

## アリザリン・コンプレクソン(ALC)を用いたミルクイ小型稚貝への大量標識法の検討

日比野学・宮脇 大・岡本俊治

**Mass marking method in smaller juveniles of Pacific gaper (*Mirukui*; *Tresus keenae*) using alizarin complexone (ALC)**HIBINO Manabu<sup>\*1</sup>, MIYAWAKI Dai<sup>\*2</sup>, and OKAMOTO Shunji<sup>\*1</sup>

キーワード; ミルクイ, 小型稚貝, ALC, 大量標識

栽培漁業において種苗放流の効果を把握するためには、天然個体と放流個体を識別することが不可欠である。ミルクイ (*Tresus keenae*) は単価が高く、本県の潜水漁業者にとって重要な漁獲物であり、漁業者による種苗放流が行われている。これまで本種人工種苗への標識は、ペイントマーカーなどの貝殻塗布により行われているが、塗布可能な殻長サイズまで育成する必要がある上、標識を施す個体数にも限界があり、十分な再捕数が得られていない。<sup>1)</sup> このため、本種の放流効果を定量的に検討するには、標識個体数の増加が必要である。放流個体の標識方法として、アリザリン・コンプレクソン(以下 ALC)を、魚類の耳石<sup>2,3)</sup>や鱗<sup>4)</sup>貝類の外殻<sup>5,6)</sup>などの硬組織へ沈着する方法が、多くの種苗放流対象種で採用されている。この方法では、対象種苗を一定時間 ALC 溶液に浸漬することにより行われるため、他の標識法より大量かつ小型の種苗への適用が可能になる点が最大の特徴である。二枚貝における ALC 標識では、アサリ(*Ruditapes philippinarum*)<sup>5)</sup>やハマグリ(*Meretrix lusoria*)<sup>6)</sup>などでその有効性が確認されているが、これまでミルクイ稚貝へ ALC 標識を適用した報告例はない。本報告では、ミルクイ小型稚貝への大量標識方法を検討する端緒として、種苗生産機関からの出荷サイズである殻長 4 mm サイズ稚貝への ALC 標識の可能性について検討した。

供試稚貝は、2008 年 1 月 19 日に種苗生産機関から日間賀島漁業協同組合に搬入されたミルクイ稚貝(平均殻長 4.3 mm, 87 日齢), 約 2,600 個とした。ALC 溶液の調整は友田・桑田<sup>2)</sup>に従い, 50 ml の 1MNaOH 水溶液に 0.5

g の ALC 粉末を溶解したあと、濾過海水を注水し 500 ml とし、1MHCl 水溶液で pH 8 に調整した。さらに、この溶解液を 4.5 L の濾過海水と混和し、計 5 L の 100 ppmALC 処理液とした。ALC 浸漬処理は、約 1,300 個体の稚貝をこの処理液に収容し、約 11 分に調温して微通気することにより行った。試験区は、浸漬時間の異なる 2 区(24h 処理区, 48h 処理区)を設定した。処理液に浸漬した稚貝のうち約半数を 24 時間浸漬後に取り上げ 24h 処理区とし、残りの個体は浸漬を継続し 48 時間浸漬後に取り上げ 48h 処理区とした。ALC 処理が個体に及ぼす影響を評価するため、処理後各区から一部(60 個体程度)を無作為に抽出し、潜砂行動を観察した。潜砂行動の観察では、各区の稚貝を 2 cm 程度砂を敷き濾過海水を満たした内径約 10 cm の容器に収容し、約 2 時間後と 24 時間後に潜砂または底砂に固定している個体を計数し、潜砂率として求めた。対照区は、上記小容器に 94 個体を収容した止水対照区と、処理区と同じ収容密度で濾過海水による流水管理した流水対照区を設定した。各対照区は上記条件で 24 時間飼育した後、処理区と同様に潜砂行動を確認した。なお、全ての試験区において、稚貝の搬入から潜砂率の確認までは、無給餌条件で行った。ALC 処理区及び対照区の残りの稚貝は、各処理後(対照区は飼育後)速やかに砂を敷いた中間育成用の垂下カゴに収容し、日間賀島漁港内で 58 日間(48h 処理区は 57 日間)飼育した後に取り上げ、標識の有無を確認した。ALC 標識の確認は、落射式蛍光顕微鏡(オリンパス AH3-RFCA)を用い、G 励起下 40 倍で貝殻表面(殻長 5~8 mm)の観察により行

<sup>\*1</sup> 愛知県水産試験場漁業生産研究所 (Marine Resources Research Center, Aichi Fisheries Research Institute, Toyohama, Minamichita, Aichi 470-3412, Japan)

<sup>\*2</sup> 愛知県知多農林水産事務所水産課 (Chita Agriculture, Forestry and Fisheries Office of Aichi Prefectural Government, Deguchi, Handa, Aichi 475-0903, Japan)

った。

ALC 処理による潜砂率について Table 1 に示した。処理後の経過時間によらず潜砂率はほぼ一定しており、対照区で 77.7~82.8%であるのに対し、24h 処理区では 86.7%と対照区に比べ遜色ない ( $\chi^2$ 検定,  $p>0.05$ ) が、48h 処理区では 52.3~63.1%と対照区より有意に低かった ( $p<0.01$ )。このことから ALC 処理液への浸漬時間については、24 時間なら稚貝の行動に影響はみられないが、48 時間になるとやや影響が生じると考えられた。中間育成期間における生残率は、対照区が 33.6%であるのに対し、24h 処理区及び 48h 処理区ではそれぞれ 25.7%と 24.0%とやや低かった。ただし、対照区でも生残率が低かったため、実験海域での育成条件自体が悪かった可能性があり、本試験でみられた生残率の差が ALC 処理による間接的影響かどうかは判断できなかった。ALC 標識は、中間育成 (約 2 ヶ月間) 後においても、外観上は紫色のリングとして、蛍光顕微鏡下では貝殻中央部に明瞭な赤色の蛍光リングとして観察された (Fig. 1)。蛍光顕微鏡下での観察において、ALC 標識は 24h 処理区と 48h 処理区ともに観察したすべての個体において同様かつ明瞭に視認され (Table 2)、ミルクイにおいても他の二枚貝類<sup>5,6)</sup>と同様に貝殻部へ標識が可能であり、少なくとも 2 ヶ月間は残存することが明らかになった。また、標識リングは浸漬時の貝殻外縁を示していることから、放流後の成長追跡や、適正放流サイズの検討へも応用可能と推定された。以上のことから、100 ppm の ALC 溶液に 24 時間浸漬することで、殻長 4 mm 程度のミルクイ種苗への標識が可能であると判断された。この方法により、従

来<sup>1)</sup>の約 1/10 サイズで、かつ一度に大量個体への標識が可能であり、より定量性の高い放流効果調査に貢献できると考えられた。

謝 辞

水産総合研究センター南伊豆栽培漁業センターの鈴木重則氏には、ALC 標識に関する有益なご助言を頂いた。心より御礼申し上げる。

文 献

- 1) 黒田伸郎・岡村康弘・荒川純平 (2004) 重要二枚貝増養殖試験 (放流ミルクイ生残調査). 平成 15 年度愛知県水産試験場事業報告, 4.
- 2) 友田 努・桑田 博 (2006) pH 調整したアリザリン・コンプレクソン溶液の希釈によるハタハタ稚魚の耳石標識. 日水誌, 72, 76-78.
- 3) 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.
- 4) 中村良成・桑田 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, 53-60.
- 5) 清水洋平・高島信一 (2007) 1.1-1 (2) -2 アサリ 1.1-1 (2) 貝類種苗生産技術開発試験. 平成 17 年度北海道立栽培漁業総合センター事業報告書. 32-42.
- 6) 所 高利・岩崎 順・小松伸行・星野尚重・磯崎信也・大川克弘 (2008) 鹿島灘はまぐり放流技術開発研究. 平成 16 年度茨城県水産試験場事業報告, 35-46.

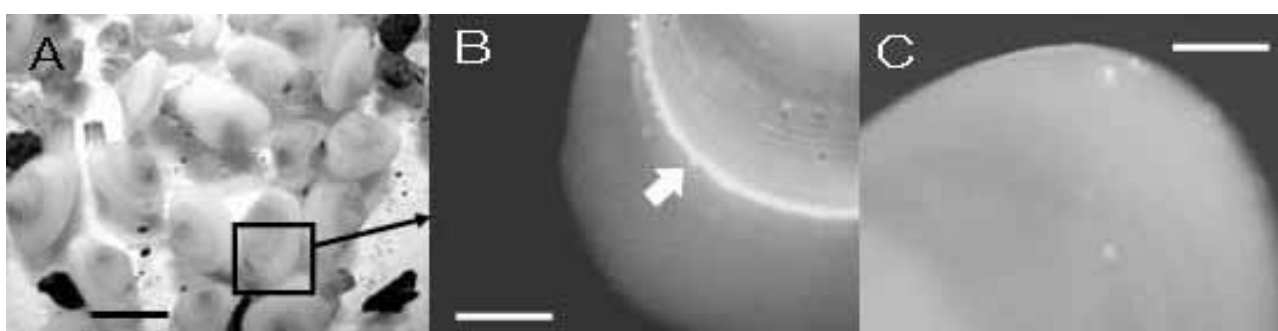


Fig. 1 Shell appearance of the pacific gaper juveniles after 58 days cultivation in cage with sand bed. Outlook of the shellfish (A); fluorescence microscopic photograph of half part of shells with G excitation in 24h treatment (B); and in control (C). Bars indicate 5 mm (A) and 0.5 mm (B, C), respectively

Table 1 Comparison of the burrowing rate in the substrate between controls and each durations of ALC staining treatment

Treatments	No. inds.	After 2h (%)	After 24h (%)
Control (No-flow)	94	78.7	77.7
Control (Flow)	64	82.8	79.7
24h stained	60	86.7	86.7
48h stained	65	63.1	52.3

Table 2 Remaining rate of ALC mark on shell in each duration of staining treatments

Treatments	No. inds.	Visible	Invisible	Marked rate (%)
Control	48	0	48	0
24h stained	121	121	0	100
48h stained	31	31	0	100