

## 第6章 総 括

本研究は、重要な養殖対象魚種であるヒラメについて、遺伝的および生理的性の人為的統御技術を開発するとともに、雌性発生によってクローン集団を作出し、これを利用した育種技術を開発することを目的とした。これを遂行するために設定した主要な五つの課題は次のとおりである。①性分化過程：ヒラメの性分化過程を観察し、性分化時期を明らかにする。②遺伝的性決定とその人為的統御：各種作出群の性比調査をもとに、ヒラメの遺伝的性決定機構を明らかにし、遺伝的性の人為的統御を可能とする。③生理的性の人為的統御：環境要因および性ステロイドがヒラメの性分化に与える影響を明らかにし、生理的性の人為的統御を可能とする。④雌性化種苗の大量生産方法と成長特性：ヒラメの成熟特性に適合した性統御技術を検討し、雌性化種苗の生産を試行するとともに、雌性化種苗の成長特性を把握する。⑤クローン集団の作出と育種利用：ヒラメのクローン集団を作出し、その特性調査などを通じて、クローンを利用した育種技術を検討する。

第1に、ヒラメの遺伝的および生理的性の統御法を検討するため、性分化過程を組織学的に観察し、その特性と性分化時期を検討した。仔魚および変態着底直後の稚魚は形態的に性的未分化期にあった。将来の卵巢および精巢はそれぞれ全長 27 mm および 37 mm の個体ですでに互に区別できる形態的分化を示した。性分化は生殖腺の体細胞性要素による形態形成が先行し、卵巢においては卵巢腔の出現、そして精巢においては生殖細胞の分布様式と特異な体細胞性要素の発達状況において、それぞれの特徴は明らかであった。生殖細胞の減数分裂開始はこれより遅れて、卵巢では 69 mm、精巢では 129 mm の個体で認められた。このことから、ヒラメの性分化は、生殖細胞の減数分裂による母細胞への移行にさきだつて、体細胞性要素による形態形成の性的相違を指標として、より早期に開始が認められ、この時期が生理的性の統御をおこなううえで重要な意義を有することが示唆された。

第2に、ヒラメの雌性発生2倍体やその後代等について性比調査を行なった。その結果をもとに、ヒラメの遺伝的性決定機構について考察し、遺伝的性の統御方法について検討した。

ホルモン未処理の通常の飼育群では、同種類の作出群内でも飼育群による性比の変動が著しかった。一方、性分化時期にエストラジオール-17 $\beta$  (E<sub>2</sub>と略記)の10 ppbの濃度での浸漬処理または0.3 ppmの濃度での経口処理を行なった飼育群では、ホルモン未処理の飼育群の場合とは対称的に、きわめて明瞭な作出群の種類による性比の傾向性が示された。すなわち、E<sub>2</sub>処理飼育群の性比は、雌性発生2倍体および雌性発生2倍体雄の後代でほぼ全雌になった。しかし、通常雄の次世代である対照群では雌雄比1:1と有意差のない雄の出現がみられた。また、全雄に誘導した通常ヒラメの次世代は、雄親によっておよそ全雌または雌雄比1:1の例に分れた。

このことから、ヒラメの性決定には基本的に雄ヘテロ型(XX-XY型)の遺伝子支配が存在することが明らかとなった。しかし、遺伝的雌(XX個体)の性分化は、不安定で、遺伝的に強く固定されておらず、通常の飼育条件下で雄への性転換が容易に生じ、遺伝的全雌群に雄が出現したり、通常飼育群の性比が雄に偏って変動することが推定された。上述のレベルでの

E<sub>2</sub>処理は、遺伝的雌の性転換を阻止する一方、遺伝的雄（XY個体）の雌への誘導には有効ではなく、群の本来の遺伝的性比をより明らかに示しているものと考えられた

以上のことから、ヒラメの遺伝的全雌群（全XX個体群）を得るためには、染色体操作による雌性発生2倍体の作出とともに、性転換雄（XX雄）と通常雌（XX雌）の交配による後代の作出が有効であることが判明した。性転換雄は、雌性発生2倍体の雄への誘導によっても、通常ヒラメの雄への誘導（検定交配を必要とする）によっても得ることができる。しかし、遺伝的全雌群の作出は可能であっても、表現型としての性が雌に統御された群を安定して作出するためには、さらに、遺伝的雌の雄への性分化の転換を阻止することも必要である。

第3に、ヒラメの性分化の特性を明らかにし、その人為的統御方法を確立する目的で、飼育水温および性ステロイドの性分化へ及ぼす影響とそれらによる性分化の統御方法について検討した。

性分化時期の飼育水温によってヒラメの性比は著しく変動し、環境要因が性分化に大きな影響を及ぼすことが明らかとなった。性比の変動は遺伝的雌の飼育水温による雄への性分化の転換に起因するものであった。雄への性転換は、とくに高水温条件下（25～27.5℃）で促進され、低水温条件下（15℃）でもその傾向が強かった。しかし、20℃前後の飼育水温では、遺伝的雌の雄への性分化の転換の頻度は低く、雌へ分化する個体の割合は高く安定した。一方、遺伝的雄の飼育水温による雌への性転換は認められなかった。全長12mmから30mm前後を含み、およそ50mm以下の時期に高水温飼育を行なった飼育例で雄の割合の増加が顕著であり、この時期に遺伝的雌の性分化における高水温の感受期が存在することが明らかとなった。このことから、着底期から全長50mmまでの期間の適水温（20℃）による飼育は、遺伝的雌の雄への性分化の転換の阻止に有効であることが判明した。一方、高水温飼育は、性転換雄の作出手法として利用可能であることが分った。

ヒラメの遺伝的雌を生理的雄に誘導する17 $\alpha$ -メチルテストステロン（MTと略記）の浸漬処理濃度は、1ppbから10ppb（下限不明）であることが明らかとなった。同じく、経口投与濃度は、0.01ppmから10ppm（下限不明）のきわめて広範囲に及ぶことが明らかとなった。これは性転換雄の作出手法として有用である。

ヒラメの遺伝的雌を高頻度で生理的雌に誘導するE<sub>2</sub>の経口投与濃度は1ppm以上であり、全雌化には3ppmから10ppm（上限不明）の投与が必要であることが明らかとなった。一方、遺伝的雌の雄への性分化の転換を阻止し、雌への分化を促進するためのE<sub>2</sub>の有効な経口投与濃度は、0.1ppmから1ppm（上限不明）であることが明らかとなった。従って、0.1ppmないし0.3ppmの濃度での投与は、遺伝的雄の雌への転換には有効でないが、遺伝的雌の雄への性転換阻止には有効であることが確認された。さらに、遺伝的雌の雄への転換を阻止する有効なE<sub>2</sub>の浸漬処理濃度はほぼ1ppbから10ppb（上限不明）であることが明かとなった。E<sub>2</sub>処理による遺伝的雌の雄への転換阻止のタイミングについては、全長28mmから39mmの期間を中心にして、より早期に、重要なポイントがあることが明らかとなった。

第4に、ヒラメの繁殖特性に適合した雌性化種苗の大量生産方法を検討した。すなわち、ヒラメの生殖周期について調査を行なうとともに、親魚の自然産卵を利用した効率的な雌性化種

苗の作出方法を検討した。さらに、クローン集団を用いて雌雄の成長差を確認するとともに、準量産規模で作出された雌性化種苗の飼育実験を行ない、その養殖利用における有利性を実証した。

生殖周期を調査したヒラメの雌には、満2歳で初回成熟する個体が出現した。繁殖期では、その直前の1月から卵黄形成が開始され、雌の繁殖期にさきがけた卵形成の準備期間は非常に短かった。4月および5月の繁殖盛期には、すべての発達段階の卵母細胞が同時に卵巣内に存在し、ヒラメの卵母細胞の発生様式は典型的な非同期発達型であることが確認された。一方、雄では、満1歳に初回成熟し、満2歳でも同様の成熟がみられた。3月から6月までの繁殖期のための精子形成はすでに前年の10月から開始され、繁殖期後期の5月頃まで、およそ8カ月間続くことが観察された。雌親魚の個体毎の1産卵期を通じた産卵状況を調査したところ、ヒラメは、約3ヶ月の長期に渡る産卵期の間、ほぼ毎日のように産卵し、非常に多くの卵を産出することが判明した。このように、ヒラメは、非同期発達型の卵母細胞の発達様式に一致した多回産卵魚であることが確認された。

性転換雄と通常雌による産卵実験によって、性転換雄の放精行動は正常であり、全雌卵(XX卵)が容易に大量作出できることが確かめられた。さらに、得られた全雌卵を用い、20℃の恒水温飼育による雄への転換阻止を施し、準量産規模での種苗生産実験を行なった。その結果、雌の割合が84%から100%の種苗を多数生産することができた。このように、自然産卵で得られた性転換雄次世代の種苗生産によって、ヒラメの雌性化種苗の大量生産が可能であることが確認された。ヒラメの雌性化種苗生産は、性転換雄の確保によって、既存の生産現場で、ほぼ従来どおりの方法で実施可能である。今後は、現場での生産例の蓄積の過程で、より確実な性転換の阻止条件を検討するなど、合理的な技術改良が必要であろう。

遺伝的に均質な同一クローン集団内の雌雄の成長差について調査した。その結果、ヒラメの雌雄の成長差は、成熟の成長におよぼす影響に起因するものであり、雄の成熟年齢が雌より小さいこととともに、雌雄で成熟時の成長の停滞の程度が異なることによっていることが確認された。また、クローン群は遺伝的に均質であり、雌雄の成長差は、遺伝的背景によるものではなく、表現型としての性によって生じていることが明らかとなった。また、準量産規模で作出された雌性化種苗の飼育実験を行ない、成長過程を通常ヒラメと比較し、その養殖利用における有利性の実証を試みた。その結果、雌性化種苗は、生育において正常であり、成長の速い雌を高率に含むことから、養殖効率において著しく優れていることが実証された。ヒラメ養殖における雌性化種苗の利用は、養殖期間の短縮を実現するとともに、大型魚生産において有効であり、きわめて経済性が高いことが示された。

第5に、ヒラメのクローンを利用した育種技術について検討する目的で、ヒラメのクローン集団の作出と特性調査を行なった。まず、第1卵割阻止型雌性発生2倍体の誘起による完全同型接合体の作出を行なった。次いで、これを親魚とする次世代のクローン群を得た。さらに、クローン世代の維持および増殖方法について検討した。また、クローン集団間雑種の特性について調査した。

ヒラメの第1卵割阻止型雌性発生2倍体の作出例では、第2極体放出阻止型雌性発生2倍体

の場合に比較して、奇形胚の増加と仔稚魚の生残率の低下が特徴的であった。作出した第1卵割阻止型雌性発生2倍体には、いくつかの形質において変異幅の拡大を認めることができた。とくに、全長における変異幅の拡大は顕著であった。このことから、親魚の内在する遺伝的多様性を反映し、第1卵割阻止型雌性発生2倍体世代において遺伝的分離が生じ、個体間の遺伝変異が拡大したことが示された。ヒラメの第1卵割阻止型雌性発生2倍体の作出群は、完全同型接合体のみからなり、第2極体放出阻止型雌性発生2倍体個体を含まないことが、アイソザイム (IDH) を遺伝的マーカーにして確認された。

第1卵割阻止型雌性発生2倍体雌を親魚とするクローン世代の作出例において、群の卵発生成績は、ばらつきが大きいものの、多くの例で第1卵割阻止型雌性発生2倍体世代より明らかに向上した。また、変態期以後の稚魚の生残状況が通常のヒラメの場合を大きく上回る例も認められた。このことから、第1卵割阻止型雌性発生2倍体の生残個体において悪性遺伝子の排除がある程度実現し、クローン世代において遺伝的素性の改善が現れたことが示された。クローン世代では、種々の形質において変異幅の縮小が認められ、遺伝的変異の消失が示唆され、第1卵割阻止型雌性発生2倍体世代と対称的であった。とくに、体各部のプロポーシオンと体側の斑紋パターンで、クローン集団内の個体間の特徴がきわめて良く一致した。作出したクローン世代が遺伝的に均質なクローン集団であることが、組織移植実験およびDNAフィンガープリント法によって確認された。

クローン世代の雌から採卵し、MT処理で雄に誘導した同一クローン集団の雄と通常の交配をすることによって、クローン第2世代を作出することができた。このことから、ヒラメにおいても、一度作出したホモ型クローン (完全同型接合体のクローン集団) の継代にわたる維持および増殖が可能であることが確かめられた。ヒラメの場合は、クローン集団の通常の飼育群内にも雌雄の両方が出現し、MT処理による雄への誘導を必ずしも要せずに性転換雄が得られ、クローン集団の増殖が可能である。さらに、クローン世代の雌雄による産卵群から正常な胚形成卵が得られ、水槽内での自然産卵によってクローン卵が大量に作出される可能性が示唆された。

異なるホモ型クローン間の交雑 (異なる完全同型接合体雌雄の交配) によって、ヘテロ接合体の遺伝子座を多数持ちながらも、群内では遺伝的に均質なヘテロ型クローンが作出された。ヘテロ型クローンとホモ型クローンの特性の比較実験を通じて、仔稚魚期から1歳魚について、成長度、生残性、および耐病性において、ヘテロ型クローンがホモ型クローンより大きく上回る成績を示した。ヘテロ型クローンは、雑種強勢が生じ、より強健であり、養殖実用性に著しく勝ることが判明した。しかし、クローン集団の維持はホモ型クローンのみで可能であり、ヘテロ型クローンはホモ型クローン間の交雑によって1世代限りで作出される。それゆえ、ホモ型クローンは家系の保存、一方、ヘテロ型クローンは実際の養殖用種苗として有用であることが明かとなった。

以上のような研究成果から、ヒラメのクローンを利用した育種技術の方法論について考察した。その実行は今後の課題であるが、これによって、ヒラメの品種改良に要する時間が著しく短縮されることが期待される。

## 要 約

- (1) ヒラメの仔魚および変態着底直後の稚魚の生殖腺は形態的に性的未分化期にあった。卵巢および精巣はそれぞれ全長 27 mm および 37 mm の個体で互に区別できる形態的分化を示した。性分化は生殖腺の体細胞性要素による形態形成が先行し、生殖細胞の減数分裂開始はこれより遅れて、卵巢では 69 mm、精巣では 129 mm の個体で認められた。
- (2) ヒラメの雌性発生 2 倍体やその後代等について性比調査を行なった。エストラジオール-17 $\beta$  (E<sub>2</sub> と略記) の低濃度処理群の性比から、遺伝的性決定は基本的に雄ヘテロ型 (XX-XY 型) であることが明らかとなった。従って、遺伝的全雌群を得るためには、雌性発生 2 倍体の作出および性転換雄 (XX 雄) と通常雌 (XX 雌) の交配が有効である。性転換雄は、雌性発生 2 倍体の雄への誘導によっても、通常ヒラメの雄への誘導 (検定交配を必要とする) によっても得ることができた。
- (3) 遺伝的雌 (XX 個体) の性分化は遺伝的に強く固定されておらず、通常の飼育条件下でも雄への性分化の転換が容易に生じた。それゆえ、雌を安定して作出するためには、遺伝的全雌群の作出に加え、遺伝的雌の雄への性転換を阻止することも必要である。
- (4) 性分化時期の飼育水温が遺伝的雌の性分化に関与することが判明した。とくに、高水温条件下 (25~27.5 °C) で飼育すると、遺伝的雌が生理的雄へ高頻度で性転換することが分かった。低水温条件下 (15 °C) でもその傾向が強かった。遺伝的雌が雄に転換する高水温の感受期は全長 12 mm から 30 mm 前後の時期にあることが示された。
- (5) 着底期から全長 50 mm までの期間の適水温 (20 °C) による飼育は遺伝的雌の雄への性分化の転換の阻止に有効であり、一方、高水温飼育は性転換雄の作出手法として利用できることが分かった。
- (6) 遺伝的雄は飼育水温によって性分化の転換を生じて生理的雌となることはなかった。
- (7) 遺伝的雌を生理的雄に誘導する 17 $\alpha$ -メチルテストステロンの有効な浸漬処理濃度および経口投与濃度は、それぞれ 1 ppb から 10 ppb (下限不明) および 0.01 ppm から 10 ppm (下限不明) であり、低濃度側に非常に幅広い有効範囲を示した。
- (8) 遺伝的雄を生理的雌に誘導する E<sub>2</sub> の有効な経口投与濃度は 3 ppm から 10 ppm (上限不明) である一方、遺伝的雌の雄への性転換を阻止し、雌への分化を促進する E<sub>2</sub> の有効な経口投与濃度および浸漬処理濃度は、それぞれ 0.1 ppm から 1 ppm (上限不明) および 1 ppb から 10 ppb (上限不明) と下限が低いことが示された。それゆえ、E<sub>2</sub> の 0.1 ppm ないし 0.3 ppm の濃度での経口投与は、1 ppb から 10 ppb の浸漬処理と同様、遺伝的雄の雌への転換には有効でないが、遺伝的雌の雄への性転換阻止に有効である。遺伝的雌の雄への性転換阻止における E<sub>2</sub> の感受期は全長 28 mm から 39 mm 前後の時期にあることが分かった。
- (9) 雌の生殖周期を調査した結果、満 2 歳で初回成熟する個体が出現し、繁殖期の 2 カ月前から卵黄形成が開始された。繁殖盛期の卵巢卵組成から、ヒラメの卵母細胞の発生様式は典型的な非同期発達型であることが確認された。ヒラメはこの様式に適合した多回産卵魚であり、約 3 カ月の産卵期間、同一個体がほぼ毎日産卵することが判明した。

- (10) 雄では、満1歳に初回成熟し、繁殖期のための精子形成は早期より開始され、8カ月もの長期間続くことが観察された。
- (11) 遺伝的に均質な同一クローン集団内の雌雄について成長差を調査した結果、平均体重で雌は雄の1.8倍(日齢445)ないし2.9倍(日齢773)に達した。これは、雄が早熟で成熟体サイズが小さく、その成熟時の著しい成長停滞に起因することが分った。
- (12) 性転換雄と通常雌による自然産卵実験によって、性転換雄の放精行動は正常であり、全雌卵(XX卵)が容易に大量作出できることを確認した。得られた全雌卵を用い、性分化時期の20℃の恒温飼育による雄への転換阻止を施し、準量産規模で雌性化種苗を多数生産することができた。これらは、生育において正常であり、成長の速い雌を高率に含むことから、養殖効率において著しく優れることが実証された。
- (13) 第1卵割阻止型雌性発生2倍体の作出例では、奇形胚の増加と仔稚魚の生残率の低下が特徴的であった。作出魚のいくつかの形質において変異幅の拡大がみられた。作出群は完全同型接合体のみからなることが、アイソザイムを遺伝的マーカーにして確認された。
- (14) 第1卵割阻止型雌性発生2倍体雌を親魚とするクローン世代の作出例では、卵発生成績と仔稚魚の生残率が回復する例が多かった。また、作出魚の種々の形質で変異幅の縮小が認められた。作出した群が遺伝的に均質なクローン集団であることが、組織移植実験およびDNAフィンガープリント法で確認された。
- (15) クローン世代の雌雄の交配でクローン第2世代が得られ、一度作出したホモ型クローン(完全同型接合体のクローン集団)の継代にわたる維持増殖が可能であることが確かめられた。さらに、クローン集団内の雌雄による産卵群から正常な胚形成卵が得られ、水槽内での自然産卵によってクローン卵が量産される可能性が示唆された。
- (16) 異なるホモ型クローン間の交雑(完全同型接合体雌雄の交雑)によって、ヘテロ接合体の遺伝子座を多数持ちながらも、遺伝的に均質なヘテロ型クローンが作出された。これは、仔稚魚期から1歳魚について、成長度、生残性、および耐病性において、ホモ型クローンを大きく上回る成績を示し、養殖実用性に勝ることが示された。
- (17) ヒラメのクローンを利用した育種技術の方法論について提起した。

本研究を取りまとめるにあたり、懇切な指導と鞭撻を賜わり、また、厳密な校閲を頂いた北海道大学水産学部、山崎文雄教授に深甚なる敬意と謝意を表すとともに、有益な助言と校閲を頂いた同学部、尼岡邦夫教授、山内皓平教授、ならびに後藤晃助教授に衷心より感謝申し上げます。

また、北海道大学の高橋裕哉名誉教授、山羽悦郎博士、足立伸次博士、木村志津雄技官、佐藤仁志氏、北海道立水産卵浮化場の岡田鳳二博士、東北大学の藤尾芳久教授、木島明博助教授、東北海区水産研究所の飯倉敏弘資源増殖部長、東京大学の鶴飼保雄教授、会田勝美教授、東京水産大学の隆島史夫教授、帝京大学の中村将博士、国際農林水産研究センター水産部の福所邦彦部長、原素之博士、日本海区水産研究所の野上和彦元資源増殖部部长、安永義暢資源増殖部部长、新潟大学医学部の出羽厚二博士、信州大学の小野里坦教授、遺伝学研究所の酒井寛一名誉教授、基礎生物学研究所の長濱嘉孝教授、岐阜大学の古田喜彦教授、水産庁養殖研究所の畔田正格所長、加藤禎一前企画連絡室長、和田克彦遺伝育種部長、中西照幸博士、田中秀樹主任研究官、京都大学の青海忠久博士、近畿大学の上野紘一教授、兵庫県水産試験場の田畑和男博士、鳥取大学のKip A. Cates講師、広島大学の鈴木亮前教授、荒井克俊助教授、高知大学の谷口順彦教授、そして琉球大学の高野和則教授には、本研究を進めていくうえで、貴重な助言と示唆を直接、または間接に与えられ、さらに、試料の分析などに協力頂いた。ここに厚く感謝申し上げます。

本研究を命ぜられた鳥取県栽培漁業試験場の佐竹嘉泰元場長（現鳥取県漁連会長）に敬意をもって感謝申し上げます。同じく、元場長の小林啓二博士、鳥取県水産試験場の植田健二前場長、謡口紀彦前次長、ならびに伊藤朝康場長には、研究をおこなううえで大きな便宜をはかって頂いた。記して感謝申し上げます。また、飼育などにおいて援助して頂いた同水産試験場の増谷龍一郎、三木教立、平野ルミ、岸本好博の各研究員、そして鳥取県栽培漁業センターの職員の方々に感謝する。

本研究の研究費は、県費とともに、農林水産省からの補助金でまかなわれた。関係各位に謝意を表する。

著者は、小学生低学年より熱帯魚等飼育マニアの少年であり、二十数年前の中学生当時、故山本時男名古屋大学名誉教授の著作によって、魚類研究への指向を決定的なものとした。また、著者が大学院生当時、故山本喜一郎北海道大学名誉教授には、専門分野を越えながらも、個人的な親しみをもって、研究者としてあるべき姿を、老大家の重みを持った言葉でせっせつとお教え頂いた。そうした出会いがなければ、曲折を経ながらも、尊敬する両研究者の業績に関連した著者のこの研究は成就されなかったであろう。それゆえ、末筆ながら、著者は、あまりにも僭越ではありますが、国際的レベルで時代を画したこの偉大な二人の研究者に、心より感謝の念をお示しいたします。

## 引用文献

- Allendorf, F. W. and R. F. Leary (1984) : Heterozygosity in gynogenetic diploids and triploids estimated by gene-centromere recombination rates. *Aquaculture*, **43**, 413~420
- Allendorf, F. W., J. E. Seeb, K. L. Knudsen, G. H. Thorgaard and R. F. Leary (1986) : Gene-centromere mapping of 25 loci in rainbow trout. *J. Hered.*, **77**, 307~312
- Chourrout, D. (1984) : Pressure-induced retention of second polar body and suppression of first cleavage in rainbow trout : production of all-triploids, all-tetraploids and heterozygous and homozygous diploid gynogenetics. *Aquaculture*, **36**, 111~126
- 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
- Clemens, H. P. and T. Inslee (1968) : The production of unisexual broods by *Tilapia mossambica* sex-reversed with methyltestosterone. *Trans. Am. Fish. Soc.*, **97**, 18~21
- Conover, D. O. and B. E. Kynard (1981) : Environmental sex determination : interaction of temperature and genotype in a fish. *Science*, **213**, 577~579
- Conover, D. O. (1984) : Adaptive significance of temperature-dependent sex determination in a fish. *Am. Nat.*, **123**, 297~313
- Conover, D. O. and M. H. Fleisher (1986) : Temperature-sensitive period of sex determination in the Atlantic silverside, *Menidia menidia*. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, **43**, 514~520
- Conover, D. A. and S. W. Heins (1987) : Adaptive variation in environmental and genetic sex determination in a fish. *Nature*, **326(6112)**, 496~498
- Conover, D. A. and D. A. van Voorhees (1990) : Evolution of a balanced sex ratio by frequency-dependent selection in a fish. *Science*, **250**, 1556~1558
- Dawley, R. M., R. J. Schultz and K. A. Goddard (1987) : Clonal reproduction and polyploidy in unisexual hybrids of *Phoxinus eos* and *Phoxinus neogaeus* (Pisces : Cyprinidae). *Copeia*, **1987** (2), 275~283
- 出羽厚二・内藤笑美子・山内春夫 (1991) : ミニサテライトDNAの生物学的・医学的意義 - DNAフィンガープリント法の応用 - *最新医学*, **46**, 2235~2239
- 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
- Goetz, F. W., E. M. Donaldson, G. A. Hunter and H. M. Dye (1979) : Effects of estradiol- $17\beta$  and  $17\alpha$ -methyltestosterone on gonadal differentiation in the coho salmon, *Oncorhynchus kisutch*. *Aquaculture*, **17**, 267~278
- Gomelsky, B. L., V. A. Hiyasova and N. B. Chervas (1979) : Investigation of radiation-induced diploid gynogenesis in carp of gynogenetic origin. *Genetik*, 2027~2031
- 原素之・出羽厚二・内藤笑美子・山内春夫 (1993) : 非放射性プローブを用いたヒラメのDNA



- フィンガープリント 日水研報, 43, 117~123.
- 原素之・羽羽厚二・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(4), 731
- 原田輝雄・某田 晋・村田 修・熊井英水・水野兼八郎 (1966) : ヒラメの人工孵化仔魚の飼育とその成長について. 近大水研報, 1, 289~303.
- 原田輝雄 (1980) : ヒラメ養殖の現状と問題点. 養殖, 17(4), 48~53.
- 原田輝雄 (1981) : ヒラメのタンク養殖, 施設, 飼育技術から管理まで. 養殖, 18(4), 44~48
- 原田輝雄・村田 修・宮下 盛・小田誠二・清水清和・上野紘一 (1983) : 養殖ヒラメの雌雄による成長度の相違について. 昭和58年度日本水産学会春期大会講演要旨集, 125.
- Harris, A S., S Bieger, W Doyle and J. M. Wright (1991) : DNA fingerprinting of tilapia, *Oreochromis niloticus*, and application to aquaculture genetics. Aquaculture, 92, 157~163
- 平本義春・小林啓二 (1979) : ヒラメの種苗生産について. 栽培技研, 8, 41~51
- 平本義春・小林啓二・三木教立 (1980) : ヒラメの種苗生産に関する研究—II—ふ化仔魚の10kℓ水槽による飼育について. 水産増殖, 28, 134~141.
- 平本義春 (1981) : ヒラメの種苗生産, 排卵から稚魚の飼育まで. 養殖, 18(4), 54~58
- 平本義春, 三木教立, 小林啓二 (1981) : ヒラメの自然産卵による採卵と仔魚のふ化について. 鳥取水試報告, 23, 7~12
- 平野ルミ・山本栄一 (1992) : 個別飼育実験によるヒラメの産卵周期と産卵数の確認. 鳥取水試報告, 33, 18~28.
- Hunter, G A , E. M Donaldson, F W Goetz and P R. Edgell (1982) : Production of all-female and sterile coho salmon, and experimental evidence for male heterogamety. Trans Am Fish Soc , 111, 367~372.
- 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.
- Jeffreys, A J , V Wilson and S C Thein (1985) : Hypervariable 'minisatellite' regions in human DNA. Nature, 314, 67~73
- Johnstone, R , T H. Simpson and A. F Youngson (1978) : Sex reversal in salmonid culture. Aquaculture, 13, 115~134
- Johnstone, R., T H Simpson A F. Youngson and C Whitehead (1979) : Sex reversal in salmonid culture Part II The Progeny of sex-reversed rainbow trout. Aquaculture, 18, 13~19
- Johnstone, R and A F Youngson (1984) : The progeny of sex-inverted female Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). Aquaculture, 37, 179~182
- Kagawa, H , H Tanaka, K Okuzawa, M. Matsuyama and K. Hirose (1991) : Diurnal changes in plasma  $17\alpha$ ,  $20\beta$ -dihydroxy-4-pregnen-3-one levels during spawning season in the red sea bream *Pagrus major*. Nippon Suisan Gakkaishi, 57(4), 769

- 小林徹 (1992) : ニジマス・アマゴにおける雌性発生法の育種への応用とクローン作出. 水産育種, 17 : 1~4
- Komen, J, A. B. J. Bongers, C. J. J. Richter, W. B. van Muiswinkel and E. A. Huisman (1991) : Gynogenesis in common carp (*Cyprinus carpio* L.) II The production of clones of homozygous gynogenetic clones and F1 hybrids. *Aquaculture*, 92, 127~142.
- 熊井英水 (1990) : ヒラメ-飼育と管理のやさしい解説. 490~496 本間昭郎編. 活魚大全. フジ・テクノシステム. 東京.
- Malison J. A, T. B. Kayes, C. D. Best and C. H. Amundason (1986) : Sexual differentiation and use of hormones to control sex in yellow perch (*Perca flavescens*). *Can J Fish Aquat Sci.*, 43, 26~35
- 万年英之 (1991) : 家畜におけるDNAフィンガープリント法. *ABRI*, 19, 11~18
- 松浦周平 (1972) : マダイ卵巣卵の成熟過程と産卵数. 九大農学芸誌, 26, 203~215
- 松浦周平・古市政幸・丸山克彦・松山倫也 (1988) : マダイ1尾による毎日産卵の確認とその卵質. 水産増殖, 36(1), 33~39
- Matsuyama M, S. Adachi, Y. Nagahama and S. Matsuura (1988) : Diurnal rhythm of oocyte development and plasma steroid hormone levels in the female red sea bream, *Pagrus major*, during the spawning season. *Aquaculture*, 73, 357~372
- 水上稔 (1979) : 生理的塩類溶液-その処方と作り方-. 啓学出版. 東京. xiii+411pp.
- 村松晉 (1984) : 性決定様式と性染色体. 25~38. 日本比較内分泌学会編. 性分化とホルモン学会出版センター. 東京.
- Nagy A, K. Rajiki, L. Horvath and V. Csanyi (1978) : Investigation on *Cyprinus carpio* L., gynogenesis. *J Fish Biol*, 13, 215~224.
- 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
- Nakamura, M (1975) : Dosage-dependent changes in the effect of oral administration of methyltestosterone on gonadal sex differentiation in *Tilapia mossambica*. *Bull. Fac. Fish Hokkaido Univ.*, 26(2), 99~108
- 中西照幸 (1986) : 下等脊椎動物における免疫遺伝学的研究の現状. 水産育種, 11, 13~23
- 中西照幸 (1989) : 移植免疫法による雌性発生魚の近交度判定. 養殖, 26(10), 76~79
- Naruse, K, K. Ijiri, A. Shima and N. Egami (1985) : The production of cloned fish in the medaka (*Oryzias latipes*). *J. Exp. Zool*, 236, 335~341
- Okada, H, H. Matumoto and F. Yamazaki (1979) : Functional masculinization of genetic females in rainbow trout. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish*, 45, 413~419.
- 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.
- 小野進・奥村紀男 (1984) : 親魚と産卵. 7~24. 日本水産資源保護協会編. 北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. 日本水産資源保護協会. 東京.
- 小野里坦 (1983) : 魚類の人為倍数化とその利用. 水産育種, 8, 17~29.

- 小野里坦・山羽悦郎 (1983) : 紫外線照射によるサケ目 4 種の雌性発生誘起 日水誌, 49(5), 693~699.
- 小野里坦 (1987) : ニジマスおよびサクラマスの第 1 卵割阻害による雌性発生二倍体 昭和 62 年度日本水産学会春季大会講演要旨集, 61
- 小野里坦 (1990) : ニジマスに於ける雌性発生を利用したクローン作出 平成 2 年度日本水産学会春季大会講演要旨集, 53
- 大野乾 (1979) : 性の本質と第一次 (性腺) 性決定機構. 3~12. C L. Markert, 山本雄一監修. 性 I. 中山書店. 東京
- 大塚修・丸山雄・平野正人 (1980) : ヒラメ種苗の量産化に関する研究 - I. 大型水槽における親魚養成と自然産卵について. 新潟栽セ業研報, 3, 67~72
- Oshiro, T (1987) : Sex ratio of diploid gynogenetic progeny derived from five different females of gold fishes Nippon Suisan Gakkaishi, 53, 1899.
- Purdom, C E (1969) : Radiation-induced gynogenesis and androgenesis in fish Heredity, 24, 431~444
- Purdom, C E (1972) : Induced polyploidy in plaice (*Pleuronectes platessa*) and its hybrid with the flounder (*Platichthys flesus*) Heredity, 29, 11~24
- Purdom, C E (1976) : Genetic techniques in flatfish culture J. Fish Res. Board Can., 33, 1088~1093
- Purdom, C E (1983) : Genetic engineering by the manipulation of chromosomes. Aquaculture, 33, 287~300
- Refstie, T, J Stoss and E M Donaldson (1982) : Production of all female coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) by diploid gynogenesis using irradiated sperm and cold shock Aquaculture, 29, 67~82.
- Rubin, D. A (1985) : Effect of pH on sex ratio in cichlids and a poeciliid (Teleostei) Copeia, 1985(1), 233~235.
- Stanley J G (1976) : Female homogamety in grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) determined by gynogenesis J Fish Res Board Can., 33, 1372~1374
- Streisinger, G, C Walker, N Dower, D Knauber and F Singer (1981) : Production of clones of homozygous diploid zebra fish (*Brachydanio rerio*) Nature, 291, 293~296
- Sullivan, J A and R J Schultz (1986) : Genetic and environmental basis of variable sex ratios in laboratory strains of *Poeciliopsis lucida* Evolution, 40(1), 152~158.
- Suzuki, R, T. Oshiro and T Nakanishi (1985) : Survival, growth and fertility of gynogenetic diploids induced in the cyprinid roach, *Myxogobius anguillicaudatus*. Aquaculture, 48, 45~55
- 田畑和男・五利江重昭・中村一彦 (1986a) : 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
- 田畑和男・五利江重昭・谷口順彦 (1986b) : アイソザイムマーカー遺伝子によるヒラメ雌性

- 発生 2 倍体および 3 倍体誘導の確認。水産育種, 11, 35~41
- 田畑和男・五利江重昭 (1987a) : ヒラメ親魚のアイソザイム遺伝子型の生体検査法と IDH 遺伝子座-動原体間の組換え率について。水産育種, 12, 51~56
- 田畑和男・五利江重昭 (1987b) : ヒラメの雌性発生 2 倍体誘起方法の効率化。水産増殖, 34, 227~230
- 田畑和男・五利江重昭 (1987c) : 低温ショックによるヒラメの雌性発生 2 倍体誘起におよぼす有効水温範囲について。兵庫水試研報, 25, 33~35
- 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
- 田畑和男・五利江重昭 (1988a) : 同一水槽内飼育による雌性発生 2 倍体と正常発生ヒラメの成長比較。日水誌, 54(7), 1143~1147
- 田畑和男・五利江重昭 (1988b) : 第 1 卵割阻止によるヒラメの雌性発生 2 倍体の誘起と飼育特性。日水誌, 54(11), 1867~1872
- 田畑和男 (1989a) :  $\beta$  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
- 田畑和男 (1989b) : 第 2 極体放出阻止型雌性発生 2 倍体 0 + 年ヒラメの分離飼育特性。兵庫水試研報, 26, 37~47
- 田畑和男 (1989c) : 染色体操作技術の水産増養殖への導入と問題点。雌性発生, 41~49。鈴木亮編。水産増養殖と染色体操作。恒星社厚生閣。東京
- 田畑和男・五利江重昭・川村芳浩 (1989) : 3 倍体ヒラメの飼育特性。水産増殖, 36, 267~276
- 田畑和男 (1991) : ヒラメの染色体操作に関する研究。兵庫水試研報, 28, 1~134
- Tabata, K. (1991) : Induction of gynogenetic diploid males and presumption of sex determination mechanisms in the hirame *Paralichthys olivaceus* Nippon Suisan Gakkaishi, 57(5), 845~850
- 田口泰子 (1981) : 魚類の遺伝的純化 9~21。江上信雄編。実験動物としての魚類。ソフトサイエンス社。東京
- Takahashi, H. (1975a) : Functional masculinization of female guppies, *Poecilia reticulata*, influenced by methyltestosterone before birth. Bull. Jap. J. Soc. Sci. Fish., 41(5), 499~506
- Takahashi, H. (1975b) : Masculinization of the gonad of juvenile guppies, *Poecilia reticulata*, induced 11-ketotestosterone. Bull. Fac. Fish., Hokkaido Univ., 26, 11~22
- 高橋裕哉 (1978) : 性分化と性転換-魚類・両性類 23~58。日本比較内分学会編。ホルモンと生殖-I。学会出版センター。東京
- 高橋邦雄・早川豊・小倉大二郎・中西広義 (1980) : 水槽内自然産卵によるヒラメ受精卵の確保について。栽培技研, 9, 41~46
- 高野和則 (1989) : 卵巣の構造と配偶子形成。3~34。隆島史夫・羽生功編。水族繁殖学。緑書房。東京

- 隆島史夫・会田勝美 (1984) : 魚類の性分化とホルモン。77~97. 日本比較内分泌学会編。性分化とホルモン。学会出版センター 東京。
- 田中秀樹 (1987) : ヒラメの生殖腺の性分化過程。養殖研報, 11, 7~19
- 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-17 $\beta$ の影響。養殖研報, 13, 17~23.
- 谷口順彦・岡田容典 (1980) : マダイの性化学的多型に関する遺伝学的研究。日水誌, 46(4), 437~443
- 谷口順彦 (1986) : 魚類の雌性発生2倍体におけるG-C組換率と固定指数について。水産育種, 11, 49~58
- Taniguchi N., A. Kijima and J. Fukai (1987) : High heterozygosity at Gpi-1 in gynogenetic diploids and triploids of ayu *Plecoglossus altivelis*. Nippon Suisan Gakkaishi, 53(5), 717~720
- Taniguchi N, S. Seki, J. Fukai and A. Kijima (1988) : Induction of two types of gynogenetic diploids by hydrostatic pressure shock and verification by genetic marker in ayu. Nippon Suisan Gakkaishi, 54(9), 1483~1491
- 谷口順彦 (1989) : 染色体操作の遺伝学的意義。104~117. 鈴木亮編。水産増養殖と染色体操作。恒星社厚生閣 東京。
- Taniguchi, N., H. Hatanaka, and S. Seki (1990) : Genetic variation in quantitative characters of meiotic- and mitotic - gynogenetic diploid ayu, *Plecoglossus altivelis*. Aquaculture, 85, 223~233
- 谷口順彦・山崎一臣・佐藤将 (1990) : ニシキゴイにおける卵割阻止型雌性発生2倍体の作出とその証明の必要性について。平成2年度日本水産学会春季大会講演要旨集, 54
- Tayamen, M. M. and W. L. Shelton (1978) : Inducement of sex reversal in *Sarotherodon niloticus* (Linnaeus). Aquaculture, 14, 349~354
- 寺本さゆり (1990) : DNAフィンガープリント法を用いたナシの品種判定。BRAINテクノニュース, 29, 3~5
- Thorgaard G. H., F. W. Allendorf and K. L. Kundsen (1983) : Gene-centromere mapping in rainbow trout : high interference over long map distances. Genetics, 103, 771~783.
- 臼田博 (1989) : アマゴの全雌生産とその特性。水産育種, 14, 11~22
- de Vlaming, V. (1983) : Oocyte development patterns and hormonal involvements among teleosts. 176~199. In J. C. Rankin, T. J. Pitcher and R. Duggan eds. Control processes in fish physiology. Croom Helm London.
- Wallace, R. A. and K. Selman (1981) : Cellular and dynamic aspects of oocyte growth in teleosts. Am. Zool., 21, 325~343.
- 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.
- 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
- 山本栄一・増谷龍一郎 (1990) : 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. 鳥取水試報告, 32, 28～38.
- 山本栄一・増谷龍一郎・平野ルミ (1991) : エストラジオール-17 $\beta$ 経口投与によるヒラメの性比におよぼす影響と性決定機構の推定. 水産育種, 16, 57～62.
- 山本栄一 (1992a) : ヒラメの雌性発生および倍数化を利用した育種. 水産育種, 18, 13～23.
- 山本栄一 (1992b) : ヒラメにおけるクローンの作出と育種利用. 41～52. 日本学会議育種連絡委員会・岐阜大学編. 第13回基礎育種学シンポジウム報告. 岐阜大学農学部. 岐阜.
- 山本栄一・平野ルミ・増谷龍一郎 (1992) : ヒラメのメチルテストステロン投与で全雄に誘導した雌性発生2倍体および通常の2倍体の検定交配と性を決定する遺伝子型についての考察. 鳥取水試報告, 33, 9～17.
- Yamamoto, K. (1956) : Studies on the formation of fish eggs I. Annual cycle in the development of ovarian eggs in the flounder, *Liopsetta obscura*. J. Fac. Sci. Hokkaido Univ. Ser. VI, 12, 362～373.
- Yamamoto, T. (1953) : Artificially induced sex-reversal in genotypic males of the medaka (*Oryzias latipes*). J. Exp. Zool., 123, 571～594.
- Yamamoto, T. (1955) : Progeny of artificially induced sex-reversals of male genotype (XY) in the Medaka (*Oryzias latipes*) with special reference to YY-male. Genetics, 40, 406～419.
- Yamamoto, T. (1958) : Artificial induction of functional sex-reversal in genotypic females of the Medaka (*Oryzias latipes*). J. Exp. Zool., 137, 227～263.
- Yamamoto, T. (1968) : Permanency of hormone-induced reversal of sex differentiation in the medaka *Oryzias latipes*. Annot. Zool. Jpn., 41, 172～179.
- 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.
- Yamamoto, T. (1969) : Sex differentiation. 117～175. In Hoar, W. S. and D. J. Randall (eds) Fish physiology III. Academic Press, New York.
- Yamamoto, T. (1975) : A YY male goldfish from mating estrone-induced XY female and normal male. J. Heredity, 66, 2～4.
- 山内春夫・出羽厚二・内藤笑美子・木南凌 (1989) : DNAによる個人識別と法医学. 日本臨床, 47, 841～847.
- Yamazaki, F. (1976) : Application of hormones in fish culture. J. Fish Res. Bd. Can., 33, 948～958.
- 山崎文雄 (1981) : 繁殖生理実験法. 310～337. 江上信雄編. 実験動物としての魚類. ソフトサイエンス社. 東京.
- Yamazaki, F. (1983) : Sex control and manipulation of fish. Aquaculture, 33, 329～354.
- 山崎文雄 (1989) : 性の分化とその制御. 141～165. 隆島史夫・羽生功編. 水族繁殖学. 緑書.

房. 東京

Yamazaki, F and J Goodier (1993) : Cytogenetic effects of hydrostatic pressure treatment to suppress the first cleavage of salmon embryos. *Aquaculture*, 110, 51~59

安永義暢 (1971) : ヒラメの稚仔の摂餌生態と成長. *東海水研研報*, 68, 31~43

安永義暢 (1972) : ヒラメの稚仔消化器官の発達について. *東海水研研報*, 69, 75~89

安永義暢 (1975) : ヒラメ卵稚仔の発生・生残に及ぼす水温, 塩分の影響について. *東海水研研報*, 81, 151~169



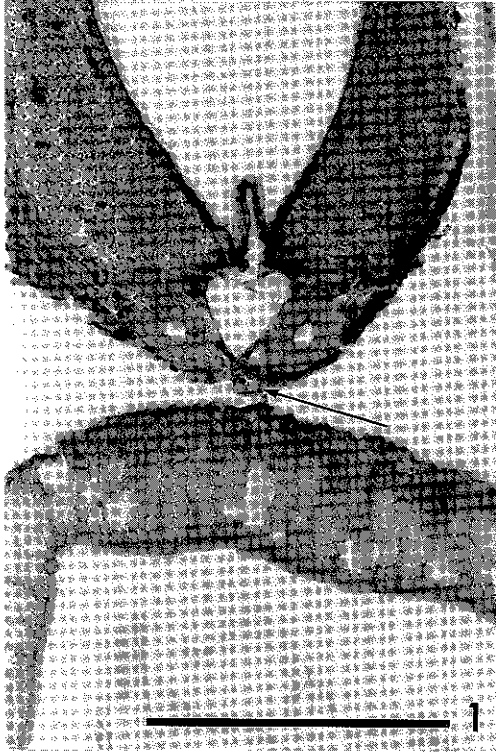


图 版

## Plate I

### Development of sexually indifferent gonad-1.

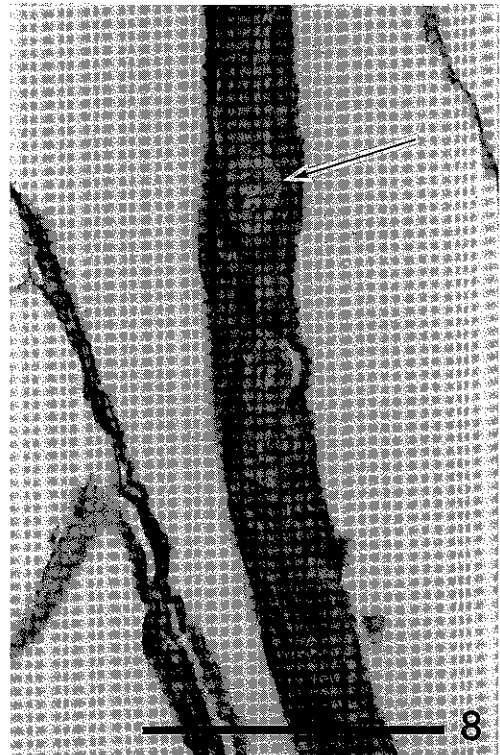
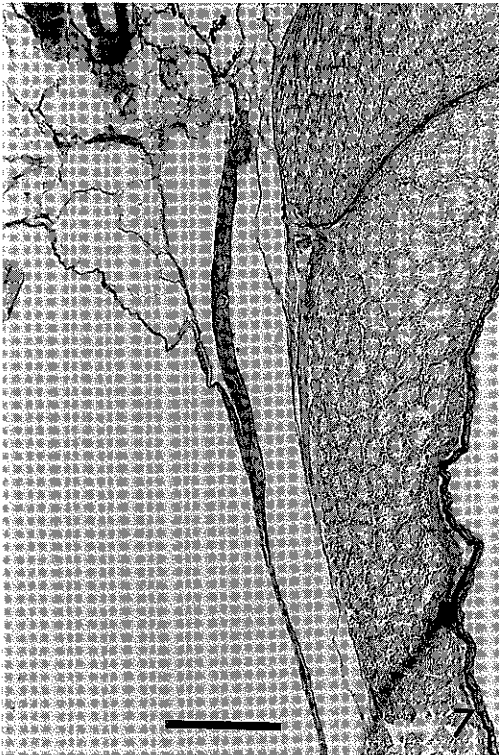
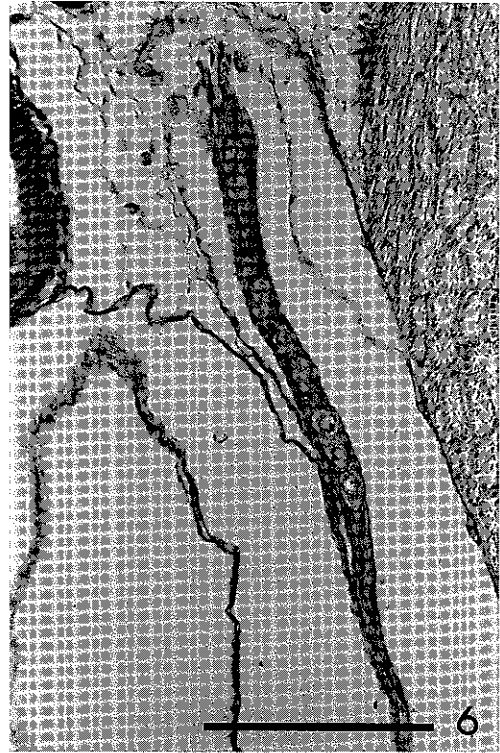
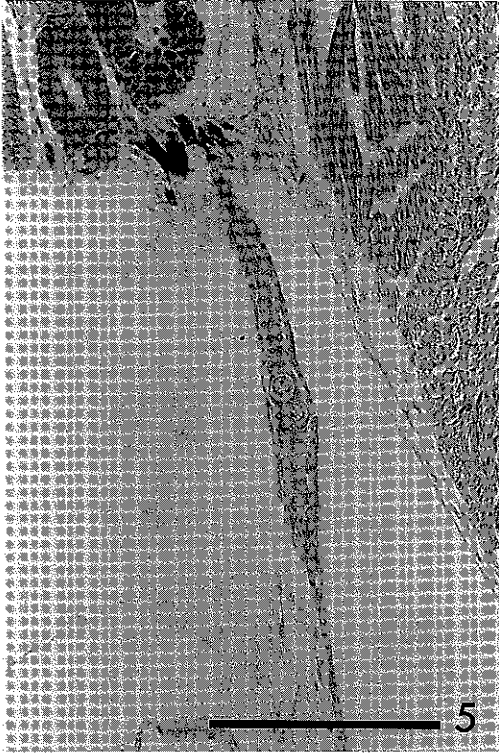
1. Cross section of 4.4 mm TL larva. An arrow shows a primordial germ cell. Bar represents 50  $\mu$ m.
2. Cross section of 7.1 mm TL post-larva. Bar represents 20  $\mu$ m.
3. Higher magnification of 2. Arrows show gonads in both sides. Bar represents 50  $\mu$ m.
4. Cross section of 12.8 mm TL post-larva showing gonads in both sides. Bar represents 20  $\mu$ m.



## Plate II

### Development of sexually indifferent gonad -2

5. Cross section of 15.8 mm TL metamorphosed fish showing a gonad in ocular side. Bar represents 20  $\mu$ m.
6. Cross section of 19.2 mm TL juvenile showing a gonad in ocular side. Bar represents 20  $\mu$ m.
7. Cross section of 23.3 mm TL juvenile showing gonads in both sides. Bar represents 20  $\mu$ m.
8. Higher magnification of 7. An arrow shows a germ cell. Bar represents 50  $\mu$ m.



### Plate III

#### Developmental process of the ovary -1

9. Horizontal section of 27.5 mm TL fish showing an ovary in ocular side. Bar represents 500  $\mu\text{m}$ .
10. Higher magnification of 9. An arrow shows a gonial germ cell. Bar represents 50  $\mu\text{m}$ .
11. Horizontal section of 39.5 mm TL fish showing an ovary in ocular side. Bar represents 500  $\mu\text{m}$ .
12. Higher magnification of 11. An arrow shows a ovarian cavity. Bar represents 50  $\mu\text{m}$ .

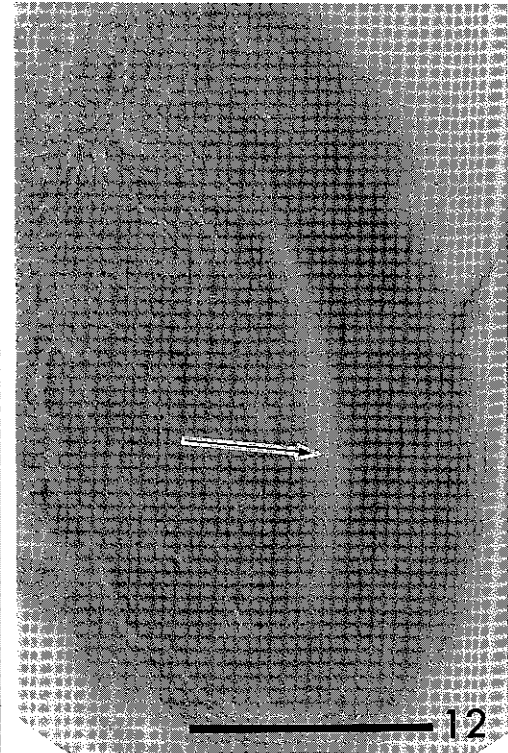
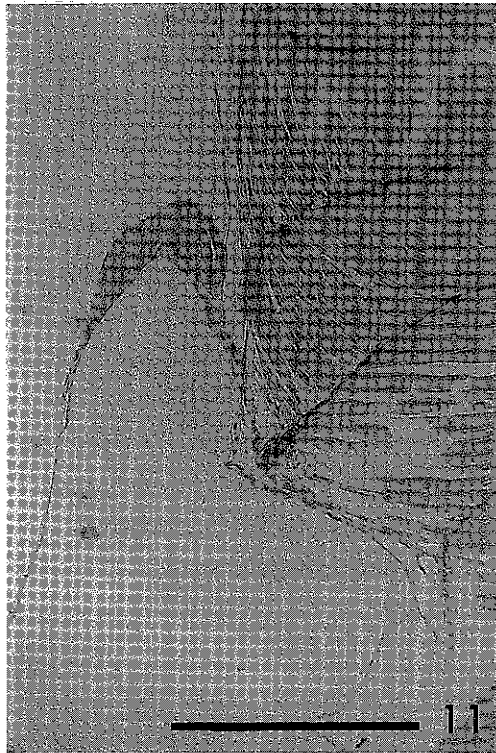
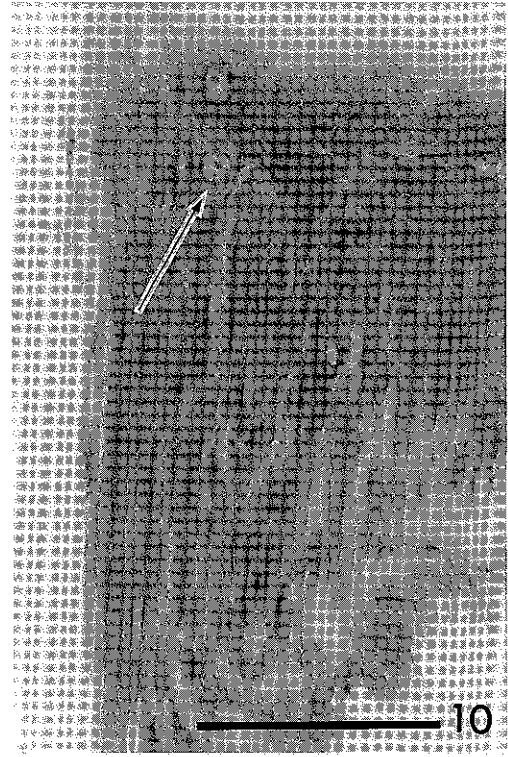
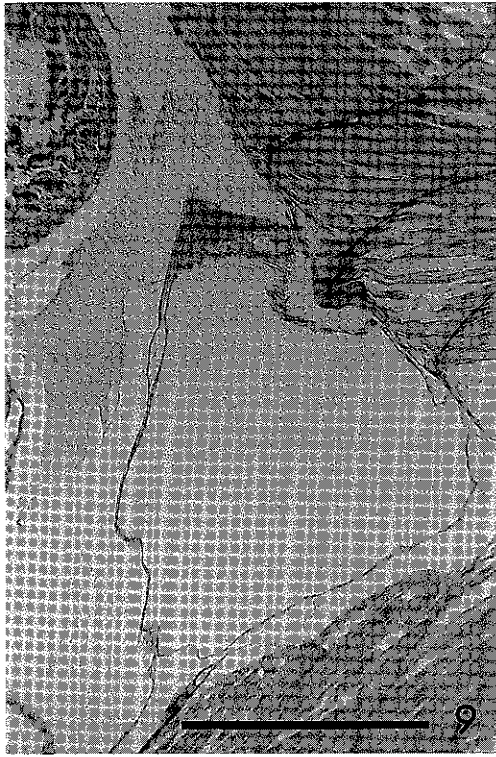


Plate IV

Developmental process of the ovary -2

13. Horizontal section of 69.5 mm TL fish showing an ovary in ocular side. Bar represents 500  $\mu\text{m}$ .
14. Higher magnification of 13. An arrow shows a cyst of oocytes. Bar represents 50  $\mu\text{m}$ .
15. Horizontal section of 94.5 mm TL fish showing an ovary in ocular side. Bar represents 1 mm.
16. Higher magnification of 15. An arrow shows a cyst of oocytes in meiosis. Bar represents 50  $\mu\text{m}$ .



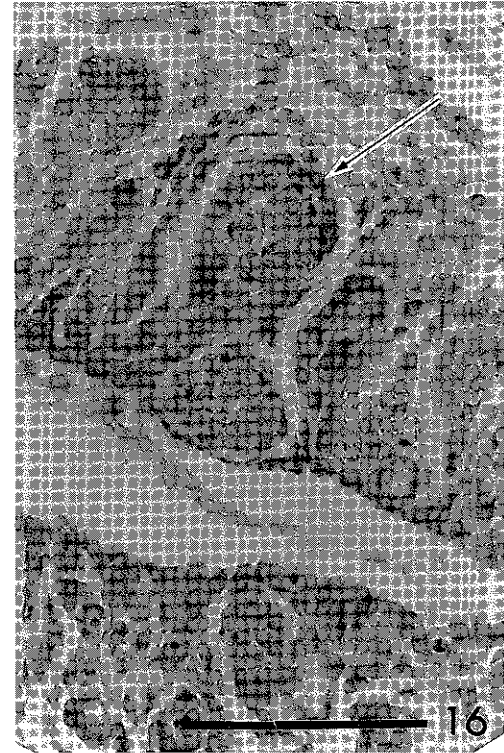
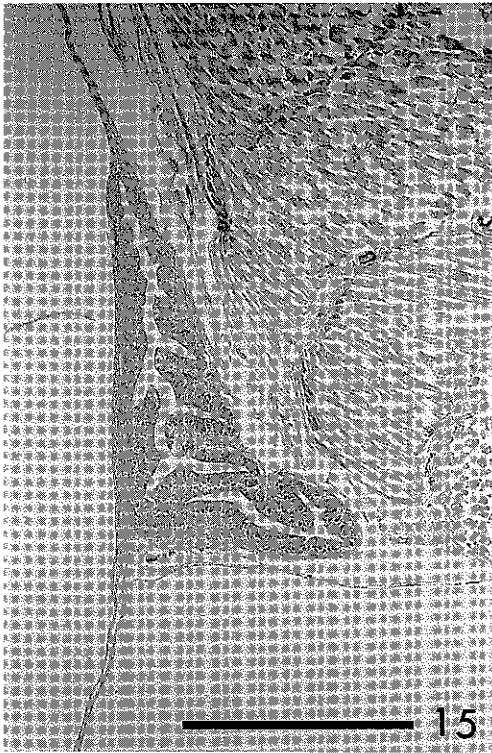
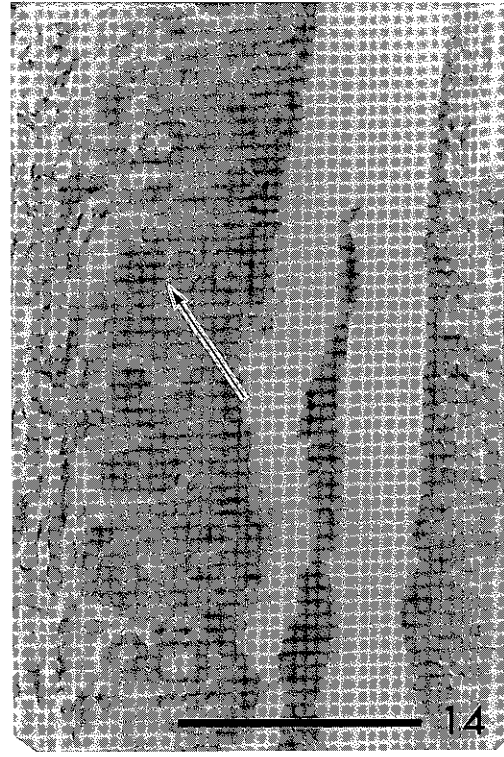
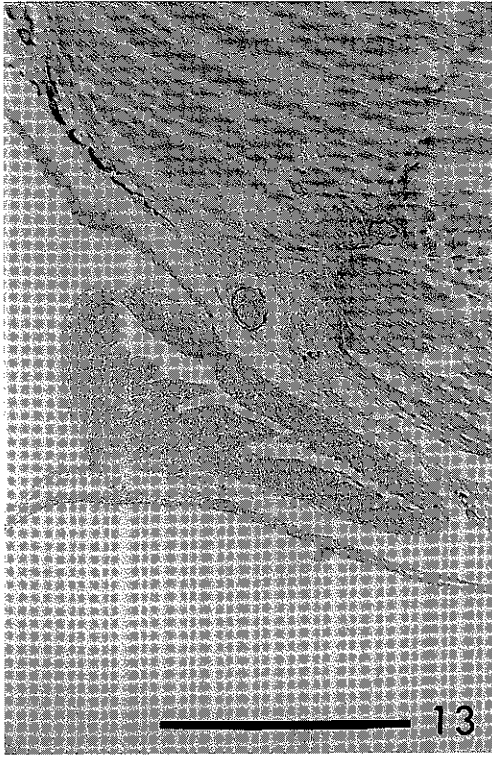
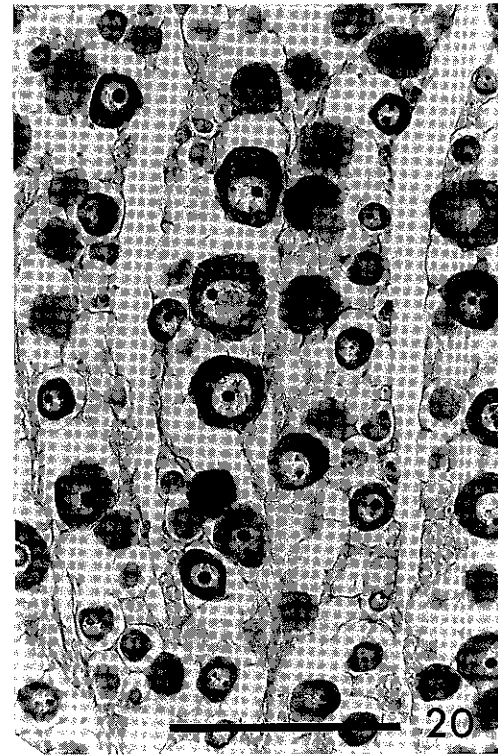
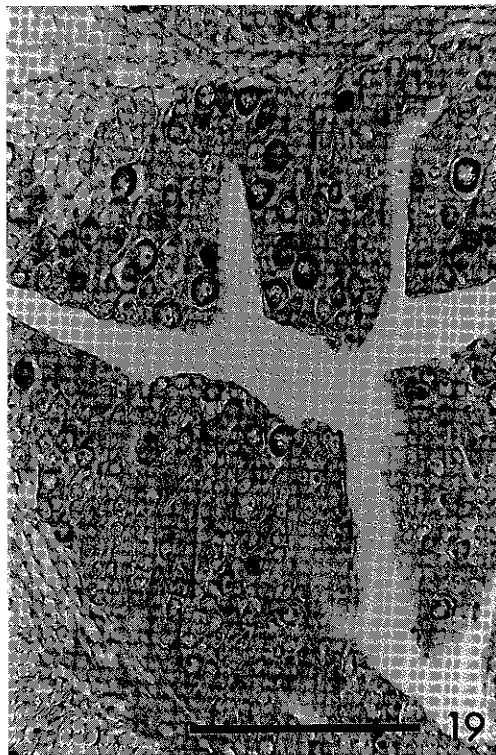
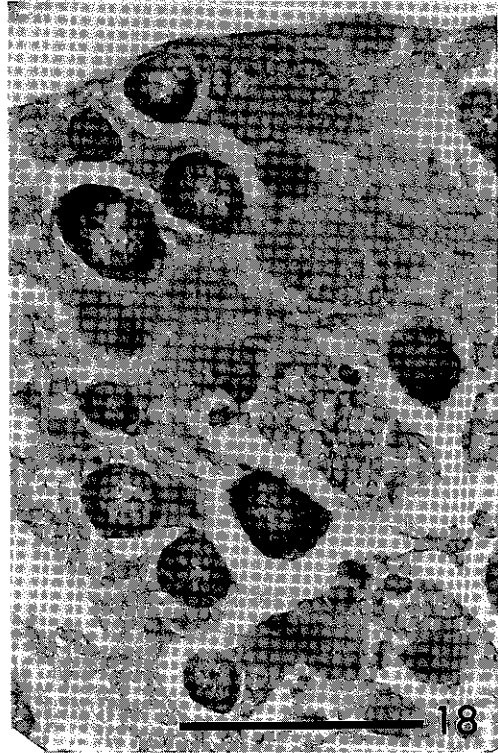
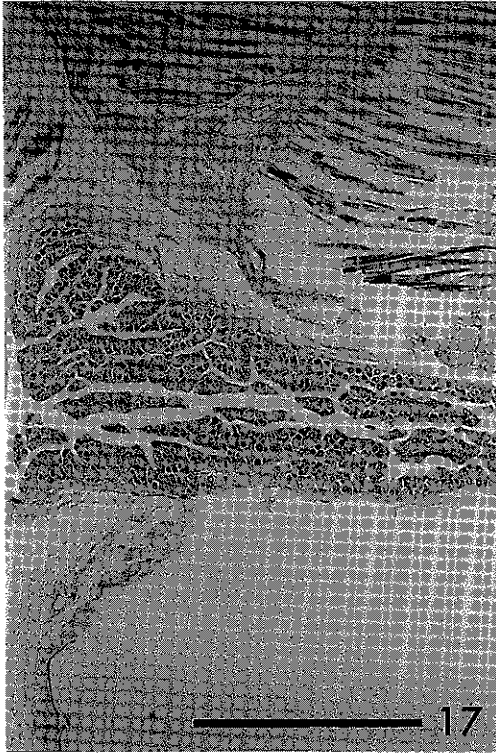


Plate V

Developmental process of the ovary -3.

17. Horizontal section of 127 mm TL fish showing an ovary in ocular side. Bar represents 1 mm.
18. Higher magnification of 17. Many oocytes in the chromatin-nucleolus stage present. Bar represents 50  $\mu$ m.
19. Cross section of an ovary in ocular side from 146mm TL fish. Bar represents 20  $\mu$ m.
20. Cross section of an ovary from 227 mm TL fish with many oocytes in the perinucleolus stage. Bar represents 20  $\mu$ m.



## Plate VI

### Developmental process of the testis -1.

- 21 Horizontal section of 27.3 mm TL fish showing a presumptive testis in ocular side. Bar represents 500  $\mu\text{m}$
- 22 Higher magnification of 21. Bar represents 50  $\mu\text{m}$
- 23 Horizontal section of 37.0 mm TL fish showing a testis in ocular side. Bar represents 500  $\mu\text{m}$ .
- 24 Higher magnification of the testis in 23. Bar represents 50  $\mu\text{m}$ .

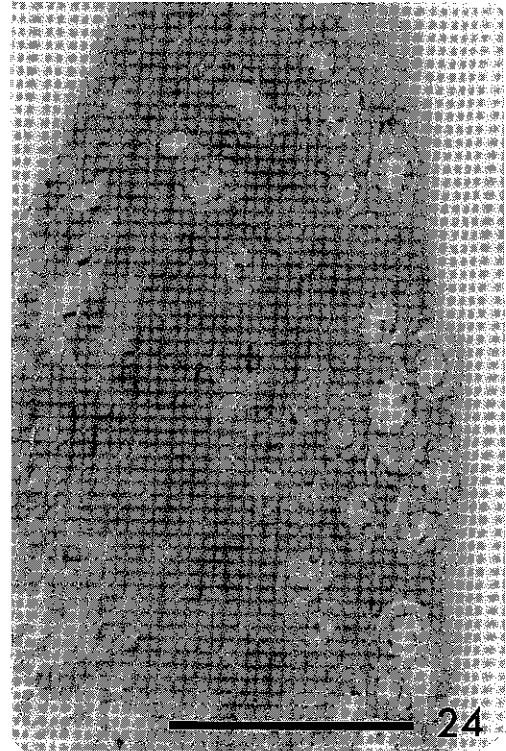
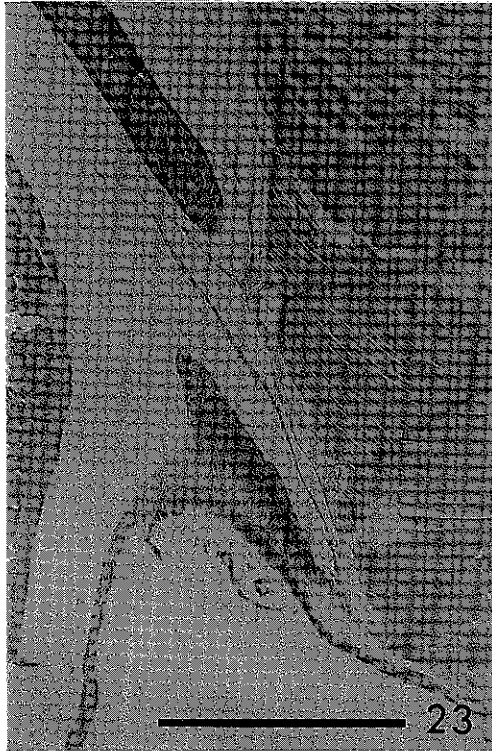
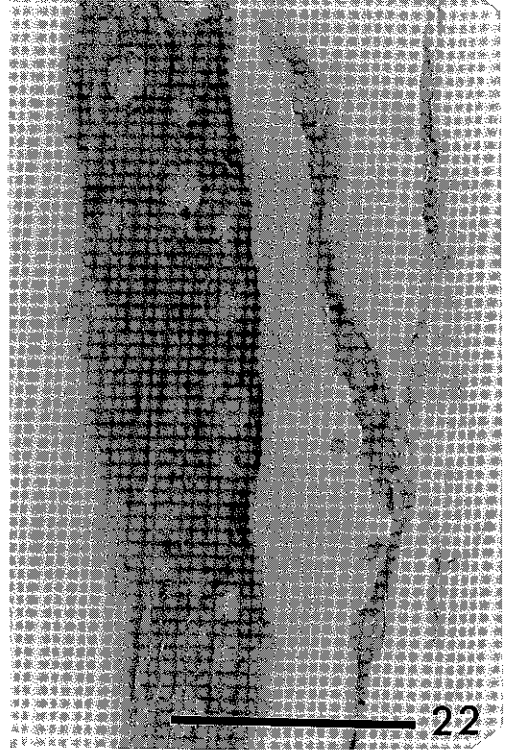
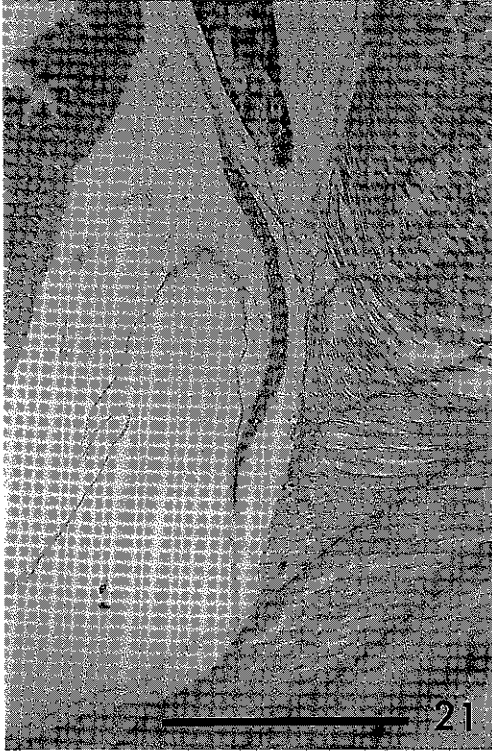


Plate VII

Developmental process of the testis -2.

25. Horizontal section of 67.0 mm TL fish showing a testis in ocular side. Bar represents 500  $\mu\text{m}$ .
26. Higher magnification of 25. Bar represents 50  $\mu\text{m}$ .
27. Horizontal section of 94.0 mm TL fish showing a testis in ocular side. Bar represents 1 mm.
28. Higher magnification of the testis in 27. An arrow shows a seminal lobule with many spermatogonia. Bar represents 50  $\mu\text{m}$ .



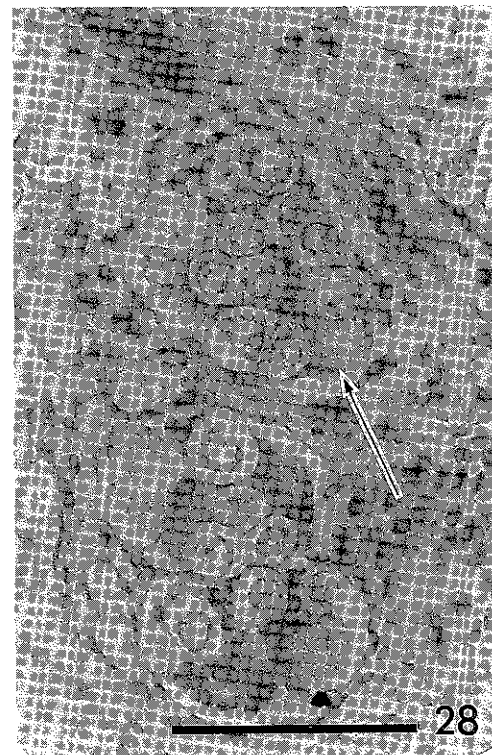
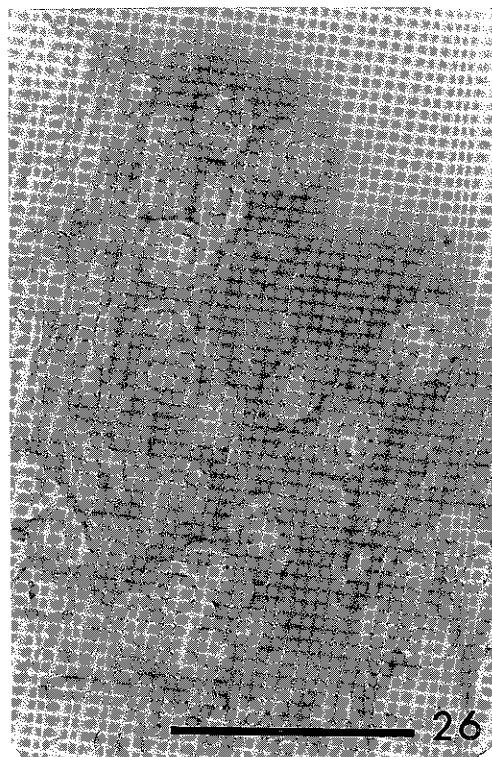
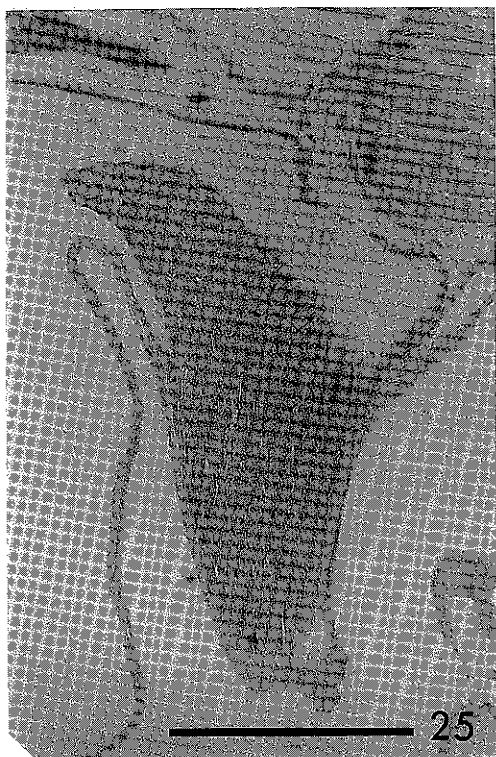
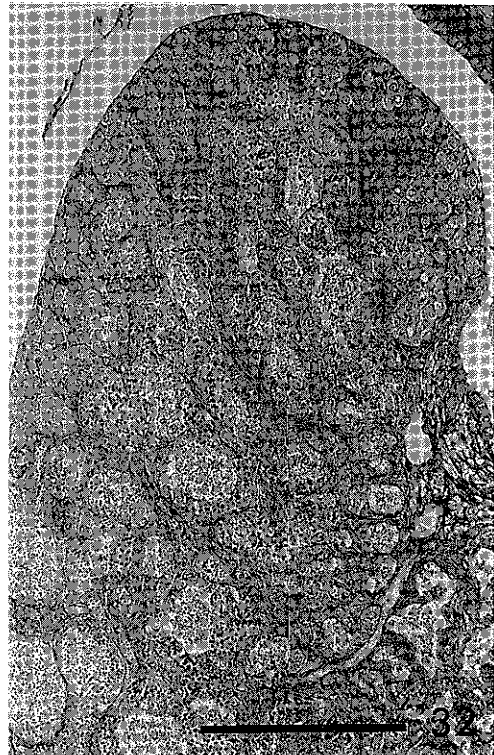
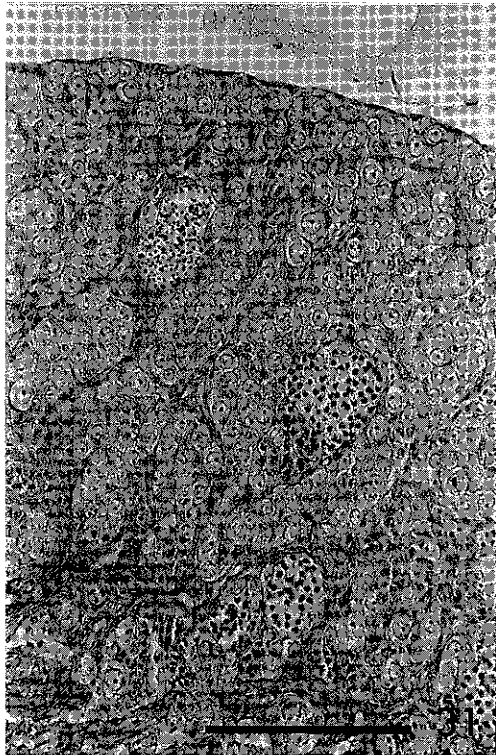
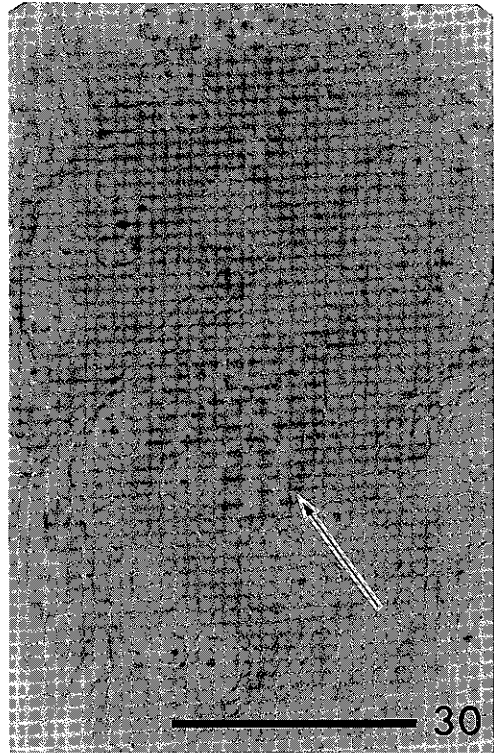
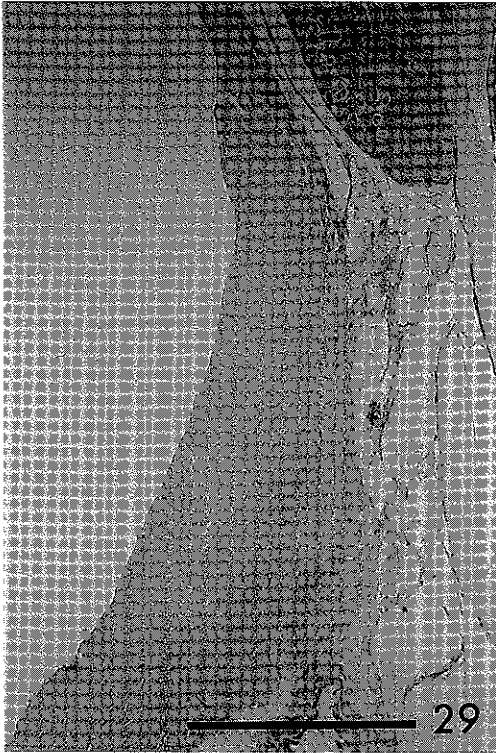


Plate VIII

Developmental process of the testis-3

- 29 Horizontal section of 129 mm TL fish showing a testis in ocular side Bar represents 1 mm.
- 30 Higher magnification of 29. An arrow shows a cyst of spermatocytes Bar represents 50  $\mu\text{m}$
- 31 Cross section of a testis in ocular side from 148 mm TL fish showing the process of spermatogenesis Bar represents 100  $\mu\text{m}$
- 32 Cross section of a testis in ocular side from 228 mm TL fish Bar represents 200  $\mu\text{m}$ .

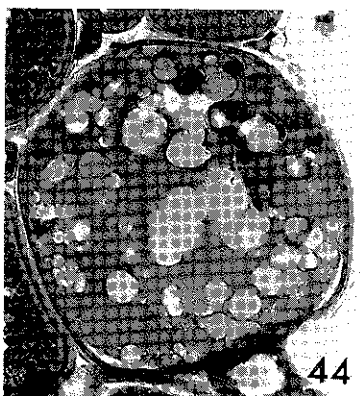
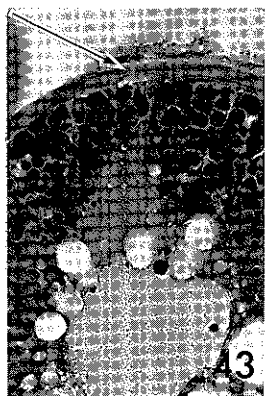
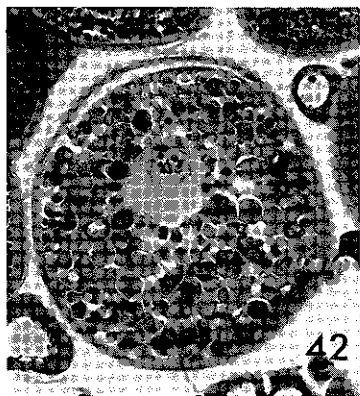
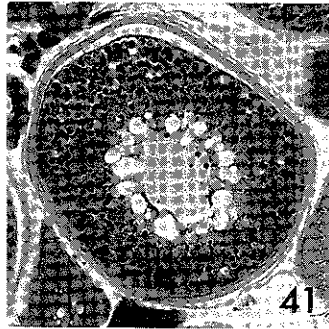
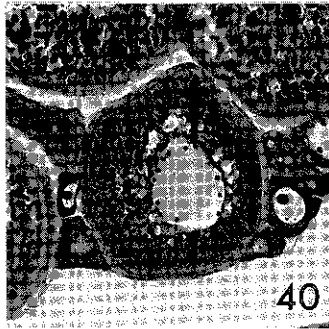
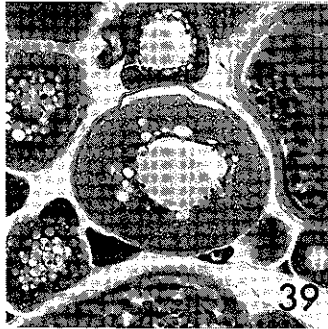
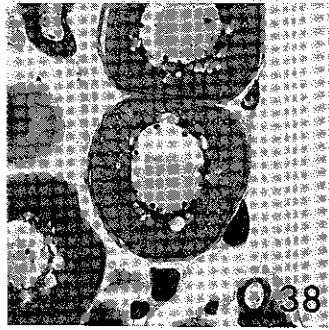
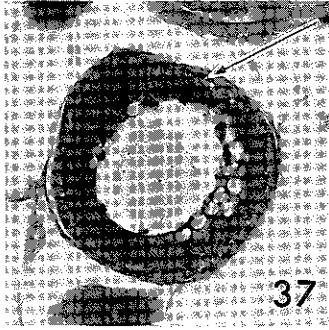
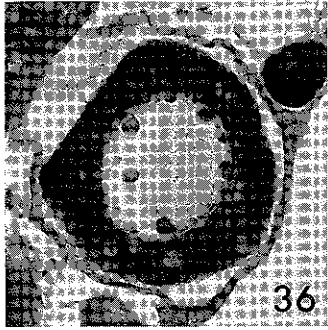
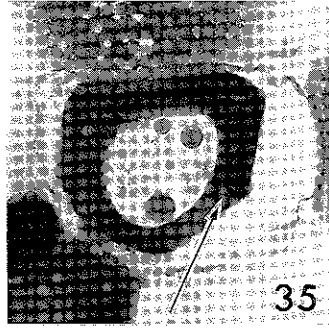
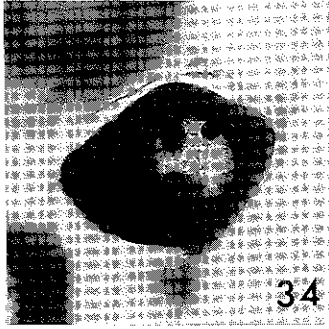
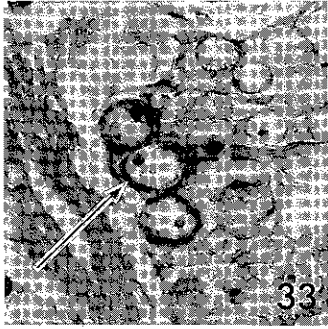




## Plate IX

### Process of the oogenesis

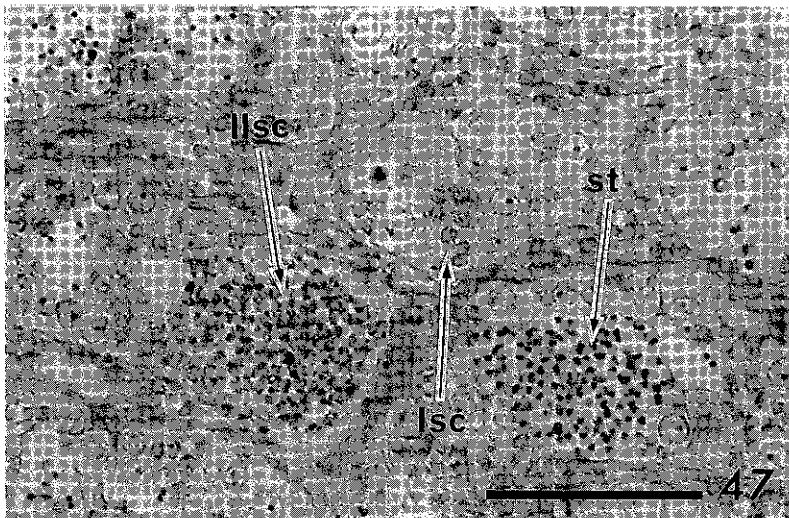
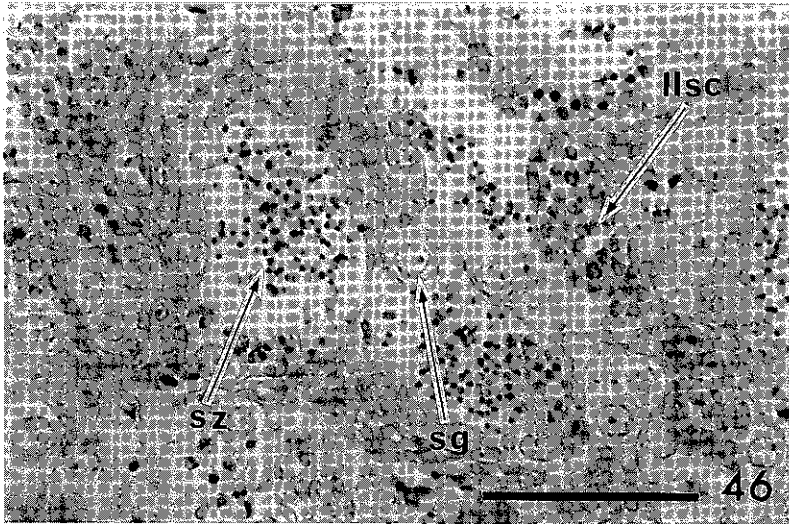
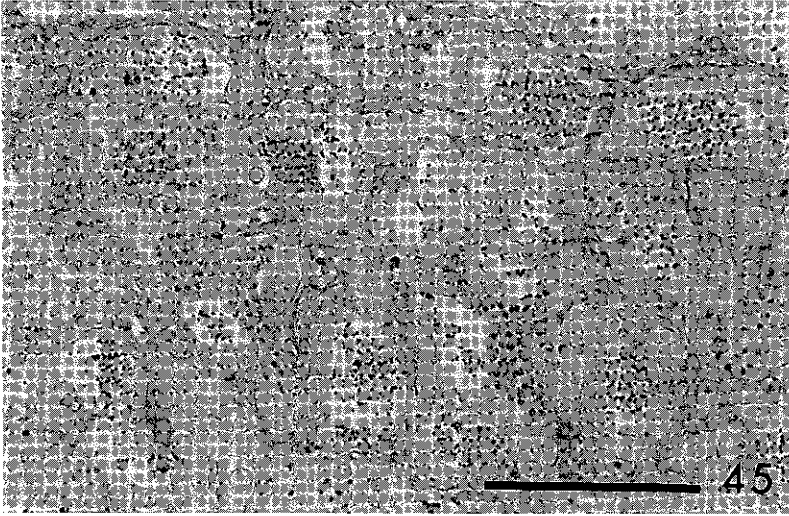
- 33 Chromatin-nucleolus stage Diameter of the oocyte, shown by a arrow, is  $13\ \mu\text{m}$ .
- 34 Perinucleolus stage. Diameter of the oocyte is  $60\ \mu\text{m}$
35. Oil droplet stage. Diameter of the oocyte is  $80\ \mu\text{m}$  An arrow shows an oil droplet.
- 36 Oil droplet stage Diameter of the oocyte is  $90\ \mu\text{m}$ .
- 37 Oil droplet stage Diameter of the oocyte is  $170\ \mu\text{m}$  An arrow shows yolk vesicles.
38. Oil droplet stage Diameter of the oocyte is  $200\ \mu\text{m}$
- 39 Primary yolk stage Diameter of the oocyte is  $250\ \mu\text{m}$
- 40 Secondary yolk stage Diameter of the oocyte is  $300\ \mu\text{m}$ .
- 41 Tertiary yolk stage Diameter of the oocyte is  $430\ \mu\text{m}$
- 42 Migratory nucleus stage Diameter of the oocyte is  $500\ \mu\text{m}$
43. Migratory nucleus stage Diameter of the oocyte is  $480\ \mu\text{m}$   
An arrow shows a micropyle
- 44 Matured egg Diameter of the egg is  $520\ \mu\text{m}$



## Plate X

### Process of the spermatogenesis

- 45 Cross section of a testis in active spermatogenesis. Bar represents  $200\ \mu\text{m}$ .
- 46 Higher magnification of 45 sg : spermatogonia, II sc : secondary spermatocytes, sz : spermatozoa. Bar represents  $100\ \mu\text{m}$ .
- 47 Higher magnification of 45. I sc : primary spermatocytes, st : spermatids. Bar represents  $100\ \mu\text{m}$ .



## Plate XI

### External view of the cloned hirame flounder

48. Six months old homo-cloned fishes (49 HOMCL(G2 ♀ 2)) Bar represents 10 cm.
49. Six months old hetero-cloned fishes (53 HETCL(♀ 5 • ♂ 1)). Bar represents 10 cm.

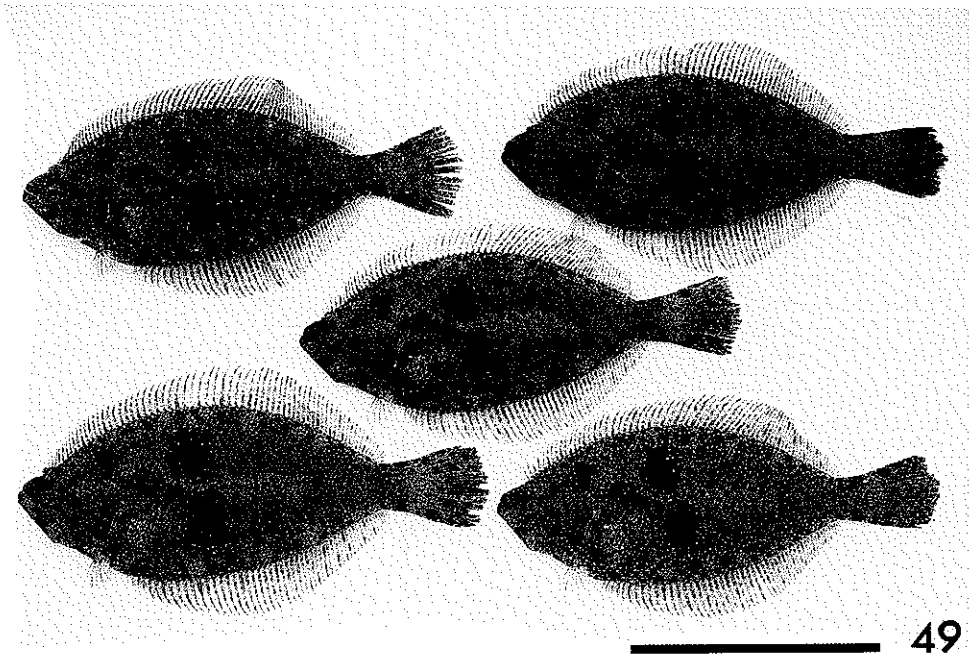
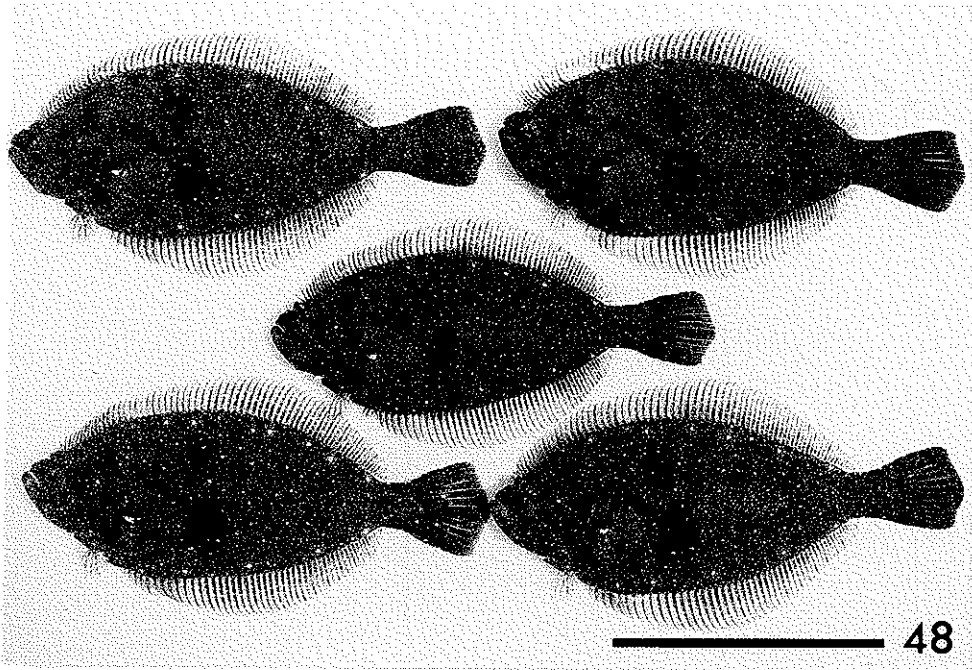
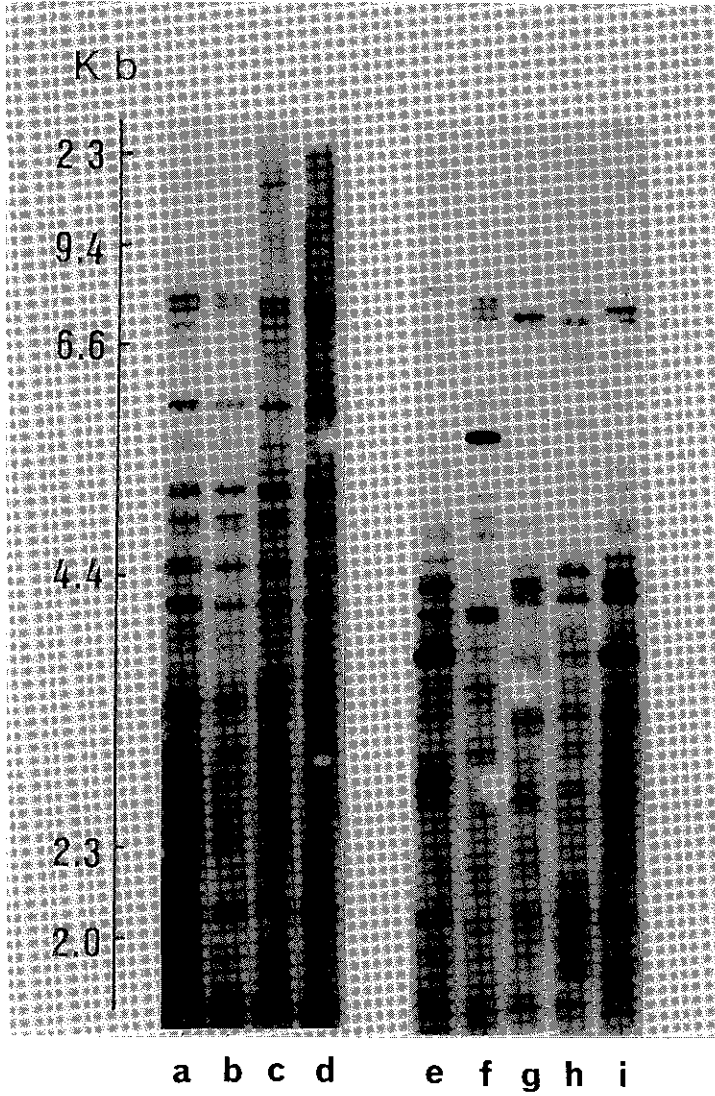


Plate XII

DNA fingerprints

- 50 DNA fingerprints of cloned hirame flounders (a~d, 53 HETCL (♀ 5 • ♂ 1)) and control diploids (e~i) Genomic DNA was digested by *Hae* III and was hybridized with non-radioactive *myo*-probe labelled peroxidase complex.





50

鳥取県水産試験場報告 第34号

---

平成7年12月25日発行

◎編集者 鳥取県水産試験場  
発行者 伊藤朝康  
〒684 鳥取県境港市竹内団地107番地  
TEL 0859 (45) 4500

◎印刷所 谷岡印刷  
〒680 鳥取県鳥取市元町126  
TEL 0857 (26) 2001

---