

人工催熟によるクルマエビの再生産形質について

— 安定採卵のための催熟条件の検討 —

伏屋玲子^{*1}・佐野元彦^{*2}・清水弘文^{*3}・玉城泉也^{*1}・林原 毅^{*1}・加藤雅也^{*1}

Artificially induced maturation by eyestalk ablation in the kuruma prawn *Marsupenaeus japonicus*.

Reiko FUSEYA^{*1}, Motohiko SANO^{*2}, Hirofumi SHIMIZU^{*3},
Motoya TAMAKI^{*1}, Takeshi HAYASHIBARA^{*1} and Masaya KATOH^{*1}

Abstract Eyestalk ablation is an effective technique for artificial induction of maturation in penaeid shrimps. To induce maturation in cultured female kuruma prawn, methods of eyestalk ablation and optimal conditions of prawns and of rearing environments were examined. Eyestalk ablation was effective for prawns with developing ovary that were older than 12 months and larger than 140mm in total length. The most successful spawning was seen when prawns had been operated to remove single eyestalks just after molting and were reared at 24°C.

Key words: kuruma prawn, spawning, eyestalk ablation, temperature, molting, maturation

クルマエビは西太平洋、インド洋沿岸に広く分布し、内湾、内海の砂泥域に生息する（三宅，1982）。本種は甲殻類の中でも漁業対象種として重要であるため、種苗生産・放流による栽培漁業が行われている。また、有用種の中でもクルマエビは漁業・流通価値が高いため、養殖も盛んに行われている。

一般にエビ類は交尾に先立ち、雌が脱皮を行う。クルマエビも雌が脱皮直後の甲殻が柔らかい時に交尾を行うが、その際に雄が雌に交尾栓をつけることが繁殖戦略の特徴として知られている。繁殖期間中に雌は脱皮後、交尾、産卵を繰り返し、一回の脱皮周期の間に数日間隔で複数回の産卵を行う。また、産卵において本種は抱卵を行わないことも特徴としてあげられる

（武田，1995）。

養殖産業が長期にわたり拡大し、種苗放流も全国で行われているため、近年、クルマエビの安定採卵に向けて親エビ養成に関する研究の需要が高まっている。種苗生産を行っている機関・施設では二通りの採卵方法が試みられている。一つは養殖池である程度成熟した親エビを陸上水槽に移して産卵を待つ方法である。また、養成したエビではなく繁殖期に漁獲した天然エビのうち成熟した個体を選別し、同様に自然産卵を待つという方法もある。この場合、天然エビを用いると漁獲変動に左右されるため、親エビの確保が問題になる。もう一つの採卵方法は眼柄処理により人工的に催熟させ、採卵を行う方法である（Bray and

2005年11月15日受理 (Received: November 15, 2005)

^{*1} 西海区水産研究所石垣支所 〒907-0451 沖縄県石垣市字椋海大田148-446 (Ishigaki Tropical Station, Seikai National Fisheries Research Institute, 148-446, Fukai Ohta, Ishigaki, Okinawa 907-0451, Japan)

^{*2} 水産総合研究センター研究調査部 〒220-6115 神奈川県横浜市西区みなとみらいクイーンズタワー-B15階 (Fisheries Research Agency, Queen's Tower B 15F, Minatomirai, Nishi, Yokohama, Kanagawa 220-6115, Japan)

^{*3} 中央水産研究所 〒236-8648 神奈川県横浜市金沢区福浦2-12-4 (National Research Institute of Fisheries Science, 2-12-4, Fukuura, Kanazawa, Yokohama, Kanagawa 236-8648, Japan)

Lawrence, 1992)。自然産卵および人工催熟のどちらの方法を用いても技術的に未解明な部分が多いため問題点が残る、安定した採卵には至っていないのが現状である。現在の天然エビに依存した種苗生産では、親エビが急性ウイルス血症 (PAV) などのキャリアになっていることが考えられるため、養成した親エビを用いた人工催熟による供給が期待されており、可能になれば天然資源による影響を受けにくくなると思われる。

養成したクルマエビを用いた人工催熟における再生産形質の不良要因や産卵の非同期性要因が解明されることにより、安定した大量採卵の可能性がある。本研究では成熟誘起手法開発の一環として、養成したクルマエビに眼柄処理を用いた人工催熟を施し、成熟、産卵について飼育実験により検討を行った。

養成エビ (眼柄処理) と天然エビの比較

飼育下で養成したエビと天然から漁獲したエビを用い、眼柄処理による人工催熟と自然産卵について比較検討した。

卵巣内卵数

飼育した養成クルマエビに片眼柄切除による眼柄処理を施し、屋内の2t水槽 (水温22°C, 流水) でアオゴカイを与えて飼育し、産卵直前と思われる時に解剖により卵巣を取り出した。また、有明海および橋湾で漁獲された天然エビから卵巣を採取した。それぞれの卵巣内卵数を計測し、比較したところ、天然エビの卵巣内卵数は養成エビよりもばらつきが大きく、また眼柄処理を行った養成エビは体長が大きくなるにしたがい、天然エビよりも卵数が少ないことがわかった。

産卵数

片眼柄切除を行った養成エビと何も施していない天然エビを100ℓ水槽 (水温25または28°C, 流水) で個別飼育を行い、産卵数および受精卵の卵径について調べた。同サイズのエビで産卵数を比較すると天然エビに

比べ眼柄処理を行った養成エビでは約半分程度の数であった。受精卵の平均卵径は養成エビでは297 (最小294-最大301) μm であるのに対し、天然エビでは282 (278-288) μm と15 μm の差がみられた。

以上の結果から、天然エビの自然産卵と比較すると、眼柄処理による人工催熟では、急激に卵巣が発達するため卵巣内卵数が少なく、部分的に産卵してしまうために一回の産卵数が少なくなることが推察された。

眼柄処理による養成エビの人工催熟

クルマエビの効率的な採卵のために、人工催熟を行う方法や飼育および用いるエビの条件について検討した。

眼柄処理法

眼柄処理の方法はそれぞれの機関などで異なっているため、その処理方法について検討した。片眼柄切除、両眼柄切除、片眼柄あるいは両眼柄にペンチでつまんで傷をつけるピンチングを行う4つの眼柄処理法を用いて、水温25°Cで飼育し、次の脱皮までのへい死率および産卵率について比較した。眼柄切除および両眼柄ピンチングでは産卵がみられ、また切除とピンチングのどちらの方法でも両眼柄に対して処理を行うとへい死率が高いことがわかった (Table 1)。産卵率は片眼柄切除が100%と最も高く、片眼柄ピンチングではまったくみられなかった。産卵率とへい死率の両方を考慮すると、採卵には片眼柄切除による人工催熟が最も効果的であると考えられた。

人工催熟に適した親エビのサイズと齢期

前年の4月に種苗生産により養成したエビのうち、7, 8ヵ月齢の体長110-140mm, 12ヵ月齢の130-140mm, 18, 19ヵ月齢の160mm前後の個体を用いて脱皮3日後に片眼柄切除を行い、100ℓ水槽 (水温25°C, 流水) でアオゴカイを与えて飼育した。実験期間中に産卵がみられなかった場合は、次の脱皮後3日目に解剖

Table 1. Effects of eyestalk operation patterns on artificial induction of maturation

Group	No. of prawns used	Spawning rate (%)	Mortality (%)
Unilateral eyestalk ablation	6	100	29
Bilateral eyestalk ablation	6	33	83
Unilateral pinch of eyestalk	4	0	25
Bilateral pinch of eyestalk	4	25	75

Table 2. Effect of unilateral eyestalk ablation on the spawning of prawns of various body length (BL) and age

Group	Unilateral eyestalk ablation	No. of prawns used	Spawning rate (%)
BL 110mm	Yes	6	0
7 months old	No	3	0
BL 130mm	Yes	6	0
7 months old	No	3	0
BL 140mm	Yes	7	0
8 months old	No	2	0
BL 130mm	Yes	6	0
12 months old	No	3	0
BL 140mm	Yes	7	100
12 months old			
BL 160mm	Yes	7	86
18-19 months old			

し卵黄タンパクの蓄積を調べた。対照として眼柄処理をしない個体についても同様に観察した。7, 8 ヶ月齢では眼柄処理の有無にも関わらず産卵がみられなかった (Table 2)。

しかし, 7, 8 ヶ月齢の個体の中でも140mm前後で眼柄処理を行った場合では, 卵黄タンパクの蓄積はみられたが, 産卵にまでは至らなかった。また, 12 ヶ月齢のエビでは140mm前後でも眼柄処理により産卵を行うことが明らかになった。産卵にはある程度加齢または季節などの環境要因が関わっている可能性があると考えられた。

眼柄処理と卵巣成熟の変化

眼柄処理後の外観からの卵巣の様子と実際の卵巣の状態について検討するために, 養成エビを片眼柄切除後, 100 ℓ 水槽 (水温25°C, 流水) でアオゴカイを与えて個別飼育を行った。外観により卵巣のステージを1,

1-2, 2, 2-3, 3, 3+の6段階に分け, 腹部の卵巣からバイオプシにより卵巣組織を経日的に採集し, 顕微鏡下で卵黄球後期, 表層胞前期, 表層胞後期などのステージを記録した。その結果, 外観ステージが進行するにつれて, 卵黄蓄積も進み, 退行することなく表層胞が出現した夜には産卵が確認された (Table 3)。

また, 外観から卵巣が成熟していると思われる個体と未成熟の個体に分けて眼柄処理を行い, 次の脱皮まで個別飼育を行った。試験したすべての個体で産卵がみられたが, 外観からの卵巣が未成熟な場合はへい死率が高かった (Table 4)。

以上のことから, 外観からの様子と卵巣の発達はほぼ同じ状態であると考えられた。外観からの卵巣の成熟状態に関わらず, 眼柄処理後に産卵が行われることが明らかになった。しかし, 未成熟の場合はへい死率が高かったため, 採卵には卵巣が成熟したエビを用いることが効果的であると考えられた。

Table 3. Ovarian development examined by external observation and biopsy after unilateral eyestalk ablation

Body length	Ovary width at day 0	Observation day after unilateral eyestalk ablation							
		1	2	3	4	5	6	7	8
158mm	6 mm	2-3	3:C	2:S	2-3	3:C	2:S		
150mm	6 mm	2-3	3:A	3:B	2:S				
160mm	2 mm	2	1-2	1-2:M	2	2	2-3:A	3:C	2:S
157mm	7 mm	2-3:M	3	3:A	3:B	2-3:S			

1, 1-2, 2, 2-3, 3: indices of ovarian development examined by external observation; Larger number indicates the larger ovary.

A, late yolk globule stage; B, early cortical alveoli stage; C, late cortical alveoli stage; M, molting; S, spawning at previous night.

Table 4. Effect of unilateral eyestalk ablation of immature and mature prawns on spawning and survival.

Ovary	No. of prawns used	Spawning rate (%)	Average days from operation to spawning	Mortality (%)
Mature	7	100	4.5	29
Immature	7	100	5	71

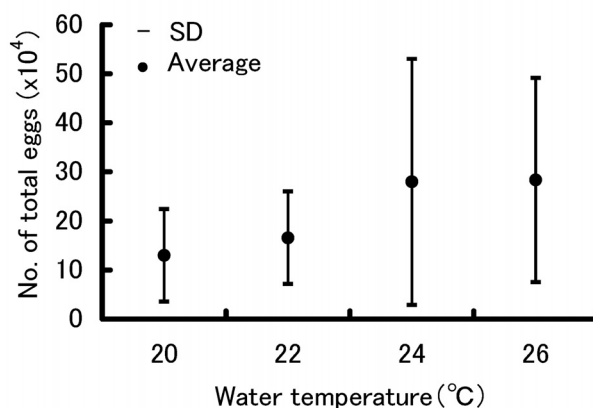
適正飼育水温

人工催熟に適した水温を把握するために、20, 22, 24, 26°Cの水温を設定し、それぞれの水温で飼育していた養成エビを脱皮後3日目に片眼柄切除を施し、100ℓ水槽（眼柄処理前と同じ水温、流水）で、アオゴカイを与えて個別飼育を行った。一頭あたりの総産卵数は水温が20, 22°C区に比べて、24, 26°C区の方が多かったが、ばらつきも多かった（Fig. 1）。平均産卵数が多かった高水温実験区は産卵率および産卵回数も多く、特に24°C区においては産卵率が100%と全個体で産卵が確認された（Table 5）。また、平均産卵回数および産卵一回あたりの平均産卵数も水温が高い方が多く、24°C区の産卵回数は最も多い2.9回であった。初回産卵までの日数をみると、水温が高くなるにつれて早く産卵することが明らかになった。しかし、水温が高

くなると脱皮間隔が短くなり、へい死率も高い傾向がみられた。

生理的適水温であるかどうかを検討するために、4つの実験水温を含む水温14–34°Cの11段階でLDH酵素活性について調べた結果、実験に用いた水温はどれも酵素活性に差はみられず、この水温範囲内の試験は妥当であると考えられた。また、眼柄処理後の水温を22, 25, 28°Cに設定し、ほぼ同様の実験を行ったところ、25°Cが適しているという結果がえられた（Sano *et al.*, 2003）。

以上の結果から、人工催熟を考える上で水温は重要な要因であり、産卵率、産卵数、産卵回数および生残を考慮すると、水温24°Cで眼柄処理を行うことが最も効果的であると考えられた。

**Fig. 1.** Total number of eggs spawned by unilaterally eyestalk-ablated prawns reared at 20, 22, 24 and 26°C. The number of eggs were accumulated until the first molting after the eyestalk ablation.**Table 5.** Effects of the water temperature on the spawning of unilaterally eyestalk-ablated prawns

Water temperature	No. of prawns used	Spawning rate (%)	Average number of spawning	Average period until first spawning (days)
20°C	11	63.6	1.9	15.3
22°C	11	63.6	2.0	10.4
24°C	10	100	2.9	7.0
26°C	10	90	2.3	5.8

脱皮周期と眼柄処理の時期

脱皮周期を考慮して眼柄処理を施す最適な時期を検討した。脱皮したばかりの甲殻が柔らかい脱皮後期、甲殻が硬くなり安定している脱皮間期、次の甲殻が形成されて脱皮の準備が整う脱皮前期の3段階に分け、催熟に用いる養成エビのサイズと実験水温24℃から、脱皮周期は20日前後と予測されたため、それぞれ脱皮後2, 10, 17日目に片眼柄切除を行った。水温を24℃に設定した2t水槽2基で個体識別したエビを飼育し、脱皮が確認されると100ℓ水槽(水温24℃, 流水)でそれぞれの眼柄処理予定日まで個別飼育し、眼柄処理後はアオゴカイを給餌した。眼柄処理後から次の脱皮までの産卵率は2日目処理区が90%と最も多く、10日目処理区では75%, 17日目処理区は最も少ない40%であった。平均総産卵数は2日目処理区が64.6万粒, 10日目処理区が58.5万粒, 17日目処理区で52.5万粒であった。一脱皮周期における平均産卵回数も2日目処理区が3.9回と最も多く、次に17日目処理区となり、10日目処理区が最も少なかった(Table 6)。産卵, 脱皮もなくへい死した個体は2日目処理区ではみられなかったが、10日目処理区では最も多い33.3%, 17日目処理区では10%のへい死率であった(Table 6)。眼柄処理後のへ

い死は2日目処理区では23日目までみられず, 最も生残がよかった(Fig. 2)。10日目処理区では6日目には25%がへい死していたが, 50日目になるとどの処理区もへい死率が70%以上になっていた。また, 眼柄処理の時期が脱皮から日数が経過するにつれて, その脱皮間隔が長くなるため, 脱皮にも影響を与えることがわかった(Table 6)。

以上の結果から産卵数, 産卵回数および生残を考慮すると, 脱皮後期(本実験では脱皮後2日目)に眼柄処理を行うことによって, 最も効率的な採卵が可能と思われた。

おわりに

養成したクルマエビに眼柄処理を施し, 飼育実験により人工催熟の条件について検討を行った。眼柄処理による採卵には片眼柄を切除する方法が適していると判断された。外観による卵巣の発達状況は卵巣組織の状態を反映していると考えられるため, 眼柄処理から産卵まで飼育を行う際に指標として重要であることがわかった。採卵効率を考えた飼育条件として, 水温は24℃に設定することが有効であると考えられた。また,

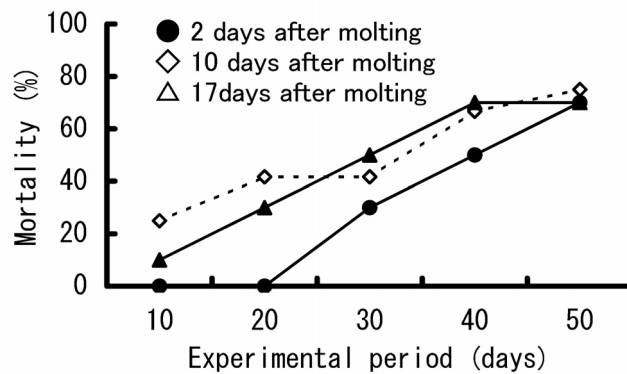


Fig. 2. Accumulative mortality of 3 groups after eyestalk ablation. The eyestalk was unilaterally ablated 2, 10 and 17 days after molting.

Table 6. Effects of unilateral eyestalk ablation of prawns at various molting stages on spawning and molting

Group	No. of prawns used	Dead prawn without spawning and molting (%)	Average number of spawning	Average period from operation to molting (days)
Day 2 after molting	10	0	3.9	22.3
Day 10 after molting	12	33.3	2.8	25.7
Day 17 after molting	10	10	3.1	29.6

催熟に用いる親エビは生まれて12ヵ月以上経過し、体長140mm以上、脱皮後間もない脱皮後期で、外観からある程度卵巣が成熟した個体を選択することが、産卵および生残の点から最も効果的であることが明らかになった。

天然エビの自然産卵と養成エビの人工催熟により採卵の比較を行ったところ、産卵された受精卵の卵径に違いがみられた。また、人工催熟による方法では天然エビに比べて産卵数が少ないことが明らかになり、その原因として急激に卵巣の発達が進むために部分的産卵をすることが考えられた。養成エビの人工催熟に関する条件は絞られたが、天然エビの自然産卵と比較すると卵巣の成熟機構の違いが推察されることもあり、人工催熟では天然エビの自然産卵による産卵数には及ばないことが留意される。今後の課題として養成エビの卵巣の成熟、飼育環境条件、自然産卵とその同期化についても検討する必要があると思われる。クルマエビの成熟、産卵機構を解明することにより、より安定した採卵に向けて親エビ養成技術の向上が期待できる。

文 献

- Bray W. A. and Lawrence A. L., 1992: Reproduction of *Penaeus* species in captivity, in "Marine Shrimp Culture: Principles and Practices" (ed. by Fast A. W. and Lester L. J.), Development and Aquaculture and Fisheries Science, 23, Elsevier, Amsterdam, pp. 93-170.
- 三宅貞祥, 1982: 原色日本大型甲殻類図鑑 (I), 保育社, 大阪, 261pp.
- Sano M., Minagawa M., Tamaki M., Hayashibara T., and Shimizu H., 2003: Effect of water temperature in the spawning interval of the kuruma prawn *Penaeus japonicus* after unilateral eyestalk ablation. *Suisanzoshoku*, **50**, 433-434.
- 武田正倫, 1995: エビ・カニの繁殖戦略, 平凡社, 東京, 339pp.