

令和 2 年 7 月 9 日現在

機関番号：82110

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2019

課題番号：18K18210

研究課題名（和文）森林土壌からの放射性セシウム溶脱におけるきのこ土壌細菌のシナジー効果解明

研究課題名（英文）Elucidation of synergy effect of mushroom and soil bacteria on radioactive cesium dissolution from forest soil

研究代表者

Guido Fabiola (Guido-Garcia, Fabiola)

国立研究開発法人日本原子力研究開発機構・原子力科学研究部門 原子力科学研究所 先端基礎研究センター・博士研究員

研究者番号：90805798

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：数種類のきのこが生産する有機酸を同定したところ、それらは既知の数種類の有機酸を生産し、共通する有機酸も生産することがわかった。それらと同じ有機酸試薬水溶液に予め¹³⁷Csを吸着させた粘土鉱物を入れたところ、Csはほとんど溶出しなかった。次に土壌からシデロフォアという鉄キレート物質生産性を持つバクテリアを単離した。その内の細菌一種類及びきのこ菌糸一種類を懸濁した水溶液中に黒雲母の粉末を投入したところ、きのこ菌糸からより多くの鉄とケイ素が黒雲母から溶出した。この結果は、用いたきのこから鉱物溶解力の高い有機物が分泌されている可能性を示唆する。

研究成果の学術的意義や社会的意義

きのこは土壌からのCs吸収力が高いと言われているが、その機構はほとんど未解明である。一方、シデロフォアを分泌する細菌が鉱物を溶解し、その結果Csが生物に吸収されている可能性が高いと考えられている。本研究では、きのこも鉱物を溶解する可能性が高いことを示唆する結果を得た。鉱物溶解にかかるきのこの生産物を特定することは、森林におけるCs循環機構解明のため重要である。

研究成果の概要（英文）：Qualitative analysis of organic acids produced by several mushroom species revealed that they produce several kinds of known organic acids and some of them are commonly produced by tested mushrooms. When a clay mineral on which ¹³⁷Cs was adsorbed beforehand was exposed to aqueous solutions of organic acids, ¹³⁷Cs was hardly dissolved from the clay mineral. Next, some bacteria with ability to produce siderophore which is an iron chelating organic substance were isolated from soil. When biotite (a mica type clay mineral) was exposed to a suspension containing cells of one of the bacteria or one of mushroom mycelia, mushroom mycelia cells dissolved more Fe and Si from biotite. This result suggests that the tested mushroom secretes yet-to-be identified organic substances with high ability to dissolve biotite.

研究分野：環境動態

キーワード：きのこ 福島 セシウム 循環

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

ヨーロッパでは、1986年のチェルノブイリ原子力発電所事故以降、きのこへのセシウム濃集が数多く報告されている。日本でも、1990年代初頭から野生きのこへのセシウム濃集に関する報告がなされている。福島森林地帯において、福島第一原発事故により放出されたセシウムもきのこに濃集していることが報告されている。きのこは森林の汚染土壌におけるセシウム循環に大きく関与していると考えられているが、そのメカニズムはほとんど解明されていない。セシウム濃集メカニズムの一つとして、きのこが細胞外に分泌する有機酸が土壌等からセシウムを溶脱し、それをきのこが吸収すると考えられている。しかし、福島第一原子力発電所事故により放出され土壌に降下したセシウムのうち、イオン交換形態のようにきのこや植物が容易に吸収可能なもの(可給態セシウム)は30%程度であり、一部は強酸でも抽出できないほど強く固定されていることが知られている。セシウムは有機酸とは一般的に錯形成しないので、有機酸が鉱物を溶解することにより溶出するセシウムをきのこが吸収すると考えられている。しかし、きのこが分泌する希薄な有機酸の鉱物溶解力が高いとは考えにくい。実際、鉱物溶解力が高いきのこ由来の有機酸の報告例はない。

一方、細菌が分泌する低分子量の有機化合物であるシデロフォアは、鉱物から鉄やアルミニウムを溶脱する作用があり、鉄イオンなど3価のイオンと特異的に結合して、主として細菌に鉄を供給する。また、植物の中で体内にセシウムを多く蓄積するものがあり、その植物の根に共生する菌類の中にシデロフォアを生産するものがあることが最近明らかになってきた。すなわち、共生菌が生産するシデロフォアが鉱物の3価イオンと結合することにより鉱物が部分的に溶解し、それに伴い鉱物に固定されていたセシウムが溶脱し、植物に吸収される可能性が考えられる。この共生菌は植物から栄養分を供給されている。

2. 研究の目的

研究代表者等は、きのこにおいても植物と類似の関係が成立しているのではないかと考えた。すなわち、きのこが土壌等に分泌する有機酸等の有機物の一部がシデロフォア生産菌の栄養として利用される結果、シデロフォア生産量が増加し、シデロフォアと有機酸の相乗効果によって土壌からのセシウム溶脱が進むのではないかと考えるに至った。2種類の相乗効果が考えられる。(1)きのこが分泌する有機酸と土壌細菌が分泌するシデロフォアが土壌からのセシウム溶脱に及ぼすシナジー効果、及び(2)きのこの有機酸がシデロフォア生産性土壌細菌を活性化させる効果である。本研究ではこれらの効果を解明し、きのこによるセシウム濃集メカニズムを解明することによって、森林の汚染土壌におけるセシウム循環メカニズム解明に資することを目的とする。このような着想は従来の研究には無く、独自性が極めて高い。また、このようなアプローチは、多くの植物・微生物のセシウム溶脱・濃集機構研究解明研究に波及すると期待される。

3. 研究の方法

きのこの仲間であるしいたけの可食部は子実体であるが、きのこ=子実体ではない。きのこは細胞の単位である菌糸が集まったものであり、きのこが生存する期間のほとんどは菌糸の状態が存在する。子実体を形成させるまで栽培可能なきのこは極めて少ないが、多くのきのこ菌糸は寒天栄養培地あるいは液体培地で培養可能である。そこで、本研究では、¹³⁷Csを添加した寒天培地できのこ菌糸を培養し、菌糸への¹³⁷Cs蓄積量を求めた。次に、菌糸単位重量あたりの¹³⁷Cs蓄積量を基に、蓄積濃度が高度、中度、低度のものから数種類ずつ選び、それらを液体培養し、その培地から抽出した有機酸をガスクロマトグラフィー質量分析器により定量した。

これら有機酸が単独で鉱物から¹³⁷Csを溶脱させる能力があるかどうか試験した。複数の粘土鉱物に¹³⁷Csを吸着させ、一種類の有機酸を含む溶液中で一定時間攪拌した。そして、溶液中に溶脱した¹³⁷Csを定量した。同様に、シデロフォアの一つである市販のdesferrioxamine B (DFO)を利用して溶脱試験を行った。

Cs吸収能力が高いことが知られているシロツメクサ(クローバー)が生育している土壌から、シデロフォア生産性に着目して細菌の発現性を調べ、シデロフォア生産性を持つ細菌を単離した。この中の一種類の細菌及び一種類のきのこ菌糸をそれぞれ液体栄養培地中で培養したのちに、回収洗浄し、最少栄養培地で同じ吸光度となるように希釈した。この細胞懸濁液に黒雲母の粉末を入れ、溶出する金属元素を定量し比較した。

4. 研究成果

数百種類のきのこ菌糸による¹³⁷Cs蓄積能はきのこの種類により2桁以上の違いがあった(表1)。この¹³⁷Cs蓄積能をもとにきのこの種類を選び、きのこ菌糸を液体培養した培地から抽出した有機酸をガスクロマトグラフィー質量分析器により定量した。その結果、十数種類の有機酸の存在を確認した(表1)。検出された有機酸は一般的なものである。複数のきのこで共通して生産されている有機酸があり、そのなかで、乳酸、プロピオン酸、コハク酸が、¹³⁷Csを高効率で吸収するきのこで生産されていることがわかった。

次に、有機酸による粘土鉱物と¹³⁷Csの溶脱の関係を調べる実験では、溶脱した¹³⁷Csは吸着量の1%未満であったことから、これら有機酸の¹³⁷Cs溶脱能力はあまり高くないことがわかった。同様の溶脱実験を市販のシデロフォアであるDFOを用いて行った。その結果、このシデロフォア

アは鉄の溶脱能は有機酸よりも高いが、¹³⁷Cs 溶脱能はあまり高くないことを確認した。ただし、本研究とは別に行った粘土鉱物からの ¹³⁷Cs 脱離実験により、これらの結果の解釈には注意が必要であることに最近気がついた。つまり、粘土鉱物ではトレーサーレベルの ¹³⁷Cs が吸着していても、その一部は可逆的（イオン交換的）に吸着していた。上述の有機酸と DF0 による溶脱実験は希薄な水溶液で行っており、そのような条件では有機酸等によって脱離した ¹³⁷Cs が粘土鉱物に再吸着する可能性が考えられる。本研究のような溶脱実験においては、例えば NH₄⁺イオン濃度が 1M となるような有機酸水溶液を用いて、¹³⁷Cs の再吸着を防止すべきであった。

土壌中の ¹³⁷Cs は粘土鉱物に強力に結びついているものの、植物に吸収されることが知られている。微生物の仲間であるきのこは、植物よりもずっと ¹³⁷Cs を効率的に吸収することが知られている。その理由として研究者は、1) きのこが土壌等に分泌する有機酸がシデロフォア生産細菌の栄養として利用される結果、細菌によるシデロフォア生産量が増加し、シデロフォアと有機酸の相乗効果によって土壌からのセシウム溶脱が進むのではないかと、あるいは 2) 上述のように有機酸よりもシデロフォアの方が鉱物溶解能が高い可能性があることから、きのこ自身がシデロフォアを生産するのではないかと考えた。そこでまず、シデロフォア生産性細菌ときのこ菌系による鉱物溶解能を比較することとした。土壌から単離したシデロフォア生産性細菌の一つ、Pseudomonas 属と同定された細菌と一種類のきのこ菌系のどちらの場合でも、黒雲母から鉄とケイ素が溶出し、溶出量はきのこ菌系の方が高かった（図 1）。この結果は、用いたきのこから鉱物溶解力の高い有機物が分泌されている可能性を示唆する。しかし、きのこ菌系実験の液相を分析したところ、有機物には鉄が検出されず（図 2）きのこが生産した有機物と鉄の結合力は高くないことがわかった。今後、この有機物の同定と特性評価を行うことを考えている。

表 1 きのこ菌系による ¹³⁷Cs 蓄積と生産される有機酸

Name	Bq/g	citric	lactic	oxalic	phosphoric	succinic	Acetic	propanoic
Fusarium equiseti	1.1E+04	0				0		0
Marasmius sp	8.8E+03		0					
Agaricus subrufescens	8.3E+03		0		0	0		0
Phlebiopsis gigantea	7.3E+03				0		0	
Coprinellus micaceus	7.1E+03				0			0
Penicillium corylophilum	6.1E+03				0			
Penicillium corylophilum	6.0E+03		0		0			
Aspergillus versicolor	5.0E+03		0				0	0
Aspergillus versicolor	4.5E+03				0	0		0
Unidentified 1	4.1E+03			0	0			0
Cladosporium	3.1E+03		0		0	0		0
Unidentified 2	2.9E+03		0		0	0		0
Unidentified 3	2.7E+03				0	0		
Dacrymyce sp.	2.2E+03		0	0	0	0		
Unidentified 4	2.2E+03		0					
Unidentified 5	2.1E+03			0	0			
Unidentified 6	1.4E+03		0	0				
Unidentified 7	1.3E+03				0	0		
Unidentified 8	1.3E+03				0	0		
Unidentified 9	1.1E+03		0	0	0			0
Unidentified 10	8.5E+02		0					
Unidentified 11	8.2E+02			0	0			

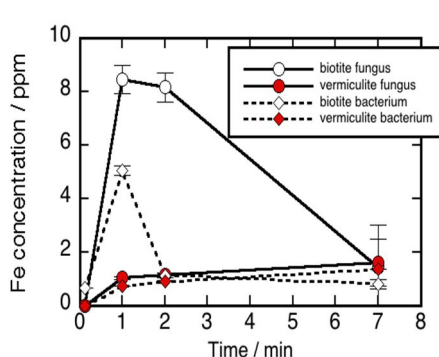


図 1 シデロフォア生産性細菌ときのこ菌系によって黒雲母とパーミキュライトから溶脱した鉄（横軸：培養時間）

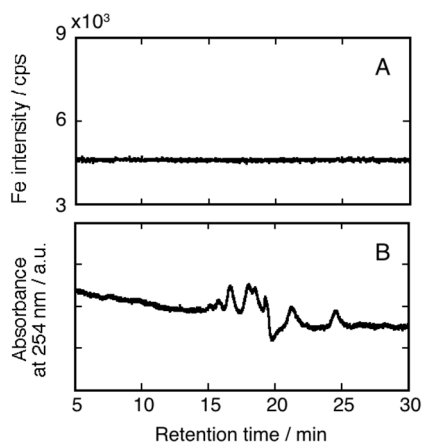


図 2 きのこ菌系による黒雲母の溶解実験における液相のサイズ排除クロマトグラフィー-質量分析結果

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Guido F., Sakamoto F., Kozai N., Grambow B., David K.
2. 発表標題 137Cs Uptake by lentinula Endos (Shiitake) mushroom
3. 学会等名 Migration 19 (国際学会)
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

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
--	---------------------------	-----------------------	----