サケの耳石と鱗による年齢査定法の検討

金戸悠梨子,^{1*} 片山知史,¹ 飯田真也²

(2016年10月10日受付, 2017年4月11日受理, 2017年8月29日J-STAGE 早期公開)

¹東北大学大学院農学研究科, ²(国研)水産研究・教育機構日本海区水産研究所

Age determination of chum salmon using scales and otoliths

YURIKO KANETO,^{1*} SATOSHI KATAYAMA¹ AND MASAYA IIDA²¹Graduate School of Agricultural Science, Tohoku University, Sendai, Miyagi 981-8555, ²Japan Sea National Fisheries Research Institute, Japan Fisheries Research and Education Agency, Chuo, Niigata 951-8121, Japan

Age determination of chum salmon using scales becomes difficult as sexual maturation progresses. We examined and compared the working efficiency and accuracy of aging methods using scales, otolith surface, and otolith section with chum salmon. The percentage of age estimated correctly, cross-checked with known age by the otolith thermal mark and release protocol, was under 80% for the otolith surface and the common otolith sectioning methods in which otoliths are sliced to around 150 μm thickness. The accuracies were 100% using scales and thinner otolith sections of around 80 μm thickness. We therefore recommend employing the more accurate aging methods using scales and thinner otolith sections in line with the working efficiency and maturational conditions.

キーワード：鱗, サケ, 耳石, 年齢査定

サケ *Oncorhynchus keta* 資源は経年変動が大きいと言われており, 2005 年以降は全国的に来遊尾数が減少してきている¹⁾ことから, 資源動向の把握が求められている。その資源状態の特性値を知るための個体ごとの年齢データについては, サケにおいては従来, 鱗を用いた年齢査定から把握してきた。しかしサケ科魚類において, 鱗では稀に再生鱗や骨質層が吸収された鱗のような年齢査定ができない標本があり,^{2,3)} また漁期の後半になると成熟が進んで表皮が厚くなることで鱗の露出部が減少し,⁴⁾ 採取がし難くなるという短所がある。

一方, 鱗と同じく年齢形質として用いられる耳石は, ストレス要因下であっても鱗で起こるようなカルシウムの再吸収はほぼ起こらず保存性が高く,^{5,6)} また体成長が止まってもカルシウム沈着し続ける⁷⁾ため, 多くの硬骨魚類の年齢査定に用いられている。耳石の年輪観察の方法としては, 表面観察法と薄片法がある。前者では, 耳石をそのまま水やキシレン, グリセリン等の浸透液に入れて, あるいは, 表面を研磨した後に浸透液に入れて, 落射光下で年齢構造を観察する。後者は, 横断切片を作

成し, 透過光で年齢構造を観察する方法である。近年においては, 表面観察法では高齢魚の査定が困難である等の理由から, 薄片作製作業に手間が掛るものの薄片法が用いられることが多い。さらには, 薄片法で観察される耳石の微細構造(不透明帯のタイプ, 皺状構造, チェック, 耳石の成長方向の変化など)の特徴を基にした年輪観察基準がいくつかの魚種について作成されている。⁸⁻¹¹⁾ しかしサケについては耳石薄片の観察結果は報告されておらず, また耳石を用いた成長の解析例もない。

耳石は年齢査定のみならず, 微量金属, 安定同位体比の保存性も高いことから, 個体が経験した生息環境, すなわち環境履歴を推定するツールとして, 生育場¹²⁻¹⁴⁾ や塩分履歴¹⁵⁻¹⁷⁾ の推定, 水温履歴の推定,¹⁸⁾ 個体群構造の解析,¹⁹⁾ 古環境の推定^{20,21)} 等に広く用いられている。耳石の年輪構造およびその観察基準が記載されれば, 将来的な個体の環境履歴推定の分析においてデータに時間軸を与えることができると思われる。

本研究ではサケの年齢査定方法を確立するために, 耳石と鱗を用いて年齢査定法の作業効率や正確性について

比較検討した。さらに耳石薄片にみられる構造について年輪観察基準を記載することを目的とした。

材料と方法

調査場所と標本採集 作業効率の比較をするために、宮城県の名三陸地方卸売市場（以下、志津川魚市場）（Fig. 1）にて、2015年10月21日に82尾、11月6日に92尾、11月20日に104尾のサケ（全てオス）の尾叉長を計測、そのうち50尾の体重を測定し、耳石（扁平石）と鱗を採取した。業務用かばちカッター（KC-5、株式会社平野製作所製）を用いて頭と胴体を切り離し、切り落とした頭を地面と垂直方向になるように置き、頭部の前頭骨と頭頂骨を上部より切り取り、²²⁾ 耳石を採取した。耳石はマルチウェルプレートに入れて個体識別をし、水洗いをして付着物を取り除いた後、風乾し保存した。鱗は北太平洋漁業国際委員会の推奨部位である²³⁾ 背鰭後端から脂鰭前端の間の中点より前半部の側線の上下1-4列から採取した。鱗は1個体につき3, 4枚採取し、そのままスライドグラスに乗せ、カバーグラスをかけて保存した。

また、耳石を用いた年齢査定の正確性を検討するため、耳石温度標識²⁴⁾によって年齢が確定する耳石を入手した。耳石温度標識とは、孵化用水の温度を周期的に変化させ、その温度変化に応じたバーコード状のマーク（以下、ハッチコード）を作る方法である。山形県月光川水系牛渡川にある箕輪ふ化場では、2009年級群のサ

ケ稚魚の一部にハッチコード1-4Hを施して放流した（North Pacific Anadromous Fish Commission データベース、<http://wgosm.npafc.org/>、2016年8月19日参照）。また、それらが3-5年魚として回帰する2012-2014年、牛渡川に遡上したサケ親魚5,000個体（1,000個体/年）から耳石（扁平石）と鱗を採取し、耳石ではSato *et al.*²⁵⁾の方法に従ってハッチコードを特定した。まず、耳石をプラスチックセメント（Buehler社、USA）でスライドガラスに接着し、耐水研磨フィルム（0.3, 1, 3, 9, and 12 μm , Buehler社、USA）を使って耳石の核近辺まで研磨した。次に、耳石の微細構造を顕微鏡で観察し、耳石温度標識と思われるバーコード状のマークが確認された場合、NPAFCが管理するデータベース（North Pacific Anadromous Fisheries Commission、www.npafc.taglab.org）の画像と照合し、ハッチコードを特定した。前述したハッチコード1-4Hは、箕輪ふ化場の2009年級群にしか施されていない。すなわち、2012年10月24日、2013年10月17日、2014年10月16日、23日に採取した耳石のうち、ハッチコード1-4Hと査定された個体は、それぞれ3, 4, 5年魚と確定することが出来る。このような年齢既知の個体について、3, 4, 5年魚の耳石をそれぞれ5つ（合計15個体）用意した。

標本の観察方法 志津川魚市場において採取した鱗については、スライドガラス上の鱗をそのままコーティングをしない状態で、生物顕微鏡（25倍、透過光）で観察した。鱗が汚れて観察が困難な場合は、鱗やカバーグラスに付着した有機物などの汚れをふき取った。伊藤ら²⁶⁾が示した鱗によるサケの年齢査定をする際の留意点に注意しながら、被覆部全体を観察し、Circuliの幅が狭い部分を休止帯としてその数を計数した。休止帯は秋季から春季にかけて形成される²⁷⁾ことから、休止帯の数に1を足した数を鱗が示す年齢とした。また焦点の隆起線が極端に大きいものは再生鱗である可能性があるため、正確な年齢査定ができないと判断した。

耳石表面法では、耳石表面の凹凸が荒く、年輪構造の観察が困難であったので、表面（体内側の溝がない面）を耐水紙やすり（#1200）で研磨し、水に浸して実体顕微鏡（落射光）で観察した。耳石薄片は、乾燥させた耳石をポリエステル樹脂（丸本ストルアス社製）に包埋した後、硬組織切断機（ゼーゲミクロトーム、Leica SP1600；ライカ社製）を用いて、耳石中心部を通るよう短軸方向に厚さ約150 μm に切断して得た。その薄片をステッキワックス（マルトー社製）でスライドガラスに張り付けて、耐水紙やすり（#800-1200）で研磨した。その後0.1 mol L⁻¹の塩酸に1分間浸漬してエッチング処理を施し、仕上げに透明マニキュア液を塗布した。これを生物顕微鏡により明視野透過光下で観察を行った。

Fig. 1 Location of the study area, Shizugawa Bay.

耳石薄片については、一部年輪が不明瞭な個体があったため、耐水紙やすり (#1200) で第一輪が見えるようになるまでさらに研磨を施し、薄片の厚さを約 80 μm まで薄くすることで、明瞭な観察像を得ることを試みた。なお、耳石薄片作製時に用いるモールドは直径 20 mm で、モールド下面に粘土を添付し、その粘土に耳石を立てて並べた。そのため、1つのモールドに耳石 50 個が並んで包埋されるため、一回の薄片作製作業で 50 個体の薄片が出来上がった。

耳石の観察については、サケ科のホッキョクイワナ *Salvelinus alpinus* では秋から翌年の夏にかけて、耳石に不透明帯が形成されることが報告されている²⁸⁾ため、同様にサケでも秋から翌年の夏にかけて不透明帯が形成されると仮定し、透明帯から不透明帯へ変わる境目の数を年輪（年齢表示構造）として計数した。

結 果

鱗, 耳石表面法, 耳石薄片法を用いた年齢査定の正確性 Table 1 は山形県月光川水系箕輪採捕場にて 2012–2014 年に採捕されたサケから採取した耳石温度標識が施されている耳石を用いて、放流年から特定された年齢 (known age) と耳石薄片法, 耳石表面法による年齢査定の結果を比較した表である。Table 1(a) より鱗による年齢査定の正確性は 100% であった。一方耳石では 1 個体異常結晶で年輪の観察ができない個体があった。それ以外の個体については、Table 1(b), (c) を見ると耳石表面法による正確性は 57% で、比率の差の検定を行ったところ有意差が検出され (comparison of two proportions, $p < 0.01$), 耳石表面法による査定が正確であるとは言えなかった。耳石薄片法による正確性は 85% で有意差が検出されなかったが (comparison of two proportions, $p > 0.05$), 誤判定の割合は 15% であることから実際の年齢査定には好ましくないと判断された。しかし耳石薄片をより研磨し、約 80 μm まで薄くした標本では Table 1(d) のように 100% の正確性となった。

耳石薄片法と耳石表面法の両方において、Known age と年齢査定の結果が合わなかった個体では、Fig. 2(a) (耳石表面) や Fig. 2(b) (耳石薄片) のように第一輪が読みづらいために年齢が過小評価となっている可能性が考えられた。そのため耳石切片については #1500 の紙やすりで表面を研磨し、より薄くした状態で観察した。サケの耳石薄片の中心部は色の濃い不透明部であり、表面の皺状構造 (Fig. 3, 矢印) はほとんど形成されていない。しかし、皺状構造が見られるようになるとその外側に一本目の細い透明帯 (Fig. 3 中, 白抜き四角) が観察される。その外側に再び太い不透明帯 (Fig. 3, 黒棒) が形成されるが、不透明帯の中には、皺状構造がみられない部分が存在するという特徴が認められた。こ

Table 1 Cross-check of age determined by scale method (a), otolith surface method (b), otolith section method (c) and thinner otolith section method (d) with known age

(a) Age determined by scale method

	Determined age (yrs)		
	3	4	5
Known age (yrs)			
3	5	0	0
4	0	5	0
5	0	0	0

(b) Age determined by otolith surface method

	Determined age (yrs)		
	3	4	5
Known age (yrs)			
3	4	0	0
4	4	1	0
5	0	2	3

(c) Age determined by otolith section method

	Determined age (yrs)			
	2	3	4	5
Known age (yrs)				
2	0	0	0	0
3	1	3	0	0
4	0	1	1	0
5	0	0	0	1

(d) Age determined by thinner otolith section method

	Determined age (yrs)		
	3	4	5
Known age (yrs)			
3	4	0	0
4	0	5	0
5	0	0	5

Otolith and scale are of salmon sampled from Ushiwatari River.

の基準で観察したところ Fig. 2(c) のように読みづらかった年輪を読むことができ、正確性が 100% になった。

年齢形質による年齢査定の可否 志津川魚市場において採取した鱗と耳石薄片について、年齢査定不可の個体数の比較をした。

10 月 21 日のサンプルでは、50 個体中 46 個体で耳石と鱗の両方で年齢査定が可能であった。不可能であった個体のうち、1 個体では耳石では Fig. 4 のように、薄片において上記のような不透明帯、透明帯として認識されるような輪紋は観察されず査定が不可能だった。他の 3 個体では採取した 3 枚の鱗すべてが再生鱗のため不可

Fig. 2 Examples of an otolith of a 4-year-old chum salmon, whose age is known by the tag and release protocol (FL 66.0 cm, BW 3.04 kg, October 17, 2013). Arrow heads indicate translucent zones. Two translucent zones were observed in the otolith surface (a) and its relatively thick section (b) because the first zone cannot be found. Three translucent zones become visible in the thin section (c).

Fig. 3 Pictures indicating the structural features of opaque zones in otolith sections of 4-year-old chum salmon (FL 66.0 cm, BW 3.04 kg, October 17, 2013). Broader opaque zones (dark bars) than translucent zones (white boxes) have fewer grooves (arrow heads), which are discontinuous crystals.

Fig. 4 An example of a unusable otolith section for age determination from a chum salmon caught in Shizugawa Bay (FL 66.2 cm, BW 2.72 kg, October 21, 2015).

能であった。11月6日のサンプルでは1個体で採取時に耳石の破損があった。その他の個体では49個体中48個体で耳石と鱗の両方で可能であった。不可能であった

Table 2 Comparisons of availability as aging characters between otolith section and scale of the salmon that were sampled in Shizugawa Bay

Date	Otolith	Scales	
		Usable	Unusable
Oct. 21, 2015	Usable	46	3
	Unusable	1	0
Nov. 6, 2015	Usable	49	1
	Unusable	0	0
Nov. 20, 2015	Usable	48	2
	Unusable	0	0

All unusable otoliths and scales are abnormal otoliths and regenerated scales, respectively.

個体のうち、1個体では鱗で3枚すべてが再生鱗のため不可能であった。11月20日のサンプルでは、50個体中48個体で耳石と鱗の両方で可能であった。不可能であった個体のうち、2個体では鱗では再生鱗のため不可能であった。耳石で年齢査定可能な個体は99%、鱗で年齢査定不可能な個体は96%と若干耳石のほうが年齢査定可能な個体が多かったが、統計的には有意な差は認められなかった (Fisher's exact test, $p < 0.01$)。

考 察

鱗、耳石表面法、耳石薄片法を用いた年齢査定について、作業面では以下のように各々長所短所があった。

採取時については、鱗はピンセットのみの作業であり簡便であったが、漁期後半の成熟が進んだ個体は、表皮が肥厚するため今回の採取の方法では採取が困難であった。耳石は頭部を切開する専用の道具が必要であるが、漁期時期に関わらず安定して採取できた。また加工場で頭部が投棄される場合、大量のサンプルの入手が可能であることがわかった。

標本作成においては、鱗は魚体からの採取と同時にそのままスライドガラスに載せてカバーガラスで封入するのみでプレパラート標本が出来上がる。その後、時間を経ても朽ちたり腐ったりすることはなかった。耳石も付着した組織を取り除けば、室温・風乾で保存が可能である。表面法での表面研磨に要する時間は1-2分間のみであった。一方、薄片法においては、専用の包埋剤で一晩の硬化、そして専用・高価な硬組織切断機が必要である。またその後の研磨も研磨機を用いても時間と労力を要する。

観察時では、鱗と耳石表面法は1個体ずつの観察となるが、鱗は数枚の鱗を観察することになるので、観察に要する時間は、今回比較した3つの方法の中では耳石表面法が最も短かった。しかし後述するように、年輪が不明瞭の個体が多くて迷う場合が多かった。耳石薄片法

では、一つのプレパラートで50個体分の薄片を観察できるため、スムーズに観察作業することができた。

最も重要な、年齢査定の一貫性については、耳石表面法は表面研磨を施しても、60%以下の正答率であった。耳石薄片法では、通常の約150 μm の厚さでは正答率が85%であったが、更に研磨して第一輪を見やすくすることによって、鱗と同じ100%の正答率となり、精度の高い年齢査定方法であることが分かった。以上のことから、外洋域のサケや成熟の進んでいない個体については、これまで通り鱗が有用であるが、例えば成熟が進んで鱗の吸収が起こり、骨質層が破壊されている場合や、魚市場に水揚げされたサケや加工場で大量に廃棄される頭を用いる場合においては、耳石薄片法を用いるというように、年齢形質の採取条件に応じて年齢査定法を使い分けることがよいと思われる。年齢査定における誤差は、資源解析の基本的な情報である各魚種・系群の成長式や年齢別漁獲尾数の推定値に誤差を与えることから、²⁶⁾ 精度の高い年齢査定は常に追求されるべきものと考えている。²⁷⁾ 今回鱗を用いた年齢査定が困難な際には、耳石を用いた年齢査定も可能であることを示したことで、サケにおける年齢査定の一貫性の向上に貢献することができた。

年齢形質における年輪の観察基準については、サケの鱗では種々画像とともに、査定例が紹介されている。^{28,29)} 耳石薄片では、太い不透明帯に挟まれる形で狭い透明帯が形成されており、透過光によるその明暗で判別が可能である。加えて今回、不透明帯には、皺状の表面構造が無い部分が存在することがわかった。すなわち明暗の他にもう一つの観察要素が付加され、透明帯・不透明帯の判別に迷った際の判断が容易になったといえる。このような観察基準を基に、他の海域で採集された個体の鱗や耳石についても観察像を得て、査定マニュアルを作ることができれば、より汎用的で精度の高い年齢査定方法が確立するものと思われる。

サケの年齢形質としては鱗と耳石の双方が有用であるとの結果が得られた。しかし耳石は、主成分の炭酸カルシウムの他に、Na, Sr, Zn, Fe, Mnなどの各種微量元素が含有されている³⁰⁾ため、微量元素分析からその魚の回遊経路や生息場などの環境履歴解析に用いることができる。また近年では、耳石の炭素・窒素安定同位体比による食物源や食段階の推定、酸素安定同位体比による水温履歴の推定、炭素同位体(Carbon-14)による高齢魚年齢推定等の応用研究が進展している。これらの手法によって得られるデータに対しては、時間軸が与えられることによって、その価値が大幅に向上する。サケの耳石を用いた応用研究はまだほとんど行われていないが、耳石年輪に沿った分析・測定が行われることによって、今後サケの生活史や生態研究が新たに発展することが期待

される。

謝 辞

耳石と鱗を採取する際に快く協力していただいた南三陸町地方卸売市場、株式会社行場商店、有限会社丸太漁業の皆様に深く感謝申し上げます。

文 献

- 1) 加藤雅博. 北太平洋と日本におけるさけます類の資源と増殖. *SALMON 情報* 2016; **10**: 57.
- 2) 西村 明. 年齢・日齢査定法. 平成12年度 資源評価体制確立推進事業報告書—資源解析手法教科書—, 社団法人日本水産資源保護協会, 東京, 2001; 31-43.
- 3) Kacem A, Baglinière JL, Meunier FJ. Resorption of scales in Atlantic salmon (*Salmo salar*) during its anadromous migration: a quantitative study. *Cybius*. 2013; **37**: 199-206.
- 4) Horoi O. Sexual maturation, In: Zama K, Hiroya T (eds). *The survey of fall chum salmon in Japan*. Koseisha Koseikaku, Tokyo. 1985; 38-52 (in Japanese).
- 5) Campana SE. Calcium deposition and otolith check formation during of stress in coho salmon, *Oncorhynchus kisutch*. *Comp. Biochem. Physiol.* 1983; **75**: 215-220.
- 6) Ichii T, Mugiya Y. Comparative Aspects of Calcium Dynamics in Calcified Tissue in the Goldfish *Carassius auratus*. *Nippon Suisan Gakkaishi* 1983; **49**: 1039-1044.
- 7) Mugiya Y. Studies on otolith reading in fish. *Nippon Suisan Gakkaishi* 1994; **60**: 7-11.
- 8) Katayama S, Yamamoto M, Gorie S. Age compositions of flatfish stocks as determined by a new otolithometric method, its application in the estimation of growth, spawning potential and fisheries management. *J. Sea Res.* 2010; **64**: 451-456.
- 9) 片山知史. ヒラメ耳石の横断切片における年輪判読方法. 日本海北広域連携ヒラメ調査報告書 (平成21年度), 2010; 1-17.
- 10) 長野昌子, 片山知史, 中村充志, 齋藤友則. 耳石を用いた日向灘産マダイの年齢査定. 宮崎県水産試験場研究報告 2014; **15**: 1-8.
- 11) Takashima T, Hoshino N, Itaya K, Maeda K, Miyashita K. Age validation using sectioned otoliths and age-size relationship for the Northern Hokkaido stock of the Arabesque greenling *Pleurogrammus azonus*. *Nippon Suisan Gakkaishi* 2013; **79**: 383-393 (in Japanese with English abstract).
- 12) Plaza P, Katayama S, Kimura K, Omori M. Classification of juvenile black rockfish, *Sebastes inermis*, into Zostera and Sargassum beds using the macrostructure and chemistry of otoliths. *Mar. Biol.* 2004; **145**: 1243-1255.
- 13) Yamashita Y, Otake T, Yamada H. Relative contributions from exposed inshore and estuarine nursery grounds to the recruitment of stone flounder estimated using otolith Sr:Ca ratios. *Fish. Oceanogr.* 2000; **9**: 328-342.
- 14) Rooker JR, Secor DH, Zdanowicz VS, Metrio G, Relini LO. Identification of Atlantic bluefin tuna (*Thunnus thynnus*) stocks from putative nurseries using otolith chemistry. *Fish. Oceanogr.* 2003; **12**: 75-84.
- 15) Arai T. Migratory history of fishes: present status and perspectives of the analytical methods. *Japan. J. Ichthyol.* 2002; **49**: 1-23 (in Japanese with English abstract).
- 16) Pontual H, Geffen AJ. Otolith microchemistry. In: Panfili

- J, Pontual H, Troadec H, Wright PJ (eds). *Manual of Fish Sclerochronology*. IFREMER-IRD coedition, Brest. France. 2004; 24–307.
- 17) Secor DH, Rooker JR. Is otolith strontium a useful scalar of life cycles in estuarine fishes? *Fish. Res.* 2000; **46**: 359–371.
 - 18) Thorrold SR, Campana SE, Cynthia M. Peter J and Swart K. Factors determining $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{18}\text{O}$ fractionation in aragonitic otoliths of marine fish. *Geochim. Cosmochim. Acta* 1997; **61**: 2909–2919.
 - 19) Campana SE, Chouinard GA, Hanson JM and Frchet A. Mixing and migration of overwintering Atlantic cod (*Gadus morhua*) stocks near the mouth of the Gulf of St. Lawrence. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 1999; **56**: 1873–1881.
 - 20) Mercier L, Mouillot D, Bruguier O, Vigliola L, Darnaude AM. Multi-element otolith fingerprints unravel sea-lagoon lifetime migrations of gilthead sea bream *Sparus aurata*. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 2012; **444**: 175–194.
 - 21) Zazzo A, Smith GR, Patterson WP, Dufour E. Life history reconstruction of modern and fossil sockeye salmon (*Oncorhynchus nerka*) by oxygen isotopic analysis of otoliths, vertebrae, and teeth: Implication for paleoenvironmental reconstructions. *Earth Planet. Sci. Lett.* 2006; **249**: 200–215.
 - 22) 塚 景記, 角田 出, 菅原義雄, 土屋 剛, 大越健嗣. サケ科魚類の耳石形態の特徴. 石巻専修大学研究紀要 1999; **10**: 1–19.
 - 23) Mosher KH. Racial Analysis of Red Salmon by Means of Scales. *Int. North Pac. Fish. Comm. Bull.* 1963; **11**: 31–56.
 - 24) Volk EC, Schroder SL, Grimm JJ. Otolith thermal marking. *Fish. Res.* 1999; **43**: 205–219.
 - 25) Sato S, Takahashi M, Watanabe N, Kitatsuji D, Chiba T, Imai S, Goda Y, Watanabe M, Fukuwaka M. Preliminary records of otolith-marked chum salmon found the Bering Sea and North Pacific Ocean in 2006 and 2007. *N. Pac. Anadr. Fish Comm. Bull.* 2009; **5**: 99–104.
 - 26) Tanaka E. Estimation of growth parameters, In: Akamine T, Mugiya Y (eds). *Analysis of growth for aquatic animals*. Koseisha Koseikaku, Tokyo. 1997; 62–71 (In Japanese).
 - 27) Katayama S, Yamamoto M, Gorie S. Age compositions of flatfish stocks as determined by a new otolithometric method, its application in the estimation of growth, spawning potential and fisheries management. *Journal of Sea Research* 2010; **64**: 451–456.
 - 28) 伊藤外夫, 石田行正. 鱗相によるさけ・ます類の種の同定と年齢査定. 遠洋水産研究所研究報告 1998; **35**: 131–154.
 - 29) 小林哲夫. サケ *Oncorhynchus keta* (Walbaum) の年齢, 成長および系統に関する研究. 北海道さけ・ますふ化場研究報告 1961; **16**: 1–102.
 - 30) Grainger EH. On the Age, Growth, Migration, Reproductive Potential and Feeding Habits of the Arctic Char (*Salvelinus alpinus*) of Frobisher Bay, Baffin Island. *J. Fish. Res. Bd, Can.* 1953; **10**: 326–370.
 - 31) Campana SE. Chemistry and composition of fish otolith: pathways, mechanisms and applications. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 1999; **188**: 263–297.