

宍道湖産ヤマトシジミ殻体の微細成長縞の観察

高安克己¹⁾・小林巖雄²⁾・森田浩史³⁾・中村幹雄⁴⁾

Observations of the micro-growth striations in the brackish-water clam, *Corbicula japonica* from Lake Shinji

Katsumi Takayasu¹⁾, Iwao Kobayashi²⁾, Hiroshi Morita³⁾
and Mikio Nakamura⁴⁾

Abstract: A vital marking experiment was carried out to examine the process of micro-growth striations of *Corbicula japonica* Prime from Lake Shinji. Samples were cultured in aquarium and in Lake Shinji for about one month. During culturing they were marked two to three times by tetracycline hydrochloride solution. The fluorescent lines showing the time of marking are observed remarkably well, especially in the samples marked during day time. In addition to these lines, strong stress bands are observed in whole samples in concurrence with the markings. This fact suggests that the process of marking experiment itself arrested the growth of shell. The pattern of micro-growth striations in between the marked lines of each sample show neither cyclicity nor regularity. On the other hand, the micro-growth striations in the samples cultured in Lake Shinji show tendency of higher frequency per day than those in aquarium. From these results, the formation of micro-growth striations is assumed to be influenced by complex changes in the brackish-water environments as well as by their physiological rhythm and its individual variation.

Key words: Lake Shinji, growth increments, micro-growth striations, *Corbicula japonica*, brackish-water clam

1. はじめに

二枚貝のように付加成長を行う生物の硬組織では、成長の過程が成長線や成長輪として記録されている。汽水棲のヤマトシジミ *Corbicula japonica* Prime についても殻の放射方向断面を観察すると、多くの成長線がほぼ周期的な粗密分布をしているのが認められる。小池 (1982a, 1983) は成長線密度が

高いところを冬輪とし、考古遺跡から産出したヤマトシジミの成長速度や採取時期を推定している。ヤマトシジミは汽水域漁業にとってはもっとも重要な漁種のひとつで、筆者らも殻体の内部構造の研究 (小林・高安, 1995) を基礎に、成長速度や年齢査定を確実なものにして、漁場管理や漁獲量調整のための基礎資料にしたいと考えている。

二枚貝殻体に見られる成長記録は、成長線 (growth line) と成長輪 (growth increment) からなる微細成長縞 (micro-growth striation) を単位としており (大野, 1989), その成因や意味についてこれまでさまざまな議論がなされてきた。一般に潮間帯に生息する二枚貝では干潮時に干出するときに明瞭な成長線が形成されることが知られており、潮汐周期と微細成長縞のパターンとの比較が多くの研究者によって議論されている (Evans, 1972; Koike, 1973; Richardson *et al.*, 1979, 1981; Lutz and Rhoads, 1980; Ohno, 1985; Deith, 1985; Richardson, 1987, 1988, など)。また、化石や考古遺物として産出したこのような二枚

1) 島根大学汽水域研究センター
Research Center for Coastal Lagoon Environments, Shimane University, Matsue 690, Japan.
2) 新潟大学理学部地質科学教室
Department of Geology, Faculty of Science, Niigata University, Niigata 950-21, Japan.
3) 元島根大学理学部地質学教室
A former student of the Department of Geology, Shimane University.
4) 島根県水産試験場三刀屋内水面分場
Mitoya Branch of Shimane Prefectural Fisheries Experimental Station, Mitoya 690-26, Japan.

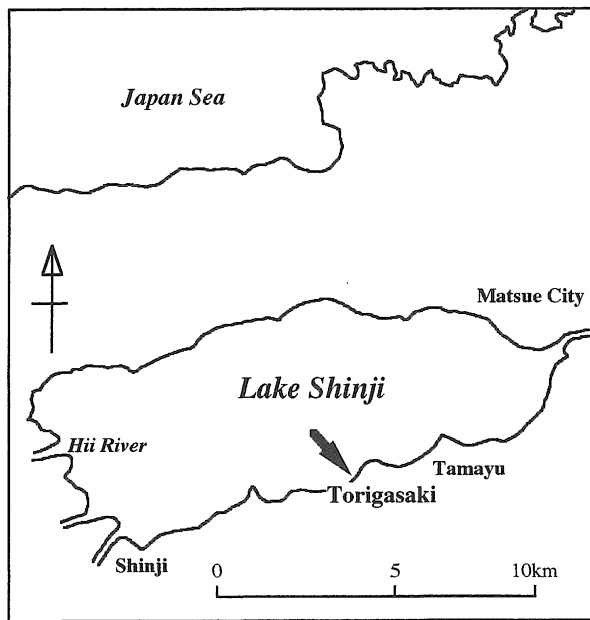


図1 実験が行われた玉湯町鳥ヶ崎の位置
Fig. 1. Map showing the location of experiment.

貝の微細成長縞パターンに基づいて、古環境や過去の潮汐周期について言及した研究も見られる (Koike, 1980; 小池, 1982b; 大野, 1984; Ohno, 1989 など).

一方、潮下帯に生息する二枚貝では、日夜の明暗周期に対応して微細成長縞が形成されたり、共生藻類の光合成が宿主の二枚貝の微細成長縞形成に関わる生理作用に影響を与えている、とされた例はあるが (Clark, 1975; Ohno, 1985 など), 一般に成長記録は不明瞭であり、非周期的な微細成長縞パターンを示す場合が多い (大野, 1989).

宍道湖では潮位差が通常は 20cm 程度しかなく、ヤマトシジミは潮下帯に生息しており干潮時に干出することはない。このような環境下でヤマトシジミ殻体にどのような微細成長縞が記録されているのか、また、それは種固有の生物時計に支配されたものか、それとも外部環境によって各個体に共通して記録されているものか。これらの点について明らかにするために、実験室内の水槽と宍道湖において生体標識実験を行った。

2. 実験の方法

2.1 概要

宍道湖南岸の玉湯町鳥ヶ崎 (図1) に設定されているヤマトシジミ永年保護区において採取された試料のうち、殻長が約 10mm (記号 S) と約 20mm (記号 L) の個体をそれぞれ 100 個体ずつ選び出して実験に用いた。このうち S と L を各 50 個体ずつ、計 100 個体を標識後、砂を詰めたプラスチック製コンテナ (45 ×

35 × 15cm) に入れて鳥ヶ崎の宍道湖内に放置することとし (記号 F), 残りの 100 個体 (S; 50 個体, L; 50 個体) については標識後、鳥根県水産試験場三刀屋内水面分場の水槽内で飼育した (記号 T)。標識は後で詳述するように、F 試料群については 20 日間の間隔をおいて前後に 2 回、T 試料群については 10 日間で 3 回行った。また、ヤマトシジミの殻体形成に関わる活動時間帯が不明であったために、標識時間を 24 時間 (記号 A), 昼間 12 時間 (記号 B), 夜間 12 時間 (記号 C) の 3 通りに分けて行った。F, T 両試料群とも、A は 40 個体 (S と L はそれぞれ 20 個体ずつ), B と C はいずれも 30 個体 (それぞれ S と L は 15 個体ずつ) を標識の対象とした。以下、各個体の標識条件などについては、FBS (昼間標識で宍道湖内で放置した殻長 10mm 前後の試料群) や TAL (24 時間標識で水槽内で飼育した殻長 20mm 前後の試料群) などの記号をもって区別する。なお、実験開始までの観察で水管を通しての入出水の勢いが他の個体比べて明らかに弱いとみなされた個体については、今回の実験には不適切と考えられたので除外した。結局、実験に用いたヤマトシジミは F 試料群では 99 個体 (FAL から 1 個体除外), T 試料群では 97 個体 (TAS, TAL, TBS からそれぞれ 1 個体ずつ除外) であった。

標識実験が終了した後、薄片にして蛍光顕微鏡で標識された位置を確認し、位相差顕微鏡と通常の生物顕微鏡でその間の微細成長縞について観察した。また、研磨した貝殻断面を EDTA-2Na で 30 分間エッチングしたものを走査型電子顕微鏡で観察した。

2.2 標識実験の過程

標識は湖水を溶媒とした塩酸テトラサイクリン (Achromycin, 日本レダリー製) 300ppm 溶液が入った 1 ℓ ビーカー中でエアレーションをしながら行った。標識剤としては他にアリザリン・コンプレクソンやカルセイン (いずれも和光純薬工業製) 等があるが (高橋ほか, 1979), 塩酸テトラサイクリンは魚の耳石の成長線標識に効果をあげている (塚本, 1987) ので、今回はこれを用いることにした。以下に日時を追って標識実験の過程について述べる (図 2)。

6月7日 18:00 A と C の試料群について標識を開始する。このうち FA 試料群と FC 試料群には宍道湖内での非実験個体との混合が予想されるので、あらかじめ白ペイントで殻体表面に印をつけておいた。

6月8日 6:00 C 試料群を標識液から取り出す。FC と TC の各試料群に分け、前者についてはプラスチック製コンテナに入れて水深約 1m のところに沈めた。後者については鳥ヶ崎で採取した砂と宍道湖水を入れた水槽に移し、飼育を開始した。また、B

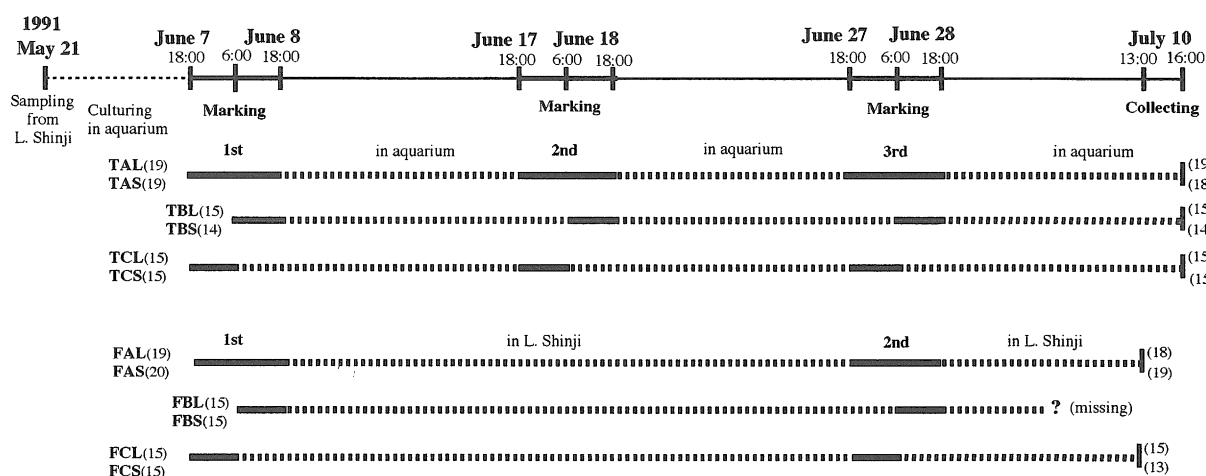


図2 標識実験過程の概略()内は個体数

Fig. 2. Outline of the marking experiment. Numbers in parenthesis show numbers of individuals.

試料群を標識液に入れる。その際、FB試料群には殻表面に白ペイントで印をつけた。

同日 18:00 AおよびB試料群を標識液から取り出す。FAとFB試料群はFC試料群と同様にそれぞれコンテナに入れて宍道湖底に沈めた。TAとTB試料群はTCと同様な条件の水槽に移した。なお、飼育水槽には珪藻培養液を餌として与えた。

6月17日 18:00 TAおよびTC試料群に対して第2回目の標識を開始する。

6月18日 6:00 TC試料群を標識液から出して水槽に戻し、TB試料群の2回目の標識を開始する。

同日 18:00 TAおよびTB試料群の標識を終了して水槽に戻す。

6月27日 18:00 TAおよびTC試料群に第3回目の標識を開始する。また、FAおよびFC試料群を宍道湖から引き上げ、第2回目の標識を開始する。

6月28日 6:00 TCおよびFC試料群の標識を終了し、それぞれ水槽と宍道湖に戻す。また、TB試料群の第3回目の標識とFB試料群の第2回目の標識を開始する。

同日 18:00 TA, TB, FAおよびFB試料群の標識を終了し、それぞれ水槽と宍道湖に戻す。

7月10日 13:00 宍道湖内に放置した試料群を引き上げ、冷凍庫に入れて成長を止める。ただし、FB試料群を入れたコンテナは強風のため流失して回収することができなかった。

同日 16:00 水槽で飼育した試料群を引き上げ、冷凍庫に入れる。

3. 結 果

3.1 回収率

実験に供したシジミはF試料群では99個体であったがFB試料群のコンテナが流失したため、FA, FC

試料群の69個体中最終的に回収されたのは65個体であった(回収率94.2%)。コンテナの中には白ペイントで印がつけられた死殻は無かったので、4個体は放置している間にコンテナの外に移動したと考えられる。また、T試料群では97個体中実験の途中で死亡したシジミは1個体であった(回収率99.0%)。したがって、2回ないし3回のテトラサイクリンによる標識ではヤマトシジミの生存を阻害するまでのダメージをほとんど与えていなかったとみなせる。

3.2 標識結果

回収された標本を直接、あるいは樹脂包埋した後、マイクロカッターで切断し、砥石や耐水研磨紙等を使って薄片にした。これを蛍光顕微鏡で観察し、標識された成長線の位置を確認した。実際には薄片調整途中で殻体が破損したり、あるいは標識が非常に不鮮明で確認が困難な標本もかなりあったが、FA試料群には2本(Pl. 1, fig. 1), TAおよびTB試料群では3本(Pl. 1, fig. 3)の蛍光を発する標識線が殻表から外殻層の成長線に沿って確認された。一方、FCおよびTC試料群の標本では蛍光線が不鮮明かほとんど確認できないものが多くみられた(Pl. 1, fig. 5)。また、いずれの標本でも内殻層には標識されていなかった。

なお、第1回目の標識から最後の採取時までの約1カ月間に、いずれのグループでもS試料群では1~1.5mm, L試料群では0.4~0.6mmの殻長の成長が見られた。

3.3 成長縞の観察

標識結果が良好な標本を選び、位相差顕微鏡と生物顕微鏡によって外殻層の成長縞を観察した。いずれの標本でも最も明瞭な成長線は標識時に対応するもので、連続性が良く強い条線として観察される(Pl. 1, fig. 2, fig. 4)。また、この成長線はFCやTC試料群の標本でも最も明瞭な条線となっている(Pl. 1,

fig. 6). 走査型電子顕微鏡像では、標識時の成長線の部分はアラゴナイトの微細交差板構造が途切れて溝状になっているのがわかる (Pl. 1, fig. 7).

標識時の成長線の間には強弱さまざまな成長線が認められ、これらをAからDの4ランクに区別した。すなわち、Aは非常に強く明瞭な条線として観察され、連続性もよいもの、Bは比較的明瞭で連続性がよいもの、Cは弱い鏡下で連続性が確認されるもの、Dは部分的に条線状に見えるが、連続性が悪く、成長線として良いかどうか不明なもの、である (Pl. 1, fig. 8)。また、標識時の成長線の位置が確認された標本で最も成長線が明瞭に観察される場所を選び、鏡下で各成長線のランク分けと成長縞の幅の測定を行った。個体によって成長縞が明瞭に観察される部位が異なるので、個体間の成長縞パターンを比較するために各標識時成長線の間を100として実測値を再計算して図示した (図3)。図にはAからCランクまでの成長線の相対的な位置が示されている。

この図でみる限り、F試料群とT試料群ではどちらかと言うと前者の方がBランク以上の比較的強い成長線の出現頻度が高いようであるが、同じ試料群でも各個体間に著しい差が認められる。また、各標識時成長線間でみられる成長縞のパターンも個体によって異なっており、個体間の共通性はほとんど認められなかった。

4. 考 察

4.1 標識結果について

すでに述べたように、テトラサイクリンによる生体標識は、この濃度ではヤマトシジミを死にいたらしめるほどの決定的なダメージを与えなかった。しかし、標識されたところは、光学顕微鏡下では強い条線として現れており、SEM像ではアラゴナイトの微細交差板構造が途切れて溝状になっている。すなわち、標識されたのは石灰化がほとんど起こらなかった部分であり、これがいわゆるストレスによる殻形成の中断 (growth break; Kennish, 1980) を引き起こし、強い成長線として示されると考えられる。

水槽飼育中の観察によれば、ヤマトシジミが殻を開き水管から盛んに水を出入するのが観察されたのは主に午前中であった。殻体におけるテトラサイクリンの吸収沈着がこのような時間帯に対応した活動によって行われたとすれば、TA、TB、およびFA試料群の標本で蛍光線が明瞭で、TC、FC試料群では不明瞭であったことが説明できる。しかし、標識時

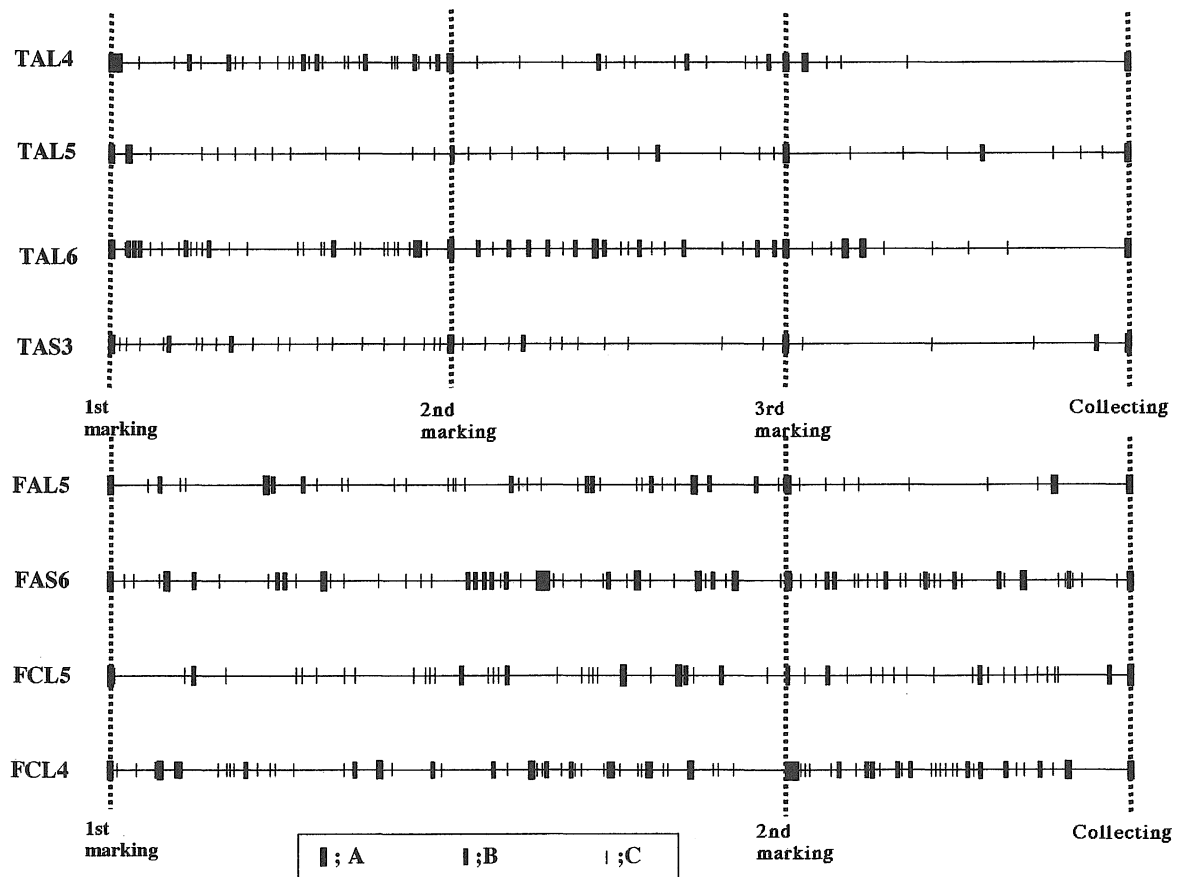


図3 標識線間に認められる微細成長縞の相対的分布

Fig. 3. Relative distribution of micro-growth striations between marking lines.

に対応する強い成長線はTCやFC試料群をも含むすべての標本に認められるため、テトラサイクリンの投与だけが殻体形成を中断させたとは考えにくい。むしろ、一時的に干出させたり、湖底や水槽中と標識用のビーカー中との急激な環境変化など、標識過程そのものがヤマトシジミにとって大きなストレスとなって働き、殻体の石灰化作用を阻害していたのかも知れない。今後は、ヤマトシジミの詳細な生態観察を基礎に、最適の実験方法を検討していく必要がある。

4.2 成長縞のパターン

微細成長縞形成が周期的に変化する外部環境やヤマトシジミ固有の生物時計に支配されているとすれば、そのパターンは何らかの周期性あるいは規則性を持つはずである。しかしながら、今回の観察では周期性や規則性は全く認められず、また、個体間の共通したパターンも認められなかった。

微細成長縞の現れ方はひとつの標本でも部位によって異なっており、明瞭に現れるところとそうでないところがある。その原因のひとつは、観察に用いた薄片の厚さにむらがあった、など技術的な問題に求められるかも知れないが、各標本でもっとも明瞭に成長縞が観察され、しかも同時期に形成されたと考えられる部位を比較しても、個体間に共通したパターンは認められなかった。このような事実は潮下帯の二枚貝ではしばしば認められている(大野, 1989)。

また、大野(1989)によれば、潮下帯の二枚貝では季節によって微細成長縞の形成頻度に大きな違いがあり、仮に成長縞の形成に周期性があるような場合でも環境条件その他によってこの周期性が維持されなくなる可能性がある、という。環境の日変化や季節変化が著しい汽水域に生息する二枚貝では、(もしあるとすれば)その種固有の生物時計による生理的リズムとその現れ方の個体差に加えて、外因的な環境変動が成長縞のパターンを複雑なものにしている可能性は十分に考えられる。

4.3 成長縞の形成頻度

AからCランクまでの成長線で区分される成長縞の形成頻度は、今回の実験期間中(標識期間をのぞくと30日間)では水槽飼育したT試料群の標本では1日当たり1.1~2.0、宍道湖に放置したF試料群の標本では1.5~2.5であった。それぞれかなり個体差があるが、F試料群の方がT試料群より成長縞の形成頻度が高い傾向がみられる。また、Bランク以上の比較的強い成長線がF試料群に頻繁に現れる傾向がある。これは恐らく、宍道湖の方が水槽中より環境変動が激しく、殻体の成長を中断せざるを得ないよ

うなストレスがヤマトシジミに対してより頻繁にかかっていた、と解釈できる。

また、これも個体差が著しいが、F試料群では1回目(6月7~8日)と2回目(6月27~28日)の標識の間で、どちらかという後半部分が成長縞形成頻度が高い傾向がある(図3)。この傾向は一部の個体を除いて実験終了日(7月10日)まで引き継がれているようにも見える。このことは、6月17~18日頃を境として、それ以後の方がヤマトシジミの成長を中断させるような何らかの環境変動が相対的に高頻度で起こっていたと言えるかも知れない。なお、T試料群においてはこのような傾向は見られず、全体に実験後期に向かうにしたがって、成長縞形成頻度が低くなっていく傾向がある。これは、実験に供したヤマトシジミが次第に水槽環境に順応していった、とも解釈できる。しかし、実験途中で強烈なストレスを与えたと考えられる標識期間を2回も経験していることから、このような単純な説明は不可能であろう。この現象を理解するには、再度厳密な実験と観察を行う必要がある。

ヤマトシジミに対して殻形成に関わる生理的ストレスを与える外部的要因としては、水温、塩分、溶存酸素量、pH、濁度などの水質項目の急激な変化が考えられる。しかし、今回の実験に平行して同一地点で連続観測された水質項目のデータは持ち合わせていない。実験地点から約3km離れた宍道湖湖心に設置された建設省出雲工事事務所所管の観測塔における水質連続記録を検討してみたが、期待されるような対応関係は見いだせなかった。今回の実験結果と経験をふまえ再実験を行い、各水質項目の変動や季節的な環境変化と成長縞形成との関係を明らかにしていきたい。

5. ま と め

(1)宍道湖産のヤマトシジミの微細成長縞形成機構を明らかにするために、生体の標識実験を行った。試料は実験水槽内と宍道湖内で約1カ月間飼育され、途中、それぞれ3回および2回のテトラサイクリンによる標識が行われた。

(2)標識は、少なくとも昼間に行った試料群ではおおむね良好であったが、薬品による標識以上に標識過程そのものに起因すると考えられる強い成長線がすべての標本で観察された。

(3)標識位置を基準に微細成長縞のパターンを検討したが、周期性や規則性は全く確認できず、試料間のパターンの共通性もほとんど認められなかった。

(4)しかし、成長縞の形成頻度を比較してみると、宍道湖に放置しておいた試料群の方が水槽内で飼育したものより頻度が高くなる傾向が見られた。

(5)このことから、微細成長縞の形成にはヤマトシジミ固有の内因的な生物時計によるリズムやその個体による違いに加えて、外因としての水質環境の変動がより強く関与しており、そのため成長縞のパターンをより複雑なものにしている、と推定された。

謝 辞

この研究を進めるにあたり、島根医科大学の坂本巖助教授、日本歯科大学新潟歯学部の高橋正志助教授および島根県水産試験場鹿島分場の勢村均氏には標識の方法や試料作成法および観察法について有益なご教示をいただいた。また、建設省出雲工事事務所からは宍道湖の水質観測データを提供していただいた。これらの方々、および機関に心より感謝いたします。

文 献

- Deith, M. A., 1985, The composition of tidally deposited growth lines in the shell of edible cockle, *Cerastoderma edule*. *J. mar. biol. Ass. U. K.*, 65, pp. 537-581.
- Evans, J. W., Tidal growth increments in the cockle *Clinocardium nuttalli*. *Science*, 176, pp. 416-417.
- Kennish, M. J., 1980, Shell microgrowth analysis--*Mercenaria mercenaria* as a type Example for research in population dynamics. In, Skeletal Growth in Aquatic Organisms, ed. by D. C. Rhoads and R. A. Lutz, Plenum Press, New York, pp. 255-294.
- 小林巖雄・高安克己, 1995, 汽水棲シジミ類2種の殻体内部構造. LAGUNA(汽水域研究), (2), pp. 33-51.
- Koike, H., 1973, Daily growth lines of the clam *Meletrix lusoria*--a basic study for the estimation of prehistoric seasonal gathering. *J. Anthropol. Soc. Nippon*, 81, pp. 122-138.
- Koike, H., 1980, Seasonal dating by growth-line counting of the clam *Meretrix lusoria*. *Univ. Museum, Univ. Tokyo, Bull.*, 18, pp. 1-104.
- 小池裕子, 1982a, 篠山貝塚第1号住居跡内貝層のヤマトシジミの成長速度と採取季節について. 栃木県藤岡町篠山貝塚発掘調査報告書, pp. 68-71.
- 小池裕子, 1982b, 日本海北陸地域産ハマグリ類の貝殻成長分析. 第四紀研究, 21(3), pp. 273-282.
- 小池裕子, 1983, 島遺跡出土の自然遺物について. 北条町埋蔵文化財報告書2, 鳥取県東伯郡北条町島遺跡発掘調査報告書第1集, pp. 73-79.
- Lutz, R. A. and Rhoads, D. C., 1980, Growth patterns within the molluscan shell--An overview. In, Skeletal Growth in Aquatic Organisms, ed. by D. C. Rhoads and R. A. Lutz, Plenum Press, New York, pp. 203-254.
- 大野照文, 1984, 大阪湾沿岸ボーリングコア中の二枚貝に見いだされた潮汐パターンについて. NOM, (1), pp. 41-49.
- Ohno, T., 1985, Experimentelle Analysen zur Rhythmik des Schalenwachstums Einiger Bivalven und Ihre Palaeobiologische Bedeutung. *Palaeontographica. Abt. A*, 189, pp. 63-123.
- Ohno, T., 1989, Paleotidal characteristics determined by micro-growth patterns in bivalves. *Palaeontol.*, 32, pp. 237-263.
- 大野照文, 1989, 二枚貝の微細成長縞形成時間間隔の多様性. 日本ベントス研究会誌, (37), pp. 35-48.
- Richardson, C. A., 1987, Tidal bands in the shell of the clam *Tapes philippinarum* (Adams & Reeve, 1850). *Proc. R. Soc. Lond.*, B230, pp. 367-387.
- Richardson, C. A., 1988, Tidally produced growth bands in the suntidal bivalve *Spisula subtruncata* (Da Costa). *J. Mall. Stud.*, 54, pp. 71-82.
- Richardson, C. A., Crisp, D. J. and Runham, N. W., 1979, Tidally deposited growth bands in the shell of the common cockle, *Cerastoderma edula* (L.). *Malacologia*, 18, pp. 277-290.
- Richardson, C. A., Crisp, D. J. and Runham, N. W., 1981, Factors influencing shell deposition during a tidal cycle in the intertidal bivalve *Cerastoderma edule*. *J. mar. biol. Ass. U. K.*, 61, pp. 465-476.
- 高橋 学・川口哲郎・中島早苗・浅野安生・瀧口基雄, 1979, 石灰化組織の多色ラベリングのためのラベリング剤と投与方法について. 歯学, 67(1), pp. 53-66.
- 塚本勝巳, 1987, 魚卵・稚仔魚の耳石標識法. 海洋と生物, (49), 103-105.

図 版 説 明

図版 1

- 図 1. 蛍光顕微鏡下で観察される標識線. 試料番号; FAL-5. スケールバー; 100 μ m
 図 2. 位相差顕微鏡下で観察される標識線. 試料番号; FAL-5. スケールバー; 100 μ m
 図 3. 蛍光顕微鏡下で観察される標識線. 試料番号; FBL-5. スケールバー; 100 μ m
 図 4. 位相差顕微鏡下で観察される標識線. 試料番号; FBL-5. スケールバー; 100 μ m
 図 5. 蛍光顕微鏡下で観察される標識線. 試料番号; FCL-5. スケールバー; 100 μ m
 図 6. 位相差顕微鏡下で観察される標識線. 試料番号; FCL-5. スケールバー; 100 μ m
 図 7. 標識線の SEM 像. FCL-4. スケールバー; 100 μ m
 図 8. 微細成長縞のランク付け

PL. 1

- Fig. 1.** Marked lines observed under a fluorescent microscope. Sample No.; FAL-5. Scale bar; 100 μ m.
Fig. 2. Marked lines observed under a phase microscope. Sample No.; FAL-5. Scale bar; 100 μ m.
Fig. 3. Marked lines observed under a fluorescent microscope. Sample No.; TBL-5. Scale bar; 100 μ m.
Fig. 4. Marked lines observed under a phase microscope. Sample No.; TBL-5. Scale bar; 100 μ m.
Fig. 5. Marked lines observed under a fluorescent microscope. Sample No.; FCS-5. Scale bar; 100 μ m.
Fig. 6. Marked lines observed under a phase microscope. Sample No.; FCS-5. Scale bar; 100 μ m.
Fig. 7. SEM image of a marked line. Sample No.; FCL-4. Scale bar; 100 μ m.
Fig. 8. Ranking of the intensity of micro-growth striations.

