

令和元年6月26日現在

機関番号：14301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K00600

研究課題名(和文) 土壌滅菌処理が土壌から植物への放射性セシウムの移行に及ぼす影響の研究

研究課題名(英文) Study of the Biological Effect of Soil Sterilization on The Radioactive Cesium Transfer to Plants

研究代表者

木野内 忠稔 (KINOCHI, Tadatoshi)

京都大学・複合原子力科学研究所・講師

研究者番号：90301457

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：放射性セシウム(Cs)で汚染した土壌の除染対策として、バイオレメディエーション(BRM)が期待されている。我々は土壌微生物がBRMに対する影響について調べるために、滅菌処理をした汚染土壌でハツカダイコンを栽培して、そのCs吸収率を観察した。その結果、Cs吸収率は最大1%まで上昇した。土壌微生物に収着されていたCsが滅菌処理によって可給態となったことが考えられたため、微生物におけるCsの収着様式について調べることにした。その結果、400-500 nmの波長域で培養した微細藻類がCsを良く収着することが明らかになった。従って、特定の波長を照射することによって効率良くBRMを行える可能性が示された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

バイオレメディエーション(BRM)は、農地特有の生産能力を可能な限りそのままの状態に残せる低コストの原位置浄化法として期待されているが、水耕栽培では培養液中のCsを20%程度吸収するヒマワリでさえ、実際にCs汚染した土壌で栽培すると、その吸収率は0.04%程度で、実用性が見出せなかった。我々はBRMにおける水耕栽培と土耕栽培の効率の違いの原因として土壌微生物に着目し、汚染土壌を滅菌することによってその吸収率を最大1%まで上昇させることに成功した。BRM効果が改善された理由として、結合態として土壌微生物に収着されていたCsが滅菌処理によって可給態となったことを明らかにした。

研究成果の概要(英文)：Bioremediation (BRM) is expected as a decontamination measure for soil contaminated with radioactive cesium (Cs) released by the Fukushima Daiichi Nuclear Power Plant accident. In order to investigate the effect of soil microorganisms on BRM, we cultivated the radish on sterilized contaminated soil and observed its Cs absorption rate. As a result, the Cs absorption rate of the radish increased up to 1%. Since it was suggested that Cs which had been assimilated by microorganisms became available via sterilization for uptake by the radish, an investigation was started to confirm the assimilation mode of Cs in the microorganisms. As a result, it was revealed that microalgae cultured under a wavelength range of 400-500 nm especially assimilated Cs. Therefore, it has been shown that it is possible to perform BRM efficiently under this specific wavelength.

研究分野：放射線生化学

キーワード：放射性セシウム ファイトレメディエーション 土壌汚染 藻類 除染

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

福島第一原発事故に由来する放射性セシウム(Cs)による農地土壌の汚染については、事故から数年を経ても抜本的な除染対策が執られていない。表土のはぎ取りは、空間線量を下げerるには有効であったが、はぎ取った表土の大部分は一時的な保管施設に運搬されたままである。仮にそれらを除染プラントに移して工学的手法で除染できたとしても、莫大なコストがかかる上に、除染後の土壌にイオン交換能などの農業用土としてのポテンシャルは失われているだろう。したがって、除染後のすみやかな農業再開を目指すには、農地特有の生産能力を可能な限りそのままの状態に残すことが肝要であり、汚染表土をはぎ取ることなくその場で除染すること、すなわち『原位置浄化』が理想的である。こうした背景のもと、生物を用いた除染法: バイオレメディエーションは、効果的な打開策として非常に期待されていた。しかしながら、水耕栽培では培養液中のCsを20%程度吸収するヒマワリでさえ、実際にCs汚染した土壌で栽培するとその吸収率は0.1%に満たず、充分な実用性は見出せていない。

### 2. 研究の目的-1

したがって、ファイトレメディエーションを実践的な除染方法として展開するために、何とか改良の余地を見つけれないかと考えているときに、土壌微生物の存在に行き当たった。窒素循環など、土壌微生物が『植物-土壌』間の物質循環に介在して重要な役割を果たしていることはよく知られている。実際に、土壌中に存在する細菌の約10分の1にCsの濃縮能力があり、加えて、キノコなどの菌類もまたCsをよく濃縮することから、これら土壌中の微生物群が、植物によるCsの吸収を制限しているのではないかと考えられた。そこで、滅菌処理した汚染土壌を用いてポット栽培を行い、そのCsの吸収量を調べることによって、土壌微生物の影響を調べることにした。

### 3. 研究方法-1

福島第一原発から北西に50 kmほど離れた地点において採取した放射能濃度が中～低位の土壌に対し、それぞれにガンマ線照射滅菌(60 kGy)と高圧蒸気滅菌(オートクレーブ滅菌: 121°C、20分)を施し、これら無菌状態の土壌200 gで1ヶ月ポット栽培したハツカダイコン(*Raphanus sativus* var. *sativus*)1株におけるCsの吸収量を調べた。

### 4. 研究成果-1

その結果、滅菌土壌で栽培したハツカダイコンすべてにおいて、Csの吸収量は著しく増加していた。また、ガンマ線滅菌した土壌よりもオートクレーブ滅菌した土壌で栽培したハツカダイコンのほうが、さらに30%ほどCsの吸収量が高く、最大で土壌中の1%相当のCs吸収率があった(図1)。バイオレメディエーション効果の上昇には、結合態として土壌微生物に収着されていたCsが滅菌処理によって可給態となったことが考えられたため、まず微生物におけるCsの収着様式について調べることにした。安定同位体としてのCs塩化物を含む培養液を調製して、様々な微生物を培養したところ、微細藻類がCsを良く収着することが明らかになった。明条件(18時間)での培養下では、特に *Chlorella vulgaris*、*Chloroidium saccharophilum* のCs収着率が高かった。明条件でのCs収着が顕著であったことから波長依存性について調べたところ、400-500 nmの波長域でCsを良く収着することが明らかになった。両種とも一般的な湖沼に生息する微細藻類であることから、水圏における放射性Cs汚染において、特定の波長を照射することによって効率良く原位置浄化する可能性が示された。現在、各波長域における藻類のCs収着過程を画像化したデータベースの構築を進めている。

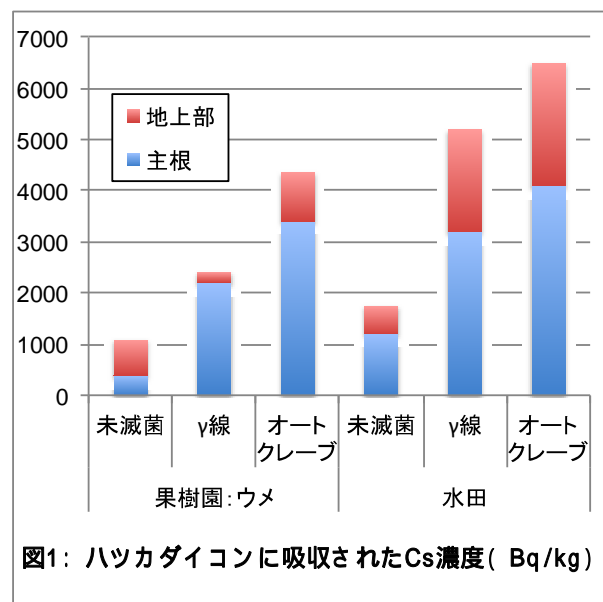


図1: ハツカダイコンに吸収されたCs濃度 (Bq/kg)

### 5. 研究の目的-2

一方、植物によるバイオレメディエーションを実施する際には、その植物を食料にしている生物が被曝し、環境中にCsが再拡散することを十分考慮しなければならない。なぜなら、シジミチョウの形態異常などがしばしばセンセーショナルに報道されてきたように(Hiyama, et al., Sci. Rep. 2, 2012)、原発事故以降、放射線の生物影響についての関心が非常に高まっているからである。一方、上記のような報告にある生物は野生種であることから、同一種であっても個体差が大きいうえに、原発事故以前から同一地域における同一種を追跡調査して比較した結果ではないので、そ

の形態異常が真に放射線の影響によるものなのか、それとも遺伝や他の環境因子によるものなのかがはっきりしない。したがって、バイオレメディエーションによる二次的な生物への放射線影響を調べるために、環境因子を極力排除した評価系が必要であると考えられた。そこで、個体差をほとんど生じないモデル生物として純系のカイコ(*Bombyx mori*, p55 系統など)を用い、放射性セシウムを滴下した人工飼料を与えることで実験室内に模擬的な汚染環境を構築し、事故後の内部被曝に着目した評価系を構築することにした。

## 6. 研究の方法-2

事故後の低線量・低線量率の被ばく状況を模擬した実験をするため、以下のように被ばく様式の異なる 3 群に分けて実験を実施した。すなわち、内部・外部被ばく群は、 $^{137}\text{Cs}$  (塩化物水溶液) を 1385 Bq/g-wet<sup>\*</sup>となるように滴下した人工飼料の上で、カイコ(p55 系統)を卵から全幼虫期間飼育し、 $^{137}\text{Cs}$ を含む人工飼料を給餌した(図2)。外部被ばく群は、 $^{137}\text{Cs}$ を含む人工飼料の上にプラスチックフィルムを敷き、その上に $^{137}\text{Cs}$ を滴下していない人工飼料を置いてカイコを卵から全幼虫期間飼育した(図3)。そして対照群には、 $^{137}\text{Cs}$ を滴下していない人工飼料のみを給餌した。これら群を温度等が共通の条件下で飼育し、体重増加の経時変化を比較した。なお、内部被ばく線量は、モンテカルロ計算コード PHITS を用いて推定し、外部被ばく線量は、ガラス素子(GD-302M)を用いて測定した。また、比較のため、胚発生初期の卵に対して、 $^{60}\text{Co}$  ガンマ線照射装置を用いて、0.01, 0.1, 1, 10, 20, 30 Gy の急性照射を行なった。生殖細胞突然変異の検出は、被ばく個体に対して、卵色遺伝子(*pere*)を二重劣性にもつ系統を掛け合わせて得られた F1 の卵色(白卵)を観察することで検出した。

国土地理院による放射線量等分布マップを参照し、放射性セシウムの初期土壌沈着量の換算値の 3 倍の値に設定した。

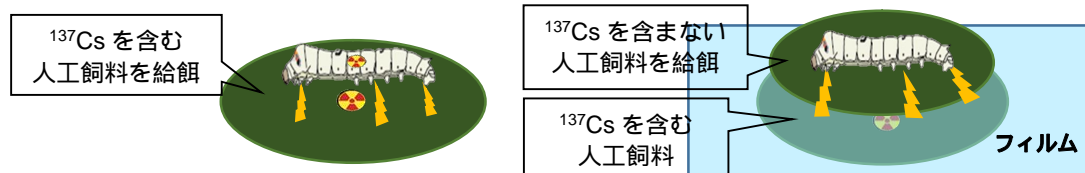


図 2：内部・外部被ばく群

図 3：外部被ばく群

## 7. 研究成果-2

$^{137}\text{Cs}$ を含む人工飼料の給餌による内部被ばく個体群では、対照群と比較して、孵化率の低下は認められなかった。また、生殖細胞突然変異を示す白卵の増加は認められなかった。一方、 $^{60}\text{Co}$ ガンマ線照射個体群の 20 Gy 及び、30 Gy では、孵化率の低下と成長抑制が認められたが、10 Gy 以下の照射個体群では、対照群と比較して白卵の増加は認められなかった。これらの結果から、初期の被ばく影響を除いた低線量率の長期被ばくにおいては、鱗翅目昆虫類への経世代影響が及ぶ可能性は低いと考えられる。

## 8. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 3 件)

- K. Fujiwara, T. Takahashi, T. Kinouchi, S. Fukutani, S. Takahashi, T. Watanabe, S. Funakawa, “Transfer Factors of Tellurium and Cesium from Soil to Radish (*Raphanus sativus* var. *sativus*) and Komatsuna (*Brassica rapa* var. *perviridis*)”, *Journal of Health Physics*, 52, 192-199, 2017. 査読有
- S. Ha, I. Kim, T. Takata, T. Kinouchi, M. Isoyama, M. Suzuki, N. Fujii, “Identification of D-amino acid-containing peptides in human serum”, *PLOS ONE*, 12, 2017. 査読有
- Y. Zhou, T. Awano, M. Kobayashi, T. Matoh, K. Takabe, “Immunocytochemical detection of rhamnogalacturonan II on forming cell plates in cultured tobacco cells”, *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry* 81: 899-905, 2017. 査読有
- T. Takahashi, K. Fujiwara, T. Kinouchi, S. Fukutani, S. Takahashi, “Using Experimental Transfer Factors to Estimate the Ratio between the Committed Effective Dose from Ingestion of Radio-tellurium to that of Radio-cesium Released by the Fukushima Daiichi Nuclear Power Plant Accident”, *Journal of Health Physics*, 53, 12-16, 2018. 査読有

[学会発表] (計 4 件)

- 田中草太、木野内忠稔、足達太郎、高橋千太郎、「環境中の被ばく形態に対応した放射線影響評価：カイコを利用した放射線の内部被ばく及び外部被ばくに対する影響評価法の探索」、第 61 回日本応用動物昆虫学会大会、2017 年 3 月 28 日
- T. Kinouchi and N. Fujii, “D-Aspartyl Endopeptidase in Aquatic Animals: The Frog, Sea Urchin and Ascidian”, *The 3rd International Conference of D-Amino Acid Research*, 2017 年 7 月 11 日

田中草太、木野内忠稔、高橋知之、高橋千太郎、「放射線の環境影響評価を目的としたカイコに対する内部・外部被ばく実験」、日本放射線影響学会第 60 回大会、2017 年 10 月 26 日

田中草太、木野内忠稔、高橋知之、牧大介、納富昭弘、高橋千太郎、「原発事故後の昆虫類への放射線影響：カイコを用いた  $^{137}\text{Cs}$  の内部被ばくモデル実験」、第 62 回日本応用動物昆虫学会大会、2018 年 3 月 27 日

田中草太、木野内忠稔、高橋知之、牧大介、納富昭弘、高橋千太郎、「カイコをモデルとした内部被ばくの経世代影響」、日本放射線影響学会第 61 回大会、2018 年 11 月 8 日

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

出願年:

国内外の別:

取得状況(計 0 件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

取得年:

国内外の別:

〔その他〕

ホームページ等

## 9. 研究組織

### (1) 研究分担者

研究分担者氏名: 小林 優

ローマ字氏名: KOBAYASHI, Masaru

所属研究機関名: 京都大学

部局名: 大学院農学研究科

職名: 准教授

研究者番号(8 桁): 60281101

### (2) 研究協力者

研究協力者氏名:

ローマ字氏名:

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。