

結果

1：禁漁区における生息状況

本年度は、入漁区 20 地点、看板がない禁漁区 4 地点、看板がある禁漁区 6 地点の計 30 地点を追加した（表 2）。これにより、入漁区 133 地点、看板がない禁漁区 21 地点、看板がある禁漁区 64 地点の計 218 地点となった。これらのデータをもとに一般化線形混合モデルを作成した結果、稚魚、成魚、全個体のいずれの場合も区分（漁区、看板がない禁漁区、看板がある禁漁区）を説明変数とするモデルが採用された。図 1 は、それらのモデルをもとに生息密度を算定したものである。看板がある禁漁区は、入漁区より生息密度が高かった。また、看板がある禁漁区は、看板がない禁漁区より生息密度が高かった。

表 2. 入漁区、看板がない禁漁区、看板がある禁漁区の調査地点数

調査年	入漁区	看板がない禁漁区	看板がある禁漁区	計
～H29	53	1	4	58
H30	10	1	1	12
R 元	10	6	6	22
R2	15	5	31	51
R3	25	4	16	45
R4	20	4	6	30
計	133	21	64	218

2：産卵場所の立地条件

本年度は、ヤマメ・アマゴの産卵場所 4 地点、イワナの産卵場所 12 地点の計 16 地点を追加した（表 3）。これにより、ヤマメ・アマゴの産卵場所 165 地点、イワナの産卵場所 171 地点の計 336 地点となった（表 4）。これらのデータを集計した結果、産卵場所の標高、水面幅、河床勾配は表 3 の通りであった。標高については両種とも全地点で測定した。水面幅については両種とも 110 地点で測定した。河床勾配についてはヤマメ・アマゴは 74 地点およびイワナは 104 地点で測定した。

表 3. ヤマメ・アマゴおよびイワナの産卵場所の調査地点数

調査年	ヤマメ・アマゴ	イワナ	計
～H29	90	119	209
H30	8	3	11

R元	11	4	15
R2	22	12	34
R3	30	21	51
R4	4	12	16
計	165	171	336

表4. ヤマメ・アマゴおよびイワナの産卵場所の標高、水面幅、河床勾配

魚種	調査項目	測定値点数	範囲	平均±標準偏差
ヤマメ・アマゴ	標高 (m)	165	145-1330	694.4±272.3
	水面幅 (m)	110	1.4-15.9	4.61±2.65
	河床勾配 (%)	74	1.6-23.5	6.88±3.89
イワナ	標高 (m)	171	360-1480	781.2±212.1
	水面幅 (m)	110	0.8-9.7	2.98±1.62
	河床勾配 (%)	104	0.1-27.7	9.51±5.95

3 : 支流から本流へのしみ出し

本年度は地域Bの本流（蒲田川）で調査を実施した。なお、地域CおよびDは令和2年夏の豪雨の影響で調査を実施できなかつたため、地域A、B、Eで計4回の調査となった。本流で標識個体を探索した結果、これら3地域のいずれにおいても標識個体が発見された（表5、図2）。標識個体の一部は全長15cm未満であったが、大部分の個体が15cmに到達していた。

表5. 本流で発見された標識個体の全長および数

地域	実施日	水系	本流	平均水面幅 (m)	探索した面積 (m ²)	魚種	全長 (mm)	発見数 (尾)	
A	R元, 10/1	木曽川	馬瀬川	23.0	約 4,300	イワナ	100-197	5	
	-12/16					アマゴ	115-135	2	
B-1	H31, 3/19	神通川	蒲田川	19.5	約 4,300	イワナ	145-239	9	
	-R元, 10/10					ヤマメ	120-180	2	
C	—	長良川	那比川	(R2 夏の豪雨の影響で調査を実施できなかつた)					
D	—	九頭竜川	峠川	(R2 夏の豪雨の影響で調査を実施できなかつた)					
B-2	R3, 2/10	神通川	蒲田川	15.9	6,185	イワナ	127-257	7	
	-2/22					ヤマメ	172-200	2	
E	R4, 5/24	木曽川	一ツ梨谷	8.0	6,074	イワナ	136-223	3	
	-6/16					アマゴ	170	1	

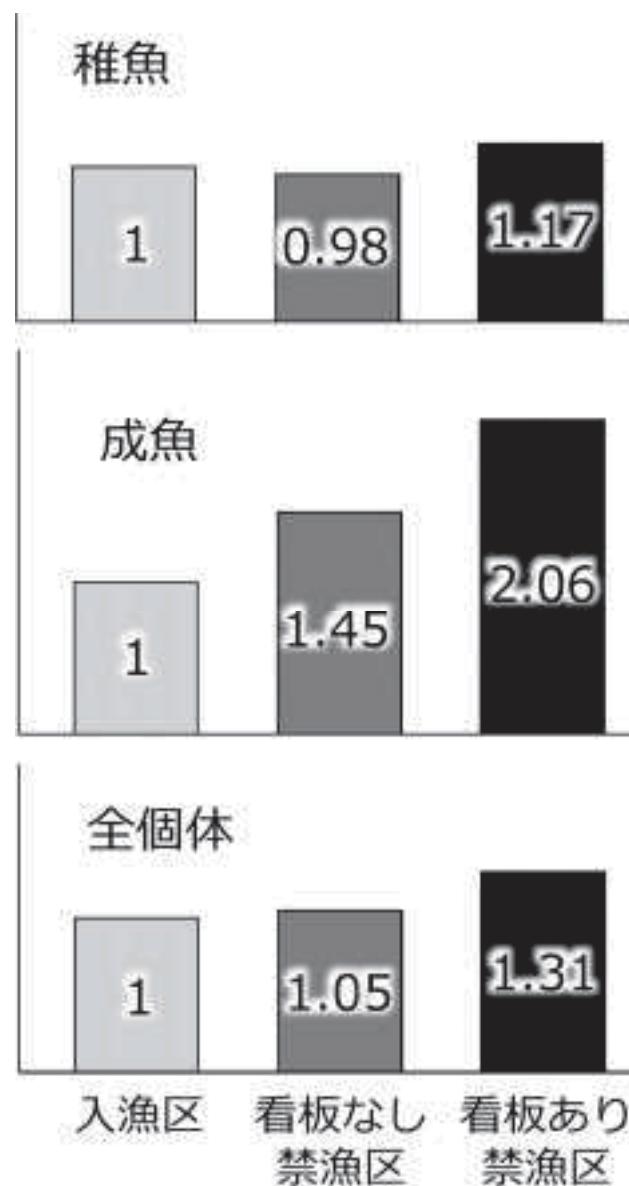


図1. 入漁区、看板がない禁漁区、看板がある禁漁区における渓流魚の生息密度
(入漁区の生息密度を1とした場合の相対値)

考察

1 : 禁漁区における生息状況

今回の調査では、渓流魚の生息密度は、入漁区より看板がある禁漁区のほうが高いことが確認された。また、看板がある禁漁区は、看板がある禁漁区より生息密度が高く、看板を設置することの効果が示された。禁漁区における自然繁殖の効果を高めるためには、看板の設置が重要といえる。看板がない禁漁区では看板の新設が必要である。また、看板は風雨や積雪によって劣化するため、状況に応じて更新することが望ましい。

2 : 産卵場所の立地条件

今回の調査により、岐阜県におけるヤマメ・アマゴおよびイワナの産卵場所の標高、水面幅、河床勾配が解明された。これらの知見は、水系内で自然繁殖の適地を抽出する際の基準として役立つものと考えられる。標高については、この基準を他の都道府県にはそのまま適用することはできないが、水面幅や河床勾配については先行研究で得られている知見と大きな差異はなく、他の都道府県においても適用可能であると考えられる。

3：支流から本流へのしみ出し

今回の調査は、先行研究（河野ほか2007；Tsuboi et al. 2022）より大きい規模の本流を対象とした。

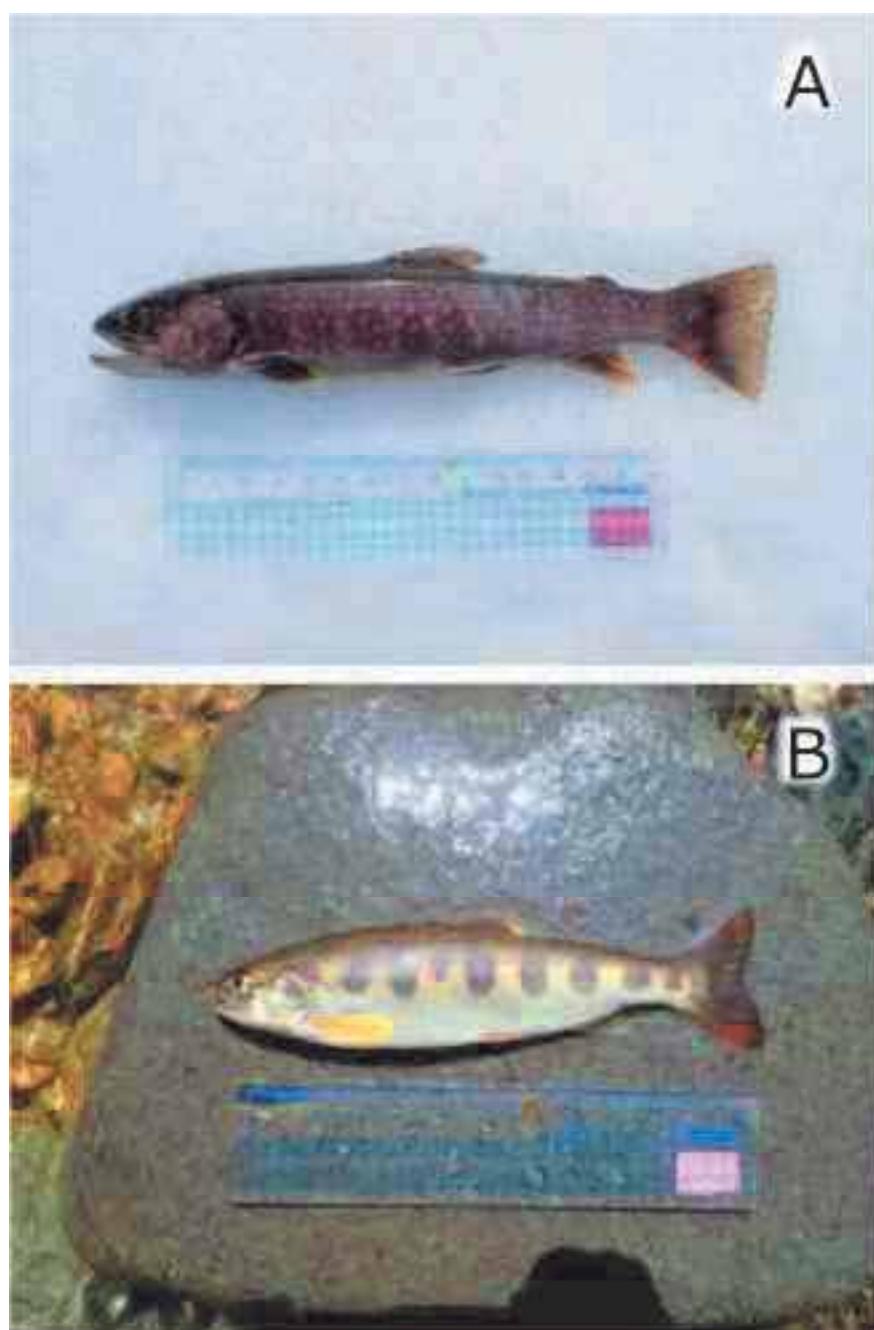


図2. 本流で発見された標識個体の例（A：蒲田川で発見された全長215 mmのイワナ、
B：一ツ梨谷で発見された全長170 mmのアマゴ）

調査の結果、前年に支流で標識した個体が本流で発見され、そうした規模の本流でもしみ出しという現象が実在することが確認された。また、一部は全長15cm未満であったが、大部分の個体が15cmに到達していることが確認され、漁獲対象として利用可能であることが確認された。

以上の課題1～3により、禁漁区における渓流魚の生息状況、禁漁区の看板の効果、自然繁殖の適地が明らかにされた。自然繁殖の適地はヤマメ・アマゴおよびイワナとともに支流に存在すること、イワナは特に規模の小さい支流に存在することが示唆された。今後、禁漁区を新設する場合は、そうした支流を選定とともに、看板の設置や更新に取り組むことが効果的であろう。また、支流から本流への渓流魚のしみ出しという現象が実証された。支流に禁漁区を設定した場合、そこでは遊漁はできなくなるが、支流からしみ出す自然繁殖魚によって本流での遊漁に効果が波及すると考えられる。自然繁殖魚の持続的利用に向けて、今回得られた知見が渓流漁場のゾーニング管理（中村・飯田2009）に活用されることを期待したい。

参考文献

- 岸大弼・辻寛人・藤井亮吏・大原健一・徳原哲也（2016）飛騨地方の渓流におけるイワナおよびヤマメ・アマゴの産卵場所の標高・河床勾配・水面幅. 岐阜県水産研究所研究報告 61, 1-9
- 岸大弼・徳原哲也（2012）飛騨地方南部の飛騨川支流群における魚類相. 岐阜県河川環境研究所研究報告 57, 1-10
- 河野成実・細江昭・山本聰・小川滋（2007）禁漁河川で人為的にイワナを除去した区域の資源回復. 長野県水産試験場研究報告 9, 1-4
- 中村智幸（1999）鬼怒川上流におけるイワナ、ヤマメの産卵床の立地条件の比較. 日本水産学会誌 65, 427-433
- 中村智幸・飯田遙（2009）「水産総合研究センター叢書 守る・増やす渓流魚 イワナとヤマメの保全・増殖・釣り場作り」農山漁村文化協会 136頁
- 中村智幸・岸大弼・徳原哲也・片岡佳孝・菅原和宏・亀甲武志（2022）ヤマメ・アマゴの種苗放流の増殖効果の検証. 水産技術 15, 17-38
- 中村智幸・丸山隆・渡邊精一（2001）禁漁後の河川型イワナ個体群の増大. 日本水産学会誌 67, 105-107
- 重倉基希・傳田郁夫・小川滋・熊川真二・築坂正美・上島剛・北野聰・山本聰（2014）上流河川に設けた禁漁区におけるイワナ産卵量の増加. 長野県水産試験場研究報告 15, 12-20
- 杉若圭一・竹内勝巳・鈴木研一・永田光博・宮本真人・川村洋司（1999）厚田川におけるサクラマス産卵床の分布と構造. 北海道立水産孵化場研究報告 53, 11-28
- 徳原哲也・岸大弼・原徹・熊崎博（2010）河川放流した養殖アマゴ成熟親魚の産卵床立地条件と

卵の発眼率. 日本水産学会誌 76, 370-374.

Tsuboi J, Morita K, Koseki Y, Endo S, Sahashi G, Kishi D, Kikko T, Ishizaki D, Nunokawa M, Kanno Y
(2022) Small giants: Tributaries rescue spatially structured populations from extirpation in a highly
fragmented stream. J Appl Ecol 59, 1997-2009

担当者

平成30～令和4 年度 岐阜県水産研究所 岸 大弼

3. 漁場環境に応じた資源増殖等の手法開発のとりまとめ

滋賀県水産試験場

要旨

アマゴの継代養殖魚の春稚魚放流における適正サイズを検証したところ、2g前後の小型サイズの種苗を放流した場合に費用対効果が高くなった。イワナの禁漁による増殖効果を検証したところ、禁漁区内で生まれた稚魚の流下が確認された。春に生まれた稚魚の秋までの流下距離は100m未満であり、流下した個体は10%程度であった。しかし、下流の生息密度が低い年の場合には当歳魚の50%以上が上流由来になると推定された。また、当歳秋以降や1歳魚以上のイワナの禁漁区内から禁漁区外への移動が確認され、平均移動距離は555mと稚魚よりも長かった。また、流下のしやすさには生息密度が影響することが示唆された。

全期間を通じた課題目標及び計画

〈アマゴ継代養殖稚魚の春放流の適正サイズの検証〉

現在、渓流魚の春稚魚放流では2~10gの種苗を用いて4~6月に行われている。しかし、2~10gのうち放流効果の高い種苗サイズについては検討されていない。そこで本課題では、アマゴ継代養殖稚魚を用いて春放流の適正サイズについて放流試験で明らかにすることを目的とする。犬上川上流域において、サイズの異なるアマゴ継代養殖稚魚を同時または順次放流し、標識再捕法により定期的に個体数推定を行うとともに、生残、成長についても調べる。

〈イワナにおける禁漁の増殖効果の検証〉

渓流魚の漁場管理策の一つとして禁漁がある。禁漁が効果的であるという報告はいくつかあるが、禁漁で増えた魚をどのように有効に利用するかについて検討する必要がある。そこで本課題では、禁漁によって増えた魚が、禁漁区域外へ移動するか否かについて調べることを目的とする。現在、禁漁になっている姉川上流のナガレモンイワナ生息域において禁漁区内でイワナを標識し、そのイワナが非禁漁区である下流域へ移動するか否かを調べる。

方法

〈アマゴ継代養殖稚魚の春放流の適正サイズの検証〉

放流試験に用いた種苗は醒井養鱒場で種苗放流用に継代されているアマゴを用いた。放流場所は滋賀県内の犬上川水系および姉川水系、鴨川水系の支流で行った（表1、図1）。放流方法は2018年度から2022年度にかけてサイズの異なる稚魚を同時に放流する同時放流と、2018年度から2020年度にかけて1ヶ月毎に小さな稚魚から順番に放流する順次放流の2種類の試験を行った。

同時放流は放流時期の野生当歳魚より小型の 2.0g サイズと放流時期の野生当歳魚と同程度のサイズの 2 種類の種苗を放流し、2018 年度から 2020 年度は 6 月下旬に 2.0g サイズと、6.1g サイズを放流した。2021 年度から 2022 年度は 5 月中旬に 2.0g サイズと 5.0g サイズを放流した。放流密度は 2018 年度から 2019 年度は醒井養鱒場の種苗放流用の販売単価に基づき同じ経費で購入でき

表 1 アマゴ放流調査河川の概要

河川名	区間名	区間長(m)	平均川幅(m)	水表面積(m ²)	勾配
犬上川	犬上1	363	5.4	1,960	1.2%
	犬上2	201	5.0	1,005	1.8%
	犬上3	368	4.1	1,509	3.8%
	犬上4	401	4.0	1,604	5.1%
姉川	姉川1	425	4.6	1,955	3.6%
	姉川2	215	4.6	989	4.0%
鴨川	鴨川	215	6.3	1,197	3.3%

る尾数 (1 m²あたり 0.05 尾から 0.08 尾) とし、2020 年度から 2022

年度は各サイズ 1 m²あたり 0.1 尾とした。順次放流は放流時期の野生当歳魚と同程度のサイズを順次放流し、4 月下旬から 6 月上旬にかけて 0.5g、1.4g、3.5g、5.3g 種苗を放流した。放流密度は同じ経費で購入できる尾数とした (1 m²あたり 0.06 尾から 0.12 尾、表 2)。放流種苗の標識は 0.5g 種苗ではアブラビレを切除し、その他の種苗はイラストマー蛍光タグを用いて放流群ごとに異なる標識を付けて区別した。

放流後、放流魚の成長ならびに生残率を評価するために同時放流では概ね 2か月後および 4か月後 (以下、当年秋)、ならびに翌年 4 月頃 (以下、翌年春) に、順次放流では最後の放流から概ね 2か月後および 4か月後 (当年秋)、翌年 4 月頃 (翌年春) にエレクトリックフィッシュナーを用いて採捕調査を行った。個体数推定は 2 回の採捕による Petersen 法の Chapman の修正式 (Chapman

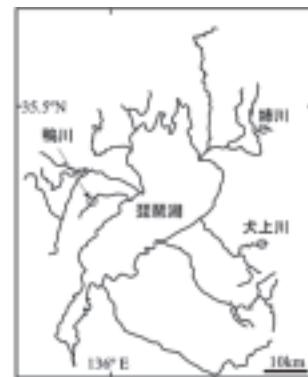


図 1 調査河川

表 2 放流種苗の一覧

放流方法	放流年度	区間	放流サイズ	放流日	放流尾数
同時放流	2018	犬上1	2.0g, 6.1g	7/1	84, 48
		犬上2	2.0g, 6.1g		155, 89
	2019	犬上2	2.0g, 6.1g	7/1	84, 48
		犬上3	2.0g, 6.1g		155, 89
2020	2020	姉川1	2.0g, 6.1g	6/25	160, 160
		姉川2	2.0g, 6.1g		80, 80
	2021	犬上3	2.0g, 5.0g	5/28	151, 151
		鴨川	2.0g, 5.0g		119, 119
2022	2022	犬上3	2.0g, 5.0g	5/27	151, 151
		鴨川	2.0g, 5.0g		119, 119
	2018	犬上3	1.4g, 3.4g, 5.3g	5/2, 5/31, 6/25	174, 124, 97
		犬上4	1.4g, 3.4g, 5.3g		193, 138, 108
順次放流	2019	犬上3	1.4g, 3.4g, 5.3g	5/8, 5/29, 7/1	174, 124, 97
		犬上4	1.4g, 3.4g, 5.3g		193, 138, 108
	2020	犬上5	0.5g, 1.4g, 3.4g	4/19, 5/8, 5/29	115, 91, 65
		犬上2	0.5g, 1.4g, 3.4g		230, 188, 135

1951) もしくは 2 回除去法 (White et al.、 1982; Program CAPTURE www.mbr-pwrc.usgs.gov/software/capture.html の model M(bh)) により求めた。採捕時には標識の種類を確認するとともに、尾叉長を mm 単位まで、重量を 0.1g 単位まで測定し、採捕魚の尾鰭上端を一部切除してから放流した。Petersen 法の 2 回目の採捕の際には、1 回目でも採捕された個体は標識の種類の確認ならびに尾叉長のみを測定した。

各年度の放流試験における当年秋および翌年春時点での生残率と醒井養鱒場でのサイズ別の放流用種苗単価比から、評価時点で1尾の魚を残すために必要な経費を放流コストとして算出した。同時放流は2.0g種苗、順次放流は1.4g種苗に対する放流コストの比率を費用対効果とした。

表3 アマゴ種苗サイズと種苗単価

種苗サイズ	同時放流試験			順次放流試験			
	2.0g	5.0g	6.1g	0.5g	1.4g	3.4g	5.3g
種苗単価(円/尾)	7.99	12.26	13.83	5.86	7.15	9.99	12.69
単価比	1.0	1.5	1.7	0.8	1.0	1.4	1.8

〈イワナにおける禁漁の増殖効果の検証〉

現在禁漁になっている姉川上流のナガレモンイワナ生息域において調査を行った(図2、表3)。この河川の禁漁区上流部に生息するイワナは全てナガレモン模様であり、禁漁区下流部と支流上流部にはナガレモン模様と普通模様のイワナが混生している(Kikko et.al. 2022)。2018年度は7~8月に禁漁区内の調査区間(禁漁区下流部:流程670m)において、エレクトリックフィッシャーで採捕したすべてのナガレモンイワナの脂鰭を切り再放流した。その後7/11、9/3、11/2に禁漁区域の下流域(流程410m、非禁漁区)で調査を行い、脂鰭を切ったナガレモンイワナが採捕されるかを調べた。2019年度から2022年度は4月から5月にかけて禁漁区内の上流域(以下、禁漁区上流:流程440m)において、稚魚ネットで採捕したすべてのナガレモンイワナ当歳魚の尾叉長および体重を測定後、脂鰭を切り再放流した(表4)。2021年度および2022年度は禁漁区内の支流の上流(以下、支流上流:流程260m)に生息する普通タイプのイワナ当歳魚にも同様に脂鰭切除標識を行い、測定後再放流した。春の採捕調査では2020年以降は30~40m単位で採捕位置を記録した。その後、10月から11月に禁漁区上流部および禁漁区下流部で脂鰭を切ったイワナが採捕されるかエレクトリックフィッシャーにより採捕調査を行うとともに、採捕されたすべての個体にイラストマー蛍光タグにより個体識別標識を施し、それまでの調査で標識済みの個体は標識(イラストマー、脂鰭切除)を確認した。採捕位置は10m毎に記録した。

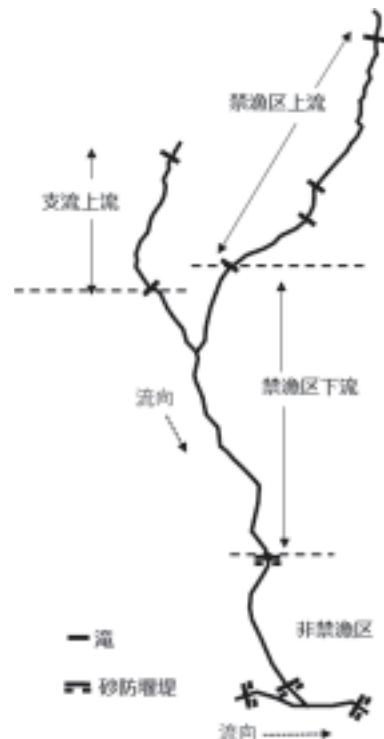


図2 ナガレモンイワナ生息河川の調査区域

また、非禁漁区において、採捕調査を行い（2018年は3回、2019年度は5回、2020年度は5回、2021年度は3回、2022年度は4回）、禁漁区内で個体識別標識ないしは脂鰭を切除されたイ

ワナの出現状況を確認した。標識個体の移動距離は最後に採捕された地点から非禁漁区の上流端までの距離とし、非禁漁区の姉川本流との合流部にある堰堤より本流側で採捕された個体はその堰堤までの距離とした。

また、2021年度から2022年度は現在禁漁となっている姉川水系カラオ谷（表3）でも砂防堰堤で区切られた調査区間を設定し（上流区間、下流区間）、3月から5月に禁漁区内の上流区間（流程425m）で稚魚ネットにより採捕したすべてのイワナ当歳魚の尾叉長および体重を測定後、脂鰭を切除し再放流した（表4）。採捕位置は50m毎に記録した。その後10月から11月にかけて禁漁区全域（流程640m）でエレクトリックフィッシャーにより採捕調査を行い、脂鰭を切ったイワナが採捕されるか調べるとともに、25m毎に採捕位置を記録した。

個体数推定にはいずれの河川でも2回の採捕調査を行い、Petersen法のChapmanの修正式（Chapman 1951）により求めた。採捕魚の体長組成から、当歳魚と1歳以上魚に分けて個体数を推定した。2021年と2022年については下流部の推定当歳魚生息尾数と標識当歳魚の推定生息尾数ならびに標識魚の下流への移動割合から、下流部における上流由来の当歳魚個体数を試算した。下流部で確認された標識魚の移動距離は上流部と下流部の境界からの採捕位置までの距離とした。

ナガレモンイワナ生息河川では2011年以降、継続的に調査が行われており、普通模様と混生している禁漁区下流部のナガレモンイワナの出現頻度が2011年の50%から2020年には94%と増加傾向であることから、禁漁区上流部からのナガレモンイワナの流下が禁漁区下流部のナガレモンイワナの出現頻度の増加に影響している可能性を検討するため、ナガレモンイワナと普通模様の交配試験を行った。組み合わせは禁漁区内のナガレモンイワナ同士を交配させた試験区（1組）、禁漁区内のナガレモンイワナのオスと普通模様のイワナのメスを交配させた試験区（1組）、ナガレモンイワナが出現しない石田川水系産の飼育オスと禁漁区内のナガレモンイワナのメスを交配させた試験区（3組）の計5組とした。2020年10月にナガレモンイワナ生息河川で成熟親魚をエ

表3 イワナ稚魚標識河川の概要

河川	区間名	区間長(m)	平均川幅(m)	勾配
ナガレモンイワナ生息河川	禁漁区上流	440	1.9	15.0%
	禁漁区下流	670	2.2	14.6%
	支流上流	260	1.5	14.0%
	非禁漁区	410	3.9	8.3%
カラオ谷	上流区間	425	4.6	3.6%
	下流区間	215	4.6	4.0%

表4 2019年から2022年に実施したイワナ稚魚標識の概要

標識場所	年度	標識期間	春標識尾数	尾叉長（平均±SD:mm）
ナガレモンイワナ生息河川	2019	5/15-5/30	130	32.4±3.9
	2020	4/24-5/12	291	30.4±3.7
	2021	4/19-5/10	286	28.1±2.9
	2022	4/24-5/24	343	28.9±3.8
ナガレモンイワナ生息河川	2021	4/19-5/6	62	30.9±2.9
	2022	5/16-5/31	23	36.1±4.2
カラオ谷上流	2021	3/30-4/15	72	28±3.7
	2022	4/7-4/26	68	28.6±4.4

レクトリックフィッシャーで採捕し、現地で採卵、採精した後、親魚はその場で放流した。卵および精子は持ち帰ってから受精させて飼育した。全長 30 mm程度で模様が判別できるまで育成し、体側の模様を判別した。

渓流魚の生息密度は環境収容力に影響され、競合生物との関係や餌料環境、水量など、様々な要因が影響すると考えられる。イワナ生息密度の変化に影響を及ぼす要因を解析するため、当歳魚と 1 歳以上魚との関係に着目し、禁漁区上流部および下流部の当歳魚密度ならびに 1 歳以上魚密度と調査河川付近の観測地点における 4 月から 10 月までの 1 日当たり 40 mm 以上の降雨があった日数の 5 項目を指標として、指標間の関係性と影響をパス解析により解析を行った。降雨日数は他のすべての項目に、禁漁区上流部から下流部、1 歳魚から当歳魚への影響を仮定した。モデルの評価は χ^2 検定によりモデル全体の適合を判断し、 $CFI \geq 0.9$ 、 $RMSEA \leq 0.05$ をモデル適合基準とした。有意水準を $P < 0.05$ として、モデル内の有意でないパスを除去し、AIC を指標として AIC が最小となるモデルをベストモデルとした。

結果

〈アマゴ継代養殖稚魚の春放流の適正サイズの検証〉

同時放流試験は 2018 年の放流試験の事例では放流後それぞれ成長したが、翌年 4 月時点での平均尾叉長は 2.0g 種苗（放流時 55.5 mm）が 121.6 mm および 121.5 mm に対し、6.1g 種苗（放流時 83.0 mm）は 146.0 mm および 145.0 mm で 6.1g 種苗の方が大きかった（図 3）。他の年度においても 6 月下旬に放流した 2.0g 種苗より 6.1g 種苗ないしは 5.0g 種苗の方が尾叉長は大きく推移し、放流時のサイズ差が逆転することはなかった。また、5 月下旬に放流した 2.0g 種苗と 5.0g 種苗でも同様の傾向を示した。当年秋時点の尾叉長は 2.0g、5.0g、6.1g 種苗の各年度の平均でそれぞれ 88.6 mm、103.5 mm、112.2 mm であった。同様に放流翌春時点ではそれぞれ 120.3 mm、145.1 mm、134.6 mm であった。各試

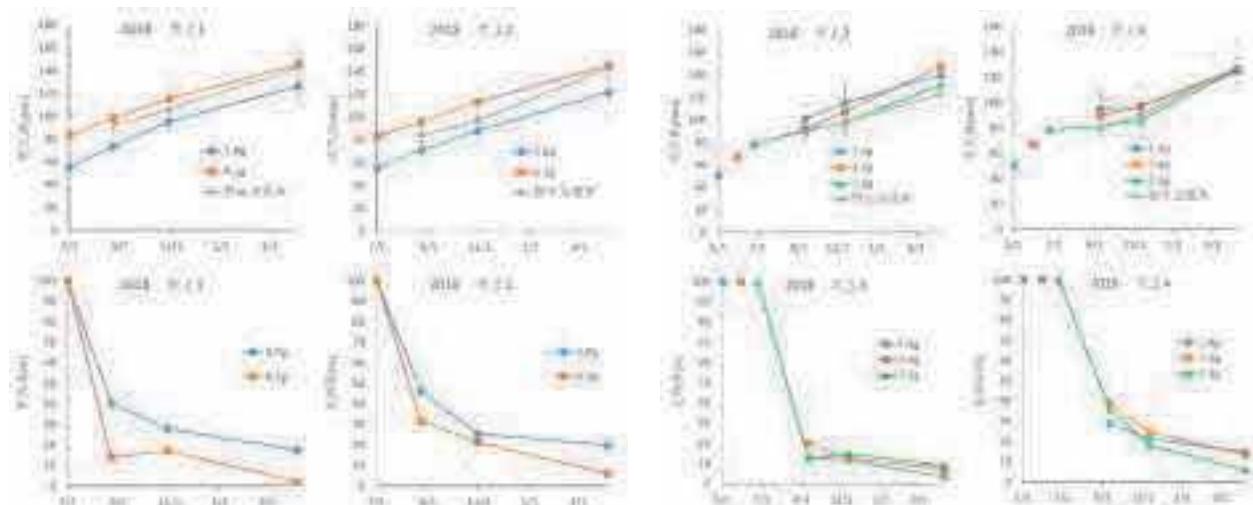


図 3 2018 年度の同時放流試験結果（上段：尾叉長、下段：生残率、エラーバー：標準偏差）

図 4 2018 年度の順次放流試験結果（上段：尾叉長、下段：生残率、エラーバー：標準偏差）

験の平均生残率は当年秋の時点では2.0g種苗で22.6%、5.0g種苗で23.9%、6.1g種苗で21.5%であり、大きな差は認められなかった。翌4月時点の平均生残率は2.0g種苗で10.3%、5.0g種苗で3.3%、6.1g種苗で6.0%であり、小型の2.0g種苗の生残率が高い傾向を示した。

順次放流試験は2018年の放流試験の事例では1.4g、3.4g、5.3g種苗を放流し、翌年春の時点での平均尾叉長は犬上3の区間においてはそれぞれ140.0、147.5、131.0mm、犬上4の区間では125.8、126.8、125.8mmであった（図4）。他の年度でも特定の放流サイズの成長が高い事例はなく、平均尾叉長に明確な傾向は認められなかった。生残率は同時放流と同様、年度ごと、試験区ごとに大きく異なっていた。翌年春の0.5g、1.4g、3.4g、5.3g種苗の平均生残率がそれぞれ2.8、7.0、8.2、9.8%で放流サイズが大きいほど生残率が高い傾向であり、特に0.5g種苗の生残率が低かった。順次放流は放流サイズごとの放流時期が異なるため、放流日から翌年春の調査までの日数と生残率から算出された、各サイズの1日あたりの死亡率（%）は0.27-0.30であった。

同時放流試験では秋から春にかけて大型種苗の生残率が低下する現象が認められ、同時放流試験の放流当年秋時点の尾叉長が大きいほど当年秋から翌年春までの生残率が低下する関係がみられた（図5、Spearmanの順位相関係数 $r = -0.72, P < 0.01$ ）。

放流サイズ別の費用対効果は、同時放流では2.0g種苗を基準（1.0）とすると、放流した当年秋の時点では5.0g種苗が 0.80 ± 0.13 （平均±SE）、6.1g種苗が 0.57 ± 0.20 で2.0g種苗の費用対効果が高い傾向であった。翌年春時点では5.0g種苗が 0.45 ± 0.07 、6.1g種苗が 0.34 ± 0.18 であり（図6）、2.0g種苗との費用対効果の差が拡大した。順次放流では1.4g種苗を基準とすると、放流年秋

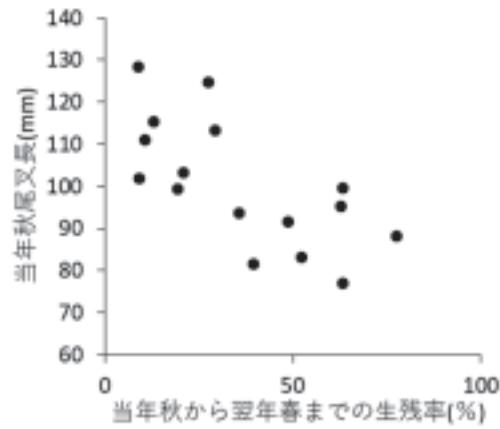


図 5 同時放流試験における生残率と尾叉長の関係

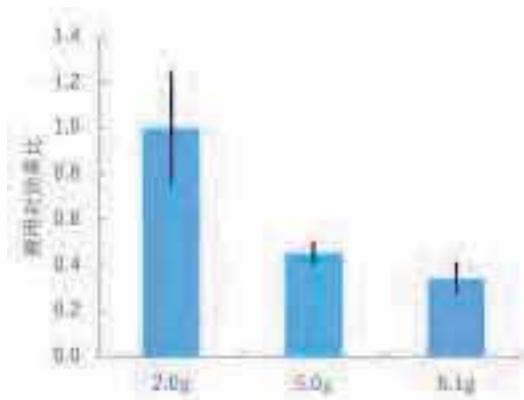


図 6 同時放流試験の放流翌年春時点の費用対効果（エラーバーは標準誤差）

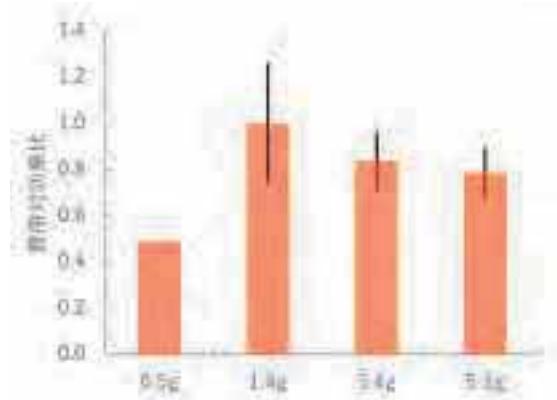


図 7 順次放流試験の放流翌年春時点の費用対効果（エラーバーは標準誤差）

時点では0.5g種苗が 0.55 ± 0.07 、3.4g種苗が 0.86 ± 0.26 、5.3g種苗が 0.64 ± 0.13 で1.4g種苗の費用対効果が高い傾向であった。翌年春時点では0.5g種苗が 0.49 、3.4種苗が 0.84 ± 0.32 、5.3g種苗が 0.79 ± 0.24 で放流年秋と同様に1.4g種苗の費用対効果が高い傾向であった（図7）。

〈イワナにおける禁漁の増殖効果の検証〉

禁漁区域内の2018年から2022年の秋の推定生息密度（個体±95%信頼区間/100m²）はナガレモンイワナ生息河川の禁漁区上流部で当歳魚が 7.1 ± 2.5 から 26.6 ± 4.4 、1歳以上魚が 8.2 ± 2.0 から 18.1 ± 6.4 で推移した。禁漁区下流部では当歳魚が 3.6 ± 0.8 から 22.2 ± 2.9 、1歳以上魚が 3.7 ± 0.9 から 8.2 ± 1.4 であった（図8）。カラオ谷では2020年から2022年秋の推定生息密度は上流部で当歳魚が 7.6 ± 0.9 から 17.7 ± 4.0 、1歳以上魚が 2.3 ± 0.4 から 4.4 ± 0.7 で推移した。下流部では当歳魚が 3.1 ± 0.9 から 12.0 ± 5.4 、1歳以上魚が 0.7 ± 0.3 から 1.6 ± 0.5 で推移した（図9）。

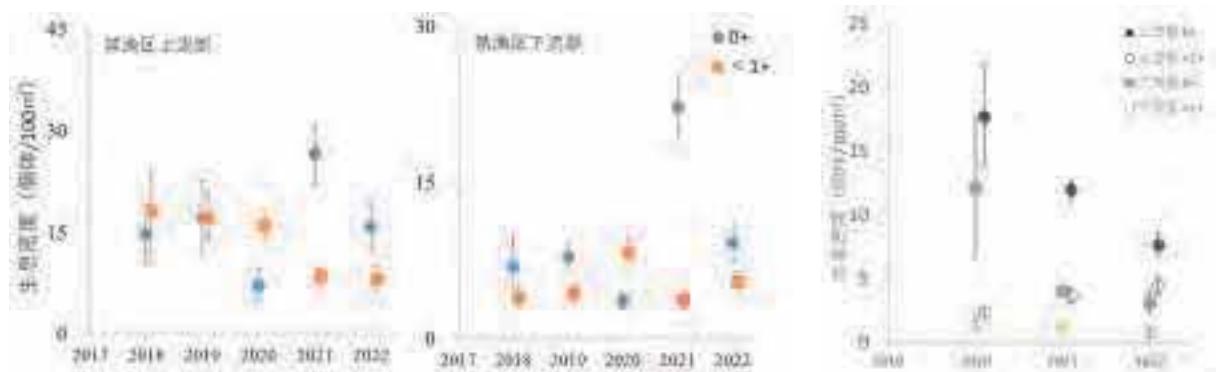


図8 ナガレモンイワナ生息河川の生息密度の推移

ナガレモンイワナ生息河川における2018年の調査では禁漁区下流部で標識した個体を禁漁区外で採捕することはできなかった。2019年から2022年の調査では禁漁区上流で春に標識したイワナ稚魚のうち、秋の調査時点では禁漁区全体で3.9～25.2%の個体が生残しており、このうち、禁漁区下流部へ移動した個体の割合は0～40.7%であった（表5）。支流上流部では秋の調査時点の生残率が2021年および2022年で24.2、47.8%であり、下流への移動割合は13.3、27.3%であった。カラオ谷も2021年は生残率が46.2%、下流への移動率が9.0%であった。2022年は生残率が46.7%、下流への移

図9 カラオ谷の生息密度の推移

表5 イワナ稚魚標識採捕の結果

標識場所	年度	春標識 個体数	秋推定 個体数	生残率	下流への 移動率	平均移動距離 (m)
	2019	130	18.9	14.5%	40.7%	60.0
ナガレモンイワナ	2020	291	11.4	3.9%	0.0%	-
禁漁区上流	2021	286	72.1	25.2%	10.8%	70.0
	2022	343	57.6	16.8%	6.9%	37.5
ナガレモンイワナ	2021	62	15.0	24.2%	13.3%	75.0
支流上流	2022	23	11.0	47.8%	27.3%	55.0
カラオ谷	2021	72	33.3	46.2%	9.0%	83.3
上流区間	2022	68	31.8	46.7%	9.4%	75.0

表6 禁漁区上流部由来の稚魚の寄与率

調査河川	調査年度	下流部の当歳魚個体数	うち、上流由来の個体数	上流からの移動個体の寄与率
ナガレモンイワナ	2021	409	51	13%
生息河川	2022	170	52	30%
カラオ谷	2021	40	23	58%
	2022	31	16	51%

動率が9.4%であった。

禁漁区下流部の当歳魚生息尾数と標識魚の生息尾数、下流への移動率から、下流部における上流由来の個体数を試算したところ、ナガレモンイワナ生息河川では2021年は13%、2022年は30%が上流由来と推定された。カラオ谷では同様に58、51%と推定された（表6）。

標識魚の移動距離はいずれの河川も100m未満であり、全河川の平均で65.1mであった。また、標識魚の採捕場所は春の標識時点から下流側へ移動する傾向があった。当歳魚の平均体長はナガレモンイワナ生息河川においては禁漁区上流と下流で概ね同じであったが、標識魚に限ってみると、上流より下流の方が小型の傾向であった。一方、カラオ谷では当歳魚全体でも標識魚でも下流の方が上流より大型の傾向であった。（図10）

禁漁区外での採捕調査の結果、2018年から2022年にかけて19回の調査において禁漁区内でイラストマーないしは脂鰭切除標識された36個体が採捕された。このうち、30個体は2021年11月から2022年9月にかけて採捕されており、24個体が2021年生まれであった。禁漁区内での標識場所が特定できた個体の移動距離は40～1,170mで平均は555mであった。また、採捕時の体長と移動距離は小型の個体ほど移動距離が長い傾向があった（図11）。

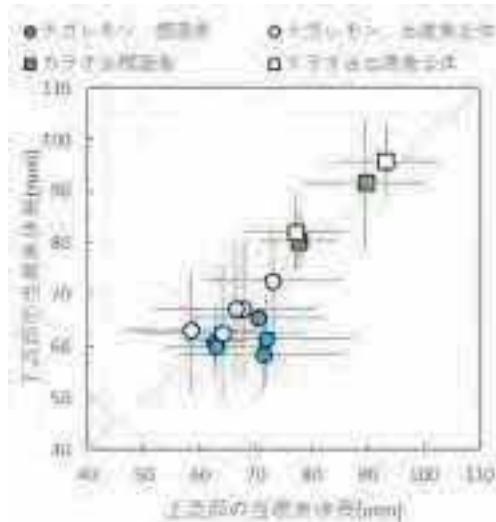


図10 上流部と下流部で採捕された当歳魚の体長

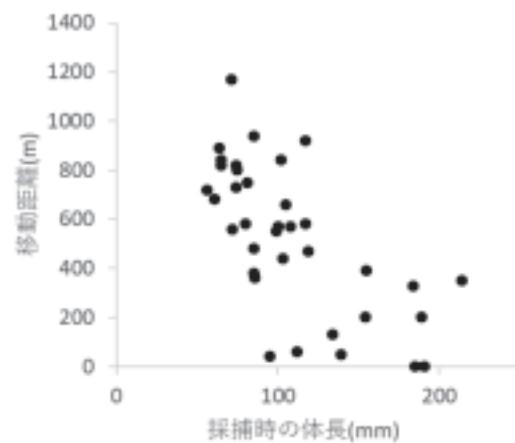


図11 禁漁区外で採捕されたイワナの体長と移動距離の関係

交配試験の結果、86～161個の受精卵が得られ、そのうち56～135尾の稚魚が得られた。ナガレモンイワナ同士を交配させた試験区からは全てナガレモンイワナが得られ、ナガレモンイワナと禁漁区内の普通イワナを交配させた試験区からはナガレモンイワナと普通イワナが概ね1対1で得られた。別河川の普通イワナとナガレモンイワナを交配させた試験区からは全て普通イワナが得られた（表7）。

パス解析の結果、すべてのパス係数が有意 ($p<0.05$) でAICが最小となるモデルとして、40mm以上の降雨日数から禁漁区上流部の1歳以上魚密度のパス、禁漁区上流部の1歳魚以上魚密度から禁漁区上流部の当歳魚密度へのパス、禁漁区上流部の当歳魚密度から禁漁区下流部の当歳魚密度へのパスを持つモデルが採用された。モデルの適合度は $p<0.05$ 、CFI>0.99、RMSEA<0.01で許容される値であった。禁漁区下流部の1歳以上魚密度は他のパラメータとの関係性は認められなかった。

表 7 ナガレモンイワナと普通イワナの交配試験の結果

試験	オス由来	メス由来	卵数 (個)	稚魚(尾)	
				ナガレモン模様 [%]	普通模様 [%]
①	禁漁区上流部 ナガレモンイワナ	禁漁区下流部 ナガレモンイワナ	156	135 [100%]	0 [0%]
②	禁漁区上流部 ナガレモンイワナ	禁漁区下流部 普通イワナ	90	32 [57%]	24 [43%]
③	石田川 普通イワナ	禁漁区上流部 ナガレモンイワナ	86	0 [0%]	77 [100%]
④	石田川 普通イワナ	禁漁区上流部 ナガレモンイワナ	131	0 [0%]	114 [100%]
⑤	石田川 普通イワナ	禁漁区下流部 ナガレモンイワナ	161	0 [0%]	133 [100%]



図 12 パス解析によるベストモデルのパス図

考察

〈アマゴ継代養殖稚魚の春放流の適正サイズの検証〉

放流試験の結果、同時放流では放流時期の野生当歳魚より小型のサイズである2.0g種苗は、放流時期の野生当歳魚と同程度のサイズである5.0g、6.1g種苗よりも成長は低かった。サイズの異なる種苗を同時に放流したため、放流時のサイズ差がそのまま反映されたと考えられる。当年秋の時点ではどの種苗サイズの平均尾叉長も滋賀県の漁獲制限体長である全長120mm（尾叉長換算で114mm）に満たなかったが、翌年春の時点は最も小さい2.0g種苗でも尾叉長120.3mmまで成長していた。平均生残率は同時放流では当年秋の時点はどの種苗サイズでも同程度であったが、翌年春には2.0g種苗の平均生残率が5.0 g、6.1g種苗よりも高い傾向を示した。このことから、同時放流では成長の観点からは大型種苗の方が成長は良いものの、生残率の観点では小型種苗の方が高いと考えられた。

順次放流では種苗サイズによる明確な傾向は認められなかったが、いずれの種苗サイズでも放流翌年春の時点では平均尾叉長が117.1～131.5mmであり、滋賀県の漁獲制限サイズを上回った。生残率は同時放流とは異なり、大型の5.3g種苗の生残率が最も高くなかった。順次放流では大型の種苗ほど放流時期が遅いことから、大型種苗の生残率が高くなつたと考えられ、放流から翌年春までの1日当たりの死亡率は種苗サイズによる違いは認められなかつた。このことから、順次放流では成長、生残率において種苗サイズによる顕著な差はないと考えられた。

溪流魚ではなわばかりを持つ性質があることから、同種内において体サイズの大きい個体が優位になり、成長や生残率が高くなると考えられる（中村2008）。イワナでは放流サイズが大きいほうが生残率は高かつた（群馬県水産試験場 本報告書）。しかし、アマゴにおいては小型魚の生残率

に顕著な差が見られなかった要因として、溪流魚の中でもアマゴやヤマメはイワナよりも順位性が強いことや（山本 1991）、イワナよりも河川幅が比較的広い場所に生活することから、小型魚でも当年秋までの生残率が低下しなかった可能性が考えられた。また、アマゴは発育段階に応じて生活空間を変える（名越ら1988）ことから、大型魚との生活空間の重複が少なく、当年秋までの生残率に顕著な差が生じなかつたことも要因の一つとして考えられた。放流当年秋から翌年春までに生残率が大きく低下する事例があったが、同時放流の結果を解析すると、当年秋の体長が大型であるほど当年秋から翌年春までの生残率が低くなる傾向があった。冬季に大型魚が減少する要因としては、減耗（死亡）や調査区間外への移出が考えられる。冬季の減耗の要因として考えられる餌料環境については調査を行っていないが、大型種苗は先住の成魚と同じ環境を利用する（名越ら1988）ことで競合が生じている可能性がある。一方、調査区間外への移出については、ヤマメでは成長に伴い小支流から本流へ移動することや大きい淵へ移動すること（久保田ら 2001）が知られており、アマゴでも冬季により大きな空間を求めて下流に移動した可能性がある。また、アマゴは当歳の秋に降海型のスマルトになる個体が出てくることが知られている。琵琶湖ではアマゴの種苗放流が開始されて以降、以前は漁獲されなかつた、サツキマスが漁獲されるようになっている。このため、当年秋から翌年春までに調査区間内からいなくなつた個体の一部は降下した可能性が考えられた。

大型魚の方が種苗単価は高く、同じ生残率であれば、種苗単価の安価な小型魚の方が費用対効果は高くなる。そのため、同時放流では放流翌年春の時点で小型の2.0g種苗の生残率が高いことから、大型の5.0g、6.1g種苗よりも費用対効果が2倍以上高くなつた。順次放流でも生残率は大型種苗の方が高かつたが、費用対効果は1.4g種苗が最も高くなつた。最も小型である0.5g種苗は種苗単価が安いものの、生残率が特に低いことから費用対効果が低下したと考えられる。また、費用対効果を評価するうえでは種苗サイズごとの価格差が大きく影響を及ぼす。内部資料であるため具体的な数値は示さないが、7県のアマゴとヤマメの種苗サイズごとの単価比を求めたところ、滋賀県の種苗単価比とほぼ同様であったことから、本研究でのアマゴの放流サイズによる費用対効果は一般的な傾向であると考えられた。これらのことから同時放流と順次放流では放流手法は異なるものの、アマゴの春稚魚放流においては2g前後のサイズの費用対効果が最も高くなると考えられた。今後は大型種苗の放流効果が低下する要因を検討し、種苗放流の効果向上に努める必要がある。

〈イワナにおける禁漁の増殖効果の検証〉

春に標識したイワナ稚魚は春から秋の間に禁漁区内の上流区間から下流区間へ移動することが明らかになつた。また、各年度の平均移動距離はいずれも100m未満であった。イワナは稚魚のうちから餌生物をめぐって競争することが知られており（前川1977）、本調査でも、ある場所で稚魚を捕獲した後、しばらく観察すると同じ場所に最初に捕獲した個体より小さい別の稚魚が出現することがあった。小型の個体は採捕場所付近に隠れており、元々いた個体が捕獲され、空いた場

所に進出してきたと推察される。しかし、同所的に複数の個体が採捕されたことは、なわばり性があっても調査河川では複数の個体が共存できる環境が備わっていたと推察される。中村・土居(2009)によると、イワナ発眼卵のふ化率は93.2~99.0%であり、発眼卵から当年10月までの生残率は4.9~6.8%であったことから、文献値から計算されたふ化後から10月までの生残率は4.9~7.3%であった。本調査では浮上後間もない個体に標識を行っており、標識個体の秋までの生残率はナガレモンイワナ生息河川では2020年の3.9%を除くと14.5~47.8%であることから、既往知見(中村・土居 2009)よりも高いと考えられる。このことから調査河川では稚魚の生息場所が豊富であるなど、生息環境が良好であったため、当歳秋までの下流への移動距離が小さくなった可能性がある。別の可能性としては、小型の稚魚は長距離の流下の中で減耗していることも考えられた。

2018年の調査では流下が確認されなかつたが、有峰湖の流入河川において、イワナの稚魚の流下ピークは5月であり(山本ら 1992)、稚魚のうちから餌生物をめぐって競争する(前川 1977)ことからも、イワナ稚魚の流下は主に春に起こると推察される。2018年は標識を行った時期が7~8月であり、稚魚が移動する時期を過ぎていたために、下流への移動が確認されなかつたと考えられた。また、2019年の禁漁区上流と2022年の支流上流の採捕調査は5月中旬から実施したが、調査河川では他の年度では4月中旬には浮上した稚魚が採捕されはじめていた。2019年に採捕した稚魚が他の年度より大型であったことから、2019年の調査では遅れて浮上した稚魚が採捕の主体であったと考えられ、下流への移動率が高く見積もられたと推測された。2020年調査では下流への移動が確認できなかつたが、この年は春から秋までの生残率が3.9%と低かったことから、下流への移動を評価できなかつたと推察された。標識魚のうち、下流へ移動した個体と上流で採捕された個体を比較すると、ナガレモンイワナ生息河川では下流へ移動した個体の方が小型の傾向であったことから、競争により劣位となった個体が下流へ移動したと推察された。一方、カラオ谷は下流の方が上流より体サイズが大きい傾向であったが、カラオ谷の下流区間はイワナの生息密度が低いことから、流下後の成長速度が上流よりも早く、下流の方が大きくなつた可能性が考えられた。調査河川で春から秋にかけて流下した尾数は標識した当歳魚全体からみれば一部であるものの、下流区間の当歳魚に占める上流由来の当歳魚の割合はナガレモンイワナ生息河川では13~30%、カラオ谷では51~58%と寄与率は高かつた。特にカラオ谷は下流区間でイワナ生息密度が低いことから、上流から流下した個体の寄与度が大きいと考えられた。

禁漁区内から禁漁区外へ移動した標識魚は当歳魚や1歳魚以上、成熟した親魚まで多様であった。2020年のように複数回調査を行っても標識魚が1尾も採捕されなかつた年もあるが、2021年11月から2022年9月にかけては禁漁区外で確認された標識魚全体の80%以上が確認された。禁漁区下流部の当歳魚密度は2021年には 100m^2 あたり22.2個体で、2021年を除く2018~2022年の3.6~9.2個体よりも2倍以上高かつた。また、2021年10月は滋賀県内で降水量が少なく、平年値の25%にとどまつたことから(気象庁ホームページ)、河川の水量も減少傾向であった。これらのことことが相乗的に働き、禁漁区内では生息密度が高くなり、下流へ移動する個体が増加したと推察される。な

お、禁漁区外への標識魚の流下が確認されなかった2020年は禁漁区下流の当歳魚密度は3.6個体/100m²と調査期間中、最も低かったために、禁漁区外への移動が少なかった可能性がある。禁漁区内における当歳春から秋までの移動は100m未満であり、禁漁区外の採捕調査でも春から夏までに標識した当歳魚は調査期間を通して確認されていない。一方、当歳の秋以降から禁漁区外に移動した個体は最も長い個体で移動距離が1,170mであり、平均でも555mと当歳秋までの移動距離より顕著に長かった。採捕時の体長と移動距離は小型個体ほど移動距離が長い傾向があったが、下流への移動が競争により元の生活場所を追い出されて新しい場所を探すために起きているとすれば、小型の個体の方が新しい場所を探すためにより多くの距離を移動する必要が生じたことは合理的と考えられる。2021年秋に多くの標識魚が確認された場所は浅く、通常は大型個体が採捕されない環境であった。このように禁漁区内から下流に流下した個体が定着するためには、定着できるためのニッチが必要であると考えられる。例えば下流側で遊漁が行われている場合は、遊漁により大型魚が除去され、流下した個体が定着することで資源を補充する効果が期待される。

交配試験の結果から、ナガレモン模様同士の交配からはナガレモン模様が生まれること、ナガレモン模様と禁漁区下流部の普通模様からは概ね1対1で稚魚が得られたこと、他の河川の普通模様とナガレモン模様を交配するとすべて普通模様が得られたことから、ナガレモン模様の個体は普通模様に対して劣性遺伝であると考えられた。禁漁区下流部の生息密度は特に減少していないことや、禁漁区下流部で普通模様が再生産に関与すれば、優性である普通模様の比率が増加すると推測されることから、禁漁区下流部でナガレモンイワナの出現率が増加する原因としては上流部からの流下の影響が大きいと推察された。また、パス解析からも禁漁区上流部の当歳魚から禁漁区下流部の当歳魚へ正の影響があったことから、下流への流下が起きていることが資源解析からも支持された。反対にこれらの結果は、禁漁区下流部での再生産が低調であることを示唆している。上述の通り2020年の禁漁区外での採捕調査では禁漁区内から禁漁区外へ流下が確認されなかったが、禁漁区下流部での再生産が低下している現状が、禁漁区上流部から流下した個体が個体密度の禁漁区下流部での滞留や、禁漁区外への流下量を低下させている可能性がある。

これらのことから、禁漁区からの下流域への資源添加は春から秋までの当歳魚だけでなく当歳の秋以降や親魚サイズなど多様な時期に起きていることや、その機能発揮には禁漁区内の密度が高くなる必要があると考えられた。また、禁漁区から禁漁区外への資源添加効果を効果的に発揮するためには、禁漁区に設定しようとする支流の下流端付近でも再生産が活発に行われている支流を禁漁区に設定することが重要であると考えられた。

参考文献

- Chapman DG (1951) Some properties of hypergeometric distribution with application to zoological census. Univ. Calif. Publ. Stat., 1, 131–160.

- Kikko, T., M. Kuwahara, K. I. Iguchi, S. Kurumi, S. Yamamoto, Y. Kai, and K. Nakayama. 2008.
- Mitochondrial DNA population structure of the white-spotted charr (*Salvelinus leucomaenoides*) in the Lake Biwa water system. *Zool. Sci.*, 25: 146-153.
- White GC, Anderson DR, Burnham KP, Otis DL (1982) Capture-recapture and removal methods for sampling closed populations. Los Alamos National Laboratory LA-8787-NERP, Los Alamos, 235 p.
- 久保田仁志・中村智幸・丸山隆・渡邊精一 (2001) 小支流におけるイワナ、ヤマメ当歳魚の生息数、移動分散および成長. *日本水産学会誌*、67(4)、703-709.
- 中村智幸 (2008) イワナにおける放流された大型養殖稚魚が河川に生息する小型野生稚魚に及ぼす生態的影響の解明. 溪流域管理体制構築事業報告書. 水産庁. pp.140-146.
- 中村智幸・土居隆秀 (2009) 溪流におけるイワナ発眼卵放流由来群の生残、成長、密度および現存量. *日本水産学会誌*、75(2)、198-203.
- 名越誠・中野繁・徳田幸憲 (1988) 溪流域におけるアマゴの成長に伴う生息場所および食物利用の変化. *日本水産学会誌*、54(1)、33-38.
- 前川光司 (1977) 然別湖産イワナの変異性に関する研究I.発育と稚魚期の生活史. *日本生態学会誌*. 27、91-102.
- 山本聰 (1991) イワナ対ヤマメ・アマゴ その「すみわけ」現象の原因. イワナ その生態と釣り、つり人社. pp.113-118.
- 山本祥一郎・中野繁・徳田幸憲 (1992) 人造湖におけるイワナ *Salvelinus leucomaenoides* の生活史変異とその分岐. *日本生態学会誌*, 42(2), 149-157.

担当者

滋賀県水産試験場 菅原和宏 (平成30～令和元年度)、幡野真隆 (令和2～令和4年度)

天然色素を使用したワカサギの耳石標識技術とワカサギ卵の放流技術の開発

国立研究開発法人水産研究・教育機構
水産技術研究所 内水面グループ

要旨

ワカサギ仔魚の耳石標識の判定について客観性を担保するため、Adobe Photoshopを用いた画像解析による評価（以後、デジタル評価と呼ぶ）の有用性を検証した。その結果、従来用いられてきた目視による発色具合の評価（以後、目視評価と呼ぶ）との間に正の相関関係が認められた。さらに、モデル解析を行った結果、デジタル評価の結果を用いて解析を行ったほうが、目視よりも精度の良い判別が可能になると考えられた。

長期間（203日間）飼育したワカサギ個体の耳石標識を確認する際の手法開発を行った。その結果、①耳石の表裏を確認すること、②顕微鏡の倍率を200倍にして蛍光顕微鏡下で励起光を照射しながら速やかに耳石核にピントを合わせること、これらの要点をおさえることで、目視評価の結果が改善することを明らかにした。

垂下式の簡易ふ化器の開発をした結果、サラン綿（サランロックOM150-50 mmを観賞魚用ロカ綿で巻き付けたもの）を基材として使用すれば、落下卵の割合を比較的少なく、基材から抜け出せずに死亡する仔魚の数も少なくできることが水槽実験から明らかとなった。

耳石標識卵の粗放的な放流技術の開発を行うため、プラスチック製の人工芝と直径2–5cm程度の石を用いた発眼卵の埋設方法を水槽実験で検討した。その結果、底砂利の上に卵を散布した場合と比べて、ふ化のピーク時期や累積個体数に違いは認められず、人工芝を用いた放流方法のほうが卵を散布するよりも捕食や流出のリスクを抑え、安全にふ化放流できると考えられた。

全期間を通じた課題目標及び計画

ワカサギは、従来から漁業や遊漁の重要な対象種である。近年ではドーム船など女性や子供でも安心してワカサギ釣りができる施設が各地で増加しており、その費用便益が高いことから地元漁業協同組合や観光企業組合の経営を支えている（藍 2016、大浜 2016）。その一方で、増殖効果を把握する際に必要となる標識技術に関する知見が乏しく、資源管理を進めるうえで課題となっている。さらに、ワカサギの卵や仔稚魚の体サイズが極めて小さいことや標識対象となる個体数が膨大であることから、標識法は耳石標識等の着色法が有効と考えられる。従来、魚類の耳石標識には標識剤としてアリザリンコンプレクソン（ALC）が使用されていたが（桐生・内田 1993）、食の安全・安心の声が高まっていることや標識コストの面から代替品が望まれている（宮本 2016）。そこで、本事業では天然色素を用いたワカサギの耳石標識技術とその放流手法の開発を行うこと

とした。

方法

- (1) 標識技術の開発にあたり、従来行われてきた目視による耳石の標識確認は、主観的な判断に委ねる部分が多く、客觀性の担保が課題となっていた。そこで本研究では、画像解析ソフト（Adobe Photoshop）を用いて、蛍光顕微鏡下で撮影したワカサギ仔魚の耳石の写真から、発色部の平均RGB値を測定すること（以下、デジタル評価とする）で客觀性を担保した耳石評価指標づくりに取組んだ。デジタル評価の精度を調べるために、一般化線形モデル（GLM）を用いて目視評価とデジタル評価の解析を行い、それらの結果を比較した。目視評価ではポワソン分布を、デジタル評価では正規分布を当てはめて解析を行った。目視評価またはデジタル評価の結果を目的変数として、従属変数にはコチニール溶液への浸漬時間、コチニール溶液濃度とそれらの交互作用を用いた。モデル選択により、それぞれのベストモデルを構築し、目的変数に対する予測精度を評価した。なお、両者は解析に用いる分布がそれぞれ異なるため、疑似決定係数を指標として目的変数に対する当てはまりの良さを評価した。
- (2) 長野県水産試験場と山梨県水産技術センターが屋外池で長期間飼育したワカサギ（発眼卵期に耳石標識）を用いて、耳石標識の持続性を評価した。耳石標識の評価には、目視による4段階評価（1. 見えない、2. ぼんやり見える、3. 見える、4. 強く発光する）を行うと共に、検鏡時に撮影した写真から耳石の平均RGB値を測定（以下、デジタル評価と呼ぶ）した。顕微鏡下で耳石標識の確認を行う際、ピントを合わせる部分や耳石の配置等の要点をおさえることが標識の誤判定や過小評価を避けるために有効と考えられた。このため、標識確認の担当者に検鏡の要点を伝える前後で、同ワカサギ耳石サンプルを用いて目視およびデジタル評価を実施し、それらの結果を比較することで検鏡時の要点の有用性を検証した。
- (3) ワカサギ標識卵の簡易的な放流技術の開発を行うため、粘着除去した卵を用いて垂下式簡易ふ化器の有用性を水槽実験で評価した。ふ化器に適した材料を検討するため、99%遮光ネット、観賞魚用ロカ綿、サランロック OM150-50 mm およびサラン綿（サランロックを観賞魚用ロカ綿で巻き付けたもの）の有用性を検証した。ふ化器については、湖への設置を目的とするため、波浪等により卵が流されない構造が必要となる。そこで本研究では上記の材料を基材としてワカサギ卵を包み、玉ねぎネットに収容した後、水中で左右に10回揺らして落下した卵の重量を測定することで落下卵の割合を調べた。さらに卵の落下を防ぐことができても、基材内でふ化した仔魚が浮上できることや酸欠で死亡する恐れがあるため、ふ化後の材料内で死亡した仔魚の計数を行った。
- (4) ワカサギ標識卵の粗放的な放流技術の開発を行うため、プラスチック製の人工芝と直径2-

5 cm程度の石を用いた埋設式の発眼卵放流方法の有用性を水槽実験で検証した。2021年4月から5月にかけて、国立研究開発法人水産研究・教育機構日光庁舎にて、エアーレーションにより通気を施した10L水槽6つに0.5gずつワカサギ卵を収容して、ふ化実験を行った。湧水のかけ流した大型水槽内にウォーターバス方式で実験用水槽を設置して水槽内水温を9.3–9.8°Cの範囲に保った。実験期間中は、ワカサギ卵のふ化状況を評価するため、3日に1度、午前9時に水槽内のふ化仔魚の個体数を水槽上部から目視で確認して計数した。人工芝を設置した試験区（以下、人工芝区とする）では、水槽内の砂利を整地して、その上に芝生側を底面に向けたプラスチック製の人工芝を設置して、人工芝が動かぬよう、石を人工芝の四隅に設置した後、人工芝全体に卵を散布した。卵が人工芝下の底面に沈んだら、2–5 cmの石を人工芝の上面を覆うように設置した。人工芝区においては人工芝や石が卵の上面を覆うため、仔魚が浮上できること、通水性が失われて酸素が欠乏すること等のリスクが考えられた。この影響を評価するため、卵のみを水槽底面に散布した対照区との比較を行った。本実験では、人工芝区3つと対照区3つをランダムに配置し、両区のふ化個体数を比較することで人工芝区の有用性を検証した。

結果

- (1) Adobe Photoshopを用いた画像解析による評価（以後、デジタル評価と呼ぶ）の有用性を検証するため、従来行われてきた目視による発色具合の評価（以後、目視評価と呼ぶ）との関係を調べた。その結果、両者には正の相関関係が認められた ($p < 0.05$,スピアマン順位相関) (図1)。図1の結果から、目視評価では評価3（見える）における標準偏差がとりわけ広く、目視評価での精度の甘さが明らかとなった。実際、目視評価を3と判定したデータのうち、デジタル評価では最小値が15.67に対し、最大値が109.46と数値にして7倍近い違いが認められた (図2)。測定方法の違いが解析結果へ及ぼす影響を評価するため、一般化線形モデル (GLM) を用いて解析を行った結果、目視による評価とデジタル評価それぞれで、表1、2のベストモデルが選択された。モデルの目的変数に対する当てはまりの良さを疑似決定係数の指標であるAdj. McFaddenを用いて比較したところ、目視評価では0.173であるのに対し、デジタル評価では0.357を示した。
- (2) 耳石標識の持続性を検証した結果、長野県水産試験場で長期飼育（203日間）したワカサギ耳石の標識を確認することができた。なお、耳石の評価を行う際、以下の点に気を付けることで、ワカサギ幼魚や成魚についても研磨等の処理をすることなく標識を確認できると考えられた。①耳石の表裏を確認し、溝の無い面（外側）を観察すること (図3)、②顕微鏡の倍率を200倍にして蛍光顕微鏡下で励起光を照射しながら速やかに耳石核にピントを合わせること。この2つの要点を伝えることで、目視評価は平均 2.5 ± 0.81 から平均 3.0 ± 0.0 にまで改善した。さらにRGB値では、平均 33.27 ± 18.13 から平均 72.76

± 19.22 と有意な改善が認められた（対応のある t 検定、 $p < 0.001$ ）（図4）。山梨県水産技術センターが長期飼育したワカサギ個体（2020/9/1、10/12、11/9、12/7サンプリング）の耳石標識からRGB値を測定した結果、サンプル間の発色のばらつきが大きいことが明らかとなった（図5）。

- (3) 本研究では99%遮光ネット、観賞魚用ロカ綿、サランロックOM150–50 mmおよびサラン綿（サランロックを観賞魚用ロカ綿で巻き付けたもの）を用いてワカサギ卵を包み、玉ねぎネットに収容した後、水中で左右に10回揺らして落下した卵の重量を測定することで落下卵の割合を調べた。その結果、サラン綿を使用した場合は、落下卵の割合が極めて低いことが明らかとなった（図6）。さらに、サラン綿を使用してワカサギ卵のふ化実験を行ったところ、サラン綿から抜け出せずに死亡した仔魚の数は0–1.6%とわずかであった。
- (4) 耳石標識を施したワカサギ卵の放流技術の開発を行うため、プラスチック製の人工芝と直径2–5cm程度の石を用いた埋設式の放流方法の有用性を水槽実験で検証した（図7）。ふ化実験の結果、人工芝区、対照区ともに4/19にふ化仔魚が観察され始め、5/3以降、ふ化仔魚は観察されなくなった。ふ化個体数のピークは35–62個体であり、1つの対照区を除き、全ての実験区で4/23にふ化仔魚の観察個体数がピークを示した（図8）。累積ふ化個体数は、人工芝区で 124 ± 13.8 個体、対照区で 140 ± 12.1 個体であり、両者に統計的な有意差は認められなかった（ t 検定、 $p = 0.43$ ）（図9）。このように人工芝区では、卵を単に底面に散布した場合と変わらぬふ化状況であった。人工芝区の実証実験として、栃木県日光市に位置する湯の湖の湖岸にて、コチニール耳石標識を施した河口湖産のワカサギ卵（2021年は約350万粒、2022年は約300万粒、コチニールによる耳石標識は山梨県水産技術センターが実施）を3月から4月にかけて以下の手順で湖岸に埋設した。卵の埋設場所は、湖岸の水深15–30cm程度かつ、湖岸から湧水が湧き出る場所で実施した。初めに、卵を設置する場所の砂利を整え平地にし、卵の散布時に波や水流で卵が流出しないよう大型の塩化ビニール管（以下、塩ビ管とする。）を設置した（図10）。塩ビ管と底面の間に隙間があると、隙間から水と共に卵が流れ出るので、塩ビ管と底面の間は砂利等で隙間を埋め、塩ビ管内に人工芝（芝面を底にして）を設置した。人工芝の四隅にこぶし大の石を置き、浮き上がらないようしっかりと固定し、人工芝の全面にワカサギ標識卵を散布して人工芝下の底面へゆっくり沈降させた。一つの人工芝に入れる卵の量はメダカ用たも網の8分目の量を2–3回分程度とした。人工芝下の底砂利に卵が落ちたことを確認したら、2–5cm程度の石を人工芝の上に敷き詰めた。その後、ゆっくり塩ビ管を外し、周囲の砂利と同じレベルとなるよう段差をならして完了とした。本作業では1か所につき1名で発眼卵埋設に要した時間は15–20分程度であった。

考察

- (1) 耳石の発色具合をRGB値を用いて客観的に評価した結果、目視評価で評価3（見える）と判定したデータは、ばらつきが多く評価2（ぼんやり見える）程度の発色も評価3と判定してしまう場合が多いと考えられた。このように、RGB測定値を使用することで標識の発色具合を客観的に評価できるようになり、目視評価の問題点を抽出することができた。そして、デジタル評価結果を用いたほうが、溶液濃度や浸漬時間等の標識条件の変化が標識の発色具合に与える影響をより高い精度で解析できると考えられた。従来、目視による発色具合の判別については、その判定基準を養うために実施者は写真等でトレーニングを行う必要があった。この際、発色具合の判断を経験でカバーするのではなく数値で認識することで、実施者は発色評価の判断基準やその範囲をイメージしやすくなると予想される。またデジタル評価は、新しい蛍光顕微鏡で耳石標識の確認を行う際にも、基準標本等のRGB値を指標として使用することで、顕微鏡の設定や設置環境を調整する際にも役立つと考えられた。
- (2) 長期飼育個体の耳石の発色にバラつきが生じた原因是、大量標識の際に生じた濃度等の変化による問題と考えられる。耳石の大量標識については、最適な染色溶液量と供試卵量との関係を調査することで、染色時の標識のばらつきを緩和する技術が求められる。
(1)における調査では、RGB値を用いることで目視評価の判断基準の甘さが明らかとなつたが、本調査結果では、検鏡の要点をおさえることで誤判定を防止できると考えられた。このようにRGB値のような客観的な指標を用いることで、従来手法の改善点の抽出や、作業時の要点の重要性を評価することが可能となった。
- (3) 垂下式の簡易ふ化器の開発では、材料にサラン綿を使用することで卵の落下や仔魚の死亡を抑え、ワカサギ卵を安全にふ化させることができると考えられた。サラン綿については、ロカ綿を使用しているため水中の有機物や泥が多い場所での使用、長期間にわたる使用によって、綿が目詰まりをおこして卵が酸欠する恐れがある。このため、垂下式のふ化器を湖等で使用する場合には、ふ化直前の卵を水が澄んでいて波浪の影響を受けにくい場所で使用する必要がある。今後、ふ化器の実用化に向けて、収容する卵の数量や積算水温、ふ化器の設置場所等について検討する必要がある。
- (4) 埋設式の卵放流技術の開発に取り組んだ結果、石や人工芝を用いた放流方法は、卵の流出や外敵からの捕食を防ぐとともに、通水性の不足による酸素欠乏等の問題も起こりにくいと考えられた。耳石標識では、発眼したワカサギ卵をコチニール溶液に浸漬する必要があるが（Miyamoto et al. 2021）、シュロ杵等に付着させた卵を使用する場合は、シュロ杵等がかさばるために大型の容器と大量の溶液を用意する必要があり現実的ではない。また、シュロ杵等に付着した有機物が染色効果へ悪影響を及ぼすことも予想される。このため、コチニールによる耳石標識を行うには、陶土等により卵の粘着性を除去したワカサギ卵（以後、粘着除去卵）を標識溶液と共に筒型ふ化装置（以下、ふ化筒と

する）へ収容する方法が最も効率的と考えられる。近年、省スペースで集約的な卵管理が可能なことから（結城 2016）、粘着除去卵が種苗放流用にも普及しつつある。しかし、卵の管理とふ化仔魚の放流には、ふ化筒の使用が必要となるため、ふ化筒が導入されていない漁協では、粘着除去卵を扱うことが困難な状況にある。ワカサギの種卵確保・出荷が可能な湖沼では、近年、ふ化筒の整備が急速に進みつつあるため、今後、ふ化筒を導入できない零細な漁協では、ワカサギのふ化放流を断念せざる得ない状況に陥る可能性がある。本事業で技術開発に着手した標識卵の放流技術の開発については、粘着除去卵の放流技術としての応用が期待される。今後、実用化に向けて実証実験等により得られる成果をもとに、放流場所の条件や卵の適切な埋設量や積算水温等、そして放流時期について検討する必要がある。

参考文献

- Miyamoto, K., Hoshikawa, H., Nagura, J., Sawamoto, Y., Đorđević, M., & Ohta, K. (2022). Cochineal Dye Concentration and Treatment Time for Otolith Marking of Japanese Smelt Hypomesus nipponensis Embryos. *Transactions of the American Fisheries Society* 151 657-665.
- 結城陽介 (2016) 「芦ノ湖におけるワカサギ増殖の軌跡と将来について」 特集ワカサギの資源管理と増殖の実態と課題 海洋と生物 544-548.
- 藍憲一郎 (2016) 「千葉県高滝湖（人工湖）におけるワカサギ遊漁実態」 特集ワカサギの資源管理と増殖の実態と課題 海洋と生物 496-501.
- 大浜秀規 (2016) 「千葉県高滝湖（人工湖）におけるワカサギ遊漁実態」 特集ワカサギの資源管理と増殖の実態と課題 海洋と生物 502-506.
- 宮本幸太 (2016) 「今後のワカサギ研究への提案」 特集ワカサギの資源管理と増殖の実態と課題 海洋と生物 549-551.
- 桐生透, 内田和男 (1993) 「アリザリンコンプレクソンによるワカサギの耳石標識」. 山梨県魚苗センター事業報告書 53-57.

担当者

平成30～令和4年度 水産技術研究所 内水面研究グループ 宮本幸太

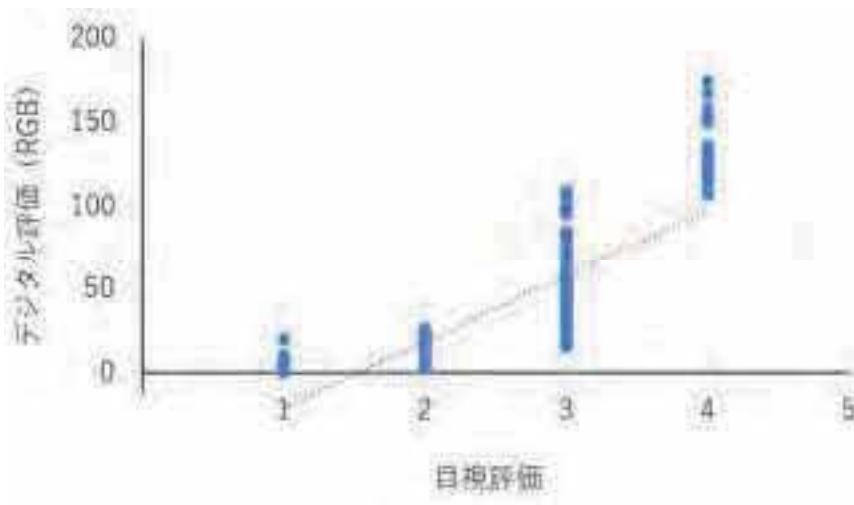


図1. 目視評価結果とデジタル評価結果との相関関係.



図2. 目視評価レベル3のうち、デジタル評価結果が最小値と最大値を示した写真

表1. 目視による評価結果を目的変数として選択されたベストモデルの説明変数

変数	係数	G ²	p
濃度	0.010	5.255	$p < 0.01$
時間	0.012	14.162	$p < 0.001$

表2. RGB測定値による評価結果を目的変数として選択されたベストモデルの説明変数

変数	係数	G ²	p
濃度	0.192	50.273	$p < 0.001$
時間	-2.068	48.299	$p < 0.001$
濃度 × 時間	0.059	16.389	$p < 0.001$

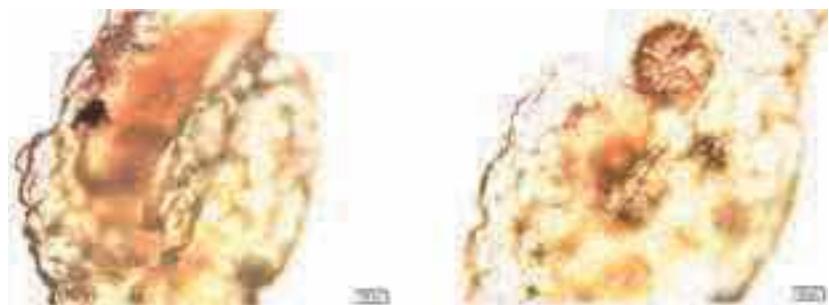


図3. 左写真は耳石の溝面、右写真は耳石の観察面、検鏡時は観察面を上にする。

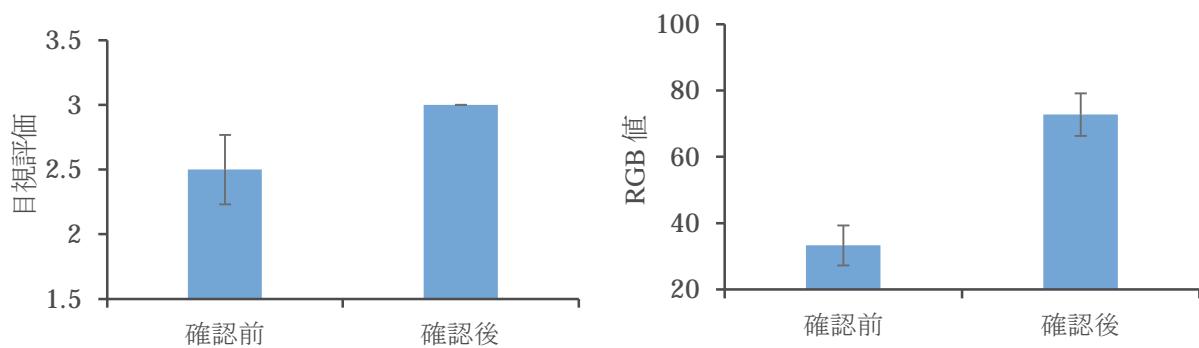


図4. 検鏡時における要点の確認前と確認後の目視判定結果と画像解析結果（平均値±標準偏差、サンプルは長野県水産試験場で長期飼育された個体：2020/12/14 サンプル）

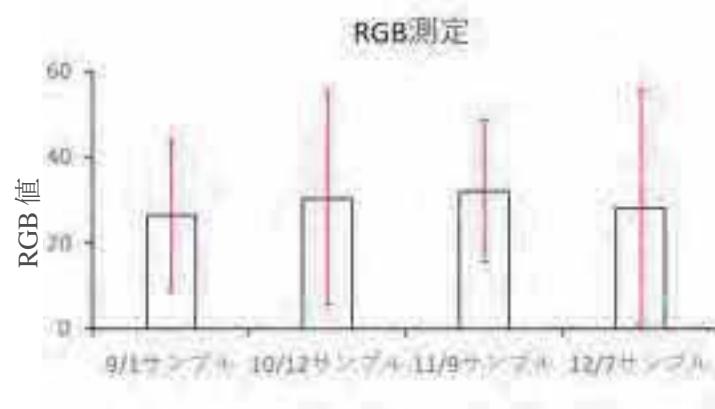


図5. 長期飼育した耳石標識個体の画像解析（RGB 値測定）結果（平均値±標準偏差、サンプルは山梨県水産技術センターで長期飼育された個体）

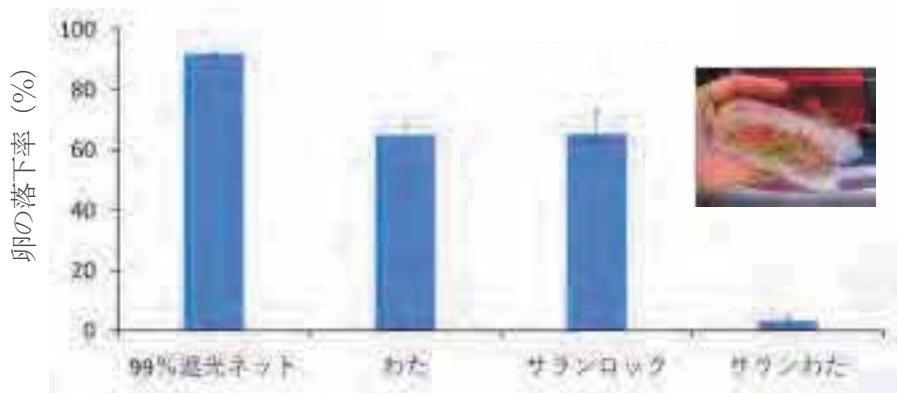


図6. それぞれの素材を用いてワカサギ卵を包み、水中で左右に揺らした際の卵の落下割合（平均値±標準偏差）



図7. 実験水槽と人工芝の様子

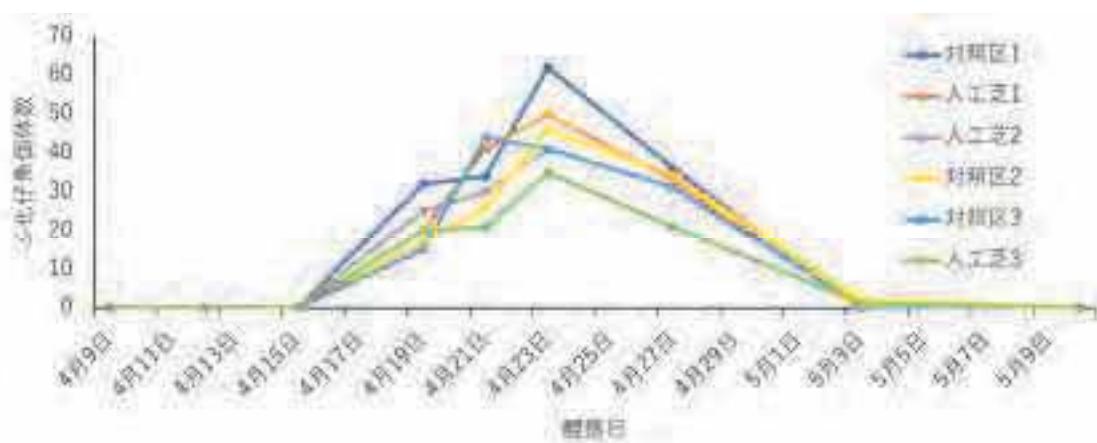


図8. 人工芝区と対照区で観察したふ化仔魚の個体数の変化

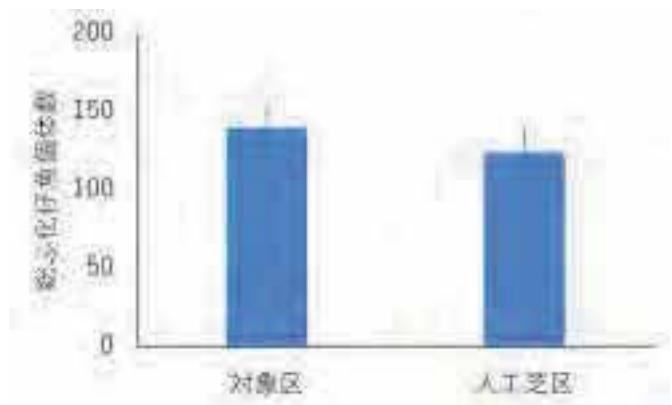


図9. 人工芝区と対照区で観察した累積ふ化仔魚個体

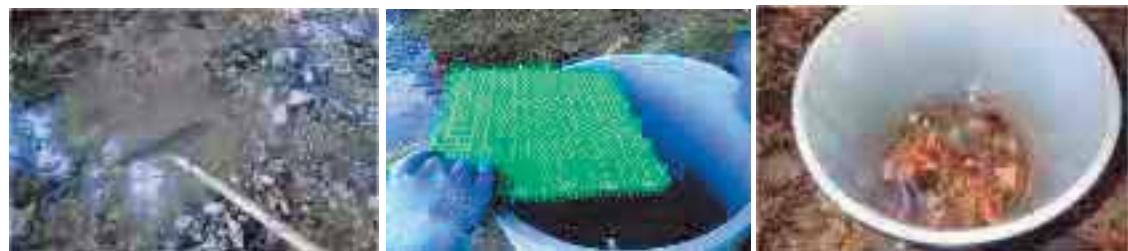


図10. 湯の湖の湖岸で人工芝を用いて耳石標識卵の放流場所を造成している様子

天然色素を使用した標識技術の開発および 開発された標識技術を使用した放流手法の開発

長野県水産試験場諒訪支場

要旨

天然色素による標識技術を開発するため、ワカサギ発眼卵を用い、条件を変えて、標識液に浸漬した結果、卵の積算水温が 75、115 および 125°C・日の発眼卵において、コチニール標識液の濃度 60g/L、水温 10°C、24 時間浸漬が良好な成績であった。

濃度 60g/L のコチニール標識液に 24 時間浸漬した発眼卵からふ化した標識魚を屋外円形水槽で飼育した結果、ふ化後 203 日（平均体長 72.5mm）まで未研磨で耳石標識が確認できた。

ふ化仔魚に対して標識を施した結果、濃度 4g/L および 5g/L のコチニール標識液に 24 時間浸漬した条件で、これまでの発眼卵標識と同程度の生残率および発色強度が得られた。

標識した発眼卵を長野県内の 2 湖沼へふ化放流した結果、釣獲サイズであっても標識が確認されたことから、自然湖沼においても標識放流の有効性が示された。

全期間を通じた課題目標及び計画

標識用の試薬として使用されてきたアリザリンコンプレクソン（以下、ALC）は食品としての安全性が確認されていないため、コチニールやラック等の天然色素剤による大量標識が可能な標識技術を開発する。また、開発された標識技術を使用した放流手法の開発を行う。

方法

標識液はコチニール色素（商品名：カルミンレッド MK-40、キリヤ化学株式会社）を、80°C 以上の熱水で溶かし、ホットプレートスターーラーを用いて 30 分間加温・攪拌して作製したものを作った（以下、標識液）。標識液は使用直前にも再攪拌してから各試験に用いた。供試発眼卵はシャーレ内で、8~10°C のインキュベーター内で管理しながら、所定濃度の標識液に所定時間浸漬した後、1 日以上汲み置きした水道水に入れ替えて、12°C のインキュベーター内でふ化まで飼育した。ふ化仔魚は飼育水ごと凍結し、保存した。耳石の蛍光発色の確認は、解凍したサンプルをスライドグラスに乗せ、テグス（0.3 号）をブリッジとしてカバーグラスで軽く圧扁し、蛍光顕微鏡の G 励起、200 倍の条件下で観察した。

試験（1）発眼卵に対する標識液の浸漬濃度および浸漬時間を検討するため、河口湖産のワカサギ発眼卵を 50 粒ずつ供試し、標識液濃度 0、40、50、60、70、80、90 および 100g/L に対し、浸漬時間を各濃度それぞれ 0、6、12、24、36、48、60 および 72 時間とした。標識の有効性は ALC で標識した発眼卵（浸漬濃度 0.1g/L、浸漬時間 24 時間）とふ化率および発色強度を比較して評価した。

試験（2）発眼卵に対する標識液の浸漬濃度および浸漬水温を検討するため、河口湖産の積算水温 75°C・日のワカサギ発眼卵を 50 粒ずつ供試し、標識液濃度 0、30、40、50、60 および 70g/L に 24 時間浸漬に対して、浸漬およびふ化までの管理水温を 10、15 および 20°C とした。試験（1）と同様にふ化率と発色強度を評価した。

試験（3）標識に適した発眼卵浸漬時期を検討するため、受精後の積算水温を基にふ化が始まるまでの 75、85、95、105、115、125、135、145、155 および 165°C・日に試験（2）と同一ロットの発眼卵 50 粒ずつを供試し、標識液濃度 0 および 60g/L に 24 時間浸漬した。浸漬およびふ化までの管理水温は 10、15 および 20°C とした。

試験（4）発眼卵へ施した耳石標識が長期に持続可能か検証するため、積算水温 105°C・日の発眼卵 10 万粒を標識液濃度 60g/L に 24 時間浸漬した（浸漬水温 12°C）。標識魚は屋外の水槽でシオミズツボワムシやアユ用配合飼料を給餌して飼育した。採捕した標識魚は体長を計測した後、検鏡まで冷凍保存した。なお、魚体から取り出した耳石は特に研磨しなかった。耳石の蛍光発色強度の評価する際、本試験と同じ浸漬条件となる、標識液濃度 60g/L に 24 時間浸漬した発眼卵を、標識直後の結果として用いた。

試験（5）標識のコチニール使用量を減らしコスト削減を図るため、ふ化仔魚に対する耳石標識を検討した。ふ化後 2 日以内のふ化仔魚を用いて標識液濃度 0、1、2、3、4 および 5g/L に対して、浸漬時間 24 時間、浸漬水温 12°C、光条件は恒暗とした。各試験区 50 尾供試した。標識の有効性は生残率（生残率（%）＝生残尾数/供試尾数×100）および耳石の発色強度で評価した。

試験（6）ふ化仔魚に対する耳石標識を検討するため、ふ化後 24 時間以内のふ化仔魚を用いて標識液濃度 0、4、6 および 8g/L に対して、試験（5）と同様に行った。各試験区 25 尾供試した。

試験（7）ふ化仔魚に対する適切な浸漬時間を検討するため、ふ化後 24 時間以内のふ化仔魚を用いて標識液濃度 0、4 および 5g/L に対して、浸漬時間を各濃度それぞれ 12、24、36、48 時間とした。それ以外の試験条件および評価は試験（5）と同様に行った。各試験区 50 尾供試した。

試験（8）自然の湖沼において耳石標識を施した発眼卵（以下、標識卵）のふ化放流が有効か実証するため、長野県内の美鈴湖および小花見池の 2ヶ所に標識卵をふ化放流した。各湖沼とともに標識卵とは別に独自に無標識卵も導入しており、美鈴湖ではふ化放流の前後で流入河川での自然再生産も確認した。各湖沼のふ化筒への標識卵の収容日、収容量、無標識卵の収容量および自然再生産の有無を表 1 に示した。各湖沼の放流には河口湖産の発眼卵を山梨県水産技術センターで積算水温 75～125°C、標識液濃度 60g/L、浸漬時間 24 時間、水温 15°C で標識したものを利用した。標識卵の一部は別途飼育し、そのふ化仔魚に標識されていることを確認した。放流後は、各湖沼において魚のサイズに合わせて金魚網（口径 230 mm×160 mm、全長 430 mm、メッシュ地のタモ網）、光を利用して集魚トラップおよび釣りによるサンプリングを行い、採捕したワカサギは検鏡まで冷凍保存した。耳石の検鏡は体サイズが大きいものについては耳石を取り出して実施した。なお、釣りによるサンプリングは各湖沼で日頃ワカサギ釣りをしている方々にもご協力いただいた。

結果

試験（1）発眼卵に対する標識の結果、ワカサギ発眼卵のふ化率は0～87.3%、耳石の蛍光発色強度は1.0～4.0であった（表2）。浸漬時間が長時間、浸漬濃度が高濃度になる程、ふ化率が低く、耳石の蛍光発色強度が強くなるトレードオフの関係が見られた。また、浸漬時間が72時間の試験区および浸漬濃度が90g/L以上の試験区では、ふ化率が25%未満となっており、それぞれふ化が得られる上限に近かった。一般的に使用されるALC標識は、ふ化率83.4%、蛍光発色強度4.0であった。本試験範囲内では、60g/L・24時間区、40g/L・36時間区および40g/L・48時間区が、ふ化率を維持しつつ蛍光発色強度が強く、ALCに次いで良好な結果であった。

試験（2）発眼卵のふ化率は2.0～100%、耳石の蛍光発色強度は1.0～4.0となった（表3）。浸漬濃度が高濃度、浸漬水温が高温になる程、ふ化率が低く、耳石の蛍光発色強度が強かった。

試験（3）標識液への浸漬時間中10°Cで管理した場合、0g/L区のふ化率は、発眼卵の積算水温が165°C・日まで大きく変化しなかったが（図1）、60g/L区のふ化率は0g/L区と比べて積算水温が95°C・日以降、有意に低くなり始め（ウェルチのt検定 ボンフェローニ補正）、135°C・日以降急減した。20および15°Cで管理した場合の60g/L区のふ化率は、75、85、95°C・日で、33.7～38.7%まで低下した。

試験（4）耳石標識の持続性を確認した結果、6月10日（ふ化後16日）、8月20日（ふ化後87日）および12月14日（ふ化後203日）の標識魚の平均体長は、それぞれ12.0、47.9および72.5mmであった。耳石の平均発色強度は、標識直後の2.6と6月の2.9、8月の2.5および12月の3.0との3組全てで有意差はなかった（図2、DUNNET法）。

試験（5）生残率はコチニール濃度0、1、2、3および4g/L区で変わらなかつたが、コチニール濃度5g/Lでは85%まで低下した（図3）。耳石の平均発色強度はコチニール濃度0g/L区を対照区とし、それ以外の5区と比較した結果、3、4および5g/L区で有意に高かつた（図3、DUNNET法 P<0.05）。

試験（6）生残率はコチニール濃度が4、6および8g/Lと高くなるにつれ、それぞれ83、4および0%と減少した（図4）。耳石の平均発色強度はコチニール濃度0g/L区を対照区とし、それ以外の3区と比較した結果、全ての区において有意に高かつた。同様に、コチニール濃度4g/L区を対照区として、6および8g/L区と比較した結果、発色強度に有意差はなかつた（図4、DUNNET法 P<0.05）。

試験（7）生残率は各浸漬時間ごとに0g/L区を対照区とし、それ以外の2区と比較した結果、コチニール濃度4g/Lの48時間区において80%と有意差があつた以外、いずれの区においても有意差はなかつた（図5、DUNNET法）。耳石の発色強度を各浸漬時間ごとに0g/L区を対照区とし、それ以外の2区と比較した結果、12時間浸漬ではコチニール濃度5g/L区が0g/L区よりも有意に高く、それ以外の浸漬時間ではコチニール濃度4および5g/L区が0g/L区よりも有意に高かつた（図5、DUNNET法）。

試験（8）美鈴湖でのサンプリングは令和4年6月24日、7月24日、8月2日、10月9日および10月26

日に計5回実施し、標識率はそれぞれ16、25、0、4および8%であった。小花見池でのサンプリングは令和4年5月27日、6月14日、7月31日、9月11日、9月25日および10月25日に計6回実施し、標識率はそれぞれ58、7、0、0、0、7%であった。両湖沼ともに採捕日によって標識魚の割合は異なるが、釣獲サイズであっても標識が確認できた（図6、図7）。

表1 美鈴湖および小花見池への標識卵の放流の概要

湖沼名	標識卵		無標識卵 卵数（万粒）	自然再生産の有無
	ふ化筒への収容日	卵数（万粒）		
美鈴湖	令和4年 4月14日～4月28日	1,000	2,000	あり
小花見池	4月18日	300	100	なし

表2 標識液浸漬によるワカサギ発眼卵のふ化率および耳石の発色強度

浸漬濃度 (g/L)	浸漬時間(時間)							
	0	6	12	24	36	48	60	72
0	◎ ×							
40	◎ ×	◎ ×	◎ △	○ ○	◎ ○	△ △	× ○	
50	◎ ×	◎ △	○ △	○ △	○ △	△ ○	× ○	
60	◎ ×	○ △	○ ○	△ ○	× △	× ○	× -	
70	◎ △	○ △	△ ○	× ○	× @	× -	× -	
80	△ △	× ◎	× ○	× -	× -	× -	× -	
90	× -	× -						
100	× -	× -						
ALC 0.1			◎ ◎					

表中の記号は、左側記号（発眼卵のふ化率）|右側記号（耳石の蛍光発色強度）を表す。

なお、ふ化率および蛍光発色強度は、それぞれ※1、※2に従う。

※1：ふ化率（%）：正常ふ化尾数/供試発眼卵数×100

◎：ふ化率≥75% ○：50–75% △：25–50% ×：<25%

※2：蛍光発色強度：「発色なし」を1、「うつすら見える」を2、「見える」を3、「ALCと同程度」を4として相対的に比較し、各条件区内での平均値を算出

◎：蛍光発色強度=4 ○：3–4 △：2–3 ×：1–2 −：検鏡個体なし

表3 各浸漬濃度・水温におけるふ化率と発色強度

コチニール 浸漬濃度 (g/L)	浸漬水温 (°C)		
	10	15	20
0	◎ ×	◎ ×	◎ ×
30	◎ ×	◎ ×	◎ △
40	◎ ×	◎ △	◎ △
50	◎ △	◎ △	◎ ○
60	◎ △	◎ △	× ○
70	△ △	△ ○	× ◎
ALC 0.1	◎ ◎	◎ ◎	◎ ◎

表中の記号は、
左側記号（発眼卵のふ化率） | 右側記号（耳石の蛍光
発色強度）を表す。

なお、ふ化率および蛍光発色強度は、それぞれ※1、
※2に従う。

※1：ふ化率 (%) : 正常ふ化尾数/供試発眼卵数 × 100

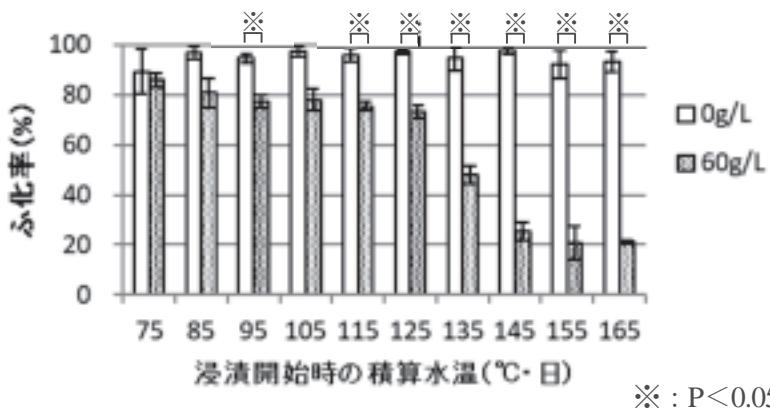
◎ : ふ化率 ≥ 75% ○ : 50–75% △ : 25–50%

× : < 25%

※2：蛍光発色強度 : 「発色なし」を1、「うっすら見える」を2、「見える」を3、「ALCと同程度」を4として
相対的に比較し、各条件区内での平均値を算出

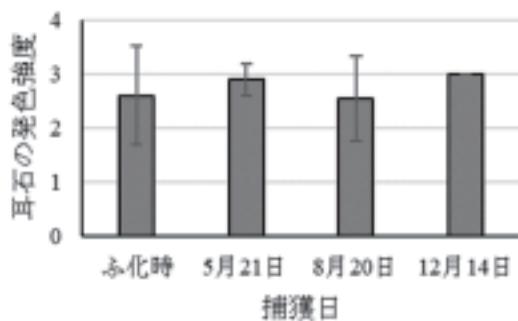
◎ : 蛍光発色強度 = 4 ○ : 3–4 △ : 2–3 × : 1–2

図1. 供試卵の積算水温の違いによるふ化率への影響 (浸漬水温 10°C)



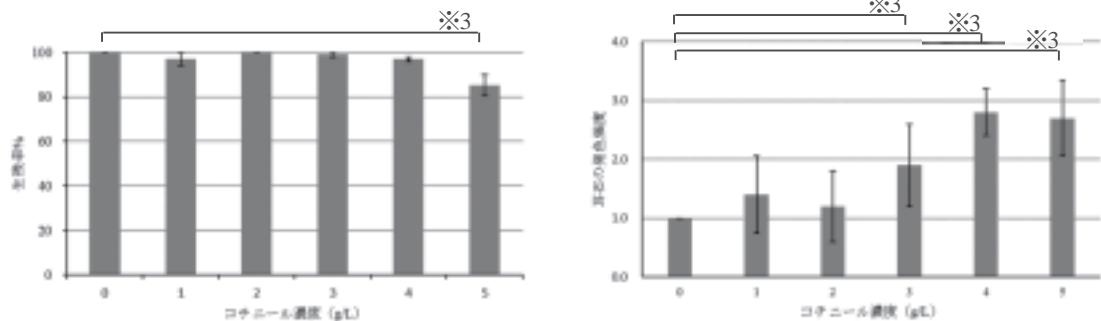
※ : P < 0.05

図2. 屋外円形水槽に放流した標識魚の採捕日別での耳石の平均発色強度※1



※1 : 発色なしを1、ALCの発色を4として相対的に比較
バーは標準偏差を示す

図3. ふ化仔魚へのコチニール標識液の濃度別での平均生残率※1 (%) および耳石の平均発色強度※2

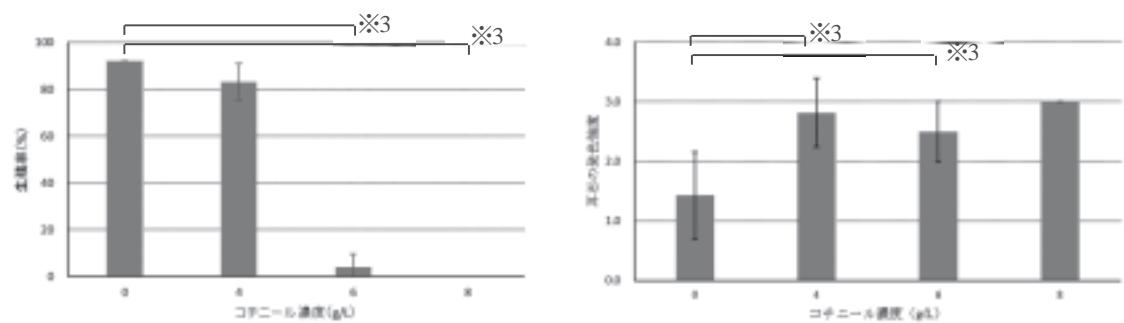


※1: バーは標準偏差を示す

※2: バーは標準偏差を示す

※3: 有意差あり (p<0.05)

図4. ふ化仔魚へのコチニール標識液の濃度別での平均生残率※1 (%) および耳石の平均発色強度※2

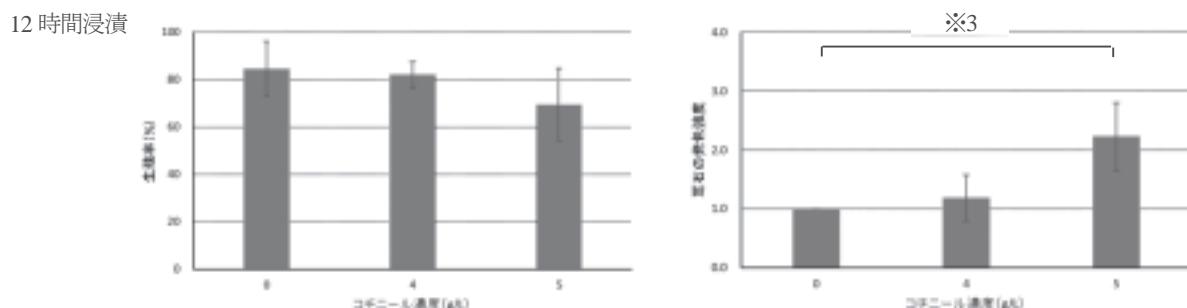


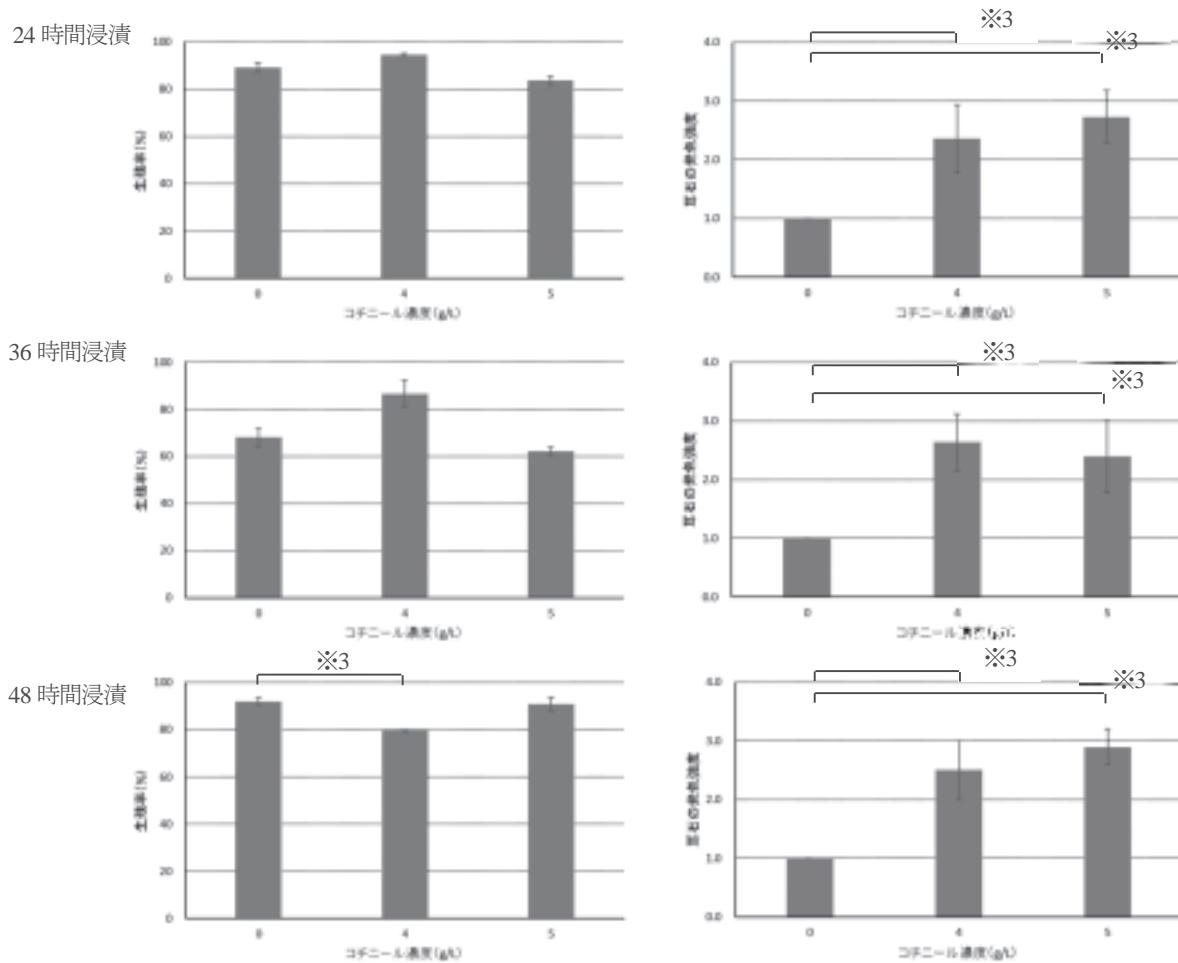
※1: バーは標準偏差を示す

※2: バーは標準偏差を示す

※3: 有意差あり (p<0.05)

図5. ふ化仔魚へのコチニール標識液の濃度別での平均生残率※1 (%) および耳石の平均発色強度※2





※1：バーは標準偏差を示す

※2：バーは標準偏差を示す

※3：有意差あり (p<0.05)

図6 美鈴湖で採捕したワカサギの標識魚の割合の推移

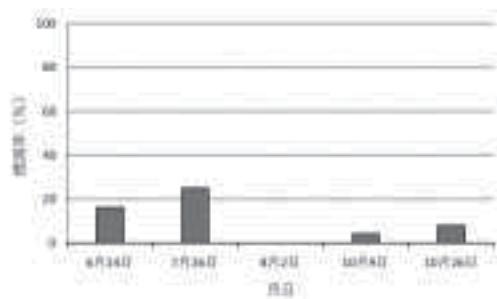
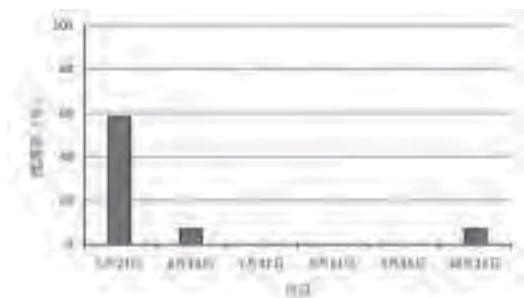


図7 小花見池で採捕したワカサギの標識魚の割合の推移



考察

これまでの発眼卵への標識試験の結果、実用上必要と考えられるふ化率80%、耳石の発色強度3に近い条件は、積算水温75～125°C・日の発眼卵を使用し、標識液濃度60g/L、浸漬時間24時間、浸漬・管理水温10°Cであった。また、上記の条件で標識を施した場合、ふ化直後に十分な発色強度が確認できれば体長70mm以上のふ化後203日の個体でも、未研磨のまま標識直後と変わらない強さで確認することができ、耳石標識の持続性が示された。

標識のコチニール使用量を減らすことでコスト削減を図れるかどうか、ふ化仔魚に対して耳石標識試験を行った。その結果、ふ化仔魚に対しても耳石標識は可能であり、その標識条件は標識液濃度4～5g/L、浸漬時間は最短でも24時間は必要と考えられた。このことから、ふ化仔魚への耳石標識に必要なコチニール使用量は発眼卵へのそれと比較しておよそ12～15分の1であり、コスト削減が見込める。しかし、ワカサギのふ化には数日かかるため、ふ化筒の中で標識を施すとした場合、早くふ化した個体と遅くふ化した個体では標識液への浸漬時間に差がでてしまふ。また、先行研究ではワカサギのふ化仔魚に対する給餌開始がふ化後3日以降では生残率が著しく低下するため、早くふ化した個体が標識液へ長時間浸漬されることは放流後の生残に影響する可能性が考えられる。今後、ふ化仔の標識放流後の生残を考慮しつつ効率的に標識するため、標識開始のタイミングの検討やふ化日調節技術の開発が求められる。

長野県内の自然湖沼へ標識発眼卵をふ化放流した結果、美鈴湖において釣獲サイズのワカサギからも標識魚が確認されたことから、本技術は標識放流として有効であることが示唆された。今後は放流卵のすべてを標識発眼卵由来とすることで資源に対する放流効果の検証や自然再生産の有無等の調査に活用されることが期待される。

参考文献

- 岩井寿夫・柘植隆行 1986. ワカサギ孵化仔魚の生残・成長に及ぼす給餌開始時期の影響. 水産増殖34巻2号

担当者

平成30～令和2年度 長野県水産試験場諏訪支場 星河 廣樹

令和3～4年度 長野県水産試験場諏訪支場 松澤 峻

1. 天然色素によるワカサギ耳石標識試験のとりまとめ

山梨県水産技術センター

要旨

ワカサギの耳石標識にはアリザリンコンプレクソンを用いる方法が知られているが¹⁾、より安全安心な標識技術を開発するため、天然色素（コチニール）を用いた標識方法について検討した。コチニールを用いて耳石に標識するためには、21%濃度のショ糖で7分間脱水処理を行った後に、60 g/L のコチニール溶液で24時間浸漬することで効率よく染色できることが判明した。

全期間を通じた課題目標及び計画

標識用の試薬として使用されてきたアリザリンコンプレクソン（ALC）の安全性は確認されていない。そこで、食の安全・安心のため、大量標識が可能な天然色素（コチニール）による標識技術を開発する。

方法

耳石標識発色強度の向上

ワカサギ発眼卵を天然色素コチニールで標識するための条件は、コチニール（キリヤ化学カルミンレッドMK-40）60g/L 溶液に24時間浸漬すると標識発光強度とふ化率のバランスが良いことが判明した（詳細は長野県から報告）²⁾。以下の試験では特別に記載がない限りこの条件で染色を実施した。山梨県では、ふ化率や発光強度を向上させるために以下の試験を実施した。なお、サンプリングしたワカサギは-20°Cもしくは-80°Cで冷凍保存し、長野県水産試験場の蛍光顕微鏡を用いて標識の発光強度を測定した。飼育試験以外のワカサギはふ化後2日以内にサンプリングした。発光強度は蛍光顕微鏡による目視判定（発色強度 1：確認できない 2：わずかに発光 3：発光 4：ALC並みに発光）およびPCによるRGB判定（詳細は水産研究・教育機構より報告）により行った。

(1) 染色液作製用溶媒およびふ化までの管理用水の検討 コチニールを溶解する用水およびふ化まで管理するために適切な用水を検討するために滅菌蒸留水および滅菌井水で60g/Lコチニール溶液を作成し、直径90mmのプラスチックシャーレに約200粒のワカサギ発眼卵を収容し24時間浸漬後に染色液を捨て、それぞれ滅菌蒸留水及び滅菌井水に置換して12°Cおよび25°Cに設定したインキュベーター内で管理し、ふ化率を測定した。コチニール溶液、滅菌蒸留水、滅菌井水は1シャーレあたり20mLを使用した。

(2) 発光強度の向上を図るための前処理方法の検討 コチニール染色液に浸漬する前に卵を脱水し、染色液を卵内に吸収させることを試みた。ワカサギ発眼卵をコチニール溶液に浸漬する直前に、ショ糖（神戸物産上白糖）やNaCl（Wako 試薬特級99.5%）溶液に浸漬し前処理を行った。

前処理用の溶液濃度はショ糖が 21%、NaCl は 2% 溶液を用いた。浸漬時間はショ糖溶液を 7 分浸漬後に井水で発眼卵を洗浄するショ糖区①と浸漬後そのままコチニール溶液に浸漬するショ糖区②およびショ糖溶液に 5 分間浸漬そのままコチニール液に浸漬するショ糖区③、2%NaCl 溶液に 30 分間浸漬する塩水区①、2%NaCl 溶液で 60 分前間浸漬する塩水区②を設定した。ワカサギ卵約 200 粒をそれぞれ前処理した後に 60 g/L コチニール溶液で 24 時間染色し、滅菌井水でふ化まで 12°C のインキュベーター内で管理した。

(3) 粘着除去方法の検討 ワカサギ卵は粘着性があり、砂利などの基質に付着する性質があるがコチニールによる耳石標識を大量に行うためには粘着性を除去する必要がある。ワカサギ卵の粘着除去はカオリンやタンニン酸を用いる方法が知られている^{3, 4)}。ワカサギ卵の粘着性除去方法による標識卵への影響を検討するために、カオリン 20%懸濁液で 15 分攪拌して粘着性を除去した卵およびタンニン 0.2% 溶液 10 秒間浸漬して除去した卵、タンニン 0.05% 溶液 10 分間浸漬した卵をそれぞれ染色し、ふ化率と耳石の発色強度を検討した。

耳石標識持続期間の確認

(1) 持続期間確認のための飼育 染色したワカサギ耳石標識がどれほどの期間持続するのか検討するためにワカサギの飼育を行い適宜サンプリングして標識の発光強度を検査し、コチニールで施した耳石標識の持続期間を調べた。60cm×40cm×30cm のガラス水槽（以降 60cm 水槽）を用いた室内飼育及び 176.3m² のコンクリート製の屋外池で飼育した。60 cm 水槽には 2,000 粒、屋外池では 10 万粒のワカサギ卵を放流して飼育した。

室内飼育は飼育水槽にアレン処方の 1/10 人工海水を満たし、ふ化直前の卵を収容した。なお、水槽に収容するまではペットボトルを改造して作成した容器にばっ氣しながら井水で管理した。給餌はふ化直後にはスーパー生クロレラ-V12（クロレラ工業製）で DHA 強化したシオミズツボワムシを給餌し、2 週間後からアユ餌付け用の配合飼料（あゆスーパー ゴールド（日清丸紅飼料製）0~2 号）を併用した。配合飼料を給餌するタイミングで循環ろ過飼育を開始したが、遊泳力が弱いため、ろ過槽にワカサギ仔魚を吸い込まないようにろ過用の水槽と外部濾過槽を設置して飼育を行い、ふ化 2 か月後からは井水を注水してのかけ流し飼育に切り替えた。室内飼育の様子と概略図を図 1 に示す。

屋外池での飼育は、23.7m×7.5m のコンクリート池で実施した。卵を収容する 3 週間前に施肥をし、水を張ってプランクトンの増殖を促した。施肥には初年度は醤油粕と乾燥鶏糞を 20 kg ずつ使用したが、2 年目からはムックリワーク（拓洋水産工業製）15 kg を使用した。水温が低く、プランクトンの沸きが悪い時には、水がうっすら緑色になる程度の量の淡水濃縮クロレラを池に撒いた。また、ふ化後に動物プランクトン量が少ない場合にはムックリワークを 2~5 kg 程度追肥した。ふ化後から、アユ餌付け用飼料を 1 日 2 回池に散布した。ワカサギが成長し群れで池の縁を回遊する姿が見えた時点で自動給餌機を設置して餌付けを行った。ふ化直後はプランクトンを繁殖させて初期飼料とし、同時に配合飼料（あゆスーパー ゴールド 0~2 号（日清丸紅飼料製）、レスキューア・B（科学飼料研究所）、種苗生産用リッチ A・B・C・D（科学飼料研究所））を与えて半