

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 22 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26511006

研究課題名(和文)ダイズの放射性セシウム吸収に関する基礎的研究

研究課題名(英文)Fundamental study on absorption of radiocesium in soybean

研究代表者

二瓶 直登(Nihei, Naoto)

東京大学・大学院農学生命科学研究科(農学部)・准教授

研究者番号：50504065

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：ダイズの放射性セシウム(RCs)吸収に関する基礎的研究を行った。RILを用いたQTL解析より、RCs吸収に関わる3つの遺伝子座を特定した。また、溶液中のK濃度が高まるとRCs吸収は急激に低下すること、高K溶液で栽培したダイズほどRCs吸収は低下するため、ダイズのCs吸収にもK輸送体が関与していると考えられた。

ダイズはイネと異なり成熟期間際までRCsを吸収し続け、体内に取り込まれたRCsのうち、子実内に40%以上も蓄積した。子実内では均一に分布した。モニタリング調査でダイズのRCs濃度が高いのは、RCs吸収期間が長いことに加え、子実内のRCs蓄積容量が多いことが要因の一つと推定された。

研究成果の概要(英文)：Several experiments were conducted to elucidate the mechanism of RCs absorption by soybean.

RCs absorption by soybean was increased in high K concentration solution than in low K solution. Therefore, K was considered to be involved in RCs absorption. In order to search for specific genes involved in RCs absorption, QTL analysis was performed using RIL (recombinant inbred line). Several areas related to RCs absorption have been revealed. The concentration distributions of RCs in soybean seeds were analyzed. The results show that RCs was uniformly distributed in the soybean seeds, as was K, both of which likely accumulated in the cotyledon. In addition, approximately 40% of absorbed RCs accumulated in the soybean seeds. It has been suggested that soybean seeds have a large capacity for RCs accumulation, and this is one of the reasons why the concentrations of RCs in soybeans are higher than that in other crops.

研究分野：放射線環境工学

キーワード：ダイズ 放射性セシウム

1. 研究開始当初の背景

2011年3月11日の東日本大震災に伴う東京電力福島第一原発事故により、地震や津波の被害とともに、広大な農地が放射性物質（主に ^{134}Cs + ^{137}Cs の放射性セシウム、以下RCs）により汚染され、外部被ばくとともに、作物を通じた人体への影響が懸念されている。イネとともに土地利用型作物と位置づけられているダイズでは、イネほど詳細な研究は全く進んでいない。モニタリング検査によると、ダイズはイネよりも100Bq/kg以上のRCsを蓄積する割合が高いことが示されている。そのため、RCsの吸収メカニズムや体内での挙動について解明が急務である。また、ダイズの養分吸収では、根粒菌から窒素を得るなど、イネとは異なる特徴があるが、共生する菌がRCs吸収にどのように関与しているかを検討した研究はほとんどない。原発事故で汚染された地域の農業の復旧・復興に努め、我が国の食料の安定供給に大きく寄与するため、RCs吸収能の違いや子実への蓄積、共生する菌が吸収や移行に関するメカニズムを解明し、新たな品種の育成や吸収を抑制する栽培法の開発に関する科学的根拠を得る必要がある。

2. 研究の目的

(1) 品種・系統間のRCs濃度の違い、およびCs吸収遺伝子の探索

汚染地域で安心してダイズ生産が復興するために、福島県内で栽培可能な品種や、ダイズとツルマメの組換え自殖系統集団(recombinant inbred line, RIL)についてCs濃度の違いを調査し、RCs吸収に関する遺伝子座、遺伝子の候補を探索する。

(2) 共生する菌のRCs吸収への関与

窒素吸収に関する根粒菌や、リン吸収に関する菌根菌のRCs吸収・移行への関与の可能性や、関係あるとすれば、どのくらいの割合が共生する菌により吸収・移行促進がなされているかを定量的に明らかにする。

(3) ダイズ体内におけるRCs挙動

吸収を抑制する栽培法の科学的根拠とするため、生育ステージ別に各部位(葉、葉柄、茎、莢)のRCs濃度分布を調査し、生育期間における蓄積経過と、子実の蓄積に与える各部位の寄与を明らかにする。さらに、詳細にCsの挙動を検討するため、放射性物質(RI)を用いて、時期別に与えたRCsの部位別の吸収や、他元素(カリウム、窒素)の影響を明らかにする。

3. 研究の方法

(1) 品種・系統間のRCs濃度の違い、およびCs吸収遺伝子の探索

品種間差

ダイズ品種間のRCs吸収を検討するため、福

島県飯舘村(試験1)とポット(試験2)で試験を実施した。供試した品種は10品種を用い、品種A(B01167)とB(TK780)は交配後代をもつ親系統で、ナショナルパイオリソースから入手した。品種C~Jは福島県内で栽培可能な品種を用いた。成熟期に、株元の土壌と子実のRCs濃度を測定し移行係数(子実のRCs濃度/土壌のRCs濃度)を算出した。RCsの測定にはNaIシンチレーションスペクトロメーター(WIZARD, PerkinElmer)を用いた。

RILを用いたQTL解析

RCs吸収に関する遺伝子座探索のため、普通ダイズ(TK780)とツルマメ(B01167)の組換え自殖集団(recombinant inbred line, RIL)96系統を用いて、QTL解析を行った。水耕で8日間栽培した幼植物を、K freeの1/2 Hoagland(0.1 uMのRbCl, SrCl₂, CsCl含む)に、トレーサーとして ^{137}Cs 、 ^{22}Na 、 ^{86}Rb 、 ^{54}Mn を加えた溶液に2時間浸漬し、地下部をガンマカウンターで測定した。

Cs吸収遺伝子の探索

Cs吸収に関わる遺伝子探索のため、Cs吸収に関わるとされるKの影響を調べた。異なるK濃度(0~30mM)でダイズを2週間栽培後、通常濃度(K濃度3mM、 ^{133}Cs :0.1 μM)の溶液に ^{137}C 、 ^{42}K をトレーサーとして添加し、2時間吸収後、地下部をガンマカウンターで測定した。また、異なるK濃度(0~3mM)で2週間栽培したダイズの根基部からcDNAを抽出し、ダイズのK吸収に関連する遺伝子の発現を解析した。

(2) 共生する菌のRCs吸収への関与 根粒菌と菌根菌

(1)で供試したダイズについて、開花期に地下部を掘りあげ、根粒菌と菌根菌の付着数を調査した。

根粒内の ^{137}Cs 蓄積分布

ダイズに根粒菌(*Bradyrhizobium japonicum* USDA110、NIAS ジーンバンクより購入)を感染し、18日間水耕栽培後、 ^{137}Cs を24時間吸収させた。根粒が着生した根の切片を作成し、イメージングプレートへコンタクトしオートラジオグラフィ像を取得した。

(3) ダイズ体内におけるRCs挙動

ダイズ体内のRCs分布

ダイズ体内のRCs分布を検討するため、福島県飯舘村で栽培したダイズ(エンレイ)を生育時期別にダイズを採取した。子実内のCs分布を検討するために、 ^{137}Cs を投与し水耕栽培した子実のオートラジオグラフィ(^{137}Cs の分布像)を取得した。また、子実内のK、Mg、Ca分布を検討するため、SEM(SU3500, Hitachi)-EDX(EMAX X-Max^N 50 mm², Horiba)

により子実断面の元素マッピングを行った。

生育時期別の Cs 吸収

各器官の Cs 蓄積量にどの時期の Cs 吸収が寄与するかを検討するため、ダイズ(エンレイ)の生育期間を2週間ずつ(I)~(V)の5つに分け、各期間ごとに Cs を与え、登熟時の Cs 量を器官ごとに定量した(図1)。Cs 吸収期間以外は通常の 1/2 Hoagland で、Cs 吸収処理期間は、塩化 Cs により Cs 濃度 0.1mM に調整した溶液で栽培した。収穫したダイズは、根、茎、葉柄、葉、莢、及び子実に分け、乾燥・粉碎後、硝酸を加えマイクロウェーブ分解装置で加熱分解した。分解液中の Cs を ICP-MS で定量し、各器官の Cs 量を求めた。

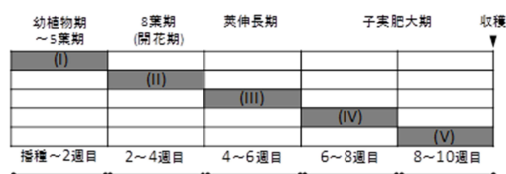


図1 Cs を添加する時期

Cs 吸収に関わる競合元素の影響

ダイズ幼植物を、異なる濃度(0.03mM、0.3mM、3mM、30mM)の各イオン(Cs、K、Na、NH₄、Ca)を溶解した溶液(1 μMCs+¹³⁷Cs)に2時間浸漬し、洗浄後、地下部をガンマカウンターで測定した。

窒素施肥

窒素形態別のダイズ幼植物への影響を検討(試験3)するため、小容器(6.5cm×6.5cm×6.5cm)に土壌を詰め、18日間バイオトロン内(30、16h/8h)でダイズを栽培し、地上部を採取した(写真3)。供試窒素として、硝酸カルシウム、硝酸アンモニウム、硫酸アンモニウムを用い、窒素量を3段階(0g/区、0.01g/区、0.05g/区、それぞれ non-N、Low-N、High-N とする)設定した。採取したダイズの RCs 濃度は NaI シンチレーションカウンター(アロカ社 AM-300)で測定した。試験3のサンプルは、酸分解後 ICP-OES (Perkinelmer 社、Optima 7300)で各塩基も測定した。反復は3で行った。

さらに、窒素施肥を行った土壌の放射性 Cs の抽出量を検討した(試験4)。試験2,3,4と同じ原発事故で汚染した土壌に窒素 0.5g/kg を硫酸アンモニウムにて添加し、25 で静置した。水分は圃場容水量の60%とした。窒素添加後、1、5、15日目にサンプリングを行った。採取した土壌を 1N・塩化カルシウムで

抽出し、フィルター(0.2 μM、ミリポア社)でろ過後、NaI シンチレーションカウンター(アロカ社 AM-300)で測定した。

4. 研究成果

(1) 品種・系統間の RCs 濃度の違い、および Cs 吸収遺伝子の探索

品種間差

試験1では品種Aが他の品種より高かった。試験2では、品種A、C、D、F、I、Jが品種B、E、G、Hより高かった。親系統である品種AとBを比較すると、試験1、2とも品種Aが品種Bの約2倍高い傾向を示した。福島県内で栽培可能な品種間(品種C~J)の移行係数は、最大値と最小値の差が試験1では1.5倍、試験2では1.6倍であった。粒大、熟期等で明確な傾向はみられなかった。なお、試験2は試験1に比べ移行係数が高いが、これは試験2はポット栽培で根域が制限されているためと考えられる。

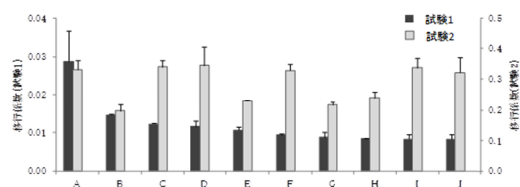


図2 品種別の移行係数

RIL を用いた QTL 解析

地下部の ¹³⁷Cs 吸収において、最大値と最小値の差は4.7倍であった(図3)。QTL解析より LOD 値が1.4より高かったのは、地下部において3箇所、地上部において2箇所、地上部/地下部比において2箇所であった。また、¹³⁷Cs の吸収と他元素(²²Na、⁸⁶Rb、⁵⁴Mn)との相関をみると、Rbとの相関が高かった。

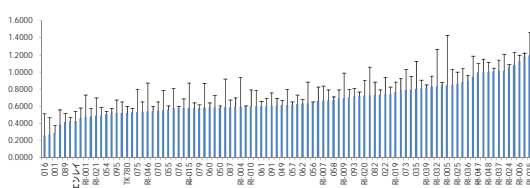


図3 RIL 幼植物の ¹³⁷Cs 吸収 (Bq/root g)

Cs 吸収遺伝子の探索

地下部の ¹³⁷Cs 濃度は、生育時の K 濃度が 0.03mM までは同程度であったが、0.3mM から低下し、3mM~30mM までは同程度に低下した。⁴²K 濃度も ¹³⁷Cs と同様な結果となった(図4)。GmHAK5 の発現は低 K 濃度で栽培したダイズで高く、K 濃度が高くなるにつれて低下した。

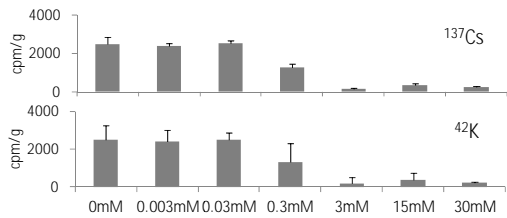


図4 異なるK濃度で生育したダイズの¹³⁷Cs、⁴²K吸収

(2) 共生する菌のRCs吸収への関与 根粒菌と菌根菌

根粒は数が多いと1粒の重さが軽くなり、数が少ないと1粒の重さが重くなる傾向があったので、数と重さを掛け合わせた指標で示した。調査の結果、根粒(数×重さ)が多いほど、また菌根菌の感染率は高いほど開花期における地上部への移行係数が高くなる傾向がみられた。

根粒内の¹³⁷Cs蓄積

溶液に添加した¹³⁷Csは、Kと同様に根粒内部の内部皮層に包まれた感染域に蓄積した。根粒内部の¹³⁷Cs濃度は、主根、根粒外部より高かった。¹³⁷Csは主根より吸収し、根粒内部へ蓄積されたと考えられた。

(3) ダイズ体内におけるRCs挙動 ダイズ体内のRCs分布

ダイズのRCs蓄積は生育初期から観察され、地上部重とともに9月中旬(最大繁茂期)まで増加した。部位別のRCs濃度を比較すると、地上部では葉 葉柄>茎、地下部では側根 根粒菌>主根であった(図5)。ダイズ子実内のRCsは、葉(9月中旬)のおよそ1/3~1/4であった。

子実内のCs分はKと同様に子実全体にほぼ均一に分布していた。イネ子実のCs分布は、胚と糊粉層に局所的に蓄積していることが報告されている。玄米はデンプンやタンパク質を蓄積する胚乳が玄米中の多くの部位を占め、Kなどの栄養成分を貯める胚はわずか一部である。これに対し、ダイズの子実は胚乳を持たず(無胚乳種子といわれている)、子実内の大部分を占める子葉にデンプンやタンパク質とともに栄養成分を蓄積する。つまり、子実内にCsを蓄積する割合がダイズはイネより多く、このことが可食部(ダイズの場合、子実)を検査対象とするモニタリング検査では、ダイズの放射性Cs濃度が他の穀類より高い傾向を示す一要因と考えられた。

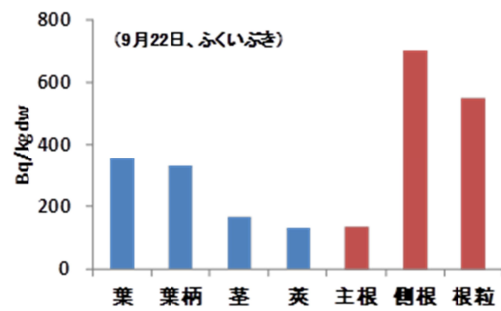


図5 ダイズ各器官のRCs濃度

生育時期別のCs吸収

ダイズ全体でのCs吸収量は登熟するまで増加し続けた(図6)。各時期に吸収したCsも子実に蓄積したが(図6)、生育後期に吸収したCsが特に高い割合で子実に移行した。玄米中のCsはほぼ全てが開花前後の吸収分由来することが報告されているが、ダイズの子実へは、イネとは異なる蓄積パターンであることが示された。

(I)~(IV)の各時期に2週間吸収したCsの体内分配率は、各時期ともCs吸収直後より成熟で根、茎、葉柄の割合は減少し、莢と子実では増加したことから、子実に蓄積するCsは主に根、茎、及び葉柄から転流したことが示された。莢が形成していない時期にCsを吸収した(I)、(II)では、成熟時にはそれぞれ全体の18%、32%が子実に蓄積していた。一方、Cs吸収時に莢伸長期だった(III)では、吸収直後は体内のセシウム量の11%が子実に分布したが、成熟期には、体内のセシウム量の40%が子実に蓄積しており、成熟期までに子実セシウム蓄積量の72%が転流によって移動したと考えられた。(IV)でも同様に、セシウム吸収直後は吸収したセシウムの50%が子実に蓄積し、成熟期までに子実のセシウム蓄積量の50%が転流で蓄積した。

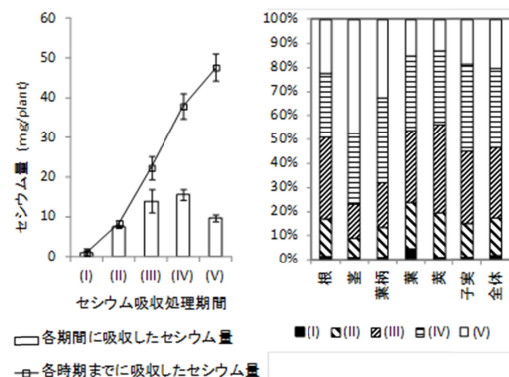


図6 生育に伴うセシウム吸収(左)と各器官の生育時期別Cs吸収量(右)

Cs 吸収に関わる競合元素の影響
地下部の ^{137}Cs 濃度は、溶液中の Cs 濃度と K 濃度が高まると急激に低下した。 NH_4 濃度、Na 濃度も高まると、地下部の ^{137}Cs 濃度は Cs や K 濃度ほどではないが、低下した。地下部の ^{137}Cs 濃度は Ca 濃度にはほとんど影響しなかった。

窒素施肥

ダイズ(幼植物、子実)の放射性 Cs 濃度、吸収が窒素施肥により増加することを、ポット、圃場試験で確認した。また、ダイズ幼植物の Cs 吸収に対する窒素形態別の影響は、硫酸アンモニア > 硝酸アンモニア > 硝酸カルシウムとなり、アンモニア態窒素が硝酸態窒素より Cs 吸収の増加効果は高いと考えられた。硫酸アンモニア施肥によりダイズの Cs 吸収が増加したのは、土壌固相に強く収着していた Cs を、Cs とイオン半径の近いアンモニアが置換し、ダイズが吸収しやすい Cs 量を増加したことが一因と考えられる。土壌からの Cs 溶出はアンモニア施肥 1 日後に増加が確認されているため、アンモニアが酸化される前の早い時期に Cs 置換をしたものと考えられた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 4 件)

Nihei N., Sugiyama A., Ito Y., Onji T., Kita K., Hirose A., Tanoi K., Nakanishi T., The concentration distributions of Cs in soybean seeds, Radioisotope, 査読有, 2017, in press.

原田 直樹, 伊藤 早紀, 二瓶 直登, 野中昌法, 2014 年産無施肥栽培ダイズの RCs 濃度: 福島県南相馬市における調査事例, 有機農業研究, 査読有, 第 7 巻第 2 号 2016.

Nihei N., Tanoi K., Nakanishi M.T., Radiocesium absorption in soybean. Proceeding of 17th workshop on environmental radioactivity, 査読有, 2016.95-98.

二瓶 直登, 広瀬農, 田野井慶太郎, 中西友子, ダイズの RCs 吸収に及ぼす窒素施肥の影響, 福島の復興に向けての放射線対策に関するこれからの課題シンポジウム報告書, 査読有, 2015, 34-36.

〔学会発表〕(計 10 件)

ダイズの放射性セシウム吸収、利用について, 二瓶直登, ダイズ研究会, 2017 年 3 月, 茨城県

ダイズのセシウム吸収に関与するカリウム輸送遺伝子(GmHAK5)の関与, 二瓶直登ら, アイソトープ放射線研究会, 2016 年 7 月, 東京都

水耕栽培ダイズの生育時期別セシウム吸収(2)子実への移行, 二瓶直登ら, 作物学

会, 2016 年 3 月, 茨城県

水耕栽培ダイズの生育時期別セシウム吸収(1)子実の蓄積量, 二瓶直登ら, 作物学会, 2016 年 3 月, 茨城県

ダイズの放射性セシウム吸収について, 二瓶直登ら, 環境放射線研究会, 2016 年 3 月, 茨城県

Effect of nitrogen fertilization to radiocesium absorption in soybean, Nihei Naoto et al., Symposium of Radiological Issues for Fukushima's Revitalized Future, 2015 年 5 月, Fukushima Pref.

水耕液中の Cs 濃度の違いがダイズ体内の Cs 分配率に与える影響, 二瓶直登ら, 作物学会, 2014 年 3 月, 神奈川県

ダイズの放射性セシウム吸収に及ぼす窒素施肥の影響, 二瓶直登ら, 土壤肥料学会, 2014 年 9 月, 愛知県

^{137}Cs を用いたダイズ幼植物のセシウム吸収特性の解析, 二瓶直登ら, アイソトープ放射線研究会, 2014 年 7 月, 東京都

ダイズの放射性セシウム吸収に及ぼす根粒の影響, 二瓶直登ら, 根の研究会, 2014 年 5 月, 北海道

〔図書〕(計 4 件)

二瓶 直登, “放射能の農産物への影響”, 日本学術協力財団, 学術の動向, 2017 年, 4 月号, 28-33

Nihei N., Hirose A., Mori M., Tanoi K., Nakanishi M.T., Effect of nitrogen fertilization on radiocesium absorption in soybean. Radiological Issues for Fukushima's Revitalized Future, Springer, 2016, 173-178

二瓶直登・田野井慶太郎・中西友子, ダイズの RCs 吸収について, 東京化学同人, 現代化学, 2016, 3 月号

二瓶 直登, “福島県における農産物のモニタリング検査とダイズの RCs 吸収”, アイソトープ協会, Isotope News, 2015 年, 3 月号, 18-23

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

取得状況(計 0 件)

〔その他〕

ホームページ等

<http://park.itc.u-tokyo.ac.jp/radio-plantphys/ret/index.html>

6. 研究組織

(1)研究代表者

二瓶 直登 (NIHEI, Naoto)

東京大学大学院・農学生命科学研究科・准教授

研究者番号: 50504065

(2)研究分担者

杉山 暁史 (SUGIYAMA, Akihumi)

京都大学・生存圏研究所・准教授
研究者番号：20598601

研究分担者
古川 純 (FURUKAWA Jun)
筑波大学・生命環境系・准教授
研究者番号：40451687

研究分担者
山田 哲也 (YAMADA Tetsuya)
北海道大学・農学研究科・講師
研究者番号：70374618