

令和 2 年 5 月 21 日現在

機関番号：14101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2019

課題番号：16K07462

研究課題名(和文) タイワンシジミの雄性発生とandrodioecyの起源, 多様性獲得法の解明

研究課題名(英文) The origin of androdioecy and genetic diversity of androgenetic clam *Corbicula lumina*

研究代表者

古丸 明 (Komaru, Akira)

三重大学・生物資源学研究所・教授

研究者番号：10293804

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：雄と雌雄同体間には成長差は無いが、生残率は雄が高かった。同体の生産する精子、雄の精子量を推定した結果、雄精子量は同体の10倍以上であった。雄は大型になり、より大量の精子を形成していた。總で保育中の稚貝の遺伝解析により自家受精率を推定した。この解析結果から、自家受精だけでなく他家受精も高頻度で起きていることが解明された。雄遺伝子も同体の保育個体から検出され、卵乗っ取り仮説も証明できた。雄が維持されるためには 1) 高い個体群密度、2) 雌雄同体とオスの同時放精、3) 雄による大量精子生産 4) 自家受精率の低い同体集団、の条件下でないと雄の維持は困難と想定される。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では親子判別、クローン性の等の遺伝解析、さらにフィールドにおける個体群動態調査を平行して行って、本集団が真のandrodioecyであることを明らかにすることができた。またandrodioecyが成り立つための条件についても 1) 個体群密度が高い、2) 雌雄同体と同時にオスの放精が起きる、3) 自家受精率の低い同体集団、と言う条件下でないと雄が維持されることは困難、ということを明らかにすることができた。動物界で極めて稀な雄と雌雄同体という組み合わせ(雄性異体 androdioecy) が、維持されていることを明らかにすることができ、それが維持される条件について推察を行った。

研究成果の概要(英文)：The present study demonstrated that we conduct the 1) population analysis such as growth and maturity on the population including male and hermaphrodites, 2) comparison of spermatozoa produced by male and hermaphrodite, 3) microsatellite analysis of parents and its brooding juveniles. The self-fertilization rates were fluctuated among the hermaphrodites. These analyses demonstrated that the hermaphrodites accepted the spermatozoa from neighboring hermaphrodites and males. We propose the requirements for maintaining males, and for their successful reproduction in self-compatible hermaphrodite populations, to be: 1) high population density, 2) low self-fertilization rates of hermaphrodites; 3) more spermatozoa and greater survival of males than those of hermaphrodites, 4) simultaneous discharge of gametes from hermaphrodites and males.

研究分野：進化生物学

キーワード：雄性発生 自家受精 卵胎生 タイワンシジミ 雌雄同体 雄性異体 androdioecy

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

雄性発生タイワンシジミにおいては受精時に卵の染色体はすべて極体として放出され細胞質内には、染色体が半減していない精子核のみで発生が進むことが明らかになった(雄性発生の発見)。本種は当初雌雄同体のみで構成され、主に自家受精をしていると考えられてきた。先行研究によって、1)若い貝はメスの表現型をとり、成長につれ精巣が発達し同体になること、2)雌雄同体とは遺伝的に異なる系統としてオスが同所的に存在していることが明らかになった。雌雄同体とオスという組み合わせは androdioecy (雄性異体)とよばれる、動物界では極めてまれな組み合わせである。オスはこれらのメスないし雌雄同体を交配相手として繁殖している可能性が大きいことが判明した。これらの先行知見から、本申請の着想に至った。オスは雌雄同体で自家受精の可能な個体の卵を受精させるためには、大量の精子を生産する必要がある。雌雄同体中でのオスの維持される条件を明らかにすることを目的として本研究を実施した。

2. 研究の目的

本種は鰓の中の哺育嚢内で自家受精する可能性が大きいと、雄が本当に雌雄同体、雌の卵を受精させる機会に恵まれ実際に繁殖に成功しているかどうかは検証するに至っていない。親子判別、クローン性の等の遺伝解析、さらにフィールド調査を平行して行う事によって、本集団が真の androdioecy であることを明らかにする。また、雄の由来や遺伝的多様性、適応度について雌雄同体の系統との比較を行う。

3. 研究の方法

課題1 androdioecy 集団における雄と雌雄同体の適応度の比較

フィールドにおける、成長/生残率実証試験(雄の成長、生き残り率は同体より高い)。先行研究で、大きな雄を白川で見いだすことができた。大きな個体は大量に精子を生産することができる可能性が大きい。雄は同体個体より成長が良い、あるいは、雄は同体より寿命が同体よりも長い、ということがいえるのかどうかフィールド調査で実証する。

課題2 雄と雌雄同体の生産する精子量の比較(仮説:雄は同体の精子生産量を圧倒する)

生殖巣組織切片画像から、雄の精子量と雌雄同体の精子量を画像解析により定量化する。また、雌雄同体においては精巣と卵巣の比率を数値化し、その値を集団間で比較し、雄が維持されやすい雌雄同体の精巣/卵巣の比率を明らかにする。

課題3 雌雄同体と雄のマイクロサテライトによる遺伝的多様性解析

雄性発生においては、個体の遺伝子はすべて精子の遺伝子由来する。そのため、雄性発生種においては突然変異の雄は精子形成を盛んに行っているため精原細胞の分裂回数は、雌雄同体精原細胞より理論的には多い。その分、突然変異率も高いはずである。雄性発生種においては、自家受精を行う関係で、ホモ接合度が高く、そのため、クローン発生であるととらえられてきた。集団内に遺伝的に異なる系統が多数いる可能性もあり、実際に保育中の稚貝の飼育を行って、親子間で遺伝解析を進める。実際にヘテロ接合の MS 座に注目して、親子において遺伝子型を比較し、精子形成時の遺伝子の挙動について明らかにし、異なる遺伝子型を作り出すプロセスの有無について実証する。

4. 研究成果

課題1に関しては、滋賀県栗東町の集団を対象に、経月的にオスと雌雄同体の成長度調査を行った。オスと雌雄同体の間には成長度の差はほとんど見られないことが明らかになった。また、産卵可能な期間が6月から11月まで長期間に渡っているためか、稚貝の発生状況を見ても、単一の集団ではなく、多くの時期の異なる産卵群が継続的に加入している状況が明らかになった。以上の結果から、オスと雌雄同体間には成長差は認められなかったが、生残率についてはオスの方が高く、大型になり、課題2の結果も合わせて、androdioecy が維持されるための条件として、オスは雌雄同体より大量の精子を作って、雌雄同体個体が鰓の中に卵を産み付ける際に、大量の精子を環境水中に放出し、鰓内の卵を受精させて雌雄同体の卵を乗っ取っている、ということが判明した。

課題2に関して雌雄同体の生産する精子とオスの生産する精子量について比較を行なった。生殖巣組織切片の画像をPCに取り込み、画面上に格子を当て、格子の交点に配偶子が存在している場合を解析し、軟体部全体の交点数で除して、卵、精子の比率を求め、配偶子量の指標とした。雌雄同体の生産する精子、オスの生産する精子を比較した結果、1オーダー異なる結果が得られた。すなわちオスの生産する精子量は最低でも雌雄同体の10倍以上であり、その差は有意であったという結果が得られた。オスは雌雄同体より大型になることも明らかになっており、実際の精子生産量の相違はもっと大きくなると判断された。すなわち、オスは大量の精子を生産する、しかも、生残率ないしは成長が良く、その分大型になり、より大量の精子を形成することができるという結果が得られた。雌雄同体の精子量には個体差、系統間差が大きいことが明らかになった。

課題3に関しては、実際に鰻で保育されている稚魚を取り出して、淡水産のプランクトンを与えて十分な DNA が抽出できるサイズになるまで飼育を行った。親と子のマイクロサテライト遺伝子を比較した。本種は自家受精すると言われてきたが、親と子供の遺伝子が一致する確率を自家受精率とみなして、自家受精率を推定した。自家受精率が個体によって大きく異なり、100%から最低10%という結果が得られた。この結果は、本種が常に自家受精しているわけではなく、状況により他個体の精子を受け入れていることを示している。本種は雌雄同体で自家受精も可能である。鰻の中に精子と卵を同時に放出して受精する。その際に、他個体も同時に環境水中に精子を放出し、他家受精が成立すると考えられる。他個体の多くは雌雄同体であったが、オスの遺伝子も検出されているので、オスによる卵乗っ取りも証明することができた。自家受精が可能な種においては、雌雄同体集団中でオスが維持されるための条件は、自家不和合性の種や、自家受精による近交弱勢により適応度が低下する種においては、オスが維持されるための条件はそれほど厳しくない。本種のように自家受精が可能で、しかも自家受精によっても近交弱勢を伴わない種においては、オスが維持される条件はさらに厳しくなる。本種におけるオスは、より大量の精子を生産し、しかも雌雄同体の産卵に合わせて放精していると想定される。また、自家受精率が高い系統では、オスが同体の卵を受精させる機会は低くなる。このような状況では、高密度、別の言い方をすれば、同体とオスのが近接している状況でないと、オスが維持されることは困難と想定される。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Hotta M & Komaru A	4. 巻 37
2. 論文標題 The process of first polar body formation in eggs of the androgenetic clam <i>Corbicula fluminea</i>	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 J Shellfish Res	6. 最初と最後の頁 131-137
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） https://doi.org/10.2983/035.037.0111	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Hotta Masaru, Akira Komaru, Joana Sousa and Standish K. Allen, Jr	4. 巻 36
2. 論文標題 Meiotic and Early Zygotic Development in <i>Crassostrea virginica</i> Observed through Confocal Microscopy	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Journal of shellfish research	6. 最初と最後の頁 699-706
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） doi.org/10.2983/035.036.0319	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する

1. 著者名 Sano N., Houki S., Kodan A., Kawamura K., Yamada M. & Komaru A.	4. 巻 15
2. 論文標題 Genetic confirmation of “egg parasitism” in androgenetic freshwater <i>Corbicula</i> clams by paternity testing using microsatellite DNA markers	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Plankton & Benthos Research	6. 最初と最後の頁 58-62
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3800/pbr.15.58	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件/うち国際学会 1件）

1. 発表者名 A Komaru, M Hotta
2. 発表標題 The process of two first polar body formation of androgenetic clam <i>Corbicula fluminea</i> eggs labeled with -, -tubulin antibody, rhodamine-phalloidine, and DAPI, observed by confocal microscopy
3. 学会等名 日本水産学会創立85周年記念国際シンポジウム The JSFS 85th Anniversary-Commemorative International Symposium “Fisheries Science for Future Generations”（国際学会）
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 伯耆 匠二, 藤田 奈々, 古丸 明
2. 発表標題 シジミ属 3 種における精子形態の種間・種内比較
3. 学会等名 日本動物学会
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分担者	遊佐 陽一 (Yusa Youichi) (60355641)	奈良女子大学・自然科学系・教授 (14602)	
研究 分担者	河村 功一 (Kawamura Kouichi) (80372035)	三重大学・生物資源学研究所・教授 (14101)	