

平成21年6月10日現在

研究種目：若手研究（スタートアップ）
 研究期間：2007年度～2008年度
 課題番号：19880031
 研究課題名（和文） 小型鯨類のストレスに関連した行動・鳴音に関する研究
 研究課題名（英文） Behavior and vocalizations related to physiological stress in captive dolphins.

研究代表者
 篠原 正典 (SHINOHARA MASANORI)
 帝京科学大学・生命環境学部・講師
 研究者番号：60454253

研究成果の概要：本研究課題では、飼育小型鯨類より、血液、唾液、涙などより競合的 ELISA 法にてコルチゾール濃度値を解析するための採取・移送・実験手順を確立した。また、行動・鳴音指標の中で、敵対的な社会行動の頻度に関する指標、休息行動に関連した指標、鳴音レパートリーの変化に関する指標が生理ストレスと関連性が高いと示唆された。これらの成果は、小型鯨類の飼育技術向上や生理・行動研究への幅広い貢献につながる有意義なものである。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	1,300,000	0	1,300,000
2008年度	1,340,000	402,000	1,742,000
年度			
年度			
年度			
総計	2,640,000	402,000	3,042,000

研究分野：

科研費の分科・細目：

キーワード：小型鯨類、行動、鳴音、飼育、ストレス

1. 研究開始当初の背景

近年、自然環境が大きく破壊され、様々な動物種の絶滅が危惧されている。小型鯨類もこの例にもれず、海洋河川環境の変化・破壊に伴いその存続が強く懸念されている動物種群である。これを踏まえ、小型鯨類の自然下での種の存続をはかるためにも、また、保護区下や飼育環境下で人為的に動物たちを生存させ種の存続をはかるためにも、飼育個

体の生理・行動状態からそのストレス状態に関する基礎知識の把握および飼育技術の向上が求められている。

昨今、飼育小型鯨類では、精子の冷凍保存技術や人工繁殖などの繁殖技術が確立されつつある。しかし実際に、飼育小型鯨類をその野生下での寿命と類比できるほどに長期飼育することも、人工ではない繁殖を促すことも困難であり、飼育個体群の個体数維持は、

捕獲した野生個体によるリクルートに頼らざるを得ない状況である。

この状況を改善していくためには、飼育小型鯨類の長期的なストレスモニタリングが一助となる。生理的側面からは、ストレス関連ホルモンであるコルチゾール濃度値の日周リズムの確認、年変動、繁殖ホルモンとの関連など、興味深い事実が明らかにされつつある。また、行動的側面からも量的な研究が行われるようになり、敵対的な行動の観察記録などが動物の健康上の問題の早期発見指標になることなどが報告されている。しかし、生理ホルモンと行動観察の両手法から統合的に長期ストレスを検討した研究はない。

2. 研究の目的

本研究は、小型鯨類であるハンドウイルカ (*Trusiops truncatus*) に対して、コルチゾールからストレスの定量的な評価を行い、同時に、行動・鳴音の詳細な解析を行い、ストレスと相関の高い行動指標・鳴音指標を見出し、その結果を通じ、行動観察や水中音響の録音などの非侵襲的で簡便な方法で小型鯨類の健全な長期飼育に寄与する情報の提供を目的とした。具体的には以下の二つのステップに分けられる。

第一のステップは、飼育環境にあるハンドウイルカより、血液（血清）、唾液、涙などを採取し冷蔵あるいは凍結保存・移送し、実験室で競合的 ELISA 法にてコルチゾール濃度値を解析するという生体試料採取・移送・解析手法を確立することである。

第二のステップは、上記で確立した手法を用い、約一年間に適当間隔で 10 回前後のストレス評価を継続的に行いつつ、年変動に関する基礎的な知見を得るとともに、調査対象動物のストレスの長期モニタリングとして最適な行動指標・鳴音特性を明らかにするこ

とである。

3. 研究の方法

全体的な調査の流れは、以下の通りであった。約一年間に渡り各協力園館に約 10 回程度（1.5 ヶ月～1 ヶ月間隔）で、のべ約 20 回の試料採取（ときには試料の提供）およびデータ取得に赴き、動物の行動・生理に影響を与えない範囲で、血液、唾液、涙の生体試料を得た。行動・鳴音は、網羅的に記録し、それらの中から解析したコルチゾール濃度値と相関の高い指標を検討した。

ストレス関連ホルモンとしては、安定的で扱いやすく、鯨類でも知見の多いコルチゾールを採用した。

生体試料の採取時刻はおよそ 17 時に定め、複数回の生体試料採取を実施し、とび値を除いた複数回データの平均をその日の当該個体のコルチゾール濃度の平均値として用いた。

血液（血清）、唾液、涙を採取し冷蔵もしくは凍結保存で移送し、冷蔵であるか冷凍であるかの記録および、冷蔵（約 4 度）の場合は解析に供するまでの移送時間を記録した。試験的に模擬移送時間を変化させた解析も行った。

冷蔵・冷凍の生体試料は、研究室内に放置することで室温に戻したのち、競合的 ELISA 法（酵素免疫診断薬キット（SALIMETORICS 社））にてコルチゾール濃度値を解析した。

行動・鳴音は、協力園館のイベント（給餌・ショー・訓練）などの影響のない範囲で可能な限り観察・録音した。録音はステレオマイクで実施し、鳴音を発した個体の特定は動画・肉眼での目視メモと合わせて行った。水中マイクとアンブは OKI WHALE PHONE II（沖電機）と aquafeeler（システムインテック社）を、レコーダーには R-09（ローランド社）を

用いた。録音した鳴音の解析は Adobe Audition 2.0 および 3.0 (Adobe Systems Inc) を用いた。

記録する行動は、闘争行動などの敵対的な社会的行動 4 種、親和的な社会行動 2 種、単独での“遊び”行動 6 種、遊泳 3 種、休息行動 4 種とした。行動は生起頻度、持続時間、それぞれの間隔を記録し、総観察時間より個体ごとのタイムバジェットも算出した。

鳴音は全ての鳴音を記録し、破裂音のような雑多な帯域の音を含むバーストパルス音や全ての周波数帯域の音が断続的に発せられるクリック音に関しては生起頻度と持続時間が算出されるよう記録・整理し、それぞれの間隔も記録した。音域が狭く笛のような音であるホイッスル音に関しては、上記に加え、最高-最低周波数や持続時間などの 6 つの特徴からタイプ分けを行い記載した。

それぞれの行動・鳴音指標とコルチゾール値との相関関係は Spearman 順位相関検定により検討した。

4. 研究成果

(1) 生体試料採取・移送・解析手法の確立

飼育ハンドウイルカより採取した血液（血清）、唾液、涙などを、冷蔵あるいは凍結保存・移送した場合、冷蔵では 8 時間程度の移送であっても値に変化が生じないことを確認した。また血液に関しては冷凍と冷蔵で差異はないが、だ液・涙ではヒトのそれらの試料からの解析時と比べ、値が若干低下する傾向にあることがわかり、冷蔵が好ましいと思われた。

また、これらのいずれの試料も競合的 ELISA 法にて簡便にコルチゾール濃度値が得られることを確認した。

血清中のコルチゾール濃度値と、だ液や涙中のそれらとの相関関係を解析した結果、だ

液や涙といった生体試料においても、先行研究と類比可能な程度に、コルチゾールの増減の評価が可能であることも確かめられた。

以上から、生体試料採取・移送・解析手法に関して一つの実験手順の確立をみた。

(2) コルチゾールと行動・鳴音指標の変動と相関

コルチゾール濃度値は個体間・個体内ではらつきがみられたが、明確な年変動は認められなかった。行動・鳴音に関しては、のべ 200 におよぶ指標が整理された。行動・鳴音指標においても、短期的に極端な増減は観察されたが、年変動などの周期的な変動はみとめられなかった。

相関を検討したところ、長期的にみて生理ストレスと関連性が高いとされた指標が見出された。それらは、敵対的な社会行動の頻度に関する指標、休息行動に関連した指標、鳴音レパトリの乱れに関する指標であった。また本実験遂行時に得られた予備的知見として、動物の長期的な疾患が生理ホルモンに大きく影響することもわかった。

(3) まとめ・今後

上記の成果より、本課題研究は、飼育小型鯨類の長期ストレスに関する基礎的知見を提出し、非侵襲的手法によるストレス評価手法の確立に資する知見を提出するとともに、小型鯨類の飼育技術向上や生理・行動研究への幅広い貢献につながる成果をあげたと言える。

今後、対象鯨種を広げ、より具体的なストレスマネジメント手法の確立を経て、飼育小型鯨類の長期飼育、良好な飼育繁殖個体群の形成に資する研究の発展が期待される。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔図書〕(計 1件)

①篠原正典、春風社、セックスの人類学
(分担章：性器の性器利用とは～鯨類の
セックスのユニークさを概観しつつ～)、
2009年、pp321 (p225~p254)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

篠原 正典 (SHINOHARA MASANORI)

帝京科学大学・生命環境学部・講師

研究者番号 60454253