

# 雌カゼトゲタナゴと雄ヒマンテグスの 雑種 (タナゴ亜科魚類) に見られた 三倍体化による生存性回復

The Recovery of Viability by Triploidization in the Hybrid between Female *Rhodeus atremius fangi* and Male *Tanakia himantegus chii* (Pisces, Acheilognathinae)

上田 高嘉  
UEDA Takayoshi

Hybrids between female *Rhodeus atremius fangi* ( $2n=46$ : 4 submetacentrics and 42 subtelocentrics) and male *Tanakia himantegus chii* ( $2n=48$ : 8 metacentrics, 20 submetacentrics, 18 subtelocentrics and 2 acrocentrics) were obtained artificially. Half of them were treated with cold-shock 10 minutes after fertilization. Air-dried chromosome slides of hybrids were obtained from gastrula cells. In the untreated group, the hybrids analyzed had the intermediate karyotype between the parents with 47 chromosomes consisted of 4 metacentrics, 12 submetacentrics, 30 subtelocentrics and 1 acrocentrics, and all hybrids observed died at the around hatching stage. In the treated group, the hybrids analyzed had the triploid karyotype, including 2 maternal and 1 paternal genomes, with 70 chromosomes consisted of 4 metacentrics, 14 submetacentrics, 51 subtelocentrics and 1 acrocentrics. All fries observed in the treated group could swim, and three of them grew to be adult size appearance. The recovery of viability by triploidization in this hybrid was found.

キーワード： タナゴ亜科魚類, 雑種, 異質三倍体, 生存性回復, 全三倍体生産

魚類での雑種研究は育種における有用魚生産を目的に古くから盛んに進められてきた。種間の類縁関係の推定にもヒントを与えてきた。

上田 (1993)<sup>1)</sup> は、サケ科魚類を中心とした核型比較から、種はそれぞれ特有の核型を持っており、また種間の核型は不連続的關係にあるとし、核型進化は短期間にダイナミックに引き起こされるものと推定している。そして、核型進化を染色体異常の一つの現れとして受け取り、核型進化を引き起こす要因として雑種形成等によって生じる染色体異常に注目している (上田 1993)<sup>1)</sup>。

タナゴ亜科魚類は世界には約60種・亜種、日本には3属16種・亜種が生息するとされているが、その生息数は著しく減少し、多くは絶滅の危機に瀕しており、生息環境の保全活動が各地で進められている。保全活動を行うに当たり生息数減少の原因を明らかにすることは重要である。水質汚染、河川改修等による生息環境の悪化の他に、何らかの原因で新たに侵入した外来タナゴ亜科によって在来種の繁殖が脅かされることも原因のひとつとされている。タナゴ亜科は淡水二枚貝に産卵するという特殊な生態を持つが、産卵母貝の争奪もあれば雑種が生じることに因る個体数の減少も指摘されている。

著者は、核型進化機構の解明および種の保存・保護の目的で、また有用魚生産へのヒントを得よう

として、人工的に種々の掛け合わせを行い核型分析を進めている。

サケ科の雑種において、ニジマス雌とカワマス雄の雑種ように (Ueda et al. 1984)<sup>2)</sup>、両親の中間の二倍性雑種では致死であるが、三倍性(雌ゲノムが2・雄ゲノムが1)になると生存性を回復する組み合わせがある。サケ科を中心に三倍体魚は産業的に定着しているが、染色体倍加処理による三倍体生産において処理を免れた二倍体が混じり三倍体作出が100%にならないことが悩みのひとつになっている。ニジマス雌とカワマス雄のような組み合わせの雑種を利用すれば全(100%)三倍体生産は可能になり、水産育種的には意義深い。これまでにタナゴ亜科ではそれに類する報告はない。

この度、タナゴ亜科の雑種染色体の研究を進める中で、二倍体致死で三倍体になると生存性が回復する雌カゼトゲタナゴ *Rhodeus atremius fangi* と雄ヒマンテグス *Tanakia himantegus chii* の組み合わせが認められ、ここに報告させていただく。

## 材料および方法

中国福建省産の雌カゼトゲタナゴ *Rhodeus atremius fangi* を1個体、中国上海産の雄ヒマンテグス *Tanakia himantegus chii* 1個体を親魚として用いた。日を変えて2回(IおよびII群)、産卵管の伸びた雌の腹部を圧して20個ずつ未受精卵を採取し、媒精した後に20℃で吸水した。その後20℃の汲み置き水中で発生させた。それぞれの群において、半分の10卵は吸水10分後に0℃の水で1時間低温染色体倍加処理を行った。

それぞれの群において、染色体倍加処理および無処理群の5個体ずつについて、吸水約18時間後の原腸胚前期の胚から以下の方法により染色体分析を行った。

- ① 卵膜と卵黄を除いた胚細胞塊を0.5mlの培養液(Eagle's MEM培地+5%牛胎仔血清+15mM HEPES+0.005%コルヒチン、pH7に調整)が入った1本のマイクロチューブ(1.5ml用)に移し、約1時間室温(約25℃)で静置した。
- ② 1200rpmで7分間遠心後に上澄みを捨て、1mlの0.6%クエン酸ナトリウム水溶液を加え、チップで穏やかに攪拌し、2~3分間室温で静置した。
- ③ 1:3の酢酸-エタノールを0.5ml加え、チップで穏やかに攪拌した後、1200rpmで7分間遠心した。
- ④ 上澄みを捨て、1:3の酢酸-エタノールを1.5ml加え、チップで穏やかに攪拌した後、1200rpmで7分間遠心した。
- ⑤ 上澄みを捨て、少量の1:1の酢酸-エタノールを加え、チップで穏やかに攪拌した後、スライドガラス上に1滴落とし、自然乾燥させた。
- ⑥ ゼーレンゼンの燐酸緩衝液(pH5.8)で5%にしたギムザ液で5~10分間染色した。
- ⑦ 600~1000倍の光学顕微鏡下で観察を行った。

親魚については、腎臓細胞から直接法によって染色体標本を作製し、上記の胚細胞からの方法と同様に染色体の観察を行った。

各々の個体について良質の細胞分裂中期像各15個ずつ染色体分析を行った。染色体の分類はLevan, Fredga and Sandberg (1964)<sup>3)</sup>の方法に従った。

## 結果および考察

雌親カゼトゲタナゴの染色体数は $2n=46$ で、サブメタセントリック(SM)染色体が4本、サブテロセントリック(ST)染色体が42本であった(Fig. 1)。2対のSM染色体には付随体が顕著である。この

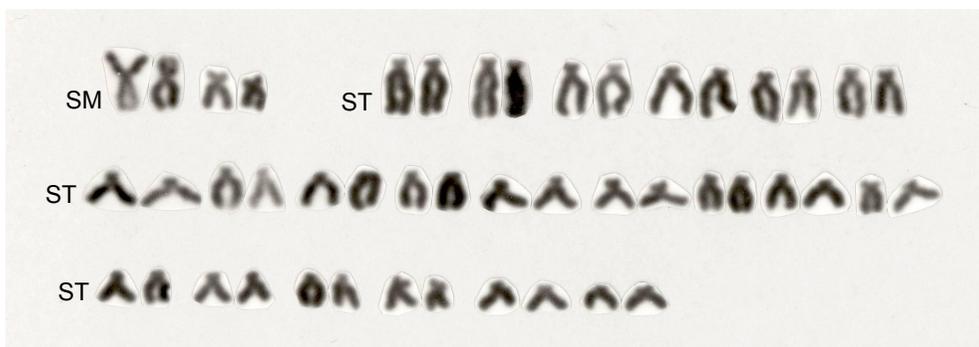


Fig. 1. The karyotype of *Rhodeus atremius fangi*.  $2n=46$ : 4SM and 42ST chromosomes.

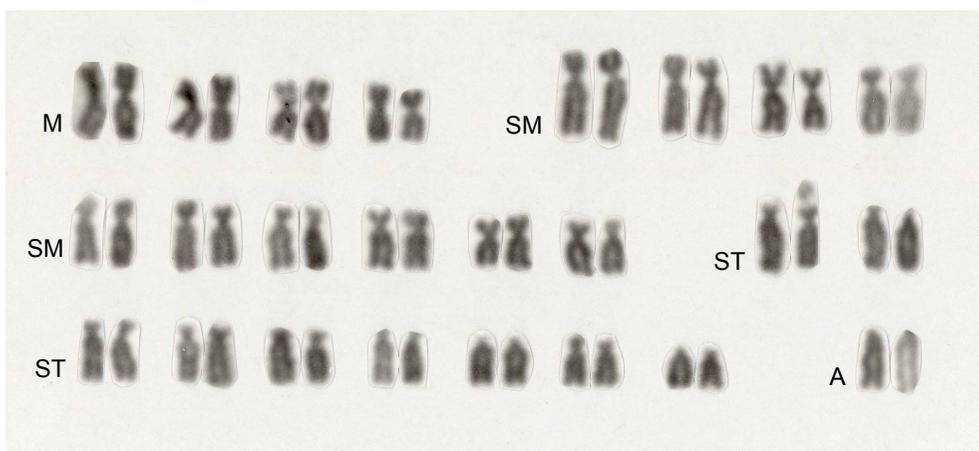


Fig. 2. The karyotype of *Tanakia himantegus chii*.  $2n=48$ : 8M, 20SM, 18ST and 2A chromosomes.

核型は既報に一致した (Ueda, Naoi and Arai, 2001)<sup>4)</sup>。この  $2n=46$  (4SM + 42ST) の核型は、他のタナゴ亜科の  $2n=48$  (8M + 20SM + 20ST + A) も含めほとんどのコイ科が示すような M・SM に富む核型とは大きく異なる。 $2n=46$  のタナゴ亜科は日本の他、中国大陸の北から南まで広く生息が認められているが、確認されている染色体構成は 4M・SM + 42ST・A の一つだけである (小島・上野・林, 1973<sup>5)</sup>; Ueda, 2007<sup>6)</sup>)。

雄親ヒマンテグスの染色体数は  $2n=48$  で、メタセントリック (M) 染色体が 8 本、SM 染色体が 20 本、ST 染色体が 18 本、アクロセントリック (A) 染色体が 2 本であった (Fig. 2)。付随体を持つ大きい目の 1 対の ST 染色体および 1 対の A 染色体が特徴的であった。既報 (Ueda et al., 2006)<sup>7)</sup> に一致した。

無処理群では I 群、II 群とも、孵化前後に全て死亡し、孵化した個体でも遊泳が確認できたものはいなかった。I 群、II 群とも原腸胚前期での染色体数は 47 本で、M 染色体が 4 本、SM 染色体が 12 本、ST 染色体が 30 本、A 染色体が 1 本であった (Fig. 3)。付随体を持った 2 本の SM 染色体はカゼトゲタナゴ由来、4 本の M 染色体、付随体を持つ 1 本の ST 染色体および 1 本の A 染色体はヒマンテグス由来であると認められ、両親の中間の核型と結論した。

染色体倍加処理群では I 群、II 群とも、全ての個体が孵化し、さらに遊泳が確認できた。I 群の 3 個体および II 群の 4 個体は餌を食べ、さらに I 群の 1 個体および II 群の 2 個体は親魚サイズまで生長した。I 群、II 群とも原腸胚前期での染色体数は 70 本で、M 染色体が 4 本、SM 染色体が 14 本、ST

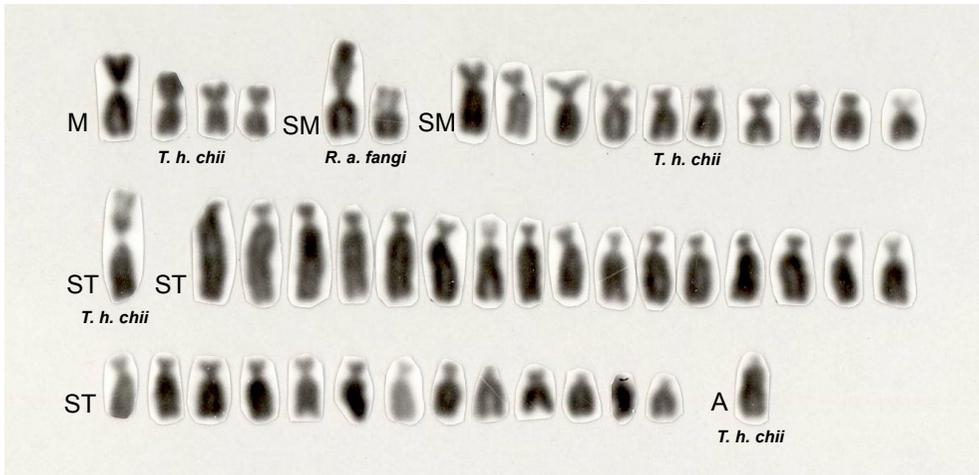


Fig. 3. The karyotype with 47 chromosomes of a diploid-type hybrid between female *Rhodeus atremius fangi* and male *Tanakia himantegus chii*. 4M, 12SM, 30ST and 1A chromosomes.

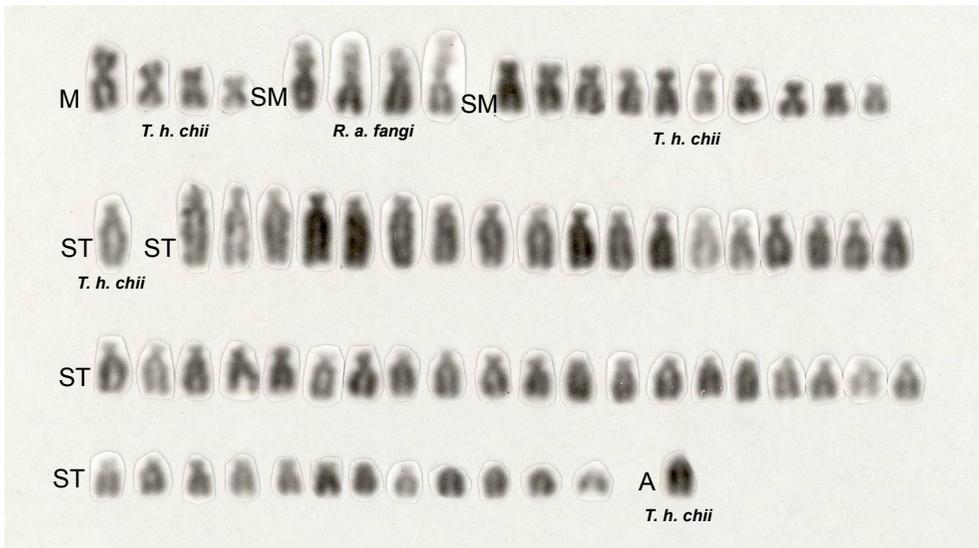


Fig. 4. The karyotype with 70 chromosomes of a triploid-type hybrid between female *Rhodeus atremius fangi* and male *Tanakia himantegus chii*. 4M, 14SM, 51ST and 1A chromosomes.

染色体が51本、A染色体が1本であった (Fig. 4)。付随体を持った2対のSM染色体はカゼトゲタナゴ由来、4本のM染色体、付随体を持つ1本のST染色体および1本のA染色体はヒマンテグス由来であると認められ、雌親カゼトゲタナゴのゲノムを2つ、雄親ヒマンテグスのゲノムを1つ持つ異質三倍体と結論した。

以上の結果から、この組み合わせの雑種では、三倍体化により生存性が回復されるものと考えられた。ニジマス雌とカワマス雄の雑種と同様に全(100%)三倍体生産の可能性が示唆された。三倍体化による回復の理由については、雌親ゲノムが1つ加わることによる遺伝子産物を量的に補うこと、また雌親が持つ致死に関わる劣性の遺伝子がホモ化で不活性になることなどが考えられるが、明らかではない。

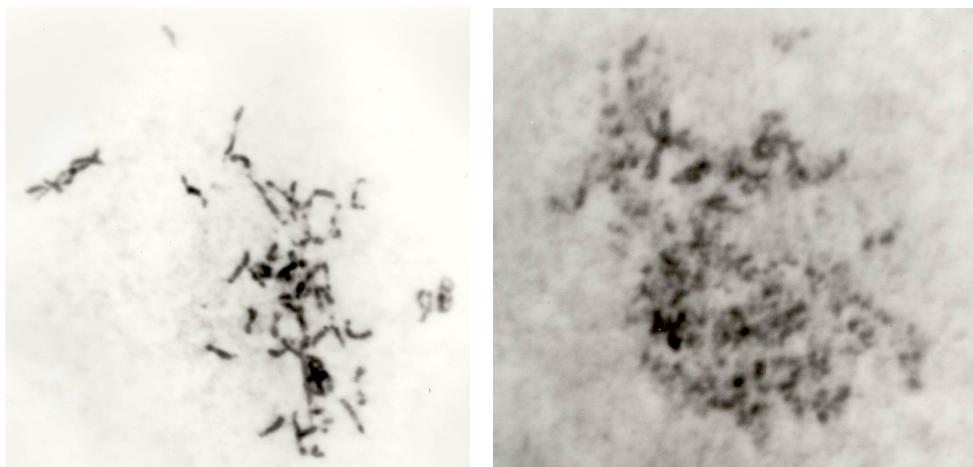


Fig. 5. Two metaphase figures with structural chromosomal aberrations.

I 群において、無処理群中の 2 個体については 13 ~ 20% (2/15, 3/15) の中期像に、染色体倍加処理群中の 1 個体については約 13% (2/15) の中期像に染色体構造異常が認められた (Fig. 5)。染色体構造異常の出現が両亜種の細胞質と染色体の不和合性に起因することも考えられるが、II 群の個体の中には染色体異常は認められず、I 群に用いた卵が過熟気味であったことに因るとも推定されるが、明確なものではない。

### 要約

雌カゼトゲタナゴ *Rhodeus atremius fangi* (2n=46; 4SM + 42ST) と雄ヒマンテグス *Tanakia himantegus chii* (2n=48; 8M + 20SM + 18ST + 2A) から人工的に雑種を得た。受精卵の半数に低温染色体倍化処理を受精直後に行った。原腸胚から染色体標本を作製し、無処理群では染色体数が 47 本で両親の中間の核型 (4M + 12SM + 30ST + 1A) を持ち、染色体倍加処理群では染色体数が 70 本で雌ゲノム 2 つ、雄ゲノム 1 つの三倍体の核型 (4M + 14SM + 51ST + 1A) を持つことが認められた。無処理群では孵化前後に全て死亡し、染色体倍加処理群では全ての個体が孵化し、さらに遊泳が確認できた。さらに数個体ではあるが親魚サイズまで生長した。この組み合わせの雑種では、三倍体化により生存性が回復されるものと考えられた。

### 謝辞

*Rhodeus atremius fangi* および *Tanakia himantegus chii* の採集には上海水産大学の伍漢霖教授並びに鐘俊生教授に一方ならずお世話いただきました。本研究の一部は科学研究費補助金 (B(2)10041156, B(1)12575009) により行いました。ここに厚く御礼申し上げます。

### 文献

- 1) 上田高嘉, 生物科学 45: 182-186 (1993).
- 2) T. Ueda, Y. Ojima, R. Sato and Y. Fukuda, Bull. Japan. Soc. Sci. Fish. 50: 1331-1336 (1984).
- 3) A. Levan, K. Fredga and A. A. Sandberg, Hereditas 52: 201-220 (1964).
- 4) T. Ueda, H. Naoi and R. Arai, Genetica 111: 423-432 (2001).

- 5) 小島吉雄・上野紘一・林真, 動物学会誌 82: 171-177 (1973).
- 6) T. Ueda, In E. Pisano, C. Ozouf-Costaz and F. Foresti, eds. Fish Cytogenetics. Science Publishers, Inc. U. S. A., 3-16 (2007).
- 7) T. Ueda, K. Iijima, H. Naoi, R. Arai, T. Ishinabe and S R. Jeon, Cytologia 71: 251-255 (2006).