

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 6 年 6 月 1 日現在

機関番号：14101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2023

課題番号：20K05765

研究課題名(和文) 植物標本を用いた大規模な蛍光X線解析調査と植物の元素集積に関する情報基盤の構築

研究課題名(英文) Large-scale X-ray fluorescence analysis on plant specimens and construction of information base on element accumulation of plants

研究代表者

水野 隆文 (Mizuno, Takafumi)

三重大学・生物資源学研究所・准教授

研究者番号：50346003

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：日本各地の植物園や学術機関から貸与された植物標本2500点について、ハンドヘルド型蛍光X線分析系を用いて非破壊による元素分析を実施し、データベース化を実施した。マグネシウムからウランまでの約30種類の元素の測定を行った結果、植物タイプ(草本、木本等)、土壌タイプ(火山灰土、石灰岩土壌、蛇紋岩土壌等)、植物の品種(アブラナ科、キク科等)毎に元素収集の特性を明らかにしたほか、新規のマングーン超集積性植物の発見などの新たな情報を得ることができた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

植物の科や属における元素集積特性は、それぞれの植物の生態からある程度の傾向は指摘されていたものの、それらを具体的に証明する根拠となるデータベースは存在していなかった。今回、X線分析という非破壊の手法と種類同定を経た植物標本を利用し、信憑性の高い情報基盤を構築、解析することで、統計的に確固たる植物栄養学上重要な情報を得ることができるようになった。このことは学術的に重要であるだけでなく、各農作物から摂取できるミネラルの種類、もしくは低リン、低カリウム施肥法の構築など、農業、産業的にも様々な波及効果をもたらすことが期待される。

研究成果の概要(英文)：Nondestructive elemental analysis was conducted using a handheld X-ray fluorescence analysis system on 2,500 plant specimens lent by botanical gardens and academic institutions across Japan, and a database was created. About 30 elements from magnesium to uranium were measured, and we obtained data set of these elements in plants, and clarified their accumulation tendency in plant types (herbaceous, woody, etc.), soil types (volcanic ash soil, limestone soil, serpentine soil, etc.), and plant varieties (Brassicaceae, Asteraceae, etc.). We also discovered a new manganese hyperaccumulator plants by screening the database.

研究分野：植物栄養学, 土壌学

キーワード：元素集積データベース 蛍光X線分析 植物標本 イオノーム

## 1. 研究開始当初の背景

天然土壌の元素組成は多様であり、植物はそれぞれの土壌環境に応じて各種栄養を獲得し、独自の植生を形成する。ゆえに植物の元素集積傾向を把握することは、植物の栽培における施肥法の確立に必要なだけでなく、特殊植生形成への土壌元素の寄与、もしくは植物の多様性を説明する上で重要な知見となりうる。また遺伝子解析技術の発展により様々な植物のゲノム情報が活用できる今日、これに対応しうる植物の元素集積に関するデータベースが構築できれば、ゲノム情報とイオノーム情報が相乗効果を持ち、植物の栄養獲得に関する知見が飛躍的に高まることが期待できる。しかし、従来手法(乾燥・湿式分解・ICP等による元素分析)で多種多様な植物を対象とした調査を実施しようとするれば、膨大な手間と高額な費用が必要であり、過去にこのような高い精度の分析装置とハイスループットな試料処理技術の構築に成功している例は極めて限られる。ゆえに、様々な植物種を網羅したイオノーム情報基盤の構築と、それを実施するための有効な技術の確立は、現在の植物栄養学において非常に優先順位の高い課題である。

海外でも未だ野生植物の網羅的解析のデータは少ないが、オーストラリアのチームなどが蛇紋岩植物の標本資料を使った解析から超集積性植物の探索に成功し、さらに直近の蛇紋岩植生学会で初めてXRFを利用した手法が報告されている。これらの研究は高金属を含む土壌など特殊な環境で生育する植物群から高い金属集積能力を有する植物を選抜するためのものであるが、我々はこの技術を多様な植物群の金属集積傾向の解析に利用できるとする着想を得、日本に分布する植物の元素集積情報(イオノーム情報)を収集することにした。

広く画一的な土壌が広がる海外と異なり、日本は成帯性および成帯内性土壌がモザイク状に分布しており、複雑な土壌環境を反映した世界に類を見ない多様な植相と植生が形成されている。ゆえに本研究で得られるデータベースは、海外では構築できない非常に高い植物の多様性を反映したものとなることが予想され、日本のみならず国外の研究者に対しても大きな情報量とインパクトを持つものになると考えられた。

## 2. 研究の目的

「アルカリ土壌の植物は鉄や亜鉛の吸収が阻害される」など、植物栄養学上の常識が、実際の野生植物では該当しないケースが多々存在する(例えば、蛇紋岩土壌は代表的なMg性アルカリ土壌であるが、自生する植物の鉄含有量は非常に高い)。本研究では従来の土壌化学や無機化学の知識、および様々な遺伝子解析などから演繹的に導かれた様々な「常識」を、高精度な疫学的情報基盤から帰納的に検証しなおすことを重要な目的とする。

当研究の初期目標として、土壌別の解析が可能な初期データベースを用いた解析、すなわち黒ボク土、石灰岩土壌および蛇紋岩土壌に分布する植物の標本収集とXRF分析、構築したデータベースの解析による各種土壌に分布する植物の栄養特性を明らかにする。続いてデータベースより特徴のある元素集積性を持つ植物、もしくは植物群について集中的な解析を行い、新たな超集積性植物の発見を目指す。

## 3. 研究の方法

### (1) 標本の入手

解析に用いた標本は自作の他、主に三重県総合博物館、福井総合植物園プラントピア、岡山大学資源植物科学研究所より標本の貸与を受けた。また黒ボク土、石灰岩土壌、蛇紋岩土壌に分布する植物については、主に東北大学植物園、国立科学博物館、高知県立牧野植物園、伊吹薬草の里文化センター、藤原岳自然科学館、旭川市立北邦野草園のほか、蛇紋岩植物の研究者である堀江健二博士のご協力を得た。貸与された標本はプラスチック製の衣装ケースに入れ、防虫剤とともに測定まで室温で保存した。

### (2) 蛍光X線分析

本研究で使用したハンドヘルド型蛍光X線分析計はオリンパス社製のDELTA Premiumを使用した。本機器については原子番号がMg以上の元素について測定が可能であるが、Mgについては検出限界が1%と高いため、実際にはAl以上の元素についてデータを収集した。測定する際には外部へのX線漏えいを防ぐ50kVセーフティシールド(XRFのオプション)をスタンドに固定し、XRFをセットした。A3サイズのペーパーボックスにチタン板(99.999%, 2 x 220 x 220 mm, KS trading co. Ltd, Tokyo, Japan)を敷き、その上に標本を入れ、下からラボジャッキを用いてXRFのX線照射口に標本を軽く接するレベルで押し当てた。測定を行う際には、測定口と標本の間にポリエステル膜(Mylar®, Du Pont, USA)を挟んで行った。一測定あたり40kVの出力で90秒(第一測定30秒、第二測定60秒)照射を行った。

XRFで得られた各標本のデータは、独自に設定した基準(3測定の値すべてが平均値の1/2~2倍内にあること)をクリアしたもののみ利用し、Excelファイルとして保存した。

### (3) データ解析

得られたデータについては、エクセルの他 SPSS ver.27-29 を用いて統計解析を実施した。

#### 4. 研究成果

##### (1) 日本の野生植物におけるイオウとリンの集積傾向とその正の相関

黒ボク土由来の植物標本 292 点、および非火山灰土壌（石灰岩と蛇紋岩を含む）由来の植物標本 1030 点について蛍光 X 線分析を実施し、各種元素の集積量のデータを採取した。また三種類の植物（クローバー、ヨモギ、ソメイヨシノ）について、黒ボク土の 6 地点、非火山灰土壌の 5 地点で葉のサンプル(n=5) と土壌を収集し、XRF による解析(土壌については ICP-MS 解析)を実施した。非火山灰土壌で採取された植物と比較して、黒ボク土由来の標本はイオウ含有量が有意に高く、欠乏症レベル(0.1%)以下の比率も 13%(標本全体では 18%)と低い値となった。対照的にリン含有量の平均値は黒ボク土とそれ以外で差は認められず、欠乏症レベル(0.2%)の比率はどちらも 65%であった。S,P いずれも草本植物での平均値が木本植物より高く、アブラナ科の他、ユリ科の植物、特にホトトギスにおいて高い S 含有量が確認された。黒ボク土エリアでサンプルを収集したした 3 種の植物(シロツメクサ、ヨモギ、ソメイヨシノ)はいずれも高い S 平均値を示し、シロツメクサとソメイヨシノにおいて有意な差が認められた。解析した植物標本および 3 種類の植物についてそれぞれ S-P 量の相関を解析したところ、いずれも正の相関が認められ、特にクローバーとヨモギについて  $r=0.7$  以上の高い相関が確認された。

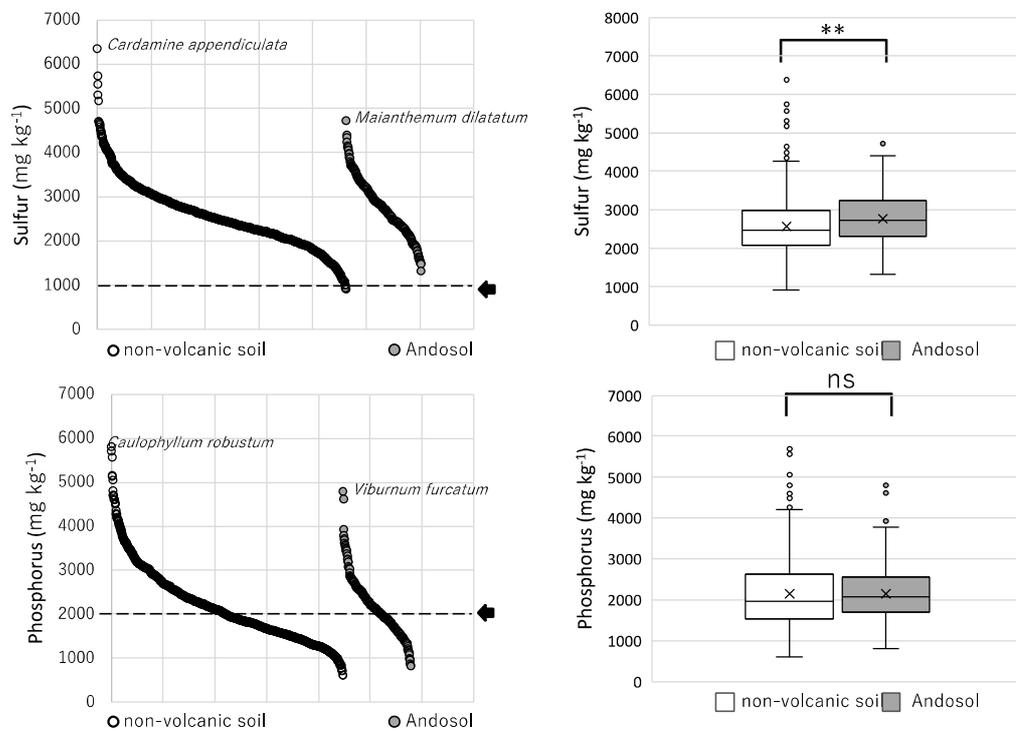


図1 黒ボク土と非火山灰土に分布する植物の S と P の集積量

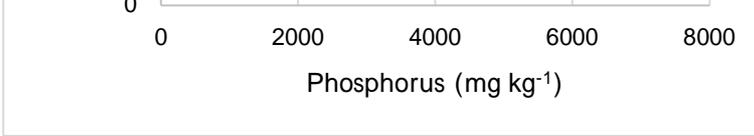


図2 標本データに見出された植物のSとPの集積相関性

(2) 土壌の違いが野生植物の各種元素の集積量と相関性に与える影響

石灰岩土壌(三重県藤原岳, 滋賀県伊吹山, 高知県), 蛇紋岩土壌(三重県菅島, 北海道, 高知県, 静岡県), 黒ボク土を含む一般土壌(三重県, 東北火山灰土壌, その他)の標本計1466について, ハンドヘルド型蛍光X線分析計による元素分析を行った。得られたデータから7種類の必須元素(K, Ca, S, P, Fe, Mn, Zn)および1種類の有用元素(Si)について, 土壌別に平均値等を算出したほか, 各元素間の正および負の相関性とその有意性について検証した。pHの高い石灰岩土壌では, 溶解度の低下により植物のFeとZn欠乏が発生しやすいことが知られているが, 本解析では石灰岩土壌由来の植物における両元素の平均値はその他の土壌の植物に比べ有意に高かった。ただし, 本結果は採取場所による差が大きいことから, 石灰岩土壌植物の普遍的な性質とは断定できなかった。典型的な貧栄養土壌である蛇紋岩土壌では, 植物のP濃度の平均値は一般土壌の半分以下であったが, カリウムについては一般土壌の植物の9割程度を維持していた。植物中の元素濃度の相関性を解析した結果, すべての土壌タイプにおいてS-Pの間に $R > 0.2$ の相関性が認められ, また一般土壌と石灰岩土壌の植物ではK-P間に同レベルの相関が有意に認められた。蛇紋岩土壌の植物でもK-P間の相関係数 $R$ は0.2を超えていたが, その関係性については棄却され, 代わりにK-S間に $R > 0.4$ の強い関係性が認められた。

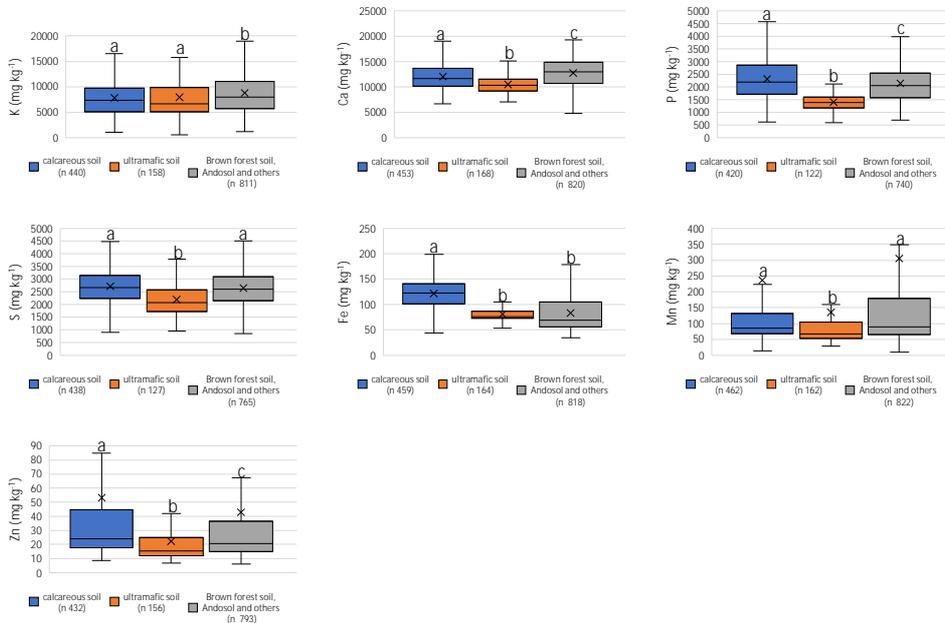


図3 石灰岩土壌, 蛇紋岩土壌および一般的な土壌(褐色森林土, 黒ボク土等)由来の植物における各種元素の平均値

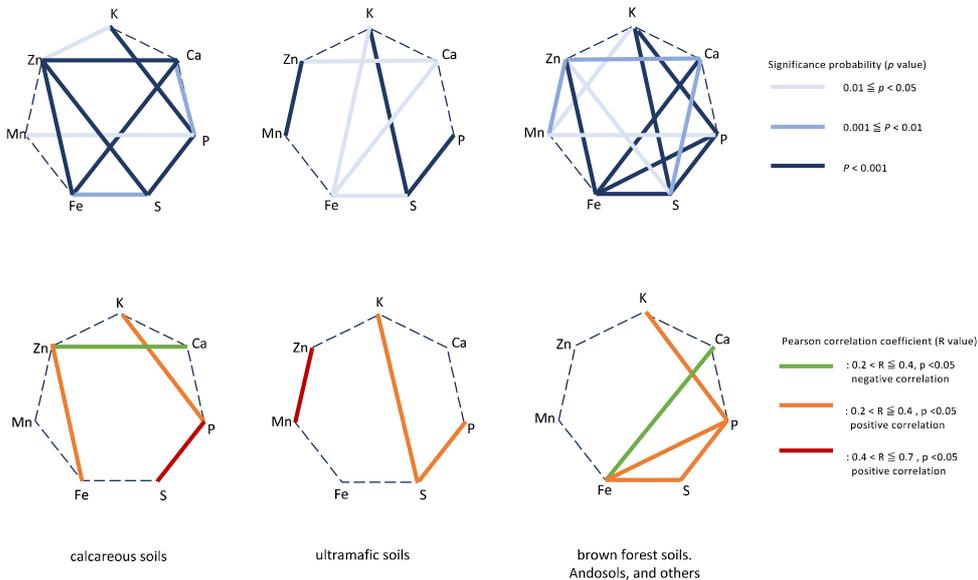


図4 各タイプの土壤に分布する植物において認められる元素集積の相関性

(3) 新規マンガンを超集積性植物(群)の発見とその元素集積傾向

モチノキ属樹木の標本3点でマンガンを超集積性が確認された時点より、同属の樹木446点を集中的に解析した。測定したモチノキ属樹木20種類のうち、ICP値換算で1%を超える標本が確認できたものは7種存在し、そのうち3種(ソヨゴ、ハイイヌツゲ、ヒメモチ)で標本の1割以上(15~19%)にマンガンを超集積性が認められた。本植物についてはマンガンの他に高い亜鉛の集積性が確認され、他種植物(コシアブラを除く)の平均亜鉛含有量の4.2倍に達し、マンガンの濃度との正の相関も確認された。一方、モチノキ属樹木の標本ではリンとケイ素の濃度が低かった。コシアブラで確認された低カルシウムの傾向は認められなかった。

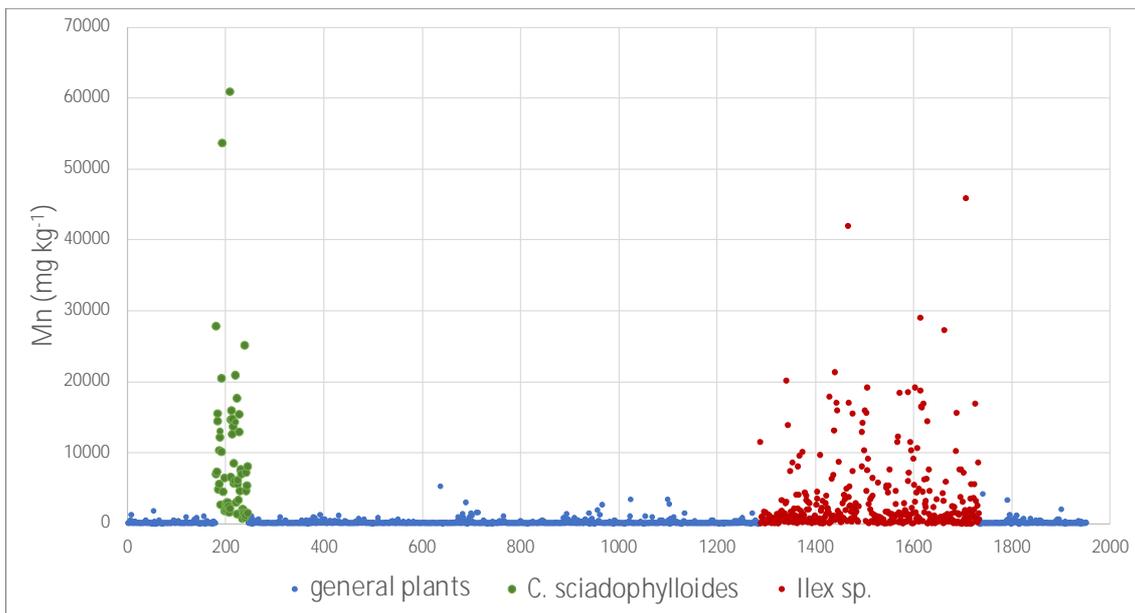


図5 コシアブラ及びモチノキ科植物におけるマンガンの高集積を示すグラフ

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 飯村康雄 水野隆文 原田英美子	4. 巻 92
2. 論文標題 伊吹山のヨモギと黒色火薬の生産	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 金属	6. 最初と最後の頁 96-103
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Takuo Enomoto, Junko Yoshida, Takafumi Mizuno, Toshihiro Watanabe & Sho Nishida	4. 巻 16
2. 論文標題 Differences in mineral accumulation and:gene expression profiles between two metal:hyperaccumulators, Noccaea japonica and Noccaea caerulescens ecotype Ganges, under excess nickel condition	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Plant Signaling & Behavior	6. 最初と最後の頁 1-5
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1080/15592324.2021.1945212.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 水野隆文	4. 巻 65
2. 論文標題 蛇紋岩土壌における植物のニッケル過剰障害	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 ペドロジスト	6. 最初と最後の頁 18-26
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 野直治・庫爾斑 尼札米丁・天野洋司・南條正巳・水野隆文・吉田穂積・但野利秋	4. 巻 96
2. 論文標題 北海道の十勝および胆振管内における火山灰土のアロフェン含量と土壌pHの関係	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 農業および園芸	6. 最初と最後の頁 97-103
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Nozomi Miyawaki, Takashi Fukushima, Takafumi Mizuno, Miyao Inoue and Kenji Takisawa	4. 巻 8:21
2. 論文標題 Effect of wood biomass components on self heating	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Bioresources and Bioprocessing	6. 最初と最後の頁 1-6
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s40643-021-00373-7	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Sho Nishida, Ryoji Tanikawa, Shota Ishida, Junko Yoshida, Takafumi Mizuno, Hiromi Nakanishi and Naoki Furuta	4. 巻 11
2. 論文標題 Elevated Expression of Vacuolar Nickel Transporter Gene IREG2 Is Associated With Reduced Root-to-Shoot Nickel Translocation in <i>Noccaea japonica</i>	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Frontiers in Plant Science	6. 最初と最後の頁 1-11
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fpls.2020.00610	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計11件 (うち招待講演 1件 / うち国際学会 2件)

1. 発表者名 Sho Nishida, Takuo Enomoto, Junko Yoshida, Ryoji Tanikawa, Takafumi Mizuno, Naoki Furuta
2. 発表標題 Adaptive changes in expression and structure of Ni transporters in the Ni hyperaccumulator <i>Noccaea japonica</i>
3. 学会等名 第8回国際メタロミクスシンポジウム (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Takafumi Mizuno, Daichi Kondo, Hiroto Kasai, Yoshinori Murai, Atsushi Hashimoto, Toshihiro Watanabe
2. 発表標題 Construction of ionome database of Japanese wild plants and extraction of plant nutritional information
3. 学会等名 第8回国際メタロミクスシンポジウム (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 水野 隆文・近藤大地・河西皓仁・伊東拓朗・村井良徳・山下 純・橋本 篤・渡部 敏裕
2. 発表標題 植物標本と蛍光X線分析を用いた野生植物の元素集積傾向の解析(4) 日本の野生植物におけるイオウとリンの集積傾向とその正の相関
3. 学会等名 日本土壌肥料学会2022年度大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Takafumi Mizuno and Jun Yamashita
2. 発表標題 Construction of ionome database on Japanese wild plants with herbarium collection and X-Ray Fluorescens (XRF) analysis
3. 学会等名 第38回資源植物科学シンポジウム及び第14回植物ストレス科学研究シンポジウム
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 水野 隆文, 河西皓仁, 近藤大地, 橋本 篤, 渡部 敏裕
2. 発表標題 蛍光X線分析計(XRF)による植物標本の元素測定と, 野生植物の元素集積データベース構築に向けた取組み
3. 学会等名 日本植物学会第85回大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 近藤大地, 河西皓仁, 渡部 敏裕, 橋本 篤, 水野 隆文
2. 発表標題 ハンドヘルド型蛍光X線分析計を用いた野生植物の元素集積解析(3) 野生植物の硫黄レベル
3. 学会等名 日本土壌肥料学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 水野 隆文, 河西皓仁, 近藤大地, 渡部 敏裕, 橋本 篤
2. 発表標題 ハンドヘルド型蛍光X線分析計を用いた野生植物の元素集積解析(2) 石灰岩土壌植物の元素集積特性
3. 学会等名 日本土壌肥料学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 榎本 拓央, 吉田 純子, 水野 隆文, 渡部 敏裕, 西田 翔
2. 発表標題 植物の重金属環境適応における重金属トランスポーター遺伝子の量的・質的变化
3. 学会等名 トランスポーター研究会九州部会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 水野隆文・佐藤奏美・岡野隆志・渡部敏裕・橋本 篤・亀岡孝治
2. 発表標題 ハンドヘルド型蛍光X線分析計を用いた野生植物の元素集積解析(1) データ収集法の検討
3. 学会等名 日本土壌肥料学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 森高喜芳・宇野賢太郎・佐藤奏美・高橋玲美・大野 南・河西皓仁・溝田千尋・坂本直久・水野隆文
2. 発表標題 泡消火剤液の土壌混入による作物生育への影響評価 研究2: コマツナの生育後期における栄養吸収への影響
3. 学会等名 日本土壌肥料学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 水野隆文・水野直治
2. 発表標題 蛇紋岩土壌での植物のニッケル過剰障害
3. 学会等名 日本ペドロロジー学会 2021 年度大会（招待講演）
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 米山 忠克、長谷川 功、関本 均（ニッケル担当 水野隆文）	4. 発行年 2023年
2. 出版社 朝倉書店	5. 総ページ数 232
3. 書名 新植物栄養・肥料学 改訂版	

〔産業財産権〕

〔その他〕

本科研究費研究においてはワーゲニンゲン大学のAntony van der Ent 博士にXRF解析の基本技術を教授頂いた。さらに、研究代表者とvan der Ent氏が共に専門とするマンガンを高濃度に集積する植物（マンガン超集積性）が作成したデータベースの解析によって新たに発見されたことから、科学研究終了後も本植物の解析について継続的に共同研究をすることが決定した。

6. 研究組織			
	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	渡部 敏裕  (Watanabe Toshihiro)  (60360939)	北海道大学・農学研究院・准教授    (10101)	

6. 研究組織（つづき）

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	橋本 篤  (Hashimoto Atsushi)  (40242937)	三重大学・生物資源学研究所・教授    (14101)	
研究分担者	村井 良徳  (Murai Yoshinori)  (30581847)	独立行政法人国立科学博物館・植物研究部・研究主幹    (82617)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関