

珪砂栽培法による植物のウラン吸収特性試験

— Phytoremediation 植物の選定 —

橋本 洋平¹⁾, Lester G. BOYSE²⁾, April L. ULERY²⁾, 田島 淳³⁾

¹⁾Department of Soil Science, North Carolina State University
(Campus Box 7619, Raleigh, NC, USA 27695)

²⁾Department of Agronomy and Horticulture, New Mexico State University
(Las Cruces, NM, USA 88003)

³⁾東京農業大学地域環境科学部
(〒156-8502 東京都世田谷区桜丘1-1-1)

[平成17年3月3日受理]

Screening of Potential Phytoremediation Plants for Uranium-contaminated Soils: A Sand Culture Method and Metal-removal Model

Yohei HASHIMOTO¹⁾, Lester G. BOYSE²⁾, April L. ULERY²⁾ and Kiyoshi TAJIMA³⁾

¹⁾Department of Soil Science, North Carolina State University
(Campus Box 7619, Raleigh, NC, USA 27695)

²⁾Department of Agronomy and Horticulture, New Mexico State University
(Las Cruces, NM, USA 88003)

³⁾Department of Bioproduction and Environmental Engineering,
Tokyo University of Agriculture
(1-1-1 Sakuragaoka, Setagaya, Tokyo 156-8502)

[Received March 3, 2005]

Summary

Using appropriate plants that are highly capable of accumulating uranium (U) is required for the success in phytoremediation of U-contaminated soil. The objectives of this study were to screen plants capable of U accumulation in the aboveground plant tissue and to find the trend of U accumulation among the plant families by using a sand culture method. In a laboratory setting with grow lights, each plant species was grown in 3 cm of sterilized silica sand that was amended with the nutrient solution. Four days before the plant harvest, the sand was treated with 50 mg U l^{-1} solution including a U weathering product dissolved in citric acid. A total of 32 plant species from 5 families were screened and found to accumulate from 4 to 416 mg of U per kg dry tissue weight. Plant species in *Chenopodiaceae* and *Fabaceae* had the highest mean U concentrations while plants in *Poaceae* accumulated less U than the dicotyledonous plants tested. Based on the result of sand culture screening, the plants for phytoremediation of U-contaminated soils could be selected by using a mathematical model related to plant characteristics (e.g. biomass and planting density) to predict a long-term U-removal rate from the soil.

Key words: bioremediation, heavy metal, hyperaccumulator, phytoextraction, soil contamination

1. はじめに

植物の生理的機能を環境改良技術に応用した Phytoremediation は、重金属および放射性同位元素により汚染された土壌の改良方法としての有効性が注目されている。Phytoremediation は、現行の土木工学的な土壌改良技術と比較し、土壌掘削や攪乱に伴う粉塵の発生を最小限にすることが可能である技術特性から、特に放射能かつ化学的性質から環境毒性が懸念されるウラン汚染土壌の改良技術として、安全性、公共性、経済性に優れた技術であることが指摘されている¹⁾。

ウランによる土壌汚染は、主として核産業 (Chernobyl 原発事故²⁾, 東海村臨界事故³⁾, 鉱業 (ウラン廃滓⁴⁾, 農業 (肥料中のウラン残渣⁵⁾, 軍事活動 (紛争地域⁶⁾, 軍事施設⁷⁾) に付随して発生する。このうち、軍事的要因によるウラン土壌汚染の多くは、劣化ウランを合金化し砲弾などの兵器として使用することに起因し、その結果広大な地域の大気や土壌の汚染を誘発する。劣化ウランは、天然ウランの濃縮過程で発生する残渣であり、放射能が天然ウランの約60%⁸⁾であることから、その名称は放射能的な劣化を意味する。ウランによる汚染事例を挙げれば、アメリカ合衆国の軍事施設 (Fernald Environmental Management Project, OH) では、2,000,000m²もの土壌がウランにより汚染され、ウラン濃度が自然状態 (3 ppm) の約20倍に達していることが報告されている⁹⁾。このように汚染地域が広範に及ぶウラン汚染土壌は、経済性および周辺環境への安全性から、Phytoremediation の適用による汚染除去が研究されている^{1,10)}。

Phytoremediation をウランや鉛などの溶解性の低い重金属汚染土壌に適用する場合には、これらの重金属を溶解し植物への可給性を向上させる目的で、キレート化合物を土壌添加する方法が研究されている¹⁰⁻¹²⁾。土壌中に存在する金属の溶解性すなわち植物可給性は、土壌溶液の pH と溶解金属の存在形態に支配される。例えば、溶液中の主なウラン形態は、 UO_2^{2+} (pH < 5), UO_2OH^+ (pH ~ 7), $UO_2(CO_3)_3^{4-}$ (pH > 8) が挙げられる¹³⁾。ウラン汚染土壌の Phytoextraction には、クエン酸の土壌添加が植物のウラン吸収を促進させることが確認されている¹⁴⁾。クエン酸がウランの植物可給性を向上させる効果としては、土壌溶液の pH 低下に伴う UO_2^{2+} の存在比の増加¹⁵⁾, あるいはウラン-クエン酸の錯体形成¹⁶⁾ によると推定されている。

Phytoremediation に適した植物の生理特性には、根圏からのウラン吸収と、茎および葉組織へ汚染金属を転移し、蓄積する能力に優れることが挙げられる。これらの生理的特性を顕著に有する植物は、Hyperaccumulator と定義され、例えばウラン Hyperaccumulator としては、*Atriplex*

confertifolia Torr. & Fremont (アカザ科ハマアカザ属) が報告されている¹⁶⁾。しかし、一般に Hyperaccumulator は、一般植物と比較して生体量が寡少で生育が遅いため¹⁷⁾, 汚染重金属の除去効率を議論する場合には、単位面積当たりの生体量、特に茎葉部や播種後の単位期間当たりの生体量を考慮することが重要であると考えられる。特に前述した *A. confertifolia* は、複雑な種子の休眠機構を有するため、人為的に発芽させることが困難である¹⁸⁾。一般に Hyperaccumulator の生育環境、防除管理、育種・生理特性については明確でない¹⁹⁾。したがって、土壌汚染現場での Phytoremediation の実施以前に、多岐に及ぶ植物の栽培試験により、系統分類 (科および属) に基づくウラン吸収の傾向を特定し、その試験結果に加え、栽培特性を把握したうえで Phytoremediation 植物を選択する必要がある。

植物のウランあるいは重金属吸収能力を評価する方法は、専ら水耕あるいは珪砂栽培法を用いて試験されている^{14,15,20,21)}。これらの方法は、土壌栽培と比較して施肥や石灰による土壌の化学性や養分の調整を必要としないため、多岐に及ぶ植物種の選別を迅速に実施することが可能である。一方、汚染金属がウランの場合、汚染現地の土壌を用いて、施設内における植物生育試験を実施することは、一般に困難であるといえる。環境毒性が懸念される重金属汚染土壌、特にウランのような放射性物質は、安全および環境への配慮から、現地への立ち入り、土壌の掘削による有害粉塵の発生、および汚染土壌を屋内へ大量に搬入することが厳しく制限される。このような理由から、珪砂および水耕栽培法は、しばしば土壌栽培の代替として採用される。

珪砂栽培法は、水耕栽培法に欠如している実験処理上あるいは栽培環境上の利点を有している。一般に、珪砂栽培法に使用する重金属やウランの溶液量は、水耕栽培法よりも少ないため、実験後の廃液処理が比較的簡易で安全であるといえる。さらに、珪砂栽培は水耕栽培よりも、実際の植物生育に近似した環境を再現でき得る特性において有利であると考えられる。つまり、珪砂栽培の特徴は、植物と溶解金属の相互作用において重要な要素である、土壌 Matrix 効果を有することであり²²⁾, これは水耕栽培において再現することができない。土壌 Matrix 効果により生じる、植物根圏とウランの主な相互作用としては、(1) 根圏へのウランの拡散速度の低下、(2) 根表面におけるウラン析出および溶解が挙げられる。つまり、土壌溶液中におけるウランと植物根の物理的な交絡が、根圏のウラン濃度を変化させ、植物のウラン吸収量に影響し得る因子であるといえる。

本報では珪砂栽培法を用い、葉茎組織にウランを高濃度に蓄積可能な植物、ならびに種あるいは科におけるウラン吸収の傾向を特定することを目的とした。さらに、

本研究により得られた結果を基に、実際の汚染土壤に適用する Phytoremediation 植物の選定方法を提言した。

2. 材料および方法

2.1 珪砂栽培および供試植物

選択した試験植物（5科32種）は、必須養分溶液（栄養液）を添加した珪砂上で栽培され、これらのウラン吸収能を評価した。珪砂（186g, 0.5mm particle size）を透明の容器に3 cmの深さに敷き、植物必須元素を含有する栄養液（36mℓ）を添加した。栄養液は、Hoagland and Arnon²⁹を参考にして調製した（Table 1）。栄養液の添加後、容器を密閉し、1時間の高圧蒸気殺菌により容器内の微生物の繁殖を抑制した。容器温度が室温まで低下してから、滅菌施設内において各植物の種子を珪砂上に播き、殺菌した珪砂で種子を被覆した。種子の発芽後、実験室内において日照時間を管理した（Photoperiod: 12 hrs day-night; Temperature: ~25°C; Light intensity: 262±30 μmol m⁻² s⁻¹）。実験に採用した植物は、アブラナ科 (*Brassicaceae*)、アカザ科 (*Chenopodiaceae*)、キク科 (*Compositae*)、マメ科 (*Fabaceae*)、イネ科 (*Poaceae*) の各科より、入手可能な種子を優先して無作為に選択した。各植物とも3以上の繰り返しにより栽培した（Table 2 参照）。

供試植物の生育がウラン分析に可能な生体量に達したと判断した時点で（草丈10cmまたは生育期間30日前後）、容器内の珪砂にウラン溶液を添加した。ウラン溶液は、合衆国南西部におけるウラン汚染土壤から採取した Schoepite [(UO₂)₈O₂ (OH)₁₂ · 12H₂O] を25mmol ℓ⁻¹クエン酸溶液に溶解し、この溶液中のウラン濃度を50mg ℓ⁻¹に調製した。クエン酸を溶媒として適用した理由は、ウランとリンの化合物の生成とその析出を抑制し、ウランの溶解性を向上させるためである。さらに、植物による土壤ウランの吸収は、クエン酸の土壤添加により飛躍的に向上する傾向があり²⁴⁻²⁶、ウランの Phytoremediation 植物を選定するための栽培試験では、このようなクエン酸の土壤添加を再現した方法を適用することが重要であると考察した。また、これらの研究報告は、クエン酸溶液の土壤添加から植物収穫の期間を1週間以内に設定していたため、本研究ではこれを4日間とした。ウラン溶液の添加手順は、まず珪砂中に残留している栄養液をスポイトにより除去し、次にウラン溶液を添加して珪砂の間隙を飽和させた後、過剰なウラン溶液をスポイトにより除去するという一連の処理を3回繰り返すという行程を採用した。この手順により、各容器の珪砂の間隙に存在する栄養液をウラン溶液により完全に置換し、全ての栽培容器における珪砂中のウラン濃度（3.41mg kg⁻¹）が均一になるよう処理した。

Table 1 Composition of nutrient solution used to grow plants

Chemicals	Amount g ℓ ⁻¹	Remarks
Stock A		
KNO ₃	50.3	Mix thoroughly in ~800 mℓ water
KH ₂ PO ₄	28.8	
MgSO ₄ 7H ₂ O	50.3	Dissolve H ₃ BO ₃ in hot water, then cool. Mix all micronutrients in ~100 mℓ water and add to the 800 mℓ water above. Bring to 1 ℓ volume
H ₃ BO ₃	0.28	
MnSO ₄ H ₂ O	0.15, 0.42	
Mn (Seq) (12%)		
ZnSO ₄ 7H ₂ O	0.022	
CuSO ₄ 5H ₂ O	0.005	
MoO ₃	0.003	
Stock B		
CaNO ₃ 4H ₂ O	107.9	Dissolve separately, then mix and bring to 1 ℓ volume
Fe (Seq) (10%)	5.0	

The final solution used for growing plants was prepared by adding 5 mℓ of Stock A and Stock B solutions and bringing to 1 ℓ with deionized water.

2. 2 化学分析および統計解析

ウラン溶液の添加後から5日目に、植物を地表面から0.5cmの位置で切断し、葉茎部を収穫した。葉茎部は純水で洗浄し、付着している珪砂を除去した後、炉乾燥

(48hours at 65°C)させた。乾燥後の試料を粉碎して0.25gを秤量し、これに高純度の濃硝酸5mlを添加し、マイクロウェーブ試料分解装置 (CEM Corporation, NC) により溶液化した。処理後に得られた溶液をろ紙

Table 2 Uranium concentration in plant species within a family

Name/Family	Genus species	[U]§ mg U kg ⁻¹ dry weight	SE†	n‡
<i>Brassicaceae</i>				
Tansy mustard	<i>Descurainia pinnata</i> (Walt.) Britt.	286 a	77.7	4
Wild candytuft	<i>Thlaspi alpestre</i> L.	134 ab	25.1	5
London rocket	<i>Sisymbrium irio</i> L.	114 b	23.3	4
Desert plume	<i>Stanleya pinnata</i> (Pursh) Britt.	100 b	65.5	4
Radish	<i>Raphanus sativus</i> L.	20 b	3.5	3
<i>Chenopodiaceae</i>				
Fourwing saltbush	<i>Atriplex canescens</i> (Pursh) Nutt.	244 a	16.2	4
Swiss chard	<i>Beta vulgaris</i> L.	199 a	28.2	4
Kochia	<i>Kochia scoparia</i> (L.) Schrad.	184 a	12.6	4
Spinach	<i>Spinacia oleracea</i> L.	162 a	57.3	4
<i>Compositae</i>				
Lettuce	<i>Lactuca sativa</i> L.	416 a	42.1	4
Desert baileya	<i>Baileya multiradiata</i> Harv. & A.Gray in Emory	353 a	25.8	4
Purple aster	<i>Aster bigelovii</i> A.Gray	159 b	45.9	3
Brittle bush	<i>Encelia farinosa</i> A.Gray ex Torr.	91 bc	14.5	4
Purple coneflower	<i>Asteraceae Echinacea purpurea</i> (L.) Moench	80 c	29.3	3
New Mexico sunflower	<i>Helianthus maximiliani</i> Schrad.	50 c	4.4	4
Blackeyed susan	<i>Rudbeckia hirta</i> L.	49 c	10.5	4
<i>Fabaceae</i>				
Loco weed	<i>Oxytropis lambertii</i> Pursh	345 a	69.5	4
Alfalfa	<i>Medicago sativa</i> L.	325 a	16.7	4
Tepary bean	<i>Phaseolus acutifolius</i> A.Gray	147 b	27.4	4
Broom dalea	<i>Dalea scoparia</i> A.Gray	114 b	22.2	4
Sugar snap pea	<i>Pisum sativum</i> L.	74 b	11.9	4
Sainfoin	<i>Onobrychis viciifolia</i> Scop.	52 b	23.7	4
<i>Poaceae*</i>				
Little bluestem	<i>Andropogon scoparius</i> Michx.	139 a	33.9	4
Buffalo grass	<i>Buchloe dactyloides</i> Engelm.	67 b	27.5	6
Sand dropseed	<i>Sporobolus cryptandrus</i> A.Gray	59 b	7.2	4
Sleepy grass	<i>Stipa robusta</i> Scribn.	59 b	12.3	4
Black grama	<i>Bouteloua eriopoda</i> (Torr.) Torr.	58 b	9.1	4
Blue grama	<i>Bouteloua gracilis</i> Vasey in Rothr.	49 b	9.3	4
Wolftail	<i>Lycurus setosus</i> (Nutt.) C.Reeder	34 b	10.5	3
Galleta grass	<i>Hilaria jamesii</i> Benth.	26 bc	6.1	4
Rye grass	<i>Lolium perenne</i> L.	22 bc	5.4	4
Corn	<i>Zea mays</i> L.	4 c	2.4	4

§ Means within columns followed by the same letter are not statistically different at the 0.05 probability level.

† Standard error of each mean.

‡ Number of replicates.

* Analysis of variance followed by mean separation was conducted by GLM procedure (SAS® 8.2) performed on square root transformed data (applied for *Poaceae* species only).

に通過させた後、純水で希釈し、ICP発光分光装置 (Perkin-Elmer, CT) によりウラン濃度を計測した。また、本研究では、植物根組織のウラン濃度の計測を実施していない。その理由として、根表面や根間に付着した珪砂が、純水洗浄後の顕微鏡観察により確認されたため、分解試料中にこれらの珪砂に付着したウランが混入することにより、計測値の誤差を生じ得る可能性があるかと判断したからである。加えて、Phytoremediation においては、植物の地下組織よりも地上部 (収穫可能部位) に蓄積するウランを測定することが、より重要であると判断した。

試験植物の種および科において、葉茎部に吸収されたウラン濃度の差異を決定するため、統計解析ソフトウェア SAS[®] Version 8.2 (SAS Institute, NC) により、分散分析および多重比較 (Fisher's LSD; GLM Procedure) を適用した。分散分析は、必要に応じて各標本の平方根値を適用することにより、これら統計解析の仮定条件である、標本の正規分布性および等分散性を確保して実行した (Table 2, 3脚注参照)。統計的有意差の決定は、通常値ならびに平方根変換値において、有意水準 $\alpha = 0.05$ で検定した。

3. 結果および考察

3.1 植物のウラン濃度の種間差

珪砂栽培法により試験された32種の植物において、葉茎部のウラン濃度は種によって差異があることが確認され、その値域は4~416mg kg⁻¹であった。葉茎部のウラン濃度が400mg kg⁻¹以上の高値を示した植物は、Lettuceの1種であり、300~400mg kg⁻¹の値域に該当した植物は3種、200~300mg kg⁻¹は2種、100~200mg kg⁻¹は10種、100mg kg⁻¹以下は16種であった。

葉茎部のウラン濃度の差異は、同じ科の植物を比較した場合においても確認され、その値域は比較的大きい傾向にあるといえる (Table 2)。例えば、イネ科に属する Little bluestem は、同科の Corn と比較して約25倍のウラン濃度を示し、同様にマメ科に属する Locoweed は、同科に属する Sainfoin の6.5倍のウラン濃度を蓄積した。しかし、アカザ科に属する植物のウラン濃度の値域は小さく、これらの種におけるウラン濃度の差異は確認されなかった。この要因として、アカザ科の試験植物の総数は、他科と比較して少なかったことが有意差検定に影響している可能性があることを附記しておく。

本研究で実施した珪砂栽培法による試験結果より、植物葉茎部のウラン濃度は、最大値と最小値において約100倍の差があることが確認された (4~416mg kg⁻¹)。このように植物のウランの吸収能が、種において著しく変動する特性があることは、土壌を用いた栽培実験において

Table 3 Uranium concentration among plant families

Family	[U]† mg U kg ⁻¹ dry weight
<i>Chenopodiaceae</i>	197 a
<i>Fabaceae</i>	176 ab
<i>Compositae</i>	171 bc
<i>Brassicaceae</i>	131 c
<i>Poaceae</i>	52 d

† Plant family within rows followed by the same letter are not statistically different at the 0.05 probability level by GLM procedure (SAS[®]8.2) performed on square root transformed data.

も確認されている^{15,27-29}。Saric ら²⁸は、8種類の園芸作物を鉱山周辺から採取したウラン汚染土壌 (17mg U kg⁻¹) を用いて栽培試験を実施した。その結果、ウラン濃度が最大値を示した作物は Lettuce (1.12 μg g⁻¹)、最小値は Corn (0.03 μg g⁻¹) であることが報告されており、本研究結果と類似していた。また、Shahandeh and Hossner の研究²⁹においても、同様にウラン汚染土壌 (100mg U kg⁻¹) を用いた22種類の植物種による栽培試験が実施されており、供試植物のウラン濃度の値域は3.2~24.0mg kg⁻¹であることが確認されている。ここで報告されている Ryegrass のウラン濃度は、供試植物中最も低い 5 mg kg⁻¹以下であることが確認されており、本研究における同植物のウラン濃度 (22mg kg⁻¹) も同様に低値を示した。したがって、本研究において適用した珪砂栽培法は、前述の土壌を用いた栽培実験と同様に、植物のウラン吸収能における種間差を特定することが可能であり、既報における一部の供試植物の土壌栽培試験との比較において、ウラン吸収傾向の一致が認められた。

3.2 植物のウラン濃度の科間差

葉茎部のウラン濃度は、科の比較においても差異が確認された (Table 3)。植物各科のウラン濃度の平均値は、アカザ科とマメ科に属する植物において高値を示した。一方、イネ科に属する植物のウラン濃度は、他の科との比較において顕著に低値を示した。一般に単子葉類のイネ科植物は、双子葉植物と比較し、土壌からのウラン吸収および葉茎部へのウラン蓄積量が低いことが報告されている^{28,30}。例えば Shahandeh and Hossner の既報²⁹では、12種のイネ科植物のうち、10種のウラン濃度が 6 mg kg⁻¹以下の低値を呈した。これは、実際の汚染土壌において、単子葉であるイネ科植物が、ウランを葉茎部に転流し蓄積する能力に劣ることを示唆しているといえよう。

本研究で適用した全種の50%に相当する植物のウラン濃度は、 100mg kg^{-1} 以下の低値に推移する傾向が見られた。これは、イネ科に属する植物の多くが、 100mg U kg^{-1} 以下の値域に該当したことが要因といえる。また、イネ科植物のウラン濃度は、比較的広範の値域を示したが⁴ ($4.4\sim 139.0\text{mg kg}^{-1}$)、最大値 (Little bluestem) と最小値 (Corn) を除く8種の植物のウラン濃度は近似していたため、種間差異は認められなかった。したがって、一般にイネ科植物は、ウランの吸収において種間変動が比較的少なく、そのうえウランの蓄積量が低い傾向にあると推測される。科のウラン濃度の比較において、イネ科が最小値を示した結果からも、同様の推測が可能であると考察する。

3. 3 Phytoremediation 植物の選定

重金属汚染土壌の Phytoremediation に適用する植物は、土壌の汚染金属を吸収し、葉茎部に蓄積する能力に優れているとともに、生体量に富む特性を有することが重要である。例えば、Locoweed や Tansy mustard の葉茎部のウラン濃度は高値を示したが、一方でこれら植物の乾物生産量は寡少であり、これは結果として土壌からのウラン除去量が制限されることを示唆する。重金属汚染土壌の Phytoremediation において、生体量に富む植物を利用することの重要性は、いくつかの論文において提言されている²¹⁻²³。特に、重金属汚染土壌の Phytoextraction (キレート剤の土壌添加を随伴した Phytoremediation, Dushencov, 2003²⁴) において、生体量に富む一般植物による土壌重金属の除去量は、生体量の寡少な Hyperaccumulator を適用した場合よりも多いことが報告された。

本研究の試験結果において、葉茎部のウラン濃度が高値を示し、しかも生体量に富む植物の例としては、Lettuce, Alfalfa, Kochia が挙げられる。著者らは、既報^{24,25}において Kochia を Phytoremediation 植物として選択し、汚染土壌におけるウランの除去量を試験し、Kochia の優れた乾物生産性は、結果的に土壌からのウラン除去量を増加させたことを確認している。また、これら3種は、種子の発芽率が高く、育種や生育管理について明確であり、栽培も比較的容易であることから、Phytoremediation 植物としての可能性があると考えられる。ただし、これらの食用植物や飼料作物を実際の汚染現地において適用する場合には、動物や人間による摂取を回避するための方法 (監視, 進入防止柵) がより重要になる。

3. 4 珪砂栽培法の総合評価

1) 珪砂栽培法の利点

珪砂栽培法をウラン吸収植物の選定に適用するうえでの利点は、調製するウラン溶液量、およびウラン廃液の発生

を最小限にできることである。実験廃液の処理は、ウランのように、化学性と放射性の複合的な環境毒性が懸念される汚染物質を取り扱う際に、特に重要となる。本研究で用いたウラン汚染珪砂は、酸性溶媒 ($1\text{ mol l}^{-1}\text{HCl}$) を用いて洗浄することにより、容易にウランの除去が可能であり、除染された珪砂は安全に処分できる。一方、汚染現地から採取した実際の土壌を用いた栽培試験法では、環境上の配慮から、多量の汚染土壌の運搬が制限されるため、多種の植物の栽培試験を実施することは困難である。ウランは土壌中の粘土粒子、炭酸塩および有機物との吸着が強いため²⁶、実験後の土壌を完全に除染することは困難であると推測される。加えて、大量の廃液の発生とその処理に関する問題は、水耕栽培法においても懸念される。したがって、これらの物質を含有しない珪砂の洗浄廃液量は、土壌の洗浄と比較して寡少であることから、珪砂栽培法は、実験後に発生する二次的なウラン廃棄物の量を制限し得る方法であるといえる。

既往の研究において、多種の植物の金属耐性および吸収能を試験する目的で水耕栽培法が多用されているが、ウラン吸収植物の選定法として適用された事例は少ない。Ramaswani ら²⁰は6種類の供試植物により、これらのウラン吸収量を水耕栽培法と土壌栽培において比較したところ、水耕栽培法により試験された植物のウラン吸収傾向は、土壌栽培の結果とほとんど一致しないことが確認された。しかし、水耕栽培法は重金属吸収植物の選定^{23,26,27}や、アルミニウムなど作物生育に有害な金属への耐性を有する品種を選定^{28,29}する目的で多くの研究事例があることから考察すると、ウラン吸収植物の選定試験において水耕栽培法の信頼性が欠如しているとは一概にいえない。ただし、有害金属に対する植物の耐性を試験する場合において、珪砂栽培法は水耕栽培法と比較して、実際の金属耐性の生理的特性をより正確に反映し得る方法であることが結論付けられている^{30,41}。

2) キレート添加剤と栽培試験法

ウラン汚染土壌の Phytoremediation 植物の選定には、実際の汚染土壌に適用するクエン酸溶液の添加という処理を、水耕あるいは珪砂を用いた試験栽培において再現することが重要である。Ebbs ら¹⁰は、水耕栽培法 ($5\ \mu\text{mol U l}^{-1}$) により試験栽培された Alfalfa と Tepary bean の葉茎部に蓄積されたウラン濃度は約 1.2mg kg^{-1} であると報告した。しかし、本研究の珪砂栽培法による結果は、Alfalfa (325mg kg^{-1}) と Tepary bean (147mg kg^{-1}) の葉茎部ウラン濃度に差異が認められた (Table 2)。Ebbs らの既報と本研究結果が異なる要因としては、水耕および珪砂を適用した栽培条件の相違、あるいはクエン酸溶液の有無に起因したと考察する。特に後者の条件においては、植物のウラン吸収が土壌溶液中クエン酸の

存在により劇的に増大することが確認されており、植物のウラン吸収に対するクエン酸溶液添加の効果は、植物種に顕著に依存することが明らかになっている¹⁴⁾。すなわち、特定の植物のウラン吸収特性はクエン酸溶液の添加により増大するという潜在性があることから、Phytoremediation 植物の選定栽培試験は、本研究で提示したように、実際の汚染土壌におけるキレート添加剤の適用を再現した手法を開発し適用することが重要であるといえる。キレート添加剤の処理を再現した栽培試験法は、ウラン汚染土壌に限らず、鉛などの重金属汚染土壌における Phytoremediation 植物の選定試験においても広く考慮されるべき要素である。

3) Phytoremediation 植物の選定

植物の生育環境は、珪砂栽培法と土壌栽培法において異なり、これらの方法により栽培された植物のウラン濃度は必ずしも一致しない。この要因として、珪砂栽培法は土壌栽培法と異なり、土壌微生物の生理および化学的作用がウランの溶解性に及ぼす影響を再現することができないことが挙げられる。一般に土壌中の細菌類は、土壌ウランの酸化還元反応に寄与し、U (VI) から U (IV) への還元を随伴し、ウランを不動化する作用を有することから^{42,43)}、ウランの植物利用度の低下が発現し得る。さらに、他の土壌微生物としては、植物根に共生する菌根菌 (菌類) によるウラン溶解性への影響が挙げられる。ウラン汚染土壌で生育された菌根菌植物は、根圏を包囲する菌糸にウランを吸収し、その結果、根および茎組織への蓄積が制限される^{44,45)}。これら土壌微生物のウラン動態に及ぼす作用は、珪砂栽培法による試験において再現することが困難である。

しかし、これら土壌微生物によるウランの還元や細胞内への吸収効果は、土壌 pH の変化により顕著に変動する傾向がある⁴⁶⁾。したがって、クエン酸のような酸性試薬の土壌添加は、ウランの酸化還元態に関係なく、強制的な土壌 pH の低下を随伴したウラン-クエン酸の錯体を形成するため、土壌微生物がウランの還元や細胞内への吸収効果に及ぼす影響は寡少であると推察される。本研究で提示した植物のウラン吸収の傾向は、土壌を用いた既報の結果との一致が確認できたことから、珪砂栽培法はウラン土壌の Phytoremediation 植物の選定に有効である可能性が示唆された。

珪砂栽培法は、多種に及ぶ供試植物のウラン吸収特性や、種間ならびに科間のウラン吸収傾向の特定を可能にするが、これら植物のウラン濃度の実測値は、実際の汚染土壌において、植物が蓄積し得るウラン濃度を正確に反映しているとは一概にいえない。このことは、前項における土壌栽培を適用した既報と、本研究の珪砂栽培法で試験された植物のウラン濃度との測定値の比較により説明できる。実際の土壌では、粘土および土壌有機物の

吸着作用³⁵⁾により、植物根圏におけるウランの溶解や拡散が抑制され、その結果ウランの植物利用度が低下し得ることが推測される。土壌栽培試験を実施した既報^{26,47)}において、クエン酸の土壌添加を随伴した Phytoremediation 植物のウラン吸収量は、土壌の化学性の違いにより変動することが確認されている。したがって、植物の土壌ウラン吸収量、および長期的な除去量の推移をより正確に予測するには、汚染現場の土壌を用いた栽培試験に基づく推定が必要である。

実際の汚染土壌に適用する Phytoremediation 植物は、植物によるウラン除去量と、土壌ウランの残留量との関係を経時的に推定したうえで選定されるべきである。そのための一連の手法としては、まず、珪砂栽培法を用いて多種の植物のウラン吸収特性を試験し、その結果を根拠に、少数の有望な種を特定する。次に、限定された少数の植物種による土壌栽培試験を実施し、植物のウラン吸収量を特定することを提案する。植物による土壌重金属の吸収量と、土壌中のウラン残留量の関係は、鉛汚染土壌の Phytoextraction (キレート添加剤 EDTA 適用) による汚染除去の数学モデル⁴⁸⁾を参考にして表現でき得る。特に、土壌中におけるウランと鉛は難水溶性で、両者ともキレート添加剤を随伴した Phytoextraction が有効であるという特徴^{49,50)}において類似していることから、一例として微分方程式の予測モデルが適用可能であると考察した。

$$M(t) = M_0 e^{-kt} \quad (1)$$

M: 土壌ウラン残留量 (mg m⁻²)

M₀: 土壌ウラン量の初期値 (mg m⁻²)

M₀ = hCD₀

h: 汚染深度 (m)

C: 土壌ウラン濃度 (mg kg⁻¹)

D₀: 土壌乾燥密度 (kg m⁻³)

k: 一次反応定数 (year⁻¹)

$$k = \frac{AD_c}{\alpha M_0} \quad (2)$$

A: 単位重量当の植物ウラン濃度 (mg kg⁻¹)

D_c: 年間植栽密度 (kg m⁻² year⁻¹)

α: 生長影響係数

t: 時間 (year)

ここで、(1) 式における土壌ウラン残留量 (M) は、栽培期間の延長に随伴し指数関数的に減衰すると仮定する。一次反応定数 (k) は、植物のウラン濃度 (A) と、地上部の生体量ならびに植物種により異なる栽培可能期間を考慮した年間植栽密度 (D_c) の積を土壌ウラン量の初期値 (M₀) により除することにより表現したが、これは k が初期の土壌ウラン量により依存することを示す。

つまり、土壤ウラン量の初期値が高いほど、植物の生育障害が発現することから^{51,52)}、結果として年間植栽密度の低下につながる。ここで、年間植栽密度に対する植物の生育障害の影響が、土壌性質あるいは植物の重金属耐性により変動し得ると推察されることから、補正值として生長影響係数 (α) を導入した。一例を挙げれば、 M_0 が顕著に高い場合であっても、有機質あるいは粘土質土壌における植物へのウラン可給性 (毒性) が低下することが報告されており⁵³⁾、このような場合における α の設定は、 k の決定に順応性を付与することを可能にする。また、前項における考察、および (2) 式の年間植栽密度の導入から、Phytoremediation 植物として乾物生産量が高い種を選定することは、土壤ウランの除去効率を向上させる上で有利であるといえる。植物のウラン濃度 (A) は、生長過程において変動する可能性があることから、今後の課題としては、植物生長量とクエン酸の土壌添加時期が、植物のウラン濃度に及ぼす影響を検討したうえで、最適収穫時期を決定し、各栽培時のウラン除去量 (AD_c) を算出することが挙げられる。また、栽培回数⁵⁴⁾の累積による植物のウラン濃度 (A) の変動についても検討することにより、土壤ウラン残留量 (M) の長期的推移を、より正確に推定することが可能になる。最終的なウラン汚染土壌改良のための Phytoremediation 植物は、本研究の珪砂栽培法の試験結果を基点とし、今後これら一連の手法を経て選定することが可能であると考察する。

4. まとめ

本研究の珪砂栽培法は、土壤を用いた栽培実験と同様に、植物のウラン吸収能における種間差を特定することが可能であった。植物各科のウラン濃度の平均値は、アカザ科とマメ科に属する植物において高値を示した。また、既往の土壌試験の報告にあるように、イネ科植物は葉茎部に蓄積可能なウラン濃度が低く、ウラン濃度の種間変動が他科と比較して少ないことが、本研究の珪砂栽培法においても確認された。本試験の結果と土壤による既往の報告結果の一致から、珪砂栽培法は、ウラン汚染土壌の Phytoremediation 植物選定の基礎となる、ウラン吸収の傾向を特定するために有効であることが示唆された。さらに、特定の植物のウラン吸収特性はクエン酸溶液の添加により増大するという潜在性を考慮し、Phytoremediation 植物の選定栽培試験は、本研究で提示したように、実際の汚染土壌におけるクエン酸溶液の添加を再現した手法を開発し適用することが重要であるといえる。最終的なウラン汚染土壌改良のための Phytoremediation 植物の選定は、本研究の見聞に加え、植物の栽培特性 (生体量, 生育可能期間, 植栽密度) を

考慮し、植物によるウラン除去量と土壤ウランの残留量との関係を経時的に推定したうえで可能になるものと考察する。

謝 辞

本研究の統計分析においてご指導とご助言を賜った、Marta Remmenga 教授 (University Statistics Center, New Mexico State University) に深甚なる謝意を表します。さらに、数学モデルの評価において、松原業氏 (Department of Environmental Sciences, University of Virginia) のご協力を頂いたことを記し、ここに謝意を表します。なお本研究は、アメリカ合衆国防総省 (U.S. Department of Defense) の委託研究であり、研究実験は放射性化学物質の取り扱いが認可された施設内において、国家および州法の環境規制を遵守して実施されたことを附記する。

要 約

Phytoremediation による重金属汚染土壌の改良は、汚染金属の吸収に優れた植物を選定し適用することが重要である。本報では珪砂栽培法を用い、葉茎組織にウランを高濃度に蓄積可能な植物 (5科32種)、ならびにこれらの種あるいは科におけるウラン吸収の傾向を特定することを目的とした。さらに、本研究と既報の土壌栽培を比較し、Phytoremediation 植物の選定方法を提案した。珪砂栽培法により試験された植物において、葉茎部のウラン濃度は種によって差異があることが確認された。植物各科のウラン濃度の平均値は、アカザ科とマメ科に属する植物において高値を示した。一方、イネ科に属する植物のウラン濃度は、他の科との比較において顕著に低値を示した。特定の植物種において、ウランの吸収量がクエン酸の存在により増加したことが確認されたことから、Phytoremediation 植物の選定栽培試験は、本研究のように実際の汚染土壌におけるキレート添加剤の適用を再現した手法を開発し適用することが重要であるといえる。本試験の結果と土壤を用いた既往の研究結果との一致から、珪砂栽培法は多岐に及ぶ植物種のウラン吸収傾向を特定し、ウラン汚染土壌の Phytoremediation 植物を選定する手法として有効であることが示唆された。

文 献

- 1) 橋本洋平, 田島 淳: Phytoremediation による重金属汚染土壌の改良—土壌改良および資源保全技術としての有効性, 環境化学, 14, 1-11 (2004)
- 2) Boulyga, S.F., Lomonosova, E.M., Zhuk, I.V., Yaroshevich, O.I., Kudrjashov, V.P. and Mironov, V.P.: Ex-

- perimental study of radioactive aerosols in the vicinity of the Chernobyl Nuclear Power Plant. *Radiat. Meas.*, **30**, 703-707 (1999)
- 3) Yoshida, S., Muramatsu, Y., Tagami, K., Uchida, S., Ban-nai, T., Yonehara, H. and Sahoo, S.: Concentrations of uranium and U-235/U-238 ratios in soil and plant samples collected around the uranium conversion building in the JCO campus. *J. Environ. Radioact.*, **50**, 161-172 (2000)
 - 4) Goode, D.J. and Wilder, R.J.: Ground-water contamination near a uranium tailings disposal site in Colorado. *Ground Water*, **25**, 545-554 (1987)
 - 5) Conceição, F.T. and Bonotto, D.M.: Use of U-isotope disequilibrium to evaluate the weathering rate and fertilizer-derived uranium in São Paulo state, Brazil. *Environ. Geology*, **44**, 408-418 (2003)
 - 6) Sansone, U., Stellato, L., Jia, G., Rosamila, S., Gaudino, S., Barbizzi, S. and Belli, M.: Levels of depleted uranium in Kosovo soils. *Radiat. Prot. Dosim.*, **97**, 317-320 (2001)
 - 7) Roh, Y., Lee, S.R., Choi, S-K., Elless, M.P. and Lee, S.Y.: Physicochemical and mineralogical characterization of uranium-contaminated soils. *Soil Sediment. Contam.*, **9**, 463-486 (2000).
 - 8) Bleise, A., Danesi, P.R. and Burkart, W.: Properties, use and health effects of depleted uranium (DU): a general overview. *J. Environ. Radioact.*, **64**, 93-112 (2003)
 - 9) Eapen, S., Suseelan, K.N., Tivarekar, S., Kotwal, S.A. and Mitra, R.: Potential for rhizofiltration of uranium using hairy root cultures of *Brassica juncea* and *Chenopodium amaranticolor*. *Environ. Res.*, **91**, 127-133 (2003)
 - 10) Epstein, A.L., Gussman, C.D., Blaylock, M.J., Yermiyahu, U., Huang, J.W., Kapulnic, Y. and Orser, C.S.: EDTA and Pb-EDTA accumulation in *Brassica juncea* grown in Pb-amended soil. *Plant Soil*, **208**, 87-94 (1999)
 - 11) Walker, D.J., Clemente, R., Roig, A. and Bernal, M.P.: The effect of soil amendments on heavy metal bioavailability in two contaminated Mediterranean soils. *Environ. Pollut.*, **122**, 303-312 (2003)
 - 12) Wenzel, W.W., Unterbrunner, R., Sommer, P. and Sacco, P.: Chelate-assisted phytoextraction using canola (*Brassica napus* L.) in outdoors pot and lysimeter experiments. *Plant Soil*, **249**, 83-96 (2003)
 - 13) Langmuir D.: Uranium solution-mineral equilibria at low temperatures with applications to sedimentary ore deposits. *Geochem. Cosmochim. Acta*, **42**, 547-569 (1978)
 - 14) Huang, J.W., Blaylock, M.J., Kapulnik, Y. and Ensley, B.D.: Phytoremediation of uranium-contaminated soils: Role of organic acids in triggering uranium hyperaccumulation in plants. *Environ. Sci. Technol.*, **32**, 2004-2008 (1998)
 - 15) Ebbs, S.D., Brady, D.J. and Kochian, L.V.: Role of uranium speciation in the uptake and translocation of uranium by plants. *J. Exp. Bot.*, **49**, 1183-1190 (1998)
 - 16) Brooks, R.R., Chambers, M.F., Nicks, L.J. and Robinson, B.H.: Phytomining. *Trends Plant Sci.*, **9**, 359-362 (1998)
 - 17) McGrath, S.P., Zhao, F.J. and Lombi, E.: Phytoremediation of metals, metalloids, and radionuclides. pp.2-57, "Advances in Agronomy Vol.75" Academic Press. San Diego. CA. (2002)
 - 18) Meyer, S.E., Carlson, S.L. and Garvin, S.C.: Seed germination regulation and field seed bank carryover in shadescale (*Atriplex confertifolia*: *Chenopodiaceae*). *J. Arid Environ.*, **38**, 255-267 (1998)
 - 19) Cunningham, S.D., Berti, W.R. and Huang, J.W.: Phytoremediation of contaminated soils. *Trends Biotechnol.*, **13**, 393-397 (1995)
 - 20) Ramaswami, A., Carr, P. and Burkhardt, M.: Plant-uptake of uranium: hydroponic and soil system studies. *Int. J. Phytoremediat.*, **3**, 189-201 (2001)
 - 21) Blaylock, M.J., Salt, D.E., Dushenkov, S., Zakharova, O., Gussman, C., Kapulnik, Y., Ensley, B.D. and Raskin, I.: Enhanced accumulation of Pb in Indian mustard by soil-applied chelating agents. *Environ. Sci. Technol.*, **31**, 860-865 (1997)
 - 22) Horst, W.J., Klots, F. and Szulkiewicz, P.: Mechanical impedance increases aluminum tolerance of soybean (*Glycine max*) roots. pp.351-355, In: M.L. Van Beusichem (Ed). *Plant nutrition: physiology and applications*. Kluwer Academic Publishers (1990)
 - 23) Hoagland, D.R. and Arnon, D.I.: The water-culture method for growing plants without soil. *Circ. 347. California Agric. Exp. Stn., Berkeley* (1950)
 - 24) Hashimoto, Y., Blaylock, M.J., Elless, M.P. and Ulery, A.L.: Chelate-enhanced phytoextraction of uranium-contaminated soils by high biomass plants. pp.137-140., In: Mihara, M. and Yamaji, E. (Eds). *Participatory Strategy for Soil and Water Conservation*. Soubun Co. Ltd. Tokyo, Japan. (ISBN 4-

- 916174-03-8) (2004)
- 25) Hashimoto, Y., Blaylock, M.G., Elles, M.P. and Ulery, A.L.: Enhancement of U-phytoextraction with citric acid amendment. *Soil Sci. Soc. Am. Abst.* 4352 (2004)
 - 26) Vandenhove, H., Van Hees, M. and Winckel, S.V.: Feasibility of phytoextraction to clean up low-level uranium-contaminated soils. *Int. J. Phytoremediat.*, **3**, 301-320 (2001)
 - 27) Mortvedt, J.J.: Plant and soil relationships of uranium at thorium decay series radionuclides - a review. *J. Environ. Qual.*, **23**, 643-650 (1994)
 - 28) Saric, M.R., Stojanovic, M. and Babic, M.: Uranium in plant species grown on natural barren soil. *J. Plant Nutri.*, **18**, 1509-1518 (1995)
 - 29) Shahandeh, H. and Hossner, R.: Role of properties in phytoremediation of uranium. *Water Air Soil Pollut.*, **141**, 165-180 (2002)
 - 30) Vandenhove, H. and Van Hees, M.: Phytoremediation for clean-up of low-level uranium contaminated soil evaluated. *J. Environ. Radioact.*, **72**, 41-45 (2004)
 - 31) Brown, S.L., Chaney, R.L., Angle, J.S. and Baker, A.J.M.: Phytoremediation potential of *Thlaspi caerulescens* and *Bladder Campion* for zinc and cadmium-contaminated soil. *J. Environ. Qual.*, **23**, 1151-1157 (1994)
 - 32) Brown, S.L., Chaney, R.L., Angle, J.S. and Baker, A.J.M.: Zinc and cadmium uptake by hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens* grown in nutrient solution. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, **59**, 125-133 (1995)
 - 33) Ebbs, S.D., Lasat, M.M., Brady, D.J., Cornish, J., Gordon, R. and Kochian, L.V.: Phytoremediation of cadmium and zinc from a contaminated soil. *J. Environ. Qual.*, **26**, 1424-1430 (1997)
 - 34) Dushenkov, S.: Trends in phytoremediation of radionuclides. *Plant Soil*, **249**, 167-175 (2003)
 - 35) Sheppard, S.C., Evenden, W.G. and Pollock, R.J.: Uptake of natural radionuclides by field and garden crops. *Can. J. Soil Sci.*, **69**, 751-767 (1989)
 - 36) Lasat, M.M., Norvell, W.A. and Kochian, L.V.: Potential for phytoextraction of ¹³⁷Cs from a contaminated soil. *Plant Soil*, **195**, 99-106 (1997)
 - 37) Ebbs, S.D. and Kochian, L.V.: Phytoextraction of zinc by oat (*Avena Sativa*), barley (*Hordeum vulgare*), and Indian mustard (*Brassica juncea*). *Environ. Sci. Technol.*, **32**, 802-806 (1998)
 - 38) Ferrufino, A., Smyth, T.J., Israel, D.W. and Carter, T.E. Jr.: Root elongation of soybean genotypes in response to acidity constraints in a subsurface solution compartment. *Crop Sci.*, **40**, 413-421 (2000)
 - 39) Silva, I.R., Smyth, T.J., Israel, D.W., Raper, C.D. and Ruffy, T.W.: Magnesium ameliorates aluminum rhizotoxicity in soybean by increasing citric acid production and exudation by roots. *Plant Cell Physiol.*, **42**, 546-554 (2001)
 - 40) Ritchey, K.D. and Carter, T.E.: Emergence and growth of two non-nodulated soybean genotypes in response to soil acidity. *Plant Soil*, **151**, 175-183 (1993)
 - 41) Villagarcia, M.R. Carter, T.E., Ruffy, T.W., Niewoehner, A.S., Jennette, M.W. and Arrellano, C.: Genotypic rankings for aluminum tolerance of soybean roots grown in hydroponics and sand culture. *Crop Sci.*, **41**, 1499-1507 (2001)
 - 42) Barton, L.L., Choudhury, K., Thomson, B.M., Steenhoudt, K. and Groffman, A.R.: Bacterial reduction of soluble uranium: The first step of in situ immobilization of uranium. *Radioact. Waste Manage. Environ. Restor.*, **20**, 141-151 (1996)
 - 43) Senko, J.M., Istok, J.D., Suffita, J.M. and Krumholz, L.R.: In-situ evidence for uranium immobilization and remobilization. *Environ. Sci. Technol.*, **36**, 1491-1496 (2002)
 - 44) Rufyikiri, G., Huysmans, L., Wannijn, J., Van Hees, M., Leyval, C. and Jakobsen, I.: Arbuscular mycorrhizal fungi can decrease the uptake of uranium by subterranean clover grown at high levels of uranium in soil. *Environ. Pollut.*, **130**, 427-436 (2004)
 - 45) Rufyikiri, G., Thiry, Y. and Declerck, S.: Contribution of hyphae and roots to uranium uptake and translocation by arbuscular mycorrhizal carrot roots under root-organ culture conditions. *New Phytol.*, **158**, 391-399 (2003)
 - 46) Rufyikiri, G., Thiry, Y., Wang, L., Delvaux, B. and Declerck, S.: Uranium uptake and translocation by the arbuscular mycorrhizal fungus, *Glomus intraradices*, under root-organ culture conditions. *New Phytol.*, **156**, 275-281 (2002)
 - 47) 橋本洋平, Blaylock, M.J., Elles, M.P., Ulery, A.L.: クエン酸の土壌添加による植物のウラン吸収促進-Phytoremediationにおける金属キレート効果, pp.300-301, 第13回日本環境化学討論会講演要旨集 (2004)
 - 48) Schnoor, J.L.: Phytoremediation-Technology evaluation

- tion report. Ground-Water Remediation Technologies Analysis Center. pp.1-37 (1997)
- 49) Wenzel, W.W. Unterbrunner, R. Sommer, P. and Sacco, P.: Chelate-assisted phytoextraction using canola (*Brassica napus* L.) in outdoors pot and lysimeter experiments. *Plant Soil*, **249**, 83-96 (2003)
- 50) Grčman, H. Vodnic, D. Velikonja-Bolta, Š. and Leštan, D.: Ethylenediaminedissuccinate as a new chelate for environmentally safe enhanced lead phytoextraction. *J. Environ. Qual.*, **32**, 500-506 (2003)
- 51) Meyer, M.C., Paschke, M.W., McLendon, T. and Price, D.: Decrease in soil microbial function and functional diversity in response to depleted uranium. *J. Environ. Qual.*, **27**, 1306-1311 (1998)
- 52) Sheppard, S.C. and Evenden, W.G.: Bioavailability indices for uranium: effect of concentration in eleven soils. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, **23**, 117-124 (1992)
- 53) Morton, L.S., Evans, C.V., Harbottle, G. and Estes, G.O.: Pedogenic fractionation and bioavailability of uranium and thorium in naturally radioactive spodosols. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, **65**, 1197-1203 (2001)