

研究成果報告書（第27回学術研究助成）

令和3年 4月 9日

公益財団法人 藤原ナチュラリスト振興財団

理事長 野村茂樹 殿

所属機関名 北九州市立自然史・歴史博物館

職 名 学芸員

氏 名 竹下文雄

1. 研究課題

なぜハクセンシオマネキの一部の雌は巣穴内交尾後に雄の巣穴から追い出されるのか？

2. 共同研究者

東海大学 海洋学部 水産学科 佐藤成祥 特任准教授

3. 研究報告

I. 研究の目的

干潟に生息する十脚甲殻類ハクセンシオマネキの交尾様式には、巣穴内（地下）交尾と表面（地上）交尾のふたつがある (Murai et al. 1987)。巣穴内交尾では、通常、雄が大型ハサミを用いた求愛により、配偶相手を探索する雌を巣穴に誘引する。ペアが成立すると、雌雄は巣穴内で交尾し、その後雌は巣穴内で産卵する。産卵が終わると雄は雌に巣穴を提供し、雄自身は新たな巣穴を獲得するために干潟を放浪する。しかし私たちは一部のペアにおいて雄が産卵した雌に巣穴を提供せず、雌が巣穴から退出することを確認している。この雌はなんらかの理由で雄から巣穴を追い出されたと考えられる。その生態学的理由について以下4つの仮説を立てた。1) 雄は巣穴を提供しないことで捕食リスクを低下させる。2) 雄は雌のサイズが小さく、巣穴を提供するコストに見合った利益が期待できない。3) 雌雄のサイズ差が大きく、雄が強引に雌を巣穴から追い出すことができる。4) 雌が産んだ卵の父性割合が低く、期待される雄の繁殖成功が著しく低い。

- 1) 私たちの調査地では、ハクセンシオマネキの主な捕食者はヒメアシハラガニであり、ヒメアシハラガニは自身の巣穴を拠点にハクセンシオマネキを襲う。そのためヒメアシハラガニの巣穴の近くに巣穴を形成している雄は、巣穴を雌に提供すると高い捕食リスクに曝されることになる。つまり雌を巣穴から追い出す雄の巣穴はヒメアシハラガニの巣穴により近いかもしれない。
- 2) 雌の産卵数はサイズ（甲幅）と相関する。つまり小さな雌は産卵する卵の数が相対的に少ない。一方、雄にとって雌への巣穴の提供は、子の保護に対する投資と捉えることができる。つまり雄は得られる子の数が少ない場合に、巣穴提供を取りやめる（=子の保護への投資を低下させる）のかもしれない。
- 3) 巣穴から退出すると雌雄ともに捕食リスクに曝されるため、どちらが巣穴を退出せねばならない以上、雌雄は対立関係にある。ハクセンシオマネキは一般に雄が大きいものの、雌雄のサイズ差は比較的小さい。サイズは一般的に対立の結末を決定づ

ける要因であるため、ハクセンシオマネキにおいてもペアの雌雄のサイズ差が相対的に大きくなる場合に、雌は巣穴を追い出されるかもしれない。

- 4) 雌は巣穴内交尾以前に、もうひとつの交尾様式である表面交尾により既に他雄との交尾を経験している (Murai et al. 1987)。したがって雌の受精嚢内には他雄の精子が貯蔵されており受精に使用される。他種の研究結果から、受精の大部分には産卵直前に巣穴内交尾をした雄の精子が用いられることが示唆されるが (Reaney et al. 2012)、なんらかの理由により、巣穴内交尾雄の子の父性が著しく低下した場合に、雄は子への保護への投資である雌への巣穴の提供を行わないのかもしれない。

そこで本研究では、上記の4つの仮説を検証するために、野外調査から得られた結果を元に解析を行うとともに父性判定のための遺伝子解析実験を行った。

II. 研究の方法

2018年6月から8月にかけて熊本県永浦干潟にてハクセンシオマネキの配偶者探索メスを追跡しペア成立まで観察した。ペア成立後、巣穴入口をケージで囲った。またその巣穴から最も近いヒメアシハラガニの巣穴までの距離を計測した。雌雄どちらかの個体が巣穴を出たら、その個体を回収し性を特定した。また巣穴に残った個体も同時に採集し、それぞれの甲幅をノギスで測定した。また回収した抱卵雌を実験室に持ち帰り卵が孵化するまで個別飼育した。その後、孵化したゾエア幼生を回収し100%エタノールで保存した。

父性判定のためNucleoSpin® Tissue (Takara Bio Inc., Japan) を用いて採集したペアおよび孵化した幼生からDNAを抽出した (雄退出: 6家族計144個体; 雌退出: 6家族計144個体)。抽出したDNAについて、本種と同属の*Austruca mjoeborgi*を対象に作成されたマイクロサテライト領域の4つの遺伝子座 (C539b、C361、CT155、UCTTT8) に対応するプライマー (Kinner et al. 2009) を使用しPCRを実施した。得られたPCR産物をフラグメント解析にかけ得られたデータ元に父性判定を試みた。

III. 研究結果

74ペアのうち、20.3% (15/74) で、巣穴から雌が退出した。

1) 捕食者の巣穴からの距離

雄が退出した巣穴の捕食者の巣穴との距離は 5.23 ± 2.55 (平均 \pm 標準偏差) mで、雌が退出した巣穴の捕食者との距離は 4.57 ± 1.99 mだった。しかし捕食者の巣穴までの距離は巣穴を退出した性には有意に影響していなかった (GLM with Wald test, $Z=0.94$, $P=0.35$)。

2) 雌のサイズ

雄が退出したペアの雌のサイズは 12.47 ± 1.09 cmであり、雌が退出したペアの雌サイズは 12.61 ± 1.06 cmであった。雌サイズは退出した性には有意に影響していなかった (GLM with Wald test, $Z=-0.45$, $P=0.65$)。

3) 雌雄のサイズ差

雄が退出したペアのサイズ差 (雄-雌) は 0.84 ± 1.16 cmであり、雌が退出したペアのサイズ差は 0.93 ± 1.28 cmであった。ペアのサイズ差は退出した性には有意に影響していなかった (GLM with Wald test, $Z=-0.26$, $P=0.80$)。

4) 子の父性

フラグメント解析の結果、C361とUCTTT8については、子の間で対立遺伝子の多型が全く検出されなかった。一方でC539bとCT155については、いくつか多型が検出されたものの、母親の対立遺伝子が子が共有していないことが散見された。つまり高頻度でヌルアリルが検出されてしまい、残念ながら明確な父性判定の結果が得られなかった。

IV. 考察

捕食者の巣穴との距離は巣穴を退出する性に影響しなかった。雌に提供した巣穴がヒメアシハラガニの巣穴近くに位置していても、退出した雄はすぐにその周辺をすぐに離れることが可能であるため、捕食圧は雌の追い出しに影響しないのかもしれない。

また雌のサイズも巣穴を退出する性に影響しなかった。本種では一部の雄しか配偶相手を獲得できないため、配偶相手のサイズが小さい(=産卵数が相対的に少ない)としても、精子が受精に利用されれば雄の繁殖成功度に必ず貢献すると考えられる。そのため雌のサイズが雌を追い出す理由にはならないのかもしれない。

雌雄のサイズ差もまた巣穴を退出する性に影響しなかった。本種では一般に雌よりも雄が大きいため、もし闘争能力のみが巣穴に居残る性を決定するのであれば、ほとんどの場合で雄が居残り、雌が追い出されるだろう。しかし多くの場合で雌が居残ることは、サイズ差が反映する闘争能力だけが居残る(もしくは追い出される)性を決定しているとは考えにくい。

残念ながら父性判定に用いた4つのプライマーのうち2つで多型が見られず、残りの2つでは多型は見られたものの、母親と共有するバンドが検出されなかったことから、ヌルアリルを検出してしまった可能性が高い。またバンド自体も1000bp以下にピークが検出されるため、誤差が大きく安定した父性解析が行えなかった。これらのプライマーは本種と同属の*A. mjoebergi*において開発されたものであり、別属多種においても対象の領域を増幅することが分かっているが、残念なことに本種には応用できないことが分かった。ただし他3つの仮説が棄却されたことから、巣穴内交尾した雄の父性が低いため、雌が巣穴から追い出されるという仮説が真である可能性はより高くなったとも言える。

V. 成果発表

なし

VI. 今後の課題

当初の予想が大きく外れ、同属他種で十分に利用可能であったプライマーのほぼ全てが本種では利用できないことが判明したことから、本種の個体差を反映するような複数のプライマーを新たに設計する必要がある。また野外で雌が退出する過程を実際に観察して行動の時系列を捉えることで、雌雄がどのような対立関係にあるか特定できるかもしれない。今後はこれらの課題に取り組むことで本研究課題の解決を目指したい。