水産研究・教育機構 機関リポジトリ
FRA Japan Fisheries Research and Education Agency Institutional Repository

親クルマエビの養成と採卵技術の開発に関する研究

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 水産総合研究センター 公開日: 2024-10-02 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 崎山, 一孝 メールアドレス: 所属:
URL	https://fra.repo.nii.ac.jp/records/2010919

This work is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License.

水研センター研報，第38号，1－41，平成26年
Bull. Fish. Res. Agen. No. 38, 1-41, 2014

博士号論文

親クルマエビの養成と採卵技術の開発に関する研究[*1]

崎山　一孝[*2]

Study on the Technology of the Culture and Spawning Control of Kuruma Prawn *Marsupenaeus japonicus*

Kazutaka Sakiyama

目　次

第１章　緒言

クルマエビ *Marsupenaeus japonicus* は本州以南から太平洋，インド洋の暖かい海に分布し，我が国ではイセエビと並ぶ高級なエビである。また，商業規模で養殖生産されている唯一の甲殻類であり，西日本を中心に塩田跡地の素堀り池や築堤を利用した養殖が盛んに行われている。クルマエビは養殖対象種であると同時に，重要な栽培漁業対象種であり，本種の資源の増殖と安定化を目的として，毎年，全国で約２億尾が放流されている。

クルマエビの養殖と栽培漁業が飛躍的に発展した背景には，藤永（1942）による種苗育成に関する試験研究の成果が発端となり，1960年代に大量種苗生産技術が確立し（茂野1969；橘高1971），その後，配合飼料の開発に関する研究や（金澤ら1970；Teshima et al. 1973；koshio et al.1989），疾病防除に関する調査研究（桃山1982；桃山1988）が進められた経緯がある。

ところが，クルマエビの種苗生産では，採卵に使用される親エビの確保は，未だに，そのほとんどを天然で漁獲される成熟エビに依存している。天然エビは，成熟した個体であっても，飼育下で産卵する割合は低く（松永1978），日本栽培漁業協会志布志事業場（現水産総合研究センター増養殖研究所志布志庁舎）で過去33年間の平均産卵個体率はおよそ40%にとどまっている（加治・今泉2003）。また，天然エビにはクルマエビ類の急性ウイルス血症（Penaeid Acute Viremia; PAV）の原因ウイルスであるPRDV（Penaeid Rod-shaped DNA Virus）に感染している個体が含まれていることがある（虫明ら1998）。したがって，クルマエビの親エビが天然親エビに依存している現状では，入手できる親エビの数は漁獲量と成熟個体の出現率，およびウイルス感染率の影響を受け，種苗生産の現場では慢性的な親エビ不足となっている。

クルマエビの種苗生産では，健全な親エビの安定確保が重要な課題であることから，未成熟個体を人為的に成熟させるための調査研究が進められてきたが，クルマエビは人工飼育条件下では成熟個体を得ることは難しく（Yano 1995），また，成熟個体でも産卵しなければ，数日以内に卵巣卵（卵母細胞）が崩壊するため

2014年１月８日（Received on January 7. 2014）
*1　長崎大学審査学位論文（掲載するに際し投稿規定に沿って一部修正した）
*2　瀬戸内海区水産研究所百島庁舎　〒722-0061　広島県尾道市百島町1760（Momoshima Station,National Research Institute of Fisheries and Environment of Inland Sea,Fisheries Research Agency,Momoshima,Onomichi,Hiroshima,722-0061,Japan）

(今ら 1982), クルマエビ類の卵成熟および産卵についての研究は少ないのが現状である (Huberman 2000; 田原2002)。

甲殻類の催熟方法として, 眼柄の除去やゴカイ類の給餌に効果があることが報告されている。眼柄は卵黄形成抑制ホルモン (VIH) の生産および貯蔵部位であると考えられ, 眼柄を切除または結紮することによりホルモンの作用が制限され, 卵巣の成熟が促進するとされている。しかし, VIH の存在が明らかにされたのは, アメリカンロブスター *Homarus americanus* (Soyez et al. 1987) やミナミイセエビ *Jasus lalandii* (Marco et al. 2002) だけで, クルマエビ類では明らかにされていない。また, 眼柄処理の効果はクルマエビの近縁種である *Penaeus* 属のエビ類では効果的であるが, クルマエビでは処理後の死亡率が高く, 得られた卵の質やふ化率の低下が問題とされている。

ゴカイ類の給餌による成熟促進効果は, クルマエビだけでなく, *Penaeus* 属の *Penaeus kerathurus*, *P.seitiferus* にも認められている (Brown et al. 1979; Luis amd Ponte 1993)。また, カレイ類においても同様の効果が知られており, Nereis 効果と呼ばれている。ゴカイ類の栄養学的な研究を行ったCrozら(1988)は *P. vannamei* を成熟させるために補助的に給餌しているナナテイソメ科の *Americonuphis reesei* の成分を分析し, プロスタグランジンやその前駆物質が多量に含まれていることを明らかにした。プロスタグランジンはアラキドン酸 (C20 : 4ω6) のような炭素20個の不飽和脂肪酸を材料として動物組織で生成される生理活性物質であり, 魚類では排卵促進や性フェロモンとして作用し, 生殖に関連する物質である。また, Luis & Ponte (1993) は *P. kerathurus* への成熟促進効果が見られた *Nereis diversicolor* の成分を分析したところ, リノール酸 (C18 : 2ω6) とリノレン酸 (C18 : 3ω3) が多く含まれていることから, *Nereis* 効果はこれらの成分によるものであると推察した。

眼柄処理とゴカイ給餌が効果をもたらすメカニズムは科学的に十分解明されていないが, クルマエビの成熟促進手法として有効であることは事実であり, この技術を, 大量の受精卵を必要とするクルマエビの種苗生産の現場へ普及させるための技術開発が必要である。そこで, 日本栽培漁業協会百島事業場 (現 独立行政法人水産総合研究センター瀬戸内海区水産研究所海産無脊椎動物研究センター) では, 1979年から塩田跡を改造した素掘り池を用いてクルマエビの親養成試験を行い, 種苗生産用親エビの大量確保を目的に稚エビから親エビまでの一貫した養成技術の開発に取り組んできた。さらにウイルスを保有しない健全な親エビの養成を行い, 毎年雌雄合わせて5,000 ~ 7,000尾の親クルマエビの生産が可能となっている。これを実現する過程で実施してきたいくつかの研究成果をとりまとめたものが本論文である。

クルマエビの種苗生産では, 1生産機関あたり1回の生産で数百万個体の幼生を必要とする。そのためには, まとまった数の親エビを入手し, 産卵を同調させる技術が必要である。しかし, 養成エビと天然エビのいずれにおいても, 親エビの産卵をコントロールし, 任意の日に同調して産卵させる技術は開発されていない。

そこで本研究では, 採卵に使用する成熟した親エビを量的かつ安定的に確保するために, 塩田跡地を改良した屋外池を利用した親クルマエビの養成試験を実施し, 屋外池で親エビを養成するための条件の解明と, ウイルスを保有していない親エビ養成の可能性について検討した (第2章)。また, 屋外池で養成した親エビの中から, 高い確率で産卵する個体を選別するために, 親エビの成熟度を簡易的かつ客観的に判定する技術を開発した (第3章)。さらに, 種苗生産の現場で利用可能な産卵コントロールの技術開発に取り組み, 十分な数の親エビを確保した時点で, 同調的に産卵させる技術を開発した (第4章)。最後に, 親エビの養成と採卵に関する研究結果をもとにクルマエビの種苗生産機関で利用可能な技術マニュアルとして記した(第5章)。

第2章 素掘り池を利用したクルマエビの養成技術

本研究でクルマエビの親養成試験に使用した施設の概要と, 稚エビの由来および素掘り池での親エビの養成方法を以下に記す。

養成施設 試験に用いた3つの養成池を Fig. 1に示す。池の底面積は, 1号池は約11,000 m^2 (1997年に整備し, 現在は5,200 m^2), 2号池と3号池は約7,500 m^2 (2004年と2006年に整備し, 現在は5,200 m^2) であり, 各池とも最大水深は約2 mで底質は砂泥である。

養成池の換水は以下の方法で行った。まず, 満潮時に外海水を調整池に取り入れ, 調整池からは注水口側のゲート弁の開閉により注水した。排水は引き潮を利用し, 排水口側のゲート弁の開閉により排水量を調整した。この方法での1日の換水率は, 養成池水位の変化量から40 ~ 60%と見積もられた。注水口にはクルマエビの成長に合わせて0.8 ~ 5.3 mm目合の仕切網を設置し, 大型魚介類等の害敵生物の侵入を防止した。池内には撹水機 (桜川ポンプ製) 2基を設置し, 海水の撹拌と酸素の供給を行った。

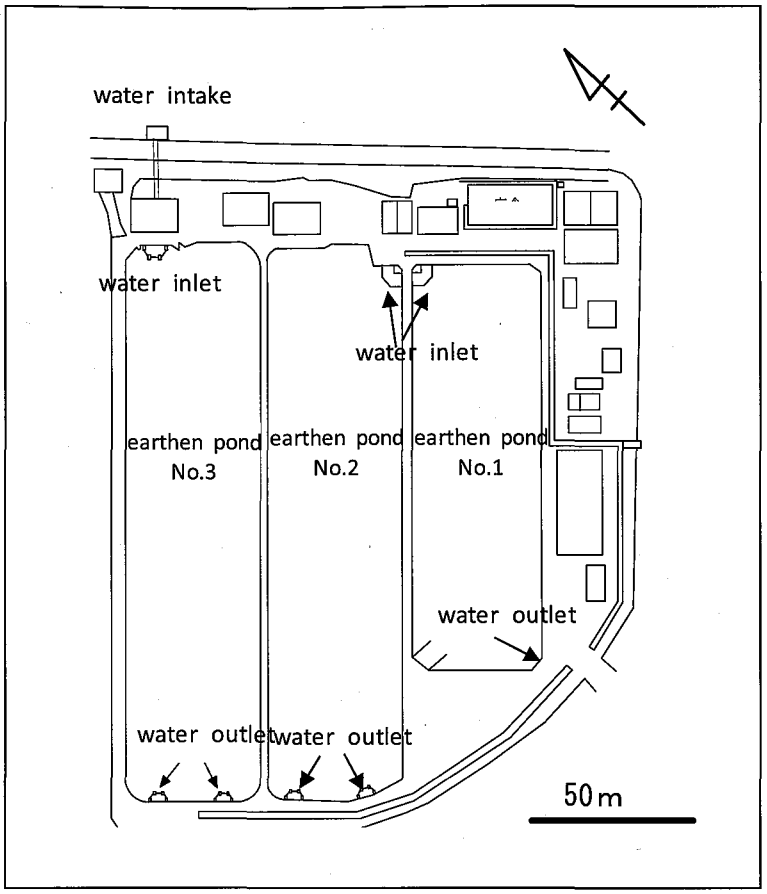


Fig. 1. Experimental earthen ponds used for the rearing of Kuruma prawn broodstock at Research Center for Marine Invertebrates, National Research Institute of Fisheries and Environment of Inland Sea.

養成試験に使用した稚エビの由来　1993～2002年に行った6例の養成試験に使用した稚エビの由来をTable 1に示す（以下，93年群～02年群と称す）。93年群と94年群は愛媛県伯方町の民間養殖場で天然親エビを用いて種苗生産されたもの，95～97年群は日本栽培漁業協会百島事業場（現，瀬戸内海区水産研究所海産無脊椎動物研究センター）で養成した1歳エビを親エビとして同場で種苗生産したものである。また，99年群は大分県鶴見産の天然親エビを用いて日本栽培漁業協会上浦事業場（現，増養殖研究所上浦庁舎）で種苗生産して得たものである。00年群と01年群は，99年群から採卵し種苗生産した稚エビを使用した。02年群は99年群と同様に大分県鶴見産の天然親エビを用いて日本栽培漁業協会上浦事業場（現，増養殖研究所上浦庁舎）で種苗生産したものである。93年群，94年群および99～02年群の稚エビの輸送には1 kLと0.5 kLのポリエチレン製水槽を用い，酸素とブロアーによる通気を行った。輸送した稚エビは輸送タンクから直接当センターの素掘り池へ収容した。収容時のクルマエビの平均体長20.7 mm（93年群）～50.0 mm（01年群），1池あたりの収容尾数は2.3万尾（99年群）～6.0万尾（94年群）であった。

クルマエビの養成方法　稚エビの収容は，93～95年群では5月に行い，その後，1歳まで養成した。96年群と99年群は7月に収容し，2歳まで養成した。97年群は8月末に収容し，1歳まで養成した。00年群は8月に収容し，2歳まで飼育した。01年群は8月に，02年群は7月にそれぞれ収容し，1歳まで飼育した。稚エビ収容時の水温は，93～95年群では18～20℃，96年群と99年群では25～29℃，97年群，00年群～02年群では29℃であった。

93～97年群の餌料には冷凍イカとアミ類の細片，および市販のクルマエビ用配合飼料（ヒガシマル製または協和発酵製）を用いた。99～02年群には配合飼料のみを与えた。いずれの飼育年次でも，給餌は1日に1

Table 1. Production of Kuruma prawn in earthen ponds juveniles were originated from wild caught and artificially reared broodstock

			Initial				At harvest						Feeding amount	
Batch	Origin	Pond	Date	Number	Body length (mm)	Body weight (g)	Date	Rearing period (day)	Number	survival (%)	Body length (mm)	Body weight (g)	Raw diet (kg)	Artificial diet (kg)
1993	Wild	No.1	1993.5. 1	40,000	20.7	0.11	1994.12.9	587	5,000	27.4	180.1	72.0	5,413	7,186
1994	Wild	No. 2	1994.5. 7	60,000	25.0	0.18	1995.10.5	462	7,600	7.7	170.7	63.0	8,450	5,544
1995	Wild	No. 3	1995.5.12	53,000	27.6	0.17	1996.9.1	478	2,500	12.2	176.2	68.3	9,345	6,011
1996	Artificially-reraed*	No. 2	1996.7.22	39,000	30.6	0.30	1997.8.11	385	5,500	25.0	177.6	76.0	2,795	3,543
1997	Artificially-reraed*	No. 3	1997.8.29	25,000	36.0	0.18	1998.8.21	357	ND	ND	ND	ND	ND	ND
1999	Wild	No. 3	1999.7. 2	23,000	40.2	0.66	2001.5.10	678	1,700	15.3	175.2	66.7	0	2,595
2000	Artificially-reraed*	No. 2	2000.8.31	30,000	34.0	0.45	2002.6.15	653	1,600	6.3	178.0	72.7	0	2,455
2001	Artificially-reraed*	No. 3	2001.8.24	20,000	50.0	1.60	2002.7.30	340	2200*	11.0	159.3	52.8	ND	ND
2002	Wild	No. 2	2002.7.24	40,000	30.3	0.30	2003.9.25	428	12000*	30.0	167.8	60.1	ND	ND

*:estimated by Quadrat method

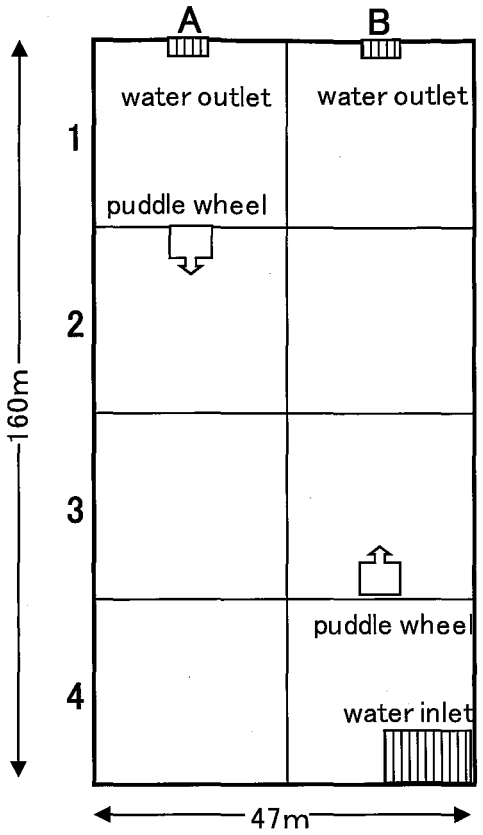


Fig. 2. Experimental pond for stocking Kuruma prawn broodstock, composed of eight partitioned blocks (A1 ～ 4, B1 ～ 4).

回夕方に行い，給餌量は前日の残餌の状況をもとに適宜増減した。なお，水温が15℃以下になる12月末～翌年３月末までは摂餌が見られないため給餌しなかった。

第１節　素掘り池で養成したクルマエビの捕獲方法の検討

素掘り池を用いて養成した親クルマエビの成長と成熟度の調査，採卵用の親エビの確保にはカゴ網が使用される。しかし，捕獲されるクルマエビの個体数はカゴ網の設置場所により，また，捕獲日によっても大きく変動するため，常に試験に必要な尾数が確保されるとは限らない。そこで本試験では，カゴ網を用いて十分な数のクルマエビを効率よく捕獲するために，カゴ網の設置場所と設置方法について検討した。

材料と方法

供試エビ　試験には，99年群の１歳エビ（平均体長153 mm）を用いた。

クルマエビの捕獲方法の検討　クルマエビを捕獲するために市販のカゴ網（ドーム型，86×56×46 cm，入口１カ所）を使用した。捕獲調査では，２号実験池を東西２列（A，B），南北４列（1-4）の合計８ブロックに区切り（Fig. 2），冷凍サンマの切り身を入れたカゴ網を各ブロックに４個ずつ約10 m間隔で投入した。カゴ網の投入は16時～ 17時，回収は翌日９時～ 10時に行った。カゴ網による捕獲調査は2000年６月20日，６月27日，７月４日，７月11日および７月18日の５回行い，ブロックごとの捕獲尾数を調査した。また，池内に設置した２機の撹水機による水流と，カゴ網による捕獲尾数との関係を明らかにするために，各ブロックに入口が水流に向いたカゴと，反対に向いたカゴを２個ずつ設置し，両者の捕獲尾数を比較した。

結　果

カゴ網による捕獲調査の結果を Table 2 に示す。１回の調査での捕獲尾数は，187 ～ 717尾（平均322 ± 227尾，変動係数0.706）と調査日により大きく異なり，７月以降の捕獲尾数が増加した。また，ブロックごとの平均捕獲尾数は17 ～ 61尾（平均40 ± 13.8尾，変動係数0.343）と，ブロックにより大きく異なった。そこで，このデータをもとにして，カゴ網の設置場所により捕獲尾数に差があるかどうかを分散分析法により検定したところ有意差（p=0.04）が認められた。続いて，エビが良く取れる場所を特定するために，各ブロックの捕獲尾数をもとにして，以下の式により求めた値を捕獲指数とした（Fig. 3）。なお，この指数が高いほどクルマエビが獲れやすい場所であることを表す。

捕獲指数＝〔(捕獲尾数－捕獲尾数の平均)／標準偏差〕

池の中央部より注水口側である A3と A4，および B3の捕獲指数は0.48，0.46および1.01であり，いずれも他のブロックより値が高く，クルマエビを捕獲しやすい場所であると推察された（Table 3）。一方，海水の流入が多く水質環境が良好であると考えられる注水口（B4）の捕獲指数は -1.34と最も低く，エビが獲れ難い場所であると判断された。

水流に対するカゴの入口の向きと捕獲尾数との関係（Table 4）については，水流向きと反水流向きのカゴの平均捕獲尾数は，それぞれ3.6尾（0 ～ 18尾）と4.0尾（0 ～ 18尾）であり，両者に有意差（p=0.905，Wilcoxon 符号付順位和検定）は認められなかった。

考　察

クルマエビの捕獲尾数が時期により異なった理由と

Table 2. Number of captured Kuruma prawn using cage

Partition	Number of caputured individuals					Average
	20 June	27 June	4 July	11 July	18 July	
A1	28	10	19	44	82	37 ±28.3
A2	23	28	2	43	136	46 ±52.1
A3	32	30	13	58	119	50 ±41.5
A4	43	26	33	39	95	47 ±27.4
B1	8	34	27	48	21	28 ±14.8
B2	29	18	36	25	70	36 ±20.3
B3	27	44	46	47	141	61 ±45.4
B4	3	4	11	16	53	17 ±20.5
Total	193	194	187	320	717	322
Average	24.1	24.3	23.4	40.0	89.6	40.3
SD	12.9	13.0	14.7	13.4	41.7	13.8

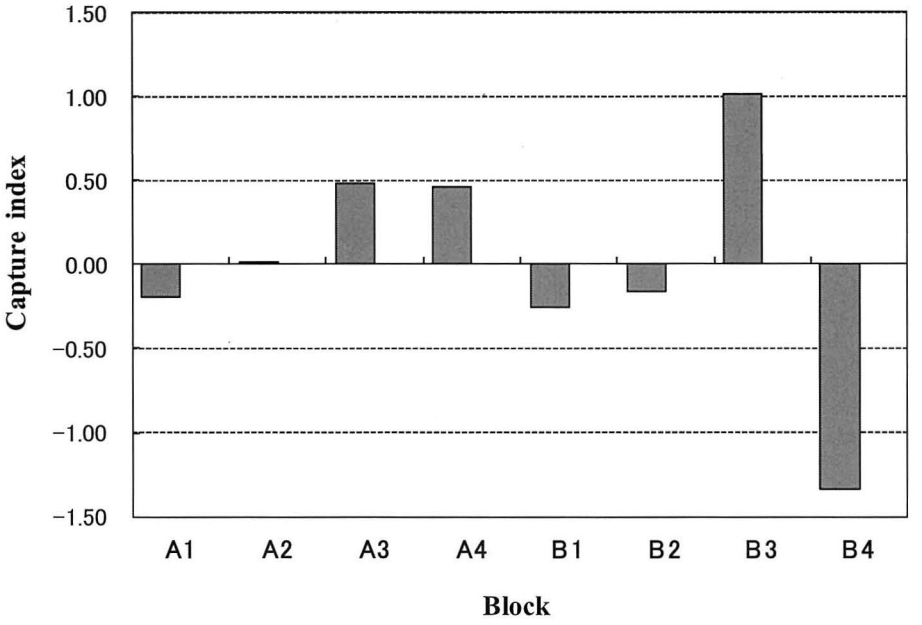


Fig. 3. Capture index value in each block of an earthen pond.
Capture index = 〔(number of catch in each block - average catch)/standard deviation〕

して水温の影響が考えられる。池内の水温が上昇すると，クルマエビの索餌行動が活発になり，カゴ網への入網尾数が増加したと考えられた。

クルマエビの捕獲尾数は場所により異なることが明らかなった。素掘り池のクルマエビを効率よく捕獲するためには，カゴ網は池の中央から注水口側の範囲（注水口付近は除く）に設置した方がよく（Fig. 4），カゴ網の入り口の向きには注意を払う必要は無いものと判断された。

クルマエビの捕獲数が場所によって偏りが見られた原因として，実験池への注水が満潮時に注水口から外海水が取り入れられることから，実験池内の水温と底質，水の流れは場所により異なり，これらの要因がクルマエビの分布に影響を及ぼし，カゴ網への入網尾数が不均一になった可能性がある。

Table 3. Capture index* observed in each block

Block	Number of catch on different date					Average
	20 June	27 June	4 July	11 July	18 July	
A1	0.30	-1.09	-0.29	0.30	-0.18	-0.19
A2	-0.09	0.29	-1.45	0.22	1.11	0.02
A3	0.61	0.45	-0.70	1.34	0.71	0.48
A4	1.47	0.14	0.66	-0.07	0.13	0.46
B1	-1.25	0.75	0.25	0.60	-1.65	-0.26
B2	0.38	-0.48	0.86	-1.12	-0.47	-0.16
B3	0.22	1.52	1.54	0.52	1.23	1.01
B4	-1.64	-1.55	-0.84	-1.79	-0.88	-1.34

*Catch index=〔(number of catch in each block-average catch)/standard deviation〕

Table 4. Relationship between direction of net trap mouth and number of caught prawn.

No. of net trap	Direction of net trap mouth	
	Along water current	Against water current
1	7	9
2	3	13
3	2	0
4	6	0
5	3	0
6	18	18
7	2	1
8	3	3
9	2	0
10	0	0
11	0	2
12	1	0
13	5	4
14	6	6
15	0	2
16	0	6
Average	3.6	4.0
Standard deviation	4.47	5.32

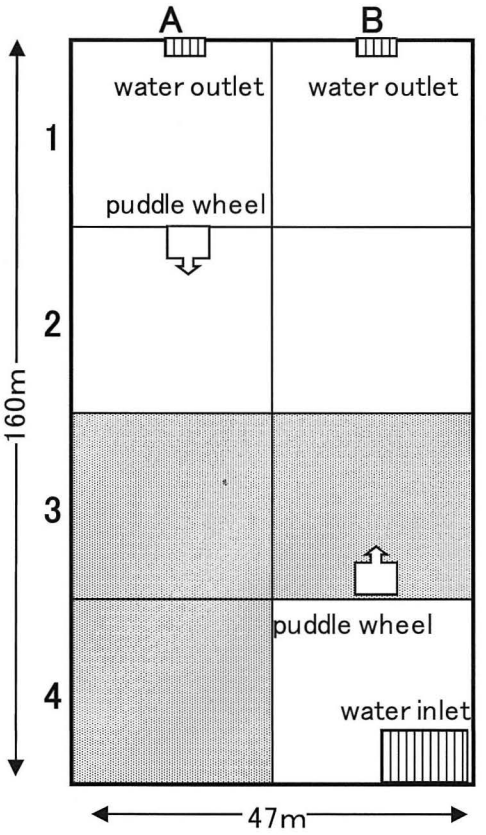


Fig. 4. Partitioned blocks to catch broodstock Kuruma prawn by net trap in experimental earthen pond (A-3, -4 and B-3).

第2節　養成したクルマエビの成長と生残

素掘り池を利用して，採卵用の親クルマエビを量的かつ安定的に確保するためには，池内でのクルマエビの飼育管理技術が必要である。本節では，1993年～1999年の間に実施した6例の親エビ養成の試験結果から，素掘り池でのクルマエビの成長と生残状況を明らかにし，稚エビの適正な収容時期，給餌方法や生残尾数の推定方法等の飼育管理技術を開発することを目的とした。

材料と方法

供試エビ　試験には93年群～99年群を使用した。

環境調査　2号養成池の環境調査として，毎日9時頃

に池内の注水口表層の水温，pH，塩分，および溶存酸素量（以下，DO）を測定した。

成長測定　成長の調査のため，前節に基づいて，カゴ網による捕獲を月に1～2回行い，体長，頭胸甲長，および体重を測定した。また肥満度を体重（g）／体長$(mm)^3 \times 10^6$より求めた。低水温のためクルマエビをカゴ網で捕獲できない1～3月は測定しなかった。

なお，クルマエビの年齢については，養成を開始した年の12月31日までを0歳，翌年1月1日から1歳，翌々年1月1日から2歳とした。

取り揚げと生残尾数の推定　全個体の取り揚げによる計数を，93～96年群では1歳の8月に，99年群では2歳の5月に行った。なお，成熟と産卵試験に供するための捕獲を不定期に行ったため，生残率は養成期間中の死亡率を一定と仮定して算出した。また，97年群は96年群（1歳）と混養したため，両者の区別が困難で，生残率を推定できなかった。

養成期間中の生残尾数を推定するため，99年群1，2歳エビでは，潜水によるコドラート法による計数を行った。調査は2000年6月～2001年5月に毎月1回行い，養成池内に設けた24カ所の定点から1 m枠内の平均尾数と養成池の面積（7,500 m^2）から生残数を推定した。0歳エビは体サイズが小さく，潜水で目視による確認ができないため，尾数の推定は行わなかった。

結　果

飼育環境　99年群の養成期間中における水温，pH，および塩分の変化をFig. 5に示す。

年間の水温変動は，7～8月が最も高く30℃に達し，1～2月が最も低く10℃以下となった。この傾向は他の年でも同様であった。養成池の換水は潮の干満差を利用していることから止水時間が長いために，養成池の水温は外気温の影響を受け易い。そのため93年は7～8月の平均水温が28℃以下に，逆に94年は30℃以上の高水温期が約2ヶ月間続いた。また，97年は4～5月に水温が急激に上昇するなど，年によって季節的な変動傾向に差が認められた。

pHは7～9，塩分は30～35 psuの間にあり，両者ともに顕著な季節変動は認められなかった。また，DOは2～8 mg/Lの範囲にあり，夏期は低く冬期に高くなる傾向が認められた。

成　長　生餌と配合飼料を併用した93年群と，配合飼料単独で養成した99年群の成長をFig. 6に示す。両群とも0歳での成長が速く，12月時点の平均体長は93年群で雌151.9±9.5 mm，雄137.0±5.6 mm，および99年群では雌151.7±7.5 mm，雄138.6±5.9 mmとほとんど同様の成長を示した。0歳の12月までの月間の平均成長速度は93年群で14.2 mm／月，99年群で20.2 mm／月となり，99年群に他の年次群より速い成長が認められた。しかし，冬期間は成長が停滞し，両群とも1歳の5月には雌の平均体長は150.4±9.8と152.8±7.3 mm，雄は138.4±4.1 mmと139.3±3.6 mmであった。他の群でも同様の傾向が認められ，1歳の5月の雌の体長は94～97年群では，それぞれ157.9±157.9 mm，160.8±3.6 mmおよび153.6±3.9 mmおよび135±19.5 mmであった。

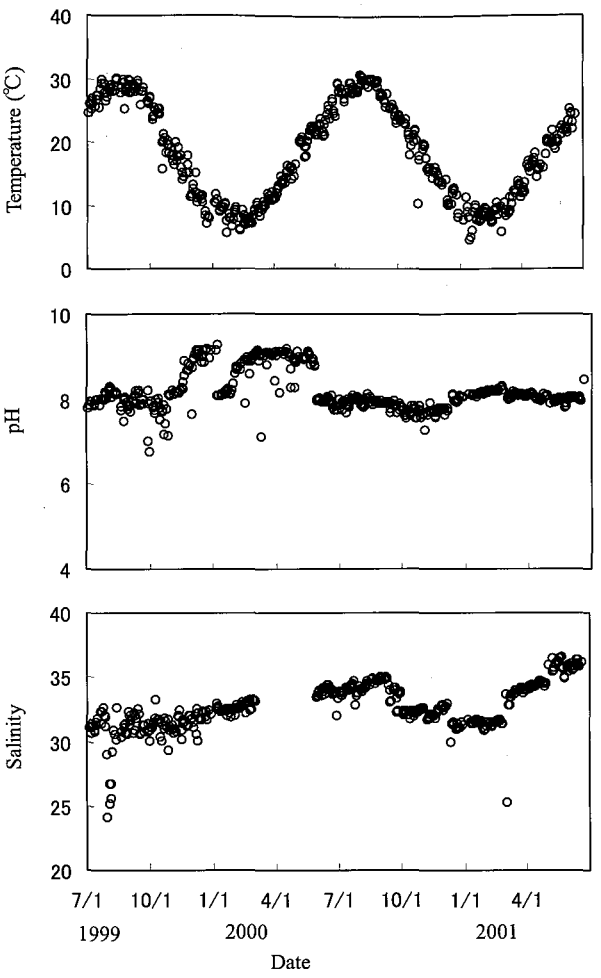


Fig. 5. Environmental conditions in earthern pond (No.2) during grow-out period of Kuruma prawn from July 1999 to June 2001.

99年群のクルマエビから相対成長を求めた。体長と頭胸甲長の関係は直線式で，体長と体重の関係は相対成長式で回帰された（Fig. 7）。また，肥満度は10～15の間で変動し，養成1年目までの雌の平均肥満度は12.7，雄は12.2であり，雌雄による有意差は認められなかった。

Fig. 5に示した99年群の0歳の成長を基に，非線形

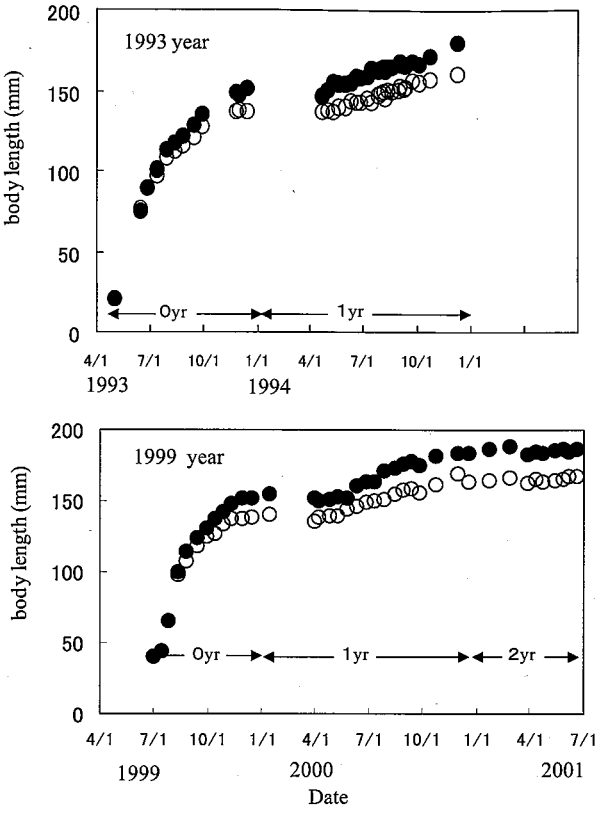


Fig. 6. Changes in growth of Kuruma prawn reared in earhen pond. Prawns were fed formulated diets and frozen raw diets, and formulated diets alone in 1993 ～ 94 and 1999 ～ 2001 trials, respectively.
●：famale　○：male

の最小二乗法により von Bertalanffy の成長式に近似させた。なお，同様の近似式を他の群についても求めた結果を表中に示す（Table 5）。これから成長量を比較すると，成長係数は稚エビの収容時期により異なり，5月に収容した93 ～ 95群では0.008 ～ 0.011，7月に収容した96年群と99年群ではそれぞれ0.009，0.016，および8月に収容した97群では0.044となり，5月から8月の間では，収容時期が遅い群ほど成長が良い傾向が示された。

成長と水温の関係を比較するために，体長と養成開始時からの積算水温の関係を Fig. 8に示す。なお，各群の収容時のサイズが異なるため，体長50 mm 以上について図示した。これによると，全ての群で体長と積算水温の間に指数関数に近似される相関が認められたが，増加係数には群による差が見られた。そこで，体長50 mm が100 mm に成長する間の積算水温と収容時期との関係を見ると（Fig. 9），夏場の高水温により積算値が高くなった94年群を除くと，各群の収容日と積算水温（各群とも4月1日を基点として計算）の間には相関が見られ，収容時期が遅い群ほど積算水温が低い傾向が認められた。

生　残　養成1年後における1993 ～ 1999群の生残率は7.7 ～ 27.4% の範囲であったが（Table 1），生残率と収容日，収容時の水温，および収容サイズとの間に関連性は認められなかった。

コドラート法で推定した99年群の生残尾数の変化を見ると（Fig. 10），1歳の6月～ 12月までの生残尾数は5,000 ～ 6,800尾（平均5,900尾）であり，収容からの減耗はほとんど認められなかった。しかし，水温が10℃以下に低下する12月から翌年3月にかけての減耗が著しく，2歳の生残尾数は3,000尾以下となった。また，養成期間を通して，アオサギやゴイサギなどの鳥類による食害も頻繁に観察された。

コドラート法による最終計数は2,100尾，それから40日後の取り揚げ法による計数は1,740尾であり，コドラート法による推定値は実数値に近い値であった。

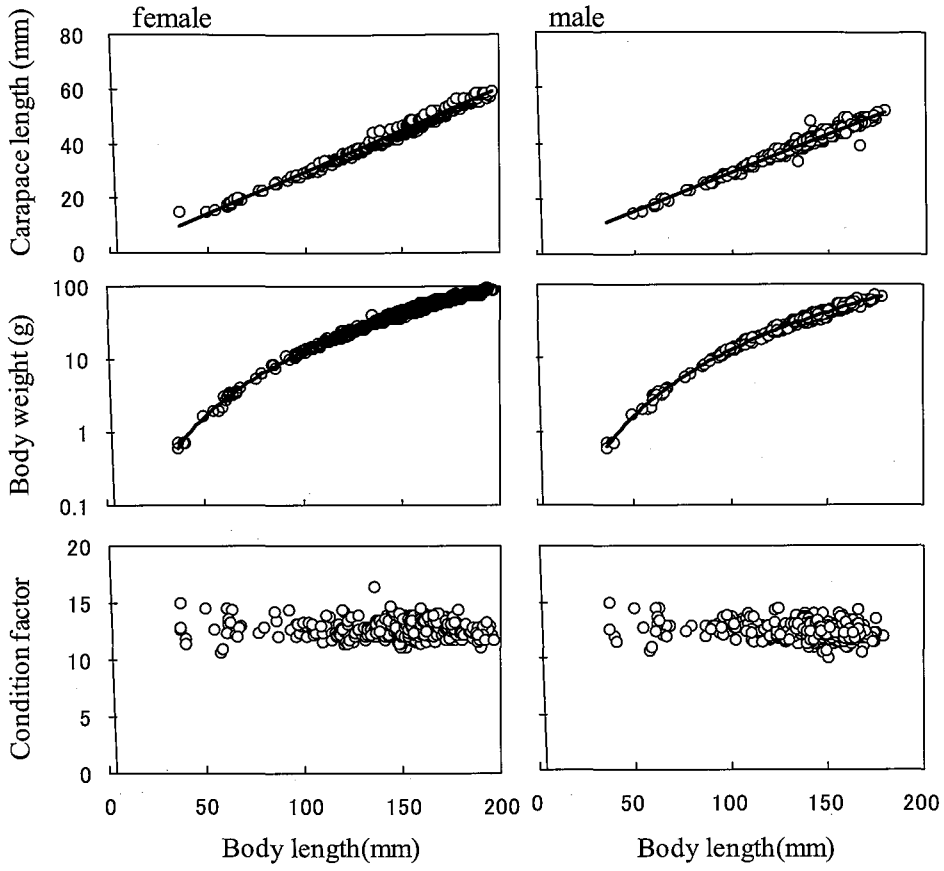
給餌量　各群の総給餌量に対する配合飼料の使用割合は，39.1%（95年群）～ 57.0%（93年群）であった。配合飼料のみで養成した99年群では，2年間の養成で総計2,595 kg の配合飼料を用いた。年齢別の給餌期間と給餌量は，0歳エビではそれぞれ7月2日～ 12月6日，1,495 kg，1歳エビでは4月12日～ 12月30日，650 kg，および2歳エビでは3月22日～ 5月10日，450 kg であった。

配合飼料の給餌量は，0歳エビでは収容から10日目までは平均4 kg/ 日（1.5 ～ 5 kg/ 日），単位面積当たり0.26 ～ 0.52 g/ m^2を与えた。また，収容尾数から推定した稚エビ1尾当たりの給餌量は0.09 ～ 0.18 g，給餌率（［給餌量 / 体重］×100）は26 %（10 ～ 32 %）であった。養成11日目からは徐々に給餌量を増加させ，22日目以降は平均12.7 kg/ 日（10 ～ 15 kg/ 日），単位面積あたり1.7 g（1.3 ～ 2.0 g）を与えた。

1歳エビの配合飼料投餌量は6 ～ 17 kg/ 日，2歳エビでは5 ～ 17 kg/ 日を基準としたが，給餌率は水温の変化に伴って適宜増減した。Fig. 10の推定生残尾数と給餌量から99年群の1 ～ 2歳の給餌率を求め，これと水温との関係（Fig. 11）を見ると，給餌率は15℃では2 ～ 3 %であったが，水温の上昇に伴い20 ～ 22℃では5 ～ 6 %まで増加した。なお，25℃以上での給餌率は，生残尾数推定の誤差のため計算上低下した。

考　察

クルマエビの種苗生産には，1尾当りの採卵量が多い天然の大型個体（愛知県一色産は70 g，西日本産は100 g）が使用されている（水藤 1995）。本試験では，



female : $CL = 0.30 \times BL - 0.81$ ($n=535, R^2=0.987$)
$BW = 2 \times 10^{-5} \times BL^{2.89}$ ($n=535, R^2=0.994$)

male : $CL = 0.27 \times BL + 1.52$ ($n=516, R^2=0.973$)
$BW = 2 \times 10^{-5} \times BL^{2.88}$ ($n=516, R^2=0.993$)

CL : carapace length (mm) BL : body length (mm) BW : body weight (g)

Fig. 7. Relationships between body length and carapace length, and between body weight and condition factor in Kuruma prawn of 1999 batch.

Table 5. Growth formula of 0yr Kuruma prawn reared in earthen pond.

Year	Growth formula	
1993	$Lt = 160 \times (1 - e^{-0.011\,(t+12.2)})$	$n=12$ $R^2=0.998$
1994	$Lt = 161 \times (1 - e^{-0.008\,(t+26.1)})$	$n=18$ $R^2=0.984$
1995	$Lt = 185 \times (1 - e^{-0.009\,(t+16.2)})$	$n=13$ $R^2=0.996$
1996	$Lt = 229 \times (1 - e^{-0.009\,(t+15.9)})$	$n=8$ $R^2=0.999$
1997	$Lt = 123 \times (1 - e^{-0.045\,(t+7.4)})$	$n=6$ $R^2=0.993$
1999	$Lt = 162 \times (1 - e^{-0.016\,(t+12.9)})$	$n=13$ $R^2=0.923$

t : days of rearing Lt : body length (mm) on day t

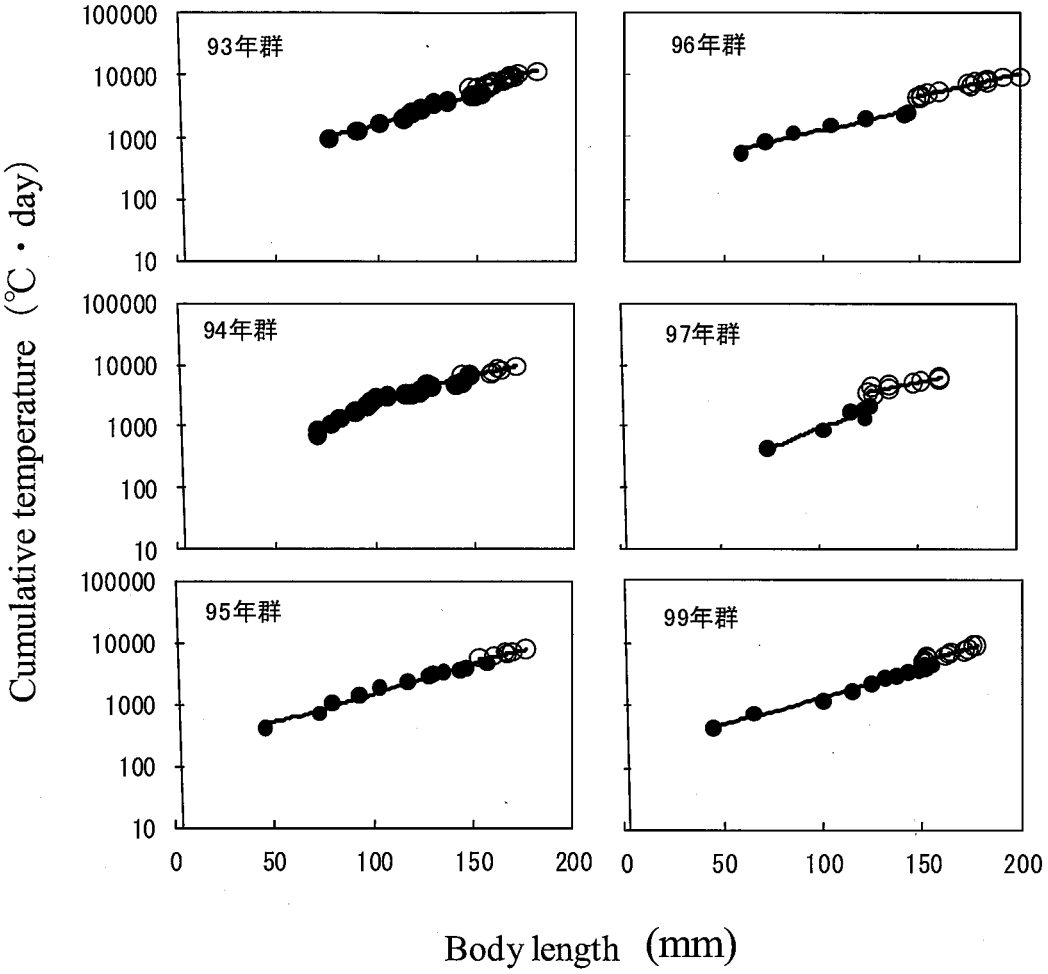


Fig. 8. Relationship between body length and cumulative water temperature.
●：0 yr old ○：1 yr old

2年間の養成を行い，より大型の個体を養成するとともに，1歳エビからの産卵の可能性も検討した。今回行った6例の養成試験のうち5例で，1歳エビは5月に体長152～160 mm，体重38～53 gとなり，成熟卵巣卵を持つ雌の最小型とされている130 mm(Minagawa *et al.* 2000) 以上に達して，産卵用親エビとして充分利用可能であった。

養成池でのクルマエビの成長については，96年群では体重5 gの稚エビが約2ヵ月で25 gに達し，これは天然個体の成長（茂野 1969）と同程度であった。しかし，他の群では，このサイズに達するのに3～5ヵ月を要し，成長が遅れる傾向が認められた。

養成池内でのクルマエビの成長には，外気温に影響される水温が最も大きな作用要因であると考えられる。特に冬期の10℃以下の低水温は成長を3ヶ月間停滞させ，さらに急激に生残率を低下させる原因となった。また，夏期の29℃以上の高水温も成長に悪影響を及ぼすことが知られており（門脇 1993），素掘り池は必ずしもクルマエビの成長に良い環境であるとはいえない。このため，1歳の成熟個体を得るには，成長が停滞する0歳の12月までに成熟可能な大きさに成長させておくことが重要である。稚エビ(体長20～40 mm)の収容時期は，7月までは収容時期が遅いほど初期の成長が速く，11～12月には体長140～150 mmと成熟可能な大きさに達した。一方，8月末に収容した稚エビの成長は他の群より早いが，成長に適した水温の期間が短いため12月時点での平均体長は125 mmと小型であった。したがって，養成池への稚エビの収容は，遅くとも7月までに行う必要があると推察された。

給餌基準については，生餌と配合飼料を併用した飼育例では，年度により各餌の使用割合が異なり，また養成途中の生残状況を把握しなかったため明らかにすることができなかった。一方，生餌併用の飼育例と同程度の成長が得られた配合飼料の単独給餌では，摂餌状況を観察しながら投餌したときの給餌率は養成水温と密接な関係が見られ，現在の基準では15℃では体重

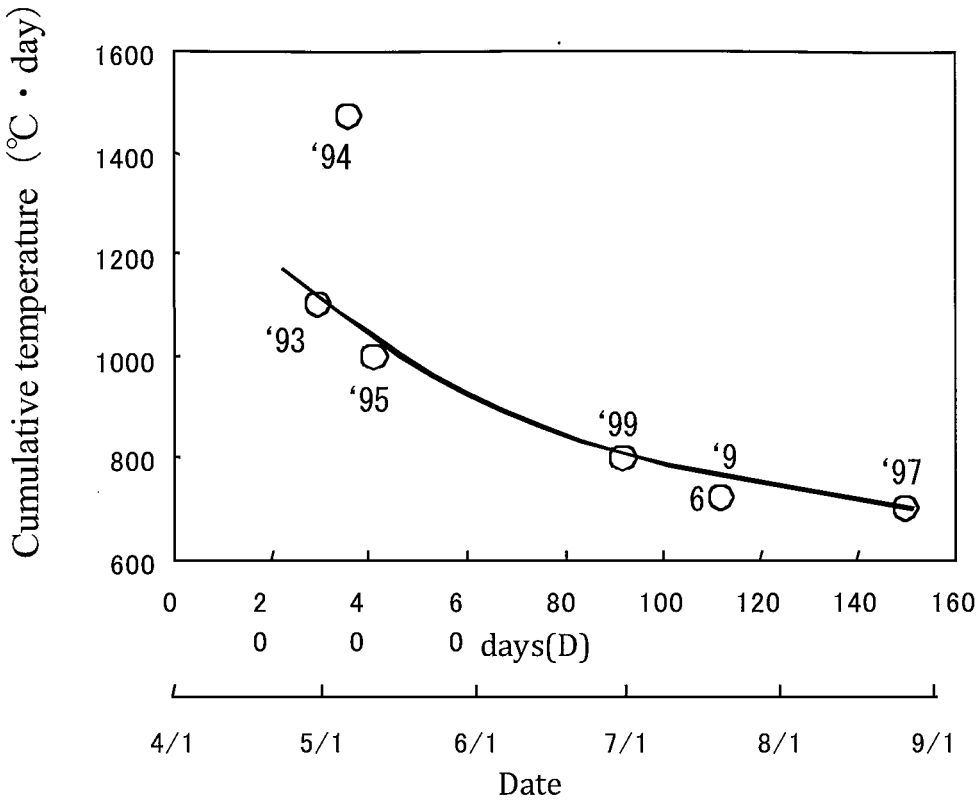


Fig. 9. Relationship between date of stocking of juvenile Kuruma prawn and the cumulative temperature during the growth from 50 to 100 mmBL.
CT : cumulative temperature D : days from 1st April
$CT = 2882 \times D^{-0.282} (R^2 = 0.976)$

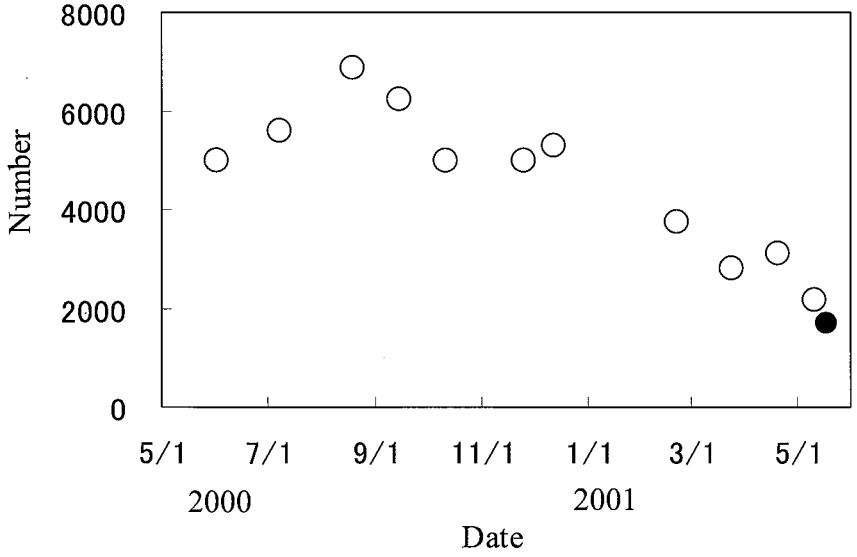


Fig. 10. Number of survived Kuruma prawn (1999 batch) estimated by quadrat method.
○ : estimated number ● : actual harvested number

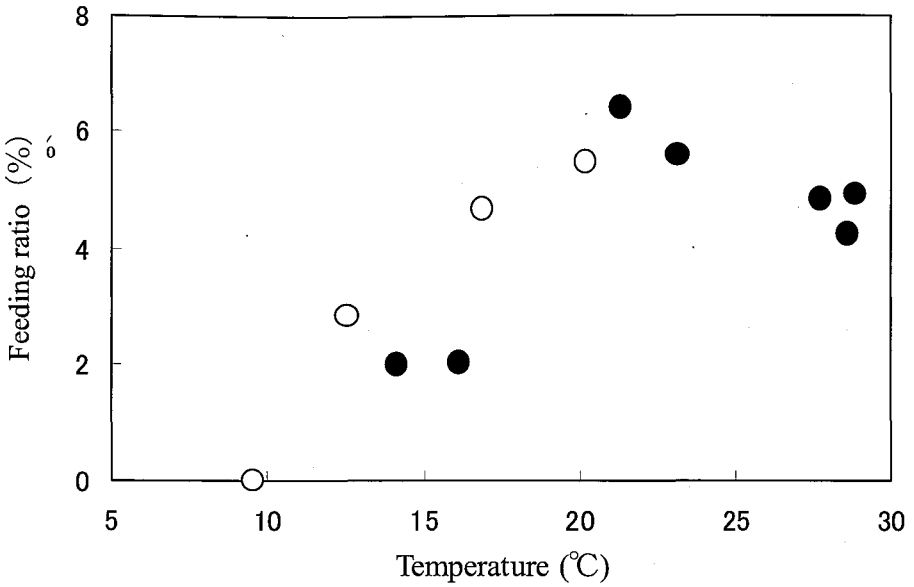


Fig. 11. Relationship between feeding ratio and water temperature in 1 yr and 2 yr old Kuruma prawn.
Feeding ratio (%) = amount of given feed (g)/body weight (g) ×100
●：1 yr old ○：2 yr old

の2 ～ 3%，20℃以上では5 ～ 6%が適当な値と考えられた。ただし，養成初期においては，この給餌率では単位面積あたりの給餌量が少なく稚エビに充分に行き渡らないため，20 ～ 30%が適量と考えられる。また，冬期の無給餌期間の前には水温15℃以下の時期でも2 ～ 3%量を給餌し，越冬前に十分に摂餌させておくことも重要である。毎日の給餌量の決定には，養成池内の生残尾数を常に把握することが重要であるが，コドラート法による推定値が実数に近い値を示したことから（Fig. 3），コドラート法は養成池における有効な計数方法であるといえる。

第3節　養成したクルマエビの成熟と産卵

素掘り池で養成したクルマエビを採卵用の親エビとして利用するためには，成熟個体の出現時期を把握し，成熟個体から高率に採卵する技術が必要である。本節では，複数例のクルマエビの養成試験をもとに，養成エビの成熟状態の時期的変化を明らかにすることを目的とした。また，成熟個体からの採卵方法として，注射器で採取した卵巣卵の成熟状態を顕微鏡下で判別し（生検法），最終成熟に至った卵巣卵を保有する個体のみを採卵に使用する方法について，最終成熟に至っていない個体では，片側眼柄を結紮する産卵誘発方法（眼柄処理法）について，それぞれの効果を明らかにすることを目的とした。

材料と方法

供試エビ　試験には，94 ～ 01年群を用いた（Table 6）。各群の年齢の区分として，養成を開始した12月31日までを0歳，翌年1月1日から12月31日までを1歳，および翌々年1月1日から2歳とした。94年群，95年群および97年群は1歳時まで，96年群と99年群は2歳時まで養成した。94 ～ 97年群には配合飼料（クルマエビ用飼料；ヒガシマル社製クルマエビ飼料）と冷凍生餌（アジ，イカ，およびイサザアミ）を，99年群は配合飼料（ヒガシマル社製クルマエビ用飼料および協和発酵社製エビアン協和）のみを給餌した。

成熟度調査　94年群，95年群および97年群は1歳時まで（調査尾数は，それぞれ3,655尾，2,542尾，2,623尾），96年群と99年群は2歳時（調査尾数は，それぞれ4,006尾と1,416尾）まで雌エビの成熟状態を調査した。調査頻度は1歳時と2歳時の4 ～ 8月は4 ～ 8回／月，それ以外の期間は1 ～ 2回／月としたが，94 ～ 97年群では，カゴ網による捕獲であったため，低水温期の1 ～ 3月にはクルマエビが捕獲できず成熟度を調査しなかった。99年群では2歳時の1 ～ 3月に潜水による捕獲と調査を行った。

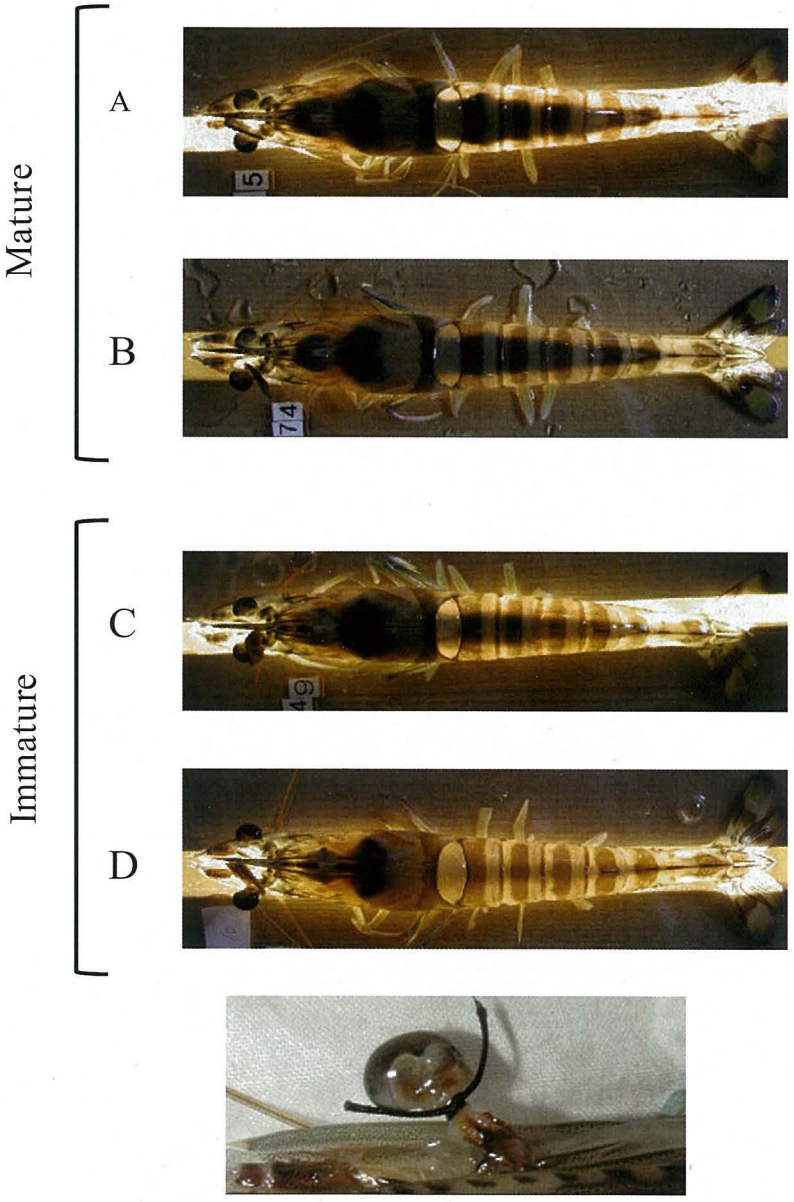
Table 6. Artificially-reraed Kuruma prawn used for maturation judgment and experimental spawning

Batch	origin of broodstocks	Pond	At stocking				Feed	Mature specimens of 1 yr old		Mature specimens of 2 yr old	
			Date	Number of specimens (n)	Mean body length (mm)	Mean body weight (g)		Occurrence period (date)	Maximum incidence of occurrence*1 (%)	Occurrence period (date)	Maximum incidence of occurrence*1 (%)
1994	Wild	No. 2	1994.5. 7	60,000	25.0	0.18	Commercial diets*3, raw diets*5	4.17～7.24	89	N.D.	N.D.
1995	Wild	No. 3	1995.5.12	53,000	27.6	0.17	Commercial diets*3, raw diets*5	5. 7～7.23	26	N.D.	N.D.
1996	Artificially-reraed*2	No. 2	1996.7.22	39,000	30.6	0.30	Commercial diets*3, raw diets*5	4. 7～8.25	38	4.6～	50
1997	Artificially-reraed*2	No. 3	1997.8.29	25,000	36.0	0.18	Commercial diets*3, raw diets*5	4.27～6.23	18	N.D.	N.D.
1999	Wild	No. 3	1999.7. 2	23,000	40.2	0.66	Commercial diets*4	5. 8～7.26	43	3.27～	55

*1 : Maximum incidence of occurrence of mature specimens among all specimens in which maturation was examined.
*2 : Broodstock reared in Momoshima Station
*3 : Diet for Kuruma prawn (Higashimaru Co., Ltd)
*4 : Diet for Kuruma prawn (kyowahakko Co., Ltd)
*5 : frozen raw diets (horse mackerel, squid, mysids)

成熟度調査では，宮島・松本（1996）の方法に準じ，目視で観察した卵巣の太さと色により，成熟度をＡ～Ｄランクの４段階（以下，目視法）に分けた（Fig. 12）。なお，ＡおよびＢランクと判断した個体を成熟個体とした。また，成熟個体については，生検法（宮島・松本，1996）で卵巣卵に表層胞が確認された個体の割合を調査し，以下の試験に供した。

養成エビの採卵試験　養成した成熟エビからの採卵試験には，ＡおよびＢランク個体を用いた。これらの個体は，生検法で卵巣卵に表層胞が確認された個体（成熟段階は前成熟期または成熟期）と確認されない個体



Eyestalk ablation

Fig. 12. Ovary maturation levels of Kuruma prawn.
Eyestalk ablation method.
A: Well developed thick ovary
B: Developed thick ovary with clear profile
C: Undeveloped thin/unclear ovary
D: Undeveloped thin and dimly visible ovary
(Miyajima and Matsumoto1996)

（成熟段階は第３卵黄球期）に分けた。

採卵方法として，表層胞を有する個体には眼柄処理を行わないで産卵させた（表層胞区）。表層胞区として，94年群（26尾），95年群（15尾），および96年群（51尾）の１歳エビで試験を行った。卵巣卵に表層胞が確認できない第３卵黄球期にある個体は，片眼柄を手術用縫合糸で結紮（Fig. 12）する個体（眼柄処理区）と無処理の個体（眼柄無処理区）に分け，眼柄処理による産卵誘発方法の効果を比較した。眼柄処理区には，94年群（15尾），95年群（６尾），96年群（90尾），97年群（32尾）および99年群（20尾）の１歳エビ，96年群（５尾）と99年群（29尾）の２歳エビを用いた。眼柄無処理区は，96年群（38尾）の１歳エビを用いた。また，対照区としては，94年群（14尾）の１歳エビを用いて生検法による選別と眼柄処理を施さず産卵させる試験を行った。

産卵の確認の際，完全産卵または一部産卵のいずれも産卵個体とし，試験に使用した雌エビの個体数に対する産卵個体数の割合を産卵個体率とした。また，総産卵数を産卵個体数で除した値を１個体当たりの産卵数とした。

天然エビの採卵試験　養成エビと比較するため，1995年３月24日（天然１区）と７月14日（天然２区）に愛知県播豆郡一色町で漁獲された天然エビを用いて採卵試験を行った。天然エビは，採集地より300L 水槽（20尾，天然１区）または15L 発泡スチロール箱（10尾，天然２区）で海産無脊椎動物研究センターへ輸送後，生検法により表層胞の有無を確認し，第３卵黄球期にある個体には片眼柄処理を行い，天然１区では表層胞区，眼柄処理区および無処理区の計３区に，天然２区では表層胞区と眼柄処理区の計２区に分けて採卵試験を行った。

採卵方法　採卵水槽には500L のポリエチレン水槽を使用し，１水槽当たり養成エビは５～６尾，天然エビは１～２尾を収容した。各試験区とも毎日16時にアサリの剥き身を飽食量給餌した。水温は１歳エビと天然エビでは25℃，２歳エビでは20℃になるように１kw チタンヒーターで設定した。採卵水槽へ収容後７日間は毎日産卵の有無を確認し，産卵個体率と産卵量を求めた。

結　果

養成エビの成熟　各養成年群の成熟個体出現率の推移を Fig. 13に示す。１歳時の成熟個体は，96年群以外では４月下旬～５月上旬から出現した。96年群では１，２歳時とも成熟個体が４月上旬から出現し，１歳時での出現は他の群より早かった。各養成年群における成熟個体の最大出現率は18～89% と顕著な差が認められた。また，94年群では50% 以上の高い出現率が約１カ月間続いたが，97年群では期間を通じて20% 未満であり，成熟個体の出現状況に群による差が認められた。年齢別の成熟個体出現率では，96年群は１歳時と２歳時で顕著な差は認められなかったが，99年群は最高値が１歳時の40% に対し，２歳時で60% と高くなった。

さらに，99年群の１歳時３月から２歳時６月までについて，成熟状況と水温の変化を Fig. 14に示す。卵巣がわずかに膨らむ段階であるＣランクは，１歳時では４月24日～10月24日の間に出現し，２歳時では３月27日から確認された。成熟個体であるＡおよびＢランクは，１歳時では５月８日～７月26日に出現し，９月26日にも一時的に確認された。２歳時では，１歳時より１カ月早い３月27日から観察された。Ｃランク出現時の水温は，１歳時では15℃，２歳時では10℃であった。また，Ｂランク出現時の水温は，１歳時では20℃，２歳時では15℃と年齢により違いが見られた。

成熟個体のうち，卵巣卵に表層胞が確認された個体は，１歳時では５月25日～６月26日，２歳時では４月22日～６月６日の間に確認された（Fig. 15）。表層胞が観察された個体が成熟個体中に占める割合は，１歳時では9.4%（5.5～13.6%），２歳時では13.0%（8.6～18.9%）であった。

養成エビの採卵結果　養成エビの成熟個体を用いた採卵試験の結果を Table ７に示す。各試験区における産卵個体率は，対照区の7.1%，眼柄無処理区の2.6% に対し，眼柄処理区で40～100%，表層胞区で73.3～76.5% と顕著に高くなった。眼柄処理区を年齢によって比較してみると，96年群と99年群の１歳時と２歳時とも産卵個体率は70% 以上を示し，年齢による差は認められなかった。

１尾当たりの平均産卵数は，対照区が26.1万粒，眼柄無処理区が23.6万粒，眼柄処理区が4.7～19.3万粒，および表層胞区が9.0～29.6万粒であった。眼柄処理区では，１歳時の産卵数は96年群の10.6万粒，99年群の9.4万粒に対し，２歳時の産卵数は，それぞれ17.0万粒，19.1万粒と１歳の約２倍であった。

天然エビからの採卵　天然エビからの採卵結果を Table ７に示す。天然１区，２区とも眼柄処理区では産卵しなかったが，眼柄無処理区の産卵個体率は16.7% であった。表層胞区の産卵個体率は，天然１区

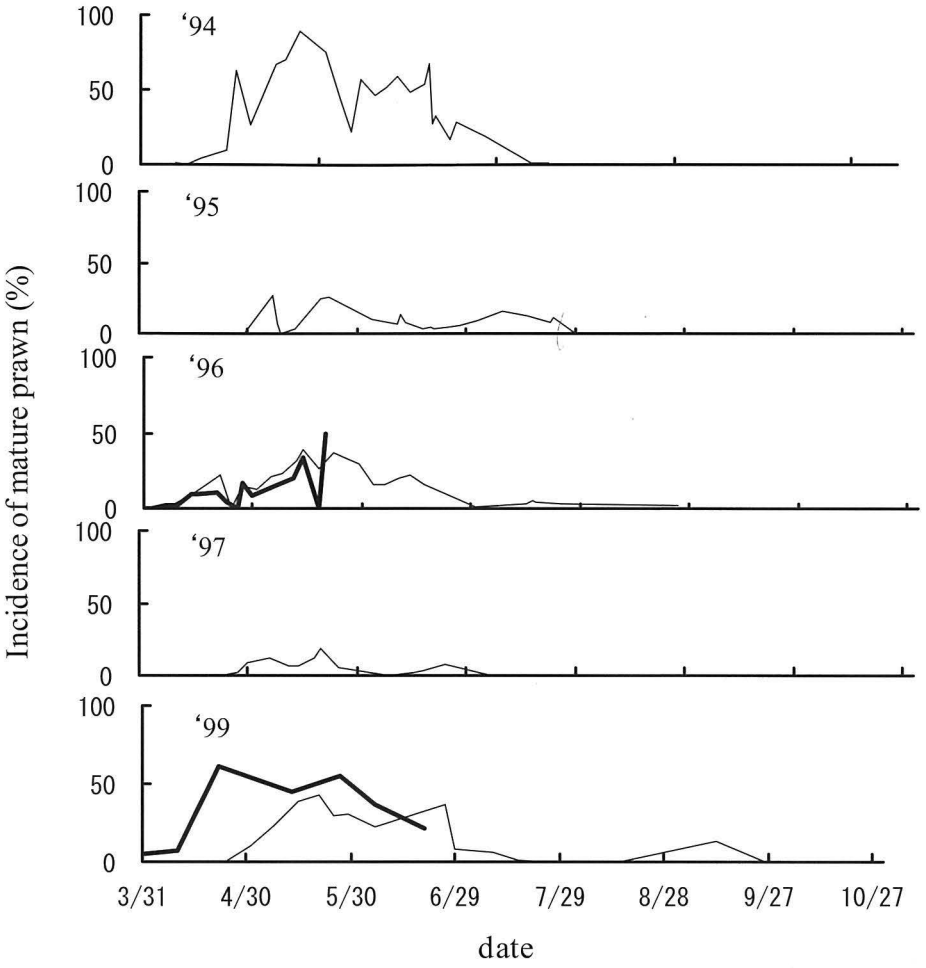


Fig. 13. Monthly fluctuations of occurrence of matured Kuruma prawn reared in earhen ponds from March to October of 1994-199

—— : 1yr old ━━ : 2yr old

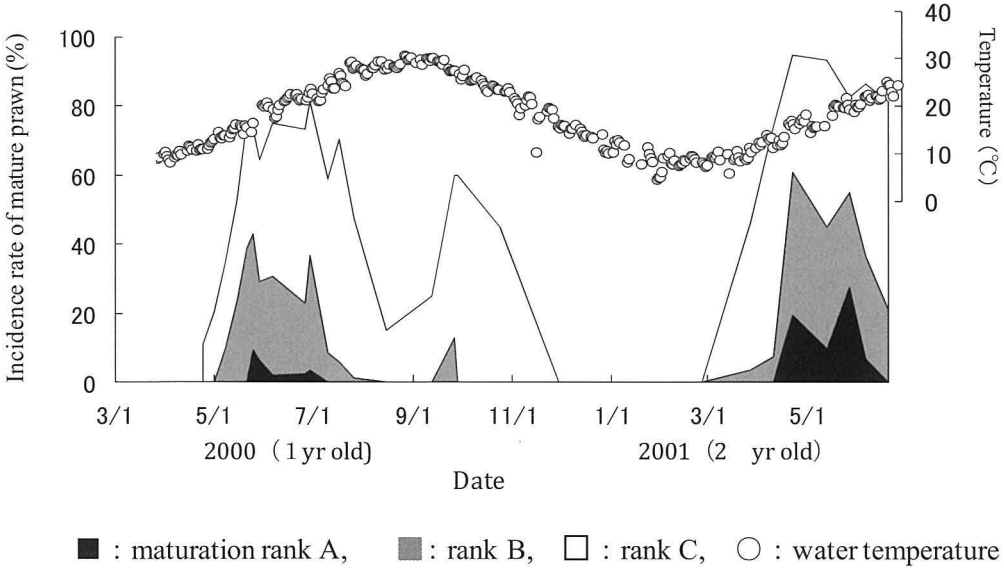


Fig. 14. Occurrence of mature Kuruma prawn (1999 batch) of different maturation ranks estimated by visual judgment.

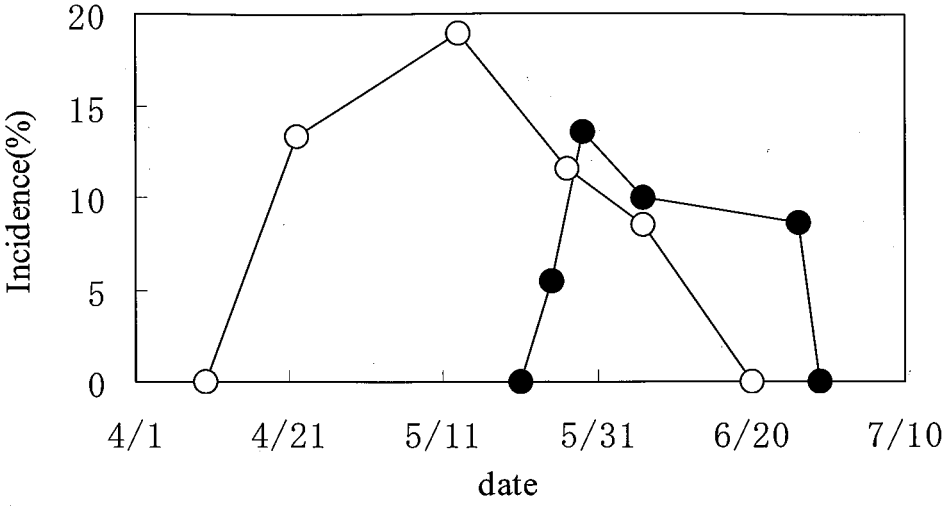


Fig. 15. Incidence of matured Kuruma prawn (1999 batch) having ovarian oocytes with cortical alveoli.
●：1 yr old, ○：2 yr old

が75% であったが，天然２区では25% と低かった。１尾当たりの産卵量は，天然１区が18.5万粒，天然２区が16.3万粒であった。

考　察

素掘り池で養成したクルマエビの場合，成熟個体の出現時期は１歳時では５～８月，２歳時では４月以降であり，種苗生産の開始時期[*4]と一致する。近年はPRDV の感染率が低い天然エビの確保が可能な４～５月からの種苗生産に移行しつつあるが，養成個体の２歳時では，例数は少ないが４月に成熟個体が出現したことから，養成による早期の親エビ供給の可能性が示された。また，１歳時の成熟個体の出現時期と出現率は養成年群により大きく変動するが，96年群は他の年群より早く４月に成熟個体が出現し，１歳でも早期に親エビを供給できる可能性が示された。成熟個体の出現時期の違いについてみると，天然個体では大型ほど成熟が早いことから（水藤 1995），養成個体でも１歳時より大型である２歳時で成熟個体の出現が早かったと考えられる。しかし，96年群の１歳時の成熟個体の出現時期は他の群より早かったものの，体サイズは同時期の他の群と同程度であり，早期の成熟には体サイズ以外の要因も関与しているものと考えられる。クルマエビ類の成熟には，餌料としてゴカイ類が有効であり（Luis *et al.* 1993；Naessens *et al.* 1997），養成池では自然発生するゴカイなどのベントスがクルマエビの成熟に関与していることも考えられる。百島事業場の養成池では，成熟個体が出現する直前の２～３月にゴカイ類の大量発生が確認され[*5]，これらの発生量の年変動がクルマエビの成熟に影響し，年群による差が生じた可能性も考えられる。

素掘り池で養成した成熟個体を効率的に産卵させる方法として，生検法により卵巣卵に表層胞が確認された前成熟期または成熟期の個体のみを使用すると，無処理で73～77% の産卵個体率が得られた。この値は水藤ら（1996）が表層胞を持つ天然エビを用いて４～７月に採卵を行った結果（66.7～100%）と同程度であった。しかし，素掘り池で成熟した個体では，卵巣卵に表層胞を有する割合が低く，これらの個体のみで，まとまった尾数の親エビを確保することは困難である。

素掘り池で成熟した個体の大部分は卵巣卵が第３卵黄球期であり，量的確保が可能なこれらの個体からの採卵技術の開発が必要不可欠である。そこで，これらの個体に眼柄処理を施すと平均して70%（40～100%）が産卵に至り，この方法は養成年群や年齢に関係なく有効な採卵方法であると判断された。クルマエビの片眼柄処理の方法では，切除法に効果が認められているが（宮島ら 1996；伏屋ら 2006），切除した傷口から病原体が侵入する可能性があるため，疾病防除の面からも結紮法が望ましいと考える。

眼柄処理は養殖クルマエビでは未成熟個体でも成熟し，15.8～40% の個体が産卵に至り，産卵誘発の効果が認められている（玉城ら 1998）。しかし，眼柄処理

*4 平成12～23年度西日本種苗生産機関連絡協議会甲殻類分科会資料.
*5 齊藤　肇（2001）粗放的クルマエビ養飼育池のマクロベントス群集．Ⅰ．水質とベントス群集の変動．第15回ベントス学会講演要旨集，p.1426.

Table 7. Egg collection method and spawning of Kuruma prawn reared in earthen ponds and those collaected from nature

Batch	Experimental periods (date)	Body length	Broodstock having oocytes with cortical alveoli			Broodstock with eyestalk ablation			Broodstock without treatment			Naturally-spawned broodstock		
			Number of specimens	Incidence of spawned specimens	Number of spawned eggs per specimens	Number of specimens	Incidence of spawned specimens	Number of spawned eggs per specimens	Number of specimens	Incidence of spawned specimens	Number of spawned eggs per specimens	Number of specimens	Incidence of spawned specimens	Number of spawned eggs per specimens
		(mm)	(n)	(%)	($\times 10^3$)	(n)	(%)	($\times 10^3$)	(n)	(%)	($\times 10^3$)	(n)	(%)	($\times 10^3$)
1994	4.28～7. 8	157～170	26	75.0	296	15	40.0	193	-	-	-	14	7.1	261
1995	5. 8～7.23	160～176	15	73.3	174	6	66.7	96	-	-	-	-	-	-
1996	4.15～7.18	153～175	51	76.5	90.0	90	71.1	106	38	2.6	236	-	-	-
1997	5. 8～5.23	174～185	-	-	-	32	70.0	47	-	-	-	-	-	-
1999	5.31～6.30	152～171	-	-	-	20	70.0	94.0	-	-	-	-	-	-
1996*1	4.28～5.15	188～195	-	-	-	5	100.0	170.0	-	-	-	-	-	-
1999*1	5.11～5.18	183～186	-	-	-	29	69.0	191.0	-	-	-	-	-	-
Wild 1*2	3.24	167～206	4	75.0	185	6	0.0	0.0	5	16.7	185	-	-	-
Wild 2*2	7.14	140～180	8	25.0	163	2	0.0	0.0	-	-	-	-	-	-

*1 : 2yr old

*2 : Wild broodstok obtained from Isshiki City, Aichi Prefecture in 1997

- : No date

は天然エビでは効果が認められず，養成した個体のみに有効な方法であると推察される。この理由として，養成個体はカゴ網で捕獲後速やかに試験に供するため活力が良好で，眼柄の処理のストレスに対する抵抗性が強いことが考えられる。一方，天然個体では，漁獲や長時間の輸送によるストレスが産卵を抑制し（矢野 1988），6 ～ 7月の高水温期には漁獲から採卵までの水温変化も成熟に悪影響を及ぼし（水藤ら 1996），産卵を阻害する要因になっている可能性がある。

第4節　ウイルスフリー親エビの養成

クルマエビの種苗生産では，PRDV の感染経路の一つとして，親エビから卵を介した垂直感染が主要な感染経路と考えられており（佐藤ら 1999），種苗生産過程での PAV の防除には PRDV を保有していない親エビの確保が重要とされている（虫明ら 1998）。本節では，半開放的な素掘り池を利用して，ウイルスに感染していないクルマエビ種苗を親エビに養成する試験を行い，PRDV フリーの親エビ（PCR 法により PRDV 遺伝子が検出されない親エビ）の確保と，その親エビから PRDV フリーの稚エビ生産の可能性を検証することを目的とした。

材料と方法

供試エビ　本試験には1999年群を使用した。同群の種苗生産では，1999年4月2日に大分県鶴見町に水揚げされた親エビを用いた。親エビを(社)日本栽培漁業協会上浦事業場（現水産総合研究センター増養殖研究所上浦庁舎）に輸送後，産卵水槽（500L）に10尾収容して産卵させた。飼育に供する PRDV フリーの卵の確保は，Mushiake *et al.* (1999) の方法に準じた。すなわち，親エビの産卵後，産卵個体の受精嚢からポリメラーゼ連鎖反応（Polymerase Chain Reaction: PCR）法により PRDV の検出を試み，PCR 陰性の親エビから得た受精卵のみをヨード剤（有効ヨウ素5 mg/L で5分間浸漬）で消毒し，飼育に供した。

種苗生産試験には屋内150 kL 水槽を用い，77日間の飼育を行った。飼育水にはオゾン殺菌処理海水を使用した。種苗生産期間中は，定期的に PCR 法により稚エビのウイルス検査を行った。稚エビから PRDV 遺伝子は検出されなかったので，1999年7月2日に稚エビ（P74）2.3万尾を百島事業場（現，海産無脊椎動物研究センター）へ輸送し，素掘り池（2号池）へ収容した。輸送には0.5および1 kL 水槽を各1基ずつ使用し，輸送中は酸素とブロアーによる通気を行った。素掘り池収容時の稚エビの大きさは，平均体長40.2 mm，平均体重0.66 g であった。

給餌　餌料には市販の配合飼料（10月5日までヒガシマル製，10月6日以降は協和発酵製）を使用し，1日に1回，16時以降に給餌した。養成期間中は，適宜，潜水調査を行い，死亡個体やごみ，海草を除去するとともに，残餌の状況を観察し給餌量を調整した。なお，低水温期の1月～ 3月は摂餌しないため給餌しなかった。

水質調査　素掘り池の水質調査項目として，毎日9 ～ 10時に注水口の水温，塩分，溶存酸素量，pH および濁度を測定した。測定には東亜電波社製の DO メーター，pH メーター，および塩分計を使用した。

成長と生残　養成期間中，月に2 ～ 3回かご網によりクルマエビを捕獲し，体長，頭胸甲長および体重を測定した。なお，低水温によりエビの捕獲ができない12月末から翌年3月中旬までは測定を実施しなかった。

生残尾数の推定は，2000年6月1日，7月7日および8月18日にコドラート法により行った。調査方法は，素掘り池内に24カ所の定点を設け，定点毎に1 m 角の枠内の尾数を計数し，1 m^2中の平均尾数を求め，それに素掘り池の面積7,000 m^2を乗じて素掘り池内の生残尾数を推定した。また，雌エビでは交尾栓の有無と，宮島・松本[12] が従来の目視による判断を整理し，成熟状態を A ～ D の4段階（A および B が成熟個体）に分けた評価で行った。

PCR 法による PRDV の検出　1999年7月から2000年6月にかけて，クルマエビと池内に生息するカニ類，スナモグリおよび多毛類について，PCR 法による PRDV の検出を行った。なお，検査は（社）日本栽培漁業協会上浦事業場（現，独立行政法人水産総合研究センター増養殖研究所上浦庁舎）で行った。

養成クルマエビのウイルス検査は1999年9月，11月，2000年2月，3月，4月および6月の計6回実施し，1回あたり6 ～56尾を検査した。検査部位は雌では受精嚢，卵巣卵および胃上皮の3部位とし，また，雄では貯精嚢と胃上皮の2部位とした。いずれのサンプルも個体別に PCR 法による検査を行った。また，カニ類，スナモグリおよび多毛類は1999年6月，9月および2000年4月の計3回，カニ類とスナモグリは胃上皮，多毛類は頭部について検査した。

水産庁のマニュアル[*4]に従って，検体から鋳型 DNA の抽出を行い，木村ら（1996）の方法に準じ，nested PCR により PRDV の標的遺伝子（569塩基対）を増幅させ，アガロース電気泳動により増幅産物の有無を確認して PRDV の検出を行った。

結　果

環境の変化　養成期間中の水温，溶存酸素量，pH および塩分の変化を Fig. 16に示す。養成期間中の水温は８～９月に30℃まで上昇し，１～２月は５℃まで低下した。溶存酸素量は５～15 mg/L，pH は7.0～9.0の範囲にあり，夏期に低下し冬期に上昇する傾向が見られた。塩分は30～35psu の範囲で，季節による大きな変動は認められなかった。

成長と生残　種苗生産した稚エビの輸送中に目立った死亡は認められず，素掘り池収容時の活力は良好であった。養成開始から翌年９月までの成長を Fig. 17に示す。体長，頭胸甲長および体重の増加はシグモイド状の曲線を示し，低水温期である１月から３月の間は成長が停滞した。

養成１年後のコドラート法による推定生残尾数は4,600～6,400尾（生残率17.6～24.6%）と推定された。なお，養成期間中に PAV による大量死亡は認められなかった。

成熟と産卵　雌エビの成熟状況を Fig. 18に示す。交尾栓を保有する個体の出現率は11月から増加し，12月以降は90% 以上を示した。成熟個体は，養成開始翌年の５月８日から確認され，その時の平均体長は152.8±7.3 mm，平均体重は44.6±5.8 g であった。また，５月26日に出現率が43.1% と最も高くなった。

種苗生産試験を目的として，2000年６月８日に上浦事業場へ50尾の成熟個体を輸送し，産卵させた。輸送した全ての親クルマエビから PCR 法により PRDV 遺

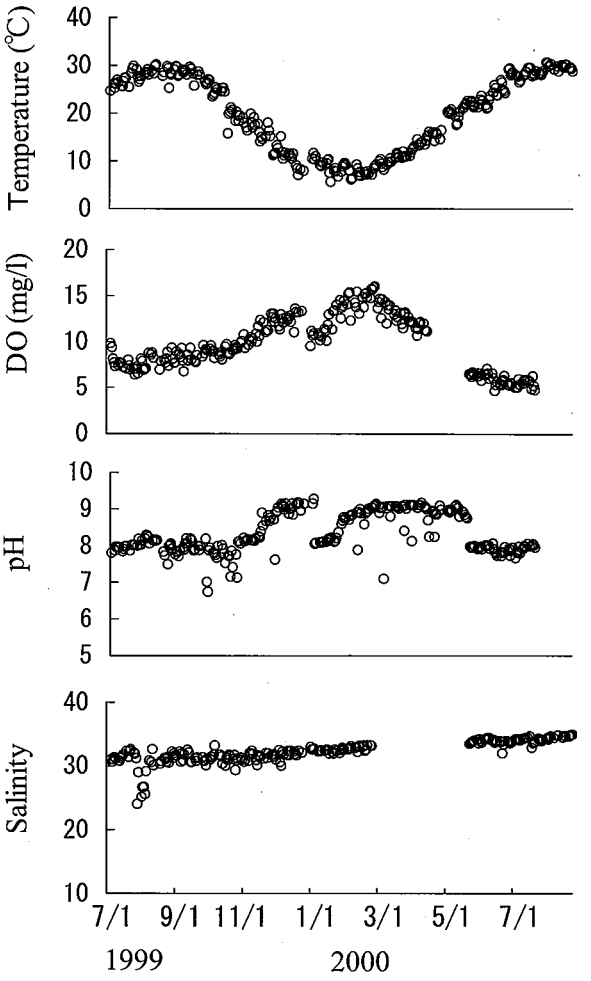


Fig. 16. Environmental changes in experimental earthen pond for Kuruma shrimp rearing (or stocking).

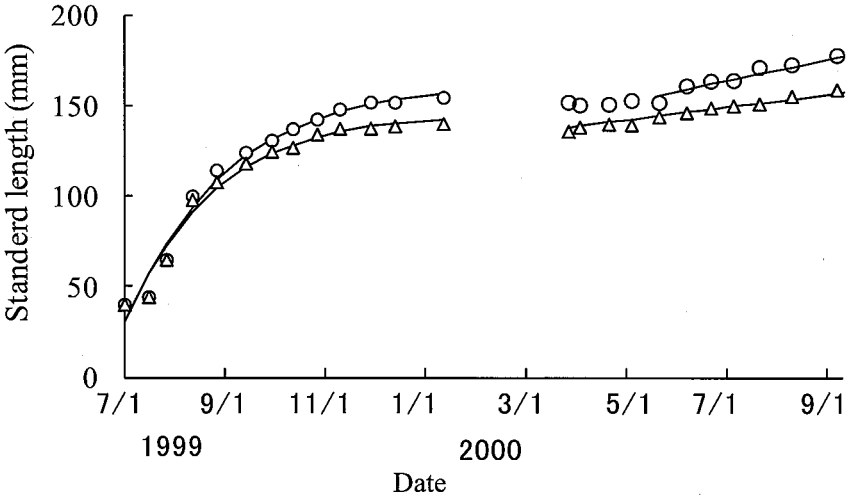


Fig. 17. Growth of Kuruma prawn in experimental earthen pond.
○：female　△：male

*4 水産庁養殖研究所病理部・熊本県水産研究センター：PCR 法による PRDV (RV-PJ) の検出方法（平成8年度魚病技術者研修魚病専修コース研修用資料），日本水産資源保護協会，東京，pp.1-8 (1996).

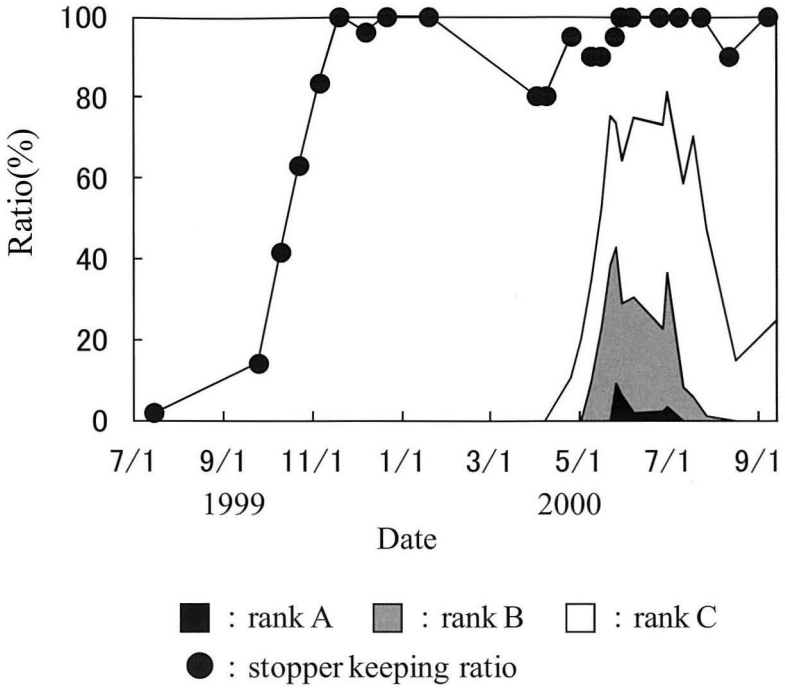


Fig. 18. Changes in maturation level and stopper keeping ratio of female Kuruma prawn in experimental earthen pond.

伝子は検出されなかった。そのうち4尾の親クルマエビから得られた73万粒の受精卵をふ化させ，52万尾のふ化幼生が得られた。また，この幼生を用いて生産した稚エビから，PRDV 遺伝子は検出されなかった。

ウイルス検査結果　養成クルマエビについて行った6回の検査結果を Table 8 に示す。いずれの時期においても，また，雌雄いずれの個体からも PRDV は検出されなかった。また，素掘り池内に生息するカニ類，スナモグリおよび多毛類について3回の検査を行ったが，いずれのサンプルからも PRDV は検出されなかった（Table 9）。

考　察

PRDV の感染経路には，水平感染と垂直感染の両方が存在すると考えられている（中野 1994；佐藤 1999）。そのため，人工稚エビを用いた親エビの養成過程において，PAV の防除にはこの二つの感染経路を遮断するような対策を講ずることが重要である。

垂直感染の防除には，種苗生産過程でウイルスを保有していない親エビから得られた卵の使用，およびヨード剤を用いた卵の消毒が有効であることが報告されている（宮島 1996；虫明 1998；佐藤 1999）。今回素掘り池試験に用いた稚エビの生産過程においても，これら2つの予防対策を講じたことで PRDV の垂直感染を防除できたと考えられる。

一方，水平感染の場合，種苗生産や中間育成場での飼育過程における様々な要因がストレッサーとして宿主に負荷をかけ，その結果として PRDV に対する感受性を増大させ，PRDV の宿主生体内での増殖を誘導する可能性が指摘されている（虫明 1998）。素掘り池でのストレッサーとしては，高密度飼育，餌不足および環境の悪化が挙げられる。しかし，本試験における稚エビの収容密度は3.7尾 /m^2であり，養殖での一般的な収容密度20尾 /m^2（脇 1993）に比べてかなり低く，飼育密度の影響は少ないと考えられる。また，養成期間中にクルマエビの体重や肥満度の低下が認められなかったことから，餌不足であったとは考えにくい。このように，今回，素掘池を用いた低密度養成により，クルマエビへのストレッサーを軽減させることができたことが親エビ養成に成功した要因の一つと考えられた。

素掘り池内に PRDV が侵入し水平感染を引き起こす可能性の一つとして，外海に棲息する PRDV キャリアーの素掘り池への侵入に伴い，諸要因によりストレスを受けたクルマエビが容易に PRDV に感染するケースが想定される。実際に PRDV に感染したニホンスナモグリと同居させることにより，クルマエビ種苗に PRDV の水平感染が成立することが実験的に確かめられている[*5]。本試験で1年間の養成を行った結果，養成エビに PRDV の感染が認められなかったことから，

Tabele 8. Results of PRDV detection in Kuruma prawn reared in eaethen pond

Year	Date	Results of detection in female (number of positive specimens/negative specimens)						Results of detection in male (number of positive specimens/negative specimens)				
		Number	Average body length (mm)	Spermatheca	Ovarian	Stomach	5th Ambulatory leg	Number	Average body length (mm)	Spermary	Stomach	5th Ambulatory leg
1999	11.30*	10	151	0/10				5	137	0/5		
2000	3.31	10	151	0/10				10	135	0/10		
	4.7	28	150	0/28				23	138	0/23		
	5.9	10	152	0/10	0/10	0/10	0/10	10	139	0/10	0/10	0/10
	6.8	56	160		0/56							
	8.30	10	172	0/10	0/10	0/10		19	155	0/19	0/19	0/19

* : unsexed specimens　blank : not investigated

Table 9. Results of PRDV detection in other organisms.

Organisms	Test results (number of positivity／specimen)		
	1999.6	1999.9	2000.4
Ghost nipper	0／32	0／24	0／14
Polychaeta	0／15	0／10	0／6
Crabs	0／11	0／41	0／12

素掘り池への侵入生物によるPRDVの持ち込みはなかったものと考えられる。現在，天然クルマエビ以外にも*Ephydridae*属の昆虫，コペポーダ（*Schmackeria dubia*），エビ類（*Exopalaemon orientis*），カニ類（*Helice tridens*）でのPRDVの感染事例（Lo et al. 1996b）や，感染は成立するものの死亡に至らずキャリアーとして生存し続ける事例（Rajendran et al. 1999）が報告されている。PCR法にはウイルスの量的な検出限界があり，また，今回の試験でも検査サンプル数も十分であるとは言い難いが，調査した素掘り池内に生息するスナモグリ，カニ類および多毛類のいずれからもPRDVは検出されなかった事実から，これらの環境生物におけるPRDVの感染濃度は極めて低いと考えられた。また，仮にそれらの生物にごく微量のPRDVが感染していたとしても，養成クルマエビが適正な飼育条件下に管理され宿主側の抵抗力が正常に機能していたために水平感染を受けることがなかったとも考えられる。すなわち，潜水調査時に死亡個体やごみなどの除去を行うとともに，餌料を配合飼料のみとしたことで水質の悪化を防止できたことも水平感染の防除に効果があったと推察された。

本試験で養成したクルマエビからPRDVは検出されず，PAVも発生しなかったことから，水平感染はなかったものと判断された。しかし，使用した素掘り池の水温は，夏期が29℃以上に上昇し，冬期には5℃に下降することから，この水温変動の較差が最も大きなストレッサーになり得る可能性は残されている。また，クルマエビの養殖場では，29℃以上の高水温は種苗の成長に悪影響を及ぼすことが報告されている。今後この素掘り池を利用した親エビ養成を行う際の課題として検討する必要があろう。

第3章　採卵に適した親クルマエビの評価技術

第1節　卵影比によるクルマエビの成熟度評価

クルマエビの卵巣は腹節の背面から容易に確認できるため，種苗生産に使用する親エビの選別は，卵巣の大きさを目視で判定する方法で行われている。しかし，この方法では，卵巣の大きさが数値化されていないため，観察者によって判定が異なることが想定される。そこで本研究では，外観から卵巣の大きさを計測し，数値化することにより，種苗生産の現場で利用可能な汎用的かつ客観的な成熟度評価指標を考案することを目的とした。

材料と方法

本試験には2000年群の2歳エビ（平均体長176.0±9.7 mm, 82個体）を使用した。供試個体の第1腹節幅と，腹節背面から確認される卵巣の幅をノギスで測定し，両者の比（卵巣幅／腹節幅×100）を求め，この値を卵影比（%）とした（Fig. 19）。卵影比測定後，解剖により卵巣を取り出し，生殖腺指数（卵巣重量／体重×100）を求め，卵影比との関係を調査した。また，卵影比を測定したクルマエビに産卵誘発のための眼柄処理を施し，個体別に採卵水槽（100 Lポリエチレン製円形水槽，水温25℃）に収容した。水槽収容後，毎日，午前中に産卵の有無を確認し，産卵が確認された水槽は，プランクトンネット（目合い63 μm）を使用して卵を全て回収し，卵数を計数した。

結　果

クルマエビの卵影比と生殖腺指数との関係をFig.

*5 福田　穣（1999）クルマエビ養殖池に生息するニホンスナモグリからのPRDVの検出．平成11年度日本魚病学会春季大会講演要旨集，38.

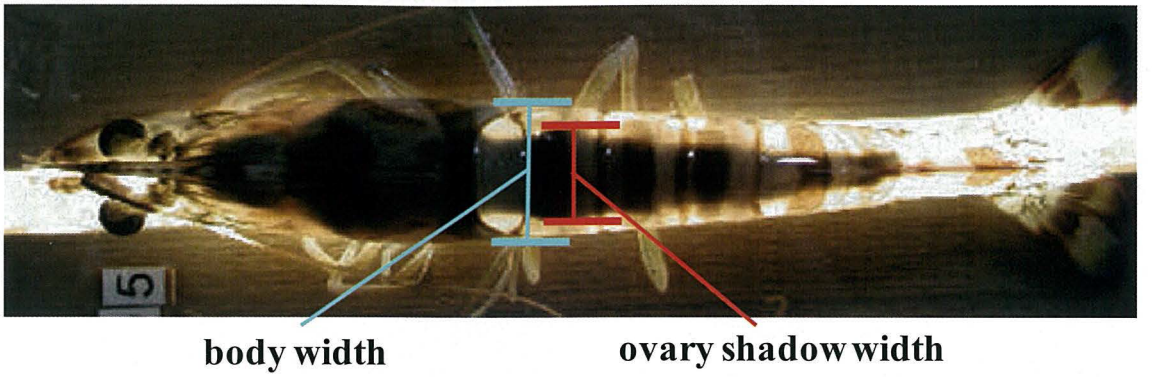


Fig. 19. Measuring method of ovary shadow ratio (%).
Ovary shadow ratio (%)= ovary shadow width / body width ×100

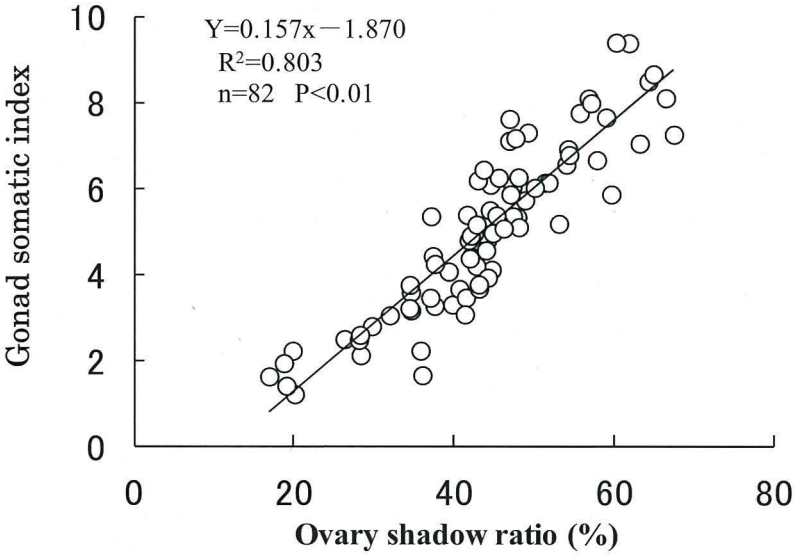


Fig. 20. Relationship between ovary shadow ratio and gonad index of Kuruma prawn.

20に示す。試験に使用したクルマエビの卵影比は16.9～67.5%，生殖腺指数は1.2～9.4であり，両者の間に正の相関（R^2=0.8031）が認められた。クルマエビの卵影比と産卵個体率との関係をFig. 21に示す。卵影比が高い個体ほど産卵個体率が高くなる傾向が認められ，卵影比30%未満の個体の産卵率は0%であり，卵影比30～35%では28.5%，35～40%では61.1%，40%以上では80%以上の値を示した。

考　察

一般に，種苗生産に使用する親エビの成熟度評価は，卵巣の大きさを目測で判断する方法で行われているが（宮島・松本1996），この方法では，観察者により評価が異なる可能性がある。また，生殖腺指数は成熟度を数値化できるが，クルマエビを生かした状態で測定することができない。これに対し，卵影比は生殖腺指数と高い相関を示したことから，生殖腺指数の代替となる成熟度評価指標であることが判明した。また，成熟度評価指標として卵影比の優れている点として，クルマエビの成熟度を生かしたまま簡易に数値化できることが挙げられ，個体ごとの成熟度の変化を経時的に調査するための指標としても有効である（崎山・清水2005；崎山ら2009）。

クルマエビの採卵方法では，生検法により卵巣卵（卵母細胞）を採取し，産卵直前の卵に形成される表層胞を持つ個体のみを採卵に使用すると高率に産卵することが知られている（宮島・松本1996；水藤ら1996）。し

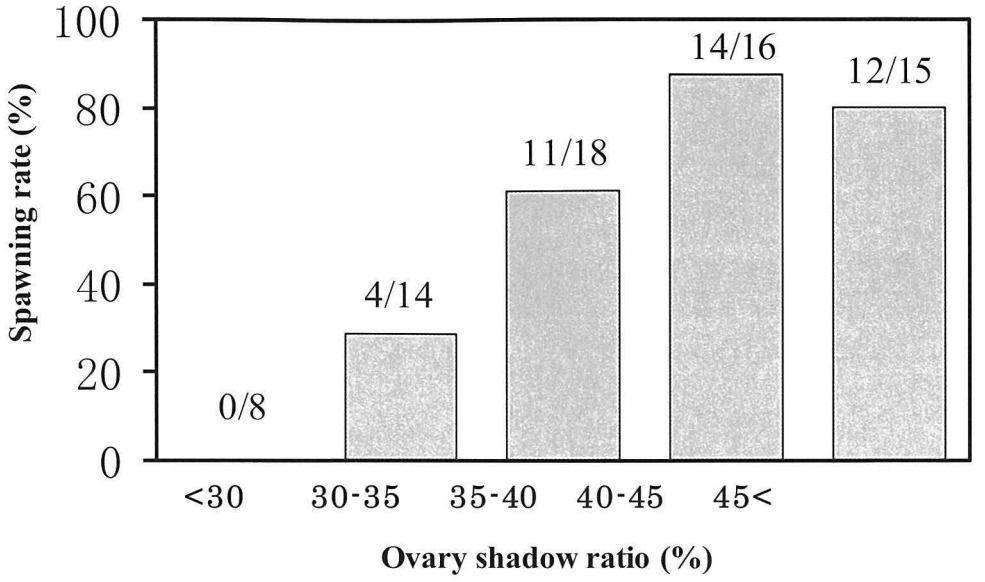


Fig. 21. Relationship between ovary shadow ratio and spawning rate of Kuruma prawn by eyestalk ablation. Numbers indicate spawned individuals among expeimental prawns.

かし，目視で成熟状態にあると判断された個体に占める表層胞形成個体の割合は低い(崎山ら2003)。そのため，成熟個体の大部分を占める表層胞を形成していない個体を産卵させることが必要であり，その方法として，眼柄処理法に効果が認められている（Yano and Wyban 1993；玉城ら1998)。眼柄処理による産卵誘発では，産卵する確率の高い親エビを選ぶための基準が必要である。そこで，卵影比の異なるクルマエビを眼柄処理法により個体別に産卵させたところ，卵影比が30% 以下の個体は産卵しなかったが，40% 以上では約80% の個体が産卵した。このことから，産卵誘発に使用する親エビを選別する基準となる卵影比は40% であると判断された。

第２節　血液成分による親エビの適正評価

（社)日本栽培漁業協会百島事業場（現水産総合研究センター瀬戸内海区水産研究所海産無脊椎動物研究センター）素堀池を用いてクルマエビを養成すると，天然エビとほぼ同時期に成熟個体が出現することが明らかにされた。使用した素掘り池の水質や底質，水温などの環境，生息する生物等は天然海域に類似していることから，このような環境下で養成したクルマエビの成熟に伴う生理的な変化は，天然のクルマエビと同様であると推察する。そこで，本節では，素掘り池で養成したクルマエビの成熟に伴う血液の生化学的性状の変化を明らかにし，成熟度の評価指標として有効な血液成分を把握することを目的とした（試験１)。

第２章第３節では，素掘り池で養成した成熟エビの大部分は卵黄球期の卵を有し，眼柄結紮により容易に産卵することが明らかになった。また，クルマエビ類では，ゴカイ類の給餌に成熟促進効果が認められている。そこで，眼柄処理およびゴカイ給餌による血液の生化学的性状の変化を調査し，成熟促進効果を生理学的に明らかにすることを目的とした（試験２)。

材料と方法

試験１：本試験では，2002年群のクルマエビを調査対象とし，2003年５月（１歳エビ）～2004年７月（２歳エビ）の期間に親エビの卵影比と血液の生化学的性状の変化を調査した。卵影比の調査は１カ月に１～４回，血液の検査は１カ月に１回の頻度で実施した。卵影比は本章第１節の方法で測定した。血液検査については，個体ごとに約0.5 mL の血液を注射器で採取し，生化学自動分析装置（富士フイルム，フジドライケム2500）を使用して，血液の生化学的性状（総タンパク質濃度，総コレステロール濃度，中性脂質濃度，グルコース濃度，アルカリ性フォスファターゼ（ALP）活性，グルタミン酸オキサロ酢酸トランスアミナーゼ（GOT）活性，グルタミン酸ピルビン酸 トランスアミナーゼ（GPT）活性）を検査した。

試験２：試験には2004年群の１歳エビ（平均体長157.0

±7.0 mm)を使用した。試験水槽には0.5 kL ポリエチレン製水槽（水温23℃）を用い，眼柄処理区（片側眼柄の結紮）２区と無処理区１区を設け，各水槽に眼柄標識で個体識別したクルマエビを６個体ずつ収容した。飼育期間中はゴカイ（イシイソゴカイ）を毎日15時以降に，１水槽当たり60～80 g 給餌した。水槽収容後，毎日，個体別に卵影比を計測するとともに，約0.5 mL を採血し，生化学自動分析装置を用いて，血中の中性脂質濃度を測定した。

結　果

試験１：天然に類似した素堀池の環境下において，クルマエビの１歳～２歳時までの成熟状況（卵影比）と血液成分の生化学的性状の変化を Fig. 22に示す。生殖腺指数と相関のある卵影比は，１歳時では４～７月と９～10月に，２歳時では３～５月に増加が確認された。ここで測定した血液成分の中では，中性脂質濃度の変化が卵影比の変動と最も類似した。総コレステロール濃度および ALP 活性は中性脂質ほどではないが，卵影比の変化と連動する傾向が認められた。

試験２：眼柄処理を行わなかった無処理区と眼柄処理区の卵影比と血液中の中性脂質濃度の経日変化を Fig. 23に示す。眼柄処理を行わなかったクルマエビ（無処理区）の卵影比は徐々に低下する傾向が認められ，産卵は確認されなかった。一方，眼柄処理区では９尾中４尾が産卵し，産卵に至らなかった個体の卵影比は無処理区と同様に低下し，産卵に至った個体では，産卵日までほとんど低下することはなく，両者に違いが認められた。無処理区の血液中の中性脂質濃度は20～40 mg/dl の範囲であり，飼育日数の経過に伴う大きな変化は認められなかった。一方，眼柄処理区の血液中の中性脂質濃度は産卵の有無に関わらず上昇する傾向が認められた。しかし，産卵個体と未産卵個体では中性脂質濃度の上昇傾向が異なり，未産卵個体では最大120 mg/dl まで上昇し，産卵個体では80 mg/dl を超えることはなかった。

考　察

本試験において，クルマエビの成熟期に血液の中性脂質濃度，総コレステロール濃度および ALP 活性が高くなることが明らかとなった。同様の現象が魚類でも確認され，ブリでは，産卵期に中性脂質，総タンパク質および総コレステロール濃度が高まり，中性脂質濃度の高い個体ほど採卵数が多いことから，親魚の健全性評価指標として有効であると考えられている（虫明ら1998；崎山ら2003）。クルマエビでは，今回測定した血液成分の中で，中性脂質濃度は卵影比の時期的変化と連動したことから，親エビの健全性評価指標として利用できる可能性が示された。

この結果を受けて，陸上水槽での催熟試験を実施したところ，成熟したクルマエビに眼柄処理を行うと成熟が促進されるとともに，血液中の中性脂質濃度が高まることが明らかにされた。眼柄処理によるクルマエビの血液中の中性脂質濃度の上昇は，摂餌量の増加が原因の一つであると考えられる。また，眼柄処理により産卵した個体と，産卵しなかった個体の中性脂質濃度の変化を比較すると，産卵した個体の濃度は80 mg/dl 以上になることはなかった。このことは，血液中の中性脂質が卵巣卵の成熟に利用された可能性を示唆している。

本試験では，クルマエビの成熟を促進させるために眼柄処理とゴカイの給餌を併用した。ゴカイやイガイ等の給餌はエビ類の成熟にとって重要であるとされている（Middleditch *et al.* 1980；Harrison 1990；Yano 1993）。また，*Penaeus* 属の成熟には n-3や n-6系の高度不飽和脂肪酸が重要であることが報告されている（Middleditch *et al.* 1980；Teshima and Kanazawa 1983）。これらのことから，眼柄処理とゴカイ給餌の相乗効果により，クルマエビの血液中の中性脂質濃度が上昇し，成熟が促進された可能性が高い。

第３節　摂餌量による親エビの適正評価

クルマエビの成熟促進や産卵誘発の効果は，成熟度が同程度であっても個体により大きく異なるため，産卵する確率の高い親エビを選別する技術は種苗生産に必要不可欠である。クルマエビの成熟と産卵に影響する要因として，捕獲や輸送の影響が挙げられる。また，陸上水槽でのクルマエビの飼育において，水槽収容後の初期に死亡が多く，また，個体によって摂餌量が異なることが経験的に知られている。これは，クルマエビの活力が個体によって異なり，衰弱した個体は摂餌が不活発であることを示唆している。また，本章第２節において，親クルマエビの摂餌量は成熟に影響を及ぼすことが示唆された。そこで，本研究では，活力が高く成熟促進や産卵誘発効果が見込まれる親エビを選別する手法を開発するために，陸上水槽に収容直後のクルマエビの摂餌量と飼育初期の生残（試験１），飼育期間中の摂餌量の変化と成熟（試験２）との関係を比較検討し，親エビを選別するための指標として，飼育初期の摂餌量の有効性を明らかにすることを目的とした。

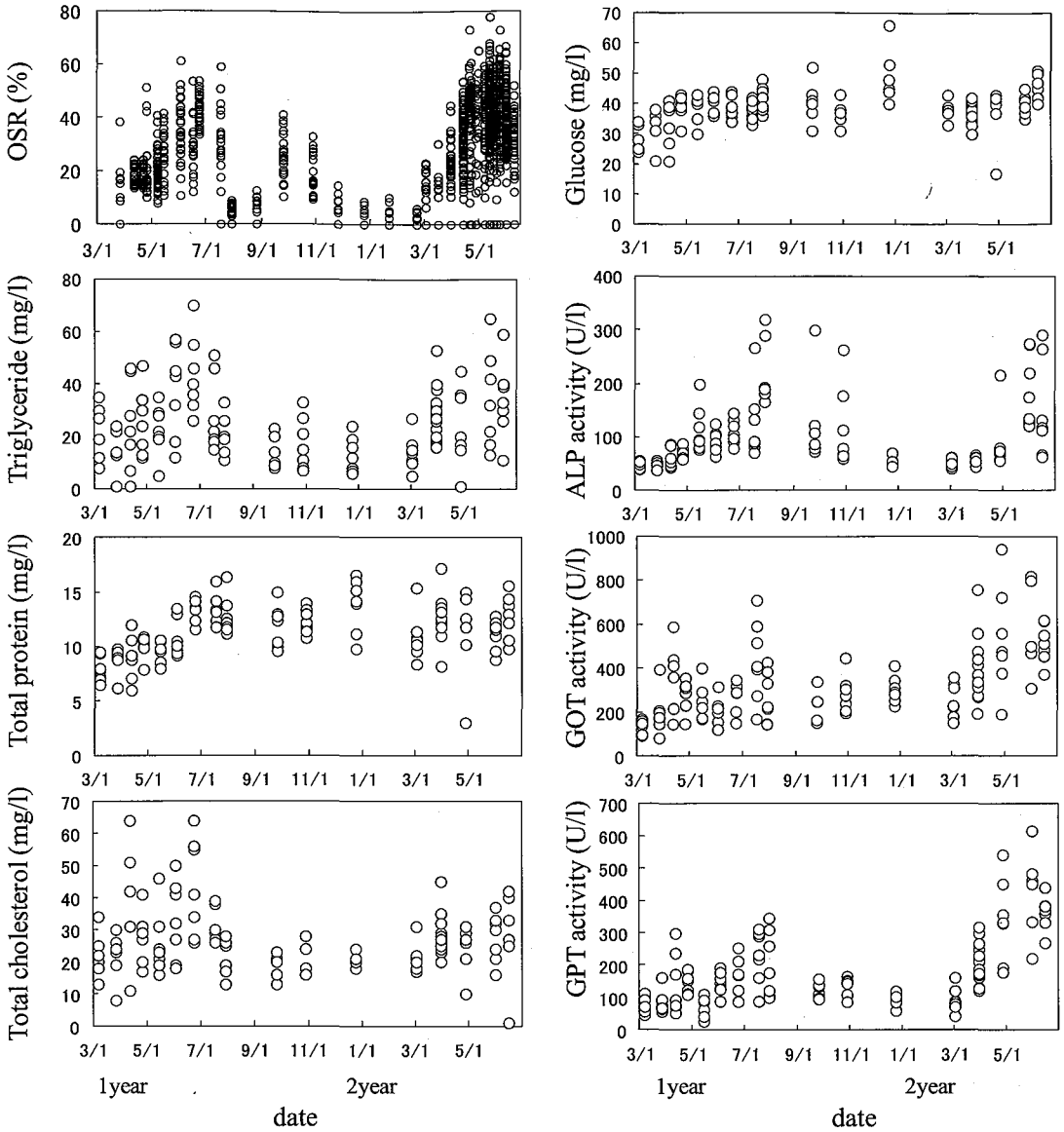


Fig. 22. Changes in maturation level and biochemical conditions in blood of Kuruma prawn reared in earthen pond.
OSR : Ovary shadow ratio (%)= ovary shadow width / body width ×100

材料と方法

試験 1　実験池で養成した12個体のクルマエビ（平均体長182.3±10.8 mm）をポリカーボネイト製水槽（容量100 l）に個体別に収容した。水槽の水温はウオーターバス方式で22～23℃に設定した。飼育水には砂ろ過海水を使用し，止水条件下でクルマエビを飼育し，毎日１回，水槽の海水を全量交換した。飼育期間中の餌料には市販の配合飼料（ヒガシマル社製　バイタルプローン成エビ用）を使用した。毎日15時以降に各水槽へ10 gずつ給餌し，翌日の午前に残餌を回収し，その差から各個体の毎日の摂餌量を推定した。試験期間は３日間とし，収容１日目，２日目および３日目の死亡の有無と摂餌量を調査した。

試験 2　試験には，広島県尾道市近海で刺網により漁獲されたクルマエビを用いた。漁獲後，クルマエビを百島実験施設に輸送し，5 m^3水槽（水温15℃）内に設置した小割網（80 cm ×80 cm）４つに，５～７尾ずつ収容した。小割網に収容した翌日に，手術用縫合糸を用いて，全ての個体の片側眼柄を結紮した。これらの個体のうち，10個体（個体番号：親エビ１～10）を試験に使用した。飼育にはポリカーボネイト製水槽（容量100L）10個を用い，１個体ずつ親エビを収容し，１

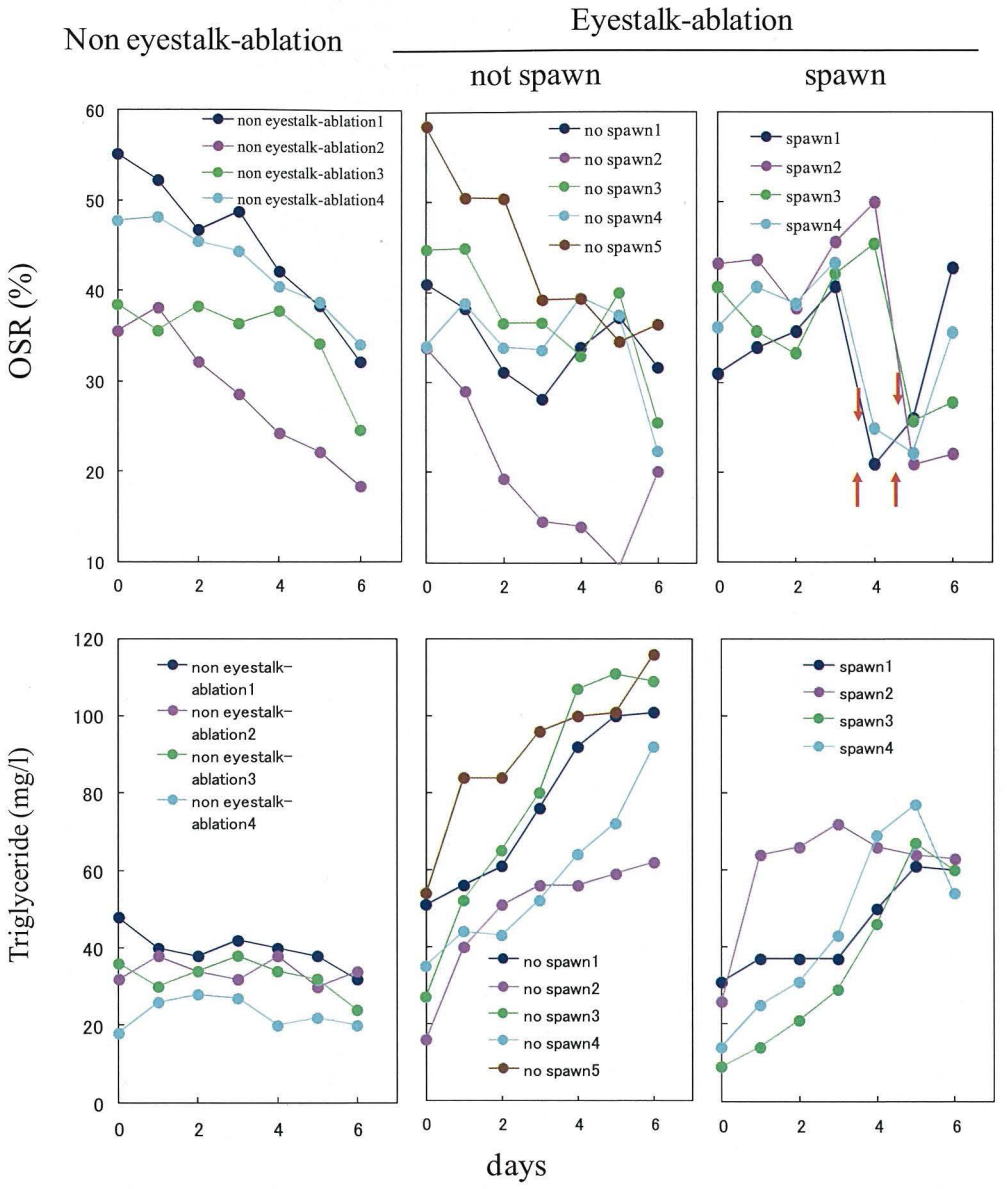


Fig. 23. Changes in maturation level and triglyceride concentration in blood of Kuruma prawn. Arrow indicates day of spawning.
OSR : Ovary shadow ratio (%)= ovary shadow width / body width ×100

日に1回，生きたゴカイ（イシイソゴカイ）を30 gずつ給餌した。翌日，各水槽の残餌を回収し，給餌量と残餌量の差から摂餌量を求め，供試個体の体重（g）に対する摂餌量（g）の割合を摂餌率（%）とした。また，飼育期間中は，毎日，ノギスを用いて第1腹節と卵影の幅を測定し，個体別に卵影比（成熟度）の径日変化を調査した。飼育水温はウォーターバス方式で23℃に設定した。飼育水には砂ろ過海水を使用し，止水条件下でクルマエビを飼育し，毎日1回，水槽内の海水全量を交換した。

結　果

試験1：使用した12個体のクルマエビのうち，2個体は飼育水槽収容の翌日に死亡したため調査から除外した。調査対象とした10個体のうち，4日間の試験期間中の生残尾数は5尾（親エビ1 ～ 5），死亡尾数は5尾（親エビ6 ～10）であった。死亡個体のうち，親エビ10は試験開始1日目に，親エビ7は2日目に，親エビ6，8および9は3日目（試験終了時）に死亡した。

試験終了時まで生存した親エビ1 ～ 5と，試験期間中に死亡した親エビ6 ～10の1日あたりの摂餌率の

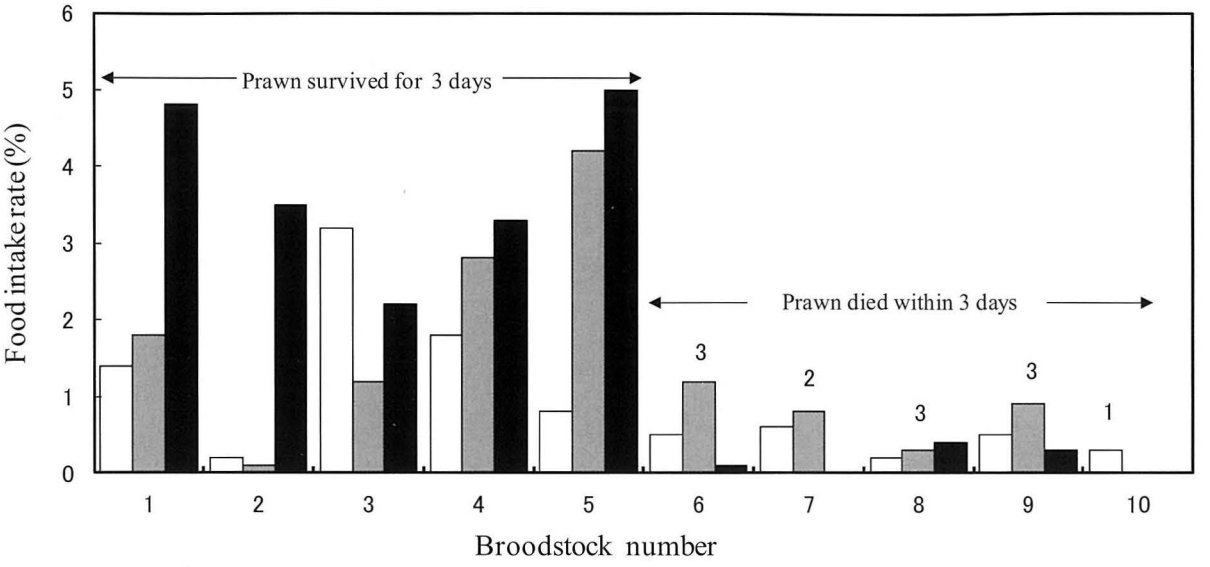


Fig. 24. Food intake rate of Kuruma prawn reared individually.
Food intake rate (%) = amount of feed (g) / body weight (g) ×100.
Culumns show food intake rate : □0day ■1day ■2day
Numbers on the column indicate of day of death.

変化をFig. 24に示す。同一個体であっても調査日により摂餌量は変動したが，日数の経過に伴い摂餌量が増加する傾向が認められ，試験期間中の親エビ1～5の摂餌率は親エビ6～10より顕著に高かった。そこで，両者の摂餌率を飼育日数毎に比較したところ，飼育1日目の平均摂餌率は，生存した親エビ1～5が1.48±1.14%，死亡した親エビ6～10が0.42±0.16%（t検定，$p<0.05$），2日目では，それぞれ2.02±1.56%と0.80±0.37%（t検定，$p>0.05$），3日目では3.76±1.15%と0.27±0.15%（t検定，$p<0.05$）であり，いずれの日でも，試験終了時まで生残した個体の摂餌率が高かった。

試験2　試験に使用した親エビの卵影比の経日変化をFig. 25に示す。試験開始時の供試エビの卵影比は12.5～18.2%であった。親エビFと親エビCの卵影比は，それぞれ飼育2日目と4日目から高くなる傾向が認められ，飼育4日目と6日目に46%に達した。その後，両個体とも産卵が確認され，それぞれの採卵数は14.2万粒と8.5万粒であった。親エビCと親エビF以外の個体では，卵影比の上昇と産卵は確認されなかった。試験に使用した親エビの摂餌率の変化をFig. 26に示す。卵影比の上昇と産卵が確認された親エビCと親エビFでは，摂餌率の増加が確認され，18～24%に達した。一方，卵影比が増加しなかった個体では，親エビCのみで摂餌率の増加が確認された。それ以外の個体の摂餌率は10%以下であり，ほとんど増加しなかった。

考　察

捕獲したクルマエビを陸上水槽で飼育すると，個体により摂餌率は異なるが，飼育開始3日目まで生残した個体の摂餌率は，飼育期間中に死亡した個体よりも高い傾向が認められた（Fig. 24）。これは，捕獲や運搬時のハンドリングによる影響を受け衰弱した個体は摂餌が不活発となり，飼育期間中の死亡率が高いことを示している。また，眼柄処理により成熟が進行し卵影比が高まった個体と，変化しなかった個体の摂餌率の変化を比較したところ，両者に違いが認められ，成熟しなかった個体の摂餌率は成熟個体に比べ低いことがわかった（Fig. 24, 25）。これらの結果から，捕獲直後の摂餌量はクルマエビの活力評価に有効な指標であり，摂餌は成熟を促進させるための重要な要因であると判断された。

したがって，天然で漁獲された未成熟な親エビを採卵用親エビとして利用する方法には，以下の方法が考えられる。1）捕獲したクルマエビに給餌を行い，摂餌が活発な個体と不活発な個体に選別する。2）摂餌が活発な個体に眼柄処理を施し，産卵水槽に収容し，ゴカイを給餌しながら成熟，産卵させる。3）摂餌が不活発な個体は，しばらくの間，ゴカイを給餌しながら飼育を行い，摂餌が活発になった時点で眼柄処理を

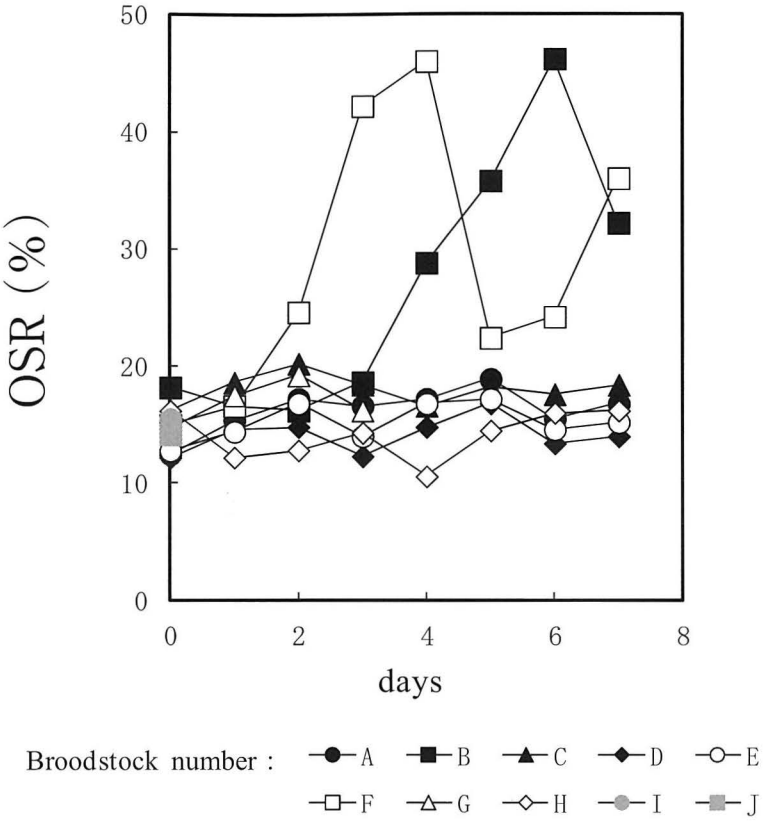


Fig. 25. Changes in ovary shadow ratio (OSR) of Kuruma prawn after eyestalk ablation.

行い，産卵水槽に収容する。これらの方法を講じることにより，活力が良好で産卵する確率の高い個体のみを採卵に使用することが可能となる。

第4章　親クルマエビの産卵コントロール技術

第1節　低水温処理による産卵コントロールの検討

クルマエビ *Marsupenaeus japonicus* の種苗生産では，1回の生産で数100万尾の幼生を必要とする。そのためには，まとまった数の親エビを入手し，同時に産卵させる技術が必要である。近年，人為管理下で親エビを養成し採卵する技術が開発され，養殖用種苗の生産に利用されるようになった（宮島・松本 1996；玉城ら1998；崎山ら2003a，b；伏屋ら2006）。しかし，放流用種苗の生産では，天然エビが利用されているため，親エビの量的かつ安定的確保が大きな課題となっている。また，養成エビと天然エビのいずれにおいても，親エビの産卵をコントロールし，受精卵が必要な日に同調的に産卵させる技術は開発されていない。そこで，本研究では，親エビの成熟を一旦抑制し，必要尾数を確保した時点で，これら個体を同調的に産卵させる技術（産卵コントロール技術）の開発に取り組んだ。一般的に，漁獲されたクルマエビは，低水温（12～15℃）条件の水槽に1～2日間畜養された後，出荷販売されている。水温を下げることで一時的にクルマエビの活動を抑制し，高密度収容による衰弱や体の損傷の防止を図っている。また，採卵用の親エビは畜養されたクルマエビの中から選別され，種苗生産機関へ輸送されている。低水温下で畜養された親エビは，輸送後，採卵水槽に収容すると翌日から産卵を開始する。このことから，低水温に収容することで，一時的に親エビの産卵を抑制できる可能性が考えられた。そこで本報では，産卵を一時的に抑制する手法として，成熟個体を低水温条件下におく方法（低水温処理）を試み，産卵抑制の可能性を明らかにするとともに，抑制に適正した水温と抑制可能な期間について検討した。また，産卵を誘発する方法として，宮島・松本（1996）の片眼柄の結紮法（眼柄処理）を採用し，眼柄処理を実施する時期（低水温処理前または処理後）について検討

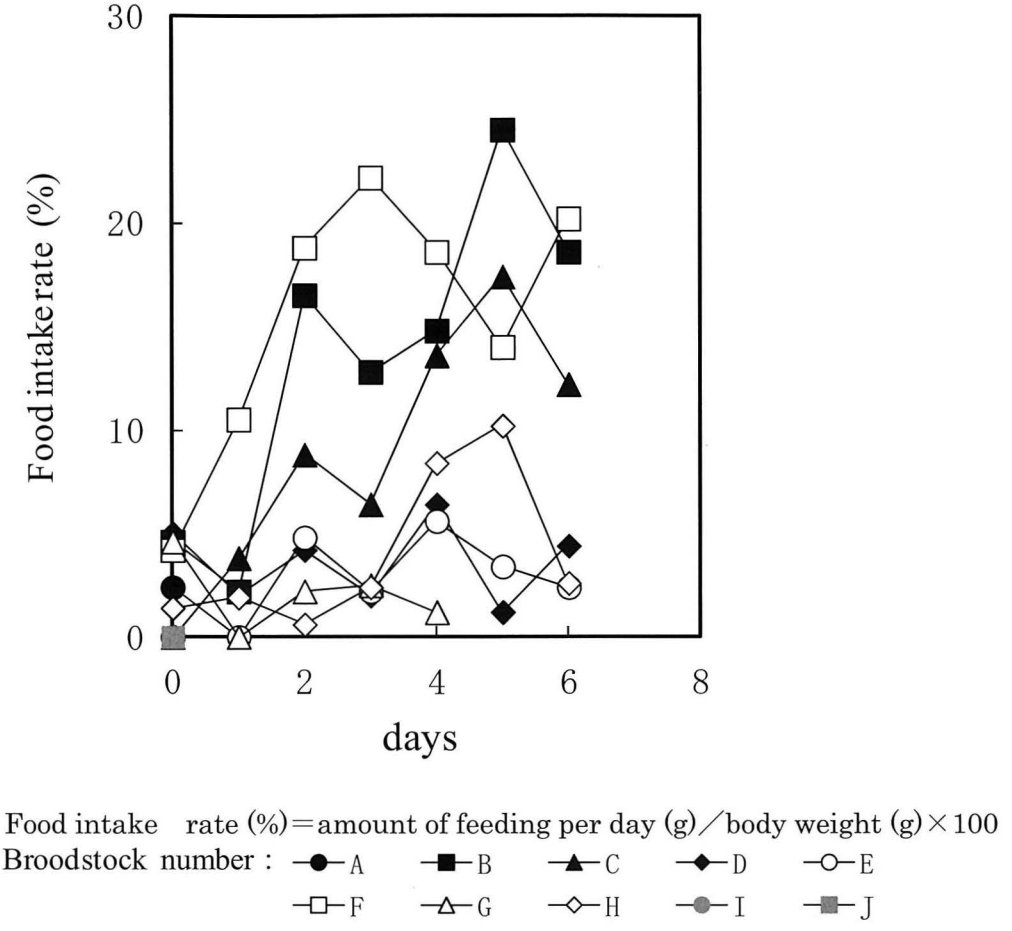


Fig. 26. Changes in food intake rate of Kuruma prawn given polychaete by eyestalk ablation.
Food intake rate (%) = amount of feeding per day (g)/body weight (g) ×100

した。

材料と方法

試験には，水産総合研究センター瀬戸内海区水産研究所海産無脊椎動物研究センター（旧社団法人日本栽培漁業協会百島事業場）の素掘り池（底面積7,500 m^2）において，天然親エビ由来の稚エビを養成した１歳と２歳のクルマエビ，養成親エビ由来の稚エビを飼育した２歳のクルマエビを使用した。養成期間中は市販配合飼料（ヒガシマル社または協和発酵社製）を給餌した。カゴ網を用いて試験に使用するクルマエビを素堀り池から捕獲し，その中から卵影比（卵巣幅／第１腹節幅×100）(崎山 2013) 40 % 以上の個体を選別した。これらの個体を用いて，低水温処理による産卵抑制効果と低水温処理に適した水温を確認する試験（試験１），眼柄処理の実施に適した時期（試験２）を明らかにするための試験を行った。なお，低水温処理時の飼育には５ kL コンクリート水槽中に設置した小割網（80×80×80 cm）を，採卵水槽には0.5 kL ポリエチレン製水槽を使用した。

試験１：低水温で飼育することによってクルマエビの産卵を抑制できるかどうかを調べるために本試験を実施した。試験には，2000年５月31日，６月２日および６月15日に素掘り池から捕獲したクルマエビ（１歳エビ）を使用した。クルマエビ捕獲時の素掘り池の水温は22.6～25.9℃であった。捕獲したクルマエビを水温15～18℃に設定した水槽に収容し，採集した個体から卵影比40 % 以上の個体を選別し，生検法で卵巣卵に表層胞が確認されなかった個体の片側眼柄を手術用縫合糸で結紮した。これらの個体のうち，60尾（平均体長161±6.7 mm）を試験に使用した。低水温処理の水温を10℃と15℃の２段階に設定し（10℃区，15℃区），それぞれの水温で０，３，５，７，および10日間飼育する計10試験区を設定した。低水温処理を行わないで直ちに産卵水槽（水温25℃）に収容した０日区を対照区

とした。それぞれの試験区に，あらかじめ眼柄処理を施したクルマエビを6尾ずつ収容し，飼育期間中，毎日，冷凍イカの切身を給餌した。設定した低水温処理期間が終了した後に，直ちにクルマエビを採卵水槽（水温25℃）へ移槽し，産卵数と産卵尾数を移送後8日目まで調査した。10℃区では，採卵水槽に収容時の水温差による影響を緩和するために，一旦，水温20℃の水槽に収容した後，翌日，25℃に加温した。各々の水温区で，産卵の見られた対照区と3，5および7日の低水温処理区の計4実験区の間で，産卵水槽に移槽後に産卵の起こった日数と個体毎の産卵数を，それぞれ一元配置分散分析で検定を行った。また，各々の実験区で使用した尾数に対する産卵個体の割合（産卵個体率）が実験区間で異なるかどうかを，Fisherの正確確率検定で比較した。有意水準はいずれも5％とした。

試験2：親クルマエビの眼柄処理を低水温処理前または処理後のいずれの時期に行う方が良いか調べるために本試験を実施した。試験には，試験1と同一群をさらに1年間養成した2歳エビを使用した。2001年5月10日，5月11日，5月18日，5月18日および5月21日に素掘り池からカゴ網を用いて捕獲し，試験1と同じ方法で選別した成熟エビ（平均体長185±6.9 mm）を試験に使用した。試験1の結果を受けて，低水温処理水温を15℃とし，片眼柄の結紮時期を低水温処理前および処理後に行う試験区（それぞれ前処理区，後処理区）を設定した。両試験区とも3，5，7および10日間の低水温処理を行う区を設け，クルマエビを5～6尾ずつ収容した（前処理区23尾，後処理区23尾）。また，眼柄処理後，低水温処理を施さないで採卵水槽に収容する対照区（24尾）を設定した。飼育期間中は冷凍イカの切り身を給餌した。設定した期間の低水温処理を終了した後，採卵水槽（20℃）へ移槽し，産卵数と産卵尾数を毎日調査した。眼柄処理のタイミング（前処理区，後処理区）と低水温飼育日数の2つの要因に対して，産卵水槽に移槽後に産卵が確認されるまでの日数と個体毎の産卵数を，それぞれ二元元配置分散分析で検定を行った。要因ごとに有意差が検出された場合には，実験区間の平均値をTukey-Kramer testで比較した。また，各々の実験区で使用した尾数に対する産卵個体の割合（産卵個体率）が実験区間で異なるかどうかを，Fisherの正確確率検定で比較した。有意水準はいずれも5％とした。

結　果

試験1：各区の採卵数と産卵尾数の推移をFig. 27に示す。本試験により，眼柄処理を施したクルマエビは10℃と15℃の低水温下では産卵は認められなかった。水温10℃と15℃の低水温処理期間が3日間，5日間および7日間の区では，産卵水槽に収容すると産卵が確認されたが，低水温処理を10日間行った区は，産卵水槽に収容しても全く産卵が見られなかった。低水温処理を行わなかった対照区では，採卵水槽収容4日目または5日目に産卵が認められた。一方，3日間，5日間および7日間の低水温処理では，低水温飼育期間中に産卵する個体は確認されず，採卵水槽収容3日目または4日目から産卵が確認された。

低水温処理による産卵への影響をみるために，10℃区と15℃区の低水温処理期間ごとの産卵までに要した日数（採卵水槽に収容してから産卵するまでの日数），産卵個体率および1尾あたりの平均採卵数をTable 10に示す。産卵までに要した日数は，10℃区は4.3～4.8日目，15℃区は4.0～5.7日目であり，両水温区とも低水温処理期間による産卵までに要した日数に対照区との差は認められなかった（one-way ANOVA, $p>0.1$）。産卵個体率をみると，10℃区は60～80%，15℃区は73.3～80%であり，両水温区ともに対照区と比べて統計的有意差は確認されなかった（Fisherの正確確率検定，$p>0.05$）。1尾あたりの平均採卵数は，10℃は7.9～10.4万粒／尾，15℃区は6.8～10.3万粒／尾であり，両水温区・低水温処理期間ともに対照区との統計的有意差は認められなかった（one-way ANOVA, $p>0.4$）。以上の結果，水温10℃と15℃とも産卵抑制が可能であるが，産卵水温との温度差が小さい15℃が適していると判断された。

試験2：眼柄処理の有無にかかわらず，低水温処理期間中に産卵は起こらなかった。前処理区，後処理区とも採卵水槽に移水槽すると，低水温処理の期間に依らず全ての試験区で産卵が確認された。眼柄処理時期の違いが産卵に与える影響を見るために，前処理区と後処理期の低水温処理期間ごとの平均産卵開始日，産卵個体率および1尾あたりの平均産卵数を集計しTable 11. に示す。産卵開始日について見ると，前処理区は4.0～6.3日目，後処理区は5.0～7.5日目であり，二元配置分散分析の結果，眼柄処理のタイミングが産卵開始日に影響を与えていることが示された（two-way ANOVA, $p<0.05$）。一方，低水温処理期間の産卵開始日への影響は検出されず（two-way ANOVA, $p>0.5$），眼柄処理のタイミングと低水温処理期間の間に交互作用は認められなかった（two-way ANOVA, $p>0.2$）。眼柄処理のタイミングが産卵開始日に影響を与えているかどうかを多重比較で検定したところ，有意差は検出できなかった（Tukey-Kramer test, $p>0.05$）。これらのことから，眼柄処理のタイミングと低水温処理の

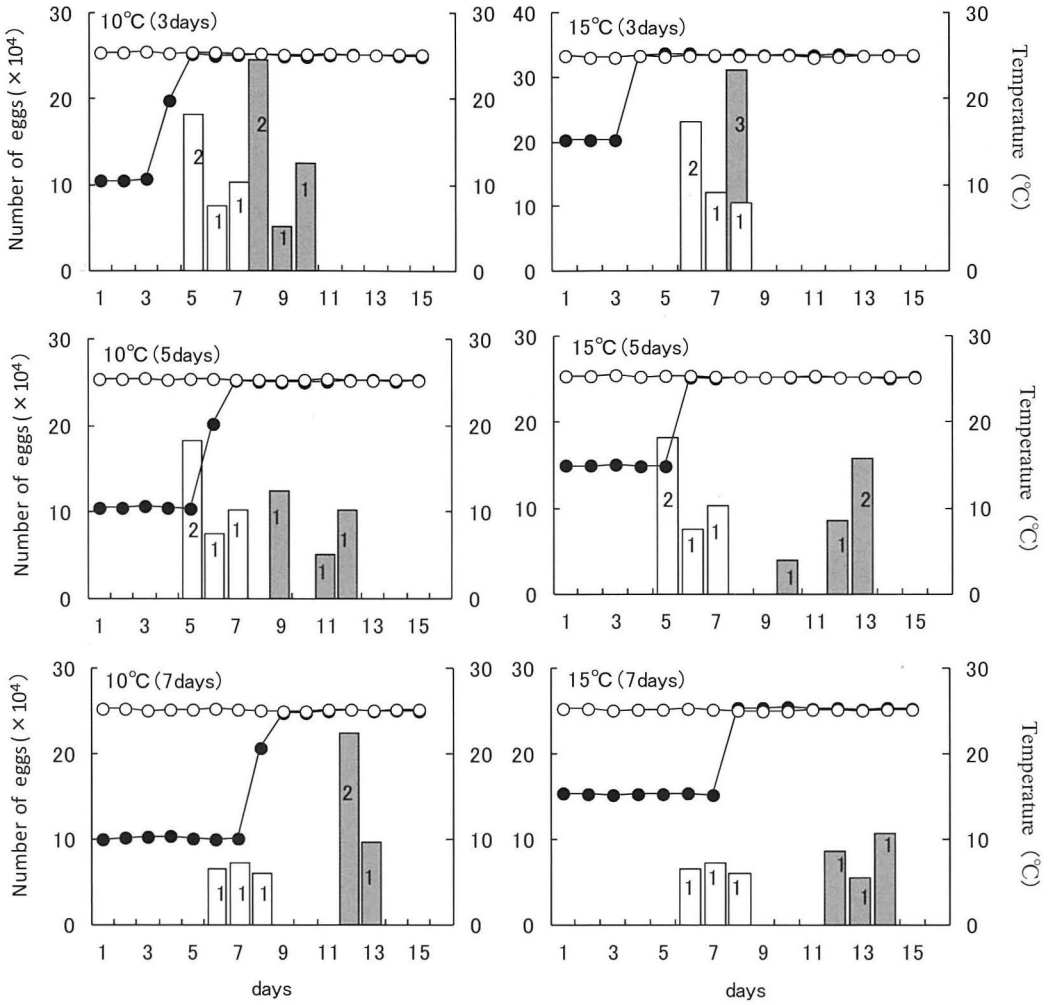


Fig. 27. Number of spawned eggs of Kuruma prawn after by eyestalk-ablation under various low temperature treatments. White columns, number of eggs from broodstocks without low temperature treatment; grey columns, various low temperature treatments (from condition 1 to 6); open circles, temperature without low temperature treatment; solid circles, temperatures of conditions 1 to 6 for spawning control. Numbers in bars indicate number of prawns that spawned. See text for the explanation of conditions 1 to 6.

期間の違いによって産卵開始日は，対照区のそれ（4.8±1.2日）と異ならないという結果となった。産卵個体率は，前処理区は50～100%，後処理区は40～86%であり，対照区との間に統計的有意差は認められなかった（Fisher の正確確率検定，p>0.05）。平均採卵数を見ると，前処理区は17.6～26.0万粒／尾，後処理区は15.8～27.1万粒／尾となり，二元配置分散分析によって眼柄処理のタイミングと低水温処理の期間が産卵数に影響を与えないことが分かった（two-way ANOVA, p>0.5）。以上の結果から，低水温処理後の眼柄処理は，処理前に比べて産卵開始が遅れる傾向がみられるものの，産卵誘発は処理前と処理後のいずれでも可能であることが示された。

考　察

眼柄処理による成熟促進と産卵誘発の効果は多くのエビ類で確認され（Yano and Wyban 1993；Santiago 1977；Pervaiz et al. 2011），これは，眼柄内にある卵黄形成抑制ホルモンの産生・貯蔵・分泌を行う器官が除去されるためであると考えられている。クルマエビでは，成熟個体の大部分は卵巣卵の成熟状態が卵黄球期の状態であり，採卵水槽に収容しても産卵する個体の割合は低いが（加治2003），眼柄処理による産卵誘発

Table10. Days required for spawning, spawning incidence and number of spawned of spawned eggs of Kuruma prawn at 25℃ after the treatiment at low tempertature (10 or 15℃) for different durations (0-7days)

Period of low-temperature treatment (days)	Days of spawning after transfer to spawning tank at 25°C		Spawning incidence (%)		Number of eggs per spawner ($\times 10^4$)	
	10°C	15°C	10°C	15°C	10°C	15°C
0 (control)	5.0 ± 1.0	5.5 ± 1.0	66.7	73.3	8.2 ± 1.5	9.0 ± 2.2
3	4.8 ± 1.0	4.0 ± 0.0	80.0	75.0	10.0 ± 4.2	10.3 ± 0.0
5	4.7 ± 1.5	5.7 ± 1.5	75.0	80.0	9.2 ± 3.7	6.8 ± 2.5
7	4.3 ± 0.6	5.0 ± 1.0	60.0	75.0	10.4 ± 1.2	8.2 ± 2.6
10	N.D.	N.D.	0	0	N.D.	N.D.

Date are expressd as mean ± SD (n=3-9). N. D., no date

Table 11. Days required for spawning, spawning incidence and number of spawaned eggs of Kuruma prawn at 20℃ after low-temperatu for different durations (0-11 days) wish different timimng of eyestalk-albation (before or after low-tempre treatment)

Period of low-temperature treatment (days)	Days of spawning after stocking at 20°C		Spawning incidence (%)		Number of eggs per spawner ($\times 10^4$)	
	Pre-treatment	Post-treatment	Pre-treatment	Post-treatment	Pre-treatment	Post-treatment
0 (control)	4.8±1.2		66.7±13.6		18.3±5.0	
3	6.3 ± 2.1	7.5 ± 0.7	50.0	40.0	20.2 ± 6.4	22.7 ± 13.3
5	5.3 ± 2.6	5.8 ± 1.7	80.0	66.7	26.0 ± 8.4	22.1 ± 2.6
7	4.0 ± 1.0	7.0 ± 1.0	50.0	60.0	17.6 ± 5.5	15.8 ± 19.3
10	4.3 ± 2.8	5.0 ± 2.0	100.0	85.7	19.7 ± 3.6	27.1 ± 7.5

Date are expressd as mean ± SD (n=3-13)

効果が養成したクルマエビでも確認され，安定的な採卵技術として利用されている（宮嶋・松本1996；玉城ら1998；伏屋ら2006）。一方，天然で漁獲されたクルマエビでは，漁獲や長時間の輸送によるストレス（矢野ら1988），高水温期には漁獲から採卵までの水温変化が影響により（水藤ら1996），眼柄処理の効果は低いとされてきた。しかし，近年，飼育技術を改良することにより，眼柄処理を利用した天然クルマエビからの採卵が可能であることが明らかにされ，養成エビと同様に，低水温処理による産卵コントロールの利用が期待されている（崎山ら2009）。

成熟したクルマエビは，産卵しなければ数日以内に卵巣卵が崩壊するため（今ら1982），親エビを長期間ストックすることは困難であると考えられたが，本研究により，成熟した親エビを15℃以下の低水温下に置くことで，最長14日間，産卵の抑制が可能であることが示された。しかし，1歳エビを使用した試験では，低水温下に10日間置いた個体の産卵は確認されなかった。この原因が年齢や飼育環境によるものなのか明らかにすることはできなかったが，一般的な種苗生産現場では，1回の種苗生産に必要な10～100尾程度の成熟エビを数日で確保可能であり，抑制期間は1週間以内で十分であると考えられる。

低水温処理による採卵では，採卵水槽との水温差が大きいとクルマエビの産卵への影響が懸念されるが，水温10℃と15℃の低水温処理では，採卵水槽に収容した後の産卵個体率，1尾当たりの採卵数に有意差は認められなかった。また，水温差1～10℃の範囲では産卵個体率への影響はないことが報告されている（水藤1996）。そのため，低水温処理の水温は採卵時の水温との差が小さい15℃で十分であると考えられる。採卵水温では，クルマエビは生息域よりも極端に高い水温は成熟，産卵に悪影響を及ぼす可能性が示唆されている（水藤 2005）。試験に使用するクルマエビを素掘り池から捕獲した時の水温は，1歳エビでは23～25℃，2歳エビでは19～21℃であったことから，本試験では，採

卵水槽の水温を1歳エビでは25℃，2歳エビでは20℃に設定した。素掘り池では，2歳エビは1歳エビより水温が低い時期（早い時期）に成熟個体の出現が確認された。同様の現象が天然クルマエビでも確認され，早期の成熟エビは大きく，時期が遅くなるに従って小型化する傾向にあることから(今井1986；水藤 1995)，年による成熟個体出現時期の違いはクルマエビの年齢が要因の一つであると推察される。

第2節　産卵コントロール方法による実証採卵試験

本章では，親エビの成熟を一旦抑制し，必要尾数を確保した時点で，これら個体を同調的に産卵させる技術（産卵コントロール技術）について検討した。第4章第1節において，低水温処理に適した水温と眼柄処理の時期を明らかにした。本節では，低水温処理と眼柄処理を組み合わせた模擬採卵試験を行い，開発した産卵コントロール技術の実用化の可能性について検討した。

材料と方法

試験には，養成クルマエビ由来の稚エビを素掘り池で飼育した2歳エビ（平均体長176±4.9 mm）52尾を使用した。これらのクルマエビは2002年5月17日～6月1日の間に素掘り池から捕獲したものであり，捕獲日および供試尾数は，5月17日（12尾），5月22日（10尾），5月25日（10尾），5月27日（6尾），5月29日（7尾）および6月1日（7尾）であった。クルマエビ捕獲時の素掘り池の水温は19.7～21.8℃であった。捕獲後の成熟個体の選別と眼柄処理の方法は試験1，2に準じた。眼柄処理後，5～7尾ずつ小割網に収容し，水温15℃の低水温処理を行い，6月1日（最初のクルマエビを捕獲してから14日目）に水温20℃の採卵水槽に収容した。捕獲日ごとの低水温処理期間により，低水温処理14日区，10日区，7日区，5日区，3日区および0日区の6試験区を設定し，採卵水槽に収容した後，各区の産卵数と産卵尾数を調査した。

結　果

第4章第1節で得られた結果をもとに，成熟に達した親エビを低水温水槽（15℃）にストックし，必要尾数を確保してからまとめて産卵させた模擬採卵試験の結果をFig. 28に示す。この試験では，最長14日間の低水温処理を行ったが，いずれの処理期間でも産卵が確認され，産卵個体率は76.9%（52尾中40尾），総採卵数は914万粒，1尾あたりの採卵数は22.8万／尾であった。産卵期間は採卵水槽収容後2～8日とばらついたが，大部分は3～5日目に集中的に産卵し，この期間の採卵数は総採卵数の90%を占めた。模擬採卵試験の結果から，異なる日に捕獲した成熟エビを一旦低水温処理し，必要数を確保した後に採卵水槽へ移すことで，ほぼ同調的に採卵可能であることが示された。

考　察

成熟したクルマエビは，産卵しなければ数日以内に卵巣卵が崩壊するため（今ら1982)，親エビを長期間ストックすることは困難であるとされていたが，成熟した親エビを15℃以下の低水温下に置くことで，卵巣卵の退行を防止し，最長14日間，産卵を抑制可能であることが示された。これにより，眼柄処理と低水温処理を組み合わせた産卵コントロール方法は，クルマエビの産卵を同調させる技術として有効であることが証明された。また，この産卵コントロール技術を利用すると採卵用の親エビをストックし，受精卵を必要とする日に採卵できるため，クルマエビの計画的な種苗生産が可能になると考えられる。

第5章　総合考察

親クルマエビの養成で最も重要なことは，ウイルスに感染していない健全な親エビを量的かつ安定的に供給することである。また，種苗生産の安定化のためには，必要な数の幼生を決められた期日に供給する技術も必要である。本研究では，これらの技術開発に関する調査研究に取り組み，屋外の半開放的な素掘り池を利用して親クルマエビを大量に養成する技術，さらに，得られた親エビの産卵をコントロールすることで，計画的に幼生を供給する技術を開発した。

ウイルスに感染していない親エビを養成するためには，PRDVの水平感染と垂直感染をを遮断するような対策を講ずることが重要である。垂直感染の防除として，種苗生産過程でウイルスを保有していない親エビから採卵し，さらに，ヨード剤を用いた卵の消毒を行うことが有効である（虫明ら1998；佐藤ら1999)。素掘り池でのウイルスの水平感染の防止では，素掘り池に生息する生物がウイルスを保有していないことを確認するとともに，クルマエビのストレスを軽減するために，稚エビの収容密度を低くし，十分量の給餌を行うこと，残餌量の低減や死亡個体の除去により底質環境を良好に保つことが重要である（第2章第4節)。

西日本のクルマエビの種苗生産機関では，親エビの

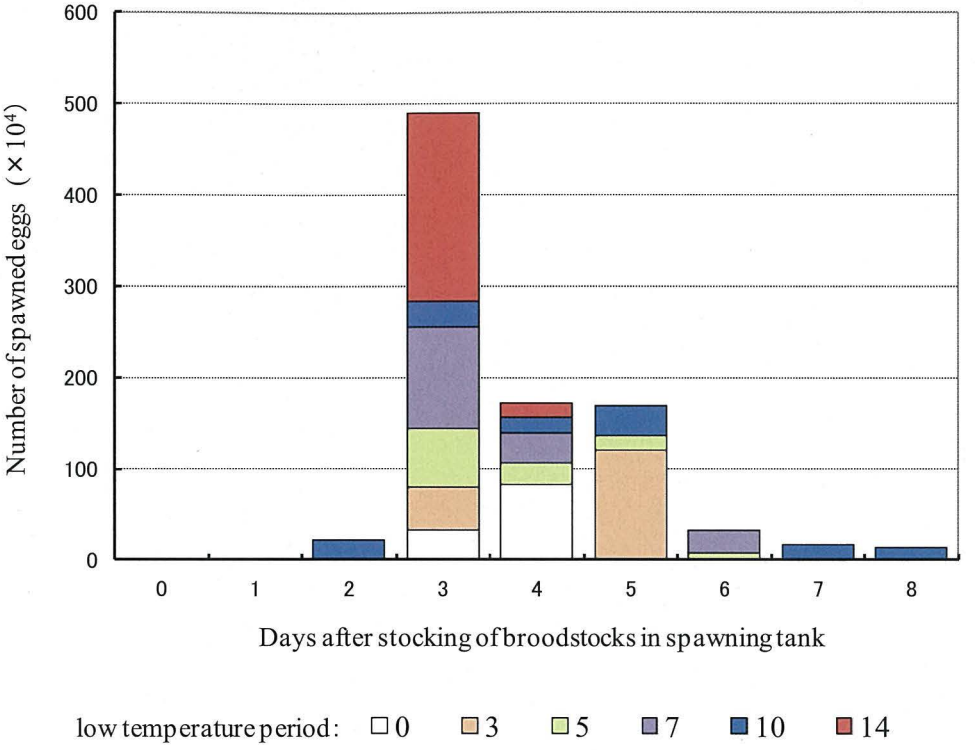


Fig. 28. Relationship between days after stocking of broodstocks in spawning tanks and number of spawned eggs from the broodstocks reared at low temperature during various periods before stocking.

入手と採卵は4～6月に実施している。養成したクルマエビを採卵に使用するためには，この時期までに成熟可能なサイズに達していなければならない。今回行った6例の養成試験のうち5例で，1歳エビは5月に体長152～160 mm，体重38～53 gとなり，成熟卵巣卵を持つ雌の最小型とされている130 mm（Minagawa et al. 2000）以上に達したことから，産卵用親エビとして十分利用可能であると判断された。素掘り池でのクルマエビの成長は，12月～翌年3月の間に停滞するので，当歳のうちに成熟可能なサイズに育成しなければならない。そのためには，稚エビ（体長30～50 mm）の素掘り池への収容を7月までに実施すれば，年内に成熟可能なサイズに達すると期待できる。素掘り池で親エビを養成するための餌は，市販の配合飼料で十分であるり，給餌量の目安は，15℃では体重の2～3 %，20℃以上では5～6 %が適当な値であると推察される。ただし，養成初期においては，この給餌率では単位面積あたりの給餌量が少なく稚エビに充分に行き渡らないため，20～30 %が適量である。また，冬期の無給餌期間の前には水温15℃以下の時期でも2～3 %量を給餌し，越冬前に十分に摂餌させておくことも重要である。毎日の給餌は，コドラート法による現存尾数の推定値から給餌量を決定し，残餌量を確認しながら翌日の量を調整することが現実的な方法である（第2章第2節）。

素掘り池でクルマエビを養成すると，1歳時では5月から，2歳時では4月から成熟個体が出現する。成熟個体からの採卵では，生検法により卵巣卵に表層胞が確認された前成熟期または成熟期の個体のみを使用すると，採卵水槽収容の1～2日目に高い確率で産卵するが，卵巣卵に表層胞を有する個体の割合は低く，これらの個体のみで，常に十分な量の受精卵が確保できるとは限らない。成熟個体の大部分は卵巣卵が卵黄球期の状態であり，これらの個体に眼柄処理を施すと，高い確率で，処理3～5日目に産卵することが明らかとなった。眼柄処理の方法は切除法より結紮法が処理後の生残率が高い（崎山ら2009）（第2章第3節）。

採卵用の親エビはカゴ網を用いて捕獲されるが，成熟状態は個体により異なり，採卵に適した個体を選別しなければならない。この方法として，最も簡易な方法は目視による成熟度のランク分けであるが，評価基準が数値化されていないため，観察者によって評価が

異なることがある。そこで本研究では，親エビにストレスを極力与えず迅速に，客観的に成熟度を評価する方法として卵影比の測定を提案し，この値が40%以上の個体であれば8割以上の確率で産卵することを示した。卵影比を利用した成熟度評価を行うことにより，眼柄処理により産卵する個体を確実に選別することが可能になるばかりでなく，養成期間中の親エビの成熟状態の変化や，採卵に使用した親エビの成熟度を定量的に把握することができる。ところが，採卵用の親エビは捕獲や輸送の取り扱いにより衰弱した個体が含まれている可能性があり，これらの個体は産卵に寄与しないだけではなく，ウイルス等の病原体が体内で増殖していることも想定される。捕獲後，陸上水槽に収容した時点で，活力が低下した個体と摂餌が不活発な個体を速やかに除去することが重要である（第3章第1～3節）。

上記の方法により，産卵する親エビの割合を高めることができるようになった。しかし，クルマエビは幼生期の共食いが激しいので，種苗生産に使用する幼生は同じ日に生まれたサイズの揃ったものでなければならない。そこで，採卵に必要な数の親エビを十分に集めてから，生産開始日に合わせて同時に産卵させる方法として，低水温処理による産卵コントロール技術を開発した。従来，成熟したクルマエビは産卵しなければ数日以内に卵巣卵が崩壊するため（今ら1982），親エビを長期間ストックすることは困難であると考えられたが，本研究により，成熟した親エビを15℃以下の低水温下に置くことで，最長14日間，産卵の抑制が可能であることが示された。この技術により，捕獲した採卵用の親エビを低水温（15℃）下でストックし，採卵予定の3日前に採卵水槽に収容することで，予定した期日に親エビを同調的に産卵させることが可能となった。本研究で開発した産卵コントロール技術を種苗生産の現場で利用する場合，以下の使用方法が考えられる。採卵用に確保した親エビの中で，卵巣卵に表層胞が確認された個体は無処理で産卵する確率が高いので，一旦，採卵水槽に収容し産卵させ，1回目の種苗生産に使用する。その後，産卵しなかった個体に眼柄処理を施し，次の親エビ群が確保されるまで低水温化で産卵を抑制する。産卵コントロールした親エビの産卵は水槽収容3日目から始まるので，次の親エビ群を確保する3日前に採卵水槽に収容し，2群を同時に産卵させ，2回目の種苗生産に使用する。このような方法により，未産卵個体を有効に利用することができる。また，3月～4月は卵巣卵に表層胞が確認される個体は少ないことが予想されるので，確保した全ての親エビに眼柄処理を施し，種苗生産の用意が整うまでの期間，産卵抑制を行った後，採卵水槽に移槽し，産卵させることも可能である。（第4章第1，2節）。

本研究により，素掘り池を利用した親クルマエビの養成と，種苗生産の現場で利用可能な産卵コントロール技術が開発されたが，いくつかの問題点が残されている。素掘り池を利用した親エビの養成において，成長と成熟を制御する主な要因として水温と餌料が挙げられる。養成池内でのクルマエビの成長には，外気温に影響される水温が最も大きな作用要因であると考えられる。特に冬期の10℃以下の低水温は成長を3ヶ月間停滞させ，また，夏期の29℃以上の高水温も成長に悪影響を及ぼす（八柳・宇都宮 1976）ことが知られており，素掘り池は必ずしもクルマエビの成長に良い環境であるとはいえない。このため，水温が高くなる前に1歳の成熟個体を得るには，成長が停滞する0歳の12月までに成熟可能な大きさに成長させておくことが重要である。

養成池内では，ゴカイなどの多毛類や小型甲殻類等のベントスが自然増殖している（足立ら2003）。ベントスはクルマエビの成長や成熟に有効な餌料であり（八柳・宇都宮 1976；Naessens et al. 1997），これらが補助的な餌となることで配合飼料の単独給餌による養成が可能であったと考えられる。しかし，養成池内に出現するベントスの種類と量は季節や年により大きく変動することから（足立ら 2002；崎山ら2005），年によってクルマエビの成長や成熟個体出現率が異なる原因となっている可能性も考えられる。今後，素掘り池を利用した親エビ養成では，池内のベントスの発生状況を把握すると共に，積極的にこれらを定着，増殖させ餌料として利用する試みも必要である。

本研究では，クルマエビの産卵誘発方法として眼柄処理法を利用したが，活力の低下した個体に処理を行うと死亡率が上昇し，採卵できたとしても卵質の劣化が危惧されている。近年，分子生物学的手法を利用して，クルマエビの卵成熟に伴い発現する遺伝子の存在が明らかにされ（Tsutsui et al. 2002；Jasmani et al. 2002；Qui and Yamano 2005），産卵直前の卵巣卵に出現する表層胞の構成成分に関する研究が進められている（Kim et al. 2004, 2005）。今後，親エビへの負荷の大きい眼柄処理法に代わる新たな催熟技術の開発が期待される。

謝　辞

本研究を取り纏める契機を頂き，終始懇切なる御指導，御鞭撻を賜りました長崎大学大学院生産科学研究科の萩原篤志教授に謹んで感謝の意を表します。また，

本論文の御校閲に労を取られた長崎大学水産学部環東シナ海海洋環境資源研究センターの征矢野清教授，海洋生物機能科学講座金井欣也教授，海洋資源動態科学講座阪倉良孝教授に厚くお礼申しあげます。

本研究を遂行する上で多大なご指導とご鞭撻，貴重なご助言を賜るとともに，共同研究成果の一部使用を快諾頂いた福井県立大学生物資源学部の田原大輔博士，(財)愛知県水産業振興基金の水藤勝喜博士，独立行政法人水産総合研究センター増養殖研究所の奥村卓二博士，山野恵祐博士，水産工学研究所の伏屋玲子博士に深く感謝いたします。本研究に関する論文の作成では独立行政法人国際農林水産業研究センター水産領域の森岡伸介博士に御指導とアドバイスを頂きました。心より感謝申し上げます。

本研究を遂行するに当たり，(社)日本栽培漁業協会の役職員の方々をはじめ百島事業場および百島栽培漁業センターの歴代の場長，職員の皆様のご協力と暖かい励ましを頂いた。特に，宮島義和技術員からは貴重なデータを快く提供していただき，また，高橋庸一場長からは試験計画の立案から論文の作成まで終始懇切丁寧な御指導をいただき，厚くお礼申しあげます。

本研究の遂行と取り纏めはもとより，数々の業務においても御配慮と御鞭撻を頂いた，独立行政法人水産総合研究センター瀬戸内海区水産研究所栽培資源部の丸山敬悟部長，岩本明雄部長，與世田兼三部長，海産無脊椎動物研究センター関谷幸生センター長に深くお礼申しあげます。また，海産無脊椎動物研究センターの職員の皆様には様々なご配慮と暖かい励ましをいただいた。これらのご厚情に対し心よりお礼申し上げます。

引用文献

足立純一 (2002) 資源添加技術開発の概要, 模擬放流. 平成11年度
日本栽培漁業協会事業年報，328-333.

Chou, H. Y., C. Y. Huang, C. H. Wang, H. C. Chiang and C. F.

Fudinaga, M (1942) Reproduction, development and rearing of *Penaeusjaponicus* Bate. Jap. J. Zool. **10**, 305-393.

藤田信一 (1986) クルマエビ種苗生産に使用される親エビについて. 栽培技研，**15**，19-25.

伏屋玲子・佐野元彦・清水弘文・玉城泉也・林原毅・加藤雅也 (2006) 人工催熟によるクルマエビの再生産形質について. *Bull. Fish. Res. Agen., Supplement*, **5**，15-20.

八柳健郎・宇都宮正 (1976) クルマエビ養殖池に出現する餌生物について. 栽培技研，**5**，11-16.

Huberman, A (2000) Shrimp endocrinology. *A review, Aquaculture*, **191**, 191-208.

今井利為 (1986) 東京湾クルマエビの研究－Ⅰ 産卵期・生物学的最小型. 神水試研報，**7**，1-4.

Inouye, K., K. Yamano, N. Ikeda, T. Kimura, H. Nakano, K. Momoyama, J. Kobayashi and S. Miyajima (1996) The penaeid rod-shaped DNA virus (PRDV), which causes penaeid acute viremia (PAV). *Fish Pathol.*, **31**, 39-45.

Jasmani S., I.Kawazoe, N.Tsutsui, T.Ohira, K.Aida, andM. N. Wilder (2002) Identification of vitellogenin synthetic site in the kuruma prawn Penaeus japonicus. *Fish. Sci.*, **68**, supplement I, 975-976.

門脇秀策 (1993) 透明度から見た養殖クルマエビの成長. 水産増殖，**41**，61-65.

金澤昭夫・島谷周・川崎満康・柏田研一 (1970) Nutritional requirements of prawn-I. Feeding on artificial diet. 日水誌，**36(9)**，949-954.

加治俊二・今泉圭之輔 (2003) 日本栽培漁業協会志布志事業場での取り組みの変遷. クルマエビ種苗生産技術，栽培漁業シリーズ No.9，日本栽培漁業協会，東京，pp.1-58.

Kim, Y. K., I. Kawazoe, N. Tsutsui, S. Jasmani, Wilder M. N., and K. Aida (2004) Isolation and cDNA cloning of ovarian cortical rod protein in kuruma prawn *Marsupenaeus japonicus* (Crustacea: Decapoda: Penaeidae). *Zool. Sci.*, **21**,1109-1119.

Kim, Y. K., N. Tsutsui, I. Kawazoe, T. Okumura, T. Kaneko, and K. Aida (2005) Localization and developmental expression of mRNA for corticalrod protein (CRP) and vitellogenin (Vg) in kuruma prawn *Marsupenaeus japonicus*. *Zool. Sci.*, **22**, 675-680.

木村武志・山野恵祐・中野平二・桃山和夫・平岡三登里・井上 潔 (1996)：PCR 法による PRDV の検出. 魚病研究，**31**，93-98.

橘高二郎 (1971) クルマエビの養殖技術. 浅海完全養殖 (今井丈夫編)，恒星社厚生閣，東京，pp. 358-422.

今 攸 (1982) クルマエビ種苗生産に供する親エビの卵巣成熟状況について. 栽培技研，**11**，15-19.

Koshio, S., A.Kanazawa, S.Teshima and J.D.Castell (1989) Nutritional evaluation of crab protein for larval Penaeus japonicus fed microparticulate

deits. *Aquaculture*, **81** (2), 145-154.

Lightner, D. V. (1996) A handbook of pathology and diagnotic procedures for diseases of penaeid shrimp. *Special publication of the World Aquacult. Soc.*, Barton Rounge, LA, (sections 1-7).

Lo,C.F. (1995) Pathogenicity of a baculovirus infection causing white spot syndrome in cultured penaeid shrimp in Taiwan. *Dis. Aquat. Org.*, **23**, 165-173.

Lo,C.F., J.H.Leu, C.H.Ho, C.H.Chen, S.E.Peng, Y.T.Chen,C.M.Chou,P. Y.Yeh, C.J.Huang, H.Y.Chou, C.H.Wang and G.H.Kou (1996a) Detection of baculovirus associated with white spot syndrome (WSBV) in penaeid shrimps using polymerase chain reaction. *Dis. Aquat. Org.*, **25**, 133-141.

Lo,C.F., C.H.Ho, S.E.Peng, C.H.Chen, H.C.Hsu, Y.L.Chiu, C.F.Chang, K.F.Liu, M.S.Su, C.H.Wang and G.H.Kou (1996b) White spot syndrome baculovirus (WSBV) detected in cultured and captured shrimp, crabs and other arthropods. *Dis. Aquat. Org.*, **27**, 215-225.

Luis, O. J. and A. C. Ponte (1993) Control of reproduction of the shrimp *Penaeus kerathurus* held in captivity. *J. World Aquacult. Soc.*, **24**, 31-39.

Marco,H.G., J.C.Avarre, E.Lubzens and G.Gade. (2002) In search of a Vitellogenesis-inhibiting hormone from the eyestalks of the South African spiny lobster, *Jasus lalandii. Invertebrate Reproduction and Development*, **41**, 143-150.

松永　繁（1978）Aクルマエビ．Ⅲ 事業の内容とその経過，栽培漁業技術開発の歩み，瀬戸内海栽培漁業協会，26-41.

Minagawa, M., S. Yasumoto, T. Ariyoshi, T. Uemoto, T. Ueda, (2000) Interannual seasonal, local and body size variations in reproduction of the prawn *Penaeus* (*Marsupenaeus*) *japonicus* (Crustacea: Decapoda: Penaeidae) in the Ariake Sea and Tachibana Bay, Japan. *Mar. Biolo.*, **136**, 223-231.

宮島義和・松本　淳（1996）人工養成クルマエビを用いた生検法による採卵用親エビの成熟度判別と効率的な採卵方法．栽培技研，**25**，37-40.

虫明敬一・有元　操・佐藤　純・森　広一郎（1998）天然クルマエビ成体からのPRDVの検出．魚病研究，**33**，503-509.

虫明敬一（1998）Ⅱ 採卵．ブリ親魚養成技術開発，栽培漁業シリーズ No. 5，日本栽培漁業協会，東京，pp.19-40.

桃山和夫（1982）クルマエビの伝染性中腸腺壊死症に関する研究 - 仮診断法．その他魚類および甲殻類の種苗生産過程における魚病問題，魚病研究，**17** (3):227-228.

桃山和夫（1988）クルマエビ種苗生産時に発生するバキュロウイルス性中腸腺壊死症（BMN）の伝染源．魚病研究，23 (2) :105-110.

Naessens, E., P. Lavens., L. Gomez., C.L. Browdy., K. McGovern-Hopkins., A.W. Spencer, and D. Kawahigashi (1997) Maturation performance of *Penaeus Vannameri* co-fed Artemia biomass preparations. *Aquaculture*, **155**, 87-101.

中野平二・渡邊　博・梅沢　敏・桃山和夫・平岡三登里・井上　潔・大迫典久（1994）1993年に西日本で発生した養殖クルマエビの大量死：発生状況および感染実験．魚病研究，**29**，135-139.

日本栽培漁業協会（1982）成体の確保と採卵．昭和56年度日本栽培漁業協会事業年報，7-58.

Peng, B., J. Ren, J .Shen, G. Zhou, H. Gu, Y. Shen, G. Zheng and Z. Ggong (1995) The study on baculovirus-caused disease of prawns (*Penaeus chinensis*) in Shanghai suburb. *Chinese J. Virol.*, **11**, 151-157.

Pervaiz, P. A, S. M. Jhon, M. Sikdar-Bar, H. A. Khan and A. A. Wani (2011) Studies on the effect of unilateral eyestalk ablation in maturation of gonads of a freshwater prawn *Macrobrachium dayanum*. *World Journal of Zoology*, **6**, 159-163.

Rajendran, K. V., K. K. Vijayan, T. C. Santiago and R. M. Krol (1999) Experimental host range and histopathology of white spot syndrome virus (WSSV) infection in shrimp, prawns, crabs and lobsters from India. *J. Fish Dis.*, **22**, 183-191.

崎山一孝・虫明敬一・西岡豊弘（2002）素掘池を利用したPRDVフリー親クルマエビの養成．栽培技研，**29**，79-83.

崎山一孝・宮島義和・足立純一（2003a）素掘池において親養成したクルマエビの成長と生残．栽培技研，**30**，7-13.

崎山一孝・宮島義和・足立純一（2003b）素掘池で養成したクルマエビの成熟と産卵．栽培技研，**30**，49-53.

崎山一孝・浜田和久・虫明敬一（2003）ブリ産卵親魚

の血液性状検査とふ化仔魚の耐性分分析に基づく健全性評価について．栽培漁業センター技報, 1, 27-31.

崎山一孝・清水大輔・田原大輔（2013）卵影比によるクルマエビの成熟度評価．水産増殖，印刷中.

Santiago, A. C. (1977) Successful spawning of cultured *Penaeus monodon* Fabricius after eyestalk ablation. *Aquaculture*, **11**, 185-196.

佐藤　純・虫明敬一・森広一郎・有元　操・今泉圭之輔・西澤豊彦・室賀清邦（1999）クルマエビの種苗生産過程におけるPAVの発生状況．魚病研究, **34**, 33-38.

茂野邦彦（1969）クルマエビの養殖技術に関する諸問題．水産研究業書，**19**，pp. 1-96.

Soyez,D., Van Deijinen, J. E. and Martin, M. (1987) Isolation and characterization of a vitellogenesis-inhibiting factor from sinus gland of the lobster, *Homarus americanus*. *Jounal of Experimental Zoology*, **244**, 479-484.

水藤勝喜（1995）愛知県一色産クルマエビ種苗生産用親エビについて－Ⅰ，漁獲と供給の現状．栽培技研，**24**，9-17.

水藤勝喜（1996）愛知県一色産クルマエビ種苗生産用親エビについて－Ⅱ産卵の効率化に関する検討．栽培技研，**24**，75-81.

水藤勝喜・荒川哲也・伊藤英之進（1996）生検法（Biopsy法）による種苗生産用親クルマエビの成熟度観察．栽培技研，**25**，27-35.

水藤勝喜（2005）天然の親クルマエビを用いた採卵の効率化に関する研究．学位論文, 東京大学, 東京, 87pp.

田原大輔（2002）クルマエビ(*Penaeus japonicus*）のプロスタグランジン測定系の開発とその生理作用に関する研究．学位論文，北海道大学，北海道，137pp.

Takahashi, Y., T. Itami, M. Maeda, N. Suzuki, J. Kasornchandra, K. Supamattaya, R. Khongpradit, S. Boonyaratpalin, M. Kondo, K. Kawai, R. Kusuda, I. Hirono and T. Aoki (1996) Polymerase chain reaction (PCR) amplification of bacilliform virus (RV-PJ) DNA in *Penaeus japonicus* Bate and systemic ectodermal and mesodermal baculovirus (SEMBV) DNA in *Penaeus monodon* Fabricius. *J. Fish Dis.*, **19**, 399-403.

玉城英信・村越正慶・喜屋武みつる（1998）養殖クルマエビの母エビ養成（甲殻類増養殖試験）．平成8年度沖縄県水産試験場事業報告書，147-154.

Tsutsui, N., I. Kawazoe, T. Ohira, S. Jasmani, W. J. Yang, M. N. Wilder, and K. Aida (2002) Vitellogenin of the kuruma prawn: the deduced primary structure and gene expression. *Fish. Sci.*, **68**, Supplement I, 973-974.

Teshima S., A. Kanazawa and H.Okamoto (1973) Variation in lipid classes during the molting cycle of the prawn, Penaeus japonicus. *Mar. Biol.*, **39(2)** :129-136 .

脇秀策・田中啓陽（1993）透明度から見た養殖クルマエビの成長．水産増殖，**41**，61-65.

Wongteerasupaya, C., J. E. Vickers, S. Sriurairatana, G.L. Nash, A. Akarajamorn, V. Boonsaeng, S. Panyim, A. Tassanakajon (1995) A non-occluded, systemic baculovirus that occurs in cells of ectodermal and mesodermal origin and causes high mortality in the black tiger prawn Penaeus monodon. *Dis. Aquat. Org.*, **21**, 69-77.

Yano, I. (1995) Final oocyte maturation, spawning and mating in penaeid shrimp. j. Exp. Mar. Biol. Ecol. **193**, 113-118.

Yano, I and James A. Wyban (1993) Effect of unilateral eyestalk ablation on spawning and hatching in *Penaeus vannamei*. *Bull. Natl. Res. Inst. Aquaculture*, **22**, 21-25.

矢野　勲（1988）Ⅱ．交尾・産卵．4クルマエビ属．水産学シリーズ，エビ，カニ類の種苗生産，恒星社厚生閣，pp.54-63.