Dry marking によるサケ発眼卵への 耳石標識の検討

飯田真也,^{1,3*} 宮内康行,^{2a} 小倉康弘,^{1b}
江田幸玄,² 片山知史³

(2014 年 12 月 15 日受付, 2015 年 4 月 16 日受理)

¹国立研究開発法人水産総合研究センター日本海区
水産研究所, ²同北海道区水産研究所千歳さけます
事業所, ³東北大学大学院農学研究科

Trial of a dry method of otolith marking for
chum salmon eyed eggs

MASAYA IIDA,^{1,3*} YASUYUKI MIYAUCHI,^{2a}
YASUHIRO OGURA,^{1b} YUKIHARU GODA²
AND SATOSHI KATAYAMA³

¹Japan Sea National Fisheries Research Institute, Fisheries
Research Agency, Chuou, Niigata 951-8121, ²Chitose
Field Station, Hokkaido National Fisheries Research In-
stitute, Fisheries Research Agency, Chitose, Hokkaido 066-
0068, ³Graduate School of Agriculture science, Tohoku
University, Sendai, Miyagi 981-8555, Japan

キーワード: Dry marking, サケ, 耳石

サケ属魚類の耳石には、生理的もしくは外部環境の変化により、含有するカルシウムとタンパク質層の厚さに差異が生じ、チェックまたはリングと呼ばれる太い輪紋が形成される特性がある。¹⁾ この性質を利用し、規則的な刺激を与えることで耳石に識別可能なバーコード状のマークを付ける標識, Thermal marking²⁾ (以下, TM) および Dry marking³⁾ (以下, DM) が開発され、現在、サケ *Oncorhynchus keta* に用いられる標識の中心的な役割を担っている。⁴⁾ TM は卵を管理する水の温度を周期的に変化させ、その温度変化に応じたマークを施す標識である。集中的に管理する卵期に施すため、一度に数百万規模の標識魚を生産することが可能である。また、TM は任意の水温変動パターンに応じた固有のマークとなることから、その自由度は極めて高い。卵の生残に影響を与えないことも確認されており、日本を含む North Pacific Anadromous Fish Commission 加盟各国で広く活用されている。²⁾ しかし、TM に必要となる水温変化は、主に熱交換機によって与えられるが、その装置や電気代を主体とする運営費は高額となる。⁵⁾ よって、我が

国における TM の利用は、試験・研究を目的としたふ化場にはほぼ限定されており、サケの総放流数に占める TM を施標した個体の割合は、およそ 15% に過ぎない。DM は、断熱材により水槽内の温度と湿度の変化を少なくした上で、卵を空気中に露出し、その環境変化に応じたマークを施す方法³⁾ である。DM は、TM と同様、自由度の高い標識魚を安全かつ大量に生産することが可能である。DM を施すために必要な労力は、排水口の開閉のみであり、そのコストは著しく少なく、極めて簡便かつ省エネルギーである。しかしながら、具体的な試行例は示されていないものの、DM は技術的な問題を理由にロシアでしか実用出来ないと考えられてきた。⁶⁾

近年、サケ増殖事業を推進する上で、ふ化放流のみならず、多様性に優れた野生魚を保全することが強く求められている。野生魚の保全に関して先進的な北米では、ふ化場魚と野生魚が混在した状況下での野生魚の過剰漁獲を防ぐため、ふ化場魚のはほぼ全てに標識を施し、漁獲物の由来を識別する体制が構築されている。⁷⁾ また、ふ化場魚と野生魚が交雑することで、遺伝的多様性や適応度が低下することも指摘されており、⁸⁾ ふ化場魚の全てに標識を施し、その交雑状況を把握することが推奨されている。⁹⁾ 今後、生物多様性の保全に配慮したサケ増殖事業を推進するには、多様かつ簡便な標識を少ないコストで施す技術を確立し、放流数に占める標識魚の割合を一層高めていくことが重要である。そこで本研究では、技術的問題を解消し、DM を行う適切な条件を明らかにするため、環境条件の異なる 2 つのふ化場で DM を試行した。

調査は、北海道区水産研究所千歳さけます事業所 (以下、千歳、水温 8.5℃) と新潟県三面川ふ化場 (以下、三面、同 12.7℃) で実施した。両所において、プラスチックコンテナを改造した水槽 (収容内寸 320 mm × 360 mm × 250 mm, 以下、通常区) と、それを断熱材 (ダウ加工社, スタイロフォーム IB) で覆った水槽 (以下、断熱区, Fig. 1) を用意し、自河川へ遡上したサケ親魚を由来とする発眼卵を 2 万粒ずつ収容した。各水槽への注水量は約 15 L min⁻¹ とした。卵を収容後、2 日間の安息期間を設けたのち、注水を 24 時間の間隔で 2 回停止、72 時間の注水期間を経て再び 12 時間の間隔で 2 回停止し、卵を空気中へ露出した。この作業によって、2 本のリングが集合したバンド (以下, WB),

* Tel : 81-25-228-0451. Fax : 81-25-224-0950. Email : miida@affrc.go.jp

^a 現所属 : 国立研究開発法人水産総合研究センター北海道区水産研究所天塩さけます事業所 (Teshio Field Station, Hokkaido National Fisheries Research Institute, Fisheries Research Agency, Nakagawa-gun, Hokkaido, 098-2243, Japan)

^b 現所属 : 国立研究開発法人水産総合研究センター北海道区水産研究所静内さけます事業所 (Shizunai Field Station, Hokkaido National Fisheries Research Institute, Fisheries Research Agency, Hidaka-gun, Hokkaido, 056-0141, Japan)

続いて幅の狭い2本のリングが集合したバンド（以下、NB）を持つ標識を施すことを試みた。各水槽の内壁および実験室にデータロガー（前者、KN. Lab社ハイグロクロン、後者、T and D社TR-52）を設置し、水槽内の温度と相対湿度（ある温度の気体中の水蒸気圧とその気体の飽和水蒸気圧との比率、以下、RH）および実験室温をそれぞれ観測した（Fig. 2）。標識作業終了後、約350粒の卵を上層から下層にかけて満遍なく抽出し、稚魚に至るまで飼育した。各区120個体の標識を常法⁴⁾に従って確認し、以下の基準に沿って品質を評価した。

- a: WBとNBの両方が鮮明なもの（Fig. 3a）
- b: WBは鮮明だがNBが薄いもの（Fig. 3b）
- c: WBは鮮明だがNBは付かなかったもの（Fig. 3c）
- d: WBは鮮明だがNBは付かず、WBの内側に疑似リング（ノイズ）⁵⁾が確認されたもの（Fig. 3d）
- e: 全く標識が確認出来ないもの（Fig. 3e）

標識の品質を評価した結果をTable 1に示した。千歳の断熱区では、評価aは70.8%、評価bおよびcはそれぞれ22.5、5.0%だった。通常区では、評価aが27.5%、評価bおよびcは10.8、19.2%だった。評価dおよびeはそれぞれ14.2、28.3%だった。評価aを示した割合は、通常区に比べ断熱区の方が有意に高かった（Mann-Whitney's *U*-test; $P < 0.01$ ）。一方、三面の断熱

区では、評価aは0%であり、評価bおよびcはそれぞれ2.5、10.8%だった。評価eは61.7%だった。通常区では、評価aが10.0%であり、評価bおよびcはそれぞれ11.7、19.2%だった。評価eは45.8%だった。評価dは断熱区と通常区でそれぞれ25.0%、13.3%だった。なお、評価aを示した割合は、断熱区に比べ通常区の方が有意に高かった（Mann-Whitney's *U*-test; $P < 0.01$ ）。

Rogatnykh *et al.* (2000) は、卵を露出する刺激に加えて温度変化によるリングの形成を防ぐため、水槽内の温度を極力変化させないように指摘する。³⁾ 本研究における断熱区内の温度は、千歳では平均 $9.2 \pm 0.4^\circ\text{C}$ 、三面では平均 $12.2 \pm 0.4^\circ\text{C}$ と、両者ともにほぼ一定に推移した（Fig. 2）。しかし、DMの精度は千歳に比べて三面が著しく低い結果となった（Table 1）。この要因の一つとして、千歳のRHは平均 $95.2 \pm 1.1\%$ であったが（Fig. 2a）、三面のRHは $98.4 \pm 1.4\%$ と千歳に比べ約3%高く、作業の後半にほぼ飽和状態に達したことから（Fig. 2b）、露出した卵が過剰に保湿され、水中に存在した時と同様の生理状態となり、リングの形成に至らなかった可能性が考えられた。ロシアでDMを行う水槽内の湿度は明らかでないが、当地の気温は低く、ふ化場の水温が $1-4^\circ\text{C}$ 前後と低温であることを踏まえると、比較的低い湿度である可能性が高い。DMによる鮮明な標識を施すためには、卵を露出した水槽内の平均RHを概ね95%以下に留める必要性が示唆された。

一方、千歳および三面の通常区は、水槽内の温度が室温の影響によって大きく変動し（Fig. 2）、評価aを示したのはそれぞれ27.5、10.0%にとどまった（Table 1）。千歳および三面の水温は、それぞれ 8.5 、 12.7°C で一定に推移することから、それに対する露出時の通常区内の温度は、千歳では平均 $2.4 \pm 0.7^\circ\text{C}$ （範囲 $0.8-3.9^\circ\text{C}$ ）昇温し、三面では平均 $4.0 \pm 1.3^\circ\text{C}$ （範囲 $0.8-6.0^\circ\text{C}$ ）降温したことになる。本研究では卵の温度を測定していないが、露出前は水温と同じ温度で推移した卵に、露出時に限って一定程度の温度差が生じたことが推察される。TMは昇温・降温に因らず、 $2-4^\circ\text{C}$ の水温差を与えるこ

Fig. 1 Dry marking using insulated incubator for chum salmon eyed eggs. a) Conditions for period of flowing water. b) Conditions for period when eggs were maintained without flowing water (Dry). The figure shows the right side of the incubator: 1, insulation material; 2, water intake; 3, plug; 4, drainage outlet; 5, eyed eggs; 6, ambient water; 7, data logger for temperature and humidity. White arrows indicate water flow.

Fig. 2 Temperature and humidity during dry marking at the Chitose hatchery (a), and Miomote hatchery (b). Solid lines, insulated incubator; One-dotted chain lines, normal incubator (exposed to ambient temperature fluctuations without insulation cover); Dotted lines, experimental room. Gray zones indicate dry durations.

Fig. 3 Photomicrographs of dry marked sagittae of chum salmon. Black and white triangles show wide band (WB) and narrow band (NB), respectively. Scale bar = 50 μ m. Each specimen meets one of the following 5 criteria: a) All rings are recognized clearly; b) WB is clear, but NB is indistinct; c) WB is clear, but NB is not recognized; d) Some noise (unintentional rings, shown by white arrows) are recognized inside WB; e) No marks are recognized.

Table 1 Compositions of five criteria (a–e, see Fig. 3) for otolith mark formation at each hatchery station

Hatchery	Incubator	Criteria (%)					Total (N=120)
		a	b	c	d	e	
Chitose	Isothermal	70.8	22.5	5.0	0	1.7	100
	Normal	27.5	10.8	19.2	14.2	28.3	100
Miomote	Isothermal	0	2.5	10.8	25.0	61.7	100
	Normal	10.0	11.7	19.2	13.3	45.8	100

Isothermal indicates maintained in insulated incubator (see Fig. 1) and Normal indicates exposed to ambient temperature fluctuations without insulation cover.

とで明確なリングが施されることから、²⁾ 通常区の DM は卵を露出した刺激に因らず、露出した卵の温度変化、すなわち TM と同様なメカニズム²⁾によって施された可能性が高い。また、TM に関しては卵へ与える温度変化のバラツキが大きい場合、標識の精度が低下することが指摘される。⁵⁾ 通常区の標識が TM と同様なメカニズムで施されたと仮定すれば、その精度が低かった原因は、露出時における水槽内の温度が昇温と降温を繰り返す (Fig. 2), それに伴って卵の温度のバラツキが大きかった可能性が考えられた。実際、水温が約 1°C で推移する Kodiak Regional Aquaculture Association では、実験室温を機械的に約 4.4°C に保ち、露出時の卵の温度を 2.5–3.0°C の範囲で安定的に昇温させ、精度の高い DM に成

功している (M. Wunderlich 私信)。この場合、室温を機械的に制御する費用が必要となり、本来の DM に比べ費用対効果は劣ることになる。なお、安息期間中に生じたと推察されるノイズ (Fig. 3d) は、TM に関しても稀に出現することが指摘されているものの、⁵⁾ その発生原因は不明であった。

日本の環境では、DM を行う水槽内の僅かな RH の差が標識の品質に影響を及ぼす可能性があり、水槽内の湿度管理が重要になると考えられた。また、DM は水槽内の温度と湿度の変化を少なくすることが推奨³⁾されてきたが、空中に卵を露出した結果生じる温度変化によってリングが形成され、その温度変化を均一化することで精度の高い標識を施す可能性も示唆された。しかし、今回の実験では DM を確実に施す RH の範囲や、露出した卵に一定の温度変化を与えた場合の標識精度を明らかに出来なかったため、湿度や温度を制御した環境で再検証を行う必要がある。

謝 辞

新潟県三面川漁業協同組合の皆様には施設の利用に際して特段の配慮をいただいた。北海道区水産研究所の浦和茂彦博士、Douglas Island Pink & Chum salmon Hatchery の Mike Wunderlich 氏、Russia Scientific and Research Institute of Fisheries & Oceanography の Elena Akinicheva 博士、Vladimir Volobuev 博士には、Dry marking に関する有益な助言をいただいた。ここに深く感謝申し上げます。本研究は平成 24 年度日本海区水産研究所研究開発基盤強化費によって行われた。

文 献

- 1) Campana SE, Neilson JD. Microstructure of fish otoliths. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 1985; **42**: 1014–1032.
- 2) Volk EC, Schroder SL, Grimm JJ. Otolith thermal marking. *Fish. Res.* 1999; **43**: 205–219.
- 3) Rogatnykh A, Akinicheva E, Safronenkov B. The dry method of otolith mass marking. *NPAFC Tech. Rep.* 2001; **3**: 3–5.
- 4) 高橋昌也. 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 2006; **542**: 82–85.
- 5) Volk EC, Schroder SL, Fresh KL. Inducement of unique otolith banding patterns as a practical means to mass-mark juvenile Pacific salmon. *Am. Fish. Soc. Symp.* 1990; **7**: 203–215.
- 6) 浦和茂彦. さけ・マス類の耳石標識: 技術と応用. さけ・マス資源管理センターニュース 2001; **7**: 3–11.
- 7) Hagen P, Munk K, Van Alen B, White B. Thermal mark technology for inseason fisheries management: a case study. *Alaska Fish. Res. Bull.* 1995; **2**: 143–155.
- 8) Araki H, Schmid C. Is hatchery stocking a help or harm?: evidence, limitations and future directions in ecological and genetic surveys. *Aquaculture* 2010; **308**: S2–S11.
- 9) Kaeriyama M. Hatchery programmes and stock management of salmonid populations in Japan. In: Howell BR, Moksness E, Svasand T (eds). *Stock enhancement and sea ranching*. Blackwell, Oxford. 1999: 153–167.