

耳石バーコード標識のサクラマスへの適用

辻本 良・田子泰彦
(1998年3月13日受理)

Thermal Induced Bar-Code Otolith Marking
Applied to Masu Salmon

Ryo TSUJIMOTO* and Yasuhiko TAGO*

Abstract

Thermal induced otolith bar-code marking was examined in juvenile masu salmon, *Oncorhynchus masou*, under controlled water temperature conditions. Abrupt drops in water temperature of 10.5 to 7.0 °C at 6 different times after hatching produced check rings in the otolith of juvenile masu salmon. Swim-up rate of juveniles subjected to thermal changes was 98.8%, while that reared in constant temperature was 97.3%. Difference in growth between the marked and unmarked fish 2 months after swim-up was not significant ($p>0.01$). The markings were maintained and could be recognized over the 3 year lifetime of the animal. Bar-code otolith marking was considered to be useful for ecological study of masu salmon.

Key words : Otolith marking, bar-code, masu salmon, *Oncorhynchus masou*.

サクラマス *Oncorhynchus masou* の資源増殖を効率的に行うには、放流時期、系群、放流河川の違いによる放流効果の判定や、天然資源に占める放流魚の割合等の知見が必要である。これらを明らかにするために、北海道をはじめ、本州北部の各県で鰭切除、リボンタグ、耳石蛍光標識等による標識放流が行われている（水産庁 1996）。鰭切除による標識は、比較的安価で容易に処理できることから最も一般的に用いられている。しかし、鰭切除標識では、鰭の再生（Coombs *et al.* 1990, 小池・塚本 1990, 田子 1997）や高密度の飼育環境下での鰭の欠損（小林 1994）といった理由から正確な放流効果の判定が困難になっている。小池・塚本（1990）は鰭の再生を防ぐため鰭抜去による標識方法を試みたが、作業効率が低下したと報じている。リボンタグやアンカータグなどの外部標識は脱落が多く、標識装着による魚体への影響が大きい。PITタグやCoded-Wireタグのように体内に埋め込まれる標識は、食品としての安全性の面から使用が自粛されることもある。再生や欠損、或いは脱落のない標識方法として、蛍光物質の標識液に卵または稚魚を浸漬して耳石に蛍光標識を施す方法が試みられた（関ら 1988, 小池ら 1990）が、蛍光標識に使用するアリザリンコンプレクソンやテトラサイクリンは非常に高価で、かつ標識液の排液処理が問題となる。

* 富山県水産試験場（Toyama Prefectural Fisheries Research Institute, Namerikawa, Toyama 936-8536, Japan）

上述した標識方法では、人手や経費の面から標識尾数は多くて数十万尾が限度であり、また、幼稚魚への標識は、ハンドリングによる魚体へのダメージが大きいことも指摘されている。一方、多くの魚で耳石に1日1輪の日周輪が形成され (Pannella 1971)、水温や餌料環境によって耳石日周輪の幅に変化を起し、いわゆる障害輪として耳石に記録されることが報告されている (Pannella 1980, Brothers 1990)。これまでの標識方法に代わる新しい方法として、ふ化稚魚の飼育水温を人為的に変化させることによって、耳石にバーコード状の日周輪を刻みこむ標識方法が開発され、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)。

本報では、人為的な水温変化によってサクラマス¹の耳石にバーコード標識を付けることが可能か否か、この標識がサクラマスの寿命である3年後にも確認できるか否かを飼育実験により検討した。

材 料 と 方 法

供試魚 1995年10月に富山県の神通川で捕獲されたサクラマス雌親魚6尾から、同一日に採卵し、受精させた卵約2万粒を用いた。試験区では立体式ふ化器の10段のうち上部3段のふ化盆に1盆につき約5,000粒、計15,000粒を、対照区では上部1段のみに約5,000粒を収容した。両区ともに受精後から浮上まで水温約10.5℃の淡水を毎分15ℓ注水した。

水温変化による耳石標識 試験区において標識として耳石微細輪紋に濃く明瞭な日周輪を刻み込むために、ふ化後7, 9, 11, 15, 19, 21日目の計6回、午前8時から正午12時までの4時間、水温約7℃の淡水を注水し、水温を10.5℃から7℃にまで急激に低下させた。すなわち、水温低下の間隔を44-44-92-92-44時間とし、耳石の微細輪紋にバーコード状の標識形成の可否を調べた。試験区の立体式ふ化器には、最上段および最下段のふ化盆に自記記録式水温計を設置し、10分間隔で水温を記録した。急激な水温低下によるふ化稚魚への影響を見るため、試験区と対照区それぞれ600粒の受精卵をふ化盆内の仕切りに入れ、受精から浮上時までの生残率を測定した。また、浮上稚魚は水温約12℃の淡水で飼育を継続し、浮上から約2カ月後までの成長を比較した。

一部の稚魚はさらに水温約12℃の淡水で飼育を継続し、3年後に耳石の標識が認識できるか否かを観察した。

耳石の処理 試験区、対照区共に浮上後3日目の稚魚各30尾より耳石の摘出を行った。摘出した耳石 (sagitta) は体側面側を下にし、レーキサイトセメント (マルトー株式会社製) を用いてスライドガラスに包埋した。耳石表面を耐水ペーパー#800-1000及びラッピングフィルム12μmを用いて研磨し、透過光光学顕微鏡100~400倍によって耳石微細輪紋を観察した。3年間飼育したサクラマス10尾から摘出した耳石は、耳石両面から核に向かって研磨し同様に観察した。

結 果 及 び 考 察

試験区の立体式ふ化器の最上段の水温変化を Fig. 1 に示した。ふ化後7日目までは水温は約10.5℃で一定であった。ふ化日から7, 9, 11, 15, 19, 21日目に計6回水温を10.5℃から7℃

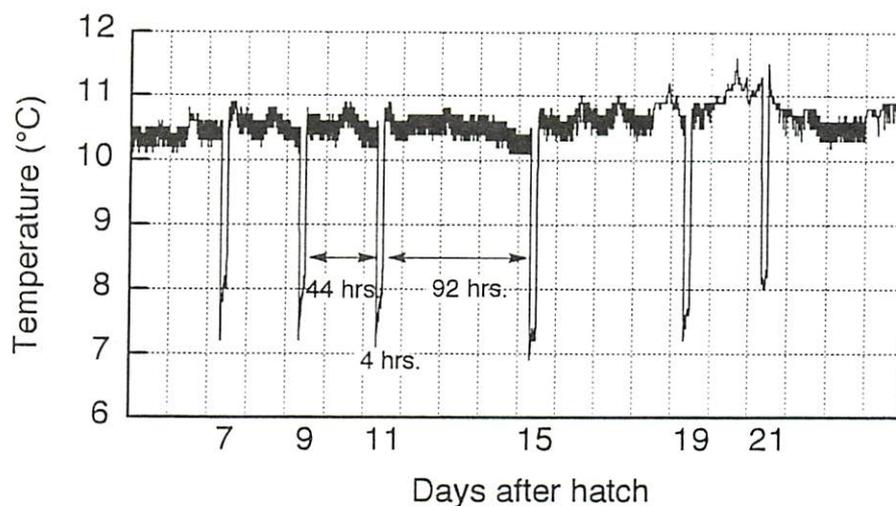


Fig. 1 Temperature change in the incubator upper tray to create bar-code otolith marking.

に急激に低下させた。最下段のふ化盆内の水温が最上段のふ化盆と同様に完全に低下し、また元の状態に戻るのに要した時間はともに30分以内で、その温度差も 0.4°C 以内であった。

浮上稚魚から摘出した耳石の輪紋を Fig. 2 に示した。試験区の耳石 (Fig. 2-A) には供試したいずれの個体にも水温変化によって付けられた6本の濃い線状の障害輪が認められた。また、6本の障害輪の間隔は、水温低下の間隔と一致し、44時間では狭く (N: Narrow), 92時間ではより広い (W: Wide) ものであった。水温変化をあたえなかった対照区の耳石 (Fig. 2-B) にはいずれも障害輪は形成されなかった。Volk *et al.* (1994) は、6本の線に挟まれた5本のスペースの幅、すなわち、3本のNと2本のWを組み合わせることによって10通りの組み合わせが可能であるとしている。本試験ではスペースは核側からNNWWNであった。水温低下の間隔を変えることによって様々な組み合わせをもつ標識が可能と考えられる。

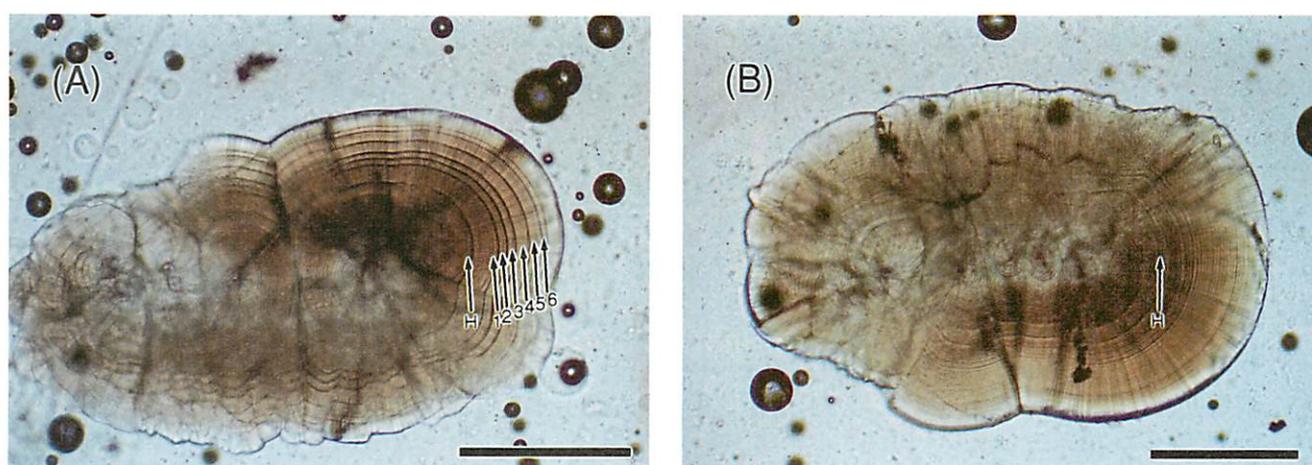


Fig. 2 Otoliths taken from marked fry (A) and unmarked fry (B).
Arrows 1-6 indicate the check rings created by thermal manipulation. Arrow H indicates the hatching ring.
Bar = $200\mu\text{m}$.

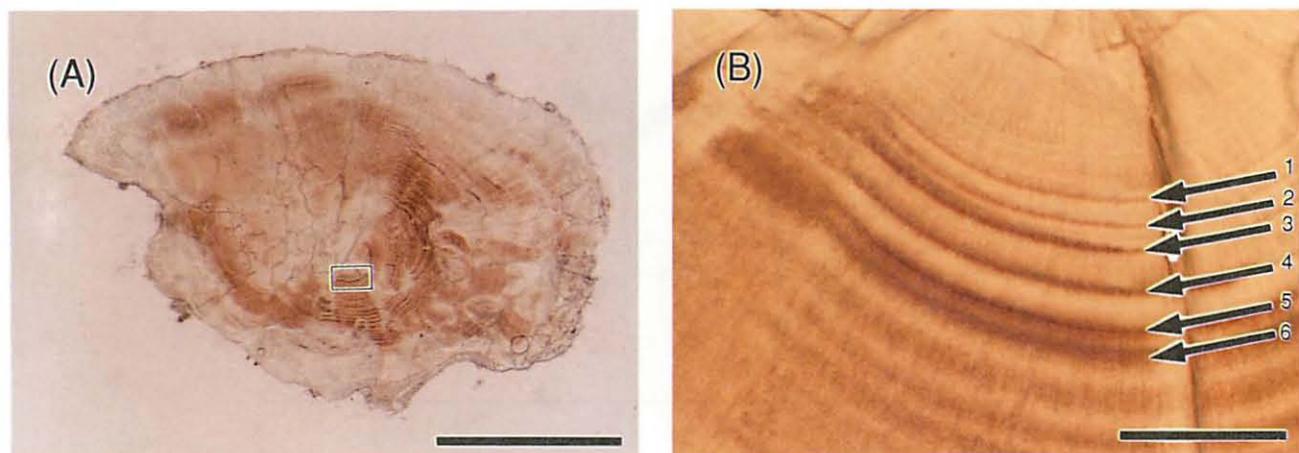


Fig. 3 (A) Otolith taken from marked 3 years masu salmon reared in the fresh water pond. Bar = 1 mm.
 (B) High magnification of central area of (A). Arrows 1-6 indicate the check rings. Bar = 40 μ m.

Fig. 2-A, Bの矢印Hに示す濃い輪紋は、ふ化輪と呼ばれるもので稚魚がふ化した時に刻まれるものである (Geffen 1983, 西村・畑山 1992)。サクラマスは発眼期にはすでに始まっており、ふ化時に明瞭なふ化輪が形成される。このため、ふ化日を挟む形で水温低下によって標識を施した場合、ふ化輪が標識輪と誤認識される危険性があるため、耳石標識はふ化後1週間程度の時間を経てから行う必要がある (Volk *et al.* 1990)。

急激な水温低下による耳石バーコード標識は、ふ化稚魚に与える影響が大きいと考えられたが、浮上時の生残率は試験区が98.8%、対照区が97.3%と両者とも良好な生残を示した。浮上時までの成長は、試験区が 0.21 ± 0.03 g (平均体重 \pm 標準偏差、以下同様)、対照区が 0.20 ± 0.02 gであり、浮上後2カ月余り経過した3月21日には試験区が 1.90 ± 0.56 g、対照区が 2.09 ± 0.66 gで、両者の魚体重に有意水準1%で有意な差は認められなかった。試験区と対照区間に浮上までの生残率、その後の成長とも差は見られなかったことから、サクラマスふ化稚魚に対して約3.5 $^{\circ}$ Cの急激な水温低下は支障なく、耳石バーコード標識が可能であることが分かった。Volk *et al.* (1990)は、サケ *O. keta* において、2 $^{\circ}$ Cの温度差があれば耳石に障害輪を刻むことができると報じていることから、サクラマスについても耳石に明瞭な障害輪を刻み込むために必要な最小限の温度差を今後検討する必要がある。

3年間飼育したサクラマスから摘出し研磨を行った耳石をFig. 3に示した。3年の飼育期間を経て摘出した耳石は、肥厚しているため白濁しており、研磨なしでは標識の有無を確認できなかった。しかし、耳石両面から核が見えるまで研磨することによって、標識を施した10尾すべてに障害輪を標識として識別できた。一度形成された耳石は生涯を通じて変質することがないといわれている (Mugiya and Watabe 1977, Campana 1983)。サクラマスの寿命とされている3年後の飼育魚から標識が確認されたことから、稚魚から回帰親魚までどの時期においても標識が識別できることが分かった。

本研究において耳石バーコード標識がサクラマスに適応できることが明らかになった。耳石バーコード標識は、「外見から識別できない」、「標識を認識するための処理が煩雑」、「水温の異な

る2系統の水が必要]、「標識を施す時期が浮上前の稚魚に限られる」などの短所を持つが、「脱落が無い」、「組み合わせが多い」、「大量標識が可能」、「稚魚に標識できる」といった長所を持つことから、正確な放流効果を判定でき、また、池産系や移入系といった系群の放流効果判定や、大量標識放流による天然魚と放流魚の資源構成比の調査等に活用できる。また、目的に応じて脂鱗切除等の他の標識方法と組み合わせることによって、さらに有効な標識放流調査が可能になると考える。

謝 辞

本研究をすすめるに当たって、Washington State Department of Fish and WildlifeのSteven L. Schroder博士に標識方法の御指導を賜りました。また、貴重なご意見を下さった水産庁養殖研究所 松里 寿彦博士、ならびに御校閲いただいた当水産試験場場長 反町 稔博士に感謝いたします。

要 約

1. サクラマスふ化稚魚に計6回の低水温処理を施すことにより、耳石にバーコード標識を施すことができた。
2. 耳石バーコード標識を付けるためにふ化稚魚に低水温処理を施したが、一定の水温で飼育した魚と比較して生残率や2カ月後の成長に差は認められなかった。
3. 耳石バーコード標識は、サクラマスの寿命である3年後にも保持され、耳石表面を研磨することによって確認することができた。

文 献

- Brothers, E. B. 1990. Otolith marking. Am. Fish. Soc. Symp. 7:183-202.
- Campana, S. E. 1983. Calcium deposition and otolith check formation during periods of stress in coho salmon, *Oncorhynchus kisutch*. Comp. Biochem. Physiol. 75A:215-220.
- Coombs, K. A., J. K. Bailey, C. M. Herbinger and G. W. Friars 1990. Evaluation of various external marking techniques for atlantic salmon. Am. Fish. Soc. Symp. 7:142-146.
- Geffen, A. J. 1983. The deposition of otolith rings in Atlantic salmon, *Salmo salar* L., embryos. J. Fish Biol. 23:467-474.
- 小林聖治 1994. 飼育環境がサクラマス幼魚の鱗の損傷に与える影響. 魚と卵 163:17-22.
- 小池利通・塚本勝巳 1990. サケ科幼魚の鱗抜去標識法. 新潟内水試研報 16:51-56.
- 小池利通・塚本勝巳・大矢真智子 1990. サクラマス稚魚の耳石標識法. 新潟内水試研報 16:45-49.
- Mugiya, Y. and N. Watabe 1977. Studies on fish scale formation and resorption-II. Effect of estradiol on calcium homeostasis and skeletal tissue resorption in the gold fish, *Carassius*

- auratus, and the killfish, *Fundulus heteroclitus*. Comp. Biochem. Physiol. **57A** : 197-202.
- 西村 明・畑山 誠 1992. サクラマス仔魚期における耳石日周輪形成. 北海道立水産孵化場研報 **46** : 9-16.
- Pannella, G. 1971. Fish otoliths : daily growth layers and periodical patterns. Science **173** : 1124-1127.
- Pannella, G. 1980. Growth patterns in fish sagittae. pp.519-560, In "Skeletal growth of aquatic organisms : biological records of environmental change" ed. by D.C. Rhoads and R. A. Lutz, Plenum Press, New York.
- 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. pp. 34-37.
- 関 泰夫・塚本勝巳・岩橋正雄 1988. サケ・マスの発眼卵・仔魚の耳石標識. 新潟内水試研報 **14** : 13-19.
- 田子泰彦 1997. 放流標識として切除したサクラマスの腹鰭および背鰭の再生. 水産増殖 **45** : 479-483.
- Tsukamoto, K., Y. Seki, T. Oba, M. Oya and M. Iwahashi 1989. Application of otolith to migration study of salmonids. Physiology and ecology Japan, sp. vol. **1** : 119-140.
- Volk, E. C., S. L. Schroder and K. L. Fresh 1990. Inducement of unique otolith banding patterns as a practical means to mass-mark juvenile pacific salmon. Am. Fish. Soc. Symp. **7** : 203-215.
- 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.