

ヒラメの雌性発生性転換雄と通常雌との交配により作出した子孫個体群の飼育特性*¹

田畑和男*²

Performance Traits of the Offspring Produced by Mating

Sex Reversed Gynogenetic Females

(Phenotypically Males) with Control Females in Hirame

Paralichthys olivaceus

KAZUO TABATA

I investigated the performance traits of offspring produced by mating sex reversed gynogenetic females (phenotypically males) with control females in hirame *Paralichthys olivaceus*.

Hatching rate, growth and survival after initial hatching in offspring produced by mating sex reversed gynogenetic females with control females, did not compare favorably with the control offspring.

The same results were obtained in the during the change from juvenile to adult. The lowering of the rate of hatching and growth which were sometimes weak points in gynogenetic diploids induced by retention of meiosis, were evidently improved.

ヒラメの第2極体放出阻止型雌性発生2倍体のふ化率と成長は、通常発生群に比べて劣ることが多いことをすでに報告した。^{1, 2)}これは生存性等に関係する遺伝子の同型接合化—有害遺伝子の顕在化による結果とみることができる。³⁾サケ科魚類などでは雌性発生性転換雄を作出し、これと通常雌とを交配することによって、つまり、遺伝子を異型接合化し成長低下等の害をなくすことによって、全雌種苗の生産が可能になっている。⁴⁾また、雌性発生性転換雄を利用することによりその度ごとの雌性発生誘起の必要がなくなるが、これは大量生産用のシステムとして非常に有益である。しかしながら、海産魚では未だこのようなシステムは完成されておらず、早期の研究開発が望まれている。この報告は、ヒラメ

*¹ ヒラメの雌性発生に関する研究—XII (Studies on the gynogenesis in hirame *Paralichthys olivaceus*—XII)

*² 兵庫県立水産試験場 (Hyogo Prefectural Fisheries Experimental Station, Akashi 674)

の雌性発生性転換雄と通常雌との交配によって作出した子孫個体群の飼育特性を明らかにする目的で実施したものである。

材料と方法

雌性発生性転換雄と子孫個体群の作出

雌性発生性転換雄と子孫個体群の作出方法は別報³⁾に記載したとおりであるが、以下にその要約を記しておく。すなわち、雌性発生性転換雄は第2極体放出阻止型雌性発生ヒラメに、ふ化後59日目(全長29.1mm)から103日目(全長113.7-115.0mm)まで、1もしくは10ppmの17 α -Methyltestosterone (Aldrich chem. co.)を経口的に投与することにより作出した。この雌性発生性転換雄個体群の中から無作為に13個体を選び、個々に5個体の雌(A-E)と人工受精によって交配し同数(13)の子孫個体群を作出した(1989年4月24, 25日)。なお、雌1個体につき3もしくは4個体の雄を個々に交配し(雌AではA-2、A-3、雌BではB-2、B-3、以下同じ)、そのうちの1個体の雄は通常発生雄を使用しこれを対照区(雌AではA-1、雌BではB-1、以下同じ)とした(Table1)。

ふ化率およびふ化後45日目までの初期飼育特性

人工受精卵は同一雌(A-E)を使用した区ごとに各区がほぼ同数(同一卵重量)となるように、底に100目(目幅0.202mm)のメッシュ網を張った5l容ふ化容器に収容した(Table1)。このふ化容器は100l容の円形ポリカーボネイト水槽中に設置し、140ml/分でふ化容器にそそぎ込まれた濾過海水が100l水槽を通過して排水されるようにした。また、ふ化容器内は緩く通気をおこなった。100l水槽はさらに大型の調温したウォーターバス中に漬け込み、水温が一定になるようにした。ふ化前日に浮遊卵の重量(g)を測定し、1,490/gを乗ずることによってふ化尾数を推定した。翌日、ふ化した仔魚の一部をサンプリングしたのち同じ100l水槽に放養した。濾過海水の注入はふ化後0-10日までは1回/日、11-45日までは3回/日とした。水温は、卵培養期間中は16-17°Cに、また、ふ化後は自然海水温が18-19°Cに上昇するまで(ふ化後40日目)17-18°Cにそれぞれ制御した。

投与餌料はつぎのとおりである。ふ化後2日目から25日目までS型シオミズツボムシを100万個体/100l・日、ふ化後11日目から40日目までは中国産ブラインシュリンプ・ノウブリウスを1.6-100万個体/100l・日、ふ化後41日目からは冷凍アミで餌付け後、冷凍イカナゴをそれぞれ投与した。

ふ化後11日目には、収容卵数、ふ化率および初期生残の違いにより生じた飼育密度の違いを一定にするため、原則として1,000尾/100lを目安に計数・再放養した。

全長の測定は、ふ化後0日目のほか11および45日目に無作為に抽出した標本を10%ホルマリンに固定後、万能投影機下でおこなった。

5カ月齢以後の飼育特性

ふ化後45日目以降は生餌に餌付けし、500l水槽で各区別に飼育した。5カ月齢(1989年9月21日)にはC-1,2,3区およびE-1,3区の各区からそれぞれ無作為に抽出した30-40尾について体重と全長を測定したのち、一つの水槽(2.5Kl楕円型)に同居放養し13カ月齢(1990年5月11日)まで飼育をおこなった。各個体には番号を記入したアンカータグを背筋部に打ち込み個体識別を施した。1990年5月11日に全個体の全長、体重を測定したほか、精液の搾出の有無による方法で雌雄を調べた。

その後26カ月齢(1991年6月18日)まで飼育を継続し、その間随時1回につき雌雄別に無作為に計10個体を抽出し、全長、体重および生殖腺重量を測定した。

餌は冷凍イカナゴを週に5-6日、1日1回飽食する量を与えた。濾過海水を10回/日注入すると

もに、飼育水に通気をおこなった。なお、水温は無制御とした。期間中の旬間平均水温を付表に示した。

結 果

初期における飼育特性

Table 1 Comparisons of hatching rates and survival rates at early stages after hatching between controls and offspring produced by mating sex reversed gynogenetic females (phenotypically males) and normal females

Groups	Mother	Father	At 0 day after hatching			At 11 days			At 43 days					
			No(1)	HR	Ave.HR	No(2)	No(1)	SR	Ave.SR	No(1)	No(2)	SR	Ave.SR	
A-1*	A	F	8,240	3,147	38.2	38.2	38.2	619	20.1	20.1	600	533	17.8	17.8
A-2	A	G	8,195	4,272	52.1	50.1	NS	707	16.8	20.8	707	607	14.4	17.7
A-3	A	H	7,897	3,792	48.0			932	24.8		900	759	20.9	
B-1*	B	I	8,553	3,600	42.1	42.1		1,137	32.2	32.2	1,000	807	26.0	26.0
B-2	B	J	9,313	2,775	29.8	35.2	NS	950	35.0	43.5	900	796	31.0	36.5
B-3	B	K	8,508	3,444	40.5			1,755	51.9		1,000	811	42.1	
C-1*	C	L	6,511	3,646	56.0	56.0		1,511	42.3	42.3	1,000	760	32.1	32.1
C-2	C	M	7,361	4,466	60.7	60.0	NS	1,693	44.7	52.7	1,000	889	39.7	44.3
C-3	C	N	7,376	4,346	58.9			2,435	56.9		1,000	751	42.8	
C-4	C	O	7,450	4,495	60.3			2,504	56.6		1,000	893	50.5	
D-1*	D	P	16,882	5,449	32.3	32.3		1,000	18.6	18.6	1,000	261	4.9	4.9
D-2	D	Q	17,671	6,015	34.0	33.5	NS	2,378	40.0	25.1	1,000	990	39.6	23.0
D-3	D	R	17,493	6,298	36.0			564	9.1		550	415	6.8	
D-4	D	S	17,701	5,374	30.4			1,395	26.3		1,000	854	22.5	
E-1*	E	T	24,019	3,146	13.1	13.1		1,070	34.5	34.5	1,000	844	29.1	29.1
E-2	E	U	26,552	2,424	9.1	14.2	NS	720	30.2	26.0	700	643	27.7	22.9
E-3	E	V	24,674	2,901	11.8			890	31.4		800	734	28.8	
E-4	E	W	27,356	5,941	21.7			957	16.3		900	676	12.2	
Average of controls			36.3			29.5			22.0					
Average of experiments			38.6			33.6			28.9					

* : Control groups.

A, B, C, D and E : Normal females, F, I, L, P and T : Normal males,

G, H, J, K, M, N, O, Q, R, S, U, V and W : Sex reversed gynogenetic females (phenotypically males),

SR: Survival rate (%) from 0 day after hatching, HR : Hatching rate (%),

No(1) : Survival number, No(2) : Released number,

NS : No significance with 99% reliability (t test in correspondence) between control

ふ化率（ふ化尾数/収容卵数×100%）の結果をTable 1に示した。試験区（雌性発生性転換雄と通常雄との交配区）と対照区（通常発生性の雌雄の交配区）との平均値間には、各雌(A-E)ともに統計的に有意な差はなかった（t検定（対応のある場合）、信頼度99%）。また、試験区全体と対照区との平均値間にも統計的有意差（信頼度99%）はみられなかった。

ふ化後0日目から11日目の間、ふ化後11日目から45日目の間およびふ化後0日目から45日目の間における生残率の結果をTable 1に示した。このうちふ化後0日目から45日目の間の生残率を統計的に検定（t検定（対応のある場合））してみると、ふ化率の場合と同様に、雌性発生性転換雄と通常雄とを交配した試験区の平均と通常発生性の雌雄を交配した対照区との間には、各雌ともに有意差はなかった。全体の平均値についてはやや試験区のほうが優り、信頼度95%水準では有意差がみられたが、99%水準では有意差はみられなかった。

つぎに、ふ化後0日目、11日目および43日目における全長の測定結果ならびに試験区と対照区との比較結果をTable 2および3（第2極体放出阻止型雌性発生2倍体の結果¹⁾を併記）に示している。

ふ化後0日目では、試験区と対照区に差がなかったのは7例（95%水準、以下同じ）で、試験区が優れた例が2、対照区が優れたのが4例であった。ふ化後11日目では差なしが1例、試験区が優れたものが9例、対照区が優れた例が0であった。ふ化後43日目では差なしが5例、試験区が優れたもの4例、対照区が優れたもの4例であった。

Table 2 Comparisons of total length at 0, 11 and 43 days after hatching between controls and offspring produced by mating sex reversed gynogenetic females (phenotypically males) with normal females

Groups	0 day after hatching			11 days after hatching			43 days after hatching					
	No.	TL(mm)		No.	TL(mm)		No.	TL(mm)				
		Ave.	SD		Ave.	SD		Ave.	SD			
A-1*1	63	2.30	0.240	19	4.90	0.402	51	18.81	2.746			
A-2	70	2.24	0.241	NS	49	20.25	2.758	*				
A-3	37	2.42	0.201	*	32	5.71	0.405	**	70	20.14	2.530	**
B-1*1	69	2.38	0.206	70	5.01	0.489	70	20.20	2.881			
B-2	63	2.34	0.280	NS	47	5.58	0.370	**	70	21.35	2.568	*
B-3	62	2.41	0.237	NS	70	5.54	0.373	**	70	19.71	2.552	NS
C-1*1	70	2.67	0.063	70	4.81	0.428	70	19.63	3.236			
C-2	70	2.57	0.094	**	70	5.34	0.286	**	70	20.82	3.169	*
C-3	70	2.68	0.070	NS	70	5.02	0.381	**	70	19.90	2.602	NS
C-4	70	2.61	0.095	**	70	5.18	0.561	**	70	20.15	2.557	NS
D-1*1	70	2.49	0.086	30	22.00	2.392						
D-2	70	2.51	0.105	NS	70	5.42	0.363	70	19.39	2.358	**	
D-3	70	2.61	0.095	**	12	5.60	0.340	31	20.27	2.835	*	
D-4	70	2.51	0.070	NS	70	5.79	0.387	70	19.05	2.029	**	
E-1*1	47	2.28	0.181	70	4.99	0.355	70	19.82	2.654			
E-2	40	2.16	0.122	**	17	4.82	0.303	NS	47	19.30	2.296	NS
E-3	70	2.19	0.123	**	61	5.20	0.246	**	70	19.63	2.364	NS
E-4	70	2.32	0.101	NS	57	5.17	0.340	**	51	18.51	2.325	**

* 1 : Control groups

* : Significance with 95% reliability

** : Significance with 99% reliability

NS : No significance

Table 3 Comparisons of total length at early stages after hatching between gynogenetic diploids induced by retention of meiosis and offspring produced by mating sex reversed gynogenetic females (phenotypically males) with normal females

		Days after hatching				
		0	10	11	43	40-46
Present study						
SRGF(♂)×Control(♀)	=Control(♂)×Control(♀)	7		1	5	
	<*	4		0	4	
	>*	2		9	4	
Reference ¹⁾						
GD	=Control(♂)×Control(♀)	2	2			0
	<*	3	2			5
	>*	0	2			2

SRGF : Sex reversed gynogenetic females (phenotypically males)

GD : Gynogenetic diploids induced by retention of meiosis

= : No significance

<*, >* : Significance with 95% reliability

5カ月齢から13カ月齢の飼育特性

期首の5カ月齢（1989年9月21日）および期末の13カ月齢（1990年5月11日）における全長と体重の測定結果を雌雄別にTable4に示した。また、それぞれの体重の平均値の差についての検定結果をTable5に示した。なお、5月11日（期末）までにへい死した個体については性が不明のため雌雄別の体重比較からは除外した。期首においては、試験区全体と対照区全体との間には有意差（99%水準）はなかったが、期末には試験区が対照区より優れた（99%水準）。しかし、この結果は試験区における雌の占める割合が格段に多い（文献⁹⁾および後述）ことに起因しているのでむしろ当然の結果であろう。そこで、試験区と対照区における雌同士の比較でみると、95%水準ではあるが試験区の方が優っていた。そのほか、A-1区（対照区）とA-3区（試験区）間については期首では対照区が優っていた（95%水準）にもかかわらず、期末では有意差が解消していた。C-1区（対照区）とC-2区（試験区）間では期末期首ともに試験区の優位が保たれていた。その他の雌同士の組合せ間については期首期末ともに有意差はみられなかった。

Table 5 Comparisons of body weight at 5 and 13 months after hatching between controls and offspring produced by mating sex reversed gynogenetic females (phenotypically males) with normal females

		5 months after hatching			13 months after hatching		
		Reliability		t	Reliability		t
		99%	95%		99%	95%	
All groups	(males+females)	=	=	1.5627	≠	≠	16.6939
"	(females)	=		0.9092	=	≠	2.5120
C-1 VS C-2	(females)	=	=	0.6369	=	=	1.2193
C-1 VS C-3	(females)	=	≠	2.1337	=	=	1.7120
E-1 VS E-2	(females)	=	≠	2.5600	=	≠	2.1676
C-1 VS C-2,C-3	(females)	=		0.7867	=		1.4662

C-1 and E-1 : controls

Table 4 Growth at 5 and 13 months after hatching of offspring produced by mating sex reversed gynogenetic females (phenotypically males) with normal females

Groups	Males + Females			Males			Females		
	No.	TL(mm)	BW(g)	No.	TL(mm)	BW(g)	No.	TL(mm)	BW(g)
5 months after hatching (21st September 1989)									
controls		Ave. SD	Ave. SD		Ave. SD	Ave. SD		Ave. SD	Ave. SD
C-1	40	199.7 ± 23.05	87.2 ± 31.24	19	196.4 ± 20.25	80.9 ± 27.18	19	203.9 ± 24.21	93.9 ± 33.59
E-1	33	184.1 ± 21.05	69.6 ± 24.54	16	186.1 ± 20.67	71.1 ± 21.42	15	182.9 ± 22.51	68.9 ± 27.10
C-1,E-1	73	192.6 ± 23.36	79.2 ± 29.56	35	191.7 ± 20.79	76.4 ± 24.87	34	194.7 ± 25.44	82.9 ± 32.95
Experiments									
C-2	30	210.3 ± 16.86	98.5 ± 26.70	1	212.0	100.0	27	211.3 ± 15.80	99.5 ± 26.04
C-3	30	198.1 ± 18.61	75.8 ± 23.66	3	201.0 ± 13.75	80.0 ± 22.27	26	198.0 ± 19.60	75.4 ± 24.64
C-2,C-3	60	204.2 ± 18.65	87.1 ± 27.51	4	203.8 ± 12.50	85.0 ± 20.75	53	204.8 ± 18.85	87.7 ± 27.91
E-2	40	196.4 ± 22.31	84.5 ± 29.80	4	170.8 ± 31.75	56.8 ± 31.64	33	200.1 ± 19.60	89.3 ± 27.96
C-2,C-3,E-2	100	201.1 ± 20.45	86.1 ± 28.33	8	187.3 ± 28.46	70.9 ± 29.01	86	203.0 ± 19.16	88.3 ± 27.78
13 months after hatching (11th May 1990)									
Controls									
C-1	38	300.8 ± 28.07	294.7 ± 94.1	19	291.6 ± 18.19	266.6 ± 58.10	19	310.0 ± 33.31	322.9 ± 114.63
E-1	31	279.9 ± 29.99	259.4 ± 79.2	16	272.6 ± 21.60	234.4 ± 39.62	15	287.7 ± 36.08	286.0 ± 101.40
C-1,E-1	69	291.4 ± 30.58	278.8 ± 88.9	35	282.9 ± 21.75	251.9 ± 52.39	34	300.1 ± 35.84	306.6 ± 108.97
Experiments									
C-2	28	330.6 ± 38.22	381.3 ± 129.1	1	300.0	250.0	27	331.8 ± 38.47	386.1 ± 128.93
C-3	29	323.0 ± 36.91	351.7 ± 108.4	3	321.3 ± 8.62	338.3 ± 23.63	26	323.2 ± 38.98	353.3 ± 114.43
C-2,C-3	57	326.8 ± 37.42	366.2 ± 118.9	4	316.0 ± 12.78	316.3 ± 48.20	53	327.6 ± 38.59	370.0 ± 121.99
E-2	37	314.2 ± 30.43	338.2 ± 95.3	4	280.5 ± 25.32	240.0 ± 61.51	33	318.3 ± 28.69	350.2 ± 92.23
C-2,C-3,E-2	94	321.8 ± 35.21	355.2 ± 110.5	8	298.3 ± 26.55	278.1 ± 65.41	86	324.0 ± 35.23	362.4 ± 111.36

Numbers of (Males+Females) at 5 months after hatching differ from total number of males and females, because the sex check was done for survival fishes at 13 months after hatching but was not done for dead fishes.

13カ月齢から26カ月齢の飼育特性

13カ月齢以降の成長（体重）の結果をFig. 1に示した。対照区試験区を含めて雌雄の差をみると13カ月齢では雌の体重は雄の1.8倍であったが、その後さらに差は拡大し2-3倍になった。なお、両区ともに雌の成長不良個体が一部出現し、これらは雄の成長とほぼ同等であった。

試験区と対照区における雌の成長は、試験区の方が優れている可能性がFig. 1からうかがわれたが、測定数が少ないため統計的検定はおこなわなかった。また、両区間における生殖腺指数の推移をTable 6に示したが、差はみられなかった。

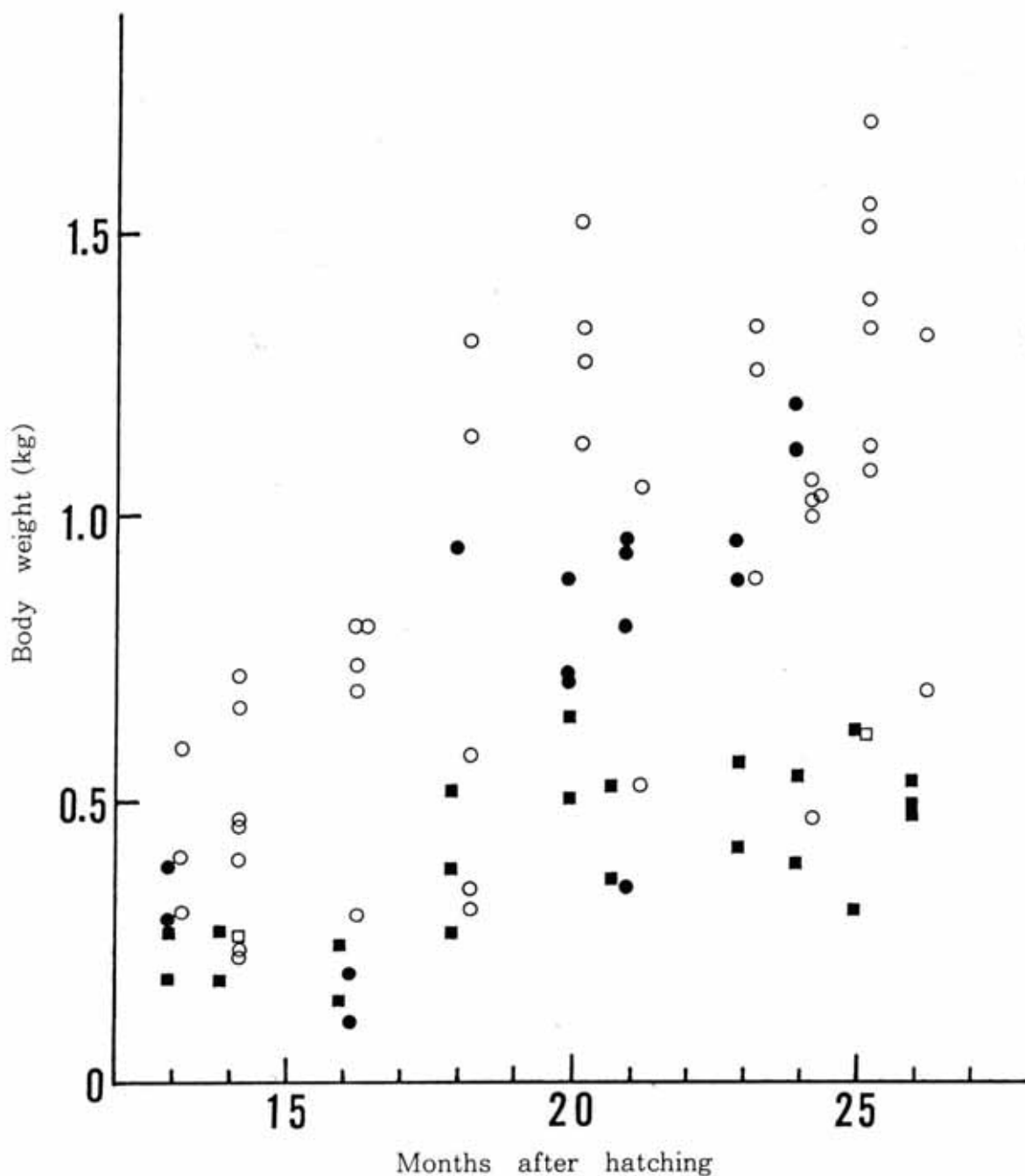


Fig. 1 Growth from 13 to 26 months after hatching of controls (● : female, ■ : male) and offspring (○ : female, □ : male) produced by mating sex reversed gynogenetic females (phenotypically males) with normal females.

Table 6 Comparisons of gonadosomatic index from 13 to 26 months after hatching between controls and offspring produced by mating sex reversed gynogenetic females (phenotypically males) with normal females

Groups	Months after hatching					
	13	14	16	18	20	
Female						
Experiments	Ave. Min. - Max. (No.) 1.03 0.96 - 1.09 (2)	0.71 0.38 - 1.08 (7)	0.83 0.74 - 0.93 (5)	1.22 0.95 - 1.43 (5)	0.84 0.12 - 1.15 (4)	
Controls	0.73 0.64 - 0.84 (3)	-	0.49 0.40 - 0.58 (2)	1.25 (1)	1.20 1.19 - 1.23 (3)	
Male						
Experiments	-	0.22 (1)	-	-	-	
Controls	0.56 0.50 - 0.61 (2)	0.19 0.18 - 0.19 (2)	0.10 0.07 - 0.13 (2)	0.11 0.10 - 0.13 (3)	0.23 0.22 - 0.24 (2)	
Groups						
			Months after hatching			
	21	23	24	25	26	
Female						
Experiments	1.58 1.22 - 1.87 (2)	2.88 1.74 - 3.87 (3)	2.81 1.22 - 3.89 (4)	7.29 4.11 - 10.33(7)	1.18 1.07 - 1.28 (2)	
Controls	1.39 1.17 - 1.60 (4)	2.77 2.38 - 3.15 (2)	5.62 4.82 - 6.43 (2)	-	-	
Male						
Experiments	-	-	-	0.31 (1)	-	
Controls	0.77 0.75 - 0.79 (2)	1.74 1.70 - 1.78 (2)	2.09 1.60 - 2.58 (2)	0.61 0.41 - 0.81 (2)	0.35 0.28 - 0.44 (3)	

考 察

ヒラメの第2極体放出阻止型雌性発生2倍体のふ化率は通常発生体に比べて劣るといわれている。^{1, 2)} 低成長もしくは成長の不安定さおよび低ふ化率は、生存性等に関する遺伝子の同型接合化—有害遺伝子の顕在化による結果とみることができる。³⁾ サケ科魚類などでは雌性発生性転換雄を作出し、これと通常雌とを交配することによって遺伝子の異型接合化を図り成長低下等の害をなくすことが可能になっている。⁴⁾ また、雌性発生性転換雄を利用することによってその度ごとの雌性発生誘起の必要がなくなり大量生産用のシステムとして非常に有益である。第2極体放出阻止型雌性発生2倍体の飼育特性に関する結果¹⁾と、今回の結果（雌性発生性転換雄と通常雌との交配）とのふ化率、初期生残および初期成長の比較を示したのがそれぞれTable 3、Fig. 2およびFig. 3である。雌性発生性転換雄と通常雌とを交配することによって低成長とふ化率の低下は明らかに改善された。すなわち、ヒラメにおいても雌性発生性転換雄と通常雌とを交配することによって第2極体放出阻止型雌性発生2倍体の諸欠点を取り除かれることが立証されたものと考えられる。なお、雌の出現率も有意に高まることは別報に述べているとおりである（雌出現率の低かった1例を除いた試験区の平均雌出現率90.3%、対照区の平均雌出現率38.6%）。さらに、5カ月以降や13カ月以降の飼育試験から雌性発生性転換雄と通常雌の交配群は通常発生群より高い成長を示す傾向がうかがわれたが、これは雑種強勢によって成長度が増した可能性も考えられ非常に興味深い事象である。今後さらに知見を集積し検討すべき問題であると考えられる。

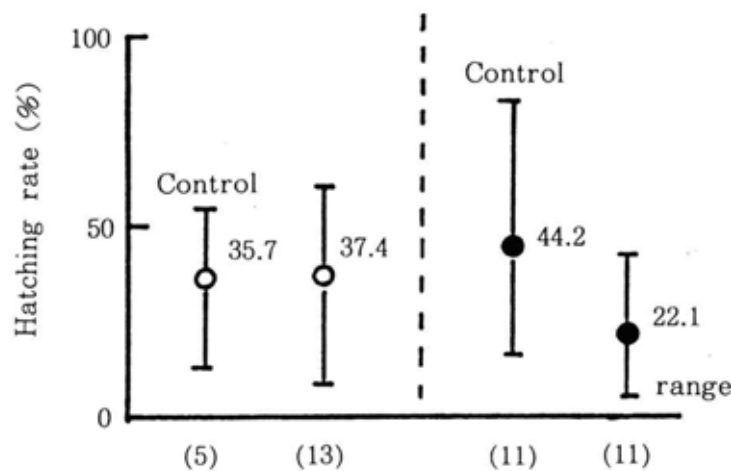


Fig. 2 Comparisons of hatching rate between gynogenetic diploids (●) induced by retention of meiosis and offspring (○) produced by mating sex reversed gynogenetic females (phenotypically males) with normal females. Numbers in figure indicate the average, and numbers in parentheses indicate the sample size.

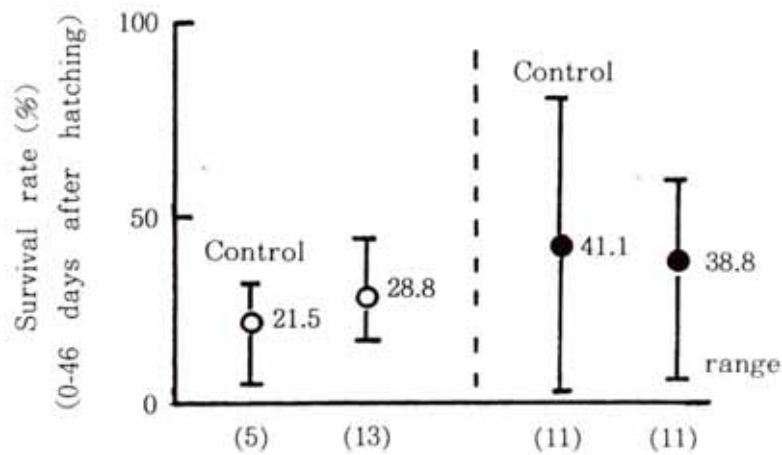


Fig. 3 Comparisons of survival rate at 40-46 days after hatching between gynogenetic diploids (●) induced by retention of meiosis and offspring (○) produced by mating sex reversed gynogenetic females (phenotypically males) with normal females.

Numbers in figure indicate the average, and number in parentheses indicate the sample size.

要 約

ヒラメの雌性発生性転換雄と通常雌とを交配して得られた子孫個体群の飼育特性を検討した。子孫個体群は通常発生群に比べてふ化率、初期成長および初期生残において遜色なかった。また、未成魚から成魚段階においても同様の結果が得られた。

第2極体放出阻止型雌性発生2倍体の欠点であるふ化率の低下と、時に起こる低成長は明らかに改善された。

文 献

- 1) 田畑和男：第2極体放出阻止型雌性発生0+ヒラメの分離飼育における飼育特性，兵庫水試研報，26, 37-47 (1989)。
- 2) 田畑和男・五利江重昭：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, 1143-1147(1988)。
- 3) 谷口順彦：魚類の雌性発生2倍体におけるG-C組換え率と固定指数について，水産育種，11, 49-58 (1986)。
- 4) 岡田鳳二：性の統御、水産学シリーズ75，水産増養殖と染色体操作（鈴木亮編），50-59、恒星社厚生閣、東京1989。
- 5) K. Tabata: Induction of gynogenetic diploid males and presumption of sex determination mechanisms in the hirame *Paralichthys olivaceus*, *Nippon Suisan Gakkaishi*, 57, 845-850 (1991)。

田畑：ヒラメの雌性発生性転換雄と通常雄との交配

Annexed table Temperature of rearing water form 13 to 26 months after hatching

Months after hatching		Average±SD (°C)
13	May 1990	16.2±0.90
14	June	19.8±1.28
15	July	22.6±1.10
16	Aug.	25.3±0.75
17	Sep.	25.4±0.80
18	Oct.	22.8±0.87
19	Nov.	19.7±1.02
20	Dec.	15.2±1.34
21	Jan. 1991	11.0±0.87
22	Feb.	9.3±0.85
23	Mar.	9.3±0.81
24	Apr.	12.5±1.34
25	May	15.8±1.14
26	June	19.1±1.00