

水生生物の抗酸化力測定

(財) 電力中央研究所 環境科学研究所 正会員 ○今村 正裕
(財) 電力中央研究所 環境科学研究所 非会員 中野 大助
(財) 電力中央研究所 環境科学研究所 正会員 山本 亮介
(財) 電力中央研究所 環境科学研究所 正会員 松梨 史郎

1. はじめに

近年、ダム下流河川の環境保全のため、維持流量の増放流試験やダム堆積土砂の還元試験等が実施される事例が増加している。これらでは、水深や流速、河床の粒度分布のような河川環境の物理的因子に加え、濁質・栄養塩・溶存酸素量のような化学的因子も変動する可能性がある。化学的因子の変動は、魚類の餌となる付着藻類や底生生物に対して特に大きい影響を与えるものと予想される。現在、河川環境の変化が付着藻類や底生生物に与える影響は、種の多様性指数や現存量の変化によって評価することが多いが、これらだけでは十分な評価を行うことができない場合が多い。一方、生物生体内では環境変化によってストレス状態にさらされると活性酸素種が増加し、それを抑制する抗酸化物質の増減がある。その抗酸化力 (TOSC 値: Total oxyradical scavenging capacity) を測定し生物のストレス状態を評価する方法がある^{1,2)}。

本研究では実際の河川環境中における水生生物を対象にその抗酸化力の試験を行い、環境条件の異なる地点を選定し、地点間に TOSC 値の差があるかどうかを把握し、本手法の有用性を検討する。

2. 調査地点および方法

調査地点は、長野県上田市中心部を流れる千曲川で、佐久市から犀川合流地点までの区間に設けた (図-1)。調査は 2009 年 12 月に、人為負荷の影響がないと考えられる C 地点、その直下流で下水処理場排水の流入がある D 地点、さらには上田市市街を流れる E・F 地点、最後に犀川との合流地点前後 A・B 地点の計 6 地点で実施した。生物採取と同時に、河川の水温・pH・電気伝導度を測定、河川水質についても実験室に持ち帰り、主要イオンについて分析した。

TOSC 値の分析には採取した水生生物のうち、すべ

ての地点において出現が確認されたヒゲナガカワトビケラを対象とし、生体内中のタンパク質が持つ抗酸化力を測定した。各個体の頭部・尾部・腸管を取り除いた胴体部分を対象に、0.02M-Triss+0.005M HCl 溶液によってホモジナイズし遠心分離によりタンパクを抽出した。抗酸化力の試験は、10ml バイアル瓶に基質とラジカル物質を添加、そこに抽出したサンプルを入れることで、ラジカル物質による基質の酸化をどの程度抑えることができるかをガスクロマトグラフ (FID-GC) にてエチレングスをモニターする方法である。TOSC 値の算出は、サンプルを添加したものと添加していないコントロールとで、エチレングス発生の積分値を比較し、抗酸化力がありエチレングス発生が抑えられた場合に最大 100 として表現される。なお、本試験の前には、総タンパク質量を測定 (Lowry 法) し、各サンプル瓶当たりのタンパク質量を 50 μ g となるように添加するサンプル量を調整した。

3. 結果

調査地点の水質結果を表-1 に示す。上流から下流にかけ、河川水質は汚濁レベルにはなかった。水温の変化や電気伝導度の変化は見られるものの、主要イオン濃度からも下水処理場の下流だからといって硝酸やリン酸イオン濃度が高い状態になく、処理能力が高いと考えられる。また、E・F 地点付近は温泉地区であり、硫酸イオン濃度が他地点と比較し高い。

一方、水生生物の生息状況は、場所によって若干変化していた。その中でも造網型であるヒゲナガカワトビケラは、全地点にて確認することができた。各地点から、4~8 個体を TOSC 試験に用いた。用いた個体間には体長にバラツキがみられたが、その体長とタンパク質量には有意な相関がみられ (図-2)、成長阻害 (大きいのにタンパク量が小) による試験へ

キーワード ヒゲナガカワトビケラ、抗酸化力試験 (TOSC)、河川環境、底生生物

連絡先 〒270-1194 千葉県我孫子市我孫子 1646

(財) 電力中央研究所 TEL 04-7182-1181

の影響はないと考えられる。

TOSC の結果を図-3 に示す。バラツキが大きな地点もみられたが、全体の傾向として最上流の C 地点や市街地の E・F 地点では高い値が見られた。一方、D 地点や A 地点では低い TOSC 値となった。加えて D 地点と C 地点との間に統計的な有意差 ($p<0.05$) があることが確認できた。しかしながら、C と D 地点の環境条件違いを、本水質項目の結果のみから判断するのは難しい。今回のように自然環境中の生物個体において、地点間における有意差が見られたことで、水生昆虫の生息環境におけるなんらかの違いが個体生体内の情報から把握できると考えられる。

河川の水環境状態は同一水系であっても上流から下流までさまざま影響を受け変化している。TOSC 値の測定では、その中でも何が河川生物へ影響与える要因になっているかを判断するより、複合的な環境影響を評価していることになる。また、TOSC 値は生物個体の成長過程で増加したり、急性影響の出るような汚染濃度では低下したりする傾向が報告^{1, 2)}されている。このような TOSC 値の変化や、環境要因個々に対する TOSC 値の変化については、今後も調査・室内実験により明らかにする必要がある。

4. まとめ

自然河川に生息している水生生物（ヒゲナガカワトビケラ）を対象に、生体内中のタンパク質の抗酸化力の試験を行った。その結果、個体間にバラツキがあるものの、各地点間には若干の有意差が見られる地点もあり、河川生物が受ける環境ストレスをこの方法で評価できる可能性がわかった。

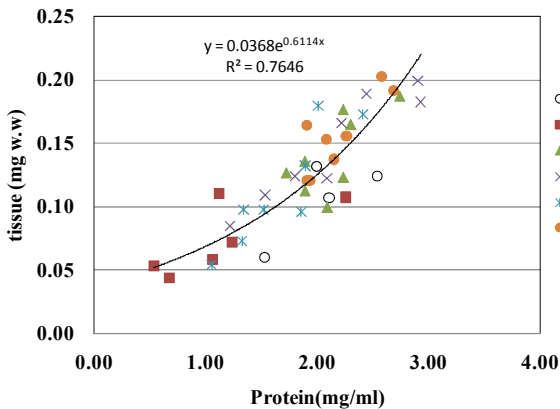


図-2 胴体湿重量とタンパク質量

参考文献

1) Winston, G. W. *et. al*: Comparative Biochemistry and Physiology, Part C 139, pp.281-288, 2004.
2) Regoli, F. *et. al*: Aquatic Toxicology, 68, pp.167-178, 2004.

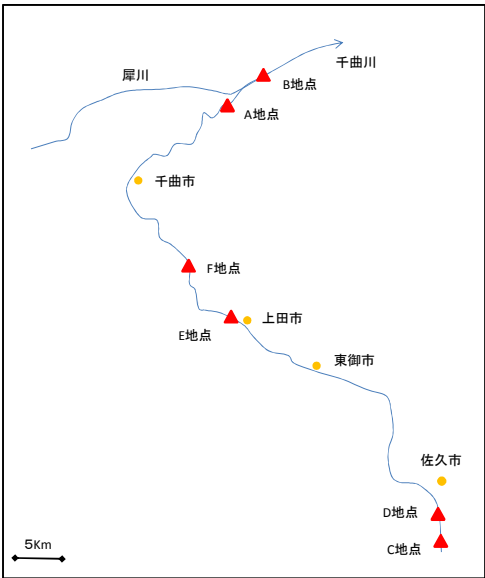
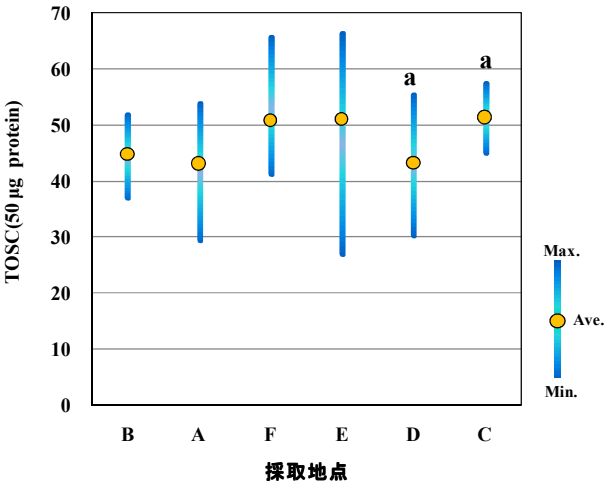


図-1 調査地点概要図

表-1 調査地点河川水質

2009/12/09-10	地点B	地点A	地点F	地点E	地点D	地点C
水温(°C)	6.9	5.9	9.2	7.7	5.5	4.4
電気伝導度(μS)	165	193	152	154	93	89
pH	7.6	8.3	8.2	8.2	7.1	7.7
ALK(meq/l)	0.56	0.99	7.53	4.17	3.90	1.35
Na ⁺	4.48	3.81	12.13	12.09	5.58	5.30
K ⁺	0.51	0.64	2.32	2.20	1.40	1.41
Mg ²⁺	1.40	1.24	5.09	5.08	2.89	3.15
Ca ²⁺	9.25	18.68	14.57	14.43	9.57	9.18
NH ₄ ⁺	0.01	0.04	0.11	0.01	0.01	0.02
Cl ⁻	2.25	2.20	10.42	10.26	3.84	3.26
NO ₃ ⁻	0.20	0.33	0.69	0.68	0.78	0.91
NO ₂ ⁻	-	-	0.01	0.01	-	0.01
SO ₄ ²⁻	5.48	4.71	19.20	19.24	9.72	10.74

cation: anion: (mg/l)



(A・B: n=4, C,D,E,F: n=8, , a: $p<0.05$)

図-3 ヒゲナガカワトビケラ胴体中タンパクの TOSC 値