

## 2倍体および3倍体ギンブナの赤血球径の比較

瀬崎 啓次郎・小林 弘・中村 守純

### Size of Erythrocytes in the Diploid and Triploid Specimens of *Carassius auratus langsdorfi*

Keijiro Sezaki, Hiromu Kobayasi, and Morizumi Nakamura

(Received January 31, 1977)

As regards size of erythrocytes, the senior author reported two types of the ginbuna *Carassius auratus langsdorfi*, one with smaller erythrocytes and the other with larger erythrocytes, from Naka River, Shizuoka Prefecture (Sezaki, 1974). In the present study, the relationship between the erythrocyte size and somatic chromosome number was examined. Blood smear preparations were made by ordinary method with Giemsa's solution and chromosome preparations were performed by the same method previously described (Kobayasi et al., 1970).

Among 16 fish examined, somatic chromosome number of 4 males and 2 females was 100, and that of 10 females was 156. In the diploid fish the major diameter of erythrocytes was  $14.17 \pm 0.47 \mu$ , and that of nuclei  $5.76 \pm 0.30 \mu$ , whereas in the triploid fish the major diameter of erythrocytes was  $17.96 \pm 0.51 \mu$ , and that of nuclei was  $7.97 \pm 0.34 \mu$ . The ratio of the area of the triploid erythrocytes to that of diploid ones was 1.30, and that of nuclei was 1.34. The results show that it is easy to distinguish the triploid ginbuna from the diploid one by the examination of the erythrocyte size.

(Sezaki: Enoshima Aquarium, Katasekaigan, Fujisawa, Kanagawa 251; Kobayasi: Department of Biology, Japan Women's University, Mejirodai, Bunkyo-ku, Tokyo 112; Nakamura: Department of Zoology, National Science Museum, Hyakunin-cho, Shinjuku-ku, Tokyo 160, Japan)

染色体の倍加現象は両生類などでよく研究されていて、一般に倍数性細胞は2倍性細胞よりも大きいことが知られている (Fankhauser, 1938). 魚類では *Gasterosteus aculeatus* (Swarup, 1959), *Carassius auratus gibelio* (Cherfas, 1966), *Pleuronectes platessa* (Purdom, 1973), *Poeciliopsis* (Cimino, 1973), *Carassius* (小林・中村, 1974), *Tilapia aurea* (Valenti, 1975) などの研究がある。フナ属については、Cherfas (1966) は *C. auratus gibelio* に2倍体のほかに3倍体が存在し両者の赤血球の面積比が比例倍数関係にあることを報告した。小林ら (1970, 1973) はギンブナ *C. auratus langsdorfi* に4倍体が存在することを明らかにし、さらに小林・中村 (1974) は倍数性と赤血球径との関連を検討した。

一方、瀬崎・尾崎 (1973), 瀬崎 (1974) によれば静岡県的那賀川には赤血球の大きさの異なる2つのタイプのギンブナが生息している。この那賀川産のギンブナにみ

られる現象が倍数性に関連しているのではないかと考えて本研究を行なった。

#### 材料および方法

1974年5月16日に静岡県賀茂郡松崎町的那賀川の河口より約2kmの水域で採集したギンブナ *Carassius auratus langsdorfi* のうち、16個体の染色体数と赤血球径を測定した。採集魚はビニール袋に入れて酸素封入したのち実験室にもちかえり、小型底面汜過式水槽 (60×30×45 cm) に収容した。実験は5~7月に行なった。

採血は1.0%ヘパリン注射器を用いて心臓穿刺によった。採血量は1個体当たり0.1~0.4 mlである。常法に従って血液塗抹標本をつくりギムザ染色を施した。塗抹標本の血球が均等に分布してしかも変形の少ない部分を選び、1,500倍の下に検鏡した。1個体当たり100個の赤血球の長径と短径、赤血球の核の長径と短径を測定し

た。また測定値から長径・短径比および赤血球の形を楕円とみなして長径×短径× $\pi/4$ により面積を求めた。

染色体検査は小林ら (1970) の方法に従った。供試魚は採血の2~4時間前に体重 1g 当り 10~20  $\mu\text{g}$  のコルヒチン液を腹腔内に注入しておいた。採血の終了後に開腹して腎臓を摘出し、はさみでのり状になるまで細切した後、低張液処理して flame-drying 法で染色体標本をつくった。染色体の観察は 1,000 倍の顕微鏡下で行ない、中期分裂像の核板の明瞭なものを 1 個体当り 5 個以上選び、カウンターにより染色体数を数えた。

結 果

供試魚の個体別の諸測定値は Table 1 に示した。染色体数約 100 (Fig. 1, A) のものを 2 倍体 (2n), 約 156 (Fig. 1, B) のものを 3 倍体 (3n) とした。2 倍体は 6 個体、3 倍体は 10 個体であった。2 倍体には雌雄の個体がみられたが 3 倍体は雌だけであった。成熟した雌につ

いては卵粒の大きさを観察したが 2 倍体と 3 倍体で差はみられなかった。Table 2 に 2 倍体と 3 倍体の諸測定値の平均値を比較して示した。背鰭基部長比および鰓耙数に 2 倍体と 3 倍体で差がみられた。

赤血球径の測定結果は Table 3 に示した。赤血球の大きさは 2 倍体では  $14.17 \times 8.53 \mu$ , 3 倍体では  $17.96 \times 8.77 \mu$  であった。Fig. 2A に 2 倍体と 3 倍体の赤血球の長径をブライス・ジョンス曲線で比較して示した。赤血球長径の分布範囲と出現頻度は、2 倍体では 6 個体で計 600 個の赤血球を測定し、12  $\mu$  (7.0%), 13  $\mu$  (22.8%), 14  $\mu$  (26.3%), 15  $\mu$  (34.8%), 16  $\mu$  (7.2%), 17  $\mu$  (1.7%) であった。3 倍体では 10 個体で計 1,000 個の赤血球を測定し、15  $\mu$  (2.7%), 16  $\mu$  (8.9%), 17  $\mu$  (21.2%), 18  $\mu$  (37.2%), 19  $\mu$  (18.8%), 20  $\mu$  (9.7%), 21  $\mu$  (1.6%) であった。赤血球短径の分布範囲と出現頻度は、2 倍体では 6  $\mu$  (0.5%), 7  $\mu$  (7.3%), 8  $\mu$  (45.0%), 9  $\mu$  (33.2%), 10  $\mu$  (14.0%) であり、3 倍体では 7  $\mu$  (5.2%), 8  $\mu$

Table 1. Measurements and counts of 16 specimens of *Carassius auratus langsdorfi*.

Sample No.	1	2	3	4	5	6	7	8
Total length (mm)	161.4	156.4	135.2	118.9	117.6	108.8	107.0	102.0
Standard length (mm)	124.2	120.2	103.2	91.3	92.0	84.6	83.6	80.6
S.L./Body depth	2.7	2.6	2.7	2.9	2.7	3.1	2.7	2.6
S.L./Head length	3.1	3.1	2.9	3.0	3.3	2.9	3.1	3.0
S.L./Caudal peduncle depth	6.5	6.5	6.4	7.0	7.1	7.5	7.2	7.2
S.L./Basal length of dorsal fin	2.9	3.0	3.0	3.2	2.8	3.3	2.6	2.7
Principal rays of dorsal fin	16	17	15	16	17	17	18	18
Principal rays of anal fin	6	6	6	6	6	6	6	6
Scales on lateral line	27	28	28	27	27	28	27	28
Scales on transverse series	6/5	7/6	6/5	6/5	6/5	6/5	6/5	6/5
Gill rakers	44	44	43	44	40	43	38	40
Sex	♂	♂	♂	♀	♀	♂	♀	♀
Ploidy	2n	2n	2n	3n	2n	2n	3n	3n

Sample No.	9	10	11	12	13	14	15	16
Total length (mm)	96.2	88.7	88.2	87.6	85.2	79.9	75.0	73.5
Standard length (mm)	75.2	68.8	66.1	67.0	64.4	59.6	58.0	54.5
S.L./Body depth	2.6	2.9	2.9	2.7	2.7	3.0	3.0	2.7
S.L./Head length	3.0	3.2	2.8	3.0	3.0	3.1	3.2	3.1
S.L./Caudal peduncle depth	7.1	7.2	7.1	7.0	6.9	7.2	7.3	6.7
S.L./Basal length of dorsal fin	2.6	2.7	3.0	2.7	2.7	2.7	2.8	2.8
Principal rays of dorsal fin	18	17	17	18	17	16	17	17
Principal rays of anal fin	6	6	6	6	6	6	6	6
Scales on lateral line	27	28	28	28	28	—	29	27
Scales on transverse series	6/5	6/5	6/5	6/5	6/5	6/5	6/5	6/5
Gill rakers	38	40	45	40	39	38	37	37
Sex	♀	♀	♀	♀	♀	♀	♀	♀
Ploidy	3n	3n	2n	3n	3n	3n	3n	3n

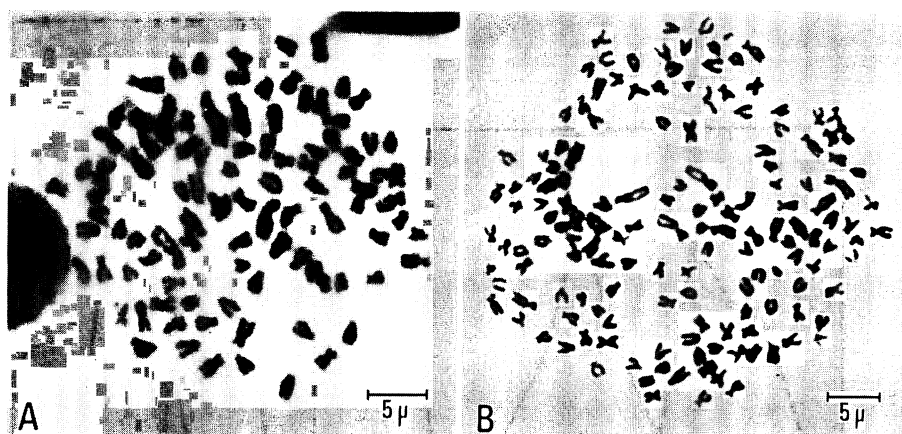


Fig. 1. Somatic metaphase figures of kidney cells of *Carassius auratus langsdorfi*. A, diploid form (sample No. 2); B, triploid form (sample No. 7).

Table 2. Comparison of characters between the diploid and triploid *Carassius auratus langsdorfi*. Results are prepared as mean  $\pm$  S.D.

	Diploid (6 fish)	Triploid (10 fish)
Total length (mm)	127.9 $\pm$ 28.4	91.4 $\pm$ 14.6
Standard length (mm)	98.3 $\pm$ 22.1	70.3 $\pm$ 12.1
S.L./Body depth	2.8 $\pm$ 0.2	2.8 $\pm$ 0.2
S.L./Head length	3.0 $\pm$ 0.2	3.1 $\pm$ 0.1
S.L./Caudal peduncle depth	6.9 $\pm$ 0.4	7.1 $\pm$ 0.2
S.L./Basal length of dorsal fin	3.0 $\pm$ 0.2	2.8 $\pm$ 0.2
Principal rays of dorsal fin	16.5 $\pm$ 0.8	17.2 $\pm$ 0.8
Principal rays of anal fin	6.0 $\pm$ 0.0	6.0 $\pm$ 0.0
Scales on lateral line	27.7 $\pm$ 0.5	27.7 $\pm$ 0.7
Scales on transverse series	6.2 $\pm$ 0.4/5.2 $\pm$ 0.4	6.0 $\pm$ 0.0/5.0 $\pm$ 0.0
Gill rakers	43.2 $\pm$ 1.7	39.1 $\pm$ 2.1

Table 3. Erythrocyte size in the diploid and triploid *Carassius auratus langsdorfi*. A hundred cells were measured on each specimen.

	Diploid (6 fish)	Triploid (10 fish)
	Mean $\pm$ S.D. (range)	Mean $\pm$ S.D. (range)
Erythrocyte		
Major diameter ( $\mu$ )	14.17 $\pm$ 0.47 (13.42~14.59)	17.96 $\pm$ 0.51 (17.12~18.71)
Minor diameter ( $\mu$ )	8.53 $\pm$ 0.55 (7.94~9.37)	8.77 $\pm$ 0.54 (7.72~9.52)
Major d./Minor d.	1.67 $\pm$ 0.13 (1.47~1.82)	2.06 $\pm$ 0.16 (1.89~2.40)
Area ( $\mu^2$ )	94.8 $\pm$ 6.0 (86.9~102.2)	123.5 $\pm$ 7.7 (112.3~137.4)
Nucleus of erythrocyte		
Major diameter ( $\mu$ )	5.76 $\pm$ 0.30 (5.19~5.98)	7.97 $\pm$ 0.34 (7.46~8.39)
Minor diameter ( $\mu$ )	3.15 $\pm$ 0.08 (3.05~3.25)	3.05 $\pm$ 0.09 (2.91~3.20)
Major d./Minor d.	1.83 $\pm$ 0.07 (1.70~1.90)	2.61 $\pm$ 0.15 (2.38~2.85)
Area ( $\mu^2$ )	14.3 $\pm$ 1.0 (12.4~15.2)	19.1 $\pm$ 0.9 (17.9~20.4)

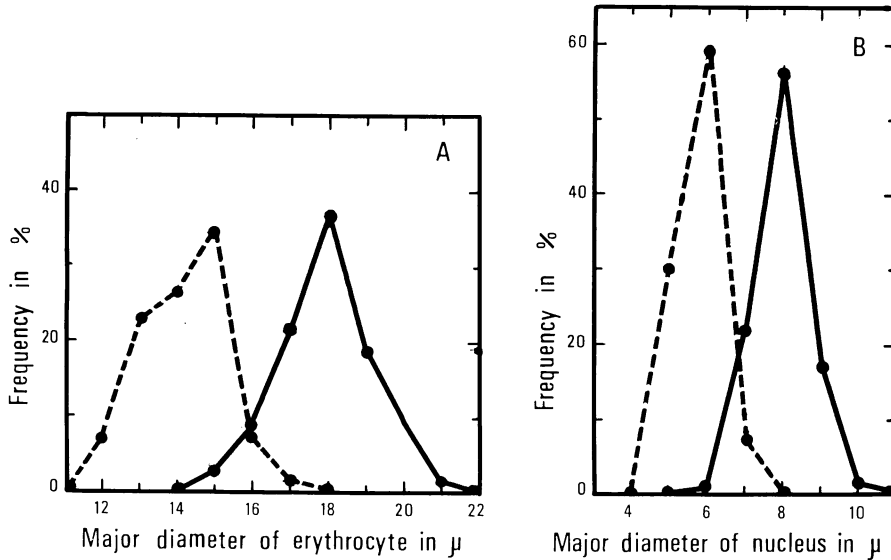


Fig. 2. Comparison of Price-Jones curves between the diploid and triploid *Carassius auratus langsdorfi*. Broken line indicates the diploid fish (average of 6 specimens) and solid line the triploid fish (average of 10 specimens). A, major diameter of erythrocyte; B, major diameter of nucleus of erythrocyte.

(37.1%), 9 μ (44.3%), 10 μ (12.3%), 11 μ (1.0%) であつた。2 倍体と 3 倍体の赤血球の長径の差が 3.79 μ あるのに対し短径の差は 0.24 μ しかなく、3 倍体の赤血球は 2 倍体に比べて主として長軸の方向に大きくなつてゐる (Fig. 3)。

赤血球の核の大きさは 2 倍体では 5.76×3.15 μ, 3 倍体では 7.96×3.05 μ であつた。Fig. 2B に 2 倍体と 3 倍体の赤血球の核の長径をプライス・ジョンス曲線で比較して示した。赤血球の核の長径の分布範囲とその出現頻度は、2 倍体では 4 μ (0.5%), 5 μ (31.5%), 6 μ (59.8%), 7 μ (7.8%), 8 μ (0.3%) であり、3 倍体では 6 μ (1.0%), 7 μ (22.3%), 8 μ (57.1%), 9 μ (17.8%), 10 μ (1.9%) であつた。赤血球の核の短径については、2 倍体では 3 μ (84.8%), 4 μ (15.2%) であり、3 倍体では 2 μ (2.4%), 3 μ (89.8%), 4 μ (7.8%) であつた。2 倍体と 3 倍体の赤血球の核の長径の差が 2.20 μ であるのに対し、短径の差は 0.1 μ でしかも 2 倍体の方が却つて大きい。したがつて核についても赤血球の場合と同様に、3 倍体の核は 2 倍体に比べて主として長軸の方向に大きくなつてゐる (Fig. 3)。

3 倍体と 2 倍体の赤血球の面積比を Table 3 から計算により求めると 1.30, 赤血球の核の面積比は 1.34 であつた。

### 考 察

小林ら (1970, 1973) は日本産フナ属のうちギンブナ *Carassius auratus langsdorfi* とナガブナ *Carassius auratus buergeri* に倍数体が存在し、2 倍体は両性系であるが倍数体は雌ばかりの単性系であることを報告した。特に関東地方のギンブナは 3 倍体または 4 倍体で、雌はほとんどいないことが知られている (中村, 1969, 1975)。ただこれまでにギンブナの倍数性による形態上の差異についての報告はほとんどなく、僅かに小林 (1972) が日本産フナの変種実験の報告の中で、放卵された卵の径が宮崎系の 2 倍体に比べて関東系の 3 倍体はやや大きいことを指摘しているだけである。

Table 1 に示した供試魚の中で卵巣のよく発達している雌は 2 倍体に 1 個体 (No. 5), 3 倍体に 5 個体 (No. 4, 7, 8, 9, 10) あり、固定標本の卵巣から卵粒を観察したが卵の大きさに差はみられなかつた。供試魚の諸測定値の中では背鰭基部長比および鰾肥数に 2 倍体と 3 倍体とで違いがみられる傾向があるが (Table 2), いずれも体長の違いに基づく差であると考えられる。

一般に倍数性細胞では DNA 量がふえることにより核や細胞質の大きさが増大する現象がみられる (腰原, 1974)。両生類では、倍数体が自然界に生息することはよ

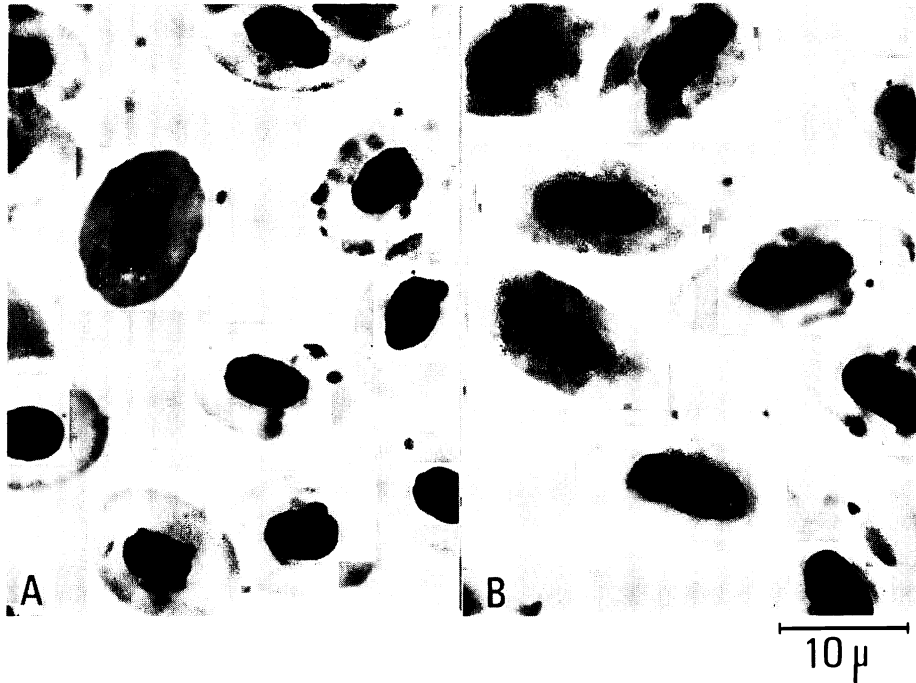


Fig. 3. Appearance of erythrocytes in *Carassius auratus langsdorfi*. A, diploid form (sample No. 6); B, triploid form (sample No. 8).

く知られている。Fankhauser (1938)によればサンショウウオ目の *Triturus viridescens* の上皮細胞や赤血球の核の大きさが2倍体と3倍体とで異なる。

魚類では Cherfas (1966) は、白ロシアの Volmin population の *Carassius auratus gibelio* に倍数体が存在し、3倍体と2倍体の個体の赤血球の面積比は1.39、赤血球の核の面積比は1.42で明らかな比例倍数関係があることを報告している。また人為的に作られた倍数体では *Gasterosteus aculeatus* (Swarup, 1959), *Pleuronectes platessa* (Purdom, 1973), *Tilapia aurea* (Valenti, 1975) などで2倍体と3倍体の赤血球の大きさに比例倍数関係が観察されている。属内の種間または亜種間の2倍体と3倍体の比較では *Poeciliopsis* (Cimino, 1973), *Carassius* (小林・中村, 1974) などの報告がある。

他方、瀬崎・尾崎 (1973) は静岡県的那賀川に生息するギンブナに大きい赤血球をもつタイプと小さい赤血球をもつタイプの2つの系列があることを指摘し、瀬崎 (1974) は赤血球の大きさの生理的、病理的および測定誤差などによる変動を検討した結果、この現象が遺伝的な理由によるものであろうと推測した。本研究において那賀川には2倍体と3倍体の両系列のギンブナが混棲し、小さい赤血球をもつタイプは2倍体、大きい赤血球

をもつタイプは3倍体であることが確かめられた。

Swarup (1959), Cherfas (1966), Purdom (1973), Cimino (1973), 瀬崎 (1974) および Valenti (1975) では2倍体と3倍体の赤血球の面積比または容積比が1.38～1.60であるのに比べて、本研究では赤血球の面積比1.30、核の面積比1.34でやや小さい。瀬崎 (1974) とは赤血球径の分布範囲はほぼ同じだが、Fig. 2に示したように2倍体の赤血球長径のプライス・ジョーンズ曲線のピークに右方移動がみられ、この結果、本研究の2倍体の赤血球長径は瀬崎 (1974) より約1.05  $\mu$  大きくなっている。その分だけ瀬崎 (1974) より2倍体と3倍体の赤血球の面積比が小さくなっていると考えられる。

測定条件が異なればその結果にも多少の違いがみられる。小林・中村 (1974) は3倍体の赤血球は2倍体よりも相対的に大きい、赤血球の大きさは体成長度や生息地域により異なるから、単純に赤血球の大きさから倍数性を識別するのは困難であるとしている。小林・中村 (1974) の測定値は、同じフナ属を扱った Cherfas (1966), 瀬崎・尾崎 (1973), 瀬崎 (1974), および本研究などと比べて一般に値が小さい。2倍体と3倍体の赤血球の面積比も小さい。しかし彼らの血液塗抹像をみると3倍体の赤血球は2倍体の赤血球に比べて相対的に大

きいのではなく、長軸の方向により大きい傾向があり、これは本研究などにおける結果 (Table 3, Fig. 3) と一致する。

従来はギンブナの倍数性の判別には染色体標本をつくるために煩雑な操作を要した (小林ら, 1970, 1973)。そしてより確実に鮮明な染色体像を得るために種々の組織培養法の改良が試みられているが (小林, 1975, Hayashi et al., 1976), 一方では多数の個体を短時間に処理するための簡易判別法の開発が望まれる。本研究では赤血球径の測定によってギンブナの倍数性を簡単に判別できることが確かめられた。

### 謝 辞

本研究に御助言と御援助を賜った東京水産大学尾崎久雄教授並びに江の島水族館長広崎芳次博士に心から感謝の意を表す。

### 引用文献

- Cherfas, N. B. 1966. Natural triploidy in females of the unisexual form of the goldfish (*Carassius auratus gibelio* Bloch). *Genetika*, (5): 16~24, figs. 1~6.
- Cimino, M. C. 1973. Karyotypes and erythrocyte sizes of some diploid and triploid fishes of the genus *Poeciliopsis*. *J. Fish. Res. Board Can.*, 30 (11): 1736~1737.
- Fankhauser, G. 1938. Triploidy in the newt, *Triturus viridescens*. *Proc. Am. Phil. Soc.*, 79: 715~739, figs. 1~7, pls. 1~4.
- Hayashi, M., Y. Ojima, and N. Asano. 1976. A cell line from teleost fish: establishment and cytogenetical characterization of the cells. *Jap. J. Genetics*, 51 (1): 65~68, figs. 1~3.
- 小林 弘. 1972. 日本産フナの変雑実験について. 日本女子大学紀要 (家政), (19): 231~258, figs. 1~7.
- 小林 弘. 1975. 淡水魚染色体研究のための 2, 3 の組織培養法について. 日本女子大学紀要 (家政), (22): 159~167, figs. 1~3.
- 小林 弘・川島康代・竹内直政. 1970. フナ属魚類の染色体の比較研究, 特にギンブナに現われた倍数性について. 魚類学雑誌, 17 (4): 153~160, figs. 1~4.
- 小林 弘・中村修子. 1974. 2 倍体と 3 倍体フナの赤血球径について. 日本女子大学紀要 (家政), (21): 155~163, figs. 1~4.
- 小林 弘・越智尚子・竹内直政. 1973. フナ属魚類の染色体の比較研究 (続報): 特にニゴロブナ, ナガブナ, ギンブナについて. 魚類学雑誌, 20 (1): 7~12, figs. 1~3.
- 腰原英利. 1974. 核の形態と化学的構築. 小川和朗他編, 細胞学大系 4, 核, 朝倉書店, 東京, 1~26.
- 中村守純. 1969. 日本のコイ科魚類 (日本産コイ科魚類の生活史に関する研究). 資源科学シリーズ 4, 資源科学研究所, 東京, 455 pp., 19 figs., 149 pls.
- 中村守純. 1975. 原色淡水魚類検索図鑑, 第 5 版, 北隆館, 東京, 260 pp., 175+16+4 figs.
- Purdom, C. E. 1973. Induced polyploidy in plaice (*Pleuronectes platessa*) and its hybrid with the flounder (*Platichthys flesus*). *Heredity*, 29: 11~24, figs. 1~2, pl. 1.
- 瀬崎啓次郎. 1974. ギンブナの赤血球径について. 動物園水族館雑誌, 16 (2): 23~26, figs. 1~4.
- 瀬崎啓次郎・尾崎久雄. 1973. 魚類の血液性状. 動物園水族館雑誌, 15 (3): 49~53, figs. 1~4.
- Swarup, H. 1959. Effects of triploidy on the body size, general organization and cellular structure in *Gasterosteus aculeatus* (L.). *J. Genetics*, 56: 143~155.
- Valenti, R. J. 1975. Induced polyploidy in *Tilapia aurea* (Steindachner) by means of temperature shock treatment. *J. Fish Biol.*, 7: 519~528, fig. 1.
- (瀬崎: 251 神奈川県藤沢市片瀬海岸 2-17-25 江の島水族館; 小林: 112 東京都文京区目白台 2-8-1 日本女子大学生物学教室; 中村: 160 東京都新宿区百人町 3-23-1 国立科学博物館動物研究部)