スルメイカ *Todarodes pacificus* の平衡石における 研磨度合による日齢査定のバイアス

高木 香織,* 北原 武

(2001年5月28日受付, 2001年12月22日受理)

東京水産大学資源管理学科

Bias in age estimation of Japanese common squid due to grinding degree of statoliths

KAORI TAKAGI* AND TAKERU KITAHARA

Department of Fisheries Resource Management, Tokyo University of Fisheries, Minato, Tokyo 108-8477, Japan

Effects of the degree of statolith grinding on counting the number of daily increments in Japanese common squid *Todarodes pacificus* were studied. We used left statolith from 15 squids of 236-292 mm in mantle length. Statolith that was ground to half its thickness was defined as completely ground and a 0.04 mm thicker stage before complete grinding as incompletely ground. The numbers of increment counted by two readers were compared. Although the readers were unable to count increments in several incompletely ground statolith, all became countable after complete grinding. The average number of increments in incompletely ground statolith by one reader was greater than in complete ones by 24 ($N=11$) and the other reader counted 26 increments less than complete ones ($N=12$). The average difference of the increment number of incompletely ground statolith between readers was 43 ($N=10$). In completely ground statolith, the average number of increments was 188 and 192 ($N=15$) with the difference of only 4 increments between readers. The difference of increment number between incompletely ground statolith seems to be caused by counting increments in the peripheral zone.

キーワード：平衡石，研磨，日齢査定，スルメイカ

スルメイカ *Todarodes pacificus* は，平衡石の輪紋が日齢査定に使用できることが実証されている数少ない頭足類の一種である。¹⁻³⁾ 日齢査定時の平衡石の処理方法について，中村⁴⁾は平衡石の側丘および翼部からの両面を研磨する方法を検討した（平衡石の形態については Fig. 1 を参照）。さらに，中田⁵⁾は，中村の方法に加えて前部面と後部面からの片面および両面を研磨する方法を検討している。現在スルメイカでは，アルゼンチンイレックス *Illex argentinus* の平衡石で用いられている，平衡石の後部面の片面を研磨する方法⁶⁾が主に採用されている。

しかし，研磨および検鏡方法には次に示すようにまだ検討の余地がある。魚住⁷⁾は，同じ平衡石でも輪紋計数者間で日齢査定結果に差が生じる可能性があることと，比較更正の必要性を指摘した。また，Jackson³⁾は平衡石の処理方法による日齢査定結果の差を検討すべきことを指摘した。Lipinski and Durholtz⁸⁾は *Loligo vulgaris*

reynaudii の平衡石について，光学顕微鏡と電子顕微鏡による日齢査定の結果が有意に異なることを示した。さらに，Gonzalez *et al.*⁹⁾はカナダイレックス *Illex illecebrosus* の同一個体から抽出した平衡石を，片面研磨と両面研磨の別々の方法で2人の検鏡者に日齢査定を行わせた。平均日齢に有意差は認められなかったものの，平衡石の大きさによっては日齢査定結果に偏りが認められ，検鏡者によるバイアスが生じることを報告した。

では，特定の処理が施された平衡石に対して，検鏡者の輪紋の計数や認識の仕方に影響を及ぼす要因は何か。平衡石の透過性が高い部位では，観察者が研磨面以外の部分の輪紋も読んでしまうことが指摘されている。¹⁰⁾ これは，平衡石の輪紋は核を中心として同心球状に形成されるので，研磨面で観察された輪紋の他に，研磨面より下側に位置する輪紋も同時に認知する可能性を示唆している。平衡石の縁辺部分では特に透過性が高い。片面のみ研磨を施す場合の指標として，平衡石の中心部分にお

* Tel : 81-3-5463-0565. Fax : 81-3-5463-0563. Email : rd99302@cc.tokyo-u-fish.ac.jp

いては、核が研磨面上に出るまで研磨を施すという明確な定義がある。¹¹⁾しかし、平衡石の縁辺部分の研磨処理は、通常輪紋が見えるまでという基準のもとに行われている。^{6,11,12)}このような基準のもとでは、研磨量に個人差が生じやすいと考えられる。そこで、本研究では、スルメイカの平衡石の片面を研磨した場合について、研磨度合が輪紋計数に及ぼす影響を検討した。

材料と方法

本研究では、1999年12月～2000年2月にかけて、長崎県対馬高浜沖の定置網で漁獲されたスルメイカ15個体を用いた。外套長と体重を測定した後、平衡石を摘出した。用いたスルメイカの外套長は236～292 mmであった (Table 1)。本研究では左側の平衡石を使用し、片面研磨処理を施した。左側の平衡石を後部面 posterior side から見て背丘部 dorsal dome を上向きに置くと、側丘部 lateral dome は左側、不透明で輪紋は形成されない翼部 wing は右側、吻 rostrum は下方に位置する (Fig. 1A)。背丘部には結晶が発達しているうえ、透過性が高い。平衡石を後部面から研磨面したとき、核 (nucleus; N) から postnucleus zone (PNZ), dark zone (DZ), peripheral zone (PZ) の順に、3つに区分された (Fig. 1A)。

平衡石の研磨処理法 平衡石は流動パラフィンに浸して保存し、スライドガラスに固定する前にキシレンとア

ルコールで洗浄した。平衡石は凹面の前部面 anterior side がスライドガラスに接し、凸面の後部面が上になるように Eukitt を使用して固定した (Fig. 1B)。なお、Fig. 1B では、後部面から検鏡した平衡石 (Fig. 1A) について、吻から背丘部の縁辺を通過するよう切断したときの断面を模式的に示した。核から peripheral zone にかけて、初めに粒度の荒い紙やすりで研磨し、次に #6000 のラッピングフィルムシート、最後に表面を滑らかにするために 0.3 μm 相当の #15000 のラッピングフィルムシートで研磨した。研磨は実体顕微鏡 (Nikon SMZ 10) で検鏡しながら行い、必要に応じて光学顕微鏡 (Nikon ECLIPSE 400) のモニター画像で研磨状態を確認した。この時モニターの画像は約 1000 倍に拡大された。

研磨度合の設定 平衡石の研磨状態について、研磨途中と研磨完了の2つの状態を設定した。平衡石を側丘部から実体顕微鏡で検鏡したとき、平衡石の半分の厚さになるまで研磨した状態を研磨完了の状態とした (Fig. 1B)。研磨完了の平衡石は Fig. 1B の実線で示している。研磨していない平衡石は、実線で示した部分に影で示した部分を併せた形態をしており、厚さの平均 ($\pm$ SD) は、核の中心部分 (Fig. 1Ba) で $0.32 (\pm 0.01)$ mm、背丘部 (Fig. 1Bb) で $0.22 (\pm 0.01)$ mm であった。研磨の完了した平衡石の厚さは核の中心部分で平均 $0.16 (\pm 0.01)$ mm、背丘部 dorsal dome で平均 $0.12 (\pm 0.01)$

Table 1. *Todarodes pacificus* used for observation and the number of increments counted in incompletely and completely ground statoliths, by reader X and Y

Stationary by Reader				Number of increments					
No.	Catch date	Sex	Mantle Length (mm)	Incompletely ground			Completely ground		
				Reader X	Reader Y	Difference	Reader X	Reader Y	Difference
1	Dec. 1999	F	254	254	—		213	217	4
2		F	256	196	142	− 54	157	149	− 8
3		F	284	200	155	− 45	160	178	18
4		F	286	224	123	− 101	231	233	2
5	Jan. 2000	M	252	—	176		218	208	− 10
6		F	272	192	205	13	139	160	21
7		F	264	220	164	− 56	200	209	9
8	Feb. 2000	M	236	269	178	− 91	206	184	− 22
9		F	246	—	—		166	181	15
10		F	252	—	144		170	163	− 7
11		F	262	204	179	− 25	185	191	6
12		F	262	277	200	− 77	279	266	− 13
13		F	275	208	204	− 4	188	212	24
14		F	292	—	—		130	132	2
15		F	256	156	164	8	178	191	13
Average			263	218	170	− 43	188	192	4

Fig. 1. Schematic diagrams of a left statolith of *Todarodes pacificus*. The completely ground statolith viewed from posterior side (A). N: nucleus, PNZ: postnucleus zone, DZ: dark zone and PZ peripheral zone. The shady area shows the dark zone. Cross section of the statolith viewed from the side (B). The light and heavy shades show the removed portions of statolith by incomplete and complete grinding, respectively. The lines show the thickness of the statolith in the central part (a) and dorsal dome (b).

mmであった。この研磨完了より各部位で平均0.04 mm厚い状態を研磨途中と定義し、各状態で計数された輪紋数を比較した。研磨途中では、Fig. 1Bの濃影で示した研磨面となった。なお、平衡石の厚さは、実体顕微鏡下40倍で撮影した写真を使用して測定した。

研磨面の観察方法 研磨途中と研磨完了の状態について、核から背丘部にかけての研磨面を光学顕微鏡のモニター画像に拡大して(1000倍)、デジタルカメラ(Nikon COOLPIX 950)で撮影した。スルメイカでは外套長90 mmで既に平衡石に結晶が発達し始め、結晶の伸長方向がやや前部面寄りなので、背丘部の研磨面はやや前部面側に傾斜した(Fig. 1B)。この研磨面の傾斜に合わせて、1つの平衡石につき研磨面の画像を10～14枚ずつ撮影した。画像処理ソフトウェアAdobe Photoshop Limited Edition 5.0(アドビシステムズ社)を用いて複数の研磨面の画像を組み合わせ、輪紋計数用に1つの研磨面画像を作成した。その際、画像のコントラストと明るさを調整した。このようにして研磨途中と研磨完了の標本について作成した合計約30枚の画像をもとに、2人の検鏡者XとYが、核から背丘部の縁辺へ向かって輪紋を計数した。

結 果

研磨度合と輪紋計数 各検鏡者の研磨度合ごとの輪紋計数をTable 1に示す。研磨途中の平衡石でも輪紋の検鏡は可能であった。ただし、peripheral zoneの輪紋が密に検鏡されるか、ぼやけて検鏡されたために観察が不

可能と判断された標本もあった。研磨途中で輪郭が不明瞭な1本の輪紋が、研磨完了では2～3本に検鏡された。また、dark zoneは茶色く不透明で結晶が発達しており、比較的太くコントラストの強い輪紋checkが集中していた。checkは、そのイカにおける生理的变化や環境の変化などを表すといわれている。¹⁰⁾

研磨途中で輪紋を計数することが出来た平衡石は、検鏡者Xで11個、検鏡者Yでは12個であり、それぞれ4個と3個について輪紋を計数できなかった。研磨完了ではすべての平衡石の輪紋が計数された。

研磨途中の平衡石について、検鏡者Xが観察した平均輪紋数(±SD)は218(±36)本であり、研磨完了では188(±38)本であった。両方の研磨度合で輪紋を計数した11個の平衡石について、研磨完了より研磨途中の輪紋数が多い傾向がみられ、その差は平均24本であった。検鏡者Yが推定した研磨途中の平均輪紋数は170(±26)本であり、研磨完了では192(±34)本であった。両方の研磨度合で輪紋を計数した12個の平衡石について、研磨完了より研磨途中の輪紋数が少ない傾向がみられ、その差は平均26本であった。

研磨途中と研磨完了の両方の研磨度合で輪紋を計数した平衡石のうち、両検鏡者に共通して計数された平衡石は10個であった。この10個の平衡石について、検鏡者Xの研磨途中の平均輪紋数は218本、研磨完了では197本であり、検鏡者Yではそれぞれ、170本と195本であった。研磨途中で輪紋が計数できた平衡石では、研磨途中と研磨完了の輪紋数間に、検鏡者X、Yとも

Fig. 2. The surface of an incompletely ground statolith (A), and completely ground statolith (B). N: nucleus, PNZ: postnucleus zone, DZ: dark zone and PZ peripheral zone. Numerals show the increment numbers from the nucleus at white short lines. Scale bar = 100 μ m.

に有意差が認められた ($p < 0.05$, Wilcoxon signed-ranks test)。検鏡者間の輪紋数の差は、研磨途中の 10 標本で平均 43 本、研磨完了の 15 標本で平均 4 本であった。研磨途中では検鏡者 X が検鏡者 Y より輪紋を多く計数する傾向がみられ、有意差が認められた ($p < 0.05$, Wilcoxon signed-ranks test)。一方、研磨完了では各検鏡者の輪紋数の間に有意差は認められなかった。

平衡石部位とバイアスの関係 Fig. 2 に No. 1 (Table 1) の平衡石で、A と B はそれぞれ研磨途中 (A) と研磨完了 (B) の研磨面を示した。この標本について、検鏡者 X は研磨途中で 254 本、研磨完了で 213 本計数した。Fig. 2 の白線は研磨途中と研磨完了における check の位置を示し、数字は核からの輪紋数を示す。check から判断して、これらの輪紋は核からはほぼ同じ本数だけ離れていると考えられる。研磨途中で 157 本目と研磨完了で 152 本目の輪紋までは、両研磨度合の輪紋数の差が最大で 5 本である。研磨途中の研磨面で 209 本目と 221 本目に検鏡された輪紋は、研磨完了では 181 本目と 196 本目に相当すると考えられる。したがって、研磨途中では研磨完了より 25~28 本多く計数したことになる。これは、研磨途中と研磨完了の輪紋計数の差が、透過性の高い peripheral zone で大きくなることを示している。なお、研磨途中では背丘部の輪紋の観察が不可能なため、Fig. 2A のように側丘部を計数する場

合もあった。この側丘部では、背丘部と比べて輪紋が密に観察される傾向がみられた。また、検鏡者 Y はこの No. 1 の平衡石について、研磨途中では輪紋の計数が不可能と判断し、研磨完了では 217 本を計数した。

考 察

研磨途中では、検鏡者が輪紋数を実際よりも多く読む場合と少なく読む場合の両方が認められた。これには、検鏡者の先入観が影響していると考えられる。研磨途中の研磨面は検鏡者 X が撮影した。画像上で peripheral zone の輪紋の輪郭が不明瞭であっても、輪紋が密になっていることをモニター画面で予め認識していたため、検鏡者 X は輪紋を比較的多く計数したと考えられる。一方、検鏡者 Y は撮影された画像のみを観察し、ぼやけて検鏡された輪紋を太い 1 本の輪紋として認識した。したがって、検鏡者 Y は研磨完了より研磨途中で少なく計数したと考えられる。

研磨途中で輪紋の輪郭がぼやけて検鏡される要因のひとつに、透過性の高い peripheral zone では研磨面以外の輪紋が検鏡されて、輪紋に対する焦点を定めることが考えられる。また、コントラストの強い check の影響で、check 付近にある比較的コントラストの弱い輪紋の輪郭があいまいになったことも要因として考えられる。これによって、研磨途中と研磨完了の間で検鏡者の

輪紋計数値に差が生じたと考えられる。したがって、輪紋計数に対するバイアスを減少させるには、核を中心とした輪紋の直径が最大になる箇所を通るように、平衡石の各部位で半分の厚さになるように研磨を施すことが必要である。

片面研磨法での 0.04 mm の研磨量の不足によって輪紋計数にバイアスが生じることを本研究で明らかにした。輪紋の計数をより正確に行うためには、平衡石の両側から研磨することが望ましい。ただし、片面研磨法より時間と技術を要することが問題として挙げられる。また、本研究では平衡石の研磨深度のみに焦点を当てた。今後は、アルゼンチンイレックスで行われたように、⁹⁾ スルメイカにおいても平衡石の処理方法による日齢査定結果の検鏡者間のバイアスを検討することが必要である。

謝 辞

本研究の標本採集にご協力いただいた、長崎県対馬水産業普及指導センター並びに美津島高浜漁協の皆様にお礼申し上げる。

文 献

- 1) Nakamura Y, Sakurai Y. Validation of daily growth increments in statoliths of Japanese common squid *Todarodes pacificus*. *Nippon Suisan Gakkaishi* 1991; **57**: 2007-2011.
- 2) Nakamura Y, Sakurai Y. Age determination from daily growth increments in statoliths of some groups of the Japanese common squid *Todarodes pacificus*. In: Okutani T, O'Dor RK, Kubodera T. (eds) *Recent Advances in Cephalopod Fisheries Biology*. Tokai Univ. Press, Tokyo, 1993; 337-342.
- 3) Jackson GD. Application and future potential of statolith increment analysis in squids and sepioids. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 1994; **51**: 2612-2625.
- 4) 中村好和. スルメイカ平衡石にみられる輪紋の観察. 昭和 60 年度イカ類資源・漁海況検討会議報告, 北海道区水産研究所, 釧路, 1985; 70-73.
- 5) 中田 淳. 平衡石日齢査定による道南日本海のスルメイカの発生時期の推定 (予報). 平成 4 年度イカ類資源・漁海況検討会議報告, 遠洋水産研究所, 清水, 1993; 1-11.
- 6) Uozumi Y, Shiba C. Growth and age of *Illex argentinus* (Cephalopoda: Oegopsida) based on daily growth increment counts in statoliths. In: Okutani T, O'Dor RK, Kubodera T. (eds) *Recent Advances in Cephalopod Fisheries Biology*. Tokai Univ. Press, Tokyo, 1993; 591-605.
- 7) 魚住雄二. 資源研究における平衡石を用いた日齢査定の効用について. 平成 4 年度イカ類資源・漁海況検討会議報告, 遠洋水産研究所, 清水, 1993; 22-40.
- 8) Lipinski MR, Dulholtz MD. Problems associated with ageing squid from their statolith: towards a more structured approach. *Antrart. Sci.* 1994; **6**: 215-222.
- 9) Gonzalez AF, Dawe EG, Beck PC, Rerez JAA. Bias associated with statolith-based methodologies for ageing squid; a comparative study on *Illex illecebrosus* (Cephalopoda: Ommastrephidae). *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 2000; **244**: 161-180.
- 10) Lipinski M, Dawe E, Natsukari Y. Introduction. In: Jereb P, Ragonese S, von Boletzky S. (eds) *Squid Age Determination Using Statoliths* Special Publication No. 1. N.T.R.-I.T.P.P., Sicily, 1991; 77-81.
- 11) Dawe E, Natsukari Y. Practical procedures of squid aging using statolith. In: Jereb P, Ragonese S, von Boletzky S. (eds) *Squid Age Determination Using Statoliths* Special Publication No. 1. N.T.R.-I.T.P.P., Sicily, 1991; 83-95.
- 12) 木所英昭, 檜山義明. 日本海におけるスルメイカの分布海域による成長の差異. 日水研報告 1996; **46**: 77-86.