

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

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種ドジョウ雌×キンギョ雄およびドジョウ雌×タモロコ雄では、生じた仔魚のほとんどは体躯の矮小、湾曲等の奇形を示し、摂餌に到らず死亡した。例外的に生存した個体はすべてドジョウとなった。染色体観察の結果、前者はドジョウ ($2n=50, 10m+4sm+36st, a$) とキンギョ ($2n=100, 12m+36sm+52st, a$) の中間の染色体数 ($2n=75$) と核型 ($11m+20sm+44st, a$) を示し、両親種の染色体を1セットずつもつ二倍性雑種であった。後者もドジョウとタモロコ ($2n=50, 12m+32sm, st+6a$) の中間の核型 ($2n=50, 11m+21sm, st+18a$) を示したことから、二倍性雑種と判定できた。交雑の直後、低温あるいは圧力処理を加え第2極体放出阻止を試みた。染色体観察よりこれら処理より生じる胚の多くは異質三倍体であることが判った。異質三倍体化により、奇形の程度は緩和されたが、生残個体は得られなかった。

キーワード: 異質三倍体, キンギョ, 雑種, 染色体, タモロコ, ドジョウ

緒 言

交雑とは異種間の受精であり、その結果得られる子孫で生育可能なものは、両親種由来の染色体を1組ずつもつ典型的な二倍性雑種となることが多いが (MAKINO *et al.*, 1958; SASAKI *et al.*, 1968; ARAI, 1984; YAMAZAKI *et al.*, 1987; KASAMA and KOBAYASHI, 1987; 1988; 1989A), 雌性発生 (UYENO, 1972; STANLEY, 1976), 雄性発生 (STANLEY, 1976), 倍数性 (CAPANNA *et al.*, 1974; MARIAN and KRASZNAI, 1978; BECK and BIGGERS, 1982; UEDA *et al.*, 1984) が生じる例もある。属間の致死性交雑では、子孫が二倍性雑種になる場合と異数体となる場合があり (ARAI, 1984), 異数性は父系染色体の核外への排除により起こることが報告されている (UEDA *et al.*, 1990)。科間以上の遠縁の雑種はすべて致死性であるが (SUZUKI, 1968), その遺伝学的検討例としては、古典的細胞学的手法で *Menidia* と *Fundulus* 間の雑種等の初期胚における染色体行動の異常を見た MOENKAUS (1904), MORRIS (1914), PINNEY (1918, 1922, 1928) の研究, またドジョウ *Misgurnus anguillicaudatus* × キンギョ *Carassius auratus* の交雑において発生速度, 細胞核径, 筋肉数を指標として雑種性を示唆した鈴木 (1953) の研究および古典的細胞遺伝学的手法で核型を調べ、フナ *C. carassius* × ドジョウが二倍性雑種であることを示した KOBAYASHI (1965) の研究がある。

致死性であっても核型が両親種の中間となる子孫では、受精直後の第2極体放出阻止により異質三倍体化すると、生存性が回復し正常に発育、成長する例がサケ・マス類の属間雑種で知られている (CHEVASSUS *et al.*, 1983; SCHEERER and THORGAARD, 1983; ARAI, 1984; 1986; 1988; UEDA *et al.*, 1984; SEEB *et al.*, 1988; YAMANO *et al.*, 1988)。コイ科の属間雑種では自発的に極体放出阻止が生じ生存性の異質三倍体が生じた例がある (MARIAN and KRASZNAI, 1978; BECK and BIGGERS, 1982; KASAMA and KOBAYASHI, 1989B)。この様なことが可能であれば類縁の遠い種の遺伝形質を雑種にとりこむことができる。しかし、現在までに致死性科間雑種について人為的な異質三倍体を誘起し、その生存性への影響を見た例は見あたらない。

本研究では、致死性が報告されているドジョウ科-コイ科の交雑のうちドジョウ雌×キンギョ雄 (鈴木, 1953; SUZUKI, 1968) およびドジョウ雌×タモロコ *Gnathopogon elongatus elongatus* 雄 (SUZUKI, 1968) の組合せを選び、交雑を実施した。そして、発生胚の染色体を観察することにより、これらが典型的な二倍

体雑種であるか否かを検討した。さらに、これらの組合せについて圧力および低温処理を用いた第2極体放出阻止による異質三倍体化を試み、この操作が致死科間雑種に与える影響を観察した。

材料と方法

通常二倍体ドジョウ *Misgurnus anguillicaudatus* (略号L) は、広島県内美波羅川および水田用水路より採集した。キンギョ *Carassius auratus* (略号G) は市販のワキンを学内水槽で飼育したものを使用した。タモロコ *Gnathopogon elongatus elongatus* (略号M) は広島県内黒瀬川で採集した。ドジョウの人為排卵およびドジョウ、キンギョ、タモロコの希釈精液の作製は、ARAI *et al.* (1993) に拠った。交雑はドジョウ卵とキンギョあるいはタモロコの精子との間で行った (L×G, L×M)。対照としてドジョウ同士の交雑を行った (L×L)。これらの受精卵中処理を行わない群は20℃の淡水を入れた容器に収容した。処理を加える卵はガラス板 (18×2.7 cm) に付着させ、処理開始まで25℃の淡水中に静置した。

圧力処理 (PS) は、SUWA *et al.* (1994) に基づき、受精後5分にガラス板に付着した卵をフレンチプレスのシリンダー内に入れ、700 kg/cm² の圧力を1分間加えた。低温処理 (CS) は SUZUKI *et al.* (1985) に従い、卵を付着したガラス板を1℃の淡水中に30分間浸漬した。処理後、受精卵を入れた容器中 (25℃) に静置した。

交雑および処理 (PC, CS) 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日の生残数を調査し、使用卵数に対する割合で生残率を表した。換水は毎日行った。胚体形成が明らかになる時期 (受精後16時間) に胚を採取し、KUSUNOKI *et al.* (1994) に従って染色体標本を作製した。交配に用いたキンギョおよびタモロコの染色体標本は培養した鱭細胞を用いて作製した。すなわち MEGURO *et al.* (1991) の方法に従い鱭細胞を洗浄後、Eagle-MEM 培地に細胞を浮遊させ、牛胎児血清を10-20%添加した後全液量を5 ml とし、25℃で培養した。培養5日目に 10 µg/ml コルヒチンを 0.1 ml 加え2時間静

Table 1. Survival rates in hybridizations between female loach (L) and male goldfish (G) and their cold (CS) or pressure (PS)-treated groups.

Exp #	Cross ^{a)} Female× Male	No. of eggs used	Survival (%)			
			Gastrula 12h ^{b)}	Hatch 3 days ^{b)}	Fry 7 days ^{b)}	Fry 14 days ^{b)}
1036	L×L	216	88.9	77.3	75.5	ND ^{c)}
	L×L·CS	229	78.2	67.7	65.1	ND ^{c)}
	L×G	360	48.1	36.9	24.7	0.0
	L×G·CS	400	67.0	50.0	29.5	0.0
1048	L×L	489	95.9	60.1	57.3	44.2
	L×L·PS	486	91.6	81.7	75.9	33.3
	L×G	667	92.8	57.0	37.5	0.0
	L×G·PS	378	91.5	24.9	4.8	0.5
2058	L×L	406	80.9	75.6	75.1	74.1
	L×L·PS	492	87.4	70.9	52.0	33.1
	L×G	630	93.0	80.5	15.2	0.0
3028	L×G·PS	996	76.7	59.9	22.7	0.0
	L×L	474	63.2	62.4	55.6	53.4
	L×L·PS	241	61.3	58.9	49.8	31.1
	L×G	398	48.7	32.7	21.1	4.8
	L×G·PS	569	44.4	10.0	4.2	0.4

a) See text.

b) h or days after fertilization.

c) Surviving, but no data.

置後、生理的塩類溶液で5回洗浄し、トリプシンを加え遊離した細胞を回収、さらに 0.067 mol KCl で15分間低張処理後、カルノア液で固定した。そして、空気乾燥法により標本としてギムザ染色後、観察に供した。核型分析は LEVAN *et al.* (1964) の基準に拠った。

結 果

ドジョウ雌×キンギョ雄雑種の生存性 ドジョウ (L) とキンギョ (G) の交雑およびこれら受精卵の低温 (CS) あるいは圧力処理 (PS) の結果を Table 1. に示す。対照 L×L は60-77%の孵化率を示し、孵化仔魚の形態は正常であった (Fig. 1A.)。受精後14日においても44%以上の仔魚が生残し、これらは摂餌を開始し、その後も多くが生残した。倍數化処理を加えた L×L・PS の孵化率、孵化後生残率とも対照より

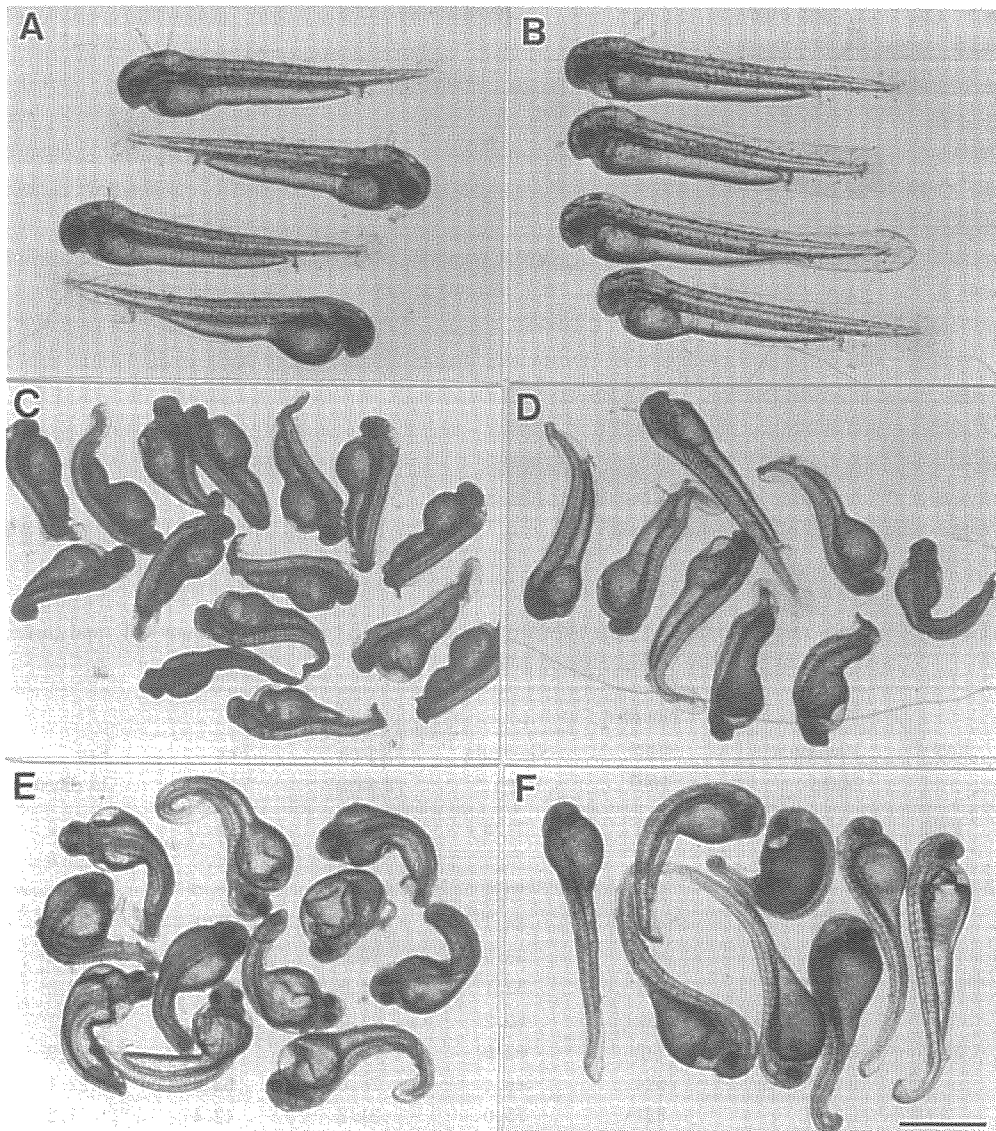


Fig. 1. External appearance of hatched fry from L×L (A), L×L・PS (B), L×G (C), L×G・PS (D), L×M (E) and L×M・PS group (F). Scale indicates 1 mm.

も低下する傾向があったが、孵化仔魚の形態は正常であった (Fig. 1B.)。これらも摂餌後生残した。

科間交雑ドジョウ (L) 雌×キンギョ (G) 雄は、33-81%の孵化率を示し、対照より高い例もあったが、孵化仔魚はごく少数の例外を除き体躯の矮小、体軸の湾曲、小頭、小眼、浮腫を示す奇形であった (Fig. 1C.)。低温あるいは圧力を加えた L×G・CS および L×G・PS では孵化率は10-60%とさらに低下し、ごく少数の例外を除き、受精後14-18日までにすべて死亡した。孵化仔魚の形態はL×Gに比較すると、体軸が伸長し、体躯の大きい仔魚が生じ、外見的には奇形の程度は緩和されたように見えた (Fig. 1D.)。L×Gおよび L×G・PS において例外的に生じた正常仔魚を、その後2ヶ月飼育したところ、これらはすべてドジョウとなった。

ドジョウ雌×タモロコ雄雑種の生存性 ドジョウ (L) とタモロコ (M) 間の交雑およびこれらの低温 (CS) および圧力処理 (PS) の結果を Table 2. に示す。対照交配L×Lは、L×Gの場合の対照と同様いづれも良好な孵化率 (43-79%) を示し、生じた正常仔魚は摂餌を開始し、その後も生残した。倍化处理区 L×L・CS, L×L・PS の孵化率は51-78%を示し、対照同様、孵化仔魚は正常で、摂餌を開始し受精後14日の時点でも22-39%が生残した。

科間交雑ドジョウ (L) 雌×タモロコ (M) 雄では、対照に比較して孵化率は低く (22-50%)、仔魚は小頭、小眼、浮腫、体の矮小、湾曲を示す奇形 (Fig. 1E.) であった。これらは受精後14日の時点でごく少数が生残したが、その直後、すべて死亡した。倍化处理を加えた L×M・CS および L×M・PS 区の孵化率は低く (10-47%)、仔魚は外見的異常を示したが、L×Mに比較すると体軸が伸長し、体躯も大きく、奇形の程度に改善が見られた (Fig. 1F.)。

染色体構成 対照と科間交雑およびこれらの低温あるいは高温処理区に生じた胚の染色体数計数結果を Table 3. に、それらの典型的核型をキンギョ、タモロコのそれとともに Table 4. に示す。

対照L×Lは観察した合計43個体において $2n=50$ を示し、その核型は中部着糸型5対、次中部着糸型2対、次端部一端部着糸型18対より構成され、OJIMA and TAKAI (1979) および ARAI *et al.* (1991) の結果に一致した。これらの圧力処理区 L×L・PS は、少数の二倍体胚、異数体が生じたほかは、 $3n=75$ を示し、その核型は中部着糸型15本、次中部着糸型6本、次端部一端部着糸型54本の染色体より構成され、ドジョウ染色体3セットをもつ同質三倍体であった。低温処理区 L×L・CS では観察胚数が少ないこともあり、三倍化を確認できなかったが、圧力処理は効果的に三倍体を誘起した。

交雑の雄としたキンギョの染色体を観察したところ、染色体数は $2n=100$ (Fig. 2A.)、核型は中部着糸

Table 2. Survival rates in hybridizations between female loach (L) and male minnow (M) and their cold (CS) or pressure (PS)-treated groups.

Exp #	Cross ^{a)} Female× Male	No. of eggs used	Survival (%)			
			Gastrula 12h ^{a)}	Hatch 3 days ^{a)}	Fry 7 days ^{a)}	Fry 14 days ^{a)}
1031	L×L	323	71.8	66.9	64.1	47.0
	L×M	231	74.5	49.8	2.2	0.0
	L×M・CS	293	22.5	9.9	2.7	0.0
2036	L×L	464	54.7	43.1	40.3	31.5
	L×L・PS	492	58.5	50.6	46.7	38.8
	L×M	603	52.1	21.9	0.7	0.2
3017	L×M・PS	822	60.2	21.4	0.9	0.1
	L×L	542	83.6	78.8	70.1	58.9
	L×L・PS	624	86.4	78.0	63.0	22.1
	L×M	837	75.0	31.2	13.4	1.2
	L×M・PS	698	74.2	47.0	23.9	1.7

^{a)} See foot-notes in Table 1.

Table 3. Chromosome numbers in parental crosses (loach × loach), hybridization (loach × goldfish, loach × minnow) and their cold (CS) or pressure (PS)-treated groups.

Exp #	Cross ^{a)} Female × Male	Total embryos	Chromosomes			
			50	75	100	aneuploidy
1036	L×L	9	9	0	0	0
	L×L · CS	2	2	0	0	0
	L×G	12	0	12	0	0
	L×G · CS	8	0	2	6	0
1048	L×L	5	5	0	0	0
	L×L · PS	15	0	15	0	0
	L×G	8	0	7	1	0
2058	L×G · PS	14	0	4	8	2 ^{b)}
	L×L	9	9	0	0	0
	L×L · PS	4	1	2	0	1 ^{c)}
3028	L×G	11	0	11	0	0
	L×G · PS	8	0	1	7	0
	L×L	7	7	0	0	0
	L×L · PS	10	0	9	0	1 ^{d)}
2036	L×G	10	0	10	0	0
	L×G · PS	10	0	1	8	1 ^{e)}
	L×L	7	7	0	0	0
	L×L · PS	7	1	6	0	0
3017	L×M	13	10	0	0	3 ^{f)}
	L×M · PS	10	0	10	0	0
	L×L	6	6	0	0	0
	L×L · PS	6	1	5	0	0
	L×M	14	11	3	0	0
	L×M · PS	4	0	4	0	0

^{a)} See text.

^{b)} Hypotriploids, chromosome number 48-60, 50-58.

^{c)} Hypotriploid, chromosome number 66.

^{d)} Hypo- to hypertriploid, chromosome number, 54-80.

^{e)} Hypotriploid, chromosome number, 50-69.

^{f)} Hypotriploid, chromosome number 55-70 and hypodiploid, chromosome number, 31-52, 34-40.

型6対, 次中部着糸型18対, 次端部一端部着糸型26対の染色体より構成されており (Fig. 2B.), OJIMA and HIROTSUMACHI (1967) の報告と一致した。タモロコの染色体を観察したところ染色体数は $2n=50$ (Fig. 2C.), 核型は中部着糸型6対, 次中部一次端部着糸型16対, 端部着糸型3対の染色体より構成されており (Fig. 2D.), OJIMA *et al.* (1972) および KASAMA and KOBAYASHI (1987) の結果と一致した。

ドジョウ (L) 雌×キンギョ (G) 雄では, 観察した合計41胚中40胚が $2n=75$ の染色体数を示し (Fig. 3A.), その核型は中部着糸型11本, 次中部着糸型20本, 次端部一端部着糸型44本の染色体より構成されており (Fig. 3B.), 染色体数, 核型ともに両親種の間となった。従って科間雑種 L×G は, 両親種の染色体を1セットずつ有する二倍体雑種である。しかし, この他1個体は染色体数100を示した。

圧力処理を加えた L×G · PS 区では, 観察した40胚中29胚が染色体数 $3n=100$ を示し (Fig. 3C.), その核型は, 中部着糸型16本, 次中部着糸型22本, 次端部一端部着糸型62本の染色体より構成され (Fig. 3D.), ドジョウの染色体2セットとキンギョ染色体1セットの合計に一致した。従って, これらは異質三倍体であ

Table 4. Typical chromosome number and karyotype detected in intraspecific cross (loach × loach), interfamilial crosses (loach × goldfish and loach × minnow), their triploidized groups (PS) and adult paternal species (goldfish, minnow).

Cross ^{a)} or Species	Chromosome number	Karyotype ^{b)}					Ploidy
		m	sm	sm-st	st-a	a	
L×L	50	10	4	—	36	—	2n
L×L·PS	75	15	6	—	54	—	3n
L×G	75	11	20	—	44	—	2n
L×G·PS	100	16	22	—	62	—	3n
L×M	50	11	—	21	—	18	2n
L×M·PS	75	— ^{c)}	— ^{c)}	— ^{c)}	— ^{c)}	— ^{c)}	3n
Goldfish	100	12	36	—	52	—	2n
Minnow	50	12	—	32	—	6	2n

a) See text.

b) m, metacentric; sm, submetacentric; sm-st, submeta-subtelocentric; st-a, subtelo-acrocentric; a, acrocentric.

c) No karyological analysis.

った。しかし、残り8個体は、二倍体雑種 (2n=75) であり、さらに3個体の異数体が生じた。

ドジョウ (L) × タモロコ (M) では、観察した27胚中21胚が 2n=50 (Fig. 4A.) を示した。その核型は中部着糸型11本、次中部一次端着糸型21本、端着糸型18本の染色体より構成されており (Fig. 4B.)、これらはドジョウとタモロコの染色体1セットずつを受け継いだ二倍体雑種であった。L×Mではこの他に3個体の染色体断片を含む異数体と3個体の染色体数75を示す個体が生じた。後者は、後述の L×M·PS 区に生じた胚と同様、異質三倍体であった。

圧力処理を加えた L×M·PS 区では、染色体標本の状態が悪く、正確な計数は困難であったが、観察した14個体全てが染色体数75あるいはその近くの数を示したことから (Fig. 4C.)、これらは、ドジョウの染色体2セット、タモロコの染色体1セットを有するものと推定できた。

考 察

ドジョウ雌とキンギョ雄およびドジョウ雌とタモロコ雄の科間交雑では鈴木 (1953) および SUZUKI (1968) の報告の通り、孵化仔魚は生じるが、そのすべては奇形であり致死性であった。しかし、サケ・マス類の致死性属間雑種 (ARAI, 1984) のように、そのすべてが異数性を示すことはなく、いずれも両親種の染色体を1セットずつ受け継いだ染色体構成が中間の二倍体雑種であった。しかし、例外も見られドジョウ雌×キンギョ雄では染色体数100の、ドジョウ雌×タモロコ雄では染色体数75の個体が生じた。これらの染色体数は、受精後の第二極体放出が何らかの要因で阻止され雌由来の染色体が倍化したと考えたとよく説明できる。これと同様の現象はニジマス *Oncorhynchus mykiss* 雌×カワマス *Salvelinus fontinalis* 雌 (CAPANNA *et al.*, 1974; UEDA *et al.*, 1984)、ソウギョ *Ctenopharyngodon idella* 雌×コクレン *Hypophthalmichthys nobilis* 雄 (MARIAN and KRASZNAI, 1978; BECK and BIGGERS, 1982) においても報告されている。また、同じ組合せで、断片を含む異数体 (低二倍体、低三倍体) が少数生じたが、雌雄いずれの染色体が排除されたのか、またその発生要因は不明であった。YAMAZAKI *et al.* (1989) は雌親の排卵後日数が経過し卵が孵化した場合は、染色体異常の率ならびに仔魚の奇形率が高くなることを見ているので、同様の原因が関与したのかもかもしれない。

圧力処理は、ドジョウ同士の交配区において高率で三倍体を誘起し倍化に有効であった。ドジョウ雌×キンギョ雄の交配後、圧力を加えた区では、高い率でドジョウの染色体2セットとキンギョの染色体1セットを有する異質三倍体が生じた。ドジョウ雌×タモロコ雄の圧力区では、染色体標本の状態が良好でなかった

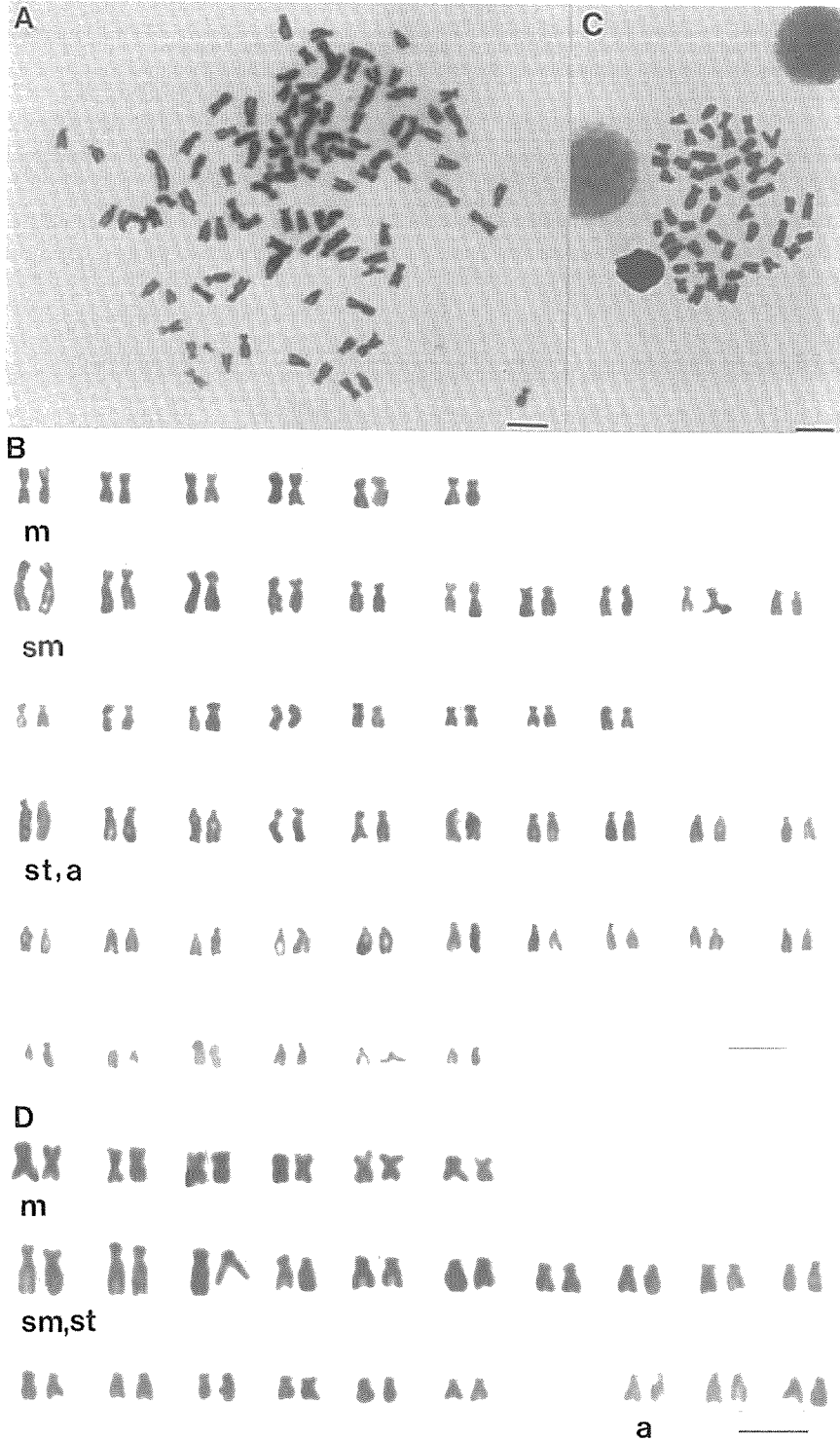


Fig. 2. Metaphase spreads (A, C) and karyotypes (B, D) of goldfish (A, B) and minnow (C, D). m, metacentric; sm, submetacentric; st, subtelocentric; a, acrocentric chromosomes. Scale indicates 5 μ m.

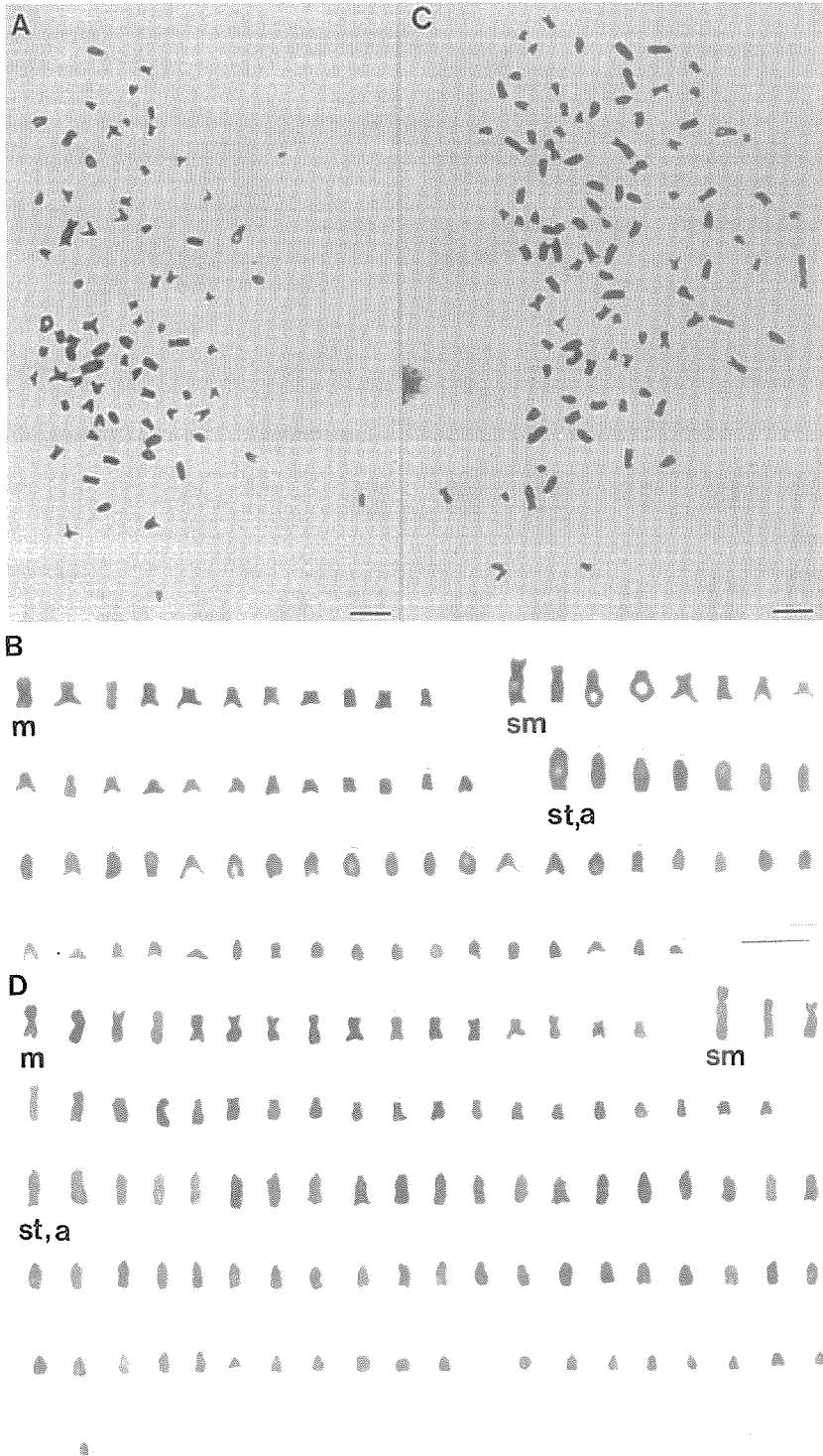


Fig. 3. Metaphase spreads (A, C) and karyotypes (B, D) of loach (L) × goldfish (G) hybrid, L × G (A, B) and its pressure-treated group, L × G · PS (C, D). Scale indicates 5 μm.

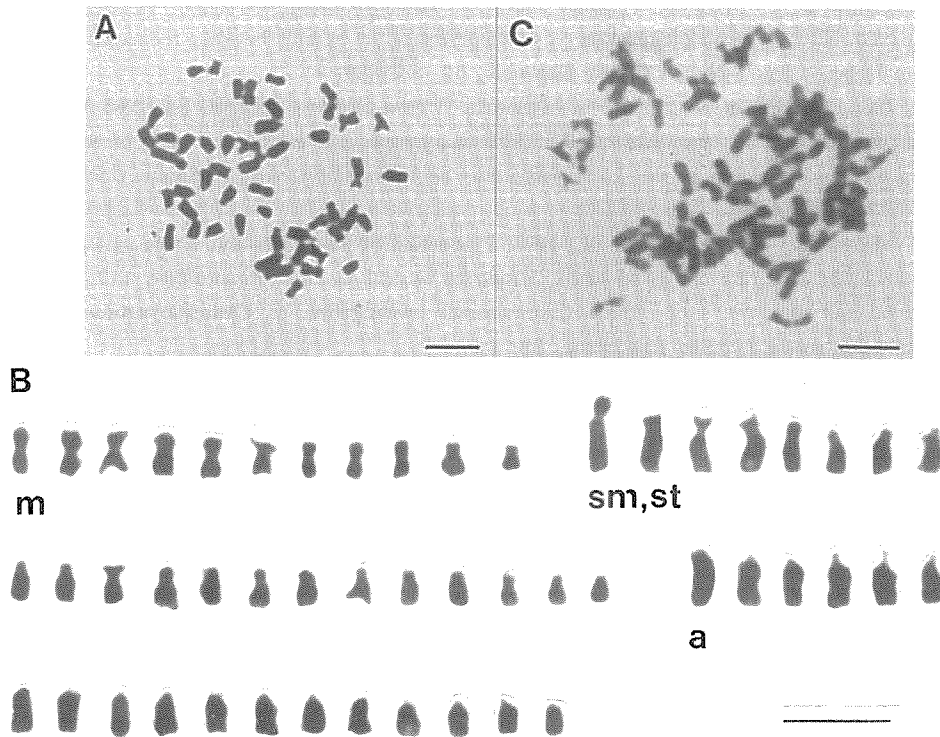


Fig. 4. Metaphase spreads (A, C) and karyotype (B) of loach (L) × minnow (M) hybrid, L × M (A, B) and its pressure-treated group, L × M · PS (C). Scale indicates 5 μ m.

ため、核型分析には至らなかったが、染色体数75を示したことから異質三倍体化は成功していたと考えられる。圧力処理区で生じた異数体は処理の副作用 (YAMAZAKI and GOODIER, 1993) と思われる。

致死性二倍体雑種では異質三倍体化により、生存能力が劇的に回復し、正常に発育成長する個体が生じることがサケ・マス類で報告されてきたが (CHEVASSUS *et al.*, 1983; SCHEERER and THORGAARD, 1983; ARAI, 1984; 1986; 1988; UEDA *et al.*, 1984; SEEB *et al.*, 1988; YAMANO *et al.*, 1988), 本研究のドジョウ科間雑種異質三倍体では、生存性個体はまったく得られなかった。例外的に生存した個体はすべてドジョウとなったことから、これらは交雑による自然雌性発生 (UYENO, 1972; STANLEY, 1976) によるものと考えられる。しかし、異質三倍体仔魚の奇形の程度は、二倍体雑種に比較して軽度の様に見られた。従って、雑種核中における母系染色体セットの増加により、致死性が緩和されたようと思われる。サケ・マス類において回復が認められた組合せが属間であったのに対し、今回の交雑は科間であったので、異質倍数化による生存性の回復に限界があったのかもしれない。今後、遺伝的四倍性が確認されているドジョウの自然四倍体 (ARAI *et al.*, 1991; 1993) あるいはシマドジョウの大型四倍性種族 (KUSUNOKI *et al.*, 1994) の二倍性卵子を交雑に用い、さらに極体放出阻止により、異質五倍体等、母系染色体セットの核内比が大きい組合せについて、生存性回復効果の存否を検討する必要がある。

謝 辞

本研究の実験にご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皆様へ感謝いたします。

引 用 文 献

ARAI, K., 1984. Developmental genetic studies on salmonids: Morphogenesis, isozyme phenotypes and

- chromosomes in hybrids 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: 1965-1701.
- ARAI, K., MATSUBARA, K. and SUZUKI, R., 1991. 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., 1993. Production of polyploids and viable gynogens using spontaneously occurring tetraploid loach, *Misgurnus anguillicaudatus*. *Aquaculture*, 117: 227-235.
- BECK, M. L. and BIGGERS, C. J., 1982. Chromosomal investigation of *Ctenopharyngodon idella* × *Aristichthys nobilis* hybrids. *Experientia*, 38: 319.
- CAPANNA, E., CATAUDELLA, S. and VOLVE, R., 1974. Un ibrido intergenerico tra trota irridea e salmerino di fonte. *Bull. Pesca Piscic Idrobiol.*, 29: 101-106.
- CHEVASSUS, B., GUYOMARD, R., CHOURROUT, D. and QUILLET, E., 1983. Production of viable hybrid in salmonids by triploidization. *Genet. Sel. Evol.*, 15: 519-539.
- KASAMA, M. and KOBAYASHI, H., 1987. Hybridization experiments in cyprinida (I) Cross between *Gnathopogon elongatus elongatus* and *Pseudorasbora parva*. *Jap. Women's Univ. J.*, 34: 107-112.
- KASAMA, M. and KOBAYASHI, H., 1988. Hybridization experiments in cyprinida (III) Cross between *Gnathopogon elongatus elongatus* and *Sarcocheilichthys biwaensis*. *Jap. Women's Univ. J.*, 35: 119-124.
- KASAMA, M. and KOBAYASHI, H., 1989A. Hybridization experiments in cyprinida (IV) Cross between *Gnathopogon elongatus elongatus* and *Squalidus gracilis*. *Jap. Women's Univ. J.*, 36: 101-106.
- KASAMA, M. and KOBAYASHI, H., 1989B. Hybridization experiment between female crucian carp and male grass carp. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 55: 1001-1006.
- KOBAYASHI, H., 1965. A chromosome study in inter-family hybrids between the funa and the loach. *The nucleus*, 8: 1-6.
- 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.
- LEVAN, A., FREDGA, K. and SANDBERG, A. A., 1964. Nomenclature for centromeric position on chromosomes. *Hereditas*, 52: 201-220.
- MAKINO, S., OJIMA, Y. and MATSUI, Y., 1958. Cytogenetical and cytochemical studies in carp-funa hybrids. *The nucleus*, 1: 153-162.
- MARIAN, T. and KRASZNAI, Z., 1978. Karyological investigations on *Ctenopharyngodon idella* and *Hypophthalmichthys nobilis* and their cross-breeding. *Aquaculture Hungarica (Szarvas)*, 1: 44-50.
- MEGURO, Y., NAKAI, T., MUROGA, K. and SORIMACHI, M., 1991. A cell line derived from the fin of Japanese flounder, *Paralichthys olivaceus*. *Gyobyō Kenkyū*, 26: 69-75.
- MOENKHAUS, M. J., 1904. The development of the hybrids between *Fundulus heteroclitus* and *Menidia notata* with especial reference to the behavior of the maternal and paternal chromatin. *Amer. J. Anat.*, 3: 29-66.
- MORRIS, M., 1914. The behavior of the chromatin in hybrids between *Fundulus* and *Ctenolabrus*. *J. Exp. Zool.*, 16: 501-521.
- OJIMA, Y. and HITOTSUMACHI, S., 1987. 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., 1979. The occurrence of spontaneous polyploid in the Japanese common loach, *Misgurnus anguillicaudatus*. *Proc. Japan Acad.*, 55, Ser. B: 487-491.
- OJIMA, Y., HAYASHI, M. and UENO, K., 1972. Cytogenetic studies in lower vertebrates X. Karyotype

- and DNA studies in 15 species of Japanese cyprinidae. *Jpn. J. Genet.*, 47: 431-440.
- PINNEY, E., 1918. A study of the relation of the behavior of the chromatin to development and heredity in teleost hybrids. *J. Morph.*, 31(2): 225-291.
- PINNEY, E., 1922. The initial block to normal development in cross-fertilized eggs. I. Crosses with the egg of *Fundulus* II. Reciprocal crosses between *Ctenolabrus* and *Prionotus*. *J. Morph.*, 36: 401-419.
- PINNEY, E., 1928. Developmental factors in teleost hybrids I. The early mitotic behavior in the cross between *Menidia menidia notata* ♀ and *Prionotus carolinus* ♂. *J. Morph.*, 42: 579-598.
- SASAKI, M., HITOTSUMACHI, S., MAKINO, S. and TERA0, T., 1968. A comparative study of the chromosomes in the chum salmon, kokanee salmon and their hybrids. *Caryologia*, 21: 389-394.
- SCHAEERER, P. D. 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.
- STANLEY, J. G., 1976. Production of hybrid, androgenetic, and gynogenetic grass carp and carp. *Trans. Am. Fish. Soc.*, 1976, 1: 10-16.
- 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.
- 鈴木亮, 1953. ドジョウとキンギョに於ける科間交雑の研究. 魚類学雑誌, 3 : 7-14.
- 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.
- UEDA, T., OJIMA, Y., SATO, R. and FUKUDA, Y., 1984. Triploid hybrids between female rainbow trout and male brook trout. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 50: 1331-1336.
- UEDA, T., OJIMA, Y. and KOBAYASHI, J., 1990. Hypodiploid and hypotriploid hybrids between female Japanese char and male rainbow trout. *La Kromosomo*, II-59-60: 2008-2012.
- UYENO, T., 1972. Chromosomes of offspring resulting from crossing coho salmon and brook, trout. *Jpn. J. Ichthyol.*, 19: 166-172.
- YAMANO, K., YAMAHA, E. and YAMAZAKI, F., 1988. Increased viability of allotriploid pink salmon × Japanese char hybrids. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 54: 1477-1481.
- YAMAZAKI, F. and GOODIER, J., 1993. Cytogenetic effects of hydrostatic pressure treatment to suppress the first cleavage of salmon embryos. *Aquaculture*, 110: 51-59.
- YAMAZAKI, F., ARAI, K. and TERA0, T., 1987. Chromosomes of the hybrids between masu salmon and chinook salmon. *Bull. Fac. Fish. Hokkaido Univ.*, 38: 34-37.
- YAMAZAKI, F., GOODIER, J. and YAMANO, K., 1989. Chromosomal aberrations caused by aging and hybridization in charr, masu salmon and related salmon. *Physiol. Ecol. Japan, Spec. V.* 1: 529-542.

Induced Allotriploidy in Inviabile Interfamilial Hybrids, Female Loach × Male Goldfish and Female Loach × Male Minnow

Keisuke KIJIMA, Katsutoshi ARAI, and Ryo SUZUKI

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

Interfamilial hybridizations between female loach *Misgurnus anguillicaudatus* and male goldfish *Carassius auratus* and those between female loach and male minnow *Gnathopogon elongatus elongatus* gave rise to inviable larvae with abnormal appearances and no survivors appeared. Karyological analyses on these hybrid embryos revealed that they were typical diploid hybrids comprising both maternal and paternal chromosomes. Cold or hydrostatic pressure treatments were made to inhibit the second polar body release after the hybridization. Chromosome observations demonstrated that most embryos developed from the treatments were allotriploidy having two sets of maternal chromosomes and one set of paternal chromosomes. External deformity of the hybrids seemed to be improved by allotriploidization, but no survivors were obtained.

Key words: allotriploid, chromosome, goldfish, hybrid, loach, minnow