

令和元年6月4日現在

機関番号：32665

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2018

課題番号：15K07229

研究課題名(和文) サクラマスの産卵微細環境で起こる精子競争とその適応意義の解明

研究課題名(英文) Sperm competition occurred in spawning of masu salmon

研究代表者

牧口 祐也 (MAKIGUCHI, Yuya)

日本大学・生物資源科学部・講師

研究者番号：00584153

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：サクラマスの雌が乱婚から得られる利益を検証する目的で、卵を受精させる雄の数または生活史タイプ(降海型または残留型)を変えて受精卵の発眼率との関連性を調べた。サクラマスのみの場合やヤマメのみの場合よりもサクラマスとヤマメ両方存在する方が発眼率は有意に高くなった(Tukeyの多重比較、 $P < 0.05$)。本研究の結果より、サクラマスの雌はヤマメとの乱婚によって発眼率が上がるという間接的利益を享受していることが示された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では精子速度が精漿や体腔液などの生体由来の成分に影響を受けることを明らかにした。精子運動性能、特に精子遊泳速度が雄の繁殖成功に大きな影響を与える要因として考えられて来た(Gage et al., 2004)。しかし、過去に測定された魚類の精子遊泳速度は河川水または海水などの無機質な溶媒を用いたものが大半であった。体外受精を行う魚類の受精環境では競争雄の精漿や雌の体腔液が多くの場合存在しており、これまで測定されてきた精子速度とは異なる可能性がある。本研究課題は、精漿が雄の繁殖成功に寄与する可能性に着眼している点が独創的であり行動生態学研究に新しい知見をもたらすことが期待される。

研究成果の概要(英文)：Masu salmon exhibits typical fixed male alternative reproductive tactics. The large anadromous males fight before spawning to achieve dominant access to the females, whereas the small parr males adopt a sneaker tactic to dart into spawning events and furtively position themselves under ovipositing females to release milt near the female as she releases her eggs and ovarian fluid. Sperm competition theory predicts that milt from multiple males enhance the fertilization competition because serum included in milt affect the sperm velocity, which is one of the important factor to determine the success of fertilization. The objective of this study is to investigate effect mixture of milt from parr males and anadromous males on hatching rate of eggs. Hatching rate was higher in mixture of parr and anadromous males than in same tactics group. Our results indicated that mixture of milt from parr and anadromous males improve the quality of hatching eggs.

研究分野：行動生態学、水産学

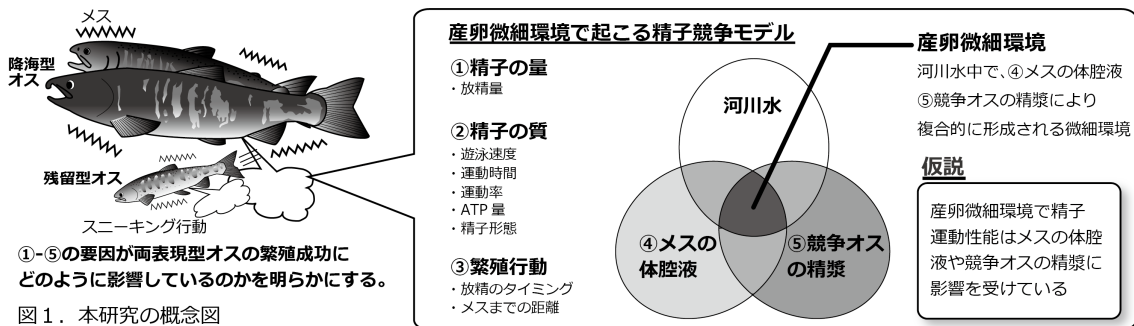
キーワード：代替繁殖戦略 サクラマス 精子運動

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

1. 研究開始当初の背景

多くの動物種において遺伝子型が同じにもかかわらず、行動、形態、生理特性、生活史などの表現型パターンに多型がみられる。この中で繁殖形質の変異は代替繁殖表現型と呼ばれ、オス間の闘争行動やメスの配偶者選択に起因する性選択に大きな影響を受けることから、代替繁殖行動の進化やその適応意義の解明は、性淘汰研究を牽引する重要なテーマとなっている。

サケ科魚類であるサクラマス(*Oncorhynchus masou*)は代替繁殖行動に関する実証研究に大きな役割を果たしてきた極めて興味深いモデル生物である。北海道・東北地方北部に生息するサクラマスのメスはすべて海へ回遊する降海型である。一方、オスでは大型で鉤状に曲がった顎や軟骨組織の発達により盛り上がる背中(せっぱり)などの二次性徴が顕著な降海型と、小型で早熟かつ河川で一生活を過ごす残留型の生活史二型がみられる。産卵行動において劣位な残留型オスは優位な降海型オスとメスが産卵する瞬間に、素早く割り込んで卵に精子をかける代替繁殖行動を行う(スニーカー行動、図1)。一般に、残留型オスの精巣重量は降海型オスよりも体サイズに比べて約1.5倍大きいため、残留型オスはより多くの量を放精することで繁殖成功適応度を最大化していると考えられる。こうした生殖腺への投資量の違いは精子競争によって説明される。精子競争理論によると、あるオスに精子競争が強く働けば、よりそのオスはより精子生産((1)精子量または(2)精子の質)へ投資するように進化することが示されている。しかし、(1)精子量と(2)精子の質への投資バランスと繁殖成功がどのように決定されているのかは実証研究ではほとんど明らかになっていない。また、(3)繁殖行動によって決まる放精のタイミングや卵までの距離といった要因も繁殖成功に大きな影響を与えると考えられるが、それらの寄与は未だ不明である。



2. 研究の目的

(1)精子量、(2)精子の質、(3)繁殖行動がどのように降海型オス・残留型オスの繁殖成功に関わっているかを明らかにするには、放精・放卵の瞬間、河川水中で起こる精子競争を考える必要がある。産卵の瞬間に複数の降海型オスと残留型オスが同時に放精した場合、河川水中に放出された精子と卵に加えて、卵とともに放出される(4)メスの体腔液、精子とともに放出される(5)競争オスの精漿により複合的な微細環境が形成される(以下、産卵微細環境、図1)。ここで、申請者はこの産卵微細環境では(1)-(5)の因子・要因が複雑に影響しあい繁殖成功が決定されているという仮説を立てた(「産卵微細環境で起こる精子競争モデル」)。サケ科魚類であるレイクトラウトでは、メスの体腔液が精子遊泳速度に影響を与えることが報告されており(Butts et al., 2012)、産卵の瞬間、河川水中にメスの体腔液や競争オスの精漿によって形成される産卵微細環境で精子の運動性能が変化する可能性を示唆している。本研究では、(1)-(5)の因子がどのように精子競争および両表現型オスの繁殖成功に関わっており、代替繁殖行動の適応意義およびそれら変異がどのように種内で維持されているのか明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

2016-2018年初旬に北海道中標津の標津サーモン科学館にて実験を行った。供試魚は斜里さけます事業所で捕獲されたサクラマス雄12尾、サクラマス雌4尾、ヤマメ12尾の計28尾を使用した。メスの体腔液がどのように精子運動能に影響しているのか、両表現型の精子運動性能との関連性について調べた。精子の採取は、まず供試魚の頭部を棒で叩き即殺した後、体表面の水気を拭き取り、腹部から肛門へ指で圧迫し、精子を採取した。精子の失活を防ぐために、採取する際は糞尿及び血液等が混入しないよう注意を払った。さらに即殺した雌の腹部を開いて卵とともに採取し、プラスチック製のボウルで卵と体腔液に分離して使用した。採取した精子・体腔液は活性しないよう、動画撮影まで4で冷蔵保存した。

両表現型のオスから採取した精子1 μ Lに生息域と同じ水温に保った河川水20 μ Lを80倍の倒立顕微鏡下で混合し、スライドガラス(2X-cel)に採取した精子1 μ Lと、体腔液を河川水で10%希釈した溶液を滴下した。そこにカバーガラスで封入し、精子が動かなくなるまで動画をデジタルビデオカメラで撮影した。動画は後日、解析ソフト(Move-tr/2D)で解析した。活性から5,10,15秒後の遊泳速度、運動時間、運動率を計測した。

4. 研究成果

精子速度・運動率は両表現型ともに時間経過とともに低下した。河川水では降海型の精子速度は、残留型に比べて有意に低かった(図2A)。しかし、体腔液10%溶液中では降海型の精子速度が河川水中に比べて上昇したのに対して、残留型の精子速度は体腔液10%溶液中でも上昇しなかった(図2A)。運動率も同様の結果となった(図2B)。精子寿命は両表現型において体腔液10%溶液中で延長した(図2C)。本研究から両表現型によって体腔液や河川水に対する精子運動の反応が異なることが示された。これらの結果は、残留型の精子が精子競争圧によって選択されたことを示唆している。降海型の精子は比較的雌に近い位置から放精できるため精子性能に選択がかからないことが推察された。

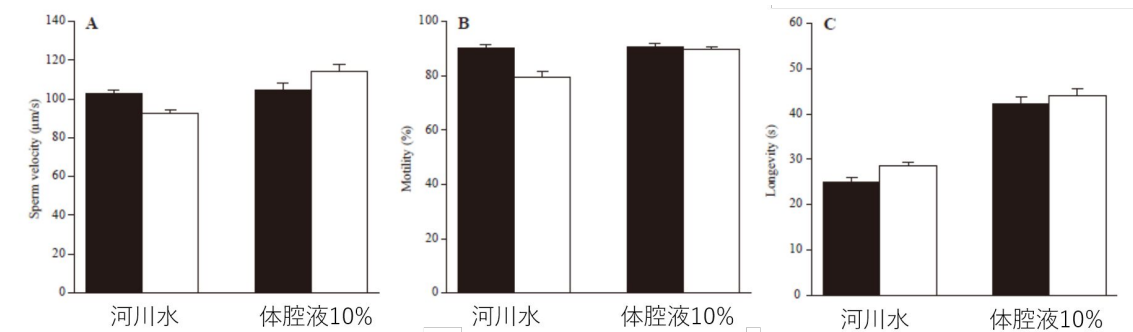


図2

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 4件)

Abe, T., Kitagawa, T., Makiguchi, Y., Sato, K.

Chum salmon migrating upriver accommodate to environmental temperatures through metabolic compensation.

Journal of Experimental Biology 2019222, jeb186189

DOI: 10.1242/jeb.186189 (査読有り)

依田憲, 牧口祐也, 海鳥類とサケ科魚類のバイオリギングとナビゲーション.

日本ロボット学会誌 2017 35(2): 118-121

DOI: 10.7210/jrsj.35.118 (査読有り)

Makiguchi, Y., Ichimura M, Kitayama T, Kawabata Y, Kitagawa T, Kojima T, Pitcher TE.

Sperm allocation in relation to female size in a semelparous salmonid.

Proceedings of the Royal Society of London, Open Science. 2017 3: 160497 (査読有り)

Makiguchi, Y., Torao, M., Kojima, T., and Pitcher, E.T. Reproductive investment

patterns and comparison of sperm quality in the presence and absence of ovarian fluid in alternative reproductive tactics of masu salmon, *Oncorhynchus masou*

Theriogenology 2016 86 2189–2193 (査読有り)

〔学会発表〕(計 7件)

牧口祐也, 泊健太, 小島隆人

サクラマスの老魚と若魚における精子運動性能

平成31年度日本水産学会春季大会、東京海洋大学、2019年3月26日-3月29日 口頭発表

新居久也, 牧口祐也, 宮川椋, 上田宏

シシャモの臨海遊泳速度

平成30年度日本水産学会秋季大会、広島大学、2018年9月15日-9月18日 口頭発表

牧口祐也

サクラマスの乱婚が子の性質に与える影響

国立研究開発法人 水産研究・教育機構東北水産研究所沿岸漁業資源研究センター所内セミナー、平成30年度、2018年8月2日 口頭発表

横森洋治郎、牧口祐也、小島隆人
照度の違いがシロザケの求愛行動に与える影響
平成 30 年度日本水産学会春季大会、東京海洋大学、2018 年 3 月 26-30 日 口頭発表

牧口祐也
サクラマスの雌が乱婚から享受する利益の検証
第 41 回 長崎最西端 進化生態学セミナー、長崎大学水産学部、2017 年 5 月 16 日 口頭発表(招待講演)

大村風音、牧口祐也、小島隆人
ヒメマスの二次性徴とオスの精子運動性能の関係
平成 29 年度日本水産学会春季大会、東京海洋大学、2017 年 3 月 26-30 日 口頭発表

牧口祐也
雌の体腔液がサクラマスの精子運動に与える影響と代替繁殖戦略の違いによる比較
第 28 回魚類生態研究会、長崎大学水産学部、2017 年 2 月 11-12 日 ポスター発表

〔図書〕(計 件)

〔産業財産権〕
出願状況(計 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年：
国内外の別：

取得状況(計 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等
<http://y-makiguchi-web.main.jp/>

6. 研究組織

(1)研究分担者
研究分担者氏名：
ローマ字氏名：
所属研究機関名：
部局名：
職名：
研究者番号(8桁)：

(2)研究協力者
研究協力者氏名：
ローマ字氏名：

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。