

原 著



## ダイズ体内における $[^{14}\text{C}]\text{CO}_2$ 由来の光合成産物の輸送と 葉面添加した $[^{14}\text{C}]$ -スクロースの輸送の比較解析

相馬 愛<sup>1</sup>, 杉田亮平<sup>2</sup>, 栗田悠子<sup>1</sup>, 小林奈通子<sup>1</sup>, 中西友子<sup>1</sup>, 田野井慶太郎<sup>1,3,†</sup><sup>1</sup>東京大学大学院農学生命科学研究科, <sup>2</sup>名古屋大学アイソトープ総合センター,<sup>3</sup>福島国際研究教育機構 (F-REI)

†uktanoi@g.ecc.u-tokyo.ac.jp

2024年9月18日 受付

2024年12月16日 受理

草本植物において輸送される光合成産物の大部分はスクロースだが、他の有機化合物も存在する。外部から与えられたスクロースと実際の光合成産物の輸送に差異があるのかを明らかにするために、ダイズの特定の葉に  $^{14}\text{C}\text{CO}_2$  もしくは  $^{14}\text{C}$ -スクロースを吸収させ、体内の  $^{14}\text{C}$  分布を比較した。その結果、地上部の各組織間での分配率はほぼ同じであったが、根への分配率は  $^{14}\text{C}$ -スクロースを添加した場合の方が高かった。光合成産物の動態解析として  $^{14}\text{C}$ -スクロースを利用する場合、根への適応には注意が必要である。

Key Words: carbon-14, photosynthesis, translocation, soybean

### 1. はじめに

光合成は植物にとって欠かせない重要な反応であり、光エネルギーを利用して水と二酸化炭素から酸素と炭水化物を作り出す。光合成産物は主に葉緑体を豊富に含む葉肉細胞内で合成され、主に糖として師管を通過して植物体内の栄養を必要としている部分へと運ばれる。運ばれる場所は茎頂や新芽、果実、根など成長が盛んな部分でシンクと呼ばれている。また、栄養を供給する葉はソースと呼ばれている。葉は若く未成熟である間は他の成熟した葉から糖を受け取るシンクであるが、成長と共に必要な糖を自身で賄えるようになり、さらには他の部分へと糖を供給するソースへと変化する<sup>1)</sup>。光合成の効率や光合成産物の分配率は植物の成長や収量に

大きく影響するため、古くから盛んに研究が行われている<sup>2,3)</sup>。ダイズはマメ科ダイズ属に属する一年草の双子葉植物であり、多量の油分とタンパク質を含んでいる。油糧作物であると同時に植物タンパク源として広く食用されており、その有用性から増収が求められている<sup>4,5)</sup>。

光合成産物の輸送については放射性同位体を用いた研究が多数行われており、ダイズでも多くの報告がある。その内容は  $^{14}\text{C}$  ラベルした二酸化炭素を特定の葉に取り込ませて体内の  $^{14}\text{C}$  を解析することで光合成や光合成産物の輸送の速度、光合成の代謝物、光合成産物の輸送先などを調べたものである<sup>6-11)</sup>。また、ほとんどの植物種において光合成産物は大部分がスクロースの形態で師管を通過して輸送されていることが明らかにされており、ダイズでも茎を通る光合成産物の90–95%がスクロースであるとの報告がある<sup>6,7)</sup>。 $^{14}\text{C}$ -スクロースをダイズの葉に直接取り込ませて葉の  $^{14}\text{C}$  を測定することで、ソースからシンクへの輸送を解析している研究

報告もある<sup>12)</sup>。

<sup>14</sup>C-スクロースを用いた実験では師管へのスクロースの積み込みや師管輸送に注目した報告が多く<sup>13-15)</sup>、実際に植物体内で合成された光合成産物と外部から与えた<sup>14</sup>C-スクロースが植物体内で同じ挙動を示すことを詳細に確認した報告はない。<sup>14</sup>C-スクロースは液体であるため限定した部分への塗布が容易であり、気体である<sup>14</sup>CO<sub>2</sub>の代替として使用することができれば光合成産物の輸送元と輸送先についてのより精密な解析が期待できる。そこで本研究では、ダイズの特定の葉に<sup>14</sup>CO<sub>2</sub>もしくは<sup>14</sup>C-スクロースを吸収させ、植物体内での<sup>14</sup>Cの分布を詳細に比較した。

## 2. 材料と方法

### 2.1 供試植物

供試植物として、ダイズのコズズダイズ品種(佐藤政行種苗)を用いた。バーミキュライト内で発芽させたものを1/2 Hoagland 水耕液に移して栽培した。栄養成長期を調べる個体は27°C, 16h/8hの明暗期の長日条件下で8-11日間栽培し、開花期を調べる個体は27°C, 8h/16hの明暗期の短日条件下で23日間栽培した。

### 2.2 <sup>14</sup>CO<sub>2</sub> 添加

<sup>14</sup>CO<sub>2</sub>を添加する葉とその近位の莖、根の部分を残して植物体全体をアルミニウムホイルで包み、栄養成長期の個体はアクリルケース(22×23×38cm)に、開花期の個体は45Lのポリエチレンバッグ(65×80cm)に入れ、上部をシーリングして静置した。密閉されたアクリルケースもしくはポリエチレンバッグと5mLバイアルをチューブで繋ぎ、バイアル内で5MBqの<sup>14</sup>C-炭酸水素ナトリウム(PerkinElmer, NEC086H005MC)と乳酸を混合して<sup>14</sup>CO<sub>2</sub>を発生させ、アクリルケースもしくはポリエチレンバッグへ<sup>14</sup>CO<sub>2</sub>を送り入れた。15分後、水酸化ナトリウムに<sup>14</sup>CO<sub>2</sub>を吸収させ、アクリルケースもしくはポリエチレンバッグを開放して植物

を取り出した。その後すぐにアルミニウムホイルを外してサンプリング、もしくは22-24時間栽培を継続した後にサンプリングを行った。

### 2.3 <sup>14</sup>C-スクロース添加

<sup>14</sup>C-スクロースを吸収させる葉の上部表面を紙やすりを用いて軽く削り、3.7MBq/mLの<sup>14</sup>C-スクロース(Moravek, MC 266)を5μL添加した。本葉に添加する場合は3つの小葉全てに各5μLずつ添加した。乾燥防止のために添加部位はポリエチレンラップでカバーした。その後、22-24時間栽培を継続し、サンプリングを行った。

### 2.4 イメージングプレートによる<sup>14</sup>C放射能の検出

植物体を台紙に貼り付けポリエチレンラップでカバーし、イメージングプレート(Cytiva, BAS-IP MS 2040)にコンタクトした。4°Cで3時間から7日間のコンタクトを行った後、Imaging Analyzer(GE Healthcare, Amersham Typhoon)によって画像を取得した。画像の解析はImageJ(version 1.53t)によって行った。

### 2.5 液体シンチレーションカウンタによる<sup>14</sup>C放射能の測定

作業の簡便化のため子葉を切り落としたダイズの初生葉もしくは第一本葉に<sup>14</sup>Cを添加し、22-24時間栽培した後、全体を部位によって切り分け、重量を測定して5-10mLの25%次亜塩素酸ナトリウムに溶解した。葉は葉柄を含めてひとつの組織とした。溶解後、200μLの溶解液に600μLのHionic Fluor(PerkinElmer, 6013311)を添加し、よく混合して1時間以上静置した後Liquid Scintillation Analyzer(PerkinElmer, Tri-Carb 4810 TR)によって<sup>14</sup>C放射能を測定した。溶解した次亜塩素酸ナトリウムの量に応じて値を補正し、<sup>14</sup>Cを添加した葉を除いた重量の総量、放射能(cpm値)の総量をそれぞれ100%として各組織での割合を算出した。地上部の

みを解析する場合は更に根の値を除いて総量を100%とした。グラフの作成にはR(version 4.3.3)を用いた。

### 3. 結果と考察

#### 3.1 $^{14}\text{C}$ の添加方法

特定の葉に $^{14}\text{CO}_2$ を吸収させるために独自の装置を開発した報告があるが<sup>6, 16)</sup>, このような装置は対象の植物試料に合わせて作成するため植物種とサイズが限られてしまうことが多い。一方, 対象とする葉を固定してポリエチレンバッグに密閉する手法がよく用いられているが<sup>17)</sup>, これらの方法は手間がかかり, かつ一度に多サンプルを処理することが困難である。そこで, 本研究では特定の葉以外をアルミニウムホイルで包むことで光を遮断し, 光合成による $^{14}\text{CO}_2$ の取り込みを抑える方法を用いた(Fig. 1a, b)。試料を密閉下, 同時に $^{14}\text{CO}_2$ に暴露させることにより複数のサンプルを処理することが可能であるが, 植物にかかるストレスは避けられない。 $^{14}\text{C}$ -スクロースを葉面添加する場合は, 葉の表面に撥水性があるためヤスリ等で擦過し, 添加した溶液を取り込みやすくする必要があるが, 植物を栽培している状態のまま行うことができ(Fig. 1c, d), 一度に多サンプルを処理することが可能であった。葉の表面擦過による $^{14}\text{C}$ -スクロースの添加はダイズを含めた様々な植物種で用いられている手法である<sup>13, 18-20)</sup>。しかし, 擦過処理のばらつきにより取り込み量に差が出てしまう可能性が懸念される。今回の実験では植物体内全体の $^{14}\text{C}$ 量を測定し, 各部位での割合を算出することにより, 体内分布の個体間のばらつきは $^{14}\text{CO}_2$ を取り込ませた時のばらつきと同程度であることを確認した(Fig. 4, 結果の詳細は3.3節で後述)。すなわち,  $^{14}\text{C}$ -スクロースの取り込み量のばらつきは体内での分配の結果に大きな影響を与えないことが示された。

#### 3.2 イメージングプレートによる $^{14}\text{CO}_2$ -光合成産物と $^{14}\text{C}$ -スクロースの分配様式の比較

まず, イメージングプレートを用い,  $^{14}\text{CO}_2$ の取り込みが限定した葉でのみ行われていることを確認した。水耕9日の初生葉に $^{14}\text{CO}_2$ を添加し, 直後と24時間栽培後のものを比較したところ,  $^{14}\text{CO}_2$ に暴露した直後は初生葉でのみ $^{14}\text{C}$ が検出され, アルミニウムホイルで包んだ部分は $^{14}\text{CO}_2$ を吸収していないことが確認された(Fig. 1e)。24時間後の試料では初生葉だけでなく, 茎頂と第二本葉で $^{14}\text{C}$ が検出され(Fig. 1f), 初生葉内で合成された $^{14}\text{C}$ を含む光合成産物がシンクへと輸送されていることが確認された。

次に, 様々な生育段階の葉に $^{14}\text{CO}_2$ もしくは $^{14}\text{C}$ -スクロースを添加して, 22-24時間後の体内の $^{14}\text{C}$ を調べた(Figs. 2, 3)。どの成長段階においても $^{14}\text{C}$ を添加した葉は $^{14}\text{CO}_2$ の場合は $^{14}\text{C}$ 濃度は葉肉組織全体で高く, 葉脈での $^{14}\text{C}$ 濃度は葉肉部分と比較して低かった。一方,  $^{14}\text{C}$ -スクロースを添加した葉は $^{14}\text{C}$ 濃度が極めて高かったが, これは, 体内に取り込まれずに葉表面にとどまっている $^{14}\text{C}$ -スクロースだと考えられた。 $^{14}\text{C}$ を添加した葉以外の部分では,  $^{14}\text{CO}_2$ を添加した場合も $^{14}\text{C}$ -スクロースを添加した場合でも同様の $^{14}\text{C}$ の分布を示した。茎頂や上位の小さい葉では $^{14}\text{C}$ 濃度が高く, 下位の葉や茎の下部では $^{14}\text{C}$ はほとんど検出されなかった。詳細は以下の通りである。

水耕8日の片方の初生葉に $^{14}\text{C}$ を添加した場合は, 第二本葉の半分と茎頂で $^{14}\text{C}$ 濃度が高かった(Fig. 2a)。第二本葉の半分にのみ $^{14}\text{C}$ 濃度が高く見られたのは二枚ある初生葉の片方にのみ $^{14}\text{C}$ を添加したためと考えられる。

水耕9日の第一本葉に $^{14}\text{C}$ を添加した場合は, 第三本葉と茎頂に $^{14}\text{C}$ が検出された(Fig. 2b)。第二本葉では $^{14}\text{C}$ が検出されたが基部に比べて先端部の $^{14}\text{C}$ 濃度は低く, 葉内で一様ではなかった(Fig. 2b)。また, 第二本葉に $^{14}\text{C}$ を添加した場合は,  $^{14}\text{C}$ は第二本葉以外の部分では検出されなかった(Fig. 2c)。これらの結果から,



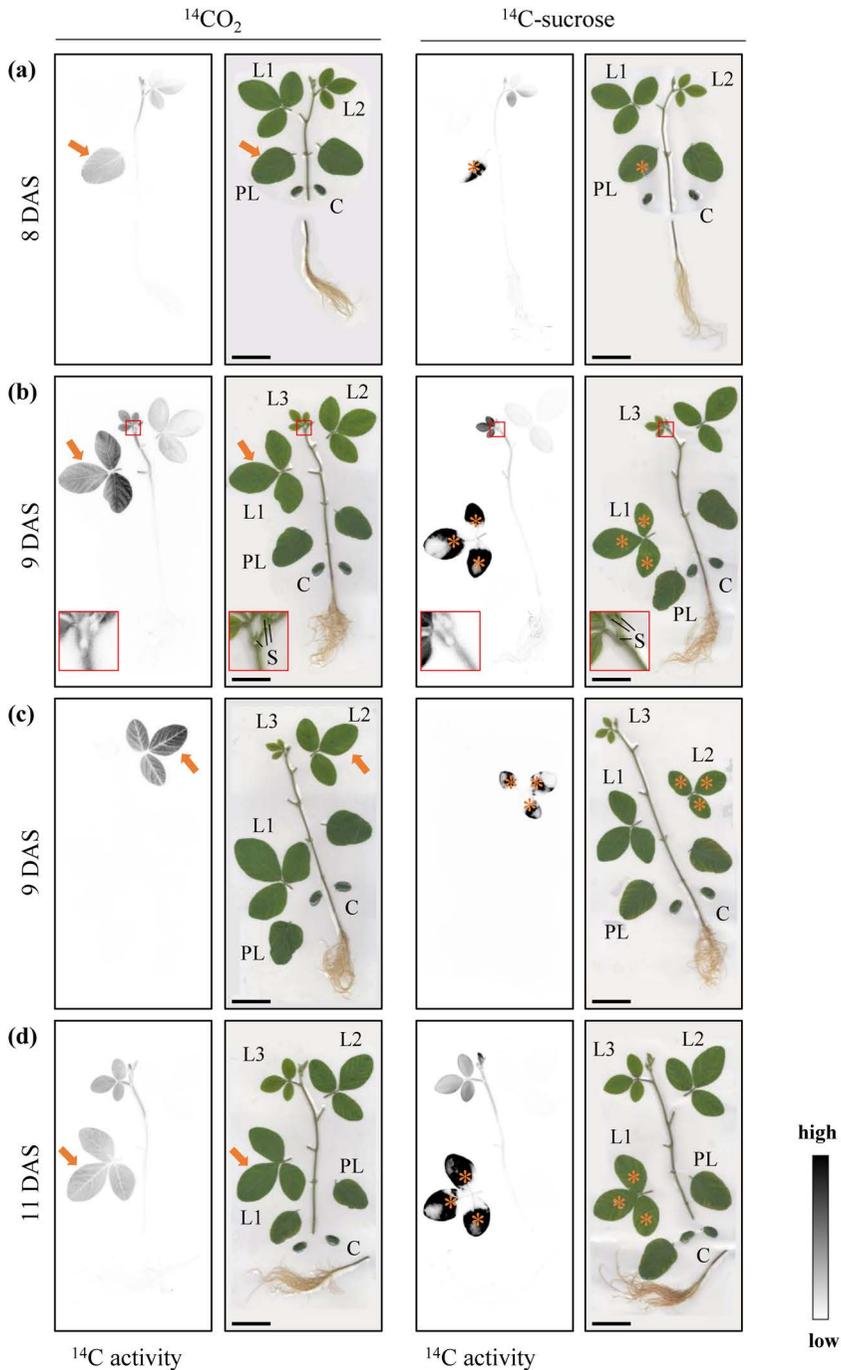


Fig. 2 Distribution of  $^{14}\text{C}$  from  $^{14}\text{CO}_2$  gas or  $^{14}\text{C}$ -sucrose in soybeans at growth stage. Left panels show  $^{14}\text{C}$  activity from imaging plate. Right panels show picture. (a) One primary leaf was supplied  $^{14}\text{CO}_2$  or  $^{14}\text{C}$ -sucrose of at 8 DAS. (b) L1 was supplied  $^{14}\text{CO}_2$  or  $^{14}\text{C}$ -sucrose at 9 DAS. The red squares are magnified 4x in the bottom left-corner. (c) L2 was supplied  $^{14}\text{CO}_2$  or  $^{14}\text{C}$ -sucrose at 9 DAS. (d) L1 was supplied  $^{14}\text{CO}_2$  or  $^{14}\text{C}$ -sucrose at 11 DAS. Orange arrows indicate  $^{14}\text{CO}_2$  supplied leaves. Asterisks indicate  $^{14}\text{C}$ -sucrose added regions. Scale bars show 5 cm. C: Cotyledon, L1-L3: 1st trifoliolate-3rd trifoliolate, PL: primary leaf, S: stipule (Color online).

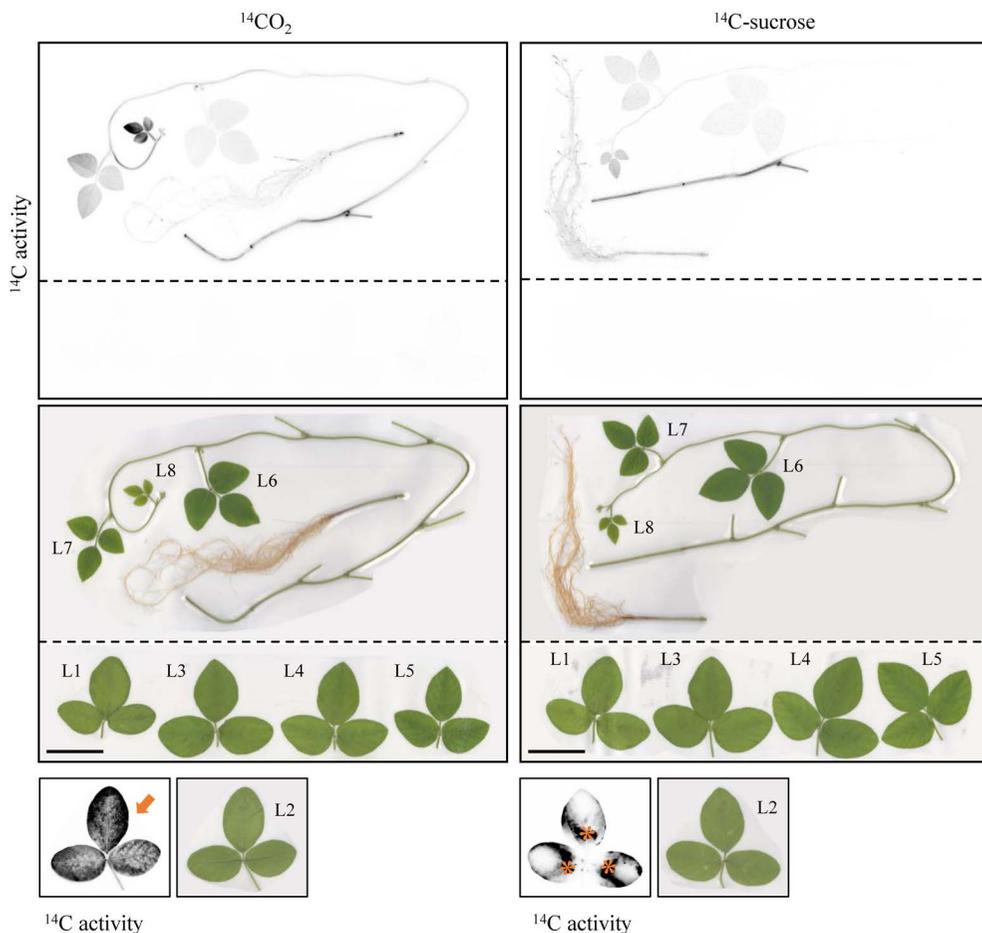


Fig. 3 Distribution of  $^{14}\text{C}$  from  $^{14}\text{CO}_2$  gas or  $^{14}\text{C}$ -sucrose in soybeans at just before flowering. L2 was supplied  $^{14}\text{CO}_2$  or  $^{14}\text{C}$ -sucrose at 23 DAS. Upper panels and left of lower panels show  $^{14}\text{C}$  activity from the imaging plate. Middle panels and right of lower panels show picture. L2 were pasted abaxial side up as they were numbered on the adaxial side and they were displayed in low contrast as they showed significantly higher  $^{14}\text{C}$  activity than other parts. Orange arrows indicate  $^{14}\text{CO}_2$  supplied leaves. Asterisks indicate  $^{14}\text{C}$ -sucrose added regions. Scale bars show 5 cm. L1–L8: 1st trifoliolate–8th trifoliolate (Color online).

からの光合成産物の受け取りが行われなくなったと考えられる。

また、生育段階や $^{14}\text{C}$ の添加した方法に関わらず、 $^{14}\text{C}$ が見られた葉の葉柄の基部に位置する托葉には $^{14}\text{C}$ が検出されなかった (Fig. 2b 拡大)。托葉は葉が成長しても大きくなることはなく、あまり栄養を必要としないためと考えられる。

根でも部分的に $^{14}\text{C}$ が検出される場合があり、特に根端で検出されることが多かった。根

は大部分を重なったまま貼り付けており、イメージングプレートでの詳細な解析は困難であるため液体シンチレーションカウンタでの解析で判断することにした。

短日条件で栽培したダイズは水耕22日以降で一部に開花が見られた。この時期の第二本葉に $^{14}\text{C}$ を添加した場合、最上位の第八本葉での $^{14}\text{C}$ 濃度が高く、第七、六本葉にも $^{14}\text{C}$ が確認できた (Fig. 3)。また、 $^{14}\text{C}$ -スクロースを添加した場合は $^{14}\text{CO}_2$ を添加した場合に比べて根の

相対的な  $^{14}\text{C}$  濃度が高かった (Fig. 3)。

### 3.3 液体シンチレーションカウンタによる $^{14}\text{CO}_2$ -光合成産物と $^{14}\text{C}$ -スクロースの分配様式の比較

$^{14}\text{C}$  から放出される  $\beta$ 線はエネルギーが低く、厚みがある根や茎では放射線の自己吸収が起るため、イメージングプレートによる測定では定量性が低下する。より正確な  $^{14}\text{C}$  の量を測定するため、液体シンチレーションカウンタでの測定を行った。

$^{14}\text{CO}_2$  もしくは  $^{14}\text{C}$ -スクロースを特定の葉に添加し、葉と茎を切り分けて重量を測定した。同じ栽培日数では各部分での重量の割合は差がなかった (Fig. 4b, d)。

水耕8日の両方の初生葉に  $^{14}\text{C}$  を添加した場合、 $^{14}\text{C}$  量の割合は根でのみ有意差があった (Fig. 4a)。根での  $^{14}\text{C}$  量の割合は、 $^{14}\text{CO}_2$  を添加したもので約30%、 $^{14}\text{C}$ -スクロースを添加したもので約50%であり、 $^{14}\text{C}$ -スクロースを添加した方が高かった。それ以外の部分では与えた  $^{14}\text{C}$  による差はなかった。第二本葉は重量の割合が10%以下だったが、 $^{14}\text{C}$  量の割合は20%以上であった。茎での割合は、 $^{14}\text{C}$  量の割合も重量の割合も下位から上位の部分になるに従って小さくなっていったが、上位の茎頂、第二本葉-第一本葉間では  $^{14}\text{C}$  量の割合は重量の割合に比べて高かった (Fig. 4a, b)。この結果は、水耕8日の初生葉に  $^{14}\text{C}$  を添加した場合のイメージングプレートの結果と一致していた (Fig. 2a)。イメージングプレートを用いた実験では初生葉1枚にのみ  $^{14}\text{C}$  を添加したため第二本葉の半分で  $^{14}\text{C}$  濃度が高かったが、この液体シンチレーションカウンタで検出を行った実験では2枚ある両方の初生葉に  $^{14}\text{C}$  を添加しているため第二本葉全体で  $^{14}\text{C}$  量が多くなっていると考えられた。また、イメージングプレートでは第一本葉での  $^{14}\text{C}$  は検出されず、初生葉からの光合成産物の受け取りはないと考えられたが (Fig. 2a)、液体シンチレーションカウンタでは

$^{14}\text{C}$  量の割合に大きなばらつきが見られた (Fig. 4a)。重量の割合と比べて  $^{14}\text{C}$  量の割合はそれほど高くなく、個体によってはまだ初生葉から光合成産物を受け取っているが、その量は多くはないと考えられる。今回の報告では省略するが、根を除去した地上部のみに対して同様の解析を行ったところ、地上部の各部分では  $^{14}\text{C}$  量の割合も重量の割合も有意差は見られなかった。

水耕11日の第一本葉に  $^{14}\text{C}$  を添加した場合、第二本葉と茎の第二本葉と第三本葉の節間と根で、 $^{14}\text{CO}_2$  と  $^{14}\text{C}$ -スクロースのどちらを与えたかによって  $^{14}\text{C}$  量の割合が異なった (Fig. 4c)。一番差が大きかったのは根であり、 $^{14}\text{CO}_2$  を添加した場合は約10%で  $^{14}\text{C}$ -スクロースを添加した場合は約25%であった。根を除いて地上部に限定して解析を行ったところ、第二本葉と初生葉で  $^{14}\text{C}$  量の割合の差が見られた (Fig. 4e)。 $^{14}\text{CO}_2$  を添加した場合と  $^{14}\text{C}$ -スクロースを添加した場合でそれぞれ第二本葉では1.5%と4.2%、初生葉で1.0%と2.0%であった (Table 1)。重量の割合はどの部分でも同程度であった (Table 1)。どちらの  $^{14}\text{C}$  を添加した場合でも、第三本葉と茎頂で  $^{14}\text{C}$  量の割合が重量の割合に比べて非常に高かった (Fig. 4e and Table 1)。これらの結果は水耕11日のイメージングプレートの結果と一致していた (Fig. 2d)。

以上のように、重量の割合に比べて  $^{14}\text{C}$  量の割合が高いシンクである部分では液体シンチレーションカウンタとイメージングプレートの結果は一致しており、 $^{14}\text{CO}_2$  を添加した場合と  $^{14}\text{C}$ -スクロースを添加した場合の  $^{14}\text{C}$  の分配率はほぼ同じであった。しかし、液体シンチレーションカウンタではイメージングプレートでは確認できなかった部分での違いを検出することができた (Fig. 4e and Table 1)。 $^{14}\text{C}$ -スクロースを添加した場合の方が水耕8日の根と水耕11日の根、初生葉、第二本葉での  $^{14}\text{C}$  量の割合が高かった。根はシンクであると言われているが根粒菌との共生の有無や根が置かれてい

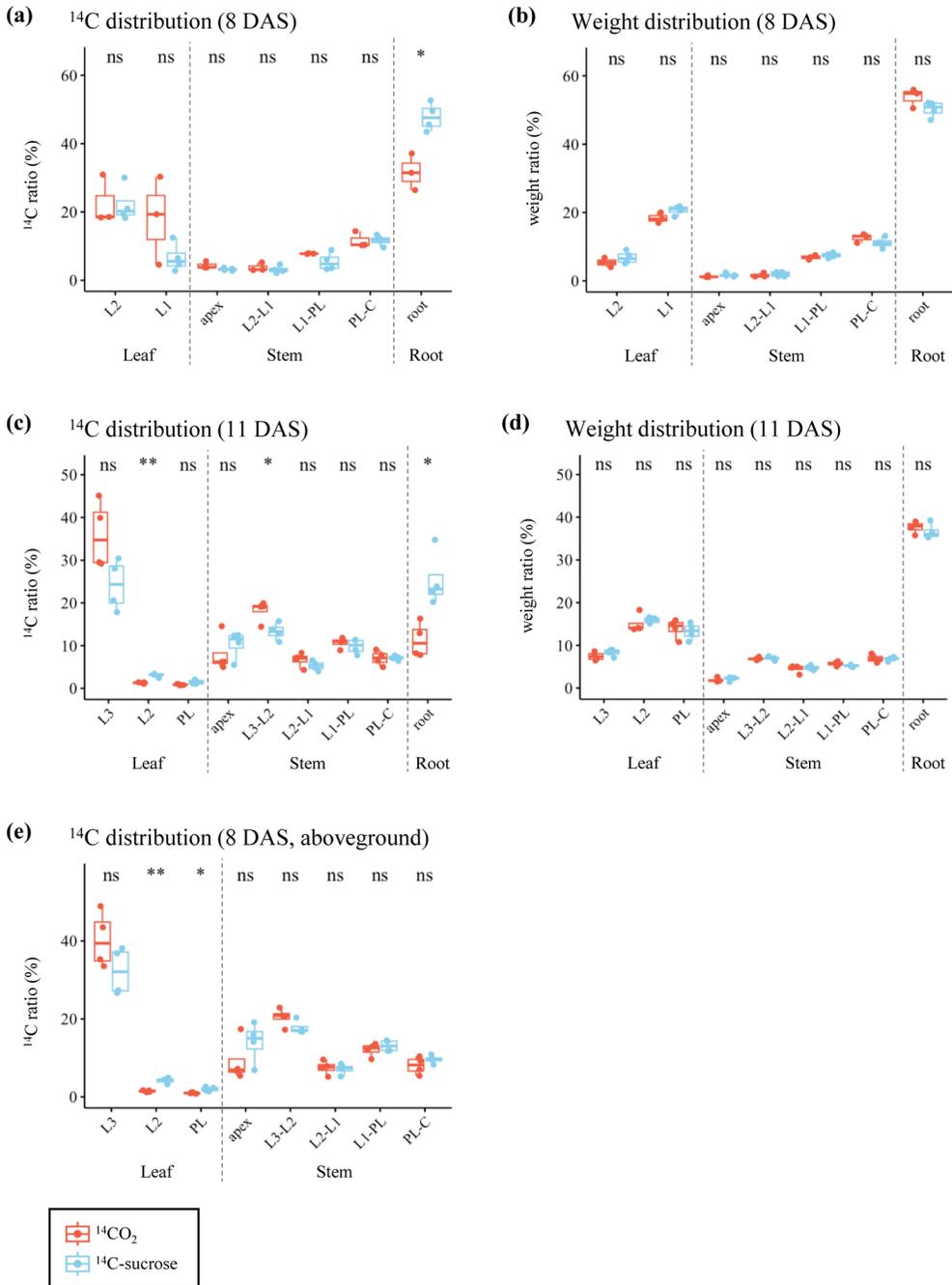


Fig. 4  $^{14}\text{C}$  activity concentration ratio from  $^{14}\text{CO}_2$  gas or  $^{14}\text{C-sucrose}$ , and weight ratio in each part of soybeans. (a, b)  $^{14}\text{CO}_2$  or  $^{14}\text{C-sucrose}$  was supplied to PL at 8 DAS. (c–e)  $^{14}\text{CO}_2$  or  $^{14}\text{C-sucrose}$  was supplied to L1 at 11 DAS. (a, c)  $^{14}\text{C}$  distribution of whole plant except for  $^{14}\text{C}$  supplied leaf. (b, d) Weight distribution of whole plant except for  $^{14}\text{C}$  supplied leaf. (e)  $^{14}\text{C}$  distribution of aboveground except for  $^{14}\text{C}$  supplied leaf. The orange red bars indicate data from  $^{14}\text{CO}_2$  added plants and the light blue bars indicate data from  $^{14}\text{C-sucrose}$  added plants. Three to four individuals were used in each condition. Statistical significance was assessed by Student's *t*-test. \*:  $P < 0.05$ , \*\*:  $P < 0.01$ . ns: Not significant. L1–L3: 1st trifoliolate–3rd trifoliolate, PL: primary leaf, L3–L2: internode L3 to L2, L2–L1: internode L2 to L1, L1-PL: internode L1 to PL, PL-C: internode PL to cotyledon (Color online).

Table 1 Mean of  $^{14}\text{C}$  ratio and weight ratio in each aboveground part of soybeans at 11 DAS

		$^{14}\text{CO}_2$		$^{14}\text{C}$ -sucrose	
		$^{14}\text{C}$ (%)	weight (%)	$^{14}\text{C}$ (%)	weight (%)
leaf	L3	40.3	12.0	32.2	13.1
	L2	**1.5	24.2	**4.2	25.1
	PL	*1.0	22.4	*2.0	20.9
stem	apex	9.2	3.1	14.0	3.4
	L3-L2	20.5	11.0	17.8	11.0
	L2-L1	12.1	9.1	13.1	8.2
	L1-PL	7.5	7.2	7.1	7.5
	PL-C	8.0	11.1	9.6	10.8
total		100.0	100.0	100.0	100.0

The total amount was calculated set as 100%, excluding L1 which was applied  $^{14}\text{C}$  and root. Statistical significance between  $^{14}\text{CO}_2$  and  $^{14}\text{C}$ -sucrose was assessed by Student's t-test. See fig. 4e. \*:  $P < 0.05$ , \*\*:  $P < 0.01$ . L3: 3rd trifoliolate, L2: 2nd trifoliolate, L1: 1st trifoliolate, PL: Primary leaf, C: cotyledon. L3-L2: internode L3 to L2, L2-L1: internode L2 to L1, L1-PL: internode L1 to PL, PL-C: internode PL to cotyledon.

る環境によって光合成産物の輸送量が変化することが知られている<sup>21, 22)</sup>。根端は積極的に分裂を行って栄養を必要としているシンクであり、イメージングプレートでも一部で $^{14}\text{C}$ が確認できている。しかし、それ以外の部分では $^{14}\text{C}$ をほとんど検出できず、液体シンチレーションカウンタでも重量の割合に比べて $^{14}\text{C}$ 量の割合は低い。根の重量の割合も水耕8日から11日にかけて減少しており、地上部の重量変化を伴う急激な成長に比べて根の成長は緩やかであると推察される。これらのことから、少なくとも今回の栽培条件では根は強いシンク能を持っていないと考えられる。また、水耕11日の初生葉、第二本葉は十分に展開し光合成を盛んに行っているソースであり、第一本葉に $^{14}\text{C}$ を添加した実験においてイメージングプレートによる検出では $^{14}\text{C}$ はほとんど検出されなかった (Fig. 2d)。このように、 $^{14}\text{CO}_2$ を添加した場合と $^{14}\text{C}$ -スクロースを添加した場合の $^{14}\text{C}$ の分配量に違いが見られた部分はシンク能が低い部位に限られており、シンク能が高い部位への $^{14}\text{C}$ の分配については $^{14}\text{CO}_2$ を添加した場合も $^{14}\text{C}$ -スクロースを添加した場合も同様で

あることが示された。

### 3.4 輸送される $^{14}\text{C}$ の化学形態

$^{14}\text{CO}_2$ を添加した場合と $^{14}\text{C}$ -スクロースを添加した場合に考えられる $^{14}\text{C}$ の輸送の違いは、 $^{14}\text{CO}_2$ からは光合成産物によって合成された $^{14}\text{C}$ -スクロース以外のものも輸送されることである。ダイズの葉から輸送される光合成産物の約90%はスクロースであるが、他のグルコースやフルクトース、アミノ酸なども輸送されていることが報告されている<sup>6, 7)</sup>。 $^{14}\text{C}$ -スクロースを添加したイメージングプレートの結果では、添加した葉内で $^{14}\text{C}$ が拡散している様子は見られなかった (Figs. 2, 3)。このことから外部から添加した $^{14}\text{C}$ -スクロースはそのまま師管に積み込まれて葉外へ運ばれていると予想される。テンサイでは様々な成長段階の葉に $^{14}\text{C}$ -スクロースを吸収させると、若いシンク葉では葉内で代謝され $^{14}\text{C}$ はタンパク質などに取り込まれるが、成長に従って代謝される割合は減少し、最大展開した葉ではほとんどが $^{14}\text{C}$ -スクロースのままであることが報告されている<sup>23)</sup>。

今回、 $^{14}\text{CO}_2$ を添加した場合と $^{14}\text{C}$ -スクロー

スを添加した場合に見られた違いはシンク能が低い部分への $^{14}\text{C}$ の分配割合であり、 $^{14}\text{C}$ -スクロースを添加した方が高かった。液体シンチレーションカウンタでは測定した全ての部分で $^{14}\text{C}$ が検出されたことから、スクロースは植物全体にある程度輸送されていて、シンク能が高い部分には特に多く運ばれていると考えられる。一方で、スクロース以外の輸送される光合成産物は量が少ないものの、スクロースよりも選択的にシンク能が高い部分へと運ばれており、 $^{14}\text{C}$ -スクロースを添加した場合はスクロース以外の光合成産物が含まれないため、シンク能が低い部分で差が見られたのではないかと考えられる。最近ではスクロース自体がシグナルとして働くことが報告されており<sup>24)</sup>、シンク以外へのスクロースの移動は十分に考えられる。

今後は体内に取り込まれた $^{14}\text{CO}_2$ 由来の師管液内の輸送物質と添加した $^{14}\text{C}$ -スクロース由来の師管液内の輸送物質の比較分析が望まれる。この解析が可能となれば、 $^{14}\text{C}$ の化学形態の違いによる輸送の違い(輸送体の有無や濃度勾配による拡散速度など)の研究にも繋がる。さらに、輸送先での代謝物に差があれば、違いを比較することにより糖代謝やシグナル伝達についての理解をより深めることができると期待される。

#### 4. おわりに

今回の実験では $^{14}\text{CO}_2$ もしくは $^{14}\text{C}$ -スクロースをダイズの特定の葉に添加した場合の $^{14}\text{C}$ の輸送先と分配量の比較検討を行った。その結果、 $^{14}\text{C}$ -スクロースを添加した方が根への $^{14}\text{C}$ の分配の割合が高かった。また、地上部に限定するとシンクではない葉の間でわずかに差が見られるものの、イメージングプレートでは検出できない程度のものであった。これらのことから、地上部のシンクに注目した光合成産物の輸送の解析を行うには $^{14}\text{CO}_2$ を用いた実験の代替として $^{14}\text{C}$ -スクロースを用いることが十分可能であると結論付けることができる。これにより、 $^{14}\text{C}$ -スクロースを用いた実験に新たな付加

価値を見出すことができた。 $^{14}\text{C}$ -スクロースを用いる実験は、植物を栽培している状態のまま、位置の固定も密閉もせずに実験できることが大きな利点である。また、場所を限定した添加が容易であるため、輸送元と輸送先をより詳細に関係づけることが可能である。しかし、根に注目する場合や、光合成産物の代謝や正確な輸送量を論じる場合には注意が必要である。

#### 著者情報

##### 著者貢献内容

相馬 愛：研究の実施と論文の作成

杉田亮平：研究の発案と構想

栗田悠子：研究の構想と論文の推敲

小林奈通子：研究の構想と論文の推敲

中西友子：研究の構想と論文の推敲

田野井慶太郎：研究の構想と論文の推敲

##### ORCID 番号

相馬 愛：なし

杉田亮平：0009-0000-0858-1821

栗田悠子：0000-0003-2056-3663

小林奈通子：0000-0002-1279-7083

中西友子：なし

田野井慶太郎：0000-0001-7545-2771

##### 利益相反の開示

本論文に関連し、著者全員について開示すべき利益相反 (conflict of interest; COI) 関係にある企業等はない。

#### 謝 辞

本研究は JSPS 科研費 JP20H0043, JP24H00499 と福島国際研究教育機構 (F-REI) JPFR24040101 の委託研究費の助成を受けたものです。

#### 文 献

- 1) Turgeon, R., The sink-source transition in leaves, *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, **40**, 119–138 (1989)
- 2) Ho, L. C., Metabolism and compartmentation of imported sugars in sink organs in relation to sink strength, *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*,

- 39, 355–378 (1988)
- 3) Rosado-Souza, L., Yokoyama, R., Sonnewald, U. and Fernie, A. R., Understanding source–sink interactions: Progress in model plants and translational research to crops, *Mol. Plant*, **16**, 96–121 (2023)
  - 4) Hartman, G. L., West, E. D. and Herman, T. K., Crops that feed the World 2. Soybean—worldwide production, use, and constraints caused by pathogens and pests, *Food Secur.*, **3**, 5–17 (2011)
  - 5) Liu, S., Zhang, M., Feng, F. and Tian, Z., Toward a “Green Revolution” for soybean, *Mol. Plant*, **13**, 688–697 (2020)
  - 6) Vernon, L. P. and Aronoff, S., Metabolism of soybean leaves. IV. Translocation from soybean leaves, *Arch. Biochem. Biophys.*, **36**, 383–398 (1952)
  - 7) Fisher, D. B., Kinetics of C-14 translocation in soybean, *Plant Physiol.*, **45**, 107–113 (1970)
  - 8) Biddulph, O. and Cory, R., Translocation of C14 metabolites in the phloem of the bean plant, *Plant Physiol.*, **40**, 119–129 (1965)
  - 9) Thrower, S. L., Translocation of labelled assimilates in the soybean. 2. The pattern of translocation in intact and defoliated plants, *Aust. J. Biol. Sci.*, **5**, 629–649 (1962)
  - 10) Kagawa, T. and Wong, J. H. H., Allocation and turnover of photosynthetically assimilated  $^{14}\text{C}$ CO<sub>2</sub> in leaves of *Glycine max* L. Clark, *Plant Physiol.*, **77**, 266–274 (1985)
  - 11) Thaine, R., Ovenden, S. and Turner, J., Translocation of labelled assimilates in the soybean, *Aust. J. Biol. Sci.*, **12**, 349–372 (1959)
  - 12) Bennett, A. B., Sweger, B. L. and Spanswick, R. M., Sink to source translocation in soybean, *Plant Physiol.*, **74**, 434–436 (1984)
  - 13) Grignon, N., Touraine, B. and Durand, M., 6(5)Carboxyfluorescein as a tracer of phloem sap translocation, *Am. J. Bot.*, **76**, 871–877 (1989)
  - 14) Turgeon, R. and Wimmers, L. E., Different patterns of vein loading of exogenous [ $^{14}\text{C}$ ]sucrose in leaves of *Pisum sativum* and *Coleus blumei*, *Plant Physiol.*, **87**, 179–182 (1988)
  - 15) Rennie, E. A. and Turgeon, R., A comprehensive picture of phloem loading strategies, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **106**, 14162–14167 (2009)
  - 16) Kölling, K., Müller, A., Flütsch, P. and Zeeman, S. C., A device for single leaf labelling with CO<sub>2</sub> isotopes to study carbon allocation and partitioning in *Arabidopsis thaliana*, *Plant Methods*, **9**, 45 (2013)
  - 17) Sugita, R., Kobayashi, N. I., Tanoi, K. and Nakaniishi, T. M., Visualization of  $^{14}\text{C}$ CO<sub>2</sub> gas fixation by plants, *J. Radioanal. Nucl. Chem.*, **318**, 585–590 (2018)
  - 18) Slewinski, T. L., Meeley, R. and Braun, D. M., Sucrose transporter1 functions in phloem loading in maize leaves, *J. Exp. Bot.*, **60**, 881–892 (2009)
  - 19) Srivastava, A. C., Ganesan, S., Ismail, I. O. and Ayre, B. G., Functional characterization of the *Arabidopsis* AtSUC2 sucrose/H<sup>+</sup> symporter by tissue-specific complementation reveals an essential role in phloem loading but not in long-distance transport, *Plant Physiol.*, **148**, 200–211 (2008)
  - 20) Wu, Y., Lee, S. K., Yoo, Y., Wei, J., et al., Rice transcription factor OsDOF11 modulates sugar transport by promoting expression of sucrose transporter and SWEET genes, *Mol. Plant*, **11**, 833–845 (2018)
  - 21) Singleton, P. W. and van Kessel, C., Effect of localized nitrogen availability to soybean half-root systems on photosynthate partitioning to roots and nodules, *Plant Physiol.*, **83**, 552–556 (1987)
  - 22) Fujikake, H., Yamazaki, A., Ohtake, N., Sueyoshi, K., et al., Quick and reversible inhibition of soybean root nodule growth by nitrate involves a decrease in sucrose supply to nodules, *J. Exp. Bot.*, **54**, 1379–1388 (2003)
  - 23) Giaquinta, R., Source and sink leaf metabolism in relation to phloem translocation, *Plant Physiol.*, **61**, 380–385 (1978)
  - 24) Yoon, J., Cho, L. H., Tun, W., Jeon, J. S., et al., Sucrose signaling in higher plants, *Plant Sci.*, **302**, 110703 (2021)

**Abstract****Comparative Analysis of the Translocation of [ $^{14}\text{C}$ ]CO<sub>2</sub>-Derived Photosynthetic Products and Foliar-Applied [ $^{14}\text{C}$ ]-Sucrose in Soybean**

Ai KAIHO-SOMA<sup>1</sup>, Ryohei SUGITA<sup>2</sup>, Yuko KURITA<sup>1</sup>, Natsuko I. KOBAYASHI<sup>1</sup>,  
Tomoko M. NAKANISHI<sup>1</sup> and Keitaro TANOI<sup>1, 3, †</sup>

<sup>1</sup>Graduate School of Agricultural and Life Science, The University of Tokyo,

<sup>2</sup>Radioisotope Research Center, Nagoya University,

<sup>3</sup>Fukushima Institute for Research, Education and Innovation

†uktanoi@g.ecc.u-tokyo.ac.jp

*Photosynthates are translocated into the plant tissue mainly in the form of sucrose. To determine whether there are differences in translocation between internally produced photosynthates and externally applied sucrose,  $^{14}\text{CO}_2$  or  $^{14}\text{C}$ -sucrose was supplied to specific soybean leaves and the  $^{14}\text{C}$  activity distribution was compared. The distribution rates were almost the same among the above-ground tissues, but different in the roots. Care should be taken when using  $^{14}\text{C}$ -sucrose as a photosynthate, especially when focusing on roots.*

(Received September 18, 2024)

(Accepted December 16, 2024)

---