



変態期のニホンアカガエルにおける 蛍光イラストマータグの有効性

小田 優花・北川 哲郎・細谷 和海

近畿大学大学院農学研究科環境管理学専攻

Efficiency of fluorescent elastomer internal tags on the Japanese brown frog, *Rana japonica*, during metamorphosis

Yuka ODA, Tetsuro KITAGAWA and Kazumi HOSOYA

Program in Environmental Management, Graduate School of Agriculture,
Kinki University, 3327-204 Nakamachi, Nara 631-8505, Japan

Synopsis

Fluorescent elastomer internal tags were injected into the larvae of Japanese brown frog, *Rana japonica* in a laboratory. Larvae with a tag were reared until metamorphosis was completed. The tags were injected into the posterodorsal or tail regions under the skin. Metamorphosis completion rates were 80% in the tail, and 50% in the posterodorsal region. Tag retention rates were 50% in the tail, and 94% in the posterodorsal region. Injecting tags into the posterodorsal region sometimes led to debilitation. Injecting them into the tail was less stressful than injecting them into the posterodorsal region. These results indicated that the fluorescent elastomer internal tag is a useful marking method for frogs during metamorphosis from larvae to adults.

Keywords: Raninae; metamorphosis; fluorescent elastomer internal tag; ethology

1. はじめに

カエル類をはじめとする両生類は、幼生期の水中生活から成体期の陸上生活へと生活様式を大きく変化させることで知られる¹⁾。さらに、成体期においても索餌場と繁殖場が異なる例が多く、生活環の中で多様な環境を使い分けることから、エコトーンを代表する種として注目され、標識再捕法による追跡が試みられてきた^{2,3)}。しかし、本類は、体表が柔らかく粘膜に覆われ、変態や脱皮を行なうことから、標識が非常に難しいとされる^{4,5)}。従来、両生類の標識には、一般に“指切り法”が用いられてきたが、切断した指が再生する可能性や個体へのダメージによる再捕獲率の低下など技術的な問題を残しているうえ⁶⁾、動物愛護精神の高まりから倫理的問題が強く提起されるようになってきた⁷⁾。そこで、近年では、指切り法の代替法として成体への PIT タグや蛍光イラストマータグの注入^{8,9)}、幼生への蛍光イラスト

マータグの注入を標識方法とした研究がそれぞれなされているが^{10,11)}、変態期を対象とした研究例はきわめて少ない。変態期を含めた実験例として、Grant (2008) がアメリカアカガエル *Rana sylvatica* について一部情報を提供している¹¹⁾。しかし、先行研究では、標識を試みた部位が尾柄部1ヶ所であるうえ、詳細な飼育記録が記されておらず、実用性ならびに再現性に乏しい。

ニホンアカガエル *Rana japonica* は、アカガエル亜科アカガエル属に属する日本固有種で、主に水田や湿地を産卵場所とし、産卵後は周辺の樹林地や草原等へ移動するなど、生活史に伴い多様な環境を使い分けている。本種は、本州に生息するカエル類のなかでは産卵期が最も早く上陸までの期間が比較的長いと、マーカ-の注入に伴う負荷の経過観察に適すると考えられる。さらに、指切り法を用いた先行研究により、生活史における行動圏が狭いと推察され³⁾、野外での技術検証の好対象種と言える。本研究では、変態期の標識に

関する実証的情報の集積を目的として、ニホンアカガエルの幼生に、Grant (2008) で試行された尾柄部に加え、形態変化の影響を受けづらい背面部に蛍光イラストマータグを注入し、変態期を含めた長期飼育実験を行なった。

2. 材料および方法

供試個体

本研究の供試個体には、2013年2月に近畿大学奈良キャンパスで採集した卵塊から孵化させた、ニホンアカガエルの幼生40個体（全長 19.0–29.3 mm）を用いた。供試個体は、プラスチック製円形水槽（240φ×120 mm）内に収容し、実験を開始した。飼育環境等の設定に際しては、斎藤（1983）を参考とした¹²⁾。飼育容器内には、小型エアポンプ（Na-4000：NISSO 社）によるエアレーションを施し、上陸のための陸場としてレンガ片（100×100×60 mm）を中央に設置した。飼育水には、水道水をチオ硫酸ナトリウム・五水和物で中和し、1日以上曝気したものをを用いた。また、初期餌料として、幼生にはコイ用配合飼料（子鯉用クランブル 3 号：科学飼料研究所）を1日2回、10時と17時に飽食量を給餌した。

イラストマータグの注入

標識は、孵化後40日目の幼生の尾柄部と背面部に各20個体ずつ、蛍光イラストマータグ（NMT 社, Shaw island, WA）を 29 G 1/2 注射針を用いて皮下に注入し、付与した（Fig. 1）。タグの注入に際しては、供試個体を約 100 μ l/l の濃度に希釈した 2-フェノキシエタノールに約 1 分間浸漬して麻酔処理を施した。斃死個体、または上陸個体は麻酔液中で安楽死させた後に15%ホルマリン溶液で固定し、目視によりタグの有無を確認した。目視によるタグの確認ができない場合には標本を解剖し、タグの移動または脱落状況を観察した。

3. 結 果

実験開始後、タグの注入がもたらす衰弱死は、背面区の3個体のみに生じた。上陸にまで達した（成体になった）個体は、尾柄区16個体、背面区10個体であった（Table 1）。また、実験中の背面区には、円を描くように遊泳するなど衰弱した様子を呈する個体が複数生じた。ホルマリン固定後にタグを目視観察した結果、尾柄区では10個体（幼体3，成体7），背面区では16個体（幼体6，成体10）にタグの残存を確認できた（Fig. 2：A，B）。背面部に注入したタグは、注入部位である背面部（Fig. 2：C-a）のほか、5個体からは右後

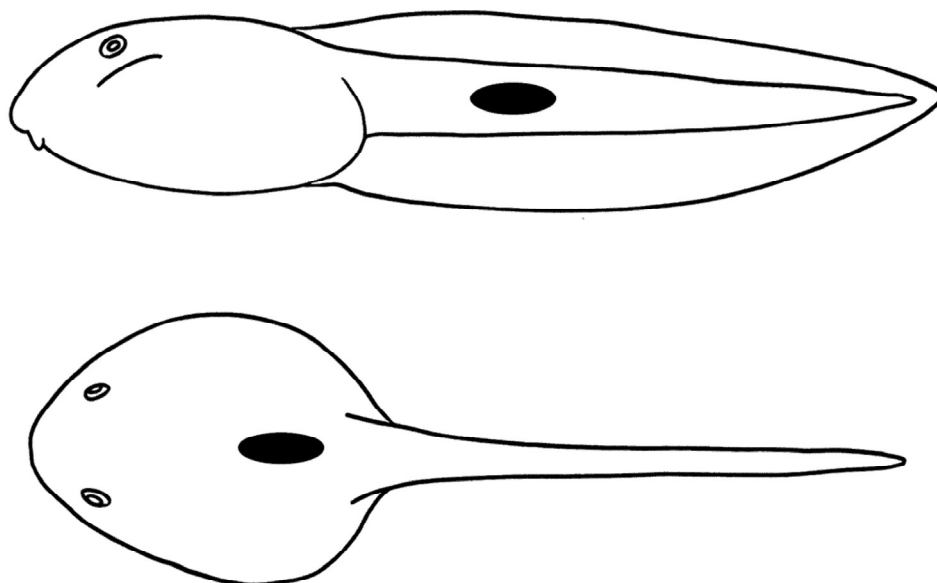


Fig. 1. The points on the tadpole of the Japanese brown frog, *Rana japonica* into which fluorescent elastomer internal tag was injected under the skin. Upper: injection into the tail; Lower: injection into the posterodorsal region.

Table 1. Tag retention in the Japanese brown frog, *Rana japonica* after metamorphosis

| Tag position | Number of individuals (Tag remained ^{*1} /Tested) | | Tag retention (%) ^{*1} | |
|--------------|---|---------------------|---------------------------------|---------------------|
| | Larva ^{*2} | Adult ^{*3} | Larva ^{*2} | Adult ^{*3} |
| Tail | 3/4 | 7/16 | 75.0 | 43.8 |
| Dorsal | 6/7 | 10/10 | 85.7 | 100 |

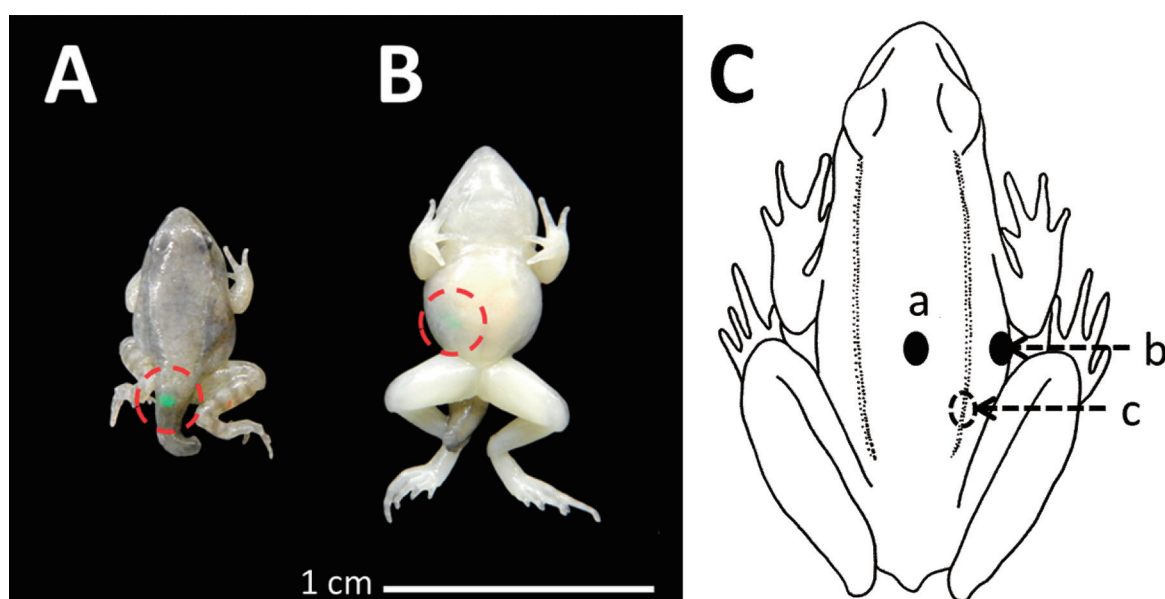
^{*1} Visual observation^{*2} Larva that could not metamorphose to the final stages^{*3} Adult that survived to the final stages after the metamorphosis

Fig. 2. The tag retention after metamorphosis. A, Injected into the tail; B, Injected into the posterodorsal region; C, The tag positions where a tag was injected into the posterodorsal region. ○: Ventral position

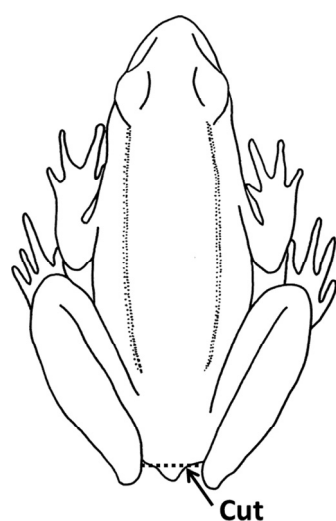


Fig. 3. The part which was dissected to search for a tag.

肢の付け根付近 (Fig. 2 : C-b), 3 個体からは腹部 (Fig. 2 : C-c) で, それぞれ観察された。さらに, 尾柄区において, 変態に伴ってほぼ痕跡的な状態になった尾柄部末端を切開したところ (Fig. 3), 目視で確認できなかった10個体 (幼体1, 成体9) 中6個体 (幼体0, 成体6) の体内からタグを取り出すことができた。

4. 考 察

本研究において, 蛍光イラストマータグを注入した幼生の半数以上が上陸に至った。背面部への注入は, 衰弱個体が多く生存率が低かったことから, 供試個体への負担が大きく, 生存率や上陸等に影響を与える可能性が高いと推察された。他方で, Grant (2008) は, 蛍光イラストマータグが成長や変態の速度に影響を及ぼさないことを報告

している¹¹⁾。本研究において、背面部への注入は、尾柄部よりも残存率ならびに視認性が高い傾向にあることから (Fisher's exact test, $P < 0.1$; Table 1), 生残率の向上に向けた対策を講じれば有効な手法になり得ると推察された。対して、尾柄部への注入は、供試個体への負担が少なく実用性が高いと考えられたが、供試個体が小型で皮膚が薄いためか4個体(幼体1, 成体3)でタグの脱落が生じたほか、変態後は色素の変化などから視認性が著しく低下した。今後は、供試個体への負荷が少ないとされる尾柄部ないし背面後端部を対象として、より残存率ならびに視認性が高い部位を探索することが求められる。また、Grant (2008) は、実験に供したほとんどの個体でタグの脱落が生じたと報告したが¹¹⁾、本研究で解剖による標識の回収が可能であることが明らかとなり、尾柄部の切開によってタグの確認が可能であると示唆された。さらに、本標識は、若干であれば皮下に埋没した状態からでも VI ライトの照射により外部から識別可能とされ⁹⁾、観察手法の改善によって視認性が向上する可能性がある。以上から、好適な標識位置ならびに供試個体への負荷に関する情報が得られ、カエル類の変態後にわたる、蛍光イラストマータグを用いた追跡調査における実用化の端緒が開けた。

5. 要 約

本研究では、ニホンアカガエル *Rana japonica* を用いて幼生期から成体に至るまで飼育実験を行ない、変態期における蛍光イラストマータグの残存性ならびに注入に伴う影響を検証した。標識は、40日齢の幼生の尾柄部と背面部へ、それぞれ蛍光イラストマータグを皮下に注入した。変態後の生残率は尾柄区80%と背面部50%で、目視観察におけるタグの保持率は尾柄区50%、背面部94%であった。背面部への注入は、衰弱個体が多いうえに生残率が低かったことから、供試個体への負担が大きく生残率や上陸等に影響を与える可能性が高いと推察された。対して、尾柄部への注入は、タグの脱落が見られたものの、供試個体への負担が少なく、保持率の向上に向けた対策を講じれば有効な手法になり得ると推察された。以上により、好適な標識位置ならびに供試個体への負荷に関する情報が得られ、カエル類の変態後にわた

る、蛍光イラストマータグを用いた追跡調査における実用化の端緒が開けた。

6. 謝 辞

本研究を行なうにあたり、中尾遼平氏、畑田賢吾氏、今田彩乃女史をはじめとする本学水圏生態学研究室の学生諸氏からは、飼育管理に際して多大な協力を得た。また、本稿の作成に際しては、同研究室所属の乾 偉大氏から多くの助言、助力を得た。ここに記して謝意を表する。

7. 引用文献

- 1) 内山りゅう・前田憲男・沼田研児・関慎太郎 (2002) ニホンアカガエル. 決定版日本の両生爬虫類, 平凡社, 東京. pp. 88-89.
- 2) 松井正文 (2003) 両生類の行動圏. 野生生物保全技術. 佐藤正孝・新里達也 共編, 海游舎, 東京. pp. 157-170.
- 3) Osawa, S. and T. Katsuno (2001) Dispersal of brown frogs *Rana japonica* and *R. ornativentris* in the forests of the Tama Hills. *Current Herpetol.*, 20, 1-10.
- 4) 福山欣司 (2008) カエル類におけるマーキング法と個体識別法. 爬虫両棲類学会報, 2008, 116-125.
- 5) 草野 保 (2008) サンショウウオ類におけるマーキング法. 爬虫両棲類学会報, 2008, 105-116.
- 6) McCarthy, M. A. and K. M. Parris (2004) Clarifying the effect of toe clipping on frogs with Bayesian statistics. *Jour. Appl. Ecol.*, 41, 780-786.
- 7) May, R. M. (2004) Ethics and amphibians. *Nature*, 431, 403.
- 8) Christy, M. T. (2006) The efficacy of using Passive Integrated Transponder (PIT) tags without anaesthetic in free-living frogs. *Australian Zoologist*, 30, 139-142.
- 9) Moosman, D. L. and P. R. Moosman (2006) Subcutaneous movements of visible implant elastomers in wood frogs (*Rana sylvatica*). *Herpetol. Rev.*, 37, 300-301.
- 10) Anholt, B. R., S. Negovetic, and C. Som (1998)

- Methods for anaesthetizing and marking larval anurans. *Herpetol. Rev.*, 29, 153-154.
- 11) Grant, E. H. C. (2008) Visual implant elastomer mark retention through metamorphosis in amphibian larvae. *Jour. Wildlife Management*, 72, 1247-1252.
- 12) 斎藤貞美 (1983) カエルの飼育. カエルの動物実験. ニュー・サイエンス社, 東京. pp. 9-16.