

生理化学的研究を基盤としたエビ類の種苗生産・養殖技術の開発

マーシー・ニコル・ワイルダー（独立行政法人 国際農林水産業研究センター）

marwil@jircas.affrc.go.jp

ベトナム・メコンデルタでは飼育に伴う環境負荷が低い淡水エビ養殖が有望であるため、その種苗生産・養殖技術の確立と普及を行った。そのための基盤として、生殖・浸透圧調節に関する生理化学的研究を行い、種苗生産に相応しい親エビを選定するための「エビ類成熟度判定法」などを開発した。現在、国内外におけるエビ養殖の安定化を図るため、パナメイエビの閉鎖型循環式養殖システムの開発に取り組んでいる。

はじめに

近年、エビ養殖が世界的に急激な発展を遂げており、特に海産エビ養殖は年間生産量 150 万トン以上の数十億ドル規模の巨大水産食品部門に成長した。しかし、海産エビ養殖産業の巨大化に伴い、特に東南アジア地域では沿岸地域のマングローブ林の破壊、耕地への多量の海水の導入による土壌の塩害など、深刻な環境問題が発生している。一方、日本は世界有数のエビ輸入国（約 30 万トン/年）であるにもかかわらず、国内養殖による年間生産量は 2 千トンのみであり、自給率は極めて低い。

本研究では、これら環境破壊を回避するため、1995年よりベトナム・メコンデルタを研究現場とし、飼育に伴う環境負荷が低い淡水エビを水田利用によって複合的に生産する養殖技術の確立とその普及を行い、ベトナムの淡水エビ養殖の振興に深く貢献した。詳細は、その成熟制御及び種苗生産技術の開発を目的として、生殖・浸透圧調節に関する生理化学的研究を行い、その中で生殖機構の解明に重要な鍵となる卵黄タンパクの一次構造の解明に初めて成功した。この成果に基づき、優良な親エビを選択する「エビ類卵黄タンパク質に対する抗血清を用いた成熟度判定法」を開発した（特許第3529363号）。また、ベトナム・カントー大学と共同で植物プランクトンを自然培養しながら稚エビを養成する「グリーンウォーター法」を確立し、水質管理を簡素化するとともに稚エビ生存率を大幅に改善した。

1. エビ類の生殖機構解明および成熟度判定法の開発

エビ類の生殖機構を解明する上で、卵黄タンパク質の同定・産生部位の解明が一つのカギとなると考え、まず卵黄タンパク質の一次構造を明らかにするため、卵黄タンパク質を多く含んだ成熟した雌オニテナガエビの卵巣を材料として、高速液体クロマトグラフィー(HPLC)により卵黄タンパク質であるピテリンを精製した。N 末端および内部アミノ酸配列に基づき、卵黄タンパク質前駆体であるピテロジェニン全体をコードする cDNA を得て、その塩基配列を解析した。^{1,2)}この情報に基づいて、ピテロジェニンおよびピテリンの全アミノ酸配列を演繹した。同様な方法を用いてクルマエビおよびトヤマエビのピテロジェニンの一次構造も解明した。³⁾その後、我々の結果に基づいて他のグループはザリガニおよびクルマエビの一次構造を解明している。

エビ類のピテロジェニン cDNA は約 7,800 塩基からなっており、コードされるタンパク質はシグナルペプチドを含めて約 2,500 残基からなっていることが判明した。図 1 に示したようにピテロジェニンの分子には共通なプロセシングサイトが存在し、全体的にアミノ酸の高い同一率が認められた。

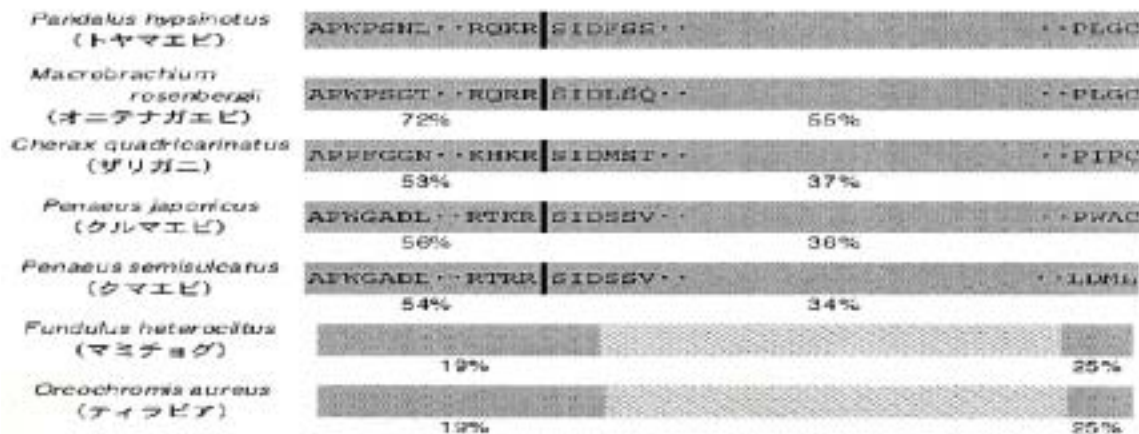


図1 エビ類（5種）のビテロジェニンの一次構造と魚類（2種）との比較

また、両種のビテロジェニンは、これまで報告のある他の動物グループのものとは異なる構造を持つことが判明した。^{4, 5)}特に、昆虫や魚類などでよく認められるポリセリン領域（プロセシングサイトの両側に繰り返される複数のセリン残基）も存在せず、これらの卵黄タンパク質との相同性はほとんどなかった。この成果に基づき、優良な親エビを選択する「エビ類卵黄タンパク質に対する抗血清を用いた成熟度判定法」を開発した。この技術では、血中のビテロジェニン濃度を測定することにより、親エビの成熟する時期を推察することができ、その情報と親エビの大きさと組み合わせ、良質な稚エビを得ることができる。現在、ベトナム・メコンデルタの現場において親エビの選定に用いている。

2. ベトナム・メコンデルタにおけるオニテナガエビ種苗生産技術開発「グリーンウォーター法」

ベトナム・カントー大学との共同研究では、カントー大学のミニふ化場において1998年から2002年にかけて様々な稚エビの飼育実験を行い、各種飼育方法の効果、飼育密度、飼料原料、給餌体系、藻密度、塩水源、飼育槽の大きさなど、淡水エビ幼生の育成や生存に関わる様々な問題に取り組んだ。^{6, 7, 8)}まず、適切な稚エビ飼育システムと飼育密度を確定するため小規模な実験を行い、循環式システムと非循環式グリーンウォーターシステムとを比較した。収容密度をそれぞれ1リットル当たり稚エビ30、60、90、120尾としたところ、グリーンウォーターシステムの生存率（32.3～92.3%）は、循環式システムの生存率（27.4～52.5%）を大きく上回った（表1）。非循環式グリーンウォーターシステムは管理の手間がかからず好結果が期待できることから、稚エビの収容密度を60～90尾/リットルとして開発の継続が決定された⁹⁾。

表1 循環式システムおよび非循環式グリーンウォーターによる稚エビの発育

処理	飼育サイクル(日数)	生存率(%)
循環式システム		
30尾/リットル	34	52.5
60尾/リットル	34	28.8
90尾/リットル	34	31.7
120尾/リットル	34	27.4
改良型非循環式グリーンウォーターシステム		
30尾/リットル	30	92.3
60尾/リットル	30	46.3
90尾/リットル	30	46.4
120尾/リットル	30	32.3

次にグリーンウォーターシステムに最適な稚エビの飼料作成、実用化に向けた藻の細胞数の最適化および水槽体積の決定に取り込んだ。従来の種苗生産技術では、高価なアルテミアを使用することが一般的であったが、その経費を削減するため、自前で作成可能な手作りカスタード（脱脂粉乳と卵黄）を評価し、レシチンとイカ油を加えた場合と大豆油を加えた場合の稚エビの成長と生存率に対する影響を調べた。その結果、脱脂粉乳（総重量 53.8%）、鶏卵黄（総重量 41.7%）、イカ油 3%、レシチン 1.5%から成る基本的製法を確立し、もっとも高い稚エビの生存率を得ることができた¹⁰⁾。また、グリーンウォーターシステムにおける藻の最適密度を知るため、異なる藻密度(1mL 当たり細胞数 0、25 万、100 万、400 万)のグリーンウォーターを飼育槽に加え、藻細胞数が 1ml 当たり 100 万個の場合、ポストラバ生存率が最も高くなることがわかった。なお、500 リットル～1 トンの水槽が商業ベースでのふ化には適していることが判明した。

上記の親エビの成熟度判定法と稚エビの飼育法を踏まえ、安定的なオニテナガエビ種苗生産技術を実現することができ、この技術を広めるためのマニュアルと付属 CD を作成した。⁹⁾次に、この技術をメコンデルタの省立・民間ふ化場に移転するため、カントー大学にて「エビ・稲ファーミングシステム」に携わっている省の普及組織関係者および農家の研修を行なうよう指導した。これらの活動により、淡水エビ専用のふ化場数は 5 軒から 90 軒以上と飛躍的に増加し、種苗の年間生産量は 1990 年代に比べ 2003 年では約 80 倍の 8 千万尾に至った。その結果、ベトナムの淡水エビ養殖の生産量は急増し年間 10,000 トンを上回る状況となった。この成果は、貧困農家の生活水準の向上に繋がっていることから、ベトナム国内でクローズアップされ、テレビ番組などで報道された。図 2 では、グリーンウォーターシステムを用いているふ化場の例として、カントー省トット・ノー(Thot Not)地区にあるタン・ファットふ化場(民間)を示す。このふ化場の水槽のキャパシティーは 40 m³ であり、年種苗生産量は 300～450 万尾である。



図 2 カントー省のタン・ファットふ化場

3. 閉鎖型循環式エビ養殖システムの開発

現在、今までの成果を踏まえて、産学官連携型研究プロジェクトの一環として、「安全な国産エビ(バナメイ)生産技術のシステム化」を推進しており、中米原産の「バナメイエビ」(クルマエビ族)を初めて日本に導入して、このエビを安定的に生産する閉鎖型循環式養殖システムの開発に乗り出した。この研究では、安全かつ安心な価格競争力のある国内外におけるエビ養殖産業振興のために、海産バナメイ種を淡水・高密度で養殖する生産システム技術を開発しようとしている。この研究では、バナメイの生理学的特徴を解明することにより、閉鎖型循環式養殖における用水の塩分・硬度およびその他の環境要因について最適条件を明らかにし、システムにおける物理的面での改善を図ることが目的である。これにより、環境へのインパクトを皆無にして、土地条件を問わない持続的なエビ養殖が実現することが期待されている。

謝辞

本研究は、独立行政法人国際農林水産業研究センター水産部で実施されたものであり、終始格別のご支援を承りました研究所の皆様にご心から感謝いたします。また、協力機関であるベトナム・カントー大

学水産養殖カレッジの Dr. Nguyen Thanh Phuong 学部長とスタッフの皆様へ深く感謝致します。バナメイプロジェクトにつきましては、(株)アイ・エム・ティーの皆様のご協力に対し、お礼申し上げます。最後に本賞にご推薦いただきました社団法人日本水産学会会長 隆島史夫先生に深く感謝いたします。

引用文献

- 1) Okuno, A., Yang, W-J., Jayasankar, V., Saido-Sakanaka, H., Huong, D.T.T., Jasmani, S., Atmomarsono, M., Subramoniam, T., Tsutsui, N., Ohira, T., Kawazoe, I., Aida, K., and Wilder, M.N. (2002) Deduced primary structure of vitellogenin in the giant freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii*, and yolk processing during ovarian maturation. *Journal of Experimental Zoology* 292: 417-429.
- 2) Jayasankar, V., Tsutsui, N., Jasmani, S., Saido-Sakanaka, H., Yang, W-J., Okuno, A., Hien, T.T.T., Aida, K., and Wilder, M.N. (2002) Dynamics of vitellogenin mRNA expression and changes in hemolymph vitellogenin levels during ovarian maturation in the giant freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii*. *Journal of Experimental Zoology* 293: 675-682.
- 3) Tsutsui, N., Saido-Sakanaka, H., Yang, W-J., Jayasankar, V., Jasmani, S., Okuno, A., Ohira, T., Okumura, T., Aida, K., and Wilder, M.N. (2004) Molecular characterization of a cDNA encoding vitellogenin in the coonstriped shrimp, *Pandalus hypsinotus* and site of vitellogenin mRNA expression. *Journal of Experimental Zoology* 301A: 802-814.
- 4) Wilder, M.N., Subramoniam, T., and Aida, K. (2002) Yolk proteins of Crustacea. In: *Reproductive Biology of Invertebrates*. Adiyodi, K.G. and Adiyodi, R.G. (series eds), Volume XII – Recent Progress in Vitellogenesis. Raikhel, A.S. and Sappington, T.W. (eds). Science Publishers Inc., Enfield, NH, USA. pp.131-174.
- 5) Jasmani, S., Ohira, T., Jayasankar, V., Tsutsui, N., Aida, K., and Wilder, M.N. (2004) Localization of vitellogenin mRNA expression and vitellogenin uptake during ovarian maturation in the giant freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii*. *Journal of Experimental Zoology* 301A: 334-343.
- 6) Huong, D.T.T., Jayasankar, V., Jasmani, S., Saido-Sakanaka, H., Wigginton, A., and Wilder, M.N. (2004) Na/K-ATPase activity during larval development in the giant freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii* and the effects of salinity on survival rates. *Fisheries Science* 70: 518-520.
- 7) Wilder, M.N., Huong, D.T.T., Okuno, A., Atmomarsono, M., and Yang, W-J. (2001) Ouabain-sensitive Na/K-ATPase activity increases during embryogenesis in the giant freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii*. *Fisheries Science* 67: 182-184.
- 8) Wilder, M.N., Huong, D.T.T., Atmomarsono, M., Hien, T.T.T., Phu, T.Q., and Yang, W-J. (2000) Characterization of Na/K-ATPase in *Macrobrachium rosenbergii* and the effects of changing salinity on enzymatic activity. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A* 125: 377-388.
- 9) Phuong, N.T., Hai, T.N., Hien, T.T.T., and Wilder, M.N. (2003) Giant freshwater prawn (*Macrobrachium rosenbergii*) seed production: Principles and Practices. Agricultural Publishing House, Hanoi, Vietnam: 127 pp., and accompanying CD-ROM (In Vietnamese).
- 10) Hien, T.T.T., Hai, N.T., Phuong, N.T., Ogata, H.Y., and Wilder, M.N. (2005) The effects of dietary lipid sources and lecithin on the production of giant freshwater prawn (*Macrobrachium rosenbergii*) larvae in the Mekong Delta region of Vietnam. *Fisheries Science* 71: 279-286.

Basic physiological research and the development of seed production and aquaculture technology for economically important prawn species

Marcy N. Wilder (Japan International Research Center for Agricultural Sciences)

marwil@jircas.affrc.go.jp