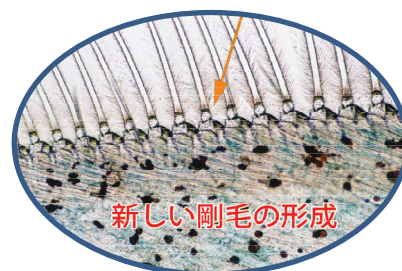


第2章 クルマエビの繁殖生理

第1節 雌の生殖器官と卵形成・産卵及び 内分泌調節

Section 1

奥村 卓二



1. 雌の生殖器官

生殖器官として雌は卵巢を持ち、卵巢から伸びた輸卵管が第3歩脚の基部に開口する（生殖孔）。産卵時には生殖孔から卵が放出される。また、雌の頭胸部腹面には生殖補助器官（genital accessory organ）である雌性交接器（thelycum）が形成される（図 2-1-1A）。雌は交尾すると雄から精莢を受け取り、雌性交接器の外側に交尾栓が見えるようになる（図 2-1-1B）。雌性交接器は、稚エビ期に第5歩脚の基部に挟まれた腹面がひだ状に変形して形成される。雌性交接器は、左右一对の扁平な円筒状の外観を呈するが、その内腔はひとつに合わさっていて受精囊と呼ばれる（図 2-1-1C, D）。交尾により雄から受け取った精包はこの受精囊に入り、産卵・受精（fertilization）まで保存される。クルマエビの雌性交接器は閉鎖型からさらに分化が進んだ円筒型（融合型）である。

卵巢は胃、肝臓、腸と続く消化器官の上部に位置し、正中線に沿って頭胸部から腹部まで伸びる。卵巢は左右一对の細長い構造をとり、それぞれ9個に分かれる分葉形態をもつ（図 2-1-1E）。9番目の最後葉は腹部に伸び、肛門付近まで達する。第七分葉から輸卵管が伸びる。

卵巢には生殖細胞である卵原細胞と卵母細胞が含まれる。卵原細胞が増殖後、減数分裂をして卵母細胞になり、卵母細胞が成長して産卵にいたる。その過程が卵形成（oogenesis）である。

2. 卵形成過程

卵形成過程は組織観察によりいくつかの発達段階に分けることができる。クルマエビで報告された卵巢卵の発達過程を表 2-1-1 にまとめた¹⁻⁵⁾。卵形成は連続的に変化するため、各段階の境界を明確に判別することは難しく、段階区分は報告により微妙に異なる。ここでは中村

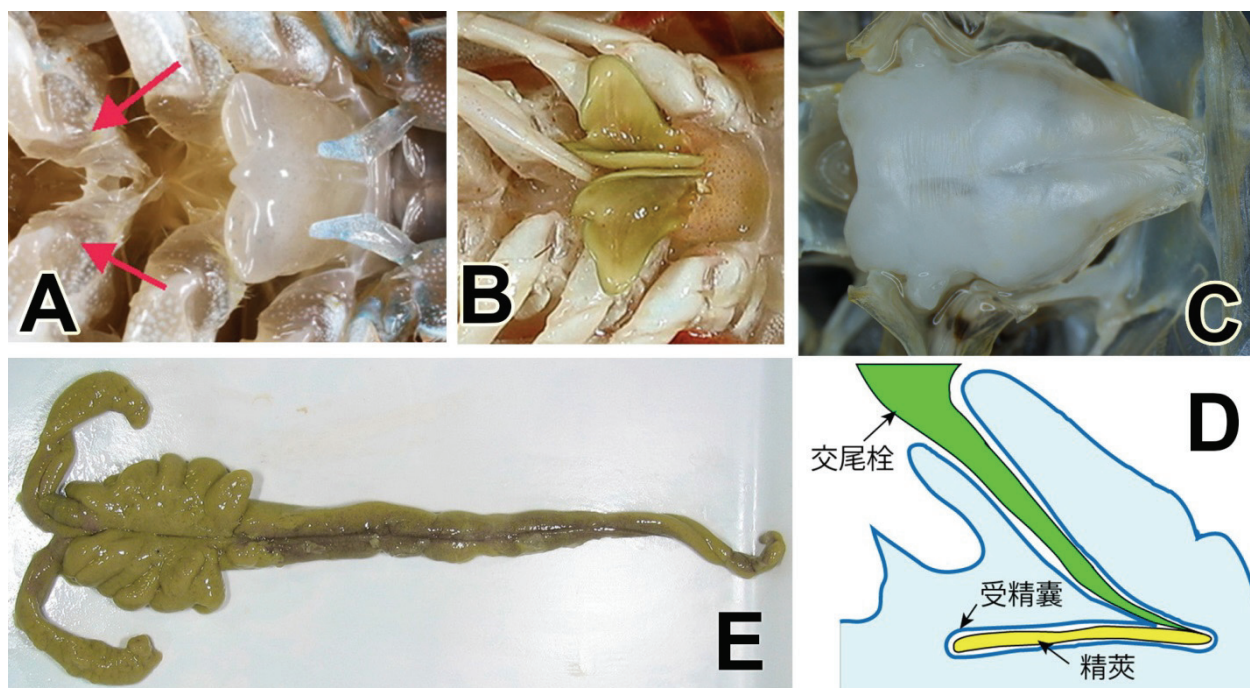


図 2-1-1 クルマエビの雌性交接器と卵巢

A, 空の交接器, 矢印は生殖孔。B, 交尾栓。C, 精莢の入った受精囊, 脱皮殻を体内側から観察。D, 交接器の断面図。E, 卵巢, 左側が頭部, 9葉からなる。

表 2-1-1 卵形成過程の発達段階¹⁻⁵⁾

洪	矢野	水藤	中村	奥村	記述
卵原細胞期	卵原細胞期	卵原細胞期	卵原細胞期	卵原細胞期	分裂・増殖する
染色仁期	染色仁期	初期仁期	初期仁期	前卵黄形成期	核中央に仁、その周囲に放射状染色糸
真正仁期	周辺仁期前期	中期仁期	中期仁期	内因性 卵黄形成期	濾胞細胞に囲まれる
周辺仁期		後期仁期	後期仁期		細胞質にエオシン好染顆粒の出現， 細胞質がPAS陽性
仁癒合期					
卵黄球前期	無卵黄期	卵黄球前期	卵黄球初期	外因性 卵黄形成期	細胞質にエオシン顆粒の増加
卵黄球後期	卵黄顆粒期	卵黄球後期	卵黄球2期		細胞質にエオシン顆粒が充満
表層胞前期	前成熟期	前成熟期	卵黄球3期	前成熟期	周縁部にPAS陽性小胞出現（表層胞）
表層胞後期	成熟期	成熟期	前成熟期	成熟期	表層胞が桿状に伸長
			成熟期		核が中央部で凝集して消失

の発達段階⁴⁾について解説する(図 2-1-2)。

卵原細胞期 (oogonium stage) 卵径 10 μm。未熟卵巢に多く見られ、細胞は円形、核にはエオシン可染の仁が1個ある。卵原細胞期に分裂をして増殖する(図 2-1-2A)。卵原細胞が減数分裂に入ると卵母細胞になる。卵母細胞は第1減数分裂前期で一旦減数分裂を停止し、卵黄成分などを蓄積して成長する。その成長過程が次の初期仁期から成熟期である。

初期仁期 (early nucleolus stage) 卵径 10～50 μm。細胞質はヘマトキシリンに弱く染まる。核の中央部に仁があり、その周囲に放射状の染色糸が見られる(図 2-1-2B)。

中期仁期 (middle nucleolus stage) 卵径 50～80 μm。核の染色質が核膜に沿って分布する。個々の卵母細胞が濾胞細胞層に厚く囲まれるようになる。

後期仁期 (later nucleolus stage) 卵径 70～100 μm。細胞質はヘマトキシリンと PAS 染色 (Periodic acid-Schiff stain) に染まる。核の周辺部にエオシン好染の小顆粒が現れる。濾胞細胞層の厚みはやや薄くなる(図 2-1-2C)。

卵黄球初期 (primary yolk globule stage) 卵径 90～140 μm。細胞質にはエオシン顆粒とその間隙を満たす PAS 可染の網状の構造が広がる。核形は不整で波状の輪郭を示す。

卵黄球2期 (secondary yolk globule stage) 卵径 140～200 μm。細胞質にはエオシン顆粒が充満する。濾胞細胞層はさらに薄くなる(図 2-1-2D)。

卵黄球3期 (tertiary yolk globule stage) 卵径 190～230 μm。細胞質の周縁部に PAS 染色に明瞭に染まる小胞が現れる。この小胞が表層胞になる。

前成熟期 (prematuration stage) 卵径 220～290 μm。細胞質周縁部の表層胞の数が増え、一列に並ぶようになる(図 2-1-2E)。桿状に伸びて成長する。卵母細胞中心

部にある核が小さくなる。

成熟期 (maturation stage) 卵径 220～270 μm。表層胞は桿状になって細胞質周縁に沿って並ぶ(図 2-1-2F)。核は細胞の中心部に凝集している。核はその後、中心部から細胞膜直下へ移動して崩壊する(卵核胞崩壊, germinal vesicle breakdown, GVBD)。

3. 卵巣の構造と卵巣発達段階

クルマエビの尾部に収められている卵巣の第9分葉の横断面を組織観察すると、卵原細胞が集まっていて活発に分裂・増殖している部位がある(図 2-1-2A)。この部位は卵巣全体に存在し、ここで増殖した卵原細胞が卵巣全体に広がっていく。卵巣内は結合組織で仕切られた卵小囊に分かれている(図 2-1-2G)。各卵小囊内では、周辺部に位置する卵母細胞から卵形成が進んでいく。濾胞細胞に囲まれた中期仁期の卵母細胞は卵小囊の隔壁付近から現れる。

卵巣発達がある程度進むと、卵巣内の卵細胞は大きく3群に分けられる。卵黄形成が進み大きく成長した卵母細胞と卵黄形成を始めていない卵母細胞、そして卵原細胞である。図 2-1-2H に示した例では、卵黄球を蓄積した卵黄球2期(第1卵群)と卵黄球蓄積を始めていない初期仁期(第2卵群)の卵母細胞、卵原細胞の3群に分かれている。第1卵群の卵母細胞は同期して成長・成熟し、次の産卵時にまとめて排卵される。産卵で第1卵群が排出されると、第2卵群の一部が活発に卵黄球蓄積をして成長し次の第1卵群となる。第2卵群には卵原細胞の一部が成長して加入する。卵原細胞は次々と分裂して増殖し、細胞数が増す。この過程を繰り返すことで、クルマエビは繰り返し産卵をする。クルマエビの卵巣内では複数の卵群が同期して成長・成熟するため、卵群同期発達型(group-synchronous oocyte development)の卵巣発達様式をとると考えられる。

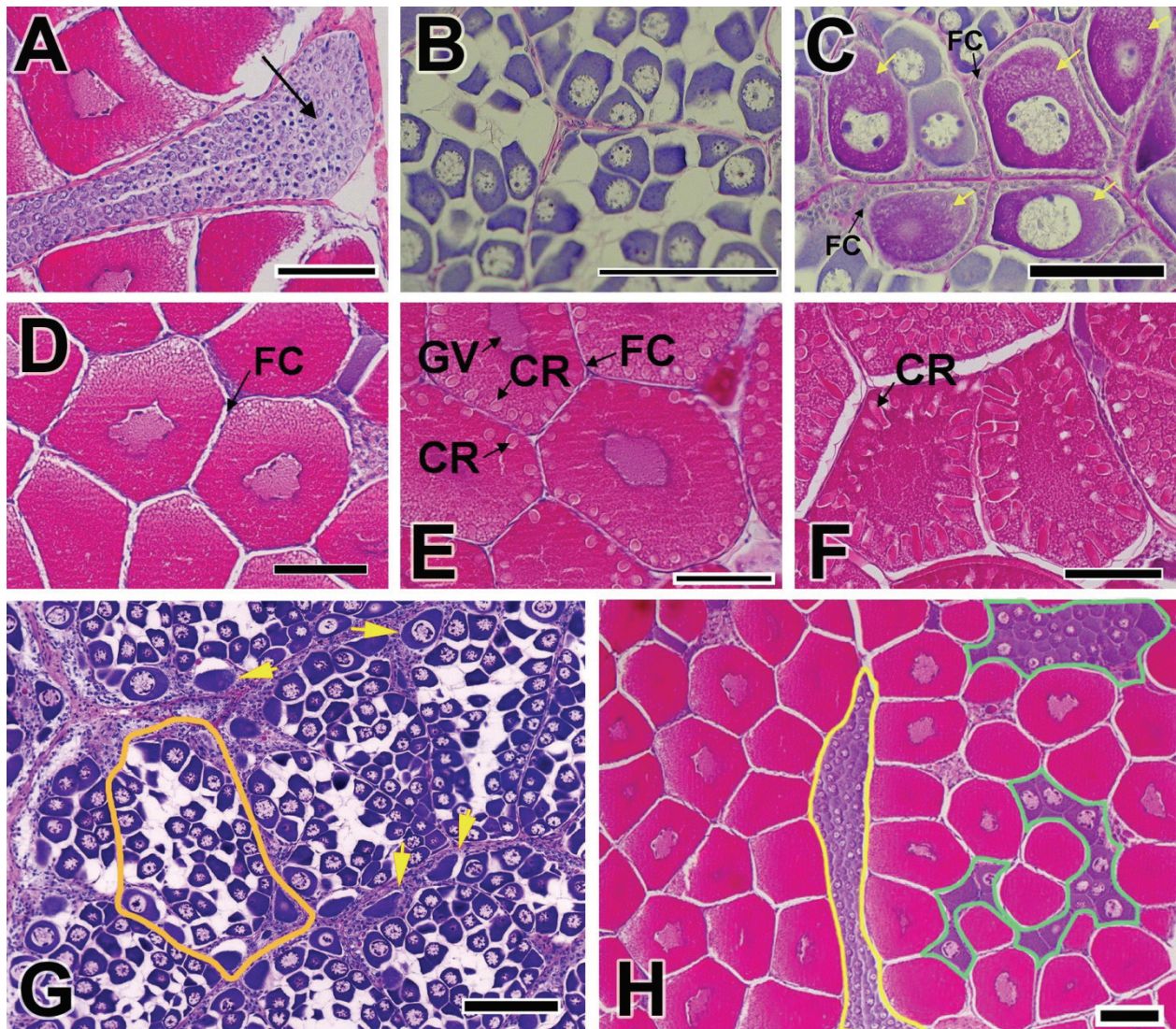


図 2-1-2 クルマエビ卵巣の組織像

A, 卵原細胞期, 矢印は卵原細胞が分裂・増殖する部位。B, 初期仁期卵母細胞。C, 後期仁期卵母細胞(黄色矢印)。D, 卵黄球 2 期。E, 前成熟期。F, 成熟期。G, 休止期の卵巣, 小囊の一つをオレンジ色で示した, 矢印は中期仁期の卵母細胞。H, 外因性卵黄蓄積期の卵巣, 黄色が卵原細胞群, 緑色が初期仁期卵母細胞の第 2 卵群, 残りの卵黄球 2 期の卵母細胞が第 1 卵群。CR, 表層胞; FC, 濾胞細胞; GV, 核(卵核胞); 図中のバーは 100 μ m。B,C は PAS 染色, A,D-H はヘマトキシリン-エオシン染色。

産卵による第 1 卵群の排出後に, 第 2 卵群から第 1 卵群への加入が起きる。その加入は次々と進むものの少し時間がかかるため, 第 1 卵群形成当初は卵形成の同期が完全ではない。しかし, ある程度卵黄球の蓄積が進んで第 1 卵群の細胞数が揃うと新たに卵黄球蓄積を始める卵母細胞がなくなり, 第 1 卵群の細胞数が確定する。その後は第 1 卵群の卵形成は同期して進み, 次の産卵時に排卵される。第 1 卵群の細胞数確定の詳細は, 第 3 章第 1 節で解説されている。

クルマエビの卵巣が卵群同期発達型であるため, 卵巣内でもっとも卵形成が進んだ卵母細胞の発達段階を指標に卵巣の発達段階を区分することができる。ここでは水

藤³⁾の区分を表 2-1-2 にまとめた。その区分の詳細は, 第 2 章第 2 節で説明されている。内因性卵黄蓄積期では, 主に卵母細胞自身が核酸, 脂質, タンパク質などの卵黄成分を合成して蓄積する。一方, 外因性卵黄蓄積期では, 卵母細胞自身の卵黄成分合成に加え, 卵巣濾胞細胞と肝臓で卵黄タンパク質前駆物質(ビテロジェニン)が合成されて卵母細胞に運ばれ, 卵黄球として蓄積される。成熟期には, 表層胞の形成とともに減数分裂が再開されて卵核胞崩壊が起きる。産卵後期では, 産卵により成熟した卵が排出され, 主に後期仁期までの未熟な卵母細胞が卵巣を占める。部分的に産卵されなかった成熟卵が見られることがある。

表 2-1-2 卵巣の発達段階³⁾

発達段階	最も卵形成が進んだ卵母細胞	卵巣の色	GSI	卵影
休止期	初期仁期，一部中期仁期	無色透明～乳白色	1～3	無
内因性卵黄蓄積期	後期仁期	乳白色～淡黄色	2～5	不明瞭
外因性卵黄蓄積期	卵黄球前期または卵黄球後期	黄緑色～緑色	3～10	明瞭
成熟期	前成熟期または成熟期	暗緑色	10～12	太く明瞭
産卵後期	後期仁期，産卵後，残留卵の存在	乳白色	2～3	無～不明瞭

4. 交尾と人工交配

クルマエビは、雌が脱皮直後のまだ殻が柔らかい状態の時に雄と交尾して精莢を受け取る。交尾は、雄と雌が腹面を合わせて行い、雄が雄性交接器を雌性交接器に挿入し、精莢を雌の受精囊内に届けると考えられている⁶⁾。雌は雄から左右一対の精莢を受け取り受精囊内に保持する。雄から受け取った精莢には交尾栓が付属しており、交尾後は雌性交接器の外側に扇状に左右一対開いて見える（図 2-1-1B）。交尾栓の有無が交尾済みを判別する指標となる。ただし、交尾栓は折れてとれることもあるため、一見無いように見えても雌性交接器の奥を注意深く観察する必要がある。雌の産卵は交尾とは関連なく起き、交尾から数日後の場合もあれば一ヶ月以上後のこともある。受精囊内の精莢は雌が脱皮すると殻と一緒に脱落する。脱皮までに雌が複数回産卵するときは、一回の交尾で受け取った精莢が複数回の産卵に使われる。一回目の産卵より、二回目、三回目と回数が進むにつれて受精率が低下するという報告もあるが、それほど低下しない場合もある。いずれにしても、一回の産卵で受精囊から全ての精子が放出されるのではなく、少しずつ放出されるようである。

漁獲されたクルマエビを観察すると、産卵期だけでなく、周年交尾栓を持つ雌が観察される。おそらく冬季を除いて雄は交尾可能な状態にあり、産卵期が終了して雌が卵巣発達していない状態でも交尾していると考えられる。晩秋に交尾した後、冬季は水温が低く雌が脱皮しないため、翌春まで交尾栓を持ち続けるのであろう。冬季は雌が脱皮しないため、雄も交尾する機会がないと考えられる。天然親クルマエビを使って採卵する場合は、ほとんどの雌エビが交尾済みのため雄と交尾させなくても受精卵を得られる。そのため、クルマエビから採卵する場合は雌エビだけを購入する。基本的に、ウシエビなど他の閉鎖型雌性交接器を持つクルマエビ類でも同様である。

それに対して、同じクルマエビ類でもバナメイは開放型の雌性交接器を持ち産卵直前に交尾するため、採卵する前に雄と一緒に交尾させるか、雄から精莢を取り出して雌の腹部に付着させる人工交配をする必要がある。

人工交配はバナメイとウシエビの養殖現場で実施されている。バナメイは産卵直前に交尾させる必要があるため、雄から精莢を取り出して雌の生殖孔付近の腹面に付着させる人工交配が行われる。ウシエビは閉鎖型の雌性交接器を持つため産卵直前に交尾させる必要はないが、眼柄切除で催熟すると脱皮して精莢を落とすことがあるため、雄から精莢（または輸精管の一部）を取り出して雌の受精囊内に人工的に挿入する人工交配が行われる⁷⁾。雄から精莢を取り出す方法としては、解剖して摘出する、押し出す、吸い出す、電気刺激で放出させるなどの方法がある。移植する雌としては、脱皮直後の殻がまだ柔らかい雌を使う（自然下で雌が交尾するのも脱皮直後である）。脱皮と脱皮の間で殻が固い時期は、精莢を挿入しにくいだけでなく移植しても受精率が低いため移植に適さない。

クルマエビでは、天然エビから採卵する場合は交尾済みであり、また養殖池の中で自然に交尾するため養殖エビから採卵する場合も交尾済みの親エビを使うことができる。そのため、クルマエビで人工交配を試みた例は少ないが、ウシエビと同様の方法で可能である^{7,8)}。今後、クルマエビの育種が試みられるようになり、優れた形質を持つ雄と雌を一対一交配する場合は人工交配法が必要になる。

雄の貯精囊内にある精莢をつぶすと中から非常に粘性に富んだ精子を含む白い塊が出てくる。雌の受精囊内にある精莢は、それに比べると粘性が低くなっている。雌の受精囊内で何らかの酵素反応により粘性が変わったと考えられる。そうした変化が精子の活性化と関連している可能性がある。雌が脱皮直後に交尾すること、脱皮直後の雌以外では精莢移植による人工交配の成功率が低いことなどから、脱皮直後の雌の受精囊では精莢の変化（精子活性化）に必要な酵素が分泌されている可能性がある。また、精莢は雌の受精囊内で長いと数ヶ月保持されるが、精子は受精能を保っている。魚類などの精子を長期保存する場合は、特殊な液体に入れて超低温下で凍結保存する必要がある。雌の受精囊内で長期間、精子が受精能を維持するメカニズムは興味深いがよくわかっていない。

5. 最終成熟・産卵・受精

卵母細胞は第1減数分裂前期で一旦減数分裂を停止し、卵黄成分などを蓄積して成長する。卵黄成分の蓄積が完了すると、減数分裂を再開し、受精可能な状態になる。この段階を最終成熟と呼ぶ。表層胞の形成が始まると1日程度の間に、卵核胞崩壊（GVBD）、排卵が起きるため、表層胞形成が減数分裂再開の指標となる。表層胞は、卵黄球初期と卵黄球2期または卵黄球3期の間に卵母細胞自身が合成して蓄積した表層胞関連タンパク質（次の項目を参照）などが材料となり、それらが卵母細胞から卵膜下に分泌されて融合して形成される。誤解されやすいが、表層胞は卵母細胞内ではなく、卵母細胞外に形成される。表層胞の形成が始まると同時に、卵母細胞の中心部にある核が小さくなって不明瞭になり、凝集した形で観察される。凝集した核は中心部から細胞膜直下へ移動し、崩壊する（卵核胞崩壊、GVBD）。

その状態で濾胞細胞層が破れて排卵が起きる。排卵された卵は左右一対の細長い卵巢の腹面にある卵巢腔に入り、輸卵管を経て体外に産卵される。生殖孔は第3歩脚の付け根にあり、精子が蓄えられている雌性交接器に近い。そのため産卵された卵は、受精囊から出てきた精子とすぐに出会い受精すると考えられる。エビ類の精子は運動能を持たないと言われるが、精子が運動能を持たなくても高い受精率が得られるメカニズムがあると考えら

れる。雌エビが泳ぎながら産卵することで体の前から後ろに水流が生まれ、その水流に乗って産卵された卵が受精囊から出てきた精子の塊の中を通過することで卵と精子が確実に接することができ、高い受精率が得られるのだろう。

産卵により卵が海水に接すると、マグネシウムイオンの作用により卵から表層胞が放出される（図 2-1-3）^{9,10)}。おそらく、卵が吸水して卵内の圧が高まり、卵に埋め込まれた状態の表層胞が外に飛び出して表層胞放出が起きるのだろう。表層胞放出時には、飛び出る表層胞に突き上げられて卵黄膜が破れ、卵黄膜上に付着していた精子もはじき飛ばされる。これをかいぐって卵表面に付着できた精子が受精すると考えられる。放出された表層胞はしばらくその形状を保ち放射状に卵の周囲に存在する（コロナと呼ばれる）が、徐々に分解されてジェリー層になり卵を取り囲む。ジェリー層は卵の保護と多精防止に働くと言われるがその役割ははっきりしない。この表層胞放出は短時間で起きる。ウシエビでは産卵後15秒で表層胞放出が始まり、45～60秒後にはジェリー層として卵を取り囲むようになると報告されている¹¹⁾。

表層胞放出が起きた後、卵表面に付着した精子に対して受精丘ができ、精子が卵内に侵入する⁶⁾。一方、卵由来の核が分裂して第1極体が放出され、次に卵から分泌された物質でふ化膜が形成され、続いて第2極体が放出される（図 2-1-3）^{6, 11, 12)}。ふ化膜形成と第1極体放

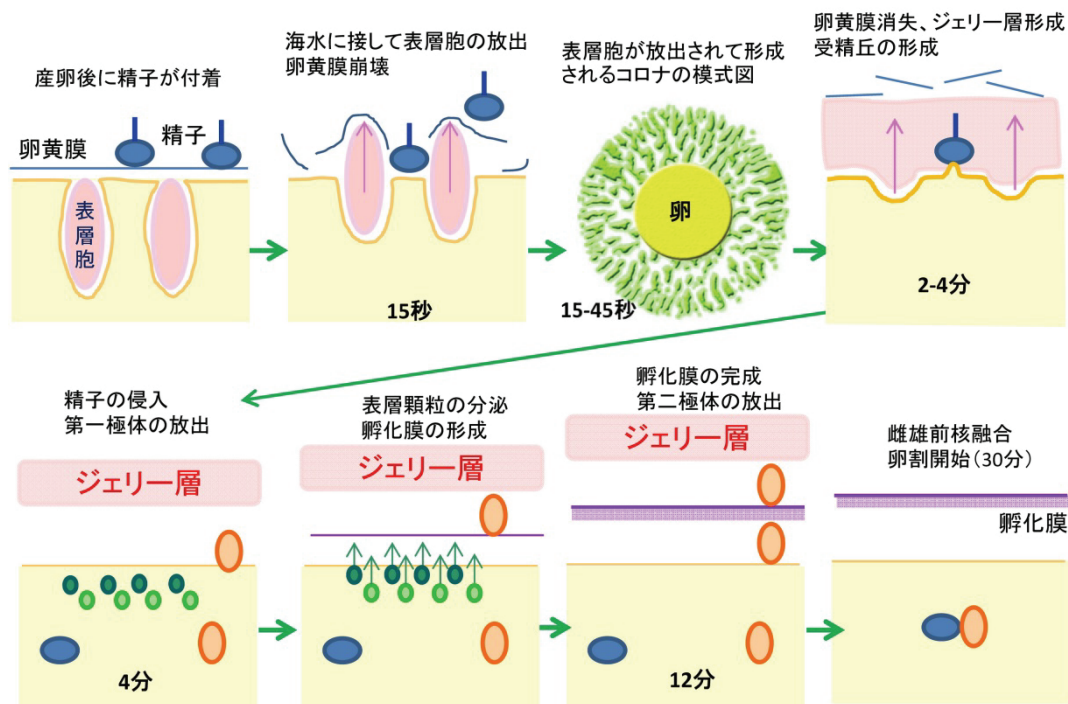


図 2-1-3 産卵後の表層胞放出と極体放出の模式図

文献 6,9,11,12 を参考に作成。産卵からの経過時間はクルマエビの報告⁶⁾ による。ふ化膜形成と第1極体放出のどちらが先に起きるかは文献により異なっており、ここでは Hudinaga⁶⁾ の記述にしたがった。

出のどちらが先に起きるかは文献により異なっており、ここでは Hudinaga⁶⁾ の記述にしたがった。クルマエビでは、産卵から第2極体放出まで12分40秒かかると報告されている⁶⁾。その後、胚発生が進み、ふ化にいたる。

表層胞放出から第2極体放出までの一連の過程は、受精しなくても卵が海水と接すると起きることが報告されている¹³⁾。さらに、未受精でも卵割が始まるが、受精卵と異なり、異常な不等卵割となって途中で停止する。そのため、ふ化膜（受精膜）形成と卵割開始は必ずしも受精卵の指標とならないと考えられる。

6. 卵黄成分

卵母細胞は第1減数分裂前期で一旦減数分裂を停止し、将来の胚発生に必要な栄養成分（卵黄成分）を蓄積して成長する。卵巣が発達する過程で卵巣の成分は、次のように変化する⁴⁾。卵黄球初期以降、卵母細胞で卵黄球の蓄積が進むと、卵巣の水分含量が低下し、タンパク質と脂質の含量が増加する。特に脂質の中の中性脂質が多くなる。表層胞が形成され産卵直前になると、水分含量が少し増える。おそらく卵核胞崩壊の時期に吸水が起きるのだろう。その結果、卵核胞崩壊時の卵巣が柔らかくなると考えられる（第2章第2節参照）。

卵黄成分の代表的なものは、卵黄タンパク質、表層胞タンパク質、脂質、核酸である。これらについて概説する（表2-1-3）。

卵黄タンパク質 卵黄タンパク質は、卵母細胞の成長過程で蓄積されるタンパク質の中で最も量が多いタンパク質で、卵黄球の主成分である¹⁴⁾。電気泳動分析（SDS-PAGE）によると、91, 128, 186 kDaの3種類のサブユニット構造を持つ。卵黄タンパク質は、卵黄タンパク質前駆物質（ビテロジェニン）として、クルマエビ類では卵巣濾胞細胞と肝臓で合成される。卵黄球蓄積

時に血液中に多量（数 mg/mL）のビテロジェニンが検出されることから、肝臓で盛んに合成されたビテロジェニンが血液を介して卵母細胞に取り込まれていると考えられる。クルマエビ以外の多くのエビ類とカニ類では、ビテロジェニンは肝臓だけで合成される。クルマエビ類だけがなぜ肝臓と卵巣濾胞細胞の両方でビテロジェニンが合成されるのか、理由は不明である。また、クルマエビ類でも、肝臓と卵巣濾胞細胞のどちらがより卵黄球蓄積に寄与しているのか、はっきりしたことはわからない。ビテロジェニンの mRNA 量は未熟な時期（休止期）には低く、卵黄蓄積が始まる内因性卵黄蓄積期、さらに外因性卵黄蓄積期の順で mRNA 量が増加する。ビテロジェニン mRNA 量の増加にともない、血液中のビテロジェニン量と卵巣中の卵黄タンパク質量も増加することから、ビテロジェニン遺伝子は、mRNA に転写されるとすぐにタンパク質に翻訳されると考えられる。転写の開始は、眼柄から分泌される卵黄形成抑制ホルモン（後述）の抑制作用の解除が引き金になる。また、未熟な状態と卵黄形成中の状態で、ビテロジェニン mRNA 量が千倍以上違うため、成熟の良い指標となる。

表層胞タンパク質 表層胞タンパク質は、産卵前に卵黄蓄積を終了した卵母細胞の周縁部に現れる表層胞の主成分である。表層胞タンパク質（cortical rod protein, CRP）はペリトロピン（shrimp ovarian peritrophin, SOP）とも呼ばれ、分子量 28.6kDa と 30.5 kDa のサブユニットを持つタンパク質である^{15,16)}。また、表層胞にはクルマエビトロンボスポンジン（thrombospondin, MjTSP）と呼ばれる大きなタンパク質（分子量 130, 140, 150 kDa）も含まれる¹⁷⁾。これらのタンパク質は糖が付着した糖タンパク質である。表層胞タンパク質とトロンボスポンジンは、卵黄球初期から卵黄球2期または3期の間に卵母細胞自身が合成して細胞質に蓄積する。表層胞タンパク質とトロンボスポンジンの mRNA は、それより早く初期仁期から卵母細胞の細胞質に現れる。mRNA

表 2-1-3 卵黄成分の蓄積過程

卵形成	卵黄タンパク質	表層胞タンパク質	脂質	核酸
初期仁期		卵母細胞内で遺伝子発現し mRNA蓄積		細胞質にリボソームRNAとmRNAが蓄積される
中期仁期			脂肪球の蓄積が進む	
後期仁期	濾胞細胞と肝臓で 遺伝子発現始まる			
卵黄球初期 卵黄球2期	濾胞細胞と肝臓での合成と卵母細胞への卵黄球蓄積が進む	タンパク質に翻訳され 卵母細胞に蓄積	さらに脂肪球が蓄積される	
卵黄球3期 前成熟期 成熟期	卵黄球の蓄積が完了	細胞質に蓄積された表層胞タンパク質が卵母細胞外に分泌されて融合し、卵膜下に表層胞を形成		

表 2-1-4 雌クルマエビの成熟に関連する可能性のあるホルモン類

ホルモン	略称	物質	合成・分泌器官	作用
卵黄形成抑制ホルモン (甲殻類血糖上昇ホルモン)	VIH (CHH)	ペプチド(72残基)	X器官ーサイナス腺	ビテロジェニン合成抑制 表層胞タンパク質翻訳抑制など
脱皮抑制ホルモン	MIH	ペプチド(77残基)	X器官ーサイナス腺	Y器官の脱皮ホルモン合成抑制
赤色素凝集ホルモン	PRCH	ペプチド(8残基)	X器官ーサイナス腺	色素胞の色素顆粒の凝集
色素拡散ホルモン	PDH	ペプチド(18残基)	X器官ーサイナス腺	色素胞の色素顆粒の拡散
メチルファルネソエート	MF	テルペノイド	大顎腺	クルマエビでは不明
甲殻類雌性ホルモン	CFSH	ペプチド	眼柄神経節	クルマエビでは存在不明
生殖腺刺激ホルモン 放出ホルモン	GnRH	ペプチド	脳、卵巣	クルマエビでは存在不明
エクジステロイド (脱皮ホルモン)		ステロイド	Y器官	成熟への関与は不明
性ステロイドホルモン		ステロイド	不明	甲殻類での作用は不明

に転写された後、しばらくタンパク質に翻訳されずにとどまり、卵黄形成抑制ホルモンの血中量が低下して抑制作用が解除されるとタンパク質への翻訳が始まると考えられている。

脂質 卵黄球初期以降、卵巣の中性脂質含量が高くなり、卵母細胞の細胞質にも油球の蓄積が多くなる。中性脂質は卵母細胞自身が合成している可能性もあるが、肝臓組織中に多量の脂肪滴が見られることから、主に肝臓で合成された中性脂質が血液を介して卵母細胞に運ばれ取り込まれると考えられる。

核酸 初期仁期以降の卵母細胞の細胞質にはタンパク質合成に必要なリボソームが蓄積される。リボソームには RNA が含まれるため、初期仁期の卵母細胞の細胞質はヘマトキシリンに好染する。ただし、卵黄球初期以降は、卵黄球が蓄積するためにエオシンに染まる。また、卵母細胞には、卵形成と胚発生で合成されるタンパク質の一部の mRNA があらかじめ転写されて蓄積される。卵形成のためには、表層胞タンパク質のように、先に転写されて mRNA の状態で保存され、卵形成途中で必要になった時にタンパク質に翻訳される。また胚発生のために蓄積される mRNA は、母系ゲノムからの転写産物であり、将来、受精し、胚発生を始めた後にタンパク質に翻訳される。未受精卵に翻訳されずに蓄積される母系 mRNA (masked maternal mRNA) である。このように母系由来で、受精後の胚発生時に翻訳されて利用される遺伝子は母性遺伝子 (maternal effect genes) と呼ばれる。

7. 内分泌制御機構

甲殻類の眼柄を除去すると成熟が進む、最初の論文は 1943 年にフランスの学術誌に掲載された¹⁸⁾。そして、この発見を基礎として眼柄除去によるエビ類の人為催熟技術が開発された。眼柄除去で成熟が進むのは、眼柄の中に成熟を調節するホルモンを分泌する内分泌器官があ

るからである。この項では雌の成熟の内分泌制御機構について紹介する¹⁹⁾。表 2-1-4 に成熟に関連する可能性のあるホルモンをまとめた。

内分泌器官 眼柄には神経節があり、その中に X 器官ーサイナス腺系がある。X 器官はペプチドホルモンを分泌する神経分泌細胞が集まった器官である。X 器官の神経分泌細胞で合成されたペプチドホルモンは、軸索を通じて X 器官の反対側にあるサイナス腺へ運ばれ、そこで一旦貯蔵された後、何らかの刺激を受けて血中に分泌される。サイナス腺は青白い色をしており、クルマエビでは殻の上から確認することができる (図 2-1-4A)。他には、大顎の付け根に大顎腺があり、メチルファルネソエートを分泌する。

卵黄形成抑制ホルモン (vitellogenesis-inhibiting hormone, VIH) 眼柄神経節の X 器官から分泌されるホルモンであり、眼柄切除により成熟が進むのは、このホルモンが体内から無くなってその抑制作用が解除されるためである¹⁴⁾。未熟なクルマエビから両眼柄を切除して卵黄形成抑制ホルモンを除去すると、数時間で卵巣のビテロジェニン mRNA 量が増加してビテロジェニン合成が活性化される。おそらく、未熟なエビでは、常に卵黄形成抑制ホルモンが分泌されて成熟が抑制されているのだろう。成熟開始時には、卵黄形成抑制ホルモンの血中レベルが低下してその抑制作用が解除され、ビテロジェニンの合成、卵母細胞でのビテロジェニンの取込と蓄積が始まると考えられる。

未熟エビの眼柄を除去すると成熟が進む。成熟関連の様々な現象が卵黄形成抑制ホルモンの直接的または間接的な調節を受けていると考えられる。クルマエビ卵巣片を培養している液に卵黄形成抑制ホルモンを添加すると、卵巣片内のビテロジェニン mRNA 量が減少する¹⁴⁾。このことは卵黄形成抑制ホルモンがビテロジェニン遺伝子の転写を抑制する作用を持つことを示す。

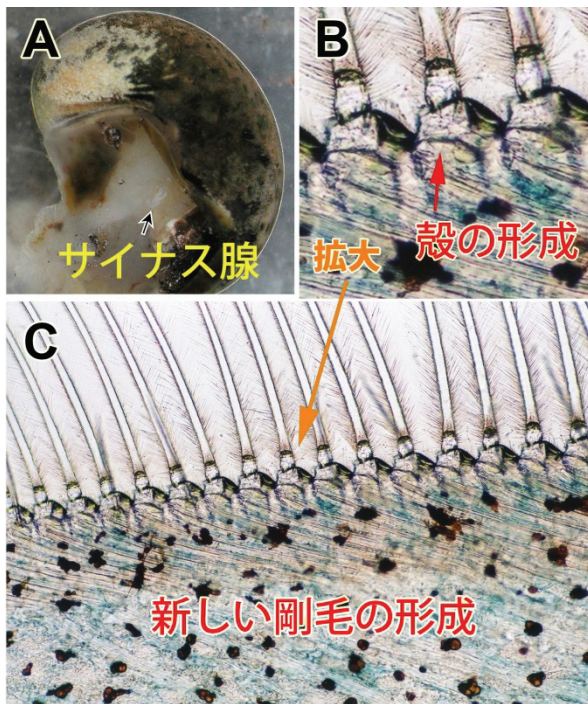


図 2-1-4 クルマエビのサイナス腺と腹肢の殻形成

A, 眼柄の殻の一部をはがしてサイナス腺を露出させた, 矢印で示した青白い部位がサイナス腺。B, C の拡大図, 現在の殻の下に新しい殻が形成されている。C, 腹肢先端部の剛毛, 新しい剛毛が形成されている。この殻の状態は脱皮前期の D₃ 期である。

また, 眼柄を除去すると, 卵母細胞に蓄積されていた表層胞関連タンパク質の mRNA からタンパク質への翻訳が始まる。おそらく, 卵黄形成抑制ホルモンには表層胞関連タンパク質の翻訳を抑制する作用があるのだろう。また, 眼柄を除去すると卵黄球蓄積が進むだけでなく, 表層胞形成, 最終成熟と進み, 産卵にいたる。しかし, 卵黄形成抑制ホルモンが, 表層胞形成, 最終成熟, 産卵を直接調節しているかどうかは不明である。

クルマエビでは卵黄形成抑制ホルモンが複数あると考えられている²⁰⁾。眼柄のサイナス腺から 7 種類の神経

ペプチドが精製・同定され, サイナス腺ペプチド (sinus gland peptide, SGP) — I ~ VII と名付けられた (図 2-1-5)^{21, 22)}。その内の SGP-IV は脱皮ホルモンの合成分泌抑制作用をもつ脱皮抑制ホルモン (molt-inhibiting hormone, MIH) であり, 血糖上昇作用とビテロジェニン合成抑制作用はほとんど無い。残りの 6 種類, SGP-I ~ III, V ~ VII は血糖上昇作用とビテロジェニン合成抑制作用を持ち, 血糖上昇ホルモン (crustacean hyperglycemic hormone, CHH) と卵黄形成抑制ホルモンの両方である。このように複数のペプチドが卵黄形成抑制活性をもち, さらに卵黄形成抑制活性と血糖上昇活性の両方をもつというのはクルマエビ類の特徴で, 他のエビ類やカニ類では報告がない。卵黄形成抑制活性を持つ複数のペプチド (クルマエビの場合 6 種類) がどのように相互に作用して成熟を調節しているのは不明である。

また, CHH と MIH は共通の構造を持つため, まとめて CHH ファミリーペプチドと呼ばれる。

血糖上昇ホルモンはストレスにより分泌が亢進する特徴を持つ^{21, 22)}。漁獲クルマエビから採卵する際, 産卵せずに卵巣退行に向かう個体が現れる (第 5 章参照)。これは漁獲や運搬のストレスにより, 成熟が止まったためと考えられている。ストレスにより血糖上昇ホルモンが分泌されるが, クルマエビでは血糖上昇ホルモンが卵黄抑制ホルモンでもあるため, 血糖上昇作用と同時に成熟抑制作用も働いて成熟進行に悪影響を及ぼす可能性が考えられる。

体色調節ホルモン 甲殻類の体色は, 色素胞の中の色素顆粒が凝集したり, 拡散したりして変化する。この体色変化は X 器官—サイナス腺系から分泌されるホルモンで調節されている^{21, 22)}。色素顆粒を凝集させるホルモンは赤色素凝集ホルモン (red pigment concentrating hormone, RPCH) であり, このホルモンは 8 アミノ酸残基からなり, N 末端がピログルタミン酸で修飾され, C 末端がアミド化されたペプチドホルモン (pELNFSPGW-NH₂) である。名称にある赤色素胞だけでなく, 黒色素胞, 黄色素胞, 白色素胞に対しても色素

Pej-SGP-I	SLFDP	SCTGVF	DRQLLRRLGRV	CDDCFNVFREPNVATE	CRSNCYNNPVFRQC	MAYVVP	PAHLHNEHREAVQMV-NH ₂
Pej-SGP-II	SLFDP	SCTGVF	DRQLLRRLGRV	CDDCFNVFREPNVAME	CRSNCYNNPVFRQC	MEYLLPAHLHDEYRLAVQMV-NH ₂	
Pej-SGP-III	SLFDP	ACTGIY	DRQLLRKLGRL	CDDCYNVFREPKVATG	CRSNCYHNLIFLDC	LEYLIPSHLQEEHMAAMQTV-NH ₂	
Pej-SGP-V	LVFDP	SACAGVY	DRVLLGKLNRL	CDDCYNVFREPNVATE	CRSNCFYNLAFVQC	LEYLMPPSLHEEYQANVQMV-NH ₂	
Pej-SGP-VI	LVFDP	SACAGVY	DRVLLGKLNRL	CDDCYNVFREPNVATE	CRSNCFYNLAFVQC	LEYLMPPSLHEEYQANVQMV-NH ₂	
Pej-SGP-VII	AAFDP	SCTGVY	DRELLGRLSRL	CDDCYNVFREPKVAME	CRSNCFFNPAFVQC	LEYLIPAEHLHEEYQALVQTV-NH ₂	
Pej-SGP-IV	SFIDNT	CRGVMGNRDIYKVV	RVCE	DNIFRLPGLDGMCRNRC	FYNEWFLICLKAANREDEIEKFRVWISILNAGQ-OH		

図 2-1-5 クルマエビのサイナス腺ペプチド (SGP) のアミノ酸配列

保存されている 6 個のシステインを黄色で示した。SGP-IV だけ C 末端がアミド化されていない。SGP-IV は 77 アミノ酸残基, 残りの SGP は 72 アミノ酸残基から成る。

顆粒凝集活性を持つ。

また、色素胞の色素顆粒を拡散させるホルモンが色素拡散ホルモン (pigment dispersing hormone, PDH) であり、18 アミノ酸残基からなるペプチドホルモンである。色素拡散ホルモンは複眼を構成する子眼の遠位色素細胞の色素顆粒移動にも働く。これらのホルモンはクルマエビでも同定されている。暗くなるとクルマエビの歩脚と腹肢が赤色になり、産卵時にはその赤色がより強くなると言われる。RPCH と PDH は体色変化に働いているが、産卵との関連は不明である。

メチルファルネソエート 大顎の付け根に大顎腺があり、そこからメチルファルネソエート (図 2-1-6) が分泌される。メチルファルネソエートは最初、カニ類で発見され、他のエビ・カニ類にも存在することが報告された。メチルファルネソエートは昆虫の幼若ホルモンの前駆物質である。幼若ホルモンが、昆虫で脱皮・変態、ピテロジェニン合成に働くため、甲殻類でも似た作用を持つと期待されて研究された。甲殻類でも、脱皮・変態、生殖に働くとする報告もあるが、まだはっきりしたことはわかっていない。大顎腺でのメチルファルネソエート分泌は、X 器官-サイナス腺系から分泌される大顎腺抑制ホルモン (mandibular organ-inhibiting hormone, MOIH) により調節されている。MOIH も CHH ファミリーペプチドである。MOIH はまだクルマエビで報告されていない。

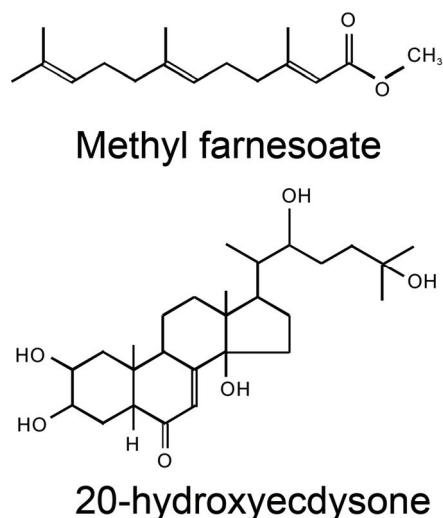


図 2-1-6 メチルファルネソエート (上) と 20-ヒドロキシエクジソン (下)

成熟促進ホルモン 成熟を促進するホルモンを使ってクルマエビを催熟できると便利だが、まだそのようなホルモンは発見されていない。これまでのところ、脱皮抑制ホルモン (MIH) と類似のペプチドがエビ類で成熟促

進の作用をもつ可能性が報告されているが、まだはっきりしていない。最近、カニ類で、雌の二次性徴 (腹肢の抱卵剛毛形成など) に働く新規のペプチドホルモン (甲殻類雌性ホルモン, crustacean female sex hormone, CFSH) が眼柄神経節で見つかった^{2 3)}。クルマエビにも同様なホルモンが存在することが期待できるが、まだ報告はない。また、脊椎動物で成熟促進に働くことが知られている生殖腺刺激ホルモン分泌ホルモン (gonadotropin-releasing hormone, GnRH) に似たペプチドホルモンが最近アメフラシやタコなどの軟体動物に見つかり、それらと相同のペプチド (pQNHHSFGWKP-NH₂) がザリガニで報告された^{2 4)}。クルマエビではまだ報告がないが、ザリガニと同じように GnRH 様ペプチドが存在する可能性がある。

その他 昆虫の一部の種類では脱皮ホルモン (エクジステロイド, 活性型は 20-ヒドロキシエクジソン, 図 2-1-6) がピテロジェニン合成促進の作用を持つ。甲殻類でも脱皮ホルモンが成熟に働くことが期待されるが、これまでのところ明確な証拠は得られていない。

脊椎動物では、テストステロンやエストラジオール-17β のような性ステロイドが性分化と成熟に働くことが知られている。甲殻類でも同じように性ステロイドが生殖に働くと考えて、これまでに投与などの実験が行われた。甲殻類でも成熟促進作用を持つという報告もあるが、否定する報告もあり、これまでのところ明確な結論は得ていない。

8. 環境要因

クルマエビは春に産卵を始め秋に終える産卵期を持っている。この産卵期の開始と終了を決める要因は、クルマエビでも他の生物と同じように水温、日長などの環境条件だと考えられる。西部遠州灘におけるクルマエビの産卵期と外部環境条件との関連は第 3 章第 1, 2 節で解説されている。ここでは概略を説明する。

西部遠州灘では、クルマエビの成熟は 2 月に始まり、早い個体は 3 月から産卵し始める。2 月は底水温の上昇幅はまだ小さいが長日化が進む時期であるため、成熟開始は長日化が重要だと考えられる³⁾。また、3 月になると底水温が上昇し始めるため、成熟を開始して産卵にいたるまでの過程は長日化だけでなく水温上昇が重要と考えられる。西部遠州灘では、クルマエビの産卵期は 11 月に終了する。この時期は底水温が低下するとともに短日化も進むため、水温低下と短日化が産卵期終了に重要であると考えられる³⁾。

水温、日長などの環境要因により、内分泌調節機構が働いて成熟・産卵が始まり、また終わると考えられる。甲殻類の場合、眼柄の X 器官-サイナス腺系から分泌

される卵黄形成抑制ホルモンが内分泌調節機構で重要な役割を果たしている。産卵期開始時には、長日化と水温上昇の刺激により、卵黄形成抑制ホルモンの分泌が抑えられて血中ホルモン量が低下し、その成熟抑制作用が解除されて成熟が進み、産卵にいたると考えられる。水温が上昇すると、摂餌量が増えるとともに体内の代謝速度が高まるため、卵黄成分などの合成・蓄積活性も高まって成熟が進むことも影響していると考えられる。また、産卵期終了時には、短日化と水温低下の刺激により、卵黄形成抑制ホルモンの分泌が亢進して血中ホルモン量が上昇し、その成熟抑制作用が強まって成熟が抑制され、産卵期が終了すると考えられる。この仮説を証明するためには、卵黄形成抑制ホルモンの血中量の周年変化を詳細に調べる必要がある。

親クルマエビを飼育して養成する場合、飼育下ではなかなか成熟して産卵しないため、片側の眼柄を除去して卵黄形成抑制ホルモンの作用を解除して人為催熟する（第4章と第6章を参照）。卵黄形成抑制ホルモンを除去して強制的に成熟開始のスイッチを入れるため、人為催熟時は環境要因を考慮する必要はないとも考えられる。しかし、眼柄除去しても水温が16～19℃では産卵数が著しく少ないため、産卵数を増やすには20～24℃に維持することが必要である²⁵⁾。これは、内分泌的なスイッチを入れるというより、摂餌活性と代謝速度を上げて成熟を進める意味合いが強いだろう。日長については短日下（9L:15D, 12L:12D）でも成熟・産卵する^{25), 26)}ため、人為催熟時はそれほど重要ではないと考えられる。しかし、片眼を除去して催熟しても、残った片眼で日長を感じ卵黄形成抑制ホルモンを分泌する可能性があるため、長日にする方がより望ましい結果が得られると期待できるだろう。

9. 脱皮段階

他の甲殻類と同じようにクルマエビも脱皮して成長する。脱皮過程では、まず脱皮により古い殻が脱ぎ捨てられる。新しい殻はまだ柔らかく、吸水して体全体が大きくなる。そして、体全体が大きくなった状態で新しい殻は徐々に固くなる。新しい殻が完成してしばらくすると、次の脱皮のために、現在の殻の下に新しい殻が形成され始める。新しい殻が形成されると、現在の殻が分解され、カルシウムが除かれる。そして、古い殻を脱いで脱皮する。淡水に生息するザリガニなどでは、古い殻のカルシウムは体内に吸収され胃壁に胃石として左右一対蓄えられる。脱皮して新しい殻を完成させる際に胃石のカルシウムが殻の石灰化に使われる。淡水下ではカルシウムイオンが少ないため、カルシウムの吸収・貯蔵・再利用のメカニズムが備わっている。海産の甲殻類では海水中に

カルシウムイオンが多く存在するため、カルシウムを体内に貯蔵して再利用する必要が無く、胃石は形成されない。

脱皮は単に殻を脱いで成長するだけでなく、様々な現象と関連している。クルマエビでは、雌は脱皮して殻が柔らかい状態の時に雄と交尾する。脱皮の直前、直後には産卵しない。雌が腹部に卵を付着させてふ化まで抱卵するテナガエビなどのエビ類では、雌は卵巣成熟して産卵直前の状態で脱皮して雄と交尾し、産卵、抱卵する。脱皮後に産卵できるように、雌は脱皮後から卵黄形成を始め、脱皮前には成熟した卵巣を持つようになる。また、抱卵中は卵を脱落させないために脱皮しない。このように脱皮と生殖は関連が強い。先に紹介した、卵黄形成抑制ホルモンと脱皮抑制ホルモンが脱皮と成熟の調節に働いていると考えられるが、その相互作用はわかっていない。

脱皮は様々な現象に関連しているため、脱皮から脱皮までの脱皮周期の中でどの段階にいるか調べられると便利である。顕微鏡下で新しい殻の形成状態を観察して脱皮段階を分けることができる（図 2-1-4B,C）。クルマエビで私が用いている方法を簡単に紹介する。生きているエビから第4または第5腹肢の先端部をハサミで切り取ってスライドガラスにのせ、海水を垂らしてカバーガラスをかける。これを対物レンズ10倍か20倍程度で観察し、剛毛の下に新しい殻がどのように形成されているか観察して次のように脱皮段階を判定する。

脱皮後期（A, B 期） 脱皮後でまだ殻が柔らかく、徐々に殻が完成していく段階である。

脱皮間期（C 期） 殻が完成した段階である。

脱皮前期（D 期） 現在の殻の下に新しい殻が少しずつ形成されていく段階である。クルマエビでは水温が高くと3～4週間で脱皮するため、この脱皮前期が脱皮周期の3分の1以上を占める。この段階はさらに区分される。D₀期では、新しい殻の形成が始まり、剛毛の付け根の殻の下にわずかな隙間ができる。D₁期では、新しい殻の形成が進み、現在の殻と形成中の新しい殻の間の隙間がはっきりする。また、新しい剛毛の形成が明瞭になる。D₂期では、新しい剛毛の形成が進み、剛毛上に新しい細毛の形成が認められる。D₃期では、新しい殻が厚くなり、形成が終了に近づいて脱皮直前の状態になる（図 2-1-4B,C）。

脱皮期（E 期） 古い殻を脱ぐ段階である。

10. 最後に

本節では雌クルマエビの生殖機構について簡単に説明した。クルマエビの種苗生産では、採卵に使う雌親エビ

を主に成熟して産卵間近の漁獲エビに頼ってきた。近年は、親エビとして購入しても産卵する個体の割合が低いなどの問題があり、片眼柄を切除して卵黄形成抑制ホルモンを除去し、成熟・産卵を促進させる人為催熟が実施されるようになった（第1章第1節参照）。しかし、眼柄切除による親エビへの大きな負担、産卵数とふ化率の低下など、一部にまだ問題が残っている。新しい成熟促進ホルモンの発見と応用など、繁殖生理の基礎研究のさらなる進展が期待される。

（奥村卓二）

文 献

- 1) 洪 徳仁. クルマエビの性成熟及び産卵に関する研究. 博士論文, 東京大学, 東京. 1977.
- 2) Yano I. Oocyte development in the kuruma prawn *Penaeus japonicus*. *Mar. Biol.* 1988; **99**: 547-553.
- 3) 水藤勝喜, 奥村卓二, 山根裕史, 山野恵祐. 西部遠州灘におけるクルマエビの生殖周期. (投稿中)
- 4) 中村薫. 甲殻類の成熟, 発生, 成長とその制御. 「水族繁殖学」(隆島忠夫, 羽生功編) 緑書房, 東京. 1989; 291-323.
- 5) Okumura T, Yamano K, Sakiyama K. Vitellogenin gene expression and hemolymph vitellogenin during vitellogenesis, final maturation, and oviposition in female kuruma prawn, *Marsupenaeus japonicus*. *Comp. Biochem. Physiol. A* 2007; **147**: 1028-1037.
- 6) Hudinaga M. Reproduction, development and rearing of *Penaeus japonicus* Bate. *Japan J. Zool.* 1942; **10**: 305-393.
- 7) Lin MN, Ting YY. Spermatophore transplantation and artificial fertilization in grass shrimp. *Bul. Jap. Soc. Sci. Fish.* 1986; **52**: 585-589.
- 8) 奥村卓二. 雄クルマエビから摘出した精莖を雌に移植する人工交配法. 平成 25 年度日本水産学会春季大会要旨集 2013; 34.
- 9) Clark WH Jr, Lynn JW, Yudin AI, Persyn HO. Morphology of the cortical reaction in the eggs of *Penaeus aztecus*. *Biol. Bull.* 1980; **158**: 175-186.
- 10) Lindsay LL, Clark WH Jr. Signal transduction during shrimp oocyte activation by extracellular Mg^{2+} : roles of inositol 1,4,5-triphosphate, tyrosine kinases and G-proteins. *Development* 1994; **120**: 3463-3472.
- 11) Pongtippatee-Taweepreda P, Chavadej J, Plodpai P, Pratoomchart, B, Sobhon, P, Weerachatanukul W, Withyachumnarnkul B. Egg activation in the black tiger shrimp *Penaeus monodon*. *Aquaculture* 2004; **234**: 183-198.
- 12) Clark WH Jr, Yudin AI, Lynn JW, Griffin FJ, Pillai MC. Jelly layer formation in penaeoidean shrimp eggs. *Biol. Bull.* 1990; **178**: 295-299.
- 13) Pillai MC, Clark WH Jr. Oocyte activation in the marine shrimp, *Sicyonia ingentis*. *J. Exp. Zool.* 1987; **244**: 325-329.
- 14) Wilder MN, Okumura T, Tsutui N. Reproductive mechanisms in Crustacea focusing on selected prawn species: vitellogenin structure, processing and synthetic control. *Aqua-BioScience Monographs* 2010; **3**: 73-110.
- 15) Khayat M, Babin PJ, Funkenstein B, Sammar M, Nagasawa H, Tietz A, Lubzens E. Molecular characterization and high expression during oocyte development of a shrimp ovarian cortical rod protein homologous to insect intestinal peritrophins. *Biol. Reprod.* 2001; **64**: 1090-1099.
- 16) Kim YK, Kawazoe I, Tsutui N, Jasmani S, Wilder MN, Aida K. Isolation and cDNA cloning of ovarian cortical rod protein in kuruma prawn *Marsupenaeus japonicus* (Crustacea: Decapoda: Penaeidae). *Zool. Sci.* 2004; **21**: 1109-1119.
- 17) Yamano K, Qiu GF, Unuma T. Molecular cloning and ovarian expression profiles of thrombospondin, a major component of cortical rods in mature oocytes of penaeid shrimp, *Marsupenaeus japonicus*. *Biol. Reprod.* 2004; **70**: 1670-1678.
- 18) Panouse JB. Influence de l'ablation du péduncule oculaire sur la croissance de l'ovaire chez la crevette *Leander seratus*. *C. R. Acad. Sci. Paris* 1943; **217**: 553-555 (in French).
- 19) Okumura T. Perspectives on hormonal manipulation of shrimp reproduction. *JARQ* 2004; **38**: 49-54.
- 20) Tsutui N, Nagakura-Nakamura A, Nagai C, Ohira T, Wilder MN, Nagasawa H. The ex vivo effects of eyestalk peptides on ovarian vitellogenin gene expression in the kuruma prawn *Marsupenaeus japonicus*. *Fish. Sci.* 2013; **79**: 33-38.
- 21) 長澤寛道. 甲殻類のホルモン. 「ホルモンの分子生物学 8 無脊椎動物のホルモン」(日本比較内分泌学会編) 学会出版センター, 東京. 1998; 199-222.
- 22) Katayama K, Ohira T, Nagasawa H. Crustacean peptide hormones: structure, gene expression and function. *Aqua-BioScience Monographs* 2013; **6**: 49-90.

- 23) Zmora N, Chung JS. A novel hormone is required for the development of reproductive phenotypes in adult female crabs. *Endocrinology* 2014; **155**: 230-239.
- 24) Guan ZB, Shui Y, Liao XR, Xu ZH, Zhou X. Primary structure of a novel gonadotropin-releasing hormone (GnRH) in the ovary of red swamp crayfish *Procambarus clarkii*. *Aquaculture* 2014; **418-419**: 67-71.
- 25) 玉城英信, 玉城誠, 仲原淳, 宮城恵一. 養成クルマエビの実用化に関する研究－Ⅳ－温度コントロールによるクルマエビの産卵制御－. 沖縄深層水研報 2002; **3**: 29-33.
- 26) 玉城英信, 村越正慶, 喜屋武みつる. 養殖クルマエビの母エビ養成 (甲殻類増養殖試験). 平成 8 年度沖縄県水産海洋技術センター事業報告書 1998; 147-154.