

致死性科間雑種シマドジョウ雌×コイ雄およびドジョウ雌× コイ雄における異質三倍体と五倍体の誘起

木島 圭助・荒井 克俊・鈴木 亮

広島大学生物生産学部, 東広島市 739

1996年4月26日 受付

要 旨 ドジョウ科とコイ科間の交雑である二倍体シマドジョウ雌×コイ (ニシキゴイ) 雄および二倍体ドジョウ雌×コイ (ニシキゴイ) 雄より生じる仔魚は奇形を呈し致死性であった。ニシキゴイの核型は微小染色体と不對の染色体を含み, 染色体数も一定でなかったが, 核型が本研究および既往の報告の範囲にあるとすると, 上述の雑種はいずれも両親種の中間的な染色体構成を示した。科間交雑後の低温あるいは圧力処理による第二極体放出阻止の操作により, 異質三倍体が得られた。四倍体のシマドジョウあるいは四倍体のドジョウとコイ雄との交雑からは異質三倍体が生じ, 交雑直後の第二極体放出阻止により異質五倍体が得られた。以上の異質倍体化により雑種仔魚の奇形の程度は緩和される傾向が見られたが, 生存性個体の作出には到らなかった。

キーワード: 異質五倍体, 異質三倍体, コイ, 雑種, シマドジョウ, ドジョウ

緒 言

科間雑種ドジョウ *Misgurnus anguillicaudatus* 雌×キンギョ *Carassius auratus* 雄およびドジョウ雌×タモロコ *Gnathopogon elongatus elongatus* 雄の発生は致死性であるが, 染色体構成は両親種の中間の二倍性雑種であった (木島ら, 1996)。そして, これら雑種の異質三倍体では外見的異常は緩和される傾向が見られたが, 生存性の回復には至らなかった (木島ら, 1996)。このことは, サケ・マス類属間雑種では, 雑種核における母系と父系の染色体の比を2:1にすること (異質三倍体化) により生存性の回復ができるが (CHEVASSUS *et al.*, 1983; SCHEERER and THORGAARD, 1983; ARAI, 1984; 1986; 1988; SEEB *et al.*, 1988; YAMANO *et al.*, 1988; GRAY *et al.*, 1993), コイ目の科間雑種では, その効果がないことを示す。従って, 生存性の遠縁間雑種を作り, 異種の遺伝形質をとりこむためには, さらに核中の母系染色体の比を大きくした例につき検討する必要がある。

シマドジョウ *Cobitis biwae* では, 小型二倍性種族 ($2n=48$) と大型四倍体種族 ($4n=96$) が異所的に分布する (上野ら, 1980)。KUSUNOKI *et al.* (1994) は, 人為雌性発生体の生存能力から, 前者の遺伝的二倍性と, 後者の四倍性を結論した。同様に, ドジョウにおいても通常の二倍体 ($2n=50$) のほか自然四倍体 ($4n=100$) が存在し (ARAI *et al.*, 1991A), その卵を用いて雌性発生を誘起すると, 染色体の倍化処理なしで生存性二倍体子孫が生じることから, その遺伝的四倍性が示された (ARAI *et al.*, 1991B; 1993)。従って, これらの四倍体同士で交配を行えば同質四倍体を得られ (ARAI *et al.*, 1991B; 1993), さらに, 受精後, 極体放出阻止を行うと同質六倍体が生じることが期待される。また, 理論的にはこれらの自然四倍体の卵を異種精子で受精すると母系染色体2セット, 父系染色体1セットをもつ異質三倍体が生じ, さらに, 第2極体放出阻止を行うと母系染色体4セット, 父系染色体1セットをもつ異質五倍体ができる。

本研究では, 交雑結果が致死性なことが既に報告されているシマドジョウ雌×コイ *Cyprinus carpio* 雄とドジョウ雌×コイ雄の組合せ (SUZUKI, 1968) を選び, 二倍体および四倍体雌を用いた科間雑種の生残能力を見るとともに, その子孫の「雑種性」あるいは「異質三倍性」を検討した。そして, さらに「異質五倍体」を誘起し, その影響を見た。

材料と方法

供試魚 通常二倍体ドジョウ *Misgurnus anguillicaudatus* (略号 L 2n) は、広島県美波羅川および水田用水路より採集したもの、鳥取県の養殖業者より購入後、学内水槽で飼育中のものである。シマドジョウ *Cobitis biwae* 小型種族 (略号 S 2n) は、鳥取県千代川で、大型種族 (略号 S 4n) は岡山県美山川で採集した。コイ (ニシキゴイ) *Cyprinus carpio* (略号 C) は学内水槽で飼育中の個体である。

交雑と染色体操作 雌の人為排卵、同種、異種の稀釈精液の調整は既報 (ARAI *et al.*, 1991B; 1993; KUSUNOKI *et al.*, 1994) の通りである。交雑は、シマドジョウ雌とコイ雄間 (S 2n×C, S 4n×C) およびドジョウ雌とコイ雄間 (L 2n×C, S 4n×C) で行った。これらの他対照交配 (S 2n×S 2n, S 4n×S 4n, L 2n×L 2n, L 4n×L 4n) を行った。また、四倍体ドジョウ (L 4n) にコイの UV 照射精子を受精した雌性発生群を作出した。UV 照射の条件は SUWA *et al.* (1994) に拠った。以上の交配組の卵の一部について SUZUKI *et al.* (1985) の方法で低温処理 (CS), あるいは、シマドジョウ卵の場合は荒井ら (1995) 記載の条件 (受精後 5 分, 700 kg/cm², 5 分間) で圧力処理 (PS) を行った (S 2n×S 2n・PS, S 4n×S 4n・PS, L 2n×L 2n・PS, L 4n×L 4n・PS, S 2n×C・PS, S 4n×C・PS, L 2n×C・CS, L 2n×C・PS, L 4n×C・PS)。以上の交配あるいは処理群ののう胚期 (受精後12時間), 孵化期 (受精後3日), および受精後7日, 14日の仔魚期における生残数を計数し, 使用卵数に対する生残率を算出した。換水は毎日行った。

Table 1. Survival potential of interfamilial hybrids (spinous loach × carp) and progeny resulted from pressure (PS) or cold shock (CS) treatments after hybridizations.

Exp #	Cross ^{a)}	No. of eggs used	Survival rate (%) at			
			Gastrula ^{b)}	Hatch ^{c)}	7-day-fry ^{d)}	14-day-fry ^{e)}
2010	S _{2n} ×S _{2n}	333	98.5	91.6	86.2	75.2
	S _{2n} ×S _{2n} ・PS	539	71.8	59.0	47.5	31.5
	S _{2n} ×C	635	99.8	70.2	60.5	0
	S _{2n} ×C・PS	774	16.9	7.0	0.6	0
2011	S _{4n} ×S _{4n}	438	96.8	95.4	91.3	86.5
	S _{4n} ×S _{4n} ・PS	673	94.9	92.1	88.6	77.3
	S _{4n} ×C	345	24.3	13.9	9.9	0
	S _{4n} ×C・PS	530	11.7	1.5	0.2	0
1019	L _{2n} ×L _{2n}	50	90.0	74.0	72.0	70.0
	L _{2n} ×C	50	82.0	20.0	12.0	2.0
	L _{2n} ×C・CS	50	38.0	18.0	14.0	6.0
3020	L _{2n} ×L _{2n}	358	76.8	76.5	71.5	64.2
	L _{4n} ×L _{4n} ・PS	219	81.3	78.5	52.1	28.3
	L _{2n} ×C	352	59.1	39.5	17.9	0
	L _{2n} ×C・PS	545	69.6	46.2	18.2	6.8
3047	L _{4n} ×L _{4n}	293	72.7	67.6	63.1	58.7
	L _{4n} ×L _{4n} ・PS	328	54.3	51.8	36.0	26.2
	L _{4n} ×C	372	62.3	24.5	16.1	0.3
	L _{4n} ×C・PS	408	50.7	10.8	6.1	0
	L _{4n} ×C・UV	470	50.2	—	26.1	—

a) See text.

b) 12 h after fertilization.

c) 3 days after fertilization.

d) 7 days after fertilization.

e) 14 days after fertilization.

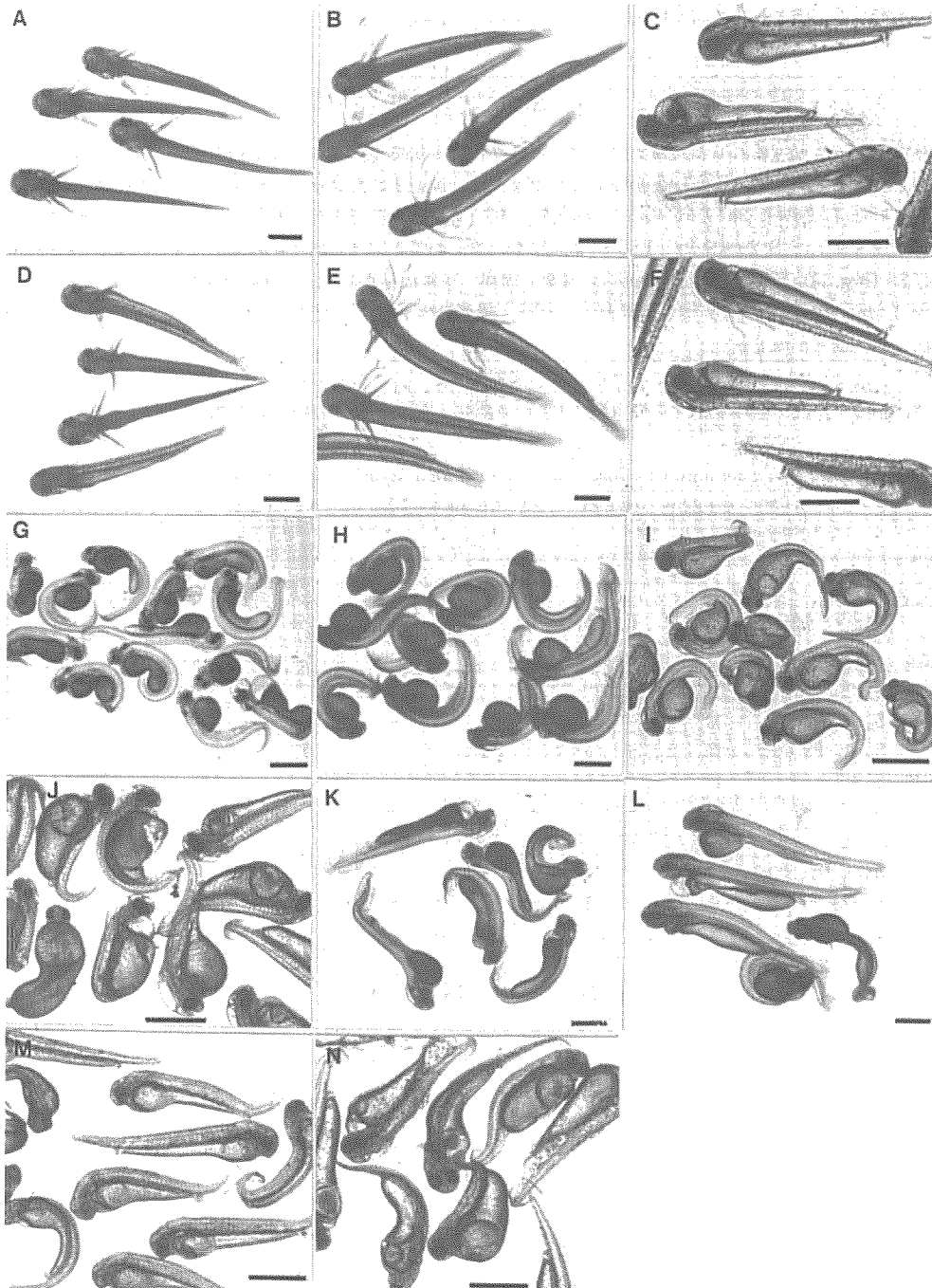


Fig. 1 External appearance of fry resulted from S_{2n} (diploid spinous loach) female \times S_{2n} male (A), S_{4n} (tetraploid spinous loach) \times S_{4n} (B), L_{4n} (tetraploid loach) \times L_{4n} (C), $S_{2n} \times S_{2n} \cdot PS$ (pressure-treated) (D), $S_{4n} \times S_{4n} \cdot PS$ (E), $L_{4n} \times L_{4n} \cdot PS$ (F), $S_{2n} \times C$ (carp) (G), $S_{4n} \times C$ (H), L_{2n} (diploid loach) \times C (I), $L_{4n} \times C$ (J), $S_{2n} \times C \cdot PS$ (K), $S_{4n} \times C \cdot PS$ (L), $L_{2n} \times C \cdot PS$ (M), $L_{4n} \times C \cdot PS$ (N). Each scale indicates 1 mm.

染色体標本の作製と観察 胚期の染色体標本作製は前報（木島ら，1996）と同様，既報（ARAI *et al.*, 1991B; 1993; KUSUNOKI *et al.*, 1994）に従った。交雑に使用したコイ雄は供試できなかったので，交配に用いた個体と同胞と思われる2個体より前報（木島ら，1996）と同様に，鱗細胞を培養して，染色体標本作製した。

結 果

生存性 本研究で検討した交雑と対照およびこれらの倍化処理より生じる子孫の生残率を Table 1. に示した。S 2n×S 2n (Fig. 1A.), S 4n×S 4n (Fig. 1B.) はいずれも良好な生残を示し，摂餌を開始し，正常に発育した。L 2n×L 2n と L 4n×L 4n (Fig. 1C.) も同様の経過をたどり，正常仔魚が比較的多く生じた。圧力処理を加えた S 2n×S 2n・PS, S 4n×S 4n・PS の孵化率は対照に比較して低下したが，外見上正常な仔魚 (Fig. 1D., E.) が生じ，これらは対照と同様，正常に発育した。同様の結果は L 2n×L 2n・PS, L 4n×L 4n・PS (Fig. 1F.) でも得られた。また，雌性発生を誘起した L 4n×C・UV からは倍数化処理なしに生存性個体が生じた。

科間交雑 S 2n×C では70%以上の率で仔魚が孵化したが，これらの仔魚はすべて，体躯の矮小，体軸の湾曲，小頭，小眼，浮腫を示す奇形 (Fig. 1G.) であり，全滅した。交雑致死は S 4n×Cでも見られ，摂餌

Table 2. Chromosome numbers observed in interfamilial hybrids (spinous loach × carp and loach × carp) and progeny resulted from pressure (PS) or cold shock (CS) treatments after hybridization.

Exp #	Cross ^{a)}		No. of embryos examined	No. of embryos with modal chromosome number of													
	Female	Male		48	50	72	74	75	76	96	98	100	124	144	146	150	a ^{b)}
2010	S _{2n} ×S _{2n}		7	7	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	S _{2n} ×S _{2n} ・PS		11	1	—	10	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	S _{2n} ×C		13	—	—	—	13	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	S _{2n} ×C・PS		14	—	—	—	1	—	—	—	13 ^{c)}	—	—	—	—	—	—
2011	S _{4n} ×S _{4n}		10	—	—	—	—	—	—	10	—	—	—	—	—	—	—
	S _{4n} ×S _{4n} ・PS		12	—	—	—	—	—	—	3	—	—	—	9 ^{e)}	—	—	—
	S _{4n} ×C		13	—	—	—	—	—	—	—	12 ^{c)}	—	1	—	—	—	—
	S _{4n} ×C・PS		14	—	—	—	—	—	—	—	3	—	—	—	11 ^{c)}	—	—
1019	L _{2n} ×L _{2n}		10	—	10	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	L _{2n} ×C		14	—	—	—	—	14	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	L _{2n} ×C・CS		8	—	—	—	—	—	—	—	—	8	—	—	—	—	—
3020	L _{2n} ×L _{2n}		10	—	10	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	L _{2n} ×L _{2n} ・PS		10	—	2	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	8 ^{d)}
	L _{2n} ×C		14	—	—	—	—	14	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	L _{2n} ×C・PS		8	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	8 ^{e)}
3047	L _{4n} ×L _{4n}		9	—	1	—	—	—	—	—	—	8	—	—	—	—	—
	L _{4n} ×L _{4n} ・PS		9	—	2	—	—	—	—	—	—	3	—	—	—	—	4 ^{c)}
	L _{4n} ×C		11	—	—	—	—	—	—	—	—	8 ^{c)}	—	—	—	—	3 ^{c)}
	L _{4n} ×C・PS		12	—	—	—	—	—	1	—	—	2	—	—	—	—	9 ^{c)}

a) See text.

b) Aneuploidy with chromosome fragments.

c) Near about number.

d) No mode was observed and chromosome numbers were distributed between 46 and 75. Several fragments were detected.

e) No mode was observed and chromosome numbers were distributed between 46 and 79. Several fragments were detected.

を開始し生存した仔魚はなかったが、 $S_{4n} \times C$ の奇形の程度は $S_{2n} \times C$ に比べて軽く、体軸が伸長した仔魚が多かった (Fig. 1H.)。同様の結果は $S_{2n} \times C$ でも見られ、これらの区では20-40%の仔魚が孵化したが、仔魚は奇形 (Fig. 1I.) を示し受精後16日目には全滅した。 $L_{4n} \times C$ においても生残する仔魚は見られず、そのすべてが奇形を示したが、 $L_{2n} \times C$ に比較して、体軀は大きかった (Fig. 1J.)。

科間交雑の後、圧力あるいは低温処理を加えた $S_{2n} \times C \cdot PS$, $S_{4n} \times C \cdot PS$, $L_{2n} \times C \cdot PS$, $L_{2n} \times C \cdot CS$, $L_{4n} \times C \cdot PS$ において孵化率は低下し、各々7, 2, 18, 40, 11%と低かった。孵化仔魚の生残率は著しく低かったが、通常交雑に比較して、体軸が伸長し、奇形の程度が緩和された例が見られた (Fig. 1K-N.)。しかし、生残した正常個体は無かった。 $L_{2n} \times C \cdot CS$ および $L_{2n} \times C \cdot PS$ において例外的にごく少数の正常仔魚が生じ、摂餌を開始した。しかし、これらをさらに2ヶ月飼育すると、すべてドジョウとなった。

染色体 各交配、対照ならびに処理区における染色体観察結果を Table 2. に、これらの区の子孫および雄親魚コイにおける典型的な核型を Table 3. に示す。

$S_{2n} \times S_{2n}$ の染色体数、核型は既報の結果 (KUSUNOKI *et al.*, 1994) に一致した。 $S_{4n} \times S_{4n}$ では96の染色体数が見られ、その核型は既報の結果 (KUSUNOKI *et al.*, 1994) と一致した。 $L_{2n} \times L_{2n}$ は $2n=50$,

Table 3 Typical chromosome number and karyotype observed in interfamilial hybrids (spinous loach \times carp and loach \times carp), progeny resulted from pressure (PS) or cold shock (CS) treatments after hybridization and their parental crosses.

Cross ^{a)}	Chromosome number	Chromosome elements ^{b)}					
		m	sm	sm-st	st-a	a	mic
Female \times Male							
$S_{2n} \times S_{2n}$	48	16	—	22	—	10	—
$S_{4n} \times S_{4n}$	96	32	—	44	—	20	—
$L_{2n} \times L_{2n}$	50	10	4	—	36	—	—
$L_{4n} \times L_{4n}$	100	20	8	—	72	—	—
$S_{2n} \times S_{2n} \cdot PS$	72	24	—	33	—	15	—
$S_{4n} \times S_{4n} \cdot PS$	144 ^{c)}			ND ^{d)}			
$L_{2n} \times L_{2n} \cdot PS$	aneuploidy ^{e)}			ND			
$L_{4n} \times L_{4n} \cdot PS$	150 ^{e)}			ND			
$S_{2n} \times C$	74+1 mic	14	—	44	—	16	1
$S_{4n} \times C$	98 ^{e)}			ND			
$L_{2n} \times C$	75	11	20	—	44	—	—
$L_{4n} \times C$	101	16	23	—	62	—	—
$S_{2n} \times C \cdot PS$	98 ^{c)}			ND			
$S_{4n} \times C \cdot PS$	146 ^{c)}			ND			
$L_{2n} \times C \cdot CS$	100	16	22	—	62	—	—
$L_{4n} \times C \cdot PS$	150 ^{c)}			ND			
Carp ^{f)}	99+1 mic	12	35	—	52	—	1
Carp ^{g)}	100	12	—	36	—	52	—

a) See text.

b) m, metacentric; sm, submetacentric; st, subtelocentric; a, acrocentric; mic, micro chromosome.

c) Exact number was not determined.

d) No karyotype was determined.

e) See Table 2.

f) Present study.

g) OJIMA and HITOTSUMACHI (1967).



Fig. 2 Metaphase spreads of embryos in $S_{2n} \times S_{2n} \cdot PS$ (A), $S_{4n} \times S_{4n} \cdot PS$ (B) and $L_{4n} \times L_{4n} \cdot PS$ (C). Scale indicates 5 μm .

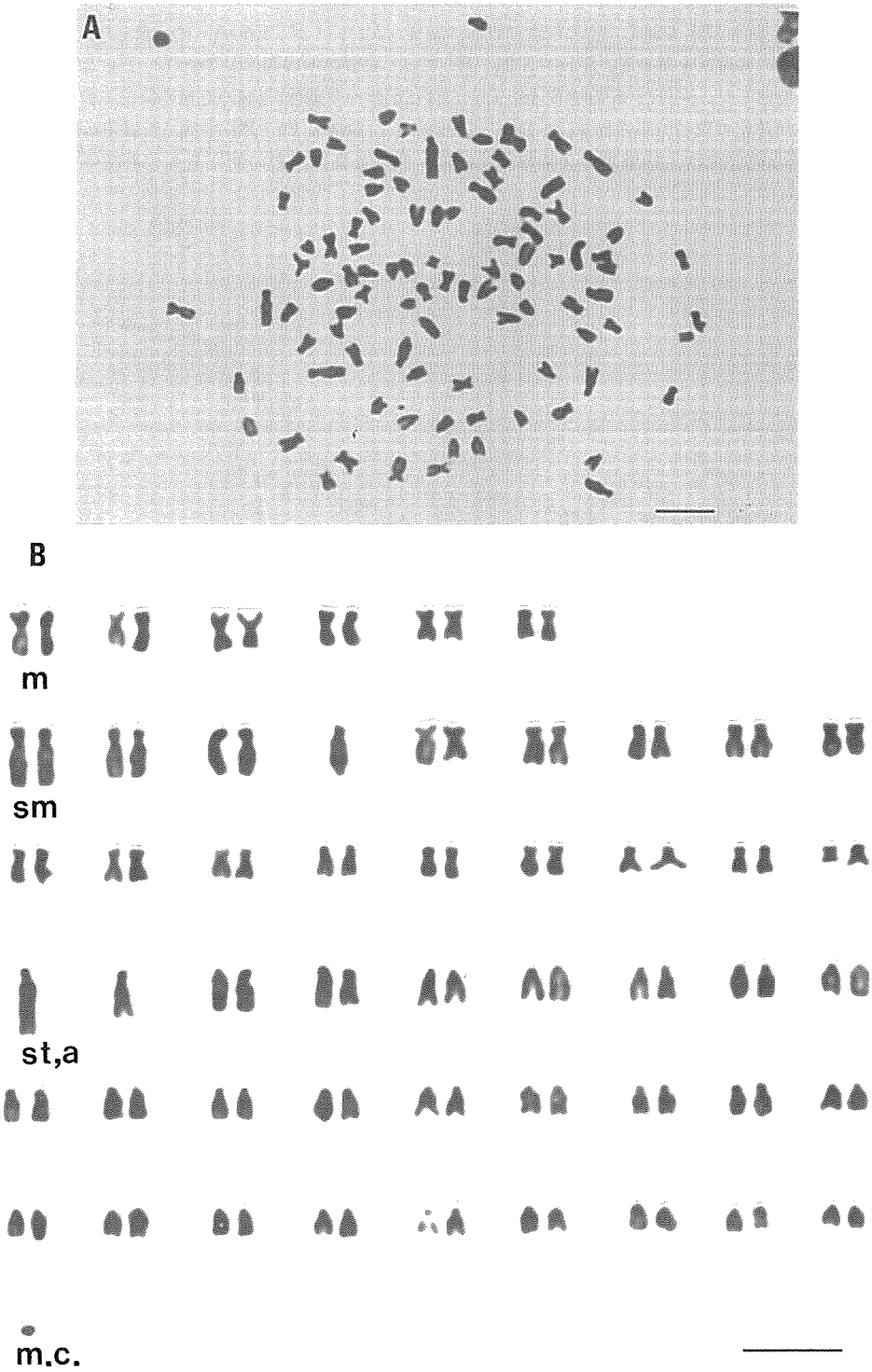


Fig. 3 Metaphase spread (A) and karyotype (B) of an adult carp (colored-carp). Scale indicates $5 \mu\text{m}$. m, metacentric; sm, submetacentric; st, subtelocentric; a, acrocentric; m.c., micro chromosome.

L 4n×L 4n は $4n=100$ を示し、その核型は既報の結果 (ARAI *et al.*, 1991A) に一致した。

以上の組合せの処理区を見ると、S 2n×S 2n・PS では、11個体中10個体が $3n=72$ (Fig. 2A.) を示し、核型も三倍性を示した。同様に S 4n×S 4n・PS では12個体中9個体が144の近傍の染色体数を示し (Fig. 2B.), 同質六倍体化の成功が示された。木島ら (1996) の L 2n×L 2n・PS では、三倍体が高率で出現したが、本研究の同群では、10個体中2個体が二倍体、残り8胚は複数の断片をもつ異数体であった。L

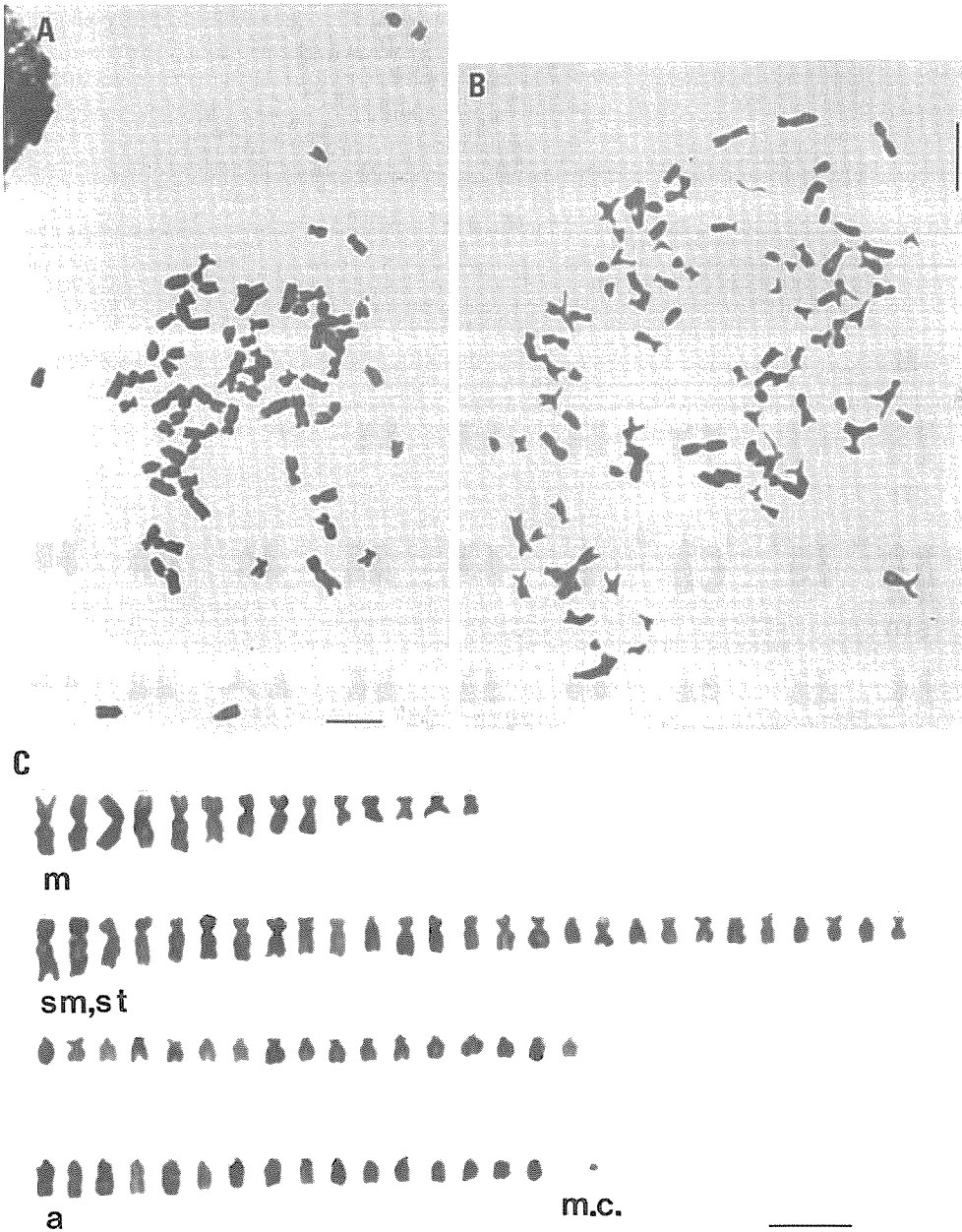


Fig. 4 Metaphase spreads of embryos resulted from $S_{2n} \times C$ (A) and $S_{4n} \times C$ (B) and karyotype (C) based on A. Scale indicates $5 \mu\text{m}$. m, metacentric; sm, submetacentric; st, subtelocentric; a, acrocentric; m.c., micro chromosome.

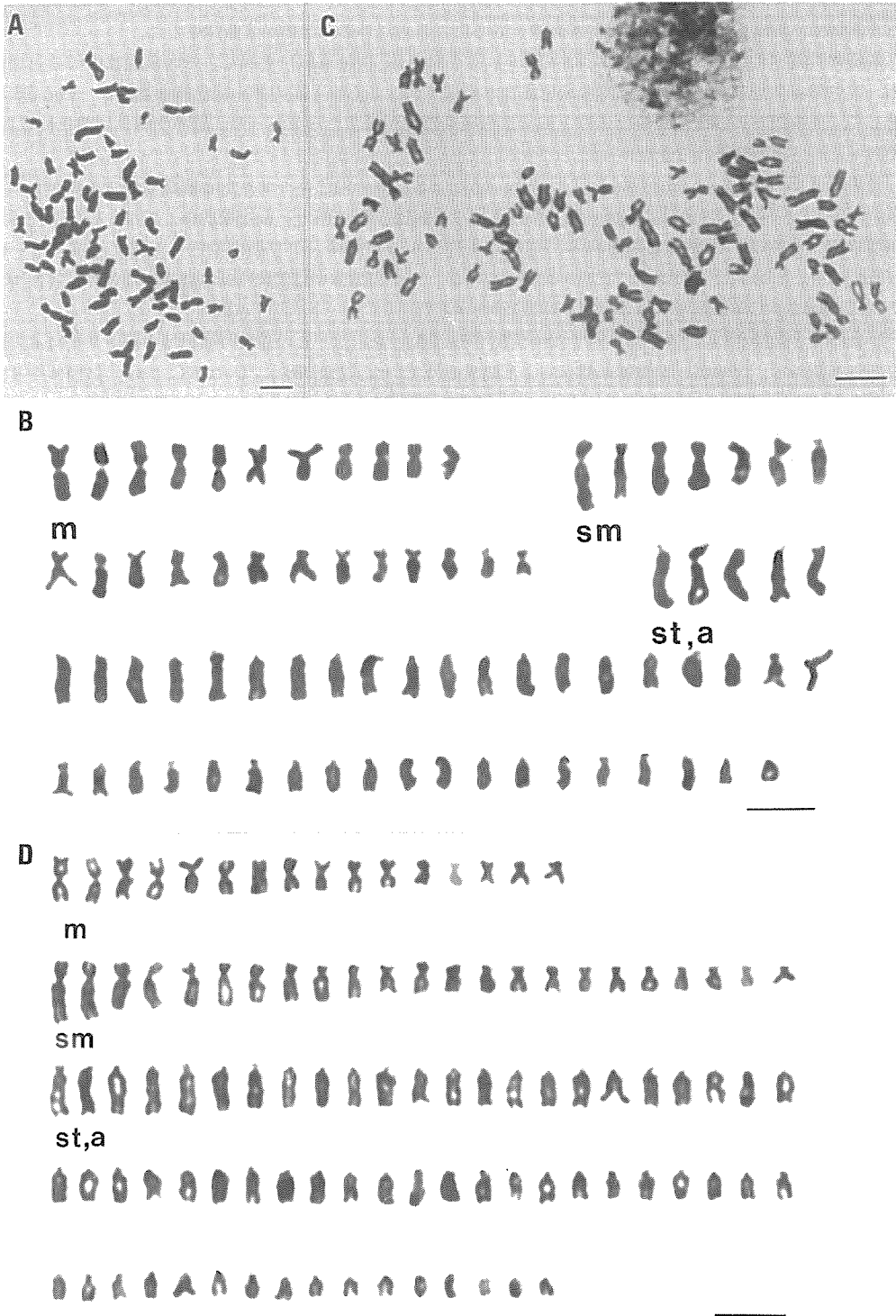


Fig. 5 Metaphase spreads of embryos resulted from $S_{2n} \times C$ (A) and $L_{4n} \times C$ (C) and karyotypes (B, D) based on A and C. Scale indicates $5 \mu\text{m}$. m, metacentric; sm, submetacentric; st, subtelocentric; a, acrocentric chromosome.

$4n \times L \ 4n \cdot PS$ では9個体中4個体が、同質六倍体に相当する約150の染色体数を示したが (Fig. 2C.), 残り3個体は、倍数化されず $4n=100$ であり、さらにこれら以外に二倍体が2個体生じた。

本研究で調べたコイの中1個体は $2n=99+1$ 微小染色体 (Fig. 3A.) を示し、その核型は中部着糸型12本, 次中部着糸型35本, 次端部52本の染色体より構成され、さらに1本の微小染色体を含んだ (Fig. 3B.). そして、次中部および次端部染色体の1部では相同染色体が見あたらなかった。別の1個体は染色体数100であったが、核型分析はできなかった。

科間交雑 $S \ 2n \times C$ は $2n=74$ を示し (Fig. 4A.), $S \ 2n$ の染色体1セットと観察したコイの1セット ($n=49-50$ と推定) の合計にほぼ一致した。良好な分裂像 ($2n=74+1$ 微小染色体) では、核型は中部着糸型14本, 次中部-次端部着糸型44本, 端部着糸型16本の染色体および微小染色体1本より成っていた (Fig. 4C.). $S \ 4n \times C$ では標本の状態が良好ではなかったが13個体中12個体で98本前後の染色体が計数できた (Fig. 4B.). しかし残り1個体は染色体数124を示した。

$L \ 2n \times C$ では観察した個体がすべて $2n=75$ (Fig. 5A.) を示し、この雑種の核型は中部着糸型11本, 次中部着糸型20本, 次端部-端部着糸型44本より構成されていた (Fig. 5B.). $L \ 4n \times C$ では、11個体中8個体が染色体数100前後 (100-101) を示した (Fig. 5C.). 染色体数101の個体について核型分析をしたところ、中部着糸型16本, 次中部着糸型23本, 次端部-端部着糸型62本の染色体より構成されていた (Fig. 5D.).

圧力処理区 $S \ 2n \times C \cdot PS$ では、標本は不良であったが、14個体中13個体が染色体数98前後を示し (Fig. 6A.), 異質三倍体と判定された。 $S \ 4n \times C \cdot PS$ においても染色体数146の胚が生じ (Fig. 6B.), 異質五倍体は成功していたと推定できた。しかし、少数の染色体数96の非倍化個体も生じた。

$L \ 2n \times C \cdot PS$ では観察した8個体すべてが染色体数100を示し (Fig. 7A.), その核型は中部着糸型16本,

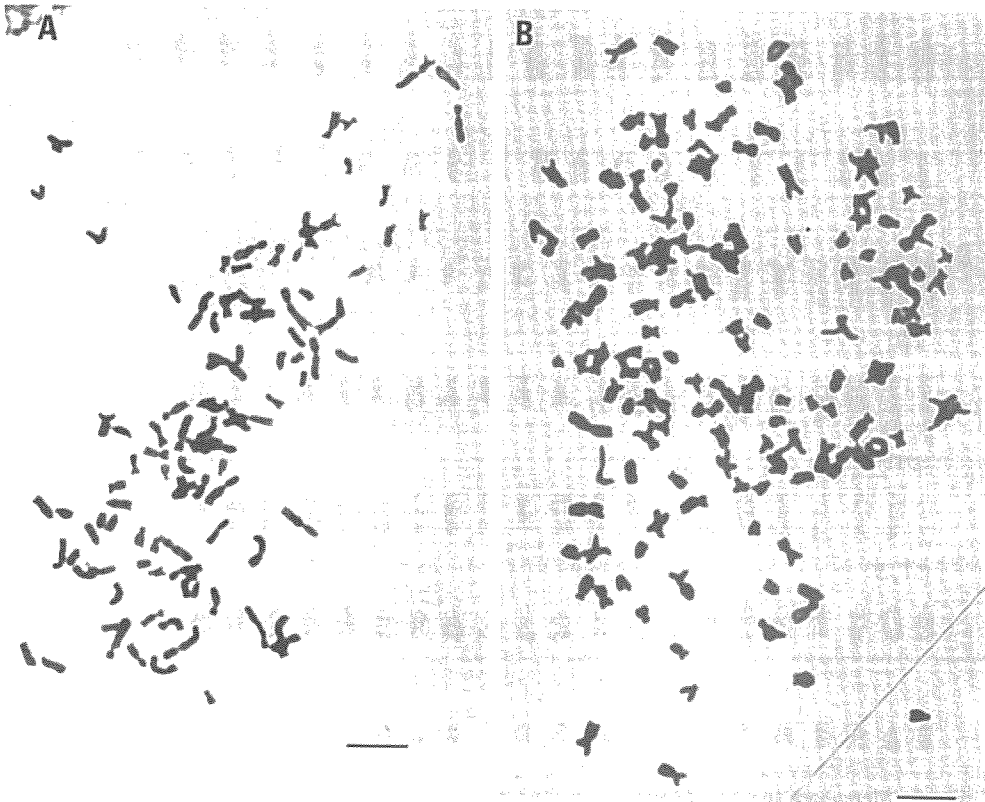


Fig. 6 Metaphase spreads of embryos resulted from $S_{2n} \times C \cdot PS$ (A) and $S_{4n} \times C \cdot PS$ (B). Scale indicates $5 \mu m$.

次中部着糸型22本，次端部一端部着糸型62本より構成されていた (Fig. 7B.)。しかし， $L_{2n} \times C \cdot PS$ は異数性が生じた。 $L_{4n} \times C \cdot PS$ では，染色体数が多く，正確な数を決定するのは困難であったが，12個体中9個体が，染色体数約150を示し (Fig. 7C.)，異質五倍体と推定された。しかし，残り2個体は染色体数100前後を示し，さらに残り1個体は染色体数76の異数体であった。

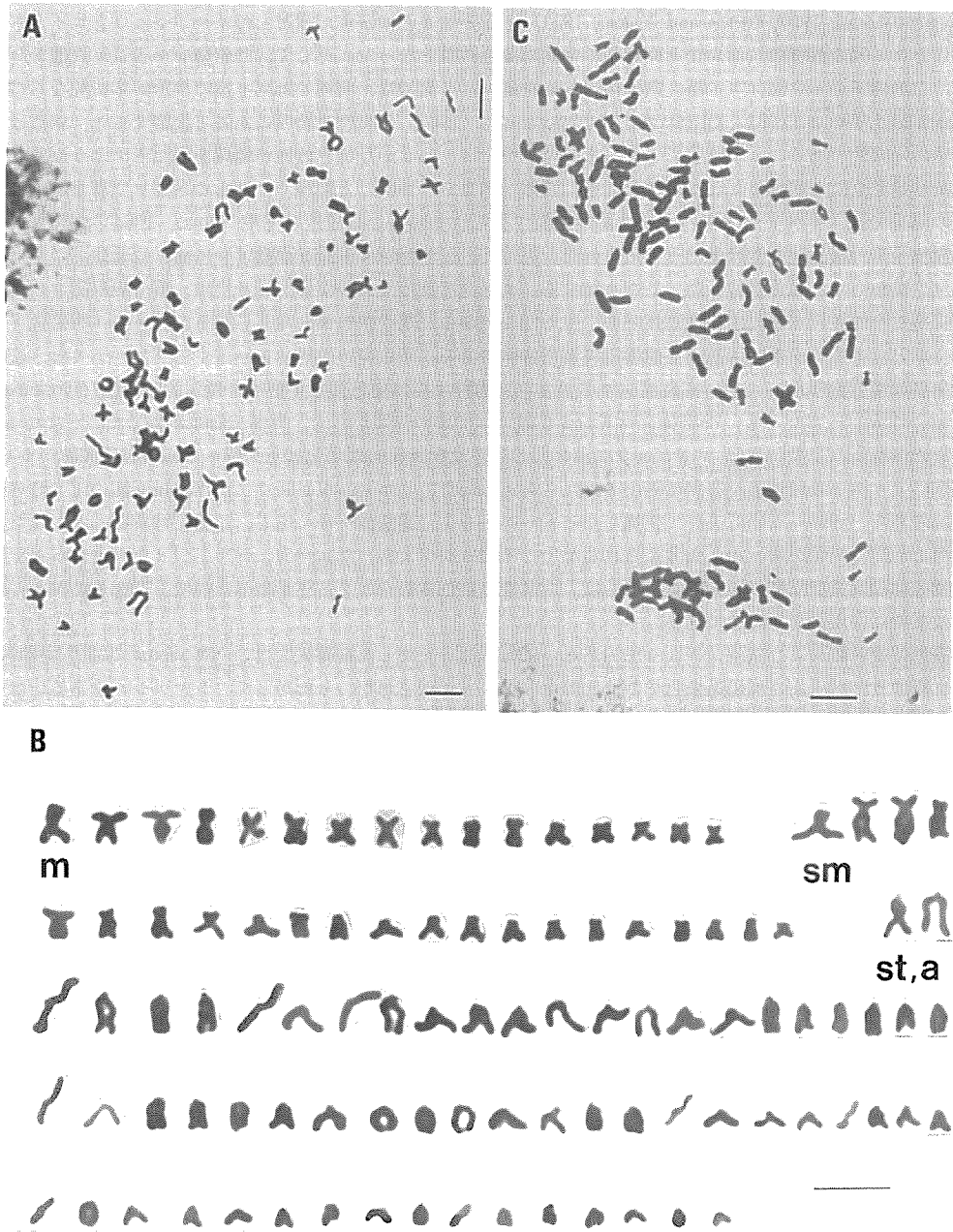


Fig. 7 Metaphase spreads of embryos resulted from $L_{2n} \times C \cdot PS$ (A) and $L_{4n} \times C \cdot PS$ (C) and karyotype (B) based on A. Scale indicates $5 \mu\text{m}$. m, metacentric; sm, submetacentric; st, subtelo-centric; a, acrocentric chromosome.

考 察

本研究では交雑に使用したコイ（ニシキゴイ）雄の核型は調査できなかったが、飼育中の同じ群のコイは、OJIMA and TAKAI (1981)の報告のように微小染色体および不對の染色体を含み、かつ染色体数も一致せず、ニシキゴイの核型は変異に富むことが示された。しかし、コイの染色体数を $2n=100$ 前後 (OJIMA and HITOTSUMACHI, 1967, OJIMA and TAKAI, 1981) と仮定すると本研究で検討したシマドジョウとコイ、ドジョウとコイ間の雑種は、おおそ両親種の中間の染色体数となった。そして、二倍体シマドジョウ雌×コイ雄、二倍体ドジョウ雌×コイ雄、四倍体ドジョウ雌×コイ雄では、使用したコイ雄の核型が本研究ならびに OJIMA and TAKAI (1981), OJIMA and HITOTSUMACHI (1967) の報告の範囲にあると仮定すると、核型は両親種の中間的であることが確認できた。本研究結果では、わずかな染色体数の増減をもたらすような異数性の関与を完全に否定することはできないが、前報 (木島ら, 1996) と同様、これらのドジョウ科とコイ科の間の雑種では、サケ・マス類の致死性属間雑種で見られる顕著な異数性の発現 (ARAI, 1984) はおきず、両親種由来の染色体を受け継ぐと考えられた。従って、二倍体シマドジョウ雌×コイ雄、二倍体ドジョウ雌×コイ雄からは二倍体雑種が生じることになる。本研究で使用した四倍体ドジョウは、紫外線照射コイ精子で受精した雌性発生群に生存性個体が多く生じたことから、真の四倍性と考えられる。従って、四倍体ドジョウ雌とコイ雄の交雑に由来する個体は異質三倍体である。岡山産の四倍体シマドジョウについては、雌性発生誘起を行わなかったが、広島産シマドジョウと同様に相同染色体を4組もつ遺伝的四倍性 (KUSUNOKI *et al.*, 1994) と考えると、四倍体シマドジョウ雌×コイ雄の交雑からも、異質三倍体が生じたことになる。

染色体観察の結果から、シマドジョウ二倍体間の同系交配後圧力処理を加えた群からは三倍性個体が生じ、処理により第2極体放出が有効に阻止されたと考えられた。しかし、ドジョウ二倍体同系交配の圧力処理区では木島ら (1996) と同じ条件で実施したにもかかわらず、異数体が多く生じ、三倍化は成功しなかった。使用した卵に問題があったとも考えられるがその原因は不明であった。一方、シマドジョウおよびドジョウの四倍体間同系交配群の圧力処理区からは、六倍性の染色体数を有する胚が生じたので、これらにおいて処理は有効に作用したと結論できる。

染色体数計数および核型分析より圧力あるいは低温処理を施した交雑区では、一例 (Exp# 3020) を除き、第二極体放出が阻止され母系染色体の倍化が生じたことが示された。したがって、シマドジョウあるいはドジョウ二倍体雌×コイ雄の処理群からは、異質三倍体が、シマドジョウあるいはドジョウ四倍体雌×コイ雄の処理群からは異質五倍体が生じたことになる。これら以外、一部の交雑組合せよりドジョウが生じたが、これらは前報 (木島ら, 1996) で論議したように、異種精子により生じた自然雌性発生と思われる。また、少数の異数性も前報 (木島ら, 1996) と同様、卵の老化等の要因により生じたものと考えられる。本研究では、ドジョウコイ科間雑種で異質三倍体を交雑および染色体操作の2つの方法で作成したが、これらの仔魚は雑種二倍体の仔魚と比較して、体軸が伸び、体が若干大きくなり、外見上奇形の程度が軽減されたように見られたが、前報 (木島ら, 1996) のドジョウ雌×タモロコ雄の場合と同様、生存個体はまったく見られなかった。さらに母系染色体4セット、父系染色体1セットを有する異質五倍体を作出したところ、これらの仔魚は異質三倍体と同様、雑種二倍体に比較して奇形の程度はさらに緩和されたよう見えたが、やはり生存性の回復にはいたらないことが判明した。従って、サケ・マス類の属間交雑の致死性を回復させた異質倍体化 (ARAI, 1986) はコイドジョウ科間交雑では、少なくとも異質五倍体までは有効でない結論される。

謝 辞

本研究の実験において御協力いただいた広島大学生物生産学部水産増殖学研究室の各位に感謝する。本研究の一部は水産庁の「新品種作出基礎技術開発事業」受託研究費により行った。ここに厚くお礼申し上げる。

引用文献

- ARAI, K., 1984. Developmental genetic studies on salmonids: Morphogenesis, isozyme phenotypes and chromosomes in hybrid embryos. *Mem. Fac. Fish. Hokkaido Univ.*, 31: 1-94.

- ARAI, K., 1986. Effect of allotriploidization on development of the hybrids between female chum salmon and male brook trout. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 52: 823-829.
- ARAI, K., 1988. Viability of allotriploids in salmonids. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 54: 1695-1701.
- ARAI, K., MATSUBARA, K. and SUZUKI, R., 1991A. Karyotype and erythrocyte size of spontaneous tetraploidy and triploidy in the loach *Misgurnus anguillicaudatus*. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 57: 2167-2172.
- ARAI, K., MATSUBARA, K. and SUZUKI, R., 1991B. Chromosomes and developmental potential of progeny of spontaneous tetraploid loach *Misgurnus anguillicaudatus*. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 57: 2173-2178.
- ARAI, K., MATSUBARA, K. and SUZUKI, R., 1993. Production of polyploids and viable gynogens using spontaneously occurring tetraploid loach, *Misgurnus anguillicaudatus*. *Aquaculture*, 117: 227-235.
- 荒井克俊・沖田菜穂子・木島圭助・鈴木亮, 1995. 圧力処理によるシマドジョウ倍数体の誘起. *水産育種*, 22: 45-50.
- CHEVASSUS, B., GUYOMARD, R., CHOURROUT, D. and QUILLET, E., 1983. Production of viable hybrid in salmonid by triploidization. *Genet. Sel. Evol.*, 15: 519-539.
- GRAY, A. K., EVANS, M. A. and THORGAARD, G. H., 1993. Viability and development of diploid and triploid salmonid hybrids. *Aquaculture*, 112: 5-142.
- 木島圭助・荒井克俊・鈴木亮, 1996. 致死性科間雑種ドジョウ雌×キンギョ雄およびドジョウ雌×タモロコ雄における異質三倍体の誘起. *広大生物生産学部紀要*, 35(1): 1-12.
- KUSUNOKI, T., ARAI, K. and SUZUKI, R., 1994. Production of viable gynogens without chromosome duplication in the spinous loach *Cobitis biwae*. *Aquaculture*, 119: 11-23.
- OJIMA, Y. and HITOTSUMACHI, S., 1967. Cytogenetic studies in lower vertebrates IV. A note on the chromosomes of the carp (*Cyprinus carpio*) in comparison with those of the funa and the goldfish (*Carassius auratus*). *Jpn. J. Genet.*, 42: 163-167.
- OJIMA, Y. and TAKAI, A., 1981. A karyotype study of colored-carp (*Cyprinus carpio*). A preliminary report. *Proc. Japan Acad.*, 57, Ser. B: 7-12.
- SCHEERER and THORGAARD, G. H., 1983. Increased survival in salmonid hybrids by induced triploidy. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 40: 2040-2044.
- SEEB, J. E., THORGAARD, G. H. and UTTER, F. M., 1988. Survival and allozyme expression in diploid and triploid hybrids between chum, chinook and coho salmon. *Aquaculture*, 72: 31-48.
- SUWA, M., ARAI, K. and SUZUKI, R., 1994. Suppression of the first cleavage and cytogenetic studies on the gynogenetic loach. *Fisheries Sci.*, 60: 673-681.
- SUZUKI, R., 1968. Hybridization experiments in cyprinid fishes XI. Survival rate of F₁ hybrids with special reference to the closeness of taxonomical position of combined fishes. *Bull. Freshwater Fish. Res. Lab.*, 18: 113-188.
- SUZUKI, R., NAKANISHI, T. and OSHIRO, T., 1985. Survival, growth and sterility of induced triploids in the cyprinid loach *Misgurnus anguillicaudatus*. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 51: 889-894.
- 上野絃一・岩井修一・小島吉雄, 1986. シマドジョウ属にみられた染色体多型と倍数性, ならびにそれらの染色体型の地理的分布. *日水誌*, 46: 9-18.
- YAMANO, K., YAMAHA, E. and YAMAZAKI, F., 1988. Increased viability of allotriploid pink salmon×Japanese char hybrids. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 54: 1477-1481.

Induction of Allotriploids and Allopentaploids in Interfamilial Hybrids, Female Spinous Loach×Male Carp and Female Loach×Male Carp

Keisuke KIJIMA, Katsutoshi ARAI, and Ryo SUZUKI

*Faculty of Applied Biological Science, Hiroshima University
Higashi-Hiroshima 739, Japan*

Interfamilial hybridizations between female diploid spinous loach (*Cobitis biwae*, $2n=48$) and male carp (nishikigoi, colored-carp, *Cyprinus carpio*) and those between diploid loach (*Misgurnus anguillicaudatus*, $2n=50$) and male carp gave rise to inviable larval development with the expression of external abnormalities. In the colored-carp, chromosome number was about 100 and karyotype included micro chromosome and unpaired chromosome. Chromosomal observation on the interfamilial hybrids showed that they had intermediate karyotypes comprising both maternally and paternally derived chromosomes. Cold or hydrostatic pressure treatments to inhibit the second polar body release after above-mentioned hybridizations induced "allotriploidy" with two sets of maternal chromosomes and one set of paternal chromosome. Hybridizations between female tetraploid spinous loach ($4n=96$) and male carp and those between female tetraploid loach ($4n=100$) and male carp also produced "allotriploidy". Artificial inhibition of the second polar body release after these hybridizations with pressure shock produced "allopentaploidy" with four sets of spinous loach or loach chromosomes and one set of carp chromosome. External appearances of deformed larvae seemed to be improved by allopolyploidization, but no survivors were obtained.

Key words: allopentaploid, allotriploid, carp, hybrid, loach, spinous loach