

# マツカワ *Verasper moseri* 仔稚魚の耳石日周輪形成の確認 および輪紋形成開始と水温の関係

城 幹昌<sup>1,†</sup>, 松田泰平<sup>1</sup>, 吉村圭三<sup>1</sup>

## Daily otolith ring formation and the relationship between water temperature and the onset of ring formation of barfin flounder *Verasper moseri* larvae and juveniles

Mikimasa JOH,<sup>a\*</sup> Taihei MATSUDA and Keizo YOSHIMURA

重要な沿岸漁業資源であるマツカワ *Verasper moseri* 仔稚魚を受精卵から飼育し、扁平石と礫石の微細構造の観察と、輪紋の形成日周性の確認を行った。両耳石とも、中央には特徴的な輪紋（チェック）が観察され、これは仔魚の開口と同じタイミングで形成され、発育初期の水温が低い方が仔魚の発育が遅く、輪紋形成開始も遅れることが確認された。チェックの外側には明瞭な輪紋が観察され、日齢と輪紋数の関係から、両耳石上に形成される輪紋は日周輪と判断された。眼球移動開始期仔魚の扁平石上に観察されはじめた二次原基は、仔稚魚期を通じて礫石上には観察されず、仔稚魚期を通じた日周輪解析に適していると判断された。北海道周辺でのマツカワ資源は人口種苗の大量放流開始後、増大し、最近では、天然再生産によって生み出された可能性が高い稚魚が採集され始めている。本研究はこういった天然稚魚の未詳の生態を明らかにするうえで重要な基礎を提供するものである。

キーワード： *Verasper moseri*, 異体類, 開口チェック, 仔稚魚, 耳石日周輪, マツカワ

The present study reared larvae and juveniles of barfin flounder *Verasper moseri*, observed otolith microstructure and validated daily formation of micro rings on sagittae and lapilli. For both otoliths, the check (distinct ring) was observed near the otolith core and the timing of check formation coincided with mouth opening. In lower water temperature, larval development became slower and the timing of check formation was delayed. Clear rings were formed outside the check, and the relationship between the age and the number of rings indicated that they were formed daily. After the onset of metamorphosis, secondary primordia were formed on the margin of sagittae. In contrast, there was no secondary primordium on lapilli throughout larval and juvenile phases. Thus, we suggest that lapilli are suitable for the otolith microstructure analysis throughout larval and juvenile life. The population of barfin flounder has been enhanced by the mass release of hatchery-produced juveniles that started in 2006. Recently, wild juveniles are found in the shallow water around Hokkaido. This study provides the key to clarifying unknown biology of field-caught juveniles.

**Key words:** flatfish, juveniles, larvae, mouth opening check, otolith daily ring, *Verasper moseri*

### はじめに

魚類の資源加入量変動は初期生活期（仔稚魚期）の生き残りでおおむね決定されると考えられており、様々な魚種について仔稚魚期の生残に影響する要因の研究が行われて

きている（Houde, 1987）。仔稚魚の耳石上には日周輪が形成されることが多くの魚種で確認されており（Hayashi et al., 1989; Joh et al., 2005, 2011, 2014; Marannu et al., 2017; 吉村ほか, 2009）、これを計数することで日齢や孵化日が推定可能である。また、耳石日周輪の輪紋幅を測定することで個体ごとの成長履歴を推定することも可能であり、耳石日周輪は初期生活期の生残の研究を行ううえで非常に強力なツールとなっている。他方、明瞭な日周輪が観察されない魚種が報告されている（Wild and Foreman, 1980）。また、輪紋形成開始のタイミングは種により異なっており、孵化

2019年8月13日受付, 2019年12月11日受理

<sup>1</sup> 北海道立総合研究機構 栽培水産試験場

Mariculture Fisheries Research Institute, Hokkaido Research Organization, Muroran, Hokkaido 051-0013, Japan

† joh-mikimasa@hro.or.jp

時に開始される種もあれば (Nishimura and Yamada, 1984), 摂餌開始期や (Hayashi et al., 1989), 卵胎生魚では母体から産出される時に開始される種もある (Palaza et al., 2001). したがって, 野外において耳石日周輪解析を行う前に, 飼育実験を行い輪紋形成開始期を特定し, 日周輪形成を確認し, 発育に伴う耳石形態の変化を観察することが, 天然仔稚魚について正確な耳石日周輪解析を行ううえで非常に重要となる.

マツカワ *Verasper moseri* は, 茨城県以北の太平洋沿岸, 若狭湾以北の日本海沿岸, 北海道周辺, 千島列島近海, オホーツク海などに分布するカレイ類である (松田, 2003). 北海道におけるマツカワ資源は1970年代後半から劇的に減少し, 1980年代以降ほとんど漁獲がみられない水準となった (佐々木, 1997). 本種資源の回復のため, 1980年代半ばから人工種苗の放流が開始され, とりわけ2006年以降は年間100万尾前後という大量の種苗が放流されるようになった. これにより本種資源は回復し, 2008年度以降は150トン以上の漁獲量を維持しているとともに, 北海道から東北におよぶ広い範囲における漁業実態や漁獲物の生物測定結果から, 北海道で放流された未成魚は成熟するにつれ東北南部へ移動し, そこで産卵を行った後, 再度北海道へ回遊している実態が明らかにされた (Wada et al., 2013; Kayaba et al., 2014, 2017). さらに, 最近では北海道の太平洋沿岸の渚帯において夏季に, わずかではあるが天然発生の子稚魚が採集されはじめている (萱場・佐々木, 2013; 吉村, 2019). 本種の野外における初期生態については, 1969年に三陸沖太平洋において後期仔魚が4個体採集されたという記載があるのみであり (沖山・高橋, 1976), 本種について耳石日周輪解析を行うことができれば, 人工種苗の放流後の成長などを解析できるようになるとともに, 知見が乏しい本種の初期生態について, 孵化日組成や成長履歴を調査することが可能となると考えられる. しかし, 本種については飼育実験による耳石微細構造の観察や, 微細輪紋の形成日周性の確認は行われていない. 本研究は, マツカワを受精卵から飼育し, 耳石微細構造を観察して, 輪紋形成開始時期の特定, 輪紋形成の日周性の確認, 発育に伴う耳石形態の変化の観察を行い, 野外における本種の生態解明の基礎を形作ることとした.

## 材料と方法

### 耳石形態の観察と日周輪形成の確認

2011年4月13日に雌雄1個体ずつの親魚から得た卵と精子を人工授精して受精卵を得た. 受精卵は約8°Cに設定した1000 l型円筒水槽管理し, 孵化後は1日0.4°Cずつ水温を上昇させ孵化後13日には14°Cに達し, それ以降の水温はほぼ一定とした. 孵化後9日以降は仔魚にはスーパー生クロレラV12 (クロレラ工業株式会社) で栄養強化したシオミズツボワムシを与え, 孵化後26日からはスーパーカプセ

ルA-1 (クロレラ工業株式会社) で栄養強化したアルテミアのノープリウス幼生を与えた. また, 孵化後45日以降は配合餌料 (おとひめシリーズ, 日清丸紅飼料株式会社) も与え, 54日以降は配合餌料のみとした. 仔稚魚は, 孵化直後から孵化後8日まで毎日, そして孵化後11, 14, 25, 32, 46, 53, 60, 70日に採集し, 90%エタノールで固定した. 固定後, 仔魚は脊索長, 稚魚は標準体長を計測したが, 本研究ではエタノールによる仔稚魚の体長収縮の補正は行わなかった. 体長の計測後, 発育段階を観察した. マツカワ仔稚魚の発育段階は有瀧ほか (2000) による区分を参考にし, 本研究では独自に下記のとおり設定した.

Stage A: 卵黄嚢仔魚. 開口はしていない.

Stage B: 開口仔魚. 卵黄嚢が存在する.

Stage C: 卵黄吸収完了したが, 尾鰭の原基が出現していない仔魚.

Stage D: 尾鰭原基の出現から脊索末端が屈曲を開始するまでの仔魚

Stage E: 脊索末端の屈曲の開始から終了までの仔魚

Stage F: 脊索末端の屈曲終了から眼球移動開始までの仔魚

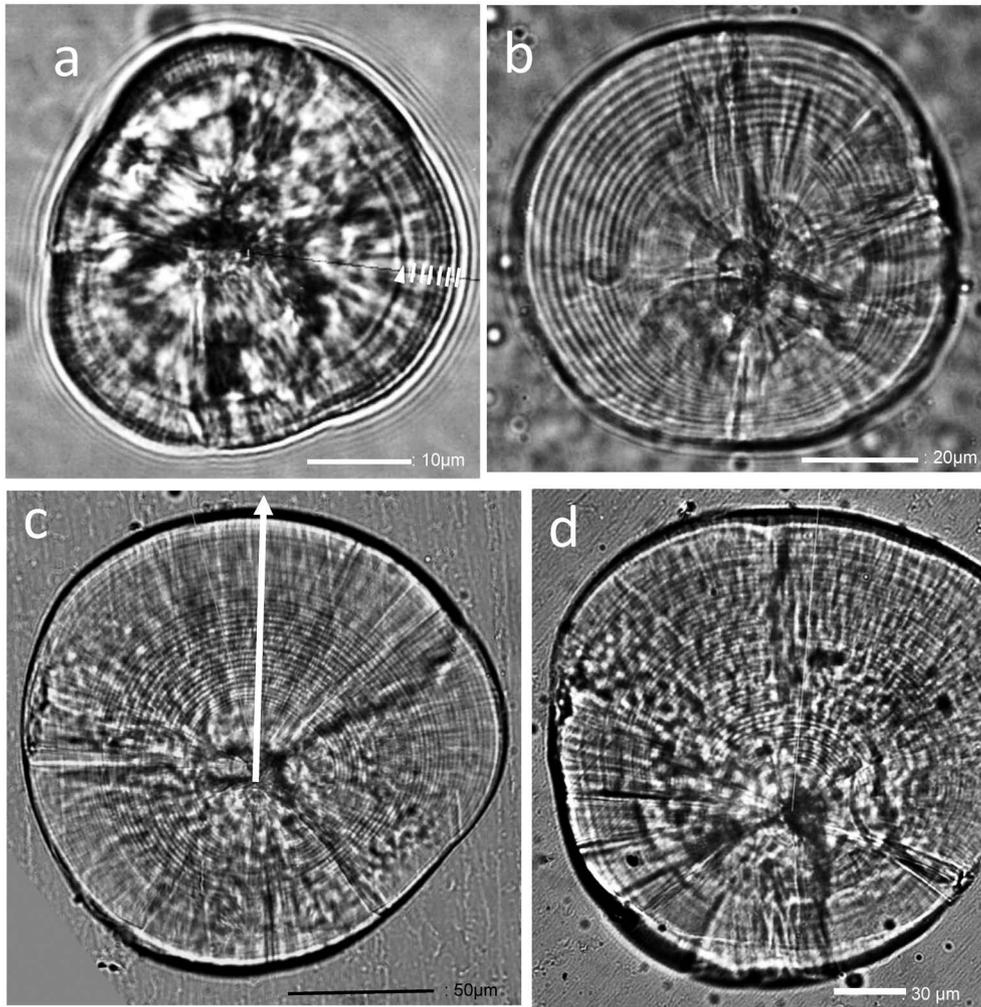
Stage G: 眼球移動の開始から瞳が背正中線上に達するまでの仔魚

Stage H: 瞳が背正中線上に達してから眼球移動を完了するまでの仔魚

Stage I: 眼球移動を完了した稚魚

残念ながら, 孵化直後から孵化後7日までの仔魚は保存状態が悪く, 体長の測定, 発育段階区分, 耳石の観察が行えなかったため, 2011年については孵化後8日以降の仔稚魚を解析に用いた.

体長計測等の作業の後, 実体顕微鏡下で昆虫針 (00号, 志賀昆虫普及社) と割り箸で作成した柄付き針を用いて扁平石と礫石を摘出した. 摘出した耳石はよく乾燥させ, スライドガラス上に滴下したエポキシ樹脂中に包埋した (ポンドEセット, コニシ). 包埋した耳石は, 9 $\mu$ mの酸化アルミニウム粒子がコーティングされたラッピングフィルム (3M ジャパン) で核付近の微細輪紋が容易に観察できるまで表面を研磨した. 耳石微細構造の観察は光学顕微鏡 (Eclipse 80i, Nikon) 上で40倍の対物レンズ, もしくはイマージョンオイルを滴下して100倍の油浸対物レンズを用いて行った. なお, 耳石日周輪解析を行うために最良の顕微鏡画像を得るために, 顕微鏡を次のように設定した. まず, 生物顕微鏡の本体基部にある視野絞りを最小まで絞り込み, 次に, ステージ下のコンデンサーの開口絞りを最小まで絞り込み, コンデンサーを最もステージに近くなるように上昇させた. この状態で使用頻度の高い40倍対物レンズをセットして接眼レンズを覗くと, 視野の中心部だけ明るく, 周辺部は暗い状態となる. その後, コンデンサーの高さを少しずつ下げていき, 明るい領域と暗い領域



**Figure 1.** Photographs of lapilli extracted from barfin flounder larvae and juveniles. (a) and (b) are sagittae of 14- and 32-day-old larvae, respectively. (c) and (d) are those of 53-day-old eye-migrating larva and of 70-day-old juveniles, respectively. White triangle and bars in (a) indicate mouth opening check and daily increments, respectively. White arrow in (c) indicates measurement axis of lapillar radius.

の境界が明瞭に線状になった場所にコンデンサー位置を決定した。次に、2本のコンデンサーの位置調節ネジを操作して、光が照射されている領域が視野の中心にくるように調整し、最後に本体基部の視野絞りを視野全体が明るくなる程度に少し開いた。これらの調整後、顕微鏡基部の透過光が放出される窓レンズ部にMF 50S Gフィルター (Nikon) をいれ、顕微鏡像のコントラストを向上させた。

耳石の顕微鏡画像は、顕微鏡に接続したデジタルカメラ (Canon 80D) をテザー撮影用のソフトウェア (digiCamControl) で制御し、パソコンに直接画像を保存した。その後、画像解析ソフトウェア (Image J) に樹木の年輪数を計数するためのプラグイン (Object J) を組み込み、この機能を用いて、微細輪紋数の計数を行った (城, 2019)。

礫石については、8-70日齢の仔稚魚について耳石上の

微細輪紋数の計数を行った。扁平石については眼球移動期に耳石縁辺への二次原基の形成が確認される場合は、耳石形状が複雑になるため、二次原基が観察された場合にはこれが形成されていない個体のみについて、可能な限り無眼側の耳石上で輪紋数の計数を行った。両耳石とも、日齢と微細輪紋数の関係から日周性の確認を行った。稚魚の礫石の観察は、基本的には無眼側の耳石で行った。礫石の半径は、耳石がほぼ円形の場合は任意の部位で、それ以外の場合では最も耳石の増大が大きい部位 (Fig. 1c) で計測した。水温が日齢と発育段階の関係に及ぼす影響およびチェック形成時期

2017年に、2011年とは異なる水温で飼育実験を行い、仔魚期初期の発育と水温の関係を調査した。また、仔稚魚期を通じた日周輪解析に適していると判断された (結果と考察

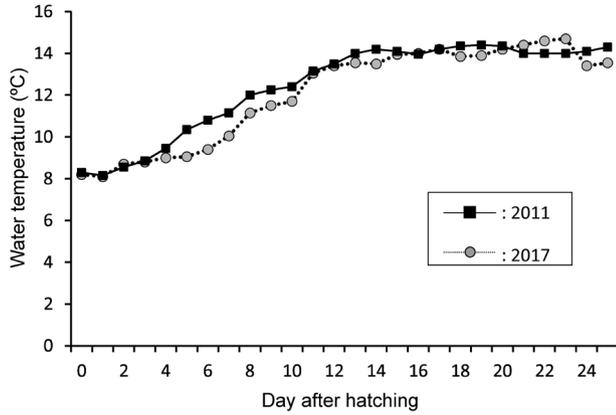


Figure 2. Rearing water temperature until 25 days after hatching in 2011 and in 2017.

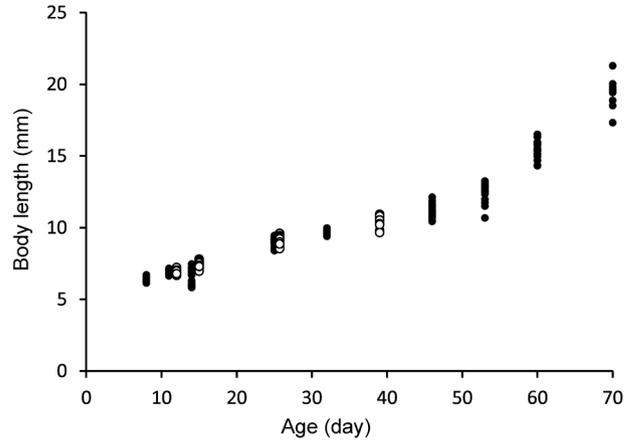


Figure 3. Relationship between age and body length of barfin flounder larvae and juveniles reared in 2011 (solid circles) and in 2017 (open circles).

Table 1. Composition of developmental stages at each age of *Verasper moseri*.

Year	Age (day)	n	Stages								
			A	B	C	D	E	F	G	H	I
2011	8	18			18						
	11	20			20						
	14	29			29						
	25	20				1	19				
	32	21						15	6		
	46	20							20		
	53	20							3	17	
	60	21								2	19
	70	10									10
2017	0-7	165	165								
	8	40	2	38							
	9	68		68							
	10	79		79							
	11	43		4	39						
	12	48			48						
	15	34			34						
	25	40				7	33				
	39	15						9	6		

参照) 礫石上の微細輪紋数と日齢の関係から耳石微細輪紋の形成開始と発育段階の関係を明らかにした。受精卵は水温約8°Cで管理し、孵化後の仔魚の飼育水温は徐々に上昇させたが、孵化後4-10日における水温上昇を2011年よりも低く抑え、孵化後13日には14°Cに達し、それ以降は2011年と同様の水温とした (Fig. 2)。その他の飼育環境は2011年の飼育実験と同様であるため詳細は省略する。仔魚のサンプリングは、孵化後0-12, 15, 25, 39日に行った。これより高齢の仔稚魚については2011年の飼育実験で得られて

いること、また、本実験では仔魚初期発育や輪紋形成に注目したため、本実験では孵化後39日でサンプリングを終了した。

孵化直後の発育段階の観察は、孵化後0-12日齢仔魚について行った。耳石微細輪紋の形成開始日は、光学顕微鏡で耳石日周輪を観察する場合、光の屈折によって耳石最外縁の輪紋が観察しづらいことがあるため、本研究では孵化後十分に時間が経過した孵化後15, 25, 39日齢の仔魚を用いた。耳石の処理や観察方法については2011年の飼育実験と同様である。

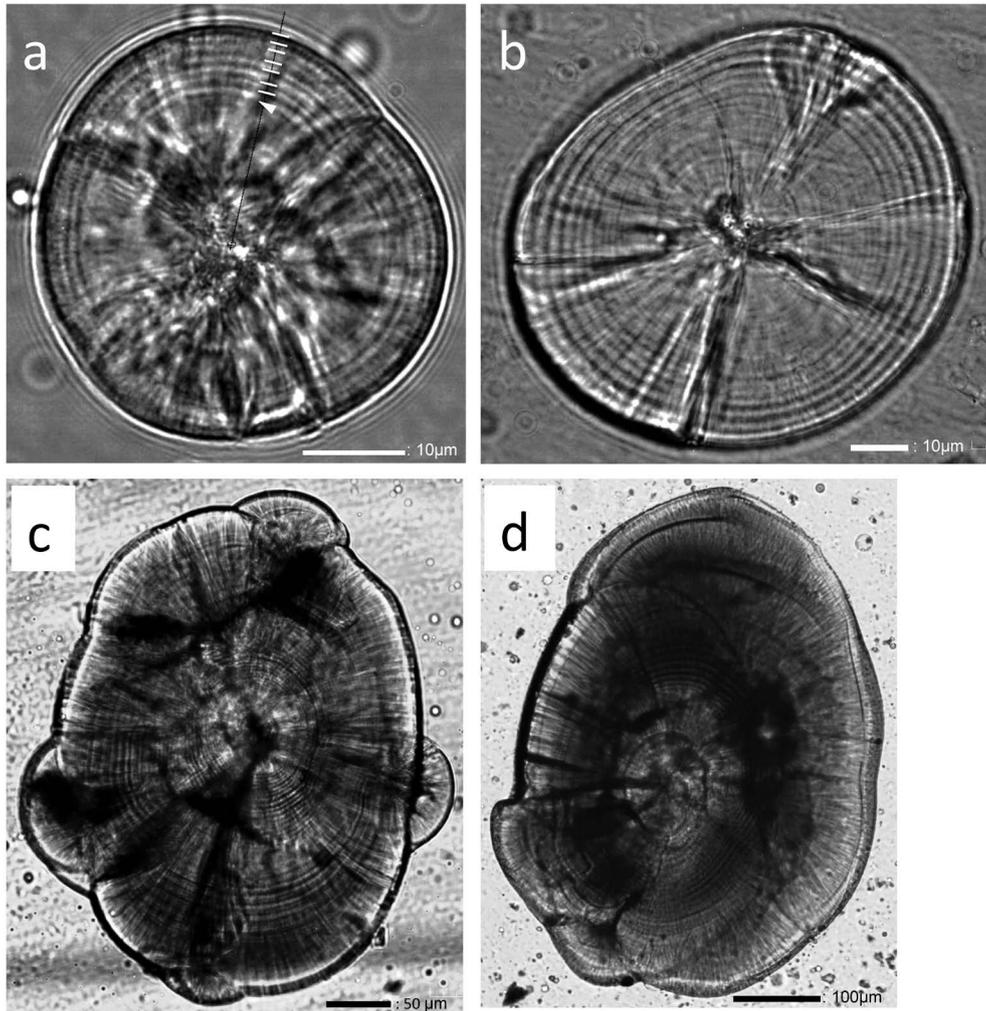
2つの実験間で体長の推移を比較するため、2011年にサンプリングを行った日齢に近い孵化後12, 15, 25, 39日齢の仔魚については体長を計測した。

## 結果

### 耳石形態の観察と日周輪形成の確認

2011年の飼育では、孵化後8日にはすべての個体が開口し卵黄嚢の吸収を終えており (stage C)、孵化後32日には眼球移動を開始した仔魚が出現し、46日にはすべてが眼球移動期仔魚であった (stage G, Table 1)。また、孵化後60日には眼球移動を完了した稚魚 (stage I) が出現し、70日にはすべての個体が稚魚であった。孵化後8日の仔魚の平均脊索長は6.4 mmであり、脊索長は時間の経過とともに緩やかに増加していき、53日には12.5 mmに達した。その後、体長は急激に増加していき、孵化後70日齢の平均体長は19.4 mmであった (Fig. 3)。

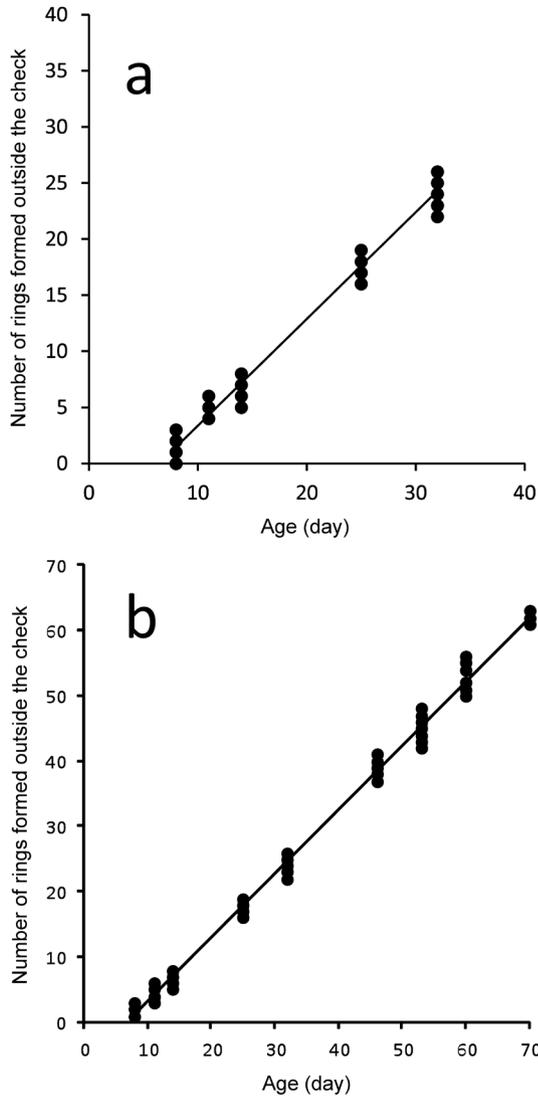
孵化直後からしばらくの仔魚の扁平石はほぼ円形であったが (Fig. 4a)、孵化後25日の仔魚の扁平石は楕円形になり (Fig. 4b)、孵化後53日には耳石外縁に複数の二次原基が形成されていた (Fig. 4c)。さらに孵化後70日になると、当初の耳石外縁は完全に二次原基に覆われ成魚の耳石のよ



**Figure 4.** Photographs of sagittae extracted from barfin flounder larvae and juveniles. (a) and (b) are sagittae of 14- and 25-day-old larvae, respectively. (c) and (d) are those of 53-day-old eye-migrating larva and of 70-day-old juveniles, respectively. White triangle and bars in (a) indicate mouth opening check and daily increments, respectively.

うに矢じり形となった (Fig. 4d). 发育段階ごとの扁平石上の二次原基の形成割合は、眼球移動が始まっていない stage F では 0% (14 個体中 0 個体), 眼球移動開始期仔魚 (stage G) で 27% (26 個体中 7 個体), 眼球移動を完了した稚魚 (stage I) では 100% (4 個体中 4 個体) であった. 扁平石の核付近には 1 本の明瞭な輪紋 (チェック) が形成されているのが観察でき (Fig. 4a), その外には明瞭な輪紋が形成されていた. このチェックの平均半径は  $14.61 \mu\text{m}$  (範囲:  $12.45\text{--}16.68 \mu\text{m}$ ) であった. 耳石縁辺に二次原基が形成されていない個体の, 日齢とチェックの外側に形成されていた輪紋の数の関係は直線で表され, その傾きは 1 と近い値であった (Fig. 5a; 輪紋数 =  $0.96 * \text{日齢} - 6.27$ ,  $r^2 = 0.99$ ,  $p < 0.001$ ). また, 切片の値からチェックは孵化後 6-7 日に形成されていたことがわかった.

孵化直後からしばらくの仔魚の礫石はほぼ円形で, 扁平石と異なり 25 日になってもほぼ円形であったが (Fig. 1a), 32 日になると 1 方向の耳石増大量が大きくなった (Fig. 1b). その後も同じ方向の耳石増大量が大きい傾向が継続したまま, 礫石は大型化していた. また, 礫石の半径と体長は密接に関係しており, 半径  $40 \mu\text{m}$  までは直線的に両者は増加していったが (Fig. 6), 半径  $40\text{--}60 \mu\text{m}$  の間は耳石半径は増加するものの体長の増加が緩やかになったため両者の関係はやや平坦となり, 耳石半径  $70 \mu\text{m}$  以上では再度両者は直線的に増加していった. 发育段階に注目してみると, stage C-E では耳石半径と体長は傾きが正の直線関係にあり, 眼球移動を開始する直前の仔魚 (stage F) のすべてと, 眼球移動開始期 (stage G) の仔魚の一部では両者の関係は平坦となり, stage G の仔魚の残り, それ以降の发育段階では再



**Figure 5.** Relationship between age and the number of rings formed outside mouth opening check. (a) and (b) are those of sagittae and lapilli, respectively.

び傾きが正の直線関係となった。Stage Eまでの両者の関係は直線で表された（体長=0.12 \* 礫石半径+4.47,  $r^2=0.92$ ,  $p<0.001$ ）。

孵化後14日の礫石の核付近には1本明瞭な輪紋（チェック）が観察でき、チェックの平均半径は14.92  $\mu\text{m}$ （範囲：14.05–15.90  $\mu\text{m}$ ）であった。チェックの外側には明瞭な輪紋が形成されていた（Fig. 1a）。この日齢と輪紋数の関係は直線で表され（Fig. 5b；輪紋数=0.98×日齢−6.65,  $r^2=0.99$ ,  $p<0.001$ ），傾きは1に近い数値であったことから、輪紋はほぼ1日1本形成されることがわかった。また、切片の値からチェックは孵化後6–7日に形成されていたことがわかった。

### 水温が日齢と発育段階の関係に及ぼす影響およびチェック形成時期

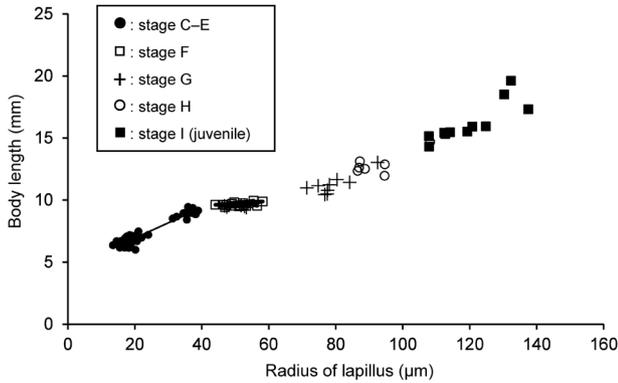
2017年に飼育した仔魚は、孵化直後から孵化後7日まではすべての個体がstage Aであった（Table 1）。孵化後8日には、stage Bである仔魚が多く出現し、9日にはすべての個体がstage Bであった。また、孵化後12日にはすべての個体がstage Cになり、39日齢の標本には眼球移動期仔魚が含まれていた。孵化直後は眼と体躯ともに黒色素はみられず、孵化後7日以降、眼が徐々に色素化していった。体躯への黒色素叢の出現は12日齢以降であった。

孵化後15, 25, そして39日齢の仔魚の礫石を観察した結果、2011年の飼育仔稚魚と同様に耳石中央に明瞭なチェックが観察され、その外側には明瞭な輪紋が規則的に形成されていた。日齢とチェック以降の輪紋数は直線で回帰され（輪紋数=1.03×日齢−9.23,  $r^2=0.99$ ,  $p<0.001$ ），傾きは1に極めて近かった。採集時の日齢からチェックの外側に形成されていた輪紋数を減じて算出した平均チェック形成日齢は8.5日で、stage B仔魚が出現する時期と同等であった。

2017年の孵化後12, 15, 25, 39日齢仔魚の平均体長は、2011年のほぼ同じ日齢の仔魚の体長と大きく異ならなかった（Fig. 3）。

### 考 察

マツカワ仔魚の体長は孵化後25日までは緩やかに直線的に増加していったが、25–46日齢ではほぼ平坦となり、その後は急速に増加していった。異体類では眼球移動期に体長の増加が鈍化することが知られており（Campana, 1984; Laroche et al., 1982）。マツカワでも同様であることがわかった。また、耳石成長は眼球移動期にも継続するため、耳石径と体長の関係も眼球移動期には平坦となることが多くの異体類で知られている（Laroche et al., 1982; Jenkins, 1987）。マツカワでは、眼球移動を開始する直前の発育段階（stage F）から両者の関係は平坦となり、眼球移動期後半（stage H）では両者の関係は再び傾きが正の直線関係となっており、こういった現象がみられる発育段階がこれまでに報告のある他種とは異なっていた（Fig. 6）。Stage Eまでの発育段階の仔魚の両者の関係は直線で表されたことから、今後はこういった仔魚についてはBiological Intercept法による逆算体長の推定も可能である。有瀧ほか（2000）は、飼育水温を8°Cから徐々に上昇させ、14°Cで一定という、本研究の2011年の飼育実験と同様の設定でマツカワ仔稚魚の飼育実験を行い、孵化後約30日までは本研究と同様の成長をしていたことを報告している。有瀧ほか（2000）は、全長を計測しており、stage Fより発育が進んだ仔魚では本研究と計測部位が異なるため、孵化後30日以降の成長は比較できなかった。萱場（2005）もほぼ同様の条件でマツカワ仔稚魚の飼育実験を行っており、孵化後40日程度までの仔魚の成長は本研究と同様であることを報告している。



**Figure 6.** Relationship between age and body length of barfin flounder larvae and juveniles reared in 2011. Solid line is the regression line during stages C–E.

**Table 2.** Occurrence of secondary primordia on sagittae at each developmental stage.

Stages	Secondary primordia	
	Occur	Absent
E	0 (0)	18 (100)
F	0 (0)	14 (100)
G	7 (27)	17 (73)
H	1 (100)	0 (0)
I	4 (100)	0 (0)

2017年の孵化後12, 15, 25, 39日齢の仔魚の体長は、2011年のほぼ同じ日齢の仔魚の体長と大きく異ならなかった (Fig. 3)。この要因については不明であるが、2017年に体長を測定できたのは孵化後12日よりも後であったのに対し、2017年の水温が2011年と比べて低かったのは孵化後10日以前で、最も差が大きかったのは孵化後5–7日であった。このため、今回体長測定を行わなかったより若い日齢においては体長差があったが、水温上昇後に2017年飼育仔魚の成長が速まり、測定を行った日齢では体長差がみられなくなっていた可能性がある。

本研究では、マツカワ仔稚魚の飼育実験を行い耳石微細構造の観察を行い、耳石中心部へのチェック形成や、扁平石上の二次原基の形成などを観察することができた。著者らは、これまでマコガレイ、マガレイ、クロガシラガレイといった異体類仔稚魚について同様の研究を行い、その中では飼育実験とともに天然仔稚魚の耳石の観察も行い、飼育で観察された構造が天然個体でも観察可能か確認を行ってきた (Joh et al., 2005, 2011, 2014)。しかし、マツカワについては天然稚魚の採集はこれまでほとんどみられず、最近になり数個体採集されはじめている状況にあり、本研究において天然稚魚の耳石観察までは行うことができなかった。

た。このため、本研究で観察されたマツカワ仔稚魚の耳石微細構造が天然個体では観察できない可能性は否定はできない。しかし、これまで観察を行ってきた異体類仔稚魚では、飼育実験で確認させた微細構造は天然個体でも観察されており、マツカワでも飼育仔稚魚で観察された特徴は、天然個体でも観察される可能性が高いと考えられる。これについては、今後、天然仔稚魚の耳石観察を行うことで確かめられるであろう。

本研究では2度にわたり飼育実験を行ったが、いずれの年でもマツカワ仔稚魚の耳石中央部にはチェックが観察された。また、2017年の実験ではチェックは孵化後8–9日に形成されることがわかり、これは仔魚が開口するタイミングとほぼ同時であった (開口チェック)。一方で2011年では、仔稚魚の日齢と輪紋数の関係を表す回帰直線の切片からチェックの形成日は孵化後6–7日であると考えられ、これは2017年の観察結果よりも早かった。孵化後15日までの飼育水温は2011年のほうが2017年よりも高く、特にチェック形成日齢までの差が大きかった (Fig. 2)。同時に、各日齢における仔魚の発育段階は水温が高かった2011年のほうが2017年よりも早く進行していた (Table 1)。したがって、マツカワ仔魚の発育は水温の影響を受け、水温8–14°Cの範囲ではより高い水温ほど発育が早いといえ、また両年でのチェック形成日齢の違いは水温の違いによる開口のタイミングの違いが影響している可能性が強いといえる。開口と時を同じくしたチェック形成は、common sole *Solea solea* や *Microchirus variegatus* で報告されている (Amara et al., 1994, 1998)。耳石中心部へのチェック形成および、その形成と孵化や摂餌開始といった初期生活イベントとの関連が多くの魚種で報告されている。例えば、マダラ *Gadus macrocephalus* (Narimatsu et al., 2007) やアイナメ *Pleurogrammus otakii* (Joh et al., 2008) では扁平石・礫石ともに孵化時にチェックが形成されることが、マコガレイ *P. yokohamae*、マガレイ *Pseudopleuronectes herzensteini* や、クロガシラガレイ *P. schrenki* では卵黄吸収を完了する時期にチェックが形成されることが報告されている (Joh et al., 2005, 2011, 2014)。また、卵胎生魚であるメバル *Sebastes cheni* については母胎から産出される時期から輪紋が形成されることが報告されている (Plaza et al., 2001)。

扁平石・礫石ともに開口チェックの外側には明瞭な微細輪紋が形成されており、日齢と輪紋数の関係を表す直線の傾きがほぼ1であったことから、マツカワの開口チェックの外側に形成された輪紋は日周輪であると判断された。扁平石は眼球移動期に耳石外縁に二次原基が形成され、耳石の形態が複雑になった。異体類では多くの魚種で眼球移動期に扁平石上に二次原基が形成されることが報告されており (Joh et al., 2005, 2011, 2014; Fedewa et al., 2016)、マツカワでも同様の特徴があることが確認された。また、眼球移動開始期仔魚 (stage G) の一部で形成が確認され、稚魚

(stage I) ではすべての個体で形成が確認されたことから、マツカワでは扁平石上の二次原基は眼球移動中に形成されたと考えられた。一方で礫石には二次原基の形成は確認されず、仔稚魚期を通じて日周輪は同心円状に形成された。こういった特徴も他の異体類と共通している (Joh et al., 2005, 2011, 2014; Sogard, 1991)。以上のことから、眼球移動開始前の仔魚については扁平石・礫石のいずれを用いてもマツカワの耳石日周輪解析は可能であるが、仔稚魚期を通じた解析には礫石を用いたほうが解析は容易であるといえる。

他の異体類では眼球移動期に礫石上に特徴的な日周輪形成がみられることが報告されている。マガレイ、クロガシラガレイでは眼球移動期に形成される輪紋が比較的不明瞭であり、これを利用することで礫石でも仔稚魚期を区別した日周輪解析が可能であることが報告されている (Joh et al., 2011, 2014)。マコガレイでは眼球移動開始時に形成される日周輪はそれ以前に比べて著しく幅が大きくなり、これを用いて眼球移動開始の前後を区別した日周輪解析が可能であることが報告されている (Joh et al., 2005)。また、オーストラリア沿岸に生息する異体類の一種 *Rhombosolea tapirina* では眼球移動期には礫石上の輪紋形成が停止することが報告されている (May and Jenkins, 1992)。一方で、マツカワについては、眼球移動期でも (Fig. 1c)、稚魚期に達した個体でも (Fig. 1d)、礫石上には明瞭な輪紋形成上の変化はみられなかった。この要因については、本研究では明らかにできなかったが、今後さまざまな生態的特徴をもつ異体類の種について、仔稚魚の礫石の観察が行われていくことで、解明されることが期待される。Joh et al. (2014) は、異体類仔稚魚について礫石を用いて微細構造の観察が行われている知見を整理し、異体類では多くの種で礫石上に眼球移動期の開始や期間を示す特徴が出現する可能性を示唆したが、マツカワにおいては、少なくとも飼育個体では、こういった特徴がみられなかった。このことは、野外で採集された異体類仔稚魚について耳石日周輪解析を行う際には、飼育実験によって輪紋形成開始時の特定や、発育段階と関係した構造の変化について、種ごとに調査することが重要であることを改めて示している。

本研究はマツカワの仔稚魚期の耳石微細構造の観察と、少なくとも孵化後70日齢までの仔稚魚について輪紋の形成日周性を確認できた。マツカワは1980年代以降資源が著しく縮小したため、野外における本種初期生態に関してはほぼ情報がない。近年では人工種苗の大量放流によって資源量が増加し、最近では天然再生産された稚魚も北海道太平洋沿岸で採集されるようになってきた。本研究の成果は、こういった標本を用いてほぼ未解明状態にある本種の野外における孵化日組成や成長履歴といった初期生態を研究する上で不可欠な知見を提供するものである。

## 謝 辞

マツカワの卵および精子を提供していただいた北海道栽培漁業振興公社 伊達事業所の職員の皆様に感謝します。北海道立総合研究機構栽培水産試験場の職員、臨時職員の皆様には、飼育実験にご協力いただき感謝します。

## 引用文献

- Amara R., Y. Desaunay and F. Lagardere (1994) Seasonal variation in growth of larval sole *Solea solea* (L.) and consequences on the success of larval immigration. *Neth. J. Sea. Res.*, **32**, 287–298.
- Amara, R., J. C. Poulard, F. Lagardere and Y. Desaunay (1998) Comparison between the life cycles of two Soleidae, the common sole, *Solea solea*, and the thickback sole, *Microchirus variegatus*, in the Bay of Biscay (France). *Environ. Biol. Fish.*, **53**, 193–209.
- 有瀧真人, 鈴木重則, 渡辺研一 (2000) 飼育したマツカワ仔稚魚の形態発育と成長. *日本水産学会誌*, **66**, 446–453.
- Campana, S. E. (1984) Microstructural growth patterns in the otoliths of larval and juvenile starry flounder, *Platichthys stellatus*. *Can. J. Zool.*, **62**, 1507–1512.
- Fedewa, E. J., J. A. Miller and T. P. Hurst (2016) Pre-settlement processes of northern rock sole (*Lepidopsetta polyxystra*) in relation to inter-annual variability in the Gulf of Alaska. *J. Sea. Res.*, **111**, 25–36.
- Fukuhara, O. (1988) Morphological and functional development of larval and juvenile *Limanda yokohamae* (Pisces: Pleuronectidae) reared in the laboratory. *Mar. Biol.*, **99**, 271–281.
- Hayashi, A., Y. Yamashita, K. Kawaguchi and T. Ishii (1989) Rearing method and daily otolith ring of Japanese sardine larvae. *Nippon Suisan Gakkaishi*, **55**, 997–1000.
- Houde, E. D. (1987) Fish early life dynamics and recruitment variability. *Am. Fish. Soc. Symp.*, **2**, 17–29.
- Jenkins, G. P. (1987) Age and growth of co-occurring larvae of two flounder species, *Rhombosolea tapirina* and *Ammotretis rostratus*. *Mar. Biol.*, **95**, 157–166.
- 城 幹昌 (2019) フリーウェアを用いた耳石日周輪解析手法の検討 (技術報告). 北海道水産試験場研究報告, **95**: 25–32.
- Joh, M., T. Takatsu, M. Nakaya, T. Higashitani and T. Takahashi (2005) Otolith microstructure and daily increment Validation of marbled sole (*Pseudopleuronectes yokohamae*). *Mar. Biol.*, **147**, 59–69.
- Joh, M., T. Joh, T. Matsuura and T. Takatsu (2008) Validation of otolith increment formation and the growth rate of fat greenling larvae. *Aquacult. Sci.*, **56**, 157–166.
- Joh, M., T. Matsuda, N. Satoh, N. Tanaka and Y. Ueda (2011) Otolith microstructure of brown sole *Pseudopleuronectes herzensteini*: Validation of daily ring formation and the occurrence of microstructure denoting metamorphosis. *Fish. Sci.*, **77**, 773–783.
- Joh, M., T. Matsuda and A. Miyazono (2014) Common otolith microstructure related to key early life-history events in flatfishes identified in the larvae and juveniles of crested flounder *Pseudopleuronectes schrenki*. *J. Fish. Biol.*, **86**, 448–462.
- 萱場隆昭 (2005) マツカワの種苗生産技術に関する研究. *北水試研報*, **69**, 1–116.
- 萱場隆昭・佐々木正義 (2013) 快挙! マツカワ天然発生稚魚を発見! 釧路水試だより, **94**, 2–5.
- Kayaba, T., T. Wada, K. kamiyama, O. Murakami, H. Yoshida, S. Sawaguchi, T. Ichikawa, Y. Fujinami and S. Fukuda (2014) Gonadal maturation and spawning migration of stocked female barfin flounder *Verasper moseri* off the Pacific coast of northern Japan. *Fish. Sci.* **80**, 735–748.
- Kayaba, T., T. Wada, O. Murakami, K. kamiyama, S. Sawaguchi and R. Kawabe (2017) Elucidating the spawning migration and core reproductive duration of male flatfish using sperm duct volume as an index

- for better fishery. Fish. Res., **186**, 565–571.
- Laroche, J. L., S. L. Richardson and A. A. Rosenberg (1982) Age and growth of a Pleuronectid, *Parophrys vetulus*, during the pelagic larval period in Oregon coastal waters. Fish. Bull., **80**, 93–104.
- Marannu, S., M. Nakaya, T. Takatsu, S. Takabatake, M. Joh and Y. Suzuki (2017) Otolith microstructure of arabesque greenling *Pleurogrammus azonus*: A species with long embryonic period. Fish. Res., **194**, 129–134.
- 松田泰平 (2003). マツカワ. 「漁業生物図鑑 新 北のさかなたち」上田吉幸, 前田圭司, 嶋田 宏, 鷹見達也編, 北海道新聞社, 札幌, 242–245.
- May, H. M. A. and G. P. Jenkins (1992) Patterns of settlement and growth of juvenile flounder *Rhombosolea tapirina* determined from otolith microstructure. Mar. Ecol. Prog. Ser., **79**, 203–214.
- Narimatsu, Y., T. Hattori, Y. Ueda, H. Matsuzaka and M. Shiogaki (2007) Somatic growth and otolith microstructure of larval and juvenile Pacific cod *Gadus macrocephalus*. Fish. Sci., **73**, 1257–1264.
- Nishimura, A. and J. Yamada (1984) Age and growth of larval and juvenile walleye pollock, *Theragra chalcogramma* (Pallas), as determined by otolith daily growth increments. J. Exp. Mar. Biol. Ecol., **82**, 191–205.
- 沖山宗雄, 高橋伊武 (1976) 日本海産カレイ亜科魚類の幼期. 日本水研報告, **27**, 11–34.
- Plaza, G., S. Katayama and M. Omori (2001) Otolith microstructure of the black rockfish, *Sebastes innermis*. Mar. Biol., **139**, 797–805.
- 佐々木正義 (1997) 日高及び胆振太平洋海域のマツカワ漁業実態と生態について. 北水試だより, **38**, 7–12.
- Sogard, S. M. (1991) Interpretation of otolith microstructure in juvenile winter flounder (*Pseudopleuronectes americanus*): Ontogenetic development, daily increment validation, and somatic growth relationships. Can. J. Aquat. Fish. Sci., **48**, 1862–1871.
- Wada, T., K. Kamiyama, S. Shimamura, T. Yoshida, T. Kayaba and M. Sasaki (2013) Detection of fishing grounds, fishing season, and size distribution of stocked barfin flounder *Verasper moseri* in southern Tohoku, the Pacific coast of eastern Japan. Aquacult. Sci., **61**, 39–46.
- Wild, A., T. J. Foreman (1980) The relationship between otolith increments and time for yellowfin and skipjack tuna marked with tetracycline. Inter-American Tropical Tuna Commission, **17**, 507–557.
- 吉村圭三 (2019) 2.1. 放流基礎調査事業 (マツカワ放流). 平成29年度道総研栽培水産試験場事業報告書, 北海道立総合研究機構栽培水産試験場, 室蘭, 74–78.
- 吉村圭三, 筒井大輔, 前田圭司, 三戸 充, 芳賀恒介 (2009) えりも産ハタハタ仔稚魚の日齢と耳石輪紋数の関係. 北水試研報, **76**, 21–29.