

天然記念物ヒブナの起源を解明

—クローン繁殖のはずなのにキンギョと交雑—

概要

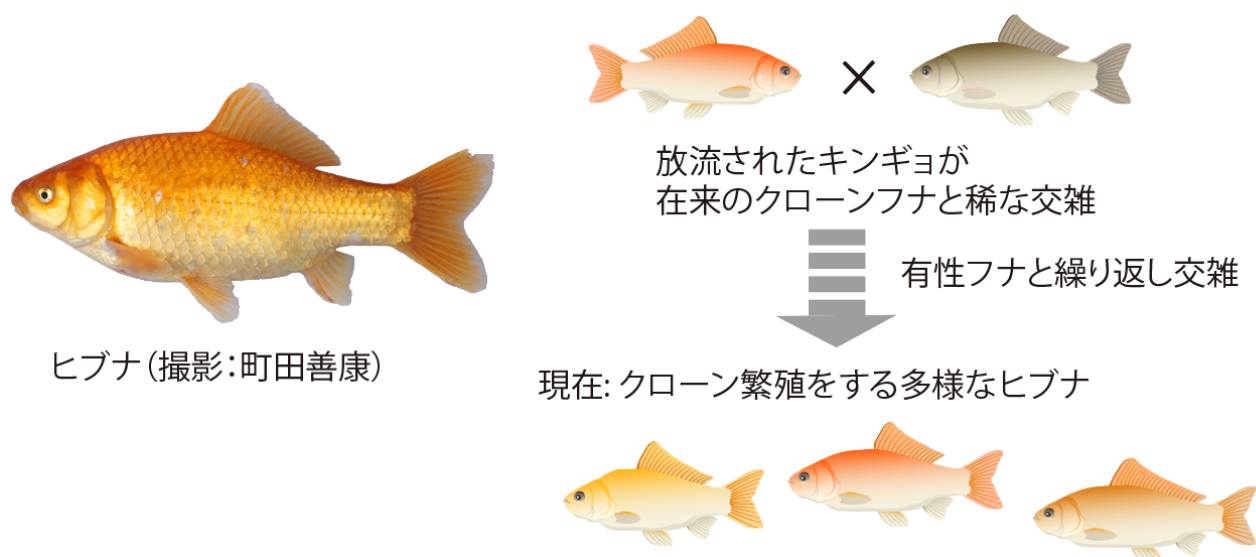
京都大学大学院理学研究科 三品達平 博士課程学生（研究当時、現：理化学研究所）、渡辺勝敏 同准教授、釧路市立博物館 野本和宏 学芸員、美幌博物館 町田善康 学芸員を中心とした共同研究グループは、北海道の春採湖などに生息する緋色のフナ、「ヒブナ」の起源を解明し、クローン繁殖種が遺伝的多様性を獲得していく実例を提示しました。

日本人に馴染み深い淡水魚であるフナ※には、雄と雌で繁殖をする2倍体とクローン繁殖をする3倍体の雌（クローンフナ）が共存しています。北海道では緋色のクローンフナ、「ヒブナ」が知られ、なかでも春採湖は「ヒブナ生息地」として天然記念物に指定されています。研究グループがヒブナの起源を遺伝子分析により調べたところ、ヒブナはクローンフナと約100年前に放流されたキンギョの交雑に由来し、多様なクローンが存在することが明らかになりました。ヒブナは、一般的には他の個体と交配しないクローン繁殖をする生物が、稀な有性生殖を通じて多様化する過程を示した興味深い事例だと言えます。一方で、在来集団の遺伝的固有性を守るためにも、キンギョの放流やヒブナの拡散が起こらないように啓発していく必要があると考えられます。

本成果は、2022年10月21日に国際学術誌「PLOS ONE」にオンライン掲載されました。

※フナ：ここではゲンゴロウフナやヨーロッパフナを除くフナ類の総称

1916年: キンギョ 約3000匹が釧路市の春採湖に放流
1922年~ ヒブナを目撃が始まる



1. 背景

「性」は生物の最も巧妙な仕組みの一つであり、現在も多くの未解決な問題を含む生物学上重要なトピックです。真核生物で一般的な「有性生殖」を深く理解するためには、稀に見られる「クローン繁殖（無性生殖）」に焦点をあてた研究がしばしば役に立ちます。クローン繁殖をする生物は、脊椎動物では 0.1% と特に稀ですが、日本人にとって馴染み深い淡水魚であるフナはその一つです。フナ其自然集団には、通常の「雄と雌で有性生殖をする 2 倍体 ($2n$)」と「雌のみでクローン繁殖^(注1)をする 3 倍体^(注2) ($3n$)」、「出現頻度が低く知見の乏しい 4 倍体 ($4n$)」が存在します。このクローン $3n$ フナは「ギンブナ」と呼ばれ、日本の河川や湖沼で広く見られるフナの一つです。一方で日本の有性 $2n$ フナには、分類に不確かなところはあるものの、キンブナ・オオキンブナ・ニゴロブナ・ナガブナなどと呼ばれるものが含まれます（ここでは、ギンブナも含めフナと総称：*Carassius auratus* グループ）。その他にもゲンゴロウブナが琵琶湖固有種として生息しています。

このクローン $3n$ フナは雌性発生という特殊なクローン繁殖をします（図 1）。まず雌の $3n$ フナは減数分裂^(注3)を経ない卵をつくります。この卵が発生を開始するには、近縁な有性 $2n$ フナの雄の精子による刺激が必要です。しかし、その精子は遺伝的に子孫にまったく貢献しないため、生まれた子は雌親のクローンとなります。

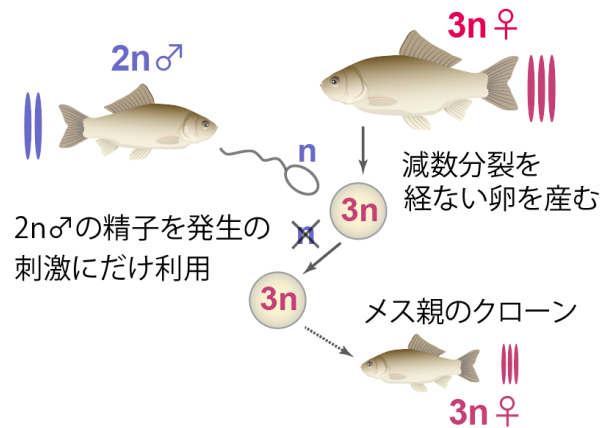


図 1 クローン繁殖をするフナの繁殖様式（雌性発生）。

北海道では「ヒブナ」と呼ばれる緋色のフナが複数の湖沼や河川で報告されており、これまでの研究から、このヒブナには、クローン繁殖をする 3 倍体が含まれることが知られています（図 2；ここでは倍数性を問わず、野生の緋色のフナをヒブナと呼称）。なかでも春採湖は「ヒブナ生息地」として 1937 年に天然記念物に指定され、長年にわたり、生態調査や保全活動が行われてきました。



図 2 3 倍体のヒブナ（撮影：町田善康）。

この春採湖のヒブナがどのように起源したのかはよく分かっていませんが、現在主流な仮説は「突然変異説」です。ヒブナの染色体数や繁殖様式を調べたところ、ヒブナの中にはクローン繁殖をする 3 倍体が含まれるこ

とがわかりました。そして、クローン 3n フナは通常の有性生殖を行うフナやキンギョ（中国産フナの人工品種）とは交雑できないと考えられるため、クローン 3n フナが突然変異によって独自に緋色を獲得したと推察されてきました。一方、春採湖では 1916 年に約 3000 尾のキンギョが放流された記録があり、その後 1922 年からヒブナが報告されるようになったことが知られています。そのため、「キンギョとの交雑起源説」も提唱されてきました。しかし、クローン 3n フナはキンギョとは交雑できないはずなので、受け入れられてきませんでした。

しかしながら、最近の研究^(注4)によって、クローン繁殖に関する前提が覆されました。つまり、クローン 3n フナが、共存している有性 2n フナと稀に交雑・生殖して、有性 2n フナから核 DNA およびミトコンドリア DNA^(注5)を取り入れている証拠が得られたのです。そのため、ヒブナの起源については、詳細な遺伝子分析による再検討が必要となりました。こうした起源の問題に加えて、ヒブナの個体数は水質変化や産卵環境の悪化などによって近年減少しています。ヒブナの有効な保全策を立案するために、ヒブナの繁殖様式や遺伝的多様性の把握も求められていました。

2. 研究手法・成果

釧路市の春採湖、および他のヒブナ生息地として知られる網走川からヒブナ・フナ計 99 尾（春採湖：ヒブナ 35 個体とフナ 26 個体，網走川：ヒブナ 7 個体とフナ 31 個体）を採集しました。そして、これらの標本に加えて、先行研究で用いられた北海道・東北、ユーラシア大陸（中国黄河流域、キンギョの元となった野生系統が含まれる）のフナ、およびキンギョを対象に、ミトコンドリア DNA 塩基配列、マクロサテライト DNA 多型分析^(注6)から得られた情報に基づいて遺伝的多様性の評価・集団遺伝解析・系統解析を実施しました。

今回分析されたヒブナは、3 倍体が 13 個体、4 倍体が 29 個体で、4 倍体が多く含まれることが分かりました。また、マイクロサテライト DNA 分析の結果、これら 3 倍体と 4 倍体のヒブナには同一あるいは極めて類似の遺伝子型をもつ別個体が見られることから、どちらもクローン繁殖をしていると考えられました。今回の分析では 2 倍体のフナ・ヒブナは、春採湖・網走川ともに見つかりませんでした。

こうした有性 2n フナが少ない傾向は他の北海道集団でも共通しており、分析した大半の集団で有性 2n フナの割合は 20%以下でした（図 3）。雌性発生をするクローン 3n フナは、一般には有性 2n フナの雄が繁殖に必要と考えられるため、有性 2n フナの割合が著しく低い春採湖をはじめ、北海道東部の河川・湖沼などでは、有性 2n・クローン 3n フナ両者の絶滅リスクが高まっている可能性があり、注視していく必要があります。

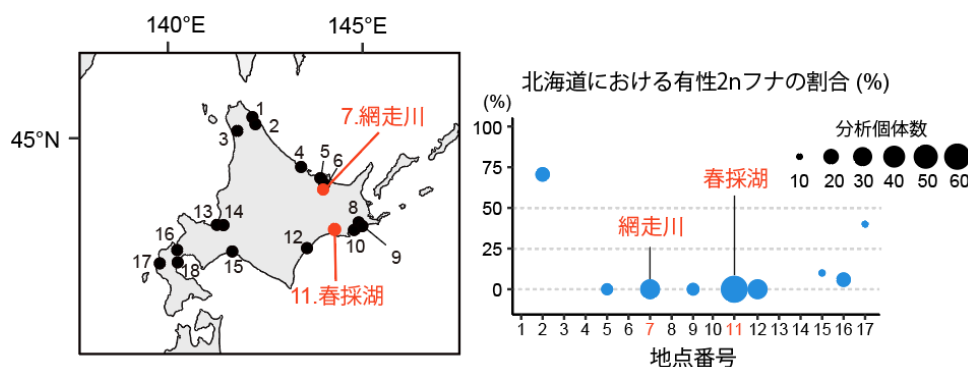


図3 北海道における有性 2n フナの割合。10 個体以上分析できた地点の結果。

次に、ミトコンドリア DNA 配列を調べたところ、ヒブナのミトコンドリア DNA は大きく分化した複数の系統に属することが分かり（図 4）、マイクロサテライト DNA の結果とあわせ、ヒブナには遺伝的に大きく区別されるクローン系統が 5 つ以上あることが分かりました。また、春採湖および網走川のヒブナから、在来の

日本主列島系統のみならず、キンギョと同一のミトコンドリア DNA 配列が見いだされました。このキンギョと類似する配列は他の北海道集団のフナからは見いだされなかったことから、過去に放流されたキンギョに由来するものと考えられます(図4)。これらの結果と、クローン 3n フナが有性 2n フナと交雑・生殖して核 DNA およびミトコンドリア DNA を有性 2n フナから取り入れうるという知見、そして過去にキンギョが大量に放流された記録があり、ヒブナがそれ以降に目撃されるようになった状況証拠から、ヒブナは在来の 3n クローンフナとキンギョの交雑によって生み出されたというのが、最もシンプルで矛盾のない説明と言えます。

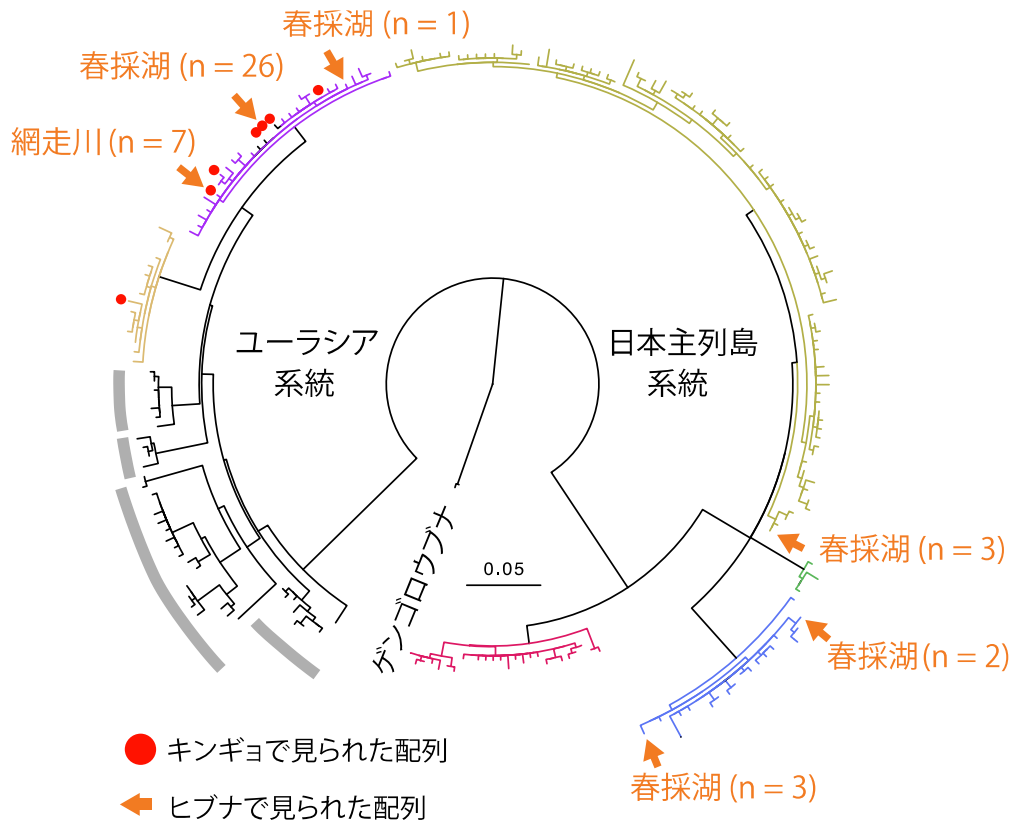
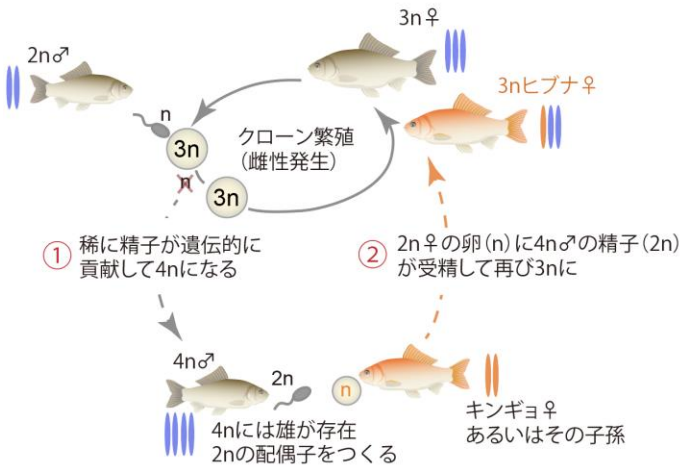


図4 ミトコンドリア DNA の系統樹。キンギョ (●) と同じ配列を示すヒブナ (←) が見いだされた。系統樹の大きく分化した系統は異なる色で示している。

では、ヒブナの起源の要因となったクローン 3n フナとキンギョの交雑はどのようにおこったのでしょうか。クローン 3n フナが、共存している有性 2n フナと稀に交雑・生殖するプロセスはまだ完全には明らかになっていませんが、まず ① 3n 雌の卵 (3n) が、稀に 2n 雄の精子 (n) と受精して 4n の雄個体を生じることがわかっています。次に、② この 4n の雄個体がつくる 2n の精子と、通常の 2n の雌個体がつくる卵 (n) が受精することによって、再びクローン繁殖をする 3n 雌ができると考えられています。これらの過程で有性 2n フナがキンギョ (あるいはその子孫) だった場合に、クローン 3n フナは体色が緋色となる原因の遺伝変異を取り入れる機会をもちます(図5a; ②でキンギョから取り入れた例)。その他に、3n フナがキンギョ (あるいはその子孫) の精子で受精して 4 倍体になった際 (①) に、緋色の遺伝子を取り入れ、クローン繁殖をするヒブナ (4n) になった場合も考えられます(図5b)。ヒブナの中にはキンギョとは異なる、日本主列島系統のミトコンドリアをもつ個体も見つかりましたが(図4)、そうした個体もこれらの交雑過程で説明できます。つまり、ミトコンドリアは母親のものを受け継ぐため、こうした交雑過程にかかわる雌個体 (有性 2n やクローン 3n フナの雌) が日本主列島系統のミトコンドリアを持っていた場合には、日本主列島系統のミトコンドリアを受け継いだヒブナが生じます。1916 年に春採湖へ大量のキンギョが放流され、およそ 100 年の間に、このような複雑な交雑過程が繰り返された結果として、クローン繁殖をする多様なヒブナが現在見られるようにな

ったと考えられます。

(a) 4倍体化→3倍体化の過程で取り込み



(b) 4倍体化の際に取り込み

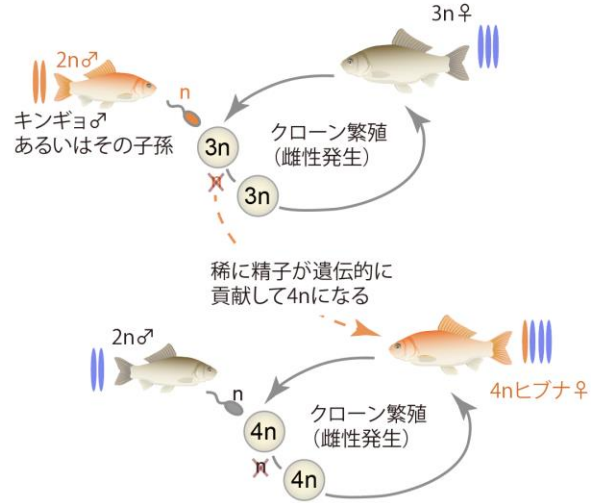


図5 クローン 3n フナとキングヨが交雑してヒブナが生じる際の想定されるプロセスの例。

3. 波及効果、今後の予定

従来、クローン繁殖をする生物は遺伝的多様性が乏しく、進化の袋小路と考えられてきました。しかしながら、クローン繁殖をする生物の中にはクローン 3n フナのように、有性種と稀に交雑・生殖することで遺伝的多様性を獲得・維持してきたものがあることが徐々に報告されてきています。ヒブナの進化過程は、大量にキンギョが放流されて以来、約 100 年にわたる意図せぬ「野外進化実験」と言えます。ヒブナは、有性近縁種が雌性発生によりクローン繁殖をする生物の遺伝的多様性に貢献することを、その特徴的な緋色の体色によって視覚的に示した好例だと言えます。今後、フナやヒブナを対象とした研究を進めることで、クローン繁殖をする生物がどのように多様性を獲得し、分布を広げてきたのかを解明する手がかりになると期待されます。

一方で、ヒブナの誕生の裏には、キンギョの放流によって、在来集団の遺伝的固有性が失われてしまったという負の側面が含まれることも記憶にとどめ、教訓としていく必要があります。幸いなことに春採湖は比較的小さな閉鎖水系であり、法律により捕獲等が禁止されているため、その他の河川や湖沼への拡散が抑えられてきたと考えられます。今後は、さらなるキンギョの放流やヒブナの拡散が起こらないように注視・啓発していく必要があると考えられます。

4. 研究プロジェクトについて

本研究は日本学術振興会・科学研究補助金（26291079、26250044、17H03720、18H01330、20H03009、15J02066、18J00928、21K14919）の助成を受けておこなわれました。

<用語解説>

(注1) **クローン繁殖**:生まれる子が親と遺伝的に同一となる繁殖。雄の精子を発生のための刺激にのみ用い、精子の遺伝情報が子に貢献しない**雌性発生**は、いくつかあるクローン繁殖の様式の一つ。

(注2) **3 倍体 (3n)**：両親それぞれの配偶子から1セットのゲノムを受け取る生物を2倍体という。3倍体は3セットのゲノムをもつ。

(注3) **減数分裂**：細胞あたりの染色体数を半減させる分裂で、卵子や精子など配偶子を生み出す際に行われる。この過程で雄親・雌親由来の遺伝子が組換えによって混合され、遺伝的に多様な子を生じる。

- (注4) **最近の研究** : Mishina et al. 2021. Interploidy gene flow involving the sexual-aseexual cycle facilitates the diversification of gynogenetic triploid *Carassius* fish. Scientific Reports, 11:22485.
<https://www.nature.com/articles/s41598-021-01754-w>
プレスリリース記事 : <https://www.kyoto-u.ac.jp/ja/research-news/2021-11-19-0>
- (注5) **ミトコンドリア DNA** : 核の染色体と異なり、細胞質にあるミトコンドリアの中にある DNA で、母系遺伝する (つまり、母親のみから受け継がれ、これにより雌親をたどることができる)。
- (注6) **マイクロサテライト DNA 多型** : ゲノム中に散在する、2 から数塩基の単純な繰り返し配列 (ATATATAT... など) の反復数の多型。高い多型性をもつ遺伝マーカーとして、犯罪捜査などで個人特定にも使用される。

<研究者のコメント>

全国的なフナの進化研究を行う中で、縁あって、有名なヒブナの遺伝子分析をさせていただくことになりました。最初に結果を見た時は、正直なところ、どうしたものか…と戸惑いました (笑)。フナは極めて特殊な繁殖生態をもつ興味深い生物ですが、ヒブナはそのことを象徴する存在と言えるかもしれません。キンギョは多くの方にとって親しみ深い魚ですが、野外に放流することなく、最後まで愛情をもって飼育してください。(三品)

<論文タイトルと著者>

タイトル : Origin of scarlet gynogenetic triploid *Carassius* fish: implications for conservation of the sexual-gynogenetic complex (雌性発生 3 倍体ヒブナの起源 : 有性-雌性発生をする生物種群の保全に対する示唆)

著 者 : Tappei Mishina, Kazuhiro Nomoto, Yoshiyasu Machida, Tsutomu Hariu, Katsutoshi Watanabe
三品達平 (京都大学大学院理学研究科、現 : 理化学研究所 生命機能科学研究センター)
野本和宏 (釧路市立博物館)
町田善康 (美幌博物館)
針生勤 (釧路公立大 非常勤講師)
渡辺勝敏 (京都大学大学院理学研究科)

掲 載 誌 : *PLOS ONE* DOI : 10.1371/journal.pone.0276390