

研究種目：基盤研究（B）

研究期間：2007～2008

課題番号：19370007

研究課題名（和文）交尾型カジカをモデルとして、繁殖様式の大進化に及ぼす精子競争の定量的影響評価

研究課題名（英文）Quantitative estimation of sperm competition in the evolution of the reproductive styles in cottoid fishes as a model of copulatory animals

研究代表者

宗原 弘幸 (MUNEHARA HIROYUKI)

北海道大学・北方生物圏フィールド科学センター・准教授

研究者番号：80212249

研究成果の概要： 交尾は、肺呼吸、四足歩行と並んで、ヒトを含む脊椎動物が陸圏に進出する際の前適応である。交尾の進化過程を再現するため、近縁種に交尾種と非交尾種を含んだカジカ上科魚類をモデルとして、雄間の競争、特に精子競争の影響に焦点を当てて、実験的に調査した。行動形質の評価指標として繁殖成功率に注目した。その結果、射出精子量、交尾の順番が、繁殖成功率に影響し、先にたくさんの精子を雌に渡すという行為が交尾の進化動因であることが示唆された。

交付額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	7,700,000	2,310,000	10,010,000
2008年度	6,200,000	1,860,000	8,060,000
年度			
年度			
年度			
総計	13,900,000	4,170,000	18,070,000

研究分野：生物学

科研費の分科・細目：基礎生物学、生態・環境

キーワード：カジカ、交尾、精巣構造、異型精子、放精タイミング

1. 研究開始当初の背景

カジカ上科魚類は、20年前までは、成体についての知見がほとんどなかったが、近年までに申請ら北海道大学の生態学、生殖生理学、系統分類学など様々な研究室が協力しあって繁殖様式の研究が進み、比類のない多様性が明らかになった。特に、近縁種間で交尾種と非交尾種の存在が交尾の進化モデルとして注目されるようになった。

である精子を雄はどのように使うか、つまり精子配分を非交尾種と交尾種で比較する。予測としては、非交尾種は毎回の産卵で平均的な放精量を示し、交尾種は精子が卵巣内で活性を維持した状態で長らく生存するので、繁殖期初期に多量に放精すると考えられた。

2. 研究の目的

(1) 繁殖期間中において、限りある繁殖資源

(2) 交尾種の雌は、雄をどう選択するか。精子は卵巣内で活性を維持するが、それに対して雌は受精に使う精子を選択する可能性があるかを調べる

(3) 精巢構造および精子多型について、繁殖様式、系統間での比較をする。精子競争の強度や雌雄の生殖の構造、社会構造など、種間によって違いのある、繁殖生態関連形質と生殖器官の共進化の実態を調べる。

3. 研究の方法

(1) 多くのカジカ類の繁殖行動を水槽内およびスキューバ潜水を使って野外で観察し、繁殖様式を類型化する。特に、交尾するかしないか、親魚が卵を保護するかどうか、保護する場合保護者の雄親か雌親か、それとも卵を無脊椎動物に産卵する卵寄託の習性を持つかに着目する。

(2) 水槽内で交尾をさせ、水中および卵巣内から精子を回収し、放精量をしらべる。非交尾種の場合、海水をホルマリンで固定し、染色剤で染色後、ミリポアフィルターで濾過し、メンブレンに残った精子を顕微鏡で観察する。交尾種の場合、挿入を邪魔し、水中に放精させる、又は交尾後直ちに卵巣内に生理食塩水を注入し卵巣を洗浄して精子を回収する。精子数は、非交尾種と同様に行う。

(3) 繁殖行動と父性判定から、雌の雄選択を調べる。マイクロサテライトと多型を遺伝マーカーとして、交尾の順番による父性の相関関係をあぶり出す。

(4) 多くのカジカ類の精巢構造と精子多型を調べる。カジカ類は北太平洋北米沿岸からアリューシャン列島、極東沿岸域まで約 100 属 400 種余りが分布するが、多くの種の分布は狭い。そこで、北米種については、現地に採集調査を実施し、標本を集め、現地での生態調査と帰国後の解剖で、できるだけ多くの種について調査する。

4. 研究成果

(1) 極東固有のカジカ類の繁殖様式の進化過程を提案した。非交尾-雄保護、交尾-雄保護、交尾-卵寄託、又は交尾-雌保護。特に、非交尾から交尾への進化は、交尾種では、繁殖期初期に多量の精子を放精する前半投資型の精子配分傾向が非交尾種と比べて強いことが明らかになり、しかも血縁判定の結果、雌に対して先に交尾した雄ほど、高い繁殖成功度が得られることがわかった。この結果から、交尾の進化には、雄間の精子競争が強く関わっていることが示された。この仮説は、英文で出版される魚類の生殖と系統関係に関する本の一つの章として、平成 21 年 4 月に出版された (Abe and Munehara, 2009)。

(2) 4 科 20 属 20 種以上の精巢構造を組織学的に調べ、繁殖様式の機能特化の側面から分析

した結果、精巢の構造は大きく 3 つに分けられた。基本形は、胞嚢を持った精巢と中央に未発達な輸精管を持つタイプ、次に精巢は同型だが輸精管が良く発達したタイプ、さらに精巢が管状構造の集合体で精子形成が部位によって異なる様式で、貯性能機能を持った組織が輸精管の癒合部に発達するタイプである。最初の基本型は非交尾と雄保護といった繁殖様式の初期型の魚種に多く見られ、3 番目のタイプは交尾種のみに見られるだけでなく、繁殖様式の特化型である雌保護と卵寄託種に見られる精巢構造であった。また、異型精子は系統的にも繁殖行動においても明瞭に対応は見られなかったが、ステロイドホルモン産生能を有していることが明らかになり、精子の活性延長との関わりを指摘した。

(3) 北米産のカジカ類で交尾-卵寄託を初めてみつけた。これにより、北米でも極東と同じ生殖様式の進化パターンを裏付けた。分布域の異なるグループ間で同様の進化パターンが確認できたことで、カジカをモデルとした交尾進化仮説は、汎用できることを示唆した。

(4) カジカ類の生態、形態の多様性を一般に伝える目的で、日本魚類学会で国際シンポジウムを開催し、学会期間および終了後北大総合博物館でカジカ写真展を開催し、好評を博した。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 14 件)

- ① Awata, S., Kimura, M., Sato, N., Abe, T. and Munehara, H. Breeding season, spawning time, and description of spawning behaviour in the Japanese ornate dragonet, *Callionymus ornatipinnis*: a preliminary field study at the northern limit of its range. *Ichthyological Research*, in press, 査読有
- ② Munehara, H., Y. Tanaka and T. Futamura, Novel sledge net system employing propulsion vehicles for sampling demersal organisms on sandy bottoms, *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, in press, 査読有
- ③ 鶴岡理・山中智之・阿部拓三・武藤文人・宗原弘幸ほか, 北海道南部函館市臼尻沿岸から得られた 5 種の魚類, 北海道大学水産科学研究彙報, 58, 43-50, 2009, 査読無
- ④ Sato, N. and H. Munehara, Estimated life span of the Japanese pygmy squid, *Idiosepius paradoxus* from statolith growth increments. *J. Mar. Biol. Assoc.*

- UK, 88, 391-394, 2008, 査読有
- ⑤ Ichiro Kodama, Akira Yamanaka, Katsuhiko Endo, Yasunori Koya, Role of the yellow spot around the urogenital opening of female mosquitofish (*Gambusia affinis*) as a cue for copulation, *Zoological Science*, 25, 1199-1204, 2008, 査読有
- ⑥ Abe, T. and H. Munehara, Histological structure of the male reproductive organs and spermatogenesis of a copulating sculpin, *Radulinopsis taranetzi* (Scorpaeniformes, Cottidae), *Ichthyological Research*, 54, 137-144, 2007, 査読有
- ⑦ Crow, K., H. Munehara, Z. Kanamoto, A. Balanov, D. Antonenko and G. Bernardi, Maintenance of species boundaries despite rampant hybridization between three species of reef fishes (Hexagrammidae): implications for the role of selection, *Biol. J. the Linnean Society*, 91, 135-147, 2007, 査読有
- ⑧ Hayakawa, Y., E. Takayama-Watanabe, A. Watanabe, M. Kobayashi, H. Munehara and K. Onitake, Partial formation of sperm dimorphism from spermatocytes of the cottoid fish, *Hemilepidotus gilberti* in cell culture, *Zygote*, 15, 285-293, 2007, 査読有
- ⑨ Kimura, M., T. Yanagimoto and H. Munehara, Maternal identification of hybrid eggs in *Hexagrammos* spp. by means of multiplex amplified product length polymorphism of mitochondrial DNA, *Aquatic Biol.*, 1, 187-194, 2007, 査読有
- ⑩ Hayakawa, Y., M. Kobayashi, H. Munehara, A. Watanabe and K. Onitake, Spermatogenesis involving the parasperm production in the marine cottoid fish, *Hemilepidotus gilberti*, *Raffles Bulletin of Zoology*, 14, 29-35, 2007, 査読有
- ⑪ Nagao, J. and H. Munehara, Characteristics of broods fertilized with fresh or stored sperm in the helmet crab *Telmessus cheiragonus*, *J. Crustacean Biol.*, 27, 565-569, 2007, 査読有
- ⑫ Yasunori Koya and Marta Muñoz, Comparative study on ovarian structures in scorpaenids: possible evolutionary process of reproductive mode, *Ichthyological Research*, 54, 221-230, 2007, 査読有
- ⑬ Youichi Hayakawa, Parasperm: morphological and functional studies on the non-fertile sperm, *Ichthyological Research*, 54, 111-130, 2007, 査読有
- ⑭ 福井謙太郎・藤井亮史・田原大輔・早川洋一・古屋康則, 飼育下におけるカジカ(小卵型)の生殖腺組織および血中中性ホルモン濃度の周年変化. *魚類学雑誌*, 54, 173-186 (2007), 査読有
- [学会発表] (計 23 件)
- ① 宗原弘幸・田中善規・二村智之, 水中スクーターを動力としたソリネットと白尻で採集された初記録 5 種, 日本魚類学会, 2008. 9. 22, 愛媛大学 (松山市)
- ② 安房田智司・太田和孝・松本一範・宗原弘幸, タンガニイカ湖産カワズメ科魚類の精子の多様性とその進化, 日本魚類学会, 2008. 9. 22, 愛媛大学 (松山市)
- ③ 児玉伊智郎・山中明・遠藤克彦・古屋康則, カダヤシ (*Gambusia affinis*) の雄の交尾行動に及ぼす雌の斑紋の影響, 日本魚類学会, 2008. 9. 22, 愛媛大学 (松山市)
- ④ 古屋康則・竹内彩乃・小池友香理, メダカのスニーカーはいつもスニーキングするののか?, 日本魚類学会, 2008. 9. 22, 愛媛大学 (松山市)
- ⑤ 古屋康則・小池友香理・宗原弘幸, メダカにおけるスニーカーの繁殖成功率と放精数の関係, 日本動物学会, 2008. 9. 5, 九州大学 (福岡市)
- ⑥ 木村幹子・河田雅圭・宗原弘幸, 戻し交配で戻らない!? アイナメ属の種間における Hybridogenesis の可能性, 日本進化学会, 2008. 8. 22, 東京大学 (東京)
- ⑦ Hayakawa Y, Nakauchi U, Munehara H, Kobayashi M, Watanabe A, Onitake K, Development of dimorphic sperm in cottoid fish, *Hemilepidotus gilberti*, Sex determination and gametogenesis in fish: current status and future directions. An international symposium in honor of Professor Yoshitaka Nagahama, 2008 年 5 月 30 日～6 月 1 日, ハワイ大学(アメリカ)
- ⑧ 早川洋一・中内祐二・山村織生・宗原弘幸・小林牧人・渡辺明彦「ヨコスジカジカにおける二型精子の核凝縮に関わる精子特異的塩基性タンパク質の同定」平成 20 年度日本水産学会、東海大学、(静岡市)、2008. 3. 28
- ⑨ 古屋康則・藤井亮史・早川洋一・山家秀信・田原大輔: カジカ(小卵型)雄での営巣による尿量増加と異型精子の輸精管への移動. 平成 19 年度日本水産学会中部支部大会, 福井県立大学小浜キャンパス (小浜市), 2007 年 11 月

15 日

- ⑩ ABE, T. and H. Munehara Histological observation and emancipation mechanism of sperm bunch found in a copulating sculpin, *Radulinopsis derjavini*. INTERNATIONAL WORKSHOP, North Pacific Fishes (Species diversity, evolution and reproduction strategy), Russia Academy of Science, Marine Biological Institute, Vladivostok, Russia, November 10, 2007
- ⑪ Munehara, H. Diversity and evolution of reproductive styles in marine sculpins. INTERNATIONAL WORKSHOP, North Pacific Fishes (Species diversity, evolution and reproduction strategy), Russia Academy of Science, Marine Biological Institute, Vladivostok, Russia, November 10, 2007
- ⑫ Kimura, M. and H. Munehara, A breakdown of habitat isolation among coastal fish by artificial habitat modification. The North Pacific Marine Science Organization, Victoria, Canada, October 26–November 5, 2007.
- ⑬ 中内祐二・早川洋一・小林牧人・山村織生・渡辺明彦「ヨコスジカジカ二型精子の核凝縮に關与する精子特異的塩基性核タンパク質の同定」日本動物学会第 78 回大会、弘前大学、(弘前市)、2007 年 10 月 15 日
- ⑭ 宗原弘幸, 海産カジカ類の多様性と繁殖様式の進化, 日本魚類学会シンポジウム, 2007 年 10 月 8 日, 北海道大学 (札幌市)
- ⑮ 後藤晃, 淡水カジカ類の生態的多様性と生活史進化, 日本魚類学会シンポジウム, 2007 年 10 月 8 日, 北海道大学 (札幌市)
- ⑯ 古屋康則, カジカ類における交尾型および非交尾型繁殖の生理的適応, 日本魚類学会シンポジウム, 2007 年 10 月 8 日, 北海道大学 (札幌市)
- ⑰ 早川洋一, 海産カジカ類における精子の多様性と適応, 日本魚類学会シンポジウム, 2007 年 10 月 8 日, 北海道大学 (札幌市)
- ⑱ 横山良太・V.G. sideleva・後藤晃, カジカ属魚類と類縁グループの分子系統と進化史, 日本魚類学会シンポジウム, 2007 年 10 月 8 日, 北海道大学 (札幌市)
- ⑲ 古屋康則・細江達三: 岐阜県におけるホトケドジョウの生息環境と生殖腺組織の季節変化. 2007 年度日本魚類学会年会, 北海道大学 (札幌市), 2007 年 10 月 8 日
- ⑳ 高崎文世・伊藤亮・向井貴彦・古屋康則: 揖斐川下流域に生息するアベハゼの生殖周期. 2007 年度日本魚類学会年会, 北海道大学 (札幌市), 2007 年 10 月 8 日
- ㉑ 小池友香理・宗原弘幸・古屋康則: メダカ

- の産卵における放精数がライバル雄から受ける影響. 2007 年度日本魚類学会年会, 北海道大学 (札幌市), 2007 年 10 月 8 日
- ㉒ 劉雁輝・桑田知宣・古屋康則: アユにおける生殖腺の性分化過程とメチルテストステロン処理による卵巣発達への影響. 2007 (平成 19) 年度日本水産学会秋季大会. 北海道大学水産学部 (函館市), 2007 年 9 月 22 日
- ㉓ 田原大輔・羽田野亮・石川貴之・古屋康則・藤井亮史 (2007): 淡水カジカ類の異型精子は性ステロイドホルモンを産生する. 2007 (平成 19) 年度日本水産学会秋季大会. 北海道大学水産学部 (函館市), 2007 年 9 月 22 日

[図書] (計 2 件)

- ① Abe, T., Munehara, H. Adaptation and Evolution of Reproductive mode in Copulating Cottoid Species. In “Reproductive Biology and Phylogeny in Fishes”, Science Publisher, in press,
- ② Yasunori Koya, Reproductive Physiology in Viviparous Fish. In: Fish Reproduction, Science Publishers, 245-275, 2008

[その他]

写真展『写真で見るカジカ類の多様性』

- 1 回目 2007 年 10 月 6 日～9 日
札幌、日本魚類学会年会
- 2 回目 2007 年 10 月 10 日～11 月 4 日
札幌、北大総合博物館
- 3 回目 2008 年 8 月 8 日～9 月 4 日
函館、函館市立中央図書館

6. 研究組織

(1) 研究代表者

宗原 弘幸
北海道大学・北方生物圏フィールド科学センター・准教授
研究者番号: 80212249

(2) 研究分担者

古屋康則
岐阜大学・教育学部・准教授
研究者番号: 30273113

早川洋一
国際基督教大学・教養学部・研究員
研究者番号: 50384011

(3) 連携研究者

後藤晃
北海道大学・北方生物圏フィールド科学センター・教授
研究者番号: 30111165