は葉の横断面を対象としたものであり、葉脈の配列に対応したヒ素輸送の状況については必ずしも明らかになっていなかった。

モエジマシダの葉脈系はいわゆる叉状脈であり、主脈から分岐した葉脈（側脈）は更に2つに分かれてから葉の周縁部にいたる。この周縁部では葉の生長に伴ってその縁が裏側に折りたたまれて薄い膜状となり（偽包膜と呼ばれる）、その内側に孢子嚢を着生することが特徴である。すなわち、葉の周縁部は、植物体中の蒸散流の末端であり、孢子形成とその散布によってモエジマシダの生活環が完結する場所である。これまでの横断面を対象にした測定から、葉の周縁に沿って側脈が結合し孢子嚢へ養水分を供給する維管束系を形作っていることが予想された。そこで葉の周縁部の縦断面切片を作成し光学顕微鏡にて観察したところ、葉の周縁部に到達した側脈が更に2方向に分岐して隣り合う側脈同士が結合していることを確認できた (Fig. 1)。

そこで、今回の実験では、葉の周縁部の縦断面切片を切り出して急速凍結し、凍結状態を維持したまま蛍光X線イメージングを行うことで、葉の周縁部における葉脈の配列に対応したヒ素動態を調査した。

2. 実験内容と結果

孢子散布から6ヶ月間育成した株を水耕栽培に移し、1ヶ月間を経過したところでヒ素投与（ヒ酸カリウムにて1、5、10、50mg/Lの4投与濃度）を行った。ヒ素投与から2日後に葉を採取して測定試料を調製した。採取した葉はバーチカルスライサーにて厚さ130~150 μ mの横断面切片として、アクリル製試料ホルダーに固定した後に、速やかに凍結処理を行った。X-Yステージに保持した試料ホルダーへ液体窒素を吹き付けることで、組織切片の凍結状態を維持したまま測定を行った。

μ -XRFイメージングは、BL37XUにて実施した。アンジュレーターからの放射光を2結晶モノクロメーターにより単色化（12.8keV）し、集光素子としてK-Bミラーを用いて1.6 \times 2.3 μ m²のマイクロビームを作成した。

Fig. 2にヒ素投与（投与濃度10mg/L）開始から4日後の葉縦断面における μ -XRFイメージング結果を示した。カルシウム、カリウムの必須元素のイメージング像から光学顕微鏡像に対応した周縁部での各組織（葉脈末端の通導組織、葉肉組織、ならびに偽包膜、孢子嚢）の位置関係や構造を知ることが出来るので、投与後にヒ素が分布している領域の解剖学的な位置を特定できる。ヒ素のイメージング結果から、葉の周縁部に輸送されたヒ素が側脈の中に貯留され、維管束外の細胞間連絡を通じて側系へ優先的に分配されていく状況を明瞭に確認することができた。

3. 結論

今回得られたデータから、葉の周縁部における葉脈の配列（側脈の分岐と隣り合う側脈同士の結合）に対応したヒ素輸送の状況を明らかにすることができた。投与濃度を変えたときのヒ素分布を比較したところ、葉の周縁部にまで輸送されたヒ素は維管束内に貯留され、維管束外の細胞間連絡を通じて周辺の組織に分配されることが判った。維管束周辺の組織については、側系に優先的にヒ素が輸送され、次いで孢子嚢、葉肉の順にヒ素が分配される。また、投与濃度を増加させたときに、孢子嚢への分配されるヒ素の割合が大きくなったことから、孢子嚢へのヒ素輸送は抑制されているもののその制御機構はあまり厳密なものではないと考えられる。

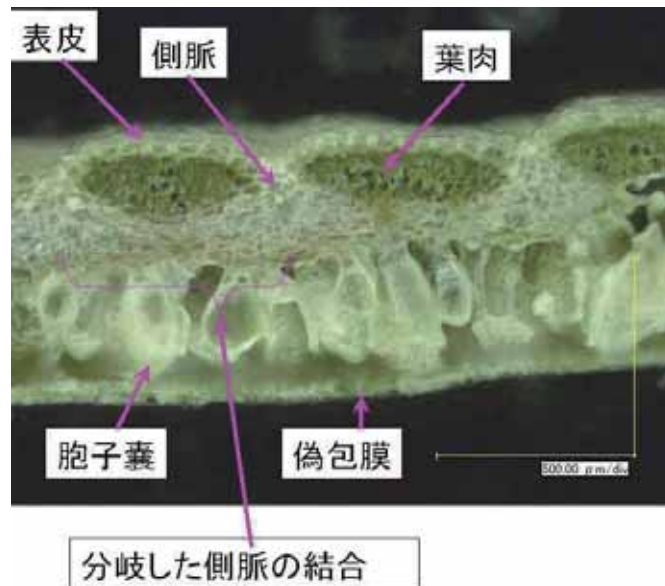
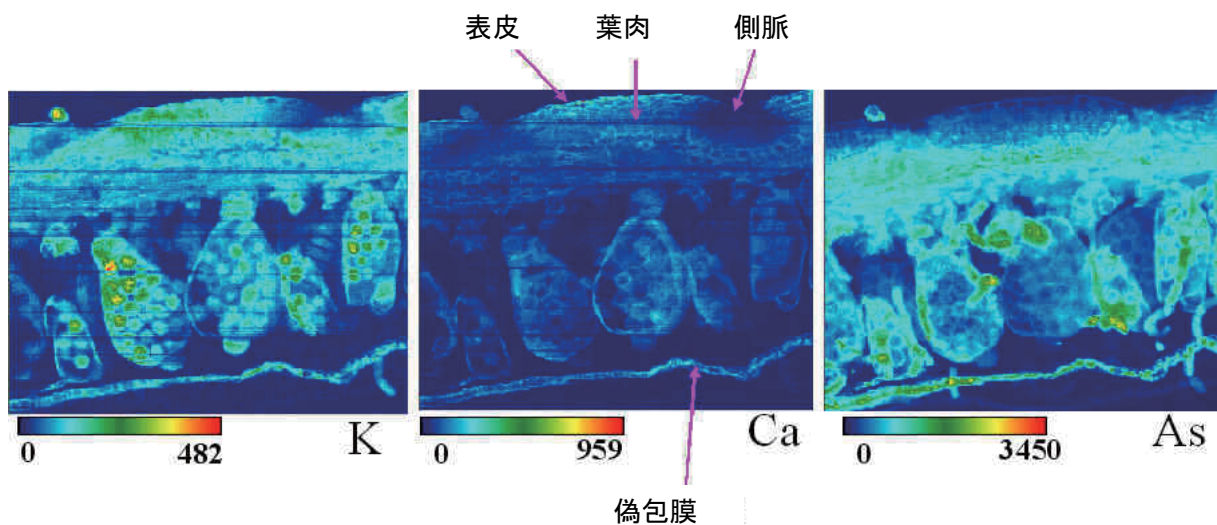


Fig. 1
葉周縁部の縦断面の光学顕微鏡像



X-ray Energy : 12.8 keV
 Beam size : 0.8 μ m (V) \times 1.4 μ m (H)
 Step size : 3 μ m (V) \times 3 μ m (H)
 Step number : 255 point (V) \times 313 point (H)
 Measurement time : 0.1 sec/point

Fig. 2
葉周縁部の縦断面における蛍光 X 線イメージング結果
ヒ素投与から 4 日後 (投与濃度 10mg/L)