

平成30年 5月29日現在

機関番号：12501

研究種目：基盤研究(A) (海外学術調査)

研究期間：2013～2017

課題番号：25257406

研究課題名(和文) 海産緑藻の配偶子の異型性と系統関係を考慮した種間形質の比較

研究課題名(英文) A comparative test of a theory for disruptive selection on gamete size in marine green algae

研究代表者

富樫 辰也 (Togashi, Tatsuya)

千葉大学・海洋バイオシステム研究センター・教授

研究者番号：70345007

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 33,500,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、様々な配偶システムを現生種に見ることの出来るアオサ藻綱の海産緑藻に着目し、系統関係を考慮した種間比較を行って、Parker, Baker & Smithの理論を検証した。その結果、この理論が予測したように、異型配偶の進化に伴って、雄性配偶子には効率的な接合のために小型化が求められ、雌性配偶子には接合子に初期発生を安全に行うために必要な資源を供給することが求められるため雌雄の配偶子のサイズに分断性淘汰が起きたことを支持する証拠が得られた。

研究成果の概要(英文)：Based on Parker, Baker and Smith's theory (PBS theory) for the evolution of anisogamy, we tested disruptive selection on gamete size. We can expect that more strongly anisogamous species produce larger female gametes. Also, the relationship between the size of male gametes and the degree of anisogamy remains untested. In anisogamous species, the PBS theory predicts that male gametes are soon minimized in size. Because the evolution of isogamy with a gamete of zero size is favoured by selection there must be the minimum size of gametes. In such cases, the degree of anisogamy would not depend on the size of male gametes. We confirmed that, as the degree of anisogamy increases, the size of female gametes increases, and that in strongly anisogamous species, the degree of anisogamy does not depend on male gamete size. These results well support the PBS theory.

研究分野：進化生態学

キーワード：異型配偶 性淘汰 性的二型

1. 研究開始当初の背景

卵や精子をはじめとする配偶子における雌雄の間のサイズの違いは異型配偶と呼ばれ、生物に形態的・行動的な性的二型を進化させる根本的な要因となる。同一種内の雌雄の配偶子のサイズに違いがあると、小型で限られた繁殖投資資源から多数生産可能で、高速で遊泳して高い探索能力を有する雄性配偶子の間には、大型で初期発生に必要とされる資源を多く保有する反面、探索能力が低く限られた資源からは少数しか生産することができない雌性配偶子をめぐる競争が起きる。Darwin は、性淘汰の根底にはこの競争があることを初めて述べている(1 Darwin 1871)。

異型配偶がより原始的とされる同型配偶からどのようなメカニズムで進化してきたのかについては、主に数理モデルを用いた理論的な研究が先行していた。中でももっとも広く受け入れられている理論は Parker, Baker & Smith's theory (しばしば PBS theory と呼ばれる)であり、雄性配偶子には効率的な接合のために小型化が求められ、雌性配偶子には接合子に初期発生を安全に行うために必要な資源を供給することが求められるため雌雄の配偶子のサイズに分断性淘汰が起きると説明している(2 Parker et al. 1972)。その他にも、細胞内小器官の利己的な振る舞いや寄生者の伝播を防ぐために雄性配偶子を極端に小型化とする Nuclear-cytoplasmic conflict hypothesis(3 Cosmides & Tooby 1981)、ウニを対象とした研究に基づいて精子と出会う際のターゲットサイズを大きくするために卵サイズが大きくなるとする Sperm limitation hypothesis(4 Levitan 1996)がある。

我々は、極端な異型配偶である卵配偶しか見られない動物と違って、両性の間で配偶子サイズが異ならない同型配偶から顕著な異型配偶まで多様な配偶システムを見る

ことのできるアオサ藻綱の海産緑藻は、異型配偶の進化機構を解明するための研究により適した材料だと考えた。アオサ藻綱の海産緑藻では、これまでに同型配偶であっても細胞内小器官が片親遺伝することが明らかになっている(5 Kagami et al. 2008)。加えて、潮間帯上部に生育する種では、両性の配偶子が眼点(光受容器官)を有しており、放出されると直ちに正の走光性を示して海面直下に集合する(6 Togashi et al. 1997)。正の走光性は、接合場所を海面直下の2次元平面に限定することによって、接合効率を高めていることもわかった(7 Togashi et al. 1999)。潮間帯下部に生育する種は、雄性配偶子は小型で眼点を失っており、眼点を有する大型の雌性配偶子から分泌される性フェロモンによって誘導されている。これらの研究成果から、アオサ藻綱の海産緑藻の配偶子サイズの進化は PBS theory によって説明されるのではないかということが浮き彫りになった。理論研究からもこのことが支持されている(8 Togashi et al. 2012)。

2. 研究の目的

PBS theory では、雌雄の配偶子が接合することによって形成される接合子のサイズの少なくとも一部の範囲において接合子のサイズが大きくなるにつれて比例的以上にその適応度が上昇することが仮定されている。この仮定を直接的な実験によって検証することは極めて困難である。しかし、成体のサイズが大きな種は発生に必要な資源の量も多いのではないかと考えられることから、成体のサイズと配偶子の異型性の関係に置き換えた間接的な検証がされている(9 Randerson & Hurst 2001)。しかし、結果は不安定であり、さらなる検証の必要性が残された。

そこで、本研究では、種ごとに配偶子の異型の度合いが様々に異なり世界規模で比較的浅い沿岸海域に生育するアオサ藻綱

の海産緑藻に着目し、PBS theory が示唆するように、配偶子サイズに分断性淘汰が生じて異型配偶の度合いが強くなるにしたがって

- 1) 雌性配偶子のサイズが大きくなるか？
- 2) 雄性配偶子のサイズが小さくなるか？

また、3) 成体サイズと配偶子の異型性に正の相関関係があるかどうか？の3点に主眼をおいた研究を行った。

3. 研究の方法

研究材料の採集は、研究分担者（吉村、四ツ倉）の支援を受けながら寒流から暖流まで様々な環境に沿った調査を行うことの出来る北米大陸東海岸をはじめ、古くから海藻フロラがよく調べられており有用な情報の多い英国南海岸地方、タスマン海に面したオーストラリア南岸などでも行った。補足的な材料は北海道太平洋岸（室蘭市）、日本海岸（小樽市）、千葉県南房総（鴨川市）でも行った。

採集によって得られた材料から抽出した DNA からジェネティックアナライザー (ABI3130) を使って得た情報ならびにこれまでにデータベースに蓄積されていた情報を用いてアオサ藻綱の海産緑藻で種レベルの変異が見られる RuBisCO を構成する大サブユニットの遺伝子 (rbcL) の配列の違いに基づく系統解析を行った。アオサ藻綱の海産緑藻では、この遺伝子領域に種によってはイントロン領域を含んでいる種があるが、そのような場合はイントロン領域を除いて解析を行った。塩基配列のアライメントには ClustalX2 を用いた。系統樹の構築は最尤法によって行い、その際のモデルテストには modeltest3.7 を用いた。

採集した材料の一部は培養実験に用い、人工気象器内で生育条件を制御しながら有性生殖を誘導することによって、雌雄の配偶子を得た。得られた配偶子の体積は正立顕微鏡 (Zeiss, Axio Imager A1) を用いて計測した長軸と短軸の長さから配偶子の形状を楕円球に近似して計算した。接合子の体積は雌

雄の配偶子の体積の和とした。異型配偶の度合いは (雌性配偶子の体積) / (雄性配偶子の体積) と定義した。自ら採集した研究材料から得られたデータに文献調査によって得たデータを加えて解析を行った。

種間形質の比較には系統関係を考慮した Independent Contrasts と Phylogenetic Generalized Least Square (PGLS) の 2 つの方法を用いた。

Independent Contrasts では、形質のデータと系統樹の枝のデータを用いて系統的な影響を差し引いた新しいデータを作る。種 i と種 j のそれぞれの形質データを X_i 、 X_j 、系統樹の枝の長さを V_i 、 V_j 、その上流のノードを X_k とすると、 X_k は以下のように求めることが出来る。

$$X_k = \{(1/V_i)X_i + (1/V_j)X_j\} / (1/V_i + 1/V_j)$$

この値を以下の式を用いて標準化したものが系統関係を考慮して補正した新しいデータ C_k となる。

$$C_k = (X_i - X_j) / \sqrt{V_i + V_j}$$

Independent Contrasts の計算は、Mesquite の PDAP パッケージを用いた。

これに対して、PGLS では、Independent Contrasts のように系統樹上で隣り合った 2 本の枝の間での比較ではなく、行列を用いることによって系統樹上の他の枝との関係まで考慮した比較を行うことが出来る。PGLS の計算は、R の caper パッケージを用いた。

4. 研究成果

上述の方法を用いて系統関係を考慮して種間形質の比較を行った結果、研究の主な成果として以下のようなことが明らかになった。

アオサ藻綱を構成する主要な目であるハネモ目では配偶子のサイズが雌雄で異なる異型配偶が行われているが、雄性配偶子は、押並べて小型であるばかりでなく、これまで多くの理論研究が予測してきたように最小サイズに達していることを示唆する結果が得られた。このため、配偶子の異型性は雌性

配偶子のサイズに依存する。これらのことは、自明ではない。なぜなら、配偶子の異型性は、雌性配偶子のサイズが変化しなくても、雄性配偶子のサイズが小型化すれば、大きくなるからである。これによって、雄性配偶子が小型化し、雌性配偶子が大型化する分断性淘汰によって、配偶子の異型性が大きくなるとする PBS theory の主張が裏付けられた。

さらに、ボルボックス目の淡水産緑藻に着目した従来の研究では、成体サイズ（配偶体サイズ）と配偶子の異型性の間には正の相関関係があり、これは PBS theory における大きな接合子ほど生き残りやすいという仮定を間接的に支持するということされてきた（⁹ Randerson & Hurst 2001）。この研究では、成体サイズは配偶体のサイズと考えられている。しかし、接合子が複相の孢子体に発生し、孢子体に減数分裂を経て単相の遊走子が形成され、その遊走子が次世代の配偶体となるような種では、配偶体は接合子ではなく遊走子から発生する。従って、このような種では大きな接合子ほど生き残りやすいため配偶子の異型性と成体サイズの間には何らかの関係があるという理由はない。本研究では、生活環に孢子体世代を有する種において、成体サイズと配偶子の異型性との間に相関があるかどうか調べたところ、予想通り相関関係は見られなかった。上述の先行研究の結果が不安定であった理由は、孢子体世代と遊走子のサイズを無視したためであると考えられる。成体サイズと遊走子のサイズとの関係を調べれば正の相関関係性が見られるかもしれない。従って、この問題の検証に孢子体世代を有する種を用いるのは適切でない。

<引用文献>

¹ Darwin CR. 1871. The Descent of Man, and Selection in Relation to Sex. J. Murray, London.

² Parker GA, Baker RR, Smith VGF. 1972. The origin and evolution of gamete dimorphism

and the male-female phenomenon. J Theor Biol 36:529-553.

³ Cosmides LM, Tooby J. 1981. Cytoplasmic inheritance and intragenomic conflict. J Theor Biol 89:83-129.

⁴ Levitan DR. 1996. Effects of gamete traits on fertilization in the sea and the evolution of sexual dimorphism. Nature 382:153-155.

⁵ Kagami Y. et al. 2008. Sexuality and uniparental inheritance of chloroplast DNA in the isogamous green alga *Ulva compressa* (Ulvothyceae). J Phycol 44:691-702.

⁶ Togashi T, Motomura T, Ichimura T. 1997. Production of anisogametes and gamete motility dimorphism in *Monostroma angicava*. Sex Plant Reprod 10:261-268.

⁷ Togashi T, et al. 1999. Gametic behavior in a marine green alga, *Monostroma angicava*: an effect of phototaxis on mating efficiency. Sex Plant Reprod 12:158-163.

⁸ Togashi T, Bartelt JL, Yoshimura J, Tainaka K, Cox PA. 2012. Evolutionary trajectories explain the diversified evolution of isogamy and anisogamy in marine green algae. Proc Natl Acad Sci. USA 109:13692-13697.

⁹ Randerson JP, Hurst LD. 2001. A comparative test of a theory for the evolution of anisogamy. Proc R Soc Lond B 268:879-884.

5. 主な発表論文等
(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計15件)

¹ Gavina Maica Krizna A., Tahara Takeru, Tainaka Kei-ichi, Ito Hiromu, Morita Satoru, Ichinose Genki, Okabe Takuya, Togashi Tatsuya, Nagatani Takashi, Yoshimura Jin.

2018. Multispecies coexistence in Lotka-Volterra competitive systems with crowding effects. *Scientific Reports* 8:1198 DOI:10.1038/s41598-017-19044-9
- ² Horinouchi Yusuke, Togashi Tatsuya. 2018. Within-clutch variability in gamete size arises from the size variation in gametangia in the marine green alga *Monostroma angicava*. *Plant Reproduction* 31(2):193-200 DOI:10.1007/s00497-018-0323-8
- ³ Klochkova Tatyana A., Klochkova Nina G., Yotsukura Norishige, Kim Gwang Hoon. 2017. Morphological, molecular, and chromosomal identification of dwarf haploid parthenosporophytes of *Tauya basicrassa* (Phaeophyceae, Laminariales) from the Sea of Okhotsk. *Algae* 32:15-28 DOI:10.4490/algae.2017.32.131
- ⁴ Tifeng Shan, Norishige Yotsukura, Shaojun Pang. 2017. Novel implications on the genetic structure of representative populations of *Saccharina japonica* (Phaeophyceae) in the northwest Pacific as revealed by highly polymorphic microsatellite markers. *Journal of Applied Phycology* 29:631-638 DOI:10.1007/s10811-016-0888-2
- ⁵ Kenichi Yoshimura, Shin-Taro Saiki, Kenichi Yazaki, Mayumi Y. Ogasa, Makoto Shirai, Takashi Nakano, Jin Yoshimura, Atsushi Ishida. 2016. The dynamics of carbon stored within xylem sapwood to drought-induced hydraulic stress in mature trees. *Scientific Reports* 6:24513 DOI:10.1038/srep24513
- ⁶ Takuya Okabe, Jin Yoshimura. 2016. Optimal hair arrangement of tentacles in jellyfish. *Scientific Reports* 6:27347 DOI:10.1038/srep27347
- ⁷ Jomar F. Rabajante, Jerrold M. Tubay, Takashi Uehara, Satoru Morita, Dieter Ebert, Jin Yoshimura. 2015. Red Queen dynamics in multi-host and multi-parasite interaction system. *Scientific Reports* 5:10004 DOI:10.1038/srep10004
- ⁸ Togashi, T., Y. Horinouchi, H. Sasaki and J. Yoshimura. 2015. Evidence for equal size cell divisions during gametogenesis in a marine green alga, *Monostroma angicava* *Scientific Reports* 5:13672 DOI:10.1038/srep13672
- ⁹ T. Koyama, H. Ito, S. Kakishima, J. Yoshimura, J. R. Cooley, C. Simon, T. Sota 2015. Geographic body size variation in the periodical cicadas *Magicicada*: implications for life cycle divergence and local adaptation. *Journal of Evolutionary Biology* 28:1270-1277 DOI:10.1111/jeb.12653
- ¹⁰ Atsushi Ishida, Takashi Nakano, Minaco Adachi, Kenichi Yoshimura, Noriyuki Osada, Phanumard Ladpala, Sapit Diloksumpun, Ladawan Puangchit, Jin Yoshimura. 2015. Effective use of high CO₂ efflux at the soil surface in a tropical understory plant. *Scientific Reports* 5:8991 DOI:10.1038/srep08991
- ¹¹ Hiroki Inoue, Jin Yoshimura, Kikuo Iwabuchi. 2014. Gene Expression of Protein-Coding and Non-Coding RNAs Related to Polyembryogenesis in the Parasitic Wasp, *Copidosoma floridanum*. *PLoS ONE* 9: e114372. DOI:10.1371/journal.pone.0114372
- ¹² Hiromi Asanuma, Satoshi Kakishima, Hiromu Ito, Kazuya Kobayashi, Eisuke Hasegawa, Takahiro Asami, Kenji Matsuura, Derek A. Roff, Jin Yoshimura. 2014. Evolutionary optimality in sex

differences of longevity and athletic performances. Scientific Reports 4:5425 DOI:10.1038/srep05425

¹³ Tatsuya Togashi, Hironobu Sasaki, Jin Yoshimura. 2014. A geometrical approach explains Lake Ball (Marimo) formations in the green alga, *Aegagropila linnaei*. Scientific Reports 4:3761 DOI: 10.1038/srep03761

¹⁴ Jerrold M. Tubay, Hiromu Ito, Takashi Uehara, Satoshi Kakishima, Satoru Morita, Tatsuya Togashi, Kei-ichi Tainaka, Mohan P. Niraula, Beatriz E. Casareto, Yoshimi Suzuki, Jin Yoshimura. 2013. The paradox of enrichment in phytoplankton by induced competitive interactions. Scientific Reports 3:2835 DOI: 10.1038/srep02835

¹⁵ Kouhei Nagai, Kouichi Moritomo, Haruka Ikegami, Hajime Kimura and Norishige Yotsukura. 2013. Investigation of proteomic profiles of lamina of *Ecklonia kurome* (Laminariales): homology-based cross-species protein identification and analysis of the post-translational processing of vanadium-dependent bromoperoxidases using MALDI-TOF/TOF. Marine Biotechnology 15:487-498 DOI:10.1007/s10126-013-9498-z

〔学会発表〕(計5件)

¹ 堀之内祐介、吉田航登、富樫辰也

緑藻の配偶子サイズのばらつきは配偶子嚢サイズのばらつきから生じる

第65回日本生態学会大会、2018年3月14日 18日、札幌コンベンションセンター(北海道札幌市)

² 堀之内祐介、茂呂竜太郎、若菜雄、富樫辰也

海産緑藻の生活環における隠れた種内多型の発見

第64回日本生態学会大会、2017年3月14日 18日、早稲田大学早稲田キャンパス(東京都新宿区)

³ 富樫辰也

海産緑藻配偶システムの進化に見る偶然と必然

自由集会「藻類の多様性から迫る生物進化と生態・環境」

第63回日本生態学会大会、2016年3月20日 24日、仙台国際センター(宮城県仙台市)

⁴ 池田純、堀之内祐介、宮下紘樹、郷田陽介、杉井優太郎、富樫辰也

大きな接合子は有利? : エゾヒトエグサの特性を活かす

第62回日本生態学会大会、2015年3月18日 22日、鹿児島大学郡元キャンパス(鹿児島県鹿児島市)

⁵ 堀之内祐介、青山峻、榊原加織、宮下紘樹、池田純、郷田陽介、富樫辰也

海産緑藻エゾヒトエグサの配偶子生産

第61回日本生態学会大会、2014年3月14日 18日、広島国際会議場(広島県広島市)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

富樫辰也 (TOGASHI, Tatsuya)

千葉大学・海洋バイオシステム研究センター・教授

研究者番号: 70345007

(2) 研究分担者

吉村 仁 (YOSHIMURA, Jin)

静岡大学・創造科学技術大学院・教授

研究者番号: 10291957

(3) 研究分担者

四ツ倉 典滋 (YOTSUKURA, Norishige)

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: 60312344