

有性生殖クマムシの進化的背景解明に向けた
生殖行動と配偶子形態観察

2020 年度

杉浦 健太

報告番号	甲 乙 第	号	氏 名	杉浦健太
主 論 文 題 名： 有性生殖クマムシの進化的背景解明に向けた生殖行動と配偶子形態観察				
(内容の要旨) 次世代を産生するプロセスである生殖において、有性生殖は遺伝情報の混合を伴う。有性生殖では遺伝的多様性を獲得できるものの、特に雌雄異体生物ではパートナーを探し交尾を行う必要がある。雌雄異体のクマムシでは 2016 年に初めて交尾動画が撮影、報告されたが、当該研究はメスが自らの脱皮殻に産卵する種を用いて行われており、環境中に自由産卵するクマムシでの交尾行動は未解明であった。そこで本研究では有性生殖を行う自由産卵クマムシを用いて交尾行動を詳細に記載し、受精に至るまでの配偶子の動態を調べた。加えて用いたクマムシ <i>Macrobiotus shonaicus</i> の生息域を明らかにし、その生態を網羅的に明らかにすることを目的とした。 第 1 章では本研究の背景となる、生殖と遺伝的多様性のトレードオフに関する知見をまとめた。またクマムシに関する全般的な知見を述べた。 第 2 章では有性生殖を行うクマムシ、 <i>Paramacrobiotus sp.</i> と <i>M. shonaicus</i> を用いて交尾行動の詳細な記載を行なった。両種ともオスがメスを追尾した後、射精に至ることを明らかにした。射精された精子は水中を遊泳した後メス体内へ入り、貯精嚢に蓄えられていた。交尾後数分から数時間後に産卵に至ったが、産卵直後における核染色では雌雄配偶子の融合が起きておらず、受精は体外で完了することを示唆した。また、雌雄比と求愛行動に種差があることを見出した。前者からはクマムシは性染色体に依存しない性決定様式を採用していること、後者からは交尾行動の多様性があることを示唆した。 第 3 章では全国でクマムシを採取、DNA マーカー、形態比較、加えて交尾行動の有無によって、 <i>M. shonaicus</i> が北海道、沖縄を除く 9 地点に生息することを明らかにした。特に卵の形態比較では、ハプロタイプ間で多様性が生じていることを明らかにした。 第 4 章では <i>Paramacrobiotus sp.</i> と <i>M. shonaicus</i> を用いて配偶子形態を観察した。精子の形態比較では <i>Paramacrobiotus sp.</i> の先体が極めて長いことを明らかにした。メスの貯精嚢内では、蓄えられた精子の尾部が極端に短縮されていることを明らかにし、その現象が進化的に保存されていることを示唆した。産卵直後では先体の先端が卵殻内部へ没入しており、クマムシにおける雌雄配偶子の接触の撮影に初めて成功した。 以上の研究を総括し、第 5 章で結論と今後の展望を述べた。				

Thesis Abstract

No. _____

Registration Number	<input checked="" type="checkbox"/> "KOU" <input type="checkbox"/> "OTSU"	Name	SUGIURA, Kenta
	No. _____ <small>*Office use only</small>		
Thesis Title			
Observations of reproductive behaviors and gametes morphologies on dioecious tardigrades for elucidation of evolutionary history.			
Thesis Summary			
<p>Sexual reproductive animals need mixture of genetical combining of male's and female's gametes to produce next generations. Although the animals acquire diversity in genetics, increasing the populations were disturbed due to the high cost that induced by finding a heterologous partner, in general.</p> <p>Some dioecious tardigrades oviposit in the female exuviae and the other dioecious tardigrades lay eggs freely. Recently, mating behavior in former types has been reported, but no report in later types. In this study, I investigated that the mating behavior and gametes' morphologies in freely egg laying tardigrades <i>Paramacrobotus</i> sp. and <i>Macrobotus shonaicus</i>, and in specially on later species, I indicated the distribution in Japan.</p> <p>In chapter 1, I showed the background of my investigation: the trade-off of reproductive costs and genetic diversity. In addition, I summarized the generally information about tardigrades.</p> <p>In chapter 2, I described the details of mating behaviors of <i>Paramacrobotus</i> sp. and <i>M. shonaicus</i>. A male tracked a female, then he ejaculated with bending. The released spermatozoa swam in the environment, then they entered in the female's cloaca, and stored in her spermatheca till oviposition. The laid eggs were stained with DAPI after oviposition immediately, the nuclei of male and female did not fuse, suggesting that the fertilization was completed external. In addition, I found some differences in the behavior and sex ratio between the tested two species, indicating behavioral diversity, and suggesting that the sex did not depend on sex chromosomes, respectively.</p> <p>In chapter 3, I indicted that <i>M. shonaicus</i> lives almost regions of Japan, excluding Hokkaido and Okinawa prefectures by not only morphological, but also genetic, and mating analyses in <i>M. shonaicus</i>. The egg morphometrics showed morphological diversity more than which of specimens.</p> <p>In chapter 4, I observed the both sexual gametes of <i>Paramacrobotus</i> sp. and <i>M. shonaicus</i>. The acrosome of <i>Paramacrobotus</i> sp. was greatly longer than that of <i>M. shonaicus</i>. Moreover, the spermathecal spermatozoa were shortened their tails in the tested two species, suggesting the phenomenon was conserved at least in the family Macrobiotidae. The tip of the acrosomes lay buried in the chorion, suggesting that penetrated.</p> <p>At the end of my thesis, as chapter 5, I generalized and described possible expansion of this study.</p>			