

耳石を用いた魚類の年齢査定

小海 茉梨絵・安達 都

1. はじめに

魚類の年齢査定は、体長組成から求める方法が簡便であるが、この方法はあくまでも推定であるため、より正確な年齢査定を行う場合には、鱗や耳石、脊椎骨などのリン酸カルシウムや炭酸カルシウムの結晶を含む硬組織が用いられる。特に耳石には日周輪や年輪が形成されることから、重要な年齢査定の形質として魚類の生活史研究に重用されている(新井, 2002)。

今回、社内研修の一環として耳石を用いた魚類の年齢査定を行う機会を得た。耳石を用いた年齢査定は学生時代に実験したことがあったが、先生から指示された通りにただ作業していたにすぎず、あまり記憶に残っていない。また、耳石に関する基本的な知識も乏しく、耳石とは何か?というところから始まった。本稿では、既往の文献を整理して得た耳石に関する情報と、実際に行った耳石を用いた年齢(日齢)査定の手法の検討結果について報告する。

2. 耳石

2. 1 耳石とは?(新井, 2007a; 増田, 2007; 渡邊, 2003)

耳石は炭酸カルシウムの結晶からなる硬組織で、機能としては平衡感覚と聴覚に関与する。耳石は動物の基本的機能である重力の受容にかかわる器官であるので、硬組織のなかでもその個体発生において最も初期に形成される。魚類の耳石は内耳にあり、内耳の小囊、壺囊、通囊内にそれぞれ扁平石(sagitta)、星状石(asteriscus)、礫石(lapillus)と呼ばれる3つの石からなる。耳石は種特有の大きさや形

態をもつため、耳石形状からも種の同定を行うことができる。コイ科などの骨鰾魚を除き、多くの魚類では扁平石が最も大きいことから、年齢査定にはこの耳石が用いられることが多い。

魚類の年齢査定は主に鱗の表面の輪紋を用いて査定されてきた。しかし、鱗は魚類が高齢になると成長が止まってしまうため、鱗による年齢査定は耳石や骨などによる査定に比べて過少に推定されていることが多く、特に体成長速度が低下する高齢魚において過少推定が著しいことが示されている。一方、耳石は魚類が高齢になっても成長が止まることがないため、年をとるにつれて、「頭部から尾部方向(長軸方向)」および「背部から腹部方面(短軸方向)」には成長しなくなるが、「体の中心方向(体内方向)」には成長し続けるため、耳石の横断薄層切片を作成して輪紋を読み取れば、魚類の年齢を正確に推定できることがわかってきた。

2. 2 日周輪(新井, 2007a; 渡邊, 2003)

魚類の耳石の輪紋は、幅の広い明るい層と幅の狭い暗い層が交互に配列されている。明るい層は炭酸カルシウムの結晶がよく発達し、成長層と呼ばれる。一方、暗い層は不連続層と呼ばれ、有機基質が多く含まれる。この1対の成長層と不連続層は1日周期で形成され、不連続層を日周輪、日周輪と日周輪の間隔を輪紋間隔と呼ぶ。現在までに耳石が日周輪であることが証明されている魚種は100種以上にのぼる。耳石の輪紋による日齢査定を行う場合には、対象となる魚種の耳石が日周輪であるかどうかを必ず確認しなければならない。

同時に、耳石の最も内側の第1輪が形成される時期を明らかにすることも重要である。魚種によって第1輪が形成される時期はさまざまであり、耳石の輪紋による日齢査定を行う場合には、輪紋形成期の確認が必須である。耳石の第1輪が形成される時期は孵化や摂餌開始期と一致する魚種が多い。

耳石の日周輪が確認され、個体の日齢がわかると、採集日から逆算してその個体の孵化日も明らかになる。例えば、東京大学海洋研究所の塚本勝巳教授らのグループによって、ウナギ(*Anguilla japonica*)の産卵場がマリアナ諸島西方海域にあることが発見されたが、これは産卵場付近で採集された仔魚の耳石解析によって得られた日周輪と、採集地点の海流の流速および卵期間から逆算することによって産卵場が特定された。

2.3 年輪(新井, 2007a; 渡邊, 2003)

耳石による年齢査定に利用されている年輪は、日周輪と同様に透明帯と不透明帯からなる。一般に耳石の年輪は成長の早い時期(水温の高い時期=夏期)に不透明帯が、成長の遅い時期(水温の低い時期=冬期)に透明帯が形成される。1年のうちのある季節には急速な成長が起こり、他の季節には成長が停滞するような種では、透明帯と不透明帯の1対が1年の時間と対応するので、年齢査定に用いられている。しかし、これらの形成期については必ずしも一定した結果が得られておらず、耳石の年輪についても形成時期や形成周期の検証が不可欠である。

2.4 標識としての役割(新井, 2002, 2007a, 2007b; 塚本, 2001; Tsukamoto, 1985, 1988)

耳石は年齢査定形質として有用であるばかりでなく、標識としても用いることができる。標識放流は、魚類の回遊履歴を解析する手法では最も古く、タグピン、迷子札、カフスなどの標識票を魚体に装着したり、鰭切断などの標識により魚自体に目印をつけ、標識個体の再捕状況から回遊経路を推定する

ものである。しかし、卵や孵化直後の仔魚には、外部タグ、鰭切断標識のほか、ピンガー(超音波発信器)、データロガーといった装着型記録計を用いることは不可能である。これらの問題を解決するために考案されたのが、「耳石標識法」である。耳石標識法は耳石の炭酸カルシウムの結晶に、テトラサイクリン(黄色)やアリザリンコンプレクソン(赤色)などの蛍光物質が取り込まれることを利用したもので、卵や仔魚を標識液の中に数時間から1日間程度浸漬して、耳石に標識をつける手法である。耳石内部に標識された層は生涯失われることはない。この特徴を利用して、これまでにアユ、マダイ、サクラマスなどの生活史の研究に応用され、これら魚類の回遊生態や初期減耗過程が明らかにされた。また、テトラサイクリンによる標識処理は、その後の標識個体の生残や成長に影響を及ぼさないことも明らかになっている。しかし、外部から肉眼で標識の確認ができないこと、耳石の摘出作業ならびに肥厚した耳石をもつ高齢魚の標識確認作業が煩雑であることが欠点である。

このほか、耳石には発育過程の魚類の生理状態や外部環境の変化により、チェック(太い輪紋)の形成や耳石輪紋幅(輪紋間隔)に変化が生じるため、人為的に水温ショックを繰り返し与えることにより耳石にチェックをバーコード状に刻印し、これを標識として用いる耳石標識法もサケ科の回遊行動調査などで試みられている。また、環境水中の微量元素もごく微量であるが、耳石に取り込まれる。この特徴を利用して、たとえば川と海を往来する回遊魚では、淡水中にほとんど含まれないストロンチウム(Sr)が海水中に存在することから、耳石の各成長層に含まれるSrの濃度を調べ、海にどれくらい滞在して、いつ河川に遡上したかなどもわかる。

3. 耳石を用いた魚類の年齢査定

耳石を用いた年齢査定の方法として、表面法と横断面法の2通りの方法が知られている。表面法は耳石の表面を観察して輪紋数を求める方法で、輪紋を

迅速に観察できるが、高齢魚の輪紋は観察しにくくなるといわれている。一方、横断面法は取り出した耳石を、中心を含む短軸方向に正確に切断し、薄い切片として、その断面を顕微鏡で観察して輪紋数を求める方法で、手間がかかるが表面法に比べてより正確に輪紋数を観察することができるといわれている(宮崎県水産試験場, 2007)。ここでは、表面法を用いて魚類の年齢査定を試行した。

3. 1 耳石切片の作成と年齢(日齢)査定

3. 1. 1 日齢査定

耳石切片の作成と日齢査定に用いたアユ(*Plecoglossus altivelis*)の稚魚は長野県水産試験場から譲り受けたものを用いた。耳石切片の作成は東京海洋大学(当時)の平川直人氏にご教授いただいた。

3. 1. 2 年齢査定

耳石切片の作成と年齢査定に用いたシログチ(*Argyrosomus argentatus*)、マアジ(*Trachurus japonicus*)およびカタクチイワシ(*Engraulis japonica*)は市販されている食用のものを購入した。これらの魚から耳石を取り出して耳石切片を作成し、光学顕微鏡下で年齢を査定した。

3. 2 結果

3. 2. 1 アユの日齢査定

今回、試料として用いたアユの体長は3 cm、耳石長は0.8 mmであった。実体顕微鏡下で解剖針を使って摘出したが、耳石が小さすぎて取り出すのに大変苦労した。

さらに、耳石を包埋して研磨している際に、力を入れないよう注意していたのだが、耳石切片が割れてしまった(写真1)。アユは卵から孵化するときのショックで「孵化チェック」とよばれる顕著な輪紋(孵化輪)ができることが知られているが(塚本, 2001)、この耳石切片では孵化輪を確認することができず、日齢査定は不可能であった。また、耳石の表面が均一に研磨できておらず、写真で見ると輪紋が不明瞭

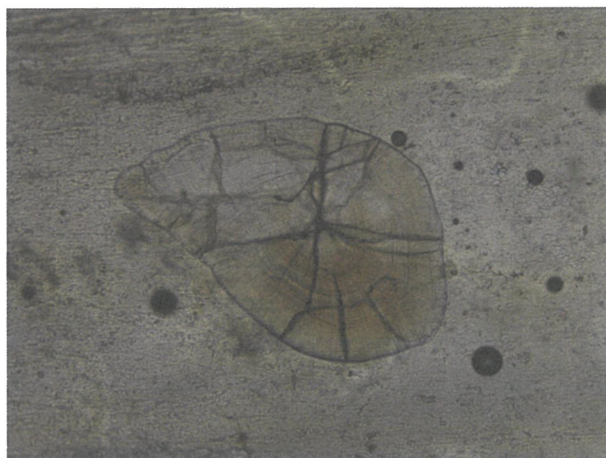


写真1 アユの耳石切片

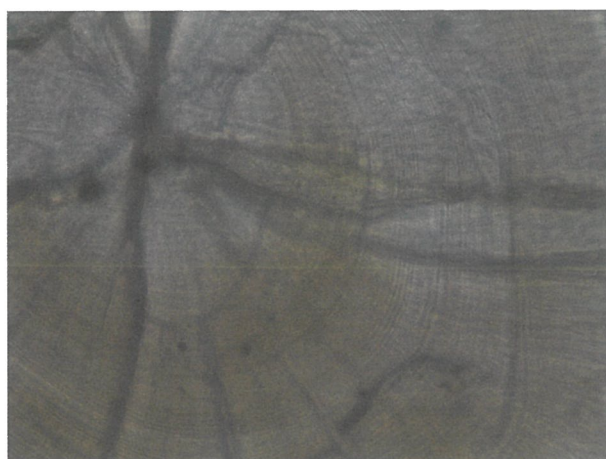


写真2 写真1を高倍率で撮影

で(写真2)、詳細な日齢の査読は不可能であった。アユは耳石の日周輪が大変明瞭で、地球上の魚のなかでおそらく最も美しい日周輪を作る魚であるといわれている(塚本, 2001)が、今回のアユ稚魚の日齢査定は失敗してしまった。

3. 2. 2 シログチの年齢査定

シログチは大きな耳石を持っていることから、通称イシモチと呼ばれている。今回、試料として用いたシログチの体長は27 cmで、その耳石長は10 mmと大きく、容易に耳石の摘出を行うことができた(写真3、4)。

しかしながら、シログチの耳石は大きすぎて研磨に大変苦労した。渡邊(2003)によると、大きな耳石の研磨は硬組織切断機などを用いるとあるが、ここ

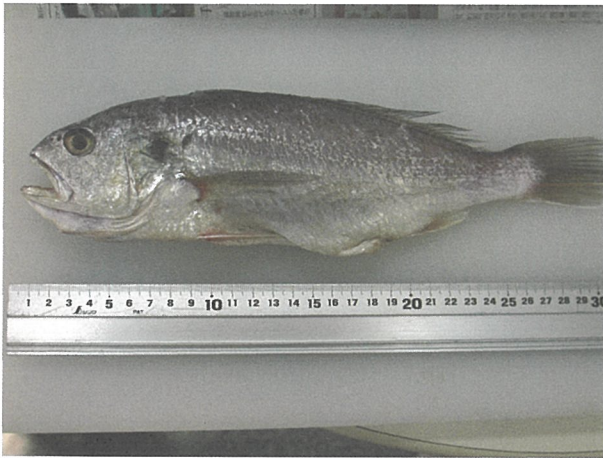


写真3 シログチ

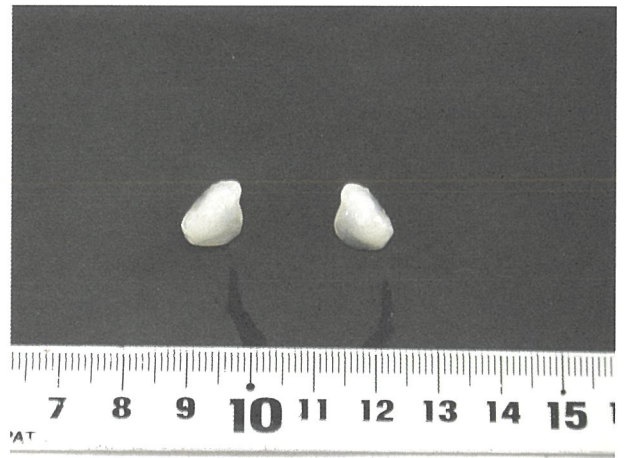


写真4 シログチから抽出した耳石



写真5 マアジ



写真6 マアジから抽出した耳石

では手作業で削っては検鏡する作業をただひたすら繰り返した。2時間以上削ってもまだ中心にたどり着かず、削り進むうちに今度は削りすぎて何も見えなくなってしまい、結果的に失敗してしまった。

3. 2. 3 マアジの年齢査定

マアジの体長は14 cmで、耳石長は5 mmであった(写真5、6)。いままでの失敗を踏まえ、より慎重に作業した結果、得られたのが写真7の耳石切片である。輪紋を確認したところ、不透明帯と透明帯が1対確認できたので、このマアジは1歳魚であると推察できた。石崎(1993)は相模湾におけるマアジの体長組成は5～16 cmが0歳魚、17～22 cmを1歳魚であると報告していることから、体長から判断して本研修で使用したマアジは1歳魚であるという今回の結果は妥当であると思われる。

3. 2. 4 カタクチイワシの年齢査定

カタクチイワシの体長は11 cmで、耳石長は2 mmであった(写真8、9)。そのカタクチイワシから得られたのが写真10の耳石切片である。輪紋を確認したところ、マアジと同様に不透明帯と透明帯が1対確認できたので、このカタクチイワシは1歳魚であると推察できた。千葉県水産総合研究センター(2006)によると、2006年2月に房総海域に来遊したカタクチイワシの体長組成と年齢組成について、体長10 cmのカタクチイワシは1歳魚が主体であったと報告していることから、この結果は妥当であると思われる。

3. 3 まとめ

今回は条件の異なる複数の魚種を用いて、表面法による耳石を用いた魚類の年齢査定を試行したが、



写真7 マアジの耳石切片



写真8 カタクチイワシ



写真9 カタクチイワシから摘出した耳石



写真10 カタクチイワシの耳石切片

容易にいかないことが多く、技術を取得するためにはかなりの経験と時間が必要であろう。

本研修で感じたことを挙げると、まず包埋において、今回は2剤混合型の樹脂を使っているためか、混ぜ合わせるときに空気が入ってしまい(写真1に見える黒い粒々)、輪紋の査読に影響が出てしまった。これは増田・野呂(2003)に従って、速乾性の透明マニキュアを用いることで解決できそうである。次に研磨において、耳石をどこまで削ればいいのか、という判断が難しかった。表面法では耳石の中心を削り飛ばさないように注意しながら研磨することが重要であるが、シログチなど耳石が大きい場合は、表面法よりも横断面法の方が作業しやすいと感じた。また、検鏡は透過光の光学顕微鏡を用いたが、年輪を観察する場合は落射光の光学顕微鏡を使い、背景を黒色にして検鏡したほうが読み取りやすい。

耳石の齢査定において大切なことは包埋と研磨であることは間違いないが、個人的には耳石の摘出作業が一番大変であったと思う。今後、業務の対象となる試料は成魚ばかりではなく、稚仔魚の日輪査定が含まれると予想されるが、渡邊(2003)によると、体長5 mm以下の仔魚から耳石を取り出す場合には、実体顕微鏡に偏光フィルターを装着して、視野内の耳石を光らせると効率がよいとの報告がある。また、前述したとおり輪紋の査定には表面法よりも横断面法の方が確実であると報告されていることから、今後は横断面法の技術の習得にも取り組みたい。横断面法による耳石を用いた魚類の年齢査定の方法については、増田・野呂(2003)に詳しく記載されている。

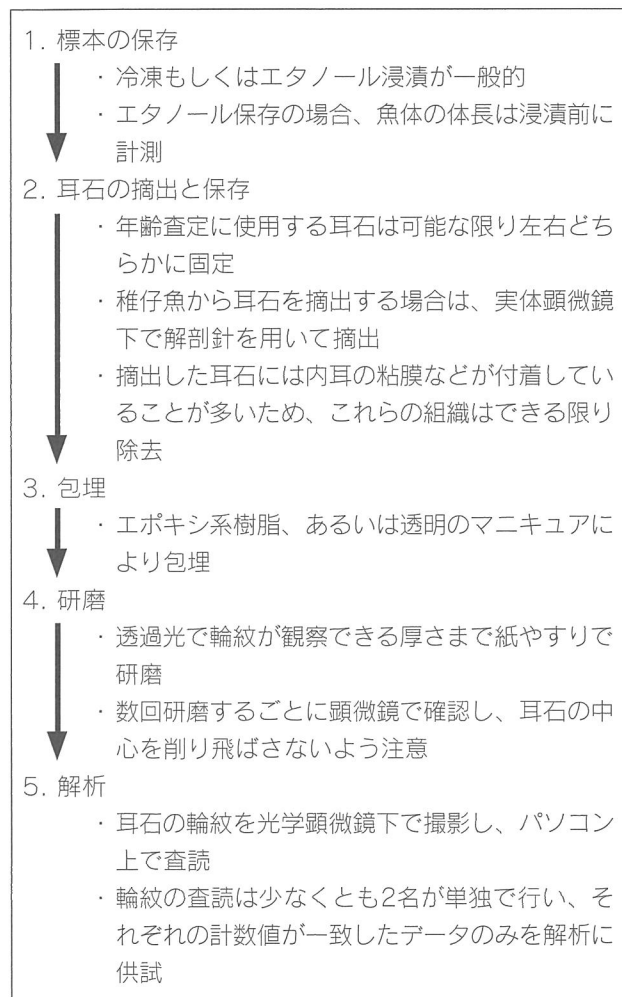


図1 表面法を用いた耳石切片の作成と年齢(日齢)査定のフロー(渡邊(2003)を一部引用)

4. 耳石切片の作成と年齢(日齢)査定のフロー

今回の研修で行った、表面法を用いた耳石切片の作成と、年齢(日齢)査定のフローを、渡邊(2003)を一部引用し、図1にまとめた。

引用文献

新井崇臣. 2002. 魚類の回遊履歴: 解析手法の現状と課題. 魚類学雑誌, 49(1). 1-23.

新井崇臣. 2007a. 耳石が語る魚類の生活史と回遊. 日本水産資源保護協会 月報, 平成 19 年 12 月号, pp. 3-8.

新井崇臣. 2007b. 耳石が解き明かす魚類の生活史と回遊. 日本水産学会誌, 73(4), 652-655.

千葉県水産総合研究センター. 2006. 冬・春季セグロ漁, 後半の見込み. 漁海況旬報ちば, No. 18-5. (<http://fish-chiba.wni.co.jp/>より引用)

石崎博美. 1993. 相模湾におけるマアジの漁獲量の変動と体長組成について. 神水試研報, 第 14 号. pp. 79-82.

増田育司. 2007. 鹿児島湾で漁獲される主要魚類の年齢, 成長および成熟. 鹿児島大学総合研究博物館. News Letter, No. 17. p. 11. (<http://www.museum.kagoshima-u.ac.jp/staff/motomura/NewsLetter17-webver.pdf>より引用)

増田育司・野呂忠秀. 2003. 耳石横断切片を用いた魚類の年齢査定の薦め. 鹿児島大学水産学部紀要, 52: pp. 51-56.

宮崎県水産試験場. 2007. カサゴの放流技術開発に係る調査方法. 水産宮崎, No. 573. (<http://www.jf-net.ne.jp/mzgyoren/magazine/200707/index.html>より引用)

塚本勝巳. 2001. アユの回遊. 千田哲資・南卓志・木下泉(編). 稚魚の自然史 千差万別の魚類学. 北海道大学図書刊行会, pp. 145-170.

Tsukamoto, K., 1985. Mass-marking of ayu egg and larvae by tetracycline-tagging of otoliths. Nippon Suisan Gakkaishi, 51: 903-911.

Tsukamoto, K., 1988. Otolith tagging of ayu embryo with fluorescent substances. Nippon Suisan Gakkaishi, 54: 1289-1295.

渡邊良朗. 2003. 第 6 編 沿岸域の魚類調査. 第 2 章 魚類の同定と生態調査法. 2-3. 生物学的諸特性(年齢, 成長, 成熟). 竹内均(監修). 地球環境調査計測辞典. 第 3 巻 沿岸域編. 株式会社フジ・テクノシステム, pp. 662-671.