

日本産シマドジョウ類の核型と ヘモグロビンの電気泳動像

高橋 順一・岡 正雄

Karyotypes and Electrophoretic Patterns of Hemoglobins in Loaches of the Genus *Cobitis*

Jun-ichi Takahasi and Masao Oka

(Received May 18, 1976)

Karyotype and cellulose-acetate electrophoresis of hemoglobins were analyzed for loaches of the genus *Cobitis* (Cobitidae).

C. biwae has a diploid number of 48 consisted of 1 pairs of meta-submetacentrics and 3 pairs of eolocentrics; *C. taenia striata* has 50 chromosomes consisted of 8 pairs of meta-submetacentrics and 17 pairs of telocentrics; *C. taenia taenia* has 86 chromosomes consisted of 32 pairs of meta-submetacentrics and 11 pairs of telocentrics; *C. delicata* has 50 chromosomes consisted of 9 pairs of meta-submetacentrics and 16 pairs of subtelo-telocentrics.

In the electrophoretic pattern, hemoglobins of *Cobitis* in Japan have three components. In the pattern, *C. biwae* is similar to *C. taenia striata*.

(Faculty of Fisheries, Nagasaki University, Bunkyo-machi, Nagasaki, 852, Japan)

日本産のシマドジョウ属魚類は中村 (1963) によればシマドジョウ *Cobitis biwae* Jordan and Snyder, アジメドジョウ *C. delicata* Niwa, タイリクシマドジョウ *C. taenia taenia* Linnaeus, スジシマドジョウ *C. taenia striata* Ikeda の3種2亜種に分類されている。Mizuno (1970) はインドジョウ *C. takatsuensis* Mizuno を記載した。

池田 (1936) は雄の胸鰭基底にある骨質盤の形態が類似することからスジシマドジョウを欧亜大陸に広く分布する *C. taenia* Linnaeus の亜種として原記載を行った。しかしスジシマドジョウの体側の斑紋が縦帯型であるのに対し、タイリクシマドジョウでは点列型であるなど両者の斑紋には著しい相違がみられる。また皆森 (1951) は両者間の人工交雑雑種 F_1 が完全に近い不妊となることを報告している。これらの点を考え合せるとスジシマドジョウとタイリクシマドジョウを近縁とすることに疑問がもたれる。

そこでこの問題点を細胞遺伝学および生化学的な立場から究明するためにインドジョウを除くシマドジョウ

属魚類について核型分析およびヘモグロビンのセルロースアセテート電気泳動像の比較を行った。その結果シマドジョウ類の系統的類縁について若干の知見を得たので報告する。

材料と方法

材料に用いたシマドジョウは滋賀県知内川、スジシマドジョウは大阪府淀川、タイリクシマドジョウは佐賀県多布施川そしてアジメドジョウは滋賀県野洲川で採集した。これらを長崎大学水産学部内の小型実験水槽中で飼育し、適宜実験に供した。

核型分析 材料魚の腹腔内に0.1% コルヒチン液を注入し3~4時間放置した後、この魚の鰓と精巣を摘出し鉄で細切して単離細胞を得た。この単離細胞を0.9% クエン酸ナトリウム低調液で18~20分間処理した後、カルノア液で固定し、通常空気乾燥法によって染色体観察用標本を作製した。染色体数の算定には分裂中期核板の顕微鏡写真を用い、染色体の形態的分類は最も良好な数例の核板を比較検討して行った。染色体の形態的区分はLevanら(1964)に従った。

ヘモグロビンの電気泳動 材料魚の尾柄部を切断し、自然流出する血液を約10mlの生理食塩水中へ採取し、軽く振盪混和して血球成分を洗浄した後、1000 r.p.m. で5分間遠心して赤血球を集めた。赤血球1容に対して約2容の蒸留水と1容のトルエンを加え激しく振盪して赤血球を破壊した後、3000 r.p.m. で15分間遠心し、分離されたヘモグロビン溶液層を吸引採取してこれを泳動用試料とした。

セルロースアセテート膜としてはセパラックス(富士写真フィルムKK)を使用し、緩衝液にはバルビタール緩衝液(pH 8.6, $\mu=0.05$)を用いた。泳動は試料調製後ただちに行い(Yamanakaら, 1965), 膜幅1cmあたり0.5mAで40分間通電した。蛋白分画の染色にはボンソー3Rを用い、各分画がヘモグロビン分画であるか否かはベンチジン反応によって確めた。またヘモグロビン分画の相対量を分画別抽出法により求めた。

結 果

核型分析

染色体数の観察結果をTable 1に、また核型分析の結果をFig. 1に示した。図では相同と思われる染色体を1対とし、中部着糸型と次中部着糸型、また次端部着糸型と端部着糸型をそれぞれ合せて配列した。

シマドジョウ (Fig. 1, A): 全長63~96mmの雌3個

Table 1. Frequency distributions of diploid chromosome counts in the Japanese striped loaches.

Species	2n											Total		
	45	46	47	48	49	50	51	—	83	84	85		86	87
<i>Cobitis biwae</i>	2	4	6	29	4	4								49
<i>C. taenia striata</i>	1			2	7	22	3							35
<i>C. taenia taenia</i>									2	3	3	20	1	29
<i>C. delicata</i>	2		3	4	7	29								45

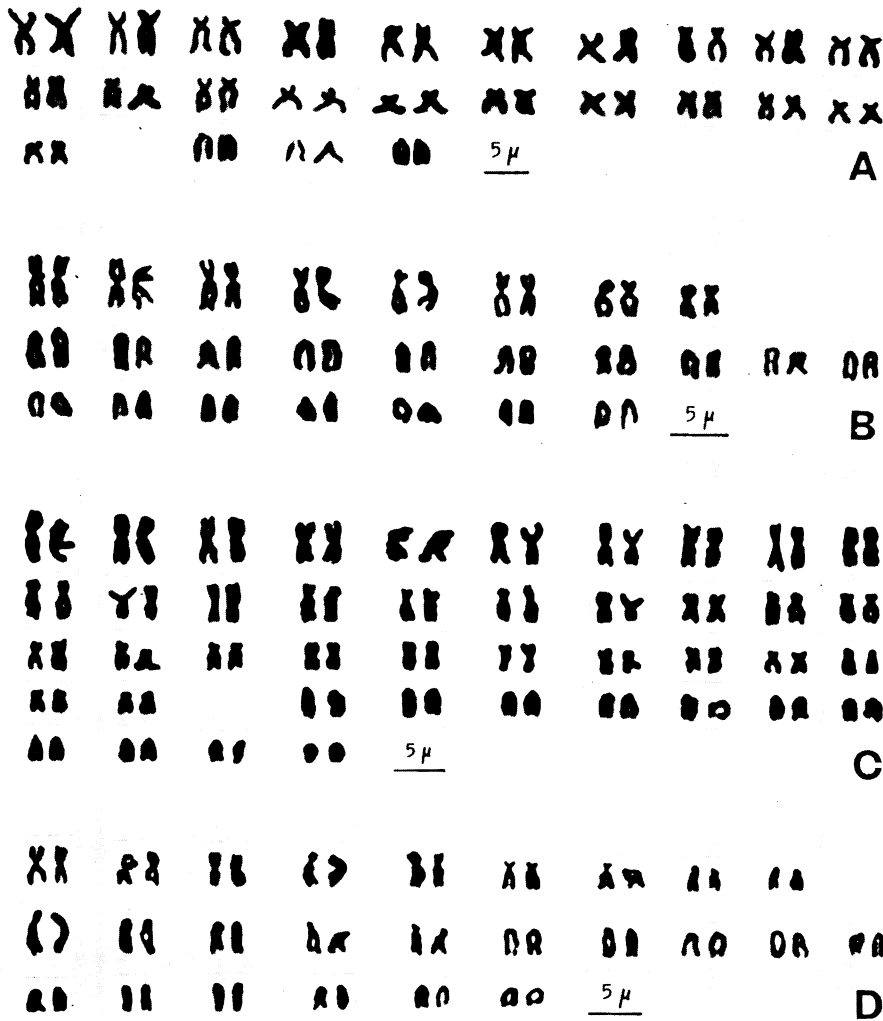


Fig. 1. Karyotypes of *Cobitis* in Japan.

A: *C. biwae*, 2n=48. B: *C. taenia striata*, 2n=50. C: *C. taenia taenia*, 2n=86. D: *C. delicata*, 2n=50.

体、雄3個体を供試した。染色体数は2n=48であった。中部・次中部着糸型21対、端部着糸型3対で構成され、雌雄のあいだで核型に差異が認められなかった。

スジシマドジョウ (Fig. 1, B): 全長79~99 mmの雌3個体を供試した。染色体数は2n=50であり、中部・次中部着糸型8対、端部着糸型17対で構成された。

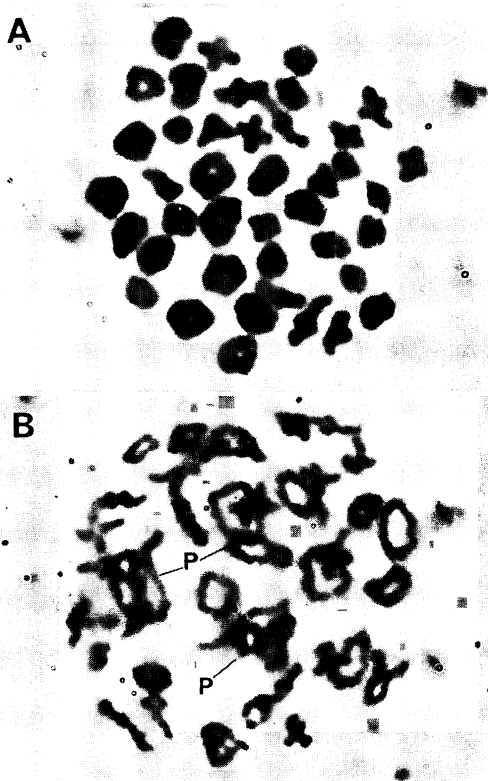


Fig. 2. Meiosis observed in the testis of *Cobitis taenia taenia*.
 A: diploten stage. Number of synapsis is 40. ($\times 1800$)
 B: metaphase. Polyvalent chromosomes (P) are formed. ($\times 1800$)

タイリクシマドジョウ (Fig. 1, C): 全長 89~123 mm の雌 2 個体, 雄 3 個体を供試した. 染色体数は $2n=86$ であった. 中部・次中部着糸型 32 対, 端部着糸型 11 対で構成され, 雌雄のあいだで核型に差異が認められなかった. なお還元分裂複糸期には 40 前後の染色体対合がみられ, 還元分裂中期には多価染色体の形成が認められた. (Fig. 2).

アジメドジョウ (Fig. 1, D): 全長 57~77 mm の雌 3 個

体, 雄 1 個体を供試した. 染色体数は $2n=50$ であった. 中部・次中部着糸型 9 対, 次端部・端部着糸型 16 対で構成され, 雌雄のあいだで核型に差異が認められなかった.

ヘモグロビンの電気泳動

電気泳動像を Fig. 3 に, またヘモグロビン分画の相対量を Table 2 に示した. シマドジョウ類のヘモグロビンは何れの魚種でも 3 成分に分画された. 各分画は便宜的に陽極に近いものから Hb-A, Hb-B, Hb-C とした.

シマドジョウの泳動像を基準にして比較するとスジシマドジョウのヘモグロビンは 3 成分ともシマドジョウのものと同じの易動度を示し, 相対量のパターンも類似した. タイリクシマドジョウでは Hb-A および Hb-B は

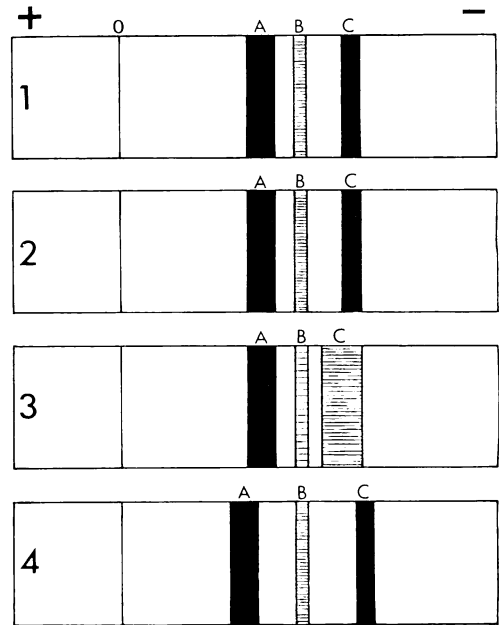


Fig. 3. Schematic cellulose-acetate electrophoretic patterns of hemoglobins from four species of *Cobitis*. 1: *C. biwae*. 2: *C. taenia striata*. 3: *C. taenia taenia*. 4: *C. delicata*.

Table 2. Percentage distributions in amount of hemoglobin components of the Japanese striped loaches. The mean value is followed by range in parenthesis.

Species	Number of specimens	Hemoglobin component (%)		
		A	B	C
<i>Cobitis biwae</i>	8	81.4 (78.6~84.3)	2.4 (0.8~4.7)	16.2 (14.4~19.6)
<i>C. taenia striata</i>	8	84.7 (79.5~87.1)	3.5 (0.9~4.5)	12.8 (11.7~18.9)
<i>C. taenia taenia</i>	10	93.4 (90.5~95.6)	0.6 (0.0~0.8)	6.0 (4.3~9.5)
<i>C. delicata</i>	8	72.8 (69.7~75.7)	7.2 (4.5~12.9)	20.0 (13.5~24.0)

シマドジョウのものと同じの易動度を示したが、Hb-Cはシマドジョウのものより易動度の小さい側に著しく幅の広いバンドとして泳動された。アジメドジョウではHb-Bのみがシマドジョウのものと同じの易動度を示し、Hb-AおよびHb-Cは他3魚種の何れとも明らかに異なる易動度を示した。

考 察

小島・一ツ町(1969)は兵庫県三田で採集されたシマドジョウの染色体数を $2n=96$ 、ドジョウを $2n=50$ 、そして岐阜県中津川産のアジメドジョウを $2n=50$ と報告し、また他の数種のドジョウ科魚類も $2n=50$ であることから、ドジョウ科魚類の基本染色体数は $2n=50$ であるとした。本研究の結果ではスジシマドジョウおよびアジメドジョウは基本染色体数の $2n=50$ であった。しかしタイリクシマドジョウの染色体数は基本数より著しく多く、またシマドジョウでは基本数より少なかった。なお小島・一ツ町の報告した三田産のシマドジョウは4倍体種であったと考えられる。

還元分裂中期に多価染色体が出現することからみて、タイリクシマドジョウの核型は倍数化の過程を経て形成されたものと考えられる。いずれにせよタイリクシマドジョウの核型とスジシマドジョウの核型とのあいだには著しい相違があるといえよう。またヘモグロビンの電気泳動像の比較からも両者が亜種関係にあるとする根拠は得られず、むしろシマドジョウとスジシマドジョウの近縁性が示唆された。以上のことからみて、スジシマドジョウをタイリクシマドジョウの亜種とする現行の分類に

は再考の余地があるのではなかろうか。

謝 辞

本研究にあたり溢かい御指導と貴重な文献を賜わった関西学院大学理学部の小島吉雄教授、有益な御助言と貴重な文献を与えられた国立科学博物館の新井良一博士に対し心から感謝する。また技術的御助言を下された長崎大学水産学部の勝山一郎氏に厚くお礼申し上げる。

引 用 文 献

- 池田兵司. 1936. 日本産ドジョウ科魚類の雌雄性徴と其分類に就て. 動物学雑誌, 48 (12): 983~994, 13 figs.
- Levan, A., K. Fredga, and A. Sandberg. 1964. Nomenclature for centromeric position on chromosomes. Hereditas, 52: 201~220, figs. 1~3.
- 皆森寿美夫. 1951. シマドジョウ類の交雑と分類. 魚類学雑誌, 1 (4): 215~225, 4 figs.
- Mizuno, N. 1970. A new species of Cobitid fish from Japan. Mem. Ehime Univ. Sci. Sor. B(Biol.), 6 (3): 1~11, figs. 1~6.
- 中村守純. 1963. 原色淡水魚類検索図鑑. 北隆館, 東京, iv+258 pp., 191 figs.
- 小島吉雄・一ツ町晋也. 1969. どじょう科魚類の細胞遺伝学的研究 I. 動物学雑誌, 78: 139~141, 4 figs.
- Yamanaka, H., K. Yamaguchi, and F. Matsuura. 1965. Starch gel electrophoresis of fish hemoglobins-I. Usefulness of cyanmethemoglobin for the electrophoresis. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish., 31 (10): 827~832, figs. 1~2.

(852 長崎市文教町 1-14 長崎大学水産学部)