

蛍光X線マッピング装置を用いたマンガン過剰セイヨウミヤコ グサ葉中の無機元素動態の観測

誌名	日本土壌肥料学雑誌 = Journal of the science of soil and manure, Japan
ISSN	00290610
著者	渡辺, 久男 福本, 夏生 小林, 慶規
巻/号	59巻5号
掲載ページ	p. 478-485
発行年月	1988年10月

蛍光X線マッピング装置を用いたマンガン過剰セイヨウミヤコグサ 葉中の無機元素動態の観測

渡辺久男*・福本夏生**・小林慶規**

キーワード 蛍光X線マッピング装置, マンガン過剰, 植物栄養診断, 非破壊生体計測

微量元素の欠乏・過剰などによる植物の生理障害の解析法のひとつとして、従来、元素マッピング法が用いられてきた¹⁻⁶⁾。X線マイクロアナライザー (XMA) は真空系で電子ビームを線源とするため、元素分析の空間分解能は約 $1\mu\text{m}$ と高いが、試料は乾燥状態に限定される。また、元素分析には表面を破壊する高いビーム電流量 ($0.1\mu\text{A}\sim 0.1\text{A}$) を使用するため、生体植物の連続非破壊計測は不可能である。

これに対し、蛍光X線マッピング装置 (XEMS)⁷⁾ はX線管球を線源とするため元素分析の空間分解能は $200\mu\text{m}$ と XMA より劣るものの、生体試料を大気下で、非破壊的かつ連続的に元素の濃度分布を測定できる⁸⁻¹⁰⁾。励起源はX線であるので数 krad 以上の高線量を照射すると生体に対して損傷を与えることになるが、通常元素マッピング測定では、X線による生体への影響は認められない⁹⁾。したがって、XEMSにより、これまで不可能であった同一個体・同一部位における多元素マッピングモニタリング観測が植物の長期生長期間を通して実施可能である。

筆者らはリビングプラント葉中の元素分布動態研究にXEMSを応用し、水稻葉身とカタバミの葉身に高線量X線を照射すると照射部からカリウム (K) が減少し、逆に照射部にカルシウム (Ca) とマンガン (Mn) が集積する現象を見出し^{9,10)}、セイヨウミヤコグサでも同様の現象が起こることを確かめている。また、これらの追跡時間は140時間内の比較的短時間であった。本研究では、Mn過剰ストレスを受けたセイヨウミヤコグサ葉中の K, Ca, Mn の濃度と分布様式を明らかにするためXEMSによる植物モニタリング技法 (XEMS法) を前報^{9,10)} よりさらに実際の植物栽培条件に近づけた実験を試みた。すなわち、Mn過剰土壌に生育するミヤコグ

サの特定部位の葉に Mn 過剰症状が顕著に発現する¹⁾前後約1カ月半の間、XEMS法により K, Ca, Mn の3元素の濃度と分布をモニタリングし、植物の生育と元素の部位別濃度との関係についても検討した。その結果、XEMS法による非破壊生体計測法が植物生理障害のための新しい診断技術として有効な手段となりうる事が明らかとなったのでここに報告する。

1. 試験研究方法

1) 供試植物

セイヨウミヤコグサ *Lotus corniculatus* L., マメ科、緑化植生用 (以下ミヤコグサという) を供試した。ミヤコグサを用いたのは、茎が蔓状で弾力性があるので固定した葉部が損傷されにくい、供試 XEMS 装置のマッピング領域 (渦巻モード⁷⁾ で最大 $6.4\times 6.4\text{mm}$ でも葉が小形のため1枚の葉全体の元素分布を観測できる、測定対象元素の吸収濃度が高く比較的短時間に測定できる、などの理由による。

2) 栽培条件

観音台表土 (火山灰土壌, 土性 LiC) と水稻育苗用培土 (呉羽化学(株)) を等量ずつよく混和し、2個のふるいで土粒子径 2mm 以下と $2\sim 5\text{mm}$ に分けた。1ポット 65ml からなる育苗用36連ポットに $2\sim 5\text{mm}$ 径の土を 1.1kg 、その上に 2mm 以下の土を 1.1kg 、各ポット同量に充填した。ここに含まれる肥料成分は土壌 1kg 当たり、N 0.4g 、 P_2O_5 1.5g 、 K_2O 0.4g 、MgO 0.2g であった。マンガンは Mn として乾土当たり 0.1% と 0.2% になるよう塩化マンガンを添加し、それぞれ、Mn 土壌 0.1% 添加区 (以下、Mn 0.1% 区という) と Mn 土壌 0.2% 添加区 (以下、Mn 0.2% 区という) とし対照区を含めた3レベルのマンガン処理区を調製した。

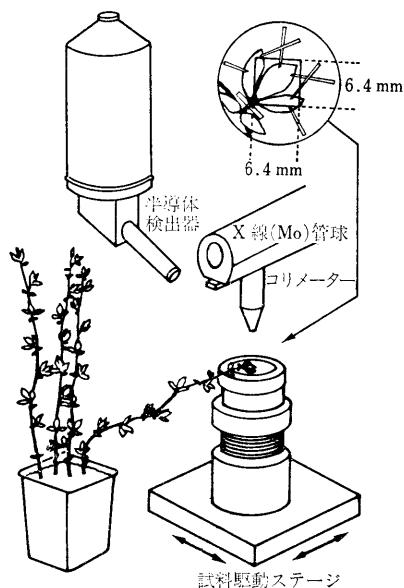
ミヤコグサの発芽種子を各小ポット当たり $30\sim 40$ 粒を散播した。発芽後1カ月間は水道水のみで給水し、それ以降は毎週 $2\sim 3$ 回液肥 (N 40ppm 、 P_2O_5 20ppm 、

* 熱帯農業研究センター (305 つくば市大わし 1-2)

** 化学技術研究所 (305 つくば市東 1-1)

昭和63年3月31日受理

日本土壌肥料学雑誌 第59巻 第5号 p. 478~485 (1988)



第1図 蛍光X線マッピング装置によるセイヨウミヤコグサ生葉中の元素マッピング

K₂O 20 ppm) を入れて給水した。植物栽培は全期間、昼間12時間は27℃、夜間12時間は22℃、湿度は昼夜75%、昼間の照度は約3万 lx で人工気象室内で栽培した。

3) 微小部分蛍光 X 線マッピング装置 (XEMS) による測定

供試装置は前報¹⁰⁾同様で、Mo 管球の出力は40 kV-40 mA とし、コリメータは口径 100 μm のものを用いた。試料ステージ台はそれまでの樹脂ディスクに代え、中空円筒形の樹脂ディスクにポリエチレン膜を張ったものを用いた。これは試料台に照射されたX線により発生したコンプトン散乱線や管球から発生する連続X線などによるバックグラウンドを少なくともそれまでの約1/3までに下げる効果があった。この S/N 比の向上により1回のマッピング測定時間は前回の6時間から2時間半に短縮できた。

生葉試料はポリエチレン膜上で、細断した粘着テープ (Scotch M12) で試料を傷つけぬよう細心の注意をしてできるだけ試料面が平面になるよう葉縁を固定し、測定部中心を装置のコリメータ直下にセットした (第1図)。測定元素の K, Ca, Mn の検出にはいずれも K_α 線を用いた。元素マッピングは渦巻モードで1ステップ0.1 mm、各ステップの測定積算時間を2秒として6.4×6.4 mm の元素マッピングを行った。

測定後、試料を固定していた粘着テープを丁寧にはがし、試料を速やかに人工気象室に移し通常の栽培条件下

に戻した。測定試料は、対照区、Mn 0.1% 区および、Mn 0.2% 区、それぞれ2連の合計6点である。第1回目の測定は発芽後43日目から始めて7~11日目ごとに元素マッピングをし、対照区では計6回、Mn 0.1% 区と Mn 0.2% 区のマンガン過剰害が生じていた試料では計5回、最終測定は発芽後85日目までであった。各処理区の測定葉と非測定葉の間にX線照射による影響は認められなかった。2連の試料のうち的一方は生育途中で虫害あるいはステージへの固定の際の損傷が生じたのでこれらのデータは除外した。

4) 地上部の部位別・時期別のカリウム、カルシウム、マグネシウム、およびマンガン含有量の測定

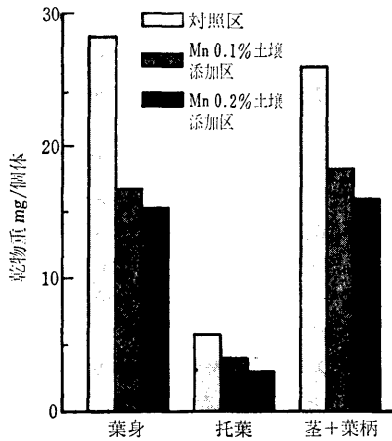
XEMS による測定は局所的であり、かつまた定性的である。測定部位での元素濃度分布をミヤコグサの1茎のなかで定量的に比較考察する目的で化学分析法により部位別に定量分析を行い元素含有率を求めた。また、XEMS 法では測定できなかった Mg を含む4元素の地上部部位別濃度分布を求めた。すなわち、各処理区ごとに平均的な茎長のミヤコグサ12茎を選び、地際より約0.5 cm 上から収穫した。第1図のミヤコグサの葉身を上位葉から下位葉に6部に分けた。生殖生長期に入った栽培開始後約60日よりいずれの処理区でも葉色が黄化し始めたので、上記の分析のサンプリングを栽培開始後62日目と84日目の2回行った。

前処理は、各試料の生重と乾物重 (80℃-3時間) を求めてから、試料を高圧分解容器に入れ硝酸/過塩素酸混液 (1:1) 2 ml を加え乾熱器 (130℃-4時間) に入れて分解、高圧分解容器を室温近くまで放冷後、内容物を2 M塩酸と蒸留水で50 ml 容量メスフラスコに移して定容とした。4元素とも原子吸光法 (日立180-70型原子吸光光度計) により、K と Mn は直接法で、Ca と Mg は塩化ストロンチウムを Sr として試料溶液中0.25%濃度に添加して測定した。

2. 結果および考察

1) マンガン添加処理区間の生育量の比較

ミヤコグサの生長に及ぼすマンガン添加の影響を調べるため、各処理区の生育量を葉身、托葉、および茎+葉柄に分けて比較した (第2図)。葉身、托葉、および茎+葉柄いずれもマンガン添加量の増加に従い生育量が低下した。発芽84日目 (以下、84日目という) の収穫後に調べた土壌 pH はいずれの区も6.3~6.5の範囲にあった。これらのことから、Mn 添加区の対照区に対する生育量の低下は明らかであり、後述する XEMS で観測した Mn 添加区のミヤコグサ葉身はマンガン過剰障害レ



第2図 土壤添加マンガンのセイヨウミヤコグサの生育に及ぼす影響 (発芽後62日目)

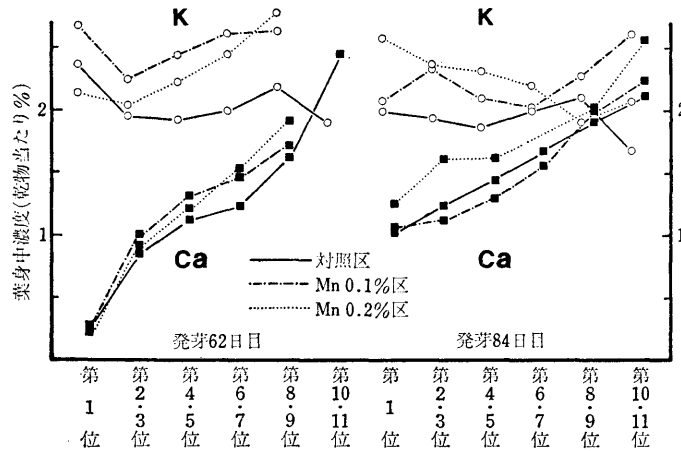
ベルにあったと考えられた。

2) 葉身中カリウム, カルシウム, マグネシウム, マンガン濃度

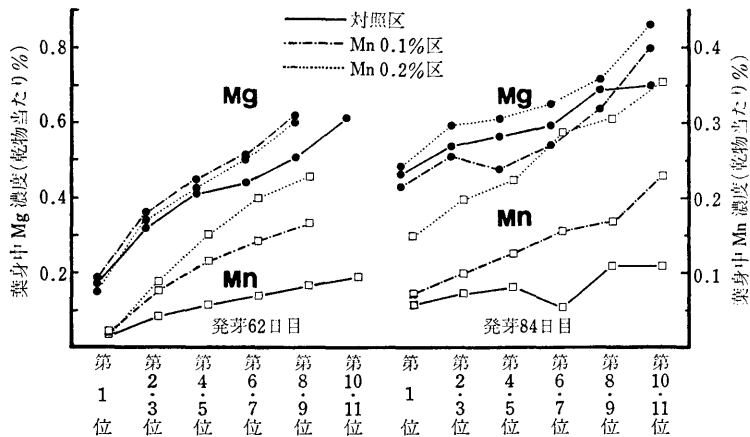
XEMS で測定する葉の無機元素濃度レベルを知る目的で, 葉位別に葉身中 K, Ca, Mg, Mn 濃度を測定した。

Kについて(第3図): 対照区の葉中濃度は Mn 添加区より濃度が低い傾向がみられた。これはマンガン過剰障害を生じなかったため Mn 添加区に比べ生育量が大きくなりそれだけ K 濃度が低下したと考えられた。Mn 0.1% 区と Mn 0.2% 区の葉位別 K 濃度曲線は対照区の場合とは明らかに異なったが, 両区間での明らかな差はみられなかった。

Ca と Mg について (それぞれ第 3, 4 図): 両元素とも発芽62日目より84日目のほうが, また, 下位葉が上位



第3図 発芽62日目と84日目の葉位別葉身中カリウムおよびカルシウム濃度



第4図 発芽62日目と84日目の葉位別葉身中マグネシウムおよびマンガン濃度

葉より濃度が高かった。Mn 添加による Ca と Mg の葉中濃度への影響は必ずしも明らかではなかったが、対照区と Mn 0.2% 区を比較すると後者のほうが濃度が高く、Mn 添加により葉身中 Ca と Mg 濃度は高まる傾向にあった。

Mn について(第4図)：発芽62日目より84日目のほうが、また、下位葉が上位葉より濃度が高かった。Mn 添加濃度が高い処理区ほど葉中濃度が明らかに高くなり、84日目の第10・11位葉で対照区0.11%、Mn 0.1%区0.23%、Mn 0.2%区0.36%まで濃度が高まった。

最上位葉と最下位葉の元素濃度差は、パーセント濃度で存在するKでは多くて40%以下であったが、パーセント以下の濃度で存在する Ca, Mg, Mn では3倍もしくはそれ以上であった。また、発芽62日目と84日目の同じ葉位での元素別の葉中濃度差についても同様の傾向を示した。このように、同一器官中の元素濃度も部位や時期により大きく異なり、とくに低濃度で存在する元素で変化が大きい。従来、生理障害発生局所の元素別分布を経時別に調べる場合、精度を高めるために多くの試料を必要とするが、XEMS では同一個体・同一部位を連続的に測定できるためこの点からは分析誤差がないので分析的に優れている。

3) XEMS による生葉中の無機元素濃度の測定

(1) 測定試料：対照区、Mn 0.1%区、Mn 0.2%区のミヤコグサ生葉中の K, Ca, および Mn の濃度分布を XEMS 法により測定し、個別データを前報^{9,10)}同様

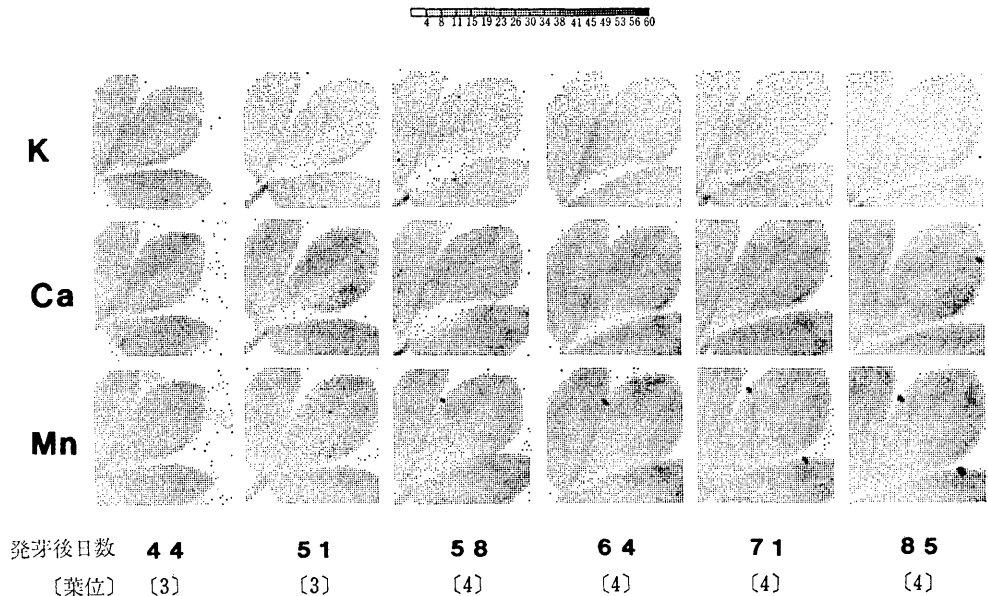
shaded pattern として図化し、元素別および経時別に並べた結果をそれぞれ第5図の a (対照区), b (Mn 0.1%区), c (Mn 0.2%区) に示した。

生きた植物中の元素分布を調べる方法として、従来アイソトープトレーサーを用いたオートラジオグラフィが採用されてきた。この方法では通常1核種に制限される。特殊な核種でシンチグラフィを用いても半減期の点から必要目的とする2種以上の元素を1ヶ月以上追跡することは難しい¹¹⁾。植物の必須元素である K, Ca, Mn の3元素について約40日間生きた植物葉中の分布を測定した例はこれが初めてであろう。

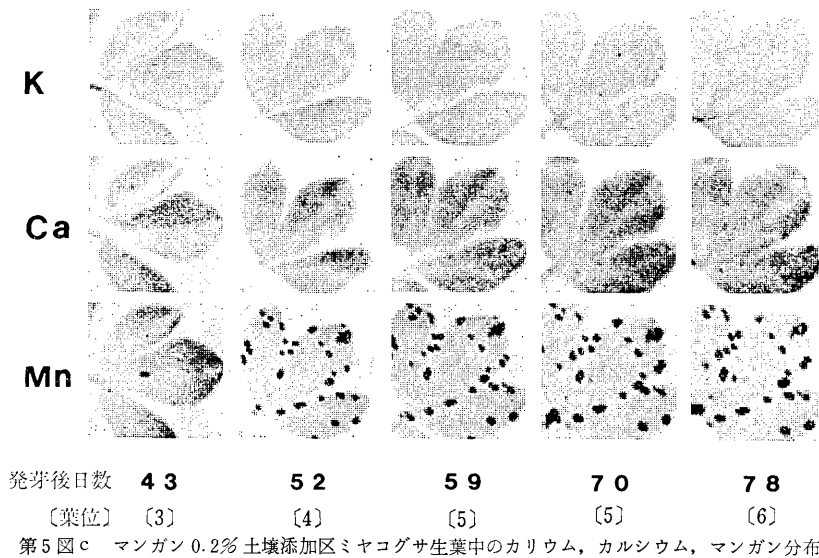
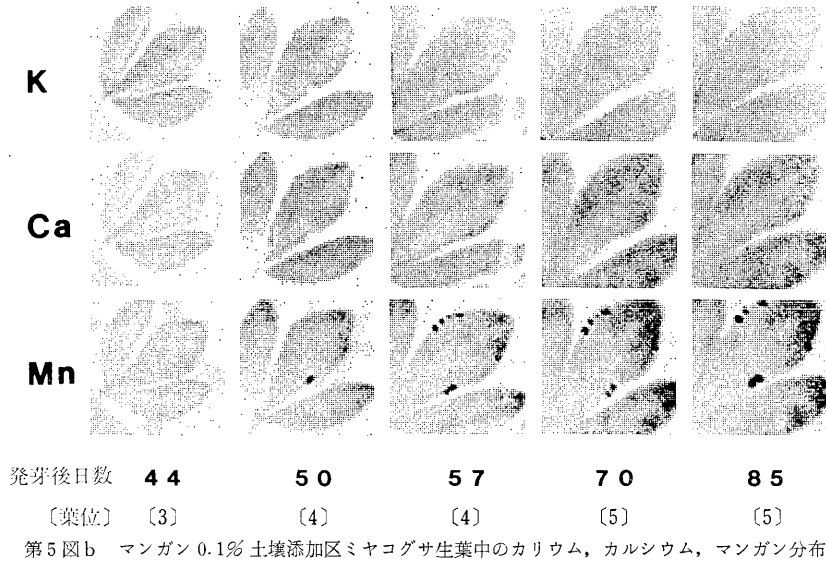
(2) 定量性：元素濃度は第5図 a 上部に16段階に表示したX線強度(2秒間のカウント数)はドット密度のスケールにおよそ対応し、ドット密度が高く黒色にみえるほうが濃度が高い。なお、図中スケールは便宜上原図の測定データに対し1.6倍に拡大されている。

定量性については三つの問題がある。第1にエッジ効果、第2に凹凸効果、第3にコンタミネーションである。エッジ効果は試料外縁部からのX線の検出効果が高いことによる。供試材料では外形が明瞭のためその効果は判別できる。凹凸効果はX線ビーム角、試料面、そして、検出器ウインドウ面の角度の関係から生ずる効果で最も大きな問題である。コンタミネーションは、葉の固定に用いた細片テープからのノイズである。結果の考察にあたっては上記の3点に十分考慮した。

(3) 対照区：3元素の葉中濃度を葉全体としてみた場



第5図a 対照区ミヤコグサ生葉中のカリウム、カルシウム、マンガン分布



合の経時変化はKは44日目に最も濃度が高く、51日目には濃度が急に下がり、その後はゆっくり下がった。CaとMnの濃度はおよそ同様の傾向を示し、44日目から64日目にかけて高くなり、その後の変化はほとんどなかった。多量要素のKは植物組織中で K^+ として存在し、その移行速度はCaとMnより速い¹²⁾。したがって、生育初期から根より地上部へ速やかに移行するので葉中濃度はCaとMnより高い。その後、葉の生長と他の組織への転流によってその葉中濃度は低下する。CaとMnの葉中濃度はKに比較して植物中の移行速度が遅いため生育

初期には濃度が低く、生育後期になるほど濃度が高まると考えられた。

3元素の葉中元素分布様式は、K濃度は葉柄側で高く葉先側で低く、CaとMnの濃度は葉柄側で低く葉の周縁と先端側で高かった。これらの傾向は44日目の初期より85日目の後期になるほど明瞭になった。小点状のCa集積部が1点85日目にみられるが、この部分を肉眼観察したがとくに異常と認められなかった。小点状のMn集積部が58日目に1点、また71日目からさらに1点、ともに葉緑部にみられた。この部分はルーペで褐色斑点と

して観察できた。

前報⁹⁾において、水稻葉中の無機元素の分布を化学分析法で求めた結果、K、Mg、Sの濃度は葉先側で低く葉柄側で高く、逆に、CaとMnの濃度は葉先側で高く葉柄側で低かった。これと同様の傾向があることをXEMS法を導入することにより簡便に確認することができた。

なお、第5図a、b、cの生育初期にみられる葉形外でのドットパターンは葉の固定用テープからのノイズであり、同図の葉部と葉柄の中心線の左右で濃度の違いがみられるのは凹凸効果によるものであり、第5図aのKあるいはCaにおいて、左側の葉の右縁で濃度が高くみえるのはエッジ効果である。

(4) マンガン土壌0.1%添加区：3元素の葉中濃度を葉全体としてみた場合の経時変化について、Kでは44日目に最も濃度が高く、以後85日目まで徐々に低下した。CaとMnの濃度は生育初期の44日目が最も低く、以後最終測定回まで徐々に濃度が上昇した。

3元素の葉中分布様式について、Kの濃度は葉柄側で高く葉先側で低く、CaとMnの濃度は葉柄側で低く葉の周縁や葉先側で高かった。この傾向は対照区の場合と同様であったが、CaとMnの分布様式は対照区の場合より明瞭に観測された。小点状のMn集積部が51日目から葉の周縁さらには葉先側に現われその後徐々にその数が増加した。これらの箇所は肉眼で褐色斑として観察できた。

Mn過剰障害葉の異常症状部でCa濃度の高い傾向のあることは、XMAで多数の試料を用いた実験結果から報告^{5,6)}されている。本報告においては、XEMS法の特徴を生かしてその濃度上昇の様相を経時的に画像として示すことに成功した。

Mnが集積しやすい元素である点について、渡辺¹³⁾は普通の玄米の胚部中のCu、Mn、Fe、Znの分布パターンをXMAで調べ、Mnは植物体中で集積型の分布を示すことを報告している。

(5) マンガン土壌0.2%添加区：3元素の葉中濃度を葉全体としてみた場合の経時変化について、Kの濃度は43日目に最も濃度が高く、以後85日目まで徐々に低下した。しかし、対照区の場合に比べると濃度は高かった。CaとMnの濃度は生育初期の44日目が最も低く、以後最終測定回まで徐々に濃度が上昇する傾向にあった。

3元素の葉中分布様式は、これまでの対照区とMn0.1%区での結果と変らなかった。しかし、これまでに見られなかった現象が観測された。第5図cのMn43日目、中央やや右のMn集積部は中肋を移行中の一塊のMn集積体であり、このとき肉眼観察で表皮を通し

て淡褐色にみえ、組織の形状は正常であった。その後52日目には、葉の周縁部に多数のネクロシス化したMn集積斑が観測され同時にMn集積部以外の部分のMn濃度は低下した。その後、Mn集積部以外の部分のMn濃度は59日目から70日目に増加し78日目には再び低下した。

Mn過剰症で発症する異常褐色斑にはMnのみが集積したが、Kは移行せず、Caも発症部にとくに集積することはみられなかった(第5図a、b、c)。この3元素の動態は高線量X線照射場合と明らかに異なった。すなわち、同じMn集積斑でもストレスの違いによりKとCaの移行動態が異なることを、XEMSを用いたモニタリング法により明らかにすることができた。

Mn集積斑の発現、あるいは偶然捉えた移行する一塊のMn集積体の存在とその移行現象について、その作用機構は不明であるが、今後、生体内の代謝活性やMnの存在形態などの観点から明らかにしてゆく必要がある。

(6) 異常褐色斑が発症するときの葉中MnのX線強度：植物栄養診断において、必須あるいは毒性成分が植物に対し欠乏または過剰を示すときの体中限界濃度を求めることは重要である。Mn過剰ストレスと過剰症の関係は、通常、生育量あるいはMn集積による異常褐色斑の発症の程度で決められる。ここでは後者に対応する体中Mn濃度をXEMSのX線強度との関連において考察した。

XEMS観測中に異常褐色斑の発症が確認されたのは、対照区では発芽51~58日目に(第5図a)、Mn0.1%区では発芽44~50日目に(第5図b)、Mn0.2%区では発芽43日目(第5図c)であった。本実験条件において、これらの発症箇所のX線カウント数はMn測定図における発症時とその前回(Mn0.2%区を除く)のドットパターンから判断して、およそ50カウント/2秒以上に相当した。

Mo管球からのX線発生強度は長期間安定しているもので、同一マトリックスの試料に対して発生するX線強度は再現性をもつ、あるいは、X線発生強度が不安定でも標準試料測定で補正できる。したがって、前述した定量性の問題に留意し、XEMSで測定した試料に近い条件を満たすミヤコグサ葉をXEMSにより測定すれば、Mn過剰によるMn集積褐色斑の発症について診断が可能である。

3. 要 約

マンガン過剰の生理障害発症過程における葉中K、

Ca, および Mn の移行動態を, 蛍光 X 線マッピング装置によるモニタリング観測により明らかにしようとした。

セイヨウミヤコグサ (*Lotus corniculatus* L.) を育苗用土壌, および, この土壌に Mn 0.1% と 0.2% 添加した Mn 過剰土壌で栽培し, 発芽後, 6~14 週間に約 1 週間ごとに XEMS で観測した。生育調査でマンガン過剰を確認し, また, 発芽後 62 日目と 84 日目に, 葉位別葉身中の K, Ca, Mg, および Mn の濃度を原子吸光法で定量した。おもな結果は以下のとおり。

1) 3 元素の葉中濃度を葉全体としてみた場合の経時変化は対照区の K は生育初期に最も濃度が高く, その後, 濃度は低下した。Mn 添加区では対照区と逆に生育の進行に伴って濃度が高まった。Ca と Mn の濃度は対照区では, 生育途中で高くなり, その後の変化は少なかった。Mn 添加区では生育初期が最も低く, 以後最終測定回までだいに濃度が上昇した。この傾向は Mn 0.2% 区の場合には生育途中で Mn 集積斑が著しく出た後は, Mn 濃度の上昇は生育後期まで続かなかった。以上については, 化学分析による葉身中元素濃度の測定結果からもほぼ同様の傾向を得た。

2) 3 元素の葉中元素分布様式を, XEMS により観測したところ, K は葉柄側で高く葉先側で低く, Ca と Mn の濃度は葉柄側で低く葉の周縁と先端側で高かった。この傾向は Mn 添加区でより明瞭であった。

3) マンガン過剰障害により生ずる異常褐色斑部には, Mn のみが集積し, K は障害葉全体で若干, Ca は褐色部周辺でそれぞれ濃度が高まった。この結果より, マンガン過剰と高線量 X 線照射のストレスにより生じた異常褐変障害部での K, Ca と Mn の移行様式に相違を見出した。

4) Mn 0.2% 区の発芽 43 日目に, 中肋を移行中の一塊の Mn 集積部が出現し, その 9 日後には葉の周縁部に多数のネクロシ化した Mn 集積斑が現われ, 同時に Mn 集積部以外の部分の Mn 濃度は低下した。

5) 供試 XEMS による観測中に確認された Mn 集積褐色斑が発生するときのセイヨウミヤコグサ葉身中の Mn 濃度を X 線強度として調べたところ, およそ 50 カウ

ント/2秒以上に相当した。

以上の結果から, XEMS 法による非破壊生体計測法が植物生理障害の診断, および局所部位でのイオン動態の生理学的理解のために有効な手段となりうることが示唆された。

文 献

- 1) 渋谷政夫・結田康一: Electron Micro Probe X-ray Analyzer の農業研究への応用, 化学と生物, **8**, 501~508 (1970)
- 2) 石垣幸三・渋谷政夫: エレクトロンマイクロプローブ X 線アナライザによるマンガン過剰茶葉の微視的解析, 茶技研, **48**, 61~66 (1970)
- 3) 佐々木信夫・菅野昭五・渡辺久男・渋谷政夫: 葉たばこの乾燥過程に発症する灰褐色異常葉に関する研究, 岩手農試報, **22**, 1~29 (1980)
- 4) 青葉幸三: 果樹のマンガン吸収と分布, 作物の栄養診断, 日本土壤肥科学会編, p. 182~185, 博友社, 東京 (1982)
- 5) 吉川年彦: 生理病斑のマイクロビームアナリシス, 作物の栄養診断, 日本土壤肥科学会編, p. 41~74, 博友社, 東京 (1984)
- 6) 吉川年彦: マイクロビームアナリシスによる作物生理病斑の解析, ふんせき, **1984**, 312~319 (1984)
- 7) KOBAYASHI, Y., KAWASE, A., UCHIUMI, S., NAKAMURA, S., KUBOTA, M., NAKATANI, K., BAN, H. and ARAI, T.: Element mapping by X-ray fluorescence spectrometry. *Anal. Sci.*, **1**, 13~17 (1985)
- 8) 渡辺久男・小林慶規・久保田正明: 微小部分蛍光 X 線装置の土壌肥料研究への応用, 土肥要旨集, **31**, 53 (1985)
- 9) WATANABE, H. and KOBAYASHI, Y.: X-ray induced transport of inorganic elements in living rice leaves observed with X-ray fluorescence element mapping spectrometry. *Agric. Biol. Chem.*, **50**, 2077~2082 (1986)
- 10) 福本夏生・小林慶規・渡辺久男・内海 明・倉橋正保・川瀬 晃: 蛍光 X 線元素マッピング法による生体試料の分析, X 線分光学の進歩, **18**, 233~243 (1987)
- 11) 間島宏文・鳥住和民・岡田多加志・木路成志・山田龍作・嶋田浩介・谷口勝俊・青木洋三: 3 核種同時使用による肝胆道, 消化管シンチグラムの試み, *Radioisotopes*, **36**, 594~596 (1987)
- 12) BUKOVAC, M. J. and WITTWER, S. H.: Absorption and mobility of foliar applied nutrients. *Plant Physiol.*, **32**, 428~435 (1957)
- 13) 渡辺久男: X 線マイクロアナライザによる玄米胚部の重金属元素の分布, 化学と生物, **15**, 123~125 (1977)

Transport of Inorganic Elements in Living Leaves of *Lotus corniculatus* L. as Affected by Manganese Excess Observed with X-Ray Fluorescence Element Mapping Spectrometry

Hisao WATANABE, Natsuo FUKUMOTO* and Yoshinori KOBAYASHI*
(*Trop. Agric. Res. Cent.*, **Natl. Chem. Lab. Ind.*)

The effects of manganese excess (Mn-ex) on the distribution of inorganic elements in living leaves of bird's foot trefoil (*Lotus corniculatus* L.) were studied by X-Ray Fluorescence Element Mapping Spectrometry (XEMS) and chemical analysis.

The germinating seeds were sown in the soils incorporated with Mn 0% (control), Mn 0.1%, and Mn 0.2% as the dry weight basis and raised in a growth chamber under the usual management. The monitoring by XEMS for K, Ca, and Mn was carried out once a week from day 43 to day 85 after germination. After harvesting, the tops were divided into three parts: blades, stipule, and stem + petiole on each leaf order. The concentrations of K, Ca, Mg, and Mn were determined by an atomic absorption spectrometer at day 62 and day 84 after germination.

In the control, the concentrations of K in the leaves decreased, and those of Ca and Mn increased with time. The upgrade of K concentration within a leaf was found to be from the leaf margin to the joint.

With the addition of Mn, the plant growth deteriorated and the concentrations of Mn and Ca in leaves increased. The concentration of K was higher in the Mn treatments than in the control. Abnormal brown spots developed on the leaves during the process of plant growth, particularly in the Mn treatments. The distribution of the brown color coincided with the area of the highest concentrations of Mn. The critical concentration in leaf blade seemed to be *ca.* 50 counts/2 s as intensity by the XEMS.

We found that the Mn-ex induced the abnormal brown spots, where Mn was concentrated, while the distributions of K and Ca were not associated with the spots. The transport of K and Ca at the brown spots caused by the Mn-ex was clearly different from that caused by a high dose of X-rays, that is, 10 krad irradiation decreased the K concentration, but increased the Ca and Mn concentrations at the irradiated and browned part of leaf.

The present results show that the monitoring by XEMS helps not only to diagnose the physiological disorder but also to understand the physiological meaning of ion transport in a plant organ.

Key words X-ray fluorescence element mapping spectrometry, manganese excess, transport of inorganic elements, non-destructive living plant analysis

(*Jpn. J. Soil Sci. Plant Nutr.*, **59**, 478-485, 1988)