3倍体ニジマスの作出とその特性

誌名	栃木県水産試験場研究報告
ISSN	13408585
著者名	沢田,守伸 石島,久男 糟谷,浩一 野沢,貢
発行元	栃木県水産試験場
巻/号	10号
巻号補足	
掲載ページ	p. 1-12
発行年月	1989年3月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター
Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council Secretariat

3倍体ニジマスの作出とその特性　ー総説ー

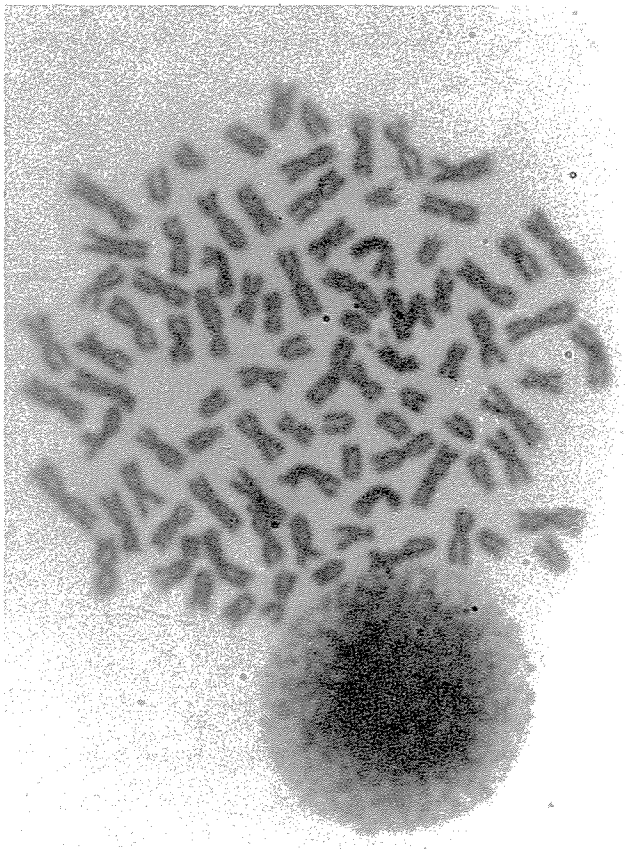
沢田守伸・石島久男・糟谷浩一・野沢　貢

サケ・マス類の3倍体に関する研究は各所で進められており、技術的には既に実用化の段階に入っている。本県においても昭和59年度よりニジマスを対象に研究に着手し、作出技術の確立及びその特性の把握に努めてきた。着手後5年を経過し、一定の成果を得たのでここに総括し、報告する。

なお、本研究を進めるにあたり終始懇切丁寧なるご指導を賜った養殖研究所遺伝育種部小野里坦室長、同研究所日光支所奥本直人室長、佐藤良三室長並びに宇都宮大学教育学部上田高嘉助手に心より感謝する。また、実験に際し材料の提供等、協力を惜しまれなかった中禅寺湖漁業協同組合赤坂毅前専務理事並びに組合職員諸氏に深謝の意を表する。

1．作出条件

魚類の卵染色体倍数化の方法としては、コルヒチン等による化学処理，温度処理，加圧処理が知られている。なかでも、第2成熟分裂阻害を目的とした、受精直後の卵に対する温度処理または加圧処理は最も簡易かつ有効である。これらの処理は、紡錘体を構成するチューブリン ― ダイニン系の脱重合を図ることにより、染色体の両極への移動を阻止するものとされている。したがって処理は、紡錘糸の生ずるタイミング，チューブリン ― ダイニンを脱重合にいたらしめる強度及び処理継続時間の3点を満たすものでなければならない。すなわち卵に対しては、受精後処理を開始するまでの経過時間，処理の強度（処理温度または加圧量），処理の継続時間を決定することが必要とされる。



図ー1　3倍体ニジマスの染色体

表－1　倍数化処理条件の違いと倍数化割合

加圧処理						高温処理				
2)ふ化率（%）	2)発眼率（%）	1)倍化割合	変動条件	固定条件		固定条件	変動条件	1)倍化割合	2)発眼率（%）	2)ふ化率（%）
87.3	93.8	0/10	対照区	650 kg／cm² 6分間処理	処理開始までの経過時間	28℃ 8分間処理				
59.2	72.2	0/10	受精後 3分より							
73.5	81.7	2/10	〃 5 〃							
65.3	79.3	4/10	〃 11 〃							
70.9	78.4	9/10	〃 15 〃							
73.6	82.5	10/10	〃 20 〃							
51.5	89.3	10/10	〃 25 〃							
77.4	88.7	10/10	〃 35 〃							
63.8	76.1	7/10	〃 45 〃							
74.2	84.2	0/10	〃 60 〃							
85.8	92.1	0/10	対照区	受精後20分 6分間処理	処理の強度	受精後7.5分 8分間処理	対照区	0/10	92.4	83.7
84.4	93.1	0/10	400kg/cm²							
82.5	90.7	0/10	500 〃				28℃	9/10	77.3	58.8
73.8	88.5	5/10	600 〃							
76.4	87.9	10/10	650 〃				29 〃	9/10	38.4	32.7
61.3	73.5	10/10	700 〃							
58.8	64.2	9/10	900 〃				30 〃	9/10	6.2	4.0
85.3	90.4	0/10	対照区	受精後20分 650 kg／cm²	処理の継続時間	受精後7.5分 28℃	対照区	0/10	98.4	91.7
81.4	91.1	0/10	3分間							
80.6	89.5	0/10	4 〃				4分間	1/10	95.2	89.4
87.7	93.2	3/10	5 〃							
82.1	90.6	10/10	6 〃				8 〃	9/10	85.1	74.9
80.5	90.4	10/10	7 〃							
71.8	83.2	8/10	8 〃				12 〃	9/10	73.6	65.4
78.7	86.8	10/10	10 〃							

1）積算水温110～130℃の卵より胚体を取り出し、染色体標本を作成して判定（倍数化個体数／検査個体数）。
2）試験区により試験日、使用親魚が異なるため、発眼率，ふ化率についての比較は不能。

これらについて調査したところ、温度処理では受精後 7.5分より28℃の水中に８分間浸漬する高温処理が、また、加圧処理では受精後20分より 650kg/cm²での６分間処理が実験区中最も至適な処理条件と考えられた（表－１）。後日、生残魚の赤血球長径の計測により倍数化を再確認したところ、前者（高温処理区）は 90.8～91.0%，後者（加圧処理区）は99%以上が３倍体となっていた。

ニジマスの第２成熟分裂阻害における処理条件については多くの報告がある。全国養鱒技術協議会育種バイオテクノロジー部会では、高温処理において受精後10分より24℃30分間，26℃20分間，28℃ ６分間で倍数化率が高かったとしている。また、当場で5~10万粒を１単位として行った、受精後10分28℃10分間の大量処理では、92.3%の倍数化率を得ることができた。しかし同時に、倍数化率は処理前後の吸水温度，排卵後の卵の腹腔内貯留日数等にも影響されることが示唆されている。

表－２　２倍体と３倍体の成長比較

試験区	２倍体区	混養区		３倍体区
供試魚の種類	２ｎ	２ｎ	３ｎ	３ｎ
尾数	60	30	30	60
開始時平均体重(g)	79.3	79.3	79.3	79.3
終了時平均体重(g)	196.5	210.0	200.4	207.8
成長率（％／日）	1.08	1.16	1.10	1.15
飼料効率（％）	74.9	78.8		82.7
給餌率（％／日）	1.44	1.39		1.36

表－３　１回の給餌に対する飽食量

	２倍体	３倍体	有意差
体重（g）	627.72	614.42	無
湿重量／体重（％）	4.47	4.39	無
乾燥重量／体重（％）	2.18	2.08	無

＊各区２５尾ずつの計量値を平均値で表す。

＊乾燥重量：胃内容物を７０℃で２４時間乾燥。

商品の要件としては99％以上が３倍体であることが望ましく、前述の点を含めてさらに検討する必要があろう。

一方、加圧処理は、これまで繰り返し行ってきた３倍体作出経験上、処理前後の吸水温度や排卵後の腹腔内貯留日数等にその成否を左右されることが少ないように思われる。倍数化率も常に99％以上と高いが、大量処理に難があり、加圧器の構造上の改善が要求される。

２．特　性

（１）成　長

養魚経営上、対象魚種の成長は重要な要件である。そこで２倍体と３倍体を混養し、餌付け後10カ月の体重を比較した。その結果、平均体重は２倍体 118g、３倍体 87g であり、明らかに３倍体の成長が劣っていた。この現象をさらに詳しく解析する目的で、２倍体単独区，２倍体と３倍体の等量混養区，３倍体単独区の３区を設け、新たに成長比較試験を行った（表－２）。

２倍体と３倍体をそれぞれ単独で飼育した場合、この試験においては３倍体の成長が２倍体に優っていた。しかし、混養区では前回同様、３倍体の方が２倍体の成長よりも劣っていた。

２倍体との混養により、３倍体の成長が鈍化することは他にも報告があり、３倍体の特性の一つに挙げられよう。そこで、この原因の一つとして摂餌量の差を考え、１回の給餌に対する飽食量に差があるか否かを調査した（表－３）。しかし、両者とも飽食量は乾燥重量にして体重の2.1％前後であり、１回に摂餌し得る量に差は認められなかった（危険率５％）。このように、どれだけ摂餌し得るかという素質（飽食量）に差がなく、飼料効率も変わらないとすれば、混養時に３倍体の成長が劣るのは、２倍体との摂餌競争に敗れ、少量しか飼料を捕食できないことが原因と考えられる。したがって、養魚経営においては、３倍体を単独群で飼養管理することが望ましい。

（２）成　熟

従来、３倍体は成熟しないであろうから、大型魚生産には好都合であろうと考えられてきた。ところが近年、ニジマスの場合、３倍体でもオスは成熟することが報告されている。当水試保有の３

倍体１年魚においても、オスはすべて第２次性徴を示し、ほとんどの個体から精液を搾出することができた。しかし、採取された精液は半透明の非常に希薄なものであった。

このような個体５尾から得た精子を個体別にニジマス卵に授精させたところ、５尾中４尾の精子は授精能力を有していた。しかし、その受精卵の発生率はきわめて低く、ほとんどの卵がふ化を待たずに死亡し、わずかにふ化した稚魚も浮上に至らず死亡した。

岡田（1985）によれば、ニジマス３倍体より得られた精液はスパーマトクリット値が 6.2％と低く、精子数も $1.4X10^6/mm^3$ と著しく少ないという。さらに、３倍体精子を走査電顕で観察し、その大きさが大小さまざまであったことを示している。また、上田ら（1987）はニジマス３倍体精子の媒精により発生したニジマス発眼胚について染色体分析を行い、染色体数72～79本の個体群と100~108本の個体群の２群に分かれたことを報告している。これらの結果、報告を合わせ考えると、３倍体より得られる精子は通常の精子とその染色体数を著しく異にし、そのために受精胚は染色体異常により正常な発生をなし得ないものと考えられる。

一方、３倍体のメスには第２次性徴がまったく見られない。生殖腺もほとんど発達せず、４年魚でさえ、その生殖腺中にはわずかに卵黄を蓄積した卵母細胞が数十粒認められるに過ぎなかった。３倍体のメスから成熟卵を得ることはほぼ不可能と思われる。

これらのことから、ニジマスのオス３倍体はメス３倍体に比べ、成熟期に第２次性徴により著しくその商品価値が低下するものと考えられ、将来的には全雌３倍体のみの生産体制を整えることが肝要と思われる。

（３）寿　　命

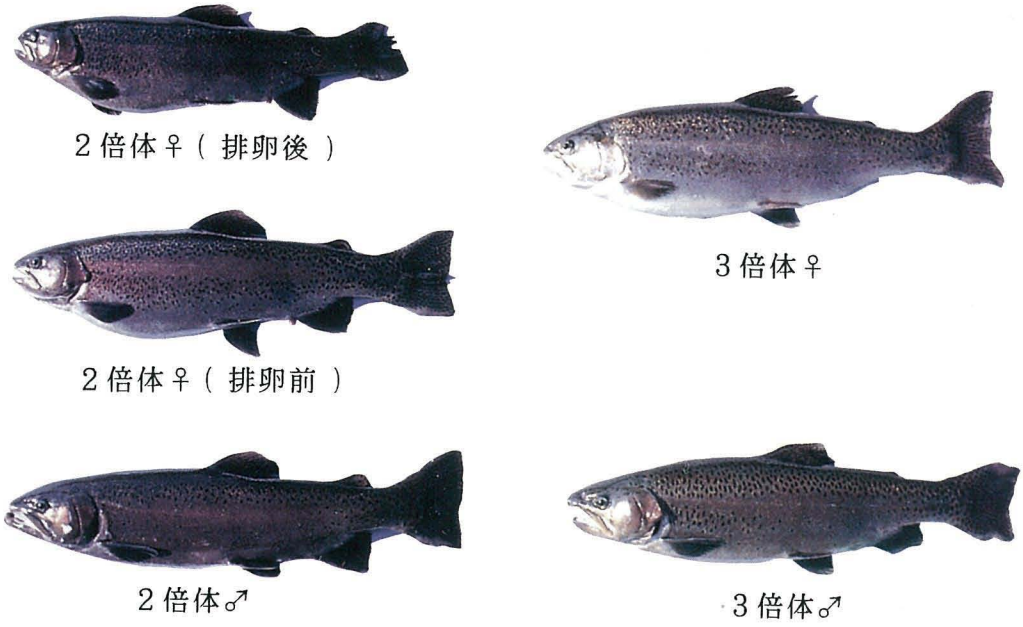
魚類は生殖に伴う生理的変化により体力等を大きく消耗する。したがって当初、成熟することのない３倍体は寿命が長くなるのではないかと考えられていた。しかし、当場保有の３倍体は誕生後４年間で（体重約４kg）、メスの全数、オスのほとんどが死亡した。

オスは誕生後２年で第２次性徴を示し、その後、次第に摂餌が不活発となり、やがて衰弱してだらだらとへい死した。２倍体では生殖期を過ぎると摂餌も次第に活発となり、体重も漸次回復する。しかしオス３倍体ではこの傾向がまったく見られなかった。特に目立ったのは、第２次性徴を示した後、鰓弁が変形し、さらに鰓蓋が鰓病に罹患したかのような開いた状態に陥ったことである。鰓弁の変形はメスには見られず、またオスでも第２次性徴発現以前には、少なくとも肉眼的には認められなかった。このことから、鰓弁の変形は成熟に伴うオス３倍体特有の現象と考えられた。
鰓弁の変形によりガス交換機能が低下することは十分に考えられ、このことが衰弱を促進する一因となったとも考えられる。

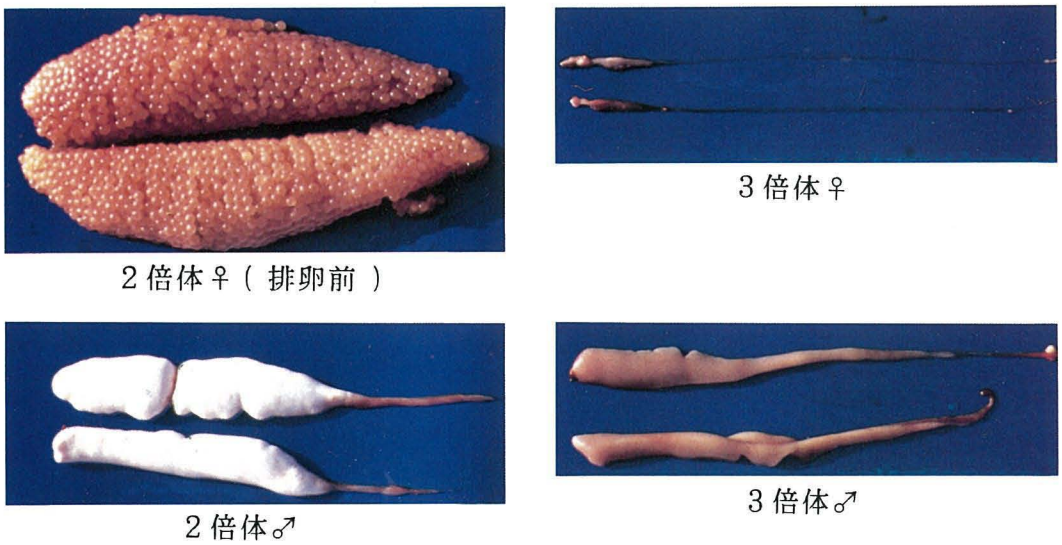
一方、メス３倍体は誕生後、一部が肝腫瘍，細菌性鰓病によりへい死したものの、大部分が順調に生育した。ところが誕生後３年11カ月を経た時点で、解剖学的に病変も認められず、衰弱も見られないへい死個体が続出し、約１カ月で全数が死亡した。へい死原因は明らかではないが、内臓に付着する脂肪塊が異常に大きく、筋肉組織内にも脂肪がきわめて多く蓄積されていたことから、こ

れらが魚体を生理的に圧迫していた可能性も否定できない。

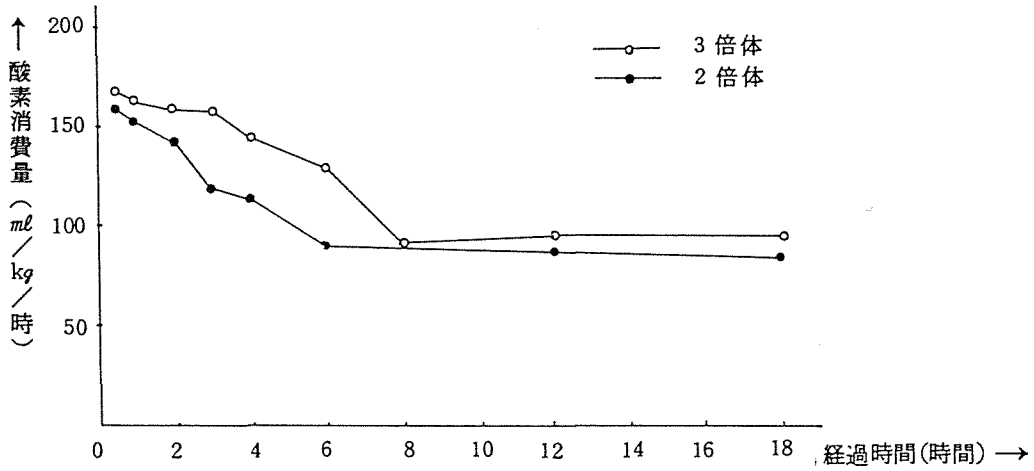
魚類の寿命はその成長，栄養状態に強く影響され、一概には論じ得ないが、少なくとも３倍体の寿命が２倍体のそれに比べ、極端に長くなるということはなさそうである。



図－２　産卵期の２倍体及び３倍体



図－３　産卵期の生殖腺



図－4　興奮時から安静時にいたる酸素消費量の経時的変化

＊ 供試魚平均体重：2倍体→ 130.9g，3倍体→ 128.9g

＊ 調査条件：呼吸室容積→ 10ℓ，注水量→ 14 mℓ/秒，水温→ 15.8～16.1℃

（4）酸素消費量

生物学的特性の一つとして、3倍体の酸素消費量を調べた。酸素消費量は調査に使用した呼吸室の構造，注水量，水温，供試魚の大きさ，状態などに大きく影響されるため、その数値のみを論ずることは難しい。そこで2倍体と3倍体について同時に同条件で試験を行い、その酸素消費量を経時的に比較した。

その結果、図－4に示したように、興奮時から安静時に至るまで常に3倍体の方が酸素消費量が多かった。また、3倍体には、興奮から安静に至るまでに要する時間が2倍体に比べ長い傾向も認められた。仮に酸素消費量のみから、3倍体の飼育池への収容密度を決定するとすれば、2倍体で得られている放養密度の95％程度が適当と思われる。

次に、一定水量中に2倍体と3倍体を同時に収容し、他からの酸素補給がまったくない状態に放置し、その後の変化を観察した。すると、3倍体の方が早く横臥し、さらに鰓蓋運動も2倍体より先に停止する傾向が見られた。この横臥時及び鰓蓋運動停止時の溶存酸素量を測定したところ、表－4に示したとおりであった。3倍体は2倍体よりも、やや高い溶存酸素量で横臥し、鰓蓋運動を停止した。このことは、3倍体が低酸素耐性においても

表－4　2倍体，3倍体の低酸素耐性

		2倍体	3倍体	有意差
溶存酸素量（mℓ／ℓ）	横臥時	1.49	1.64	無
	鰓蓋運動停止時	1.04	1.08	無

＊ 供試魚の平均体重：2倍体→141.0g，3倍体→140.5g

2倍体に若干劣ることを示す。しかしその差はきわめて微少であり、このことが今後ニジマス養殖という現場にどれほどの影響を及ぼすか注目していきたい。

（5）釣りに対する反応

釣りに対する反応の違いから何らかの示唆を得られないかと考え、かかり易さ，引きの強さ，かかってからのファイトの持続時間について2倍体と3倍体を比較した。

まず、かかり易さを調べるために、2日間休餌した2倍体と3倍体をそれぞれ60尾ずつ、計120尾を試験池に放流し、3時間の釣獲を行った。その結果、3倍体は2倍体に比べ、明らかに釣られやすい性質を持っていた（表－5）。

一方、引きの強さとファイトの持続時間については、引きの強さは変わらなかったが、ファイトの持続時間は3倍体の方が短いことがわかった（表－6）。前述したように3倍体は2倍体に比べ酸素利用が円滑ではなく、このことがファイトの持続時間に影響した一因となっている可能性が大きい。あくまで釣りに対する反応を調査しただけではあるが、あえて言い替えるならば、2倍体と3倍体は瞬発力は変わらないが、持久力では3倍体が劣るとも言えるのではなかろうか。

表－5　釣りでのかかり易さ

	1回目		2回目		有意差
	2倍体	3倍体	2倍体	3倍体	
釣獲された個体数	4	29	6	19	有
釣獲された順位	14.8	17.3	15.7	12.2	無
釣獲までに要した時間	－	－	55.5秒	45.2秒	無

＊ 順位，時間はそれぞれの平均値で示す。

表－6　引きの強さとファイトの持続時間

		2倍体	3倍体	有意差
引きの強さ	張力最大値(g) A	525.7	463.3	無
	体重 (g) B	258.4	265.8	無
	A／B	2.13	1.76	無
ファイトの持続時間	持続時間（秒）A	104	85	有
	体重 (g) B	268.3	272.1	無
	A／B	0.394	0.318	有

＊引きの強さ：それぞれ20尾ずつの平均値で示す。

＊ファイトの持続時間：2倍体26尾、3倍体48尾の平均値で示す。

（6）細胞数の差

これまで述べたように、2倍体と3倍体の間には、その生殖能力の有無という性質とは無関係な部分でも、性質に違いが認められた。そこで、その原因を探る一端とすべく、ヘマトクリット値及び脳の容積を比較した（表－7）。

ヘマトクリット値には有意差が認められた。ところで個々の赤血球の容積が、3倍体は2倍体の約 1.5倍であることはよく知られており、このことは3倍体であるか否かの判定にも使われている。この 1.5倍という数字と、ヘマトクリット値の差，すなわち2％という値を比べると、3倍体は2倍体よりも赤血球数が少ないものと推測される。小林ら（滋賀県醒井養鱒場）(1988) はニジマス

2倍体と3倍体の赤血球の形態を精査し、3倍体では単位容積当りの総赤血球の細胞表面積が2倍体のそれに比べ約10%少なくなっていることを示した。赤血球の総表面積の大小は酸素との結合能力に関連するとされている。小林らも考察しているように、このことが酸素消費量や低酸素耐性に影響を与えている可能性が大きい。

一方、個々の脳細胞の容積についても3倍体は2倍体の約 1.5倍であると言われている。表－6に示したとおり、脳自体の容積に差がない以上、3倍体の脳細胞の数は赤血球数同様、2倍体に比べて少ないものと考えられる。ニジマスにおいて脳細胞数の多少が知能の高低に結び付くものか否か不明ではあるが、3倍体が摂餌競争に対し弱い傾向にあること、釣りにかかり易いこととの関係の如何について調査が待たれよう。

3倍体の細胞数が少ないという現象は、血液や脳だけではなく、他の器官にも見られる可能性が十分に考えられる。今後、呼吸器官，内分泌器官，消化系器官等各器官の細胞数の多少と、3倍体の特性の関連について調査していく必要がある。

表－7　ヘマトクリット値及び脳容積

		2倍体	3倍体	有意差
ヘマトクリット値		35.00	37.01	有
脳容積	脳容積（μl）A	432.67	456.23	無
	体　重（g）B	627.00	614.42	無
	A／B×1000	71.83	76.25	無

＊ヘマトクリット値：それぞれ30尾の平均値で示す。
＊脳容積：それぞれ25尾ずつの平均値で示す。
＊魚体重と魚体積は相対関係にあると仮定している。
＊有意差：危険率5％で判定。

3．品　　質

（1）官能試験

3倍体は大型魚生産を効率的に行うために開発されてきた。そもそも大型魚生産は刺身、ステーキ等、大型魚ならではの料理によってニジマスの消費を伸ばすことを目的としている。したがって、消費者がこれらの料理をどのように評価するかということは、3倍体が商品として通用するかどうかを左右する重要な点である。そこで、これらの調理法の中から「刺身」を選定し、官能試験を行った（表－8）。その結果、3点識別法により、2倍体と3倍体は有意に（危険率5％）識別され、味が異なることが示された。また、この試験で3倍体を識別したパネル員のみを対象に3点嗜好試験を行ったところ、3倍体を好む者が明らかに多かった。具体的には3倍体の脂ののりの良さ（あるいは脂が強すぎる）についての指摘が最も多く、次いで歯ごたえの柔らかさ（あるいは歯ごたえのなさ）を指摘する声が高かった。一方、2倍体と3倍体を視覚的に比較したところ、明らかに3倍体の方がツヤがあった。事実、3倍体の方がおいしそうに見えると回答したパネル員が多かった。

表－8　官能試験結果

3点識別法	正解者　14名	誤答者　10名
	3倍体＞2倍体	2倍体≧3倍体
味覚的な好感度	10名	4名
視覚的な好感度	17名	7名

＊供試魚の体重は1～1．2kg

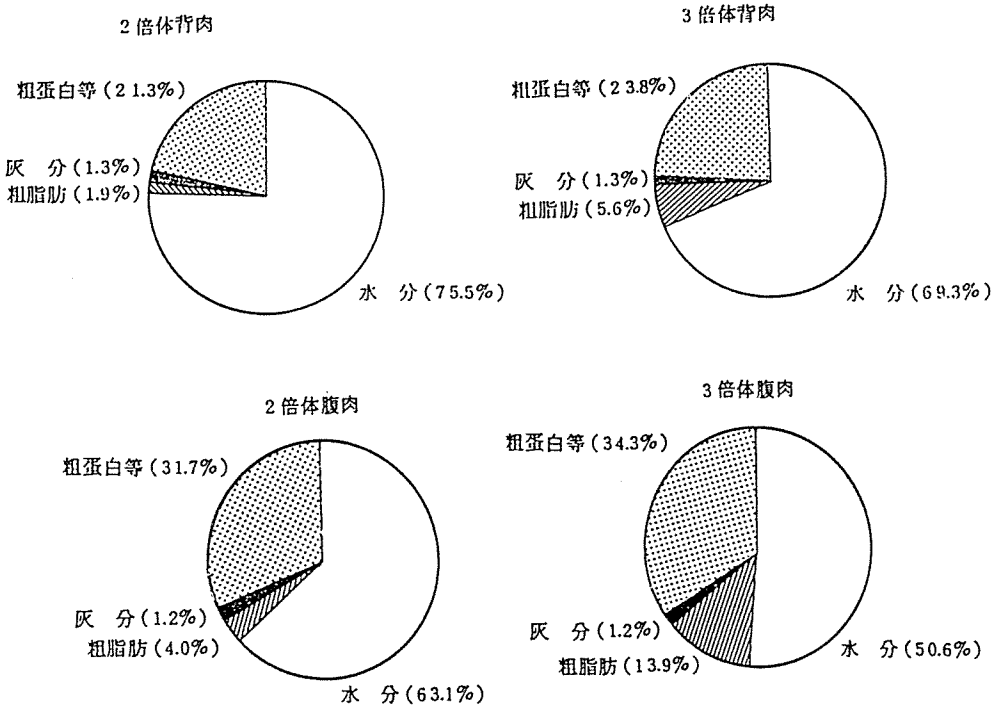
以上、３倍体の脂肪分の強さ、歯ごたえの柔らかさ、視覚的印象は今回の試験では好意的に受け取られており、現代の消費者の嗜好にマッチするものと思われた。但し、この調査は２月に行われ、２倍体にとってこの時期は産卵後の回復途上期に当たることから、指摘された差が夏場にも認められるか否か、今後調査していく必要がある。

ところで、同じく消費者の３倍体に対する評価を知る目的で、３倍体の刺身を宇都宮市内の和風レストランにおいて１カ月間にわたり出食した。客に３倍体の刺身を５段階評価で評定してもらったところ、176名の平均で4.87ポイントと非常に高い評価を得た（表－９）。一方、調理人は、３倍体を貯蔵性、調理のしやすさ等から海産魚に比べ扱いやすいと評価した上で、色揚げの重要性を指摘した。今回の調査では、色揚げした個体のみを続けて提供することができず、一部色揚げの不完全な個体も使用した。このような個体を出食した時は、評価も低めに推移しており、色揚げが不可欠であることが示唆された。

表－９　３倍体に対する評価

構成		人数	評定
性別	男	84	4.92
	女	92	4.83
年代別	10代	1	3.00
	20代	21	4.90
	30代	39	4.82
	40代	72	4.89
	50代	42	4.93
	60代	1	4.00
試食品	刺身	164	4.90
	寿司	12	4.50
全体		176	4.87

＊刺身はコース料理の一部として１人前100gで出食した



図－６　２倍体，３倍体の魚肉成分分析結果

（２）成分分析

官能試験で指摘された味の差について裏付けをとるため、２倍体及び３倍体の魚肉成分を分析した。図－６に示したとおり、３倍体は２倍体に比べ水分含量が低く、脂肪含量が高かった（但し、分析は３月に行った）。特に腹肉の脂肪含量はきわめて高く、刺身に調理した場合、マグロの中トロ並の食味を期待できるものと思われた。

ところで、江平ら（1988）はニジマス２倍体と３倍体をその貯蔵性について比較し、Ｋ値，Ｃａ－ＡＴＰase 活性等の変化から、両者間に生鮮魚としての貯蔵性に顕著な相違を認めなかったとしている。さらに刺身に調理する場合の肉の歩留りを調査したところ、３倍体の方が高い歩留りを示した（表－１０）。これらの結果、報告から、３倍体ニジマスは流通業界、外食産業界の要求を十分満たす品質を持っているものと考えられた。

表－１０　刺身に調理した場合の肉の歩留り

（％）

	可食部	頭	内　臓	皮＋中落ち
２倍体	52.0	15.6	6.4	23.2
３倍体	57.8	14.1	6.5	20.7

＊数値はそれぞれ５尾ずつの平均値を表す。



２倍体♀（排卵前）　　３倍体♀

図－７　２倍体及び３倍体の腹部横断面

4．終わりに

3倍体は遺伝学的に新しく作られた魚である。その性質は一連の試験研究で一部明らかになったとはいえ、未だ十分には把握されていない。したがって3倍体が逃逸等により自然生態系に入った場合の危険性を指摘する声も強い。危険性の一つとして挙げられている魚食性について2倍体と比較したところ、表－１１のような結果となった。初めて魚食をするに至るまでに要した日数は双方とも6日間であった。また、初めての魚食においても、魚食に慣れた後にも、2倍体と3倍体の間の魚食量に有意差（危険率５％）は認められなかった。

表－１１　２倍体，３倍体の魚食量

	２倍体	３倍体	有意差
魚食未経験（混養７日後）	9.4尾	12.4尾	無
魚食馴致後（混養２日後）	3.9尾	4.9 尾	無

＊ニジマス１尾（体重約650g）とアユ２０尾（平均体重3.8g）を混養。

＊数値はそれぞれ７回の繰り返し試験の平均値を表す。

危険性を指摘する声の中には、１尾たりとも生態系に入ることは許されないとする慎重論もある。通常の人工受精により作られた2倍体を赤血球長径の計測により検査したところ、千分の一の単位で3倍体が混在していた。このような自然倍数化が起こり得るということは、これまでに湖沼，河川に放流されてきたニジマスの量を考えると、今までに１尾も3倍体が生態系に入らなかったとは考えにくい。これに加え、今回得られた寿命，魚食性，釣られ易さについての知見を考え合わせると、3倍体が長期間生態系にとどまって、他に危害を及ぼし続けるということはないのではなかろうか。とはいえ、3倍体のオスが致死性の精子を持つということもあり、放流することを積極的に支持するものではない。ただ、逃逸等に対してある一定の措置を講じた上で、養殖のみを対象に3倍体を活用することは十分に許容されるものと考える。3倍体に限らず、また、バイオテクノロジーに限らず、水産育種を進めていく上では、野生動物としての魚類の保護と育成、食品としての魚類の改良、この二つを別のものとして分けて考えることが必要となってきているのではなかろうか。

引用文献及び参考文献

1）青森県内水面水産試験場（1987）：不稔化技術の確立によるサケ・マス類の大型魚生産技術の開発研究．昭和61年度地域バイオテクノロジー研究開発促進事業報告書．

2）青森県内水面水産試験場（1988）：不稔化技術の確立によるサケ・マス類の大型魚生産技術の開発研究．昭和62年度地域バイオテクノロジー研究開発促進事業報告書．

3）Ueda, T., M. Sawada and J. Kobayasi (1987): Cytogenetical characteristics of the embryos between diploid female and triploid male in rainbow trout. Japan. J. Genetics, 62 (5) : 461-465.

4）江平重男，丸岡淳（1988）：ニジマス3倍体および2倍体氷蔵中の鮮度低下および筋原繊維タンパク質の変質．昭和63年度日本水産学会春季大会，講演要旨集，(507)：128

5）岡田鳳二（1985）：ニジマスの人為的性統御に関する研究．北海道立水産孵化場研究報告，第40号 ： 1-49.

6）小野里坦（1984）：魚の雌性・雄性発生とその応用．細胞工学，3 (7) ： 87-94.

7）Onozato, H. (1984): Diploidization of gynogenetically activated Salmonid eggs using hydrostatic pressure. Aquaculture, 43 : 91-97.

8）小野里坦（1985）：バイオテクノロジーと水産業．水産振興，第208号，東京水産振興会．

9）加工食品の栄養成分分析法． 厚生省．

10）沢田守伸，石島久男（1986）：マス類の染色体倍数化の条件．栃木県水産試験場業務報告書，第30号： 18.

11）沢田守伸，石島久男，野沢貢（1986）：ニジマス2倍体と3倍体の性質の比較．栃木県水産試験場業務報告書，第30号： 19-23.

12）沢田守伸，糟谷浩一，野沢貢（1987）：ニジマス2倍体と3倍体の性質の比較－Ⅱ．栃木県水産試験場業務報告書，第31号： 31-38.

13）沢田守伸，鈴木正臣，野沢貢（1988）：ニジマス2倍体と3倍体の性質の比較－Ⅲ．栃木県水産試験場業務報告書，第32号： 22-23.

14）滋賀県醒井養鱒場（1987）：マス類の人為倍数体利用による育種に関する研究．昭和61年度地域バイオテクノロジー研究開発促進事業報告書．

15）滋賀県醒井養鱒場（1988）：マス類の人為倍数体利用による育種に関する研究．昭和62年度地域バイオテクノロジー研究開発促進事業報告書．

16）食品学実験法．東京農工大学食糧化学教室編，朝倉書店，東京．

17）全国養鱒技術協議会第1回育種バイオテクノロジー研究部会資料，(1988).

18）谷口順彦，深井淳二，稲田善和（1986）：3倍体アユの血液性状と低酸素耐性．昭和61年度日本水産学会春季大会，講演要旨集，(446)： 117

19）山梨県魚苗センター（1987）：バイテク連絡試験とりまとめ報告．第12回全国養鱒技術協議会要録： 121-132.