

## 淘汰・検卵期間を含めたサクラマス発眼卵への耳石温度標識の施標

野村幸司・武野泰之\*<sup>1</sup>  
(2021年7月5日受理)

### Thermal otolith marking applied to eyed-eggs of masu salmon including selection and inspection.

NOMURA Koji and TAKENO Yasuyuki

Masu salmon *Oncorhynchus masou masou* has a shorter period for thermal otolith marking that can be applied to eyed-eggs compared to chum salmon *Oncorhynchus keta*. Furthermore, the cultivation water temperature is high in the Honshu area. Even under such conditions, we examined the method of thermal otolith marking that can be applied to masu salmon. Marks by a drop of temperature from 13.5°C to 9°C (Dropped temp.) and a rise of temperature from 9°C to 13.5°C (Risen temp.) were unclear. Marks with “Risen temp.” delayed 3 days (Late risen temp.) were clearer than the other experiments trials. In this method, selection and inspection was incorporated into the marking period. However, the marking was sometimes unclear even in the “Late risen temp.”, and therefore the method needs further improvement before use in aquaculture production.

Key words: thermal otolith marking, masu salmon, eyed-egg, high water temperature.

サクラマス *Oncorhynchus masou masou* は秋に河川で生まれ、約1.5年間の河川生活後、約1年間の海洋生活を経て、生まれた河川へ回帰する。富山県では神通川の河川敷に整備した育成池を用いてサクラマス幼魚の中間育成試験を実施し(田子ら 2000)、その回帰率を調査するため、脂鱭切除または腹鱭切除による標識を施標してきた。しかし、腹鱭切除の場合は生残率の低下(Petersson *et al.* 2014)や鱭再生の懸念があり(久保田・吉原 1957, 田子 1997)、これらの影響が小さい脂鱭の切除であっても、作業にかかる手間やコストが大きいという問題がある。

一方、飼育水の水温変化により耳石にバーコード状の標識リングを施標する耳石温度標識が、サケ科魚類の試験研究に利用されている(Volk *et al.* 1999)。この標識手法は発眼卵に対しても利用され(浦和 2001)、鱭再生や生残率低下の問題が解決されるとともに、一度に大量の個体に標識を施標することが可能となった。例えば、北海道においては河川に回帰したサケ *Oncorhynchus keta* に占める野生魚の割合(森田ら 2013)や本州日本海側では放流時期別のサケ回帰率の違いが明らかとなっている(飯田ら 2018)。また、サクラマスについても北海道や東北地方で利用され

---

\*<sup>1</sup> 富山県農林水産総合技術センター水産研究所 (Fisheries Research Institute, Toyama Prefectural Agricultural, Forestry and Fisheries Research Center, Namerikawa, Toyama 936-8536, Japan)

(NPAFC Working Group on Salmon Marking 2020. <http://wgosm.npafc.org/>), さけ・ます類の放流に関する研究では必要不可欠な技術となっている。現在では、耳石温度標識は広く導入され、富山県内のサケ増殖場でも試験研究に利用されている。

富山県においては、辻本・田子 (1998) がサクラマス孵化仔魚に耳石温度標識を施標し、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、回帰時まで標識が確認可能であることを報告している。富山県では、孵化放流事業の省コスト、省力化を目的としてサクラマス発眼卵放流の導入が検討されていることから (野村ら 2019), これらの技術を利用し、発眼卵に標識を施標し、放流後の稚魚の追跡や3年後の河川回帰時に標識を確認する必要がある。

耳石温度標識をサケ発眼卵へ施標する場合、衝撃等のストレスによりノイズと呼ばれる疑似リングが付く場合があることから (高橋 2006), 衝撃が発生しやすい淘汰・検卵後に2日間程度の安息期間を設けて施標されている。しかし、サクラマスは孵化時の積算水温が450°Cとされており (一般社団法人北海道さけ・ます増殖協会 2007), サケの480°Cよりも約30°C低いことから、サケと同様の施標期間を確保することが困難である。また、富山県における飼育水温は、北海道等の北方の地域と比較して高く、水温の積算が速くなるため、孵化時期も早まる。坂本ら (2009) のように、孵化後にも施標期間を確保する方法もあるが、発眼卵を移植する場合には、孵化後の施標は不可能である。このように、飼育水温の高い本州地域でサクラマス発眼卵の移植を行う場合は、移植前の短い期間で施標を完了する必要がある。

そこで本研究では、発眼卵移植を前提として、これまで検討されていない淘汰・検卵を含めた期間におけるサクラマス発眼卵への耳石温度標識の施標方法について検討した。

## 材料と方法

**供試魚** 富山県農林水産総合技術センター水産研究所 (以下、富山水研) において養成されたサクラマス雌親魚448尾 (2014年神通川遡上系) から2017年10~11月に採卵し、授精させた卵の一部を用いた。受精卵は立体式孵化槽を用いて孵化前まで管理した。

**水温変化による耳石標識** 耳石温度標識のハッチコードは2, 2nH (孵化前に24時間×2本 (Wide Band: WB), 12時間×2本 (Narrow Band: NB), 孵化 (Hatch ring)) を使用した。試験には、井戸水の源水 (約13.5°C) と海洋深層水 (約3°C) による熱交換源水 (約9°C) を使用した。試験区は13.5°Cから9°Cへの降温により施標した区 (降温区), 9°Cから13.5°Cへの昇温により施標した区 (昇温区), 卵に衝撃を与える淘汰作業期間および淘汰により死卵となった卵を除去する検卵作業期間を施標期間に組み込み、施標時期を3日間遅らせて昇温区と同様の手法で施標した区 (後期昇温区) の3試験区とした (Fig. 1)。

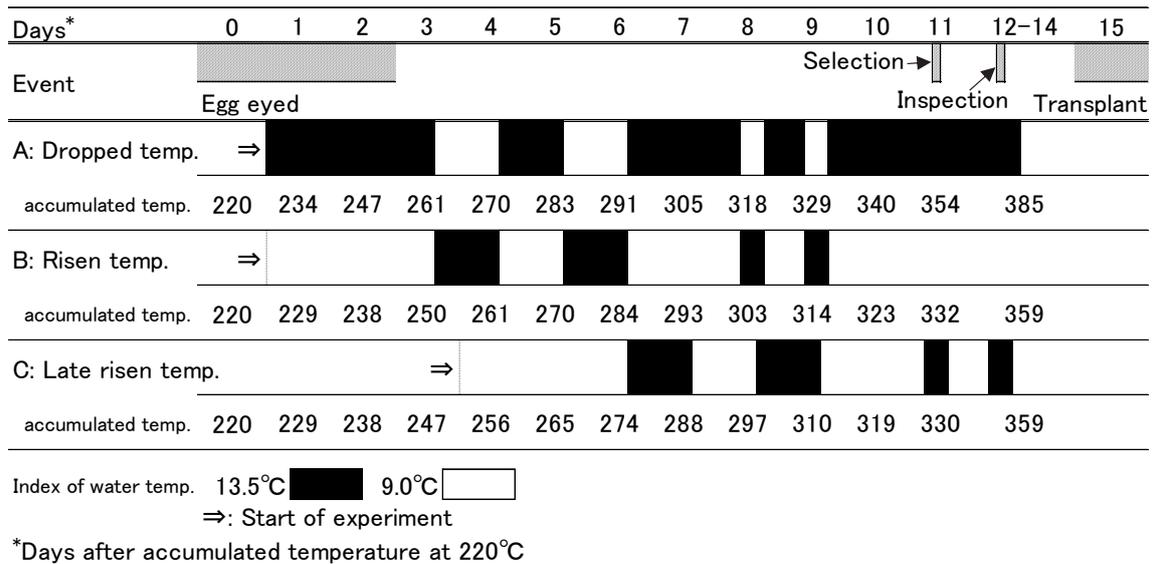


Fig. 1 Setting water temperature in each experimental trial to apply thermal otolith marking for masu salmon eyed-eggs.  
サクラマス発眼卵に耳石温度標識を施標するための試験区別の設定水温

降温区および昇温区については、発眼の有無にかかわらず、西村・畑山（1992）の実験による発眼期（積算水温約 208°C）以降の 220°C に達した時点で試験を開始し、淘汰前に試験期間が終了するようにした。降温区では試験開始時に卵管理水温を 9°C から 13.5°C へ昇温させ、施標時に 9°C へ降温させた。昇温区は、試験期間中の卵管理水温を 9°C のままとし、施標時に 13.5°C へ昇温させた。後期昇温区については、積算水温が 247°C に達した時点（3 日遅れ）で試験を開始し、昇温区と同様の温度管理で、淘汰作業と 1 本目の NB 施標、検卵作業と 2 本目の NB 施標をそれぞれ重複させて行った。また、試験期間中の卵管理水温を終始 9°C とした対照区を設けた。

なお、使用水は立体式孵化槽の上部から注水し、水温の切り替えは手動により源水と熱交換源水の水栓を開閉することで行った。試験期間中の水温は、おんどとり Jr.TR-52i（株式会社ティアンドディ製）を用いて 5 分毎に記録した。

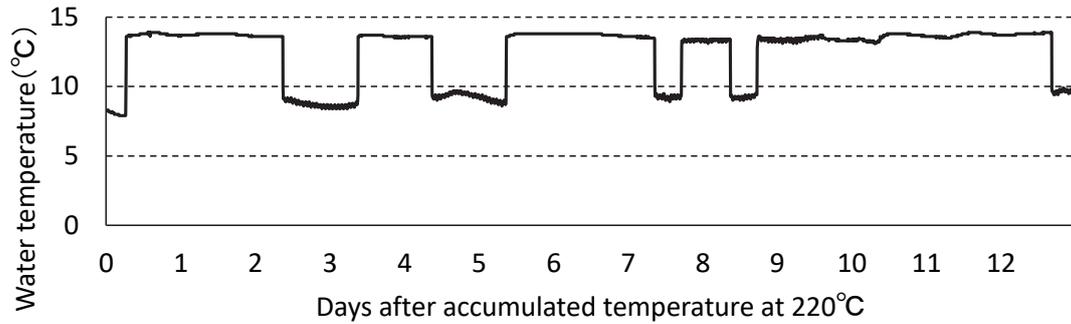
**耳石の処理** 各試験区の発眼卵約 100 粒について、浮上後給餌を行いながら 2018 年 5 月 2 日まで水温 13.5°C の淡水で試験区別に飼育し、稚魚から耳石を摘出した。摘出した耳石は、Thermo Plastic Cement（BUEHLER 社製）を用いてスライドグラスに包埋した。耳石表面を耐水ペーパー FiberMet Abrasive Discs（BUEHLER 社製）の 3MIC, 9MIC および 12MIC を用いて研磨し、生物顕微鏡（オリンパス社製 CX-43, 透過光光学）200~400 倍によって耳石微細輪紋（リング）を観察し写真撮影した。各試験区 20 個体の標識を常法（高橋 2006）に従って確認し、以下の基準に沿って評価した。

- a: WB と NB の両方が識別可能
- b: WB または NB のどちらか一方が識別困難
- c: WB と NB の両方が識別困難

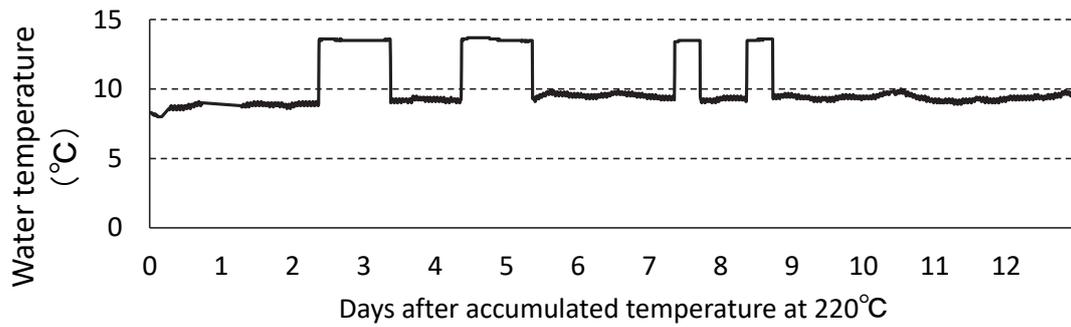
## 結果および考察

各試験区の温度変化を Fig. 2 に示した。試験期間の卵管理水温および施標水温は計画どおりに推移した。

### A: Dropped temp.



### B: Risen Temp.



### C: Late risen temp.

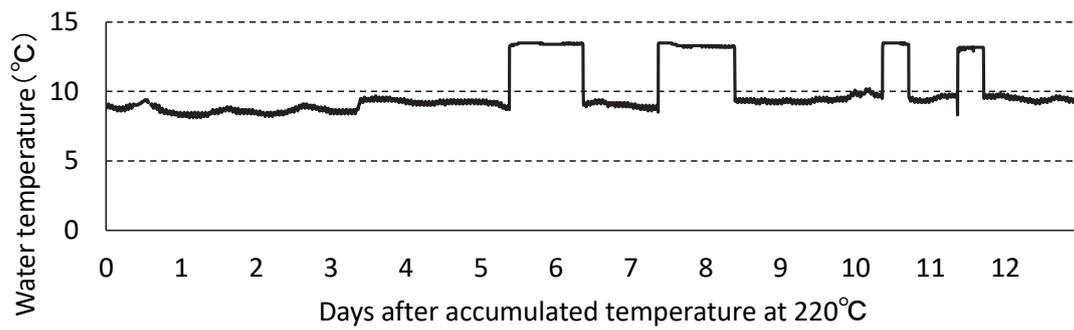


Fig. 2 Changes in water temperature in each experimental trial to apply thermal otolith marking for masu salmon eyed-eggs.

サクラマス発眼卵に耳石温度標識を施標するための試験区別の水温の推移

Table 1 Evaluation results of thermal otolith marking in each experimental trial.  
試験区別の耳石温度標識評価結果

Section	Quality			Total
	a	b	c	
A: Dropped temp.	0 (0)	0 (0)	20 (100)	20 (100)
B: Risen temp.	4 (20)	0 (0)	16 (80)	20 (100)
C: Late risen temp.	11 (55)	2 (10)	7 (35)	20 (100)

a: Both WB and NB could be identified.

b: Either WB or NB could not be identified.

c: Both WB and NB could not be identified.

Upper row: Number of samples

Lower row: Rate of total (%)

各試験区の耳石標識の評価結果を Table 1 に示した。降温区の評価結果は、全てが識別困難である c 評価であった。降温区は積算水温 220°C で管理水温を 13.5°C に昇温させ、その 3 日後（積算水温 261°C）に降温することで 1 本目のリング（WB）を施標した。その結果、WB は極めて核に近く、ほぼ核と同化している耳石も見られ、識別が困難であった（Fig. 3-A）。これは、発眼以降に昇温操作を行ったことで、耳石に標識とは別のノイズが形成された可能性や、積算水温の低い時期の操作であったため、標識リングが極めて核に近い部分に形成され、識別が困難になったと考えられる。なお、積算水温 220°C までは 9°C で卵管理を行っていたが、その後の管理水温を 13.5°C としたため、積算水温の上昇速度が速くなり、移植前に孵化する個体が見られた。そのため、管理水温を上昇させてからの降温標識は、施標可能な期間が短くなるというデメリットもある。

昇温区は昇温による標識リングの施標を降温区と同じ日数で行い、淘汰の 2 日前に施標を終了した（Fig. 1）。標識は、20% の個体が a 評価であった（Fig. 3-B-a）。しかし、識別困難な標識も多く、c 評価が 80% 見られた（Fig. 3-B-c）。浦和（2001）は、昇温標識は降温標識と比較して標識リングの色が明るくなるとしている。このことから、昇温区では降温区よりも標識リングの色が明るく（薄く）なることで識別しづらくなり、降温区と同様に標識リングが核に近い部分に形成されたことと併せて、識別困難な耳石が多く見られたと考えられる。

後期昇温区は昇温区よりも 3 日遅く試験を開始し、2 本の NB をそれぞれ淘汰および検卵作業と重複させた（Fig. 1）。その結果、標識は 55% が a 評価であり、昇温区よりも a 評価の割合が有意に高い値であった（exact test,  $p=0.048$ ）。これらの耳石は、核から 1 本目のリングの間には一定の距離が確保され、2 本の WB と 2 本の NB は全て明瞭で、識別可能であった（Fig. 3-C-a）。西村・畑山（1992）は、サクラマスの耳石成長と体成長には正の相関関係があるとしていることから、施標時期を遅くすれば、より大きなサイズの耳石に、より大きな径のリングが施標されると考えられる。このことから、色の明るい（薄い）昇温標識であっても、発眼から一定の期間が確保され、より径の大きなリングが施標されれば、識別可能であることが推測される。

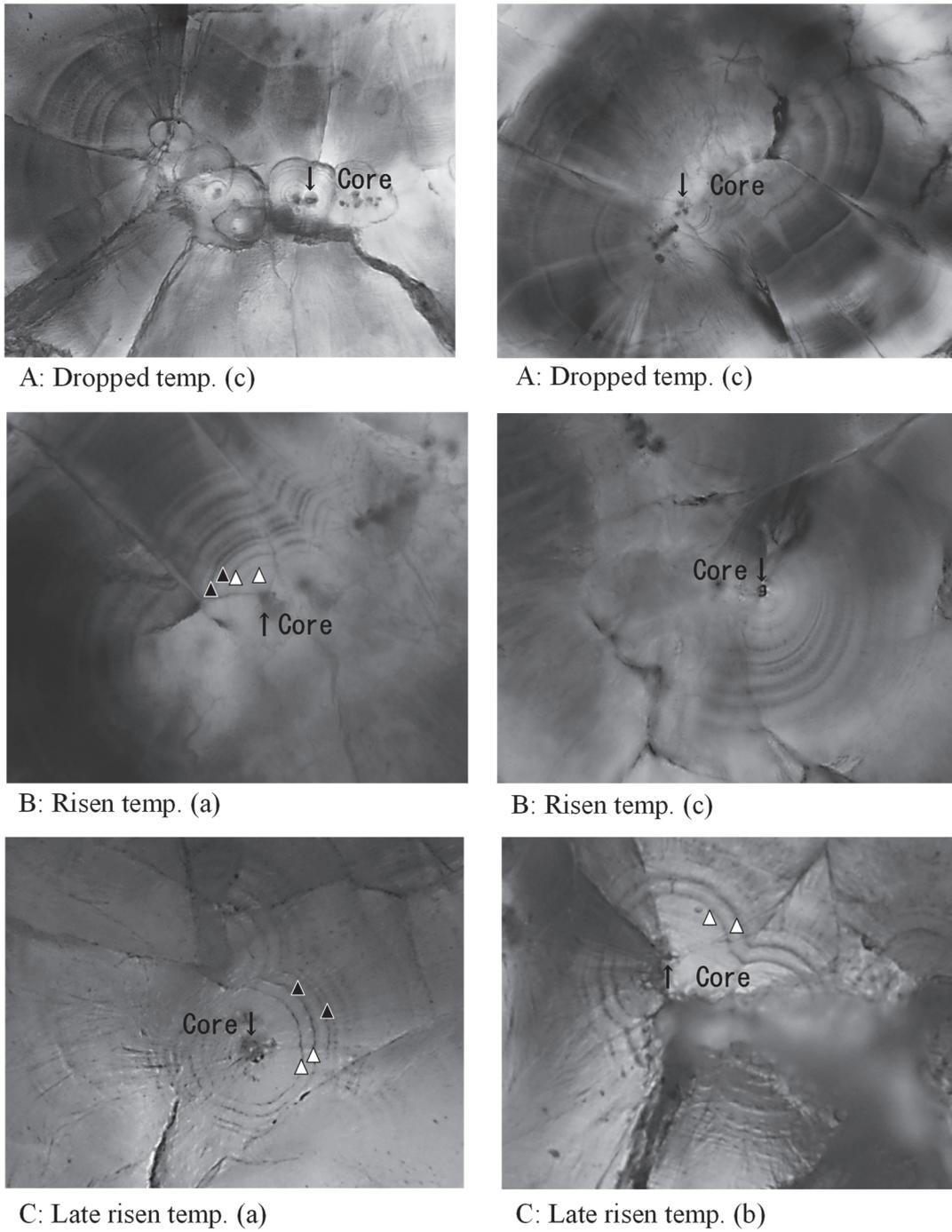
また、後期昇温区はノイズ発生の可能性がある淘汰および検卵時とリング形成を重複させた。施標と淘汰および検卵を重複させていない降温区や昇温区では、標識とは別のリングが確認される場合があり (Fig. 3-A-c), 対照区として無施標の耳石を観察した場合も同様にリングが確認されたことから、淘汰や検卵時にノイズが発生している可能性が考えられる。後期昇温区では、標識周辺に標識以外のリングが確認されないことから、ノイズが標識リングにより不可視化された可能性が考えられる。

しかし、一方で45%の個体では、標識が明瞭ではない評価のbとcであり、bについてはNBが不明瞭であった (Fig. 3-C-b)。さけ・ます資源管理センター (2005) は、サクラマス発眼卵に対して12時間の施標時間では不鮮明な場合が多いことを指摘しており、施標時間不足によりNBが不鮮明であったことが原因として考えられる。また、淘汰および検卵時に施標を行ったため、作業による水温変化や干出等の影響があった可能性も考えられる。

このことから、本方法で耳石温度標識を施標する場合は、NBを含まないハッチコードを使用することや、作業中の水温変化や干出時間を最小限に抑えるなど、慎重な作業が必要と考えられる。また、後期昇温区では、a評価であっても標識リングと標識ではないリング (孵化と思われる) との間隔が狭い場合があり (Fig. 3-C-a), 施標終了から孵化までの期間を十分に確保する必要がある。

以上のことから、サクラマス発眼卵へ耳石温度標識を施標する場合は、淘汰および検卵の作業期間を施標期間に組み込み、可能な限り施標期間を長く確保することで、より明瞭な標識を施標することができると考えられる。今回使用したハッチコードの場合、施標期間は前後の安息期間を含め11日間必要である。富山水研で管理しているサクラマス卵の発眼から移植までの積算水温は100~140°C程度であり、11日間の施標期間に必要な積算水温が114°C程度であることを考えると、これ以上の期間を要するハッチコードの使用は困難である。そのため、複数の試験区を識別する場合、コードが不足するまたはコードの識別が困難といった問題がある。宮内ら (2015) は、サケに短縮標識を導入し、最短3時間でのリングの施標が可能となったことで標識パターンが増加したが、さけ・ます資源管理センター (2005) によれば、サクラマスはサケよりも標識リングが形成されにくく、1本の標識リングの施標時間は24時間を基本としている。前述のとおり、サクラマス発眼卵に対して12時間の施標時間では不鮮明となることから、NBの利用を見直すなど、本手法を導入する場合は、さらなる手法の改善が必要である。

さけ・ます類の発眼卵への標識方法については、耳石温度標識のほかにALC (アリザリンコンプレクソン) 標識が用いられている (浦和 2001) ことから、ALC標識を耳石温度標識と併用することや、全てのリングを明瞭なWBとするなど、限られた期間内で施標可能な標識パターンを利用し、多様な試験設定を検証する必要がある。



- a: Both WB and NB could be identified.
- b: Either WB or NB could not be identified.
- c: Both WB and NB could not be identified.

- △: Wide band (WB)
- ▲: Narrow band (NB)

Fig. 3 Quality of thermal otolith marking in each experimental trial.  
(試験区別の耳石温度標識の品質)

## 要 約

サクラマスは、サケに比べて発眼卵への耳石温度標識の施標可能な期間が短い上、本州地域は飼育水温が高い。このような条件において、サクラマスに施標可能な耳石温度標識の手法を検討した。13.5°Cから9°Cへの降温により施標した区（降温区）と、9°Cから13.5°Cへの昇温により施標した区（昇温区）については、標識リングが不明瞭であった。施標開始時期を昇温区よりも3日間遅らせて同様の手法で施標した区（後期昇温区）については、他試験区よりも標識リングが明瞭であった。この手法では、淘汰・検卵時を施標期間に組み込んだ。しかし、後期昇温区であっても標識が不明瞭な場合も見られたことから、本手法を導入する場合は、さらなる手法の改善が必要である。

## 謝 辞

国立研究開発法人水産研究・教育機構水産資源研究所の飯田真也博士、桑木基靖氏、山谷和幸氏および江田幸玄氏には、施標方法や評価方法について多くの助言をいただいた。飯田博士および富山県栽培漁業センター所長村木誠一氏には本報告を校閲いただいた。深く感謝申し上げます。

## 文 献

- 独立行政法人さけ・ます資源管理センター 2005. 系群識別方法の開発と回遊経路の把握. さけ・ます資源管理センター業務報告書: p110-112.
- 飯田真也・伴 真俊・野口大悟・宮内康行・片山知史 2018. 山形県月光川において異なる時期に放流したサケ *Oncorhynchus keta* の回帰率比較. 水産増殖, **66**: 137-140.
- 一般社団法人北海道さけ・ます増殖事業協会 2007. さけ・ますふ化放流事業実施マニュアル: p36.
- 久保田伊津男・吉原友吉 1957. 水産資源学. 共立出版, 東京. p250-253.
- 宮内康行・江田幸玄・平間美信・岡本康孝・大貫 努 2015. サケの耳石温度標識パターンを増やすための標識時間の短縮. 水産技術, **7**: 89-95.
- 森田健太郎・高橋 悟・大熊一正・永沢 亨 2013. 人工ふ化放流河川におけるサケ野生魚の割合推定. 日本水産学会誌, **79**: 206-213.
- 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.
- 野村幸司・村木誠一・飯田真也 2019. 本州日本海側におけるサクラマス省コストふ化放流技術開発試験. 平成30年度さけ・ますふ化放流抜本対策事業調査報告書: p118-119.
- Petersson E., J. Rask, B. Ragnarsson, L. Karlsson, J. Persson 2014. Effects of fin-clipping regarding adult return rates in hatchery-reared brown trout. *Aquaculture*, **422-423**: 249-252.
- 坂本 準・桑木基靖・江場岳史 2009. サクラマス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. 水産技術, **2**: 25-30.

- 田子泰彦 1997. 標識放流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.
- 田子泰彦・辻本 良・松島 茂・東 秀一・桐山泰司・安井慶亨・今井博範 2000. 神通川の河川敷を利用したサクラマス幼魚の育成. 水産増殖, **48**: 489-495.
- 高橋昌也 2006. 耳石温度標識技術を用いたサケ・マス類の標識放流と調査研究. 養殖, 542: p82-85.
- 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. 富山県水産試験場研究報告, **10**: 21-26.
- 浦和茂彦 2001. さけ・ます類の耳石標識. さけ・ます資源管理センターニュース, 7: p3-11.
- Volk, E. C., S. L. Schroder and J. J. Grimm 1999. Otolith thermal marking. Fisheries Research, **43**: 205-219.