

フグ目フグ科およびハリセンボン科魚類の  
水族館での繁殖に関する研究

土井啓行

2016

## 目 次

	頁
序 論	1
謝 辞	8
用語の定義	9
第 1 章 フグ科トラフグ属 5 種の産卵および発育	10
第 2 章 東南アジア産汽水淡水産フグ科 8 種の産卵および 初期発育	20
第 3 章 ハリセンボン科 8 種の産卵および初期発生	31
第1節 ハリセンボン科 8 種の産卵およびオーストラリア 南部産ハリセンボン科 2 種の沈性粘着卵	32
第2節 メイタイシガキフグの産卵および 発育	37
第 4 章 総合的考察	41
引用文献	46
図 表	52

## 序 論

「フグは食いたし、命は惜しい」という言葉が示すように、フグ類は毒をもつことが古くから知られているが、フグ食への欲求は古来より認められ、フグ毒 (tetrodotoxin) で死亡したと推定される人骨が遺跡より出土している。厚生労働省によると、わが国では年間に約 30 件のフグ毒中毒が発生し、患者数は約 50 名で数名が死亡している。フグ毒中毒は釣り人や素人による家庭料理が原因となることが多い。厚生労働省の指針によりフグ食への適切な管理がなされ、ならびに各地方自治体による注意喚起が行われている。主としてフグ科魚類がフグ毒をもち、フグ毒中毒の原因食品となる。毒力の強さはフグの種類と部位によって大きく異なり、わが国では食用可能なフグ類の種類と部位が定められている。フグ類の内臓、とくに肝臓や卵巣には高濃度の毒素が蓄積され、これらを食べた場合にフグ毒中毒になることが多い（厚生労働省，2014）。

近年の事例として、平成 19 年 12 月に広島県内において、自分で釣ったフグを調理し、喫食した方が死亡した。この原因となったフグ類の種類は不明であり特定されていない。平成 20 年 1 月茨城県内において有毒部位が除去されていない未処理のフグを小売店から購入し、自宅で調理、喫食した消費者が死亡する食中毒が発生している。原因とされるフグは、ショウサイフグ *Takifugu snyderi* またはマフグ *Ta. porphyreus* の幼魚と推定されているが、種の特定には至っていない。また、量販店等において、適切な処理が行われていないフグの混入事例が報告されている。平成 26 年 8 月、千葉市内のスーパーで「小アジ」をパック詰めし、販売したものの中に種類不明のフグが混ざっていた。平成 26 年 9 月京都市内、同じく平成 26 年 9 月新潟市内の量販店において「豆アジ」をパック詰めし、販売したものの中に京都と新潟ともに種類不明のフグが混ざっていた（厚生労働省，2014）。フグの食中毒や混入事例が発生するのは、フグ毒の啓蒙普及がまだ十分でないためと考えられる。また、種が特定されず不明となるのは、フグ類の種同定の難しさにあると考えられる。フグ類には類似した種が多いうえ、成長に伴い斑紋が変化する。とりわけ、未成魚での種判別は漁

業，水産関係者にとっても難しく，トラフグ *Ta. rubripes* 以外のフグ類の場合には，区別されず複数種がまとめて流通される可能性が生じやすい．さらに日本に限らず東南アジアでは深刻な状態となっている（松浦，2015）．ベトナムでは 1999 年から 2003 年までの 4 年間に 737 人がフグ毒中毒にかかっている．そのうち，127 人が死亡している（Dao et al., 2012）．ベトナムでは漁港や魚市場ではフグ類がほかの魚類と区別されずに扱われている（松浦，2015）．また，1976 年の調査によると南太平洋のトンガ，フィジー，西サモアではごく普通にハリセンボン科魚類を食している（山口県食品衛生協会，2011）．

このようなフグ類を取り巻く状況を踏まえ，種同定を確実に行った親魚を採集ないしは最終成熟に至るまで飼育し，その親から子を得ることができれば，育成した仔稚魚は間違いなく同種といえる．また，成長に伴い，記録をとることができれば，食中毒の原因種の情報不足を補い同定に貢献することができる．同種においても地域，季節および個体により毒性が異なるのもフグ類の特徴である．そのため，繁殖に関する報告のない種にとって成長速度といった初期発育の知見は仔稚魚の試料より産卵時期の推定を可能にし，安全確保の一助となり得る．また，未利用資源の開発に繋がる可能性があると考えられる．

フグ目魚類 **Tetraodontiformes** は世界中の温帯から熱帯水域に分布し，10 科 400 種以上からなる多様な形態および生活史を示すグループである．解剖学的に骨の融合や退化による骨格の大幅な単純化が認められるなど（Tyler, 1980），硬骨魚類の中では最も特化したグループとされる（Yananoue et al., 2007 ; Yananoue et al., 2008）．遺伝学的にもゲノムサイズがほ乳類の約 8 分の 1 しかないことなど極めて特異的で（Brenner et al., 1993 ; Mison et al., 1995; Venkatesh et al., 2000），なかでもフグ科魚類 **Tetraodontidae** はゲノム科学のモデル生物として注目されている（Aparicio et al., 2002 ; Grogorac-Jurcevic et al., 1997 ; Jaillon et al., 2004）．フグ科魚類はフグ目魚類のなかで唯一，熱帯の汽水域，淡水域に進出した属を含み，海産魚の淡水適応進化を知る上でも好例である．さらに，フグ科魚類が沈性粘着卵を産卵するのに対して，本科に最も近縁とされるハリセンボン科魚類 **Diodontidae** の多く



が分離浮性卵を産卵するなど、フグ科およびハリセンボン科魚類は産卵生態等の適応進化の研究対象としても興味深い。一般にフグ目魚類は養殖が盛んなトラフグや飼育が容易なクサフグ *Ta. niphobles* など一部のフグ科魚類を除けば産卵生態や初期発育の情報が乏しく、上述した適応進化の研究には障壁となっている。一方、山口県下関市はトラフグに関する産業が最も盛んであることから、下関市立しものせき水族館・海響館（以下、海響館と呼ぶ）でも展示の一つの柱としてフグ目魚類の収集を行っている。しかしながら多くのフグ目魚類は入手が困難で、展示の維持のために水族館内での人工繁殖が望まれている。

このような背景の下、海響館では飼育設備を利用して様々な展示種の繁殖にも挑戦しており、フグ目魚類についても、30 種において自然ないし人工授精での受精卵を取得している。本研究では、その中の 19 種について仔稚魚を育成することができた。すなわち、海響館において育成したフグ目魚類のうち、重要な水産資源となっているフグ科トラフグ属 (*Takifugu*, **Tetraodontidae**) 5 種の発育、淡水適応したフグ科 *Tetraodon* 属 5 種および *Carinotetraodon* 属 3 種の発育、そしてハリセンボン科 4 属 *Allomycterus*, *Chilomycterus*, *Cyclichthys*, *Diodon* 8 種の産卵を記録し、フグ目フグ科およびハリセンボン科魚類の適応進化的特徴の一端を明らかにしたもので、成果の概要は以下の通りである。

第 1 章ではフグ科トラフグ属 5 種の産卵および発育を明らかにした。フグ科トラフグ属には 25 種が知られ、部位によっては高濃度のフグ毒を有するにもかかわらず、多くの種が食用種となっている。トラフグについては、比較的古くから種苗生産と養殖が行われているが、その他の種では初期生活史の詳細は必ずしも明らかではないため、クサフグ、ヒガンフグ *Ta. pardalis*、コモンフグ *Ta. poecilinotus*、ショウサイフグ、ゴマフグ *Ta. stictonotus* の 5 種について人工授精を行って初期発育過程を観察した。

すべての種において卵は 1 mm 前後の球形で沈性粘着卵であった。ヒガンフグでは黒色素胞が腹部のほぼ全面に多数散在し、ゴマフグでは腹部、卵黄上にわずかに散在していた。コモンフグでは黒色素胞よりも黄色素胞が体全体に優先していた。肛門後方に黒色素胞が顕著であればクサフグ、黄色素胞が顕著であれ

ばショウサイフグと識別できた。魚体全体における黄色素胞および赤色素胞の出現は、5種のなかで前期仔魚期、後期仔魚期、稚魚期を通してコモnfグおよびショウサイフグが最も高密度であった。

仔魚期の成長速度はヒガンフグが若干速く、他はほぼ同様であった。稚魚期以降はゴマフグ、ヒガンフグの成長が速く、ショウサイフグが中間で、クサフグおよびコモnfグは遅かった。また、トラフグで報告されているような飼育中の噛み合いによる尾鰭欠損はクサフグ、ゴマフグでは認められず、コモnfグではふ化後35日前後で一時的に、ヒガンフグではふ化後25日前後より継続して顕著に、ショウサイフグではふ化後60日前後より継続して認められた。コモnfグおよびショウサイフグでは人影に対して顕著な逃避行動が認められたのに対し、ヒガンフグでは逆に人に接近してくる行動が観察された。

以上のように、トラフグ属 5 種では成魚のサイズが大きい魚種は成長が速かった。噛み合い行動についてはヒガンフグでその傾向が最も強く、次いでショウサイフグ、コモnfグの順であった。また、逃避行動がコモnfグおよびショウサイフグで顕著であった。これらの相違は繁殖時期、仔稚魚の生息環境など生態的な違いに起因する可能性がある。

第 2 章では東南アジア産汽水淡水フグ科 8 種の産卵と初期発育を明らかにした、フグ科 27 属 184 種のうち 4 属 27 種が東南アジア、アフリカ、南アメリカの熱帯淡水域に生息している。海産魚類が淡水域に進出する場合、しばしば大卵少産化と卵保護という繁殖戦略をとる。しかし、そのような観点からの淡水フグ類の繁殖生態はほとんど調査されてこなかったことから、東南アジア産汽水淡水フグ類 8 種 *Tetraodon biocellatus*, *Te. cochinchinensis*, *Te. cutcutia*, *Te. palembangensis*, *Te. turgidus*, *Carinotetraodon irrubescens*, *Ca. lorteti*, および *Ca. travancoricus* の産卵生態と仔稚魚の発育を観察した。

8 種のうち、汽水で産卵したのは *Te. biocellatus* のみで、その他 7 種は淡水で産卵した。産卵戦略について 3 タイプが観察された。すなわち、*Te. cochinchinensis*, *Te. cutcutia*, *Te. palembangensis*, *Te. turgidus* は産卵基質として投入した円筒内底面で一層にまとめて産卵し、雄がそれを保護した。

*Ca. travancoricus* は水草やネットの間に少数産卵し、雄がそれを保護した。  
*Te. biocellatus* は底砂の上に産卵、*Ca. irrubesco*, *Ca. lorteti* は水草等の周辺の底砂に卵をばらまき、保護を行わなかった。*Te. biocellatus* を除く *Tetraodon* 4種はより大きな卵を産み、これを保護しかつ成長が速かったが、*Te. biocellatus* は最も小さな卵を産み、その保護は行わなかった。一方、*Carinotetraodon* 3種は *Tetraodon* 属と比較すると卵径も小さく成長速度も遅かったが、*Ca. irrubesco* の卵は最も小さく 1 mm以下であった。*Ca. travancoricus* のみは卵を保護した。

仔稚魚は成長の速いグループ (*Te. cochinchinensis*, *Te. cutcutia*, *Te. palembangensis* および *Te. turgidus*) と遅いグループ (*Te. biocellatus*, *Ca. irrubesco*, *Ca. lorteti* および *Ca. travancoricus*) に分けられた。前者の速い成長のグループの *Tetraodon* 属 4種は成魚サイズが大きいことが知られている。

前述のように、汽水淡水域に生息するフグ科魚類のように二次的に淡水適応した魚類は、一般に大卵を少数産卵し、それを保護する傾向があるとされる。本研究で、8種の卵径および成長を比較したところ、大きな卵を産卵する種は、卵を保護し、成長が速い傾向にあったが、一部の魚種では海産のトラフグ属 5種のように卵径約 1 mmの卵を産卵し、雄による保護は観察されなかった。一方、東南アジア産汽水淡水フグ科 8種においても速い成長のグループは成魚サイズが大きく、トラフグ属 5種と同じ傾向を示した。これら繁殖戦略の違いは、淡水環境における仔魚の餌サイズや捕食圧に関わる可能性がある。フグ類の淡水環境への適応をより良く理解するためには、さらなる環境情報や生態的な知見の集積が必要である。

第3章ではハリセンボン科魚類 8種の産卵および初期発生を明らかにした。ハリセンボン科魚類は熱帯域および温帯域に 7属 17種 2亜種が分布する。フグ科魚類とは対照的に、ハリセンボン科魚類の既報種は分離浮性卵を産卵し、仔稚魚あるいは若魚は外洋水域に移行するとされている。また、ふ化仔魚の頭部

および躯幹部は厚い外膜“vesicular dermal sac”（または“pliable shell”）で覆われていることが報告されている。

そこで、ハリセンボン科 4 属 8 種、すなわち *Allomycter pilatus*, *Chilomycterus antennatus*, イシガキフグ *Ch. reticulatus*, *Ch. schoepfi*, メイタイシガキフグ *Cyclichthys orbicularis*, ハリセンボン *Diodon holocanthus*, ネズミフグ *D. hystrix*, *D. nithemerus* が水槽内で産卵したので、その卵の性状および発生の進んだ 6 種のふ化仔魚を観察した。

観察した 8 種すべてにおいて、親魚雌の腹部は産卵数日前に膨らみ、産卵後 24 時間内に親魚雌の腹部が縮小した。*Ch. antennatus*, イシガキフグ, *Ch. schoepfi*, メイタイシガキフグ, ハリセンボン, ネズミフグの 6 種の卵は既報のように分離浮性卵であったが、オーストラリア南部からニュージーランドにかけた狭い範囲に分布する *Al. pilatus* および *D. nithemerus* の 2 種は、既報の記述とは異なり、沈性粘着卵を産出した。8 種のうち、*Ch. antennatus* とイシガキフグの卵は未受精卵であった。水族館においては、同一水槽内で複数種を混合飼育することがあるため、親魚の観察および育成した仔稚魚の形態から同定を行う必要があるが、6 種の受精卵は発生が進み、育成することにより種を確実に同定することができた。

6 種とも卵は球形で、ふ化仔魚の頭部および躯幹部は厚い外膜“vesicular dermal sac”で覆われていた。メイタイシガキフグについては、その後も詳細な観察を続け、ふ化後 17 日に各鰭条が完成、背面に棘原基が出現し、ふ化後 39 日の全長 20.8 mm の稚魚体の棘は不動となった。

以上のように、ハリセンボン科魚類においては、すべての種において仔魚の頭部と躯幹部が“vesicular dermal sac”に覆われていること、*Al. pilatus* と *D. nithemerus* の 2 種を除く 6 種で分離浮性卵を産卵することが確認できた。フグ目魚類においては、マンボウ科 *Miliidae*, ハコフグ科 *Ostraciidae* およびギマ科 *Triacanthidae* 魚類が分離浮性卵を産むとされている。さらに、マンボウ科やハコフグ科魚類は、ハリセンボン科魚類と同様に仔魚の頭部と躯幹部が“vesicular dermal sac”に覆われている。しかしながら、ハリセンボン科魚

類に最も近縁なグループはフグ科魚類とされており、マンボウ科やハコフグ科魚類とはむしろ離れた類縁関係にあるため、卵の性状や仔魚形質におけるこれら類似性は、浮遊生活をするための適応と収斂の結果である可能性を示している。一方、例外的に沈性粘着卵を産むことが確認された *Al. pilatus* および *D. nicthemerus* の分布範囲は限定的である。他のハリセンボン科魚類の多くは世界中の熱帯から温帯域に広く分布することから、2種の卵が沈性粘着であることと、その分布域の狭さとの間に関連性があることが示唆される。

第4章では以上の結果を総括し、本研究の意義と今後の研究課題について考察した。

なお、本研究で得られた成果の一部は既に下記の通り公表されている。

Doi,H., Sakai,H., Yamanoue,Y., Sonoyama,T., and Ishibashi,T., 2015. Spawning of eight Southeast Asian brackish and freshwater puffers of the genera Tetraodon and Carinotetraodon in captivity, Fisheries Science,81:291-299.  
DOI 10.1007/s12562-014-0842-7

Doi,H., Ishibashi,T., and Sakai,H., 2015. Spawning and rearing of a porcupine puffer *Cyclichthys orbicularis* (Diodontidae,Tetraodontiformes ) in captivity, Aquaculture Science. Note,63:207-212.

Doi,H., Takayuki Sonoyama,T., Yamanouchi,Y., Tamai,K., Sakai,H., and Ishibashi,T.,2015. Adhesive demersal eggs spawned by two southern Australian porcupine puffers, Aquaculture Science. Short Paper,63:357-359.

## 謝 辞

本研究は北里大学 渡部終五教授の御指導，御鞭撻の下に行われたものであり，ここに深甚なる感謝の意を表します．また，本論文の作成に当たり，多くのご助言を頂きました北里大学 森山俊介教授，佐藤 繁教授，神保 充准教授に御礼申し上げます。

本研究の計画の立案，要所における考察などにおいて数多くのご助言をいただいた水産大学校 酒井治己校長および下関市立しものせき水族館・海響館 石橋敏章館長，大阪・海遊館 西田清徳館長ならびに株式会社海遊館代表取締役社長 三輪 年氏，取締役 彦坂 寛氏，ニフレル事業部長 小畑 洋館長に深く謝意を表します．

本研究を遂行するにあたり，新潟大学 安東宏徳教授，株式会社河久 望月俊孝氏には多くのご助言をいただきました．衷心より御礼申し上げます．

フグ類の飼育および育成では下関市立しものせき水族館展示部 立川利幸課長，園山貴之氏はじめ魚類展示課職員一同に水族館業務にもかかわらず大変お世話になりました．株式会社海遊館ニフレル事業部の皆さんには平素より大変お世話になりました．心より感謝申し上げます．

最後に，本研究は私を最後まで見守ってくれた土井優子，土井華子，土井胡幸，土井絹美の物心両面での支えがなければ成しえなかったものです．この場を借りてお礼申し上げます．

## 用語の定義

本論文で使用した仔稚魚以外の魚体の大きさの表示法は中坊徹次（編），2013. 日本産魚類検索全種の同定，第三版，東海大学出版会，東京，3-30. に従った.  
全長（**TL**）：体の前端から，尾鰭を中央に寄せた場合の後端までの長さをいう.  
標準体長（**SL**）：上顎前端（口が下位の場合は吻端）から下尾骨の後端（大まかに尾鰭を左右に折り曲げたときにできるしわの位置）の中央までの直線距離である. 下顎端が上顎端より前に出ている場合でも，上顎端を起点とする. 体の各部の長さとの割合を表す場合には標準体長を基準にする.

本論文で使用した仔稚魚の魚体の大きさの表示法は沖山宗雄（編），2014. 日本産稚魚図鑑，第二版，東海大学出版会，東京，xxviii-xxix. に従った.  
全長（**TL**）：尾部膜鰭または尾鰭条を含む魚類の前端から最後部までの距離.  
標準体長（**SL**）：後屈曲期，稚魚，および成魚における，吻端から下尾骨の後縁までの距離.  
脊索長（**N**）：前屈曲期と屈曲期仔魚における吻端から脊索末端までの距離. 体長と同義.

本論文で使用した発育段階は河野 博（監・編著），2006. 東京湾 魚の自然誌，平凡社，東京，57-59. に従った.  
前期仔魚期：ふ化してから卵黄がすべて吸収されるまで（卵黄囊仔魚と呼ばれる）  
後期仔魚期：卵黄が吸収されてからすべての鰭の鰭条が定数になるまで  
稚魚期：鰭条は定数に達しているが，体の各部の特徴は発現初期の状態  
若魚期：形態的には種の特徴が表れているが，体の体形が成魚とは異なる状態  
未成魚期：成魚と同じ形態的特徴をもつが，性的には成熟していない状態  
成魚期：性的に成熟した状態

## 第1章 フグ科トラフグ属5種の産卵および発育

フグ科トラフグ属 (*Takifugu*, *Tetraodontidae*) には25種が知られ、インド洋にも生息する2種を除いてすべての魚種が東シナ海、黄海、および日本周辺海域に分布しているため、この海域で急速に進化したグループとされている

(Yamanoue et al., 2009). 日本からはそのうちの20種について採捕または水揚げされた記録があるが、フグ毒 (tetrodotoxin) を有するにもかかわらずそのうちの13種の筋肉などが可食とされる重要な食用資源魚類となっている。トラフグの集散地として有名な山口県下関近辺では、約10種のトラフグ属魚類が食用として流通している (岩本・藤本, 1997). なお、ナシフグ *Takifugu vermicularis* については現在香川県・岡山県の瀬戸内海沿岸および有明海・橘湾で捕れたものに限り販売が認められている (山田・柳下, 2013; 厚生省, 1983),

トラフグ属魚類のうち最も高級とされるトラフグ *Ta. rubripes* については、比較的古くから種苗生産と養殖の取り組みが行われ (堀井・片町, 2012), また、天然資源の減少が著しいため放流による資源増殖事業も盛んである (山口県食品衛生協会, 2011). しかしながらトラフグ以外の魚種では種苗生産は行われておらず、初期生活史や成長の詳細は必ずしも明らかではない。

日本産トラフグ属魚類の人工授精による発育については、アカメフグ *Ta. chrysops*, ムシフグ *Ta. exacurus*, クサフグ *Ta. niphobles*, ヒガンフグ *Ta. pardalis*, コモンフグ *Ta. poecilonotus*, マフグ *Ta. porphyreus*, トラフグ, ショウサイフグ *Ta. snyderi*, ゴマフグ *Ta. stictonotus*, ナシフグ, シマフグ *Ta. xanthopterus* の11種 (藤田, 1962), およびクサフグ, ヒガンフグ, コモンフグ, シマフグの4種およびそれらの交雑種の観察 (宮木, 1998) が纏まったものとして報告されている。しかし、いずれの魚種についても後期仔魚期または稚魚初期までの記録で、その後の成長は報告されていない。また、前者11種の卵・仔稚魚のスケッチは白黒であり (藤田, 1962), 一方、後者の仔稚魚のそれも赤色素胞および黄色色素胞を書き入れた彩色スケッチで、必ずしも光彩色を表現で



きていない（宮木，1998）．

本研究では，クサフグ，ヒガンフグ，コモnfグ，ショウサイフグ，ゴマフグの5種について人工授精を行って継続的に飼育・観察し，そのふ化仔魚と稚魚のスケッチを添えて概略を紹介した（土井・石橋，2012）．その資料の他に，若魚までの発育段階ごとに適宜カラーデジタル撮影を行って生体色を記録し，また，若魚までの成長を測定し種間で比較した．さらに，フグ類の特徴的行動と考えられる噛み付き行動を観察したところ，種間差が認められた．

## 材料および方法

### 親 魚

人工授精に使用した親魚は、2006 年から2009 年の2月から6月の産卵期に山口県日本海側に面する下関市豊浦町室津地先、水深10-15 mに設置された小型定置網に入網した5種各雌雄1個体、合計10個体である(Table 1-1)。定置網乗船時に採集海域の表面水温を測定した。海響館に搬入された後は、屋外のバックヤードに設置された水量200m<sup>3</sup>の水槽に収容し照明は自然日長とし、関門海峡より取水し砂ろ過した新鮮海水を常時注水したためpHには特別な処置は施さなかったが、pH8-8.5を維持した。餌料は、冷凍ウシエビ*Penaeus monodon*および冷凍アサリ*Venerupis philippinarum*に総合ビタミン剤（シーミックス；林兼産業株式会社、リビックBW；理研ビタミン株式会社、バイオガード；森永乳業株式会社）を添加したものを飽食給餌した。

### 人工授精

親魚は毎日腹部を指で圧して排卵および排精を確認し、搾出法および乾導法によって人工授精を実施したが特段の催熟措置は行わなかった。授精に際しては、ボール状容器の中に雌親魚個体から卵を採取した後、雄親魚より採取した精子を入れて攪拌し、1 分間静置した後、海水で精子を洗い流した。

### 受精卵の培養

受精卵は、30 Lないし100 Lポリカーボネイト水槽に収容した。卵が強い粘着性を示したため、水槽底部に堆積・付着しないようにエアーストーンを用いて強く通気した。ふ化まで2日に一度の割合で3分の1から2分の1量の換水を行った。培養中の水温は20-23 °Cであった。ふ化直前には、仔魚が攪拌されるのを避けるため、弱い通気へと切り替えた。

## 飼 育

ふ化仔魚は、スポイトを用いてただちに1.6 m<sup>3</sup>の飼育水槽に移動した。飼育水槽の上部に20 W蛍光灯2灯を24時間点灯させた。若魚期には約5 m<sup>3</sup>の水槽で飼育した。

餌料は、成長に従ってS型シオミズツボムシ*Brachionus plicatilis*（スーパー生クロレラV12によって栄養強化；クロレラ工業），アルテミアふ化幼生*Artemia* sp.，冷凍アルテミア（クリーンブラインシュリンプ；株式会社キョーリン），そして魚介類のミンチに切り替えた。また，口径に合わせた配合飼料（ラブ・ラァバNo. 2；林兼産業株式会社，おとひめC2；日清丸紅飼料株式会社）も併用した。

## 記 録

親魚の体長は0.1 cm 若魚は0.1 mm それ以前の卵および仔稚魚については0.01 mmの位まで実体顕微鏡を使用し測定した。受精卵は卵径を計測し，その後適宜写真撮影に供した。

ふ化後は，原則として30日後までは1日ないし2日間隔，30日後以降180日後まで10日間隔で仔稚魚を取り上げ，エチレングリコールモノフェニルエーテルで麻酔し，体長測定後（仔魚期の体長は脊索の末端まで），適宜顕微鏡下で観察した。なお，発育段階の基準は，ふ化直後をふ化仔魚，卵黄を消費し終わったものを後期仔魚，体形や体の模様などは成魚と異なる状態であるが鰭条数が定数に達したものを稚魚，体形や模様が成魚と同様に発育したものを若魚とした(河野，2006)。

飼育期間中は給餌時などに注意深く観察し，種間で異なる行動や目立った行動などがあれば記録した。

## 結 果

親魚採集時の水温は，クサフグ 20.9 °C，ヒガンフグ 12.3 °C，コモンフグ

15.1 °C, ショウサイフグ 17.4 °C, ゴマフグ 16.9 °Cであった。蓄養期間の水温は, クサフグ 20.9 °C, ヒガンフグ 12.5 °C, コモンフグ 15.6 °C, ショウサイフグ 20.7 °C, ゴマフグ 17.4 °Cであった。

親魚搬入から採卵までの日数は, 1日 (コモンフグ) から32日 (ヒガンフグ) と種によって大きく異なった (Table 1-1)。受精卵数, 卵径, ふ化日数, 各成長段階に達した日数とその体長をTable 1-2に, 若魚までの成長をFig. 1-1に, 各成長段階のスケッチをFig. 1-2に示す。

### 受精卵

すべての種の受精卵は多数の小油球からなる一つの油球塊を形成し, 球形の分離沈性粘着卵であった (Fig. 1-1A 1~E 1)。得られた受精卵数, 卵径の平均値 ±標準偏差 (個体数) およびふ化時間は, クサフグで約15,000粒,  $0.87 \pm 0.02$  mm ( $n=10$ ) および約144時間, ヒガンフグで約68,000粒,  $1.31 \pm 0.03$  mm ( $n=23$ ) および約216時間, コモンフグで約24,000粒,  $1.14 \pm 0.03$  mm ( $n=28$ ) および約144時間, ショウサイフグで約70,000粒,  $1.00 \pm 0.02$  mm ( $n=14$ ) および約96時間, ゴマフグで約50,000粒,  $1.09 \pm 0.02$  mm ( $n=15$ ) および約168時間であった。ふ化率は算出できていないが, おおむね順調にふ化し, 極端に低いものは無かった。クサフグ, コモンフグ, ショウサイフグ, ゴマフグでは卵膜が透明であったが, ヒガンフグでは卵膜が乳白色をしており, 授精5日後より卵膜の色が薄れたもののふ化直前でも完全に透明にはならなかった。

### 発 育

すべての魚種において, ふ化直後の仔魚は上層に向かい垂直に遊泳したのち, 遊泳をやめて垂直に下層へ落下していく行動を示した。また蛍光灯に対して正の走光性を示した。

クサフグ:

ふ化仔魚の体長は $2.17 \pm 0.06$  mm ( $n=21$ ) で, 眼前部, 後頭部および腹部に星状

の黒色素胞が分布し、特に肛門周辺の黒色素胞は顕著であった (Fig. 1-1A 2, Fig. 1-2A) . 肛門前方に黄色素胞および赤色素胞、眼の後方に赤色素胞が認められた.

後期仔魚の体長は $2.38 \pm 0.06$  mm( $n=4$ )で、眼前部から後頭部にかけての黒色素胞がより発達した (Fig. 1-1A 3) . 眼前部から後頭部・腹部に黄色素胞がより発達し、眼の後方・肛門前方に赤色素胞が認められた.

稚魚の体長は $5.42 \pm 0.41$  mm( $n=3$ )で、眼前部・体の背面のほぼ全体、および尾部の背腹両面に黒色素胞が分布していた (Fig. 1-1A 4, Fig. 1-2B) . 体全体に黄色素胞が認められ、特に背面において顕著であった.

若魚の体長は $18.3 \pm 0.15$  mm( $n=3$ )で、腹部は銀色、背面は褐色となり、円形の白い斑点が認められた (Fig. 1-1A 5) . 胸鰭後方および背鰭基部中央部に黒斑が認められた.

#### ヒガンフグ :

ふ化仔魚の体長は $2.90 \pm 0.07$  mm( $n=9$ )で、腹部のほぼ全面に多数の黒色素胞が、後頭部、眼前部および尾部腹面にわずかに黄色素胞が、腹部および尾部腹面にわずかに赤色素胞が認められた (Fig. 1-1B 2, Fig. 1-2C) .

後期仔魚の体長は $3.43 \pm 0.10$ mm( $n=5$ )で、眼前部、後頭部および腹部の黒色素胞が、後頭部、眼前部および尾部腹面に黄色素胞がより発達していた (Fig. 1-1B 3) .

稚魚の体長は $8.23 \pm 0.53$  mm( $n=6$ )で、体の背面のほぼ全体、特に尾柄部、臀鰭基部および背鰭基部に多く黒色素胞が分布していた (Fig. 1-1B 4, Fig. 1-2D) . 腹部はほぼ銀色であるが、黄色素胞も認められた.

若魚の体長は $23.7 \pm 3.62$  mm( $n=10$ )で、腹部は銀色に、背面は褐色となり、本種の特徴である黒褐色斑が認められた (Fig. 1-1B 5) .

#### コモnfグ :

ふ化仔魚の体長は $2.80 \pm 0.05$  mm( $n=11$ )で、眼前部、後頭部、腹部および尾部

に星状の黒色素胞が分布していた (Fig. 1-1G 2, Fig. 1-2E) . 眼前部, 腹部および尾部腹面に黄色素胞が, 腹部および尾部腹面にわずかに赤色素胞が認められた.

後期仔魚の体長は $3.12 \pm 0.08$  mm (n=6) で, 後頭部, 腹部および尾部背腹両面の黒色素胞がより発達していた (Fig. 1-1G 3) . 眼前部, 腹部および尾部腹面に黄色素胞がより発達し, 腹部および尾部腹面の赤色素胞が顕著となった.

稚魚の体長は $7.84 \pm 0.42$  mm (n=6) で, 眼前部, 体の背面および尾柄部のほぼ全体に点状の黒色素胞が分布していた (Fig. 1-1G 4, Fig. 1-2F) . 体全体に黄色素胞が, 尾柄部に赤色素胞の分布が認められた. 黄色素胞および赤色素胞により体全体が褐色に見えた.

若魚の体長は $20.0 \pm 2.87$  mm (n=9) で, 腹部は銀色に, 背面は褐色となり, 円形の白い斑点が認められた (Fig. 1-1G 5) . 尾部腹面には黒色素胞が分布していた.

ショウサイフグ :

ふ化仔魚の体長は $2.51 \pm 0.08$  mm (n=10) で, 腹部に点状の黒色素胞が分布していた (Fig. 1-1D 2, Fig. 1-2G) . 尾部および頭部には色素胞が分布せず, 眼後方および肛門付近に黄色素胞が認められた.

後期仔魚の体長は $2.74 \pm 0.06$  mm (n=10) で, 腹部の黒色素胞がより発達していた (Fig. 1-1D 3) . 後頭部, 眼前部および腹部全体に黄色素胞が発達した.

稚魚の体長は $6.03 \pm 0.44$  mm (n=10) で, 体の背面のほぼ全体, 特に頭部, 尾柄部, 臀鰭基部および背鰭基部に多く黒色素胞が認められた (Fig. 1-1D 4, Fig. 1-2H) .

若魚の体長は $17.79 \pm 1.42$  mm (n=14) で, 腹部は銀色となり, 本種の特徴である白色の斑点が認められた (Fig. 1-1D 5) .

ゴマフグ :

ふ化仔魚の体長は $2.47 \pm 0.12$  mm (n=20) で, 後頭部, 腹部および卵黄上に点状

の黒色素胞が分布し、特に卵黄上の黒色素胞は顕著であった (Fig. 1-1E 2, Fig. 1-2I) . 肛門周辺に黄色素胞が、眼の後方に赤色素胞が認められた.

後期仔魚の体長は $3.20 \pm 0.15$  mm (n=22) で、後頭部、腹部および卵黄上に点状の黒色素胞がより発達した (Fig. 1-1E 3) . 尾部を除き体全体に黄色素胞が分布し、眼の後方にのみ赤色素胞が認められた.

稚魚の体長は $6.78 \pm 1.06$  mm (n=2) で、上部からは魚体は黒色に見えた (Fig. 1-1E 4, Fig. 1-2J) .

若魚の体長は $28.0 \pm 0.00$  mm (n=4) で、腹部は銀色に、背面は褐色となり、藍青色の小斑点が密に分布していた (Fig. 1-1E 5) .

### 色素胞発現の比較

ふ化仔魚の色素沈着では、黄色素胞、赤色素胞および黒色素胞の出現部位に5種間でわずかな差を認めることができた. ヒガンフグ (Fig. 1-1B 2) では黒色素胞が腹部のほぼ全面に多数散在し、ゴマフグ (Fig. 1-1E 2) では腹部および卵黄上にわずかに散在していた. コモンフグ (Fig. 1-1G 2) は黒色素胞よりも黄色素胞が体全体に優先していた. 肛門から尾部にかけて体側下部に黒色素胞が顕著であればクサフグ (Fig. 1-1A 2), 黄色素胞が顕著であればショウサイフグ (Fig. 1-1E 2) と識別できた.

黄色素胞および赤色素胞の出現密度は、前期仔魚期ではコモンフグが最も高く、次いでショウサイフグ、クサフグ、ヒガンフグ、ゴマフグの順になった. 後期仔魚期ではコモンフグ (Fig. 1-1G 3) で最も高く、次いでショウサイフグ (Fig. 1-1D 3), ヒガンフグ (Fig. 1-1B 3), クサフグ (Fig. 1-1A 3), ゴマフグ (Fig. 1-1E 3) 順に、稚魚期では、コモンフグ (Fig. 1-1G 4) で最も高く、次いでショウサイフグ (Fig. 1-1D 4), ゴマフグ (Fig. 1-1E 4), ヒガンフグ (Fig. 1-1B 4), クサフグ (Fig. 1-1A 4) の順と、最も密度の高いコモンフグおよび次に高いショウサイフグ以外は順の入れ替わりがあった.

稚魚から若魚期までのコモンフグ (Fig. 1-1G 4) では腹部が顕著な黄色を呈していた. ゴマフグ (Fig. 1-1E 4) およびショウサイフグ (Fig. 1-1D 4) でも稚魚期

まで同じような傾向があったが、ヒガNFグ(Fig. 1-1B 4)ではわずかとなり、クサフグ(Fig. 1-1A 4)では同様な傾向は認められなかった。

## 成 長

トラフグ属5種の各成長段階での平均体長(SL)をTable 1-2に、約150-180日齢までの成長をFig. 1-3-1およびFig. 1-3-2に示す。どの種においても仔魚期と稚魚期以降の成長速度が異なっていたため、別途、全長(y)とふ化後日数(x)の関係式から成長回帰直線をもとめた(Table 1-3)。5種ともに高い正の相関が認められた。

仔魚期の成長速度はヒガNFグが若干良く(Fig. 1-3-1B; 回帰係数0.293)、他はほぼ同様であった(回帰係数0.163-0.181)。稚魚期以降はゴマフグ(Fig. 1-3-2E; 回帰係数0.604)、ヒガNFグ(Fig. 1-3-1B; 回帰係数0.576)の成長が良く、ショウサイフグが途中で(Fig. 1-3-2D; 回帰係数0.427)、クサフグ(Fig. 1-3-1A; 回帰係数0.353)およびコモンフグ(Fig. 1-3-1C; 回帰係数0.351)が遅かった。ふ化後150日齢の平均体長で比較すると、クサフグ53.0 mm ヒガNFグ82.4 mm コモンフグ49.5 mm ショウサイフグ61.4 mm ゴマフグ79.7 mm で(Table 1-2)、それぞれの成長速度を反映していた。

## 噛み合いと逃避行動

飼育中の噛み合いによる尾鰭欠損はクサフグ、ゴマフグでは認められず、コモンフグではふ化後35日前後(体長8.1 mm)に一時的に、ヒガNFグではふ化後25日前後(体長10.2 mm)より継続して顕著に、ショウサイフグではふ化後60日前後(体長29.4 mm)より継続して認められた。

また、人影に対してコモンフグおよびショウサイフグでは顕著な逃避行動(慌てふためく行動)が認められたのに対し、ヒガNFグでは逆に接近してくる行動が観察された。クサフグとゴマフグでは特徴的な行動は認められなかった。



## 考 察

本研究でのトラフグ属5種の卵および仔稚魚の発育記録は、既往の報告(藤田, 1962; 宮木, 1998)を追認するものとなった。特に、黒色素細胞については、仔魚期にクサフグ、ショウサイフグおよびゴマフグには無く、ヒガンフグおよびコモンフグでは尾部にあることをあらためて確認できた。また、コモンフグ、ショウサイフグおよびゴマフグでは、稚魚期まで腹部が顕著な黄色を呈することを確認できた。稚魚期以降の成長はゴマフグで最も速く、次いでヒガンフグ、ショウサイフグ、クサフグ、コモンフグの順に良かったが、この種間の差は既報の成魚サイズ(最大全長, ゴマフグは35 cm ヒガンフグは30 cm ショウサイフグは30 cm クサフグは15 cm コモンフグは20 cm) (山田, 2013; 岩本・藤本, 1997; 藤田, 1962)のそれによく一致した。

既往の報告(藤田, 1962; 宮木, 1998)では、発育中の噛み合い行動や逃避行動についての言及はない。本研究における観察の結果では、ヒガンフグで最も噛み合いが強く、次いでショウサイフグ、コモンフグの順で、クサフグとゴマフグではほとんど認められなかった。また、逃避行動がコモンフグおよびショウサイフグで顕著であった。

トラフグにおける噛み合い行動は、個体間の大小差が大きい場合や、餌不足、高密度、健康状態の悪い場合に誘発されることから、共食い行動とほぼ同じ条件で発現するとされている(畑中, 1997)。しかし、本研究の飼育観察においては、個体間の大小の差はなく、餌不足や健康状態の悪化もなかった。したがって、本研究で明らかとなった噛み合い行動や逃避行動における種間の違いは、飼育条件下のみならず野外の仔稚魚の生態的違いを反映している可能性は高いであろう。自然環境下におけるトラフグは、一般に湾口沖合付近の潮汐流が早い水深20 m位の砂質の海底で産卵し、未成魚に至る約1年間は湾内に滞留、その後、外海に出て、大回遊を行う(藤田, 1962)。トラフグ属5種においても好適塩分が初期発育課程で変化するか詳細に検討する必要がある。

## 第2章 東南アジア産汽水淡水フグ科8種の産卵および初期発育

フグ科魚類はフグ目魚類の中で最も種数の多いグループであり，世界中の温帯および熱帯域に27属184種が広く分布している．また，汽水淡水域まで生息域を拡大したグループでもあり，4属27種が東南アジア，中央アフリカ，南アメリカの熱帯淡水域に生息している (Nelson, 2006; Ebert, 2001)．

分子系統解析によって，これらの淡水フグ類は東南アジア、中央アフリカ，南アメリカのそれぞれの地域で独立して淡水域に侵入した可能性が示されている (Yamanouchi et al., 2011; Igarashi et al., 2013; Santini et al., 2013)．

淡水フグ類の産卵に関する記述はわずかしがなく (Ebert, 2001; 藤田・篠原, 1986)，例えばモデル生物として有名なミドリフグ *Tetraodon nigroviridis* (Kottelat, 2013は *Dichotomyctere nigroviridis* としている) の再生産を誘導することは困難であるとされ，海水において産卵するという稀な報告があるのみであった (Watson et al., 2009)．また，海産魚類が淡水域に進出する場合，しばしば大卵少産化と卵保護という繁殖戦略をとるが (星野・西村, 2001)，そのような観点からの淡水フグ類の繁殖生態はほとんど調査されてこなかった．

そこで本研究では，東南アジア産汽水淡水フグ類8種ハチノジフグ *Te. biocellatus*, *Te. cochinchinensis*, *Te. cutcutia*, *Te. palembangensis*, *Te. turgidus*, *Carinotetraodon irrubescens*, *Ca. lorteti*, および *Ca. travancoricus* の産卵生態と仔稚魚の発育を観察した．

## 材料および方法

### 親 魚

8種はすべて野生より捕獲された個体を魚類卸問屋から入手し、閉鎖式循環水槽にて飼育管理した。1週間に一度の割合で、ろ過水槽の洗浄と飼育水の3分の1の換水を行った。水温は25-26℃で管理し、pHには特別な処置は施さなかったが、pH6-6.5を維持した。

*Te. biocellatus* を除いては産卵基質として石筒（内径7 cm 長さ17 cm）、ネット筒（径5 cm 長さ10 cm）、素焼きの植木鉢（径8 cm）、ワジュロ *Trachycarpus* sp. の晒葉（長さ5 cm 幅5 cm）、あるいは水草（ジャワモス *Taxiphyllum barbieri* およびアヌビアスバルテリィ *Anubias barteri*）を投入した。8種の親魚には1日に1回飽食給餌を行い、餌料種は、ウシエビ、アサリ、冷凍アルテミア（クリーンブラインシュリンプ；キョーリン株式会社）、冷凍ユスリカ幼虫 *Chiromomus* sp.（クリーンアカムシ；キョーリン株式会社）乾燥クリル *Euphausia* sp.（テトラクリルトロピカル；スペクトラムブランズジャパン株式会社）に総合ビタミン剤（シーミックス；林兼産業株式会社、リビックBW；理研ビタミン株式会社、バイオガード；森永乳業株式会社）を添加し、また週に1回は生餌としてアオゴカイ *Perinereis aibuhitensis*を与えた。

### 観察および育成

受精卵とふ化仔魚は、親魚とほぼ同じ塩分の飼育水を満たした新たな18-30Lのプラスチック水槽に移した。毎日飼育水の一部を換水し、排泄物を除去した。ふ化仔魚、仔稚魚、若魚は1日に数回給餌した。淡水ワムシ *Brachinonus calyciflorus* あるいはシオミズツボワムシ、アルテミアふ化幼生、イトミミズ *Tubifex tubifex*、冷凍ユスリカ幼虫、冷凍アルテミアまたはオキアミ *Euphausia* sp.、ウシエビそしてアサリの切り身をそれぞれの発育段階のサイズに合わせて与えた (Table 2-1)。

卵，ふ化仔魚，仔稚魚の観察は，エチレングリコール 2 フェノキシエタノールエーテルで麻酔した魚体につき実体顕微鏡を用いて計測を行った．

## 結 果

飼育条件，産卵日，受精卵数，卵径，ふ化日数，ふ化仔魚，卵黄吸収までの日数，遊泳を開始までの日数を Table 2-1 に，受精卵，ふ化仔魚を Fig. 2-2 に，ふ化 180 日後までの成長を Fig. 2-2 に示す．

### 東南アジア産汽水淡水フグ科 8 種の発達

ハチノジフグ *Tetraodon biocellatus* :

親魚は数年間，塩分 20 psu の中で飼育したのちに，1 ヶ月間 30 psu で飼育管理した (Fig. 2-1-1a-1)．その後，塩分を約 1 ヶ月の間 1 週当たり 3-5 psu ずつ低下させた．雌は落ち着かなくなり，摂餌欲が減少した．塩分が 9 psu まで低下した頃，腹部が腫れ始め，その数日後に産卵した．

実際の産卵行動は観察されなかったが，15-30 日の間隔で 5 回，1,000 粒を超える受精卵が水槽の床にばらまかれたように産卵されているのを確認した (Fig. 2-1-1a-2)．親による保護は観察されなかった．卵は別の 18 L 水槽へ移し，7 psu でふ化した．卵径は  $0.71 \pm 0.01$  mm ( $n=6$ ) で多数小油球を有し球形の沈性粘着卵であった．産卵の 5 日後にふ化に至った．

ふ化仔魚は，口と肛門はともに開口し，全長は  $1.69 \pm 0.04$  mm ( $n=5$ ) で未発眼，卵黄囊および体側部には黒色素胞，頭部から肛門まで頭胴部を覆う樹枝状の赤色素胞が存在し，および尾部では色素胞は存在しなかった (Fig. 2-1-1a-3)．

仔稚魚は 7-9 psu で育てた．4 日で卵黄が吸収され全長は  $2.24 \pm 0.05$  mm ( $n=5$ ) まで成長した．ふ化 5 日後に発眼，泳ぎ始め，摂餌を開始した．ふ化 47 日後に背部基部および尾柄部の中心部に黒斑が現われた．ふ化 89 日後に本種の典型的

な特徴である黄色の「8」の字が背部に出現した。ふ化 180 日後には、全長は  $22.56 \pm 2.91 \text{ mm}$  ( $n=9$ ) に成長した。

*Tetraodon cochinensis* :

親魚は約 10 ヶ月間淡水で飼育し、産卵に至った。通常、優勢な雄は石筒の内側に留まり、劣勢の雄と雌はその周辺にすることが多かった (Fig. 2-1-1b-1)。産卵前、優勢な雄は雌に接近し、石筒に雌を誘導した。雌は石筒の床に沿って約 250 個の卵粒を産卵し (Fig. 2-1-1b-2)、雄は放精した。卵は石筒の内側に水平に一層に産み付けられた。産卵後、雌は石筒からすみやかに離れ、雄はふ化するまでの間卵塊を保護し、胸鰭を使い水流を送る行動をとった。同じ雌雄の組合せで、14-30 日間に数回の産卵が確認された。

卵径は  $1.94 \pm 0.03 \text{ mm}$  ( $n=21$ )、球形の沈性粘着卵で多くの小油球がみられた。産卵 7 日後にふ化が確認された。ふ化仔魚は飼育水とともにひしゃくで取り上げ、30 L の別の水槽に移した。

ふ化仔魚は水槽の床に静止した状態のままであり、全長は  $4.26 \pm 0.09 \text{ mm}$  ( $n=40$ ) で口と肛門は開口し、眼は完全に発達し、背鰭と臀鰭の原基が確認できた (Fig. 2-1-1b-3)。眼上部から頭部背面にかけて星状の黒色素胞、腹部には樹枝状の黒色素胞が帯のようにつながっていた。膜状の臀鰭基部に黒色素胞、背部に樹枝状の黄色素胞が存在し、尾部には色素は存在しなかった。卵黄は 2 日で吸収され、3 日後には遊泳を開始し、摂餌を確認した。

赤色斑が後期仔魚および稚魚期に体側に出現した。ふ化 251 日後には、全長  $64.49 \pm 4.73 \text{ mm}$  ( $n=26$ ) に成長した。

*Tetraodon cutcutia* :

親魚は約 2.5 ヶ月間淡水で飼育し、産卵に至った。産卵期間中、雄は腹部に網目模様を呈し、雌は体側に白色斑点が出現し、明らかな性的二型を示した (Fig. 2-1-1c-1)。時には雄は雌を誘うような行動も観察された。

雌は優勢な雄のなわばり内に入り約 300 粒を産卵した(Fig. 2-1-1c-2). 同じ雌雄の組合せで, 11 日から 44 日間隔で 9 回の産卵が観察され, 産卵基質には石筒の内側の床, ヒーターカバー, 水槽壁が用いられた. 産卵後, 雌は雄のなわばりから離れ, 雄は卵がふ化するまで保護し, 卵に水流をおくるファニング行動が観察された. 別の雄や産卵した雌が卵を食べる行動がみられたため, それらを別の水槽に移動した.

卵径は  $1.37 \pm 0.04 \text{ mm}$ ( $n=21$ ) で多数の小油球をもつ沈性粘着卵であった. 産卵 6 日後にふ化に至った. ふ化仔魚は飼育水とともにひしゃくで取り上げ, 30 L の別の水槽に移した.

ふ化仔魚の全長は  $3.06 \pm 0.03 \text{ mm}$ ( $n=20$ ) であり, 口と肛門は開口し, 眼は完全に発達していた (Fig. 2-1-1c-3). 眼から頭部, 体中央部, 尾柄部には樹枝状の赤色素胞および黒色素胞, 卵黄上部および膜状の背鰭臀鰭基部には黒色素胞, 背部から尾柄部にかけて星状の黄色素胞が存在した. 卵黄は 2 日で吸収され, 仔魚はふ化 4 日後に遊泳し, 摂餌も確認された. ふ化 180 日後には全長は  $58.60 \pm 0.04 \text{ mm}$ ( $n=3$ ) に成長した.

#### *Tetraodon palembangensis*:

親魚は 2 年間以上淡水で飼育し, 産卵に至った. 実際の産卵行動は観察されなかったが, 円筒の内側の床に一層に産みつけられた卵塊を確認した. 雄 (Fig. 2-1-1d-1) は卵を保護し, 卵塊がふ化するまでファニング行動が観察された. 同じ雌雄の組合せで, 20-57 日間に 3 回の産卵があり, 産卵数は 1 回目約 90 粒, 2 回目約 130 粒, 3 回目約 100 粒であった.

卵径は  $2.25 \pm 0.01 \text{ mm}$ ( $n=75$ ) で多数の小油球を有し, 球状の沈性粘着卵であった. 産卵の 10 日後にふ化に至った (Fig. 2-1-1d-2). ふ化仔魚は飼育水とともにひしゃくで取り上げ, 21 L の別の水槽に移した.

ふ化仔魚は水槽の床に静止したままであり, 全長は  $4.56 \pm 0.10 \text{ mm}$ ( $n=3$ ), 口と肛門は開口し, 眼は完全に発達し, 背鰭と臀鰭の原基が出現していた (Fig. 2-1d-3). 頭部, 腹部, 体前部は赤色素胞が広がり, 尾柄部にも赤色素胞が存在し

た．卵黄はふ化 2 日後で吸収され、仔魚はふ化 4 日後に遊泳し、摂餌も確認された．ふ化 5 日後には全長は  $5.33 \pm 0.24 \text{ mm}$  ( $n=79$ ) に達し、ふ化 65 日後には全長は  $11.90 \pm 1.27 \text{ mm}$  ( $n=8$ ) となり、ふ化 204 日後には全長は  $50 \pm 8.00 \text{ mm}$  ( $n=3$ ) まで成長した．

*Tetraodon turgidus* :

親魚は 5 年間以上淡水で飼育され、産卵に至った．産卵行動は、*Te. cochinchinensis* と似ており、雄は産卵基質である石筒の内側に留まり、雌は外側にいてある程度の距離を保ち定位していた (Fig. 2-1-2e-1)．産卵が近づくと雄は雌に接近し、雌を雄自身が定位する石筒内に誘導する行動が観察された．産卵は石筒内で行われ (Fig. 2-1-2e-2)、まず雌が尾部を上方にあげて約 300 粒の卵を底面にばらまき、その後雄が石筒内床に卵を一層にならしながら放精が行われた．産卵後、雌が直ちに産卵場所から離れるのに対して、雄は産卵からふ化まで卵に鰭で水を送り続け、産卵に関与した雌を含む他個体から卵を防御する卵保護行動が観察された．同じ雌雄の組合せで、14-30 日間隔で数回産卵が観察された．

卵径は  $2.13 \pm 0.05 \text{ mm}$  ( $n=11$ ) で多数の小油球を有し、球状の沈性粘着卵であった．産卵の 8 日後にふ化に至った．ふ化仔魚は飼育水とともにひしゃくで取り上げ、30 L の別の水槽に移した．

ふ化仔魚は水槽の床に静止したままであり、全長は  $4.41 \pm 0.13 \text{ mm}$  ( $n=36$ )、口と肛門は開口し、眼は完全に発達し、背鰭と臀鰭の原基が出現していた (Fig. 2-1-2e-3)．頭上部から頭胴部にかけて星状の黄色素胞が存在し、腹部には樹枝状の黒色素胞が帯状となり、肛門周辺には黄色素胞および黒色素胞が存在した．尾部には色素胞は存在しなかった．卵黄は 2 日で吸収され、仔魚はふ化 4 日後には遊泳し、摂餌も確認した．

後期仔魚および稚魚期にかけて体側部に赤色斑紋が出現したが、成長と共に消失した．ふ化 182 日後には、全長は  $67.25 \pm 3.50 \text{ mm}$  ( $n=38$ ) まで成長した．

*Cariontetraodon irrubescens* :

親魚は1年間以上淡水で飼育し、産卵に至った。産卵期には雄の背部、背鰭および尾鰭の基部は赤くなり、尾鰭の縁部は白くなった (Fig. 2-1-2f-1)。産卵期には雄はしばしば雌を追尾した。雌は食欲が低下し、腹部は産卵数日前に膨らみ始めた。

実際の産卵行動は観察されなかったが、約200粒の受精卵が産卵床やシェルターにばらまかれていることが観察された (Fig. 2-1-2f-2)。親による卵保護は観察されなかった。親魚による卵食が観察されたため、卵は別の30 L水槽に移した。卵径は  $0.88 \pm 0.02$  mm (n=6)、多数の小油球を有し、球状の沈性粘着卵であった。産卵2日後から3日後にふ化に至った。

ふ化仔魚の全長は  $2.90 \pm 0.07$  mm (n=4) で口と肛門は開口し、眼は未発達であった (Fig. 2-1-2f-3)。卵黄前部に黒色素胞が集中して存在し、眼の周辺には星状の赤色素胞、背部には赤色素胞が存在した。尾部には色素胞は存在しなかった。卵黄は6日で吸収され、ふ化7日後には全長は  $3.00 \pm 0.05$  mm (n=3) となり、眼は発達し、遊泳を開始した。ふ化30日後には5 mm (n=2)、14日後には平均15 mm (n=2)、182日後には平均23 mm (n=2) に成長した。

*Carinotetraodon lorteti* :

親魚は約5年間淡水で飼育し、産卵に至った。産卵期には雄の背部、背鰭および尾鰭の基部は青くなり、尾鰭の縁部は白くなった (Fig. 2-1-2g-1)。さらに、雌が接近した時には、雄の背部の中央の皮膚が突出し赤くなった。雌は産卵数日前には腹部の膨らみが観察された。

実際の産卵行動は観察されなかったが、約200粒の受精卵が産卵床またはシェルターの上にばらまかれているのを観察した (Fig. 2-1-2g-2)。親による卵保護なく、卵を食べる行動を観察した。

卵は別の18 L水槽に移した。卵径は  $1.37 \pm 0.07$  mm (n=3) で多数の小油球を有し、球状の沈性粘着卵であった。産卵の4日後にふ化に至った。



ふ化仔魚の全長は  $2.25 \pm 0.02 \text{ mm}$  ( $n=3$ ) で、口と肛門は開口し、眼は未発達であった (Fig. 2-1-2g-3). 黒色素胞は卵黄上の表面に存在し、眼後方に黄色素胞が存在した. 頭部および尾部には色素胞は存在しなかった. 卵黄はふ化 6 日後に吸収され、ふ化 7 日後には発眼、遊泳、摂餌した. ふ化 180 日後には全長は  $19.10 \pm 0.57 \text{ mm}$  ( $n=3$ ) に成長した.

*Carinotetraodon travancoricus* :

親魚は約 4 ヶ月間淡水で飼育し、産卵に至った. 産卵期になると雄は背部および腹部正中線の皮膚の小稜は茶色を呈し、体全体が濃い黄色となり、眼の後方にしわのような模様が現れた (Fig. 2-1-2h-1). 雌の腹部は産卵の数日前より膨らみはじめた. その間、雄は雌を頻繁に追尾し、雌の腹部をつついたり、雄は雌を産卵場所に誘導するような行動をとることもみられた. 雌が最適な産卵場所を探している間、雄は他の雄を追い払った. この時の雄は、通常とは異なり、遊泳、停止、遊泳、停止を繰り返した. 産卵は夕方、シェルタースペース（水草が茂ったような隙間）で行われた. 雌が産卵床でじっとして産卵する際に、雄が近づき寄り添って雌を包むように尾鰭を曲げ、体を小刻みに震わせながら放精した. 産卵後、雄は最初にその場を離れ、それに続いて雌も離れたが、雄はすばやく引き返しその後は卵を保護した (Fig. 2-1-2h-2). 1-2 個体の別の雄によるスニーキング行動がしばしば観察された.

卵は保護する雄から取り上げ、別の 18 L 水槽に移した. 卵径は  $1.43 \pm 0.09 \text{ mm}$  ( $n=5$ ) であり、小油球を有する球形の沈性粘着卵であった. 産卵の 5 日後にふ化に至った.

ふ化仔魚の全長は  $3.15 \pm 0.16 \text{ mm}$  ( $n=4$ ) であり、口と肛門は開口し、眼は未発達、体は赤褐色であった (Fig. 2-1-2h-3). 赤色素胞は頭部、背部、体側、肛門前部に存在した. 赤色素胞および黄色素胞が体後半部の鰭に点在した. 卵黄は 4 日で吸収され、ふ化仔魚は 6 日後には発眼し、遊泳して摂餌を開始した. ふ化 20 日後には全長は  $6.26 \pm 0.46 \text{ mm}$  ( $n=3$ ), 62 日後には全長は  $10.18 \pm 0.16$

mm( $n=3$ ), 112 日後には全長は  $14.75 \pm 1.70$  mm( $n=3$ ), 180 日後には全長は  $16.66 \pm 0.57$  mm( $n=3$ ) に成長した.

### 東南アジア産汽水淡水フグ科の成長

8 種それぞれの仔稚魚の成長を Fig. 2-2 および Table 2-1 に示す.

全長 ( $y$ ) とふ化後日数 ( $x$ ) の関係式から成長回帰直線を求めた. 8 種は 2 つのグループに分けることができた. すなわち, 成長の速いグループ (*Te. cochinchinensis*, *Te. cutcutia*, *Te. palembangensis*, *Te. turgidus*) および成長の遅いグループ (ハチノジフグ, *Ca. irrubesco*, *Ca. lorteti*, *Ca. travancoricus*) である.

### 東南アジア産汽水淡水フグ科の卵径と成長および卵保護の関係

8 種の卵径と成長係数 (成長に関する回帰直線の回帰係数) の相関, および卵保護の有無の関係を Fig. 2-3 に示す. 卵径および成長係数の間の相関性は明白ではないが ( $y=0.12x+0.011$ ,  $r=0.635$ ,  $0.05 < p < 0.10$ ), より大きな卵を産む種がより速く成長する傾向があった. 同様に, より大きな卵を産卵し, より速く成長した種は, それらの卵を保護する傾向にあった.

## 考 察

8 種のうち, 汽水で産卵したのはハチノジフグのみで, その他 7 種は淡水で産卵した. 産卵戦略について 3 タイプが観察された. すなわち, *Te. cochinchinensis*, *Te. cutcutia*, *Te. palembangensis* および *Te. turgidus* は産卵基質として投入した円筒内底面で一層にまとまった卵を産卵し, 雄がそれを保護した. *Ca. travancoricus* は水草やネットの間に少数の卵を産み, 雄がそれを保護した. ハチノジフグは卵を底砂の上に, *Ca. irrubesco* および *Ca. lorteti* は水草, 晒葉あるいは素焼きの植木鉢の周辺の底砂に卵をばらまき, 保護を行わなかった.

成長の速いグループ(*Te. cochinchinensis*, *Te. cutcutia*, *Te. palembangensis* および *Te. turgidus*) のふ化仔魚は、背鰭および臀鰭原基が形成され、発眼した状態であった。一方、成長の遅いグループ(ハチノジフグ, *Ca. irrubesco*, *Ca. lorteti* および *Ca. travancoricus*) のふ化仔魚は背鰭および臀鰭の原基形成は未熟であり、未発眼の状態であった。成長の速いグループは、卵黄吸収まで 2 日で、遊泳開始まで 3-4 日であるのに対して、成長の遅いグループは卵黄吸収まで 4-6 日、遊泳開始まで 5-7 日を要した。ふ化後早い段階で遊泳を開始できることは自力摂餌開始が早いことを意味し、成長の速いことの理由とも考えられる。

卵サイズおよび成長係数の間の相関性は明白ではないが、より大きな卵を産む種がより速く成長する傾向があった(Fig. 2-3)。同様に、大きな卵を産卵し、速く成長した種は、それらの卵を保護する傾向にあった。ハチノジフグを除く *Tetraodon* 4 種は大きな卵を産み、卵を保護しかつ成長が速かったが、ハチノジフグは最も小さな卵を産み、卵保護を行わなかった。一方、*Carinotetraodon* 3 種は *Tetraodon* 属と比較すると卵径も比較的小さく成長速度も遅かったが、*Ca. irrubesco* の卵は最も小さく 1 mm 以下であった。*Ca. travancoricus* のみは卵を保護した。

ミドリフグはハチノジフグと近縁であり (Yananoue et al., 2011; Igarashi et al., 2013), 非常に小さな卵 (卵径 0.39 mm) を海水中 (33 psu) で産卵するが卵を保護するかどうかは知られていない (Watson et al., 2009)。断片的な知見によると (藤田・篠原, 1986), *Te. schoutedani* および *Te. somphonsi* (最近 *Ca. lorteti* のシノニムであることが提唱された) (Rainboth, 1996) は卵径 1 mm 程度の小さな卵を産卵することが示されている。また、それらが卵保護するかどうかは知られていない。

汽水淡水域に生息するフグ科魚類のように二次的に淡水適応した魚類は、一般に大卵を少数産み、それを雄が保護する傾向があるとされる (星野・西村, 2001)。 *Tetraodon* 属 4 種 (ハチノジフグを除く) はそのような繁殖戦略の実例と考えられる。一方、ハチノジフグ, *Ca. lorteti* および *Ca. irrubesco* は海産

フグ科魚類（藤田・篠原，1986）のように卵径 1 mm 程度の卵を産み，卵保護は行わないことがわかった．また，*Ca. travancoricus* は少量の卵を保護が，本種の卵は *Carinotetodon* 属内では最大であった．以上のように，淡水に生息するフグ科魚類はさまざまなレベルで適応していることが判明した．

卵サイズ（それは直接ふ化仔魚サイズに影響する）は，ふ化仔魚の生息地の流速や利用可能な餌サイズへの適応も反映するであろう．しかし，淡水フグ類の自然界での仔魚の餌料種や捕食者に関する情報はほとんどない（Ebert, 2001）．さらなる生態学的知見の集積が望まれる．

ハチノジフグおよびミドリフグのような汽水 *Tetraodon* 属魚類は，系統発生的に他の東南アジアおよび中央アフリカの *Tetraodon* 属魚類とは別個に，淡水環境へ平行進化したことが示唆されている（Yananue et al., 2011 ; Igarashi et al., 2013; Santini et al., 2013）．さらに汽水淡水フグは，モヨウフグ属 *Arothron*，キタマクラ属 *Canthigaster* および オキナワフグ属 *Chelonodon* 魚類のような海産フグ科魚類の様々な高位クレードに含まれることから（Yananue et al., 2011 ; Igarashi et al., 2013），これら汽水淡水フグ類の系統分類（Ebert, 2001 ; Dekkers, 1975）は再調査される必要がある．

### 第3章 ハリセンボン科8種の産卵および初期発生

ハリセンボン科魚類は熱帯域および温帯域に 7 属 17 種 2 亜種が分布する (Leis, 2006 ; Froese and Pauly, 2014) . また, 日本近海から 4 属 7 種が記録されている (藍澤・土居内, 2013) . これらハリセンボン科魚類の産卵や仔稚魚についての記録はあまり多くないが (Leis, 1978 ; 坂本・鈴木, 1978 ; 藤田・松浦, 2014) , フグ科魚類とは対照的にハリセンボン科魚類の既報種は分離浮遊卵を産卵し, 仔稚魚あるいは若魚は外洋水域に移行すること, などが報告されている. また, ふ化仔魚の頭部および躯幹部は厚い外膜 “vesicular dermal sac” (または “pliable shell”) で覆われていることが報告されている.

一方, 先述のように日本近海からハリセンボン科魚類 4 属 7 種が記録されているが (藍澤・土居内, 2013) , そのうち、メイトイシガキフグ属 *Cyclichthys* 魚類では世界に生息する 3 種のうち 2 種, すなわち, メイトイシガキフグ *Cyclichthys orbicularis* およびイガグリフグ *Cy. spilostylus* が報告されている (藍澤・土居内, 2013 ; Froese and Pauly, 2014) .

本章では海響館で産卵したオーストラリア南部産ハリセンボン科 2 種を含むハリセンボン科 4 属 8 種の卵の性状と調べるとともに, 発生の進んだ 5 種のふ化仔魚を観察した. また, 日本近海に生息するメイトイシガキフグについては, 産卵と, 卵および仔魚の発達を詳細に観察した.

## 第1節 ハリセンボン科8種の産卵およびオーストラリア南部産ハリセンボン科2種の沈性粘着卵

ハリセンボン科魚類は熱帯域および温帯域に 7 属 17 種 2 亜種が分布するが (Leis, 2006 ; Froese and Pauly, 2014)、それらの産卵や仔稚魚についての記録はあまり多くない (Leis, 1978 ; 坂本・鈴木, 1978 ; 藤田・松浦, 2014)。それらの報告によると、フグ科魚類とは対照的に、ハリセンボン科魚類の既報種は分離浮遊卵を産卵し、仔稚魚あるいは若魚は外洋水域に移行するとされている。また、ふ化仔魚の頭部および躯幹部は厚い外膜 “vesicular dermal sac” (または “pliable shell”) で覆われていることが報告されている。

海響館では、ハリセンボン科 4 属 8 種、すなわち *Al. pilatus*, *Ch. antennatus*, イシガキフグ *Ch. reticulatus*, *Ch. schoepfi*, メイタイシガキフグ、ハリセンボン *D. holocanthus*, ネズミフグ *D. hystrix*, *D. nithemerus* が水槽内で産卵したので、その卵の性状および発生の進んだ 5 種のふ化仔魚を観察した。

### 材料および方法

#### 親 魚

対象魚 8 種の捕獲地は不明であるが野生の個体を魚類卸問屋より入手し、閉鎖式循環設備のいずれも屋内に設置した水槽にて飼育した。8 種それぞれの飼育環境を Table 3-1 に示す。*Al. pilatus* および *D. nithemerus* は水量 3.4 m<sup>3</sup>の展示水槽、*Ch. antennatus*, *Ch. schoepfi* およびメイタイシガキフグ *Cy. orbicularis* は水量 1.1 m<sup>3</sup>の展示水槽、イシガキフグ *Ch. reticulatus* は水量 4.2 m<sup>3</sup>の予備水槽、ハリセンボン *D. holocanthus* は水量 9.8 m<sup>3</sup>の展示水槽、ネズミフグ *D. hystrix* は水量 16.2 m<sup>3</sup>の展示水槽に収容した。*Al. pilatus* および *D. nithemerus* の水温は、18 °C を維持し、その他 6 種は 23-26 °C を維持し

た．pHは特別な処置は施さずいずれも pH8-8.5を保ち，塩分はいずれも 34-35 psuを維持した．水槽にはサンゴ礫あるいは珪砂を水底に敷き詰めた．週に3回 ウシエビとアサリをミンチ状にして飽食給餌した．

親魚の大きさは，*Al. pilatus*では雌雄共に約 270 mm，*Ch. Antennatus*では雌約 200 mm，イシガキフグでは雌約 550 mm，*Ch. schoepfi*では雌約 250mm，メイトイシガキフグでは，雌約 200 mm，雄約 150 mm，ハリセンボンでは雌約 250 mm，雄約 200 mm，ネズミフグでは雌約 700 mm，雄約 500 mm，*D. nicthemerus*では雌雄共に約 150 mmであった．

### 卵の観察

産卵および受精卵の観察は第2章の方法に準じて行った．

### 結 果

8種それぞれの飼育条件，産卵，受精卵数，卵径，ふ化仔魚の全長などを Table 3-1 に示す．すべての場合において，雌の腹部は産卵する数日前に膨らみはじめ，雄が雌を追尾する行動が観察された．メイトイシガキフグにおいては産卵の前に雌雄が寄り添うような行動も認められた．産卵行動が直接観察されなかった場合では雌の腹部は産卵後 24 時間以内に縮小していた．

ネズミフグについては1回のみであるが産卵行動を観察することができた．雄が雌親魚を水槽底層部から水面まで押し上げていき，産卵は水面直下で行われた．産卵時刻は午前9時であった．雌雄共に体色の変化は認められなかった．

8種のうち，*Ch. antennatus* およびイシガキフグは未受精であった．6種については，受精卵は発生が進み，育成によってそれぞれの種を再度識別することができた．*Ch. schoepfii* の産出した卵は，*Ch. antillarum* との雑種第1世代であることが遺伝子分析および形態形質から確認された (Di et al., 2015)．

産卵された卵はすべて球形であった．*Al. pilatus* の卵径は， $1.76 \pm 0.16$  mm

( $n=23$ ), イシガキフグの卵径は  $2.18 \text{ nm}(n=1)$ , メイタイシガキフグの卵径は  $2.24 \pm 0.08 \text{ nm}(n=181)$ , ハリセンボンの卵径は  $2.12 \pm 0.11 \text{ nm}(n=21)$ , ネズミフグの卵径は  $1.90 \pm 0.05 \text{ nm}(n=20)$ , *D. nictemerus* の卵径は  $1.99 \pm 0.04 \text{ nm}(n=12)$  であった (Table 3-1). 受精卵からふ化した仔魚はすべて頭部および躯幹部は厚い外膜 “vesicular dermal sac” (または “pliable shell”) で覆われていた (Fig. 3-1B D). *Al. pilatus* のふ化仔魚全長は,  $3.47 \pm 0.13 \text{ nm}(n=23)$ , メイタイシガキフグのふ化仔魚全長は  $3.53 \pm 0.09 \text{ nm}(n=48)$ , ハリセンボンのふ化仔魚全長は  $2.51 \pm 0.39 \text{ nm}(n=16)$ , ネズミフグのふ化仔魚全長は  $3.00 \pm 0.07 \text{ nm}(n=20)$ , *D. nictemerus* のふ化仔魚全長は平均  $3.98 \pm 0.27 \text{ nm}(n=3)$  であった.

未受精卵 2 種を含む 6 種すなわちは *Ch. antennatus*, イシガキフグ, *Ch. schoepfi*, メイタイシガキフグ, ハリセンボンおよびネズミフグの卵は分離浮性であったが, 本研究の観察では *Al. pilatus* および *D. nictemerus* 2 種は沈性粘着卵を産むことが判明した (Fig. 3-1A Fig. 3-10).

## 成 長

*Al. pilatus* のふ化仔魚は, 黒色素胞および赤色素胞が吻部から腹部にかけて認められ, 口, 肛門は未開口であった (Fig. 3-1B). ふ化 24 時間後に眼に色素が現れ黒化が進行が始まった. ふ化 3 日後の全長は  $3.49 \pm 0.05 \text{ nm}(n=10)$  となり開口が認められた. ふ化 7 日後には卵黄の吸収が認めれ, ふ化 8 日後体側に黒色素胞が広がり. ふ化 10 日後には背部にも拡大した. ふ化 14 日後の全長は  $3.82 \pm 0.28 \text{ nm}(n=52)$  となる. 仔魚は水面を浮遊することが多くみられた. ふ化 17 日後には, 背鰭および臀鰭の分化が始まり, 胸鰭の鰭条の形成がみられた. 胸鰭後方から背鰭前方に黒色素胞が密に分布した. ふ化 32 日後には背部に棘原基の小瘤状突起が出現し, ふ化 37 日後には棘原基が体全体に密に出現した. 生存数は 1 個体のみとなった. ふ化 99 日後には小瘤状突起が伸長し明らかな棘となった. ふ化 203 日後に全長  $61.35 \text{ nm}$  体長  $55.05 \text{ nm}$  となり死亡を確認した.

*D. nictemerus* のふ化仔魚は, 開口し眼胞が形成されており, 体表面に点状の



黒色素胞が散在し、油球は卵黄前方に位置し、卵黄球の直後に肛門が開口していた(Fig. 3-1D). ふ化 1 日後には眼の黒化が開始した. ふ化 19 日後の全長は  $4.30 \pm 0.50$  mm( $n=5$ ) となり、各鰭の鰭条数が定数となり、稚魚期に到達した. ふ化 23 日後には、生存数が 1 個体となり、ふ化 180 日後には全長 58.1 mm に成長した.

## 考 察

Wolfsheimer (1957) はネズミフグの卵は沈性卵であると報告している. しかし、卵はすべて未受精卵でふ化しなかったため、必ずしも受精卵の状態を示したものではないと考えられる. 本研究ではネズミフグは浮性卵を産出することが判明した. この結果は、Leis (1978) および坂本・鈴木 (1978) によって提示された沈性卵を産むという報告に疑問を呈するものである. また、ハリセンボンについては、西村 (1960) および藤田 (1962) は沈性卵を産卵すると予想したことに対し、坂本・鈴木 (1978) は浮性卵を産卵することを実証した. 従って、本研究は、*Al. pilatus* および *D. nicthemerus* だけが既報のハリセンボン科魚類のなかで沈性卵を産卵することを示したものである.

ハリセンボン科魚類以外のフグ目 8 科魚類では、モンガラカワハギ科魚類 *Balistidae*、カワハギ科魚類 *Mnacanthidae* およびフグ科魚類は沈性粘着卵を産み、マンボウ科魚類 *Miliidae*、ハコフグ科魚類 *Ostraciidae* およびギマ科魚類 *Triacanthidae* は浮性卵を産卵するとされる (藤田・松浦, 2014). ベニカワムキ科魚類 *Triacanthodidae* およびウチワフグ科魚類 *Triodontidae* では報告がない. さらに、マンボウ科やハコフグ科魚類は、ハリセンボン科魚類と同様に仔魚の頭部と躯幹部が “vesicular dermal sac” に覆われている (坂本・鈴木, 1978). 従って、本研究で示された *Al. pilatus* および *D. nicthemerus* の産卵した沈性粘着卵は、仔魚特性を共有する 3 科間 (ハリセンボン科, マンボウ科, ハコフグ科) 魚類の中では極めてまれな例である.

カレイ目ヒラメ類は、ほとんどの種が浮性卵を産出するが、比較的高緯度に生息する 2 属 6 種のみが浅海の沿岸域で沈性卵を産卵することが知られている (南, 1984). 大西洋に生息する *Pseudopleuronectes americanus*, 西部太平洋に生息するマコガレイ *Pleuronectes herzensteini*, スナガレイ *P. punctatissimus*, アサバガレイ *P. mochigarei*, シュムシュガレイ *P. bilineatus* およびクロガレイ *P. obscurus* である. Percy (1963) は、沈性卵の出現を、温帯や寒帯において冬に浅海で産卵する魚種が、流れによる卵の沖合への分散や表面の結氷の危険から逃れるための生態的な適応の結果とみなしている. しかし、*Al. pilatus* および *D. nichthemerus* の産卵場所の生態に関する情報はない.

Leis et al. (2013) は、同じ科内では高緯度で生息する種が沈性卵を産卵し、浮遊仔魚期間と分散距離がそれぞれ短くなる傾向があるとした. *Al. pilatus* の分布範囲はオーストラリア南部からニュージーランドまでであり、また、*D. nichthemerus* はオーストラリア南部に限定されている (Table 3-1). 一方、ハリセンボン科の多くは低緯度海域に分布し、仔稚魚段階において浮遊分散により広範囲に拡散する戦略をとることが報告されている (西村 1960 ; 藤田 1962 ; Leis 1978 ; 坂本・鈴木 1978 ; 藤田・松浦 2014).

しかしながら、沈性卵を産卵した *Al. pilatus* および *D. nichthemerus* の仔魚期は、浮性卵を産卵する他の種よりもわずかに長いだけであった. すなわち、*Al. pilatus* で 17 日、*D. nichthemerus* で 19 日、メイトイシガキフグで 17 日、ハリセンボンで 13 日 (坂本・鈴木, 1978) である.

*Al. pilatus* および *D. nichthemerus* によって産出された沈性粘着卵の適応的意味は不明ながら、分離沈性粘着卵はその分布範囲の狭さと矛盾しないといえるかもしれない. 今後、ハリセンボン科の繁殖適応をより深く理解するためには、産卵生態におけるさらなる比較研究が必要となると考えられる.

## 第2節 メイタイシガキフグの産卵および発育

ハリセンボン科魚類は日本近海から4属7種が記録されている（藍澤・土居内，2013）。そのうち、*Cyclichthys* 属では世界に3種が生息し，2種メイタイシガキフグ *Cy. orbicularis* およびイガグリフグ *Cy. spilostylus* が日本周辺より報告されている（藍澤・土居内，2013；Froese and Pauly, 2014）。

本研究では，メイタイシガキフグに関する産卵，卵，仔魚の発達を詳細に観察できたので報告する。

### 材料および方法

#### 親 魚

メイタイシガキフグは産地不明の野生個体の雌標準体長約 200 mm、雄標準体長約 150 mmを魚類卸問屋より入手し，閉鎖循環式の展示水槽にて 2001 年 8 月より飼育した。水槽水量は 1.1 m<sup>3</sup>（0.75×1.00×1.50 m）で擬サンゴを設置しサンゴ砂を敷き詰めた。水温は 25 °C，明期 12 時間暗期 12 時間にて管理した（Table 3-1, Fig. 3-2A）。週に3回ウシエビとアサリの可食部をミンチ状にしたものに総合ビタミン剤（シーミックス；林兼産業株式会社，リビック BW；理研ビタミン株式会社，バイオガード；森永乳業株式会社）を添加し飽食給餌した。メイタイシガキフグの雌雄を外見から判別することは難しい。同居魚類は，フグ目フグ科 *Arothron nigropunctatus* 2 個体，*A. manilensis* 1 個体，*Tetrosomus concatenates* 1 個体，*Lactophrys trigonus* 1 個体，*Chilomycterus antillarum* 1 個体，*Ch. antennatus* 1 個体である。

#### 卵の観察および育成

産卵および受精卵の観察は第2章の方法に準じて行った。育成はふ化後 200 日まで継続したが，測定および形態的観察は卵からふ化後 49 日まで実施した。

卵は飼育水と共に 30 L のプラスチック製水槽に移した。水温は 25 °C として通気を行った。

ふ化仔魚は、ガラスピペットで吸い上げ、30 L のプラスチック製水槽に移し、特別な pH 制御せずに pH 8-8.5 を維持し、25 °C で飼育した。飼育水の一部は排泄物と共に毎日取り出し、新鮮な海水と交換した。飼育水槽には、連続的な餌の供給を促進するために、2 つの蛍光灯で 24 時間にわたって連続的に照射した (興世田ら, 2003)。

ふ化仔魚、稚魚および若魚には 1 日に数回給餌した、ふ化からふ化 18 日後まではシオミズツボムシ、ふ化 7 日後からふ化 27 日後まではアルテミアふ化幼生、ふ化 18 日後からふ化 48 日後は冷凍アルテミア、ふ化 48 日後以降はオキアミ、ウシエビ、アサリをミンチ状にしたものを与えた。

## 結 果

雌は産卵数日前になると腹部が膨らむことで判断した。雌雄は産卵前になると水底にて寄り添うように接近して定位した (Fig. 3-2B)。実際の産卵行動は観察できなかったが、産卵後雌の腹部は縮小した。産卵は 2004 年 5 月 21 日 18:00, 6 月 22 日 9:00, 8 月 27 日 16:00, 9 月 26 日 9:00 および 11:00, 11 月 6 日 12:00 の 5 回観察された。5 月および 6 月の産出卵は受精したが、それ以降の産出卵は未受精であった。2004 年 6 月 22 日に産卵された 2 回目の卵を育成実験に供した。

産出された卵は水槽の表層で発見された。卵を発見した時点では発育段階は特定できなかったが、球形の分離浮性卵は産卵の 1 日以内であり、胚体および眼胞の形成が確認できた (Fig. 3-3A)。卵径は  $2.24 \pm 0.08 \text{ nm}$  ( $n=181$ ) で (Table 3-1), 小油球を有し淡黄色を呈していた (Table 3-1)。産卵 2 日後にふ化した。ふ化仔魚全長は  $3.53 \pm 0.09 \text{ nm}$  ( $n=48$ ) で、口および肛門は未開口であった (Fig. 3-3B, 3C)。膜状の胸鰭原基が存在し、頭部および躯幹部は厚い外膜 “vesicular dermal sac” (Leis, 1978) (または “pliable shell”) (坂本・鈴木, 1978) で覆

われていた。黒色素胞が体側、尾部、腹部に存在し、さらに多くの黄色素胞が体表面に散在した。眼はまだ発眼していなかった。

ふ化 19 時間後には開口を確認し、発眼した（全長 3.53 mm Fig. 3-3D）。ふ化 2 日後には背鰭および臀鰭原基が形成され、卵黄が吸収された（全長 3.58 mm Fig. 3-3E）。背部は黒色素胞が発達し、腹部は黄色素胞が密に分布していた。ふ化 5 日後には胸鰭に鰭条が出現し（全長 3.70 mm Fig. 3-3F），ふ化 7 日後には背鰭および臀鰭にも鰭条が出現した（全長 3.86 mm）。

ふ化 17 日後、各鰭の鰭条数が背鰭 12、臀鰭 10、胸鰭 21 の定数に達し、背部に棘原基となる小瘤状突起が出現した（全長 7.55 mm Fig. 3-4A）。ふ化 23 日後には背部の棘原基は体の成長と共に伸長して大きくなった（全長 9.80 mm Fig. 3-4B）。ふ化 39 日後には棘は不動棘となった（全長 20.80 mm Fig. 3-4C）。棘は連続的に発達し、ふ化 52 日後には全長約 20 mm、ふ化 69 日後には全長約 25 mm (Fig. 3-4D) に至った。

メイタイシガキフグのふ化からふ化 49 日後までの成長を Table 3-2 および Fig. 3-5 に示す。ふ化 8 日後までとふ化 9 日後以降では成長率が異なり、全長 (y) とふ化後日数 (x) の関係式はそれぞれ  $y=0.052x+3.518$  ( $r=0.663$ ,  $p<0.01$ ,  $n=132$ ) および  $y=0.295x+2.046$  ( $r=0.809$ ,  $p<0.01$ ,  $n=32$ ) であった。

## 考 察

メイタイシガキフグの発育はハリセンボン（坂本・鈴木，1978）と良く似ていた。飼育水温はメイタイシガキフグが 25 °C 付近あり、ハリセンボンでは 24.2－27.9 °C で、それほど大きな違いは無かったが、メイタイシガキフグの方が初期の成長段階では発育が速く、その後の成長段階では遅くなった。すなわち、メイタイシガキフグの卵では 1.9－2.4 mm であったが、産卵後 2 日でふ化に至り、ふ化仔魚全長は 3.2－3.7 mm であった。眼の黒化はふ化 19 時間後の全長 3.4－3.7 mm であった。鰭条が完成し棘の原基が出現したのはふ化 17 日後の全長

7.6 mmであり、棘の原基の伸長はふ化 23 日後では全長 9.8 mm、棘はふ化 39 日後全長 20.8 mmで完成した。一方、前節で述べたように、ハリセンボンでは卵は 1.7–1.9 mmで、産卵後 102 時間でふ化に至り、ふ化仔魚全長は 2.5–2.7 mmであった。また、眼の黒化はふ化 24 時間後の全長 2.6–2.7 mmから始まり、鰭条が完成し棘の原基が出現したのはふ化 10 日後（全長 4.9–5.9 mm）、棘の原基の伸長はふ化 13 日後（全長 6.0–7.9 mm）、棘の完成はふ化 16 日後（全長 11.0 mm）であった。

メイタイシガキフグは他のハリセンボン科魚類（藤田・松浦, 2014）のように分離浮性卵を産出し、仔魚の頭部と躯幹部が“*vesicular dermal sac*”に覆われていた。この特徴はフグ目 3 科（ハリセンボン科、ハコフグ科およびマンボウ科）魚類の共通形質である（坂本・鈴木, 1978；藤田・松浦, 2014）。仔魚の特徴に基づいた分析では、ハリセンボン科、ハコフグ科およびマンボウ科魚類は系統類縁関係が近いと示唆されてきた（坂本・鈴木, 1978, Leis, 1984）。しかし、他のフグ目魚類も含めた筋生物学（Winterbottom 1974）、脊椎の形態分析（Uehara et al., 2014）、解剖学（Rosen, 1984；Santini and Tyler, 2003）、DNA塩基配列に基づいた系統解析（Yananoue et al., 2008；Santini et al., 2013）では、これら 3 科魚類の類縁関係は支持されておらず（Santini et al., 2013；Mitsuura 2014）、3 科魚類に共通に認められる仔魚の頭部と躯幹部を覆う“*vesicular dermal sac*”は、仔魚期における適応と収斂による可能性が示唆される。

## 第4章 総合的考察

フグ科トラフグ属 5 種の産卵および発育では，ゴマフグおよびヒガンフグの成長が良く，ショウサイフグが中間で，クサフグおよびコモnfグが遅く，産卵後の稚仔魚の発育は大まかに見て成魚の大きさを反映していた．

本研究では，クサフグでは体長 5.42 mm (ふ化後 24 日)，ヒガンフグでは体長 8.23 mm (ふ化 20 日後)，コモnfグでは体長 7.84 mm (ふ化 29 日後)，ショウサイフグでは体長 6.03 mm (ふ化 20 日後)，ゴマフグでは体長 6.78 mm (ふ化 28 日後) で稚魚期に到達した．一方，トラフグが稚魚期に到達するのは，ふ化 29 日後の全長 9.5 mm であると報告されている (藤田, 1962)．すなわち，トラフグは本研究の 5 種に比べて若干遅くより大型の稚魚に成長しており，トラフグは稚魚期の成長が良いといえる．藤田 (1988) によると，全長 47 mm ふ化 62 日後の個体では，胸鰭後方および背鰭基底部の大黒斑は白色体で縁取られ，背面および体側には多数の小白点が散在するとあり，この段階がトラフグの若魚期と考えられることができる．本研究の 5 種のなかで最も成長のよいゴマフグの場合は，若魚期が体長 28 mm ふ化 55 日後であったことから，トラフグはゴマフグより更に成長のよい魚種であることが示唆され，成魚の大きい魚種が仔稚魚期の成長がよい可能性がある．本研究における淡水フグ類においても，仔稚魚は成長の速いグループ (*Te. cochinchinensis*, *Te. cutcutia*, *Te. palembangensis* および *Te. turgidus*) と遅いグループ (ハチノジフグ, *Ca. irrubescens*, *Ca. lorteti* および *Ca. travancoricus*) に分けられたが，前者の速い成長のグループの *Tetraodon* 属 4 種は成魚サイズが大きいことが知られており，トラフグ属魚類と同様の傾向を示す結果であろう．

噛み合い行動においてはヒガンフグで最も激しく，次いでショウサイフグ，コモnfグの順となり，逃避行動はコモnfグおよびショウサイフグで顕著であった．これらの違いは，仔稚魚の何らかの生態的違いを反映している可能性が高い．

本研究では，記述しにくい仔稚魚の色彩情報も，デジタルカラー写真として

記録した。トラフグ属魚類の仔稚魚の行動や色彩の違いは、今後トラフグ属魚類の初期生態に関する野外調査を行う上で、貴重な手がかりとなると考えられる。また、トラフグ属魚類は種により、有毒部位が異なることから種の同定は慎重を期す必要があるが、近縁種では鰭条数などの形態形質に明確な違いがなく、斑紋や棘の分布様式や形状が分類形質となることが多い。自然界では雑種出現がみられることや、市販のしらすの中にフグ類の仔稚魚が誤って混入し商品の回収を余儀なくされることから、本研究の成果である純種の成長過程における記録が判別の指標となり得ると考えられる。

淡水フグ科魚類のように二次的に淡水適応した魚類は、一般に大卵を少量産卵し、それを保護する傾向があるとされる（星野・西村，2001）。*Tetraodon* 属4種がそのような繁殖戦略を有することが明らかとなったが、ハチノジフグ，*Ca. irrubescens* および *Ca. lorteti* は、海産フグ類のように卵径約 1 mm の卵を産卵したが保護しなかった。一方，*Ca. travancoricus* は同属内で最も大きな卵を少量産卵して卵を保護した。

本研究で、8種の卵径および成長を比較したところ、大きな卵を産卵する魚種は、卵を保護し、仔稚魚期の成長が速い傾向にあったが、一部の魚種では海産トラフグ属5種（クサフグ、ヒガンフグ、コモンフグ、ショウサイフグおよびゴマフグ）のように卵径約 1 mm の卵を産卵するものの、雄による保護は観察されなかった。一方、東南アジア産汽水淡水フグ科8種においても仔稚魚期の成長が速いグループは成魚サイズが大きく、成魚サイズと成長速度の関係は、トラフグ属5種と同じ傾向を示した。これら繁殖戦略の違いは、淡水環境における仔魚の餌サイズや捕食圧、生息域の流速等に関わる可能性がある。フグ類の淡水環境への適応を深く理解するためには、さらなる環境情報や生態的な知見の集積が必要である。

東南アジアに生息する汽水淡水フグ科魚類は、分類形質に乏しく、斑紋以外の形態的特徴が類似する種が存在する。分子系統解析によって、これらの淡水フグ類は東南アジア、中央アフリカ、南アメリカのそれぞれの地域で独立して淡水域に侵入した可能性があり、アジアおよびアフリカに分布する *Tetraodon*



属は多系統であることが示唆されている (Yananouchi et al., 2011; Igarashi et al., 2013; Santini et al., 2013). 汽水淡水フグ類の分類については Dekkers (1975) 以来包括的な研究がほとんど行われていない. 今後、淡水フグ類の繁殖戦略や進化適応をより深く理解するためには、これら魚類の分類の再検討が必要であろう. 近年 Kottelat (2013) は、 *Tetraodon* 属はアフリカの淡水フグにのみ有効で、本研究における東南アジア産汽水淡水フグのうち *Te. cutcutia* は *Leiodon* 属に、 *Te. biocellatus* は *Dichotomyctere* 属に、 *Te. cochinchinensis*, *Te. palembangensi* および *Te. turgidus* の 3 種は *Pao* 属とすべきとした. これらの分類は、本研究の中でも最も卵サイズが小さく、卵保護のなかった *Te. biocellatus*, 次いで卵サイズが小さい *Te. cutcutia*, その他の 3 種にそれぞれ別の属名が与えられることとなり、本研究における繁殖生態の違いと整合的であるが、その他の地域の汽水淡水フグ類とのさらなる比較検討が必要であると考えられるため、本研究では従来通り東南アジア産汽水淡水フグに *Tetraodon* 属を用いた.

ハリセンボン科 8 種の産卵および初期発生においては、すべての種で仔魚の頭部と躯幹部が“vesicular dermal sac” に覆われていること、オーストラリア南部からニュージーランドにかけた狭い範囲に分布する *Al. pilatus* と *D. nictemerus* の 2 種を除く 6 種で分離浮性卵を産むこと、が確認できた. 8 種それぞれの産卵日は、少なくとも水族館の飼育下においては月齢との関連は認められなかった.

フグ目魚類のなかでも産卵期のクサフグは水槽内においても、自然界でみられた半月周性の産卵リズムを維持していることが報告されている (Mitoashi et al., 2001). 水位が一定の条件でもリズムがあることから、内因性の概半月リズムを持っていることが示唆されている (Mitoashi et al., 2001). 生物現象にはさまざまな周期のリズムがあるが、基本的には内因性の体内時計がリズムを駆動し、そのリズムに対して環境条件の周期的な変化が同調因子として働いて、体内時計の時刻合わせをしていると考えられる (Mitoashi et al., 2010). ハリセンボン科では繁殖行動をはじめ観察が不十分なため更なる知見の蓄積が必

要である。

フグ目魚類においては、モンガラカワハギ科、カワハギ科およびフグ科魚類が沈性粘着卵を、マンボウ科、ハコフグ科およびギマ科魚類が分離浮性卵を産むとされている（藤田・松浦，2014）。さらに、マンボウ科およびハコフグ科魚類は、ハリセンボン科魚類と同様に仔魚の頭部と躯幹部が“**vesicular dermal sac**”に覆われている（坂本・鈴木，1978，藤田・松浦，2014）。しかしながらハリセンボン科魚類にもっとも近縁なグループはフグ科魚類で、マンボウ科やハコフグ科魚類とはむしろ遠縁である（Yananoue et al, 2008）。したがって、これらの仔魚形質における類似は、外洋において浮遊生活をすると思われるこれらのグループにおける仔稚魚の適応と収斂の結果である可能性を示唆している。

一方、ハリセンボン科魚類のなかで例外的に沈性粘着卵を産むことが確認できた *Al. pilatus* および *D. nictemerus* の分布範囲は南オーストラリアからニュージーランドに限られている（Leis, 2006 ; Kitter, 1993）。これに対して、その他のハリセンボン科魚類の多くは世界中の熱帯から温帯域に広く分布する（Leis, 1978 ; Mitsuura, 2015）。すなわち、上述した 2 種の卵が沈性粘着であることと、その分布域の狭さとの間に何らかの関連性が示唆される。しかし、これら 2 種の自然界における産卵生態は不明で、より理解を深めるためにはさらなる知見の集積が必要であろう。

以上のフグ科およびハリセンボン科魚類の産卵生態、仔稚魚期の行動、生態や発育の違いは、日常的な水族館業務における飼育観察を通してわかったことである。本研究の産卵生態、仔稚魚期の行動は自然界における仔稚魚の生態的違いを反映し、これら魚類の適応進化のあり方を示唆している可能性が高い。これから産卵生態等の野外調査を計画する上でも、やはり貴重な指針となる可能性がある。フグ科トラフグ属魚類で産卵行動が報告されているのは、トラフグ、クサフグ、ヒガンフグおよびメフグ *Ta. obscurus* と限られた種に過ぎず、水産業上重要種であるトラフグにおいても未だ自然界での産卵行動を記録した資料はみられない。沿岸漁業である定置網あるいは底びき網を活用し、親魚の成熟に関する知見の蓄積が必要であろう。東南アジア産汽水淡水フグ類の繁殖は、

ミドリフグの近縁種であることから、モデル生物としての有効活用の可能性がある。自然界での情報が少ないことから、現地での魚市場調査や水産的利用状況の現状把握が必要となる。さらにフグ類の分類と毒性の啓蒙活動を強め食中毒の抑制に取り組む必要がある。2014年および2015年には、魚介類にフグが混入した事例が多発した。混入したフグは、しらすと同じ程度の大きさの全長約5 cm程度が多い。よって本研究は、これまで同定が困難であった仔稚魚の判別の糸口となりうる。ハリセンボン科魚類では、イシガキフグ、ハリセンボン、ヒトヅラハリセンボン *D. liturosusu*, ネズミフグの4種がわが国では食用が許可されており（厚生省通知, 1983）、主に南西諸島を中心に食されている。産卵生態、仔稚魚期、成長など未明の種に関する解明には、収集活動が行え、かつ飼育設備を有する水族館のような施設の活用が有効と考えられる。水族館の飼育水槽は飼育水温、光周期など展示に必要な制約はあるもののその条件をある程度調整することが可能である。展示水槽の最大の利点はやはり観察が容易である。観察から得られた知見を、さらに飼育繁殖環境に反映させ改善することもできる。水族館における繁殖の取り組みは、これらの利点を活かし、希少魚の増殖に直接的に資するだけでなく、重要水産資源魚種の生態解明や繁殖育種、さらには魚類の適応進化過程解明の一助になりうるものと期待される。

## 引用文献

- 藍澤正宏, 土居内 龍, 2013. フグ目ハリセンボン科. 中坊徹次 (編), 日本産魚類検索全種の同定 第三版, 東海大学出版会, 東京, 1743-1745.
- Aparicio,S., Chapman,J., Stupka,E et al., 2002. Whole-genome shotgun assembly and analysis of the genome of *Fugu rubripes*. *Science*. 297, 1301–1310.
- Brenner,S., Elgar,G., Sandford,R., Macrae,A., Venkatesh,B., Aparicio,S. 1993. Characterization of the puffer fish (*Fugu*) genome as a compact model vertebrate genome. *Nature*. 366, 265–268.
- Crogorac-Jurcevic,T., Brown,J.R., Lehrach,H., Schalkwyk, L.C., 1997. *Tetraodon fluviatilis*, a new puffer fish model for genome studies. *Genomics*. 41, 177–184.
- Dao, V.H., N.T.Dung, N.T.Hong, Y. Takata, S. Sato, M. Kodama, Y. Fukuyo. 2012. High individual variation in the toxicity of three species of marine puffer in Vitenam. *Coastal Mar. Sci.*35,1-6.
- Dekkers, W.J., 1975. Review of the Asiatic freshwater puffers of the genus *Tetraodon* Linnaeus, 1758 (Pisces, Tetraodontiformes, Tetraodontidae). *Bijdr Dierkd.* 45, 87–142.
- 土井啓行, 2012. 1-1.フグ類の収集と繁殖の試み. シンポジウム記録フグ研究とトラフグ生産技術開発の最前線, 日水誌, 78(1), 82.
- 土井啓行, 石橋敏章, 2012. 水族館におけるフグ類の収集と繁殖. 長島裕二, 村田 修, 渡部終五 (編), フグ研究とトラフグ生産技術の最前線, 恒星社厚生閣, 東京, 9-24.
- 土井啓行, 園山貴之, 今井千文, 酒井治己, 石橋敏章, 2014. トラフグ属 5 種の初期発育, 水産大学校研究報告, 62 (3), 109-114.
- Doi, H., Ishibashi, T., Sakai,H., 2015. Spawning and rearing of a porcupine puffer *Cyclichthys orbicularis* (Diodontidae, Tetraodontiformes) in captivity. *Aquacult. Sci.* 63, 207–212.

- Doi, H., Sakai, H., Yamanoue, Y., Sonoyama, T., Ishibashi, T., 2015. Spawning of eight Southeast Asian brackish and freshwater puffers of the genera *Tetraodon* and *Carinotetraodon* in captivity. Fish. Sci. 81, 291-299.
- Doi, H., Sonoyama, T., Yamanouchi, Y., Tamai, K., Sakai, H., Ishibashi, T., 2015. Adhesive demersal eggs spawned by two southern Australia porcupine puffers. Aquacult. Sci. 63, 357-359.
- Doi, H., Zenke, Y., Takahashi, H., Sakai, H., Ishibashi, T., 2015. Hybridization of burrfish (*Chilomycterus* spp.) in captivity revealed by AFLP and mtDNA sequence analyses. Ichthyol. Res. 62, DOI 10.1007/s10228-015-0460-0.
- Ebert, K., 2001. The puffers of fresh and brackish waters. Aqualog, Mörfelden-Walldorf. 1-96.
- Froese, R., Pauly, D., 2014. FishBase, version 02/2014. <http://www.fishbase.org>, Accessed 14 December 2014.
- 藤田矢郎, 1962. 日本産主要フグ類の生活史と養殖に関する研究, 長崎水試論文集, (2), 1-121. pls. 1-40.
- 藤田矢郎, 篠原政明, 1986. アカメフグの卵発生と飼育による仔稚魚の形態, 魚類学雑誌, 33(2), 186-194.
- 藤田矢郎, 松浦啓一, 2014. ハリセンボン科, 沖山宗雄 (編), 日本産稚魚図鑑 第二版, 東海大学出版会, 東京, 1532-1534.
- 畑中宏之, 1997. トラフグ稚魚の成長と尾鰭の形状に及ぼす飼育水槽の色, 照度及び飼育密度の影響, 日水誌, 63, 734-738.
- 堀井豊充, 片町太輔, 2012. トラフグの資源. 長島裕二, 村田 修, 渡部終五 (編), フグ研究とトラフグ生産技術の最前線, 恒星社厚生閣, 東京, 34-45.
- 星野 昇, 西村欣也, 2001. 水圏生物種に共通の一般原則: モデルで考える. 後藤 晃, 井口恵一朗 (編), 水生動物の卵サイズ 生活史と変異・種分化の生物学, 海游舎, 東京, 102-128.

Igarashi, Y., Doi, H., Yamanoue, Y., Kinoshita, S., Ishibashi, T., Ushio, H., Asakawa, S., Nishida, M., Watabe, S., 2013. Molecular phylogenetic relationship of Tetraodon pufferfish based on mitochondrial DNA analysis. Fish. Sci. 79, 243–250.

岩本明雄, 藤本 宏, 1997. 種苗生産技術の現状. 多部田 修 (編), トラフグの漁業と資源管理, 恒星社厚生閣, 東京, 97-109.

Jaillon, O., Aury, J.M., Brunet, F., (61 co-authors) et al., 2004. Genome duplication in the teleost fish Tetraodon nigroviridis reveals the early vertebrate proto-karyotype. Nature. 431, 946–957.

韓 慶男, 莊 恒源, 松井誠一, 古市政幸, 北島 力, 1995. トラフグ幼稚魚の成長, 生残, および飼料効率に及ぼす飼育水塩分の影響, 日本水産学会誌, 61(1), 21-26.

與世田兼三, 團 重樹, 藤井あや, 黒川優子, 川合真一郎, 2003. 異なった日周条件がスジアラ仔魚の初期摂餌, 初期生残および消化酵素活性に及ぼす影響, 水産増殖, 51, 179-188.

Kottelat, M., 2013. Family Tetraodontidae. The Fishes of the Inland Waters of Southeast Asia : A Catalogue and Core Bibliography of the Fishes Known to Occur in Freshwaters, Mangroves and Estuaries. Raffles Bull. Zool. 469-484.

河野 博 (監・編著), 2006. 東京湾—魚の自然誌, 平凡社, 東京, 252 pp.

厚生省通知, 1983. フグの衛生確保について, 環乳第 59 号.

厚生労働省, 2014. フグによる食中毒予防の注意喚起について,

Kuiter, R.H., 1993. Coastal fishes of south-eastern Australia. University of Hawaii Press. 437.

Leis, J.M., 1978. Systematic and zoogeography of the porcupinefishes (*Diodon*, Diodontidae, Tetraodontiformes), with comments on eggs and larval development. Fish. Bull. 76, 535–567.

Leis, J.M., 1984. Tetraodontiformes: relationships. In “*Ontogeny and Systematics of Fishes*” (ed. by Moser, H.G., Richard, W.J., Cohen, D.M., Fahay, M.P., Kendall Jr. A.W., Richardson, S.L.), Am. Soc. Ichthyol. Herpetol. Spec. Publ. 1, 459–453.

- Leis, J.M., 2006. Nomenclature and distribution of the species of the porcupinefish family Diodontidae (Pisces, Teleostei). Mem. Mus. Victoria. 63, 77–90.
- Leis, J.M., Caselle, J.E., Bradbery, I.R., Kristiansen, T., Llopiz, J.K., Miller, M.J., O’Conner, M.I., Paris, C.B., Shanks, A.L., Sogard, S.M., S. E. Swearer, S.E., Treml, E.A., R. D. Vetter, R. D., Warner, R.R., 2013. Does fish larval dispersal differ between high and low latitudes? Proc. Royal Soc. B. 280, 1–9.
- Mason, P.J., Stevens, D.J., Luzzatto, L., Brenner, S., Aparicio, S., 1995. Genomic structure and sequence of the Fugu rubripes glucose-6-phosphate dehydrogenase gene (G6PD). Genomics. 26, 587–591.
- Matsuura, K., 2014. Taxonomy and systematics of tetraodontiform fishes: a review focusing primarily on progress in the period from 1980 to 2014. Ichthyol. Res. 62, 72–113.
- 松浦 啓一, 2015. 第一章フグ類の分類と生態. 松浦啓一・長島裕二 (編), 毒魚の自然史, 北海道大学出版会, 北海道, 3-32.
- 南 卓志, 1984. 異体類の初期生活史–III, 卵の形質. 海洋と生物 30(6), 46-49.
- 宮木 廉夫, 1998. 交雑フグの初期形態, 長崎水試研報, 24, 27-688.
- Motohashi, E., Yoshihara, T., Doi, H., Ando, H., 2010. Aggregating behavior of the grass puffer, Takifugu niphobles, observed in aquarium during the spawning period. Zoological Science. 27, 559-564.
- Nelson, J.S., 2006. Fishes of the world, 4th edn. Wiley, New York. 451-458.
- 西村三郎, 1960. 日本近海に來遊するハリセンボンの生活史. 1. 産卵及び回遊, 日本生態学会誌, 10(1), 6-11.
- Pearcy, W.G., 1963. Distributions and origin of demersal eggs within the order Pleuronectiformes. J. Cons. Perm. Int. Explor. Mer. 28, 232–235.
- Rainboth, W.J., 1996. Fishes of the Cambodian Mekong. In: FAO (ed) FAO Species Identification Field Guide for Fishery Purposes. FAO, Rome, 225–227.

- Rosen, D.E., 1984. Zeiformes as primitive plectognath fishes. *Am. Mus. Novit.* 2782, 1–45.
- 坂本隆司, 鈴木克美, 1978. 水槽内で観察されたハリセンボン *Diodon holacanthus* の産卵習性と初期生活史, 魚類学雑誌, 24(4), 261-270.
- Santini, F., Nguyen, M.T., Sorenson, L., Waltzek, T.B., Lynch Alfaro, J.W., Eastman, J.M., Alfaro, M.E., 2013. Do habitat shifts drive diversification in teleost fishes? An example from the pufferfishes (Tetraodontidae). *J. Evol. Biol.* 26, 1003–1018.
- Santini, F., Sorenson, L., Alfaro, M.E., 2013. A new phylogeny of tetraodontiform fishes (Tetraodontiformes, Acanthomorpha) based on 22 loci. *Mol. Phylogenet. Evol.* 69, 177–187.
- Santini, F., Tyler, J.C., 2003. A phylogeny of the families of fossil and extant tetraodontiform fishes (Acanthomorpha, Tetraodontiformes), Upper Cretaceous to recent. *Zool. J. Linn. Soc.*, 139, 565–617.
- 下関市立しものせき水族館, 2006a. 繁殖表彰—受賞動物の記録資料—26. ポーキュパインフィッシュ *Allomycterus pilatus* (自然), 動物園水族館雑誌, 47, 68.
- 下関市立しものせき水族館, 2006b. 繁殖表彰—受賞動物の記録資料—27. メイタイシガキフグ *Cylichthys orbicularis* (自然), 動物園水族館雑誌, 47, 68-69.
- 下関市立しものせき水族館, 2010. 繁殖表彰—受賞動物の記録資料—22. サザングローブフィッシュ *Diodon nictemerus* (自然), 動物園水族館雑誌, 51, 34-35.
- Tyler, J.C., 1980. Osteology, phylogeny, and higher classification of the fishes of the Order Plectognathi (Tetraodontiformes). NOAA Tech. Rep. NMFS Circ. 434, 1–422.
- Uehara, M., Hosaka, Y.Z., Doi, H., Sakai, H., 2014. The shortened spinal cord in tetraodontiform fishes. *J. Morphol.* 276, 290–300.
- Venkatesh, B., Gilligan, P., Brenner, S., 2000. Fugu: a compact vertebrate reference genome. *FEBS Lett.* 476, 3–7.



- Watson, C.A., Hill, J.E., Graves, J.S., Wood, A.L., Kilgore, K.H., 2009. Use of a novel induced spawning technique for the first reported captive spawning of *Tetraodon nigroviridis*. *Mar. Genomics*. 2, 143–146.
- Winterbottom, R., 1974. The familial phylogeny of the Tetraodontiformes (Acanthopterygii: Pisces) as evidenced by their comparative mycology. *Smithsonian Contr. Zool.* 155, 1–201.
- Wolfsheimer, G., 1957. A spawning of porcupine puffers. *Aquarium*. 26, 288–290.
- 山田梅芳, 柳下直己, 2013. フグ科. 中坊徹次 (編), 日本産魚類検索全種の同定 第三版, 東海大学出版会, 東京, 1728-1742.
- 山口県食品衛生協会, 2011. ふぐ, 第11版, 社団法人山口県食品衛生協会, 山口, 1-205.
- Yamanoue, Y., Miya, M., Matsuura, K., Katoh, M., H. Sakai, H., Nishida, M., 2008. A new perspective on phylogeny and evolution of tetraodontiform fishes (Pisces: Acanthopterygii) based on whole mitochondrial genome sequences: basal ecological diversification? *BMC Evol. Biol.* 8, 212.
- Yamanoue, Y., Miya, M., Doi, H., Mabuchi, K., Sakai, H., Nishida, M., 2011. Multiple invasions into freshwater by pufferfishes (Teleostei: Tetraodontidae): a mitogenomic perspective. *PLoS One*. 6:e17410.
- Yamanoue, Y., Miya, M., Matsuura, K., Katoh, M., Sakai, H., Nishida, M., 2008. A new perspective on phylogeny and evolution of tetraodontiform fishes (Pisces: Acanthopterygii) based on whole mitochondrial genome sequences: basal ecological diversification? *BMC Evol Biol.* 8, 212.
- Yamanoue, Y., Miya, M., Matsuura, K., Miyazawa, S., Tsukamoto, N., Doi, H., Takahashi, H., Mabuchi, K., Nishida, M., Sakai, H., 2009. Explosive speciation of Takifugu: Another use of fugu as a model system for evolutionary biology. *Mol. Biol. Evol.* 26, 623-629.
- Yamanoue, Y., Miya, M., Matsuura, K., Yagishita, N., Mabuchi, K., Sakai, H., Katoh, M., Nishida, M., 2007. Phylogenetic position of tetraodontiform fishes within the higher teleosts: Bayesian inferences based on 44 whole mitochondrial genome sequences. *Mol. Phylogenet. Evol.* 45, 89–101.

Table 1-1. Parental fish of five of *Takifugu* species (Doi et al., 2014)

	<i>Ta. niphobles</i>	<i>Ta. pardalis</i>	<i>Ta. poecilonotus</i>	<i>Ta. snyderi</i>	<i>Ta. stictonotus</i>
Collection date	Jun. 5, 2006	Feb. 22, 2007	Apr. 25, 2007	May 30, 2009	May 23, 2006
Insemination date	Jun. 16, 2006	Mar. 26, 2007	Apr. 26, 2007	Jun. 5, 2009	May 26, 2006
Standard length in mm (female)	110.0	226.0	124.0	296.0	313.0
Standard length in mm (male)	107.0	216.0	146.0	244.0	316.0
Approximate number of eggs collec	15,000	68,000	24,000	70,000	50,000

Table 1-2. Egg diameters and standard lengths (SL) at various developmental stages and hours or days after hatching for five *Takifugu* species

	<i>Ta. niphobles</i>	<i>Ta. pardalis</i>	<i>Ta. poecilonotus</i>	<i>Ta. snyderi</i>	<i>Ta. stictonotus</i>
Temperature at hatching (°C)	22.6±0.29*	20.2±2.08	21.2±1.32	23.0±0.00	20.6±0.56
Egg diameter	0.87±0.02 (n=10)**	1.31±0.03 (n=23)	1.14±0.03 (n=28)	1.00±0.02 (n=14)	1.09±0.02 (n=15)
SL of hatched larvae	2.17±0.06 (n=21)	2.90±0.07 (n=9)	2.80±0.05 (n=11)	2.51±0.08 (n=10)	2.47±0.12 (n=20)
Hours after hatching	144	216	144	96	168
SL of post larvae	2.38±0.06 (n=4)	3.43±0.10 (n=5)	3.12±0.08 (n=6)	2.74±0.06 (n=10)	3.20±0.15 (n=22)
Days after hatching	5	4	3	3	3
SL of juveniles	5.42±0.41 (n=3)	8.23±0.53 (n=6)	7.84±0.42 (n=6)	6.03±0.44 (n=10)	6.78±1.06 (n=2)
Days after hatching	24	20	29	20	28
SL of young fishes	18.3±0.15 (n=3)	23.7±3.62 (n=10)	20.00±2.87 (n=9)	17.79±1.42 (n=14)	28.00±0.00 (n=4)
Days after hatching	51	50	60	50	55
SL of young fish 150 days after hatching	53.0±7.1 (n=2)	82.4±7.1 (n=5)	49.5±7.1 (n=5)	61.4±4.6 (n=10)	79.7±5.3 (n=9)

\* mean ± standard deviation.

\*\* mean ± standard deviation in mm with the number of individuals in parenthesis.

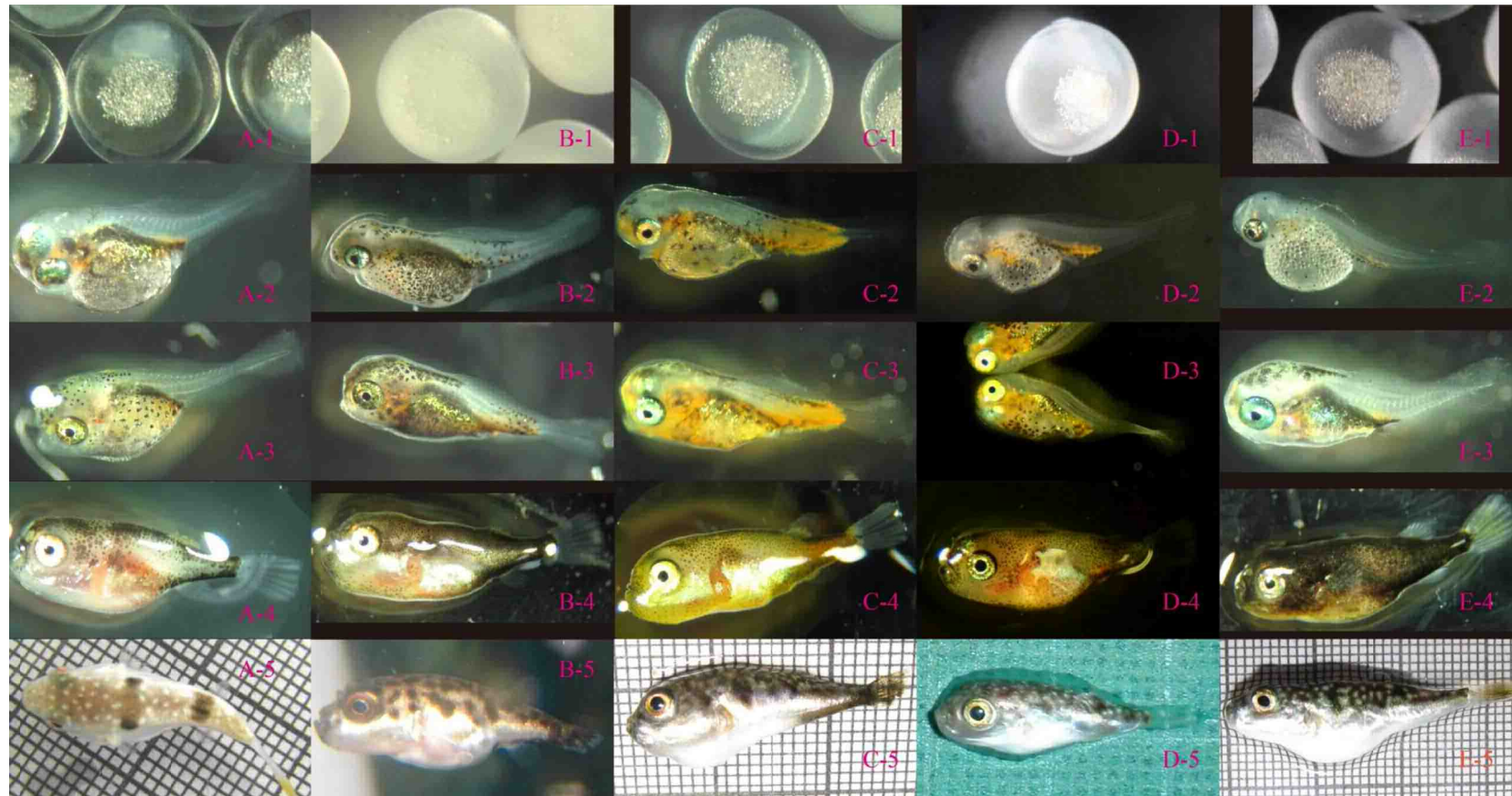


Fig. 1-1. Developmental changes in the external appearance of *Takifugu* puffers after hatching. Photos of eggs (1), hatched larvae (2), post larvae (3), juveniles (4), and young fish (5) each of *Takifugu niphobles* (A), *Ta. pardalis* (B), *Ta. poecilonotus* (C), *Ta. snyderi* (D), and *Ta. stictonotus* (E) (Doi et al., 2014).

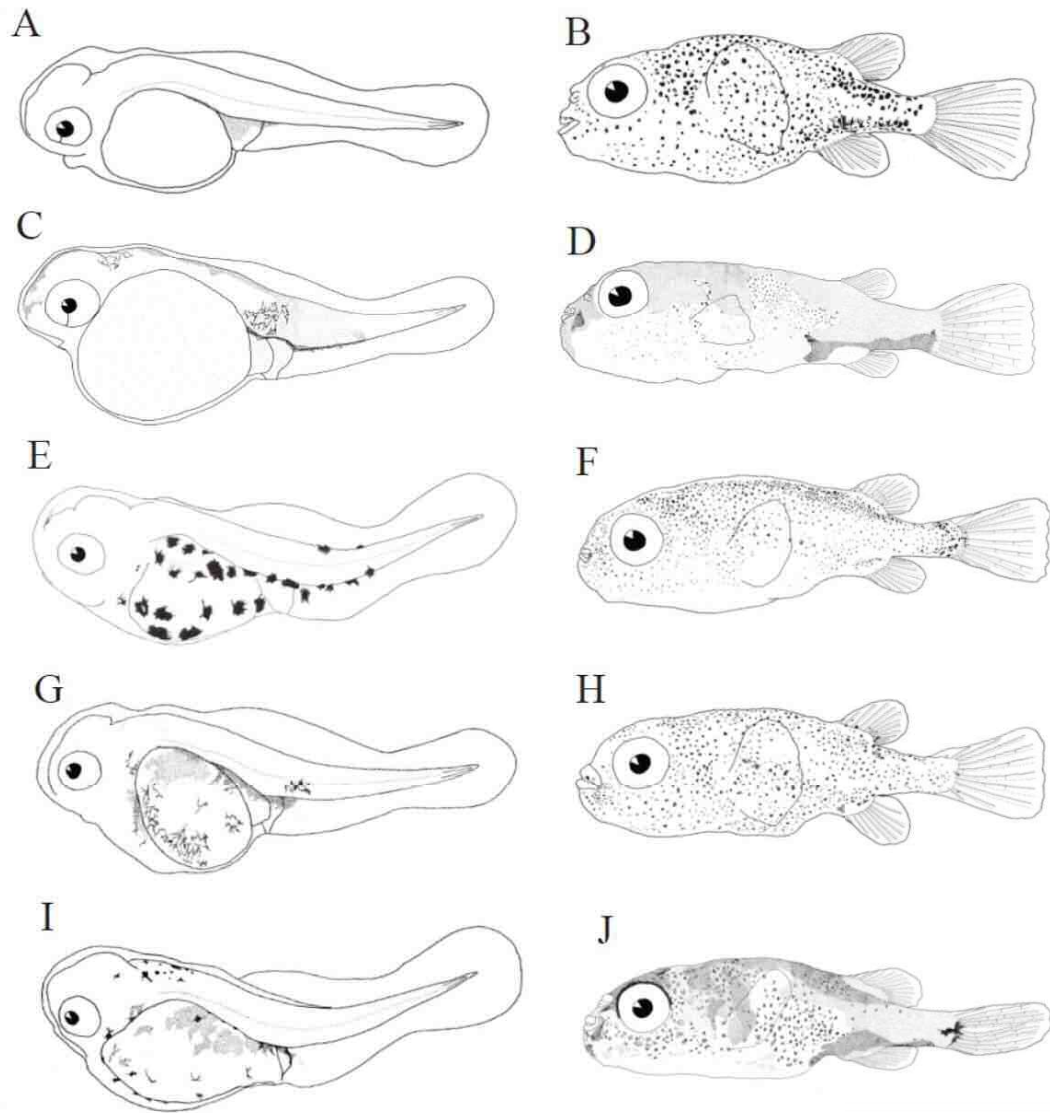


Fig. 1-2. Sketches of hatched larvae (left panels) and juveniles (right panels) of *Takifugu niphobles* (A,B), *Ta. pardalis* (C,D), *Ta. poecilonotus* (E,F), *Ta. snyderi* (G,H), and *Ta. stictonotus* (I,J) (Doi and ishibashi, 2012).

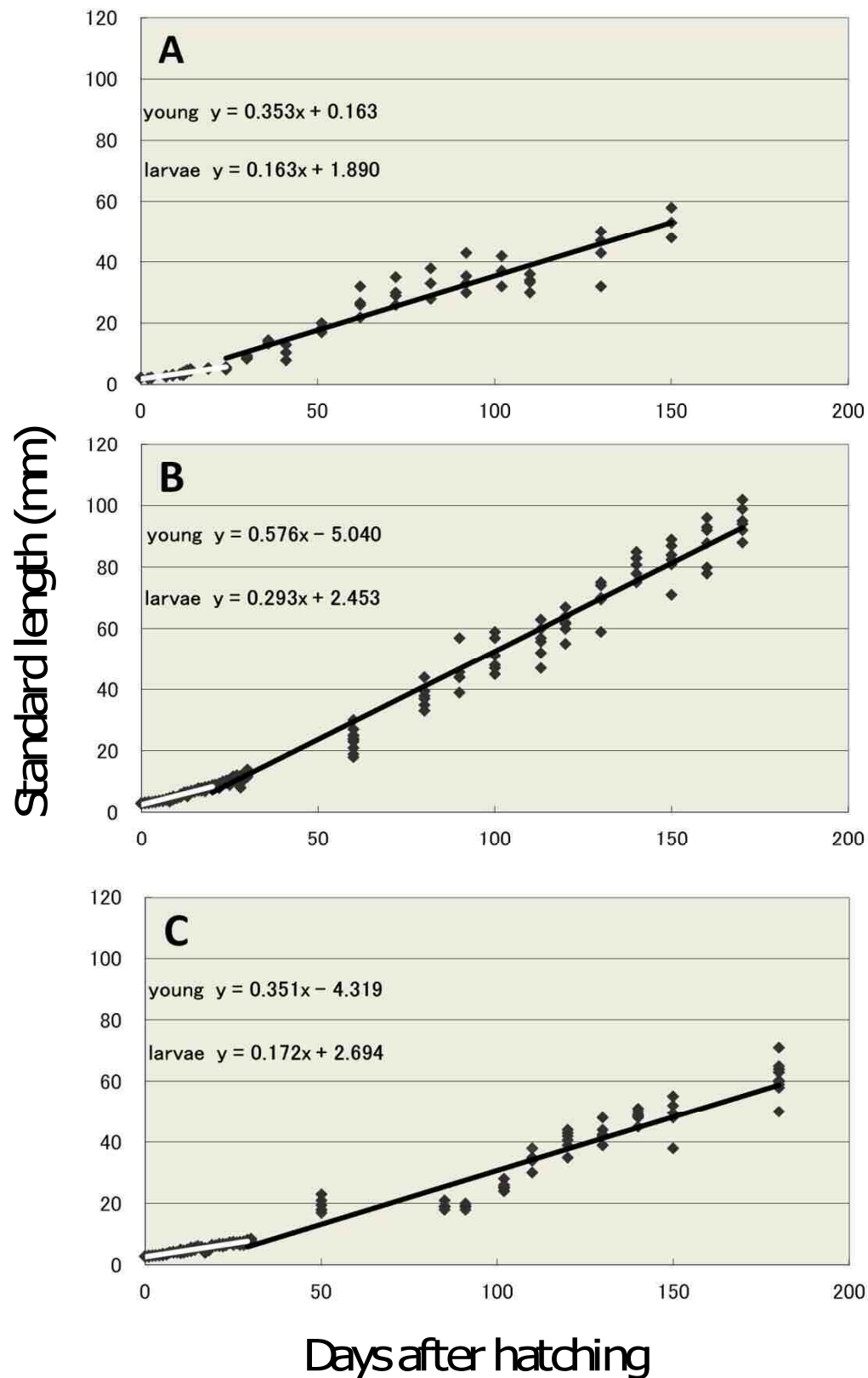


Fig. 1-3-1. Daily growth regression lines for larvae (white lines) and young fish (black lines) each of *Takifugu niphobles* (A), *Ta. pardalis* (B), and *Ta. poecilonotus* (C) (Doi et al., 2014).

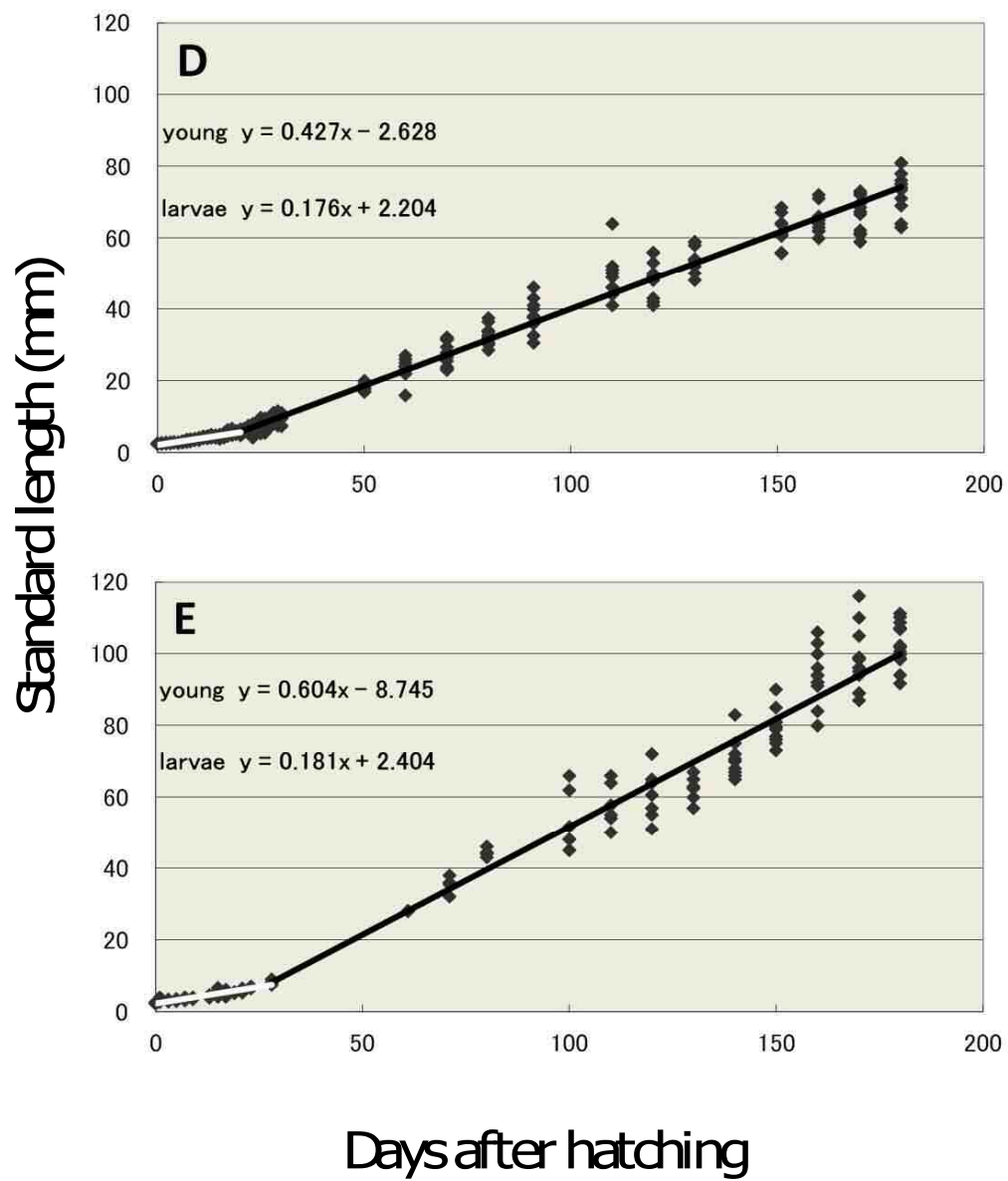


Fig. 1-3-2. Daily growth regression lines for larvae (white lines) and young fish (black lines) each of *Takifugu snyderi* (D), and *Ta. stictonotus* (E) (Doi et al.,2014).

Table 1-3. Regression equations between standard length (y, in mm) and days after hatching (x) for five *Takifugu* species that spawned in the Shimonoseki Marine Science Museum Aquarium

Species	Regression equation	<i>r</i>	<i>p</i>	<i>n</i>
<i>Ta. niphobles</i> larvae	$y = 0.163x + 1.890$	0.962	<0.01	11
<i>Ta. niphobles</i> young	$y = 0.353x + 0.163$	0.972	<0.01	33
<i>Ta. pardalis</i> larvae	$y = 0.293x + 2.453$	0.990	<0.01	21
<i>Ta. pardalis</i> young	$y = 0.576x - 5.040$	0.997	<0.01	120
<i>Ta. poecilonotus</i> larvae	$y = 0.172x + 2.694$	0.981	<0.01	30
<i>Ta. poecilonotus</i> young	$y = 0.351x - 4.319$	0.967	<0.01	86
<i>Ta. snyderi</i> larvae	$y = 0.176x + 2.204$	0.978	<0.01	21
<i>Ta. snyderi</i> young	$y = 0.427x - 2.628$	0.998	<0.01	224
<i>Ta. stictonotus</i> larvae	$y = 0.181x + 2.404$	0.975	<0.01	13
<i>Ta. stictonotus</i> young	$y = 0.604x - 8.745$	0.991	<0.01	85

*r* correlation coefficient, *p* correlation test probability, *n* number of data.



Table 2-1. Food items provided for larvae and days in their progress after hatching for eight Southeast Asian brackish and freshwater *Tetraodon* and *Carinotetraodon* species spawned in the Shimonoseki Marine Science Museum Aquarium (Doi et al., 2015)

Food item	<i>Te. biocellatus</i>	<i>Te. cochinchinensis</i>	<i>Te. cutcutia</i>	<i>Te. palembangensis</i>	<i>Te. turgidus</i>	<i>Ca. irrubesco</i>	<i>Ca. lorteti</i>	<i>Ca. travancoricus</i>
No feeding						0-3		
Freshwater <i>Brachinonus</i>						4-14	0-28	
Brackish-water <i>Brachinonus</i>	0-35							
<i>Artemia</i> larvae	36-60	0-29	0-19	0-4	0-13	15-22	29-48	0-23
<i>Tubifex</i>		30-31	20-38	5-32	14-20	23-61	49-92	24-70
Frozen chironomid larvae and <i>Artemia</i>		32-150	39-59	33-64	21-72	From 62nd day	From 93rd day	From 71st day
Processed krill, prawns, and Manila clams	From 61st day	From 151st day	From 60th day	From 65th day	From 73rd day			

Table 2-2. Spawning and subsequent developmental date for eight Asian brackish and freshwater species (*Tetraodon* and *Carinotetraodon*) that spawned in the Shimonoseki Marine Science Museum Aquarium (Doi et al., 2015)

	<i>Te. biocellatus</i>	<i>Te. cochinchinensis</i>	<i>Te. cutcutia</i>	<i>Te. palembangensis</i>	<i>Te. turgidus</i>	<i>Ca. irrubesco</i>	<i>Ca. lorteti</i>	<i>Ca. travancoricus</i>
Establishment date	Aug. 9, 2002	Jan. 8, 2005	Oct. 28, 2006	Feb. 21, 2001	June 4, 2000	May 14, 2005	Apr. 11, 2002	Jan. 31, 2006
Spawning date	Dec. 8, 2008	Oct. 7, 2005	Jan. 13, 2007	July 9, 2003	Dec. 25, 2005	Oct. 16, 2006	Apr. 2, 2007	May 23, 2006
Aquarium volume(l)	120	95	60	95	60	30	18	60
Water conditions	Brackish	Fresh	Fresh	Fresh	Fresh	Fresh	Fresh	Fresh
No. of females(approx. TL* mm)	1 (75)	1 (80)	1 (60)	2 (135)	1 (100)	1 (40)	1 (50)	10 (25)
No. of males(approx. TL mm)	1 (80)	2 (90)	2 (70)	1 (155)	1 (100)	1 (60)	1 (50)	7 (25)
Shelter of spawning bed	Nothing	Stone pipe	Stone pipe	Stone pipe	Stone pipe	Clay pot, palm bark, plants	Clay pot, palm bark, plants	Plastic net pipe, plants
Spawning manner	Scattered	Layered batch	Layered batch	Layered batch	Layered batch	Scattered	Scattered	Scattered
Male protection of eggs	No	Yes	Yes	Yes	Yes	No	No	Yes
Approximate number of eggs	More than 1000	250	300	90-130	300	200	200	1-5
Egg diameter(mm)	0.71 ± 0.01 (n = 5)**	1.94 ± 0.03 (n = 21)	1.37 ± 0.04 (n = 21)	2.25 ± 0.01 (n = 75)	2.13 ± 0.05 (n = 11)	0.88 ± 0.02 (n = 6)	1.37 ± 0.07 (n = 3)	1.43 ± 0.09 (n = 5)
Days at hatching	5	7	6	10	8	2-3	4	5
TL of hatched larvae (mm)	1.69 ± 0.04 (n = 5)	4.26 ± 0.09 (n = 40)	3.06 ± 0.03 (n = 20)	4.58 ± 0.10 (n = 3)	4.41 ± 0.13 (n = 36)	2.90 ± 0.07 (n = 4)	2.25 ± 0.02 (n = 3)	3.15 ± 0.16 (n = 4)
Eye development	Incomplete	Complete	Complete	Complete	Complete	Incomplete	Incomplete	Incomplete
Days at yolk consumption	4	2	2	2	2	6	6	4
Days at swimming	5	3	4	4	4	7	7	6

\*TL, total length.

\*\*mean ± standard deviation in mm with the number of individuals in parenthesis.

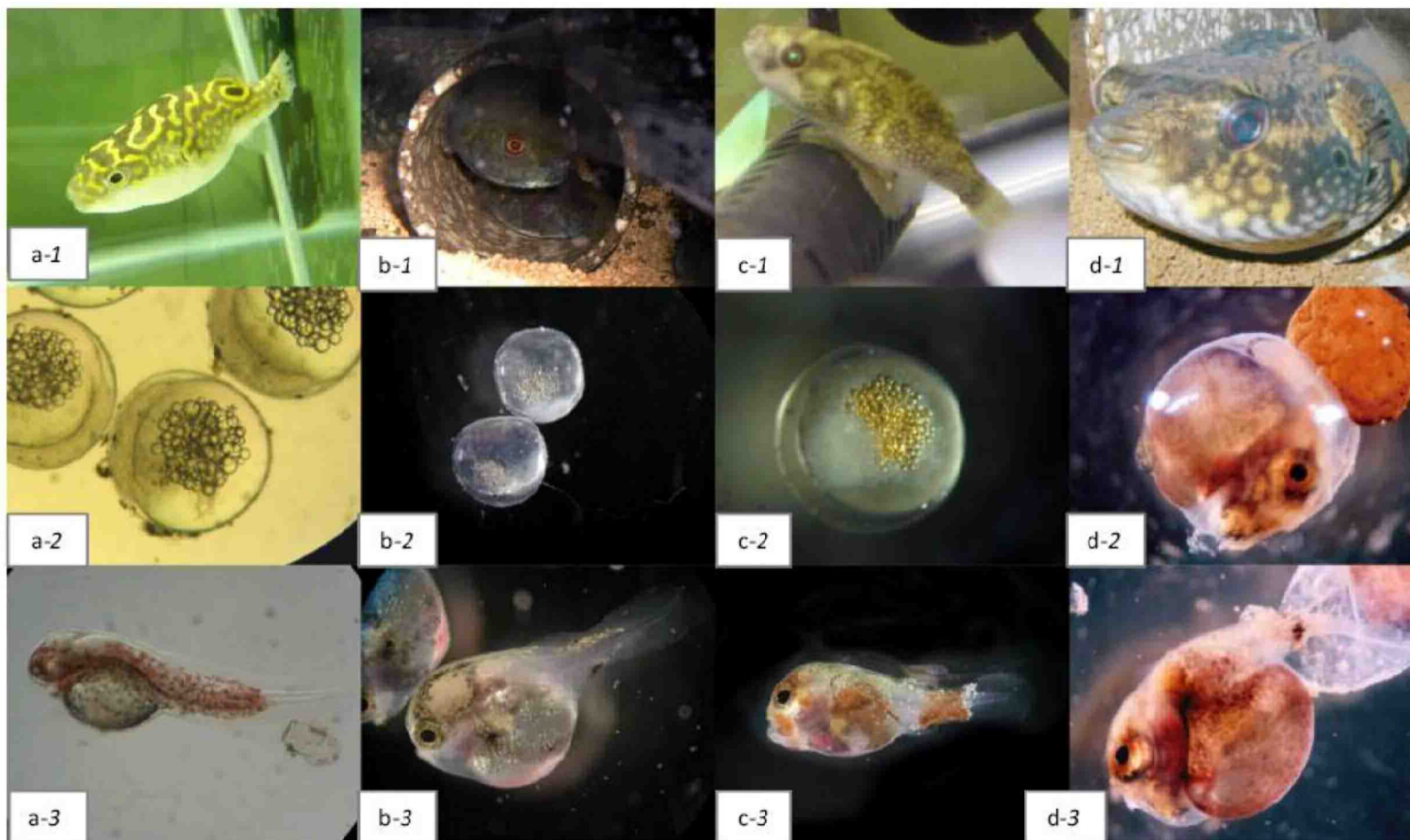


Fig. 2-1-1. Four Southeast Asian brackish and freshwater puffers that spawned in the Shimonoseki Marine Science Museum Aquarium *Tetraodon biocellatus* (a-1, parental male, about 80 mm in total length; a-2, eggs, 0.71 mm in mean diameter; a-3, hatched larvae, 1.69 mm in mean total length), *Te. cochinchinensis* (b-1, 90; b-2, 1.94; b-3, 4.26), *Te. cutcutia* (c-1, 60; c-2, 1.37; c-3, 3.06), and *Te. palembangensis* (d-1, 155; d-2, 2.25; d-3, 4.58) (Doi et al. 2015).

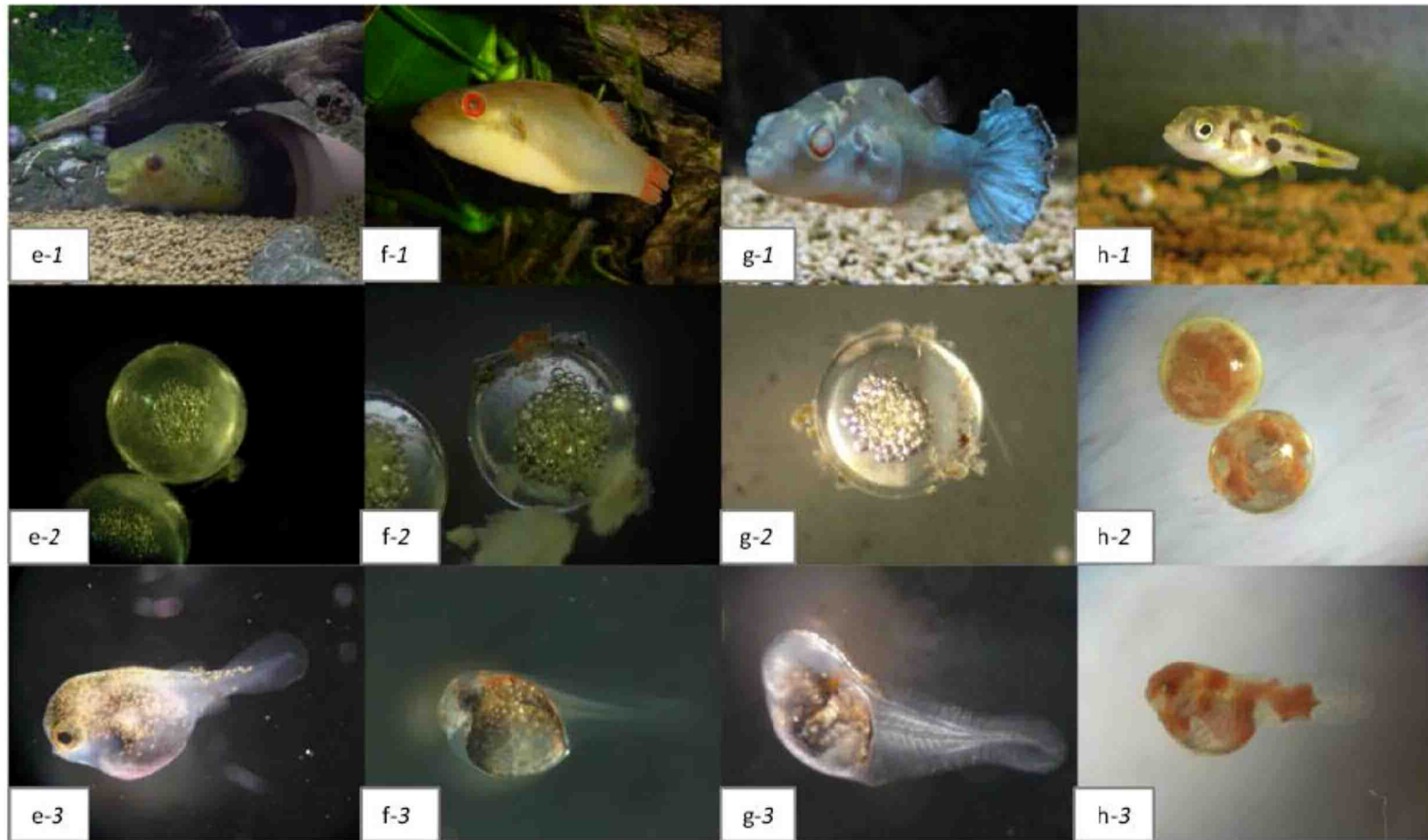


Fig. 2-1-2. Four Southeast Asian brackish and freshwater puffers that spawned in the Shimonoseki Marine Science Museum Aquarium: *Tetraodon turgidus* (e-1, parental male, about 100 mm in total length; e-2, eggs, 2.13 mm in mean diameter; e-3, hatched larvae, 4.41 mm in mean total length), *Carinotetraodon irrubescens* (f-1, 60; f-2, 0.88; f-3, 2.90), *Ca. lorteti* (g-1, 50; g-2, 1.37; g-3, 2.25), and *Ca. travancoricus* (h-1, 25; h-2, 1.43; h-3, 3.15) (Doi et al. 2015).

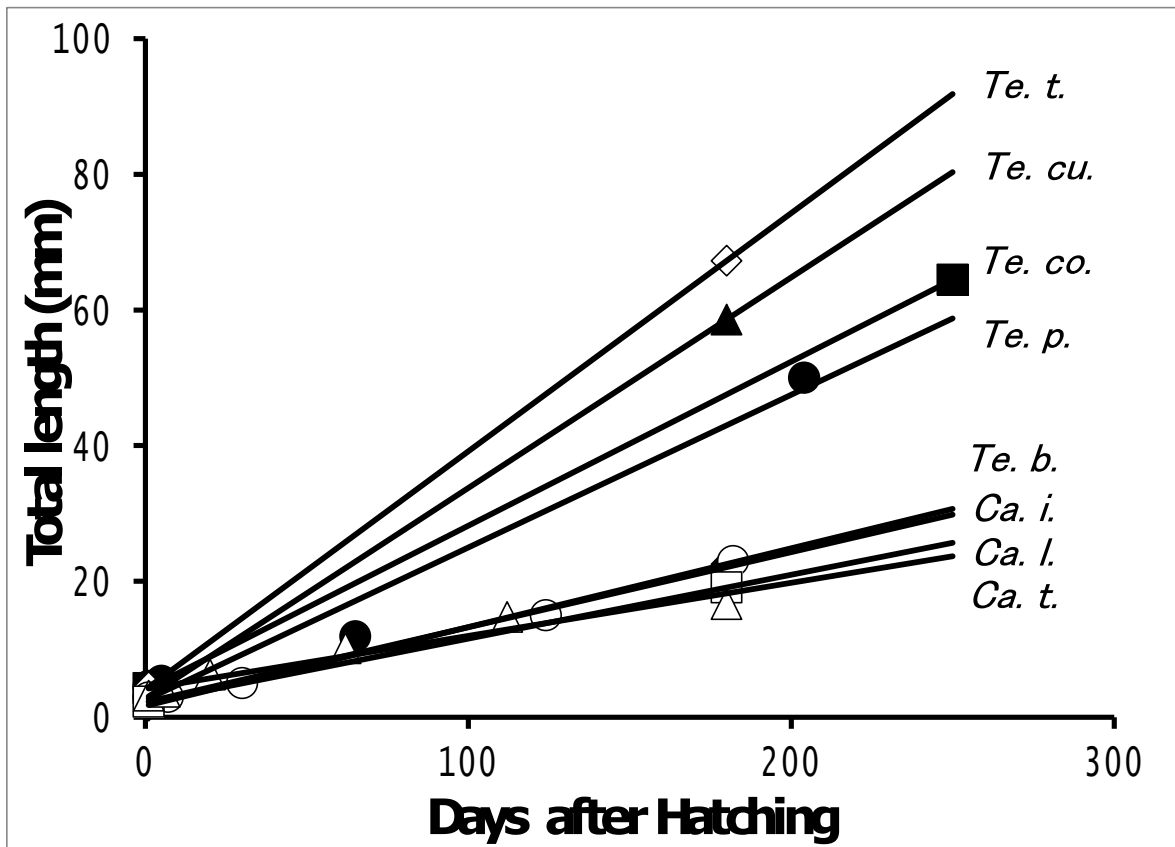


Fig. 2-2. Growth of eight Southeast Asian brackish and freshwater puffers that spawned in the Shimonoseki Marine Science Museum Aquarium.

*Tetraodon biocellatus* (*Te. b.*, solid diamonds), *Te. cochinchinensis* (*Te. co.*, solid squares), *Te. cutcutia* (*Te. cu.*, solid triangles), *Te. palembangensis* (*Te. p.*, solid circles), *Te. turgidus* (*Te. t.*, open diamonds), *Carinotetraodon irrubescens* (*Ca. i.*, open circles), *Ca. lorteti* (*Ca. l.*, open squares), and *Ca. travancoricus* (*Ca. t.*, open triangles). The corresponding regression equations are shown in Table 2-3 (Doi et al., 2015).

Table 2-3. Regression equations between total length (y, in mm) and days after hatching (x) for eight Southeast Asian brackish and freshwater (*Tetraodon* and *Carinotetraodon*) species that spawned in the Shimonoseki Marine Science Museum Aquarium (Doi et al., 2015)

Species	Regression equation	<i>r</i>	<i>p</i>	<i>n</i>
<i>Te. biocellatus</i>	$y = 0.116x + 1.790$	0.999	<0.02	3
<i>Te. cochinchinensis</i>	$y = 0.242x + 4.260$	-	-	2
<i>Te. cutcutia</i>	$y = 0.310x + 3.060$	-	-	2
<i>Te. palembangensis</i>	$y = 0.225x + 2.705$	0.987	<0.02	4
<i>Te. turgidus</i>	$y = 0.351x + 4.410$	-	-	2
<i>Ca. irrubesco</i>	$y = 0.111x + 2.271$	0.997	<0.01	5
<i>Ca. lorteti</i>	$y = 0.094x + 2.250$	-	-	2
<i>Ca. travancoricus</i>	$y = 0.078x + 4.225$	0.97	<0.001	6

*r* correlation coefficient, *p* correlation test probability, *n* number of data.

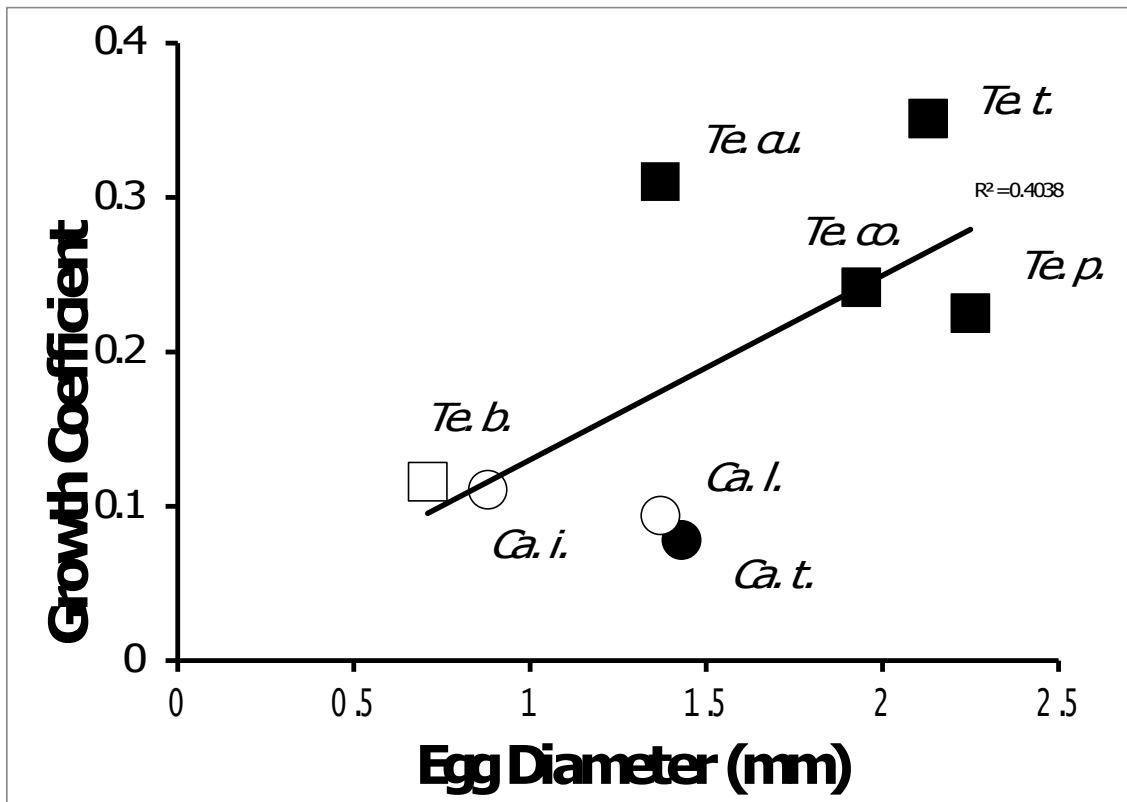


Fig. 2-3. Relationship between egg diameter and growth coefficient in eight Southeast Asian brackish and freshwater puffers that spawned in the Shimonoseki Marine Science Museum Aquarium.

*Tetraodon biocellatus* (Te. b.), *Te. cochinchinensis* (Te. co.), *Te. cutcutia* (Te. cu.), *Te. palembangensis* (Te. p.), *Te. turgidus* (Te. t.), *Carinotetraodon irrubescens* (Ca. i.), *Ca. lorteti* (Ca. l.), and *Ca. travancoricus* (Ca. t.). Squares and circles indicate *Tetraodon* and *Carinotetraodon* species, respectively. Solid and open marks indicate that the eggs were either protected or not protected by males, respectively. Regression equation:  $y$  (growth coefficient) =  $0.120x$  (egg diameter) +  $0.11$  (Doi et al., 2015).

**Table 3-1.** Spawning and subsequent developmental data for eight porcupine puffers of genera *Allomycterus*, *Chilomycterus*, *Cyclichthys* and *Diodon*, spawned in the aquarium (Doi et al., 2015)

	<i>Al. pilatus</i>	<i>Ch. antennatus</i>	<i>Ch. reticulatus</i>	<i>Ch. schoepfii</i>	<i>Cy. orbicularis</i>	<i>D. holocanthus</i>	<i>D. hystrix</i>	<i>D. nicthemerus</i>
Establishment date	Jun. 2002	Mar. 2004	Dec. 2012	Apr. 2006	Aug. 2001	Feb. 2003	Dec. 2003	May 2006
Spawning date	Dec. 2003, Jan. 2004	Apr. 2008	May 2013	May 2008	Jun. 2004	May 2004	Jul. 2005	Oct. 2007
Aquarium size (m <sup>3</sup> )	3.4	1.1	4.2	1.1	1.1	9.8	16.2	3.4
Salinity (psu)	34–35	34–35	34–35	34–35	34–35	34–35	34–35	34–35
Water temperature (°C)	18	23	25	23	25	23	26	18
Light/dark (hours)	12/12	11/13	11/13	11/13	12/12	12/12	10/14	12/12
Lightning equipment	fluorescent lamp 40 W × 2	fluorescent lamp 40 W × 2	fluorescent lamp 40 W × 2	fluorescent lamp 40 W × 2	fluorescent lamp 40 W × 2	mercury lamp 250 W × 1	mercury lamp 250 W × 2	fluorescent lamp 40 W × 2
Water surface illuminance (lx)	1000	900	540	900	900	1000	5000	1000
Approximate n. spawned eggs	3000	3000	100000	5000	1000	2000	100000	1500
Egg type	adhesive demersal	isolated epipelagic	isolated epipelagic	isolated epipelagic	isolated epipelagic	isolated epipelagic	isolated epipelagic	adhesive demersal
Fertilized or not	fertilized	unfertilized	unfertilized	fertilized*	fertilized	fertilized	fertilized	fertilized
Egg diameter (mm)**	1.76±0.16 ( <i>n</i> =23)	not measured	2.18 ( <i>n</i> =1)	not measured	2.24±0.08 ( <i>n</i> =181)	2.12±0.11 ( <i>n</i> =21)	1.90±0.05 ( <i>n</i> =20)	1.99±0.04 ( <i>n</i> =12)
Larval total length (mm)**	3.47±0.13 ( <i>n</i> =23)	—	—	—	3.53±0.09 ( <i>n</i> =48)	2.51±0.39 ( <i>n</i> =16)	3.00±0.07 ( <i>n</i> =20)	3.98±0.27 ( <i>n</i> =3)
Other porcupines kept in the same aquarium	<i>D. nicthemerus</i>	<i>Ch. antillarum</i> <i>Ch. schoepfii</i>	<i>D. holocanthus</i> <i>D. hystrix</i>	<i>Ch. antennatus</i> <i>Ch. antillarum</i>	<i>Ch. antennatus</i> <i>Ch. antillarum</i>	absent	<i>Ch. reticulatus</i> <i>D. liturosus</i>	absent
Distribution***	southern Australia Tasman Sea, New Zealand****	central West Atlantic	circumtropical	western North Atlantic	Indo-West Pacific	circumtropical	circumtropical	southern Australia

\*Fertilized with a male *Ch. antillarum* (Doi et al., 2015).

\*\*Measured with a micrometer attached to a microscope.

\*\*\*According to Leis (2006) and Froese and Pauly (2014).

\*\*\*\*Leis (2006) suggested a possibility that fish from New Zealand is a different species.



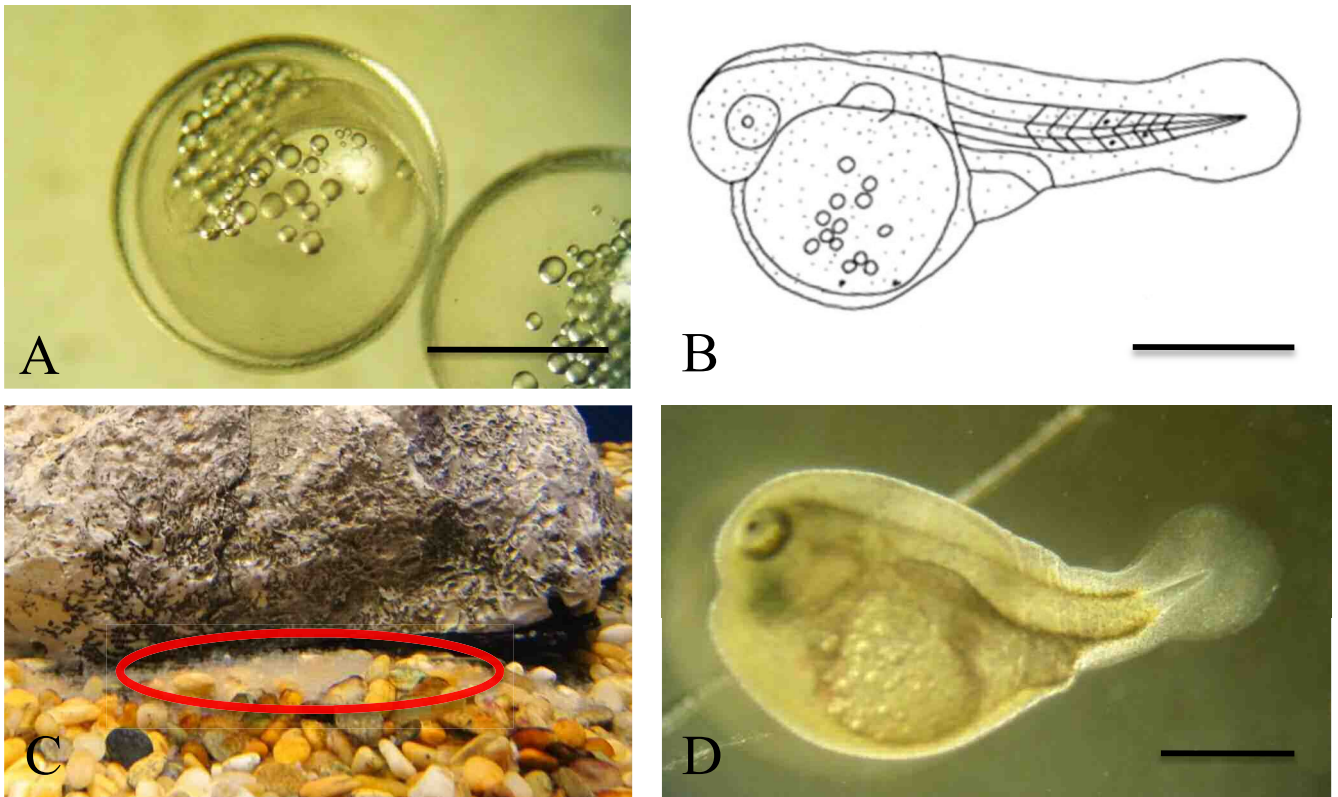


Fig. 3-1. Adhesive demersal eggs and hatched larvae of *Allomycterus pilatus* (Doi et al., 2015) . Adhesive demersal eggs with a mean diameter of 1.76 mm (A) , and line drawing of hatched larva with a mean total length of 3.47 mm for *Al. pilatus*(B). Adhesive demersal eggs on pebble/sand substrate (red ellipse) with a mean diameter of 1.99 mm(C) and hatched larva with a mean total length of 3.98 mm for *D. nithemerus*(D). Head and trunk of both larvae are covered with a “vesicular dermal sac” or “pliable shell”. Scale bars indicate 1mm.

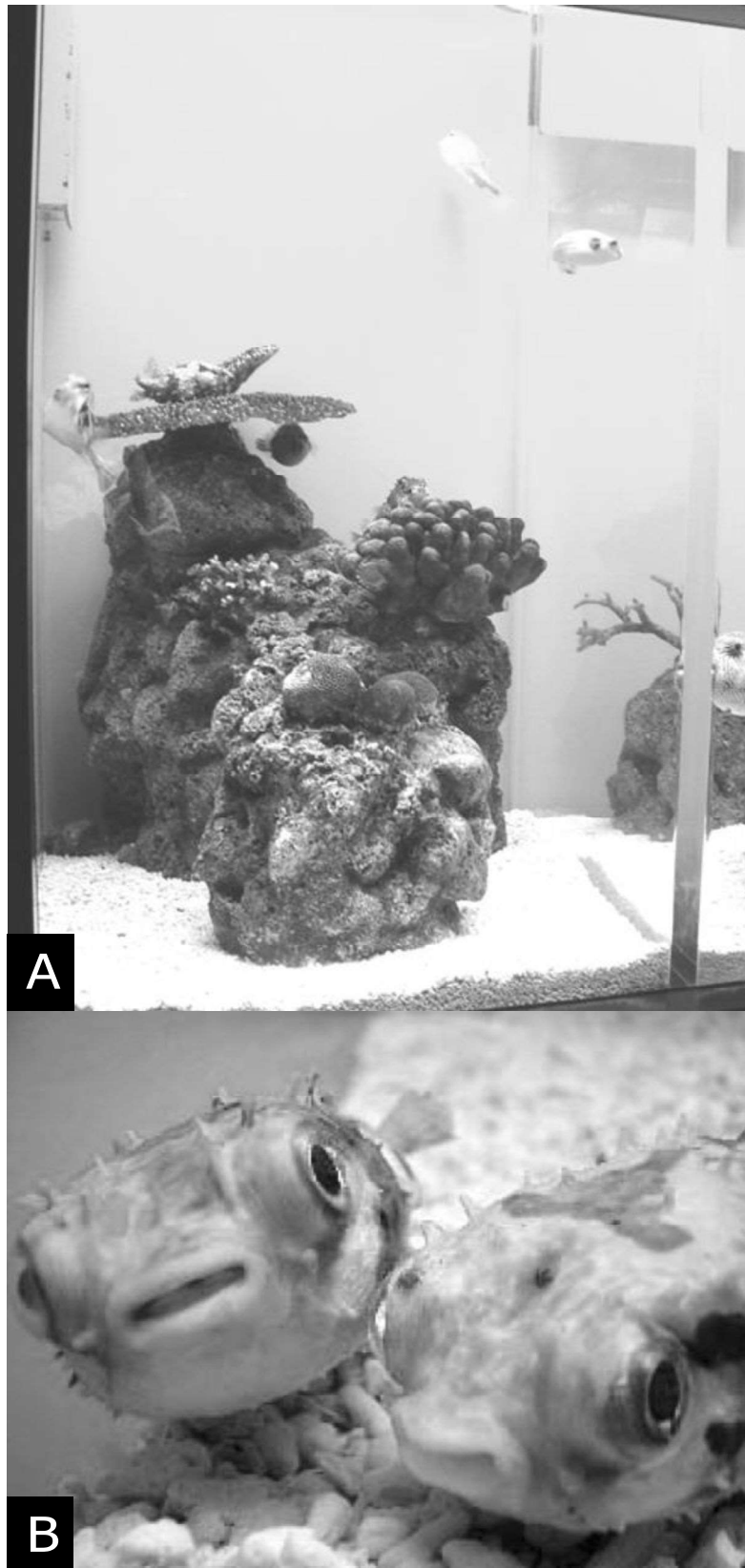


Fig. 3-2. Parental *Cyclichthys orbicularis* in the exhibition aquarium. The aquarium (1.1 m<sup>3</sup>; 0.75 × 1.00 × 1.50m) in which the parental *Cy. orbicularis* were maintained and spawned (A); parents nestling to each other on the bottom on day before spawning (B) (Doi et al., 2015).

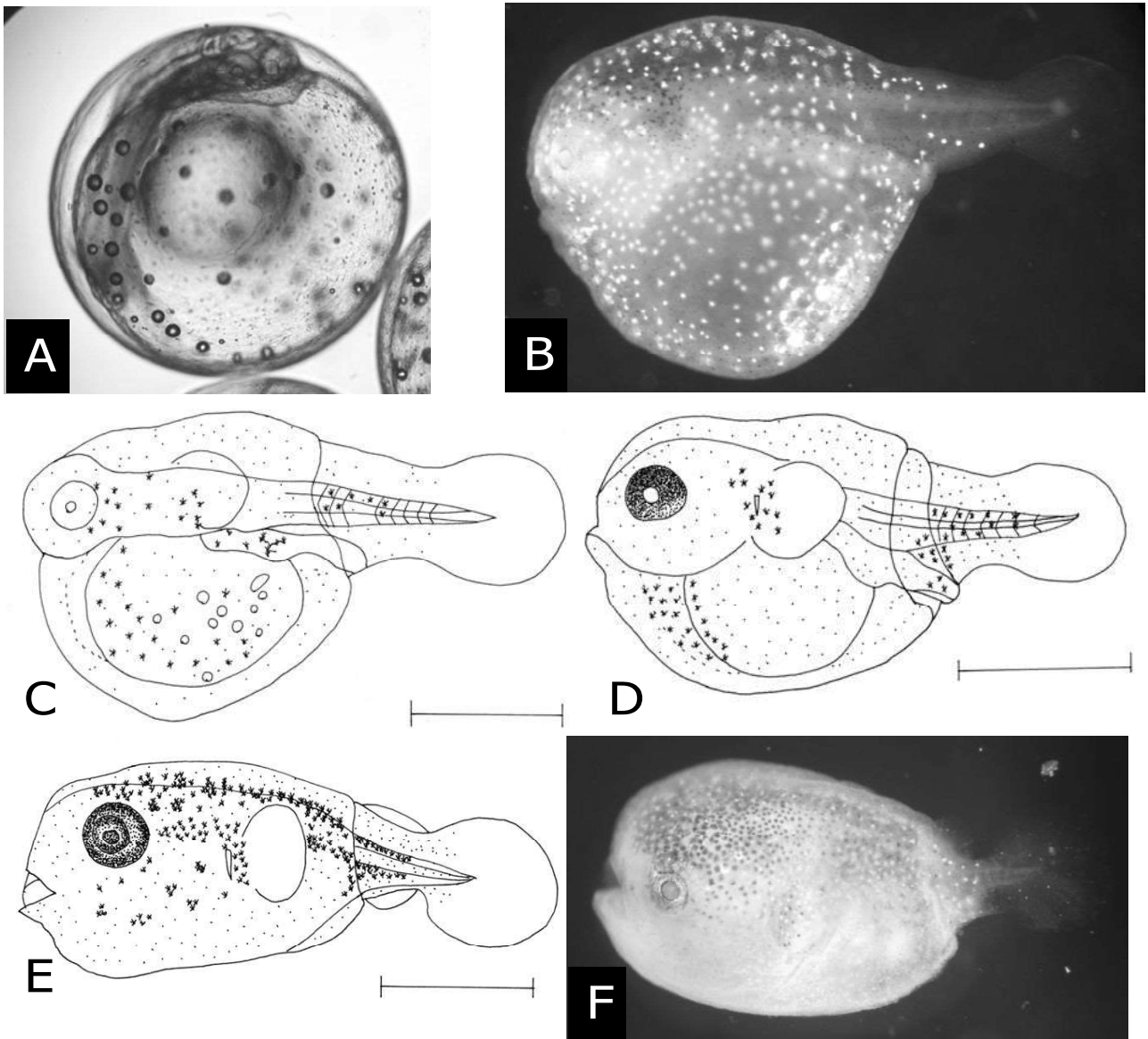


Fig. 3-3. *Cydichthys orbicularis* egg and hatched larvae. One day after spawning (2.2 mm in diameter) (A, live); hatched larvae in day 2 after spawning (3.5 mm TL), (B, live) and (C); 19 hours after hatching (3.5 mm TL) (D); two days after hatching (3.5 mm TL) (E); five days after hatching (3.7 mm TL), (F, live). Scale bars indicate 1 mm (Doi et al., 2015).

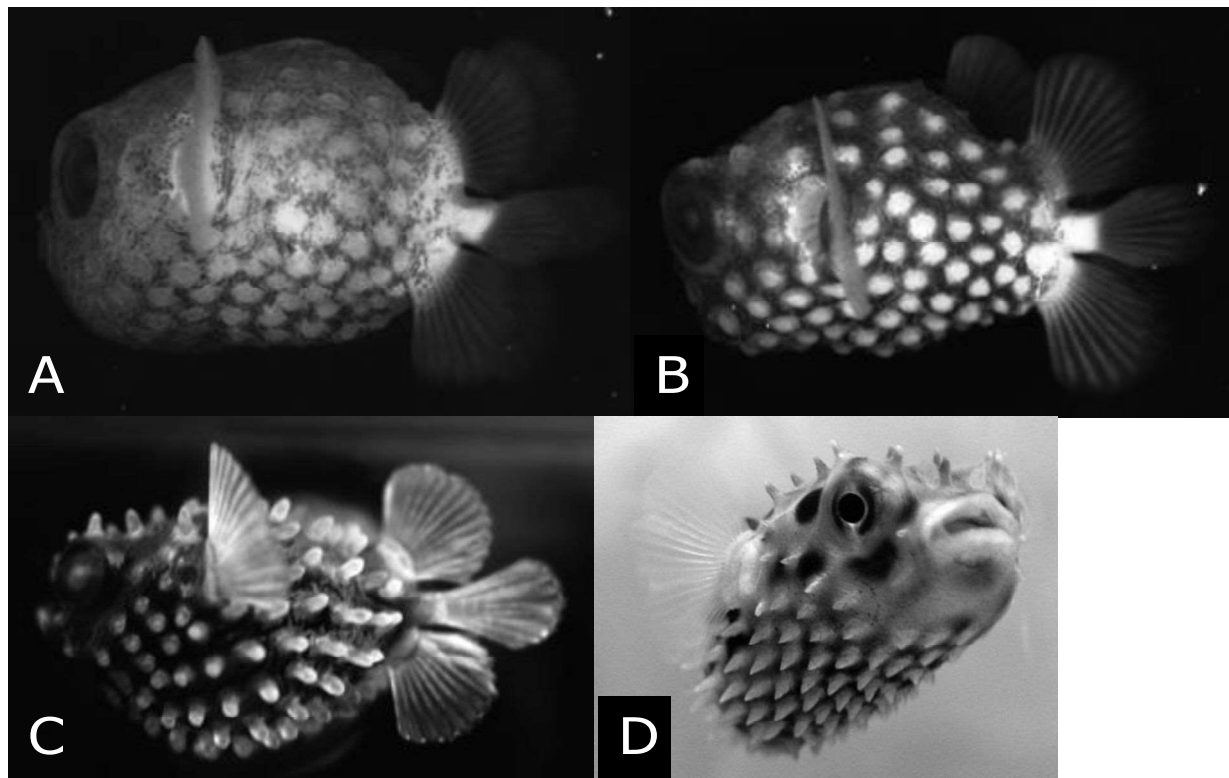


Fig. 3-4. *Gydichthys orbicularis* young fish. 17 days (7.6 mm TL) (A), 23 days (9.8 mm TL) (B), 39 days (20.8 mm TL) (C), and 69 days (about 25 mm TL) (D, live) each after hatching (Doi et al., 2015).

Table 3-2. Growth of *Cyclichthys orbicularis* until 49 days after hatching (Doi et al., 2015)

Days	Total length (mm)			<i>n</i>
	Mean	SD*	Range	
hatching	3.5	0.1	3.2-3.7	48
19 hours	3.5	0.1	3.4-3.7	11
1	3.6	0.1	3.3-3.8	11
2	3.6	0.1	3.5-3.7	11
3	3.7	0.1	3.5-3.9	10
4	3.8	0.1	3.7-3.9	9
5	3.7	0.1	3.5-4.0	10
6	3.9	0.1	3.7-4.0	8
7	3.9	0.2	3.4-4.0	9
8	3.8	0.1	3.6-4.0	5
9	4.3	0.1	4.2-4.4	3
17	7.6	-	-	1
23	9.8	-	-	1
39	16.9	5.5	13.0, 20.8	2
43	14.6	2.3	11.9-20.0	10
44	13.4	2.0	11.1-16.6	7
45	15.6	2.4	12.7-19.3	7
49	20.0	-	-	1

\*Standard deviation.

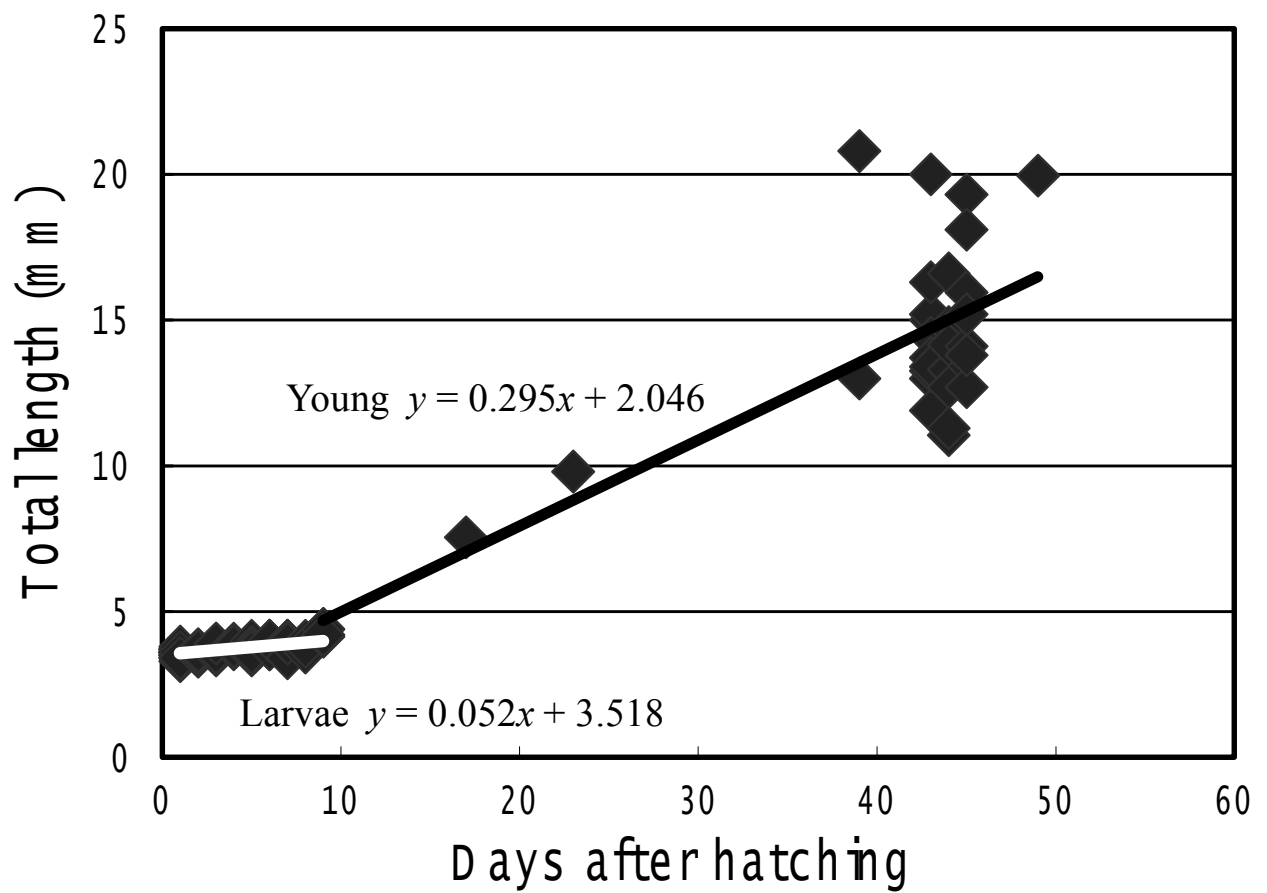


Fig. 3-5. Growth of *Cydichthys orbicularis* to 49 days after hatching. Growth rate to 9 days after hatching and that from 9 days to 49 days are indicated by regression equations between total length (y) and days after hatching (x) (Doi et al., 2015).