

アリザリン・コンプレクソンによるマダイ稚仔魚の 耳石標識-I 標識液の濃度と標識保有期間

メタデータ	言語: Japanese
	出版者:
	公開日: 2025-04-24
	キーワード (Ja):
	キーワード (En):
	作成者: 乗田, 博, 塚本, 勝巳
	メールアドレス:
URL	所属:
	https://fra.repo.nii.ac.jp/records/2014315

This work is licensed under a Creative Commons
Attribution 4.0 International License.



アリザリン・コンプレクソンによるマダイ稚仔魚の耳石標識—I

標識液の濃度と標識保有期間

栗田 博^{*1}・塚本勝巳^{*2}

(1986 年 11 月 16 日受理)

人工生産した海産仔稚魚の放流は、1985 年には全国で 28 種 3857 万尾にも達し¹⁾、さらに増加しつつある。これに伴って、放流魚の漁業資源への加入の状態を把握することが重要になってきた。この調査のためには、放流魚と天然魚の識別が不可欠である。識別方法には主に標識によるものと、形態の特徴によるものがある。標識による方法には、各種の標識票の装着²⁾、鰭切除³⁾、鰭拔去⁴⁾、入れ墨⁵⁾、アクチバブル・トレーサー⁶⁾などの方法が広く用いられてきた。しかし、これらの方法には次の問題がある。即ち、(1) 3~4 cm 以下の魚に適用できない、(2) 標識装着の労力が大きい、(3) 標識の脱落がある、(4) 標識装着に伴う魚体の損傷、成長の停滞や運動への制約がある。特に、3~4 cm 以下の仔稚魚に有効な標識あるいは識別法は無かった。標識によらない方法としては、鰭の変形⁷⁾、鼻腔隔皮の欠損⁸⁾、再生鱗の有無⁹⁾、頭部の形態¹⁰⁾や色素の異常¹¹⁾といった人工生産魚特有の特徴により識別する方法が検討されてきた。しかし、この方法では、事例や生産機関により一定でなく、信頼性が薄い。近年、魚卵、仔稚魚の大量標識法として、塩酸テトラサイクリン (TC) によるアユの耳石標識法が開発された¹²⁾。耳石標識法とは、魚を蛍光物質の標識剤溶液に浸漬し、耳石成長輪の形成過程で耳石中に取り込まれた標識剤の蛍光を利用する方法である。この耳石標識法を大量の海産仔稚魚の標識法として実用化するには (1) 魚種、発育段階に応じた最適な標識剤と使用濃度と浸漬時間、(2) 標識保有期間、(3) 標識処理が成長・生残に及ぼす影響、(4) 大量処理時の収容密度・水質管理、等の解決すべき問題がある。本報ではアリザリン・コンプレクソンをマダイ仔稚魚に用いて、(1) 最適処理基準、(2) 保有期間、(3) 成長・生残への影響を検討した。また、あわせて、標識処理を複数回繰り返して、多重標識を施すことができるか否か、についても検討を加えた。

本報の骨子は、すでに TSUKAMOTO & KUWADA¹³⁾ に報じたが、なお、実際の大量処理にあたって生じる種々の技術的な問題をより詳細に検討するため、本稿を起こした。

材 料 と 方 法

実 験 項 目

この実験は次の 4 項目に大別される。

実験 I: 処理中に減耗が無く、且つ、耳石に明瞭な蛍光マークが得られるのに最適な ALC 濃度と浸漬時間の組み合わせを探る。

実験 II: 標識の保有期間を調べる。

実験 III: 標識処理が供試魚の成長や生残に及ぼす影響の有無を調べる。

実験 IV: 多重標識の可能性を検討する。

供 試 材 料

それぞれの実験の材料と方法を表 1 に示した。天然の 3 才魚を 5~6 年飼育したマダイ (*Pagrus major* Temminck et Schlegel) 親魚から採卵し、日本栽培漁業協会上浦事業場で人工生産した仔稚魚を実験に供した。

標 識 液

標識剤には、アリザリン・コンプレクソン (Alizarin complexone, 1,2-Dihydroxyanthraquinone-3-yl-methylamine-N,N-diacetic Acid, $C_{19}H_{15}NO_8$, 以下 ALC と略称する、和光純薬工業製) を使用した。ALC は

*1 日本栽培漁業協会上浦事業場 (〒879-26 大分県南海部郡上浦町津井)

*2 東京大学海洋研究所 (〒164 東京都中野区南台 1 丁目 15-1)

ーバスにに入れて保温した。この間の水温は 19.8°C であった。浸漬終了日の 1986 年 6 月 24 日に、室内の 500 l 容透明ポリカーボネイト水槽に 1000 尾を収容して、チグリオブス、養成アルテミア (全長 1.2~2.5 mm)、マダイ卵や天然採集コペポード、それぞれの凍結物、アミ、魚肉ミンチ及び配合飼料を投餌して 18 日間飼育した。この間の水温は 20.5~21.9°C であった。7 月 13 日 (処理 18 日後) に海面の小割網に移し、アミ、魚肉ミンチ及び配合飼料を投餌して、1987 年 8 月 10 日 (処理 412 日後) まで飼育し、飼育期間中にサンプリングをした。この間の水温は 10.2~26.6°C であった。標識後 5, 10, 16, 20, 30, 45, 60, 98, 128, 217, 279 日目に毎回約 20 尾ずつ、412 日目には 30 尾、計 12 回のサンプリングをした。サンプルの標識の有無は、3 種の耳石について調べた。412 日後の扁平石のうち標識の確認が困難なものは、ふ化仔魚の実験と同様な方法で切断、研磨してから観察した。

体長 20 mm 稚魚での実験 200 mg/l の ALC 溶液 25 l を入れた 30 l 容透明ポリカーボネイト水槽に、体長 20.4 mm の稚魚 250 尾を収容して 24 時間の浸漬をした。通気はふ化仔魚実験と同様である。実験水槽は、海水を注水した 500 l 容透明ポリカーボネイト水槽に置いてウォーターバスとし、水温をほぼ 21.5°C に保った。浸漬終了日の 1986 年 7 月 17 日に、室内の 500 l 容透明ポリカーボネイト水槽に 200 尾を収容して、9 日間飼育した。この間の餌料は体長 11 mm 稚魚実験と同様である。水温は 21~23°C であった。7 月 25 日 (処理 8 日後) に海面の小割網 (3×3 m, 水深 2.5 m) に移し、アミ、魚肉ミンチ及び配合飼料を投餌して、1987 年 8 月 10 日 (処理 389 日後) まで飼育とサンプリングをした。この間の水温は 10.2~26.6°C であった。この間標識後 11, 30, 67, 194, 388 日目に毎回約 20 尾ずつ、計 5 回のサンプリングをした。サンプルの標識の有無は、3 種の耳石について調べた。扁平石の標識確認には研磨は不要であった。

実験 III: ALC 標識が成長と生残に与える影響

ふ化仔魚での実験 実験 II で ALC 標識をしたふ化仔魚 5300 尾と、ALC なしで同様の処理をした同サイズ同日令同数の対照魚を、500 l 容透明ポリカーボネイト水槽に収容して、混合飼育をした。この混合飼育区から、定期的にサンプリングをして、耳石標識の有無を判定し、両者の成長と生残率を比較した。飼育方法とサンプリングは実験 II のふ化仔魚での実験と同様である。

体長 11 mm 稚魚での実験 実験 II で ALC 標識をした体長 11 mm 稚魚 500 尾と、ALC なしで同様の処理をした同サイズ同日令同数の対照魚を、500 l 容透明ポリカーボネイト水槽に収容して、混合飼育をした。また、標識魚 500 尾と無標識魚 481 尾を収容した区も設けた。この混合飼育区から、定期的にサンプリングをして、耳石標識の有無を判定し、両者の成長と生残率を比較した。飼育方法とサンプリングは実験 II の体長 11 mm 稚魚での実験と同様である。

体長 31 mm 稚魚での実験 200 mg/l の ALC 溶液 25 l を入れた 30 l 容透明ポリカーボネイト水槽に、体長 30.6 mm の稚魚 250 尾を収容して 24 時間の浸漬をした。通気はエアストーン 1 個による空気の通気と酸素分散器 1 個による酸素通気を併用した。実験水槽は、海水を注水した 500 l 容透明ポリカーボネイト水槽に置いてウォーターバスとし、水温をほぼ 22.1°C に保った。同時に ALC を入れない対照区を設けた。浸漬終了日の 1986 年 7 月 23 日に、室内の 500 l 容透明ポリカーボネイト水槽に ALC 標識魚 150 尾と無標識魚 150 尾を収容して、飼育を開始した。7 月 28 日 (処理 5 日後) に海面の小割網 (3×3 m, 水深 2.5 m) に移し、アミ、魚肉ミンチ及び配合飼料を投餌して、1987 年 8 月 10 日 (処理 383 日後) まで飼育とサンプリングをした。この間の水温は 10.2~26.6°C であった。この間標識後 5, 30, 61, 188, 388 日目に毎回約 20 尾ずつ、計 5 回のサンプリングをした。

実験 IV: 多重標識

1986 年 6 月 23 日から平均体長 10.7 mm の魚を用いて 6 日に 1 回、ALC 浸漬による標識を合計 6 回繰り返した。ALC の浸漬濃度は 1, 2 回目は 50 mg/l, 3 回目は 100 mg/l, 4 回目以降は 200 mg/l とし、浸漬時間はすべて 24 時間とした。合計 6 回の浸漬終了後の 7 月 29 日に平均体長 30 mm でサンプリングした。

結 果

実験 I: 最適濃度と時間

図 1 は実験 II でふ化仔魚を 80 mg/l ALC, 24 時間浸漬によって標識し、15 日経過後にサンプリングしたものの耳石で、適切な濃度と時間で ALC 処理すると、扁平石と礫石の両方に明瞭な鮮赤色の蛍光マークが付くことを

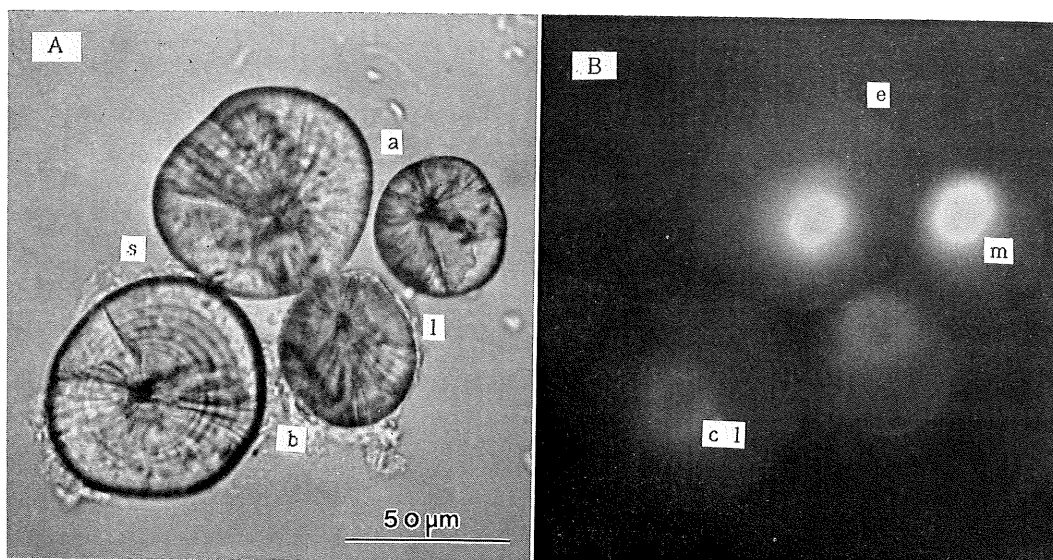


図 1 80 mg/l ALC 12 時間浸漬により標識したマダイふ化仔魚の標識 15 日後の標識残留状況,
A: 自然照明; B: 落射蛍光照明

a: 標識魚; b: 無標識魚; s: 扁平石; l: 礫石; e: 耳石縁辺部; m: ALC 標識; cl: チェックリング (高密度収容による耳石形成阻害)

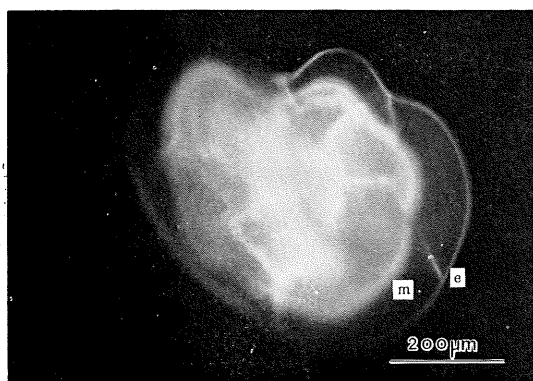


図 2 50 mg/l ALC 24 時間浸漬により標識した体長 11 mm マダイ稚魚の標識 5 日後の扁平石の落射蛍光照明像

e: 耳石縁辺部; m: ALC 標識.

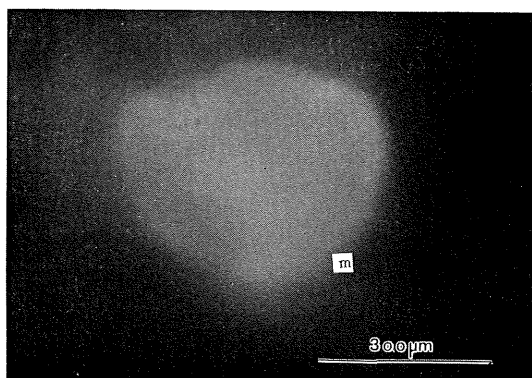


図 6 50 mg/l ALC 24 時間浸漬により標識した体長 11 mm マダイ稚魚の標識 128 日後の扁平石の落射蛍光照明像

m: ALC 標識.

示した。図 1-A は通常光により, 図 1-B は紫外線照射下で B 励起フィルターを使用して観察したものである。上段が標識魚の耳石, 下段が無標識魚の耳石であり, 左側が扁平石, 右側が礫石である。このように, 蛍光顕微鏡により紫外線照射下で B 励起フィルターを使用して観察すると, 耳石, 特に縁辺部は黄緑色の蛍光を発し, ALC による標識リングは鮮紅色の蛍光を発することから, ALC による耳石標識は容易に識別が可能である。また, ふ化仔魚, 体長 13 mm, 19 mm 稚魚のいずれにおいても標識が可能であった。ALC は耳石の成長最前部に取り込まれるので, 標識の形状は浸漬時の耳石縁辺部の形状となる。すなわち, 扁平石の場合, ふ化仔魚では円形, 体長 13 mm, 19 mm 稚魚では矢尻型となった (図 2)。

ふ化仔魚の最適標識条件は図 3 の斜線の部分に示す通り, 80~160 mg/l の濃度範囲で, 6~24 時間の処理時間であった。上部の線は生存の限界であり, 下部の線は標識の確認ができる下限である。体長 13 mm, 19 mm 稚魚の最適条件は, それぞれ, 50~200 mg/l, 12~24 時間および 200 mg/l, 12~24 時間であった (図 4, 5)。ふ化仔

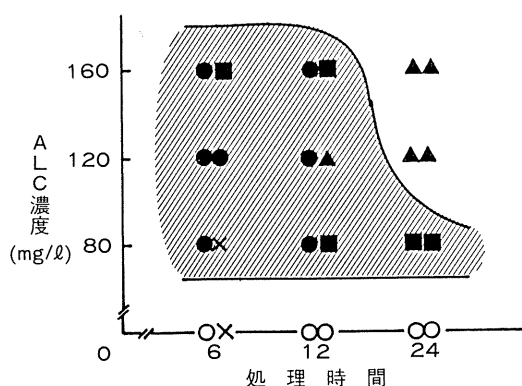


図3 マダイふ化仔魚の標識最適条件

図中の記号は ○: 生残率 $\geq 80\%$; □: 50~80%; △: 0~50%, ×: 0%; 黒塗り: 標識良; 白抜き: 標識不可; 斜線部: 標識可能範囲.

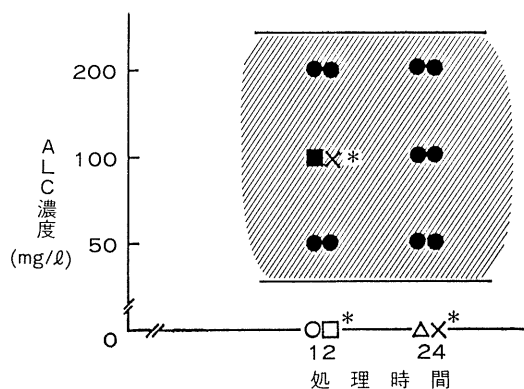


図4 体長 13 mm マダイ稚魚の標識最適条件

図中の記号は ○: 生残率 $\geq 80\%$; □: 50~80%; △: 0~50%; ×: 0%; 黒塗り: 標識良; 白抜き: 標識不可; 斜線部: 標識可能範囲. *: 浸漬後の飼育中の過投餌による酸欠死.

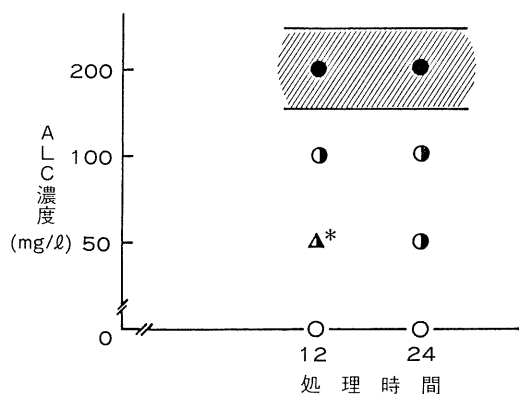


図5 体長 19 mm マダイ稚魚の標識最適条件

図中の記号は ○: 生残率 $\geq 80\%$; △: 0~50%; 黒塗り: 標識良; 半分黒塗り: 標識可; 白抜き: 標識不可; 斜線部: 標識可能範囲. *: 浸漬後の飼育中の過投餌による酸欠死.

魚から 13 mm, 19 mm と成長するにつれて, 標識に必要な標識剤濃度は高くなった。また, 処理時間も成長とともに長くなる傾向があった。標識付けの確実性, 安全性, 経済性を勘案した結果, ふ化仔魚では 80 mg/l で 12 時間の浸漬, 体長 13 mm 稚魚では 50~100 mg/l で 24 時間処理するのが良いと思われる。しかし, 体長 19 mm 稚魚では, 200 mg/l で 24 時間の条件が最適であるが, 10% が斃死しており, やや問題が残った。

実験 II: 標識保有期間

ふ化仔魚, 体長 11, 20 mm 稚魚の標識率の推移を表 2, 3, 4 に示した。

ふ化仔魚での実験 標識後 45 日までは検査した 117 尾すべてについて, 扁平石と礫石に標識が確認された (図 1)。60 日後の扁平石で 15% の個体でマークが見えなかったが, 礫石では全部見えたことから, およそ 3 ケ月 (93 日) までは研磨せずに確認

可能であると結論して良いであろう。星状石はふ化後 15 日まで形成されないため, 標識されなかった。212 日後には扁平石の標識はまったく観察されなかった。しかし, この扁平石も切断, 研磨の後は 90% の個体で標識が確認された。また, 研磨後に確認された標識の蛍光は, 標識処理直後とほぼ同じ程度の強さであった。ふ化仔魚の ALC 標識の蛍光リングの直径は 16~20 μm と小さい。212 日後に 2 個体で標識が確認されなかったのは, 標識が消失したのでは無く, 研磨時に削りすぎて, マークをすり落としてしまったためと考えられる。

体長 11 mm 稚魚での実験 標識後 279 日までに, 検査した 208 尾のすべての扁平石で標識が確認された (図 6)。標識後 412 日では, 扁平石の標識は 87% の個体で確認されたが, 標識不明の扁平石でも, これを切断, 研磨するとすべてについて標識が確認された。礫石では 98 日後までは標識が 100% 確認されたが, 耳石の肥厚に伴って ALC の蛍光リングが不明瞭となり, 128 日経過以後は急激に標識が確認できなくなった。星状石の蛍光マークは他の 2 種の耳石と比較すると, 標識直後でも蛍光が極度に弱く不明瞭である。このことから, おそらく星状石は ALC の取り込み量が少ないと考えられる。これから, 50 mg/l ALC, 24 時間浸漬で標識した体長 11 mm マダイ稚魚の標識確認には, 扁平石が適当であり, 標識として有効な期間は, 切断, 研磨処理を行えば, 412 日以上と言える。

表 2 80 mg/l ALC, 12 時間浸漬により標識したマダイふ化仔魚の標識保有期間

採取月日	標識後 日数	SL (mm)	扁平石		礫石		星状石	
			標識魚／ 検査魚	標識率 (%)	標識魚／ 検査魚	標識率 (%)	標識魚／ 検査魚	標識率 (%)
61. 7. 4	5	3.30±0.36	18/18	100	18/18	100	*1	
7. 9	10	4.60±0.60	20/20	100	20/20	100	*1	
7.14	15	6.70±0.58	20/20	100	20/20	100	*1	
7.19	20	7.95±1.32	17/17	100	17/17	100	0/ 1	0
7.29	30	14.3±2.3	20/20	100	20/20	100	0/ 8	0
8.13	45	30.6±4.9	20/20	100	20/20	100	0/15	0
8.28	60	48.8±6.1	17/20	85	20/20	100	0/11	0
9.30	93	75 ±8.7	21/21	100	21/21	100	0/21	0
62. 1.27	212	104 ±8.0	0/20 (18/20)*2	0 (90)*2	0/20	0	0/20	0

*1 星状石は未形成

*2 () 内は耳石切斷，研磨処理後の観察結果

表 3 50 mg/l ALC, 24 時間浸漬により標識した SL 10 mm マダイ稚魚の標識保有期間

採取月日	標識数 日数	SL (mm)	扁平石		礫石		星状石	
			標識魚／ 検査魚	標識率 (%)	標識魚／ 検査魚	標識率 (%)	標識魚／ 検査魚	標識率 (%)
61. 6.29	5	11.4± 1.4	18/18	100	18/18	100	0/ 5	0
7. 4	10	14.3± 2.7	20/20	100	20/20	100	2/15	13
7.10	16	20.6± 3.1	20/20	100	20/20	100	0/ 5	0
7.14	20	22 ± 3.7	20/20	100	13/13	100	0/ 6	0
7.24	30	38 ± 3.3	20/20	100	20/20	100	1/17	6
8. 8	45	57 ± 6.8	18/18	100	18/18	100	0/17	0
8.23	60	71 ± 5.6	20/20	100	20/20	100	5/17	29
9.30	98	96 ± 6.2	20/20	100	20/20	100	16/18	89
10.30	128	103 ± 5.0	20/20	100	19/20	95	3/20	15
62. 1.27	217	124 ± 9.5	20/20	100	0/20	0	0/20	0
3.30	279	127 ± 9.2	20/20	100	6/20	30	0/20	0
8.10	412	157 ±11	26/30 (30/30)*	87 (100)*	0/29	0	0/26	0

* () 内は耳石切斷，研磨処理後の観察結果

表 4 200 mg/l ALC, 24 時間浸漬により標識した SL 20 mm マダイ稚魚の標識保有期間

採取月日	標識後 日数	SL (mm)	扁平石		礫石		星状石	
			標識魚／ 検査魚	標識率 (%)	標識魚／ 検査魚	標識率 (%)	標識魚／ 検査魚	標識率 (%)
61. 7.28	11	36± 4.0	20/20	100	20/20	100	11/18	61
8.16	30	61± 5.2	20/20	100	20/20	100	13/17	76
9.22	67	91± 7.3	20/20	100	20/20	100	20/20	100
62. 1.27	194	119± 8.8	20/20	100	20/20	100	0/20	0
8.10	389	170±12	20/20	100	2/18	11	1/16	5

体長 20 mm 稚魚での実験 標識後 389 日までに，検査した 100 尾すべてについて，扁平石に標識が確認された。礫石では 194 日後までは全部の個体で標識が確認されたが，389 日後の標識率は 11% に低下した。星状石の蛍光リングは体長 11 mm 魚と同様に不明瞭であり，標識確認用には不適である。

実験 III: ALC 標識が成長や生残に与える影響

ふ化仔魚での実験 ALC 溶液への浸漬中の斃死は，対照区がほぼ 0% であったのに対して，実験区ではわずか

表 5 マダイ仔稚魚の ALC 処理時の条件と斃死状況

供 試 魚		実 験 操 作				収容尾数 (尾)	斃死数 (尾)	斃死率 (%)	終了時 DO (%)
発育段階	体 長 (mm)		ALC 濃度 (mg/l)	浸漬時間 (時間)	水温 (°C)				
ふ化仔魚	2.6	実験区	80	12	20.9	423000	5700	1.3	
	2.6	対照区	0	12		423000	0	0.0	
稚 魚	10.7	実験区	50	24	19.8	2549	363	14.2	
	10.7	対照区	0	24		2545	564	22.2	
	20.4	実験区	200	24		250	22	8.8	97
	20.4	実験区	200	24		250	124	49.6	220
	20.4	対照区	0	24	21.5	250	1	0.4	109
	20.4	対照区	0	24		250	2	0.8	161
	20.4	対照区	0	24		250	2	0.8	96
	20.4	対照区	0	24		250	3	1.2	97
	30.6	実験区	200	24	22.1	250	26	10.4	241
	30.6	対照区	0	24		250	2	0.8	109

表 6 マダイふ化仔魚の成長、生残に ALC 標識処理 (80 mg/l, 12 時間浸漬) がおよぼす影響

採取月日	標識後 日 数	標識魚/ 検査魚	標識魚の割合 (%)	体長 (平均±標準偏差) (mm)	
				標 識 魚	無標識魚
61. 7. 4	5	5/13	38	3.3±0.26	3.2±0.31
7. 9	10	10/20	50	4.9±0.61	4.8±0.58
7.14	15	10/20	50	5.6±0.33	5.6±0.41

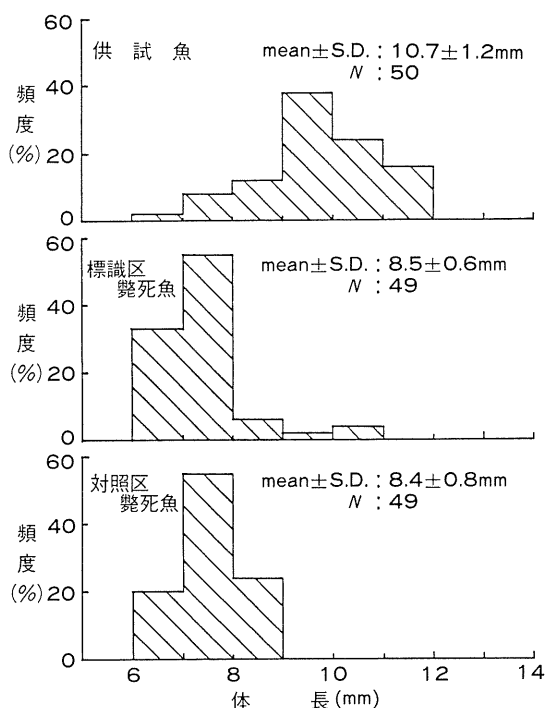


図 7 体長 11 mm マダイ稚魚を 50 mg/l ALC 24 時間浸漬した時の斃死魚の体長分布

ながら、1.3% の斃死が見られた (表 5)。80 mg/l ALC 溶液の急性毒性はほぼ無いと考えられる。標識後 5, 10, 15 日目のサンプルでの標識魚の確認割合は 38, 50, 50% であった (表 6)。これから、生残はほぼ等しく、ALC の浸漬の影響は見られない。また、この時の体長もほぼ等しく、成長にも影響は無いと言えよう。15 日以降飼育に失敗したため、実験を中断せざるをえなかった。

体長 11 mm 稚魚での実験 ALC 溶液への浸漬中の斃死率は、対照区が 22% であったのに対して、実験区が 14% とむしろ低い値となった (表 5)。斃死の原因は不明だが、小型水槽に酸素通気をしたために、その調整が困難であり、溶存酸素の値が大きく変動したためと推定している。供試魚と斃死魚の体長組成を図に示した (図 7)。実験区と対照区の斃死魚は、供試魚と比較して明らかに小型の個体を中心であった。実験区と対照区の斃死魚の体長には差は無かった。このことから、斃死は標識剤による影響ではなく、小容器に高密度で収容したことの影響と思われる。標識後の飼育での 217 日後までの標識魚の割合は、35~70% の間で変動したが、2 区共およそ 50% を中心に $\pm 15\%$ の幅で増減し、

表 7 体長 11 mm マダイ稚魚の成長, 生残に ALC 標識処理 (50 mg/l, 24 時間浸漬) がおよぼす影響

採取月日	標識後 日数	1 区*1				2 区*2			
		標識魚/ 検査魚	標識魚の 割合 (%)	体長 (平均±標準偏差) (mm)		標識魚/ 検査魚	標識魚の 割合 (%)	体長 (平均±標準偏差) (mm)	
				標 識 魚	無標識魚			標 識 魚	無標識魚
61. 7. 4	10	7/20	35	14.5±2.0	15.3±2.3	12/20	60	15.9±1.5	15.7±1.9
7. 24	30	9/20	45	38±5.4	38±6.3	9/20	45	36±6.0	38±2.7
8. 8	45	11/20	55	55±6.1	57±5.4	14/20	70	55±4.8	59±3.8
8. 23	60	8/20	40	69±3.2	67±3.9	13/20	65	70±4.7	71±4.3
9. 30	98	11/20	55	95±6.2	96±9.9				
10. 31	129	8/20	40	115±9.8	104±7.6				
62. 1. 27	217	10/19	53	123±11	124±5.7	9/20	45	123±11	123±11

*1 標識魚 500 尾, 無標識魚 500 尾を収容, 標識魚の割合; 50%.

*2 標識魚 500 尾, 無標識魚 481 尾を収容, 標識魚の割合; 51%.

表 8 体長 31 mm マダイ稚魚の成長, 生残に ALC 標識処理 (200 mg/l, 24 時間浸漬) がおよぼす影響

採取月日	標識後 日数	標識魚/ 検査魚	標識魚の割合 (%)	体長 (平均±標準偏差) (mm)	
				標 識 魚	無標識魚
61. 7. 28	5	7/20	35	35±7.8	35±6.5
8. 22	30	11/18	61	68±5.2	69±5.2
9. 22	61	10/20	50	92±6.7	86±8.2
62. 1. 27	188	8/20	40	115±12	117±13
8. 10	383	11/30	37	173±10	178±9

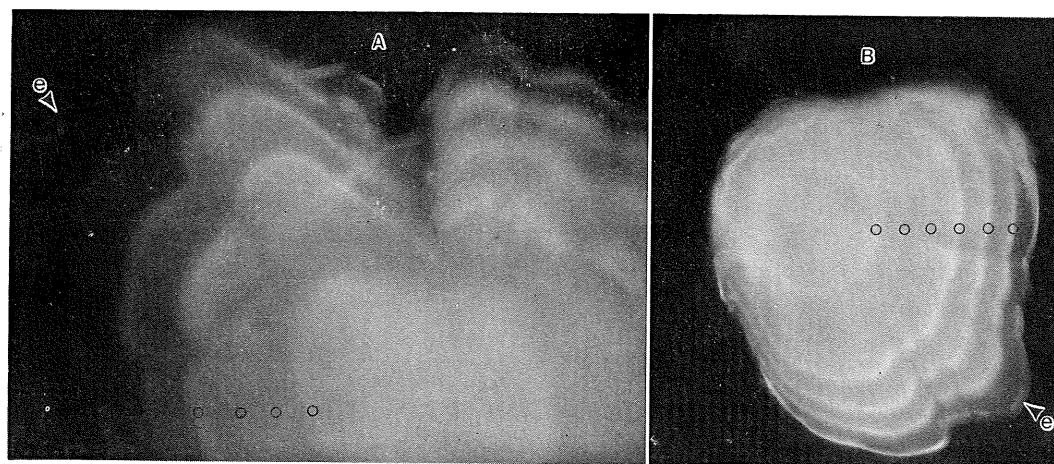


図 8 体長 11 mm から 6 日毎に 50 mg/l ALC 24 時間浸漬を 2 回, 100 mg/l ALC 24 時間浸漬を 1 回, 200 mg/l ALC 24 時間浸漬を 3 回反復し, 6 重標識をしたマダイの耳石の蛍光顕微鏡写真

A: 扁平石; B: 礫石; e: 耳石縁辺部の緑色自発蛍光; o: ALC 標識による赤色蛍光リング.

一定の増加あるいは減少傾向は無かった (表 7)。この間の体長もほぼ等しい。これから, ALC 標識処理は, 処理期間中も, その後の飼育においても, 成長, 生残共に影響しないと言える。

体長 31 mm 稚魚での実験 浸漬中の斃死については, 実験 II の平均体長 20 mm 稚魚での実験結果もあわせて, 表 5 に示した。体長 20, 31 mm の稚魚では, ALC 溶液の浸漬中の斃死率は, 対照区が 0.4~1.2% であっ

たのに対して、標識区では 9~50% の高い値となった。50% の斃死事例は溶存酸素の変動が影響した可能性もあるが、この事例を除いても、少なくとも 8~10% の斃死は ALC による影響と考えられる。実験Ⅰの体長 19 mm 稚魚で 200 mg/l ALC 24 時間浸漬で 10% が斃死した結果とも一致する。その後の飼育では約 1 年間に合計 108 尾の耳石を調べ、その中の標識魚の割合は 44% であった。また、この間の体長もほぼ等しい (表 8)。これから、ALC による標識処理は浸漬中には約 8~10% の斃死を引き起こすが、生残魚のその後の飼育については、成長、生残共に影響しないと言える。

実験Ⅳ: 多重標識実験

体長 11 mm から ALC で 6 重標識をし、体長 30 mm でサンプリングした稚魚の扁平石と礫石の蛍光顕微鏡写真を図 8 に示した。図 8-A は扁平石、図 8-B は礫石を示す。外側の 3 個の ALC 標識リング、すなわち 4~6 回目の標識による蛍光リングは、ALC 標識濃度が 200 mg/l と高かったために明瞭である。これと比較すると、2, 3 回目の標識による蛍光リングの明るさは劣り、むしろ 1 回目の標識による蛍光リングのほうが明るい。

考 察

本実験により、海産魚であるマダイにおいてもふ化直後から 30 mm の稚魚期までの各発育段階で、ALC を標識剤とした浸漬法による耳石標識が可能であることが判明した。また、標識に必要な濃度や浸漬時間と発育段階との関係の概要も分かった。

6 重標識をした耳石の標識状況は、2 回目の標識による蛍光リングは 1 回目の標識より不明瞭であった。また 3 回目の標識は ALC 濃度が 2 倍の 100 mg/l であるにもかかわらず、1 回目の蛍光リングとあまりかわらなかった。1 回目の標識時の日令 31 日、体長 11 mm から 3 回目の標識時の日令 43 日、推定体長 17 mm の時期は、鱗が急激に増加する¹⁴⁾など、稚魚期に移行した直後であり、この間に急激な生理的な変化が起きた¹⁵⁾と考えられる。これに伴って、標識処理に対する感受性も大きく変化し、この結果体長 17 mm では高濃度でもあまり強く標識がつかなかったものと考えられる。

体長 20~30 mm の稚魚では、標識に有効な 200 mg/l ALC, 24 時間浸漬の条件では、浸漬時間内に 8~10% が斃死する。この時期は、標識をするには高濃度の標識剤の使用が必要であるが、反面、人工生産稚魚の体長差が大きく、このため、小型の個体への高濃度の ALC による死亡が懸念される。さらに条件の精査が必要である。

実験Ⅲの成長、生残への影響に関する実験 (表 5) の結果において、浸漬時間内の斃死状況が同一設定でも大きく異なっている事例が見られた。この原因として、本実験の規模が小さいために酸素通気の調整が困難であった結果、溶存酸素の変動が大きかったことによる影響が想定される。しかし、さらに供試魚の状態、すなわち大きさの揃い具合や健康の状況なども実験誤差を大きくする可能性が予想される。安全な大量標識技術の確立には、健康で大きさの揃った人工種苗を使用することが必要であり、また、客観的な仔稚魚の健康度の判定手法も必要である。さらに、浸漬時のマダイの密度は、1 尾あたりの標識費用に直接かわる要素であるので、十分な検討が必要である。これは供試魚の状態とも密接に関連する。

一般に蛍光色素は、日射の影響を受けて不活性化する。本実験では、標識直後の飼育は陸上実験水槽で行った。その飼育水槽水面の照度は 500~3000 Lux であった。海水は紫外線の吸収が大きいことと、マダイが体長 8~13 mm で浮遊生活を終えることから、体長 13 mm 以上の稚魚は、海に標識直後に放流しても、標識は紫外線の影響を受けず残るものと考えられる。しかし、表皮の色素があまり形成されておらず、浮遊生活をする仔魚期についてはさらに検証が必要である。

1987 年 3 月現在、ALC は 1350 円/g (1 kg 購入の場合) と高価である。実用的な大量標識放流実験を実施する場合には、標識剤の費用は重要な要素となろう。大量標識を想定して、試算を行ってみると、ふ化仔魚の場合、80 mg/l ALC で、仔魚密度 1 万尾/l を仮定すると、仔魚 1 億尾の標識には水量 10 m³、ALC 800 g、108 万円が必要であり、標識単価は 0.011 円/尾となる。体長 10 mm 稚魚の場合、50 mg/l ALC で、稚魚密度 100 尾/l を仮定すると、稚魚 10 万尾の標識には水量 1 m³、ALC 50 g、6.75 万円が必要であり、標識単価は 0.675 円/尾となる。体長 20 mm 稚魚の場合、200 mg/l ALC で、稚魚密度 30 尾/l を仮定すると、稚魚 10 万尾の標識には水量 3.3 m³、ALC 667 g (90 万円) が必要であり、標識単価は 9 円/尾となる。アンカータグ標識単価は 1.5~8 円/本、背骨型標識が 14 円/本であることと比較すると、これらの耳石標識法は経費の面からも十分に大量標識に活用可能である。

人工生産放流用仔稚魚は食用種を対象にしている。そのため標識剤には配慮が必要である。ALC は毒性が低く¹⁶⁾、仔稚魚に標識するため、魚体に取り込まれる標識剤の量は僅かであり、漁獲対象となるまでの期間が長い。また、標識剤は浸漬当初には耳石以外の硬組織（骨、鱗、鰭）にも取り込まれるが、代謝が耳石より速く¹⁷⁾早期に排出される。

TSUKAMOTO¹²⁾ は耳石標識法の長所として卵や仔魚でも標識できること、短時間で 100% の標識成功率が期待されること、標識の脱落がなく、保有期間が長いこと、魚の成長や生残に影響が無いことを挙げている。また、短所としては、外から見えないこと、耳石の摘出に時間がかかること、標識の種類が少ないことを挙げている。しかし、これらの短所を考慮しても、本耳石標識法は他の方法では標識不可能な小型の海産仔稚魚での全数標識放流には有力な手法と言えよう。

謝 辞

本実験は、日本栽培漁業協会上浦事業場において今泉圭之輔場長はじめ当場職員各位の協力を得て実施された。実験に用いた材料の提供、飼育実験時の御尽力と有益な御助言また、温かい励ましに対し、心から御礼申し上げる。また、本報告のとりまとめに当たりご指導と御校閲を賜った日本栽培漁業協会の須田 明博士に謹んで感謝の意を表する。

要 約

1. ふ化直後から体長 30 mm の稚魚期に至るマダイを、種々の濃度 (0~200 mg/l) のアリザリン・コンプレクソン (ALC) 溶液に浸漬し、耳石に ALC の蛍光マークをつけることができた。
2. マダイふ化仔魚での最適な標識処理条件は 80 mg/l ALC, 12 時間、体長 11 mm マダイ稚魚で、50~100 mg/l, 24 時間、体長 19 mm マダイ稚魚で 200 mg/l, 24 時間であった。
3. マダイふ化仔魚を 80 mg/l ALC, 12 時間処理すると、礫石で 93 日間確認可能であった。また、体長 11 mm マダイ稚魚で 50 mg/l, 12 時間処理すると、扁平石で 279 日以上、耳石を研磨すれば 412 日以上の確認が可能であった。さらに、体長 20~30 mm マダイ稚魚を 200 mg/l, 24 時間処理すると、扁平石で 389 日以上確認可能であった。
4. ふ化仔魚と体長 11 mm 稚魚では、標識処理はその後の成長や生残に影響しなかった。体長 31 mm 稚魚では、標識処理中に 8~10% の死亡率を引き起こすが、その後の成長、生残への影響はなかった。
5. 6 回の多重標識ができた。これから、標識の種類数も増加することができる。

文 献

- 1) 水産庁・日本栽培漁業協会 (1986) 昭和 60 年度栽培漁業種苗生産、入手・放流実績 (全国)。水産庁・日本栽培漁業協会。東京：7-8 pp.
- 2) 増村和彦・佐藤正明 (1974) マダイの標識方法について。栽培技研, 3(1): 1-7.
- 3) 立石 賢・田代征秋・北島 力・岩本 浩 (1981) マダイ小型種苗の腹鰭切除による標識。長崎水試研報, 7, 1-6.
- 4) 高場 稔 (1986) マダイの種苗放流・追跡Ⅴ。腹鰭標識放流魚の腹鰭再生について。栽培技研, 15(2), 177-186.
- 5) 谷口順彦・溝渕勝宣 (1978) 幼稚魚期マダイのイカ墨汁による標識法について。栽培技研, 7(2): 47-50.
- 6) 加藤 守 (1982) 石狩川水系千歳川から放流したユーロピウム (Eu) 標識シロザケ幼魚。さけ別枠沖合生態総括報告。
- 7) 宗清正廣・傍島直樹・船田秀之助 (1986) 胸鰭の「乱れ」を標識として利用する際のマダイ人工魚の有効放流サイズ。栽培技研, 15(1): 83-86.
- 8) 傍島直樹・宗清正廣・船田秀之助 (1986) 鼻孔隔皮の欠損によるマダイ放流種苗と天然魚の識別の可能性。京都府海洋センター研報, 10: 35-40.
- 9) 山元宣征・岡 輝雄 (1985) 再生鱗によるクロダイ人工採苗放流魚と天然魚の識別。長崎県水試研報, 11: 11-15.
- 10) 松宮義晴・金丸彦一郎・岡 正雄・立石 賢 (1984) 判別関数を用いた外部形態によるマダイ人工放流魚と天然当歳魚の識別。日水誌, 50(7): 1179-1185.
- 11) 茨城県栽培漁業センター・茨城県水産試験場 (1986) 昭和 60 年度放流技術開発事業報告書。太平洋海域ヒラメ班, 55-67.

- 12) TSUKAMOTO, K. (1985) Mass-marking of ayu eggs and larvae by tetracycline-tagging of otoliths. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, **51**(6): 903-911.
- 13) TSUKAMOTO, K. and H. KUWADA (1987) *Nippon Suisan Gakkaishi* (Submitted).
- 14) 福原 修 (1976) マダイ稚仔魚の形態学的研究—II, 初生鱗の発生と生長. 南西水研報, **9**: 13-18.
- 15) ——— (1984) マダイ仔稚魚期の器官形成と生態の関係. 海洋と生物, **32**, **6**(3): 184-190.
- 16) 高橋 学・川口哲郎・中島早苗・浅野安生・滝口基雄 (1979) 石灰化組織の多色ラベリングのためのラベリング剤と投与方法について. 歯学, **67**(1), 53-66.
- 17) ICHII, T. and Y. MUGIYA (1983) Comparative aspects of calcium dynamics in calcified tissues in goldfish *Carassius auratus*. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, **49**(7): 1039-1044.