

# 染色体操作によるサケ科魚類の育種に関する研究—I

## クローンアマゴの特性について

桑田知宣・都竹仁一・武藤義範・中山一郎\*

Studies on Breeding of Salmonid Fishes by Chromosome Manipulation—I

Characteristics of Clonal Amago Salmon, *Oncorhynchus masou ishikawae*

Tomonori KUWADA・Niichi TUZUKU

Yoshinori MUTO・Ichiro NAKAYAMA\*

近年、雌性発生の誘起が可能となり、この技術を応用することによってクローンを作出することが数種の養殖対象種で確認されている<sup>1, 2, 3)</sup>。これらのクローンは、卵割阻止型雌性発生魚を親魚とすることによって2世代目に得られ、通常交配に比べて短い期間で純系を作出できる。また、第一世代である卵割阻止型雌性発生魚が完全同型接合体であることから、悪性の劣性遺伝子はこの世代で集団から排除される。さらに、卵割阻止型雌性発生魚では遺伝分散が拡大するため、各形質の遺伝率が高くなると考えられ、第一世代で選抜を加えることによって大きな選択反応が期待される<sup>4)</sup>。このように雌性発生を応用したクローン作出技術には育種を行う上での利点が多いため、この技術の育種への応用が試みられようとしている。その場合、育種目的とする形質によってその効果が異なると考えられる。従って、形質ごとにこの技術を育種に応用した場合の有効性を評価する必要がある。そこでその基礎資料を得るために、アマゴのクローンを作出し、その成長、相分化、再生産特性を調査した。

なお、この研究は、地域バイオテクノロジー実用化技術研究開発促進事業の一部として実施された。

## 材料及び方法

### 1. 供試魚の作出

供試魚の作出経歴を第1図に示した。雌性発生第2代（クローン）の作出は、1991年秋に行った。親魚には、1989年秋に当場飼育のアマゴより作出した卵割阻止型雌性発生魚3尾を用いた。各親魚ごとに極体放出阻止型雌性発生魚を作出し3群の雌性発生第2代を得た。雌性発生は、紫外線で遺伝的に不活性化したアマゴ精子を媒精し誘起した<sup>5)</sup>。精子の遺伝的不活性化は、人工精漿<sup>6)</sup>で100倍希釀した精液に2,400ergs/mm<sup>2</sup>の紫外線を照射し行った。ゲノムの倍化は、媒精6分後に受精卵に温度処理（27℃の温水に23分間浸漬）を加え行った。雌性発生第2代の対照として交配区を設けた。各交配区は、各雌性発生第2代と同腹の卵に、1尾の0年魚早熟雄魚より採精した精子を媒精し作出了。各交配区ごとに異なる雄魚を使用した。使用した雄魚は、他の養魚場由來の個体を用いた。交配区以外の対照として全雌アマゴを用いた。全雌アマゴは、当場飼育のスモルト系アマゴに由来し、性転換雄を利用し作出了<sup>7)</sup>。

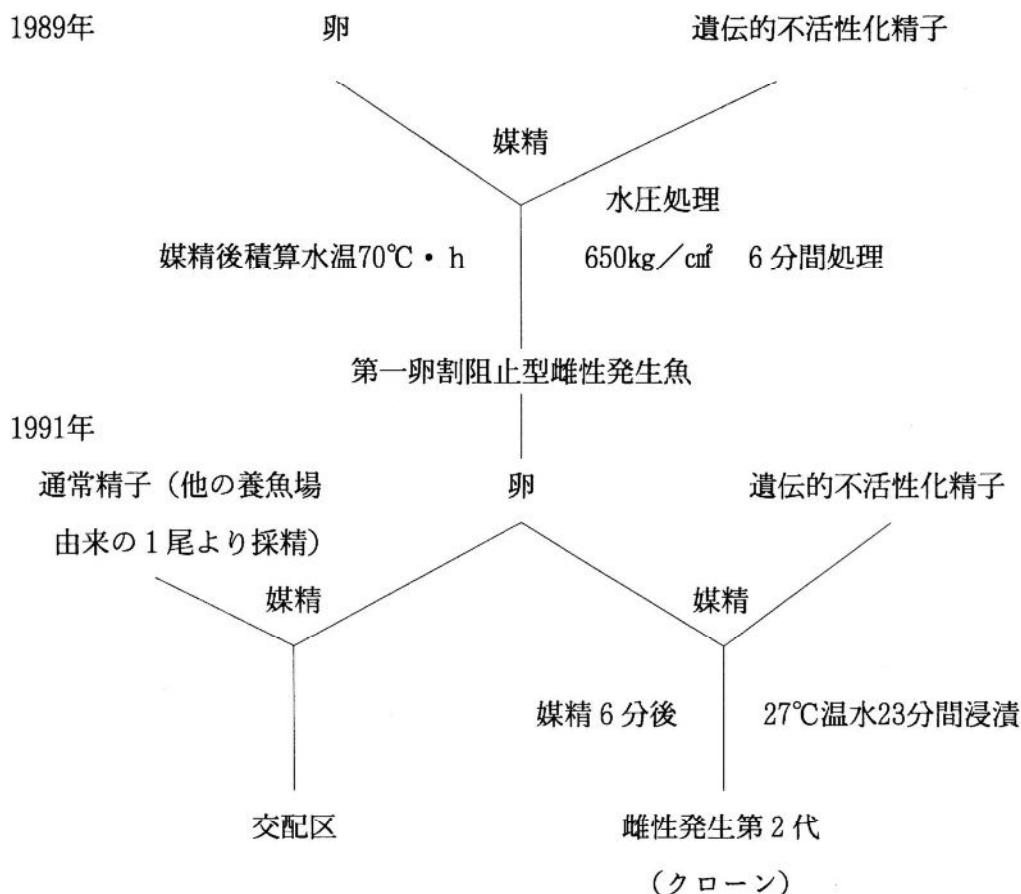
### 2. クローンの確認

クローンの確認は、鰓蓋移植による拒絶の有無とDNAフィンガープリントの一致によって行った。

#### 1) 鰓蓋移植

各雌性発生第2代について10～20尾の個体に鰓蓋移植

\* 養殖研究所玉城庁舎細胞工学研究室



第1図 供試魚の作出経歴

を行った。鰓蓋移植の方法は、Hanらの方法<sup>1)</sup>に従った。1個体に移植する鰓蓋は、自己由来、同一群の他個体由来、その雌性発生第2代の対照である交配区の個体由来の3片とした。移植36~170日後に隨時移植鰓蓋の拒絶の有無を調査した。

### 2)DNAフィンガープリント

雌性発生第2代の1及び3と全雌アマゴについてDNAフィンガープリントを調査した。DNAフィンガープリントは藤川らの方法に従って得た<sup>8)</sup>。DNAは血液より抽出した。抽出したDNAを制限酵素(Hae III)で切断、アガロースゲル電気泳動を行い、ゲルドライヤーで乾燥固定後<sup>32</sup>Pで標識した合成オリゴヌクレオチドプローブ(GGAT)<sub>4</sub>を用いてゲルダイレクトハイブリダイゼーションを行い、オートラジオグラフィーによりDNAフィンガープリントを得た。

### 3. 特性評価

#### 1)成長及び相分化

各クローン及び各交配区の正常浮上魚のみを浮上期から1992年5月下旬まで別々に飼育した。5月下旬からは、各クローンを脂鰓の切除によって標識しその交配区と混

合飼育した。成長及び相分化の調査は、1992年5月28日、6月29日、8月17日、12月11日、1993年2月1日、3月23日に行なった。成長の調査は、各区50~106尾を無作為に抽出し個体ごとに体重を測り、平均体重、変動係数を求めた。相分化状況も合わせて調査した。スマルト化的判定は、背鰭及び尾鰭のツマ黒と体表面の銀白色化を指標にして肉眼観察により行なった。調査期間中の飼育池は、8月26日まではFRP水槽(0.65m×1.2m, クローン3と交配区3は0.9m×1.7m)、それ以降は並列に設置してある屋外コンクリート池(1.35m×1.8m, クローン3と交配区3は1.35m×3.4m)を用いた。試験開始時と8月26日の各区の収容尾数と飼育密度を第1表に示した。飼育は、8月26日までは井戸水、それ以降は河川水で行った。飼育水の水温変化は第2図に示した。給餌は、稚魚期は1日2回、成魚期は1日1回の飽食給餌とした。

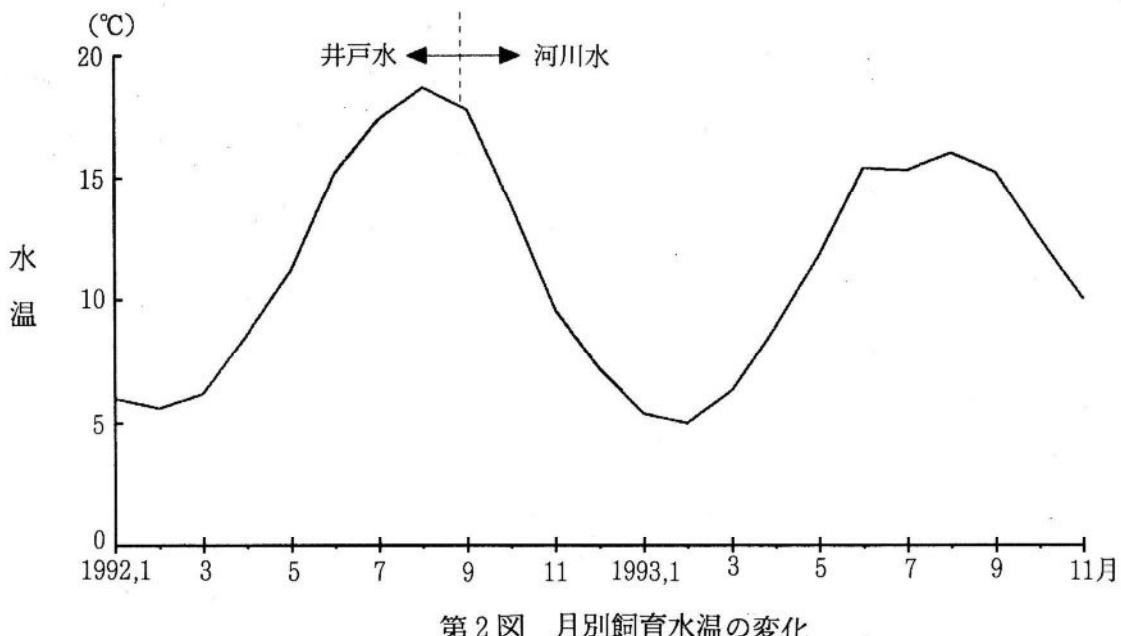
#### 2)再生産形質

1993年5月にクローン1~3と交配区1の各40尾をPT-TAGで標識し、産卵期まで屋外コンクリート池(5.7m×2.3m)で河川水によって混合飼育した。飼育水の

第1表 収容尾数と飼育密度

区	5月28日		8月26日	
	収容尾数 尾	飼育密度 尾/㎡	収容尾数 尾	飼育密度 尾/㎡
クローン1	167	334	156	102
交配区1	93		91	
クローン2	61	157	61	51
交配区2	61		61	
クローン3	284	256	281	84
交配区3	107		102	

飼育密度は小数点以下を切り上げて求めた。



第2図 月別飼育水温の変化

水温変化は第2図に示した。給餌はライトリップの給餌率表の100%を目安に与えた。産卵期に個体別に排卵時期、平均卵重、採卵重量、採卵粒数を調査し各区ごとに集計し比較した。採卵は個体別に切開法により行ない、卵を等調洗卵液の入った容器に回収した。採卵重量は、等調洗卵液を水切りして測定した。卵重は1粒ずつ0.1mgまで秤量し、1個体につき20粒ずつ調べた。採卵粒数は平均卵重で採卵重量を除して求めた。排卵時期については、当場の屋外コンクリート飼育池で河川水を用いて飼育していた全雌アマゴについても調査しクローンとの比較を行なった。

## 結 果

### 1. 供試魚の作出

作出結果を第2表に示した。作出を行った全ての親魚群について正常魚の浮上が認められたが、作出成績は各親魚群ごとに異なっていた。雌性発生第2代と交配区の比較では、交配区の発眼率、正常魚出現率が高かった。

### 2. クローンの確認

いずれの雌性発生第2代においても交配区の個体由來の移植片は全て拒絶され、自己及び同一雌性発生第2代の他個体由來の移植片は全て活着した。

雌性発生第2代の1及び3と全雌アマゴのDNAフィンガープリントを第3図に示した。全雌アマゴでは各個

第2表 供試魚の作出結果

作出月日	試験区	供試卵数	発眼率	正常魚出現率
'91 10/23	雌性発生第2代1 交配区1	383 108	55.9 94.4	44.1 86.1
11/5	雌性発生第2代2 交配区2	254 78	42.5 83.3	27.2 78.2
11/11	雌性発生第2代3 交配区3	593 122	65.7 83.0	53.6 78.2

発眼率、正常魚出現率は供試卵数に対する割合



第3図 各区のDNAフィンガープリント

体が異なるバンドパターンを示したのに対し、雌性発生第2代1及び3では群内のバンドパターンが一致していた。

### 3.成長及び相分化

各クローン及び交配区の餌付け100及び200日後の生残率を第3表に示した。なお、調査時に人為的ミスにより斃死した個体は最初から存在しなかったものとして生残率を算出した。生残率は、各区とも高く、餌付け100日以後はほとんど斃死は見られなかった。クローンと各交配区との比較では、若干クローンの斃死が多い傾向が見られたが、有意な差 ( $P < 0.05$ ) は、餌付け200日後のクローン2とその交配区との間にしか認められなかった。各クローン間の比較では、クローン1の生残率が有意に高かった ( $P < 0.01$ )。

各クローン及び交配区の体重の平均値と変動係数の推移を第4～6図に示した。クローンとその交配区の成長を比較すると、それらには一定の傾向は見られずクローン1及び3は交配区より成長が悪く、逆にクローン2は交配区より成長が良かった。それらの変動係数を比較すると、8月17日の調査まではいずれのクローンもその交配区より変動係数が小さかった。しかし、12月11日の調査以降クローン1及び3の変動係数は交配区のそれより

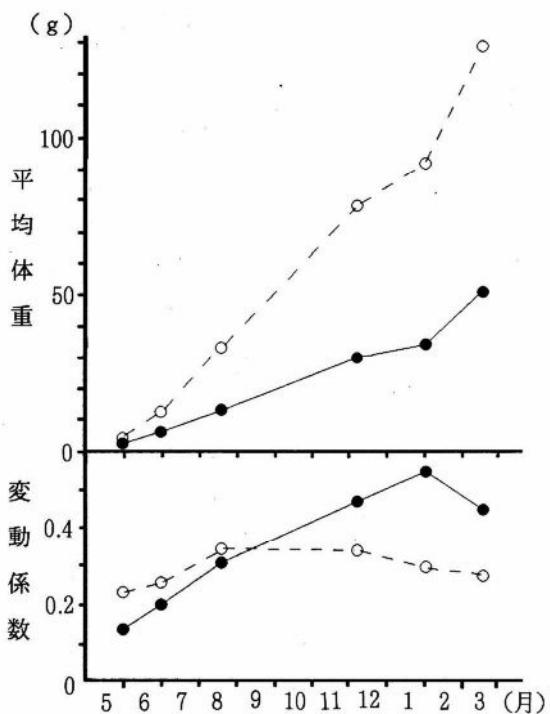
第3表 各クローン及び交配区の生残率

区	餌付け100日後 生残率 (%)	餌付け200日後 生残率 (%)
クローン1	99.4	98.8
交配区1	100	100
クローン2	93.9	92.4 *
交配区2	100	100
クローン3	92.5	92.2
交配区3	93.0	93.0

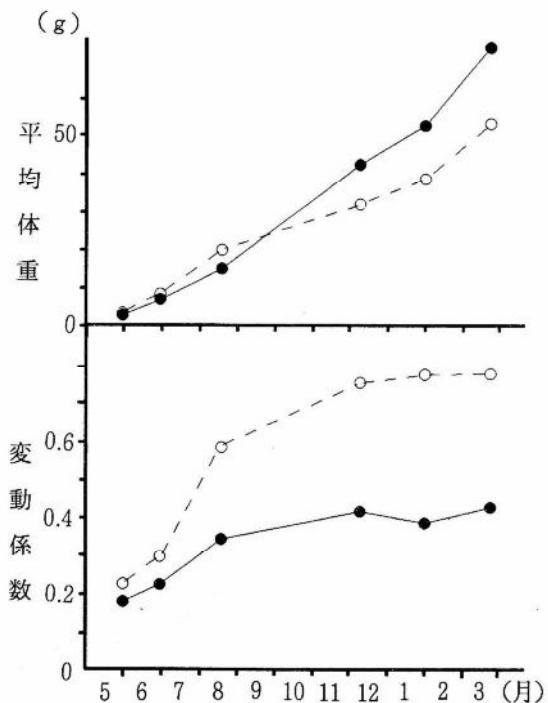
\*は交配区とクローンの間に有意差有り ( $P < 0.05$ )

大きくなった。

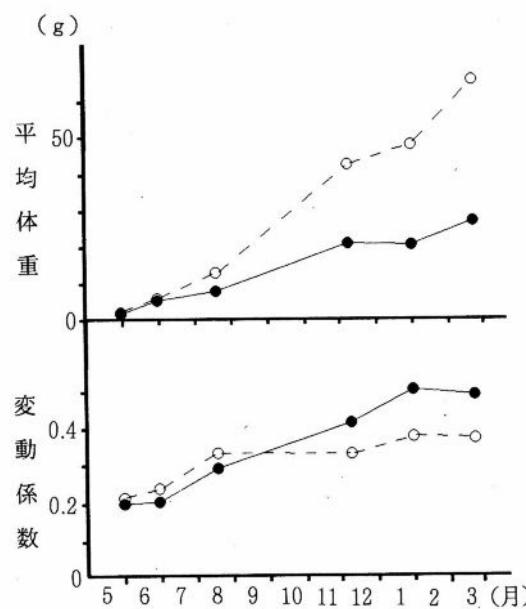
各クローン及び各交配区の1991年8月17日、12月11日、1992年2月1日、3月23日の体重組成と相分化状況を第7～12図に示した。各区の2月1日の各相ごとの出現率、平均体重と変動係数を第4表に示した。各クローンは、8月17日の調査時には全てパーで、群の体重組成は単峰性であった。12月11日の調査時にはパー及びスマルトへの相分化が認められた。特にクローン2及び3では、相分化に伴って群の体重組成が二峰性へと変化した。それぞれの峰の相は体サイズの小さい方がパー、大きい方がスマルトであった。相分化状況を各クローン間で比較すると、クローン3は小さなサイズでもスマルト化しスマ



第4図 クローン1と交配区1の体重の平均値と変動係数の推移  
● クローン1 ○ 交配区1



第5図 クローン2と交配区2の体重の平均値と変動係数の推移  
● クローン2 ○ 交配区2



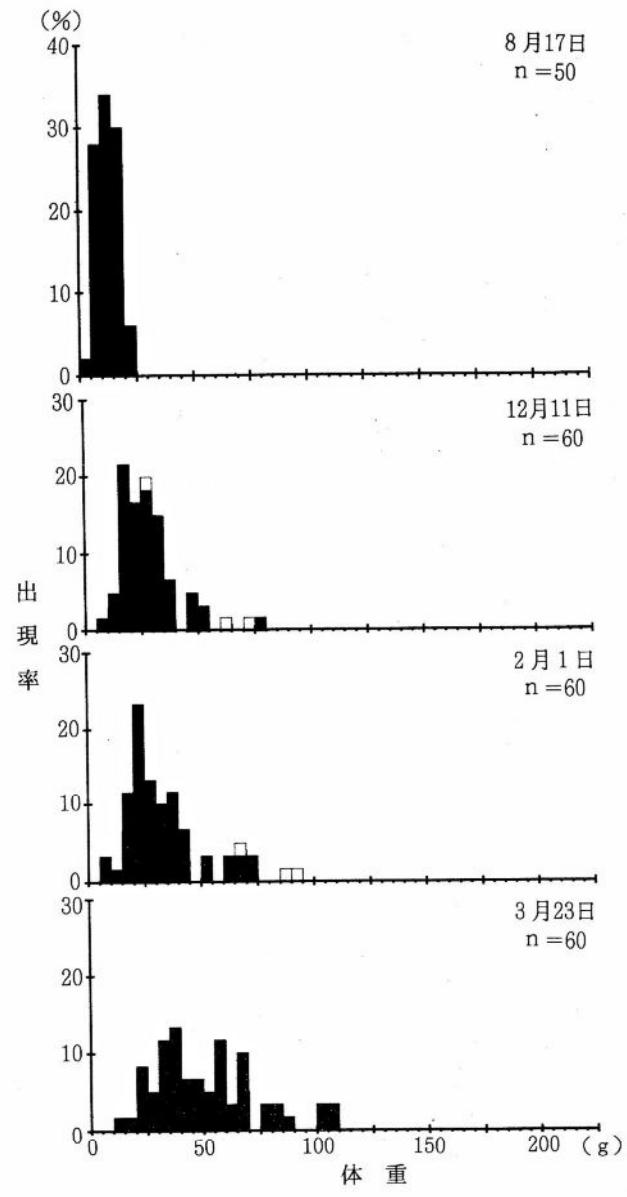
第6図 クローン3と交配区3の体重の平均値と変動係数の推移  
● クローン3 ○ 交配区3

ルト化率も高かった。逆にクローン1では比較的大型の個体でもバーを維持する傾向があり、スモルト化率が低かった。各交配区についても、12月11日の調査時には、バー、スモルト及び成熟雄への相分化が認められた。交配区2では、他の2つの交配区に比べてスモルトまたは成熟雄への相分化個体の割合が少なかった。2月1日調査時の各クローンとその交配区の各相ごとの平均体重を比較するといずれも交配区の平均体重がクローンのそれを上回っていた。同様に変動係数を比較すると、クローン1と交配区1のバー以外の全ての組み合わせで、クローンの変動係数は交配区のそれに比べて小さかった。

3月23日調査時には、クローン1のスモルトであった個体は全て脱スモルトしていたが、クローン2ではその途中に当たる個体が多く観察され、クローン3では脱スモルト個体は観察されなかった。

## 2)再生産形質

各クローン及び交配区1と全雌アマゴの排卵日の比較を第13図に、各クローンと交配区1の親魚の体重と平均卵重の関係を第14図に、親魚の体重と採卵重量の関係を第15図に、親魚の体重と採卵粒数の関係を第16図に、親魚の体重、平均卵重、採卵重量、採卵粒数の平均値、変動係数、親魚の体重との相関係数及びその回帰式を第5



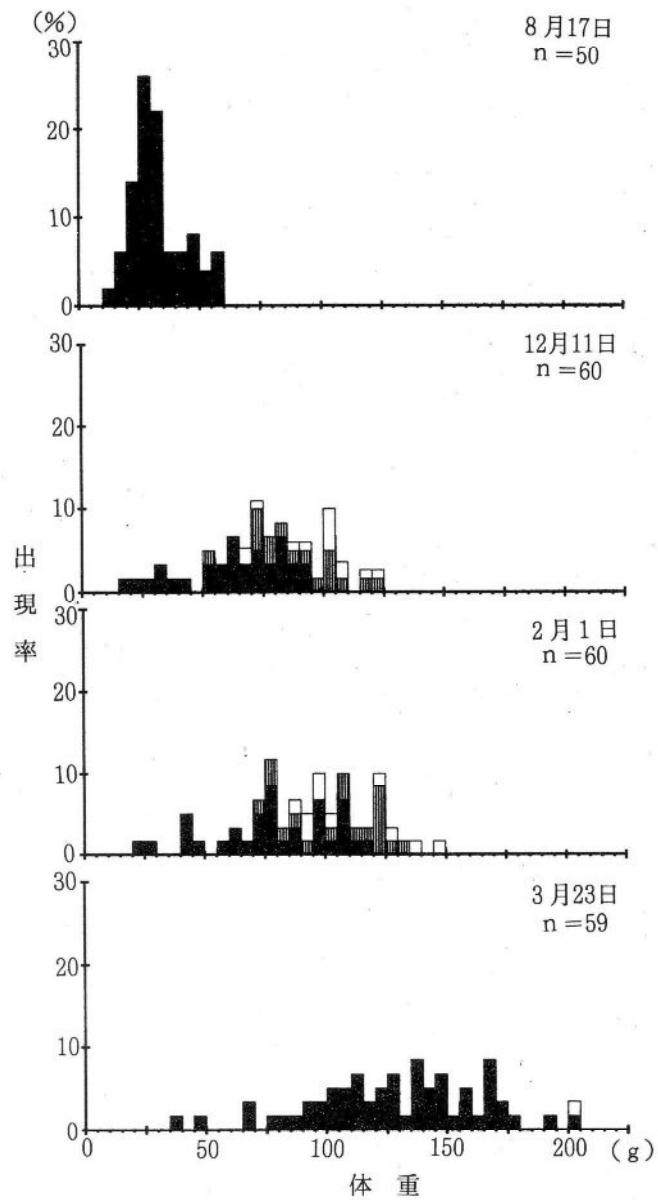
第7図 クローン1の相分化状況

■ バー □ スモルト

表に示した。

各クローンの排卵日は、交配区1に比べると特に集中しているわけではなかったが、当場飼育の全雌アマゴに比べると集中する傾向が見られた。特にクローン1と3の排卵日は重なることなく分離していた。

各クローンの卵重の変動係数は交配区1のそれより小さかった。しかし、採卵重量と採卵粒数の変動係数には、各クローンと交配区1との間に一定の傾向が認められなかった。採卵重量及び採卵粒数と体重との間にはいずれ

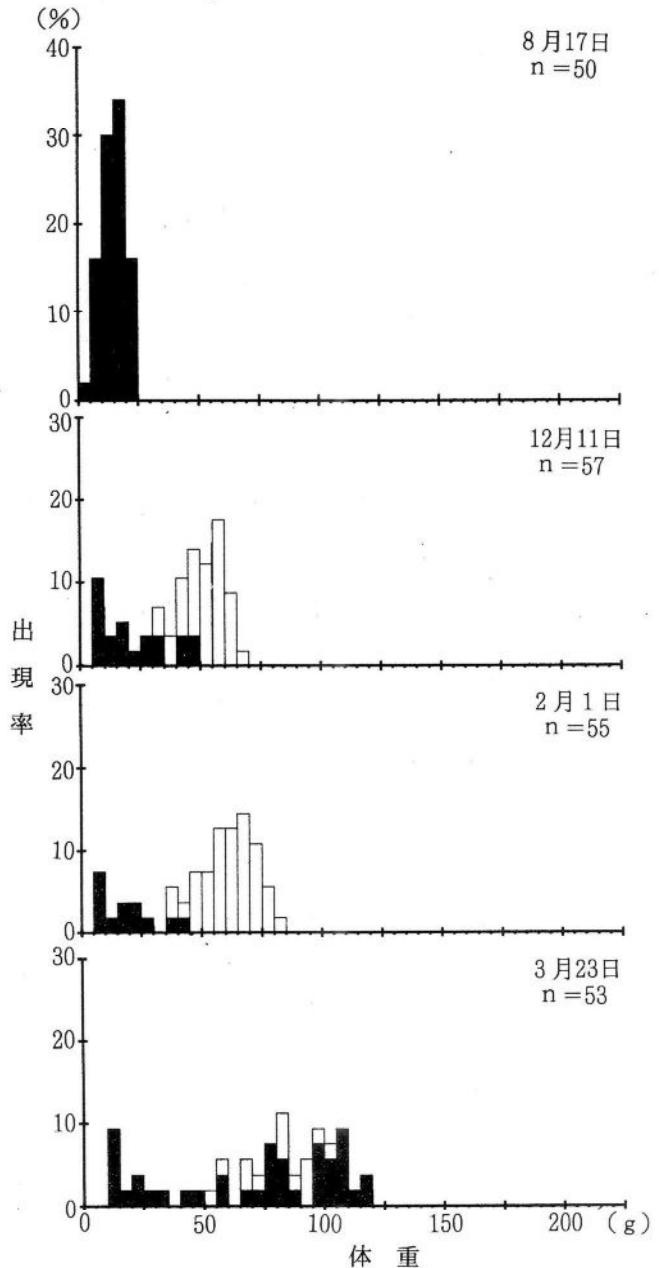


第8図 交配区1の相分化状況

■ パー ■ 成熟雄 □ スモルト

の群でも相関関係が認められた ( $P < 0.01$ )。卵重と体重との間には、クローン2と3で相関関係が認められたが ( $P < 0.01$ )、クローン1と交配区1では相関が認められなかった。採卵重量及び採卵粒数と体重との相関係数を各区で比較すると、各クローンの相関係数は交配区1のそれに比べて大きかった。

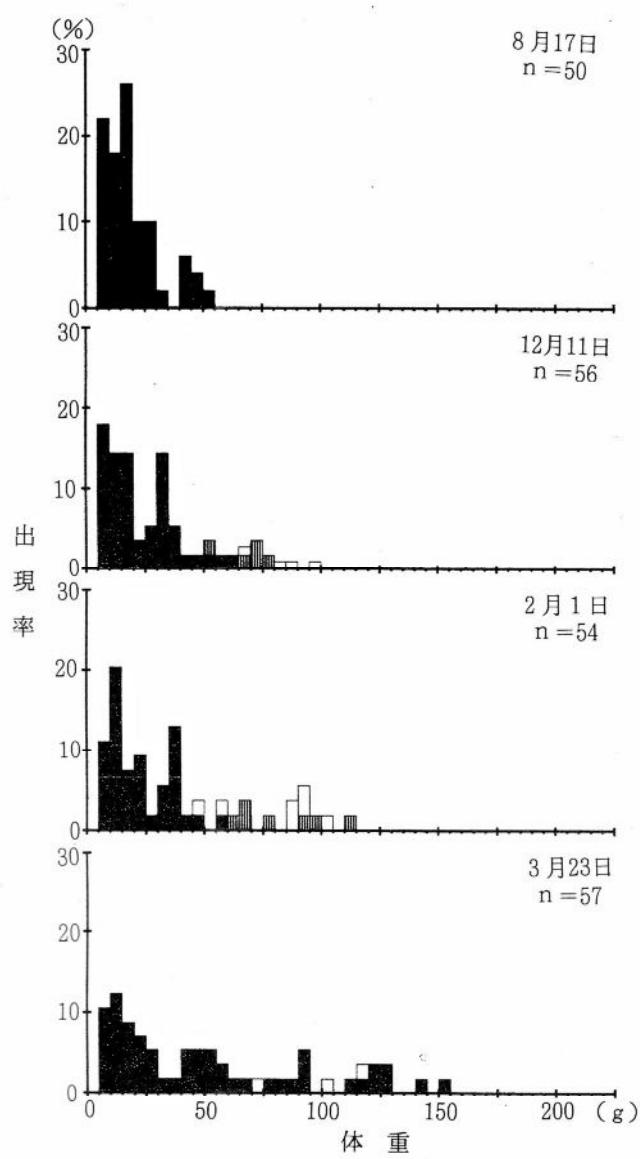
## 考 察



第9図 クローン2の相分化状況

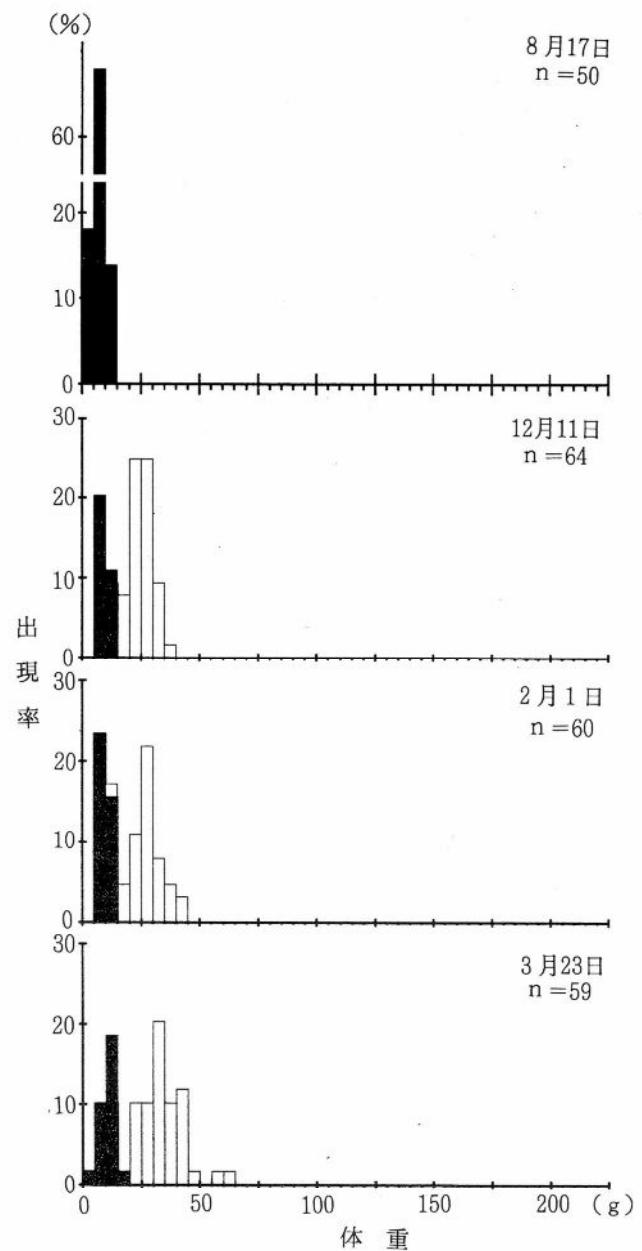
■ パー □ スモルト

鰓蓋移植を用いたクローンの確認については、アユ<sup>1)</sup>、ヒラメ<sup>2)</sup>、アマゴ<sup>3)</sup>で報告されており、本試験の結果もそれらと一致していた。各雌性発生第2代内の組織適合性遺伝子は同一になっていると考えられる。また、DNAフィンガープリントの調査結果もアユ<sup>9)</sup>、ヒラメ<sup>10)</sup>のクローンで同様の結果が報告されており、雌性発生第2代の1及び3の集団は遺伝的に均質であると考えられた。このことから、今回供試した雌性発生第2代はいずれもクローンであると考えられた。



第10図 交配区2の相分化状況

■ バー ■ 成熟雄 □ スモルト



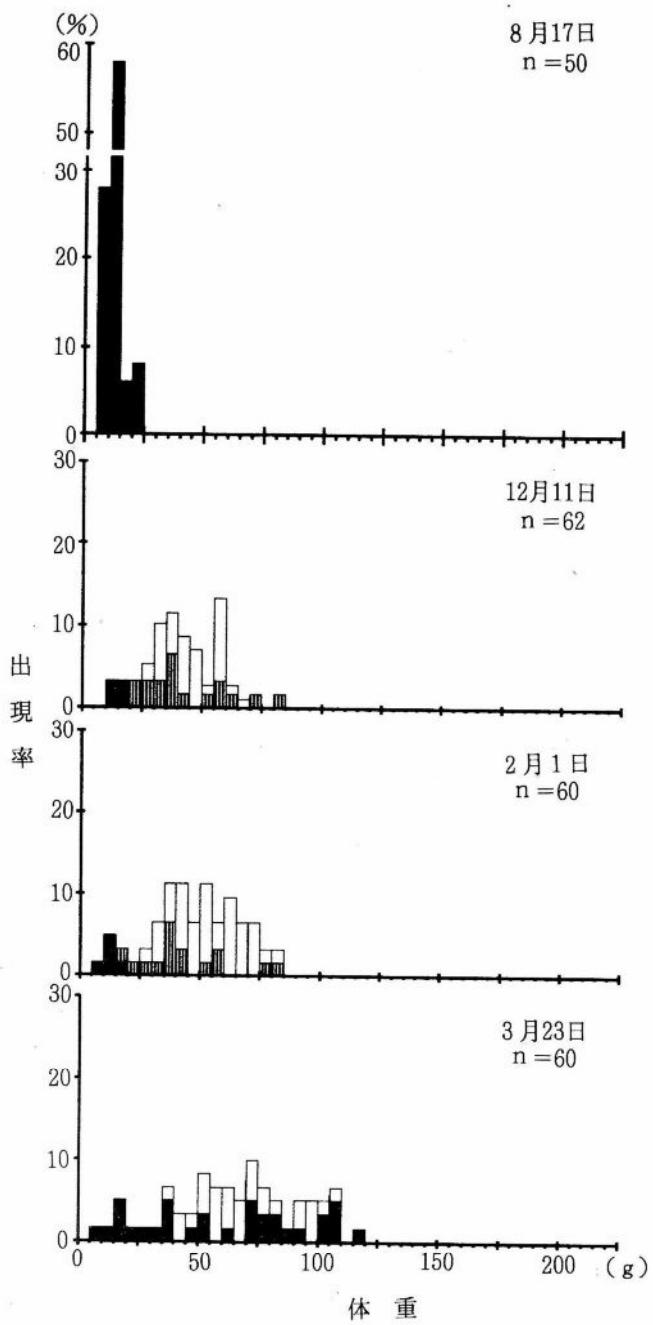
第11図 クローン3の相分化状況

■ バー □ スモルト

アマゴについても他のサケ科魚類と同様に、スモルト化の過程で血中の甲状腺ホルモン<sup>11, 12)</sup>、成長ホルモン（坂本 未発表）の濃度が上昇することが知られており、スモルト化に伴って成長が促進される<sup>13)</sup>。今回の試験で、クローン2及び3の群の体重組成が相分化に伴って単峰性から二峰性へと変化したのはこのためであり、遺伝的に同一であっても相によって成長が異なることが再確認された。

スモルトの出現率、出現サイズは、系統によって異なることが知られている<sup>13, 14, 15)</sup>。今回の試験においても

各クローンにおいてスモルトの出現サイズが明瞭に異なり、その結果出現率に大きな違いが認められている。同一群を分養して給餌量を変えた場合成長が良い群ほどスモルト化率が高くなることが知られているが<sup>16)</sup>、本試験で最もスモルト化率が高かったのは、最も成長の悪いクローン3であった。スモルト化に影響を及ぼすとされる水温<sup>17, 18, 19)</sup>、光周期<sup>19, 20)</sup>は同一であったことより、スモルトの出現サイズは遺伝的な支配を受けていると考えられ、それがクローンによって育種可能であることが示された。



第12図 交配区3の相分化状況  
■ パー ▨ 成熟雄 □ スモルト

クローンと交配区の各相ごとの平均体重を比較すると、全ての組み合わせで交配区の平均体重が大きいことより、交配区の成長がクローンより優れていたことがわかる。この原因として、ヘテロシス効果または交配した雄の持っていた優良遺伝子の影響が考えられるが定かではない。

クローン2と交配区2の比較でクローン2の平均体重が大きくなった原因是、クローン2ではスモルト個体が多くなったのに対して、交配区2ではパー個体の割合が多

かったためと考えられる。

アユ<sup>21, 22)</sup>、ヒラメ<sup>2)</sup>ではヘテロクローンの成長優良性が報告されている。本試験においても交配区の成長がクローンより優れていた。その原因は定かではないものの、アマゴについても、アユ、ヒラメと同様にヘテロクローンによる成長性の向上を期待できると考えられる。今後はヘテロクローンの作出を行い、その特性を評価する必要がある。

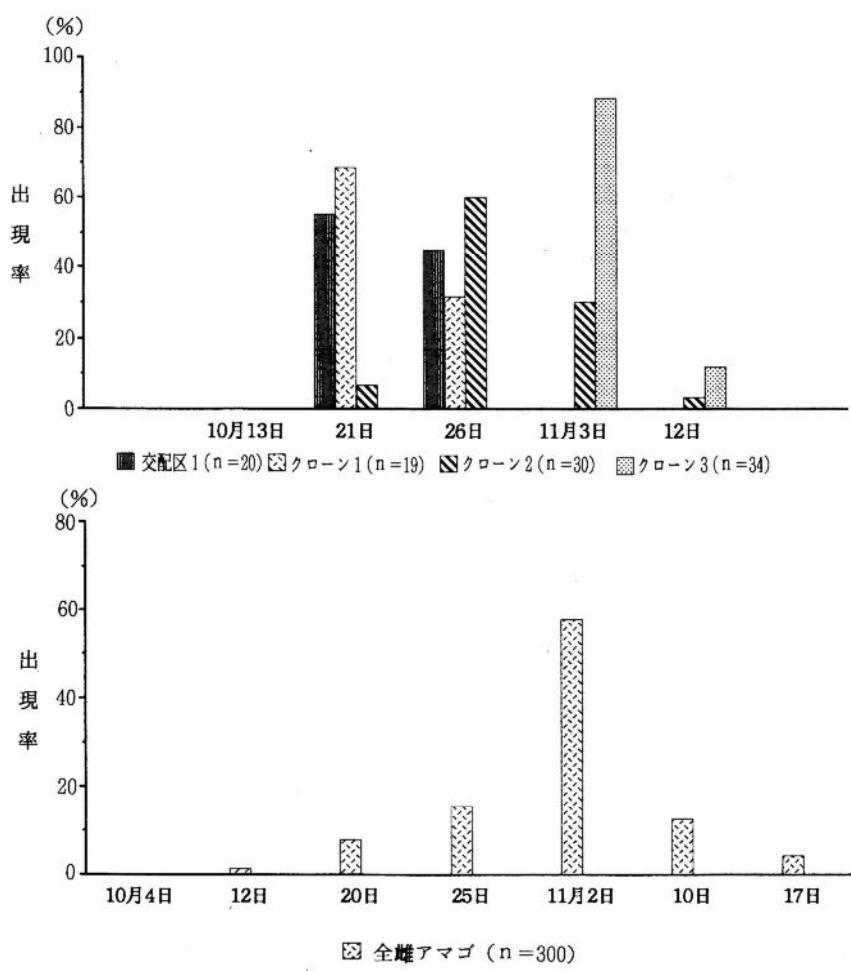
集団内の量的形質のバラツキは、遺伝的な影響と環境の影響によって生じる。クローンは集団内が遺伝的に均質であるため遺伝変異が消失する。このためクローンの量的形質の表現変異は縮小すると考えられており、実際にアユ<sup>22)</sup>、ヒラメ<sup>2)</sup>で確認されている。そこで相対的なバラツキ度合を示す変動係数についてクローンとその交配区を比較すると、今回の試験でも各クローンの稚魚期の体重の変動係数は、交配区のそれに比べて小さく、これらの報告と一致していた。相分化期においても、各相ごとに比較すると、クローンの体重の変動係数が交配区のそれに比べて小さい例が多かった。しかし、クローン3の例のように、群全体でみると相分化の影響によってクローンの変動係数が交配区よりも大きくなってしまう場合がある。

アユのクローンでは、排卵日、卵径、GSI、採卵率において表現変異の縮小が確認されている<sup>23)</sup>。本試験においても排卵日や卵重は同様の結果となり、アマゴのクローンにおいてもこれらの形質で表現変異が縮小することが確認された。また、クローン1と3の間で排卵日、卵重が特徴的に異なっていたことより、それらがクローンによって育種可能であることが示された。

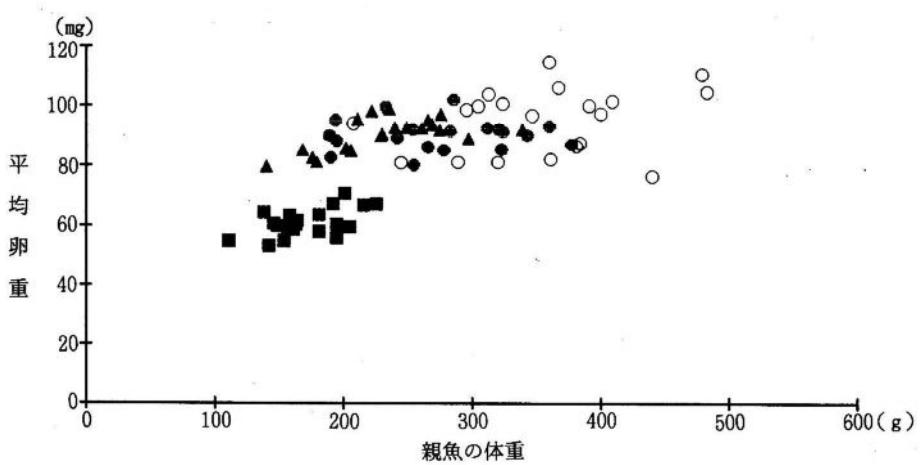
クローンは遺伝的変異を含まないので、その量的形質の表現分散は環境分散とみなすことが出来る。したがって、その表現分散を通常魚のそれと比較することによって、容易に形質の遺伝率 = (通常魚の分散 - クローンの分散) / 通常魚の分散 を推定することが出来ると考えられる<sup>24)</sup>。そこで本試験で得られたクローン1と交配区1の値より、交配区1について形質ごとに遺伝率を算出し第6表に示した。ただし、大きさの異なる2群についてその分散を単純に比較しても、バラツキの要素そのものの比較にはならないため、大きさの差の影響を排除するために各データごとに平均値に対する相対値  $X_i/\bar{X}$  を算出してその分散から遺伝率を推定した。なお、平均値に対する相対値の分散は、変動係数 (標準偏差/平均値) の2乗で求められる。この結果によると採卵重量や採卵粒数の遺伝率は、負の値となりこれらの形質には遺伝性

第4表 各区における成長と相分化状況の比較 (1992年2月1日調査)

試験区	区分	スモルト	バー	成熟雄	全 体
クローン1	出現率(%)	5	95	—	100
	平均体重(g)	83.2	31.7	—	34.3
	変動係数	0.12	0.48	—	0.55
交配区1	出現率(%)	17	53	30	100
	平均体重(g)	110.7	77.7	105.9	91.6
	変動係数	0.19	0.33	0.18	0.30
クローン2	出現率(%)	78	22	—	100
	平均体重(g)	61.9	18.9	—	52.5
	変動係数	0.17	0.57	—	0.39
交配区2	出現率(%)	13	74	13	100
	平均体重(g)	80.7	22.8	83.4	38.2
	変動係数	0.23	0.59	0.21	0.78
クローン3	出現率(%)	58	42	—	100
	平均体重(g)	27.6	9.5	—	20.1
	変動係数	0.23	0.27	—	0.51
交配区3	出現率(%)	67	8	25	100
	平均体重(g)	54.2	13.1	43.9	48.2
	変動係数	0.25	0.29	0.41	0.38

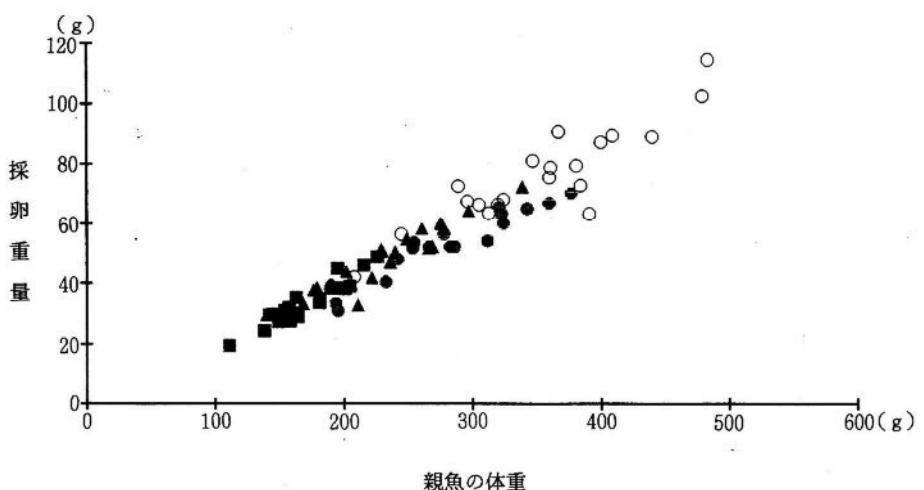


第13図 各区の採卵の比較



第14図 平均卵重と体重

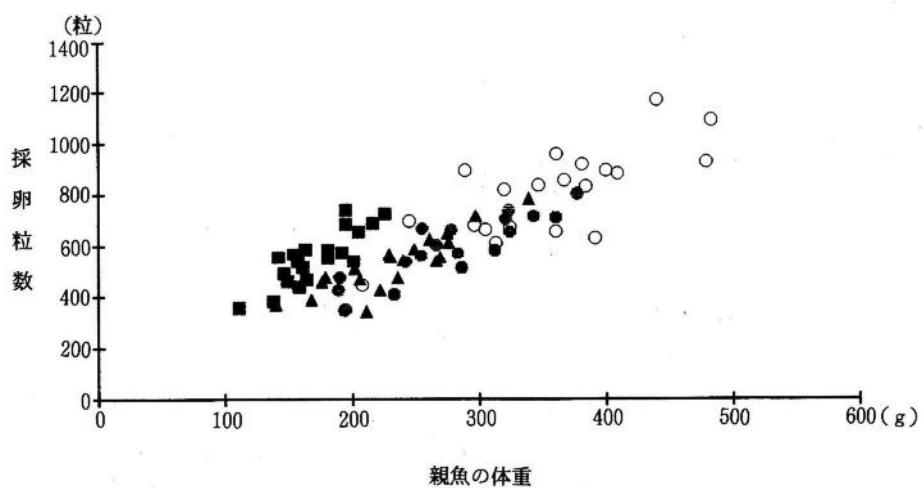
○ 交配区 1    ● クローン 1    ▲ クローン 2    ■ クローン 3



親魚の体重

第15図 採卵重量と体重

○ 交配区 1    ● クローン 1    ▲ クローン 2    ■ クローン 3



第16図 採卵粒数と体重

○ 交配区 1    ● クローン 1    ▲ クローン 2    ■ クローン 3

第5表 各区の再生産形質

測定形質	区	測定尾数	平均値	変動係数	相関係数	回帰式
		尾	g			
クローン1		19	275	0.208	—	—
体 重	クローン2	28	229	0.233	—	—
	クローン3	30	174	0.169	—	—
	交配区1	20	355	0.194	—	—
		尾	mg			
クローン1		19	90.4	0.058	0.069	$y = 0.006x + 88.7$
卵 重	クローン2	28	90.5	0.063	0.662*	$y = 0.071x + 74.3$
	クローン3	30	61.2	0.073	0.573*	$y = 0.085x + 46.8$
	交配区1	20	95.4	0.113	0.269	$y = 0.042x + 80.4$
		尾	g			
クローン1		19	52.3	0.216	0.958*	$y = 0.189x + 0.2$
採卵重量	クローン2	28	48.0	0.268	0.964*	$y = 0.233x - 5.2$
	クローン3	30	34.7	0.207	0.947*	$y = 0.233x - 5.9$
	交配区1	20	76.4	0.21	0.894*	$y = 0.208x + 2.6$
		尾	粒			
クローン1		19	581	0.227	0.89 *	$y = 2.054x + 16$
採卵粒数	クローン2	28	528	0.242	0.918*	$y = 2.197x + 25$
	クローン3	30	558	0.184	0.857*	$y = 2.979x + 45$
	交配区1	20	807	0.21	0.744*	$y = 1.827x + 158$

相関係数、回帰式は体重との関係

\* 体重と有意水準1%で相関有り

第6表 交配区1の遺伝率

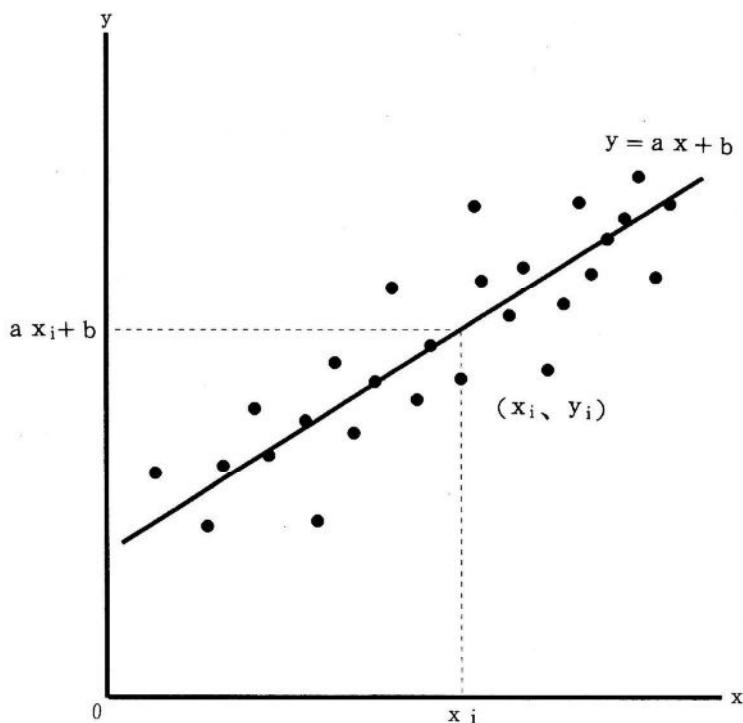
区分	遺伝率
稚魚期体重	0.214
卵 重	0.737
採卵重量	-0.058 (0.377)
採卵粒数	-0.168 (0.362)

( ) 内は回帰式に対する相対値の分散による推定値

がないことになってしまう。これは、これらの形質と親魚の体重との相関が強いため各データが親魚の体重のバラツキの影響を強く受けたためであり、このような形質については、平均値に対する相対値の分散から遺伝率を算出してもその遺伝性を評価できないことがわかる。そこで第17図に示すように、各データごとに回帰式に対する相対値  $y_i/(ax_i+b)$  を算出した。採卵重量と採卵粒数について求めた回帰式に対する相対値の平均値、分散、標準偏差を第7表に示した。各クローンの採卵重量と採卵粒数の回帰式に対する相対値の分散、標準偏差は、

交配区1のそれより小さかった。このことより、これらの形質についてもクローンにおいて変異の縮小が認められることが示された。また、得られたクローン1と交配区1の回帰式に対する相対値の分散より交配区1の採卵重量と採卵粒数の遺伝率を推定し第6表に示した。その値は採卵重量で0.377、採卵粒数で0.362となり、この方法によってこれらの形質についてもある程度遺伝性を評価できると考えられた。

今回交配区1について算出された遺伝率は、交配した1尾の雄魚によりもたらされた遺伝変異に関する評価となるため、この結果から形質ごとの遺伝性の大小は論じ得ない。形質ごとに遺伝性を評価するには対照となる通常魚の人為的選抜の履歴と近交係数が重要である。今後は、出来る限り近交のない無選抜の通常魚について遺伝率を推定する必要があろう。



第17図 回帰式に対する相対値  $y_i / (a x_i + b)$

第7表 採卵重量及び採卵粒数の回帰式に対する相対値の平均値、分散、標準偏差

区	採卵重量			採卵粒数		
	平均値	分散	標準偏差	平均値	分散	標準偏差
交配区 1	1.0003	0.0082	0.0906	0.9998	0.0206	0.1434
クローン 1	0.9993	0.0051	0.0715	0.9994	0.0131	0.1145
クローン 2	1.0015	0.0054	0.0735	1.0011	0.0100	0.1001
クローン 3	0.9996	0.0044	0.0665	0.9921	0.0097	0.0984

回帰式に対する相対値 =  $y_i / (a x_i + b)$

## 要 約

- 雌性発生技術を応用してアマゴのクローンを3群作り出し、鰓蓋移植による拒絶有無及びDNAフィンガープリントによってクローンの確認をした。
- 各クローンとその同腹の卵に1尾の雄魚の精子を媒介し作出した交配区の成長、相分化、再生産形質を調査し比較することによってクローンの特性を評価した。
- クローンであってもペーとスモルトに相分化し、スモルト化した個体の成長が優れていた。クローンによってスモルトの出現サイズが異なっており、それが育種可能であることが示された。

- 稚魚期にはいずれのクローンにおいても成長変異の縮小が認められた。相分化期には、各相ごとの比較ではクローンの体重のバラツキが小さい例が多かったが群としての比較では、相分化の影響で逆にクローンの体重のバラツキが大きくなる例が観察された。
- クローンでは排卵日が集中し、平均卵重のバラツキが小さかった。クローンによっては、排卵日、平均卵重の大きさが特徴的に異なり、それが育種可能であることが示された。採卵重量、採卵粒数は親魚の体重と相関があり、その相関係数はクローンで大きく、クローンにおいて変異の縮小が認められると考えられた。
- 大きさの異なるクローンと対照群より遺伝率を推定

する場合には、平均値に対する相対値の分散（変動係数の2乗）を用いれば良いと考えられた。また、遺伝性を評価したい形質とその他の形質との相関が強く、評価が困難な場合には、各データごとに回帰式に対する相対値を算出しその分散から遺伝率を推定すれば良いと考えられた。

## 文 献

- 1) HAN, H., N. TANIGUCHI, and A.TSUJIMURA 1990;Production of Clonal Ayu by Chromosome Manipulation and Confirmation by Isozyme Marker and Tissue Grafting. *Nippon Suisan Gakkaisi*, 57, 825-832.
- 2) 山本栄一, 1992 ; ヒラメにおけるクローニングの作出と育種利用. 第13回基礎育種学シンポジウム報告, 41-52.
- 3) KOBAYASI,T.,A.IDE,T.HIASA, S.FUSIKI, and K. UENO 1994;Production of Cloned Amago Salmon *Oncorhynchus rhodurus*. *Fisheries Science*, 60, 3, 275-281.
- 4) 谷口順彦, 1989 ; 染色体操作の遺伝学的意義 水産増養殖と染色体操作. 水産学シリーズ, 恒星社厚生閣 東京, 75, 104-117.
- 5) 小野里坦・山羽悦郎, 1983 ; 紫外線照射によるサケ目魚類4種の雌性発生誘起. 日水誌, 49, 693 - 699.
- 6) 高橋一孝・猪田利夫・森沢正昭, 1987 ; ニジマス精子の簡便な保存方法. 養殖, 24, 1, 101-105.
- 7) 白田 博, 1989 ; アマゴの全雌生産とその特性. 水産育種, 14, 11-22.
- 8) FUJIKAWA,N., N.NAKAYAMA, and H.ONO-ZATO 1992 ; Genetic Inactivation of Crucian Carp Eggs Using a Simple X-ray Irradiation Apparatus. *Bull. Natl. Res. Inst. Aquaculture*, 22, 11-19.
- 9) HAN, H., H. MANNEN, A.TSUJIMURA and N. TANIGUCHI, 1992 ; Application of DNA Fingerprinting to Confirmation of Clone in Ayu. *Nippon Suisan Gakkaisi*, 58, 2027-2031.
- 10) 原素 之, 出羽厚二, 山本栄一, 1993 ; DNAフィンガープリント法によるクローンヒラメの解析. 日水誌, 59, 731.
- 11) NAGAHAMA, Y., S. ADACHI, F. TASIRO and E.G.GRAU 1982 ; Some Endocrine Factor Affecting the Development of Seawater Tolerance during the Parr-Smolt Transformation of the Amago Salmon, *Oncorhynchus rhodurus*. *Aquaculture*, 28, 81-90.
- 12) 藤岡康弘, 1991 ; ビワマスの形態ならびに生理生態に関する研究 池産ビワマスとアマゴの銀化変態・成熟ならびに季節変化に伴う血中チロキシン濃度の変化. 滋賀県醒井養鱒場研究報告, 3, 61-66.
- 13) 田代文男, 高橋誠, 天野賢, 1983 ; アマゴの増殖に関する研究-XXII スモルト型アマゴの出現率の異なる2つの系統について. 岐水試研報, 28, 9-16.
- 14) 熊崎 博, 田代文男, 1985 ; アマゴの増殖に関する研究-XXIV アマゴ及びヤマメのスモルト化に及ぼす飼育条件の影響について. 岐水試研報, 30, 13-20.
- 15) 後藤功一, 1994 ; アマゴの育種に関する研究-I 河川残留型及び降海型アマゴの相分化における系群特性について. 岐水試研報, 39, 21-28.
- 16) 田代文男, 高橋誠, 天野賢, 1983 ; アマゴの増殖に関する研究-XXI アマゴのスモルト化に及ぼす成長の影響について. 岐水試研報, 28, 1-8.
- 17) 熊崎 博, 田代文男, 1987 ; アマゴの増殖に関する研究-XXV アマゴ及びヤマメのスモルト化に及ぼす飼育条件の影響について(2). 岐水試研報, 32, 1-12.
- 18) 熊崎 博, 田代文男, 1988 ; アマゴの増殖に関する研究-XXVI アマゴ及びヤマメのスモルト化に及ぼす飼育条件の影響について(3). 岐水試研報, 32, 1-20.
- 19) 佐藤良三, 阿久津梅二, 武藤光司, 1987 ; サクラマス0年魚のスモルト化に及ぼす光、水温条件の影響, マリーンランチング計画プログレス・レポート サクラマス, 7, 65-72.

- 20) 今野 哲, 中江三郎, 高橋進, 1983 ; 飼育条件調節によるスモルト化促進に関する研究－III. マリーンランチング計画プログレス・レポート サクラマス, 3, 26-50.
- 21) 辻村明夫, 宇野悦央, 松本全弘, 1993 ; アユの全雌生産に関する検討 全雌化の判定および飼育特性の解明. 和歌山内漁センター事報, 17, 1-6.
- 22) 日本水産資源保護協会, 1994 ; 染色体操作手法を用いた有用形質の識別評価 (アユ). 水產生物有用形質の識別評価マニュアル, 131-198.
- 23) 辻村明夫, 堀江康浩, 松本全弘, 1992 ; 雌性発生法によるアユの有用形質の識別・評価に関する研究－II. 和歌山内漁センター事報, 16, 8-25.
- 24) 谷口順彦, 1991 ; 染色体操作による魚類の量的形質の新しい評価方法. 第12回基礎育種学シンポジウム報告, 42-60.