

養殖クルマエビの母エビ養成技術開発試験

玉城英信*1・牧野清人・村上淳子*2

1. 目的

平成8年度の沖縄県における養殖クルマエビの生産量は617トン、生産額は41億6千万円であり、海面養殖業の中でも最も重要な産業である。¹⁾ところが、天然母エビの急性ウイルス血症（PAV）感染や良質な母エビの減少などクルマエビ養殖を取りまく環境は厳しい。沖縄県においても、平成9年度に入手した天然母エビから急性ウイルス血症（PAV）の陽性個体が確認されたことから、²⁾健全な母エビの安定的な確保が一層強く望まれるようになった。著者らは養殖エビを用いた成熟・採卵は可能であることを報告したが、実用規模の大量生産には至らなかった。³⁻⁶⁾そこで、本年度は養殖エビからの量産試験、媒精試験、飼育密度別交尾試験及び継代飼育した人工種苗からのF3の生産を試みた。試験を実施するにあたり、協力して頂いた八重山漁協クルマエビ養殖場に記して感謝する。

2. 材料と方法

1) 養殖エビからの量産試験1

昨年度の試験では交尾栓を有する雌エビのみを用いたことから、脱皮による精夾の脱落によってふ化幼生を得ることができなかった。そこで本年度は、雌雄を1:1の割合で収容して試験を行った。試験には平成10年4月15日に平良市漁協クルマエビ養殖場から購入した74個体、八重山漁協クルマエビ養殖場から提供して頂いた56個体、そして継代育種しているF2エビ115個体を用いた。雌エビは片方の眼柄をピンセットで焼き切り、試験区1にはF2の雄エビ56個体と平良市漁協の雌エビ59個体、試験区2にはF2の雌エビ59個体と八重山漁協の雄エビ56個体を収容した。

飼育はFRP製5m³角形水槽2面を用い、底面を二重底にして1mm目のネットを敷き、その上に砂を

敷いた。通気には5cm間隔で直径1.5mmの穴をあけた30mmパイプを使用し、砂の上に設置した。また、水槽の上面は90%の遮光ネットで覆った。海水温や日照時間は調整せず、自然条件下で飼育を行い、海水の注水量は砂の還元を防ぐため、出来るだけ多量に流した。餌料には生きたゴカイとクルマエビ用配合飼料を使用した。ゴカイはエビ総重量の15%、配合飼料は3%を給餌の基準とし、ゴカイが給餌できない場合に配合飼料を与えた。

卵巣成熟の観察はハンドリングによる卵巣の吸収を避けるため、夜8:00~10:00の間に赤色ライトを用い、目視によって行った。砂上に露出したエビは眼柄の有無によって雌雄を判別し、雌エビの成熟のステージを調べた。しかし、露出した雌エビの成熟のステージは潜砂や逃避によって不明瞭であったことから、卵巣の発達が認められた個体は全て成熟個体として、その出現率の推移を調べた。また、脱皮殻はできるだけ回収して雌雄別に記録した。切除から23日後の5月7日にエビを取りあげ、卵巣の発達と交尾栓の有無を調べた。

2) 量産試験2

量産試験1の収容密度は23個体/m²であり、日本栽培漁業協会百島分場の親エビ養成の収容密度は2~3尾/m²を基準としていることから、収容密度が高いことが再交尾に悪影響を及ぼした可能性があると考え、8尾/m²に収容密度を減らして量産試験2を実施した。

試験には平良市漁協クルマエビ養殖場から平成10年5月13日に購入した養殖エビを用いた。供試したエビの頭胸甲長は36.5~47.8mmの範囲で、平均42.5mm、体重は30.0~42.3gの範囲で、平均36.5gであった。雌エビは搬入したその日の内に、片方の眼柄をピンセットで焼き切り、試験区1では雄雌20個体、

*1：現所属は沖縄県栽培漁業センター

*2：非常勤職員

2区では雄25個体と雌20個体を収容した。水槽、飼育方法及び卵巣成熟の観察は量産試験1と同様に行った。

3) 媒精試験

量産試験1で得られた産卵直後の未受精卵と交尾栓を脱落した雌エビ16個体を試験に用いた。媒精試験は以下の4つの方法で行った。

- 1区：産卵直後の未受精卵の水槽に、解剖して取り出した雄の精莢を懸濁させた（湿導法）。
- 2区：産卵直後の未受精卵をサイホンで60 μ mの篩に回収し、雄から取りだした精莢の懸濁液を筆に取り、干出状態で未受精卵にかき混ぜた（乾導法）。
- 3区：交尾栓を脱落した8個体の成熟雌エビの貯精嚢に、ピンセットで雄の精莢を挿入した。
- 4区：3区の方法で9個体の雌エビに雄の精莢を挿入し、貯精嚢にアルギン酸ナトリウムを詰め、塩化カルシウムで凝固させた。

各試験区とも翌日、雌エビを取り揚げ産卵の有無と卵の状態を顕微鏡で観察した。

4) F3エビの種苗生産と飼育

試験にはF2エビの中から交尾栓のある卵巣の成熟した体重49.9gの個体より得られた受精卵52,000粒を使用した。卵は通気のための止水状態の30 ℓ ポリカーボネイト容器内に静置し、翌日ふ化幼生を計数した。ふ化幼生のうち6,900尾を500 ℓ 黒色パンライト水槽に収容して種苗生産を実施した。

生産は通気のための止水状態で行い、餌には *Tetraselmis tetlathale* とアルテミアのノープリウス幼生を用い、適宜給餌量を加減して投与した。ふ化から29日目の平成10年5月30日にポストラバ(P₁₀)で取りあげて生残数を調べた。生産された種苗は直径7mの円形キャンパス水槽に収容し、流水下で飼育した。6月20日からはアオノリの繁茂を押さえるため、キャンパス水槽の上面を遮光ネットで覆った。餌にはクルマエビ用配合飼料を使用し、残餌の状況によって適宜投餌量を加減した。体重の測定は水槽内からエビを取りあげ、5~10℃の海水を入れた容器内で仮眠させ、乾いたタオルで水分を拭き取ってから行った。飼育期間は平成10年5月30日

から平成11年4月10日までの315日間であった。

5) 飼育密度別交尾試験

飼育密度の交尾に与える影響について調べることを目的とし、密度別にクルマエビを飼育し、脱皮、交尾の状態及び成長について比較した。

試験は平成10年7月14日に、催熟試験済みの頭胸甲長37.2~51.0mmのクルマエビ63尾（雄30尾、雌33尾）を用いた。飼育にはFRP製1 m^2 角形水槽6基を用い、23℃に調節した恒温室内で行った。上面には36ワットの蛍光灯を設置した。飼育水槽の底面は二重底にして1mmのネットを敷き、その上に砂を敷いた。飼育海水はポンプにより循環させて使用し、水温調節は、水温センサーにより電磁弁が開閉し、冷却器またはボイラーを通した海水を注水することによって自動的に行われる仕組みとした。光の照射時間は8:00~18:00（明：10時間、暗：14時間）、海水は23℃に設定し、1日1回転の換水とし、十分な通気を施した。クルマエビは雌雄同数ずつ密度別に水槽に振り分けた。試験区は5区を設け、水槽内のエビの数はNo.1：16尾、No.2：12尾、No.3：8尾、No.4：4尾、No.5：2尾で、残りのエビは予備の水槽に収容した。これらのエビの内、雌は交尾栓を有していないものであった。

餌にはクルマエビ用配合飼料を使用し、適宜残餌の状況によって投餌量を加減した。飼育中のクルマエビは、飼育開始から16日目の7月30日に、全ての水槽から取り上げた。取り上げたエビは雌雄判別して頭胸甲長を測定し、交尾栓の有無を調べた。その後、8月31日、9月30日、10月30日、11月30日に同じ操作を繰り返した。また、飼育期間中、水槽内に脱皮殻が確認された場合には殻の雌雄判別後、頭胸甲長を測定した。飼育中にNo.1~No.5の水槽で斃死があった際には、雌雄判別後頭胸甲長を測定し、適宜予備の水槽よりエビを補った。飼育期間は平成10年7月14日~11月30日までの138日間であった。

3. 結果と考察

1) 養殖エビからの量産試験1

養殖クルマエビからの量産試験の結果を表1に示した。試験中の海水の温度は24.8~26.8℃の範囲で、

平均 25.8±0.71℃であった。生残率は1区の養殖雌エビが37.3%、F2の雄エビが44.6%であったのに対し、2区ではF2雌エビが78.0%、養殖雄エビでは71.4%と試験区によって、差が観られたがその原因についてはわからなかった。一方、成熟率は1区が54.5%、2区が32.6%、産卵率は1区30.0%、そして2区では22.6%と生残個体数の少なかった

表1. 養殖クルマエビを用いた量産試験1の結果

試験区	1		2	
	雌	雄	雌	雄
収容個体数(尾)	59	56	59	56
頭胸甲長の大きさ(mm)	45.9±3.76	40.2±4.15	44.8±2.82	42.2±2.75
平均体重(g)	47.6	45.4	47.2	46.2
卵巢の成熟度				
I	2		9	
II, III	8		22	
IV	12		15	
生残個体数(尾)	22	25	46	40
生残率(%)	37.3	44.6	78.0	71.4
成熟個体の出現率(%)	90.9		80.4	
交尾栓を有する個体数(尾)	3		2	
交尾率(%)	13.8		4.3	
成熟率 ^{*1} (%)	54.5		32.6	
産卵試験に使用した雌エビの数(尾)	9		8	
産卵個体数	3		7	
産卵率 ^{*2} (%)	30.0		22.6	
産卵数(×万粒)	24.2		188	
平均産卵数(×万粒)	8.1		26.9	

*1: 生残個体に占めるステージIVに達した個体数の比率を意味する。

*2: ステージIVに達した個体から産卵試験に使用した個体数を除いた産卵率を意味する。

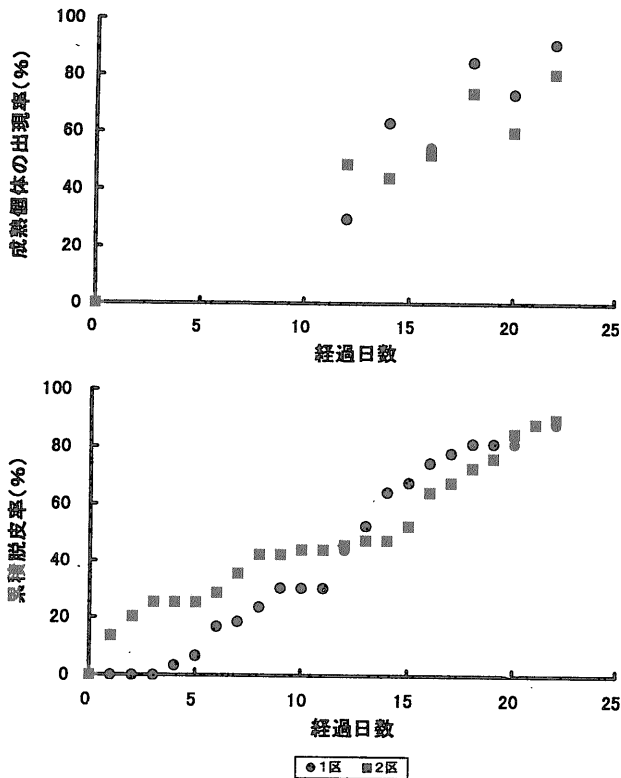


図1. 量産試験1における雌エビの成熟個体の出現率と累積脱皮率の推移

1区の方が良い結果であった。

産卵数は1区が3個体で24万粒、2区は7個体で188万粒であったが、ふ化幼生数は1区が65,000粒、2区が14,000粒の計79,000粒と少なかった。生残個体のうち交尾栓を有していた個体は1区が3個体、2区では2個体、交尾率はそれぞれ13.6%、4.3%と著しく少なかった。

雌エビの成熟個体の出現率と累積脱皮率の推移を図1に示した。成熟個体の出現率は眼柄切除から12日目に39.2%、16日目53.3%、20日目66.6%、そして23日目の取り揚げ時には85.7%と経過日数とともに増加した。一方、累積脱皮率は12日目に52.5%、16日目77.5%、20日目90.0%、そして23日目までに97.5%の個体の脱皮殻を確認した。

以上のように、本研究では成熟個体の出現率が飼育日数の経過とともに増加することから、昨年より長期間の飼育を行い、切除から23日間までは成熟個体の出現率が直線的に増加することがわかった。ところが、再交尾のために、雌と雄を約1:1の比率で収容し、殆どの個体の脱皮を確認したにもかかわらず、いずれの試験区でも交尾栓を有している個体が少ないことから、水槽内での再交尾はなかったと判断した。しかし、その要因については明らかにすることができず、今後の課題として残された。

2) 量産試験2

量産試験2の結果を表2に示した。試験中の海水の温度は27.0~28.2℃の範囲で、平均 27.6±0.38℃であった。生残率は75.0~84.0%の範囲で、雌雄間

表2. 養殖クルマエビを用いた量産試験2の結果

試験区	1		2	
	雌	雄	雌	雄
収容個体数(尾)	20	20	20	25
頭胸甲長の大きさ(mm)	44.1±1.83	42.0±2.18	43.1±1.54	41.0±2.77
平均体重(g)	38.3	38.0	37.2	34.9
卵巢の成熟度				
I	1		10	
II, III	11		4	
IV	4		2	
生残個体数(尾)	16	15	16	21
生残率(%)	80.0	75.0	80.0	84.0
成熟個体の出現率(%)	93.8		37.5	
交尾栓を有する個体数(尾)	0		1	
交尾率(%)	0		6.3	
成熟率 ^{*1} (%)	25.0		12.5	

*1: 生残個体に占めるステージIVに達した個体数の比率を意味する。

及び試験区間に違いは認められなかった。成熟率は1区が25.0%であったのに対し、2区では12.5%と低い値であった。生残個体に占める交尾栓を有していた個体は1区で0%、2区では6.3%と低く、収容密度の低下による交尾率の向上は認められなかった。

成熟個体の出現率と累積脱皮率の推移を図2に示した。

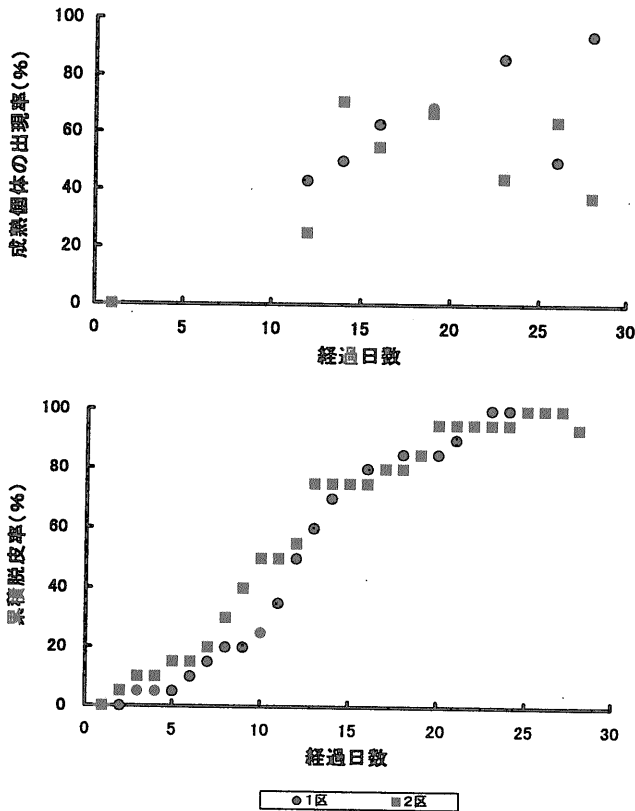


図2. 量産試験2における雌エビの成熟個体の出現率と累積脱皮率の推移

成熟個体の出現率は眼柄切除から12日目には34.0%、14日目60.5%、そして19日目は67.0%に増加したが、23日目は65.0%、26日目57.0%、28日目には77.0%と19日目以降は成熟個体の出現率が不明瞭になった。一方、累積脱皮率は12日目には52.5%、14日目72.5%、19日目は85.0%、23日目は99.8%、そして25日目には全ての個体が脱皮した。

以上のように、本研究では切除から19日目までは量産試験1と同様に、飼育日数の経過とともに成熟個体の出現率が増加し、25日目には全ての個体が脱皮した。しかし、23日目以降からの成熟個体の出現率と経過日数の関係は不明瞭であった。クルマエビの飼育水温は23℃付近で最も体重が増加し、成熟率、産卵率とも高くなることが報告されており、⁶⁾ 試験中の平均水温が27.6℃と高かったことが、成熟個体

の出現率が不明瞭になった要因の一つであるとも考えられた。また、天然母エビを用いた眼柄切除では切除後21日以降から、成熟個体の出現率が低下することも指摘されており、⁵⁾ このことも、成熟個体の出現率に影響を及ぼした可能性もある。

量産試験1と2の結果では飼育水槽の収容密度を減らしても、再交尾は確認できなかった。しかし、成熟個体の出現率は眼柄切除から20日前後までは直線的に増加することが明らかになった。また、供試個体は切除後23日間に殆どの個体が脱皮することがわかった。甲殻類の脱皮周期は成長過程や水温、塩分、餌料など複数の物理的・生物的・化学的要因の複合的な影響を受けることが知られている。⁷⁾ しかし、昨年度の量産試験では切除後13日目で95%の個体が脱皮したのに対し、⁵⁾ 本研究の累積脱皮率の推移は明らかに遅い傾向を示した。ところが、クルマエビは脱皮から21日後に次の脱皮が起こるとの報告もあり、⁸⁾ 本研究の結果が著しく遅いわけではないと思われる。そこで、昨年と今年度に供試した雌エビについて比較すると、昨年は交尾栓を有するステージの雌エビのみを選別したのに対し、今年は購入、あるいは飼育している個体を全て使用したことがこのような結果を招いたものと推察した。つまり、供試する個体の成熟度や交尾栓の有無を選別したことが脱皮周期を同調させることにつながった可能性があり、その点に留意して研究を行う必要がある。幸いに、クルマエビ科のエビは殻の構造から脱皮のステージを判別できることから、⁹⁾ 今後は脱皮ステージと成熟率を個別に調べ、脱皮と産卵の周期の関係を明らかにする必要がある。また、本研究で解明できなかった水槽内での再交尾を促進させるための飼育手法、あるいは交尾栓が脱落した個体を有効利用するための人工授精の検討など、養殖クルマエビからの母エビ養成技術を実用化する上で解決すべき課題はまだ山積している。

3) 媒精試験

媒精試験の結果を表3に示した。いずれの方法でも、受精卵及びふ化幼生は得られなかった。また、試験区3と4ではハンドリングの影響で産卵率が、

それぞれ12.5%、22.2%に低下し、産卵しなかった個体の貯精囊には損傷が認められた。

表3. 媒精試験の結果

試験区	1	2	3	4
供試個体数(尾)	1	1	8	9
未受精卵数(×1,000)	111	300	—	—
産卵個体数(尾)	—	—	1	2
産卵率(%)	—	—	12.5	22.2
ふ化幼生数(×1,000)	0	0	0	0

クルマエビでは海水に放出された未受精卵が、産出と同時にゼリー状物質が分泌され、卵を囲むゼリー層を形成して水中を浮遊しているところに、精子がゼリー膜を貫通して卵表面に到達して受精が起こることから、¹¹⁾ 湿導法と乾導法による人工授精を試みたが、受精させることができなかった。また、クルマエビ科のウシエビでは脱皮直後の個体を用いて、雌の貯精囊に雄の精莖を移植することで人工授精が可能であることが報告されている。¹²⁾ 本研究では交尾栓が脱落した雌を有効に利用するため、雄から取りだした精莖を雌の貯精囊に挿入して人工授精の可能性について試みたが、受精卵を得ることができなかった。さらに、精莖を挿入直後の雌エビは貯精囊を掻きむしる行動が観られ、翌日には供試した雌エビの貯精囊には精莖が無くなっていた。

以上のように、本研究で行った方法で人工授精を行うことは難しいことが明らかになった。今後は、脱皮直後の雌エビに人工授精を行うか、新たな人工授精の手法について、さらに検討する必要がある。

4) F3エビの種苗生産と飼育

F2エビから得られたふ化幼生の飼育結果を表4に示した。F2エビの産卵数は52,000粒、ふ化幼生

表4. F2エビから得られたふ化幼生の飼育結果

F2エビの体重(g)	49.9
産卵数(粒)	52,000
ふ化幼生数(尾)	13,600
ふ化率(%)	26.2
収容幼生数(尾)	6,900
稚エビの生産数(尾)	4,000
生残率(%)	58.0

数は13,600尾、ふ化率では26.2%と産卵数は雌エビのサイズが大きかったことから、昨年度より多かったが幼生のふ化率は低い値であった。収容したふ化幼生からの生残率は58.0%と昨年度の44.1%より、若干高い値であった。

F1、F2及びF3エビの体重の推移を図3に示した。収容時の平均体重0.1gであった稚エビは順調に成長していたが、30日後の平成10年6月29日にエアレーションのかけ忘れによる酸欠で大量へい死を起こした。取り揚げたへい死個体は2,925個体、へい死個体の平均体重は0.95gであった。

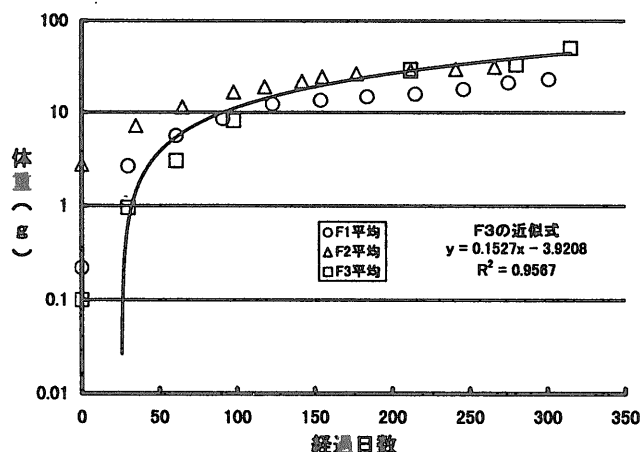


図3. F1, F2及びF3の体重の推移

水槽上面のネットと水槽外に飛び出した個体のうち生残していた100個体を水槽内に戻して、飼育を継続した。その後は飼育密度の低下も影響して成長が良くなり、212日目の12月28日には雌31.4g、雄27.4g、平均29.4gの商品サイズに達した。飼育開始から315日目の平成11年4月10日の取りあげ時には雌53.4g、雄は46.8g、平均では50.1gに成長した。生残数は雌37個体、雄46個体の計83個体で、通算の生残率は2.1%と著しく低い値になった。

以上のように、F3エビの生産では昨年度よりふ化率は低い値を示したものの、F2エビからの生産が可能であることを明らかにした。また、生残数は著しく低いが、平均体重50.1gのF3エビを生産することができた。

5) 飼育密度別交尾試験

飼育開始後16日目から120日目までのクルマエビの頭胸甲長の推移を図4に、脱皮殻の頭胸甲長の推移を図5に示した。飼育開始から終了までに成長し

た頭胸甲長の平均は、雄ではNo. 1で2.3mm、No. 2で2.3mm、No. 3で3.9mm、No. 4で1.8mm、No. 5で2.1mmであった。一方、雌ではNo. 1で3.6mm、No. 2で3.5mm、No. 3で4.9mm、No. 4で5.6mm、No. 5で6.5mmの伸長がみられ、飼育密度が低いほど成長が良い傾向がみられた。また、飼育期間中の斃死数は、No. 1で8尾、No. 2で7尾、No. 3で3尾、No. 4で2尾、No. 5で1尾であった。

これまでの飼育試験では、6月から常温で密度別に平均体重約40gのクルマエビを飼育した場合、水温が27℃を越えた頃から斃死が目立ち始め、11月までに全個体が斃死している。¹³⁾ これらのことから、飼育密度が雌の成長に影響を与える可能性が示唆さ

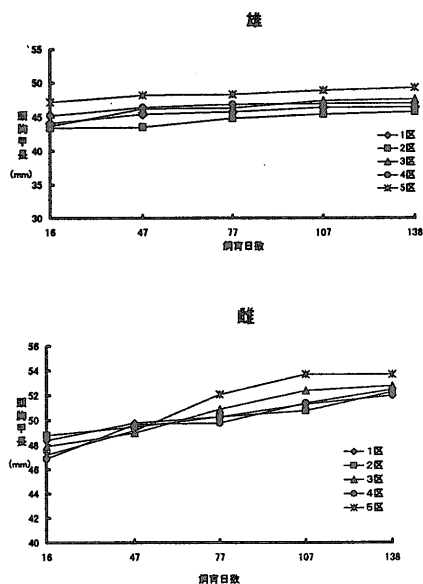


図4. クルマエビの成長の推移

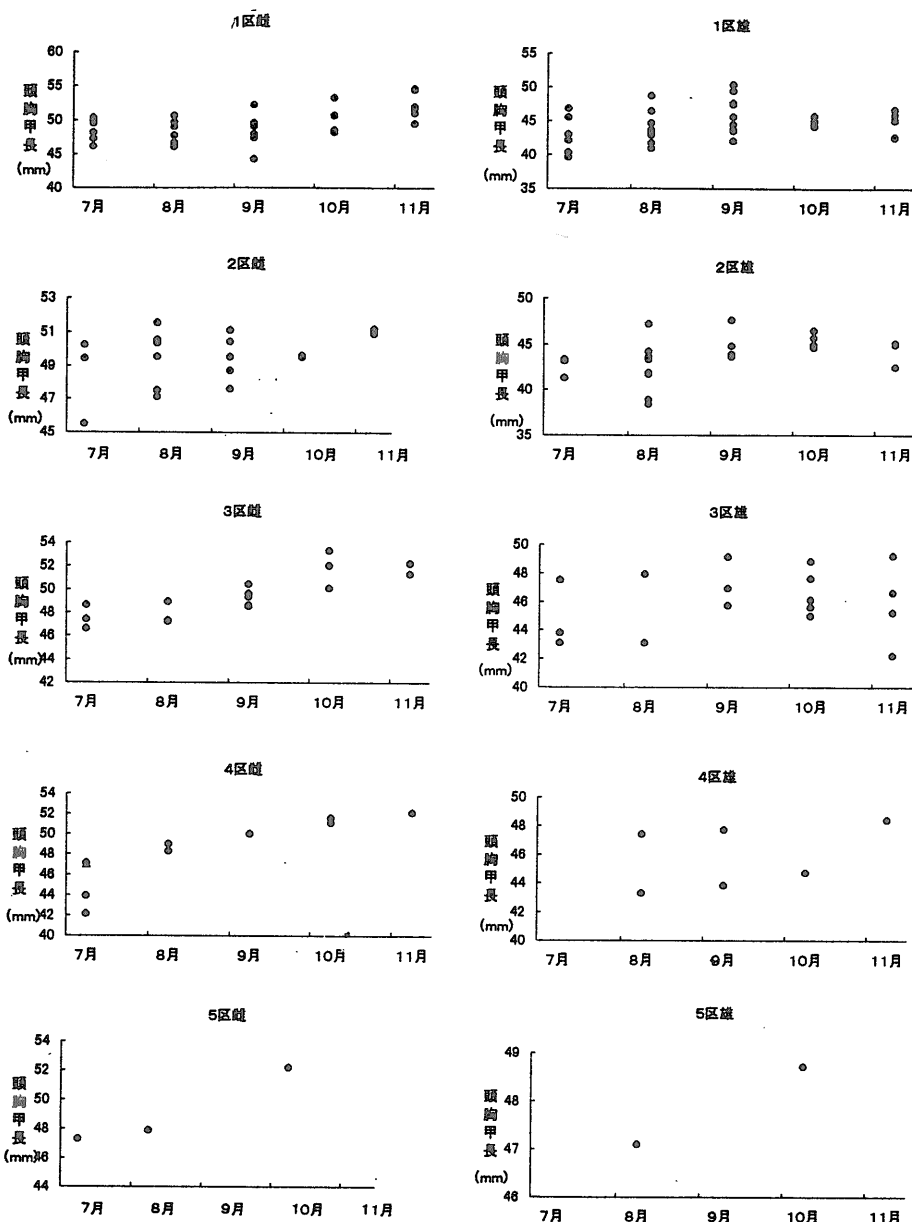


図5. 脱皮殻の頭胸甲長

れた。また、夏場に飼育海水を低水温に保つことにより、生残率を向上させることが可能であると考えられた。交尾栓は、飼育開始から16日目にNo.2の1尾に、30日目にNo.1の2尾の雌にみられた他は、確認できなかった。脱皮殻の数から、飼育期間中に行われた脱皮の回数は多い区で1尾あたり平均5回、少ない区で2回であった。一般にエビ類は、交尾に先立って雌が必ず脱皮する。¹¹⁾しかし、今回の結果から、飼育期間中に1尾につき2回以上の脱皮が確認されたにもかかわらず、交尾栓の付着した個体が少なかった。*Penaeus esulentus*では、飼育水槽のサイズが交尾の成功率に影響を及ぼし、大型の水槽でより多く交尾が成功することが示されている。¹⁴⁾また、水産試験場八重山支場において、12.5トン水槽内で飼育中のクルマエビを取り上げたところ、雌38尾の内34尾に交尾栓の付着がみられた。これらのことから、今回の試験において、飼育密度に関係なく、交尾栓がみられた雌が極めて少なかった要因のひとつとして、飼育水槽のサイズが小さかったことが考えられた。従って、今後は飼育水槽の面積や容量別にクルマエビを飼育し、最適な水槽の大きさについて検討する必要がある。

4. 今後の課題

- 1) 養殖クルマエビからの成熟、産卵技術をさらに向上させるとともに、再交尾の問題など実用化に向けた試験を実施する必要がある。
- 2) 脱皮ステージと成熟率を個別に調べ、脱皮と産卵の周期の関係を明らかにする必要がある。
- 3) 交尾栓が脱落した個体を有効利用するための人工授精技術を確立する必要がある。
- 4) 今年度は実験できなかったゴカイ以外の餌料生物や人工飼料について検討する必要がある。
- 5) これまで明らかにされてきた養殖エビからの母エビ養成技術を利用し、F4の生産や育種研究を試みる。

5. 参考文献

- 1) 沖縄県農林水産部 (1999) : 平成10年度沖縄の農林水産業。56-67。
- 2) 杉山昭博・蔵下 環 (1999) : 魚類等防疫対策

試験。平成9年度沖縄県水産試験場事業報告書、107-111。

- 3) 玉城英信・渡辺利明・村越正慶 (1997) : 養殖クルマエビの産卵と稚エビ飼育。水産学会秋季大会講演要旨集、311、37。
- 4) 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。平成8年度沖縄県水産試験場事業報告書、147-154。
- 5) 玉城英信・村越正慶・斉藤久美子 (1999) : 養殖クルマエビの母エビ養成。平成9年度沖縄県水産試験場事業報告書、189-196。
- 6) 牧野清人・島袋新功・蔵下 環・岩井憲司 (1999) : クルマエビの母エビ養成試験。平成9年度沖縄県水産試験場事業報告書、129-133。
- 7) 皆川 恵・隆島史夫 (1996) : 脱皮と成長。エビ・カニ類の増養殖、恒星社厚生閣、64-90。
- 8) Peter F. Duncan (1998) : Field guide for condition indexing the kuruma prawn. Bribie Island Aquaculture Research Centre Fisheries Group. 4pp.
- 9) D.M. Smith and W.Dall (1985) : Moulting staging the tiger prawn *penaeus esculentus*. Second Australian National Prawn Seminar. 85-93.
- 11) 小笠原義光 (1984) : 日本のエビ・世界のエビ。東京水産大学第9回公開講座編集委員会編、成山堂書房、47-60。
- 12) Min-Nan Lin and Yun-Yuan Ting (1986) : Spermatophore transplantation and artificial fertilization in grass shrimp. Bulletin of the Japanese Society Scientific Fisheries, 52(4), 585-589.
- 13) 牧野清人・島袋新功 (1998) : クルマエビの母エビ養成試験 (海洋深層水利用技術開発事業)。平成8年度沖縄県水産試験場事業報告書、112-114。
- 14) Peter j. Crocos and J.D.Kerr, (1986) : Factors Affecting Induction of Maturation and Spawning of the Tiger prawn, *Penaeus esculentus* (Haswell), under Laboratory Conditions. Aqua-culture, 58, 203-214