

スルメイカの平衡石の採取

および 輪紋計数マニュアル

Manual for Extracting Statoliths and Counting Increments of Japanese Common Squid *Todarodes pacificus*



北海道立釧路水産試験場

Hokkaido Kushiro Fisheries Experimental Station

2005年3月 March, 2005

はじめに

スルメイカの資源研究は、主に生物測定から得られる外套長や成熟状態の情報と、標識放流調査による移動の情報などにもとづいて進められてきた。これらに加えて、平衡石日周輪解析による日齢と発生時期が明らかになることで、スルメイカの生態や資源構造についての理解が、飛躍的に進むことが期待されている。

これまでスルメイカの日齢査定手法は、当時、北海道区水産研究所に所属していた中村好和氏を中心に研究されてきた。彼らは、平衡石日周輪解析の実用化のために不可欠である、平衡石にみられる輪紋の日周性を確認する実験を行った。飼育中のスルメイカの平衡石に、テトラサイクリンで35日間隔で2回のマーキングを行い、死亡後、マーキング間の日数と平衡石の輪紋数が比較された。この実験によって、スルメイカの平衡石の輪紋が日周的に形成されることが確認された。

その後、同氏によりイカ類の日齢査定マニュアルが発行されたほか、その他の研究者も加わって日本周辺海域に分布するスルメイカを用いて平衡石日周輪解析を行った研究報告が発表されている。

しかし、スルメイカは寿命がほぼ1年と考えられており、実際の解析においては、最大で300本を越える

多数の輪紋を計数しなくてはならない場合があるが、必ずしも数えるべき輪紋すべてが鮮明ではない。このため、各研究者が本当に適切に輪紋を計数しているのかという問題が残されている。

具体的には、輪紋を観察しやすくするための前処理方法や輪紋を計数するときに用いる顕微鏡の対物レンズ、画像解析ソフトなどの違いによって、輪紋の見え方が変わってしまうことが指摘されている。さらに、計数者や解析熟練度の違いによって計数値が異なるという問題点も指摘されている。そこで、本マニュアルは以下の3点を目的として作成した。

- 1) 初心者が平衡石採取および輪紋計数を行う助けとなること。
- 2) 解析機器および計数者の違いによる計数値の差を評価するため、現在の計数方法の基準を示すこと。
- 3) 現在、計数している輪紋を明記することによって、将来、新しい日齢査定技術が可能になったときに、現在の計数値を評価できるようにすること。

目次	
1 平衡石の摘出と保存	3
1-1 使用する道具	
1-2 平衡石の位置	
1-3 平衡石の摘出	
1-4 平衡石の保存	
2 平衡石の概観と各部位の名称	6
3 平衡石の前処理	6
3-1 使用する道具	
3-2 スライドガラスへの接着	
3-3 研磨	
4 輪紋計数の基本的ルール	10
5 輪紋の特徴	12
5-1 核周辺部の輪紋	
5-2 暗部（中間部）の輪紋	
5-3 縁辺部の輪紋	
6 実際の計数例	25
7 その他	58
7-1 カバーガラスについて	
7-2 油浸オイルについて	
7-3 接着剤について	
7-4 両面研磨について	
8 おわりに	59
9 参考文献	59

とりまとめ：北海道立釧路水産試験場資源管理部資源予測科
 研究職員 坂口健司（文責）
 報文番号 E1-3

1 平衡石の摘出と保存

1-1 使用する道具 (図1)

シャーレ、メス (柄と替刃)、解剖針、プランクトン用ピンセット、保存容器 (96穴マイクロプレート、バイアル、マイクロチューブなど) (図1)。その他に、100%エタノール、蒸留水、バット類、パラフィルム、流動パラフィンなど。

1-2 平衡石の位置

平衡石は頭部の外套膜に近い部位にあるため、平衡



図1 平衡石摘出に用いる主な道具

石を摘出する過程で胴体と頭部を切断する場合には、平衡胞を傷つけないように少し肝臓がかかる位置を切ると間違いない (図2-1)。平衡石は頭部の漏斗溝内部の軟骨中にある左右1対の空間 (平衡胞) の中に1個ずつ入っている (図2-2)。

1-3 平衡石の摘出

頭部標本からメスを使って平衡石を摘出する。漏斗が邪魔なので切除し (図2-2)、漏斗溝の真中を切開する (図2-3)。切開した切り口に軟骨を通して白い平衡石が見える (図2-4)。平衡石の大きさは外套長20cm前後で長径1mm程度。見えた平衡石の近くにメスを入れ平衡胞を切開し、左右それぞれ1個の平衡石を摘出する。漏斗溝を切開するとき、漏斗溝の真中から少し外れて切開してしまうと、平衡胞も切開され、直接平衡石が見える。

摘出した平衡石を蒸留水につけ、付着物がある場合はピンセットや解剖針で除去する (図3)。脱水、脱灰防止などのため、エタノールに浸して洗浄する。

平衡石が見つからない場合は、切開時に頭部組織内にまぎれ込んでしまった可能性が高い。このような場合には、水を入れた容器内で頭部標本をジャブジャブ洗うと、容器の底に落ちた平衡石が見つかることが多い。

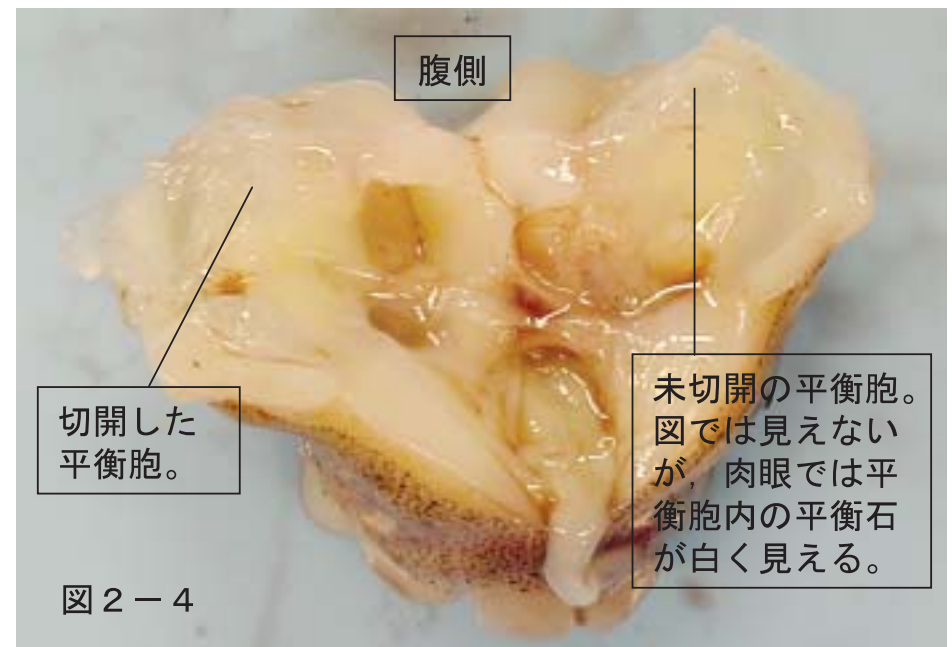
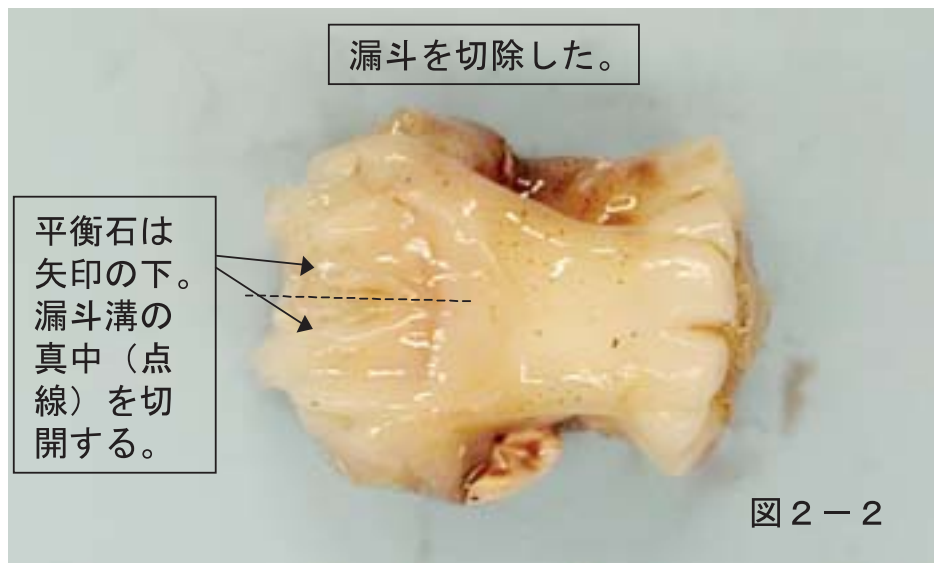
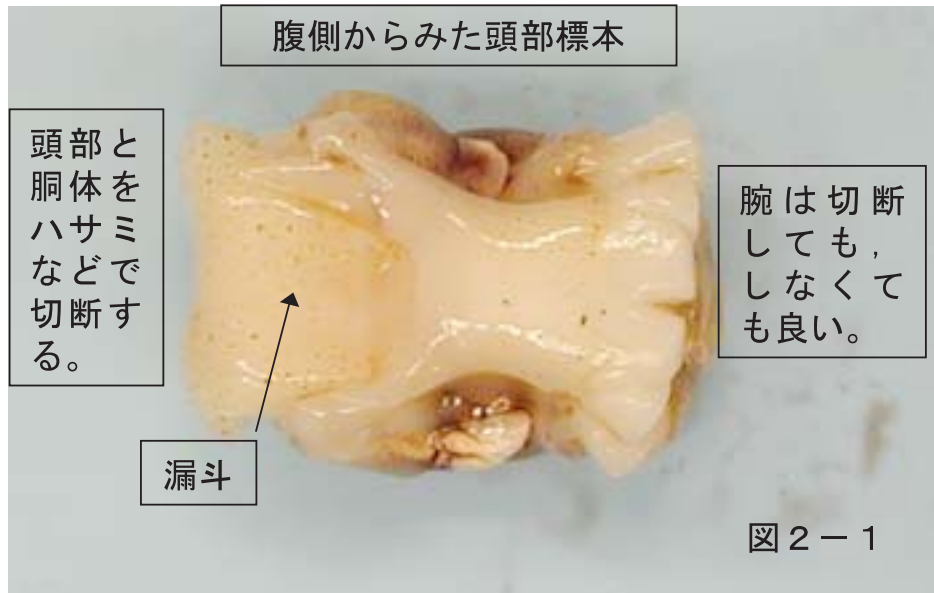


図 2 頭部標本から平衡石を摘出する様子



図3 摘出した平衡石をシャーレ内で蒸留水とエタノールで洗浄する様子

1-4 平衡石の保存

エタノールで洗浄後、マイクロプレートなどに入れて保存する。郵送する場合はパラフィルムでしっかりフタをするが、パラフィルムの静電気で平衡石が飛び出す場合があるので、流動パラフィン2滴程度を滴下して保存すると良い。マイクロプレートにはラベルとしてビニールテープなどを貼り、標本情報を記述する(図4)。なお、パラフィルムは長期間、流動パラフィンや顕微鏡の油浸オイルに触れていると、溶けてくるので注意を要する。



図4 平衡石保存例(96穴マイクロプレート)

2 平衡石の概観と各部位の名称

平衡石の各部位の名称は図5のとおり。平衡石は核を中心に外側に成長していく。背丘部は側丘部よりも平衡石の成長が速いため、輪紋計数部位として用いられる。吻は背丘部の反対方向に突出している。翼は不透明体のみで輪紋が観察されない。

平衡石は凹面側が前、凸面側が後である。

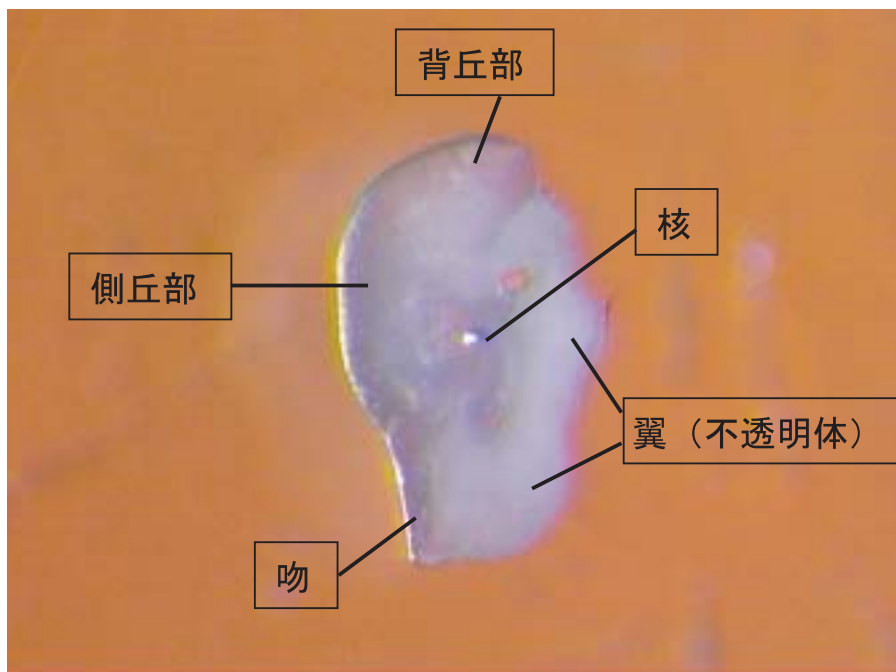


図5 平衡石の概観（凸面である後部面から見た）

3 平衡石の前処理

3-1 使用する道具（図6）

①耐水ペーパー（1500番前後）、②ラッピングフィルム（酸化アルミニウム研磨シート）、③解剖針、④プランクトン用ピンセット、⑤スライドガラス、⑥接着剤（アロンアルファ）。

注）アロンアルファは速く固まり、扱いが簡単で効率的である。ただし、長期接着するとスライドガラスからはがれやすくなる。

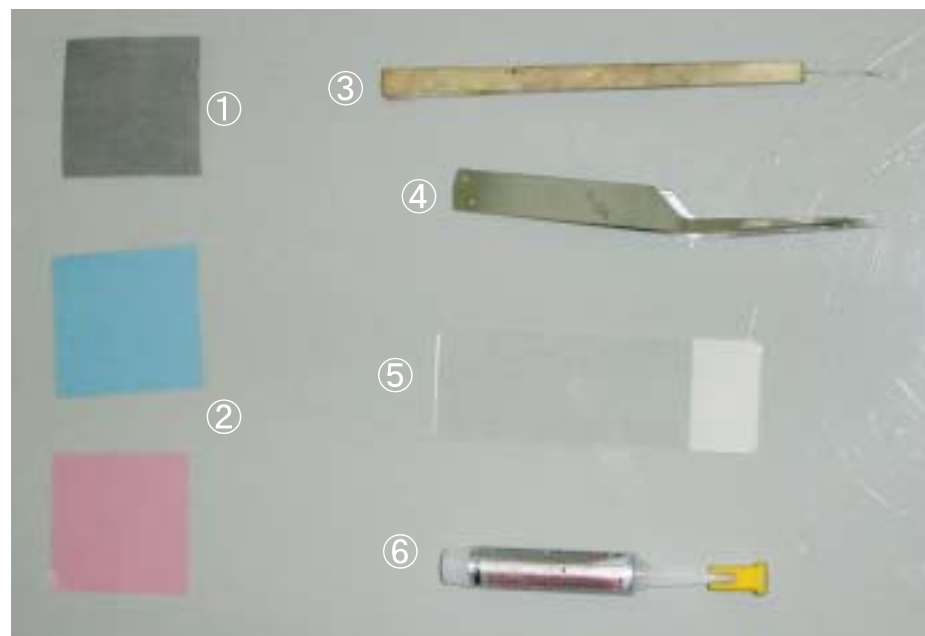


図6 平衡石の前処理で使用する道具

3-2 スライドガラスへの接着

以下の作業は実体顕微鏡下で行う。

- 1) スライドガラスに平衡石を後部面（凸面）を上にして1個のせる（図7-1）。
- 2) 平衡石の近くに接着剤を滴下する（図7-2）。
- 3) 解剖針で接着剤を平衡石とスライドガラスの間に流し込む（図7-3）。研磨する部位に接着剤がかからないようにすると研磨作業を軽減できる。また、平衡石の下に気泡が入ると、後ほど輪紋の観察が困難になるので、注意を要する。

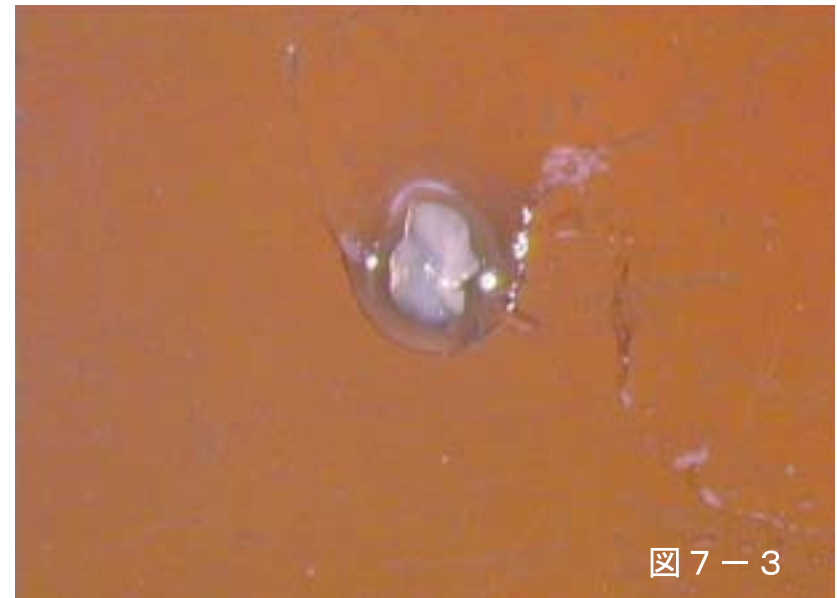


図7 平衡石のスライドガラスへの接着作業

3-3 研磨

研磨作業を実体顕微鏡下で、輪紋の確認を生物顕微鏡下で行う。

- 1) 耐水ペーパーを手に持って、平衡石の後部面(凸面)を核の近くまで水平に研磨していく(図8-1, 2)。あまり核の近くまで研磨してしまうと、核付近の輪紋が計数できなくなるので注意。光学顕微鏡下で、ピントを研磨された表面に合わせた状態からゆっくり核や核付近の輪紋に合わせていくことで、研磨面から核や輪紋までの距離を把握できる。
- 2) 研磨し残された背丘部の表面を斜めに研磨し(図8-3)、計数部位すべての後部面をなめらかに曲面研磨する(図8-4, 図9)。
- 3) ラッピングフィルムを使って、表面をきれいに磨く。生物顕微鏡の対物レンズが油浸レンズでない場合は、目の細かいラッピングフィルムを使って表面を特にきれいに仕上げ、輪紋計数時に流動パラフィンなどで表面を覆った方がきれいな画像が得られる。

注) 表面を軽く研磨する程度で輪紋が観察される場合や、輪紋計数面までしっかり研磨しないと輪紋がはっきりしない場合があるので、慣れるまでは光学顕微鏡で輪紋を観察しながら研磨作業を進める。

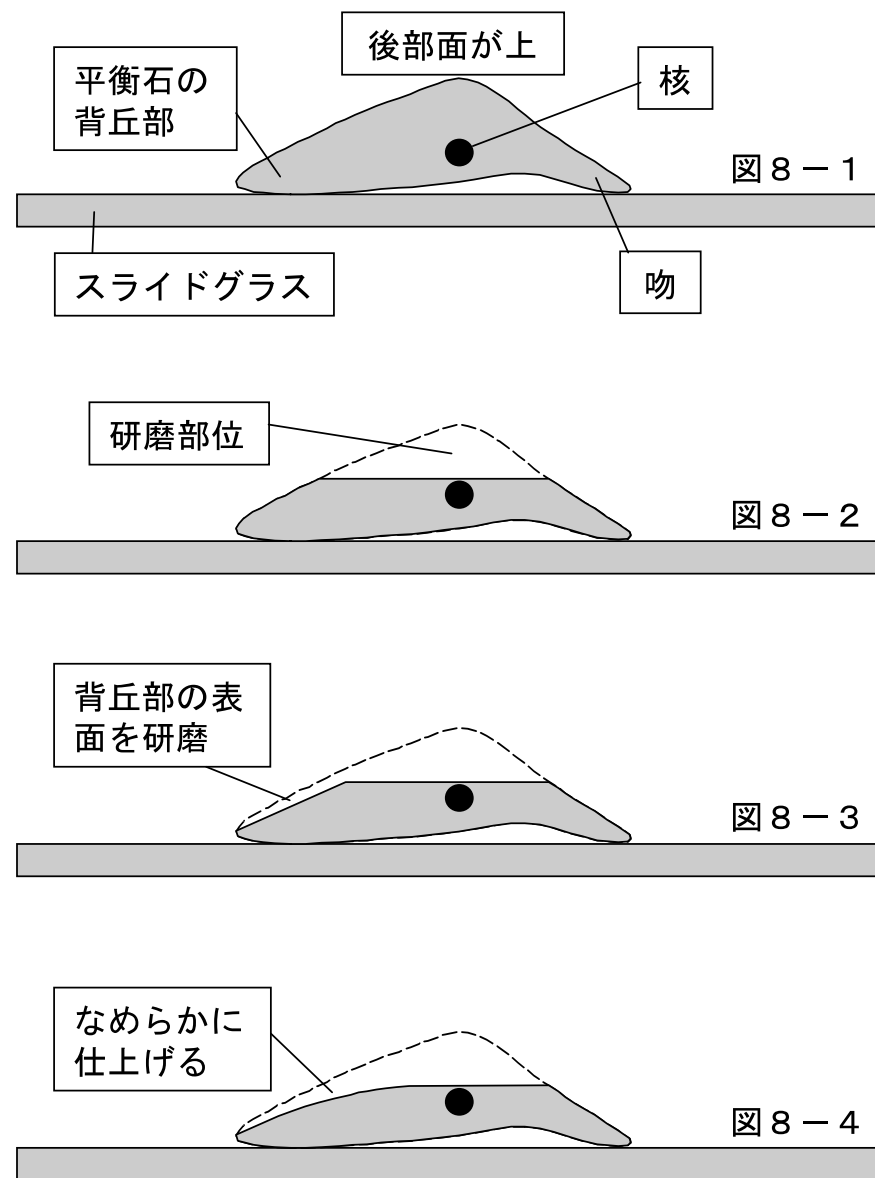
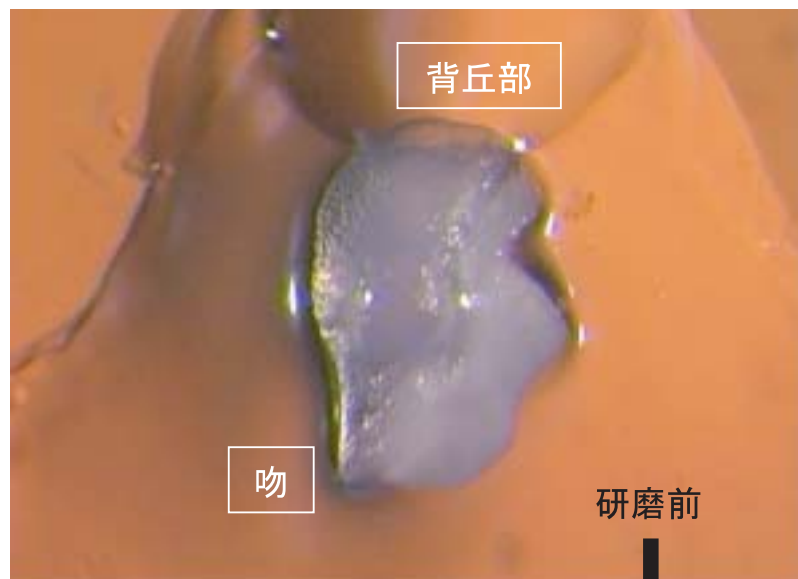
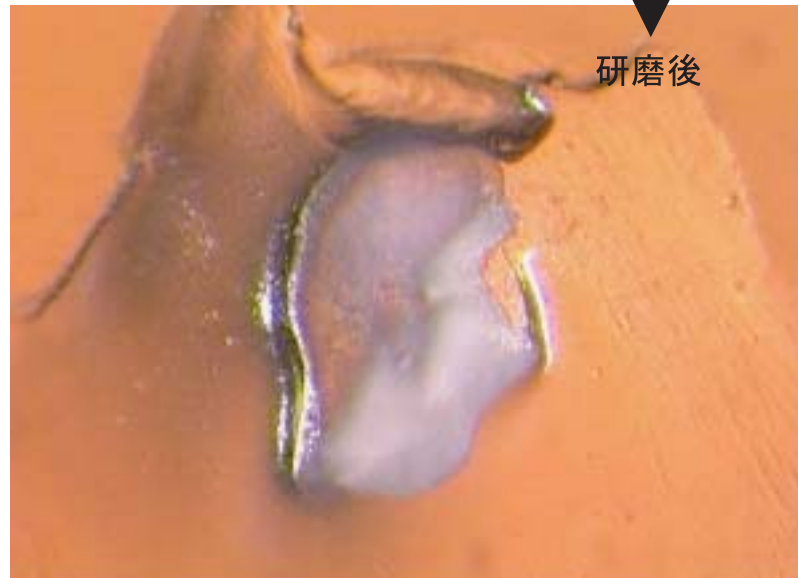


図8 平衡石の研磨する部位

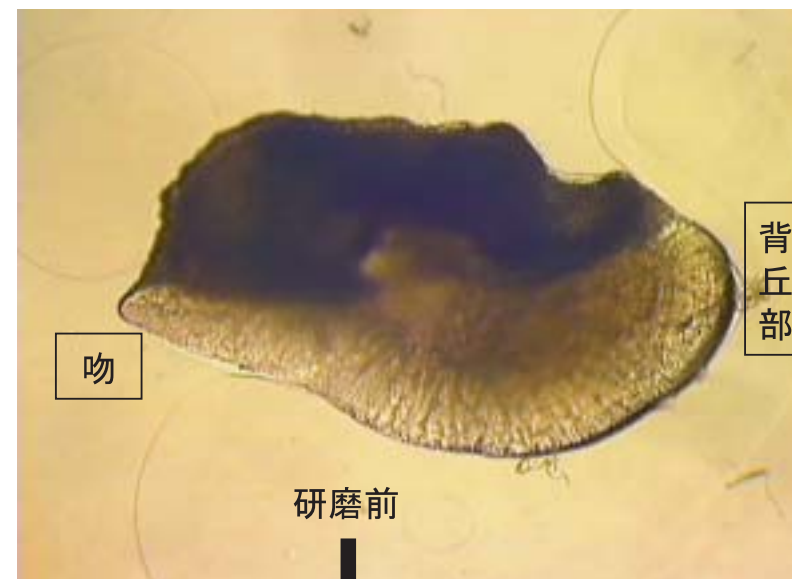


実体顕微鏡

研磨前

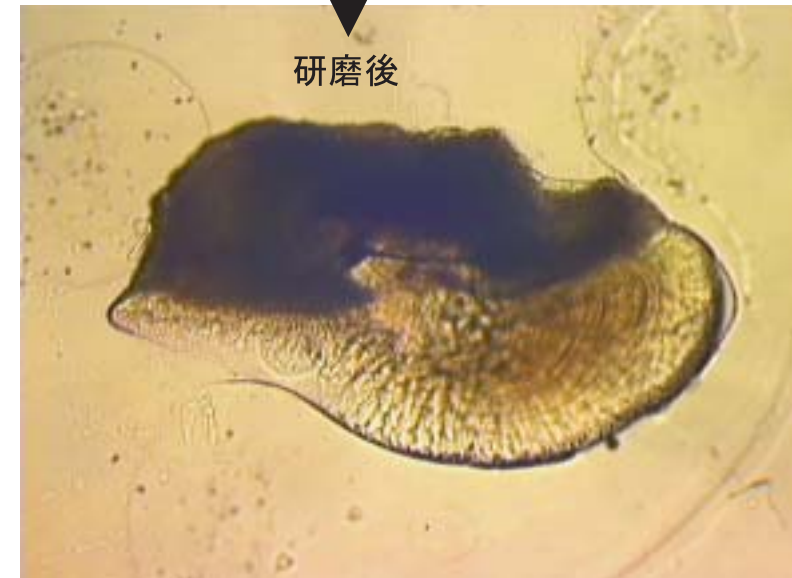


研磨後



生物顕微鏡

研磨前



研磨後

図9 研磨前と研磨後の平衡石外観（注：左の実体顕微鏡と右の生物顕微鏡の平衡石は別個体）

4 輪紋計数の基本的ルール

- 1) 輪紋の観察や計数は、生物顕微鏡からCCDカメラを通してテレビモニター上で行う。
- 2) 輪紋は3回以上計数し、各計数値の差が5%程度に収まるように安定させ、平均値を推定日齢とする。輪紋計数を誤った可能性のある場合や輪紋の読み方が安定する前の誤差の大きい計数値は、平均値算出データから除外する。
- 3) 核から背丘部の端まで黒い輪紋を計数する(図10)。輪紋を計数する部位は核から背丘部方向に向かって、核周辺部、暗部(中間部)、縁辺部に分けられている(図10, 11)。核周辺部は背景がやや明るい、暗部では背景が暗くなり、縁辺部では再び明るくなる。側丘部方向は輪紋間隔が狭くなって読みづらくなるので計数に用いない。
- 4) 基本的に、核から背丘部の長軸(輪紋が外に向かって最も凸型になっている部位)周辺の間隔の広い輪紋を計数する。ただし、すべての輪紋が鮮明ではないため、長軸や翼(不透明体)からあまり離れすぎないことを意識しながら、不鮮明な輪紋の部分は避けて、できるだけ計数している輪紋の前後の輪紋間隔が安定している部位を選びながら計数する。
- 6) 静止画像ではなく、顕微鏡のピントを変えながらモ

ニターの画像を見て計数する。輪紋は核を中心とし外側へ凸の曲面で形成されているため、顕微鏡のピントを変えると移動するように見える。輪紋はピントが合った時に最も外側へ大きく広がり、ピントをずらすと小さくなりながらぼやけて確認できなくなる。ピントを変えながら輪紋の動きを見ることで、輪紋とそれ以外の模様との区別が容易になる。

- 7) ピントの最も合った状態から少しずらすことで、非常に細かな偽輪がぼやけ、鮮明で規則的な輪紋が観察されることがある。
- 8) 基本的に、細かい輪紋はコントラストが強くて読みやすく、広い輪紋はコントラストが弱く不鮮明である。
- 9) 輪紋が不鮮明で計数できない部分は、前後の輪紋間隔を参考にできる限り補完(内挿・外挿)する。また、後述する各部位の輪紋の特徴も補完の参考になる。
- 10) 個体別に輪紋の特徴(各部位の輪紋間隔や鮮明度など)のメモを残しておくとは後ほど参考になる。

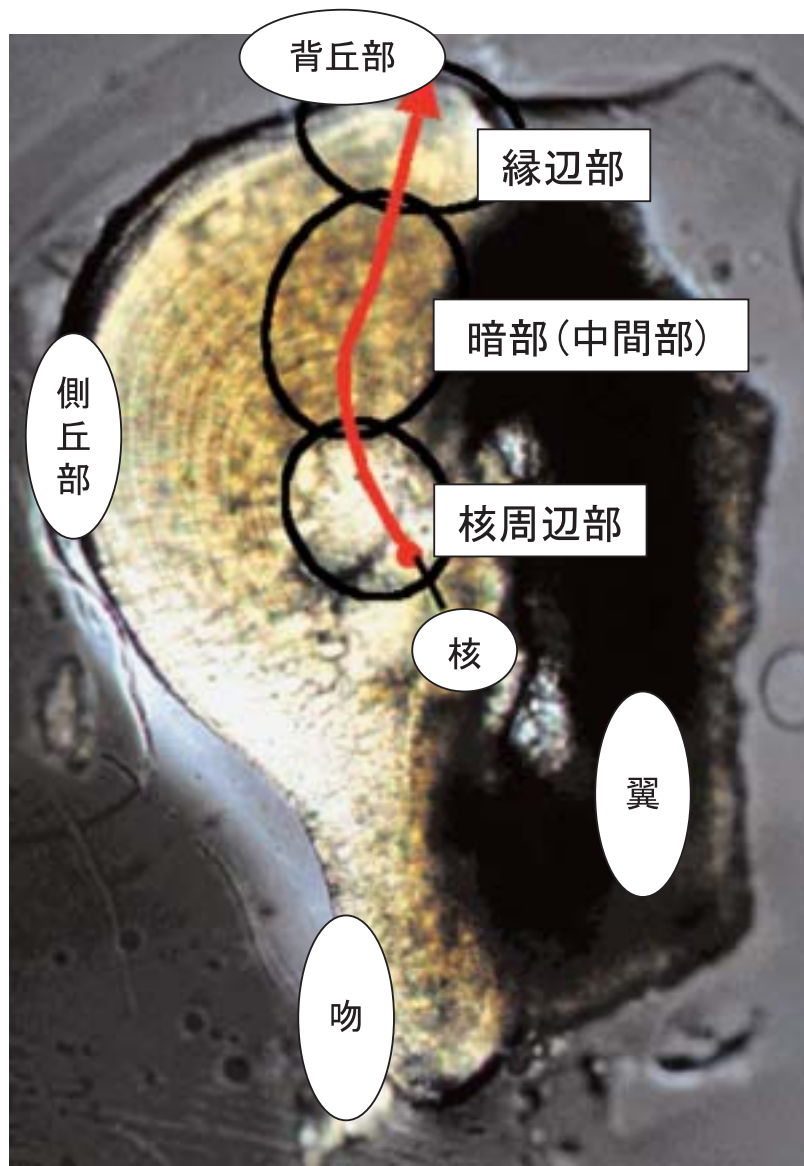


図10 平衡石の核から背丘部への輪紋計数部位の名称 (核周辺部, 暗部, 縁辺部) と計数ライン (赤線)

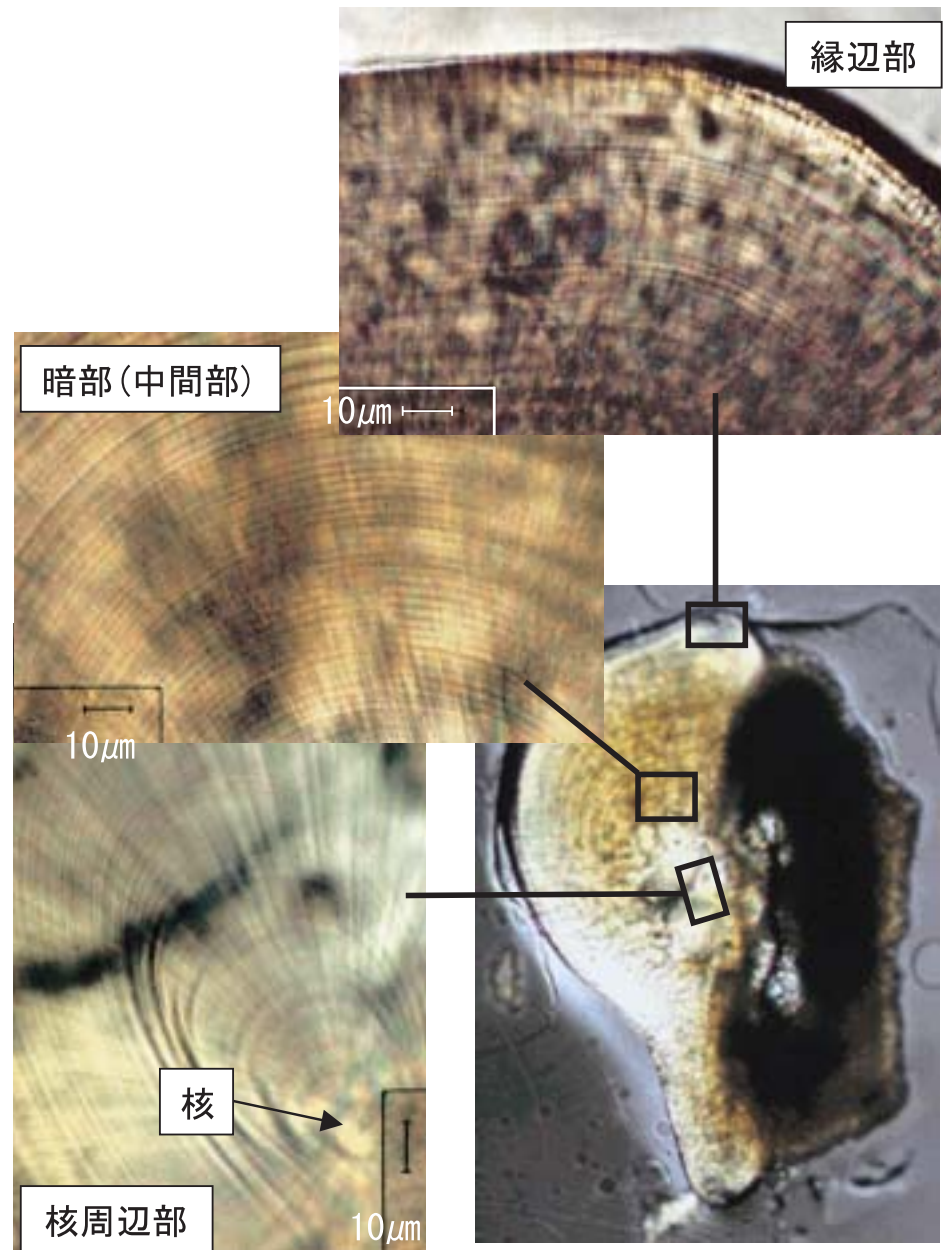


図11 平衡石の輪紋例

5 輪紋の特徴

部位別に輪紋例を示す。各ページの上に輪紋のみの図、下に同じ図に実際のプロットや説明を合わせて示す。ここで示す画像の主要な撮影機器は以下のとおり。

顕微鏡：ZEISS製 Axiophot

レンズ：ZEISS製 Plan-NEOFLUAR 100X/1.30 oil

カメラ：SONY製 3CCD COLOR VIDEO CAMERA

DXC-930

5-1 核周辺部の輪紋

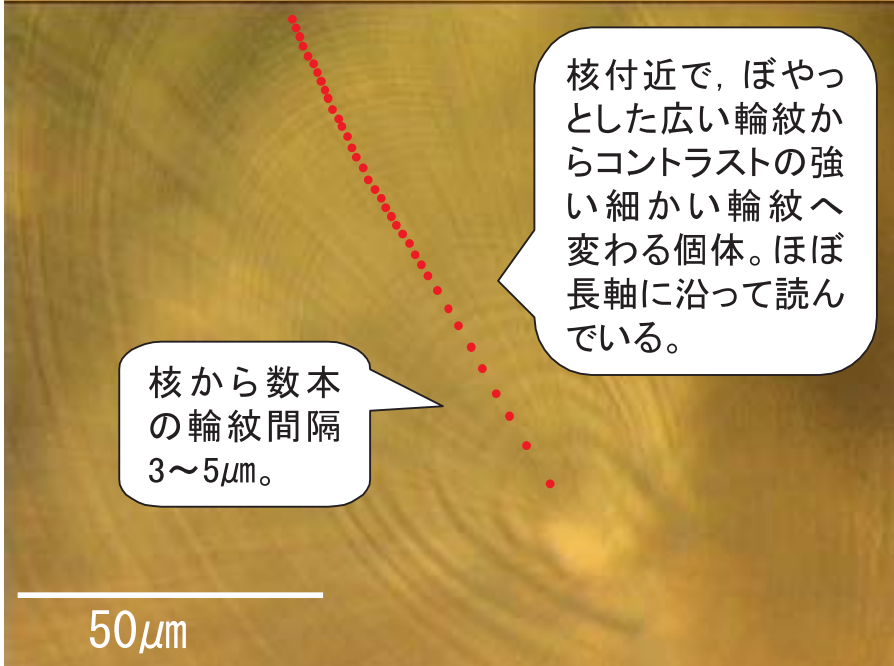
核周辺部は核～60本目程度までの部分。核の直径20 μm 前後にある太い輪紋を1本目として読み始める。最初の数本は細かい輪紋が集まったようにも見える広い輪紋（間隔3～6 μm ）を計数する（図12）。その後は、長軸周辺（輪紋が外に向かって最も凸型になっている部位）の間隔2 μm 程度の規則的な輪紋を読む。

長軸上に不規則的な細かい輪紋があっても、その輪紋が長軸以外の部位で確認できない場合は、より広い規則的な輪紋を優先して計数する。核周辺部で輪紋間隔が異なる2種類の輪紋が、いずれも規則的に観察されるときがあるが（p 15の核周辺部5の図参照）、その部位の前後の輪紋とのつながりが不自然でなければ、基本的に広い輪紋間隔で読む。

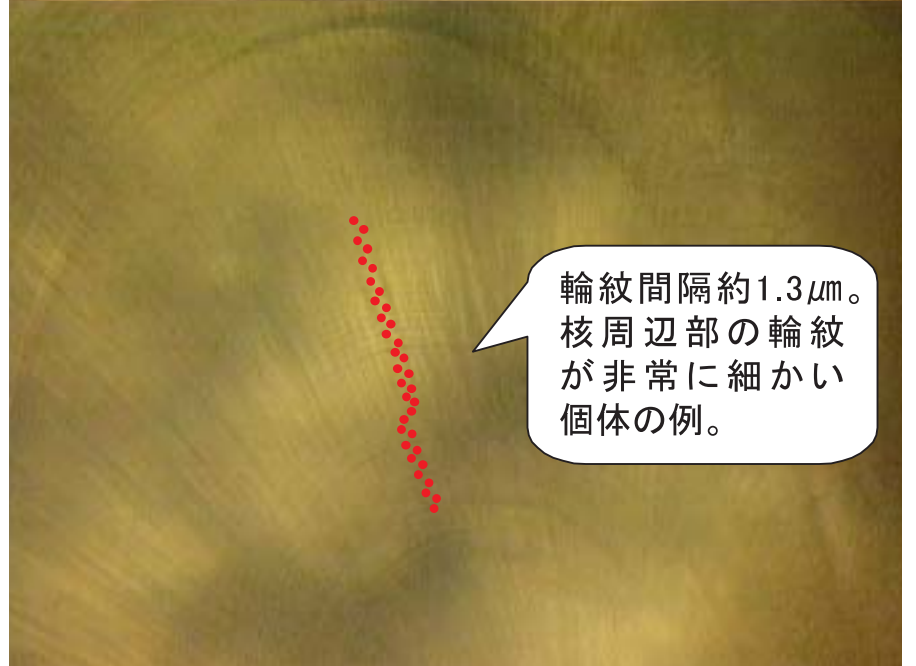


図12 人工受精で得られた5日齢のスルメイカ幼生の平衡石輪紋（上図）と計数例（下図）

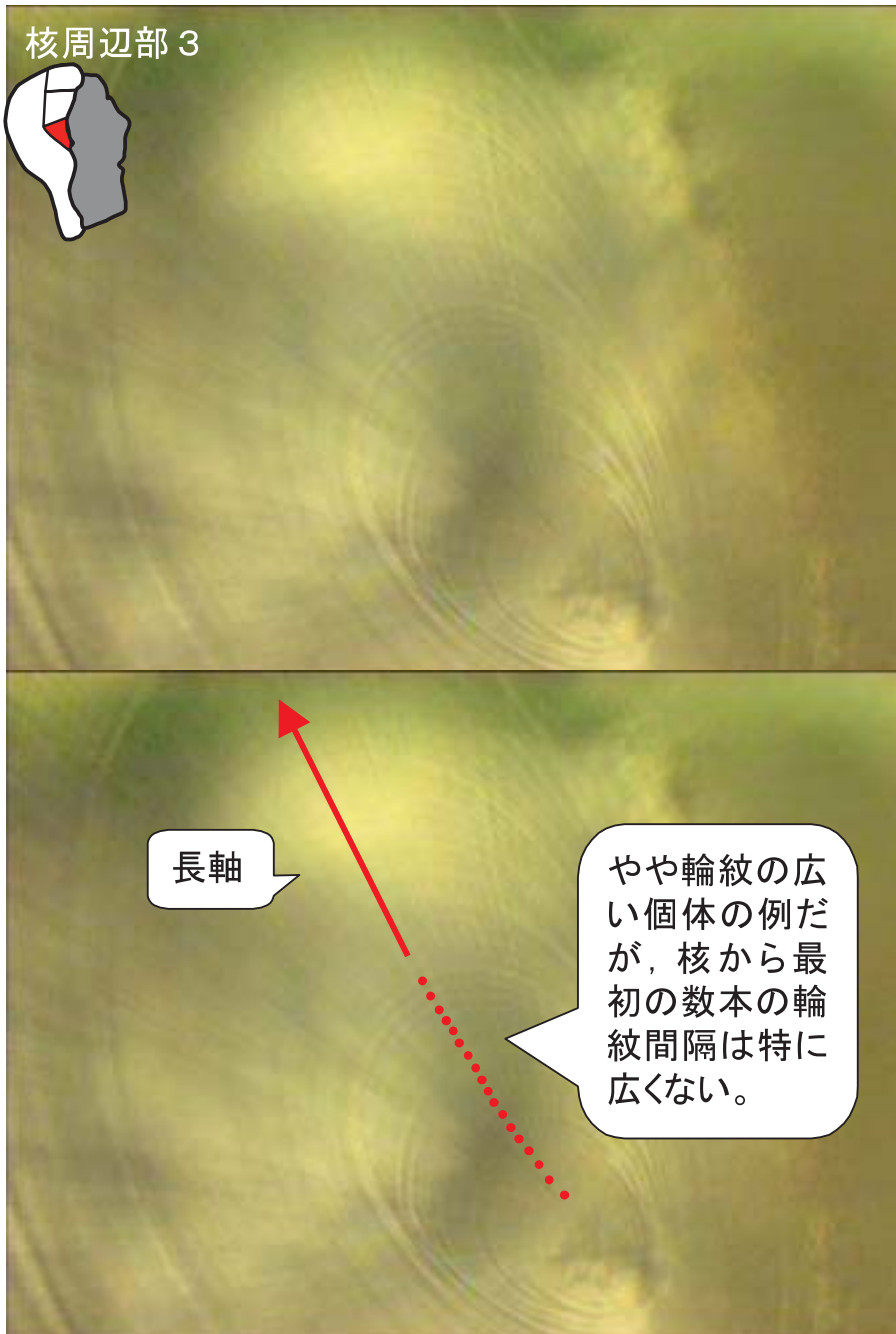
核周辺部 1



核周辺部 2



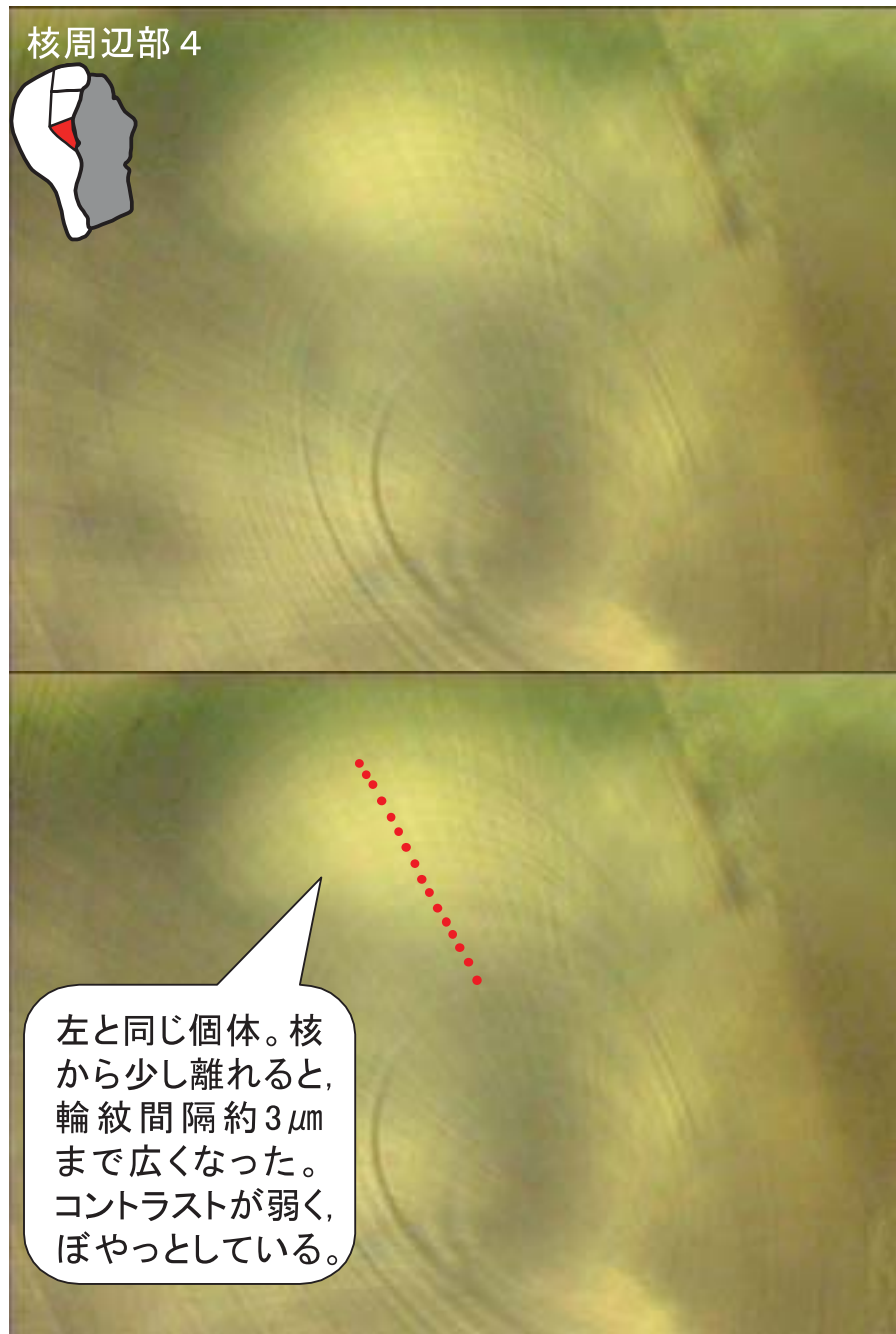
核周辺部 3



長軸

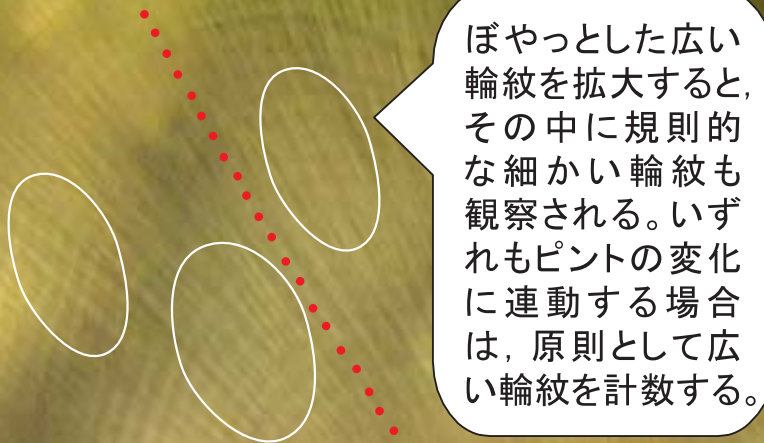
やや輪紋の広い個体の例だが、核から最初の数本の輪紋間隔は特に広くない。

核周辺部 4



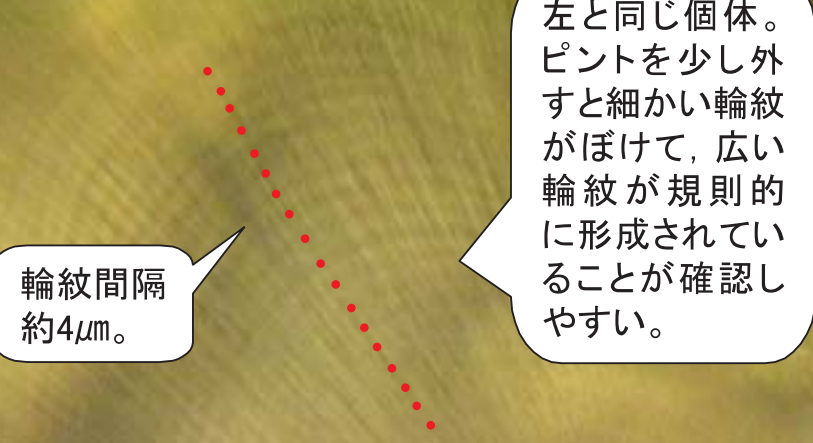
左と同じ個体。核から少し離れると、輪紋間隔約 $3\mu\text{m}$ まで広くなった。コントラストが弱く、ぼやっとしている。

核周辺部 5



ぼやっとした広い輪紋を拡大すると、その中に規則的な細かい輪紋も観察される。いずれもピントの変化に連動する場合は、原則として広い輪紋を計数する。

核周辺部 6



輪紋間隔
約4 μ m。

左と同じ個体。ピントを少し外すと細かい輪紋がぼけて、広い輪紋が規則的に形成されていることが確認しやすい。

5-2 暗部（中間部）の輪紋

およそ60本目～130本目程度まで。輪紋の背景が暗い。輪紋間隔は2～5 μm 程度で個体差が大きい。核周辺部の後半で狭くなった輪紋間隔が暗部の途中で再び広くなる場合が多い。輪紋間隔が狭い個体（Nタイプ）と広い個体（Wタイプ）の2タイプが代表的である。このタイプの違いによって、平衡石上の同じ距離であっても輪紋数に数10本の差が生じる。また、縁辺部のところで説明する二次核が暗部に見られることもある。

○Nタイプ（narrow）

核周辺部後半からコントラストの強い鮮明で間隔の細かい（2 μm 前後）輪紋が暗部の終わりまで続く。輪紋間隔は徐々に細くなるものが多いが、ほとんど変わらないものもある。同じ距離ではWタイプに比べ輪紋数が多くなる。秋から冬に生まれ、夏の日本海などに分布する比較的成長の悪い個体に多く見られる。

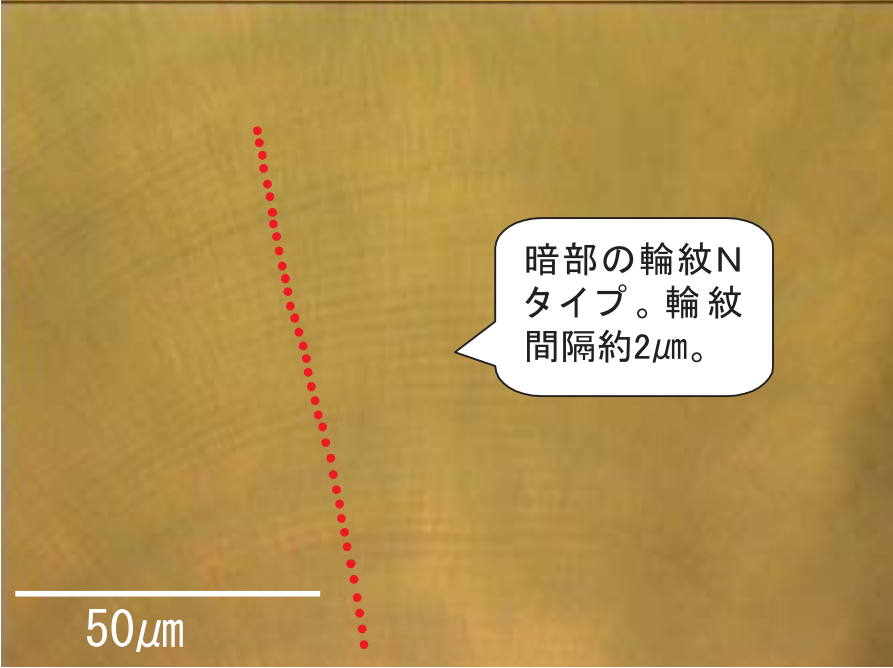
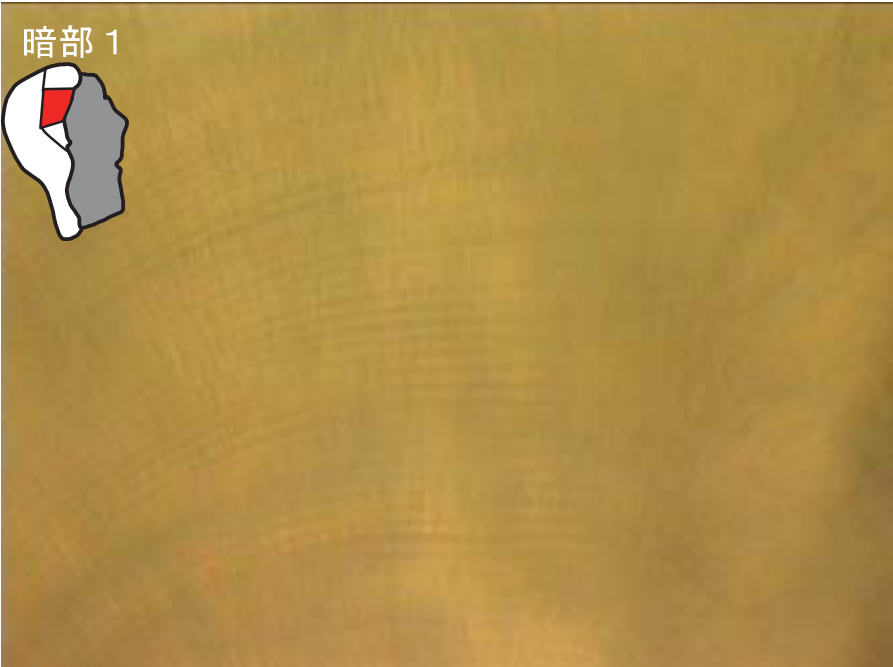
○Wタイプ（wide）

核周辺部後半からコントラストが弱く不鮮明で間隔の広い（3～5 μm ）輪紋が80～100本目前後の暗部まで続くが、その後、急に10数本のうちに輪紋間隔が

1.5～2 μm 程度まで細くなって縁辺部に続く。輪紋間隔が急に細かく変化する部分では、内挿（前後の輪紋間隔から、そこにあるであろう輪紋数を推定すること）で補完が必要なほど輪紋が不鮮明な場合が多い。

広い輪紋部分を翼（不透明体）付近にたどると、翼との隣接部により細かく規則的な輪紋が観察されることがあるが、これは前後の輪紋とつながらないので、基本的に無視する。冬から春に生まれ、太平洋やオホーツク海、秋の日本海などに分布する比較的成長の良い個体に多く見られる。

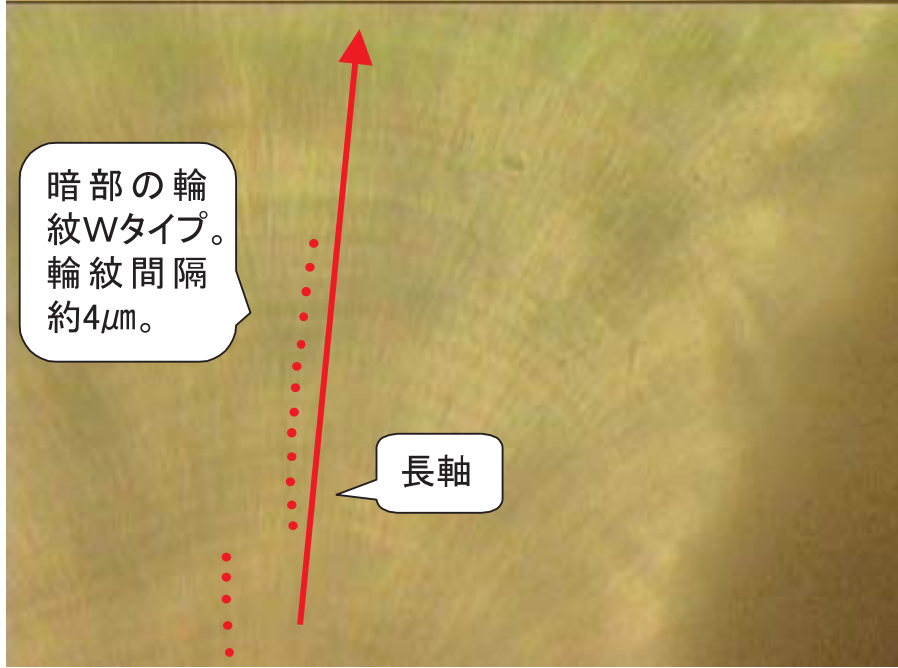
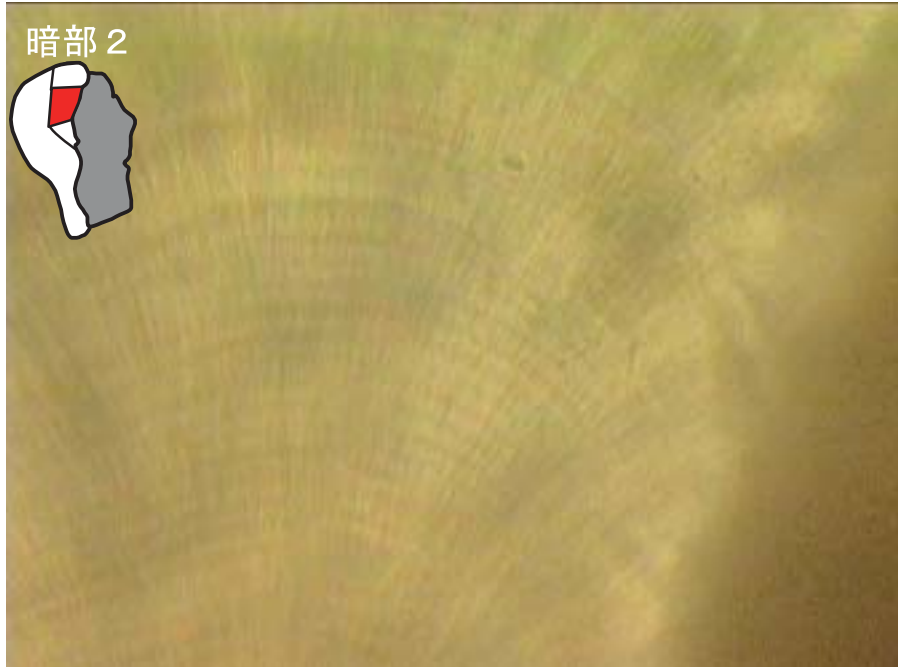
暗部 1



暗部の輪紋N
タイプ。輪紋
間隔約2μm。

50μm

暗部 2



暗部の輪
紋Wタイプ。
輪紋間隔
約4μm。

長軸

暗部 3



前ページ暗部2の続き。Wタイプの個体は、80～100本目で急に細かくなることが多く、輪紋間隔が急変する10数本は不鮮明な場合が多い。

細かい輪紋。
輪紋間隔約
2 μ m。

不鮮明
な輪紋。

広い輪紋。輪紋
間隔約4 μ m。

暗部 4



左と同じ個体の同じ部位。ピントを変えながら読むが、あまりに不鮮明で読めない部分は、前後の輪紋間隔を参考に内挿せざるを得ない。

暗部 5



輪紋間隔が約 $3\mu\text{m}$ から約 $1.5\mu\text{m}$ へ急に細くなる。

輪紋間隔が急変する10数本は不鮮明な場合が多いが、この個体は鮮明に輪紋間隔が変化する珍しい個体の例。

暗部 6



左の図からピントを深い方向(平衡石の前方)に変えた。

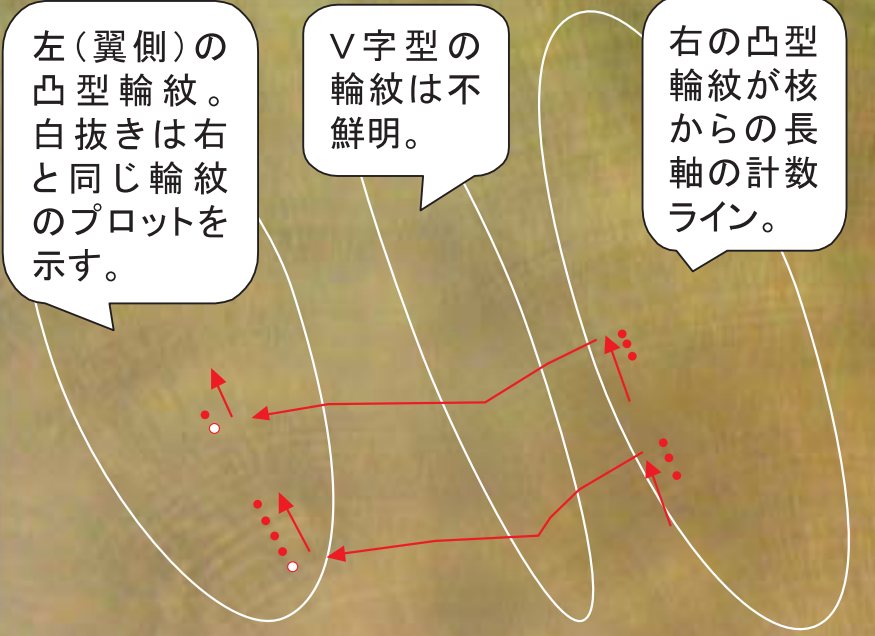
暗部 7



左(翼側)の凸型輪紋。白抜きは右と同じ輪紋のプロットを示す。

V字型の輪紋は不鮮明。

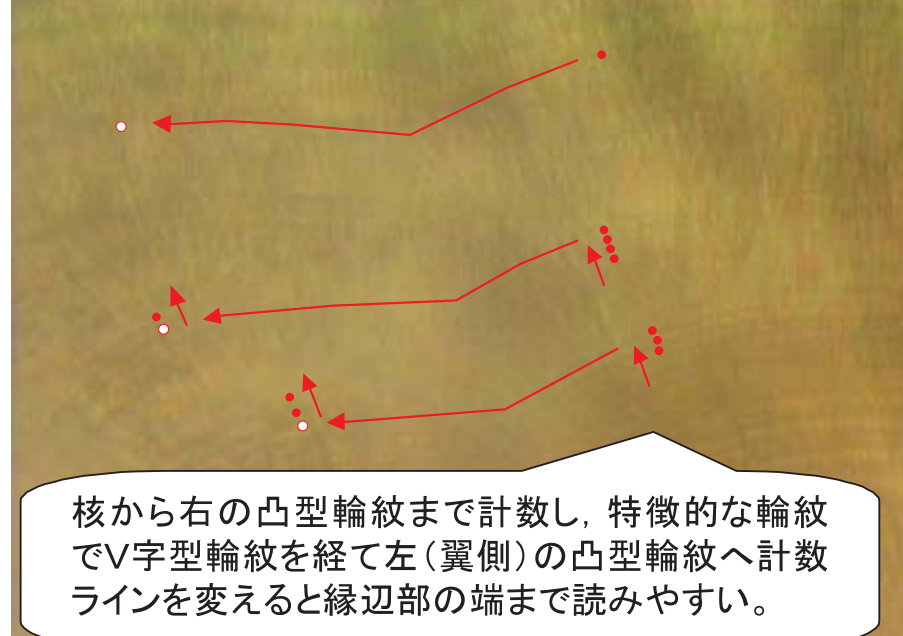
右の凸型輪紋が核からの長軸の計数ライン。



暗部 8



核から右の凸型輪紋まで計数し、特徴的な輪紋でV字型輪紋を経て左(翼側)の凸型輪紋へ計数ラインを変えると縁辺部の端まで読みやすい。



5-3 縁辺部の輪紋

約130本目～背丘部の端まで。暗部では暗かった輪紋の背景が明るくなる。輪紋間隔は1.2～2.5 μm 。端に行くに従って輪紋間隔が徐々に細くなり、成熟個体の縁辺部の端付近など最も細かい輪紋は1.2～1.5 μm 程度になる。

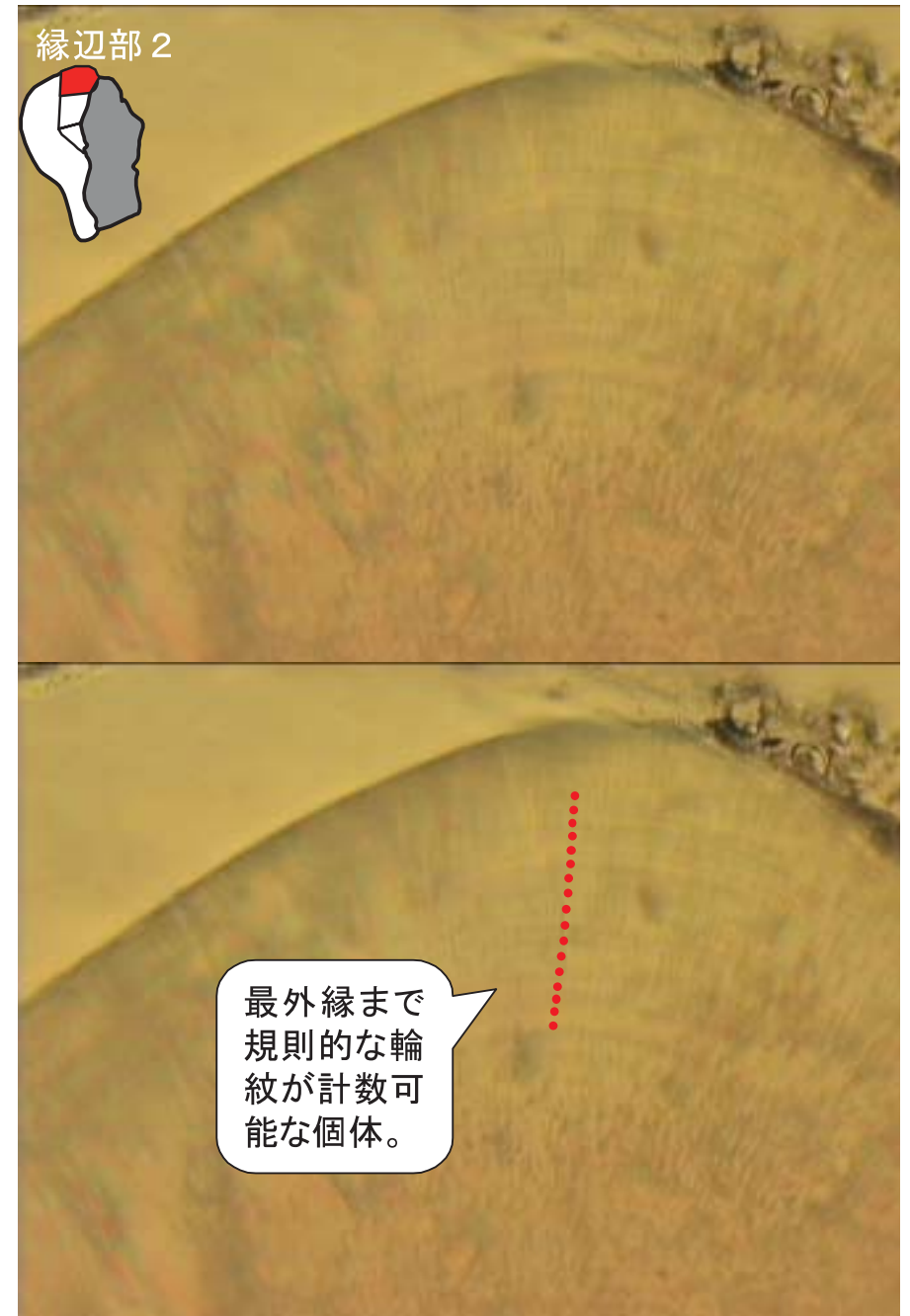
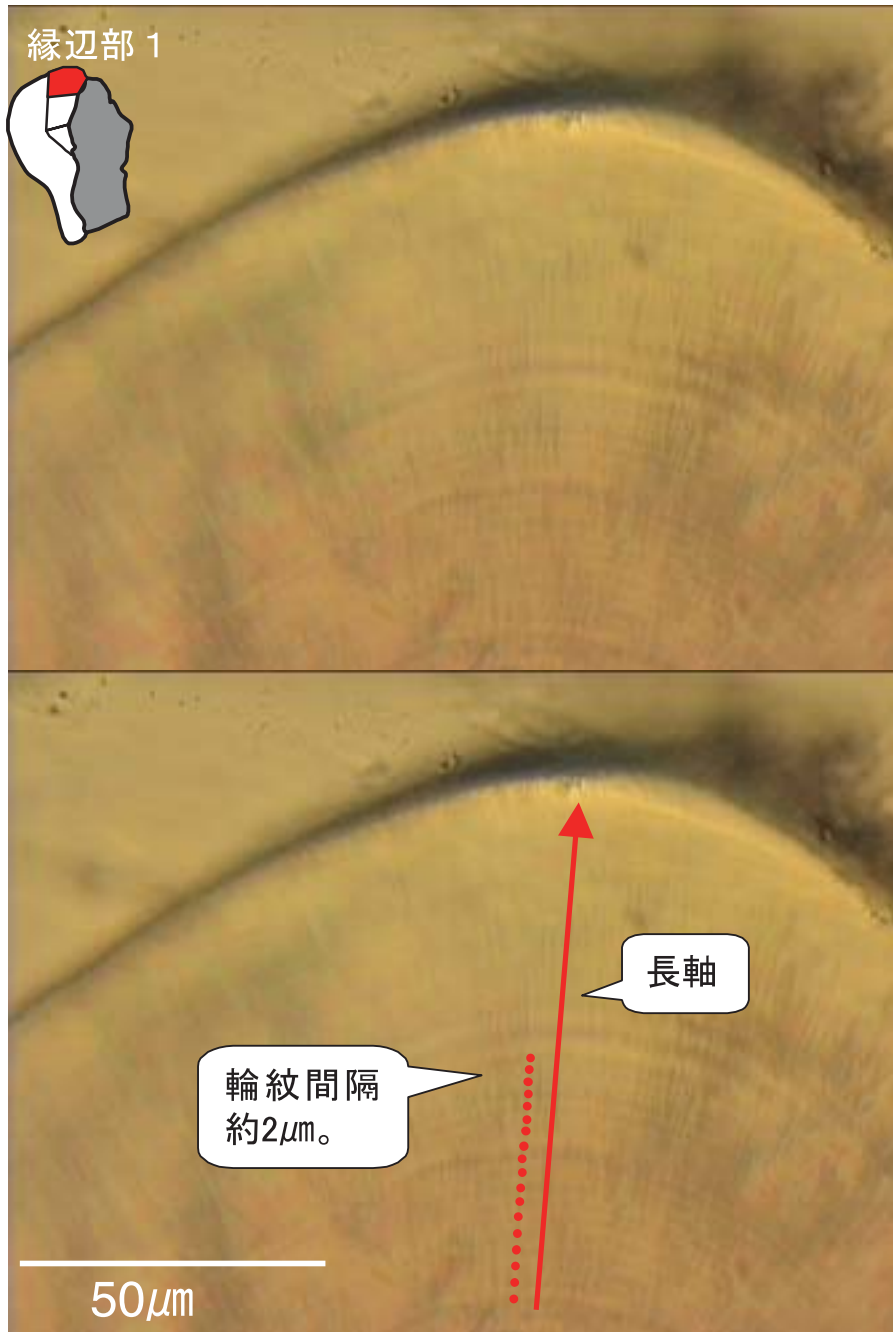
一番端の輪紋は不鮮明で読めないことが多いため、その内側の輪紋間隔を参考に外挿（内側の輪紋間隔から、そこにあるであろう輪紋数を推定すること）する必要がある。

翼（不透明体）との隣接部に鮮明で細かい輪紋が観察されることがある。暗部と異なりこの輪紋は長軸方向の輪紋にそのままつながるため、計数に使えることが多い。

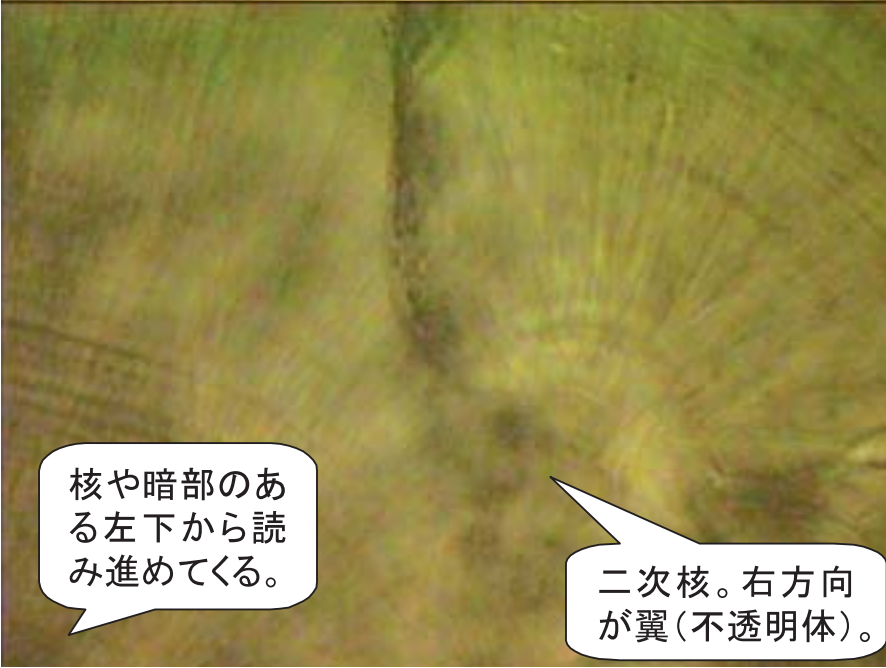
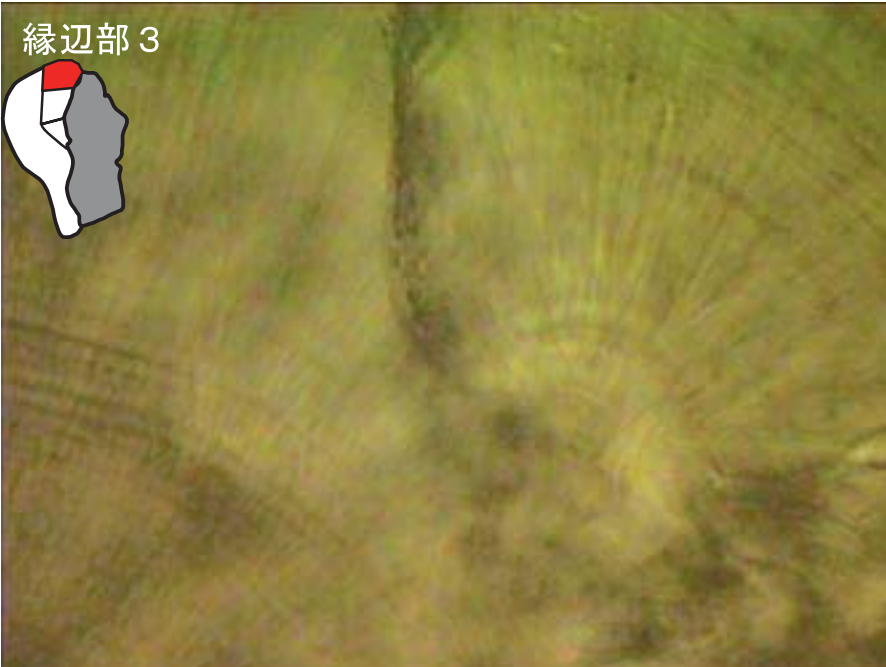
翼（不透明体）との隣接部に新たに輪紋形成の核（二次核）が観察されることがある。この二次核から背丘部の端の方向に扇形に成長した輪紋は、周りの背丘部の輪紋よりも間隔が広く鮮明で、計数しやすいことが多い。ただし、隣接する背丘部との境界の輪紋がV字型をした不鮮明なものであることが多い。このため、暗部から計数していくと、計数部位を扇形の輪紋に移動するために、不鮮明な境界部を経由する必要がある。通常、充分研磨してやると太い輪紋など特徴的

な輪紋にそって計数部位を移動することができ、そのまま扇形の輪紋を計数することができる。

新たな輪紋形成の核は、縁辺部に複数形成されることや、暗部に形成されることもある。比較的、輪紋間隔の広い個体（暗部がWタイプの個体など）に多くみられ、暗部がNタイプの個体にはあまりみられない。



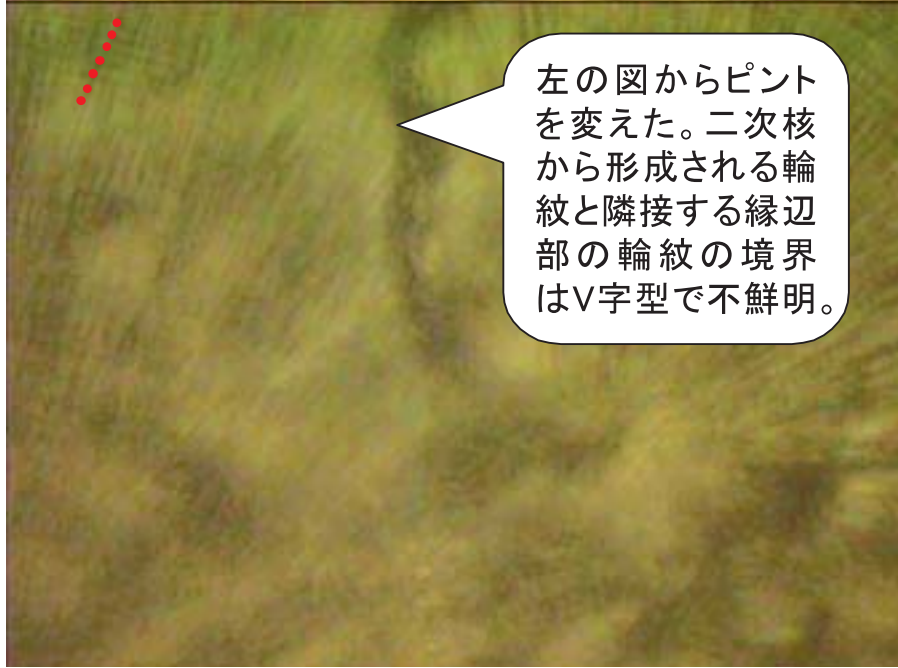
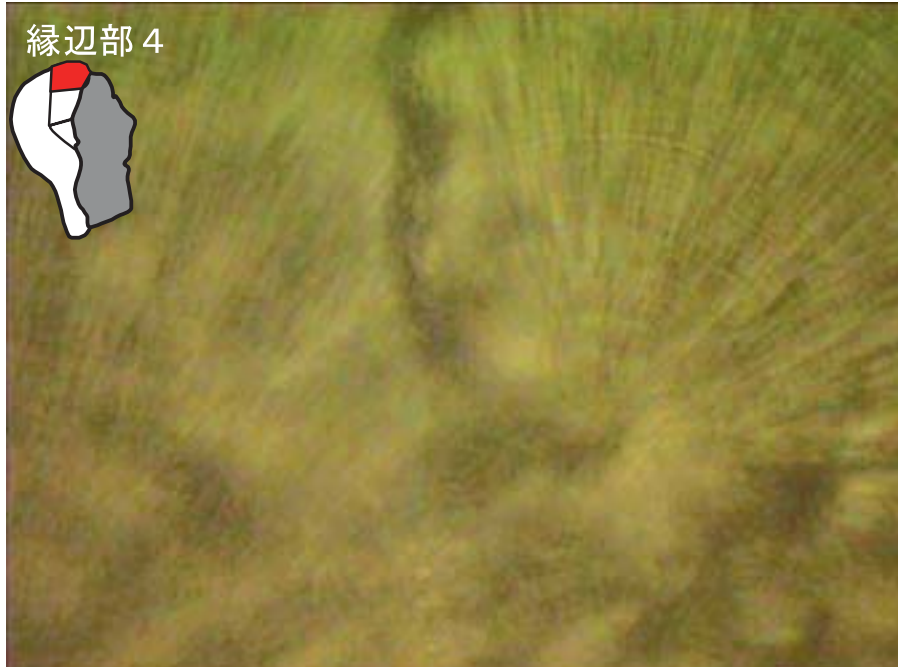
縁辺部 3



核や暗部のある左下から読み進めてくる。

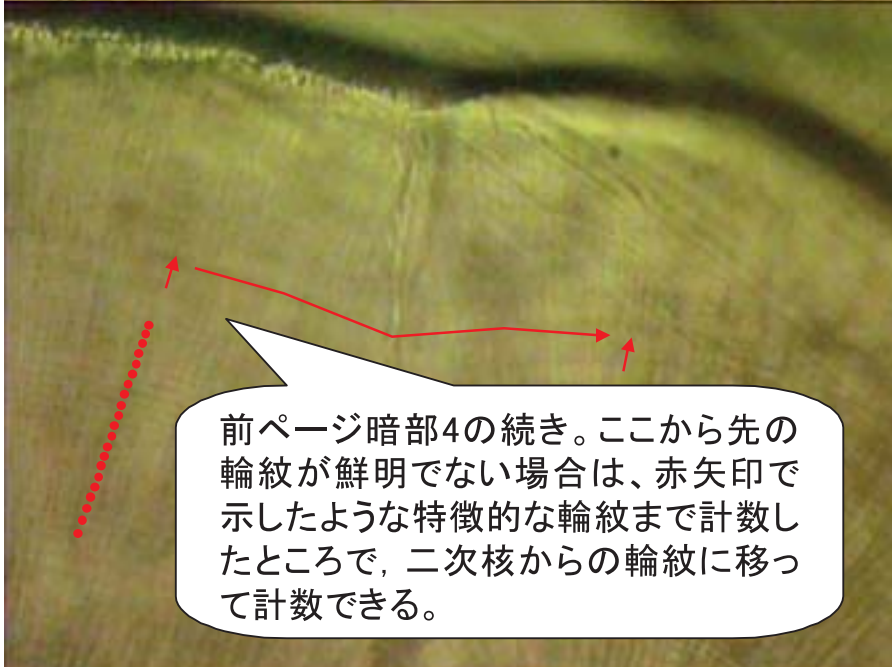
二次核。右方向が翼(不透明体)。

縁辺部 4



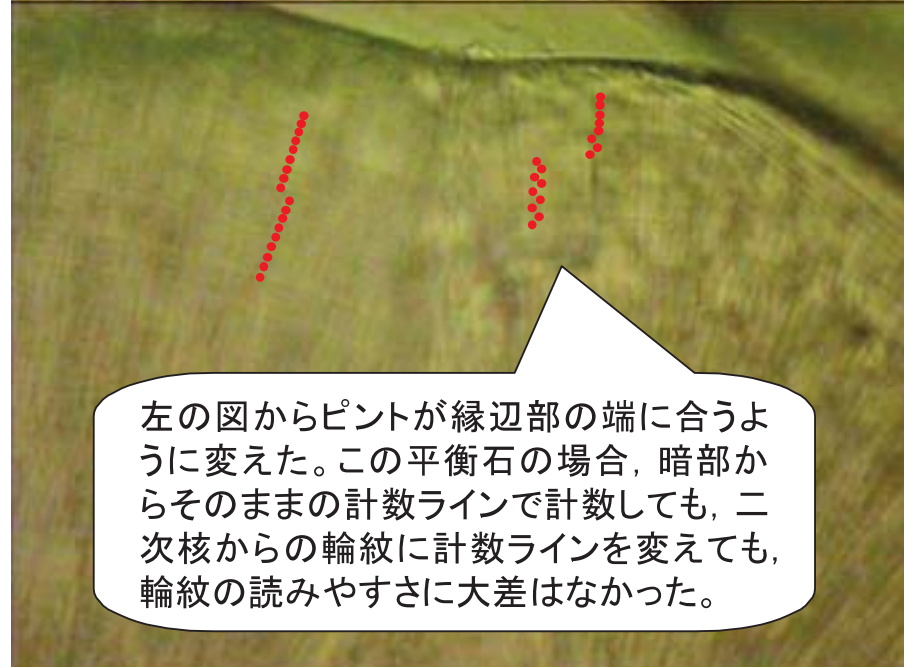
左の図からピントを変えた。二次核から形成される輪紋と隣接する縁辺部の輪紋の境界はV字型で不鮮明。

縁辺部 5



前ページ暗部4の続き。ここから先の輪紋が鮮明でない場合は、赤矢印で示したような特徴的な輪紋まで計数したところで、二次核からの輪紋に移って計数できる。

縁辺部 6



左の図からピントが縁辺部の端に合うように変えた。この平衡石の場合、暗部からそのままの計数ラインで計数しても、二次核からの輪紋に計数ラインを変えても、輪紋の読みやすさに大差はなかった。

6 実際の計数例

個体別に核から縁辺部までの全計数例を示す。各ページの上に輪紋のみの図，下に同じ図に実際のプロットや説明，プロット数を合わせて示す。静止画像ではピントを変えられないため輪紋が不鮮明に見えるので，できるだけ輪紋が鮮明な個体を中心に示した。全計数例を示した個体の個体情報は以下のとおり。

○個体No. 1

外套長188mm，雄，未熟，5月に秋田県沖日本海で漁獲。

輪紋が細かい個体の例。暗部はNタイプ（夏の日本海に分布する群で一般的）。輪紋は鮮明で読みやすいものが多い。

○個体No. 2

外套長216mm，雄，未熟，10月に北海道沿岸のオホーツク海で漁獲。

輪紋が広い個体の例。暗部はWタイプ（太平洋，オホーツク海，秋の日本海に分布する群で一般的）。輪紋は不鮮明なものが多いが，その中の比較的鮮明な個体を選んだ。

○個体No. 3

外套長252mm，雄，成熟，8月に北海道西部日本海で漁獲。

輪紋数が多い個体の例。暗部はNタイプ。産卵場から遠い北海道周辺海域でも，300本前後の輪紋をもつ個体がみられる。

○個体No. 4

外套長205mm，雄，未熟，6月に北海道西部日本海で漁獲。

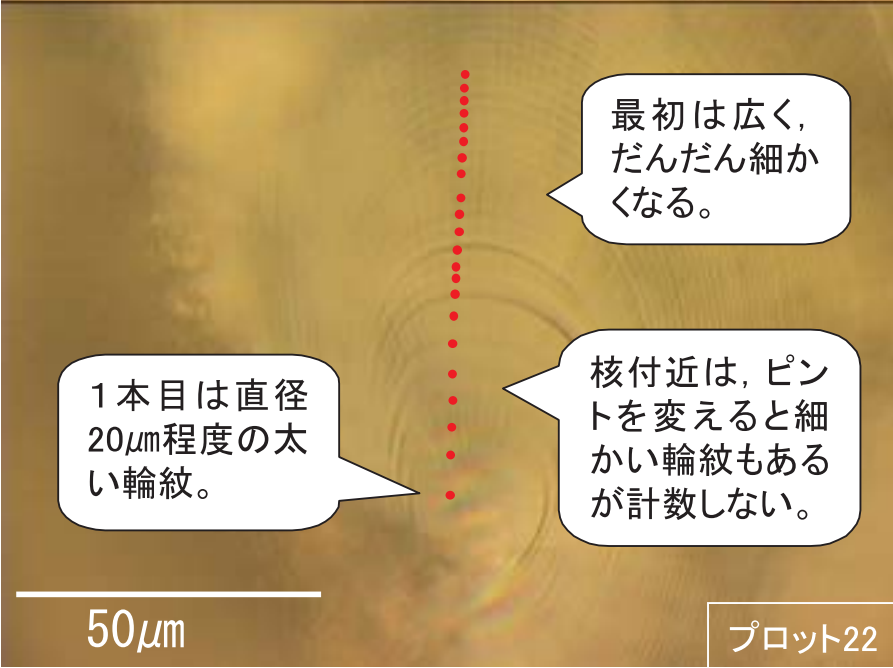
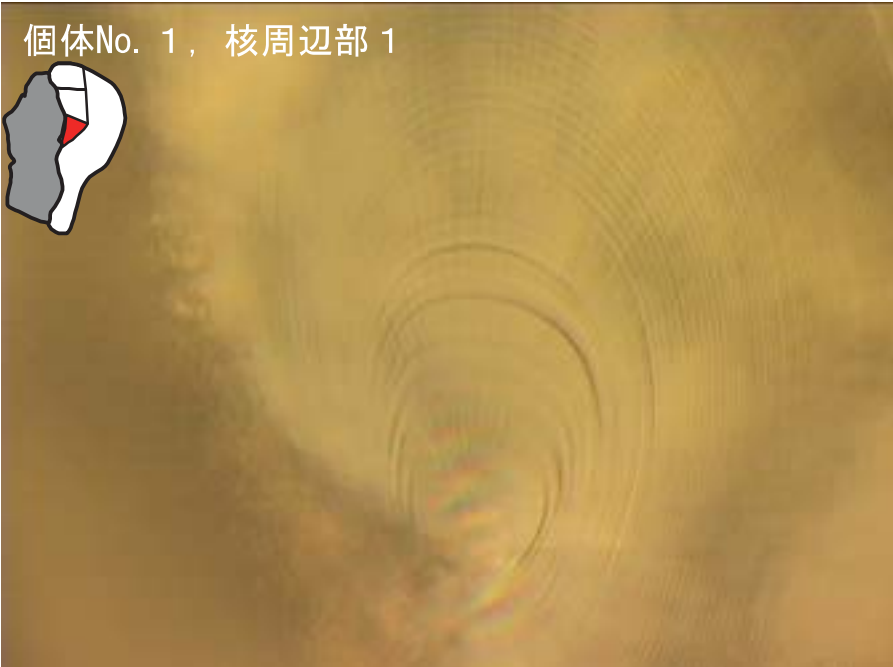
暗部がNタイプとWタイプの間間的な個体。標準的に見えるがこのような個体の方が少ない。

○個体No. 5

外套長47mm，雄，未熟，4月に北海道西部日本海で漁獲。

輪紋の少ない幼体のスルメイカの例。平衡石は核から暗部まで形成されており，縁辺部はまだ形成されていない。

個体No. 1, 核周辺部 1



1本目は直径
20μm程度の太
い輪紋。

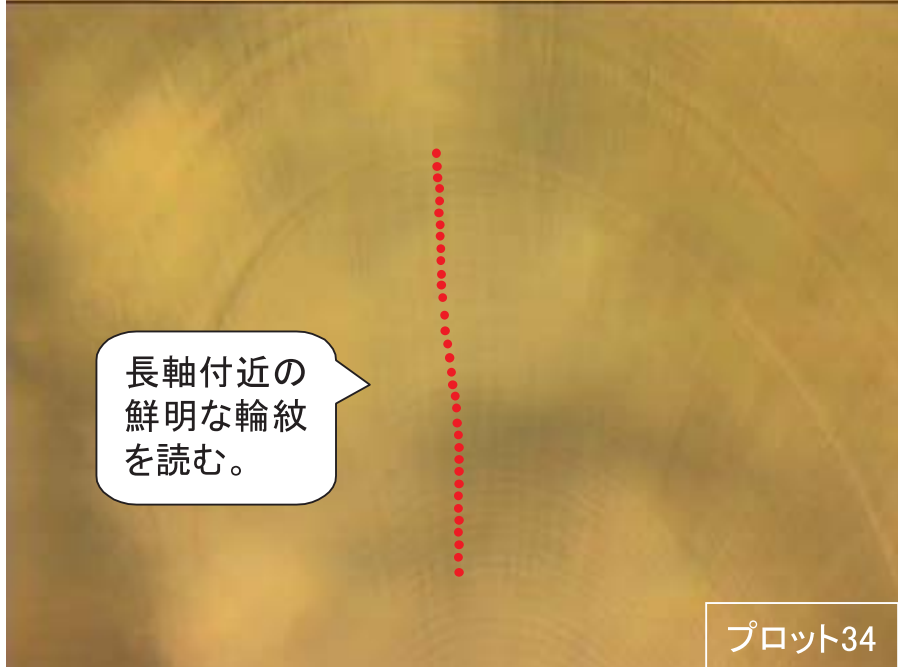
最初は広く、
だんだん細か
くなる。

核付近は、ピン
トを変えると細
かい輪紋もある
が計数しない。

50μm

プロット22

個体No. 1, 核周辺部 2



長軸付近の
鮮明な輪紋
を読む。

プロット34

個体No. 1, 核周辺部 3



引き続き,
長軸付近の
輪紋を読む。

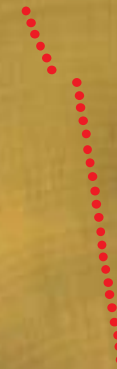


プロット12

個体No. 1, 暗部 1



暗部の輪紋N
タイプである。
だんだん背景
が暗くなる。こ
の付近で一度,
輪紋間隔がや
や広くなること
が多い。



プロット28

個体No. 1, 暗部 2



だんだん長軸がはつきりしなくなる。読みやすい部分を選んで読み進める。

翼(不透明体)の暗い影

プロット19

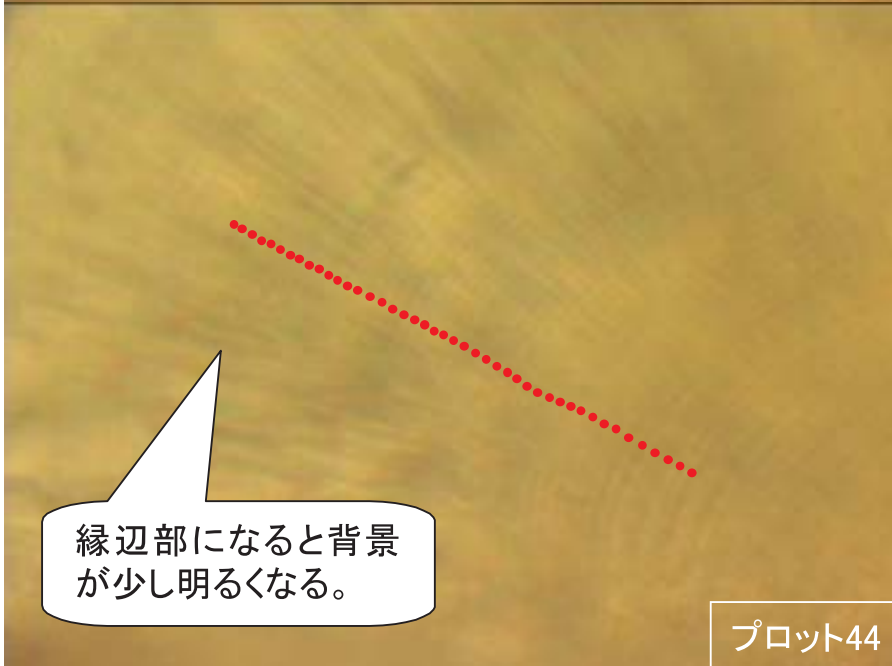
個体No. 1, 暗部 3



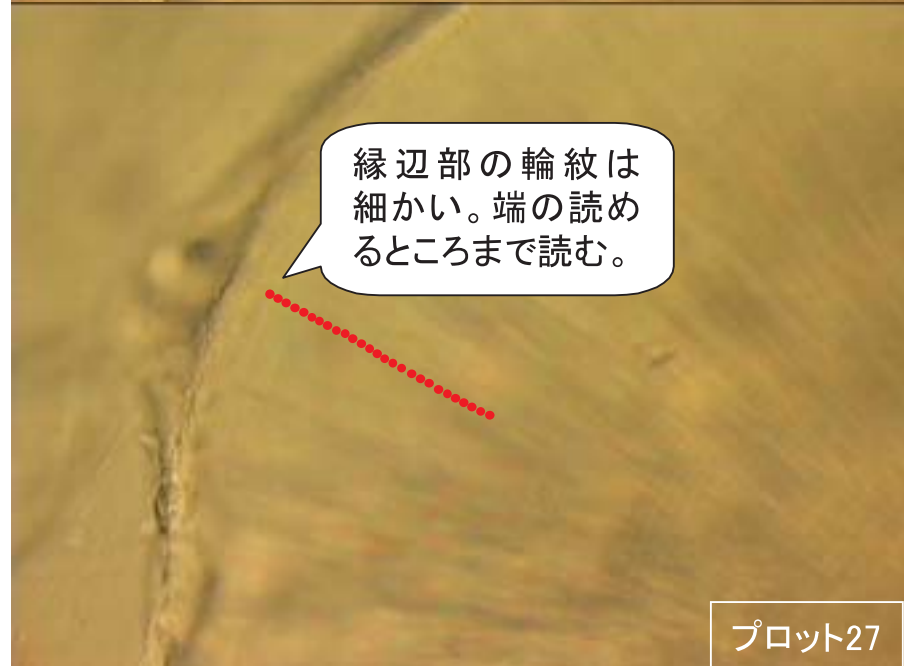
読みやすい部分を渡り歩きながら背丘部の端に向かう。あまり側丘部方向にいくと輪紋が細かすぎて読めなくなるので、翼(不透明体)から離れ過ぎないように注意。

プロット27

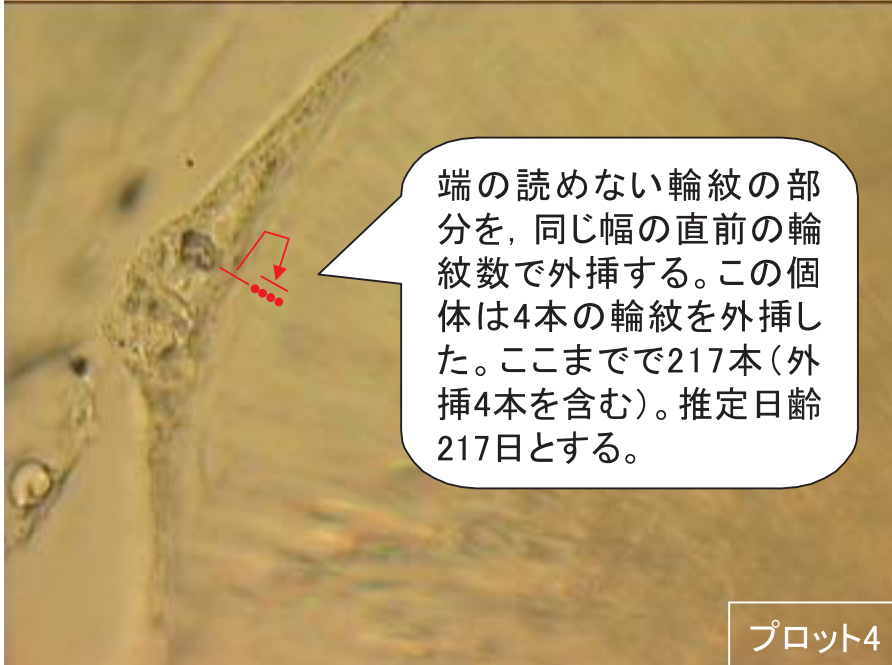
個体No. 1, 縁辺部 1



個体No. 1, 縁辺部 2



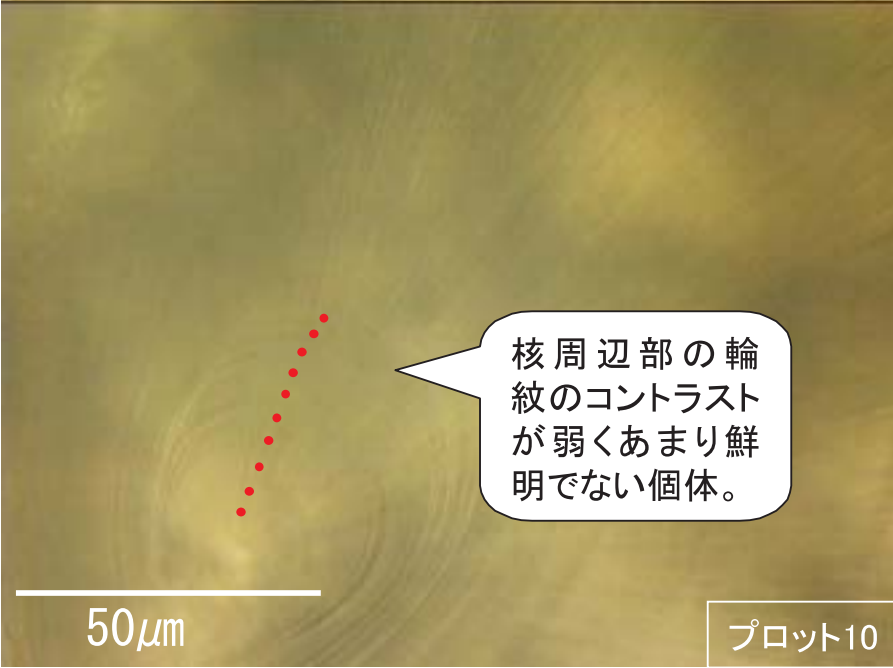
個体No. 1, 縁辺部3



端の読めない輪紋の部分を、同じ幅の直前の輪紋数で外挿する。この個体は4本の輪紋を外挿した。ここまでで217本(外挿4本を含む)。推定日齢217日とする。

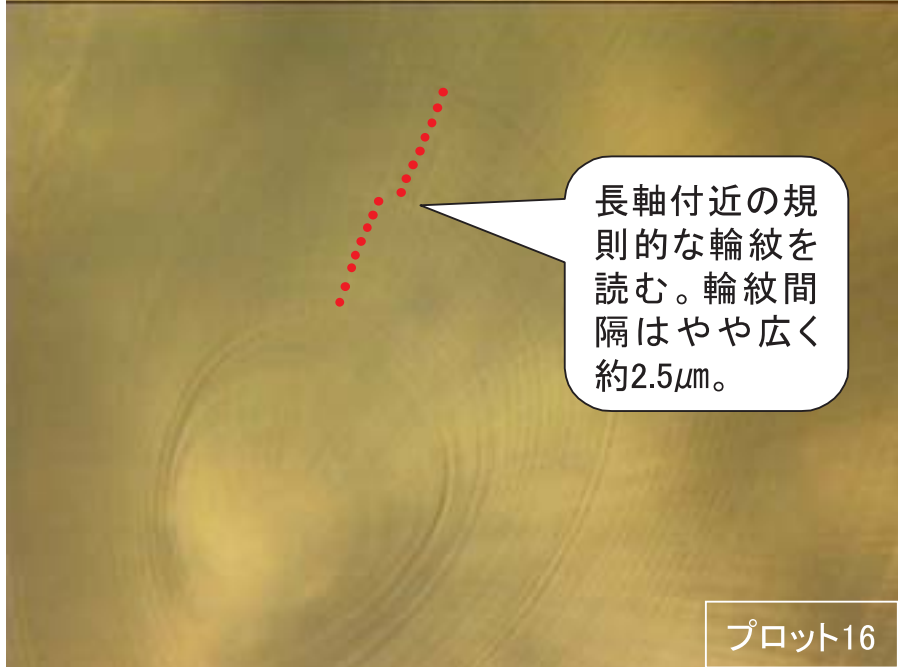
プロット4

個体No. 2, 核周辺部 1



核周辺部の輪紋のコントラストが弱くあまり鮮明でない個体。

個体No. 2, 核周辺部 2



長軸付近の規則的な輪紋を読む。輪紋間隔はやや広く約2.5μm。

個体No. 2, 核周辺部 3



長軸

長軸付近の輪紋が不鮮明なため、長軸よりも右の部位(側丘部方向)を読んだ。行き詰まるので戻れるところで再び長軸付近へ戻る。白抜きは右の最後のプロットと同じ輪紋を示す。

プロット9

個体No. 2, 暗部 1



再び長軸を読んだ。輪紋間隔が広がってきた。白抜きは左の図と同じ輪紋を示す。

プロット4

個体No. 2, 暗部 2



輪紋が不鮮明な
部分はピントを変
えたときの輪紋の
動く様子を見なが
らの方が計数しや
すい。

プロット6

個体No. 2, 暗部 3



静止画では読輪が
困難になってきて
いる。できるだけ読
みやすい部位を選
んで読み進める。

プロット7

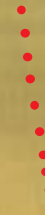
個体No. 2, 暗部 4



長軸が読めるときは優先して読み、側丘部方向にずれないようにする。

プロット9

個体No. 2, 暗部 5

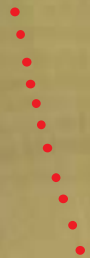


輪紋間隔が約 $4\mu\text{m}$ まで広くなった。暗部の輪紋Wタイプである。このように輪紋間隔が広くて比較的鮮明な個体は少ない。

翼(不透明体)の暗い影

プロット10

個体No. 2, 暗部 6



引き続き広い輪紋を読む。輪紋内部に不規則な細かい輪紋が見える場合があるが、広い輪紋が規則正しい場合は広い方を読む。

プロット11

個体No. 2, 暗部 7



プロット6

個体No. 2, 暗部 8



細かい輪紋

不鮮明な輪紋

広い輪紋

縁辺部が近づくと、10数本のうちに輪紋が狭くなる。この変わり目の10数本は不鮮明なことが多い。

プロット19

個体No. 2, 縁辺部 1



暗部がWタイプであっても、基本的に縁辺部の輪紋は細かい。縁辺部の輪紋間隔が $3\mu\text{m}$ より広い個体は極めて稀である。

プロット12

個体No. 2, 縁辺部 2



細かい輪紋を縁辺部の端に向かって読む。

プロット18

個体No. 2, 縁辺部 3



輪紋間隔が約
1.8 μm まで狭くなった。

プロット17

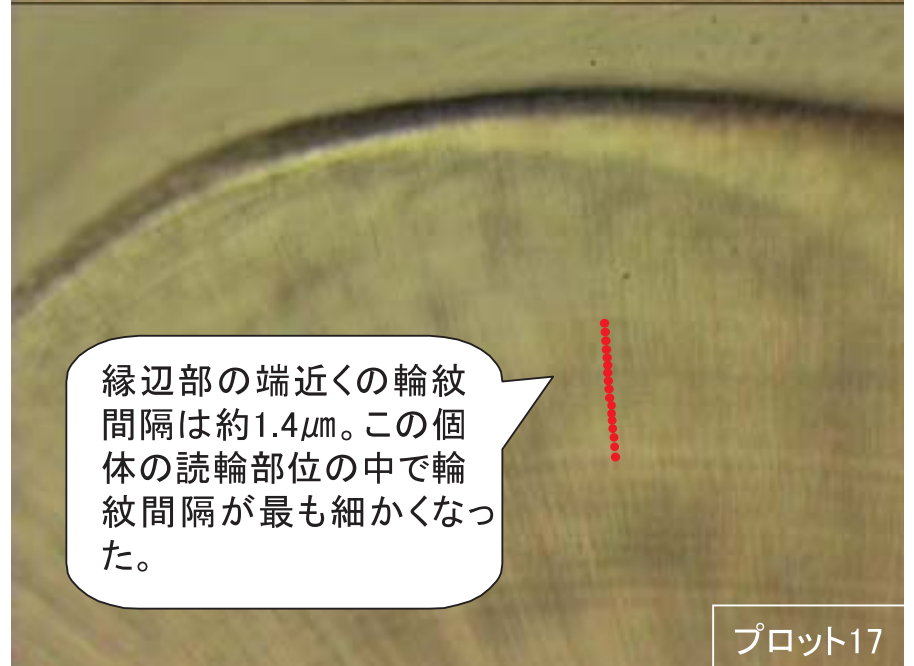
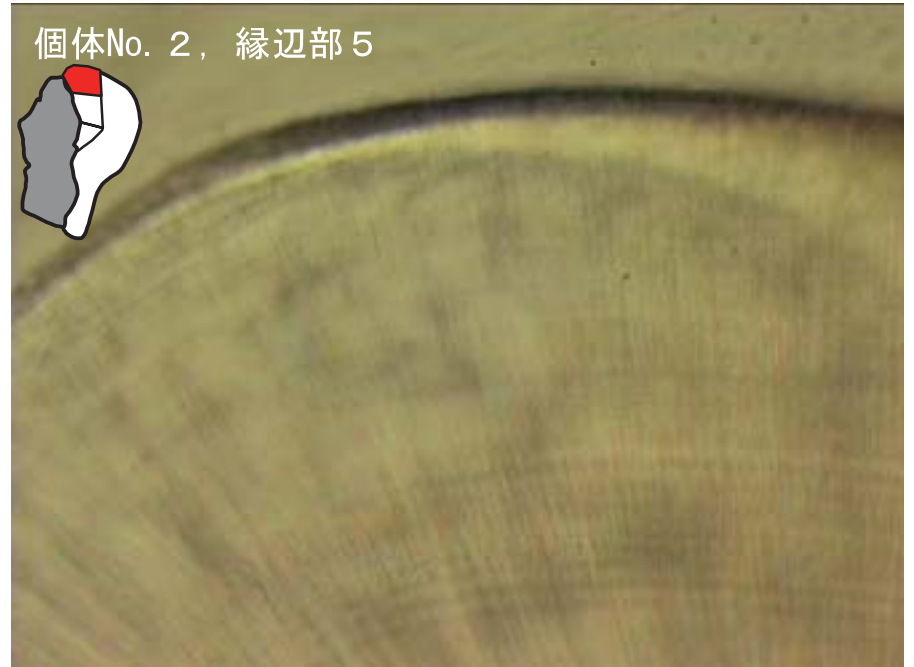
個体No. 2, 縁辺部 4



読みやすい部分を, 長軸方向に読み進める。

プロット19

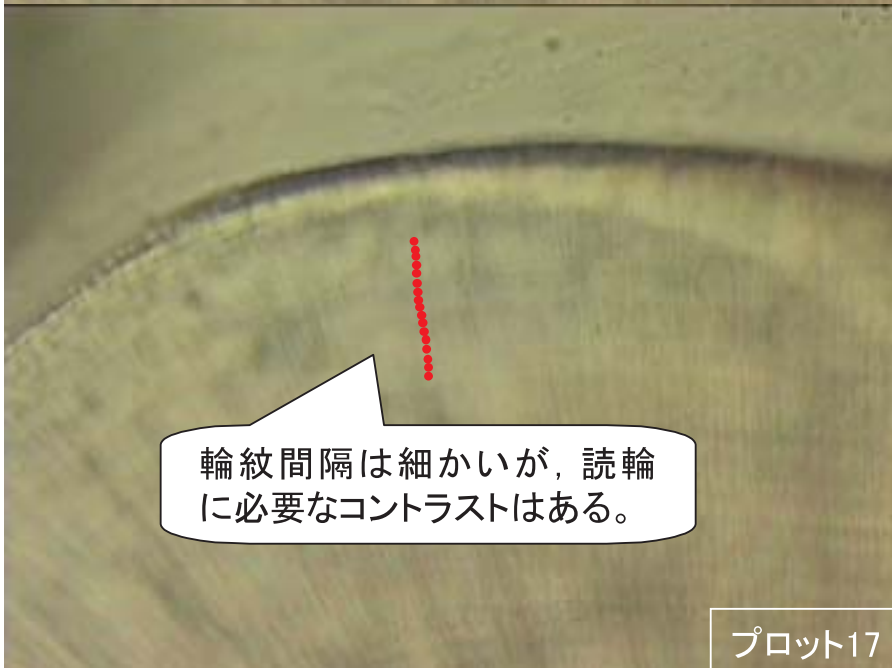
個体No. 2, 縁辺部 5



縁辺部の端近くの輪紋間隔は約 $1.4\mu\text{m}$ 。この個体の読輪部位の中で輪紋間隔が最も細かくなった。

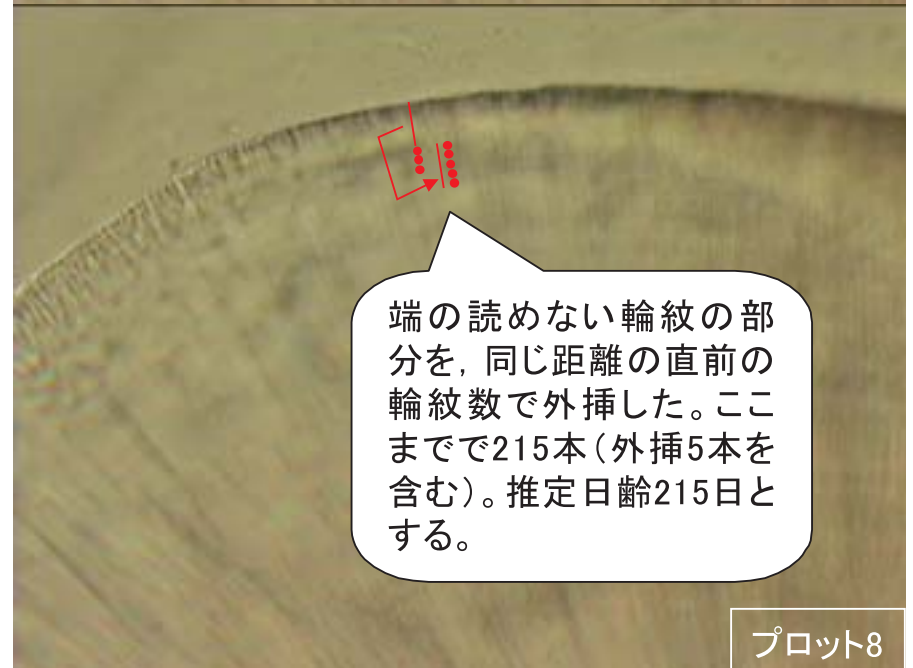
プロット17

個体No. 2, 縁辺部 6



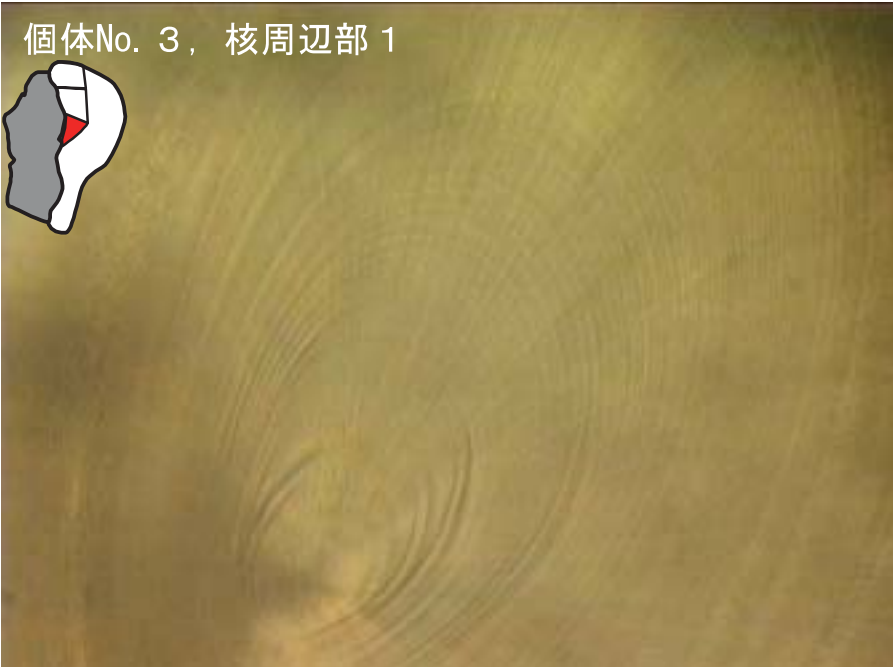
プロット17

個体No. 2, 縁辺部 7



プロット8

個体No. 3, 核周辺部 1



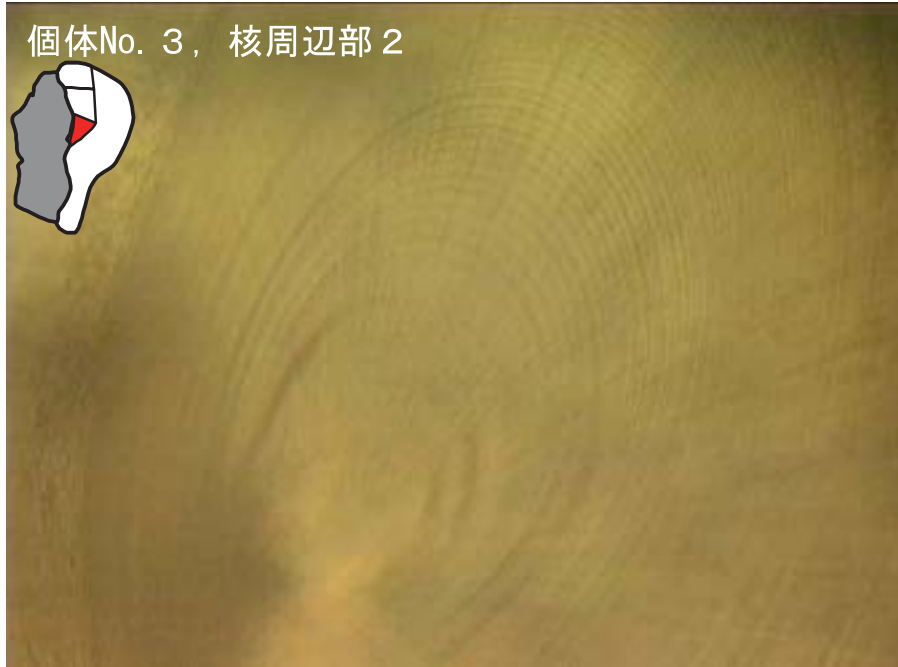
核周辺部から数本のうちに、細かい輪紋が続く。



50μm

プロット21

個体No. 3, 核周辺部 2

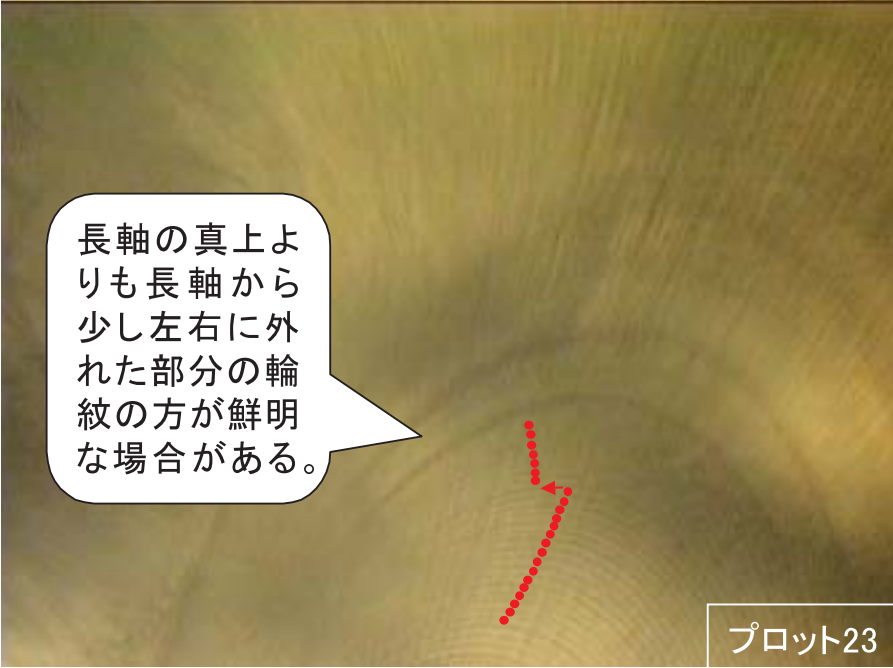


輪紋は細かいがコントラストが強く読みやすい。



プロット14

個体No. 3, 核周辺部 3



長軸の真上よりも長軸から少し左右に外れた部分の輪紋の方が鮮明な場合がある。

プロット23

個体No. 3, 核周辺部 4



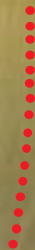
細かい輪紋が続く。

プロット18

個体No. 3, 暗部 1



暗部でやや輪紋間
隔が広がるが、W
タイプほどではない。

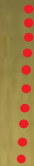


プロット16

個体No. 3, 暗部 2



このくらいの輪紋
間隔, 鮮明さであ
れば, 読みやすい。



プロット10

個体No. 3, 暗部3



暗部の輪紋Nタイプである。輪紋間隔は約 $2\mu\text{m}$ 。

プロット16

個体No. 3, 暗部4



長軸がはっきりしない場合は、翼（不透明体）から離れすぎない程度に、読みやすい部位を読み進む。

プロット15

個体No. 3, 暗部5



引き続き読む。



プロット16

個体No. 3, 縁辺部1

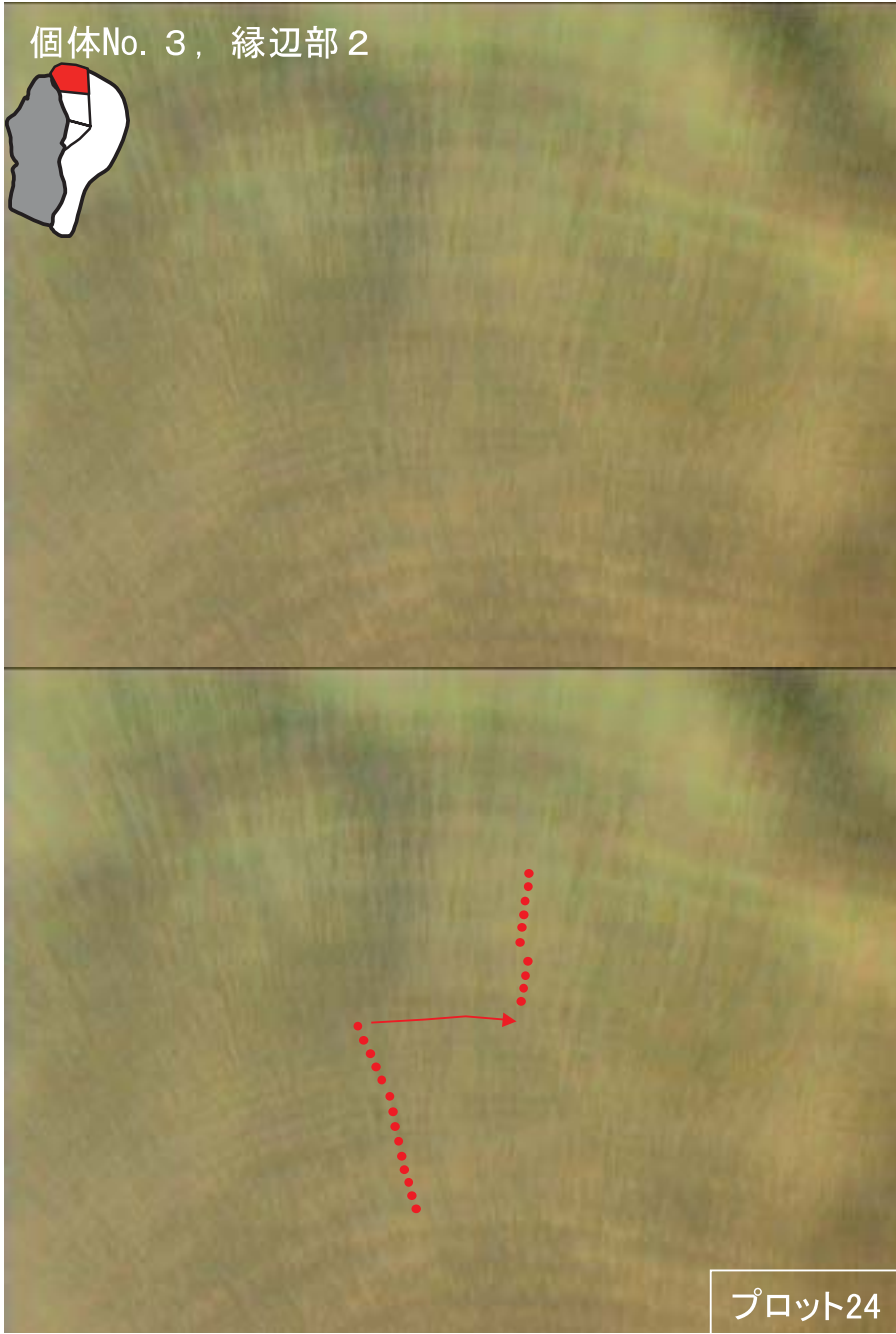


背丘部の長軸が
やや鮮明となった。

長軸

プロット16

個体No. 3, 縁辺部 2



プロット24

個体No. 3, 縁辺部 3



縁辺部になると、
暗部よりも画像が
やや明るくなる。

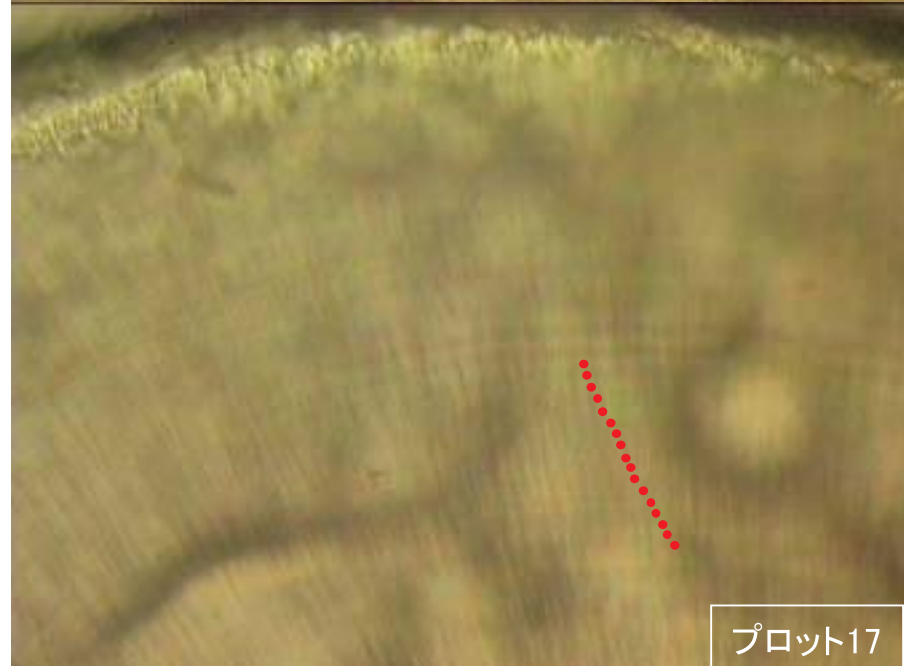
プロット15

個体No. 3, 縁辺部 4



プロット25

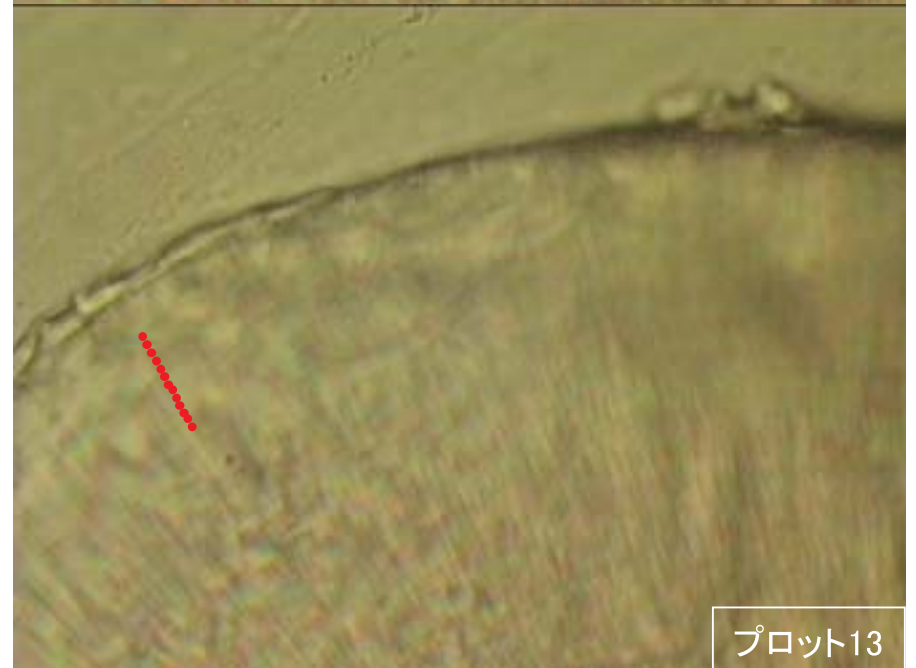
個体No. 3, 縁辺部 5



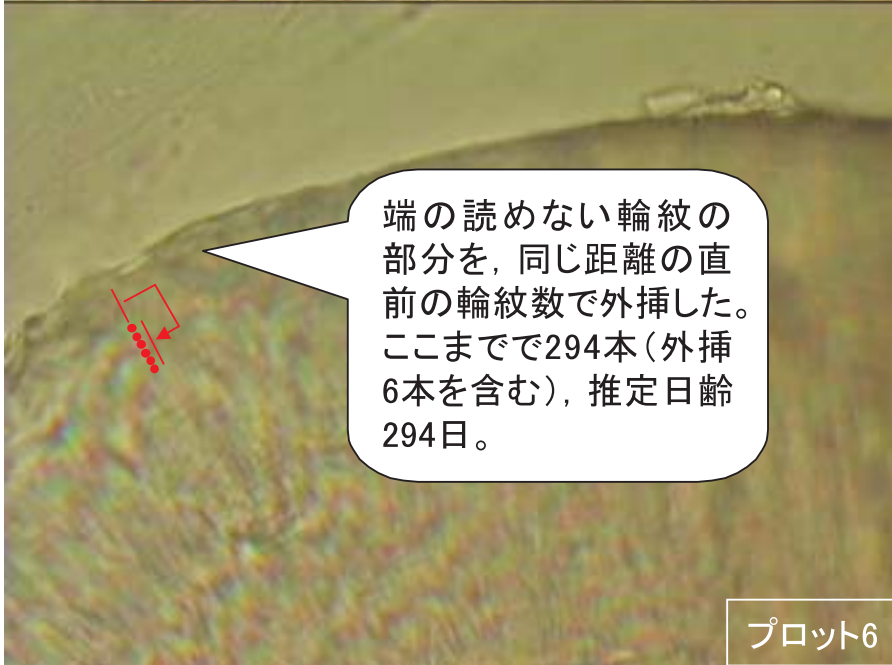
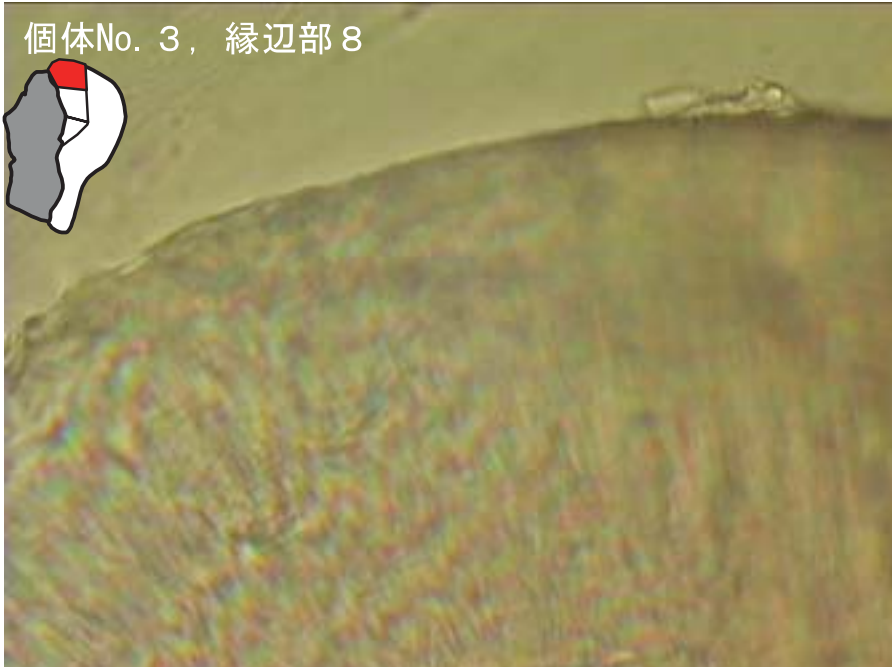
個体No. 3, 縁辺部 6



個体No. 3, 縁辺部 7



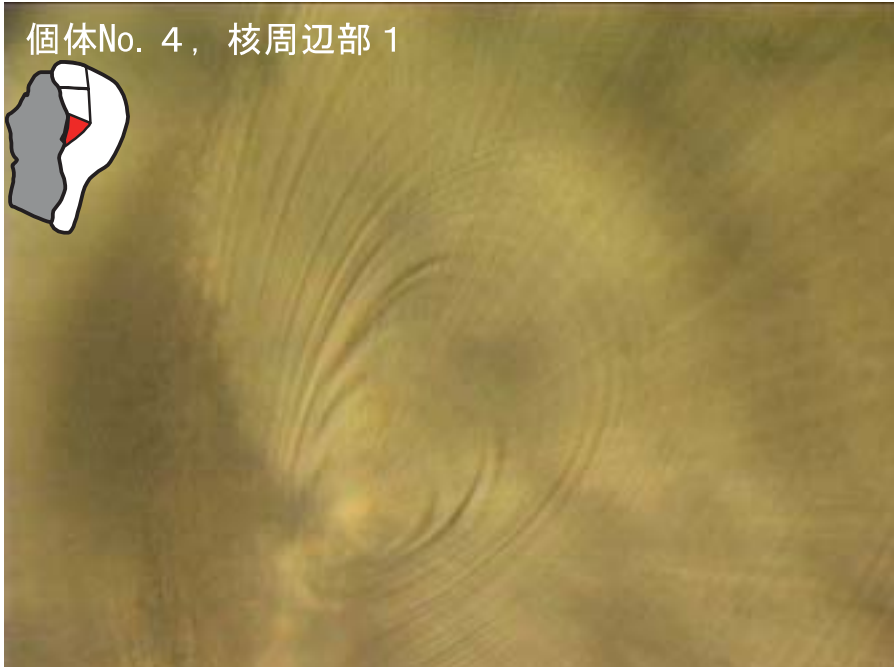
個体No. 3, 縁辺部 8



端の読めない輪紋の部分を、同じ距離の直前の輪紋数で外挿した。ここまでで294本(外挿6本を含む), 推定日齢294日。

プロット6

個体No. 4, 核周辺部 1



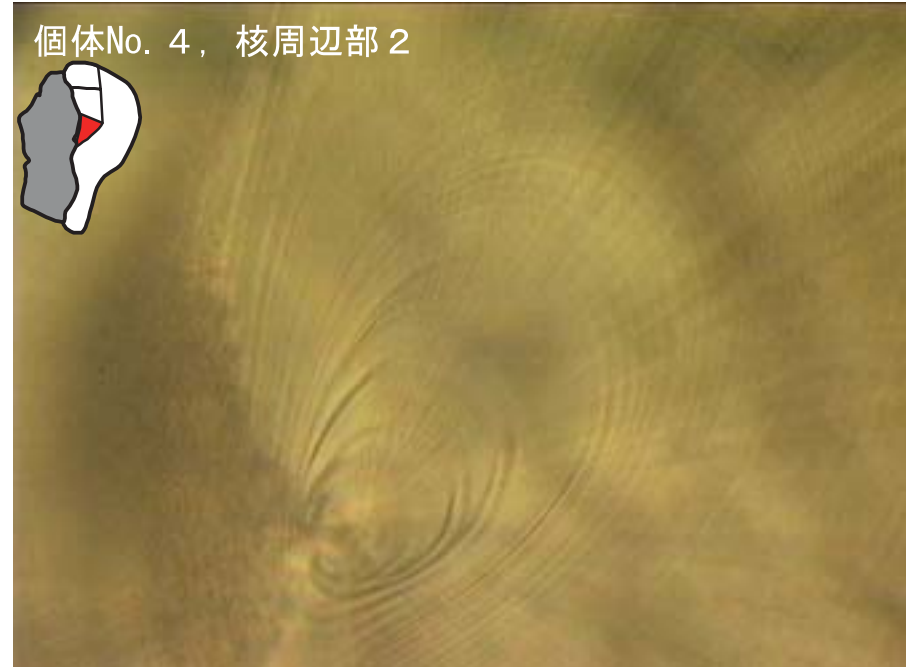
核付近の標準的な輪紋である。読みづらい個体でも、核から数本のパターンは個体差小さい。



50 μ m

プロット13

個体No. 4, 核周辺部 2



プロット12

個体No. 4, 核周辺部 3



輪紋間隔 $1.5\mu\text{m}$
と細かい。



プロット17

個体No. 4, 核周辺部 4

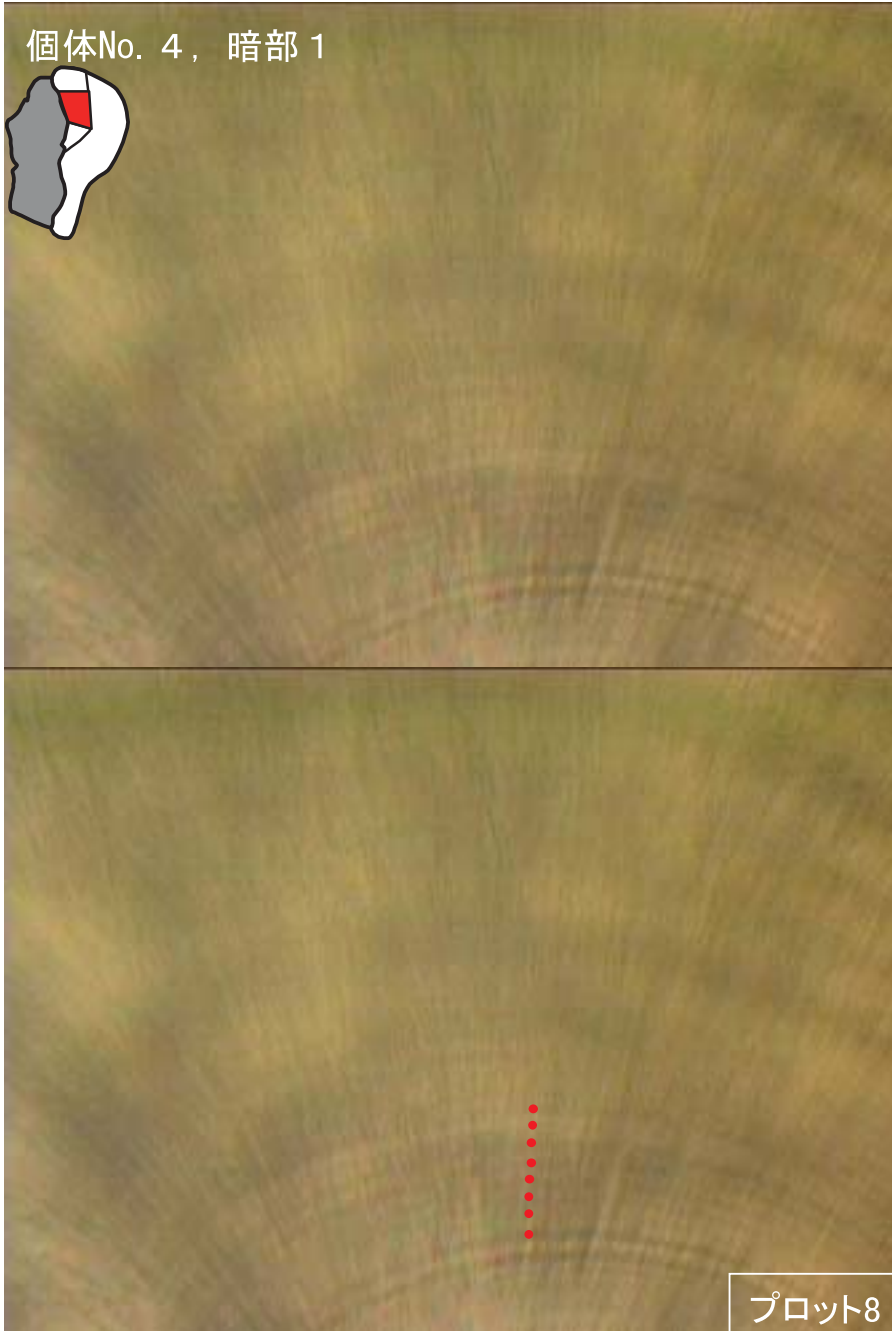


すぐに輪紋間
隔 $2.5\mu\text{m}$ まで広
がった。



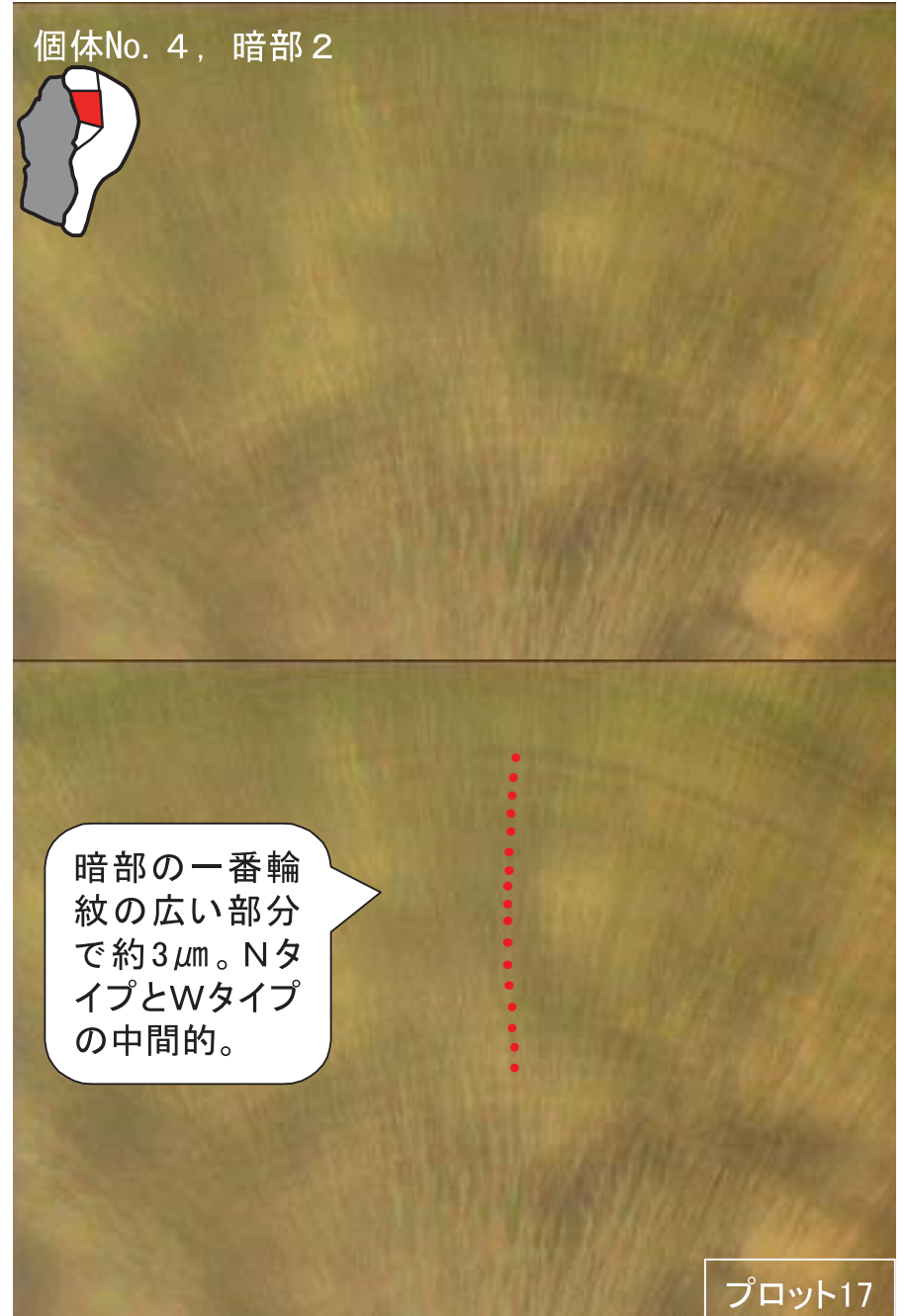
プロット23

個体No. 4, 暗部 1



プロット8

個体No. 4, 暗部 2



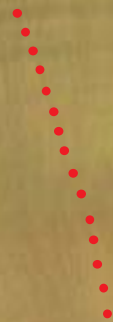
暗部の一番輪
紋の広い部分
で約 $3\mu\text{m}$ 。Nタ
イプとWタイ
プの中間的。

プロット17

個体No. 4, 暗部3



引き続きやや
広い輪紋を計
数する。



プロット15

個体No. 4, 暗部4



プロット24

個体No. 4, 縁辺部 1



図の左側の長軸が不鮮明なため、やむを得ず、読みやすい側丘部寄りを計数した。

長軸

プロット14

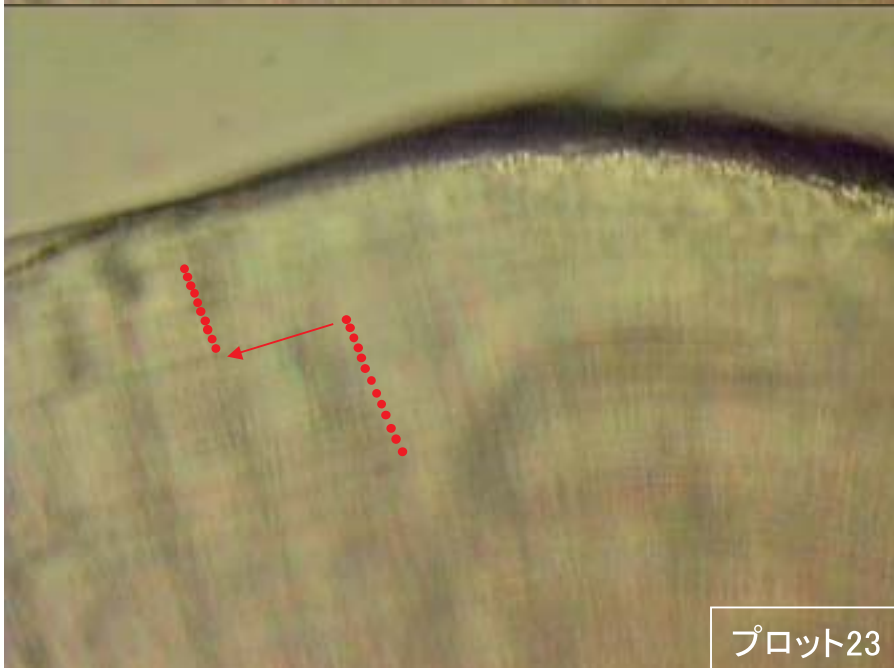
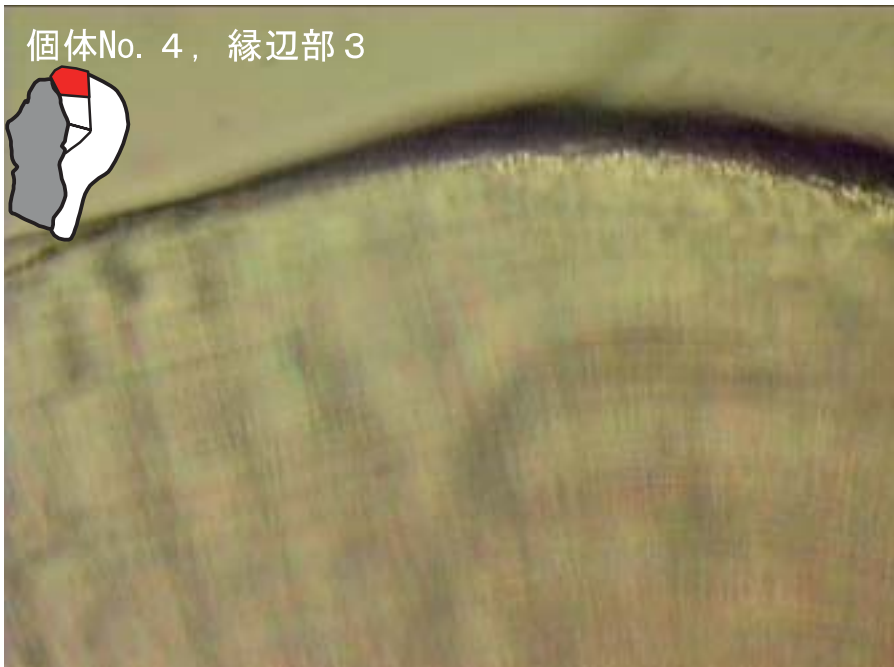
個体No. 4, 縁辺部 2



縁辺部を読み進めるに従って、計数ラインも長軸のように成長が良くなった。

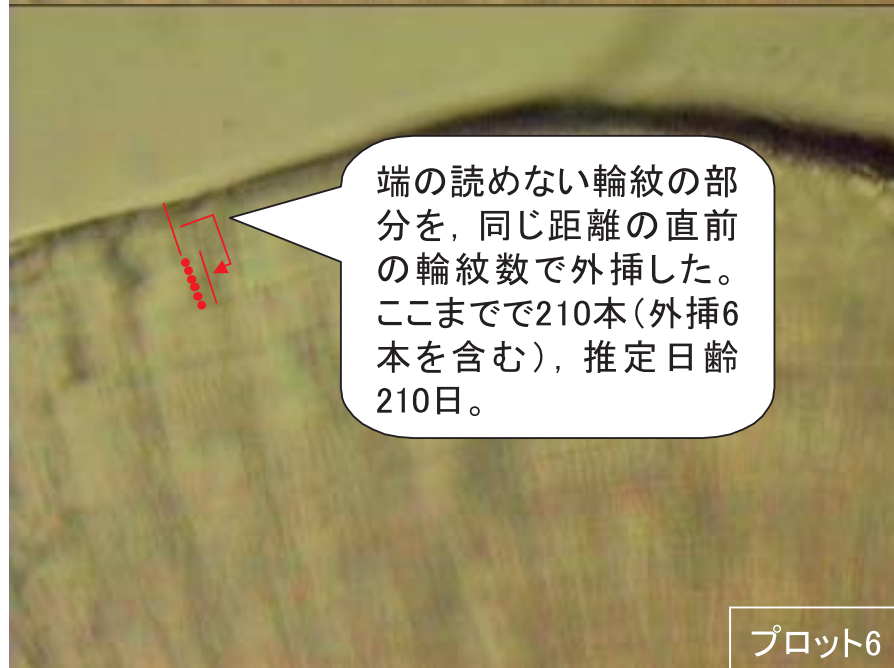
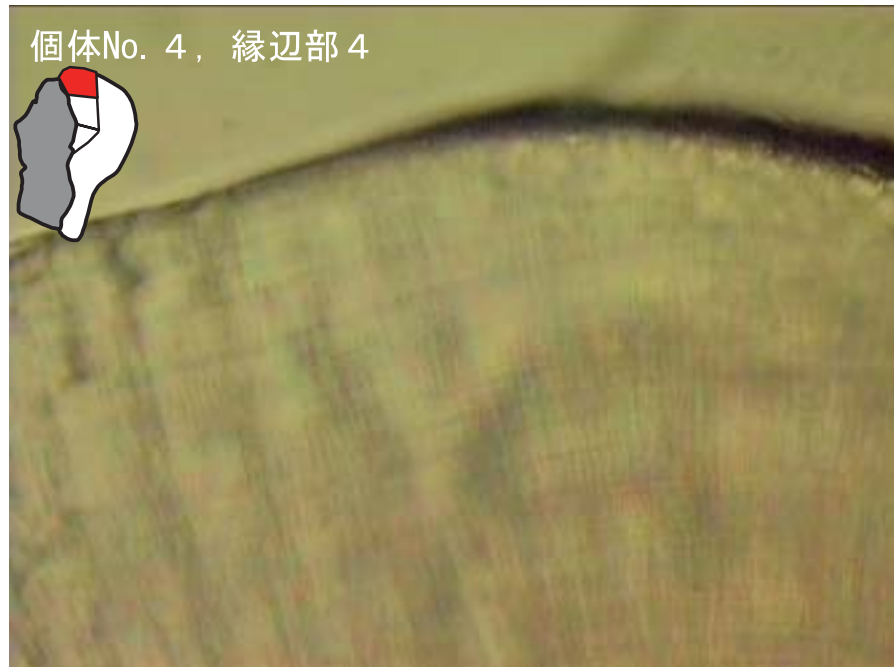
プロット38

個体No. 4, 縁辺部 3



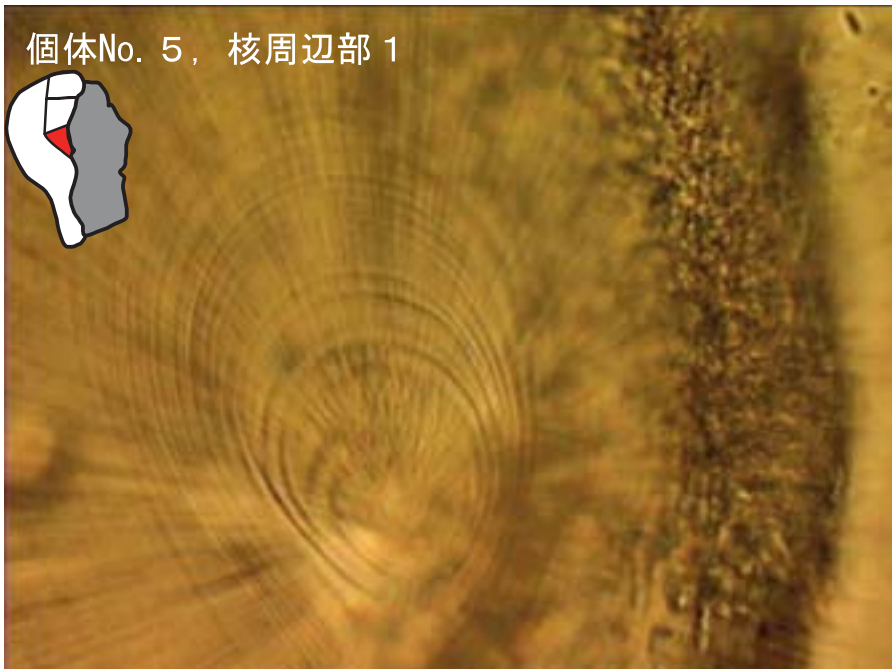
プロット23

個体No. 4, 縁辺部 4



プロット6

個体No. 5, 核周辺部 1

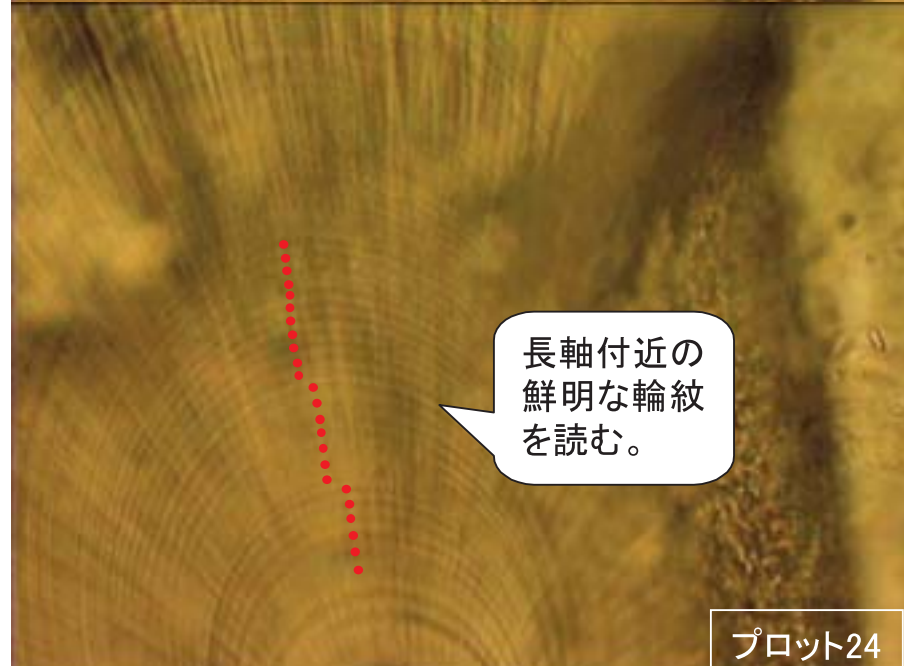
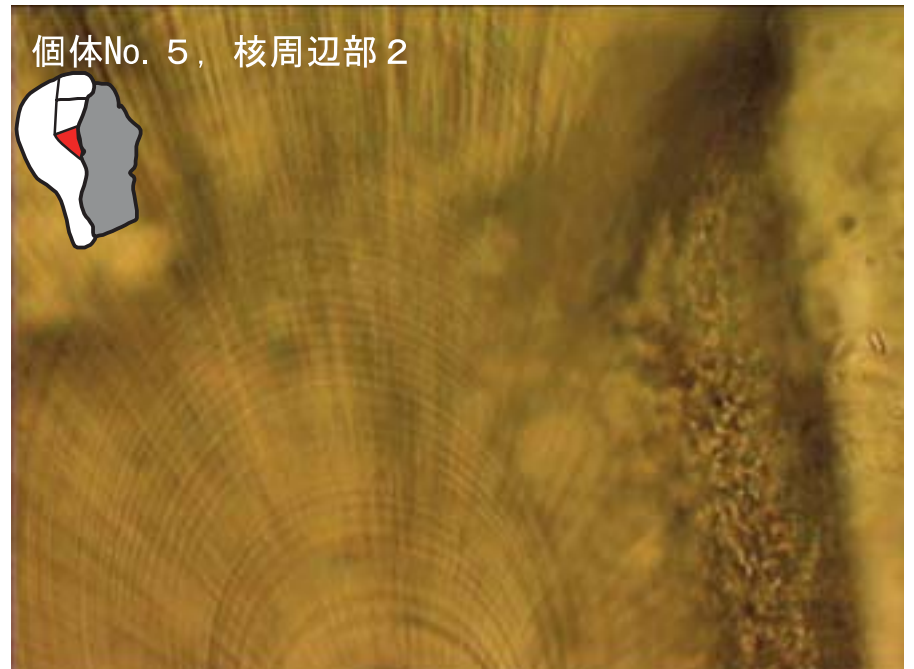


核付近は、ピントを変えると細かい輪紋もあるが太い輪紋を計数する。

50μm

プロット7

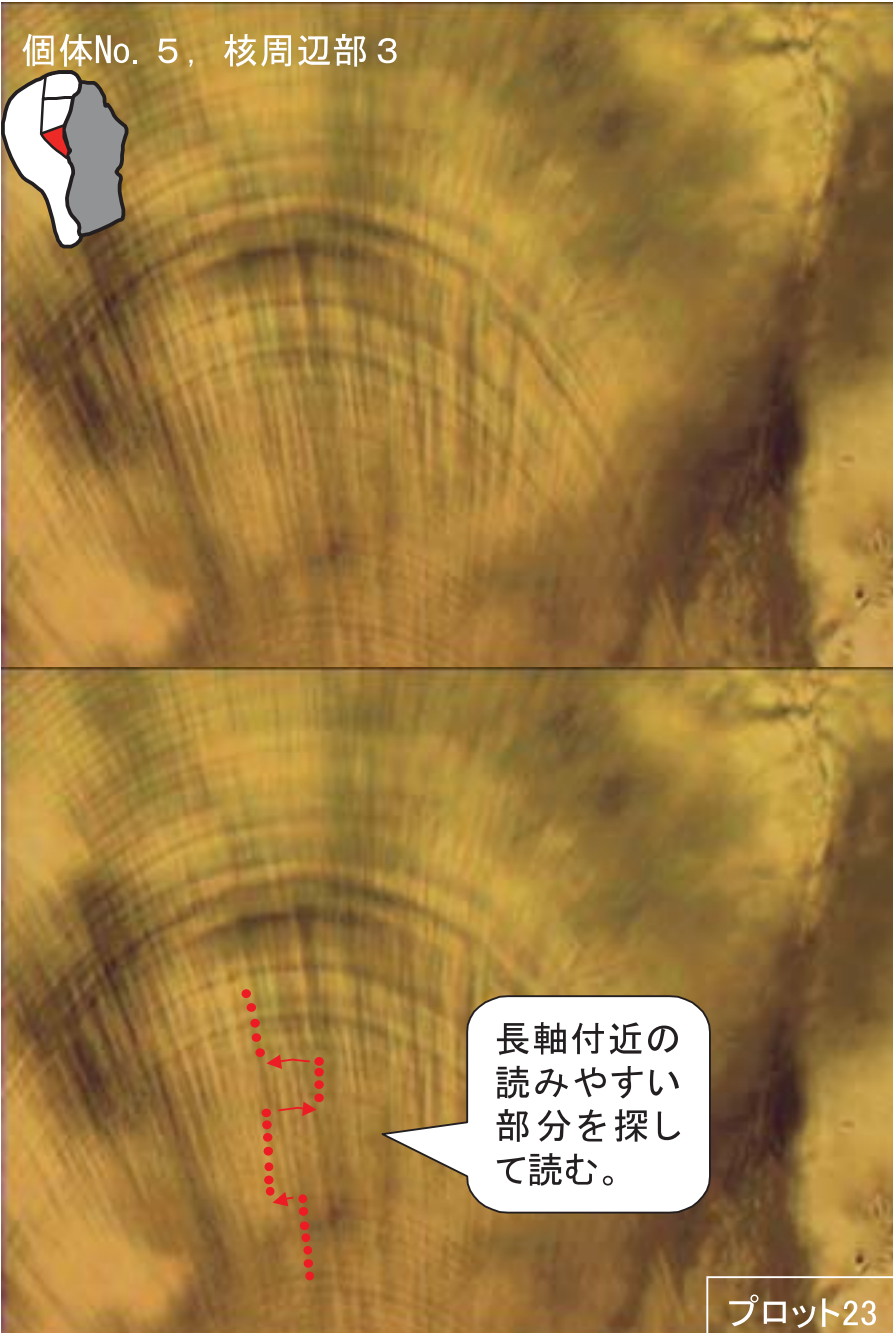
個体No. 5, 核周辺部 2



長軸付近の鮮明な輪紋を読む。

プロット24

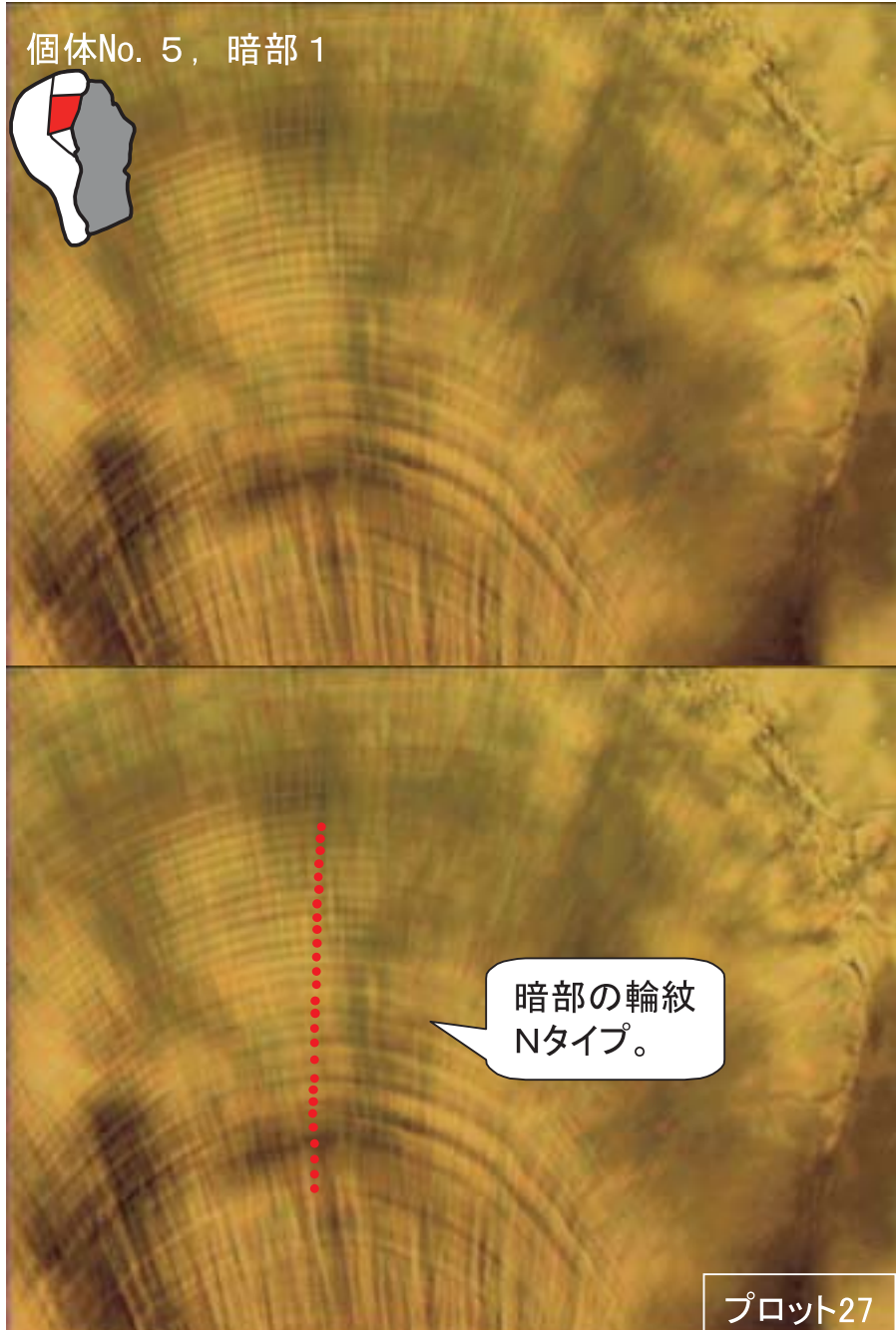
個体No. 5, 核周辺部 3



長軸付近の読みやすい部分を探して読む。

プロット23

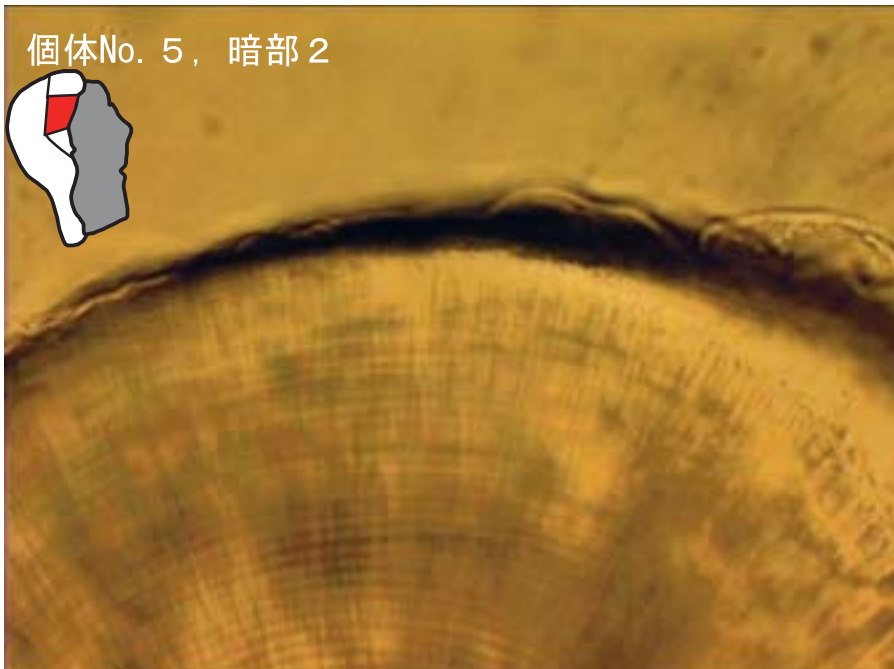
個体No. 5, 暗部 1



暗部の輪紋 Nタイプ。

プロット27

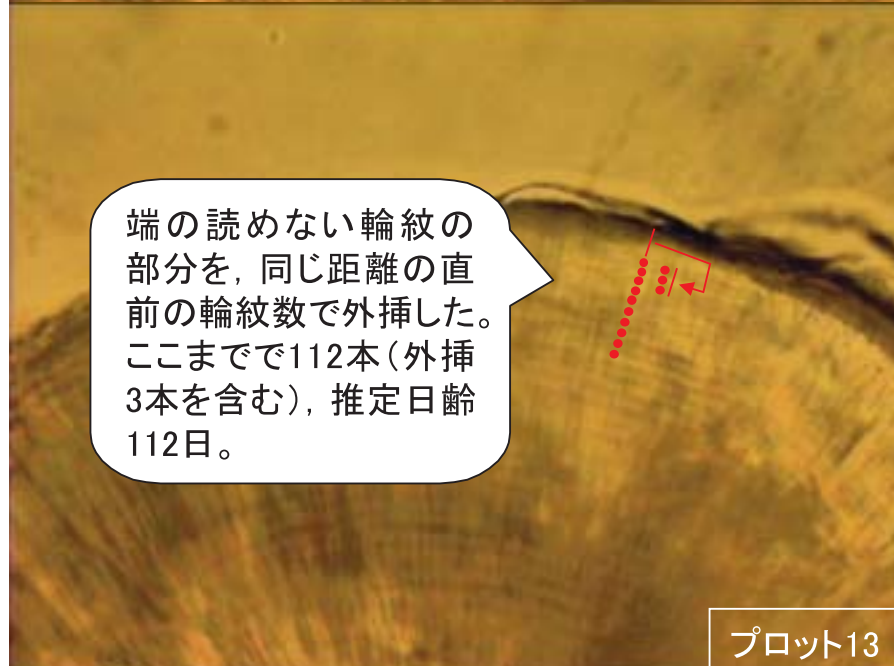
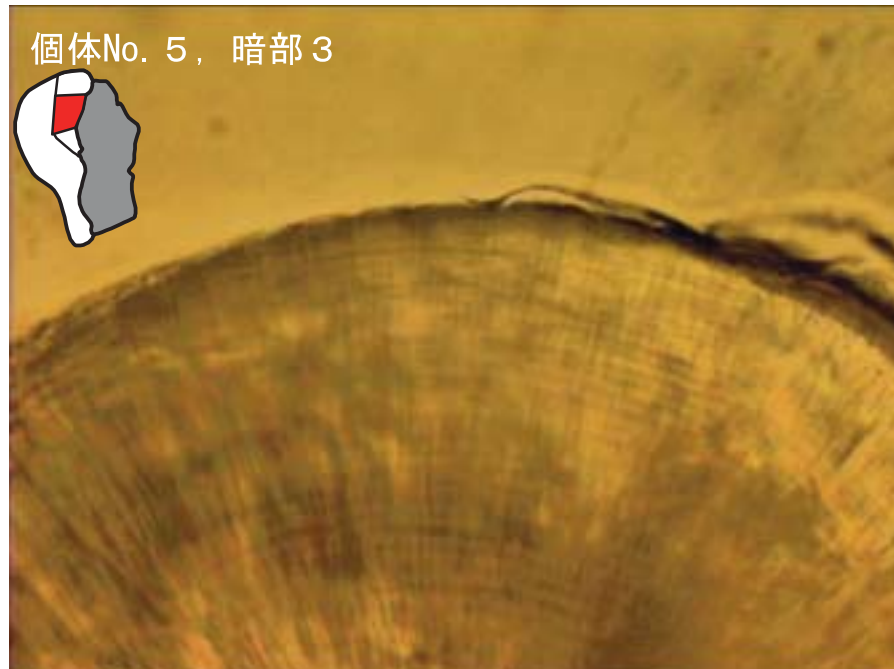
個体No. 5, 暗部 2



まだ暗部の途中
までしか、平衡
石が成長してい
ない。

プロット18

個体No. 5, 暗部 3



端の読めない輪紋の
部分を、同じ距離の直
前の輪紋数で外挿した。
ここまでで112本(外挿
3本を含む)、推定日齢
112日。

プロット13

7 その他

7-1 カバーガラスについて

カバーガラスを使用すると対物レンズがカバーガラスの厚みよりも平衡石に近づけないため、縁辺部でピントを合わせられない場合がある。このため、カバーガラスを使用していないが、今のところ大きな問題はない。

7-2 油浸オイルについて

顕微鏡の対物レンズに用いる油浸オイルは魚類の耳石を侵食することが報告されている。しかし、今のところスルメイカの平衡石では長期保存(少なくとも1, 2年間)においても侵食は顕著でない。

7-3 接着剤について

本マニュアルで紹介した接着剤のアロンアルファは速く固まり、エポキシ樹脂のように2液を混合する必要もなく、扱いが簡単で効率的である。ただし、およそ1ヶ月以上の長期間、接着したまま保存すると、スライドガラスからはがれやすくなる。その場合、解析のためには再度アロンアルファを滴下する必要がある。

作業効率よりも長期保存を優先する場合には、魚類

の耳石の解析など一般に広く用いられているエポキシ樹脂が適切である。

エポキシ樹脂を用いて平衡石をスライドガラスに接着する手順は、アロンアルファを使用する場合と異なるので、中村(2000)や栗田・根本(2000)のマニュアルを参照されたい。

7-4 両面研磨について

本マニュアルで示した後部面のみを研磨する方法のほかに、前後部両面を研磨する方法もある。片面研磨だけでは輪紋が不鮮明な場合、研磨していない輪紋の前部方向にピントをずらしていくと、不連続な結晶や濁った結晶の塊などが観察できることがある。この場合、前部面も研磨して輪紋観察を妨げている部位を削り落とすことで輪紋が鮮明になる可能性が高い。しかし、もともと輪紋のコントラストが弱い場合は、前部面も研磨しても鮮明度に大きな改善はみられない。

8 おわりに

本マニュアルには、これまでに著者が行ってきた平衡石日周輪解析の経験や、複数の輪紋計数者として行ってきた計数値の比較検討などから得られた輪紋計数方法の基本的なものを示した。今後、本マニュアルをたたき台として、多くの計数者の意見や長期飼育個体の計数例などを参考に、より良い計数方法に改良していくことが重要と考える。

なお、より鮮明な画像を提供するために本マニュアルの電子ファイル版も作成している。

これまでに平衡石輪紋の読み合わせにご協力頂いた、水産総合研究センター日本海区水産研究所の木所英昭氏、同じく中央水産研究所の高木香織博士、北海道立中央水産試験場の佐藤充氏に感謝する。原稿を校閲して頂いた、釧路水産試験場資源管理部長、鳥澤雅博士に御礼申し上げます。

9 参考文献

- Clarke, M. R. (1978) : The cephalopod statolith – an introduction to its form. *J. Mar. Biol. Assoc. U. K.*, 58, 701-712.
- Jereb, P., Ragonese S. and von Boletzky S. ed. (1991): Squid age determination using statoliths, special publication No.1. N.T.R.-I.T.P.P., Sicily, 127pp.
- Nakamura, Y. and Sakurai, Y. (1991) : Validation of daily growth increments in statoliths of Japanese common squid *Todarodes pacificus*. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 57 (11), 2007-2011.
- Jackson, G. D. (1994): Application and future potential of statolith increment analysis in squids and sepioids. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 15, 2612-2625.
- 中村好和 (1995) : スルメイカ人工ふ化稚仔の平衡石, 北水研ニュース. 49, 36.
- Yatsu, A., Midorikawa, S., Shimada, T. and Uozumi, Y. (1997) : Age and growth of the neon flying squid, *Ommastrephes bartrami*, in the North Pacific Ocean. *Fisheries Research*, 29, 257-270.
- Arkhipkin, A. (1997): Age, growth, stock structure and migratory rate of pre-spawning short-finned squid *Illex argentinus* based on statolith ageing investigations. *Fisheries Research*, 16, 313-338.

Ikeda, Y., Arai, N., Sakamoto, W. and Murayama, T. (1999) : Occurrence of an unusual accessory growth center on the statolith of the Japanese common squid *Todarodes pacificus* (Cephalopoda: Ommastrephidae). *Fisheries Science*, 65 (1), 159-160.

桜井泰憲, Bower, J. R., 渡辺久美 (1999) : スルメイカ類の人工授精方法. 水成無脊椎動物の最新学, 奥谷喬司・太田秀・上島励 編. 東海大学出版会. 193-194.

Gonzalez, A. F., Dawe, E. G., Beck, P. C. and Perez, J. A. (2000) : Bias associated with statolith-based methodologies for ageing squid; a comparative study on *Illex illecebrosus* (Cephalopoda: Ommastrephidae). *Fisheries Research*, 29, 257-270.

中村好和 (2000) : 平衡石によるいか類の日齢査定方法. いか類、小型浮魚類日齢査定マニュアル. 中央水産研究所. 1-17.

栗田豊, 根本豊 (2000) : 小型浮魚類の日齢査定. いか類、小型浮魚類日齢査定マニュアル. 中央水産研究所. 18-31.

根本豊, 栗田豊, 大関芳沖, 本間隆之, 林崎健一, 井田齊 (2001) : サンマ耳石微細輪紋の形成様式. 東北水研報. 64, 69-78.

高木香織, 北原武 (2002) : スルメイカ *Todarodes pacificus* の平衡石における研磨度合による日齢査定のバイアス. *Nippon Suisan Gakkaishi*. 68 (3), 351-355.

Natsukari, Y.: Manual for Grinding Squid's Statolith and Reading Growth Increments. <http://www.fish.nagasaki-u.ac.jp/fish/kyoukan/natsukari/manual-e.htm>. アクセス日時: 2004.12.15 09:00

指示的抄録

スルメイカの平衡石の採取および輪紋計数マニュアル
坂口健司

スルメイカの平衡石を用いて日齢を推定する方法を示した。特に、実際に解析で計数する輪紋を具体的に図示して解説した。

キーワード: スルメイカ, 平衡石, 輪紋, 日齢

スルメイカの平衡石の採取および輪紋計数マニュアル

発行：2005年3月

執筆：北海道立釧路水産試験場 資源管理部 資源予測科

坂口健司

Email：sakaguchik@fishexp.pref.hokkaido.jp

発行所：北海道立釧路水産試験場

〒085-0024 北海道釧路市浜町2-6

電話 (0154) 23-6221 (代)

FAX (0154) 23-6225