

ノープリウス y (甲殻類・ファケートテクタ) の 幼生発育の室内観察

伊 藤 立 則

Observation of the Larval Development of Nauplius y
(Crustacea : Facetotecta) in the Laboratory

TATSUNORI ITÔ

謎の甲殻類とされる y 幼生が田辺湾に多種産することは、以前本紙で紹介した(伊藤, 1987)。y 幼生は、未だ誰も果たし得ない、その親を発見するという大きな研究課題だけでなく、いくつかある機能不明の器官の内部形態やそれらの発生過程を調べたり、y 幼生の最も大きな特徴である体表の彫刻の発育に伴う変化、またノープリウス期とキプリス期をつないで全ての幼生期で分類できるようにするといった、いろいろな研究上の可能性を秘めた興味深い動物である。しかし、この動物を使って厳密な研究をしようとする場合、主にサイズが小さいことからくる、いくつかの越えなければならない障害がある。それは、発育段階の同定と、いろいろな発育段階にある個体が同じ種(種名を確定できるかどうかにかかわらず)かどうかをどうやって判定するか、といった問題である。また透過型電子顕微鏡による観察をする場合ならオスミウム酸で固定するのが通例だが、オスミウム酸で固定した標本は黒く着色しているので詳細な顕微鏡観察ができず、この状態では種や発育段階の同定は困難である。かと言って、固定前にプレパラートを作らずに同定しようとしても、顕微鏡の倍率を上げられないために、それはやはり困難である。このような制約を克服するために、私は一個体保育(注)をし、脱皮殻を利用して発育段階や種の同定をした上で研究材料として利用してきた(Itô &

Takenaka, 1988)。この方法は、手間はかかるが非常に成功率が高く、すでに多くの種でノープリウスからキプリス期に変態させることができている。ただし、現在完全に成功しているのは卵黄栄養で幼生が成長する種類だけで、餌は全く与えていない。幸いなことに、y 幼生の大部分は卵黄栄養で成長し(伊藤, 1987)、他の甲殻類幼生でも同様の例が多数あるので、この方法はかなり使い道があると思う。実は、全く同じ方法で囊胸類の浮遊性ノープリウス幼生を1月間育て、若虫期に変態させることにも成功している(Itô & Grygier, 1990)。この小文では、この保育技術を詳しく紹介することに重点をおき、実際の y 幼生の保育結果そのものとしては、一例だけを予報的に紹介するにとどめたい。

(注)「飼育」という用語を使わず「保育」としたのは、餌を与えないで育てているのに、「食わせる」の意味がある「飼」を使うのは馴染まないからである。この場合、餌を与える必要がないので餌は与えないが、単に生かして保存しているだけではなく、積極的な管理をして幼生を育て上げるという意味を込めて、「保育」を使う。類似の用語として「無給餌飼育」があるが、長いのと積極的に育てるという意味あいには欠けるので、ここでは使用しない。

保育方法および注意

保育に使う幼生は、プランクトンネットで

採集するが、その時に痛んでしまうので濃縮しないようにする。サンプルは予め海水温度に調節しておいたプレハブ恒温室にすぐ持込み、そこにセットしてある実体顕微鏡で幼生を見つけ、ピペットで取り出し、濾過海水を入れた別の容器に移す。できるだけ夾雑物や他の生物の混入を防ぐため、幼生はさらに別の容器に移す。このような過程で幼生がすぐ脱皮してしまうことがあり、複数個体が一緒になっているとどれが脱皮したか判らなくなるので、必ず1容器には1個体しか入れてはならない。

保育に使う容器は、硬化ガラスの平底蒸発皿(φ60mm)を使用した。この容器は、良く洗浄し、乾熱滅菌しておいたものを使う。海水は、毎回新鮮海水を海から汲んできて濾紙で濾過して使う。実際に使用する1時間ほど前には恒温室に濾過海水を持込み、温度を保育温度と等しくしておく。保育容器の3分の1程度、濾過海水を入れ、そこに幼生を1匹だけピペットで入れる。この時に、ピペットから空気の泡を吹き出させると、幼生が水面に出てしまうので、そうならないように実体顕微鏡の下で観察しながら注意深く作業をする。容器は、海水の蒸発を防ぐために、アルミホイルで蓋をしておく。海水の交換は朝夕2回行い、そのたびに、容器ごと取り換える。その時に、脱皮殻があればピペットで吸い出し別の小さいガラス容器に移しておき、それは、後で固定して顕微鏡標本にする。

解説。一

この方法の最も重要なポイントは、洗浄・滅菌した容器を使い、海水を換えるたびに容器も換えることである。いろいろな微小動物の飼・保育のさいには、環境条件が急激に変わるのを避けるという理由で、海水の半量だけを入れ換えるというようなことをよくする。しかしこのような方法では、容器の表面や水面にバクテリアのスライムのようなものができて、そこに幼生が接触した際に刺毛な

どにゴミが付着し、これが幼生の遊泳運動の妨げになる。特別の呼吸器も持たないy幼生では、遊泳していないと酸素不足になる可能性がある。そのせいだろうと思うが、とにかくスムーズに遊泳することができない幼生は脱皮が遅れ、場合によっては変態することなく死んでしまう。抗生物質を使ってバクテリアの繁殖を抑えるという方法もあるが、悪影響もあるのでいろいろ試して最適濃度を決定しなければならない。それよりは、どうせ酸素補給のために頻繁に新鮮海水を与えなければならないので、ついでにバクテリアが繁殖する前に、きれいな容器に取り換えてしまおうという発想である。従って、容器は滅菌してあるだけでなく、幼生に付着する可能性のあるゴミが残っていないよう、十分に洗浄しておく必要があるのである。

使用する海水については、バクテリアなどをできるだけ含まない方がよいと考えられるので、濾紙のかわりにミリポアフィルターで濾過した海水を最初のうちは使っていたが、紙濾過海水でも1日2回取り換えるならば、特に違いはなかったので後にはミリポアフィルターは使用していない。実は、この海水を交換する回数も重要で、これ以上減らすことができないのである。なぜならば、幼生が小さいために、保育容器中の海水量を増すと見つけることが困難になり、ましてや全く無色透明の脱皮殻、とくにその頭盾部(cephalic shield)が胴体部分から分離してしまった場合、水量が多いとそれを実体顕微鏡下で発見することは容易なことではない。したがって、保育容器中の海水は可能な限り少なくしたいのだが、これは一方で酸素の消費、蒸発などの問題をもたらすようで、どうしても1日1回の交換では十分でない。これは、都合でどうしても1日2回の交換が出来ないことが幾度かあって、その時の惨めな経験からでた結論である。

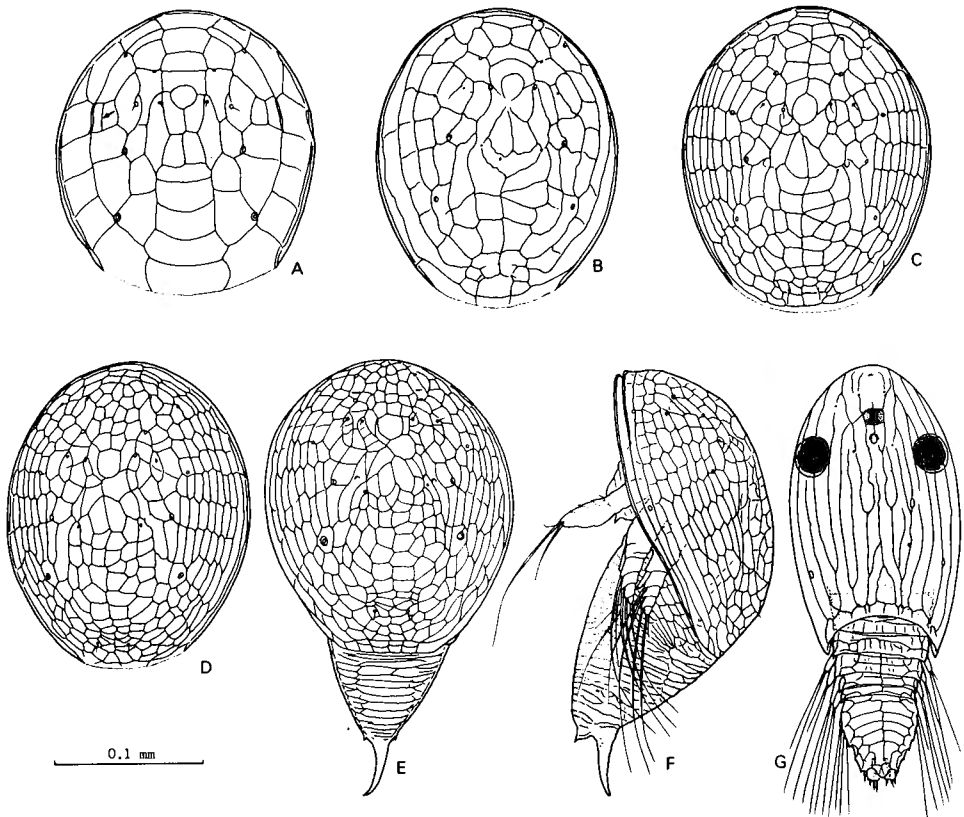
1日2回、上記の方法に基づいて容器と海

水の交換をするならば、ノープリウス y の初期からキプリス y までの変態の成功率は、調子のよいときでは、90%を越す。この場合、残り10%の死亡原因は、観察の時に容器がゆれて、ゆれた水で容器の縁に幼生が押し上られてガラスに付着してしまったり水面の膜にトラップされてしまったとか、脱皮の失敗で古い殻が脱げきらず遊泳行動を妨げていた、というようなものである。数パーセントの脱皮の失敗は自然条件下でも起こっていると考えられ、これは防ぎようがない。それ以外は主に人為的なものであるが、幼生をより健康に保つために、より頻繁に海水や容器の交換

をしたとすると、それだけ上記のような危険を増すことになりかねない。この矛盾があるため、海水交換の頻度をむやみに上げることはできない。

y 幼生の保育結果

以下は、ノープリウス y 1 期からキプリス y 期までの変態を、1 個体保育で最初に成功させた例である。概略は、第 55 回日本動物学会大会で発表してある(要旨は Itô, 1984)。同一種の保育は、後に別の個体でも数度成功している。学名については、新種であることははっきりしているが正式の記載をまだしていないので、ここでは *Hansenocaris* sp. とし



第 1 図. 田辺湾産のファクトテクタ (*Hansenocaris* sp.) を 1 個体で室内保育して得られたノープリウス y 幼生の脱皮殻とキプリス y. A-D, 第 1 期から第 4 期の、胴体の脱皮殻から分離した頭盾(矢印は、P-3 を二つに分ける仕切りを指す). E, F, 第 5 期, 全体の脱皮殻の背面と側面. G, 背面から見たキプリス y.

ておく。

保育は野外の海水温度より約4°C低い、23°Cで行った。これは、他の動物の飼育実験と同じ恒温室の中で行っていたため、こうせざるを得なかっただけである。1984年8月20日昼に保育を開始、8月25日夕方までにキプリスyに変態した。この間、5回脱皮をし、それぞれの脱皮殻を得ることに成功した。生まれてから採集された時までの時間が不明であるが、少なくとも保育開始後6日で5期のノープリウス幼生期を経過したことになる。

幼生のサイズは、最初体長約0.27mm、頭幅約0.17mmで、第2期になるときに頭部が細くなるが、それ以後大きな変化はない。キプリスyのサイズは、体長0.25mm、体幅(最大頭幅)0.11mmで、ノープリウスyの時期よりもかなり小さくなっている。複眼原基の存在は、実体顕微鏡下では第4期で一応確認でき、第5期では明らかに赤く着色してくるので簡単にわかる。

脱皮のための隙間は頭盾の周囲にでき、頭盾の前方を押し上げるようにして、幼生は殻から抜け出す。脱皮の際に、頭盾は他の部分から分離してしまうことが多い。第1図(A-D)に示したのがその例である。脱皮した後、頭盾が分離せず元の位置にもどったのが第1図(F, G)である。

頭盾表面にあるモザイク状の板(plates)の配列は、第1期はIV型(Hansen, 1899; Schram, 1972)あるいはX型(Itô, 1987)と呼ばれているものに似ているが、P-3が緯度線方向の仕切りで二つに分割している点などで、従来報告されているいずれとも違う(第1図A)。多くの板は、第1期から順に新しい仕切りで細分されていく。例えば第2期になる時に、F-3が左右二つに分裂する。このような板の分裂様式については別の機会に詳しく解析する予定なので、ここでは述べない。

胴部にも彫刻板があり、発育段階ごとに細分化されていく。発達した背尾器官(dor-

socaudal organ)は、5期を通して持っていない(第1図E, F参照)。

第1触角の節数は、5期を通して2節で変わらない。第2節にのみ3本、ないし4本の刺毛がある。第2触角、および大顎は、僅かの刺毛数の違いを除いて同様の構造をしており、5期を通して構造は変わらない。底節と基節に内葉に相当する何等の刺毛・刺棘を持たないので、餌を食べないということが解る。第2触角と大顎はキプリス期に変態する時に退化してしまう。

考 察

ファクトテクタが所属するマキシロポダの多くは、基本的に6つのノープリウス幼生期を持つとされている(Izawa, 1987; Moyse, 1987; Itô & Grygier, 1990)。しかしファクトテクタの室内保育の結果では、この例に限らず、他の未報告の例でも全て、5期を越えるノープリウス期を確認したことはない。そして頭盾の板の配列から、現在知られている第1期の状態より前の状態に相当すると考えられるような個体は、野外からでも認められていない。しかし、ファクトテクタは本当に5期しかノープリウス期を持たないかというと、そうは断言できない。というのは、囊胸類のある種で、5期の普通の浮遊性ノープリウス期の前に、浮遊生活ができないと考えられるもう1期を、親の保育囊の中で過ごしているのが最近確認されているからである(Itô & Grygier, 1990)。この囊胸類の第1期の外皮は、第2期以降と違って非常に薄い膜状で、脱皮の際にきれいに脱げず、ひどく縮んだり、破けてしまうことすらあるが、このような外皮をもつ囊胸類幼生やその脱皮殻がプランクトンから発見されたという記録はこれまで存在しない。したがって、もしファクトテクタでもこのような幼生期を持っていたとすれば、それはプランクトンとして出現する可能性がほとんどなく、発見されなくても不思議ではない。このような6期のノープリウスy

期を持つ可能性は否定できないが、それが確認されるまでは、現在知られているままに、1から5期として扱っておくのが妥当であろう。

これまで世界で報告されたノープリウス y 幼生の中で、発育段階の違いを扱ったのはノルウェーの Schram (1972) だけである。彼は、プランクトンから得られた y 幼生をサイズや体表の彫刻の違いによって区別したが、それらが本当に発育段階の差なのか種の違いなのかは解らない。今回報告した田辺湾の *Hansenocaris* sp. の発育段階を基準にする限り、少なくとも彼が Akeröya の幼生 2 (Fig. 3A) として描いたものは第 1 期で、Steilene 1969 からの幼生 (Fig. 4A) とメタノープリウス (Fig. 4B) と称するものは第 4 期と第 5 期だと言える。これは、主に F-1 の板の分割状態から推定できる。彼の西ノルウェーからの幼生 (Fig. 3C) と称するものは板の分割状態がここで報告した *Hansenocaris* sp. のそれとは非常に違っていて、発育段階の同定が困難である。F 群板の状況から見て、恐らく 3 期であろうと推定されるが、他のものとは違う種類の幼生である可能性もある。彼は明らかに第 2 期と言える幼生を報告していない。

野外から採集してきただけの、複数の種が混じっている可能性のあるサンプルから得た y 幼生で、その発育段階を同定するのは非常に困難である。1 個体保育ないし飼育で各段階の脱皮殻を得て、その詳しい記載を積み重ねることが、正確な発育段階の同定に必要である。一方、まだ飼育技術が完成していない餌を食べる種類についても 1 回や 2 回の脱皮は室内でさせることができるので、いろいろ異なる発育段階のものを保育して連続した段階の脱皮殻を得れば、かなり正確な情報を知ることができる。餌を食べる幼生期を持つ *Hansenocaris furcifera* Itô, 1989 の場合は、このような方法でノープリウス y 第 1 期か

ら 5 期までを記載することができた (Itô, 1990)。

引用文献

- Hansen, H. J. 1899. Die Cladoceren und Cirripeden der Plankton-Expedition. *Ergebn. Plankton-Exp. Humboldt-Stiftung*, 2 (G. d) : 1-58.
- Itô, T. 1984. Nauplius y and cypris y (problematic crustacean larvae) from Japan. *Zool. Sci.*, 1 : 1000.
- 伊藤立則. 1987. y 幼生—謎の甲殻類幼生. 瀬戸臨海実験所年報, 1 : 52-58.
- Itô, T. 1987. Proposal of new terminology for the morphology of nauplius y (Crustacea: Maxillopoda: Facetotecta), with provisional designation of four naupliar types from Japan. *Zool. Sci.*, 4: 913-918.
- . 1990. Naupliar development of *Hansenocaris furcifera* Itô (Crustacea: Maxillopoda: facetotecta) from Tanabe Bay, Japan. *Publ. Seto Mar. Biol. Lab.*, 34 : 201-224.
- & M. Takenaka. 1988. Identification of bifurcate paraocular process and postocular filamentary tuft of facetotectan cyprids (Crustacea: Maxillopoda). *Publ. Seto Mar. Biol. Lab.*, 33: 19-38.
- & M. J. Grygier. 1990. Description and complete larval development of a new species of *Baccalaureus* (Crustacea: Ascothoracida) parasitic in a zoanthid from Tanabe Bay, Honshu, Japan. *Zool. Sci.*, 7 : 485-515.
- Izawa, K. 1987. Studies on the phylogenetic implications of ontogenetic features in the poecilostome nauplii (Copepoda: Cyclopoida). *Publ. Seto Mar. Biol. Lab.*, 32: 151-217.

Moyse, J. 1987. Larvae of lepadomorph barnacles. Pp. 329-362. In: Barnacle Biology. A. J. Southward, Ed., Crustacean Issue 5. A. A. Balkema, Rotterdam.

Schram, T. 1972. Further records of nau-

plius y type IV Hansen from Scandinavian waters. Sarsia, 50: 1-24.

本報の著者（伊藤立則）は、1990年4月8日に急逝したので、年号や明らかな誤字を除いて、言葉使いなどは原稿のままにした。