

短 報
Note

イラストマータグ注入状況による 保持率の違い

山本敦也*・山内雄一朗**・金岩 稔***

(平成 28 年 5 月 25 日受付/平成 28 年 10 月 21 日受理)

要約: 資源状態を知る生物パラメータの推定を行う際に標識による個体識別は有用な方法である。近年登場したイラストマータグは標識の保持率が高く、安価かつ魚体への影響が少ないため、標識として有用であると言われている。しかし、イラストマータグの注入状況による保持率の差が懸念されている。そこでイラストマータグ注入時の状況により、標識の保持率がどのように変化するか明らかにするために、飼育されたニジマス (*Oncorhynchus mykiss*) を用いて、標識を入れた魚体の左右、標識の注入方向 (上下)、イラストマータグの固化促進剤を混合後経過した時間 (1 時間以内と 24 時間以上) 全ての組み合わせについて、保持率の経時変化を調べ、有効なイラストマータグの注入状況について考察した。56 日間の観測後、イラストマータグの保持率は全体で 86.4% であった。これらの要因について一般化線形モデルを用いて要因解析を行ったところ、標識の保持率は経過日数と標識を入れた魚体の左右で説明されることがわかった。イラストマータグを用いた標識は、左側に比べ右側の保持率が若干低いが、保持率の低い右側でも 81.8% の保持率であることから、少なくとも 2 ヶ月程度は標識方法として有効であると思われた。より正確に標識状況を把握するためには同じ箇所と同じ標識を 2 つ施すことやバリティビットとなるタグの標識が望ましいと思われた。

キーワード: 標識保持率, VIE, 左右, 注入方向, 混合後経過時間

1. はじめに

主に魚類等の水生生物の行動や生活史、資源の状況を推定するために、標識をつけて放つ標識再捕法は古くから使われている手法である¹⁾。その中で、1990 年代に登場したイラストマータグは安価で装着時の魚体への影響の少ない方法として多くの研究で使用されている^{2,3)}。

イラストマータグで放流場所や個体を識別するためには複数の色を左右で組み合わせ注入する場合があります⁴⁾、イラストマータグの脱落はこれらの誤認を生じさせる。サクラマス *Oncorhynchus masou masou* の幼稚魚において 18 ヶ所の保持率の違いを調べた研究では保持率に差は見られなかったが²⁾、著者らの経験では魚体の左右にイラストマータグを注入した個体で再採捕時に、左右の保持率に差があるように感じられたが、これが左右の位置関係によるものなのか物理的な注入方向によるものかわからなかった。また、イラストマータグは固化促進剤と混合して使用するが、実務的に混合後暗所低温下で保存し、約 1 日を経たタグを使用することがある。1 日経過したイラストマータグはシリンジで注入可能ではあるが、固化が進み脱落しやすい可能性も懸念される。このように、イラストマータグの経時的な保持率の研究はあるが^{5,6)}、これらの注入

状況の違いが、保持率に与える影響は調べられていない。そこで本研究では水槽実験下で実際の野外調査において直面することが想定される、様々な装着状況によって保持率がどのように変化するか、明らかにすることを目的とした。

2. 材料および方法

(1) 実験

実験は 2014 年 4 月 14 日から 6 月 9 日の 56 日間、東京農業大学生物産業学部臨海研究センターにて水温 11-16°C、毎分 12L を循環させた 500L 円形水槽 (直径 1m、水深 60cm) に予め馴致してあったニジマス *O. mykiss* 22 個体 (実験開始時平均尾叉長 ± 標準偏差 260.4 ± 32.4 mm、約 46.7 個体 / m³) を用いて行った。ニジマスに麻酔を施した後、イラストマータグ (Northwest Marine Technology 社, Visible Implant Elastomer, 以下 VIE) を 1 mL シリンジ (29G) を用いて眼後方に VIE の固化促進剤と混合後経過した時間 (1 時間以内, 24 時間以上)、標識の注入方向 (上方から, 下方から)、標識を注入した魚体の左右側面 (左側, 右側) の全ての組み合わせを考慮して注入した (Photo 1)。VIE の注入状況の組み合わせと実験魚の個体数を Table 1 に示す。また、個体識別のためにアンカータグを背鰭基部後方に装着した。その後 VIE の有無を週

* 東京農業大学生物産業学部生物資源開発研究所 (a3yamamo@bioindustry.nodai.ac.jp)

** 元東京農業大学生物産業学部アクアバイオ学科

*** 三重大学生物資源学部生物圏生命科学科

に1度の頻度で個体毎に観察・記録し保持/脱落を確認した。

(2) 解析方法

VIEの保持率を説明するために一般化線形モデル(GLM)を用いて要因解析を行った。初期モデルは、対数線形モデルとし、応答変数にVIEの保持または脱落した数(VIE_n)、説明変数にVIEの保持または脱落(VIE_b)と、経過日数(dc)・注入方向(dr)・魚体の左右(si)・混合後の経過時間(et)の独立項とVIE_bごとにその他の説明変数の影響度を見るため、VIE_bとの交互作用つまり保持または脱落それぞれの経過日数、保持または脱落それぞれ

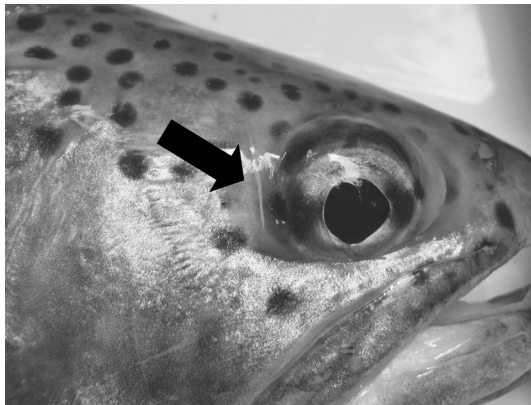


Photo 1 Location of VIE tag

Table 1 Set of handling methodology of VIE

Side (si)	Direction (dr)	Elapsed time after mixing (et)	n
right	above	1h	6
right	above	24h	5
left	above	1h	5
left	above	24h	6
right	below	1h	6
right	below	24h	5
left	below	1h	5
left	below	24h	6

Table 2 Result of the GLM on the relationships between VIE retention rate and handling methodology

Variables	Estimate	SE	z	p
(Intercept)	0.0022	0.0960	0.0220	0.9821
VIE _b (expelled)	-3.6639	0.4332	-8.4580	<0.0001 ***
dc	-0.0017	0.0027	-0.6480	0.5167
si(right)	-0.1208	0.1004	-1.2020	0.2293
VIE _b (expelled) : dc	0.0181	0.0087	2.0790	0.0376 *
VIE _b (expelled) : si(right)	1.4200	0.3892	3.6480	0.0003 ***

***: $p < 0.001$, **: $p < 0.01$, *: $p < 0.05$

の注入方向、保持または脱落それぞれの魚体の左右、保持または脱落それぞれの混合後の経過時間とした。また、それぞれの組み合わせの繰り返回数異なるためオフセット項として対数変換した各組み合わせの個体数(tl)を設定し、誤差分布はポワソン分布に従うものとした。リンク関数は対数を用いた。式を以下に示す。

$$\text{VIE}_n \sim \text{VIE}_b^*(dc+dr+si+et)+\text{offset}(tl)+\text{ポワソン分布誤差}$$

このモデルを初期モデルとして、AICを評価基準とした両方向のステップワイズ法により要因解析を行った。

得られた最適モデルについて推定値に対する逸脱度残差分布、標準化正規QQプロット、テコ比の分布からモデルの当てはまりを評価した。最適モデルの当てはまりに問題がなかった場合、モデルによる推定値を用い、保持率に与える影響を検討した。

3. 結果

56日後にVIEが脱落していた個体は全体で6個体だった。これらを状況別にみると、固化材混合後の経過時間ではそれぞれ3、左右では左側1に対して右側5、注入方向では両方向とも3であり、左右だけ異なった。脱落は、2日目から14日目までに5、56日目に1と装着初期に一気に脱落しその後安定する傾向が見られた。

要因選択の結果最適モデルとして以下の式が採択された。

$$\text{VIE}_n \sim \text{VIE}_b^*(dc+si)+\text{offset}(tl)+\text{ポワソン分布誤差}$$

このモデルの推定値に対する逸脱度残差の分布は0周辺に集中し、全ての点が ± 2 以内に収まっていた。標準化した正規QQプロットはほぼ45°の直線上にあった。テコ比は最大値0.103、平均値0.038と十分に小さい値となった。これらのことからこのモデルの当てはまりに問題は無いと判断し解析を進めた。

最適モデルから得られた推定パラメータはTable 2のようになった。タグの保持率は日数を経ると減少し、左側に比べ右側が低くなると推定された。このモデルの尤度比検定の結果をTable 3に示した。保持/脱落数は、 $\text{VIE}_b > \text{si}$

>dcの順に影響を受けることがわかった。タグ設置からの日数別、左右別保持率の推定値と実際の観察比率を Fig. 1 に示した。

これらのことから、日数を経る毎に保持率は低下し、また、左側が右側より保持率は高いことが示された。

4. 考 察

本研究は標識の注入状況が標識の保持率に与える影響を示した点で新規性がある。

本研究において最も保持率が低くなると推定された56日後の右側でさえも、その値は81.8%と、高い保持率を保つことが示された。また、ほとんどの脱落は装着後2-14日目に見られ、それ以降の脱落は少なかった。また左右で保持率に違いがあると推定されたものの、その差は10%以下で(56日目:右側81.8%,左側90.9%),月に1度程度の繰り返し採捕により再採捕率を推定するといったケースでは、VIEによる標識は有効な手法であると考えられた。

Table 3 Result of likelihood ratio test of the GLM

Variables	LR χ^2	Df	p
VIEb	332.79	1	0.000 ***
dc	0.00	1	1.000
si	0.00	1	1.000
VIEb : dc	4.38	1	0.036 *
VIEb : si	16.03	1	0.000 ***

***: $p < 0.001$, **: $p < 0.01$, *: $p < 0.05$

VIEは他の標識法に比べ比較的短期での研究に向いているとされている⁷⁾。COOMS & WILSON (2008)⁸⁾は300日を越えるようなVIEの保持も示しているが、BRENNAN et al. (2007)⁴⁾によると150日前後で急激に保持率が下がるとされており、長期的な変動を見る目的でのVIEの使用は注意が必要と思われる。

本研究ではイラストマーを両目の後方に注入した。イラストマーは視認性を良くするために透明な組織に入れることが多く⁹⁾、両眼後方も透明な組織で視認性も高く、サケ科魚類においては一般的な挿入箇所である^{10,11)}。イラストマーの挿入箇所による保持率の違いについては多く議論されており、サクラマス、北米産タルカ科の仲間の*Percina*属と*Etheostoma*属やゴウシュウマダイ *Sparus auratus* L., フエダイの仲間 *Lutjanus campechanus* では位置による違いは見られないことから^{2,4,5,12)}、本研究では視認性を優先し両眼後方とした。

一方、本研究で左右で保持率が異なるとされたが、そもそも左右で保持率を比較した先行研究は少なく、比較している崔・山崎 (1996)²⁾でも左右の差は見られなかった。本研究では1人の右利きの注入者が全ての標識を注入したため、本研究で得られた左右の保持率の違いは、注入者個人もしくは右利きによるシリンジの注入角度等によるためと考えるほうがVIEの定性的な性質と考えるよりは現実的だと考えられる。今後は注入者を増やし注入者の違いによる検討も必要であろう。

VIEによる標識時には脱落を考慮して同じ色の標識を同じ箇所に2本装着することが推奨されている^{4,13)}。本研究の結果は、短期間で標識再捕法を行う際には十分高い保持率を示していると考えられるが、より脱落の影響を低く抑えたい場合には、1つの標識の保持率を仮に80%とす

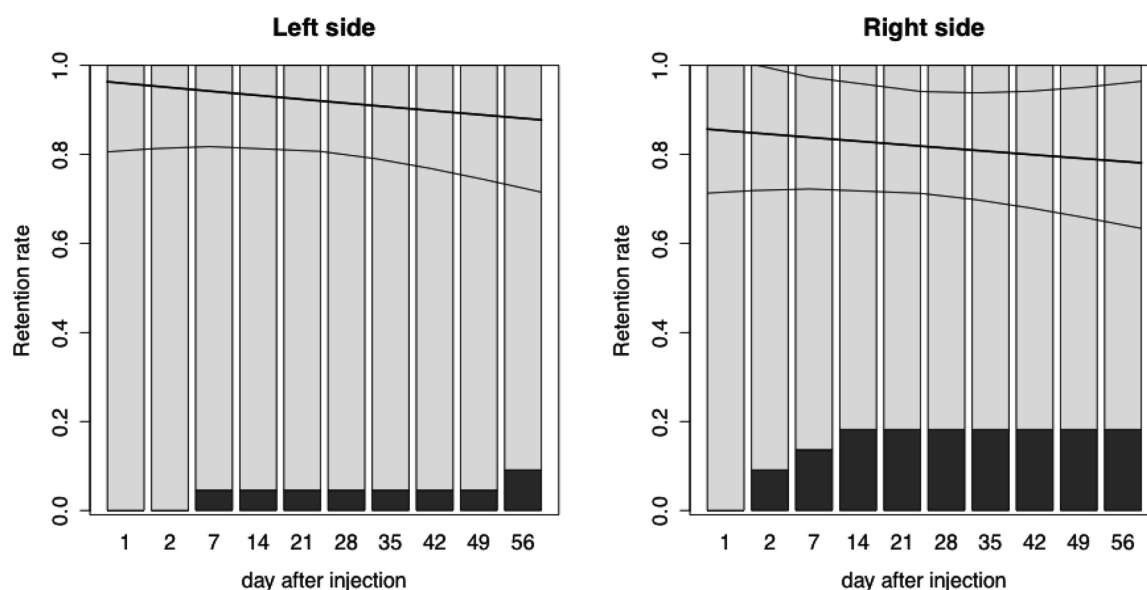


Fig. 1 Predicted and observed retention rates of VIE tag. Bold line shows predicted retention rate, narrow line shows $\pm 95\%$ CL of the rate, light gray bars indicate observed retention rate and dark gray bars indicate observed expelled rate of the tag

ると、同じ箇所には2つ同じ標識を注入することにより、標識が2つとも脱落する確率は5%以下となる。そのため、同じ箇所に二本注入することは、より精度高く標識を識別できるため、有効な手法であると思われた。また、情報通信技術の中の誤り検出符号としてパリティビット¹⁴⁾がある。これは2進数データ内の全体の奇偶性を保つために与えられる一桁の2進数のデータで、これを加えることによってそのデータの欠損の有無を推測することが可能となるものである。その応用として、例えば、「0を黄色、1を桃色、パリティビットは合計を奇数に保つ」などのように予め決めておけば2色2本4通りの標識を施す場合パリティビットを加えて、黄桃+黄などのように標識を行うこととなる。仮にこの標識の一つが脱落して黄?+黄となった場合、合計が1になるためには?が桃である必要があることから、?が桃であることが容易に推測可能となる。この方法は2進数以上にも拡張可能である。このようなパリティビットとなる標識を追加することも、脱落時に情報を失わない工夫となり有用であると考えられた。

また、標識の目的に応じて、個体識別を行うなど多くのパターンを必要とする場合や、場所や時期などある一定の群に限られたパターンの標識を用いる場合がある¹⁾。VIEの色数には限りがあるため、場所や時期の識別といった比較的少ない数の識別には問題は少ないが、個体識別等大量のパターンが必要となる場合には1個体に何箇所ものVIEを装着することになる。このことは魚体への直接的な影響が低いというVIEの利点を失う恐れがあり、VIEによる標識を用いて個体識別をするためには、条件を選んだ運用が必要であると考えられた。

一方で本研究ではVIEの混合後経過時間が与える保持率への影響を見出すことはできなかった。そのため、混合後1日程度冷暗所で保管していれば使用には問題ないと思われた。しかしながら、本実験は屋内で行っており、紫外線の照射が少なく、野外条件より好条件であったことも考えられる。野外条件でのさらなる研究が必要であろう。

謝辞: 本研究を行うにあたり、東京農業大学アクアバイオ学科水圏基礎生物学研究室の山家秀信准教授に実験場所ならびに実験魚を提供して頂いた。東京農業大学アクアバイオ学科水産資源管理学研究室の水野米利子氏には英文を校閲して頂いた。匿名の査読者の方々には大変有益なご助言を頂いた。ここに記して厚く御礼申し上げる。

引用文献

- 1) 田中昌一 (1985) “VI. 標識放流” 水産資源学総論. 厚生社

- 厚生閣, 東京, pp. 284-341.
- 2) 崔美敬, 山崎文雄 (1996) イラストマー蛍光タグによるサクラマス幼稚魚の標識法について. 水産育種 **23**: 41-50.
- 3) BOUSKA W W, PAUKERT C P (2010) Effects of visible implant elastomer mark colour on the predation of red shiners by largemouth bass. *Fisheries Management and Ecology* **17**: 294-296.
- 4) BRENNAN N P, LEBER K M, BLACKBURN B R (2007) Use of coded-wire and visible implant elastomer tags for marine stock enhancement with juvenile red snapper *Lutjanus campechanus*. *Fisheries Research* **83**: 90-97.
- 5) ASTROGA N, AFONSO J M, ZAMORANO M J, MONTERO D, OLIVA V, FERNANDEZ H, IZQUIERDO S (2005) Evaluation of visible implant elastomer tags for tagging juvenile gilthead seabream (*Sparus auratus* L.); effects on growth, mortality, handling time and tag loss. *Aquaculture research* **36**: 733-738.
- 6) 大河内裕之, 町田雅春, 田中寿臣, 小泉康二, 阿知波秀明, 甲斐正信, 中西尚文, 中島博司 (2006) トラフグの長期飼育試験から推定したイラストマー標識の脱落率とその補正法. 栽培技研 **34**: 53-58.
- 7) BOLLAND J D, COWX I G, LUCAS M C (2009) Evaluation of VIE and PIT tagging methods for juvenile cyprinid fishes. *J. Appl. Ichthyol.* **25**: 381-386.
- 8) COOMS J A, WILSON J L (2008) Use of visible implant fluorescent elastomer (VIE) tag technique on darters (Teleostei: Percidae): mortality and tag retention. *Southeastern Fishes Council Proceedings* **50**: 3-9.
- 9) JERRY D R, STEWART T, PURVIS I W, PIPER L R (2001) Evaluation of visual implant elastomer and alphanumeric internal tags as a method to identify juveniles of the freshwater crayfish, *Cherax destructor*. *Aquaculture* **193**: 149-154.
- 10) JOSEPHSON D C, ROBINSON J M, WEIDEL B C, KRAFT C E (2008) Long-term retention and visibility of visible implant elastomer tags in brook trout. *North American Journal of Fisheries Management* **28**: 1758-1761.
- 11) CLOSE T L, JONES T S (2002) Detection of visible implant elastomer in fingerling and yearling rainbow trout. *North American Journal of Fisheries Management* **22**: 961-964.
- 12) ROBERTS J H, ANGERMEIER P L (2004) A Comparison of injectable fluorescent marks in two genera of darters: Effects on survival and retention rates. *North American Journal of Fisheries Management* **24**: 1017-1024.
- 13) BRENNAN N P, LEBER K M, BLANKENSHIP H L, RANSIER J M, DEBRULER R JR (2011) An evaluation of coded wire and elastomer tag performance in juvenile common snook under field and laboratory conditions. *North American Journal of Fisheries Management* **25**: 437-445.
- 14) ANDERSON S E, Bit Twiddling Hacks, <<http://graphics.stanford.edu/~seander/bithacks.html>> (最終アクセス 2016年5月22日)

Differences in the Retention Rate Depending on Handling Methodology for Visible Implant Elastomer (VIE) Tag

By

Atsuya YAMAMOTO*, Yuichiro YAMAUCHI** and Minoru KANAIWA***

(Received May 25, 2016/Accepted October 21, 2016)

Summary : The mark-recapture method is a common survey method to estimate stock abundance. The visible implant elastomer (VIE) has high retention rate, low cost and high safety for target fishes. However, differences in the retention rate depending on handling methodology for VIE seem to be existed. An investigation was conducted to evaluate the differences in the retention rate by various handling methodologies for VIE using hatchery rainbow trout. The experiment was carried out under different combinations of settings ; 1) altering the side of the fish where the tag was injected (right or left), 2) the direction of the injection (from above or below) and 3) the elapsed time after mixing elastomer and hardener (1 hour or 24 hours). After 56 days, the total retention rate of VIE was about 86.4%. The factor which affected the retention rate was investigated using generalized linear model. The result suggested the side of the fish where the tag was injected and the day after the injection had the largest effect. Because the estimated minimum retention rate (injected to the right side and after 56 days) was about 81.8%, it is suggested that VIE was an effective marker method for tagging fishes for at least two months. To obtain more precise identification of mark, marking with 2 tags on the same side and/or adding a mark as parity bit is recommended.

Key words : mark retention, VIE, side, direction, elapsed time after mixing

* NODAI Bioresources Institute, Faculty of Bio-Industry, Tokyo University of Agriculture (a3yamamo@bioindustry.nodai.ac.jp)

** Former : Department of Aquatic Bioscience, Faculty of Bio-Industry, Tokyo University of Agriculture

*** Department of Life Sciences, Faculty of Bioresources, Mie University