

## 研究ノート

# アカウミガメ孵化幼体の遊泳活性の経時変化

藤本竜平<sup>1)</sup>・和田真央子<sup>1)</sup>・小林翔平<sup>2)</sup>・熊澤佳範<sup>3)</sup>・斉藤知己<sup>1),4)\*</sup>

### 要旨

絶滅危惧種であるウミガメ類の保護と環境教育を名目として「放流会」が国内各所で行われているが、ウミガメの幼体には脱出後、「フレンジー」とよばれる著しく運動活性の高い興奮状態があるため、これに対する配慮が望まれる。本研究では、泳力データ集積システムによりアカウミガメ幼体のフレンジーの強度と持続性を定量し、さらに、各血中成分の濃度を測定してフレンジーを生理学的観点から考察することで、放流事業を行う場合の幼体の保管の条件、期間等についての適切な取扱いについて提言することを目的とした。アカウミガメの幼体の遊泳活性は脱出直後が最も高く、1日後に測定開始時の値から半減し、その後も経時的に低減する傾向を示した。グルコース濃度も3日目以降は減少し続けた。ウミガメ幼体の遊泳活性の強度は刻一刻と低減していくため、孵化場等の施設においては幼体を保管することは避け、出来る限り早く海へ放つことが望ましい。

キーワード：フレンジー、グルコース、コルチコステロン、放流事業

南日本の黒潮流域圏の海岸は絶滅危惧種アカウミガメ (*Caretta caretta*) の北太平洋群の唯一の産卵場として有名である (松沢 2012b)。国内における産卵地各所では地域の保護団体などの活動により、本種北太平洋群の産卵の実態と同集団の遺伝的な構造が明らかにされつつあり (Matsuzawa et al. 2016)、本邦海岸の重要性の認識はさらに高まっているといえる。しかし、近年、本邦の海岸は砂浜の侵食等の自然環境の悪化により (出口 2004)、高波で産卵巣の大多数が冠水または流出してしまう恐れがあるほか、車両進入により卵が踏みつけられるなどの脅威も抱えている (紀伊半島ウミガメ情報交換会・日本ウミガメ協議会 1994)。そこで、多くの産卵地では人工孵化場を設けて卵を移植し、孵卵および幼体の孵化に至るまでの管理を行い、続いて得られた孵化幼体を放流する放流会などの事業を行っている。

ウミガメの卵の移植から幼体の放流に至るまでの過程を管理することには、自然の脅威や野生動物に

よる食害、盗掘などを回避できるだけでなく、施設内で地域住民や学生、観光客に脱出の様子や生体を観察する機会を創出でき、保全に関する社会教育、啓発普及に貢献できるなどのメリットがある。一方でそれら行為には数々のデメリットも指摘されている。例えば、発生中の卵の取扱いや移動行為自体によって孵化率が低下すること (Limpus et al. 1979、Mortimer 1999、山田・和田 2006)、一カ所に卵を集積することで孵卵温度が均一化して一次性比が人為的に攪乱されることなどが危ぶまれている (松沢・亀崎 2012)。

さらに、ウミガメの孵化幼体は脱出直後にフレンジーとよばれる運動活性の非常に高い興奮期を有する (Davenport 1997)。これは幼体が脱出直後に捕食者の多い沿岸域をできるだけ速やかに離れ、成育場である外洋に泳ぎ出るための性質と考えられている (石原 2012)。一方、運動活性が低下して動きが緩慢になった幼体は、砂浜を歩行して海に入るまでにスナガニ類などの動物に捕らわれやすい。また、たとえ海にたどり着いても大型魚類、海鳥などの捕食者に容易に捕えられる可能性が高い (Witherington and Salmon 1992、Whelan and Wyneken 2007、Witherington and Witherington 2015)。よって、フレンジーが終わってから幼体を放流してしまうと、外洋にたどり着く可能性が低く、

2018年2月14日受領；2018年3月7日受理

- 1) 高知大学理学部生物科学コース海洋動物学研究室  
〒781-1164 高知県土佐市宇佐町井尻194
  - 2) 東京農工大学大学院連合農学研究科生物生産科学専攻  
〒183-0054 東京都府中市幸町3-5-8
  - 3) 〒781-0315 高知県高知市春野町東諸木3302-1
  - 4) 高知大学総合研究センター海洋生物研究教育施設  
〒781-1164 高知県土佐市宇佐町井尻194
- \*連絡責任者 e-mail address: t-saito@kochi-u.ac.jp

被捕食や飢餓状態に陥って死んでしまうなど、沿岸域での生残が大きく低下することが予想される (Wyneken and Salmon 1992)。

放流会はたいてい休日に多くの参加者を募って行われるが、幼体の脱出を操作するのは困難であるため、参加人数に見合った放流個体数を開催予定日に間に合わせられるよう、その数日前から幼体を確保する必要が生じる。しかし、フレンジーの持続期間は脱出直後から約1日であるため (Wyneken and Salmon 1992)、放流当日には幼体は既にその活性を失って動きが緩慢になってしまう。このように、フレンジーというウミガメの幼体に生得的な性質への配慮を欠いて行う放流事業は、そもそもの希少野生生物の保護という前提に矛盾した行為となる可能性がある。

Wyneken and Salmon (1992) はアカウミガメの孵化幼体の脱出から6日目までの泳ぎに要した時間を調べ、泳ぎに費やされる時間が一日1440分中、初日に平均1300分、2日目に1000分、以後、減少して5日目に800分程度に低下することを報告した。だが、ここで示された「泳ぎ」にはBurgess et al. (2006) が肢の動きに基づいて区分したパワーストロークやドッグパドルが明確に区別されていない。特に、パワーストロークは後者と比べ、明確な力強さがあるため、これを区別した上で詳細に定量することで、フレンジー時の遊泳の強度や持続性の実態を明らかにできると考えられる。Pereira et al. (2011) は泳力集積データシステムを用い、アカウミガメの幼体の脱出から18時間後までの遊泳活性を調べた。その結果、測定した最大泳力 (mN)、平均泳力 (mN)、パワーストローク数 (回・分<sup>-1</sup>)、パワーストロークの割合 (%) のうち、ストローク数以外の3項目は測定開始直後に最高値を記録し、その後18時間まで低減する傾向を示した。しかし、この実験では18時間後以降の遊泳活性の経時変化については示しておらず、フレンジーが最終的にどのように収束していくかは不明である。

グルコースは血液や脳脊髄液に含まれている代表的な単糖で、生物が活動するためのエネルギー物質の一つである。ウミガメの幼体は摂餌によって外部からエネルギーを得ずとも、孵化から数日間は主として卵黄由来の栄養に依存することが知られる (Silas et al. 1984, Booth and Astill 2001, Trullas et al. 2006)。特に脱出直後のフレンジー期において、

グルコースは外部からの栄養に依存しなくても活発な運動を担保できる主要なエネルギー物質といえる。また、コルチコステロンは副腎皮質ホルモンの一種で、興奮時やストレス負荷時に分泌量が増加することからストレスホルモンとして知られ、ストレスレベルに関する主要な指標となる。さらに、このホルモンは血糖値を上昇させるほか、新陳代謝や免疫反応に関わり、生体の恒常性維持に重要な役割があるとされる。Pereira et al. (2012) はアカウミガメの孵化幼体の脱出から4時間後までの血中のグルコースとコルチコステロンの濃度の変動を調べ、生理学的観点からフレンジーの解明を試みた。その結果、どちらの物質も脱出直後に最高値を記録した後、脱出から2時間後まで低減する傾向であったこと、フレンジー期に嫌氣的代謝が行われていることなどが示された。

これまで、日本産のアカウミガメ幼体のフレンジー期および数日間の遊泳活性の強度を定量し、その持続性を記録した研究は行われてこなかった。またこの点について日本語で平易に解説された文献も無かった。そのため、各地のウミガメ幼体の放流事業では幼体を収容し保管する際に、フレンジーに関して特段の配慮がされることはなかったと思われる。したがって、放流事業の主体者にフレンジーという現象を強く意識してもらい、参加者への啓蒙を促すと同時に、幼体の生残率の向上も図るためには、このことに関して詳細なデータを提示して解説する必要がある。ウミガメの放流会では脱出後24時間以内の幼体が用いられているケースは少ないとみられる。よって、本研究では脱出から最大5日目まで幼体が保管されることを想定し、その間の幼体の遊泳活性の強度と持続性の経時的変化を明らかにした。さらに、Pereira et al. (2012) が行ったよりも長時間にわたってアカウミガメ幼体の血中グルコースおよびコルチコステロン濃度の変化を記録してフレンジーを生理学的な観点から考察した。

産卵海岸各地の環境劣化の状態は様々であり、砂浜内に孵化場を設けて卵を自然に近い状態で管理できる場所もあれば、砂浜の退縮により近接した場所にこれを設けることができず、卵を箱や孵卵器で管理せざるを得ない所もある。通常、砂中50–60 cmの深さに産み落とされた卵から孵化したウミガメの幼体は、その後数日かけて砂中を移動して表面に出る。この過程は「脱出」とよばれる (松沢 2012a)。

十分な砂深を備えた孵化場等の施設を用意することができれば、孵化幼体に脱出の過程を経験させることが可能であるが、箱や孵卵器を用いて孵卵した場合、孵化幼体はこの過程を経ない。本研究では、このような脱出の過程の有無によってフレンジーの強度や持続性が変わるか否かを考察することも目的とし、実験個体として脱出した個体と、産卵巣内部で脱出を完了していない脱出途中の個体を得て両者の遊泳活性を比較した。この結果と生理学的観点からの考察を合わせ、産卵海岸各地におけるアカウミガメの卵と孵化幼体の適切な取扱いについて提言することとした。

## 材料と方法

### 供試個体の概要

高知海岸（高知県高知市・土佐市）の長浜、戸原、仁ノ、新居地区において、2015年5月7日から8月10日まで、日の出とともにアカウミガメの上陸産卵痕跡調査を行った。実験には6月3日に戸原地区にて得た産卵巣1（clutch 1）、6月30日に仁ノ地区にて得た産卵巣2（clutch 2）を用いた。産卵巣は発見後、掘り出してから直ちに人工孵化場へ持ち運び、移植する際には卵塊中央に温度ロガー（Onset社製、TidbiT v2）を設置し、孵卵温度を測定した。また、孵化幼体の脱出を確認した産卵巣について、その数日後に孵化率調査を実施した。孵化率の定義は紀伊半島ウミガメ情報交換会・日本ウミガメ協議会（1994）に従った。実験区（experimental units）は3つ設定した。産卵巣から砂表に出た孵化幼体を「脱出（emerged, E）」、砂中で移動中の個体を「脱出途中（halfway, H）」と定義し、8月13日の孵化率調査の際、産卵巣1を掘り出した時に脱出途中として得られた個体を実験区1-halfway（1H）、産卵巣2から8月23日に脱出した個体を実験区2-emerged（2E）および8月26日の孵化率調査時に脱出途中として得られた個体を実験区2-halfway（2H）とした。なお、産卵巣から掘り出した個体のうち、一見して形態や動きに異常が確認されたものは実験個体から除外した。

### 泳力測定

得られた実験個体を直ちに高知大学総合研究センター海洋生物研究教育施設に持ち帰り、各実験区の

孵化幼体からランダムに選んだ3、4個体について、体重（BM, g）、標準直甲長（SCL, mm）、標準直甲幅（SCW, mm）を測定してサイズインデックス（Size index,  $SI = SCL \times SCW$ ,  $\text{mm}^2$ ）をもとめた。その後、個体識別のため油性白色マジックで背甲にマーキングを施し、海水を張った水槽（70 × 40 × 30 cm、プラスチック製）に收容した。この時を0時間とし、120時間後（5日目）まで12時間ごとに泳力データ集積システム（AD Instruments社、Power Lab 8/35、フォーストランスデューサMLTFO 50/ST、Fig. 1）を用い、20分間の泳力測定を行った（Burgess et al. 2006）。

孵化幼体とフォーストランスデューサを接続するハーネスは、アユの友釣りに用いられる胴締め仕掛け（カツイチ、OS7中）を応用して自作した（Fig. 2）。淡水魚用の仕掛けを海水で使用すると金属部分が錆びたり、糸が劣化したりするため、基本的に海釣り用の品を用いることとした。胴締め本体の糸

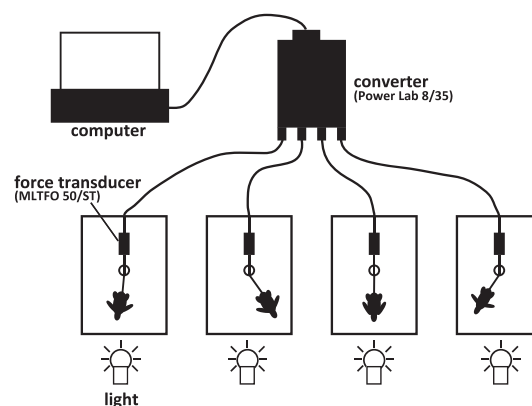


Fig. 1. Schematic diagram of experimental set up to measure the items for frenzy swimming in loggerhead turtle hatchlings.

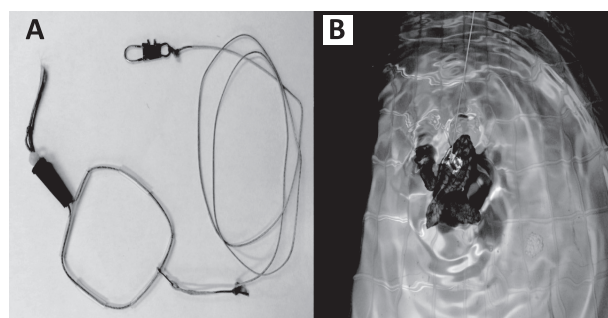


Fig. 2. (A) A harness made from a hookless rig for Ayu (sweet fish, *Plecoglossus altivelis*) fishing which weighed < 1.5 g; (B) a tethered loggerhead turtle hatchling with a harness.

および胴締めとフォーストランスデューサを繋ぐ糸は、ナイロン製の糸よりも軽量で伸びにくい性質を持ち、より正確な泳力が測定できると考えられるPEライン（SUNLINE、BASS SUPER PE-LINE 56lb #5）を使用した。胴締め仕掛けの輪の部分にはビニールチューブ（東邦産業株式会社、カラミ止パイプ0.8 mm）を施し、幼体の背甲側縁との接触部分を柔らかく、かつ太くすることで、これが実験個体の体を締め込む事態を防止した。また、この仕掛けには幼体の保定のために体に刺しこむような釣針類は一切使用せず、胴締めの輪の部分の留め具として、ウキゴム（第一精工株式会社、ウキゴムV型中）とウキゴム固定材（釣研、仕掛ヨーヅ小）を使用し、輪の径の調節を容易にした。胴締め仕掛けとそれに繋ぐPEラインの重量は1.5 g以下とした。胴締めに繋いだPEラインはスナップ付きタルカン（NT SWIBEL、5 クロ）でフォーストランスデューサに接続した。

20分間の泳力測定のうち、前半の10分間は馴化のための時間とみなし、後半10分間のうちの0 - 1、5 - 6、9 - 10分の計3分間のデータを抽出して解析に用いた。孵化幼体のフレンジー期における遊泳様式は、パワーストローク（powerstroke、両前肢で力強く泳ぐ行動で極大値が20 mN以上の連続した規則的な波形）、ドッグパドル（dogpaddle、両前肢を交互に動かす泳法で息継ぎの際に行う）、レスト（rest、動かず水面に浮いている状態）の3つに区別できる（Burgess et al. 2006）。本実験では最大泳力（maximum thrust、mN）、平均泳力（mean thrust、mN）、ストローク数（stroke rate、回・分<sup>-1</sup>）を測定項目とした。パワーストローク時の泳力は、アオウミガメのそれは一般的に35 - 45 mNの力が発生すること（Ischer et al. 2009）、アカウミガメの幼体の平均泳力はアオウミガメのその約半分であること（Pereira et al. 2011）を参考とし、さらに、本研究でアカウミガメ幼体のパワーストローク中に実際に観察した波形に基づき定義した。泳力測定を行った実験室の室温と水温は空調機にて26 - 28℃に保持し、水槽の内外に温度ロガー（Onset社、TidbiT v2）を設置して室温と水温を記録した。また、実験室は自然光を遮断し、蛍光灯にて7:00から19:00を明期、19:00から翌7:00までを暗期とした。暗期に泳力を測定する際は電気スタンド（27W、光量子約30）を1台ずつ各水槽の前に設置した。計測時以外は、

実験個体を上記と同一条件の別水槽にて無給餌で管理した。また、実験を終えた個体は、その数日以内に同施設の調査船で土佐湾の沖合から放流した。

#### 血中グルコースおよびコルチコステロン濃度

実験区1Hから得た泳力測定個体とは別の15個体を用い、0、24、72、120時間後に頸部静脈洞より血液約500 µlを注射器（テルモ社、テルモシリンジ注射針付、26G×1/2"、1 ml）にて採取した。採血は各供試個体につき一度だけ行い、それまで供試個体は泳力測定個体と同様の条件で保管した。採取した血液をヘパリン加チューブに入れて軽く転倒混和した後、遠心分離（6500 rpm ± 10% × 10分）を行い、血漿のみ採取して1.5 mlマイクロチューブに分注後、-80℃で冷凍保存した。グルコース濃度（blood glucose concentration）はグルコース CII-テストワコー（和光純薬工業株式会社）を用いて測定を行った。コルチコステロン濃度（blood corticosterone concentration）の測定は金坂ら（1992）の方法に従って測定した。

#### 統計処理

統計解析は有意水準を5%とした。泳力に関する項目の解析では、実験区（experimental units）、経過時間（time）を固定因子として扱い、目的変数とした最大泳力、平均泳力、パワーストロークのストローク数と共変量SIとの間に有意な回帰性が認められた場合は二元配置共分散分析を、認められなかった場合には二元配置分散分析を用い、その後の多重比較はFisherの最小有意差法を用いた。さらに、固定因子間の交互作用が認められた場合は単純主効果の検定を行い、その後の多重比較はFisherの最小有意差法を用いた。血中成分の解析では、経過時間（time）を固定因子、グルコース濃度またはコルチコステロン濃度を目的変数として一元配置分散分析を行い、その後の多重比較はFisherの最小有意差法を用いた。統計ソフトはExcel Statistics 2012 software package for Windows（SSRI、Tokyo）を使用した。各値は平均 ± 標準誤差で示した。

## 結果

## 産卵巣

産卵巣 1 (84卵) では 8 月 10 日に孵化幼体の脱出を確認して 8 月 13 日に孵化率調査を行い、孵卵温度、孵卵日数、孵化率は順に  $28.2 \pm 0.5^\circ\text{C}$ 、68 日、31.0% となった。産卵巣 2 (51卵) では 8 月 23 日に孵化幼体の脱出を確認して 8 月 26 日に孵化率調査を行い、孵卵温度、孵卵日数、孵化率は順に  $30.7 \pm 0.4^\circ\text{C}$ 、53 日、51.0% となった。

## 最大泳力

最大泳力は経過時間 ( $P < 0.001$ ) および実験区間 ( $P < 0.001$ ) に有意な差が認められた。また、経過時間  $\times$  実験区の交互作用が認められた ( $P < 0.05$ ; Tables 1 – 3、Fig. 3 A)。

実験区 1 H では 0 時間に最大値  $114.3 \pm 14.9$  mN を記録した後、12 時間後には 0 時間の値から半減して  $63.3 \pm 16.4$  mN となった ( $P < 0.01$ )。2 E では、24 時間後に 0 時間の約 40% である  $26.2 \pm 14.8$  mN に低下した ( $P < 0.05$ )。2 H では 0 時間に最大値  $97.3 \pm 29.2$

mN を記録した後、24 時間後に 0 時間の約 60% である  $55.1 \pm 20.5$  mN に、48 時間後に 0 時間の値から半減して  $45.1 \pm 14.3$  mN となった ( $P < 0.05$ )。

経過時間  $\times$  実験区の交互作用について単純主効果検定を行ったところ、60 時間 ( $P < 0.05$ )、84 時間 ( $P < 0.05$ )、96 時間 ( $P < 0.05$ )、120 時間 ( $P < 0.05$ ) において実験区の効果が有意であった。さらに、有意であったそれぞれについて Fisher の最小有意差法による多重比較を行ったところ、60 時間で 2H が 1H よりも ( $P < 0.05$ )、かつ 2E よりも ( $P < 0.05$ ) 有意に高

**Table 1. Results of two-way ANOVA or ANCOVA for differences in swimming variables in loggerhead turtle hatchlings.**  $F = F$  value,  $P =$  probability.

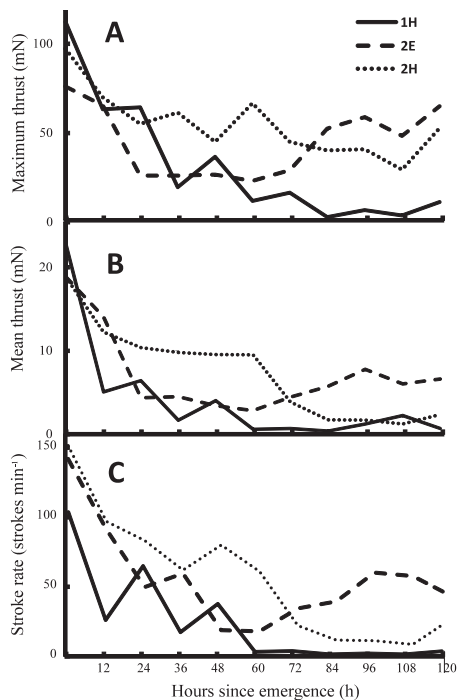
Factor	Maximum thrust (mN)	Mean thrust (mN)	Stroke rate (strokes $\text{min}^{-1}$ )
Experimental unit $F$	7.654	6.076	9.038
Experimental unit $P$	< 0.001	0.003	< 0.001
Time $F$	6.417	11.939	8.897
Time $P$	< 0.001	< 0.001	< 0.001
Experimental unit * time $F$	1.720	1.336	1.152
Experimental unit * time $P$	0.045	0.179	0.315

**Table 2.** Data of loggerhead turtle hatchlings in the present study. Mean  $\pm$  SE for hatchling variables and post hoc Fisher LSD multiple comparisons test between experimental units. 1H: clutch 1-halfway, 2E: clutch 2-emerged, 2H: clutch 2-halfway, BM: body mass, ED: egg diameter, SI: size index, -: not significantly different.

Variables	1H	2E	2H	Post hoc comparison	$P$ value
N	4	4	3		
ED (mm)	$39.6 \pm 0.8$	$41.6 \pm 0.1$		-	
BM (g)	$17.7 \pm 0.5$	$18.5 \pm 0.6$	$17.2 \pm 0.9$	-	
SI ( $\text{mm}^2$ )	$1327.1 \pm 54.5$	$1362.7 \pm 17.2$	$1345.0 \pm 90.9$	-	
Maximum thrust (mN)					
60 h	$12.0 \pm 7.5$	$23.2 \pm 9.7$	$66.7 \pm 9.2$	1H < 2H 2E < 2H	0.011 0.035
84 h	$2.9 \pm 1.5$	$52.5 \pm 16.5$	$40.2 \pm 12.7$	1H < 2E	0.014
96 h (day 4)	$6.8 \pm 3.8$	$59.0 \pm 22.7$	$40.9 \pm 16.5$	1H < 2E	0.010
120 h (day 5)	$11.3 \pm 7.3$	$65.0 \pm 15.9$	$52.6 \pm 11.8$	1H < 2E	0.008

**Table 3.** Post hoc Fisher LSD multiple comparisons test across experimental units (1H, 2E and 2H) in swimming variables of each data unit. 1H: clutch 1-halfway, 2E: clutch 2-emerged, 2H: clutch 2-halfway.

Variables	1H	2E	2H	Post hoc comparison	$P$ value
Maximum thrust (mN)	$31.1 \pm 5.6$	$45.7 \pm 5.1$	$34.9 \pm 5.3$	1H < 2H 1H < 2E	< 0.001 0.030
Mean thrust (mN)	$4.1 \pm 1.0$	$7.0 \pm 1.9$	$7.6 \pm 1.3$	1H < 2H 1H < 2E	0.005 0.019
Stroke rate (strokes $\text{min}^{-1}$ )	$23.0 \pm 5.8$	$52.5 \pm 8.1$	$54.0 \pm 9.9$	1H < 2H 1H < 2E	0.001 0.002



**Fig. 3.** Fluctuation of frenzy swimming variables in loggerhead turtle hatchlings until 120 h (day 5). (A) Maximum thrust, (B) mean thrust, (C) stroke rate.

い値を示した。また、84時間 ( $P < 0.05$ )、96時間 ( $P < 0.01$ ) および120時間 ( $P < 0.01$ ) で2Eが1Hよりも有意に高い値を示した。

#### 平均泳力

平均泳力は経過時間 ( $P < 0.001$ ) および実験区間 ( $P < 0.01$ ) に有意な差を認めた (Tables 1 and 3; Fig. 3 B)。

実験区1Hでは、0時間に最大値 $22.4 \pm 2.8$  mNを記録した後、12時間後には0時間の約20%の $5.0 \pm 1.7$  mNに低下した ( $P < 0.01$ )。2Eでは、0時間に最大値 $18.6 \pm 2.8$  mNを記録した後、24時間後には0時間の約20%の $4.3 \pm 2.5$  mNに低下した ( $P < 0.01$ )。2Hでは、0時間に最大値 $18.9 \pm 2.8$  mNを記録した後、24時間後に0時間の約60%である $10.6 \pm 5.0$  mNに ( $P < 0.05$ )、48時間後に0時間の値から半減して $9.7 \pm 4.7$  mNとなった ( $P < 0.05$ )。

#### パワーストローク数

パワーストローク数は経過時間 ( $P < 0.001$ ) および実験区間 ( $P < 0.001$ ) で有意な差を認めた (Tables 1 and 3; Fig. 3 C)。

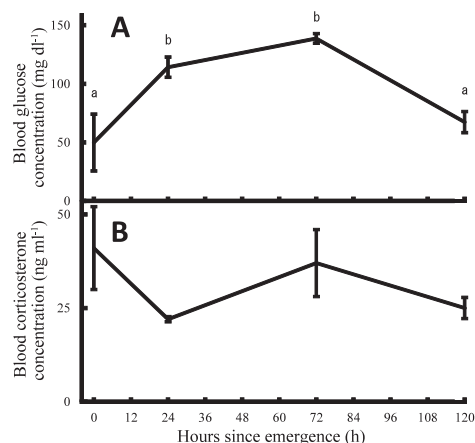
1Hでは、パワーストローク数は0時間に最大値 $103.4 \pm 6.5$  回・分<sup>-1</sup>を記録した後、12時間後には0時間の25%程度の $25.3 \pm 17.6$  回・分<sup>-1</sup>に ( $P < 0.01$ )、36時間後には0時間の15%程度の $16.4 \pm 15.4$  回・分<sup>-1</sup>に減少した ( $P < 0.01$ )。2Eは、0時間に最大値 $140.0 \pm 4.3$  回・分<sup>-1</sup>を記録した後、24時間後には0時間の約30%の $47.8 \pm 32.5$  回・分<sup>-1</sup>に減少した ( $P < 0.01$ )。2Hは0時間に最大値 $149.6 \pm 5.3$  回・分<sup>-1</sup>を記録した後、24時間後に0時間の値から半減して $81.3 \pm 40.9$  回・分<sup>-1</sup>となった ( $P < 0.05$ )。

#### 血中グルコースおよびコルチコステロン濃度

グルコース濃度は、時間経過にともなう有意な変動を認め ( $P < 0.001$ 、Table 4、Fig. 4 A)、0時間

**Table 4.** Results of ANOVA for differences in blood glucose and corticosterone concentrations in loggerhead turtle hatchlings and post hoc Fisher LSD multiple comparisons test across time intervals (0, 24, 72 and 120) in each data unit.  $F = F$  value,  $P =$  probability.

Factor	Glucose (mg dl <sup>-1</sup> )	Corticosterone (ng ml <sup>-2</sup> )
Time $F$	11.99	1.80
Time $P$	< 0.001	0.20
post hoc comparison	0 < 24, 72 24, 72 > 120	-



**Fig. 4.** Blood glucose and corticosterone concentrations in frenzy swimming loggerhead turtle hatchlings until 120 h (day 5). Difference in letters denotes statistically significant differences at  $P < 0.05$  based on Fisher LSD multiple comparisons test following one-way ANOVA. (A) Blood glucose concentration, (B) blood corticosterone concentration.

の値 $49.8 \pm 24.3 \text{ mg} \cdot \text{dl}^{-1}$ は24時間後に $114.2 \pm 8.6 \text{ mg} \cdot \text{dl}^{-1}$  ( $P < 0.001$ )、72時間後の $138.8 \pm 4.1 \text{ mg} \cdot \text{dl}^{-1}$ まで上昇し ( $P < 0.001$ )、120時間後には72時間の値から半分以下の $67.4 \pm 9.0 \text{ mg} \cdot \text{dl}^{-1}$ まで有意に低下した ( $P < 0.001$ )。

コルチコステロン濃度は、 $22.0 \pm 0.7 \text{ ng} \cdot \text{ml}^{-1}$ から $41.0 \pm 11.1 \text{ ng} \cdot \text{ml}^{-1}$ の間でわずかに変動したものの、経過時間にもなう有意な変動は認められなかった ( $P = 0.20$ ; Table 4, Fig. 4B)。

## 考察

実験区 1Hと 2Hは供試個体が採取されるまでの過程は同様であるにもかかわらず、両者の平均泳力を比較すると、1Hは12時間後に0時間の約20%に減少したのに対して、2Hは24時間後でも0時間の約60%の値を記録した。その後、1Hは低減傾向を示したが、2Hは60時間後まで0時間の約50%の値を記録し続けた。つまり、1Hでフレンジーが収束したタイミングは2Hよりも12時間早く、また、60時間以降も1Hでの泳力が上向かなかった。この一因として、両者の孵卵期間の違いによって孵化脱出時の幼体の体内の残存卵黄量に違いが生じたということが考えられる。1Hは孵卵温度(平均 $\pm$ SE)が $28.2 \pm 0.5^\circ\text{C}$ 、孵卵日数68日、一方、2Hは $30.7 \pm 0.4^\circ\text{C}$ 、53日の孵化幼体である。Booth and Astill (2001)、Booth (2006) およびBooth and Evans (2011) はアオウミガメで孵卵温度が高いと孵卵期間が短く、体の小さいサイズで幼体が孵化するものの、孵卵温度が低くて長期の孵卵期間を経て大きいサイズで生まれた幼体よりも卵黄を多く残しているとしている。また、卵黄の残存量に違いがあれば当然、フレンジーの強度や持続時間、さらにはその後の成長速度にも違いが生じると考えられている (Hewavisenthi and Parmenter 2001, Reece et al. 2002, Glen et al. 2003, Stokes et al. 2006)。よって、残存卵黄量が少なく生まれたと考えられる1Hは2Hと比べ、フレンジーの収束したタイミングが2Hよりも早く、また、フレンジー収束後も泳力が上向かなかったと考えられる。

本研究ではさらに、産卵巣 2より異なる状況の実験区 2Eおよび 2Hの供試個体を採取して実験を行った。2Eは独力で脱出した個体である一方、2Hは脱出より3日後の孵化率調査時に得られた個体である。両者ともに24時間後にはフレンジーが収束

していた。そのためフレンジーの持続性に影響する要因として、両区間で異なる条件である「孵化後のフレンジーに至るまでの期間の長さや疲労の程度」は、フレンジーの持続性に影響する要因であるとは言えない。むしろフレンジーの強度やその後の泳力に影響すると考えられ、両者の遊泳活性は採取した直後やフレンジーの期間の終了後では異なる傾向がみられた。これを詳細に比較すると、全項目において、0時間では2Hが2Eより高い値を示し、その後も60時間まで有意な差はなかったものの2Hが高い傾向を示した。両者の違いは、脱出過程を完了もしくはその途中か、および測定開始まで3日間のタイムラグの有無、の2点である。地中での脱出活動は低酸素環境で行われているとされ (Ackerman 1997)、Dial (1987) は地表下8.5 cmで採取したアカウミガメの孵化幼体から、孵化直後の個体の15倍の乳酸が蓄積していることを示した。また、Hamann et al. (2007) はアオウミガメにおいて、孵化直後と産卵巣内で孵化から2日経過した幼体の血中乳酸濃度を調べ、脱出の過程で乳酸値が著しく上昇していることを示した。これらより、幼体は脱出の過程で激しい運動を行なっていると考えられる。このたび、脱出過程を経た2Eはそれを経ない2Hに比べて著しく疲労していたとみなされ、全ての泳力測定項目において、0時間から60時間後まで2Eで2Hより低い値を示したと考えられる。

また、72時間後以降は2Eの方が2Hより高い遊泳活性を記録した。2Eが高い値を示したのは、2Hより先にフレンジーが終了した後、疲労が回復し、通常の状態になったこと、あるいは、脱出の過程を完遂することに何らかの遊泳活性の持続効果があるのではないかと考えられた。本実験では、0-60時間に2H、72時間後以降に2Eが比較的高い遊泳活性を示し、脱出の有無で泳力の経時変化の様式が異なっていた。最も泳力が高いのはフレンジーが始まってから24時間以内であり、その時間に活性が高い個体の方が生残に有利であると考えられるならば、脱出の経験は無くてもよいのかもしれない。しかし、脱出後、海域に進入する過程は幼体の方向感覚の形成に影響を及ぼすとする説もある (Lohmann and Lohmann 1996)。現在は不明な点が多いが、脱出の過程を経ることが孵化幼体の遊泳活性とその他の面でどのような影響を与えるのかについて、今後、明らかにしていく必要がある。

最大泳力、平均泳力およびパワーストローク数は、平均で24時間後には0時間の値から半減し、60時間後には0時間の値の約30%に低下し、Wyneken and Salmon (1992) が観察した、アカウミガメのフレンジーは1日で終了してその後徐々に活性が低下するという結果と同様な傾向を示した。また、Wyneken and Salmon (1992) は、幼体が泳ぎに費やした時間は測定初日と比べて120時間後に約50%まで低下したことを示したが、本研究では、全測定項目において24時間後には既に測定初日の半分の値となった。このたびの解釈が異なったのは、泳ぎに要した時間を調べたWyneken and Salmon (1992) に対し、本研究ではパワーストロークとドッグパドルの定義に基づき、これを区別して測定したことが理由として挙げられる。

血中グルコース濃度は、個体採取直後に最小値を示したものの、72時間後まで上昇傾向を、その後、低減傾向を示した。採取直後より低下し続ける遊泳活性に対し、グルコース濃度は一時的に上昇した。本研究では乳酸の測定は行っていないものの、脱出の過程で幼体の血中乳酸濃度が上昇することから (Hamann et al. 2007)、グルコースをエネルギー源とした嫌気代謝を行っていたため、当初グルコース濃度は低値を示したと考えられる。次に、フレンジー期のエネルギー源は他の基質もエネルギー源とした好気代謝に変わることから (Booth 2009)、グルコースの消費が抑えられて回復するものと考えられる。72時間後以降はフレンジーが終了しているにも関わらず、グルコース濃度は低下する傾向であった。120時間後でのグルコース濃度の低下は、栄養の供給源である体内に残存する卵黄が枯渇していることを示唆している。また、グルコース濃度の高い状態であってもフレンジーは終了することから、グルコース濃度の高低がフレンジーの持続性に関与しているわけではないと考えられた。

血中コルチコステロン濃度は個体採取直後に最高値を示したが、24時間後には半減した。コルチコステロンは興奮等の刺激により分泌されると考えられ、フレンジー開始直後に供試個体が興奮状態であったため同濃度が最高値を示したと考えられる。また、24時間後にはフレンジーが終了したことで、幼体の興奮の程度や体力的負担が低下したため、コルチコステロンの分泌も収束したのと考えられる。

Wyneken and Salmon (1992) は、アカウミガメの孵化幼体を一定期間保管することによってその運動活性が下がり、放流後の生残率が低下することを予想している。本研究でも、孵化幼体の遊泳活性は24時間後には測定開始時から半減し、また、孵化幼体の運動のための主要なエネルギーであるグルコースの濃度も120時間で低下する傾向を確認した。ゆえに、孵化後の幼体を長時間にわたって保管することは、その遊泳活性とエネルギー源の喪失を招く行為であり、放流後の幼体の生残率に影響しかねないことが明白である。この点に配慮がなされない放流事業は、元来の保護の理念と矛盾するものになる。希少野生動物であるウミガメの保護活動を行うのであれば、放流後の幼体の生残を高めるために、これを長時間にわたって保管せず、出来る限り早期に海へ放つことが望ましい。このたびのデータに基づき、放流事業の主体者にはフレンジーという現象を十分に理解していただき、かつ、参加者への啓蒙を促していただけたらと願う。今回、フレンジーを波長としてとらえて定量化することができたが、測定個体数は少なく、試供個体を得た条件も異なっている。よって、今後、ウミガメの卵や幼体を様々な条件下で管理した場合の幼体の運動活性に関する知見をさらに蓄積し、孵化幼体に関する適切な取り扱いの指針を示さなければならない。

## 謝辞

野外調査に多大な協力と理解をいただいた春野の自然を守る会、国土交通省四国地方設備局高知河川国道事務局、高知県林業振興・環境部環境共生課の皆様から感謝申し上げます。調査を手伝っていただき、かつ有益な助言を下さった同施設職員の田中幸記博士、井本善次、山本ルリ子の各氏、同施設教授の木下泉博士、総合人間自然科学研究科の邊見由美博士、ジャコ学研究室と甲らモノ研究室的メンバーから感謝申し上げます。本研究は、平成27-28年度公益社団法人日本動物園水族館協会野生動物保護基金助成、平成28年度三井物産環境基金および平成28年度科学研究費補助金基盤研究C (課題番号16K072232) により行った。ここに記して感謝の意を表します。



## 引用文献

- Ackerman R. A. 1997. The nest environment and the embryonic development of sea turtles. In: Lutz P.L. and Musick J. A. (eds.) "The Biology of Sea Turtles", CRC Press, Boca Raton, pp. 83-107.
- Booth D.T. 2006. Influence of incubation temperature on hatching phenotype in reptiles. *Physiol. Biochem. Zool.* 79: 274-281.
- Booth D.T. 2009. Swimming for your life: locomotor effort and oxygen consumption during the green turtle (*Chelonia mydas*) hatchling frenzy. *J. Exp. Biol.* 212: 50-55.
- Booth D.T. and Astill K. 2001. Incubation temperature, energy expenditure and hatching size in the green turtle (*Chelonia mydas*), a species with temperature-sensitive sex determination. *Austral. J. Zool.* 49: 389-396.
- Booth D.T. and Evans A. 2011. Warm water and cool nests are best. How global warming might influence hatchling green turtle swimming performance. *PLoS ONE* 6(8): e23162.
- Burgess E.A., Booth D.T. and Lanyon J.M. 2006. Swimming performance of hatching green turtles is affected by incubation temperature. *Coral Reefs* 25: 341-349.
- Davenport J. 1997. Temperature and the life-history strategies of sea turtles. *J. Therm. Biol.* 22(6): 479-488.
- 出口一郎. 2004. 仁淀川河口海岸域の侵食と対策. *月刊海洋* 36(3): 211-216.
- Dial B.E. 1987. Energetics and performance during nest emergence and the hatching frenzy in loggerhead sea turtles (*Caretta caretta*). *Herpetologica* 43: 307-315.
- Glen F., Broderick A.C., Godley B.J. and Hays G.C. 2003. Incubation environment affects phenotype of naturally incubated green turtle hatchlings. *J. Mar. Biol. Ass. U. K.* 83(5): 1183-1186.
- Hamann M., Jessop T.S. and Schauble C.S. 2007. Fuel use and corticosterone dynamics in hatchling green sea turtles (*Chelonia mydas*) during natal dispersal. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 353: 13-21
- Hewavisenthi S. and Parmenter C.J. 2001. Influence of incubation environment on the development of the flatback turtle (*Natator depressus*). *Copeia* 2001(3): 668-682.
- 紀伊半島ウミガメ情報交換会・日本ウミガメ協議会. 1994. 「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.
- 金坂多恵子・田谷一善・笹本修司. 1992. <sup>125</sup>I標識ホルモンを用いたコルチコステロンのラジオイム, アッセイ. *J. Rep. Dev.* 38: 85-89.
- Ischer T., Ireland K. and Booth D. T. 2009. Locomotion performance of green turtle hatchlings from the Heron Island rookery, Great Barrier Reef. *Mar. Biol.* 156: 1399-1409.
- 石原孝. 2012. 生活史. 亀崎直樹 (編) 「ウミガメの自然誌—産卵と回遊の生物学」, 東京大学出版会, 東京, pp. 57-83.
- Limpus C.J., Baker V. and Miller J.D. 1979. Movement induced mortality of loggerhead eggs. *Herpetologica* 35: 335-338.
- Lohmann K. J. and Lohmann C.M.F. 1996. Orientation and open-sea navigation in sea turtles. *J. Exp. Biol.* 199: 73-81.
- 松沢慶将. 2012a. 発生. 亀崎直樹 (編) 「ウミガメの自然誌—産卵と回遊の生物学」, 東京大学出版会, 東京, pp. 85-113.
- 松沢慶将. 2012b. 繁殖生態. 亀崎直樹 (編) 「ウミガメの自然誌—産卵と回遊の生物学」, 東京大学出版会, 東京, pp. 115-119.
- 松沢慶将・亀崎直樹. 2012. 保全. 亀崎直樹 (編) 「ウミガメの自然誌—産卵と回遊の生物学」, 東京大学出版会, 東京, pp. 240-242.
- Matsuzawa Y., Kamezaki N., Ishihara T., Omuta K., Takeshita H., Goto K., Arata T., Honda H., Kameda K., Kashima Y., Kayo M., Kawazu I., Kodama J., Kumazawa Y., Kuroyanagi K., Mizobuchi K., Mizuno K., Oki K., Watanabe K., Yamamoto A., Yamashita Y., Yamato T., Hamabata T., Ishizaki A. and Dutton, P.H. 2016. Fine scale genetic population structure of loggerhead turtles in the Northwest Pacific. *Endang. Spec. Res.* 30: 83-93.
- Mortimer J. A. 1999. Reducing threats to eggs and hatchlings: hatcheries. In: Eckert J.A., Bjorndal K. A., Abreu-Gribois F. A. and Donnelly M. (eds.), *Research and management techniques for the*

- conservation of sea turtles, IUCN and Species Survival Commission, pp. 175-178.
- Pereira C.M., Booth D.T. and Limpus C.J. 2011. Locomotor activity during the frenzy swim: analysing early swimming behavior in hatchling sea turtles. *J. Exp. Biol.* 214: 3972-3976.
- Pereira C.M., Booth D.T., Bradley A.J. and Limpus C.J. 2012. Blood concentrations of lactate, glucose and corticosterone in dispersing hatching sea turtles. *Biol. Open* 0: 1-5.
- Reece S.E., Broderick A.C., Godley B.J. and West S.A. 2002. The effects of incubation environment, sex and pedigree on the hatchling phenotype in a natural population of loggerhead turtles. *Evol. Ecol. Res.* 4 (5): 737-748.
- Silas E.G. Vijayakumaran M. and Rajigopalan M. 1984. Yolk utilization in the egg of the olive ridve *Lepidochelys olivacea*. *CMFRI Bull.* 35: 22-33.
- Stokes L., Wyneken J., Crowder L.B. and Marsh J. 2006. The influence of temporal and spatial origin on size and early growth rates in captive loggerhead sea turtles (*Caretta caretta*) in the United States. *Herpetol. Conserv. Biol.* 1(2): 71-80.
- Trullas S.C. Spotila J.R. and Paladino F.V. 2006. Energetics during hatchling dispersal of the olive ridley turtle *Lepidochelys olivacea* using doubly labeled water. *Physiol. Biochem. Zool.* 79(2): 389-399.
- Whelan C.L. and Wyneken J. 2007. Estimating predation levels and site-specific survival of hatchling loggerhead sea turtles (*Caretta caretta*) from south Florida beaches. *Copeia* 2007: 745-754.
- Witherington B.E. and Salmon M. 1992. Predation on loggerhead turtle hatchlings after entering the sea. *J. Herpetol.* 26: 226-228.
- Witherington B.E. and Witherington D.E. 2015. "Our sea turtles: a practical guide for the Atlantic and Gulf, from Canada to Mexico", Pineapple Press, Florida.
- Wyneken J. and Salmon M. 1992. Frenzy and postfrenzy swimming activity in loggerhead, green, and leatherback hatching sea turtles. *Copeia* 1992, 2: 478-484.
- 山田さやか・和田正人. 2006. 屋久島におけるアカウミガメの孵化状況と未孵化卵の死亡原因について.

て. 東京学芸大学紀要総合教育科学系 57:463-468.

### Temporal change of frenzy swimming in loggerhead turtle hatchlings

Ryohei Fujimoto<sup>1)</sup>, Maoko Wada<sup>1)</sup>,  
Shohei Kobayashi<sup>2)</sup>, Yoshinori Kumazawa<sup>3)</sup>  
and Tomomi Saito<sup>1),4)\*</sup>

<sup>1)</sup> Department of Biology, Faculty of Science,  
Kochi University, Tosa, Kochi 781-1164, Japan

<sup>2)</sup> Department of Biological Production Science,  
United Graduate School of Agricultural Science,  
Tokyo University of Agriculture and Technology,  
Tokyo 183-8509, Japan

<sup>3)</sup> 3302-1 Higashi-morogi, Haruno-cho,  
Kochi 781-0315, Japan

<sup>4)\*</sup> Usa Marine Biological Institute,  
Kochi University, Tosa, Kochi 781-1164, Japan

### Abstract

Hatchling release programs of threatened loggerhead turtles are held among various nesting sites of Japan for the purpose of environmental education and conservation. However, just emerged hatchlings of sea turtles are known to have a state of high activity called "frenzy", which is considered as an adaptation to quickly leave coastal zones with a lot of predators, so it is desirable to make use of this phenomenon in the release programs. The purposes of the present study are to analyze the intensity and durability of frenzy swimming in loggerhead turtle hatchlings using a power data accumulation system, to measure the concentrations of blood ingredient, and to propose suitable conditions of handling and periods to storage hatchlings at the release programs from a physiological point of view. As a result, the swimming activity of hatchlings was highest immediately after emergence, it decreased to about 50%

### アカウミガメ幼体の遊泳活性

at the start of the measurement one day later and thereafter showed a tendency to decrease over time. The blood glucose concentration showed a tendency to decrease after day 3. Since the intensity of the swimming activity decrease soon after the emergence, it is advisable

to release hatchlings to the sea soon after the emergence without storing them.

**Key words:** frenzy swimming, glucose, corticosterone, hatchling release program.