

# 大型水生爬虫類における微量元素蓄積解明のためのウミガメ類の微量元素分析

## Trace element analysis of sea turtles to elucidate trace element accumulation in large aquatic reptiles

大矢 悠幾<sup>1</sup>, 渡邊 泉<sup>2</sup>, 松井 大樹<sup>3</sup>, 坂爪 勇途<sup>3</sup>, 国末 達也<sup>4</sup>

<sup>1</sup>東京農工大学 大学院 連合農学研究科

<sup>2</sup>東京農工大学 大学院 農学研究院

<sup>3</sup>東京農工大学 大学院 農学府

<sup>4</sup>愛媛大学 沿岸環境科学研究センター

### 1. 研究目的

大型水生爬虫類はウミガメ類やワニ類といった生物種を中心に、生息環境周辺の開発による生息域の減少および開発に伴う水圏生態系の汚染により、個体数の減少し、問題視されている。その 1 例として、メキシコ・ユカタン半島に棲息するワニ類生物種であるモレレットワニはワシントン条約にて、ワシントン条約付属書 I (絶滅のおそれがある種)に指定されており、他のワニ類生物と同様に種の存続が危ぶまれている。モレレットワニの生息するユカタン半島は農業、商業および観光事業といった人間活動が近年急激に拡大しており、微量元素の主要な発生源となっている。微量元素は排水を介した直接的な流入や地下浸出水の流出による間接的な流入により、水環境を汚染している<sup>1)</sup>。ゆえに、メキシコのワニ類の生物の保全の観点において、ワニ類組織中での微量元素分布の把握は重要な課題である。

しかし、ワニ類を含め、大型水生爬虫類の生体内での微量元素分布に関する知見は少ない。さらに、種の保全の観点から、モレレットワニのような貴重な種の生体内組織の採取といった侵襲的な採取は極めて困難である。ゆえに、生体における代謝や生活環の影響による微量元素分布の把握を正確に行うために、ワニ類と類似した大型水生爬虫類を用いて、生体内組織における微量元素分布の特徴を把握する必要がある。

以上の背景を踏まえて、本研究においてはワニ類生物と同様の水生大型爬虫類であるアオウミガメ(*Chelonia mydas*)の生体内組織を用いた微量元素分析を行い、大型水生爬虫類の生体内組織間における微量元素分布の傾向把握を試みた。本研究で用いるアオウミガメについては、日本近海、とくに小笠原諸島に棲息する個体を用いた。

## 2. 研究方法

本研究で用いるアオウミガメは東京都小笠原諸島父島の近海にて行われた、食用のためのウミガメ漁で採取された個体を分析に供した。2020年(3月31日から5月21日)に採取された16頭(オス:8頭,メス:8頭)および2021年(4月19日から5月17日)に採取された12頭(オス:7頭,メス:5頭)を分析対象とした。生体内組織として、各個体から筋肉、腎臓と肝臓を採取し、メスの個体からは卵黄を分取した。

各試料は洗浄後、分析まで $-20^{\circ}\text{C}$ の冷凍状態で保管した。冷凍試料は分析前に室温で解凍した。解凍した各試料は解剖用ハサミおよびメスを用いて、湿重量で約5.00gをフッ素樹脂製シートを敷いたシャーレに分取し、正確な湿重量を電子天秤にて、計測した。卵黄はメスの1個体あたり、1個の卵の卵黄内容物の全量をフッ素樹脂製シートを敷いたシャーレに採取した。各組織は $90^{\circ}\text{C}$ のオーブンにて、24時間の乾燥処理を施した。全乾試料は乾燥重量を計測後、セラミック製の乳鉢および乳棒を用いて、粉化した。

粉化した各組織の試料をそれぞれ、バイアル管に0.100g秤取し、61%硝酸2.00mLを添加した。硝酸を添加したバイアル管をシーリング容器に入れ、200Wで30分間の湿式灰化処理を施した。湿式灰化によって液化した試料をADVANTEC製5Cのろ紙を用いて、ろ過し、ポリプロピレン製樹脂試験管に採取し、超純水にて200倍に希釈した。希釈溶液を精秤し、試験溶液とした。

元素濃度の分析には誘導結合プラズマ質量分析計(ICP-MS Agilent 7500cx)を用いて、34元素濃度(Li, Na, Mg, Al, K, Ca, V, Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, Ga, As, Se, Rb, Sr, Y, Mo, Cd, In, Sn, Sb, Cs, Ba, La, Ce,  $^{155}\text{Gd}$ ,  $^{157}\text{Gd}$ , Pt, Tl, Bi と Pb)の分析を行った。

統計処理についてはR for Windows(ver. 4.1.0)を用いて、R studioで各種の統計解析を行った。環境試料は正規分布をしないことから、各種検定および解析手法はノンパラメトリック検定を用い、有意差検定としてはMann-WhitneyのU検定、相関検定についてはSpearmanの順位相関検定を行った。有意水準については $p < 0.05$ で有意とみなした。また、各元素の標準化を施したのちに、多変量解析を行った。多変量解析には主に、各組織および個体の元素蓄積の特徴把握を目指し、主成分分析およびヒートマップ分析を用いた。

### 3. 研究成果

小笠原諸島で採取されたアオウミガメの筋肉、肝臓、腎臓および卵黄中の微量元素濃度を比較した図について、2020年のものを Fig. 1-1、2021年のものを Fig. 1-2 に示す。

本結果から、アオウミガメの各組織が優先的に蓄積する元素種が異なることが示された。概して、筋肉が As および Cs、肝臓が Al, V, Mn, Fe, Cu, Ga, Y, Mo, Sb, La, Ce および Pb、腎臓が Li, Co Ni および Cd、そして卵黄が Ca, Sr および Ba を他組織と比較して高い濃度で蓄積している傾向がみられた。

また、2020年および2021年で共に、肝臓が最も多くの元素種を蓄積している場であることが示された。これは、肝臓が外環境から呼吸や摂餌行動によって取り込まれた元素が最初に代謝する組織であることに起因していると考えられる。一方で、肝臓に高濃度で蓄積された元素には Sb や Pb といった生体に対して、非必須かつ強毒性の元素種が含まれており、本組織が水生大型爬虫類にとって、強毒性元素を蓄積しやすい場として機能している可能性も示唆された。また、腎臓における Cd の蓄積は金属結合性タンパク質のメタロチオネインによって、結合および解毒されることが知られている元素種である。腎臓はメタロチオネインが多量に誘導される組織であり<sup>2)</sup>、この解毒機構が Cd の腎臓への高濃度の分布に影響をもたらしたことが考えられる。また、卵黄にて高濃度で蓄積された元素種は殻の主成分として、必要とされる元素種で構成されており、メスの個体から卵の形成のためにこれらの元素が供給されている可能性が考えられた。本成果に関しては同研究室の坂爪勇途が環境化学物質3学会合同大会にて(2022年6月に富山にて開催)、詳細な口頭発表を行った

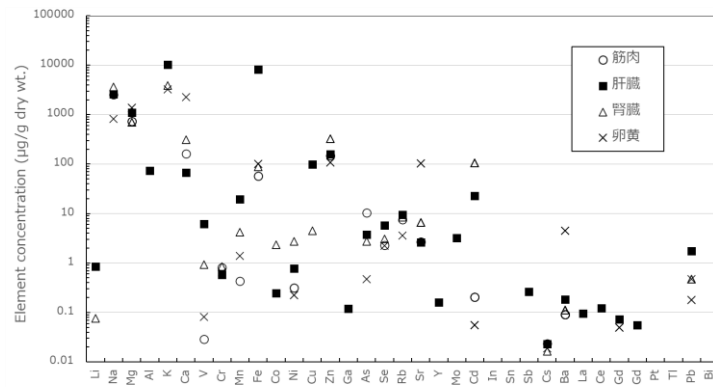


Fig. 1-1. Average element concentration in muscle, liver, kidney and York of *Chelonia mydas*, collected from Ogasawara Islands in Tokyo, Japan in 2020.

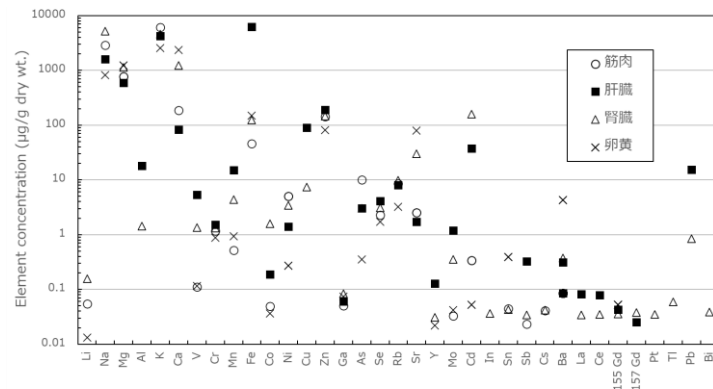


Fig. 1-2. Average element concentration in muscle, liver, kidney and York of *Chelonia mydas*, collected from Ogasawara Islands in Tokyo, Japan in 2021.

(要旨添付). さらなる調査が必要とされるものの, その他の水生大型爬虫類においても同様の微量元素分布傾向が存在することが考えられる.

#### 4. 今後の課題

本研究からはアオウミガメの生体内組織における, 各組織への微量元素分布の傾向が解明された. 同様の分布および蓄積特性を, 他の大型水生爬虫類も有する可能性が考えられる. 今後の研究ではワニ類生物における, 生体への微量元素蓄積の程度を実際に把握することが必要とされる. 非捕殺的な手法として, ワニ類生物の皮膚, 爪や血液を採取および分析し, ワニ類における微量元素蓄積の挙動把握を試みることが望まれる.

#### 5. 参考文献

- 1) Buenfil-Rojas *et al.* (2020) *Chemosphere* 244: 125551.
- 2) Giulia *et al.* (2008) *Science of the Total Environment* 390: 287-294.