

アサリ生殖腺組織観察による 成熟度判定について

勝俣 洋一郎・新井 宏明

1. はじめに

アサリは日本各地の砂泥域に棲息する二枚貝で、水産有用種である。全国のアサリの漁獲量は、1960年から年間10万トン以上で推移し、この間に最大16万トンを記録したが、1986年以降は減少傾向で、2017年では7000トンである（農林水産省、2015、2017）。このため、アサリ資源の回復を図り、全国の試験研究機関で漁場の造成、稚貝・成貝の移植放流、資源管理等の対策が講じられてきたが、その効果は限定的であるとの指摘もある（鳥羽、2017）。この要因のひとつとして、これまでの対策では土木工学的、増殖学的な手法が主体となっており、成長・成熟・産卵といったアサリの生理学的側面を考慮したアプローチが十分ではなかったことが挙げられる。例えば、産卵期のアサリ肥満度の低下は、成熟に影響して次世代の資源の低下に繋がるとされている（農林水産省、2012）。そこでこれら进行评估するため、アサリ肥満度の測定および生殖腺組織観察から成熟度や産卵量を推定する調査が行われている（松本ら、2014）。したがって、今後はアサリの生理学的特徴を把握する方法のひとつとして、生殖腺組織観察の技術の需要が高まる可能性がある。そこで、当社でも若手社員へ当該技術を継承しようという気運が高まってきた。

組織切片を用いた成熟度判別は古くから存在する方法であるが、当社では直近まで長らく用いられなかったため、ベテラン社員の技術の再確認とともに若手への研修が行われた。筆者らもその機会に恵まれたため、判定や観察のポイントをここにまとめる。

2. 試料の作製

2017年6～12月にかけて三河湾で採集されたアサリの軟体部を試料とした。三河湾では、アサリは春と秋の年2回産卵するとされており（安田ら、1945）、調査期間を発達初期から衰退期の生殖腺を観察できるように設定した。試料をパラフィン包埋法により組織切片を作製、ヘマトキシリン・エオジン法で染色し、観察標本とした。その後、試料を光学顕微鏡で検鏡し、雌雄の判別および成熟度の判定を行った。

3. 成熟度判定について

筆者らはアサリの成熟度判定を、清水ら（2006）および松本ら（2014）に準拠し、未分化期、成長初期、成長後期、成熟期、放出期、退行期の6段階に分類した。次に、各段階の検鏡状況について説明する。なお、図中のスケールは0.1 mmとし、図中の略字を表1に示す。

①未分化期（図1）

生殖細管（GT）内腔に生殖細胞が認められない。この段階では雌雄判別ができない。なお、生殖細管とは生殖腺内にある胞状の組織である。

②成長初期（図2）

生殖細管内腔に卵母細胞（OC）または精母細胞（SC）が確認できる。

③成長後期（図3）

雌では生殖細管内腔に卵母細胞がみられ、成長初期と比べて生殖細管内腔の間隙が小さい。雄では円形の精母細胞が見られ、付近に精子（SP）が確認できる。

④成熟期（図4）

雌では生殖細管内腔の壁から卵細胞（OV）が遊離

している。雄では生殖細管の内腔に精子が配列する。

⑤放出期 (図5)

雌では生殖細管内腔の卵細胞が成熟期よりも少ない。雄では生殖細管内腔あるいは内腔中央部に精子が集合している。

⑥退行期 (図6)

生殖細胞の放出を終え、生殖細管内腔は雌雄ともに空か、生殖細胞がわずかに存在している。また、これらの生殖細管内腔では生殖細胞の崩壊、再吸収像が認められるほか、生殖細管の壁が肥大する。

表1 図中の略字説明

CC,	cercaria	吸虫 (セルカリア幼生)
EN,	egg nucleus	卵核
GT,	genital tubule	生殖細管
OC,	oocyte	卵母細胞
OV,	ovum	卵細胞
SC,	spermatocyte	精母細胞
SP,	sperm	精子

4. 成熟度判定を行う際の留意点

①未分化期および退行期の生殖細管内には、吸虫の1種 (セルカリア幼生 (CC)) が寄生していることが多く、退行期の雌で観察される大型卵と類似することから卵細胞と見間違える可能性があった (図7)。そ

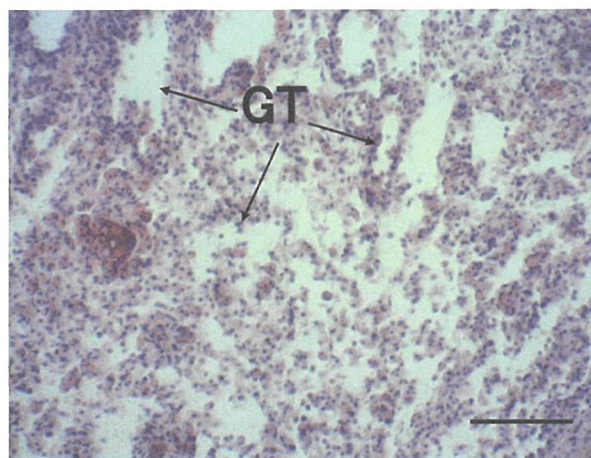


図1 未分化期

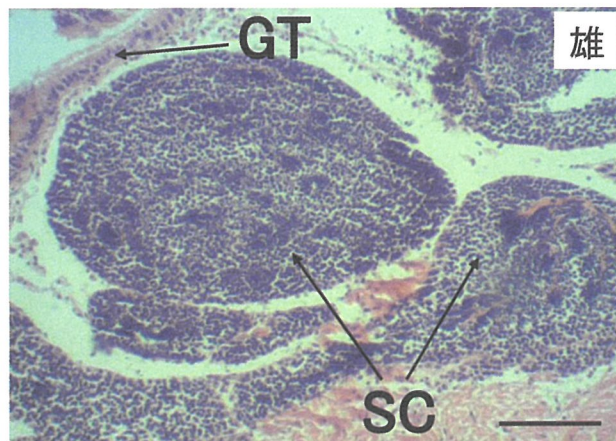
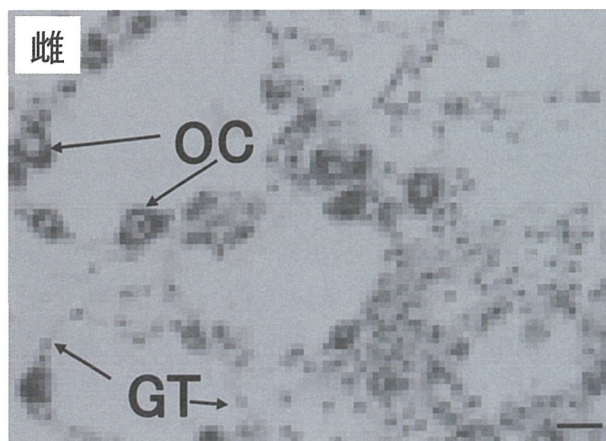


図2 成長初期 (雌の写真は松本博士提供)

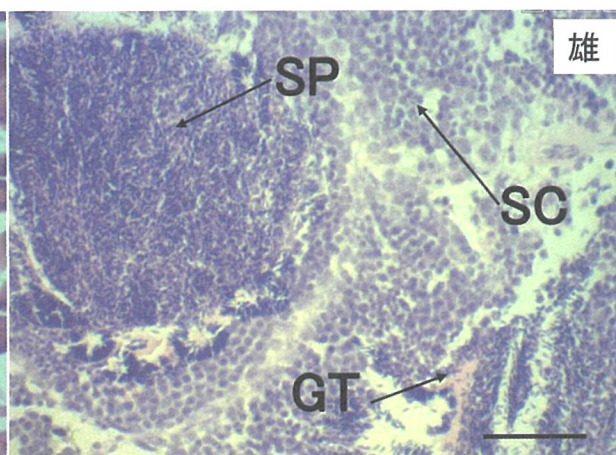
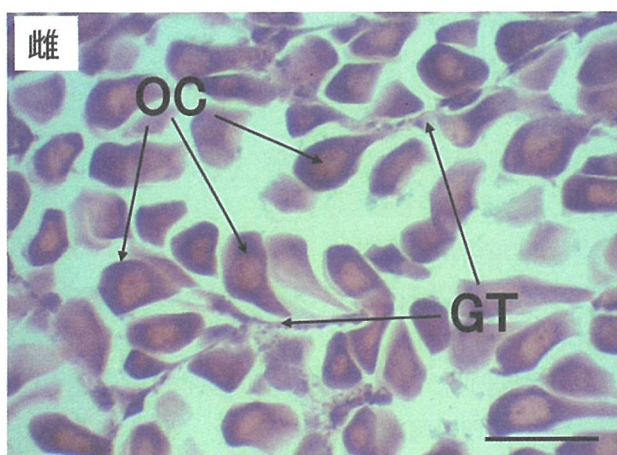


図3 成長後期

ここで、熟練者に相談したところ、卵細胞は吸虫にみられない白色の卵核 (EN) を有することで識別できることがわかった (図8)。

②生殖細胞には複数の発達段階が混在することが多く、その判定方法は文献によって様々である。した

がって、今回は次のように対処した。

成熟度の判定は、複数の検鏡者が行い、1人の検鏡者について、1試料あたりに出現した発達段階をすべて記録し、その中で最も進んでいるものを採用した。その後、検鏡者全員の判定結果のうち、最も発達段階

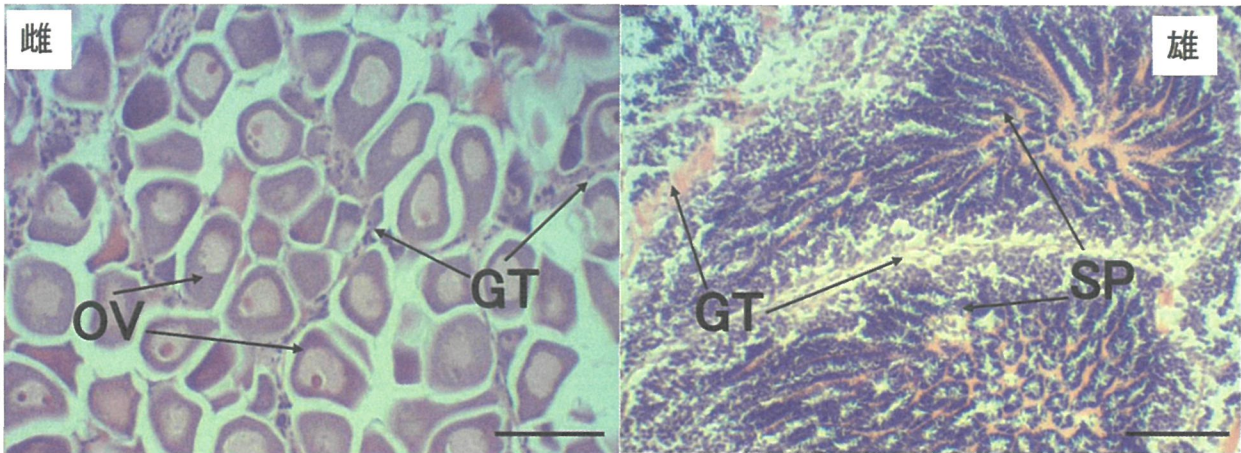


図4 成熟期

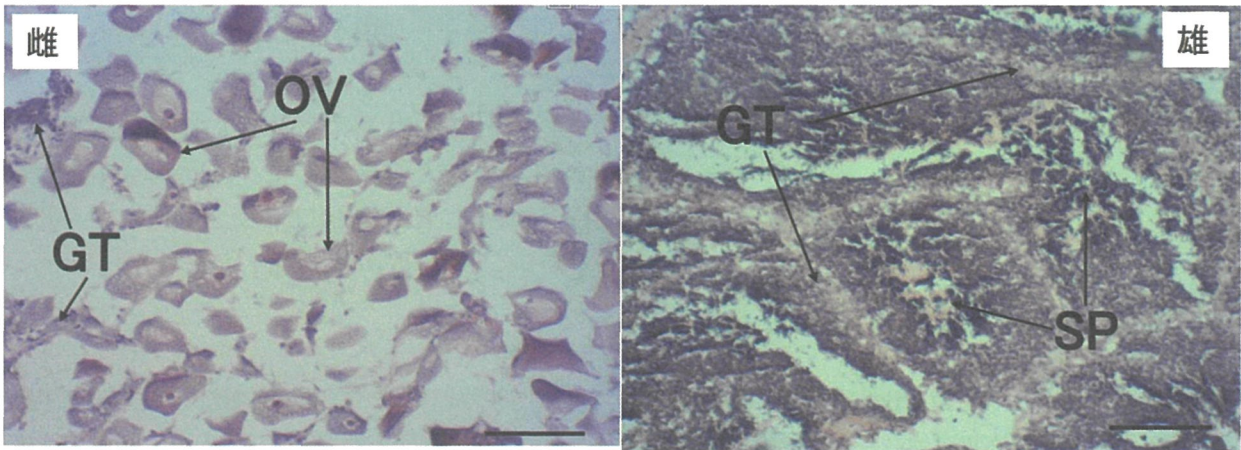


図5 放出期

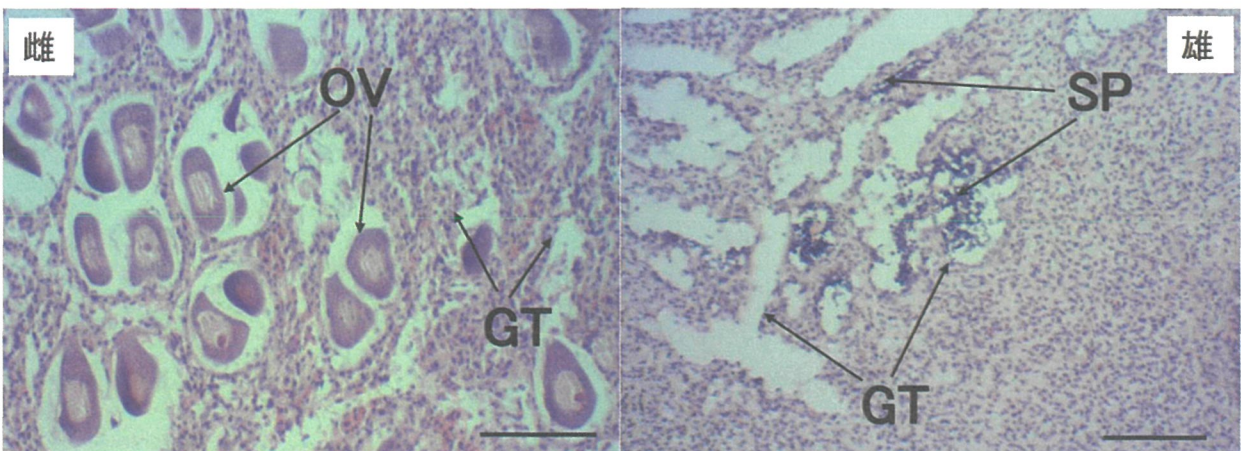


図6 退行期

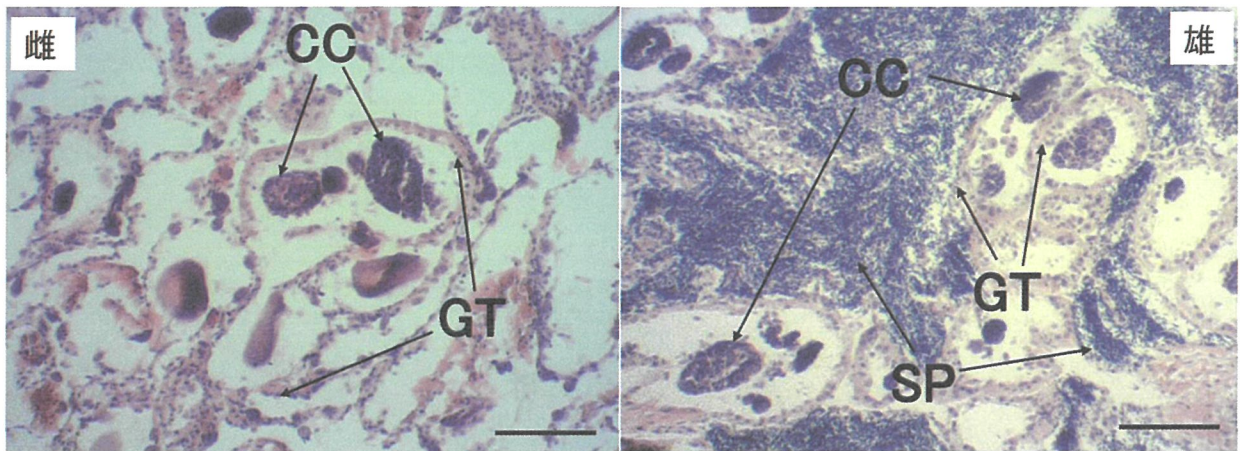


図7 退行期のアサリの生殖腺内に寄生する吸虫の1種(セルカリア幼生)

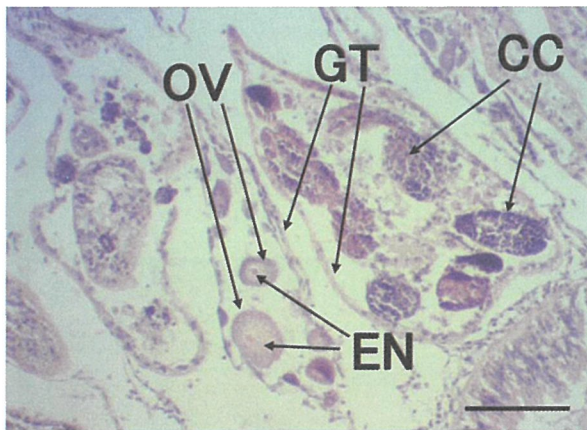


図8 アサリ生殖腺の退行期にみられる卵細胞と吸虫の1種

が進んでいるものを採用し1試料の成熟度を判定した(例: 検鏡者A、B、Cの3名で1個体のアサリ生殖腺を観察した結果、Aが放出期、Bが退行期、Cが成熟期と判定した場合、最終判定は最も進んでいる発達段階の「退行期」とする)。

5. 終わりに

アサリの生殖腺組織観察・成熟度判定では、同一個体の生殖腺細胞内に複数の発達段階がある場合があり、検鏡者によって成熟度判定にばらつきが生じることがある。今回は、最も発達が進んでいる段階を採用する方法を用いたが、観察標本の状態や生殖腺組織像の見え方によっても判定に影響を及ぼすという課題が残っている。また、解剖から組織切片作製までの工程にも職人的な技術が必要であり、マニュアルを読めば直ちにできるものではないと痛感した。例えば、

解剖時にはメス刃で生殖腺組織を傷つけないよう絶妙な手さばきが、薄切作業時には組織切片が細切れにならないよう湿度調整が、マイクローム使用時に硬度の異なる部位においても切れ具合を一定に保つための慣れが必要であることなどが挙げられる。

特に手先が不器用な筆者は、熟練者からアサリ軟体部を傷つけずに採取するよう指示を受けた際に少々困惑してしまった。

生殖腺組織切片観察・成熟度判定を精度良く実施するには、判定基準の統一やプレパラート作製段階の技術をさらに磨く必要がある。今後はこれらの事を考慮して業務に取り組んでいくつもりである。

6. 謝辞

成熟度判定にあたり、成長初期の雌の写真をご提供いただいた、国立研究開発法人水産研究・教育機構 増養殖研究所の松本才絵博士に厚く御礼を申し上げます。

参考文献

松本才絵・淡路雅彦・日向野純也・長谷川夏樹・山本敏博・柴田玲奈・秦安史・櫻井泉・宮脇大・平井玲・程川和宏・羽生和弘・生嶋登・内川純一・張成年. 2014. 日本国内6地点におけるアサリの生殖周期. 日本水産学会誌, 80(4), 548-560.
 農林水産省. 2012. 漁場生産力の有効活用によるアサリ母貝場造成および新規創出技術開発. 水産基盤整備調査委託事業報告書, 東京.
 農林水産省. 2015. 漁業・養殖業生産統計年報, 東京.
 農林水産省. 2017. 漁業・養殖業生産統計, 東京.
 清水洋平・大津秀夫・蛭子 彰・多田匡秀. 2006. 上磯町茂辺地区におけるアサリの産卵期について. 北海道水産試験場研究年報, 70, 99-104.
 鳥羽光晴. 2017. アサリ資源の減少に関する議論への再訪. 日本水産学会誌, J-STAGE 早期公開版(2017), 1-28.
 安田治三郎・浜井生三・堀田秀之. 1954. アサリの産卵期について. 日本水産学会誌, 20(4), 277-279.