

# オオクチバスの耳石と鱗へのアリザリン・コンプレキソンによる 染色

誌名	水産技術 = Journal of fisheries technology
ISSN	18832253
著者	加納, 光樹 久保田, 正秀 荒山, 和則
巻/号	1巻2号
掲載ページ	p. 71-75
発行年月	2009年3月

短 報

## オオクチバスの耳石と鱗への アリザリン・コンプレキソンによる染色

加納光樹<sup>\*1a</sup>・久保田正秀<sup>\*1</sup>・荒山和則<sup>\*2</sup>

### Alizarin Complexone Staining of the Otolith and Scale of Largemouth Bass, *Micropterus salmoides*

Kouki KANOU<sup>\*1a</sup>, Masahide KUBOTA<sup>\*1</sup>, and Kazunori ARAYAMA<sup>\*2</sup>

Abstract: Optimum conditions for marking of otoliths and scales in juvenile largemouth bass, *Micropterus salmoides*, with alizarin complexone (ALC) were examined. Otoliths and scales of juveniles at ca. 3 cm in standard length (SL) could be clearly marked by placing the fish in ALC at concentrations of 100 mg/ℓ for 24 hours, followed by transfer to normal water. The ALC marks were still observable in individuals at least 1 year old and of ca. 15 to 17 cm SL. The monitoring system of largemouth bass using the ALC marking technique was proposed for the effective detection of irrelevant use of this fish in facilities (hatcheries, farm ponds, fishing ponds, and lakes) where rearing and stocking permission has not been obtained from the relevant Minister under the Invasive Alien Species Act.

2008年8月28日受付, 2008年12月19日受理

オオクチバス *Micropterus salmoides* は、1970年代以降のルアー釣りブームに伴う意図的な放流によって急速に分布を拡げ、日本各地の天然湖沼や河川、ため池などに定着して在来生物群集や漁業資源に甚大な被害を及ぼしてきた<sup>1,2)</sup>。このような被害を低減するために、2005年に施行された「特定外来生物による生態系等に係る被害の防止に関する法律（以下、外来生物法という）」によって本種は特定外来生物に指定され、輸入、飼養、運搬、保管などの行為が規制されるとともに、野外に放つ行為が一律に禁止された。この法律に基づいて、現在、全国各地で国、地方自治体、研究機関、漁業協同組合、土地改良区および市民団体などが互いに協力しながらオオクチバスの防除を進めている<sup>3)</sup>。一方で、2000年代に入り各自治体でオオクチバスの移植が禁止されてから

も、人為によると疑われるオオクチバスの分布拡大が相次いで確認されてきたことから<sup>4,6)</sup>、違法放流を抑止するモニタリングシステムの開発が急務となっている<sup>7)</sup>。

外来生物法の施行時にオオクチバスの飼養等の許可を得て特定飼養等施設として認可された水域（管理釣り場や養殖場、芦ノ湖、山中湖、河口湖、西湖など）では、流出口に逸出防止措置を施し飼養が継続されている。しかしながら、本種の分布が人為により拡大した経緯から、飼養個体に標識を施したうえで、違法な持ち込み・持ち出しの監視および逸出防止措置の有効性の検証を定期的に行うべきとの指摘がある<sup>8)</sup>。これまで本種の標識については、野外での生息密度推定の際に鱗の切除<sup>9)</sup>や埋め込み式のピットタグ<sup>10)</sup>などの標識手法が用いられ

\*1 財団法人自然環境研究センター 〒110-8676 東京都台東区下谷3-10-10

Japan Wildlife Research Center, Taito, Tokyo 110-8676 Japan.

\*1a 現所属：茨城大学広域水圏環境科学教育研究センター

Center for Water Environment Studies, Ibaraki University, Itako, Ibaraki 311-2402, Japan.

kkano@mx.ibaraki.ac.jp

\*2 茨城県内水面水産試験場

ることはあったが、これらの手法の特定飼養等施設への適用は業者に過大な負担を課すことになり、かつ、魚体に悪影響を及ぼすおそれがあること、および標識の脱落が起こりうることなどの理由から実用的かつ効率的な手法ではなかった。そこで今回、多くの水産有用魚種の大量標識放流の現場で使用されているアリザリン・コンプレキソン (ALC) <sup>11-14)</sup> を用い、オオクチバスの耳石と鱗に蛍光標識を施す方法を確立したので、ここに報告する。

オオクチバスを ALC により染色処理する際の ALC 有効濃度と浸漬時間を調べるための実験を、2005 年 2 月に台湾高雄県の種苗生産会社において実施した。実験に供したオオクチバスの稚魚は、台湾高雄県の種苗生産会社より入手した体長 26～31 mm の 400 個体である。この種苗生産会社への聞き取り調査によると、通常、体長 3～4 cm の稚魚で日本を含めた諸外国の養殖場に出荷されるとのことであった。ALC 濃度を 50 mg/l と 100 mg/l の 2 通り、浸漬時間を 6, 12, 18, 24 時間の 4 通り、計 8 試験区を設定した。日陰に設置した 2 つの 90 l スチロール水槽のそれぞれを、規定の ALC 濃度で 40 l になるように調整し、200 尾ずつ稚魚を収容した。実験中の水温は 22.2～24.3℃であった。エアーストーンにより各水槽に十分な給気を実施した。浸漬終了時に、それぞれの試験区の水槽から耳石および鱗の観察用標本として 15 尾ずつの稚魚を取り上げ、急速冷凍して保管した。各標本から耳石 (扁平石) と鱗 (胸鱗と側線の間の部位のもの) を採取し、スライドグラスにのせ、蛍光顕微鏡により標識の有無を確認した。検鏡には落射蛍光顕微鏡 (OPTIPHOTO-2, ニコン製) を用い、B および G 励起フィルターで観察した。さらに、淡水馴致後も ALC 標識が残存することを確認する目的で、ALC 濃度 50 mg/l と 100 mg/l のそれぞれで 24 時間浸漬した稚魚 (それぞれ 15 尾) については、無給餌条件において ALC が含まれない水で 48 時間飼育したあとに、上記と同様の手法で耳石と鱗を摘出して検鏡し、標識の染色状況を調べた。

ALC 濃度 50 mg/l と 100 mg/l の溶液への 24 時間の浸漬実験中には稚魚の斃死は認められず、それらの稚魚を通常の飼育水に移して 48 時間経過しても斃死はみられなかった。各実験区の耳石の染色状態を評価するために、山崎 <sup>13)</sup> に基づいて、次のような発光強度の基準を設けた。

- 0 全く染色が見えないもの
- 1 周囲の一部が染色されているもの
- 2 周囲全体が染色されているもの
- 3 周囲全体が非常に鮮明に染色されているもの (蛍光を当てなくても染色が確認できるものも含む) (図 1a)

ALC 濃度 50 mg/l と 100 mg/l では、6 時間後以降、徐々に発光強度が強くなり、12 時間後には発光強度 2

が 60% 以上、18 時間後には発光強度 2～3 が 90% 以上、24 時間後には発光強度 2～3 が 100% を占めた (図 2)。耳石の ALC 標識の発光強度 2 以上である個体が占める割合は、ALC 濃度 50 mg/l で 24 時間以上または 100 mg/l で 18 時間以上浸漬した場合には 100% であった。さらに、ALC 濃度 50 mg/l と 100 mg/l で 24 時間浸漬した後に、通常の飼育水で 48 時間飼育した稚魚についても、耳石の発光強度 2～3 の個体が 100% を占めており、この期間では確実に耳石の標識が残存することが示された。

各実験区の鱗の染色状態を評価するために、山崎 <sup>13)</sup> に基づいて、次のような発光強度の基準を設けた。

- 0 全く染色が見えないもの
- 1 わずかに染色されているもの (B 励起フィルターの 100 倍では見えないが、B 励起の 200 倍でかすかにオレンジ色に見え、G 励起の 200 倍で赤く確認できる)
- 2 染色されているもの (B 励起の 100 倍で見えるが発色は弱く、G 励起の 100 倍にするとはっきり見える)
- 3 非常に鮮明に染色されているもの (B 励起の 100 倍ではっきり見える) (図 1b)

これらの区分によって ALC 濃度別の浸漬時間と鱗の発光強度との関係を調べたところ、それぞれの ALC 濃度の溶液中で 18 時間以上浸漬した場合に、鱗の発光強度 2 以上の個体が 100% を占めた (図 2)。ただし、ALC 濃度 50 mg/l と 100 mg/l で 24 時間浸漬した後に、通常の飼育水で 48 時間飼育した稚魚については、鱗の発光強度 2 以上の個体は 50 mg/l で 65%、100 mg/l で 100% であり、鱗の標識の染色状況は 50 mg/l よりも 100 mg/l の方が良い結果を示した。

次に、オオクチバス稚魚の ALC 標識が釣獲サイズになるまで残存するかどうかについても検討した。2007 年 3 月に台湾高雄県の種苗生産施設から空輸した体長 36～42 mm のオオクチバス 200 個体を、茨城県内水面水産試験場内のパンライト水槽において、1 週間の間隔を空けて 2 回にわたり ALC 濃度 100 mg/l で 24 時間浸漬し、ALC により耳石と鱗に二重染色を施した。その後、地下水かけ流しの 120 l 水槽に移し、朝夕にスズキ用またはコイ用のペレットを給餌して飼養を続けた。そして、1 年後に体長 151～174 mm の 15 個体を取り上げ、上記と同様の手法で標識の染色状況を調べたところ、すべての個体の耳石と鱗で蛍光標識が認められた (図 1c, d)。なお、ALC 標識後 1 年間に於いて大量斃死はみられず、現在も 60 尾の飼養を継続している。

以上のことから、オオクチバス稚魚を ALC 濃度 100 mg/l の溶液で 24 時間浸漬して施した標識は、耳石と鱗については釣獲サイズになるまで確実に残存することが検証された。本種と同じスズキ亜目魚類であるスズキ *Lateolabrax japonicus* の稚魚に施した ALC 標識は、数年

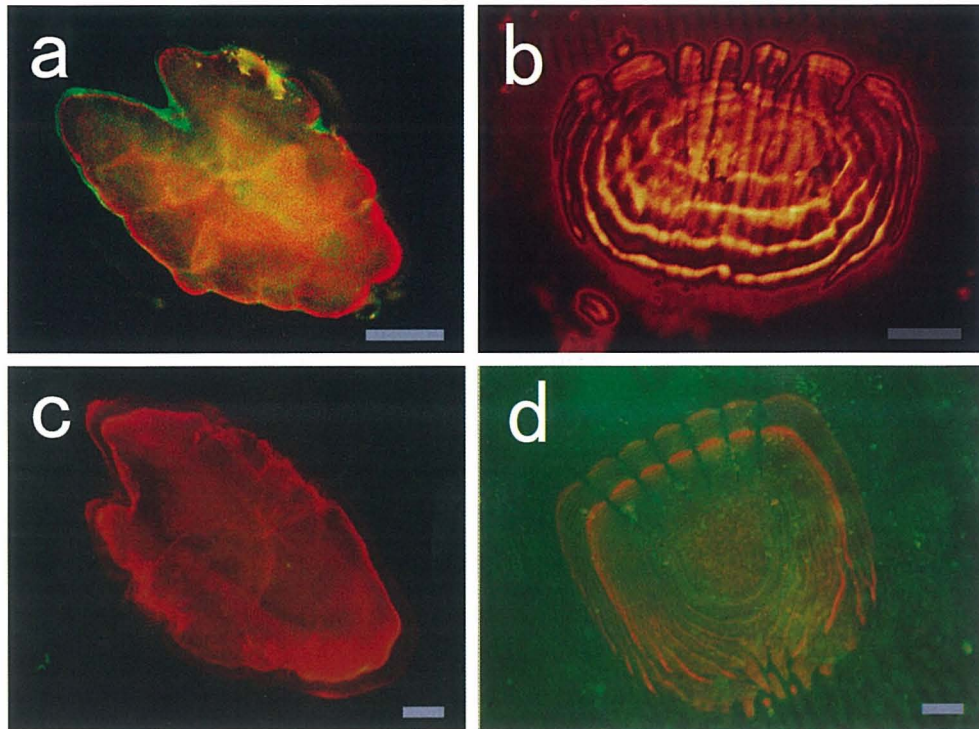


図 1. ALC で染色したオオクチバスの耳石と鱗  
 (a) ALC 濃度 100mg/l で 24 時間浸漬後に通常の飼育水で 48 時間飼育された稚魚（体長約 3cm）の耳石（G 励起フィルターで撮影，発光強度 3 に相当）  
 (b) (a) と同じ個体の鱗（B 励起，発光強度 3）  
 (c) 稚魚期に ALC 濃度 100 mg/l で 1 週間の間隔で 2 回にわたり 24 時間浸漬処理をしてから通常の飼育水で 1 年間飼育された体長 17cm の 1 歳魚の耳石（G 励起，発光強度 3）  
 (d) (c) と同じ個体の鱗（G 励起，発光強度 3）. 灰色のバーは 0.2 mm を示す

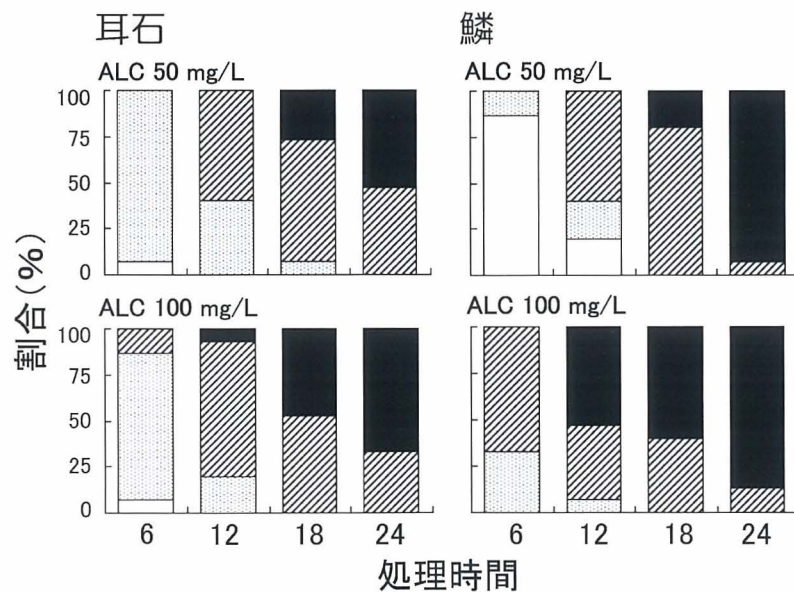


図 2. ALC の濃度別処理時間とオオクチバスの耳石および鱗の発光強度との関係

発光強度 □ : 0, ▨ : 1, ▩ : 2, ■ : 3

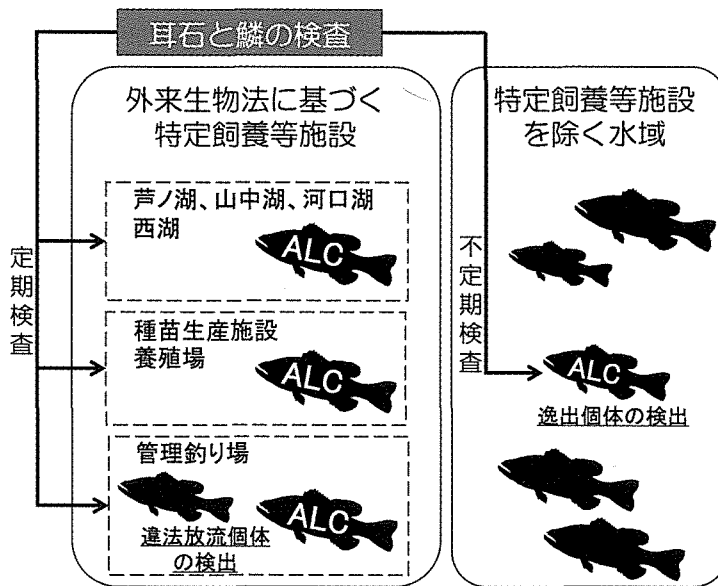


図3. ALC 標識法を用いた特定飼養等施設におけるオオクチバスのモニタリングシステム

を経ても耳石で完全に保持され、鱗についても90%以上の高い割合で残存することが知られているが<sup>13)</sup>、オオクチバスにおいてもALC標識が有効なことが初めて確認できた。

現在、外来生物法に基づき特定飼養等施設で飼養されているオオクチバスの多くは、養殖施設で稚魚から育成されたものである。このことから、図3に示すように、今回の手法を用いて国内で正規に流通しているすべてのオオクチバス稚魚にALC標識を施したうえで、管理釣り場などで釣獲サイズのオオクチバスの耳石や鱗を定期的にモニタリングすれば、各施設への天然種苗の違法放流の有無を効率的に監視することができる。特に、鱗については、検体のオオクチバスを生かした状態で検査ができる点で有用である。一方、飼養等施設から逸出したと疑われる個体が周辺水域で捕獲された場合にも、それが逸出した個体が天然種苗かどうかを、ALC標識の有無を確認することで瞬時に判別できるようになる。ALCによる標識作業は簡便であり、一般の人は試薬を入手しにくく、アンカータグなどの他の外部標識に比べて不特定多数の人が偽造しにくい。また、野外から持ち込んだ大型個体にALC標識を施したとしても、稚魚期とは異なる部位が染色されるために識別は容易である。

以上の理由から、特定飼養等施設のオオクチバスの管理を強化する目的で、ALC標識手法を用いることは非常に有効である。さらに、効率的に標識作業を進めるためには、他の魚種で実施されているように染色時の生息密度や染色費用など<sup>15)</sup>について、詳細な研究を進める必要がある。

## 謝 辞

本稿を作成するにあたり、次に記す方々に多くのご助言、文献のご教示や提供を賜った。ここに記して、心よりお礼申し上げます。細谷和海氏（近畿大学）、杉山秀樹氏（秋田県水産振興センター）、中井克樹氏（滋賀県琵琶湖環境部）、多紀保彦氏、小林 光氏、吉田剛司氏、井上隆氏（自然環境研究センター）、大川雅登氏、山崎幸夫氏、岩崎 順氏、須能紀之氏、野内孝則氏、田宮由美氏（茨城県内水面水産試験場）、尾崎真澄氏（千葉県漁業資源課）、河野 博氏（東京海洋大学）、史 鴻祺氏（台湾高雄県）。本研究は、外来生物法に基づくオオクチバスの飼養等の許可を得て実施したものである。許可申請の際などに、様々な便宜をはかってくださった環境省自然環境局の職員の方々に、感謝の意を表する。

## 文 献

- 1) 日本魚類学会自然保護委員会（2002）川と湖沼の侵略者ブラックバス—その生物学と生態系への影響. 恒星社厚生閣, 東京, 150 pp.
- 2) 環境省（2004）ブラックバス・ブルーギルが在来生物群集および生態系に与える影響と対策. 自然環境研究センター, 東京, 226 pp.
- 3) 全国ブラックバス防除市民ネットワーク（2008）STOP！ブラックバス 市民によるブラックバス防除活動. 全国ブラックバス防除市民ネットワーク, 東京, 67 pp.
- 4) 伊藤富子・工藤 智・下田和孝（2005）炭素窒素同位体判別法により推定した北海道への移入種オオクチバスの食性変移. 北海道立水産孵化場研究報告, 59, 11-20.
- 5) 北川えみ・北川忠生・能宗斉正・吉谷圭介・細谷和海

- (2005) オオクチバスフロリダ半島産亜種由来遺伝子の池原貯水池における増加と他湖沼への拡散. 日水誌, 71, 146-150.
- 6) 杉山秀樹 (2005) オオクチバス駆除最前線. 無明舎出版, 秋田, 268 pp.
- 7) 多紀保彦・加納光樹 (2008) 外来魚とどう付き合うか?. 「シリーズ 21 世紀の農学 外来生物のリスク管理と有効利用」(日本農学会編), 養賢堂, 東京, pp. 147-170.
- 8) 環境省 (2005) 第 2 回 オオクチバス等防除推進検討会議事録. 37 pp.
- 9) 遊磨正秀・田中哲夫・竹門康弘・中井克樹・測側祐一・小原明人・今泉真知子・佐藤 浩・土井田幸郎 (1997) 瀬田月輪大池における魚類群集の変遷 - 12 年間の生物学実習の結果より. 滋賀医科大学基礎学研究, 8, 19-36.
- 10) 尾崎真澄・梶山 誠 (2006) 千葉県亀山湖におけるオオクチバス資源量の推定. 千葉県水産総合研究センター研究報告, 1, 1-5.
- 11) 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の保有期間. 栽培技研, 16, 93-104.
- 12) TSUKAMOTO, K. (1988) Otolith tagging of ayu embryo with fluorescent substances. Nippon Suisan Gakkaishi, 54, 1289-1295.
- 13) 山崎幸夫 (2002) アリザリン・コンプレクソンによるスズキ稚魚の標識法および鱗からの標識検出法の検討. 栽培技研, 29, 91-94.
- 14) 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.
- 15) 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.

## オオクチバスの耳石と鱗へのアリザリン・コンプレクソンによる染色

加納光樹・久保田正秀・荒山和則

オオクチバス稚魚（体長約3 cm）の耳石および鱗をアリザリン・コンプレクソン（ALC）で染色する際の最適条件を調べたところ、耳石と鱗はALC濃度100mg/ℓで24時間浸漬することで確実に染色され、その標識は少なくとも1歳魚（体長15～17cm）になるまで残存することがわかった。この結果を受けて、外来生物法に基づいて飼養等の許可を得た施設におけるオオクチバスの不適切な利用を効率的に検知するために、ALC標識を用いたモニタリングシステムを提案した。

水産技術, 1 (2), 71-75, 2008