

マツカワ礫石の年齢形質としての有効性

吉村圭三^{*1}, 山口浩志¹, 板谷和彦²

¹北海道立総合研究機構中央水産試験場, ²北海道立総合研究機構函館水産試験場

Validation of annual rings on the lapilli of barfin flounder *Verasper moseri*

KEIZO YOSHIMURA^{*1}, HIROSHI YAMAGUCHI¹ and KAZUHIKO ITAYA²

¹ Central Fisheries Research Institute, Hokkaido Research Organization, *Yoichi, Hokkaido 046-8555*,

² Hakodate Fisheries Research Institute, Hokkaido Research Organization, *Hakodate, Hokkaido 040-0051, Japan*

The annual ring structure on the lapillar otolith of the barfin flounder (*Verasper moseri*) was validated, using juveniles and adults from the Pacific coast of Hokkaido. Microscopy of the left lapilli embedded in resin, revealed thin and clear growth lines resembling the outline of the otolith. The formation cycle of these growth lines was observed in 1–2-year-old fish, suggesting annual formation from May to June. The age-determination accuracy based on the lapilli was compared to two standard methods based on the sagittal otoliths using fishery-caught adults. In 2–10-year-old fish, ages estimated from sectioned sagittae closely coincided with the number of growth lines on the lapilli. However, among \geq four-year-old fish, the number of growth lines on the lapilli did not match the age estimated based on the surface of sagittae in more than half of the assessed fish. These disagreements were probably caused by the difficulty in observing the surface of sagittae in older fish, as reported in other species. These results indicate that the growth lines on lapilli can be used for age determination of barfin flounder and are, comparable to the annuli on transverse-sectioned sagittae.

キーワード：年輪, 年齢査定, 扁平石, マツカワ, 礫石

マツカワ *Verasper moselli* は北海道の重要な栽培漁業対象種である。2006年に開始された年間100万尾規模の人工種苗放流事業により全道の漁獲量は大幅に増加し、2018年には過去最高の196トンに達するなど大きな放流効果が得られている(萱場, 2013; 吉村, 2020)。水産試験場では北海道周辺海域で漁獲されたマツカワについて、市場調査および漁獲物標本採集を実施し、データを収集している。それらのデータを用いて、資源量や放流効果を推定し、結果を公表している(吉村, 2020)。これらの解析の根幹となるのは、漁獲された個体の放流年や年齢・成長関係など、年齢に基づく情報である。従って、解析の精度を担保するためには、正確な年齢査定技術を用いることが極めて重要である。

マツカワでは、扁平石(sagitta)の不透明帯を表面観察により計数する年齢査定技術(以下扁平石表面観察法)が用いられており、これによれば3歳まで高い精度で年齢

査定を行うことが可能である(高谷ら, 2004)。しかし、近年は4歳以上の個体が増加しているため(吉村, 2020)、扁平石表面観察法だけで正確な年齢データを得ることが困難になってきている。

そこで筆者らはマツカワの礫石(lapillus)に観察される明瞭な成長線構造に着目し、年齢形質としての有効性について明らかにするため、その形成周期を調べるとともに、既存の扁平石表面観察法との比較に加えて、特に高齢魚に対する年齢査定の精度が高いとされる扁平石横断薄片法(星野ら, 2012; 星野, 2015; 高嶋ら, 2013)を加えた比較検討を行った。

試料及び方法

2016年4~7月に北海道浜中町霧多布地先(Fig. 1)の水深0~1 mにおいて小型地曳網(長さ5 m, 幅5 m, 目合6

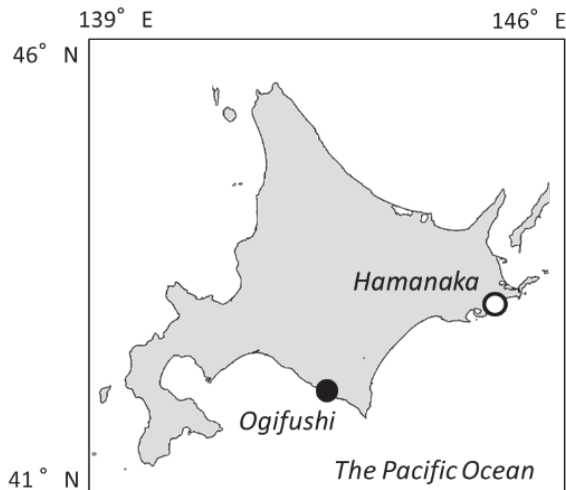


Fig.1 Specimen-collection site in Hokkaido, Japan: Hamanaka (open circle) and Ogifushi (black circle)

mm) により採集されたマツカワ未成魚計39尾 (Table 1) および2018年12月に北海道様似町荻伏沖 (Fig.1) で刺網漁業により漁獲された全長370~618 mmのマツカワ計23尾 (Table 1) を用いた。これらの左の礫石 (以下礫石) および左の扁平石 (以下扁平石) を, 実体顕微鏡 (Olympus SZX10) の検鏡下で採取した。採取された礫石は90%エタノール中で, 扁平石は乾燥状態で保存した後, 以下の処理を行った。なお, 扁平石横断薄片標本の作成は様似町荻伏の漁獲物標本についてのみ行った。

礫石成長線数 保存された礫石を熱可塑性樹脂 (AREMCO Crystalbond™509) を用いて以下の手順により包埋した。まずアルコールランプで数秒間熱した樹脂をスライドガラスに1~2滴滴下し, 常温で硬化させた。硬化した樹脂の上に礫石を載せ, スライドガラスごと200℃のホットプレートに約30秒置き, 軟化した樹脂内に礫石を沈

Table 1 Collection date and area, number of specimens, total length range and age range of barfin flounder, *Verasper moseri*, assessed in this study

Collection date	Collection area	Number of specimens	Total length range (mm)	Age range
21 Apr. -26 Jul. 2016	Hamanaka	39	99 - 275	1 and 2
2-23 Dec. 2018	Ogifushi	23	370 - 618	2 to 10

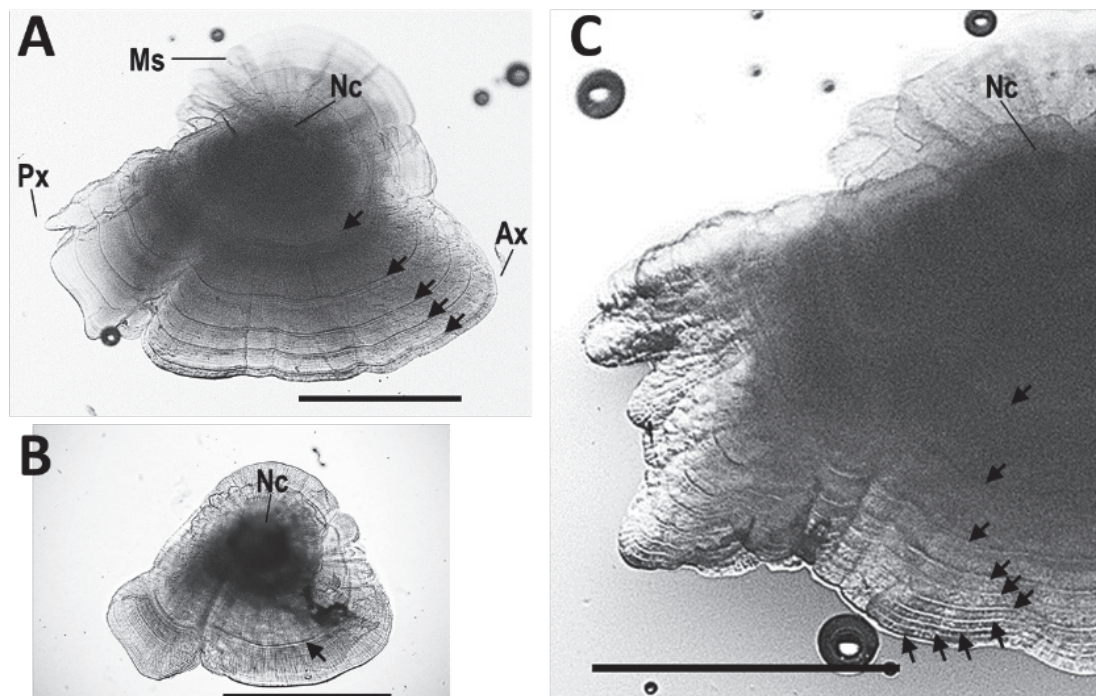


Fig.2 Dorsal view of the left lapillus of barfin flounder, mounted in thermoplastic resin (anterior surface is on the right). A: Lapillus of a female collected from Ogifushi, total length 607 mm, five-year-old, with five growth lines. B: Lapillus of a juvenile from Hamanaka, 231 mm, two-year-old, with a single growth line. C: Lapillus of a male from Ogifushi, 546 mm, nine-year-old, with ten growth lines. Ages (birth date = 1 April) were estimated using the sectioned sagittae (A,C) or by surface observation of the sagittae (B). Ax: anterior extreme. Px: posterior extreme. Ms: marginal swelling. Nc: nucleus. Arrows indicate the growth lines. Scale bar = 500 μ m.

下させた後、常温で再び硬化させた。さらにアルコールランプでスライドガラスの裏側から数秒間熱して樹脂を再び軟化させ、熱した柄付針で礫石の包埋位置を調整した。位置の調整は実体顕微鏡 (Olympus SZX10) 下で透過照明により行い、礫石の背側を表、前方を右向きとした。

礫石の観察、成長線の計数および写真撮影は実体顕微鏡 (Nikon SMZ1270) の40倍または正立顕微鏡 (Nikon ECLIPSE 80i) の100倍で、透過照明または偏斜照明により行い、各部の計測は撮影した写真上で行った。礫石各部の名称はAssis (2005) に従った。

扁平石表面観察法 保存された扁平石を90%エタノールに浸した状態で黒色アクリル板に体外側を表として置き、実体顕微鏡 (Nikon SMZ1270) の5~10倍で落射照明により観察および写真撮影を行った。年齢査定は高谷ら (2004) に準じて次のとおり行った。4月1日を加齢基準日とし、観察された不透明帯数 (縁辺部に形成中のものを含まない) に基づき、浜中町霧多布の未成魚標本 (4~7月) では不透明帯数+1、様似町荻伏の漁獲物標本 (12月) では不透明帯数を満年齢とした。

扁平石横断薄片法 扁平石表面観察法で処理後の扁平石をアクリル樹脂 (Kulzer Technovit 4004) に包埋し、切断機 (マルトー MC-201N) を用いて核部分を含み体軸に直交する厚さ約1 mmの横断薄片を包埋樹脂ごと切り出した。切り出した横断薄片を熱可塑性樹脂 (AREMCO CrystalbondTM509) によりスライドガラスに貼付し、さらに回転研磨機 (マルトー ML-182SL) を用いて約200 μm の厚さまで研磨した。観察および写真撮影は実体顕微鏡 (Nikon SMZ1270) の20倍で透過照明または偏斜照明により行い、各部の計測は撮影した写真上で行った。年齢査定は横断面に観察された不透明帯数に基づき、扁平石表面観察法と同様の方法により行った。

礫石成長線の形成周期および年齢形質としての有効性

礫石成長線の形成周期の解明には、浜中町霧多布で採集された未成魚標本を用いた。同標本における礫石の成長線数を年齢別および採集月別にとりまとめ、それらの推移から礫石成長線の形成周期について推察した。なお、同標本については、全長範囲 (99~275 mm : Table 1) から確実に2歳以下であると見込まれたこと、3歳以下では扁平石表面観察法でも十分な精度の年齢査定が可能である (結果参照) ことから、扁平石表面観察法による年齢を真の年齢とした。

礫石成長線の年齢形質としての有効性の検証には、様似町荻伏で漁獲された標本を用いた。同標本について、扁平石横断薄片法により得られた推定年齢を真の年齢とし、礫石成長線数および扁平石表面観察法に基づく年齢推定結果を個体別に評価した。

結果

礫石の形態的特徴 礫石の背面からみた外形は歪な三角形を呈し (Fig. 2A, B), 前端 (anterior extreme) から後端 (posterior extreme) までの長さ (以下長径) は約600~1,500 μm で、大型魚ほど大きかった。側方 (体外側) への張り出し (marginal swelling) の表面に近い内部に核 (nucleus) が観察され、核の周りに長径300 μm 程度のやや前後に長い楕円形の暗色部があった (Fig. 2A, B)。

浜中町霧多布で採集された1歳魚の一部の礫石を除き、暗色部の外側に礫石外形輪郭と相似形の細くて明瞭な成長線 (growth line) が1~10本観察された (Fig. 2A, B, C)。成長線の長径は、最も内側のものが600~750 μm , 内側から2本目が900~1,100 μm で、成長線どうしの間隔は外側に行くほど狭くなった (Fig. 2A, C)。

礫石成長線の形成周期 Fig. 3に浜中町霧多布で採取された未成魚における年齢別、月別の礫石成長線数の推移を示した。月により観察個体数が異なるが、1歳、2歳ともに4月は全個体の成長線数は年齢より1少なく、5月は多くが年齢より1少ないが一部は年齢と同数、6月および7月は全個体が年齢と同数であった (Fig. 3)。

礫石成長線の年齢形質としての有効性 様似町荻伏の漁獲物標本は扁平石横断薄片法により満2~10歳と年齢査定された (Table 1, Fig. 4A)。同標本の礫石における成長線数は2~10本で (Fig. 2A, C), 個体別にみると1個体 (9歳に対し8本) を除きすべて扁平石横断薄片法による年齢と一致した (Fig. 5上)。これに対し、扁平石表面観察法による推定年齢は2~7歳で (Fig. 4B), 扁平石横断薄片法

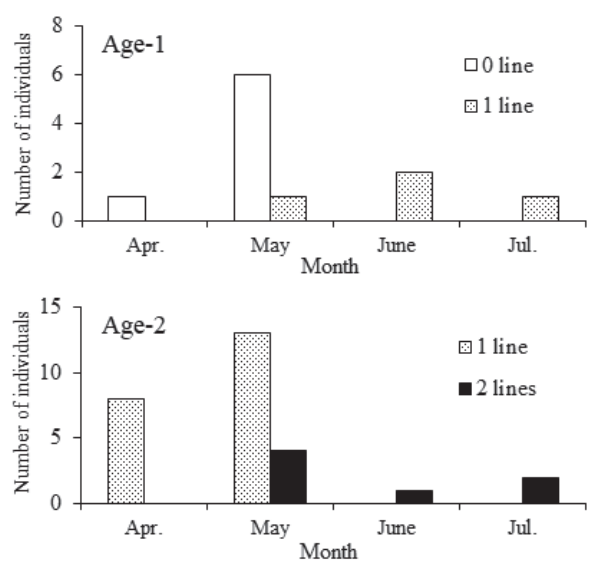


Fig. 3 Monthly records of the number of growth lines on the lapilli of one- (top) and two-year-old (bottom) barfin flounder juveniles collected from Hamanaka.

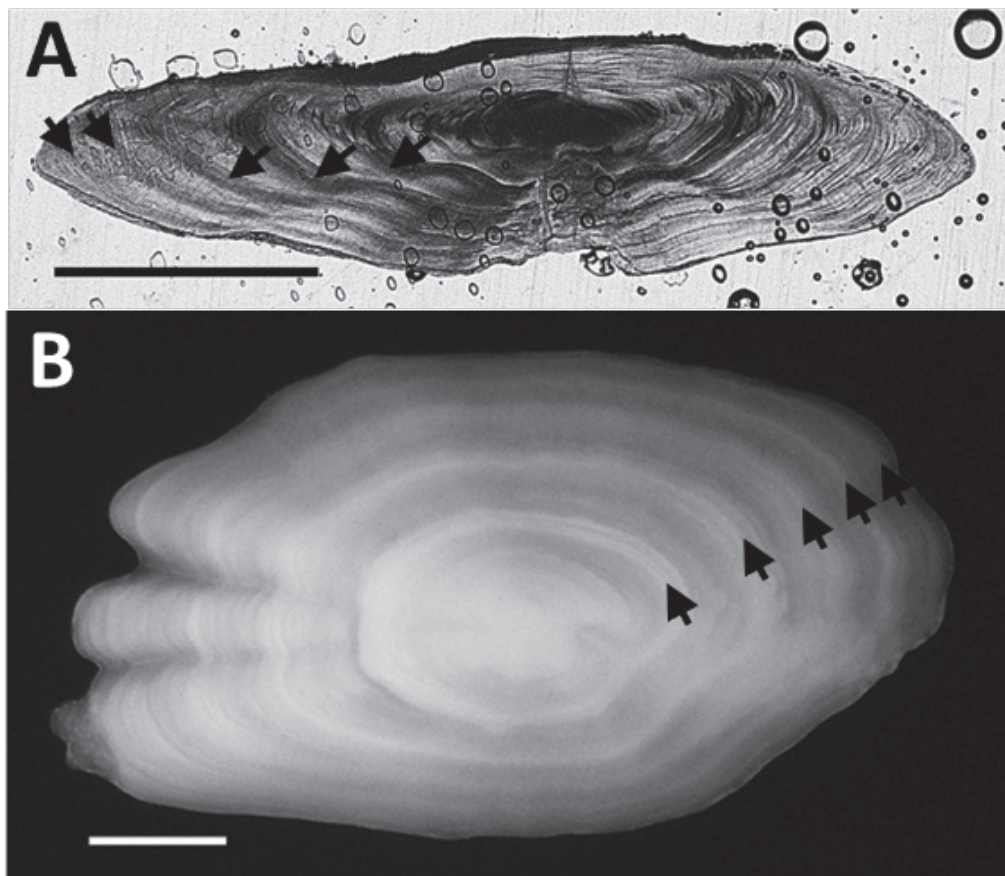


Fig. 4 Left sagittal otolith of the barfin flounder individual, represented in Fig.2A. A: Transverse section with five annual rings (dorsal surface is on the right). B: Lateral surface view submerged in 90% ethanol (ventral surface is on the right). Arrows indicate the annual rings. Scale bars = 1 mm

によるそれらに対し, 2歳および3歳の計10個体ではすべて一致したが, 4歳以上の計13個体では半数以上となる8個体で一致しなかった (Fig.5下)。

考 察

浜中町霧多布で採取された未成魚の礫石に観察された成長線が1歳および2歳ともに, 5月を境に年齢-1本から年齢と同数に増加したことから, これらの成長線は年に1回, 5~6月に形成される年輪と考えられる。従って, 礫石の成長線は有効な年齢形質であると考えられる。さらに, 様似町荻伏で漁獲された2~10歳魚において礫石の成長線数が扁平石横断薄片法による年齢とほぼ一致したことから, 礫石を用いることにより高齢魚においても正確な年齢査定が可能と考えられる。礫石の年輪形成時期は扁平石のそれ (不透明帯, 6~7月) に近いことから (高谷ら, 2004), 礫石による年齢査定手順は扁平石によるものと同様である。すなわち, 4月1日を加齢基準日とすると4~6月は縁辺に形成中のものを含めない成長線数+1が, 7~12月および1~3月は成長線数が満年齢を表す

ことになる。

扁平石表面観察法では4歳以上の半分以上の個体で扁平石横断薄片法と推定年齢が一致せず, 先行研究において本法は高齢魚で誤差が大きくなるとの指摘どおりとなった (星野ら, 2012; 高谷ら, 2004)。扁平石横断薄片を観察すると, 内側の2~4本程度 (個体により異なる) の年輪 (不透明帯) は最大幅100 μm 以上と太いが, それらより外側の年輪ほど細くなり, 年輪どうしの間隔も狭くなる (Fig.4A, B)。また, 内側の太い年輪は, 一部だけが分岐した偽輪状の構造を伴うことがある。これらの年輪構造の特性により, 扁平石表面観察法による年輪計数は, 内側で重複が, 外側で見落としが起りやすく, 特に高齢魚では正確な計数が困難になると推察された。従って, 扁平石表面観察法による年齢査定結果には一定の誤差が含まれることを想定する必要がある。これに対し, 扁平石横断薄片法では高齢個体でも正確な年輪の計数が可能であり, 偽輪の判別も容易であることから正確な年齢査定が可能と考えられる。しかし, 同方法は樹脂包埋, 切断, 研磨等, 標本作成に多くの工程があり, 耳石の採取から年齢査定までに少なくとも数日かかることが不利

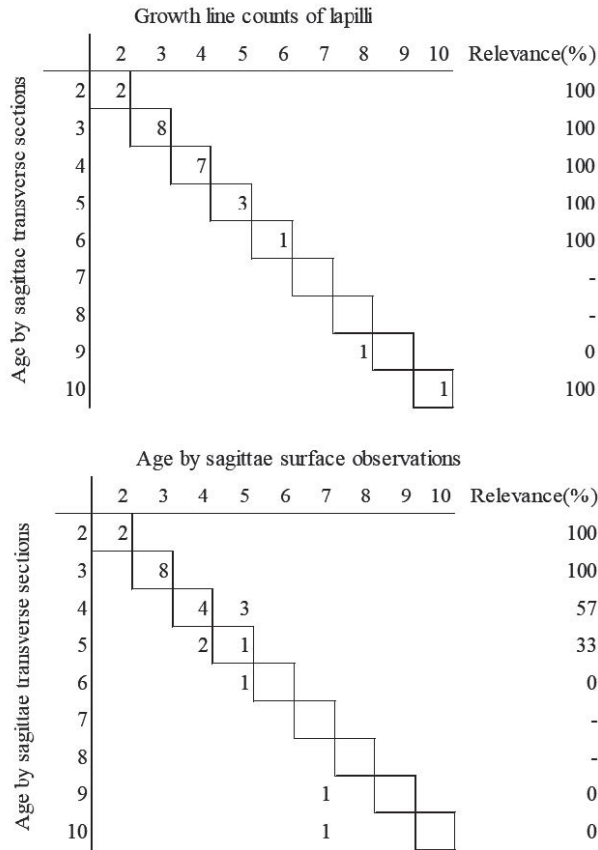


Fig. 5 Comparison of the growth line counts on the lapilli with age determined by the sagittae transverse sections of the adult barfin flounder collected from Ogifushi (top), Comparison of the “annual ring” counts from the sagittae surface with the age (bottom). Numbers indicate the individuals.

な点である。

礫石は成魚でも長径1.5 mm程度と小さいため、採取や標本処理は実体顕微鏡下で行う必要があり、耳石を採取するまでの作業性では扁平石に比べて不利な面がある。しかし、採取後は複雑な処理を必要とせず、樹脂に包埋し、透過光観察の障害となる表面の微細な凹凸の影響を軽減するだけで、詳細な構造を観察することができる。また、すべての年輪が明瞭な線状であるため、計数が容易である。これらが扁平石横断薄片法に比べて有利な点である。

礫石はこれまで様々な魚種の仔稚魚期における日周輪解析に用いられ（例えばPeters and Schmidt, 1997; Fey et al., 2018）、マツカワでも礫石に日周輪が形成されることが明らかにされている（城ら, 2020）。しかし、礫石を成魚の年齢査定に用いた例は少なく、扁平石の形状が特殊なため年齢査定に適さないコイ科魚類（飯塚・片山, 2008）において、わずかにみられる程度である（Li et al., 2009; Lackmann et al., 2019）。本研究でマツカワの礫石に年輪

構造が見出されたことにより、礫石は仔稚魚の孵化日や初期成長だけではなく、稚魚期以降の生活履歴の解析においても重要な基盤となることが示唆された。礫石の明瞭な線状の年輪構造は扁平石の帯状のそれらと異質であり、その形成機構については今後明らかにする必要がある。一方、その特性を利用し、これまで扁平石の年輪構造が不鮮明である等の理由により年齢査定が困難であった他魚種について、礫石の解析により年齢査定が可能となり、年齢成長に関する新たな知見が得られる可能性がある。

謝 辞

マツカワ未成魚の採集調査において多大なご協力をいただいた浜中漁業協同組合の中山慶則氏、北海道釧路地区水産技術普及指導所の諸氏、国立研究開発法人水産研究・教育機構北海道区水産研究所の中川亨氏に深謝する。また、漁獲物標本の確保と測定に多大なご協力をいただいた北海道日高地区水産技術普及指導所の諸氏に深謝する。

引用文献

Assis C A. The utricular otoliths, lapilli, of teleosts: their morphology and relevance for species identification and systematics studies. *Scientia Marina*. 2005;69:259-273.

Fey D P, Lejk A M, Greszkiewicz M. Daily deposition of growth increments in sagittae and lapilli of laboratory-reared larval northern pike (*Esox lucius*). *Fish. Bull.* 2018; 116: 302-309.

星野 昇, 山口浩志, 三原行雄, 丸山秀佳. 北海道日本海産アカガレイ, ヒレグロ, ウロコメガレイの年齢決定に関する耳石の表面観察法と薄片観察法の比較. 北水試研報 2012; 82: 1-7.

星野 昇. 耳石横断薄片法を用いた石狩湾産ヒラメの年齢査定. 北水試研報 2015; 88: 9-15.

城 幹昌, 松田泰平, 吉村圭三. マツカワ *Verasper moseri* 仔稚魚の耳石日周輪形成の確認および輪紋形成開始と水温の関係. 水産海洋研究 2020; 84(1): 27-35.

萱場隆昭. 北海道におけるマツカワの栽培漁業. 「沿岸魚介類資源の増殖とリスク管理- 遺伝的多様性の確保と放流効果のモニタリング- (有瀧真人編)」恒星社厚生閣, 東京. 2013: 9-21.

Lackmann A R, Andrews A H, Butler M G, Bielak-Lackmann E S, Clark M E. Bigmouth Buffalo *Ictiobus cyprinellus* sets freshwater teleost record as improved age analysis

- reveals centenarian longevity. *Commun. Biol.* 2019 ; 2 : 197.
- Li X, Chen Y, He D, Chen F. Otolith characteristics and age determination of an endemic *Ptychobarbus dipogon* (Regan, 1905) (Cyprinidae: Schizothoracinae) in the Yarlung Tsangpo River, Tibet. *Environ. Biol. Fish.* 2009; 86 : 53-61.
- Peters J S, Schmidt D J. Daily age and growth of larval and early juvenile Spanish mackerel, *Scomberomorus maculatus*, from the South Atlantic Bight. *Fish. Bull.* 1997 ; 530-539.
- 高嶋孝寛, 星野 昇, 板谷和彦, 前田圭司, 宮下和土. 耳石断面観察によるホッケ道北群の年齢査定法と年齢-サイズ関係. 日本水産学会誌 2013 ; 79(3) : 383-393.
- 高谷義幸, 松田泰平, 吉田秀嗣. マツカワ若齢魚の耳石輪紋の年齢形質としての有効性(短報). 北水試研報 2004 ; 66 : 11-13.
- 吉村圭三. 人工種苗放流により再構築されたマツカワ資源の現在. 北水試だより. 2020 ; 101 : 11-13.