

## 人間による環境改変と温度性決定を行う野生動物の保全

The alternation of environment and the protection of wild animals with temperature-dependent sex determination

代表研究者 九州大学医学部公衆衛生学講座助手 徳永章二  
Department of Public Health, Faculty of Medicine, Kyushu Univ.  
Shoji TOKUNAGA

The aim of this study is to clarify the temperature-dependency of sex determination in sea turtles, to establish the methodology of experiments on incubation of sea turtles, and to contribute to protect wild animals with temperature-dependent sex determination. The sea turtles used in this study were *Chelonia mydas* in Ogasawara Is. and *Caretta caretta* in Miyazaki prefecture both in Japan. Their eggs were collected there and sent to Kyushu University, Fukuoka, Japan. The eggs were incubated at constant temperatures, 28, 29, 30 and 31°C. Total number of eggs incubated were 262 for *C. mydas* and 252 for *C. caretta*. The turtles successfully hatched in the laboratory. Hatching success was high, 0.805 for *C. mydas* and 0.736 for *C. caretta*. The relationship between incubation temperature ( $T$ ) and incubation period ( $D$ ) was regressed as,  $D=450.97 \cdot 10^{-0.03069 \cdot T}$  for *C. mydas* and  $D=762.04 \cdot 10^{-0.03846 \cdot T}$  for *C. caretta*. The sex ratio, male/(male + female), was affected by incubation temperature. It was 0.67, 0.47, 0.11 and 0.00 at 28, 29, 30 and 31°C respectively. The result suggests that the alternation on nesting grounds of sea turtles greatly influence the sex ratio of hatched sea turtles.

### 研究目的

今回の研究の目的は、第一にウミガメ類において孵卵温度が性決定に及ぼす影響を知るための基礎的データを集め、次に人間による環境改変下におけるウミガメ類、さらには野生爬虫類の保護を行う上での方策を探ることにある。

近年爬虫類において温度性決定という現象が知られるようになった。これは卵が受精した時には雄雌が決まっておらず、胚が発生する途中の温度によって性が決まるという現象である。温度性決定の種は、脊椎動物ではほとんどが爬虫類に属している。

このような性決定様式を持つ種では環境要因がその種の性比に影響を及ぼすと予想される。すなわち産卵場の環境の変化は巢の温度を上昇あるいは下降させ得るので、雄あるいは雌の増加をもたらす可能性がある。また、人間による環境改変によってウミガメに利用できる海岸線が地理的に北、あるいは南に偏在するようになるとこれも性

比へ影響すると考えられる。もし人間の諸活動が性比を変化させていけばウミガメが存続する上でさまざまな影響が生ずると考えられる。雄が増加すると増殖率が低下するであろうし、雄の極端な減少は卵の受精率の低下をもたらす、やはり繁殖に問題が起ると予想される。しかし、ウミガメの温度性決定に関しては研究の歴史も浅く、世界的にも基礎的な資料さえ不足している。特に日本を中心とした北西太平洋域のウミガメの温度性決定に関する知識は皆無と言ってよい。

そこで当研究では日本に産卵するウミガメ2種について、(1)温度性決定の有無とその様式、(2)その研究遂行上必要な技術の確立、(3)ウミガメの孵卵に関する基礎的な資料を得ることを目的とした。具体的にはウミガメ卵の輸送方法の評価と確立、孵卵方法の確立、温度と孵卵期間の関係、性判別の方法の確立、温度と孵化個体の性比の関係の調査を行った。

なお、当初の計画では小笠原島に産卵するアオ

ウミガメのみで実験を行う予定であったが、アカウミガメについても材料の提供を受けることができたので両種を対象として研究を行った。アオウミガメについては小笠原海洋センターより採卵、卵の輸送に協力していただき、アカウミガメについては宮崎大学の中島義人氏より採卵、卵の輸送に御協力いただいた。両者の御協力に感謝致します。

#### 研究経過

アオウミガメ、アカウミガメ両種とも砂浜で母ガメが産卵した後、採卵し、卵を九州大学理学部生態学研究室まで輸送して4段階の温度で孵卵した。孵化後、稚ガメを解剖、固定し光学顕微鏡標本を作成して性を判別した。以下研究方法とともに詳しく述べる。

小笠原海洋センターでは産卵期の初めに捕獲されたアオウミガメを蓄養し、産卵させている。徳永は1989年6月13日より22日まで小笠原島に滞在し、ウミガメの生態調査に参加するとともに、海洋センターの採卵に協力した。実験には3クラッチ(=1腹卵、1回で産まれた卵のこと)を使用した。2クラッチは実験者である徳永が船便で東京まで運んだ。その2クラッチの内、1クラッチは航空機の機内持ち込みで福岡まで持ち帰り、もう1クラッチは携帯荷物として航空機の貨物室で福岡まで運ばれた。両者ともX線検査装置には運されていない。最後の1クラッチは宅配便で送られた。それぞれのクラッチの産卵日、卵数は次のとおりである。クラッチ1, 1989年6月20日産卵, 113個; クラッチ2, 6月21日産卵, 136個; クラッチ3, 6月20日産卵, 89個。

宮崎の日南海岸では毎年アカウミガメが多数産卵している。この自然状況下の産卵場より、宮崎大学の中島義人氏らがアカウミガメの卵を採卵し、九州大学まで宅配便により輸送した。それぞれのクラッチの産卵日、卵数は次のとおりである。クラッチ1, 6月30日産卵, 127個; クラッチ2, 7月2日産卵, 135個; クラッチ3, 7月2日産卵, 138個。

孵卵は九州大学理学部生態学研究室においてインキュベーター内で温度を調節しながら行われ

た。孵卵に用いた容器は大型のバット、バケツ又は水槽で、パーミキュライト(園芸用の土)または砂を湿めさせたものを敷き、卵を並べ、その上に細い目の網を置いて、再びパーミキュライトまたは砂を薄くかぶせた。乾燥し過ぎないように時々霧吹きにより水を補充した。孵卵温度はアオウミガメ、アカウミガメ共に28°C, 29°C, 30°C, 31°C一定で行った。一部は将来予定している研究のための予備実験として温度を途中で変化させたり、毎日変動させたりした。

孵化した稚ガメは性の判別のために解剖した。まず、麻酔薬を少量心臓に直接注入し、安楽死させた。稚ガメは苦しむ様子を見せず短時間に(10秒以内)死亡した。これら一連の作業は稚ガメに苦痛を与えないよう留意した。組織の損傷を防ぐため直ちに解剖し、生殖器を露出させた状態で10%中和ホルマリンにより固定した。十分長時間(1カ月以上)固定した後、生殖器を周りの腎臓などと一緒に切り出し、光学顕微鏡標本を作成した。標本は光学顕微鏡での検鏡により組織の構造から雌雄を判定した。

#### 研究結果

本報告書では当初の目的である一定温度での孵卵実験の結果を以下に記す。

各クラッチ(1腹卵)は以下のように分けられ、それぞれ一つの容器に入れて孵卵された。しかし、孵卵の途中でインキュベーターの故障(数時間温度が下がった)などにより非常に孵化率が悪かった場合は除いた。また、変動温度で孵卵した例は記していない。

##### アオウミガメ

クラッチ1: 28°C 15個×1; 29°C 15個×2;  
30°C 15個×2, 20個×1;  
31°C 15個×1

クラッチ2: 28°C 18個, 15個各1; 29°C 18個, 15個各1; 30°C 18個, 15個各1; 31°C 18個, 15個各1

クラッチ3: 28°C 20個

孵卵温度でまとめると、28°C区4容器、29°C区4容器、30°C区5容器、31°C区3容器であった。

## アカウミガメ

クラッチ1: 28°C 28個; 29°C 28個; 30°C 28個; 31°C 28個

クラッチ2: 28°C 28個; 29°C 28個; 30°C 28個; 31°C 28個

クラッチ3: 29°C 28個

孵卵温度でまとめると、28°C区2容器、29°C区3容器、30°C区3容器、31°C区2容器であった。

### 孵化率

孵卵温度ごとの孵化率は、アオウミガメで0.805 (標本数 {N}=16, 標準偏差 {SD}=0.112, 最小値 {MIN}=0.556, 最大値 {MAX}=0.933), アカウミガメで0.736 (N=9, SD=0.119, MIN=0.536, MAX=0.929)と両種とも高かった。アオウミガメの方が高かったが、分散分析によると差は有意ではなかった (有意水準5%, 以下同じ)。

孵卵温度別ではアオウミガメで、28°C, 0.781 (N=4, SD=0.113); 29°C, 0.831 (N=4, SD=0.073); 30°C, 0.785 (N=5, SD=0.165); 31°C, 0.837 (N=3, SD=0.084), 一方アカウミガメでは、28°C, 0.697 (N=2, SD=0.076); 29°C, 0.732 (N=3, SD=0.099); 30°C, 0.875 (N=2, SD=0.076); 31°C, 0.643 (N=2, SD=0.151)であった。両種とも孵卵温度間の孵化率の差は有意ではなかった。

### 孵卵期間

孵卵期間は孵卵温度によって変化した。アオウミガメでは28°Cで63.4日 (N=53, SD=3.09), 29°Cで57.2日 (N=52, SD=1.35), 30°Cで53.6日 (N=74, SD=1.83), 31°Cで51.4日 (N=40, SD=1.11)と孵卵温度の上昇とともに孵卵期間は減少した。しかし、孵卵期間の減少傾向は孵卵温度の上昇とともに小さくなった。アカウミガメでも同様な傾向が見られた。すなわち、28°Cで66.3日 (N=39, SD=1.12), 29°Cで56.5日 (N=64, SD=1.13), 30°Cで53.4日 (N=49, SD=1.06), 31°Cで50.0日 (N=36, SD=0.63)であった。

孵卵温度と孵卵期間の間は直線関係となっていないので、孵卵期間の対数を取り、孵卵温度と回帰を行った。結果はアオウミガメで

$$D=450.97 \cdot 10^{-0.03069 \cdot T}$$

アカウミガメで

$$D=762.04 \cdot 10^{-0.03846 \cdot T}$$

であった。ただし、 $T$ =孵卵温度 (°C),  $D$ =孵卵期間 (日) である。

$r^2$  (回帰係数の二乗) は前者で0.802, 後者で0.885と高く、正確な回帰式が得られたと言える。

### 稚ガメの性比

孵卵温度と孵化個体の性比の関係について明らかにするため、一部の個体について生殖器の光学顕微鏡標本を作成した。すなわち、固定、脱水、パララスト包埋の後、ヘマトキシリン、エオシン染色を行った。検鏡した結果、組織の形態により雌雄を判別できることが明らかになった。

孵化個体の性比 (全個体に占める雄個体の割合) は孵卵容器ごとに大きく異なっていて、雌雄1:1から大きく偏っていた。性比を孵卵温度によって集計するとはっきりとした傾向が見られた。すなわち、アオウミガメでは28°Cで0.67 (N=9), 29°Cで0.47 (N=19), 30°Cで0.11 (N=18), 31°Cで0.00 (N=15)と温度の上昇とともに性比は低下した。アカウミガメは孵卵温度31°Cの場合のみ調べたが、9個体全部が雌であった。

以上まとめると、アオウミガメ、アカウミガメの卵は両種とも航空機による搬送、宅配便による輸送に耐えることが実証された。また、今回の孵卵方法でアオウミガメ、アカウミガメ両種とも実験に十分な孵化率が得られた。孵化率は種間、孵卵温度間の差は有意ではなく、種、孵卵温度が違っても同様に高かった。今回の実験で孵卵実験に必要な基礎技術を十分に開発、証明できたと思う。

孵化期間は他の変温動物と同様に孵卵温度によって影響された。野外では孵卵温度を直接測定するのは困難である。しかし、今回の実験で明らかになった孵卵温度と孵卵期間の関係により、孵卵期間を測定すれば孵卵温度を推定することができる。今後のウミガメ研究に寄与できる知見であった。

孵卵温度と孵化個体の性比の関係より、日本産

のアオウミガメで温度性決定を行っていることが明らかになった。北西太平洋産のウミガメで温度性決定が観察されたのは今回が初めてである。性決定様式は他の地方のアオウミガメと同様で低温で雄、高温で雌が生じた。雌雄が切り替わる温度は29℃付近であった。雌雄が切り替わる温度は大変狭く、ほんの2℃の差で性比が0.5以上変化することが明らかになった。アカウミガメについてはデータの解析が完全ではないが、海外の研究との比較により、この種でも同様な性決定を行っているかと推測された。

#### 今後の課題と発展

今回の助成研究により現時点までに上記のような成果を挙げることができたが、なおいくつかの課題が残されている。

今回の結果からアオウミガメが温度性決定を行っていることが明らかになったが、性が切り替わる温度(=臨界温度)については詳しく調べられなかった。まだ固定されたまま保存されている標本が多数残されているので、これらを処理することによって厳密な値を求めたい。また、アカウミガメについても温度性決定の様式、臨界温度ともにより研究を進めたい。

さて、本研究でウミガメ類の温度性決定の実験的研究に必要な技術の基礎は確立できたので、この方法を進めれば一定温度下における温度性決定の現れ方はより詳しく明らかにされるであろう。実験的研究で残されている問題の中で最も重要なものは、「孵卵中のどの時期に性が決定されるか」である。このためには孵卵の途中で温度を変化させ、どの時期の温度で性が決まっているかを明らかにする必要がある。今回は労力、時間の制限と実験装置の数、実験室の面積の関係から行えなかった。

また、生態学的な問題については多くの課題が残されていて、その研究のためには全く異なったアプローチが必要となる。生態学的に重要な問題とは、温度性決定が自然界でどのように働いているか、そして、ウミガメの生活が温度性決定によってどのような影響を受けているかである。

今回の実験は室内の一定温度での結果であっ

た。自然界でも温度性決定が同じように起きているか確かめる必要がある。また、野外では日射、気象条件、季節などの条件で孵卵中の温度は変化する。これらの要因が稚ガメの性比にどのような影響を及ぼしているか、明らかにする必要がある。

次に温度性決定のためにウミガメの生活にどのような影響が現れているのかを調べたい。果たして孵化個体の性比は偏っているであろうか。一つの巣の性比は偏っているであろうか、一つの海岸の1年の産卵期に生まれてくる孵化個体の性比は全体として偏っているであろうか、また、季節的に変化するであろうか。さらに成体のウミガメの性比の値についても明らかにする必要がある。これらの問題は個人が短期間でやり遂げるには不可能な課題である。

今回の研究で雌雄が切り替わる温度は大変狭いことが明らかになった。このことから野外でもほんの数℃の違いで一つの巣の孵化個体が雄または雌に大きく偏ると予想される。このため海岸が人間の活動などによって変化すると(それが小さいものであっても)ウミガメの孵化個体の性比は大きな影響を受けると推測される。海岸の樹木の伐採、砂浜の砂の色の変化、砂浜の奥行の減少、といった人間による環境改変、変更は、日射量の増加、日射吸収量の変化、営巣場所の移動をもたらす、そのため砂内の温度環境も変化する、稚ガメの性比に影響を及ぼすであろう。

また、雌雄が切り替わる温度帯が狭いことは、ウミガメの産卵場の地理的な位置により稚ガメの性比が異なると十分に予測できる。ウミガメの産卵場を保護する場合でも特定の大規模な産卵場を確保するだけでは稚ガメの性比の偏りを生ずる可能性が高い。ウミガメの保護のためには、小規模な産卵場も軽んずるとなく、地理的に偏ることなく海岸を保全することが必要になる。

近年、ウミガメ類は世界的に個体数の減少、絶滅の危機が憂慮されている。北西太平洋のアオウミガメは小笠原を主要な営巣場所としている。また、日本列島は北西太平洋に生息するアカウミガメの唯一の産卵場であると推測されている(京都

大学亀崎氏の日本爬虫両生類学会での報告による)。日本は北西太平洋におけるウミガメ保護に対して最も重要で、責任を持つ国なのである。産卵場の科学的な管理、保全に努めウミガメ保護に貢献するために、温度性決定という特殊な性決定様式とウミガメの生態の研究に力をそそぐ必要がある。

#### 発表論文

- 徳永章二(1989):「ウミガメの孵化個体を何頭犠牲にすべきか?—観察した個体数と性比の信頼幅との関係—」, うみがめニュースレター, No. 4: 9-13.
- 徳永章二(1991):「日本産ウミガメ2種の温度性決定に関する観察(予報)」, うみがめニュースレター, No. 7: 3-7.