

2021 年度  
修士論文

カリウム欠乏環境でイネ (*Oryza sativa* L.) の根の  
細胞壁表面の吸着特性は変化するのか  
Does the adsorption characteristic of the root cell  
wall of rice (*Oryza sativa* L.) change in a  
potassium-deficient environment?

22031012 茂木 京菜  
Keina Motegi

指導教員 地球環境保全学 教授 保原 達

酪農学園大学大学院酪農学研究科

# 目次

1 はじめに	1
2 材料・方法	4
2-1. 供試植物	4
2-2. 栽培区画	5
2-3. 液肥及び肥料の調節	5
2-4. 栽培方法	6
2-4-1. イネ苗の作成と栽培	6
2-4-1-1. 温湯消毒と給水处理	6
2-4-1-2. 催芽処理	6
2-4-1-3. 播種	6
2-4-1-4. イネ珪砂 3 処理区の栽培	6
2-4-1-5. イネ土壌 2 処理区の栽培	7
2-4-2. トマト苗の作成と栽培	7
2-4-2-1. 苗の作成	7
2-4-2-3. トマト珪砂 3 処理区の栽培	7
2-4-2-4. トマト土壌 2 処理区の栽培	7
2-5. 植物体および根表面の試験法	7
2-5-1. 植物体の回収と下処理	7
2-5-2. 地上部・地下部の乾燥重量	8
2-5-3. 地上部・地下部比	8
2-5-4. 作物体元素含有量	8
2-5-5. 根長の測定	8
2-5-6. ポットあたりの総節根長	9
2-5-7. ポットあたりの総側根長	9
2-5-8. ポットあたりの総根長	9
2-5-9. 根の細胞壁の	9
2-5-10. 珪砂根の調整	9
2-5-11. 土壌根の調整	10
2-5-12. 陽イオン交換容量試験	10
2-5-13. 陽イオン逐次抽出試験	10
2-5-14. 50 $\mu$ M 陽イオン混合溶液を用いた陽イオン逐次抽出試験	10
2-5-15. 珪砂根と 0.1 M 陽イオン混合溶液を用いた陽イオン逐次抽出試験	11
2-5-16. 検定	11
3. 結果	12

3-1. 植物体	12
3-1-1. 乾物重量	12
3-1-2. 地上部・地下部比（地上部:地下部）	12
3-1-3. 元素含有量	13
3-2. 根長	14
3-2-1. ポットあたりのイネ総節根長	15
3-2-2. ポットあたりのイネ総側根長	15
3-2-3. ポットあたりのイネ総根長	15
3-2-4. ポットあたりのトマト総根長	16
3-3. 根の細胞壁へ元素吸着	16
3-3-1. 陽イオン交換容量試験	16
3-3-2. 土壌根を用いた陽イオン逐次抽出試験	17
3-3-2-1. イオン別吸着割合	17
3-3-2-2. 抽出形態別イオン量	18
3-3-3. 珪砂根と 50 $\mu$ M 陽イオン混合溶液を用いた陽イオン逐次抽出試験	19
3-3-3-1. イオン別吸着割合	19
3-3-3-2. 抽出形態別イオン量	19
3-3-4. 珪砂根と 0.1M 陽イオン混合溶液を用いた陽イオン逐次抽出	20
3-3-4-1. イオン別吸着割合	20
3-3-4-2. 抽出形態別イオン量	21
4. 考察	23
4-1. イネ細胞壁の特異性	23
4-2. K 欠乏によるイネの根細胞壁表面の変化	24
4-3. イネの根細胞壁における Fe 吸着部位の役割	25
4-4. K の存在形態と根長	25
4-5. 陽イオン逐次抽出試験による植物根のイオン保持特性の評価	26
4-6. 研究手法上の検討すべき点	26
4-6-1. 陽イオン逐次抽出試験及び、陽イオン交換容量試験について	26
4-6-2. 接触溶解反応について	27
4-7. さらなる研究の可能性	27
5. 要約	29
6. 謝辞	30
7. 引用文献	31

## 1. はじめに

カリウム (K) は、植物細胞内に無機陽イオン態として最も大量に存在する元素 (White and Karley 2010) であり、窒素 (N) およびリン (P) と並んで 3 大肥料要素の 1 つである。世界の K 肥料の消費量は、1940 年から 1960 年にかけての緑の革命期以降増加傾向にあり、2011 年から 2015 年の K 肥料の推定消費量 ( $K_2O$  として) は年 3700 万トンである (FAO 2016)。この消費量率から推定した K 埋蔵量は今後およそ 100 年と推定されている (Dhillon et al. 2019)。世界的に K 肥料の消費量は増加しているものの、穀物 (cereal crops) における K 利用効率はわずか 19%にとどまり、K 肥料のほとんどは植物に吸収されずに農地から流出している (Dhillon et al. 2019)。日本は K 肥料の全量を輸入に頼っていることに加え、N 施肥量に対する K 施肥量の比である K/N 比は 0.653 と世界平均の 0.225 と比較して大きく (Aulakh and Malhi 2005)、K 施肥割合が相対的に大きい。持続可能な農業のためにも、K 肥料の適切な利用管理の重要性が一層高まってきている (Dhillon et al. 2019)。

植物による K の利用可能性は、土壌中での K の存在形態に依存する。土壌中での K の存在形態は大きく 4 つに分けられ、土壌溶液中に存在する水溶性 K、土壌粒子表面に存在する交換態 K、粘土鉱物中に存在する固定 K、一次鉱物中の構造 K である。これらの形態のうち植物に最も利用されやすい形態は、土壌溶液中に存在し、植物が直接利用可能な水溶性 K であり、次いで土壌粒子表面に静電的に吸着し容易に離脱する交換態 K と考えられる (Rich 1968, 全農業協同組合連合会肥料農薬部 2010)。これら以外の鉱物中の固定 K や構造 K からの K 溶出には、長い時間を要すると考えられる。土壌中全 K に対する各形態の割合は、水溶性 K が 0.1% から 0.2%、交換態 K が 1% から 2%、粘土鉱物中に固定された K が 1% から 2%、鉱物の結晶構造中に含まれる K が 96% から 99% とされており (Sparks 1987, Syers JK 2003, Rehm and Schmitt 2002, Moody and Bell 2006)、植物が直接利用可能とされる K は水溶性 K と交換態 K を合わせても数%とわずかである。

上記のように、多くの土壌では植物に利用可能とされる K は必ずしも十分ではない。しかしながら、そのような土壌環境下でもイネを含む一部の植物は施肥時と変わらぬ程度の K 量を吸収して生育することが報告されている (塩田ほか 1980, 杉山ほか 2000, 靱井・井澤 2007, Kusa et al. 2021)。例えば靱井・井澤 (2007) は、K の施肥区および無施肥区を含む 1926 年から 2002 年までの 77 年間にわたる長期連用試験の結果から、養分欠乏による収量への影響を次のように報告している。まず各試験区に存在する植物が直接利用可能な K 量は、K を施肥した無 N 区と無 P 区では、無カリ区の倍ほどであった (塩田ほか 1980)。この試験区を継続して 77 年間行った水稻の玄米平均収量を、N, P, K 及びカルシウム (Ca) からなる 4 要素区での収量を 100%とした場合、無 N 区、無 P 区、無 K 区の順で、それぞれ 52%, 38%, 90% となり、無 K 条件は 4 要素区に次ぐ高収量をもたらした。さらに長期的な収量推移をみるため、試験年次の前半 37 年間と後半 38 年間で比較した結果において、無 N 区と無 P 区での後半における収量は前半に比べて 10% 程度減少した。一方で、無 K 区と 4 要素区での収量は、年次を経るにつれて大きくなり、後半における無 K 区の対 4 要素区収量比は、前半に比べて 10% の増加が見られた。これらの結果から、K 欠乏環境下であってもイネは K を利用できおり、試験後半になるにつれて植物が直接利用可能な K 以外の画分である固定 K や構造 K を吸

収した可能性が推測された。籾井・井澤（2007）の試験では、屋外で試験を行っているため、雨水や灌漑用水からの K 供給の可能性も考えられたが、鉱物中の非可給態 K を吸収した可能性は、一次鉱物である黒雲母、白雲母およびカリ長石を K 源として行われた室内でのイネのポット栽培試験においても示唆されている（杉山・阿江 2000）。これらのことから、土壤中の交換態以外の形態である K をイネは吸収利用している可能性がある。

交換態以外の粘土鉱物や一次鉱物の結晶構造中に存在する K は、植物への K 給源の候補となりうるのだろうか？通常鉱物中 K は、日本の土壤診断においては K の可給度の指標には含まれておらず、交換態 K として抽出及び評価ができないことから、植物の利用が困難な形態とされている（中井・小原 2003, 全農業協同組合連合会肥料農薬部 2010）。この鉱物中 K を評価する方法として、鉱物の結晶構造の一部を溶解させる熱硝酸抽出法がある。杉山・阿江（2002）は、イネ、ラッカセイ、ダイズ、トウモロコシ、ヒマワリを供試作物とし、鉱物中 K を K 源としたポット栽培試験において、各作物が吸収した K 量と、培地の熱硝酸抽出性 K 量から、作物がどの画分の K を利用したのかを調査した。その結果、ダイズ以外の作物は鉱物中 K を利用しており、特にイネは、熱硝酸抽出性 K 量以上の K を吸収利用していた。これらのことから、イネは鉱物中 K を効率よく利用する手段を備えている可能性が考えられる。

こうした鉱物中に存在する養分を植物が吸収する手段としては、根からの有機酸の放出を介した吸収方法が考えられる。作物植物の多くは、有機酸の中でも、金属イオンとの錯体形成能を有する（キレート吸着する）クエン酸やシュウ酸を放出することで難溶性の P 酸や鉄(Fe)などの養分を可溶化して吸収することが報告されている（平館 1999）。Gardner et al. (1983) は、マメ科植物のルーピンについて、根からクエン酸を放出することによって土壤中の難溶性 P 酸を P 酸-Fe-クエン酸ポリマーとして溶解し、P を獲得していると報告した。また、キマメも土壤中、Fe やアルミニウム (Al) と吸着した難溶性 P 酸の吸収に、ピシジン酸を根から放出し、Fe や Al と吸着することで P を脱着させ、その結果溶解した P 酸を吸収する可能性が考えられている（Otani and Ae 1996）。Otani et al. (1996) は、これら難溶性の養分吸収に機能する有機酸は Fe や Al など 3 価の陽イオンと錯体を形成することができるマイナスの電荷特性を示す官能基を持つことを指摘している。Kusa et al. (2021) は、イネがこのような有機酸を放出するかを調べたが、イネの根はシュウ酸をわずかに放出したのみであった。したがって、イネにおいて有機酸による鉱物中 K の吸収が卓越しているとは考えにくく、有機酸以外の鉱物溶解に依存している可能性がある。

有機酸以外に植物が鉱物中 K を可溶化させる機構として、植物根表面に存在する陽イオン交換部位が考えられる。陽イオン交換部位は古くから養分の吸収に関係する可能性が示唆されており（Jenny and Overstreet 1939）、根の一次細胞壁を構成するペクチン由来の官能基とされている（White and Broadley 2003）。イネ根にはペクチンに由来するカルボキシ基(-COOH)や、フェルラ酸などのフェノール性水酸基(-OH)、アルコール性水酸基(-OH)などが存在する（Meychik and Yermakov 2001, Lu et al. 2018）。これらの官能基は水溶液中で解離することで水素イオン(H<sup>+</sup>)を放出し、マイナスに帯電する(Lu et al. 2020)。このマイナスに帯電した官能基は土壤溶液中に存在する Ca や K, Mg などの陽イオンを引き寄せることで、陽イオン吸収の前段階になると考えられており（Zheng et al. 2004, Postma et al. 2005）、官能基の

組み合わせによっては金属イオンとの強力な特異的な吸着部位となることが報告されている (Xu and Zhao 2013) . 近年, これら根の表面に存在する官能基がもたらす特異的な吸着部位での反応は, イネの高い K 吸収能力を説明する説として注目されている (Kusa et al. 2021) . イネではないが, この反応の例として, ラッカセイの根の表面にある金属との特異的な吸着部位が鉍物の結晶構造中に存在する 3 価の陽イオンと吸着することで, 鉍物の結晶構造が崩壊し, 結果的に鉍物中の構造 K が放出され, 植物体への吸収が可能になることが示唆されている (Ae et al. 1996) . それゆえ, 根表面に存在する官能基は, 根と鉍物との相互作用において重要な役割を担うと考えられる. しかしながら, イネの根細胞壁表面に官能基がどのように存在し, どのような特性を有するかは不明である.

そこで本研究では, イネの根細胞壁表面に存在する官能基がどのような特性を持つかを明らかにするため, 根の官能基のイオンの吸着に着目して試験を行った. 植物の根の陽イオン交換部位の密度や, 根の分布様式は, 植物栽培溶液中のイオンの濃度や pH によって変化する可能性が報告されている (Yang et al. 2003, Lu et al. 2020) . さらに, イネは可給態 K の欠乏環境においても, 鉍物中の K を利用する可能性が考えられていることから, 培地中の K 存在形態の違いによって根細胞壁表面の官能基についても変化が生じる可能性が考えられる. これらのことから, 根を採取するための培地として, K の存在形態が異なる難溶性 K 区, 無 K 区, 可給態 K 区の 3 種類培地を設定して, 珪砂を用いた砂耕栽培を実施した. また, 通常の水田環境で生育した根表面官能基の特性を評価するために, K 量を変えた土壌培地 2 種を用いてイネ及び, その対照作物として難溶性 K 吸収能力が乏しいとされるトマトを栽培した. これら異なる K 形態の供給に対する栽培作物の応答から, イネの根細胞壁表面に存在する官能基の特性を予想した.

## 2. 材料・方法

K 供給形態の異なる培地を用意し、イネとその対照作物であるトマトの栽培試験を行った (図 1) . まず K の供給形態による植物体への影響を把握するために、珪砂を用いて K 可給度の異なる処理を施した可給態 K 区、難溶性 K 区、無 K 区の 3 処理区 (珪砂 3 処理区) を作成した. そして作成した作物を用いて、異なる形態の K 供給が作物の栄養状態及び、作物の形態に及ぼす影響を把握する試験、次に異なる形態の K 供給が根細胞壁表面の官能基電荷特性に及ぼす影響を把握する試験の 2 つを行った. 前者の試験では、3 処理区において栽培した作物体の地上部・地下部乾物重量、地上部・地下部比、作物体元素含有量、及び根長を測定することで、イネがどのような養分状態になったかを把握した. 後者の試験では、根へのイオン吸着容量を把握するために、6 種の陽イオン (Na, K, Mg, Ca, Fe, Al) について陽イオン交換容量試験と、イネの根細胞壁表面へのイオン吸着の特異性及び吸着順を評価すべく、濃度の異なる陽イオン混合溶液 (Na, K, Mg, Ca, Fe, Al を含む) を用いて陽イオン逐次抽出試験をおこなった.

次に、野外の土壌を用いて生育させた植物根を観察するために、K 量を元肥のみで調整した +K 区と -K 区の 2 処理区 (土壌 2 処理区) を用意した. これらの処理区で育成した作物を用いて、自然環境下で育成したイネの根細胞壁の電荷特性の特徴と、イオンの吸着強度を把握するために、根に付着したイオンを置換強度の異なる抽出溶液で逐次的に抽出する陽イオン逐次抽出試験を行った. これら各種試験の応答から、イネの根細胞壁表面の官能基電荷特性を予想することとした. 以下にその詳細な栽培方法について記述する.

### 2-1. 供試植物

イネは、世界的に研究試験の品種となっている日本晴 (*Oryza sativa* L. cv. *Nipponbare*) を使用した. また対照作物として難溶性 K 吸収能力の低いことが明らかになっているトマト (*Solanum lycopersicum*) (品種: ロッソナポリタン) (Kusa et al. 2021) を使用した.

目的	試験	試験項目	処理区 (K源)	供試作物
栄養状態の把握	乾物重量	<ul style="list-style-type: none"> <li>地上部 地下部乾物重量</li> <li>地上部 地下部比</li> </ul>	珪砂3処理区	トマト
	元素含有量			
形態の把握	根長	<ul style="list-style-type: none"> <li>ポットあたりの総節根長</li> <li>ポットあたりの総側根長</li> <li>ポットあたりの総根長</li> </ul>	可給態K区 (液肥)	イネ
			難溶性K区 (カリ長石3割混合)	
官能基電荷特性の把握	陽イオン交換容量試験	<ul style="list-style-type: none"> <li>陽イオン逐次抽出試験 (土壌根)</li> <li>50 <math>\mu</math>M 陽イオン混合溶液を用いた陽イオン逐次抽出試験 (珪砂根)</li> <li>0.1 M 陽イオン混合溶液を用いた陽イオン逐次抽出試験 (珪砂根)</li> </ul>	無K区 (無K)	トマト
			土壌2処理区 +K区 (元肥)	
			-K区 (無K)	
			珪砂3処理区	
	陽イオン逐次抽出試験		可給態K区 (液肥)	イネ
			難溶性K区 (カリ長石3割混合)	
			無K区 (無K)	

図1. 材料・方法見取り図. 目的別に試験を設定し、試験内において複数の試験を行う場合には、試験項目の欄に各試験の名称を記述した. またそれぞれの試験に用いた処理区と作物を記述した.

## 2-2. 栽培区画

カリウムの存在形態が根の表面細胞壁にどのような影響を及ぼすかを把握するため、珪砂培地を用いて無 K 区、可給態 K 区、難溶性 K 区を、さらに畑地土壌での根の特徴を把握するため土壌栽培区を設けた。無 K 区、可給態 K 区の栽培培地には、6 号珪砂（北日本産業株式会社）を使用し、難溶性 K 区には難溶性 K 源として、イネにおいて鉍物からの難溶性 K の利用が示唆されているカリ長石（共立マテリアル株式会社）を使用した（Kusa et al. 2021）。カリ長石は、粒径を整えるためにミルサー（ワンダーブレンダー/大阪ケミカル）で粉碎後、 $710\ \mu\text{M}$  のメッシュを通過したものを、重量比で珪砂：カリ長石 = 7 : 3 となるように混合した。これら培地からの K の溶出を抑えるため、珪砂とカリ長石は混合前に、水道水、0.5 M 塩酸、イオン交換水を用いて洗浄した。洗浄手順は、15 L 容量のバケツに水道水 2 L とともに 1 kg の培地を入れ、両手で培地全体を 10 回攪拌した後に、培地が沈殿するのを待って上澄み液を排水した。この工程をすすぎ 1 回とし、水道水でのすすぎを 10 回、イオン交換水（イオン交換樹脂（WG222/Yamato）を通して電気伝導度  $10 \times 10^{-4}\ \text{S/m}$  未満のイオン交換水を使用）で調製した 0.5 M 塩酸で 5 回、イオン交換水で 10 回を行った後に 3 日間風乾させた。風乾後に培地に含まれる K 量を測定した。イネの水耕栽培において溶液中の K 濃度が  $5\ \text{mg L}^{-1}$  以下だと、生育が大幅に劣ることがわかっている（Jia et al. 2008）。このため、イオン交換水の洗浄手順の後に、上澄み液の K 濃度をイオンクロマトグラフ（IC-2010/TOSHO）で測定し、 $1\ \text{mg L}^{-1}$  以下になることを確認したうえで栽培に使用した。可給態 K 区の K 源は液肥とし、Yang et al. (2003) を参考にして K を含む液肥と、難溶性 K 区と無 K 区に与える K を含まない液肥を作成した。

土壌栽培区の培地については、酪農学園大学の圃場の畝から土壌を採取し、目開き 2 mm のふるいで篩い乾燥させたものを使用し、K を元肥として添加した +K 区と、添加しない -K 区を作成した。

## 2-3. 液肥及び肥料の調節

無 K 区、可給態 K 区、難溶性 K 区の液肥は Yang et al. (2003) を参考に調製した。多量要素は、液肥 1 L あたり、硝酸アンモニウム ( $\text{NH}_4\text{NO}_3$ ) 1.5 mmol、塩化カルシウム ( $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) 1.0 mmol、塩化カリウム (KCl) 1.1 mmol、リン酸二水素ナトリウム二水和物 ( $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) 0.3 mmol、硫酸マグネシウム七水和物 ( $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ) 1.6 mmol とした。微量元素は、液肥 1 L あたり、ホウ酸 ( $\text{H}_3\text{BO}_3$ )  $462.6\ \mu\text{mol}$ 、EDTA-Fe ( $\text{C}_{10}\text{H}_{12}\text{FeN}_2\text{NaO}_8 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ )  $197.1\ \mu\text{mol}$ 、塩化マンガン四水和物 ( $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ )  $91.5\ \mu\text{mol}$ 、硫酸銅五水和物 ( $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ )  $3.2\ \mu\text{mol}$ 、硫酸亜鉛七水和物 ( $\text{CuSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ )  $7.7\ \mu\text{mol}$ 、モリブデン酸アンモニウム ( $\text{H}_8\text{N}_2\text{O}_4\text{Mo}$ )  $0.2\ \mu\text{mol}$  とした。液肥の pH は塩酸 (HCl) もしくは水酸化ナトリウム (NaOH) を用いて pH 5.5 に調節した。無 K 区と難溶性 K 区は、塩化カリウムを除いた液肥を調製して与えた。

土壌栽培区の肥料は、北海道施肥ガイド 2010 を参考に作成し、元肥として施肥を行った。N, P, K 試薬の添加量は、土壌 1 kg あたり、N は硫酸アンモニウム ( $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ) として 0.25



g, P はリン酸二水素カルシウム ( $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$ ) として 0.07 g, K は塩化カリウム (KCl) として 0.05 g をメノウ乳鉢を用いて粉末化したのちに培地に混合した。

## 2-4. 栽培方法

### 2-4-1. イネ苗の作成と栽培

#### 2-4-1-1. 温湯消毒と給水处理

イネ苗の作成に用いるイネ種子は、いもち病、ばか苗病、苗立ち枯れ細菌病への感染を予防する目的で、お湯にイネの種子を一定時間浸水させる温湯消毒を行った。まずホットプレート上に蒸留水 300 mL を入れたビーカーを置き、温度計で観察しながら水温が  $60^\circ\text{C}$  になるまで温めた。これに種子を入れたお茶用の紙パックをさらに水切りネットで包んだものを入れ、 $60^\circ\text{C}$  に保ったまま 10 分間浸水させた。その後、種子の温度を下げるため、紙パックごと常温の蒸留水で揉み洗った。

温度を下げた種子は、蒸留水を入れたタッパーに浸し、タッパーごと  $13^\circ\text{C}$  に設定したインキュベーター内へ入れ、4 日間給水处理した。この期間中は、水中の溶存酸素量の保つために、毎日タッパーの蒸留水を交換した。

#### 2-4-1-2. 催芽処理

イネ種子に催芽処理を行うことで、イネの発芽を刺激するとともに褐条病の予防をした。まず、イネの種子が入った紙パックを 50 倍希釈した食酢溶液が入ったタッパーに入れた。タッパーごと  $32^\circ\text{C}$  に設定した恒温器内に入れ、20 時間浸水させて催芽処理を行った。その後、種子を紙パックから取り出し、種子の芽が鳩胸状態になっていることを確認したのちに播種した。

#### 2-4-1-3. 播種

バット (横 57 cm × 縦 32 cm × 深さ 5 cm) の上に、SP プラグトレイ (1 マス 横 2 cm × 縦 2 cm × 深さ 2 cm) 128 穴 (トレイ) を置き、トレイに培土 (くみあい軽量培土成苗用水稲用育苗培土/カネサン工業株式会社) を入れ、マスに摺り切りいっぽいに培土が入るように、定規を用いてまんべんなく培土を伸ばし入れた。培土が入ったトレイの上に、空のトレイを重ねて上から軽く押すことで、種子を入れる窪みを作ったのち、この窪みへ種子を 1 粒ずつまいた。すべてのマスに播種した後、覆土 (くみあい粒状ふくど (無肥料) 水稲用育苗培土/カネサン工業株式会社) をかけて、種子が見えなくなるように窪みを埋めた。灌水はバットとトレイの間から水道水を流し込むことで底面灌水させた。水分を保つために黒マルチシートでトレイごと覆い 4 日間放置後発芽を確認し、寒冷紗に交換してからある程度背丈が伸びるまで 4 週間育苗し、各処理区への定植した。育苗期間の給水は、毎日酪農学園大学の水道水を与えた。

#### 2-4-1-4. イネ珪砂 3 処理区の栽培

400 mL 容量のポットに、各培地を 400 g 充填し、苗はイオン交換水で十分に洗浄することで根に付着した土壌を取り除いたものを 1 ポット当たり 3 つずつ植えた。各処理区の反復は 3 反復とし、1 処理区について 3 ポットを割り当てた。定植後の管理は、水田の湛水状態に近づ

けるためにイオン交換水を用いて培地の上 2 cm 程度まで灌水した。水やりは、イオン交換水を 2 日に一回行い、液肥は 3 日おきに与え、3 週間栽培を行った。栽培は、酪農学園大学作物栽培ステーションのビニールハウス内にて行った。

#### 2-4-1-5. イネ土壌 2 処理区の栽培

400 mL 容量のポットに、調製した土壌を 200 g 充填し、苗はイオン交換水で十分に洗浄し根に付着した土壌を取り除いたものを 1 ポット当たり 3 つずつ植えた。その他の手法は、イネ珪砂 3 処理区の栽培法（2-4-1-4）と同様である。

#### 2-4-2. トマト苗の作成と栽培

##### 2-4-2-1. 苗の作成

プラスチック製タッパーの中にイオン交換水で濡らしたキムタオルを置き、そこへトマトの種子を播種した。種子の湿度を保つために、トレーの上にラップをして 28°C に設定した培養器へ入れ 1 週間培養した。種子の発芽を確認後、根を傷つけないようにキムタオルの上から取り出して、各処理区への定植に用いた。

##### 2-4-2-3. トマト珪砂 3 処理区の栽培

バット（横 37 cm × 縦 25 cm × 深さ 11.5 cm）に各種培地を 2.5 kg 充填し、これにトマトの苗を 21 個体ずつ定植した。水やりは、イオン交換水を 2 日に一回行い、液肥は 3 日おきに与え 7 週間栽培を行った。

##### 2-4-2-4. トマト土壌 2 処理区の栽培

トマトは、イネと同様に土壌 2 処理区を作成し、7 週間栽培を行った。水やりは、イオン交換水を 2 日に一回行った。栽培は、酪農学園大学生態系物質循環研究室内にて行った。

#### 2-5. 植物体および根表面の試験法

植物体については、作物体の生育量及び栄養状態を把握するため、地上部と地下部の乾燥重量、植物体元素含有量、根長を測定した。また、根の官能基の特徴を把握するため陽イオン交換容量試験および陽イオン逐次抽出試験を行った。珪砂栽培根はいずれの試験にも用いたが、土壌栽培根は陽イオン逐次抽出試験についてのみ用いた。

##### 2-5-1. 植物体の回収と下処理

栽培終了後、植物体は地下部と地上部を回収し、乾燥後の重量を測定した。回収の際には摩擦を軽減し、根を取り出しやすくするためにポットごとイオン交換水を入れたバケツに浸し、水中で回収作業を行った。まずバケツの中でポットを片手でゆすりながら傾けて、もう片方の手で植物の生え際をつかんでポットから根をゆっくり取り出した。取り出した根を含む植物体は、ユニパックに回収した。

研究室において地上部と地下部の処理を行った。発根している箇所から 2 cm 上をハサミで切り取ることで地上部と地下部を分離した。分離した地上部は 50℃ に設定した低温乾燥機 (DO-600FA/AS ONE) 内で 72 時間乾燥させ、乾燥重量及び元素含有量の測定に用いた。地下部はイオン交換水を入れたバットの中で、刷毛を用いて優しく培地を洗い落とし、イオン交換水で 3 回すすいだ。それでも根に培地が残る場合はすすぎを追加して行った。洗浄した地下部は、その後の試験目的に応じて保存方法を変えた。乾燥重量及び元素含有量測定用のものは 50℃ に設定した低温乾燥機 (DO-600FA/AS ONE) 内で乾燥させた。次いで、根長測定用のものは 50%エタノールに浸けて 5℃ の冷蔵庫内で冷蔵保存した。根官能基把握のための各種試験に用いる根は、根に付着した水をキムタオルで吸水した後に、クリーンワイプに包んだものをユニパックに封入して -40℃ の冷凍庫内で冷凍保存した。

#### 2-5-2. 地上部・地下部の乾燥重量

乾燥した植物体地上部および地下部の重量を測定した。

#### 2-5-3. 地上部・地下部比

植物体の乾燥重量から算出した。

#### 2-5-4. 作物体元素含有量

作物体中の元素含有量は、植物体の地上部および地下部を湿式灰化した後、溶解液中の K, ナトリウム (Na), マグネシウム (Mg), カルシウム (Ca) 濃度を測定して求めた。まず植物体地上部は粉碎機 (VIBRATING SAMPLE MILL TI-100/HEIKO) を用いて粉碎し、地下部はハサミを用いて 3 mm 程度に細切れにした。その後、これらの試料を 0.1 g 量りとり、25 mL の標線付き試験管に入れ、濃硝酸 2.5 mL および過塩素酸 1 mL を加えた。次に、ドラフト内に設置したアルミブロック恒温槽 (MG-2300/EYELA 東京理化機器株式会社) にセットし、80℃ で 1 時間様子を見ながら加熱した。次に温度を 130℃ に上げて 30 分置き、さらにそこから 160℃ に上げて 3 時間放置した。その後、200℃ に上げて 1 時間置いてから、試験管を試験管立てに取り出し、1 時間以上放冷した。次に灰化した溶解液を超純水によって 25 mL にメスアップして攪拌して分解液を得た。この分解液を濾紙 (No.5/Advantec) にて濾過し、濾液はポリ瓶に入れ、冷蔵庫にて測定まで保管した。その後、原子吸光光度計 (AA-7000/SHIMADZU) を用いて K, Na, Mg, Ca 濃度を測定し、乾燥重量当たりの植物体中元素含有量 ( $\text{mg kg}^{-1}$ ) を算出した。

#### 2-5-5. 根長の測定

根長の測定は、Tajima and Kato (2013) を参考にして行った。保存しておいた根をハサミで 3 cm の細切れに切断し、水道水を張ったアクリル性バット (幅 250 mm × 縦 200 mm × 高さ 20 mm (内寸), 底板 1 mm, 側板 3 mm) 上に、根同士が重ならないよう、また根が水面上に出ないように注意して並べ、スキャナー (GT-X980/EPSON) を用いて画像を取得した。スキャナーの出力設定はイメージタイプを 8 ビットグレー、解像度を 400 dpi, 原稿サ

イズを幅 203.2 mm, 縦 254.0 mm, 出力サイズを等倍, カラーを色補正無しとした. スキャナーを用いて取得した画像から, 画像解析ソフトウェア Image J に根長解析マクロ (Tajima and Kato 2013) を用いて根長を直径 (d) 階級別の 2 段階 ( $d < 0.2 \text{ mm}$ ,  $0.2 \text{ mm} \leq d$ ) に分けて算出した.

#### 2-5-6. ポットあたりの総節根長

Tajima and Kato (2013) を用いて直径別に算出した根長のうち根の直径が 0.2 mm 以上の根を節根とした (Kano-Nakata et al. 2011, Kato and Okami 2011, Kato et al. 2013). 各トレイについて節根長を積算し, さらに全トレイ分の節根長を積算することで総節根長を算出した.

#### 2-5-7. ポットあたりの総側根長

直径 0.2 mm 未満の根を側根とした (Kano-Nakata et al. 2011, Kato and Okami 2011, Kato et al. 2013). 各トレイについて側根を積算し, 各ポットについて全トレイ分の側根長を積算して総側根長を算出した.

#### 2-5-8. ポットあたりの総根長

ポットあたりの総根長を, 総根総節根長と総側根長を合計して算出した.

#### 2-5-9. 根の細胞壁の調整

根細胞壁への元素吸着形態を把握するために, 2 種の根細胞壁を調整してから各種試験を行った. 1 つ目は珪砂 3 処理区の根を用いた根 (以下, 珪砂根とする), 2 つ目は土壌栽培を行った根 (以下, 土壌根とする) であった. 以下に, それらの根の調整法を示す.

#### 2-5-10. 珪砂根の調整

官能基の特徴を把握する試験に用いる細胞壁は, Ae et al. (1996) を参考にして作成した. 冷凍保存していた根を自然解凍し, 根にまわり付いた微細なゴミを取り除くため, はさみを用いて約 5 mm に細切れに切断した. この根 15 g を超純水 (Milli-Q water) 250 mL とともに 250 mL ポリ瓶へ入れ, 150 rpm で 10 分振盪した. 振盪後, 吸引濾過装置 (フィルターホルダー/東京硝子機器) を用いて濾過し, 500 mL の超純水を 3 回に分けて注ぎ, すすぎを行った. すすぎ後の根は, 細胞質を取り除くために 1%デオキシコール酸ナトリウム (ナカライテスク株式会社) 200 mL と共に, 200 mL ポリ瓶へ入れ, 10 分おきに手で混ぜながら 2 時間転倒混和した. デオキシコール処理した根は, 吸引濾過機を用いて上記と同様の手順ですすぎを行い, 500 mL ポリ瓶へ 500 mL の超純水と共に入れたのち 2 時間転倒混和しこの手順を 2 回行った. その後細胞質やイオンを洗浄するために, 500 mL ポリ瓶へ 500 mL の 0.5 M 塩酸と共に根を入れて, 30 分間時々手で混ぜながら転倒混和した. 塩酸処理後, 吸引濾過機を用いて上記の手順と同様の方法ですすぎを行った後, 100%エタノール 100 mL で 2 回に分けてリンスし, 50°C に設定した低温乾燥機 (DO-600FA/AS ONE) 内で均衡状態になるまで乾燥した. この処理を行った根を珪砂根とした.

#### 2-5-11. 土壌根の調整

冷凍保存していた根を自然解凍し、根の微細なゴミを取り除くため、ハサミを用いて 5 mm と 50 mm に切断した。この根 15 g を超純水 250 mL とともに 250 mL ポリ瓶へ入れ、150 rpm (MMS-210/EYELA) で 10 分振盪した。振盪後、吸引濾過装置を用いて濾過し、500 mL 超純水を 3 回に分けて注ぎ、吸引濾過洗浄を行った。洗浄が終了した根を土壌根として、陽イオン逐次抽出試験に用いた。

#### 2-5-12. 陽イオン交換容量試験

陽イオン交換容量試験は、根の表面官能基に陽イオンがどの程度吸着できるか、その容量を把握する試験である。本試験は、位田ら (1958) の方法を参考にして行った。まず、珪砂根に各種の陽イオンを付着させるために、KCl, NaCl, CaCl<sub>2</sub>, MgCl<sub>2</sub>, FeCl<sub>3</sub>, AlCl<sub>3</sub> の各含有濃度を 0.1 M に調製した溶液 10 mL と珪砂根 30 mg を 24 mL 容量のプラスチック製の軟膏瓶へ入れ、150 rpm で 3 時間振盪した。振盪後、根に吸着したもの以外の陽イオンを極力取り除くため、0.45  $\mu$ m メンブレンフィルターを装着した吸引濾過装置に根を含む溶液を入れ、超純水 100 mL を 10 回に分けてかけ流して吸引濾過洗浄を行った。根に付着した陽イオンを回収するために、メンブレンフィルター上の根を 0.05 M HCl 溶液 10 mL と共に 24 mL 容量の軟膏瓶へ入れ、150 rpm で 3 時間振盪して HCl 溶液中に陽イオンを回収した。回収した試料溶液は、夾雑物を取り除くために孔径 0.45  $\mu$ m シリンジフィルター (Membrane Solution Limited) を用いて濾過して測定用試料溶液とし、これを測定まで冷蔵保存した。その後、測定用試料溶液の K, Na, Ca, Mg, Fe を原子吸光光度計 (AA-7000/株式会社島津製作所製) で測定し、Al は誘導吸着プラズマ質量分析装置 (ICP-MS8800/Agilent Technologies Germany) で測定した。

#### 2-5-13. 陽イオン逐次抽出試験

陽イオン逐次抽出試験は、イオンが混在した条件下で根が示すイオンの吸着傾向と、その吸着強度を把握する試験である。本研究では、濃度による吸着への差を見るために、濃度の異なる 2 種の溶液 (50  $\mu$ M 陽イオン混合溶液と 0.1 M 陽イオン混合溶液) を用いて試験を行った。

#### 2-5-14. 50 $\mu$ M 陽イオン混合溶液を用いた陽イオン逐次抽出試験

本試験は、Lu et al. (2020) を参考にし、珪砂根と土壌根において試験を行った。まず、珪砂根に陽イオンを吸着させるため、50  $\mu$ M 陽イオン混合溶液 (KCl, NaCl, CaCl<sub>2</sub>, MgCl<sub>2</sub>, FeCl<sub>3</sub>, AlCl<sub>3</sub>) pH 4.3 と珪砂根 30 mg を軟膏瓶へ入れ 150 rpm で 2 時間振盪した。振盪後、根に付着した余分なイオンを取り除くため、「2-5-4. 陽イオン交換容量試験」と同様の方法で洗浄した。土壌根についてはすでに土壌栽培下で根にイオンが吸着しているものと仮定し、混合溶液による吸着を行わずに試験に使用した。

根に付着したイオンの吸着形態とその容量を把握するため、抽出力の異なる 3 種類の溶液を用いて抽出を行った。なお、珪砂根に元から吸着していた陽イオンを考慮するため、イオン吸着を行っていない珪砂根も同様の逐次抽出手順を踏み、陽イオン吸着を行った珪砂根の抽出量

と吸着を行っていない珪砂根の抽出量の差分から吸着容量を求めた。1 種類目の抽出として、0.01 M 酢酸アンモニウム抽出溶液 (pH 7.0) 10 mL とイオン処理した根を軟膏瓶へ入れて 150 rpm で 1 時間振盪反応した。反応後の試料溶液の回収は、微細な根をなるべくチップに吸い込まないように、チップ先端の直径が小さい 0.5 mL ピペットを用いて 8 mL 回収した。試料溶液の測定を行うにあたり液中の夾雑物を取り除くために 0.45  $\mu$ m シリンジフィルターで濾過を行い測定用試料溶液とし、測定まで -40°C で保管した。1 種類目の抽出を終えた根は「2-5-4. 陽イオン交換容量試験」と同様の方法で洗浄を行い、その後 2 種目の 0.01 M クエン酸抽出溶液 (pH 2.2)、3 種目の 0.01 M 塩酸抽出溶液 (pH 2.0) を用いて順次抽出を同様の洗浄をはさんで行い、1 種目の抽出と同様の方法で処理をして測定用試料溶液を作成、保管した。最後の抽出手順を終えた根は「2-5-4. 陽イオン交換容量試験」と同様の洗浄を行った後に 50°C に設定した低温乾燥機 (DO-600FA/AS ONE) 内で均衡状態になるまで乾燥した。なお、作業期間が空くことによる根の乾燥などの影響を考慮し、低温乾燥機で乾燥を行うまでの手順は、すべて同一日中に行った。

最後に、根に残留したイオンを回収するため、乾燥を行った根を用いて「2-5-4. 元素含有量」と同様の手順で湿式灰化処理を行い、測定用試料溶液を作成した。

抽出した測定用試料溶液および灰化処理後の測定用試料溶液の測定は、K, Na, Ca, Mg についてはイオンクロマトグラフィー (PIA-1000/島津製作所)、Fe は原子吸光光度計 (AA-7000/株式会社島津製作所製)、Al は誘導吸着プラズマ質量分析装置 (ICP-MS8800/Agilent Technologies Germany) を用いて行った。

#### 2-5-15. 珪砂根と 0.1 M 陽イオン混合溶液を用いた陽イオン逐次抽出試験

本試験は、濃度の違いによる根へのイオンの吸着具合を把握するため、珪砂根を用いて「2-7-3-1」の試験と比較して濃度の濃い溶液を使用して行った。溶液としては、根の浸水には 0.1 M 陽イオン混合溶液を、抽出溶液には 0.05 M の各種抽出液を「2-7-3-1」と同様に用意し、「2-7-3-1」と同様の手順で操作及び測定を行った。

#### 2-5-16. 検定

エクセル統計の一元配置分散分析 (ANOVA) と Tukey の HSD 検定を用いて有意差の評価を行った。

### 3. 結果

#### 3-1. 植物体

##### 3-1-1. 乾物重量

イネ及びトマトの植物体乾物重量は、地上部で重く、地下部で軽くなった（図2）。イネの地上部乾物重量は、可給態 K 区の  $1.3 \text{ g pot}^{-1}$  が最も小さく、次いで無 K 区の  $1.4 \text{ g pot}^{-1}$ 、難溶性 K 区の  $1.5 \text{ g pot}^{-1}$  の順に大きくなった。イネの地下部乾物重量は、無 K 区と難溶性 K 区の  $0.8 \text{ g pot}^{-1}$  が最も小さく、可給態 K 区の  $1.0 \text{ g pot}^{-1}$  が最も大きかったが、地上部と地下部の処理区間において植物体の総乾燥重量には有意な差は見られなかった。

トマトの乾物重量は、地上部、地下部においても、可給態 K 供給量の少ない無 K 区、難溶性と比較して、K の豊富な可給態 K 区で有意に大きい値となった ( $F(2, 3) = 2.4, P = 0.003$ )。地上部乾物重量は、無 K 区の  $26 \text{ mg pot}^{-1}$  が最も小さく、次いで難溶性 K 区の  $31 \text{ mg pot}^{-1}$ 、可給態 K 区の  $49 \text{ mg pot}^{-1}$  の順に大きくなった。地下部の乾物重量も地上部の処理区の重量の増加と同様で、無 K 区で  $8 \text{ mg pot}^{-1}$ 、難溶性 K 区で  $11 \text{ mg pot}^{-1}$ 、可給態 K 区で  $13 \text{ mg pot}^{-1}$  の順に大きくなった。

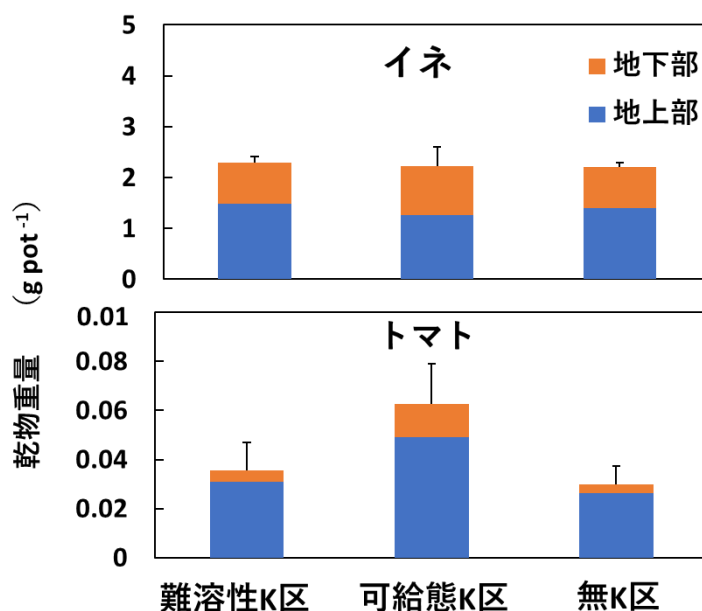


図2. 植物体乾物重量.

##### 3-1-2. 地上部・地下部比（地上部:地下部）

イネの地上部:地下部は、1.6 前後の値を示し、可給態 K 区、無 K 区、難溶性 K 区の順に大きくなったが、処理区間での有意な差は見られなかった。トマトの地上部:地下部は、イネよりも大きく、3 から最大で 7 倍の値を示した。処理区では、可給態 K 区、難溶性 K 区、無 K 区 (8.0) の順に大きくなり、トマトの方が、イネと比較して地上部組織に対する地下部組織の割合が少なかった。またトマトの処理区間での有意な差は見られなかった。



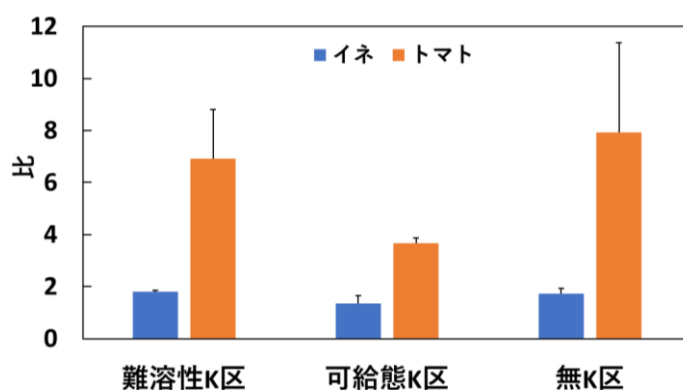


図3. 処理区による地上部:地下部比の違い.

### 3-1-3. 元素含有量

イネ及びトマトの植物体の元素含有量として、Na, K, Ca, Mg, Fe を測定した (図 4, 5) . 値は K 処理を行った処理区間と植物体の地上部, 地下部で変化する傾向にあった. Na 含量は, どちらの植物においても地下部で含有量が多かった.

まず, イネの地上部の Na 含量は, 可給態 K 区で最も小さく, 次いで無 K 区, 難溶性 K 区の順に高くなり, K 含量の乏しい処理区で増加した. トマトの地上部 Na 含量はイネの約 2 から 3 倍であり, イネと同様に K の乏しい処理区で増加した. 地下部の Na 含量は, イネで  $5 \text{ g kg}^{-1}$  前後の値を示し, 処理区間では難溶性区 < 可給態 K 区 < 無 K 区の順に高くなった. 一方トマトは, イネの 2 から 8 倍高い値を示した. 処理区間では, 可給態 K 区が最も低く, 難溶性 K 区や無 K 区の  $1/4$  程度であった.

K は, イネは地上部, 地下部ともに可給態 K 区と比較して難溶性 K 区, 無 K 区で有意に低い値となった (地上部, 地下部それぞれ ( $F(2,6)=3.70, P=0.005$ ), ( $F(2,6)=124.01, P=0.000$ )). 量としては, 地上部は可給態 K 区で  $19 \text{ g kg}^{-1}$ , 他 2 処理区では  $17 \text{ g kg}^{-1}$  以下となり, 地下部は可給態 K 区で  $15 \text{ g kg}^{-1}$ , 他 2 処理区では  $10 \text{ g kg}^{-1}$  程度であった. トマトは, 地下部において可給態 K 区で他 2 処理区と比較し有意に高い値になった ( $F(2,6)=73.27, P=0.000$ ). 地上部の K 含量では差が見られず 3 処理区とも  $5 \text{ g kg}^{-1}$  程度であった.

Mg は, 両種の地上部, 地下部ともに, 可給態 K 区で小さい値となった. まず, 地上部に注目すると, 両種で可給態 K 区 < 難溶性 K 区 < 無 K の順に高くなり, K 供給量の少ない培地で Mg 含量が増加する傾向にあった. 地上部 Mg 含量としては, イネで約  $2 \text{ g kg}^{-1}$  前後であり, トマトは約  $10 \text{ g kg}^{-1}$  前後となったが, 処理区間での有意な差は見られなかった. 地下部においては, イネは難溶性 K 区が有意に高く  $2 \text{ g kg}^{-1}$ , 次いで無 K 区, 可給態 K 区の順に低下した. トマトでは無 K 区が有意に高く, 次に難溶性 K 区, 可給態 K 区と小さくなった. Mg 含量は両種ともに, K の豊富な可給態 K 区において地上部, 地下部ともに小さい Mg 含有量を示した.

Ca は, Mg と同様に両種の地上部, 地下部ともに, 可給態 K 区で小さい値を示した. 地上部は, イネで難溶性 K 区が最も高く, 次いで無 K 区, 可給態 K 区となった. トマトは, 無 K 区が最も高くイネの約 4 倍であった. また, 難溶性 K 区と可給態 K 区もイネの 3 から 4 倍であった. 地下部含有量は, イネは地上部よりも低かったが, トマトは地上部より高かった. イネは地上部の  $1/10$  から  $1/4$  の値で, 可給態 K 区 < 無 K 区 < 難溶性区 の順に高くなり, トマト



は、可給態 K 区<難溶性 K 区<無 K 区で高く、トマト地上部と比較して 1.3 倍前後の値を示した。

Fe は両種とも地上部と比較し、地下部において含有量が高かった。地上部はイネにおいてはどの区画も  $0.2 \text{ g kg}^{-1}$  となり、トマトは  $0.4 \text{ g kg}^{-1}$  となった。

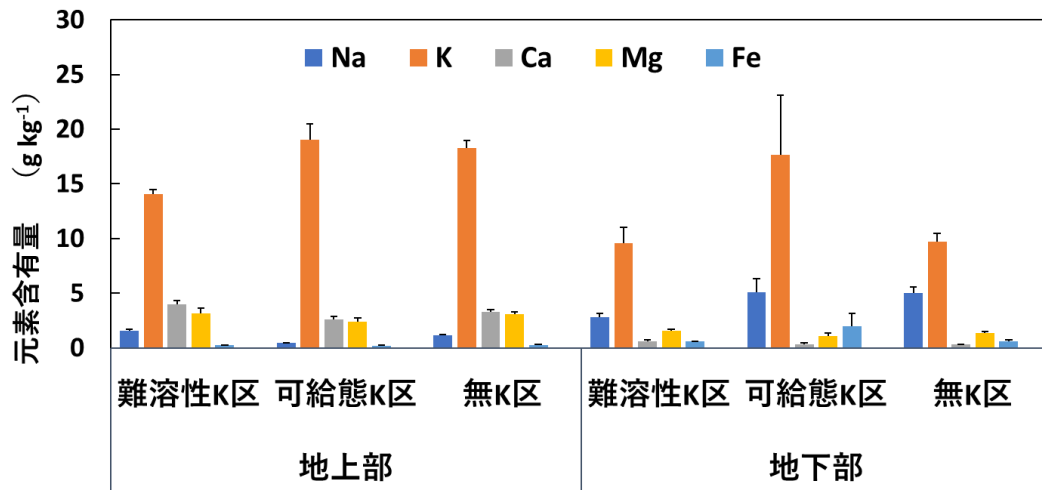


図4. イネ植物体元素含有量.

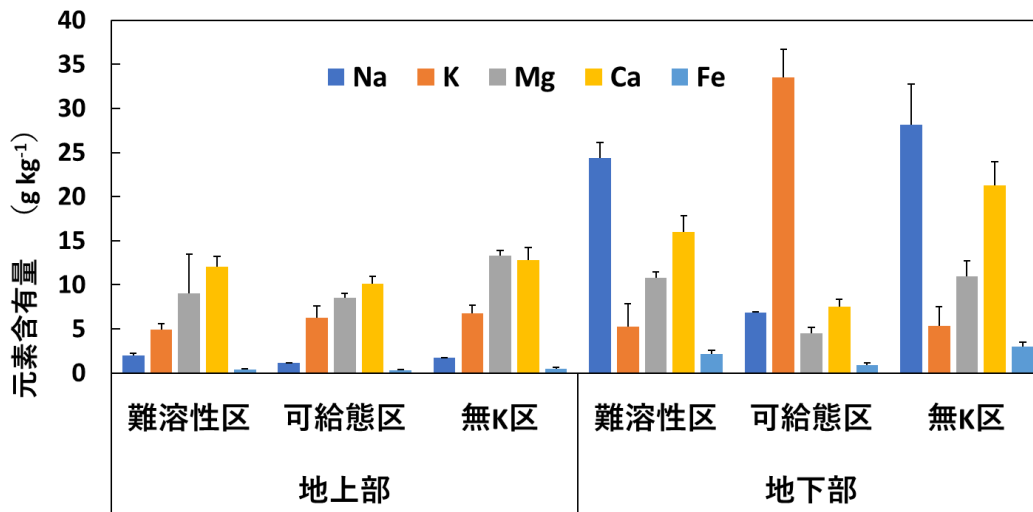


図5. トマト植物体元素含有量.

### 3-2. 根長

#### 3-2-1. ポットあたりのイネ総節根長

直径が  $0.2 \text{ mm}$  以上の節根は、各処理区で、 $5-6 \text{ m pot}^{-1}$  前後の値を示した（図 6）。最も長い総節根長を示したのは、可給態 K の最も少ない無 K 区であり、その後、難溶性 K 区、可給態 K を含む可給態 K 区の順に減少する傾向にあったが、処理区間での有意な差はなかった。

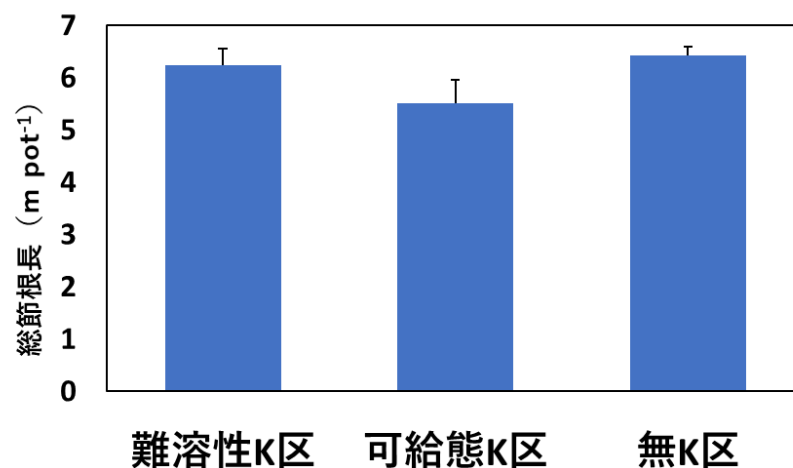


図6. イネ総節根長.

### 3-2-2. ポットあたりのイネ総側根長

直径が 0.2 mm 未満の根である側根長は、各処理区で、15 m pot<sup>-1</sup> 前後の値を示した (図 7) . 処理区による側根長の差は、総節根長と同様に、無 K 区、難溶性 K 区、可給態 K 区の順に減少する傾向にあったが、処理区間での有意な差はなかった.

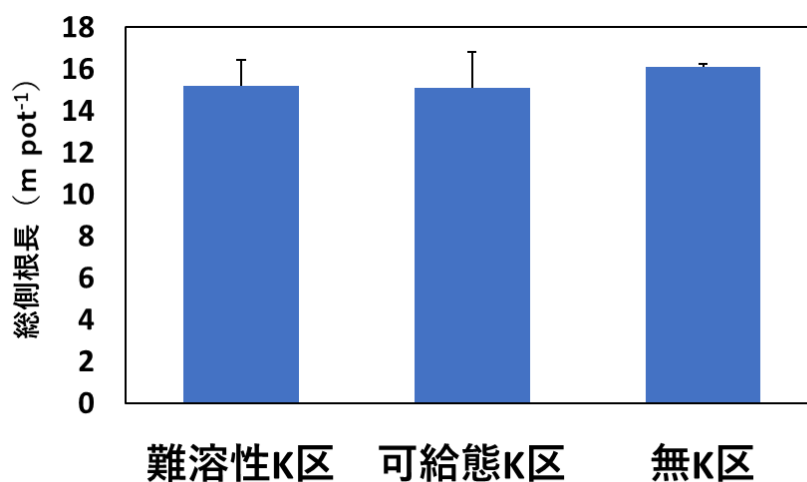


図7. イネ総側根長.

### 3-2-3. ポットあたりのイネ総根長

すべての根を合計して算出した総根長は、各処理区で、22 m pot<sup>-1</sup> 前後の値を示した (図 8) . 処理区による総根長の差は、節根長及び、側根長と同様に、無 K 区、難溶性 K 区、可給態 K 区の順に減少する傾向にあったが、処理区間での有意な差はなかった.

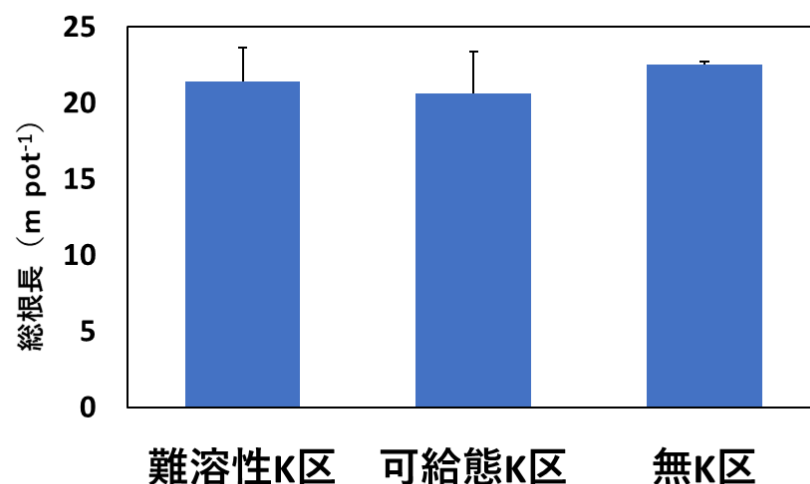


図8. イネ総根長.

#### 3-2-4. ポット当たりのトマト総根長

トマトの総根長は、可給態処理区でほかの 2 処理区と比較して有意に高い値となった ( $F(2,6) = 59.5, P = 0.000$ ) (図 9) .

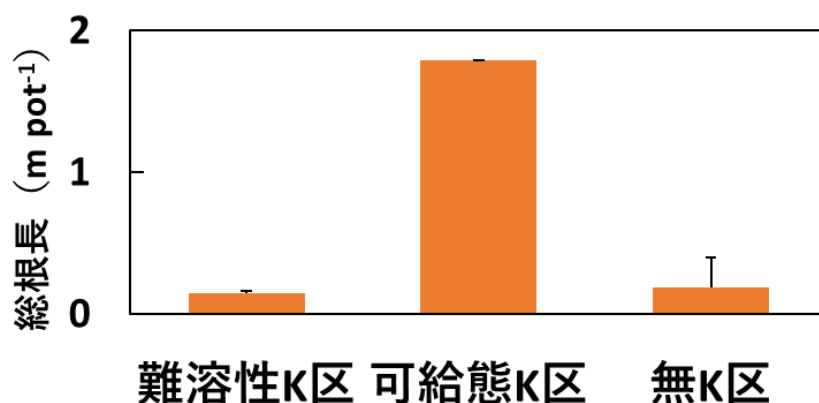


図9. ポット当たりのトマト総節根長.

#### 3-3. 根の細胞壁へ元素吸着

##### 3-3-1. 陽イオン交換容量試験

陽イオン交換容量はどの区画においても、イオン価数の増加に伴って根への吸着量も増加した (図 10) . 陽イオン交換容量の増加は、 $\text{Na}^+ < \text{K}^+ < \text{Mg}^{2+} < \text{Ca}^{2+} < \text{Fe}^{3+} < \text{Al}^{3+}$  の順となり、この傾向は阿江・吉光寺 (2004) と同様であった.  $\text{Na}^+$  は  $0.20 - 0.21 \text{ cmol kg}^{-1}$ ,  $\text{K}^+$  は  $0.27 - 0.33 \text{ cmol kg}^{-1}$  の値を示した.  $\text{Mg}^{2+}$  は処理区間で陽イオン交換容量に有意な差が見られ、難溶性 K 区の  $0.61 \text{ cmol kg}^{-1}$  と可給態 K 区の  $0.59 \text{ cmol kg}^{-1}$  に対して無 K 区で有意に低く ( $F(2,6) = 9.4, P = 0.01$ )  $0.53 \text{ cmol kg}^{-1}$  となった.  $\text{Ca}^{2+}$  は  $0.77 - 0.81 \text{ cmol kg}^{-1}$  であり、無 K 区、難溶性 K 区、可給態 K 区の順に大きくなる傾向があった.  $\text{Fe}^{3+}$  は、無 K 区が  $1.0 \text{ cmol kg}^{-1}$  を示し、可給態

K 区 ( $0.91 \text{ cmol kg}^{-1}$ ) や難溶性 K 区 ( $0.86 \text{ cmol kg}^{-1}$ ) に対して有意に高かった ( $F(2,6)=5.7$ ,  $P=0.04$ )。  $\text{Al}^{3+}$  で  $0.99-1.00 \text{ cmol kg}^{-1}$  の値を示したが、処理区間に有意な差は見られなかった。なお、本試験の結果のみ陽イオン交換容量として  $\text{cmol kg}$  ("c"は負荷"charge"を示す)での表記のため、元素名についても価数をつけて表示した。

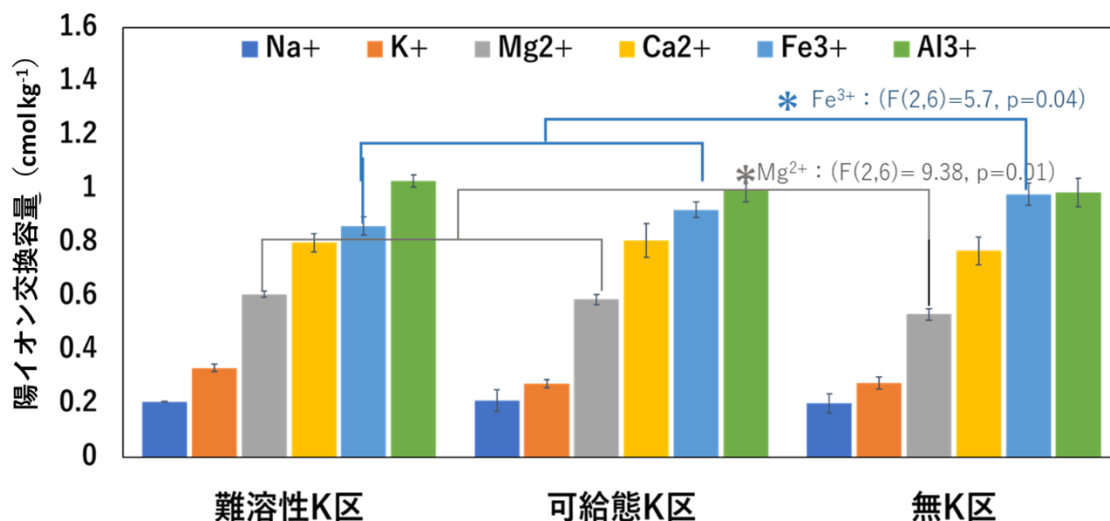


図10. イネ陽イオン交換容量試験. 反復は3反復. 本試験の結果のみ、陽イオン交換容量として  $\text{cmol kg}$  ("c"は負荷"charge"を示す)での表記のため、元素名についても価数をつけて表示した。

### 3-3-2. 土壌根を用いた陽イオン逐次抽出試験

#### 3-3-2-1. イオン別吸着割合

作物種によって根に吸着するイオンの種類が異なり、吸着割合にも変化がみられた(図 11)。イネとトマトでは、根に吸着するイオンの割合が大きく異なり、イネでは+K, -K 区に関わらず、Fe, K, Al で吸着したイオンの約 90%以上を占め、これらイオンの全体に対する割合は、Al (13%) < K (18-26%) < Fe (50-59%) になった。処理区間では、+K 区と比較して、-K 区で、K と Mg の吸着割合がそれぞれで、8%と 1%減少した一方、Fe の吸着が 9%増加し、-K 処理によって Fe の吸着割合は 50%から 59%になった。

トマトは、イネと比較して、Mg と Ca, Na の吸着割合が大きく、両処理区において Mg, Ca, Na, が吸着したイオンのおよ 80%から 90%を占め、このうち、特に 2 価の Mg と Ca の割合が多く、これらのイオンが全体の約 70%を占めていた。トマトにおいても、処理区間でイオンの割合に変化が見られた。Ca の割合が+K 区の 36%から、-K 区では 15%減少して 21%になった一方で、Mg, Na, K の吸着割合はそれぞれ 4%, 9%, 3%ずつ増加し、45%, 22%, 6%となった。-K 処理によって、イネでは、K, Mg が減少し、代わりに Fe の吸着部位が増加し、トマトでは、Ca が減少し、Mg, Na, K イオンで増加が見られた。

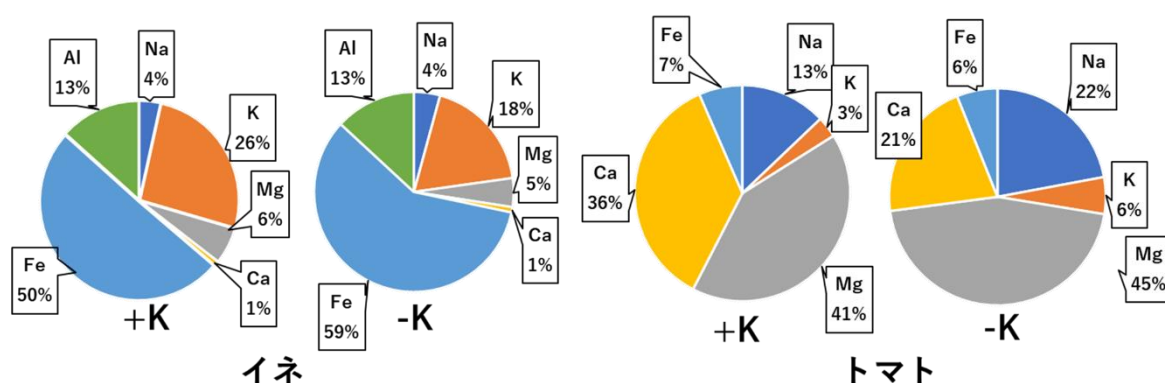


図11. 土壌根を用いた陽イオン逐次抽出試験におけるイオン毎の割合. 本結果では各吸着形態を合計してイオン毎の割合として物質質量比で表示した. 試験は3反復.

### 3-3-2-2. 抽出形態別イオン量

吸着するイオンの量や形態は、作物種によって異なった (図 12). イネは Na, Mg, Ca 吸着量は全体の数%未満であったが、それに比較して K, Fe, Al の吸着は多く見られた. K は処理区間での差が見られ、処理区ごとの平均吸着量は、+K 区では約 75 mmol kg dry root<sup>-1</sup>であったのに対して、-K 区では、40 mmol kg dry root<sup>-1</sup>と-K 区で K 吸着量が低下した. Fe の吸着量は、両処理区ともおよそ 150 mmol kg dry root<sup>-1</sup>であり吸着量に差は見られなかった. Al の吸着量は、Fe の吸着量の 3 分の 1 のほどの値であった. トマトのイオン吸着量は、K, Fe の吸着量は全体の数%未満であったが、Na, Mg, Ca の吸着量は多くみられた. Na は、+K 区と比較して-K 区での吸着量が 2 倍以上であり、約 200 mmol kg dry root<sup>-1</sup>であった. Mg も Na と同様に-K 区での吸着量が多く+K 区で約 220 mmol kg dry root<sup>-1</sup>であるのに対して、-K 区では 370 mmol kg dry root<sup>-1</sup>であった. Ca は、+K 区で約 195 mmol kg dry root<sup>-1</sup>であり-K 区では、160 mmol kg dry root<sup>-1</sup>であった.

吸着形態として、まずイネは、K, Fe, Al の吸着量が主要であり、K の吸着については、酢酸アンモニウムと残留形態が見られたが、酢酸アンモニウムの形態が残留形態の 3 から 4 倍となった. 最も吸着量の多かった Fe は、ほとんどがクエン酸と残留形態で吸着しており、これ

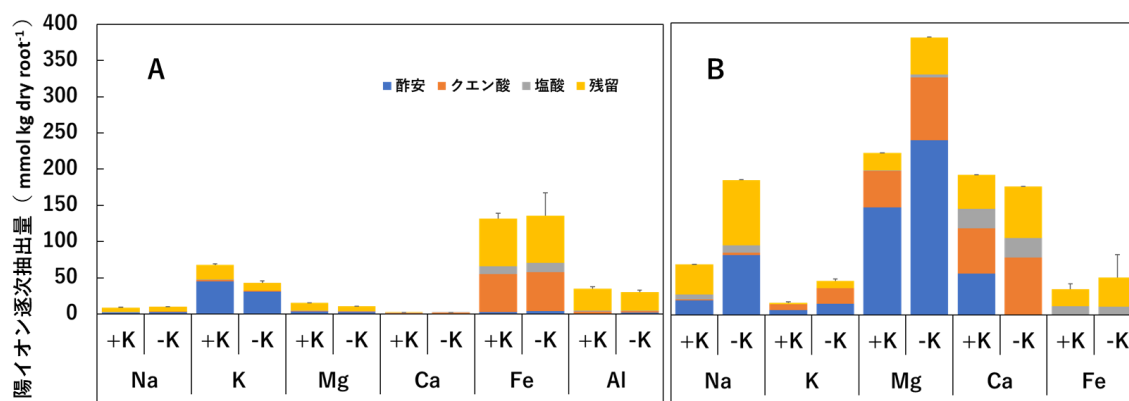


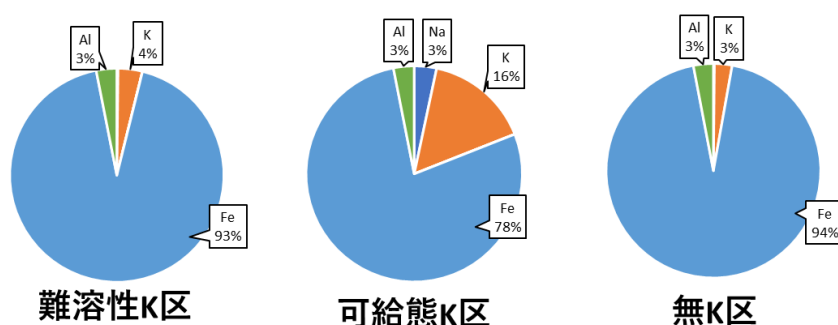
図12 土壌根を用いた陽イオン逐次抽出試験における各イオンの抽出形態ごとの抽出量. Aはイネ, Bはトマトの結果を示す. 試験は3反復で、抽出液の抽出力は、酢安<クエン酸<塩酸<残留の順に強くなる.

らの形態で半数ずつを占めていた。Al については、ほとんどが残留形態として吸着していた。なお、イネについて処理区間での吸着形態に目立った差は見られなかった。トマトについては、Na は残留形態と酢酸アンモニウム形態がほとんどを占めていた。K は吸着量が全体の数%と少ないが、吸着形態としては酢酸アンモニウム形態、クエン酸形態、塩酸形態が見られた。Mg の吸着形態は酢酸アンモニウム形態が全体の半数以上を占めており、残りはクエン酸形態と残留形態であった。Ca については、処理区間で吸着形態に差が見られ、+K 区では4種すべての抽出形態が見られたのに対し、-K 区では酢酸アンモニウム抽出形態が見られず、そのほかの3形態によって存在していた。最後に Fe の吸着形態は、残留形態と塩酸形態として存在し、残留形態が塩酸形態の3倍程度の値となった。

### 3-3-3. 珪砂根と 50 $\mu$ M 陽イオン混合溶液を用いた陽イオン逐次抽出試験

#### 3-3-3-1. イオン別吸着割合

K の豊富な可給態 K 区と、可給態 K の欠乏している難溶性 K 区及び無 K 区では、構成イオンに変化が見られた (図 13)。根に吸着したイオンの内、最も大きな割合を占めていたのは Fe であり、この傾向はすべての処理区で見られた。中でも無 K 区と難溶性 K 区の Fe の吸着割合は 90% 以上であり、これは可給態 K 区より約 13% 大きかった。Fe 以外のイオンとしては、Al、K、Na の吸着があり、Ca、Mg は未検出であった。K は Fe の次に大きな吸着の割合を占めていた。K は、可給態 K 区の 16% が最も大きく難溶性 K 区と無 K 区は 3% 程度であった。Al はどの処理区においても 3% と変化はなかった。最後に Na は、可給態 K 区で 3% を示し、難溶性 K 区及び無 K 区では 1% 未満であった。K 欠乏環境下において、Fe の吸着割合が増加し、Na や K の吸着割合が減少する現象がみられた。



**図13. 珪砂根と50  $\mu$ M 陽イオン混合溶液を用いた陽イオン逐次抽出試験におけるイオン毎の割合。試験は3反復し、結果では各吸着形態を合計してイオン毎の割合として物質質量比で表示した。**

#### 3-3-3-2. 抽出形態別イオン量

50  $\mu$ M 混合溶液を用いた陽イオン逐次抽出試験では、特に Fe の根への吸着が多く、2 番目に吸着量の多かった K と比較して5倍以上であったが、2 価のイオンは検出されなかった (図 14)。Fe の吸着形態としては、すべて残留形態であった。さらに、Fe を処理区間でみると無

K 区での Fe 保持力は難溶性 K 区や可給態 K 区と比較して高い傾向があり, 無 K 区で  $56 \text{ mmol kg dry root}^{-1}$  であり, 次いで難溶性 K 区が  $43 \text{ mmol kg dry root}^{-1}$ , 可給態 K 区で  $26 \text{ mmol kg dry root}^{-1}$  であった. Al についても, 吸着量は Fe の 1/10 程度とわずかではあるが, Fe と同様に K 欠乏区で吸着量が多い傾向があり, 吸着形態ではクエン酸と残留形態がみられた. 2 番目に吸着量の多かった K は, 可給態区で最も吸着量が多く約  $7 \text{ mmol kg dry root}^{-1}$  であり, 難溶性 K 区と無 K 区はその 1/3 未満であった. 形態としては塩酸と残留形態がみられ, どの処理区においても塩酸形態が 9 割以上を占めていた. Fe は, 無 K 区や難溶性 K 区などの K 不足環境下において有意に増加し, 一方で, 1 価のイオンである Na や K は, K が豊富な可給態 K 区において吸着量が増加した.

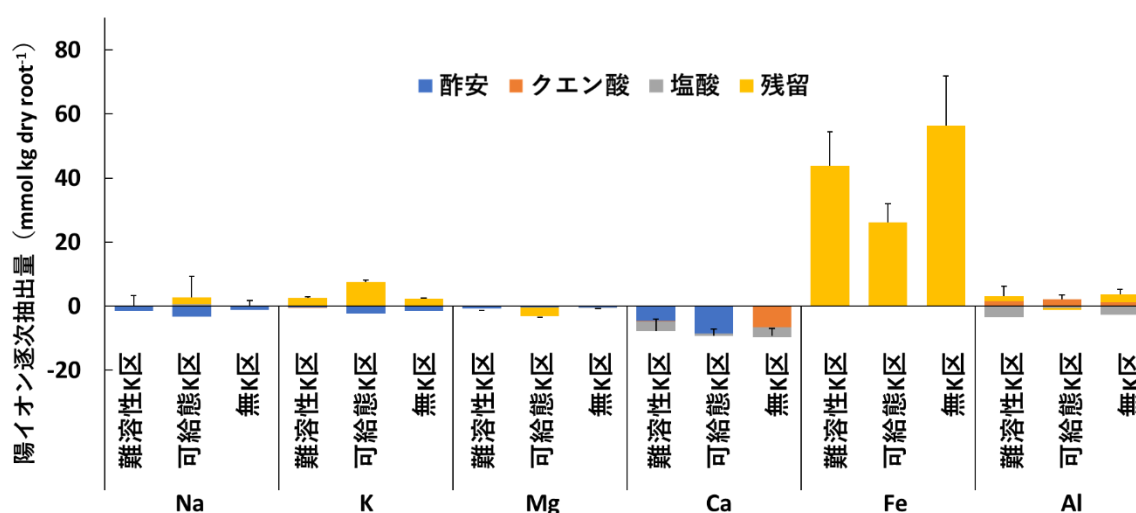


図14. 珪砂根と50  $\mu\text{M}$  陽イオン混合溶液を用いた陽イオン逐次抽出試験における各イオンの抽出形態ごとの抽出量. 試験は3反復で行った. 抽出液の抽出力は, 酢安<クエン酸<塩酸<残留の順に強くなり, グラフは各抽出液を用いて根から抽出されたイオンの量を示す. なお, 珪砂根にもともと吸着していたイオンを考慮するために, 抽出量は, 陽イオン混合溶液に吸着を行った根の抽出量と吸着を行っていない珪砂根の差分から求めた. このためグラフ中にマイナスの値が存在する. なお, Caのマイナスの値については, 高等植物のペクチンの構造中のメチル化度の低いホモガラクトロンのカルボキシ基に吸着していたCaがFeと置換 (Krzesłowska 2011) したために, マイナスを示した可能性がある.

### 3-3-4. 珪砂根と 0.1M 陽イオン混合溶液を用いた陽イオン逐次抽出

#### 3-3-4-1. イオン別吸着割合

どの処理区においても Fe, Mg, Ca, K, Na の吸着があり, 吸着割合は価数の増加と共に増え,  $\text{K} < \text{Na} \leq \text{Mg} < \text{Ca} < \text{Fe}$  になった (図 15). 最も吸着割合の大きかった Fe は, どの処理区においてもおよそ 50%を占めていた. 次いで, Ca は 17%から 20%, Mg はどの処理区でも約 15%, Na は約 14%, K は約 4%となった. 処理区によるイオン吸着割合の差は, 50  $\mu\text{M}$  陽イオン混合溶液を用いた陽イオン逐次抽出試験と比較して見られず, どの処理区においても同様の割合でイオンが吸着していた.



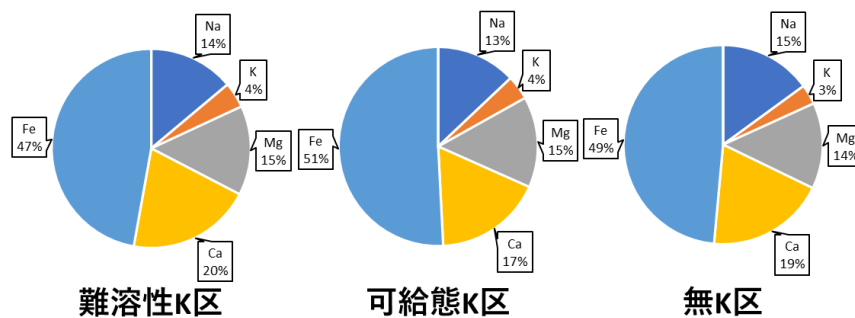


図15. 珪砂根と0.1  $\mu\text{M}$  陽イオン混合溶液を用いた陽イオン逐次抽出試験におけるイオン毎の割合. 本結果では各吸着形態を合計してイオン毎の割合として物質質量比で表示した. 反復は3反復.

### 3-3-4-2. 抽出形態別イオン量

本試験結果は、図 14 の「珪砂根と 50  $\mu\text{M}$  陽イオン混合溶液を用いた陽イオン逐次抽出試験」と比較して、すべてのイオンについて抽出されるイオンの量が増加し、特に最も弱く吸着した形態のイオンを評価できる酢酸アンモニウム抽出性のイオンの量がすべてのイオンと処理区において大幅に増加した(図 16). 最も吸着量の多かったイオンは Fe であり、ほかのイオンが 20 から 200  $\text{mmol kg dry root}^{-1}$  を示したのに対して、260 から 300  $\text{mmol kg dry root}^{-1}$  の値になった. 処理区間では可給態 K 区の吸着量が最も多く、次いで無 K 区、難溶性 K 区となり、「珪砂根と 50  $\mu\text{M}$  陽イオン混合溶液を用いた陽イオン逐次抽出試験」の時に見られた K 欠乏の処理区において Fe の吸着量が増加する傾向は見られなかった. Fe の吸着形態としては、酢酸アンモニウム抽出形態の Fe が最も多く、可給態 K 区で全吸着量の約 6 割、無 K 区と難溶性 K 区で 5 割を占めた. 次いで大きな割合を占めたのは塩酸抽出性の形態であり、どの処理区においてもおよそ 3 割を占めた. 3 番目の形態として、残留形態が見られ、それぞれの処理区において 11 から 14% の割合で存在した. クエン酸抽出形態は最も少なく各処理区において 3 から 6% を占めた. Ca は Fe の次に吸着量が多かったが、処理区間での差は見られず、吸着形

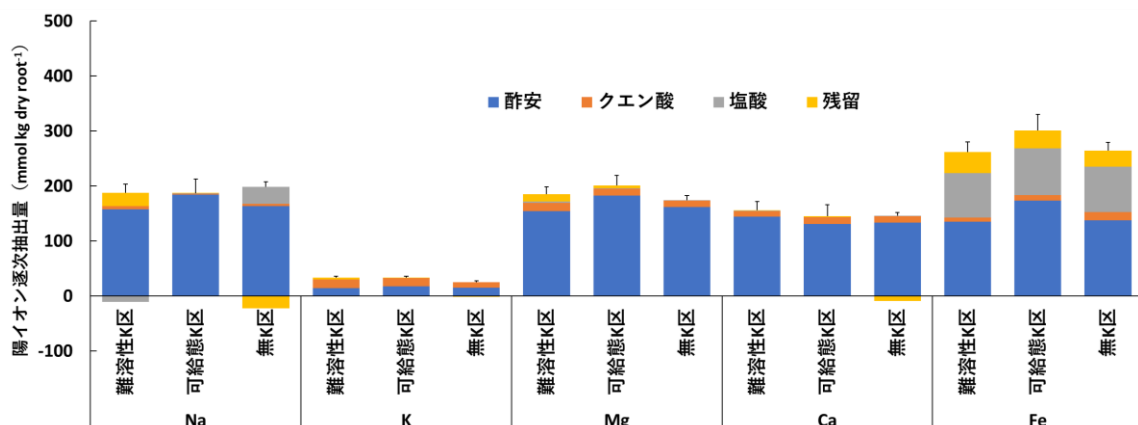


図16. 珪砂根と0.1 M 陽イオン混合溶液を用いた陽イオン逐次抽出試験における各イオンの抽出形態ごとの抽出量. 試験は3反復で行った. 抽出液の抽出力は、酢酸<クエン酸<塩酸<残留の順に強くなり、グラフは各抽出液を用いて根から抽出されたイオンの量を示す. なお、珪砂根にもともと吸着していたイオンを考慮するために、抽出量は、陽イオン混合溶液に吸着を行った根の元素抽出量と吸着を行っていない珪砂根の元素抽出量の差分から求めた. このためグラフ中にマイナスの値が存在する.



態としては、どの処理区においても酢酸アンモニウムでの形態が最も多く 9 割以上を占めていた。

Mg, Na の吸着量は、およそ  $180 \text{ mmol kg dry root}^{-1}$  前後であり、Ca と同様に Mg, Na では酢酸アンモニウム抽出形態のイオンが多く、全体の 8 割以上を占めた。次いでクエン酸抽出形態のイオンが多く、1 から 8% を占めた。塩酸と残留形態については 1% 未満であった。K は最も吸着量が少なく、 $1 \text{ mmol kg dry root}^{-1}$  前後であった。吸着形態としては、酢酸アンモニウム抽出性の K がどの処理区においても約半数を占めた。次いでクエン酸抽出形態の K が多く、各処理区で 4 割程度を占めた。残留形態は、難溶性 K 区で 1 割、可給態 K 区で 1 割未満となり、無 K 区では抽出されなかった。塩酸抽出形態の K はどの処理区においても抽出されなかった。

## 4. 考察

### 4-1. イネ細胞壁の特異性

本研究の最も重要な発見は、植物種によってイオンを吸着する能力が異なり、特にイネの根細胞壁表面に Fe との強力な吸着部位が存在することを明らかにした点である (図 12, 図 14). 根の表面にイオンとの吸着部位が存在することは 1930 年代から知られており (Jenny and Overstreet 1939), 1 価や 2 価の単体のイオン溶液を用いた試験では、イネを含む単子葉類において、双子葉類と比較し、1 価のイオンとの吸着が、2 価イオンとの吸着よりも優先することが明らかになっていた (森田 1972). 本研究においては、土壌環境により近いイオンが混合した環境を再現するために、1 価, 2 価, 3 価のイオンの混合溶液を用いて、根表面へのイオン吸着量及び、その吸着形態から細胞壁への吸着力を調べ、イネにおいては、イオンが混在した環境においては特に Fe との吸着が多く見られることが明らかとなった. イネの根細胞壁表面における Fe の吸着割合は、土壌栽培根を用いた陽イオン逐次抽出試験と 50  $\mu$ M 陽イオン逐次抽出試験の結果から、それぞれ全体の 6 割と 9 割と過半数を占めていた. これはトマトの  $\text{Fe}^{3+}$  の吸着量である 1 割と比較して大きな値であった. これらの結果から、イネは複数のイオンが混在する土壌環境において Fe との吸着を優先的にを行っている可能性が考えられた. 一方で、トマトの根細胞壁表面には、Fe の吸着量は約 1 割にとどまったものの、Ca や Mg の割合は大きく、全体の 3 割から 4 割の吸着量を占めていた. これは双子葉類において、2 価イオンとの吸着が双子葉類よりも優先すること (森田 1972) が影響したものと思われる. このことから、トマトとイネでは、細胞壁表面に特異的に吸着するイオンの種類が異なると考えられ、特にイオンが混在した土壌環境において、イネは Fe と、トマトでは Ca や Mg との吸着部位が発達していると考えられた.

イネとトマトの細胞壁に吸着したイオンの吸着形態から、細胞壁と強力な吸着を示すイオンが作物種によって異なる可能性が予想された. イオン交換基へのイオン吸着の程度は一般に価数が大きいものの方が強く吸着され、同じ価数の元素であれば、イオン半径が大きいものほど半径の小さいイオンと比較して強く吸着される. これは、イオン半径の大きい元素ほど表面電荷密度が小さく、溶液中の水分子を引き付けた水和層が薄くなることでイオン性が大きくなり、イオン交換樹脂のイオン交換基に対する親和性が大きくなるため、イオン半径の大きいイオンの方がイオン交換基に強く吸着するとされる (Williams and Coleman 1950, Helmy and Elgabaly 1958). この法則性は、植物細胞壁へのイオン吸着においても同様であり、土壌中で陽イオンとして存在する元素の植物細胞壁への吸着順は、 $\text{Al}^{3+} > \text{La}^{3+} > \text{H}^{+} > \text{Cu}^{2+} > \text{Ni}^{2+} > \text{Ca}^{2+} > \text{Co}^{2+} > \text{Cd}^{2+} > \text{Mg}^{2+} > \text{Zn}^{2+} > \text{Rb}^{+} > \text{K}^{+} > \text{Cs}^{+} > \text{Na}^{+}$  となる (Shomer et al. 2003). これは細胞壁から単離したペクチンに結合する陽イオンの強度についてもほとんど同様の順序が当てはまることが確認されている (Franco et al. 2002). つまり、本研究で使用了 6 種のイオンの根への吸着のしやすさは、 $\text{Fe}^{3+} > \text{Al}^{3+} > \text{Ca}^{2+} > \text{Mg}^{2+} > \text{K}^{+} > \text{Na}^{+}$  の順に吸着力が大きくなり、イオンの混在溶液に根を浸水させて測定する陽イオン逐次抽出試験の結果についても同様の傾向が見られると予想した. しかしながら、イネについては、Fe と K の吸着割合が多く、トマトについては Ca や Mg との吸着がみられた. また、これらのイオンの抽出には抽出力の強い抽出液で抽出される傾向があった. イネでは、根細胞壁表面に吸着した

Fe のうち、土壌栽培ではその約半分が、50  $\mu$ M 陽イオン逐次抽出試験ではほぼすべての Fe が残留形態で存在した。先行研究によって、イネの細胞壁についた Fe の吸着力は、クエン酸と同様の保持力を持つことが明らかになっている（福永 2011）が、本研究による結果では、さらにクエン酸で抽出した後にも根表面には残留形態として Fe が確認された。また、トマトの細胞壁で吸着の多かった Ca や Mg についても、残留形態が見られ、これは吸着力の強い 3 価のイオンから吸着するというイオンの吸着強度とは全く別の吸着傾向となった。これらのことから、植物根には種固有のイオンの選択性があり、強力な吸着を示す可能性が考えられた。

イネやトマトの根細胞壁表面に存在する Fe や Ca, Mg との吸着部位は、クエン酸や塩酸の交換能力以上に強い吸着力によって Fe, Ca, Mg を保持している可能性が明らかになった。したがって、イネとトマトでは引き付けるイオンの種類が異なり、特にイネの根細胞壁表面には Fe との吸着部位が、トマトでは、Ca や Mg との吸着部位が特異的に存在し、特にイネにおいて、強い吸着力で Fe を保持していることが考えられた。さらに、イネとトマトについて、根に吸着したイオンの強度は、先行研究で予想されているイオンの吸着順 ( $\text{Na}^+ < \text{K}^+ < \text{Mg}^{2+} < \text{Ca}^{2+} < \text{Al}^{3+} < \text{Fe}^{3+}$ ) とは異なった。このことから、それぞれの植物の根表面においては、強力な吸着がみられたイオンに対応した独自のイオン吸着サイトを持つかもしれない。

#### 4-2. K 欠乏によるイネの根細胞壁表面の変化

本研究結果から、イネの根細胞壁表面に存在する Fe との特異的な吸着部位は、K 欠乏環境において増加する可能性があると考えられた。Fe との吸着部位は、土壌根及び、砂耕栽培の珪砂根を用いた 50  $\mu$ M 陽イオン逐次抽出試験の結果において、K 供給量の少ない-K 区（土壌栽培）、難溶性 K 区と無 K 区（砂耕栽培）の Fe 吸着割合が、K 供給量の多い+K 区（土壌栽培）、可給態 K 区（砂耕栽培）と比較して増加した（図 10, 図 12）。増加の割合は、土壌栽培根において+K 区の 63%から 8%増加し、-K 区で 71%になった。また、Fe の吸着量の増加は珪砂根を用いた陽イオン交換容量試験においてもみられ、最も K 供給量の少ない無 K 区において Fe の陽イオン交換容量は、交換態 K 区と難溶性 K 区と比較して有意に増加した。以上のように、土壌栽培と砂耕栽培のいずれの栽培培地においても K 欠乏条件下で Fe との吸着が増加しており、K 欠乏環境によってイネ根表面における Fe 吸着部位が増加したと考えられる。

K 欠乏に伴う Fe の吸着量の増加とは逆に、吸着量が減少したイオンがあった。例えば K は吸着量と吸着割合が土壌栽培及び、砂耕栽培根を用いた陽イオン逐次抽出試験において減少する傾向にあった。特に土壌栽培根では、-K 区において+K 区と比較して K の吸着量が有意に減少した。K と同様に Mg についても土壌栽培根において、-K 区で+K 区と比較して Mg の吸着量が有意に減少した。また、有意な変化は見られなかったものの、砂耕栽培根を用いた陽イオン逐次抽出試験において Na の割合の減少も見られた。これらのことから、K 欠乏によってイネの根の細胞壁表面は K や Mg, Na の吸着部位が減少し、Fe との吸着部位が増加する可能性が考えられた。これらイネの根細胞壁におけるイオン吸着特性の変化は、イネを K 欠乏環境に定植してからわずか 3 週間の栽培期間で起こった。したがって、イネの細胞壁は K が欠乏した

環境においても短期間で根の細胞壁表面の構造を変化させ、Fe との強力な吸着部位を増加させる能力をもつ可能性が考えられた。

#### 4-3. イネの根細胞壁における Fe 吸着部位の役割

本研究においては Fe との吸着部位がどのようなメカニズムをもって K の獲得に働くかを明らかにするまでには至らなかった。しかしながら、考えられるメカニズムを熟慮し続けることは、今後の研究の発展の足掛かりになると思われる。このため本項では、本研究を通じて想定されたイネ細胞壁における Fe 吸着部位の役割について言及する。

K 欠乏環境において増加したイネ根細胞壁表面に存在する Fe との特異的な吸着部位は、鉍物中に存在する K の利用に関与するかもしれない。本研究において使用したイネは日本晴であり、本種において 3 価の陽イオンである Fe との強力な吸着が確認され、その割合は K 欠乏環境において増加する傾向にあった。イネの根細胞壁と 3 価の金属との吸着は Kusa et al. (2021) も報告している。Kusa らは、北陸 193 の根細胞壁と、K を含む一次鉍物を緩衝液中で反応させることで、一次鉍物に含まれる K が溶出することを確認した。しかし細胞壁の表面を 3 価の Al でコーティングしたのちに、同様の試験を行った時には K の溶出が起きなかった。このことから、イネの根細胞壁表面には 3 価の金属との強力な吸着部位が発達し、この部位が鉍物の結晶構造に含まれる 3 価の金属である Al や Fe と吸着することで、鉍物の結晶構造が崩壊し、K が溶出する可能性が考えられた。これらのことから、イネ根の細胞壁表面における Fe との強力な吸着部位は、鉍物の結晶構造の崩壊に関わり、難溶性 K の溶解とイネによる吸収に寄与するかもしれない。

#### 4-4. K の存在形態と植物体

イネはトマトと比較して、K 欠乏環境においても乾物重量を維持し、根を伸ばす可能性が考えられた。イネの乾物重量は地上部地下部とも処理区間での違いは見られなかったが、トマトでは可給態 K の少ない難溶性 K 区や無 K 区で可給態 K 区よりも地下部の乾物重量が減少した。K の可給性の少ない無 K 区や難溶性 K 区において総根長が長い傾向があった (図 8)。K 欠乏環境で根長が長くなる傾向は、根の直径が 0.2 mm 以上である節根と、根の直径が 0.2 mm 未満である側根についても見られ、その順番は、可給態 K 区 < 難溶性 K 区 < 無 K 区となった。K 欠乏環境においてイネが根長を増加させることは、可給態 K 量を減らした溶液で栽培を行ったイネにおいても報告されている (Jia et al. 2008)。Jia et al. (2008) の研究では、遺伝子型の異なる 6 品種のイネの苗を、K 濃度を 5 ppm, 10 ppm, 40 ppm の 3 段階で作製した溶液で栽培を行った。その結果、5 ppm では K 濃度が最も高い 40 ppm と比較して根長が大幅に減少したものの、10 ppm では、40 ppm と同等かそれ以上の根長を示した。このことから、イネはある程度の K 欠乏環境下であれば根を伸長させることが可能であることが考えられた。さらにシロイナズナでは、K 欠乏環境では根の分岐や、陽イオンの吸着が活発な根毛 (Williams 1950) が増加することも報告されている (Sustr et al. 2019)。また、肥沃な環境で植物生育した植物は、根を伸長させずとも栄養の獲得が可能のために、貧栄養な環境の植物よりも根長が減少することがある (Kramer-Walter et al. 2016)。本研究において、K を欠如させた砂耕栽培を行っ

たイネにおいて根長が、K 溶液栽培と同様に K を欠乏させることでイネの根長が増加する傾向が見られた。したがって、イネは K が豊富な環境よりは、ある程度 K が欠乏した環境において、根を伸長させる可能性が考えられる。

#### 4-5. 陽イオン逐次抽出試験による植物根のイオン保持特性の評価

本研究では、陽イオン逐次抽出試験から根におけるイオンの優先的な吸着が明らかになったが、これは従来行われてきた陽イオン交換容量試験の結果のみからの吸着特性の推察よりも、一度の試験でより詳細な根のイオン吸着特性が把握できる可能性がある。植物根の陽イオン保持特性は、単一のイオン溶液を用いた試験によって、古くから調べられている (Jenny and Overstreet 1939)。この試験によって、双子葉類は陽イオン交換容量が大きく 2 価の陽イオンを吸着しやすい性質をもち、単子葉類は 1 価の陽イオンを吸着しやすい (位田ら 1958, Morita and Aoki 1961) ことなどが明らかにされてきた。その一方で、自然土壌中には様々なイオンが混在しており、単一の陽イオン溶液を用いた先行研究での植物のイオン吸着傾向が、自然環境下での根の陽イオン吸着特性を反映しきれていないことも指摘されてきた (森田 1972)。吉光寺・阿江 (2004) は、イネとトマトを含む 8 科 13 品種の作物について 1 から 3 価のイオンを用いて陽イオン交換容量試験を行っており、どの植物においてもイオンの価数が増加するほど大きな値し、これは上述のイネ根のイオンの吸着特性 (4-1. イネ細胞壁の特異性の第 2 段落) と類似していた。しかし、本研究の陽イオン逐次抽出試験においてイネでは Fe、K と、トマトでは Ca と Mg との優先的な吸着がみられ、これはイオンの吸着特性よりも、土壌でのイオン吸着状態を反映していた。これらのことから、陽イオン逐次抽出試験は、土壌環境におけるそれぞれの植物種に固有の陽イオン吸着特性を評価できる可能性があると推察する。

#### 4-6. 研究手法上の検討すべき点

##### 4-6-1. 陽イオン逐次抽出試験及び、陽イオン交換容量試験について

本研究では陽イオン逐次抽出試験と陽イオン交換容量試験を行ったが、使用する陽イオン混合溶液と抽出液の pH については調整が必要である。今回は、pH の調節までを行うことができなかったが、以下に pH 調節の必要性和、使用する溶液の pH の調節方法について述べる。まず、pH 調節の必要性であるが、これは根表面に存在する官能基の解離度が pH によって変化するためである (Meychik et al. 2021)。官能基の電荷は、水溶液中で H が解離し、マイナスに帯電することで発生する (カルボキシ基(-COOH)を例にすると、 $\text{-COOH}[\text{解離前}] \rightarrow \text{-COO}^- \text{H}^+[\text{解離後}]$ ) わけであるが、pH が低い (溶液中の  $\text{H}^+$  濃度が高い) 場合は、官能基の解離は抑えられる傾向にある。一方で、溶液中の pH が高い (溶液中の  $\text{H}^+$  濃度が低い) 場合は官能基の解離が促進される傾向にある。このため、根の官能基の特性を把握する試験を行う際には、試験に使用する植物が育つ環境の pH を再現した溶液を用いる必要があり、これを行うことで実際の植物の生育環境や、栽培環境での根の状態を把握することができると考える。

試験に使用する溶液の pH の調整方法についてであるが、まず、pH 調整には緩衝液を用いる。緩衝液は、酸や塩基を加えたり、希釈して濃度を変えてもその影響を緩和して pH をほぼ一定に保つはたらき (緩衝作用) をもつ溶液であり、これを、抽出液や陽イオン混合溶液の溶

媒として用いることで、試験を目的の pH でおこなうことができる。緩衝液の種類は様々あるが、本研究の様に複数の元素（イオン）を測定したい際には、試験で標的とする元素を含まない緩衝液を選択し使用することが望ましい。例えば、本研究で行った 6 種の元素（K, Na, Ca, Mg, Al, Fe）を使用する陽イオン混合溶液を作成するとした場合、緩衝液としては「酢酸/酢酸 Na 緩衝液」や、「酢酸/酢酸 Ca 緩衝液」などが目的の pH（イネならば約 pH 5.5）を再現する緩衝液としては上げられるが、これらの緩衝液には Na や Ca を含み、測定したい標的の元素（K, Na, Ca, Mg, Al, Fe）とかぶってしまう。したがってここでは、標的元素を含まない緩衝液である「酢酸/酢酸アンモニウム緩衝液」などを選択する必要がある。さらに、緩衝液の濃度調整としては、標的の元素よりも緩衝液の濃度が高すぎない様にする必要がある。

#### 4-6-2. 接触溶解反応について

本研究では、根による鉱物の溶解を把握する試験である、接触溶解反応（Ae et al. 1996, Kusa et al. 2021）の結果を得ることができなかった。接触溶解反応を確認できなかった要因として考えられるのは、イネの収穫からデオキシコール処理までの下処理過程と、イネの品種による可能性の 2 つが考えられる。収穫からデオキシコール処理までの処理間には、収穫直後の冷凍保存や、複数回の濾過洗浄作業など、根細胞壁に負担のかかる作業がある。特に根毛の細胞壁はペクチンからなり、大きな表面積を持つ重要な陽イオンの吸着部位であり（Williams and Coleman 1950）過度の洗浄により影響を受けた可能性は否定できない。その証拠として、図 14 の「珪砂根と 50 $\mu$ M 陽イオン混合溶液を用いた陽イオン逐次抽出試験における各イオンの抽出形態ごとの抽出量」では、Ca の抽出量について大幅なマイナスの値が見られた。著者は 2 年間これらの作業を見直してきたが、これ以上に冷凍保存の回避や、洗浄回数の軽減、さらには、本研究では試すことができなかったが、デオキシコール処理を行わない新鮮根を用いた接触溶解反応を行うなど、試行錯誤を重ねる必要がある。

もう一つの可能性として品種による違いがある。本研究では日本晴を使用した。イネによる接触溶解反応を確認した Kusa et al. (2021) の研究では、北陸 193 を試験に使用している。北陸 193 は、イネの中でも根表面の官能基の種類が把握されており、3 価の陽イオンとの吸着に強力な吸着部位を提供するカルボキシル基や、水酸基の密度が高いことが明らかになっている。本研究では、日本晴の官能基の種類までを把握するまで及ばなかったが、今後物質の表面に存在する官能基の測定が可能なフーリエ変換赤外分光光度計（FT-IR）などを用いて細胞壁表面の官能基の種類を把握しておくことで、イネの品種間の接触溶解能力の強さを把握することが可能になるかもしれない。

#### 4-7. さらなる研究の可能性

本研究の結果と考察から、将来的な研究につながる可能性を 2 つ提示する。まず 1 つ目に、本研究から、イネには Fe との強力な吸着部位が存在することが明らかになった。Fe は難溶性の K を溶解するカギとなる元素である。今後の研究で Fe との吸着部位がどのような官能基の組み合わせによって担われ、この部位の発現が、pH や溶液濃度、植物の発育段階などの条件

の影響をどの程度受けるかを把握していくことで、吸着部位のさらなる役割の解明につながると思われる。

2つ目は、イネやトマトの官能基の吸着特性はK処理の影響を受けて変化することから、他の植物においても養分状態によって官能基構造に変化が生まれる可能性があるということである。官能基は、作物以外の植物、例えばシダ類や樹木などにも存在し、それぞれの種によって陽イオン交換容量は様々である（森田 1972）。したがって、イネやトマト以外の植物も固有の官能基の組み合わせをもっており、現在に至るまで環境に適応しながら生きてきたことが想像できる。本研究ではK条件によって官能基の吸着応答が異なることが把握できたが、K以外の栄養条件においても官能基特性が変化することが予想された。今後様々な条件下で栽培や生育した植物根を用いて陽イオンの吸着特性を試験することで、多様な種の官能基を通じた環境適応能力や、将来には作物の陽イオン吸収能力に応じた減肥につなげることができると思われる。

## 5. 要約

Most of potassium (K) in soil is not available for plants (non-exchangeable-K), and available K form, exchangeable-K, in soil is few. Even in an environment with little or no exchangeable-K, some plants, including rice, have been reported to grow healthily presumably by using non-exchangeable-K. Contact reaction on root surface with soil mineral is a possible strategy for those plants to absorb K from soil minerals through dissolution. However, it is unclear how the functional groups present in the cell wall of rice root act on the contact reaction. In this paper, to clarify the charge characteristics of functional groups in root cell walls of rice plants, I investigated the plant nutritional condition, root cation exchange capacity, root cation absorption strength and root cation exchange form using roots taken from rice plants cultivated with K-controlled nutrient solutions. Three treatments, exchangeable-K, non-exchangeable-K, and zero-K, were established using liquid fertilizer, quartz sand, and quartz sand with potassium feldspar sand, respectively, for quartz sand cultivation. In addition, for soil cultivation, -K and +K treatments were established without and with K fertilizer. After the cultivations, the dry matter weight and elemental content of the plants were measured. For analyzing root functional group properties, cation exchange capacity and sequential extraction was used to determine the cation absorption strength and the form of cation adsorption on the root surface. The results showed that there was no significant change in dry weight between treatments. Both rice and tomato indicated significantly high plant K concentration for exchangeable-K treatment. Cation sequential extraction was performed after adsorption of monovalent, divalent, and trivalent ions, which showed that rice plants had greater Fe content in residual parts and for K-deficient treatments such as non-exchangeable-K, zero-K and -K-soil treatments as compared with tomato. These results suggest that there are Fe binding sites on the root surface of rice plants, and in particular these sites may be increased by K-deficient environments. The root cation exchange capacity tends to be higher for Fe in the zero-K treatment. These results suggest that there may be binding sites for Fe on the root surface of rice plants and that these sites may increase, especially in K-deficient environments.



## 6. 謝辞

本研究を遂行にあたり、指導教員として終始多大なご指導を賜った酪農学園大学生態系物質循環研究室の保原達教授に深謝いたします。阿江教治博士，ならびに龍谷大学土壌学研究室の森泉美穂子准教授には計画段階から，多くのご意見とアドバイス，実験方法について細かな相談にのっていただきました。根の測定方法についてご指導いただいた酪農学園大学栽培学研究室の亀岡笑講師，作物栄養学研究室の小八重善裕准教授，試料の分析方法及び執筆にあたり御指南を頂いた酪農学園大学水質化学研究室の中谷暢丈教授，ならびに同大学環境植物学研究室の松山周平准教授，以上の方々のご協力によって実験を進めることができました。心より感謝の意を表します。本研究を進めるにあたり，酪農学園大学生態系物質循環研究室の皆様には，多大なるお力添えを頂きました。そして，本研究を共同で行った金子命博士，同研究室畑中朋子修士には常日頃からご協力を賜りました。お世話になりました皆様に心から感謝申し上げます。

## 7. 引用文献

- Ae N, Otani T, Makino T, Tazawa J 1996 Role of cell wall of groundnut roots in solubilizing sparingly soluble phosphorus in soil. *Plant Soil*. 186: 197-204.
- 阿江 教治, 吉光寺 徳子 2004 アポプラストと植物栄養—無機栄養を中心として—5. 根表面のキレート能力による難溶性成分の溶解. *日本土壤肥料学雑誌*. 75: 715-721.
- Aulakh MS, Malhi SS 2005 Interactions of nitrogen with other nutrients and water: Effect on crop yield and quality, nutrient use efficiency, carbon sequestration, and environmental pollution. *Adv. Agron.* 86: 341-409.
- Dhillon JS, Eickhoff EM, Mullen RW, Raun WR 2019 World potassium use efficiency in cereal crops. *Agron. J.* 111: 889-896.
- Food and Agriculture Organization (FAO). 2016. FAOSTAT: Statistics database. Food and Agriculture Organization, Rome. <http://fao-stat3.fao.org/home/E/> (accessed 16 Mar. 2018).
- Franco CR, Chagas AP, Jorge RA 2002 Ion-exchange equilibria with aluminum pectinates. *Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects*. 204: 183-192.
- 福永祥子 2011 イネ科植物が鋳物の風化に及ぼす影響～植物のケイ酸吸収能および植物細胞壁のキレート能の検討～. 神戸大学 生命機能科学専攻 土壤学研究室 修士論文.
- Gardner WK, Paebery DG, Barber DA, Swinden L 1983 The acquisition of phosphorus by *Lupinus albus* L.: V. The diffusion of exudates away from roots: a computer simulation. *Plant Soil*. 72: 13-29.
- Hiradate S 1999 Interaction between soils and organic acids secreted from plant roots-adsorption reactions by soils and dissolution reactions by organic acids. *化学と生物* 37: 454-459. (in Japanese)
- 平館 俊太郎 1999 根から分泌される有機酸と土壌の相互作用土壌による吸着反応と有機酸による溶解反応. *化学と生物*. 37: 454-459.
- Helferich FG 1962 Ion exchange. in McGraw-Hill series in advanced chemistry. McGraw-Hill, New York.
- Helmy AK, Elgabaly MM 1958 Exchange capacity of plant roots : II. Some factors affecting the cation exchange capacity. *Plant Soil*. 10: 93-100.
- Henry A, Cal AJ, Batoto TC, Torres RO, Serraj R 2012 Root attributes affecting water uptake of rice (*Oryza sativa*) under drought. *J. Exp. Bot.* 63: 4751-63.
- 位田藤久太郎, 堀士郎, 奥田東 1958 作物の塩基吸着に関する研究根の塩基置換容量および置換塩基の選択性. *日本土壤肥料科学会*. 29: 80-382.
- Jia Y, Yang X, Feng Y, Jilani G 2008 Differential response of root morphology to potassium deficient stress among rice genotypes varying in potassium efficiency. *Zhenjiang Univ Sci B*. 9: 427-434.
- Jenny H, Overstreet R 1939 Cation interchange between plant roots and soil colloids. *Soil Sci*. 47: 257-272.

- Kano-Nakata M, Inukai Y, Wede LJ, Siopongco JDLC, Yamauchi A 2011 Root development, water uptake, and shoot dry matter production under water deficit conditions in two CSSLs of rice: Functional roles of root plasticity. *Plant Prod. Sci.* 14: 307-317.
- Kato Y, Okami M 2011 Root morphology, hydraulic conductivity and plant water relations of high-yielding rice grown under aerobic conditions. *Ann. Bot.* 108: 575-583.
- Kato S, Wachi T, Yoshihira K, Nakagawa T, Ishikawa A, Takagi D, Tezuka A, Yoshida H, Yoshida S, Sekimoto H, Takahashi M 2013 Rice (*Oryza sativa* L.) roots have iodate reduction activity in response to iodine. *Front. Plant Sci.* 10 <https://doi.org/10.3389/fpls.2013.00227>.
- Kramer-Walter KR, Bellingham PJ, Millar TR, Smissen RD, Richardson SJ, Laughlin DC 2016 Root traits are multidimensional: specific root length is independent from root tissue density and the plant economic spectrum. *J. Ecol.* 104: 1299-1310. <https://doi.org/10.1111/1365-2745.12562>.
- Krzesłowska M 2011 The cell wall in plant cell response to trace metals: polysaccharide remodeling and its role in defense strategy. *Acta Physiol. Plant.* 33: 35-51.
- Kusa K, Moriizumi M, Hobara S, Kaneko M, Matsumoto S, Kasuga J, Ae N 2021 Mineral weathering and silicon uptake by rice plants promote carbon storage in paddy fields. *Soil Sci. Plant Nutr.* 67: 162-170. <https://doi.org/10.1080/00380768.2021.1878471>
- Liu Y, Xu RK 2015 The forms and distribution of aluminum adsorbed onto maize and soybean roots. *J Soils Sediments.* 15: 491–502.
- Lu H, Liu Z, Zhou Q, Xu R 2018 Zeta potential of roots determined by the streaming potential method in relation to their Mn(II) sorption in 17 crops. *Plant Soil.* 428: 241-251.
- Lu H, Nkoh JN, Baquy MA, Dong G, Li Jiu, Xu R 2020 Plant alter surface charge and functional groups of their roots to adapt to acidic soil conditions. *Environ. Pollut.* 267: 115590.
- Lukowska M, Józefaciuk G 2016 Osmotic stress induces severe decrease in cation exchange capacity and surface groups of medium acidity in roots of cereal plants. *Acta Physiol. Plant.* 38:31. DOI: 10.1007/s11738-015-2050-1
- Meychik NR, Yermakov 1999 A new approach to the investigation on the tonogenic groups of root cell walls. *Plant Soil.* 217: 257-264.
- Meychik NR, Ermakov IP 2001 Ion exchange properties of plant root cell walls. *Plant Soil.* 234: 181-193.
- Meychik NR, Nikolaeva YI, Komarynets OV, Ermakov IP 2011 Barrier function of the cell wall during uptake of nickel ions. *Russ. J. Plant Physiol.* 58: 409-414.
- Meychik NR, Nikolaeva YI, Nikushin OV, Kushunina M, Yermakov I 2014 Are the carboxyl groups of pectin polymers the only metal-binding sites in plant cell walls? *Plant Soil.* 381: 25-34.

- Meychik NR, Nikolaeva YI, Nikushin OV, Kushunina M 2021 The effect of polymetallic pollution on ion-exchange properties of barley root and shoot cell walls. *Dokl. Biochem. Biophys.* 501: 415-418.
- Moody PW, Bell MJ 2006 Availability of soil potassium and diagnostic soil tests. *Aust. J. Soil Res.* 44: 265-275. doi: 10.1071/SR05154
- Momii T, Izawa T 2007 The yielding of rice and the effect of each element in consecutive 77-Year lacking of four elements and fertilizing with compost. *Jpn. J. Crop Sci.* 76: 288-294.
- 舩井 隆誌, 井澤 敏彦 2007 77 年間継続した四要素無施用区と堆肥施用区にみられる水稻玄米収量の経年推移と各要素の施用効果. 日本作物学会記事. 76: 288-294.
- 森田 修二 1972 植物根のカチオン置換容量と養分摂取. 京都府立大学学術報告. 農學. 24: 142-158.
- Morita S, Aoki A 1961 Studies on cation exchange capacity and cation adsorption of fruit tree root. *Soil Sci. Plant Nutr.* 7: 8-11.
- Obara H, Nakai M 2003 Exchangeable bases and related soil properties of arable lands in Japan changes of soil characteristics in Japanese arable lands (I). *Soil Sci. Plant Nutr.* 74: 615-622.
- Otani T, Ae N 1996 Phosphorus (P) uptake mechanisms of crops grown in soils with low P status. *Soil Sci. Plant Nutr.* I. Screening of crops for efficient P uptake. *Soil Sci. Plant Nutr.* 42: 155-163
- Otani T, Noriharu A, Tanaka H 1996 Phosphorus (P) uptake mechanisms of crops grown in soils with low P status. II. Significance of organic acids in root exudates of pigeonpea. *Soil Sci. Plant Nutr.* 42: 553-560.
- Postma JWM, Keltjens WG, van Riemsdijk WH 2005 Calcium-(organo)aluminum-proton competition for adsorption to tomato root cell walls: experimental data and exchange model calculations. *Environ. Sci. Technol.* 39: 5247-5254.
- Rehm G, Schmitt M 2002 Potassium for crop production. Retrieved February 2, 2011, from Regents of the University of Minnesota website: <http://www.extension.umn.edu/distribution/cropsystems/dc6794.html>.
- Rich CI, 1968 Mineralogy of soil potassium. In: The role of potassium in agriculture. Kilmer VJ, Younts SE, Brady NC (eds.). <https://doi.org/10.2134/1968.roleofpotassium.c5>
- Sardans J, Peñuelas J 2015. Potassium: A neglected nutrient in global change. *Glob. Ecol. Biogeogr.* 24: 261-275.
- Shiota Y, Inagaki A, Hasegawa T, Okimura I 1980 Effects of long-term fertilization on growth and yield of rice plants, their uptake of nutrients and soil properties. *Res. Bull. Aichi Agric. Res. Cent.* 12: 52-60.
- Shomer I, Novacky AJ, Pike SM, Yermiyahu U, Kinraide TB 2003 Electrical potentials of plant cell walls in response to the ionic environment. *Plant Physiol.* 133: 411-422.

- 塩田 悠賀里, 稲垣 明, 長谷川 徹, 沖村逸夫 1980 四要素および対比の長期施肥による水田  
土壌の理化学性の変化と水稻の生育について. 愛知農総試研報 12: 52-60.
- Sparks, D.L 1987 Potassium dynamics in soil. In: B.A. Stewart, editor, *Advances in Soil Science*.  
Springer, New York. p. 1-63. doi:10.1007/978-1-4612-4682-4\_1.
- Sugiyama M, Ae N 2000 Uptake response of crops to potassium from andosol and potassium-  
bearing minerals applied to andosol. *Jpn. J. Soil Sci. Plant Nutr.* 71: 786-793.
- 杉山 恵, 阿江 教治 2000 黒ボク土および黒ボク土に施用した鉍物に対する作物のカリウム吸  
収反応. 日本土壤肥料学雑誌, 71, 786-793.
- 杉山 恵, 阿江 教治, 古賀 伸久, 山縣 真人 2002 作物による土壌カリウムの収奪とケイ酸の  
可溶化 : 長期三要素試験圃場からの推察. 日本土壤肥料学会 73: 109-116.
- Sustr M, Soukup A, Tylova E 2019 Potassium in root growth and development. *Plants* 8: 435.  
<https://doi.org/10.3390/plants8100435>
- Syers JK 2003 Potassium in soil: Cureent concepts. In: A.E. Johnston (ed.) *Feed the soil to feed  
the peple: The role of potash in sustainable agriculture. Proc. IPI Golden Jubilee Congress  
1952-2002. Basel, Switzerland, 8-10 Oct. 2002. International Potash Institute, Basel. P.  
301-310.*
- Szatanik-Kloc A, Boguta P, Bowanko G 2009 Effect of aluminium ions on free surface area and  
energetic characteristics of barley and clover roots. *Int Agrophys.* 23: 383-389.
- Szatanik-Kloc A, Horn R, Lipiec J, Siczek A, Szerement J 2018 Soil compaction-induced changes  
of physicochemical properties of cereal roots. *Soil till res.* 175: 226-233.
- Tajima R, Kato Y 2013 A quick method to estimate root ength in each diameter class using  
freeware Image J. *Plant Prod. Sci.* 16: 9-11.
- Wang W, Zhao XQ, Chen RF, Dong XY, Lan P, Ma JF, Shen RF 2015 Altered cell wall properties  
are responsible for ammonium-reduced aluminium accumulation in rice roots. *Plant cell  
Environ.* 38: 1382-1390.
- Wang, X.B, D.X. Cai, W.B. Hoogmoed, U.D. Perdok, and O. Oenema 2007 Crop residue,  
manure and fertilizer in dryland maize under reduced tillage in northern China: I: Grain  
yields and nutrient use efficiencies. *Nutr. Cycling Agroecosyst.* 79: 1-16.  
doi:10.1007/s10705-007-9113-7.
- White PJ, Broadley MR 2003 Calcium in plants. *Ann. Bot.* 92: 487-511.
- White PJ, Karley AJ 2010 Potassium. In: *Plant cell monographs. Peter Nick (eds.) CELLMONO,*  
pp 199-224. <https://doi.org/10.1007/978-3-030-33528-1>
- Williams DE, Coleman NT 1950 Cation exchange properties of plant root surfaces. *Plant Soil.* 2:  
243-256.
- Xu RK, Zhao AZ 2013 Effect of biochars on adsorption of Cu(II), Pb(II) and Cd(II) by three  
variable charge soils from southern China. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 20: 8491-8501.

- Yang L, Zheng B, Mao C, Yi K, Liu F, Wu Y, Tao Q, Wu P 2003 cDNA-AFLP analysis of inducible gene expression in rice seminal root tips under a water deficit. *Gene*. 314: 141-148.
- Zheng SJ, Lin XY, Yang JL, Liu Q, Tang C 2004 The kinetics of aluminum adsorption and desorption by root cell walls of an aluminum resistant wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivar. *Plant Soil*. 261: 85-90
- 全農業協同組合連合会肥料農薬部 2010 だれにもできる土壌診断の読み方と肥料計算. 農山漁村文化協会.