

## B-40 閉鎖循環式養殖システムにおける クルマエビの産卵行動試験

○鷲巣 勇士<sup>1</sup>・鈴木 孝彦<sup>1</sup>・米加田 徹<sup>2</sup>・河野 智哉<sup>3</sup>  
酒井 正博<sup>3</sup>・伊丹 利明<sup>3</sup>・鈴木 祥広<sup>4\*</sup>

<sup>1</sup>宮崎大学大学院工学研究科（〒889-2192宮崎市学園木花台西1丁目1番地）

<sup>2</sup>宮崎大学大学院農学工学総合研究科（〒889-2192宮崎市学園木花台西1丁目1番地）

<sup>3</sup>宮崎大学農学部（〒889-2192宮崎市学園木花台西1丁目1番地）

<sup>4</sup>宮崎大学工学部（〒889-2192宮崎市学園木花台西1丁目1番地）

\* E-mail: suzuki@civil.miyazaki-u.ac.jp

### 1. はじめに

エビ養殖業は食糧生産ならびに経済的に最も重要な産業である。特に、養殖クルマエビ類の全世界における生産量は約160万トン、生産額にして130億ドルにも達しているにも関わらず、エビの需要は、欧米、東南アジアおよび日本においても、年々、増大している<sup>1)</sup>。我が国においてもクルマエビ養殖・生産は、重要な水産業の一つに位置づけられる。現行のエビ養殖は、大量の稚苗生産を確保するために、天然エビを乱獲する傾向にあり、さらにウイルス病による天然エビの減少によって、天然資源の枯渇化も危惧され始めてきている。エビ養殖場においてもWhite spot disease virus (WSDV)をはじめとする病原性ウイルスによって、甚大な被害を被っている事業体も少なくない。一方において、現行のエビ養殖は、養殖排水をほとんど未処理で放流しており、環境への汚濁負荷源として危惧されている産業の一つである。このような状況において、貴重な天然資源を損なうことなく、環境に配慮しつつ、安定的にしかも安全なクルマエビを供給するためには、病原性ウイルスフリーの環境のもとで、

親エビを生産する技術開発が必要である。閉鎖循環式飼育養殖システムは、水質の維持管理および養魚介類の飼育管理が容易であり、細菌・ウイルスからの防疫効果の高い完全閉鎖系の飼育システムの有用性は、極めて高いと考えられる。

著者らは、酸素供給と懸濁物除去の両方の機能を兼ねた泡沫分離プロセス、硝化・ろ過プロセス、および脱窒プロセスからなる閉鎖循環式飼育システムの研究・開発を進めており、技術的には、全く排水・換水を伴わない完全閉鎖循環式による養魚の高密度飼育を可能にしつつある。すでに、省スペースの完全閉鎖循環式養殖システムを構築し、成体エビが長期間にわたって良好に育成できること<sup>2)</sup>ならびに雌雄エビの交尾行動を示すこと<sup>3)</sup>を実証した。病原性ウイルスフリーの親エビを生産する技術開発に向けた次の課題として、完全閉鎖系の環境における♀成熟エビの産卵技術の確立が挙げられる。そこで、本研究では、完全閉鎖循環式養殖システムを用いて、♀エビの産卵に至る飼育技術の開発を目的として、産卵行動試験を実施した。

### 2. システム、材料および方法

#### (1)閉鎖循環式養殖システム

図1に本試験で使用した飼育システムのフローを示す。本システムは、飼育水槽（水量0.54m<sup>3</sup>、水表面積1.1m<sup>2</sup>）、循環ポンプ、空気自給式エアーレーター（200V、0.2kw）を備えた泡沫分離槽（容量0.17m<sup>3</sup>）、硝化槽（容量0.13m<sup>3</sup>）、脱窒槽（容量0.06m<sup>3</sup>）から成り、全水量は

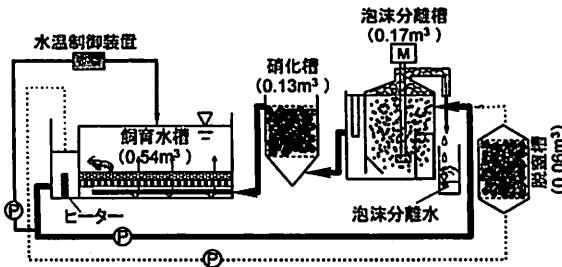


図1 閉鎖循環式養殖システム概略図

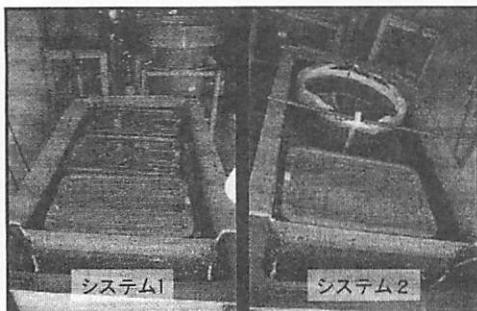


図2 飼育槽中の個別飼育用カゴ(角形)と採卵用カゴ(円筒形)

0.9m<sup>3</sup>である。設置場所は、宮崎大学屋内研究施設内とした。飼育水槽には水温制御装置とヒーター(100V, 1kw)を取り付けた。飼育水には砂濾過海水をも用い、循環ポンプで飼育水を循環させ、1循環時間を22分(流量40L/min)とした。飼育水は循環ポンプにより泡沢分離槽、硝化槽、そして再び飼育水槽に返送される。また、飼育水槽は底部にサンゴ砂を被覆した上向流式となっている。水温とpHは25°Cおよび8.0に調整した。

## (2) 産卵試験方法

本試験では、前述の飼育システムの飼育水槽中に、個別飼育用カゴとして、内側を1mmメッシュシートで覆い、エサが通過しない工夫を施した角型カゴと、採卵用カゴとして、内側を1mmメッシュシート、外側を100μmメッシュシートで構成されている2重構造の円筒型カゴを浮かべて試験を実施した(図2)。また、本試験では2基の同じシステムを同時進行で利用して実施した。それぞれ、システム1とシステム2として区別して飼育試験を行った。

本試験で用いた♀エビは、養殖場において採卵個体として不適合と判断された個体交尾栓保有の天然クルマエビ(松本水産㈱)である。飼育水に放養する♀エビから、無作為に3尾を採血し、リアルタイムLAMP法によってWSDV検査<sup>4)</sup>を行い、WSDVフリーであることを確認した。♀エビは、飼育水槽に放養して2日間の順応させた。試験開始時に、試験の対象とした♀エビ9尾(平均65±16g/尾)に対して片方の眼球の切除(眼柄処理)を施した。眼柄処理とは、現行の養殖業において、クルマエビの採卵技術として使われている手法であり、この操作を行なうことによりクルマエビのホルモンのバランスが崩れ、卵巣の成熟を促進させて産卵させることができるとされている<sup>5)</sup>。眼柄処理後、個別飼育カゴに入れて飼育を行ない、卵影比の観察により卵巣の発達が確認された♀エビから、採卵用カゴで隔離飼育を実施して産卵および採卵をおこなった。ここで卵影比とは、エビの胴体

に対する卵巣の影の比のことであり、卵影比の発達すなわち卵巣の成熟がある程度確認されたエビが産卵するとされているため、エビの産卵時期の判断材料とされる<sup>6)</sup>。また、個別飼育用カゴと産卵用カゴの飼育水を循環させるため、カゴを上下させてカゴ内の水を入れ替える作業を毎日行なった。試験終了後の♀エビについても、ウイルス(WSDV)の検査を行った。試験期間は2008年5月23日～6月6日の15日間であり、活ゴカイ(5g/尾)を毎日18時頃に給餌した。

## (3) 分析方法

各飼育水(飼育水槽、各個別飼育カゴ内、産卵用カゴ内)の溶存酸素(DO)はワインクラーアジ化ナトリウム変法によって毎日モニタリングした。飼育水中のアンモニア態窒素(以降NH<sub>4</sub>-Nとする)、硝酸態窒素(以降NO<sub>3</sub>-Nとする)および亜硝酸態窒素(以降NO<sub>2</sub>-Nとする)は、1～2日毎に採水し、測定した。また、卵影比の観察を毎日実施して卵巣の発達を確認し、採卵用カゴに移動させる時期を決定した。

## 3. 結果と考察

### (1) 飼育水水質

図3に、各飼育水(飼育水槽、各個別飼育カゴ内、産卵用カゴ内)のDO濃度と酸素飽和度の変化を示す。DO濃度はすべての採水ポイントにおいて6.5mg/L以上を維持し、酸素飽和度はほぼ100%の値をとった。メッシュシート内の個別飼育用カゴと産卵用カゴの飼育水も溶存酸素が十分に供給されていたことが確認された。本飼育試験において、飼育水槽、各個別飼育カゴ内および産卵用カゴ内のどこにいても十分な酸素が供給され、良好なDO環境が維持できることが明らかとなった。

毒性の高いNH<sub>4</sub>-NとNO<sub>2</sub>-Nは、ともに両システムにお

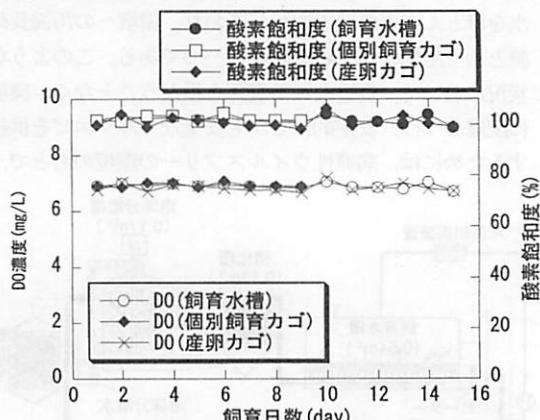


図3 溶存酸素濃度および酸素飽和度の経時変化

いて $0.5\text{mg-N/L}$ 以下に維持された。システム1とシステム2の $\text{NH}_4\text{-N}$ は、それぞれ $0.136 \pm 0.088\text{mg-N/L}$  ( $n=10$ ) と $0.104 \pm 0.089\text{mg-N/L}$  ( $n=10$ ) であった。また、システム1とシステム2の $\text{NO}_2\text{-N}$ は、それぞれ $0.141 \pm 0.152\text{mg-N/L}$  ( $n=11$ ) と $0.070 \pm 0.119\text{mg-N/L}$  ( $n=11$ ) であった。試験期間を通して、 $\text{NH}_4\text{-N}$ と $\text{NO}_2\text{-N}$ のいずれの水質項目も低濃度に維持されたことから、本システムの硝化プロセスは、活ゴカイの給餌を伴う産卵を目的とする飼育においても良好に機能することが明らかであった。また、飼育水の濁度は極めて低く維持され、それぞれ $0.023 \pm 0.029\text{度}$  ( $n=9$ ) と $0.011 \pm 0.021\text{度}$  ( $n=9$ ) (カオリン) であった。

#### (2) 産卵試験

表1に、各♀エビの卵影比を産卵行動の観察記録データを示す。試験期間中に死亡した個体はゼロである。本試験において、5尾/9尾 (放糞尾数の56%) の産卵行動が確認された。個体によっては複数回の産卵が確認され、特に個体Iは3回繰り返して産卵したことが確認された。産卵日直前の卵影比は、 $0.67 \pm 0.13$  ( $n=8$ ) であった。一個体の♀エビが複数回の産卵行動を示したことは、飼育水水質が良好に維持されたことに加えて、個別飼育用カゴと産卵用カゴによる飼育技術が適切であったと評価できる。♀エビは、脱皮と同時に受精・産卵に必要となる交尾栓が外れてしまうため、再度、♂エビと交尾しない限り産卵しないため、試験期間中に脱皮して産卵行動できなくなってしまった♀エビは、その日で産卵行動試験を中止した。回収された卵の平均は、 $51,000 \pm 41,000\text{粒/尾}$ であり、 $0.5\text{m}^3$ 規模の飼育水槽からなる小型システムにおいても、1万~10万粒/尾の卵回収が可能であった。

表1 サンプルデータ、卵影比の経時変化

name	A	B	C	D	E	F	G	H	I
Back weight(g)	41.10	84.19	61.66	92.18	48.90	84.47	68.65	57.46	71.02
Back length(cm)	18.5	23.2	20.2	20.1	19.4	18.8	20.0	19.5	20.5
WSDV	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Time(day)									
1	0.31	0.66	0.31	0.63	0.65	0.65	0.40	0.58	0.50
2	0.31	0.67	0.40	0.70	0.78	0.70	0.44	0.63	0.61
3	0.29	0.74	0.37	0.75	0.82	0.67	0.44	0.65	0.58
4	脱皮	0.45	0.32	0.36	0.78	0.66	0.28	0.59	0.71
5	0.38	0.32	0.40	0.85	0.66	0.33	0.64	0.72	
6	0.38	0.38	0.47	0.88	0.67	0.37	0.62	0.54	
7	脱皮	0.38	0.46	0.28	0.61	0.38	0.71	0.52	
8	0.38	0.28	0.31	0.65	0.39	0.71	0.53		
9		0.35	0.37	0.24	0.60	0.38	0.74	0.53	
10		0.19	0.47	0.30	0.57	0.38	0.35	0.50	
11		0.21	0.28	脱皮	0.42	0.25	0.44	0.50	
12		0.17	0.34		0.37	0.28	0.63	0.39	
13		脱皮	0.32		0.28	0.26	0.21	0.44	
14		0.31			0.27	0.31	0.19	0.55	
15		0.33			脱皮	0.21	0.25		

:産卵, 脱皮 :脱皮

#### (3) ウイルス検査

試験終了後に全個体の♀エビの血液を採取し、WSDVの検査を行った。全ての個体が、陰性の検査結果 (表1) を示したことから、本研究において産卵行動試験に

用いた♀エビは、全てウイルスフリーであったと判断される。

#### 4. まとめ

飼育水のDOIは、採卵用の微細なメッシュシート内であっても常にほぼ飽和状態を維持した。産卵試験期間を通して飼育水水質は極めて良好に維持でき死亡個体はゼロであった。

システム内で繰り返して産卵する個体が複数確認された。個体当たりの産卵数は、平均 $51,000$ 粒/尾であり試験期間において、合計 $360,000$ 粒の採卵ができた。閉鎖循環式システムにおいて、未成熟の交尾栓保有♀エビを2週間に内に成熟・産卵・採卵することができ、ウイルスフリー種苗生産の基礎的かつ最重要プロセスとなる、産卵までの飼育が可能であると実証された。

#### 謝辞

本研究は、(独) 農業・食品産業技術総合研究機構生物系特定産業技術研究支援センター「生物系産業創出のための異分野融合研究支援事業」によって行われたものである。関係者各位に感謝の意を表します。

#### 参考文献

- 1) Hamasaki, K. and S. Kitada (2006) A review of kuruma prawn *Penaeus japonicus* stock enhancement in Japan, Fisheries Research, 80, 80-90
- 2) 鈴木祥広, 竹島剛, 伊丹利明, 丸山俊朗, (2006) 泡沫分離プロセスを導入した閉鎖循環式養殖システムによるクルマエビの養殖試験, 水, Vol48, pp61-68.
- 3) 鈴木祥広, 鈴木孝彦, 鶯巣勇士, 米加田徹, 河野智哉, 越塩俊介, 横山佐一郎, 酒井正博, 伊丹利明 (2008) 閉鎖循環式養殖システムにおけるクルマエビの交尾行動試験, 水産増殖, 印刷中.
- 4) Kono,T., R. Savan, M. Sakai and T. Itami (2004) Detection of white spot syndrome virus in shrimp by loop-mediated isothermal amplification, Journal of Virological Methods, 115, 59-65.
- 5) 玉城英信 (1997) 培殖クルマエビからの採卵, 水試ニュース, Vol6, pp3-4.
- 6) 伏屋玲子, 佐野元彦, 清水弘文, 玉城泉也, 林原毅, 加藤雅也 (2006) 人工催術によるクルマエビの再生産形質について-安定採卵のための催術条件の検討, 水産総合研究センター研究報告, Vol5.