# 葉脈の形態分類と物質輸送の分析

076802 立川 浩幹 指導教官 岩田 修一 教授

Nature plant owns the efficient inner transport network to rapidly adsorb and transport the necessary nutrient and this network is called fibrovascular bundle. However, it is impossible to measure the nutrient transport in technique directly. At present, one simple method is to use the isotopic tracer method to estimate nutrient transport in the plant by composition logic. In this study, we first obtain the images of radioisotope transport inner the leaf, and built the nutrient transport model based on image processing, and we examine the relationship between nutrient transport and leaf pattern lastly. It is found that in the initial stage the radioisotope transport of main vein is important and as time changing the lateral vein begins to work. Additionally, we also observed that as time increasing the radioisotope transport amount will linearly increase.

Key words: Nature plant, Leaf pattern, Transport Phenomena

## 1. 緒言

生物の活動には、生命維持に必要な水分や養分を身体に効率よく取り込み、身体全体に効率よく輸送する必要がある。約4億7500万年前の中期オルドビス紀に上陸した植物は、進化という自然の淘汰過程を経て、高等植物では自然環境に合わせた体内の水分輸送や養分輸送行う輸送経路を維管束という形で手に入れたとされている[1]。

しかしながら、この維管束は複雑なパターンを形成し、更には管壁から葉肉への漏洩についても考慮しなければならないことから、葉の巧みな輸送現象の本質を明らかにすることは容易ではない。そこで、本研究では、数理的な意味の明らかなモデルによる構成論的な手法と、動画データの観察と解析による分析的なアプローチとを併用して、複雑な系における輸送現象のモデリング手法を検討することとした。

この維管東内の物質移行を、従来までの水測定機器では詳細な物質輸送を計測することは不可能であった。その為植物内部の物質輸送は、植物全体で計測されたデータを基に内部の構造に展開して推測することしかできなかった。本研究における物質輸送の測定結果は、放射性同位体を活用して高解像度の実時間でのダイズの葉の中の物質輸送を計測した最新の成果を用いた。

## 2. 形態形成に関する構成論的アプローチの調査

従来の複雑な物質輸送経路研究では構成論的アプローチがメインであった。構成論的アプローチとは、ある現象の基本となるアルゴリズムを設定し、そのアルゴリズムにより現象を説明づけようとする手法のことである。

高木<sup>[2]</sup>はヒトの肺の構造を、肺の血管を円管近似 し流体力学を適応させることで9つのシンプルな基 礎項目と4つの修正ルールで再現し、肺の構造がフ ラクタル構造を持っていることを示した(Fig.1)。

A. Gierer と H. Meinhardt<sup>[3]</sup>が Turing が提唱した反応拡散方程式による解の不安定性を用いて、植物ホルモンで成長促進作用があるオーキシンと成長抑制作用があるホルモンに対して反応拡散方程式を立て、葉脈構造を再現した。

Francois G. Feugier [4] は、Sachs が提唱したオーキシン流量がある場所はより流れやすくなり葉脈が形成されるという運河仮説に基づき、葉脈構造を再現した(Fig.2)。

A.Runions<sup>[5]</sup>は、オーキシンの流れと脈形成を、葉の形状をした空間にランダムに配置されたオーキシンの発生源と脈の基になる点を、幾何学的法則性によって繋げる事を葉の境界を広げながら行うことで成長する葉の中の葉脈構造を再現した。

上記の既存研究はいずれも、局所的な輸送経路の設計アルゴリズムを設定し、そのアルゴリズムにより輸送経路全体を設計するものである。その為、高木の例では、基本となるアルゴリズムの他に、実際の肺の形状に合わせるための4つの修正ルールを追加で補足している。また、チューリングモデルによる葉脈再現では葉脈がループする箇所の再現が難しい。運河仮説では実際、オーキシン濃度か流量のどちらが葉脈形成に関わっているか分かっていない。Runionsによる葉脈モデルでは、植物ホルモンのオーキシンの生理学的反応を考慮せず、言葉上のみ使用している。



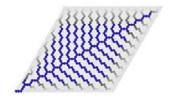


Fig.1 Lung model

Fig.2 Canalization model

# 3.分析的アプローチ: 輸送現象に関するデータの解析

分析的アプローチとは、研究対象が示している解を分析的に調査しながら問題を解いていく手法である。従来、葉脈での複雑な輸送経路に対しては、分析的アプローチはデータ抽出が難しい点から、ほとんど行われていなかった。今回、ダイズの葉の内部の詳細な物質輸送データにより分析的アプローチが可能となった。

## 3.1 対象データ

今回の解析に用いた対象データは、中西1及び、管野2より提供を受けたものである。これは植物体内中での物質移行を非破壊かつリアルタイムに 2次元解析を行う計測装置を開発し計測を行った物である。この技術により高精度な解像度で、植物内の物質輸送の解析が可能になった。計測システムは、植物内に吸収させた放射性同位体元素 32P から放出される  $\beta$ 線を CsI シンチレータを用いて微弱な可視光に変更し、フォトカウンティングするものである [6],[7]。フォトカウンティングされた結果は動画データで輝度値を濃淡として可視化している。

今回はこの装置により測定された生きたダイズの 葉内部のリンの移行データを用いた(Table.1)。

Table.1 Data of soybean animation

Unit time of measurement	2 minutes
Measurement time	15.1 hours
Analytical time	11.8 hours
Number of pictures	453
Number of analysis pictures	353
Graphic mode	100µm
Number of pixels	656*480
Number of analysis pixels	280*435

#### 3.2 データ抽出

動画データを 8bit の 0.255 の輝度値として扱った。動画データより葉脈 13 本、葉肉 11 部を選択した。そして各領域内の時間毎の輝度値を測定した (Fig.3)。





Fig.3 Analysis area of leaf vein and mesophyll

### 3.3 データ解析

Fig.4 は、主脈/側脈の物質量の比である。輸送初期では、主脈への流入が強まり、その後側脈への流入が多くなり、比が一定になることが分かる。また、Fig5 は葉脈/葉肉の物質量の比である。物質輸送初期において、葉脈への流入が多く、その後一定に近づくことが分かる。よって、葉の中の物質輸送を3段階に分けることができた。

①物質輸送初期で、葉脈への物質輸送量が多くなる と共に、主脈での物質輸送量が多くなることが観 測された。

- ②時間が経過すると共に側脈への物質輸送量が多く なり、葉肉への物質輸送量増加が観測された。
- ③一定時間経過後、葉肉と葉脈、主脈と側脈への物質輸送量の比が安定して、葉身内の物質輸送が各領域で一定の割合で増加することを観測できた。

Fig.6 において葉身上の輝度値データに着目すると、時間に対して線形的な輝度値上昇をしていることが分かる。この線形的な上昇は時間にしたら 10時間以上線形な上昇を続けていることとなる。また葉身を、葉脈部、葉肉部で分割した際も時間に対する線形的な上昇を観察することができる。また、各々の葉脈、葉肉上でも線形的な輝度値上昇を観測できた(Fig.7, Fig.8)。

#### Mein vein Lateral vein

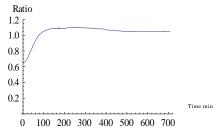


Fig.4 Mein vein/Lateral vein

Increment of total vein Increment of total mesophyll

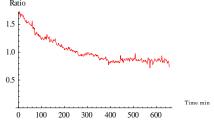


Fig.5 Total veins/Total mesophylls

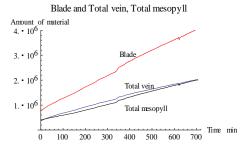
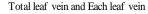


Fig.6 Blade and Total vein, Total mesopyll



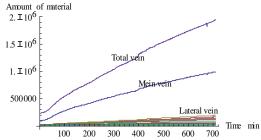


Fig.7 Amount material on Leaf vein

<sup>1</sup>中西友子(東京大学大学院農学生命科学研究科農学部応用生命化学専攻生物生産化学講座教授) 2菅野里美(同研究室学生)

# Total mesophyll and Each mesophyll

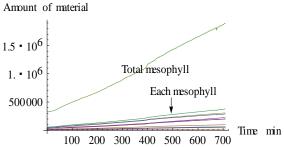


Fig.8 Amount material on Mesopyll

## 4.簡易モデルの作成

植物の物質輸送が時間に対し線形に行われていることを再現することを最終的な目標とし、数種類の物質輸送近似モデル作成を行い、物質輸送経路と物質輸送、葉の形態の比較検証を行った。

均質媒体中の物質輸送量変化を見るために、動画解析で用いた葉と同じ領域の二次元拡散方程式モデルを作成した。葉の基部上での値を入力値とし、境界条件をディリクレ境界条件とした。Fig.9 が拡散方程式の輝度値上昇を測定した結果である。時間初期では物質輸送量が少なく、その後多くなり、最終的には輸送量の増加が遅くなることが分かる為、時間初期と後期で強い非線形性を示している。このことより、輝度値の線形的な上昇は均質媒体中の拡散では起こらず、葉脈のような複雑な物質輸送経路が必要であることがわかる。

Fig.10 では葉の主脈及び一次側脈を模したモデルで、葉の形態変化を表す為に作成を行った。主脈、側脈に対して拡散方程式を設定し、主脈軸と側脈軸の拡散係数を変化させた(Fig.11)。拡散係数を変化させることで葉の形態が変化することが分かる。

Fig.12 ではフラクタルモデル上の形態変化をMurry の最小仕事モデル<sup>[8]</sup>により再現したものである。葉脈の半径比を変えると、内部の流量が変化し、仕事率が最小となる脈分岐角度が決定され、葉の形態変化が起こる。それに伴い内部の物質輸送状況が変化することを確認した。

#### Homogeneous Diffusion

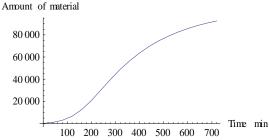


Fig.9 Diffusion model on homogeneous

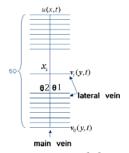


Fig. 10 Simple venation model

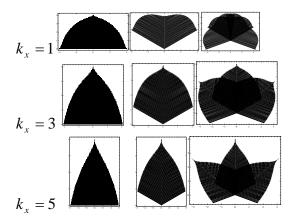


Fig.11 Leaf model ( $t = 0.5, k_v = 1$ )

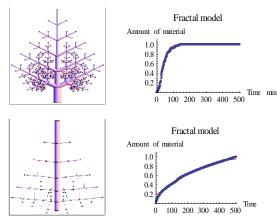


Fig12 Fractal model and Amount materials

## 5.考察

以上の調査、分析、モデル計算の結果に基づき、 構成論的なアプローチでは基本的なアルゴリズムを 設定することで、輸送経路作成過程を分かりやすく 示すことができるが、複雑な物質輸送経路を再現す ることは難しいといえる。

そこでダイズの葉の中の物質輸送を分析的アプローチにより解析を行い、ダイズの葉にリンが輸送される動画にて、葉の様々な領域で輝度値変化が時間に対して非常に線形的であることが分かった。物質輸送を時間に対して線形に上昇させる為には、物質輸送経路が分岐をしても特異点となり物質輸送を停

滞させないこと、物質輸送速度が時間によらず一定であることが重要となる。これは結果的にエネルギー損失が低い物質輸送状態だと言える。そこで植物の最適化は、エネルギー損失の少ない物質輸送を実現する為に、時間に対して線形的に物質輸送を行う事だといえる。

植物はこの機能を、主脈・一次側脈・二次側脈と 分岐することを繰り返し最終的に脈により葉を微小 空間に分割するまで分岐する葉脈のフラクタル的な 複雑経路構造及び、葉の各所に散らばった気孔によ って引き起こされる 250 気圧とも言われる葉身内の 負圧の分布など様々な要因がお互い複合されること で実現していると考えられる。

様々な葉脈モデルを作成することで、葉脈構造により葉の大きな形態変化及び、葉の内部の物質輸送が大きく変化することがわかった。この大きな変化を予期して制御し、最適な脈形状を創ることは難しいと考える。

そこで、実際の植物の葉脈に近いモデルを作るためのアルゴリズムを提案する。

- ①葉身の形状方向に主脈を設ける。
- ②主脈上の一次側脈の位置を設定する。
- ③主脈上に一時側脈を等間隔で配置する。
- ②'一次脈上の二次側脈の位置を決定する。
- ③'一次脈上に二次側脈を等間隔で配置する。

以上の流れを、脈により空間が細分化するまで行えば脈の構造ができると考える。しかし、内部の物質輸送がこの作業で最適化されたわけではなく、実際の作業においては、脈同士の位置を少しずつ変化させ、全体の物質輸送量が線形に近くなるような脈構造をとるという手法をとる必要があると考える。

今回は画像から判断できる一次側脈までの観測で終わったが、葉脈の構造は、主脈、一次側脈から分岐する二次側脈、三次側脈と続き、最後に微小な多角形領域に分割されるまでフラクタル構造として取り扱われることが多くある。

今後この二次側脈以降の高次の側脈内の物質輸送の現象を分析し、現象論的モデル群に加えることができれば、物質輸送経路のモデリングの際に、複雑な経路のモデリングを行うことができる。また、葉脈構造の再現をフラクタル構造と組み合わせることにより、複雑な物質輸送経路をもつ葉脈の明確なモデリングに繋がると考える。

# 6.まとめ

- (1)植物の葉における輸送問題についての構成論的ア プローチ、分析的アプローチについての予備的検 証を行った。
- (2)複数の簡易モデルによって構成論的アプローチ、 分析的アプローチ手法を、関連付ける方策につい て検証した。
- (3)複雑システムのモデリングを段階的に進める為の方策について見通しを得た。

## 謝辞

ダイズの葉における物質輸送のリアルタイムイメージングデータを提供していただいた東京大学大学院農学生命科学研究科農学部応用生命化学専攻生物生産化学講座中西教授、菅野さんに心より感謝を致します。

# 参考文献

- [1] LC Pearson, The Diversity and Evolution of Plants(1995)
- [2] 高木隆司,北岡裕子著, 肺の構造をコンピューターで作る, 応用数理学会, 日本応用数理学会誌, 12, 1, pp.2-13 (2002)
- [3] H. Meinhardt, Models of biological pattern formation, Academic Press, London (1982)
- [4] Francois G. Feugier, Self-organization of the vascular system in plant leaves, Journal of Theoretical Biology, Volume 236, Issue 4, 21,pp 366-375 (2005)
- [5] A. Runions, Modeling and visualization of leaf venation patterns, International Conference on Computer Graphics and Interactive Techniques, pp.702 - 711 (2005)
- [6]中西友子, 植物における物質動態のリアルタイム イメージング, バイオサイエンスとインダストリー, Vol.66, No.10, pp. 562~564, (2008/10)
- [7]中西友子, 植物物質動態のリアルタイムトレーサー解析装置の開発, CREST 学会資料 (2008)
- [8] Murry, C. D., The Physiological principle of minimum work.1, Proc. Nat. Acad. Sci. 12 .207. (1926)