

弾帯受けおよび主歯の透過光観察によるウバガイの簡易年齢査定手法（短報）

吉村圭三^{*1}, 道林宣敬²

¹北海道立総合研究機構栽培水産試験場,

²北海道胆振地区水産技術普及指導所

Age determination of Sakhalin surf clam *Pseudocardium sachalinense* based on transmitted light observation in resilifer and main teeth (Short Paper)

KEIZO YOSHIMURA^{*1} and NOBUTAKA MICHIBAYASHI²

¹Mariculture Fisheries Research Institute, Hokkaido Research Organization, Muroran, Hokkaido 051-0013,

²Iburi Fishery Technical Guide Office, Muroran, Hokkaido 051-8558, Japan

We studied a simple age determination technique for Sakhalin surf clam *Pseudocardium sachalinense*, with a known longevity of over 20 years. Using the transmitted light of stereoscopic microscope, easily trackable growth line structures were observed in the resilifer and main teeth, which are the hinge parts of the left shell. The opaque growth lines represent the prismatic layers which are formed annually during the first half of years, as confirmed by previous studies. The first three to five lines were clearly observed in the resilifer, but subsequent lines were difficult to recognize because of the thickness of the resilifer's edge. In contrast, in the main teeth, the first one to two lines were hidden in the root of the teeth, and the following lines until the edge were well-defined. Therefore, the entire growth line numbers were obtained by combining the counts in resilifer and main teeth. In 15 clams, the growth line counts (5 to 37) almost corresponded to the age determined by shell sectioning method for identical clams. We concluded that this new technique can determine the age of clams with good accuracy equal to the shell sectioning method. This technique is easier and applicable to surface-damaged shells.

キーワード：ウバガイ，主歯，弾帯受け，年齢査定，表面観察，ホッキガイ

ウバガイ *Pseudocardium sachalinense* はホッキガイと通称される大型の二枚貝で、北海道では日本海南部沿岸を除くほぼ全域で漁獲されている。2018年の北海道における漁獲量は計4,811トンに達し（北海道水産林務部総務課，2020），二枚貝類としてはホタテガイに次ぐ重要な沿岸漁業資源と位置づけられる。ウバガイ漁業ではホタテガイのような栽培漁業技術は確立されておらず，天然資源が利用されている。従って，持続的な漁業生産を図るためには，資源量推定や資源変動モニタリング等の資源管理技術を活用する必要がある。その場合，年齢-成長関係や資源の年齢構成等，年齢に関する知見が重要となる。

ウバガイでは殻断面に観察される年輪による年齢査定技術（貝殻断面法）が確立されている（林，1955; Kato and Hamai, 1975; Sasaki, 1981）。しかし，大型で厚い殻の断面

標本作成には大きな労力を要するため，多数の個体について迅速に年齢査定を行うことは容易ではない。一方，殻表面に観察される成長脈の計数によって，比較的簡易に年齢を推定できるとの知見（表面法）がある（木下・川村，1959）。しかし，高齢となるに伴い成長脈の間隔が著しく狭くなることに加え，殻の摩耗により初期の成長脈が不明瞭となる個体が多いため，推定精度が低下する場合が多い。

そこで今回，著者らはウバガイの簡易かつ高精度な年齢査定法の確立を目的とし，蝶番内面の弾帯受（Resilifer）および主歯（Main teeth）の透過光観察による成長線の計数方法を検討し，貝殻断面法との比較により年齢形質として有効であることを示した。

Table 1 Collection date, water depth of collection area, number of specimens, and shell length range of Sakhalin surf clam used in this study

Collection date	Water depth of collection area (m)	Number of specimens	Shell length range (mm)
29 Mar. 2019	5-9	11	96-126
27 Sept. 2019	5-9	4	104-123

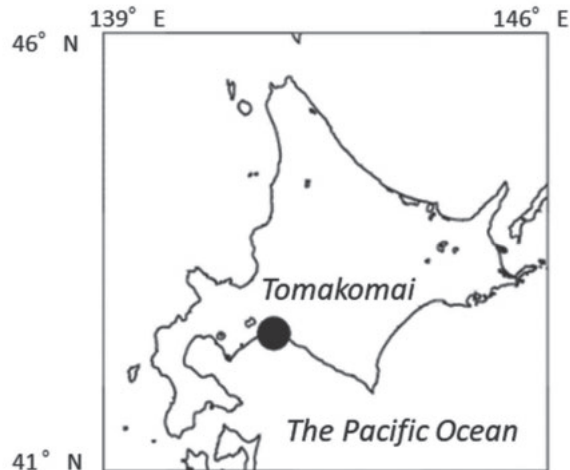


Fig.1 Specimen collection site in Hokkaido, Japan (black circle)

試料および方法

実験には2019年3月29日および9月27日に、北海道苫小牧市勇払地先のホッキガイ漁場 (Fig. 1) 水深5~9 mにおいて、噴流式桁網で漁獲された殻長96~126 mmのウバガイ計15個を用いた (Table 1)。ウバガイの殻長をデジタルノギスで測定後、市販の貝むき用ヘラを用いて軟体部を除去し、左殻を採取した。これを1日~数日間乾燥したのち、ピンセットを用いて弾帯 (Resilium, Fig. 2A) を取り外した。三叉した主歯のうち、弾帯に接している後主歯 (Posterior main tooth, Fig. 2A) は極めて薄く、弾帯を取り外す際に折損することが多かったが、残っていた場合はピンセットで完全に除去した。弾帯受け (Resilifer, Fig. 2B) および中主歯 (Middle main tooth, Fig. 2B) の表面全体に、透過性を高める目的で油浸オイル (アズワン ASI-12) を塗布した。透過光観察は実体顕微鏡の倍率10~40倍で行い、光源には角度が自由に調節できるフレキシブルアーム式のライト (NIKON C-FLED2) を用いた。弾帯受けの観察では弾帯受け裏側の殻頂部にライト先端を挿入して照射し、強い間接光により弾帯受けを透過させ、観察した (Fig. 2C)。中主歯 (以下主歯) の観察では、主歯の腹側 (殻縁側) からライトを照射して透過させ、内部構造が最も明瞭となるように照射角度を調整し、観

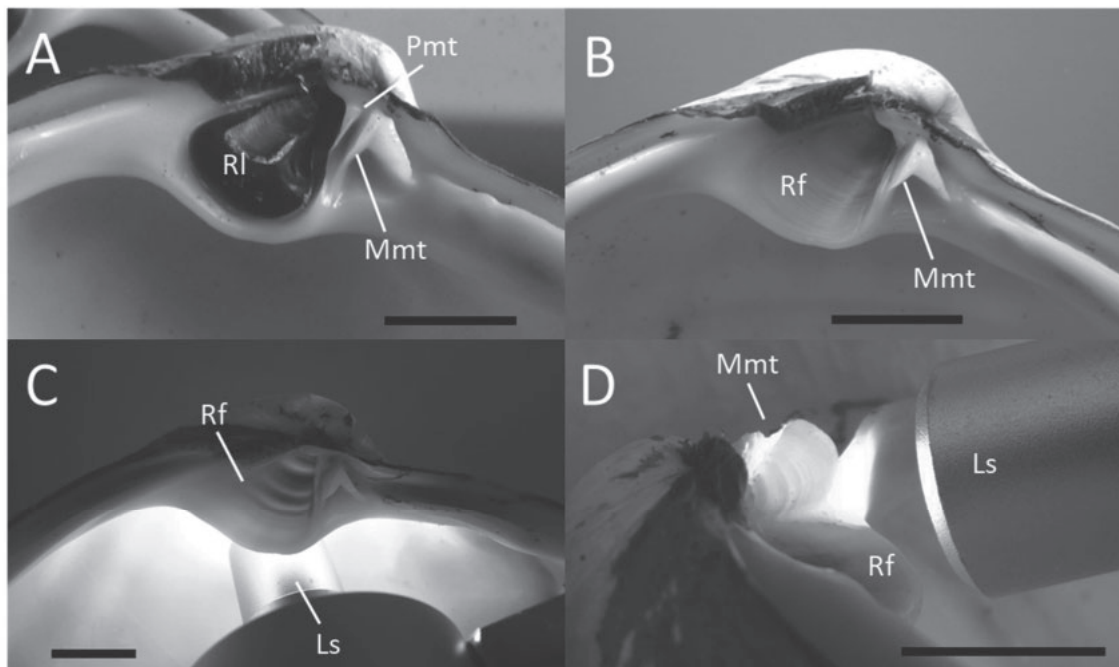


Fig.2 A: Hinge parts of left shell of Sakhalin surf clam. B: Hinge parts of left shell of Sakhalin surf clam with immersion oil after the removal of resilium and posterior main tooth. C: Internal structure of resilifer observed by transmitted light. D: Internal structure of middle main tooth observed by transmitted light. Rl: Resilium. Rf: Resilifer. Pmt: Posterior main tooth. Mmt: Middle main tooth. Ls: Tip part of a fiber light source. Scale bar = 10 mm

察した (Fig. 2D)。光が透過し難い不透明な縞状の構造を成長線とし、検鏡下または撮影した写真上で成長線の計数および幅の計測を行った。その際、主歯縁辺に形成中の成長線は計数しなかった。

貝殻断面法の標本は以下の手順で作成した。切断位置は左殻の殻頂から腹縁中央とし、直径20 mmのダイヤモンドカッターを装着したミニルーター (PROXXON No 28400) を用いて殻を切断した。観察には前方の半分を用い、切断面を回転砥石 (RYOBI FG-18) の粒度180番、1000番を順に用いて、整形、研磨した。完成した断面標本を倍率10~40倍の実体顕微鏡で落射照明により観察した。既往知見 (林ら, 1963; Kato and Hamai, 1975; Sasaki, 1981; 佐々木, 1993) に基づき、以下の仮定のもとに年齢査定を行った (Table 2)。誕生日は7月1日とし、年輪 (透明帯) 形成時期は7~12月とした。縁辺部の形成中の年輪は計数しなかった。苫小牧地先における当歳稚貝の11月の平均殻長は1~2 mmと極めて小さいことから (高谷, 2004), 断面において識別可能な最初の年輪は満1.0~1.5歳時に形成されるとした。従って、満年齢は1~6月には年輪数, 7~12月には年輪数+1で表されるとした。

Table 2 The scheme for age determination of Sakhalin surf clam by standard shell sectioning method

Birth date	Annual rings	Capture date	Shell margin	Age
1 July	Translucent zones	1 Jan.-30 June 1 July-31 Dec.	Opaque Translucent	N N+1

Note: N is the number of translucent zones, not including those forming on the margin

結果

弾帯受けの透過光観察では、不透明で幅広い成長線が殻頂側から3~5本程度観察された。これらの成長線の幅は1.0~3.0 mmであった。これらに続き、幅0.5 mm未満の細い成長線が数本観察されたが、弾帯受けは縁辺 (腹側) に向かって次第に肥厚し、透過し難くなるため、縁辺までの観察は困難であった (Fig. 3A)。

一方、主歯では、弾帯受けの最初の1~2本目に該当する成長線は主歯の根元に隠れて観察できなかったが (Fig. 3B), それらより外側の成長線は縁辺まで明瞭に観察された (Fig. 3C, D)。主歯の成長線は縁辺側ほど幅が狭く、最初の2~5本は幅0.2~1.5 mm, これら以降は幅0.2 mm

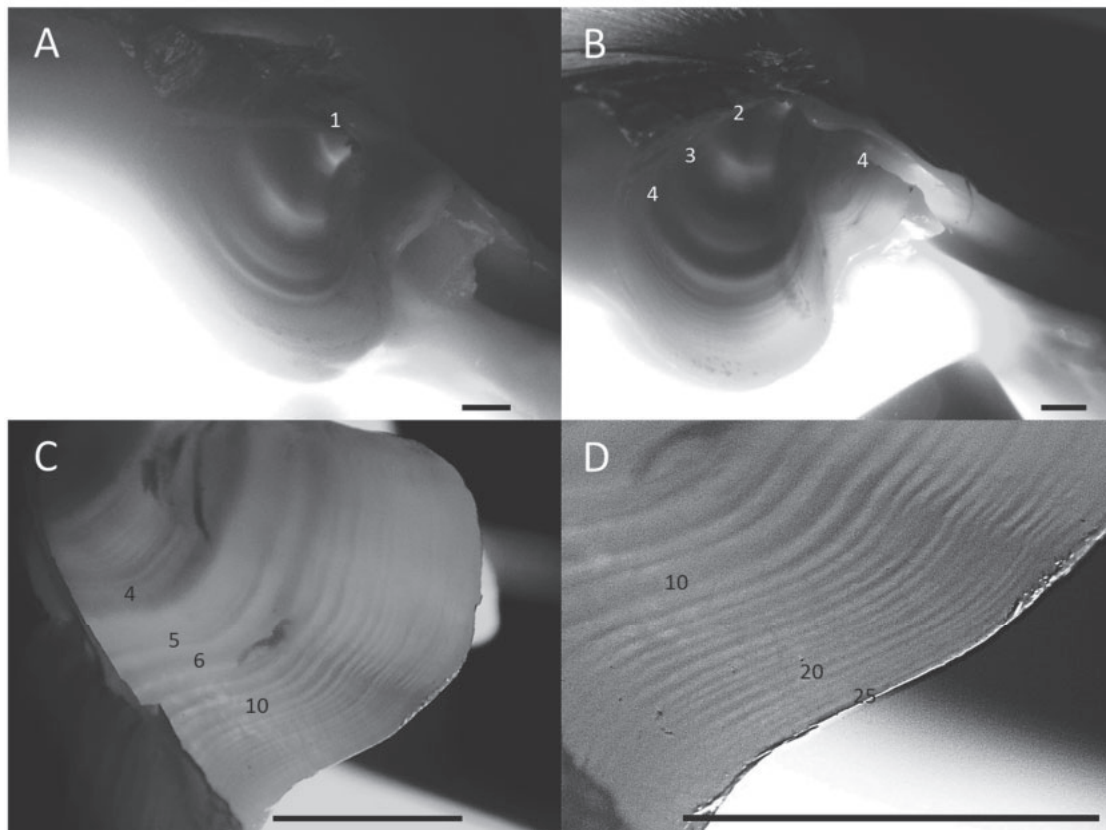


Fig.3 Growth line structures in resillifer and middle main tooth of Sakhalin surf clam by transmitted light observation. A: Resillifer. B: Resillifer and middle main tooth. C: Middle main tooth. D: The margin of middle main tooth. Numbers indicate the sequence of opaque growth line counted from umbo side. Scale bars=3 mm

未満であった。また、20本以上の成長線が計数された個体では、縁辺付近で幅0.01~0.03 mmと極めて細くなった。

弾帯受けと主歯の成長線は両者の接合部を介して連続しており、特に弾帯受けの3~5本目では、主歯における同一の成長線とのつながりが明瞭であった (Fig. 3B)。以上のことから、ある個体の全成長線数を、以下の手順により把握することができた。まず、弾帯受けを10倍程度の倍率で観察して最初の数本を計数し、3~5本目のわかりやすい成長線を適宜たどることにより同一視野にある主歯に移行する。続いて、主歯を20~40倍程度の倍率で観察し、移行した成長線から縁辺までのそれらを計数する。このように計数された個体ごとの成長線数は5~37本であった (Table 3)。なお、主歯縁辺に形成中の成長線は光の屈折により有無を確認することが困難であったため、仮に成長線が確認された場合でも成長線数には含めなかった。

断面標本観察により得られた満年齢は6~37歳であった (Table 3)。断面標本観察による満年齢 (x) と透過光観察による成長線数 (y) は15個体中10個体で一致し、後者は前者に対し3個体で1少なく、2個体で1多かった (Table 3)。両者の関係は直線で表され ($y=1.03x-0.56, r^2=0.998$)、傾きは1に近かった。

Table 3 Age of Sakhalin surf clam in each collection date determined by standard shell sectioning method, and numbers of opaque growth line in resilifer and middle main tooth counted by transmitted light observation

Collection date	Age	Numbers of opaque growth line
29 Mar. 2019	6	5
	6	6
	9	9
	14	14
	14	14
	15	16
	19	19
	24	24
	29	30
	30	30
27 Sept. 2019	7	6
	10	9
	25	25
	31	31

考 察

ウバガイの殻では、不透明な稜柱層 (Prismatic layer) および透明な真珠層 (Nacreous layer) が年1回ずつ交互に形成され、それぞれの層は殻の縁辺に付加されるとともに、殻の内面全体を覆うとされる (林, 1955; Kato and Hamai, 1975; Sasaki, 1981)。これらのことから、弾帯受けおよび主歯の透過光観察 (以下本法) により観察された不透明な成長線は稜柱層、それらにある透明な部分は真珠層であると考えられる。稜柱層の形成期は、北海道上磯町 (現北斗市) で1~7月 (Kato and Hamai, 1975)、豊富町で5~7月 (佐々木, 1993)、福島県相馬市磯部で12~5月 (Sasaki, 1981)、青森県三沢市および八戸市で3~11月 (杉浦ら, 2017) とされ、北海道では年の前半期である。従って、誕生日を7月1日とすると、本法における満N歳時の成長線はN+0.5歳からN+1.0歳の間に形成されるとみなされることから、縁辺に形成中のものを含まない成長線数は、年の前半および後半ともに満年齢を表すと考えられる。このことは、本法の成長線数が貝殻断面法による年齢とよく一致したことから支持された (Table 3)。

以上から、本法を用いることにより、高い精度でウバガイの年齢査定を行うことができると考えられた。本法の大きな利点は、貝殻断面法と比較して非常に簡易であるため短時間で多数の標本処理が可能であること、また、殻の内側の構造を利用するため殻表面が摩耗した個体にも適用できることである。

今回用いた標本には20歳以上の個体が多く含まれた (Table 3)。これらの高齢個体は、加入量が非常に大きかった卓越発生群 (佐々木, 1993) に由来する可能性が高いと考えられる。本法によると、これらの発生年は1981年 (37歳)、1988年 (30・31歳)、1994年 (24・25歳) と推定され、苫小牧地先の卓越発生年 (高谷, 2004) と一致した。このことから、高齢個体に対する本法の年齢査定精度は極めて高いと考えられた。

一方、本法の成長線数が貝殻断面法による年齢と一致しなかった5個体のうち3個体は6~10歳で、比較的若齢の個体で誤差があった (Table 3)。およそ10本目までの成長線は1本ごとに幅が大きく変化し (Fig. 3B, C)、成長線の配列が不規則で一定のパターンが現れにくい。このため、比較的若齢の個体では計数のさいに見落としや重複等が起こりやすくなることが誤差の原因の一つと考えられた。本法では、10本目程度までの若齢部の成長線を注意深く計測する必要がある。

稜柱層と真珠層ではエオシンおよびアリザリンレッドによる染色性が異なることが知られ (林ら, 1963; Kato

and Hamai, 1975), 稜柱層はいずれにも染色されるのに対し, 真珠層はいずれにも染色されない。上述のように, 本法では主歯縁辺部に形成中の成長線を確認することが困難であったが, 誕生日前後の標本を年齢査定する場合や, 他の海域で初めて本法を適用する場合には, 形成中の層が稜柱層か真珠層かを特定できることが望ましい。その場合, 殻の縁辺部内面の染色性の有無を指標とすることにより, 殻を切断することなく形成中の層を判断できる可能性があるため, 今後検討する必要がある。

ウバガイでは長期間資源を支えるような卓越発生が起こる一方, 発生量が大き過ぎることにより成長障害が起きた例も知られている(堀井ら, 2002)。このため, 発生量と成長の関係を把握することは資源管理上重要であるが, それらの知見を得るために本法が活用できる可能性がある。稜柱層は殻の伸張に寄与する層であることから(Kato and Hamai, 1975), 本法における成長線の幅は当該年齢における年間生長量を反映すると考えられ, 各年齢時における成長線幅の推移から, その個体の成長履歴を推定できる可能性がある。これらを発生量の異なる年級群間で比較検討することにより, 発生量と成長の関係について有用な知見が得られるかも知れない。

謝 辞

ウバガイ標本の確保に便宜を図っていただいた苫小牧漁業協同組合の皆様, 標本測定にご協力いただいた北海道栽培漁業振興公社, 北海道胆振地区水産技術普及指導所および栽培水産試験場職員諸氏に感謝する。

引用文献

- 林忠彦. 貝類の年齢形質に関する研究-I 貝殻切片による観察(1). 北海道区水産研究所研究報告 1955; 12: 43-50.
- 林忠彦, 川村一広, 斉藤勝男, 寺井勝治, 和久井卓哉. ホッキガイについて(その2). 北水試月報 1963; 20(1): 16-28.
- 北海道水産林務部. 平成30年(2018年)北海道水産現勢. 札幌. 2020.
- 堀井貴司, 村上修, 櫻井泉. ウバガイ *Pseudocardium sachalinense* の成長に及ぼす生息密度の影響. 日本水産学会誌 2002; 68(5): 666-673.
- Kato Y, Hamai I. Growth and shell formation of surf clam, *Spisula sachalinensis* (SCHRENCK). *Bull. Fac. Fish. Hokkaido Univ.* 1975; 25(4): 291-303.
- 木下虎一郎, 川村一広. ホッキガイの寿命について. 北水試月報 1959; 16(4): 139-141.
- Sasaki K. Growth of the Sakhalin surf clam, *Spisula sachalinensis* (SCHRENCK), in Sendai Bay. *Tohoku J. Agr. Res.* 1981; 32: 168-180.
- 佐々木浩一. 水産研究叢書42ウバガイ(ホッキガイ)の生態と資源. 社団法人日本水産資源保護協会, 東京. 1993; 85pp.
- 杉浦大介, 橋詰(福井)翔太郎, 野呂英樹, 藤川義一. 青森県太平洋沿岸におけるウバガイ(ホッキガイ)の年齢と成長. 青森県産業技術センター水産総合研究所研究報告 2017; 10: 1-7.
- 高谷義幸. 2004. 胆振のホッキガイ資源の特性とその管理. 北水試だより 2004: 64: 1-5.