7.5. 遺伝的分類群による野生きのこの放射性セシウム濃度の特性解析

(1) 目的

野生きのこは放射性セシウム濃度が高く福島第一原子力発電所事故以降、広い地域で出 荷制限が課されている。野生きのこの放射性セシウム濃度は子実体ごとに大きくばらつい ており、その傾向を把握することは出荷制限の見通しや自家消費による地域住民の内部被 ばくの管理のために必要である。これまでの調査によって野生きのこの放射性セシウム濃 度は属レベルで傾向が異なることが示されてきた(林野庁 2022;参考文献1)。一方で属内 でも濃度にばらつきがあることがわかっている。子実体ごとの発生環境によって放射性セ シウム濃度がばらつくことも考えられるが、同じ属内でもそれぞれの種は進化の過程で分 岐してきたものであり、属内の類縁関係によっても放射性セシウム濃度の高低にまとまり がある可能性も考えられる。野生きのこの放射性セシウム濃度の傾向が属内の類縁関係に よって区分できれば、これまで採取していない種や検体数の少ない種の放射性セシウム濃 度の把握が容易になることが期待される。そこで種の同定や属内の類縁関係を調べるため に用いられる rDNA の ITS (Internal transcribed spacer)領域によって系統樹を作成し、属内 の遺伝的な類縁関係と放射性セシウム濃度の類似性について把握することを目的とした。

さらに、野外環境においてきのこ種の放射性セシウム濃度を決める要因として、放射性セ シウムを吸収する土壌の深さの違いが指摘されているが、これまで十分な検証が行われて いない。そこで安定同位体比に着目した。土壌中の窒素安定同位体比(δ¹⁵N)や炭素安定同 位体比(δ¹³C)は深さによって高まることが知られており、野生きのこについても養分を吸 収する土壌深さの指標となることが期待される。そこで野生きのこによる放射性セシウム 吸収に土壌深度が及ぼす影響を推定するための基礎資料として、野生きのこの窒素及び炭 素の同位体比を測定し、放射性セシウム濃度との関係を検討した。

(2) 方法

1)野生きのこの遺伝子解析

2014 年度から 2021 年度にかけて、福島県飯舘村のあいの沢キャンプ場(以下、飯舘)と 茨城県北茨城市の小川試験地(小川)で採取されたテングタケ属(Amanita sp.)及びフウセ ンタケ属(Cortinarius sp.)の子実体を材料とした。試料の放射性セシウム濃度は過去に測定 済みである。測定済み乾燥試料または乾燥標本より DNA を 2xCTAB 法により抽出した。抽 出した DNA テンプレートを ITS 1F 及び ITS 4 のプライマーセットにより PCR を行った。 増幅試薬として BIOTAQ DNA polymerase を用いた。増幅した DNA のバンドを電気泳動で 確認した後、exoSAP IT で精製し、サンガーシーケンスによって増幅 DNA の塩基配列を決 定した。取得した配列はテングタケ属、フウセンタケ属ごとにまとめ、MAFFT によりマル チプルアライメントを行なった後に、IQ-TREE を用いて最尤法による分子系統解析を行な った。塩基置換モデルは IQ-TREE に実装されている smart model selection の結果に従い、分 岐サポートは SH-aLRT の値を用いた。 樹形は iTOL で可視化して 0.7 以上のサポートのみ表示した。

2)野生きのこの窒素及び炭素安定同位対比の測定

2021 年度の調査で Cs-137 濃度を測定した子実体 30 検体(飯舘で採取した 10 検体と小川 で採取した 20 検体)を分析に用いた。乾燥した試料を粉砕し、検体ごとに約 1.5 mg を錫カ プセルに秤量し、元素分析計(FlashEA1112; Thermo Fisher Scientific)を接続した質量分析計

(Thermo Scientific Delta V Advantage; Thermo Fisher Scientific) によって窒素及び炭素安定同 位体比を測定した。

安定同位体比は、標準物質の安定同位体比からの差異を千分率で示すδ(デルタ)値で定 義され、以下の式で表現する。

 δ^{13} C, δ^{15} N (‰) = (R _{武料}/R _{標準物質} - 1) ×1000

 $R = {}^{13}C/{}^{12}C, {}^{15}N/{}^{14}N$

炭素安定同位体比は海水中の HCO₃⁻とほぼ同じ同位体組成をもつ炭酸カルシウム(VPDB) を、窒素安定同位体比は大気中の窒素ガスを標準物質としている。標準物質を同時に測定し た結果から、測定誤差はδ¹³C が±0.1‰(SD)、δ¹⁵N が±0.2‰(SD)であった。

(3)結果

1)野生きのこの遺伝子解析

図 7.5.-1 にテングタケ属の、図 7.5.-2 にフウセンタケ属の本解析によって得られた系統樹 を示した。系統樹には採集地、濃度、10 倍間隔の濃度範囲がわかる色づけを検体ごとに示 した。また系統樹のクラスターを基にテングタケ属は5つのグループに(al-a5)、フウンセ ンタケ属は4つのグループ(cl-c4)に分けた。

テングタケ属について見ると、グループごとに濃度の傾向が分かれていた。グループ al, a3,a4 は緑から赤の Cs-137 の濃度区分(小川で 10³-10⁵ Bq/kg,飯舘で 10⁴-10⁶ Bq/kg)のもの が多く、テングタケ属の中で高い検体が多く集まっていた。一方グループ a2 は青色の検体 (小川で 10³ Bq/kg 未満、飯舘で 10⁴ Bq/kg 未満)が多く低濃度の検体が集まっていた。グル ープ a5 については高濃度の検体と低濃度の検体が混在していた。またグループ内でも ITS 領域の相同性が高く(分岐後の幅が短い)同種と見なして良いような場合 Cs-137 濃度値の 傾向も近かった。

フウセンタケ属について見ると、全体的にテングタケ属よりも濃度が高かった。グループ c1 のみ緑に区分される検体が多く、相対的に濃度の低い個体が多く集まっていた。残りの グループ c2、c3、c4 は赤と紫(小川で 10⁴ Bq/kg 以上、飯舘で 10⁵ Bq/kg 以上)の検体がほ とんどを占めており、全体的に濃度が高い傾向があった。テングタケ属と同様に相同性の高 い検体で Cs-137 濃度値が近い場合が多く認められた(例えば、グループ c4 の M1940-2, M1028-3, M0926 の 3 検体など)。



図 7.5.-1 小川(赤字)及び飯舘(黒字)で採取したテングタケ属の rDNA の ITS 領域に基づく最尤系統樹

Mxxx は検体番号を示し、括弧内の数字は Cs-137 濃度(Bq/kg 乾重)を表す。系統樹によって5つのグループに分けた(al-a5)。採集地ごとに10倍単位の濃度区分によって色分けした丸を付けた。節(枝分かれ部)はITS領域の結果に基づいて推定された属内の遺伝的な分岐を表し、分岐後の枝の横方向の長さは分岐した枝間の遺伝的な距離を表す。青色の数値は分岐が支持されたブートストラップ確率を表す。



図 7.5.-2 小川(赤字)及び飯舘(黒字)で採取したフウセンタケ属の rDNA の ITS 領域に 基づく最尤系統樹

Mxxx は検体番号を示し、括弧内の数字は Cs-137 濃度(Bq/kg 乾重)を表す。系統樹によって4つのグループに分けた(c1-c4)。採集地ごとに10倍単位の濃度区分によって色分けした丸を付けた。節(枝分かれ部)はITS 領域の結果に基づいて推定された属内の遺伝的な分岐を表し、分岐後の枝の横方向の長さは分岐した枝間の遺伝的な距離を表す。青色の数値は分岐が支持されたブートストラップ確率を表す。

2) 野生きのこの窒素及び炭素安定同位体比と Cs-137 濃度の関係

図 7.5.-3 に窒素安定同位体比と Cs-137 濃度の関係を、また図 7.5.-4 に炭素安定同位体比 と Cs-137 濃度の関係を示した。図では、種ごとの生活タイプ(栄養分の摂取方法に基づく 区分)によって色分けした。野生きのこの窒素安定同位体比は生活タイプによって大きく異 なった。すなわち、小川と飯舘の両調査地で菌根菌(樹木と共生して養分を得るタイプ)の きのこで高く、木材腐朽菌や落葉分解菌(枯れ木や落ち葉を分解して養分を得るタイプ)で 低い傾向があった。一方、炭素安定同位体比について飯舘では菌根菌で低く、木材腐朽菌で 高い傾向が認められたが、小川では同位体比が小さい木材腐朽菌もあり傾向は明確ではな かった。

Cs-137 濃度と安定同位体比の関係を見ると線形的な関係は認められなかった。



図 7.5.-3. 2021 年に小川及び飯舘で採取された野生きのこの窒素同位体比(δ¹⁵N)と Cs-137 濃度の関係



図 7.5.-4. 2021 年に小川及び飯舘で採取された野生きのこの炭素安定同位体比(δ¹³C)と Cs-137 濃度の関係

(4) 考察

放射性セシウム濃度が高いことに加え、検体ごとに大きくばらつく野生きのこについて、 その濃度傾向を属内の遺伝的類縁関係や窒素及び炭素安定同位対比によって説明可能かを 検討した。類縁関係については、これまで調査分析したきのこ試料の遺伝子解析を行うこと で、属内の種や類縁関係と放射性セシウム濃度の関係について解析した。多様な種が得られ やすいテングタケ属とフウセンタケ属を材料としたところ、実際に幅広く分岐した樹形図 を得ることができた(図7.5.-1,7.5.-2)。同じ調査地で採取された同属のきのこであっても、 Cs-137 濃度は 100 倍以上ばらつくことが確認された。なお過去の報告書(林野庁 2022;参 考文献1)で報告したように、平均的にみると小川より飯舘で採取した野生きのこの Cs-137 濃度が高く、テングタケ属よりもフウセンタケ属の検体の濃度が高いことがわかる。

分岐がほとんど無い、同種と推察される検体の Cs-137 濃度を比較すると、10 倍の範囲に 入ることが多かった。種内の濃度のばらつきは属内のばらつきに比べると小さいことがわ かる。また系統樹上でより近くで分岐することから遺伝的に近いと推察される検体をグル ープとしてまとめたところ、グループごとにある程度似た傾向があることが示された。属内 でも遺伝的に近い種で Cs-137 を集積する能力が似通っているということが予想される。一 方でテングタケ属のグループ a4 や a5 において同種内では濃度傾向が似通っているものの、 種間では 10 倍以上濃度が異なるケースも認められた。検体ごとのばらつきもあることから、 種内、種間の関係をより明瞭にさせるためにはさらに検体を増やし調査分析を行う必要が ある。

安定同位体分析の結果、窒素同位体比は菌根菌と木材腐朽菌で異なることが確認された。 これは一般的に知られている事象である(Hobbie and Högberg 2012;参考文献 2)。一方で炭 素及び窒素同位対比と Cs-137 濃度の間には明瞭な関係は確認されなかった。今回小川と飯 舘で採取された多様な種を材料として用いた。同位対比は基質や土壌の深度によって変わ るだけでなく、基質の栄養条件によっても同位体の分別(重さの異なる同位体の吸収割合が 変わる現象)が起こることがわかっている。特に菌根菌では土壌中での菌糸の発達様式 (exploration type)によって窒素安定同位体比が変化する可能性が示されている(Hobbie and Agerer 2010;参考文献 3)。Cs-137 濃度との関係が明瞭で無かった理由として、属レベルで

の同位体比に及ぼす影響が大きかった可能性が考えられる。そこで今後菌糸の発達様式が 類似している可能性が高い同属内での比較検証を行う必要がある。

参考文献

- 1. 林野庁(2022) 森林生態系における特用林産物に係る調査-野生きのこの放射性セシ ウム吸収メカニズムの解明-. 令和 3 年度森林内における放射性物質実態把握調査事 業報告書, pp. 60-75.
- 2. Hobbie EA, Högberg P (2012) Nitrogen isotopes link mycorrhizal fungi and plants to nitrogen dynamics. New Phytologist 196: 367-382.

3. Hobbie EA, Agerer R (2010) Nitrogen isotopes in ectomycorrhizal sporocarps correspond to belowground exploration types. Plant Soil 327: 71-83.

7.6. 萌芽更新した落葉広葉樹の放射性セシウム濃度調査

(1) 目的

福島県は、コナラを主要樹種とした全国有数のしいたけ等原木供給地域であった(福島県, 2013;参考文献1)が、2011年3月に発生した福島原発事故に伴う放射性物質のフォールアウトにより広範囲に汚染され、事故から11年が経過した現在においても、しいたけ等原木の主要産地であった阿武隈山系における原木用各種広葉樹材部の放射性セシウム濃度は、指標値50 Bq/kg(林野庁, 2011;参考文献2)を超過している。

フォールアウトの影響を直接受けた立木については、樹皮表面等の外部汚染の影響が大 きい(Coppin et al., 2019;参考文献 3)ため、汚染された原木林を伐採し萌芽更新を図るこ とで直接汚染の影響を少なくする対策が考えられるが、切り株に残存もしくは根から吸収 される放射性セシウムの影響は不明な点が多い。萌芽更新したコナラの当年枝(その年に新 たに伸びた枝のこと。当年枝は葉が直接出ている、冬芽がついていることで見分けられる) は、1年生から6年生までで放射性セシウム濃度に個体間の差が大きいと報告(福島県農林 水産部森林計画課, 2019;参考文献 4)され、このばらつき要因や6年生以降の継続期間に ついて検討する必要がある。また、コナラ以外のしいたけ等原木用樹種については、クヌギ の萌芽枝の放射性セシウム濃度がコナラよりも低いとの報告例(福島県, 2021;参考文献 5) があり、樹種間の違いについても明らかにする必要がある。

そこで、しいたけ等原木用広葉樹の取扱いを検討するため、事故直後に萌芽更新した阿武 隈山系の落葉広葉樹林において、コナラ等のしいたけ等原木として利用可能な樹種及び大 きさの樹木の樹皮部と材部の放射性セシウム濃度ならびに土壌の放射性セシウム濃度を測 定した。

2021年度調査(林野庁,2022;参考文献6)では、同一林分でコナラ、クヌギ、ナラガシ ワを7本ずつ測定したところ、樹皮、材ともに樹種による放射性セシウム濃度の違いは認め られず、個体間の放射性セシウム濃度のばらつきは大きく、また、各個体の樹皮と材濃度の 相関は高いとの結果を得た。樹種による濃度の違いならびに個体によるばらつきの要因に ついては測定数を増やして検討していく必要が認められた。このため、今調査では2021年 度と同林分でさらに同数程度の萌芽木を調査することとし、調査木の立地条件による放射 性セシウム濃度の違いについても考察した。

(2)調査方法

調査地は、福島第一原子力発電所から西方約 25 km (N37°26'45"、E140°46'44") に位置す る福島県田村市都路古道地内の面積 2.09 ha の落葉広葉樹林である (図 7.6.-1)。林相は、コ ナラ、クヌギ、ナラガシワ、クリ、ヤマザクラ等が混交する 12 年生単層林で、西向きに傾 斜し、林相界は東側と南西側の尾根に位置し、中央は谷、西側は斜面下の平地となっている。 第1次航空機モニタリング (2011 年 4 月) では放射性セシウム蓄積量 1,000~3,000 kBq/m²、 地表面から1m高さの空間線量率3.8~9.5µSv/h、2022年11月7日時点での林分内23地点 における空間線量率は0.18~0.27µSv/hであった。本林分では、上記に挙げた樹種をしいた け等原木として利用するため3~4 齢級での皆伐による萌芽更新を繰り返し、2011年2月中 旬に皆伐作業が完了し、2011年3月の事故時点では萌芽枝が発生していなかった。事故後 は、本数調整伐等は行われず、試料採取直前の2021年3月に本数調整伐が行われた。

樹皮と材の試料採取は、調査林分の2021年度未調査のエリアを対象として2022年11月 に行い、対象樹種はしいたけ等原木として利用可能な樹種のうち試料採取エリアで優占度 が高いコナラ、クヌギ、クリとした。調査時における調査木の胸高直径は、コナラ11.7(10 ~14) cm(平均値(測定値最小~最大):以下同じ)、クヌギ13.0(11~16) cm、クリ9.1(8 ~12) cmであった。また、試料採取エリアの地形は、南西側林相界付近の尾根部(以下、 尾根部)と尾根部から見て斜面下部に位置する谷及びそれに続く平地(以下、斜面下部)に 大別できるため、コナラを尾根部と斜面下部から5株ずつ、クリを尾根部から4株、斜面下 部から3株選定した。クヌギは尾根部に生育していなかったため斜面下部のみから6株選 定した(図7.6.-2)。樹皮の採取は、各切り株から発生した複数の萌芽木のうち、胸高直径が 最も大きい1本の樹高0.5m部分において、7 cm×7 cm角の樹皮をノミで切り取り、材は、 樹皮の採取箇所において、径12 mmの木工ドリルにより深さ5 cm×3回穿孔して得られる 木屑を採取した。土壌試料は、各調査株周囲の3カ所で25 cm×25 cmの方形内の落葉層及 び深さ0-5 cmの鉱質土壤層を採取した。鉱質土壌層の採取は、内径11 cm×高さ5 cmの採 土円筒(大起理化製 DIK-1815-11)を用いた。

採取した樹皮及び材は、ワンダークラッシャー(大阪ケミカル社製WC-3)を用いて3mm 以下程度に粉砕し、105℃で24時間乾燥後、乾燥重量を測定し100mLのU-8容器に充填し、 ゲルマニウム半導体検出器によるガンマ線スペクトロメトリ法により放射性セシウム濃度 (Cs-137、Cs-134濃度合算)を測定した。また、落葉層は剪定鋏で細断して試料とし、20mL のバイアル容器に充填した後、NaIシンチレーション測定器で放射性セシウム濃度を測定し た。さらに、鉱質土壌層は、風乾後に2mmのふるいにより礫と根を除去し、ゲルマニウム 半導体検出器により放射性セシウム濃度を測定した。測定時間は、樹皮と材については計測 誤差10%以下の条件でCs-137が検出されるまで1,807~86,418秒間測定し、落葉層は3,600 秒間、鉱質土壌層は6,000秒間とした。なお、2022年9月1日を基準として測定日における 定量値を減衰補正した。また、Cs-134濃度が検出されない場合は、2011年3月15日時点の Cs-134濃度とCs-137濃度の比を1:1とし(Buesseler et al., 2011;参考文献15)、各々の物 理学的半減期に従った減衰に基づく理論的な推定式から計算されたCs-134濃度とCs-137濃 度の比を用いて、各年9月1日時点のCs-137濃度からCs-134濃度を推定した。





図 7.6.-2 調査地の概況、調査木の位置

(3) 結果及び考察

生育する地形で区分しない全調査木の放射性セシウム濃度は、コナラ樹皮は 781 (134~ 1,591) Bq/kg (平均値 (測定値最小~最大):以下同じ)、コナラ材は 377 (58~895) Bq/kg、 クヌギ樹皮は 148 (38~331) Bq/kg、クヌギ材は 167 (54~368) Bq/kg、クリ樹皮は 774 (115 ~1,509) Bq/kg、クリ材は 180 (11~425) Bq/kg で、コナラ樹皮、コナラ材の最大値と最小 値の差は 2021 年度調査 (林野庁, 2022;参考文献 6) より大きかった。また、コナラ樹皮 とクヌギ樹皮の放射性セシウム濃度には統計的に有意な違いが確認され (Tukey の多重比較 検定:p<0.05)、2021 年度の樹種間の違いが認められなかった調査結果と相違した。しかし、 生育する地形を区分して検定を行うと、尾根部におけるコナラとクリ (図 7.6.-3、図 7.6.4)、 斜面下部におけるコナラ、クヌギ、クリ (図 7.6.-5、-6) の樹種間の放射性セシウム濃度に 樹皮、材とも統計的な違いは認められなかった (Tukey の多重比較検定:p>0.05)。これら の結果より、原発事故後に萌芽更新したしいたけ等原木用樹種は、生育場所の違いにより放 射性セシウム濃度が変化する可能性が認められたが、樹種による放射性セシウム濃度の傾 向については地形等の条件が等しい場合の放射性セシウム濃度の違いは確認されなかった。 生育場所の影響があることから、隣接する個体同士で比較する等、より厳密に検証する必要 が認められた。

樹皮と材の放射性セシウム濃度の関係は、コナラが R²=0.83、クヌギが R²=0.96、クリが R²=0.87 と 3 樹種ともに相関が高かった(図 7.6.-7)。この結果は、コナラ、クヌギ、ナラガ シワによる 2021 年度調査結果(林野庁, 2022;参考文献 6)と同様であり、原発事故後に 萌芽更新し直接汚染がないしいたけ等原木用樹種の個体ごとの放射性セシウム濃度は、樹 皮、材間の一定の傾向のもとで個体ごとにばらつくことが考えられた。しかし、2021 年度 の樹皮と材の濃度の間にコナラ、クヌギ、ナラガシワともに統計的有意差が認められなかっ た結果と異なり、今年度の調査ではコナラ、クリで樹皮の放射性セシウム濃度が材よりも有 意に高かった(t検定(対応):p<0.01)。このことから、樹皮の形状や組織構成等の樹種に よる違いや試料採取木の生育する地形により樹皮と材の放射性セシウム濃度が異なる可能 性が考えられた。今後、樹種及び個体ごとの放射性セシウム濃度の相違の要因を精査してい く必要がある。

調査地における落葉層と鉱質土壌層の放射性セシウム濃度、及び放射性セシウム蓄積量 は表 7.6.-1 のとおりであった。これらの土壌の放射性セシウム濃度、蓄積量と各樹種の樹皮 及び材の放射性セシウム濃度との間に関係性は認められなかった。このため、個体間の放射 性セシウム濃度のばらつき要因について検討するために、今後、測点及び調査項目を追加し 継続的に調査していく必要がある。

71







図 7.6.-4 尾根部における樹種ごとの材の放射性セシウム濃度 ※誤差範囲は標準誤差。同じアルファベット同士には統計的に有意な違いがない







図 7.6.-6 斜面下部における樹種ごとの材の放射性セシウム濃度 ※誤差範囲は標準誤差。同じアルファベット同士には統計的に有意な違いがない



図 7.6.-7 樹皮と材の放射性セシウム濃度の関係

項目	平均值	
	(最小~最大)	n
堆積有機物層放射性Cs濃度	2308.23	
(Bq/kg)	(913.8~5300.6)	23
鉱質土壤層放射性Cs濃度	6780.38	
(Bq/kg)	(2632.7~14679.3)	23
放射性Cs蓄積量(^{堆積有機物層} 、	65.80	
鉱質土壤層合計) (kBq/m ²)	(40.5~96.2)	23

表 7.6.-1 土壌の放射性セシウム濃度と放射性セシウム蓄積量

参考文献

- 1. 福島県(2013) 平成 23 年度福島県森林・林業統計書:I3-6
- 林野庁(2011)きのこ原木および菌床用培地の当面の指標値の設定について(平成 23 年10月6日)
- Coppin,F,Hurtevent,P,Loffredo,N,Simonucci,C,Julien,A,Conze,M,Nanba,K,Onda,Y and Thiry,
 Y (2019) Radiocaesium partitioning in Japanese cedar forests following the "early" phase of
 Fukushima fallout redistribution, Scientific Reports, DOI:10.1038/srep37618
- 4. 福島県農林水産部森林計画課(2019)福島県森林における放射性物質対策実証事業結果:47-61
- 5. 福島県(2021)放射性物質対策関連の委託事業報告書: 122-142
- 6. 林野庁(2022)令和3年度森林内における放射性物質実態把握調査事業報告書:76-82
- Buesseler K, Aoyama M, Fukasawa M (2011) Impacts of the Fukushima Nuclear Power Plants on marine radioactivity. Environmental Science & Technology45 : 9931-9935