

## 近交ならびに雑種ウズラの初期胚における<sup>3</sup>H-チミジンと<sup>3</sup>H-ウリジンの取り込み

佐藤勝紀・木尾幹広<sup>a)</sup>・原谷昌宏・ヤヌアルソ エディ ヘディアント<sup>b)</sup>  
河本泰生<sup>c)</sup>・猪 貴義<sup>d)</sup>  
(家畜機能調節学講座)

Received June 15, 1992

### Incorporation of <sup>3</sup>H-thymidine and <sup>3</sup>H-uridine into Early Embryos in Inbred and Hybrid Quail

Katsunori SATO, Mikihiro KIO<sup>a)</sup>, Masahiro HARATANI,  
Yanuarso Eddy HEDIANTO<sup>b)</sup>, Yasuo KAWAMOTO<sup>c)</sup> and Takayoshi INO<sup>d)</sup>  
(Department of Animal Science and Technology)

This study was undertaken to investigate the incorporation of <sup>3</sup>H-thymidine and <sup>3</sup>H-uridine into embryos of inbred and hybrid quail and the relationships between the embryonic development and these incorporation values. Japanese quail used in this study consisted of the inbred lines (F=59.4%), their crosses (F<sub>1</sub> hybrid) and a randombred population. Inbred lines were established by consecutive full-sib mating until the fourth generation, originating from the control population.

A quantity of 10 μl of <sup>3</sup>H-thymidine or <sup>3</sup>H-uridine solution (final concentration: 50 nmol, 2 μCi) was injected into the yolk of an egg. These values incorporated into embryos were counted after 2, 3 and 4 days of incubation. <sup>3</sup>H-thymidine or <sup>3</sup>H-uridine incorporated into cultured embryos was also examined in this study.

Marked retardation in embryonic development and a decrease in embryo weight were observed in the inbred lines, while the F<sub>1</sub> hybrid showed a restoration of embryonic development and embryo weight, which was similar to the randombred population.

The incorporation values of <sup>3</sup>H-thymidine and <sup>3</sup>H-uridine per embryo were significantly lower in inbred lines than in the F<sub>1</sub> hybrid and randombred population and the values in the F<sub>1</sub> hybrid were similar to those in the randombred quail. Similar results were obtained in cultured embryos. It was found that the incorporation values of <sup>3</sup>H-thymidine and <sup>3</sup>H-uridine related to embryonic development in any group, that is, those values increased as the embryonic development progressed, while those values decreased as embryonic development was delayed.

These results indicate the depression of the ability to synthesize nucleic acid and protein is involved in the early development retardation of inbred quail, while the restoration of embryonic development and embryo weight in hybrid quail is caused by an acceleration of metabolic activity in relation to the nucleic acid and protein in the early embryogenesis.

- 
- a) 大塚製薬株式会社 (Otsuka Pharmaceutical Co., Ltd.)  
b) インドネシア技術評価応用庁 (Bpp Technologi, Indonesia)  
c) 生物機能・遺伝資源開発学講座 (Department of Biological Function and Genetic Resources Science)  
d) 麻布大学客員教授 (Visiting Professor, Azabu University)

## 緒 言

近親交配（近交）は、家畜・家禽や実験動物が保有する優れた形質を急速に遺伝固定する場合の優れた方法である。しかしながら、近交によって近交度が上昇してくると、生物としての適応性が低下し、生産能力の低下および活力の低下などいわゆる近交退化が発現してくる。一方、2品種、2系統または2近交系を交雑してF<sub>1</sub>を作出した場合、雑種F<sub>1</sub>では雑種強勢が現われ、両親よりも優れた能力を発揮することが知られている。近交退化、雑種強勢の解析、原因の追究は品種、系統の作出や利用に関連して重要な課題である。

本研究に用いたニホンウズラは、わが国の野性ウズラに起源をもち、鳥類を代表する鶏の実験動物として現在広範囲な研究分野で使用されている。また、ニホンウズラは他種動物に比較して、近交退化が発現しやすい点から近交退化の研究に使用されてきている。これまでの報告では、受精率、孵化率、育成率などの繁殖、適応形質に著しい退化現象が認められている<sup>6,9,10,13-16</sup>。しかし、その原因と発現機構についてはいまだ十分な解明がなされていない。

本研究は胚発生過程とりわけ初期発生段階で顕著に発現する近交退化と雑種強勢現象に注目し、近交ならびに雑種ウズラの初期胚での<sup>3</sup>H-チミジンと<sup>3</sup>H-ウリジンの取り込み量について比較検討した。なお、本研究で取り上げたチミジンとウリジンの取り込みは胚発生過程での核酸、タンパク合成機能の指標となるものであり、本実験ではさらに胚発育とこれらの取り込み量との関係についても検討を加えた。

## 材 料 と 方 法

本実験に用いたニホンウズラは、当教室において無作為交配によって維持した閉鎖集団から全きょうだい交配によって作出した近交系4世代（近交係数59.9%）、これらの近交系間交雑種（交雑種F<sub>1</sub>）および無作為交配群である。これらの交配群はいずれも14時間点燈の自然温度環境下にある飼育室で飼育された。飼料はウズラ産卵用市販飼料（粗タンパク質24%）を不断給餌とした。

実験に使用した家系統は各交配群ともに15家系とした。これらの家系から得られた種卵はその表面を70%アルコールで拭いた後、注射針で卵殻に穴をあけた。そして卵黄中に<sup>3</sup>H-チミジンあるいは<sup>3</sup>H-ウリジンの水溶液10 $\mu$ l（最終濃度50nmol, 2 $\mu$ Ci）を各々マイクロシリンジで注入した。注入後、種卵は石膏で穴をふさぎ、温度38.2 $^{\circ}$ C、湿度70%の平面孵卵器で2, 3, 4日間孵卵した。孵卵終了後、胚を取り出し、発育段階を観察し、胚重量を測定した後、胚を蒸留水でホモジナイズし、1mlにメスアップした。ホモジネート0.8mlを放射能測定用バイアルに取り、液体シンチラント（Amersham社製）4mlを加えてよく混合した後、液体シンチレーションカウンター（LSL-700, Aloka社製）で5分間測定した。胚への取り込み量は放射能の測定値からnmol濃度に換算して算出した。これらの取り込み量の検討はさらに培養胚を用いて行った。孵卵後2日目の生存胚はプラスチック容器に用意したラップに移して、温度38.2 $^{\circ}$ Cの平面孵卵器で培養した。培養開始時に<sup>3</sup>H-チミジン、<sup>3</sup>H-ウリジン水溶液を上記の場合と同様の方法で胚の真下の卵黄中に注入し、培養後12時間、24時間目に取り出し、胚への取り込み量を検討した。

<sup>3</sup>H-チミジンと<sup>3</sup>H-ウリジン水溶液の調整は以下の手順に従って行った。まず<sup>3</sup>H-チミジンの場合はMethyl-<sup>3</sup>H-チミジン（比活性20.0Ci/nmol, 放射能濃度1.0mCi/ml, 絶対量12.4nmolの70%エタノール溶液0.25ml: NEN社製）に、キャリアーとして、チミジン量6.25 $\mu$ mol（1.51mg）の水溶液1mlを加えて、チミジン濃度が6.25 $\mu$ mol/1.25mlになるように希釈した。また、<sup>3</sup>H-ウリジンの場合は5-<sup>3</sup>H-ウリジン（比活性28.9Ci/mmol, 放射性濃度1.0mCi/ml,

絶対量9.25nmolの70%エタノール溶液0.25ml: NEN社製)に、キャリアーとして、ウリジン量6.24 $\mu$ mol (1.52mg)の水溶液1mlを加えて、ウリジン濃度が6.24 $\mu$ mol/1.25mlになるように希釈した。いずれの場合も比活性は44,400dpm/nmolとなった。

胚発育とチミジン、ウリジンの取り込み量との関係について調べるために、胚発育は鶏胚の発育段階<sup>4)</sup>に準じて分類し、発育段階ごとの取り込み量について検討した。

## 結 果

### 1. 近交胚と雑種胚における胚発育

本実験では近交胚と雑種胚における<sup>3</sup>H-チミジンと<sup>3</sup>H-ウリジンの取り込み量の検討に入る前に、これらの胚での発育段階と胚重量について検討を加えた。

Table 1は近交系4世代、交雑種F<sub>1</sub>、無作為交配群における孵卵後2, 3, 4日目の初期胚の発育段階と胚重量を示した。胚発育段階、胚重量は近交系がいずれの孵卵日数においても交雑種F<sub>1</sub>、無作為交配群に比べて低い値を示し、近交系と交雑種F<sub>1</sub>の孵卵後2日目の胚重量の値を除いて近交系と交雑種F<sub>1</sub>の間および近交系と無作為交配群の間にはいずれも有意差が認められた。このように、近交胚では著しい発育の遅延と胚重量の減少がみられることが明らかとなった。

一方、交雑種F<sub>1</sub>の胚発育に関する値は無作為交配群の値に近似し、雑種胚では胚発育の著しい回復と胚重量の増加が認められた。しかし、雑種胚の発育、胚重量は無作為交配群のものを上回ることはなかった。

### 2. 近交胚と雑種胚における<sup>3</sup>H-チミジンと<sup>3</sup>H-ウリジンの取り込み

孵卵後2, 3, 4日目の初期胚での<sup>3</sup>H-チミジン、<sup>3</sup>H-ウリジンの取り込み量について、近交系、交雑種F<sub>1</sub>、無作為交配群の間で比較したのがTable 2である。チミジン、ウリジンの取り込み量はいずれも近交系が交雑種F<sub>1</sub>、無作為交配群に比較して有意に低い値を示した。一方、交雑種F<sub>1</sub>でのこれらの取り込み量は近交系の1.3~1.6倍となり、無作為交配群の値に近似した。

つぎに培養胚でのチミジンとウリジンの取り込みについて検討した。

Table 3は培養後12時間、24時間の培養胚の<sup>3</sup>H-チミジン、ウリジン取り込み量について近交系、交雑種F<sub>1</sub>、無作為交配群の間で比較した。培養胚の取り込み量はいずれも近交系が交雑種F<sub>1</sub>、無作為交配群に比較して有意に低い値を示した。一方、交雑種F<sub>1</sub>の取り込み量はチミジンの場合、近交系の1.7~2.3倍、ウリジンの場合、近交系の1.4~1.8倍となり、無作為交配群の値に近似した。また、取り込み量について、胚単位重量(1mg)あたりでみた場合でも近交系が交雑種F<sub>1</sub>、無作為交配群に比較して有意に低く、取り込み量は交配群の間に明らかな差異が認められた。

Table 1 Developmental stage and embryo weight after 2, 3 and 4 days of incubation

Group	Developmental stage <sup>a)</sup>			Embryo weight (mg)		
	2 day	3 day	4 day	2 day	3 day	4 day
Inbred	12.9 ± 0.1 <sup>b) a c)</sup>	19.2 ± 0.3 <sup>a</sup>	24.8 ± 0.3 <sup>a</sup>	3.1 ± 0.1 <sup>a</sup>	12.5 ± 0.7 <sup>a</sup>	47.4 ± 2.2 <sup>a</sup>
F <sub>1</sub> hybrid	13.4 ± 0.1 <sup>b</sup>	20.1 ± 0.2 <sup>b</sup>	25.5 ± 0.1 <sup>b</sup>	3.3 ± 0.2 <sup>a</sup>	16.5 ± 0.7 <sup>b</sup>	60.9 ± 2.0 <sup>b</sup>
Randombred	13.9 ± 0.1 <sup>c</sup>	20.3 ± 0.2 <sup>b</sup>	25.5 ± 0.1 <sup>b</sup>	4.1 ± 0.1 <sup>b</sup>	18.2 ± 0.6 <sup>b</sup>	63.4 ± 2.0 <sup>b</sup>

a) Normal stages of chick embryo (Hamburger, V. & H.L. Hamilton).

b) Mean ± S.E.

c) Values in the same column with different superscripts are significantly different ( $p < 0.05$ ).

**Table 2** Values of <sup>3</sup>H-thymidine and <sup>3</sup>H-uridine incorporated into embryos after 2, 3 and 4 days of incubation

Group	Days of incubation		
	2	3	4
<sup>3</sup> H-thymidine (nmol/embryo)			
Inbred	(26) <sup>a</sup> 0.28 ± 0.03 <sup>b) a c)</sup>	(27) 0.99 ± 0.09 <sup>a</sup>	(26) 2.75 ± 0.28 <sup>a</sup>
F <sub>1</sub> hybrid	(27) 0.40 ± 0.04 <sup>b</sup>	(28) 1.61 ± 0.13 <sup>b</sup>	(27) 3.58 ± 0.24 <sup>b</sup>
Randombred	(28) 0.76 ± 0.03 <sup>b</sup>	(29) 1.72 ± 0.11 <sup>b</sup>	(25) 3.59 ± 0.37 <sup>b</sup>
<sup>3</sup> H-uridine (nmol/embryo)			
Inbred	(28) 0.30 ± 0.04 <sup>a</sup>	(26) 1.79 ± 0.14 <sup>a</sup>	(28) 4.19 ± 0.37 <sup>a</sup>
F <sub>1</sub> hybrid	(26) 0.48 ± 0.05 <sup>b</sup>	(26) 2.47 ± 0.21 <sup>b</sup>	(28) 5.50 ± 0.28 <sup>b</sup>
Randombred	(29) 0.59 ± 0.04 <sup>b</sup>	(31) 2.53 ± 0.15 <sup>b</sup>	(29) 5.53 ± 0.36 <sup>b</sup>

a) Number of embryos

b) Mean ± S.E.

c) Values in the same column with different superscripts are significantly different ( $p < 0.05$ ).**Table 3** Values of <sup>3</sup>H-thymidine and <sup>3</sup>H-uridine incorporated into embryos after 12 and 24 hours of culture

Group	Days of culture <sup>a)</sup>	
	12 hours	24 hours
<sup>3</sup> H-thymidine (nmol/embryo)		
Inbred	(24) <sup>b</sup> 0.52 ± 0.04 <sup>c) a e)</sup> (0.08) <sup>d) a e)</sup>	(20) 1.13 ± 0.16 <sup>a</sup> (0.08) <sup>a</sup>
F <sub>1</sub> hybrid	(22) 0.88 ± 0.05 <sup>b</sup> (0.11) <sup>b</sup>	(20) 2.59 ± 0.17 <sup>b</sup> (0.14) <sup>b</sup>
Randombred	(27) 0.90 ± 0.04 <sup>b</sup> (0.12) <sup>b</sup>	(22) 2.61 ± 0.10 <sup>b</sup> (0.15) <sup>b</sup>
<sup>3</sup> H-uridine (nmol/embryo)		
Inbred	(20) 0.51 ± 0.04 <sup>a</sup> (0.08) <sup>a</sup>	(18) 1.43 ± 0.11 <sup>a</sup> (0.10) <sup>a</sup>
F <sub>1</sub> hybrid	(20) 0.70 ± 0.05 <sup>a b)</sup> (0.09) <sup>a b)</sup>	(19) 2.34 ± 0.12 <sup>b</sup> (0.13) <sup>b</sup>
Randombred	(23) 0.89 ± 0.04 <sup>b</sup> (0.12) <sup>b</sup>	(21) 2.49 ± 0.10 <sup>b</sup> (0.14) <sup>b</sup>

a) Embryos after 2 days of incubation were used to culture *in vitro*.

b) Number of embryos

c) Mean ± S.E.

d) Mean (nmol/mg embryo weight)

e) Values in the same column with different superscripts are significantly different ( $p < 0.05$ ).

このように、初期発生段階での<sup>3</sup>H-チミジン、<sup>3</sup>H-ウリジンの取り込み量は近交胚では著しく抑えられ、一方雑種胚では促進されることが明らかとなった。

### 3. 近交胚と雑種胚における胚発育と<sup>3</sup>H-チミジン、<sup>3</sup>H-ウリジンの取り込みとの関係

Table 4 は近交系、交雑種 F<sub>1</sub>、無作為交配群における孵卵後 3 日目胚の発育と<sup>3</sup>H-チミジン、<sup>3</sup>H-ウリジンの取り込み量との関係を示した。その結果、Table から明らかなように、近交系では交雑種 F<sub>1</sub>、無作為交配群に比べて発育遅延した胚が多くみられた。また、いずれの交配群においてもチミジン、ウリジンの取り込み量は胚発育の進んだ胚では高く、一方発育遅延した胚では低くなる傾向がみられており、胚発育はこれらの取り込み量と密接な関連のあることが示された。

**Table 4** The relationship between the developmental stage and incorporation values of  $^3\text{H}$ -thymidine and  $^3\text{H}$ -uridine in embryos after 3 days of incubation

Group	Developmental stage <sup>a)</sup>			
	21	20	18-19	15-17
$^3\text{H}$ -thymidine (nmol/embryos)				
Inbred	( 4) <sup>b</sup> 1.44 <sup>c)</sup>	( 8) 1.25	( 7) 0.98	( 8) 0.52
F <sub>1</sub> hybrid	(16) 1.85	( 9) 1.46	( 2) 1.06	( 1) 0.36
Randombred	(12) 1.81	(13) 1.67	( 4) 1.57	( 0) —
$^3\text{H}$ -uridine (nmol/embryos)				
Inbred	( 6) 2.40	(11) 1.87	( 8) 1.35	( 1) 0.79
F <sub>1</sub> hybrid	( 9) 3.25	( 9) 2.30	( 6) 2.37	( 2) 0.99
Randombred	(14) 2.92	(13) 2.38	( 4) 1.62	( 0) —

a) Normal stages of chick embryos (Hamburger, V. &amp; H.L. Hamilton)

b) Number of embryos

c) Mean

**Table 5** The relationship between the developmental stage and incorporation values of  $^3\text{H}$ -thymidine and  $^3\text{H}$ -uridine in embryos after 4 days of incubation

Group	Developmental stage <sup>a)</sup>		
	26	25	21-24
$^3\text{H}$ -thymidine (nmol/embryos)			
Inbred	( 9) <sup>b</sup> 3.64 <sup>c)</sup>	( 8) 2.81	( 9) 1.79
F <sub>1</sub> hybrid	(16) 3.98	(10) 3.17	( 1) 1.36
Randombred	(16) 4.07	( 8) 2.76	( 1) 2.59
$^3\text{H}$ -uridine (nmol/embryos)			
Inbred	( 9) 5.42	(10) 4.09	( 9) 3.06
F <sub>1</sub> hybrid	(17) 5.90	( 7) 5.20	( 4) 4.34
Randombred	(16) 6.31	( 9) 4.06	( 4) 3.67

a) Normal stage of chick embryos (Hamburger, V. &amp; H.L. Hamilton)

b) Number of embryos

c) Mean

Table 5 は孵卵後 4 日目の胚について, 胚発育と取り込み量との関係について示した. 孵卵後 4 日目においても孵卵後 3 日目胚の場合と同様に, 胚発育と  $^3\text{H}$ -チミジン並びに  $^3\text{H}$ -ウリジンの取り込み量との間に密接な関連のあることが明らかとなった.

## 考 察

ニホンウズラの初期胚におけるチミジン, ウリジンの取り込み量は近交系が交雑種 F<sub>1</sub>, 無作為交配群に比べて有意に低い値となり, 近交胚ではタンパク, 核酸合成に必要なチミジン, ウリジンの取り込みが抑制されることが明らかになった.

本実験では, まずチミジンとウリジンの取り込み量の検討に用いたニホンウズラ初期胚の発育, 胚重量について検討を加えたところ, 近交胚は交雑種 F<sub>1</sub>, 無作為交配群の胚に比べて発育遅延と胚重量の減少が顕著に認められている. 本実験での結果は, 鶏胚におけるこれまでの報告<sup>2,8,11)</sup>と一致している. このことは発生初期段階においてすでに近交系では成長速度が抑制され, 低下したことを示している.

一般に、核酸、タンパク合成能は胚発育と密接に関連し、<sup>3</sup>H-チミジンと<sup>3</sup>H-ウリジンの取り込み量によって測定できることが知られている。しかし、これまで、ニホンウズラはもちろんのこと鶏でも近交初期胚におけるチミジンとウリジンの取り込みについてはほとんど検討がなされていない。本実験の結果から、近交胚ではチミジン、ウリジンの取り込み能が抑制され、一方、交雑種 F<sub>1</sub> ではチミジン、ウリジンの取り込み能の増加することが認められている。このことは培養胚を用いて行った本実験においても確認されている。

さらに、胚発育とチミジン、ウリジンの取り込み量との関係について検討した結果、いずれの交配群においてもこれらの取り込み量は胚発育が進むほど増加し、一方、胚発育が遅延するほど減少する傾向が認められている。これらの結果は、チミジンとウリジンの取り込み能が初期胚の発育と密接に関連してくることを示している。Krzanowska<sup>\*)</sup>は鶏の近交胚と雑種胚において胚発育と DNA 量との高い相関をみている。また、鶏胚では胚の孵卵時間、孵卵日数が進むにつれて、核酸、タンパク量が増加することが明らかになっており<sup>12,17,18)</sup>、ニホンウズラ胚においても同様の結果が得られている。

一方、ホモのクリッパー鶏胚<sup>19)</sup>やアクチノマイシン D 処理胚<sup>7)</sup>では正常胚、無処理胚に比べて発育遅延の増加並びにこれらの胚での核酸量とタンパク量の明らかな減少が認められている。本実験で認められた近交胚についての結果が、上記の遺伝的要因あるいは代謝阻害物質によって誘導された発育遅延胚での知見とよく類似している。

Friedkin *et al.*<sup>3)</sup> は DNA へのチミジンの取り込み量が胚の成長に影響を与えたことを実証している。また、Bellve<sup>1)</sup> は両親の高体温によって生じた異常マウスの発育遅延は部分的な RNA 合成の欠陥によって生じたことをみている。

本実験の結果と上記の鶏胚に関する報告から推察して、近交系では核酸、タンパク合成能力の低下が見られ、その結果、初期発生段階での胚の発生と分化が支障をきたし、胚の発育遅延、発育異常、さらには胚死亡が誘導されたものと考えられる。一方、雑種ウズラ胚では核酸、タンパクの合成能の亢進が起り、胚発育の回復と胚重量の増加が見られたものと推察される。近交ならびに雑種ウズラにおける初期発生段階での核酸、タンパク合成能については、今後分子遺伝学の面からの追求が必要と考えられる。

## 摘 要

本研究は、ニホンウズラの近交胚と雑種胚における<sup>3</sup>H-チミジン、<sup>3</sup>H-ウリジンの取り込み量および胚発育とこれらの取り込み量との関係について検討した。本研究に用いたニホンウズラは近交系、これらの近交系間交雑種（以下交雑種 F<sub>1</sub>）および無作為交配群である。近交系は共通の基礎集団から4世代にわたって全きょうだい交配によって作出した。10 $\mu$ l の<sup>3</sup>H-チミジンあるいは<sup>3</sup>H-ウリジン量（最終濃度50nmol, 2 $\mu$ Ci）を卵黄中に注入し、孵卵後2, 3, 4日目に胚へ取り込まれたチミジン、ウリジンの量を測定した。さらに本実験では培養胚のチミジン、ウリジンの取り込みについても検討した。

まず、胚発育、胚重量について検討した結果、近交系では著しい発育遅延と胚重量の減少が見られた。一方、交雑種 F<sub>1</sub> では胚発育、胚重量の回復が認められ、無作為交配群に近似した。

つぎに、<sup>3</sup>H-チミジン、<sup>3</sup>H-ウリジンの取り込み量について検討した結果、近交系では交雑種 F<sub>1</sub>、無作為交配群に比べて有意に低い値を示した。一方、交雑種 F<sub>1</sub> でのこれらの取り込み量は無作為交配群の値に近似した。培養胚での取り込み量においても同様の結果が得られた。胚の発育と、<sup>3</sup>H-チミジン、<sup>3</sup>H-ウリジンとの関係について検討した結果、いずれの交配群においても取り込み量は胚発育の進んだ胚では高く、一方発育遅延した胚では低くなる傾

向がみられ、胚発育とチミジン、ウリジンの取り込み量との間には密接な関連のあることが明らかになった。これらの結果から、核酸、タンパク合成能の低下が近交ウズラ胚での発育遅延に関連し、一方雑種ウズラ胚での胚発育の回復は核酸、タンパク合成機能の亢進に起因したものと考えられる。

## 謝 辞

この研究は、平成元年度から3年度までの3年間に亘る岡山大学学内特定研究「生物生産のための細胞選択と細胞育種」を分担して行ったものである。

本研究を進めるにあたり、有益な御指導と御助言を賜った岡山大学農学部多田幹郎教授、RI 共同利用津島施設の蜂谷欽司助手に深く謝意を表す。なお、本研究は RI 共同利用津島施設において行われたものである。

## 文 献

- 1) Bellve, A.R. : Incorporation of  $^3\text{H}$ -uridine by mouse embryos with abnormalities induced by parental hyperthermia. *Biol. Repro.*, **15**, 632—646 (1976)
- 2) Bernier, P.E., L.W. Taylor and C.A. Gunns : The relative effects of inbreeding and outbreeding on reproduction in the domestic fowl. *Hilgardia*, **20**, 529—628 (1951)
- 3) Friedkin, M.D., Tilson and D. Roberts : Studies of deoxyribonucleic acid biosynthesis in embryonic tissues with thymidine- $\text{C}^{14}$ . *J. Biol. Chem.*, **220**, 627—637 (1956)
- 4) Hamburger, V. and H.L. Hamilton : A series of normal stages in the development of the chick embryos. *J. Morphol.*, **88**, 49—92 (1951)
- 5) 猪 貴義(研究者代表) : 日本ウズラを用いた原因追及に関する研究。文部省科学研究費 昭和58—59年度一般研究(B)研究成果報告書, 68—77 (1985)
- 6) Kawahara, T. : Inbreeding depression in Japanese quail. In Annual Report of National Institute of Genetics, **23**, 126—127 (1972)
- 7) Klein, N.W. and L. Pierro : Actinomycin D: specific inhibitory effects on the explanted chick embryo. *Science*, **142**, 967—969 (1963)
- 8) Krzanowska, H. : Early embryonal growth in inbred lines of Brown Leghorn and their crosses. *Poult. Sci.*, **38**, 1446—1455 (1959)
- 9) Kulenkamp, A.M., C.M. Kulenkamp and T.H. Coleman : The effect of intensive inbreeding (brother  $\times$  sister) on various traits in Japanese quail. *Poult. Sci.*, **52**, 1240—1246 (1973)
- 10) 前田芳実・伊集院正敏・橋口 勉・武富萬次郎 : ウズラの近交系作出の試み。家禽会誌, **18**, 86—97 (1981)
- 11) McNary, H.W., A. E. Bell and C.H. Moore : The growth of inbred and hybrid chicken embryos. *Poult. Sci.*, **39**, 378—384 (1960)
- 12) Novikoff, A.B. and V.R. Potter : Changes in nucleic acid concentration during the development of the chick embryo. *J. Biol. Chem.*, **173**, 233—238 (1948)
- 13) 岡本 悟・松尾昭雄 : ウズラの量的形質に及ぼす近親交配の影響。佐賀農彙, **46**, 9—16 (1979)
- 14) Sato, K., T. Yamamoto, S. Ito, H. Kobayashi and T. Ino : The effect of inbreeding on fertility, hatchability and viability in Japanese quail. *Jpn. J. Zootech. Sci.*, **55**, 315—321 (1984)
- 15) 新城明久・水間 豊・西田周作 : 日本ウズラにおける近交退化に関する研究。家禽会誌, **8**, 231—236 (1971)
- 16) Sittmann, K. and H. Abplanalp : Inbreeding depression in Japanese quail. *Genetics*, **54**, 371—379 (1966)
- 17) Solomon, J. B. : Increase of deoxyribonucleic acid and cell number during morphogenesis of the early chick embryo. *Biochem. Biophys. Acta*, **23**, 24—27 (1957)
- 18) Solomon, J.B. : Nucleic acid content of early chick embryos and the hen's egg. *Biochem. Biophys. Acta*, **24**, 584—591 (1957)
- 19) Wallace, H., R.I. Clyman and L.J. Pierro : Nucleic acid deficiency in the prothanic homozygous mutant of creper fowl. *J. Exp. Zool.*, **172**, 245—252 (1969)