

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

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 公開日: 2025-04-24 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 宮島, 義和, 松本, 淳 メールアドレス: 所属:
URL	https://fra.repo.nii.ac.jp/records/2014463

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



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

宮島義和*・松本 淳*

Maturity Classification Using Biopsy in Pond-reared Broodstock of Kuruma Prawn *Penaeus japonicus* and Efficient Egg Removal

Yoshikazu MIYAJIMA*, and Atsushi MATSUMOTO*

(1996年6月14日受理)

現在、各地におけるクルマエビの種苗生産への卵の供給は天然産成熟雌エビに依存している。このため、種苗生産計画は漁獲される親エビの入手量とその成熟状態に左右される。クルマエビの種苗生産を安定して行うためには、任意の採卵を可能にする親エビ養成技術の確立を急ぐ必要がある。同時に、天然産成熟雌エビに依存している現状では、入手した親エビの有効利用を図ることも重要である。

親エビを有効に利用するためには正確な成熟エビの選別技術と産卵促進技術が必要である。一般に、種苗生産に用いる親エビの選別は、エビの腹面から光をあて、目視により卵巣の形状と色で成熟度を判断して行っている。しかし、洪¹⁾や今²⁾が報告しているように目視による観察で完熟と判断した個体でも卵巣卵を組織学的に観察すると成熟度にバラツキがあることから、目視による判別では成熟度の判別精度が必ずしも十分ではない。矢野³⁾は卵巣卵の成熟度を正確に判別する方法として、注射器により直接卵巣から卵母細胞を採取し、顕微鏡下でその卵形成過程を観察する biopsy 法(生検法)を提唱しているが、この方法による実施事例が少ないために、一般に普及していない。そこで、今回、天然エビに比べて漁獲、蓄養等のハンドリングによるストレスが比較的小さい人工養成親エビを用い、産卵させる親エビについて、個々に、生検法による卵巣卵の成熟段階判定を行い、

この判定結果と、実際の産卵率との関係を調べ、その結果から自然産卵する親エビと、その見込みのないものを選別する基準を見出した。さらに、自然産卵する可能性の低いものについて眼柄処理による産卵促進を検討した。

材料と方法

供試エビ 人工養成1歳クルマエビの雌を面積7,500m²の素掘り池(塩水池)で稚エビから養成した。

産卵試験前日の17時頃に素掘り池にかご網を仕掛け、エビの獲れ具合に応じて22時から24時の間、または翌日9時頃にエビを取り揚げ、水温14~23°Cの0.5m³角型水槽に小割網を設置して収容した。供試エビは、取り揚げたエビの中から産卵試験を実施する当日9時から10時の間に表1に示した基準に基づき目視により卵巣の形状と色で選別した成熟度Aの雌55尾(平均体重±SD, 51.8±7.8g)である。さらに個体識別を行うために左眼柄にゴム製の標識を装着した。

生検法による卵巣卵の採取 供試エビは産卵試験に供する当日の10時から13時の間に、生検法により卵巣卵の観察を行った。卵巣卵の採取にあたっては疾病の感染を防ぐためディスポーザブルの注射器(シリンジ: 3ml, 注射針: 19G×1.1/2''輸血細)を使用した。供試エビの消化

* (社) 日本栽培漁業協会百島分場 (Japan Sea-farming Association Momoshima Station, Momoshima, Onomichi, Hiroshima 722, Japan).

表 1. 従来の目視法による雌の成熟度の判別基準

成熟度	特徴
A	卵巣全体の幅が広く、影が明瞭。 卵巣が第1腹節の部分で菱形に見える。 卵巣は暗緑色。
B	卵巣全体に膨らみがあり、影が明瞭。 卵巣が第1腹節の部分で菱形に見えない。 卵巣は暗緑色。
C	卵巣全体に膨らみがなく、影が不明瞭。 卵巣は黄色から黄褐色。
D	卵巣の影が細い。 卵巣は灰白色から淡黄色。

注1) 卵巣は腹面から光を通して観察した。
注2) AとBを成熟、CとDを未熟とした。

管を傷つけないように、注射針は背面の正中線を外した頭胸甲と第一腹節との間から卵巣の片側の房に針先が卵巣に隠れる程度に挿入した。このとき注射針で心臓を傷つけるのを防ぐため針先を尾の方に向けて斜めに挿入し、シリンジのプランジャーをゆっくり引き揚げ卵巣卵を採取した。うまく卵巣卵が採れない場合は針先をわずかに上下したり、一度針を抜いて再度挿入し直した。卵巣卵は、注射針の基部に入る程度に少量を採取し、スライドガラスに載せた後、卵が崩壊しない程度にカバーガラスで圧迫して光学顕微鏡(100~200倍)で成熟度を観察した。

生検法で成熟度判別を行った親エビの自然産卵試験 産卵用の水槽には0.5 m³の黒色円形パンライト水槽を使用し、遮光とエビの飛び出し防止のため木製の蓋をかぶせた。水槽には水温を25°Cに調温した海水を400 l入れ、生検法により卵巣卵の採取を行った供試エビを1水槽に1尾ずつ収容した。その後、最長3晩まで静置して産卵を待った。産卵後に親エビを取り出し、卵の計数を行った。計数法は、まず飼育水を十分に攪拌し、直径20 mmの塩化ビニール製パイプにボールバルブを取り付けた採水器で採水し、その中の卵数を計数し容積法で産卵数を算出した。卵はパンライトでそのままふ化させた。幼生がふ化した後、卵と同様の方法でふ化幼生数を計数した。

眼柄処理による産卵促進試験 今ら²⁾が3日以内に産卵し難いとしている第3卵黄球期に相当する成熟段階の卵巣卵の雌に対し、Veronica *et al.*⁴⁾が行った眼柄処理法に習って、手術用縫合糸で右の眼柄の中央部を眼柄が千切れない程度に強く結束した。産卵後は自然産卵による採卵に準じて卵数と幼生数を計数した。

結 果

生検法による成熟度の判別 生検法により観察した供試エビの卵巣卵の特徴を今ら²⁾が組織学的観察に基づいて

設定した区分と照らし合わせ、卵巣卵の成熟段階を以下に示したように3つの成熟段階に区分した。なお、卵巣卵を押しつぶして観察したため正確な卵径は不明だが、3つの成熟段階の卵は、ほぼ同じ大きさであった。また、生検法による親エビのへい死はなかった。

1. 第3卵黄球期: 表層胞はみられないが、他は前成熟期と同様(写真1)。
2. 前成熟期: 球形の表層胞が観察される(写真2)。
3. 成熟期: 長楕円形の表層胞が観察される(写真3)。

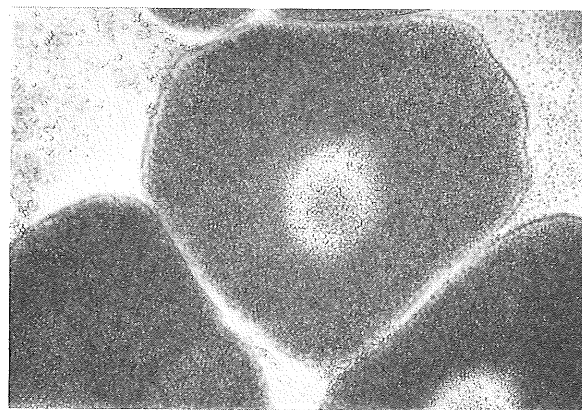


写真 1. 第3卵黄球期の卵巣卵(×200)

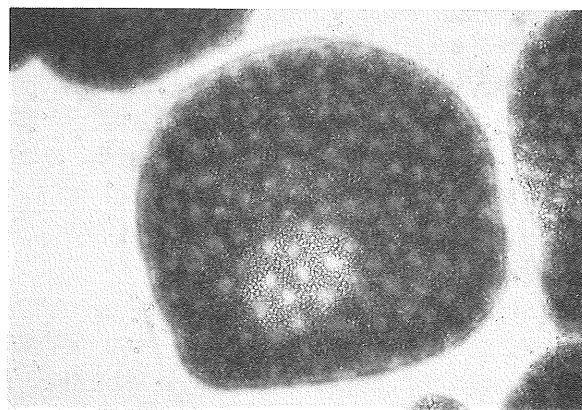


写真 2. 前成熟期の卵巣卵(×200)

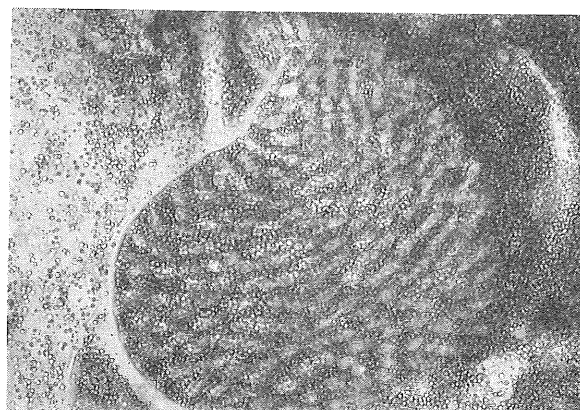


写真 3. 成熟期の卵巣卵(×200)

生検法で成熟度判別を行った親エビの自然産卵試験 生検法で卵巣卵採取を行った親エビを用いて平成7年4月28日から7月8日までの70日間に産卵試験を行った。供試エビについて、卵巣卵の成熟段階別にみると第3卵黄球期は14尾、前成熟期は22尾、成熟期は4尾であった(表2)。各成熟段階の卵巣卵の産卵率は表層胞のみられない第3卵黄球期のものは7.1%であったのに対し、表層胞が観察される前成熟期および成熟期のものはそれぞれ100%、75%で非常に高い結果となった(表3)。前成熟期および成熟期をあわせた産卵率は96.2%で、表層胞が観察される卵巣卵を持つ個体の産卵率が非常に高い値となった。卵巣卵をすべて放出した完全産卵個体が、各成熟段階別の産卵個体に占める割合は、それぞれ第3卵黄球期は産卵個体1尾のみで100%、前成熟期は63.6%、成熟期は66.7%であり、各成熟段階で半数以上が完全産卵した。各成熟段階ともに、産卵水槽に収容されてから産卵までの日数は1日であった。卵巣卵の各成熟段階別の1尾あたりの平均産卵数(±SD)はそれぞれ第3卵黄球期が26.1万粒(n=1)、前成熟期が21.4±10.1万粒(n=22)、成熟期が29.6±8.4万粒(n=3)で各区ともに1尾あたり20万粒以上産卵した。卵巣卵の成熟段階別の平均ふ化率(±SD)はそれぞれ第3卵黄球期が32.2%(n=1)、前成熟期が57.1±36.2%(n=22)、成熟期が78.9±19.2(n=3)で前成熟期のものはバラツキが大きかった。

眼柄処理による産卵促進試験 平成7年5月23日から7月1日までの39日間に卵巣卵の成熟段階が第3卵黄

表2. 自然産卵試験に用いた供試エビと卵巣卵の成熟段階

卵巣卵の成熟段階	体長(mm) 平均±SE (MIN~MAX)	体重(g) 平均±SD (MIN~MAX)	尾数 (尾)
第3卵黄球期	157.6±9.5 (135.5~174.2)	50.1±9.9 (31.3~69.9)	14
前成熟期	159.3±7.5 (148.1~173.3)	52.7±6.7 (42.5~67.6)	22
成熟期	157.7±3.2 (154.4~162.0)	49.7±2.4 (47.5~53.1)	4
	158.6±7.9	51.5±7.7	40

表3. 自然産卵による産卵試験結果

卵巣卵の成熟段階	供試エビ (尾)	産卵エビ (尾)	産卵率 (%)	完全産卵率* (%)	産卵までの 日数	産卵数(万粒) 平均±SD (MIN~MAX)	ふ化率(%) 平均±SD (MIN~MAX)
第3卵黄球期	14	1	7.1	100	1	26.1	32.2
前成熟期	22	22	100.0	63.6	1	21.4±10.1 (0.2~36.7)	57.1±36.2 (0~100)
成熟期	4	3	75.0	66.7	1	29.6±8.4 (19.9~35.3)	78.9±19.2 (56.8~90.4)

* (完全産卵尾数/産卵尾数) × 100.

球期の個体15尾を眼柄処理し産卵試験を行った(表4)。試験結果を表5に示した。産卵率は40%で眼柄処理しない場合に比べて高い値となった。産卵個体に占める完全産卵個体の割合は50.0%で半数が完全産卵した。産卵までの日数は1~4日で自然産卵した個体より産卵までに時間がかかった。1尾あたりの平均産卵数(±SD)は19.3±10.4万粒(n=6)であった。平均ふ化率(±SD)は73.7±18.8%であった。

考 察

目視により成熟度Aの雌エビを判別し、生検法を利用して卵巣卵を直接観察した結果、表層胞の発達段階の異なる3つの段階の卵巣卵がみられた。クルマエビの卵巣卵の成熟段階区分は研究者により異なるが、今回生検法により観察した卵巣卵の表層胞の特徴に基づいて設定した3つの成熟段階を組織学的な卵巣卵の成熟段階区分に当てはめると、表6のようになると考えられる。

今回、目視により選別した成熟個体の卵巣卵を生検法により観察した結果、洪¹⁾や今ら²⁾が報告しているのと同様に、表層胞がみられるまで成熟が進んだものと表層胞の発達していない第3卵黄球期の卵が観察された。この結果、切片を作製し染色を行う従来の方法を用いなくても、生検法により、採卵に供する雌エビを活かしたまま、簡便かつ即座にその成熟度が判定できることが明らかになった。

自然産卵による産卵試験の結果、洪¹⁾や今ら²⁾の報告と同様に、卵巣卵に表層胞のみられる成熟雌は産卵槽に収容した日の夜に産卵したが、一方表層胞の観察されない第3卵黄球期の雌は3日以内には産卵しなかったことから、目視による選別と併せて生検法を利用して卵巣卵の

表4. 眼柄処理産卵試験に用いた供試エビと卵巣卵の成熟段階

卵巣卵の成熟段階	体長(mm) 平均±SD (MIN~MAX)	体重(g) 平均±SD (MIN~MAX)	尾数 (尾)
第3卵黄球期	159.9±8.6 (141.8~172.6)	52.5±8.3 (36.3~66.2)	15

表 5. 眼柄処理による産卵試験結果

卵巣卵の成熟段階	供試エビ (尾)	産卵エビ (尾)	産卵率 (%)	完全産卵率* (%)	産卵までの日数	産卵数 (万粒) 平均±SD (MIN~MAX)	ふ化率 (%) 平均±SD (MIN~MAX)
第3卵黄球期	15	6	40.0	50.0	1~4	19.3±10.4 (5.4~31.4)	73.7±18.8 (47.2~100)

* (完全産卵尾数/産卵尾数) × 100.

表 6. 卵巣卵の成熟段階区分

生検法による成熟段階区分	組織学的な成熟段階区分		
	洪 ¹⁾	矢野 ²⁾	中村 ⁶⁾
第3卵黄球期	卵黄球後期	卵黄顆粒期	卵黄球2期
前成熟期	表層胞前期	前成熟期	卵黄球3期
成熟期	表層胞後期	前成熟期~成熟期	前成熟期~成熟期

表層胞の有無を確認することで、高い精度で3日以内に自然産卵可能な雌を選別できることが示唆された。また、産卵個体の半数以上が完全産卵しており、生検法による産卵への影響は少ないと思われる。生検法によるへい死もなかったことから、生検法は産卵に供する親エビを選別するために卵巣卵の成熟段階を正確に把握できる実用的な手法であると考えられる。

自然産卵では3日以内に産卵しない第3卵黄球期の卵巣卵を持つ雌に手術用の縫合糸を用いて片側の眼柄処理を行った結果、処理しない場合より高い産卵率を得たことや、産卵個体の半数が完全産卵したこと、さらに、へい死もなかったことから、第3卵黄球期の卵巣卵を持つ雌の産卵率を向上させる有効な手法であると考えられる。

以上の結果、親エビの有効利用という見地から、肉眼による成熟度の判別をした上で、生検法により卵巣卵の表層胞の有無を確認して自然産卵可能な雌とそうでない雌とに選別し、前者は自然産卵により採卵し、後者は手術用の縫合糸を用いて眼柄処理を行い成熟度に合わせた採卵方法をとることによって産卵率を向上させることができる。

今回の産卵試験の結果、表層胞が球形に発達した前成熟期の雌がすべて産卵したのに対し、表層胞が長楕円形に発達した成熟期の雌で産卵しない個体がみられた原因として、洪¹⁾が産卵前後の卵巣卵の変化の調査から推察

しているように、23時から5時までの6時間前後で表層胞前期から後期へ移行すると考えるならば、成熟期でありながら産卵しなかった雌の卵巣卵が過熟になっていたことも考えられる。

謝 辞

本稿をまとめるに当たって、平成3年度より生検法を成熟度の判別手法として産卵試験に取り入れ、予備調査をされたほか、ゴンドール浅海水産研究所より眼柄標識を紹介して下さった(社)日本栽培漁業協会の津村誠一技術員ならびに同協会百島分場の山本義久技術員に感謝申し上げます。また、本稿に対し、御助言をいただき、御校閲下さった(社)日本栽培漁業協会本部の菅野 尚常務理事、同古澤 徹参事、ならびに同協会西日本支部の水田洋之介部長に感謝申し上げます。

文 献

- 1) 洪 徳仁(1977) クルマエビの性成熟及び産卵に関する研究. 東京大学農学系研究課水産学専門課程 修士論文.
- 2) 今 俊・安田政一・粕谷芳夫(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.
- 3) 矢野 勲(1988) 交尾・産卵, クルマエビ属. 「エビ・カニ類の種苗生産」(平野礼次郎編), 恒星社厚生閣, 東京, pp. 54-63.
- 4) VERONICA, R. Alava, Akio KANAZAWA, and Shin-ichi TESHIMA (1993) Effect of Dietary L-Ascorbyl-2-phosphate Magnesium on Gonadal Maturation of *Penaeus japonicus*. 日水誌, **59**, 691-696.
- 5) 矢野 勲(1990) クルマエビ類の生態, 生殖及び生産周期の現状. 「世界のエビ類養殖」(Claudio Chavez Justo 編), 緑書房, 東京, pp. 3-21.
- 6) 中村 薫(1989) 甲殻類の成熟, 発生, 成長とその制御. 「水族繁殖学」(隆島史夫/羽生 功編), 緑書房, 東京, pp. 290-323.