

ムラサキウニの口器中間骨による年齢査定

渡邊庄一, 高田順司

Age Determination by Rotula of the Purple Sea Urchin *Anthocidaris crassispina*

SHOUICHI WATANABE AND JYUNJI TAKADA

Growth rings were clearly visible in rotula of the purple sea urchin *Anthocidaris crassispina*, by heating at 540°C for 1-10 min. After confirming a single formation of annulus in a year from June to July, we confirmed that growth rings in rotula were useful for age determination of the purple sea urchin.

ムラサキウニ *Anthocidaris crassispina* は、ホンウニ目ナガウニ科に属するウニ類の一種で北海道南部から中国東岸に分布する温帯性種である。^{1,2)} 日本南西部の岩礁域において、アワビ、サザエ、アカウニ、バフンウニと並んで重要な水産資源であるが、ムラサキウニの密度が高い場合には磯焼けの持続要因となることが知られ、³⁻⁵⁾ 各地で藻場回復のための駆除作業等が進められている。^{6,7)} ムラサキウニを効率よく駆除し、密度を低く管理しながら有効に利用するためには、個体群動態や年齢、成長、成熟等の資源生物学的知見は重要である。

ウニ類の年齢査定には、殻径の頻度分布から年齢組成を推定する殻径組成法⁸⁻¹¹⁾や生殖板に形成される色素帯¹²⁻²⁰⁾が利用されている。しかし、前者については、高齢個体での年齢分離が必ずしも容易ではなく、後者については、生殖板が破損しやすく、その処理に時間を要するという欠点がある。一方、滝²¹⁾はエゾバフンウニの口器にみられる生長線が年輪である可能性を示唆し、近年、エゾバフンウニ、キタムラサキウニ、アカウニでは口器中間骨に形成される輪紋を利用した年齢査定法が検討されてきた。²²⁻²⁴⁾

そこで、本研究では、ムラサキウニにおける口器中間骨の年齢形質としての有効性を明らかにした。

材料と方法

材料の採集と保存 長崎県長崎市の檜山町地先において、2014年3月～2015年2月に毎月1回採集した殻径7～57 mm (平均40.8±6.6 mm) のムラサキウニ1,747個体と、2014年5月に採集した殻径26～52 mm (平均39.5±3.7 mm) の50個体を用いた (Table 1)。

Table 1 Sampling date and number of specimens collected from kashiyama, Nagasaki city from 2014 to 2015

Year	Date	No. of individuals	Range of test diameter (mm)
2014	Mar.27	120	36-54
	Apr.16	134	33-55
	May.15	295	7-57
	May.15	50	26-52
	Jun.10	120	36-52
	Jul.22	120	35-54
	Aug.11	140	21-53
	Sep.10	120	33-52
	Oct.21	140	33-53
	Nov. 6	120	29-51
2015	Dec. 9	167	31-52
	Jan.20	131	33-57
	Feb.24	140	33-52
Total		1,797	7-57

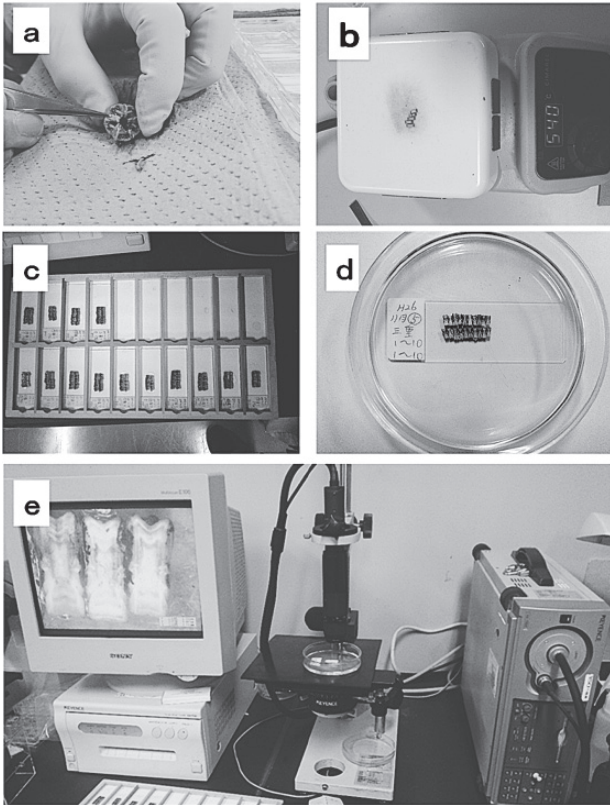


Fig. 1 Routine works to make age determination by rotula of *Anthocidaris crassispina*. a: extracting rotula. b: heating rotula on the hot plate. c: setting the heated rotula on the slide glass and coating the heated rotula with embedding material. d: immersing the slide glass with rotula in Lemosol solution. e: observation of heated rotula with digital microscope.

採集したムラサキウニは、実験室に持ち帰り、殻径を測定したあと、ピンセットで口器から5個の中間骨を摘出し (Fig.1-a)、個体識別ができる容器に入れて乾燥保存した。2015年5月に50個体採集した材料については、中間骨と併せて殻から生殖板をハサミで摘出し、個体識別ができるビニール袋に入れて乾燥保存した。

中間骨および生殖板の処理方法と観察 中間骨は、上生骨側を下にし、ホットプレート (Barnstead International 社製, HP-A1914B) を用いて適切な設定温度・時間 (次項参照) で加熱処理した (Fig.1-b)。中間骨の上生骨側の表面を軽く研磨した後、実験または調査月毎にスライドガラスの中央部に詰めて並べ封入剤 (大道産業社製, マウントクイック) で固着し保管した (Fig.1-c)。中間骨の観察は、落射照明の乱反射を防止するためレモゾール溶液を満たしたシャーレに中間骨を固着したスラ

イドガラスを浸し (Fig.1-d)、デジタルマイクロスコープ (Keyence 社製, VH-6300) を用いて観察した (Fig.1-e)。

生殖板については、Jensen の方法¹⁵⁾ に準じた川村の手法¹⁴⁾ に従って処理した。

中間骨の加熱処理方法の検討 2014年5月に採集した295個体のうち殻径41~57mm (平均45.5±3.9mm) のムラサキウニ15個体を用いた。中間骨に明瞭な輪紋が現れる温度と時間を調べるため、3段階の処理温度 (350, 450, 540℃) と4段階の処理時間 (1, 5, 10, 60分) の計12の実験区を設定した。1処理温度に対し5個体を使用し、同一個体の4個の中間骨を、それぞれ4段階の処理時間で加熱した。

輪紋の見やすさを「明瞭」と「不明瞭」の2段階に分け、各実験区5個体のうち、すべてが明瞭であれば良、1個体でも不明瞭があれば不可として処理方法を検討した。

輪紋形成時期および生殖巣指数の経月変化

2014年3月~2015年2月に毎月1回採集した1,747個体を用いて、中間骨の観察を行った。中間骨長 R および各輪紋長 r の測定を長軸方向に行った (Fig.2)。輪紋長は、白色帯から暗色帯への移行境界部を測定した。輪紋が比較的明瞭であった3~5輪紋群について各月26~56個体 (総数435個体) の計測値を用いて、以下の式から縁辺成長率 (MGI) を算出し、その経月変化から輪紋の形成時期を推定した。

$$MGI = (L - r_n) / (r_n - r_{n-1})$$

L : 中間骨長 (mm), r_n : 最終 n 輪の輪紋長 (mm), r_{n-1} : 最終 $n-1$ 輪の輪紋長 (mm)

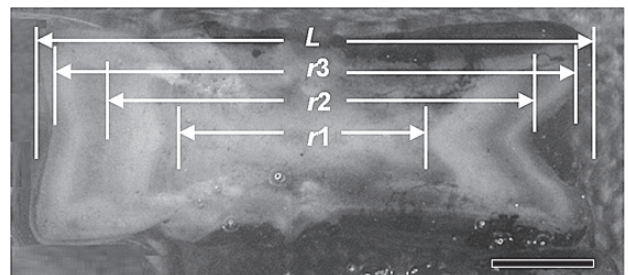


Fig. 2 Rotula of *Anthocidaris crassispina* (48 mm in test diameter). L , rotula length; r_1 - r_3 , the first to third ring length. Scale bars indicate 1 mm.

併せて, 生殖巣の量的発達の経月変化を把握するため, 殻径40 mm以上の1,257個体 (各月74~135個体) について, 体重および生殖巣重量 (g) を測定し, 以下の式から生殖巣指数 (GI) を算出し, その経月変化から産卵期を推定した。

$$GI = \text{生殖巣重量(g)} / \text{体重(g)} \times 100$$

中間骨と生殖板の輪紋数の比較 2014年5月に採集した殻径26~52 mm (平均39.5±3.7 mm) のムラサキウニ 50 個体を用いて, 中間骨と生殖板に形成された輪紋 (白色帯) 数を比較した。

結果

加熱処理の温度と時間 輪紋の可視化のための加熱処理温度と時間に関する検討結果を Table 2 に示した。輪紋の読み取りに適した処理温度は540°C, 処理時間は1~10分であった。適切な温度と時間で加熱処理すると中間骨の上生骨側の中央部に白色帯, その外側に中間骨の形状と相似形に暗色帯と白色帯が交互に形成されていることが判った。また, 加熱処理の過程で中間骨の表面が黒化しやすいため, 処理後に上生骨側の表面を軽く研磨することで, 輪紋の読み取りが容易になった。

Table 2 Evaluation of the results of marking with various heat time and heat temperature

Heat temperature(°C)	Heat time(min)			
	1	5	10	60
350	×	×	×	×
450	×	×	×	×
540	○	○	○	×

○; clear mark, ×; no mark

輪紋形成時期および生殖巣指数の経月変化

MGI および GI は, 5月に最大値を示した後, 6~7月にかけて小さくなり, 9月に最小値を示した後, 5月まで徐々に大きくなった (Fig.3-A, B)。

中間骨と生殖板の輪紋数の比較 標本 50 個体のうち 17 個体について, 生殖板の破損や加熱処理の不具合により, 標本が作製できなかった。標本が作製できた 33 個体について, 中間骨と生殖板の輪紋数を比較すると, 11 個体で一致した。中

間骨の輪紋数が生殖板の輪紋数より 1 個多いのは 3 個体, 2 個多いのは 5 個体, 3 個以上多いのは 14 個体で, 中間骨の輪紋数が生殖板の輪紋数より少ない個体は無かった (Table 3)。

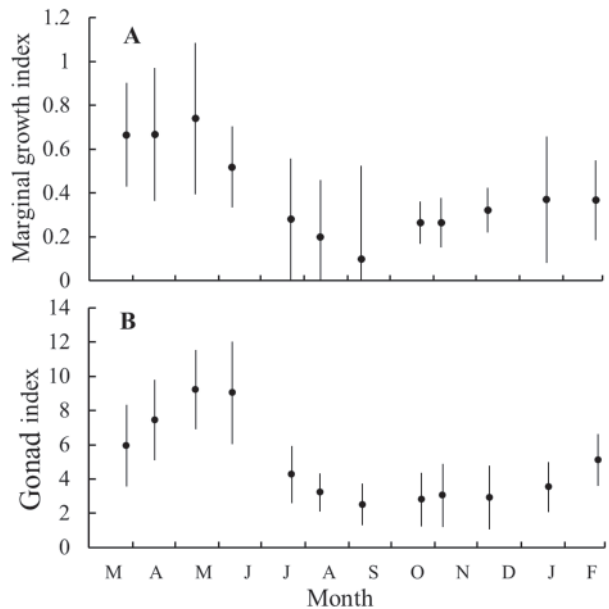


Fig. 3 Monthly change in marginal growth of rotula in individuals having 3-5 white rings (A) and gonad index (B) of *Anthocidaris crassispina*. Circles and vertical bars indicate mean and standard deviation, respectively.

Table 3 Comparison of white rings counts between genital plate and rotula of *Anthocidaris crassispina*

No. by genital plate	No. by rotula									
	3	4	5	6	7	8	9	10	11	
3	6		1							
4		4	1		1	1	1	1		
5			1	2	3	3	2			
6						1		3	1	
7									1	

考察

本実験においてムラサキウニの中間骨の輪紋の読み取りには, 540°Cで1~10分の加熱処理が有効であることが判った。一方, エゾバフンウニ, キタムラサキウニでは250°Cで20~40分^{22,23)}, アカウニでは350°Cで10~180分²⁴⁾とウニの種類により処理時間と温度が異なることが考えられる。

この輪紋は, 6月から7月の年1回形成されて

いることから、年齢形質としての有効性が明らかになった。また、MGI および GI の変化からこの輪紋形成期と産卵期はほぼ一致し、輪紋数は満年齢を示すと考えられた。筆者のアカウニとムラサキウニの中間骨の観察では、両種とも夏から秋にかけて暗色帯が、冬から春にかけて白色帯が形成されていたことから、産卵期を考慮してムラサキウニでは白色帯、アカウニでは暗色帯を MGI の測定の基準とした。

これまでウニ類の年齢形質として多く用いられた生殖板の輪紋数は、既述したように中間骨の輪紋数より 1~6 個少ない個体が多く認められた。この原因としては、成長が遅い個体では、輪紋の間隔が狭いことから、生殖板での正確な読みとりが困難であったことが考えられた。特に餌料が少ない磯焼け帯に生息するウニや高齢のウニは成長が遅く、ムラサキウニの生殖板を用いた年齢査定では、年齢を過小評価する可能性が示唆された。

今後、正確で効率的な中間骨を用いた年齢解析により、ムラサキウニの有効な資源の利用と磯焼け対策における密度管理の技術進展に期待する。

謝 辞

本研究を行うにあたり、試料採集にご協力を頂いた、新三重漁業協同組合の職員および潜水部会の皆様に心からお礼申し上げます。

文 献

- 1) 松井 魁. ウニの増殖. 水産増養殖叢書 12, 日本水産資源保護協会, 東京. 1966, pp. 103.
- 2) 重井睦夫. ムラサキウニ. 相模湾産海胆類(生物学御研究所編), 丸善, 東京, 1986, 79-81.
- 3) 四井敏雄, 前迫信彦. 対馬東岸の磯焼け帯における藻場回復実験. 水産増殖 1993;41:67-70.
- 4) 田井野 清也, 石川 徹. 土佐湾の環境変動に対応した藻場の維持回復に関する研究. 平成 15 年度高知県水産試験場事業報告, 2005, 96-107.
- 5) 荒武久道, 佐島 圭一郎. 本件沿岸海域特性を考慮した藻場造成技術の確立. 平成 20 年度宮崎県水産試験場事業報告, 2009, 109-123.
- 6) 磯焼け対策ガイドライン. 水産庁, 東京. 2007.
- 7) 長崎県における磯焼け対策ガイドライン. 長崎県水産部, 長崎. 2012.
- 8) Fuji R. A. On the growth of the sea urchin *Hemicentrotus pulcherrimus*. *Bull. Jap. Soc. Fish* 1963; 29: 118-126.
- 9) Fuji A. Ecological studies on the growth and food consumption of Japanese common littoral sea urchin, *Strongylocentrotus intermedius* (A. Agassiz). *Mem. Fac. Fish. Hokkaido Univ.* 1967; 15: 83-160.
- 10) 井上 泰, 中村達夫, 角田信孝, 寺尾百合正, 重宗新治, 西村忠恭. 天然漁場におけるウニ類の生態と漁場環境に関する調査研究. 山口外海水試研報 1969; 10: 1-46.
- 11) 今井利為. 本州中部におけるウニ類の増殖に関する研究. 神奈川水試論文集 1995; 6: 1-90.
- 12) 川村一広. キタムラサキウニの年齢形質と成長について. 北水試報 1966; 6: 56-61.
- 13) 川村一広. 余市沿岸のエゾバフンウニとキタムラサキウニの生活に関する 2, 3 の知見. 北水試月報 1967; 24: 126-135.
- 14) 川村一広. エゾバフンウニの漁業生物学的研究. 北水試報 1973; 16: 1-54.
- 15) Jensen M. L. Age determination of echinoids. *Sarsia* 1969; 37: 41-44.
- 16) 角田信孝. アカウニの年齢形質と成長. 日水誌 1989; 55: 1899-1905.
- 17) 吾妻行雄. 北海道津軽海峡沿岸におけるキタムラサキウニ個体群の変動とその要因. 水産増殖 1994; 42: 207-213.
- 18) 吾妻行雄. キタムラサキウニの個体群動態に関する生態学的研究. 北水試研報 1997; 51: 1-66.
- 19) 中林信康, 三浦信昭, 吾妻行雄, 谷口和也. 秋田県沿岸におけるキタムラサキウニの成長

- および生殖巣の発達と海藻群落との関係. 水産増殖 2006; 54: 365-374.
- 20) Chiu S.T. Age and growth of *Anthocidaris crassispina* (Echinodermata: Echinoidea) in Hong Kong. *Bull. Mar. Sci.* 1990; 47: 94-103.
- 21) 滝 囊. テトラサイクリン標識によるエゾバフンウニ口器生長線の観察. 日水誌 1972; 38: 181-188.
- 22) 田嶋健一郎. 中間骨からウニの年齢を読む. 北水試だより 2004; 63: 11-14.
- 23) 狩野俊明, 磯崎 功. 苫前町沿岸におけるエゾバフンウニ放流・天然群の判別及び成長. 育てる漁業 2004; 364: 3-7.
- 24) 渡邊庄一, 夏莉 豊. アカウニの口器中間骨による年齢査定. 水産増殖 2008; 56: 383-386.