

ウミガメの環境汚染暴露状況をスクリーニングするための粒子励起X線分析法 による血球・血漿中微量元素の多元素同時定性定量の確立と保全調査

大塚まりな¹、嶋守俊雄¹、能田 淳¹、世良耕一郎²、亀田和成³、鈴木一由¹

¹酪農学園大学大学院獣医学研究科
069-8501 北海道江別市文京台緑町 582

²岩手医大サイクロトロンセンター
020-0603 岩手県滝沢市留ヶ森 348-58

³黒島研究所
907-1311 沖縄県八重山郡竹富町字黒島 136

1 はじめに

ウミガメは 50 年以上の寿命を持ち、食物連鎖の頂点にあるため、海洋汚染による有害物質の蓄積が観察できる。そのため、ウミガメはヒトの活動による海洋環境汚染のバイオマーカーとして注目されている。日本近海にはアオウミガメ (*Chelonia mydas*)、アカウミガメ (*Caretta caretta*)、タイマイ (*Eretmochelys imbricata*) の 3 種のウミガメが生息している。各種で食性が異なり、成熟したアオウミガメは海藻などの植物食性、アカウミガメはカニ、エビ、クラゲなどの、タイマイはサンゴなどの動物食性である。これらのウミガメ中の元素濃度は食餌の違いにより異なることが考えられる。

ウミガメを使用した海洋生態系汚染の研究には座礁または誤捕獲動物の肝臓、腎臓、筋肉、心臓および甲羅組織が用いられている^{13,19}。しかし、これらの試料は同一個体から繰り返して採取できないことから、血液サンプルを使用することが非侵襲的な重金属の基準値測定法として推奨されている^{9, 21, 28, 29}。さらに、筋肉や脊髄に蓄積する水銀の蓄積程度は血中でも測定可能である⁹。

過去数 10 年間の急速な人口増加ならびに高度な都市化や工業化により、大量の未処理排水が発生した¹⁴。また、ウミガメの 39%がプラスチック、金属、ボトルキャップなどの廃棄物を摂取していたという報告もある¹⁰。都市におけるヒトの活動は、海洋汚染の原因となる可能性がある。人為的な環境汚染による海洋汚染は個体、個体群、および生態系における疾病の発生に関連している¹。

特に、重金属汚染はウミガメの生息地の減少につながっている^{6, 15, 16}。したがって、ウミガメへの重金属の蓄積の程度を調査することは、汚染物質の潜在的な影響を評価する上で重要であると考えられる。

沖縄本島沿岸を含む北太平洋西部は、アジア由来の有害物質の蓄積率が北太平洋中部および東部に比較して高いため、太平洋における有害物質の影響を大きく受けていると考えられる¹⁷。

しかし、日本におけるウミガメの血漿中元素濃度のデータはなく、種ならびに年齢、生息地域、飼育下または野生下ウミガメにおける元素濃度の比較は明らかになっていない。そこで、我々はウミガメの甲羅サイズと血漿中元素濃度、飼育

下ウミガメと野生下ウミガメの血漿中元素濃度、異なる海域に生息する野生下ウミガメの血漿中元素濃度のそれぞれの関係について調査を行った。

2 方法

沖縄地域は人口密度の高い沖縄本島と、八重山諸島を含む自然環境が保存された地域に区分される。2016年のデータによると、人口および人口密度において八重山諸島(53,405人、91.0人/km²)は沖縄本島(129万人、1,068.8人/km²)と比較して著しく低い。沖縄本島には数本の河川が流れており、そのうち中部および南部に人口が集中している。しかし、降水量は多く、河川が短いためほとんどの雨水は海に流れ込む。沖縄本島の沿岸にはセメント工場や原油備蓄施設が存在するが、八重山諸島の沿岸では工場が少なく人口密度が低いことヒトの活動による環境汚染は沖縄本島に比較して小さい。

野生下個体および飼育下個体における血漿中微量元素濃度の比較には、2009年3月から8月にかけて沖縄本島周辺で捕獲された24頭の野生下ウミガメ(タイマイ6頭、アオウミガメ9頭、アカウミガメ9頭)と海洋博研究センター(OERC)の屋外プールで飼育されている33頭の飼育下ウミガメ(タイマイ25頭、アオウミガメ5頭、アカウミガメ3頭)の計57頭を供試した。採血後に甲羅長(CCL)および甲羅幅(CCW)を測定した。野生下ウミガメは測定後に海へ放流した。

データは平均値±標準偏差(SD)として示した。統計処理はSPSS Statistics, v.19 (IBM Co., Somers, NY, U.S.A.)を用いた。各ウミガメ種の比較はMann-Whitney U testを、各ウミガメ種における野生群、飼育群の比較にはone-way ANOVAを行ったのちpost-hoc testとしてStudent-Newman-Keuls法を用いた。有意差はP<0.05とした。

また、異なる海域ごとの血漿中微量元素濃度の比較には、八重山諸島(N122-124°E, 24°E)で2014年2月から2015年9月にかけて捕獲されたアオウミガメ57頭を八重山群、沖縄本島読谷村(N127°E, 27°E)で2015年9月に捕獲されたアオウミガメ8頭を本島群、2015年9月にOERCの屋外プールで飼育されていた成熟アオウミガメ8頭を飼育群として供試した。八重山郡のうち27頭は2014年および2015年の2月に捕獲された個体(冬季群)で、30頭は2015年9月に捕獲された個体(夏季群)であった。

データは平均値±標準偏差(SD)として示した。統計処理はSPSS Statistics, v.21 (IBM Co., Somers, NY, U.S.A.)を用いた。八重山諸島群における季節間の比較はStudent's t-testを、各群間の比較にはpost-ANOVA (F-test) Tukey's HSD testを用いた。有意差はP<0.05とした。

すべての飼育下ウミガメは14年以上OERCで飼育され、OERCでの標準的な食餌であるキビナゴ(*Spratelloides gracilis*)、カラフトシシャモ(*Mallotus villosus*)、ヤリイカ(*Loligo bleekeri*)を時間給餌で、キャベツ、白菜、レタスを自由採食で給餌されていた。

シリンジおよび注射針を用いて背側頸静脈洞より10 ml採血し、直ちにヘパリン添加採血管に分注した。3000回転で10分間遠心分離し、血漿を分離したのち-80°Cで測定まで保存した。野生下ウミガメは採血および計測後に放流した。

血漿中主要および微量元素濃度は粒子励起X線分析法(PIXE)を用いて測定した。上清100 μLをマイラー膜に載せ乾燥させたのち、プロトンビームを照射した。測定には、仁科記念サイクロトンセンターで医療用に使用される小型サイクロンで発生させた2.9 MeVプロトンビームを炭素イオンコロリメータを通過させたのち使用した。K-KαX線を超えるエネルギーを持つX線を選択するために、300および1000 μm厚マイラー吸収剤を用いたSi(Li)検出器(0.0254 mm Beウインドウ)を使用した。低エネルギーX線は吸収剤を使用せず、Si(Li)検出器(0.008 mm Beウインドウ)を用いて検出した。PIXE法の正確性を確認するためにCertified multi-element standard(ICP multi-element standard VIII, Merck KGaA, Darmstadt, Germany)、Silicon standard solution(Si 1000, Wako Pure Chemical Ind., Ltd., Osaka, Japan)およびTitanium standard solution(Ti 1000, Wako Pure Chemical Ind., Ltd.)をそれぞれ10 μg/mlになるようにウミガメのプール血漿に加えた後のものと加える前のサンプルを、PIXE法を用いて6回測定した。

3 結果

3.1

PIXE 法により、表 1 に示した 23 元素が測定された。

表 1 PIXE 法により検出された血漿中各元素濃度

($\mu\text{g/g}$)	Median	Min	Max
Al	8.33	1.525	31.2
As	0.019	ND	0.144
Br	13.3	9.4	15.9
Ca	72.5	42.1	236.8
Cl	2727.1	508.2	4783.1
Cr	0.039	ND	0.094
Cu	0.515	0.267	0.897
Fe	1.161	0.406	5.089
Hg	0.105	0.009	0.202
K	123.3	28.6	198.9
Mg	24.6	0.008	46.2
Mn	0.015	ND	0.172
Mo	0	ND	0.238
Ni	0.001	ND	0.061
P	107.3	39.1	393.9
Pb	0.132	ND	0.434
S	400	148.5	731
Se	0.256	0.117	0.334
Si	4.117	0.836	22.3
Sr	0.518	ND	3.027
Ti	0.28	ND	0.91
Y	0	ND	0.097
Zn	1.355	0.879	2.2

ND: less than lower limit ($<0.00001 \mu\text{g/ml}$).

CCL、CCW および CSA は体重を推定する有効な指標となりえた。また、Br、P、Pb、Sr において体重と有意な相関を認めた (表 2)。

表 2 CL、CW、CSA と血漿中 Br、P、Pb、Sr 濃度

	CL	CW	CSA	Br	P	Pb	Sr
BW	0.947 ^{c)}	0.878 ^{c)}	0.946 ^{c)}	-0.495 ^{a)}	0.510 ^{b)}	-0.481 ^{a)}	0.523 ^{b)}
CL	-	0.841 ^{c)}	0.939 ^{c)}	-0.487 ^{a)}	0.454 ^{a)}	-0.463 ^{a)}	0.439 ^{a)}
CW	-	-	0.974 ^{c)}	-0.546 ^{b)}	0.592 ^{b)}	-0.364	0.676 ^{b)}
CSA	-	-	-	-0.552 ^{b)}	0.547 ^{b)}	-0.434 ^{a)}	0.599 ^{b)}

BW, body weight (kg); CL, carapace length (cm); CW, carapace width (cm); CSA, virtual carapace surface area (cm^2).

a) $P < 0.05$, b) $P < 0.01$ and c) $P < 0.001$.

3.2

CCL および CCW の平均長を表 3 に示した。同種内では野生群と飼育群の間に有意差は見られなかった。図 1 に各群の血漿中 P および S 濃度を示した。タイマイの野生群および飼育群の血漿中 P 濃度はそれぞれ 139.2 ± 83.7 および $85.5 \pm 41.7 \mu\text{g/mL}$ であった ($p < 0.05$)。アオウミガメにおいて、野生群および飼育群の値はそれぞれ 305.6 ± 219.3 および $93.5 \pm 39.8 \mu\text{g/mL}$ であった ($p < 0.05$)。アカウミガメにおいては、野生群および飼育群間に有意差は認められなかった (198.1 ± 99.2 vs $323.0 \pm 219.3 \mu\text{g/mL}$, $p > 0.05$)。タイマイにおける血漿中 S 濃度は飼育群で 418.9 ± 119.1 、野生群で

286.3 ± 69.2 µg/mLであった (p < 0.05)。アオウミガメにおいて、飼育群で 696.0 ± 171.7 µg/mL、野生群で 428.3 ± 107.5 µg/mLであった (p < 0.01)。アカウミガメにおいて野生群 (419.7 ± 126.4 µg/mL) および飼育群 (508.6 ± 104.2 µg/mL、p > 0.05) の間に有意差は認められなかった。野生下アカウミガメの血漿中 P および S 濃度は他のウミガメに比較して有意に高値であった (p < 0.05)。図 2 に各群の血漿中 As および Pb 濃度を示した。野生下アカウミガメの血漿中 As 濃度は 1.362 ± 0.953 µg/mL であり、野生下タイマイ (0.443 ± 0.470 µg/mL、p = 0.05) および野生下アオウミガメ (0.297 ± 0.170 µg/mL、p = 0.01) のそれと比較して有意に高値であった。同様に、飼育下アカウミガメの血漿中 As 濃度 (0.297 ± 0.135 µg/g) は、他のウミガメのそれと比較して有意に高値であった (タイマイ: 0.041 ± 0.047 µg/mL、p < 0.05、アオウミガメ: 0.049 ± 1.388 µg/mL、p < 0.05)。各ウミガメにおいて、野生下群の血漿中 As 濃度は飼育下群のそれと比較して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)。野生下アカウミガメの血漿中 Pb 濃度 (4.286 ± 2.825 µg/mL) は、他のウミガメのそれ (タイマイ: 1.798 ± 1.437 µg/mL、p < 0.05、アオウミガメ: 1.032 ± 0.585 µg/mL、p < 0.05) に比較して有意に高値を示した。飼育下アカウミガメにおいて、血漿中 Pb 濃度 (0.957 ± 0.367 µg/g) は他のウミガメのそれ (タイマイ: 0.265 ± 0.168 µg/mL、p < 0.05、アオウミガメ: 0.215 ± 0.129 µg/mL、p < 0.05) に比較して有意に高値を示した。各ウミガメ種において、野生下群および飼育下群の血漿中 Pb および As 濃度にはそれぞれ有意差が認められた (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)。

表 3 CCL および CCW の平均長

Species	Life environment	Sex			Curved carapace		
		Total	Male	Female	Unknown	CCL (cm)	CCW (cm)
Hawksbill	Captive	25	1	24		73.1 ± 7.3	55.3 ± 7.7
	Wild	6		4	2	75.4 ± 7.2	59.3 ± 6.5
Green	Captive	5	1	4		96.3 ± 3.5	74.9 ± 3.1
	Wild	9	3	4	2	84.7 ± 18.7	67.0 ± 12.4
Loggerhead	Captive	3	1	2		87.9 ± 6.1	69.4 ± 3.9
	Wild	9	3	6		84.8 ± 3.8	66.0 ± 4.8

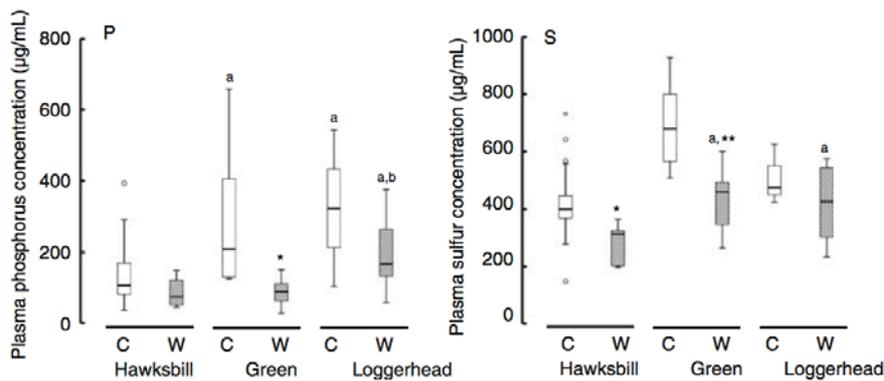


図 1 各ウミガメにおける飼育下および野生下群の血漿中 P および S 濃度

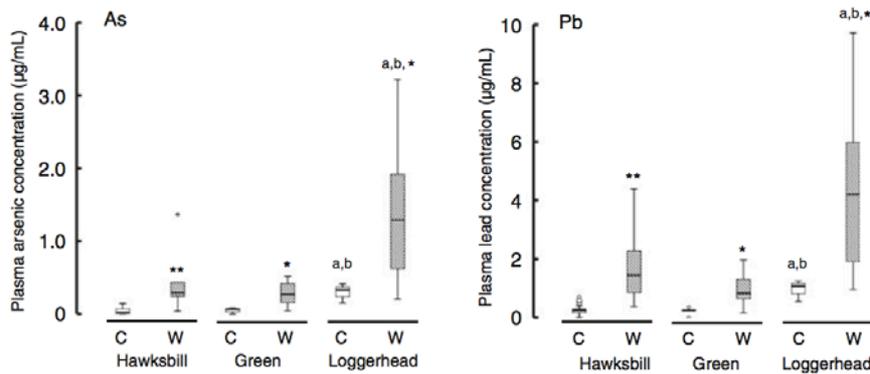


図 2 各ウミガメにおける飼育下および野生下群の血漿中 As および Pb 濃度

3.3

平均甲羅長は沖縄本島群、八重山諸島群および飼育下群においてそれぞれ 551.3 ± 121.9 、 787.0 ± 232.6 および 963.2 ± 35.4 mm であった。八重山諸島群において、捕獲された季節と血漿中主要および微量元素濃度に有意な差は認められなかった。Ca、P、Pb、S、Se、Si、Ti および Zn において沖縄本島群と八重山諸島群の間に有意差が認められた。

Ca、P、S および Zn において飼育下群は沖縄本島および八重山諸島群に対して有意に高値を示した。

沖縄本島群は八重山諸島群に対して Pb、Si および Ti において有意に高値を示し、飼育下群および八重山諸島群に対して Se において有意に低値を示した (表 4)。

表 4 沖縄本島および八重山群の血漿中元素濃度

Elements (µg/ml)	Suburban coast group (Okinawa Main Island)		Rural coast group (Yaeyama Island)		
	Captive (n=8)	Suburban coast (n=8)	Total (n=57)	Winter (n=27)	Summer (n=30)
Al	8.743 ± 13.416	9.586 ± 8.916	5.814 ± 3.758	5.915 ± 3.409	5.680 ± 4.049
As	0.065 ± 0.075	0.279 ± 0.172	0.207 ± 0.348	0.170 ± 0.437	0.233 ± 0.241
Br	13.348 ± 1.617	15.312 ± 3.580	12.196 ± 1.898	12.114 ± 2.073	12.172 ± 1.807
Ca	137.114 ± 14.994	72.255 ± 13.089 ^a	49.734 ± 11.272 ^A	50.733 ± 11.585	48.308 ± 11.236
Cr	0.096 ± 0.093	0.059 ± 0.064	0.127 ± 0.079	0.127 ± 0.072	0.127 ± 0.084
Cu	0.344 ± 0.135	0.283 ± 0.143	0.433 ± 0.291	0.342 ± 0.297	0.507 ± 0.266
Fe	1.163 ± 0.347	1.261 ± 0.869	0.863 ± 0.915	0.918 ± 1.006	0.803 ± 0.822
Hg	0.060 ± 0.095	0.094 ± 0.055	0.055 ± 0.080	0.056 ± 0.079	0.053 ± 0.080
Mn	0.006 ± 0.009	0.041 ± 0.040	0.011 ± 0.035	0.002 ± 0.008	0.019 ± 0.046
Mo	0.050 ± 0.069	0.081 ± 0.097	0.041 ± 0.075	0.028 ± 0.056	0.052 ± 0.087
Ni	0.013 ± 0.022	0.036 ± 0.036	0.017 ± 0.025	0.014 ± 0.021	0.020 ± 0.027
P	211.087 ± 215.732	88.142 ± 38.948 ^a	54.823 ± 19.565 ^A	48.503 ± 19.094	59.936 ± 18.577
Pb	0.202 ± 0.104	0.959 ± 0.579 ^A	0.197 ± 0.141 ^B	0.151 ± 0.110	0.237 ± 0.152
S	562.184 ± 227.093	432.758 ± 114.049 ^a	315.772 ± 90.123 ^A	307.660 ± 90.830	320.694 ± 89.982
Se	0.179 ± 0.081	0.120 ± 0.077 ^a	0.192 ± 0.074 ^b	0.189 ± 0.074	0.197 ± 0.076
Si	1.173 ± 3.026	6.438 ± 5.553 ^a	1.876 ± 2.751 ^b	1.885 ± 2.740	1.806 ± 2.782
Sr	1.788 ± 2.412	1.041 ± 0.630	0.763 ± 0.204	0.736 ± 0.160	0.777 ± 0.243
Ti	0.154 ± 0.230	0.450 ± 0.377 ^A	0.026 ± 0.090 ^B	0.010 ± 0.046	0.040 ± 0.114
Y	0.010 ± 0.019	0.013 ± 0.030	0.014 ± 0.027	0.009 ± 0.021	0.017 ± 0.030
Zn	2.045 ± 1.828	1.355 ± 0.452 ^a	0.900 ± 0.278 ^A	0.889 ± 0.330	0.904 ± 0.222

UNIT: µg/ml. a: P<0.05 vs captive group, A: P<0.01 vs captive group, b: P<0.05 vs suburban coast group and B: P<0.01 vs suburban coast group, respectively.

4 考察

本研究では、沖縄沿岸に生息するウミガメの血漿中元素濃度の蓄積が明らかになった。野生下ウミガメは飼育下ウミガメと比較して血漿中 As および Pb 濃度が高かったが、Al および Hg において有意差は認められなかった。一方、たんぱ

く質摂取と関連がある P および S 濃度は飼育下ウミガメにおいて高値を示した。さらに、アカウミガメは他の 2 種のウミガメと比較して血漿中 As および Pb 濃度が有意に高いことが明らかになった。これは、種や環境要因との関連が考えられる。

ウミガメは熱帯から亜寒帯まで様々な環境に適応している。世界的な乱獲や誤捕獲により、現存する 7 種全てのウミガメが生息地を脅かされたり絶滅の危機に瀕したりしている。ウミガメが一生の多くを過ごす沿岸部では、都市からの排水が海洋の重金属汚染の原因となる。そのため、ウミガメにおける各種元素濃度を調査することは絶滅を危惧される動物の潜在的な環境負荷を明らかにするのに有用であると考えられる。

本研究では、沖縄本島沿岸で座礁したウミガメの血漿中元素濃度と飼育下のウミガメのそれを比較した。沖縄本島を含む北太平洋西部は、太平洋における金属の分布に大きな影響を及ぼすことが予想される。なぜなら、アジアからの塵の堆積速度は太平洋中部または東部のそれよりずっと大きく、アジア大陸の西海岸に沿って亜熱帯地域から西側境界を通過する黒潮が流れているためである。しかし、この領域における全元素蓄積の分布は不明である。

血液は、ウミガメの重金属および微量元素の基準値を比較的非侵襲的に測定する優れた組織である。例えば、血液は身体および標的器官の至るところで Hg を輸送する主要な手段である⁹。実際に、血液は筋肉および脊髄に蓄積した Hg 量予測に有用であることが明らかになっている⁹。

本研究で用いた PIXE 法は、迅速かつ信頼性の高い多要素定性および定量法である⁸。PIXE 法は、数 μg のサンプルで数百万分の 1 の範囲の濃度を分析する事が可能であり⁸、信頼性があり、迅速かつ容易な診断方法である。また、複雑な試料調製を必要としないため、試料調製による汚染の危険性は他の方法の場合よりも著しく低い^{5, 26, 27, 25}。

種間の比較において、血漿中 As、P、Pb、および S 濃度に有意差が認められた。これは、飼育下および野生下ウミガメの食餌によるものと考えられる。Bishop らによると、Pb の蓄積において種間で有意差が認められたが、性別や体のサイズでは有意差は認められなかった⁶。アカウミガメは肉食性であることが化学元素への曝露の主原因である可能性を示唆している^{4, 11, 13, 19}。アカウミガメの主な食餌は、動物プランクトン、カニ、軟体動物、エビ、およびクラゲであり、これらは比較的高濃度の As、S および P を含む。

飼育下ウミガメにおける P および S の特異的蓄積は、生活環境に依存した摂食習慣によるものと考えられる。未成熟のアオウミガメは雑食性であり、遠洋に生息する³⁷。成熟すると、底生性となり草食性になる⁷。未成熟のタイマイもまた、遠洋に生息し雑食性であるが、成熟すると主に海底で海綿を食べようになる⁷。OERC で保有されていたウミガメは植物性の食餌だけでなく、魚やイカなどの動物性の食餌も摂取したため、血漿中 P および S 濃度は野生下個体と比較して高かったと考えられる。

ウミガメ組織中 As^{23, 24, 2} および Cd²³ 濃度は、成長の指標である甲羅の長さに対し有意に減少した。元素濃度は、主に環境からの暴露によって決定される^{4, 6}。しかし、ウミガメ中および生活環境中元素濃度を比較した報告はない。したがって、ウミガメにおける金属汚染の程度を調査するためには、飼育下動物から得られた対照値が対照として必要である。

野生下ウミガメでは、血漿中 As および Pb 濃度は同種の飼育下個体のそれに比べて有意に高かった。これは、野生下ウミガメの組織サンプルを用いた研究により報告されている、As^{12, 4, 23, 24} および Pb の蓄積^{6, 22} と一致している。一方、野生下および飼育下ウミガメの Al および Hg の血漿レベルには大きな差は認められなかった。さらに、PIXE 法ではすべてのウミガメで血漿中 Cd を検出することができなかった。これらの結果は、野生下ウミガメの組織サンプルを用いた研究による Hg³ および Cd²³ が低値であったとの報告と一致する。

したがって、野生下ウミガメの血漿中 As および Pb 濃度を測定する事は海洋汚染の調査に有用だと考えられる。また、アカウミガメはその食餌性から血漿中 AS および Pb 濃度が生理的に高値となりうる事を念頭に置くべきである。

アオウミガメにおける Ca、P、S および Zn の蓄積は、アオウミガメの食餌性に関連していると考えられた。未熟なアオウミガメは雑食性だが、成熟すると草食性になる^{3, 6, 7}。OERC で飼育されているウミガメは、種に関わらず植物性および動物性の食餌を給与される。動物性の食餌は Ca、P、S、Zn を多く含んでいるため、飼育下ウミガメは野生下のウミガメよりもこれらの元素の血漿中濃度が高値であったと考えられた。

Pbによる海洋汚染は化石燃料や塗料を原因とするものだと考えられ、このことは野生下ウミガメの組織試料を用いたPbの蓄積に関する研究結果とも一致する^{6,22}。日本では、1970年代から自動車用鉛ガソリンの使用が禁止されており、沖縄沿岸の自動車の排気ガス由来の鉛化合物はこれ以前に堆積したものである可能性がある。Cu、Pb、Znといった重金属の堆積物中濃度はアマモ中の元素濃度に反映され²³、これは野生下アオウミガメの食餌によるPb摂取の経路となり得ることが示唆された。

二酸化チタン (TiO₂) は歯磨き粉、石鹸、洗剤などの日用品に含まれており、これらの製品の使用は生活排水、さらには沿岸水域へのTiO₂の排出につながる。TiO₂を含む化合物のうち、ナノ粒子TiO₂は世界的に利用されているナノ材料である。新たに懸念される汚染物質 (CECs) の多くは化粧品等の製品に含まれており、海洋環境中で有害物質濃度を上昇させる。ナノ粒子TiO₂の使用増加は海洋への継続的な排出をもたらす、海洋生物へ悪影響を及ぼす可能性がある。沖縄本島群で血漿中Ti濃度が八重山諸島群に対して高値であったことは生活排水、工業廃水と関連がある可能性が示唆された。従って、ウミガメにおける血漿中Ti濃度を測定することはヒトの活動によるTiの汚染レベルを推定するためのバイオモニタリングとして有用であった。

バハ・カリフォルニア半島では都市部の海域で捕獲された野生ウミガメのSi濃度は周辺海域の野生ウミガメに比較して高値を示したが、抗酸化酵素活性は低値を示した²⁰。Siは建設、電気機器、化粧品、医療用品に使用され、ヒトの生活には不可欠な元素である。Siの循環における人為的影響は最近研究が行われるようになった。海洋に流れ込むSiのほとんどはヒトの活動による排水中に溶解して河川を通じて海洋へ流れ込む。海水中のSi濃度はアマモなどの海藻に含まれるSi濃度と高い相関性があることが明らかにされている¹⁸。アマモは沖縄でよくみられる海藻で、アオウミガメの食餌となる。したがって、沖縄本島周辺に生息するアオウミガメではヒトの活動によりSi濃度が高値となった可能性がある。

本研究で明らかになったPb、Si、Se、Ti濃度における2地域の違いは沖縄の都市部における工業活動の指標となりえた。また、沿岸部にとどまって生活するアオウミガメにおいて、血漿中微量および主要元素濃度は海洋汚染の程度を反映していることが示唆された。沖縄本島周辺に生息するウミガメは、八重山諸島周辺に生息するウミガメに対して人為的な汚染によるストレスをより強く受けていた。アオウミガメの血漿中微量および主要元素濃度を測定することは海洋汚染の評価に有用であると考えられる。さらに、ウミガメだけでなく他の海洋生物の汚染物質の暴露を早期に発見するためのツールとなり得るであろう。

参考文献

- 1) Aguirre, A. A. and Lutz, P. L. (2004) Marine turtles as sentinels of ecosystem health: is fibropapillomatosis an indicator? *EcoHealth* 1: 275–283.
- 2) Agusa T, Takagi K, Kubota R et al (2008) Specific accumulation of arsenic compounds in green turtles (*Chelonia mydas*) and hawksbill turtles (*Eretmochelys imbricata*) from Ishigaki Island, Japan. *Environ Pollut* 153(1):127–136
- 3) Anan, Y., Kunito, T., Watanabe, I., Sakai, H. and Tanabe, S (2001) Trace element accumulation in hawksbill turtles (*Eretmochelys imbricata*) and green turtles (*Chelonia mydas*) from Yaeyama Islands, Japan. *Environ. Toxicol. Chem.* 20: 2802–2814.
- 4) 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
- 5) Asano K, Suzuki K, Chiba M et al (2005) Correlation between 25 element contents in mane hair in riding horses and atrioventricular block. *Biol Trace Elem Res* 108(1–3):127–135

- 6) Bishop BE, Savitzky BA, Abdel-Fattah T (2010) Lead bioaccumulation in emydid turtles of an urban lake and its relationship to shell disease. *Ecotoxicol Environ Saf* 73(4):565–571
- 7) Bjorndal KA (1997) Foraging ecology and nutrition of sea turtles. In: Lutz PL, Musick JA (eds) *The biology of sea turtles*. CRC, Boca Raton, pp 199–231
- 8) Chiba M (1994) Bioinorganic chemistry: a science in the spotlight—interface of chemistry, biology, agriculture and medicine. *Int J PIXE* 4:201–216
- 9) Day RD, Keller JM, Harms CA et al (2010) Comparison of mercury burdens in chronically debilitated and healthy loggerhead sea turtles (*Caretta caretta*). *J Wildl Dis* 46(1):111–117
- 10) de Carvalho, R. H., Lacerda, P. D., da Silva Mendes, S., Barbosa, B. C., Paschoalini, M., Prezoto, F. and de Sousa, B. M (2015) Marine debris ingestion by sea turtles (Testudines) on the Brazilian coast: an underestimated threat? *Mar. Pollut. Bull.* 101: 746–749.
- 11) 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
- 12) 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
- 13) 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
- 14) Gargouri, D., Azri, C., Serbaji, M. M., Jedoui, Y. and Montacer, M (2011) Heavy metal concentrations in the surface marine sediments of Sfax Coast, Tunisia. *Environ. Monit. Assess.* 175: 519–530.
- 15) Godley, B. J., Thomson, D. R. and Furness, R. W (1999) Do heavy metal concentrations pose threat to marine turtle from Mediterranean Sea? *Mar. Pollut. Bull.* 38: 497–502.
- 16) Green-Ruiz, C. R. and Páez-Osuna, F (2004) Potential bioavailability of heavy metals in surface sediments from the Altata-Ensenada del pabellón lagoon, SE gulf of California. *J. Coast. Res.* 20: 1126–1134.
- 17) Greaves, M. J., Elderfield, H. and Sholkovitz, E. R (1999) Aeolian sources of rare earth elements to the Western Pacific Ocean. *Mar. Chem.* 68: 31–38.
- 18) Herman, P. M. J., Hemminga, M. A., Nienhuis, P. H., Verschuure, J. M. and Wessel, E. G. J (1996) Wax and Wane of eelgrass *Zostera manna* and water column silicon levels. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 144: 303–307.
- 19) 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

- 20) Labrada-Martagón, V., Rodríguez, P. A., Méndez-Rodríguez, L. C. and Zenteno-Savín, T (2011) Oxidative stress indicators and chemical contaminants in East Pacific green turtles (*Chelonia mydas*) inhabiting two foraging coastal lagoons in the Baja California peninsula. *Comp. Biochem. Physiol. C Toxicol. Pharmacol.* **154**: 65–75.
- 21) Ley-Quinónez, C., Zavala-Norzagaray, A. A., Espinosa-Carreón, T. L., Peckham, H., Marquez-Herrera, C., Campos-Villegas, L. and Aguirre, A. A (2011) Baseline heavy metals and metalloid values in blood of loggerhead turtles (*Caretta caretta*) from Baja California Sur, Mexico. *Mar. Pollut. Bull.* **62**: 1979–1983.
- 22) Páez-Osuna F, Calderón-Campuzano MF, Soto-Jiménez MF et al (2010) Trace metals (Cd, Cu, Ni, and Zn) in blood and eggs of the sea turtle *Lepidochelys olivacea* from a nesting colony of Oaxaca, Mexico. *Arch Environ Contam Toxicol* 59(4):632–641
- 23) 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
- 24) Saeki K, Sakakibara H, Sakai H et al (2000) Arsenic accumulation in three species of sea turtles. *Biometals* 13(3):241–250
- 25) Suzuki K, Higuchi H, Iwano H, et al (2011). Analysis of trace and major elements in bronchoalveolar lavage fluid of Myco- plasma bronchopneumonia in calves. *Biol Trace Elem Res* 145:166-171
- 26) 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
- 27) 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
- 28) Suzuki, K., Noda, J., Yanagisawa, M., Kawazu, I., Sera, K., Fukui, D., Asakawa, M. and Yokota, H (2012) Relationships between carapace sizes and plasma major and trace element status in captive hawksbill sea turtles (*Eretmochelys imbricata*). *J. Vet. Med. Sci.* **74**: 1677–1680.
- 29) Suzuki, K., Noda, J., Yanagisawa, M., Kawazu, I., Sera, K., Fukui, D., Asakawa, M. and Yokota, H (2012) Particle-induced X-ray emission analysis of elements in plasma from wild and captive sea turtles (*Eretmochelys imbricata*, *Chelonia mydas*, and *Caretta caretta*) in Okinawa, Japan. *Biol. Trace Elem. Res.* **148**: 302–308.

Establishment of multi elements simultaneous determination of the plasma trace and major element status in sea turtles in Okinawa by PIXE

M. Otsuka¹, T. Shimamori¹, J. Noda¹, K. Sera², K. Kameda³ and K. Suzuki¹

¹Rakuno Gakuen University Department of Veterinary Medicine
582 Bunkyo-dai-Midorimachi, Ebetsu, Hokkaido 069-8501, Japan

²Cyclotron Research Center, Iwate Medical University
348-58 Tomegamori, Takizawa, Iwate 020-0603, Japan

³Kuroshima Research Station
136 Aza-Kuroshima, Taketomi, Yaeyama District, Okinawa 907-1311, Japan

Abstract

The aim of this study was to establish multi elements simultaneous determination of the plasma trace and major element status in sea turtles in Okinawa, Japan. We evaluated the reliability of direct determination of trace and major element concentrations in plasma samples from wild and captive sea turtles, the relationships between carapace parameters as indicators of age and plasma elements in captive hawksbill sea turtles, and the concentration of trace elements in the plasma of sea turtles that inhabited the suburban (Okinawa Main Island) and the rural coast (Yaeyama Island) in Okinawa, Japan. The particle induced X-ray emission method allowed detection of 23 trace and major elements. The wild sea turtles were found to have high concentrations of As and Pb in plasma compared with 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. There were significant but weak correlations between the virtual carapace surface area and plasma Br, P, Pb and Sr, while there were no significant correlations with other elements. The wild sea turtles in the suburban coast in Okinawa were found to have high concentrations of Pb, Si and Ti in the plasma when compared to the rural area but there were no significant changes in the Al, As and Hg concentrations. These results may help to suggest the status of some elements in a marine environment. Further, monitoring the plasma trace and major element status in sea turtles can be used as a bio-monitoring approach by which specific types of elements found here could indicate effects that are related to human activities.