水産研究・教育機構 機関リポジトリ
FRA Japan Fisheries Research and Education Agency Institutional Repository

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

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 水産総合研究センター 公開日: 2024-10-02 キーワード (Ja): 絶滅危惧種; 増養殖; タイマイ; 繁殖生理; 繁殖生態 キーワード (En): 作成者: 小林, 真人 メールアドレス: 所属: 水産研究・教育機構
URL	https://fra.repo.nii.ac.jp/records/2010914

This work is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License.

水研センター研報，第36号，107－142，平成24年
Bull. Fish. Res. Agen. No. 36, 107-142, 2012

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[*1]

小林　真人[*2]

Ecological, Behavioral, and Physiological Evidence of the Hawksbill Turtle Reproduction in Captivity

Masato KOBAYASHI

Abstract：The hawksbill turtle *Eretmochelys imbricata* is a species of sea turtle belonging to the family of Cheloniidae. They inhabit throughout tropical and subtropical coral reef regions of the world. In Japan, this species is seen in areas south from the Izu Peninsula on the Pacific side and Noto Peninsula on the Japan Sea side, while the northern limit of nesting occurs in the Nansei Islands. Hawksbill turtles have been captured not only as a source of protein but also as raw materials for ornaments, because their carapace scutes are richly colored and their aesthetic beauty. Their populations have decreased worldwide in recent year, and the hawksbill turtle has been listed as Critically Endangered. Also, the capture of sea turtles and their eggs is restricted to protect them in many countries around the world, and the international trade of sea turtles is prohibited entirely by CITES (Convention on International Trade in Endangered Species of Wild Fauna and Flora).

Research Center for Subtropical Fisheries, Seikai National Fisheries Research Institute, Fisheries Research Agency has been studying the propagation of the hawksbill turtle for the recovery of the stock by "head-starting" since 1999. The development of the captive breeding technology is essential to recover the stock of this species by head-starting, and therefore it is important to elucidate reproductive biology of hawksbill turtles. In this study, I tried to elucidate the reproductive ecology and physiology of the hawksbill turtle in captivity.

In the first chapter, I investigated plasma testosterone concentrations of 14 male hawksbill turtles held in captivity to determine the sexual maturity of them. I also tried to determine male sexual maturity based on the indices of morphological characteristics, which were the straight carapace length (SCL), tail length (TL) and the ratio of TL to SCL (TE, tail elongation). As a result, plasma testosterone concentrations of mature males gradually increased during the pre-mating season, and then they sharply declined to low levels in the mating season and remained low thereafter. In contrast, the concentrations of immature males remained low throughout the year. Furthermore, I found that sexual maturity of male hawksbill turtles could be estimated by their TE; mature individuals showed the TE of 0.35 or above while immature ones exhibited the indices of 0.33 or less.

In the second chapter, I investigated plasma estoradiol-17β concentrations and follicle in the ovary of 11 female hawksbill turtles held in captivity to elucidate the relationship be-

2011年6月8日受理（Received, June 8, 2011）
[*1] 長崎大学審査論文（掲載に際し投稿規定に沿って一部修正した）
[*2] 西海区水産研究所亜熱帯研究センター八重山庁舎　〒907-0451　沖縄県石垣市浮海大田148
（Research Center for Subtropical Fisheries, Seikai National Fisheries Research Institute, 148, Fukaiohta, Ishigaki, Okinawa 907-0451, Japan）

tween seasonal change of plasma estoradiol-17 β concentrations and the development of follicles. As a result, whenever plasma testosterone concentrations of mature females increased before the mating season, their follicles developed. In contrast, the concentrations of immature females remained low throughout the year, and their follicles did not develop. Reproductive cycle of mature females is two or three years the same as wild hawksbill turtles. However, follicles of one female developed annually in the breeding season, suggesting that female hawksbill turtles have the ability to mature annually.

In the third chapter, I investigated the mating and nesting behavior, clutch size, number of clutches and hatching rate to reveal the reproductive ecology of captive hawksbill caught from the wild. I used a video camera system to determine the date and time of mating and nesting. Mean mating duration ranged from 50 to 150 minutes, and the period from mating to the 1st nesting was 29.6 ± 3.4 days. As for nesting, 4 females nested a total of 16 times between 2006 and 2009. Mean clutch size and number of clutches were 135.9 ± 25.2 eggs and 3.5 ± 0.7 clutches, respectively. These results closely correlated with data from wild populations. Hatching rate of captive eggs was markedly lower compared to wild eggs. However, the straight carapace length and body weight of hatchlings in captivity were comparable to the wild ones.

Finally, I was able to clarify the reproductive ecology and physiology of the hawksbill turtle in captivity. The achievement of this study makes a huge step forward for the ability to produce significant number of juveniles for stock enhancement and aquaculture of the hawksbill turtle. To further stock enhancement and aquaculture of them, there is an urgent need to promote studies on improving the level of the hatching rate of the hawksbill turtle in captivity.

キーワード：絶滅危惧種，増養殖，タイマイ，繁殖生理，繁殖生態

目　次

緒　言
第1章　雄の血漿テストステロン濃度の季節変動と二次性徴
第2章　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
第3章　飼育条件下におけるタイマイの繁殖生態
第4章　総合考察
謝　辞
文　献

緒　言

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。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 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。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 and Parsons, 2002, Sato and Madriasau, 2001；Fontaine and 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 and Parsons, 2002；Fontaine and Shaver, 2005）。

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 and 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 and 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）。

日本で産卵するウミガメ3種のうち，タイマイは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。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（奥世田，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 and 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 and Peters，1972；Limpus and Reed，1985）や飼育条件下（Simon *et al.*，1975；Ulrich and Parkes，1978；Wood and Wood，1980）の観察事例が報告されており，Booth and 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 and Parkes，1978；Wood and Wood，1980）やケンプヒメウミガメ（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 and 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），ケンプヒメウミガメ（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）とケンプヒメウミガメ（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－17β（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。

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1章）。雌については血中のエストラジオール－17β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）。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）。

第１章　雄の血漿テストステロン濃度の季節変動と二次性徴

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 and 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）やケンプヒメウミガメ（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 and 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 and 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 and 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。

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）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）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 ± 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（Fig. 1-1），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 and 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110 kL コンクリート製水槽（Fig. 1-2, 12 × 8 × 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は，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，ダイワインダストリ，レ

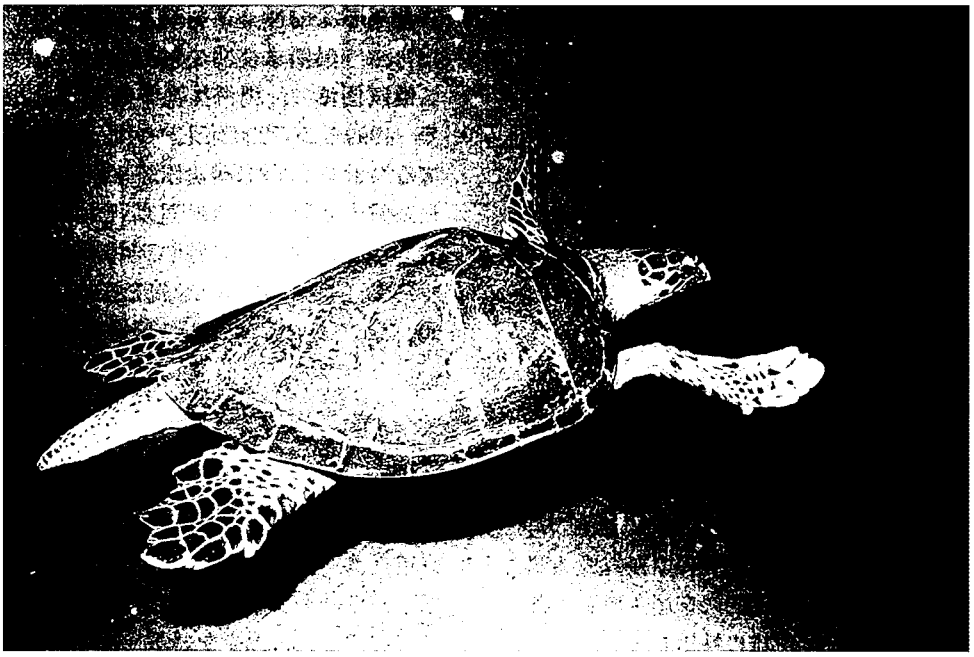


Fig. 1-1. Hawksbill turtle (male, straight carapace length 83 cm)

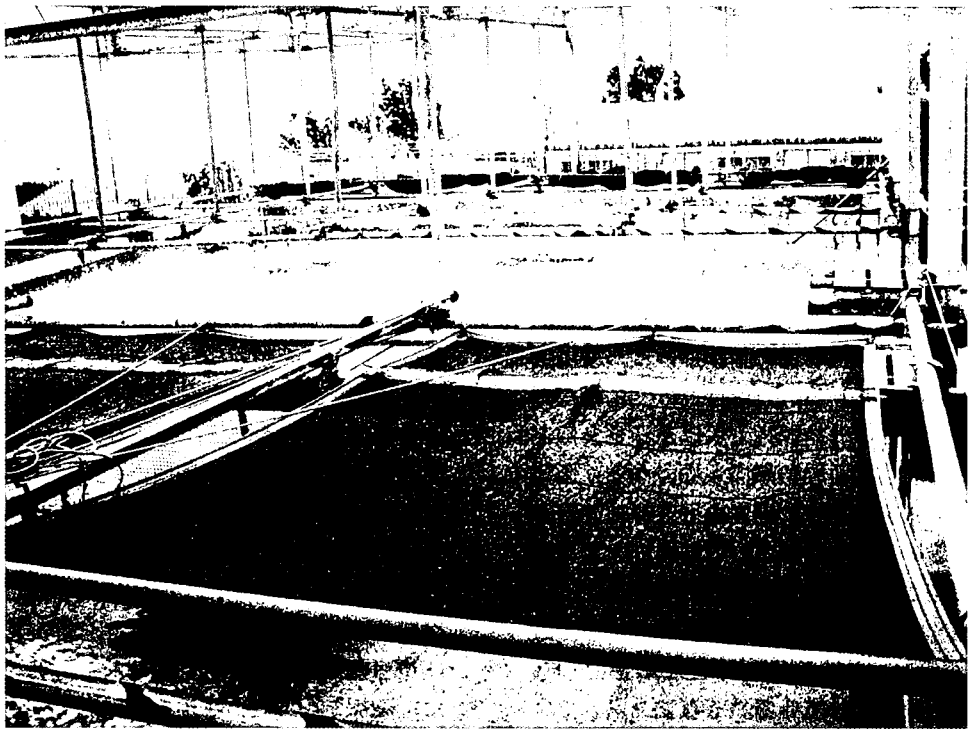


Fig. 1-2. Photograph of a 110 kL rearing tank

コーダー：AV-S7004W，システム エイ・ブイ）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℃以下では摂餌量が減少することから，給餌量は水温24℃以上では供試個体の体重の２％，水温24℃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）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）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，注射筒：SS-10SZ，テルモ）で10 ml を採血し，ヘパリン処理した採血管（VP-H100K，テルモ）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－80C°で凍結保存した。テストステロンの測定はBML（ビー・エム・エル）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）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５α－ジヒドロテストステロンが2.1％，５α－アンドロスタン－３β，17β－ジオールが0.2％，11β－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.）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. 1-3）。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）のアドインソフト STATCEL2（4 steps エクセル統計，オーエムエス出版）を用いて行った。

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. 1-4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 ± 標準偏差，30.7

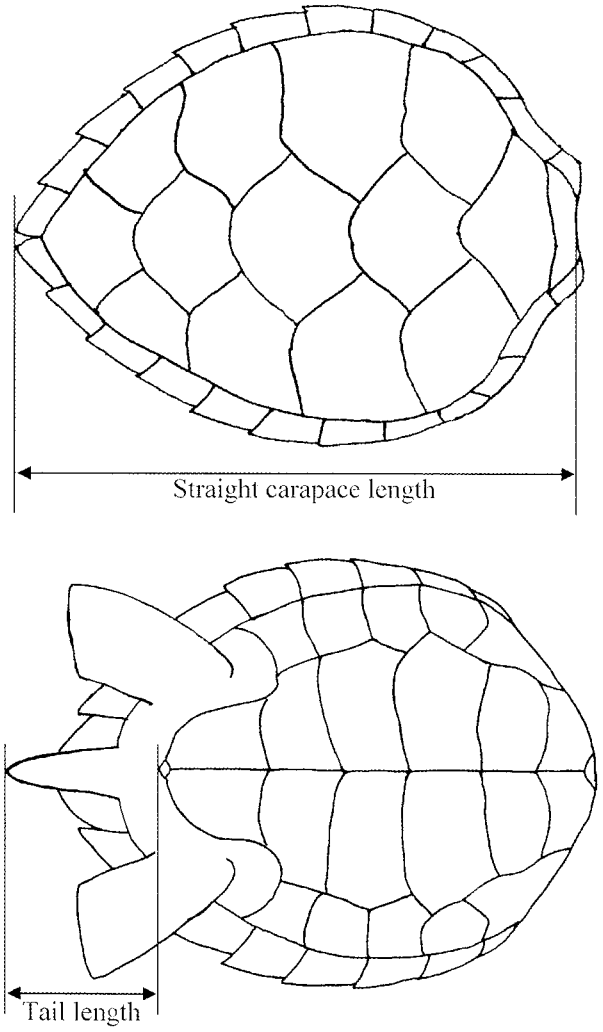


Fig. 1-3. Diagrams of measurement points in straight carapace length (SCL, upper) and tail length (TL, lower) of the hawksbill turtle used in the present study. SCL was from the distance from the nuchal scute notch to posteriormost scute tip and TL was from the posteriormost plastron to the tail tip.

± 12.1 ng/ml)，4月に最高値（平均濃度 ± 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 ± 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 ± 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 ± 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 1-1）。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. 1-2に示す。また，各個体の2007年と2008年の年間の平均値をFig. 1-5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

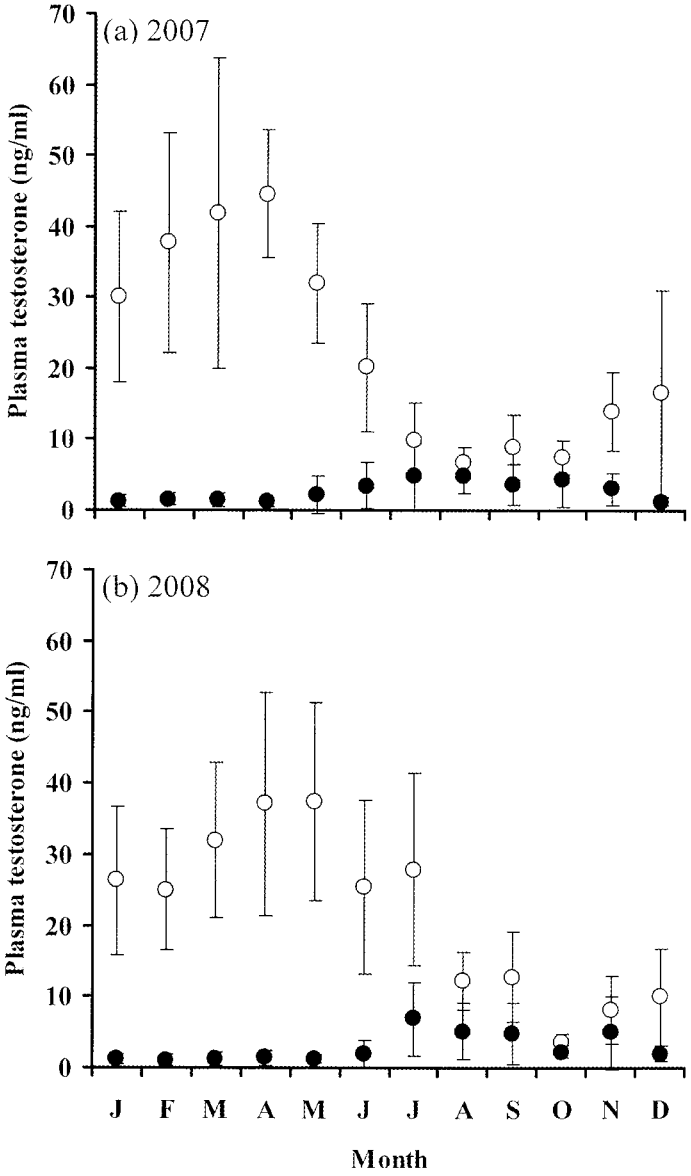


Fig. 1-4. Seasonal changes of plasma testosterone of Group-A (○) and Group-B (●) in 14 hawksbill turtles between 2007 and 2008. Data was mean ± SD.

Table 1-1. Results of observation of mating behavior and mating success in both groups in 2007 and 2008

	No. turtles displayed mating behavior		No. turtles succeeded in mating	
Year	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. Plus and cross 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 1-2. 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 (Tukey-Kramer multiple comparison test, $p < 0.05$, a > b, c > d).

ず（Table. 1-2, $p > 0.05$）．各個体の平均直甲長はグループ間で重複がみられた（Fig. 1-5）。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 1-2, 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. 1-5）。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. 1-2, 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. 1-5）。

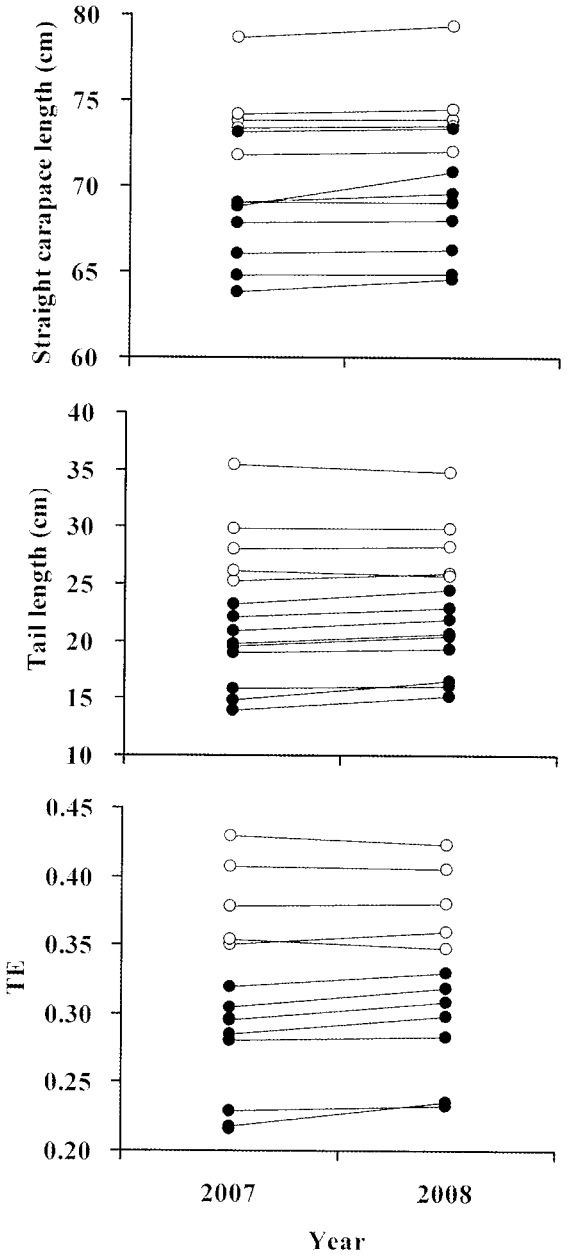


Fig. 1-5. Annual changes of straight carapace length (SCL, upper), tail length (TL, middle) and TE (ratio of TL to SCL, lower) of each individual of 14 hawksbill turtles in Group-A (○) and Group-B (●) in 2007 and 2008.

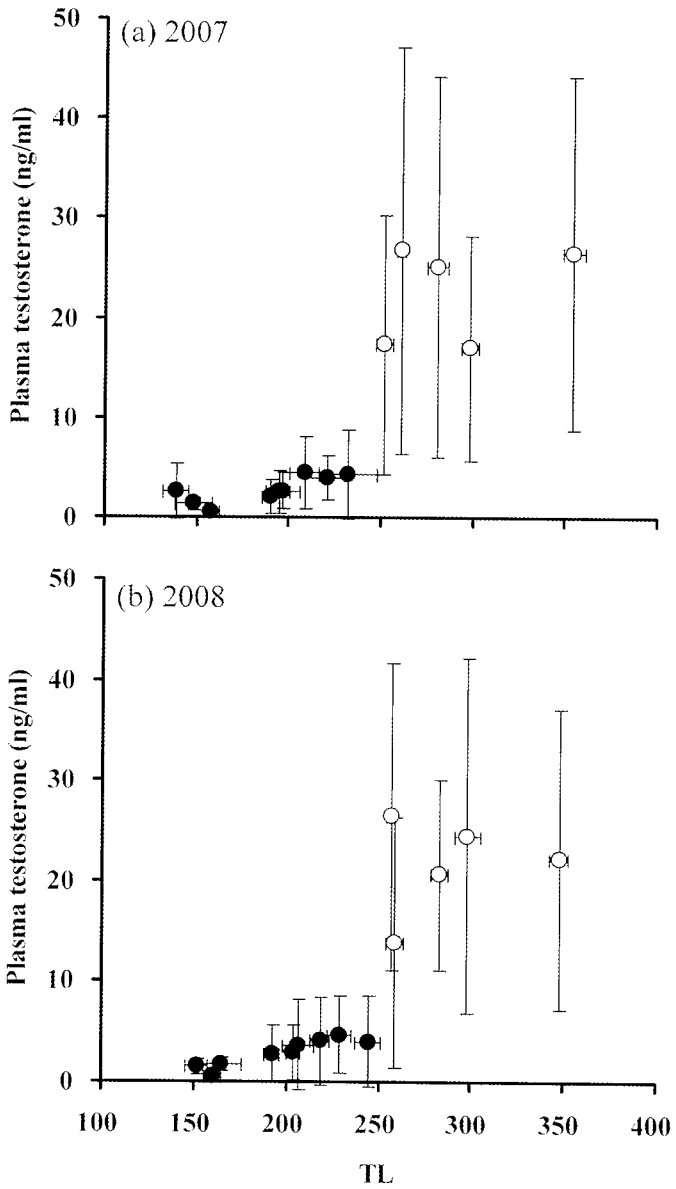


Fig. 1-6. Relationship between the plasma testosterone level and tail length (TL) of Group-A (○) and Group-B (●) in 14 hawksbill turtles between 2007 and 2008. Data was mean ± SD.

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. 1-6, 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. 1-7, 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。

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

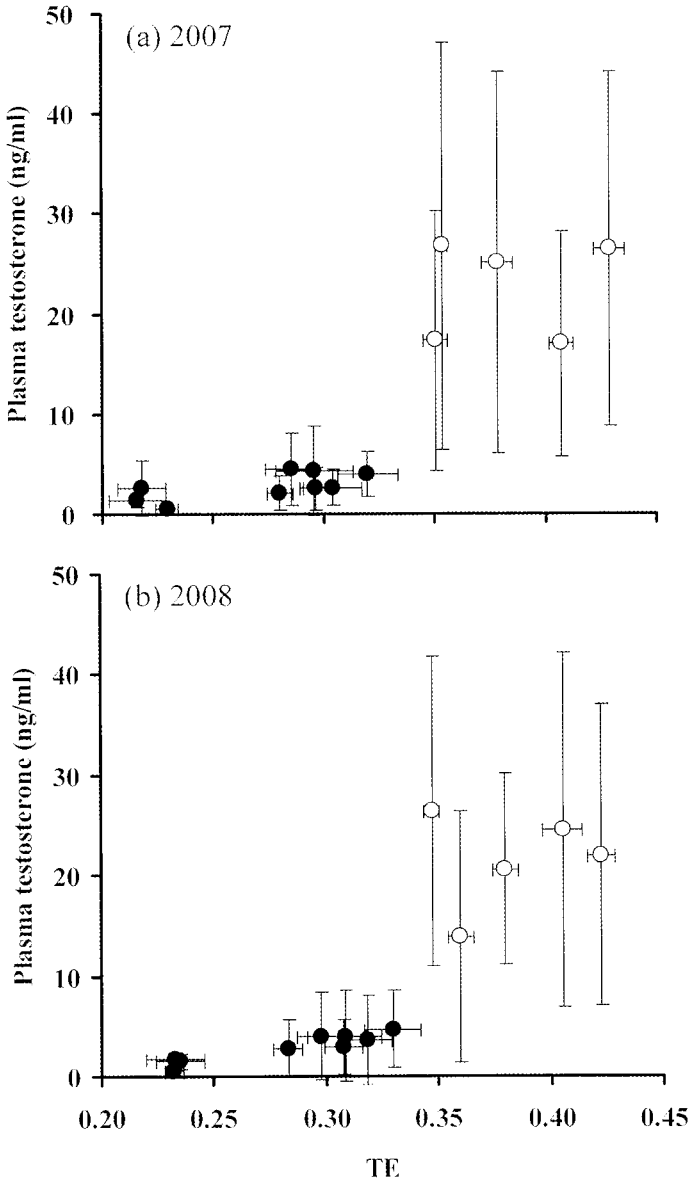


Fig. 1-7. Relationship between the plasma testosterone level and TE (ratio of TL to SCL) of Group-A (○) and Group-B (●) in 14 hawksbill turtles between 2007 and 2008. Data was mean ± SD.

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，その後に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，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 and 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 and 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（Tukey-Kramer multiple-comparison test, $p < 0.05$），このことからも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。

第2章　雌の血漿エストラジオール－17β濃度の季節変動と卵胞の発達

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ことが必要である。爬虫類，鳥類およびほ乳類の雌おいて，エストラジオール－17β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－17β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－17β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）やケンプヒメウミガメ（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－17β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，卵管の発達やビデ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 and Morris, 1985）。また，飼育条件下のケンプ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－17β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 and Limpus, 1997；Gilman and Wolf, 2007；Lance *et al.*, 2009）。Rostal *et al.* (1990) は，飼育条件下のケンプ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）やケンプヒメウミガメ（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－17β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－17β濃度と卵胞の発達を調べ，両者の関係を明らかにした。

材料と方法

供試個体　供試個体の入手は第1章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. 2-1）。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，奥世田，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. 2-2に示した。飼育

Table 2-1. 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 2-2. 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 ℃ from November to March.

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

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. 2-1，10 × 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 m^2であった（Fig. 2-1）。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℃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1章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

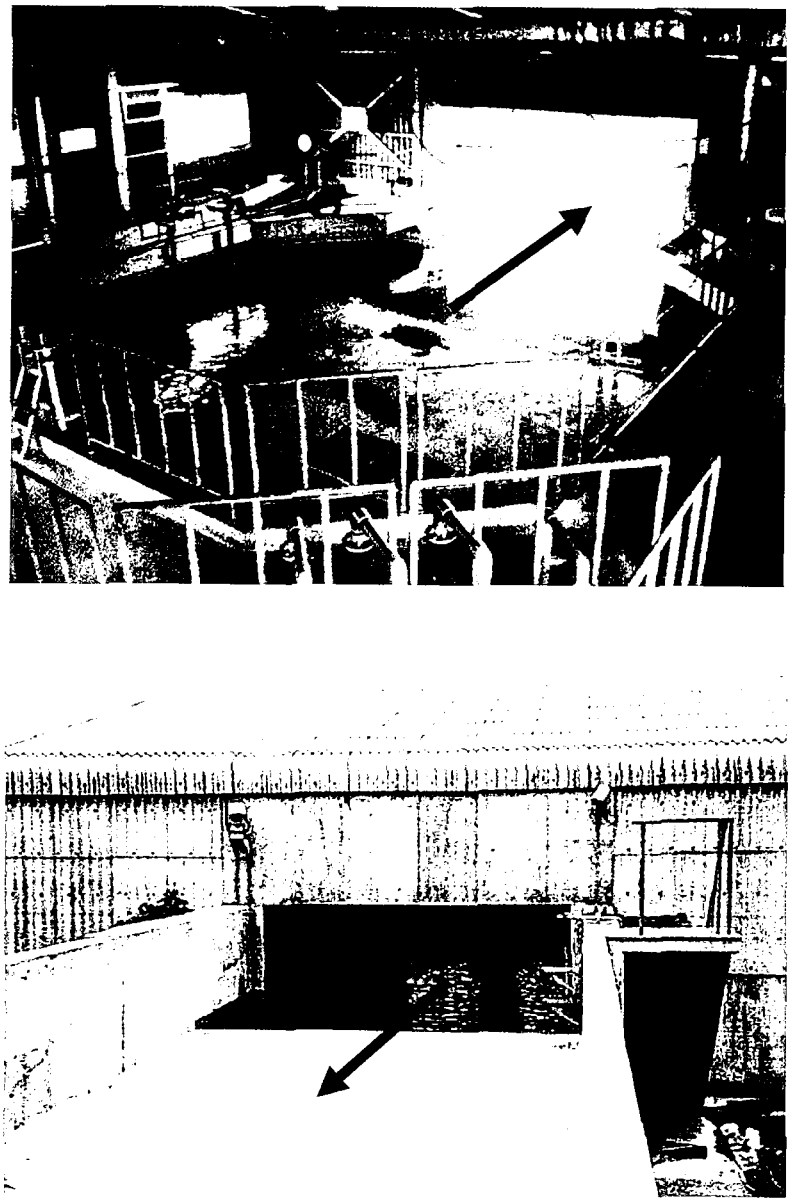


Fig. 2-1. Photographs of the 250 kL rearing tank (upper) and the artificial sandy beach (lower). A black arrow shows directions from the 250 kL rearing tank to the artificial sandy beach. The tank and the beach are connected by a gradual slope under the rearing water level so that the female turtles can come up onto the beach for nesting.

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１章の材料と方法の交尾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。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１章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，本節では奥世田，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. 2-2）。すなわち，交尾後に雌の腹腔内に卵殻卵が観察

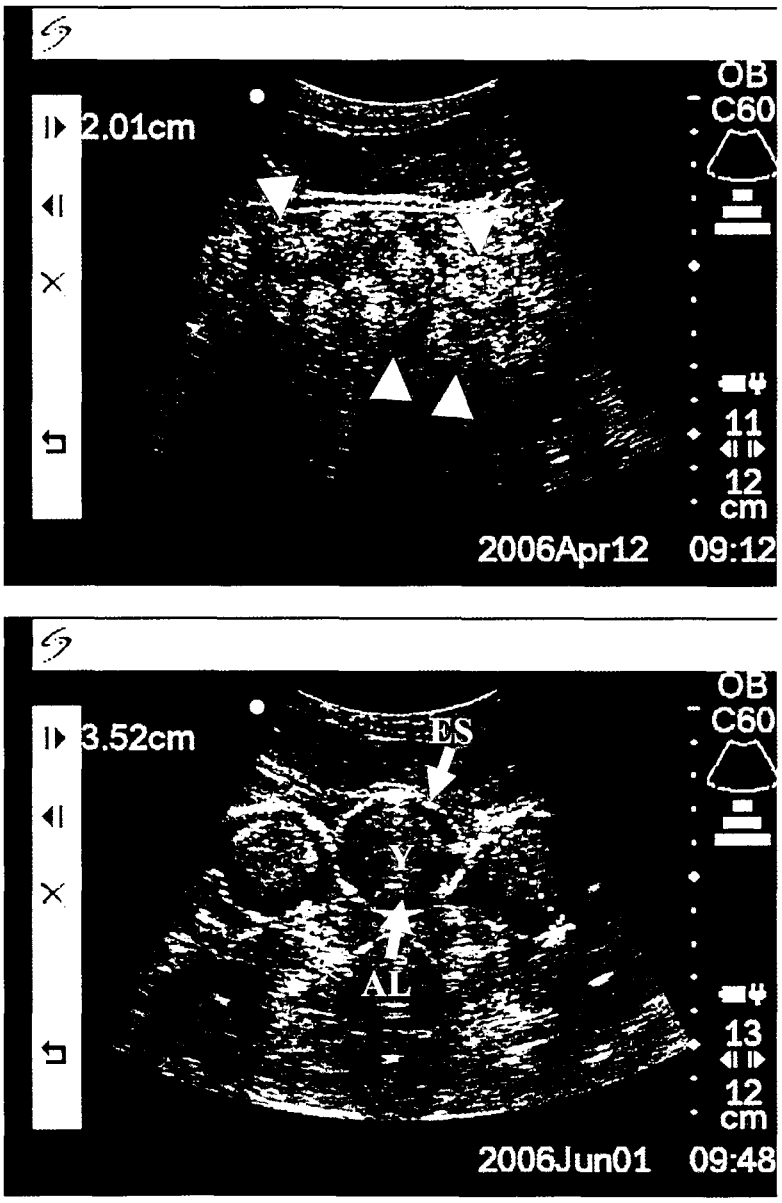


Fig. 2-2. Echo images of vitellogenic follicles (upper) and oviductal eggs (lower) detected by the 180PLUS Ultrasound System. Vitellogenic follicles were identified from the echoic yolk (arrowheads). Oviductal eggs were identified from the echoic yolk (Y), anechoic layer (albumen, AL) and echoic ring (calcified egg shells, ES).

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250 kL 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）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，システム エイ・ブイ）に記録した（Fig. 2-3）。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，ソノサイト・ジャパン）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. 2-4）。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）を塗布し，その上からプローブを当てて観察した（Fig. 2-4）。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。

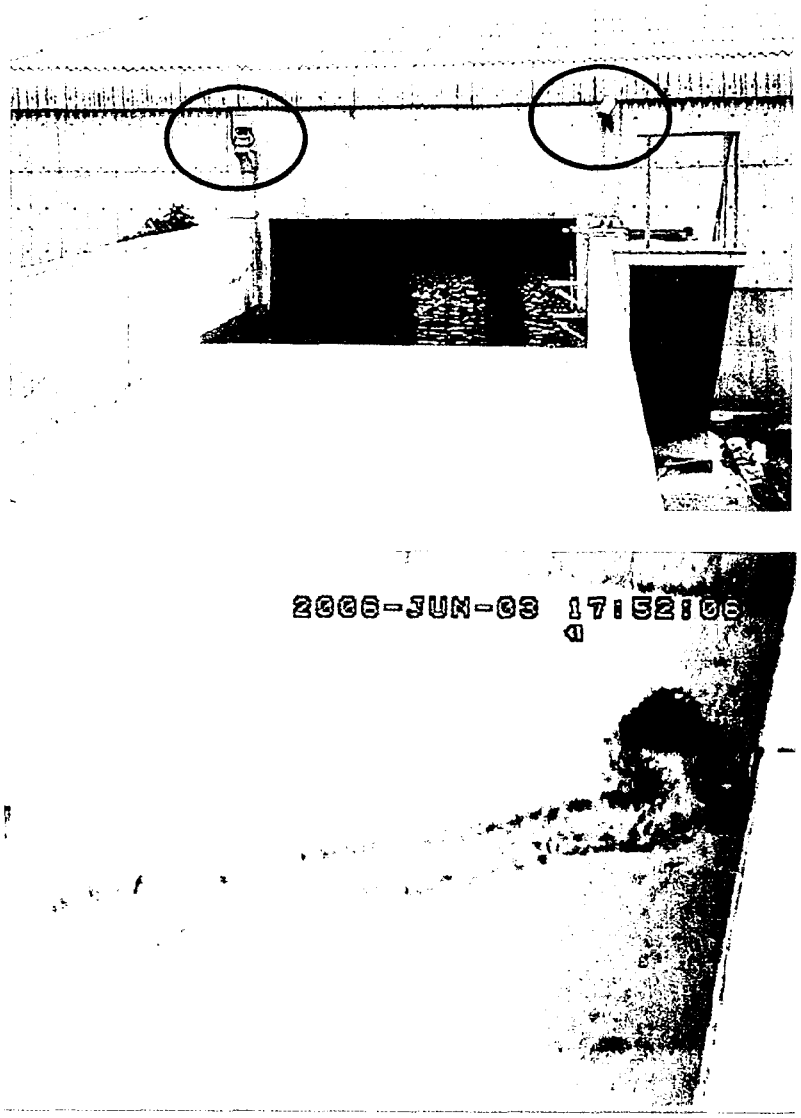


Fig. 2-3. Photographs of two highly sensitive cameras fixed on the outside wall (upper) and image of an observation of nesting behavior (lower).

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. 2-2）。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頭の血漿エストラジオール－17β濃度を測定するため，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。エストラジオール－17βの測定は，測定はBML 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）を用いたCLIA 法により測定した。エストラジオール－17β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－17β3-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.）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。

Fig. 2-4. 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.

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. 2-3）。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. 2-5）。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 ± 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（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

Table 2-3. 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.

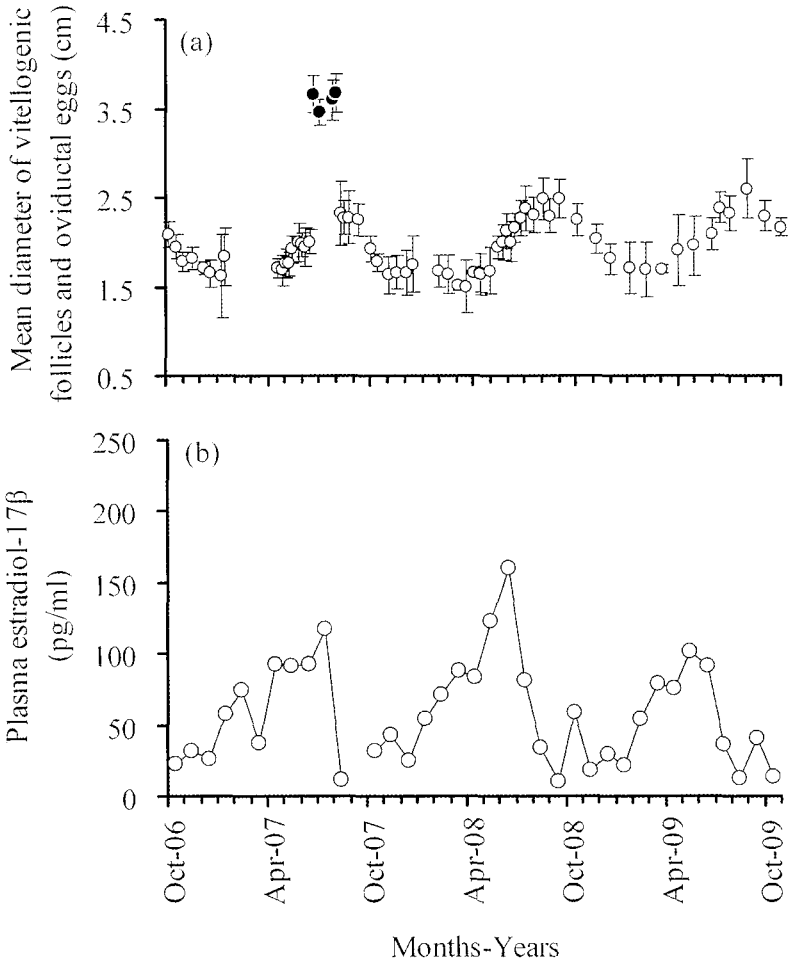


Fig. 2-5. Relationships between development of vitellogenic follicles (a) and changes of plasma estoradiol-17β concentrations (b) in female (F-1) hawksbill turtle. Open circles and closed circles in graph (a) indicate mean diameter of vitellogenic follicles and oviductal eggs, respectively.

準偏差, 2.30 ± 0.09 cm）に達した後, 退縮した（Fig. 2-6）。

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. 2-7）。

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. 2-8）。

血漿エストラジオール－17β濃度の変動　F-1の血漿エストラジオール－17β濃度は, 毎年規則的な変動

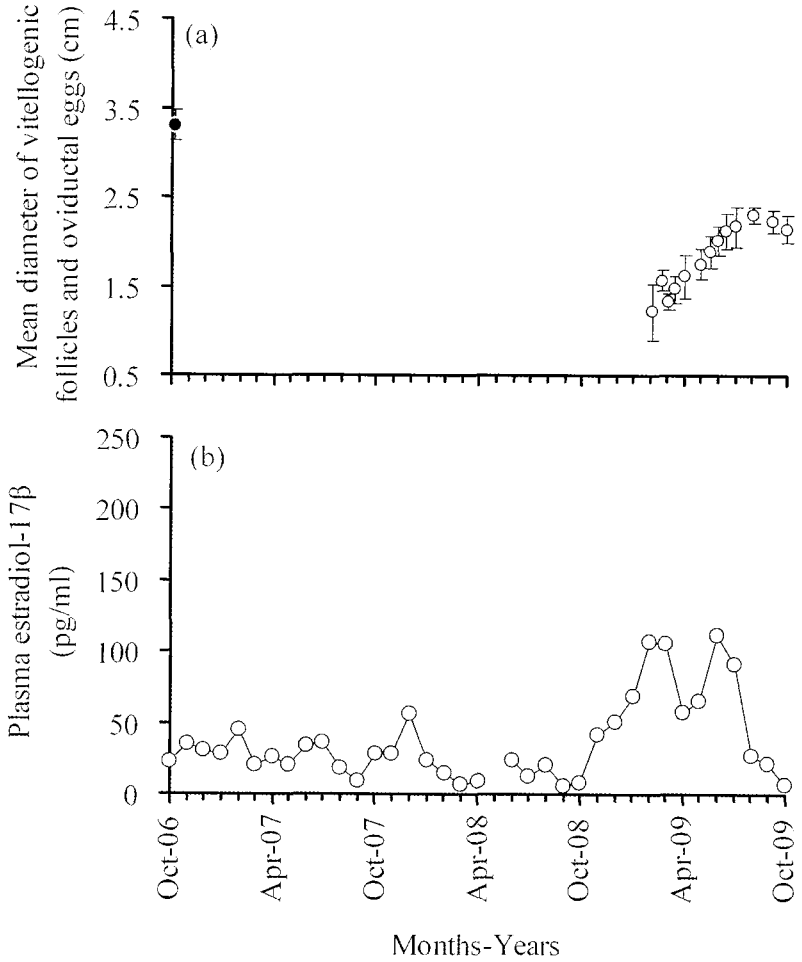


Fig. 2-6. Relationships between development of vitellogenic follicles (a) and changes of plasma estoradiol-17β concentrations (b) in female (F-2) hawksbill turtle. Open circles and closed circles in graph (a) indicate mean diameter of vitellogenic follicles and oviductal eggs, respectively.

を示した（Fig. 2-5）。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（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－17β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 ± 標準偏差，20.0 ± 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. 2-6）。

F-3の血漿エストラジオール－17β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 ± 標準偏差，17.5 ± 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月に最高値（104.7 pg/ml）に達した後，急速に減少した（Fig. 2-7）。F-4の血漿エストラジオール－17β濃度の変動パターンは，F-3と同様の傾向を示した（Fig. 2-8）。

以上のように，成熟個体4頭の血漿エストラジオール－17β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－17β濃度は，試験期間中低濃度（Fig. 2-9，平均濃度 ± 標

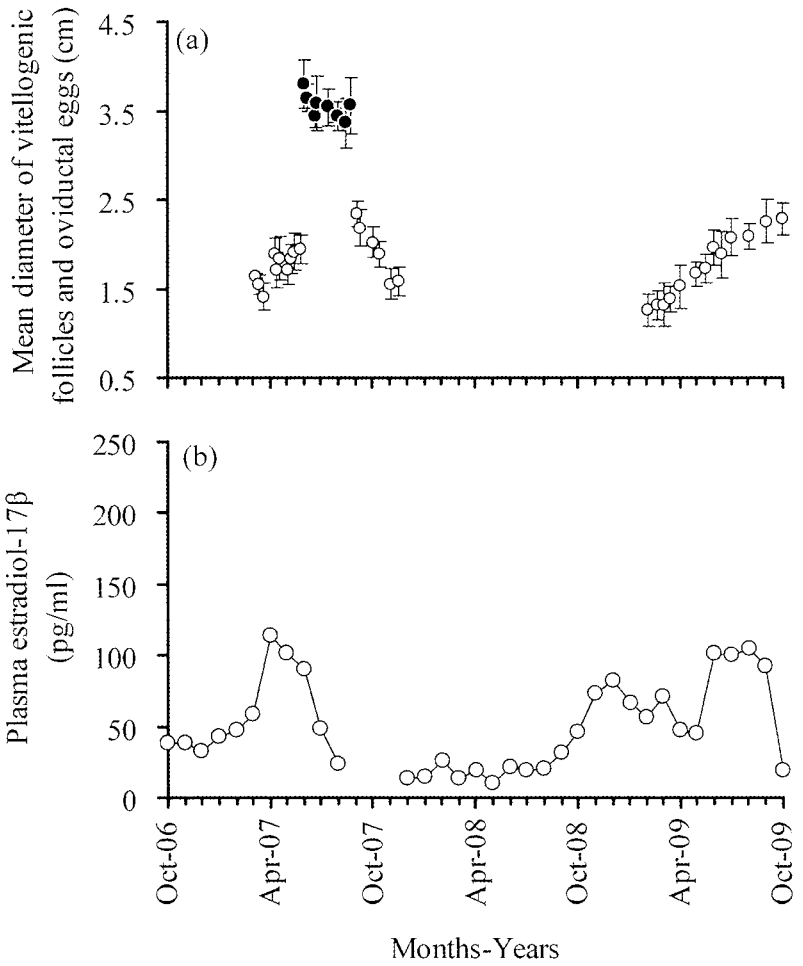


Fig. 2-7. Relationships between development of vitellogenic follicles (a) and changes of plasma estoradiol-17β concentrations (b) in female (F-3) hawksbill turtle. Open circles and closed circles in graph (a) indicate mean diameter of vitellogenic follicles and oviductal eggs, respectively.

準偏差，18.1 ± 9.0 pg/ml）で推移し，季節変動は認められなかった。

考　察

爬虫類において，エストラジオール－17β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，これが血液中を通っ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－17β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－17β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－17β濃度は低レベルで推移して季節変動は認められなかった。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－17β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－17β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プヒメウミガメ（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－17β濃度の増加と連

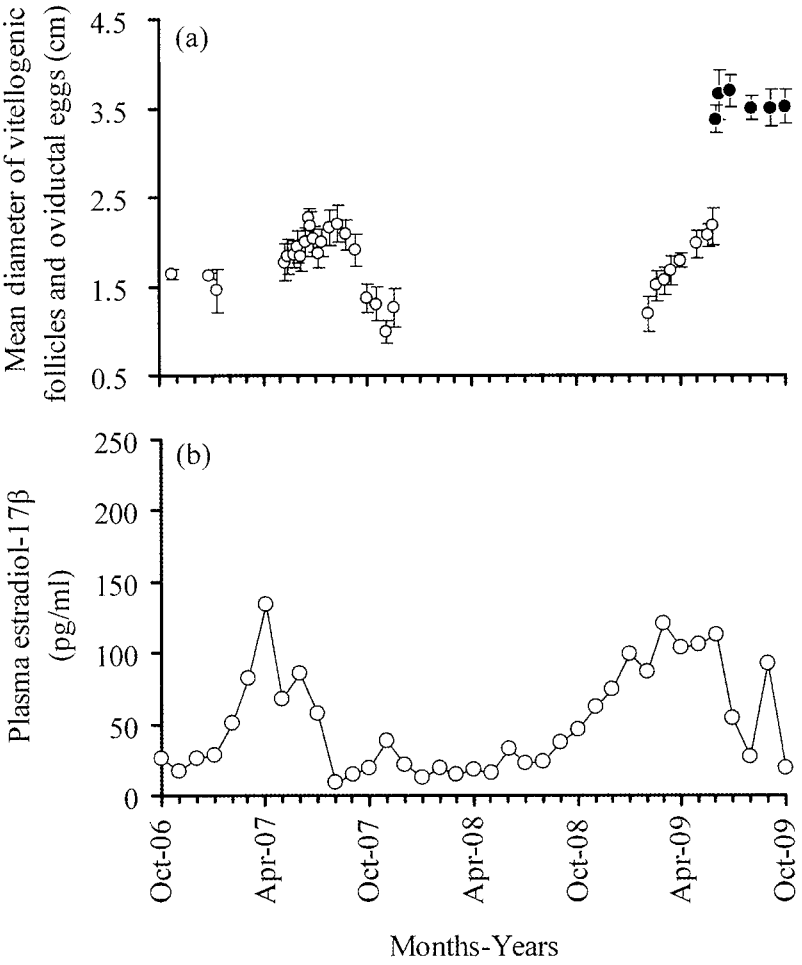


Fig. 2-8. Relationships between development of vitellogenic follicles (a) and changes of plasma estoradiol-17 β concentrations (b) in female (F-4) hawksbill turtle. Open circles and closed circles in graph (a) indicate mean diameter of vitellogenic follicles and oviductal eggs, respectively.

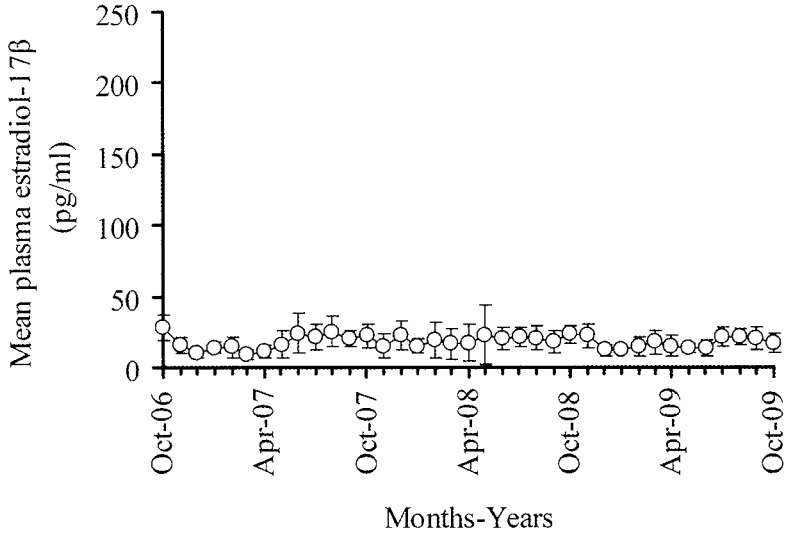


Fig. 2-9. Annual changes of plasma estradiol-17 β concentrations in immature 7 female (F-5 to F-11) hawksbill turtles.

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－17β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－17β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－17β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－17β濃度は，交尾の成否にかかわらず，６～７月から減少した。産卵期中に血中エストラジオール－17β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，飼育条件下のケンプヒメウミガメ（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－17β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－17β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－17βは低濃度で十分であるということを，一つの可能性として示唆している。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－17βが必要かどうかということを明らかに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－17β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。

第３章　飼育条件下におけるタイマイの繁殖生態

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 and Wood, 1980）やケンプヒメウミガメ（Shaver and 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 and Banner, 1980；Limpus *et al.*, 1983；Bjorndal *et al.*, 1985；Wood, 1986；Moncada *et al.*, 1999；Pilcher and Ali, 1999；Hitchins *et al.*, 2004；Xavier *et al.*, 2006；Rérez-Castañeda *et al.*, 2007；Kamel and 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。

材料と方法

供試個体　供試個体の入手方法は第1章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章の材料と方法の超音波診断の項を参照），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.）で0.1 cm単位まで，体重は台ばかり（DS-100型，大和製衡）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1章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℃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. 2-2）。

交尾と産卵の観察　交尾試験は，2006年は250 kL水槽で行い，2007年以降は110 kL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）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，システム エイ・ブイ）に記録した（Fig. 3-1）。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1章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（internesting interval）は産卵した翌日から起算して次回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，ケンコー）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，トスロン）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，いすゞ製作所）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（内寸61 × 31 × 31 cm，サンボックス #75，三甲）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℃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℃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，ミツトヨ）を用いて0.1 mm単位まで，体重は台ばかり（HL-300WP-K，エー・アンド・デイ）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，産卵回次ごとの平均ふ化率，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）のアドインソフトSTATCEL2（4 Stepsエクセル統計，オーエムエス出版）を用いて行った。

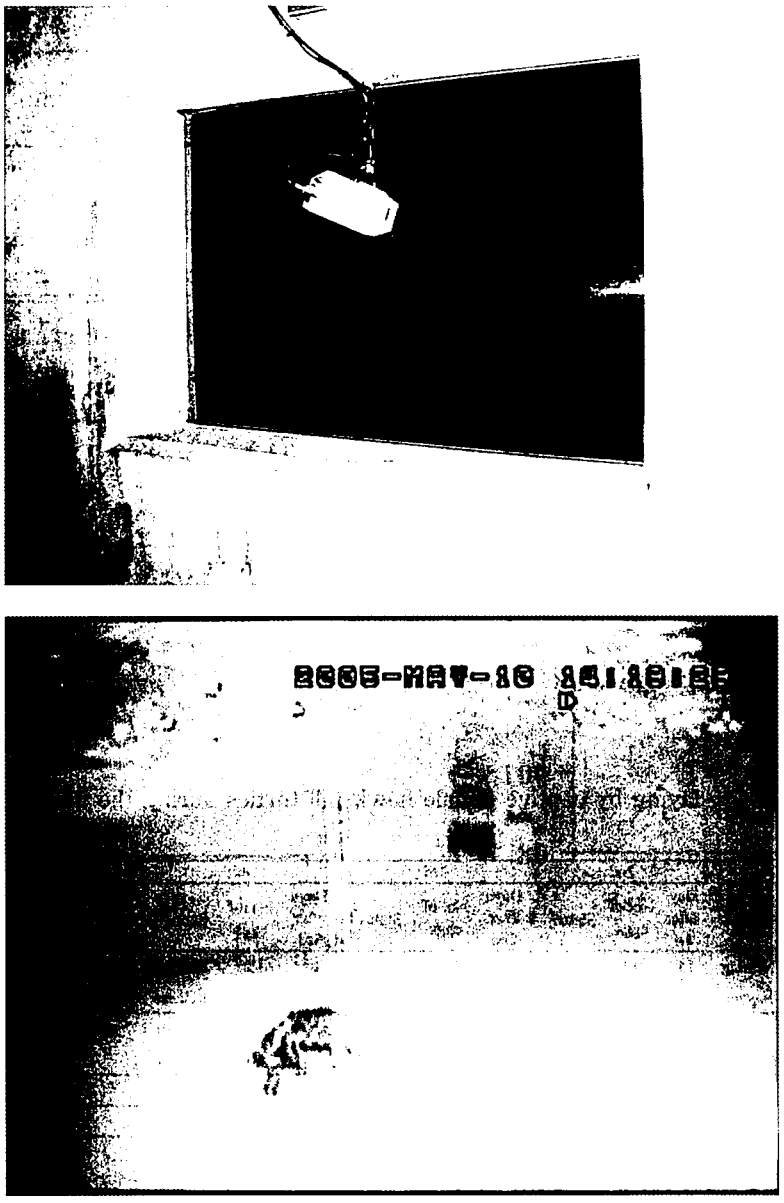


Fig. 3-1. Photographs of a highly sensitive camera fixed on the edge of the observation window (upper) and image of an observation of mating behavior in the 250kL tank (lower).

結　果

交尾と産卵　Table. 3-1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. 3-1）。交尾の平均時間（± 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。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. 3-2に示す。2006～2009年に雌４個体が産卵し，F-2のみは２年連

Table 3-1. Summary of mating of captive hawksbill turtles from 2006 to 2009

Year	Combinations of female and male						Mating		
	Female			Male					
	Ind.	Straight carapace length (cm)	Body weight (kg)	Ind.	Straight carapace length (cm)	Body weight (kg)	Date	No. of times	Duration (minutes)
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.

Table 3-2. Summary of egg laying by captive female hawksbill turtles during the breeding season from 2006 to 2009

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							

Mean values were calculated using only data of nesting.
*1 Nesting and release mean that female laid eggs on the artificial beach connected with rearing tank and female released eggs in the rearing tank, respectively.
*2 The release date could not be specified.

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（± 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. 3-2）。初回産卵以降の平均産卵間隔（± 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. 3-3）。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。

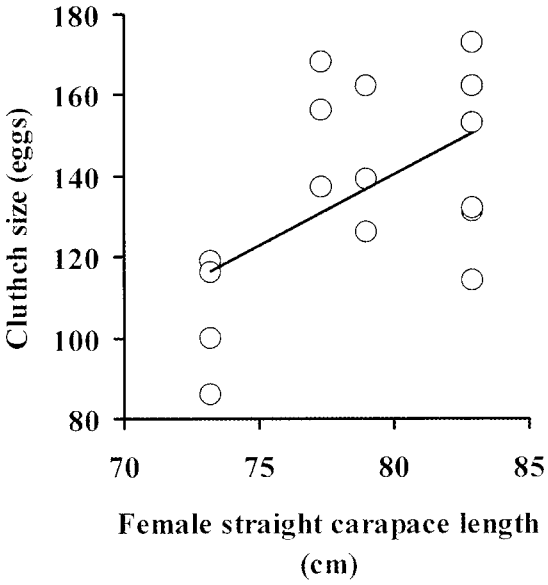
平均産卵数（± 標準偏差）は135.9 ± 25.2個（n = 16）で，その範囲は86～173個であった（Table. 3-3）。産卵個体の直甲長および体重と産卵数との関係をFig. 3-2に示す。産卵個体の直甲長および体重と産卵数の間には，有意な正の相関が認められた（直甲長；$r = 0.55, p < 0.05$，体重；$r = 0.71, p < 0.05$）。

平均産卵回数（± 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

Table 3-3. Summary of nesting of captive female hawksbill turtles from 2006 to 2009 during the breeding season

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

* Data of females which released eggs in the rearing tank (see Table 3-2) were not included.



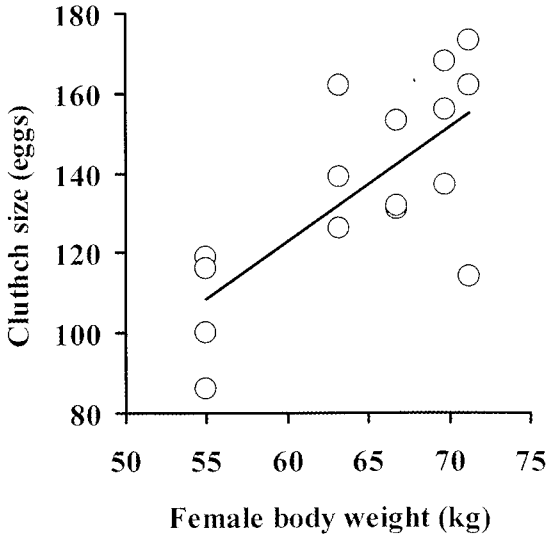


Fig. 3-2. Relationships between female straight carapace length (upper) and body weight (lower) and clutch size of the hawksbill turtle in captivity. Nesting behaviors (*n* = 16, see Table 3-2) were observed in the breeding seasons from 2006 to 2009.

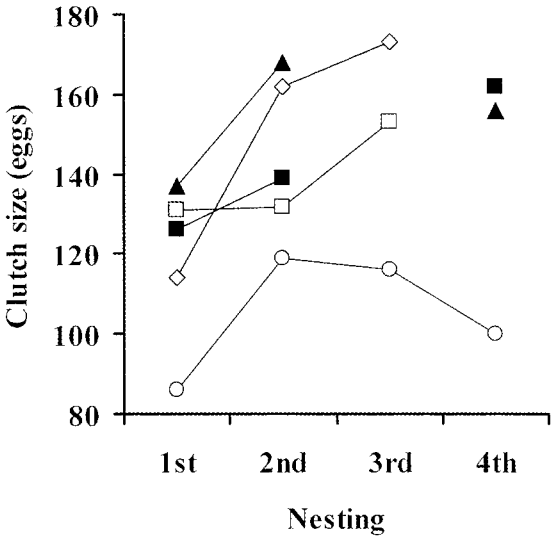


Fig. 3-3. Relationship between the number of nesting and clutch size of each captive female hawksbill turtle. The data were collected during the breeding seasons from 2006 to 2009. Different symbols indicate different females which laid eggs.

回（*n* = 2）で，その範囲は3～4回であった（Table 3-3）。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. 3-2，Fig. 3-3）。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. 3-2，

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。

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. 3-4）。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（± 標準偏差）は21.9 ± 13.0%，その範囲は0.0～67.2%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（± 標準偏差）は，1回目では17.7 ± 28.1%（$n = 5$），2回目が23.8 ± 25.4%（$n = 5$），3回目が33.0 ± 28.0%（$n = 3$），4回目では19.1 ± 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（± 標準偏差）は37.5 ± 1.7 mm，平均体重（± 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（± 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（± 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 mm（$n = 3$），4回目では12.5 ± 1.2 mm（$n = 3$）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（$p > 0.05$）。

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 and 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

Table 3-4. 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

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 and Parkes, 1978）。Ulrich and 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 and 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「± 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 and 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 and 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 and 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 and 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みると，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 and 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っていること，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 and 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 and 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 ± 13.0%と低く，その範囲は0.0～67.2%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87～92%（n = 455, Xavier *et al.*, 2006），西インド諸島グアドループ島85.6 ± 13.4%（n = 86, Kamel and Delcroix, 2009），サモア独立国ウポル島71.1 ± 21.7%（n = 23, Witzell and Banner, 1980），キューバ群島65.8～71.2%（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 and 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 and 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 and 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 and 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。

第4章　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1章と第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－17β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－17β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－17β濃度の上昇に伴って発達した。さらに，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－17β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－17β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－17β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1章）。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－17β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1章），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）。Booth and 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 and Wood, 1980；Comuzzie and 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を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。しかし，ふ化率は野生個体の報告例と比較して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 and Ulrich, 1975）やケンプヒメウミガメ（Shaver and 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。いくら採卵できても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－17β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，卵胞の発達などと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。

謝　辞

本研究の実施ならびに本論文の作成にあたり，懇切なるご指導とご校閲をいただいた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　奥世田兼三博士（現　瀬戸内海区水産研究所　増養殖部長）に感謝の意を表します。また，本論文の作成にあたり，ご校閲ならびに貴重なご助言をいただいた西海区水産研究所石垣支所　奥澤公一博士(現　増養殖研究所)，長崎大学環東シナ海海洋環境資源研究センター　征矢野 清教授に厚くお礼を申し上げます。

タイマイの増養殖に関する研究開発は，1999年に当時の社団法人日本栽培漁業協会八重山事業場で取り組みが開始され，2003年からは独立行政法人水産総合研究センター西海区水産研究所八重山栽培漁業センター（現　西海区水産研究所亜熱帯研究センター）で今日まで継続して実施されており，本研究の成果は10年以上の長期にわたって蓄積された研究結果の賜です。これまでにタイマイの増養殖に関する研究開発に携われた多くの職員の方々のご努力に敬意を表するとともに，本研究を進めるにあたりご協力をいただいた西海区水産研究所八重山栽培技術開発センター栽培技術研究室（現　西海区水産研究所亜熱帯研究センター八重山庁舎）の職員各位に対し，この場を借りてお礼申し上げます。

文　献

Ackerman R.A., 1997：The nest environment and the embryonic development of sea turtles, in "The Biology of Sea Turtles" (ed. by Lutz P.L. and Musick J.A.). CRC press, Florida, pp.83-106.

阿部寧，南浩史，2008：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．**74**, 234-236.

Bell C.D., and Parsons J., 2002：Cayman turtle farm head-starting project yields tangible success. Marine Turtle Newsletter, **98**, 5-6.

Beyneto S., and Delcroix E., 2005：Underwater oviposition by a hawksbill turtle in Guadeloupe, French West Indies. Marine Turtle Newsletter, **107**, 14.

Bjorndal K.A., Carr A., Meylan A.B., and Mortimer J.A., 1985：Reproductive biology of the hawksbill *Eretmochelys imbricata* at Tortuguero, Costa Rica, with notes on the ecology of the species in the Caribbean. Biological Conservation, **34**, 353-368.

Bjorndal K.A., Meylan A.B., and Turner B.J., 1983：Sea turtles nesting at Melbourne beach, Florida, I. size, growth and reproductive biology. Biological Conservation, **26**, 65-77.

Boulon R.H., 1983：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.

Bourne A.R., and Licht P., 1985：Steroid biosynthesis in turtle testes. Comparative Biochemistry and Physiology Part B, **81**, 793-796.

Canin J., 1991：International trade aspects of the Japanese hawksbill shell ('Bekko') industry. Marine Turtle Newsletter, **54**, 17-21.

Casares M., Rübel A., and Honegger R.E., 1997：Observations on the female reproductive cycle of captive giant tortoises (*Geochelone spp.*) using ultrasound scanning. Journal of Zoo and Wildlife Medicine, **28**, 267-273.

Comussie D.K.C., and Owens D.W., 1990：A quantitative analysis of courtship behavior in captive green sea turtles (*Chelonia mydas*). Herpetologica, **46**, 195-202.

Craven K.S., Parsons J., Taylor S.A., Belcher C.N., and Owens D.W., 2008：The influence of diet on fatty acids in the egg yolk of green sea turtles, *Chelonia mydas*. Journal of Comparative Physiology B, **178**, 495-500.

Dobbs K.A., Miller J.D., Owens D.W., and Landry A.M., 2007：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, **13**, 151-157.

Fontaine C., and Shaver D.J., 2005：Head-starting the Kemp's ridley sea turtle, *Lepidochelys kempii*, at the NMFS Galveston laboratory, 1978-1992: a review. Chelonian Conservation and Biology, **4**, 838-845.

Gilman C.A., and Wolf B.O., 2007：Using portable ultrasonography as a non-destructive method for

estimating reproductive effort in lizards. The Journal of experimental biology, **210**, 1859-1867.

Heck J., MacKenzie D.S., Rostal D., Medler K., and Owens D., 1997 : Estrogen induction of plasma vitellogenin in the Kemp's ridley sea turtle (*Lepidochelys kempii*). General and Comparative Endocrinology, **107**, 280-288.

Hitchins P.M., Bourquin O., and Hitchins S., 2004 : Nesting success of hawksbill turtles (*Eretmochelys imbricata*) on Cousine Island, Seychelles. Journal of Zoology, **264**, 383-389.

Ho S., 1987 : Endocrinology of vitellogenesis, in "Hormones and reproduction in fishes, amphibians, and reptiles" (ed. by Norris D.O., Jones R.E.), Plenum Press, New York, pp.145-169.

Huff J.A., 1989 : Florida (USA) terminates "head-start" program. Marine Turtle Newsletter, **46**, 1-2.

Jessop T.S., Limpus C.J., and Whittier J.M., 2004 : Comparison of plasma androgen profiles in green and hawksbill sea turtles inhabiting Queensland waters. Australian Journal of Zoology, **52**, 293-301.

Joaquin B.B., 1980 : Attempts of protect hawksbills in a Venezuelan National Park. Marine Turtle Newsletter, **14**, 4-5.

Kamel S.J., and Delcroix E., 2009 : Nesting ecology of the hawksbill turtle, *Eretmochelys imbricata*, in Guadeloupe, French West Indies from 2000-07. Journal of Herpetology, **43**, 367-376.

Kamezaki N., 1989 : The nesting sites of sea turtles in the Ryukyu Archipelago and Taiwan. Current Herpetology in East Asia, 342-348.

Kime D.E., 1987 : The steroids, in "Fundamentals of Comparative Vertebrate Endocrinology" (ed. by Chester-Jones I., Ingleton P.M., Philips J.G.), Plenum Press, New York, pp.3-56.

Kobayashi M., Shimizu T., Yoseda K., 2006 : 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, pp.13-15.

Lance A.V., Rostal D.C., Elsey R.M., and Trosclair P.L., Ultrasonography of reproductive structures and hormonal correlates of follicular development in female American alligators, *Alligator mississippiensis*, in southwest Louisiana. General and Comparative Endocrinology, **162**, 51-256.

Licht P., Wood J.F., Owens D.W., and Wood F.E., 1979 : Serum gonadotropins and steroids associated with breeding activities in the green sea turtle *Chelonia mydas*. General and Comparative Endocrinology, **39**, 274-289.

Licht P., Owens D.W., Cliffton K., and 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, **48**, 247-253.

Licht P., Wood J.F., and Wood F.E., 1985 : Annual and diurnal cycles in plasma testosterone and thyroxine in the male green sea turtle *Chelonia mydas*. General and Comparative Endocrinology, **57**, 35-344.

Limpus C.J., 1992 : The hawksbill turtle, *Eretmochelys imbricata*, in Queensland: population structure within a southern Great Barrier Reef feeding ground. Wildlife Research, **19**, 489-506.

Limps C.J., and Reed P., 1985 : The loggerhead turtle, *Caretta caretta*, in Queensland: observation on internesting behavior. Australian Wildlife Research, **12**, 535-540.

Limpus C.J., Miller J.D., Baker V., and McLachlan E., 1983 : The hawksbill turtle, *Eretmochelys imbricata* (L.), in north-eastern Australia: the Campbell Island rookery. Australian Wildlife Research, **10**, 185-197.

Lutcavage M.E., Plotkin P., Witherington B., Lutz P.L., 1997 : Human impacts on sea turtle survival, in "The Biology of Sea Turtles" (ed. by Lutz P.L., Musick J.A.), CRC press, Florida, pp.387-409.

Márquez M.R., 1990 : FAO species catalogue, Vol.11 sea turtles of the world. An Annotated and illustrated catalogue of sea turtle species known to date, FAO, Rome.

Meylan A.B., and Donnelly M., 1999 : 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, **3**, 200-224.

Meylan A.B., 1999 : International movements of immature and adult hawksbill turtles

(*Eretmochelys imbricata*) in the Caribbean region. Chelonian Conservation and Biology, **3**, 189-194.

Miller JD. Reproduction in sea turtles, in "The Biology of Sea Turtles" (ed. by Lutz P.L., Musick J.A.), CRC press, Florida, 387-409.

Moncada F., Carrillo E., Saenz A., and Nodarse G., 1999 : Reproduction and nesting of the hawksbill turtle, *Eretmochelys imbricata*, in the Cuban Archipelago. Chelonian Conservation and Biology, **3**, 257-263.

中古賀文樹, 亀崎直樹, 岩瀬文人, 1994 : ウミガメは減っているか～その保護と未来～, 第1版, 紀伊半島ウミガメ情報交換会, 和歌山, pp.24-27.

Owens D.W., 1980 : The comparative reproductive physiology of sea turtles. American Zoologist, **20**, 549-563.

Owens D.W., 1997 : Hormones in the life history of sea turtles, in "The Biology of Sea Turtles" (ed. by Lutz P.L., Musick J.A.), CRC press, Florida, pp.315-341.

Owens D.W., 1999 : Reproductive cycles and endocrinology, in "Research and Management Techniques for the Conservation of Sea Turtles No.4" (ed. by Eckert K., Bjorndal K.A., Abreu-Grobois F.A., Donnelly M.), Consolidated Graphic Communications, Pennsylvania, pp.119-123.

Owens D.W., 2000 : Reproductive problems in captive and wild sea turtles, in "Proceedings of the eighteenth international sea turtle symposium" (compile by Abreu-Grobois F.A., Briseño-Dueñas R., Márquez R., Sarti L.), U.S. Department of Commerce NOAA technical Memorandum NMFS-SEFSC-436, pp.2.

Owens D.W., and Morris Y.A., 1985 : The comparative endocrinology of sea turtles, Copeia, **5**, 723-735.

Pilcher N.J., and Ali L., 1999 : Reproductive biology of the hawksbill turtles, *Eretmochelys imbricata*, in Sabah Malaysia. Chelonian Conservation and Biology, **3**, 330-336.

Pritchard P.C.H., 1997 : Evolution, phylogeny, and current status, in "The Biology of Sea Turtles" (ed. by Lutz P.L., Musick J.A.), CRC press, Florida, pp.1-28.

Rérez-Castañeda R., Salum-Fares A., Defeo O., 2007 : Reproductive pattern of the hawksbill turtle *Eretmochelys imbricata* in sandy beaches of Yucatan Peninsula. Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom, **87**, 815-824.

Rostal D.C., 2005 : Seasonal reproductive biology of the Kemp's ridley sea turtle (*Lepidochelys kempii*): comparison of captive and wild population. Chelonian Conservation and Biology, **4**, 788-800.

Rostal D.C., Grumbles J.S., Palmer K.S., Lance V.A., Spotila J.R., and Paladino F.V., 2001 : Changes in gonadal adrenal steroid levels in the leatherback sea turtle (*Dermochelys coriacea*) during the nesting cycle. General and Comparative Endocrinology, **122**, 139-147.

Rostal D.C., Paladino F.V., Patterson R.M., and Spotila J.R., 1996 : Reproductive physiology of nesting leatherback turtles (*Dermochelys coriacea*) at Las Baulas National Park, Costa Rica. Chelonian Conservation and Biology, **2**, pp.230-236.

Rostal D.C., Robeck T.R., Owens D.W., and Kraemer D.C., 1990 : Ultrasound imaging of ovaries and eggs in Kemp's ridley sea turtles (*Lepidochelys kempii*). Journal of Zoo and Wildlife Medicine, **21**, 267-273.

Sato F., and Madriasau B.B., 2001 : Preliminary report on natural reproduction of hawksbill sea turtle in Palau. Marine Turtle Newsletter, **55**, 12-14.

Shaver D.J., and Wibbels T., : Head-starting the Kemp's ridley sea turtle, in "Biology and conservation of ridley sea turtles" (ed. by Plotkin P.T.), The Johns Hopkins University Press, Maryland., pp.297-323.

Shimizu T., Asami K., Yamamoto K., Dan S, Yoseda K., 2005 : 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, pp.69-74.

Simon M.H., Ulrich G.F., and Parkes A.S., 1975 : The green sea turtle (*Chelonia mydas*): mating, nesting, and hatching on a farm. Journal of Zoology, **177**, 411-423.

Solomon S.E., Baird T., 1979 : Aspects of the biology *Chelonia mydas* L. Oceanography and Marine Biology: An Annual Review, **17**, 347-361.

Spotila J.R., 2001 : Sea turtles: a complete guide to their biology, behavior, and conservation. Johns Hopkins University Press, Maryland.

Steiner T., 2001 : Guest editorial: Japan hawksbill import ban-too early to rest on our laurels! Marine Turtle Newsletter, **56**, 24-26.

社団法人水産資源保護協会, 1998 : 日本の希少な野生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, pp.236-245.

Tucker A.D., and Limpus C.J., 1997 : Assessment of reproductive status in Australian freshwater crocodiles (*Crocodylus johnstoni*) by ultrasound imaging. Copeia, **4**, 851-857.

Uchida I., Nishiwaki M., 1982 : Sea turtles in the waters adjacent to Japan, in "Biology and Conservation of Sea Turtles" (ed. by Bjorndal K.), Smithsonian Institution Press, Washington D.C., pp.317-319.

Ulrich G.F., and Parkes A.S., 1978 : The green sea turtle (*Chelonia mydas*): further observations on breeding in captivity. Journal of Zoology, **185**, 237-251.

ウミガメ保護ハンドブック（2007）, 第7版, 特定非営利活動法人日本ウミガメ協議会, 大阪, pp.12.

van Dam R.P., and Diez C.E., 1998 : Caribbean hawksbill turtle morphometrics. Bulletin of Marine Science, **62**, 145-155.

van Dam R.P., and Diez C.E:, 1997 : Home range of immature hawksbill turtles (*Eretmochelys imbricata* (Linnaeus)) at two Caribbean Island. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, **220**, 15-24.

Whittier J.H., Corrie F., and Limpus C.J., Plasma steroid profiles in nesting loggerhead turtles (*Caretta caretta*) in Queensland, Australia: Relationship to nesting episode and season. General and Comparative Endocrinology, **106**, 39-47.

Wibbels T., Owens D.W., and Amoss M.S., 1987 : Seasonal changes in the serum testosterone titers of loggerhead sea turtles captured along the Atlantic coast of the United States, in "NOAA Technical Report NMFS 53 Ecology of East Florida Sea turtles" (ed. by Witzell W.N.), National Fisheries Service, Washington D.C., pp.59-64.

Wibbels T., Owens D.W., Limpus C.J., Reed P.C., and Amoss M.S., 1990 : Seasonal changes in serum gonadal steroids associated with migration, mating, and nesting in the loggerhead sea turtle (*Caretta caretta*). General and Comparative Endocrinology, **79**, 154-164.

Witzell W.N., 1985 : 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, **11**, 46-51.

Witzell W.N., and Banner A.C., 1980 : The hawksbill turtle (*Eretmochelys imbricata*) in Western Samoa. Bulletin of Marine Science, **30**, 571-579.

Wood V.E., 1986 : Breeding success of hawksbill turtles *Eretmochelys imbricata* at Cousin Island, Seychelles and the implications for their conservation. Biological Conservation, **37**, 321-332.

Wood J.R., Wood F.E., 1980 : Reproductive biology of captive green sea turtles *Chelonia mydas*. American Zoologist, **20**, 499-505.

Xavier R., Barata A, Cortez P.L., Queiroz N., and Cuevas E., 2006 : Hawksbill turtle (*Eretmochelys imbricata* Linnaeus 1766) and green turtle (*Chelonia mydas* Linnaeus 1754) nesting activity (2002-2004) at el Cuyo beach, Mexico. Amphibia Reptilia, **27**, 539-547.

與世田兼三, 清水智仁, 2006 : 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, **72**, 476-479.

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

小林真人
（西海区水産研究所亜熱帯研究センター八重山庁舎）

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，主に熱帯から亜熱帯のサンゴ礁海域に生息している。日本における本種の分布は伊豆半島以南であるが，産卵の北限は南西諸島であり，その産卵個体数は非常に少ない。本種は，古くからタンパク源の一つとして肉や卵が食用に供されてきただけではなく，剥製や甲羅を用いた工芸品（日本ではべっ甲細工）の原料としても世界各地で利用されてきた。しかし，乱獲などによって生息数は減少し，本種は国際自然保護連合のレッドリストの絶滅危惧ＩＡ類に記載されている。また，本種をはじめとしたウミガメ類の保護対策の一環として，ワシントン条約によって国際的な商取引が禁止されている。そして，このことによって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。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は人工飼育した仔ガメの放流（Head-Starting）による本種資源の回復を目指し，本種の増殖技術の研究開発を開始した。Head-Starting を行うためには，安定的な採卵と仔ガメの確保が不可欠であり，そのためには親ガメの繁殖機構を解明することが重要である。そこで，本研究は飼育条件下における本種の繁殖生理や繁殖生態を解明することを目的とした。

第１章では，雄の血漿テストステロン濃度の変動と交尾行動を調べ，性成熟とテストステロン濃度との関係を明らかにし，雄の繁殖周期は毎年であることがわかった。また，直甲長，尻尾の長さ，TE（直甲長に対する尻尾の長さの比率）などの外部形態を指標として雄の性成熟の状態を調べたところ，TE を指標とすることで簡便に雄の性成熟を判定できることがわかった。

第２章では，雌の血漿エストラジオール－17β濃度の変動と卵巣の発達状態を調べ，エストラジオール－17β濃度と卵巣の発達の関係を明らかにした。また，雌の繁殖周期は野生個体と同様に２～３年であること，飼育条件によっては毎年成熟できる可能性があることが示唆された。

第３章では，2006年から2009年にかけて雌の繁殖生態を調べ，産卵数，産卵回数，産卵間隔，ふ化仔ガメの大きさは，野生タイマイの既存の報告例と大きな違いは認められなかったが，ふ化率は野生個体の事例よりも著しく低いことが明らかになった。

第４章では，第１章から第３章までの結果をもとに総合考察を行った。飼育条件下のタイマイの性ホルモンの動態は，野生個体のものと同様の変動パターンを示し，飼育条件下であっても正常に性ホルモンが分泌されていることがわかった。交尾期は４月下旬から５月であったが，雌が雄の交尾を受け入れる期間は短いことが示唆された。このことから，確実に交尾をさせ

るためにはこの期間を逃さずに雌雄を同居させて交尾させる必要がある。交尾からふ化までの繁殖生態は，野生個体の報告事例と大きな差はなかったものの，飼育条件下ではふ化率が非常に低いことが明らかとなった。今後タイマイの増養殖をさらに推進するためには，ふ化率を向上させる研究が急務である。