

令和元年6月10日現在

機関番号：10101

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2015～2018

課題番号：15H04409

研究課題名(和文)"雌"交尾器のペニス化をもたらした進化的背景の解明

研究課題名(英文)Why did female penis evolved in a group of cave isnects

研究代表者

吉澤 和徳 (YOSHIZAWA, Kazunori)

北海道大学・農学研究院・准教授

研究者番号：10322843

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,700,000円

研究成果の概要(和文)：交尾中，精子を受け取るために雄に挿入される雌ペニスの進化は，Sensitibillini 族内で独立に2回(トリカヘチャタテと Afrotroglia) 生じたと考えられる．このことは，雌ペニスの進化という極めて稀な進化的事象を促進する要素が本族に存在することを示す．栄養豊富な精液をめぐるメス間競争，貧栄養的な生息環境，精子貯蔵器官の切り替えバルブの3点が，雌ペニスの進化を促進する要因として考えられた．また，雌上位の交尾姿勢，コイル状の長い精子輸送ダクト，雌ペニス進化前に存在した雌の微小突起とそれを受け入れる雄の構造の3点により，雌ペニス進化の制約が弱まったことも重要な要素として考えられた

研究成果の学術的意義や社会的意義

本申請課題の背景となった研究成果が，イグ・ノーベル賞を受賞した．本プロジェクトが，科学の面白さや基礎研究の重要性を普及させる大きな役割を果たした．

学術的には，雌ペニスに匹敵するような大規模な進化的革新は動物界全体を見ても滅多に生じていないため，雌ペニスは進化的新奇性の研究対象として注目される．また雌ペニスを持つ生物は，性選択に関わる諸問題に，通常交尾器を持つ生物を使った研究とは異なるアプローチによる検証を可能にする．このような視点から，なぜペニスは主に雄に進化したのか，といった問も可能となる．

研究成果の概要(英文)：The female penis, which is protrudable and inserted into the male vagina-like cavity during copulation to receive semen, is thought to have evolved independently twice in the tribe Sensitibillini, once in the Brazilian Neotroglia and once in the African Afrotroglia. This strongly suggests that there are some factors unique to Sensitibillini that have facilitated female penis evolution. The female-female competition for nutritious semen, the oligotrophic environment, and the twin insemination slots with switching valve are considered to be the driving factors for female penis evolution. Additionally, the following factors are considered responsible for relaxing the constraint against female penis evolution: pre-existence of the female-above mating position, the elongated duct connecting the female pre-penis with the sperm storage organ, and the small male genital cavity accepting the female genital tubercle bearing the opening of this duct.

研究分野：昆虫体系学

キーワード：トリカヘチャタテ 性選択 交尾器進化 機能形態学 雌ペニス

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

挿入器として機能するペニス状交尾器を「雌」が持つ昆虫、トリカヘチャタテ属 *Neotrogla* (咀嚼目:コチャタテ亜目:ホラアナチャタテ科)が、申請者らの研究により発見された。トリカヘチャタテの雄は交尾の際に精子とともに栄養物質を雌に渡す。雌はこの栄養物質をより多く得るために、雌ペニスの刺状構造を使って、長時間交尾(40-70時間)を雄に強制する。このような特性を持つトリカヘチャタテの雌ペニスは、進化生物学において現在最も活発に研究が進められている二つの分野、進化的新奇性と性選択の研究対象として、他の生物には無い優れた特徴を備えている。

形態進化は通常、既存構造の緩やかな変化の積み重ねとして生じ、その祖先状態や他の生物との相同性が比較的容易に決定出来る。一方、進化的新奇性と見なされる構造は、その元となる構造の決定が極めて困難である。トリカヘチャタテの雌ペニスも、他の生物では見られない構造と機能を獲得した新奇構造であるが、属という小分類群において進化した新奇構造で、さらに移行段階を備える近縁属が存在するため、その相同性や、新奇形質が進化する際に働く制約と選択圧を明確にできると期待される。

トリカヘチャタテは、同じく進化生物学の中心テーマである性選択研究においても重要な役割を果たす。一般に雄は交尾に積極的で、しばしば交尾を望まない雌を把握する構造が雄交尾器に見られる(性的対立)。また、雌が雄の交尾器形態に基づいて受精率を調節するという説もある(雌選択)。精子とともに雌に栄養を渡すトリカヘチャタテでは、交尾への積極性の雌雄逆転(性的役割の逆転)が雄を拘束する雌ペニスを進化させた可能性がある。トリカヘチャタテは雌雄交尾器の共進化の成因や交尾戦略の進化を、完全に新規な視点から検証できる希少な実験系である。

### 2. 研究の目的

#### (1) 雌ペニスの新奇性の検討

トリカヘチャタテの雌ペニスは真の新奇構造か、それとも既存の構造の大規模な変革によって新たな機能を獲得したのかを明らかにする。

#### (2) 雌ペニス及び雄交尾器の機能

雄がペニスに刺を持つ昆虫で、雌を刺で傷つけ余命を短くし早期の産卵を促すことで、自分の精子が受精に使われる確率を上げる例が知られる。トリカヘチャタテの雌ペニスの刺も、雄の拘束だけでなく、雄を傷つけより多くの栄養贈呈を得るための機能を持ちうる。

#### (3) トリカヘチャタテ及び近縁群を用いた性的役割逆転の存在の検証

トリカヘチャタテが含まれるコチャタテ亜目の一部で、性的役割の逆転、すなわち雄の投資を巡る雌間の競争が知られている。そこで、様々なチャタテムシを餌条件をコントロールして飼育し交配行動を比較する。各グループで性的役割逆転の有無を検証することで、性的役割逆転がどの系統で起源したのかを解明する。

#### (4) コチャタテ亜目の分子系統樹の構築

性的役割逆転はいつ生じた?雌ペニスの祖先状態は?雌ペニスと雄交尾器に共進化関係はあるか?これらの問のベースとなる、トリカヘチャタテと近縁群の系統関係を推定する。

#### (5) マルハナノミの性的役割逆転と雌挿入器:一般性の検証

トリカヘチャタテの研究は進化生物学の重要課題に新たな視点をもたらす一方、このグループのみでは個別事例の研究で終わってしまう。鞘翅目マルハナノミ科で、雌の交尾器の一部が

雄に挿入される事例が報告されている。このグループの雌交尾器の機能を明らかにし、さらに性的役割逆転の有無を検討することで、雌に挿入器が進化する条件の一般性を検証する。

### 3. 研究の方法

雌ペニスの存在が知られるトリカヘチャタテと *Afrotrogl* 属、前ペニス構造の観察される *Sensitibilla* 属、および通常の交尾器を備える他のチャタテムシ類を対象として研究を行った。

光学顕微鏡、共焦点レーザー顕微鏡および Spring-8 を用いた高解像度  $\mu$ CT を用いて雌雄交尾器の詳細な構造を観察した。

次世代シーケンサーを用いてマイクロサテライトマーカの探索およびミトコンドリアゲノムの解析を行った。得られたミトコンドリアゲノム情報に基づき、新たな遺伝マーカー (Cyt-B) を選定し、他の遺伝情報 (核 18S, Histone 3, ミトコンドリア COI, 12S, 16S) とあわせて系統解析を行った。

調査の過程で得られたサンプルを用いて、他のチャタテムシや洞窟性昆虫の分類学的研究も行った。

### 4. 研究成果

#### (1) 雌ペニスの起源の検討

分子系統学および比較形態学的手法を用いて、雌ペニスの起源について検討を行った。その結果、雌ペニスは受精嚢開口部に存在する spermapore plate が、乳頭状突起 前ペニス状態

雌ペニスと変化して起源したことを明らかにした。分子系統解析の結果、雌ペニスを持つ *Afrotrogl*a と前ペニス状態を持つ *Sensitibilla* が姉妹群となり、トリカヘチャタテはそれらの姉妹群となったことから、前ペニス状態から雌ペニスへの進化が独立に 2 回生じたことを明らかにした。また雌ペニスと雄ヴァギナの間に関係が存在することも明らかにした。(Biology Letters)。

#### (2) 生物学的切り替えバルブの報告

トリカヘチャタテの雌貯精嚢に存在する特殊な構造を解析し、これが精液の流れをコントロールする切り替えバルブの役割を果たすことを明らかにした。これは、切り替えバルブの生物からの初めての報告である。この特殊な構造を持つことでトリカヘチャタテの雌は、他の一般的なチャタテムシと比較して 2 倍の量の精液を同時に貯蔵することが可能となった。より多くの精子を受け取ることが可能となったトリカヘチャタテにおいて、精液をめぐるメス間闘争が激しくなったことが、雌ペニスの進化を促進した一因であると考えられた (eLife)。

#### (3) 通常の交尾器を備えるチャタテムシでの交尾器機能の解析

ムツテンチャタテ属 *Trichadenotecnum* の交尾ペアを用いて、通常の交尾器を備えるチャタテムシの交尾器の機能解析と交尾プロセスの推定を行った。チャタテムシにおいては、挿入器として機能するようなペニスは存在せず、平面的な射精部および受精部が密接に接することで精液の受け渡しが行われていた。また交尾に際して、メスの構造の一部が雄体内に取り込まれていることも確認した。(Journal of Morphology)。

#### (4) トリカヘチャタテのマイクロサテライトマーカの作成

次世代シーケンサーを用いて、トリカヘチャタテの集団解析や父性判定に用いることの出来るマイクロサテライトマーカを作成した。今後これらを用いた研究を行っていく予定である。(Entomological Science)。

#### (5) チャタテムシのミトコンドリアゲノム解析

次世代シーケンサーで得られた上記のデータや他のチャタテムシから得られたデータを用いて、トリカヘチャタテを含むチャタテムシにおけるミトコンドリアゲノムの進化を解析した。チャタテムシの共通祖先が、昆虫の祖先状態に相当するミトコンドリアゲノムの遺伝子配置を保持していたことや、トリカヘチャタテを含む複数の系統において遺伝子配置の転換が起こっていることを示した。またこれら遺伝子配置情報が、系統情報としての価値も備えることを示した (Molecular Phylogenetics and Evolution)。

#### (6) チャタテムシの翅連結構造の解析

トリカヘチャタテを含む広範なチャタテムシのサンプルを用いて、翅連結構造の詳細な形態と進化系列の解析を行った。その結果、トリカヘチャタテの翅連結構造の退化が確認され、これは洞窟環境への進出に伴って、飛翔の必要性が減少したことと関連していると考えられる。また翅連結構造がチャタテムシ内で独立に進化したことも示した (Journal of Morphology および Arthropod Structure & Development)。

#### (7) 研究の現段階での総括と将来展望

上記の結果を踏まえ、雌ペニス進化の現段階での理解を総括し、また将来展望を議論した。栄養豊富な精液をめぐるメス間競争、貧栄養的な生息環境、精子貯蔵器官の切り替えバルブの3点が、雌ペニスの進化を促進する要因として考えられた。また、雌上位の交尾姿勢、コイル状の長い精子輸送ダクト、雌ペニス進化前に存在した雌の微小突起とそれを受け入れる雄の構造の存在の3点により、雌ペニスの進化に対する制約が弱まったことも重要な要素として考えられた (BioEssays : 印刷中)。

#### (8) 関連研究

本プロジェクト遂行のために行ったフィールドワークで得られた他の昆虫についても研究を行った。それらには、ブラジルからのムツテンチャタテ属の初報告と新種記載、ブラジルの洞窟性ハサミムシ類の研究、日本の洞窟からのコムシ類の初報告と新種記載などが含まれる。

#### (9) 対照研究

性的役割が逆転したトリカヘチャタテの理解を助けるために、通常の生物同様、雌から雄に対する性選択が強く働いているツノカメムシ類の研究も行った。また、雌交尾器に突出部を備える他の昆虫類として、マルハナノミ類 (鞘翅目) およびヒョウモンチョウ類 (鱗翅目) の研究も行った。いずれも飼育系統確立の問題等もあり、雌突出部の機能的理解は道半ばではあるが、データの収集 (Spring8 画像など) は行っており、今後解析を進めていく予定である。

### 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 22 件)

期間中に研究成果として発表した 22 本の論文のうち、主要なもののみリストアップする。なお、全ての成果が査読誌に発表されている。

1. Yoshizawa, K., Ferreira, R. L., Lienhard, C. & Kamimura, Y. 2019. Why did a female penis evolve in a small group of cave insects. **BioEssays** DOI: 10.1002/bies.201900005.
2. Cheng, Z. & Yoshizawa, K. 2019. Functional morphology of *Trichadenotecnum* male and female genitalia analyzed using  $\mu$ CT (Insecta: Psocodea: Psocomorpha). **Journal of Morphology** 280: 555-567.
3. Kamimura, Y., Abe, J., Ferreira, R. L. & Yoshizawa, K. 2019. Microsatellite markers of sex-role-reversed cave dwelling insects, *Neotrogla* spp. (Psocodea: Prionoglarididae), developed by a next generation sequencing technique.

**Entomological Science** 22: 48-55.

4. Yoshizawa, K., Ferreira, R.L., Yao, I., Lienhard, C. & Kamimura, Y. 2018. Independent origins of female penis and its coevolution with male vagina in cave insects (Psocodea: Prionoglarididae). **Biology Letters** 14: 20180533.
5. Yoshizawa, K., Kamimura, Y., Lienhard, C., Ferreira, R.L. & Blanke, A. 2018. A biological switching valve evolved in the female of a sex-role reversed cave insect to receive multiple seminal packages. **eLife** 7: e39563.
6. Sendra, A., Yoshizawa, K. & Ferreira R.L. 2018. New Oversize Trogiobitic species of Campodeidae in Japan (Diplura). **Subterranean Biology** 27: 53-73.
7. Ogawa, N. & Yoshizawa, K. 2018. Structure and evolution of the stigmapophysis - a unique repose wing-coupling structure in Psocodea. **Arthropod Structure & Development** 47: 416-422.
8. Ogawa, N. & Yoshizawa, K. 2018. Origin and transformation of the in-flight wing-coupling structure in Psocodea (Insecta: Paraneoptera). **Journal of Morphology** 279: 517-530.
9. Yoshizawa, K., Johnson, K.P., Sweet, A.D., Yao, I., Ferreira, R.L. & Cameron, S.L. 2018. Mitochondrial phylogenomics and genome rearrangements in the barklice (Insecta: Psocodea). **Molecular Phylogenetics and Evolution** 119: 118-127.
10. Yoshizawa, K., Souza-Silva, M. & Ferreira, R. L. 2017. Disjunct occurrence of *Trichadenotecnum* s.str. in southeastern Brazil (Psocodea: "Psocoptera": Psocidae), with description of a new species. **Neotropical Entomology** 46: 169-174.
11. Tsai, J.F., Kudo, S. & Yoshizawa, K. 2015. Maternal care in Acanthosomatinae (Insecta: Heteroptera: Acanthosomatidae) - correlated evolution with morphological change. **BMC Evolutionary Biology** 15: 258.
12. Kamimura, Y., Ferreira, R.L. 2017. Earwigs from Brazilian caves, with notes on the taxonomic and nomenclatural problems of the Dermaptera (Insecta). **Zookeys** 713: 25-52
13. Kamimura, Y., Ferreira, R.L. 2018. Description of a second South American species in the Malagasy earwig genus *Mesodiplatys* from a cave habitat, with notes on the definition of Haplodiplatyidae (Insecta: Dermaptera). **Zookeys** 790: 87-100
14. Yoshitomi, H. and M. Hayashi, 2016. A new species of the genus *Nyholmia* (Coleoptera, Scirtidae, Scirtinae) from Oki Isls., Japan. **Japanese Journal of systematic Entomology**, 22 (1): 7-10.
15. Yoshitomi, H., 2017. Scirtidae of the Oriental Region, Part 14. Eight New Species of the Genus *Contacyphon* from Malaysia. **Japanese Journal of systematic Entomology**, 23 (1): 5-13.

〔学会発表〕(計6件)

主要なもののみ列挙する

1. Yoshizawa, K. (2015) Wing base morphology and phylogeny of Paraneoptera (Workshop on Hemipteroid Insect Phylogeny, Illinois, USA)
2. 上村佳孝, 昆虫の交尾器とその多様な進化、(慶應義塾大学自然科学研究教育センター・シンポジウム「昆虫のサイエンス最前線」招待講演) 2018年10月6日 慶應義塾大学日

## 吉キャンパス

3. 上村佳孝、交尾器形態進化の主導権はどちらに？ “Female sex drive 仮説”、( 京都大学生態学研究センター研究集会「異なるマクロ生物学分野のインタープレイ」招待講演 ) 2018 年 10 月 27 日 鳴門教育大学
4. Kamimura, Y.、Innovative female traits can drive genital coevolution between the sexes、( 科研費 No. 15K07133 成果ミニシンポジウム「Sexual Selection in Insects」講演 ) 2019 年 2 月 1 日 慶應義塾大学日吉キャンパス

## 〔図書〕(計 2 件)

1. Kamimura, Y. & Yoshizawa, K. 2017. Sex Role Reversal. In *Encyclopedia of Animal Cognition and Behavior*. Springer, 4 pp. (DOI:10.1007/978-3-319-47829-6\_2012-1). ( 分担執筆 )
2. 上村佳孝、岩波書店、昆虫の交尾は、味わい深い…。128pp., 2017 年

## 6 . 研究組織

### (1)研究分担者

研究分担者氏名：上村 佳孝

ローマ字氏名：(KAMIMURA, Yoshitaka)

所属研究機関名：慶應義塾大学

部局名：生物学教室

職名：准教授

研究者番号 ( 8 桁 ) : 50366952

研究分担者氏名：吉富 博之

ローマ字氏名：(YOSHITOMI, Hiroyuki)

所属研究機関名：愛媛大学

部局名：ミュージアム

職名：准教授

研究者番号 ( 8 桁 ) : 10542665

### (2)研究協力者

研究協力者氏名：Rodrigo L. Ferreira

研究協力者氏名：Charles Lienhard

研究協力者氏名：Alexander Blanke

研究協力者氏名：Kevin P. Johnson

研究協力者氏名：Stephen L. Cameron

研究協力者氏名：八尾 泉

ローマ字氏名：(YAO, Izumi)

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。