

原著論文

サクラマス¹の耳石バーコード標識パターン数を増やすための 低水温飼育と昇温刺激を併用した標識方法

坂本 準^{*1}・桑木基靖^{*2}・江場岳史^{*3}

A Newly Thermal Induced Otolith Marking Method Applied to Masu Salmon Using Cool Rearing Water and an Abrupt Rise in Temperature to Increase the Number of Marks Pattern

Jun SAKAMOTO, Motoharu KUWAKI, and Takeshi EBA

Thermally-induced bar-code otolith marking of salmonids is usually done at the eyed-egg or alevin stage by abruptly cooling the water temperature. In this study, we investigated a new otolith marking method for masu salmon *Oncorhynchus masou* to increase the number of otolith marks. We first attempted to delay the emergence time of fry by using a cooling system to extend the period of thermal marking. With cool water (5.5 °C), emergence time was delayed by 44 days compared to normal conditions (9.5 °C). A 24h increase in rearing water temperature from 5.5 °C to 9.5 °C produced 3 otolith marks at the eyed-egg stage and 5 otolith marks at the alevin stage. We show that this new thermal marking method results in more otolith marks than the former method.

2009年4月10日受付, 2009年7月27日受理

人工ふ化放流したサクラマス (*Oncorhynchus masou*) 幼稚魚の河川内分布, 移動, 成長や生残, 天然魚との相互関係, あるいは回帰した親魚の生態や放流効果などを明らかにするために, 標識放流は欠かせない手法である。サクラマス放流魚に対する標識は鱭切除やリボンタグなどが広く用いられているが, 我が国では1980年代後半からの大量標識放流に, アリザリンコンプレクソン等の蛍光物質を用いた浸漬法も併用されてきた¹⁾。さらに, 最近ではサケ (*O. keta*) やカラフトマス (*O. gorbuscha*) で行われている耳石温度標識も用いられるようになってきた²⁾。

耳石温度標識法は, サケ科魚類の発眼卵や仔魚に4°C

の低水温刺激を与えることで, 耳石に人為的な年輪状の標識を付ける手法である³⁾。近年ではこの標識方法が一般化し, 日本, アメリカ, カナダ, ロシア, 韓国で行われるようになった。

北太平洋溯河性魚類委員会 (NPAFC) は, 各国の標識が重複することを避けるため, 放流した国を識別するための標識を義務付けるとともに⁴⁾, 各国が付ける標識のパターンを集約している^{*4)}。

通常, 我が国では耳石標識を発眼卵期に施しているが, サクラマスのふ化までの期間は, 飼育水温8°Cの場合, 受精からふ化までの積算温度 (ふ化までの経過日数 × 1日の平均水温) が450°C前後⁵⁾で, サケ (480°C前

*1 独立行政法人水産総合研究センター さけますセンター 尻別事業所 〒048-0600 島牧郡島牧村字賀老11番1
Shiribetu Station, National Salmon Center, FRA 11-1 Garou, Shimamaki, Shimamaki, 048-0600 Japan
juns@fra.affrc.go.jp

*2 独立行政法人水産総合研究センター さけますセンター 十勝事業所

*3 独立行政法人水産総合研究センター 奄美栽培漁業センター

*4 <http://npafc.taglab.org/MarkSummary.asp>

後) やカラフトマス (570℃ 前後) に比べて短いため、国別標識を付けると標識パターン数が限られてしまう。辻本・田子⁶⁾は、サクラマスの仔魚に耳石温度標識を付ける手法を確立しているが、発眼卵期から仔魚期を通し連続して標識を付けられるようになれば、標識パターン数を増やすことができる。また、飼育水温を下げて発眼卵と仔魚の発育を抑制し、浮上期を遅らせることができれば、標識の組み合わせをさらに増やすことが可能になる。しかし、この条件下で通常の標識を行うと水温が低くなり過ぎるため、卵や仔魚への悪影響が懸念される。

そこで、本研究では、低温の飼育水を用いてサクラマスの発眼卵期から仔魚が浮上するまでの期間を延長させるとともに、飼育水を一時的に昇温して耳石温度標識を付けることで、標識パターンを増やす方法について検討した。

材料と方法

供試卵・仔魚の飼育管理 2007年9月18日に北海道の京極ふ化場で採卵したサクラマス卵 171.8 万粒を、さけ

ますセンター尻別事業所蘭越施設のボックス型ふ化槽に收容した。卵、仔魚の管理には、発生を抑制させるために飼育水である水温 9.5℃ の地下水を冷却器 (タカツ電気商会社製, ユニット型水温制御装置) で 5.5℃ に冷して用いた (写真 1)。採卵から 41 日後の 10 月 29 日に発眼を確認したあと、発眼卵期に異なるパターンの標識を施すために実験卵を 2 群 (A 群, B 群) に分けてボックス型ふ化槽に移した。発眼卵期の耳石標識終了後の積算温度が 410℃ となった 11 月 24 日に、仔魚期への連続耳石標識を施すため A 群から 65,000 粒を取り分け浮上槽上段に收容した。また、同じく B 群から 65,000 粒を取り分け、浮上槽下段に收容した (写真 2)。ボックス型ふ化槽への注水量は毎分 40 l, 浮上槽への注水量は毎分 20 l に設定し、実験期間中の水温を自記水温計 (テックジャム社製, おんどとり Jr) で 1 時間毎に計測した。また、卵と仔魚の発育段階を適宜確認した。

耳石標識の方法 耳石標識は、発眼卵と仔魚のいずれの時期も飼育水の温度刺激により行った。標識は、飼育水 (5.5℃ の冷却水) を源水 (9.5℃) に切り替えて 24 時間注水した後、再び飼育水に復して 24 時間注水する行程

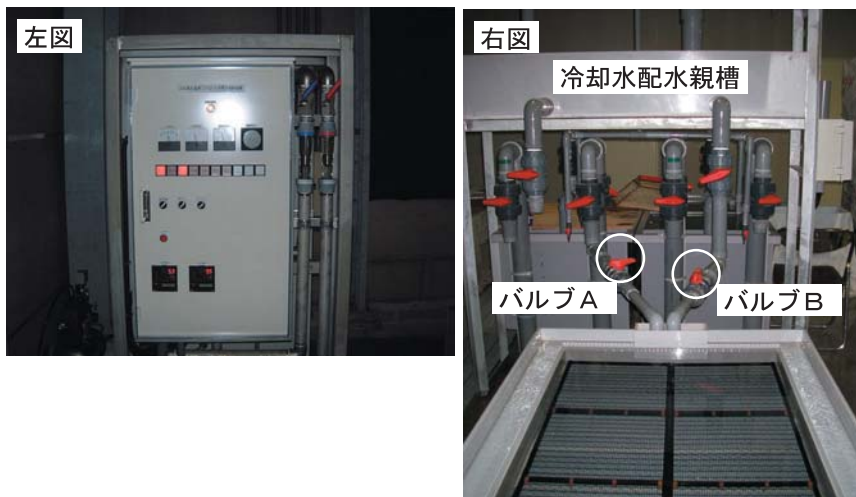


写真 1. 左図: 飼育水の冷却に用いたユニット型水温制御装置
右図: ボックス型ふ化槽及び浮上槽への飼育水導水、注水設備
バルブ A は源水 (9.5℃), バルブ B は冷却用水 (5.5℃) を流す

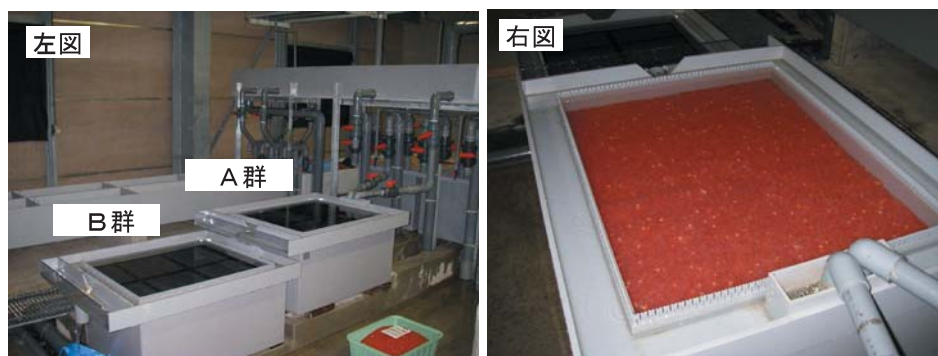


写真 2. 左図: ふ化直前の発眼卵を收容した浮上槽
上段には A 群, 下段には B 群をそれぞれ 65,000 粒收容した
右図: 発眼卵の收容状態

を1サイクルとして行った。耳石には飼育水から源水に切り替え、再び飼育水に復した時点で黒く太いリングが形成される。また、このサイクルを目標のリング数(2~3本)だけ反復したものを1バンドとして扱い、必要なバンド数を繰り返した。さらに、各バンド間の区切りを明瞭にするため、あるバンドの最後のリングを付けてから次のバンドの初めのリングを付けるまで、仔魚期では原則として144時間(6日間)の間隔を空けた。なお、源水と飼育水の切り替えは、写真1に示したバルブAとバルブBを操作して行った。

日本で耳石標識を行う場合、最初のバンドに国別標識として2本のリングを付けることが義務付けられている。今回の実験においても、発眼卵期の11月9日から

15日にかけて、A、B両群の1バンド目に国別識別コードとして2本のリング(E1)を標識した。その後、2本のリングをA群に対しては1バンド(E2)、B群に対しては2バンド(E2,3)、それぞれ標識した。発眼卵への標識が終了したのは、A群が11月19日、B群が11月24日であった。

浮上槽(写真2)でふ化したA群とB群の仔魚には、共に3本のリングを1バンドと2本のリングを4バンドの標識を、12月5日から1月21日の48日間で行った(R1-5)。その後1月27日から6バンド目の標識を試みたが、仔魚が浮上を開始したので、A群の仔魚に1本のリングを付けただけで終了した。実験開始当所に標識を予定したバンドパターンの模式図を図1に示した。

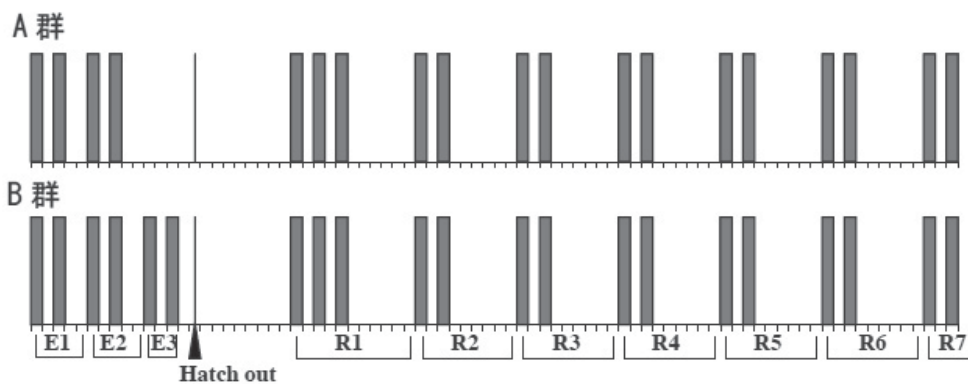


図1. 水温制御により耳石に形成される予定のバンドパターンの模式図

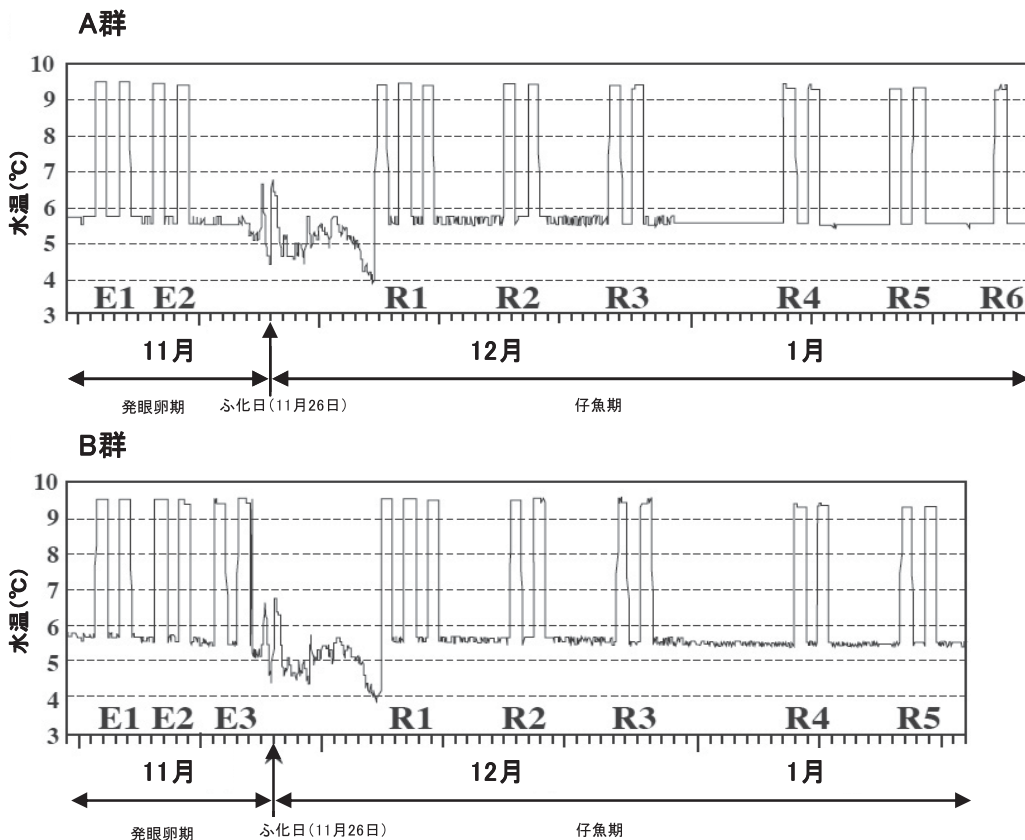


図2. 実験期間中のA群(上段)とB群(下段)に与えた飼育水の温度変化。横軸の1目盛は1日を表す

耳石標識の確認 耳石標識を確認するため、実験終了時にA群とB群の発眼卵および仔魚の合計4区から10尾を無作為に選び、耳石を採取した。採取した耳石標本をスライドガラスに貼り付け、片面の核が露出するまで研磨した後、透過型光学顕微鏡で標識の状態を確認するとともに、デジタル画像として保存した。

結 果

飼育期間中の水温変動 実験期間中の水温変動を図2に示した。冷却した飼育水の水温は、耳石標識の期間を除きほぼ5.5℃に保たれていた。標識期間中は冷却水から源水に切り替えて24時間の注水を行ったため、9.5℃を示した。

A群の発眼卵には2本のリングを2バンド、またB群の発眼卵には2本のリングを3バンド、それぞれ標識するため、A群には計4回、B群には計6回の水温変化

を与えた。また、仔魚期には2本と3本のリングを組み合わせたバンドを設定したが、A、B両群のパターンを統一したため、両区の水温も同様の変化を示した。しかし、11月23日から12月4日までの12日間にわたり、水温が4～7℃の範囲で原因不明の不規則な変動を示した。

耳石に付いた標識の状態 標識を施したA群とB群の耳石を写真3に示した。いずれの標本においても発眼卵期から仔魚期を通して水温変化を与えた数に応じたバンド毎のリングが形成されていた。例えば、発眼卵期にA群では2本のバンド(E1～E2)、B群では3本のバンド(E1～E3)を標識したが、各バンドを構成する2本のリングが明瞭に識別できた。しかし、ふ化から仔魚期の最初の標識を行う1週目の間に、いずれの標本でも1～3本の弱いノイズが認められた。また、標識と読み間違える可能性のある強いノイズによるリングが、A群では10個体中3個体に、B群では10個体中1個体に認め

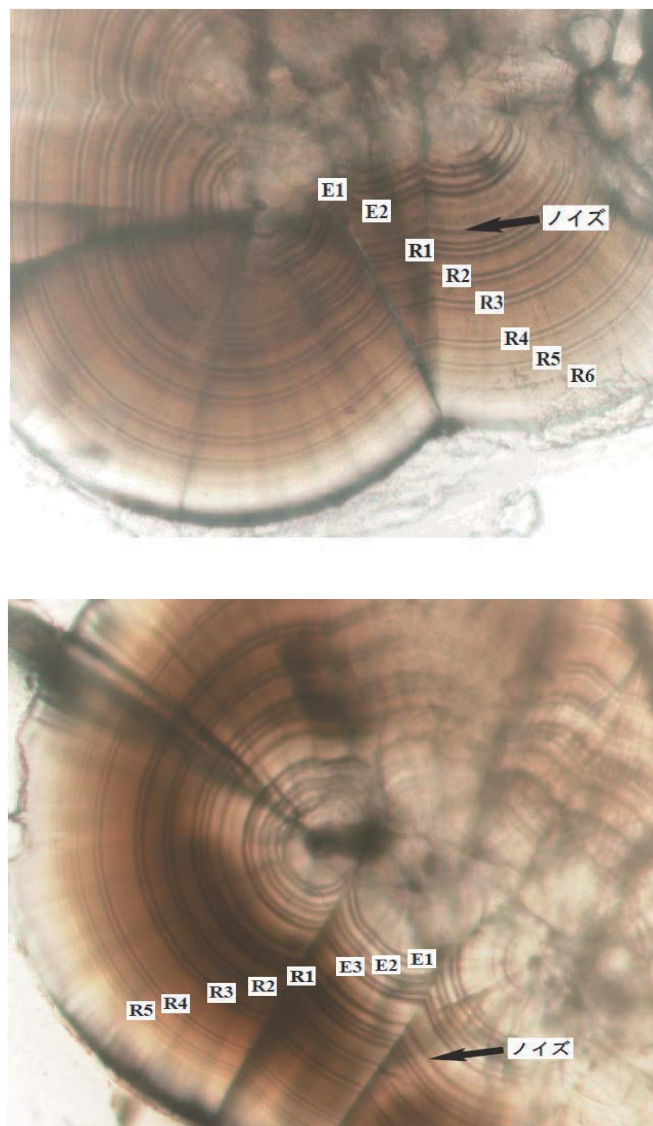


写真3. 耳石温度標識像。上図はA群、下図はB群の耳石
E1～E3は発眼卵期、R1～R6は仔魚期に付けた標識

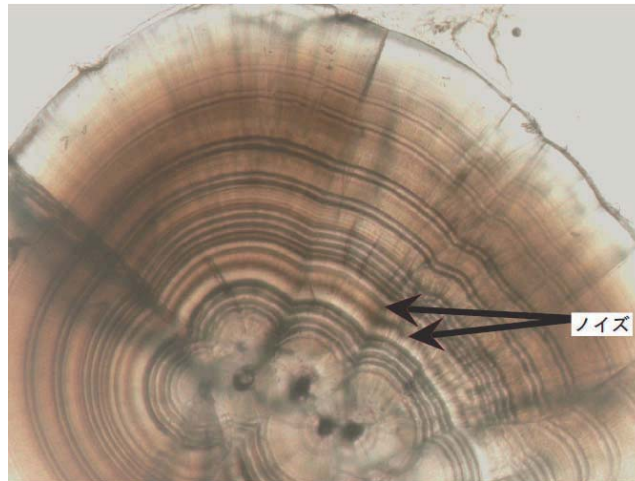


写真4. ハッチリング，飼育水温変動，卵に触れた刺激等により生じたと推測される耳石上のノイズ
図にはA群の一例を示した

られた（写真4）。いずれも発眼卵期の後期から仔魚期の初期に観察された。

サケ科魚類に対する耳石標識パターンの表記は，1バンド毎のリング数とし，発眼期と仔魚期の間にはHを加えて区別する。例えば，発眼期の1バンド目に国別標識として2本のリング，その後3本のリングを2回，ふ化後に2本のリングを3回施したとすれば，2, 3, 3H2-2-2と表記される。したがって，A群の標識パターンは2, 2H3-2-2-2-1，B群の標識パターンは2, 2, 2H3-2-2-2-2となる。

耳石標識終了後の稚魚給餌飼育と成長 浮上を開始した稚魚は，2月6日から4月7日にかけての61日間の給餌飼育を行った。この間の給餌は，ライトリッツの給餌率表に従って行った。給餌開始時の魚体サイズは，A群が尾叉長3.4 cm，体重0.28 g，肥満度7.12，B群が尾叉長3.4 cm，体重0.29 g，肥満度7.38であった。給餌終了時の魚体サイズは，A群が尾叉長5.0 cm，体重1.26 g，肥満度10.08，B群が尾叉長5.0 cm，体重1.26 g，肥満度10.08と両群間に差はなかった。また，通常飼育群の浮上時の体重は0.28 g，給餌飼育46日後の放流時の体重は1.01 gであった。体重の日間成長率は，実験群と通常飼育群ともに約0.016 g/日となり，両群間に差は認められなかった。

稚魚の生残率（稚魚生残数/浮上稚魚数×100）は，A群が97.7%，B群が99.7%となり，過去3年間（2004～2006年級群）の平均生残率（97.4%）より高い結果となった。

考 察

本研究では，サクラマス⁷⁾の耳石温度標識パターン数を増やすための技術開発として，まず標識可能期間を延長する飼育方法について検討した。耳石温度標識の標識可

能期間は，発眼から浮上までの間に限られる。サクラマスの場合，この間の積算温度はほぼ570℃なので，本施設の水温9.5℃の飼育水を用いた場合，標識可能期間は60日となる。また，これまで耳石温度標識は飼育水温を約4℃程度冷却し，12～24時間維持した後，再び元の水温に戻す方法で行われており，水温低下時の发育速度低下にともなう浮上時期の遅れが必然的に生じるものの，標識可能期間を大きく延長する効果は期待できない。さらに，明瞭な標識形成に要する温度変化の時間はサケやカラフトマスでは12時間で十分であるが，サクラマスでは24時間以上は必要なため⁷⁾，1回の標識時間を短縮することでパターン数を増やすこともできない。そのため本実験では，9.5℃の源水を5.5℃に冷して飼育し，標識時に源水に戻して水温を4℃上げる方法を試みた。この結果，発眼から浮上までの日数は104日となり，標識可能期間を9.5℃に比べて44日間延長させることができた。この昇温による標識でも，これまでの方法と同様に発眼卵期および仔魚期の耳石に明瞭な標識を付けることができた。また，標識パターンを変えたA群とB群を比較した結果，その違いを明らかに判別できたため，24時間の昇温で標識が可能であると考えられる。さらに，耳石温度標識を付けた稚魚の成長と生残には，低水温飼育の影響は認められなかった。これらの結果から，サクラマスに対する耳石バーコード標識パターンを増やすためには，発眼卵期から仔魚期までの期間に冷却した飼育水を使用し，標識時に昇温させることが有効な管理方法といえる。

耳石温度標識を付ける場合，複数本のリングを1バンドとし，それらを組み合わせることで標識パターンとするが，バンド間にリングと見間違えるノイズができる場合がある。今回はこのノイズを識別するため，バンドとバンドの間に6日間あるいは11日間の休息を入れたため，1本のバンドに2本か3本のリングを付けるのにそれぞれ

9日と11日を要したが、それでも合計8本のバンドを標識することができた。なお、標識に必要な日数(D)は次式で表される。

$$D = (\text{リングの数} \times 2) - 1 + \text{休息日数}$$

本実験のように水温5.5℃の飼育水を用いた場合、発眼から浮上までの104日間に、計算上は2本のリングで最大11本のバンド、3本のリングで最大9本のバンドの標識が可能となり、両方を組み合わせることでさらにパターン数を増やすことができる。

標識されたリングは明瞭に形成されているので、標識判別時にリングを読み間違えることはなかった。また、標識したリング間に薄い縞模様がノイズとして見られるが、そのほとんどはリングとの区別が容易であり、読み間違えることはなかった。しかし、発眼卵期の後期から仔魚期の初期に強いノイズが認められることがあった。特に、発眼卵期の3回目に標識を行わなかったA群では10個体中3個体がパターンを読み間違える恐れがあった。これらのノイズが発生した原因として、①ふ化直前の発眼卵をふ化槽から浮上槽へ収容する際の衝撃によるストレス、②ハッチリングの形成、③この期間に発生した変動幅2.5℃程度の原因不明の水温変動等が推測されたが特定することができず、今後の課題として残された。なお、ノイズ発生原因の一つと推測されるふ化直前の浮上槽への収容は、飼育管理上好ましい行為ではないが、今回は水温制御装置の冷却水生産量の不足からふ化直前までボックス型ふ化槽での飼育をせざるを得ない状況となった。この標識を付ける際は水温変動現象とあわせ冷却水生産量の管理・把握にも十分注意を払うこと

が必要である。

サケ類のふ化飼育管理過程の中で、卵・仔魚管理に用いる浮上槽は岩手県で使用されている。浮上槽の利点の一つとして、使用する水量が少ないことが挙げられる。今回の実験から、浮上槽を活用した耳石温度標識は、少ない飼育水を効率的に使用できるばかりでなく、仔魚期の大量標識を可能にする有効な手段であることが明らかとなった。

文 献

- 1) TSUKAMOTO, K., SEKI, Y., OBA, T., OYA, M and IWAHASHI, M (1989) Application of otolith to migration study of salmonids. *Physiology and Ecology Japan, Special*, **1**, 119-140.
- 2) 浦和茂彦, さけ・ます類の耳石標識: 技術と応用. さけ・ます資源管理センターニュース, **7**, 3.
- 3) Volk E. C., S. L. Schroder, and J. J. Grimm (1994) Use of a barcode symbology to produce multiple thermally induced otolith marks. *Trans. Am. Fish. Soc.* **123**, 811-816.
- 4) URAWA, S., P. Hagen, D. Meerburg, A. Rogatnykh, and E. Volk (2001) Compiling and coordinating salmon otolith marks in the North Pacific. *NPAFC Tech Rep.*, **3**, 13-15.
- 5) 眞山 紘 (2008) IV章サクラマス等に関する研究の足跡. 国における取り組み. 湖沼と河川環境の基盤情報整備事業報告書, 豊かな自然環境を次世代に引き継ぐためにサクラマス, ビワマス, 地方種. 社団法人日本水産資源保護協会 157-178
- 6) 辻本 良・田子泰彦, (1998) 耳石バーコードのサクラマスへの適用. 富山県水産試験場研究報告, **10**, 21-26
- 7) さけ・ます資源管理センター, 2005, さけ・ます資源管理センター業務報告書. 112 p.