

海洋深層水(低水温)を利用したクロダイ稚魚の耳石バーコード標識

渡辺 健・堀田和夫
(2003年11月5日受理)

Thermally Induced Bar-code Otolith Markings in the Juvenile Black Sea Bream, *Acanthopagrus schlegeli*, Obtained by Using Deep-sea Water

Ken WATANABE * and Kazuo HOTTA *

Bar-code otolith markings were thermally induced in hatchery-reared juveniles (3.5 to 77.7mm in mean total length (TL)) in the black sea bream, *Acanthopagrus schlegeli*, during the summers from 1997 to 2000, by repeatedly exposing them to temperatures in which 5 or 10°C lower than that in which the fish was ordinarily reared. The colder sea water was obtained by mixing higher temperature sea water with the pumped cold, deep-sea water (2-3°C) of Toyama Bay. Bar-code markings were discriminated on the otoliths of juveniles (29.8 to 32.2mm (TL)) which were exposed to the 10°C or 5°C lower temperature. Bar-code markings were recognized more clearly in the 10°C lower temperature. However, the markings were not so clear in juveniles of 52.2mm (TL), and never found in juveniles of 77.7mm (TL). This marking method can be applied to a large number of juvenile fish without harming them and may be used to produce some variations of marks by changing the pattern of cooling treatment.

Key words : *Acanthopagrus schlegeli*, bar-code, black sea bream, deep-sea water, otolith marking

栽培漁業の分野で多く利用されている魚類への標識技術としては、アンカータグやダートタグに代表される外部標識法や、ALC（アリザリン・コンプレクソン）などの化学標識法、鰭切除などの標識法などがある。またPITタグのように情報を載せた標識を魚体内に埋め込む方法もある（早乙女1995）。これらの方法はそれぞれ標識放流の目的、魚種及び魚体サイズに応じて使い分けられるが、外部標識法や鰭切除法の方法は魚体に何らかの負荷もしくは障害を負わせることとなる。またALC標識は稚仔魚をALCを含む水に長時間収容しなければならず、溶存酸素の低下や水質の悪化による斃死を招きやすい。しかし、サケ科魚類では飼育水温を一時的に下げることによって、耳石（扁平石）の日周輪中に複数の障害輪をパターン化して刻み込む標識方法（耳石温度標識法）が開発され大量の稚魚に標識を付けることが可能となった（Volk *et al.*1994）。また、この技術は実際に、さけ・ます類の放流の際に回帰親魚の系群・年級群調査の目的で利用されている（水産庁1996、浦和2001）。この方法は、飼育水温を1～数日間降下させるだけで、大

* 富山県水産試験場 (Toyama Prefectural Fisheries Research Institute, Namerikawa, Toyama 936-8536, Japan)
富山県水産試験場業績 A15第3号

量の稚魚に安全に標識を施すことが可能である。この点に着目して著者らは、低温の海洋深層水を飼育用水に混合して飼育水温を一時的に昇降させることにより、耳石の日周輪中に障害輪を刻み込むという標識方法（以下、バーコード標識という）を、本県で栽培対象種魚類となってるヒラメ *Paralichthys Olivaceus* 及びクロダイ *Acanthopagrus schlegeli* に応用することが可能か否かを飼育試験により検討し、先にヒラメでの結果を報告した（渡辺ら 2001）。今回その続報としてクロダイでの結果を報告する。

材料と方法

供試魚 標識試験は1997年及び1999～2000年の夏に実施し、供試魚は富山県栽培漁業センターにおいて放流用種苗として生産されたクロダイ稚魚から、平均全長の異なる魚をサンプリングして用いた。1997年は平均全長3.5mm（日令3日）～32.2mm（日令54日）で4段階、1999年は平均全長77.7mm（日令102日）、2000年は平均全長29.8mm（日令59日）及び52.2mm（日令79日）を用い、延べ7段階のサイズの稚魚群の試験を行った（Table. 1）。

なお、各年のサイズの異なる供試魚はその年の同一生産群に属し、それらの成長に応じて6～9月に試験を行った。

水温調節による耳石への標識付け 各供試魚は、試験開始までの約1週間程度FRP角形水槽（140ℓ容）に収容し、水深約15mから連続取水している海水（以下「表層海水」という）をかけ流して馴致飼育した。表層海水での飼育期間の水温は17.0～26.0℃であった。

低水温により耳石にバーコード標識を形成させるために、富山湾の水深321mから連続取水している海洋深層水（2～3℃）を用いた。バーコード標識を形成させるために水温を下げる場合は、飼育水槽（表層海水の流水）に海洋深層水を少量ずつ注水しながら混合し、1～2時間で目的の水温、すなわち、表層海水よりも5℃または10℃低い水温に達するように調整した。逆に水温を戻す場合は、海洋深層水の注水を少しずつ減らすことにより、1～2時間で表層海水と同じ水温となるように調整した（以下「昇降温試験」という）。

昇降温試験は、低水温で1～4日、表層海水温に戻して2～5日飼育する操作（以下、昇降温という）を2～4回繰り返して行った。昇降温のパターンはFig. 1に示したとおりで、本文及び図表では、低温・表層海水温・低温における飼育日数がそれぞれ4日・2日・4日であれば4-2-4と表記し、低温と表層海水温の水温差によって5℃昇降温または10℃昇降温と表記した。なお、1999年の平均全長77.7mm群及び2000年の平均全長29.8mm、52.2mmの群では、5℃及び10℃の昇降温の違いによるバーコード標識の形成状況を比較し、1997年の試験では5℃昇降温のみで試験を行った。

供試魚の飼育 供試魚は、1997年の試験では200～500尾をFRP製角形水槽（140ℓ容）に収容して、1999年の試験では各試験区で50尾を同型水槽に収容して、また、2000年の試験では各試験区で50尾をアクリル製角形水槽（60ℓ容）に収容して試験を行った。昇降温試験の終了後は魚のサイズに応じて飼育水槽及び飼育密度を調整して、表層海水で耳石の摘出まで飼育を継続した。

耳石の処理と標識の確認 耳石の検査は、昇降温試験を終了した後、2カ月以上飼育した個体について実施した。頭部を解剖して摘出した耳石（扁平石）は、凹面を下にしてレーキサイトセメントでスライドガラスに固定し、サンドペーパー及びラッピングフィルムを用いて凸面を研磨し、透過光学顕微鏡（倍率10～40倍）で観察した。

形成されたバーコード標識の良否は、バーコードの間隔が十分に分離しているか（例えば、2本のバーコードの標識付けを試みた際に2本の線が明瞭に識別できるか）、さらに、耳石核を中心に同心円状に形成されるバーコードがどの程度の輪となって観察できるか、の2点を基準とし、目測で判定した。すなわち、明瞭に分離した2本のバーコードが観察でき、バーコードの輪が概ね50%（半円）以上であれば Good, 50%以下であれば Bad, バーコードが全く確認できない場合を No とした。

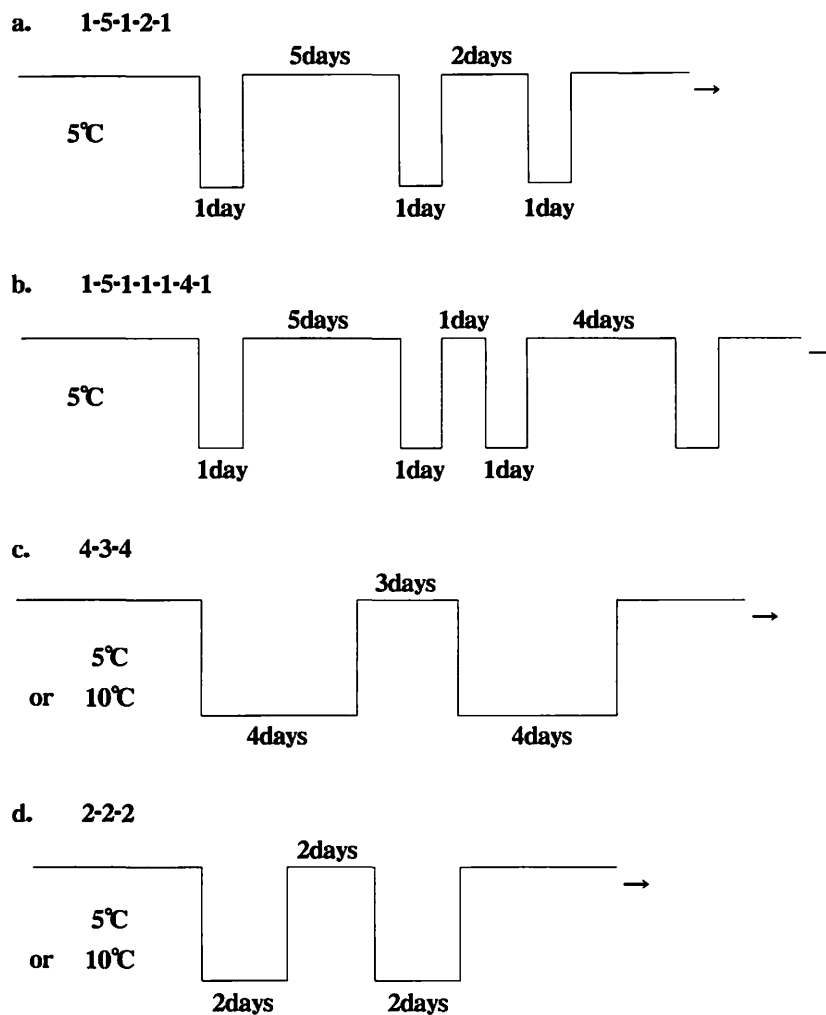


Fig1. Diagrams of 4 patterns of repeated cooling (by adding pumped deep-sea water) used to induce bar-code rings in otolith of juvenile Black sea bream, *Acanthopagrus schlegeli*. For example, in the case of a, 1-day cooling (lowered by 5°C) was carried out three times with 5-day and 2-day intervals.

Hyphenated abbreviations (e.g., 1-5-1-2-1) were used in the text, figures and tables.

結 果

クロダイ稚魚における全長別のバーコード標識の形成状況及び生残率を Table. 1 に示した。以下、試験年次ごとの形成状況を述べる。

1997年は平均全長3.5, 5.0および13.9mmの稚魚で、5℃1-5-1-2-1(Fig.1-a)の昇降温パターンで標識付けを試みたが、その生残率は50%以下であり、バーコード標識は耳石中心部の不透明帯と重なり確認できなかった。一方、平均全長32.2mmの稚魚で、5℃1-5-1-1-1-4-1(Fig.1-b)のパターンで標識付けを試みたところ、4本のバーコード標識が確認され (Fig.2-a)、生残率も97%と高かった。

1999年は平均全長77.7mmの稚魚で、5℃昇降温で4-3-4 (Fig1-c) 及び10℃昇降温で4-3-4 (Fig1-c)のパターンで標識付けを試みたが、いずれの試験区の稚魚にもバーコード標識は認められなかった。

2000年は平均全長29.8mm及び52.2mmの稚魚で、5℃昇降温の2-2-2, 10℃昇降温の2-2-2 (Fig1-d)のパターンで標識付けを試みたところ、それぞれの試験区でバーコード標識形成状況に差が見られた。平均全長29.8mmの稚魚では、標識が明瞭に確認された個体 (good) の割合は、10℃昇降温で81.8%, 5℃昇降温で52.6%であった。また、平均全長52.2mmの稚魚では、(good) の個体の割合は10℃昇降温で17.6%, 5℃昇降温で13.3%であった (Table. 2)。平均全長29.8mmの10℃昇降温 (2-2-2) で標識付けを行ったクロダイ稚魚から摘出して研磨した耳石には明瞭に2本のバーコード標識が確認できた (Fig.2-b)。

Table1. Bar-code ring formation on otoliths by thermal induction and survival rates of various size of juvenile black sea bream, *Acanthopagrus schlegeli*.

	Mean total length						
	3.5	5.0	13.9	29.8***	32.2	52.2***	77.7
Age (Days old)	3	13	33	51	54	78	102
Conditions*	{ ←	1-5-1-2-1	→	2-2-2		2-2-2	4-3-4
					1-5-1-1-1-4-1		
W.T. was lowered by 5℃							
Survival rate (%)	6	30	49	100	97	100	100
Quality of marks **	No **	No	No	No to good **	No to good	No to good	No
W.T. was lowered by 10℃							
Survival rate (%)	—	—	—	100	—	100	100
Quality of marks	—	—	—	No to good	—	No to good	No
Year of experiment	{←	1997	→	2000	1997	2000	1999

* See Fig.1 for explanation of marking conditions. ** No : Bar-code rings were not visible.

Good : Separation of the bar-code ring was visible and more than 50% of the rings were visible.

*** See Table 2 for details.

Table2. Quality of thermally induced bar-code rings of juvenile black sea bream, *Acanthopagrus schlegeli* (29.8 and 52.2mm in mean total length) .

Mean TL (mm)	W. T. lowered by	Conditions	Quality of bar-code rings ***			
			Good	Bad ***	No	Total
29.8	5 °C	2-2-2	10* (52.6) **	6 (31.6)	3 (15.8)	19 (100)
	10°C	2-2-2	18 (81.8)	3 (13.6)	1 (4.5)	22 (100)
52.2	5 °C	2-2-2	4 (13.3)	14 (46.7)	12 (40.0)	30 (100)
	10°C	2-2-2	6 (17.6)	16 (47.1)	12 (35.3)	34 (100)

* Number of fish; ** Percentage (%), *** Bad:bar-code rings were visible but not 'good' as above. 'No' and 'Good' are similar to the explanation shown in Table 1.

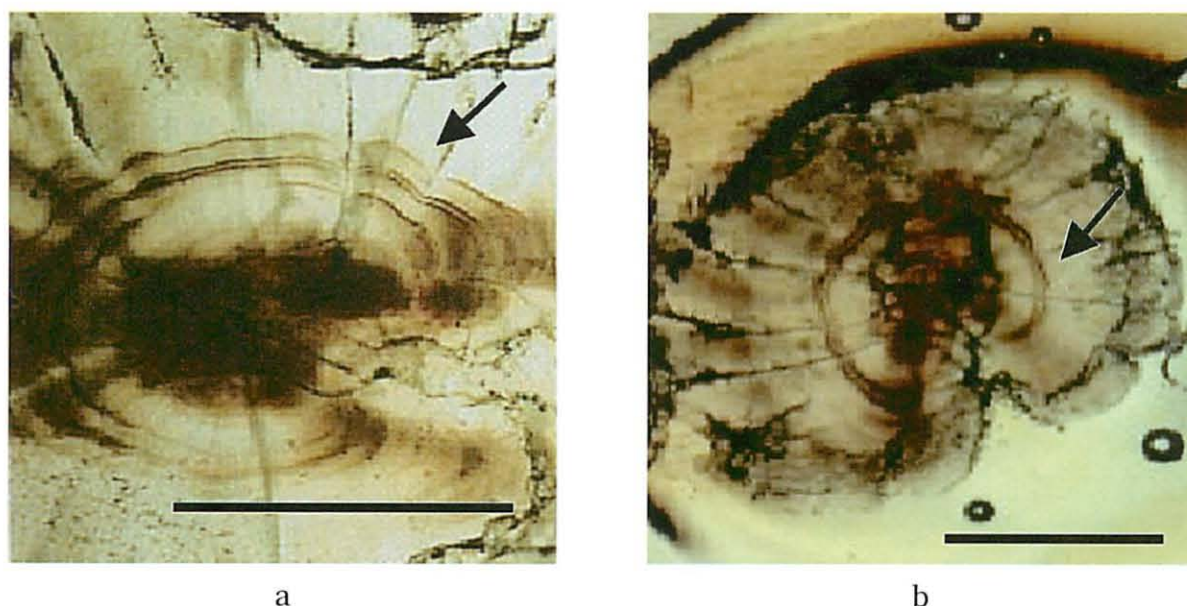


Fig.2 Longitudinal view of otoliths of black sea bream, *Acanthopagrus schlegeli*, after grinding. Fig.2-a : Otolith of juvenile (TL32mm) reared for 2 months after cooling treatment (1-5-1-1-1-4-1 by 5°C) shown in Fig.1-b. Arrows indicate the bar-code (4 check rings) formed by the thermal induction. Bar=1mm. Fig.2-b : Otolith of juvenile (TL29.8mm) reared for 2 months after cooling treatment (2-2-2 by 10°C) shown in Fig.1-d. Arrows indicate the bar-code rings. Bar=1mm.

考 察

今回の一連の試験の結果から、クロダイ稚魚にバーコード標識を付ける場合には、(1)全長30mm程度の大きさが適当であること、(2)昇降温は5°Cよりも10°Cとした方がより明瞭なバーコード標識を付けることが可能であること、(3)30mmサイズのクロダイ稚魚であれば、昇降温の間隔が1日であっても認識可能なバーコード標識付けが可能であることが明らかとなった。

一方、ふ化仔魚から全長13.9mm（日令33日）では、昇降温時の生残率から、バーコード標識を付けるには小さすぎるサイズと判断され、また、全長50mm以上に成長したクロダイ稚魚は、10°C程度の水温の上下変動に適応し、耳石にバーコード標識（障害輪）を付けることが困難になると

推察される。

著者らがヒラメ稚魚で実施したバーコード標識試験では、全長31mm以下のサイズのヒラメ稚魚では耳石中心部の不透明帯の存在によりバーコード標識の装着が不可能で、全長50~85mmまでの4段階では不明瞭で、全長90mmにおいて、10℃昇降温6-3-6のパターンで実施して初めて明瞭かつ高率でバーコード標識の装着が可能であった(渡辺ら 2001)。

ヒラメの場合は、昇降温が10℃の条件下でしかも低温飼育期間が6日と長期間を要したのに対し、クロダイでは昇降温が5℃でもある程度バーコード標識が装着可能であり、低温飼育期間が24時間でもバーコード標識が認識できた。このことは、魚種によって耳石の形成状況や生理的水温耐性の幅に差があることを示しており、異なる魚種に応用するためにはその都度、試験が必要である。

また、全長90mmのヒラメ稚魚で形成されたバーコード標識は、その標識輪長径が3~5mmであり肉眼でもその有無が確認できたのに対し、今回全長30mmサイズのクロダイ稚魚で形成されたバーコード標識はその長径が約1~2mmであり、研磨後でも肉眼で観察することはできなかった。しかし、この程度の輪径であれば、耳石研磨作業にそれほどの熟練は必要とせず、実際にヒラメやクロダイで放流後の追跡調査に応用する場合は、標識付けを行うサイズを限定することで、耳石バーコード標識の装着確率が向上し、放流後に回収されたサンプルから放流魚と天然魚を区別することは比較的容易であると考えられる。

耳石標識手法として蛍光物質のTC(テトラサイクリン)やALC(アリザリン・コンプレクソン)の使用方法が検討され(Tsukamoto 1985, 桑田・塚本1987, 桑田・塚本1989, 小池ら 1990), さらには、ALCが鱗にも沈着し、長期間に渡り確認できることがヒラメ、マダイ、スズキなどの魚種で報告されている(土地ら 1993, 中村ら1994, 山崎 2002)。しかしながら、ALCが高価であること、また、耳石にALCを取り込ませるためには仔稚魚を止水条件下に長時間収容する必要があることなど問題がある。一方、飼育水温を昇降することで耳石に標識として認識可能な障害輪を付けるという温度標識技術は、サケ科魚類で実用化されているように(浦和 2001)比較的安全にしかも多数の仔稚魚に耳石標識を付けることが可能である。

サケ科魚類では発眼卵から稚魚期まである程度の期間標識付けが可能であるが、今回のヒラメやクロダイの場合、その標識付けのタイミング(サイズ)が重要であることが明らかとなった。なお、試験に供したヒラメとクロダイの鱗を観察したが、バーコード標識は確認できなかった。

耳石の標識確認作業では、耳石の摘出、研磨という手間が必要であり、放流魚(標識魚)の確認のしやすさという観点からみれば、鱗でも沈着するALC標識の方が耳石標識と比較してより有効であるが、安価でしかも大量の稚魚に安全に標識を施せるという点では今回の海洋深層水を利用した飼育水温の昇降による耳石バーコード標識は有利であり、放流魚の追跡調査などに応用できると考える。

謝 辞

本試験に供したヒラメ及びクロダイ稚魚は富山県栽培漁業センター及び富山県水産公社滑川栽培漁業センターで種苗生産されたものであり、その稚魚を生産された富山県水産公社職員の皆様

方のご努力に感謝いたします。

要 約

1997～2000年に、富山湾から取水している低温の海洋深層水（2～3℃）を活用してクロダイ稚魚（平均全長（TL）3.5～77.7mm）の飼育水温を5℃または10℃昇降温させ、耳石（扁平石）にバーコード標識（耳石日周輪の中に複数の障害輪をパターン化して挿入したもの）を形成することが可能かどうか検討した。バーコード標識は、TL30mm前後の稚魚に高率で形成され、これより大きな稚魚では確率が劣り、TL77mmでは10℃の昇降温でもバーコード標識は形成されなかった。また、TL14mm以下の稚魚では飼育水温の昇降により生残率が低く、バーコード標識も耳石中心部の不透明帯と重なり確認できなかった。

この標識方法は、魚体に損傷を与えることなく、温度パターンを変えることにより複数の標識を耳石に付けることが可能であるため、大量の稚魚に処理を施すことが可能である。放流魚にこのバーコード標識を付けることにより、追跡調査を実施するうえで有用な手段となりうる。

文 献

- 早乙女浩一 1995. 栽培漁業で使用される標識技術. 平成7年栽培漁業技術研修事業実践倫理コース日本海ブロック研修会資料.
- 水産庁北海道さけ・ますふ化場 1996. 平成6年度本州地域さけ・ますふ化放流事業成績書, 34-37.
- Volk, E. C., S. L. Schroder and J. J. Grimm 1994. Use of bar code symbology to produce multiple thermally induced otolith marks. *Trans. Am. Fish Soc.*, 123 : 811-816.
- 辻本良・田子泰彦 1998. 耳石バーコード標識のサクラマスへの適用. 富山水試研報, 10 : 21-26.
- Tsukamoto, K. 1995. Mass-Marking of Ayu Eggs and Larvae by Tetracycline- Tagging of Otolith. *Bull. japan. Soc. Sc. Fish.*, 51, 903-911.
- 桑田博・塚本勝巳 1987. アリザリン・コンプレクソンによるマダイ仔稚魚の耳石標識Ⅰ 標識液の濃度と保存期間. 栽培技研, 16 : 93-104.
- 桑田博・塚本勝巳 1989. アリザリン・コンプレクソンによるマダイ仔稚魚の耳石標識Ⅱ 大量標識. 同誌, 17 : 115-128.
- 小池利通・塚本勝巳・大矢真知子 1990. サクラマス稚魚の耳石標識法. 新潟県内水面水産試験場調査研究報告, 16 : 45-49.
- 土地敬洋・今井利為 1993. マダイ稚魚の組織と鱗へのアリザリン・コンプレクソンによる染色. 水産増殖, 41 : 379-385.
- 中村良成・桑田博 1994. アリザリン・コンプレクソンによる稚魚への大量標識法における鱗からの標識検出法の検討. 栽培技研, 23 : 53-60.
- 山崎幸夫 2002. アリザリン・コンプレクソンによるスズキ稚魚の標識法および鱗からの標識検出法の検討. 同誌, 29 : 91-94.
- 浦和茂彦 2001. さけ・ます類の標識：技術と応用. さけ・ます資源管理センターニュース, 7 :

3-11.

渡辺健・小善圭一・堀田和夫 2001. 海洋深層水を利用したヒラメ稚魚の耳石バーコード標識について. 富山水試研報, 13:19-26.