

アリザリン・コンプレクソンおよびアリザリン・レッドSの経口投与によるクロソイ稚魚の鱗および耳石染色

メタデータ	言語: Japanese
	出版者:
	公開日: 2025-06-25
	キーワード (Ja):
	キーワード (En):
	作成者: 足立, 純一, 熊谷, 厚志
	メールアドレス:
	所属:
URL	https://fra.repo.nii.ac.jp/records/2014747

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



アリザリン・コンプレクソンおよびアリザリン・レッドSの 経口投与によるクロソイ稚魚の鱗および耳石染色

足立 純一^{*1}・熊谷 厚志^{*2}

(^{*1} 志布志栽培漁業センター, ^{*2} 宮古栽培漁業センター)

耳石や鱗を対象とした標識の開発は、塩酸オキシテトラサイクリン（以下、TC）やアリザリン・コンプレクソン（以下、ALC）、アリザリン・レッドS（以下、ARS）などの蛍光物質による生体染色法が様々な魚種で行われている。耳石染色ではTCによるアユ^{1,2)}、ALCによるマダイ^{3,4)}、ヒラメ⁵⁾、鱗染色ではARSによるニジマス⁶⁾、ALCによるマダイ⁷⁾、アカハタ⁸⁾、スズキ⁹⁾が報告されている。鱗は、生体から採取することが可能で、耳石のように魚を購入し耳石を摘出する作業がないことが大きな利点である。

これらの生体染色による標識は、蛍光物質を溶解した飼育水（止水）に一定時間暴露して染色する方法^{1-4, 7-9)}（以下、浸漬法）と、蛍光物質を餌料に添加して染色する経口投与法がある。経口投与法はスルメイカ¹⁰⁾、ヒラメ⁵⁾、トラフグ¹¹⁾で報告されている。これまで、クロソイのALCによる耳石染色の浸漬法は、全長35～40mmの稚魚に対してALC50ppmで8時間の浸漬を行ってきたが¹²⁾、この条件では鱗への染色はほとんど見られず、これ以上の濃度、時間で浸漬するとクロソイはほとんどが死亡する（足立、未発表）。そこで、クロソイ稚魚を対象に経口投与法でALCによる鱗への染色の可能性を検討した。また、ホッキガイの殻¹³⁾やコブシメの甲¹⁴⁾などで用いられたARSについても同様の検討を行ない、合わせて耳石の染色状況も観察した。

材料と方法

供試魚 供試魚は、1994年に宮古栽培漁業センターで生産した全長45～71mmのクロソイ稚魚を用いた。

試験区 ALCの経口投与試験（以下、ALC試験）では、1%、2%および4%添加の3区を設け、1%添加区と2%添加区は1994年7月21日から、4%添加区は同年8月6日から試験を行った。ARSの経口投与試験（以下、ARS試験）は、2%添加および4%添加の2区を設け、1994年8月22日から試験を行った。

飼料の調整方法 試験に用いた配合飼料は、固さがありベレットより吸水がよいクランブル飼料(C-2000および

C-3000；協和発酵)を用いた。ALC試験の1%添加区と2%添加区はC-2000(粒径2mm)を、それ以外はC-3000(同3mm)を用いた。ALC（同仁化学研究所）、ARS(和光純薬工業)は配合飼料に対して外割り量で添加した。ALC、ARSは、蒸留水に炭酸水素ナトリウム(和光純薬工業)を添加してpH8.0の弱アルカリ性に調整した溶液に必要量を入れ、マグネチック・スターラーで溶解した。配合飼料への展着は、バットに広げた配合飼料全体にこの溶液をふりかけて、均等に配合飼料が色付くまで攪拌した。その後、配合飼料はバットごと冷蔵庫（5℃）で24時間以上乾燥し、密閉容器に入れ冷蔵保存した。

飼育方法 ALC試験の1%添加区と2%添加区では、0.5kℓ黒色ポリエチレン円型水槽に平均全長51.7mmの稚魚1,500尾を収容し、各区とも2面ずつを設けた。4%添加区では平均全長67.3mmの稚魚700尾を用い、1kℓポリカーボネート円型水槽2面を用いた。ARS試験は0.5kℓ黒色ポリエチレン円型水槽を用い、2%添加区では平均全長62.1mm、4%添加区では平均全長64.2mmの稚魚を各100尾収容し、各区2面ずつを設けた。飼育は自然水温のろ過海水の流水で行い、エアストーンによる通気を行った。

蛍光物質の投与期間は10日間とし、摂餌が著しく低下した場合は給餌を中止した。なお、試験開始前の3日間は蛍光物質を添加していないクランブル飼料を口径に応じて与え、摂餌の確認後試験を開始した。給餌は1日2回飽食量を与え、底掃除は1日1回行った。飼育水槽および底掃除による排水は、すべて別の水槽に回収し、次亜塩素酸ナトリウムで分解後、チオ硫酸ナトリウムで中和して放水した。

耳石および鱗の観察 耳石および鱗を観察するため、両試験とも給餌3、5および7日目に10尾ずつを取り揚げた。試験終了後は、14日間通常の配合飼料で飼育した50尾を観察に供した。取り揚げた魚は水道水で十分洗浄した後、-30℃で冷凍保存した。鱗は、背鰭の第1棘と側線の間位置から左右両側から採取した。採取した耳石や鱗は、50%エチルアルコールで十分洗浄した後、ろ紙で表面の汚れ等を除去した。観察には落射蛍光顕微鏡

表1 ALCおよびARSの経口投与試験におけるクロソイの全長、生残率および日間成長量

試験区	添加量 (%)	収容尾数 (個体)	全長 (mm) *		生残率 (%)	給餌期間 (日)	日間成長量 (mm/日)
			開始	終了			
ALC	1	1,500	51.7 ± 4.3	61.8 ± 4.9	99.7	10	1.01
"	2	1,500	51.7 ± 4.3	61.5 ± 4.7	99.6	10	0.98
"	4	700	67.3 ± 2.7	72.8 ± 2.8	99.9	5	1.10
ARS	2	100	62.1 ± 1.4	69.1 ± 1.5	100.0	10	0.70
"	4	100	64.2 ± 1.9	67.7 ± 1.9	100.0	7	0.50

* 平均±標準偏差

表2 ALCおよびARSの経口投与試験におけるクロソイの鱗と耳石の染色状況^{*1}

試験区	添加量 (%)	鱗 給餌日数 (日)				耳石 給餌日数 (日)			
		3	5	7	10	3	5	7	10
ALC	1	D	D	D	D	C	C	C	B
"	2	D	C	C	C	C	B	A	A
"	4	C	B	— ^{*2}	— ^{*2}	A	S	— ^{*2}	— ^{*2}
ARS	2	C	B	A	A	C	C	B	B
"	4	A	S	S	— ^{*2}	C	B	A	— ^{*2}

*1 染色状況をレベルS～Dで示した。SとAは標識として使用可能、BとCは染色程度は薄く不鮮明、およびDは染色の痕跡なし、とした

*2 摂餌低下のため、給餌中止

表3 ALCおよびARSの経口投与試験におけるクロソイ1尾当たりの蛍光物質の使用状況

試験区	添加量 (%)	収容尾数 (尾)	総給餌量 (g)	給餌日数 (日)	蛍光物質の 単位投与量 (mg/尾/日)	蛍光物質の 使用金額 ^{*1} (円/尾/日)
ALC	1	1,500	2,805	10	1.9	1.7
"	2	1,500	2,790	10	3.7	3.3
"	4	700	977	5	11.2	10.1
ARS	2	100	279	10	5.6	1.2
"	4	100	183	7	10.5	2.3

*1 蛍光物質の単価は、ALC 900円/g、ARS 220円/gとして計算(和光純薬工業、2006年カタログより)。

(BH-2；オリンパス)のBおよびG励起を用い、耳石は直接40倍率で、鱗は蒸留水を1滴落しカバーガラスで封じたものを40倍および100倍率で行った。

染色状況の評価は、レベルSおよびA～Dの5段階とした。評価の基準は、レベルSは染色が著しく鮮明で鱗では40倍率で容易に観察ができる、レベルAは染色が鮮明で鱗では100倍率で容易に識別でき標識として使用が可能、レベルBは染色痕が細くかつ色薄く識別が困難、レベルC

は局所的に極微量の染色痕が見える程度、およびレベルDは染色の痕跡が全く見えず染色されていない、とした。なお、耳石のレベルAは、50ppm濃度の浸漬法で染色した耳石と同程度の染色状況とした。

2重標識試験 ARS 4%添加区では、試験終了後のクロソイ稚魚50尾にARS無添加の配合飼料を与え、平均全長82mmで再びARSを4%添加した配合飼料を5日間給餌した。飼育方法はARS 4%添加区と同じである。

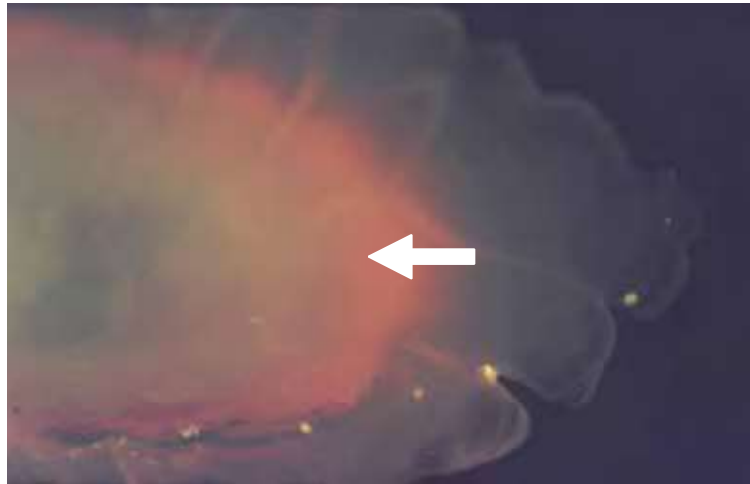


写真1 ALC 4%添加飼料5日給餌後、14日間ALC無添加飼料で飼育した全長87mmのクロソイの扁平石
(矢印：ALC染色痕，B励起)

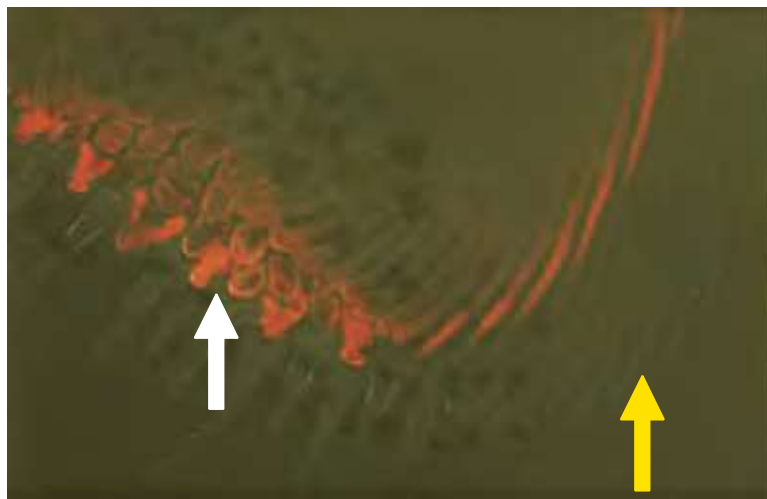


写真2 ARS 4%添加飼料7日給餌後、14日間ALC無添加飼料で飼育した全長86mmのクロソイの鱗後部
(白色矢印：ARS染色痕，黄色矢印：縁辺部，B励起)

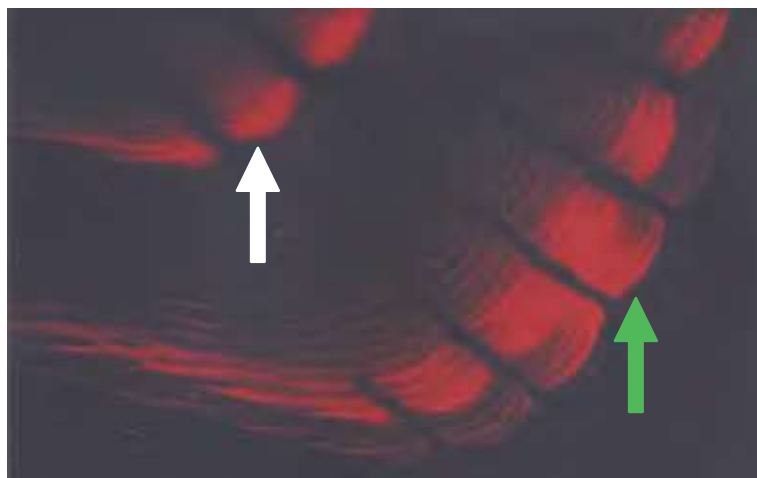


写真3 ARS 4%添加飼料7日給餌後、全長86mmで再度ARS 4%飼料で飼育した全長86mmのクロソイの鱗前部
(白色矢印：1回目ARS染色痕，緑色矢印：2回目ARS染色痕，G励起)

蛍光物質の推定摂取量 試験期間中の各試験区の総給餌量から、稚魚1尾当たりの蛍光物質の推定摂取量を求めた。なお、試験中のサンプルで採捕した尾数は除外し、開始時の収容尾数で計算した。

結 果

試験期間中の平均水温は20.3～21.8℃であった。ALCおよびARS試験における全長、生残率および日間成長量を表1に示した。ALCおよびARSを添加した飼料の給餌によるクロソイ稚魚の死亡はほとんど見られなかったが、日間成長量はALC試験で0.98～1.10mm/日、ARS試験で0.50～0.70mm/日であり、通常の間中育成例の1.00mm/日¹⁵⁾と比べてARS添加配合飼料を与えた試験区で成長の低下が見られた。また、両試験とも4%添加区では5～7日目頃から飼育水が赤くなり摂餌が著しく低下したため給餌を中止し、試験を終了した。

鱗および耳石への染色状況を表2に示した。鱗の染色状況を比較すると、ALCでは1%添加区では染色は確認できず、2%添加区では5日以上給餌で染色(レベルC)が見られたが、10日間の給餌でもレベルC以上には染色されなかった。ALC 4%添加区では、摂餌が低下するまでの5日間でレベルBまで染色できたが、染色の程度は薄く染色部位の幅も細かった。一方、ARSでは標識として使用可能なレベルAは、ARS 2%添加区では7日以上投与を要した。ARS 4%添加区では3日間の給餌でレベルAまで、さらに5日間以上の給餌でレベルSまで染色可能であった(写真1)。ARS 4%添加飼料による鱗の2重染色では、2カ所ともレベルSの染色が可能であった(写真2)。魚体の部位による鱗の染色状況を比較するため、魚体の左右、腹部および尾部の4カ所から鱗を採取して検鏡したが、部位による染色の有無や濃淡の差は観察されなかった。

耳石の染色が浸漬法と同程度のレベルAまで染色できたのは、ALCでは2%添加で7日間以上、4%添加で3日間の給餌により、またARSでは4%添加で7日間の給餌により可能であった。さらに、ALCの4%添加では5日間の給餌でレベルSまで染色できた(写真3)。しかし、ALCの1%添加とARSの2%添加では10日間の給餌でもレベルAには至らなかった。

各試験区の総給餌量から稚魚1尾当たりの蛍光物質の平均日間摂取量(推定)を求めた(表3)。これを見ると、ALCでは1%添加区が1.9mg/日/尾、2%添加区が3.7mg/日/尾、4%添加区が11.2mg/日/尾、ARSでは2%添

加区が5.6mg/日/尾、4%添加区が10.5mg/日/尾であった。

考 察

ALCおよびARSの経口投与により、クロソイの鱗や耳石の染色が可能である結果が得られた。また、供試魚のサイズを揃えて安定した摂餌を行ったことで、同一試験区内では鱗および耳石の染色状況に個体間での差はほとんど認められず、均一の染色が得られる有効な手段の一つであると考えられた。

一方、染色状況は、蛍光物質の種類によって顕著な差が認められた。その結果、鱗の染色にはARSが適しており、良好な染色状態が得られる添加量と給餌期間は2%で7日間、4%では3日間であった。耳石の染色にはALCが適し、浸漬法(濃度50ppm)と同程度の染色状態が得られる添加量と給餌期間は2%で7日間、4%では3日間であった。今回のALCの経口投与量は、ヒラメでの染色例(0.1%添加で10日間給餌)⁵⁾と比べると添加量が20～40倍と多く、染色に必要なALCの量に著しい差がみられたが、魚種やサイズによる差については今後さらに検討が必要である。

経口投与法によるALCの経費(900円/g^{*})をクロソイ1尾当たりに換算すると(表3)、ALC 2%添加の7日間給餌では23円/尾、4%添加の3日間給餌では30円/尾となり、浸漬法(全長40mm個体を濃度15ppmで24時間)による経費の1.35円/尾(中川ら¹⁶⁾から換算)よりも著しく高くなった。また、ALCより安価なARS(220円/g^{*})による鱗染色でも、4%添加の3日間給餌で6.9円であった。クロソイの間中育成で基準とされている配合飼料の給餌量¹⁷⁾は、全長60mmサイズでは浸漬法を行った40mmサイズの3.5倍を要するため、経口投与による染色はサイズの増加に伴い蛍光物質の使用量も急激に増加していく。経口投与による染色は、省力化の面では有効と考えられるが、さらに省コスト化の面から経費に見合ったサイズでの投与方法の検討を進める必要がある。

文 献

- 1) TUKAMOTO, K. (1985) Mass-marking of ayu eggs and larvae by tetracycline-tagging of otoliths, *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, **51**, 903-911.
- 2) TUKAMOTO, K. (1985) Otolith tagging of ayu

*2006年カタログ、和光純薬工業

- embryo with fluorescent substances, *Nippon Suisan Gakkaishi*, **54**, 1289-1295.
- 3) 桑田 博・塚本勝巳 (1987) 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, 栽培技研, **16**, 93-104.
- 4) 桑田 博・塚本勝巳 (1989) 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－Ⅱ, 大量標識, 栽培技研, **17**, 115-128.
- 5) 高橋庸一 (1994) アリザリン・コンプレクソンの経口投与によるヒラメ稚魚の耳石染色, 日水誌, **60**, 611-616.
- 6) 小林哲夫 (1959) 魚の生体染色について, Ⅰ.注射によるニジマスのウロコの染色効果について, 北海道サケ・マスふ化場研究報告, **14**, 1-4.
- 7) 土地敬洋・今井利為 (1993) マダイ稚魚の組織と鱗へのアリザリン・コンプレクソンによる標識, 水産増殖, **41**, 379-385.
- 8) 東京都水産試験場 (2003) B小笠原海域栽培漁業推進研究, 1.アカハタの標識放流, 平成13年度東京都水産試験場事業報告, 80-81.
- 9) 山崎幸夫 (2001) スズキ放流魚の鱗によるアリザリン・コンプレクソン標識の検出, 茨城県水産試験場研究報告, **39**, 1-6.
- 10) NAKAMURA, Y. and Y. SAKURAI (1991) Validation of daily increments in statoliths of Japanese common squid *Todaodes pacificus*, *Nippon Suisan Gakkaishi*, **57**, 2007-2011.
- 11) 松村靖治 (2005) アリザリンコンプレクソン並びにテトラサイクリンによるトラフグ *Takifugu rubripes* 卵および仔稚魚の耳石標識, 日水誌, **71**, 307-317.
- 12) 清水 健 (1992) Ⅳ 資源添加技術開発の概要 E クロソイ, 日本栽培漁業協会事業年報平成2年度, 326-334.
- 13) 中川義彦 (1986) Ⅳ放流順化試験, 1.ホッキガイ種苗の生体染色, 昭和60年度北海道立栽培漁業総合センター事業報告書, 65-66.
- 14) 岡 雅一 (1994) ふ化イカを放して, 甲を集めるーコブシメ放流に関する一つの試み, さいばい, **70**, 8-12.
- 15) 足立純一 (1997) Ⅳ 資源添加技術開発の概要 E クロソイ, 日本栽培漁業協会事業年報平成7年度, 267-271.
- 16) 中川雅弘・大河内裕之 (2003) クロソイの放流試験, 日本栽培漁業協会事業年報平成14年度, 58-59.
- 17) 野田 勉・中川雅弘・大河内裕之 (2007) クロソイ中間育成ガイド, 栽培漁業実践ガイドブック－Ⅰ, 水産総合研究センター.