

耳石 Sr/Ca 比を用いた汽水域産 ミナミメダカの経験環境の推定

田久和剛史¹・山口啓子^{2*}・高須 晃³

Use of otolith Sr:Ca concentration ratios to estimate individual history of environmental experience of the Japanese medaka *Oryzias latipes* in the brackish area

Tsuyoshi Takuwa¹, Keiko Yamaguchi^{2*} and Akira Takasu³

Abstract: A school of freshwater fish medaka, *Oryzias latipes*, is sometimes found in brackish area of Hii River system. There is no study to clarify whether these individuals are from the adjacent freshwater area or grown up in the brackish water area. In order to estimate the individual history of environmental experience of the Japanese medaka in the brackish area, changes of Sr:Ca concentration ratio in the otolith were studied with an electron probe micro analyzer (EPMA). The level of Sr:Ca ratios of the otolith in the body collected from brackish water area (L. Shinji, around 7.4 ; L. Nakaumi, around 5.1) was higher than that from freshwater area (Hii River, around 3.5). There appeared no appreciable change of the level associated with growth for each otolith. In contrast, the level of Sr:Ca ratios in the otolith apparently became high after a transfer experiment from freshwater area to artificial brackish pond. These results indicate that the individuals collected in brackish water area in this study are estimated to have spent their life in the brackish water area. This study also revealed that the difference of salinity level within the brackish water area was not necessarily reflected to the Sr:Ca concentration ratios of the otolith of medaka.

Key words: *Oryzias latipes*, otolith, Sr:Ca, brackish water

¹ 島根県立宍道湖自然館・Shinjiko Nature Museum, 1659-5 Sono-cho, Izumo, Shimane 691-0076, Japan.

² 島根大学生物資源科学部・Faculty of Life and Environmental Science, Shimane University, 1060 Nishikawatsu-cho, Matsue, Shimane 690-8504, Japan.

³ 島根大学大学院総合理工学研究科・Interdisciplinary Graduate School of Science and Engineering, Shimane University, 1060 Nishikawatsu-cho, Matsue, Shimane 690-8504, Japan.

* Corresponding Author

受付日：2017年10月31日，受理日：2018年3月20日，WEB掲載日：2018年5月31日

はじめに

ミナミメダカ (*Oryzias latipes*) (以下, 便宜的にメダカとする) は, ダツ目メダカ科に分類される体長 3cm 程度の魚類である (瀬能, 2013). かつては身近な魚の一つであった本種は, 現在, 環境省のレッドデータブックにおいて絶滅危惧 II 類(VU) に選定されており, その保全が求められている (環境省自然環境局野生生物課希少種保全推進室, 2015).

本種は, 平野部の河川や池沼, 水田など淡水域での生息がよく知られる一方, 少例ではあるが, 降雨の影響を受ける塩田地帯や海浜潮間帯といった環境での生息も報告されている (柳島・森, 1957; 佐々木・伊東, 1961a など). 実際に, 塩分環境下での生息を可能とする高い塩分耐性をもつことも明らかとなっている (柳島, 1957; 佐々木・伊東, 1961b など). Inoue and Takei (2002) は, 海水中での産卵や孵化, 成魚の海水適応について, 他の *Oryzias* 属 3 種とともに比較実験を行い, メダカは生活史において完全に海水に適応しているわけではないが, ゆるやかな塩分変化であれば成魚は海水適応が可能であること, また低率ではあるが海水中での受精や卵発生も可能など, 海水適応能を備えていることを明らかにした. そして, 基本的に淡水種であるメダカが現在, 広く分布している一因として, 海を経由した移動が可能であったからではないかと推察した. 現在, 主に淡水域で見られている本種ではあるが, 種の維持や分布拡大において汽水域や海域を利用する可能性があることから, 本種の保全には淡水域のみならず, 汽水域にも注目する必要がある. メダカがどの程度汽水環境を利用しているか, その実態を把握することは本種の保全対策を考える上でも重要である. しかし, 小型の本種について, 広い汽水域で個体を継続的に観察・追跡することは難しく, 汽水域のメダカの動態についての知見は少ない. 日本有数の汽水湖である穴道湖・中海を擁する斐伊川水系においても淡水域だけでなく, 汽水域にもメダカが生息する (越川, 1985; 日本シジミ研究所, 2007 など). これまで国内における汽水域のメダカの研究では, 生態の観察と環境の測定とともに集団構成の解析を行った研究 (柳島・森, 1957) や, 分布・行動・食性・産卵といった生態に関する観察や環境分析からメダカの海水適応経路の考察を行った研究 (佐々木・伊東, 1961a) などが行われてきた. しかし, 汽水域のメダカが淡水から流下してきたのか, 汽水域内で生活環を完結させるのかなど, 実際に野外に生息する個体について, 汽水域での生態や生息環境の

履歴に関する基本的な情報を調べた研究はない.

魚類の経験環境を明らかにする方法の一つとして, 付加成長する硬組織である耳石に取り込まれる環境水由来の化学成分に基づく分析がある (Campana, 1999; 新井, 2002 など). なかでも耳石中の Sr/Ca 比分析は, 水中の Sr 濃度が淡水と比較して海水において特に高い値をとることを利用して, 淡水・海水 (汽水) といった塩分の異なる水域間の移動や経験環境の推定に利用されている (Otake and Uchida, 1998; 海野ら, 2001; Tsukamoto and Arai, 2001 など). この手法は比較的小型の魚類のイトヨ (Arai et al., 2003) やヨシノボリ類 (Ohara et al., 2009) などにも用いられており, 本種にも応用できる可能性が十分に考えられる.

そこで, 本研究では斐伊川水系の汽水産のメダカの経験環境を明らかにするため, 耳石中の Sr/Ca 比分析を行った. 斐伊川水系の淡水域および汽水域に生息する野外から採集した個体 (野外個体) について, および淡水から汽水に移植する飼育実験を行った個体 (移植試験個体) について, それぞれの耳石中の Sr/Ca 比分析を行い, 個体ごとの経験環境を推定し, その妥当性について検討した.

方法

調査地点

島根県の船通山を源流として日本海に注ぐ斐伊川水系 (幹線流路延長 153 km) を調査地とした. 斐伊川水系の下流部には, 穴道湖と中海が位置し, 両水域は大橋川を介して連絡し, 中海は境水道を介して日本海に連絡している. 境水道を通して中海に海水が流入し, 流入海水は希釈混合を受けながらもその一部は大橋川を通して穴道湖に達している (石飛, 2001). 塩分は穴道湖上層で 3 から 5 程度, 中海上層は 10 から 20 程度である (清家, 2001). 2014 年 5 月から野外調査を行い, メダカの群れが確認できたなかで塩分の異なる 3 地点を調査地点とした (図 1). 各地点では, 2014 年 7 月から 2015 年 6 月にかけて基本的に月 1 回 (冬季は 2 ヶ月に 1 回) の頻度で, 野外調査を実施した. メダカの分布状況を確認したのち, 調査地点の環境水の変動傾向を把握するため, 水温 (HORIBA 社, WATER CHECKER U-10) および塩分 (YSI 社, マルチプローブシステム 556MPS) を計測した.

野外個体の耳石分析

野外個体として, 耳石中の Sr/Ca 比分析に供したメダカの採集情報を表 1 に示す. 斐伊川 (St. 1) の

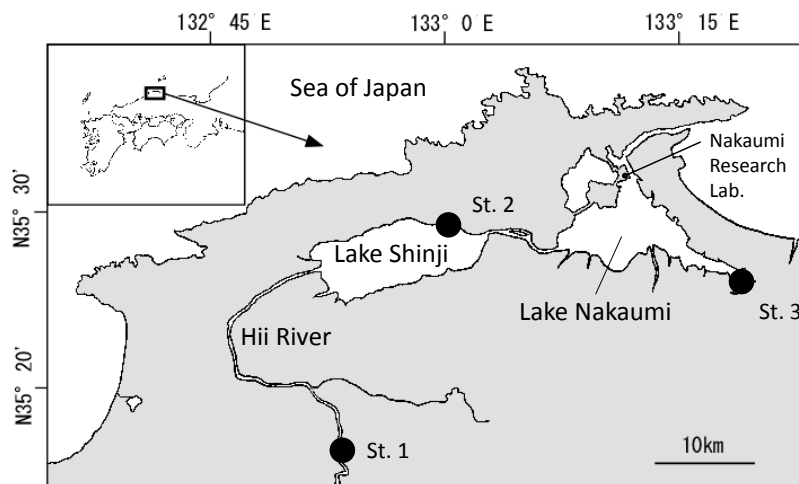


図1 調査地点.

Fig. 1 Sampling sites.

表1 耳石微量元素分析に用いた野外個体の調査地点の水質とサンプルデータ.

Table 1 Aquatic characteristics of sampling sites and sample data of wild individuals of medaka used for otolith microchemistry analysis.

| Locality code | Locality | Aquatic characteristics | Sampling date | Number of samples | Total length (mm) | |
|---------------|------------|-------------------------|---------------|-------------------|-------------------|-------------|
| | | | | | Mean±SD | Range |
| St. 1 | Hii River | Freshwater | 2014/5/22 | 3 | 30.28±3.29 | 27.03–33.61 |
| St. 2 | L. Shinji | Brackish water | 2014/9/29 | 3 | 23.78±1.09 | 22.59–24.74 |
| St. 3 | L. Nakaumi | Brackish water | 2014/7/1 | 3 | 21.63±1.29 | 20.17–22.60 |

2014年5月同日採集群, 宍道湖 (St. 2) の2014年9月同日採集群, 中海 (St. 3) の2014年7月同日採集群から, 比較的大型の個体を選び, 各地点で全長が近いそれぞれ3個体を供した. 供試個体から抽出した左側の耳石 (扁平石) の凹面 (Sulcus) が上になるようにスライドガラス上のエポキシ樹脂 (米国パルース・ペトロ・プロダクツ社, ペトロポキシ154) に包埋後, 硬質ガラス研磨板と研磨剤 (マルトー社, アランダム A#3000 もしくはカーボンランダム C#3000) を用いて耳石表面まで研磨した. その後, 研磨クロスと粒度 3 μmPAS 懸濁液 (アイエムティー社, W605AS#3POLYSTD) を用いて耳石中心付近が露出するまで研磨し, 研磨クロスと粒度 1 μmPAS 懸濁液 (アイエムティー社, W605AS#1POLYSTD) を用いて耳石中心が露出するまで鏡面仕上げした. 真空蒸着装置 (日本電子社, JEE-420) を用いてこの試料の表面に炭素蒸着を施し, 電子線マイクロアナライザー (日本電子社, JXA-8530F) を用いて Ca と Sr の濃度を分析した. 定量分析は, CaSiO₃ と SrSO₄ を標準試料として, 加速電圧 15kV, ビーム

径 1 μm, 照射時間 10 秒で, 耳石中心から耳石縁辺に向かってライン上を測点間隔 3 μm で分析した. メダカの耳石研磨面には亀裂等がしばしば生じており, 測定に支障をきたすため, これを避けた任意のラインを選んだ. 耳石の Ca に対する Sr 濃度比 (Sr/Ca) を求め, 本論文ではこれを 1000 倍したものを, 「Sr/Ca 比」とした. また, 上記の方法で計測した Sr/Ca 比の平均値を個体ごとに求め, これを合計して各地点の測定数 (n = 3) で割ったものを各地点の平均値とした.

移植試験個体の耳石分析

メダカの耳石 Sr/Ca 比 (以下同様) が生息塩分に応じて変化するかどうかを検証するため, 淡水から汽水への移植飼育試験を行った. 飼育個体は, 2015年6月22日に St. 1 より約 150 m 下流側で採集したメダカ 39 個体 (平均全長 ± 標準偏差, 17.37 mm ± 1.19) のうち, 弱った個体および初期値測定のための処理個体を除く 31 個体を用いた. 耳石中における移植のタイミングを識別するため, さまざ

表2 耳石微量元素分析に用いた移植試験個体の試験地点の水質とサンプルデータ。

Table 2 Aquatic characteristics of experimental site and sample data of individuals of medaka used for otolith microchemistry analysis of transport experiment.

| Code | Locality | Aquatic characteristics | Sampling date | Number of samples | Total length (mm) | |
|------------|---------------------------|--------------------------------|---------------|-------------------|-------------------|-------------|
| | | | | | Mean±SD | Range |
| Experiment | Hii River → L. Nakaumi | Freshwater → Brackish water | 2015/7/30 | 3 | 29.26±0.88 | 28.27-29.95 |

まな魚種で化学標識として用いられている alizarin complexone (以下, ALC) による耳石染色標識 (例えば, 藤原, 1999; 中川ら, 2007) を行った. St. 1 の環境水 2 L に, ALC (東京化成工業社, A0440) 60mg を加えて, これをスターラー (アドバンテック社, SR100) を用いて溶解させた. この ALC 溶液を 2 本準備し, 無通気の溶液中へそれぞれ 15 個体, 16 個体を収容し, 24 時間浸漬して耳石染色標識を行った. なお, 浸漬はインキュベーター (アドバンテック社, IS-3300) 内の暗所にて, 採集地点の水温に近い 25 °C 設定条件下で行った. 浸漬後の個体を, 室温 25 °C 条件下で St. 1 の環境水 (塩分 0) を張ったガラス水槽 (31.5 cm × 18.5 cm × 24.4 cm) 2 個にそれぞれ 15 個体, 16 個体を収容し, 移植先の環境水 (塩分 22.9) を用いて 1 日 1 回飼育水量の約 1/3 を換水し, これを 4 日間続け, 汽水へ馴致させた. なお, 馴致期間中は移植先屋外水槽内よりプランクトンネット (目合い 50 μm) を用いて採集した微小生物を給餌した. 馴致を終えた個体を, 2015 年 6 月 28 日から同年 7 月 30 日までの期間, 島根大学汽水域研究センター (現・島根大学エスチュアリー研究センター) 中海分室 (図 1) 所有の中海表層水を常時くみ上げてかけ流している屋外水槽 (注水量 73.3 L/min., コンクリート製, 外径 6 m × 10 m × 水深 0.4 m) 内に沈めたカゴ (外径 1 m × 1 m × 1 m, 目合い 3 mm) に移植した. 移植期間中は, 上述の方法により, 適宜水温, 塩分を計測するとともに, 移植後 12 日目からはカゴ内に電気伝導率データロガー (米国オンセットコンピュータ社, U24-002-C) を設置し, 水温, 塩分を自動計測 (1 回/1 時間) した. このほか, 多項目水質計 (HYDROLAB 社, DS5) を用いて, 水深毎の水温, 塩分を計測した. 移植期間中は, 耳石中微量元素への影響を避けるため, 人工飼料は給餌せず, 屋外水槽に流入, 生息する生物の自然摂餌とした. 移植飼育実験終了後, 生残した個体 3 個体を耳石中の Sr/Ca 比分析に供した (表 2). 耳石断面作成に先立ち, ALC による蛍

光標識を確認するため, 蛍光顕微鏡 (OLYMPUS 社, BX51) を用いて, 落射光下で G 励起により観察した. 耳石の処理方法と Sr/Ca 比の測定方法は, 野外個体の分析と同じとした.

耳石断面の面分析

上記のライン上で定量分析した耳石の Sr/Ca 比の変化が成長に伴う値の変化であることを確かめるため, 定量分析後の試料を用いて耳石の面分析を行った. 面分析では, 耳石断面の元素分布をマップ状に表すことができることから, 同心円状に値が変化すれば成長に伴う変化であることが確認できる. 値の変化するタイミングの整合性を調べるため, ライン分析を行った同じ個体を用いた. 面分析には, 宍道湖 (St. 2) および移植試験個体からそれぞれ 1 個体を供した. アセトン (関東化学社, 01026-70) および研磨クロスと粒度 0.3 μm アルミナ懸濁液 (BAIKOWSKI 社, Baikalox0.3CR) を用いて炭素蒸着を剥離除去した上で, 研磨クロスと粒度 1 μm PAS 懸濁液 (アイエムティー社, W605AS#1POLYSTD) を用いて定量分析によって生じたビーム痕が消えるよう鏡面仕上げした. その後, 真空蒸着装置 (日本電子社, JEE-420) を用いてこの試料の表面に炭素蒸着を施し, 電子線マイクロアナライザー (日本電子社, JXA-8800M) を用いて, 研磨面表面の Ca と Sr の X 線強度を分析した. 面分析は, 加速電圧 15 kV, ビーム径 1 μm とし, 宍道湖 (St. 2) の分析はピクセルサイズ 2 μm, 1 点あたりの照射時間を 0.1 秒, 移植試験個体の分析はピクセルサイズ 1.5 μm, 1 点あたりの照射時間を 0.2 秒とした.

結果

調査地点の水質の傾向

調査地点の塩分, 水温の傾向を図 2 に示す. 年間の平均塩分は, St. 1 で 0, St. 2 で 3.3, St. 3 で 10.6 であり, St. 1 から St. 3 に向かうにつれて, 塩分は高くな

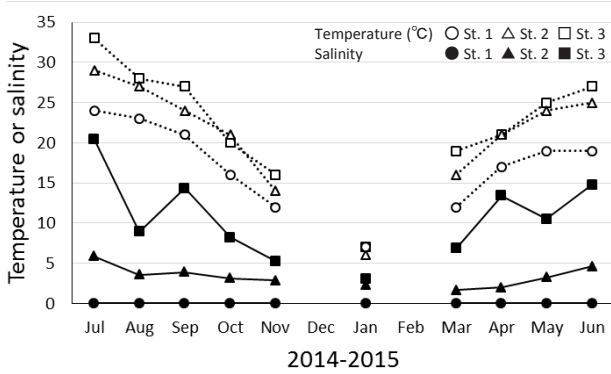


図2 調査地点の水質の季節変化.
Fig. 2 Seasonal change of water quality at sampling sites.

る傾向がみられた。St. 1では、年間を通じて塩分はほぼ0であり、変動はほとんどなかった。St. 2では、6未満で値の変動は小さかった。St. 3は、同じ汽水であるSt. 2より塩分が全体的に高く、かつ変動が大きかった。水温については、7月にいずれの地点も最大値をとり、St. 1で24°C、St. 2で29°C、St. 3で33°Cであった。最小値はいずれの地点も1月であり、St. 1で7°C、St. 2で6°C、St. 3で7°Cであった。水温低下の傾向は9月から11月にかけて大きく、水温上昇の傾向は3月から4月にかけて大きかった。St. 1は、1月以外は他の地点と比べて水温が低い傾向がみられた。

野外個体の耳石の Sr/Ca

調査地点ごとの野外個体(n = 3)の値を図3に示す。野外個体の耳石の定量分析におけるSr/Ca比は、斐伊川(St. 1)の3個体でそれぞれ 3.32 ± 0.54 (平均 ± 標準偏差)、 3.54 ± 0.84 、 3.73 ± 0.55 であった。穴道湖(St. 2)の3個体でそれぞれ 6.62 ± 0.73 、 7.39 ± 0.69 、 8.26 ± 0.48 、中海(St. 3)の3個体でそれぞれ 5.07 ± 0.95 、 5.09 ± 1.06 、 5.20 ± 1.03 であった。Sr/Ca比の平均値については、St. 1とSt. 3では、3個体の値は同程度であったが、St. 2では3個体の平均値にばらつきがみられた。各個体におけるSr/Ca比の標準偏差では、St. 3の個体で高い傾向があり、値の変動幅がやや大きい傾向がみられた。

移植試験個体の耳石の Sr/Ca

移植飼育実験期間中の塩分、水温を図4に示す。塩分は、開始時で24.3、データロガーを設置した移植後12日目(7月9日)からの塩分については、18から26の範囲で推移した。水温は開始時で24°C、デー

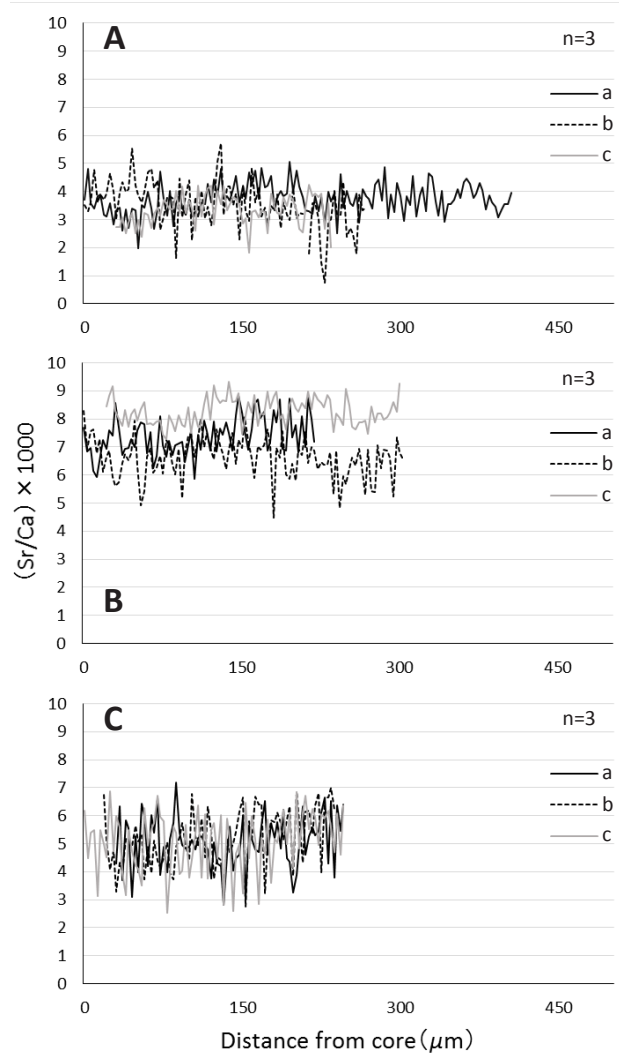


図3 定量分析による野外個体の耳石 Sr/Ca 比。
Fig. 3 Otolith Sr:Ca ratio by quantitative analysis for wild individuals. A, freshwater area Hii River (St. 1). B, brackish water area L. Shinji (St. 2). C, brackish water area L. Nakaumi (St. 3).

タロガーの設置後は約25°Cから日数の経過とともに上昇傾向がみられ、最高値は約34°Cであった。昼夜で、2から6°C程度変動した。なお、2015年台風第11号が接近した7月16日から同月17日にかけては、この影響である水温の低下と塩分の上昇がみられた。水深ごとの塩分、水温(鉛直分布)については、表層から底まで、塩分、水温ともに同様であった。実験終了時に生残したのは31個体中3個体のみで、生存率は10.3%と低い値であった。ほとんど死骸を回収できず、生残数が少なくなった理由については不明である。生残個体の耳石を取り出し(研磨前)、蛍光顕微鏡(G

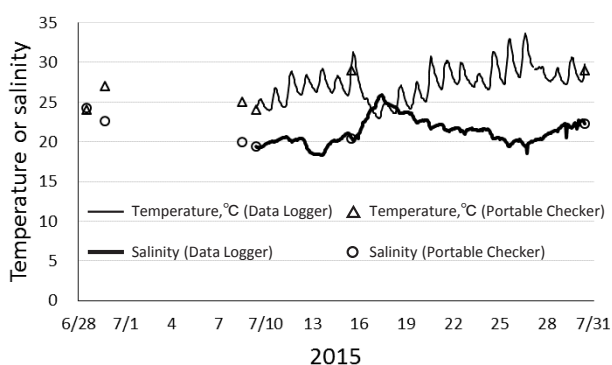


図4 データロガーおよびハンディ水質計による移植地点(汽水)の水温塩分。

Fig. 4 Water quality at the artificial brackish pond with data logger and portable checker.

励起)で観察したところ、耳石内に色彩が不連続となっている場所が存在したため、これをALCによる発光標識と判断した(図5)。移植試験個体の耳石 Sr/Ca 比は、移植前の淡水生活期にあたる耳石のコアに近い箇所では値が低く、移植後の汽水生活期にあたる縁辺に近い箇所は値が高かった(図6)。図5の個体Aで示した耳石の標識位置は、定量分析でライン状に測定したコアから腹方向において、コアからおおよそ 200 μm の距離であると推定された。一方、図6の研磨断面における定量分析結果では、個体Aのコアから腹方向へ 210 μm の位置で、Sr/Ca 比が上昇していた。他の2個体である個体Bと個体Cでも同様に標識位置と Sr/Ca 比が上昇する位置はほぼ一致していた。標識前までの値は3前後の低い値で推移したが、標識後の値は、6から8前後を示し、値の明瞭な上昇がみられた。

野外個体および移植試験個体における耳石 Sr の X 線強度の平面分布

図7に野外個体(St. 2)および移植試験個体(Sample A, 図5と同じ試料であるが、左右が反転した状態のもの)の耳石の研磨面表面における Sr の X 線強度分布を示す。St. 2の穴道湖産では耳石研磨面の X 線強度が中心から縁辺まで均質であるのに対し、移植試験個体では同心円状に値の変化がみられ、内側で値が低く、外側で高かった。概ね ALC による発光標識と判断した箇所を境に X 線強度の値が高く変化していたことから、この値の同心円状の変化は、淡水から汽水環境へ移動したことにより生じたと判断された。

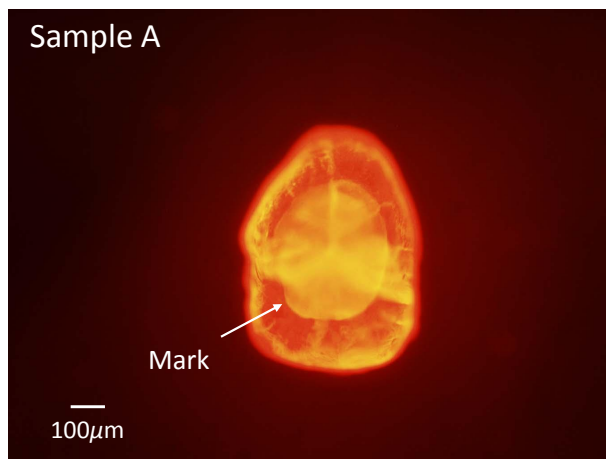


図5 移植試験個体の耳石における標識と判断した箇所。

Fig. 5 ALC marking in the otolith of experiment individual (Sample A).

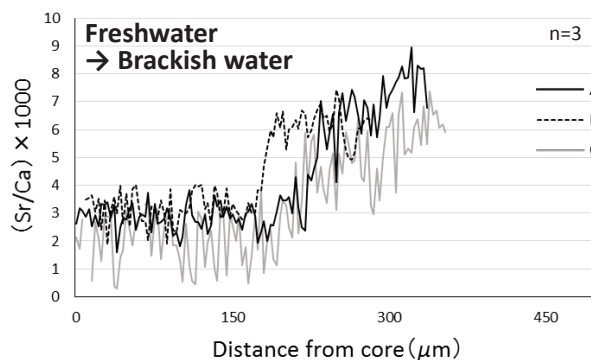


図6 定量分析による移植試験個体の耳石 Sr/Ca 比。
Fig. 6 Otolith Sr:Ca ratio by quantitative analysis for experiment individuals.

考 察

野外個体の耳石 Sr/Ca 比は、St. 1の淡水域産では平均 3.5 程度、St. 2の穴道湖(汽水)産では平均 7.4 程度、St. 3の中海(汽水)産では平均 5.1 程度となり、淡水域に比べて汽水域で値が高いことが示された。移植試験個体の Sr/Ca 比は、淡水生活期であるコアに近い箇所では値が概ね 3 前後と低く、汽水環境に移植後と判断した外側の箇所では値が明瞭に上昇し、概ね 6 から 8 の値を示した。これらのことから、斐伊川水系のメダカの耳石 Sr/Ca 比は概ね淡水域で 3 程度と低く、汽水域で 5 から 8 程度と高いことが明らかとなった。また、野外個体については成長に伴う Sr/

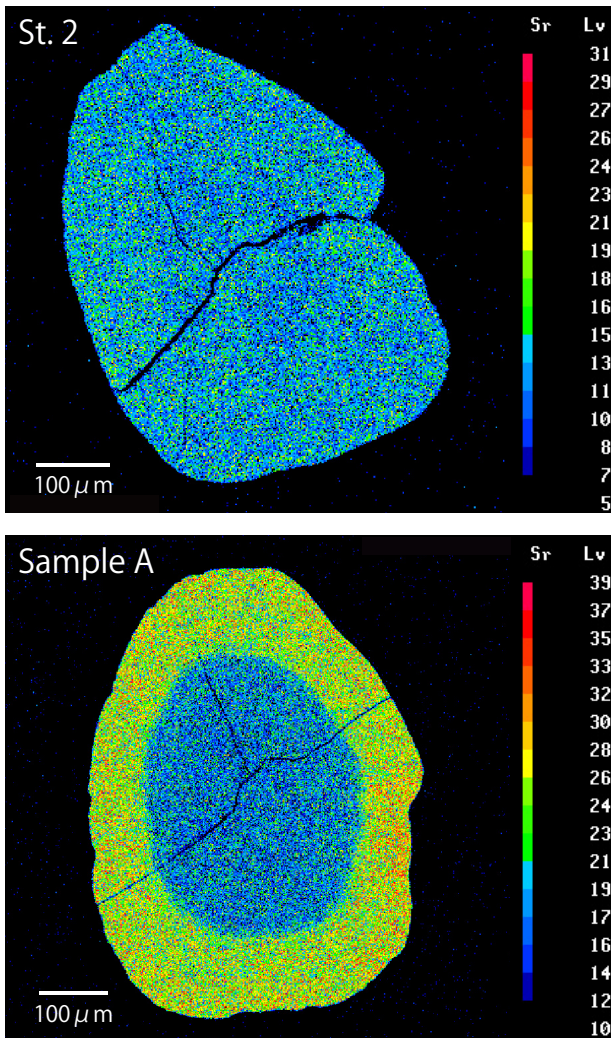


図7 面分析による野外個体と移植試験個体の耳石 Sr 強度分布。

Fig. 7 Sr concentration distribution in the otolith by area analysis for a wild individual (St. 2) and an experiment individual (Sample A).

Ca 比の明瞭な変化はみられなかった一方で、移植試験個体については淡水環境から汽水環境への移動により、耳石 Sr/Ca 比が上昇し、変化することが示された。これらのことから、本研究における汽水産（宍道湖および中海）で採取した供試個体は両湖周辺の淡水域から流下したのではなく、汽水産で生まれ育ったことが明らかとなった。

斐伊川水系における他魚種の耳石の Sr/Ca 比をみると、ワカサギ *Hypomesus nipponensis* では淡水産（ため池）の値はおよそ 1 から 4 程度であるのに対し、宍道湖と中海で漁獲された汽水産では概ね 6 から 8 の範囲の値となっている（藤川ら, 2014）。トウヨシノ

ボリ *Rhinogobius* sp. OR では、汽水湖（宍道湖）に降下したと推定した時期では概ね 7 から 10 であるのに対し、淡水域に遡上したと推定した時期では概ね 1 から 4 の範囲となっており、また、同種の陸封性と推定されている個体においても概ね 1 から 4 の範囲となっている（Ohara et al., 2009）。アユ *Plecoglossus altivelis* の Sr/Ca 比のチャートパターンの典型例では、沿岸・汽水産での生活期の値を 6 から 8 程度、遡上後の値を 3 から 4 程度としている（海野ら, 2005）。このように、斐伊川水系における複数の他魚種でも、耳石の Sr/Ca 比の値は、淡水で 1 から 4 程度であり、これに対して汽水から海水にかけての値は高く 5 から 10 程度であり、本研究の結果と整合的である。これらのことから、本結果の淡水産の St. 1 と汽水産の St. 2 および St. 3 の値の違いは、淡水と汽水の違いを反映していることは明らかである。

一方、今回の供試個体の測定結果から、淡水では Sr/Ca 比が 3 前後でほぼ一定であるのに対し、宍道湖の St. 2（塩分 3 程度）で平均 7.4 程度、中海の St. 3（塩分平均 10 程度だが変動大）で平均 5.1 程度、中海表層水をかけ流して飼育した個体（塩分 20 程度）で概ね 6 から 8 となっており、耳石中の Sr/Ca 比は汽水では塩分の高低を反映していなかった。環境水の塩分と耳石の Sr/Ca 比の関係性については、これまでいくつかの広塩性の種で飼育実験によって確かめられている。例えば、ワカサギ *Hypomesus nipponensis* (Katayama et al., 2007)、イトウ *Hucho perryi* (Arai, 2010)、オオウナギ *Anguilla marmorata* (Arai and Chino, 2017) などでは、耳石の Sr/Ca 比の値は塩分と直線関係にあることが表されている。一方、スズキ *Lateolabrax japonicus* (Secor et al., 1998)、ボラ *Mugil cephalus* (Chang et al., 2004)、コモチサヨリ *Zenarchopterus dunckeri* (Kanai et al., 2014) などでは、耳石の Sr/Ca 比の値が塩分と直線関係になっていない。このように環境水の Sr 濃度と耳石への取り込みの関係は、種によって違いがみられる。

これらの研究において、一般に水と耳石中の Sr/Ca 比の値は一致せず、ほとんどの場合、汽水・海水における耳石中の Sr/Ca の比の値は、環境水の比の値より明らかに低い。海野ら (2005) に示された斐伊川水系の水の Sr/Ca 比と塩分との関係を見ると、水の Sr/Ca 比 ($\times 1000$) は、淡水では 8 程度であり、宍道湖程度の塩分の汽水から海水にかけてはほぼ一定で 19 程度であった。この値と比較しても、水とメダカの耳石中の Sr/Ca 比の値は一致せず、耳石において低いことが明白である。麦谷 (1994) は、耳石の Sr は、環境水

と血液の Sr 濃度を反映しているが、これらの間に直接関係はなく、Sr は環境水から血液に入る段階で、さらに血中から耳石に沈着する段階で、それぞれ高濃度側で抑制される生物効果 (vital effect) が働いていることを指摘している。生物効果は、魚種や個体、あるいは環境変動特性によっても異なることが考えられる。広塩性の魚を対象とした上述の既往研究からも、生物効果には、魚種による差異があると推察されるが、その機構の解明は今後の課題である。

本研究における中海 (St. 3) の耳石 Sr/Ca 比の値は、穴道湖 (St. 2) の耳石の値よりやや低かった。その理由として、一つは上記の生物効果が考えられる。また、St. 3 は、地形的特徴として、付近に河川や宅地がある水路であり、降雨時などに周辺から淡水が直接流れ込んで、一時的に淡水に近い塩分になっていた可能性があり、耳石の値に影響したかもしれない。St. 3 は他の地点と比べて塩分の変動が大きく、St. 3 の個体の Sr/Ca 比の標準偏差も大きかったことから、塩分の変化にともなう生理的作用の変化が、耳石の値に影響したとも考えられる。このように、降水および生物効果などが影響して、本研究における穴道湖と中海の間では、耳石 Sr/Ca 比の値が塩分の高低を表していなかったと考えられる。

以上をふまえた上で、メダカの耳石の Sr/Ca 比の平均から、斐伊川水系の本種においては、耳石 Sr/Ca 比がおよそ 4 より低い場合は淡水域、それより高い値は汽水域で生息していたと判定できるといえる。耳石の Sr/Ca 比分析により、淡水と汽水の区別は可能であり、本研究における斐伊川水系の汽水産の供試個体については、汽水域で継続的に生活していたことが明らかとなった。一方で、今回の結果からは、耳石の Sr/Ca 比の値から本種が経験した異なる塩分の汽水環境を区別することは難しいと判断された。この要因について明らかにするためには、今後、本水系における環境水の Sr や Ca の動態を把握した上で、本種にどのような生物効果が働くのか、耳石 Sr/Ca 比との対応関係を調べる必要がある。また、本研究の結果から、汽水域には、継続的にメダカ個体群が維持されていると推定され、メダカの塩分耐性からも、本種の保全には、淡水環境だけでなく本種が長期間に渡って生息できる汽水環境の保全もまた重要といえる。汽水域も、本種の維持に寄与しており、今後、周辺水域の個体群との関わりや分布の推移を調べることによって、汽水域のメダカ個体群の生態的意義がより一層、明らかになるものと思われる。

謝 辞

Sr/Ca の測定試料の準備では、島根大学総合理工学部地球資源環境学科技能補佐員 大島由美子氏に、データロガーの使用に際しては、島根大学汽水域研究センター 國井秀伸教授 (当時) に、移植飼育試験を行った屋外水槽の管理では、島根大学汽水域研究センター技能補佐員 (中海分室) 足立栄造氏 (当時) に、研究を遂行する上では、島根大学生物資源科学部生態環境科学科 (地域環境科学科) 生態環境工学講座山口研究室 学生諸氏にご協力をいただいた。また、弘前大学農学生命科学部 佐原雄二教授 (現・弘前大学名誉教授) には、汽水域のメダカに関する情報を提供していただいた。2 名の匿名の査読者の方々には、丁寧な校閲と有益なアドバイスをいただいた。ここに心より感謝申し上げる。著者の一人の田久和が所属する公益財団法人ホシザキグリーン財団並びに島根県立穴道湖自然館には、甚大なるご理解とご支援をいただいた。なお、本研究は、科学研究費補助金 (挑戦的萌芽研究 26550009) の助成を受けて行われた。

引 用 文 献

- 新井崇臣 (2002) 魚類の回遊履歴：解析手法の現状と課題。魚類学雑誌, 49: 1-23.
- Arai, T. (2010) Effect of salinity on strontium:calcium ratios in the otoliths of Sakhalin taimen, *Hucho perryi*. Fish. Sci., 76: 451-455.
- Arai, T and Chino, N. (2017) Influence of water salinity on the strontium:calcium ratios in otoliths of the giant mottled eel, *Anguilla marmorata*. Environ. Biol. Fish., 100: 281-286.
- Arai, T., Goto, A., and Miyazaki, N. (2003) Migratory history of the threespine stickleback *Gasterosteus aculeatus*. Ichthyol. Res., 50: 9-14.
- Campana, S. E. (1999) Chemistry and composition of fish otoliths: pathways, mechanisms and applications. Mar. Ecol. Prog. Ser., 188: 263-297.
- Chang, CW., Lin, SH., Iizuka, Y. and Tzeng, WN. (2004) Relationship between Sr:Ca Ratios in Otoliths of Grey Mullet *Mugil cephalus* and Ambient Salinity: Validation, Mechanisms, and Applications. Zool. Stud., 43: 74-85.
- 藤川裕司・片山知史・安木 茂 (2014) 耳石 Sr:Ca と採集調査から推定された穴道湖産ワカサギの回遊パ

- ターン. 水産増殖, 62:1-11.
- 藤原公一 (1999) アリザリン・コンプレクソンを用いたニゴロブナ, *Carassius auratus grandoculis* の耳石への標識装着条件. 水産増殖, 47:221-228.
- Inoue, K. and Takei, Y. (2002) Diverse Adaptability in *Oryzias* Species to High Environmental Salinity. *Zool. Sci.*, 19: 727-734.
- 石飛 裕 (2001) 汽水域の物理特性—水塊の動き. 高安克己編「汽水域の科学 中海・宍道湖を例として」. pp. 10-18. たたら書房.
- Kanai, T., Nanjo, K., Yamane, K., Amano, Y., Kohno, H., Watanabe, Y., Sano, M. (2014) Utilization patterns of estuarine and marine habitats by the halfbeak *Zenarchopterus dunckeri* at Iriomote Island, southern Japan, evaluated from otolith microchemistry. *Fish. Sci.*, 80: 1231-1239.
- 環境省自然環境局野生生物課希少種保全推進室 (2015) レッドデータブック 2014—日本の絶滅のおそれのある野生生物—4 汽水・淡水魚類. ぎょうせい, 414p.
- Katayama, S., Saruwatari, T., Kimura, K., Yamaguchi, M., Sasaki, T., Torao, M., Fujioka, T. and Okada, N. (2007) Variation in migration patterns of pond smelt, *Hypomesus nipponensis*, in Japan determined by otolith microchemical analysis. *Bull. Jpn. Soc. Fish. Oceanogr.*, 71: 175-182.
- 越川敏樹 (1985) 宍道湖の魚たち. 佐藤仁志編「宍道湖の自然 山陰の自然シリーズ №.1」. pp. 106-119. 山陰中央新報社.
- 麦谷泰雄 (1994) 魚類の耳石情報解析に関する研究. 日本水産学会誌, 60:7-11.
- 中川雅弘・大河内裕之・服部圭太 (2007) Alizarin Complexone を用いたクロソイ種苗の耳石標識試験. 水産増殖, 55:253-257.
- 日本シジミ研究所 (2007) 宍道湖と中海の魚たち. 山陰中央新報社, 211p.
- Ohara, K., Hotta, M., Takahashi, D., Asahida, T., Ida, H., Umino, T. (2009) Use of microsatellite DNA and otolith Sr:Ca ratios to infer genetic relationships and migration history of four morphotypes of *Rhinogobius* sp. *OR. Ichthyol. Res.*, 56: 373-379.
- Otake, T. and Uchida, K. (1998) Application of Otolith Microchemistry for Distinguishing between Amphidromous and Non-amphidromous Stocked Ayu, *Plecoglossus altivelis*. *Fish. Sci.*, 64: 517-521.
- 佐々木直井・伊東鎮雄 (1961a) 海棲メダカの研究 I. 野外観察. 動物学雑誌, 70:188-191.
- 佐々木直井・伊東鎮雄 (1961b) 海棲メダカの研究 II. 淡水メダカの海水適応. 動物学雑誌, 70:192-195.
- Secor, D.H., Ohta, T., Nakayama, K. and Tanaka, M. (1998) Use of Otolith Microanalysis to Determine Estuarine Migrations of Japanese Sea Bass *Lateolabrax japonicus* Distributed in Ariake Sea. *Fish. Sci.*, 64: 740-743.
- 清家 泰 (2001) 汽水域の水質特性. 高安克己編「汽水域の科学 中海・宍道湖を例として」. pp. 19-37. たたら書房.
- 瀬能 宏 (2013) メダカ科. 中坊徹次編「日本産魚類 検索 全種の同定 第三版」. pp. 649-650. 東海大学出版会.
- Tsukamoto, K. and Arai, T. (2001) Facultative catadromy of the eel *Anguilla japonica* between freshwater and seawater habitats. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 220: 265-276.
- 海野徹也・清家 暁・大竹二雄・西山文隆・柴田恭宏・中川平介 (2001) 耳石微量元素分析による広島県太田川サツキマスの回遊履歴の推定. 日本水産学会誌, 67:647-657.
- 海野徹也・清家 暁・高塚 順・平野美穂・中川平介・大竹二雄・石井紀明・後藤悦郎 (2005) 耳石 Sr/Ca 比およびアロザイムによる島根県斐伊川産アユの生態学的研究. 水産増殖, 53:175-180.
- 柳島静江・森 圭一 (1957) 魚類の適応変異に関する研究 I. メダカ (*Oryzias latipes* T. & S.) の塩水適応 第 1 報 野外観察. 動物学雑誌, 66:351-358.
- 柳島静江 (1957) 魚類の適応変異に関する研究 I. メダカ (*Oryzias latipes* T. & S.) の塩水適応について 第 2 報 実験的研究 (予報). 日本生態学会誌, 7:123-126.