

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 3 年 10 月 15 日現在

機関番号：82110

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2016～2018

課題番号：16K12627

研究課題名（和文）地衣類における金属蓄積・保持機構の解明と放射性汚染物質降下量評価への適用

研究課題名（英文）Metal accumulation and retention mechanism in lichen, and applicability of radioactive fallout evaluation

研究代表者

土肥 輝美 (Dohi, Terumi)

国立研究開発法人日本原子力研究開発機構・福島研究開発部門 福島研究開発拠点 福島環境安全センター・技術副主幹

研究者番号：50469821

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,100,000円

研究成果の概要（和文）：地衣類は、様々な金属や放射性物質を蓄積・保持することが知られている。しかし、地衣類の形態や生理的特性に関連してそれらがどのように蓄積・保持されるのか、その機構はほとんど分かっていない。本研究では、被ばく評価上重要視されるCs、Sr、Iを対象に地衣類による取り込み試験を行い、電子顕微鏡観察、化学状態分析およびモデル計算を組み合わせ蓄積に関する要因を探索した。その結果、主に地衣類の皮層部分にCs、Srが分布していることが示された。また、地衣類の形態の違いによって取込量の差異は生じないことが示唆された。さらに、二次代謝物等とCsとの結合安定性、Cs、Iの化学状態の知見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

地衣類中の面積あたりの放射性Cs量はこれまで実環境下の試料で形態の違い（生殖器官の密度）が要因との議論もなされてきたが、対象種については栄養繁殖器官による形態差が表面積を左右しない可能性が示されたのは大きな成果であった。地衣体組織内部のCsおよびSrの主な分布状況を初めて視覚的に示すことができたことも重要な成果である。さらにCsと地衣類の二次代謝物や細胞壁成分との錯体安定性の評価結果を示すことができたのは世界で初めての成果であり、化学状態分析結果と組み合わせ評価によってより具体的な保持状態の検討が進展するものと期待される。

研究成果の概要（英文）：Lichens are known to accumulate and retain metals and radionuclides. However, little is known about these mechanisms. Here we studied the relationships between their morphology or physiological characteristics and metal accumulation, and retention. We focused on elements; Cs, Sr, I. An absorption experiments of these elements were carried out. The distributions of the elements in lichen tissues were observed by electron microscope. In addition, chemical state analysis and model calculation were combined to investigate factors related to accumulation. As the results, we found that Cs and Sr distributed in cortex mainly. It was suggested that the difference between the morphology and the amounts of Cs and Sr was not shown in relative species. The binding stabilities between lichen secondary metabolites and Cs were also evaluated. The high stability was shown in usnic acid under alkaline conditions, though the stabilities of all metabolites were similar under neutral conditions.

研究分野：地球科学

キーワード：地衣類 セシウム ストロンチウム ヨウ素 第一原理計算 EXAFS 環境モニタリング

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

1. 研究開始当初の背景

放射性降下物による汚染度を把握し、その動態を解明するには、降下量の定量評価が重要である。地衣類(菌類と藻類の共生生物)は、様々な金属や放射性物質を蓄積・保持することが知られており、生態系における環境モニタリング材料の一つとして活用されている。しかし、地衣類の形態や生理的特性に関連してそれらがどのように蓄積・保持されるのか、その機構はほとんど分かっていないのが現状である。

2. 研究の目的

本研究では、地衣類の金属や放射性物質の蓄積・保持に関する機構に着目した。まずは被ばく評価上重要視されるセシウム(Cs)、ストロンチウム(Sr)、ヨウ素(I)を対象に、地衣類による取り込み試験を行うことで、生体内の各元素の分布状況を把握する。さらに化学状態分析やモデル計算(量子化学計算)を組み合わせることで蓄積に関与する要因を探索する。最終的には、経時変化も考慮した地衣類における放射性物質および金属元素保持モデルを提案することを目的とする。

3. 研究の方法

本研究では、地衣類の放射性物質の蓄積に関与する物質を明らかにするために、3つのサブテーマについて試験を行うとともに、実環境下での地衣類中の放射性Cs分布状況を調べた。試験対象として、福島県内において放射性Csモニタリング種への適用候補種として提案されたウメノキゴケ類の地衣類に着目した。福島第一原子力発電所(FDNPP)事故に起因する放射性Cs濃度の低い試料を得るため、原子力機構・東濃(岐阜県土岐市)および福島県田村市・三春町の野外で採取した地衣類を試験に用いた。

(1) 地衣類の形態的・構造的特徴による元素の保持特性の違い

地衣類の表面形態(栄養繁殖器官の有無)が異なり、内部組織構造(皮層・髓層)の特徴が明瞭で、遺伝的に近縁かつ二次代謝物が同一の、ウメノキゴケ *Parmotrema tinctorum* (PT)およびナミガタウメノキゴケ *Parmotrema austrosinense* (PA)の試料について、安定同位元素Cs、Sr、Iを用いた取り込み試験をバッチ法(pH = 5)により行った。各イオン濃度の条件は、電子プローブマイクロアナライザ(EPMA)で検出可能なレベルを想定し、10 mMとした。試料は、恒温培養器や振とう器を用いて一定温度・明条件下で振とうさせ、24時間(1日間)以上浸漬し、平衡到達の有無を確認した。各元素の濃度測定には、ICP-MSおよびICP-AESを用いた。地衣類の比表面積はBET法により測定した。

(2) 地衣類の生理的特徴による元素の保持特性の違い

上記(1)の2種に、これらの地衣類と生理的特徴(二次代謝物)が異なるウメノキゴケ類の1種キウメノキゴケ *Flavoparmelia caperata* (FC)を加えた3種の試料について、(1)と同様の方法で取り込み試験を行い、元素濃度を測定した。

(3) 地衣類中のCs、Sr、Iの保持特性に関する評価

取り込み試験後の試料の組織観察は、EPMAおよび放射光蛍光X線分析(SR-XRF)により行った。また、対象地衣類の主要な二次代謝物(シュウ酸、アトラノリン、レカノール酸、ウスニン酸、プロトセトラル酸)および菌糸細胞壁を構成するキチンとCsおよびSrが結合した場合の錯体形成安定性について、第一原理計算を行い評価した。(1)の試験に用いた地衣類試料について、放射光蛍光X線を用いたX線吸収微細構造(EXAFS)の解析を行い、Cs、Iの近傍情報を取得した。これらの結果を総合し、地衣類における各元素の保持特性について評価を行った。

(4) 実環境下における地衣類中の放射性Cs分布状況

FDNPP周辺で地衣類を採取し、実環境下における地衣類中の放射性Csの分布状況について、イメージングプレート(IP)を用いたオートラジオグラフィ法により調べた。

4. 研究成果

(1) 地衣類の形態的・構造的特徴による元素の保持特性の違い

地衣類中のCs、Sr濃度の時間変化を確認し、浸漬時間1日間の時点で概ね平衡に達していることを確認した(図1)。試験対象の2種(PT・PA)において、それぞれ栄養繁殖器官の殆ど無い部位、多い部位を断片化し、Cs、Srの濃度を比較した結果、2種ともにそれぞれ栄養繁殖器官の有無(形態的な違い)による差異は認められなかった。栄養繁殖器官の有無による比表面積の差を試行的に調べたところ、差異は認められなかった。以上より、今回の

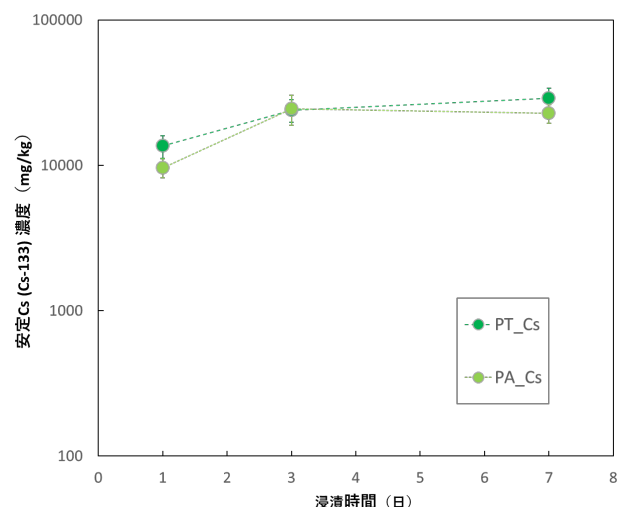


図1 地衣類2種のCs取込量時間変化

溶液条件下において、Cs や Sr の保持特性については、栄養繁殖器官の有無による違いは確認されなかった。

(2) 地衣類の生理的特徴による元素の保持特性の違い

上記(1)の地衣類 PT・PA・FC 計 3 種のウメノキゴケ類において、Cs、Sr の濃度を比較した結果、種間での濃度差は認められなかった。また、いずれの種においても Sr よりも Cs の取込量の方が多結果が示された。一方で、PT・PA の 2 種間で I の濃度を比較した結果、差異が認められたことから、近縁種であっても I (主に I⁻) の取り込み機構が異なる可能性が示唆された。I については、その前処理の特殊性 (酸素雰囲気下で試料を燃焼させ、揮発した I をアルカリ溶液で回収) から設備整備および多くの作業時間が必要となることから、本研究期間内に試験対象とした全種類の分析まで完了することはできなかったが、今後、引き続き代替分析法の検討などを進めていく予定である。

(3) 地衣類中の Cs、Sr、I の保持特性に関する評価

各元素取込試験終了後の地衣類試料について、地衣体組織内での元素分布の状況を EPMA および SR-XRF 分析により観察を行った。その結果、Cs は主に皮層に、Sr は皮層および髓層に分布していることが確認された (図 2)。EXAFS 解析結果からは、地衣類中の Cs、I の近傍情報を取得した結果、水和物や有機分子化合物として存在することが考えられたことから、今後どちらが優占するか評価を進める予定である。また、水溶液中での存在を仮定し、ウメノキゴケ類に存在するアトラノリンやウスニン酸を含む計 5 種の代謝物およびキチンと、Cs を含むアルカリ金属元素との錯体形成安定性を評価した。これにより、代謝物と Cs との錯体形成力は、代謝物ごと・pH 環境によって異なることが明らかとなった。つまり、地衣体内のそれぞれの組織部位 (皮層・髓層) で分泌される異なる代謝物が pH の違いによって Cs の保持力を向上させる能力を有することが推定された (図 3)。また、キチンもウスニン酸と同様に Cs との強い錯体形成を有することも分かった。キチンと Cs の安定性評価、EPMA の観察結果から、Cs については菌糸から構成される皮層部での蓄積状態と整合する結果となった。今回評価した二次代謝物については、中性環境下では髓層で分泌されるプロトセトラル酸が (図 4)、アルカリに近い環境下では、皮層で分泌されるアトラノリン、ウスニン酸の有無が種間での Cs 保持量の差異を発生させる要因になることが考えられる。Sr については試行計算を実施したが、2 価のカチオンであるため、Cs との比較評価は複雑となることが分かり、本格的な比較評価は課題とした。I についても、陽イオンと異なり想定される結合メカニズムが異なるため、計算条件設定が複雑となり計算には時間を要すると考えられる。これらの評価については、将来の課題とする。

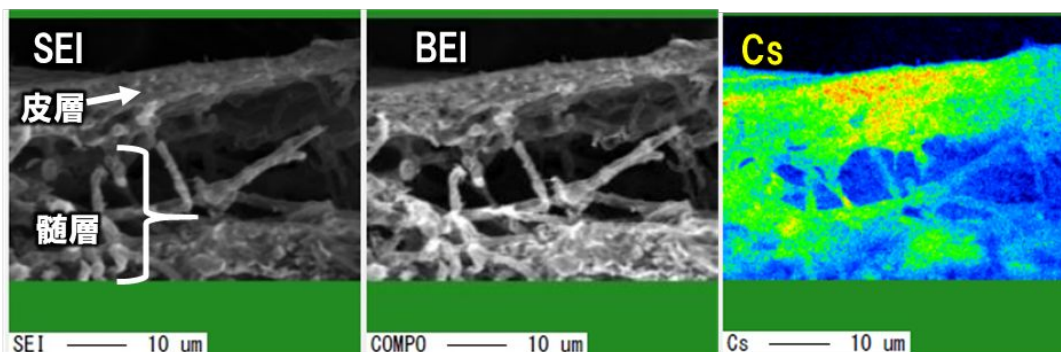


図 2 地衣類断面組織観察像 (二次電子像 (左) 反射電子像 (中央) Cs の分布 (右))

(4) 実環境下での地衣類中の放射性 Cs 保持状態

福島原子力発電所事故から約 6 年経過後の実環境下で採取した地衣類中の放射性 Cs の分布状況は共通して不均一性を有することが示された。特にオートラジオグラフィ像で強い点状の分布を示す部位を EPMA で調べた結果、Cs 含有量の高い粒子状物質が含まれることを見出した。さらに、同一生育環境下の地衣類とその着生基物 (樹皮) の放射性 Cs の沈着量を定量的に調べたところ、地衣類は樹皮よりも 3.8-7.9 倍高く Cs を有することが分かった。また、放射性 Cs の分布状態を比較したところ、両者に明瞭な差異がみられた。地衣類では地衣体の端部 (新しい組織) よりも中心部 (古い組織) に放射性 Cs が多く存在したのに対して、樹皮では表面の亀裂や筋に沿った分布の特徴がみられた。このことから、地衣類中の放射性 Cs は新しい組織へ移動しにくい化学形態で組織内部に留まる一方、樹皮ではイオン交換により保持されていた放射性 Cs が主に雨や樹幹流によって洗い流される・放射状に内部へ移動する・ために、その保持力は地衣類よりも弱いと考えられた。

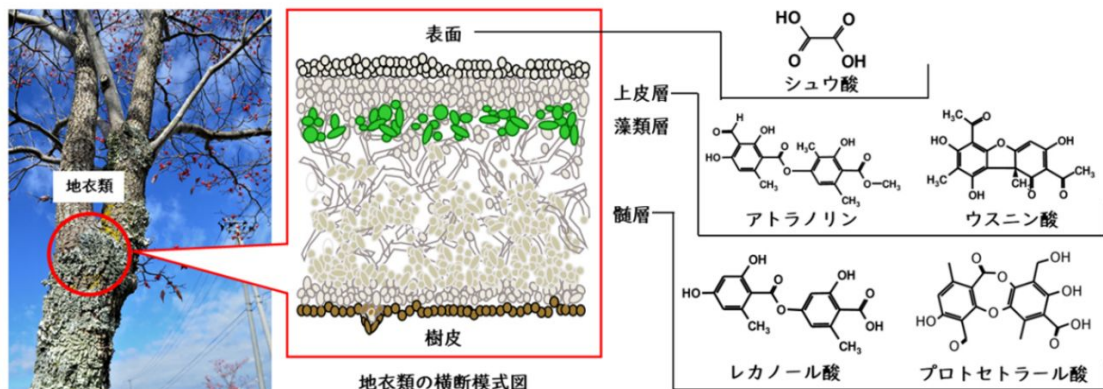
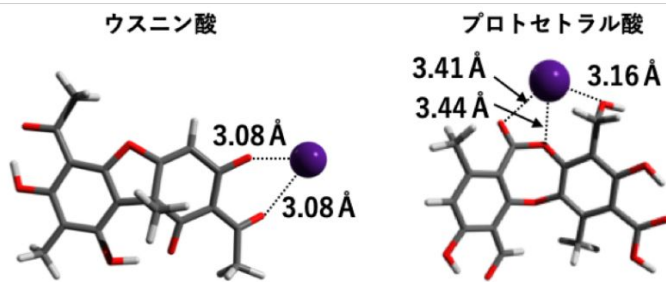


図 3 地衣類横断面模式図と各部

位で分泌される代謝物(上)
 計算により得られた地衣類代謝物とセシウム原子(球体)の安定な錯体構造の例(右)
 (原子力機構・プレス発表「計算化学を駆使して地衣類が放射性セシウムを保持する謎に迫る」(令和3年6月7日)より転載)



本研究課題を通して、地衣類中の面積あたりの放射性Cs量はこれまで実環境下の試料で形態の違い(生殖器官の密度)が要因との議論もなされてきたが、対象種については栄養繁殖器官による形態差が表面積を左右しない可能性が示されたのは大きな成果であった。地衣体組織内部のCsおよびSrの主な分布状況を初めて視覚的に示すことができたことも重要な成果である。EPMA観察については、生体試料への電子線損傷を考慮した試料調整に更なる検討を要し、藻類細胞、菌糸断面の元素分析には課題が残る結果となった。Iについては、取扱いや計算時の困難さがあるものの、今後、放射光を利用した地衣体組織内分布観察と化学状態分析の組み合わせに重点を置くことで、I保持のメカニズム解明が推進されるものと思われる。また、Csと地衣類の二次代謝物との錯体安定性の評価結果を示すことができたのは世界で初めての成果であり、今後の化学状態分析結果と組み合わせた評価によってより具体的な保持状態の検討が進展するものと期待される。今回の試験結果を踏まえ、対象としたモニタリング適性種3種は、Cs、Srの濃度評価には種間差を考慮せずに適用できる可能性を見出せたことも成果の一つである。さらに、実験室試験だけでなく実環境下での放射性Csの分布状況を把握したことで、地衣類中のCs濃度の変動要因の一部を明らかにできた。類似したCsの不均一分布は土壌や植物試料でも認められていることから、地衣類をモニタリングに活用する際は、沈着時に起こる不均一性による濃度の変動幅を考慮に入れた評価が必要となっていくと思われる。

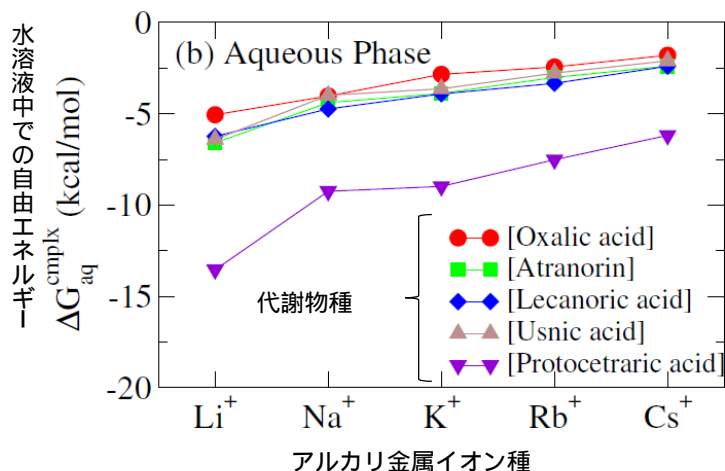


図 4 地衣類代謝物とアルカリ金属イオンとの錯体形成安定性評価

<引用文献>

Dohi, T., Ohmura, Y., Kashiwadani, H., Fujiwara, K., Sakamoto, H., Iijima, K., Radiocaesium activity concentrations in parmerioid lichens within a 60 km radius of the Fukushima Dai-ichi Nuclear Power Plant. Journal of Environmental Radioactivity, 146, 2015, pp. 125-133.
 竹野 直人, Eh-pH図アトラス熱力学データベースの相互比較, 地質調査総合センター研究資料集 No. 419, 2015, pp. 123-125
 Su, P., Granholm, K., Pranovich, A., Harju, L., Holmbom, B. and Ivaska, A., Sorption of metal ions from aqueous solution to spruce bark. Wood Science and Technology, 47,

2013, pp. 1083-1097.

Aoki, D., Asai, R., Tomioka, R., Matsushita, Y., Asakura, H., Tabuchi, M. and Kazuhiko, F. Translocation of ¹³⁷Cs administered to *Cryptomeria japonica* wood. *Science of the Total Environment*, 2017, pp. 584-585.

Sloof, J. E., and Wolterbeek, B. T., Lichens as biomonitors for radiocaesium following the Chernobyl accident. *Journal of Environmental Radioactivity*, 16, 1992, pp. 229-242

Nakanishi, M. T., Agricultural implications of the Fukushima nuclear accident. Springer, 2013, pp. 1-10

Tanaka, K., Iwatani, H., Sakaguchi, A., Takahashi, Y., Onda, Y., Local distribution of radioactivity in tree leaves contaminated by fallout of radionuclides emitted from the Fukushima Daiichi Nuclear Power Plant. *Journal of Radioanalytical and Chemistry*, 295, 2013, pp. 2007-2014

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 5 件)

Dohi, T., Tagomori, H., Ohmura, Y., Fujiwara, K., Kanaizuka, S., Iijima, K., Electron microscopic analysis of radiocaesium-bearing microparticles in lichens collected within 3km of the Fukushima Dai-ichi Nuclear Power Plant. *The Royal Society of Chemistry, Environmental Radiochemical Analysis* 査読有, 2019, pp. 58-70.
<https://doi.org/10.1039/9781788017732-00058>

Suno, H., Machida, M., Quantum chemical calculations for Norbadione A complexes with Cs⁺, K⁺, and Na⁺ in gas and aqueous phase. *Chemical Physics Letters*, 査読有, Vol. 730, 2019, pp. 26-31
<https://doi.org/10.1016/j.cplett.2019.05.012>

Yamaguchi, A., Tanaka, M., Kurihara, Y., Takahashi, Y., Local structure of strontium adsorbed on 2:1 clay minerals and its comparison with cesium by XAFS in terms of migration of their radioisotopes in the environment. *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*, 査読有, 2018, Vol. 317, pp. 545-551
<https://doi.org/10.1007/s10967-018-5895-0>

Suno, H., Machida, M., Dohi, T., Ohmura, Y. Quantum chemical calculation studies toward microscopic understanding of retention mechanism of Cs radioisotopes and other alkali metals in lichens. *Scientific Reports*, 査読有, 2021, 11(1), p.8228_1-8228_13.
<https://doi.org/10.1038/s41598-021-87617-w>

Dohi, T., Ohmura, Y., Yoshimura, K., Sasaki, T., Fujiwara, K., Kanaizuka, S., Nakama, S., Iijima, K. Radiocaesium accumulation capacity of epiphytic lichens and adjacent barks collected at the perimeter boundary site of the Fukushima Dai-ichi Nuclear Power Station. *PLOS ONE*, 査読有, 2021, 16(5), p.e0251828_1 - e0251828_16.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0251828>

〔学会発表〕(計 5 件)

Dohi, T., Tagomori, H., Ohmura, Y., Fujiwara, K., Kanaizuka, S., Iijima, K., Electron microscopic analysis of the radiocaesium particles in lichens collected around the Fukushima Dai-ichi NPP. 13th International Symposium on Nuclear and Environmental Radiochemical Analysis, 2018

土肥 輝美、吉村 和也、大村 嘉人、金井塚 清一、飯島 和毅、地衣類中の放射性セシウム経時変化、地衣類研究会第 47 回大会、2018

数納 広哉、町田 昌彦、土肥 輝美、森林内での菌類有機分子とセシウムの選択的錯体形成機構の理論研究、原子力学会 2018 年秋の大会、2018

土肥 輝美・田籠 久也・大村 嘉人・金井塚 清一、藤原 健壮、飯島 和毅、オフサイトの核種分布特性に基づくサイト内環境中の核種インベントリの推定 (5) サイト近傍における地衣類含有粒子の化学形態、原子力学会 2018 年春の大会、2018

Dohi, T., Fujiwara, K., Ohmura, Y., Tagomori, H., Iijima, K., Kitamura, A. Retention of radiocaesium particle in Parmelioid lichens. The 32nd Congress of Italian lichen society, 2019

〔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

6. 研究組織

(1) 研究分担者

研究分担者氏名：大村 嘉人

ローマ字氏名：OHMURA, Yoshihito

所属研究機関名：独立行政法人国立科学博物館

部局名：植物研究部

職名：研究主幹

研究者番号(8桁)：40414362

研究分担者氏名：高橋 嘉夫

ローマ字氏名：TAKAHASHI, Yoshio

所属研究機関名：東京大学

部局名：大学院理学系研究科(理学部)

職名：教授

研究者番号(8桁)：10304396

研究分担者氏名：町田 昌彦

ローマ字氏名：MACHIDA, Masahiko

所属研究機関名：国立研究開発法人日本原子力研究開発機構

部局名：システム計算科学センター

職名：研究主席

研究者番号(8桁)：60360434

(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。