

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-II

小田 優花・北川 哲郎・宮西 萌・中村 あづ紗・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 – II

Yuka ODA, Tetsuro KITAGAWA, Moe MIYANISHI, Azusa NAKAMURA 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 frogs, *Rana japonica* to examine its efficiency for marking method. Larvae with a tag had been reared until when the metamorphosis was completed. The tags were injected into the posterodorsal regions under the skin. Metamorphosis completion rates were 55 % in the posterodorsal region, and 65 % in the control. Tag retention rate was 95 % in the posterodorsal region. The transparent treatment enables us to observe the tags for the frogs with invisible tags. 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。カエル類は変態により体色や皮膚、筋肉組織が大きく変化し、タグの視認性が著しく低下する¹²⁾。幼

生期から成体期を通した追跡調査を実施するためには、変態期を含めた実証的情報が必要とされる。

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、生活史に伴い多様に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に長いため、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きわめて狭いと推察され³⁾、野外での技術検証の好対象種と言える。先報では、ニホンアカガエルの幼生に対して、背面部と尾柄部に蛍光イラストマーカを注入した長期飼育実験を行ない¹²⁾、背面部への注入は、個体への負荷が大きいなどの問題点を残すものの標識の残存率の高さから有効な手法になり得ると推察された。この結果を受け、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、幼生の背面部に蛍光イラストマーカを注入し、変態を終えて上陸に達するまでの期間、自然下に近い粗放的環境下で長期飼育実験を行なった。

2. 材料および方法

飼育実験

実験は、供試個体にイラストマーカを注入した2014年4月19日から開始した。本研究の供試個体には、2014年3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



Fig. 1. The rearing condition of the Japanese brown frog, *Rana japonica*. Left, experimental tank; Right, control tank.

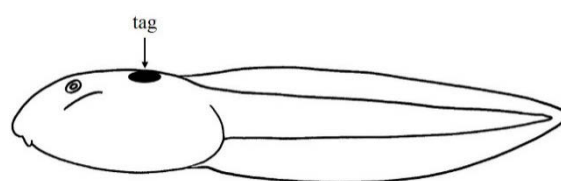


Fig. 2. The points on a tadpole of the Japanese brown frog, *Rana japonica* into which fluorescent elastomer internal tag was injected under the skin.

アカガエルの幼生200個体（全長19.6 – 29.1 mm）を用いた。供試個体は、屋外に設置したプラスチック製水槽（880×440×490 mm³）内に収容した。飼育容器には、約8ℓの腐植土と落葉を入れ（Fig. 1）、遮光ネットを上から覆い被せた。実験には、実験区と対照区にそれぞれ反復区を1区設け、各区50個体を供した。

イラストマーカの注入と確認

標識は、蛍光イラストマーカ（NMT社、Shaw island, WA）を29G 1/2注射針を用いて、幼生の背面部皮下に注入した（Fig. 2）。タグの注入に際しては、供試個体を0.01% 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、ないし上陸個体は、タグの移動や脱落を確認するための解剖に供するため、

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た。目視によるタグの確認ができない場合には、標本に透明化処理を施してタグの移動または脱落状況を観察した。透明処理では、ホルマリン溶液で固定した標本を 6 時間水洗し、1 %H₂O₂ 溶液に約 24 時間浸漬して脱色した後に 1%KOH 溶液に約 48 時間浸漬して筋肉組織を透明化した。透明化処理を施した標本は 99 %エタノール溶液中で保存した。

3. 結 果

変態を終えて上陸に達した（成体になった）個体は、実験区では 55 / 100 個体、対照区では 65 / 100 個体で、両区に大きな差は認められなかった（Fisher's exact test, $P > 0.1$; Table 1）。ホルマリン固定後にタグを目視観察した結果、実験区において回収された 55 個体中 49 個体（89.1 %）にタグの残存を確認できた。幼生に注入したタグは、過半数の個体では注入部位である背面上で確認されたが、9 個体では後肢の付け根付近に（16.4 %）、15 個体では腹部に（27.3 %）、それぞれ移動していた（Table 2）。目視でタグの残存を確認できなかった 6 個体のうち 3 個体を透明化したところ、体内にタグが残存していることが確かめられた（Fig. 3）。なお、残りの 3 個体は、変態後に斃死し、皮膚および筋肉組織が壊死したためにタグが脱落していた。

4. 考 察

本研究において、蛍光イラストマータグを注

Table 1. The survival rate in the Japanese brown frog, *Rana japonica*

	Number of individuals		Fisher's exact test
	Adult*	Larva**	
Elastomer tag	55	45	P > 0.1
Control	65	35	

* Adult that survived to the final stages after the metamorphosis

** Larva that could not metamorphose to the final stages

Table 2. The tag retention in the Japanese brown frog, *Rana japonica* after metamorphosis

Tag position	Number of individuals	Tag retention (%)*
Dorsal region	28	50.9
Base of limb	9	16.4
Ventral region	15	27.3

* Tag retention (%) = (number of adult having fluorescent elastomer internal tag / number of adult that survived to the final stage after metamorphosis) × 100



Fig. 3. The cleared specimen of the Japanese brown frog, *Rana japonica* after metamorphosis. Bar indicates 5 mm.

入した幼生の半数以上が上陸に至った。先報において、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が¹²⁾、本研究では対照区に対して生存率に大きな差は見られず、先報との生残率の違いについて明確な要因は明らかとならなかった。

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ているが¹¹⁾、本実験では大多数の個体において変態後にタグが再認された。カエル類は変態により体色が大きく変化し、タグの視認性が著しく低下する。本研究においても外観からタグを視認できない個体が出現したが、透明化処理によって体内に残存するタグを発見できていることから、Grant (2008) では注入したタグが皮下へ埋没した個体を脱落個体と誤認したと考えられた。

本研究により、カエル幼生に対するイラストマータグの注入による標識は自然下に近い環境においても有効な手段であることが確認され、野生個体に対する実用性が高い手法であると推察された。さらに、本標識については、若干であれば皮下に埋没した状態であれば VI ライトの照射により識別可能とされてきたが⁹⁾、採集個体を固定すれば透明化処理によって埋没状態に関わらず識別できることが明らかとなった。以上により、カエル類の幼生への蛍光イラストマータグによる標識は、変態前後にわたる追跡調査をはじめとした標識再捕に際する実用性の高い手法と結論づけられた。

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粗放的な長期飼育実験を行ない、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、幼生の背面部へ蛍光イラストマータグを皮下に注入した。変態後の生残率は実験区 55 %、対照区 65 %で、目視観察に

おけるタグの保持率は 95 %であった。本研究で生残率に大きな差は認められなかった。目視観察においてタグが確認されなかった個体に透明化処理を施したところ、すべての個体にタグの残存が認められ、体色が変化した変態後も透明化処理によってタグの観察が可能であることが明らかとなった。以上により、標識観察に際する新たな手法や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標識再捕の実用性が確かめられた。

6. 謝 辞

本研究を行なうにあたり、清水隆之氏、中田依里氏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。ここに記して謝意を表す。

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) 小田優花・北川哲郎・細谷和海 (2014) 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. 近畿大学農学部紀要, 47, 33–37.