

クルマエビの産卵後に発生する粘液様物質の性状と採卵に及ぼす影響

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: 照屋, 和久, 大角, 伸一, 清水, 健, 有元, 操
	メールアドレス:
URL	所属:
	https://fra.repo.nii.ac.jp/records/2014502

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



クルマエビの産卵後に発生する粘液様物質の 性状と採卵に及ぼす影響

照屋 和久*・大角 伸一*・清水 健*・有元 操*

Property of the Mucus-like Substance Produced after Spawning and Its Effects on Egg Collection in the Kuruma Prawn

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

2000年7月5日受理

近年クルマエビの種苗生産機関では、クルマエビ類の急性ウイルス血症 (penaeid acute viremia; PAV) の発生により、種苗の生産に大きな影響を与えている¹⁾。PAVの防除対策としては、産卵後の親クルマエビ(以下親エビ)の受精嚢をポリメラーゼ連鎖反応 (polymerase chain reaction; PCR) 法で検査し、PCR陽性親エビ由来の卵を排除する事が有効とされている²⁾。

PCR陽性親エビが存在すると、この個体が産卵した場合には、産卵とともに排出されるウイルスが陰性親エビの卵へ水平感染が成立する可能性がある。前報³⁾では、この危険性を低減するため、小型水槽での効率的採卵方法について検討し、産卵後に発生する粘液様物質が水質を悪化させ、受精卵へ悪影響を及ぼすことを明らかにした。この粘液様物質の性状を明らかにすることは小型水槽での効率的採卵には重要と考えられる。本研究では、このクルマエビの産卵後に発生する粘液様物質の性状と採卵結果への影響について報告する。

材料および方法

産卵直後の卵の採取と観察 クルマエビの産卵後に発生する粘液様物質の観察には、親エビの購入場所から日本栽培漁業協会上浦事業場への輸送途中で産卵した卵を用

いた。

産卵用の親エビには1998年7月6日に大分県別府市の市場に水揚げされた70尾(体重44~135g)を用いた。購入地では親エビ背部の卵影を肉眼で観察し、成熟度A⁴⁾の親エビを選別した。輸送・搬入後の生検法⁴⁾による成熟度調査では第3卵黄球期、前成熟期および成熟期の個体がそれぞれ23.5、23.5および52.9%であった。

輸送容器にはスチロール箱(10 l: 50 cm×13 cm×深さ14 cm)を用い、親エビを各10尾ずつ収容した。輸送容器内には酸素発生剤(ダイヤブロック社製)を1個投入し、0.01 l/分の微通気を行った。なお、輸送中の振動を極力抑えるため、輸送容器内には隙間がないように海水を満たした。

上浦事業場に到着後、スチロール箱内で産出した卵は海水を入れたプラスチックシャーレ(φ8.5 cm×深さ1.2 cm)および1 l容量のガラスビーカーに移した。シャーレ内の卵についてはゼリー状の膜を確認するため、ルゴール液を滴下して実体顕微鏡下で観察した。また、ガラスビーカーでは、卵に及ぼす通気の影響を調べるため、通気および無通気の条件下で卵を定期的に採取して、実体顕微鏡下で観察した。

通気量と粘液様物質 試験には、1998年8月12日に大分県別府市の市場で水揚げされた親エビ30尾(体重

* (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 (Kamiura Station of Japan Sea-Farming Association, Kamiura, Minamiamabe, Oita 879-2602, Japan).

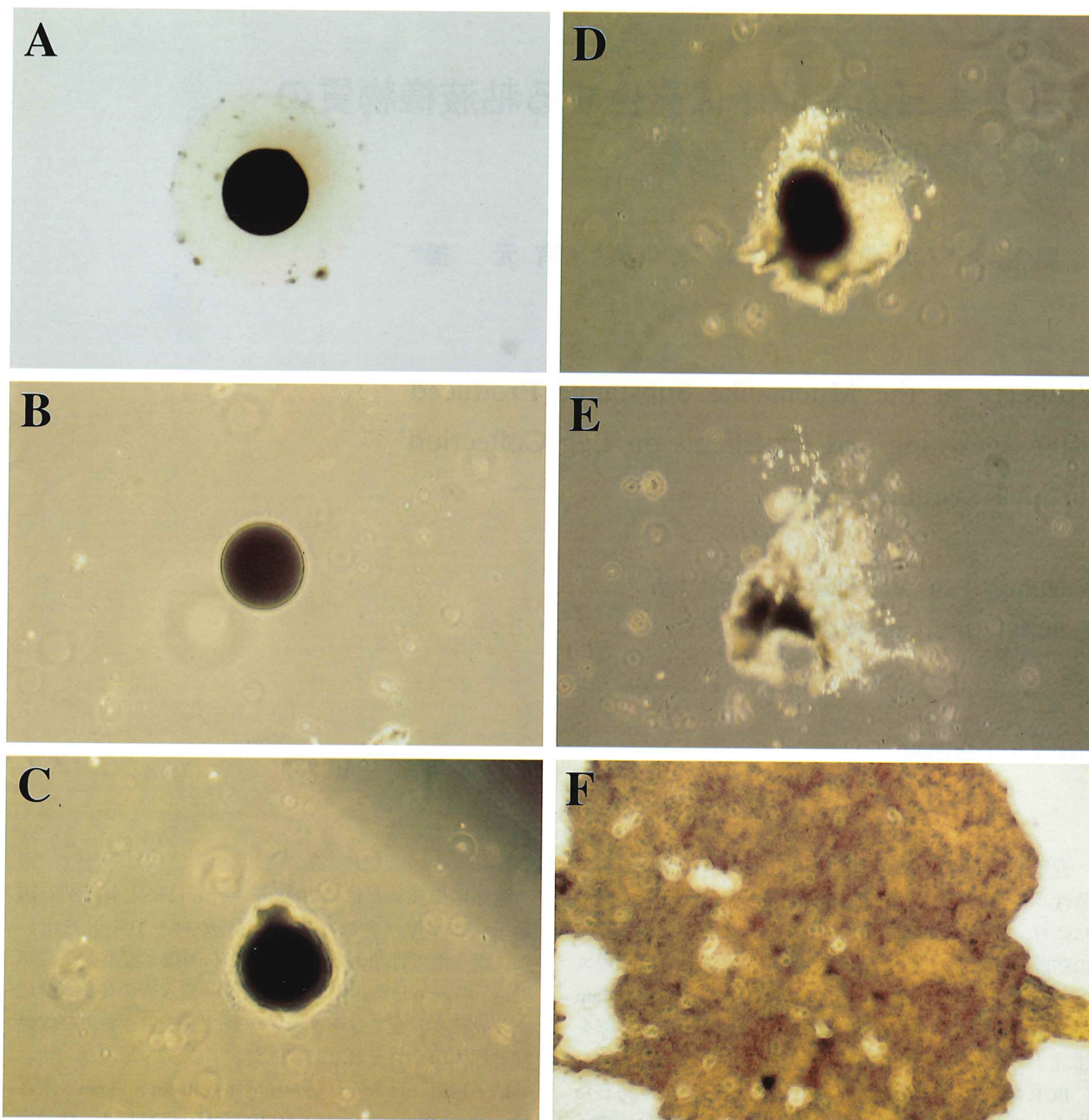


写真 1. 未受精卵の崩壊過程

A: ゼリー層をルゴール液で染色した未受精卵 (×40), B: 未染色の未受精卵 (×40), C: 卵の一部が隆起し崩壊が始まる (×40), D: エオシン顆粒が内部から流出 (×40), E: エオシン顆粒とゼリー層が混合 (×40), F: 崩壊後, 集合し, 形成された粘液様物質 (×40).

46.0～61.8 g) を用いた。成熟状態は, 第 3 卵黄球期, 前成熟期および成熟期の個体がそれぞれ 20, 50 および 30% であった。輸送は, 上記の方法と同様に行った。

購入した親エビのうち 20 尾は産卵試験に, 残りの 10 尾は解剖し, 卵巢卵数の計数に用いた。

産卵試験には, 100 l ポリエチレン水槽 (φ 68 cm×深さ 43 cm) を用い, 親エビを 1 尾ずつ収容し, 通気量の異なる 2 試験区 (0.1, 2.0 l/分) を設けた。両区とも通気は 1 個のエアーストンで行い, 各試験区とも 10 個の水槽を用いた。1 日間の産卵後は親エビを取り上げた後, 各水槽の採卵数と卵の正常発生率を求めるとともに, 水

槽壁に付着した粘液様物質をヘラで回収し, 軽く水分を吸い取り湿重量を測定した。なお, 各水槽のふ化率は調査せず, 産卵後約 10 時間後の正常発生率を比較した。また, 取り上げた親エビについては, 卵影を確認できない個体を完全産卵個体, 卵影の一部が残存している個体を部分産卵個体として分け, それぞれの卵巢を摘出し, 残っていた卵巢卵数を次のような方法で計数した。なお, 水槽の飼育水温は 23.8℃ であった。

サンプリングした 10 尾は産卵前の卵巢卵数を推定するため, 卵巢を摘出し, 卵巢重量を計測した。そして, 10% 中性ホルマリン液で固定し, 中腸腺, 中腸および後

表 1. 異なる通気条件下におけるクルマエビの個体別採卵結果

通気量 (l/分)	個体 番号	体重 (g)	産卵状況	採卵数 (万粒)	正常発生率* ¹ (%)	未放出卵数* ² (万粒)	粘液様物質 (g)
0.1	1	55.1	部分産卵	24.0	91.7	3.5	0.00
	2	51.9	部分産卵	32.0	94.4	7.0	0.00
	3	46.0	部分産卵	28.8	93.1	2.3	0.00
	4	44.4	部分産卵	24.4	96.7	5.1	0.00
	5	50.4	部分産卵	14.6	90.4	2.5	0.00
	6	46.7	完全産卵	42.0	91.4	0.2	0.00
	7	47.6	部分産卵	29.0	69.6	1.8	0.00
	8	53.5	部分産卵	0.1	100.0	5.5	0.00
	9	51.2	部分産卵	15.4	50.6	3.8	0.00
	10	54.6	部分産卵	7.2	66.7	3.9	0.00
合 計	10			217.5		24.4	0.00
平 均		50.1		21.7	84.5	3.6	0.00
標準偏差		3.8		12.5	16.3	2.0	0.00
2.0	1	47.3	部分産卵	11.8	96.6	1.1	2.64
	2	54.9	未 産 卵	—	—	—	—
	3	52.8	未 産 卵	—	—	—	—
	4	51.5	部分産卵	16.1	72.7	5.9	1.63
	5	61.7	完全産卵	15.4	57.1	0.0	2.19
	6	56.0	未 産 卵	—	—	—	—
	7	54.0	部分産卵	17.6	69.3	3.2	4.67
	8	48.0	部分産卵	12.3	78.0	3.1	3.18
	9	55.2	部分産卵	9.0	78.9	5.4	1.42
	10	55.1	完全産卵	10.2	61.8	0.2	3.22
合 計	10			92.4		13.5	18.95
平 均		53.6		13.2	73.5	2.7	2.71
標準偏差		4.1		3.2	13.0	2.4	1.11

*¹ 産卵後約 10 時間後の正常発生率.*² 重量比により算出した卵数.

腸付近の 3 部位の卵巣を各 0.3~0.5 g 切り出し、実体顕微鏡下で第 3 卵黄球期以上の卵を計数し、1 g 当たりの卵数を卵巣重量に乗じて重量比により求めた卵巣卵数を推定産卵数とした。なお、親エビの生殖腺指数 (GSI) は生殖腺重量/体重×100 (%) により求めた。

結 果

粘液様物質の性状 輸送中に産出された卵のほとんどは、ゼリー状の膜に覆われた未受精卵と判断された。無色透明なゼリー状の膜は、実体顕微鏡下でも確認が困難なため、ルゴール溶液を滴下しゼリー状の膜を確認した (写真 1-A)。シャーレの中で静置した状態では、24 時間後でも形状は変化しなかったが (写真 1-B)、シャーレを攪拌すると卵の崩壊が見られた (写真 1-C)。さらにシャーレを強く攪拌すると卵内からエオシン顆粒²⁾が放出され (写真 1-D)、その後エオシン顆粒とゼリー物質が混ざり (写真 1-E)、やがて他の卵の崩壊物質と混ざり、粘液様の状態となった (写真 1-F)。

粘液様物質の色は時間の経過に伴い、薄い灰色から薄いピンク色へと変わった。なお、この崩壊過程は攪拌開

始後、数分間で完了した。

ビーカーでの無通気条件下では、24 時間経過後も卵の形態は変化せず、ビーカーの底に沈下したままであった。一方、通気条件下では通気後直ちに粘性の高い泡が水面に形成され、数分後には海水が濁りビーカーの周りにはピンク色の粘液様物質が付着した。数時間後にはピンク色から紅色へと変化した。

通気量と粘液様物質の発生との関係 産卵率は通気量 0.1 l/分が 100%, 2.0 l/分が 70% と高い値であった。粘液様物質は 0.1 l 区ではみられなかったが、2.0 l/分区では平均で 1.9 g (1.4~4.7) 形成された。0.1 l/分区の水槽では、透明なゼリー膜で覆われた深緑色の卵塊が沈殿していた。その卵塊を採卵ネット (目合い; 150 μm) での回収を試みると卵塊は崩壊し、採卵ネットから流出した。この卵は崩壊しなかった未受精卵と考えられた。

採卵数は 0.1 l/分が平均 21.7 万粒 (0.1~42.0), 2 l/分が平均 13.2 万粒 (0.0~17.6) 得られ、正常発生率は前者が 84.5% (50.6~100.0), 後者が 73.5% (57.1~96.6) であり、いずれも 0.1 l/分区の採卵実績が 2.0 l/分区より優れていた (表 1)。

クルマエビの産卵後の卵巣中に残存した未放出卵数は

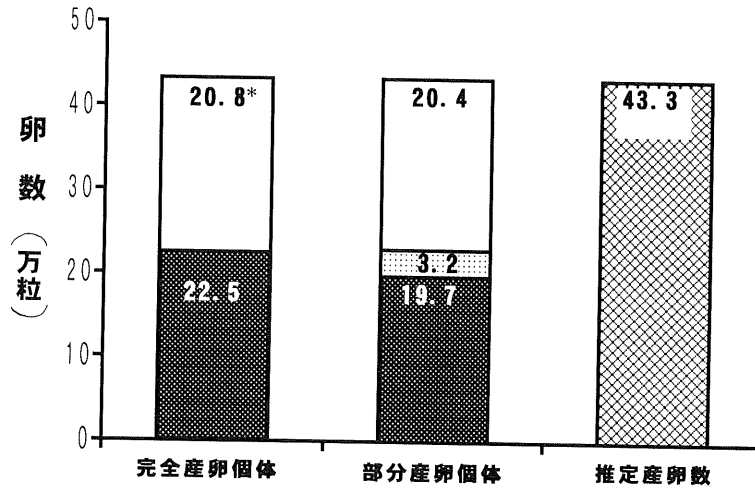


図 1. 完全および部分産卵個体の採卵数と推定産卵数

■ 採卵数 □ 未産出卵数 ▨ 不明卵数 ▩ 推定産卵数

* 棒グラフ内の数値は卵数を示す。なお、白抜き棒グラフ内の数値は推定産卵数から求めた不明卵数である。

表 2. 供試クルマエビの成熟状況と卵巣卵数

個体番号	体重 (g)	成熟段階* ¹	卵巣重量 (g)	GSI* ² (%)	卵巣卵数* ³ (万粒)
1	47.9	前成熟期	5.01	10.5	32.3
2	54.7	前成熟期	5.71	10.4	36.0
3	53.3	第 3 卵黄球期	4.98	9.3	56.3
4	43.9	第 3 卵黄球期	3.61	8.2	34.8
5	52.2	前成熟期	5.23	10.0	53.1
6	56.7	前成熟期	5.77	10.2	50.4
7	52.2	成熟期	5.04	9.7	35.2
8	51.4	成熟期	5.27	10.3	27.3
9	61.8	成熟期	6.93	11.2	44.3
10	58.8	前成熟期	6.09	10.4	63.4
平均	53.3		5.36	10.1	43.3
標準偏差	4.9		0.82	0.8	11.4

*¹ 生検法での成熟段階。

*² $GSI = (\text{卵巣重量} / \text{体重}) \times 100 (\%)$ 。

*³ 成熟段階が第 3 卵黄球期以上に達した卵数。

0.1 l/分区で 3.6 万粒 (1.8~7.0), 2.0 l/分区は 2.7 万粒 (0.0~5.9) と推定され、両区には大きな差はなかった (表 1)。また、完全産卵個体と部分産卵個体の採卵数もそれぞれ平均 22.5 万粒と 19.7 万粒となり、両者にほとんど差はみられなかった (図 1)。

解剖に供試した親エビ 10 尾の内、8 尾は卵巣に表層胞を有する前成熟期以上の卵を有していた。卵巣重量は平均 5.01 g (3.61~6.93), GSI は 10.1% (8.2~11.2) であった。また、産卵可能な第 3 卵黄球期以上の卵巣卵数は平均 43.3 万粒 (27.3~63.4) と推定された (表 2)。完全産卵および部分産卵個体の産卵試験での採卵数はそれぞれ 22.5 万粒および 19.7 万粒であり、未放出卵数を加えても 20 万粒程度の由来が不明な卵があった (図 1)。

考 察

クルマエビの種苗生産場では、親エビの産卵後に水槽壁に付着する赤褐色の粘液様物質がしばしば観察され、産卵の指標ともなっている。前報³⁾ではこの粘液様物質が小型産卵水槽の飼育水を悪化させ、ふ化率に影響することが明らかとなった。

産出卵の観察結果により、この粘液様物質は、未受精卵が崩壊し、それらの物質が塊状になったものと判断された。また、今回の試験で弱通気条件 (0.1 l/分) では粘液様物質は形成されなかったのに対し、強通気条件 (2.0 l/分) では形成された。したがって、この粘液様物質が形成される要因として、クルマエビの産卵水槽では、強い通気等の物理的刺激によるものと考えられた。放卵直後の卵はゼリー状の物質に覆われて浮遊しているが、受精後に卵膜が形成され沈殿することが報告されている⁹⁾。前述したようにゼリー膜に覆われた未受精卵は崩壊しやすいことから、放卵直後の卵は物理的刺激に弱いことが推察される。従って、通気量が強い 2.0 l/分区では放卵直後に卵が崩壊する可能性があり、実際の採卵数も減少すると考えられる。

クルマエビでは、GSI が 9% 以上であれば十分に産卵が可能と報告されている⁷⁾。本試験における供試クルマエビの GSI は 10.1% (8.2~11.2) であり、大分県沿岸海域では最も成熟段階が進んだ親エビと考えられる。この親エビの卵巣卵数は 43.3 万粒 (27.3~63.4) と推定され、実際、回収された完全産卵個体の採卵数は 22.5 万粒 (10.2~42.0) であり、約 20 万粒程度の不明卵があった。恐らく、産出された卵の一部は未受精卵として産出され、あるいは産卵直後に強いエアレーションにより、粘液様物質に変化したと推察された。これらの結果から、

従来のクルマエビの産卵数にはこの未受精卵が加味されておらず、本種の真の産卵数を過小評価している可能性が高い。

クルマエビの完全産卵個体の体重 (x) と産卵数 (y) との関係式は

$$y = 0.9647x - 21.4 \quad (r = 0.8979)$$

で表わされている⁸⁾。今回、完全産卵した親エビの平均体重は 54.5 g (46.7~61.7) であり、上記の式に当てはめると産卵数は 31.2 万粒 (23.7~38.2) と推定される。しかし、今回の完全産卵個体からの採卵数は、22.5 万粒 (10.2~42.0) と低く、小型水槽での産卵時の環境条件については、まだ改良の余地が残されている。

産卵後の粘液様物質を PCR 法により検査し、PCR 陽性の検査結果を得ることもあり (有元; 未発表)、産卵水槽内での PAV 原因ウイルスの水平感染を防除する上でも粘液様物質の形成を抑えることは重要と考えられる。そのためには、採卵効率の向上と粘液様物質の抑制には適正通気量を把握する必要がある。これについては、産卵水温や親エビの収容密度との関係もあることから、今後さらに詳細な検討が必要である。

謝 辞

稿を終えるにあたり、原稿の御校閲を賜った (社)日本栽培漁業協会の古澤 徹常務理事および廣瀬慶二参与に深謝します。また、試験を進めるにあたり有益な御助言を頂いた水田洋之介第一技術部長および今泉圭之輔主幹場長に感謝します。実験を行うにあたり協力して取り組んで頂いた上浦事業場の虫明敬一主任技術員ならびに

森 広一郎技術員にお礼を申し上げる。

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) 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 Pathol.*, **34**, 203-207.
- 3) 清水 健・照屋和久・大角伸一・有元 操: クルマエビ類の急性ウイルス血症の防除対策を目的とした小型水槽での効率的採卵方法. 栽培技研, **28**, 1-5.
- 4) 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.
- 5) 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」(隆島史夫/羽生 功編). 緑書房, 東京, pp. 290-323.
- 6) 藤永元作・宮村光武 (1962) クルマエビの養殖. 日本海洋学会誌, 日本海洋学会創立 20 周年記念論文集別冊, 694-706.
- 7) 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.
- 8) 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.