

ヒラメの雌性発生 2 倍体の自然産卵実験と雌性化種苗量産の実証

山本栄一・増谷龍一郎

Spawning experiments with gynogenetically diploid sinistral
flounders (hirame, *Paralichthys olivaceus*),
with corroborative evidence
of large scale all-female production

Eiichi Yamamoto and Ryuichiro Masutani

Male heterogamety (XY) in hirame has been discussed by Yamamoto and Masutani¹⁻⁴⁾. Samples of gynogenetic diploids included males in variable proportion, attributable to a reversal of sex differentiation from genetic females (XX) to functional males under environmental influences, especially high water temperature. This method of efficient female production is investigated, as females are commercially more valuable than males because of their rapid growth in fish culture.

A very large number of genetically female eggs (XX eggs) were easily obtained over a more than three month period, from the spawning of normal females mated with sex reversed males (XX males, i.e. gynogenetic diploids). This spawning method, utilising genotypic control, is far superior in efficiency to chromosome manipulation or artificial insemination on the basis of some asynchronous character in hirame's oogenesis. Furthermore, the method enables all-female egg production from early in the spawning season.

The usefulness of these eggs obtained in all-female fish production was confirmed by subsequent examination of estrogen-treated (at a level so as to prevent sex reversal) and non-treated samples, which comprised 100% and 96% females, respectively. Adoption of this egg production method is considered useful, not only for genetic sex control, but also for prevention of sex reversal without estrogen treatment. This is because reversal of sex differentiation can be largely prevented before water temperature increases, in early spawning of hirame.

In adding to the above, spawning characteristics of gynogenetically diploid females were also studied.

ヒラメは雌雄に著しい成長差が存在し、養殖ヒラメの生後1年半の雌雄の体重差は2倍近くに達する^{1,5)}。それゆえ、雌の割合を高めた種苗は養殖用としてきわめて効率的であり、その作出が望まれてきた。

山本・増谷の一連の研究¹⁻⁴⁾によって、ヒラメの性決定には基本的に雄性ヘテロ型 (XX-X Y型) の遺伝子支配が存在することが明らかにされた。すなわち、ヒラメの雌性化種苗生産には、雌性発生2倍体の作出や、性転換雄 (XX雄) の正常発生後代の作出による遺伝的性の雌性への統御が有効な方法である。

ところで、非同期発達型の卵発達様式⁶⁾を持つヒラメでは、搾出によって排卵直後の卵を安定的に得ることは困難であり、人工受精は種苗の量産工程になじまない。また、人工受精を産卵期初期に行なうことは難しく、これでは早期の種苗生産を実現できない。このことから、ヒラメの通常の種苗量産現場では、親魚養成水槽内での自然産卵による採卵が広く行なわれている⁷⁾。

しかし、染色体操作による雌性発生2倍体の作出には人工受精が必須である。それゆえ、雌性発生2倍体の雌性化種苗としての直接的利用による方法では、染色体操作による卵発生成績の低下⁸⁻¹⁰⁾に加えて、搾出採卵による人工受精の非効率¹¹⁾を避けることができず、これは種苗量産に適切な方法とはいえない。

一方、性転換雄の後代の作出による方法では、染色体操作は不要であり、人工受精の必要はない。それゆえ、性転換雄を雄親魚とした自然産卵によって受精卵を得ることができると、これは遺伝的に雌性に統御された卵であり、通常の種苗生産と同様な効率で、雌性化種苗生産が実現されるものと期待される。

そこで、雌性化種苗の大量生産方法の確立を目的に、性転換雄と正常雌を親魚とする自然産卵実験を行ない、XX卵の大量作出方法について検討した。さらに、産出卵を用いた種苗生産を行ない、作出種苗の性比を調査し、雌性化種苗生産の実証を試みた。

また、同時に、雌性発生2倍体雌を親魚とする自然産卵実験を行ない、その成熟・産卵特性を調査し、親魚としての適性を検討した。

材 料 と 方 法

1. 自然産卵実験

次の3組のヒラメ親魚を組合せた産卵群を設定した。

- A. 性転換雄群： 雌性発生2倍体雄 (性転換雄, 15個体) × 正常雌 (5個体)
- B. 雌性発生雌群： 正常雄 (15個体) × 雌性発生2倍体雌 (5個体)
- C. 対照群： 正常雄 (15個体) × 正常雌 (5個体)

実験に用いた親魚は、1986年4月に雌雄1尾ずつの養成ヒラメから得た卵および精子によって作出された極体放出阻止型雌性発生2倍体および対照の正常発生ヒラメであり (山本ら⁴⁾の作出群)、産卵群の設定時点 (1988年12月) で年齢は2⁺で、すでに雄は2回、雌は1回成熟を経ている、親魚の実験の開始および終了時の魚体サイズを Tab. 1 に示した。

Table 1. Body size of parental hirame at the beginning (1988 Dec. 27) and end (1989 June 30) of the natural spawning experiment.

Spawning group	Parental cross	Sex	TL or BW (\pm SD)			
			Beginning	End	Increase	
A	GYNO♂ \times NORM♀	♂	TL (mm)	418 \pm 15.2	423 \pm 13.9	5
			BW (g)	815 \pm 100.6	799 \pm 84.0	-16
		♀	TL	496 \pm 15.1	537 \pm 14.0	39
			BW	1424 \pm 75.0	2004 \pm 227.6	580
B	NORM♂ \times GYNO♀	♂	TL	384 \pm 20.5	404 \pm 20.0	20
			BW	633 \pm 117.7	739 \pm 102.5	106
		♀	TL	525 \pm 17.1	556 \pm 20.3	31
			BW	1694 \pm 146.4	1940 \pm 201.0	246
C	NORM♂ \times NORM♀	♂	TL	385 \pm 19.0	396 \pm 19.1	11
			BW	634 \pm 87.5	716 \pm 91.3	82
		♀	TL	511 \pm 18.8	537 \pm 18.8	26
			BW	1510 \pm 132.2	1778 \pm 229.7	268

各産卵群を、角型FRP水槽(5.0 \times 1.5 m, 水深0.6 m)に収容して、12月から翌年6月までの約半年間飼育した。飼育水槽付近を遮光幕で覆い、可能な限り静かな環境を保つように努めた。換水率0.6~1.2回転/時となるように飼育水を補給し、弱く通気した。飼育水温の推移をFig. 1に示した。実験期間中の餌料は冷凍イカナゴのみで、週3回夕方に飽食量を与え、翌朝に残餌を除去した。

採卵は、雌親魚の腹部の観察にもとづき、3月中旬に開始した。終日、排水を径40cmの円筒状の集卵ネットで受け、放出された卵を集めた。毎日1回、午前9時頃に集卵ネットを交換した。得られた卵の計数を行なうとともに、その発生成績を調査した。すなわち、浮上卵と沈下卵を分離し、前者が少量である場合にはその全量について、多量である場合にはそのうちの5g程度について、1.8t水槽に設置した収卵ネット(径30cm, 深さ30cm)を用いて流水中で発生管理を行なった。この過程で、総卵数、浮上卵数、沈下卵数、ふ化前日における胚形成卵数、浮上率(浮上卵数/総卵数)、および胚形成率(胚形成卵数/浮上卵数)を求めた。卵の計数では、少数の場合は全数計数を行なったが、適宜容積や重量による分割計数を行なった。

2. 性転換雄次世代の種苗生産とその性比

性転換雄群から得られた卵を用いて種苗生産を行い、作出種苗のホルモン未処理群と雌性ホルモン(エストラジオール-17 β :E₂)処理群の性比を調査した。

卵は、3月23日(胚形成率:87.8%, 27日ふ化)と、3月25日(67.4%, 28日ふ化)に得られたものを用いた。日齢23(前者のふ化日を日齢0とした)まで両者をそれぞれ別個の100ℓ水槽(それぞれふ化前日に卵3000個収容)で飼育したが、日齢23に両者の仔魚を混合し、100ℓ水槽あたり800個体を再収容して飼育した。

変態完了後の日齢35に、稚魚を2個の1.8t水槽にそれぞれ1500個体ずつ収容し、E₂未処

理群と E₂処理群を設定した。日齢 96 以後、それぞれの群を 6 t 角型水槽で飼育した。

雌性ホルモン処理は、エストラジオール-17 β (E₂) の 10 μ g/l の濃度への浸漬処理で、1 日 1 回 2 時間、日齢 41 から 85 まで行なった。このレベルの処理は、遺伝的雌すなわち XX 個体の生理的雄性への性分化の転換の阻止には有効であるが、遺伝的雄 (XY) の生理的雌性への性転換には有効でなく、性転換の影響を排除し、処理群の本来の遺伝的性比を知るうえで好都合な方法である¹⁻⁴⁾。

日齢 23 以前は加温によって飼育水温を 15°C 程度に保った。それ以後は水温の調節を行なわなかった (Fig. 3)。飼育水は、日齢 9 までが無換水で、日齢 10 に換水を開始し、1 日 1/5 から 1/1 まで徐々に換水率を増し、日齢 38 に流水飼育に移行した。流水移行後も、0.1 回転/時から 2.0 回転/時まで換水率を増やした。適宜、通気を行なった。

餌料として、シオミズツボワムシ (日齢 2~36)、アルテミアノープリウス (日齢 20~66)、配合餌料 (日本農産工業製、海産魚用初期餌料 3, 4 号, マス 2~4 号, 日齢 29~95)、および冷凍イカナゴ (日齢 72 以降) を用い、いずれも飽食量を与えた。

日齢 165 に、両群から無作為に抽出したそれぞれ 50 個体について性比を判定した。

結 果 と 考 察

1. 自然産卵実験

各産卵群とも 3 月 22 日に同時に産卵開始が確認され、その後、3 ヶ月以上に渡って産卵が継続した。

各産卵群の毎日の産卵数と 10 日ごとの卵の発生成績を Fig. 2 に示した。さらに、産卵期間を通じて得られた卵数およびその発生成績を通算して Tab. 2 に示した。

A. 性転換雄群：産卵期の全般を通じて良質卵が安定して産出され、卵の発生成績も良好であった。累計放卵量は 2200 万粒にのぼり、約 990 万粒の胚形成卵が得られた。全放卵数に対する胚形成卵の割合は 45.0% の高率であった。ヒラメの産卵周期に関する知見は乏しく、雌親の個体ごとの産卵パターンを推定することはできないが、この結果では、1 個体の雌から産卵期を通じて毎日平均 2 万粒の胚形成卵が得られたことになる。

このことから、性転換雄、すなわち雌性発生 2 倍体雄の放精行動は正常であり、これを用いた自然産卵によって遺伝的に雌に統御された卵 (XX 卵) が容易に大量に得られることが判った。しかも、この方法では、雌親魚の産生する卵を無駄なく活用でき、産卵期の当初から長期に渡って安定的

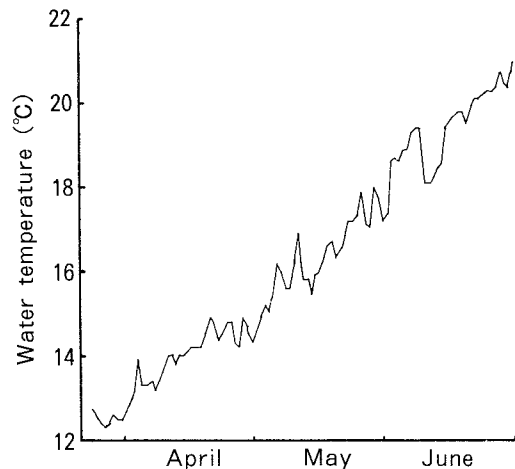


Fig 1. Rearing water temperature over the last half of the spawning experiment.

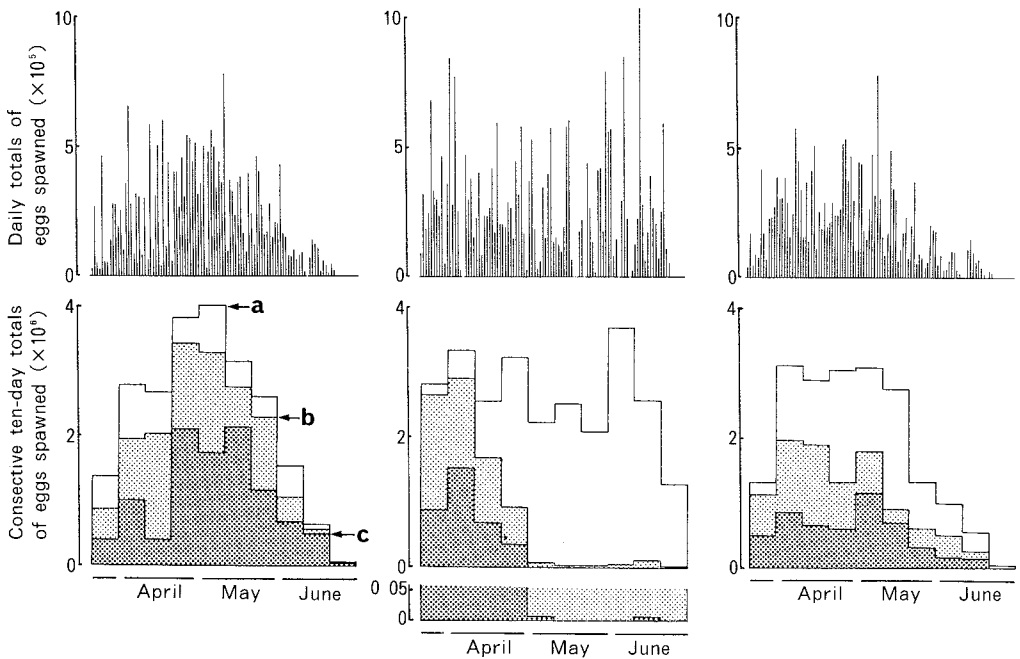


Fig.2. Daily (above) and consecutive ten-day (below) totals of eggs spawned, the latter indicating embryonic development; in spawning groups of gynogenetic males with normal females (left), normal males with gynogenetic females (middle), and normal males with normal females (right). a : total egg spawned, b : number of eggs floated, c : number of eggs with developed embryos.

な XX 卵の供給が可能である。これには、通常の種苗生産におけると同様、比較的少数の雌親魚を卵の必要量に応じて準備すれば良く、搾出採卵を前提とした親魚養成よりはるかに経済的である。

ちなみに、搾出による採卵では、本実験に用いたと同サイズの雌親魚から 1 回に得ることのできる卵はせいぜい 10 万粒程度であり、しかも、搾出操作の卵形成への悪影響から、搾出採卵は同一個体について 1 シーズンに 3, 4 回が限度であることを経験的に知り得ている。さらに、この方法では、良質卵を安定して得ることは難かしく、また、産卵期の初期に卵を多量に確保することも困難である。

B. 雌性発生雌群：産卵期の前半においては良質卵の放卵がみられ、4 月までに約 330 万粒の胚形成卵が得られた。この間の浮上率は平均 68.6% と高かった。胚形成率も 23.2% から 77.3% の範囲で推移し、平均は 33.0% と比較的高率であった。

しかし、4 月下旬以降、雌の腹部の著しい膨張が 5 個体すべてに確認されると同時に、浮上卵が急激に減少し、5 月以降の浮上率は平均 20% まで落込んだ。胚形成卵もわずかししか得られなかった。この間、放卵量は維持されたが、個体毎の放卵のインターバルが長く、ほとんどの卵は過熟ないし著しく変質したものであった。雌性発生 2 倍体雌の正常で能動的な産卵行動が停止し、貯留卵の過剰による卵巣からの押し出しによって放卵が生じていることが推察された。

Table 2. Totals and performance in embryonic development of hirame eggs, obtained throughout the spawning experiment.

Spawning group	Parental cross	Total number of eggs spawned	Number of eggs floated	Proportion* of eggs floated	Number of eggs with embryos developed	Proportion** of eggs with embryos developed
		$\times 10^3$	$\times 10^3$	%	$\times 10^3$	%
A	GYNO♂ × NORM♀	22,086	17,748	80.4	9,941	56.0
B	NORM♂ × GYNO♀	25,512	8,221	32.2	3,354	40.8
C	NORM♂ × NORM♀	18,828	10,249	54.4	5,134	50.1

* : Floated eggs /spawned eggs.

** : Embryo-developed eggs /floated eggs.

一方、雄は常に十分な量の精液の搾出が可能な状態にあり、雄の異常は認められなかった。このことから、産卵期中途における雌性発生 2 倍体雌の産卵行動の衰弱などの可能性が示唆されたが、その正常な産卵が停止した要因は不明のまま残った。いずれにしても、雌性発生 2 倍体雌を正常雌と同等に扱うことはできないようであるが、産卵期の前半においては雌性発生 2 倍体雌から良質卵が得られ、その次世代の作出には支障がないことが判った。

対照群：産卵は産卵期の全般を通じて順調であったが、放卵量およびその発生成績とも性転換雄群より劣った。とくに、卵の浮上率の差は大きかった。全放卵数に対する胚形成卵の割合は 27.3% で、性転換雄群の値の約 2 分の 1 にとまった。

各産卵群の産卵成績と親魚の成長：最も多量の良質卵が得られた性転換雄群で、雌の体重の増加が他より勝り、逆に雄の体重は減少して他より劣った。また、正常な産卵行動の停止がみられた雌性発生雌群で、雄の体重の増加が著しかった。

このことは、雌雄の成長と成熟および産卵の間に密接な関連があることを示唆している。すなわち、良質卵の産卵期全般にわたる産出には雌の良好な成長が必要であり、一方、雄の産卵行動への活発な参加は反対にその成長の停滞を伴うようである。この雌雄による矛盾は、雌が 1 産卵期にその体重を上回る卵を産生し続けるための生理的要求と、雄が産卵期を通じて放精にのみ関与するための生理的要求が根本的に異なっていることによるものと判断される。産卵期に観察されるヒラメの雌雄による摂餌量の相違はこれによく一致し、雌では餌付きが良好であり、雄では著しく劣る。このような産卵期における雌雄の成長の差が、雌雄による成熟年齢の相違¹⁾とともに、ヒラメの魚体の雌雄差を生み出している可能性が大きい。

2. 性転換雄次世代の種苗生産とその性比

飼育群のヒラメの成長と生残率の推移を Fig. 4 および Fig. 5 に示した。E₂ 未処理群および E₂ 処理群の性比とそれぞれの期間別の生残率を Tab. 3 に示した。

種苗生産の過程は順調であり、両群とも稚仔魚の成長および生残は良好であった。他の正常ヒラメの飼育例と比較しても遜色なかった。

E_2 処理期間である日齢41から85における生残率は E_2 処理群で42.2%であり、 E_2 未処理群の48.0%の値を下回るものの、差は有意ではなく、 E_2 処理による明らかな生残率の低下はみられなかった。この期間の斃死は、生物餌料から配合飼料への餌の切換えによって生じた稚魚の成長差による共喰いや噛み合いに起因し、ヒラメの飼育では一般的なもので、性比に直接影響を及ぼすものではないと判断された。卵から性判定までの生残率にも両群でわずかな差しかなかった。成長においても両群の差はほとんどなく、 E_2 処理による影響は認められなかった。

雌の割合は、 E_2 未処理群で96%であり、 E_2 処理群で100%であった。この E_2 処理は遺伝的雄(XY)を雌に効率的に性転換させ得ないことが判明しているので^{2,4)}、両群、すなわち自然産卵によって作出した性転換雄の次世代は、すべての個体が遺伝的雌であるものと確認された。このことから、ヒラメの雌性化種苗の自然産卵による大量生産が可能であることが実証された。

なお、この実験とは別に、性転換雄群のうちの1個体の雌親魚から搾出した卵に由来する正常雄(XY)の次世代の E_2 処理群の性比を調査したが、雌雄比1:1と有意差のない雄の出現が確認され、この実験に使用した雌親魚の正常性が証明されている。

ヒラメは、飼育環境要因によって遺伝的雌(XX)の生理的雄への性転換が頻発し、遺伝的に雌に統御された群であっても機能的な雄が様々な割合で出現することが判明している。それゆえ、安定した雌性化率を得るためには遺伝的性の統

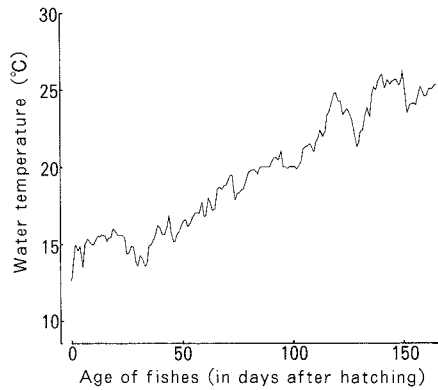


Fig. 3. Rearing water temperature during experimental all-female production.

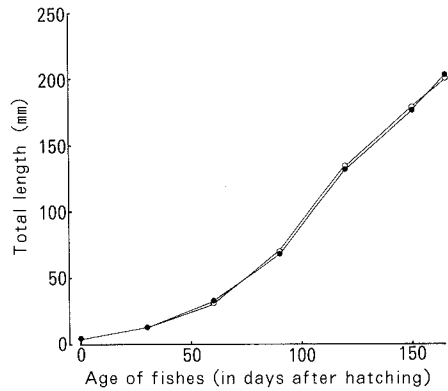


Fig. 4. Growth curves of estradiol-free group (solid circle) and estradiol-treated group (open circle).

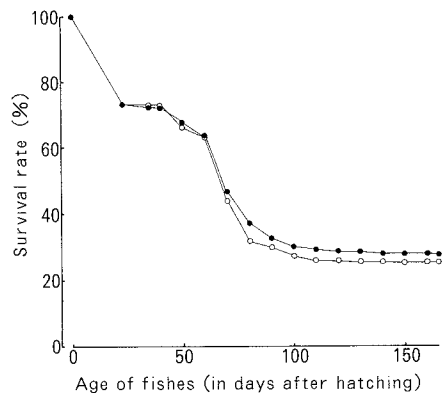


Fig. 5. Survival rate of estradiol-free group (solid circle) and estradiol-treated group (open circle).

Table 3. Sex ratios and survival rates of F₁ generation from normal females mated with sex reversed gynogenetic males (spawning group A).

Group	Number of fish examined	Sex distribution*	Proportion of females	Survival rate		
		♂ : ♀		0~40**	40~85	0~165
EST free	50	2 : 48	%	%	%	%
EST treated***	50	0 : 50	100	73.1	42.2	25.4

* : Determined by gonadal dissection at 165 days of age.

** : Period indicates age of fish (in days after hatching).

*** : Administration by immersion treatment in estradiol-17β (concentration 10 μg/ℓ water), for 2 hours per day, from 41 to 85 days of age.

御とともに E₂ 処理などによる性分化の制御が必要であることが指摘されている¹⁻⁹。今回適用した E₂ 浸漬処理は雄への性転換の阻止に確実な方法であることが確認されたが、さらに E₂ の経口投与によって、E₂ の使用量を節減でき、また、きわめて簡単に処理が実施できることが判っている⁹。しかし、E₂ 処理は、実際の養殖用種苗の生産に適用するには薬事上の規制があり、現段階では実用的な方法とはいえない。

一方、E₂ 未処理群においても雌の出現率は 96% と高く、これは養殖用の雌性化種苗として実質的に問題のない性比であった。既報の飼育例では雌性発生 2 倍体であっても E₂ 未処理群で雄が 11~100% の割合で出現しているが^{1-4, 8, 10}、今回の雄の割合は 4% にすぎず、性転換の頻度がきわめて低かった。この遺伝的雌の雄への性転換は、主に性分化期の高水温の影響に起因し、性分化期（全長 75mm まで）の飼育水温を 20℃ 程度以下に制御することで効率的に阻止できることが判明している⁹。本生産例では、自然産卵によって容易となった早期の種苗生産であることと、飼育当初の止水飼育期の加温で稚仔魚の成長が促進され、性分化を水温の急昇期以前に終了させることができ、高水温による影響を回避し、雄への性転換を抑制することができたようである。すなわち、水温の 20℃ 以上での急昇が始った日齢 100 時点で、両群とも平均全長は 90mm に近く、高水温の影響をうける期間をすでに経過していたようであった（Fig. 3, Fig. 4）。このことから、性分化終了の早期化に配慮し、飼育水温が 20℃ 以上に上昇する以前にヒラメの全長を 70mm 程度以上にすることで、コスト的にも困難な性分化期の流水飼育水温の制御を必要とせず、性転換の阻止が可能であることが示された。

なお、この種苗生産実験によって作出された雌性化ヒラメは、養殖試験に供されており、速やかな成長による有利性が認められている。その詳細については別途報告の予定である。

論 議

魚類の性の統御は、ホルモン処理によって作出された性転換雄の利用や雌性発生の利用によって、サケ科魚類などの両側回遊魚や、コイ科魚類などの淡水魚で実現されている¹²⁻²²。とくに、ニジマスなどでは、日本ばかりか欧米においても、全雌種苗や不妊化種苗（全雌 3 倍体）が大

量に生産され、一般の養殖場でさかんに利用され、養殖の効率化をもたらしている。しかし、ヒラメのような海産魚の性の統御が可能となり、しかも性転換魚を用いた自然産卵によって効率的な雌性化種苗の作出が実現された例は、本報告の他にみあたらない。

ヒラメの含まれるカレイ目の他魚種については、Purdom²⁰⁾がカレイ科の plaice の性の統御を試みている。また、田畑⁹⁻¹¹⁾は一連の研究でヒラメの雌性化について報告している。しかし、いずれも、雌性発生2倍体に雄が出現することによる混乱から、これらの性を決定する遺伝子型を確定するには至っておらず、ホルモン処理による遺伝的雄から雌への性転換を利用した直接的方法^{24, 25)}以外、異体類の雌性化方法の確立はなされなかった。

山本・増谷¹⁻⁹⁾は、ヒラメの雌性発生2倍体と雌性発生2倍体雄の後代の E₂未処理および処理群の性比と、飼育温度が性分化に与える影響を調査し、ヒラメの性を決定する遺伝子型が基本的に雄性ヘテロ型 (XX-XY 型) であり、XX 群に出現する雄は高水温などの環境要因によって生じた性転換雄であることを確認した。これによって、ヒラメの性統御方法が得られ、小規模での雌性化種苗の作出が可能になった。

本研究は、これに基づき、ヒラメの成熟の特性、すなわち、非同期発達型の卵発達様式による人工採卵の困難さを克服するために行なわれたものであるが、予想以上に、自然産卵による遺伝的性の統御 (XX 卵の大量作出) がむしろヒラメの成熟特性の長所を生かした合理的な方法であることが判明した。加えて、自然条件に即した通常の飼育方法においても、産卵期初期の生産開始による早期生産が容易となったことで、雌性化種苗の養殖用としての価値を高めることができるとともに、ホルモン処理を必要とせず雌の割合を高く安定させることが可能となった。もちろん、親魚の日長処理などによる成熟の制御²⁰⁾や、飼育水温の調整による性分化の制御によって、任意の時期にヒラメの雌性化種苗を生産することも可能であろう。

従って、本研究の結果から、性転換雄さえ親魚として利用できれば、既存の種苗生産施設およびほとんど従来と同様の生産工程で、ヒラメの雌性化種苗の大量生産が実現されることが期待される。また、作出種苗は養殖用としての有利性と安全性を兼ね備えている。このことから、ヒラメの雌性化技術は十分実用レベルに到達したものと見える。

引用文献

- 1) 山本栄一・増谷龍一郎 (1988) : ヒラメの染色体操作技術等を応用した優良種苗生産に関する研究-II。鳥取栽漁試事報, 6, 68~94.
- 2) _____ (1989) : ヒラメの染色体操作技術等を応用した優良種苗生産に関する研究-III。同上, 7, 60~82.
- 3) _____ (1989) : ヒラメの雌性発生2倍体とその次世代および次々世代の性比。平成元年度日本水産学会春季大会講演要旨集, 123.
- 4) _____ (1990) : ヒラメの染色体操作技術等を応用した優良種苗生産に関する研究-IV。鳥取水試年報, 32, 71~76.
- 5) 中本幸一・小野山弘 (1985) : 飼育ヒラメにおける雌雄の成長差について。兵庫水試研報,

- 23, 57~61.
- 6) 高野和則 (1989) : 卵巣の構造と配偶子形成. 3~34. 水族繁殖学. 隆島史夫・羽生功編. 緑書房. 東京. iv+439p.
 - 7) 小野進・奥村紀男 (1984) : 親魚と産卵. 7~24. 北部日本海ブロックにおけるヒラメ種苗生産技術の現状. 水産増養殖叢書, 33, 1~110.
 - 8) 山本栄一・増谷龍一郎・三木教立・小林啓二 (1987) : ヒラメの染色体操作技術等を応用した優良種苗生産に関する研究-I. 鳥取栽漁試事報, 5, 66~87.
 - 9) 田畑和男・五利江重昭・中村一彦 (1986) : 紫外線によるヒラメの雌性発生2倍体の誘起条件. 日水誌, 52 (11), 1901~1986.
 - 10) 田畑和男 (1988) : ヒラメの染色体操作技術開発研究の現状と問題点. 水産育種, 13, 9~18.
 - 11) _____ (1986) : ヒラメの雌性発生のための人工受精技術の検討. 兵庫水試研報, 24, 19~27.
 - 12) Clemens, H. P. and T. Inslee (1968) : The production of unisexual broods by *Tilapia mossambica* sex-reversed with methyl testosterone. Trans. Am. Fish. Soc., 97, 18~21.
 - 13) Yamamoto, T. and T. Kajishima (1968) : Sex hormone induction of sex reversal in the goldfish and evidence for male heterogamety. J. Exp. Zool., 168, 215~222.
 - 14) Takahashi, H. (1975) : Functional masculinization of female guppies, *Poecilia reticulata*, influenced by methyltestosterone before birth. Bull. Jap. J. Soc. Sci. Fish., 41 (5), 499~506.
 - 15) Donaldson, E. M. and G. A. Hunter (1982) : Sex control in fish with particular reference to salmonids. Can. J. Fish. Aquat. Sci., 39, 99~110.
 - 16) Chourrout, D. and E. Quillet (1982) : Induced gynogenesis in the rainbow trout: sex and survival of progenies production of all-triploid populations. Theor. Appl. Genet., 63, 201~205.
 - 17) Yamazaki, F. (1983) : Sex control and manipulation of fish. Aquaculture, 33, 329~354.
 - 18) 隆島史夫・会田勝美 (1984) : 魚類の性分化とホルモン. 77~97. 性分化とホルモン. 日本比較内分泌学会編. 学会出版センター. 東京. ix+194 p.
 - 19) Suzuki, R., T. Oshiro and T. Nakanishi (1985) : Survival, growth and fertility of gynogenetic diploids induced in the cyprinid loach, *Mysgurnus anguillicaudatus*. Aquaculture, 48, 45~55.
 - 20) 岡田鳳二 (1985) : ニジマスの人為性統御に関する研究. 北海道孵化場研報, 40, 1~49.
 - 21) 山崎文雄 (1989) : 性の分化とその制御. 141~165. 水族繁殖学. 隆島史夫・羽生功編. 緑書房. 東京. iv+439 p.
 - 22) 臼田博 (1989) : アマゴの全雌生産とその特性. 水産育種, 14, 11~22.
 - 23) Purdom, C. E. (1972) : Induced polyploidy in plaice (*Pleuronectes platessa*) and its

- hybrid with the flounder (*Platichthys flessus*). *Heredity*, **29**, 11~24.
- 24) 田畑和男 (1989) : β エストラジオールによるヒラメの人為的雌化と性分化時期の推定。兵庫水試研報, **26**, 19~36.
- 25) 田中秀樹 (1988) : ヒラメの生殖腺の性分化に及ぼすエストラジオール- 17β の影響。養殖研報, **13**, 17~23.
- 26) 伊島時郎・阿部登志勝・平川諒三郎・鳥島嘉明 (1986) : 長日処理によるヒラメの早期採卵。栽培技研, **15** (1), 57~62.