

マメ科植物ルーピンによる土壌粘土鉱物からの
カリウム・セシウム可給化機構の解明

北海道大学大学院 農学研究院

丸山 隼人

カリウムは植物の三大栄養素の一つであり食糧生産を考える上で重要な元素である。また、放射性セシウムで汚染された農地へのカリウム施肥による作物への放射性セシウム吸収抑制技術に知られるように、植物のカリウム吸収や土壌中のカリウム動態を理解することは食の安全を考える上でも重要である。植物根におけるセシウムの取り込みは主にカリウムトランスポーターによって行われると考えられ、土壌溶液のカリウム濃度を高める事で相対的に放射性セシウムの取り込みを抑制することができる。しかし、イネに比較してダイズなどのマメ科において、同じ交換性カリウム濃度であってもより多くの放射性セシウムを吸収するなど、吸収機構は植物種により異なっており、根圏土壌中でのこれら元素の動態については詳細な調査が必要である。

これまでに申請者らが福島県で行った圃場試験において、とりわけマメ科のルーピンが高い放射性セシウム吸収能力を有することが明らかになった。ルーピンは貧栄養環境への適応力が高いことで知られ、クラスター根と呼ばれる側根が密生した根を発達させる。クラスター根は多くの有機酸（主にリンゴ酸やクエン酸）を分泌し、それらが土壌中のリン化合物の可給化に役立っていることが知られている。一方、土壌中のカリウム及びセシウム（放射性セシウムを含む）は粘土鉱物による層状構造の中にも取り込まれており、鉱物風化によって徐々に溶出することが知られているが、クラスター根圏のような高濃度の有機酸に晒されることで層間の元素が遊離する可能性が考えられる。

そこで本研究では、この仮説を検証するために、土壌中での現象を単純化するために粘土鉱物を用いた実験系を構築し、根と粘土鉱物の接触試験を実施し、クラスター根におけるカリウムとセシウムの可溶化能を検証する。X線回析を用いた粘土鉱物の構造解析および土壌もしくは鉱物の形態別元素分析を実施し、根分泌物がカリウムおよびセシウムを始めとする微量元素を可給化する機構について明らかにすることを目的とした。

【実験方法】

供試植物と使用鉱物

シロバナルーピン (*Lupinus albus* L. cv. Kievskij) を供試植物とし、根箱を用いて根（クラスター根および通常根）と粘土鉱物の接触試験を実施し、根の分泌物と鉱物組成、可給化される元素を調査した。さらに、ルーピン根から分泌される有機酸の量を定量した。粘土鉱物には層間にカリウムおよびセシウムを多く含む層状粘土鉱物の一種である黒雲母を使用した。

1 根箱を用いた根-粘土鉱物接触試験

1-1 鉱物の前処理とメッシュバックの作成

マルチビーズショッカーを用いて粘土鉱物（黒雲母）を粉碎し、沈降法により 1~2 μm

の画分を回収した。テトラフェニルホウ酸ナトリウム(TPB)処理により鉱物からカリウムを除去後、Ca 態および Mg 態の鉱物を作成し、ジルコニアビーズと 1:1(v/v)で混合した粘土鉱物を 2 cmx 2cm の 1 μm メッシュバッグに密封した。処理前の鉱物および処理した鉱物については XRD を用いて鉱物組成を調査した。

1-2 根と粘土鉱物の接触試験

シロバナルーピンを根箱で栽培した。北海道大学長期連用圃場のリン酸無施肥区土壤に窒素とカリウムを標準施肥した土壤を使用した。クラスター根が多数形成された時期（栽培から約 1 ヶ月後）に根箱を開き、粘土鉱物を含むメッシュバックをクラスター根と通常の根および根がない箇所（バルク）の上各 3 箇所程度に設置した。その後、根箱でさらに一週間栽培した後、植物体は地上部と地下部に分けて収穫し、メッシュバック中の粘土鉱物とメッシュを設置した場所の根箱の土も合わせて回収した。

1-3 粘土鉱物と植物体の分析

収穫した植物体は 80°Cで 3 日間乾燥後重量測定し、粉碎した後に誘導結合プラズマ質量分析装置 (ICP-MS) を用いて無機元素濃度を測定した。回収した粘土鉱物については、植物による可給化された元素量を測定するために 1M 酢酸アンモニウムによる抽出液および全分解した溶液を ICP-MS による多元素分析に供試した。また、粘土鉱物の構造変化を X 線回折装置(XRD)により解析した。さらに、根と接触前後の粘土鉱物の放射性セシウム捕捉ポテンシャル (RIP) を測定し、セシウム固定能も合わせて評価した。

2 根分泌液の回収と有機酸分析

シロバナルーピンを標準区、リン(P)欠乏区、カリウム(K)欠乏区で約 1 ヶ月水耕栽培 (4 L バケツ) した植物体を 500 mL の脱塩水に移して 1 日静置することで根分泌液を回収した。回収した分泌液を凍結乾燥によって濃縮し各処理区の分泌物中の有機酸(リンゴ酸およびクエン酸)量を酵素法 (F-kit, JK インターナショナル) により定量した。

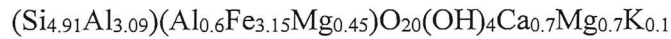
【実験結果と考察】

1. 供試鉱物の構造解析

試験に使用した鉱物の構造を判定するため、黒雲母を粉碎し粒径調整したサンプルと (Before)、その後脱 K や Ca/Mg 態置換処理を施した鉱物(After)を用いて全分解および XRD 解析を行った。化学処理によって全 K 濃度は 91.1%減少した(図 1a)ことから、TPB 処理によって K を十分に除去することができた。残りの 8.9%の K は層間の奥に強固に固定されていると考えられる。全 Cs 濃度は 65.0%減少し(図 1b)、全 Cs/K 比は処理前に比べて処理

後で約4倍増加した(図1c)。この現象は、脱K処理により増加したFESからKが溶脱し、そこにCsが蓄積するためであり(Nakao et al., 2008)、FESへのCsの選択性がKよりも高いことで起きる。Wamplerら(2012)の研究では、雲母の風化が進行するにつれて土壌の $^{133}\text{Cs}/\text{K}$ が増大することを示しており、今回の結果と一致する。

化学処理前後のXRD解析の結果、Mg飽和させた試料のd値は処理前鉱物が1.0 nmだったのに対し、処理後の鉱物では1.5 nmに強いピークが確認された(図2a)。このことから処理前の鉱物は黒雲母であることが確認され、処理後の鉱物は黒雲母の層間が開いた構造であることが明らかとなった。さらに、処理後の膨張層に存在する物質を推定するため、Ba飽和処理をかけた処理後鉱物のXRD解析を行ったところ、d値は1.3 nmであった(図2b)。層間にイオン交換可能な物質が存在している場合、d値は1.3 nmに下がることから、本実験に用いた粘土鉱物の膨張層にもイオン交換可能な物質が挟まっていると想定された。さらに化学処理後の鉱物の全分解の結果からKarathanasis, A. (2008)の論文に基づいて鉱物の構造式を計算したところ、処理後の鉱物の構造式は以下ようになった。なお、TPB処理の段階でFeはほとんどが酸化していると考え、 Fe_2O_3 として計算した。



以上の結果から、処理前の鉱物は混在物の少ない黒雲母で、処理後の鉱物はバーミキュライト化した後に層間にCaとMgで飽和された鉱物であることが確認できた。

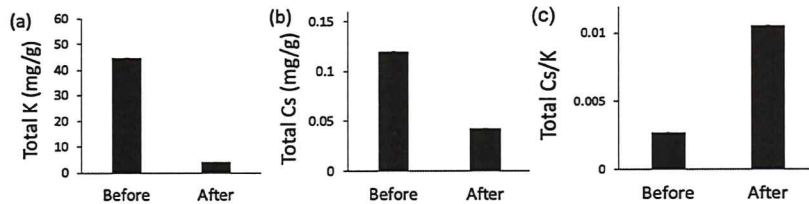


図1 化学処理による鉱物中KおよびCs含量および割合の変化

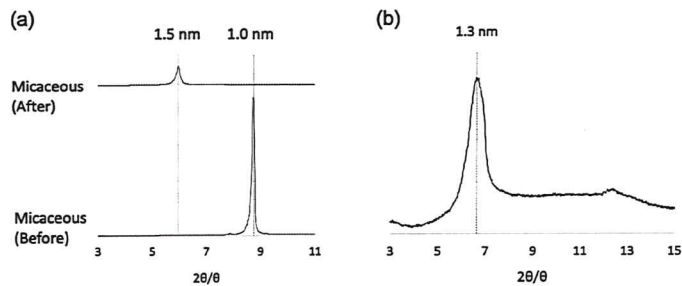


図2 鉱物の化学処理前後およびBa処理後のXRD解析結果

2. 根との接触による鉱物の骨格をなす元素の動態

鉱物の骨格をなす四面体と八面体に多く存在する元素である Si, Al, Fe について、根との接触前後の鉱物中の動態を調べたところ、非晶質 Si 濃度は、接触前鉱物(Pre)と比べてバルク鉱物(B)と比べて根接触鉱物(ノーマル根(N)およびクラスタ根(C)接触鉱物)で有意に減少し(図 3a)、Al および Fe においても同様の傾向がみられた。全 Si, Al, Fe 濃度は処理間で有意差はみられなかった(図 3b)。これらの結果から、鉱物を土壌に置くことで Si, Al および Fe が土壌から流入して非晶質成分として沈着し、根を接触させることで土由来の非晶質成分が養分吸収の流れに沿って植物に吸収された可能性が考えられた。また根接触で非晶質成分の増加は認められなかったことから、根接触による非晶質成分でのこれら元素の溶解は起きていないと考えられた。Mg 飽和サンプルの XRD 解析の結果、どの処理でも d 値は 1.5 nm で、処理間でピークはシフトしなかった(データは示していない)ことから、処理間で大きな構造の変化は起きていないと考えられた。以上の結果を踏まえると、本試験で実施した 3 日間の接触においてはルーピン根が雲母の構造や骨格を変化させる程度の影響は与えないことが示唆された。今回は P 欠乏の土壌を用いたが、先行研究で植物による雲母の風化が促進されていた研究の多くでは K 欠乏の土壌を用いており(Hinsinger & Jaillard, 1993)、養分条件の違いが鉱物の風化の程度に影響している可能性が考えられた。また本研究では鉱物が移動することを防ぐ目的で鉱物をメッシュバックに封入したが、メッシュが物理的な阻害要因となり根が鉱物に与える影響が小さくなっている可能性も考えられる。また、接触期間や鉱物と根の接触面積を増やす工夫も必要だと考えられる。

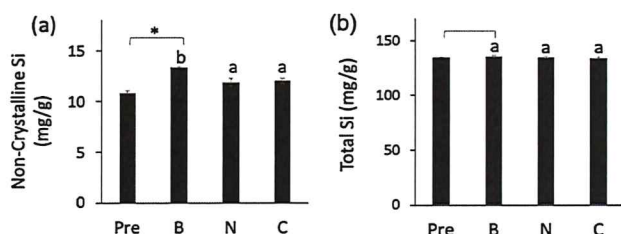


図3 鉱物の根との接触による鉱物中Si元素濃度

3. 根との接触による鉱物の層間に存在する元素の動態

K および Cs は雲母鉱物の層間に多く存在している。フレイドエッジサイト(FES)量の指標として用いられる RIP 値が接触前鉱物に比べてバルク鉱物で有意に増加していた一方で、バルク鉱物と比べて根接触鉱物では RIP に有意な差は認められなかった(図 4)ことから、根を接触させることで FES 量や FES における K に対する Cs の選択性は大きく変化しないことが明らかとなった。鉱物中の全 Cs および K 濃度は接触

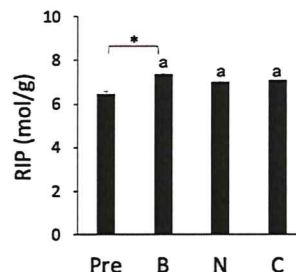


図4 接触前後の鉱物のRIP値

前鉱物とバルク鉱物では有意差がなかったものの、植物根との接触によって値が有意に減少しており、Cs および K は植物根と接触させることで鉱物メッシュの外に流出していると考えられた。1M 酢酸アンモニウムで抽出した交換態 Cs および K 濃度は処理間で有意な差は認められなかった(図 5a,b)が、全分解の値から交換態の値を減算して、酢酸アンモニウムで抽出されない画分の濃度を計算した結果、K では根接触によって酢酸アンモニウムで抽出されない画分の濃度が有意に減少し、Cs でも同様の傾向がみられた(図 5c,d)。この結果から、植物根との接触によって酢酸アンモニウムで抽出されない画分の K および Cs が可溶化され、鉱物メッシュの外に流出したと考えられた。

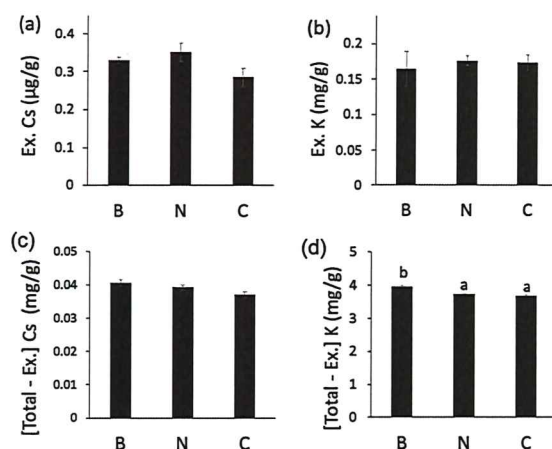


図5 鉱物の根との接触によるKおよびCs濃度

4. 根との接触による鉱物の表面に存在する元素の動態

粘土鉱物の表面に存在している Mn および Zn については、鉱物中の全 Mn および Zn 濃度は接触前鉱物に比べてバルク鉱物で有意な差は認められず、接触前後で土壌からのこれら元素の流入は起きていないと考えられた。一方鉱物中の交換態 Mn 濃度はクラスター根接触鉱物のみで有意に増加しており(図 6a)、Zn でも同様の傾向がみられた。また鉱物を接触させた場所から採取した土の交換態 Mn および Zn 濃度もクラスター根接触土壌のみで有意に増加していた(図 6b)。Mn および Zn は純粋な黒雲母を構成していないため今回の試料とも独立して存在し、鉱物の表面に吸着する形で存在していると考えられ、3日間という短い接触期間でもこれら鉱物に吸着した形の元素にはクラスター根が大きく影響を与えていることが示唆された。

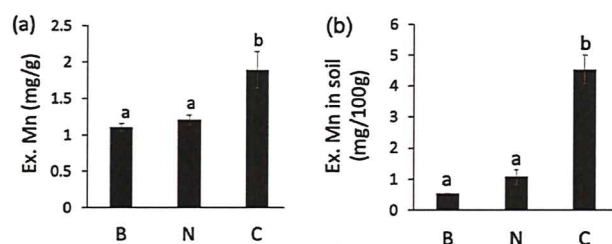


図6 鉱物の根との接触および土壤中のMn濃度

5. 鉱物の土壌への接触による Pseudo-FES の生成

化学処理前の購入した黒雲母は XRD の結果からも混在物の少ない黒雲母であることが確認できたため、鉱物は非膨張層が重なった構造をしていると考えられた。化学処理前後で K は 91.1%除去されていることから、脱 K 後層が完全に開き、層間に水和した Ca および Mg が結合している構造が多くを占めると予想された。そのほかにも層の外縁部のみが開いて非膨潤層と膨潤層の間に FES が生成され、そこに K 除去時に一度放出された Cs が再結合している構造も考えられる。また一部では脱 K 操作をしても層間から K が取れず、非膨張層のまま存在している構造も想定されうる。化学処理後の鉱物を土壌に接触させると K が土壌から流入し、RIP が増加した(図 4)。これは Absalom (1995)らの報告にあるように K の流入によって擬似的な FES が生成され、そこに K が吸着したことが要因であると推察できる。そのため本試験でも Pseudo-FES が生成され、そこに土壌から流入してきた K が新たに結合している可能性が高いと考えられた。

6. ルーピン根による可溶化される K および Cs の存在形態

バルク鉱物と比べて根接触鉱物では酢酸アンモニウムで抽出されない画分の K が減少し、Cs でも同様の傾向を示したことから、K および Cs の一部が可溶化していると考えられる。具体的には脱 K 処理時に生じた FES や Pseudo-FES に存在している K および Cs や、非膨張層に固定されている K および Cs が該当することが考えられる。一方、非膨張層に存在している K および Cs は、TPB 法による強力な脱 K 処理をかけても放出されなかったことを考えると、非常に強く層間に固定されていることが想定され、3 日間の根接触によって破壊と放出が起こった可能性は低い。よって根接触による K および Cs の可溶化は比較的新たに生成された FES や Pseudo-FES に存在している K および Cs から可溶化されたものである可能性が高いと考えられる。

ルーピンは根から有機酸を分泌して P を獲得することが知られている。今回、K を欠乏させた水耕栽培での試験結果でも、ルーピンがクラスター根を作成しており、根全体からの回収液ではあるものの、リンゴ酸をカリウム欠乏時に通常条件と比べて多く分泌していることが明らかとなった (データは示していない)。Li (2016)らが行った実験によると、黒雲母にクエン酸を添加すると、水を添加した場合と比べて K や Si、Al などがより多く溶

液中に溶け出すことが報告されている。これはクエン酸が鉱物表面の Si や Al などの骨格元素と錯体を形成して表面構造を一部破壊し、そこから層間の K が溶け出したことが要因であると推測されている。そのため、本試験においてもルーピンの出す有機酸が一部の鉱物末端の構造を破壊し、それに伴ってまだ層間奥に拡散されていない、比較的新たに生成された FES に存在していた K および Cs が溶出した可能性がある。バルク鉱物と比べて根接触鉱物で骨格元素の溶解現象や、RIP 値の有意な差は認められてはいないものの、骨格元素の存在割合の高さや RIP の実験的精度の限界を考えると、データに反映されない程度でこのような破壊および溶出が起きている可能性も否定できない。一方 K および Cs の可溶化は通常根とクラスター根で差が見られなかった(図 5)。一般にルーピンのクラスター根では有機酸の分泌が高まる(Neumann et al., 2002)。今回の試験では鉱物と接触させた根局所における有機酸の分泌を調査していないため、実際の分泌がどうなっていたのかは不明ではあるが、Mn や Zn についてはクラスター根特徴的な変化が確認できていることから(図 6)、根の部位によって土壌および鉱物への影響が大きく異なることは明らかである。有機酸の分泌と照らし合わせた試験系の改良や、有機酸の濃度を変化させた際の鉱物の変化を調べることで、有機酸が鉱物中の K および Cs の動態に与える影響をより詳細に検証する必要がある。最近の研究では、Yin ら(2020)が RI イメージング技術を用いて、ルーピンがダイズと比較して特定の領域で高濃度の代謝産物を根から放出することを報告しており、今後同様の技術を用いた試験を応用することが期待される。

【要約】

化学処理によってバーミキュライト化させた黒雲母を作成して、根と鉱物の接触試験を行った。3 日間の接触は鉱物の構造や Si や Al、Fe などの鉱物の骨格をなす元素の動態には影響を与えなかった一方で、K や Cs などの層間に存在する元素や Mn や Zn などの表面に存在する元素の動態を変化させることが分かった。特に層間に存在する K および Cs に関しては、新しく生成された FES および擬似的な FES からの可溶化が示唆された。他の植物との比較試験を通して、このような現象がシロバナルーピン特有の現象であるのかは今後詳しく調べる必要があるものの、ルーピンが持つ高い Cs 吸収能に関わる現象の一つである可能性がある。

【謝辞】

本研究の遂行にあたり、研究助成を賜りました公益財団法人タカノ農芸化学研究財団に心から感謝申し上げます。また、栽培試験および分析を実施した藤本久恵さんに感謝の意を表します。また、鉱物の調整から XRD の試験および結果の解釈について多くのご助

言、ご指導をいただいた農研機構東北農研の江口哲也氏、若林正吉氏、京都府立大学大学院生命環境科学研究科の中尾淳准教授、RIP の測定をご指導、実施いただいた公益財団法人環境科学技術研究所の海野祐介氏、武田晃氏、また、本研究実施のきっかけをいただき、貴重なご助言およびご協力を賜りました北海道大学大学院農学研究院作物栄養学研究室信濃卓郎教授に謝意を表します。

【参考文献】

- Absalom, J.P., Young, S.D., & Crout, N.M.J. (1995).
Radio-caesium fixation dynamics: measurement in six Cumbrian soils. *European Journal of Soil Science*, 46, 461-469. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2389.1995.tb01342.x>
- Karathanasis, A. D. (2008).
Structural Allocation of Clay Mineral Elemental Components. In *Methods of Soil Analysis Part 5 -Mineralogical Methods* (eds A.L. Ulery and L. Richard Drees).
<https://doi.org/10.2136/sssabookser5.5.c15>
- Hinsinger, P., Jaillard, B. (1993).
Root-induced release of interlayer potassium and vermiculitization of phlogopite as related to potassium depletion in the rhizosphere of ryegrass. *Journal of Soil Science*, 44(3).
<https://doi.org/10.1111/j.1365-2389.1993.tb00474.x>
- Li, J., Zhang, W., Zhua, J., & Lub, J. (2016).
The influence of citrate on surface dissolution and alteration of the micro- and nano-structure of biotite. *RSC Advances*, 6, 112544-112551. <https://doi.org/10.1039/C6RA24068B>
- Nakao, A., Ogasawara, S., Sano, O., Ito, T. and Yanai, J. (2014)
Radiocesium sorption in relation to clay mineralogy of paddy soils in Fukushima, Japan. *Sci. Total Environ.*, 468-469, 523-529. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2013.08.062>
- Neumann, G. & Martinoia, E. (2002).
Cluster roots – an underground adaptation for survival in extreme environments, *Trends in Plant Science*, 7 (4), 162-167. [https://doi.org/10.1016/S1360-1385\(02\)02241-0](https://doi.org/10.1016/S1360-1385(02)02241-0)
- Yin, Y. G., Suzui, N., Kurita, K., Miyoshi, Y., Unno, Y., Fujimaki, S., Nakamura, T., Shinano, T., & Kawachi, N. (2020).
Visualising spatio-temporal distributions of assimilated carbon translocation and release in root systems of leguminous plants. *Sci Rep* 10, 8446. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-65668-9>
- Wampler, J. M., Krogstad, E. J., Elliott, W. C., Kahn, B., & Kaplan, D. I. (2012).
Long-Term Selective Retention of Natural Cs and Rb by Highly Weathered Coastal Plain Soils, *Environmental Science & Technology*, 46 (7), 3837-3843. <https://doi.org/10.1021/es2035834>