

## 給餌率を変えて飼育したマツカワ稚魚の成長率と肝臓成分

高谷義幸\*<sup>1</sup>, 佐藤敦一<sup>2</sup>

<sup>1</sup>北海道立総合研究機構中央水産試験場 <sup>2</sup>北海道立総合研究機構栽培水産試験場

Relationship between growth and biochemical constituents in the liver of laboratory-reared juvenile barfin flounder (*Verasper moseri*)

YOSHIYUKI TAKAYA\*<sup>1</sup> AND NOBUKAZU SATO<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Hokkaido Research Organization, Central Fisheries Research Institute, Yoichi, Hokkaido, 046-8555,

<sup>2</sup>Hokkaido Research Organization, Mariculture Fisheries Research Institute, Muroran, Hokkaido, 051-0013, Japan

We examined a range of biochemical constituents in the liver of barfin flounder (*Verasper moseri*) and evaluated the growth rate using a biochemical index. The flounders were reared for 4 weeks under 4 dietary levels (0% body weight per day, 0.5% body weight per day, 1.25% body weight per day, and 2% body weight per day), and measured the total body length and body weight at weekly intervals. Further, the specific growth rate (SGR) was calculated using the equation  $100 \times (\ln W_t - \ln W_0) / d$ , where  $W_0$ ,  $W_t$ , and  $d$  represent the initial body weight, body weight at week  $t$  ( $t = 1-4$ ), and number of days, respectively. We analyzed a range of biochemical constituents, including triglyceride, glycogen, moisture, protein, RNA, DNA, and phospholipid, in the liver after feeding. From these, significant correlations between SGR and several biochemical constituents, namely, RNA/DNA ratio, phospholipid/DNA ratio, condition factor, liver index, and protein/DNA ratio, were shown. Our results indicate that the biochemical constituents represent useful biochemical indices for evaluating the growth rate of released barfin flounders in the field.

キーワード：肝臓，瞬間成長率，成分，マツカワ

北海道では1987年からマツカワ (*Verasper moseri*) の人工種苗放流を行っている。2006年からは一層の資源増大を図るために、えりも町から函館市にかけての北海道太平洋西部海域で年間100万尾の種苗を放流しており、これに伴って同海域全体の漁獲量は増加している(村上ら, 2011)。しかし、同じように多数の人工種苗を放流していても、漁獲量の増加量は地域間で差が生じており、これらの地域では放流場所の餌料量に大きな差があることが明らかにされている(村上ら, 2011)。ヒラメでは放流場所の餌料環境について検討され、餌の多寡が放流魚の生残に関係しているのではないかと推測されている(古田ら, 1997; Watanabe *et al.*, 2006) ことから、マツカワの場合も放流場所の餌料環境が放流魚の生き残りに影響を与え、さらには地域間の漁獲量の差を生じさせる要因の一つになっているものと思われる。

放流場所の餌料環境が良好な場合は、放流魚は速やかかつ十分な量の摂餌が可能であり、結果として速く成長する

ことができる。成長は、餌料生物を捕捉するためや外敵から逃避するための運動能力を高めることとなり、生き残りには極めて重要なファクターであると考えられる。したがって、放流魚を再捕し、その成長率を評価することができれば、放流場所の適否の判定が可能となり、不適切な場所への無駄な放流を防止することができるなど、効率の良い栽培漁業が展開できる。

稚魚の成長率を推定するための方法として、体成分分析による生化学的指標を用いる手法がある。放流魚が餌として摂取した栄養物質は、魚体内で活動のエネルギーとして消費されると同時に代謝と成長に向けられ、残りは体内に蓄積される。このため、餌を多く食べ多量の栄養物質を体内に取り込むことができた個体は、速く成長するとともに体内にも多くの栄養物質を蓄積している。したがって、放流再捕魚の体型や体成分を調べることで、個体の成長率を推定することが可能となる。ヒラメでは、室内飼育試験で得られた成長率と肝臓中のRNA/DNAやリン脂質/DNA

などの生化学的指標を用いて、天然魚の成長率評価が試みられている (Fukuda *et al.*, 2001) が、マツカワではこのような取り組みは行われていない。そこで、マツカワの成長率を推定するための生化学的指標を作成することを目的に、給餌率を変えて飼育した異なる成長率のマツカワを用い、成長率と肝臓中の成分との関係を調べ、いくつかの項目について指標となりうる可能性を得たので報告する。

## 試料及び方法

北海道栽培漁業振興公社伊達事業所で2008年4月に人工受精により生産され、北海道立栽培水産試験場 (現 北海道立総合研究機構栽培水産試験場) で育成したマツカワ人工種苗0歳魚 (実験開始時の平均全長123mm, 最大142mm ~ 最小102mm, 平均体重28.6g, 最大45.9g ~ 最小15.8g) を2008年10月20日から無給餌状態とし、10月23日に全長及び体重を測定するとともに個体識別のためのスパゲッティ型標識を装着して実験水槽に收容した。実験水槽には、200ℓポリカーボネイト水槽4基を用い、それぞれに測定済みのマツカワを40尾ずつ收容した。実験区として、給餌率を変えた4条件を設定し、それぞれ收容した魚の総重量に対して0%, 0.5%, 1.25%, 2%になるように市販配合飼料 (ヒガシマル社製珊瑚シリーズ) を1日1回給餌した。この給餌率は、各週のサンプリングで得られた飼育魚の魚体重をもとに1週間単位で再計算して設定給餌率になるように調整した。飼育水は水温約16°Cに調温した海水を掛け流しとした。10月27日から給餌を開始し、11月3日 (1週目), 11月10日 (2週目), 11月16日 (3週目), 11月25日 (4週目) に各水槽から10尾ずつをサンプリングした。なお、肥満度に対する胃内容物重量の影響をなくすため、サンプリング前には2日程度の無給餌期間を設けた。サンプリングした個体は、全長と体重を測定し、伸長量、増重量および (1) 式により瞬間成長率 (Specific Growth Rate, 以下SGRと表記) を算出した。測定後は-30°Cで凍結保存し、後日、解凍して分析に供した。解凍したサンプルは再度全長と体重を測定し、解凍後の肥満度を (2) 式により算出した。体測定後は、肝臓を摘出して重量を測定し、比肝重を (3) 式によって算出した。摘出した肝臓は、適量の冷蒸留水を加えて氷冷しながらヒスコトロン (マイクロテック・ニチオン社製) でホモジナイズし、最終的な分析試料中に含まれる組織重量が100~200mg\*<sup>1</sup>になるように冷蒸留水でメスアップした。このホモジネートから0.5mlをSTS法を改変した中野 (1988) の方法によるRNA, DNA定量用に、

また10μlをLowry法 (Lowry *et al.*, 1951) による粗タンパク質定量用に分取し、残りを真空凍結乾燥して水分量を算出した。乾燥後のホモジネートに一定量のエタノール・エーテル (3:1, v:v) を加え、トリグリセリド (以下, TGと表記) およびリン脂質 (以下, PLと表記) を鈴木ら (1994) の方法 (ただしTG定量用のキットはトリグリセリドE-テストワコー, 和光純薬製を用いた) で定量した。この後、遠心エバポレーターで溶媒を除去し、残った沈殿に2mlの30%KOHを加えて溶解し、Watanabe *et al.* (1992) の方法でグルコースを抽出した。これを臨床用検査キット (グルコースCIIテストワコー, 和光純薬) でマイクロプレートを用いて定量し、0.9を乗じることでグリコーゲン量とした。このようにして得られた定量値のうち、タンパク質, RNA, PLをそれぞれDNA量で除してタンパク質/DNA, RNA/DNAおよびPL/DNAを算出した。なお、分析に供した個体のうち、2%給餌区で3週目にサンプリングした1個体 (飼育中に尾びれ欠損のため)、0%給餌区で4週目にサンプリングした2個体 (解剖時に肝臓の萎縮が認められたため) および0%給餌区で3週目にサンプリングした2個体 (分析に失敗したため) は解析から除外した。

$$\text{SGR}(\%) = 100 \times (\ln W_t - \ln W_0) / d \dots (1)$$

$$\text{肥満度} = (W_t / TL_t^3) \times 10^5 \dots (2)$$

$$\text{比肝重} = (LW_t / W_t) \times 100 \dots (3)$$

ただし、 $W_0$ : 実験開始時の体重 (g),  $W_t$ : 実験開始からt週目の体重 (g),  $TL_t$ : 実験開始からt週目の全長 (mm),  $d$ : 実験日数 (無給餌日を含む),  $LW_t$ : 実験開始からt週目の肝臓重量 (g)。

**結果の解析と統計検定** 給餌率が成長率に与える影響については、各実験区の平均伸長量と平均増重量を用いて飼育期間別に比較し、平均値の差をTukey-Kramer検定により判定した ( $P < 0.05$ )。成長率と肝臓の各成分の関係については、実験区によらず、各個体のSGRと成分の関係を単回帰分析により判定した。また、各サンプリング週間の回帰直線の傾きの差はF検定 ( $P < 0.05$ ) により検出した。

## 結果

**給餌率と体成長の関係** 各実験区での実験開始時から終了時までの伸長量をFig.1, 増重量をFig.2に示した。全ての実験区で実験開始1週目には伸長が認められた。その後、0%給餌区ではさらなる伸長は認められなかったのに対し、0.5~2%給餌区では時間の経過とともに伸長量は増加していた。増重量は0%給餌区で1週目までに2g程度減

\*<sup>1</sup> マツカワ肝臓を試料とした場合、試料中のグルコース量が15mg/mlを越えるとグルコース定量値が不安定になる (高谷未発表) ため、適宜希釈する必要がある。

少し、その後もマイナスで推移し、減少量は3週目から4週目にかけて増大した。0.5%給餌区ではわずかに増減しながら推移し、最も減少の大きかった1週目と増加量の多かった3週目の間で有意差が見られたものの、その他の期間では有意差は認められなかった。1.25%給餌区と2%給餌区ではともに時間経過につれて増重量が多くなり、伸長量と同様に給餌率を高くすることで体重増が認められた。SGRは0%給餌区では実験開始1週目までの減少が著しく、その後、2~4週目には-0.5%程度の減少であった。0.5%給餌区では1週目までの減少が大きく、その後はSGRの変動はほとんど見られなかった。これらに対し、1.25%給餌区と2%給餌区では、1.25%区の1週目で若干低かったのを除けば、いずれも1週目から1~1.5%程度の増加が持続した(Fig.3)。このように、今回の実験では給餌率の増減により飢餓状態から高成長まで様々な成長率の個体を作り出すことができた。

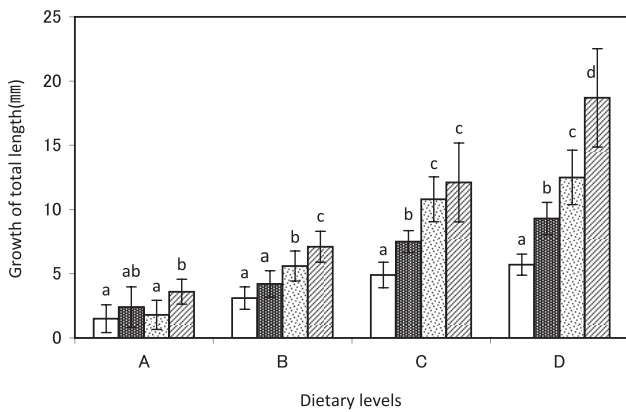


Fig.1 Increase in total body length of *Verasper moseri* juveniles reared under 4 dietary levels for 1-4 weeks (□, 1 week; ■, 2 weeks; ▨, 3 weeks; ▩, 4 weeks). A, B, C, and D represent the weight ratio of diet to body weight per day (A, 0%; B, 0.5%; C, 1.25%; D, 2.0%). Vertical bars indicate standard deviations. Different lower case letters within the same experimental division indicate significant differences at  $P < 0.05$ .

**SGRと肥満度およびSGRと比肝重の関係** SGRと肥満度および比肝重の関係をFig.4に示した。肥満度については1週目から2週目、3週目から4週目にかけてSGRとの回帰直線の傾きが有意に大きくなり、決定係数も3週目を除いては時間の経過とともに高くなっていった。比肝重については3週目までは肥満度と同様に高SGRの個体で高い傾向にあり、飼育期間が長くなるにつれて回帰直線の傾きも小さくなっていったが、4週目では高SGR個体で低下する傾向が見られ、回帰直線の傾きは小さくなった。

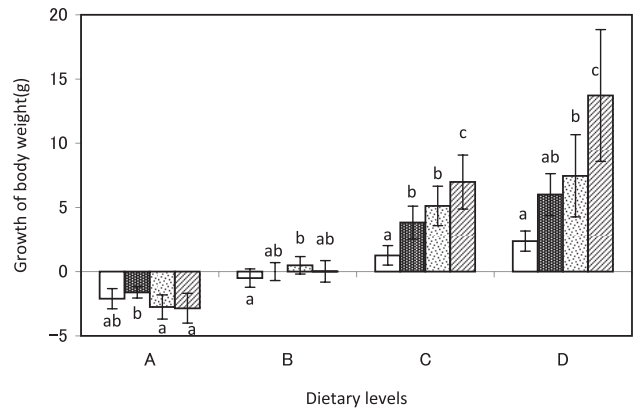


Fig.2 Increase in body weight of *Verasper moseri* juveniles reared under 4 dietary levels for 1-4 weeks (□, 1 week; ■, 2 weeks; ▨, 3 weeks; ▩, 4 weeks). A, B, C, and D are the same as in Fig. 1. Vertical bars indicate standard deviations. Different lower case letters within the same experimental division indicate significant differences at  $P < 0.05$ .

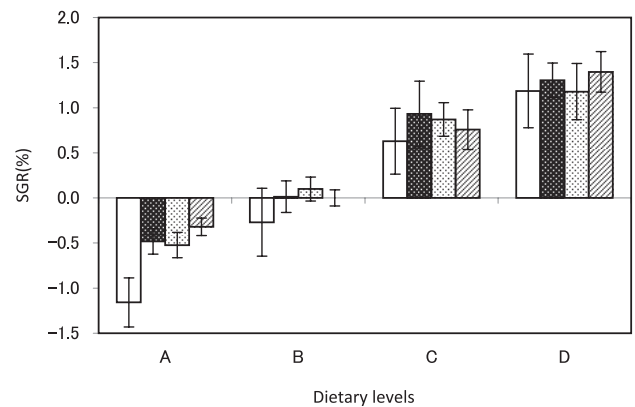


Fig.3 Specific growth rate (SGR) of *Verasper moseri* juveniles reared under 4 dietary levels for 1-4 weeks (□, 1 week; ■, 2 weeks; ▨, 3 weeks; ▩, 4 weeks). A, B, C, and D are the same as in Fig. 1. Vertical bars indicate standard deviations. SGR is given by  $100 \times (\ln W_t - \ln W_0) / d$ , where  $W_0$ ,  $W_t$ , and  $d$  represent the initial body weight, body weight at week  $t$ , and number of days, respectively.

**SGRと栄養物質の蓄積量の関係** SGRと肝臓内の蓄積栄養物質であるTG、グリコーゲンおよび水分の関係をFig.5に示した。TG量はいずれのサンプリング週においてもSGRとの強い関係は認められず、肝臓内には常に0.5~2%程度存在した。グリコーゲン量はSGRがマイナスの個体では検出されることがなかったが、1~3週目のSGRがプラスの個体で1~10%程度検出される場合があった。しかし、その一方で同程度のSGRであってもほとんど検出されない個体も多く、個体間のばらつきが大きかった。また、4週目のサンプルでは1個体を除いて3%以下しか検出されな

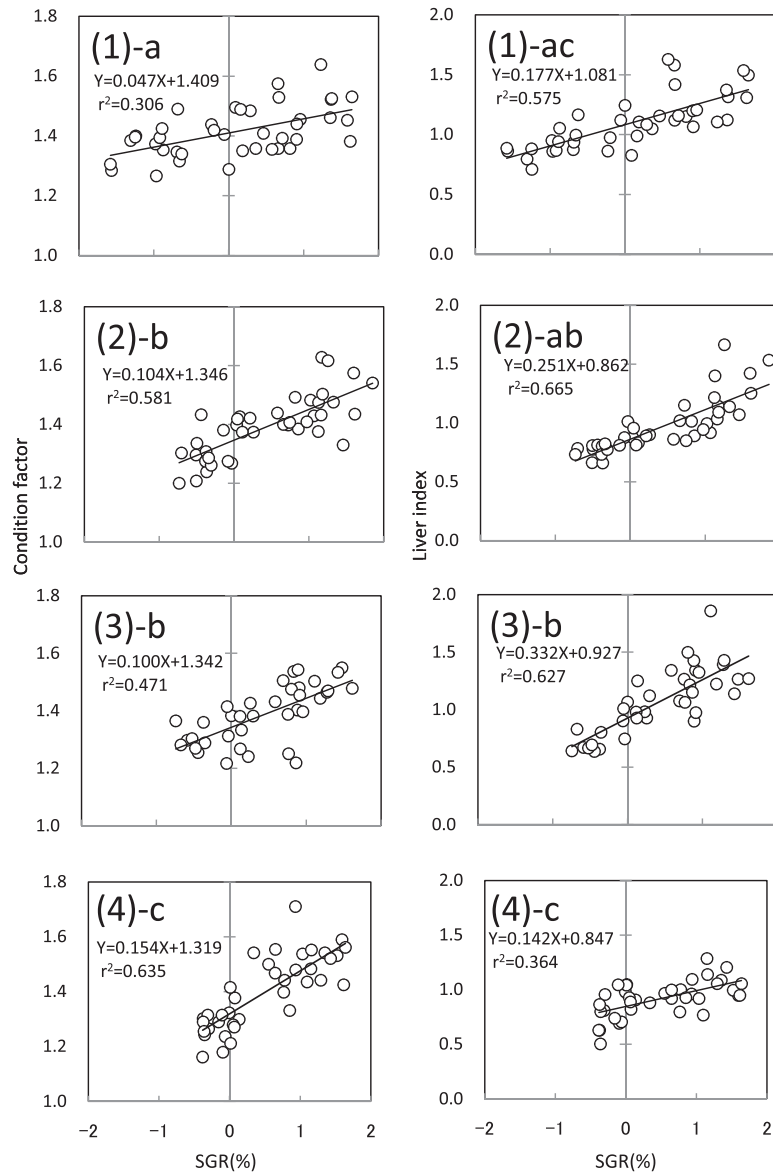


Fig. 4 Relationship between specific growth rate (SGR) and condition factor (left column), and specific growth rate (SGR) and liver index (right column) of *Verasper moseri* juveniles reared for 1-4 weeks. Numbers in parentheses indicate feeding period (weeks). Different lower case letters indicate significantly different regression coefficients at  $P < 0.05$ . Condition factor and liver index are given by  $(W_t/TL_t^3) \times 10^5$  and  $(LW_t/W_t) \times 100$ , respectively, where  $W_t$ ,  $TL_t$ , and  $LW_t$  represent the body weight at week t, total length at week t, and liver weight at week t, respectively.

かった。水分量は、期間を通じて緩い負の相関が見られた。また、4週目では低SGRの個体に比較的高い値を示すものが見られた。

**SGRと機能的指標の関係** SGRとタンパク質/DNA、RNA/DNAおよびPL/DNAの関係をFig.6に示した。タンパク質/DNAは1週目から比較的強い相関が見られ、この傾向は3週目まで継続したが4週目には低SGRの個体で値が上昇することで回帰直線の傾きが小さくなった。RNA/DNAは1週目から強い相関関係が認められ、2週目にかけて回帰直線の傾きが大きくなり、これが3週目にかけて持続した。しかし、4週目には主として高SGR個体の値が低下するこ

とに伴って回帰直線の傾きが小さくなった。PL/DNAは1週目にはばらつきが大きく、決定係数は高くなかったものの2~3週目にかけて決定係数が高くなった。回帰直線の傾きは2週目から3週目にかけて大きくなったが、4週目にはRNA/DNAと同様に小さくなった。

### 考 察

成長率は給餌率を良く反映し、給餌率が高い実験区ほど良好であった。また、この差は飼育期間の経過とともに拡大していた (Fig.1, Fig.2)。絶食とした0%給餌区では増重

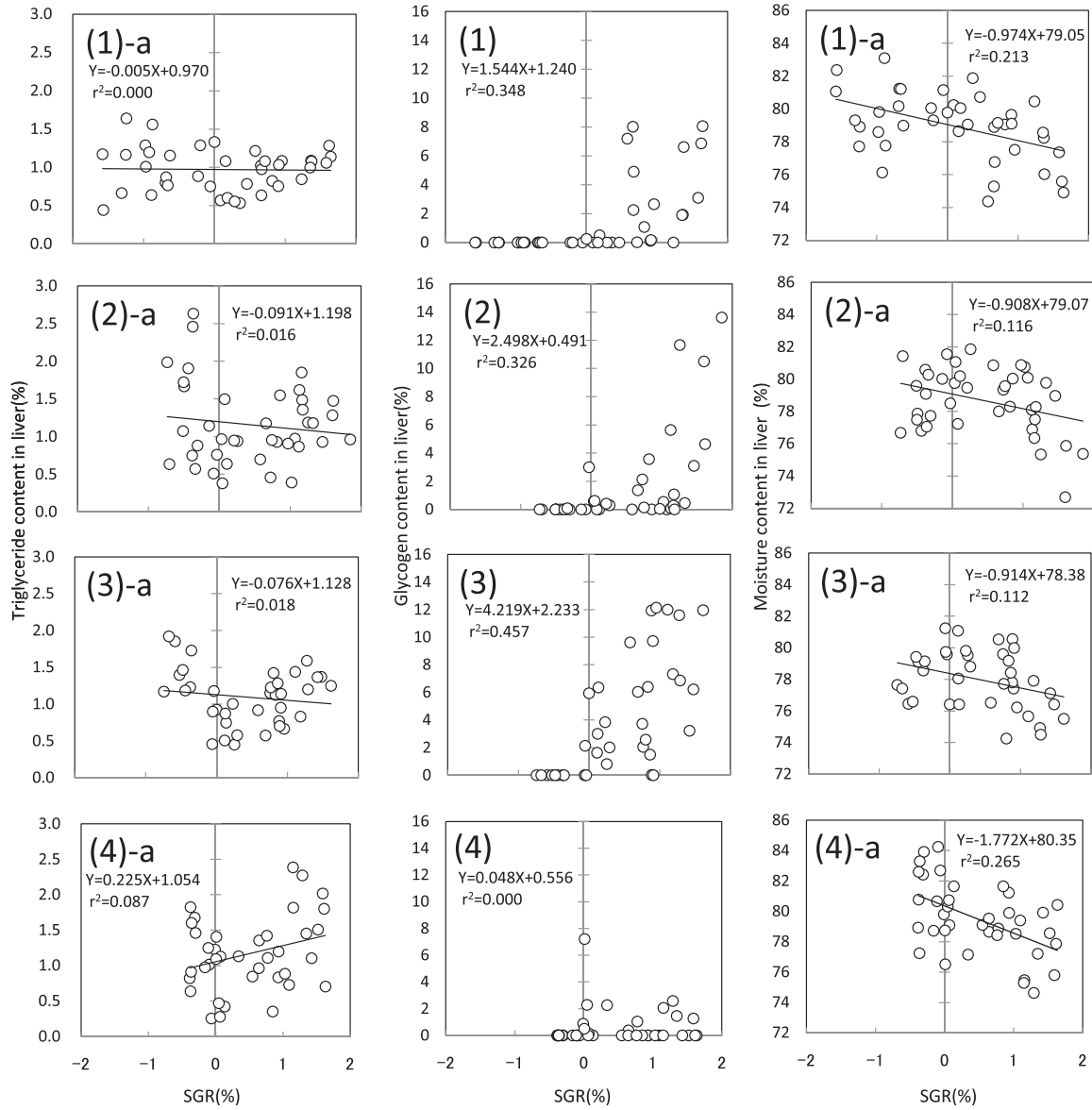


Fig. 5 Relationship between specific growth rate (SGR) and triglyceride (left column), glycogen (middle column), and moisture (right column) contents in the liver of *Verasper moseri* juveniles reared for 1-4 weeks. Numbers in parentheses and lower case letters are the same as those in Figure 4.

は見られなかったが、全長は、1週目までに平均1.5mm伸びていた。同区では、2~4週目でも同程度の伸長量しか見られなかったことから、実験開始から1週目までの間に試験開始前に蓄積していた栄養物質を使って伸長し、その後摂餌による栄養補給がないため伸長が停滞したものと思われる。したがって、マツカワ稚魚の場合、栄養摂取が十分でない状況になってもすぐには成長、とりわけ体の伸長を抑制する方向に代謝を切り替えることはできないものと推察される。SGRは給餌率をよく反映し、各区とも2~4週目の値はほぼ同程度であり、無給餌では-0.5%程度、0.5%の給餌ではほぼ0%であり、それ以上の給餌率では1~1.5%のSGRであった。なお、1.25%給餌区以下の実

験区で1週目のSGRが2~4週目に比べて低かった (Fig.3) のは、実験開始前に1週間程度の無給餌期間があった影響であろう。

肥満度や比肝重といった体型の変化を見ると、肥満度は3週目から4週目にかけて低SGRの個体で低下が見られた。また比肝重は1週目から3週目にかけて徐々に回帰直線の傾きが大きくなっていった。これらのことから、給餌率がこれらの体型変化に影響を与えるには、2~4週間程度の期間が必要だと思われる。ただし、比肝重は4週目には3週目までに比べて回帰式の傾きが小さくなっていった。この点については後述する。

次に、肝臓内での栄養貯蔵物質の量について検討する。

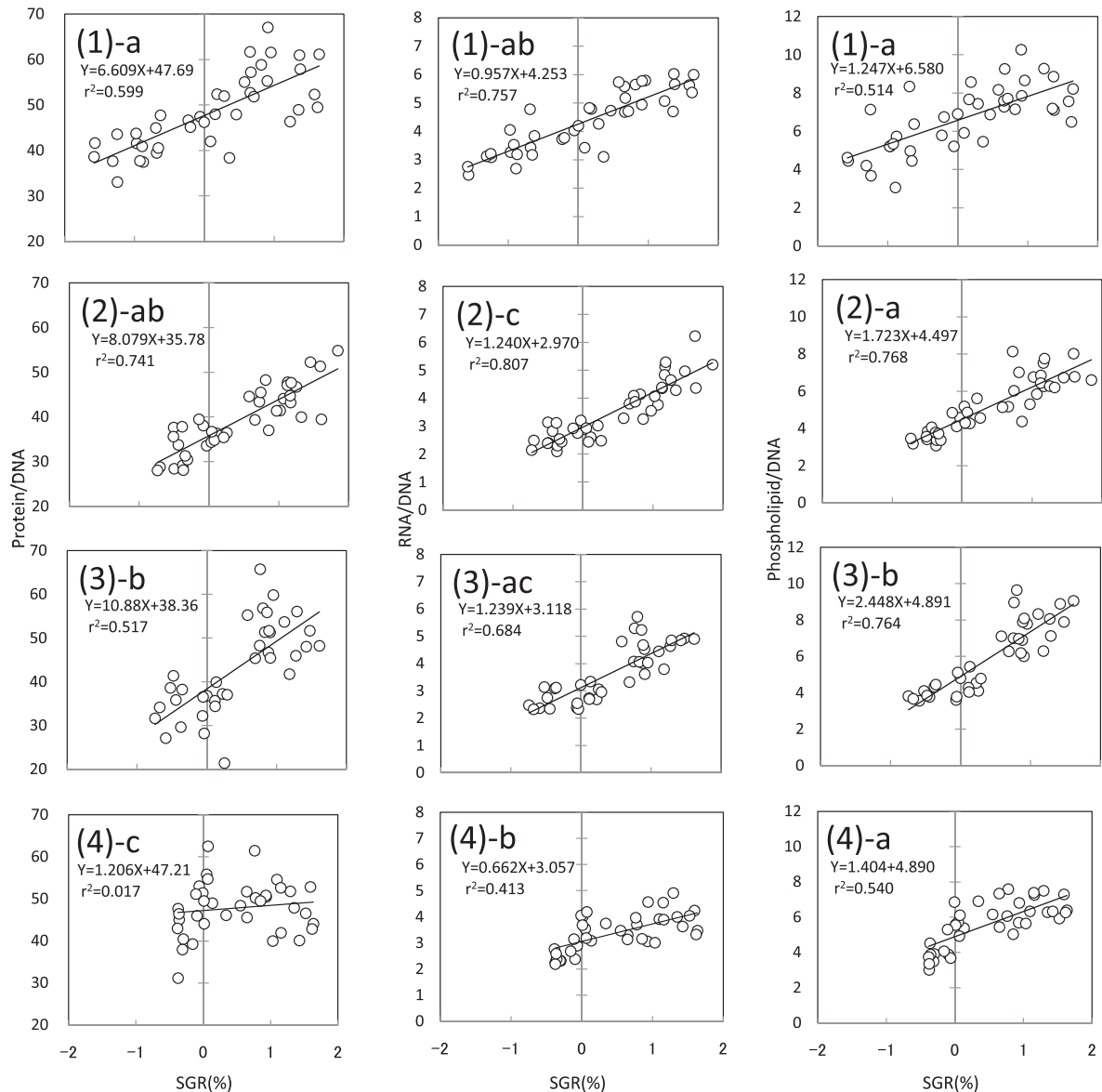


Fig. 6 Relationship between specific growth rate (SGR) and protein/DNA (left column), RNA/DNA (middle column), and phospholipid/DNA (right column) ratios in the liver of *Verasper moseri* juveniles reared for 1-4 weeks. Numbers in parentheses and lower case letters are the same as those in Figure 4.

今回調べた貯蔵物質では、TG量はSGRに関係なく0.5~2%程度でほぼ一定であった。比肝重は3週目まで比較的強い正の相関が認められ、個体の肝臓の総重量は高SGR個体では体重に比べて大きく、低SGR個体のそれは小さくなっている。したがって、1尾の肝臓のTG保有量は成長率の高い個体の方が多いということになるが、成長の優劣によって肝臓内のTG含有割合が変動することはなかった。このことは、マツカワの場合、余剰の栄養物質をTGの形態で肝臓には蓄積しないことを示唆する。魚類では、栄養蓄積を肝臓を中心に行う種類と躯幹に蓄積する種類に大別される(山口ら, 1991)とされており、マツカワは前者のタイプではないのだろう。また、グリコーゲン量は成長率がプラスの個体でしか検出されなかったことから、成長の優劣

を判定する指標となる可能性が考えられたが、一方で高成長率を示した個体であってもほとんど検出されない場合もあり、指標としての利用可能性についてはもう少し検討していく必要がある。肝臓の水分は期間を通じて緩い負の相関があり、回帰直線の傾きは4週目で若干高くなったものの有意差は認められなかった。一般に水分量はタンパク質や脂質などの増減と相補的な変動をすることから、今回分析した項目やそれ以外の成分変化を総合的に反映しているものと考えられるが、回帰式の決定係数はそれほど高い値ではなく、一定の目安程度の指標となろう。

機能的な指標として、細胞の大きさを指標するタンパク質/DNA、タンパク質合成能力を指標するRNA/DNA(中野ら, 1985)およびヒラメ(Fukuda *et al.*, 2001)やハタハ

タ(高谷ら, 投稿中)で栄養状態を指標するとされているPL/DNAについて見ると, これらはいずれも実験開始1週目からSGRと比較的強い相関を示し2~3週目にかけて持続していた。高成長率の個体では比肝重が増大しており, タンパク質/DNAの増大も見られることから, 肝臓の増重は細胞径の増大によるものであろう。タンパク質合成能力の指標とされるRNA/DNAは1週目から3週目までSGRと強い相関を示し, 高成長個体の大型化した肝細胞内で活発なタンパク質合成を行っていると考えられる一方, 低成長の個体ではこの機能が低下していた。さらに, PL/DNAもほぼ同様の挙動を示したことから, これらのタンパク質合成にかかわる成分値は敏感で正確な良い指標になるものと思われた。

ところで, これらの機能的指標はいずれも3週目まではSGRと強い相関を示していたが, 4週目には, 前述の比肝重と同様, 回帰式の傾きがいずれも小さくなっていった。給餌率は各週のサンプリング個体の体重を用いて補正しているため, 魚体重あたりの給餌率は変わっていないが, このような変化はいずれも前週までに比べて栄養状態が悪くなっていることを示している。さらに, グリコーゲン含有率が3週目までに比べて4週目で低い値を示す個体が多かったことも肝臓中の栄養蓄積量の低下を示唆している。一方で, 給餌率の高かった実験区では全長, 体重とも順調に増加しており(Fig.1,2), 肥満度も低下していない(Fig.4)ことから, 成長そのものは抑制されていなかった。高SGRの個体でこのような変化が起きた原因については不明であるが, 成長や水槽内での飼育密度の低下などにより体内の代謝活性が変化し, それまでに蓄積した栄養物質を積極的に体の増大に向けた結果なのかも知れない。また, 低SGRの個体では, 今回の結果解析からは除外したが, 0%給餌区で肝臓の萎縮した個体が見られていること, 水分量の高い個体が出現している(Fig.5)ことなどから, 極端に栄養摂取が抑制された場合には, 4週間程度(実際の無給餌期間は35日間)で体を維持することが相当困難な状態になり, 肝細胞の破壊や吸収が始まっていた可能性が考えられる。いずれにしても, 4週目の個体でこのような変化が

起きた原因については, 組織学的な観察などにより明らかにしていく必要がある。

以上のような体成長や肝臓中の蓄積成分, 機能的指標の変化から餌料率を変えて飼育したマツカワの生理状態を推測する。まず, 育成中の稚魚に餌料条件の変化が起きた場合, 1週間程度はそれ以前の飼育の状態が残存し, 変化後の状況が魚体成分に十分に反映されるには2週間以上の期間を要する。さらに, 生息水温が16°C程度で栄養摂取がほとんどない状態が4週間程度継続すると肝臓の水分増加や萎縮などが見られ, 飢餓状態を顕著に示す兆候が見られ始める。したがって, 放流魚の成長率を評価するための生化学的指標の作成には, 実験開始以前の飼育履歴を反映せず, かつ飢餓状態が極度に進んだ状態に至る前までの飼育期間で得られた値を使うのが適当であり, 今回の実験では2および3週間目の分析値を用いるのが良いと考えられた。そこで, この期間でSGRとの決定係数が比較的高い成分を選定した結果, 決定係数の高い順にRNA/DNA( $r^2=0.745$ ), PL/DNA( $r^2=0.710$ ), 比肝重( $r^2=0.606$ ), タンパク質/DNA( $r^2=0.553$ )および肥満度( $r^2=0.529$ )の5つのインデックスを抽出できた(Table 1)。今後は, 放流から2~3週間を経過したマツカワを再捕し, その肝臓成分を分析することで, その個体の再捕時点での成長率を推定することができ, ひいては放流場所の餌料環境と各個体の摂餌状況を推測できる可能性がある。

ただし, 今回提案のインデックスを放流再捕魚の成長率推定に用いるためにはいくつかの解消すべき問題点が残されている。まず, 今回の実験で用いた餌は配合飼料であり, 天然で放流魚が摂餌する餌料とは成分が大きく異なると考えられる。とりわけ人工飼育魚は脂質成分の蓄積が天然魚に比べて多い(山口ら, 1991)ことから, 脂質を指標としたインデックスで成長を評価すると過小になる場合がある(Fukuda *et al.*, 2001; 高谷ら, 投稿中)。また, 今回の実験で4週目の高成長個体に見られたように盛んに成長している場合にはこれらの指標値が比較的低くなる可能性もある。今後は, これらについて検討を進めるとともに肝臓以外の部位についても分析し, インデックスの精度を高めていく必要がある。

Table 1 Relationships between the listed parameters and specific growth rate (SGR) of *Verasper moseri* juveniles in the feeding experiment after 2-3 weeks.

Parameter	$r^2$	$P$
RNA/DNA	0.745	<0.001
Phospholipid/DNA	0.710	<0.001
Liver index	0.606	<0.001
Protein/DNA	0.553	<0.001
Condition factor	0.592	<0.001

## 謝辞

実験用種苗を提供していただいた北海道栽培漁業振興公社伊達事業所の川下正己所長並びに今 満人主任技師(いずれも当時), 飼育実験にご協力いただいた道総研栽培水産試験場の関係各位に厚くお礼申し上げます。また, データの解析及び本稿のとりまとめに際しては, 道総研函館水産試験場の馬場勝寿博士, 道総研中央水産試験場の櫻井

泉博士に貴重なご助言をいただきました。ここに記して謝意を表します。

## 引用文献

- Fukuda M, Sato H, Shigeta T, Shibata R. Relationship between growth and biochemical indices in laboratory-reared juvenile Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*), and its application to wild fish. *Mar. Biol.* 2001 ; 138 : 47 - 55.
- 古田晋平・渡部俊明・山田英明・宮永貴幸. 鳥取県沿岸浅海域に放流したヒラメ人工種苗の摂餌状態と餌料条件. *日水誌* 1997 ; 63 : 886 - 891.
- Lowry OH, Rosenburg NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the folin phenol reagent. *J. Biol. Chem* 1951 ; 193 : 265 - 275.
- 村上 修・吉村圭三・吉田秀嗣. 放流基礎調査事業 (マツカワ放流). 平成21年度北海道立栽培水産試験場事業報告書 2011 ; 99 - 107.
- 中野 広, 安藤義秀, 白旗総一郎. 成長にともなうサケ稚魚の酸性フォスファターゼ活性, 総蛋白質, RNAおよびDNA量の変化. *北水研報* 1985 ; 50 : 71 - 77.
- 中野 広. 稚仔魚研究のための核酸の定量法. *海洋と生物* 1988 ; 54 : 23 - 26.
- 鈴木満平, 山下倫明, 藤田盛人, 菊地 弘, 中野 広, オルドニオ リサ. 仔稚魚脂質の微量分析法. *中央水研研報* 1994 ; 6, 1 - 7.
- 高谷義幸・佐藤敦一・高島信一 (投稿中)
- Watanabe H, Yamanaka H, Yamakawa H. Seasonal variations of extractive components in the muscle of Disk Abalone. *Nippon Suisan Gakkaishi* 1992 ; 58 : 921 - 925.
- Watanabe S, Isshiki T, Kudo T, Yamada A, Katayama S, Fukuda M. Using stable isotope ratios as a tracer of feeding adaptation in released Japanese flounder *Paralichthys olivaceus*. *J. Fish Biol.* 2006 ; 68 : 1192 - 1205.
- 山口勝巳編. 水産生物化学. 東京大学出版会, 東京. 1991.