汽水湖の水質汚濁が ヤマトシジミの総抗酸化力に及ぼす影響

池田 雄¹・鈴木 準平²・藤田 昌史³

¹非会員 茨城大学大学院生 理工学研究科博士前期課程都市システム工学専攻
(〒316-8511 茨城県日立市中成沢町4-12-1)

²正会員 電力中央研究所主任研究員 環境科学研究所水域環境領域
(〒270-1194 千葉県我孫子市我孫子1646)

³正会員 茨城大学准教授 工学部都市システム工学科 (〒316-8511 茨城県日立市中成沢町4-12-1)
E-mail: masafumi.fujita.wenv@vc.ibaraki.ac.jp

汽水湖の水質汚濁を想定して、都市下水、シマジン（除草剤）を外乱としてヤマトシジミに与え、ORAC法により総抗酸化力の応答を評価した。また、外乱実験を経たヤマトシジミを実験前の標準状態に戻したときの総抗酸化力もあわせて評価した。ヤマトシジミは、都市下水に曝されたことにより細胞が損傷している状況にあっても、総抗酸化力は応答しにくいことがわかった。一方、シマジンに対しては水質環境基準値の濃度でも応答することがわかった。現地でのモニタリングでは、採取したヤマトシジミを本実験で導入した標準状態系に曝露し、ORAC等のバイオマーカーの時系列データを得ることにより、有効な解析ができる可能性が示された。

Key Words : *oxygen radical absorbance capacity, comet assay, Corbicula japonica, municipal wastewater, simazine*

1. はじめに

我が国の湖沼の生活環境項目に係る水質環境基準の達成率は、平成27年度末現在58.7%となっている¹⁾。茨城県の中央部に位置する涸沼（汽水湖）では、水質保全計画を策定し、それに基づいた対策を実施している。しかしながら、水質環境基準が達成できていない現状である。その要因の一つとして、生活排水の流入が挙げられる。涸沼の流域市町村の一つである茨城町の下水道普及率は、平成26年度末現在で22.0%、合併処理浄化槽普及率等を加えても62.7%にとどまっているため²⁾、生活排水が未処理のまま涸沼に流入している。この生活排水由来の栄養塩類によって藻類が増殖し、CODや全窒素等が基準値を大幅に上回っていると考えられる³⁾。しかし、水質環境基準の達成を目的とした水質汚染対策は、涸沼の優占種であるヤマトシジミの餌源（藻類）を減少させる恐れがある。ヤマトシジミ漁で生計を立てる涸沼周辺の地域住民は、ヤマトシジミにとって良質な湖沼環境を望んでいることから、水質環境基準の達成が必ずしも良いこととは限らない。そのため、水質環境基準に加えて生態系保全や地域住民の満足度等も考慮した水環境の在り方を検討していくことが重要である。

近年、欧州を中心に海生二枚貝の生体内バイオマーカーを、沿岸海域の重金属モニタリングや水環境の評価に利用した調査研究が精力的に行われている⁴⁾⁵⁾。水生生物の環境ストレスに基づいた水環境の評価が可能となることから、バイオマーカーは有用な手法である。先行研究では、特に海生二枚貝の生体内タンパクが持つ総抗酸化力をバイオマーカーとして利用した研究が多い⁶⁾。しかしながら、明らかに環境ストレスが作用しているにも係わらず、総抗酸化力が応答しない場合があることが報告されている⁷⁾。これでは、生物に対する外乱の影響を過小評価してしまう恐れがあるため、細胞損傷等で生体内の状態を把握することは重要である。これまで、重金属や医薬品に由来する細胞損傷を調べた例は多いが⁸⁾⁹⁾、都市下水や除草剤を環境ストレスとして与えた例は無い。涸沼では、依然として生活排水の流入があり、周囲には農地が存在している。また、同様の状況の汽水湖もある。したがって、生活排水や農地で使用される除草剤等がヤマトシジミに及ぼす影響を調べることは有用である。

そこで本研究では、汽水湖の水質汚濁を想定してヤマトシジミを都市下水とシマジン（除草剤）に曝し、総抗酸化力（ORAC: Oxygen Radical Absorbance Capacity）の応

答、細胞損傷、生体内エネルギーの関係を整理することで、ヤマトシジミの総抗酸化力の応答機構を明らかにする。そして、外乱実験系から標準状態系に戻した際の抗酸化力の応答を調べることで、現地に生息するヤマトシジミが受けた環境ストレスを評価する方法も検討した。

2. 研究方法

(1) ヤマトシジミの飼育

瀬沼から採取したヤマトシジミ (*Corbicula japonica*) を、室内水槽で水温20℃、塩分5 psuの環境で飼育した。塩分は人工海水を用いて調整し、1日に5 Lの水を入れ替えた。ヤマトシジミの餌源として、別途培養したハリケイソウ (*Synedra*) とフナガタケイソウ (*Navicula*) を与えた。水槽内は常時曝気を行い、溶存酸素はほぼ飽和を保った。

(2) ヤマトシジミの生体内バイオマーカーの評価

a) 活性酸素吸収能 (ORAC)

ORACは、フルオレセインを蛍光プローブとして用いて、ラジカル開始剤AAPHを発生源とするペルオキシラジカル (活性酸素種) によって分解されるフルオレセインの蛍光強度を時系列的に測定して、総抗酸化力を定量する手法である¹⁰⁾。抗酸化成分 (抗酸化物質・酵素) によってペルオキシラジカルが消去されるため、フルオレセインの分解が遅延し、蛍光強度が持続する。抗酸化成分が多いほど、総抗酸化力はより高いと解釈できる。

ヤマトシジミの軟体部または鰓を、1個体ずつ遠心用チューブに採取した。その後、緩衝液 (Tris-HCl 20 mM, EDTA 1 mM, KCl 50 mM) を20 mL添加し、ホモジナイズ処理を行った。そして遠心分離 (10,000×G, 10 min) し、得られた上澄液を試料とした。試料30 µLにフルオレセイン150 µLとAAPH60 µLを添加し、マイクロプレートリーダー (infinite F200PRO, TECAN社) を用いて、2分おきに2時間にわたって蛍光強度を測定した。蛍光分析は、励起

波長485 nm、測定波長528 nmで行った。既報⁷⁾にしたがい、試料または標準物質の蛍光強度の曲線下面積とブランクの曲線下面積の差を算出し、標準物質 (Trolox) 当量で換算した。その値を、分析対象の溶解性タンパク量で除したものをORACとした。溶解性タンパク量は、Bradford法で定量した¹¹⁾。

b) コメットアッセイ

コメットアッセイは、抽出した細胞を電気泳動し、DNA鎖の移動パターンを画像解析することで、細胞損傷を定量する方法である。コメットアッセイによって得られた画像を図-1に示した。損傷していない細胞は、核が丸い形を維持するが、損傷した細胞はDNA鎖が移動することで、コメット (彗星) のような形を呈する。画像中の細胞は、Head (核) とTail (DNA) の2つの部分に分けられ、各部分のピクセル強度を基に、細胞損傷が定量される。

分析に用いる細胞は、Martinsら¹²⁾の方法を参考に、ヤマトシジミの鰓から抽出した。まず、軟体部から鰓を切り取り、付着した粘性物質を出来る限り除去した。その後、鰓を等張液 (500 mM NaCl, 12.5 mM KCl, 5 mM EDTA-Na₂, 20 mM Tris-HCl, pH 7.4) 1 mLを入れた2 mL遠心用チューブに採取し、ハサミでなるべく細かく切断して、1時間静置した。そして、遠心分離 (1,940×G, 1 min) によって得られた上澄液を試料とした。

コメットアッセイの手順はSinghら¹³⁾に従い、OxiSelect 96-Well Comet Assay Kit (Cell Biolabs社) を用いて処理を行った。処理された細胞は、蛍光顕微鏡 (OLYMPUS社, BX-50) を用いて観察し、顕微鏡用カメラ (WRAYMER社, WRAYCAM SR130M) で撮影した。観察倍率は563倍で、1サンプルにつき50 cells撮影した。蛍光顕微鏡の観察倍率と細胞数については事前に検討し、高精度かつ短時間で撮影・解析が可能な条件であることを確認した。

得られた電気泳動画像の解析には、コメットアッセイの研究で実績のある解析ソフトCASP (Comet Assay Software Project) を用いた¹⁴⁾。細胞損傷を表す指標は、

表-1 ヤマトシジミの馴致、実験の条件 (水温20℃、塩分10psu)

実験	Run	馴致	外乱応答実験系 (Exposure)		標準状態系 (Depuration)
		給餌量 (mgSS/L)	給餌量 (mgSS/L)	外乱条件	給餌量 (mgSS/L)
1	1-1	1.0	1.0	ろ過下水 (10倍希釈)	
	1-2		0.0		
2	2-1	1.0	1.0	ろ過下水 (10倍希釈)	0.0
	2-2	0.5	0.5		
	2-3	0.0	0.0		
3	3-1	1.0	1.0	シマジン (0.003mg/L)	0.0
	3-2	0.5	0.5		
	3-3	0.0	0.0		

TailDNA%を用いた(式-1)．式中のHeadとTailはピクセル強度が考慮された面積であり，TailDNA%は損傷部分の割合を表している．TailDNA%の値が高いほど，より細胞が損傷していると解釈できる．

c) 生体内エネルギー (ATP)

生体内エネルギーの評価には，エネルギーの通貨と呼ばれるアデノシン三リン酸 (ATP: Adenosine Tri-Phosphate) を用いた．ATPは生物の代謝活動の維持や，エネルギーの貯蔵，利用といった生理・生化学的反応に深く関与している．

ヤマトシジミの軟体部を2 mL遠心用チューブに採取し，凍結乾燥した．凍結乾燥後，軟体部の乾燥重量を測定し，乾燥重量1 gあたりに6 %過塩素酸を5 mL添加して，ATPを抽出した．そして，遠心分離 (7,740×G, 15 min) し，上澄液をマイクロシリンジで量りながら回収した．この上澄液に対して0.083倍の3 M炭酸カリウムを添加した．そして，生成される沈殿を除去するために，再度遠心分離を行い，得られた上澄液を試料とした．分析には，ATP Determination Kit (Thermo Fisher Scientific社) を用いて，発光分析で測定される発光強度を基にATPを定量した．

(3) ヤマトシジミの抗酸化応答実験

a) 都市下水に対する抗酸化応答と細胞損傷 (実験1)

実験開始前にヤマトシジミ (殻長 20.8 ± 0.90 mm) を水温 20°C ，塩分10 psuで6日間馴致した．馴致後のヤマトシジミを人工海水で10倍希釈したろ過下水 (溶存有機炭素DOC=10.7 mgC/L, $\text{NH}_4\text{-N}$ =13.7 mgN/L) に曝し，珪藻類を1.0 mg-SS/個体となるように給餌したケース (Run1-1) と無給餌のケース (Run1-2) を設けた．各ケース，ヤマトシジミを50個体投入した．ヤマトシジミの鰓の総抗酸化力を実験開始時と7，11日目に分析し ($n=5$)，コメットアッセイを実験開始時と11日目に行った ($n=5$)．

b) 外乱実験系と標準状態系における抗酸化応答 (実験2, 3)

室内水槽を水温 20°C ，塩分10 psu (標準状態系) に調整し，珪藻類を1.0 mg-SS/個体 (Run2-1, Run3-1)，0.5 mg-SS/個体 (Run2-2, Run3-2) となるように給餌したケースと，無給餌 (Run2-3, Run3-3) の計3ケースを設けた．それぞれヤマトシジミ (殻長 20.6 ± 1.18 mm) を70個体投入し，7日間馴致した．その後，一方は人工海水で10倍希釈したろ過下水 (DOC=9.2 mgC/L, $\text{NH}_4\text{-N}$ =21.0 mgN/L)

図-1 コメット泳動画像と TailDNA%の算出式

に，もう一方は水質環境基準値 (0.003 mg/L) に設定したシマジシ (除草剤) にそれぞれ7日間曝露した (外乱実験系)．ケース間における給餌量の違いで，ヤマトシジミの抗酸化応答が異なることを予想し，再び標準状態系に7日間戻した．この際には，3ケースとも無給餌とした．ヤマトシジミの鰓の総抗酸化力とATPを実験開始時と外乱実験系2，7日目，標準状態系に戻した2，4，7日目に分析した ($n=5$)．

(4) 統計解析

Tukey-Kramer法により各Run，各採取日のサンプルのORAC，ATPの検定を行った．異なるアルファベットのサンプルは有意差 ($p<0.05$) があったことを意味する．

3. 結果・考察

(1) 都市下水に対する抗酸化応答と細胞損傷の関係

図-2にろ過下水 (10倍希釈) に対するORAC，図-3，図-4にTailDNA%とコメット泳動画像をそれぞれ示した．5倍希釈のろ過下水に曝した既報¹⁰⁾ではORACは約40%減少したが，10倍希釈のろ過下水を用いた本実験では，2ケースともに実験期間を通じて変化しなかった ($p>0.05$)．一方，TailDNA%は，実験開始時に13.3 %であったのに対し，11日目にはRun1-1で37.8 %，Run1-2で28.4 %と増加していた ($p<0.05$)．これは，ろ過下水に曝露されたことで細胞が損傷したことを意味する．したがって，10倍希釈のろ過下水でもヤマトシジミの細胞は損傷するが，5倍希釈の都市下水に曝した実験結果⁷⁾と異なり，抗酸化応答は示さないことが明らかとなった．また，給餌の有無に関係なく細胞は損傷することが分かった．ヤマトシジミの細胞が損傷した要因の一つとして，5倍希釈の都市下水に曝した場合と同様に，下水中のアンモニアによって活性酸素種が過剰に生成されたことが可能性として考えられる¹⁵⁾．以上の結果より，明らかなストレス要因であっても，濃度によってはORACで応答を捉えることが難しい場合があることが示された．スト

図-2 ろ過下水に対する ORAC の推移 (実験 1)

図-3 ろ過下水に対する TailDNA% (実験1)

図-4 ろ過下水に曝されたヤマトシジミのコメット泳動画像 (左: Run1-1, 右: Run1-2)

レス要因が与えられたヤマトシジミは、細胞損傷からの回復や総抗酸化力の維持にエネルギーが費やされていることが予想されるため、生体内エネルギーの観点から評価することも重要である。そこで、ORACに加えてATPを併用して、以下の実験を行った。

図-5 ろ過下水に対する ORAC の推移 (実験2)

図-6 ろ過下水に対する ATP の推移 (実験2)

(2) 外乱実験系と標準状態系における抗酸化応答と生体内エネルギーの関係

a) 都市下水

図-5、図-6に外乱実験系（図中のExposureの期間）と、その後の標準状態系（図中のDepurationの期間）におけるORACとATPの推移を示した。ORACは外乱実験系では、変化しなかった ($p>0.05$)。その後の標準状態系においてはRun2-2とRun2-3の4日目、Run2-3の7日目で有意差が生じたものの ($p<0.05$)、実験期間を通じて大きな変化は見られなかった。5倍希釈のろ過下水に曝した既報¹⁶では、曝露開始2日目でORACが減少した ($p<0.05$)。また、自然環境条件として塩分や水温に対するORACの応答を調べた既報⁷でも、実験開始2日目でORACが減少したことが報告されている ($p<0.05$)。しかしながら、10倍希釈のろ過下水を用いた本実験では、このような傾向は見られなかった。一方、ATPは、実験開始時にRun2-1、Run2-2で約7.5 $\mu\text{mol/g}$ 、Run2-3で34.9 $\mu\text{mol/g}$ という値が示され、両者の間には有意差が生じた ($p<0.05$)。給餌の有無の差が出た可能性がある。その後、Run2-1、Run2-2は外乱実験系2日目で既にATPが増加していた ($p<0.05$)。また、外乱実験系7日目には、Run2-2とRun2-3の間に有意差が生じた ($p<0.05$)。外乱実験系2日目以降は、全てのケースで変化が無かった ($p>0.05$)。

二枚貝は環境が悪化すると、殻を閉じる機構が知られ、ろ過水量や酸素を取り込む量が減少する¹⁷。環境が

図-7 シマジンに対する ORAC の推移 (実験3)

図-8 シマジンに対する ATP の推移 (実験3)

悪化し、殻を閉じた中で生存し続けるには、エネルギーの消費を出来るだけ抑える必要がある。実際にミノガイ (*Lima hians*) をストレス環境に曝した実験では、ストレス曝露前と比較してATPの消費量が10分の1に低下することが報告されている¹⁸⁾。本実験においても、餌が無い環境や下水曝露がヤマトシジミに環境ストレスとして作用し、既報¹⁸⁾と同様にATPの消費量が低下したものと考えられる。これにより、生体内でのエネルギー利用を最小限に留め、ATPを貯蔵した可能性が考えられる。一方で、ストレス要因が無い馴致時の環境では、珪藻類の摂餌によって得たエネルギーを代謝の維持や成長に利用したことでATPが消費されたと考えられる。そのため、実験開始時のRun2-1, 2-2ではATPが既に減少していた可能性が考えられる。

b) シマジン

図-7、図-8に外乱実験系（図中のExposureの期間）と、その後の標準状態系（図中のDepurationの期間）におけるORACとATPの推移を示した。

シマジン曝露開始時（7日目）では、いずれの系でもORACは約18 $\mu\text{mol-TE/mg-Protein}$ であった。14日目では無給餌の系（Run3-3）のORACが約13 $\mu\text{mol-TE/mg-Protein}$ であったのに対し、給餌した系（Run3-1, Run3-2）では約20 $\mu\text{mol-TE/mg-Protein}$ であった ($p<0.05$)。給餌した系では、体内にエネルギーを蓄えられたため、曝露時においても抗酸化成分を合成することができ、ORACが維持されたものと考えられる。一方、無給餌の系では、見かけ上、抗酸化成分の合成よりも消費の方が卓越したものと考えられる。

一方、ATPはシマジン曝露開始時（7日目）では約19~23 $\mu\text{mol/g}$ を示し、都市下水の実験のように給餌の有無による差が見られなかった ($p>0.05$)。本実験の馴致期間は、7日間でORACが十分に安定した知見⁷⁾に基づいて設定したが、今後ATPについても確認する必要がある。その後の外乱実験系、標準状態系でも、ATPには変化は見られなかった ($p>0.05$)。

以上の結果から、ヤマトシジミは都市下水とシマジンでは異なるORAC応答を示すことが分かった。また、ORACの応答には摂餌量も影響することが分かった。本実験では、外乱実験条件として都市下水やシマジンを対象としたが、実環境では他の外乱要因も複合的に作用する。したがって、今後は外乱条件が複合的に作用する条件でORACの応答を確認する必要がある。また、外乱実験では給餌条件によりORACの時系列変化が異なったことから、現地でのモニタリングを踏まえると、採取したヤマトシジミをそのままスポット分析するよりも、本実験で用いた標準状態系に曝してORAC等の時系列データを得た方が、有用な知見が得られる可能性があることが示された。

4. 結論

汽水湖の水質汚濁を想定して、ヤマトシジミを都市下水、シマジンに曝露し、生体内の細胞損傷やATPを調べて、総抗酸化力との関係を整理した。得られた知見を以下に示す。

- 1) 10倍希釈のろ過下水に対しては、抗酸化応答は示さないが、細胞は餌の有無に係わらず損傷していた。したがって、都市下水は濃度によってORACで応答を捉えにくい可能性があるものの、ヤマトシジミに対して環境ストレスとして作用していることが分かった。
- 2) 10倍希釈のろ過下水を与えた外乱実験系と標準状態系のいずれの場合でも、総抗酸化力に大きな変化が無かった。一方、ATPは給餌量によって応答が異なった。これより、ORACのみで環境ストレスを評価することは難しい可能性があることが分かった。今後は、都市下水と他の外乱要因が複合的に作用する条件でORACの応答を確認する必要がある。
- 3) シマジンに対しては、水質環境基準値 (0.003 mg/L) でも、外乱実験系、標準状態系のいずれの場合も有意な変化が見られた。現地調査では、ヤマトシジミの採取後に標準状態系に曝してORAC等の時系列データを得た方が、有用な知見が得られる可能性があることが示された。

謝辞

本研究は、JSPS科研費JP17K06615の支援を受けた。また、廣瀬綾太氏（平成28年度茨城大学工学部4年生）にはシマジンをを用いた外乱実験や解析等で協力を得た。ここに記し、深甚なる謝意を表する。

参考文献

- 1) 環境省, 平成 27 年度公共用水域水質測定結果, p. 13, 2016.
- 2) 茨城県, 平成 26 年度茨城県市町村別污水处理人口普及率, 2016.
- 3) 茨城町, 平成 26 年度水質調査報告書, p. 1, 2014.
- 4) Bebianno, M.J., Company, R., Serafima, A. Camus, L., Cosson, R.P., Fiala-M'edoni, A. : Antioxidant systems and lipid peroxidation in *Bathymodiolus azoricus* from Mid-Atlantic Ridge hydrothermal vent fields, *Aquatic Toxicology*, Vol. 75, pp. 354-373, 2005.
- 5) Hagger, J.A., Jones, M.B., Lowe, D., Leonard, D.R.P., Owen, R., Galloway, T.S. : Application of biomarkers for improving risk assessments of chemicals under the Water Framework Directive: A case study, *Marine Pollution Bulletin*, Vol. 56, pp. 1111-1118, 2008.
- 6) Regoli, F., Nigro, M., Chiantore, M., Winston, G.W. : Seasonal variations of susceptibility to oxidative stress in *Adamussium colbecki*, a key bioindicator species for the

- Antarctic marine environment, *The Science of the Total Environment*, Vol. 289, pp. 205–211, 2002.
- 7) 池田雄, 明石詢子, 町田裕貴, 鈴木準平, 藤田昌史 : 汽水湖の環境要因に対するヤマトシジミの抗酸化力応答, 土木学会論文集 B2 (海岸工学), Vol. 72, No. 2, I_1351–I_1356, 2016.
 - 8) Slobodskova, V.V., Solodova, E.E., Slinko, E.N., Chelomin, V.P. : Evaluation of the genotoxicity of cadmium in gill cells of the clam *Corbicula japonica* using the comet assay, *Russian Journal of Marine Biology*, Vol. 36, No. 4, pp. 311–315, 2010.
 - 9) Parolini, M., Binelli, A. : Oxidative and genetic responses induced by Δ -9-tetrahydrocannabinol (Δ -9-THC) to *Dreissena polymorpha*, *Science of the Total Environment*, Vol. 468, pp. 68–76, 2014.
 - 10) Gorokhova, E., Löf, M., Reutgard, M., Lindström, M., Sundelin, B. : Exposure to contaminants exacerbates oxidative stress in amphipod *Monoporeia affinis* subjected to fluctuating hypoxia, *Aquatic Toxicology*, Vol. 127, pp. 46–53, 2013.
 - 11) Bradford, M.M. : A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding, *Analytical Biochemistry*, Vol. 72, No. 1-2, pp. 248–254, 1976.
 - 12) Martins, M., Costa, P.M., Raimundo, J., Vale, C., Ferreira, A.M., Costa, M.H. : Impact of remobilized contaminants in *Mytilus edulis* during dredging operations in a harbour area: bioaccumulation and biomarker responses, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, Vol. 85, pp. 96–103, 2012.
 - 13) Singh, N.P., McCoy, M.Y., Tice, R.R., Schneider, E.L. : A simple technique for quantitation of low levels of DNA damage in individual cells, *Experimental Cell Research*, Vol. 175, pp. 184–191, 1988.
 - 14) Końca, K., Lankoff, A., Banasik, A., Lisowska, H., Kuszewski, T., Gózdź, S., Koza, Z., Wojcik, A. : A cross-platform public domain PC image-analysis program for the comet assay, *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, Vol. 534, No. 1, pp. 15–20, 2003.
 - 15) Chetty, A.N., Indira, K. : Free radical toxicity in a freshwater bivalve, *Lamellidens marginalis* under ambient ammonia stress, *Journal of Environmental Biology*, Vol. 16, No. 2, pp. 137–142, 1995.
 - 16) 池田雄, 町田裕貴, 鈴木準平, 藤田昌史 : 都市下水に対する汽水性二枚貝ヤマトシジミの軟体部と鰓の総抗酸化力の応答, 水環境学会誌 (印刷中)
 - 17) Thompson, R., Bayne, B.L. : Active metabolism associated with feeding in the mussel *Mytilus edulis* L., *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, Vol. 9, No. 1, pp. 111–124, 1972.
 - 18) Gäde, G. : Energy production during anoxia and recovery in the adductor muscle of the file shell, *Lima hians*, *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Comparative Biochemistry*, Vol. 76, No. 1, pp. 73–77, 1983.

(2017.3.15 受付)

EFFECTS OF WATER POLLUTION IN BRACKISH LAKE ON TOTAL ANTIOXIDANT CAPACITY OF *CORBICULA JAPONICA*

Yu IKEDA, Jumpei SUZUKI and Masafumi FUJITA

Oxygen radical absorbance capacity (ORAC) was applied to brackish water bivalve *Corbicula japonica* to assess antioxidant responses to municipal wastewater and simazine (herbicide), assuming water pollution in brackish lakes. In addition, ORAC of the bivalves which were returned to standard condition (the same conditions as acclimatization conditions prior to disturbance conditions) from municipal wastewater and simazine exposed conditions (disturbance conditions). No antioxidant responses were found in municipal wastewater exposure (10-times dilution), although the comet assay (single-cell gel electrophoresis) showed bivalve's cells were significantly damaged. On the other hand, significant responses occurred in simazine with the same concentration (0.003 mg/L) of the Environmental Quality Standards for Water Pollution in Japan. The results reveal that useful information on antioxidant responses of the bivalves inhabiting actual environment can be obtained by evaluating time series data in the standard condition to which sampled bivalves are exposed.