

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 19 日現在

機関番号：13601

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2012～2016

課題番号：24370007

研究課題名(和文)性フェロモンの雑種強勢と雑種崩壊に関する化学生態学的研究

研究課題名(英文)Chemical ecology of hybrid vigor and breakdown in sex-pheromone functions

研究代表者

浅見 崇比呂 (ASAMI, Takahiro)

信州大学・学術研究院理学系・教授

研究者番号：10222598

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 14,400,000円

研究成果の概要(和文)：本研究により以下を示す実験的証拠を得た。オナジマイマイとコハクオナジマイマイは揮発性の分泌物で互いを識別して同種個体と交尾するが、種間交雑により繁殖可能な雑種個体を生産する。成熟した雑種個体は両種の性フェロモンを分泌できるため、両種の成熟個体を誘引する。しかし、雑種個体は成熟しても、両種の性フェロモンを感知できない。ガスクロマトグラフ質量分析により、オナジマイマイとコハクオナジマイマイの成熟個体にそれぞれ特異的な揮発性分泌物質を発見した。しかも、幼生個体が分泌せず成熟個体に特異的な揮発性物質のうち、どちらの種も共通に分泌する物質があることを発見した。

研究成果の概要(英文)：Our study obtained experimental evidence for the following conclusions. Pulmonate land snails *Bradybaena similaris* and *B. pellucida* discriminate each other and mate with conspecifics by means of airborne secretes. However, when the two species copulate, *B. pellucida* generates hybrids which can produce normal progeny. Adult F1 hybrids attract both the parental species by airborne secretes. On the other hand, in bioassay, adult hybrids recognize neither adults of *B. pellucida* nor *B. similaris*, which suggest that these hybrids are not able to sense airborne secretes from these parental species. By GC-MS analysis, we found adult specific compounds which are secreted uniquely by either one of the parental species, as well as one commonly secreted substance by both the parental species.

研究分野：進化生物学

キーワード：性フェロモン

1. 研究開始当初の背景

(1) 巻貝の生殖的隔離：軟体動物門の全体で、種間の生殖的隔離機構はほとんど未知の状態にある。巻貝が他種個体と同種個体を識別するメカニズムは、先行研究が皆無である。原因は、一般に人工繁殖が困難であり、たとえ可能でも世代時間が数年に及ぶことにある。(2) 雌雄同体のモデル動物：研究代表者は、累代飼育法に独自の改良を重ね、コハクオナジマイマイとオナジマイマイの世代時間を2ヶ月に短縮し、必要に応じて交尾・産卵させる研究モデルを確立した。これにより、生殖的隔離機構の生態・行動・遺伝解析が可能な雌雄同体動物を実用化した。

以下の発見・経緯から本研究を着想した：

1) オナジマイマイとコハクマイマイとを交尾させると、コハクオナジマイマイだけが雑種を産み、オナジマイマイは産卵しない。2) 同時雌雄同体の2種は、求愛の後、交尾器を同時に露出して互いに陰茎を挿入する。だが、交尾中にコハクオナジマイマイ またはオナジマイマイ が相手を識別し、コハクオナジマイマイはオナジマイマイに精包を渡さずに交尾を中断する。

性フェロモンの同定はもとより有機合成のプロトコルも、たとえば昆虫類ではほぼ確立されている。ところが、農業害虫として知られる有肺類(カタツムリ・ナメクジ)ですらも、性フェロモンの化学特性・生態機能に関する知見は皆無である。

2. 研究の目的

本研究の目的は、揮発性の性フェロモン物質が生殖隔離に果たす機能を定量評価することにある。

3. 研究の方法

有肺類の性フェロモンは、眼柄(長い方の触角)の根元に隆起するこぶ(頭瘤)から分泌される。そこで、固相マイクロ抽出(SPME)法により、頭瘤が隆起した個体から空媒性および粘液中の標的物質を抽出し、GC/MS(ガスクロマトグラフ質量分析)法により、頭瘤の隆起した成体に特徴的で、かつ2種間で検出ピークが異なる空媒分泌物を同定する。

4. 研究成果

本2種の利点を生かし、有肺類では前例のないオルファクトメータを実用化し、性フェロモンによる配偶者識別の生物検定(バイオアッセイ)法を確立した。固相マイクロ抽出(SPME)法により、本2種の頭瘤が隆起した個体からの揮発性物質の抽出を行い、GC/MS(ガスクロマトグラフ質量分析)法により、頭瘤の隆起した成体に特徴的で幼若個

体からは検出されず、かつ本2種の間で検出ピークが異なる揮発性物質を検出した。種間で異なる多くの分泌物質から3種類の候補物質に絞り込み、これらを化学合成し、個々の合成標品を用いて、バイオアッセイを行った。これにより、揮発ガスにより本2種の配偶行動を誘発することに成功した。特にオナジマイマイに対しては、交尾器を露出させることに成功した。候補物質の一つは2種のどちらも誘引することから、2種がたがいを識別するには複数の分子種のブレンドが必要であると考えられる。交尾器を露出させる候補物質は求愛交尾行動を人為的に誘発する操作実験に応用可能であると考えられる。

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59件)

59件すべて査読あり

1. Páll-Gergely, B., Jochum, A., Asami, T. Three new species and a new genus of Hypselostomatidae from Cong Troi Cave, Northern Vietnam (Gastropoda: Pulmonata). Acta Zoologica Academiae Scientiarum Hungaricae, in press.

2. Páll-Gergely, B., Fehér, Z., Otani, J.U., Asami, T. An integrative taxonomic approach to infer the systematic position of Chalepotaxis Ancey, 1887 (Gastropoda: Stylommatophora: Helicarionidae). Molluscan Research <http://dx.doi.org/10.1080/13235818.2016.1234996>, 2016.

3. Páll-Gergely, B., Naggs, F., Asami, T. Novel shell device for gas exchange in an operculate land snail. Biology Letters 12:20160151, 2016.

4. Páll-Gergely, B., Muratov, I.V., Asami, T. The family Plectopylidae (Gastropoda, Pulmonata) in Laos with the description of two new genera and a new species. ZooKeys 592:1-26, 2016.

5. Danaisawadi, P., Asami, T., Ota, H., Sutcharit, C., Panha, S. A snail-eating snake recognizes prey-handedness. Scientific Reports 6:23832, 2016.

6. Danaisawadi, P., Asami, T., Ota, H., Sutcharit, C., Panha, S. Predatory behavior of the snail-eating snake Pareas carinatus (Boie, 1828) (Squamata: Pareidae): an ethogram study. Tropical

Natural History 16:21-31, 2016.

7. Páll-Gergely, B., Asami, T. A new species of *Gudeodiscus* Páll-Gergely, 2013 from China, with extraordinary conchological and anatomical features (Gastropoda, Pulmonata, Plectopylidae). *Zookeys* 564:1-19, 2016.

8. Okabe, T., Yoshimura, J. Optimal hash arrangement of tentacles in jellyfish. *Scientific Reports* 6:e27347, 2016.

9. Koyama, T., Ito, H., Yoshimura, J. (9人中8番目) Genomic divergence and lack of introgressive hybridization between two 13-year periodical cicadas support life cycle switching in the face of climate change. *Molecular Ecology* doi: 10.1111/mec.13858, 2016.

10. Kitamura, K., Kakishima, S., Uehara, T., Morita, S., Tainaka, K., Yoshimura, J. The effects of rainfall on the population dynamics of an endangered aquatic plant, *Schoenoplectus gemmifer* (Cyperaceae). *PLoS ONE* 11:e0157773, 2016.

11. Harayama, H., Ishida, A., Yoshimura, J. Overwintering evergreen oaks reverse typical relationships between leaf traits in a species spectrum. *Royal Society Open Science* 3:e160276, 2016.

12. Uka, D., Sakamoto, T., Yoshimura, J., Iwabuchi, K. Sexual complementarity between host humoral toxicity and soldier caste in a polyembryonic wasp. *Scientific Reports* 6:e29336, 2016.

13. Yoshimura, K., Saiki, S.T., Yazaki, K., Ogasa, M.Y., Shirai, M., Yoshimura, J. (8人中7番目) The dynamics of carbon stored within xylem sapwood to drought-induced hydraulic stress in mature trees. *Scientific Reports* 6:e24513, 2016.

14. Hirata, H., Ohnishi, T., Tomida, K., Ishida, H., Kanda, M., Sakai, M., Yoshimura, J. (11人中7番目) Seasonal induction of alternative principal pathway for rose flower scent. *Scientific Reports* 6:e20234, 2016.

15. Watanabe, N., Takatsuka, H., Ijuin, H.K., Wakatsuki, A., Matsumoto, M. Hydrogen bonding network-assisted chemiluminescent thermal decomposition of 3-hydroxyphenyl-substituted dioxetanes in crystal. *Tetrahedron Letters*

57:2558-2562, 2016.

16. Nyumura, N., Asami, T. Synchronous and non-synchronous semelparity in sibling species of pulmonates. *Zoological Science* 32:372-377, 2015.

17. Kakishima, S., Asami, T. (14名中6番目), Yoshimura, J. (14番目). The contribution of seed dispersers to tree species diversity in tropical rainforests. *Royal Society Open Science* 150330, 2015.

18. Danaisawadi, P., Asami, T., Ota, H., Sutcharit, C., Panha, S. Subtle asymmetries in the snail-eating snake *Pareas carinatus* (Reptilia: Pareatidae). *Journal of Ethology* 33:243-246, 2015.

19. Páll-Gergely, B., Hunyadi, A., Ablett, J., Luong Van, H., Naggs, F., Asami, T. Systematics of the family Plectopylidae in Vietnam with additional information on Chinese taxa (Gastropoda, Pulmonata, Stylommatophora). *Zookeys* 473:1-118, 2015.

20. Páll-Gergely, B., Fehér, Z., Hunyadi, A., Asami, T. Revision of the genera *Pseudopomatias* and its relatives (Gastropoda: Cyclophoroidea: Pupinidae). *Zootaxa* 3937:1-49, 2015.

21. Popradit, A., Srisatit, T., Kiratiprayoon, S., Yoshimura, J. (10人中4番目) Anthropogenic effects on a tropical forest according to the distance from human settlements. *Scientific Reports* 5:e14689, 2015.

22. Ito, H., Yoshimura, J. Social penalty promotes cooperation in a cooperative society. *Scientific Reports* 5:e12797, 2015.

23. Koyama, T., Ito, H., Kakishima, S., Yoshimura, J., Cooley, J.R., Simon, C., Sota, T. Geographic body size variation in the periodical cicadas *Magicicada*: implications for life cycle divergence and local adaptation. *Journal of Evolutionary Biology* 28:1270-1277, 2015.

24. Rabajante, J.F., Yoshimura, J. (6人中6番目) Red Queen dynamics in multi-host and multi-parasite interaction system. *Sci. Rep.* 5:e10004, 2015.

25. Ito, H., Kakishima, S., Uehara, T., Yoshimura, J. (8人中8番目) Evolution of

- periodicity in periodical cicadas. *Scientific Reports* 5:e14094, 2015.
26. Togashi, T., Horinouchi, Y., Sasaki, H., Yoshimura, J. Evidence for equal size cell divisions during gametogenesis in a marine green alga *Monostroma angicava*. *Scientific Reports* 5:e13672, 2015.
27. Tubay, J.M., Suzuki, k., Uehara, T., Kakishima, S., Ito, H., Ishida, A., Yoshimura, J. (12名中12番目) Microhabitat locality allows multi-species coexistence in terrestrial plant communities. *Scientific Reports* 5:e15376, 2015.
28. Ishida, A., Yoshimura, J. (9名中9番目). Effective use of high CO₂ efflux at the soil surface in a tropical understory plant. *Sci. Rep.* 5:e8991, 2015.
29. Koyama, Y., Watanabe, N., Ijuin, H.K., Matsumoto, M. Synthesis of bicyclic dioxetanes bearing a hydroxyphenanthrene or hydroxy[4]helicene moiety and their base-induced chemiluminescent decomposition. *Heterocycles* 90:462-481, 2015.
30. Asanuma, H., Asami, T. (9人中6番目), Matsuura, K., Roff, D.A., Yoshimura, J. (9番目) Evolutionary optimality in sex differences of longevity and athletic performances. *Scientific Reports* 4:5425, 2014.
31. Ujiié, Y., Asami, T. Temperature is not responsible for left-right reversal in pelagic unicellular zooplanktons. *Journal of Zoology* 293:16-24, 2014.
32. Páll-Gergely, B., Asami, T. Description of two new Ecuadorian Zilchistropia Weyrauch 1960, with the clarification of the systematic position of the genus based on anatomical data (Gastropoda: Stylommatophora: Scolodontidae). *ZooKeys* 453:1-17, 2014.
33. Páll-Gergely, B., Asami, T. Additional information on the distribution, anatomy, and systematics of living and fossil Chinese Plectopylidae (Gastropoda: Pulmonata). *Genus* 25:527-564, 2014.
34. Inoue, H., Yoshimura, J., Iwabuchi, K. Gene expression of protein-coding and non-coding RNAs related to polyembryogenesis in the parasitic wasp, *Copidosoma floridanum*. *PLoS ONE* 9:e114372, 2014.
35. Togashi, T., Sasaki, H., Yoshimura, J. A geometrical approach explains Lake Ball (Marimo) formations in the green alga, *Aegagropila linnaei*. *Scientific Reports* 4:3761, 2014.
36. Shimizu, A., Yoshimura, J. (11名中11番目) Fine-tuned bee-flower coevolutionary state hidden within multiple pollination interactions. *Scientific Reports* 4:3988, 2014.
37. Shimizu, K., Iijima, M., Setiamarga, D.H.E., Sarashina, I., Kudoh, T., Asami, T., Gittenberger, E., Endo, K. Left-right asymmetric expression of *dpp* in the mantle of gastropods correlates with asymmetric shell coiling. *BMC EvoDevo* 4:15, 2013.
38. Páll-Gergely, B, Hunyadi, A. Asami, T. A peculiar new species in the genus *Landouria* Godwin-Austen, 1918 from China (Gastropoda: Heterobranchia: Stylommatophora: Camaenidae). *Molluscan Research* 33:130-134, 2013.
39. Páll-Gergely, B., Asami, T. A new, ribbed *Schileykula* species from north-eastern Turkey. *North-Western Journal of Zoology* 9:214-216, 2013.
40. Yoshimura, J., Ito, H., Miller, D.G. III, Tainaka, K. Dynamic decision-making in uncertain environments I. The principle of dynamic utility. *Journal of Ethology* 31:101-105, 2013.
41. Yoshimura, J., Ito, H., Miller, D.G. III, Tainaka, K. Dynamic decision-making in uncertain environments II. Allais paradox in human behavior. *Journal of Ethology* 31:107-113, 2013.
42. Sota, T., Yamamoto, S., Cooley, J.R., Hill, K.B.R., Simon, C., Yoshimura, J. Independent divergence of 13- and 17-y life cycles among three periodical cicada lineages. *PNAS USA* 110:6919-6924, 2013.
43. Kobayashi, K., Hasegawa, E., Yoshimura, J. (7人中6番目) Sex ratio biases in termites provide evidence for kin selection. *Nature Communications* 4:e2048, 2013.
44. Uka, D., Takahashi-Nakaguchi, A., Yoshimura, J., Iwabuchi, K. Male soldiers

are functional in the Japanese strain of a polyembryonic wasp. *Scientific Reports* 3:e2312, 2013.

45. Kawashima, H., Watanabe, N., Ijuin, H.K., Matsumoto, M. Magnesium methoxide-induced chemiluminescent decomposition of bicyclic dioxetanes bearing a 2'-alkoxy-2-hydroxy-1,1'-binaphthyl-7-yl moiety. *Luminescence* 28:696-704, 2013.

46. Hagiwara, H., Watanabe, N., Ijuin, H.K., Yamada, M., Matsumoto, M. Synthesis of bicyclic dioxetanes bearing a 4-(benzimidazol-2-yl)-3-hydroxy phenyl group and their base-induced chemiluminescent decomposition in an aprotic medium and in an aqueous medium. *Heterocycles* 87:65-78, 2013.

47. Ujiié, Y., Asami, T., de Garidel-Thoron, T., Liu, H., Ishitani, Y., De Vargas, C. Longitudinal differentiation among pelagic populations in a planktic foraminifer. *Ecology and Evolution* 2:1725-1737, 2012.

48. Gittenberger, E., Hamann, T.D., Asami, T. Chiral speciation in terrestrial pulmonate snails. *PLoS One* 7:e34005, 2012.

49. Noshita, K., Asami, T., Ubukata, T. Functional constraints on coiling geometry and aperture inclination in gastropods. *Paleobiology*, 38:322-334, 2012.

50. Togash, T., Bartelt, J.L., Yoshimura, J., Tainaka, K., Cox, P.A. Evolutionary trajectories explain the diversified evolution of isogamy and anisogamy in marine green algae. *PNAS USA* 109:13692-13697, 2012.

51. Ito, H., Uehara, T., Morita, S., Tainaka, K., Yoshimura, J. Foraging behavior in stochastic environments. *Journal of Ethology* 39:23-28, 2012.

52. Takatsu, H., Minami, M., Tainaka, K., Yoshimura, J. Spontaneous flash communication of females in an Asian firefly. *Journal of Ethology* 30: 355-360, 2012.

53. Kakishima, S., Yoshimura, J., (4人中2番目) 6-year periodicity and variable synchronicity in a mass-flowering plant. *PLoS One* 6:e28140, 2012.

54. Watanabe, K., Nishide, Y., Roff, D.A., Yoshimura, J., Iwabuchi, K. Environmental and genetic controls of soldier caste in a parasitic social wasp. *Scientific Reports* 2:e729, 2012.

55. Tanimura, M., Watanabe, N., Ijuin, H.K., Matsumoto, M. Base-Induced chemiluminescent decomposition of bicyclic dioxetanes: A radiationless pathway leading to marked decline of chemiluminescence efficiency. *Journal of Organic Chemistry* 77:4725-4731, 2012.

56. Watanabe, N., M. Hamano, S., Todaka, T. Asaeda, Ijuin, H.K., Matsumoto, M. Diphenylparabanic acid as a synthon for the synthesis of α -diketones and α -ketocarboxylic acids. *Journal of Organic Chemistry* 77:632-639, 2012.

57. Watanabe, N., Matsumoto, K., Tanaka, T., Suzuki, H., Ijuin, H.K., Matsumoto, M. N-acyl group-directed color modulation in the t-BuOK-mediated chemiluminescent decomposition of hydroxyarylsubstituted dioxetanes. *Tetrahedron Letters* 53:5309-5313, 2012.

58. Watanabe, N., Kino, H., Watanabe, S., Ijuin, H.K., Yamada, M., Matsumoto, M. Synthesis of bicyclic dioxetanes tethering a fluororescer through an α -carbamoyl-substituted linker and their highperformance chemiluminescence in an aqueous system. *Tetrahedron* 68:6079-6087, 2012.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

浅見 崇比呂 (ASAMI, Takahiro)
信州大学・学術研究院理学系・教授
研究者番号：10222598

(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

松本 正勝 (MATSUMOTO, Masakatsu)
神奈川大学・理学部・名誉教授
研究者番号：10260986
(平成26年度より連携研究者)

伊集院 久子 (IJUIN, Hisako)
神奈川大学・光機能性材料研究所・プロジェクト研究員
研究者番号：60398948

渡邊 信子 (WATANABE, Nobuko)
神奈川大学・理学部・助教
研究者番号：40291744
(平成 26 年度より連携研究者)