［自主研究］

農薬による地下水汚染の簡易モニタリング手法に関する基礎的研究
ー 韓国済州道をフィールドとした済州大学との共同研究 ー

金主鉉　田中仁志　高橋基之　斎藤茂雄　李容斗*

1　目的

済州島は、火山島の地質的特徴から、散布された農薬は地下水に混入しやすいことが大きな問題として指摘されている。しかし、地下水農薬汚染の問題は年に2回行われている地下水の水質検査のみでは、農薬汚染状況をダイナミックに把握することは難しい。また、水道法（韓国）で規制している農薬は5項目に過ぎない．本研究では、上記の背景を踏まえ、済州道北部の農薬汚染実態調査を行いながら、地下水農薬汚染を迅速なおかつ簡便にスクリーニングできる手法としてバイオアッセイに着目し、供試生物*Chlamydomonas reinhardtti*を用いたダイナミックなバイオスクリーニング手法の確立のための検討を行っている。

今年度は、*C. reinhardtti*の鞭毛再生をエンドポイントとしたバイオアッセイに着目し、農薬濃縮操作（固相抽出）後の溶出に使用する溶媒の影響について検討を行った。

2 実験方法

アッセイ試験には、23±2℃、白色蛍光灯連続照明下（>4,000lux）で通気培養を行い、対数増殖期に入った*C. reinhardtii*の細胞を用いた．鞭毛再生阻害試験には、細胞懸濁液30mlをホモジナイザーで切断した後、20ml三角フラスコに分注し、直ちに溶剤を添加した。使用溶剤は、アセトン、エタノール、メタノールおよびジメチルスルホキシド（DMSO）であり、最終濃度が0、0.5、1、2%(v/v)となるように添加した。鞭毛長は、試験細胞懸濁液をミニ試験管に1mlずつ移し、直ちに2.5%グルタルアルデヒドを1滴加えて固定して、0、0.5、1、2、4hr後に測定した．鞭毛長は、位相差顕微鏡付属デジタルカメラでパソコンに取り込んだ画像を解析ソフトを用いて、平均値から求めた．

3　結果及び考察

*C. reinhardtii*の鞭毛は、通常、切断後1hrでほぼ切断前の長さまで再生され、4hrで安定した長さに達する。これに対し、4種類の有機溶剤を添加して行った鞭毛再生試験では、図1に示した通り、暴露時間、濃度により異なるレスポンスが得られた。図1に示したようにDMSOを除く他の溶媒では、有機溶媒濃度1%以上で、1hr後の再生鞭毛の長さが短くなった（有意水準、p=0.01）。特に、エタノールでは、0.5%濃度においても有意（p=0.01）に短くなった（図1(c)）。一方、4hr後では、アセトン（1～2%）およびDMSO（2%）の濃度において、再生した鞭毛の長さに対照区と有意な差（p=0.01もしくはp=0.05）が見られたものの、メタノールおよびエタノールでは、対照区との差（p＝0.01）は見られなかった。したがって、有機溶媒は鞭毛切断後の早い時期に鞭毛再生を阻害するものの、その作用は時間経過とともに解消される特徴を持つものと考えられる。 以上の結果から、DMSO、アセトン、エタノール、メタノールを鞭毛再生阻害試験の助剤として用いる場合、4時間の暴露における適正濃度は、それぞれ1.0、0.5、2.0、2.0%以下であることがわかった。

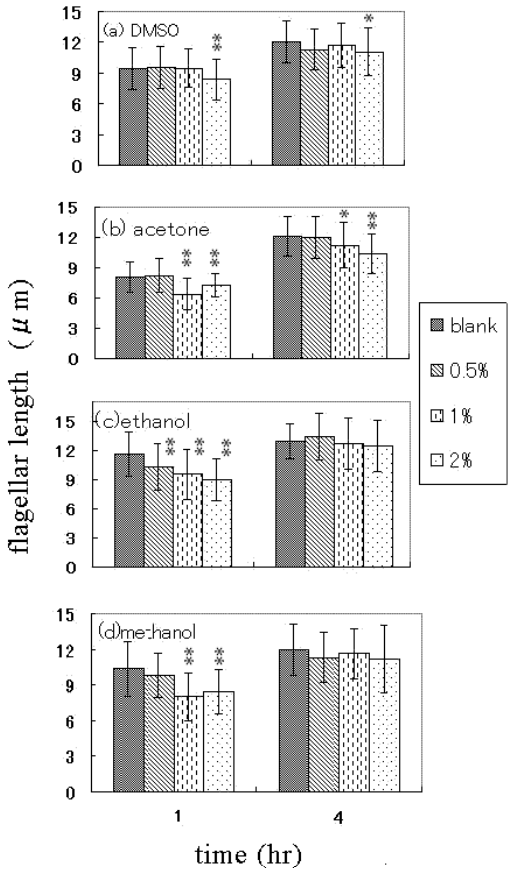

図1 鞭毛再生に及ぼす溶媒の影響

エラーバー，50cellsのS.D.；**，p=0.01，*,p=0.05

Development of Bio-monitoring Technology for Agrochemicals Screening of Polluted Ground Water
*韓国国立済州大学