

アクチバブルトレーサーによる稚アユへの標識試験

・ 作 中 宏 ・ 小 林 良 雄

河川および海洋における稚魚期のアユの回遊生態についてはまだ明らかにされていない点が多い。その理由として、体の小さな稚仔魚に対して魚体を損傷せず、氷続性のある、大量処理の可能な標識方法がいまだに確立していないことがあげられる。

そこで、これらの条件を満足させられる標識方法として、アクチバブルトレーサー法によるアユの標識及び分析方法について検討した。

報告に先だち、本試験の実施にあたり、放射化分析についてご協力をいただいた日本原子力研究所アイソトープ事業部富永洋氏、今橋強氏、また、試料の分析、データの取りまとめ等でお世話になった放射線照射振興協会の述村重男氏、上沖寛氏に厚く御礼申し上げます。

材料および方法

トレーサーの選定

アクチバブルトレーサー剤としてはユーロピウムやリジウムなどが使用されている。

今回の試験では、アユの体内に蓄積させるトレーサー元素として放射化分析の際に高感度、低バックグラウンドである希土類元素のユーロピウム(Eu)を選定した。

Euはそのままでは水、油に不溶であり、魚体内へも吸収されにくい。本試では魚類に対する毒性の少ない塩化ユーロピウム($\text{EuCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$)を使用することとした。

バックグラウンドの測定および検出限度

Euはわずかではあるが天然にも存在する。そこで、試験に先立ちアユの体各部についてユーロピウムのバックグラウンド調査を行った。

調査に使用したアユは琵琶湖産アユおよび当场で採苗した人工採苗アユ(以下人工アユ)である。供試アユの大きさは湖産アユが2.0~3.3g、人工アユが2.1~4.4gであった。

供試アユの鰓蓋骨、脊椎骨、肝臓、筋肉を採取し、乾気室で一週間風乾したものを試料とした。

試料は個々に標量の後、日本原子力研究所東海研究所の原子炉JRR-2に気送管で送り込み、照射を行った。

照射時間は1分および10分の2群とした。

また、照射に際しては、一部の試料に0.1μgおよび0.01μgのEuを加えて標準試料とした。

原子炉内で中性子を照射され、放射化されたEuからは12.18Kevのγ線と40.1Kevのサマリウムx線が検出される。

Euには ^{152}Eu と ^{152m}Eu が混在しており、 ^{152}Eu は半減期が13.3年と長く、バックグラウンドの冷却時間を長くおける利点もあるが、絶対量が少ないため半年以上の冷却を行わないとピークが明瞭に現われない。その点、 ^{152m}Eu は半減期が9.3時間と短いが、絶対量が多いのでピークが明瞭に現われるため、検出感度がよく、測定誤差が少ないという利点をもっている。このようなことから、ここでは主に ^{152m}Eu を用いた。

放射化された試料は約3時間冷却した後一検体ずつポリ袋に詰め替えを行い、大洗研究所の低エネルギー用ゲルマニウムメーター(LEPS)および同軸型ゲルマニウム検出器(HP-Ge)を使用して ^{152m}Eu の測定を行った。また、10分照射群については20日間の冷却後 ^{152}Eu についても測定を行った。放射化された試料からはナトリウム、カルシウム、リンなどのバックグラウンドから放射されるβ線も多いため、測定に際しては検出器と資料の間にフィルターとして12mmの亚克力板を設置し、β線による妨害を除いた。

亚克力板と検出器の間の距離は、1分照射試料についてはLEPSで10mm、HP-Geでは20mm、10分照射試料についてはLEPSで50mm、HP-Geでは210mmとした。また、測定時間はそれぞれ300秒とした。

琵琶湖産および人工アユの各部位試料についての測定結果は第1表に示したとおりで、LEPSによる40.1Kevのサマリウムx線測定結果が最も感度がよく、その検出限界は0.005ppmであった。また、Euを添加した試料の定量値からアユのバックグラウンドとしてはいずれの試料にも0.005ppm以上のEuは存在しないことが判明した。

照射時間による定量値の差は見られず、12.8Kevの

* 現 神奈川県水産試験場

定量値は感度が低いこと、また、20日冷却後の152 Euの定量値はさらに感度が低いことから標識試験の際の試料の照射時間は一分とし、LEPSで152 mEuの放射する40.1 Kevの線量を300秒測定する方法を取ることにした。

稚アユへの標識

アユの体内にユーロピウムを取り込ませる方法としてはEu混合飼料を給餌し経口的に吸収させることにした。

Eu混合飼料はEuの含有率1,000ppmと2,000ppmの2種類を作成した。

飼料に混合する塩化ユーロピウムは一たん水に溶した後、乳化剤としてエチルアルコールを添加した食用油に混合し、アユ用配合飼料に混ぜ合わせ攪拌して試験用飼料とした。

供試アユは人工アユ800尾を第2表に示す4区に分け、1,000ppmおよび2,000ppmのEu混合飼料を各試験区の魚体重の3%にあたる量を残餌のないように1日4回に分けて給餌した。規定の給餌期間後は通常飼料で連続飼育した。

分析試料の調整

Eu混合飼料給餌期間終了後1, 7, 30, 60, 90, 120日目に各区より各々10尾を取り揚げ、鰓蓋骨、肝臓、筋肉の3部位を採取し、乾気室で約1ヶ月風乾した後、10尾分を各部位ごとに混合粉碎し、その中から100gを押し出し一試料とした。なお、当初の予想としてユーロピウムは一担肝臓に蓄積された後に全身各部へ移行するものと考えられたので、7日目の試料については肝臓だけは個別に試料とした。

試料は先に決定したようにJRR-2気送管で1分間照射を行いLEPSで300秒の測定を行った。

結 果

放射化分析結果は第3表に示したとおりで、Eu

混合飼料の給餌期間終了後1日目の試料では、全試験区の各部位からEuが検出されたが、7日目以後は肝臓、筋肉からはほとんど検出されなかった。また、当初の予想に反して7日目の肝臓のEu含有量はいずれも低い値となっており、Euがシロザケとは異なり長期間肝臓に滞留することのないことが判明した。供試魚の体重は試験開始時の8~10倍となっていたがⅢ区とⅣ区の鰓蓋骨試料からは120日後にもEuが検出されており、この方法が淡水域におけるアユの追跡調査等の標識として十分に利用可能であることが判明した。

要 約

1. アクチバブルトレーサーとしてユーロピウム(Eu)を使用したアユの標識試験を実施した。
2. 日本原子力研究所のJRR-2で1分間照射し放射し放射化したEuから放射されるサマリウムx線の検出限界は0.005ppmであり、アユのバックグラウンドとしては同限界値以上のEuは存在しない。
3. 1,000ppmおよび2,000ppmのEu混合飼料で5~20日間飼育した人工アユの体各部のEu含有量を系統的に測定した。
4. Eu 1,000ppmおよび2,000ppm飼料を20日間給餌したアユの鰓蓋骨からは、120日後にもEuが検出され、標識として利用できることが判明した。

文 献

- 1) 加藤 守 (1982): シロザケに対するユーロピウム標識技術に関する最近の知見。UJNR水産増養殖専門部会、第11回日米合同会議シンポジウム資料、55~69。水産資源保護協会。
- 2) 加藤 守外4 (1992): 魚類に対するアクチバブル・トレーサーの応用技術の開発研究(5)、(昭和57年度)。遠洋水産研究所

第2表 試験区の設定

区	収容尾数	Eu濃度	給餌期間	給餌率	平均体重	
					開始時	終了時
I	200尾	1,000ppm	5日間	3%	3.5g	32.7g
II	"	"	10	"	"	22.0
III	"	"	20	"	"	34.0
IV	"	2,000	20	"	"	28.1

第1表 バックグラウンド測定結果

1 分 照 射		10 分 照 射		10 分 照 射		約 20 分 照 射	
定 量 値 (μSv)		定 量 値 (μSv)		定 量 値 (μSv)		定 量 値 (μSv)	
試料No.	試料部位	LEPS, d=10mm+12mm 4.0.1Kev	HP-Ge, d=200mm+12mm 1.2.1.8Kev	LEPS, d=50mm+12mm 4.0.1Kev	HP-Ge, d=210mm+12mm 1.2.1.8Kev	試料No.	試料部位
試料No.	試料部位	LEPS, d=10mm+12mm 4.0.1Kev	HP-Ge, d=200mm+12mm 1.2.1.8Kev	LEPS, d=50mm+12mm 4.0.1Kev	HP-Ge, d=210mm+12mm 1.2.1.8Kev	試料No.	試料部位
KG-1	湖産鮫骨	<0.012	<0.03	0.44±0.22 (11.5%)	0.41±0.05 (10.8%)	KG-3	湖産鮫骨
KG-2	湖産鮫骨	<0.016	<0.05	<0.014	<0.04	KG-4	湖産鮫骨
JG-1	人工鮫骨	<0.013	<0.03	0.53±0.22 (11.1%)	0.52±0.06 (10.9%)	JG-3	人工鮫骨
JG-2	人工鮫骨	<0.023	<0.06	<0.019	<0.06	JG-4	人工鮫骨
KV-1	湖産脊椎骨	<0.007	<0.02	0.98±0.008 (10.3%)	0.8±0.02 (8.5%)	KV-3	湖産脊椎骨
KV-2	湖産脊椎骨	<0.009	<0.03	<0.007	<0.02	KV-4	湖産脊椎骨
JV-1	人工脊椎骨	<0.008	<0.02	0.89±0.008 (9.1%)	0.7±0.03 (7.1%)	JV-3	人工脊椎骨
JV-2	人工脊椎骨	<0.010	<0.03	<0.008	<0.02	JV-4	人工脊椎骨
KL-1	湖産肝臓	<0.008	<0.02	0.86±0.008 (10.5%)	0.3±0.02 (3.5%)	KL-3	湖産肝臓
KL-2	湖産肝臓	<0.011	<0.03	0.66±0.01 (6.1%)	0.9±0.03 (1.1%)	KL-4	湖産肝臓
JL-1	人工肝臓	<0.006	<0.02	<0.007	<0.02	JL-3	人工肝臓
JL-2	人工肝臓	<0.008	<0.02	0.102±0.007 (10.3%)	0.11±0.02 (11.0%)	JL-4	人工肝臓
KM-1	湖産筋肉	<0.006	<0.01	0.103±0.007 (10.3%)	0.11±0.02 (11.0%)	KM-3	湖産筋肉
KM-2	湖産筋肉	<0.010	<0.03	0.103±0.007 (10.3%)	0.09±0.02 (10.1%)	KM-4	湖産筋肉
JM-1	人工筋肉	<0.005	<0.01	<0.006	<0.02	JM-3	人工筋肉
JM-2	人工筋肉	0.010±0.008	<0.02	0.104±0.007 (10.7%)	0.11±0.02 (11.4%)	JM-4	人工筋肉
KG-1	湖産鮫骨	0.32±0.02 (11.0%)	0.30±0.05 (10.2%)	0.34±0.08 (11.6%)	0.34±0.08 (11.6%)	KG-3	湖産鮫骨
JG-1	人工鮫骨	0.31±0.01 (10.3%)	0.31±0.01 (10.3%)	0.31±0.01 (10.3%)	0.31±0.01 (10.3%)	JG-3	人工鮫骨
KL-1	湖産肝臓	0.130±0.02 (12.1%)	0.136±0.05 (12.6%)	0.106±0.06 (10.0%)	0.106±0.06 (10.0%)	KL-3	湖産肝臓
JL-1	人工肝臓	0.12±0.01 (13.5%)	0.12±0.03 (13.8%)	0.08±0.04 (8.6%)	0.08±0.04 (8.6%)	JL-3	人工肝臓

* Eu 0.01 μSv 添加

** Eu 0.1 μSv 添加

第3表 アユ試料の放射化分析結果 (1)

(B・C: 2.0ch)

試験区	部位	Eu 定量値 (ppm) 誤差: 2σ						
		投餌試験後の経過日数						
		1日	7日	30日	60日	90日	120日	
I 区 Eu1000ppm 5日間投餌区	鯉蓋骨	0.011±0.011	0.019±0.010	0.008±0.007	0.013±0.008	0.009±0.009	0.015±0.007	
	肝臓	0.027±0.008	別記(2)の表へ	<0.006	<0.009	0.013±0.009	<0.007	
	筋肉	0.027±0.006	<0.006	0.005±0.005	<0.007	0.011±0.007	<0.005	
II 区 Eu1000ppm 10日間投餌区	鯉蓋骨	0.055±0.011	0.020±0.010	0.045±0.006	0.017±0.008	0.025±0.008	0.009±0.007	
	肝臓	0.020±0.008	別記(2)の表へ	<0.007	<0.009	0.009±0.008	0.008±0.007	
	筋肉	0.050±0.006	<0.005	<0.005	0.008±0.007	<0.006	0.007±0.005	
III 区 Eu1000ppm 20日間投餌区	鯉蓋骨	0.039±0.011	0.054±0.008	0.034±0.006	<0.009	0.023±0.007	0.017±0.007	
	肝臓	0.015±0.007	別記(2)の表へ	<0.006	<0.009	0.008±0.007	<0.007	
	筋肉	0.023±0.006	<0.006	0.026±0.006	0.012±0.006	0.006±0.005	<0.005	
IV 区 Eu2000ppm 20日間投餌区	鯉蓋骨	0.092±0.010	0.083±0.008	0.073±0.007	0.027±0.008	0.029±0.007	0.022±0.007	
	肝臓	0.123±0.008	別記(2)の表へ	0.014±0.006	0.012±0.009	0.012±0.007	<0.007	
	筋肉	0.082±0.006	<0.007	<0.006	0.014±0.007	0.007±0.006	<0.005	

第3表 アユ試料の放射化分析結果 (2)

試験区	部位	No.	定量値 ($\mu\text{Ci} \pm 2\sigma$) 投餌後7日間経過
I 区 Eu10000 μCi 5日間投餌区	肝臓	1	<0.02
		2	<0.03
		3	<0.03
		4	<0.03
		5	<0.02
		6	<0.03
		7	<0.02
		8	<0.03
		9	<0.03
		10	<0.03
II 区 Eu10000 μCi 10日間投餌区	肝臓	1	<0.02
		2	<0.02
		3	<0.02
		4	<0.03
		5	<0.02
		6	<0.02
		7	<0.02
		8	0.03 \pm 0.02
		9	<0.02
		10	<0.02
III 区 Eu10000 μCi 20日間投餌区	肝臓	1	<0.03
		2	0.03 \pm 0.03
		3	<0.02
		4	<0.02
		5	<0.02
		6	<0.03
		7	0.03 \pm 0.02
		8	<0.03
		9	<0.02
		10	<0.03
IV 区 Eu20000 μCi 20日間投餌区	肝臓	1	<0.02
		2	0.04 \pm 0.02
		3	<0.02
		4	<0.02
		5	<0.02
		6	<0.02
		7	0.02 \pm 0.02
		8	<0.02
		9	<0.02
		10	0.04 \pm 0.02

アクチバブルトレーサーによる稚アユへの標識試験

・ 作 中 宏 ・ 小 林 良 雄

河川および海洋における稚魚期のアユの回遊生態についてはまだ明らかにされていない点が多い。その理由として、体の小さな稚仔魚に対して魚体を損傷せず、氷続性のある、大量処理の可能な標識方法がいまだに確立していないことがあげられる。

そこで、これらの条件を満足させられる標識方法として、アクチバブルトレーサー法によるアユの標識及び分析方法について検討した。

報告に先だち、本試験の実施にあたり、放射化分析についてご協力をいただいた日本原子力研究所アイソトープ事業部富永洋氏、今橋強氏、また、試料の分析、データの取りまとめ等でお世話になった放射線照射振興協会の述村重男氏、上沖寛氏に厚く御礼申し上げます。

材料および方法

トレーサーの選定

アクチバブルトレーサー剤としてはユーロピウムやリジウムなどが使用されている。

今回の試験では、アユの体内に蓄積させるトレーサー元素として放射化分析の際に高感度、低バックグラウンドである希土類元素のユーロピウム(Eu)を選定した。

Euはそのままでは水、油に不溶であり、魚体内へも吸収されにくい。本試では魚類に対する毒性の少ない塩化ユーロピウム($\text{EuCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$)を使用することとした。

バックグラウンドの測定および検出限度

Euはわずかではあるが天然にも存在する。そこで、試験に先立ちアユの体各部についてユーロピウムのバックグラウンド調査を行った。

調査に使用したアユは琵琶湖産アユおよび当场で採苗した人工採苗アユ(以下人工アユ)である。供試アユの大きさは湖産アユが2.0~3.3g、人工アユが2.1~4.4gであった。

供試アユの鰓蓋骨、脊椎骨、肝臓、筋肉を採取し、乾気室で一週間風乾したものを試料とした。

試料は個々に標量の後、日本原子力研究所東海研究所の原子炉JRR-2に気送管で送り込み、照射を行った。

照射時間は1分および10分の2群とした。

また、照射に際しては、一部の試料に0.1μgおよび0.01μgのEuを加えて標準試料とした。

原子炉内で中性子を照射され、放射化されたEuからは12.18Kevのγ線と40.1Kevのサマリウムx線が検出される。

Euには ^{152}Eu と ^{152m}Eu が混在しており、 ^{152}Eu は半減期が13.3年と長く、バックグラウンドの冷却時間を長くおける利点もあるが、絶対量が少ないため半年以上の冷却を行わないとピークが明瞭に現われない。その点、 ^{152m}Eu は半減期が9.3時間と短いが、絶対量が多いのでピークが明瞭に現われるため、検出感度がよく、測定誤差が少ないという利点をもっている。このようなことから、ここでは主に ^{152m}Eu を用いた。

放射化された試料は約3時間冷却した後一検体ずつポリ袋に詰め替えを行い、大洗研究所の低エネルギー用ゲルマニウムメーター(LEPS)および同軸型ゲルマニウム検出器(HP-Ge)を使用して ^{152m}Eu の測定を行った。また、10分照射群については20日間の冷却後 ^{152}Eu についても測定を行った。放射化された試料からはナトリウム、カルシウム、リンなどのバックグラウンドから放射されるβ線も多いため、測定に際しては検出器と資料の間にフィルターとして12mmのアクリル板を設置し、β線による妨害を除いた。

アクリル板と検出器の間の距離は、1分照射試料についてはLEPSで10mm、HP-Geでは20mm、10分照射試料についてはLEPSで50mm、HP-Geでは210mmとした。また、測定時間はそれぞれ300秒とした。

琵琶湖産および人工アユの各部位試料についての測定結果は第1表に示したとおりで、LEPSによる40.1Kevのサマリウムx線測定結果が最も感度がよく、その検出限界は0.005ppmであった。また、Euを添加した試料の定量値からアユのバックグラウンドとしてはいずれの試料にも0.005ppm以上のEuは存在しないことが判明した。

照射時間による定量値の差は見られず、12.8Kevの

* 現 神奈川県水産試験場

定量値は感度が低いこと、また、20日冷却後の152 Euの定量値はさらに感度が低いことから標識試験の際の試料の照射時間は一分とし、LEPSで152 mEuの放射する40.1 Kevの線量を300秒測定する方法を取ることにした。

稚アユへの標識

アユの体内にユーロピウムを取り込ませる方法としてはEu混合飼料を給餌し経口的に吸収させることにした。

Eu混合飼料はEuの含有率1,000ppmと2,000ppmの2種類を作成した。

飼料に混合する塩化ユーロピウムは一たん水に溶した後、乳化剤としてエチルアルコールを添加した食用油に混合し、アユ用配合飼料に混ぜ合わせ攪拌して試験用飼料とした。

供試アユは人工アユ800尾を第2表に示す4区に分け、1,000ppmおよび2,000ppmのEu混合飼料を各試験区の魚体重の3%にあたる量を残餌のないように1日4回に分けて給餌した。規定の給餌期間後は通常飼料で連続飼育した。

分析試料の調整

Eu混合飼料給餌期間終了後1, 7, 30, 60, 90, 120日目に各区より各々10尾を取り揚げ、鰓蓋骨、肝臓、筋肉の3部位を採取し、乾気室で約1ヶ月風乾した後、10尾分を各部位ごとに混合粉碎し、その中から100gを押し出し一試料とした。なお、当初の予想としてユーロピウムは一担肝臓に蓄積された後に全身各部へ移行するものと考えられたので、7日目の試料については肝臓だけは個別に試料とした。

試料は先に決定したようにJRR-2気送管で1分間照射を行いLEPSで300秒の測定を行った。

結 果

放射化分析結果は第3表に示したとおりで、Eu

混合飼料の給餌期間終了後1日目の試料では、全試験区の各部位からEuが検出されたが、7日目以後は肝臓、筋肉からはほとんど検出されなかった。また、当初の予想に反して7日目の肝臓のEu含有量はいずれも低い値となっており、Euがシロザケとは異なり長期間肝臓に滞留することのないことが判明した。供試魚の体重は試験開始時の8~10倍となっていたがⅢ区とⅣ区の鰓蓋骨試料からは120日後にもEuが検出されており、この方法が淡水域におけるアユの追跡調査等の標識として十分に利用可能であることが判明した。

要 約

1. アクチバブルトレーサーとしてユーロピウム(Eu)を使用したアユの標識試験を実施した。
2. 日本原子力研究所のJRR-2で1分間照射し放射し放射化したEuから放射されるサマリウムx線の検出限界は0.005ppmであり、アユのバックグラウンドとしては同限界値以上のEuは存在しない。
3. 1,000ppmおよび2,000ppmのEu混合飼料で5~20日間飼育した人工アユの体各部のEu含有量を系統的に測定した。
4. Eu 1,000ppmおよび2,000ppm飼料を20日間給餌したアユの鰓蓋骨からは、120日後にもEuが検出され、標識として利用できることが判明した。

文 献

- 1) 加藤 守 (1982): シロザケに対するユーロピウム標識技術に関する最近の知見。UJNR水産増養殖専門部会、第11回日米合同会議シンポジウム資料、55~69。水産資源保護協会。
- 2) 加藤 守外4 (1992): 魚類に対するアクチバブル・トレーサーの応用技術の開発研究(5)、(昭和57年度)。遠洋水産研究所

第2表 試験区の設定

区	収容尾数	Eu濃度	給餌期間	給餌率	平均体重	
					開始時	終了時
I	200尾	1,000ppm	5日間	3%	3.5g	32.7g
II	"	"	10	"	"	22.0
III	"	"	20	"	"	34.0
IV	"	2,000	20	"	"	28.1