

ワカサギのALC標識

相澤 康・戸田 久仁雄

水産動物の資源生態調査の手法として標識放流があるが、近年、発眼卵期や仔魚期にも標識が可能な、蛍光物質による耳石の標識法が開発された¹⁾。

蛍光物質によるワカサギの耳石標識については、石崎²⁾がアリザリンレッドで、桐生ら³⁾がアリザリンコンプレキソン（以下、ALCという。）での報告があり、これらは、発眼卵期での標識法であった。今回は、発眼卵期と併せて、ALCによる孵化仔魚、稚魚期について標識手法とその実用性を主体に検討したので報告する。

材料及び方法

各試験の概要を第1表に示した。

試験に供したワカサギ卵は、平成5年4月28日に諏訪湖漁業協同組合から、当场に郵送された卵を用いた。

第1表 各試験の概要

試験	発育段階	供試魚 全長(mm)	処理濃度 (ppm)	処理時間	実施年月日
試験1	発眼卵		100	24	11.5.6
試験2	孵化仔魚		0-400	2-24	5.10
試験3	稚魚	23.9+4.0	0-800	6-24	7.26
	稚魚	34.5+4.9	100	24	8.26

実験1 発眼卵処理による耳石標識保有期間の検討

5月6日、100ℓ水槽に発眼卵を100万粒を卵枠ごと收容し、ALC濃度100ppmで24時間浸漬処理し、静かに曝気を行った。孵化後は15tコンクリート水槽に1%人工海水中を張り、シオミズツボワムシ、アユ用配合飼料を給餌し、飼育した。

サンプリングは、孵化当日から孵化後234日目まで適宜行い、標識の確認できる期間、標識確認のために耳石の摘出が必要となる時期、耳石の研磨を必要とする時期を調べた。

供試魚は95%エタノールで固定したのち、実体顕微鏡下で耳石を摘出した。標識の確認作業は落射蛍光顕微鏡下（UV又はU、倍率100倍）で検鏡し、蛍光発色の有無により行った。また、肥厚し確認しにくい耳石はスライドガラスにユーパールで封入した後、ウォーターペーパー（2000番）で研磨した。

1回のサンプリングの供試魚の数は原則として、50個体とした。

実験2 孵化仔魚処理による処理濃度、時間及び標識部位の検討

5月10日に孵化した仔魚を当日約1000尾ずつ5ℓの溶液に浸漬し、ALCの浸漬濃度別の比較を行った。濃度は25ppm、50ppm、100ppm、400ppmと0ppmで、時間は24時間とした。浸漬処理終了後は仔魚への移収による影響を少なくするため溶液ごと、1%人工海水の入ったパンライト（500ℓ）に收容した。従って、各試験区のALC濃度はそれぞれ0.25ppm、0.5ppm、1ppm、4ppmの溶液中で止水管理、給餌方式で継続飼育することになった。

サンプリングは、浸漬開始時から41日目まで適宜行った。1回当たりの検鏡個体数は、各区、各時間ごとに10個体ずつ、耳石の摘出は5個体ずつとした。

標識の確認作業は実験1と同様とした。

実験3 稚魚処理による鱗と耳石の二重染色及び処理濃度、時間及び保有期間の検討

実験1で発眼卵染色をしたワカサギ稚魚を用い、鱗と耳石二重染色の試験を行った。

浸漬には1ℓビーカーを用い、それぞれ孵化後77日目の稚魚を30尾ずつ收容し、濃度は50、100、200、400、800ppmと対象区、時間は6、12、24時間の計18区の試験区設けた。

また、保有期間を検討するため、100ℓ水槽に約400尾の稚魚を収容し、100ppm、24時間の浸漬を行った。浸漬終了後は、注水し、半流水で処理後122日目まで継続飼育した。

鱗は、ユーパールで封入し、耳石と同様に検鏡した。1個体から5枚鱗を採取し、5枚全てに標識が確認された場合のみ、標識可とした。耳石の標識の確認作業は実験1と同様とした。

結 果

実験1 発眼卵処理による耳石標識保有期間の検討

浸漬後45日までは、耳石を摘出せずに外部からの検鏡で確認できた。また、55日までは摘出を必要とするものの、研磨せずに、明瞭な蛍光発色を確認でき、さらにそれ以降は研磨することで、234日まで100%の標識率を確認できた(第2表)。

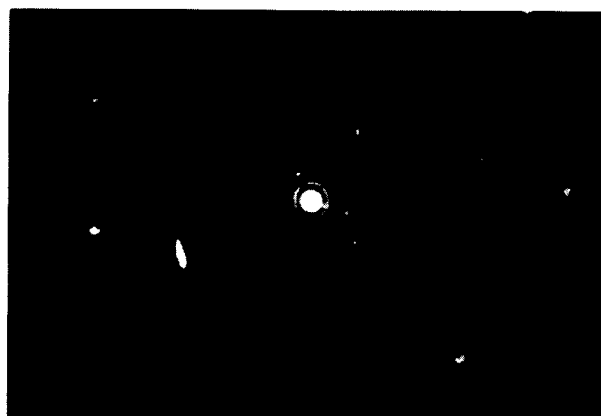
第2表 発眼卵処理における耳石の標識率の経時的変化

年月日	経過 日数	全長(mm)	耳石の標識率(%)		
			未摘出	未研磨	研磨
H5. 5.10	3		100		
5.19	12	8.1±0.5	100	100	
5.24	17	9.5±0.9	100	100	
5.31	24	10.9±1.4	100	100	
6.11	35	12.7±1.1	100	100	
6.21	45	14.9±1.2	100	100	
6.25	49			100	
7. 1	55	16.7±2.0		100	
8. 4	89	22.5±3.1		80	100
8.26	111	34.5±4.9		40	100
9. 3	119	35.3±8.1		40	100
10. 1	147	48.9±11.7		20	100
10.15	161	53.0±5.7		0	100
11.12	189	63.0±9.0		40	100
12.27	234	62.8±7.1		40	100

実験2 孵化仔魚処理による処理濃度、時間及び標識部位の検討

各器官における標識状況を、ALC濃度ごとに、経時的に検鏡したところ、耳石のほか、消化管、胸鰭担鰭骨、上顎骨に蛍光反応を確認した。しかし、耳石、胸鰭担鰭骨以外は、標識率が不安定であった(第1図)。標識率の安定して確認された耳石の処理濃度及び時間は、50ppmで24時間以上、100ppmで20時間以上、400ppmでは、13.5時間以上であった。胸鰭担鰭骨は400ppmで5時間以上であった。

耳石の標識は、発眼卵処理においては、核部に蛍光発色が見られたのに対し、仔魚処理では核部には染色されずにリング状となっていた(第2、3図)。



第2図 発眼卵処理による耳石の標識
(ALC濃度：100ppm、浸漬時間：24時間、処理後12日経過)



第3図 ふ化仔魚処理における耳石(未摘出)の標識
(ALC濃度：400ppm、浸漬時間：20時間、処理直後)

実験3 稚魚処理による鱗と耳石の二重染色及び処理濃度、時間及び保有期間の検討

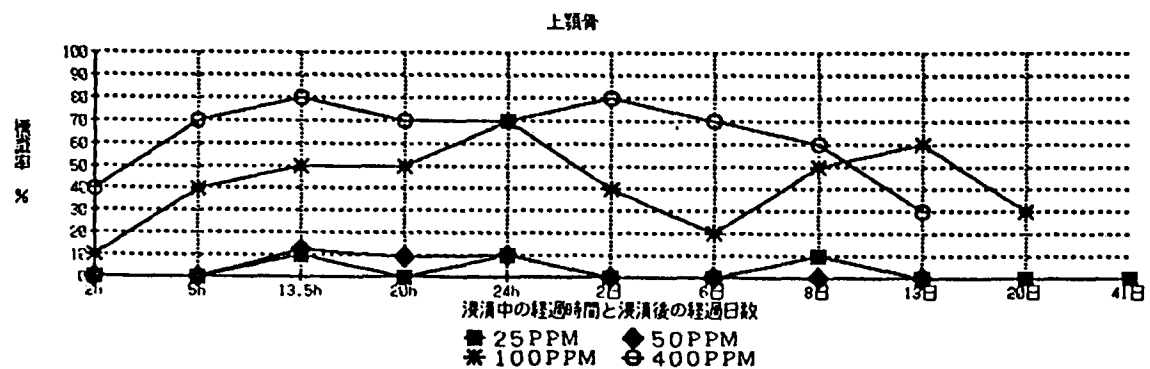
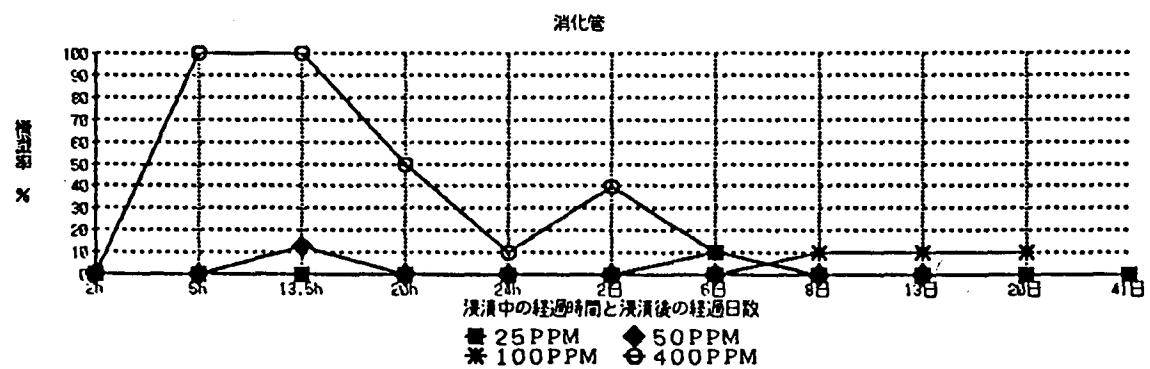
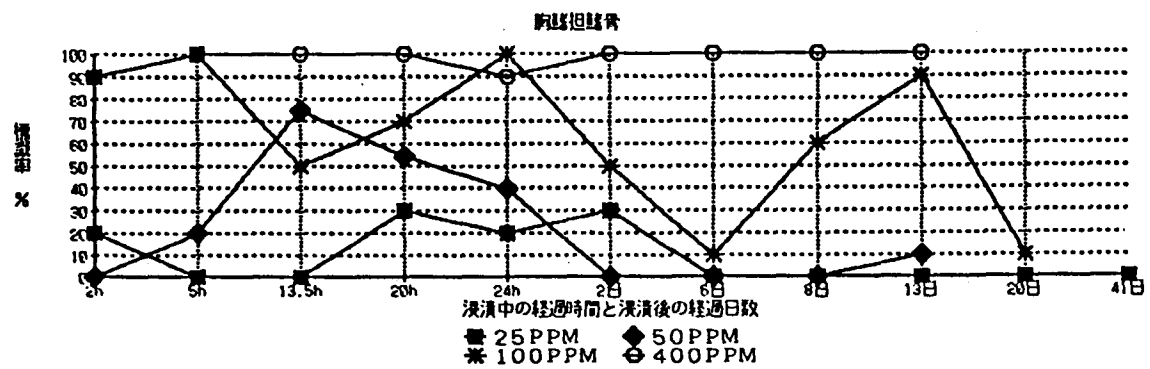
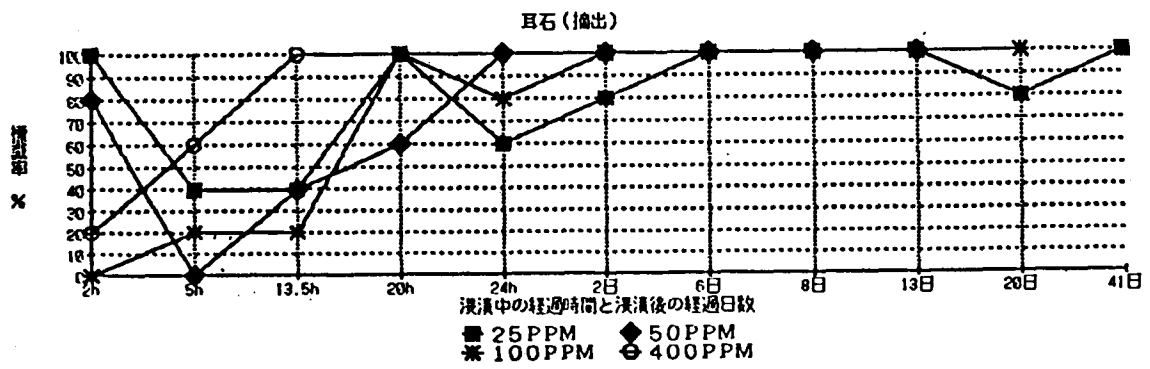
稚魚処理による供試魚の生残状況は次のとおりであった。

400ppm、800ppmでは処理時間は6、12、24時間で全てへい死した。200ppmでは、6時間で79.4%、12時間で7.3%、24時間で51.5%の生残率であった。100ppm、50ppmでは、各時間とも生残率80%以上を示し、対象区と大差がなかった(第3表)。

また、6時間以上の処理により、全ての区の供試魚から標識を確認することができた。

耳石への標識は、発眼卵処理と稚魚処理による二重染色で蛍光発色がそれぞれ核部及びリング状に縁辺部に確認され(第4図)、この標識は処理後、少なくとも122日までは確認された(第4表)。

鱗への標識は、100ppm以上の濃度であれば6時間浸漬処理で標識率20%の蛍光反応が得られたものの(第5図)、浸漬後3日後には消失した(第4表)。



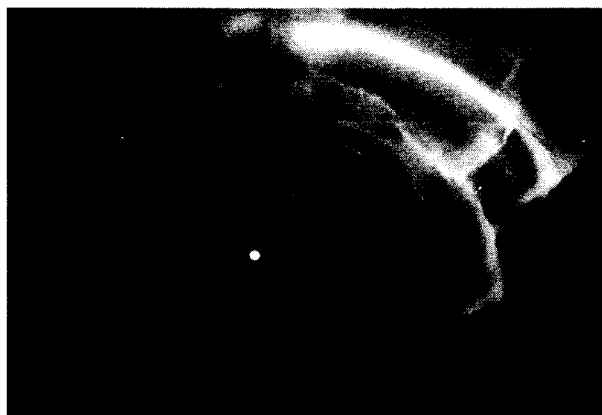
第1図 孵化仔魚処理における部位別標識率の経時的変化

第3表 稚魚処理における標識率と生残率

処理時間	濃度 (ppm)	標識率 (%)		生残率 (%)
		耳石	鱗	
6	対象区	—	—	96.9
	50	100	60	89.7
	100	100	100	97.0
	200	100	100	79.4
	400	100	100	0.0
	800	100	100	0.0
12	対象区	—	—	90.9
	50	100	80	83.9
	100	100	100	81.3
	200	100	100	7.3
	400	100	100	0.0
	800	100	100	0.0
24	対象区	—	—	87.9
	50	100	80	93.3
	100	100	100	80.6
	200	100	100	51.5
	400	100	100	0.0
	800	100	100	0.0

第4表 稚魚処理における耳石及び鱗の標識率の経時的変化

年月日	経過日数	全長 (mm)	標識率 (%)	
			耳石	鱗
H5. 8.27	0		100	20
8.28	1		100	20
8.30	3		80	0
9. 3	7	35.3 ± 8.1	100	0
10. 1	35	48.9 ± 11.7	100	0
10.15	49	53.0 ± 5.7	100	0
11.12	77	63.0 ± 9.0	100	0
12.27	122	62.8 ± 7.1	100	0



第4図 耳石における二重標識
(一重、二重とも、ALC濃度：100ppm、浸漬時間：24時間で、
処理後の経過日数は一重が234日、二重が122日)



第5図 稚魚処理における鱗の標識
(ALC濃度：100ppm、浸漬時間：24時間、処理後2日経過)

考 察

ワカサギのALC標識に関しては、桐生らにより発眼卵処理で、300日以上を経ても、明瞭に蛍光発色が確認されること、及び成長、生残に影響はないことなどで、その有効性が報告されている³⁾。

本試験でも同様の結果となったが、孵化後89日目（体長22.5cm±3.1）から耳石の肥厚により核部の標識確認が困難となった。塚本はアユ卵・仔魚のテトラサイクリン標識でも、研磨、エッチングを行うことにより、標識の確認を確実なものにできることを報告しており¹⁾、ワカサギにおいても研磨することが不可欠である。

塚本¹⁾、関ら⁵⁾、桑田ら⁶⁾は、複数回の染色によりリング状の多重標識が可能であると報告している。ワカサギでは、発眼卵期の標識は、耳石の核に染色されていたのに対し、仔魚期、稚魚期は耳石の成長により、核には染色されずに、リング状の標識となった。また、発眼卵期と稚魚期に各1回ずつ染色処理したところ、核部と縁辺部に標識されたことから、発育段階や複数回染色による多重標識することにより、放流群の識別が可能と思われる。

土地ら⁷⁾は、マダイ稚魚に染色し、耳石以外に鱗にも標識が可能であることを明らかにし、この場合、煩雑な耳石摘出の作業や試料買い取りが不要であるので有効としている。今回、ワカサギで、同じ試みを行ったが鱗への染色は標識率が低く、3日後には消失してしまった。

耳石以外では、仔魚処理で胸鰭担鰭骨に処理後41日目まで蛍光発色が確認されたが、この場合400ppmと高濃度であることから、供試魚のへい死率が高くや保有期間についても再検討する必要がある。

実用化への指標として、耳石への適切な染色濃度、時間はそれぞれ、孵化仔魚においては25ppm、24時間、稚

魚においては、50ppm、6時間で可能であるとの結果を得たが、ワカサギのような多獲性魚種の場合、大量の標識放流が必要である。また、放流方法も、マダイ、ヒラメの稚魚放流とは違い、発眼卵による放流が行われているので、一定期間養成後の放流は実用的でなく、野外調査に応用する際は、効率的な手法について更に検討する必要があると思われる。

要 約

- 1) ワカサギの発眼卵、仔魚、稚魚期におけるALC染色を行い、処理時間、濃度、保有期間及び標識部位について検討した。
- 2) 発眼卵期に100ppm、24時間で染色し、孵化後234日までの稚魚においてALC標識を確認できた。また、55日以降は標識確認を確実にするため、耳石の研磨が必要であることがわかった。
- 3) 仔魚期においては、耳石では50ppm、24時間、胸鰭担鰭骨では400ppm、5時間以上で標識が可能であった。しかし、保有期間、へい死率については再検討する必要がある。
- 4) 稚魚期では、50ppm、6時間で耳石への標識が可能であったが、鱗への標識は3日後に消失した。
- 5) 仔魚期、稚魚期ともALC染色による標識はリング状であった。また、二重染色が可能であることから、多重標識することにより放流群の識別手段として有効と判断された。

謝 辞

本試験を実施するにあたり、卒業論文課題として取り組み、種々のご協力をいただいた、北里大学水産学部学生柴崎栄二氏に厚くお礼を申し上げる。

引用文献

- 1) 塚本 勝巳 (1985) : 耳石によるアユ卵・仔魚の大量標識法 (英文), 日本水産学会誌, **51** (6), 903~912.
- 2) 石崎 博美 (1993) : ワカサギ発眼卵の耳石標識, 神奈川県淡水魚増殖試験場報告, **29**, 63~64.
- 3) 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, 平成4年度山梨県魚苗センター事業報告, 53~57.
- 4) 塚本 勝巳 (1988) : 蛍光物質によるアユ卵の耳石標識法 (英文), 日本水産学会誌, **54** (8), 1289~1295.
- 5) 関 泰夫・塚本 勝巳・岩橋 正雄 (1988) : サケ・マスの発眼卵・仔魚の耳石標識, 新潟県内水面試験場調査研究報告, **14**, 13~18.
- 6) 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魚の耳石標識, 栽培技研, **16** (2), 93~104.
- 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染色, 水産増殖, **41** (3), 379~385.