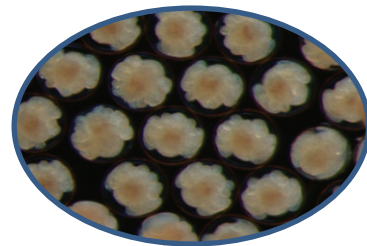


第2節 放流用種苗の生産現場における採卵について

Section 2

水藤 勝喜



放流用の種苗を生産する際の採卵作業は、親エビの選別・入手、輸送および採卵の各工程に分けられる。前節には、その現状と問題点を記載した。採卵方法は、各機関の生産規模や施設および親エビの入手事情などにより異なるが、クルマエビ類の種苗生産において大きな障害となる親エビからの垂直感染によるウイルス性疾病的防除対策を導入することで、採卵の工程が大きく変わった機関も多いと思われる。本節では、愛知県栽培漁業センターにおける親エビ入手時の卵巣の成熟度判別とウイルス性疾病的防除に対応して変遷してきた採卵方法を紹介する。

1. 親エビ卵巣の観察方法

親エビを入手する際の選別では、測定器具等を用いずに迅速に卵巣の成熟度を判別する必要がある。背部か

ら親エビを光にかざして卵巣の影を観察する方法（卵影観察）が広く実施されている。この卵影観察と組織観察の結果を対比させると、発育の進んだ卵母細胞にエオシン染色性の卵黄顆粒が観察されると同時に卵影が視認され始める。このため、卵黄顆粒は光を透しにくい性質があり、この蓄積が進むにつれて卵影は太く明瞭になると考えられる。

採卵用の親エビを、成熟度により5段階に分けた卵影を図5-2-1に示した。5個体のうち最も成熟度の低いGSI 6.83%の個体No.1は、卵影がやや淡く、第9分葉の上端部に位置する第1腹節に卵巣の張り出しが認められない。GSI 7.68%の個体No.2では、第1腹節に卵巣の張り出しが認められるようになり、GSI 8.54%の個体No.3では、第1腹節と第2腹節の両方に卵巣の張り出しが認められる。GSI 10.02%の個体No.4は、個体No.3よりも卵影が濃く明瞭となり、尾部に占める卵影の面積が増加

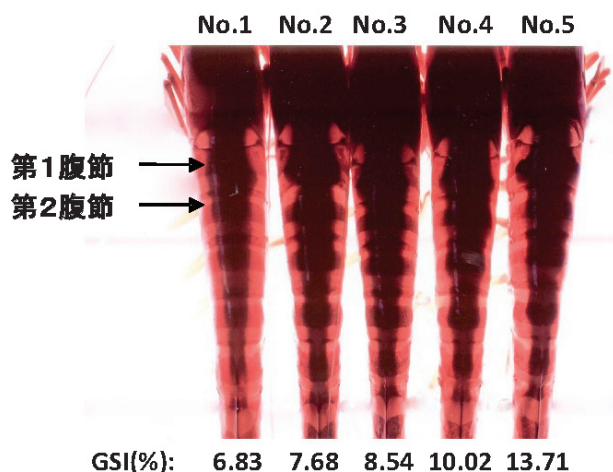


図 5-2-1 親エビの卵影写真

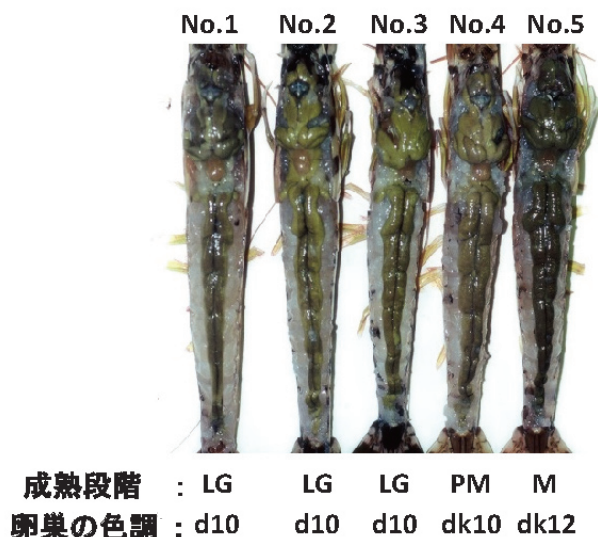


図 5-2-2 親エビの解剖写真

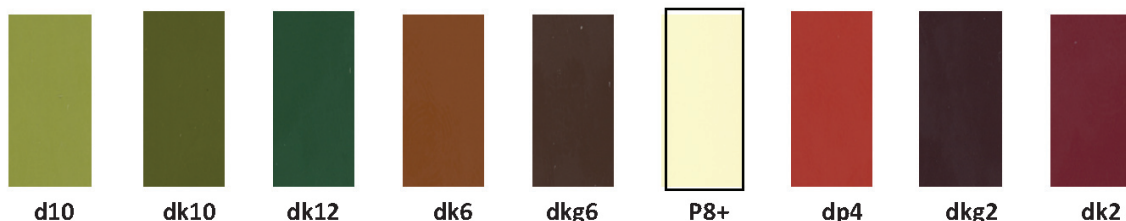


図 5-2-3 カラーチャート（日本色研事業株式会社発行 Harmonic Cards 201, 1989）

した。最も成熟度の高い GSI 13.71%の個体 No.5 では、さらに卵影が濃く明瞭となり、面積も増加する。以上のように、親エビとして利用されている GSI が概ね 7%以上の個体間でも卵影に差が生じている。

卵影観察の結果は、これまで観察者の主観となりがちであったが、近年、崎山ら¹⁾が第1腹節幅に占める卵影幅の割合(卵影比)と GSI (生殖腺重量/体重)の間に正の高い相関を見いだしたことで、GSI と同様に客観性のある成熟度指標として利用できるようになった。雌クルマエビの場合は、GSI が 8~10%であれば約半数、10%以上であればその殆どが表層胞の形成された成熟した個体である²⁾。これらを簡便に判別できる卵影観察は、親エビの選別において極めて有効な方法である。

クルマエビの卵巢は、内因性卵黄蓄積期から外因性卵黄蓄積期にかけて色調が明瞭に変化するため、繁殖生態調査などでは卵巢の色が成熟度の判別に用いられている³⁾。図 5-2-2 は、上記の 5 個体を解剖して卵巢を露出させた状態を示す。各個体の卵巢の色調を、カラーチャート(図 5-2-3、日本色研事業株式会社発行 Harmonic Cards 201, 1989)で照合すると、個体 No.1, No.2 および No.3 はダライエローグリーン(トーン記号: d10)、個体 No.4 はダークイエローグリーン(dk10)、個体 No.5 はダークグリーン(dk12)にそれぞれ該当した。このように外因性卵黄蓄積をほぼ終えた親エビであって

も、成熟度によって卵巢の色調に差が生じている。これらの卵巢で最も発育の進んだ卵群は、個体 No.1, No.2 および No.3 が、卵黄球後期、個体 No.4 は前成熟期、個体 No.5 は成熟期であった。このため、クルマエビの卵巢の色調は、卵母細胞の表層胞形成によって、d10 から dk10 へと変化し、表層胞が球形から長楕円形に伸張することで dk12 に変化すると考えられた。親エビの選別に際しては、個体を軽く折り曲げると頭胸甲と第1腹節の間隙から、頭部分葉と第9分葉の境界あたりの卵巢を観察することができる(図 5-2-4)。この色調観察は、血リンパの介在や卵巢表面に赤色色素胞が凝集することで、解剖観察ほど明瞭に識別できないが、卵影観察と合わせて実施することで判別の精度が幾分向上すると考えられる。

成熟度が高くても卵巢が変性、退行していると産卵が期待できないため、選別時に除外する必要がある。このような卵巢は、ダークグレイイエローイッシュブラウン(dk6)やダークグレイイッシュブラウン(dkg6)など正常な卵巢とは明らかに異なる色調を呈する。このため、卵影からは判断できなくても、上記の色調観察により区別することができる。なお、摘出したクルマエビ卵巢の色調をカラーチャートで照合した結果は、表 5-2-1 に示した。

2. ウイルス性疾病の防除対策にともなう 採卵工程の変遷

クルマエビの種苗生産において問題となる中腸腺壊死症(baculoviral mid-gut gland necrosis, BMN)やクルマエビ類急性ウイルス血症(penaeid acute viremia, PAV)は、原因ウイルスが親エビから垂直的に感染して発症することが明らかとなっている。両感染症に有効な防除対策等は、第5章第4節に詳しく記載されている。ここでは、愛知県栽培漁業センター(当所)を例として、ウイルス症の防除対策により変遷した採卵工程を概説する。

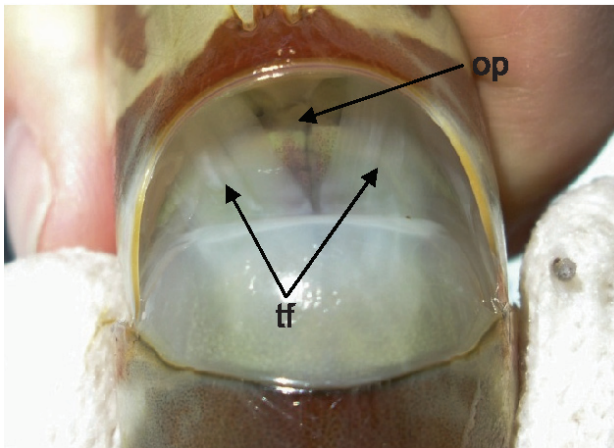


図 5-2-4 卵巢の色調観察の部位

表 5-2-1 カラーチャートによる系統色名とその色調を呈する親エビの部位

トーン記号	系統色名	色調を呈する部位
d 10	ダライエローグリーン	GSIが約8%未満の卵黄球後期個体の卵巢
dk 10	ダークイエローグリーン	GSIが約8%以上の卵黄球後期および前成熟期個体の卵巢
dk 12	ダークグリーン	成熟期個体の卵巢
dk 6	ダークイエローイッシュブラウン	変性した卵巢
dkg 6	ダークグレイイッシュブラウン	同上
p 8+	ペールイエロー	完全産卵個体の卵巢
dp 4	デープレディッシュブラウン	完全産卵個体の体表における色素沈着部位
dkg 2	ダークグレイイッシュレッド	未産卵個体の体表における色素沈着部位
dk 2	ダークレッド	卵巢膜に沈着した色素胞

*Harmonic Color Chart 201-L (日本色研, 1989)

当所は 1994 年まで、幼生の飼育水槽に直接親エビを収容して産卵させ、ふ化した幼生をそのまま飼育する方法をとっていた（直接採卵）。この方法では、200 m³ 水槽（10 m × 10 m × 2.0 m）に 60m³ 程度の砂濾過海水を入れ、1 水槽あたり 60 尾～220 尾の範囲で収容した親エビを通常、2 晩おいて産卵させた後にタモ網等で取り上げ、幼生飼育に移行していた。産出された受精卵の数は、産卵した親エビの数とその大きさから推定し、ふ化幼生数は容積法で計数した。

1995 年には同じ産地の親エビを用いた近隣の種苗生産機関、翌年には、県内の中間育成場で PAV が発症し、その対策が急務となった。当時は、幼生の飼育水槽とは別に採卵水槽を所有していなかったため、さしあたり採卵前の親エビから採取した血リンパを検体として PCR 法で原因ウイルスの PRDV（penaeid rod-shaped DNA virus）をチェックし、陰性の親エビのみを上記の直接採卵に用いた⁴⁾。



図 5-2-5 生け簀網によるクルマエビの流水採卵

その後、血リンパを検体とした検査は、PRDV の検出率が低いことが明らかとなり⁵⁾、実際の種苗生産においても PAV が発症したため、現有の施設でもう一つの防疫対策である受精卵の洗浄・消毒を行う工程を検討した。初めに飼育水槽で産卵した受精卵の回収を試みたが、老朽化したコンクリート製のため回収率とふ化率が低く、生産に必要なふ化幼生数を確保できなかった。そこで、福岡県栽培漁業センターの渡辺氏の助言をもとにナイロンネットの生け簀網に親エビを収容して産卵させ、受精卵を回収する方法に変更した。生け簀網は、外側に受精卵を保持するナイロンネット（100 × 100 × 100 cm、オープニング 108 μm）、内側に親エビを収容するテトララッセルネット（91 × 91 × 91 cm、オープニング 850 μm）を 2 重に設置した。受精卵の回収は、親エビとその糞などが保持された内側の生け簀網を取り除き、外側の生け簀網を絞って受精卵が中央に集まったところを、同じナイロンネットのたも網ですくい取った。回収した受精卵は、オープニング 400 μm 程度のネットで糞や親エビの歩脚等の夾雑物を取り除き、洗浄・消毒した後に計数して必要量を飼育水槽に収容した。

現在は、この採卵方法を 1 m³ 容のポリエチレンタンクで実施し（図 5-2-5）、採卵作業と平行して授精囊を検体とした PCR 検査を行い、陰性の確認された親エビから得られた受精卵のみを種苗生産に用いている。この採卵方法では、1 水槽に収容する親エビの数と PCR 検の結果が出るまでの受精卵の管理について、さらに検討する必要があると考えている。前者に関しては、卵巣の成熟度を統一した試験により、80 g～120 g の親エビであれば 1 水槽あたり 20 尾までは、産卵率や採卵数に大き

表 5-2-2 愛知県栽培漁業センターにおけるクルマエビの採卵工程（平成 25 年 4 月実施）

月日	時刻	作業工程
4月19日	16:30	親エビを養成水槽から採卵水槽へ移動
	17:30	親エビ収容完了、流水開始(540ml/10sec)、消灯
4月20日	5:45	親エビ回収、産卵確認、授精囊採取(産卵個体のみ)
	6:36	親エビと検体の照合
	6:45	核酸抽出開始
	9:15	PCR反応開始、(シャトル45サイクル)
	11:45	受精卵回収・洗浄開始(8水槽)
	12:20	PCR反応終了、結果
	13:20	受精卵回収・洗浄終了(飼育水槽収容まで止水換水を繰り返す)
	13:45	PCR検査終了、受精卵を飼育水槽へ収容
	15:50	ふ化が始まる

な差は生じなかった。したがって、1 水槽あたり 20 尾を超えない範囲では、収容する親エビの数が多いほど採卵作業の効率は良くなるが、PRDV を保有する親エビが検出された際に廃棄する受精卵が多くなる危険性も高くなる。採卵水槽に収容する親エビの数は、産地や時期によって異なる成熟状況、PRDV 保有率および生産規模などを勘案してその都度調整する必要があると考えている。

一方、ふ化率は幼生の飼育水槽に移すまでに受精卵が置かれた環境によって大きく異なる結果が示されている。上記の採卵水槽を用いて止水と流水で採卵し、ほぼ同じ数の受精卵が得られたケースを比較すると、流水の方が安定して高いふ化率を示した。また、回収した受精卵を止水でストックする際には、底面積に対して収容量が多く、堆積した状態になると、短時間であってもふ化率が明らかに低下した。今後さらにアンモニア濃度や受精卵の収容密度がふ化率に及ぼす影響を検討する必要があると考えている。

これまでの採卵結果を総合すると、上記の採卵水槽を用いて流水で採卵を行い、PRDV 保有検査の終了に合わせて回収した受精卵を直ちに飼育水槽へ移す方法により、安定したふ化率が得られている。参考までに、2013 年に当所が実施した採卵工程を表 5-2-2 に示した。

(水藤勝喜・小椋友介・柘植朝太郎)

文 献

- 1) 崎山一孝, 清水大輔, 田原大輔. 卵影比によるクルマエビの成熟度評価. 水産増殖 2013; **61**: 119-120.
- 2) Ohtomi J, Tashiro T, Atsuchi S, Kohno N. Comparison of spatiotemporal patterns in reproduction of the kuruma prawn *Marsupenaeus japonicus* between two regions having different geographic conditions in Kyushu, southern Japan. *Fish. Sci.* 2003; **69**: 505-519.
- 3) Brown A, Patlan D. Color Changes in the Ovaries of Penaeid Shrimp as a Determination of Their Maturity. *Mar. Fish. Rev.* 1974; **36** (7) : 23-26.
- 4) 水藤勝喜, 荒川哲也, 伊藤英之進. 生検法による種苗生産用親エビの成熟度観察. 栽培技研 1997; **25**: 81-86.
- 5) Mushiake K, Shimizu K, Satoh J, Mori K, Arimoto M, Ohsumi S, Imaizumi K. Control of Penaeid Acute Viremia (PAV) in *Penaeus japonicus* : Selection of eggs Based on the PCR Detection of the Causative virus (PRDV) from Receptaculum Seminis of Spawned Broodstock. *Fish. Pathol.* 1999; **34**: 203-207.