

ウミタケの浮遊幼生と稚貝飼育

伊藤史郎・津城啓子*・山口忠則・大隈 齊・川原逸朗

Technological Development in Rearing of the Bivalve, *Barnea dilatata* in the Planktonic Larva and Juvenile Stages

Shiro ITO, Keiko TSUJO*, Tadanori YAMAGUCHI,
Hitoshi OHKUMA, and Itsuro KAWAHARA

We attempted developing a technique for the bivalve *Barnea dilatata* seed production, and focused on the establishment of the following: 1, rearing of adult shells; 2, culture of planktonic larvae and the effective production of pediveligers to $>400\mu\text{m}$ shell length and; 3, rearing of juvenile in a muddy environment similar to the tideland. When adult shells were reared at a water temperature of 20°C from late May, shells matured 2 to 3 months earlier as compared to the population in the wild, and large numbers of fertilized eggs were obtained in August. Satisfactory growth was observed when planktonic larvae were fed a diet of the diatom, *Chaetoceros calcitrans*. Moreover, when size diversity was observed during larval culture, the problem was solved by grouping larvae according to size, and culturing these as 2 separate groups. In order to produce plantigrades, larvae in the $300\mu\text{m}$ shell length group were then exposed to the tideland mud upon reaching $>400\mu\text{m}$ in size. This resulted in the production of large numbers of plantigrades. Juveniles acquired the adult-like morphology upon reaching 2 to 3 mm in shell length.

はじめに

ウミタケ *Barnea dilatata* は本州中部から九州の内湾域に生息するニオガイ科の二枚貝で、有明海湾奥部では重要な漁獲対象種となっている。ニオガイ科は、ニオガイ *B. manilensis* にみられるように硬い基盤に穿孔して生活する穿孔性二枚貝であるが、ウミタケは底泥に穿孔する生活様式をとり、成貝の穿孔する深さは1 m程に達する。このように、有明海における漁獲対象物としては生態的にも特異な二枚貝である。

今後、本種資源を持続的に利用する方策として、産卵母貝集団の保護や生息環境の保全を行うとともに、人工種苗の大量放流が考えられる。人工種苗の大量放流を行うには、室内における安定した飼育技術開発とともに放流時の自然環境に適応できる種苗性を考慮した大量生産技術を確立する必要がある。

伊藤・江口¹⁾は、1998年に本種の人工受精を試み、受精

から着底能力を持った殻長 $400\sim 490\mu\text{m}$ の成熟幼生 (pediveliger) および着底稚貝 (plantigrade) までの発生と形態変化を明らかにした。さらに、成熟幼生は着底基質の選択性が強く、干潟域の泥との接触刺激によって着底稚貝へ変態することを明らかにした。

そこで、本研究では、これらの知見をもとに、殻長 $400\mu\text{m}$ 以上の成熟幼生を効率的に得る浮遊幼生の飼育と干潟の泥を用いた稚貝の種苗生産技術開発を試みた。

材料および方法

1. 親貝の飼育

親貝は2002年5月23日に早津江川河口域で簡易潜水器漁法によって採取し(3個体、殻長約7 cm)、以後水温約 20°C の屋内水槽で飼育した。飼育期間中は、餌料として *Chaetoceros gracilis* を投与した。親貝は一週間毎に水温を約 20°C に調整した新しい水槽に移し替えた。飼育水は、 $5\mu\text{m}$ のカートリッジフィルターでろ過したのち紫

*鹿児島大学水産学部

外線照射により滅菌し、水温調整したものを使用した。海水の塩分は約26psuであった。浮遊幼生および稚貝飼育等、以下の飼育実験には、前述した処理を行った海水を用いた。

2. 浮遊幼生の飼育

伊藤・江口¹⁾は、ウミタケの浮遊幼生飼育における問題点として、D型幼生(殻長60 μm)から約70 μm にかけての初期減耗や飼育経過に伴い成長差が生じることをあげている。そこで、今回の浮遊幼生の飼育実験では、飼育経過に伴う成長差を無くす飼育方法の開発を行った。

(1)無選別群と選別群小サイズの飼育

飼育経過に伴う成長差を無くすため、成長差が生じた飼育群を大小2つの群に分けて飼育する方法を検討した。

飼育水槽は200l円型ポリカーボネイト水槽(以下、200l水槽とする)を用い、この中に容積法で計数したD型幼生400万個を収容した。水槽は暗条件下の恒温室内に設置し、水温を約25 $^{\circ}\text{C}$ に設定した。浮遊幼生の飼育密度は、D型幼生収容時は20個/mlとし、その後5日目に5個/ml、15日目に1.2個/mlに調整した。

15日目からは通常の飼育(以下、無選別群とする)とは別に浮遊幼生の成長差を解消するため選別飼育の有効性について検討した。選別は、飼育水槽内の浮遊幼生をビニールホースを用い、サイフォンにより2種類のナイロン製ネット(オープニング250 μm と80 μm)を重ね合わせたものに回収し、250 μm のネット上に残った幼生(以下、大サイズとする)と250 μm と80 μm の間に残った幼生(以下、少サイズとする)の2群に分ける方法(以下、選別群とする)で行った。選別群は、実験終了時まで4回の選別を行い、大サイズを別水槽に収容して、残された小サイズの成長や生残を無選別群と比較した。

餌料は伊藤・江口¹⁾が用いた*C. gracilis*(長軸長8~10 μm 、棘毛長20~30 μm)に比べ小型の*Chaetoceros calcitrans*(長軸長3~5 μm 、棘毛長1 μm 以下)を用いた。*C. calcitrans*は飼育開始翌日から毎日飼育水中の濃度が $2\sim 3\times 10^4$ cells/mlとなるように投与した。通気は径5cmのエアーストンをを用いて水槽底面の中央部から行った。飼育は止水で行い、飼育水の交換は、飼育開始5日目から行った。飼育水の交換は2日毎に行い、15日目まではナイロン製の換水ネット(オープニング50 μm)を用い流水方式で飼育水の全量を交換した。15日目以降は、飼育水槽内の浮遊幼生すべてをビニールホースを用いてナイロン製のネット(オープニング80 μm)に回収し、新しい飼育水槽に再収容する方式で行った。

(2)選別群大サイズの飼育

選別群の大サイズを継続飼育し、成長、生残と形態変化並びに浮遊している割合の推移を観察した。実験は、受精後29日目に大サイズ10万個(平均殻長 \pm 標準偏差、 $385\pm 18\mu\text{m}$)を200l水槽に収容し、餌料として*C. gracilis*を飼育水中の濃度が 5×10^4 cells/mlとなるように毎日投与した。通気は前述した方法で行った。飼育水の交換は、2日毎にネット(オープニング80 μm)に回収し、新しい飼育水槽に再収容する方式で行った。

実験(1)、(2)の飼育における幼生の生残数は、50mlピーカーを用いてサンプリングし、得られた幼生数から推定した。この際、20~30個体の幼生の殻長を測定した。殻長の測定は、顕微鏡下で接眼マイクロメーターを用いて行った。さらに、サイフォンにより水槽底から採水し、得られた幼生の形態を観察した。

なお、実験(2)の飼育において浮遊幼生の浮遊している割合を表した浮遊率は、水槽底に沈下した幼生を加えたすべての幼生数に対する浮遊している幼生数の割合で示した。

3. 浮遊幼生から着底稚貝への変態促進

伊藤・江口¹⁾は、成熟幼生は干潟の泥との接触刺激により、着底稚貝へ変態することを明らかにした。そこで、この生物学的特性を活用して成熟幼生から着底稚貝を大量に得る方法(以下、この工程を採苗とする)を検討した。

(1)浮遊幼生の大きさと着底稚貝の出現割合との関係

一般的には、浮遊時に足を活発に出す浮遊幼生は付着・変態能力をもつ成熟幼生と考えられている³⁾。伊藤・江口¹⁾は、足の出現は殻長380 μm 前後からみられるが、着底・変態実験の結果から、ウミタケ浮遊幼生の成熟幼生は400~490 μm であると推察した。しかし、後述する結果において、今回の浮遊幼生の飼育では300 μm 前後から足の出現が確認された。そこで実験(1)では、300 μm サイズ(334 \pm 26 μm)と400 μm サイズ(453 \pm 20 μm)の幼生を用い、幼生の大きさと着底稚貝の出現割合について検討した。実験は、滅菌したプラスチック製のシャーレ(直径5cm、深さ1cm)に基質として六角川河口域の干潟の泥(中央粒径値0.08mm、含水率約34%、以下、泥と記す)を厚さ3mm程度となるよう薄く塗布し、海水を入れたのち幼生を収容した。シャーレは3つ準備し、各シャーレに幼生5個体ずつを収容した。変態状況の観察は幼生収容から5日目に行った。実験期間中は無給餌とした。なお、各シャーレは室温23 $^{\circ}\text{C}$ の恒温ボックス内に置き、暗条件とした。

(2)大型水槽を用いた採苗実験

後述する実験(1)の結果から、泥を用いた付着・変態実験では、殻長 $400\mu\text{m}$ 以上の幼生の方が着底稚貝の出現割合が高いことが明らかになった。このため、実験(2)では、受精後21日目に選別群の大サイズ2.5万個を100l円型ポリカーボネイト水槽(以下、100l水槽とする)に収容し、平均殻長が $400\mu\text{m}$ 以上に成長した時点で泥を約1cm程度に敷き詰めた別の100l水槽(水量100l)に移して、着底稚貝へ変態させた。採苗は4水槽で行い、採苗後、10日目、20日目、30日目に30個体の殻長、殻高を測定した。30日目には稚貝数を全数計数し、幼生収容からの生残率を算出した。餌料は、浮遊幼生から採苗までは*C. calcitrans*と*C. gracilis*を飼育水中の濃度が $2\sim 5\times 10^4$ cells/ml、採苗以降は*C. gracilis*を濃度が 5×10^4 cells/mlとなるように投与した。各飼育期間における投餌は毎日行った。通気は前述した方法で行った。飼育水の交換は、浮遊幼生期は2日毎にネット(オープニング $80\mu\text{m}$)に回収し、新しい飼育水槽に再収容する方式で行い、採苗後は10日目までは止水とし、その後は2日毎に流水方式で全量を交換した。

4. 稚貝飼育

採苗後の稚貝の形態変化や成長、生残を観察する飼育実験を行った。9月15日の無選別群飼育終了時に、実験2(1)の選別方法により得た大サイズ1千個を用い、前述した条件下の100l水槽で採苗した。採苗後は、10日目、20日目、30日目とその後約30日毎に殻長、殻高を測定した。30日目には稚貝を取り上げ、泥を約5cm程度に敷き詰めた100l水槽に再収容し、飼育を継続した。30日目毎に生残数等を計測する場合は、全数を取り上げ計測したのち新たな水槽に再収容した。飼育実験は2003年2月25日に終了した。餌料は*C. gracilis*を用い、採苗から30日目までは飼育水中の濃度が 5×10^4 cells/mlとなるよう毎日投与した。30日以降は、濃度約 250×10^4 cells/mlのもの10lをビニールホース(内径4mm)を用い2日間かけて滴下した。この投餌量は、1度に投与した場合の初期濃度 25×10^4 cells/mlに相当する。通気は前述した方法で行った。飼育水の交換は、採苗後は10日目までは止水とし、その後は2日毎に流水方式で全量を交換した。飼育水温は、採苗から1ヶ月間は 23°C 、その後12月までは 20°C 、12月から実験終了時までには 18°C となるように制御した。

なお、毎日の浮遊幼生の観察は前述した方法で行い、採苗後の殻長、殻高の測定は万能投影機とノギスを用いて行った。

結 果

ウミタケの発生と着底稚貝までの形態をPlate 1に示す。

1. 親貝の飼育と産卵

8月1日に、親貝を新しい水槽に移し替えた直後に放卵、放精がみられた。このため、親貝を水温 25°C の海水を入れた200l水槽へ収容した。親3個体は雌2個体、雄1個体であった。約10分後に親貝を取り上げ、受精の確認と産卵数を計数した。得られた受精卵は3600万粒で、発生も順調であった。翌日にはD型幼生となり、受精卵からD型幼生までの発生割合はほぼ100%であった。

2. 浮遊幼生の飼育

(1)無選別群と選別群小サイズの飼育

無選別群と選別群小サイズの飼育経過に伴う殻長の推移をFig. 1, 2に示す。無選別群と選別群の比較試験を開始した15日目までの飼育経過をみると、飼育開始時の飼育密度20個/mlを5日目には5個/mlに、15日目には1.2個/mlに調整したが、この間の生残率は、飼育開始から5日目までが75%、5日目から15日目が100%であった。この間の成長は順調で、飼育開始直後からD型幼生は*C. calcitrans*を摂餌し、伊藤・江口の飼育実験⁹⁾でみられたような殻長 $60\mu\text{m}$ から $70\mu\text{m}$ にかけての成長の停滞はみられなかった。

15日目以降の飼育では、19日目頃から殻長のバラツキが大きくなり殻長 $300\mu\text{m}$ を越える個体が出現した。このため、選別群の最初の選別は21日目に行った。無選別群、

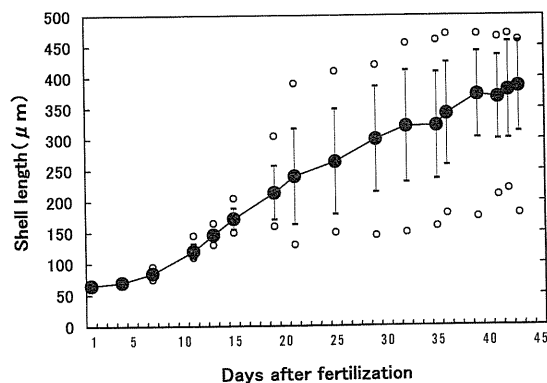


Fig. 1. Growth (mean ; closed circle) in shell length during the days after fertilization of planktonic larvae without size selection, or of the control group. Statistical legend : smaller open circle, range of shell length ; vertical line, standard deviation.

選別群ともに殻長 $300\mu\text{m}$ を越えるあたりから足の出現が観察され、以後成長に伴い足を活発に出し遊泳した。

無選別群の成長は、21日目に $400\mu\text{m}$ 前後の個体がみられるようになり、32日目からは $450\mu\text{m}$ を越える個体が出現した。殻長は39日目に $341\pm 83\mu\text{m}$ となり、その後は成長が停滞し43日目に飼育を終了した。43日目の殻長は $385\pm 73\mu\text{m}$ であった。終了時の浮遊幼生数は13.6万個で、15日目からの生残率は57%であった。また、13.6万個のうち大サイズ($415\pm 44\mu\text{m}$)は10.5万個、小サイズ($245\pm 58\mu\text{m}$)は3.1万個で、15日目からの大サイズの回収率は44%であった。

選別群は、21日目、27日目、29日目、36日目に選別を行った。Fig. 2にみられるように、選別直後の成長は選別前の成長に比べ良好であった。選別群の小サイズにおいても39日目に $386\pm 45\mu\text{m}$ となり、その後は成長が停滞し43日目に飼育を終了した。43日目の殻長は $397\pm 66\mu\text{m}$ であった。終了時の浮遊幼生数は3.9万個で、このうち大サイズ($460\pm 14\mu\text{m}$)は2.9万個、小サイズ($232\pm 67\mu\text{m}$)は1万個であった。15日目からの4回の選別を含む大サイズの回収数は19.9万個、回収率は83%であった。

飼育期間中の平均水温は 24.7°C ($23.0\sim 26.7^{\circ}\text{C}$)であった。

(2)選別群大サイズの飼育

選別群大サイズ(第3回時選別)の飼育経過に伴う殻長と浮遊率の推移をFig. 3に示す。受精後29日目の飼育開始時の殻長は $385\pm 18\mu\text{m}$ であった。33日目には $465\pm$

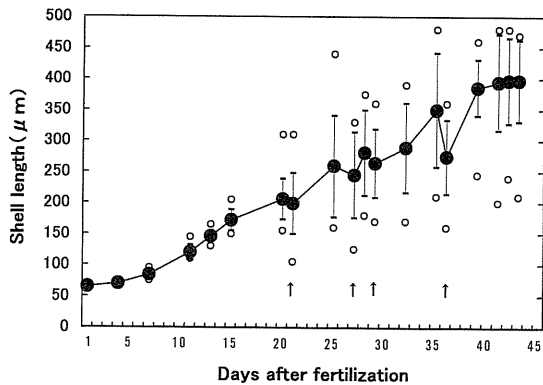


Fig. 2. Growth (mean ; closed circle) in shell length during the days after fertilization of planktonic larvae classified as the small-sized group by separating treatment upon occasion during the culture period. Upward arrow indicates the day of separating. Statistical legend : smaller open circle, range of shell length ; vertical line, standard deviation.

$37\mu\text{m}$ となり、その後実験を終了した50日目まで成長は停滞した。サイフォンにより水槽底から採水し、得られた幼生の形態を観察した結果、47日目に着底稚貝数個を確認した。着底稚貝を確認した翌日から浮遊率が若干低くなり、その後は急激に低下し50日目には26%となった。飼育終了時の生残率は98%であった。また、飼育期間中の平均水温は 23.4°C ($23.0\sim 25.5^{\circ}\text{C}$)であった。

48日目から50日目における浮遊している幼生と沈下した幼生の $10\mu\text{m}$ 階級毎の殻長組成をFig. 4に示す。いずれの場合も、沈下した幼生のほうが浮遊している幼生に比べ若干大きかった。沈下した幼生に含まれていた着底稚貝の割合は、48日目が1.8%、49日目が1.5%、50日目が2.8%といずれも極くわずかであった。また、着底稚貝の幼殻の大きさはFig. 4にみられるように $420\sim 470\mu\text{m}$ とバラツキがみられた。

沈下幼生のなかに、ベールが脱落している個体が観察された。さらに、脱落直後のベール (Fig. 5) は繊毛を動かしていた。

3. 浮遊幼生から着底稚貝への変態促進

(1)浮遊幼生の大きさと着底稚貝の出現割合との関係

幼生収容後5日目の着底稚貝への変態率をFig. 6に示す。着底・変態した稚貝数は、生息孔とその中にみられる水管を確認することにより計数した。 $300\mu\text{m}$ サイズ区は、1つのシャーレでわずか1個体の着底稚貝がみられた。一方、 $400\mu\text{m}$ サイズ区は、着底・変態しなかった個体がわずか1個体で、ほとんどが着底稚貝へ変態した。なお、 $300\mu\text{m}$ サイズ区で変態した幼生の幼殻長は $390\mu\text{m}$ であった。

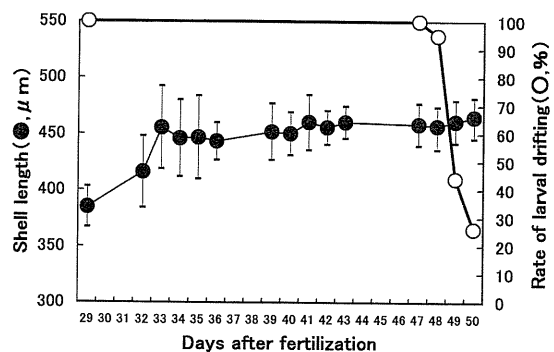


Fig. 3. Growth in shell length of planktonic larvae and the rate of larval drifting during the period from 29th to 50th days after fertilization.

Circles, mean ; vertical line, standard deviation.

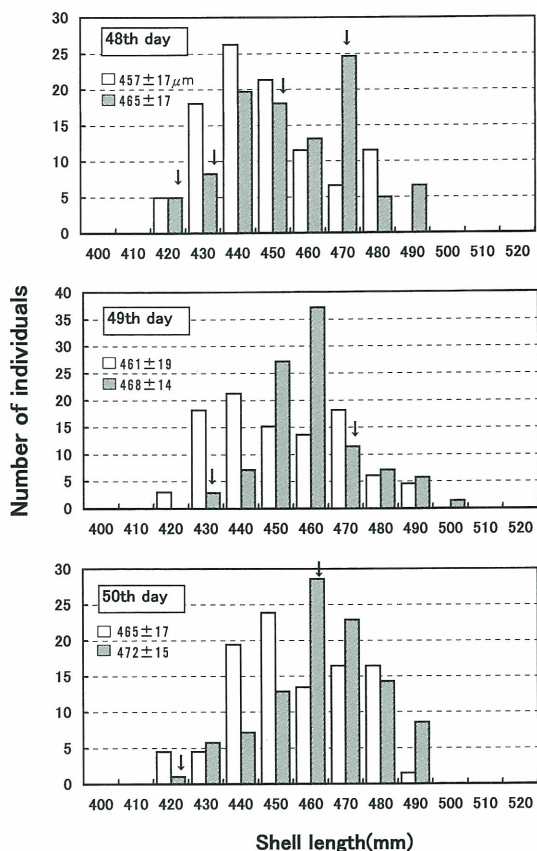


Fig. 4. Shell length composition (μm) of planktonic larvae in drifting (open bar) and benthic (shaded bar) phases by $10\mu\text{m}$ size interval at the 48th (top), 49th (middle) and 50th (bottom) days after fertilization. Downward arrow indicates that the shaded bar concerned include plantigrades with protoconch.

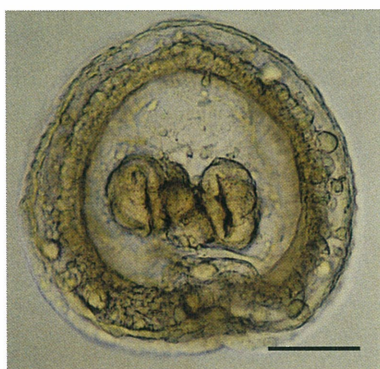


Fig. 5. Top view of the velum just after detachment from the body of a benthic larva. Scale bar = $10\mu\text{m}$.

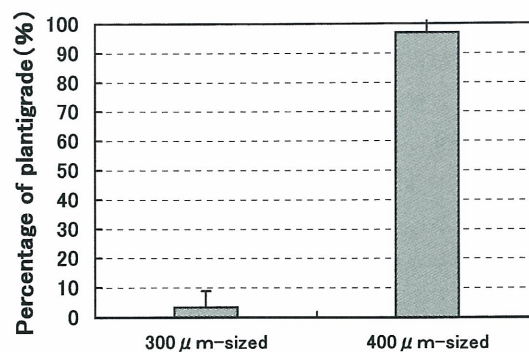


Fig. 6. Comparison between the 300 and 400 μm -sized planktonic larvae (square bar) in relation to the rate of metamorphosis to plantigrades 5 days after the initial setting of their rearing.

Vertical line indicates standard deviation.

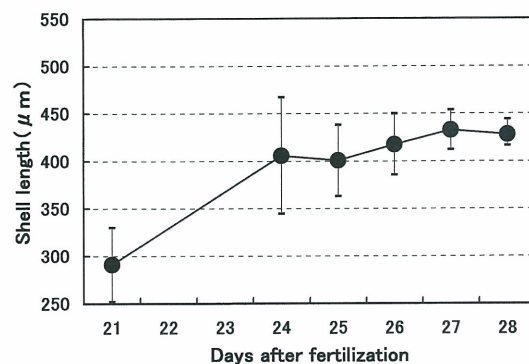


Fig. 7. Growth (mean; closed circle) in shell length during the days that begin on the 21th days after fertilization of planktonic larvae classified as the large-sized group at the first selection.

Vertical line indicates standard deviation.

(2)大型水槽を用いた採苗実験

選別群大サイズ (第1回時選別) の飼育経過に伴う殻長の推移をFig.7に示す。飼育開始時の殻長は $291 \pm 39 \mu\text{m}$ であったが、3日目には $406 \pm 61 \mu\text{m}$ に成長した。その後は成長が停滞し、大サイズの飼育を開始して7日目(受精後28日目)に採苗した。そのときの殻長は $428 \pm 13 \mu\text{m}$ であった。7日間の生残率は100%、平均水温は 24.8°C ($23.1 \sim 24.8^\circ\text{C}$)であった。

採苗後の稚貝の殻長の推移と30日目の生残率をFig.8に示す。採苗は回収した幼生2.5万個を4水槽(6.3千個/1水槽)に収容した。30日目の殻長は $2.6 \pm 0.5 \text{mm}$ で、4水槽の平均生残率は91.2% ($77.5 \sim 100\%$)であった。

4. 稚貝飼育

無選別群飼育終了時の大サイズを用いた、採苗後の稚貝の殻長と生残率の推移をFig.9に、飼育水温の推移をFig.10に示す。30日目の殻長は 8.4 ± 1.1 mmで、前述した飼育実験の30日目の 2.6 ± 0.5 mmに比べ著しく大きかった。しかし、30日目の生残率は12.3%と低かった。その後、12月25日(採苗後95日目)には 14.9 ± 3.5 mmに成長した。採苗からの生残率は8.4%で、30日目からの生残率は71.5%であった。12月25日の計測後の再収容は、殻長の大きい個体50個を選んで行った。再収容した個体の大きさは 20.3 ± 3.0 mmであった。その後は斃死もみられず、順調に成長し、2月25日(採苗後157日目)には 29.7 ± 3.5 mm(最大殻長36.2mm, Fig.11)に成長し、実験を終了した。

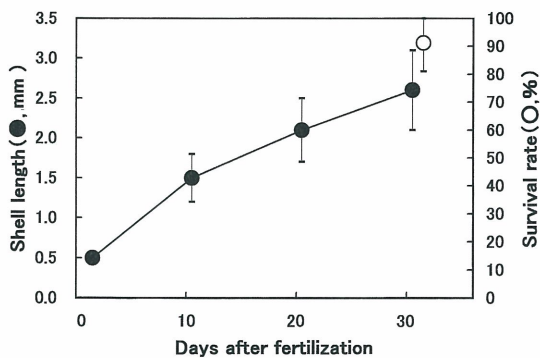


Fig. 8. Growth(mean; closed circle) in shell length and survival rate (open circle) at the ultimate point(on 30th days) of plantigrades reared during the period of 30 days. Vertical line indicates standard deviation.

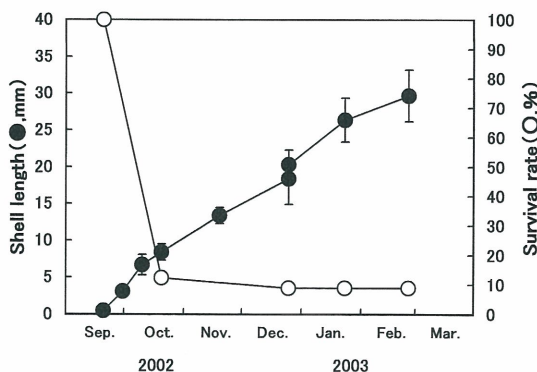


Fig. 9. Growth and survival curve of the large-sized plantigrades reared during the period from 15 September to 25 February(165th days). Vertical line indicates standard deviation.

飼育水温は、ほぼ設定した条件下で推移し、採苗から10月末までは $22 \sim 23^\circ\text{C}$ 、12月末までは $20 \sim 21^\circ\text{C}$ 、その後終了時までには 18°C 前後であった。

稚貝の殻長と殻長に対する殻高の割合の関係をFig.12示す。殻長に対する殻高の割合(以下、殻長・殻高比とする)は、変態直後は0.9で、その後値は急激に小さくなり、殻長2~3mmで0.5~0.6となった。その後は成長に伴う大きな変化はみられなかった。

また、着底稚貝に変態した直後の形態は、浮遊幼生時の幼殻を取り巻くように新生殻の形成が確認できた(Fig.13, Plate 1. R)。新生殻の前縁部には3つの棘がみられ、変態から数日経過した個体は新生殻の周りに新たな4つの棘をもつ殻が形成されていた(Fig.13)。さらに、浮遊幼生期にはみられなかった水管が発達し、足先は浮遊幼生期の斧足状のものが丸みを帯び(Plate 1. R)、粘着性をもっていた。

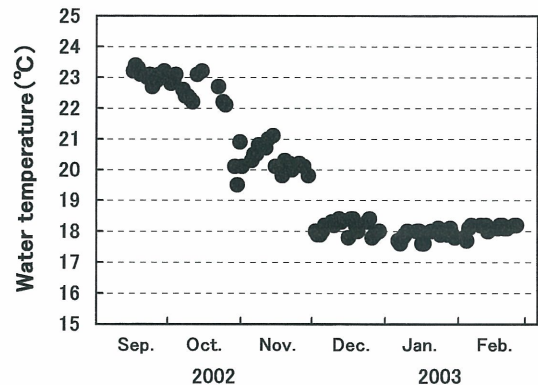


Fig. 10. Changes of the water temperature in the rearing tank during the period from 15 September to 25 February.



Fig. 11. *Barnea dilatata* grown up to the artificial seed size of 36.2 mm about 7 months after fertilization. Scale bar = 30 mm.