

資源生物学実験における硬組織カッターを活用した 年齢・成長推定の実践

Estimation of Age and Growth in Education of Fishery Biology using Hard Tissue Cutter

山口 幹人¹

Motohito Yamaguchi²

要旨

今世紀に入り、海洋における天然生物資源の利用が頭打ちとなる中、高度な資源管理に向けた評価手法としてコホート解析が基本的に用いられつつある。コホート解析を行うには年度別・年齢別の漁獲尾数や成長の情報が必要であり、そのための年齢推定に魚類頭部にある耳石などの硬組織にみられる輪紋が年齢形質として利用されている。また輪紋が外部からの観察では読み取りづらい場合には、硬組織カッターを用いて薄片化した上で観察されることも多い。今回、硬組織カッター（マルトー製。マイクロカッター・レプタム）を導入して耳石薄片の作成を実験授業で実施したので報告する。

キーワード： 資源管理, 耳石, 硬組織カッター

Keywords: Resource Management, Otolith, Hard Tissue Cutter

1. はじめに

1994年に発効した国連海洋法条約（正式名称『海洋法に関する国際連合条約』、日本は1996年に批准）では、「沿岸国は、自国が入手することのできる最良の科学的証拠を考慮して、排他的経済水域における生物資源の維持が過度の開発によって脅かされないことを適当な保存措置及び管理措置を通じて確保する。」と同時に「(前略) 最大持続生産量を実現することのできる水準に漁獲される種の資源量を維持し又は回復することのできるようなものとする。」として、海洋生物資源の科学的な管理と最大限の利用についての基本的な考え方を示している〔外務省 2020〕。

これに基づいて国内では TAC 法（正式名称『海洋生物資源の保存及び管理に関する法律』）が制定されて本格的な資源評価が始まり、その中心的な手法となるコホート解析のために必要な年度別・年齢別の漁獲尾数の推定や年級群ごとの成長のモニタリングが継続的に実施されるようになった〔水産庁 2021〕。モニタリングには漁獲物全体を網羅する適切な漁獲標本の採集と個体ごとの年齢推定が必須であり、魚種によっては耳石等の硬組織に形成される年輪観察の

¹ 東海大学生物学部海洋生物科学科, 005-8601 札幌市南区南沢 5 条 1 丁目 1-1; E-mail: m_yamaguchi(a)tsc.u-tokai.ac.jp,

² Department of Marine Biology and Sciences, School of Biological Sciences, Sapporo Campus, Tokai University, 5-1-1-1 Minamisawa, Minami-ku, Sapporo 005-8601, Japan; E-mail: m_yamaguchi(a)tsc.u-tokai.ac.jp

ための薄片作成が必要となる。

耳石とは脊椎動物の内示に存在する硬組織で、聴覚と平衡感覚に関与する三半規管の一部である〔片山 2021〕。扁平石、礫石、星状石の3種類が左右1対ずつあるが、多くの場合、年齢推定には最も大きな扁平石が用いられる。耳石には年周期として夏に不透明帯、冬に透明帯が形成されることが多いため、それが年輪となり年齢の推定に利用されている。

今回、硬組織カッターを導入し、実験授業において魚類耳石の薄片観察による年齢推定を実践した。

2. 硬組織カッターについて

硬組織カッターは、低速～中速回転の砥石によって検体に対して低負荷で切断する機器であり、電頭試料の準備薄片や金相試験片の切り出しにも使用される汎用性の高い機器である。年齢推定に向けた扁平石の薄片作成は、エポキシ系樹脂で包埋して行われる。その手順について、実験授業の内容に沿って以下にまとめた。

2.1 耳石の取り出しとエポキシ樹脂での包埋

実験授業では輪紋の読み取りが外部観察では困難であるマダラとホッケについて扁平石の薄片作成を行った。まず頭骸骨に刃物で切れ目を入れて割り、その底部にある扁平石をピンセットで取り出したのちに軽く洗浄して乾燥させた。耳石の核の位置に鉛筆で印をつけ、アクリルの小片上に印が小片の縁の直線上に並ぶように扁平石を並べエポキシ樹脂（Technovit 4006、ムサシノ電子製）で包埋した（図1、2）。なお包埋作業はドラフトチャンバー内で行った。



図1 ホッケの扁平石をアクリル小片上に核の位置を揃えて並べ接着剤で固定する。黒いビーズを5個体ごとに挟む。

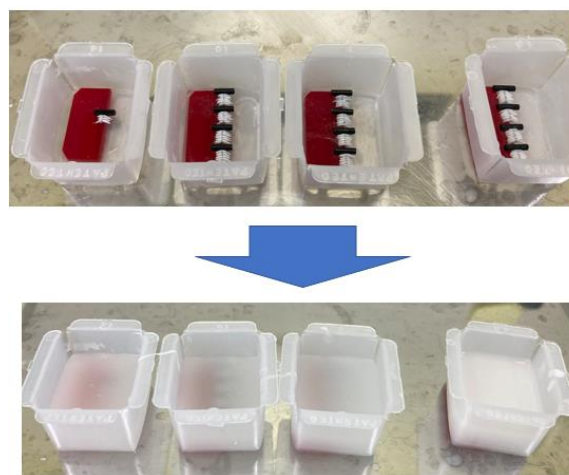


図2 包埋用ケースに扁平石を並べたアクリル小片を入れエポキシ樹脂（Technovit 4006、ムサシノ電子製）で包埋する。

2.2 包埋後の薄片化

耳石を包埋したエポキシ樹脂を、硬組織カッター（図3）を用いて切断した。切断面が滑らかな薄片を作成するためには低負荷・低回転速度が基本であり、本機は負荷については左側のアーム上に“調整ウェイト”を置くこと（加えて“リアウェイト”の位置による調整も可能）で調整し、回転速度については25～2,000rpmの間で任意に設定できる。ただ授業時間との兼ね合いで、調整ウェイトおおよそ75g、回転速度200rpmの設定で切断を行い、1検体の切断時間は20分程度であった。

まず扁平石を包埋したエポキシ樹脂を“標準チャック”と呼ばれる治具にチャックの縁の線と切断面が平行となるように固定した。その上で取り付けアームの位置を左右に調整して回転刃を切断面と一致させ切断した（図4）。

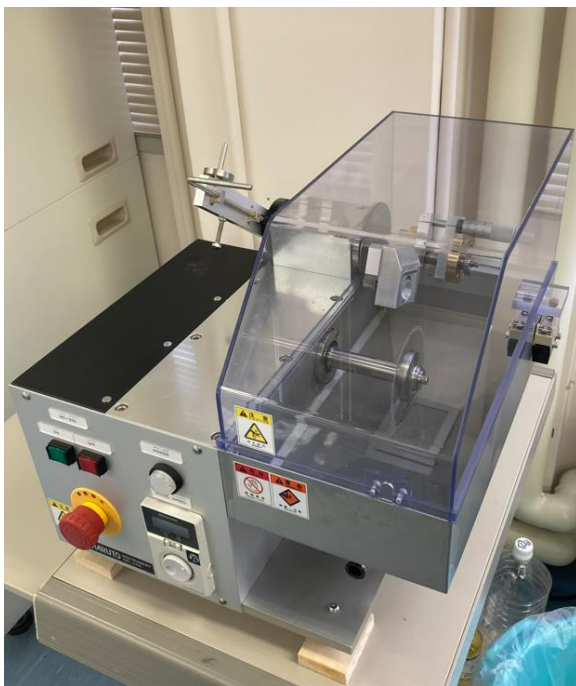


図3 導入した硬組織カッター（マルト一製マイクロカッター・レプタム）

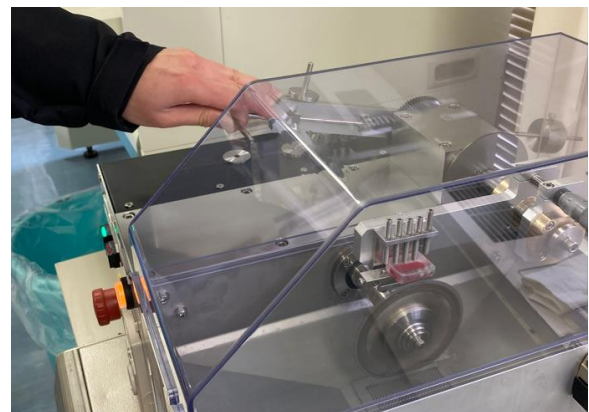


図4 標準チャックに固定しての切断

次にチャックに残った検体の切断面をスライドグラスにエポキシ接着剤で貼り付け、十分に乾燥させたのちに、2回目の切断を行った。“試料取り付けアーム”の“標準チャックを”オプションの“吸着式マイクロクランプ”に付け替え、検体を貼り付けたスライドグラスを装着した。スライドグラスと回転刃が触れるか触れないかの位置に調整し、そこから任意の厚さをマイクロメーターで設定して切断した（図5）。以上の手順により、スライドグラスに張り付いた状態の薄片が作成され（図6）、それを実態顕微鏡下で観察した。なお表面をより滑らかにするために研磨する場合もある。

作成した薄片においては、外部観察よりも格段に明瞭な輪紋が観察できた（図7、8）。ただし年齢形質ではない偽輪なども明瞭となるため、先行文献〔星野ほか2017, 高嶋ほか2013〕をたよりに慎重に年齢を推定した。

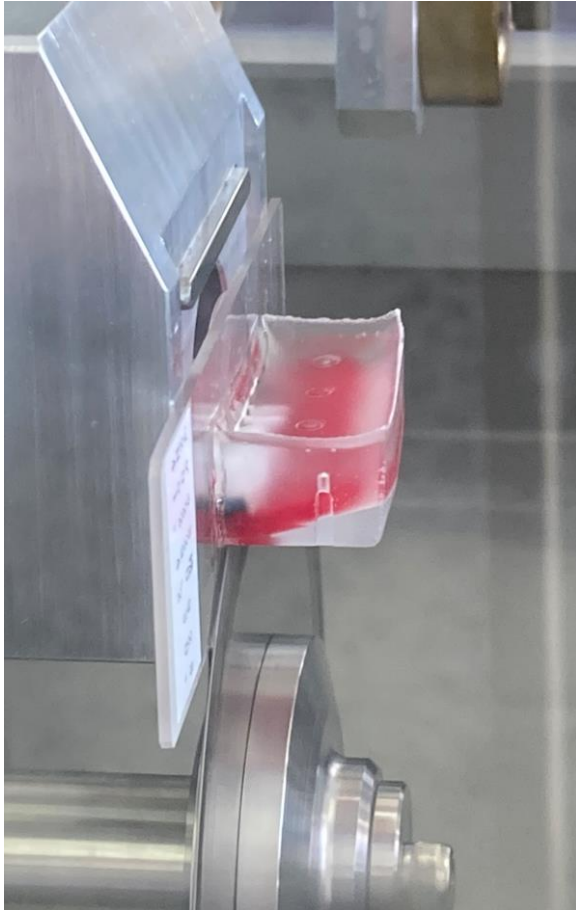


図 5 薄片化に向けた2回目の切断



図 6 作成した扁平石の薄片(左右は切断した残渣)

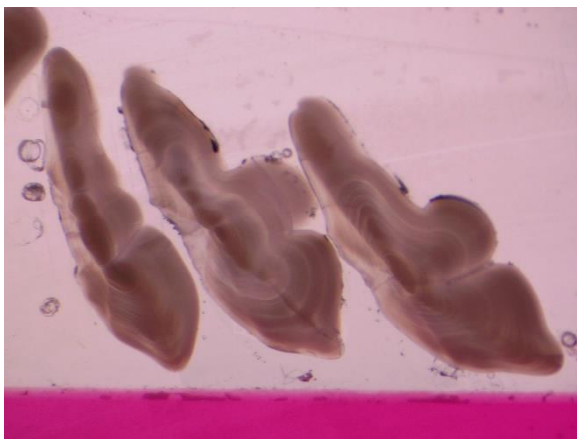


図 7 マダラ扁平石の薄片

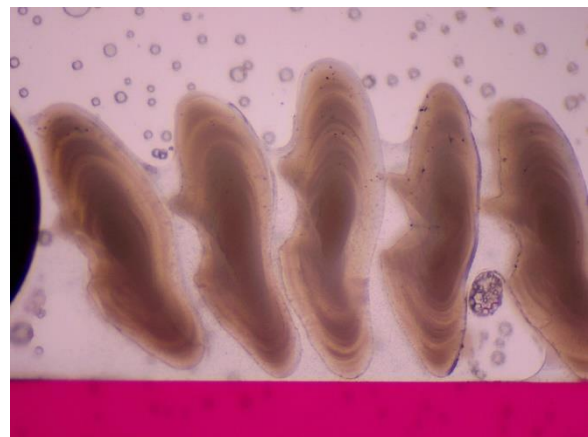


図 8 ホッケ扁平石の薄片

3. 実験における耳石観察結果と資源評価

魚類の産卵は通常、産卵期と呼ばれる季節に集中して行われる。そのため資源評価においては魚種・系群ごとに誕生日を便宜的に固定し、標本の採集日と輪紋数から個体ごとに満年齢を推定する。実験授業では先行研究の知見を活用しながら個体ごとに年齢を推定し、標本全体の年齢組成等も把握した。参加した学生は、読み取った年齢と体長の関係等を公的研究機関が毎年公表している資源評価書〔北海道立総合研究機構水産研究本部 HP, 水産庁 HP〕の生態情報

と比較し、実験結果の妥当性を確認するとともに、実験で学んだ手法が資源管理の現場でどのように活用されているかについて考察し、レポートを作成した。

4. 考察 生物の観察と観察結果の数値化が社会実装されていることへの実感について

実験授業では、学生自らが魚類の観察・スケッチ・解剖・長さや重さの数値化を行った。これらは魚類の生物的特徴を学ぶ上で基本的な行為となる。それと同時に対象魚類の分布や漁業の実態モニタリングが計画的・網羅的に行われることが前提ではあるものの、調査や研究から得られた結果が社会に有用な情報であるという実感を持たせることも教育上重要と考えた。今回の実験授業では、得られたデータを用いたディスカッションとレポート作成を通して学生たちにある程度その実感を持たせることができ、さらにそれが授業に対する興味を増加させたものと感じた。

5. まとめ Summary

- (1) 新たに導入した硬組織カッターを活用して、実験授業において耳石の扁平石の薄片を作成し、輪紋から年齢や成長の推定を行った。
- (2) 研究機関が年度別・年齢別の漁獲尾数のデータを使用して作成・公表した資源評価書と実験結果の対比を行った。
- (3) 以上を通して学生に、生物学が社会に役立つことの一部を実感させたと考える。

参考文献 References

- 外務省(2020),「海洋の国際法秩序と国連海洋法条約」, 外務相ホームページ
<https://www.mofa.go.jp/mofaj/gaiko/kaiyo/law.html>
- 北海道立総合研究機構水産研究本部 HP,「北海道周辺海域における主要魚種の資源評価」,
<https://www.hro.or.jp/list/fisheries/research/central/section/shigen/j12s220000004ss.html>
- 星野昇, 田中伸幸, 本間隆之, 鈴木祐太郎(2017),「北海道周辺海域におけるマダラの年齢組成」,『北海道水産試験場研究報告』92, 33-42
- 片山知史(2021),「耳石の外部形態」,『耳石が語る魚の生い立ち—雄弁な小骨の生態学』, 恒星社厚生閣, 東京, 1-18
- 水産庁(2021),「我が国周辺の水産資源」,『令和2年度水産白書』,
https://www.jfa.maff.go.jp/j/kikaku/wpaper/r02_h/trend/1/t1_3_1.html
- 水産庁 HP,「資源評価」,『わが国周辺の水産資源の現状を知るために』,
<http://abchan.fra.go.jp/index1.html>
- 高嶋孝寛, 星野昇, 板谷和彦, 前田圭司, 宮下和士(2013),「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」,『Nippon Suisan Gakkaishi』79(3), 383-393

(受付: 2023年1月27日, 受理: 2023年2月9日)

(Submitted: January 27, 2023; Accepted: February 9, 2023)