

北海道に於ける倍数体フナの分布*

小野里 坦・鳥澤 雅・草間政幸

Distribution of the Gynogenetic Polyploid Crucian Carp, *Carassius auratus* in Hokkaido, Japan**

Hiroshi Onozato, Masaru Torisawa and Masayuki Kusama

(Received December 22, 1982)

The erythrocytic size method for determination of ploidy in the crucian carp, *Carassius auratus* (Linnaeus) collected from Hokkaido was examined. The ploidy of 17 fish was determined by somatic chromosome number. The mean major diameter of 20 erythrocytes per individual ranged from 13.0 to 14.4 μm in 5 diploids, from 15.4 to 17.7 μm in 7 triploids and from 20.6 to 22.2 μm in 5 tetraploids. The shape of erythrocytes tended to be more long and slender with the increase in ploidy. The distribution of the mean major diameter of 20 erythrocytes per individual was examined in 31 fish collected from Lake Akan and in 32 fish from the Tokoro River. They were divided into three groups according to their erythrocytic size. Karyotype analysis of 8 fish from the Tokoro River and erythrocyte shape suggested that the animals belonging to the first group, with the smallest erythrocytes, were diploids, while those belonging to the second group were triploids and those belonging to the third group were tetraploids. The critical size between diploid and triploid was 15 μm in mean major diameter of erythrocytes and that between triploid and tetraploid was 19 μm .

Ploidy was determined for a total of 1,534 samples collected from 24 sites throughout Hokkaido by the erythrocytic size method. They were composed of diploids (38.3%), triploids (59.5%) and tetraploids (2.2%). Triploid fish were collected from 22 collecting sites and were the most dominant in 18 out of the 22 sites. Tetraploid fish were found in only 6 collecting sites located mainly in Eastern Hokkaido.

(HO: Faculty of Fisheries, Hokkaido University, Hakodate 041, Japan, MT: Fisheries Experimental Station, Kushiro 085, Japan; MK: Japan International Cooperation Agency, 2-1-1 Nishi-Shinjuku, Tokyo 160, Japan).

植物や無脊椎動物において時に近縁の種の間で倍数体関係にある種が存在することはよく知られている(前川, 1969). 魚類においても近年の染色体研究の急速な進歩に伴い、倍数性を示す種の存在が知られるようになった。コイ目魚類もその1例であるが(Ohno et al., 1967), なかでもフナ属は倍数性に富んでいる点で特異的な存在である。

小林ほか(1970, 1973)はキンギョを含む日本産フナ5亜種とヨーロッパブナについて染色体観察を行なった結果、キンギョ *Carassius auratus auratus*, キンブナ *C. auratus* subsp., ニゴロブナ *C. auratus grandoculi* およびヨーロッパブナ *C. carassius* は $2n=100$ の染色体

数を持つのに対し、ナガブナ *C. auratus buergeri* は $2n$ のほかに $3n=156$ の染色体数を持つもの、更にギンブナ *C. auratus langsdorffii* ではこれらの他に $4n=206$ の染色体数を持つものがいることを明らかにした。一方 Raicu et al. (1981) はルーマニア産の *C. auratus* は $2n=98$ であるのに対し、同地方産の *C. carassius* は $2n=50$ であることを明らかにし、*C. auratus* は *C. carassius* の祖先が倍数化することによって生じたと主張している。従って $n=25$ を基数とすると、フナ属には2倍体、4倍体、6倍体および8倍体の4種が存在することになる。

ギンブナとギベリオブナ *C. auratus gibelio* の3倍体および4倍体($n=25$ を基数とすると6倍体および8倍体に相当する)は雌性生殖により殖えていることが明らかにされている(Cherfas, 1966; 小林, 1971, 1976; 小

* 北海道の淡水魚に関する研究—IV

** Studies on the Freshwater Fish in Hokkaido, Japan—IV

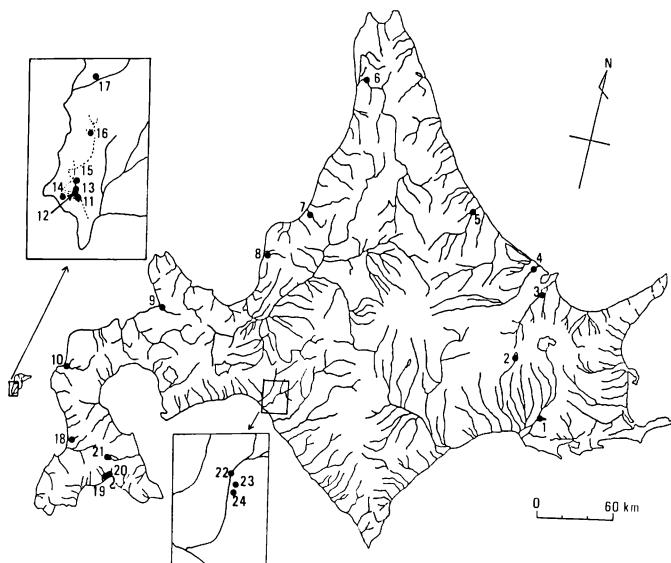


Fig. 1. Collecting sites of the crucian carp, *Carassius auratus* in Hokkaido. 1, Lake Tohro; 2, Lake Akan; 3, Lake Abashiri; 4, Tokoro River; 5, Shokotsu River; 6, Teshio River; 7, Rumoi River; 8, Hamamasu River; 9, Horikappu River; 10, Toshibetsu River; 11~17, Ponds in Okushiri Island; 18, Hime River; 19, Ohno River; 20, Kunebetsu River; 21, Lake Junsai; 22, Atsuma River; 23, Lake Ohnuma; 24, Lake Nakanuma.

林・越智, 1972; 小林ほか, 1977; 小野里, 1981).

このようにフナには倍数体が存在し, しかもそれらが脊椎動物では非常に稀な雌性発生をするといった生物学的に興味深い魚種でありながら, その倍数体の分布(小林, 1982) や起源についての研究は少なく現在未知の部分が多く残されている。本研究は北海道に生息する淡水魚の分布および生態に関する研究の一環として, 北海道に生息するフナの倍数体の分布およびその比率について調査したので, その結果について報告する。

なお北海道産のフナは中村(1969)による亜種の分類法では分類が困難な場合が少なくなかったので, ここではフナ *Carassius auratus* 1種として扱った。

材料と方法

1977年から1981年にかけて北海道内の24の河川および湖沼(Fig. 1)より採集した1534尾のフナ *C. auratus* を材料とした。採集は投網、手網および胴を用いて直接行なうか、漁業者より入手し、魚は生かしたまま実験室に持ち帰り実験に供した。

倍数性は主に赤血球の長径を計測することにより調べた。血球の塗沫標本は供試魚の鰓蓋の裏側の付根の血管または第1鰓弓を小形のメスで傷つけ、出てきた血液を

先を尖がらせたマッチの軸に採り、スライドグラス上に線を書く要領で塗沫し、風乾して作成した。標本は無固定、無染色のまま400倍で観察し、変形のない赤血球を選んで、デジタル測微接眼装置(オリンパス光学工業製)を用いてその長径を計測した。

染色体観察には供試魚の体重1g当たり15~20γのコルヒチンを腹腔内に注射し、3~4時間後腎臓組織を取り出し、常法に従って空気乾燥法により染色体標本を作成した。1個体につき4個以上のよく拡がった分裂中期の核板を選び、染色体数100前後のものを2倍体、150前後のものを3倍体、さらに200前後のものを4倍体として倍数性を決定した。

結 果

染色体観察の結果、17尾の倍数性を同定することができた。その内訳は2倍体(Fig. 2A)が5尾(全て常呂川産)、3倍体(Fig. 2B)が7尾(常呂川産1尾、網走湖産3尾、姫川産3尾)、および4倍体(Fig. 2C)が5尾(常呂川産2尾、網走湖産3尾)であった。これらの個体の赤血球の長径を1個体につき20個測定し、その平均値と倍数性との関係をFig. 3に示した。2倍体の赤血球の長径の平均値は、13.0~14.4 μmの範囲にあり、3

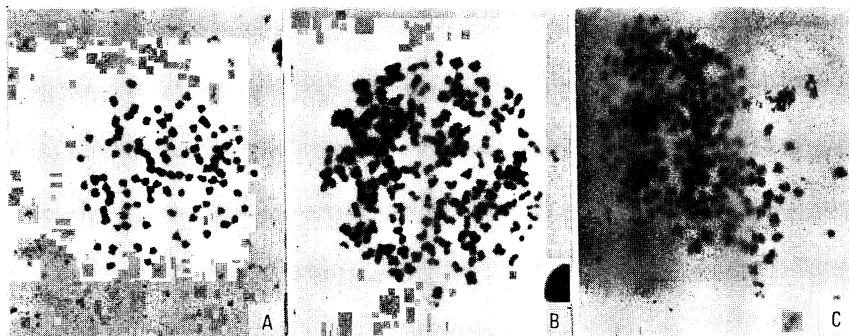


Fig. 2. Metaphase chromosomes in kidney cells from diploid (A), triploid (B) and tetraploid (C) crucian carp in Hokkaido.

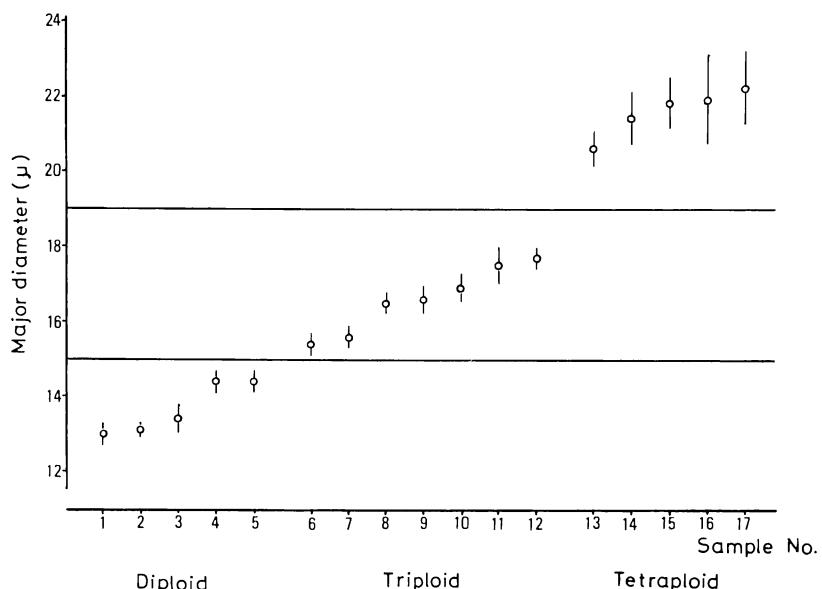


Fig. 3. Relationship between the ploidy and the major diameter of erythrocytes. The ploidy was determined by karyotype analysis. The vertical bars represent confident limit (0.95). Individuals of sample no. 1~5, 7, 13 and 16 were collected from the Tokoro River, samples 6, 9, 10, 14, 15 and 17 from Lake Abashiri and samples 8, 11 and 12 from the Hime River.

倍体では $15.4 \sim 17.7 \mu\text{m}$, 4 倍体では $20.6 \sim 22.2 \mu\text{m}$ の範囲にあった。従って倍数性と赤血球の長径が良く相関していることが明らかになった。さらに倍数性の増加に伴う短径の伸長は必ずしも認められず、従って赤血球の形態は倍数性が高まるにつれて細長くなる傾向があり、形態から倍数性を推定することも可能であった。

次に比較的個体数が多くかつ赤血球長径による分類によって 3 種の倍数性が共存していると思われる 2 つの水系、阿寒湖と常呂川から採集した個体のうち、それぞれ 31 尾と 32 尾の計 63 尾について、1 個体当たり 20 個の

赤血球長径を測定し各個体の平均値と 95% 信頼区間を Fig. 4 および Fig. 5 に示した。両水系ともに $15 \mu\text{m}$ および $19 \mu\text{m}$ 近辺を境として 3 つのグループに分けられた。すなわち阿寒湖の標本番号 25 の個体を除いて各グループ内では平均値の 95% 信頼区間に重なりがみられるのに対し、各グループ間では重なりがみられなかつた。各グループの赤血球の形態は径の小さい方から順に染色体観察で確認された 2 倍体、3 倍体および 4 倍体のそれとよく一致した。さらに染色体観察で確認された 17 個体の各倍数性はそれぞれの境界線で矛盾なく分類され

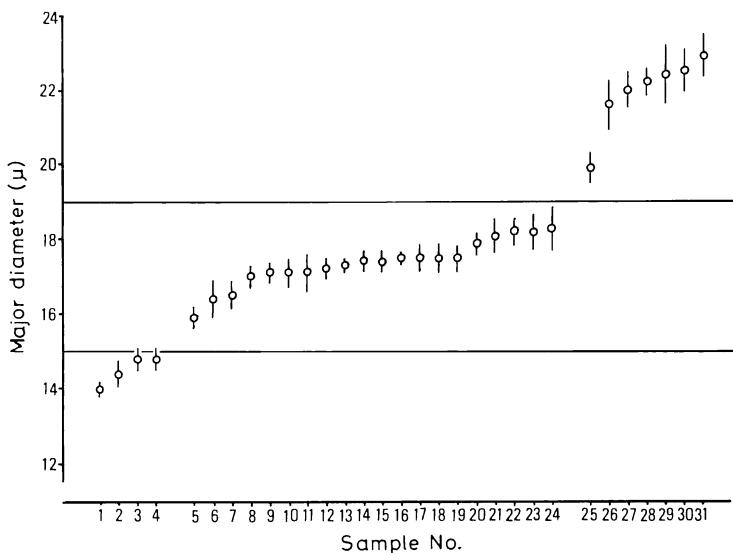


Fig. 4. Distribution of mean major diameter of erythrocytes of the crucian carp collected from Lake Akan.
The vertical bars represent confident limit (0.95).

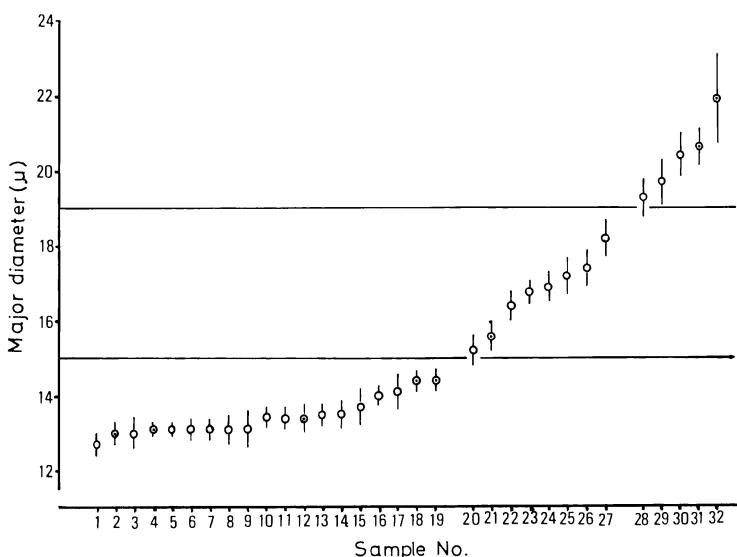


Fig. 5. Distribution of mean major diameter of erythrocytes of the crucian carp collected from the Tokoro River. The vertical bars represent confident limit (0.95). ◎ indicates the fish whose ploidy was determined by karyotype analysis.

た (Fig. 3). これらの結果をもとに採集した個体の赤血球をデジタル測微接眼装置付きの顕微鏡で観察し、過半数の赤血球の長径が $14.5 \mu\text{m}$ 以下のものを 2 倍体、 $15.5 \sim 18 \mu\text{m}$ に入るものを 3 倍体、 $20 \sim 23 \mu\text{m}$ のものを 4 倍体と同定した。赤血球の長径がこれらの範囲外で紛らわしい個体については赤血球の形態を考慮して判断

した。さらに紛らわしい個体については個体毎に 20 個の赤血球の長径を測定し、その平均値が $15 \mu\text{m}$ 未満のものを便宜的に 2 倍体、 $15 \mu\text{m}$ 以上 $19 \mu\text{m}$ 未満のものを 3 倍体、そして $19 \mu\text{m}$ 以上を 4 倍体として分類した。殆どの個体は平均値を求めることなく、赤血球の形態と大きさから容易に分類することができた。

このようにして分類された全個体の倍数性を Table 1 に示した。表から明らかのように北海道には 2 倍体の他に 3 倍体と 4 倍体が分布していることが確認された。2 倍体は調査した 24 地点のうち 75% に当る 18 の採集地で採集されたが、塘路湖など 6 ヶ所では採集されなかった。しかしこれらの地点での採集尾数は比較的少なく、網走湖で 27 尾、その他の地点では 12 尾以下であった。最も 2 倍体の比率の高かったのは奥尻島の No. 16 および No. 17 沼で 100% であった。3 倍体は奥尻島の 2 つの沼を除く 22 の採集地全てで捕獲され、北海道全島に広く分布していることが示唆された。さらに全採集地の 75% に当る 18 の採集地では、3 倍体が全採集個体の過半数を占めていた。特に奥尻島の No. 13 および No. 15 池では採集尾数が、100 尾を越えているにもかかわらず、3 倍体の比率はそれぞれ 93.8% と 99.2% で著しく高かった。4 倍体の採集された地点は比較的少なく、わずか 6 ヶ所、全採集地の 25% に過ぎなかった。しかもその大部分は北海道東部に集中し、その他の地域では北海道南部の大野川と尊菜沼で各 1 尾採集されたに

過ぎなかった。全採集個体 1534 尾中、2 倍体は 588 尾で 38.3%，3 倍体は 913 尾で 59.5%，4 倍体は 33 尾で 2.2% であった。倍数体は全体の 61.7% を占め個体数のうえで 2 倍体に比べ優位であった。

性別を解剖により調べた結果、倍数体は調べた 278 尾全個体が雌であったのに対し、2 倍体は 135 尾中半数近くの 63 尾 (46.7%) が雄であった。

考 察

従来フナの倍数体の同定には染色体分析が用いられてきた（小林ほか、1970, 1973）。この方法は最も直接的でその結果は疑う余地がないが、分析のために時間と手間を要するうえ、分析に用いた全ての個体から常に良好な核板が得られるとは限らない。一方、Liu et al. (1978) は生化学的手法によるギンブナの倍数性の簡易判別法を提唱した。しかしこの方法もかなりの手間を要する上、著者ら自身が指摘しているように確実な方法とは言えない。加えて 3 倍体と 4 倍体の区別はこの方法では不可能である。これに対し、瀬崎らはギンブナ（瀬崎ほか、

Table 1. Ploidy of the crucian carp collected at each site.

No.	Collecting site	Year of collection	Number of specimens	Diploid (%)	Triploid (%)	Tetraploid (%)
1	Lake Tohro	1978	6	0 (0)	6 (100)	0 (0)
2	L. Akan	1979	31	4 (12.9)	20 (64.5)	7 (22.6)
3	L. Abashiri	1978	27	0 (0)	18 (66.7)	9 (33.3)
4	Tokoro River	1979	75	39 (52.0)	22 (29.3)	14 (18.7)
5	Shokotsu R.	1979	5	0 (0)	4 (80)	1 (20)
6	Teshio R.	1979	5	1 (20)	4 (80)	0 (0)
7	Rumoi R.	1979	2	0 (0)	2 (100)	0 (0)
8	Hamamasu R.	1979	25	16 (64)	9 (36)	0 (0)
9	Horikappu R.	1979	2	1 (50)	1 (50)	0 (0)
10	Toshibetsu R.	1979	50	14 (28)	36 (72)	0 (0)
11		1981	51	18 (35.3)	33 (64.7)	0 (0)
12		1981	60	42 (70)	18 (30)	0 (0)
13	Ponds in Okushiri Island	1981	113	7 (6.2)	106 (93.8)	0 (0)
14		1981	19	10 (52.6)	9 (47.4)	0 (0)
15		1981	119	1 (0.8)	118 (99.2)	0 (0)
16		1981	102	102 (100)	0 (0)	0 (0)
17		1981	48	48 (100)	0 (0)	0 (0)
18	Hime R.	1979	8	0 (0)	8 (100)	0 (0)
19	Ohno R.	1979	12	0 (0)	11 (91.7)	1 (8.3)
20	Kunebetsu R.	1979, 1981	77	4 (5.2)	73 (94.8)	0 (0)
21	L. Junsai	1977, 1979 1980, 1981	602	257 (42.7)	344 (57.1)	1 (0.2)
22	Atsuma R.	1980	28	5 (17.9)	23 (82.1)	0 (0)
23	L. Ohnuma	1980	37	11 (29.8)	26 (70.2)	0 (0)
24	L. Nakanuma	1980	30	8 (26.7)	22 (73.3)	0 (0)
		Total	1,534	588 (38.3)	913 (59.5)	33 (2.2)

1977) およびシマドジョウ (Sezaki and Kobayasi, 1978)において、倍数性と赤血球の長径が相関していることを明らかにし、赤血球の大きさから倍数性が判別できる可能性を示した。本報の結果も倍数性と赤血球の長径が良く相関していることを示しており、瀬崎らの結果を支持している。加えて本報に記した方法により、採血および塗沫標本の作成が著しく簡便化され、短時間に多数の試料を分析することが可能となった。各倍数性を分別するための境界値 $15 \mu\text{m}$ と $19 \mu\text{m}$ はあくまでも便宜的なもので、機械的に分類することは精度の上で問題が残されている。しかし染色体観察により倍数性が同定された 17 個体がこの境界値で全て矛盾なく分類されたことと、2 倍体に分類された個体には雄が半数近く出現しているのに対し、倍数体として分類された個体には雄が全く出現しなかった事実から判断して、本法によりかなりの精度で倍数性が判別されていることは疑いない。

倍数体フナは北海道に広く分布し、しかも 2 倍体に比べ個体数の上で優勢であることが明らかになつた。倍数体の大部分は 3 倍体から成り、4 倍体は個体数も少なく、比較的限られた地域、主として北海道東部に出現した。Liu et al. (1980) は全国のギンブナの倍数性を生化学的手法と赤血球法で調べ、倍数体が本邦に広く分布している可能性を示唆した。各地点での採集個体数は 12 尾以下と少ないが、合計でみると倍数体が 70% 以上を占め、この傾向は本結果と一致した。2 倍体と倍数体の比率は、採集地によりかなりの差がみられた。採集個体数が 30 以上と比較的多数捕獲された地点だけで比較しても、倍数体の比率は 0% から 99.2% までバラツキがみられた。この極端な例はいずれも奥尻島で観察された。倍数体の全く捕獲されなかった本島の 2 つの池沼では、これらのフナが人為的に移入されたキンギョの子孫である可能性が強く示唆されている (後藤ほか、1982)。従ってフナの自然分布している所には常に倍数体が生息しているものと考えられる。一方奥尻島 No. 15 沼では採集された 119 尾中実に 118 尾が 3 倍体であった。2 倍体の性比を 1:1 と仮定すると本沼の性比は雌 1,000 に対し雄 4 と極端に雌に傾いている。同時に 2 倍体の雌も全雌個体のうちの $4/1,000$ しか生息していないことになり、2 倍体同志の交配の機会は著しく妨げられると考えられる。このような情況下でどのようにして 2 倍体が維持されているかは興味深い問題である。

3 倍体集団および 4 倍体集団は元来両性生殖をしている 2 倍体集団から出現したことは疑いない。これら倍数体集団が生じる過程における 3 者の関係は、次の 3 つの関係のいずれかであろうと考えられる。1), 3 倍体集団

と 4 倍体集団はそれぞれ独自に別々の過程を経て 2 倍体集団から生じた。2), まず 2 倍体集団から雌性発生をする 4 倍体集団が出現し、通常は卵形成の過程で減数することなく $4n$ の卵を生ずるが、偶然に減数して $2n$ の卵が出来、これが n の精子と受精して 3 倍体集団が生じた。3), まず 2 倍体集団から雌性発生をする 3 倍体集団が出現し、 $3n$ を維持した卵の雌性前核は通常精子核と融合することはないが偶然に精子と受精して 4 倍体集団が生じた。小林は 2 倍体から直接 3 倍体または 4 倍体集団が出現する可能性を論じている (私信)。本研究の結果から仮説 1) について論ずることはできない。3 倍体が北海道全域に亘って普遍的に分布しているのに対し、4 倍体は非常に限られた地点でしか見い出されないという本研究の結果は少なくとも仮説 2) の可能性が小さいものであることを示唆している。

著者らは、雌性発生フナの組織移植によるクローリング解析中に 4 倍体と 3 倍体の 2 つのクローリングの間で、4 倍体のクローリングは 3 倍体の組織を受け入れるが、3 倍体のクローリングは 4 倍体の組織を拒絶する例を 1 例見出している (未発表)。この事実は 4 倍体のクローリングは 3 倍体の持つゲノムを全て有しているが、3 倍体は 4 倍体の持つゲノムの一部を有していないことを示している。すなわち 3 倍体の卵の雌性前核が偶然に精子核と合体して 4 倍体を生じたことを強く示唆している。従って自然界の 4 倍体の中には、このようにして生じたものが含まれていることは疑いない。しかしながらこの事実は 4 倍体の中に直接 2 倍体から生じたものが含まれている可能性を否定するものではない。また、3 倍体がどのようにして生じたかについては現在のところ全く不明であり、この点に関しては今後の研究にまたなければならない。

謝 辞

原稿の御校閲を頂いた北海道大学水産学部濱田啓吉教授ならびに川崎文雄助教授に厚くお礼申し上げる。また本研究に種々の御協力を頂いた奥尻島郷土館設立準備委員会、委員長佐藤忠雄氏、奥尻島教育委員会泉沢克尚氏、および材料の採集に御協力を頂いた大沼漁業協同組合安保富雄氏、阿寒湖漁業協同組合の各位および酒井治己氏をはじめとする本学部発生学遺伝学講座の大学院生諸氏に謝意を表する。

引 用 文 献

- Cherfas, N. B. 1966. Natural triploidy in females of the unisexual form of silver carp (*Carassius auratus*

- gibelio* Bloch). *Genetika*, (5): 16~24.
- 後藤 晃・小野里 坦・酒井治巳・高田啓介・山羽悦郎. 1982. 北海道奥尻島の淡水魚相とその起源. 展示基礎資料研究報告, (1): 1~18, pl. 1. 奥尻町教育委員会.
- 小林 弘: 1971. 3 倍体ギンブナの gynogenesis に関する細胞学的研究. 動物学雑誌, 80(9): 316~322.
- 小林 弘. 1976. 3 倍体ギンブナの卵形成における成熟分裂の細胞学的観察. 魚類学雑誌, 22(4): 234~240.
- 小林 弘. 1982. 日本および日本周辺地域の倍数体ブナの分布. 日本女子大紀要, (29): 145~161.
- 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.
- 小林 弘・中野和枝・中村守純. 1977. キンブナ雄との交配により生じた4倍体ギンブナの仔魚とその染色体について. 日本国水産学会誌, 43(1): 31~37.
- 小林 弘・越智尚子. 1972. キンブナとドジョウの精子の媒精により生じた3倍体ギンブナの仔魚の染色体について. 動物学雑誌, 81(1): 67~71.
- 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.
- Liu, S.-M., K. Sezaki, K. Hashimoto, H. Kobayashi and M. Nakamura. 1978. Simplified techniques for determination of polyploidy in ginbuna *Carassius auratus langsdorfi*. Bull. Japan. Soc. Sci. Fish., 44 (6): 601~606.
- Liu, S.-M., K. Sezaki, K. Hashimoto and M. Nakamura. 1980. Distribution of polyploids of Ginbuna *Carassius auratus langsdorfi* in Japan. Bull. Japan. Soc. Sci. Fish., 46 (4): 413~418.
- 前川文夫. 1969. 植物の進化を探る. 岩波書店, 東京. 204 pp.
- 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., 149 pls.
- Ohno, S., J. Muramoto, L. Christian and N. B. Atkin. 1967. Diploid-tetraploid relationship among old-world members of the fish family Cyprinidae. Chromosoma, 23 (1): 1~9.
- 小野里 坦. 1981. 魚類の雌性発生. 水産育種, (6): 11~18.
- Raicu, P., E. Taisescu and P. Banarescu. 1981. *Carassius carassius* and *C. auratus* a pair of diploid and tetraploid representative species (Pisces Cyprinidae). Cytologia, 46 (1/2): 233~240.
- Sezaki, K. and H. Kobayashi. 1978. Comparison of erythrocytic size between diploid and tetraploid in spinous loach, *Cobitis biwae*. Bull. Japan. Soc. Sci. Fish., 44 (8): 851~854.
- 瀬崎啓次郎・小林 弘・中村守純. 1977. 2倍体および3倍体ギンブナの赤血球径の比較. 魚類学雑誌, 24 (2): 135~140.
- (小野里: 041 函館市港町 3-1-1 北海道大学水産学部; 烏澤: 085 鉢路市浜町 2-6 北海道立鉢路水産試験場; 草間: 160 東京都新宿区西新宿 2-1-1 新宿三井ビル内国際協力事業団)