



Title	青森県周辺海域におけるキアンコウの背鰭第一棘による年齢査定法の検証
Author(s)	TAKEYA, YUHEI; TAKATSU, TETSUYA; YAMANAKA, TOMOYUKI; SHIBATA, YASUTOKI; NAKAYA, MITSUHIRO
Citation	NIPPON SUISAN GAKKAISHI, 83(1), 9-17 https://doi.org/10.2331/suisan.16-00041
Issue Date	2017-01-15
Doc URL	http://hdl.handle.net/2115/68111
Rights	© 2017 公益社団法人日本水産学会; © 2017 The Japanese Society of Fisheries Science
Type	article (author version)
File Information	160831TakeyaEtAL.pdf



[Instructions for use](#)

青森県周辺海域におけるキアンコウの背鰭第一棘による年齢査定法の検証

ランニングタイトル:キアンコウの背鰭第一棘による年齢査定

竹谷裕平, ^{1,2*} 高津哲也, ³ 山中智之, ^{1,a} 柴田泰宙, ⁴ 中屋光裕 ⁵

5

¹(地独)青森県産業技術センター水産総合研究所, ²北海道大学大学院水産科学
院, ³北海道大学大学院水産科学研究院, ⁴(国研)水産研究・教育機構東北区水産
研究所, ⁵北海道大学水産学部

10 Use of the illicium for age determination and verification of yellow goosefish
Lophius litulon off Aomori Prefecture, northern Japan

YUHEI TAKEYA, ^{1,2*} TETSUYA TAKATSU, ³ TOMOYUKI YAMANAKA, ^{1,a}

YASUTOKI SHIBATA⁴ AND MITSUHIRO NAKAYA⁵

15

¹*Aomori Prefectural Industrial Technology Research Center Fisheries
Institute, Hiranai, Aomori 039-3381, ²Graduate School of Fisheries Sciences,
Hokkaido University, Hakodate, Hokkaido 041-8611, ³Faculty of Fisheries
Sciences, Hokkaido University, Hakodate, Hokkaido 041-8611, ⁴Tohoku*

20 *National Fisheries Research Institute, Japan Fisheries Research and
Education Agency, Hachinohe, Aomori 031-0841, Japan, ⁵Faculty of
Fisheries, Hokkaido University, Hakodate, Hokkaido 041-8611, Japan*

* Tel: +81-017-755-2155, Fax: +81-017-755-2156, E-mail:

yuuei_takeya@aomori-itc.or.jp

^a現所属: (地独) 大阪府立環境農林水産総合研究所 (Research Institute of Environment, Agriculture and Fisheries, Osaka Prefecture, Misaki, Osaka 559-0311, Japan)

青森県周辺海域におけるキアンコウの背鰭第一棘による年齢査定法の検証

竹谷裕平(青森水総研/北大院水), 高津哲也(北大院水),

山中智之(青森水総研), 柴田泰宙(水産機構東北水研),

中屋光裕(北大水)

5

青森県周辺海域におけるキアンコウの背鰭第一棘による年齢査定法を検証した。

背鰭第一棘の付け根付近の横断面をエッチング処理した後, メチレンブルーで染色し,

実体顕微鏡下で落射光と透過光の両者による比較観察した結果, 不透明帯数の読み

取り精度が向上した。同横断面には, 1年に2本の不透明帯(主に6月と11-12月)

10 が形成されていた。背鰭第一棘による年齢査定は脊椎骨によるものよりも読み取り誤差が小さく, 標識放流魚の成長追跡結果と類似したことから, 優れた年齢査定法と判定した。

キーワード:キアンコウ, 脊椎骨, 背鰭第一棘, 年齢査定

15

Yellow gosefish *Lophius litulon* is an economically valuable fish species around Japan. The aim of present study was to evaluate a suitable age-determination technique for yellow gosefish using the illicium. Specimens of yellow gosefish were collected by commercial boats and
5 research vessels from the Sea of Japan, Tsugaru Strait and the Pacific Ocean off Aomori Prefecture from November, 2013 to March, 2016 using bottom gill, set and trawl nets. Each specimen was measured and sexed, and the illicium and 8th vertebra were removed in the laboratory. The epidermis of each illicium was removed after boiling, and the illicia were dried, whereas each
10 the 8th vertebra was boiled and sectioned. We found that the best ageing method was a count of opaque zones in the illicia. This was facilitated using the cross-sectioned illicia that had been etched with 1 mol/L HCl for 30 s, stained with methylene blue for 4 h and viewed under transmitted and incident light. Opaque zones form twice per year (mainly during June and
15 November–December) in the illicia. Age determination using opaque zones in the illicia was more accurate than that using opaque zones in the vertebral centra. Because the illicia of yellow gosefish are easy to collect and manipulate for age determination and the growth rate estimated using the illicia and tagging experiments is similar, this method of age determination
20 may be useful for these fish in this region.

キアンコウ *Lophius litulon* は日本周辺海域に広く分布し、主に底曳網漁業の重要な漁獲対象種である。著者らが全国におけるアンコウ類の主要な水揚港の漁獲動向を調査した結果、その漁獲量は近年全国的に減少傾向にあり、青森県でも 2009 年までの年間 900 トン前後から 2014 年の 332 トンにまで減少している(竹谷ら、未発表)。

- 5 太平洋北部のキアンコウは、水産庁が 2001-2011 年度の期間に実施していた「資源回復計画」の対象種として保護区が設定されており、2012 年度以降も後継の取り組みである「資源管理指針・計画」の下で同措置が継続されている。¹⁾ 一方、津軽海峡東部沿岸のキアンコウの価格は、高需要期である 11-2 月に比較して、盛漁期である 5-6 月に安く、資源管理上不合理的な漁獲が続いている。適切な資源管理の遂行には、ま
- 10 ずその生態を十分に把握する必要がある。このため、本海域のキアンコウについてはこれまでに、移動・分布に関する知見を得るためのディスクタグ標識放流やバイオロギングによる調査が行われている。²⁾ しかし、本海域の年齢形質や成長特性は未詳である。

- 東シナ海のキアンコウでは脊椎骨椎体(以下、「椎体」と表記)の輪紋が有効とされ
- 15 ており、1 年に 1 本の輪紋形成に基づき成長式が推定されている。³⁾ 一方、日本海南西海域では椎体輪紋は 1 年に 2 本形成されるものと推定されている。⁴⁾ また東シナ海の成長式から求められる年間成長量は、常磐海域で体長組成から推定した年間成長量⁵⁻⁷⁾より小さい。キアンコウと同属の Angler *Lophius piscatorius* と Blackbellied angler *Lophius budegassa* は、背鰭第一棘(誘因突起)を用いた解析手法が提示さ
- 20 れており、第 1 輪は着底輪で、以降の輪紋は 1 年に 1 本形成される。⁸⁾ しかし、キアンコウについては未だ背鰭第一棘を用いた年齢査定はいずれの海域でも実施されてい

ない。本研究は、キアンコウの背鰭第一棘による新たな年齢査定法を確立するため、背鰭第一棘の処理法や観察法などを検討した後、輪紋の読み取り誤差などを椎体による年齢査定結果と比較し、年齢形質としての有効性を検証した。

5 材料と方法

10 **試料** キアンコウは、2013年11月から2016年3月までの期間、青森県周辺海域の日本海、津軽海峡、太平洋において、刺網漁業および底建網漁業、沖合底曳網漁業、水産研究・教育機構東北区水産研究所漁業調査船・若鷹丸(692トン)および地方独立行政法人青森県産業技術センター水産総合研究所調査船・青鵬丸(65トン)による着底トロールによって得られた(Fig. 1)。標本は凍結して研究室に持ち帰り、解凍後、全長(Total length 以下 TL と表記; 1 mm 単位)の測定と性判別を行い、背鰭第一棘および脊椎骨の第8椎体を採集した。

Fig. 1

206 個体の背鰭第一棘(電子付録 Appendix table 1)について、熱湯で煮沸して表皮等を除去後、骨組織を乾燥させ(Fig. 2)、以下の年齢査定に用いた。

15 背鰭第一棘の横断面の観察は、結果で示す処理で最終的な輪紋数(不透明帯の外縁の数)の計数方法を決定後2回読み取りを行い、一致していた場合はそのまま、2回の読み取り結果が不一致の場合はもう1回読み取りを行い、3回目と同一の読輪数を示した方を不透明帯数として採用した。3回の読輪数がすべて不一致の場合は本研究ではなかった。それぞれの読み取りは、2週間以上の間隔を空けて行った。

20 脊椎骨による年齢査定には、166 個体の第8椎体(電子付録 Appendix table 2)を用いた。Yoneda *et al.*³⁾の方法に従って第8椎体を熱湯で煮沸した後、正面から水平

に切断して、背側の切断面を観察した。

背鰭第一棘の処理 背鰭第一棘は、根元(Fig. 2 の posterior end)から 5 mm ずつエポキシ樹脂(Specifix-20, Struers 社製, デンマーク)に包埋し、厚さ 0.25 mm で横断面が露出する様に硬組織精密切断機(ゼーゲミクロトーム SP1600, Leica Biosystems 社製, ドイツ)で切り出した。

Fig. 2

背鰭第一棘のうち 31 個体分について、エッチング処理として 1 mol/L の塩酸に 30 秒間浸漬、並びに染色処理としてアリザリンレッド S 溶液(0.1(w/v)%), メチルレッド溶液(0.1(w/v)%), アセトカーミン溶液(0.1(w/v)%), メチレンブルー溶液(0.1(w/v)%), アルシアンブルー溶液(0.1(w/v)%の 5 種の各染色剤に 4 時間浸漬後、水洗した。併せて、各染色剤の pH を、ガラス電極式 pH メーター(SK-640PH, (株)佐藤計量器製作所, 東京)で測定した。また、切り出し部位の相違による読輪数の比較を行った。さらにこれら 31 個体を含む 48 個体について、メチレンブルー処理された横断面について実体顕微鏡(SZH10, オリンパス株式会社製, 日本)の透過光あるいは落射光下で付属のデジタルカメラ(DP21, オリンパス株式会社製, 日本)で写真撮影して読輪数を比較し、加えて両者を一定基準(結果に記載)で切り替えた計数も行った。

不透明帯形成時期の検証 背鰭第一棘と椎体について、縁辺における不透明帯の有無と形成時期について検証した。背鰭第一棘の縁辺では、不透明帯が全周同時に形成されることは少なく、一部から徐々に形成される様子が認められたことから、縁辺全体のおよそ 80%に形成されている場合を縁辺あり、およそ 20–80%に形成されている場合を不完全な縁辺、20%未満を縁辺なしとして区分した。

年齢形質の読み取り者の相違によって生じる誤差の推定 背鰭第一棘と椎体につ

いて、年齢形質としての有効性の検証は、無作為に選抜した 20 個体の標本群について、水産資源の齢査定に関する研究歴が 3 年以上の読み手 3 人 A, B, C がそれぞれ独立して不透明帯数の読み取りを行い、結果を比較した。読み取り精度の指標として、個体毎に変動係数 CV と平均エラー率 Average percent error (APE) を、標本群

5 毎にこの変動係数の平均値 $mean\ CV$ と平均エラー率指数 Index of average percent error ($IAPE$)⁹⁾ を、以下の式により求めた。

$$CV_j[\%] = \frac{\sqrt{\sum_{i=1}^R \frac{(X_{ij} - X_j)^2}{R-1}}}{X_j} \cdot 100, \quad mean\ CV[\%] = \frac{1}{N} \sum_{j=1}^N CV_j,$$

$$APE_j[\%] = \frac{1}{R} \sum_{i=1}^R \frac{|X_{ij} - X_j|}{X_j} \cdot 100, \quad IAPE[\%] = \frac{1}{N} \sum_{j=1}^N APE_j.$$

ここで R は読み取り人数 (本研究では全体での比較では 3 人, 読み取り者間の比較で
10 は 2 人), N は標本群の個体数 (20 個体), X_{ij} は j 番目の標本魚の i 回目の不透明帯の読輪数, X_j は j 番目の標本魚の平均不透明帯読輪数をそれぞれ示す。 CV_j は標準偏差を平均値 X_j で割っているため、平均不透明帯読輪数の異なる個体間での比較が可能である。また、 $mean\ CV$ と $IAPE$ は、標本群 (背鰭第一棘と椎体) の読み取りのばらつき具合の相対的な指標であり、平均不透明帯読輪数の異なる標本群間での比
15 較が可能である。また、これらに用いた 20 個体について、観察者 A 対 B, B 対 C, A 対 C の各ペアについて、Campana *et al.*¹⁰⁾ にしたがって背鰭第一棘および椎体それぞれで読み取られた不透明帯数の平均値を、同一透明帯数ごとに求め、プロットして比較した。なお各読み取り者は、2 週間以上間隔を空けて 2 回読み取りを行い、2 回の読み取り結果が不一致の場合はもう 1 回読み取りを行い、読み取り数が一致した方を

不透明帯数としてこの解析に用いた。3 回の読輪数がすべて不一致の場合は本研究では用いなかった。また各読み取り者の読輪数は伏せて、独立して読み取った。

成長式の推定法 結果で示す最終的な背鰭第一棘の横断面の観察法により、1 名の読み取り者が雌 121 個体、雄 76 個体、合計 197 個体の年齢査定を行った。雌雄
5 込みの不透明帯数から推定した年齢と全長のデータを用いて、最小二乗法により、
von Bertalanffy 成長式とその寄与率を推定した。雌雄を込みにして成長式を推定した理由は、雌雄別に推定できるほど十分な個体数ではなかったためである。解析には
Microsoft Excel のソルバー機能を用い、寄与率は t 検定で検定した。なお、予備試験として青森県津軽海峡沿岸の定置網に入網した本種の卵帯を用いて人工孵化試
10 験を実施した結果、孵化直後の仔魚の全長は約 5 mm であったことから、年齢 0 歳の全長が 5 mm を通る様にソルバー機能に含まれる制約条件にこの値を設定して推定した。また、本種の卵帯は沿岸定置網に 5-6 月に入網することが多いことから(竹谷ほか、未発表)、6 月 1 日を孵化日と仮定し、6 月から標本採集月までの月数を小数点以下の数値を含む年齢に変換して用いた。

15

結 果

背鰭第一棘横断面の処理方法による輪紋判別状況の相違 背鰭第一棘横断面の処理方法による輪紋判別状況の相違を、Table 1 に示す。まず、樹脂包埋、切り出し
された背鰭第一棘の横断切片上では、輪紋状の構造は視認されるが、落射光および
20 透過光を比較的通さない不透明帯の輪紋は極めて不明瞭であり(Appendix fig. 1a)、
個体によっては計数が困難であった。エッチング処理後は、光を透過しやすい透明帯

Table 1

の表面が溶出して不透明帯が隆起している様子が認められた (Appendix fig. 1b)。さらに、エッチング処理前は確認できなかった細く隆起した不透明帯も観察された。また、メチレンブルー溶液に 4 時間浸漬して染色し、流水で染色液を洗い流した後に観察した結果、隆起した不透明帯が透明帯と比べて染色されやすい傾向が認められ、

5 視認しやすくなった (Fig. 3, Appendix fig. 1c)。アリザリンレッド S 溶液 (Appendix fig. 2b)、メチルレッド溶液 (Appendix fig. 2c)、アセトカーミン溶液 (Appendix fig. 2d)、アルシアンブルー溶液 (Appendix fig. 2f) による染色では、透明帯および不透明帯がほぼ一様に染色され、陰影が強調されることでエッチング処理しただけのもの (Appendix fig. 1b) と比較して視認しやすくなった。ただし、メチレンブルー溶液

10 による染色 (Fig. 3, Appendix fig. 2e) ほどコントラストの差は生じなかった。使用した各染色剤の pH はそれぞれ、アリザリンレッド S 溶液 pH 6.6、メチルレッド溶液 pH 5.9、アセトカーミン溶液 pH 1.8、メチレンブルー溶液 pH 4.1、アルシアンブルー溶液 pH 4.8 であった。最も pH が酸性を示したアセトカーミン溶液による染色は、染色時間が 2 時間を超えると、背鰭第一棘組織が樹脂から脱落した。

Fig. 3

15 エッチング処理とメチレンブルー染色処理の有効性を検証するために、未処理とこれらの処理済みの標本について、不透明帯の計数結果を比較した (Fig. 4)。観察には後述の実体顕微鏡の透過光および落射光を組み合わせた観察法を用いた。その結果、31 個体中 7 個体は、未処理の状態で読輪することができなかったが (未処理 0 本として図示)、処理後は 1-6 本の不透明帯が確認された。また、残りの 24 個体について

20 ても、処理済みの標本は未処理のものよりも、不透明帯数を 1-7 本多く計数された。

Fig. 4

背鰭第一棘の切り出し部位ごとの可読透明帯数の相違 エッチング処理とメチレン

ブルー染色処理された、背鰭第一棘横断面観察の結果、475 mm TL の個体背鰭第一棘からは、根元に近いほど多くの不透明帯が認められた (Appendix fig. 3)。根元側では、第 1 輪として長方形で中央に核を持つやや不明瞭な不透明帯が認められたが、他の輪紋はおおむね楕円形だった (Fig. 3, Appendix fig. 3)。

- 5 根元 (Posterior end) から 5 mm ほどの横断面の可読不透明帯数は、根元からの距離が遠のくほど少なくなる傾向を示した (Fig. 5)。一方、根元側付近は、基部 (base of illicium) が周辺を覆い (Appendix fig. 3a)、縁辺の確認が困難であった。従って、以下の観察では、内側に楕円形の輪紋が確認できて後述のとおり輪紋数の読み落としが少くない根元から 10 mm の範囲のうち、基部が周辺を覆っていない部分の横断面
- 10 を用いた。

Fig. 5

- 透過光と落射光による背鰭第一棘横断面の観察結果の相違 背鰭第一棘横断面観察する際、実体顕微鏡の透過光と落射光による観察結果を比較したところ、48 個体中 26 個体において読み取り数が一致した (Fig. 6)。一方、11 個体では落射光の方が最大 3 本多く、逆に 11 個体では透過光の方が最大 4 本多く読み取られた
- 15 (CV=7.0%)。例として、落射光で 6 本、透過光で 10 本と読み取られた標本では (Appendix fig. 4a)、透過光においてエッチング処理によって深く窪みになった透明帯の中央帯に染色液が溜まって、通常の透明帯よりもやや強く染色されることによって不透明帯と誤認されて、落射光よりも多く読み取られていた。逆に、落射光で 10 本、
- 20 透過光で 8 本と読み取られた標本では、落射光で確認できる近接した 2 本の不透明帯が、透過光では太い 1 本の不透明帯と認識されて、落射光よりも少なく読み取られていた (Appendix fig. 4b)。

Fig. 6

読み手の違いによる輪紋数の差も生じた。例えばひとりの読み手が 2 回もしくは 3 回の読み取りによって最終的に落射光で 8 本, 透過光で 12 本と読み取った標本では (Appendix fig. 4c), 他の 2 名の読み手はそれぞれ, 落射光で 8 本と 11 本, 透過光で 9 本と 12 本と読み取り, 読み手によっては染色の程度が弱い不透明帯を読み取らない場合があった。

しかし, これらの深い窪みである透明帯の染色液溜まりによるやや強い染色と, 不透明帯の不十分な染色による読み取りの差は, 透過光と落射光の両者を用いて比較観察することで区別できた。具体的には, 読み手が深い窪みによる透明帯への染色の方が透過光下で薄く見え, 染色の程度がほとんど変化しない不透明帯への染色と区別できるようになった結果, それぞれの光の条件を独立して観察した場合よりも変動係数は小さくなった ($CV=5.7\%$)。従って以下の背鰭第一棘横断面観察では, 透過光と落射光の双方を切替えて輪紋の計数を行った。

背鰭第一棘縁辺および椎体縁辺における不透明帯の出現時期 背鰭第一棘および椎体縁辺における不透明帯の出現率は採集月によって異なった (Fig. 7)。背鰭第一棘の 6 月のピークは, 輪紋縁辺が不完全な標本を含めて 96%を示した後, 7-10 月には 35-42%まで低下し, 11-12 月には再び 96-100%を示した。3-4 月には 0-9%に低下した。つまり背鰭第一棘の縁辺には, 年 2 回不透明帯の出現が観察された。

椎体は 6 月に 100%を示した後, 9-10 月は 47-54%まで低下し, 11 月に 73%まで上昇した後は 5 月まで 7-31%を示した。従って椎体の縁辺にも, 年 2 回不透明帯の出現が観察された。

年齢査定精度の検証 20 個体の背鰭第一棘と椎体について, 3 人の読み手が独

Fig. 7

立に読み取りを行った (Table 2)。背鰭第一棘の *IAPE* は 5.2%, *mean CV* は 6.9% を示した。一方, 椎体では *IAPE* は 17.4%, *mean CV* は 23.7% を示し, 背鰭第一棘に比べて平均エラー率, 変動係数のいずれも高く, 読み取り精度は低かった。また, 両者における不透明帯の読輪数を比較した結果, 20 個体×3 回の計 60 回の試行のうち 17 回は一致したが, 背鰭第一棘と比較して椎体では 18 回が 1-7 本多く, 逆に 25 回が 1-6 本少なく計数された。60 回の試行で, 椎体は背鰭第一棘に比べて毎回平均 0.22 本少なく計数していた。

読み手の相違による読輪数を比較した結果, 背鰭第一棘では 20 個体のうち, A 対 B で 11 個体 (*IAPE*=4.5%, *mean CV*=6.3%), B 対 C で 10 個体 (*IAPE*=5.3%, *mean CV*=7.6%), A 対 C で 15 個体 (*IAPE*=2.4%, *mean CV*=3.4%) が一致し (Table 2; Fig. 8), 前者読輪数に対して後者の平均読輪数が取り得る 95% 信頼区間は全体として ±0.31 本を示した。

椎体では 20 個体のうち, A 対 B で 1 個体 (*IAPE*=17.8%, *mean CV*=25.2%), B 対 C で 1 個体 (*IAPE*=16.4%, *mean CV*=23.2%), A 対 C で 5 個体 (*IAPE*=10.1%, *mean CV*=14.3%) が一致し (Fig. 8), 前者読輪数に対して後者平均読輪数が取り得る 95% 信頼区間は全体として ±0.67 本を示し, 背鰭第一棘よりも大きかった。

成長式 年齢査定の結果から, 雌雄込みの von Bertalanffy 成長式を推定した (Fig. 9)。

$$TL_t = 955(1 - e^{-0.199(t + 0.0264)}) \quad (r^2 = 0.707 \quad n = 197, \quad p < 0.001)$$

ここで TL_t は標本魚の年齢 t 歳における全長 (mm), t は年齢を示す。

考 察

キアッコウの浮遊仔魚は、腹鰭が体長のおよそ 1/3 程度まで伸長する独特の形態を呈する。^{11,12)}2015 年 7 月 8 日に青森県日本海沖合の底曳網で、浮遊仔魚期よりも腹鰭が短く、成魚のそれと類似した形態から着底直後と考えられる 59 mm TL の稚魚が

5 採集された。その個体の背鰭第一棘の横断面には、中央に核が存在し、その外側に特徴的な長方形の輪紋が認められた (Fig. 10)。またこれより大型の個体においても、根元側では、第 1 輪として長方形で中央に核を持つやや不明瞭な不透明帯が認められた (Appendix fig. 5a)。近縁種である Angler と Blackbellied angler では、この様な第 1 輪は着底時に形成されると考えられており、着底輪 (benthic ring) と定義されている。⁸⁾キアッコウについても、この長方形の第 1 輪は着底輪と考えられた。

10

Fig. 10

また、根元側から先端側に向かって不透明帯数は減少し、根元近くの断面に観察された中央に核を伴う長方形の輪紋は途中で消失した (Appendix fig. 3)。このことから、背鰭第一棘の構造は、不透明帯の数だけ重なる筈状であると推察された。一方、根元側に近すぎると基部が周辺を覆い縁辺が透明帯であるか不透明帯であるかの確

15 認が困難であった (Appendix fig. 3a)。従って切り出し部位は、根元側は基部の直上から、先端側は着底輪が認められるまでの範囲が適切であり、特に根元から 10 mm の範囲で輪紋数の読み落としが少ない (Fig. 5)。

Duarte *et al.*⁸⁾は、近縁種である Angler と Blackbellied angler では、背鰭第一棘の横断面を実体顕微鏡の透過光で観察する方法により年齢査定できることを報告して

20 いる。一方キアッコウの場合、未処理の横断面では不透明帯の輪紋が不明瞭に視認されるが、エッチング処理およびメチレンブルー染色処理によって、不透明帯を明瞭

に視認することができた。観察方法は、実体顕微鏡の透過光観察と落射光観察を比較することで、エッチング処理によって染色の程度の弱い透明帯の最深部に生成した窪みを不透明帯と誤認する懸念を排除し、隣接して密な不透明帯を区分し易く、より正確に計数できると考えられた。

5 Campana *et al.*¹³⁾は、多くの年齢査定に関する研究は、*IAPE*が5.5%、*CV*(本研究の *mean CV*)が7.6%で実施されていたことを報告している。本研究で報告した背鰭第一棘による年齢査定では、*IAPE*が5.2%、*mean CV*が6.9%とこれらの値を下回ったことから、他魚種をやや上回る精度で実施できる手法であると考えられた。

Peabody¹⁴⁾は、変温性脊椎動物の一部は、季節周期の影響で代謝・成長が阻害さ
10 れることによって微細成長縞が形成されることを報告している。キアンコウの背鰭第一
棘縁辺の不透明帯出現率は、6月および11–12月と年に2回のピークが存在したこと
から、背鰭第一棘の横断面に出現する不透明帯は、少なくとも当調査海域では年に2
本形成される年齢形質であると判断された。一方、椎体の不透明帯数は、背鰭第一棘
と同数である場合が多かったが、大きく異なる場合もあった。椎体縁辺における不透
15 明帯の出現は6–11月まで連続してみられたが、6月と11月に出現した2つのピーク
は、背鰭第一棘縁辺における不透明帯の出現時期6月と11–12月に類似しており、
読輪数も近かったことから、背鰭第一棘と同様に、年に2本形成される年齢形質であ
る可能性がある。これは、Yoneda *et al.*³⁾による東シナ海産キアンコウの年あたり椎体
1 本という報告とは異なる結果であった。椎体の不透明帯形成時期は青森県周辺海
20 域では水温が低下し始める10–12月と産卵期(5–6月)に相当することから、いずれも
代謝・成長が停滞しやすい時期に相当するものと考えられる。一方、河野¹⁵⁾は椎体の

輪紋は 1 年に 2 本形成される可能性を示唆している。これらの違いは, Yoneda *et al.*¹⁶⁾が報告した東シナ海および黄海において回遊している個体群と, 山口県沿岸¹⁵⁾や青森県沿岸²⁾の様に陸棚上を浅深移動している個体群との生活史の違いによるものなのかもしれない。不透明帯形成の年周期性は, 今後も個体群による生息海域や生活史の違いを考慮して, 検証する必要があるだろう。

背鰭第一棘横断面観察に基づく von Bertalanffy 式と, 本海域で実施した標識放流調査結果から得られた年間成長率(竹谷ほか, 未発表)を比較した。標識放流調査は, 2005–2013 年度の期間, 本海域沿岸の刺網等によって採捕したキアンコウについて全長もしくは体重を測定し, 直ちにディスクタグを外部標識して 2,493 個体を放流して, 123 個体を再捕した。そのデータのうち, 成長の季節変化の影響を排除するために放流から再捕までの日数が 1 年以上であり, かつ全長の実測データがある 34 個体(300–600 mm TL)における年間平均成長率は, 97.8 ± 58.8 mm/年(±標準偏差)であった。一方, この全長 300 mm から 600 mm に至るまでの平均成長率は, 上記の von Bertalanffy 成長式から逆算すると, 1.87 歳から 4.95 歳の間の 3.08 年間に 300 mm の増加, すなわち 97.5 mm/年と推定された(Fig. 9)。このことから, 背鰭第一棘は年齢形質として有効であることが示唆された。ただし, 各年齢群における全長のばらつきがあった。これは, Yoneda *et al.*³⁾が報告している東シナ海産キアンコウと同様に, 雌は雄よりも大型, 高齢である可能性がある(Fig. 9)。

椎体における *IAPE* は 17.4%, *mean CV* は 23.7%を示し, 背鰭第一棘のそれらと比較して高い値を示したため年齢査定精度は低く, 本海域では積極的に採用する年齢査定法ではない。精度が低かった理由としては, 椎体では年に 2 本形成された不

透明帯が近接して 1 本と計数する事例が多く、その結果として、高齢になるほど計数の精度が低下したものと考えられる(Appendix fig. 5b)。

- アブラツノザメ *Squalus suckleyi*¹⁷⁾ やタロウザメ *Centrophorus acus*¹⁸⁾ では、背鰭棘による年齢査定技術が確立されている。一方、マイワシ *Sardinops melanostictus*
- 5 背鰭第 1-3 軟条とマサバ *Scomber japonicus* の背鰭第 2 軟条では有効な年輪が認められているが、耳石等と異なり、体サイズへの逆算に必要な基準点となる核が存在しない等の理由により、年齢形質としては不適切であると報告されている。¹⁹⁾ 太平洋のクロカジキ *Makaira mazara* の年齢査定には、鰭棘に出現する年輪が用いられてきたが、輪紋が不明瞭で年輪と偽輪の区別が難しいという問題がある。²⁰⁾ ヒレナマズ科
- 10 のアフリカンクララ *Clarias gariepinus* の年齢査定には、胸鰭の棘条が用いられる事もあったが、²¹⁾ 年齢の過小評価が懸念されている。²²⁾ 一方、青森県周辺海域におけるキアンコウの背鰭第一棘による年齢査定は、核とその周辺に形成される着底輪と考えられる長方形の不透明帯が形成されるため、体サイズへの逆算の起点として有効である。また、脊椎骨によるものよりも読み取り誤差が小さく、背鰭第一棘による年齢査定
- 15 結果は標識放流魚の成長追跡結果と類似したことから、優れた年齢査定法と判定した。

- 青森県周辺海域では他海域に比べて大型のキアンコウが漁獲され、大型魚ほど高値で取引されている。また、椎体は魚体を購入・解剖しない限り年齢査定できないのに対して、背鰭第一棘は可食部ではなく、漁業関係者からの聞き取りによれば、現段
- 20 階では水揚げ後除去しても商品価値を毀損するものではないとのことである。実際、本研究で用いた標本魚のうち、109 個体分の背鰭第一棘標本および生物測定データは、

流通・加工業者から無償で譲り受けたものである。したがって魚類の鱗による年齢査定と同様に、購入費用を節約でき、入手もしやすく、背鰭第一棘を用いた年齢査定は、有用である。

- 5 今後は、本海域において解析個体数を増やして、雌雄別の成長式を推定する必要がある。また、他の海域においても、背鰭第一棘を用いた年齢査定の妥当性を検証し、この手法を用いた年齢・成長解析結果と比較することで、本種の生活史特性の海域間の違いが明らかになると期待される。

謝 辞

- 10 本稿の執筆にあたり、キアンコウ背鰭第一棘の試料およびデータ等を無償で提供下さった(株)駒嶺商店の駒嶺剛一代表取締役、蛇浦漁業協同組合の山本公明業務主任、同じく前田稔主事補、測定作業に協力頂いた地方独立行政法人青森県産業技術センター水産総合研究所資源管理部員の諸氏、同じく下北ブランド研究所の諸氏、御助言頂いた地方独立行政法人青森県産業技術センター水産総合研究所の野
- 15 呂恭成所長、並びに査読者および担当編集委員の皆様に深く感謝します。試料の一部は、水産庁「我が国周辺水産資源調査・評価推進事業」で得られた。

文 献

- 1) 柴田泰宙, 服部 努, 成松庸二. 平成 27 年度キアンコウ太平洋北部の資源評価.
- 20 我が国周辺水域の漁業資源評価 第 2 分冊, 水産庁増殖推進部・水産総合研究センター, 東京. 2016; 995–1012.

- 2) 竹谷裕平, 奈良賢静, 小坂善信. バイオロギングによるキアンコウの行動解析.
水産技術, 2013; **6**: 1–15.
- 3) Yoneda M, Tokimura M, Fujita H, Takeshita N, Takeshita K,
Matsuyama M, Matsuura S. Age and growth of anglerfish *Lophius*
5 *litulon* in the East China Sea and the Yellow Sea. *Fish. Sci.* 1997; **63**:
887–892.
- 4) 河野光久. 日本海南西海域におけるキアンコウの資源管理に関する研究－II
キアンコウ資源解析の試み. 山口県水産研究センター研究報告 2010; **8**:
37–43.
- 10 5) 堀 義彦. 茨城県のキアンコウについて. 200 カイリ水域内漁業資源総合調査,
第 14 回東北海区底魚研究チーム会議報告, 水産庁東北区水産研究所, 八戸.
1993; 43–47.
- 6) 池川正人, 根本芳春, 安岡真司. 福島県海域のキアンコウの漁獲実態と生態に
ついて. 東北底魚研究 2000; **20**: 29–35.
- 15 7) 岩崎高資, 吉田哲也, 千代窪孝志, 佐藤美智男. 福島県で水揚げされるキアン
コウについて. 福島県水産試験場研究報告 2010; **15**: 11–25.
- 8) Duarte R, Landa J, Quincozes I, Dupouy H, Bilbao E, Dimeet J, Marçal
A, McCormick H, Ni Chonchuir G. Anglerfish Ageing Guide, In: Landa J,
Duarte R, Quincozes I, Dupouy H, Bilbao E, Dimeet J, Lucio P, Marçal A,
20 McCormick H, Ni Chonchuir G (eds). *Report of the 4th international
ageing workshop on European anglerfish*, 2002; 1–22.
- 9) Beamish RJ, Fournier DA. A method for comparing the precision of a set

of age determinations. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 1981; **38**: 982–983.

- 10) Campana SE, Annanda MC, McMillana JI. Graphical and statistical methods for determining the consistency of age determinations. *Trans. Am. Fish. Soc.* 1995; **124**: 131–138.
- 5 11) 水戸 敏. 日本近海に出現する浮游性魚卵—X タラ目およびアンコウ目. 魚類学雑誌 1963; **11**: 103–113.
- 12) 星野尚重, 市毛清記, 鈴木正伸, 山口安男, 豊島征司. キアンコウの飼育試験及び栽培漁業対象種としての検討. 茨城水試研報 2006; **40**: 11–28.
- 13) Campana SE. Accuracy, precision and quality control in age
10 determination, including a review of the use and abuse of age validation methods. *J. Fish Biol.* 2001; **59**: 197–242.
- 14) Peabody FE. Annual growth zones in living and fossil vertebrates. *J. Morphol.* **108**: 11–62.
- 15) 河野光久. 日本海南西海域におけるキアンコウの資源管理に関する研究—I 沖
15 合及びき網によるキアンコウの漁獲実態. 山口県水産研究センター研究報告 2010; **8**: 31–36.
- 16) Yoneda M, Tokimura M, Horikawa H, Yamamoto K, Matsuyama M, Matsuura S. Spawning migration of the anglerfish *Lophius litulon* in the East China and Yellow Seas. *Fish. Sci.* 2002; **68**: 310–313.
- 20 17) Mcfarlane GA, Beamish RJ. Validation of the dorsal spine method of age determination for spiny dogfish. In: Summerfelt RC, Hall GE (eds). *Age and Growth of Fish*. Iowa State University Press, Ames, 1987; 287–300.

- 18) 田中 彰. タロウザメの背鰭棘の構造と年齢形質としての有効性の検討. 日本水産学会誌 1990; **56**: 903–909.
- 19) 増田辰良. 二・三魚類の鰭條に現われる年齢形質について. 魚類学雑誌 1950; **1**: 295–299.
- 5 20) 井嶋浩貴. 平成 27 年度国際漁業資源の現況. クロカジキ 太平洋, 水産庁・水産総合研究センター, 東京. 2016; **27**: 1–4.
- 21) van der Waal BCW, Schoonbee HJ. Age and growth studies of *Clarias gariepinus* (Burchell) (Clariidae) in the Transvaal, South Africa. *J. Fish Biol.* 1975; **7**: 227–234.
- 10 22) Clay D. A comparison of different methods of age determination in the sharptooth catfish *Clarias gariepinus*. *J. Lim. Soc. South. Africa* 1982; **8**: 61–70.

図説明文

Fig. 1 Locations of the three sampling areas (shaded) for yellow goosefish *Lophius litulon* off Aomori Prefecture. J: The Sea of Japan; T: Tsugaru Strait and P: Pacific Ocean.

5 **Fig. 2** Photographs of (a) a fresh illicium and (b) boiled illicium with the epidermis removed from the yellow goosefish *Lophius litulon*. Scale bar: 10 mm. The closed triangle indicates the region 5 mm from the posterior end.

Fig. 3 Photograph of the cross-sectioned illicium following etching and
10 stained with methylene blue for 4 h obtained from an individual yellow goosefish *Lophius litulon* (683 mm total length (TL)) collected from the Sea of Japan off Aomori Prefecture on 10 June 2015. Scale bar: 200 μ m.

Fig. 4 Relationship between the number of opaque zones in cross-sectioned
15 illicia from the yellow goosefish *Lophius litulon* that had been untreated or etched and stained with methylene blue. Each value indicates the number of individuals at that point. $n = 31$.

Fig. 5 Relationship between the difference in the number of opaque zones at
20 5 mm from the posterior end and various other distances and the distance of each section from the posterior end in the same illicium from yellow goosefish *Lophius litulon*. Each plotted point corresponds to a particular illicium, with data from 10 of 31 specimens being shown. No difference was found between the number of opaque zones within 10 mm of the posterior end.

Fig. 6 Relationship between the number of opaque zones in the illicia of yellow goosefish *Lophius litulon* under incident and transmitted light. $n = 40$.

Fig. 7 The percentage occurrence of opaque edges in the illicia (upper) and vertebral centra (lower) of the yellow goosefish *Lophius litulon*. The black, grey and white bars indicate >80% of the edge opaque, 20–80% of the edge opaque and <20% of the edge opaque inclusive of the translucent edge (0%), respectively. n : number of fish examined.

Fig. 8 Bias in the determination of age by three readers using the illicium and vertebral centrum of the yellow goosefish *Lophius litulon*. Each error bar represents the 95% confidence interval about the mean age assigned by one reader for all fish that were assigned a given age by a second reader. A total of 20 fish were examined.

Fig. 9 The von Bertalanffy growth curve of both sexes combined and the relationship between the estimated age using tagging experiments and the total length (TL) for the yellow goosefish *Lophius litulon*. Open circles and triangles indicate female ($n = 112$) and male ($n = 74$) individuals, respectively. Closed circles with a solid line indicate mean ages estimated at 300 mm and 600 mm TL based on tagging experiment data obtained from individuals that had been recaptured across more than 1 year (Takeya *et al.* unpublished).

Fig. 10 Photograph of the cross-sectioned illicium obtained from the smallest specimen of yellow goosefish *Lophius litulon* (59 mm TL). This specimen

was collected from the Sea of Japan off Aomori Prefecture on 8 August 2015. Scale bar: 10 μm .

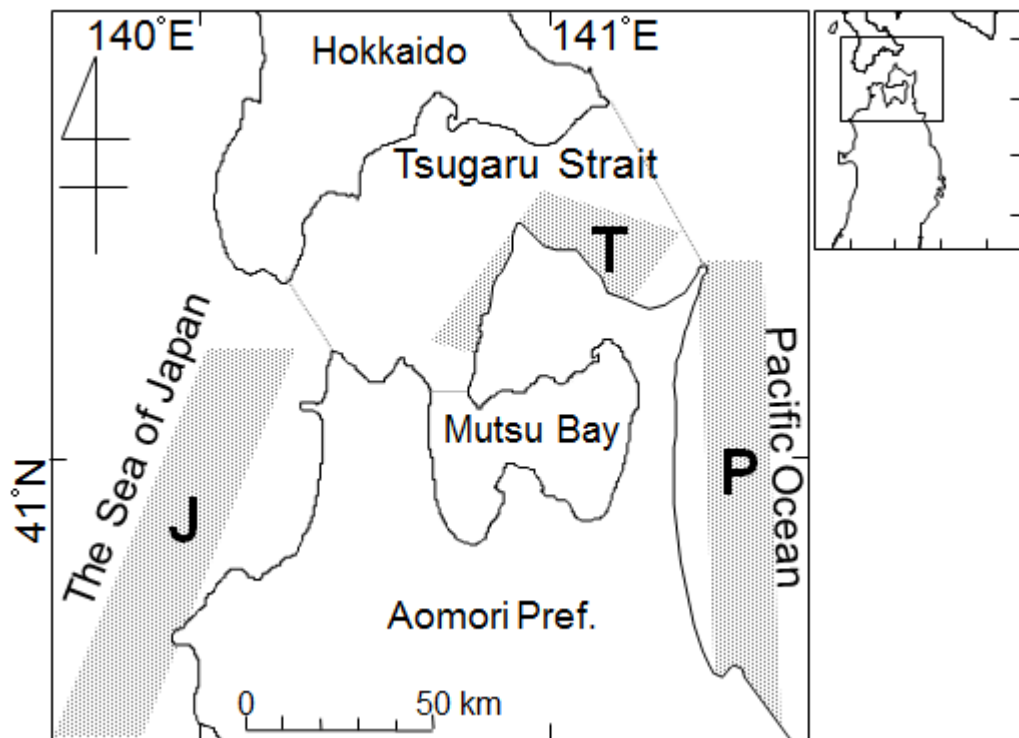
Appendix fig. 1 Photographs of the cross-sectioned illicium from an individual yellow goosefish *Lophius litulon* (475 mm TL) collected from the Sea of Japan off Aomori Prefecture on 18 November 2014. (a) Untreated, (b) etched with 1 mol/L HCl for 30 s and (c) stained with methylene blue for 4 h following etching. Scale bar: 200 μm .

Appendix fig. 2 Photographs of the cross-sectioned illicium following etching of an individual yellow goosefish *Lophius litulon* (683 mm TL) collected from the Sea of Japan off Aomori Prefecture on 10 June 2015. (a) Unstained, (b) stained with alizarin red S for 4 h, (c) stained with methyl red for 4 h, (d) stained with acetocarmine for 2 h, (e) stained with methylene blue for 4 h and (f) stained with alcian blue for 4 h. Scale bar: 200 μm .

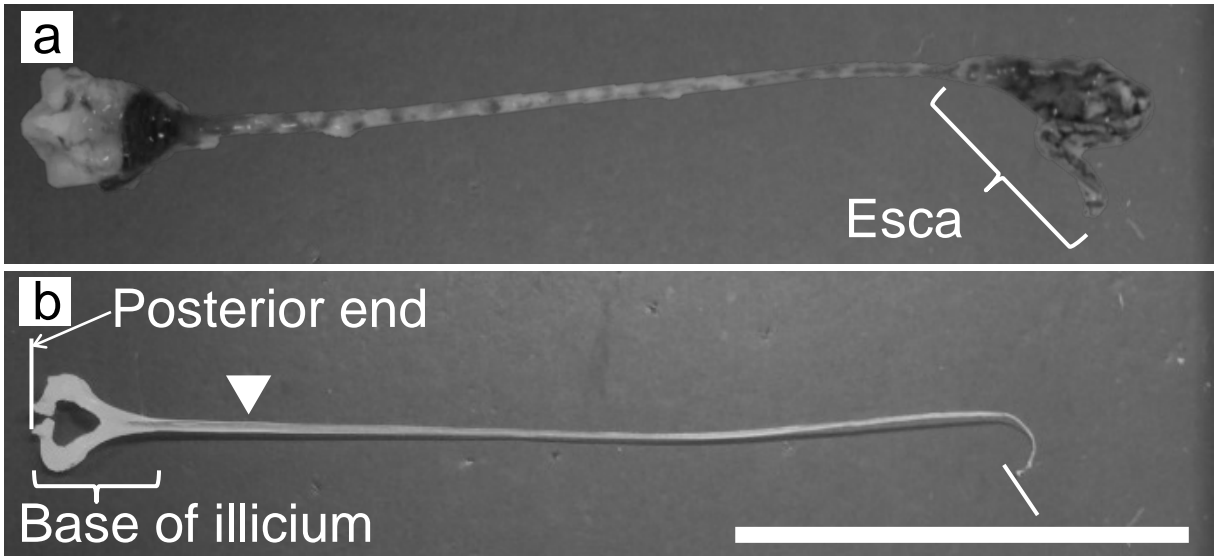
Appendix fig. 3 Cross-sections of the illicium of a yellow goosefish *Lophius litulon* (475 mm TL) collected from the Sea of Japan off Aomori Prefecture on 9 June 2014 at different positions. This specimen was etched in 1 mol/L HCl and stained with methylene blue. Sections are shown at (a) 5 mm, (b) 15 mm, (c) 25 mm, (d) 35 mm, (e) 45 mm and (f) 55 mm from the posterior end. The arrows in (a) and (b) indicate the square ring that was formed at the time of settlement. These images were taken using a microscope with incident light. Scale bar: 200 μm .

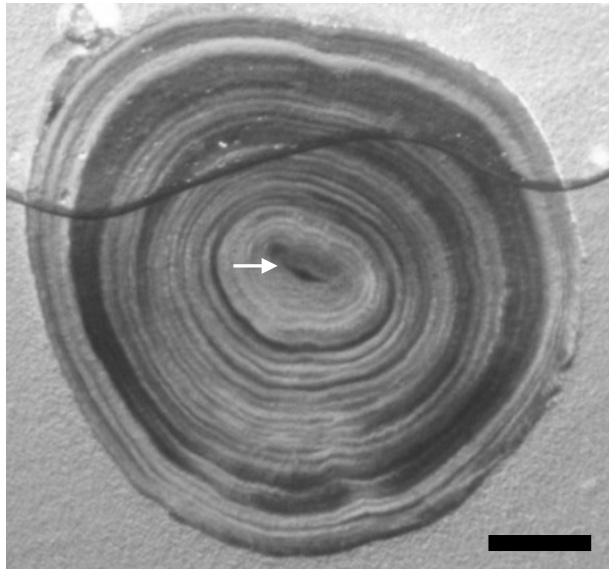
Appendix fig. 4 Photographs of the cross-sectioned illicia from the yellow
goosefish *Lophius litulon* collected (a) from the Sea of Japan off Aomori
Prefecture on 12 February 2015, (b) the Pacific Ocean on 17 February
2015 and (c) the Sea of Japan on 9 June 2015. Left and right photographs
5 were taken under incident and transmitted light, respectively. The open
red, black and white triangles indicate the opaque zones of illicia that had
been etched and were depressed and translucent, had been stained
insufficiently or were indistinguishable, respectively. Scale bar: 200 μm .

Appendix fig. 5 Photographs of (a) the cross-sectioned illicium and (b)
10 vertebral centrum from a yellow goosefish *Lophius litulon* (728 mm TL)
collected from Tsugaru Strait off Aomori Prefecture on 14 December, 2015.
Open triangles indicate opaque zones. Closed triangles indicate doubtful
and uncounted transparent zones. This specimen is an example and the
obtained data are exclusive of the present study. Scale bar: (a) 200 μm , (b)
15 5 mm.

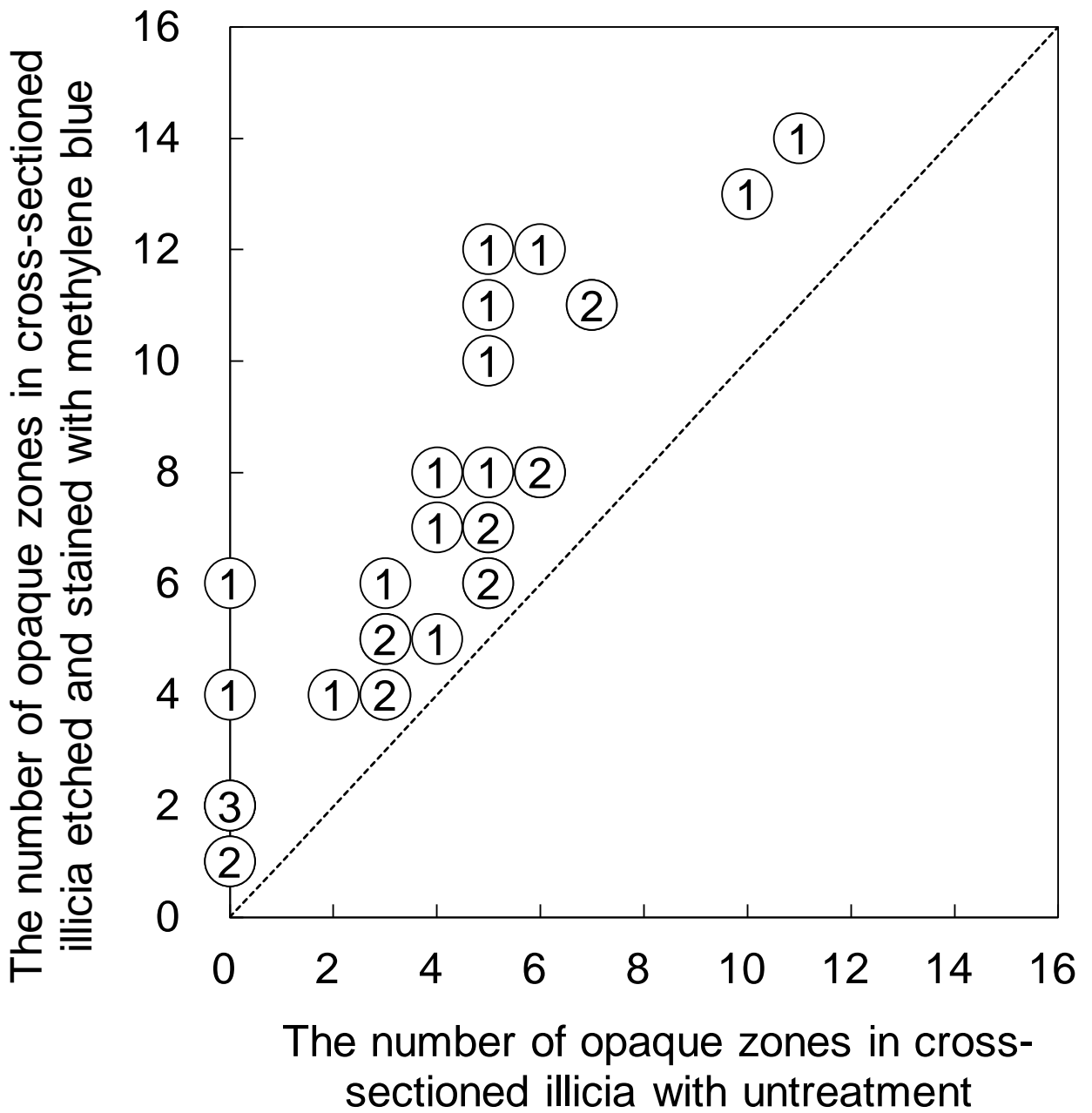


竹谷ほか, Fig. 1 (8cm)

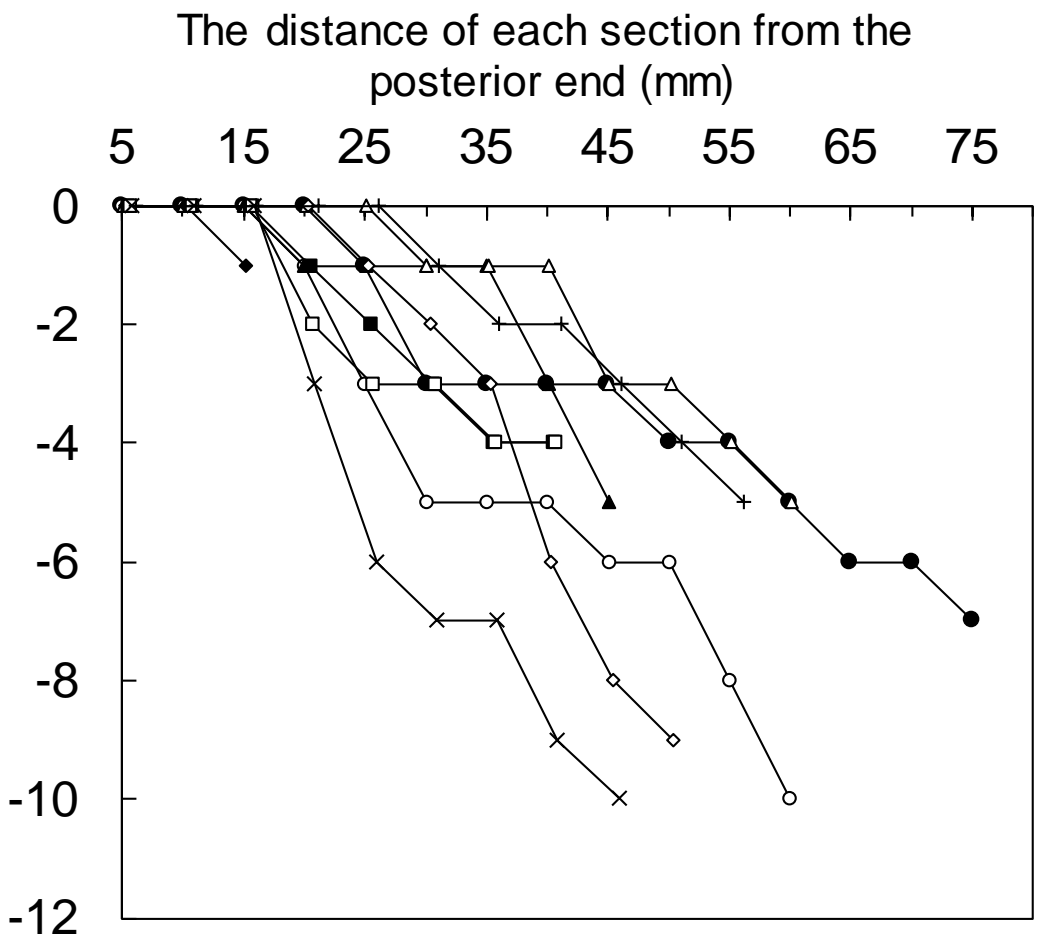




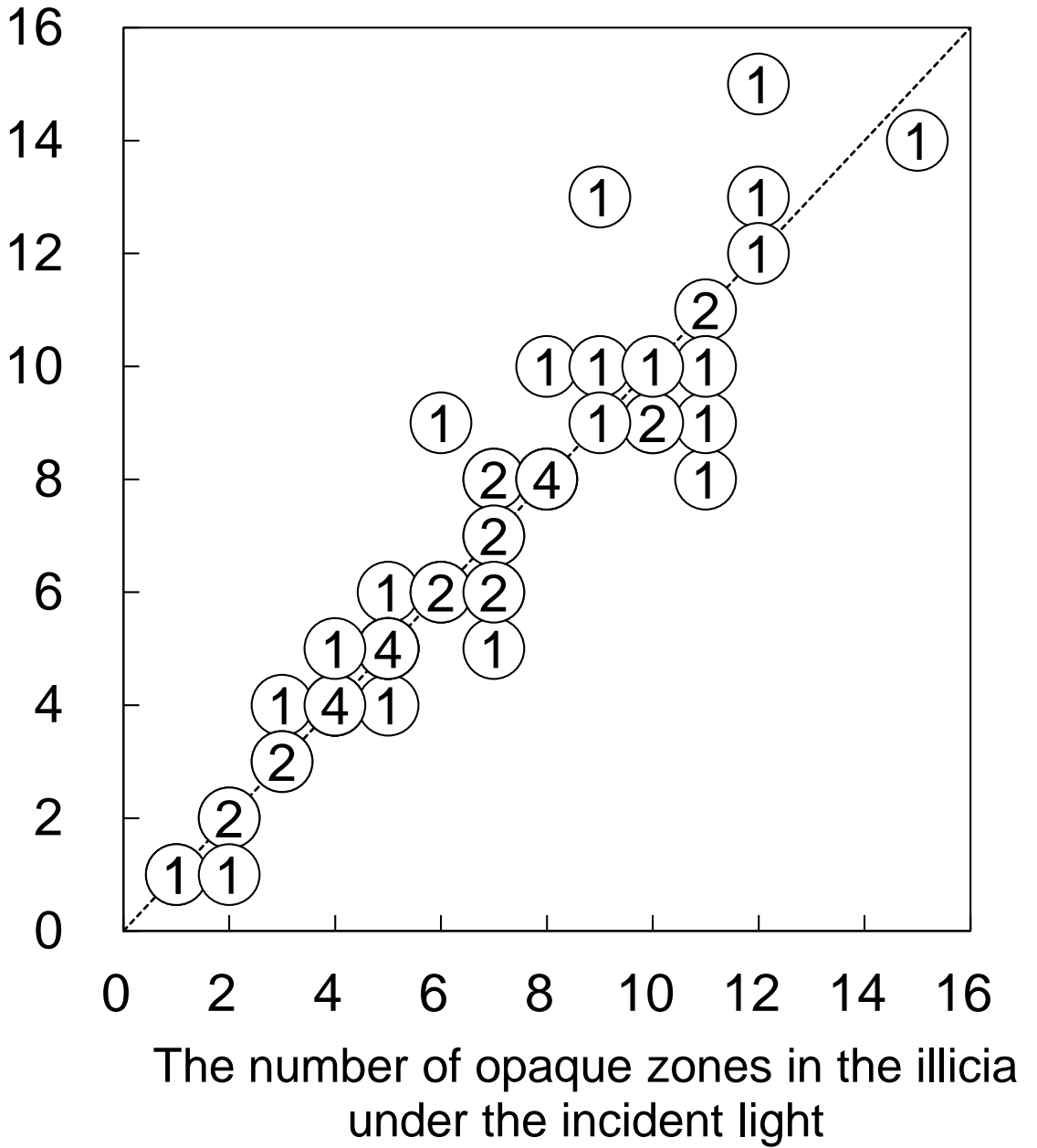
竹谷ほか, Fig. 3 (8cm)

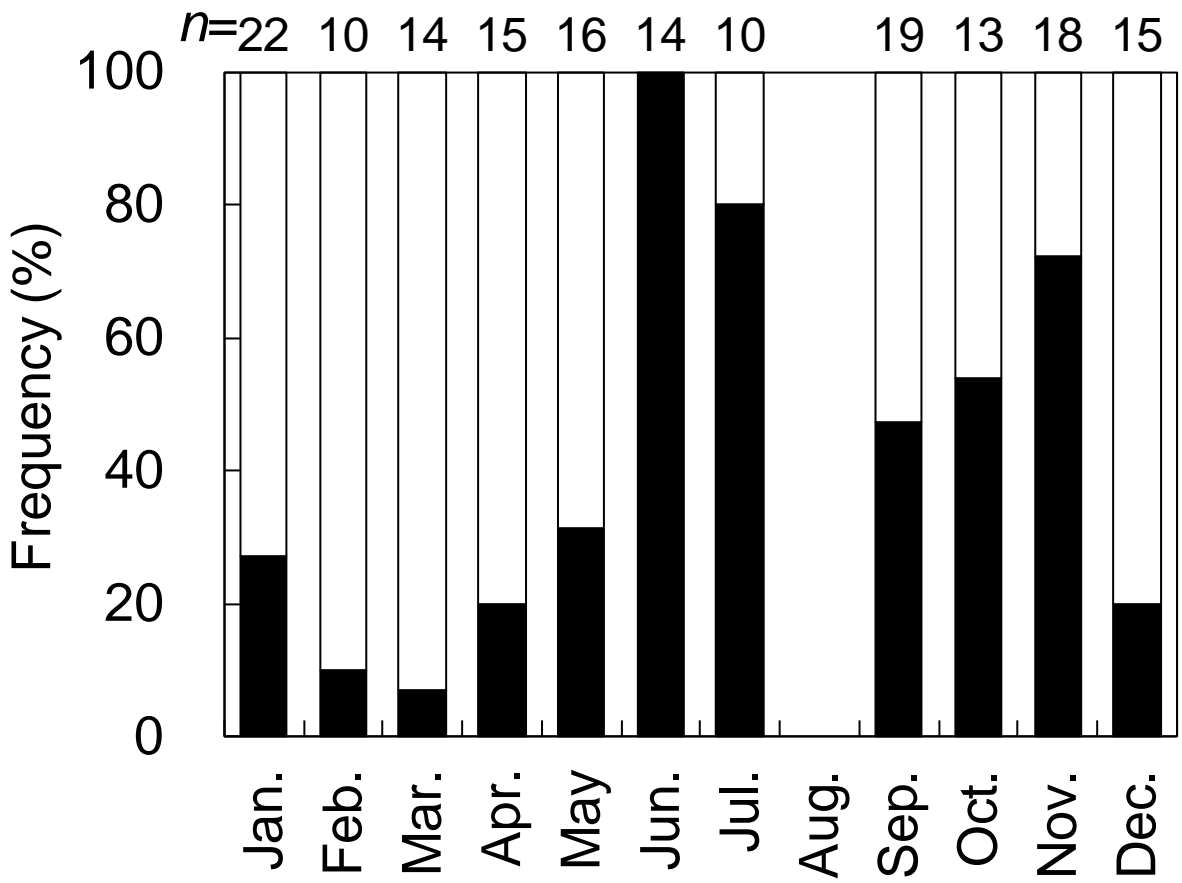
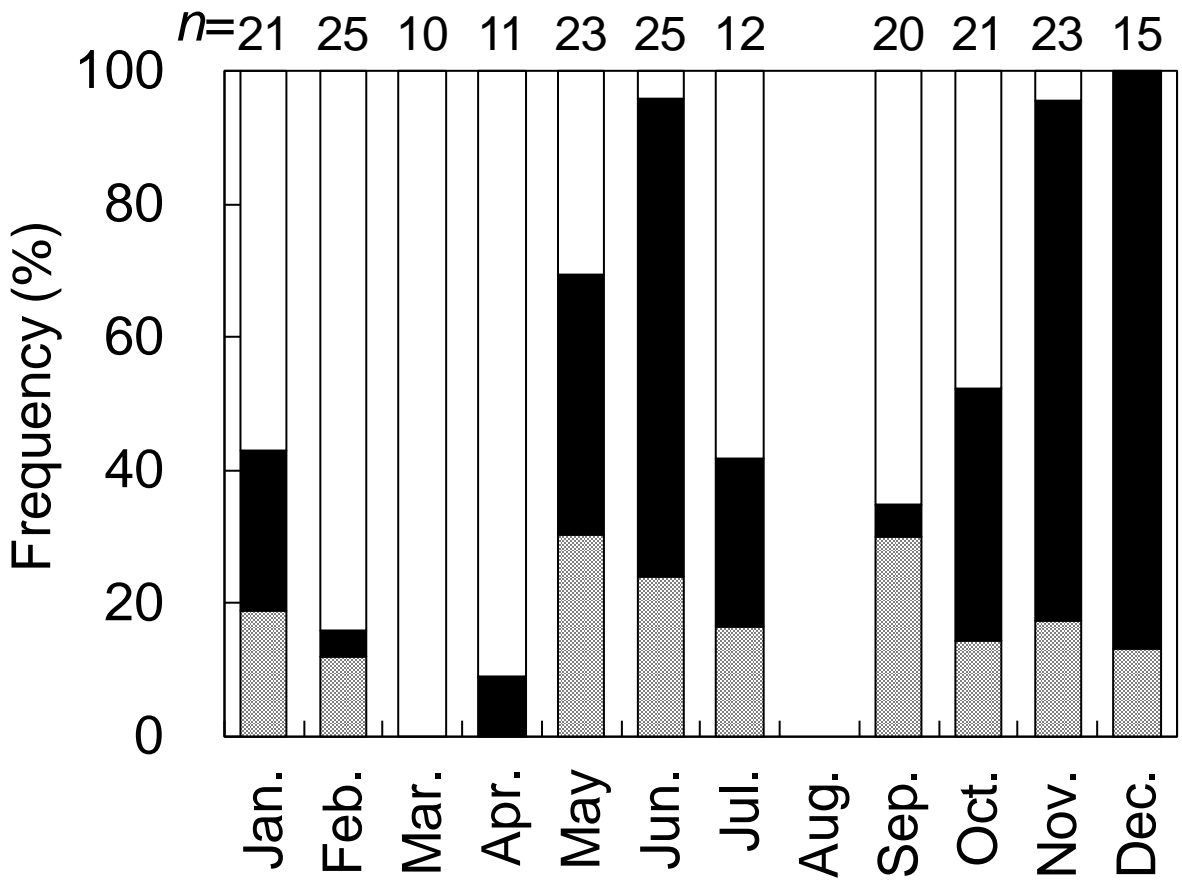


The number of opaque zones at 5 mm from the posterior end minus that at each distance



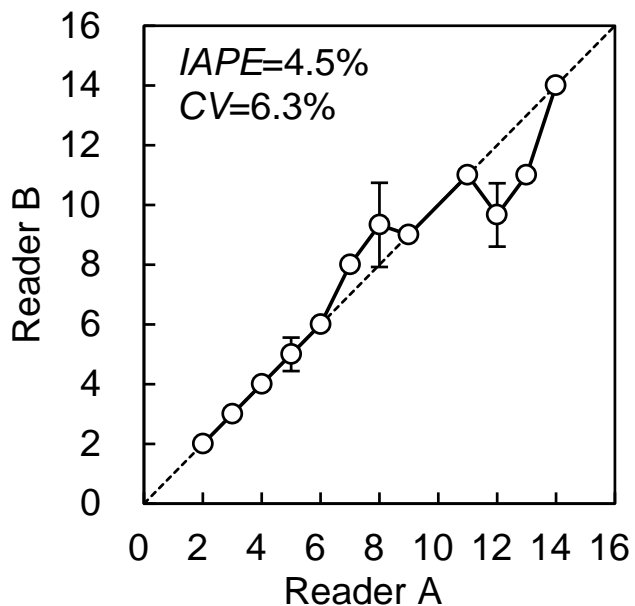
The number of opaque zones in the illicia
under the transmitted light



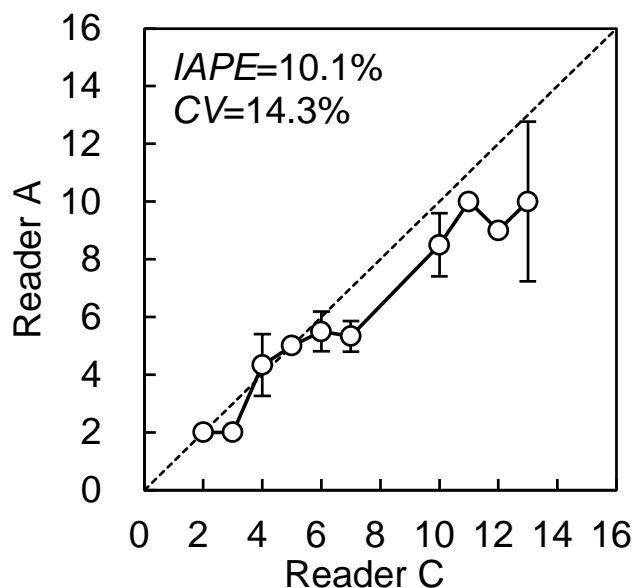
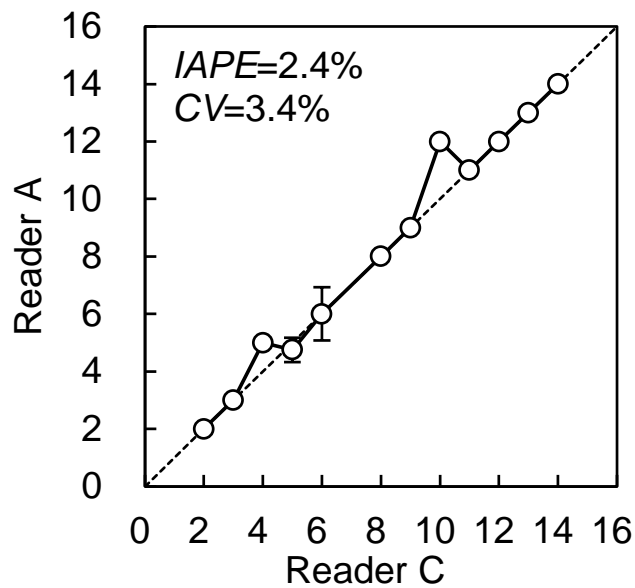
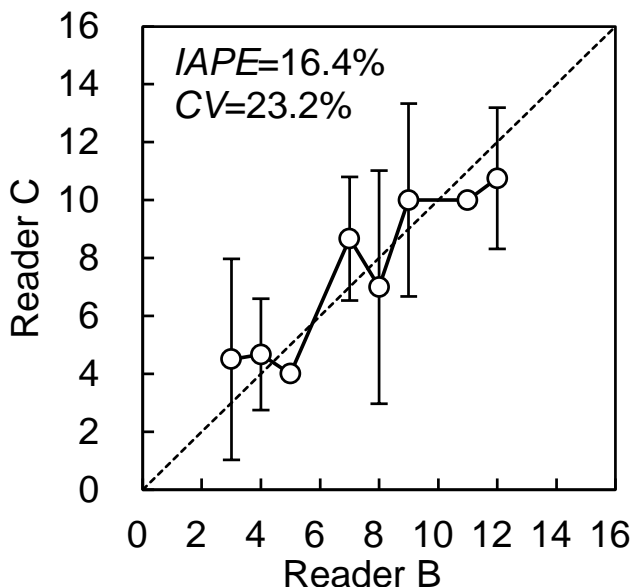
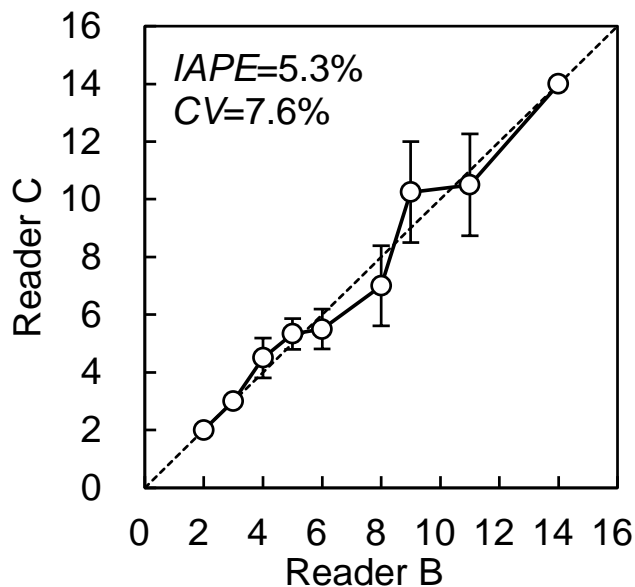
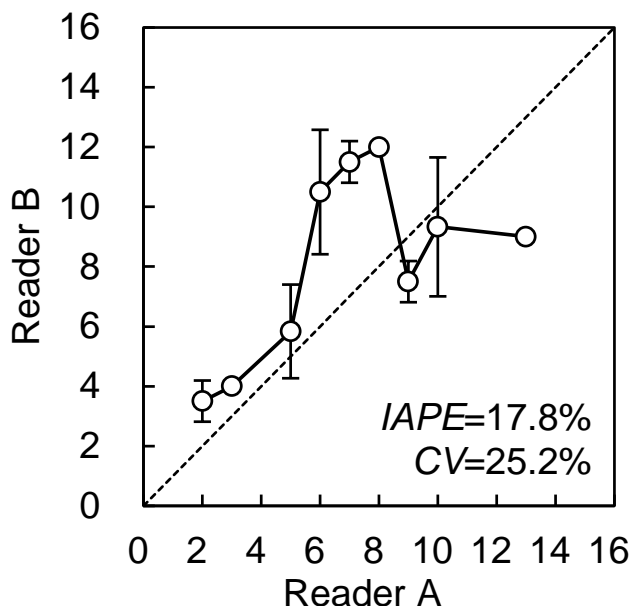


The determination of age by each reader

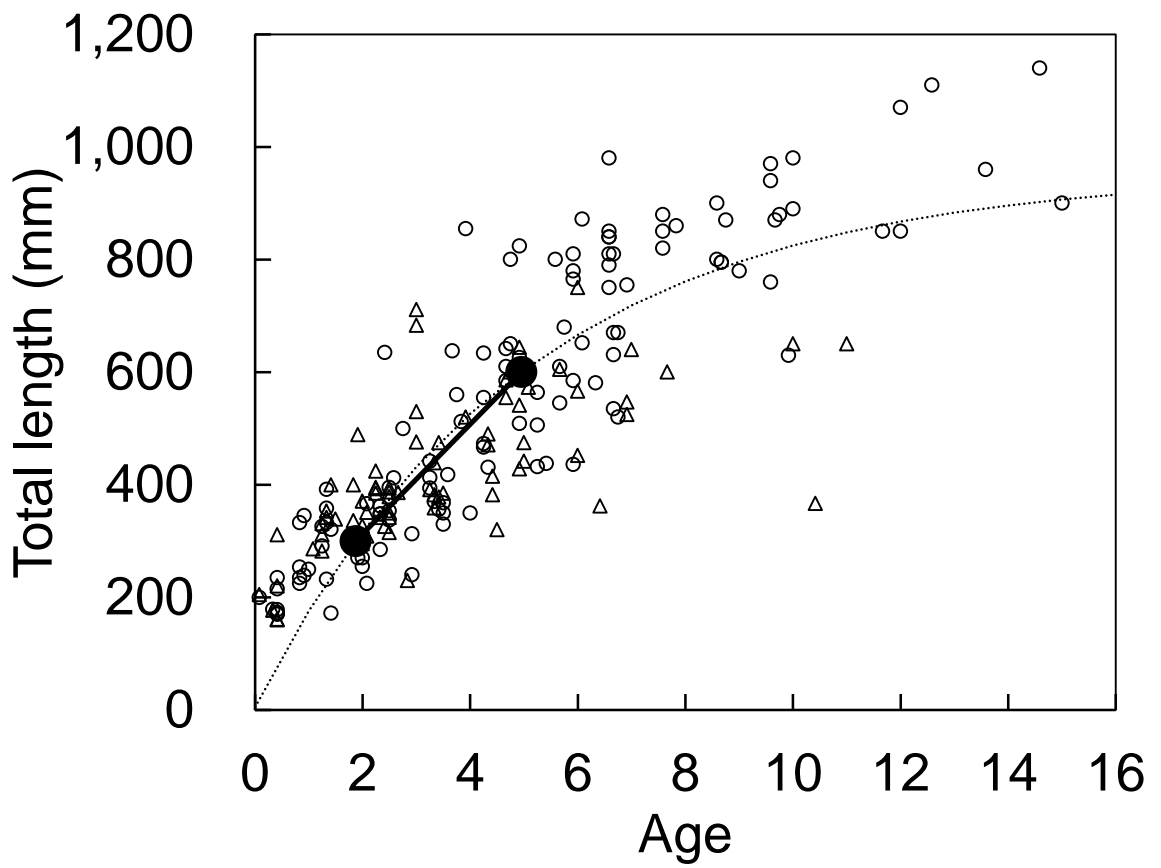
Illicium

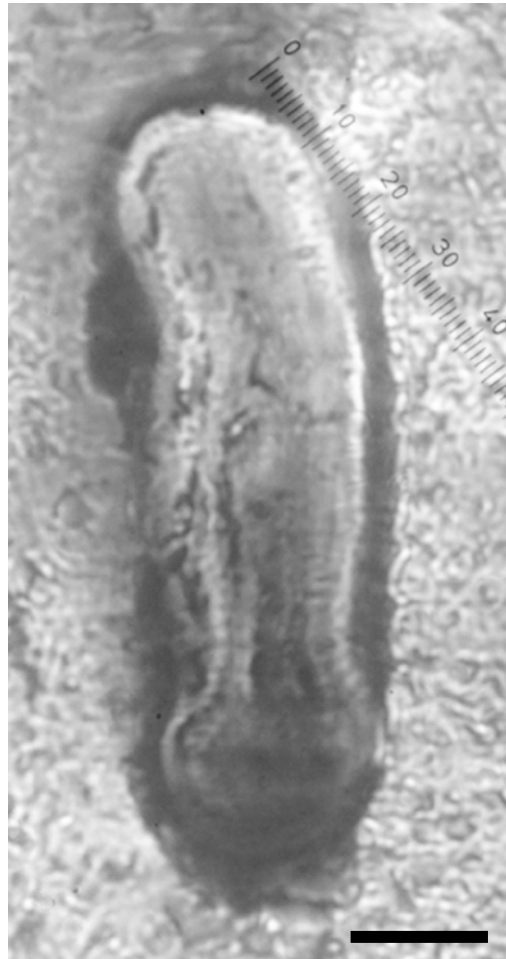


Vertbral centrum



The determination of age by each reader





竹谷ほか, Fig. 10 (8cm)

青森県周辺海域におけるキアンコウの背鰭第一棘による年齢査定法の検証

竹谷裕平,^{1,2*} 高津哲也,³ 山中智之,^{1,a} 柴田泰宙,⁴ 中屋光裕⁵

¹(地独) 青森県産業技術センター水産総合研究所, ²北海道大学大学院水産科学院, ³北海道大学大学院水産科学研究所, ⁴(国研) 水産研究・教育機構東北区水産研究所, ⁵北海道大学水産学部

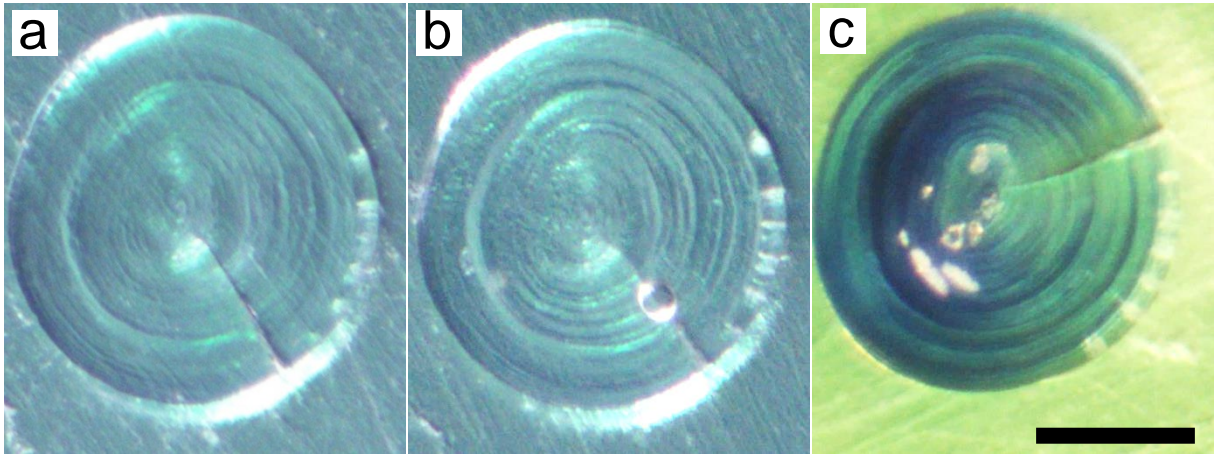
Use of the illicium for age determination and verification of yellow goosefish *Lophius litulon* off Aomori Prefecture, northern Japan

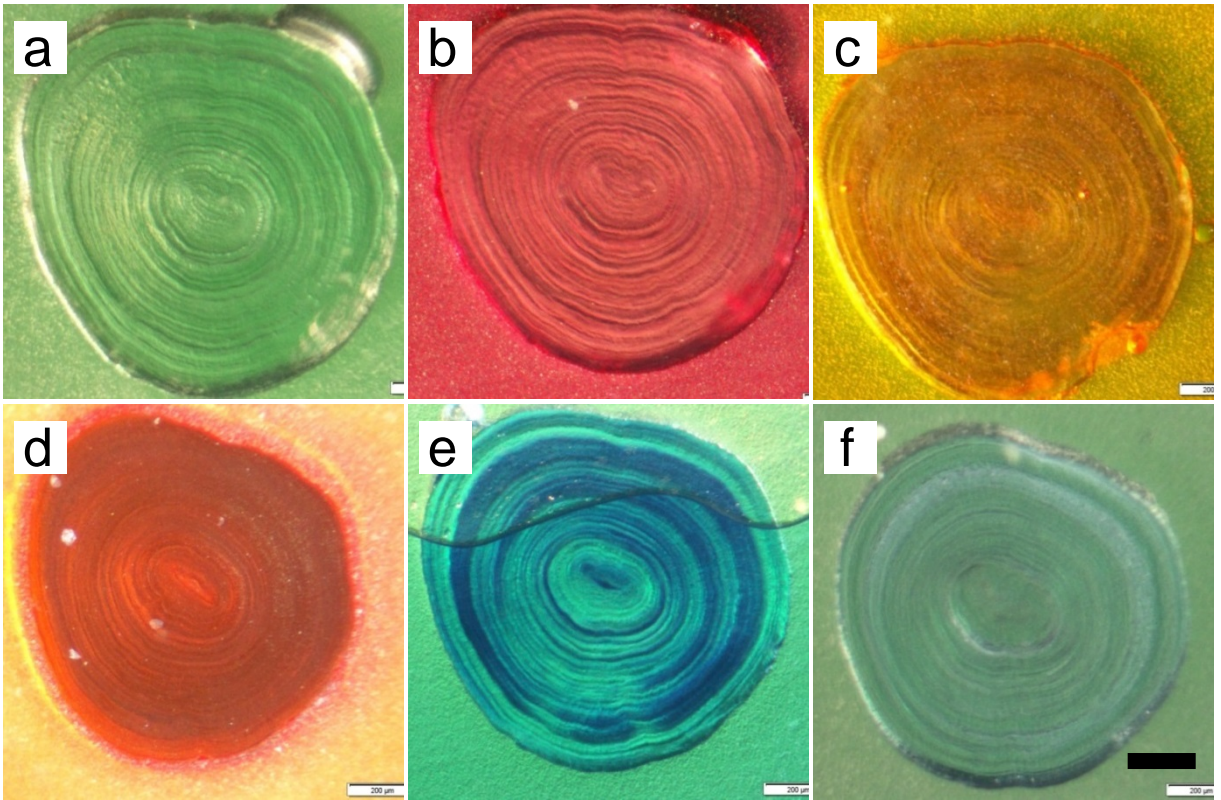
YUHEI TAKEYA,^{1,2*} TETSUYA TAKATSU,³ TOMOYUKI YAMANAKA,^{1,a} YASUTOKI SHIBATA⁴ AND MITSUHIRO NAKAYA⁵

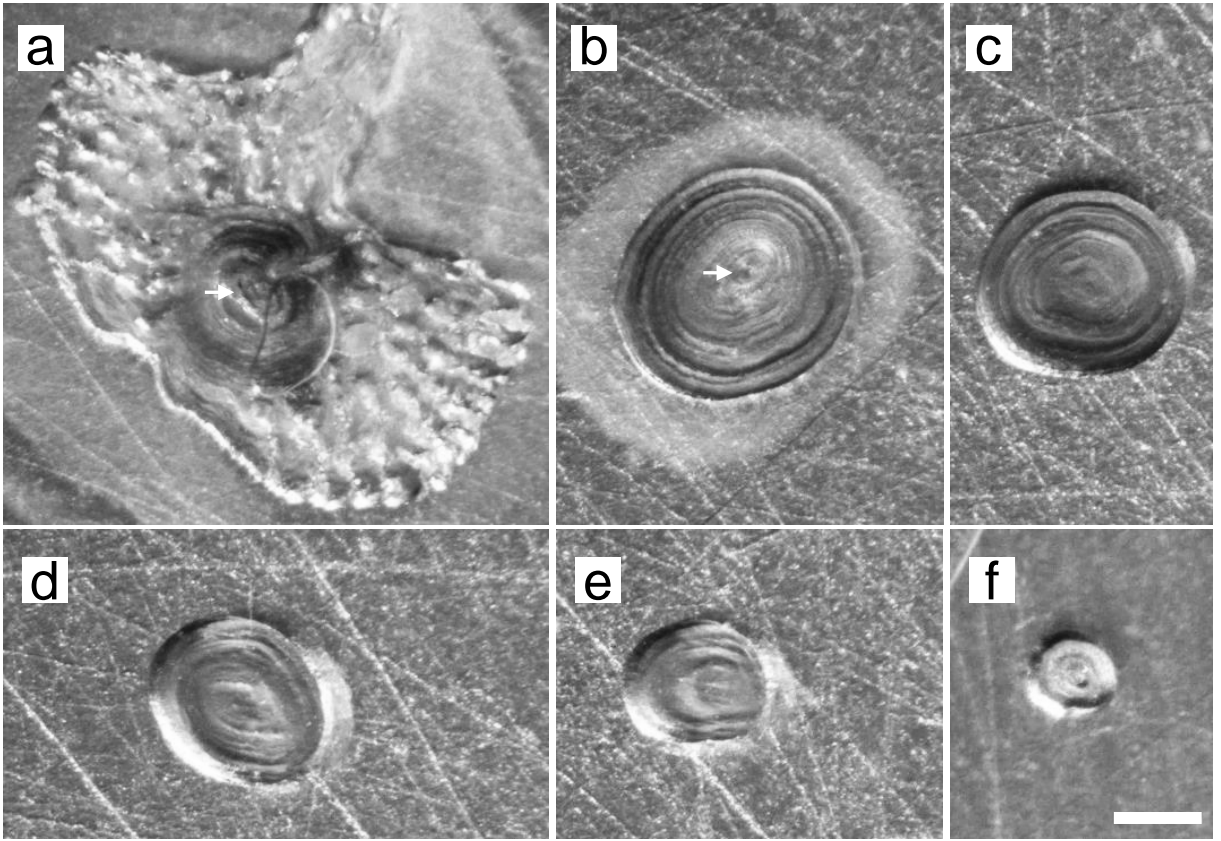
¹*Aomori Prefectural Industrial Technology Research Center Fisheries Institute, Hiranai, Aomori 039-3381,* ²*Graduate School of Fisheries Sciences, Hokkaido University, Hakodate, Hokkaido 041-8611,* ³*Faculty of Fisheries Sciences, Hokkaido University, Hakodate, Hokkaido 041-8611,* ⁴*Tohoku National Fisheries Research Institute, Japan Fisheries Research and Education Agency, Hachinohe, Aomori 031-0841, Japan,* ⁵*Faculty of Fisheries, Hokkaido University, Hakodate, Hokkaido 041-8611, Japan*

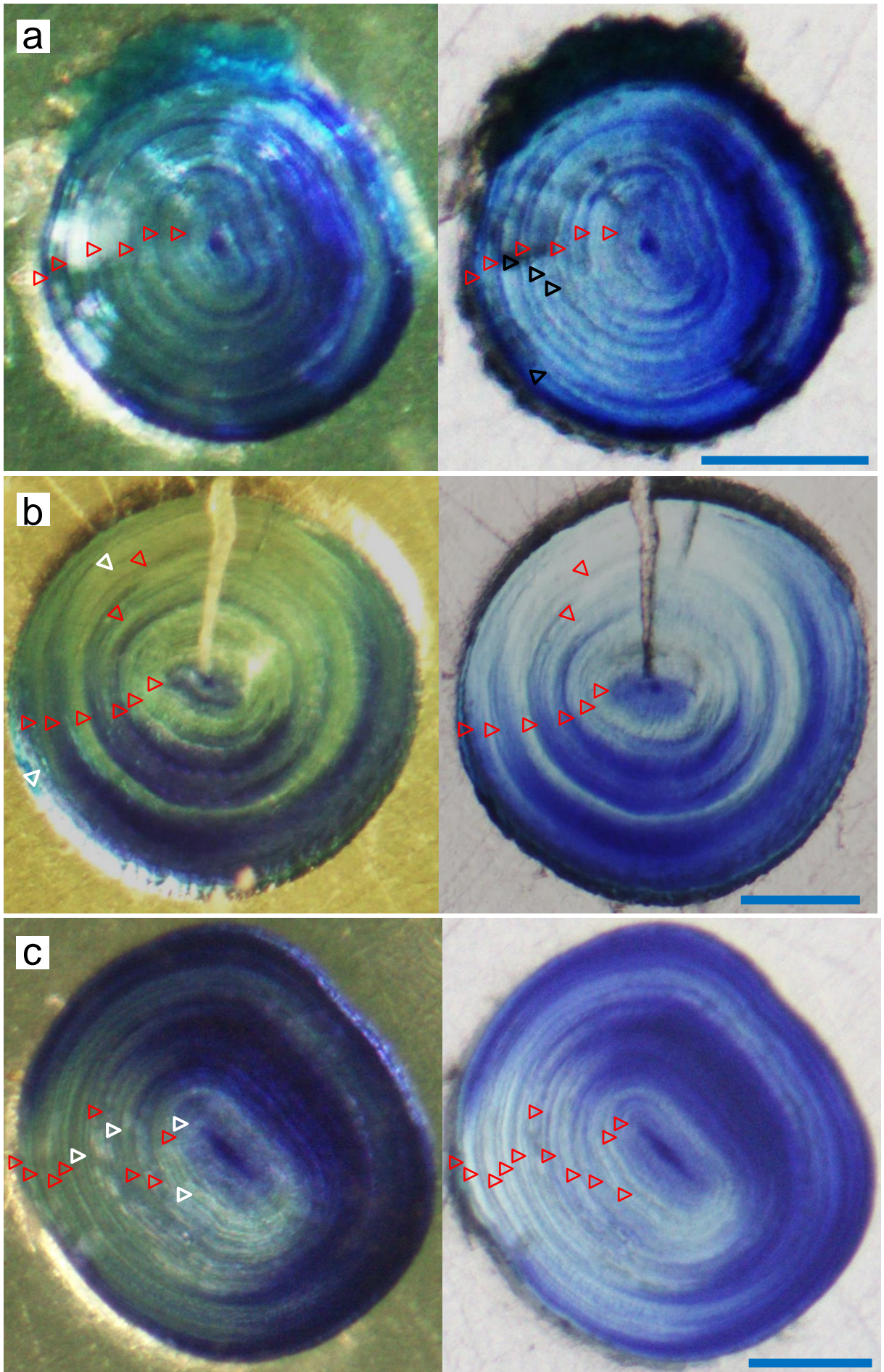
* Tel: +81-017-755-2155, Fax: +81-017-755-2156, E-mail: yuuhei_takeya@aomori-itc.or.jp

^a現所属: (地独) 大阪府立環境農林水産総合研究所 (Research Institute of Environment, Agriculture and Fisheries, Osaka Prefecture, Misaki, Osaka 559-0311, Japan)









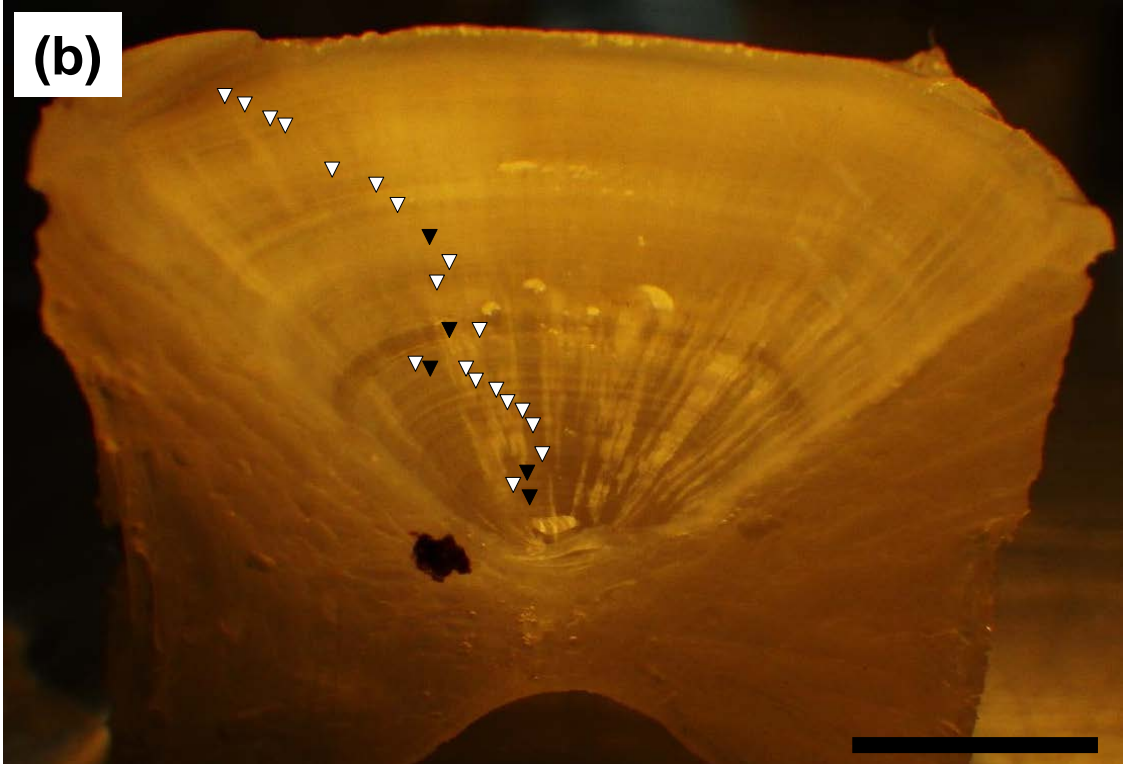
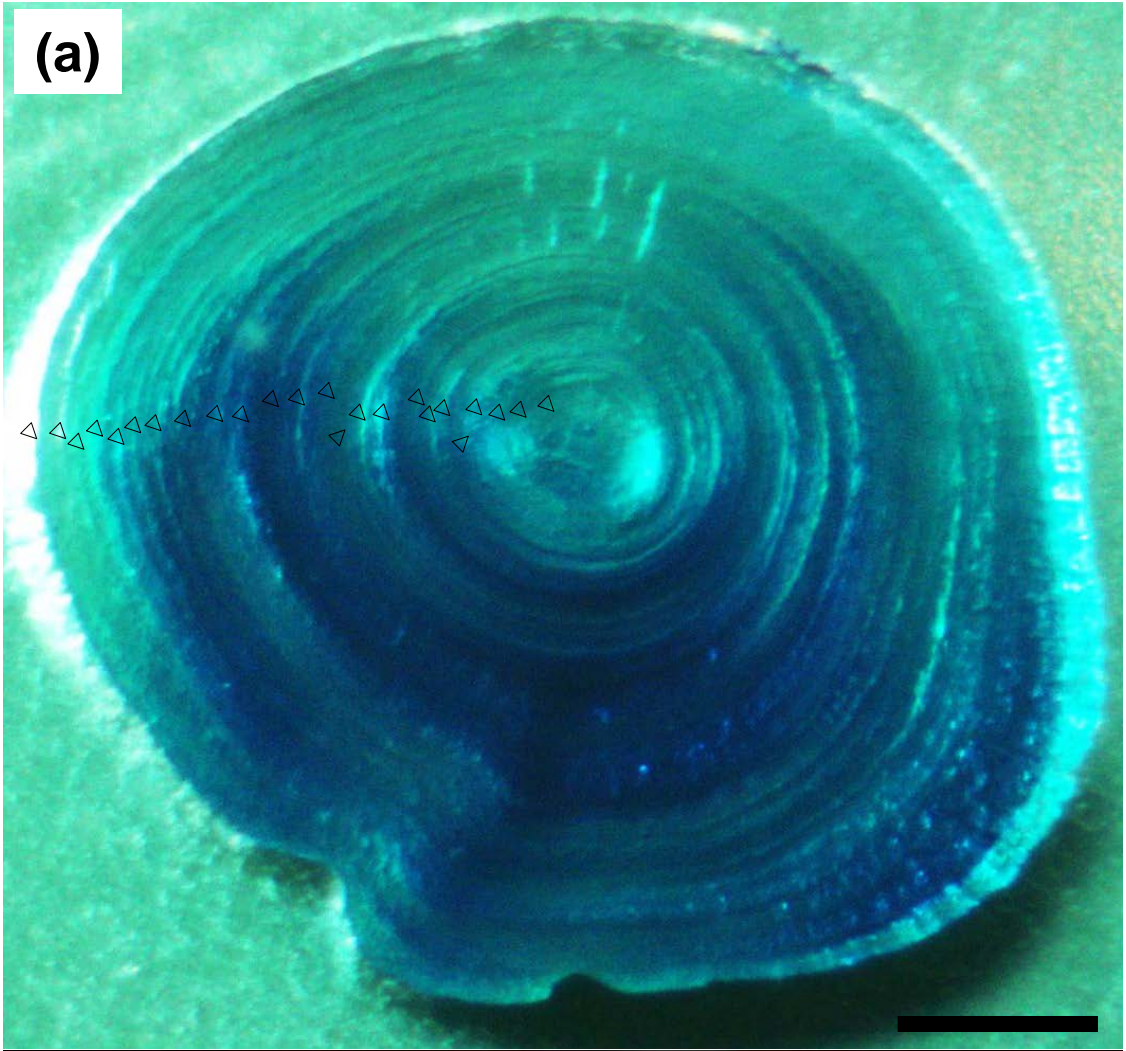


Table 1. The verification of the visibility of a ring like structure in the cross-sectioned illicium by etching and staining

Etching	Stain	Staining time (h)	Stain pH	Verification
Unetched				Ring like structure was visible but unclear. Number of opaque zones in rings could not be counted in some specimens.
	Unstained			After etching, transparent zones were eluted and opaque zones were bulged. Opaque zones that were invisible before etching became visible; however, the contrast was weak between opaque and transparent zones.
Etched	Methylene blue	4	4.1	Opaque zones bulged, tended to be stained and became more distinguishable from transparent zones. Some deep eluted transparent zones were only slightly stained but were distinguishable from opaque zones.
	Alizarin red S	4	6.6	Opaque zones were stained approximately equally; however, because of the emphasised shadow, the etched and stained cross-sectioned illicium was more visible than only etched illicium. However, the difference of the contrast did not occur in specimens stained by methylene blue.
	Methyl red	4	5.9	
	Acetocarmine	2*	1.8	
	Alcian blue	4	4.8	

* Acetocarmine staining showed the most acidity, and the illicium fell off resin after >2 h of staining.

Table 2. Raw counts by three readers of the number of opaque zones in the illicium and vertebral centrum in the yellow gosefish *Lophius litulon*

Illicium						Vertbral centrum					
Fish nr	Reader A	Reader B	Reader C	<i>APE</i> (%)	<i>CV</i> (%)	Fish nr	Reader A	Reader B	Reader C	<i>APE</i> (%)	<i>CV</i> (%)
1	12	9	12	12.1	15.7	1	10	12	13	9.5	13.1
2	14	14	14	0.0	0.0	2	8	12	10	13.3	20.0
3	8	9	8	5.3	6.9	3	6	9	6	19.0	24.7
4	8	11	8	14.8	19.2	4	6	12	7	29.3	38.6
5	2	2	2	0.0	0.0	5	2	3	2	19.0	24.7
6	11	11	11	0.0	0.0	6	10	7	10	14.8	19.2
7	5	6	5	8.3	10.8	7	5	7	6	11.1	16.7
8	5	4	4	10.3	13.3	8	5	5	4	9.5	12.4
9	12	9	12	12.1	15.7	9	10	9	11	6.7	10.0
10	7	8	6	9.5	14.3	10	7	12	13	22.9	30.1
11	13	11	13	7.2	9.4	11	13	9	13	15.2	19.8
12	5	5	5	0.0	0.0	12	5	3	7	26.7	40.0
13	3	3	3	0.0	0.0	13	3	4	4	12.1	15.7
14	5	5	6	8.3	10.8	14	5	4	7	20.8	28.6
15	5	5	5	0.0	0.0	15	5	8	4	27.5	36.7
16	4	4	5	10.3	13.3	16	2	4	3	22.2	33.3
17	9	9	9	0.0	0.0	17	9	8	12	16.1	21.5
18	12	11	10	6.1	9.1	18	9	7	10	12.8	17.6
19	8	8	8	0.0	0.0	19	7	11	10	16.7	22.3
20	6	6	6	0.0	0.0	20	5	8	5	22.2	28.9
				<i>IAPE</i> mean <i>CV</i>						<i>IAPE</i> mean <i>CV</i>	
				5.2	6.9					17.4	23.7

Abbendix table 1. Characteristics of the yellow goosefish *Lophius litulon* specimens in which the illicium was examined

Sampling month	Number of fish examined										Range of total length (mm)		
	The Sea of Japan		Tsugaru Strait				Pacific Ocean		Total				
	Trawl net		Bottom set net		Gill net		Trawl net			Trawl net			
	F*	M*	F*	M*	F*	M*	F*	M*	F*	M*	F*	M*	
Nov., 2013							1		1		2		362 – 367
Jan., 2014	1										1	418	
Apr.	1	1									2	512	445
May	1										1	509	
June		7			6	4					17	780 – 1,070	327 – 750
July	1	4									5	225 – 225	205 – 555
Oct.	2	2					1	3	6	3	17	179 – 431	177 – 490
Nov.	4	1									5	235 – 438	475
Jan., 2015	1				19						20	412 – 1,140	
Feb.		1			12	3			6	3	25	535 – 870	386 – 610
Mar.					9	1					10	500 – 880	600
Apr.	4	4			1						9	225 – 860	230 – 400
May	4				7	3	1	4	3		22	239 – 855	428 – 644
June	4	2				2					8	250 – 350	295 – 711
July	1	3	2		1						7	200 – 872	286 – 573
Sep.	7	3					4	6			20	291 – 634	282 – 424
Oct.	1								2	1	4	358 – 581	342 – 342
Nov.		2					1		6	7	16	170 – 635	160 – 415
Dec.									6	9	15	330 – 395	315 – 394
Total	32	30	2	0	55	13	7	14	29	24	206	170 – 1,140	160 – 750

*F: female, M: male.

Abbendix table 2. Characteristics of the yellow goosefish *Lophius litulon* specimens in which the vertebral centrum was examined

Sampling month	Number of fish examied										Range of total length (mm)				
	The Sea of Japan		Tsugaru Strait				Pacific Ocean		Total						
	Trawl net		Bottom set net		Gill net		Trawl net			Trawl net					
	F*	M*	F*	M*	F*	M*	F*	M*	F*	M*	F*	M*			
Jan., 2014	1											1	418		
Apr.	1											1	512		
May	1											1	509		
June		7										7		327 – 566	
July	1	2										3	225 – 225	205 – 482	
Oct.							1	3	6	3		13	179 – 431	177 – 471	
Nov.	4	1										5	235 – 438	475	
Jan., 2015	1											1	412		
Feb.		1							6	3		10	540 – 631	386 – 610	
Apr.	1	3	8	2								14	235 – 1,013	230 – 672	
May	3	1			7	3		1				15	270 – 1,105	489 – 644	
June									4	3		7	610 – 680	600 – 700	
July	1	3	2		1							7	200 – 872	286 – 573	
Sep.	7	2							4	6		19	291 – 634	282 – 424	
Nov.		2							1			13	170 – 635	160 – 415	
Dec.									6	9		15	330 – 395	315 – 394	
Jan., 2016									9	11		20	340 – 410	292 – 415	
Mar.					11	3						14	576 – 755	560 – 634	
Total	21	22	10	2	19	6	6	10	35	35	166	170 – 1,105	160 – 700		

*F: female, M: male.