

## クルマエビの急性ウイルス血症予防のための小型水槽による効率的採卵方法

|       |                                                                                                     |
|-------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 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: 清水, 健, 照屋, 和久, 大角, 伸一, 有元, 操                                                                   |
|       | メールアドレス:                                                                                            |
| URL   | 所属:                                                                                                 |
|       | <a href="https://fra.repo.nii.ac.jp/records/2014501">https://fra.repo.nii.ac.jp/records/2014501</a> |

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



# クルマエビの急性ウイルス血症予防のための 小型水槽による効率的採卵方法

清水 健\*・照屋和久\*・大角伸一\*・有元 操\*

## Efficient Collection of *Penaeus japonicus* Eggs in Small Tanks for the Control of Penaeid Acute Viremia (PAV)

Ken SHIMIZU, Kazuhisa TERUYA, Shin-ichi OHSUMI,  
and Misao ARIMOTO

2000年7月12日受理

(社)日本栽培漁業協会(以下日裁協)では、平成8年度よりクルマエビ類の急性ウイルス血症 (penaeid acute viremia; PAV) の防除対策に取り組み、PAVの主な感染経路は親クルマエビ(以下親エビ)からの垂直感染であり<sup>1)</sup>、天然親エビの感染率は、漁獲時期や海域により異なるが、夏期は購入親エビの90%以上を占めることもあることを明らかにした<sup>2)</sup>。そして、防除対策としては、親エビから卵へのウイルス感染を防止することが最も重要であると考えられた。それには、産卵親エビを小型水槽に小分けして収容して産卵させ、産卵後の親エビの受精嚢をポリメラーゼ連鎖反応 (polymerase chain reaction; PCR) 法によりウイルス検査を行い、産卵に關与した全ての親エビが陰性である産卵水槽の卵のみを種苗生産に用いることが有効であることが示唆された<sup>3)</sup>。

従来、クルマエビの採卵方法は、親エビを25~150 m<sup>3</sup>の大型水槽に50~400尾を収容し、止水管理下で1~3日間かけて産卵させている。しかし、産卵エビにPAVの原因ウイルス (penaeid rod-shaped DNA virus; PRDV) を保有する個体が存在すると、卵へのウイルス感染が考えられる。

そこで本研究では、PAVの危険分散を図るため、小型水槽による効率的な採卵およびふ化手法について検討し

た。

### 材料および方法

**供試親エビ** 供試した親エビの由来および成熟状況を表1に示した。親エビは、1998年4月20日、6月8日、同16日に大分県下で漁獲されたもので、肉眼観察で卵影が成熟度Aと判定された個体<sup>11)</sup>を購入した。供試親エビの平均体重は73.6~116.7 gであり、産卵のための成熟度の指標となる表層胞を有する個体<sup>4, 5, 10, 11)</sup>は、購入エビ中11.8~63.6%であった。

親エビの輸送には、スチロール箱(10 l容量; 35×27×深さ21 cm)を用い、それぞれの箱に10~15尾の親エビを収容し、水温14~18℃下で、集積地から約1~3時間かけて日裁協上浦事業場に輸送した。これらの親エビのうち4月20日の購入エビは収容密度の試験(試験1)に、6月8日と同16日の購入エビは産卵水槽での通気、換水条件の試験(試験2, 3)、ふ化試験(試験4)に用いた。

**産卵水槽での親エビの収容密度(試験1)** 小型水槽での親エビの適正収容密度を検討するため、親エビ5, 10, 15, 20尾ずつを0.5 m<sup>3</sup>水槽(黒色ポリエチレンタンク; 底面

\* (社)日本栽培漁業協会上浦事業場 〒879-2602 大分県南海部郡上浦町津井浦 (Japan Sea-Farming Association, Kamiura-Station, Kamiura, Oita, 879-2602, Japan).

直径 97 cm×水深 65 cm) に収容する区を各々 3 水槽設けた。試験は無換水で通気のみ (6 l/分) を施し、水温 22.0℃ 下で 1 日間産卵させ、産卵数、産卵個体、受精率およびふ化率を調査した。なお、ふ化までの卵管理は産卵後に卵を回収し、200 l ふ化槽 (逆円錐型、透明ポリカーボネートタンク; 底面直径 64 cm×水深 66 cm) で通気条件下 (1.8 l/分) で行った。

**産卵水槽での通気と換水 (試験 2, 3)** 産卵水槽には 0.5 m<sup>3</sup> 水槽 (試験 1 と同じ) を用い、通気および換水の有無による産卵状況を 2 回の試験で調査した。すなわち、0.5 m<sup>3</sup> 水槽に親エビを 15 尾ずつ収容し、通気区 2 区 (6.0 および 3.0 l/分)、換水区 (5.0 l/分) および通気 (3.0 l/分) と換水 (2.5 l/分) の併用区の合計 4 区を設け、各水槽ごとの採卵成績を比較した。産卵水温は全ての試験区で自然水温 (21.5~22.7℃) とした。また、卵管理は試験 1 と同様に行った。

また、2 回目の試験 (試験 3) では産卵後の飼育水の水質を調査した。水質は、溶存酸素、pH、NH<sub>3</sub>-N、NO<sub>2</sub>-N、NO<sub>3</sub>-N、S<sup>2-</sup> を測定した。三態窒素及び S<sup>2-</sup> の測定は比色法で、多項目迅速水質分析計 (OR2010 型、HACH 社製; 米国) を用い、NH<sub>3</sub>-N はサリチル酸法、NO<sub>2</sub>-N はジアゾ化法、NO<sub>3</sub>-N はカドミウム還元法、S<sup>2-</sup> はメチレンブルー法により測定した。

**ふ化水槽における通気と換水 (試験 4)** 小型産卵水槽で得られた卵のふ化率の向上を目的に、試験 2 と 3 で得られた卵の一部を使用し、同じ産卵条件下で産卵させた卵を二等分して、ふ化管理における通気と換水の影響につ

いて比較試験した。

試験には 200 l ふ化槽 (試験 1 と同規格水槽) を使用し、1.8 l/分の通気区、通気 (1.8 l/分) と換水 (0.6 l/分) を併用する区を設け、自然水温下 (21.4~22.1℃) でふ化させ、ふ化率を算出した。

## 結 果

**親エビの収容密度 (試験 1)** 親エビの収容尾数別の採卵試験の結果を表 2 に示した。産卵率は、15 尾、20 尾区が 40% 以上と高く、産卵エビ 1 尾当たりの採卵数では 15 尾区が 26.8 万粒と最も多く、逆に 20 尾区では 11.7 万粒と少なかった。受精率は 42.7~52.3% といずれの試験区でも低く、ふ化率も 50% 以下と低かった。いずれの産卵水槽でも、量は異なるが産卵後に水槽壁に赤褐色の粘液様物質が認められた (写真 1)。

**通気と換水条件 (試験 2, 3)** 2 回の産卵試験結果を表 3 および 4 に示した。試験 2 の親エビの産卵率は、換水のための 3 区で最も高い 46.7% となり、親エビ 1 尾当たりの産卵数でも 47.5 万粒を得た。また、受精率は産卵が見られた全ての試験区で 95% 以上と高い値を示した。

一方、試験 3 では、産卵率は逆に通気のみを行った 1 及び 2 区で高く、1 尾当たりの産卵数も多くなる傾向を示した。しかし、受精率は換水を行った 3 区で 92.9%、換水と通気を併用した 4 区で 81.8% であったのに対し、通気のための 1 および 2 区ではそれぞれ 38.3% および 29.8% と著しく低かった。また、上記試験で得られた卵

表 1. 試験に供試した親エビと成熟状況

| 試験番号 | 親エビ購入                |          | 平均体重<br>(g)           | 試験供試尾数<br>(尾) | 表層胞を有する率 <sup>1)</sup><br>(%) |
|------|----------------------|----------|-----------------------|---------------|-------------------------------|
|      | 場 所                  | 月 日      |                       |               |                               |
| 1    | 大分県鶴見町               | H10・4・20 | 116.7<br>(94.2~130.0) | 150           | 11.8                          |
| 2, 4 | 大分県鶴見町               | H10・6・8  | 81.4<br>(62.4~96.8)   | 60            | 53.8                          |
| 3, 4 | 大分県別府市 <sup>2)</sup> | H10・6・16 | 73.6<br>(61.9~88.7)   | 60            | 63.6                          |

<sup>1)</sup>: 生検法で判定した表層胞を有する前成熟期以上の個体の割合<sup>1)</sup>。

<sup>2)</sup>: 親エビの約 20% は衰弱状態を呈していた。

表 2. 親エビ収容尾数と産卵結果

| 収容<br>尾数<br>(尾) | 水 槽                     |    | 親エビ<br>収容密度<br>(尾/m <sup>3</sup> ) | 産卵数 <sup>1)</sup><br>(万粒) | 産 卵 個 体                   |                           |                          | 雌 1 尾当<br>たりの採卵数 <sup>4)</sup><br>(万粒) | 受精率<br>(%) | ふ化率<br>(%) |
|-----------------|-------------------------|----|------------------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|--------------------------|----------------------------------------|------------|------------|
|                 | 容量<br>(m <sup>3</sup> ) | 個数 |                                    |                           | 完全産卵 <sup>2)</sup><br>(尾) | 部分産卵 <sup>2)</sup><br>(尾) | 産卵率 <sup>3)</sup><br>(%) |                                        |            |            |
| 5               | 0.5                     | 3  | 10.0                               | 47 (0~30)                 | 2                         | 2                         | 26.7                     | 11.8                                   | 44.3       | 31.9       |
| 10              | 0.5                     | 3  | 20.0                               | 157 (17~114)              | 6                         | 2                         | 26.7                     | 19.6                                   | 48.7       | 27.8       |
| 15              | 0.5                     | 3  | 30.0                               | 483 (17~324)              | 11                        | 7                         | 40.0                     | 26.8                                   | 52.3       | 41.5       |
| 20              | 0.5                     | 3  | 40.0                               | 304 (52~140)              | 14                        | 12                        | 43.3                     | 11.7                                   | 42.7       | 26.5       |

<sup>1)</sup>: 産卵数は 3 水槽の合計と範囲。

<sup>2)</sup>: 産卵後の親エビの卵影観察より、卵巣卵が消失した個体を完全産卵、卵巣卵の一部が存在する個体を部分産卵とした。

<sup>3)</sup>: 産卵率 (%) = {(完全産卵個体数) + (部分産卵個体数)} ÷ 産卵供試尾数 × 100。

<sup>4)</sup>: 雌 1 尾当たり採卵数 = 採卵数 ÷ {(完全産卵個体数) + (部分産卵個体数)}。

表 3. 異なる通気・換水条件下での産卵試験結果 (試験 2)

| 産卵条件と調査項目       | 試 験 区 No. |     |      |      |
|-----------------|-----------|-----|------|------|
|                 | 1         | 2   | 3    | 4    |
| 通気 (l/分)        | 6.0       | 3.0 | 0    | 3.0  |
| 換水 (l/分)        | 0         | 0   | 5.0  | 2.5  |
| 産卵供試尾数 (尾)      | 15        | 15  | 15   | 15   |
| 完全産卵個体 (尾)      | 3         | 0   | 7    | 5    |
| 部分産卵個体 (尾)      | 2         | 0   | 1    | 3    |
| 未産卵個体 (尾)       | 7         | 10  | 3    | 5    |
| 死亡個体 (尾)        | 3         | 5   | 4    | 2    |
| 産卵率*1 (%)       | 20.0      | 0   | 46.7 | 33.3 |
| 粘液様物質           | 有         | —   | 無    | 有    |
| 採卵数 (万粒)        | 130       | 0   | 380  | 250  |
| 1尾当たり産卵数*2 (万粒) | 26.0      | 0   | 47.5 | 31.3 |
| 採卵数/完全個体 (万粒)   | 43.3      | 0   | 54.3 | 50.0 |
| 受精率 (%)         | 96.2      | —   | 100  | 98.0 |

\*1): 産卵率 = {(完全産卵個体数) + (部分産卵個体数)} ÷ [産卵供試尾数] × 100 (%).

\*2): 1尾当たり採卵数 = 採卵数 ÷ {(完全産卵個体数) + (部分産卵個体数)}.

表 4. 異なる通気・換水条件下での産卵試験結果 (試験 3)

| 産卵条件と調査項目       | 試 験 区 No. |      |      |      |
|-----------------|-----------|------|------|------|
|                 | 1         | 2    | 3    | 4    |
| 通気 (l/分)        | 6.0       | 3.0  | 0    | 3.0  |
| 換水 (l/分)        | 0         | 0    | 5.0  | 2.5  |
| 産卵供試尾数 (尾)      | 15        | 15   | 15   | 15   |
| 完全産卵個体 (尾)      | 3         | 4    | 2    | 2    |
| 部分産卵個体 (尾)      | 2         | 5    | 4    | 4    |
| 未産卵個体 (尾)       | 10        | 6    | 9    | 9    |
| 死亡個体 (尾)        | 0         | 0    | 0    | 0    |
| 産卵率*1 (%)       | 20.0      | 26.7 | 13.3 | 13.3 |
| 粘液様物質           | 有         | 有    | 無    | 有    |
| 採卵数 (万粒)        | 156       | 119  | 61   | 31   |
| 1尾当たり産卵数*2 (万粒) | 31.2      | 13.2 | 10.2 | 5.2  |
| 採卵数/完全個体        | 52.0      | 29.8 | 30.5 | 15.5 |
| 受精率 (%)         | 38.3      | 29.8 | 92.9 | 81.8 |

\*1): 産卵率 = {(完全産卵個体数) + (部分産卵個体数)} ÷ [産卵供試尾数] × 100 (%).

\*2): 1尾当たり採卵数 = 採卵数 ÷ {(完全産卵個体数) + (部分産卵個体数)}.

表 5. ふ化水槽における通気・換水条件とふ化率 (試験 4)

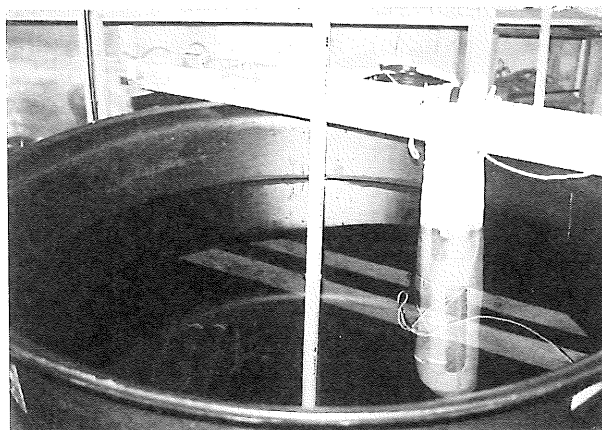
| ふ化条件        |             | 試 験<br>例 数 | 供試卵数<br>(万粒) | ふ 化 率<br>(%)     |
|-------------|-------------|------------|--------------|------------------|
| 通気<br>(l/分) | 換水<br>(l/分) |            |              |                  |
| 3.0         | 0           | 3          | 30.5~171.0   | 67.0 (17.7~85.0) |
| 3.0         | 5.0         | 3          | "            | 72.8 (36.6~87.5) |

のふ化率を図 1 に示した。産卵時に換水を行わなかった試験区では、ふ化率は 17.7~25.5% であったが、換水を行った試験区のふ化率は 66.8~87.5% と高い値を示した。

なお、試験 2, 3 とも、通気のための 1, 2 区および通気と



通 気 区



換 水 区

写真 1. 異なる通気・換水条件下での産卵試験の産卵水槽

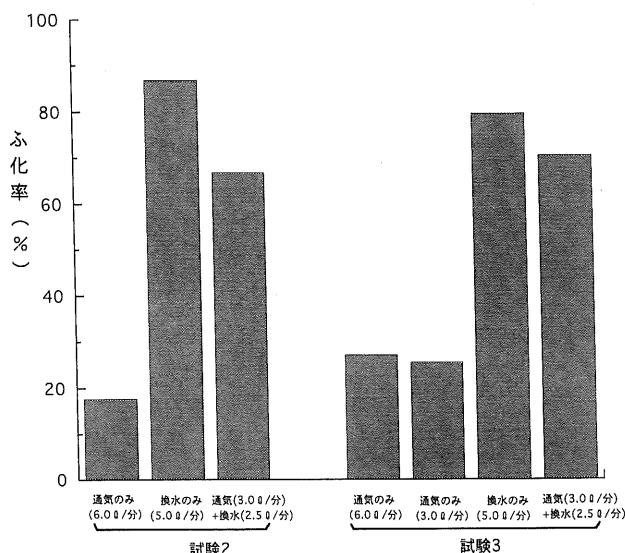


図 1. 異なる通気・換水条件下での産卵試験後のふ化率

換水の併用の 4 区では、粘液様物質が認められた。しかし、換水のための 3 区では全く見られなかった (写真 1)。通気と換水によるふ化試験 (試験 4) ふ化試験の結果を表 5 に示した。3 回の試験を行い、通気および通気と換水条件下でふ化させたが、いずれの条件でもふ化率に大きな差は認められなかった。

表 6. 異なる通気・換水条件下での産卵試験における産卵後の水質（試験 3）

| 試験区<br>No. | 産卵条件        |             | 産卵後の飼育水の水質   |      |                              |                              |                              |                           |
|------------|-------------|-------------|--------------|------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|---------------------------|
|            | 通気<br>(l/分) | 換水<br>(l/分) | DO<br>(mg/l) | pH   | NH <sub>3</sub> -N<br>(mg/l) | NO <sub>2</sub> -N<br>(mg/l) | NO <sub>3</sub> -N<br>(mg/l) | S <sup>2-</sup><br>(mg/l) |
| 1          | 6.0         | 0           | 8.01         | 7.87 | 0.82                         | 0.014                        | 0.088                        | 0.007                     |
| 2          | 3.0         | 0           | 8.04         | 7.82 | 0.54                         | 0.011                        | 0.078                        | 0.002                     |
| 3          | 0           | 5.0         | 8.16         | 8.31 | 0.03                         | 0.004                        | 0.027                        | 0.001                     |
| 4          | 3.0         | 2.5         | 8.11         | 8.00 | 0.07                         | 0.006                        | 0.051                        | 0.001                     |

産卵後の飼育水の水質 試験 3 の産卵後の水質測定結果を表 6 に示した。水質は、通気のための試験区（1, 2 区）では、換水を行った試験区（3, 4 区）と比較して、DO 及び pH はやや低く、NH<sub>3</sub>-N、NO<sub>2</sub>-N、NO<sub>3</sub>-N、S<sup>2-</sup> のいずれも高い値を示し、特に NH<sub>3</sub>-N は通気区が 0.54～0.82 mg/l で換水区の 0.03～0.07 mg/l に比較して 10 倍程度高かった。

## 考 察

本研究を進めるにあたり、0.5 m<sup>3</sup> 水槽での親エビ収容密度を検討し、15 尾収容した区で産卵率、雌 1 尾当たりの採卵数が最も良く、逆に 10 尾および 20 尾を収容した区では、雌 1 尾当たりの採卵数は低下した。この結果、親エビの収容密度は、0.5 m<sup>3</sup> 水槽では 15 尾程度と考えられたが、受精率およびふ化率は低く、問題が残された。

このため、産卵水槽およびふ化水槽での通気、換水条件を検討した結果、小型水槽で換水することにより、産卵率、雌 1 尾当たりの産卵数が向上する事例（試験 2）が認められたが、再現性は得られなかった。これは、試験 3 の親エビが輸送後により衰弱していたことによると思われる。

今回の試験で最も注目する点は、小型水槽での産卵環境が、その後のふ化率に大きく影響することである。産卵時の通気条件下では粘液様物質が形成され、これに伴い、飼育水の DO や pH の低下や NH<sub>3</sub>-N 等三態窒素の上昇が見られ、特に甲殻類で問題となるアンモニア濃度が高かった。クルマエビの産卵は日没後に開始することから<sup>8)</sup>、早朝の採卵作業までには長い場合には 10 時間程度経過している。この間に通気のための飼育管理下では、粘液様物質が腐敗することによる水質の悪化が、受精卵に悪影響を及ぼし、ひいてはふ化率を低下させると考えられた。なお、産卵水槽における通気そのものが受精卵に物理的な損傷を与えている可能性も考えられる。

従って、小型水槽での採卵効率を向上させるためには、通気を抑えて、粘液様物質の形成を抑制し、換水を行うことで NH<sub>3</sub>-N 濃度等を低く抑えた良好な水質条件を維持することが重要と考えられた。また、この粘液様物質に PRDV が付着し、卵への感染を拡大する可能性があるため、PAV 防除対策としても、換水は有効な手段となると考えられる。

大型水槽での採卵成績は、供試親エビの大きさ、成熟状況および産卵手法により異なるが、概ね産卵率は 50% 前後で、親エビ 1 尾当たりから得られる産卵数は 20 万粒、ノープリウス数は約 10 万尾である<sup>7-9)</sup>。今回の小型水槽での産卵試験の好事例（試験 2 の換水区、換水と通気の併用区）では、親エビ 1 尾当たりのノープリウス数は、それぞれ 19.7 万尾、11.1 万尾で、大型水槽での採卵成績とはほぼ同等の結果が得られている。しかし、試験当初から親エビの状態が悪かったにせよ、試験 3 では換水を行った区でも得られたノープリウス数はそれぞれ 3.2 万尾、1.5 万尾と低く、決して、小型水槽での採卵成績が安定しているとは言い難い。このような産卵の不安定要因として、産卵水槽での通気あるいは換水条件の他に、産卵時の水温、照度、産卵水槽の底の構造、輸送法などが考えられる。今後、小型水槽での採卵効率の向上を図るためには、さらに適正環境条件の把握が必要である。

また、日裁協では、PAV 防除対策として小型水槽を用いた本採卵方法を実施することにより、最近 3 年間の種苗生産では PAV の発病は見られておらず<sup>3)</sup>、防除手法としての有効性が示唆されている。

なお、本研究では、小型水槽を用いたクルマエビの採卵時に発生する粘液様物質は、採卵効率に大きく影響することが判ったが、詳細な検討ができなかった。そのため、今後この物質の形成要因の解明および防止対策の検討も急がれる。

## 謝 辞

本稿をまとめるにあたって、校閲を賜った(社)日本栽培漁業協会古澤 徹常務理事、廣瀬慶二技術参与に深謝します。また有益な助言を頂いた同協会水田洋之介第一技術部長および志布志事業場の今泉圭之輔主幹場長に感謝致します。

## 文 献

- 1) 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.
- 2) 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.

- 3) MUSHIAKE, K., K. SHIMIZU, J. SATOH, K. MORI, M. ARIMOTO, S. OHSUMI, and K. IMAIZUMI (1999) 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 Pathology*, **34**, 203-207.
- 4) 中村 薫 (1989) II 甲殻類の成熟, 発生, 成長とその制御. 水族繁殖学, 緑書房, 東京, pp. 293-323.
- 5) 今 攸・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.
- 6) 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 採卵の効率化に関する検討. 栽培技研, **24**, 75-81.
- 7) 松永 繁 (1993) クルマエビ種苗生産における親エビ使用の現状と問題点. 栽培技研, **2**, 39-49.
- 8) 矢野 勲 (1988) クルマエビ属, II 交尾・産卵, 「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.
- 9) 藤田信一・武野泰之・荻野 昭・野中 忠 (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.
- 10) 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.
- 11) 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.