

博士論文

飼育条件下におけるタイマイの繁殖に関する
生態，行動および生理学的研究

2010年12月

長崎大学大学院生産科学研究科

小林真人

目 次

1	序章	
1-1	ウミガメの生物学	1
1-2	日本のウミガメ類の現状	5
1-3	タイマイの増養殖に関する研究	5
1-4	本研究の構成	9
2	飼育条件下におけるタイマイの繁殖生理	
2-1	雄の血漿テストステロン濃度の季節変動と二次性徴	11
2-1-1	緒言	11
2-1-2	材料と方法	12
2-1-3	結果	17
2-1-4	考察	25
2-2	雌の血漿エストラジオール-17 β 濃度の季節変動と卵胞の発達	28
2-2-1	緒言	28
2-2-2	材料と方法	29
2-2-3	結果	38
2-2-4	考察	46
3	飼育条件下におけるタイマイの繁殖生態	51
3-1	緒言	51
3-2	材料と方法	51
3-3	結果	55
3-4	考察	64
4	総合考察	71
	引用文献	76

1 序章

1-1 ウミガメの生物学

本研究の対象種であるタイマイ *Eretmochelys imbricata* は、ウミガメ科に属するウミガメ類の 1 種である。ウミガメは海洋環境に適応した爬虫類であり、現代のウミガメ類の祖先はおよそ 1 億 1 千万年前の白亜紀に出現した (Spotila 2004)。白亜紀には 4 科のウミガメ類が存在したが、その後 2 科のウミガメ類は絶滅し、現在はウミガメ科 6 種 (アオウミガメ *Chelonia mydas*, アカウミガメ *Caretta caretta*, ケンプヒメウミガメ *Lepidochelys kempii*, タイマイ, ヒメウミガメ *L. olivacea*, ヒラタウミガメ *Natator depressus*) とオサガメ科 1 種 (オサガメ *Dermochelys coriacea*) の 7 種のウミガメが生存している (Spotila 2004)。ウミガメ科 6 種は、いずれも背部と腹部に硬い甲羅を有し、前鰭と後鰭は角質化した鱗で覆われている。その大きさは、種によって異なるものの、甲長 55~124 cm, 体重 36~204 kg である。一方、オサガメ科のオサガメは硬い甲羅を持たず、背甲は薄い弾力性のある皮膚で覆われ、その大きさは甲長 132~178 cm, 体重 250~907 kg と現存するウミガメ類の中では最も大きい種である (Spotila 2004)。ウミガメ類の生息海域は熱帯から温帯の海域であるが、ケンプヒメウミガメの成体はメキシコ湾に、ヒラタウミガメはオーストラリア北部の沿岸に特異的に分布する。また、オサガメは熱帯から亜寒帯域まで回遊することが知られている (Spotila 2004)。ウミガメ類の産卵は砂浜で行われ、卵は砂中の産卵巣内に産み落とされる。産卵からおよそ 60 日後に仔ガメはふ化し、産卵巣から這い出て、砂浜を下り、外洋に泳ぎ出す。その後しばらくは仔ガメの生息場所や生態などがよくわかっていないことから、この期間を「The lost years」と称している。成熟した個体は索餌海域から交尾海域に移動して交尾する。交尾期が終了した雄は再び索餌海域に戻るが、雌はその海域に留まり、およそ 2 週間間隔で複数回の産卵を繰り返した後、索餌海域に移動する (Fig. 1, Miller 1997)。

ウミガメ類は、古くからタンパク源の一つとして肉や卵が食用として、また剥製や甲羅を用いた工芸品の原料としても世界各地で利用されてきた。しかし、乱獲、漁業での混獲、産卵場である砂浜の荒廃などの様々な人間活動の脅威にさらされ、ウミガメ類の個体数は減少している (Lutcavage et al. 1997)。ヒラタウミガメを除くウミガメ類は、国際自然保護連合 (International Union for Conservation of Nature and Natural Resources, 以下、IUCN と略す) の絶滅のおそれのあるレッドリスト (The

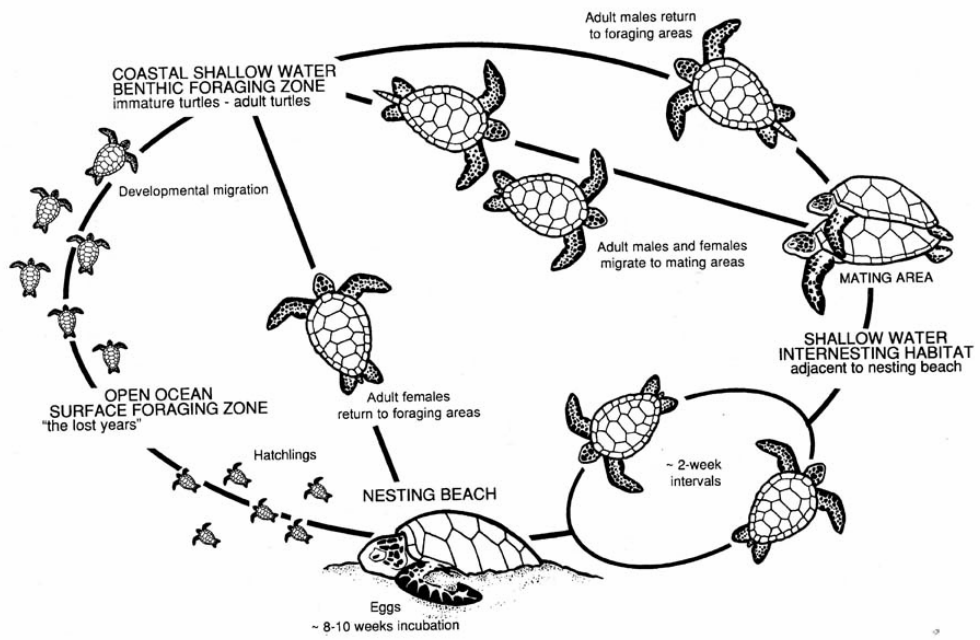


Fig. 1 Generalized life cycle of sea turtles (Miller 1997)

IUCN Red List of Threatened Species, 以下, レッドリストと略す) に記載されている (Table 1)。ウミガメ類の資源を保護するため, 多くの国でウミガメやその卵を捕獲することは厳しく制限されている。また, エビトロール網におけるウミガメ脱出装置の装着, マグロ延縄漁業における釣餌や釣針を改良することによるウミガメ類の混獲率を低減させる研究 (Lutcavage et al. 1997; 阿部, 南 2008) などが行われている。さらに, 絶滅のおそれのある野生動植物の種の国際取引に関する条約 (Convention on International Trade in Endangered Species of Wild Fauna and Flora, 以下, CITES と略す) において, ウミガメ全種は付属書 I (Appendix I) に記載され, 国際的な商業目的の取引が全面的に禁止されている (Pritchard 1997)。一方, より積極的にウミガメ類の資源を回復させる方策として, ふ化した仔ガメをある程度の期間 (数日から数年) 飼育条件下で育成した後に天然海域に放流する, いわゆる Head-Starting (以下, ヘッドスターティングと記す) が, アオウミガメ, ケンプヒメウミガメ, タイマイなどで試みられてきた (Bell & Parsons 2002, Sato & Madriasau 2001, Fontaine & Shaver 2005, 與世田, 清水 2006)。その効果はタイマイではまだ検証されていないが, アオウミガメやケンプヒメウミガメでは放流した個体が成熟して産卵した事例が報告されはじめており, ヘッドスターティングの効果の一端が徐々に明らかになっている (Bell & Parsons 2002, Fontaine & Shaver 2005)。

1-2 日本のウミガメ類の現状

日本近海には主にアオウミガメ, アカウミガメ, タイマイの3種が分布し, オサガメ, ヒメウミガメの分布も確認されている (Uchida & Nishiwaki 1982)。このうちアオウミガメ, アカウミガメおよびタイマイの3種は日本沿岸で産卵する (Uchida & Nishiwaki 1982, Kamezaki 1989)。日本における3種の主要な産卵地は, アオウミガメは沖縄県, 鹿児島県 (屋久島, 奄美大島) および小笠原諸島, アカウミガメは沖縄県から福島県までの太平洋沿岸, タイマイは沖縄県である (社団法人日本水産資源保護協会 1998)。日本でもウミガメが産卵する地域においては, 古くからその肉や卵は重要なタンパク源として利用され, また工芸品の原料としても供されてきた (紀伊半島ウミガメ情報交換会 1994)。しかし, ウミガメ類は漁業の対象生物として考えられていなかったため, 正確な漁獲統計は少なく, 正確な漁獲量や資源量の推定は行われていない。しかし, 現在日本におけるウミガメ類はいずれも希少種と位置づけられ (社団法人日本水産資源保護協会 1998), ウミガメやその卵の捕獲

Table 1 Status of sea turtles in IUCN Red List of Threatened Species

Status	Sea turtle
Extinct	
Extinct in the wild	
Critically Endangered	<i>Dermochelys coriacea</i> , <i>Lepidochelys kempii</i> , <i>Eretmochelys imbricata</i>
Endangered	<i>Chelonia mydas</i> , <i>Caretta caretta</i>
Vulnerable	<i>Lepidochelys olivacea</i>
Near Threatened	
Least Concern	
Data Deficient	<i>Natator depressus</i>

は水産資源保護法に基づく漁業調整規則等で制限されている。しかし、世界各国のウミガメ類の保護対策の中で、日本は世界で最も保護対策の進んでいない国とされている (Spotila 2004)。また、日本国内におけるヘッドスターティングによるウミガメ類の資源回復に関する試験研究は、ほとんど行われていないのが現状である (與世田, 清水 2006)。

1-3 タイマイの増養殖に関する研究

日本で産卵するウミガメ 3 種のうち、タイマイ (Fig. 2) は IUCN のレッドリストでアオウミガメやアカウミガメよりも高いランクに記載されている (Table 1)。日本における本種の産卵地は南西諸島に限定され、年間の産卵頭数も非常に少ない (Kamezaki 1989, 社団法人日本水産資源保護協会 1998)。著者が所属する石垣島ウミガメ研究会が、毎年行っている石垣島の産卵調査では、本種の年間の産卵個体は数頭程度であり、産卵個体が確認されない年もある。本種の甲羅は特にその模様が美しく、また他種よりも厚みがあるため、工芸品の原料として世界各地で利用されてきた。しかし、そのことが本種の乱獲を招いたと指摘されている (Pritchard 1997)。また、日本がべっ甲細工の原料として海外から大量に本種の甲羅を輸入したことも問題視されている (Canin 1991, Steiner 2001)。一方、CITES によって本種の輸入が禁止されたことにより、日本のべっ甲産業は原料の調達が不可能となり、存亡の危機に直面している。そのため、国内におけるタイマイ養殖や野生タイマイを捕獲することによる原料の確保が期待されている。

このようなことを背景として、1999 年から独立行政法人水産総合研究センター西海区水産研究所石垣支所 (当時は社団法人日本栽培漁業協会。以下、当研究所と略す) はヘッドスターティングによる本種資源の回復を目指し、増殖技術の開発を開始した (與世田, 清水 2006)。ヘッドスターティングを行うためには、安定的な仔ガメの確保が不可欠であり、そのためには安定的に卵を得る採卵技術の開発が必要である。採卵方法は、野生個体が産卵した卵を採捕する天然採卵と飼育条件下で養成した個体に産卵させる人工採卵がある。上述したように日本における本種の産卵個体数は非常に少ないことから、天然採卵を行うことは困難であった。そこで、当研究所では石垣島周辺海域に比較的多く生息する未成熟なタイマイの雌雄を捕獲し、これらを陸上水槽で養成し、成熟した雌雄を繁殖に供して採卵することとした。

人工採卵によって安定的に卵を得るためには、本種の繁殖生態や繁殖生理に基づ



Fig. 2 Hawksbill turtle (male, straight carapace length 83 cm)

いた人工繁殖の技術開発が不可欠である。ウミガメ類の性成熟年齢や生物学的最小型に関する情報は乏しく、本種では雌の性成熟サイズは直甲長 68~80cm であると報告されているが、雄については年齢も性成熟サイズもわかっていない (Márquez 1990)。ウミガメ類の成熟に伴う二次性徴について、雌では外部形態の変化は見られないが、雄では尻尾の伸長、前鰭の爪の発達、腹甲胸部の軟化などの形態変化が見られ (Limpus 1992, Owens 1997, Spotila 2004)、本種では雄の尻尾の長さによって成熟個体を識別できることが報告されている (Limpus 1992, van Dam & Diez 1998)。

ウミガメ類の繁殖生態について、交尾行動は野外 (Frazier 1971, Booth & Peters 1972, Limpus & Reed 1985) や飼育条件下 (Simon et al. 1975, Ulrich & Parkes 1978, Wood & Wood 1980) の観察事例が報告されており、Booth & Peters (1972) は、野生アオウミガメの交尾行動の詳細な観察結果を報告している。本種の交尾行動に関してはデータが乏しく (Márquez, 1990)、Kobayashi et al. (2006) が飼育条件下における交尾と産卵行動の観察結果について報告しているだけである。本種を初めとした多くのウミガメ類の産卵とふ化は、世界各地の産卵地で野外調査が実施されている (Márquez, 1990)。しかし、日本の野生タイマイは産卵個体数が少ないため (Kamezaki 1989)、産卵生態に関するデータは極めて少ない。また、飼育条件下におけるウミガメ類の産卵やふ化に関しては、アオウミガメ (Simon et al. 1975, Ulrich & Parkes 1978, Wood & Wood 1980) やケンブヒメウミガメ (Rostal 2005) の研究結果が報告されているが、本種に関しては、いくつかの研究機関で研究されているものの、公表されている報告は当研究所の事例以外にない (Shimizu et al. 2005, Kobayashi et al. 2006)。

上述した成熟や繁殖行動はホルモンによって誘発されることから、成熟や繁殖行動を生理学的な側面から明らかにするため、体内におけるホルモンの動態を調査することが必要である。ウミガメ類の繁殖に関連するホルモンについて、雄の二次性徴の発現、精巣の発達および交尾行動にはテストステロンが深く関与しており、雌における卵胞の発達、交尾海域への回遊、交尾行動、排卵、産卵などの一連の繁殖生態には、エストラジオール、テストステロン、黄体形成ホルモンおよびプロゲステロンが関与している (Owens & Morris 1985)。これらのホルモンの季節変動や繁殖生態との関連について、野生個体を対象とした調査は、アオウミガメ (Jessop et al. 2004)、アカウミガメ (Wibbels et al. 1987, Wibbels et al. 1990, Whittier et al. 1997)、オサガメ (Rostal et al. 1996, Rostal et al. 2001)、ケンブヒメウミガメ (Rostal 2005)

およびヒメウミガメ (Licht et al. 1982) で実施されている。また、飼育個体を対象とした調査は、アオウミガメ (Wood et al. 1979, Licht et al. 1985) とケンブヒメウミガメ (Rostal 2005) で実施されている。タイマイでは、野生個体の雄の血中テストステロン (Jessop et al. 2004) や雌の血中エストラジオール-17 β (Dobbs et al. 2007) に関する報告が2事例あるのみで、飼育個体に関しては公表されている報告はない。

このように、本種の繁殖生態や繁殖生理に関する情報は、野生個体の産卵生態に関するものは多くあるものの、成熟や繁殖行動に関する生態学的、行動学的な知見だけでなく、それらの裏付けとなるホルモンの動態に関する生理学的な知見もほとんどないのが現状である。したがって、本種の人工繁殖に関する技術を開発するためには、飼育条件下における本種の生態学的、行動学的、生理学的な調査を行うとともに、それらの結果を野生個体の事例と比較検証する必要がある。

1-4 本研究の構成

人工採卵を行うためには、はじめに養成個体の中から成熟個体を選別し、それらの個体を用いて安定的に交尾させることが重要である。そのためには、成熟や繁殖行動に関連した性ホルモンの動態を明らかにすることが必要である。そこで、雄については血中のテストステロン濃度の季節変動を調査し、成熟や交尾行動との関係を明らかにするとともに、二次性徴である尻尾の長さをもとに成熟個体が判別できるか否かを検証した (第2章第1節)。雌については血中のエストラジオール-17 β 濃度の季節変動と卵巣の発達を調査し、それらの関係を明らかにした (第2章第2節)。次に、交尾に成功した雌が人工的に造られた砂浜で正常に産卵を行うか、また得られた卵のふ化率や仔ガメが野生個体と差異がないかなどを検証する必要がある。そこで、産卵行動を観察して産卵数、産卵間隔、産卵回数を調査するとともに、得られた卵をふ化させてふ化仔ガメの大きさやふ化率を調べ、これらの結果を野生タイマイの既存の報告事例と比較検証し、飼育条件下における産卵とふ化の特徴を明らかにした (第3章)。最後に、本研究で得られた結果から本種の繁殖機構を明らかにし、その知見をもとに人工繁殖の基礎的な技術を提言するとともに、残された課題を整理し、今後取り組むべき研究について言及した (第4章)。

2 飼育条件下におけるタイマイの繁殖生理

2-1 雄の血漿テストステロン濃度の季節変動と二次性徴

2-1-1 緒言

人工採卵を行うためには、養成個体の中から成熟個体を選別し、それらの個体を安定的に交尾させることが重要である。そのためには、雄の性ホルモンの動態を調べ、成熟や交尾行動との関係を明らかにする必要がある。爬虫類、鳥類およびほ乳類の雄において、テストステロンは生殖腺における性ステロイド合成の最終生産物であり (Kime 1987)、カメ類においても主要な生産物として合成される (Boume & Licht 1985)。また、テストステロンがウミガメ類の雄の繁殖に重要な役割を果たすことがいくつか報告されている。例えば、野生のアカウミガメ (Wibbels *et al.* 1987, Wibbels *et al.* 1990)、飼育条件下のアオウミガメ (Licht *et al.* 1985) やケンブリヒメウミガメ (Rostal 1985) では、血中テストステロン濃度の上昇が精子形成と深く関連することが明らかにされている。また、Owens & Morris (1985) は未成熟なウミガメにテストステロンを投与するとペニスと尻尾が伸長することを実証している。これらの結果は、雄のウミガメ類において、テストステロンが二次性徴や性行動と深く関連しており、雄の成熟の指標として利用できることを示唆している。また、Limpus (1992) や van Dam & Diez (1998) は、本種の雄の二次性徴の一つである尻尾の長さが成熟個体を選別するための指標として有効であることを報告している。そこで、本章では飼育条件下で養成しているタイマイ雄 14 頭の血中のテストステロン濃度の季節変動を調査し、成熟や交尾行動との関係を明らかにした。また、既報の尻尾の長さを指標とした成熟度の判別方法 (Limpus 1992, van Dam & Diez 1998) の有効性を検証するとともに、新たな判定指標の開発を試みた。

2-1-2 材料と方法

供試個体 沖縄海区漁業調整委員会の許可を受けて、1999 年から 2002 年にかけて石垣島周辺海域に生息するタイマイ 25 頭を捕獲し、これらを当研究所で養成した個体を本研究に使用した。捕獲したタイマイの性別は外部形態からは判別できなかったことから、内視鏡検査によって直接生殖腺を観察して雌雄を判別したところ、雄 14 頭、雌 11 頭であった。供試個体は、内部標識 (ID-100A, サージミヤ

ワキ(株)製) と外部標識 (Jumbo Tag, 特定非営利活動法人日本ウミガメ協議会製) によって個体識別した。捕獲時のタイマイの直甲長の平均値 (平均値 \pm 標準偏差) は、雌では 56.0 ± 10.4 cm, 雄では 53.0 ± 11.1 cm であった。捕獲時の雄の直甲長は、1 頭が 82.0 cm であり、残り 13 頭は 62.5 cm 以下であった。雄の性成熟と直甲長の関係に関する報告は少ないが、van Dam & Diez (1998) はカリブ海に生息するタイマイの調査結果から、雄の成体の最小直甲長は 68.2 cm と報告している。生息地域は異なっているが、この結果をもとに本研究に用いた捕獲時の雄の性成熟の状態を区分すると、1 頭は性成熟していた可能性が高く、その他の個体は未熟であったと推測された。

交尾方法 本研究は、2007 年から 2008 年にかけて実施した。雄の成熟状態を調査するため、雄 14 頭と成熟した雌を用いて 3 月から 6 月にかけて交尾試験を行い、交尾行動を観察するとともに、交尾の成否を調べた。本研究において、交尾とは雄が雌の背中に乗って前後の鰭で雌を掴み、尻尾を曲げてペニスを挿入しようとする行動、交尾行動とは交尾するために雄が雌を追尾して背中に乗ろうとする行動と定義した。また、交尾しても、雄が雌の体内で射精して受精卵が得られなければ交尾に成功したとはいえない。そこで、雌が雄と交尾した後に産卵した場合、そのときの交尾で精子の受け渡しが行われ、交尾に成功したと判断した。交尾試験は、屋外にある 110kL コンクリート製水槽 (Fig. 3, $12 \times 8 \times 1.2$ m, 以下は 110 kL 水槽と略す) 4 基で行った。雌雄の組み合わせは、はじめは雌 1 頭に対して雄 1~7 頭の比率とし、雄の交尾行動を確認した。雌が複数の雄と交尾すると、交尾に成功した雄を特定できないことから、複数の雄が雌に対して交尾行動を示した場合、雌雄をそれぞれ 1 頭ずつに組み直し、再び交尾試験を行った。また、交尾が確認された雌は、その年のその後の交尾試験には使用しなかった。交尾試験は日中のみ行い、夜間は雌雄を別々の水槽に移した。交尾行動は、目視とビデオカメラシステム (カメラ ; IR-6000, (株)ダイワインダストリ製, レコーダー ; AV-S7004W, (株)システム エイ・ブイ製) を用いて観察した。本研究では、後述するように、2007 年と 2008 年に 14 頭中 5 頭で交尾行動が観察され、9 頭は両年ともに交尾行動を示さなかった。そこで、後述する血漿テストステロン濃度の季節変動と交尾行動との関係を調べるため、本研究では交尾行動を示した 5 頭 (M-1~M-5) をグループ A, それ以外の個体 (M-6~M-14) をグループ B として



Fig. 3 Photograph of a 110 kL rearing tank.

区分した。

飼育方法 供試個体は、與世田、清水 (2006) の方法に準じて飼育した。供試個体は 110 kL 水槽数基に分けて収容し、養成した。飼育水は砂ろ過海水を使用し、換水量は 2~10 kL/時、水温は自然条件とした。光周期は自然条件とし、石垣島の日の出と日の入り時間から算出した試験期間中の明期は 10.6~13.6 時間であった。餌料は、カタクチイワシ *Engraulis japonicus* とマツイカ *Illex argentinus* を用いた。タイマイは水温 24°C 以下では摂餌量が減少することから、給餌量は水温 24°C 以上では供試個体の体重の 2%、水温 24°C 未満では 1% とした。また、ビタミン類やカルシウムを補うため、総合ビタミン剤（ヘルシーミックス-2、大日本製薬(株)製）とカルシウム剤（ナグラシ 0 号、コーラルインターナショナル(株)製）をそれぞれ給餌量の 2.5% を展着させた。給餌は、摂餌状況により 1 週間あたり 3~5 日とした。

採血とホルモン測定 供試個体の血漿テストステロン濃度を把握するため、毎月 1 回採血し、その方法は以下のとおりとした。供試個体の頸部の血管から注射器（注射針；18G × 70 R.B GA、ニプロ(株)製、注射筒；SS-10SZ、テルモ(株)製）で 10 ml を採血し、ヘパリン処理した採血管（VP-H100K、テルモ(株)製）に入れ、遠心分離するまでアイスボックス内で冷蔵保存した。採血後 1~2 時間以内に血液を遠心分離（10 分、2,500 rpm）し、得られた血漿はホルモンを測定するまで -80°C で凍結保存した。テストステロンの測定は BML (株) に依頼し、アーキテクト・テストステロンキット（ARCHITECT Testosterone; アボットジャパン(株)製）を用いた CLIA 法（Chemiluminescent immunoassay）により測定した。テストステロンの測定可能範囲は 0.14~15 ng/ml、交差反応率は 5 α -ジヒドロテストステロンが 2.1%、5 α -アンドロスタン-3 β ,17 β -ジオールが 0.2%、11 β -ジヒドロキシテストステロンが 14.1%、アンドロステンジオンが 0.1% であった。

直甲長と尻尾の全長の測定 供試個体の直甲長と尻尾の全長（以下、尻尾長と略す）は、毎月 1 回、ノギス（MA1270BLUE; Haglöf Inc., Långsele, Sweden）を用いて 0.1 cm 単位まで測定した。直甲長は、背甲の最前部の甲羅の凹部から最後部の甲羅の先端までの直線距離、尻尾長は腹甲の最後部から尻尾の最先端までの直線距離とした（Fig. 4）。雄の性成熟を判定する新たな指標として、本研究では尻尾

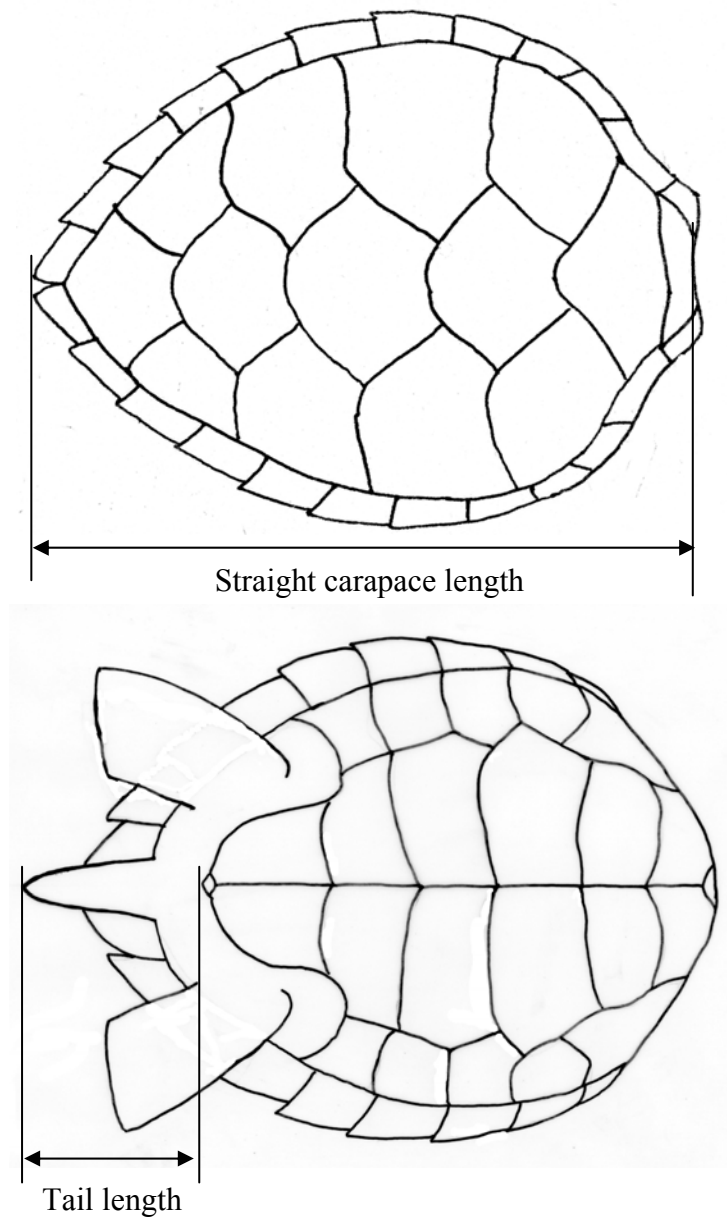


Fig. 4 Diagrams of measurement points in straight carapace length (SCL, upper) and tail length (TL, lower) of the hawksbill turtle used in the present study. SCL was from the distance from the nuchal scute notch to posteriormost scute tip and TL was from the posteriormost plastron to the tail tip.

長を直甲長で除した比率 (Tail Elongation; 以下, TE と略す) を用いた。

統計処理 グループ間の血漿テストステロン濃度, 直甲長, 尻尾長および TE の違いを調べるため, 多重解析検定 (Tukey-Kramer 法) を用い, 有意水準 5% で検定した。また, 2007 年と 2008 年の血漿テストステロンの季節変動の相似性を調べるため, ピアソン相関係数検定を用い, 有意水準 5% で検定した。検定は表計算ソフト (エクセル 2002, マイクロソフト (株) 製) のアドインソフト STATCEL2 (4 steps エクセル統計, (有) オーエムエス出版製) を用いて行った。

2-1-3 結果

血漿テストステロン濃度の季節変動 2007 年と 2008 年の血漿テストステロン濃度の変化を Fig. 5 に示す。交尾行動が確認されたグループ A の 5 頭の血漿テストステロン濃度は, 両年ともに大きな変動が観察され, その変動パターンは両年で同じ傾向を示した (Pearson's correlation coefficient test, $r = 0.79, p < 0.05$)。グループ A の平均血漿テストステロン濃度は, 2007 年 1 月から上昇し (平均濃度 \pm 標準偏差, 30.7 ± 12.1 ng/ml), 4 月に最高値 (平均濃度 \pm 標準偏差, 44.6 ± 9.0 ng/ml) に達した。その後, その濃度は急速に低下し, 8 月には最低値 (平均濃度 \pm 標準偏差, 6.8 ± 2.2 ng/ml) を示した。2007 年 11 月から再び濃度の上昇がみられ, 2008 年 5 月に最高値 (平均濃度 \pm 標準偏差, 37.4 ± 14.0 ng/ml) に達し, その後は 2007 年と同様の変動パターンを示した。

一方, グループ B の平均血漿テストステロン濃度は, 両年ともに低レベル (平均濃度 \pm 標準偏差, 1.2 ± 0.6 ng/ml~ 4.8 ± 2.3 ng/ml) で推移し, その変動パターンも両年ともに同じ傾向を示した (Pearson's correlation coefficient test, $r = 0.78, p < 0.05$)。

交尾行動 交尾行動は 14 頭中 5 頭 (M-1~M-5) で観察された (Table 2)。5 頭のうち, 2007 年に 2 頭 (M-1, M-2), 2008 年に 2 頭 (M-2, M-3) がそれぞれ交尾に成功し, その時期はいずれも 5 月であった。一方, M-4 と M-5 は交尾を試みたものの, すぐに雌から離れる行動を示し, 交尾は成功しなかった。

直甲長と尻尾長の発達および TE 直甲長, 尻尾長および TE について, 捕獲時と 2007 年および 2008 年の年間の平均値を Table 3 に示す。また, 各個体の 2007 年

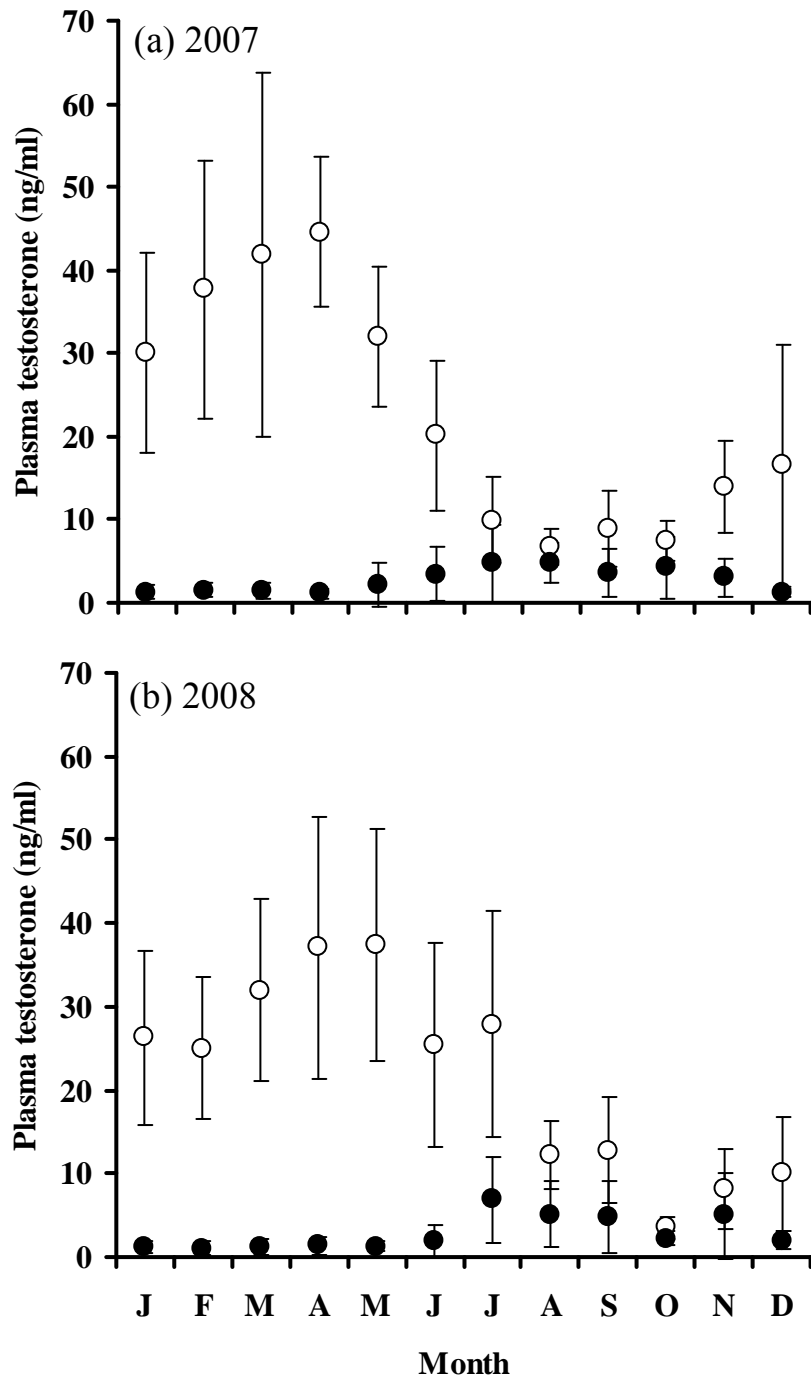


Fig. 5 Seasonal changes of plasma testosterone of Group-A (○) and Group-B (●) in 14 hawksbill turtles between 2007 and 2008. Data was mean ± SD.

Table 2 Results of observation of mating behavior and mating success in both groups in 2007 and 2008

Year	No. turtles displayed mating behavior		No. turtles succeeded in mating	
	2007	2008	2007	2008
Group-A	5	5	2	2
M-1	+	+	+	×
M-2	+	+	+	+
M-3	+	+	×	+
M-4	+	+	×	×
M-5	+	+	×	×
Group-B	0	0	0	0
M-6	×	×	×	×
M-7	×	×	×	×
M-8	×	×	×	×
M-9	×	×	×	×
M-10	×	×	×	×
M-11	×	×	×	×
M-12	×	×	×	×
M-13	×	×	×	×
M-14	×	×	×	×

Description of M-1 to M-14 indicates each experimental turtle. + and x marks in the column of “No. turtles displayed mating behavior” indicate that the former displayed mating behavior and the latter did not displayed it. The same symbols appeared in the column of “No. turtles succeeded in mating” indicate that the former is success to functional mating and the latter is not success to functional mating with female. In this study, functional mating means obtaining fertilized eggs after mating.

Table 3 The means of straight carapace length of the male hawksbill turtles when they were captured and annual means of straight carapace length, tail length and TE in the male hawksbill turtles in 2007 and 2008

	At capture		2007		2008	
	Group-A	Group-B	Group-A	Group-B	Group-A	Group-B
Straight carapace length (cm)	64.2 ± 10.2	46.7 ± 5.3	75.1 ± 3.9 ^{ab}	69.0 ± 4.3 ^{ab}	75.3 ± 3.6 ^{cd}	69.5 ± 4.4 ^{cd}
Tail length (cm)	Unkown	Unkown	28.8 ± 3.6 ^a	18.8 ± 3.2 ^b	28.9 ± 3.4 ^c	19.7 ± 3.1 ^d
TE*	-	-	0.38 ± 0.03 ^a	0.27 ± 0.04 ^b	0.38 ± 0.03 ^c	0.28 ± 0.04 ^d

Data are mean ± SD. *, TE indicates the ratio of tail length to straight carapace length. Different letters represent significant difference among two groups in 2007 and 2008 (Two-factor factorial ANOVA, Tukey-Kramer multiple comparison test, $p < 0.05$, $a > b$, $c > d$).

と 2008 年の年間の平均値を Fig 6 に示す。グループ A とグループ B の平均直甲長は、2007 年と 2008 年ともにグループ間で有意な差は認められず (Table 3, $p > 0.05$) , 各個体の平均直甲長はグループ間で重複がみられた (Fig. 6) 。平均尻尾長は、グループ B よりもグループ A の方が両年ともに有意に長かったが (Table 3, two-factor factorial ANOVA, Tukey-Kramer multiple-comparison test, $p < 0.05$) , グループ A の最小値とグループ B の最大値は非常に近接していた (Fig. 6) 。一方、平均 TE はグループ B よりもグループ A の方が有意に高く (Table 3, two-factor factorial ANOVA, Tukey-Kramer multiple-comparison test, $p < 0.05$) , グループ A の最小値とグループ B の最大値も明確に区分され、2008 年における前者の値は 0.35, 後者の値は 0.33 であった (Fig. 6) 。

血漿テストステロン濃度と尻尾長および TE との関係 2007 年と 2008 年のグループ A の血漿テストステロン濃度と尻尾長はグループ B よりも有意に高かったが (Fig. 7, two-factor factorial ANOVA, Tukey-Kramer multiple-comparison test, $p < 0.05$) , グループ A とグループ B の尻尾長の標準偏差は一部で重複がみられた。一方、2007 年と 2008 年のグループ A の血漿テストステロン濃度と TE はグループ B よりも有意に高く (Fig. 8, two-factor factorial ANOVA, Tukey-Kramer multiple-comparison test, $p < 0.05$) , また両グループの TE の標準偏差は重複することなく、明確に区分された。

2-1-4 考察

本研究では、2007 年の交尾行動の観察結果をもとに、雄 14 頭のうち、交尾行動が観察された 5 頭をグループ A、観察されなかった 9 頭をグループ B に区分した。しかし、その時点における各個体の性成熟の状態は不明であった。そこで、性成熟しているか否かを明らかにするため、全個体の血漿テストステロン濃度を測定した。その結果、グループ A の血漿テストステロン濃度は 2007 年と 2008 年ともに 4 月から 5 月にかけて最高値に達し、その後減少するという季節変動を示した。また、グループ A の 5 頭はいずれも交尾行動が観察され、交尾に成功した時期はいずれも 5 月であった。一方、グループ B の 9 頭の血漿テストステロン濃度は、両年ともに低濃度で推移し、グループ A のような大きな季節変動はみられなかった。また、両年ともに全個体で交尾行動は観察されなかった。これは、

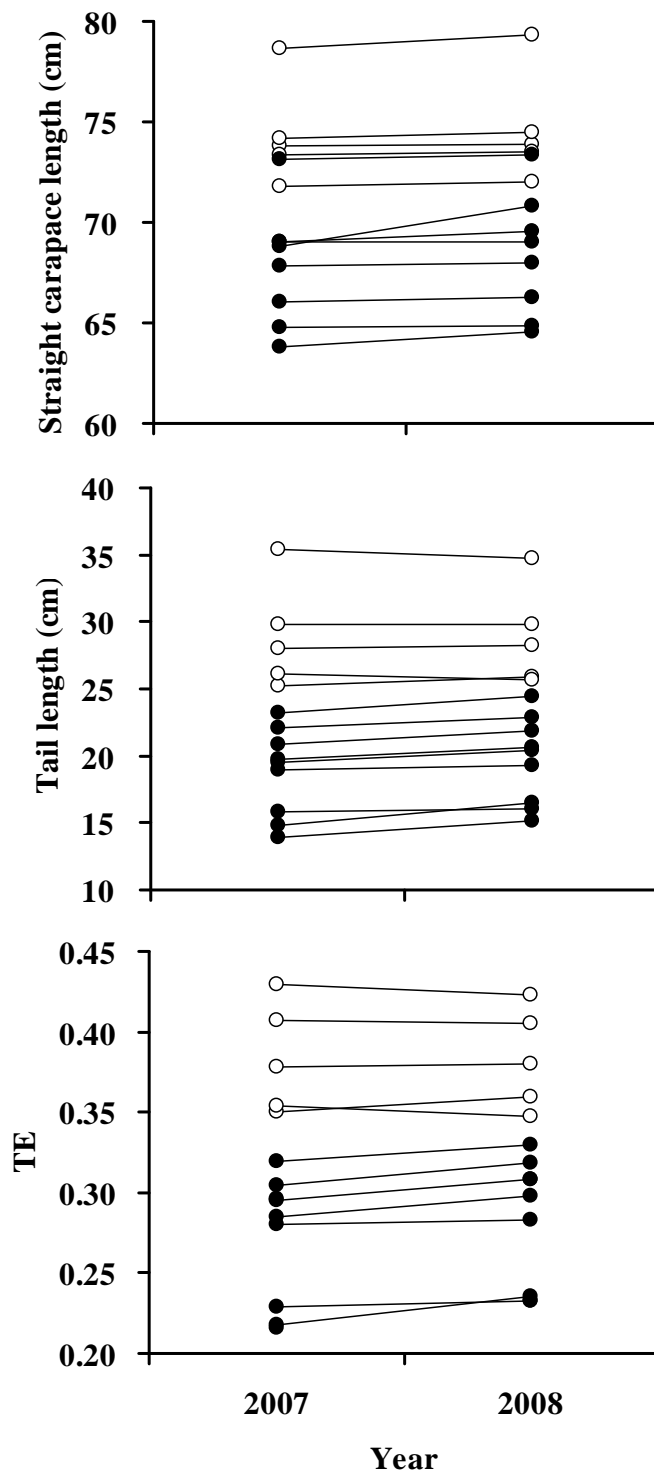


Fig. 6 Annual changes of straight carapace length (SCL, upper), tail length (TL, middle) and TE (ratio of TL to SCL, lower) of each individual of 14 hawksbill turtles in Group-A (○) and Group-B (●) in 2007 and 2008.

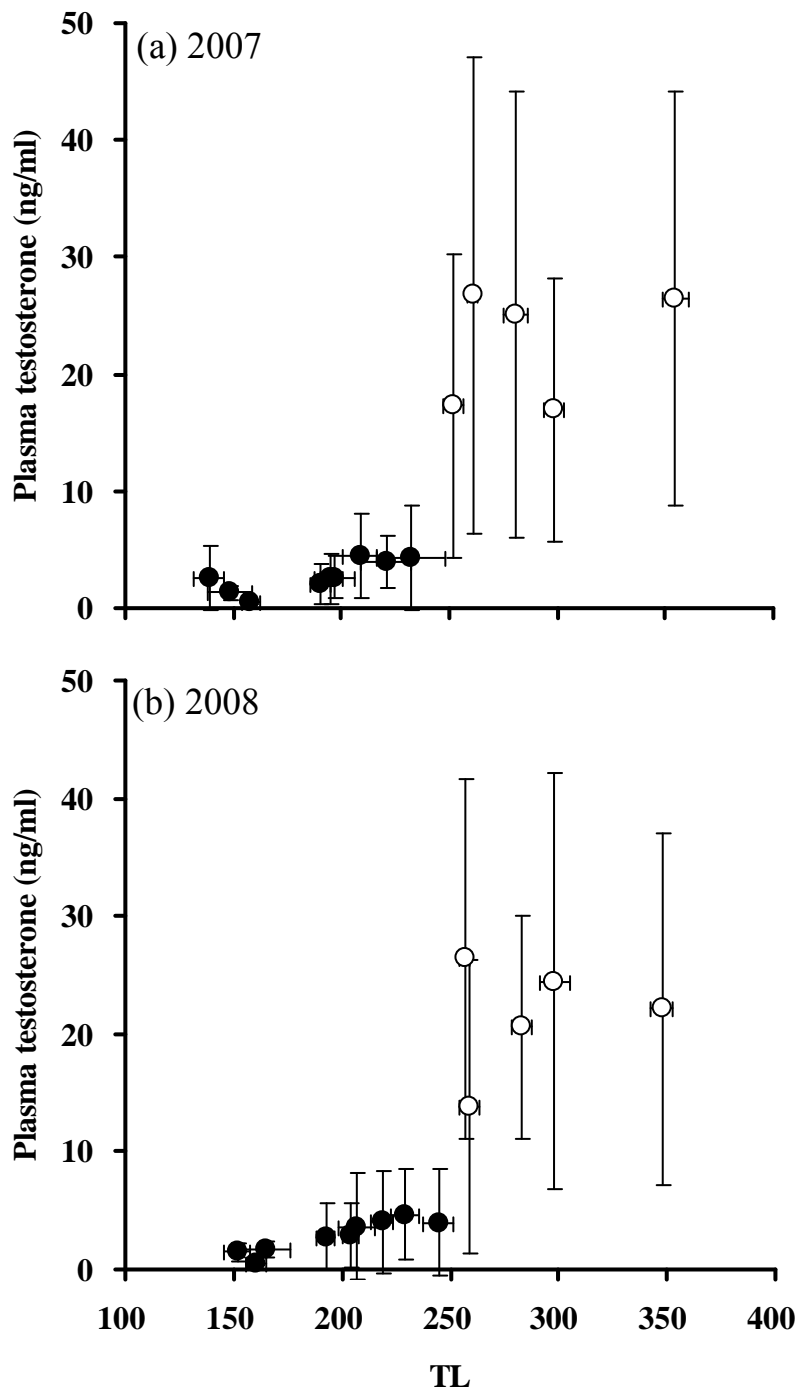


Fig. 7 Relationship between the plasma testosterone level and tail length (TL) of Group-A (○) and Group-B (●) in 14 hawksbill turtles between 2007 and 2008. Data was mean \pm SD.

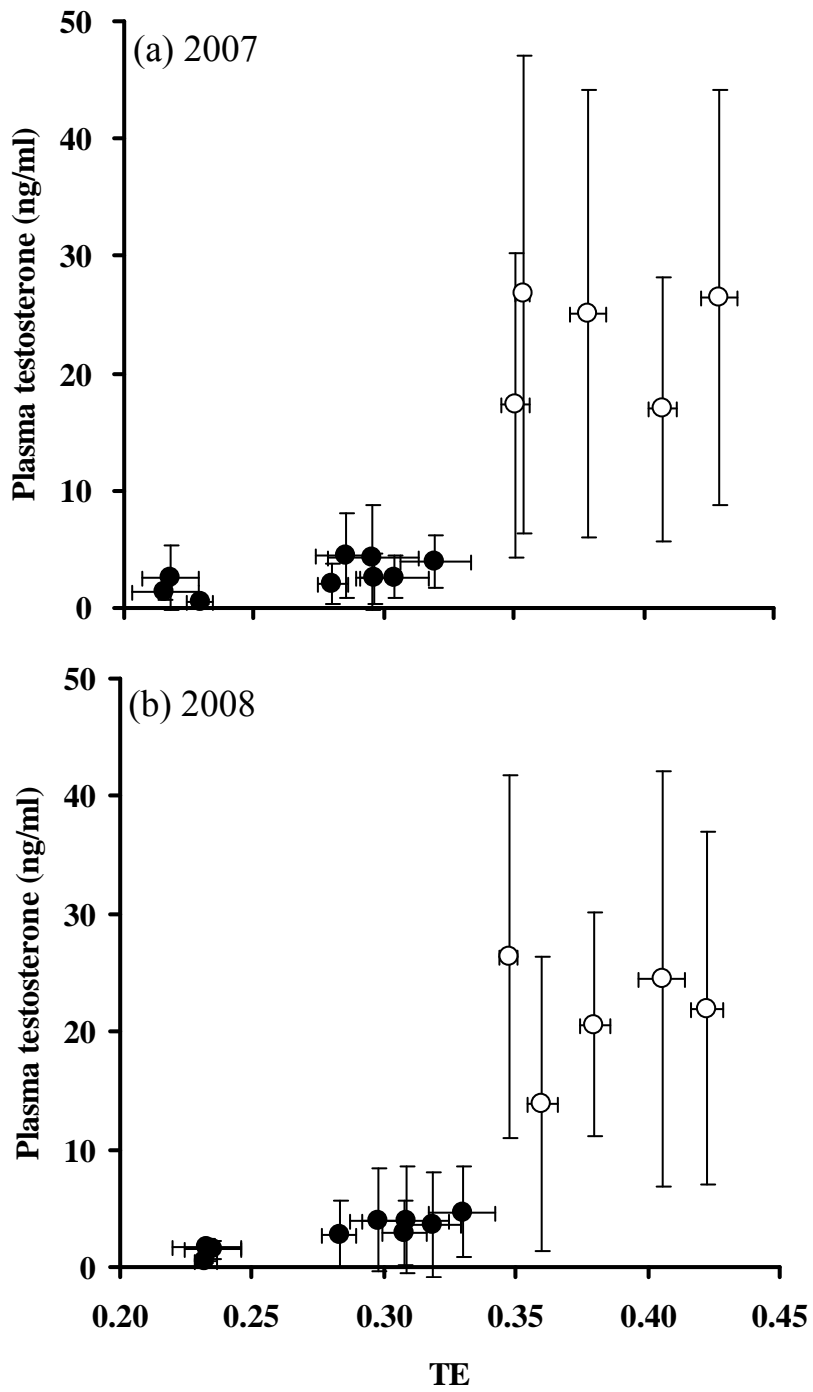


Fig. 8 Relationship between the plasma testosterone level and TE (ratio of TL to SCL) of Group-A (○) and Group-B (●) in 14 hawksbill turtles between 2007 and 2008. Data was mean \pm SD.

テストステロンが本種の成熟や交尾行動と関係していることを示唆する。

ウミガメ類の雄のテストステロン濃度の季節変動について、野生のアカウミガメ (Wibbels et al. 1987, Wibbels et al. 1990) やアオウミガメ (Jessop et al. 2004) において、交尾期前に上昇し、交尾期前から交尾期にかけて最高値に達し、その後減少するという変動パターンが報告されている。飼育条件下におけるケンプヒメウミガメ (Rostal 2005) やアオウミガメ (Licht et al. 1985) においても、野生個体と同様に交尾活動が始まる前にテストステロン濃度が上昇することが知られている。一方、未成熟個体のテストステロン濃度に関して、Jessop et al. (2004) は、野生の未成熟なアオウミガメやタイマイのテストステロン濃度は成熟個体と比較して低いこと、また交尾行動を示さない雄のアオウミガメの成体の血漿テストステロン濃度は周年低濃度であることを報告している。これらの結果は、成熟した雄のウミガメのテストステロン濃度は、交尾期前に増大してその後に減少するという変動を示し、未成熟なウミガメ類のテストステロン濃度は、周年低濃度であることを示している。Owens & Morris (1985) はテストステロンの役割を調べるため、テストステロンを未成熟なウミガメに注射することによって、交尾行動が誘発されることを実証している。また、ケンプヒメウミガメの精巣は、交尾前の急速なテストステロン濃度の上昇とともに発達することが飼育条件下で観察されている (Rostal 2005)。これらのことから、テストステロンが雄の成熟や交尾行動を誘発するために重要なホルモンであることが推測され、雄の成熟状態を調べるための指標として有効であると云える。本研究において明らかとなった飼育条件下におけるタイマイ雄の血漿テストステロン濃度の季節変動は、既存の研究報告と一致しており、このような変動はウミガメ類に共通した現象であるといえる。したがって、本研究において 2007 年の交尾行動の観察結果をもとに区分した 2 つのグループは、テストステロン濃度の測定結果からも、グループ A が性成熟した個体であり、グループ B は未成熟な個体であることを裏付けており、テストステロンが雄の成熟に関する良いバイオマーカーであるといえる。しかしながら、テストステロンを指標として成熟状態を判定する場合、それを使用できる時期が繁殖期に限定されることや測定作業の繁雑さなどの問題がある。

そこで、両グループの直甲長、尻尾長および TE などの形態学的な特徴を比較し、それらを用いた雄の性成熟の判定を試みた。直甲長は、成熟個体と未成熟個体の間で重複がみられ、直甲長を指標として両者を区分することはできなかった。

尻尾長は成熟個体と未成熟個体の間に重複はみられず、成熟個体の方が明らかに長かったが、両者の値の一部は非常に近接していた。Limpus (1992) は、南グレートバリアリーフに生息するタイマイについて、尻尾の長さを基準として雄の成熟個体を判定することが可能であると報告している。また、van Dam & Diez (1998) は Limpus (1992) の方法を用いてカリブ海に生息する 276 個体のタイマイの中から成熟した雄を判別している。しかし、本研究では尻尾の長さから性成熟した雄を判別することは困難であった。本研究と既存の研究結果との違いは、それぞれのタイマイが餌料や生息環境などが全く異なっている天然海域と飼育条件であるということに起因していると考えられる。そこで、本研究では TE (直甲長に対する尻尾長の比率) という新たな指標をもとに供試個体を区分したところ、成熟個体と未成熟個体の間で明瞭に区分され、前者の TE は 0.35 以上、後者の TE は 0.33 以下であった。また、成熟個体と未成熟個体の平均血漿テストステロン濃度は 13.9 ng/ml と 4.6 ng/ml と成熟個体の方が有意に高く (two-factor factorial ANOVA, Tukey-Kramer multiple-comparison test, $p < 0.05$) , このことから TE による性成熟個体の判別は生理学的にも裏付けられたものであるといえる。雄の性成熟を判別する方法としては、血中テストステロン濃度の測定や内視鏡を用いて直接精巣の発達状態を観察する方法 (Owens 1985) などがある。しかし、いずれの方法も繁殖期に限定された方法であり、それ以外の時期においてこれらの手法による性成熟の判別は困難である。一方、本研究で試みた TE を指標とした新たな判別手法は、季節的な制約がなく、特別な機器や技術も必要ないため、誰もが使える簡便な性成熟の判別手法として有効である。

2-2 雌の血漿エストラジオール-17 β 濃度の季節変動と卵胞の発達

2-2-1 緒言

人工採卵を行うためには、養成個体の中から成熟個体を選別し、それらの個体を安定的に交尾させることが重要である。特に本種の雌の産卵周期は2~3年に1度と報告されており (Márquez 1990), 人工繁殖において性成熟した個体であっても毎年交尾に使用できないと考えられる。したがって、飼育条件下の雌の繁殖周期を明らかにすることが重要であり、雌の性ホルモンの動態と卵巣の発達との関連を調べる必要がある。爬虫類, 鳥類およびほ乳類の雌において, エストラジオール-17 β は腺性ステロイド合成の最終生産物であり (Kime 1987), 爬虫類においてエストラジオール-17 β は卵黄形成に対する第一刺激であることが知られている (Ho 1987)。ウミガメ類の雌の血中エストラジオール-17 β 濃度に関する研究は, 野生のアオウミガメ (Al-Habsi et al. 2006), アカウミガメ (Wibbels et al. 1990), オサガメ (Rostal et al. 1996) およびタイマイ (Dobbs et al. 2007) で実施され, 飼育条件下においてもアオウミガメ (Licht et al. 1979) やケンブヒメウミガメ (Rostal 2005) で調査されている。これらの研究において, 成熟した雌のエストラジオール-17 β 濃度は交尾期前に上昇すること, 産卵期には減少することなどが明らかとなっている。また, 未成熟なアオウミガメにエストロゲンを注射することにより, 卵管の発達やビテロジェニンの分泌が引き起こされることが実証されている (Owens & Morris 1985)。また, 飼育条件下のケンブヒメウミガメで交尾期前に血中ビテロジェニン量が増大することが確認されている。これらのことから, ウミガメ類におけるエストラジオール-17 β の役割は, 卵黄前駆物質であるビテロジェニンの分泌や卵巣の発達に関与していることが示唆される。爬虫類の卵巣の状態は, 超音波診断装置によって卵巣内の卵胞 (卵巣内にある排卵前の卵子を含むほぼ球形の細胞の集合体) の発達を観察することにより把握することができる (Casares et al. 1997, Tucker & Limpus 1997, Gilman & Wolf 2007, Lance et al. 2009)。Rostal et al. (1990) は, 飼育条件下のケンブヒメウミガメを用いて, 腹腔内の卵巣卵や卵殻が形成されている卵の観察結果を詳細に報告している。また, 同様の観察は野生のオサガメ (Rostal et al. 1996) やケンブヒメウミガメ (Rostal 2005), 飼育条件下のタイマイ (Shimizu et al. 2005, Kobayashi et al. 2006) でも行われている。しかしながら, 血中エストラジオール-17 β 濃度に関する既存の研究

は、交尾前から産卵期に至るまでの繁殖期に調査されている事例が多く、1年以上の長期間にわたって調査して卵胞の発達と関連づけた事例はほとんどない (Rostal 2005)。そこで、本章では2006年10月から2009年10月にかけて飼育条件下のタイマイ雌を用いて血漿エストラジオール-17 β 濃度と卵胞の発達を調べ、両者の関係を明らかにした。

2-2-2 材料と方法

供試個体 供試個体の入手は第2章第1節に記載したとおりである。本研究に用いた雌11頭(個体番号, F-1~F-11)の捕獲時の直甲長は41.5~78.5 cmの範囲であり, F-1とF-2の直甲長はそれぞれ78.5 cmと68.4 cm, それ以外の9頭は61.6 cm以下であった(Table 4)。捕獲から2006年までの間に4頭は卵胞の発達が確認され, それ以外の7頭は確認されなかった。そこで, 本研究に用いた雌11頭のうち, 卵胞の発達が確認された4頭(F-1~F-4)は成熟個体, それ以外の7頭(F-5~F-11)は未成熟個体と区分した。

飼育方法 供試個体の養成方法は, 與世田, 清水(2006)とKobayashi et al. (2006)に準じた。本研究における養成方法の概要をTable 5に示した。飼育水槽は, 人工海浜付き閉鎖循環型250 kLコンクリート製水槽(Fig. 9, 10 × 10 × 2.5 m, 以下, 250 kL水槽と略す)1基, 200 kLコンクリート製水槽(10 × 10 × 2.0 m, 以下, 200 kL水槽と略す)1~2基および110 kL水槽2~4基を使用した。250 kL水槽に付属する人工海浜の大きさは, 長さが13 m, 幅が4.7 m, 面積が61.1 m²であった(Fig. 9)。また, 人工海浜の砂は当研究所の敷地内に堆積した地先海岸由来のものを使用し, 砂の深さは1 mとした。200 kL水槽および110 kL水槽の水温は自然条件とした。250 kL水槽の水温は収容した雌の水温低下に伴う摂餌活性の低下を防止するため, 11~3月の間の最低水温を25~26°Cに維持し, それ以外の時期は自然条件とした。その他の飼育条件の詳細は, 第2章第1節の材料と方法の飼育方法の項に記載したとおりであり, ここでは概要を簡単に記載する。光周期はいずれの水槽も自然条件とした。餌料は, 総合ビタミン剤とカルシウム剤を展着させたカタクチイワシとマツイカを用い, 給餌量は供試個体の体重の1~2%を基準とし, 給餌は1週間あたり3~5日とした。

交尾と産卵の観察 交尾試験の方法は, 第2章第1節の材料と方法の交尾方法の

Table 4 Summary of body size of female hawksbill turtles used this study

Female	Straight carapace length (cm)				Growth rate ^{*1}	
	At the capture (1999-2002)	2007	2008	2009		
Mature	F-1	78.5	82.9	82.4	82.3	-0.6
	F-2	68.4	77.6	77.8	77.9	0.3
	F-3	59.0	73.2	72.8	73.3	0.1
	F-4	53.4	78.4	78.2	79.0	0.6
	Mean	64.8 ± 11.0	78.0 ± 4.0	77.8 ± 3.9	78.1 ± 3.7	0.1 ± 0.5
Immature	F-5	41.5	77.8	78.0	78.6	0.8
	F-6	46.6	76.7	76.8	77.8	1.1
	F-7	55.5	76.1	76.6	77.5	1.4
	F-8	61.6	74.1	74.9	77.4	3.3
	F-9	54.8	64.4	64.2	65.0	0.6
	F-10	49.2	63.6	63.6	64.9	1.3
	F-11	45.5	60.1	60.0	61.8	1.7
Mean	50.7 ± 6.9	70.4 ± 7.4	70.6 ± 7.6	71.9 ± 7.5	1.5 ± 0.9	

Values of straight carapace length shown in the table are for the measurements in January of each year.

^{*1}: Growth rate was a value which subtracted a value of straight carapace length in 2007 from a value of straight carapace length in 2009 in each individual.

Table 5 Summary of rearing methods for hawksbill turtles

Rearing tank	Concrete tanks of volumes of 250 kL ^{*1} , 200 kL and 110 kL
Sea water	Sand filtered sea water
Water exchange rate	250 kL tank; 20-50%/day, 200 kL and 110 kL tanks; 100-200%/day
Sea water temperature	Natural condition ^{*2}
Photoperiod	Natural condition ^{*3}
Feed	Anchovy and squid, quantity of 1-2% of turtle body weight
Supplement	Vitamins and calcium powder, quantity of 2.5 % of feed weight
Feeding frequency	3-5 times per week

^{*1} 250 kL tank was connected with an artificial sandy beach and recirculating system.

^{*2} 250 kL tank was kept at 25-26 °C from November to March.

^{*3} Light periods ranged from 10.6 to 13.6 hours during the experimental periods.

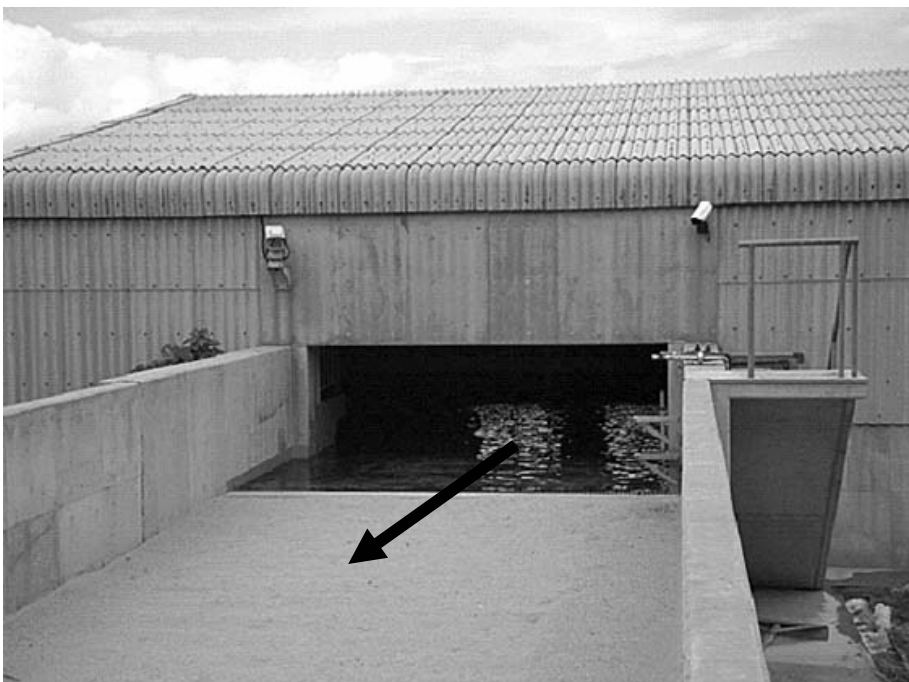
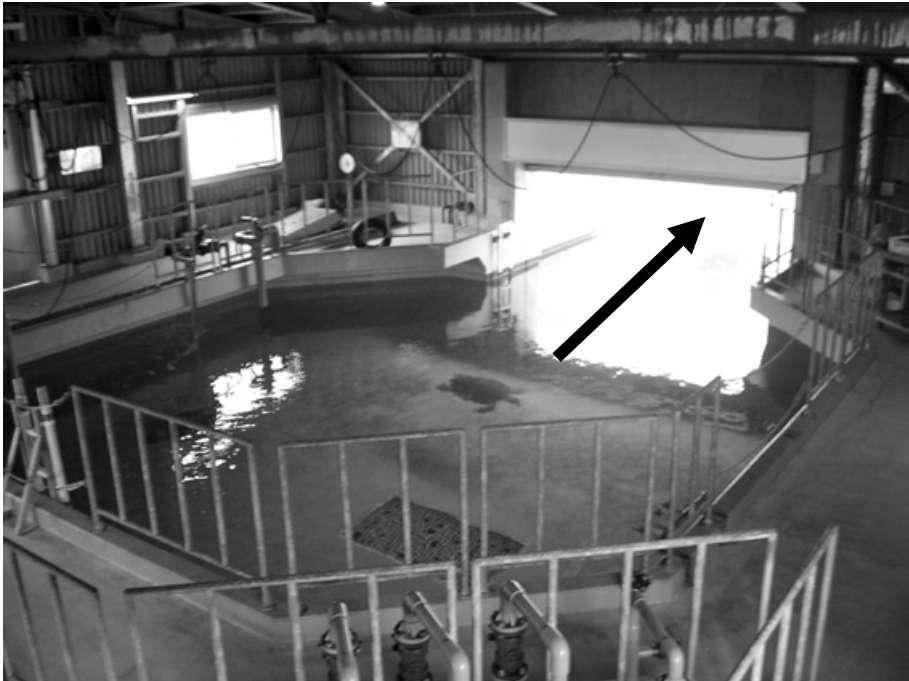


Fig. 9 Photographs of the 250 kL rearing tank (upper) and the artificial sandy beach (lower). A black arrow shows directions from the 250 kL rearing tank to the artificial sandy beach. The tank and the beach are connected by a gradual slope under the rearing water level so that the female turtles can come up onto the beach for nesting.

項に記載したとおりであり，ここでは概要を簡単に記載する。雌雄は別々の水槽で飼育し，3～6月の間に定期的に雄の水槽に成熟した雌を収容して交尾試験を行った。交尾行動は，目視とビデオカメラによる観察を行った。交尾の成否は，第2章第1節では雄が精子を受け渡したか否かを確認するため，雌が交尾後に産卵した場合を交尾成功とした。しかし，本節では與世田，清水（2006）の報告に従い，超音波診断装置によって雌の腹腔内を観察し（観察方法は後段に記載した），卵殻卵（卵巣から排卵された卵子に卵白層（albumen）と卵殻（calcified egg shells）が形成された卵，oviductal egg）の有無で判断した（Fig. 10）。すなわち，交尾後に雌の腹腔内に卵殻卵が観察された場合は交尾成功，観察されなかった場合は交尾失敗とした。交尾に成功した雌は250kL水槽に移槽して産卵行動を観察した。産卵行動の観察は，2台の超高感度ビデオカメラ（ICD-878，池上通信機（株）製）を用い，人工海浜の行動を24時間撮影し，その映像をデジタルレコーダー（AV-S7004W，（株）システム エイ・ブイ製）に記録した（Fig. 11）。映像データは，後日再生して産卵の有無を確認し，産卵日を特定した。

超音波診断 卵胞の発達を調べるため，超音波診断装置（180PLUS Ultrasound System，（株）ソノサイト・ジャパン製）を用い，7～30日間隔で雌の腹腔内を観察した。本研究に用いた超音波診断装置はモニターが付属した本体と超音波を送受信するプローブで構成されている。観察は次のように行った。産卵期は，水槽から取り揚げた雌を淡水が満たされた浅い水槽に収容し，水中で後鰭の付け根から腹腔に向けてプローブを当てて腹腔内を観察した（Fig. 12）。産卵期以外は，水槽から取り揚げた雌を緩衝材の上に仰向けにし，後鰭の付け根に超音波診断用のゲル（高粘性トワゲル，東和テクノス（株）製）を塗布し，その上からプローブを当てて観察した（Fig. 12）。プローブから得られた腹腔内の情報はモニター上にエコー画像として表示される。卵胞の状態は，Rostal et al.（2005）の報告に準じ，卵胞と卵殻卵に区分して観察した（Fig. 10）。卵巣の発達状態の指標として，卵胞と卵殻卵の長径を内蔵されている電子測定機能を用いて測定した。なお，この装置では直径1.0 cm未満の卵胞は識別できなかった。

採血とホルモン測定 雌11頭の血漿エストロジオール-17 β 濃度を測定するため，から毎月1回採血した。採血方法は第2章第1節に記載したとおりである。 エ

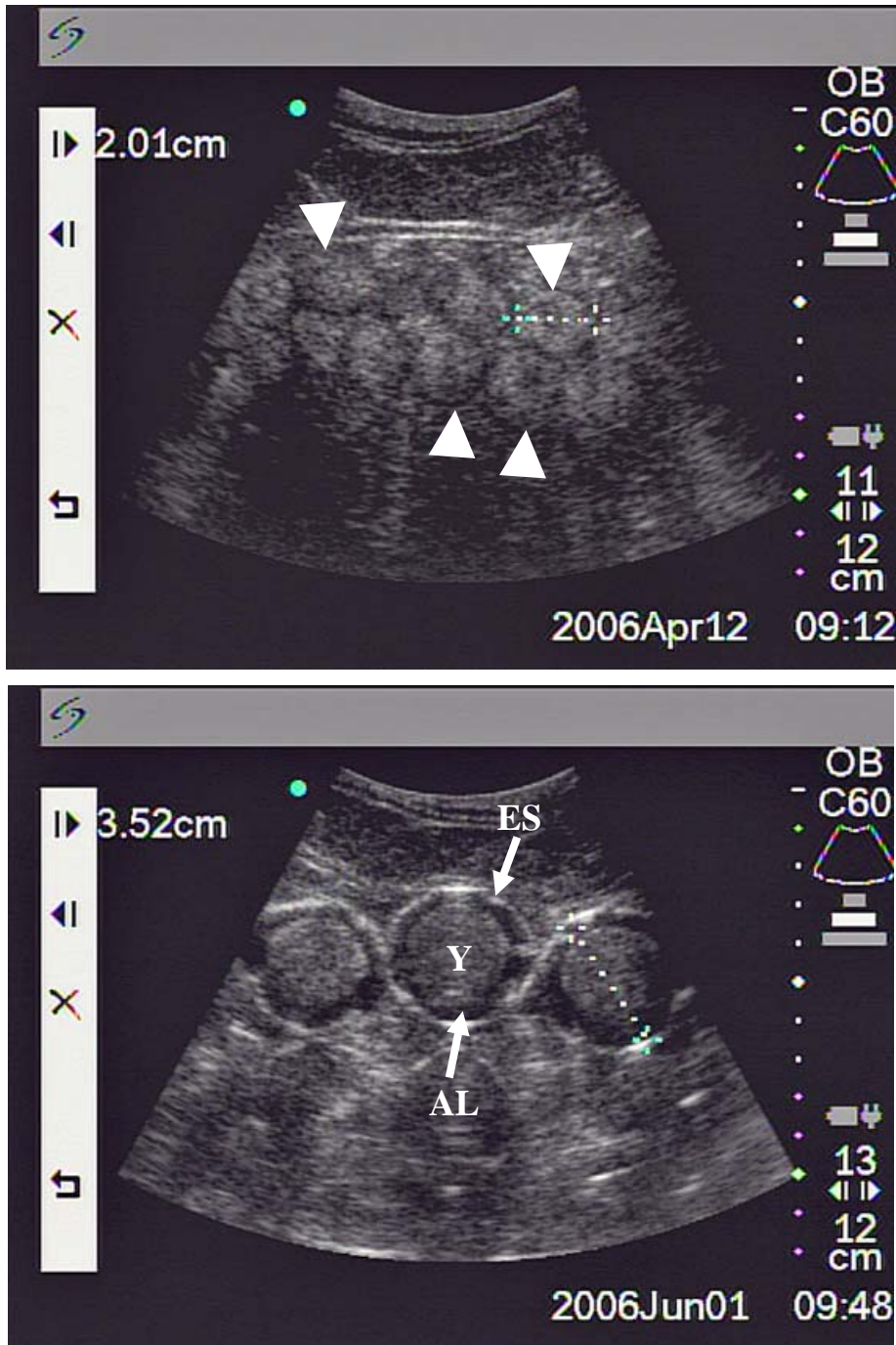


Fig. 10 Echo images of vitellogenic follicles (upper) and oviductal eggs (lower) detected by the 180PLUS Ultrasound System. Vitellogenic follicles were identified from the echoic yolk (arrowheads). Oviductal eggs were identified from the echoic yolk (Y), anechoic layer (albumen, AL) and echoic ring (calcified egg shells, ES).

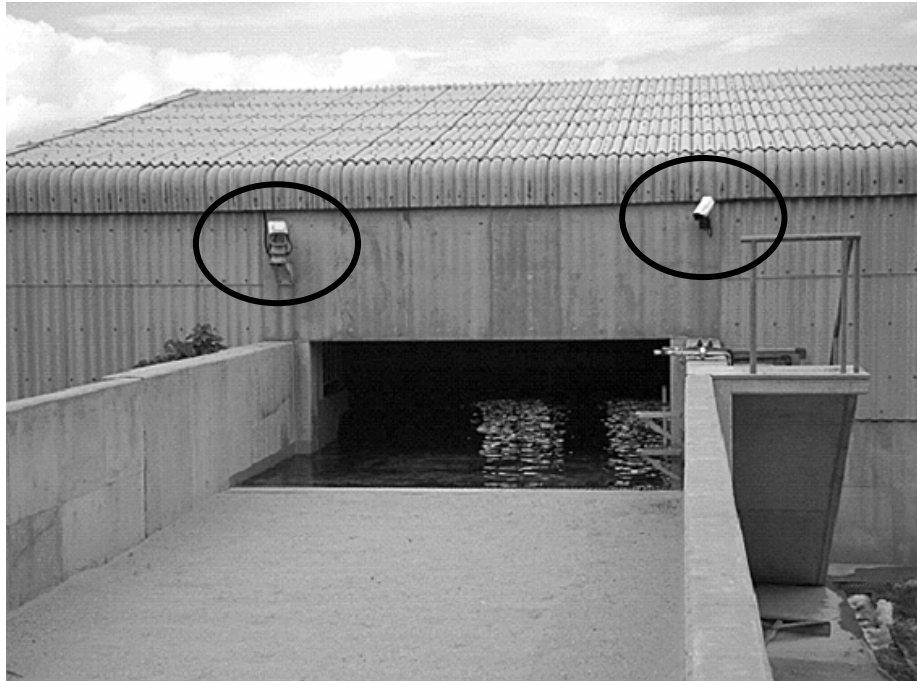


Fig. 11 Photographs of two highly sensitive cameras fixed on the outside wall (upper) and image of an observation of nesting behavior (lower).



Fig. 12 Photographs of observation of ovarian status using the ultrasonograph. Upper and lower photo show an observation in the nesting period and the other period, respectively.

ストラジオール-17 β の測定は、測定は BML (株) に依頼し、アーキテクト・エストラジオールキット (ARCHITECT Estradiol II; アボットジャパン(株)製) を用いた CLIA 法 (Chemiluminescent immunoassay) により測定した。エストラジオール-17 β の測定範囲は 10~1,000 pg/ml, 交差反応率はエストロンが 0.11%, エストラジオール-17 β 3-sulfate が 0.7%であり, エストリオールでは交差反応性は検出されなかった。

直甲長の測定 雌 11 頭の直甲長は毎月 1 回, ノギス (MA1270BLUE; Haglöf Inc., Långsele, Sweden) を用いて 0.1 cm 単位まで測定した。各年の直甲長はその年の 1 月のデータを用いた。なお, 本研究において, 試験終了時の 2009 年 1 月における直甲長から試験開始時の 2007 年 1 月における直甲長を差し引いた値を, 試験期間中の成長量と定義した。

2-2-3 結果

交尾と産卵 試験期間中に F-5 から F-11 の 7 頭は性成熟しなかったことから, 交尾試験には F-1 から F-4 の 4 頭を使用した (Table 6)。F-1 は 2007 年 5 月 29 日に交尾に成功して 3 回の産卵が観察されたが, 2008 年と 2009 年は交尾に失敗して産卵しなかった。F-2 は試験期間中に交尾も産卵も観察されなかった。F-3 は 2007 年 5 月 17 日に交尾に成功して 4 回の産卵が観察されたが, それ以外の年には交尾も産卵も観察されなかった。F-4 は 2009 年 5 月 21 日に交尾に成功して 3 回の産卵が観察されたが, それ以外の年には交尾も産卵も観察されなかった。

交尾に成功した時の雌雄の交尾行動は, 水槽底面に定位しているか, あるいは前方に向かって遊泳している雌に対し, 雄が背後から接近して交尾した。一方, 交尾に失敗した場合は, 雄が雌の背後から接近すると, 雌が雄の方に振り返って対峙, あるいは威嚇して交尾を回避する行動を示し, 結果として交尾に失敗した。

卵胞の発達 本研究において, 卵胞の発達は F-1 から F-4 までの 4 頭で確認され, F-5 から F-11 の 7 頭では試験期間中に確認されなかった。

F-1 の卵胞の発達は毎年観察された (Fig. 13)。卵胞は 2006 年 10 月から徐々に退縮し, 2007 年 1 月から 3 月の間は観察されなかった。2007 年 4 月 (平均卵胞径 \pm 標準偏差, 1.71 ± 0.10 cm) に再び卵胞が確認され, 5 月 25 日の平均卵胞径は 2.00 ± 0.22 cm に達した。そして, 5 月 29 日に交尾に成功し, 6 月 22 日に卵殻卵

Table 6 Summary of mating and nesting of mature female hawksbill turtles from 2007 to 2009 in captivity

Year	Female	Development of follicles	Mating	Nesting	
				period	Number
2007	F-1	○	29-May	22-Jun to 3-Aug	3
	F-2	×	failure	–	–
	F-3	○	17-May	16-Jun to 2-Sep	4
	F-4	○	failure	–	–
2008	F-1	○	failure	–	–
	F-2	×	failure	–	–
	F-3	×	failure	–	–
	F-4	×	failure	–	–
2009	F-1	○	failure	–	–
	F-2	○	failure	–	–
	F-3	○	failure	–	–
	F-4	○	21-May	20-Jun to 13-Aug	3

Open circles and cross marks indicate that follicles developed and that follicles did not developed, respectively.

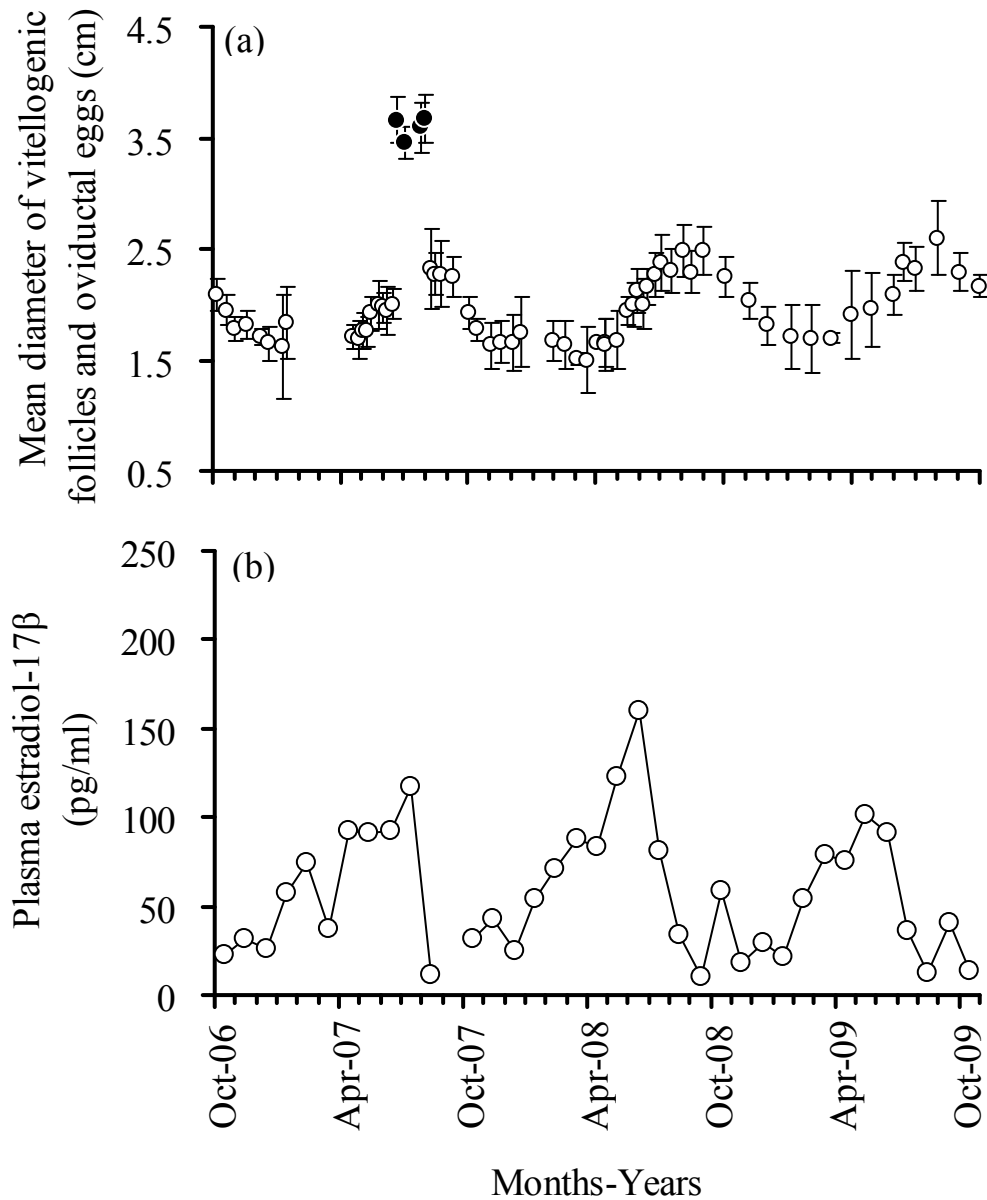


Fig. 13 Relationships between development of vitellogenic follicles (a) and changes of plasma estradiol-17 β concentrations (b) in female (F-1) hawksbill turtle. Open circles and closed circles in graph (a) indicate mean diameter of vitellogenic follicles and oviductal eggs, respectively.

(平均卵殻卵径 ± 標準偏差, 3.66 ± 0.21 cm) が確認され, 8月3日までの期間に3回の産卵が観察された。産卵期終了後に観察された卵胞は徐々に退縮し, 2007年11月から2008年3月の平均卵胞径 (± 標準偏差) は 1.50 ± 0.05 cm ~ 1.83 ± 0.33 cm の範囲を推移した。2008年4月 (平均卵胞径 ± 標準偏差, 1.66 ± 0.04 cm) から再び卵胞は発達したが, 交尾に失敗したために卵殻卵は形成されず, 平均卵胞径は8月に最大値 (平均卵胞径 ± 標準偏差, 2.48 ± 0.23 cm) に達した。その後, 卵胞は退縮して2008年2月には最低値 (平均卵胞径 ± 標準偏差, 1.69 ± 0.21 cm) に達した。2009年の卵胞の発達は, 2008年と同様の傾向を示した。

F-2は2006年に交尾に成功して産卵し, 最後の産卵が終了した10月まで卵殻卵が観察された。そして, 2006年11月から2009年1月までの間, 卵胞は観察されず, 2009年2月 (平均卵胞径 ± 標準偏差, 1.22 ± 0.32 cm) に再び卵胞が観察された。その後, 徐々に卵胞は発達したが, 交尾に失敗したために卵殻卵は形成されず, 平均卵胞径は8月に最大値 (平均卵胞径 ± 標準偏差, 2.30 ± 0.09 cm) に達した後, 退縮した (Fig. 14)。

F-3の卵胞は, 2006年10月から2007年2月までの間は観察されなかった。2007年3月 (平均卵胞径 ± 標準偏差, 1.64 ± 0.03 cm) から徐々に卵胞は発達し, 5月25日に平均卵胞径 (± 標準偏差) は 1.91 ± 0.21 cm に達し, 5月17日に交尾に成功した。5月31日に卵殻卵 (平均卵殻卵径 ± 標準偏差, 3.79 ± 0.28 cm) が確認され, 9月2日までの期間に4回の産卵が観察された。その後に観察された卵胞は急速に退縮し, 2007年12月から2009年1月にかけては卵胞が観察されなかった。その後, 2009年2月に再び卵胞が観察され, 徐々に発達したものの, F-3は交尾に失敗したため卵殻卵は形成されず, 平均卵胞径は10月に最大値 (平均卵胞径 ± 標準偏差, 2.29 ± 0.18 cm) に達した (Fig. 15)。

F-4の卵胞は2006年10月から徐々に退縮し, 2007年1月から4月の間は観察されなかった。2007年2月から再び発達したものの, 交尾に失敗したことから卵殻卵は形成されず, 8月に最大値 (平均卵胞径 ± 標準偏差, 2.20 ± 0.21 cm) に達した。その後卵胞は退縮し, 2007年12月から2009年1月の間は卵胞が観察されなかった。2009年2月に再び卵胞が観察され, 5月21日交尾に成功し, 6月1日に卵殻卵 (平均卵殻卵径 ± 標準偏差, 3.37 ± 0.15 cm) が確認され, その後3回の産卵が確認された (Fig. 16)。

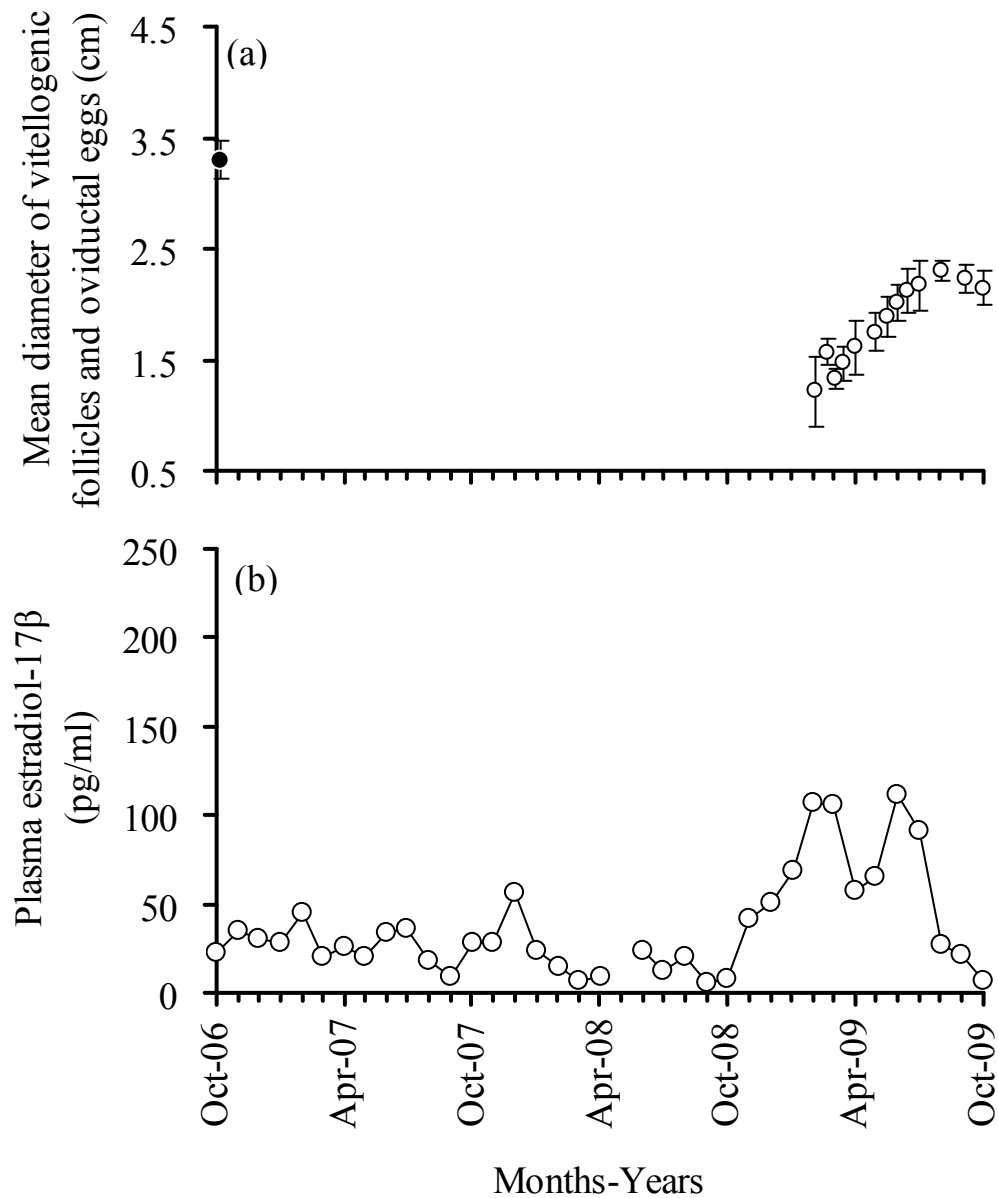


Fig. 14 Relationships between development of vitellogenic follicles (a) and changes of plasma estradiol-17 β concentrations (b) in female (F-2) hawksbill turtle. Open circles and closed circles in graph (a) indicate mean diameter of vitellogenic follicles and oviductal eggs, respectively.

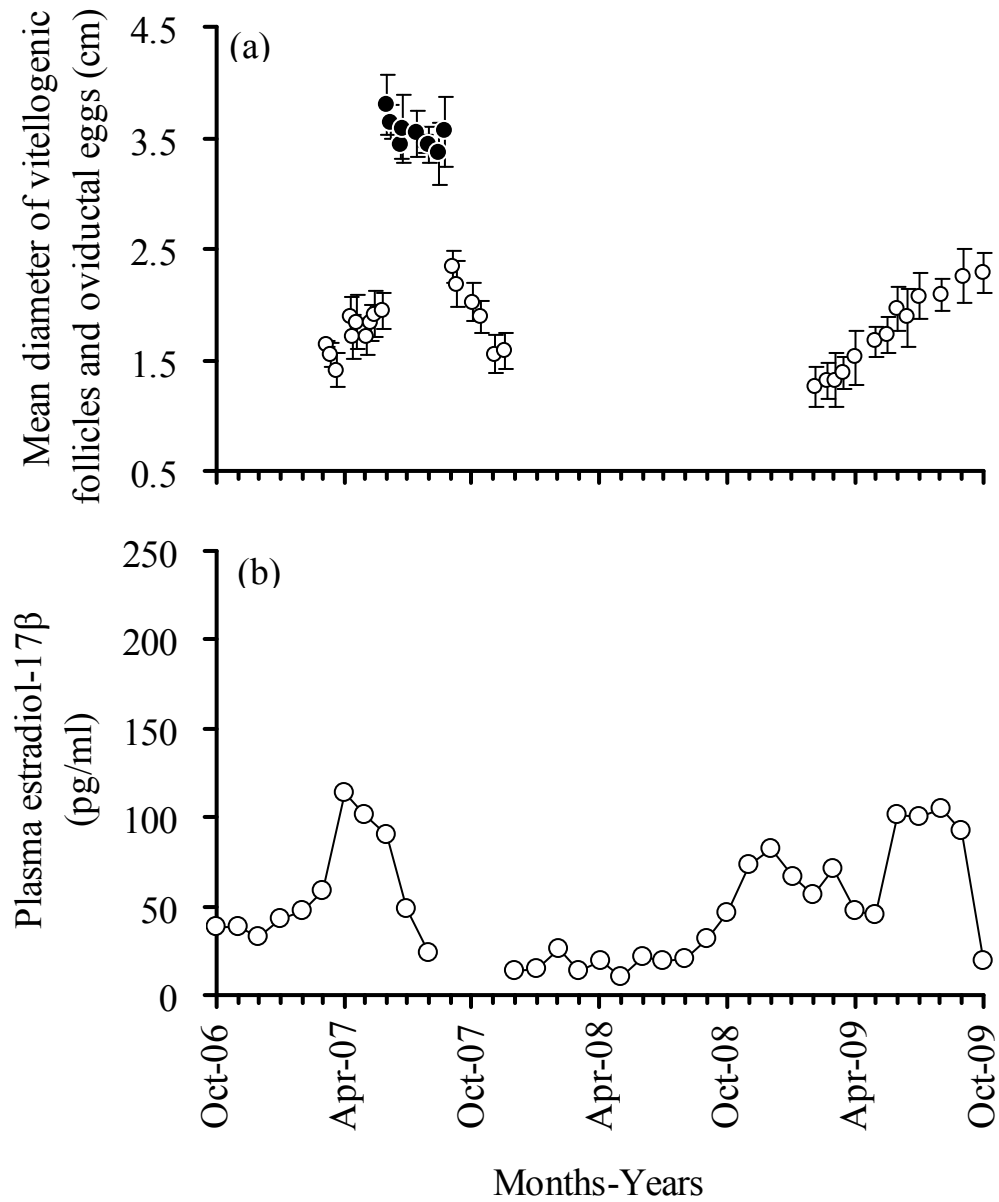


Fig. 15 Relationships between development of vitellogenic follicles (a) and changes of plasma estradiol-17 β concentrations (b) in female (F-3) hawksbill turtle. Open circles and closed circles in graph (a) indicate mean diameter of vitellogenic follicles and oviductal eggs, respectively.

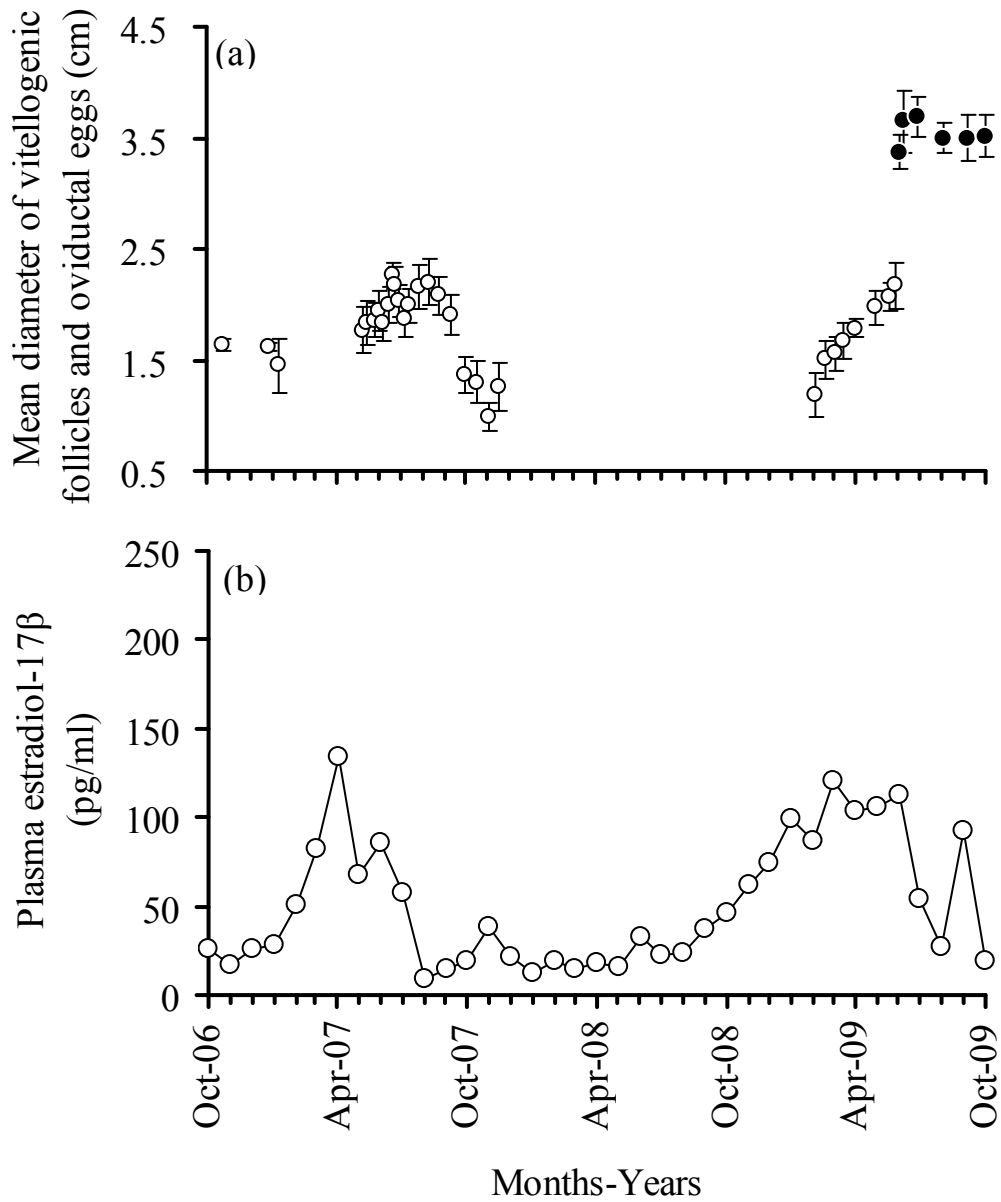


Fig. 16 Relationships between development of vitellogenic follicles (a) and changes of plasma estradiol-17 β concentrations (b) in female (F-4) hawksbill turtle. Open circles and closed circles in graph (a) indicate mean diameter of vitellogenic follicles and oviductal eggs, respectively.

血漿エストラジオール-17 β 濃度の変動 F-1 の血漿エストラジオール-17 β 濃度は、毎年規則的な変動を示した (Fig. 13)。すなわち、8~10月に最低濃度 (10.3 pg/ml~12.0 pg/ml) を示し、その後は徐々に濃度が増加し、5~6月に最高値 (平均濃度 \pm 標準偏差, 101.2 pg/ml~160.4 pg/ml) に達した。

F-2 の血漿エストラジオール-17 β 濃度は、2006年10月から2008年10月までの間は低濃度 (平均濃度 \pm 標準偏差, 20.0 \pm 12.0 pg/ml) で推移した。そして、2008年11月から濃度が増加し、2009年6月に最高値 (111.2 pg/ml) に達した後、急速に減少した (Fig. 14)。

F-3 の血漿エストラジオール-17 β 濃度は、2007年1月 (43.2 pg/ml) から濃度が増加し、4月 (113.8 pg/ml) に最高値に達した。その後は急速に濃度が低下し、2007年9月から2008年8月までの間は低濃度 (平均濃度 \pm 標準偏差, 17.5 \pm 4.8 pg/ml) で推移した。その後、9月 (31.6 pg/ml) から再び濃度が増加し、8月 (104.7 pg/ml) に最高値に達した後、急速に減少した (Fig. 15)。F-4 の血漿エストラジオール-17 β 濃度の変動パターンは、F-3 と同様の傾向を示した (Fig. 16)。

以上のように、成熟個体4頭の血漿エストラジオール-17 β 濃度は8~10月に増加しはじめ、3~8月に最大濃度に達し、その後減少するパターンを示した。そして、その増減するリズムは個体によって異なっており、F-1 のリズムは毎年観察されたが、F-2~F-4 は毎年ではなく、2~3年間隔であった。一方、未成熟個体 (F-5~F-11) の血漿エストラジオール-17 β 濃度は、試験期間中低濃度 (Fig. 17, 平均濃度 \pm 標準偏差, 18.1 \pm 9.0 pg/ml) で推移し、季節変動は認められなかった。

2-2-4 考察

爬虫類において、エストラジオール-17 β は卵黄形成に対する第一刺激であることが知られている (Ho 1987)。それによって肝臓で卵黄前駆物質であるビテロジェニンが生成され、これが血液中を通過して卵巣に運ばれて卵黄タンパクに変換される。そして、卵胞は最終成熟に向かって発達する。ウミガメ類の血中エストラジオール-17 β 濃度と卵胞の発達の関係を1年以上の長期間にわたって調査した報告はほとんどない (Rostal 2005)。本研究により、飼育条件下のタイマイ雌の3年間の長期間にわたる卵胞の発達パターンと血漿エストラジオール-17 β 濃度との関係を初めて明らかにすることができた。未成熟個体7頭は、いずれも試験期間中の血漿エストラジオール-17 β 濃度は低レベルで推移して季節変動は認められな

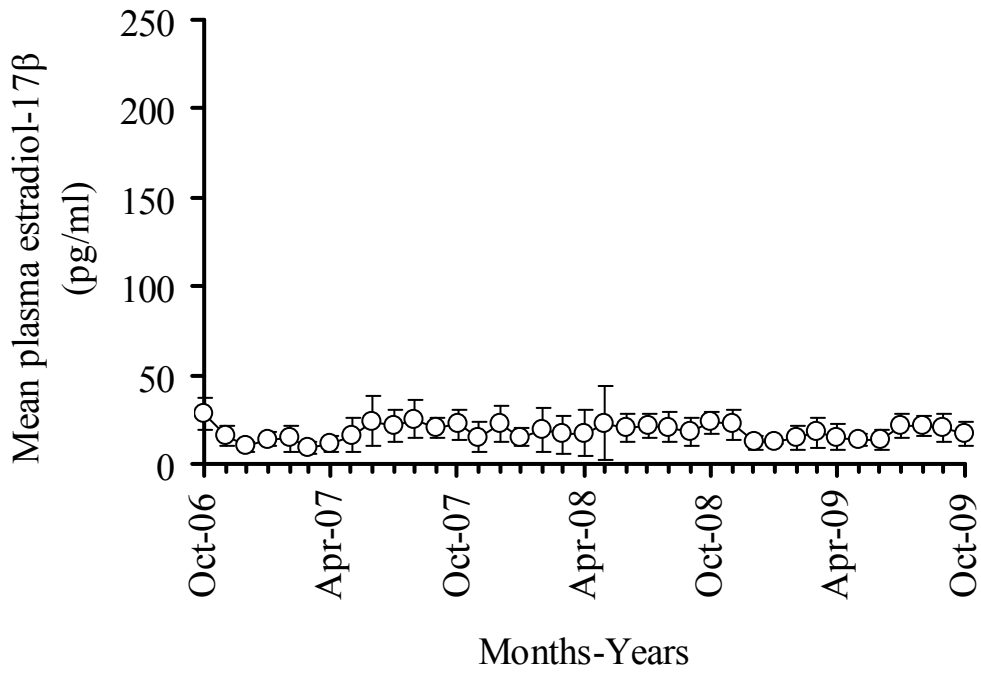


Fig. 17 Annual changes of plasma estradiol-17β concentrations in immature 7 female (F-5 to F-11) hawksbill turtles.

かった。また、卵胞も試験期間を通じて観察することができなかった。これに対し、成熟個体 4 頭の血漿エストラジオール-17 β 濃度は交尾 5~8 カ月前から上昇を開始した。交尾前に血中のエストラジオール-17 β 濃度が上昇するという現象は、成熟した雌の野生のアカウミガメ (Wibbels et al. 1990) や飼育条件下のケンブリムウミガメ (Rostal 2005) で観察されており、本研究の結果は、既報の研究と一致していた。また、卵胞の発達は血漿エストラジオール-17 β 濃度の増加と連動していたが、発達が確認された時期は交尾 1~3 カ月前からであり、血漿エストラジオール-17 β 濃度の上昇時期よりも遅かった。本研究に用いた超音波診断装置では直径 1 cm 以下の卵胞は識別できないことから、卵黄蓄積開始時の小さな卵胞は観察できない。したがって、本研究で卵胞の発達が確認された時期よりも早く、卵胞の発達が起こっていたかもしれない。

血漿エストラジオール-17 β 濃度の増減および卵胞の発達と退縮のリズムは、F-1 では毎年観察されたが、F-2~F-4 の 3 頭では 2~3 年間隔であった。本研究では交尾に失敗して産卵しなかった事例があったため、このリズムを産卵周期とすることができないが、F-2~F-4 のリズムは野生のタイマイの産卵周期 2~3 年と一致しており、飼育条件下においても野生個体と同じ繁殖周期である可能性が示唆された。また、F-1 のリズムは毎年であったことから、本種は毎年繁殖する能力を有しているが、餌料や生息環境などによってその能力が制限されているのかもしれない。

交尾は試験期間中に 3 頭の雌でそれぞれ 1 回、いずれも 5 月に観察された。交尾直前 (2~3 日前) の平均卵胞径は 2.0 ± 0.2 cm で、その範囲は 1.7~2.6 cm であった。卵黄形成が完了して卵胞が成熟する時期について、Rostal et al. (1996) は産卵期中の産卵回数が 10 回以上のオサガメは、雌が産卵海域に到着する前に卵黄形成は完了していると報告している。一方、Wibbels et al. (1990) は産卵回数が 4~10 回であるアカウミガメやアオウミガメでは、産卵期初期まで卵黄形成が継続することを述べている。これらの結果は、ウミガメ類の中でも種によって卵黄形成が完了する時期には違いがあることを示唆している。本研究に用いたタイマイの産卵期は 6~9 月であり、産卵回数は 2~4 回であった。交尾直前の卵胞径は 1.7~2.6 cm と大小様々な卵胞が観察され、血漿エストラジオール-17 β 濃度は 6~7 月まで高い濃度を維持していた。これらの結果から、タイマイの卵黄形成は、産卵期前に全てが完了はしておらず、産卵初期から中期まで継続していると推測さ

れた。興味深いことに、交尾に失敗した事例では、平均卵胞径は交尾期以降も徐々に増大し、8～10月に最大になった。この現象は、卵胞は排卵されずに成熟未完了のまま、血中に分泌されているビテロジェニンを取り込んで卵黄形成が進行し、段階的に成熟した結果であると推察された。これは、タイマイの卵黄形成が産卵期間中であっても進行する可能性を示唆する結果である。

成熟個体の血漿エストラジオール-17 β 濃度は、交尾の成否にかかわらず、6～7月から減少した。産卵期間中に血中エストラジオール-17 β 濃度が減少することは、野生のアオウミガメ (Al-Habsi et al. 2006) , アカウミガメ (Wibbels et al. 1990) , オサガメ (Rostal et al. 1996) およびタイマイ (Dobbs et al. 2007) で報告されており、飼育条件下のケンブヒメウミガメ (Rostal 2005) やアオウミガメ (Licht et al. 1979) でも観察されている。これらの研究結果から、産卵期間中に血中エストラジオール-17 β が減少することは、野生であるか飼育されているかにかかわらず、ウミガメ類に共通してみられる現象であろう。一方、卵胞の退縮は、交尾に成功した場合には産卵期終了後 (7～9月) に、交尾に失敗した場合には8～10月に、それぞれ観察された。血漿エストラジオール-17 β 濃度が減少した後も卵胞の大きさが維持されることに関して、Al-Habsi et al. (2006) は、成熟した卵胞を維持するために、エストラジオール-17 β は低濃度で十分であるということを示唆している。しかし、本研究では成熟した卵胞を維持するために、血漿エストラジオール-17 β が必要かどうかということをはっきりとすることはできなかった。このことを明らかにするためには、エストラジオール-17 β 以外の黄体形成ホルモンやプロゲステロン、血中のビテロジェニン濃度などの動態についても調査を行う必要がある。

3 飼育条件下におけるタイマイの繁殖生態

3-1 緒言

飼育条件下でのウミガメ類の繁殖生態に関する研究では、アオウミガメ (Simon et al. 1975, Wood & Wood 1980) やケンプヒメウミガメ (Shaver & Wibbels 2007) において産卵数やふ化率が野生個体と異なる事例が報告されている。一方、タイマイでは、野生個体の産卵調査は世界各地で行われているが (Witzell & Banner 1980, Limpus et al. 1983, Bjorndal et al. 1985, Wood 1986, Moncada et al. 1999, Pilcher & Ali 1999, Hitchins et al. 2004, Xavier et al. 2006, Rérez-Castañeda et al. 2007, Kamel & Delcroix 2009), 飼育条件下における本種の産卵に関しては、当研究所での事例以外に公表された報告はない (Shimizu et al. 2005, Kobayashi et al. 2006)。また、本種の交尾に関しても、Márquez (1990) が野生個体の事例を取りまとめ、数時間のマウント行動が観察されたという報告しかなく、飼育条件下では Kobayashi et al. (2006) の報告以外は公表されていない。そこで、本章では、飼育条件下におけるタイマイの繁殖生態について、2006年から2009年までの交尾時間、産卵数、産卵回数、産卵間隔およびふ化について取りまとめるとともに、これまで報告されている野生タイマイの繁殖生態と比較した。

3-2 材料と方法

供試個体 供試個体の入手方法は第2章第1節に記載したとおりである。本研究で交尾試験に使用した供試個体は、次に述べる方法で選別した。雄は、前年に交尾行動を示した個体を使用した。雌は、超音波診断装置による卵巣の観察を行い (観察方法は、第2章第2節の材料と方法の超音波診断装置の項を参照)、1~3月に卵胞の発達が確認された個体を使用した。供試個体の直甲長はノギス (MA1270BLUE, Haglöf Inc. 製) で0.1 cm単位まで、体重は台ばかり (DS-100型, 大和製衡(株)製) で0.1 kg単位まで、1~2カ月間隔でそれぞれ計測した。なお、本研究では各年の1月に測定したデータをその年の供試個体の大きさとした。

飼育方法 供試個体の飼育方法の詳細は、第2章第1節の飼育方法に記載したとおりであり、ここでは概要を簡単に記載する。飼育水槽は、250 kL水槽1基、200 kL水槽1~2基および110 kL水槽2~4基を使用した。飼育水温は、250 kL水槽で11~3月の間の最低水温を25~26°Cに維持した以外は、全て自然条件とした。光周期

はいずれの水槽も自然条件とした。餌料は総合ビタミン剤とカルシウム剤を展着させたカタクチイワシとマツイカとし、給餌量は供試個体の体重の 1~2%を基準とし、給餌は 1 週間あたり 3~5 日とした (Table 5)。

交尾と産卵の観察 交尾試験は、2006 年は 250kL 水槽で行い、2007 年以降は 110kL 水槽で行った。2006 年は成熟した雄 1 頭と雌 3 頭を周年同居させて飼育し、水槽側壁にある 2 つの観察窓から 2 台の超高感度ビデオカメラ (ICD-878, 池上通信機(株)製) で水槽内の行動を 24 時間撮影し、その映像データをデジタルレコーダー (AV-S7004W, (株)システム エイ・ブイ製) に記録した (Fig. 18)。その後、映像を再生して交尾行動、交尾日、交尾時間などを調べた 2007 年以降の交尾行動の観察は、第 2 章第 1 節の材料と方法の交尾方法の項に記載したとおりである。交尾に成功した雌は、産卵場となる人工海浜が接続した 250 kL 水槽に移し、産卵行動を観察した。なお、2006 年は 250 kL 水槽で雌 2 頭が交尾に成功したことから、引き続き産卵行動の観察を行った。

産卵行動の観察は、2 台の超高感度ビデオカメラで人工海浜での産卵行動を 24 時間撮影し、産卵日を特定した。また、産卵前後の卵殻卵の有無を確認するため、超音波診断装置を用いて 1~2 週間の間隔で雌の腹腔内を観察した。なお、本研究では、産卵数 (clutch size) は雌 1 個体が 1 回に産卵した卵数、産卵間隔 (interesting interval) は産卵した翌日から起算して次の産卵日の前日までの日数、産卵回数は雌 1 頭がある年の産卵期に産卵した回数、とそれぞれ定義した。

卵管理とふ化 本研究では、供試個体が人工海浜に上陸して産卵巣を掘って産卵する場合と水槽内で卵を放出する場合が観察されたことから、前者を産卵 (nesting)、後者を水中放卵 (release) と定義した。人工海浜に産卵された卵は、原則として、全数掘り出して卵数を計数した。その後、光ファイバー照明装置 (KTX-100, (株)ケンコー製) を用いて卵に光を当て、透けて見える卵内の胚や血管の形成状態から卵の生死を判断した。掘り出した卵から死亡が確認された卵を除き、残りの卵をプラスチック容器 (直径 27 × 高さ 40 cm, TOS003, (株)トスロン製) に収容し、湿らせた人工海浜の砂で埋設した。卵管理時の温度を一定に保つため、恒温器 (内寸 60 × 58 × 62 cm, SSFR-116, (株)いすゞ製作所製) の中に卵を収容したプラスチック容器を設置した。しかし、恒温器が使用できなかった 2 例では、コンテナボックス



Fig. 18 Photographs of a highly sensitive camera fixed on the edge of the observation window (upper) and image of an observation of mating behavior in the 250kL tank (lower).

ス（内寸 61 × 31 × 31 cm, サンボックス#75, 三甲(株)製）に淡水を満たしたウォーターバス式の恒温槽を用意し, その中にプラスチック容器を設置した。恒温器で管理する場合は, 庫内温度を 29°C に維持し, 庫内湿度は 100% 以上になるよう水道水を入れた容器を庫内に設置した。恒温槽で管理する場合は, 水温を 29°C に維持し, 湿度調整は行わず, 砂の表面を 1 日数回霧吹きで湿らせた。なお, 台風の最中に産卵した 1 事例においては, 暴風雨のためビデオ観察でも産卵巣を特定できなかったため, 人工海浜でそのままふ化まで卵管理した。人工海浜から卵を掘り出す時期は, 掘り出しや移動に伴うハンドリングの影響を避けるため, 産卵から 4~5 週間後とした。ふ化仔ガメの直甲長はデジタルノギス (CD-20PM, (株)ミットヨ製) を用いて 0.1 mm 単位まで, 体重は台ばかり (HL-300WP-K, (株)エー・アンド・デイ製) を用いて 1 g 単位まで計測した。

統計処理 産卵個体の直甲長および体重に対する産卵数との相関はピアソン相関係数検定を用い, 交尾時間, 産卵数および産卵回数とふ化率との相関はスピアマン順位相関係数検定を用い, いずれの場合も有意水準 5% で検定した。また, 産卵回数ごとの平均ふ化率, ふ化仔ガメの平均直甲長および平均体重の変動は, クラスカル・ワーリス検定を用い, 有意水準 5% で検定した。全ての検定は, 表計算ソフト (エクセル 2002, マクロソフト(株)製) のアドインソフト STATCEL2 (4Steps エクセル統計, (有)オーエムエス出版製) を用いて行った。

3-3 結果

交尾と産卵 Table 7 に各年に交尾に成功した雌雄個体の組み合わせと各個体の直甲長及び体重 (各年の 1 月のデータ), 交尾日, 交尾回数および交尾時間を示す。2006 年は 2 頭 (F-1, 2), 2007 年は 2 頭 (F-2, 4) および 2009 年は 1 頭 (F-5) が交尾に成功し, 産卵した。また, 2008 年に雌 1 個体 (F-3) が交尾に成功して産卵したが, 産卵期間中に死亡したため, この個体のデータは本研究では使用しなかった。

交尾は, 2006 年は 4 月 24 日と 5 月 3 日に, 2007 年は 5 月 17 日と 29 日に, 2009 年は 5 月 21 日に観察された (Table 7)。交尾の平均時間 (\pm 標準偏差) は 90 ± 43.0 分 ($n = 5$) で, その範囲は 50~150 分であった。2006 年は雌 2 頭 (F-1, F-2) が交尾に成功し, その後も継続して雄と同居させたが, 両個体ともにその後は雄と交尾せず, 結果としていずれの雌も交尾回数は交尾に成功した時の 1 回のみであった。

Table 7 Summary of mating of captive hawksbill turtles from 2006 to 2009

Year	Combinations of female and male						Mating		
	Female			Male			Date	No. of times	Duration (minutes)
	Ind.	Straight carapace length (cm)	Body weight (kg)	Ind.	Straight carapace length (cm)	Body weight (kg)			
2006	F-1	77.3	69.7	M-1	82.6	75.2	4/24	1	70
	F-2	82.9	71.2	M-1	82.6	75.2	5/3	1	120
2007	F-2	82.9	66.8	M-1	82.8	77.2	5/29	1	60
	F-4	73.2	55.0	M-2	73.2	46.0	5/17	1	50
2009	F-5	79.0	63.2	M-2	74.2	45.8	5/21	1	150

Values of straight carapace length and body weight shown in the table are for the measurements in January of each year.

2007 年以降は 110 kL 水槽で交尾に成功した後は、雄と隔離したことから交尾回数はいずれも 1 回であった。

各年の各雌個体の産卵の概要を Table 8 に示す。2006～2009 年に雌 4 個体が産卵し、F-2 のみは 2 年連続で産卵したことから、合計 5 事例が観察された。産卵回数は合計 16 回、水中放卵の回数は合計 6 回であった。

交尾から初回産卵までの平均日数 (\pm 標準偏差) は 29.6 ± 3.4 日 ($n = 5$) , その範囲は 24～33 日であった (Table 8) 。初回産卵以降の平均産卵間隔 (\pm 標準偏差) は 20.9 ± 9.7 日間 ($n = 9$) , その範囲は 15～46 日間であった (Table 9) 。他の事例と比較して極端に長い 46 日間の産卵間隔は、2007 年の F-4 の 3 回目と 4 回目の産卵間隔であり、1 例のみ観察された。この時の 3 回目から 4 回目の産卵までの期間、超音波診断装置による卵殻卵の観察を行ったところ、3 回目の産卵後に形成された卵殻卵は 13 日後までは確認できたが、22 日後に 1 度観察できなくなり、26 日後に再び卵殻卵が確認され、46 日後に産卵に至るという経過であった。

平均産卵数 (\pm 標準偏差) は 135.9 ± 25.2 個 ($n = 16$) で、その範囲は 86～173 個であった (Table 9) 。産卵個体の直甲長および体重と産卵数との関係を Fig. 19 に示す。産卵個体の直甲長および体重と産卵数の間には、有意な正の相関が認められた (直甲長 ; $r = 0.55, p < 0.05$, 体重 ; $r = 0.71, p < 0.05$) 。

平均産卵回数 (\pm 標準偏差) は、水中放卵が観察された個体の事例を除いて算出したところ、 3.5 ± 0.7 回 ($n = 2$) で、その範囲は 3～4 回であった (Table 9) 。また、産卵回数に対する産卵数はいずれの事例においても、初回産卵より 2 回目の方が多かった (Table 8, Fig. 20) 。その後は、個体によって、さらに産卵数が増加する場合と減少する場合に分かれた。

本研究で観察された水中放卵には、2 つのパターンがみられた。1 つは、人工海浜に上陸するものの産卵には至らず、その後全ての卵殻卵が水槽内に放出され、しかもその水中放卵は産卵期間中に観察されるパターンで、3 事例 (Table 8, 2006 年の F-1 の 3, 5 回目, 2009 年の F-5 の 3 回目) が観察された。もう一つは、人工海浜に上陸することなく、長期間にわたって数個ずつ水槽内に放卵し、しかもその水中放卵は産卵終息期に観察されるパターンで、3 事例 (Table 8, 2006 年の F-1 の 6 回目と F-2 の 4 回目, 2009 年の F-5 の 5 回目) が観察された。超音波診断装置を用いた腹腔内の観察結果では、前者の場合は水中放卵 1～4 日後には新たな卵殻卵の形成が確認されたが、後者の場合には新たな卵殻卵は観察されなかった。

Table 8 Summary of eggs laid ing of captive female hawksbill turtles from 2004 to 2009 breeding season

Year	Ind.	1st			2nd			3rd			4th			5th			6th			
		Days after mating	No. of eggs	Status ^{*1}	Day after 1st	No. of eggs	Status ^{*1}	Days after 2nd	No. of eggs	Status ^{*1}	Days after 3rd	No. of eggs	Status ^{*1}	Days after 4th	No. of eggs	Status ^{*1}	Days after 5th	No. of eggs	Status ^{*1}	
2006	F-1	31	137	Nesting	15	168	Nesting	21	Unknown	Release	14	156	Nesting	21	Unknown	Release	*2	Unknown	Release	
	F-2	33	114	Nesting	18	162	Nesting	18	173	Nesting	*2	Unknown	Release							
2007	F-2	24	131	Nesting	21	132	Nesting	21	153	Nesting										
	F-4	30	86	Nesting	15	119	Nesting	17	116	Nesting	46	100	Nesting							
2009	F-5	30	126	Nesting	17	139	Nesting	23	Unknown	Release	14	162	Nesting	*2	Unknown	Release				
	Mean	29.6	118.8		17.2	144.0		18.7	147.3		24.7	139.3								

*1, Date of release was specified because periods of release was lengthy; *2, Nesting means female laid eggs on the artificial beach connecting rearing tank, Release means female released eggs in the rearing tank.

Table 9 Summary of nesting of captive female hawksbill turtles from 2006 to 2009 during the breeding season

	<i>n</i>	Mean \pm SD	Range
Clutch size (eggs)	16	135.9 \pm 25.2	86-173
Number of clutches per female*	2	3.5 \pm 0.7	3-4
Internesting interval (days)	9	20.9 \pm 9.7	15-46

* Data of females which released eggs in the rearing tank (see Table 4) were not included.

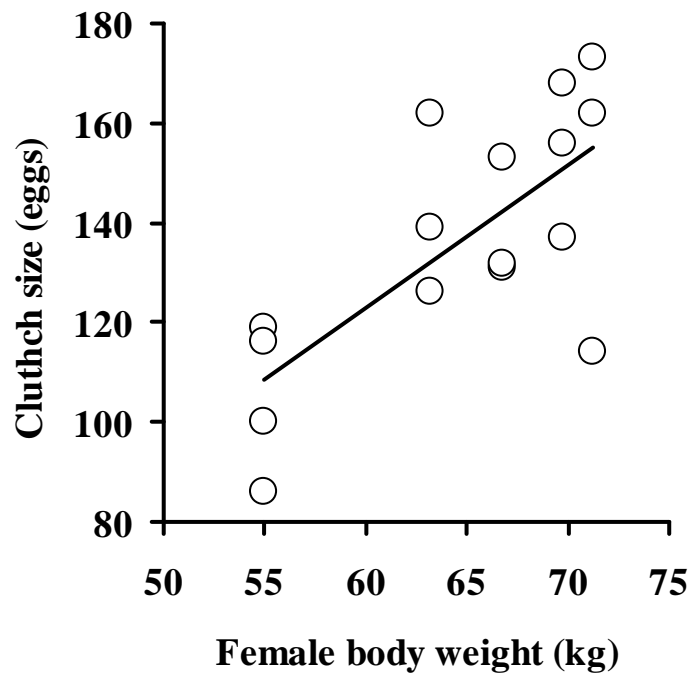
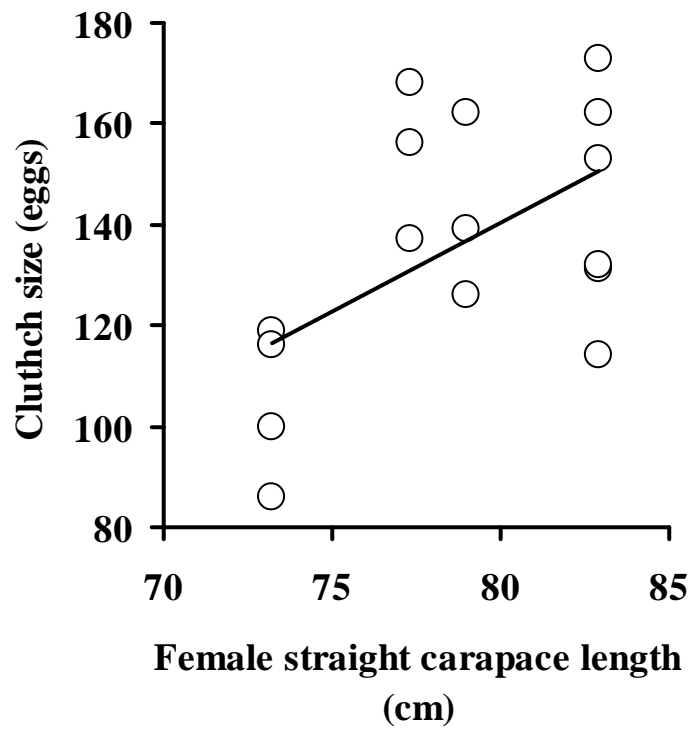


Fig. 19 Relationships between female straight carapace length (upper) and body weight (lower) and clutch size of the hawksbill turtle in captivity. Nesting behaviors ($n = 16$, see Table 4) were observed in the breeding seasons from 2006 to 2009.

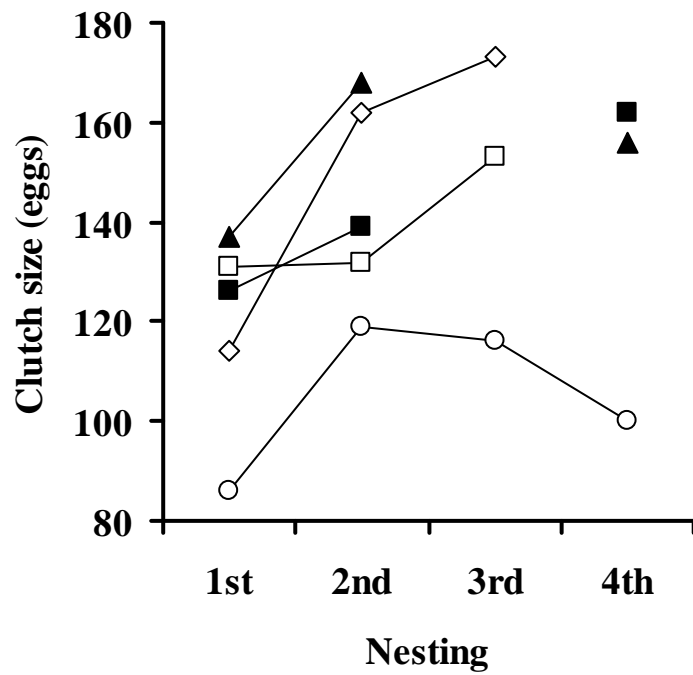


Fig. 20 Relationship between the number of nesting and clutch size of each captive female hawksbill turtle. The data were collected during the breeding seasons from 2006 to 2009. Different symbols indicate different females which laid eggs.

ふ化 2006~2009年に合計2,174個の卵が産卵され、合計495個体の仔ガメが得られた (Table 10)。全16回の産卵のうち、全くふ化しなかった事例が1回、残り15回の事例でふ化した仔ガメは1~83個体の範囲であった。全16回の平均ふ化率 (\pm 標準偏差) は $21.9 \pm 13.0\%$ 、その範囲は $0.0 \sim 67.2\%$ であった。交尾時間、産卵数および産卵回数とふ化率の相関を調べたが、有意差は認められなかった ($p > 0.05$)。また、産卵回数ごとの平均ふ化率 (\pm 標準偏差) は、1回目では $17.7 \pm 28.1\%$ ($n = 5$)、2回目が $23.8 \pm 25.4\%$ ($n = 5$)、3回目が $33.0 \pm 28.0\%$ ($n = 3$)、4回目では $19.1 \pm 18.5\%$ ($n = 3$) と、1回目から3回目にかけて徐々に平均ふ化率は上昇し、4回目で低下した。しかし、その変動に有意な差は認められなかった ($p > 0.05$)。

全ふ化仔ガメの平均直甲長 (\pm 標準偏差) は 37.5 ± 1.7 mm、平均体重 (\pm 標準偏差) は 12.9 ± 0.6 g であった。産卵回数ごとのふ化仔ガメの平均直甲長 (\pm 標準偏差) は、1回目では 36.9 ± 2.5 mm ($n = 3$)、2回目が 38.9 ± 2.7 mm ($n = 4$)、3回目が 39.0 ± 0.5 mm ($n = 3$)、4回目では 37.5 ± 1.7 mm ($n = 3$) と、1回目よりも2~3回目の方が大きくなり、4回目には再び小さくなった。また、産卵回数ごとのふ化仔ガメの平均体重 (\pm 標準偏差) も、1回目では 12.4 ± 0.8 g ($n = 3$)、2回目が 13.3 ± 1.6 g ($n = 4$)、3回目が 13.6 ± 0.2 g ($n = 3$)、4回目では 12.5 ± 1.2 g ($n = 3$) と直甲長と同様の変動を示した。しかし、いずれの変動にも有意差は認められなかった ($p > 0.05$)。

3-4 考察

交尾 本研究では、供試個体を個体識別し、交尾を雌雄1個体ずつの組み合わせとして1回の交尾に限定したことから、全ての雌個体の交尾や産卵の日時を特定することができた。その結果、平均交尾時間が 90.0 ± 43.0 分であることが明らかになった。Márquez (1990) は、野生のタイマイでは雄が爪や尻尾を使って雌を押さえ込む状態を数時間続けると報告しているが、正確な時間は把握されていない。Wood & Wood (1980) は、アオウミガメの雌71頭の飼育条件下における交尾と産卵行動を観察し、交尾後に雌が産卵した場合の平均交尾時間は25.5時間、産卵しなかった場合の平均交尾時間は1.4時間であったと報告している。本研究では、交尾時間の範囲は50~150分であった。雄が交尾する目的は雌に精子を渡すことであるから、アオウミガメはタイマイよりも精子の受け渡しに時間がかかっている可能性が考えられる。本研究では、上述したアオウミガメよりも極めて短い交尾時間にもかかわら

Table 10 Summary of hatching of the hawksbill turtle from 2006 to 2009

Year	Female	Total eggs	Hatchlings		Hatching rate		Hatchling size	
			Total	Range	Mean (%)	Range (%)	Mean Straight carapace length (mm)	Mean Body weight (g)
2006	F-1	461	71	15-38	15.5 ± 8.0	8.9-24.4	39.1 ± 0.3	13.5 ± 0.1
	F-2	449	126	0-78	24.9 ± 22.9	0.0-45.1	38.9 ± 0.5	13.6 ± 0.1
2007	F-2	416	172	3-83	40.8 ± 34.1	2.3-67.2	38.6 ± 1.2	13.2 ± 0.9
	F-4	421	97	1-78	21.2 ± 30.2	0.9-65.5	36.1 ± 0.2	12.0 ± 1.2
2009	F-5	427	29	5-18	6.9 ± 5.3	3.0-12.9	36.1 ± 1.9	12.3 ± 1.2
Mean					21.9 ± 13.0		37.5 ± 1.7	12.9 ± 0.6

ず、全個体から受精卵が得られていることから、精子の受け渡しはこの時間内で完了していると推測される。ウミガメ類の雄の射精に関する知見はほとんどないが、両種の交尾時間の違いは、雄の射精までの時間や交尾 1 回あたりの射精回数の違いが影響しているかもしれない。

本研究における交尾から初回産卵までの日数は、平均 29.6 ± 3.4 日、その範囲は 24~33 日であった。交尾から初回産卵までに至る日数に関しては、タイマイをはじめ野生個体の報告はなく、飼育条件下のアオウミガメで 1 例が報告されているだけである (Ulrich & Parkes, 1978)。Ulrich & Parkes (1978) は、アオウミガメの交尾から初回産卵に至る日数は、雌 10 頭中 8 頭が 21~39 日、2 頭が 68~95 日であったと報告している。その日数が 68~95 日と長い 2 事例について、彼らはその原因を言及していないが、産卵回数が他の個体の半分程度であり、しかもふ化率が 0%であったことから、この 2 事例は特異的な事例であると推察される。この 2 事例以外の日数は 21~39 日であることから、本研究の結果と大きな違いはなく、飼育条件下のウミガメ類の交尾から初回産卵までの日数は、種が異なってもおよそ 1 カ月前後であると推測される。

産卵 本研究では、2006~2009 年に雌 4 個体が交尾に成功し、合計 16 回の産卵が観察された。

野生のタイマイの平均産卵数は、セイシェル共和国クーザン島での観察事例では 163.3 ± 34.3 個 ($n = 127$, Wood 1986), コスタリカ共和国 158 ± 29 個 ($n = 93$, Bjorndal et al. 1985), サモア独立国ウポル島 149.6 ± 41.7 個 ($n = 23$, Witzell & Banner 1980), メキシコ合衆国ユカタン半島 149 個 ($n = 455$, Xavier et al. 2006, 以下「 \pm 標準偏差」を記していないデータは平均値のみを示す), キューバ列島 135.2 ± 0.7 個 ($n = 512$, Moncada 1999), オーストラリア連邦キャンベル島 131.8 ± 22.9 個 ($n = 47$, Limpus et al. 1983), マレーシアでは 105.3 ± 27.7 個 ($n = 5016$, Pilcher & Ali 1999) とそれぞれ報告されている。一方、本研究の飼育個体の平均産卵数は 135.9 ± 25.2 個であり、野生個体と大きな違いはなかった。また、産卵個体の大きさと産卵数との関係は、野生個体では直甲長が大きいほど産卵数は多くなる傾向が報告されている (Limpus et al. 1983, Witzell 1985)。飼育個体でも産卵個体の直甲長および体重と産卵数の間には正の相関が認められ、野生個体の事例と一致していた。

野生のタイマイの平均産卵回数は、セイシェル共和国クーザン島での観察事例で

は 3.1 ± 1.7 回 ($n = 48$, Wood 1986) , マレーシア 2.7 回 ($n = 1161$, Pilcher & Ali 1999) , メキシコ合衆国ユカタン半島では 2.4 回 ($n = 37$, Xavier et al. 2006) とそれぞれ報告されている。また, Márquez (1990) がまとめた本種の主要な産卵地の平均産卵回数は 2.7 回であった。本研究の飼育個体の産卵回数は 3.5 ± 0.7 回と野生個体よりもわずかに多いものの, 大きな違いは認められなかった。しかし, Wood & Wood (1980) は, 飼育条件下におけるアオウミガメの産卵回数は野生個体よりも 2 ~ 5 回も多いと報告している。野生のアオウミガメは海草を主食としているが, 彼らは飼育個体にペレットを与えていることから, 餌料の違いが産卵回数の違いに影響している可能性を示唆している。タイマイは海綿動物が主食であるが, 本研究ではカタクチイワシやイカを与えている。アオウミガメの事例と同様に, 本研究に用いたタイマイも野生個体よりも栄養価の高い餌料を摂餌していると考えられるが, 産卵回数は増加しなかった。野生のアオウミガメとタイマイの産卵個体の平均直甲長は, それぞれ 99.1 cm と 78.6 cm と報告されている (Miller 1997) 。本研究の産卵個体の平均直甲長は 78.1 cm と野生個体とほぼ同じサイズであった。Wood & Wood (1980) が用いたアオウミガメの直甲長は報告されていないが, 野生個体と同程度のサイズであったと仮定すると, アオウミガメの方がタイマイよりも大きく, 産卵に必要なエネルギーをより多く蓄積できる可能性があり, そのことが産卵回数の増加につながったかもしれない。

産卵数と産卵回数との関係を見ると, 本研究の飼育個体は初回産卵よりも 2 回目以降の産卵数が増加した。Limpus et al. (1983) はオーストラリアにおける野生のタイマイの産卵調査において産卵回数が増加しても産卵数はほぼ一定であることを報告している。また, Wood (1986) はセイシェル共和国における野生個体の調査結果から産卵回数が増えるとともに産卵数は減少する傾向があり, 5 回目からは急激に減少したと報告している。いずれの報告においても, 野生個体では産卵回数の増加に伴う産卵数の増加は認められていない。これらのことから, 初回産卵よりもその後の産卵数が増加する傾向は, 飼育条件下における特異的な現象である可能性が高い。

野生のタイマイの平均産卵間隔は, キューバ列島での観察事例では 19.5 ± 1.6 日間 ($n = 4$, Moncada 1999) , マレーシア 18.0 ± 7.1 日間 ($n = 1,235$, Pilcher & Ali 1999) , メキシコ合衆国ユカタン半島 17.5 ± 2.4 日間 ($n = 27$, Xavier et al. 2006) , コスタリカ共和国 16.4 ± 2.1 日間 ($n = 28$, Bjorndal et al. 1985) , オーストラリア連邦キャンベ

ル島 14.7 ± 1.0 日間 ($n = 27$, Limpus et al. 1983) , セイシェル共和国クーザン島では 14.4 ± 1.1 日間 ($n = 82$, Wood 1986) とそれぞれ報告されている。一方, 本研究の飼育個体の産卵間隔は 20.9 ± 9.7 日間であり, 野生個体の事例よりも長かった。しかし, 本研究では 1 事例だけ 46 日間と最も長い産卵間隔があり, これは後述するように正常な産卵間隔ではない可能性があった。そこで, この 46 日間のデータを除いて計算すると産卵間隔は 17.8 ± 2.3 日間, その範囲は 15~21 日間となり, 野生個体と同等の結果となった。本研究でみられた 46 日という産卵間隔の場合は, 産卵後に形成された卵殻卵が, 途中で観察できなくなり, その後再び卵殻卵が観察されて 46 日後に産卵に至っている。前回の産卵から 46 日後に産卵するまでの間に産卵も水中放卵も確認されなかったため, 途中で卵殻卵が観察できなくなった原因は明らかにできなかった。しかし, 前回の産卵から 13~22 日後の間に卵殻卵が観察されなくなること, この時期はほかの産卵個体の事例から推測すると産卵予定にあたること, および産卵 28 日後に再び卵殻卵が観察されていることなどから, 前回の産卵後に何らかの原因により産卵できなかったと考えられ, 46 日間という産卵間隔は, 2 回分の産卵間隔であると推察された。

本研究では, 合計 6 回の水中放卵が観察され, これは産卵と水中放卵を合わせた 22 回のうちの約 27% に相当した。Beyneto & Delcroix (2005) は, 野生のタイマイやアオウミガメで水中放卵が観察されたことを報告しており, タイマイの事例では 20~25 分間に 100 個以上の水中放卵が観察されている。したがって, 水中放卵は, 飼育個体特有の現象ではないといえる。野生個体の水中放卵の頻度やその原因に関する報告はなく, Beyneto & Delcroix (2005) も水中放卵の原因までは特定していない。本研究では, 産卵期間中の水中放卵では, 放卵後に新たな卵殻卵が形成されていることから, 何らかの原因で産卵する時機を逸し, 次の産卵に向けて新たな卵殻卵を形成する前に, 前回産卵できなかった卵殻卵を排出している現象と推測された。産卵の時機を逸する原因の一つとして, 産卵場所の選択が考えられる。ウミガメの産卵に適した場所の条件として, 自然の海浜では砂浜と陸上の海浜植物との境目が挙げられる (特定非営利活動法人日本ウミガメ協議会 2007) 。実際に, 沖縄県石垣島で 2007 年に調査したアカウミガメやアオウミガメの産卵巣は, 砂浜と海浜植物の境目で多く観察された (小林真人, 未発表) 。一方, 本研究で産卵場に供した人工海浜は, 水槽から産卵場の奥まで傾斜がなく平坦であり, 海浜植物もない。そのため, 上陸したタイマイが産卵場所を特定することができないまま産卵予定日が経過した

ことが、水中放卵の一因として考えられる。しかし、16回は正常に産卵していることから、水中放卵の要因はこれ以外にもあると考えられる。また、産卵終息期に観察された水中放卵では、人工海浜に上陸することもなく、長期間にわたって少量ずつ放卵した。産卵終息期は水温が高くなり、日照時間も短くなっている。このような環境変化が体内の産卵に関連したホルモン濃度の低下を引き起こし、卵殻卵を形成しても産卵のために上陸するという行動が起こらず、水中放卵したという可能性が考えられる。本研究では本種の産卵に関連した黄体形成ホルモンやプロゲステロンなどの動態は調査しておらず、既存の研究においても水温や日長などの環境要因と産卵との関係は明らかにされていない。水中放卵を防除する技術を開発するためには、本研究で指摘した産卵場の環境の他、水温や日長などの環境要因と産卵に関連したホルモンとの関係を解明する必要がある。

ふ化 2006～2009年に合計16回の産卵があり、そのうちの15回でふ化仔ガメが得られたが、ふ化率は $21.9 \pm 13.0\%$ と低く、その範囲は $0.0 \sim 67.2\%$ と大きく変動した。野生のタイマイの平均ふ化率は、メキシコ合衆国ユカタン半島での観察事例では $87 \sim 92\%$ ($n = 455$, Xavier et al. 2006)、西インド諸島グアドループ島 $85.6 \pm 13.4\%$ ($n = 86$, Kamel & Delcroix 2009)、サモア独立国ウポル島 $71.1 \pm 21.7\%$ ($n = 23$, Witzell & Banner 1980)、キューバ群島 $65.8 \sim 71.2\%$ ($n = 390$, Moncada 1999)、セイシェル共和国クーザン島では 64.3% ($n = 256$, Hitchins et al. 2004)とそれぞれ報告されており、本研究の飼育個体よりも明らかに高い。アオウミガメの場合は同じ方法で卵を管理しても、野生個体が産卵した卵の方が飼育個体のものよりもふ化率が高かったと報告されている (Simon & Ulrich 1975)。また、ケンプヒメウミガメでは放流した仔ガメが天然海域で10年以上経過した後に産卵した卵のふ化率は、野生個体と比較して大差なかった。しかし、放流せずに飼育条件下で成熟するまで養成した個体が産卵した卵のふ化率は、野生個体よりも低いとの報告がある (Shaver & Wibbels 2007)。これらのことから、飼育条件下で養成した雌が産卵した卵のふ化率が野生個体のものよりも低いという傾向は、養成したウミガメ類に共通した特性の一つである可能性が高い。飼育条件下では餌料や環境条件が野生個体とは大きく異なることから、そのことがふ化率低下の一因となっている可能性があり、今後はふ化率の低下に関する要因を究明する必要がある。

本研究におけるふ化仔ガメの大きさは、平均直甲長 37.5 ± 1.7 mm、平均体重は

12.9 ± 0.6 g であった。一方、野生個体の場合、セイシェル共和国クーザン島の個体の体重は 15.3~15.5 g ($n = 31$, Wood 1986) , オーストラリアキャンベル島では平均直甲長 41.1 ± 0.1 mm および平均体重 14.3 ± 1.1 g ($n = 70$, Limpus et al. 1983) , キューバ群島では平均直甲長 40.1 ± 0.5 mm ($n = 500$, Moncada 1999) , サモア独立国ウポル島では平均直甲長 39.6 ± 0.1 mm および平均体重 12.7 ± 0.5 g ($n = 23$, Witzell & Banner 1980) , マレーシアでは平均直甲長 37.4 ± 1.3 mm および平均体重 11.4 ± 0.9g ($n = 186$, Pilcher & Ali 1999) であった。また、Márquez (1990) が取りまとめた世界の主要な産卵地での本種のふ化仔ガメの大きさの範囲は、直甲長が 38~46 mm、体重が 8.0~17.9 g と地域によってばらつきがみられた。これら野生個体のデータと比較すると、飼育個体の大きさは野生個体の地域間の差の範囲内に収まっている。

本研究の結果、飼育条件下におけるタイマイの交尾時間および交尾から初回産卵に至るまでの日数など、野外調査では得にくい貴重な交尾生態に関する知見を明らかにすることができた。また、産卵生態に関しては、飼育個体の産卵数、産卵間隔、産卵回数は野生個体のものと差はなく、飼育条件下であっても野生個体の産卵生態と比較して大きな違いは認められなかった。さらに、ふ化仔ガメの直甲長や体重も野生個体の事例と比較して差がなかった。このことは絶滅に瀕しているタイマイの保護増殖に人工繁殖が活用できる可能性を示している。

4 総合考察

産卵個体数が極めて少ない日本において、タイマイの資源回復を図るためには保護対策だけでなく、人工繁殖によるヘッドスターティングが必要である。しかし、本種の人工繁殖に関する研究は、一部の研究機関で実施されているものの、その研究成果はほとんど公表されていない。また、人工繁殖の技術を開発するためには、本種の繁殖生理や繁殖生態に関する知見が不可欠であるが、産卵やふ化に関する野外調査の報告事例は多くあるものの、それ以外の性ホルモンの動態や交尾行動などの知見はほとんど報告されていない。そこで、本研究では本種の飼育条件下における繁殖に関する生態、行動および生理学的な調査を行った。

第2章では、雄14頭と雌11頭の血漿テストステロン濃度と血漿エストラジオール-17 β 濃度の季節変動を調査するとともに、雄では交尾行動や二次性徴との関連を、雌では卵胞の発達との関連を、それぞれ調べた。その結果、成熟した雄の血漿テストステロン濃度は4~5月に大きく上昇し、またいずれの成熟個体も交尾行動を示した。一方、成熟した雌の血漿エストラジオール-17 β 濃度は4~8月にかけて濃度の大きな上昇がみられ、卵胞は成熟個体でのみ観察され、血漿エストラジオール-17 β 濃度の上昇に伴って発達した。また、本研究において雌雄が交尾に成功した時期は、4~5月の間であった(第3章)。以上の結果により、本研究では4~5月をタイマイの交尾期と定義する。本研究でみられたテストステロンやエストラジオール-17 β の濃度が交尾期前から増加して交尾期にピークを迎えるという増減パターンは、野生のウミガメ類(アカウミガメ; Wibbels et al. 1987, Wibbels et al. 1990, アオウミガメ; Jessop et al. 2004, Wibbels et al. 1990, Al-Habsi et al. 2006, オサガメ; Rostal et al. 1996, タイマイ; Dobbs et al. 2007)や飼育条件下のウミガメ類(アオウミガメ; Licht et al. 1979, Licht et al. 1985, ケンプヒメウミガメ; Rostal 2005)にも共通してみられる現象である。このことから、本研究に用いた成熟した雄と雌の血漿テストステロンと血漿エストラジオール-17 β は、正常に分泌されていると推測された。そして、これら性ホルモンの増減パターンを指標として雌雄の繁殖周期を調べると、雄の繁殖周期は毎年であることが明らかとなった。一方、雌の血漿エストラジオール-17 β 濃度の増減パターンは個体によって異なり、成熟個体4頭中3頭は野生個体と同様に2~3年の繁殖周期であったが、1頭は毎年増減するパターンを示し、2006年と2007年には2年連続して産卵した。このことは、本種の雌は毎年成熟して産卵できる能力を有していることを示唆している。現在は複数の雌を数年おきに交尾に用いているが、毎年成熟させるための飼育条件を明らかに

することができれば、人工繁殖の効率を高めることが可能になるので今後の課題であろう。

人工繁殖を行うためには、養成している個体の中から成熟個体を選別して交尾させる必要がある。本研究では、雄の性成熟個体を判定する方法として、雄の二次性徴の一つである尻尾の伸長に着目し、直甲長に対する尻尾の長さの比率“TE”による判別を試みた（第2章第1節）。前述した雄の血漿テストステロンと交尾行動やTEとの関係を調べた結果、TEが0.35以上の個体は成熟個体、0.33以下の個体は未成熟個体として明瞭に区分され、TEは簡便に雄の性成熟度を判別する有効な指標であることを明らかにした。このことから、交尾に使用する雄は、TEを指標として性成熟した個体を選別することができ、また前述したように雄の繁殖周期が毎年であることから、性成熟後の雄は毎年交尾に使用することが可能である。一方、雌は二次性徴に伴う外部形態の変化がないことから、雄のように簡便に性成熟度を判定する指標は見いだせなかった。また、前述したように雌の繁殖周期は必ずしも毎年ではないことから、性成熟した個体であっても、雄のように毎年交尾に供する個体として使用することはできない。したがって、交尾に使用する雌は、毎年交尾期前に血漿エストラジオール-17 β 濃度の測定や超音波診断装置を用いた卵胞の観察を行い、濃度の上昇や卵胞径の増大などを指標として選別する必要がある。

成熟した雄はいずれも雌に対して交尾行動を示したが（第2章第1節）、雌は雄の交尾を受け入れる場合と回避する場合が観察され、また交尾に成功した事例であっても、交尾に成功したとき以外は、雄が交尾しようとする雌に接近すると、雌は雄を威嚇して交尾を回避する行動を示した（第2章第2節）。Booth & Peters (1972)は、野外調査においてアオウミガメの雌が雄の交尾を回避する行動を観察している。また、アオウミガメでは雌が雄の交尾を受け入れる期間、いわゆる”Heat period”は2~16日間であったと報告されている（Wood & Wood 1980, Comuzzie & Owens 1990）。これら既存の研究結果は、ウミガメ類の交尾の成否は雌が雄の交尾を受け入れるか否かが重要であり、さらに雌が雄の交尾を受け入れる期間は非常に短いことを示唆している。本研究では、2006~2009年の4年間で交尾に成功した事例は5事例あり、その時期は4~5月の間であった。データ数が少なかったため本研究の結果には記載していないが、2009年に雌2頭を用いて定期的に交尾試験を行ったところ、Heat periodが9日以下であることが示唆された（小林真人，未発表）。しかし、各個体のHeat periodがいつであるかということ特定することはできなかった。したがって、交尾を確実に成功さ

せるためには、Heat period が含まれる 4～5 月の期間、常に成熟した雌雄を同居させておく必要がある。この Heat period を決定する要因については、本研究では明らかにできなかった。飼育条件が本研究と異なる場合、Heat period も異なり、4～5 月に成熟した雌雄を同居させても交尾に失敗するかもしれない。したがって、交尾をより安定的に行うためには、Heat period の決定要因を明らかにすることが重要である。また、本研究では性ホルモンの分泌を制御する環境要因（水温、日長）については調査していない。他のウミガメ類の飼育条件下の事例においても水温や光周期は自然条件であり、これら環境要因と成熟や交尾との関連については言及されていない（アオウミガメ; Licht et al. 1979, Licht et al. 1985, ケンプヒメウミガメ; Rostal 2005）。性ホルモンと環境要因との関係を明らかにできれば、環境制御によって成熟の時期を任意にコントロールすることが可能となり、Heat period の決定要因の解明にも役立つと思われる。

第 3 章では、2006～2009 年に交尾に成功した雌の産卵生態と得られた卵のふ化率やふ化仔ガメの大きさを取りまとめ、既存の野生のタイマイの調査結果と比較した。その結果、産卵生態（産卵数、産卵間隔、産卵回数）は野生個体の事例と比較して大きな差はなく、飼育条件下であっても正常な産卵を行うことが明らかとなった。また、本研究で得られたふ化仔ガメの直甲長と体重は、野生個体の事例と比較して大きな差はなかったが、ふ化率は著しく低かったことから、ここではふ化率が低かった原因について考察する。飼育条件下のアオウミガメ（Simon & Ulrich 1975）やケンプヒメウミガメ（Shaver & Wibbels 2007）のふ化率は、野生個体と比較して低いことが報告されており、飼育条件下のウミガメ類のふ化率は野生個体よりも低いことが示唆されている（Owens 2000）。飼育条件下でウミガメに与えられる餌料は、アオウミガメでは配合飼料と海草（Simon et al. 1975）、ケンプヒメウミガメでは魚やイカ（Rostal 2005）であった。また、本研究に用いたタイマイにはカタクチイワシやイカを給餌した。しかし、野生のアオウミガメは海草類を主食とし、ケンプヒメウミガメは底生生物の中でもカニ類を主に摂餌し、タイマイは海綿動物を主食としている（Spotila 2004）。このように養成されているウミガメ類は、いずれも本来の食性とは異なる餌料を給餌されており、Craven et al. (2008) は配合飼料で飼育したアオウミガメと野生のアオウミガメの卵に含まれる脂肪酸組成には違いがあることを報告している。このことは、餌料が卵の栄養成分に影響を及ぼすことを示唆しており、飼育条件下のウミガメ類のふ化率が低い要因の一つとして、餌料に由来する卵質が影響している可能性がある。いくら採卵できてふ化率が低ければ放流に必要な仔ガメを確保することは困難になる

ことから、この問題は人工繁殖を行う上で、第一に解決すべき重要な課題である。

本種のテストステロンやエストラジオール-17 β の季節変動を2年以上の長期にわたって明らかにし、交尾行動、繁殖周期、卵胞の発達などに関連付けた研究はこれまでにはなく、本研究で得られた結果は本種の人工繁殖の技術開発だけでなく、本種の保護対策を策定するための基礎的な知見としても有益である。また、本研究で明らかとなった本種の繁殖生態や繁殖生理をもとに、人工繁殖の技術を開発することができ、2006年からは毎年1~2頭の雌から採卵することに成功している。このことは、絶滅の危機に瀕している本種の資源回復だけでなく、存亡の危機に直面している日本の伝統工芸であるべっ甲産業を救済するための国内におけるタイマイ養殖事業の創出への道を開く成果である。

引用文献

- Ackerman RA. The nest environment and the embryonic development of sea turtles. *In*: Lutz PL, Musick JA (eds). *The Biology of Sea Turtles*. CRC press, Florida. 1997; 83-106.
- 阿部寧, 南浩史. 海亀類の混獲回避対策—ウミガメ個体群の状況と包括的アプローチ. *日本水産学会誌*. 2008; **74**: 234-236.
- Bell CD, Parsons J. Cayman turtle farm head-starting project yields tangible success. *Marine Turtle Newsletter*. 2002; **98**: 5-6.
- Beyneto S, Delcroix E. Underwater oviposition by a hawksbill turtle in Guadeloupe, French West Indies. *Marine Turtle Newsletter*. 2005; **107**: 14.
- Bjorndal KA, Carr A, Meylan AB, Mortimer JA. Reproductive biology of the hawksbill *Eretmochelys imbricata* at Tortuguero, Costa Rica, with notes on the ecology of the species in the Caribbean. *Biological Conservation*. 1985; **34**: 353-368.
- Bjorndal KA, Meylan AB, Turner BJ. Sea turtles nesting at Melbourne beach, Florida, I. size, growth and reproductive biology. *Biological Conservation*. 1983; **26**: 65-77.
- Boulon RH. Some notes on the population biology of green *Chelonia mydas* and hawksbill *Eretmochelys imbricata* turtles in the northern U.S. Virgin Islands:1981-83 NMFS Grant Report No. NA82-GA-A-00044. National Marine Fisheries Service, Washington D.C.. 1983.
- Bourne AR, Licht P. Steroid biosynthesis in turtle testes. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B*. 1985; **81**:793-796.
- Canin J. International trade aspects of the Japanese hawksbill shell ('Bekko') industry. *Marine Turtle Newsletter*. 1991; **54**: 17-21.
- Casares M, Rübel A, Honegger RE. Observations on the female reproductive cycle of captive giant tortoises (*Geochelone spp.*) using ultrasound scanning. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*. 1997; **28**: 267-273.
- Comussie DKC, Owens DW. A quantitative analysis of courtship behavior in captive green sea turtles (*Chelonia mydas*). *Herpetologica*. 1990; **46**: 195-202.
- Craven KS, Parsons J, Taylor SA, Belcher CN, Owens DW. The influence of diet on fatty acids in the egg yolk of green sea turtles, *Chelonia mydas*. *Journal of Comparative Physiology*. B. 2008; **178**: 495-500.
- Dobbs KA, Miller JD, Owens DW, Landry AM. Serum testosterone and estradiol-17 β levels during the peak period in a year-round hawksbill turtle *Eretmochelys imbricata* L. nesting population. *Pacific Conservation Biology*. 2007; **13**: 151-157.
- Fontaine C, Shaver DJ. Head-starting the Kemp's ridley sea turtle, *Lepidochelys kempii*, at the NMFS Galveston laboratory, 1978-1992: a review. *Chelonian Conservation and Biology*.

- 2005; **4**: 838-845.
- Gilman CA, Wolf BO. Using portable ultrasonography as a non-destructive method for estimating reproductive effort in lizards. *The Journal of experimental biology*. 2007; **210**: 1859-1867.
- Heck J, MacKenzie DS, Rostal D, Medler K, Owens D. Estrogen induction of plasma vitellogenin in the Kemp's ridley sea turtle (*Lepidochelys kempii*). *General and Comparative Endocrinology*. 1997; **107**: 280-288.
- Hitchins PM, Bourquin O, Hitchins S. Nesting success of hawksbill turtles (*Eretmochelys imbricata*) on Cousine Island, Seychelles. *Journal of Zoology*. 2004; **264**: 383-389.
- Ho S. Endocrinology of vitellogenesis. *In*: Norris DO, Jones RE (eds). *Hormones and reproduction in fishes, amphibians, and reptiles*. Plenum Press, New York, 1987; 145-169.
- Huff JA. Florida (USA) terminates "head-start" program. *Marine Turtle Newsletter*. 1989; **46**: 1-2.
- Jessop TS, Limpus CJ, Whittier JM. Comparison of plasma androgen profiles in green and hawksbill sea turtles inhabiting Queensland waters. *Australian Journal of Zoology*. 2004; **52**: 293-301.
- Joaquin BB. Attempts of protect hawksbills in a Venezuelan National Park. *Marine Turtle Newsletter*. 1980; **14**: 4-5.
- Kamel SJ, Delcroix E. Nesting ecology of the hawksbill turtle, *Eretmochelys imbricata*, in Guadeloupe, French West Indies from 2000-07. *Journal of Herpetology*. 2009; **43**: 367-376.
- Kamezaki N. The nesting sites of sea turtles in the Ryukyu Archipelago and Taiwan. *Current Herpetology in East Asia*. 1989; 342-348.
- Kime DE. The steroids. *In*: Chester-Jones I, Ingleton PM, Philips JG (eds). *Fundamentals of Comparative Vertebrate Endocrinology*. Plenum Press, New York. 1987; 3-56.
- Kobayashi M, Shimizu T, Yoseda K. Mating and nesting behavior of hawksbill turtle (*Eretmochelys imbricata*) in captivity. *Proceedings of the 3rd International Symposium on SEASTAR2000 and Asian Bio-logging Science*. Kyoto University, Kyoto. 2006; 13-15.
- Lance AV, Rostal DC, Elsey RM, Trosclair PL. Ultrasonography of reproductive structures and hormonal correlates of follicular development in female American alligators, *Alligator mississippiensis*, in southwest Louisiana. *General and Comparative Endocrinology*. 2009; **162**: 251-256.
- Licht P, Wood JF, Owens DW, Wood FE. Serum gonadotropins and steroids associated with breeding activities in the green sea turtle *Chelonia mydas*. *General and Comparative Endocrinology*. 1979; **39**:274-289.
- Licht P, Owens DW, Clifton K, Renaflores C. Changes in LH and progesterone associated with

- the nesting cycle and ovulation in the olive ridley sea turtle, *Lepidochelys olivacea*. *General and Comparative Endocrinology*. 1982; **48**: 247-253.
- Licht P, Wood JF, Wood FE. Annual and diurnal cycles in plasma testosterone and thyroxine in the male green sea turtle *Chelonia mydas*. *General and Comparative Endocrinology*. 1985; **57**:335-344.
- Limpus CJ. The hawksbill turtle, *Eretmochelys imbricata*, in Queensland: population structure within a southern Great Barrier Reef feeding ground. *Wildlife Research*. 1992; **19**:489-506.
- Limps CJ, Reed P. The loggerhead turtle, *Caretta caretta*, in Queensland: observation on interesting behavior. *Australian Wildlife Research*. 1985; **12**: 535-540.
- Limpus CJ, Miller JD, Baker V, McLachlan E. The hawksbill turtle, *Eretmochelys imbricata* (L.), in north-eastern Australia: the Campbell Island rookery. *Australian Wildlife Research*. 1983; **10**: 185-197.
- Lutcavage ME, Plotkin P, Witherington B, Lutz PL. Human impacts on sea turtle survival. *In*: Lutz PL, Musick JA (eds). *The Biology of Sea Turtles*. CRC press, Florida, 1997; 387-409.
- Márquez MR FAO species catalogue, Vol.11 sea turtles of the world. An Annotated and illustrated catalogue of sea turtle species known to date. FAO, Rome. 1990.
- Meylan AB, Donnelly M. Status justification for listing the hawksbill turtle (*Eretmochelys imbricata*) as critically endangered on the 1996 IUCN red list of threatened animals. *Chelonian Conservation and Biology*. 1999; **3**: 200-224.
- Meylan AB. International movements of immature and adult hawksbill turtles (*Eretmochelys imbricata*) in the Caribbean region. *Chelonian Conservation and Biology*. 1999; **3**: 189-194.
- Miller JD. Reproduction in sea turtles. *In*: Lutz PL, Musick JA (eds). *The Biology of Sea Turtles*. CRC press, Florida. 1997; 387-409.
- Moncada F, Carrillo E, Saenz A Nodarse G. Reproduction and nesting of the hawksbill turtle, *Eretmochelys imbricata*, in the Cuban Archipelago. *Chelonian Conservation and Biology*. 1999; **3**: 257-263.
- National Marine Fisheries Service and U.S. Fish and Wildlife Service. Recovery plan for U.S. Pacific populations of the hawksbill turtle (*Eretmochelys imbricata*). National Marine Fisheries Service, Maryland. 1998.
- 日本の希少な水生生物に関するデータブック（水産庁編）. 社団法人水産資源保護協会, 東京. 1998; 236-245.
- Owens DW. The comparative reproductive physiology of sea turtles. *American Zoologist*. 1980; **20**: 549-563.
- Owens DW. Hormones in the life history of sea turtles. *In*: Lutz PL, Musick JA (eds). *The Biology of Sea Turtles*. CRC press, Florida. 1997; 315-341.

- Owens DW. Reproductive cycles and endocrinology. *In*: Eckert K, Bjorndal KA, Abreu-Grobois FA, Donnelly M (eds). Research and Management Techniques for the Conservation of Sea Turtles No. 4. Consolidated Graphic Communications, Pennsylvania. 1999; 119-123.
- Owens DW. Reproductive problems in captive and wild sea turtles. *In*: Abreu-Grobois FA, Briseño-Dueñas R, Márquez R, Sarti L (compilers) Proceedings of the eighteenth international sea turtle symposium, U.S. Department of Commerce 2000; NOAA technical Memorandum NMFS-SEFSC-436: 2.
- Owens DW, Morris YA. The comparative endocrinology of sea turtles. *Copeia*. 1985; **5**: 723-735.
- Pilcher NJ, Ali L. Reproductive biology of the hawksbill turtles, *Eretmochelys imbricata*, in Sabah Malaysia. *Chelonian Conservation and Biology*. 1999; **3**: 330-336.
- Pritchard PCH. Evolution, phylogeny, and current status. *In*: Lutz PL, Musick JA (eds). The Biology of Sea Turtles. CRC press, Florida. 1997; 1-28.
- Rérez-Castañeda R, Salum-Fares A, Defeo O. Reproductive pattern of the hawksbill turtle *Eretmochelys imbricata* in sandy beaches of Yucatan Peninsula. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*. 2007; **87**: 815-824.
- Rostal DC. Seasonal reproductive biology of the Kemp's ridley sea turtle (*Lepidochelys kempii*): comparison of captive and wild population. *Chelonian Conservation and Biology*. 2005; **4**: 788-800.
- Rostal DC, Grumbles JS, Palmer KS, Lance VA, Spotila JR, Paladino FV. Changes in gonadal adrenal steroid levels in the leatherback sea turtle (*Dermochelys coriacea*) during the nesting cycle. *General and Comparative Endocrinology*. 2001; **122**: 139-147.
- Rostal DC, Paladino FV, Patterson RM, Spotila JR. Reproductive physiology of nesting leatherback turtles (*Dermochelys coriacea*) at Las Baulas National Park, Costa Rica. *Chelonian Conservation and Biology*. 1996; **2**: 230-236.
- Rostal DC, Robeck TR, Owens DW, Kraemer DC. Ultrasound imaging of ovaries and eggs in Kemp's ridley sea turtles (*Lepidochelys kempi*). *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*. 1990; **21**: 267-273.
- Sato F, Madriasau BB. Preliminary report on natural reproduction of hawksbill sea turtle in Palau. *Marine Turtle Newsletter*. 2001; **55**: 12-14.
- Shaver DJ, Wibbels T. Head-starting the Kemp's ridley sea turtle. *In*: Plotkin PT (ed). Biology and conservation of ridley sea turtles. The Johns Hopkins University Press, Maryland. 2007; 297-323.
- Shimizu T, Asami K, Yamamoto K, Dan S, Yoseda K. Successful spontaneous nesting of the hawksbill turtle (*Eretmochelys imbricata*) at Yaeyama station, National Center for Stock

- Enhancement, Japan. Proceedings of the 2rd International Symposium on SEASTAR2000 and Asian Bio-logging Science. Kyoto University, Kyoto. 2005; 69-74.
- Simon MH, Ulrich GF, Parkes AS. The green sea turtle (*Chelonia mydas*): mating, nesting, and hatching on a farm. *Journal of Zoology*. 1975; **177**: 411-423.
- Solomon SE, Baird T. Aspects of the biology *Chelonia mydas* L. *Oceanography and Marine Biology: An Annual Review* 1979; **17**: 347-361.
- Spotila JR. Sea turtles: a complete guide to their biology, behavior, and conservation. Johns Hopkins University Press, Maryland. 2004
- Steiner T. Guest editorial: Japan hawksbill import ban-too early to rest on our laurels!. *Marine Turtle Newsletter*. 2001; **56**: 24-26.
- Tucker AD, Limpus CJ. Assessment of reproductive status in Australian freshwater crocodiles (*Crocodylus johnstoni*) by ultrasound imaging. *Copeia*. 1997; **4**: 851-857.
- Uchida I, Nishiwaki M. Sea turtles in the waters adjacent to Japan. *In*: Bjorndal K (ed). *Biology and Conservation of Sea Turtles*. Smithsonian Institution Press, Washington D.C.. 1982; 317-319.
- Ulrich GF, Parkes AS. The green sea turtle (*Chelonia mydas*): further observations on breeding in captivity. *Journal of Zoology*. 1978; **185**: 237-251.
- ウミガメは減っているか～その保護と未来～. 紀伊半島ウミガメ情報交換会, 和歌山. 1994; 24-27.
- ウミガメ保護ハンドブック. 特定非営利活動法人日本ウミガメ協議会, 大阪. 2007.
- van Dam RP, Diez CE. Caribbean hawksbill turtle morphometrics. *Bulletin of Marine Science*. 1998; **62**: 145-155.
- van Dam RP, Diez CE: Home range of immature hawksbill turtles (*Eretmochelys imbricata* (Linnaeus)) at two Caribbean Islands, *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*. 1997; **220**: 15-24.
- Whittier JH, Corrie F, Limpus CJ. Plasma steroid profiles in nesting loggerhead turtles (*Caretta caretta*) in Queensland, Australia: Relationship to nesting episode and season. *General and Comparative Endocrinology*. 1997; **106**: 39-47.
- Wibbels T, Owens DW, Amoss MS. Seasonal changes in the serum testosterone titers of loggerhead sea turtles captured along the Atlantic coast of the United States. *In*: Witzell WN (ed). *NOAA Technical Report NMFS 53 Ecology of East Florida Sea turtles*. National Fisheries Service, Washington D.C.. 1987; 59-64.
- Wibbels T, Owens DW, Limpus CJ, Reed PC, Amoss MS. Seasonal changes in serum gonadal steroids associated with migration, mating, and nesting in the loggerhead sea turtle (*Caretta caretta*). *General and Comparative Endocrinology*. 1990; **79**: 154-164.

- Witzell WN. Variation of size maturity of female hawksbill turtles (*Eretmochelys imbricata*), with speculations on life-history tactics relative to proper stock management. Japanese Journal of Herpetology. 1985; **11**: 46-51.
- Witzell WN, Banner AC. The hawksbill turtle (*Eretmochelys imbricata*) in Western Samoa. Bulletin of Marine Science. 1980; **30**: 571-579.
- Wood VE. Breeding success of hawksbill turtles *Eretmochelys imbricata* at Cousin Island, Seychelles and the implications for their conservation. Biological Conservation. 1986; **37**: 321-332.
- Wood JR, Wood FE. Reproductive biology of captive green sea turtles *Chelonia mydas*. American Zoologist. 1980; **20**: 499-505.
- Xavier R, Barata A, Cortez PL, Queiroz N, Cuevas E. Hawksbill turtle (*Eretmochelys imbricata* Linnaeus 1766) and green turtle (*Chelonia mydas* Linnaeus 1754) nesting activity (2002-2004) at el Cuyo beach, Mexico. Amphibia Reptilia. 2006; **27**: 539-547.
- 與世田兼三, 清水智仁. 希少種であるウミガメ類の産卵, ふ化管理および放流技術の開発. 日本水産学会誌. 2006; **72**: 476-479.