

研究成果報告書

(国立情報学研究所の民間助成研究成果概要データベース・登録原稿)

研究テーマ (和文) AB		線虫集団分析に基づく汚染土壌のリスク評価法に関する基礎研究			
研究テーマ (欧文) AZ		Study on risk assessment by analysis of nematode population in polluted soil			
研究氏 代 表 名 者	カナ CC	姓)エキ	名)トシヒコ	研究期間 B	2007～ 2009年
	漢字 CB	浴	俊彦	報告年度 YR	2009年
	ローマ字 CZ	EKI	TOSHIHIKO	研究機関名	豊橋技術科学大学
研究代表者 CD 所属機関・職名		浴 俊彦 豊橋技術科学大学・教授			
概要 EA (600字～800字程度にまとめてください。)					
<p>土壌線虫(soil nematodes)は種の数と量において主要な生物であり、土壌における物質循環を研究するうえで欠かすことができない存在である。しかし、その環境学的な重要性にもかかわらず、数百万種とも言われている種多様性のために土壌線虫に関する研究は進んでいないのが現状である。本研究では、(1)汚染土壌のリスク評価を念頭に、土壌線虫集団の変動を指標とした評価法の確立のための基礎研究を行うとともに、(2)主要な環境汚染物質について代表的な土壌線虫である線虫 <i>C. elegans</i> を用いた毒性評価法の検討を行った。</p> <p>基準となる線虫株 <i>C. elegans</i> のほか、入手可能な8種類の線虫株(<i>M. longespiculosa</i>, <i>O. dolichuroides</i>, <i>P. typical</i>, <i>Acrobeloides</i> sp., <i>Zeldia</i> sp., <i>P. teres</i>, <i>P. pacificus</i>, <i>Panagrolaimus</i> sp.)を培養し、DNA 試料を調製した。線虫種を区別するために、ミトコンドリア電子伝達系の遺伝子(<i>COX1</i>)の塩基配列多型を利用する方法および任意のプライマーセットを用いた random amplified polymorphic DNA (RAPD)法について検討した。全ての株で増幅 <i>COX1</i> 断片のクローニングを行い、それらの塩基配列の比較解析、および種特異的な RAPD バンドの再現性について詳細な検証を行った。また、ベルマン法を改良して回収した土壌線虫について、上記手法により主要な線虫種を同定するための解析を進めている。また、土壌線虫解析と並行して、4種類の主な環境有害性物質について、<i>C. elegans</i> の短寿命変異体を用いた寿命短縮を指標とする毒性評価法の研究を行い、変異体利用の有用性を実証した。</p>					
キーワード FA	線虫	土壌	毒性評価	DNA 解析	

(以下は記入しないでください。)

助成財団コード TA					研究課題番号 AA								
研究機関番号 AC					シート番号								

発表文献（この研究を発表した雑誌・図書について記入してください。）									
雑誌	論文標題 <sup>GB</sup>	Using the nematode <i>Caenorhabditis elegans daf-16</i> mutant to assess the lifespan toxicity of prolonged exposure to ecotoxic agents							
	著者名 <sup>GA</sup>	Masaru Kurauchi, Hisashi Morise, and Toshihiko Eki	雑誌名 <sup>GC</sup>	<i>Journal of Health Science</i>					
	ページ <sup>GF</sup>	印刷中	発行年 <sup>GE</sup>	2	0	0	9	巻号 <sup>GD</sup>	55巻、5号
雑誌	論文標題 <sup>GB</sup>								
	著者名 <sup>GA</sup>		雑誌名 <sup>GC</sup>						
	ページ <sup>GF</sup>	～	発行年 <sup>GE</sup>					巻号 <sup>GD</sup>	
雑誌	論文標題 <sup>GB</sup>								
	著者名 <sup>GA</sup>		雑誌名 <sup>GC</sup>						
	ページ <sup>GF</sup>	～	発行年 <sup>GE</sup>					巻号 <sup>GD</sup>	
図書	著者名 <sup>HA</sup>								
	書名 <sup>HC</sup>								
	出版者 <sup>HB</sup>		発行年 <sup>HD</sup>					総ページ <sup>HE</sup>	
図書	著者名 <sup>HA</sup>								
	書名 <sup>HC</sup>								
	出版者 <sup>HB</sup>		発行年 <sup>HD</sup>					総ページ <sup>HE</sup>	

欧文概要<sup>EZ</sup>

Nematodes are species- and mass-abundant organisms in soil and play important roles in nutrient cycling. Since soil nematodes are affected by exposure to dissolved contaminants, analyzing living nematode populations could be useful for assessment of polluted soil environment. However, it is difficult to distinguish nematode species because of their huge number of species. In this study, we tried to establish the methods for isolate soil nematodes and distinguish the species by molecular biological approach. First, we modified the Baermann method and successfully isolated soil nematodes. Secondly, nine species of soil nematodes (*C. elegans*, *M. longespiculosa*, *O. dolichuroides*, *P. typical*, *Acrobeloides sp.*, *Zeldia sp.*, *P. teres*, *P. pacificus*, and *Panagrolaimus sp.*) were obtained to prepare genomic DNAs. The DNA fragments with approximately 700 bp of the mitochondrial *COX1* gene were amplified and cloned DNAs were subsequently sequenced for examining molecular barcodes of these species. The RAPD method was also tested for analysis of nematode species using those DNAs to detect several species-specific bands. At present, both methods are applied to analysis of soil nematodes isolated by the Baermann method. Thirdly, we showed the effectiveness of use of a short-lived *C. elegans* to assess lifespan toxicity by exposure to four kinds of ecotoxicants.