

沖縄の野生および飼育ウミガメにおける血液中微量元素動態の PIXE 分析

鈴木一由¹、能田 淳¹、世良耕一郎²

¹酪農学園大学獣医学群獣医学類
069-8501 北海道江別市文京台緑町 582

²岩手医科大学サイクロトンセンター
020-0173 岩手県岩手郡滝沢村滝沢字留が森 348-58

1 はじめに

陸生動物と比較して海洋動物は元素の蓄積が高く[1]、特にウミガメは食物連鎖の高位に位置し、50年以上の長寿であることから海洋汚染のバイオマーカーとして関心が高い[2-4]。日本沿岸に生息するウミガメはタイマイ (*Eretmochelys imbricata*)、アオウミガメ (*Chelonia mydas*) およびアカウミガメ (*Caretta caretta*) である[2]。タイマイは珊瑚を、アオウミガメはアオモなどの海草や藻類、アカウミガメはカニ、貝、エビ、クラゲなどを餌とする[5,6]。

ウミガメによる海洋汚染の研究では、商業目的で捕獲または浜に打ち上げられた個体の肝臓、腎臓、筋肉、心臓および甲羅から生体試料を採取して行われている[7-11]。しかし、これらのバイオモニタリングでは剖検によってサンプルを得るために、時系列的な測定が不可能であり、動物福祉の観点からも最善の方法ではない。一方、血液サンプルは剖検を必要とせず、時系列的な評価を可能とするため着目されているが[12-14]、健康動物の微量元素レベルの参照値が確立されていないため実用には至っていない[13]。

本研究では、同じ海域で食性の異なる野生のウミガメと飼育下のウミガメの血漿中微量元素濃度を粒子歴 X 線分析法 (PIXE) により測定し、海洋汚染の影響が極めて少ない飼育下ウミガメを参照値として、ウミガメの種類によって微量元素動態に違いがあるのか否か、また沖縄近海の野生ウミガメの微量元素汚染の程度について評価した。

2 測定方法

2.1 供試動物

身体一般検査で異常の認められなかった 57 頭 (野生 24 頭および飼育 33 頭) のウミガメを供試した。野生ウミガメの多くは沖縄県読谷村の浜辺で座礁したものである。野生ウミガメはタイマイ (n=6)、アオウミガメ (n=9) およびアカウミガメ (n=9) であった。飼育下ウミガメは沖縄海洋博公園で飼育されているタイマイ (n=25)、アオウミガメ (n=5) およびアカウミガメ (n=3) を用いた。飼育下ウミガメはキビナゴ (*Spratelloides gracilis*)、カラフトシシャモ (*Mallotus villosus*)、イカ類 (*Loligo bleekeri*)、キャベツ、白菜、レタスが給餌されていた。これらの供試動物については沖縄海洋博公園の獣医師が身体一般および血液検査を行い、健康状態を確認した。背側頸静脈洞から 10 ml の血液を採取し、直ちにヘパリン添加真空採血管に分注した。遠心分離後に得た血漿サンプルは測定まで -80°C で保存した。採血直後に全てのウミガメの甲羅長および甲羅幅を測定し、野生動物は放流した。

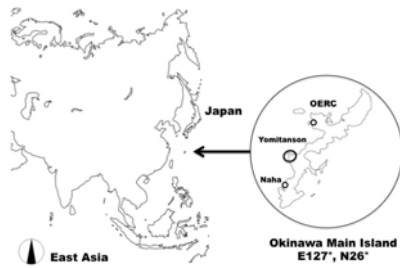


Figure 1 Map of East Asia showing the sampling area along the Coast in Okinawa main island, Japan (E127°, N26°)

2.2 血漿中微量元素濃度の測定および統計解析

各血漿中微量元素濃度は定法に従い仁科記念サイクロトロンセンターにおいて PIXE 法で測定した[15,16]。データは平均値±標準偏差 (SD) で示した。統計解析は市販のコンピュータープログラムソフトウェア (IBM SPSS Statistics, v.19 (IBM Co, Somers, NY, USA))を用いて行った。野生および飼育下、ウミガメの種間における平均値の差の検定は、それぞれ Mann-Whitney の U 検定および Student Newman Keuls 法を用いて行った。P<0.05 を有意とした。

3 結果

PIXE 法において測定可能であったウミガメの血漿中微量元素は Al, As, Br, Ca, Cl, Cr, Cu, Fe, Hg, K, Mg, Mn, Mo, Ni, P, Pb, S, Se, Si, Sr, Ti, Y および Zn の 23 元素であった。これらの元素のうち、As, P, Pb、および S を除く 19 元素において、生活環境間およびウミガメの種間において有意な差は認められなかった。

Fig. 2 に野生および飼育下ウミガメの血漿中 P および S 濃度を示した。アカウミガメの血漿中 P 濃度は、野生および飼育下の環境条件による違いは認められなかったが、タイマイ (139.2±83.7 vs 85.5±41.7 µg/mL, p<0.05) およびアオウミガメ (305.6±219.3 vs 93.5±39.8 µg/mL, p<0.05) では飼育下で有意に高値を示した。また、血漿中 S 濃度においてアカウミガメで環境条件による違いは認められなかったが、タイマイ (418.9±119.1 vs 286.3±69.2 µg/mL, p<0.05) およびアオウミガメ (696.0±171.7 vs 428.3±107.5 µg/mL, p<0.05) では飼育下で有意に高値を示した。野生のアカウミガメの血漿中 P および S 濃度はタイマイのそれらよりも有意に高値を示した p<0.05)。

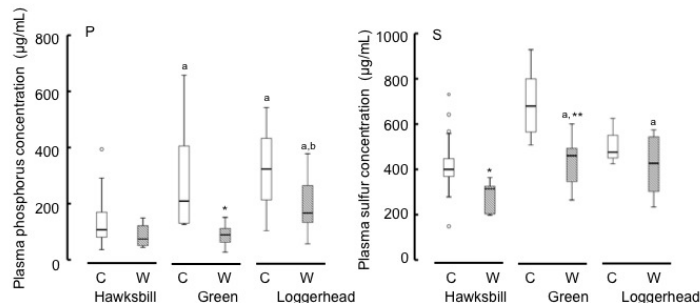


Figure 2 Concentrations (mean±SD) of total plasma phosphorous (P) and sulfur (S) concentrations obtained from 24 wild and 33 captive sea turtles. The horizontal line in each box represents the median value. The boxes represent the interquartile range (25%-75%). Outlines are plotted separately as dots. Statistical difference from hawksbill (a: p<0.05), green (b: p<0.05) and the captive sea turtle (*: p<0.05, and **: p<0.01).

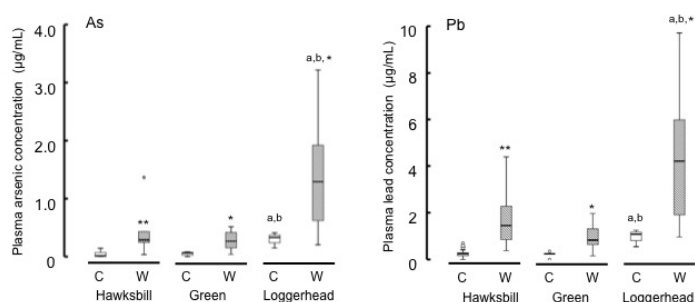


Figure 3 Concentrations (mean±SD) of total plasma arsenic (As) and lead (Pb) concentrations obtained from 24 wild and 33 captive sea turtles. See Figure 2 for key.

Fig. 3 に野生および飼育下ウミガメの血漿中 As および Pb 濃度を示した。野生のアカウミガメの血漿中 As 濃度(1.362±0.953 µg/mL)はタイマイ (0.443±0.470 µg/mL, $p<0.05$)およびアオウミガメ(0.297±0.170 µg/mL, $p<0.01$)のそれよりも有意に高値を示した。同様に飼育下のアカウミガメの血漿中 As 濃度(0.297±0.135 µg/mL)はタイマイ (0.041±0.047 µg/mL, $p<0.05$)およびアオウミガメ(0.049±1.388 µg/mL, $p<0.01$)のそれよりも有意に高値を示した。野生のウミガメの血漿中 As 濃度は、飼育下のウミガメよりも全ての種で有意に高値を示した (タイマイ $p<0.01$ 、アオウミガメ $p<0.05$ 、アカウミガメ $p<0.05$)。野生のアカウミガメの血漿中 Pb 濃度は 4.286±2.825 µg/mL であり、タイマイ(1.798±1.437 µg/mL, $p<0.05$)およびアオウミガメ (1.032±0.585, $p<0.05$)のそれよりも有意に高値を示した。飼育下ウミガメにおいても同様にアカウミガメの血漿中 Pb 濃度は他の種と比較して有意に高値を示した。また、全ての種において野生のウミガメの血漿中 Pb 濃度は、飼育下のウミガメよりも有意に高値を示した (タイマイ $p<0.01$ 、アオウミガメ $p<0.05$ 、アカウミガメ $p<0.05$)。

4 考 察

ウミガメの血漿中微量元素濃度の種による比較において、血漿中 As、P、Pb および S 濃度に違いが認められた。これらはウミガメの食性に起因している可能性が高いと思われる。アカウミガメは、他の 2 種が草食性の嗜好を示すのに対して、As および Pb の暴露の危険性が高い動物性プランクトン、カニ、貝類、エビ、クラゲなどの指向性が高い[3、4、8、9]。その結果、アカウミガメは他のウミガメよりも血漿中 As、P、Pb および S 濃度が高値を示したと思われる。

アオウミガメは成長に伴って食性が変化することが知られている。野生のアオウミガメは、幼少期には外洋に生息し、イカや小魚など雑食性を示す。一方で、成長すると底生生物の採餌エリアに移動し草食になる[5]。タイマイも同様に雑食性であるが、主に珊瑚を食する。一方、沖縄海洋博公園ではウミガメの種類に関係なく野菜とキビナゴ、カラフトシシャモ、イカなどの動物性餌を給与している。従って、飼育下では野生ウミガメよりも蛋白由来である P および S が高値を示したものと思われた。

本試験では、野生のウミガメでは血漿中 As および Pb 濃度が高値であり、これは環境汚染の程度を評価するための良いバイオマーカーになり得ることが示唆された。結果を解釈する際に、肉食性のアカウミガメは他のウミガメと比較して血漿中 As、P、Pb および S 濃度が高値であることを理解しておく必要がある。

参考文献

- 1) Fujihara J, Kunito T, Kubota R, et al (2003) Arsenic accumulation in livers of pinnipeds, seabirds and sea turtles: subcellular distribution and interaction between arsenobetaine and glycine betaine. *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol* 136(4):287-296.
- 2) Anan Y, Kunito T, Watanabe I, et al (2001) Trace element accumulation in hawksbill turtles (*Eretmochelys imbricata*) and green turtles (*Chelonia mydas*) from Yaeyama Islands, Japan. *Environ Toxicol Chem* 20(12) 2802–2814.
- 3) Andreani G, Santoro M, Cottignoli S, et al (2008) Metal distribution and metallothionein in loggerhead (*Caretta caretta*) and green (*Chelonia mydas*) sea turtles. *Sci Total Environ* 390(1):287-294.
- 4) D'Ilio S, Mattei D, Blasi MF, et al (2011) The occurrence of chemical elements and POPs in loggerhead turtles (*Caretta caretta*): an overview. *Mar Pollut Bull* 62(8):1606-1615.
- 5) Bjorndal KA. (1997) Foraging ecology and nutrition of sea turtles. In Lutz PL, Musick JA, eds, *The Biology of Sea Turtles*. CRC, Boca Raton, FL, USA, pp 199–231.
- 6) Bowen BW, Karl SA (2007) Population genetics and phylogeography of sea turtles. *Mol Ecol* 16: 4886–4907
- 7) Agusa T, Takagi K, Iwata H, et al (2008) Arsenic species and their accumulation features in green turtles (*Chelonia mydas*). *Mar Pollut Bull* 57(6-12):782-789.
- 8) Gardner SC, Fitzgerald SL, Vargas BA, et al (2006) Heavy metal accumulation in four species of sea turtles from the Baja California peninsula, Mexico. *Biometals*. 19(1):91-99.
- 9) Kampalath R, Gardner SC, Méndez-Rodríguez L, et al (2006) Total and methylmercury in three species of sea turtles of Baja California Sur. *Mar Pollut Bull* 52(12):1816-1823.
- 10) Sakai H, Saeki K, Ichihashi H, et al (2000) Growth-related changes in heavy metal accumulation in green turtle (*Chelonia mydas*) from Yaeyama Islands, Okinawa, Japan. *Arch Environ Contam Toxicol* 39(3):378-385.
- 11) Saeki K, Sakakibara H, Sakai H, et al (2000) Arsenic accumulation in three species of sea turtles. *Biometals* 13(3):241-250.
- 12) Caurant F, Bustamente P, Bordes M, et al (1999) Bioaccumulation of cadmium, copper and zinc in some tissues of three species of marine turtles stranded along the French Atlantic coasts. *Mar Pollut Bull* 38:1085–1091.
- 13) Du Laing G, Meers E, Dewispelaere M, et al (2009) Heavy metal mobility in intertidal sediments of the Scheldt estuary: Field monitoring. *Sci Total Environ* 407(8):2919-2930.
- 14) Ley-Quinónez C, Zavala-Norzagaray AA, Espinosa-Carreón TL, et al (2011) Baseline heavy metals and metalloid values in blood of loggerhead turtles (*Caretta caretta*) from Baja California Sur, Mexico. *Mar Pollut Bull* 62(9): 1979-1983.
- 15) Suzuki K, Yamaya Y, Asano K, et al (2007) Relationship between hair elements and severity of atrioventricular block in horses. *Biol Trace Elem Res* 115(3):255-264.
- 16) Suzuki K, Yamaya Y, Kanzawa N, et al (2008) Trace and major elements status in bronchoalveolar lavage fluid in dogs with or without bronchopneumonia. *Biol Trace Elem Res* 124(1): 92-96.

Particle-induced X-ray emission analysis of elements in plasma from wild and captive sea turtles (*Eretmochelys imbricate*, *Chelonia mydas* and *Caretta caretta*) in Okinawa, Japan

K. Suzuki¹, J. Noda¹ and K. Sera²

¹School of Veterinary Medicine, Rakuno Gakuen University
582 Midorimati, Bunnkyoudai, Ebetsu, Hokkaido 069-8501, Japan

²Cyclotron Research Center, Iwate Medical University
348-58 Tomegamori, Takizawa, Iwate 020-0173, Japan

Abstract

The aim of this study was to evaluate the reliability of direct determination of trace and major element concentrations in plasma samples from wild (6 hawksbill, 9 green and 9 loggerhead) and captive sea turtles (25 hawksbill, 5 green and 3 loggerhead) in Okinawa, Japan. The particle induced X-ray emission (PIXE) method allowed detection of twenty-three trace and major elements (Al, As, Br, Ca, Cl, Cr, Cu, Fe, Hg, K, Mg, Mn, Mo, Ni, P, Pb, S, Se, Si, Sr, Ti, Y and Zn). The wild sea turtles were found to have high concentrations of As and Pb in plasma compared to captive but there were no significant changes in the Al and Hg concentrations. Loggerhead sea turtles were found to have significantly higher accumulation of As and Pb in plasma in comparison to other species. These findings may be useful when adjusting environmental and species-related factors in severely polluted marine ecosystems. Our results indicate that measuring the plasma As and Pb concentrations in wild sea turtles might be of help to assess the level of pollution in marine ecosystems, keeping in mind that loggerhead sea turtles had been shown to have higher levels of As and Pb in plasma.