

LHRHaコレステロールペレットを用いた天然魚由来のトラフグ養成親魚からの採卵について

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: 山崎, 英樹, 町田, 雅春, 白木, 美聡, 白井, 重行, 廣瀬, 慶二 メールアドレス: 所属:
URL	https://fra.repo.nii.ac.jp/records/2014526

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



LHRHa コレステロールペレットを用いた天然魚由来の トラフグ養成親魚からの採卵について

山崎 英樹^{*1}・町田 雅春^{*2}・白木 美聡^{*1}・白井 重行^{*1}・廣瀬 慶二^{*3}

Egg Collection from reared broodstocks of Tiger Puffer *Takifugu rubripes*,
originated in wild fish, treated with LHRH Analogue

Hideki YAMAZAKI, Masaharu MACHIDA, Misato SHIRAKI,
Shigeyuki SHIRAI, and Keiji HIROSE

Broodstock of tiger puffer, originating from wild fish that were reared in the laboratory for several years (cultured-wild tiger puffer), were induced to spawn using hormonal treatment with LHRH cholesterol pellets. Eggs were obtained from hormone treated fish for two successive years, and ovulation was predicted by changes in body weight change following hormonal treatment. It was indicated that egg collection could be efficiently carried out using cultured-wild tiger puffer because they showed high potential to undergo fertilization for a longer time following ovulation than did cultured broodstock originating from artificial seed in trials conducted by other organizations.

2002年2月5日受理

トラフグの採卵に使用する親魚は、従来漁獲直後の成熟した天然親魚に依存してきた。しかし、近年の天然資源量の減少から、産卵期に成熟した親魚の量的な確保が難しくなっている。そのため漁獲された成熟前の天然親魚に対しホルモン処理を行い採卵が試みられている¹⁻³⁾。しかし、ホルモン投与時の親魚の成熟状態が様々で、採卵は安定していなかった。その後、人工種苗から養成した個体（以下人工養成親魚）を用いて水温を一定にする等の飼育環境の制御により成熟を同調させ、ヒト胎盤性生殖腺刺激ホルモン（HCG）とシロサケ脳下垂体抽出物（SP）^{4,5)}を一緒に投与し採卵する試みが行われた。しかし、HCGもSPも投与後2~3日で急激にその効力が減少するため^{6,7)}、ホルモン投与から排卵までの時間に幅があるトラフグへのこれらのホルモンの使用には問題があった。そこで、合成生殖腺刺激ホルモン放出ホルモン（LHRHa）⁸⁻¹⁰⁾を徐放的に放出する長期間有効なコレステロールのペレットが最終成熟・排卵促進に用いられるようになった。現在では、この方法を用いて人工授精による採卵方法が種苗生産機関で広く行われてい

る。しかし、栽培漁業では放流種苗の遺伝的多様性を保つことや系群の維持から、放流海域に生息する天然個体を親として用いるのが原則とされている¹¹⁾。現在、日本栽培漁業協会では放流用種苗の生産には天然魚、もしくは天然魚を養成した親魚から得られる受精卵を使用している¹²⁾。さらに、トラフグについては近年産卵海域に回帰してくる系群の存在が明らかにされ^{13,14)}、放流用種苗に関しては天然由来の種苗を用いる必要性が一段と強まっている。

日本栽培漁業協会屋島事業場では1991年より天然トラフグ未成魚からの親養成を試み、1997年には採卵用親魚の周年養成と種苗生産に必要な親魚の計画的かつ量的な確保が可能となった。そこで、3~6年間養成した天然魚由来のトラフグ親魚（以下、天然養成親魚）に、人工養成親魚で採卵に広く用いられているLHRHaコレステロールペレット¹⁵⁾を投与して採卵を試みた。本研究では、まず天然養成親魚からの採卵状況を把握し、同一産卵親魚から翌年再び採卵できるか否かについても検討を行った。また、最終成熟や排卵時の体重変動で排卵の予

^{*1} 日本栽培漁業協会屋島事業場 〒761-0111 香川県高松市屋島東町234 (Japan Sea-Farming Association Yashima Station, 234, Yashimahigashi, Takamatsu, Kagawa, 761-0111 Japan).

^{*2} 日本栽培漁業協会南伊豆事業場 〒415-0156 静岡県賀茂郡南伊豆町石廊崎183-2.

^{*3} 日本栽培漁業協会 〒101-0047 東京都千代田区内神田3-14-8.

測の可能性や排卵後の受精率の変化も併せて調査し考察した。

材料および方法

供試魚と養成方法 採卵に使用した雌親魚は、1994～1996年の3～4月に香川県仁尾町の小型定置網で漁獲された0～1歳魚を3～6年間養成(3～6歳)した9個体を用いた。養成しているすべての親魚は、2歳の3月にカニューレションにより生殖腺を調べ、雌雄を確認した後、イラストマー蛍光タグ(Northwest Marine Technology社製)を胸鰭基部に注入して色により雌雄を区別した。同時にPassive Integrating Transponder (PIT) タグ(Destron & Fearing社製)を背筋肉中に埋め込み、個体識別を行った。その後も年齢別に雌雄一緒に混合養成した。加齢は4月1日を基準にした。

養成には周年30～40 m³陸上水槽を使用した。白点病対策として銅イオン発生装置(和光技研(株)製)を用いて銅イオン濃度が0.03～0.06 ppmになるように注水に銅イオンを溶出させて飼育水中に添加した。また、養成水槽中にモジ網(50 cm×360 cm)を垂下し、吸血性単生類のヘテロボツリウムの卵を付着させ養成水槽中から排除することにより、感染環を遮断した。

餌はモイストペレット(アジ:冷凍アミ:イカ:配合飼料=2:2:1:5)に総合ビタミン剤(ヘルシーミックス:田辺製薬(株)製)を4%添加したものを中心に給餌した。また、摂餌状況に応じてイカやアジの切り身などの生餌を追加給餌した。これらの餌料は週5回飽食になるまで給餌した。養成水温は冬期に最低水温が10℃以下にならないように加温し、それ以外は自然水温とした。また、早期採卵のため採卵前の1月上旬よりホルモン投与の3月まで養成水槽の水温を17℃になるように調温した(図1)。

ホルモン投与 トラフグの場合、飼育環境下で水温上昇等の環境制御を行っても、卵黄形成は促進されるが最終成熟を誘起する生殖腺刺激ホルモンのサージが起こらないことが知られているので⁹⁾、本試験ではホルモンを投与しない区を設けなかった。今回は、成熟・排卵促

進に効果があるLHRHを除放的に放出するLHRHaコレステロールペレットを、Lee et al¹⁵⁾に準じて作製した。LHRHにはdes-Gly¹⁰ [D-Ala⁶]-LHRH ethylamide (LHRHa) (Sigma社)を使用し、25 mgを0.6 mlの50%エタノールに溶解させ、475 mgのコレステロールと良く混合し、25 mgのココアバターを加えて37℃でココアバターを溶解させた。その後、試料を乾燥させ、コレステロールペレット1 mg中にLHRHaを50 µg含む直径2 mmの円柱状のペレットを形成した。

ホルモンの投与量は、中田ら¹⁰⁾と同様に雌個体には、LHRHaが魚体重当り400 µg/kgになるようにペレットを、骨髄生検針を用いて背筋肉中に埋め込んだ。

雄個体には、腹部を圧迫しても放精しないことを確認後200 µg/kg量のLHRHaペレットを投与した。排精を促進することが知られている¹⁶⁾ LHRHaの雄トラフグに対する効果については、ペレット投与2日後すべての個体から活発に運動する精子が得られることをすでに予備試験により確認している。

ホルモン投与時には、親魚を2-フェノキシエタノール(300 ppm)を含む海水で麻酔し体重を測定した。同時に内径2 mmのカニューレにより卵巣卵の一部を採取し、0.6%生理食塩水を満たしたシャーレに移し、30粒以上の卵巣卵径の測定と卵母細胞の観察を行った。ホルモン投与後は17℃に加温した6 m³ FRP水槽に2～4尾ずつ収容した。

採卵と人工授精 ホルモン投与後2～3日目より毎日午前9時に体重の測定および腹部の触診を行った。腹部が膨張し体重が増加して排卵が近いと思われる個体では、その後5時間毎に取り上げて、腹部を軽く圧迫し、排卵された卵が容易に流れ出す個体を排卵個体とした。その個体では、直ちに腹部を圧迫して採卵を行った。LHRHaコレステロールペレットの1回投与後に、排卵した卵のすべてを搾り出さず、採卵用親魚に負担をかけない範囲(魚体重20～30%量の採卵量を目安に)で採卵し、同一個体から翌年も採卵を試みた。採卵前には複数尾(3～4尾)の雄から精液を個体別に採取し、精子の運動性を調べ、採卵後直ちに3尾分の精子を用いて乾導法で受精させた。受精後は数回の洗卵を行い17℃の恒温室内で4～5時間静置後、受精の有無を約100粒で調査した。受精は4細胞期以上になったものを受精卵と判断した。そして、採卵して得られた卵全体の重量を測定してふ化槽に収容した。

排卵後の受精能の変化 天然養成親魚の排卵後の経過時間に伴う受精率の変動を調べた。試験は個体番号W-5, 6, 8の個体を用いて、1999年および2000年の2回行った。試験方法については排卵を前述した方法により確認し、各々約1,000粒の卵を搾出後、雌1個体の卵に対して、あらためて精子の運動性を調べておいた雄1個体を使用し受精させた。その後、受精卵を1 Lのビーカーに収容し、受精5時間後に卵割(4～8細胞期)の有無を約

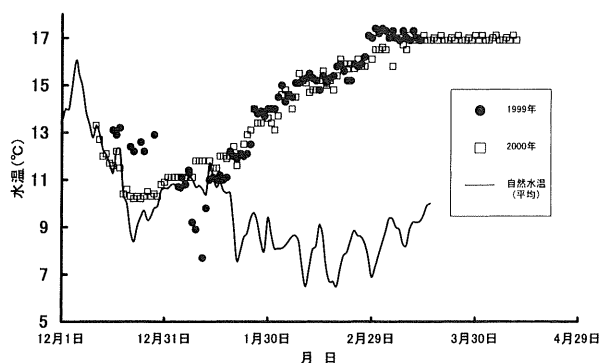


図1. トラフグ養成水温と自然水温

100粒調査し受精率を求めた。排卵確認後は同様の作業を5時間毎に行い、受精率の変化を経時的に調べた。雄は試験終了まで同じ雌に同じ雄1個体を使用した。

結 果

採卵結果 天然養成親魚の採卵結果を表1に示した。ホルモン投与時の魚体重は1999年(9尾)で1.89~3.24 kg, 2000年(9尾)では2.44~3.76 kgであった。

1999年のホルモン投与時の卵巣卵径は2月26日で819~892 μm, 3月15日で887~964 μmであった。排卵が確認されたのは、2月26日投与群ではホルモン投与5~11日後(平均8.5日目), 3月15日投与群では同4~8日後(同5.6日目)で、すべての個体から完熟卵を得ることができた。受精率は受精しなかった1尾(W-8)を除き63.1~99.0%(平均84.1%)であった。

2000年のホルモン投与時の卵巣卵径は3月10日で906~941 μm, 3月21日で980~1,034 μmで投与時期が遅くなるにつれて平均卵径も増大した。今回のホルモン投与時に卵巣卵径が1,000 μmを越える個体が見られたが、すべて成熟状況は核移動を伴う最終成熟前の個体であった。排卵は、3月10日投与群ではホルモン投与4~6日後(平均5.0日目)に、3月21日投与群は職員の採卵研修用に使用したため排卵時期を正確に把握できなかったW-7の個体(ホルモン投与は3月23日)を除き、3,4日後(同3.4日目)であった。受精率は受精しなかった1尾(W-4), 研修用に使用したW-7の個体およびホルモン投与を行わなかったW-9の個体を除いた6尾で67.2~98.4%(平均86.3%)であった。ホルモン投与を行わなかったW-9の個体を除いたすべての個体から完熟

卵が得られた。

排卵までの時間 図2にホルモン投与時の卵径と排卵までに要した時間を採卵年別に分けて示した(排卵の確認は5時間ごとに行っているの、最大5時間のずれがある)。人工授精には、排卵時期を把握することが重要であり、1999年ではホルモン投与時の卵径範囲は819~964 μmで、900 μm以上であった4個体のうち3個体では97, 107, 112時間と排卵が集中して確認され、別の1個体が168時間に排卵した。卵径が900 μm以下の個体では多くが168時間以上を必要とした。

2000年の試験では、ホルモン投与時の卵径が906~1,034 μmの範囲で、3月21日には平均卵巣卵径は1,000 μmを越えていた。ホルモン投与後から排卵までに要した時間は、卵巣卵径が1,000 μm以上の個体では、ホルモン投与後72~96時間の24時間内に集中した。また、卵巣卵径が900~1,000 μmの個体では、1尾を除き1999年と同様に、排卵は96~120時間の間に起こった。個体差はあるが、ホルモン投与時の卵巣卵径が大きいほど、排卵までに要する時間が短縮される傾向がみられた。

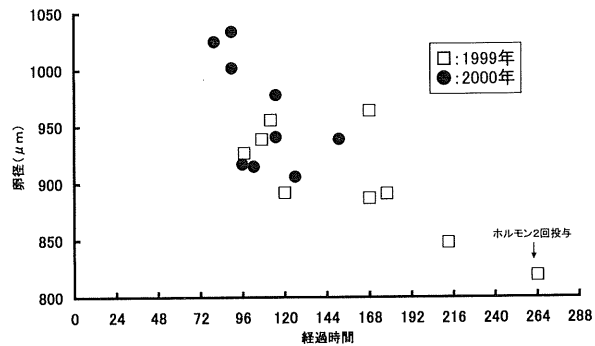


図2. ホルモン投与時の卵巣卵径と排卵までの経過時間

表1. LHRHa投与による天然養成親魚からの採卵結果

採卵年	個体番号	年齢	魚体重 (kg)	投与日	排卵までの日数	平均卵径 (μm)			採卵量 (kg)	受精率 (%)	ふ化率 (%)	備考
						投与時	採卵時	受精卵				
1999年	W-1	3	2.720	2/26, 3/7*	11	819	1,096	1,261	0.912	99.0	89.1	
	W-2	4	3.240	2/26	9	848	1,073	1,171	0.270	87.4	95.0	
	W-3	4	2.560	2/26	9	891	1,097	1,240	0.466	78.8	0.0	
	W-4	5	2.500	2/26	5	892	1,041	1,112	0.456	83.3	24.4	
	W-5	3	2.050	3/15	5	956	—	1,200	—	93.0	—	受精能調査
	W-6	3	1.980	3/15	4	927	—	1,120	—	70.2	—	受精能調査
	W-7	3	2.065	3/15	7	887	1,091	1,205	0.456	63.1	—	
	W-8	3	2.260	3/15	4	939	1,120	—	—	0.0	—	
	W-9	3	1.890	3/15	8	964	1,124	1,220	0.350	97.8	—	
2000年	W-1	4	3.285	3/10	6	939	1,115	1,221	0.960	92.5	96.8	
	W-2	5	3.760	3/10	5	906	1,023	1,118	0.412	67.2	—	
	W-3	5	3.220	3/10	5	941	1,109	1,205	0.994	92.6	—	
	W-4	6	3.030	3/10	4	917	1,009	—	0.390	0.0	—	
	W-5	4	2.775	3/21	4	1,034	1,194	1,219	—	82.5	—	受精能調査
	W-6	4	2.715	3/21	4	1,002	1,145	1,233	—	95.5	—	受精能調査
	W-7	4	2.870	3/23	5	980	1,084	1,201	0.690	25.0	—	
	W-8	4	3.155	3/21	3	1,025	1,122	1,217	—	87.3	—	受精能調査
	W-9	4	2.440									ホルモン未投与

* : LHRHaを2/26と3/7の2回投与

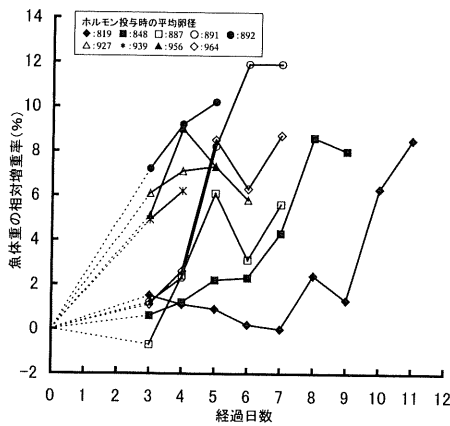


図3. 排卵までの魚体重の相対的変動 (1999 年)

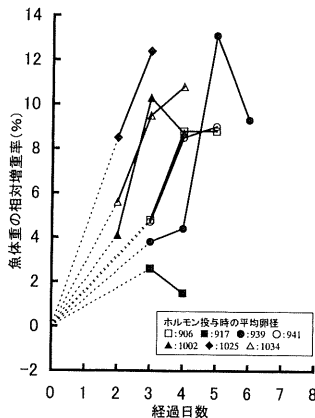


図4. 排卵までの魚体重の相対的変動 (1999 年)

魚体重の変化 図3, 4に1999年及び2000年のホルモン投与から排卵までの魚体重の相対的変化を個体別に示した。

1999年では、ホルモン投与時の卵径が $819\mu\text{m}$ と一番小さかった個体は9日目まで明らかな体重変化がなく、2回目のホルモン投与時点でも卵径が $855\mu\text{m}$ で1回目のホルモンの効果が判然としなかった。しかし、その2回目の投与後に体重増加が急激に認められ排卵まで誘導できた。その他の個体では、ほぼ1週間内に確実に体重増加が見られた。

2000年の試験では、ほとんどの個体の平均卵径が前年に比較して大きかったことから、体重が急激に増加した。また、受精しなかったW-3の個体(卵径 $917\mu\text{m}$)では、排卵までの体重の増加率が他の個体に比べ少なかった。排卵は、体重増加のピークがあるいはその翌日に多くの個体でみられた。

排卵後の受精能の変化 1999年には天然養成親魚2尾(W-5, 6)について排卵確認後、経過時間にもなう受精率の変化を調べた。天然養成親魚の受精率は15時間までほとんど低下が認められなかった。また、25時間後の受精率も40%以上を維持した(図5)。

2000年の試験でも昨年同試験に使用した親魚を含む天然養成親魚3尾について、試験の再現性のため排卵後

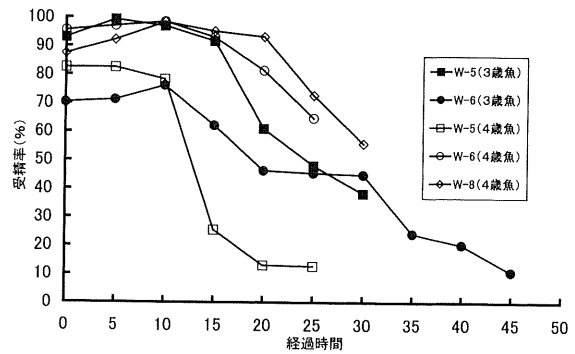


図5. 天然養成トラフグ親魚の排卵確認後の経過時間による受精率の変化(黒記号:1999年, 白抜き:2000年)

の受精率を調査した。受精率は試験開始後15時間目に受精率が急激に低下したW-5の個体を除いて他の2個体では15時間まではほとんど低下が認められなかった。また、排卵確認25時間後の受精率は60%以上を維持した。

なお、試験に供試した雄個体はすべて活発に運動する精子を有する状態を試験終了まで持続していた。

考 察

天然養成親魚からの採卵 今回の試験では、採卵に用いた親魚の個体識別を行い、個体別の採卵データを蓄積し、その産卵履歴を明らかにした。その結果、天然養成親魚の3~6歳魚の同一個体すべてから2年連続完熟卵を得ることができた。また、受精率も1999年が受精しなかった1尾を除いた8尾の平均が84.1%であり、その翌年でも、受精卵を得た6尾の平均で86.3%と複数年高い受精率の卵が得られた。今回得られた受精率の結果は中田ら¹⁷⁾や堀木ら¹⁸⁾が人工養成親魚で排卵の確認を4時間毎に行い、排卵直後に受精させた事例と比較しても遜色のない結果であった。このことは、天然未成魚を養成した天然養成親魚から安定的に採卵できることを示めている。これにより、放流海域の系群あるいは遺伝的問題を考慮した放流用種苗の確保が可能になるものと考えられる。なお今回は採卵量については、排卵された卵すべてを採卵しなかったので検討はしなかった。また、宮木ら²¹⁾や岡本ら⁵⁾が本種は沈性粘着卵であり卵管理中に死卵に起因する微生物の増加あるいは人為的な原因によりふ化率が左右されると報告していることやここでは一部の個体を受精能の比較試験に供試し、ふ化率は未調査なので卵の評価を受精率のみにより判断した。

今回の試験では、同一個体からの複数年の採卵を一つの目的とした。養成親魚からの採卵における今後の検討課題について、松田ら¹⁹⁾や松野ら²⁰⁾は、トラフグの陸上水槽による養成では収容尾数が限られ、その効率的利用の面から産卵親魚の繰り返し採卵が必要であると指摘している。一般にトラフグの人工授精による採卵では、受精卵の取引単価が高価なことから、採卵量を増やすため

排卵された卵を出来る限り搾り出している。その結果採卵に使用した親魚に大きな負荷を与え、採卵後死亡する例が多く見られる。しかし、今回の結果のように、採卵方法に留意して親魚に負担をかけなければ、同一個体を用いて複数年の採卵が可能になることが明らかになった。しかしながら、同一個体の再使用は栽培漁業において遺伝的多様性の減少につながることも考えられ、この方面からも今後検討する必要がある。

排卵時期の予測 ホルモンの1回投与により排卵までに要した時間は、個体差が認められるものの、卵径が小さいほど排卵までの時間が長い傾向を示した。人工授精において排卵時期の予測の重要性は多くの魚種で指摘され、トラフグに関してもその試験が行われている。中田ら¹⁷⁾は17℃で養成した場合、卵径930 μm 以上の個体では、ホルモン投与後96～120時間に排卵が集中したと報告している。また、岡本ら⁵⁾や堀木ら¹⁸⁾は今回の養成水温とは異なるが、平均卵径930 μm 以上の個体にHCGとSPを混合投与すると72～144時間の間に排卵すると報告している。今回の2年間の試験において、ホルモン投与後72～96時間内に排卵まで誘導できたのは3個体あり、それらすべての卵径が1,000 μm 以上であった。また、96～120時間の間に排卵を促すことができた個体は8個体であり、その平均卵径は935.6 μm であった。このように排卵までの時間に関しては、やや幅はあるものの投与時の卵径が小さいほど排卵まで時間を要した。この結果は過去の人工養成親魚の場合と同じかあるいは若干早く排卵し、人工養成親魚と同様に投与したホルモンが最終成熟、排卵に効果的に作用しているものと考えられた。よって、天然養成親魚からホルモン投与により採卵する場合は、卵径1,000 μm 以上の個体ではホルモン投与72時間後から、900 μm 以上の個体では同96時間後から排卵することが明らかになった。したがって、種苗生産現場においては、この結果を目安に排卵の確認作業を行えば、作業の効率化につながるものと思われる。

魚体重の変化に関して、排卵が体重増加のピークか、あるいはその翌日に起こるのが特徴的であった。このような最終成熟時における卵巣での吸水による魚体重の増加はアユ²¹⁾や他の多くの魚種でも知られており、トラフグに関しても鈴木ら³⁾がホルモン投与の効果指標の一つに利用できると指摘している。ここでも、卵径の小さな個体はホルモン投与後の体重増加率が緩やかで、排卵2～3日前からその割合が明らかに増える傾向を示した。また、卵径が1,000 μm を超える個体では、ホルモン投与直後から体重の増加が明らかに起こり、投与3日目にはすべての個体で体重増加率が8%以上を示し、ホルモンに対する応答が早かった。中田ら¹⁰⁾は、触診により卵巣の吸水による硬化を排卵の予測に用いている。今回の試験でも魚体重の測定時に合わせて触診による卵巣の成熟状況を調べたところ、中田ら¹⁰⁾の指摘するように卵巣の吸水による硬化を確認した事例もあったが、それを確認

できないまま排卵してしまった事例もあった。これは、卵巣の硬化現象が起こらなかったのではなく、触診にはある程度の熟練した技術が必要であることを示唆している。しかし、今回の試験結果から卵径800 μm 以上の個体にホルモン投与し魚体重が6～8%まで増加すれば、その後1～2日で排卵まで誘導できることが強く示唆された。今後、排卵のより正確な予測には、触診に合わせて魚体重の変化も一つの指標にできると考えられる。

受精能の変動 温水性魚の場合には、排卵後の経過時間によって急激に受精率が低下することが知られており、1～2日経過した場合ほとんど受精しないことが多い²²⁾。トラフグについても人工養成親魚を用いて排卵後の受精率の変化を経時的に調べているが、いずれの場合も排卵24時間までには、すべての個体の受精率が低下し、その範囲も0～25.9%とほとんど受精しないか低かったことを報告している^{5,17)}。今回の天然養成親魚を用いた試験では、排卵25時間後の受精率は45～73%を示し、今まで報告されている他機関の人工養成親魚とは大きな違いがあることが明らかになった。

天然養成親魚と人工養成親魚にこのような受精能の違いが見られた原因については養成方法等の違いも考えられた。しかし、今回の天然養成親魚と同時に養成した人工種苗由来の親魚2尾を予備試験に用いて同様な試験を行った結果、25時間後の受精率が9～34%となり、他の機関と同様に排卵確認後24時間頃には受精率は大きく低下した(山崎ら、未発表)。その原因については明らかにすることが出来なかったが、天然及び人工養成親魚とも排卵直後から5時間までが最も高い受精率の卵を得ることができるが、天然養成親魚を使用した方が、排卵からかなり時間が経過しても高い受精率の卵が得られ、効率的に人工授精ができることが明らかとなった。今後は、生理学的あるいは形態学的にこの受精率の低下要因をさらに検討する必要があると考えられる。

なお、2000年の試験では、天然養成親魚のうち1尾(W-5)が、人工養成魚と同様に15時間目に受精率の大幅な低下を示した。この個体では、すべての調査時に異常卵割が多数観察されていた。この個体と人工授精を行った雄は、他の個体の受精にも使用して正常な受精が観察されていることから、卵質に特別な問題があったと推察された。

以上、除放性にしたLHRHaコレステロールペレットをトラフグの天然養成親魚に投与することにより排卵を確実に促し、人工授精で高い受精率の卵を得られることが明らかとなった。この結果は人工養成親魚の結果と遜色のないものであった。さらに排卵後の受精率は人工養成親魚の場合より、緩やかに減少し、長時間高い受精率を示す。よって、天然親魚を用いることにより効率的に人工授精ができる。また排卵はホルモン投与後の体重変動から予測できることも明らかとなった。このように天然養成親魚から効率的に安定して採卵できることは、遺

伝的多様性を考慮すべき栽培漁業用の放流する種苗生産には有益である。

謝 辞

本研究にあたり、トラフグ未成魚の活け込みにご協力を頂いた香川県仁尾町漁業協同組合の西山前参事を始め組合員の皆さんに厚く御礼申し上げます。また、本試験の遂行に当り様々なご支援を頂いた日本栽培漁業協会屋島事業場岩本明雄場長及び職員の皆様に感謝いたします。

引用文献

- 1) 藤本 宏・白井重行 (1993) III-1 成体の確保と採卵, K-20 トラフグ. 日本栽培漁業協会事業年報 (平成3年度), pp. 61-63.
- 2) 宮木廉夫・立原一憲・蛭子亮制・塚島康生・松村靖治・藤田矢朗・林田豪介・多部田 修 (1992) ホルモン処理によるトラフグ天然親魚の成熟促進. 水産増殖, **40**, 439-442.
- 3) 鈴木康仁・竹村明洋 (1996) トラフグ天然親魚における成熟促進のためのホルモン投与方法の比較. 水産増殖, **44**, 85-90.
- 4) 韓 慶男・吉松隆夫・松井誠一・吉村研治・古市政幸・北島 力 (1995) トラフグの由来とその卵質の比較. 水産増殖, **43**, 323-329.
- 5) 岡本俊治・堀木清貴・松村貴晴・三宅佳亮・高須雄二 (1999) ホルモン処理によるトラフグ養成親魚からの人工採卵-I. 愛知水試研報告, 第6号, 31-37.
- 6) COOK, A. F., and R. E. PETER (1980) The effect of temperature on the clearance of intraperitoneally-injected gonadotropin in the goldfish *Carassius auratus*. *Aquaculture*, **19**, 275-285.
- 7) OHTA, H., and H. TANAKA (1997) Relation between serum levels of human chorionic gonadotropin (HCG) and 11-ketotestosterone after a single injection of HCG and induced maturity in the male Japanese eel *Anguilla japonica*. *Aquaculture*, **153**, 123-134.
- 8) 長尾成人・大沢 博 (1994) LH-RH アナログを使用したトラフグ養成親魚からの採卵. 栽培技研, **23**, 31-35.
- 9) 松山倫也・中田 久・池田義広・田中宏之・松浦修平 (1997) 各種ホルモン投与方法による誘起された養成トラフグの成熟, 排卵過程. 水産増殖, **45**, 67-73.
- 10) 中田 久・松山倫也・池田義弘・松浦修平 (1997) トラフグ養成親魚からの採卵技法の開発. 日水誌, **63**, 728-733.
- 11) 北田修一 (2001) 栽培漁業と統計モデル分析. 共立出版, 東京, pp. 54-55.
- 12) 日本栽培漁業協会 (1999) ブリの親魚養成技術開発. 栽培漁業技術シリーズ, No. 5, pp. 5.
- 13) 佐藤良三・小嶋喜久雄 (1995) トラフグの分布・回遊特性. 漁業資源研究会議報, **29**, 101-113.
- 14) 佐藤良三・鈴木伸洋・柴田玲奈・山本正直 (1999) トラフグ親魚の瀬戸内海・布刈瀬戸の産卵場への回帰性. 日水誌, **65**, 689-694.
- 15) LEE, C. S., C. S. TAMARU, and C. D. KELLEY (1986) Technique for making chronic-release LHRH-a and 17-methyltestosterone pellets for intramuscular implantation in fishes. *Aquaculture*, **59**, 161-168.
- 16) 皆川 恵・酒井 清・隆島史夫 (1986) ニジマスを対象とした再採精促進技法. 水産増殖, **34**, 205-207.
- 17) 中田 久・松山倫也・原 洋一・矢田武義・松浦修平 (1998) トラフグの人工授精における排卵後経過時間と受精率との関係. 日水誌, **64**, 993-998.
- 18) 堀木清貴・岡本俊治・松村貴晴・高須雄二 (1999) ホルモン処理によるトラフグ養成親魚からの人工採卵-II. 愛知水試研報告, 第6号, 39-43.
- 19) 松田宗之・山内達也・上口茂則・平田八郎 (1993) トラフグ, *Takifugu rubripes* の完全養殖化の試み. 水産増殖, **41**, 367-371.
- 20) 松野 進・松村征司・中村雅人 (1995) トラフグの水槽内養成と採卵. 栽培技研, **24**, 19-25.
- 21) HIROSE, K., T. HIRANO, and R. ISHIDA (1974) Effects of salmon gonadotropin on ovulation in the AYU, *Plecoglossus altivelis*, with special reference to water balance. *Comp. Biochem. Physiol.*, **47A**, 283-289.
- 22) 鈴木 亮 (1975) ドジョウ卵の排卵後における母体内滞留時間と発生能力. 水産増殖, **23**, 93-99.