

河川の水の遺伝毒性調査

タマネギの根端分裂組織を用いて

田村孝平 小川和志

【概要】

徳島県にある広石という銅山川で行われた魚類調査で魚が一切確認されませんでした。この調査結果を受けて小核試験を用いて広石谷川の水の遺伝毒性調査を行った。結果として鉱山跡横を流れる採水地点で一番高い確率で小核が発生した。

The fish weren't discover according to piscine survey. The purpose of this experiment is that survey the mutagenicity the percent state of one's numerically with micronucleus test. The water sampling point by mine is the highest rate of incidence all of the paint.

【研究動機】

生物の授業を通して、DNA が細胞の生命活動において重要な働きをしていることを知った。また、本校の先輩が行った課題研究から小核試験の存在を知り、小核試験を利用して河川の水の遺伝毒性を調査することを考えた。広石谷川では過去の魚類調査において、一切魚の姿が確認されなかったということを知り、広石谷川の水が DNA に対してどの程度影響を及ぼすのか調べるため、小核試験を行うことにした。

【小核試験】

細胞分裂の過程で、DNA が化学物質や放射線によって切断されることがある。この DNA 断片が修復されず、核とは別に娘細胞内に残ったものを小核 (図-1 矢印の部分) という。その小核の出現率を用いて化学物質や放射線の遺伝毒性を数値化する方法を小核試験という。

【広石谷川】

徳島県名西郡神山町を流れる広石谷川 (図-2) は、広石鉱山跡 (主にキースラーガー ; 含銅硫化鉄鉱石や黄鉄鉱、黄銅鉱、磁鉄鉱を産出) のそばを流れる鮎喰川 (吉野川水系、一級河川) の支流である。

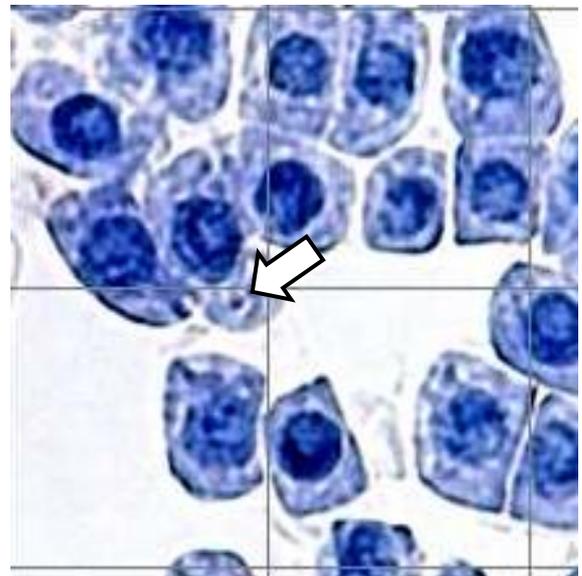


図-1 小核

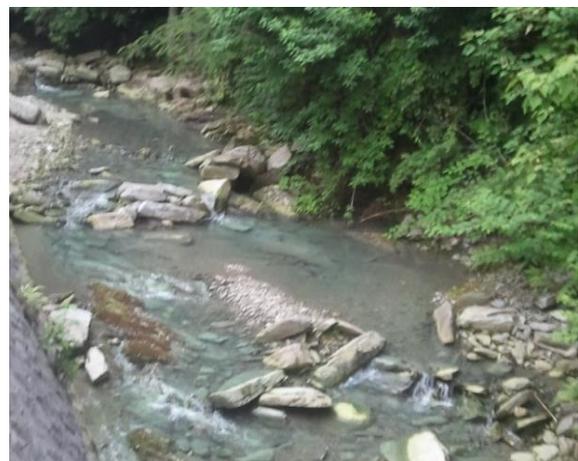


図-2 広石谷川

【材料と実験方法】

材料：タマネギ種子（O・K黄 タキイ種苗）
薬品：硫酸銅水溶液（0.125～0.1mol/L） カルノア液 酢酸ダーリア 塩酸（1mol/L）

広石谷川の鉦山跡の上流で1箇所、鉦山跡横で1箇所、鉦山跡から500m置きに2箇所、支流の松尾川との合流地点で1箇所の計5箇所です採水を行った（図-3）。採水した水は冷却して持ち帰り、ミリポアフィルターでろ過し冷蔵保管した。対照として、蒸留水、CuSO₄水溶液 0.125～0.1mol/Lを用いた。ろ紙をしき各液を2mLずつ注いだシャーレにタマネギの種を播種し、25℃で72時間発根させた。川の水とCuSO₄水溶液では、播種後48時間で蒸留水を注いだシャーレに移した。発芽種子はカルノア液で固定し、酢酸ダーリアで染色を行った。プレパラートを検鏡し、1つの根端あたり1000個、各条件ごとに約10000個の間期の細胞を観察し、小核を生じている細胞を数え、小核の発生率を算出した。

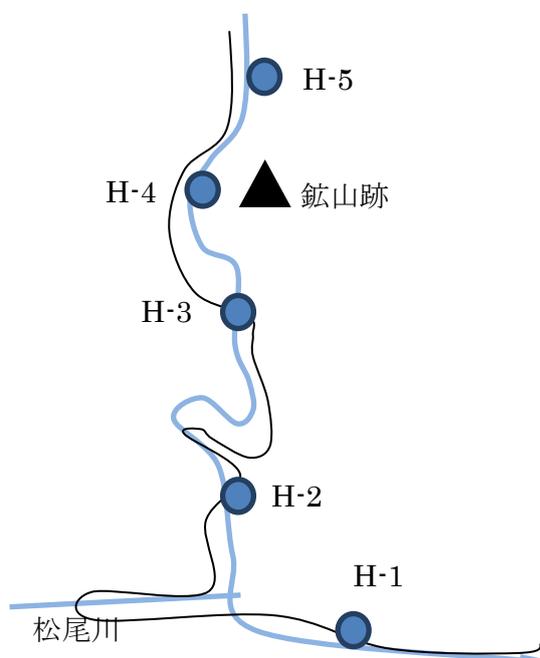


図-3 広石谷川採水地点

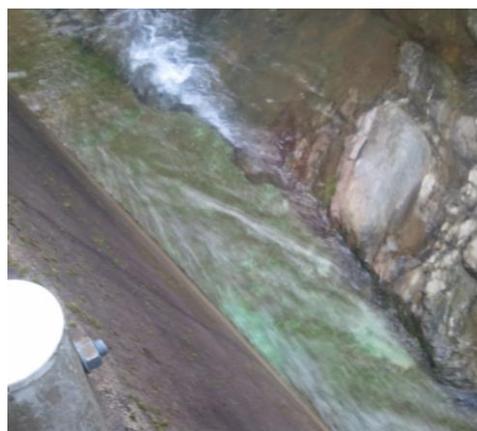


図-4 広石谷川採水地点（H-3）

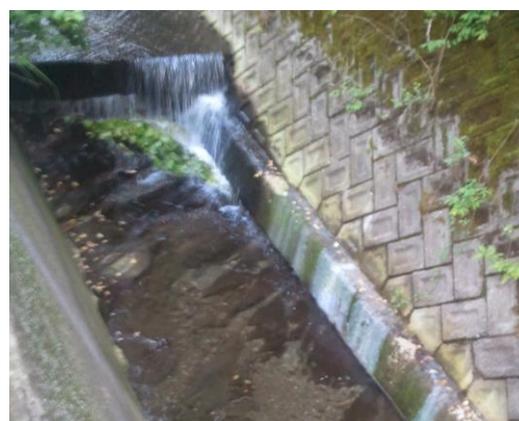


図-5 広石谷川採水地点（H-4）



図-6 広石鉦山跡



図-7 広石鉱山跡（ボタ山）

【結果と考察】

蒸留水と各濃度の硫酸銅の結果（表-1、図-8）では、硫酸銅濃度に比例して小核の出現率が上昇した。この結果を検量線として広石谷川の遺伝毒性を対照した。

広石谷川の各調査地点の水による小核の発生率を比較すると（表-2、図-9）、鉱山跡に最も近い H-4 から松尾川の合流点の上流の H-2、3 については、他の採水地点に比べて非常に高い確率で小核が発見された。検量線と比較すると H-4 の遺伝毒性は、約 0.03mol/L の硫酸銅水溶液に相当する。このことから鉱山跡からは、遺伝毒性の高い物質もしくは高濃度の遺伝毒性を持つ物質が流出していると考えられる。今回、H-3 についてプレパラート作製に失敗するなどして、他の採水地点よりもプレパラート数が多くなった。そのため、標準偏差が大きくなっている。今後、再度計測を行う必要があると考えている。

また、今回の調査においても鉱山跡から松尾川の合流地点までの流域では魚類および水生昆虫の類は発見できなかったが、鉱山より上流の採水地点では、カワムツが多数確認された。

表-1 硫酸銅水溶液による小核発生率

CuSO ₄ 濃度 (mol/L)	計測細胞数 (個)	小核数 (個)	小核発生率 (×10 ⁻³ %)	標準偏差 (×10 ⁻³)
0	10367	2	0.19	0.16 (n=3)
0.0125	16536	6	0.36	0.40 (n=5)
0.0250	9462	7	0.67	0.64 (n=5)
0.0500	11537	18	1.44	0.90 (n=5)

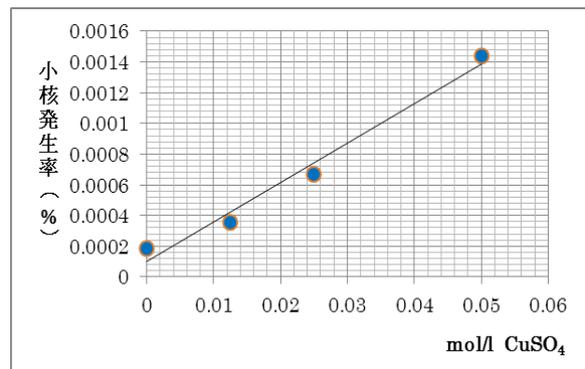


図-8 硫酸銅水溶液による検量線

表-2 広石谷川の水による小核発生率

調査地点	計測細胞数 (個)	小核数 (個)	小核発生率 (×10 ⁻³ %)	標準偏差 (×10 ⁻³)
H-1	14662	6	0.40	0.27 (n=5)
H-2	19524	14	0.74	0.28 (n=5)
H-3	18869	21	0.76	0.97 (n=8)
H-4	20171	16	0.81	0.49 (n=5)
H-5	20199	5	0.27	0.35 (n=5)

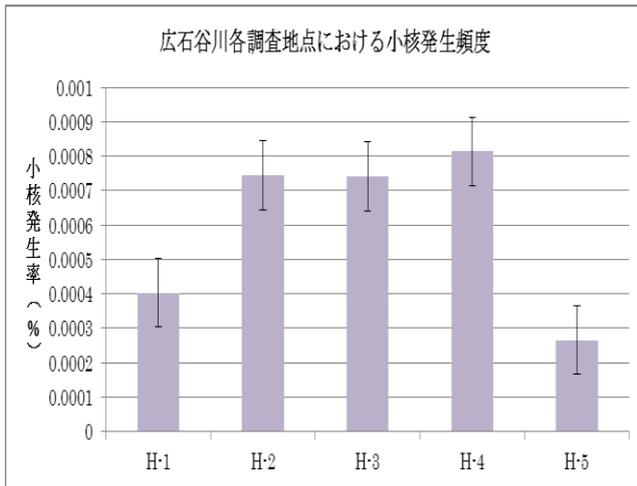


図-9 広石谷川の各調査地の水による小核発生頻度

【今後の課題】

現在は、本流の鮎喰川との合流地点以降でも採水を行い、また調査地点を増やしてデータを増やしているところである。今回の結果と統合し、広石谷川の水の遺伝毒性が流域でどのように変化していくのかをまとめたいと考えている。



図-10 広石銅山跡にて