

# ガザミの標識法について

## II. 小型個体への標識法

有山啓之・片山 直\*<sup>1</sup>・松田八束\*<sup>1</sup>・濱野米一\*<sup>2</sup>  
 ・高垣 裕\*<sup>2</sup>・浦谷文博\*<sup>3</sup>・大山 博\*<sup>3</sup>

## Marking and Tagging Methods of Swimming Crab

### *Portunus (Portunus) trituberculatus*

#### II. Method for Small-sized Crabs

Hiroyuki Ariyama, Tadashi Katayama\*<sup>1</sup>, Yatsuka Matsuda\*<sup>1</sup>, Yonekazu Hamano\*<sup>2</sup>,  
 Yutaka Takagaki\*<sup>2</sup>, Fumihito Uratani\*<sup>3</sup> and Hiroshi Ohyama\*<sup>3</sup>

### はじめに

前報<sup>1)</sup>ではガザミ *Portunus (Portunus) trituberculatus* 大型個体への標識法として、切断アンカータグが有効であることについて報告したが、放流効果を把握するためには、実際に放流する小型個体に装着可能な標識を開発する必要がある。しかしながら、放流技術開発事業における甲幅50mm以下の小型個体の標識放流は、わずかに甲に印を付けるペイント法が試みられたに過ぎず<sup>2)</sup>、この方法は脱皮するまでのみ有効で、頻繁に脱皮する高水温期には適さない。そこで、放流サイズの小型ガザミの標識法として可能性のあるアクチバブルトレーサー、染色、酵素、金粉、金線の5方法について試験を行い、最適な標識法を検討した。

報告に先立ち、1994・1997年に稚ガニを提供していただいた大阪府漁業振興基金栽培事業場の笹島祐史、福永恭平の両氏、ならびに標識装着や飼育にご協力いただいた大阪府立水産試験場職員の方々に感謝する。

体内に取り込まれた元素を原子炉の中で中性子を照射することにより放射化させて検出する標識法である。加藤<sup>3)</sup>は、この方法の利点として、1)非常に小さい魚に標識ができる、2)多量の魚に標識ができる、3)標識装着に際し魚体を損傷しない、4)魚および環境に対し放射能による汚染がない、の4点を挙げている。この方法は、国内ではシロザケ *Oncorhynchus keta* についてユウロピウム (Eu)<sup>3)</sup> が、マダイ *Pagrus major* についてイリジウム (Ir)<sup>4)</sup> が実用化されている。また甲殻類では、クルマエビ *Marsupenaeus japonicus* について室内実験と試験放流が行われている<sup>5)</sup>。この報告では、スカンジウム (Sc)、マンガン (Mn)、臭素 (Br)、イットリウム (Y)、セシウム (Cs)、ランタン (La) の中でマンガンが最も残存し、10ppmのマンガンを添加した海水中で約20日間飼育することにより標識できることが明らかにされている。ここでは、アクチバブルトレーサー法がガザミ稚ガニの標識法として適用可能か実験を行った。

### 1. アクチバブルトレーサー法

アクチバブルトレーサー法 (放射化分析法) とは、

### 材料と方法

供試元素 標識実験には、1)放射化できる核種

\*<sup>1</sup> 大阪府立放射線中央研究所 (現大阪府立大学先端科学研究所)

\*<sup>2</sup> 大阪府立公衆衛生研究所

\*<sup>3</sup> 大阪府立産業技術総合研究所

の同位体存在率が高い, 2) 半減期が数時間から数週間以上の核種を生じる, 3) 放射化断面積が大きい核種を持つ, 4) 生体に有害でない, 5) 生体中に微量かあるいはほとんど存在しない, の5条件をほぼ満たすマンガン, コバルト(Co), セシウム, ランタン, プラセオジウム(Pr), サマリウム(Sm), ユロピウム, ガドリニウム(Gd), ジスプロシウム(Dy), ホルミウム(Ho)の10元素を用いた。これらの元素の原子番号, 質量数および半数致死量(LD<sub>50</sub>)は表1の通りである。実験には, 各元素の塩化物(プラセオジウムのみ硝酸塩)を100ppmに調製した原液を希釈し, 10元素分混合して用いた。

**稚ガニの飼育** 稚ガニは, 日本栽培漁業協会玉野事業場で生産され, 大阪府立水産試験場の屋外水槽で3齢まで継続飼育したものをを用いた。

1989年6月20日より水産試験場の屋内で, 60ℓアクリル水槽8槽に稚ガニを200尾ずつ収容して15日間飼育した。8槽の内6槽には, 2槽ずつ各元素がそれぞれ0.1ppm, 0.01ppm, 0.001ppmになるよう添加し, 残りの2槽は対照区とした。飼育水は止水とし, 週に2回約60%の換水を行い, 水槽の周囲をウォーターバスにして水温上昇を防いだ。餌料としてツノナシオキアミ *Euphausia pacifica* を1日2回投餌し, 共食い軽減のためにキンラン(人工藻)を各5本ずつ投入した。

7月5日からは, 共食い防止のため, 65ℓアクリル水槽に入れた塩ビ板製個別飼育容器1号(図1, 区画数:50, 各区画の大きさ:50mm×50mm, 深さ50mm)に収容して流水飼育とし, 7月22日より個別飼育容器2号(区画数:18, 各区画の大きさ:85mm×85mm, 深さ90mm)に移し換え, 8月29日(浸漬処理終了後55日目)まで飼育した。底掃除は週に2回程度実施した。なお, 止水飼育中のpHは試薬添加区:7.81~8.14, 対照区:7.81~8.07で有意差はみられなかった。また, 飼育期間中の水温は21.0~29.0℃であった。

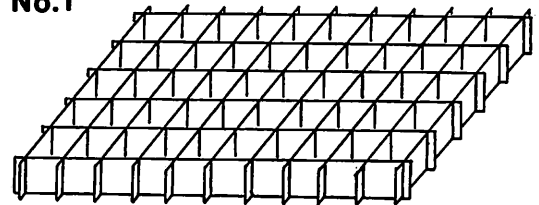
**試料の処理** 稚ガニは7月5日(浸漬処理終了後)と8月1日(終了後約1ヵ月)に一部を採取し, 冷蔵して大阪府立放射線中央研究所に持ち帰った。

表1. アクチバブルトレーサー法に使用した元素の原子番号, 質量数および半数致死量

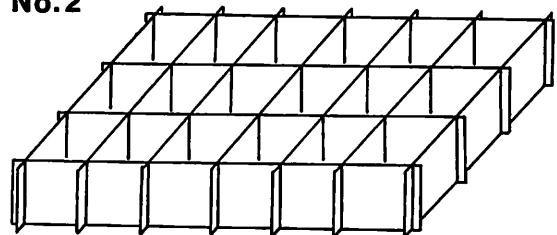
元 素	原子番号	質量数	半数致死量 (mg/kg)
Manganese (Mn)	25	55	201.6 <sup>*1</sup>
Cobalt (Co)	27	59	80 <sup>*2</sup>
Caesium (Cs)	55	133	1,500 <sup>*3</sup>
Lanthanum (La)	57	139	350 <sup>*3</sup>
Praseodymium (Pr)	59	141	600 <sup>*3</sup>
Samarium (Sm)	62	152	585 <sup>*3</sup>
Europium (Eu)	63	151	550 <sup>*3</sup>
Gadolinium (Gd)	64	158	550 <sup>*3</sup>
Dysprosium (Dy)	66	164	585 <sup>*3</sup>
Holmium (Ho)	67	165	560 <sup>*3</sup>

\*1 静脈内  
\*2 経口  
\*3 腹膜内

No.1



No.2



No.3

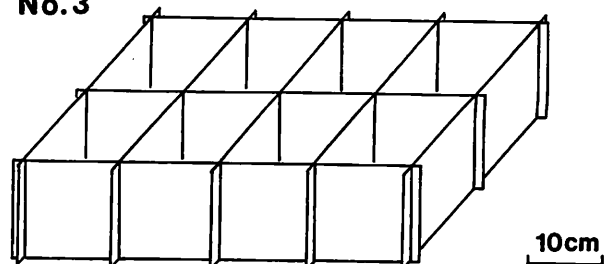


図1. 標識装着稚ガニの飼育に用いた塩ビ板製個別飼育容器

甲幅・湿重量を計測後、105℃で一夜乾燥しデシケータに保存した。分析用の個体については乾重量を計量した後、電気炉を用いて600℃で灰化処理を行い、灰分の全量または一部を中性子放射化分析試料とした。

**中性子放射化分析** 電気天秤 (Cahn C-31) で秤量した試料とスタンダード試料はポリエチレン小袋に二重に封入し、照射カプセルに2段ないし4段に詰め込み、立教大学原子力研究所に郵送した。中性子照射は、9月12・13日に5時間ずつ、同所のトリガーIIのRSR照射孔 (フラックス約 $4.8 \times 10^{11} \text{ cm}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ) で行われた。

照射試料は照射日の2日後に返送され、放射線中央研究所でガンマ線測定を行った。ガンマ線計測システムは高圧電源、ピュアGe半導体検出器 (検出効率: Co-60 1.33MeVピークに対して相対効率\*1 30%)、プリアンプ、メインアンプ、マルチチャンネルアナライザおよびパソコンからなり、試料交換にはオートサンプルチェンジャー (ヨシザワLA製) を、データ解析にはガンマ線核種定性定量解析ソフトウェア (ラボラトリ・イクイップメントコーポレーション製) を使用した。

## 結果と考察

**稚ガニの生残状況と成長** 飼育期間中の稚ガニの生残数および甲幅 (側棘含む) を、それぞれ図2、図3に示した。稚ガニは処理期間中に、共食い等により当初の200尾から37~73尾に減少した。生残率は0.1ppm区がやや高く、他の処理区は対照区とほぼ同じであった。その後、個別飼育容器に移して継続飼育したが、各区の生残状況に大きな差はなかった\*2。一方、甲幅は、処理終了後55日目に0.01ppm区がやや大きかったものの有意差は認められなかった。以上のことから、浸漬処理による生残・成長への影響はなかったと考えられる。

**供試元素の残存** 処理直後の試料各2検体 (I,

II) について、ガンマ線スペクトルの例を図4に、分析の結果得られた25元素の濃度を表2にそれぞれ示した。25元素は、実験に用いた10元素と、ナトリウム (Na)、カルシウム (Ca)、亜鉛 (Zn)、ガリウム (Ga)、セレン (Se)、臭素 (Br)、ルビジウム (Rb),

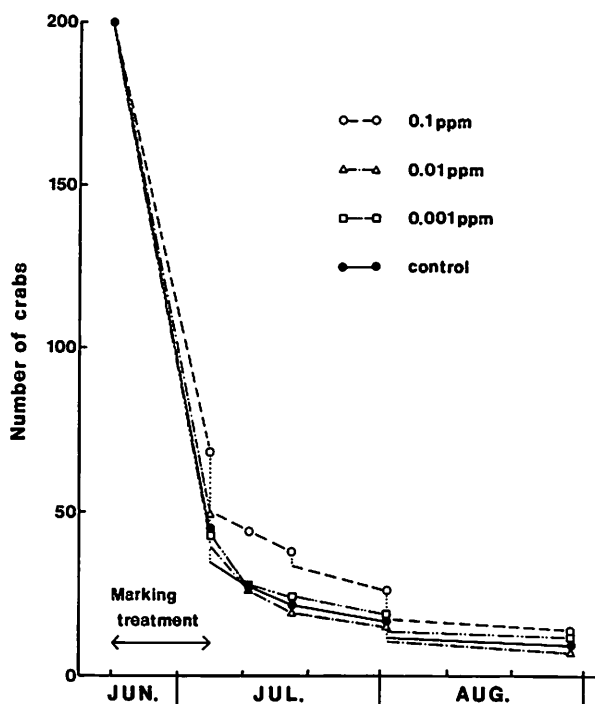


図2. アクチバブルトレーサー法標識試験における稚ガニ個体数の変化  
縦の点線はサンプリングによる減少を示す。

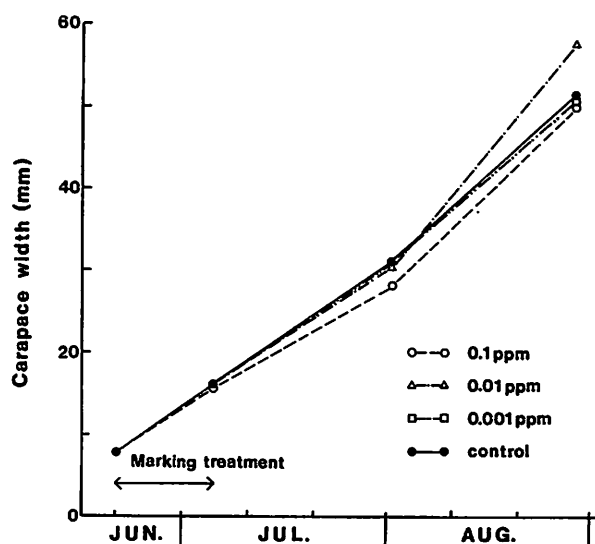


図3. アクチバブルトレーサー法標識試験における稚ガニ平均甲幅の変化

\*1 直径3"×長さ3"の円柱状NaIシンチレーターに対する相対効率。

\*2 処理濃度間では、濃度が高いほど生残率が上昇する傾向がみられた。

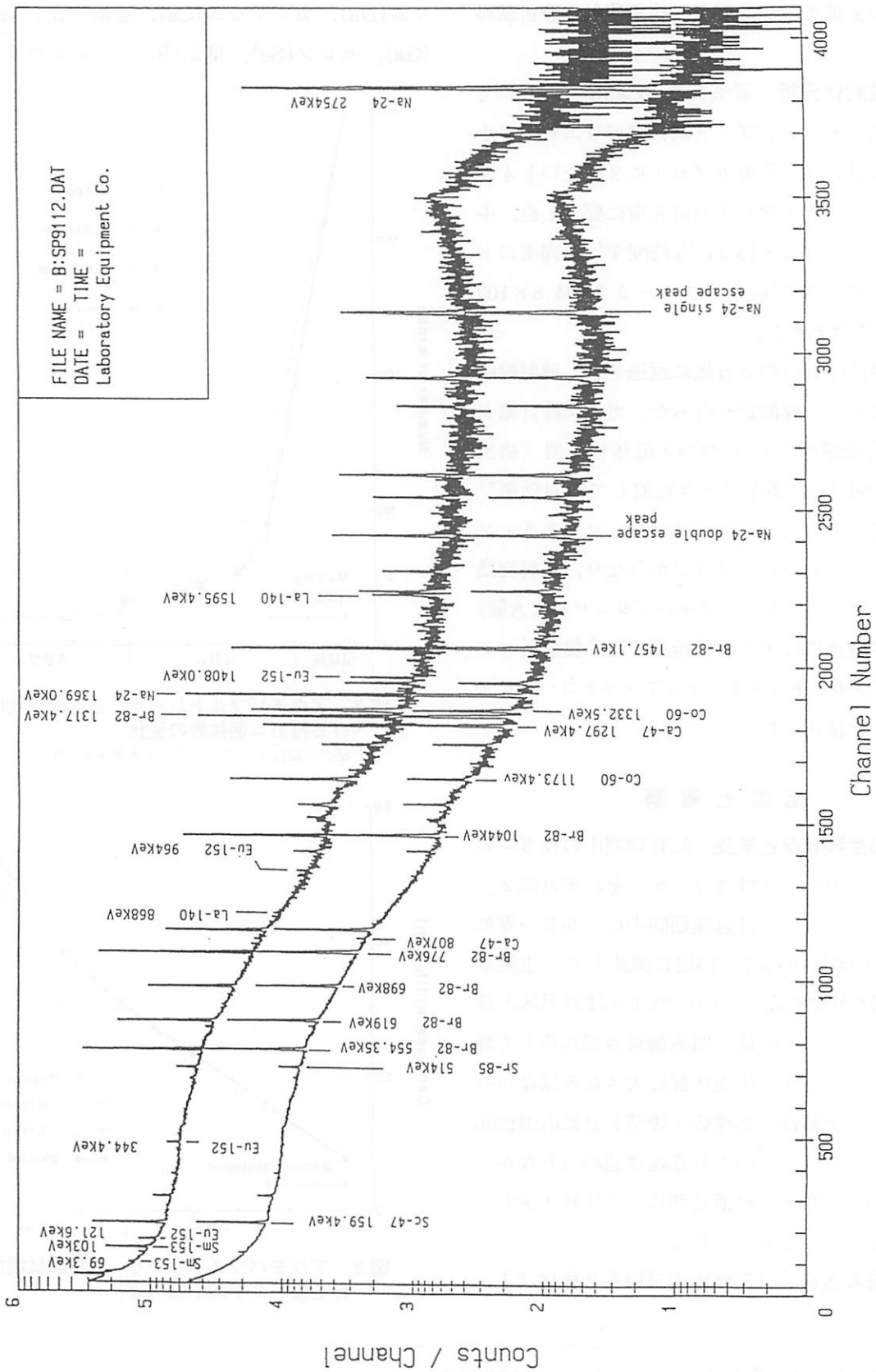


図4. 浸漬処理直後の試料におけるガンマ線スペクトルの例

上部：0.1ppm (II)，下部：対照区 (II)，比較のために，

上部のスペクトルは1桁上方にずらしてある。

表2. 標識処理直後における各元素の濃度 (灰化試料中, ppm)

元 素 (原子番号)	0.1ppm* <sup>1</sup>		0.01ppm		0.001ppm		対照区	
	I	II	I	II	I	II	I	II
Mn(25)	NE* <sup>2</sup>	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE
Co(27)	24	20	1.4	1.4	0.13	0.14	0.095	0.15
Cs(55)	0.23	0.51	0.14	0.051	0.013	0.015	8.5	0.063
La(57)	1.3	2.9	0.34	0.77	0.22	0.34	<0.022	<0.022
Pr(59)	<0.07	<0.07	<0.07	<0.07	<0.07	<0.07	<0.07	<0.07
Sm(62)	2.2	5.0	0.35	0.79	0.11	0.25	<0.01	<0.01
Eu(63)	1.1	0.49	0.14	0.087	0.060	0.044	<5.2E-5	<5.2E-5
Gd(64)	<0.051	<0.051	<0.051	<0.051	<0.051	1.9	<0.051	<0.051
Dy(66)	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE
Ho(67)	<0.023	<0.023	<0.023	<0.023	<0.023	<0.023	<0.023	<0.023
Na(11)	53,100	53,000	39,200	66,800	33,500	61,800	35,600	40,600
Ca(20)	169,000	221,000	108,000	199,000	167,000	191,000	176,000	217,000
Zn(30)	63	65	64	65	55	45	50	65
Ga(31)	<1.3	<1.3	<1.3	<1.3	<1.3	<1.3	<1.3	<1.3
Se(34)	0.49	0.34	0.45	0.57	0.39	0.28	0.35	0.41
Br(35)	8,160	7,670	6,100	7,920	5,580	9,620	6,420	6,260
Rb(37)	<0.01	<0.01	<0.01	16	<0.01	19	<0.01	23
Sr(38)	3,630	3,770	3,470	3,490	3,690	3,170	3,680	3,710
Ag(47)	0.52	0.44	0.23	0.14	0.42	0.25	0.18	0.26
Sn(50)	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE
Sb(51)	<0.0012	6.1	1.3	6.1	<0.0012	82	<0.0012	18
Ba(56)	<3.8	<3.8	<3.8	<3.8	<3.8	3,240	<3.8	<3.8
Nd(60)	<0.16	50	<0.16	<0.16	<0.16	<0.16	<0.16	<0.16
Lu(71)	<0.0039	<0.0039	<0.0039	<0.0039	0.45	<0.0039	<0.0039	<0.0039
Hg(80)	0.33	<0.036	0.049	<0.036	0.2	0.053	<0.036	0.14

\*<sup>1</sup> 処理時の濃度\*<sup>2</sup> 推定不可

ストロンチウム(Sr), 銀(Ag), スズ(Sn), アンチモン(Sb), バリウム(Ba), ネオジム(Nd), ルテチウム(Lu)および水銀(Hg)である。図4から明らかなように、処理区では対照区に見られない核種のピークSm-153, Eu-152, Eu-152m, La-140が出現している。添加した10元素の内、コバルト, セシウム, ランタン, サマリウム, ユウロビウムの5元素の残存が認められたが、コバルトとセシウムでは対照区からも検出された(表2)。プラセオジム, ガドリニウムおよびホルミウムはいずれの区も検出限界以下であった。なお、マンガンとジスプロシウムについては、半減期がそれぞれ2.58時間(<sup>56</sup>Mn)および2.33時間(<sup>165</sup>Dy)の短寿命核種を測定することにより定量できるが、今回の実験では照射終了後48時間以上経過して測定したので検出できなかった。次に、残存していた供試元素の内、対照区で高い値を示したセシウムを除いた4元素について、処理濃度間の関係を図5に示した。どの元素も処理濃度が高いほど残留濃度も高い傾向がみられる。

浸漬処理終了後1ヵ月の試料についても、同様に、ガンマ線スペクトルの例を図6に、25元素の濃度を

表3に、コバルト・ランタン・サマリウム・ユウロビウムの処理濃度間の関係を図7にそれぞれ示した。添加した10元素の内では、コバルト, セシウム, ランタン, ユウロビウム, ガドリニウムの5元素が検出されたが、コバルトとセシウムは処理直後と同じく対照区からも検出された。なお、処理直後に高濃度であったサマリウムはいずれの区も検出限界以下であり、ガドリニウムについては0.1ppm-I区のみで検出された。また、セシウムは各濃度区および対照区に差はみられなかったが(表3), コバルト, ランタン, ユウロビウムでは処理直後でみられたような処理濃度と残留濃度の比例関係が認められる(図7)。

**アクチバブルトレーサー法の有効性** 今回の実験の結果、浸漬処理終了後1ヵ月目には、湿重量が処理直後の5.5~7.1倍になっているにもかかわらず、添加した10元素の内5元素が試料から検出された。これよりアクチバブルトレーサー法の有効性が示唆されるが、検出された5元素の内、対照区から検出されず、比較的高濃度であったランタンとユウロビウムが実際に使用する元素として有望である。し

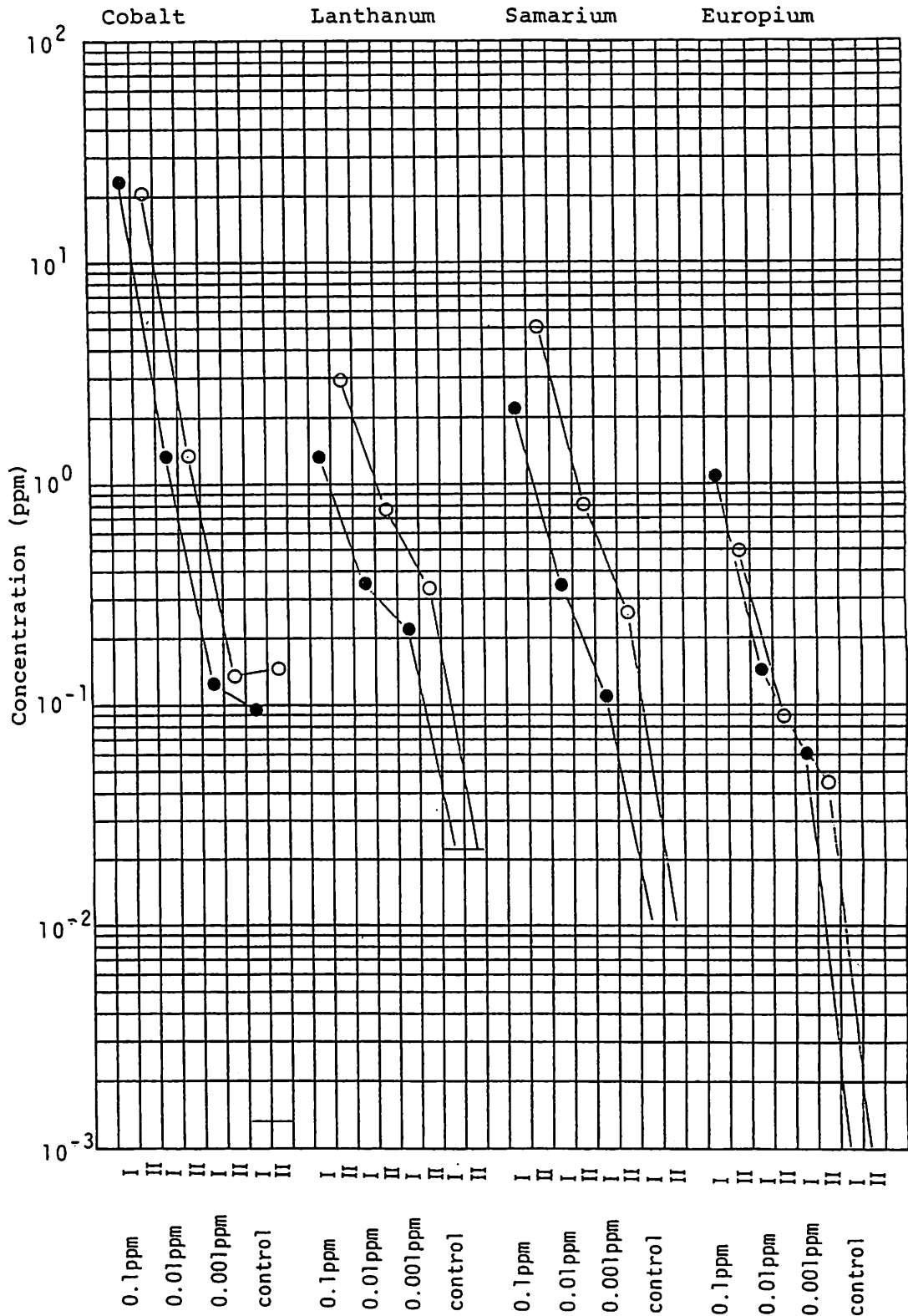


図5. 浸漬処理直後の試料におけるコバルト, ランタン, サマリウム, ユウロビウム濃度と処理濃度との関係  
 黒丸および白丸はそれぞれ検体I, 検体IIを示す。

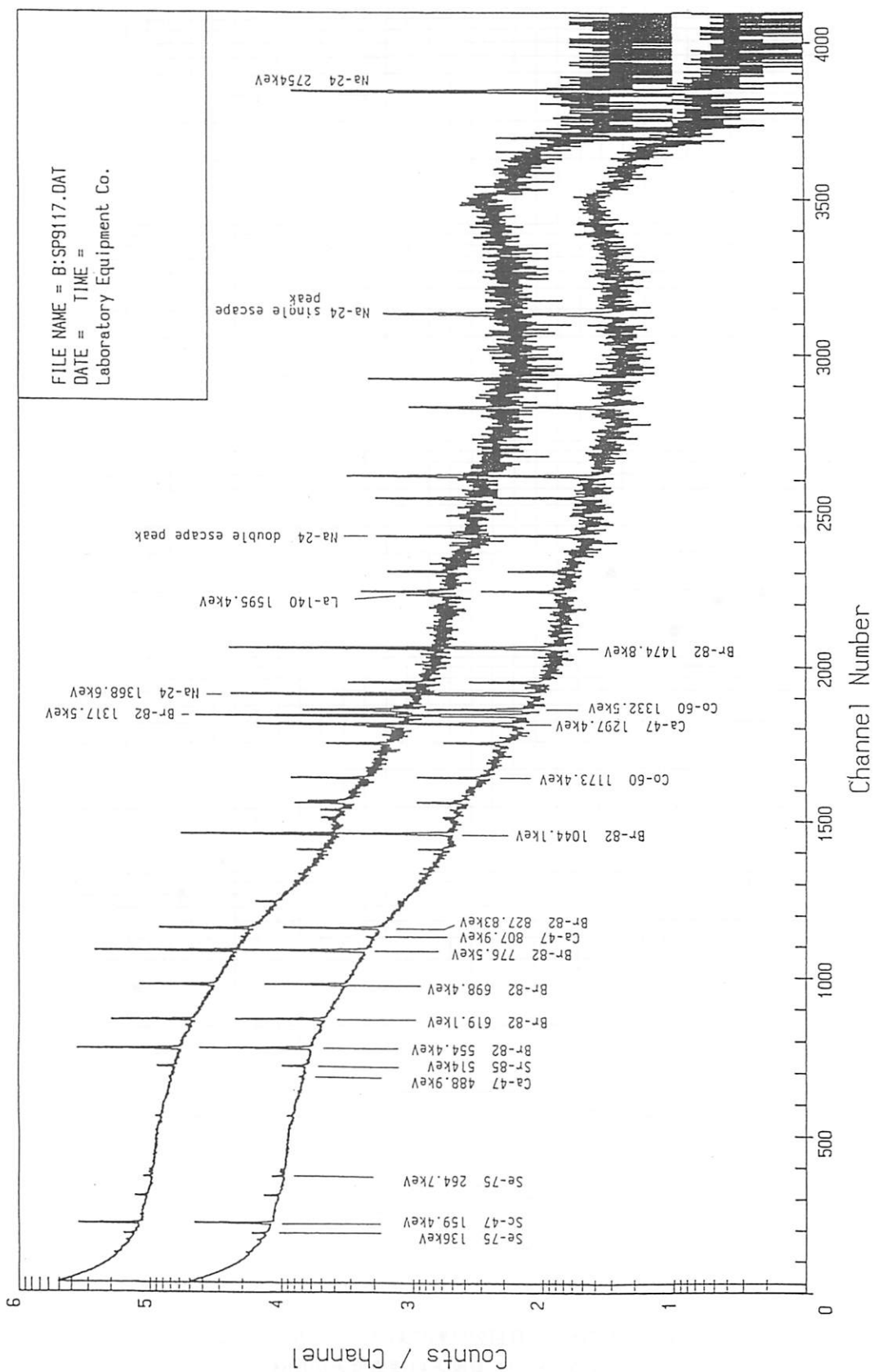


図6. 浸漬処理終了後1ヵ月目の試料におけるガンマ線スペクトルの例

上部: 0.1ppm (I), 下部: 対照区 (I). 比較のために, 上部のスペクトルは1桁上方にずらしてある。

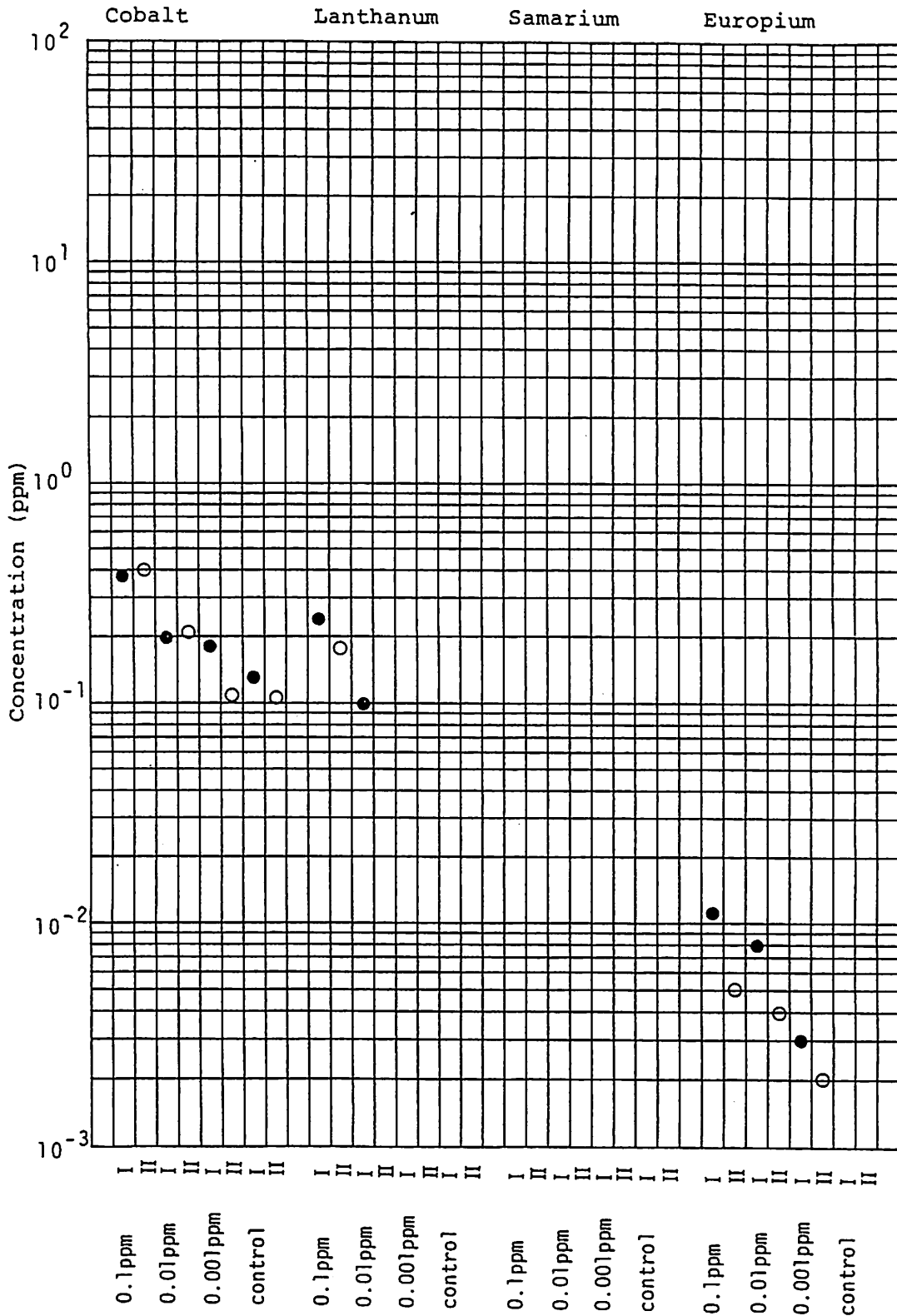


図7. 浸漬処理終了後1ヵ月目の試料におけるコバルト, ランタン, サマリウム, ユウロピウム濃度と処理濃度との関係  
 黒丸および白丸はそれぞれ検体I, 検体IIを示す.



表3. 標識処理終了後1ヵ月目における各元素の濃度 (灰化試料中, ppm)

元素 (原子番号)	0.1ppm* <sup>1</sup>		0.01ppm		0.001ppm		対照区	
	I	II	I	II	I	II	I	II
Mn(25)	NE** <sup>2</sup>	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE
Co(27)	0.39	0.40	0.20	0.20	0.17	0.11	0.13	0.11
Cs(55)	0.055	0.054	0.047	0.078	0.041	0.035	0.059	0.046
La(57)	0.24	0.18	0.10	<0.022	<0.022	<0.022	<0.022	<0.022
Pr(59)	<0.07	<0.07	<0.07	<0.07	<0.07	<0.07	<0.07	<0.07
Sm(62)	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
Eu(63)	0.011	0.005	0.008	0.004	0.003	0.002	<5.2E-5	<5.2E-5
Gd(64)	4.5	<0.051	<0.051	<0.051	<0.051	<0.051	<0.051	<0.051
Dy(66)	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE
Ho(67)	<0.023	<0.023	<0.023	<0.023	<0.023	<0.023	<0.023	<0.023
Na(11)	50,100	56,500	71,700	47,300	102,000	85,100	50,100	54,700
Ca(20)	208,000	245,000	211,000	233,000	172,000	226,000	234,000	231,000
Zn(30)	68	64	90	71	51	51	57	57
Ga(31)	<1.3	<1.3	<1.3	<1.3	<1.3	<1.3	<1.3	<1.3
Se(34)	11.5	9.4	13.1	10.3	12.3	9.8	12.5	9.8
Br(35)	9,250	9,800	11,700	8,260	16,200	10,200	7,670	8,910
Rb(37)	15	<0.01	23	<0.01	13	<0.01	14	16
Sr(38)	3,730	4,000	3,860	4,060	3,290	3,860	3,900	4,060
Ag(47)	0.36	0.53	0.70	0.59	0.59	0.39	0.50	0.36
Sn(50)	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE
Sb(51)	<0.0012	15	5.9	43	95	99	45	52
Ba(56)	<3.8	<3.8	<3.8	<3.8	406	<3.8	<3.8	<3.8
Nd(60)	15	<0.16	<0.16	<0.16	<0.16	<0.16	<0.16	<0.16
Lu(71)	<0.0039	<0.0039	<0.0039	<0.0039	<0.0039	<0.0039	<0.0039	<0.0039

\*<sup>1</sup> 処理時の濃度\*<sup>2</sup> 推定不可

かしながら、これらの元素が、ガザミが漁場加入する数ヵ月後まで残存しているか、残存していても検出が可能かは不明であり、課題として残される。

## 2. 染色標識法

染色標識法はエビ類で多くの研究が行われており<sup>6, 7)</sup>、クルマエビではトリパンレッド、トリパンブルー、ファーストグリーン<sup>®</sup>の3色素について、それぞれ浸漬法、摂食法、注射法が試みられている<sup>8)</sup>。しかしカニ類では、わずかにタイワンガザミ *Portunus (Portunus) pelagicus* で試験されているのみである<sup>9)</sup>。この研究では、アリザリンレッド、ニュートラルレッド、ファーストグリーン、トリパンブルー、トリパンレッドの5種の色素について浸漬法が試みられたが、数日で褪色した場合が多かった。そこで、クルマエビで最も染色効果が優れていた注射法<sup>8)</sup>をガザミ稚ガニに応用した。

### 材料と方法

供試色素には、安全性を考慮して食用色素であるファーストグリーン (緑色3号) を選択した。また供試稚ガニには、前項と同じものを継続飼育して4

齢 (甲幅12.8mm) または5齢 (同17.1mm) になったものを用いた。

1989年6月28日に、ファーストグリーン1%水溶液を10 $\mu$ lずつ、マイクロシリンジを用いて稚ガニ50尾の右第5歩脚基部に注射した (図8)。注射後は、前項と同様に、当初は個別飼育容器1号・2号 (図1)、9月5日からは同3号 (区画数: 8, 各区画の大きさ: 130mm $\times$ 130mm, 深さ130mm) に収容して、12週後の9月20日まで飼育し、色素の残存状況を随時、肉眼で観察した。

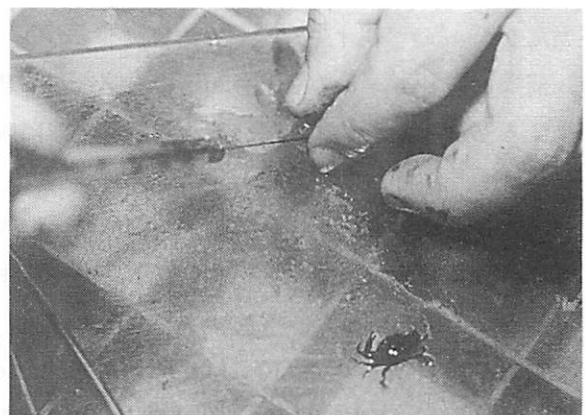


図8. マイクロシリンジによる稚ガニへの色素注入

## 結果と考察

色素注射直後には稚ガニの全身が青く染色されたが、2・3日経過後は鰓の部分に特に良く色素が残存し、その他の部分は薄く染色された。注射後1週間の観察結果では、色素は鰓に限局して残存し、鰓以外の部分からは色素は消失した。以後、甲を通して鰓の色素残存の観察を続けた結果、その残存期間は4週間であった。なお、色素注射による脱皮障害は観察されず、死亡率も対照区と比較して有意に増加しなかった。

本実験の結果、色素による稚ガニへの悪影響は観察されなかったが、色素の残存期間は、6ヵ月以上残ったクルマエビ<sup>8)</sup>とは異なり、4週間と短かった。これは組織学的・生理的違いに起因すると考えられるが、ガザミ稚ガニへの染色標識法の適用は難しいと思われる。

### 3. 酵素標識法

酵素を用いた標識法は知られていないが、実用化の可能性が考えられるので、稚ガニに酵素を注射してその残存状況を調べた。

#### 材料と方法

酵素には、食物としての安全性を考慮して、西洋ワサビに含まれるペルオキシダーゼを選んだ。ペルオキシダーゼは最も純度の高いPeroxidase (I-C, 260U/mg, RZ=3.33) [東洋紡製] を1.0mg/mlの濃度になるよう純水に溶かして用いた。酵素の注入には10 $\mu$ lのマイクロシリンジを使用し、1尾当たり5 $\mu$ lのペルオキシダーゼ溶液(5 $\mu$ g/尾)を、前項と同じ4・5齢稚ガニ50尾の右第5歩脚基部に注入した。注入後は、同様に個別飼育容器に収容し流水中で飼育した。

注入後3週目および4週目に飼育中の標識区と対照区の稚ガニを2尾ずつサンプリングし、ペルオキシダーゼの分析を行った。ペルオキシダーゼは、ハサミで細切した稚ガニから0.1M sodium acetate buffer (pH5.5) 中で抽出後、微量遠心機を用いて15,000rpmで5分間遠心分離し、上清を測定用のサ

ンプルとした。ペルオキシダーゼの基質としては3, 3', 5, 5'-tetramethylbenzidine (TMBZ) を使用した<sup>10, 11)</sup>。0.1M sodium acetate buffer, pH 5.5を用いてTMBZを0.2mg/ml、過酸化水素を0.009%の濃度にして基質溶液とした。希釈用buffer (1.0mg/ml Gelatin in 0.1M sodium acetate buffer, pH5.5) で希釈したサンプルと等量の基質溶液を混合し、25℃で30分間インキュベーションした後、655nmの吸光度を測定した。Standardには0, 0.03, 0.1, 0.3ng/mlの濃度(希釈用buffer中)のペルオキシダーゼを使用した。なお、それぞれの655nmの吸光度は0.019, 0.180, 0.562および1.570で、この濃度の範囲内で良い直線性を示した。サンプルはこの範囲の濃度になるよう、適当に希釈用bufferで希釈を行って測定した。

## 結果と考察

本試験で、標識区と対照区の稚ガニの間に体重や死亡率で有意差は認められなかった。注入後3週目および4週目の標識個体のペルオキシダーゼ残存量は、1個体当たりそれぞれ32ng, 2.7ngで、酵素の残存が確認された。一方、対照区では3週目0.13ng, 4週目0.5ngと微量であったことから、さらに数週間後でも標識個体の検出が可能と考えられる。しかしながら、同方法で行ったクルマエビにおける実験では、12週間後も1個体当たり17ngが残存していたことから<sup>12)</sup>、クルマエビとは異なり長期間の検出は無理と思われる。前項の染色標識法の結果を考え合わせると、ガザミでは体から酵素や色素を排出する機能が存在している可能性が示唆される。

### 4. 金粉標識法

カニ類への内部標識法としては、上記の標識法以外に、サケ・マス用のステンレス製 Coded wire tag<sup>13)</sup> がズワイガニ *Chionoecetes opilio*<sup>14)</sup> やアオガニ *Callinectes sapidus*<sup>15, 16)</sup> に応用されている。しかし、食品として考えた場合、食用にならない歩脚の先端への装着<sup>14)</sup> はよいが、可食部への装着は問題がある。そこで、金粉および金線(後述)を用いた標識法を試みた。金は柔らかく化学的に不活性な金

属で、食品添加物としても認められていることから、標識個体を人間が食べても問題ないと考えられる。

### 材料と方法

実験には、日本栽培漁業協会玉野事業場で生産され、大阪府立水産試験場で継続飼育した5齢稚ガニ（平均甲幅20.8mm）と6齢稚ガニ（平均甲幅26.0mm）を用いた。1990年8月2日に、50尾の稚ガニの右第5歩脚基部に、純金粉（宮本理研工業製：150mesh）を注射針（22G×1 $\frac{1}{2}$ "）で埋め込んだ（図9）。金粉を埋め込んだ稚ガニは、同数の対照群とともに、個別飼育容器1号（図1）に収容し65ℓ水槽で流水飼育したが、8月13日から個別飼育容器2号に、9月26日からは同3号に移し換えた。注水は穴を開けた塩ビパイプから各区画に行い、ツノナシオキアミまたはナンキョクオキアミ *Euphausia superba* を1日2回投餌した。飼育水温の範囲は19.6～27.8℃であった。稚ガニは、金粉埋め込み後18週目の11月21日まで飼育を行い、軟X線撮影装置（ソフロンTRS-1005）で金粉の残存状況を調べた。

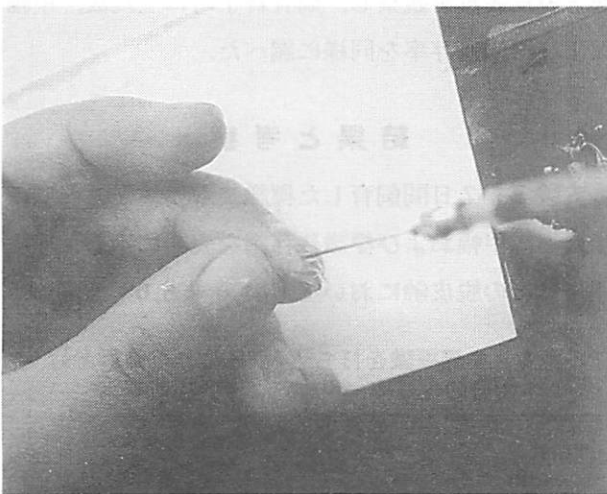


図9. 注射針による稚ガニへの金粉埋め込み

### 結果と考察

8月2日に金粉を埋め込んだ稚ガニは、8・9・10・11月中にそれぞれ29尾、7尾、3尾、6尾が死亡し、18週目には5尾のみ生き残った。一方、対照群は同月にそれぞれ30尾、7尾、4尾、2尾が死亡し、生残尾数は7尾であった。金粉埋め込み区の死

亡は標識装着直後の8月前半に多かったが、同時期に対照区も多く死亡しており、飼育環境に問題のあった可能性も考えられる。なお、金粉の残存については、生残した5尾すべてで明瞭に観察された。

今回の実験で、稚ガニの体内に埋め込んだ金粉は18週後でも全個体に残存していることが明らかとなり、実用化の可能性が示唆される。しかし、対照区の死亡も多かったため一概にはいえないが、装着直後に死亡が多く埋め込み時のダメージが大きかったものと思われる。この原因として、装着に用いた注射針の直径が太い（外径0.6mm）ことが考えられるが、細くすると金粉が針内に詰まるため、細い針でも詰まらない埋め込み方法の開発が必要である。また、次項の金線標識と比べ迅速な埋め込みができない欠点もあり、実用化には大量標識手法、自動化のための機器の開発が課題である。

### 5. 金線標識法

有山ら<sup>17, 18)</sup>は、クルマエビやヨシエビ *Metapenaeus ensis* の標識として、体内に直径0.2mm、長さ0.8mmの純金線を埋め込む金線標識法を開発した。この方法は体長30mm前後の小型エビに装着可能で、生残や成長に影響を及ぼすことなく、腹部の前部・中部に打ち込んだ場合、6週間後の標識残存率は87.4～99.6%と高率であった。大阪府立水産試験場ではこの標識法を用いてヨシエビ稚エビの放流効果調査を実施しているが<sup>19)</sup>、ガザミ稚ガニにも応用できるか実験を行った。

### 材料と方法

実験1 金線標識の装着可能サイズを知るため、1994年6月12日、16日、23日に、それぞれ3齢、4齢、5齢稚ガニに金線標識（図10）を打ち込んで7日間ずつ飼育した。これらの稚ガニは、大阪府漁業振興基金栽培事業場で生産され大阪府立水産試験場で継続飼育したもので、平均甲幅は3齢：11.0mm、4齢：15.1mm、5齢：22.7mmであった。標識は稚ガニの第5歩脚基部に金線打ち込み機（図11）<sup>20)</sup>を用いて装着した（図12）。装着尾数は各脱皮齢

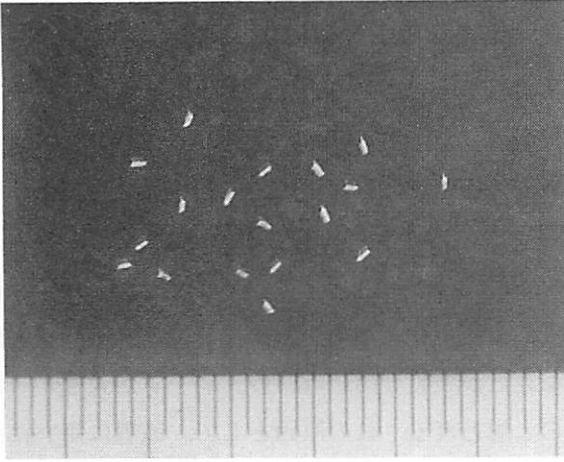


図10. 金線標識

純金製で、長さは0.8mm、直径は0.2mmである。

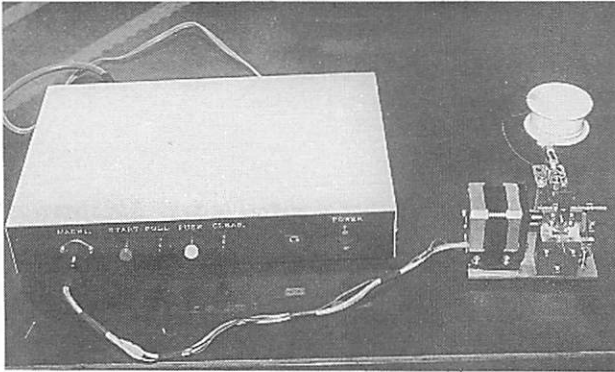


図11. 金線打ち込み機

右が打ち込み部、左が制御部である。上下に動く刃によって長尺の金線が短く切断され、針を通して稚ガニに打ち込まれる。これらの過程はマイクロコンピュータにより制御されている。

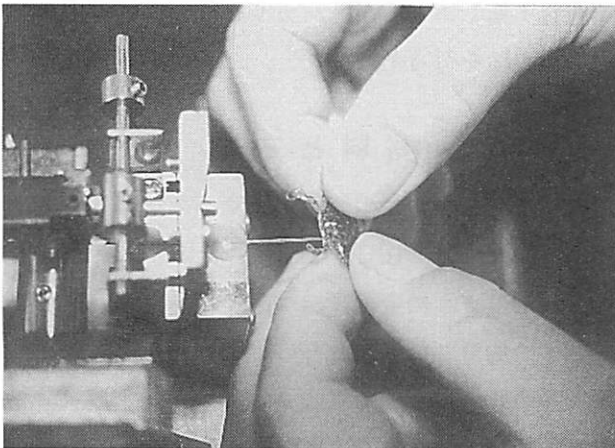


図12. 稚ガニへの金線打ち込み

金線標識は、針の先端から第5歩脚の基部に打ち込まれる。

100尾で、対照群各50尾と共に、50尾ずつ細砂を1cmの厚さに敷いた個別飼育容器1号(図1)に収容した。飼育中はろ過水を上方から各区画に注水し、ツノナシオキアミを給餌した。飼育水温は20.8~22.4℃であった。飼育終了後、生残数を計数し甲幅を測定するとともに軟X線撮影装置(ソフロンSR O-505C)で標識残存状況を調べた。

**実験2** 標識装着の長期的な影響を調べるために、1997年6月2日に、大阪府漁業振興基金栽培事業場で生産され大阪府立水産試験場で継続飼育した4齢稚ガニ300尾(平均甲幅13.9mm)に同様に金線標識を打ち込み、4週間飼育した。飼育には細砂を3cmの厚さに敷いた120ℓ水槽(底面105cm×60cm、深さ19cm)4槽を用い、内3槽には標識個体100尾ずつ、残りの1槽は対照群を100尾収容した。飼育水としてろ過海水を砂の底から注水し、餌にはツノナシオキアミとアサリ *Ruditapes philippinarum* を用いた。飼育水温は19.0~22.4℃であった。なお、水槽中には共食い軽減のために長さ1.5mのキンランを6本ずつ投入した。飼育期間中は毎日、死亡尾数と脱皮殻数を観察し、飼育終了時に生残数、甲幅および標識残存率を同様に調べた。

## 結果と考察

**実験1** 7日間飼育した標識装着個体と対照群の生残率、甲幅および標識残存率を表4に示した。生残率はどの脱皮齢においても84.0~96.0%と高く、

表4. 金線標識を打ち込み7日後の標識群と対照群の生残率、甲幅および標識残存率

開始時の脱皮齢	群	生残率(%)	平均甲幅および標準偏差(mm)	標識残存率(%)
3	標識群-1	84.0	14.4±1.1	100.0
	標識群-2	96.0	14.5±1.2	97.9
	対照群	94.0	14.4±1.4	—
4	標識群-1	86.0	17.5±3.0	93.0
	標識群-2	86.0	17.6±3.3	97.7
	対照群	84.0	18.1±3.5	—
5	標識群-1	94.0	24.8±4.6	95.7
	標識群-2	90.0	24.8±4.3	100.0
	対照群	98.0	26.6±4.4	—



装着によるダメージの小さいことがわかる。また、どの脱皮齢でも生残率と平均甲幅における対照区との差は明瞭でなく、標識残存率は93.0~100.0%と高率であった。これらのことから、3~5 齢稚ガニのいずれにおいても金線標識が使用可能と考えられる。しかしながら、3 齢稚ガニでは体が小型であるため作業能率が悪く、大量放流には4 齢が適当と思われる。

**実験2** 28日間飼育した標識装着個体の軟X線写真を図13に、飼育後の生残率、甲幅および標識残存率を表5に、飼育期間中に観察された死亡尾数と脱皮殻数を図14に、それぞれ示した。生残率は標識区：24.0~35.0% (平均29.0%)、対照区：21.0%といずれも低かったものの、標識区が対照区を上回っていた。また、甲幅では標識区と対照区の間には差がみられず、標識残存率は88.6~96.4% (平均93.6%)

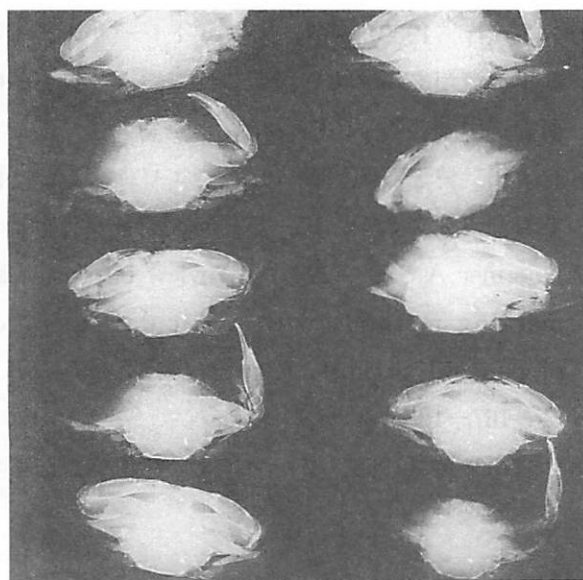


図13. 28日間飼育した金線標識装着個体の軟X線写真  
体内の白点が金線標識

表5. 金線標識打ち込み28日後の標識群と対照群の生残率、甲幅および標識残存率

開始時の脱皮齢	群	生残率 (%)	平均甲幅および標準偏差 (mm)	標識残存率 (%)
4	標識群-1	24.0(37.0)*	25.6±2.4	95.8
	標識群-2	28.0(39.0)	25.4±4.1	96.4
	標識群-3	35.0(45.0)	27.5±4.9	88.6
	対照群	21.0(41.0)	26.6±2.8	—

\*カッコ内は標識打ち込み後25日目における生残率

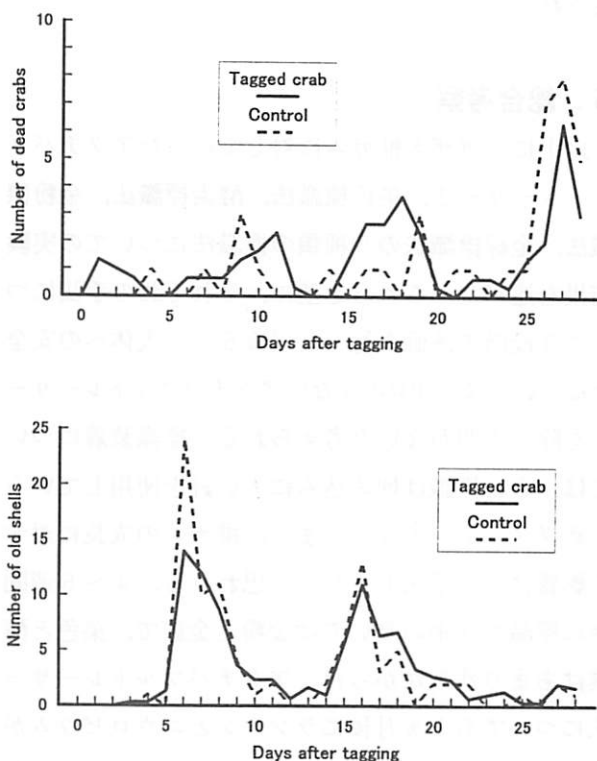


図14. 実験2における飼育期間中に観察された死亡尾数(上)と脱皮殻数(下)の変化

と高かった。日ごとの死亡・脱皮状況(図14)をみると、標識区・対照区ともよく似た傾向を示しており、死亡尾数と脱皮殻数にはそれぞれ3個、2個のピークがみられている。死亡原因としては、キンランを投入したにもかかわらず破損個体がしばしば観察されたことから、共食いが大きかったものと考えられる。また、死亡尾数の第1と第2のピークは脱皮のピークの数日後となっており、脱皮との関連が示唆される。ただ、第3の死亡ピークについては、7 齢稚ガニ出現開始時期と一致しているが、死亡数が多いことから、疾病等、他の要因の可能性もある。ちなみに、この死亡が始まる直前(装着後25日目)における生残率は標識区：37.0~45.0% (平均40.3%)、対照区：41.0%と高く(表5)、両区の間には差はなかった。

**金線標識法の有効性** 実験1・2の結果から、標識装着による死亡はわずかで、成長に悪影響を与えず、2・3回脱皮しても脱落がわずかであることがわかった。このことから、金線標識法がエビ類だけでなく、ガザミ稚ガニにも十分適用できることが示

唆される。

## 6. 総合考察

以上に、ガザミ稚ガニに対して行ったアクチバブルトレーサー法、染色標識法、酵素標識法、金粉標識法、金線標識法の5種類の標識法についての実験結果を述べた。これらを基に、それぞれの手法について3段階で評価を行った(表6)。人体への安全性については、知見の少ないアクチバブルトレーサー法を除いて問題ないと考えられる。標識装着については、金粉標識は埋め込みに太い針を使用しているためダメージが大きい。また、稚ガニの成長に対する影響はどの手法も少ないと思われる。4~6週間後に標識残存率の高いのは金粉と金線で、染色と酵素はあまり残らなかった。アクチバブルトレーサー法についても1ヵ月後にランタンとウロビウムが検出されている。標識の検出方法については、染色は肉眼により、金粉・金線は軟X線撮影装置で確認できるが、酵素はやや手間がかかり、アクチバブルトレーサー法では原子炉内で熱中性子を照射し、それから出るガンマ線を分析するため多大な費用と労力がかかる。

これらのことを総合的に評価すると、ガザミ稚ガニの標識法としては金線標識法が適しており、他の手法は難点があるということが出来る。今後、金線標識法を用いた調査が望まれるが、探知器の開発されている Coded wire tag の場合と異なり、この

方法では入手したガザミを軟X線撮影装置で写さなければ検出できないため、より簡便な検出方法の開発が今後の課題である\*。

## 文 献

- 1) 有山啓之(2001)ガザミの標識法について I. 大型個体への標識法. 大阪水試研報, 13, 23-27.
- 2) 岡山県水産試験場(1983)昭和57年度栽培漁業放流技術開発事業 ガザミ班総合報告書, 岡1-岡32.
- 3) 加藤 守(1985)シロザケに対するヨーロッパウム標識技術に関する最近の知見. サケ・マス増養殖の強化(漁政叢書15), 日本水産資源保護協会, 東京, pp. 55-69.
- 4) 加藤 守・首藤宏幸・畔田正格・松宮義晴(1991)志々伎湾のマダイに対するイリジウム(Ir)標識放流実験. 遠洋水研報, 28, 21-45.
- 5) 水産庁(1969)アクチバブルトレーサーによる漁場放流用クルマエビ種苗の標識および再捕率の研究(中間報告), 63 pp.
- 6) 倉田 博・石岡清英(1971)エビの標識法. 漁業資源研究会議報, 12, 45-54.
- 7) Farmer, A.S.D. (1981) A review of crustacean marking methods with particular reference of penaeid shrimp. *Kuwait Bull. mar. Sci.*, 2, 167-183.
- 8) 倉田 博(1968)クルマエビの染色標識法につ

表6. 試験した各標識法の評価\*

標 識 法	人体への 安 全 性	装着の容易性	標識装着 による死亡	成長への影響	標識の残存	検出の容易性	総合評価
アクチバブルトレーサー法	B?	A	A	A	B?	C	C
染色標識法	A	A	A	A	C	A	C
酵素標識法	A	A	A	A	C	B	C
金粉標識法	A	B	C?	A?	A	A	C
金線標識法	A	A	A	A	A	A	A

\* 良い順にA, B, Cの3段階で評価した。

\* (付記) 最近になって Coded wire tag のガザミへの応用が検討され、生残、成長、標識残存が良好であることがわかった<sup>2)</sup>。食品としての安全性が確認されるならば有効な標識となろう。

- いて. 水産増殖, 16, 39-45.
- 9) 沖縄県水産試験場 (1987) 昭和61年度栽培漁業技術開発事業調査報告書 ハマフエフキ・タイワソガザミ, 91-95.
- 10) Bos, E.S., A.A. van der Doelen, N. van Rooy and A.H.W.M. Schuurs (1981) 3,3',5,5'-Tetramethylbenzidine as an AMES test negative chromogen for horse-radish peroxidase in enzyme immunoassay. *Journal of Immunoassay*, 2, 187-204.
- 11) Suzuki, K., H. Ota, S. Sasagawa, T. Sakatani and T. Fujikura (1983) Assay method for myeloperoxidase in human polymorphonuclear leucocytes. *Analytical Biochemistry*, 132, 345-352.
- 12) 濱野米一・高垣 裕・有山啓之 (1990) ワタリガニ, クルマエビの標識法に関する研究 (第3報) -ペルオキシダーゼによる標識-. 大阪府立公衛研所報 食品衛生編, 21, 113-115.
- 13) Jefferts, K.B., P.K. Bergman and H.F. Fiscus (1963) A coded wire identification system for macro-organisms. *Nature*, 198, 460-462.
- 14) Bailey, R.F.J. and R. Dufour (1987) Field use of an injected ferromagnetic tag on the snow crab (*Chionoecetes opilio* O. Fab.). *J. Cons. int. Explor. Mer*, 43, 237-244.
- 15) van Montfrans, J., J. Capelli, R.J. Orth and C.H. Ryer (1986) Use of microwire tags for tagging juvenile blue crabs (*Callinectes sapidus* Rathbun). *Jour. Crust. Biol.*, 6, 370-376.
- 16) Fitz, H.C. and R.G. Wiegert (1991) Tagging juvenile blue crabs, *Callinectes sapidus*, with microwire tags: retention, survival, and growth through multiple molts. *Jour. Crust. Biol.*, 11, 229-235.
- 17) 有山啓之 (1994) 金線による稚エビの標識法の開発およびヨシエビへの応用. 月刊海洋, 26, 514-518.
- 18) Ariyama, H., F. Uratani, H. Ohyama, M. Sano and S. Yamochi (1994) Survival, growth, and tag retention of the Kuruma prawn *Penaeus japonicus* and the greasy back prawn *Metapenaeus ensis* injected with gold bit tags. *Fisheries Sci.*, 60, 785-786.
- 19) 有山啓之・佐野雅基 (2000) 淀川河口域に放流した金線標識ヨシエビの採捕および脚損傷状況について. 栽培技研, 28, 25-37.
- 20) 浦谷文博・大山 博・有山啓之・佐野雅基・矢持 進 (1993) クルマエビ, ヨシエビの標識法に関する研究-金線打ち込み装置の試作-. 大阪府立産業技術総合研究所報告技術資料, 3, 1-4.
- 21) 岡本一利 (1999) Coded Wire Tag で標識されたガザミ種苗の生残, 成長と標識残存率. 日水誌, 65, 703-708.