

水槽内におけるマツカワの自然産卵と卵の 発生状況から推定した産卵時刻

渡辺 研一, 鈴木 重則

(1998年6月11日受付)

Natural Spawning in the Captive Barfin Flounder *Verasper moseri*, and Estimation of the Spawning Time Based on the Embryonic Development of the Fertilized Eggs

Ken-ichi Watanabe* and Shigenori Suzuki*

Low density culture, (0.24–0.26 ind./m²) of barfin flounder, in large sized aquaria was undertaken to establish a culture system for stable procurement of the fertilized eggs. Captured females spawned repeatedly for approximately one month, and the total number of spawned eggs during a spawning season was averaged between 85,000 to 406,000 per one female. Both fertilizing rate and hatching rate were high, 84–87% and 39–66%, respectively, and almost same as those from artificial fertilization using eggs within one day after ovulation. These results thus demonstrated the usefulness of this low density culture for stable harvest of a number of fertilized eggs with good quality. The spawning of the barfin flounders was estimated to occur from 10 p.m. to 4 a.m. in the aquaria based on the serial observation of embryonic development in artificially fertilized eggs.

キーワード：マツカワ, 自然産卵, 水槽, 飼育密度, 発生, 産卵時刻

マツカワ *Verasper moseri* は北方性のカレイ類で、低水温で成長が早いことに加えて魚価も高いため、北日本における栽培漁業の有望対象種である。本種の親魚養成及び採卵技術については、日本栽培漁業協会厚岸事業場（以下、当场と略記）が1981年から研究を開始した。1985年に初めて受精卵を得ることに成功し、¹⁾1986年には60尾の着底稚魚を生産した。近年では人工授精による採卵技術が開発され、²⁾種苗生産が軌道に乗るとともに10万尾の稚魚の生産が可能となってきている。

一方、本種の種苗生産においてウイルス性神経壊死症が発生し、その感染源として親魚が疑われている。³⁾ウイルス性神経壊死症の防除は、親魚へのストレスを軽減することが重要といわれている。⁴⁾現在受精卵を得るために行っている人工授精は、親魚にかなりのストレスを与えることから、より自然な採卵法の開発が望まれる。また、本種は資源の減少が著しく、親魚の入手が困難であることから、ハンドリングによる影響を親魚に与えない採卵法の開発は、親魚の減耗を避ける点からも重要である。さらに、本種の栽培漁業の事業化に当たり、大量採卵技術の開発は不可欠である。しかし、産卵期間が2ヶ月に及ぶ^{1,2)}にもかかわらず、親魚への影響を考慮

した場合、現在の人工授精による採卵では、1尾の親魚について1産卵期に数回しか採卵することができず、親魚をより有効に利用できる採卵法の開発が求められている。水槽内における自然産卵による受精卵の確保については、当场、北海道立栽培漁業総合センターおよび岩手県水産技術センター等で試みられてきたが、これまでは少量の受精卵しか得られておらず、成功例の詳細な報告は見あたらない。

このような背景から、水槽内における自然産卵による受精卵の確保のための技術開発を目的として、天然魚と受精卵から飼育した人工養成魚の低密度飼育による親魚養成を試みた。本報では、その結果とともに、人工授精により得られた受精卵の発生状況を経時的に観察し、それをもとに水槽内における産卵時刻を推定したので併せて報告する。

材料および方法

親魚の飼育 1994年の7月から1996年の10月にかけて北海道東部海域で定置網や刺し網により漁獲された天然魚を当场の水槽において飼育した親魚と、1993年に当场で得られた受精卵から成魚まで養成した親魚を水

* (註)日本栽培漁業協会厚岸事業場 (Akkeshi Station of Japan Sea-Farming Association, Chikushikoi, Akkeshi, Hokkaido 088-1108, Japan).

水槽内における産卵実験に用いた (Table 1)。なお、雌雄は後述の人工授精の際に排卵状況、腹部の隆起状況及び排精状況から確認した。これらの親魚は、角形コンクリート水槽 (たて7.8, よこ4.8, 深さ1.4 m) に収容した。餌料として、冷凍のエビジャコまたはモイストペレット (ヒラメ用マッシュ (日本農産工業): 冷凍オキアミ: 冷凍スルメイカ: 冷凍キュウリウオ=4:2:1:1, 1% 総合ビタミン剤 (ビタミックスC, マリンプロジェクト), 0.1% ビタミンC (ホスピタンC, 昭和電工)) を給餌した。天然魚の餌付け時には生きたエビジャコまたはホッカイエビ等の甲殻類を給餌した。給餌間隔は水温8°C以上では隔日, それ以下では1週間に2回とし, 飽食量を与えた。飼育水温は, 自然水温が3°Cを下回る12月から3°Cに加温し, 3月上旬には4°C, 中旬に5°C, 下旬に6°Cになるように調整した。自然水温が6°Cを超える5月からは調整せずに飼育を行った。

なお, 産卵開始直後に2~4回 (1日に1回) 排卵したにも関わらず産卵されずに卵巣腔内に貯留した卵を排出すること及び自然産卵により得られた受精卵の卵質を比較する目的で, 全ての親魚を取り揚げて採卵し, 人工授精を試みた。人工授精の方法は Koya *et al.*²⁾ にしたがって行った。1995年にはのべ24尾の雌を, 1996年にはのべ12尾の雌を, 1997年の天然魚群ではのべ10尾の雌を, 1997年の人工生産魚群ではのべ14尾の雌を用いた (Table 2)。

受精卵の採集 水槽内で産卵された卵は, 親魚養成水槽からオーバーフローした排水を, ゴース地の集卵ネット (直径70 cm×深さ50 cm) を設置した集卵水槽に導き, ネット内に集めて採集した。採卵は1日に1回, 10時または16時に行った。採集した卵について, 浮上卵量, 沈下卵量をメスシリンダーを用いて計量し, あらかじめ算出した係数180粒/ml乗じて卵数を推定した。本種の卵は分離浮性卵とされているが,⁵⁾ 受精卵は当場で使用している海水 (塩分31~32%) では浮上しないため,¹⁾ 34~35%の塩分となるように粉碎塩を添加して

浮上卵と沈下卵の分離を行った。浮上卵からランダムに1卵群当たり約200粒を採取して, 実体顕微鏡により受精率及び卵発生段階を観察した。得られた浮上卵は, ウイルス性神経壊死症防除のため, オキシダントを0.5 mg/l含む海水で5分間消毒後200 lのふ化水槽に収容し, 微通気 (700 ml/分), 8°Cに調整した海水の流水 (7 l/分) の条件下で管理した。ふ化終了時にふ化仔魚数を容量法により計数してふ化率を算出した。この際, ふ化仔魚は肉眼で正常なもののみを計数した。

産卵時刻の推定 本実験のTable 1に示した親魚と別に, 人工授精によって得られた1尾の雌からの受精卵を上記とほぼ同様の方法で管理した。水温は, 人工授精後24時間以内は, 自然産卵の時刻を推定するために, 自然産卵された受精卵が発生する水温である6°C台を維持し, その後は当場における卵管理水温である8°Cまで徐々に加温した。卵管理中は, 経時的に10粒を採取し, 卵の発生段階を実体顕微鏡により観察した。観察した10粒のうち, 最も発生が進んでいる卵の状態その時間における卵発生段階とした。この観察結果と, 上記の採卵時における受精卵の卵発生段階の観察結果とを比較することにより, 水槽内での産卵時刻の推定を行った。

結 果

採卵結果 水槽内における産卵状況をTable 3に示した。産卵開始時期は, 3月の中旬から下旬であった。産卵期間は1996年と1997年に天然魚を用いた群で約1カ月であったのに対して, 他の群では約2カ月間であった。産卵期間中における産卵した日の割合は, 1996年と1997年に天然魚を用いた群で43%以上と高いのに対して, 他の2群では22%以下と低かった。

産卵期を通した雌1尾当たりの平均総産卵数は, 1997年に天然魚を用いた群で92万粒と最も多く, ついで1996年の同群で多かった。雌1尾あたりの浮上卵数も天然魚群で多く, 1997年に47万粒, ついで1996

Table 1. Brood stocks of barfin flounder used for the experiments

Year	Origin	Tank (m)	Number of fish (F:M:U)*1	Fish density (ind./m ²)	Body weight range (kg)		
					Male	Female	Unknown
1995	Wild*2	7.8×4.8×1.4	9(6:2:1)	0.24	1.45~1.50	3.60~5.36	2.27
1996	Wild	"	9(6:2:1)	0.24	2.10~2.27	3.89~5.45	3.11
1997	Wild	"	10(5:3:2)	0.26	2.42~2.47	4.42~5.87	1.44~1.52
1997	Domestic*3	"	10(7:3:0)	0.26	1.56~1.94	2.60~3.68	

*1 F: female, M: male, U: unknown.

*2 Wild; captured in eastern Hokkaido area and reared.

*3 Domestic; reared from larval stage.

Table 2. Results of artificial fertilization in barfin flounder

Year Origin*1	1995	1996	1997	1997
	Wild	Wild	Wild	Domestic
Total number of days for artificial fertilization	4	2	2	2
Total number of female challenged for artificial fertilization	24	12	10	14
Total number of female succeeded for artificial fertilization	3	3	0	4
Total eggs ($\times 10^3$)	306	285	0	294
Total eggs/female ($\times 10^3$)	102	95	0	74
Floating eggs ($\times 10^3$)	201	265	0	226
Floating eggs/female ($\times 10^3$)	67	88	0	57
Rate of floating eggs*2 (%)	65.7	93.0	—	77
Fertilized eggs*3 ($\times 10^3$)	129	251	0	168
Fertilized eggs/female ($\times 10^3$)	43	84	0	42
Rate of fertilized eggs (%)	64.2	94.7	—	74.3
Hatching rate*4 (%)	33.3	44.9	—	52.0

*1 Refer to Table 1.

*2 Rate of floating eggs = (floating eggs) \div (total eggs produced) $\times 100$.*3 Rate of fertilized eggs = (fertilized eggs) \div (floating eggs) $\times 100$.*4 Hatching rate = (number of normal larvae) \div (floating eggs) $\times 100$.

Table 3. Results of natural spawning in barfin flounder reared in a tank

Year Origin*1	1995	1996	1997	1997
	Wild	Wild	Wild	Domestic
Spawning period	29, Mar. ~ 25, May	29, Mar. ~ 29, Apr.	18, Mar. ~ 17, Apr.	18, Mar. ~ 12, May
(Number of days)*2	54	30	29	60
Spawning day	10	13	20	13
Spawning rate*3 (%)	18.5	43.3	69.0	21.7
Total eggs ($\times 10^3$)	762	2006	4619	1214
Total eggs/female ($\times 10^3$)	127	334	924	152
Floating eggs ($\times 10^3$)	603	1061	2353	212
Floating eggs/female ($\times 10^3$)	101	177	471	27
Rate of floating*4 (%)	79.1	52.9	50.9	17.5
Fertilized eggs ($\times 10^3$)	508	854	2029	1
Fertilized eggs/female ($\times 10^3$)	85	142	406	0.1
Rate of fertilized eggs*5 (%)	84.2	84.7	86.5	0.9
Rate of hatching*6 (%)	39.0	66.4	55.6	—*7

*1 Refer to Table 1.

*2 The days which artificial fertilization was undertaken were omitted.

*3 Spawning rate = (spawning days) \div (days of spawning period) $\times 100$.*4 Rate of floating eggs = (floating eggs) \div (total eggs produced) $\times 100$.*5 Rate of fertilized eggs = (fertilized eggs) \div (floating eggs) $\times 100$.*6 Hatching rate = (number of normal larvae) \div (floating eggs) $\times 100$.

*7 Not done.

年で18万粒, 1995年で10万粒であった。産卵期間を通した群全体の浮上卵率も天然魚群で高く, 3カ年とも50%以上と, 人工養成魚群の20%未満の3倍以上であった。受精卵率も天然魚群で高く, 3カ年とも80%

以上であったが, 人工養成魚群ではほとんど受精卵を得ることはできなかった。天然魚群の産卵期間を通したふ化率は, 39~66%であった。

人工授精では (Table 2), 1995年にはのべ3尾,

Table 4. Embryonic development of barfin flounder

Time after fertilization (h)	Water temperature (°C)	Embryonic development
0	6.0	Just after fertilization
1	6.0	No significant development
2	6.1	No significant development
3	6.2	Blastodisk stage
4	6.5	2 cells stage
5	6.7	2 cells stage
6	6.7	4 cells stage
7	6.6	4 cells stage
8	6.5	8 cells stage
9	6.7	8 cells stage
10	6.6	16 cells stage
11	6.7	16 cells stage
12	6.6	32 cells stage
13	6.8	64 cells stage
21	6.5	Morula stage
29	7.0	Morula stage
45	6.5	Blastula stage
53	7.1	Blastula stage
68	7.2	Early gastrula stage
78	7.8	Gastrula stage
93	7.0	Appearance of embryo
102	7.6	Appearance of optic and Kupffer's vesicles
117	7.4	Appearance of melanophores on yolk
126	7.9	Appearance of heart
141	7.5	Appearance of lenses and melanophores on embryo
150	7.6	Appearance of auditory vesicles and tail tip detached from yolk
174	7.8	Tail tip reached to head part
189	7.2	Beginning of heartbeat
237	7.2	Hatching

1996年には3尾、1997年の天然魚群では0尾、1997年の人工生産魚群では4尾から採卵できた。採卵できなかった個体は、排卵し産卵した個体と考えられた。雌1尾あたりの採卵数はほぼ10万粒、浮上卵数は6~9万粒、受精卵数は4~8万粒、受精率は64~95%、ふ化率は33~52%の範囲であった。これらの測定値で、天然魚群と人工養成魚群の間で差は見られなかった。

卵発生の観察 1996年4月2日に人工授精した卵を前述の通りふ化管理し、経時的に発生の状態を観察した結果をTable 4に示した。胚盤の形成は受精後3時間

Table 5. Developmental stages at the time of egg collection

Year	Time of egg collection	Number of the case*				
		4 cells	8 cells	16 cells	32 cells	64 cells
1995	10:00	9				
1996	10:00			5	1	
1997	10:00	2	3	2		
1997	16:00					5

* One case was a result of embryonic developmental observation on fertilized eggs of one day.

で確認され、4時間後には第1回目の卵割により2細胞期となった。その後、6時間後に第2回目、8時間後に第3回目の卵割が起こり8細胞期となった。その後は10時間後に第4回目、12時間後に第5回目の卵割が起こり、13時間後に第6回目の卵割により64細胞期となった。21時間後にはモルラ期となり、45時間後に胞胚期、68時間後には囊胚期となった。93時間後には胚体が出現し、102時間後には眼胞とクッパー氏胞が出現した。117時間後には卵黄上に黒色素胞が出現し、141時間後にはレンズと胚体上に黒色素胞が出現した。150時間後には耳胞が出現し、尾部が卵黄から離れた。174時間後には胚体が卵内を1周した。心臓の鼓動は189時間後に確認され、人工授精からはほぼ10日が経過した237時間後にふ化が確認された。

水槽内における産卵時刻の推定 水槽内で産卵した卵の発生状態を観察し、その結果をTable 5に示した。10時に採卵し、観察した22例のうち11例が4細胞期、3例が8細胞期、7例が16細胞期、1例が32細胞期であった。一方、16時に採卵した5例は全てが64細胞期であった。人工授精した卵が、4細胞期となったのは受精後6~7時間であり、10時に4細胞期で採卵された卵の産卵時刻は3時から4時の間、同様に8細胞期の卵は1時から2時、16細胞期の卵は23時から0時と考えられた。また、32細胞期となるのは受精後12時間前後であり、22時前後に産卵していると考えられた。16時に採卵した64細胞期の卵の場合は、64細胞期に達するのに13時間を要したことから、3時に産卵したものと考えられた。本実験における産卵期間中の日出時刻は3時50分~5時30分、日没時刻は17時30分~18時50分であった。マツカワは水槽内で深夜の22時から明け方の4時までの間に産卵すると考えられた (Fig. 1)。

考 察

近年、マツカワの資源は減少し、南⁶⁾により希少種に

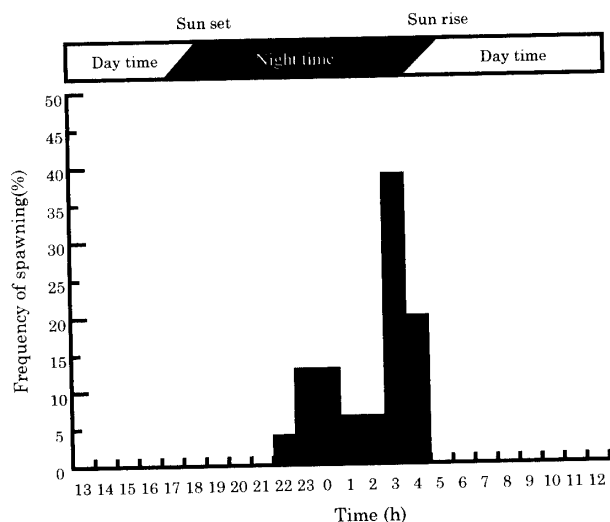


Fig. 1. Frequency distribution (%) of the spawning time for a day.

なりうる種と選定されており, 親魚の入手は非常に困難である。受精卵の確保について, 人工授精法は Koya *et al.*²⁾により排卵周期をもとに改良され, これにより90%以上の高い受精率を得ることができる。しかし, 繰り返し人工授精によるハンドリングを行った場合, 親魚に悪影響を与え, 死亡にいたる可能性がある。従って, 効率的に長期間にわたって受精卵を得る方法として水槽内での自然産卵が望ましい。

本種の水槽内における自然産卵については, 村上¹⁾が7尾の雄と27尾の雌を同一水槽(たて5.7, よこ5.1, 深さ2.0 m)に収容して採卵した例を報告しており, 2カ月以上にわたる産卵期間に149万粒の受精卵を得ている。これは, 1尾の雌当たり約5.5万粒の受精卵を得たことになる。一方, 本実験において, 1995~1997年の天然雌親魚計17尾から得られた受精卵は約340万粒であり, 雌1尾当たり約20万粒に達した。

Koya *et al.*²⁾は, 39尾の雄と10尾の雌を同一の水槽(たて5.0, よこ5.0, 深さ2.0 m)に収容して養成したところ, 約2カ月の産卵期間のうち54日産卵したが, 受精率がおおよそ10%に達した日は3日しかなかったことを報告した。この原因として, 1尾の雌は平均3.5日周期で排卵するものの, 正常な産卵が起こらず, 排卵された卵が卵巣腔内に貯留されている間に過熟となり, 受精率が著しく低下したことが推察されている。本実験の水槽内における自然産卵では, 集卵ネット内に卵が確認された日には必ず受精卵が得られており, 受精率も最低でも45%, 最高で100%と高く, 排卵後に速やかに産卵が行われる正常な周期的産卵が行われたと考えられる。本実験において, 水槽内で自発的な産卵が速やかに行われた要因として親魚の収容密度が考えられる。収容

密度は村上の報告例¹⁾で1.16尾/m², Koya *et al.*²⁾で1.96尾/m²であるのに対して, 本実験では0.24~0.26尾/m²と低かった。奥村ら⁷⁾は, アカアマダイ *Branchiostegus japonicus* で親魚密度を著しく下げた場合に, 密度が高い例と比較して受精率に大幅な向上がみられたことを報告している。また, 廣瀬は⁸⁾マダイ *Pagrus major* を水槽で産卵させる場合, 雌の密度を半分にした群が多く卵を毎日産卵することを報告している。さらに, 靄田・広瀬⁹⁾もカタクチイワシ *Engraulis japonica* で飼育密度が低いほど産卵期間を通した雌1尾・1日当たりの産卵数が多かったことを報告している。今回の実験例もあわせて考察すると, 高密度での飼育は, 個体間干渉によるストレスを増加させ, 産卵行動の遂行に悪影響を及ぼすと考えられる。また, 松山ら¹⁰⁾は飼育下で産卵しない魚では生殖腺刺激ホルモンがストレスのために出ないことを報告している。マツカワの場合には, 排卵は確認されており, 生殖腺刺激ホルモンが出ないために産卵しないとは考えにくい, 各種のホルモンバランスがストレスにより崩れ, 正常な産卵が行われない可能性も考えられる。

今回の実験と前報^{1,2)}では, 性比が異なっていることや親魚の年齢も違っている可能性があり, これらが原因となつて水槽内での産卵に影響を与えていたことも考えられ, 収容密度と産卵の関係についてもさらに検討が必要であろう。一方, 今回の実験では実験開始後に人工授精のためにすべての親魚を取り揚げ, 2~4回卵を搾出した。このことは過熟卵につながる要因の除去になるとともに, 卵の発達が同期的に進むことにつながり, 水槽内での自然産卵がスムーズに進行したと考えられる。

人工養成魚では, 水槽内での自然産卵に成功しなかった。しかしながら, それらの卵および精液を用いて人工授精を行ったところ, 平均74.3% (1997年)の受精率が得られ, 天然魚と比較して差が認められなかった (Table 2)。従って, 卵形成および排卵, また精子形成および排精には問題がないものの, 産卵がうまくいかなかったことを意味している。これは, 天然魚群に比較して特に人工養成雌親魚の大きさが小さく, 年齢が若いことによる産卵行動の未熟さ等が影響していた可能性が考えられる。したがって, 今後, 例数を増やして検討する必要がある。

本研究では, 産卵された卵の発生ステージから, 産卵時刻の推定を併せて行った。マツカワの産卵は深夜の22時から明け方の4時までの間に起こり, 特に0~4時に集中することが示唆された。カレイ類の産卵時刻については, ヒラメ *Paralichthys olivaceus* では平本・小林¹¹⁾が, 0~6時の間に全産卵回数の2/3の産卵が見られたと報告している。また, 水田・田畑¹²⁾は産卵行動

は4~6時に最も活発であり、23~24時、13~14時にも活発であったと報告している。一方、マコガレイ *Pleuronectes yokohamae* では10時と18時に産卵行動と産卵が確認され、¹³⁾ シナホリンによる産卵誘発を行ったムシガレイ *Eopsetta grigorjewi* では夕方に産卵行動、17時に産卵が確認されている。¹⁴⁾ これらの結果は、連続的でなく1日に何回も産卵している例や、ホルモン処理により採卵している例もあり、必ずしも正常な産卵時刻を示していない例もあると考えられるが、マツカワの結果も合わせて、産卵時刻は種によって異なっていることが示唆された。暗視野カメラなどによる産卵行動の観察は、産卵時刻の推定に有用であり、観察結果をもとに1尾の雌に対して必要な雄の数の決定、産卵に参加しない雄の交換等、産卵の成功率の向上に寄与するものと考えられる。

本実験により、マツカワが水槽内で産卵するための条件として収容密度の重要性が明らかになり、自然産卵により親魚にストレスを与えずに長期間繰り返し受精卵を得ることが可能となった。しかし、今回の実験では人工養成魚の自然産卵による受精卵の確保には成功しておらず、親魚の有効利用の観点から、さらに飼育環境や親魚の年齢等と産卵の成否との関係について検討していく必要がある。今後、産卵行動の観察を通して機能的な雄の確認も行い、雄の数を適切な範囲内で増やしたり、雄を産卵期間中に入れ替える等、水槽内での産卵手法の改良も必要である。

謝 辞

本実験に当たり、終始ご協力いただいた当番藤祐輔氏、指導、助言をいただいた日本栽培漁業協会第二技術部今村茂生部長及び錦昭夫場長、及び本論文をまとめるに当たり指導と助言をいただいた日本栽培漁業協会参与廣瀬慶二博士に深くお礼申し上げます。また、貴重なマツカワ親魚を恵みいただいた岩手県水産研究センターに深

謝する。併せて、本論文のご校閲を賜った北海道区水産研究所資源培養研究室長松原孝博博士に深く感謝する。

文 献

- 1) 村上直人：マツカワの種苗生産。さいばい, 48, 32-36 (1988).
- 2) Y. Koya, T. Matsubara, and T. Nakagawa: Efficient artificial fertilization method based on the ovulation cycle in barfin flounder *Verasper moseri*. *Fisheries Sci.*, 60, 537-540 (1994).
- 3) K. Watanabe, S. Suzuki, T. Nishizawa, K. Suzuki, M. Yoshimizu, and Y. Ezura: Control strategy for viral nervous necrosis of barfin flounder. *Fish Pathol.*, 33, 445-446 (1998).
- 4) 虫明敏一, 中井敏博, 室賀清邦, 関谷幸生, 古澤 巖: シマアジのウイルス性神経壊死症: 仔魚の発病に対する親魚の抗体価および産卵飼育方法の影響. 水産増殖, 41, 327-332 (1993).
- 5) 松岡弢良: 日本産魚類の産卵期. 日本産魚類産卵期記録集, 瀬戸内海栽培漁業協会, 神戸, 1975, pp. 24.
- 6) 南 卓志: マツカワ. 日本の希少な野生生物に関する基礎資料(I)一分冊一, II. 海産魚類, 水産庁, 1994, pp. 284-288.
- 7) 奥村重信, 今泉 均, 中園明信: 飼育下でのアカアマダイの受精率の向上. 水産増殖, 43, 449-454 (1995).
- 8) 廣瀬慶二: 最近の成熟, 産卵制御法, 「海産魚の成熟・産卵リズム」(廣瀬慶二編), 恒星社厚生閣, 東京, 1991, pp. 125-137.
- 9) 鷲田義成, 廣瀬慶二: 日本産カタクチイワシ (*Engraulis japonica*) の個体数変動と関連した再生産力の自己調節. 北太平洋漁業国際委員会研究報告, 49, 107-114 (1993).
- 10) 松山倫也, 石田泰蔵, 池浦 繁, 松井誠一, 田辺智唯, 北島 力, 松浦修平: LHRH-aによるマイワシの成熟, 排卵促進. 水産海洋研究, 55, 301-306 (1991).
- 11) 平本義春, 小林啓二: ヒラメの種苗生産に関する研究—I 室内水槽における自然産卵について. 水産増殖, 26, 152-158 (1979).
- 12) 水田 章, 田畑和男: 暗視野ビデオ観察及び産出卵の発生段階観察によるヒラメの産卵時刻の推定. 兵庫県水試研報 (33), 27-32 (1996).
- 13) 佐藤羊三郎: マコガレイ (日出シロシタガレイ) の水槽内自然産卵生態について—II—. 水産増殖, 23, 33-35 (1976).
- 14) 今岡要二郎: 新種の種苗生産技術開発特集(1)ムシガレイの採卵と孵化仔魚の飼育. 栽培技研, 8, 33-39 (1979).