

## メダカを海水に順応させると 精子が海水中で動くようになる

### 研究成果のポイント

- ・メダカは淡水魚であり海水中では精子が運動せず、受精はしないと考えられていた。
- ・瀬戸内海しまなみ地域の汽水池にメダカ（海棲メダカ）が大量に生息していることを見かけ、汽水～海水環境で繁殖できる集団が存在するのではないかと予想した。
- ・海棲メダカの飼育試験を行ったところ、同メダカは海水中で産卵し、高い受精率が確認された。
- ・淡水で飼育した海棲メダカの精子は海水中では運動能を示さなかったが、海水に順応させると精子が海水でも運動性を示すようになった。
- ・海棲メダカと同一の mtDNA ハプロタイプを持つ淡水隔離集団でも同様の現象が確認され、「海水中における精子の運動能の獲得」は遺伝形質というよりも表現型の可塑性であった。

### 研究成果の概要

本研究では、汽水環境に生息している海棲メダカが海水で繁殖できる理由を探り、繁殖形質に自然選択を受けているのかどうかを明らかにすることを目的とした。

1. 海棲メダカが海水中で産卵することができるのか飼育試験により確認した。
2. 海棲メダカが海水中で受精することができる理由が、海水中における精子の運動能にあることを明らかにした。
3. 淡水集団を汽水環境に順応させたところ、淡水集団であっても精子が海水で運動能を獲得することを明らかにした。

### 研究成果の詳細

#### (背景)

我々の研究グループでは養殖魚を用いた遺伝育種研究をメインに実施しているが、生物地理学や保全遺伝学、さらには進化的な視点から広塩性淡水生物の研究も進めている。

ある時、瀬戸内海の島の農業用溜池である「潮取り」を覗いたところメダカが生息していることに気づき、海水中で生息していることに疑問を持ったことが本研究の発端であ

る。なぜなら、メダカは淡水中で繁殖するとしか教科書に書いていないが、「潮取り」には大小様々な大きさのメダカがあり、さらには卵を抱えたメス個体まで存在したからであり、これは汽水～海水環境で産卵することを示すものであった。遺伝学的な視点から、このような汽水～海水環境に長期間にわたり閉じ込められていたのであれば、繁殖形質に自然選択を受け、高塩分環境下でも繁殖できるようになったのではないかと仮説を立て、どうして繁殖できるのか、そしてそれは遺伝的な影響を受けたものであるのかを検証しようと思いついた。

### (研究手法)

瀬戸内海しまなみ海道沿線の某島から汽水に生息するメダカ (*Oryzias latipes*、海棲メダカ) をサンプリングし (図 1)、研究室に持ち帰った。また、比較対象として中国地方の山間部である広島県三次市で採集され、研究室ストックとして保存されている集団を淡水集団として用いた (提供：ナショナルバイオリソースプロジェクト)。

まず、海棲メダカを淡水、50%海水、海水で飼育し、産卵の有無、受精率、孵化率を調べた。次に、①淡水集団を淡水で飼育したもの、②淡水集団を 50%海水に順応させたもの、③海棲メダカを淡水に順応させたもの、④海棲メダカを 50%海水で飼育したもの、⑤海棲メダカを淡水で飼育したものを 50%海水に順応させたもの、の 5 集団を準備した。これらの異なる遺伝背景と飼育環境を持った個体から精巢を摘出し、本学の牧口准教授が保有する精子運動性解析システムを用い、淡水と海水における精子の運動能 (運動時間と運動速度) を調べた。



図1. 本研究に用いた海棲メダカサンプリングの記録

### (研究成果)

いずれの塩分環境においても海棲メダカは高い受精率を示したが、孵化率は淡水中では 90%程度であったが 50%海水と海水中では 25%程度と低い値になった (図 2)。精子の運動能を運動速度から評価したところ、淡水集団と海棲メダカどちらも 50%海水で飼育したものは海水中で精子が 60  $\mu\text{m}/\text{sec}$  程度の速度で運動したが、淡水で飼育した場合は淡水中では 10  $\mu\text{m}/\text{sec}$  程度となり、海水中では運動性が非常に低い、もしくは無いことが明らかとなった。運動時間を測定したところ、淡水中での精子の運動時間はどの実験区も平均 1~2 分程度であったが、興味深いことに、海水順応した個体の精子を海水で運動させると平均 5~10 分にも伸びることが明らかとなった (図 3)。

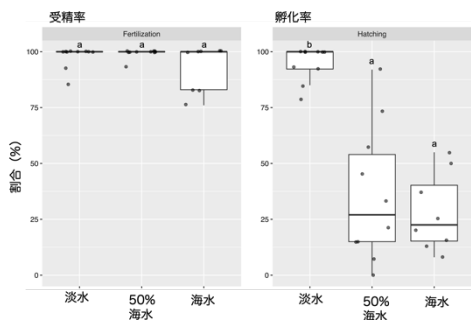


図2. 異なる塩分濃度における海棲メダカの受精率と孵化率

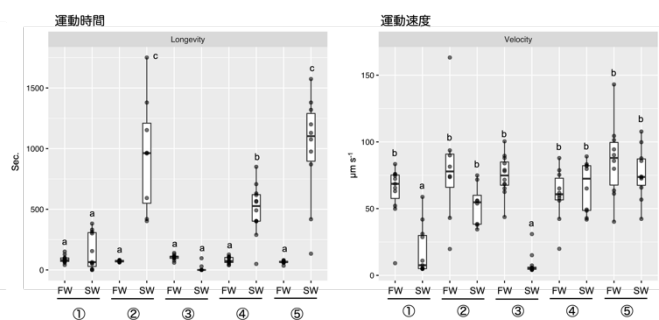


図3. 淡水集団と海棲メダカの精子運動時間と速度 (①~⑤集団の情報は本文参照)

### (今後の展望と感想)

本研究により、海水中での精子の運動能は遺伝形質というよりも環境によって形質が変化する表現型の可塑性であることが示された。今後は、順応に必要な期間や、どのような元素が運動性の延長に関与しているのか、さらには海水順応により精子の運動能に寄与する遺伝子の特定を進め、海を起源とするメダカ属の淡水進出や進化に迫りたいと考えている。

私が学生時代に、指導教官が Nature に論文を掲載し、世間の耳目を集めました。その恩師が何かの賞を受賞してしばらくして、「T 大の某大御所に君はこの研究をするのに何千万円も注ぎ込んだかもしれないけど、僕は顕微鏡一つで Nature に載せたよ、と言われたんだよね～」と聞いた時から、自分もいつかはお金を全くかけずにアイデア勝負でハイインパクトな研究をしてみたいと思っていました。今回の研究は牧口先生のお手を大いに煩わせたものの、いつものような DNA 解析などはせず、飼育実験と精子観察という某大御所さながらの実験をやり、個人的にはびっくりするような結果が得られたと思っています。流石に Nature に論文は掲載されていませんが（投稿もしていませんが）、日大に着任して最初に指導した学生（共著の小柳くん）の研究成果が論文になり、メダカ研究の大御所も驚いてくれたことで、個人的に思い入れのある論文です。（澤山）

### 発表論文の概要

#### 研究論文名

Acclimation to sea water allows activation of spermatozoa of a euryhaline fish *Oryzias latipes*.

#### 著者

澤山英太郎（日本大学 生物資源科学部 海洋生物資源科学科 准教授）

小柳 雅（日本大学大学院 生物資源科学研究科 博士前期課程）

田邊奈々（日本大学 生物資源科学部 海洋生物資源科学科 4 年生）

牧口祐也（日本大学 生物資源科学部 海洋生物資源科学科 准教授）

#### 公表雑誌

Environmental Biology of Fish

<https://doi.org/10.1007/s10641-022-01285-x>

公開日（オンライン先行公開）：2022 年 6 月 7 日

### お問い合わせ先

日本大学生物資源科学部海洋生物資源科学科 海洋生物生理学研究室

准教授 澤山英太郎（さわやま えいたろう）

TEL 0466(84)3724 E-mail: sawayama.eitaro@nihon-u.ac.jp

文責：海洋生物生理学研究室 准教授 澤山英太郎