
〈特集：両生類・爬虫類におけるマーキング法〉

サンショウウオ類におけるマーキング法

草野 保

192-0397 八王子市南大沢1-1 首都大学東京・理工学研究科・生命科学

Techniques of marking individuals of salamanders and newts

By Tamotsu Kusano

Department of Biological Sciences, Graduate School of Sciences and Engineering, Tokyo Metropolitan University, Minami-ohsawa 1-1, Hatchioji-shi, Tokyo 192-0397, Japan

近年、地球規模での両生類の減少が危惧されているが、ここ日本でも、特に大都市近郊でのこの数十年の両生類個体群の衰退は際立っている。両生類の減少や絶滅の原因としては、人為的な環境破壊が際立つが、これ以外に酸性雨・残留農薬の拡散などとともに、地球温暖化に伴う気候の変化なども上げられている(松井, 1996; Blaustein et al., 2003; Pounds and Puschendorf, 2004)。これらの問題に適切に対処するためには、何といても対象となる個体群の動態を正しく把握することが必要である。日本産のサンショウウオ科の小型の種で、比較的開放的な止水で繁殖するサンショウウオなどの場合は、産卵された卵のう数を数え上げることで比較的に容易に正確な繁殖メスの個体数を推定することが出来る場合がある。卵のうのカウントによる個体数推定が出来ない種では、他の多くの分類群の場合と同様、標識再捕法による個体数推定を行うことになる。個体数推定以外にも、繁殖行動・繁殖後の移動分散・生活史などの調査には個体識別のためのマーキングは必須である。このため今までに、サンショウウオやイモリ類にもさまざまな方法が工夫され適用されてきたが(Ferner, 1979; Donnelly

et al., 1994など参照)、それぞれ一長一短があり、すべてに完璧な方法は皆無である。Ferner (1979) は、理想的なマーキング法の条件を7つ挙げている。標識が長期間持続すること、読み取りが容易でかつ標識の手順が簡単でコストも低いことなど。中でも、最も重要なものの条件の一つは、対象個体の生存や行動に影響を与えないことであろう。これらのことを考慮し、調査の対象と目的によりケース・バイ・ケースで適当な方法を選ぶ必要がある。この小文では、サンショウウオ類の個体識別のための代表的なマーキング法について紹介したい。サンショウウオ類に興味のある方が、実際に調査研究を行うときの参考に少しでもなれば幸いである。

指切り法 (toe-clipping)

個体識別のためのマーキングは様々な目的で使われるが、サンショウウオ類に適用された方法の一部を表1に挙げた。個体数推定のためのセンサスでは、標識再捕のために個体を識別する必要があり、サンショウウオ類で今まで最も広く使われてきたのは指切り法によるマーキングであろう。この方法が幅広く使われてきたのは、何といても手軽

表1. サンショウウオ類を標識し個体識別するための方法(Halliday, 1996の表6.2を元に改変). 殆どの方法は1種だけか, せいぜい数種で使われたもので, どの方法もすべての種に適当であると仮定すべきではない.

方法	手順	利点	欠点	文献
指切り法 (Toe-clipping)	1本ないしは複数の指を手足から切除.	安価. 多数の個体の識別可能 (切除する指の数が限られているときは, それほど多数ではない).	サンショウウオ類の指は再生. 組織の損傷や生残率低下の可能性.	Martof (1953)
PIT タグ (PIT tags)	Passive integrated transponder (PIT) を皮膚の下に挿入して, スキャナーで電波信号を読み取る.	非常に多数の個体を識別可能.	大変高価. 大型の個体のみに適応化. 普通はライセンスが必要.	Camper & Dixon (1988)
色彩パターン (Natural variation in skin patterns)	個体の登録簿を作るために写真やコピーをとる.	対象個体に最も無害	個体照合に手間がかかる.	Hagstrom (1973)
ビーズ玉法	ビーズ玉の色・形・数を変えて蛍光釣り糸を用いて尾部などに縫い付ける.	安価. 多数の個体を離れた場所から識別可能.	短期間の調査のみ.	Nace & Manders (1982) 田中 (1986)
蛍光塗料 (Fluorescent colour marks)	蛍光塗料の粉末を圧搾空気ですらで皮膚に塗布.	多数の個体を離れた場所から夜間でも識別可能.	比較的高価. 標識は一時的(1~2年).	Nishikawa & Service (1988)
色素注入法 (Subcutaneous acrylic polymer injection)	アクリル系色素 (アクリル樹脂絵具) を色素が少ない尾部や腹面の皮下に注射針で注入する.	安価. 比較的手軽. 注入場所によっては離れた場所からでも確認可.	個体への影響が未知. 標識は一時的(数年?). 多数の個体の標識には不向き.	Woolley (1973)
皮膚移植 (Skin transplants)	背中と腹の皮膚の小片を交換.	永久的. 安価.	時間が掛かり, 熟練を要する. 少数個体のみ識別可能. 腹と背の皮膚の色が異なる種のみ.	Rafinski (1977)
皮膚染色 (Skin staining)	・染料を歯科用インジェクター (panjet) で皮膚にスプレーする. ・ニュートラルレッド溶液中に浸し, 全身を染色する.	安価.	傷害の可能性. 比較的小数の個体の識別. 標識は短命. 幼生の標識に適用可.	Wisniewski et al. (1980) Gittins et al. (1980) Guttman & Creasey (1973)
刺青 (Tattooing)	電気刺青器で染料を皮下に注入する.	安価. 多数の個体の識別可能. 標識は最低でも3年もつ.	色の濃い種には不向き.	Joly & Miaud (1989)
烙印 (Branding)	焼き鏝か冷凍した金属を皮膚にあてる.	安価.	傷害の可能性. 種によっては標識は短命.	Daugherty (1976) Nace & Manders (1982)

に多数の個体を識別できる点が評価されてきたからである. サンショウウオ類では前足に指4本, 後足に指5本を持つ種が多い. 何頭を識別しなければならないかによるが, 多くの場合, 1本の足につき最大2本の指を切除し個体番号を割り当てるコードシステムが適用される. 例えば, Martof (1953) のシステムでは, 左後足に内側の指から1から5番を割り振り, 右後足には10から50番まで, さらに左前足には100から400番まで, 右前足には

800から3200番までをそれぞれの指に割り振る (図1の左図). 個体番号1番から5番までの個体では, 左後足のそれぞれの番号を割り振られた指を1本切除する. 個体番号6から9番までの個体は, 5番の指にさらにそれぞれ1番から4番までの指を切除するため, 合計2本の指の切除が必要である. 10番台は, さらに右後足の10番の指を切除する. 例えば, 個体番号18番の個体は, まず右後足の10番の指を切除し, 次に左後足の3番と5番

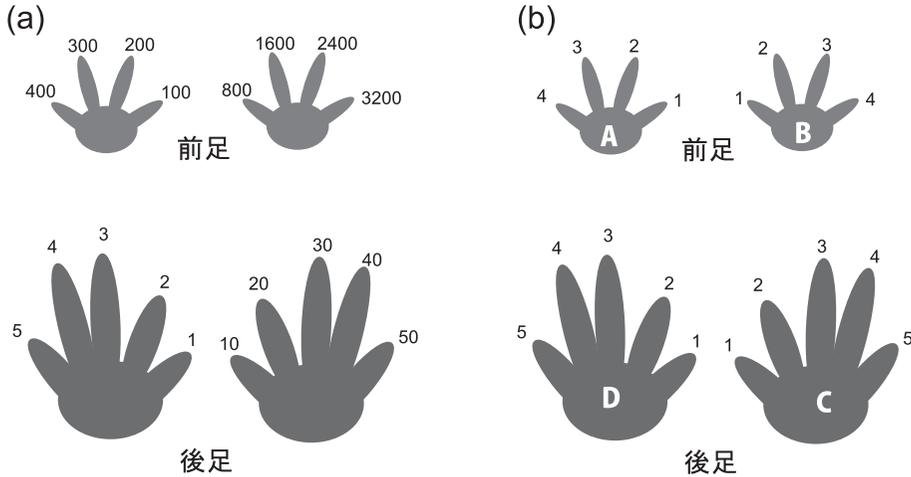


図1. 両生類に使用される指切りのコードシステムの例. (a) Martof (1953) のシステム. 一本の足につき最大2本の指を切除する. 一個体につき1から最大8本の指を切除し, 最大6399個体を識別できる. (b) Waichman (1992) のシステム. 一本の足では最大1本の指のみ切除し, 一個体につき総計3本以下の切除で959個体を識別できることになる.

の指を切除する. 同様にして, 順次必要な指を1本の足当たり最大2本切除していくと, 6000個体以上の識別が可能となる. ただし, 1個体で最大8本の指(総数18本のうち)を切除することとなる.

筆者は, トウキョウサンショウウオ (*Hynobius tokyoensis*) とアカハライモリ (*Cynops pyrrhogaster*) の自然個体群の調査を行ってきたが, 個体識別法として Martof (1953) のシステムを利用してきた. ただし, 数千もの個体を指切りだけで識別する必要はないので, 前足に関しては, 左右あわせて最大1本の指のみを切除することにし, 1個体当たり最大でも5本の指だけを切除した. サンショウウオ類の場合, 同じ両生類でもカエル類と異なり, 長期間にわたる調査では切除した指の再生が大きな問題となる場合があった. 再生の速さや程度は, 個体によって大きく異なるが, 特に若い個体で顕著であった. また, 再生による判読の困難さは指により異なり, 比較的長さが短い一番内側及び外側の指(図1左図の1番や5番の指など)の場合, 再生によって個体番号が読みづらくなる場合が多かった. それに対して, 中側の指(3番

と4番)は, たとえ再生しても隣の指との相対的な長さから切除した指の特定が比較的容易であった. アカハライモリの場合, 著者らの調査地では繁殖期以外でも水中に留まる個体が多く, 1年に何度も同じ個体が捕獲できたので, 指の再生による個体識別の困難さはあまり問題とならなかった.

上記のコードシステムの他にも, 様々なシステムが考案され利用されてきた (Donnelly et al., 1994参照). それらは, 数百個体の識別のために5本から8本の指の切除を必要とする. それに対して, 2から3本の指だけで, 同様に多数の個体を識別することができるコードシステムが提案されている (Hero, 1989; Waichman, 1992). なかでも Waichman (1992) のシステムは, 数字だけでなくアルファベットも用いたコードで, 分かりやすいだけでなく, 最大3本の指の切除だけで959個体の識別が可能になる(図1右図). 2本だけ利用したとしても, 175個体の識別が可能である. 普通の調査では, これだけ識別できれば殆どの場合には十分だろう. 彼のコードシステムでは, 各足に独自のアルファベット (AからD) を割り振り, それぞれの足の指

には内側から1番から5番（前足では4番）までを割り振る。各足からは最大1本の指を切除し、足のアルファベットと指の番号の組み合わせで個体に番号を割り振ることになる。例えば、左前足の1番の指、右後足の2番の指、左後足の5番の指を切除した個体は、A1C2D5という個体識別コードを持つこととなる。

利用するコードシステムを決めたら、それによって個体ごとに独自の識別コードを割り振り、特定の指の組み合わせを切除することになる。サンショウウオ科などの小型サンショウウオの場合は、多くの場合、MS222などの水溶液中に個体を浸し麻酔した後、指を切除するのが良い。体長・体重などの測定も含め、手際よい作業を心がけ、個体の体に触れる行為は出来るだけ短時間で済ませるのが良いだろう。著者は、良く切れる刃先の細い眼科用の解剖バサミを使用した。皮膚がざらざらして握みやすいアカハライモリの場合は、慣れれば麻酔を掛けなくても容易に指の切除が行えるようになる。切除した指先の一部は、99%エタノールなどで保存しておけば、年齢推定やDNA分析用の標本としても利用可能である。

前述したように最も多く利用されてきた指切り法であるが、マーキング法として、その欠点についても問題がたびたび指摘されてきた。指の再生の問題の他に、指切りによる個体の生存への悪影響の問題が強く指摘され、倫理的かつ実際的な疑問が提起されている（May, 2004）。生存への悪影響に関しては、カエル類では今までに多くの報告があるが、その結果は否定的・肯定的とまちまちであった。Parris and McCarthy (2001) は、カエル類の翌年の帰還率に対する指切りの影響を評価した比較的大規模な4つの研究データを用いて、詳細に検討し再分析を試みた。その結果、有意な影響が否定されてきたのは、単に適切な分析がなされてこなかったか

らだとし、検定手法の検出力不足が原因と考えた。McCarthy and Parris (2004) は、前述の調査データをもとに、指1本当当たりの帰還率の減少を評価する統計モデルを作成し、ベイズ統計の手法を用いて指切りの帰還率に与える影響を詳細に評価した。その結果、指の切除はその個体の帰還率を有意に減少させることを示した。さらに、切除した指1本当当たりの減少率は、2本目の指を切除した場合平均3.5%（95%信頼区間：0-7%）であるのに対し、切除する指の数が増えるに従い増加し、8本目の指の切除では平均30%（20-39%）に達すると推定した。

サンショウウオ類での指切り法に関する検証は、カエル類に比べて少ないが、トラフサンショウウオ科のマールサンショウウオ (*Ambystoma opacum*) では、野外に家畜用のタンク（直径1.5-2 m）を8つ設置し、その中にコントロール（標識なし）・指切り・PITタグで標識した各10頭ずつの3つのグループを入れて飼育し、約半年間個体をモニタリングした実験が行われた（Ott and Scott, 1999）。その結果、実験個体の成長および生残への影響は検出されなかった。実際に様々な局面で機能する発達した指を持つカエル類とは異なり、サンショウウオ類での影響は良く分かっていないが、影響の大きさは異なる可能性がある。

著者らは、東京都八王子市南大沢のイモリ池にて1991年より現在まで、アカハライモリの繁殖個体群の動態を標識再捕法によりモニタリングしている（草野他, 1992）。調査は毎年4月から11月まで最低月1回夜間調査を行い、捕獲した個体はすべて個体識別した。個体識別は、当初指切り法だけで行っていたが、1997年以降は後述する腹面の色彩パターンによる方法も合わせて行っている。今回、1991年に指切り法で標識した374個体（♂213個体、♀161個体）のデータを用いて、McCarthy and Parris (2004) と同様に、

ベイズ統計モデルを用いた方法で指切りの影響を予備的に評価した結果を紹介する。ここでは、1991年に標識した個体のその後の詳細な長期間に渡る捕獲歴が利用できるので、McCarthy and Parris (2004) が用いた帰還率の変わりの指標として、各個体の標識1年後の生残率を用いた。つまり、標識放逐1年後以降に捕獲により生存が確認された個体の割合を生残率として用いた。上記のデータに、指切りの影響を想定しない帰無モデルと、ロジスティック回帰モデル・指1本当たりの減少率一定のモデル(モデルA)・指1本当たりの減少率可変のモデル(モデルB)を適用し、プログラムWinBUGSを利用しMCMC法(マルコフ連鎖モンテカルロ法)によりモデルの各パラメータを推定し、DIC(Deviance Information Criterion)により最適なモデルを選択した(McCarthy, 2007参照)。各モデルのDICを見ると、最も値が小さかったのは、McCarthy and Parris (2004) のカエル類の例と同様に、指1本当たりの減少率が変化するモデルBであった(表2)。ただし、最もDICが大きかった帰無モデルとの差は1以下であり、その程度のDICの差は意味があるとは言えない(McCarthy, 2007)。そうすると、この4つのモデルのうち最も単純な

表2. 南大沢イモリ池におけるアカハライモリの生残率に与える指切りの影響。1991年に標識した個体の標識再捕データ(N=374)にMcCarthy and Parris (2004) のモデルを適用してベイズ統計の手法を用いて分析した。DIC(Deviance Information Criterion)が最小のモデルBと帰無モデルのDICの差が1以下であることに注意。

指切りによる影響のモデル	Deviance	p_D	DIC
帰無モデル (指切りによる影響なし)	43.453	2	45.4
ロジスティック回帰モデル (Parris & McCarthy, 2001)	42.830	2	44.9
指一本あたりの変化率一定 (モデルA)	41.921	2.9	44.8
指一本あたりの変化率可変 (モデルB)	41.420	3.1	44.5

帰無モデルを選択するのが妥当と思われる。また、モデルBでの指1本当たりの生残率の減少率と切除した指の総数の関係を見ると、推定値はいずれも負であるが、分散が大きく95%信頼区間には0を含むことが分かる(図2)。これらから、アカハライモリでの今回のデータでは、指切りによる生残率への悪影響は検出できなかったと言えよう。

ただし、この種の分析の場合いつも問題となるのは検出力である。Parris and McCarthy (2001) の方法に準じて、今回の分析の検出力をシミュレーションにより求めてみた。イモリの雌雄の平均的な年生残率は0.75として、指切りの悪影響の程度はMcCarthy and Parris (2004) のカエル類の例と同様な影響を想定し(モデルCのパラメータの推定値を利用)、1000回のシミュレーションを行った。その結果、帰無モデルとモデルBのDICの差が4以上となる(明らかに帰無モデルがモデルBよりも劣ると考えられる)確率は0.66となった(McCarthy, 2007参照)。前述したカエル類の場合と同じ程度の悪影響が

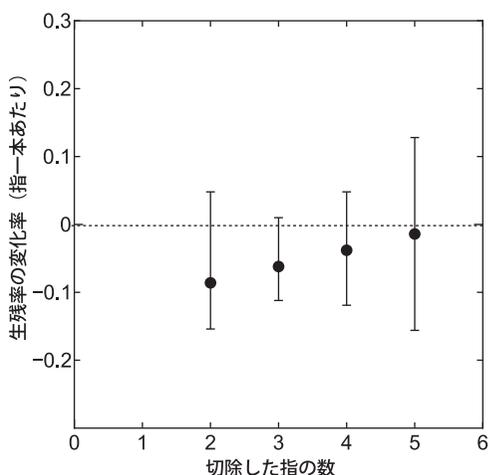


図2. 八王子市南大沢イモリ池におけるアカハライモリの生残率に与える指切り法による標識の影響。1991年に標識し放逐した個体の1年後の生残率と切除した指の数の関係を、McCarthy and Parris (2004) のModel Bを用いて分析した。縦軸は切除した指1本あたりの生残率の変化率を示す。縦棒は95%信頼区間。

ある場合は、今回の分析でモデル B を正しく選択できる確率は 3 分の 2 程度である。これは、決して充分とは言えないが、小さすぎる値でもなかった。いずれにしても、サンショウウオ類の指切りによる悪影響については、より標本数を増やし再度分析を続ける必要があるだろう。

指切り法に関しては、上述したような批判もあるので、その欠点を十分認識した上で利用すべきだと思う。ただし、現時点では生残率への悪影響も必ずしも立証されたわけではなく、欠点のない代替法が必ずしも見つからない場合も多く (PIT タグに関しては後述するが、この方法も完璧とはいえない)、調査による成果とマーキング法によるコストの関係を考慮した上でマーキング法を選択するのが良いだろう。その際、指切り法はサンショウウオ類のマーキング法として、まだまだ主要なオプションの一つであると思う (Funk et al., 2005)。ただし、Parris and McCarthy (2001) なども主張するように、切除する指の数を最少化できるコードシステム (前述した Hero や Waichman のシステム) を採用し、なおかつ切除した指を無駄にせず年齢推定や DNA 分析用のサンプルとして利用するのが望ましい。

PIT タグ (Passive integrated transponder)

最近両生類でも良く用いられるようになったマーキング法は、PIT タグによる標識である。トランスポンダ (電波中継機器) チップが、 10×2.1 mm のガラス容器に封入され、重量は 0.1 g 以下である。このタグを専用の注射器を用いて対象個体の体内に注入する。小型サンショウウオ類の場合、注射器を用いず、胴体にメスを入れ直接体内に埋め込む場合もある。チップにはすでに製造段階で 8 ~ 10桁のコード (アルファベットと数字の組み合わせ) が入力されている。読取器から高周波数の無線信号を受信し、読取器にコードを

伝送・表示する。このタグは電池不要で、タグの脱落がなければ、半永久的に使用できる場所が利点である。国内でも近年利用が増え、京大のグループがキャンパス内に移植したカスミサンショウウオ (*H. nebulosus*) の亜成体および成体の生態調査に標識法として用いて、好成績を収めている。その他にも、オオサンショウウオ (*Andrias japonicus*) の調査に各地で利用されているという (松井, 2003)。

逆に PIT タグの欠点としては、小型の個体への体内埋め込みには技術を要し困難なこと、チップの単価が高く野外で多数の個体を標識するには経済的なコストが伴うこと。また、指切り法と同様、対象個体の体の一部に一時的とはいえ損傷を加えるため、長期的な成長や生残率への影響が危惧される。

近年、指切り法の代替法として PIT タグによる個体マーキングの利用が両生類においても飛躍的に伸びてきている。また、これから将来ますます利用されていくことは間違いないだろう。ただし、指切り法でも問題となった成長・生残率への影響に関しては、比較的小型の種においては PIT タグでもまったく同じ問題を抱えている。にもかかわらず、どういふわけか PIT タグに関しては、マイナスの面に関する注意や関心は低いように感じる。将来の健全な利用拡大を目指すうえからも、この方法の問題点を定量的に詳細に評価していくことが必要だろう。

サンショウウオ類でも、現在までに PIT タグの装着個体に対する影響についていくつか報告がある。Fasola et al. (1993) は、アルプスクシイモリ (*Triturus carnifex*) とアルプスイモリ (*T. alpestris*) の 24頭 (幼生 6 頭を含む) に PIT タグを挿入し、20個体 (幼生 4 個体) の未標識個体 (コントロール) と共に水槽で約 5 ヶ月間飼育し体重を毎週測定した。その結果、PIT タグ装着直後に幼生 (体重 1.3 g) 1 頭が死亡し、さらに実験終了ま

でに標識個体1頭および未標識個体2頭が死亡した。死亡に関しては、PITタグ装着個体とコントロール個体とに差は見られず、成長(体重変化)に関しても両者で統計的に有意な差は見られなかった。Fasolaらはこの結果より、少なくとも体重2g以上の個体に関してはPITタグが有効であると結論した。しかしながら、この実験は水槽飼育下で行われたもので、野外での厳しい餌不足や捕食圧のもとでの比較ではなく、なおかつ調査個体数もそれぞれ20頭程度と少ないため、野外調査でのPITタグの影響を評価するにはとても充分とは言えないだろう。このような標識法の影響を野外条件で評価する際、最も苦勞するのは、対象となる標識方法以外の方法でも標識しコントロールとして比較する必要があることだ。Jehle and Hodl (1998)は、ダニューブクシイモリ (*T. dobrogicus*) を用いて、PITタグの影響を調べるために野外調査を行った。繁殖池をドリフトフェンスで囲み、フェンスの両側に落とし穴トラップを設置し、池へ出入りする個体を捕獲した。1989年から93年までは、捕獲した個体はすべて腹面の色彩パターンにより個体識別を行った。1994年にはPITタグを一部の個体で併用したが、1995年以降はすべてPITタグによる個体識別を行った。翌年の再捕率は、1993年まではオスで22~53% (平均36%)、メスで24~45% (平均36%) であった(図3)。PITタグを併用した1994年の翌年の再捕率は、色彩パターンによる標識個体でオス22% (8/36) とメス26% (6/23) に対して、PITタグで標識した個体はオス40% (4/10) とメス28% (7/25) で雌雄とも χ^2 検定で有意な差は検出できなかった(Jehle and Hodl, 1998; 図3)。むしろ、PITタグの方が再捕率が高めの値が得られている。ただし、PITタグでの標識は1994年の8月以降に行ったので、翌年の再捕は丸一年後の再捕ではなく、再捕までの期間が色彩パターンの個体に比べ

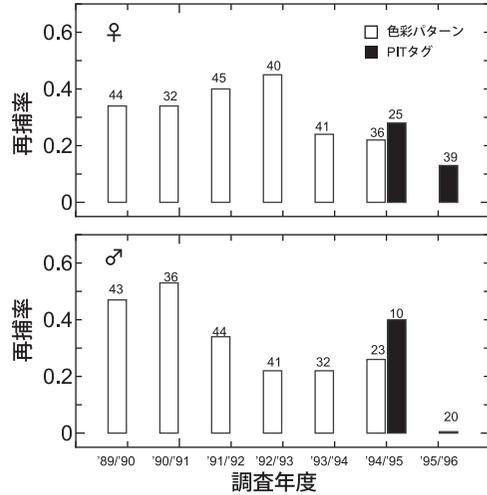


図3. 2種類の個体マーキング法によるダニューブクシイモリの再捕率の違い (Jehle and Hodl, 1998より). 白いバーは腹面の色彩パターンによる個体識別による翌年の再捕率, 黒いバーはPITタグによる個体識別による再捕率を示す. バーの上の数字は総標識個体数を示す.

て短かったのが原因のようである。すべてPITタグで標識した1995年の翌年再捕率は低めで、オス0% (0/20) とメス13% (5/39) であった。さらに、体重を頭胴長の3乗で割った肥満度を比較したところ、PITタグと色彩パターン群で個体間に有意な差は検出できなかった。Jehle and Hodl (1998)は、これらの結果よりPITタグによる再捕率や肥満度への有意な負の影響はなかったとしたが、結論を出すには時機尚早だろう。なぜならば、PITタグと色彩パターンによる標識方法の、十分な比較が行われたとはいえない。両者を併用したのは1994年の1シーズンだけで、調査個体数もPITタグで雌雄それぞれ25と10個体に過ぎない。

イモリの色彩パターンによる再捕率を36%として、仮にPITタグによる悪影響により再捕率が半減するとしたかなり極端なケースを想定して、この再捕率の χ^2 検定による検出力をシミュレーションにより求めてみた。その結果、正しく差を検出できる確率はオスでなんと0.07、メスでも0.24に過ぎないこと

が分かった。このような検出力の低い検定で有意な結果が得られない場合は、結論は保留とするのが正しい。つまり、再捕率への影響については何も言えないのである。十分な検出力を確保するためには、著しい悪影響がある場合でさえも、雌雄それぞれ最低でも100個体以上のサンプルが必要である。

Perret and Joly (2002) は、アルプスイモリを用いて短期間の飼育実験と野外調査でPITタグの影響を調査した。飼育実験では3つの個体群から採集したそれぞれ60頭(♂30頭, ♀30頭)のイモリを刺青・PITタグ・コントロール(標識なし)の20頭ずつのグループに分け2ヶ月間飼育し、体長・体重・産卵数を測定した。その結果、標識方法間で生残や肥満度などになんら有意な違いは見られなかった。また、野外調査では、61頭(♂25頭, ♀36頭)を刺青で標識し、60頭(♂24頭, ♀36頭)にPITタグを挿入して放逐し、その後0.5から1.5ヶ月の間に3回再捕獲を試みた。少なくとも1回再捕獲できた個体の割合をロジスチック回帰により分析したが、性や標識方法による違いは認められなかった。彼らは、これらの結果よりPITタグの有効性を主張したが、やはりこの研究もPITタグが長期間の野外調査で対象個体に影響を与えないかという問題に関しては十分な検証にはなっていない。特に野外実験では、PITタグと比較するグループが刺青標識群しかないのは大きな欠点だろう。

Jehle and Hodl (1998) は、PITタグで標識した個体の腹面の色彩パターンも記録したため、PITタグの脱落率も知ることができた。それによると、PITタグの体内への挿入後接着剤を用いて傷口を塞ぐ処置を行っているにもかかわらず、約10%の個体でPITタグの脱落が認められたことを報告している。タグのこのような脱落は、長期的な野外調査では場合によっては問題となるかもしれない。成長・生残への悪影響の検証だけでなく、

挿入方法の工夫や脱落率の評価なども今後さらに進めていかなければならないだろう。

色彩パターン

(Natural variation in skin patterns)

サンショウウオ類には、胴体の背面・腹面や尾部などの一部に斑紋や斑点が現れ、その模様によって個体識別が可能な種がある。その模様の自然な個体変異を、人間の指紋のように個体識別に用いる。この方法では、基本的に一切対象個体に手を加えないので、すでに挙げた2つの方法と異なり、マーキングによる影響は皆無である。ただし、すべての種に使えるわけではなく、適応可能な種は限られてくる。日本では、イモリの仲間であるアカハライモリやシリケンイモリ(*C. ensicauda*)には容易に適用できるだろう。その他にも、キタサンショウウオ(*Salamandrella keyselingii*)の背中から尾にかけて見られる帯状の模様を使って個体識別が可能であるという(成海他, 2002)。

手順は単純である。捕獲した個体の色彩パターンが良く分かるように、その部分をカメラで写真に取ればよい。以前は、フィルムを現像し印画紙に焼き付ける手間やコストを考え、コピー機で直接模様をコピーすることもあったようだが、現在ではデジタルカメラで撮影するのが便利だと思う。数十個体であれば、記録した色彩パターンと照合することにより、容易に個体を識別できるが、さすがに数百個体以上となると照合に手間が掛かるのが欠点だろう。その照合の問題は、指切り法など他の方法も併用することにより解決できる。

もう一つの重要な問題は、色彩パターンの安定性である。イモリの仲間は、変態後成長に伴い復面の色彩パターンが変化することが知られているが、成熟後の成体では長期間に渡り安定しているという報告がある。例えば、黒い体に黄色の斑紋が現れる模

様を持つマダラサラマンダラ (*Salamandra salamandra*) では、飼育されていた4個体の成体の色彩パターンに12年間ほとんど変化が見られなかったという (Wisniewski and Wisniewski, 1998). 我が国のキタサンショウウオでも、指切り法によって個体識別を行った標識再捕調査で、成体の背中の模様は少な

くとも2年間には大きな変化がなく個体識別にも有効であることが分かった (成海他, 2002).

筆者らが行っている八王子市南大沢でのアカハライモリの個体群調査では、1991年より現在までの17年間に総計1282頭を指切り法で標識したが、1997年からは腹面の色彩パター



図4. 八王子市南大沢イモリ池におけるアカハライモリ繁殖個体の腹の色彩パターンの一列.



図5. 八王子市南大沢イモリ池におけるアカハライモリ繁殖個体の腹の色彩パターンの長期的変化の例. A: ♀ 個体番号83. 上図は1997年6月23日撮影. 下図は2007年4月6日撮影. B: ♀ 個体番号234. 上図は1998年4月14日撮影. 下図は2007年4月5日撮影.

ンによる個体識別も併用し、総計700頭強の個体の腹面の模様を写真で記録してきた。これら繁殖個体の色彩パターンは変異に富み、まったく斑紋がなく赤一色のものから腹全体が殆ど黒く染まりほとんど赤みがない個体まで千差万別である(図4)。それらの個体のうち、現在までに腹面の色彩パターンが大きく変化し個体が判別できなくなったことは一度も経験していない。また、色彩パターンによる個体識別を始めた頃に写真をとった個体のうち、最近再度写真を取ることができた個体の色彩パターンを比較したところ、黒い斑紋や線状の模様が少し太くなるなどの変化は見られたものの、約10年経過したのにもかかわらず模様のパターンの大きな変化はなく充分識別可能であった(図5)。

以上により、体の一部に顕著な色彩パターンが見られる種や個体群では、調査個体に標識によるダメージをあたえるリスクがない色彩パターンによる個体識別法は最適な手法の一つだろう。その際、状況によっては照合の手間を省くためにも他の方法を併用するなどの工夫をするのが良いかもしれない。

その他の方法

前述した3つの方法以外にも、サンショウウオ類では様々な方法が個体識別のために用いられてきたが、それらはいずれもマイナーな手法である。今後も決して広範囲に適用されるとは思えないが、特定の用途のためは有効であろう。

例えば、サンショウウオ類でも繁殖行動の観察などでは、実験または自然条件下を問わず、個体識別する必要がある。この場合、観察個体に触れることなく少し離れた場所から個体を識別しなければならないが、前述した3つの手法はいずれも適当とはいえない。そこで、このような観察に用いられてきたのがビーズ玉法である(表1)。田中(1986)は、ホクリクサンショウウオ (*H. takedai*)

の雄の縄張り行動を観察するために、蛍光釣り糸を尾部の筋肉上部に針で通し、着色ビーズ玉を通して結びつける方法で個体識別した。ビーズ玉は異なる色と形(球形と円筒形)を組み合わせて区別し、夜間観察でもわずかな光で確認できるという。

今までは、主として変態個体の標識について述べてきた。水中生活をする幼生の標識では、変態間近な大型の個体に関してはPITタグや指切りも一部適用可能な場合もあるが、ほとんどの場合はそれらの適用は難しいだろう。そこでカエル類の幼生には、皮膚染色(Skin staining)の手法が使われた(Guttman and Creasey, 1973)が、サンショウウオ類でもトウキョウサンショウウオの孵化幼生の標識に皮膚染色が試みられた(Kusano and Miyashita, 1983)。ニュートラルレッド水溶液に一定時間幼生を浸し、体全体の皮膚を染色することにより標識するので、当然個体マーキングではなく、グループマーキングとなる。個体レベルの識別はほとんど不可能だろう。さらに、対象個体へのマーキングによるダメージも考えられるので、実際の適用以前に、染色液の濃度や染色時間とダメージの程度および脱色までの期間の関係を詳細に検討しておく必要がある。Kusano and Miyashita (1983)は、トウキョウサンショウウオの孵化直後の幼生で上記の関係を検討した結果、0.002%のニュートラルレッド水溶液に30分浸す方法だと1週間程度の短期間の調査には有効であると報告している。

サンショウウオ類は決して種数が多いとは言えないが、多様な生活史・繁殖様式を示し、生態学や進化系統学の研究対象として興味深く魅力的な対象の一つである。しかしながら、行動や個体群の調査に必須である個体識別に関しては決して容易な材料とは言えないだろう。か弱い敏感な皮膚を持ち、寸胴でメリハリのない胴体は個体識別のための単純

なタグを装着するのに向かない。そのため現在までに多くの研究者を悩ませ、様々な工夫がなされてきたが、紹介してきたようにそれぞれ一長一短があり、完璧な方法は皆無である。調査目的や対象種の特性を考慮して、ケース・バイ・ケースで最適な方法を選択することが必要だろう。

引用文献

- Blaustein, A. R., A. C. Hatch, L. K. Belden, E. Scheesele, and J. M. Kiesecker. 2003. Global change: Challenges facing amphibians. p.187–198. In: R. D. Semlitsch (ed.) Amphibian Conservation. Smithsonian Books, Washington and London.
- Camper, J. D. and J. R. Dixon. 1988. Evaluation of a microchip marking system for amphibians and reptiles. Research Publication 7100–159, Texas Parks and Wildlife Dept., Austin, Texas.
- Daugherty, C. H. 1976. Freeze-branding as a technique for marking anurans. *Copeia* 1976: 836–838.
- Donnelly, M. A., C. Guyer, J. E. Juterbrock, and R. A. Alford. 1994. Techniques for marking amphibians. p.277–284. In: W. R. Heyer, M. A. Donnelly, R. W. McDiarmid, L.-A. C. Hayek, and M. S. Foster (eds.) Measuring and Monitoring Biological Diversity. Standard Methods for Amphibians. Smithsonian Institution Press, Washington DC.
- Fasola, M., F. Barbieri, and L. Canova. 1993. Test of an electronic individual tag for newts. *Herpetological Journal* 3: 149–150.
- Ferner, J. W. 1979. A review of marking techniques for amphibians and reptiles. Society for the Study of Amphibians and Reptiles, *Herpetological Circular* 9.
- Funk, W. C., M. A. Donnelly, and K. R. Lips. 2005. Alternative views of amphibian toe-clipping. *Nature* 433: 193.
- Gittins, S. P., A. G. Parker, and F. M. Slater. 1980. Population characteristics of the Common Toad *Bufo bufo*. *Animal Behaviour* 27: 1263–1267.
- Guttman, S. I. and W. Creasey. 1973. Staining as a technique for marking tadpoles. *Journal of Herpetology* 7: 388.
- Hagstrom, T. 1973. Identification of newt specimens (Urodela *Triturus*) by recording the belly pattern and a description of photographic equipment for such registration. *British Journal of Herpetology* 4: 321–326.
- Halliday, T. 1996. Amphibians. p. 205–217. In: W. J. Sutherland (ed.) *Ecological Census Techniques, A Handbook*. Cambridge University Press, Cambridge, UK.
- Hero, J. M. 1989. A simple code for toe clipping anurans. *Herpetological Review* 20: 66–67.
- Jehle R. and W. Hodl. 1998. PITs versus patterns: Effects of transponders on recapture rate and body condition of Danube crested newts (*Triturus dobrogicus*) and common spadefoot toads (*Pelobates fuscus*). *Herpetological Journal* 8: 181–186.
- Jolly, P. and C. Miaud. 1989. Tattooing as an individual marking technique in urodeles. *Alytes* 8: 11–16.
- Kusano, T. and K. Miyashita. 1983. Effects of neutral red staining on the growth and survival of *Hynobius nebulosus tokyoensis* larvae. *Japanese Journal of Herpetology* 10: 27–32.
- 草野 保・金子繁則・須藤美由紀. 1992. イモリの生活史と個体群動態. *爬虫両棲類学雑誌* 14 : 212. (講演要旨)
- Martof, B. S. 1953. Territoriality in Green Frog, *Rana clamitans*. *Ecology* 34: 165–174.
- 松井正文. 1996. 両生類の進化. 東大出版会, 東京. 302 p.
- 松井正文. 2003. 両生類の行動圏. p.157–170. 佐藤正孝・新里達也(編) *野生生物保全技術*. 海游社, 東京.
- May, R. M. 2004. Ethics and amphibians. *Nature* 431: 403.
- McCarthy, M. A. 2007. *Bayesian Methods for Ecology*. Cambridge University Press, Cambridge, UK.
- McCarthy, M. A. and K. M. Parris. 2004. Clarifying the effect of toe clipping on frogs with Bayesian statistics. *Journal of Applied Ecology* 41: 780–786.
- Nace, G. W. and E. K. Manders. 1982. Marking individual amphibians. *Journal of Herpetology* 16: 309–311.
- 成海信之・植田健仁・佐藤孝則・中林成広. 2002. キタサンショウウオの模様による個体識別. *両生類誌* (8) : 17–20.
- Nishikawa, K. C. and P. M. Service. 1988. A fluorescent marking technique for individual recognition of terrestrial salamanders. *Journal of Herpetology* 22: 351–353.

- Ott, J. A. and D. E. Scott. 1999. Effects of toe-clipping and PIT-tagging on growth and survival in metamorphic *Ambystoma opacum*. *Journal of Herpetology* 33: 344–348.
- Parris, K. M. and M. A. McCarthy. 2001. Identifying effects of toe-clipping on anuran return rates: the importance of statistical power. *Amphibia-Reptilia* 22: 275–289.
- Perret, N. and P. Jolly. 2002. Impacts of tattooing and pit-tagging on survival and fecundity in the alpine newt (*Triturus alpestris*). *Herpetologica* 58: 131–138.
- Pounds, J. A. and R. Puschendorf. 2004. Clouded futures. *Nature* 427: 107–109.
- Rafinski, J. N. 1977. Autotransplantation as a method of permanent marking for urodele amphibians (Amphibia, Urodela). *Journal of Herpetology* 11: 241–242.
- 田中清裕. 1986. 繁殖期におけるホクリクサンショウウオの縄張り行動. *爬虫両棲類学雑誌* 11 : 173–181.
- Waichman, A. V. 1992. An Alphanumeric code for toe clipping amphibians and reptiles. *Herpetological Review* 23: 19–21.
- Wisniewski, P. J., L. M. Paull, D. G. Merry, and F. M. Slater. 1980. Studies on the breeding migration and intramigratory movements of the Common Toad (*Bufo bufo*) using Panjet dye-marking techniques. *Journal of Herpetology* 6: 71–74.
- Wisniewski, P. J. and I. M. Wisniewski. 1998. Can a salamander change its spots? *British Herpetological Society Bulletin* (62): 27–28.
- Woolley, H. P. 1973. Subcutaneous acrylic polymer injections as a marking technique for amphibians. *Copeia* 1973: 340–341.