

## ヒラメ稚魚のアリザリンコンプレキソン 染色時間の検討

川島時英・鈴木達也<sup>\*1</sup>・玉井雅史<sup>\*2</sup>

### The Examination of Alizarin Complexone Staining Period on Juvenile Japanese Flounder

Tokifusa KAWASHIMA, Tatsuya SUZUKI<sup>\*1</sup>,  
And Masashi TAMAI<sup>\*2</sup>

キーワード：ヒラメ，耳石，標識

#### はじめに

種苗放流に関する調査において放流魚と天然魚の識別が不可欠である。マダイやヒラメでは標識器具によらない標識法としてアリザリンコンプレキソン（以下ALC）による耳石染色が行われている<sup>1-5)</sup>。ALC (Alizarin Complexone, C<sub>19</sub>H<sub>15</sub>NO<sub>8</sub>) は古くから染料として使用されていたが、現在はフッ素などの定性、定量分析用試薬として用いられている<sup>6)</sup>。

ALCによる標識方法は、外部から肉眼で識別ができず、魚を買取るなどして耳石や鱗の摘出をして確認しなければならない欠点もあるが、一回に大量の稚魚に標識でき、脱落がないなど、利点も多い。

ALCの染色には12時間以上が必要とされるので<sup>3)</sup>、従来本県では作業上の問題から夜間に20時間の染色を行ってきた。しかし、止水、無給餌で20時間の染色は稚魚に大きなストレスを与えると推察される。代謝が盛んで耳石の形成速度が早い昼間にALC染色を行うことで、時間が短縮される<sup>7)</sup>と考えられるので、ヒラメに対するストレス軽減と、作業時間の短縮による能率向上と経費節約を目的として本試験を行った。

#### 方 法

##### 染色時間

試験は、1998年9月21日の午前7時から午後3時までの合計8時間、千葉県栽培漁業センター屋内の円型

コンクリート水槽（25 t容，直径6 m）において水量5 tで行った。供試魚は平均全長68.6mmのヒラメ11,323尾を用いた。ヒラメの収容密度は2.3尾/lである。ALC濃度は70ppmとした（表1）。ヒラメ染色時の水温は21.9～23.7℃，溶存酸素量は6.14～10.25ppm，pHは7.19～7.72であった。1時間後から8時間後まで毎時5尾づつ魚を取り出して耳石（偏平石）を摘出し、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、ALCにより染色された部位が鮮紅色の蛍光を発する<sup>1)</sup>ことを観察した。

表1 ALCによる染色条件

実施年月日	平均全長(mm)	尾数(尾)	収容密度(尾/l)	ALC濃度(ppm)
1998年9月21日	68.6	11,323	2.3	70

##### 二重染色

染色時間を短くした場合、二重染色が可能かを明らかにするために、9月21日に染色したヒラメを用いて1998年10月14日に千葉県栽培漁業センターで、染色時間8時間で2回目のALC染色を行った。その後、ヒラメ供試魚を水産試験場の水槽に移して飼育を継続して、2回目の染色から155日後の1999年3月18日にヒラメを1尾（全長151.0mm，体重30.4g）取り出し（表2），耳石および鱗のALC染色状況を蛍光顕微鏡により観察した。鱗の採取位置は、有眼側の頭部の側線基部である。

\*1 千葉県栽培漁業センター（現所属 館山水産事務所）

\*2 千葉県栽培漁業センター

\*3 日本栽培漁業協会（1990）：ALC標識について。pp.1-6.

### 保持期間

このように短時間の染色で、その後の成長に伴い、ALCの蛍光に変化が見られるかを観察した。試験は、1の試験でALC染色をほどこしたヒラメ供試魚を水産試験場の水槽に移して飼育を継続し、染色から178日後の1999年3月18日にヒラメ1尾（全長164.3mm、体重42.6g）取り出し（表2）、耳石および鱗のALC染色状況を蛍光顕微鏡により観察した。

表2 1999年3月18日に染色状況を確認したヒラメ

ALC染色日	全長(mm)	体重(g)	標識
1998年9月21日	164.3	42.6	一重
1999年9月21日, 10月14日	151.0	30.4	二重

## 結 果

### 染色時間

染色開始から3時間までは耳石全体が弱い黄緑色の蛍光を発していた（写真1～3）。4時間後には、ALCによる淡い鮮紅色の蛍光が耳石縁辺部に現れた（写真4）。その後、鮮紅色が次第に強くなり（写真5, 6）、7時間以上経過するとALCによる鮮紅色の強さに変化はなくなった（写真7, 8）。

### 二重染色

ALCにより二重染色された耳石の状況を写真9および10に示した。鮮紅色の蛍光が二重のリング状となって観察された。

鱗のALC染色状況を観察した（写真11, 12）。鱗においても耳石と同様にALCにより染色された部分が二重の鮮紅色の蛍光となって観察された。

### 保持期間

染色後178日経過した耳石の染色状況を写真13および14に示した。ALCによる鮮紅色の蛍光がリング状に観察された。鱗においても耳石と同様にALCにより染色された部分に鮮紅色の蛍光が観察された（写真15, 16）。

## 考 察

ALC8時間染色の耳石および鱗の染色状態を、20時間染色をしたもの（写真17, 18）と比較すると、その染色状態は、写真では8時間染色がわずかに薄く感じられるが、顕微鏡による観察では違いは見られない。この試験結果から、ALC濃度70ppmでは染色時間が7時間で、十分な標識が可能であると考えられた。これ

までALCの染色時間を12時間以上として、作業の都合上夜間に20時間の染色を行ってきたが、染色時間を短くし、ヒラメ稚魚のストレス軽減と作業の軽減が可能になると思われた。

マダイではALC標識後最長6年9か月間保持されることが確認されている<sup>9)</sup>。現在市場に水揚げされているヒラメは6歳程度までであるので、持続期間は6年以上は必要となる。今回、水槽飼育で178日目まで保持されることを確認したが、今後更に飼育を継続して確認する必要がある。

## 要 約

- 1) ヒラメ稚魚に対するALC標識として染色時間の短縮、二重染色および保持期間を検討した。
- 2) ALC染色による標識の有効時間は、代謝の盛んな昼間行うことにより濃度70ppmで、7時間染色で十分である。
- 3) 染色178日後まで保持が確認できた。

## 文 献

- 1) 栗田 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。
- 2) 栗田 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。
- 3) 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。
- 4) 竹野功麿・栄 健次・浜中雄一・今泉 均（1990）：ALCを用いたヒラメの標識の有効性について。日本海ブロック試験研究集録，19，55-59。
- 5) 中村良成・栗田 博（1994）：アリザリン・コンプレクソンによる稚魚への大量標識法における鱗からの標識検出法の検討。栽培技研，23(1)，53-60。
- 6) 東京化学同人（1984）：アリザリン。「生化学辞典」（今堀和友・山川民夫，第1版，東京化学同人，東京，p.74。
- 7) 塚本勝巳（1987）：初期生活史研究の手法，3-魚卵・稚仔魚の耳石標識法。海洋と生物，9(2)，103-105。

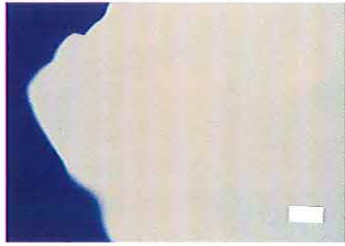


写真1 染色1時間  
(100倍)

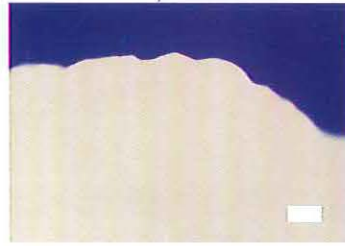


写真2 染色2時間  
(100倍)

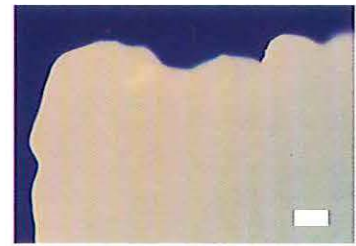


写真3 染色3時間  
(100倍)

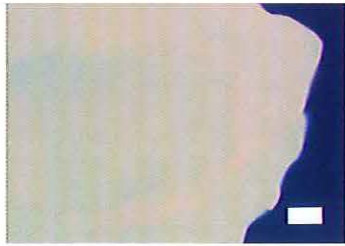


写真4 染色4時間  
(100倍)

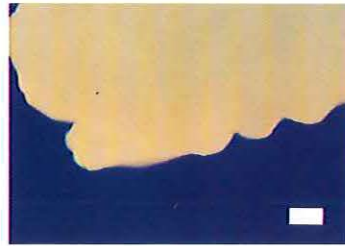


写真5 染色5時間  
(100倍)

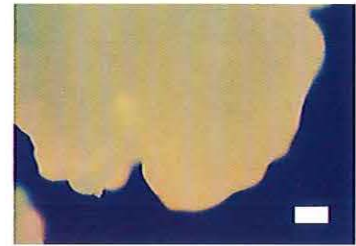


写真6 染色6時間  
(100倍)

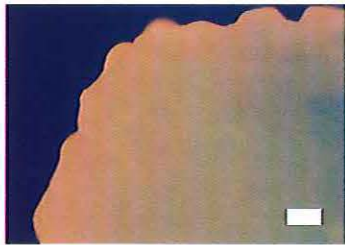


写真7 染色7時間  
(100倍)

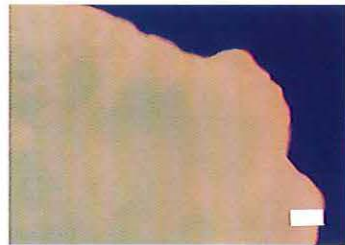


写真8 染色8時間  
(100倍)

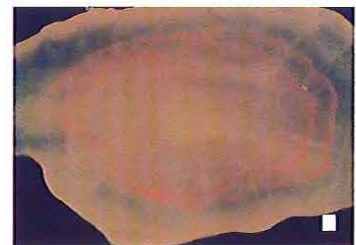


写真9 二重標識  
(40倍)

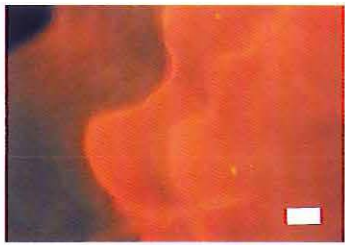


写真10 二重標識  
(100倍)

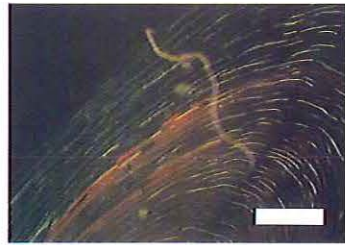


写真11 鱗二重標識  
(200倍)

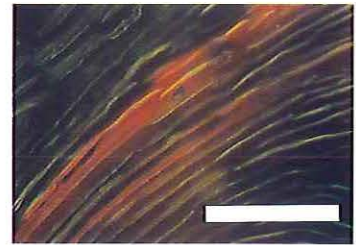


写真12 鱗二重標識  
(400倍)



写真13 一重標識  
(40倍)



写真14 一重標識  
(100倍)



写真15 鱗一重標識  
(200倍)

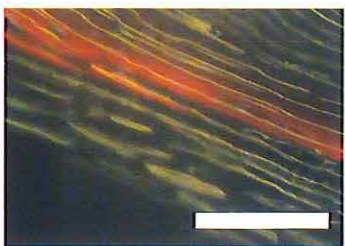


写真16 鱗一重標識  
(400倍)



写真17 20時間染色  
(100倍)

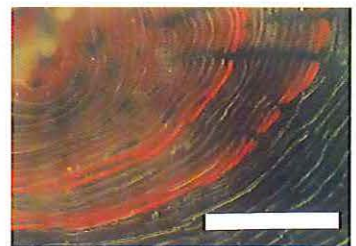


写真18 20時間染色  
(400倍)

各写真の右下の白抜きのバーの長さは0.1mmを示す。