

淡水産テナガエビ科4種の色素胞による 第1・第2ゾエアの種判別

和田信大*¹・浜野龍夫*¹・林 健一*¹・井手口佳子*²

Chromatophore Distribution Patterns in the First and Second Zoeae of Freshwater Palaemonid Shrimps

Nobuhiro Wada*¹, Tatsuo Hamano*¹, Ken-Ichi Hayashi*¹ and Keiko Ideguchi*²

Observations were carried out to determine the chromatophore patterns in the first and second zoeae of four freshwater palaemonid shrimps *viz.* *Palaemon paucidens*, *Macrobrachium formosense*, *M. japonicum*, and the estuarine and freshwater lake groups of *M. nipponense*. They are widely distributed in southwestern Japan. The live larvae and fixed larvae (fixed in 3% formalin at 2°C for three days under total darkness) were examined using a binocular microscope. The presence or absence of chromatophores and their pattern on the third abdominal somite and pleotelson proved to be useful in identifying the living *Macrobrachium* zoeae. However, the chromatophores faded in the fixed material of the second zoea. The zoea of *P. paucidens* was distinguished from those of *Macrobrachium* by the chromatophore patterns, and more effectively by its larger larval size.

1 はじめに

日本の河川に分布する淡水エビ類は、ザリガニ類を別にすると、ヌマエビ科 Atyidae とテナガエビ科 Palaemonidae に分類される¹⁾。テナガエビ科のうち、西日本に広く分布する種は、ミナミテナガエビ *Macrobrachium formosense*、ヒラテテナガエビ *M. japonicum*、テナガエビ *M. nipponense*、スジエビ *Palaemon paucidens*^{2~5)} の4種である。このうち、テナガエビについては卵の大きさによって大卵、中卵、小卵の3群があり、繁殖様式や生理的な差

があることが知られていたが⁶⁾、近年、それらは、遺伝的距離を基本にして、種内分化の水準で、淡水湖群、汽水湖群、河口域群の三群に分類されている⁷⁾。

これら4種はいずれもゾエア幼生をもつ^{7, 8)}。テナガエビとスジエビは非通し回遊性の生活史を送るが、ミナミテナガエビとヒラテテナガエビは通し回遊性(両側回遊性)で、河川を流下したゾエア幼生が海域で幼生期を過ごした後に変態して稚エビとなって川を遡上することが観察されている^{9, 10)}。

これらのテナガエビ科の幼生の形態については、すでに記載が行われている^{11~15)}。しかしながら、スジエ

水産大学校研究業績 第1638号, 2000年9月21日受付。

Contribution from National Fisheries University, No. 1638. Received Sep. 21, 2000.

*1 水産大学校生物生産学科資源生物学講座 (Laboratory of Aquatic Biology, Department of Applied Aquabiology)

*2 九州共立大学工学部環境化学科 (Department of Environmental Chemistry, Faculty of Engineering, Kyushu Kyoritsu University)

ビを除く3種間の差は非常に小さく、天然で幼生が数多く採集されても、それらすべての種同定を行うのは困難である。しかしながら、幼生の種同定が簡便にできるなら、河川における種の分布調査や幼生の分散過程などの解明に大いに役立つ。西日本の河川に広く分布する通し回遊性ヌマエビ科5種の第1期、第2期ゾエア幼生については、体色素胞のパターンによって種同定できることが明らかとなっている¹⁶⁾。この方法は、実体顕微鏡さえあれば、迅速、簡便に種同定を行うことができる点で大変優れている。そこで、著者は、体色素胞の位置などにより、テナガエビ科4種の幼生の判別方法を明らかにするために研究を行った。

2 材料と方法

2.1 観察個体

1998年7月～1999年10月にかけて、雌雄の成体を採集した。スジエビは山口県木屋川の支流、歌野川で、ミナミテナガエビは山口県西田川の下流で、ヒラテテナガエビは長崎県雪浦川で、テナガエビ（河口域群）は徳島県吉野川河口で、テナガエビ（淡水湖群）は山口県小野湖で採集し、それぞれの種毎にまとめて飼育した（水温 $24 \pm 1^\circ\text{C}$ ）。テナガエビ（汽水湖群）については、本研究では扱わなかった。抱卵した個体は、卵が孵化するまで水温 $26 \pm 1^\circ\text{C}$ で個別に飼育した。飼育水の塩分（PSU）は、スジエビ、ミナミテナガエビ、ヒラテテナガエビ、テナガエビ（淡水湖群）は0.0（淡水）とし、テナガエビ（河口域群）は、採集した時と同じ塩分である1.2で飼育した。餌として、人工飼料（ノヴァEP-5：林兼産業株式会社）と冷凍オキアミを与えた。孵化後24時間以内に、第1期幼生の一部を、スジエビとテナガエビ（淡水湖群）の幼生については塩分0.0（淡水）、ミナミテナガエビ、ヒラテテナガエビ、テナガエビ（河口域群）の幼生については塩分16.5（半海水）の飼育水を入れた1リットル水槽に移し、第2期まで飼育した。この間、エアレーションはせず、餌も与えなかった。およそ3日間、毎日、水量の1/2を換水した。

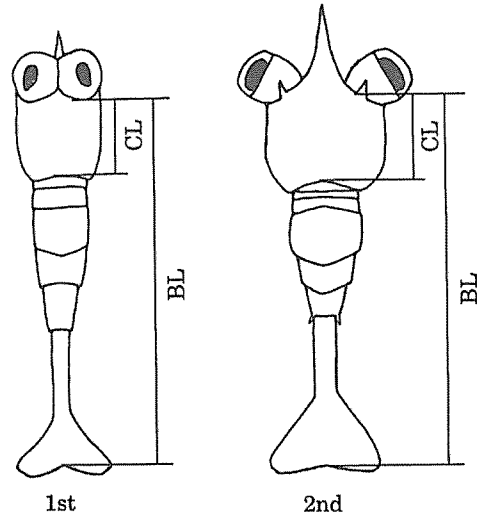


Fig. 1. Size measurement of the first and the second zoeae. Carapace length (CL), body length (BL).

2.2 観察方法

観察方法は、Kikkawa *et al.*¹⁶⁾ に準じた。試料として、各々の種の第1期と第2期のゾエア幼生20個体を無作為に選び出した。それらの幼生は、生きたまま観察した後に3%ホルマリンで固定し、個別に5mlサンプル瓶に入れた。そして、遮光して冷蔵庫内（ $2 \pm 1^\circ\text{C}$ ）で保存し、固定後3日目に再度標本の観察を行った。

頭胸甲長（CL）と体長（BL）は、体正中線に沿ってマイクロメーターを使って計測した。第1期幼生では眼の後縁から頭胸甲の後縁まで、第2期幼生では額角基部の眼窩後縁から頭胸甲の後縁までとした。体長は、CLに頭胸甲の後縁から尾部後端までの長さを加えたものである（Fig. 1）。卵径は、抱卵した個体からピンセットで取った発眼卵10粒の短径と長径をマイクロメーターで測った。本文中では、これらの値は、「平均値」もしくは「平均値（範囲）」で表している。

頭胸甲内の色素胞は不明瞭なので観察から除外し、第3腹節と尾部の色素胞のみを観察した。固定後、色素が消失したものがあったので、基本的には、生時と

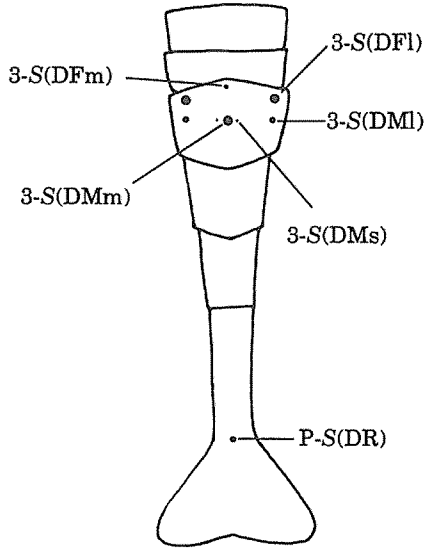


Fig. 2. The dorsal view of an "idealized" abdomen and pleotelson of the first and second zoeae, showing the shape and location of each chromatophore. 3-S and P-S denote a spot-shape on the 3rd abdominal somite and pleotelson. Capital letters in parentheses show locations: DF, dorsal front; DM, dorsal median; DR, dorsal rear. Small letters are lateral positions: m, median; s, submedian; l, lateral.

固定3日後の両観察において観察できた色素胞を記載した。全個体(20個体)に出現せず、いくつかの個体にのみ認められた色素胞は、本文中では、(色素胞が認められた個体数/観察個体数)で表している。

3 結果

3.1 色素胞のパターン

第1期・第2期ゾエアの第3腹節および尾部に認められる色素胞は、円形か球形である。それぞれの色素胞は、Kikkawa *et al.*¹⁶⁾に従って記号化した(Fig. 2)。数字は腹節を、Sは色素胞の形状が点(spot)であることを表す。括弧内のそれぞれの頭文字は、消化管の上に位置するものを背側D(dorsal)、腹節の

前部にあるものをF(front)、中央部のものをM(median)、後部のものをR(rear)とする。ただし、Kikkawa *et al.*¹⁶⁾には、色素胞の体軸に対する位置を示す記号が設けられていなかったため、括弧内の3番目に小文字でその位置を表す記号を設けた。体軸上にあるものをm(median)、側部のものをl(lateral)、その間をs(submedian)と表した。これらに従えば、例えば、第3腹節の背側前部中央の点は、3-S(DFm) = a dorsal (D) front (F) median (m) spot (S) of the third abdominal somite (3), となる。

3.2 観察結果

第1期ゾエア (Fig. 3, Table 1)

スジエビ-CL 0.45 (0.40-0.49) mm, BL 2.40 (2.32-2.46) mm。生時には、P-S (DR) が認められ、3-S (DMm) が一部の個体(3/20)に存在した。固定3日後にも、P-S (DR) と 3-S (DMm) が認められた。

ミナミテナガエビ-CL 0.27 (0.24-0.30) mm, BL 1.31 (1.27-1.35) mm。生時も固定3日後においても、3-S (DMm), 3-S (DMI), P-S (DR) が存在した。

ヒラテナガエビ-CL 0.26 (0.24-0.28) mm, BL 1.26 (1.23-1.30) mm。生時も固定3日後においても、3-S (DFm), 3-S (DMI), P-S (DR) が認められた。

テナガエビ(河口域群)-CL 0.23 (0.18-0.27) mm, BL 1.06 (1.02-1.10) mm。生時も固定3日後においても、3-S (DMm), 3-S (DMs) (19/20) が存在した。

テナガエビ(淡水湖群)-CL 0.30 (0.27-0.33) mm, BL 1.36 (1.32-1.40) mm。生時も固定3日後においても、色素胞は認められなかった。

第2期ゾエア (Fig. 4, Table 2)

スジエビ-CL 0.63 (0.55-0.69) mm, BL 2.52 (2.44-2.59) mm。生時には、一部の個体に 3-S (DMm), P-S (DR) が存在した(それぞれ, 1/20

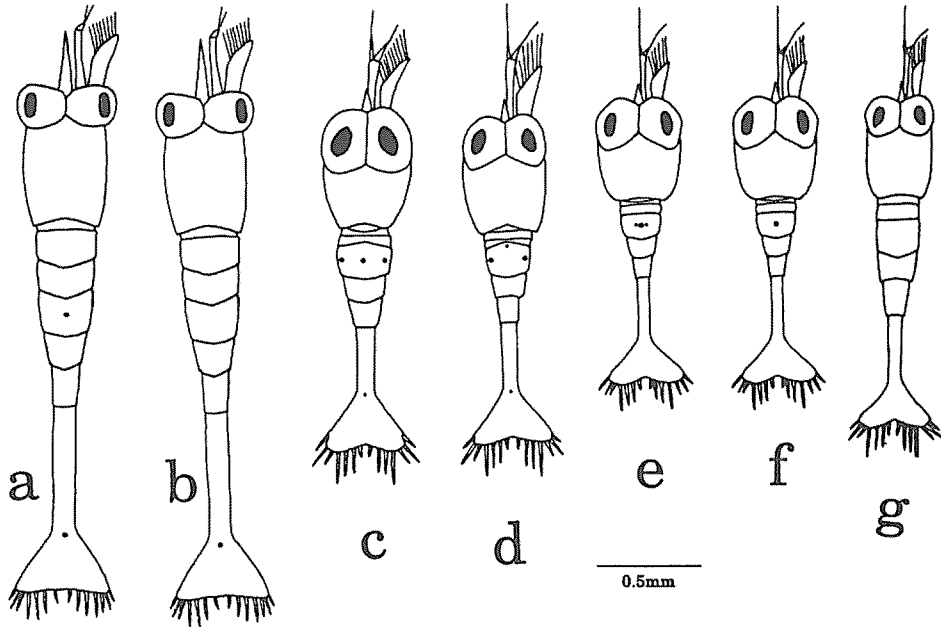


Fig. 3. All chromatophore patterns along the abdomen and pleotelson of the first zoeae of freshwater palaemonid shrimps. a, b, *Palaemon paucidens*; c, *Macrobrachium formosense*; d, *M. japonicum*; e, f, *M. nipponense* (the estuary group); g, *M. nipponense* (the freshwater lake group). These patterns were present in both live larvae and fixed larvae.

Table 1. Difference of chromatophore distributions of the first zoeae of five groups of freshwater palaemonid shrimps, with measurements of carapace length (CL), body length (BL), and the eyed egg diameter. 20 zoeae were observed for each group. The fraction shows "Values for fixed larvae/Values for living larvae." Each measurement denotes the mean value with ranges in parentheses.

Chromatophore	<i>P. paucidens</i>	<i>M. formosense</i>	<i>M. japonicum</i>	<i>M. nipponense</i> (estuary group)	<i>M. nipponense</i> (freshwater lake group)
3-S (DFm)	0/0	0/0	20/20*	0/0	0/0
3-S (DFI)	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
3-S (DMm)	3/3	20/20*	0/0	20/20*	0/0
3-S (DMI)	0/0	20/20*	20/20*	0/0	0/0
3-S (DMs)	0/0	0/0	0/0	19/19	0/0
P-S (DR)	20/20*	20/20*	20/20*	0/0	0/0
CL (mm)	0.52 (0.46–0.56)	0.31 (0.28–0.35)	0.30 (0.28–0.32)	0.26 (0.21–0.31)	0.35 (0.31–0.38)
BL (mm)	2.76 (2.67–2.83)	1.51 (1.46–1.55)	1.45 (1.41–1.50)	1.22 (1.17–1.27)	1.56 (1.52–1.61)
Egg diameter (mm)	0.82 (0.75–0.89)	0.82 (0.76–0.87)	0.67 (0.64–0.70)	0.61 (0.58–0.64)	0.68 (0.62–0.75)
	×0.71 (0.67–0.78)	×0.50 (0.46–0.53)	×0.45 (0.42–0.48)	×0.44 (0.42–0.46)	×0.58 (0.55–0.61)

*Occurred in all specimens.

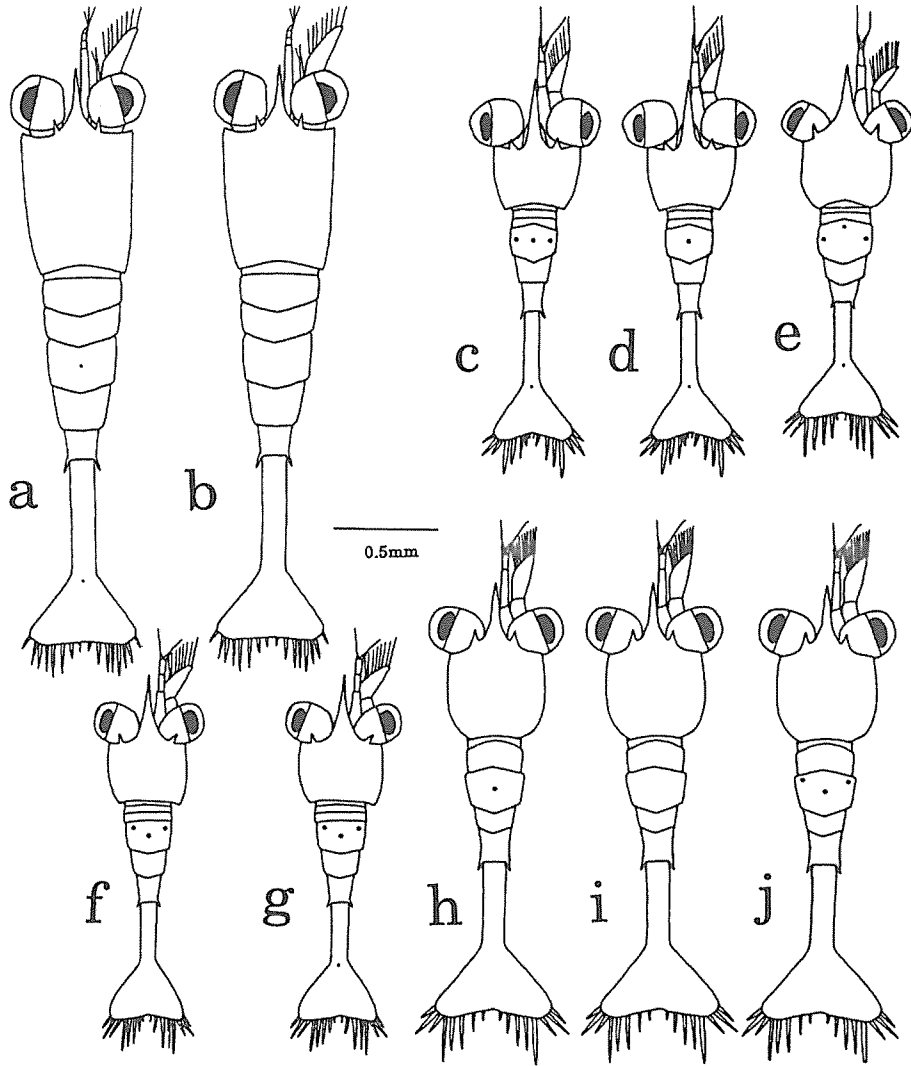


Fig. 4. All chromatophore patterns along the abdomen and pleotelson of the second zoeae of freshwater palaemonid shrimps. a, b, *Palaemon paucidens*; c, d, *Macrobrachium formosense*; e, *M. japonicum*; f, g, *M. nipponense* (the estuary group); h-j, *M. nipponense* (the freshwater lake group). The pattern c was observed only in living larvae and the pattern d only in fixed larvae. All other figures were observed for both living and fixed larvae.

と 1/20)。

ミナミテナガエビ—CL 0.26 (0.24–0.29) mm,
BL 1.41 (1.39–1.44) mm。生時には、3-S (DMm),
3-S (DMI), P-S (DR) が認められた。固定3日後
には、3-S (DMm), P-S (DR) は存在したが、3-S

(DMI) は消失した。

ヒラテナガエビ—CL 0.25 (0.23–0.27) mm,
BL 1.33 (1.30–1.36) mm。生時も固定3日後にお
いても、3-S (DFm), 3-S (DMI), P-S (DR) が存
在した。

Table 2. Difference of chromatophore distributions of the second zoeae of five groups of freshwater palaemonid shrimps, with measurements of carapace length (CL), body length (BL). 20 zoeae were observed for each group. The fraction shows "Values for fixed larvae/Values for living larvae." Each measurement denotes the mean value with ranges in parentheses.

Chromatophores	<i>P. paucidens</i>	<i>M. formosense</i>	<i>M. japonicum</i>	<i>M. nipponense</i> (estuary group)	<i>M. nipponense</i> (freshwater lake group)
3-S (DFm)	0/0	0/0	20/20*	0/0	0/0
3-S (DFl)	0/0	0/0	0/0	20/20*	0/5
3-S (DMm)	0/1	20/20*	0/0	20/20*	0/11
3-S (DMI)	0/0	0/20	20/20*	0/0	0/0
3-S (DMs)	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
P-S (DR)	0/1	20/20*	20/20*	6/15	0/0
CL (mm)	0.72 (0.63-0.79)	0.26 (0.24-0.29)	0.25 (0.23-0.28)	0.29 (0.25-0.33)	0.42 (0.35-0.50)
BL (mm)	2.90 (2.81-2.98)	1.41 (1.39-1.44)	1.33 (1.30-1.36)	1.38 (1.33-1.43)	1.77 (1.70-1.84)

*Occurred in all specimens.

テナガエビ (河口域群) - CL 0.29 (0.25-0.33) mm, BL 1.38 (1.33-1.43) mm。生時には, 3-S (DFl), 3-S (DMm) が認められ, P-S (DR) は一部の個体に存在した (15/20)。固定3日後にも, 3-S (DFl), 3-S (DMm) が認められたが, P-S (DR) は消失しているものもあった (6/20)。

テナガエビ (淡水湖群) - CL 0.42 (0.35-0.49) mm, BL 1.77 (1.70-1.84) mm。生時には, 3-S (DFl) と3-S (DMm) が一部の個体で存在した (それぞれ, 5/20と11/20) が, 固定3日後には, これらの色素胞はすべて消失した。

以上の結果から, 生時と固定3日後の全試料に見られた特徴を用いた第1期・第2期ゾエア幼生の検索表を提案する。

- 1 眼は頭胸甲と癒合し, 不動である。
 -2 (第1期ゾエア)
 - 眼は可動である。.....6 (第2期ゾエア)
- 2 体長は 2.0 mm以上。.....スジエビ
 - 体長は 2.0 mmを超えない。.....3
- 3 第3腹節に色素胞がある。.....4
 - 第3腹節に色素胞がない。.....テナガエビ (淡水湖群)

- 4 P-S (DR) がある。.....5
 - P-S (DR) はない。.....テナガエビ (河口域群)
 - 5 3-S (DMm) がある。.....ミナミテナガエビ
 - 3-S (DMm) はない。.....ヒラテナガエビ
 - 6 体長は 2.0 mm以上。.....スジエビ
 - 体長は 2.0 mmを超えない。.....7
 - 7 3-S (DFm) がある。.....ヒラテナガエビ
 - 3-S (DFm) はない。.....ミナミテナガエビ
 -テナガエビ (河口域群)
 -テナガエビ (淡水湖群)
- *生時の幼生に限れば, さらに以下のように検索できる。
- 8 3-S (DMI) がある。.....ミナミテナガエビ
 - 3-S (DMI) はない。.....テナガエビ (河口域群)
 -テナガエビ (淡水湖群)

4 考察

第1期と第2期のゾエア幼生は眼柄の有無により容易に識別できる。また, スジエビ *Palaemon paucidens* のゾエア幼生は他のゾエア幼生と比べて著しく大きく, 肉眼によって識別することが可能である。スジエビの卵サイズには地理的変異があり¹⁾, 卵サイ

ズによってゾエア幼生の体サイズも異なる¹¹⁾。しかし、卵サイズが小さい琵琶湖産のスジエビでも、第1期ゾエア幼生の体長は2.0 mm以上あり¹¹⁾、ここで扱ったテナガエビ属 *Macrobrachium* のゾエア幼生より著しく大きいので、判別は容易である。しかし、テナガエビ属の3種、つまり、ミナミテナガエビ、ヒラテテナガエビ、テナガエビの間では、体サイズから直ちに種判別をすることは難しい。すでに報告のある幼生の発達様式の記載¹²⁻¹⁵⁾も、幼生の外部形態に主眼が置かれていて観察しており、種間の明らかな違いを見出すことは難しい。本研究の結果、それらの種の第1期ゾエア幼生は、色素胞の数・形・発現位置に明瞭な差異が認められ、また、固定3日後でも色素が残った色素胞の存在が確認できた。しかし、第2期ゾエア幼生では、色素胞の個体差が大きく、また、保存した場合には色素の消失が多く見られた (Tables 1, 2)。そのため、同定に利用できる色素胞の出現パターンが重なる種があり、ミナミテナガエビ、テナガエビ (河口域群)、テナガエビ (淡水湖群) の第2期幼生については、固定3日後には、色素胞の出現パターンで見分けることは難しかった。ただし、生時であれば、ミナミテナガエビとテナガエビ2群は、3-S (DMI) の有無により識別が可能である。さらに、第2期幼生に限れば、テナガエビ (淡水湖群) とテナガエビ (河口域群) は、頭胸甲長に差があり、判別は可能と思われる (Fig. 4)。また、テナガエビ科4種の形態および色素胞と、Kikkawa *et al.*¹⁶⁾ が記載したヌマエビ科の色素胞は出現パターンが大きく異なり、これらの判別も可能である。

本研究で用いたのは1個体の親からのゾエア幼生であったが、同時に同所で採集した異なる5個体から孵化したゾエア幼生の色素胞を全種とも観察したところ、ここで作成した検索表との間に矛盾はなかった。また、ミナミテナガエビ、ヒラテテナガエビ、テナガエビ (河口域群) の生息が確認されている水産大学の近隣の諸河川で流下幼生を採集し観察したところ、本実験で観察された色素胞の出現パターン以外のものは認められなかった。そして、河川を流下する幼生は第1期ゾエアのみであることから¹⁸⁾、この検索表は、河川

の生物調査や幼生の生態調査に十分に役立つと考えられる。

生物標本の色素が時間の経過とともに消滅していくことはよく知られた事実である。著者らも当初、ヌマエビ科の幼生研究時に用いられた、24時間冷蔵後にホルマリン固定する方法を用いた¹⁶⁾。しかし、この方法では、テナガエビ科の場合には、色素胞から色素が流失するなど、幼生の本来の色素の出現パターンを保つことができなかった。そこで、幼生を生きたまますぐに3%ホルマリンで固定する方法を用いて、良い結果を得た。フィールドで採集した幼生の簡便な退色防止方法が、ヤマトヌマエビ *Caridina japonica* の第1期ゾエア幼生を用いて調べられた。これによると、幼生を生きたまま中和していない1%ホルマリンに入れ、遮光して2℃下に置く方法が良いことが明らかにされた¹⁹⁾。テナガエビ科についてもこの方法は有効と思われる。

5 要約

スジエビ、ミナミテナガエビ、ヒラテテナガエビ、テナガエビ (河口域群)、テナガエビ (淡水湖群) の第1期、第2期ゾエア幼生を簡便に識別する方法を確立するため、室内観察を行った。観察試料は、生きたまま実体顕微鏡で観察した後、3%ホルマリンに浸けて遮光・冷蔵して3日後に同様の観察を行った。その結果、スジエビのゾエア幼生は体サイズが明らかに大きく、第1期、第2期とも他のゾエア幼生と区別できること、他のテナガエビ科の第1期ゾエア幼生も、第3腹節や尾部の色素胞の位置によって簡便に識別ができることが判明した。第2期ゾエア幼生についても、生時は色素胞の位置によって識別することが可能であるが、3日後には識別が困難になることが判った。

6 謝辞

本研究を進めるにあたり、帝京大学医学部の益子計夫教授、(財) 海洋生物環境研究所の吉川貴志氏には有益な助言をしていただいた。深く御礼申し上げる。

文 献

- 1) 上田常一：日本淡水エビ類の研究（改訂増補版），園山書店，松江，1970，pp. 215.
- 2) 中原泰彦：長崎大学大学院水産学研究所修士論文，96-125 (1994).
- 3) 鈴木廣志・佐藤正典：かごしま自然ガイド淡水産のエビとカニ，西日本新聞社，福岡，1994，pp. 137.
- 4) 井手口佳子・浜野龍夫・玉本泰之・三矢泰彦：長崎県生物学会誌，49，37-43 (1998).
- 5) 浜野龍夫・鎌田正幸・田辺 力：徳島県立博物館研究報告，10，1-47 (2000).
- 6) K. Mashiko : *J. Crust. Biol.*, 10, 306-314 (1990).
- 7) 大野 淳・N. A. Armada : 海洋と生物，21，319-329 (1999).
- 8) 諸喜田茂充：琉球大学理学部紀要，28，192-278 (1979).
- 9) 浜野龍夫・林 健一：甲殻類の研究，21，1-13 (1992).
- 10) T. Hamano and K. Honke : *Crust. Res.*, 26, 162-171 (1997).
- 11) M. Nishino : *Lake Biwa Study Monogr.*, 1, 1-118 (1984).
- 12) 諸喜田茂充：沖縄生物学会誌，第3-5号，13-21 (1966).
- 13) T. Morizane and A. Minamizawa : *La mer*, 9, 235-251 (1971).
- 14) C. S. Kwon and Y. Uno : *La mer*, 7, 30-46 (1969).
- 15) J. -Y. Shy, Y. -E. Tsou, and H. -P. Yu : *J. Fish. Soc. Taiwan*, 17, 21-34 (1990).
- 16) T. Kikkawa, Y. Nakahara, T. Hamano, K.-I. Hayashi, and Y. Miya : *Crust. Res.*, 24, 194-202 (1995).
- 17) M. Nishino : *Jap. J. Limnol.*, 41, 185-202 (1980).
- 18) K. Ideguchi, Y. Shibata, and T. Kikkawa : *Trans. Nagasaki Biol. Soc.*, 51, 5-13 (2000).
- 19) T. Kikkawa, T. Hamano, and K.-I. Hayashi : *Crust. Res.*, 25, 93-97 (1996).