

ミンクジラ年齢形質（耳垢栓）の採集技術の改善

前田ひかり^{1†}, 加藤秀弘²

Technical improvements of the age character (earplug) collections in common minke whales

Hikari MAEDA¹ and Hidehiro KATO²

To improve the age readability for common minke whales, *Balaenoptera acutorostrata*, we tried to minimize damaged earplugs using newly developed techniques. Because of its soft constitution of the earplug tissue, we examined the feasibility of three different types of treatment to collect the earplugs safely from the external auditory meatus (EAM) as follows: type A treatment, impregnate EAM with gelatin stuff through needle but without opening its corium of the dermis (CD) subsequently cooling them with shaved ice to solidify gelatin stuff; type B, impregnate EAM with gelatin stuff after opening CD then cooling with the ice; type C, impregnate EAM with gelatin stuff after opening CD then cooling with coolant gas. Through a total of 214 trials on the minke whales at the platform of JARPN II programs (coastal components) in 2007 to 2009, proportions of embedding earplugs with gelatin were 50%, 71% and 80% in type A, B and C treatments, respectively. From these experiments, the gelatinized collection is so effective to prevent the earplugs from getting damaged during sampling process particularly among younger animals. This clearly leads to increase the resultant age readabilities in common minke whales, and its wider utilities are also expected in the other rorquals. The present paper also examined growth pattern of the earplug and identified the age readability would remain constant at a high level due to lengthener in both the core and the outer-covering among animals over 11 years old.

Key words: earplug, age determination, common minke whale, rorquals

はじめに

鯨類の年齢は、鯨類の生理生態研究や資源研究および資源管理において重要な基礎的情報である。資源の動向を予測するためには性成熟年齢、年齢組成、死亡率などの生物学的特性値の情報が必要不可欠であるといえ、過去において資源管理に用いられてきた多くの資源モデルにおいても年齢情報は重要な位置を占めている (Mori and Butterworth, 2004; Mori et al., 2006; Mori et al., 2007)。

ヒゲクジラ類の年齢の指標となる形質としては、体長、体の傷跡、脊椎骨の化骨状況、卵巣中の黄白体数 (Mackintosh and Wheeler, 1929)、眼球水晶体 (Olsen and Sunde,

2002)、鼓室骨 (Christensen, 1981; Christensen et al., 1990)、ヒゲ板 (Ruud, 1940)、耳垢栓 (Purves, 1955) などが知られている (大隅, 1967)。なかでも耳垢栓は Purves (1955) により、年齢形質として初めて検討され、それ以後、ヒゲクジラ類では絶対年齢の指標となる耳垢栓に関する研究が盛んに行われた (Nishiwaki, 1957; Nishiwaki et al., 1958; Ichihara, 1959; Ohsumi, 1964; Roe, 1967; Lockyer, 1974; Kato, 1983a, 1983b; Gabriele et al., 2010)。現在でも耳垢栓は優れた年齢形質として用いられている。

年齢形質としての耳垢栓はナガスクジラ科とコククジラ科特有のもので、外耳道内に蓄積する (Fig. 1)。鯨類の耳は目の後方に位置し、耳介はなく耳孔と呼ばれる小さな穴が開いているが、外耳道は表皮直下で一度閉鎖した後再び開口しているため、外耳道に蓄積した耳垢栓は、終生外に出ることはない。耳垢栓はコアと呼ばれる中心部とアウターカバリングと呼ばれる外覆部から構成されている (Fig. 2)。コアはグローブフィンガーと呼ばれる組織の上皮細胞が剥離し、これが角質化することにより栓状に外耳道に蓄積されてゆく。コアには木の年輪のような縞が形成

2011年11月18日受付, 2012年2月3日受理

¹ 東京海洋大学大学院海洋科学技術研究科

Graduate School of Marine Science and Technology, Tokyo University of Marine Science and Technology, Minato, Tokyo 108-8477, Japan

² 東京海洋大学海洋科学部

Department of Ocean Sciences, Faculty of Marine Science, Tokyo University of Marine Science and Technology, Minato, Tokyo 108-8477, Japan

† hmaeda@kaiyodai.ac.jp

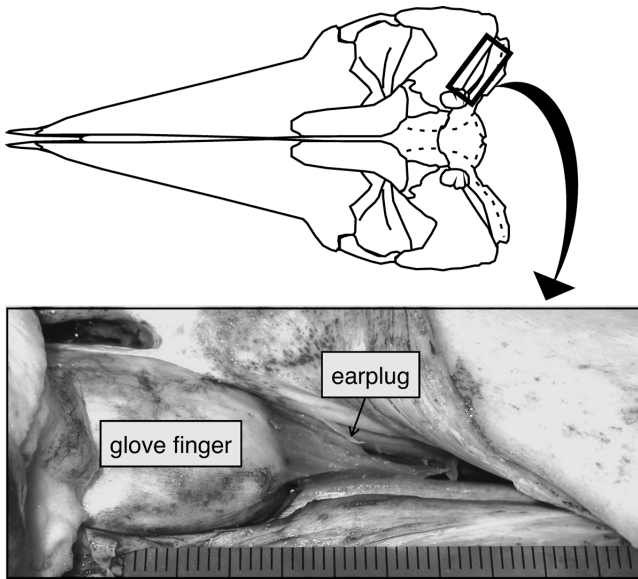


Figure 1. Illustration of the ventral surface of the skull of a common minke whale, and magnified view (below) of exposed external auditory meatus. The ruler is graduated in millimeters.

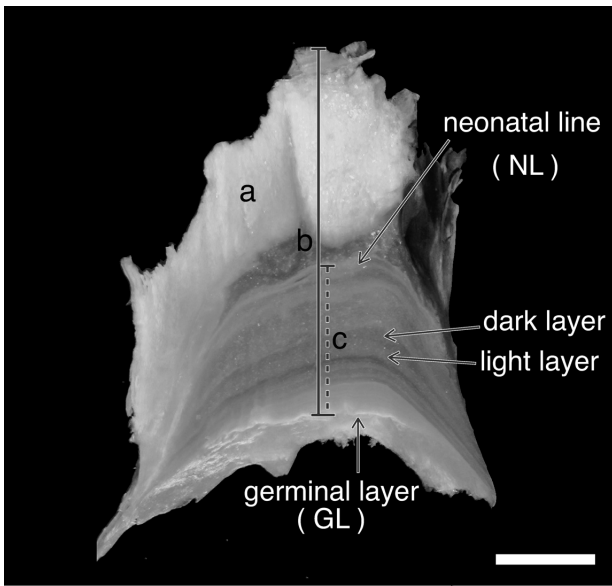


Figure 2. Bisected surface of an earplug of a common minke whale. a: outer covering, b: total length of the earplug, c: earplug core length. Scale bar: 5 mm.

されており、明帯と呼ばれる層は索餌期に、暗帯と呼ばれる層は繁殖期に形成される。この明帯と暗帯の一对を成長層と呼ぶ (Fig. 2)。耳垢栓の組織学的観察の結果から、脂肪含有量は暗帯で少なく、明帯では多いことが報告されており (Roe, 1967)、また、耳垢栓の化学分析の結果から、カルシウム量は暗帯では少なく、明帯では多い傾向を示すことも報告されている (濱田ほか, 1989)。多くのヒゲク

ジラ類では低緯度海域の繁殖場 (冬期) と高緯度海域の索餌場 (夏期) をほぼ一年周期で回遊することから、成長層にはこのような生活サイクルが反映され (加藤, 1990)、一つの成長層が一年をあらわし、またコアの先端部には生まれた時に形成される出生線 (以下 NL) と基部には萌芽層 (以下 GL) と呼ばれる最近にできた層が形成されている。

ナガスクジラ科およびコクジラ科では耳垢栓を用いて年齢査定が行われてきたが、北太平洋産のミンクジラ *Balaenoptera acutorostrata* の耳垢栓は年齢査定率が低く、しばしば資源動態などの解析に支障をきたしてきた (Kato, 1992)。年齢査定率を向上させ、より精度の高い年齢情報を得ることは資源動態などの解析のために不可欠であるが、査定率を向上させるためには、耳垢栓の採集から年齢査定を行うまでのどの過程に査定率低下の原因があり、それをどう改善すべきなのかを明らかにし、年齢査定法の検討を行っていく必要がある。

ミンクジラ耳垢栓において査定できない耳垢栓の要因は、大きく分けて二つある。一つは耳垢栓自身の性状によるもの、すなわち成長層が形成されていないまたは、成長層が部分的にしか形成されていないなどによるもの、そしてもう一つは採集および切片作成段階における破損によるものである (前田未発表)。年齢査定率は体長が大きくなるほど高くなる傾向がみられ、特に体長5m台より小型の個体では物理的な破損により査定できない割合が他の体長階級に比べ高いことがわかっている (前田未発表)。

従来、耳垢栓の採集は外耳道を露出させ、外耳道を切り開き、内部の耳垢栓をピンセットで直接つまみ出す方法で行われてきたが、ミンクジラの耳垢栓は小さく、特に小型個体の耳垢栓は軟質で、従来法では耳垢栓を完全な状態で採集することには困難が多い。そこで、本研究では、採集段階における物理的な破損を防ぎ年齢査定率を向上させることを目的として、耳垢栓採集方法の改善に向けた実験を試みた。また、採集方法を改善する上で耳垢栓自体の伸長が重要であることから成長に伴う耳垢栓の伸長についても検討を行った。

材料と方法

材料

2007年から2009年の4月から5月にかけて実施された第二期北西太平洋鯨類捕獲調査 (以下 JARPN II) 三陸沖鯨類捕獲調査および同年の9月から10月にかけて実施された JARPN II 釧路沖鯨類捕獲調査にて耳垢栓の採集を行った (Bando et al., 2008; Kishiro et al., 2008; Yasunaga et al., 2009, Yoshida et al., 2009; Kishiro et al., 2010; Yasunaga et al., 2010)。実験は上記調査で捕獲された計214個体のミンクジラを対象に実施した (Table 1)。

Table 1. Number of earplugs examined in the present survey by program in each year.

Year	Research program	Number of individuals	Experiment*
2007	JARPN II Coastal component off Sanriku	36	A
2007	JARPN II Coastal component off Kushiro	42	B
2008	JARPN II Coastal component off Sanriku	47	
2008	JARPN II Coastal component off Kushiro	20	
2009	JARPN II Coastal component off Sanriku	40	C
2009	JARPN II Coastal component off Kushiro	29	

*:Type A treatment; impregnate external auditory meatus (EAM) with gelatin stuff through needle but without opening its corium of the dermis (CD) subsequently cooling them with shaved ice to solidify gelatin stuff, type B; impregnate EAM with gelatin stuff after opening CD then cooling with the ice, type C; impregnate EAM with gelatin stuff after opening CD the cooling with the coolant gas.

実験方法

採集方法の技術改善を行うために、外耳道内に物質を流し込み、耳垢栓を包埋する方法を用いた三方式の実験 (A, B, C) を行った。実験は年または調査によってA方式、B方式、C方式と順を追って改良し実施した (Table 1)。また、実験は左側外耳道内の耳垢栓で行い (以下実験採集)、右側外耳道内耳垢栓は従来の方法で採集した (以下通常採集)。包埋物質の選択は1) 耳垢栓の構造を壊さない、2) 耳垢栓に対して接着性がある、3) ホルマリン保存が可能である、4) 透明であるなどの条件を考慮しゼラチンとした。ゼラチンの凝固時間を短縮し、かつ粘度を強化するために、濃度40%に調整して使用した。ゼラチンは新田ゼラチン株式会社製のゼラチンRRを使用した。ゼラチンはシリンジ (テルモ株式会社, 50ml, ストレートタイプ) に吸引させ (約5頭分)、シリンジ先端にはピペットチップ (ビーエム株式会社, カタログNo. 115, スタンダードタイプ) をシリコンチューブでつないで使用した。

耳垢栓の採集は一般的に、鯨体の頭部が切り離され頭部解剖の際に行う。通常採集では、外耳道を露出させ、メスとピンセットを用いて、外耳道膜を切り開き、内部の耳垢栓を確認し、ピンセットを用いて直接耳垢栓をつまみ、グローブフィンガーとともに採集する。

A方式は、外耳道を切り開かず、外耳道に小さな穴を開け、シリンジを用いて内部にゼラチンを注入した。ゼラチンをより速く凝固させるために氷をいれたビニール袋を外耳道の上に置き10分から15分程度放置した。その後、メスとピンセット、解剖ハサミを用いて外耳道膜を骨から剥がし、グローブフィンガーとともに耳垢栓を外耳道膜ごと採集した。B方式は外耳道を切り開き、内部の耳垢栓の状態を確認後、ゼラチンを注入し、ゼラチンをより速く凝固させるために氷をいれたビニール袋を外耳道の上に置き10分から15分程度放置した。ゼラチンが固まったことを確認した後、ゼラチンを外耳道膜から剥がし、グローブフィンガーごと包埋した耳垢栓を採集した。C方式はB方

式と同様に外耳道内にゼラチンを注入後、冷却スプレー (ライテック株式会社, ローランド共通ガスボンベ100g) を用いてゼラチンの凝固をより促進した。ゼラチンが固まったことを確認した後、ゼラチンを外耳道膜から剥がし、グローブフィンガーごと包埋した耳垢栓を採集した。

通常採集、実験採集にかかわらず、採集した耳垢栓およびグローブフィンガーを10%中性ホルマリンにて保存、固定した。また、採集した時点の耳垢栓の破損の有無や破損の原因などを記録した。実験を行った耳垢栓については、包埋が成功したのかどうかを確かめるために、ゼラチンで包埋されている状態を観察した。耳垢栓先端部分は採集時に最も破損しやすく、年齢査定を行う上で重要なNLが形成されているため、耳垢栓が完全にゼラチンで覆われている状態および、完全ではないが少なくとも耳垢栓の先端部分がゼラチンで覆われている状態を包埋成功とした。一方で、耳垢栓先端部分以外がゼラチンで覆われているまたは全くゼラチンで覆われていない状態を包埋不十分とした。包埋が不十分であった耳垢栓については、その原因について注入失敗 (外耳道内へのゼラチン注入方法や注入量に問題があり包埋が不十分であった)、冷却不十分 (ゼラチンが十分に凝固していない状態で採集したため包埋が不十分であった)、採集時失敗 (ゼラチンがはがれてしまうなど採集時に問題があり包埋が不十分であった) の3項目に分類した。

実験に用いた耳垢栓の内、ゼラチン包埋に成功した耳垢栓の割合を包埋成功率とした。

年齢査定方法

採集した耳垢栓を長軸に沿ってメスで浅くカットした後、成長層が明瞭に現れるまで砥石で研磨し耳垢栓切片を作成した。Lockyer (1984) に従い、成長層は明帯と暗帯の一対とし、成長層は1年に1層形成されるとして成長層の計数を行った。成長層の計数は双眼実体顕微鏡 (Olympus, SZX10) 下で倍率3.15から31.5で行った。NLからGLまでのすべての成長層を計数できた耳垢栓を査定できた耳垢栓

とした (Fig. 2). 査定できなかった耳垢栓については, その原因を成長層形成不良 (成長層が認識できない, または成長層が部分的にしか形成されていないなどの理由で査定できなかった耳垢栓), 破損 (解剖時, 採集時また切片作成時に破損したため査定できなかった耳垢栓), NL欠損 (破損のうちNLが欠損していたため査定できなかった耳垢栓) の3項目に分類して記録した.

Kato (1983a) は, ミンクジラの近縁種であるクロミンクジラ *B. bonaerensis* の年齢査定結果およびコアの形態に左右の差はないと報告していることから, 本研究でも左右の耳垢栓の査定率に形態による差はないとして以後の解析を行った. 年齢査定率は実験を行った個体のうち年齢査定ができた個体の割合とした. 体長階級は1m単位で集計した.

計測方法

耳垢栓のサイズを計測するために, 耳垢栓切片標本はすべて双眼実体顕微鏡に付属のデジタルカメラ (Nikon, D90) で写真を撮り, 画像解析ソフト ImageJ (National Institute of Health, USA) を用いて耳垢栓長とコア長をmm単位で計測した (Fig. 2). ここで, 耳垢栓長とコア長の差は先端部分のアウトカバリングの長さとした.

結果

包埋成功率 (Table 2)

実験方法をA方式からB方式さらにC方式へ改良するにつれ, 包埋成功率が50% (18/36) から71% (77/109) 80% (55/69) と段階的に向上した (χ^2 test, $p < 0.05$). A方式では外耳道内へのゼラチン注入がうまくいかず包埋が不十分である割合が最も多かった. A方式に比べて, B方式とC方式では注入失敗が大幅に減少した. B方式では注入失敗が減少し包埋成功率が向上したが, 冷却不十分が原因となる包埋不十分の割合はA方式と変わらず, B方式の失敗要因の中では最も高い割合を示した. C方式では, すべての実験のうち最も高い包埋成功率となった. 冷却スプレーを併

Table 2. Relative proportion (%) of the case in which gelatinized treatments were successfully done.

	Treatment		
	A (n=36)	B (n=109)	C (n=69)
Success	50	71	80
Failure 1	28	3	6
Failure 2	14	13	0
Failure 3	8	13	14

Failure 1: Due to insufficient injecting of the gelatin stuff.
 Failure 2: Due to insufficient cooling of the gelatin stuff.
 Failure 3: Due to damage at the picking stage.

用したことにより冷却不十分による包埋不十分はなくなり, 採集時に包埋不十分に至る割合が最も多くみられた.

年齢査定率の改善 (Fig. 3)

比較的包埋成功率が高かったB方式およびC方式に関して体長階級別にゼラチン包埋を行った左外耳道耳垢栓と通常採集を行った右外耳道耳垢栓それぞれの年齢査定率および査定できなかった内訳の割合を調べたところ, 左右ともに年齢査定率は体長階級が大きくなるにつれ高くなった. また, 成長層が認識できないまたは明瞭に形成されていない等の成長層形成不良により査定できない割合は, 4m台の階級で最も多く, 体長階級が上がるにつれその割合は減少する傾向が見られた. どの階級においても通常採集した右側よりも実験採集した左側の査定率の方が高い結果となった. 7m未満の体長階級では, 採集時破損, 特にNL欠損部分が改善されゼラチン包埋耳垢栓の査定率が向上した.

同一個体耳垢栓のペアを左右で比較すると, 通常採集を

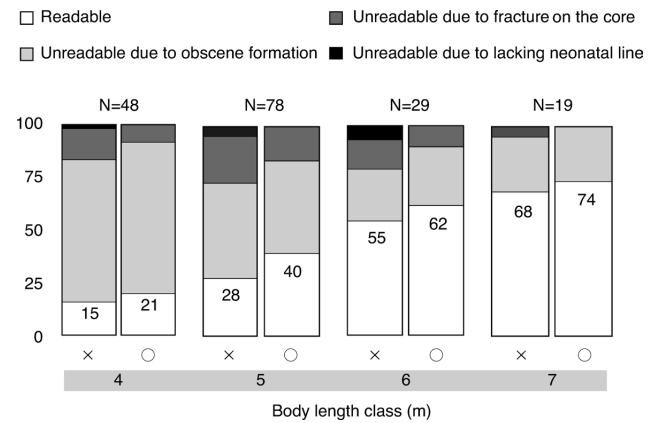


Figure 3. Comparison between proportions (%) of readable earplugs by state of preservation. ×: without gelatinized treatment, ○: with gelatinized treatment (including types B and C).

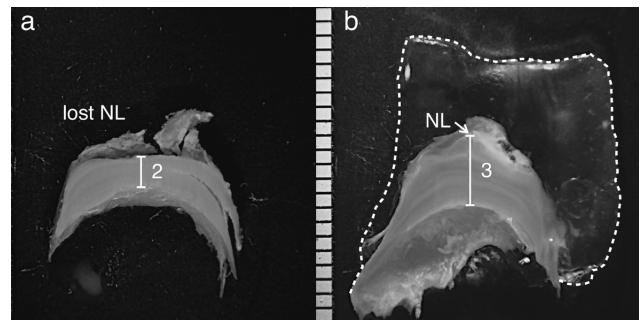


Figure 4. Comparison of age readings of earplugs of a single animal (a) without gelatinized treatment and (b) with gelatinized treatment. Dotted line delimits the gelatinized area. The ruler at the center is graduated in millimeters. NL: neonatal line.

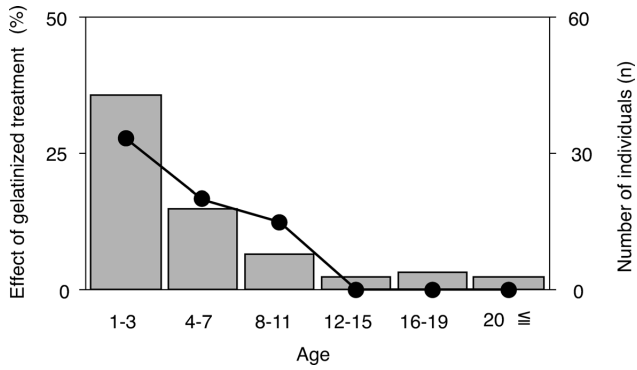


Figure 5. Changes in proportion of animals whose age readability was successfully improved through the gelatinized treatment with age class. The column represents the number of individuals of which layers were observed in both earplugs in each age class.

行った右側耳垢栓は2層の成長層が認められたが、NLが採集時に破損したため欠損しており、年齢データをとることができなかった (Fig. 4)。一方、ゼラチンで包埋した左側耳垢栓は完全な状態で採集できたため、NLからGLまでのすべての成長層を計数することができたことから、この耳垢栓は年齢データがとれ査定できたといえる。

このように同一個体の右外耳道耳垢栓 (通常採集)、左外耳道耳垢栓 (実験採集) とともに成長層が認められるが、通常採集では破損特にNLが欠損しているため査定を行うことができず、実験採集した耳垢栓では年齢査定を行うことができたという左右外耳道耳垢栓の組み合わせは、耳垢栓をゼラチンで包埋したことで年齢査定率を改善できたと考えられた。そこで、左右外耳道耳垢栓の両方に成長層が形成されている個体のみを抜き出し、その内、実験を行った左の耳垢栓は年齢査定が行えたが、右の耳垢栓では査定ができなかった個体の割合を修復率と定義し、実験の効果を検証した (Fig. 5)。

年齢階級別に見ると、修復率は1-3歳の年齢階級で最も高く、その後年齢が大きくなるにつれ修復率は低下し、12歳以降の年齢階級では修復率は0となった。

耳垢栓の成長依存的形成特性 (Fig. 6)

各年齢階級の平均耳垢栓長は1-3歳階級で6.19mm、20歳以上では24.19mmと年齢とともに緩やかに伸長するが、各年齢階級の平均コア長は1-3歳階級で3.79mm、8-11歳階級では11.09mmと緩やかに伸長した後、12歳以降では頭打ちとなった。

また、耳垢栓コアの外側を覆うアウターカバリングの長さは、1-3歳階級では平均2.40mmであるが、20歳以上の体長階級では平均16.47mmとなり、年齢に伴って長くなることが示された。

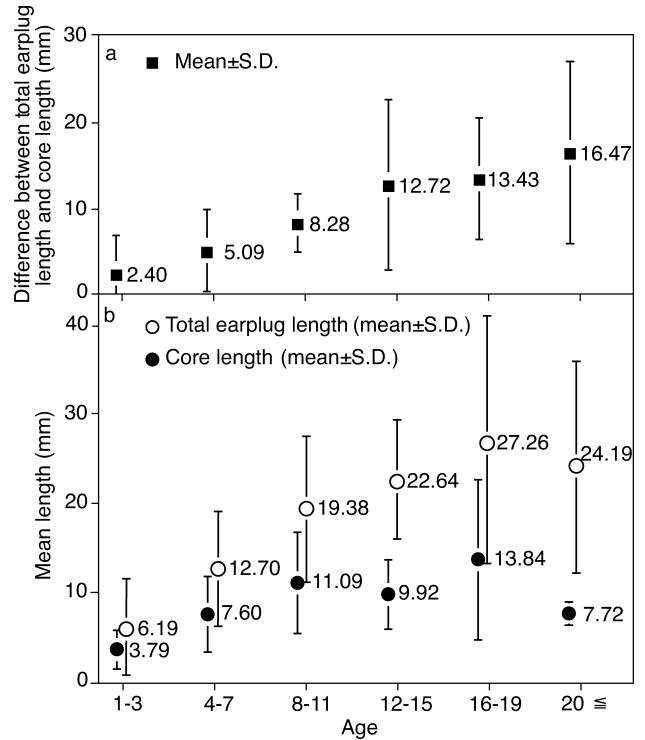


Figure 6. Growth of the earplug in relation to age. a: changes in gaps of length between the core length and the total length of earplug and its standard deviation in relation to age classes. b: changes in length of the earplug and the earplug core in relation to age classes. Bars represent standard deviation in each age class.

考 察

耳垢栓採集方法の改善

A方式、B方式、C方式と耳垢栓採集方法を改良していくにつれて明白に包埋成功率は向上した。A方式では外耳道膜を切り開かずにゼラチンを注入し、外耳道ごと採集するという方法であったため、内部の耳垢栓や注入状況が把握できず、注入失敗が多くみられた。しかし、B方式では外耳道を切り開き内部の耳垢栓の状態を確認しゼラチンの注入を行ったためA方式の課題であった注入失敗が減少したと考えられた。最も包埋成功率が高かったC方式では、冷却スプレーを用いたことで、瞬時に表面を凝固させることができた。したがって、水で冷却していたB方式では凝固が難しかった耳垢栓下面側のゼラチンの温度もスムーズに下げることができ冷却不十分による失敗を改善できた。C方式では、A方式で課題となった注入失敗および冷却不十分による失敗は改善されたが、採集時失敗はB方式と同程度みられた。C方式における採集時失敗は、冷却スプレーがゼラチン包埋部分だけではなく外耳道膜部分にもかかってしまうため、外耳道膜が硬く凍結し、採集時にゼラチンを外耳道膜から剥がすことが難しくなることに起因していると考えられた。外耳道膜に冷却スプレーがかからないよ

うにするために、冷却スプレーの噴射の角度や範囲を調節できるようなノズルに改良することで、採集時失敗を改善することができ、さらに包埋成功率を向上させることができる可能性がある。

年齢査定方法の改善

耳垢栓コア長は、12歳までは年齢とともに長くなる傾向がみられるが、12歳以降は頭打ちとなる傾向がみられた。一方で、耳垢栓長は年齢とともに長くなり、かつ耳垢栓長とコア長の差は年齢とともに大きくなることが示された。若い耳垢栓ではコアの周りを覆うアウターカバリングが形成されていないが、年齢とともにコアの周りを覆うアウターカバリングは厚くなり耳垢栓自体がしっかりすると考えられた。年齢査定を行う上で重要となるNLはコアの先端つまりアウターカバリングとコアとの境目に形成されているため、アウターカバリングの形成が十分ではない耳垢栓はNL欠損や破損などの物理的破損のリスクが大きいと考えられた。年齢査定ができなかった原因の内訳を体長階級別にみると通常採集を行った右側耳垢栓では、特に体長7m未満の個体でNL欠損および破損が見られた。一方、ゼラチン包埋を行った左側耳垢栓ではNL欠損はなくなり、破損も減少した。これらのことからゼラチン包埋法はアウターカバリングが十分に形成されていないと考えられる7m未満の個体で有効であることが示唆された。

左右耳垢栓ともに成長層が認められる個体のうち実験を行った左耳垢栓のみ査定ができた個体の割合を示す修復率は1-3歳で最も高く、その後低下し12歳以降は0となった。つまりゼラチン包埋は1-3歳でその効果が最も高く、12歳以降はゼラチン包埋の効果が少ないと考えられる。以上のことからゼラチン包埋はアウターカバリングの形成が未熟な若齢個体の採集時破損を防ぎ、結果として年齢査定率向上に貢献できることが示唆された。従来若齢個体では査定率が低いと言われていたが(前田未発表)、若齢個体でも包埋法を用いることによって、年齢査定が可能になると考えられた。

一方で、7m階級の個体および12歳以上の個体では、査定率の改善があまりみられなかった。このような個体ではアウターカバリングが発達し、耳垢栓自体がしっかりしているため、通常採集でもNL欠損や破損は起こりにくく、通常採集のまま査定できると考えられた。

包埋法(C方式)を用いるかどうかの判断は、本研究結果の体長(7m未満)と外耳道を切り開いた時点での耳垢栓の状態つまりアウターカバリングの形成状況および破損の状態を目安に決定すると良いと考えられる。

他鯨種への応用と今後の課題

ニタリクジラ *B. edeni* の性的未成熟個体耳垢栓は破損しやすく、イワシクジラ *B. borealis* 耳垢栓は性成熟に達しているか否かにかかわらず採集時の物理的破損によってNL欠損が多く、また、その耳垢栓自体の厚みが薄く分散しやす

いことが分かっている(前田未発表)。

ゼラチン包埋法は他の鯨種においてもそれぞれの耳垢栓の成長様式や形状、硬度などの特性に応じ、調整して利用すれば物理的な破損を防ぎ、年齢査定率向上に貢献できることは明白である。特にバラバラになりやすい性質を持つイワシクジラ耳垢栓ではゼラチンの接着効果に注目して採集方法の改善を行うことで年齢査定率向上につながると考えられる。しかし、ミンククジラ耳垢栓よりも耳垢栓サイズが約10mm以上大きいニタリクジラおよびイワシクジラ耳垢栓に包埋法を応用するためには、さらに詳しくそれぞれの耳垢栓の特徴や外耳道の大きさなどを検討する必要がある。また、物理的破損を防ぐためには、外耳道を露出させる際の解剖方法に注意を払う必要があることも報告されており(銭谷・加藤, 2001)、この方面での検討も必要である。

本研究では、物理的破損を防ぎ年齢査定率の向上を目指したが、今後は耳垢栓自体の性状により、査定できない耳垢栓の年齢査定技術の改善が求められる。現在は、双眼顕微鏡を用いて耳垢栓の成長層を人間の目で計数して年齢査定を行っている。過去には成長層を読みやすくするために染色や漂白(Lockyer, 1974)、画像解析による査定(Kato et al., 1988)などが試みられたが、実用には至っていない。耳垢栓の化学分析を行った研究では、カルシウム量は暗帯では少なく、明帯では多い傾向を示し、成長層の形成とカルシウム量変動の関連性が示唆されている(濱田ほか, 1989)。化学分析が耳垢栓による年齢査定に有用な情報を与えていることから、今後は化学分析とともに組織学的な視点からも新しい査定方法の可能性を検討していく必要がある。

謝辞

実験をご支援いただいた財団法人日本鯨類研究所藤瀬良弘理事長ほか、歴代JARPN II沿岸域調査団長を務められた同所坂東武治主任研究員、安永玄太主任研究員、独立行政法人水研センター国際水産資源研究所木白俊哉室長、同所吉田英可主任研究員、田端茂夫氏ほか歴代調査員諸氏、ならびに事業員諸氏、また、ご指導とご助言を頂いた銭谷亮子博士に感謝する。また、本論文作成にあたり、終始適切な御助言を賜った東京海洋大学田中祐志准教授に厚くお礼申しあげる。

引用文献

Bando, T., H. Kato, T. Kishiro, M. Goto, G. Yasunaga, T. Saito, S. Tabata, Y. Morita, R. Okamoto, H. Maeda, M. Inagaki, S. Nagatsuka, T. Ebisui, K. Nakai, A. Matsumoto, A. Gokita and S. Kawahara (2008) Cruise report of the second phase of the Japanese whale research program under special permit in the western North Pacific (JARPN II) in 2007- coastal component off Sanriku. Paper SC/60/O6 presented to the 60th IWC scientific committee meeting (available at IWC of-

- fic: secretariat@iwcoffice.org), 25pp.
- Christensen, I. (1981) Age determination of minke whales, *Balaenoptera acutorostrata*, from laminated structures in the tympanic bullae. Rep. Int. Whal. Commn., **31**, 245–253.
- Christensen, I., T. Haug and Ø. Wiig (1990) Morphometric comparison of minke whales *Balaenoptera acutorostrata* from different areas of the North Atlantic. Mar. Mamm. Sci., **6**, 327–338.
- Gabriele, C. M., C. Lockyer, J. M. Straley, C. M. Jurasz and H. Kato (2010) Sighting history of a naturally marked humpback whale (*Megaptera novaeangliae*) suggests ear plug growth layer groups are deposited annually. Mar. Mamm. Sci., **26**, 443–450.
- 濱田典明・山崎素直・戸田昭三・藤瀬良弘・銭谷亮子 (1989) ミンクジラ耳垢栓の蛍光X線分析. 第38年会分析化学会講演要旨集, 仙台, 25–26.
- Ichihara, T. (1959) Formation mechanism of ear plug in baleen whales in relation to glove-finger. Sci. Rep. Whales Res. Inst., **14**, 107–135.
- Kato, H. (1983a) Comparison of paired earplugs of Antarctic minke whale. Paper SC/A83/AW3 presented to the IWC minke whale aging workshop (available at IWC office: secretariat@iwcoffice.org), 14pp.
- Kato, H. (1983b) Relationship between earplug growth and skull growth in the Antarctic minke whale. Paper SC/A83/AW5 presented to the IWC minke whale aging workshop (available at IWC office: secretariat@iwcoffice.org), 6pp.
- 加藤秀弘 (1990) ヒゲクジラ類の生活史. 特に南半球産ミンクジラについて. 「増補版海の哺乳類—その過去・現在・未来」宮崎信之・粕谷俊雄編, サイエンス社, 東京, 128–150.
- Kato, H. (1992) Body length, reproduction and stock separation of minke whales off northern Japan. Rep. Int. Whal. Commn., **42**, 443–453.
- Kato, H., M. Sone, M. Kashiwa and H. Tokiwa (1988) Summary of preliminary experiments using an image processing system to enhance the age determination of the southern minke whale from earplug. Rep. Int. Whal. Commn., **38**, 269–272.
- Kishiro, T., H. Kato, H. Yoshida, T. Miyashita, T. Iwasaki, Y. Kanaji, T. Ryono, S. Tabata, Y. Morita, R. Okamoto, H. Maeda, S. Nagatsuka, N. Ogawa, K. Nakai, T. Ebisui, A. Matsumoto, A. Gokita, H. Kiwada and S. Kawahara (2008) Cruise report of the second phase of the Japanese whale research program under special permit in the western North Pacific (JARPN II) in 2007 – coastal component off Kushiro. Paper SC/60/O7 presented to the 60th IWC scientific committee meeting (available at IWC office: secretariat@iwcoffice.org), 33pp.
- Kishiro, T., H. Kato, H. Yoshida, G. Yasunaga, S. Tabata, G. Nakamura, H. Maeda, S. Inoue, N. Miyakawa, R. Okamoto, H. Oikawa, H. Watanabe, T. Iwasaki, Y. Kanaji, S. Minamikawa, S. Otani, H. Ishikawa, N. Kanda, A. Gokita, K. Yamazaki and Y. Yonehara (2010) Cruise report of the second phase of the Japanese whale research program under special permit in the western North Pacific (JARPN II) in 2009 (part II) – coastal component off Kushiro. Paper SC/62/O6 presented to the 62nd IWC scientific committee meeting (available at IWC office: secretariat@iwcoffice.org), 13pp.
- Lockyer, C. (1974) Investigation of the ear plug of the southern sei whale, *Balaenoptera borealis*, as a valid means of determining age. J. Cons. Int. Explor. Mer., **36**, 71–81.
- Lockyer, C. (1984) Review of baleen whale (Mysticeti) reproduction and implications for management. Rep. Int. Whal. Commn., **6**, 27–50.
- Mackintosh, N. A. and J. F. G. Wheeler (1929) Southern blue and fin whales. Discovery Rep., **1**, 257–540.
- Mori, M. and D. S. Butterworth (2004) Consideration of multispecies interactions in the Antarctic: a preliminary model of the minke whale – blue whale–krill interaction. Afr. J. Mar. Sci., **26**, 245–259.
- Mori, M., D. S. Butterworth and T. Kitakado (2006) Application of ADAPTVPA to Antarctic minke whales in the JARPA research area. Paper SC/D06/J14 presented to the JARPA review meeting (available at IWC office: secretariat@iwcoffice.org), 32pp.
- Mori, M., D. S. Butterworth and T. Kitakado (2007) Further progress on application of ADAPT-VPA to Antarctic minke whales. Paper SC/59/IA13 presented to the IWC scientific committee meeting (available at IWC office: secretariat@iwcoffice.org), 32pp.
- Nishiwaki, M. (1957) Age characteristics of ear plugs of whales. Sci. Rep. Whales Res. Inst., **12**, 23–32.
- Nishiwaki, M., T. Ichihara and S. Ohsumi (1958) Age studies of fin whale based on ear plug. Rep. Int. Whal. Commn., **13**, 155–169.
- Ohsumi, S. (1964) Examination on age determination of the fin whale. Sci. Rep. Whales Res. Inst., **18**, 49–88.
- 大隅清治 (1967) 鯨類の年齢査定. 日水誌, **33**, 788–798.
- Olsen, E. and J. Sunde (2002) Age determination of minke whales (*Balaenoptera acutorostrata*) using the aspartic acid racemization technique. Sarsia, **87**, 1–8.
- Purves, P. E. (1955) The wax plug in the external auditory meatus of the Mysticeti. Discovery Rep., **27**, 293–302.
- Roe, H. S. J. (1967) Seasonal formation of laminae in the ear plug of the fin whale. Discovery Rep., **35**, 1–30.
- Ruud, J. T. (1940) The surface structure of the baleen plates as a possible clue to age in whales. Hvalråd. Skr., **23**, 1–23.
- Yasunaga, G., H. Kato, T. Kishiro, H. Yoshida, H. Ishikawa, M. Goto, S. Tabata, H. Maeda, G. Nakamura, S. Inoue, N. Miyakawa, T. Tamura, S. Kumagai, T. Iwasaki, Y. Kanaji, H. Watanabe, H. Hiruta, K. Yamazaki, Y. Yonehara and H. Oikawa (2010) Cruise report of the second phase of the Japanese whale research program under special permit in the western North Pacific (JARPN II) in 2009 (part II) – coastal component off Sanriku. Paper SC/62/O5 presented to the 62nd IWC scientific committee meeting (available at IWC office: secretariat@iwcoffice.org), 20pp.
- Yasunaga, G., H. Kato, T. Kishiro, H. Yoshida, S. Nishiwaki, T. Saito, S. Tabata, R. Okamoto, H. Maeda, G. Nakamura, S. Inoue, S. Otani, T. Iwasaki, Y. Kanaji, T. Mogoe, H. Murase, A. Wada, K. Nakai, A. Matsumoto, A. Gokita, K. Yamazaki, H. Oikawa, K. Onodera, K. Shiraishi and H. Nagashima (2009) Cruise report of the second phase of the Japanese whale research program under special permit in the western North Pacific (JARPN II) in 2008 (part II) – coastal component off Sanriku. Paper SC/61/O6 presented to the 61st IWC scientific committee meeting (available at IWC office: secretariat@iwcoffice.org), 24pp.
- Yoshida, H., H. Kato, T. Kishiro, T. Miyashita, T. Iwasaki, Y. Kanaji, G. Yasunaga, H. Oikawa, T. Ryono, S. Tabata, R. Okamoto, H. Maeda, A. Matsumoto, N. Ogawa, S. Nagatsuka, S. Inoue, H. Hiruta, A. Gokita and H. Matsunaga (2009) Cruise report of the second phase of the Japanese whale research program under special permit in the western North Pacific (JARPN II) in 2008 (part II) – coastal component off Kushiro. Paper SC/61/O5 presented to the 61st IWC scientific committee meeting (available at IWC office: secretariat@iwcoffice.org), 10pp.
- 銭谷亮子・加藤秀弘 (2001) 耳垢栓を用いたヒゲクジラ類の年齢査定技術—南半球産ミンクジラを例として—. 海洋と生物, **23**, 383–388.