

## スズキ稚魚のALC耳石標識手法の検討

山崎 幸夫・山口 安男

Optimum condition for marking otolith of juvenile  
Japanese Sea Bass with Alizarin Complexone

Yukio YAMAZAKI and Yasuo YAMAGUCHI

### Abstract

In order to determine the optimum condition for marking otolith of juvenile (30–50mm total length) Japanese Sea Bass, various combination of Alizarin Complexone (ALC) concentration, treatment time and sea water concentration (diluted by water) were tested. As a result, optimum condition was 60–100mg/ℓ for 14–22 h in case of dissolved in 100% sea water. Survival of juvenile during treatment were near 100% in each condition. Immersed in ALC solution dissolved in diluted sea water, effective ALC concentration for marking was lower than in 100% sea water, but it was necessary to examine maximum number (or weight) of fish to put in, oxygen supply, etc.

key words : Japanese Sea Bass, marking otolith , Alizarin Complexone

### 目 的

人工種苗の放流追跡調査するためには、放流魚と天然魚の識別が不可欠である。マダイやヒラメ等では放流魚のサイズが小さく外部装着型の標識が使用できない場合、アリザリン・コンプレクソン（以下ALCとする）による耳石標識が用いられている（桑田ら 1987, 1989）。茨城県ではスズキ人工種苗（全長30～50mmサイズ）の標識としてALCによる耳石標識を用いている。標識処理は本県でヒラメ種苗に実施している方法に準じてALC濃度80ppmで16～18時間の浸漬処理によりおこなっているが、この方法による処理中に大量斃死を起こす場合があり（平成8年度の処理では3～4割が斃死、平成9年度では2割程度が斃死）、標識処理手法の再検討が必要となった。本研究はスズキ稚魚をALCにより標識する場合の、適正なALC濃度・浸漬処理時間等を検討することを目的として実施した。また、ALCは海水中の2価の金属イオンと反応し処理中に有効濃度が低下するとされているが、オニオコゼでは低い塩分濃度の海水で処理することにより、100%海水と比較して耳石の染色状態が良くなることが報告されている（大阪府水試、愛媛水試1995）。スズキ稚魚は汽水域を成育場として利用することから低塩分海水に対する耐性は強く、オニオコゼ同様に希釈海水を利用することで効率的な標識処理が期待できる。そこで通常の海水を用いた標識処理法とあわせて希釈海水を用いた処理法についても検討した。

### 方 法

ALC濃度・浸漬処理時間の検討は水槽実験により2回実施した。実験1では今まで実施してきた手法（ALC濃度80mg/ℓで16～18時間浸漬処理）の再検討を目的とし、100%海水により作成したALC濃度40～100mg/ℓの溶液に、14～22時間の浸漬処理をおこなった。実験2では100%海水とあわせて希釈海水による処理を試み、実験1よりも薄い濃度のALC溶液（10～40mg/ℓ）による浸漬処理をおこなった。

### 実験1

ALC濃度40, 60, 80, 100mg/ℓの4通り、処理時間14, 16, 18, 20, 22時間の5通りを組み合わせ、20の試験区を設定した。またコントロールとしてALCを溶かさない水槽を1水槽設置した。実験に供した稚魚は平均全長43.3±5.6mmで、各試験区とも15ℓスチロール水槽に100尾ずつ収容し、規定のALC濃度で10の容量になるように水量を調整した。試験中の急激な水温の変動を防ぐため、各水槽は流水管理したウォーターバスに浸漬した。試験中の水温は14.0～15.3℃（平均14.7℃）であった。給気はエアーストーンにより各水槽に十分量行なった。浸漬処理終了時に、斃死個体がある場合はその尾数を数え、生存魚はエタノールで固定した。耳石の染色状況をチェックするため各試験区とも10尾から耳石（扁平石）を摘出した。

## 実験2

海水濃度を100, 50, 25, 0%の4通り, ALC濃度を0, 10, 20, 30, 40mg/lの5通りを組み合わせ、20の試験区を設定した。なお、海水の希釈には1昼夜汲み置きした水道水を用いた。水槽、水温管理、給気は実験1と同様とし、各水槽には平均全長46.5±6.0mmの稚魚20尾を収容した。処理開始から15, 18, 21時間後に5~8尾をサンプリングし耳石摘出用にエタノールで保存した。また、浸漬処理中に斃死しているものがいた場合は適宜その尾数を計数した。試験中の水温は15.3~17.6℃(平均16.7℃)であった。

### 耳石の蛍光染色状況の評価

サンプルから摘出した耳石(扁平石)は、蛍光顕微鏡(B励起フィルター使用)により観察し、蛍光標識の有無を確認した。さらに蛍光の明るさ、染色状態から下記の基準を設け(図1参照)、各試験区のサンプルに点数をつけた。

- 1: 全く染色されていない
- 2: 周囲の一部が染色されている
- 3: 周囲全体が染色されている
- 4: 非常に鮮明に染色されており、蛍光を当てなくても染色が確認できるものもある

この評価値及び処理中の斃死尾数をもとに、適正なALC濃度・浸漬時間を検討した。

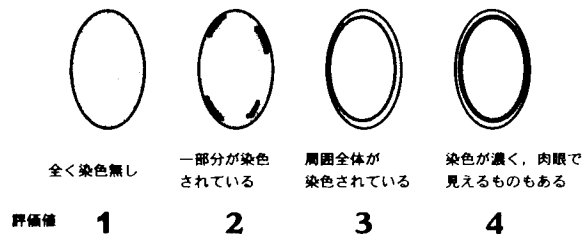


図1 耳石の染色状況の評価基準

## 結果

実験1, 2においてALC濃度・浸漬時間・海水濃度の検討をおこなったが、ここでは、まず100%海水におけるALC濃度と浸漬時間について述べ、次いで希釈海水を用いた処理について述べる。

### 100%海水での標識処理

表1に実験1におけるALC溶液に浸漬処理中の死亡尾数を示した。斃死が認められたのは21試験区のうち6水槽で、その尾数も1~3尾と少なかった。また斃死尾数とALC濃度、浸漬時間との間には関係は認められず、斃死のほとんどは実験の準備にともなう網によるすれ等によると考えられ、ALC溶液に浸漬したことに

起因する斃死はほとんどないものと考えられた。また実験2の100%海水処理区(ALC濃度10~40mg/l)においても斃死は全く認められなかった。

各試験区の耳石の染色状況(基準値による評価)の平均値を図2, 3に示した。ALC10mg/lではほとんど蛍光染色はみられず、15~21時間の浸漬処理での平均値は1.10~1.33であった。耳石の蛍光は20mg/l以上で認められるようになり、ALCの濃度が高くなるに従い評価値は高くなる傾向があった。その平均値はALC濃度20mg/lから60mg/lになるに従い2.13から2.71となり、80, 100mg/lでは3以上となった。それぞれのALC濃度の試験区で浸漬処理時間と染色状況の関係をみると、14~22時間の処理時間においてほとんど差は認められなかった。

標識として用いる際に左右どちらかの耳石が評価値3以上であれば十分に放流魚と確認できるものと考え、有効標識率=左右どちらかの耳石が評価値3以上である個体の割合を各試験区ごとに算出した(図4)。有効標識率はALC

表1 実験1における処理中の死亡状況

ALC濃度 ppm	浸漬時間 (時間)	死亡割合 %
40	14	0
	16	0
	18	0
	20	3
	22	0
60	14	0
	16	1
	18	0
	20	0
	22	0
80	14	1
	16	3
	18	0
	20	0
	22	0
100	14	2
	16	2
	18	0
	20	0
	22	0
コントロール	14~22	0

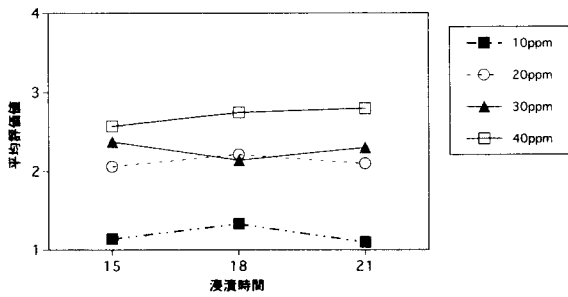


図2 ALC濃度・浸漬時間と耳石の染色状況  
実験2 (10~40mg/l) の結果から

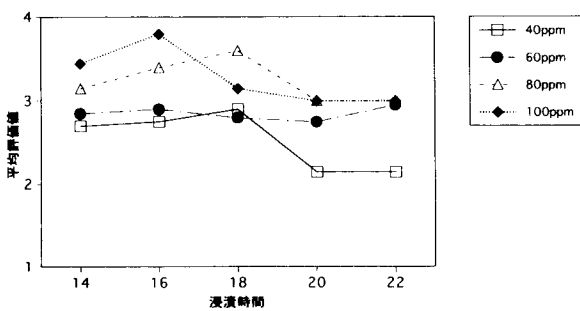


図3 ALC濃度・浸漬時間と耳石の染色状況  
実験1 (40~100/l) の結果から

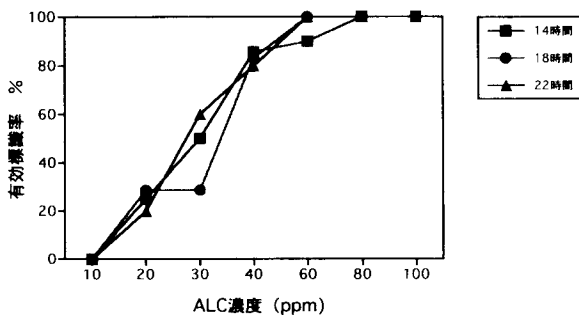


図4 100%海水におけるALC濃度と耳石の有効標識率の関係

濃度10mg/lでは0であったが、20mg/lで20~28%、30mg/lで29~60%、40mg/lで80~86%となり、60mg/l以降は90~100%となった。

**希釈海水での標識処理**

希釈海水を用いた試験区での標識処理中の斃死率は0、25、50%海水区のいずれにおいても0%となり、斃死は全く認められなかった(表2)。全長40mmサイズのスズキ稚魚は、塩分濃度の急激な変化に対する耐性を持っており、15~21時間の浸漬時間であれば生残に影響はみられなかった。

各試験区での耳石染色状況を評価の平均値として表3

に示した。0%海水区においては、100%海水区ではまったく染色されなかったALC濃度10mg/lであっても平均評価値は2.30~2.79と高く、30mg/l以上では3以上となった。25%海水区では0%海水区と比べ全体に染色評価値は低く、同じALC濃度で比較すると30mg/l以下の試験区ではすべて25%海水区の評価値が低くなっていた。50、100%海水区では染色状況に大きな差は認められず、全体的には25%海水区よりもさらに評価値は低くなった。このように海水の濃度が低いほどALCと反応する2価のイオンが少なくなり、ALCの有効成分の低下が抑制され、蛍光染色の程度が高くなる傾向が示された。

それぞれの試験区について有効標識率を算出し、図5に示した。有効標識率が100%以上となるALC濃度は、0%海水区で30mg/l、25、50%海水区で40mg/lであった。100%海水区では40mg/lで有効標識率80%となった。

**考 察**

今回の実験結果からスズキ稚魚のALC耳石標識の適性濃度・浸漬時間は、ALC60~100mg/l、浸漬時間14

表2 実験2における処理中の死亡状況

海水濃度 %	ALC濃度 (ppm)	死亡割合 %
0	0	0
	10	0
	20	0
	30	0
	40	0
25	0	0
	10	0
	20	0
	30	0
	40	0
50	0	0
	10	0
	20	0
	30	0
	40	0
100	0	0
	10	0
	20	0
	40	0

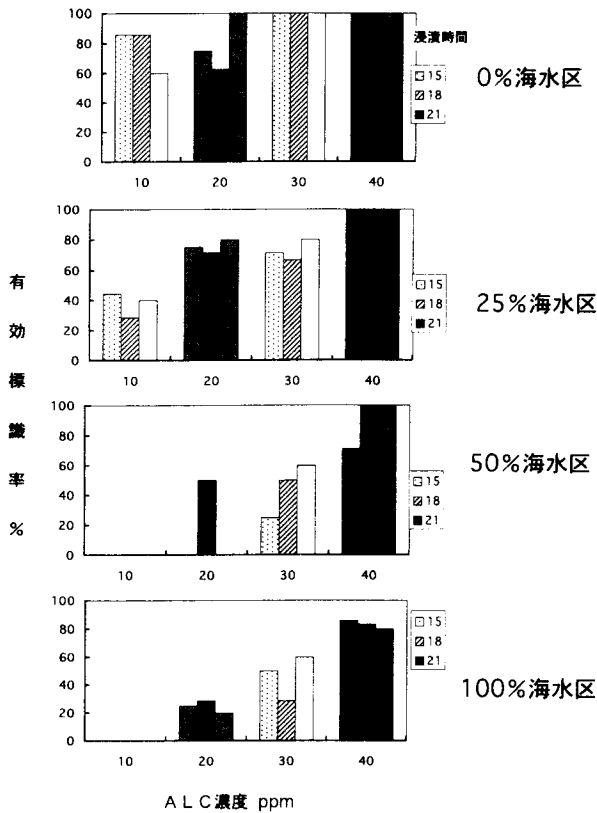


図5 海水濃度・ALC濃度・浸漬時間と耳石の染色状況の関係

表3 実験2の結果

0%海水

ALC濃度 (ppm)	浸漬時間 (時間)	検査尾数	耳石の着色状況 平均指数
10	15	7	2.79
	18	7	2.79
	21	5	2.30
20	15	8	2.63
	18	8	2.44
	21	5	2.90
30	15	7	3.00
	18	8	2.88
	21	5	3.00
40	15	7	3.36
	18	7	2.93
	21	5	3.70

25%海水

ALC濃度 (ppm)	浸漬時間 (時間)	検査尾数	耳石の着色状況 平均指数
10	15	9	2.11
	18	7	2.14
	21	5	2.40
20	15	8	2.63
	18	7	2.64
	21	5	2.70
30	15	7	2.64
	18	6	2.67
	21	5	2.70
40	15	8	3.44
	18	6	3.25
	21	5	3.50

～22時間と考えられる。また、水槽実験において、ALC濃度10～100mg/lでの処理中の斃死はほとんど無く、稚魚への影響は無いものと考えられた。小規模の実験からはこのような結果が得られたが、大量標識処理を実施した場合には表4のように大量斃死を生ずる場合がある。例1, 2は同じ飼育池で飼育した稚魚を、同様な方法で標識処理した例である。標識処理中の斃死率は例1で0.1%であったのに対し、例2では23.5%と高い斃死率となった。今回の実験からALCそのものが直接斃死要因にはならないと考えられることから、この2例の違いは飼育池からの取り上げ作業にあるものと思われる。パンライト1水槽分だけを取り上げて処理した例1と、パンライト7水槽分を取り上げて処理した例2では、一度に大量の稚魚を扱った後で網ずれ等を生じやすく、これらのハンドリングによる影響で魚を弱らせ、その結果ALC浸漬処理中の斃死を生じたものと考えられる。例1では小規模実験と同様にほとんど斃死が見られなかったことから、大量に稚魚を処理する際の取り扱い方を再検討し、できるだけ稚魚に傷をつけないようにすることで標識処理中の斃死は防げるであろう。

耳石標識放流を実施する場合、その標識の保有期間、成長にともなう標識発見率の変化を明らかにしておく必要がある。今回の実験ではこの検討を行なわなかったが、過去の放流追跡調査の結果をみると、耳石の染色状態が評価値3程度の標識放流魚が、放流から2年後に再捕・

50%海水

ALC濃度 (ppm)	浸漬時間 (時間)	検査尾数	耳石の着色状況 平均指数
10	15	7	1.07
	18	7	1.79
	21	5	1.40
20	15	8	1.38
	18	8	2.19
	21	5	2.00
30	15	8	2.13
	18	6	2.33
	21	5	2.30
40	15	7	2.50
	18	7	2.93
	21	5	2.80

100%海水

ALC濃度 (ppm)	浸漬時間 (時間)	検査尾数	耳石の着色状況 平均指数
10	15	7	1.14
	18	6	1.33
	21	5	1.10
20	15	8	2.06
	18	7	2.21
	21	5	2.10
30	15	8	2.38
	18	7	2.14
	21	5	2.30
40	15	7	2.57
	18	6	2.75
	21	5	2.80

標識確認されており（再捕時の全長 40～45cmサイズ）、その際の蛍光標識は耳石に特別な処理（切断や研磨）を行わなくても容易に確認できる程度のものであった。このことから、耳石標識を放流から2～3年の期間の追跡調査に用いるのであれば、今回得られたALC60～100 mg/ℓ・14～20時間による標識処理方法で十分有効と考えられる。

今回の実験で、希釈海水を用いてALC処理を行なうことで、通常の海水で処理する場合よりも低いALC濃度での標識付けが可能となることが明らかになった。ALCの使用量は0%海水の場合100%海水使用時の約半分（30mg/ℓ）、25%海水であれば3分の2の量で標識付けが可能となる。この結果をもとに実際に1トンパンライト水槽において25%海水を用い標識処理を実施した例を表4の例3、4に示した。例3では飼育池から1トンパンライト水槽に100%海水処理で通常おこなっている12kgの稚魚を収容した。収容時は100%海水から25%海水への急激な塩分濃度の変化に対しても水槽実験と同様に全く異常はみられなかったが、ALC溶液を投入した直後から酸欠の指標となる鼻上げ状態となったことから処理を中止した。例4では1トンパンライト水槽に8kgを収容して処理したがほとんど斃死はみられなかった。塩分の変化にともない稚魚は浸透圧調整にエネルギー・酸素を必要とすると考えられ、特に大量処理のように高密度で収容した場合、その必要量は大きいものと思われる。ALC溶液が溶かしこまれると、にごり等により稚魚は一時的に興奮状態となるため、さらに酸素を消費し酸欠状態となった可能性も考えられる。大量処理をおこなう場合小規模の水槽実験では予想されなかった現象もおこってくるため、単純にその手法を大量処理に持ち込むことには問題がある。希釈海水の大量処理への導入に当たっては、稚魚の収容量、酸素給気量等をあらかじめ十分に検討しておく必要がある。

## 要 約

- (1) スズキ稚魚（全長30～50mmサイズ）をアリザリン・コンプレクソン（ALC）により耳石標識処理する際の、適正なALC濃度・浸漬時間・海水濃度等を水槽実験により検討した。
- (2) 100%海水を用いたALC溶液により標識処理する場合の適正条件は、ALC濃度60～100mg/ℓ、浸漬時間14～22時間（14～17℃）と考えられた。
- (3) 上記条件で標識処理した場合、稚魚の斃死はほとんど認められず、ALC溶液に浸漬したことに直接起因する減耗はほとんどないものと考えられた。
- (4) 淡水により希釈した海水を用いることで、通常の海水で処理する場合よりも低いALC濃度での標識付けが可能となることが明らかになった。
- (5) 希釈海水を用いたALC溶液で大量処理した場合、稚魚が酸欠を起こしたことから、標識処理の条件については、収容密度・酸素供給量等の事前の検討が必要と考えられた。

## 文 献

- 愛媛県水産試験場（1995）平成4年度地域特産種増殖技術開発事業 魚類・甲殻類グループ総合報告書. 20-27.
- 大阪府水産試験場（1995）平成4年度地域特産種増殖技術開発事業 魚類・甲殻類グループ総合報告書. 13-15.
- 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 標識液の濃度と標識保有期間. 栽培技研, 16(2), 93-104.
- 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(2), 115-128.

表4 1トンパンライト水槽による大量標識処理の試み

例	海水濃度	ALC濃度	平均全長	収容重量	斃死率	備考	染色評価	有効
	(%)	(ppm)	(mm)	(kg)	(%)		平均値	
1	100	80	37	12	0.1	1水槽分処理	3.46	98
2	100	80	37	12～13	23.5	7水槽分処理	3.46	98
3	25	40	50	12	ALC投入後酸欠状態となり中止			
4	25	30	50	8	0.2		3.1	100

処理時間は17～18時間