

ドライマーキング法による サケの耳石標識の試み

飯田真也（資源管理部・さけます調査普及グループ）

【はじめに】

魚類の頭部には、バランス感覚に寄与する器官、耳石が存在する（図1）。サケ属魚類の耳石には、水温などの環境変化によって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、リングと呼ばれる微細な輪紋が形成される特性がある。この性質を利用し、規則的な環境変化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、温度標識法（Volk et al. 1999）およびドライマーキング法（Rogatnykh et al. 2001）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。

温度標識法とは、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作る方法である。集約的な管理を行う卵期に施すため、1度に数百万規模の標識魚を生産することが出来る。温度標識は、水温パターンに応じた多様なマークを安全に施すことが可能であり、日本を含む北太平洋の溯河性魚類の系群の保存のための条約加盟各国で広く活用されている。ただし、温度標識に必要となる水温変化を与える熱交換器や電気代を主体とする運営費は高額となることから、我が国における温度標識の利用は、試験研究を目的としたふ化場に限定されている。よって、サケの総放流数に占める温度標識を施した個体の割合は、およそ15%に過ぎない。

ドライマーキング法とは、断熱材により卵を管理して水槽内の温度と湿度の変化を少なくした上で、水槽の水を抜いて卵を空气中へ露出し、その環境変化に応じたリングを作る方法である。例えば、卵を定期的に3回露出した場合、耳石には3本のリングが等間隔に形成される（図2）。ドラ

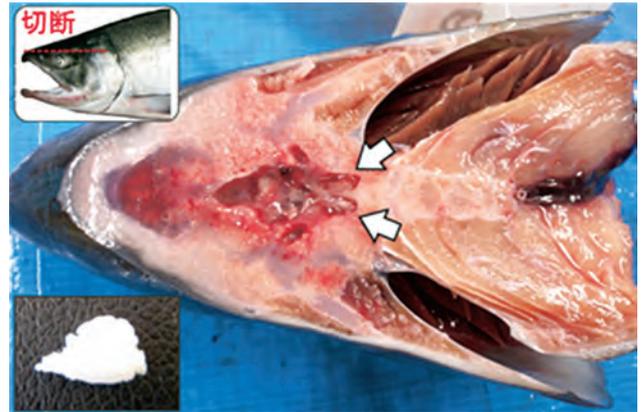


図1 サケ成魚における耳石の位置（矢印）と耳石
硬骨魚類には、扁平石、星状石、礫石と3対の耳石がある。観察には最も大きい扁平石（大きさは米粒程度、左下枠）を用いる。耳石を採取するには、目の上で頭部を切断し（左上枠）、小脳の下部周辺を観察する。

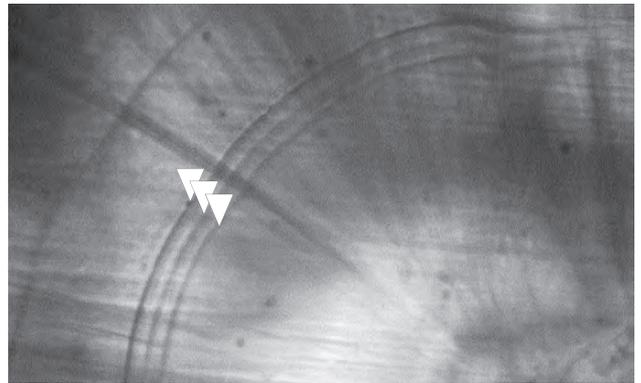


図2 ロシアVILUYSKY ふ化場において、ギンザケに施したドライマーキングの顕微鏡画像
卵を24時間の間隔で3回露出させ、3本のリング（三角印）を等間隔に形成させた。（NPAFC HP; <http://wgosm.npafc.org/MarkSummary.asp?mid=RU02-18>を改変）。

イマーキングは、温度標識と同様、自由度の高い標識を大量に生産することが可能であるが、特別な装置や運営費を必要とせず、温度標識に比べ極めて省コストである。なお、ドライマーキングを

行ったことにより卵の生残を低下させるような影響がないことも確認されている。このように、ドライマーキングは標識として非常に強力なツールであるものの、現在、ロシアでのみ実用化され、他国での実用化は困難と考えられてきた（浦和2001）。そこで、筆者らは、ドライマーキングの日本での実用化に向けて技術的問題を解消し、ドライマーキング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つのふ化場で実験を行った。今回は、その概要を紹介する。

【ドライマーキングの試行】

試験は、北海道区水産研究所千歳さけます事業所（以下、千歳）と新潟県三面川ふ化場（以下、三面）で行った。卵を管理する水温は、千歳では8.5℃、三面では12.7℃ではほぼ一定に推移した。両所において、プラスチックコンテナを断熱材で覆った水槽（収容内寸320mm×360mm×250mm）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。卵を収容後、各水槽への注水を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、卵を空气中へ露出した（図3）。この作業によって、太い2本のリングが集合したバンド、続いて細い2本のリングが集合したバンドを持つ標識を施すことを試みた。標識期間中、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蒸気圧との比率）および実験室温をデータロガーにより観測した（図4）。標識作業終了後、約350粒の卵を無作為に抽出し、稚魚になるまで飼育した。各区120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品質を評価した。

- a：太いリングと細いリングの両方が鮮明なもの（図5 a）
- b：太いリングは鮮明だが細いリングは付かなかったもの（図5 b）
- c：両方のリングが不鮮明、もしくは全く標識が確認出来ないもの（図5 c）

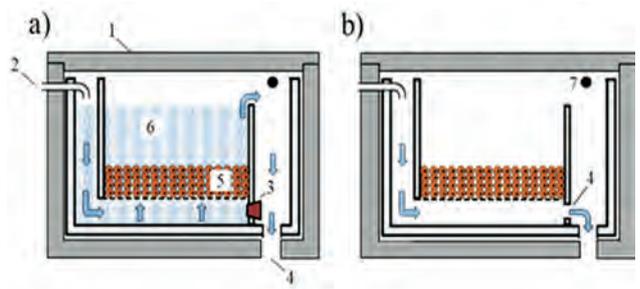


図3 ドライマーキングを施すための作業手順
a) 卵を管理する水槽へ注水する。b) 排水栓を抜くことで水槽への注水を停止し、卵を大気中へ露出する。本研究では、a) と b) を24時間の間隔で2回、12時間の間隔で2回繰り返した。1. 断熱材, 2. 注水管, 3. 排水栓, 4. 排水口, 5. 発眼卵, 6. 水槽水, 7. 温度・相対湿度データロガー。青矢印は水の流れを示す。

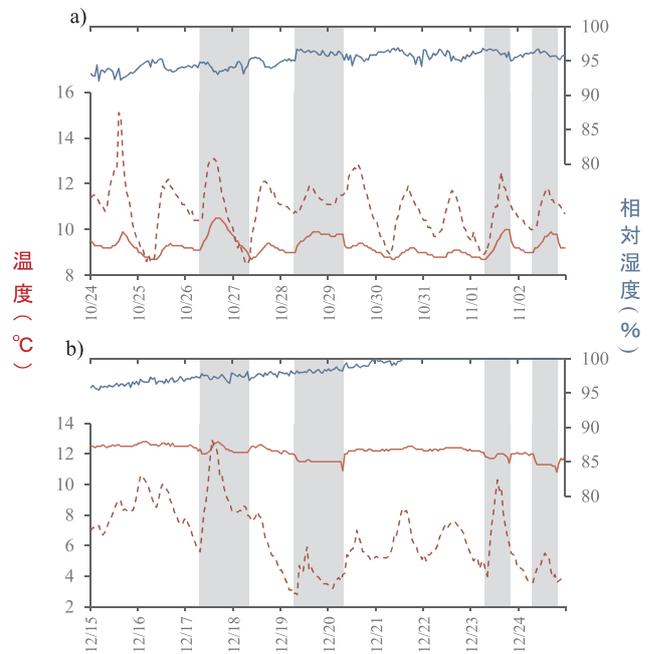


図4 標識期間における温度および湿度の変化（a；千歳，b；三面）
赤い実線および破線は、それぞれ水槽内および実験室の温度(左軸)を、青い実線は相対湿度（右軸）を示す。灰色の領域は露出期間を表す。

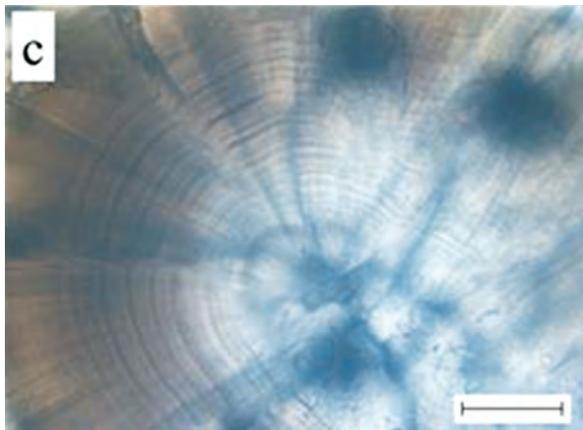
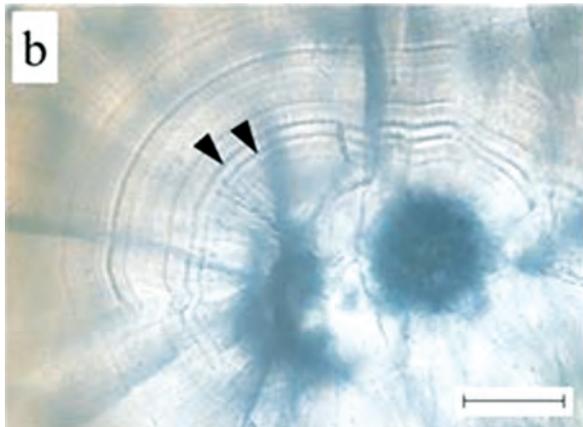
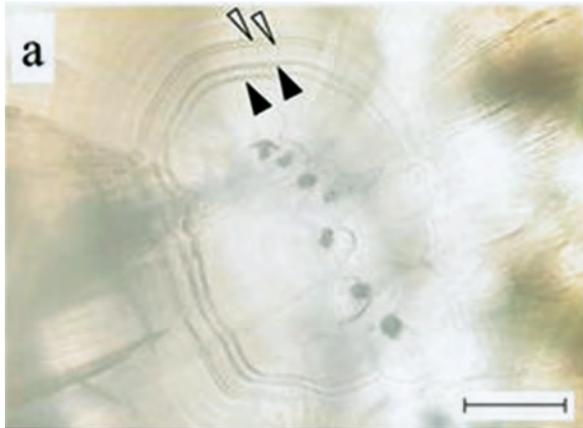


図5 サケの卵に施したドライマーキングの顕微鏡画像。黒い三角は太いリング，白い三角は細いリングを示す（本文参照）。a) 両方が鮮明なもの、b) 太いリングは鮮明だが、細いリングは付かなかったもの、c) 両方が不鮮明、もしくは全く標識が確認出来ないもの。目盛尺は50 μ mを示す。

標識の品質を評価した結果を図6に示した。千歳では、評価aは70.8%，評価bおよびcはそれぞれ27.5，1.7%だった。三面では、評価aは存在せず、評価bおよびcはそれぞれ13.3，86.7%だった。評価aを示した割合は、三面に比べ千歳の方が有意に高かった（Mann-Whitey's U-test,

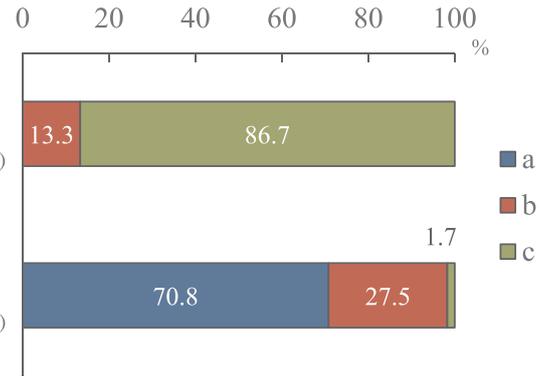


図6 千歳および三面におけるドライマーキングの品質構成（査定基準 a-c は図5参照）

$P < 0.01$)。本研究では、千歳の7割に意図したマークを施すことに成功したものの、三面では全てが失敗した結果となった。

【ドライマーキングに適した環境条件の検証】

Rogatnykh et al. (2000) は、ドライマーキングを施す卵に対して温度変化を極力与えないように注意を促している。卵を露出する刺激以外の温度変化によるリングの形成を防ぐためである。それゆえ、ドライマーキングを行う水槽は断熱材で覆うことを推奨している。本研究における水槽内の温度は、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（図4），Rogatnykh et al. (2000) が提唱する条件を逸脱しなかった。しかし、その標識成功率は千歳に比べて三面が著しく低い結果となった（図6）。この要因の一つとして、湿度が千歳は平均 $95.2 \pm 1.1\%$ であったが（図4 a），三面では平均 $98.4 \pm 1.4\%$ と千歳に比べ高く、作業の後半にはほぼ飽和状態に達したことから（図4 b），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。ロシアでドライマーキング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、水温が $1-4^\circ\text{C}$ 前後と低温であることを踏まえると、ドライマーキングは比較的低い湿度を有する水槽で実施されている可能性が高い。ドライマーキングによる鮮明な標識を施すための条件の一つとして、卵を露出した水槽内の湿度を概ね95%以下に留めることが考えられた。

【おわりに】

日本の多湿な環境では、ドライマーキングを行う水槽内の僅かな湿度の差が標識の鮮明度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、本研究において最も高い標識成功率も70%に留まっており、温度標識のそれはほぼ100%であることを踏まえれば、より成功率を高める技術を開発する必要がある。例えば、サケ属魚類に関しては、生息環境の明度を人為的に変化させることで、リングの形成が誘発されることが確認されており (Brothers 1990)、露出した卵にLEDライトを照射することでドライマーキングの精度が向上する可能性がある。しかし、今回の実験ではドライマーキングを確実に施す湿度の範囲や、卵の露出と明度の変化を同時に与えた場合の標識精度を明らかに出来なかったため、湿度や温度および明度を制御した環境で再検証を行う必要がある。

【引用文献】

- Brothers, E. B. (1990) Otolith marking. American Fisheries Society Symposium, 7, 183-202.
- 飯田真也 宮内康行 小倉康弘 江田幸玄 片山知史 (2015) Dry markingによるサケ発眼卵への耳石標識の検討. 日水誌, 81, 725-727.
- Rogatnykh, A., E. Akinicheva and B. Safronov (2001) The dry method of otolith mass marking. NPAFC Tech. Rep., 3, 3-5.
- 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, 82-85.
- Volk EC, Schroder SL, Grimm JJ. Otolith thermal marking. Fish. Res. 1999; 43: 205-219.
- 浦和茂彦 (2001) 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, 3-11.