

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 5 日現在

機関番号：12201

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2016

課題番号：25517003

研究課題名(和文)ニホンジカにおける放射性物質の移行・蓄積過程の解明とその遺伝的変異への影響

研究課題名(英文) Influence of cesium emitted by the accident of the Fukushima Daiichi nuclear power plant on the ecological system in the Nikko and analysis of the rate of genetic mutation in wild sika deer

研究代表者

小金澤 正昭 (Koganezawa, Masaaki)

宇都宮大学・農学部・教授

研究者番号：90241851

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)：本研究は、福島第一原発事故により飛散した放射性物質の生態系への影響およびニホンジカの遺伝的変異の経年的変化の解明を目的とした。土壌、餌植物および筋肉等の組織は、2012年から2017年まで収集し、セシウムCs濃度を測定した。6年間のシカの血液および肝臓のCs濃度は50 Bq/kg以下であった。シカの筋肉中のCs濃度は、2012年から2014年までは食品の安全基準100 Bq/kgより高かったが、2015年までに徐々に減少した。シカの血液を用いた染色体異常率には、2004年の私達の報告と比べて有意差は認められなかった。シカの肝臓のCs濃度とmtDNA突然変異率において関連性は認められなかった。

研究成果の概要(英文)：This research aimed to examine the influence of cesium, dispersed in the accident of the Fukushima Daiichi nuclear power plant, by analyzing cesium accumulation in an ecological system, and the rate of genetic mutation of sika deer from 2012 to 2017. In Oku-Nikko area, food plants of sika deer and several tissues from the deer were collected, and the cesium concentration in these samples was examined. The concentration of cesium in the blood and the liver of the deer was less than 50 Bq/kg for six years (2012-2017). Although the cesium concentration in the muscles of sika deer from 2012 to 2014 was higher than safety standards for food of humans (100 Bq/kg), it decreased gradually by 2015. The rate of chromosome aberration in the deer was analyzed using blood samples, and there was no significant difference in comparison with the results of our 2004 report. There was no relationship between the concentration of cesium in the liver and the mutation rate in mitochondrial DNA.

研究分野：野生鳥獣管理学

キーワード：放射性セシウム 森林生態系 ニホンジカ 細胞遺伝学的影響 ミトコンドリアDNA ヘテロプラスミー

1. 研究開始当初の背景

福島第一原子力発電所の事故により放出された放射性物質は広範に拡散した。栃木県奥日光地域にも放射性物質が飛散した。この地域は、ニホンジカの主要な越冬地で、多数のシカが越冬する。シカは長寿で、完全な草食動物であることから生態系での動態を理解するには最適な動物である。また、チェルノブイリ事故以降、欧州ではシカ類が標準的なモニタリング対象の一つとなり、長期にわたる経年的な放射性物質の動態がモニタリングされているが、我が国ではその体制が整っていない。

2. 研究の目的

そこで、本研究では、1) 森林生態系における土壌 - 植物 (餌植物、ミヤコザサ) - 動物 (シカ) 系の構成要素間での放射性物質の移行・蓄積動態を定量的に把握し、そのメカニズムを解明することと、2) 放射性物質の築盛が次世代に与える影響を遺伝的変異の指標となる染色体とミトコンドリア DNA の塩基配列における変異から解析し、放射性物質による影響を解明する。

3. 研究の方法

調査地は、栃木県奥日光と足尾地域とし、調査地のひとつ奥日光、男体山南斜面の初期沈着量は平均 8,188Bq/m<sup>2</sup> であった (2011 年 7 月時点で濃度補正)。

1) 森林生態系における土壌 - 植物 (餌植物、ミヤコザサ) - 動物 (シカ) 系の構成要素間の放射性物質の移行・蓄積動態

餌植物の採集と現存量の測定、ならびにシカの筋肉と各種臓器類の放射性セシウムの濃度測定をおこなった。測定には、ALOKA AccuFLEX7000 および SEIKO EG&G SEG-EMS GEM30-70 を用いた。

2) シカの染色体およびミトコンドリア DNA における遺伝的変異の解析

<ニホンジカの染色体分析>

材料：2012 年 19 個体、2013 年 25 個体、2014 年 25 個体の血液を採取して実験に用いた。

方法：染色体標本の作製には、微量全血培養法を用いた。

<ニホンジカの血液と肝臓におけるセシウム濃度について>

材料：血液のセシウム濃度を測定できた個体は、2012 年では 9 個体、2013 年 23 個体、2014 年 22 個体であった。肝臓におけるセシウム濃度を測定できた個体は、2012 年では 22 個体、2013 年では 32 個体、2014 年 47 個体、2015 年 9 個体および 2016 年では 17 個体であった。

方法：放射性セシウム量の計測には、ALOKA AccuFLEX7000 および SEIKO EG&G SEG-EMS GEM30-70 を用いた。

<ニホンジカ肝臓におけるミトコンドリア DNA の解析>

材料：肝臓におけるミトコンドリア DNA の解析ができた個体は、2012 年では 22 個体、2013 年では 32 個体、2014 年 47 個体および

2015-2016 年では 42 個体であった。

方法：肝臓から DNA を抽出し、mtDNA D-loop 領域を PCR で増幅した後、塩基配列を解析した。次に GENETYX ver.12 を用いて、ハプロタイプ型の分類を行った。

4. 研究成果

1) 森林生態系における土壌 - 植物 (餌植物、ミヤコザサ) - 動物 (シカ) 系の構成要素間の放射性物質の移行・蓄積動態

<ミヤコザサの Cs-137 濃度>

ニホンジカの冬期の主要な餌植物であるミヤコザサの葉部現存量は 55.07g/m<sup>2</sup> (n=40) であった (2013 年 11 月測定)。

ミヤコザサの葉の Cs137 濃度は、101.3 Bq/kg, DW から 53.8 Bq/kg, DW へ経年的に減少した (表 1)。また、年ごとの土壌からササへの面移行係数 (Tag) は 0.01 m<sup>2</sup>/kg であった。

表 1. 栃木県奥日光におけるミヤコザサの葉の Cs-137 濃度と移行係数

年	月	n	ミヤコザサ	土壌沈着量	土壌-ササ
			の葉	Tag	Tag
			Bq/kg, DW	Bq/m <sup>2</sup>	m <sup>2</sup> /kg
2012	Nov	10	101.3	8,000	0.013
2013	Nov	10	101.2	7,820	0.013
2014	Nov	10	88.0	7,640	0.011
2015	Nov	8	107.1	7,460	0.014
2016	Dec	7	53.8	7,296	0.007

<ミヤコザサからシカへの移行>

2012 年 2 月から 2016 年 4 月までに採取した 96 個体から得られた筋肉中の Cs-137 の濃度は、155.4 Bq/kg, DW から 79.2 Bq/kg, DW に経年的に減少した (表 2)。また、ササからシカ筋肉、土壌からシカ筋肉への面移行係数は、前者が 1.22 m<sup>2</sup>/kg から 0.74 m<sup>2</sup>/kg へ、後者は 0.03 m<sup>2</sup>/kg から 0.01 m<sup>2</sup>/kg へ経年的に減少した (表 2)。

表 2. 栃木県奥日光におけるニホンジカの筋肉中の Cs137 濃度と面移行係数

年	月	n	シカ筋肉	ササ-シカ	土壌-シカ
			Bq/kg, DW	m <sup>2</sup> /kg	m <sup>2</sup> /kg
2012	Feb-Mar	17	155.4	-	0.03
2013	Feb-Mar	26	123.1	1.22	0.02
2014	Feb-Mar	26	132.6	1.31	0.02
2015	Apr	16	95.2	1.08	0.01
2016	Apr	9	79.2	0.74	0.01

<その他の餌植物の Cs137 濃度と土壌からの移行係数>

2012 年から 2014 年にかけて採取したミズナラ、カラマツ、ハルニレの部位別 Cs137 濃度と土壌からの面移行係数を表 3 に示した。2012 年採取のミヤコザサの葉を基準にすると、2012 年 4 月に採集したミズナラの落葉は 1.2 倍から 1.4 倍の値を示したが、葉は 0.5

倍、堅果も 0.4 倍であった。しかし、樹皮は 9 倍から 27 倍の高濃度であった。

表 3 . 栃木県奥日光におけるニホンジカの餌植物の Cs137 濃度と面移行係数

種名・部位	採集年	Cs137 Bq/kg, Dw	Tag m <sup>2</sup> /kg
ミズナラ 落葉	Apr, 2012	119.7 - 140.1	0.015 - 0.018
	Sep, 2013	52.0	0.007
堅果	Sep, 2013	42.0	0.005
樹皮	May, 2014	897.1 - 2,691.9	0.117 - 0.352
カラマツ 当年枝	2012	55.4	0.007
樹皮	Sep, 2013	209.0 - 244.0	0.027 - 0.031
ハルニレ 当年枝	2012	256.3	0.032
樹皮	Jun, 2014	207.0	0.027
ミヤコザサ 葉	Nov, 2012	101.3	0.013

#### <シカの第一胃内容物の Cs137 濃度>

2012 年から 2014 年にかけて採取したシカの第一胃内容物の Cs137 濃度を表 4 に示した。ニホンジカの第一胃内容物の Cs137 濃度は、2012 年が 258.8 Bq/kg,Dw であったが、経年的に減少し、2014 年には 117.9 Bq/kg,Dw に減少した。

筋肉中の Cs 濃度と比較すると、移行率は 0.60 から 0.70 であったが、2014 年には逆転し、1.12 となった。この現象は、筋肉中の Cs 濃度は、採取時以前の胃内容物濃度と関係している可能性が示唆される。

表 4 . 栃木県奥日光におけるニホンジカの第一胃内容物の Cs137 濃度と移行率

年	n	シカ第一胃内容物 Bq/kg,Dw	シカ筋肉中の Cs137 Bq/kg,Dw	移行率
2012	30	258.8	155.4	0.60
2013	46	175.5	123.1	0.70
2014	26	117.9	132.6	1.12

#### <シカの直腸内容物の Cs137 濃度>

2012 年から 2014 年にかけて採取したシカの直腸内容物の Cs137 濃度を表 5 に示した。ニホンジカの直腸内容物の Cs137 濃度は、

2012 年が 489.0 Bq/kg,Dw であったが、経年的に減少し、2014 年には 377.1 Bq/kg,Dw に減少した。また、直腸内容物の Cs137 濃度は、第一胃内容物の 2.4 倍、筋肉の 3 倍に濃縮されていた。

表 5 . 栃木県奥日光におけるニホンジカの直腸内容物の Cs137 濃度 (Bq/kg,Dw)

年	n	平均	最少	最大
2012	40	489.0	313.5	843.5
2013	45	357.0	100.5	710.4
2014	27	377.1	209.2	849.2

#### <2015 年冬の男体山南斜面におけるシカの生息密度>

当地域のシカの生息密度は、2015 年 2 月の個体数調整による捕獲数と 3 月に実施された区画法による生息数調査の結果から求めた。2015 年 2 月 12 日と 25 日に実施された個体数調整では 47 頭の捕獲し、密度は 12.3 頭/km<sup>2</sup> であった。また、3 月 10 日実施した区画法では 36 頭の生息を確認し、密度は 21.8 頭/km<sup>2</sup> であった。このことから、個体数調整前の生息密度は 34.2 頭/km<sup>2</sup> で、生息数は 1,269 頭と推定された。また、捕獲個体の平均体重は 37.1 kg (n=47) であった。

#### <シカから土壌への放射性 Cs137 の還元>

土壌への還元は、シカの屍体からと糞を想定した。シカの屍体からの還元は、平均体重 (37.1 kg) と筋肉中の Cs137 濃度 (31.9 Bq/kg,FW) から、1 頭当たり 1,183 Bq と推定された。一方、糞からの還元量は、当地域のシカが季節移動することから、越冬期 (12 月から 4 月までの 151 日) と夏期 (5 月から 11 月までの 214 日) に分けて、それぞれの生息密度 34.2 頭/km<sup>2</sup>、7.9 頭/km<sup>2</sup> (定住個体数 30 頭) と 1 日の排泄量 (250g/day/頭,DW,高槻 1981) から求めた。越冬期の単位面積当たりの総排泄量は 1,291 kg/km<sup>2</sup> で、糞からの Cs137 還元量は、0.49 Bq/m<sup>2</sup> であった。また、夏期の定住個体の総排泄量は、422.65 kg/km<sup>2</sup> で、糞からの Cs137 の還元量は 0.16 Bq/m<sup>2</sup> となり、周年では、0.65 Bq/m<sup>2</sup> であった。

#### 2) シカの染色体およびミトコンドリア DNA における遺伝的変異の解析

##### <ニホンジカの染色体分析>

2012 年では 9 (9/19) 個体、2013 年 23 (23/25) 個体、2014 年 22 (22/25) 個体において染色体の中期像が得られ、これらを用いて染色体の数的異常および構造異常について解析した。当研究室の報告より、ニホンジカの染色体数は 2n=68 (有効腕数: NF=70) であり (Zhang *et al.* 1995)、核型は中部着系型染色体 1 対、端部着系型染色体 32 対および X Y の性染色体 (X: 最も大きい端部着系型染色体、Y: 次中部着系型染色体) から構成さ

れていた。今回解析した 54 個体の分析では、全ての個体において得られた中期像の 90%以上が  $2n=68$  を示し、染色体の数的異常および構造異常の出現率は、コントロール群 (Zhangらの 2011 年以前の染色体分析結果) と比較して有意差は認められなかった (図 1, 2)。

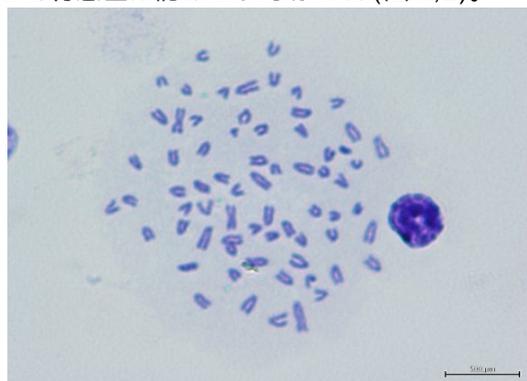


図 1 . ニホンジカ (雄) の染色体像



図 2 . ニホンジカ (雌) の染色体像

#### <ニホンジカの血液におけるセシウム濃度について>

測定した各個体のセシウム濃度に基づき、各年ごとに平均値 ± 標準偏差を算出したところ、それぞれ 2012 年では  $21.7 \pm 4.8$ 、2013 年では  $12.4 \pm 6.0$ 、2014 年では  $18.1 \pm 5.6$  であり、全て検出限界程度の値であった (図 3)。また、各年間に於いて有意な差は認められなかった。

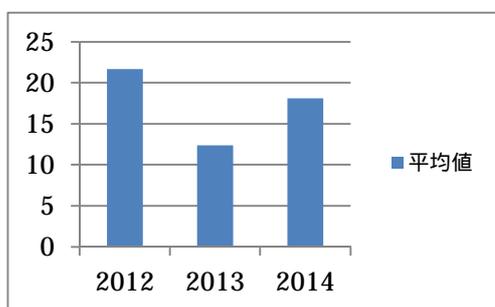


図 3 . ニホンジカの血液におけるセシウム濃度平均値 ( $^{134+137}\text{Cs}$  Bq/kg FW)

#### <ニホンジカの肝臓におけるセシウム濃度について>

ニホンジカの肝臓における放射性セシウ

ム濃度の測定結果より、各年ごとに平均値 ± 標準偏差を算出したところ、その平均値は 2012 年から 50 Bq/kg 以下と検出限界程度であった。それぞれ 2012 年では  $45.9 \pm 14.1$ 、2013 年では  $23.5 \pm 9.5$ 、2014 年では  $29.1 \pm 10.4$ 、2015 年では  $23.5 \pm 14.1$  および 2016 年では  $19.3 \pm 7.7$  であった (図 4)。

その結果 2012 年では有意差は認められなかったものの他の年より高い傾向を示した。これは  $^{134}\text{Cs}$  の半減期が 2 年である事に起因するものと考えられた。

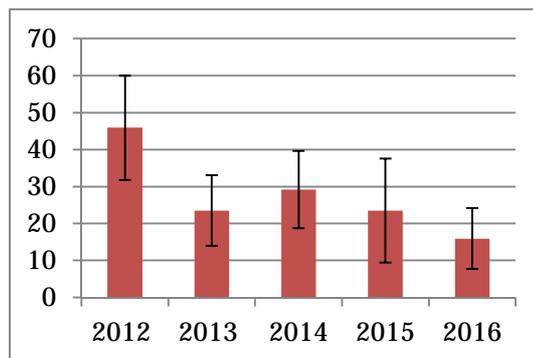


図 4 . ニホンジカの肝臓におけるセシウム濃度平均値 ( $^{134+137}\text{Cs}$  Bq/kg FW)

#### <ニホンジカ肝臓におけるミトコンドリア DNA の解析>

ニホンジカの肝臓における mtDNA のハプロタイプ解析を行ったところ、ハプロタイプ N1 ~ N5 および H (ヘテロプラスミー : 変異) の 6 タイプが観察された。各年においてハプロタイプ N1 の出現率が最も高く、次が H であり、全体に対する H の出現率は 40% 以下であった (図 5)。

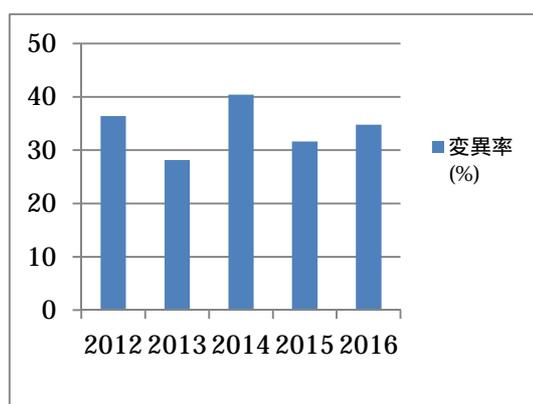


図 5 . ニホンジカの肝臓における mtDNA ヘテロプラスミー (変異) の出現率

結論 : 血液および肝臓におけるセシウム濃度 ( $^{134+137}\text{Cs}$  Bq/kg FW) は、50Bq/kg 以下であった。また、染色体分析において、2012 年以前に染色体分析したコントロールと比較して

有意差は認められなかった。ニホンジカの肝臓におけるセシウム濃度( $^{134+137}\text{Cs}$  Bq/kg FW)と mtDNA ヘテロプラスミー(変異)の出現率の間には関連性は認められなかった。

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 1 件)

1. 小金澤正昭、田村宜格、奥田圭、福井えみ子 (2013) 栃木県奥日光および足尾地域のニホンジカにおける放射性セシウムの体内蓄積、2012 年、森林立地 55(2): 99 - 104. (査読有)

[学会発表](計 12 件)

2012 年度

1. 小金澤正昭、田村宜格 (2012) 栃木県奥日光、足尾のニホンジカにおける放射性セシウムの蓄積状況 (P-144) 日本哺乳類学会 2012 年度大会、2012 - 9 - 21、麻布大学 (神奈川県・相模原市)。

2. 小金澤正昭 (2013) 栃木県奥日光、足尾のニホンジカにおける放射性セシウムの蓄積状況 (O-20)、第 124 回日本森林学会大会、2013 - 3 - 27、岩手大学 (岩手県・盛岡市)。

2013 年度

3. 小金澤正昭、田村宜格、福井えみ子 (2013) 低線量地域におけるニホンジカの体内における放射性セシウムの蓄積と濃縮排泄課程、第 29 回日本霊長類学会・日本哺乳類学会 2013 年度合同大会、2013 - 9 - 7、岡山理科大学 (岡山県・岡山市)。

4. 福井えみ子、櫻野恒平、阿久津麗、松本浩道、小金澤正昭、吉澤緑 (2013) 日光国立公園のニホンジカにおける放射線セシウムの経年的調査、関東畜産学会第 68 回大会、2013-11-15、東京大学 (東京都・文京区)。

5. 小金澤正昭、福井えみ子、田村宜格、奥田圭 (2014) 奥日光および足尾におけるニホンジカへの放射性セシウムの移行 (P1-175)、第 125 回日本森林学会、2014-3-28、大宮ソニックシティ (埼玉県・大宮市)。

2014 年度

6. 小金澤正昭 (2014) 栃木県のシカと森林における放射性セシウムの現状と課題 (F-01)、自由集会「福島原発事故後の野生哺乳類保護管理の現状と課題、日本哺乳類学会 2014 年度大会、2014-9-4、京都大学 (京都府・京都市)。

7. 福井えみ子、野間絵里、町田琴音、松本浩道、小金澤正昭、吉澤緑 (2014) 日光国立公園のニホンジカにおける放射性セシウムの経年的調査、関東畜産学会第 69 回大会、2014-11-14、東京大学 (東京都・文京区)。

2015 年度

8. Koganezawa, Masaaki, Kei Okuda, Yuuji Kodera, Emiko Fukui (2015), The Distribution and Time-Series Variations of Concentration of Radio-cesium in the Body of Wild Boars and Sika deer. Vth International Wildlife Management Congress, 招待講演該当なし、国際学会該当、2015/7/30(開催期間 7/26-30)、札幌コンベンションセンター (北海道・札幌市)。

9. Koganezawa, Masaaki, Kei Okuda, Emiko Fukui (2015) Radioactive cesium accumulation in the body of sika deer inhabiting the Oku-Nikko and Ashio regions of Tochigi prefecture during winter 2012 to 2014, 15th International Congress of Radiation Research, 招待講演該当なし、国際学会該当、2015/5/26(開催期間 5/25-29)、京都国際会議場 (京都府・京都市)。

10. 利田明日香、福井えみ子、松本浩道、吉澤緑 (2016) 日光国立公園に生息するニホンジカ個体群の肝臓 mtDNA D-loop の塩基配列同定による経年的遺伝多様度の解析、日本畜産学会 121 回大会、2016 年 3 月 27-29 日、日本獣医生命科学大学 (東京都・武蔵野市)。

2016 年度

11. 小金澤正昭、奥田圭、福井えみ子、田村宜格 (2016) 奥日光のシカにおける放射性セシウムの移行について、日本哺乳類学会 2016 年度大会、招待講演該当なし、国際学会該当なし、2016/09/25(開催期間 09/23-26)、筑波大学 (茨城県・つくば市)。

12. 張 傳強、小金澤正昭、奥田圭、松本浩道、福井えみ子 (2016) 日光国立公園のニホンジカにおける放射性セシウム濃度と遺伝的変異の経年的変化、第 47 回日本比較臨床医学会、2016 年 10 月 16 日、日本獣医生命科学大学 (東京都・武蔵野市)。

[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：  
出願年月日：  
国内外の別：

取得状況（計 0 件）

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
取得年月日：  
国内外の別：

〔その他〕  
ホームページ等

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

小金澤 正昭 (KOGANEZAWA, Masaaki)  
宇都宮大学・雑草と里山の科学教育研究センター・教授  
研究者番号： 90241851

### (2) 研究分担者

福井 えみ子 (FUKUI, Emiko)  
宇都宮大学・農学部・准教授  
研究者番号： 20208341

### (3) 連携研究者

( )

研究者番号：

### (4) 研究協力者

( )