

透明骨格標本によるさば類幼魚の簡易種判別手法

荒井将人

A simple species identification method for mackerel juveniles using transparent skeletal specimens

Masahito ARAI

キーワード：さば類, マサバ, ゴマサバ, 種判別, 判別指数, 透明骨格標本

目 的

日本近海に生息するさば類には、マサバ (*Scomber japonicus*) 及び ゴマサバ (*S. australasicus*) が知られている。両種は幼魚時点では外部形態が酷似しているが、資源量や生態が大きく異なることから、漁況予測等の資源研究を行う上で、種を分けた解析は不可欠である。外部形態によらない種判別の手法として、さば類では PCR - RFLP 法による種判別 (農林水産消費技術センター他, 2007) が報告されている。しかし、PCR では分析機器の整備や高額な試薬類が必要となることに加え、微量の鋳型 DNA であっても増幅されるため、コンタミネーション防止の措置を講じて検査する必要があり煩雑であることから、簡易な種判別手法の開発が必要である。

さば類の種判別簡便法として、判別指数 (花井, 1999) が広く用いられている。判別指数は第 1 背鰭の第 1 棘 ~ 9 棘の基底長/尾叉長 (FL) $\times 100$ により算出され、判別指数が 12 以上をマサバ、12 未満をゴマサバと判断する。しかし判別指数の課題として、尾叉長 50mm 以上の個体で適用され、50mm 未満の個体で使えるかどうかは未検討である (小西, 1999)。

判別指数の尾叉長 50mm 未満への適用については、体長 13~33mm の稚魚で適用できることが報告されている (佐々・小西, 2014)。しかし、同報告では判別指数の計算式において標準体長 (SL) を使用していることから、尾叉長で算出した場合について確認する必要がある。また、標準体長 33mm 以上、尾叉長 50mm 未満の幼魚について、判別指数の適用を検討した報告はない。このため本研究では、さば類幼魚の簡易な種判別方法として、尾叉長 22~59mm の個体を用いて透明骨格標本を作成し、判別指数の適用を検討した。

なお、透明骨格標本の作成は中央水産研究所 (1999) を基に行ったが、判別指数による種同定に特化するた

めに若干の改良を加えたことから、作成方法についても報告する。

方 法

透明骨格標本の作成は、中央水産研究所 (1999) の軟骨・硬骨二重染色透明標本の作成方法を基に以下のとおり行った。

(1) 材料

茨城県沿岸で船曳網により漁獲されたさば類 180 個体 (尾叉長平均: 39.5mm, 尾叉長範囲: 22.2~59.2mm) を使用した (表 1)。各標本について、デジタルノギス又は実体顕微鏡を用いて尾叉長及び標準体長を測定後、透明骨格標本作成に供した。

(2) 薬品及び器具

アリザリンレッド S (特級), 過酸化水素水 (特級), 酢酸 (氷酢酸), トリプシン (1:250), ホルムアルデヒド液 (1 級), エタノール (99.5%, 特級), グリセリン (1 級), 水酸化カリウム (特級), チモール (特級), ホウ砂 (特級), 蒸留水

トリプシン混合液 (飽和ホウ酸砂水溶液: 30ml, トリプシン: 0.5g, 蒸留水: 70ml の割合で混合), 硬骨染色液 (水酸化カリウム: 0.5g, 蒸留水: 100ml の割合で混合し、アリザリンレッド S をワインレッドの濃さを目安に微量を添加)

インキュベーター (35°C 恒温, トリプシン処理に使用)。

(3) 作成方法

①ホルマリン再固定 (ホルマリン固定標本は①のステップから始める)

エタノール固定標本は、95%エタノールに入れ、15 分間浸漬し、以降、同様に 75%→40%→15%エタノールに移し、最後に蒸留水に浸漬する。その後、2~3 日またはそれ以上の期間 10%ホルマリン液で固定する。

生標本は、2～3日またはそれ以上の期間 10%ホルマリン液で固定する。

①ホルマリン抜き

標本を2～3日水道水で洗浄し、ホルマリンを完全に抜く。

②漂白

標本を1%過酸化水素水に30分～1時間浸漬し、体表の黒色素を漂白する。標本を1日水道水で洗浄し、過酸化水素を取り除く。

③透明化

標本をトリプシン混合液に入れ、35℃に設定したインキュベーターに收容する。35℃の条件では数日～10日間程度で透明化するが、透明化に要する期間は標本の状態によって異なるので、適宜状況確認を行う。

④硬骨染色

標本を硬骨染色液に入れ、2～24時間を目安に浸漬する。処理中に適宜硬骨の染色状況を確認する。硬骨が完全に赤染したら、0.5%水酸化カリウム溶液に標本を入れ、半日～1日浸漬し、余分な硬骨染色液を落とす。

⑤保存

0.5%水酸化カリウム溶液とグリセリンの混合比が3:1の液に標本を入れ、4時間程度浸漬する。以降同様に、混合比1:1の液→1:3の液に浸漬した後、グリセリンに浸漬する。完成した標本は、防腐剤であるチモールを少量入れたグリセリン中で保存する。

(4) 判別指数の算出及び種同定

実体顕微鏡を用いて、作成した透明骨格標本の第1背鰭の第1棘～9棘の基底長を測定するとともに、背鰭担鰭骨数を計数した。

判別指数は、花井(1999)により下記の式で算出した。

$$\text{判別式} : A/B \times 100$$

A: 第1背鰭の第1棘～9棘の基底長

B: 尾叉長

マサバとゴマサバの種同定は、西田(1999)により背鰭担鰭骨数を基に行い、16以下をマサバ、17以上をゴマサバと同定した。

結 果

背鰭担鰭骨数による180個体の種同定の結果は、マサバ163個体、ゴマサバ17個体であった(表2)。これらについて、尾叉長を基に判別指数を算出したところ、マサバでは12以上、ゴマサバは12未満であった。判定結果は、花井(1999)の判定基準に合致している

ことから、判別指数によって尾叉長50mm以上の個体と同様に種判別が可能であることが確認された(図1)。

尾叉長と標準体長との関係を図2に示した。尾叉長に対する標準体長の割合(SL/FL)は 0.93 ± 0.01 で魚体サイズによらずほぼ一定であった。標準体長を基に判別指数を算出したところ、マサバ12.85以上、ゴマサバ12.71以下となり、12.8を基準とすれば両種を区別することが可能であった。

表1. 試験に供したさば類の標本一覧

年月日	個体数	尾叉長(mm)		漁獲場所
		平均	(範囲)	
2016/4/19	20	31.7	27.2～37.1	35° 47' N, 140° 48' E
2016/6/24	7	23.5	22.2～25.1	磯崎～那珂湊地先
2021/4/8	127	41.6	25.3～59.2	大洗地先
2021/4/9	26	39.6	29.5～48.1	大洗地先
計	180	39.5	22.2～59.2	

表2. 背鰭担鰭骨数によるさば類の同定結果

種名	個体数	尾叉長(mm)	
		平均	(範囲)
マサバ	163	38.9	22.2～59.2
ゴマサバ	17	44.7	32.5～58.2
計	180	39.5	22.2～59.2

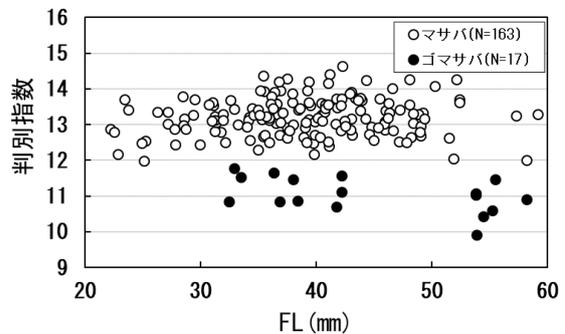


図1 マサバ・ゴマサバの判別指数の尾叉長分布

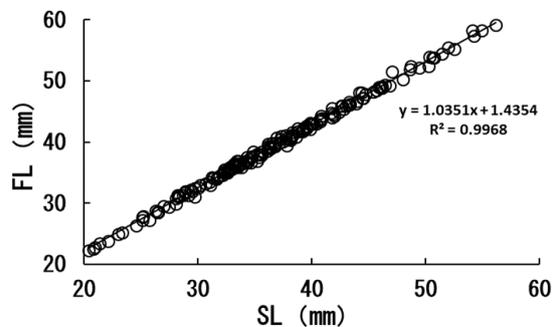


図2 尾叉長と標準体長の関係

考 察

(1) 尾叉長50mm未満での判別指数の適用

本研究では、尾叉長 50mm 以上のさば類の判別簡便法として広く用いられている判別指数について、透明骨格標本を作成することにより尾叉長 50mm 未満での適用を検討した。この結果、供試したさば類 180 個体（尾叉長：22～59mm）は判別指数により種判別が可能であり、尾叉長 22～50mm の個体でも判別指数が適用できることが確認された。

本研究以前の知見として、佐々・小西（2014）は標準体長 13～33mm の稚魚において判別指数により種判別ができることと報告している。しかし、同報告は稚魚図鑑であるため、判別指数の算出にあたり花井（1999）で示された尾叉長ではなく、稚魚で一般的に測定される標準体長を使用している。尾叉長と標準体長の長さの違いはそれほど大きくはないが、マサバとゴマサバを分ける判別指数 12 付近の個体では、どちらの体長を用いるかが判定結果に影響する可能性がある。本研究で標準体長と尾叉長の関係を検討したところ、標準体長は尾叉長の約 93% であり大きな違いはなかった。しかし、標準体長を基に判別指数を算出し、花井（1999）に基づき 12 を基準に判別したところ、ゴマサバの約 41%（17 個体中 7 個体）がマサバと誤判定される結果となった。このため、本研究で検討した尾叉長 22～50mm のサイズでは、尾叉長に基づき判別する、もしくは標準体長に基づき 12.8 を区分の指標値にする必要がある。

なお、今回入手できた標本の多くがマサバであり、特に尾叉長 33mm 以下のゴマサバについてはデータが得られなかったことから、今後ゴマサバについて更なる知見の追加が望まれる。

(2) 透明骨格標本を用いた簡易種判別法

本研究により尾叉長 22～50mm までの個体で判別指数による種判定が可能であることが確認された。判別指数の算出に当たり第 1 背鰭第 1 棘～9 棘基底長を測定する必要があり、生鮮標本では透明骨格標本を作成することなく、背鰭棘条を立てて測定できる。しかし、固定標本では背鰭棘条が固着し基底長の測定が困難な場合が多いため、これらについては透明骨格標本の作成により背鰭基底長を測定し、判別指数を算出する方法が有効である。

このため本研究では、中央水産研究所（1999）の透明骨格標本の作成方法を以下のとおり種同定に特化したものに改良した。

①軟骨染色の省略

第 1 背鰭第 1 棘～9 棘基底長の測定には、軟骨染色は不要であるため省略した。

②漂白処理による黒色素の除去

体表の黒色素が残り、背鰭基部の観察がしにくい事例があったため、体表の黒色素を除去して背鰭基部の測定が確実に行えるよう、河村・細谷（1991）に従い追加した。

③透明化処理温度条件

中央水産研究所（1999）には透明化処理の際の温度の指定はなく、室温で行った場合、10 日以上おいても透明化しない場合があった。このため、35℃のインキュベーター内で温度条件を一定にすることで処理期間の安定化を図った。

謝 辞

本研究は、文部科学省交付金特別電源所在県科学技術振興事業により行った。

要 約

- (1) 尾叉長 50mm 以上のさば類（マサバ・ゴマサバ）の判別簡便法として広く用いられている判別指数について、透明骨格標本を作成することにより尾叉長 50mm 未満での適用を検討した。供試したさば類 180 個体（尾叉長：22～59mm）は判別指数により種判別が可能であり、尾叉長 22～50mm の個体でも判別指数が適用できることが確認された。
- (2) 透明骨格標本の作成に当たり中央水産研究所（1999）の軟骨・硬骨二重染色法を改良（軟骨染色の省略、漂白処理による黒色素の除去、透明化処理温度条件の設定）を行った。

文 献

- 中央水産研究所（1999）軟骨・硬骨二重染色透明標本の作成方法. マサバ・ゴマサバ判別マニュアル, 水産庁 水産業関係試験研究推進会議 マサバ・ゴマサバ判別マニュアル作成ワーキンググループ：25-26.
- 花井孝之（1999）尾叉長と第 1 背鰭基底長による判別指数. マサバ・ゴマサバ判別マニュアル, 水産庁 水産業関係試験研究推進会議 マサバ・ゴマサバ判別マニュアル作成ワーキンググループ：10-15.
- 河村功一・細谷和海（1991）改良二重染色法による魚類透明骨格標本の製作. Bull. Natl. Res. Inst. Aquaculture 20：11-18.
- 小西芳信（1999）マサバ・ゴマサバの判別簡便法. マサバ・ゴマサバ判別マニュアル, 水産庁 水産業関

係試験研究推進会議 マサバ・ゴマサバ判別マニュアル作成ワーキンググループ：1-3.

西田宏（1999）その他の形態形質 I 背鰭担鰭骨数.
マサバ・ゴマサバ判別マニュアル, 水産庁 水産業関係試験研究推進会議 マサバ・ゴマサバ判別マニュアル作成ワーキンググループ：6-18.

農林水産消費技術センター・水産総合研究センター
(2007) サバ属魚類の魚種判別マニュアル, 埼玉,
14pp.

佐々千由紀・小西芳信（2014）サバ属. 日本産稚魚図鑑第2版：1380-1391.