

鈴木 理奈

1. はじめに

硬骨魚類の内耳には3対の耳石（礫石、扁平石、星状石）が存在している。耳石は内リンパ液に満たされた内耳迷路内に存在しており、振動や音などの物理的な刺激により内リンパ液や耳石が動き、この動きが耳石直下の有毛感覚細胞を刺激し、体の平衡や音を受容するように機能している（西村，1993）。耳石には年輪等の輪紋が形成されることから、水産資源学の分野においては、鱗、骨等と共に齢査定形質として活用されている（麦谷，1994）。

耳石による年齢査定には耳石の表面を観察する表面観察法と耳石を研磨して横断面を観察する薄片観察法の2通りの方法がある。表面観察法による年齢査定は薄片観察法に比べて、簡便な方法である。しかし、高齢魚において年齢が過小評価される例が報告されており、高齢魚の年齢査定における薄片観察法の有効性が指摘されている（関河ら，2002；金戸ら，2017）。

薄片観察法により正確な年齢組成を把握することは、国外外来魚の駆除計画策定においても有用であると考えられる。例えば、対象水域の年齢別資源尾数が分かれば、資源水準を低下させるうえで必要な駆除努力量を推定することも可能である（遠藤ら，2016）。

当社では、研磨技術を用いて耳石の薄片試料を作成する機会が少ないため、東京海洋大学の集団生物学研究室にて基本的な薄片作成の技術指導を受けた。次いで、自社方式による薄片作成用に新しい資機材を調達し、当社にて、国外外来魚であるオオクチバス *Micropterus salmonides* について耳石薄片を作成し、表面観察法と薄片観察法の比較を行った。

2. 方法

供試魚として、オオクチバス17個体を用いた（図1）。このうち15個体は、滋賀県が琵琶湖周辺に設置している外来魚回収ボックスに投入された個体を用いた。残りの2個体については、千葉県千葉市花見川において釣獲した。

供試魚の全長および標準体長（以下、体長とする）、体重を測定後、生殖腺から雌雄を判別した。その後、内耳から左右の扁平石（以下、耳石とする）を摘出した。取り出した耳石を水洗いし、付着している軟組織を全て取り除いた後に乾燥保存した。なお、破損や紛失がない限り、原則として表面観察法では右側の耳石を、薄片観察法では左側の耳石を用いて観察した。



図1 オオクチバス

2.1 表面観察法

耳石を水に浸し、実体顕微鏡を用いて透過光下で耳石の外側面を観察した。Yodo & Kimura (1996) に従って、不透明帯の最外縁を年輪として計数した。

2.2 薄片観察法

研磨し薄片とした耳石を光学顕微鏡下で観察し、年齢を査定した。研磨した耳石試料を光学顕微鏡で観察すると、核を含む中心部の不透明帯と透明帯が交互に現れる様子が

確認できた。小坂ら（2008）によって、中心部を除く不透明帯が年輪であることが示されている。したがって、これらの不透明帯の本数を年齢として査定した。

薄片観察法のための試料は以下に示す2通りの手順で作成し、核を含む横断面を露出させた（図2）。

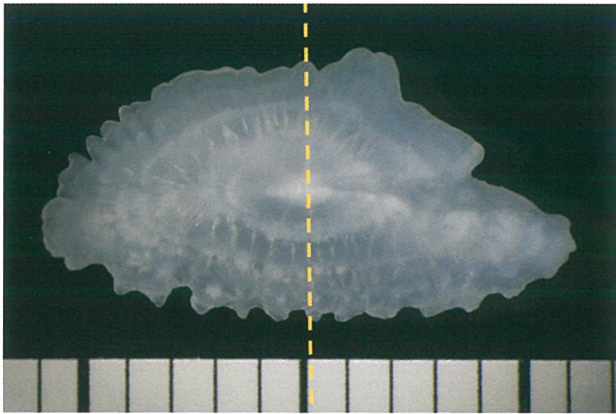


図2 研磨面を点線で表した図

2.2.1 東京海洋大学方式

- ① 1次包埋：目盛が印字された包埋用のブロックの十字線の中心に耳石の核が乗るように位置を合わせ、UVレジンを用いて耳石を固定した（図3①）。
- ② 2次包埋：1次包埋した耳石を2次包埋用シリコン型の中央に置き、その周囲にUVレジンを流し込み、UV照射機（UVライト36W、fleur社製）を用いて、硬化させた（図3②）。

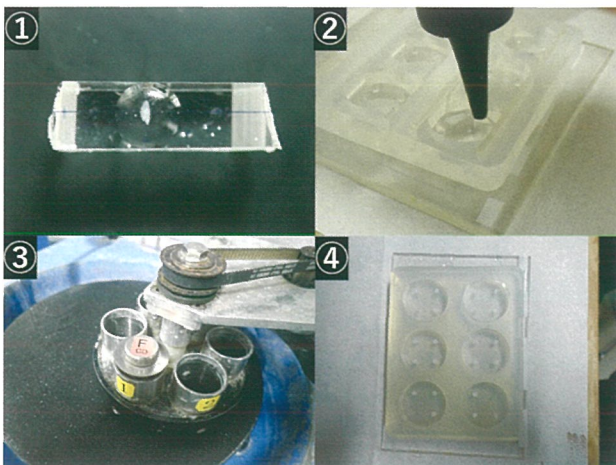


図3 東京海洋大学方式による薄片試料作成の様子

- ③ 片側研磨：②で作成した試料を自動回転する研磨器にセットし、耐水性サンドペーパーの目合い（#120、#240、#800、#1,200、#2,400）を変えながら核のある基準線付近まで研磨した（図3③）。
- ④ 3次包埋：3次包埋用シリコン型に、深さ2 mm程度にUVレジンを流し込み、③で研磨した面を下にして試料を入れ、UV照射機で硬化させた（図3④）。
- ⑤ 両面研磨：#1,200までの耐水性サンドペーパーで核が露出するまで研磨した後、#2,400の耐水性サンドペーパーで可能な限り表面を平滑化して薄片試料として仕上げた。

一般的な耳石研磨の手法として、エポキシ樹脂を用いた包埋を行うが、硬化するまで約3日の工程が必要である（増田・野呂，2003）。しかし、東京海洋大学の集団生物学研究室ではUVレジン（UVを照射すると短時間で硬化する樹脂）を用いて作業時間を大幅に短縮できる包埋および研磨技術を確立している（Strüssmann *et al.*, 2020）。

なお、1次包埋用ブロックの作成および2次・3次包埋技術と各工程に用いるシリコン型を作成する技術は東京海洋大学の特許技術として登録されている（特許第6963296号および特許第6982859号）。

2.2.2 自社方式

- ① 1次包埋ブロックの作成：縦、横が2 cm、深さが1 cmのシリコン型に深さ0.5 cmまでUVレジンを流し込み、UV照射機を用いて硬化させ、ボールペンで十字線を引いた。

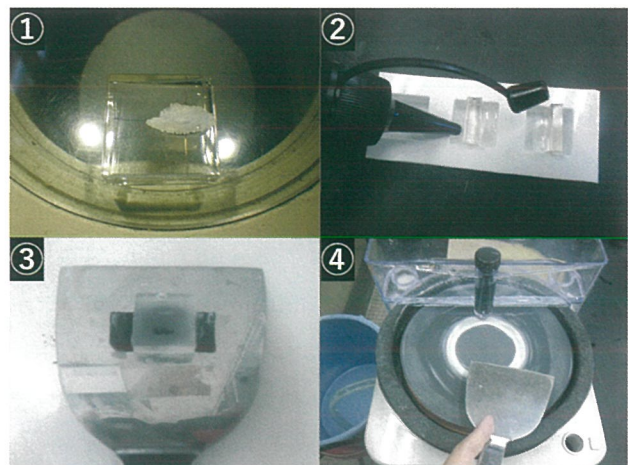


図4 自社方式による薄片試料作成の様子

- ② 1次包埋：1次包埋ブロックの十字線の直交部に耳石の核を合わせ、UVレジンを用いて耳石を包埋した(図4①)。
- ③ 2次包埋：シリコン型に包埋ブロックを縦にして入れ、周囲にUVレジンを流し込み、UV照射機で硬化させた(図4②)。
- ④ 片側研磨：③で作成した試料の底面に防水性の両面テープを貼り、ステンレス製のヘラに接着させ(図3③)、包丁研磨機(ホームスカッター、新興製作所製)を用いて、耐水性サンドペーパー(#120、#240、#800、#1,200、#2,000)の目合いを変えながら、核のある基準線付近まで試料を研磨した(図4④)。
- ⑤ 3次包埋：④で作成した試料の研磨面を上にしてシリコン型に入れ、上から厚さ0.5 cmになるようUVレジンを流し込み、UV照射機で硬化させた。
- ⑥ 両面研磨：#1,200までの耐水性サンドペーパーで核が露出するまで研磨した後、#2,000の耐水性サンドペーパーで可能な限り表面を平滑化して薄片試料として仕上げた。

3. 結果

計測および年齢査定結果を表1に示す。

オオクチバスの体長範囲は185～465 mm、全長範囲は226～549 mm、体重範囲は140～2,165 gであった。

表面観察法では2～7歳、薄片観察法では2～12歳の範囲で査定された。

表面観察法と薄片観察法の年齢査定結果を比較したところ、両者が一致したものは7歳までの7個体であった(図5-8、表1)。年齢査定結果が一致しなかった個体ではいずれも薄片観察法で、より高齢と推定された。

表面観察法により査定した年齢別に体長をみると、2歳では185～320 mm、3歳では242～363 mm、4歳では339～405 mm、5歳では359 mm、6歳では402～465 mm、7歳では346～355 mmであった(表1、図9)。

薄片観察法により査定した年齢別に体長をみると、2歳では185～280 mm、3歳では242～320 mm、4歳では352 mm、5歳では339 mm、6歳魚は確認されず、7歳

では355～363 mm、8歳では370～412 mm、9歳魚は確認されず、10歳では465 mm、11歳では346 mm、12歳では402～405 mmであった(表1、図10)。

表1 年齢査定結果

採取地	性別	標本番号	体長(mm)	全長(mm)	体重(g)	推定年齢	
						表面観察法	薄片観察法
滋賀県 琵琶湖	不明	BW001	359	417	1233	5	7
	不明	BW002	339	420	1066	4	5
	不明	BW003	320	389	835	2	3
	不明	BW004	185	226	140	2	2
	不明	BW005	346	416	1076	7	11
	不明	BW006	295	355	575	3	3
	不明	BW007	280	336	548	2	2
	不明	BW008	352	425	1267	4	4
	♂	BW009	405	484	1840	4	12
	不明	BW010	355	416	1056	7	7
	不明	BW011	370	455	1100	4	8
	不明	BW012	412	491	1629	6	8
	♀	BW013	363	419	1326	3	7
	♂	BW014	402	485	1443	6	12
	不明	BW015	465	549	2165	6	10
千葉県 花見川	♀	HN001	262	301	395	3	3
	♀	HN002	242	280	309	3	3

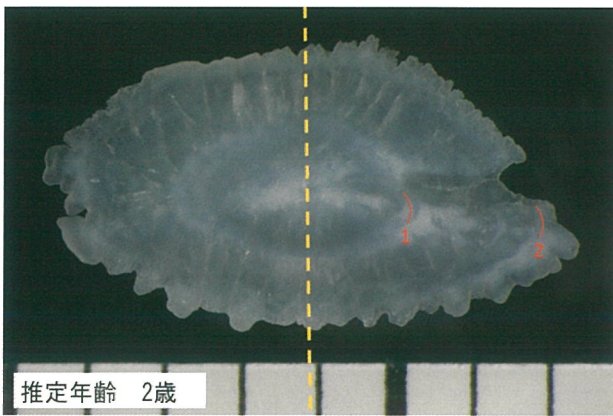


図5 オオクチバスの耳石

標本番号:BW004, 雌雄:不明, 体長:185mm, 全長:226mm, 表面観察法による推定結果※赤線は年輪の位置を示す。

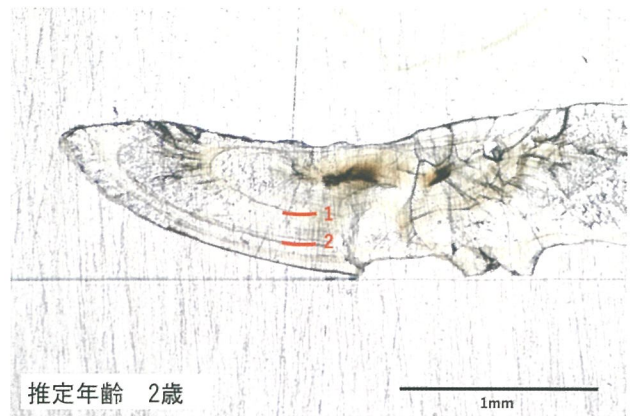


図6 オオクチバスの耳石

標本番号:BW004, 雌雄:不明, 体長:185mm, 全長:226mm, 薄片観察法による推定結果※赤線は年輪の位置を示す。

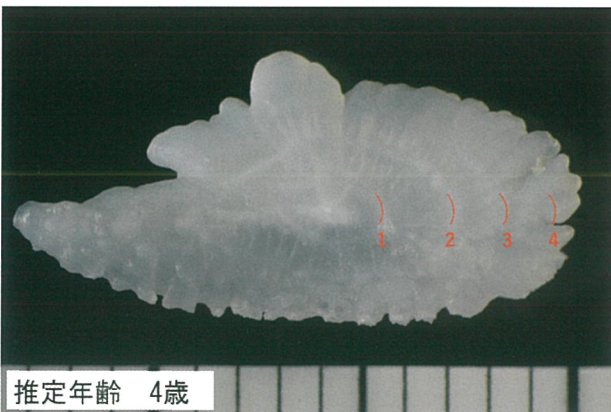


図7 オオクチバスの耳石

標本番号:BW009, 雌雄:雄, 体長:405mm, 全長:484mm, 表面観察法による推定結果※赤線は年輪の位置を示す。

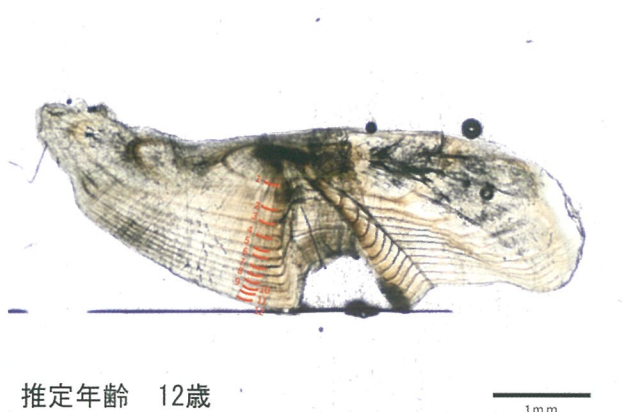


図8 オオクチバスの耳石

標本番号:BW009, 雌雄:雄, 体長:405mm, 全長:484mm, 薄片観察法による推定結果※赤線は年輪の位置を示す。

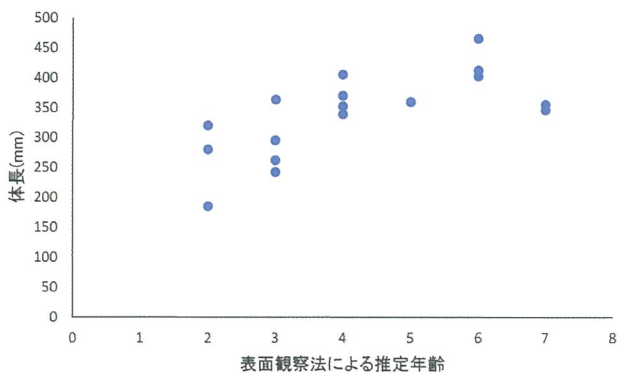


図9 表面観察法による推定年齢別の体長

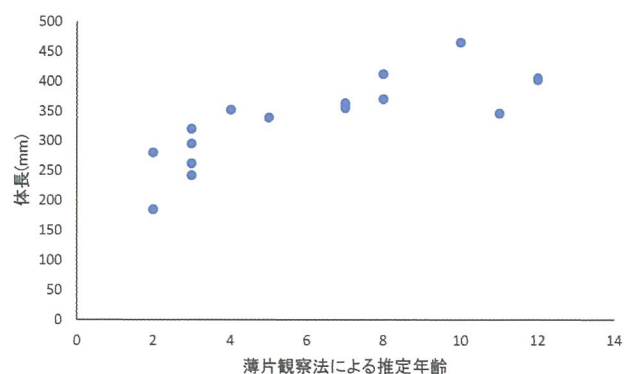


図10 薄片観察法による推定年齢別の体長

4. まとめ

国外外来魚であるオオクチバスの耳石を用いて、表面観察法と薄片観察法の2通りの手法により年輪を計数した。その結果、体長 295 mm までは両手法で計数結果が一致したが、体長 320 mm 以上になると表面観察法による計数が困難であり、薄片観察法による計数結果との不一致が目立った。したがって、薄片観察法により3歳と査定された体長 295 mm 以下の個体の耳石は表面観察法、より大きいサイズの個体の耳石は薄片観察法でそれぞれ観察することにより、耳石の研磨にかかる人的および時間的コストを抑えた年齢査定が可能になると考えられる。

正確な年齢査定技術は、オオクチバスを含む国外外来魚の駆除活動において有用であると考えられる。駆除対象種の体長組成より見出されるコホート（年級群）に、耳石の観察から得られた年齢の情報を付加することで、駆除対象となっている個体群の年齢組成を知ることができる。そのため、例えば、駆除個体の年齢組成の経年変化のデータを蓄積することで、駆除効果の検証（繁殖可能な年齢の個体が駆除できているか、など）や捕獲方法の見直しに繋がると考えられる。遠藤ら（2016）はチャンネルキャットフィッシュについて耳石による年齢査定結果から年齢別漁獲尾数の推定に必要な年齢-体長換算表（age-length key）を作成し、これにより漁業者等から提供される漁獲個体の体長データから年齢別資源を推定するとともに、翌年の資源動向をある程度予測することが可能になる、としている。

他魚種についても本研究と同様に正確な年齢を査定する方法を検証することで、資源量の推定等、国外外来魚の駆除に資する基礎的なデータが蓄積されることが期待される。

本研究ではサンプル数が少なかったため、年齢と成長の関係を考察するには至らなかったが、今後、機会があれば、他の国外外来魚についても年齢査定を行ってみたいと思う。

5. 謝辞

耳石の薄片作成の技術指導をいただいた東京海洋大学の Carlos Augusto Strüssmann 教授、供試魚を提供していただいた滋賀県庁琵琶湖環境部琵琶湖保全再生課に心から感謝申し上げます。

参考文献

- 遠藤友樹・加納光樹・所 史隆・荒井将人・片山知史. 2016. 茨城県北浦におけるチャンネルキャットフィッシュの年齢と成長. 日本水産学会誌, 83 (1) : 18-24.
- 金戸悠梨子・片山知史・飯田真也. 2017. サケの耳石と鱗による年齢査定法の検討. 日本水産学会誌, 83 (5) : 758-763.
- 小坂彰吾・竹下直彦・山元憲一・池田 至. 2008. 山口県小野湖におけるオオクチバスの年齢と成長. 水産増殖, 56 (1) : 89-95.
- 増田育司・野呂忠秀. 2003. 耳石横薄層切片を用いた魚類の年齢査定への勧め. 鹿児島大学水産学部紀要, 52 : 51-56.
- 麦谷泰雄. 1994. 魚類の耳石情報解析に関する研究. 日本水産学会誌, 60 (1) : 7-11.
- 西村 明. 1993. 耳石によるスケトウダラの年齢査定について. 北海道立水産試験場研究報告, 42 : 37-49.
- 関河武史・高橋豊美・高津哲也. 2002. 北海道木古内湾におけるアイナメ *Hexagrammos otakii* の年齢と成長. 水産増殖, 50 (4) : 395-400.
- Strüssmann, C. A., Miyoshi, K. and Mitsui, S. 2020. A novel, efficient method for otolith specimen preparation using UV-cured resins. North American Journal of Fisheries Management, 40: 1187-1194.
- Yodo, T. and Kimura, S. 1996. Age and growth of the largemouth bass *Micropterus salmoides* in Lakes Shorenji and Nishinoko, Central Japan. Fisheries Science, 62(4): 524-528.

