



Title	シロサケ脳下垂体投与によるイトウ (<i>Hucho perryi</i>) 雄の最終成熟誘起
Author(s)	三浦, 猛; MIURA, Takeshi; 忍関, 素子 他
Citation	北海道大學水産學部研究彙報, 42(1), 16-25
Issue Date	1991-02
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/24072
Type	departmental bulletin paper
File Information	42(1)_P16-25.pdf



シロサケ脳下垂体投与によるイトウ (*Hucho perryi*) 雄の最終成熟誘起*

三浦 猛**・忍関 素子**・平井 尚志**・山内 皓平**

Induction of Final Maturation by the Injection of Chum
Salmon Pituitary Homogenate in the Male Japanese
Huchen (*Hucho perryi*)

Takeshi MIURA**, Motoko NINZEKI**, Hisashi HIRAI**
and Kohei YAMAUCHI**

Abstract

In the male Japanese huchen (*Hucho perryi*), effects of injections of chum salmon pituitary homogenate (SP; including much gonadotropin) on final maturation, spermiation and acquisition of sperm motility, were investigated during spawning season. Two successive injections of SP to Japanese huchen induced successful spermiation and acquisition of sperm motility. Treatment of SP caused an increase in both the serum level of 17α , 20β -dihydroxy-4-pregnen-3-one (17α , 20β -DP) and pH of milt. *In vitro* study of the effect of milt pH on the acquisition of sperm motility showed that when testicular non-motile sperms were exposed to an artificial seminal plasma with pH higher than 8.5, the sperm developed motility. These results indicate that 17α , 20β -DP which can be induced by SP can cause an increase in the pH of milt, which enhances the development of sperm motility.

結 言

イトウ属はユーラシア大陸に広く分布し、これまで4種が知られている (Holcik, 1982)。これらのうち、日本ではイトウ *Hucho perryi* が北海道の河川に分布している。近年、イトウ資源は減少傾向を示しているため (山代, 1965) その資源保護施策が強く望まれている。保護施策のうち、最も短期間に効力を発揮すると考えられるものの一つに人工種苗生産があげられる。人工種苗生産を行うためには親魚の成熟の機構及び配偶子の物理、化学的性質を熟知する必要があるが、これまでにそれらに関する知見は数例あるのみで (平井ら, 1987)、究めて乏しいのが現状である。本研究はイトウの成熟機構を解明するに当り、その第一段階として雄の最終成熟の制御機構の基礎的知見を得ることを目的として行われた。

一般に、サケ科魚類雄の最終成熟とは、精巢から輸精管への精子の移動を指す排精過程、精液の含水量を増加させるハイドレーション過程 (Baynes and Scott, 1985) 及び輸精管内で起こる精子の運動能の獲得をはじめとする精子成熟過程 (Morisawa and Morisawa, 1986) から構成されて

* 北海道大学水産学部附属七飯養魚実習施設業績第54号
(Contribution No. 54 from Nanae Fish Culture Experimental Station, Faculty of Fisheries,
Hokkaido University)

** 北海道大学水産学部淡水増殖学講座
(Laboratory of Fresh-Water Fish Culture, Faculty of Fisheries, Hokkaido University)

いる。これらの最終成熟過程の多くは、生殖腺刺激ホルモンの刺激により生殖腺で生産される数種の性ステロイドホルモンによって制御されているものと考えられている (Nagahama, 1987a)。そこで本研究はイトウの精液の性状を調べるとともに、上記の知見に基づき雄の最終成熟の制御機構を内分泌学的観点から検討した。

材料と方法

1. 供試魚

本実験に用いたイトウ (*Hucho perryi*) は北海道大学水産学部七飯実習施設で飼育されている体重 2.2~3.3 kg, 尾又体長 62~70 cm の雄 7 年魚 9 尾である。実験は 1985 年 5 月 8 日から 5 月 12 日までの期間で行われた。

2. シロサケ脳下垂体投与実験

実験に際し、シロサケ脳下垂体アセトン乾燥粉末を生理食塩水 (0.6% NaCl) に 100 mg/ μ l の割合で懸濁し、最終濃度が 0.02 mg/g 体重となるように調製した。この脳下垂体懸濁液を 5 個体に対し 24 時間おきに 2 回投与した。対照群 3 個体に対しては生理食塩水のみを同量投与した。シロサケ脳下垂体及び生理食塩水投与前、及び初回投与後 1 日目及び 4 日目に、魚を 4-アミノ安息香酸エチルにより麻酔後、精液を 5 回の腹部圧迫により搾出し、以下に示す方法で精液の pH, 精液量, 精子運動時間, スパーマトクリット値を測定した。加えて、投与前、及び投与後 2 日目及び 4 日目には、尾部静脈より注射器により採取された血液から 1,500 g, 15 分間の遠心により血清を分離し、その血清中の $17\alpha, 20\beta$ -ジヒドロキシ-4-プレグネン-3-オン ($17\alpha, 20\beta$ -DP) 量をラジオイムノアッセイ法 (Young *et al.*, 1983) により測定した。また、投与前の魚体より得られた精漿及び血清の浸透圧をセミマイクロ浸透圧計 (KNAUER) で、精漿及び血清中のナトリウム及びカリウムイオン濃度を炎光分析法により日立 518 型原子吸光光度計を使用し、それぞれ測定した。

3. 生体外での精子運動能獲得実験

供試魚から摘出した精巢をペトリ皿上で細切した後、これらの精巢片を 42 μ m の目のメッシュで濾過し、その濾液を精巢内精子として実験に使用した。実験に先立ちこれらの精子が運動能を有していないことを飼育水 (pH 7.4) で希釈することにより確認した。上記のようにして得られた精巢内精子 50 μ l を pH 7.0~9.0 の範囲内で水素イオン濃度を 0.5 おきに 5 段階 (7.0, 7.5, 8.0, 8.5 及び 9.0) に調整した人工精漿 (NaCl 100 mM, KCl 30 mM, CaCl₂ 2.1 mM, MgCl₂ 1 mM, Hepes 又は Taps 20 mM; 1 N NaOH により pH を調節) 1 ml 中でそれぞれ 10°C で 30 分間培養した。培養終了後、これらの培養した精子を pH 7.4 に調節した飼育水 (Hepes 20 mM で調整) で希釈し、精子運動時間および精子運動比率を測定した。

4. 各測定項目の測定法

精液量：5 回の腹部圧迫による搾出法により得られた精液量をメスシリンダーにより測定した。

精液の pH：搾出された精液を採集後直ちにニードル型の極微量電極 (Horiba) を使用し、測定した。

スパーマトクリット値：精液をヘマトクリット管に採取し、これを 12,000 回転で 15 分間遠心した後、スパーマトクリット値 (精子量/(精子量+精漿量)×100) を求めた。

精子運動時間及び精子運動比率：精子を飼育水 (20 mM Hepes で pH 7.4 に調整) で希釈し、精子が運動を開始してから全精子が運動を停止するまでの時間を精子運動時間とした。また、精子運動比率は精子を希釈してから 5 秒以内の全精子数に対する運動を示す精子数の割合を 0.25 秒の

露光時間で撮影した写真上で求めた。

4. 統計処理

測定結果は平均値±標準誤差により表した。統計的有意差は paired t-test によって検定した。

結 果

1. イトウの精液の性状と精子の運動能

5回の腹部圧迫によって得られた精液量は 2.0 ± 0.3 ml で、そのうち精子の占める割合は 14.7% であった (表 1)。

精漿の浸透圧は 172.9 ± 26.0 mosmol/kg と血清のそれ (360.2 mosmol/kg) に比べ著しく低かった。またこれらの値は個体による差異が著しかった。

精漿中のナトリウムイオン濃度は 80.2 ± 22.5 mmol/l と血清のそれ (174.3 mmol/l) の約半分で

Table 1. Concentration of sodium and potassium ions in the seminal plasma and serum of Japanese huchen, *Hucho perryi*.

	Na ⁺ (mmol/l)	K ⁺ (mmol/l)	Osmolality (mosmol/kg)
Seminal plasma	80.2 ± 22.5	19.5 ± 1.4	172.9 ± 26.0
Serum	174.3	2.3	360.2

Table 2. pH in milt and blood of Japanese huchen, *Hucho perryi*.

	pH
Milt	7.68 ± 0.13
Blood	7.0 ± 0.17

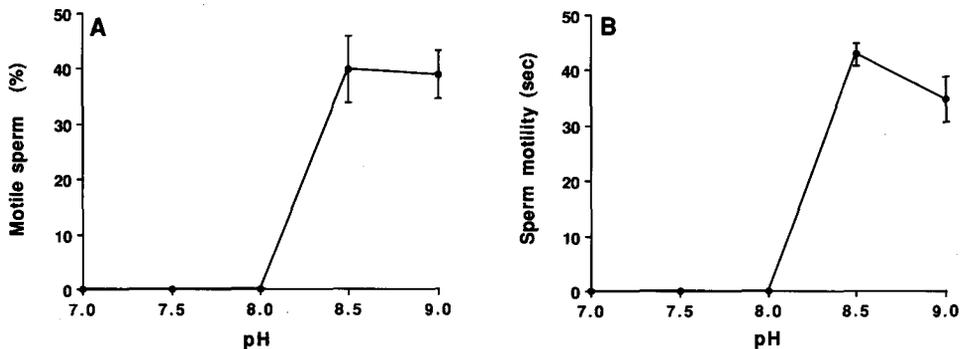


Fig. 1. Effect of pH on the induction of sperm motility in Japanese huchen. Motility was assessed after incubation for 30 minutes. A) Percentages of motile sperm within 5 seconds after dilution with fresh water. B) Duration of sperm motility. The vertical bars represent the means \pm SE.

あったが、カリウムイオン濃度は 19.5 ± 1.4 mmol/l と血清のそれ (2.3 mmol/l) の約8倍と著しく高い値を示した。

搾出された精液の pH は 7.6 ± 0.13 と血液のそれ (7.00 ± 0.17) に比べ有意に高値を示した ($P < 0.05$) (表 2)。

搾出された精子の運動性は個体間の差が大きく、全く動かない精子を有する個体から、40秒近く運動する精子を有する個体まで様々であったが、その平均値は 13.1 ± 4.1 秒であった。

2. 精子運動能に与える pH の影響

精巢内より得られた精子 (精巢内精子) は淡水に希釈しても全く運動性を示さなかった。これらの精子を pH 7.0~9.0 の範囲内で種々の高さの水素イオン濃度に調整した人工精漿で培養した結果を図 1-A 及び B に示した。

pH 8.5 以上の人工精漿で培養した精子は運動能を獲得し、その運動比率は pH 8.5 で $39.8 \pm 6.0\%$ 、pH 9.0 で $38.9 \pm 4.4\%$ 、運動時間は pH 8.5 で 42.9 ± 2.0 秒、pH 9.0 で 34.8 ± 4.2 秒であった。

一方、pH 8.0 以下の人工精漿で培養した精子は全く運動性を示さなかった。

3. シロサケ脳下垂体投与による精液の性状及び精子運動能に及ぼす影響

精液量の変化：シロサケ脳下垂体投与による精液量の変化を図 2 に示した。

精液量はシロサケ脳下垂体投与により著しく増加し、投与前 2 ml 前後だったものが、投与後 1

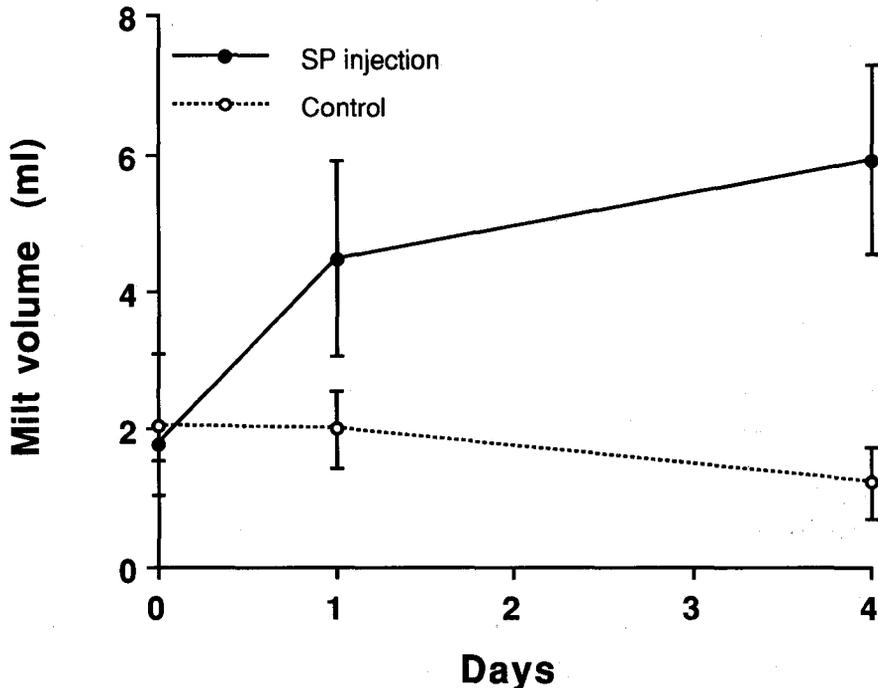


Fig. 2. Effect of two successive injections of salmon pituitary homogenate on milt volume (solid line) in Japanese huchen. Broken line indicates saline injection group. The vertical bars represent the means \pm SE.

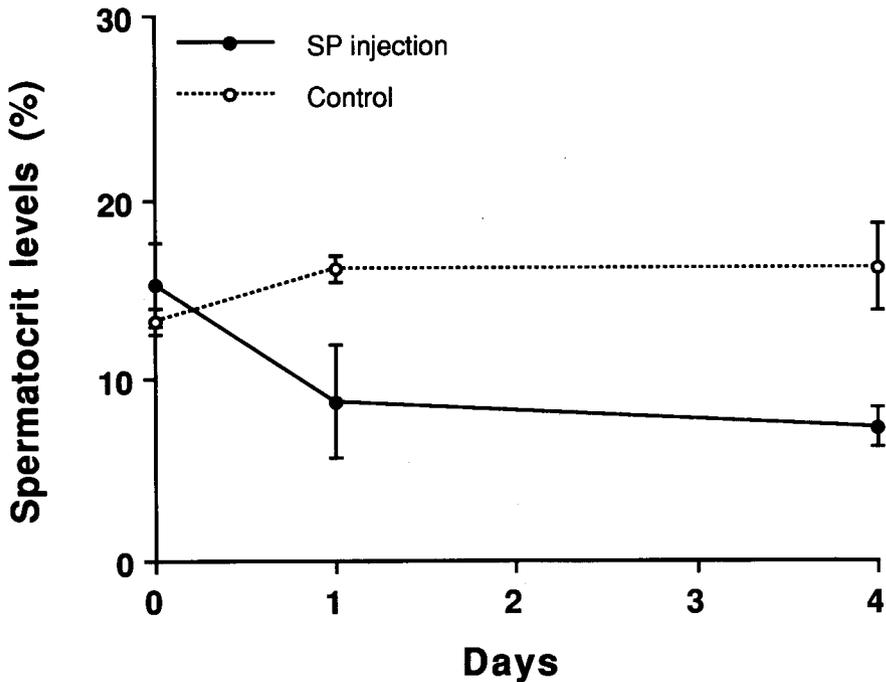


Fig. 3. Effect of two successive injections of salmon pituitary homogenate on milt volume (solid line) in Japanese huchen. Broken line indicates saline injection group. The vertical bars represent the means \pm SE.

日目では 4.48 ± 1.43 ml, 4 日目では 5.92 ± 1.38 ml となり対照群との間に有意差が生じた ($P < 0.01$)。

スパーマトクリット値の変化: シロサケ脳下垂体投与によるスパーマトクリット値の変化を図 3 に示した。

スパーマトクリット値はシロサケ脳下垂体投与により減少し, 投与後 1 日目では $8.8 \pm 3.1\%$, 4 日目では $7.3 \pm 1.1\%$ と対照群における $16.2 \pm 2.4\%$ に比べ有意に低下した ($P < 0.05$)。

精液の pH 値の変化: シロサケ脳下垂体投与による精液の pH 値の変化を図 4 に示した。

シロサケ脳下垂体投与後 1 日目には精液の pH は若干の減少傾向を示したが, その後上昇し, 投与後 4 日目では pH 7.73 ± 0.22 となり, 対照群のそれ (pH 7.3 ± 0.10) に比べ有意に高い値を示した ($P < 0.05$)。

精子運動時間の変化: シロサケ脳下垂体投与による精子運動時間の変化を図 5 に示した。

前述のように, シロサケ脳下垂体投与前, イトウの精子運動時間は個体差が大きく, 平均して 13.7 ± 8.2 秒であった。投与後 1 日目では対照及び実験の両群で若干の減少傾向を示した。しかしながら, 投与後 4 日目では, 対照群の個体の精子は全て運動性を示さなかったのに対し, 実験群では 6 個体中 4 個体の精子が運動性を示し, その運動時間の平均値は 28.4 ± 9.9 秒であった。

4. シロサケ脳下垂体投与による血中 $17\alpha, 20\beta$ -DP 量の変化

シロサケ脳下垂体投与による血中 $17\alpha, 20\beta$ -DP 量の変化を図 6 に示した。

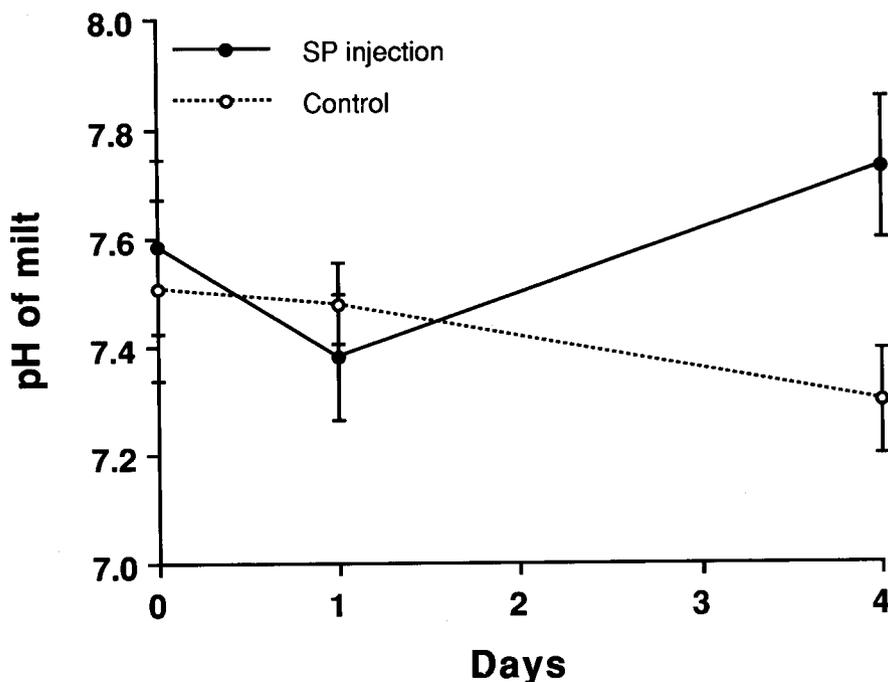


Fig. 4. Effect of two successive injections of salmon pituitary homogenate on pH of milt (solid line) in Japanese huchen. Broken line indicates saline injection group. The vertical bars represent the means \pm SE.

シロサケ脳下垂体投与前, $17\alpha, 20\beta$ -DP の血中量は 2.3 ± 0.25 ng/ml であった。シロサケ脳下垂体投与により, その血中量は有意に増加し ($P < 0.001$), 投与後 2 日目には 45.3 ± 2.8 ng/ml となった。投与後 4 日目には 14.4 ± 3.1 ng/ml に減少したが, 対照群のそれ (3.3 ± 1.67 ng/ml) と比較して有意に高値であった ($P < 0.05$)。

考 察

イトウの精漿の浸透圧は 172.9 mosmol/kg と, 血清のそれ (360.2 mosmol/kg) に比べ著しく低く, 更に, 他のサケ科魚類の精漿 (例えばシロサケでは 332 mosmol/kg; Morisawa *et al.*, 1979) に比べても低値を示した。これは精漿中のナトリウム濃度が 80.2 mmol/l と血清の 174.3 mmol/l やシロサケの 142 mmol/l に比べ著しく低いことに起因しているものと思われる。この精漿の浸透圧及びナトリウムイオン濃度の低さが生物学的にどのような意味を有するのかは本研究では明らかとはならなかった。

一方, 精漿中のカリウムイオン濃度は他のサケ科魚類のそれと同様 (Baynes *et al.*, 1981; Morisawa *et al.*, 1979) 19.5 mmol/l と血清中での値 (2.3 mmol/l) と比較して, 著しく高い値を示した。イトウの精子は 10 mM 以上のカリウムイオンの存在する液中では, その運動活性を示さないことから考えて (平井ら, 1987), イトウにおいても他のサケ科魚類と同様 (Morisawa *et al.*, 1983) 精漿中の高濃度のカリウムイオンが精子の運動開始を抑制していることはほぼ間違いな

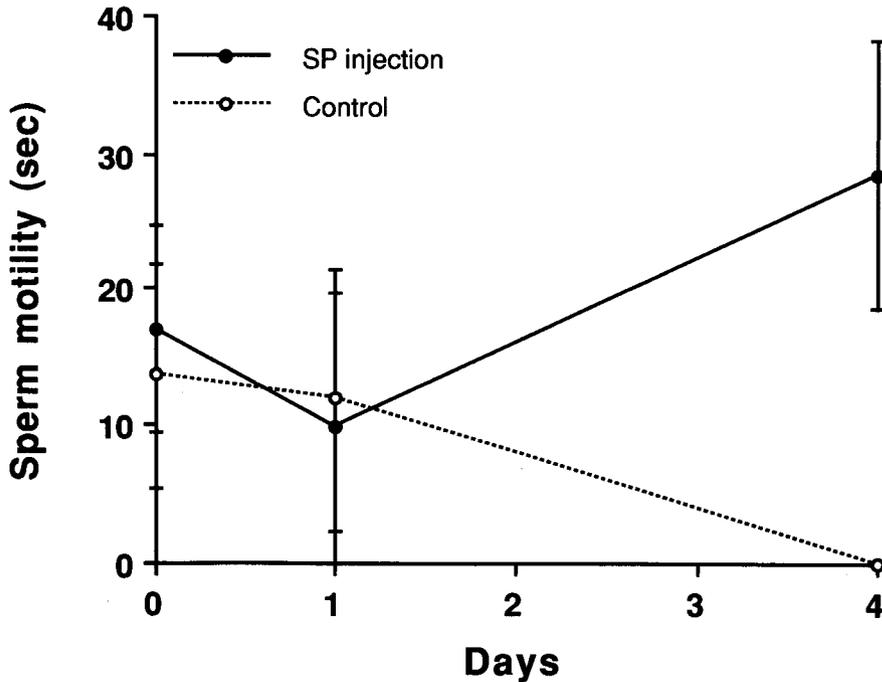


Fig. 5. Effect of two successive injections of salmon pituitary homogenate on duration of sperm motility (solid line) in Japanese huchen. Broken line indicates saline injection group. The vertical bars represent the means \pm SE.

い。

イトウの精子の運動能は個体ごとに差異が著しく、搾出によって同じ様に精子を得られる個体でも、運動能を有する精子をもつ個体と運動能を有さない精子をもつ個体が存在した。このことは魚体の大きさの割に精液量が少ないことと合わせて、安定した人工種苗生産を行う上で大きな障害となることが予想される。

一般に哺乳類では、精子外の水素イオン濃度が末熟精子の運動能獲得に大きな影響を与えている (Hoskins *et al.*, 1978)。魚類、特にサケ科魚類においても同様に、末熟精子の運動能獲得には精子外の水素イオン濃度が pH 8.0 以上であることが必要であると考えられている (Morisawa and Morisawa, 1988; Miura *et al.*, 1989)。イトウにおいても精巣内の運動能を持たない末熟精子を生体外で、pH 7.0~9.0 までの様々な水素イオン濃度の人工精漿中で培養したところ、pH 8.0 よりも高い水素イオン濃度の人工精漿中で培養した末熟精子は運動能を獲得した。これは、イトウにおいても精子が運動能を獲得するためには精子外環境の水素イオン濃度が pH 8.0 よりも高いことが必要であることを示している。また、このことから、精子の運動能獲得には精子外環境の pH が 8.0 付近と比較的高い値を必要とすることはサケ科魚類共通の現象であると考えられる。

しかしながら、イトウの精液の pH は平均で 7.50 と血液の pH 7.00 に比べ有意に高かったものの、他のサケ科魚類、例えばニジマスの pH 8.2 (Baynes *et al.*, 1981) あるいは pH 7.81 (Morisawa and Morisawa, 1988) やシロサケの pH 8.15 (Morisawa and Morisawa, 1988) に比べ著しく低く

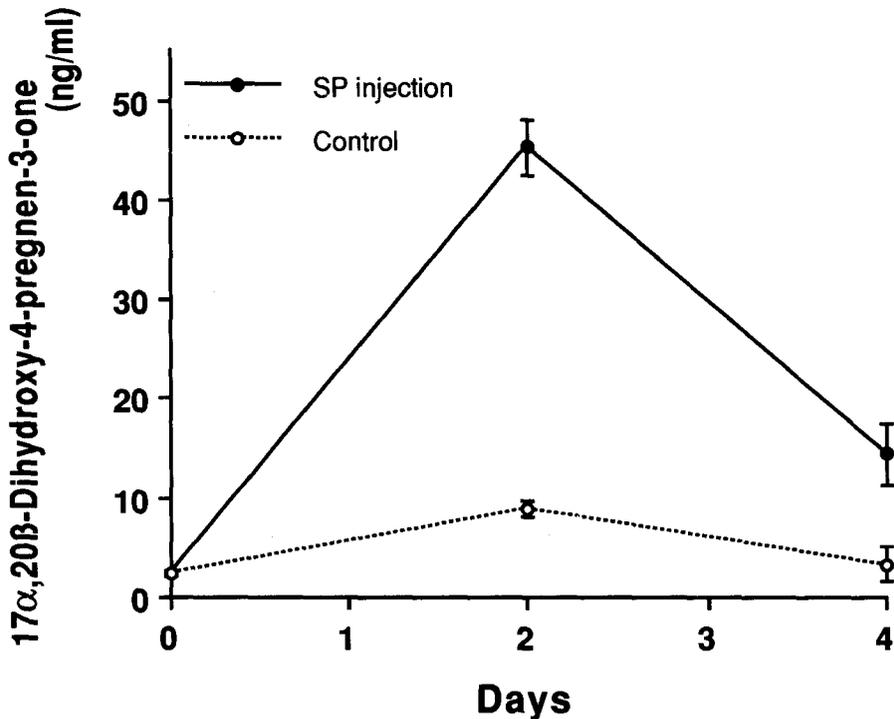


Fig. 6. Effect of two successive injections of salmon pituitary homogenate on serum concentrations of $17\alpha, 20\beta$ -dihydroxy-4-pregnen-3-one in Japanese huchen (solid line). Broken line indicates saline injection group. The vertical bars represent the means \pm SE.

かった。更に、これらの値は個体による差異が著しく、最低値で pH 7.16、最高値で pH 8.06 とバラツキを示した。このような個体ごとの精液の pH 値のバラツキが、個体ごとの精子運動能力の相違の原因であると推察される。

$17\alpha, 20\beta$ -DP は数種のサケ科魚類の最終成熟誘起ステロイドであると考えられている (Nagahama, 1987b)。このステロイドはサケ科魚類では雌雄ともに産卵期前後にその血中量が増加し、雌では卵成熟の誘起に (Nagahama and Adachi, 1985; Nagahama, 1987b)、雄では放精の誘起 (Ueda *et al.*, 1985) 及び輸精管精液の pH の上昇を介しての精子運動能の獲得に作用していると報告されている (Miura *et al.*, 1989)。イトウの雌では、他のサケ科魚類と同様、産卵期の直前にその血中量が著増し、その後に排卵が起こることが認められていることから (山内ら、未発表)、イトウにおいても $17\alpha, 20\beta$ -DP が最終成熟誘起ステロイドである可能性が高いと考えられる。しかしながら、本実験に使われた雄の血中 $17\alpha, 20\beta$ -DP 量は、搾出により精液が得られる個体であるにもかかわらず、2.5 ng/ml と他の産卵期中のサケ科魚類雄の血中量 (たとえばシロサケでは 10.9 ng/ml: Ueda *et al.*, 1984) に比較し著しく低値であった。従って、この $17\alpha, 20\beta$ -DP の低血中量が個体ごとの精子の運動能のバラツキの一因であるものと考えられる。

サケ科魚類の雄では、 $17\alpha, 20\beta$ -DP は脳下垂体から分泌される生殖腺刺激ホルモンの刺激により精巣で産生され血中に放出されることが知られている (Sakai *et al.*, 1989)。そこで本研究では、排精の認められた雄に生殖腺刺激ホルモンを大量に含むと考えられるシロサケ脳下垂体を投与して、血中の $17\alpha, 20\beta$ -DP 量の変化と精液の性状及び精子の運動時間の変化を観察した。その結果

シロサケ脳下垂体投与により、まず血中の $17\alpha, 20\beta$ -DP 量が 45.3 ng/ml にまで増加した。これとほぼ同時に精液の性状は精液量と精液の含水量が増加した。これに続き、シロサケ脳下垂体投与後 4 日目には精子の運動時間が増加した。血中の $17\alpha, 20\beta$ -DP 量はシロサケ脳下垂体投与後 4 日目には減少したものの対象群に比べ有意に高値を示していた。一般に生殖腺刺激ホルモンの作用は直接的というよりもステロイドの産生を介していると考えられていることから (Nagahama, 1987a), これらのシロサケ脳下垂体投与による精液量の増加及び精液の含水量の増加は血中の $17\alpha, 20\beta$ -DP 量の増加と深い関係にあるものと思われる。また、シロサケ脳下垂体投与による精子運動時間の増加は精液の pH の上昇と良く一致していることから考えて、サクラマスの場合 (Miura *et al.*, 1989) と同様、生殖腺刺激ホルモンにより産生が促進された $17\alpha, 20\beta$ -DP により輸精管内精液の pH が上昇し、それによって未熟精子が運動能を獲得したものと考えられる。一方、投与後 4 日目、対照群の精子が運動能を全く有さなかったのは、実験開始後 1 日目までに、運動能を持った全ての精子が人為的に搾出されてしまい、また、新たに輸精管内に排精された未熟精子も血中 $17\alpha, 20\beta$ -DP 量が低いために輸精管内精液の pH が上昇しないため、運動能を獲得できなかったものと推察される。

以上のように、イトウ雄の最終成熟のホルモン制御機構はサクラマスをはじめとする他のサケ科魚類 (Miura *et al.*, 1989; Ueda *et al.*, 1985) と概ね同じものと考えられる。

イトウの人工種苗生産を行う上で、雄親魚の養成に関する問題点は大きく分けて 2 点あるものと考えられる。まず第一は搾出できる精液量が魚体の大きさの割に少ないことである。本研究で得られたイトウの精液量は 2 ml 前後であったが、本研究に使用したイトウとはほぼ同じ体長のニジマスでは搾出される精液量は 22.9 ml、大西洋サケでは、136.7 ml と報告されている (Gjerde, 1984)。しかしながらこの問題点は、シロサケ脳下垂体投与による精液量の増加である程度解消できることが本研究により明かとなった。第二の問題点は、個体ごとに精子運動能力にバラツキがあることである。この点に関してはシロサケ脳下垂体投与、或は運動能を持たない精子を一旦 pH 8.5 の人工精漿で培養することにより解決できることが本研究により明かとなった。今後は更に、これらの基礎的知見を応用に結び付ける研究が必要であろう。

謝 辞

この研究を行うにあたり、実験魚の提供、飼育等多大の御協力を賜った、北海道大学水産学部七飯養魚実習施設、原 彰彦助教授並びに木村志津雄技官に厚く御礼申し上げる。また、本研究に対し適切な御助言を賜った、北海道大学水産学部淡水増殖学講座、高橋裕哉教授並びに同講座大学院生の方々に深謝する。

本研究は、一部文部省科学研究費及び寿原記念財団の研究補助によって行われた。

文 献

- Baynes, S.M. and Scott, A.P. (1985). Seasonal variations in parameters of milt production and in plasma concentration of sex steroids male rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Gen. Comp. Endocrinol.* 57, 150-160.
- Baynes, S.M., Scott, A.P. and Dawson, A.P. (1981). Rainbow trowt, *Salmo gairdneri* Richardson, spermatozoa: effects of cations and pH on motility. *Fish Biol.* 19, 259-267.
- Gjerde, B. (1984). Variation in semen production of framed atlantic salmon and rainbow trout. *Aquaculture* 40, 109-114.
- 平井尚志・川村 洋・泉 孝行・三浦 猛・忍関素子・山内皓平 (1987). イトウ *Hucho perryi*

- (BREVOORT) 精子の運動. 北海道立水産孵化場研究報告 **42**, 13-18.
- Holcik, J. (1982). Review and evolution of Hucho (Salmonidae). *Acta Scientiarum Naturalium Academiae Scientiarum Bohemoslovacae Brno* **16**, 1-29.
- Hoskins, D.D., Brant, H. and Acott, T.S. (1978). Initiation of sperm motility in the mammalian epididymis. *Federation Proceeding* **37**, 2534-2542.
- Miura, T., Yamauchi, K. and Nagahama, Y. (1989). Endocrine control of spermiation in the masu salmon *Oncorhynchus masou*. *Physiol. Ecol. Japan Spec.* vol. 1, 503.
- Morisawa, S. and Morisawa, M. (1986). Acquisition of potential for sperm motility in rainbow trout and chum salmon. *J. exp. Biol.* **126**, 89-96.
- Morisawa, S. and Morisawa, M. (1988). Induction of potential for sperm motility by bicarbonate and pH in rainbow trout and chum salmon. *J. exp. Biol.* **136**, 13-22.
- Morisawa, M., Hirano, T. and Suzuki, K. (1979). Change in blood and seminal plasma composition of the mature salmon (*Oncorhynchus keta*) during adaptation to freshwater. *Comp. Biochem. Physiol.* **64A**, 325-329.
- Morisawa, M., Suzuki, K. and Morisawa, S. (1983). Effects of potassium and osmolality on spermatozoan motility of salmonid fishes. *J. exp. Biol.* **107**, 105-113.
- Nagahama, Y. (1987a). Gonadotropin action on gametogenesis and steroidogenesis in teleost gonads. *Zool. Sci.* **4**, 209-222.
- Nagahama, Y. (1987b). 17α , 20β -Dihydroxy-4-pregnen-3-one; a teleost maturation inducing hormone. *Develop. Growth and Differ.* **29**, 1-12.
- Nagahama, Y. and Adachi, S. (1985). Identification of maturation-inducing steroid in teleost, the amago salmon (*Oncorhynchus rhodurus*). *Dev. Biol.* **109**, 428-435.
- Sakai, N., Ueda, H., Suzuki, N. and Nagahama, Y. (1989). Steroids production by amago salmon (*Oncorhynchus rhodurus*) testes at different developmental stages. *Gen. Comp. Endocrinol.* **75**, 231-240.
- Ueda, H., Kambegawa, A. and Nagahama, Y. (1985). Involvement of gonadotrophin and steroid hormones in spermiation in the amago salmon, *Oncorhynchus rhodurus*, and Goldfish, *Carassius auratus*. *Gen. Comp. Endocrinol.* **59**, 24-30.
- Ueda, H., Hiroi, O., Hara, A., Yamauchi, K. and Nagahama, Y. (1984). Changes in serum concentrations of steroid hormones, thyroxine and vitellogenin during spawning migration of the chum salmon, *Oncorhynchus keta*. *Gen. Comp. Endocrinol.* **53**, 203-211.
- 山代昭三 (1965). 北海道東北部におけるイトウ (*Hucho perryi*) の年齢と成長. 日水誌 **31**, 1-7.
- Young, G., Crim, L. W., Kagawa, H., Kambegawa, A. and Nagahama, Y. (1983). Plasma 17α , 20β -dihydroxy-4-pregnen-3-one levels during sexual maturation of amago salmon (*Oncorhynchus rhodurus*): Correlation with plasma gonadotropin and *in vitro* production by ovarian follicles. *Gen. Comp. Endocrinol.* **51**, 96-105.