

アゲハ類において精子注入数に影響を与える有核精子の運動活性

武藤 直樹 (筑波大学 生物学類) 指導教員: 渡辺 守 (筑波大学 生命環境系)

序 論

蝶類のオスは、核をもち卵と授精できる有核精子と、核がなく授精できない無核精子という2種類の精子を生産している。一方、蝶類のメスは、交尾中にオスから受け渡される精子などを含む物質を入れる交尾嚢と、精子を授精させるまで貯蔵しておく受精嚢という2種類の生殖器管をもち、オスは2種類の精子が含まれる精包というカプセル状の物質を交尾嚢へと注入する。したがって、精子は、メスに注入された後、精包から出て、交尾嚢から出て、受精嚢へ移動していかなければ卵に授精することができない。

オスが無核精子をわざわざ生産している理由について、これまでに多くの仮説が提出されてきた。その中に、無核精子は、有核精子が交尾嚢から受精嚢まで移動するのを助けるという説がある。もしそうなら、有核精子自身の活性が高い種は、無核精子の生産量を少なくしているかもしれない。そこで、本研究では、精子の活性と受精嚢に到達する精子数との関係を明らかにしながら、アゲハ類の精子生産戦略を考察した。

方 法

実験に使用したのは、メスの生涯交尾回数がどちらも約3回といわれるナミアゲハ (以下、ナミ) とクロアゲハ (以下、クロ) である。室内飼育し、羽化させた2日齢のオスを未交尾メスとハンドペアリング法によって強制的に交尾させた。

実験 I 交尾後のメス体内における精子移動

交尾させたナミのメスを、交尾直後と6時間後、24時間後に40倍の実体顕微鏡で解剖した。交尾嚢から精包を取り出し、精包内の有核精子束数を数えた。その後、直ちに、精子をサンプル管に移し希釈した。希釈液を $10\mu\text{l}$ ずつ6サンプル量り取り、100倍の光学顕微鏡を用いて有核精子と無核精子をそれぞれ計数し、希釈率から精子数を求めた。受精嚢内の精子数も、同様に算出している。

実験 II 精子移動数

交尾直後および24時間経過したメスをそれぞれ解剖し、実験 I と同様に交尾嚢内および受精嚢内の両精子数を測定した。交尾直後の精包内の精子数を注入数、24時間経過したメスの受精嚢内と精包内で見出された精子数をそれぞれ到達数と残存数と定義した。また、注入数から到達数および残存数を引いた値を消失数とした。

実験 III 有核精子の回転活性

交尾終了後24時間経過したメスを解剖し、受精嚢を取り出し、凹字型で約1mmの深さの溝を作ったスライドガラスに乗せ、生理食塩水を一滴滴下した。受精嚢をピンセットで慎重に開き、精子を露出させ顕微鏡カメラで動画撮影した。撮影した動画はDippMotionPro 2Dで解析した。すなわち、有核精子は螺旋状になっているので、螺旋のピークの1つを特定し、回転運動することによるピークの移動距離とその間の時間から回転活性速度を算出している。

結 果

実験 I

ナミにおいて、注入直後の精包内で有核精子束は約63本見出された。しかし、6時間経過すると約3本まで減少し、24時間経過すると消失した。自由有核精子は、6時間の経過後に約7,000本出現したが、このとき既に60本の有核精子束が解け、約15,000本の自由有核精子となっていたはずである。したがって、その差の約8,000本の自由有核精子は受精嚢へ移動を開始していたと推定できる。24時間経過後の精包内には600本程度しか残存していなかった。無核精子は約273,000本注入され、6時間後は約150,000本、24時間後は約3,500本へと減少した。

受精嚢には、交尾後6時間で無核精子が到達し始めたが、有核精子は到達していなかった。24時間経過すると、受精嚢内には有核精子が約3,000本、無核精子が約10,000本数えられた。

実験 II

自由有核精子に換算すると、注入数はクロで約35,000本、ナミで約16,000本と、クロが2倍以上注入していることがわかった。一方、無核精子の注入数はクロで約160,000本、ナミで約270,000本と、ナミで多い結果となった。しかし、受精嚢に達した精子数は両種で違いは認められず、どちらも有核精子数は約3,000本、無核精子は約5,000本ほどであった。精包に残存していた精子数にも有意な差は無く、有核精子はクロで約1,000本、ナミで約600本、無核精子は前者で約2,000本、後者で約3,500本であった。有核精子の消失数は、クロでは約30,000本、ナミでは約12,000本となり、クロの方が多かった。無核精子は、クロで約150,000本、ナミで約260,000本が消失しており、ナミの方が多かった。

実験 III

クロの回転活性速度は、 0.34 mm/s 、ナミでは 0.28 mm/s であった。この結果は、統計的に有意な差は認められなかったものの、クロのほうが活性の高い有核精子を生産していた可能性がある。有核精子長はクロで $1,040\mu\text{m}$ 、ナミで $950\mu\text{m}$ であり、有意にクロの有核精子が長かった。無核精子は両種とも $400\mu\text{m}$ ほどで、差は認められなかった。

考 察

有核精子は束の状態で注入されるため、精包内で解けないと受精嚢に移動できない。したがって、注入直後から自由精子として存在する無核精子の方が移動を早く開始できるため、有核精子よりも先行して受精嚢に到達していたと考えられた。クロとナミを比較した結果から、有核精子の活性が高ければ無核精子の必要性が低くなるという仮説は満たせそうである。しかし、それぞれの種において無核精子を多く生産するコストと、活性の高い有核精子を生産するコストは未知数である。無核精子が有核精子の移動を助ける具体的な機構についても、未だ明確にされていない。今後は、同様に無核精子の活性も測定し比較検討すると共に、その機構についても解析する予定である。