

令和 5 年 6 月 16 日現在

機関番号：13701

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2022

課題番号：19K06836

研究課題名(和文) ワーカー産卵抑制とシグナルとしての体表炭化水素の進化

研究課題名(英文) Regulation of worker reproduction and the evolution of cuticular hydrocarbons as a signature of reproductive potential

研究代表者

土田 浩治 (Tsuchida, Koji)

岐阜大学・応用生物科学部・教授

研究者番号：00252122

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：フタモンアシナガバチの産卵ワーカーと女王の体表炭化水素の変化を、ワーカーの羽化直後とその後1週間ごとに継続して採集し、GC/MSで分析した。その結果、産卵ワーカーは産卵能力獲得前後で特に体表炭化水素に変化はなく、女王の物と明確に区別され、体表炭化水素が女王のシグナルとして機能していることを示唆していた。また、卵の移植実験を行った結果、16.2% (12/74) の卵が他コロニーでも生存し、その75% (9/12) が特定のコロニーに由来することが明らかとなった。この結果は、卵の体表炭化水素にコロニー間変異が存在し、強いシグナルをもつコロニーが存在することを示唆していた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

産卵の能力を獲得したワーカーは、体表炭化水素が女王化するのでは無く、女王とワーカーは明確に区別されることが明らかとなり、女王とワーカーは不可逆的に決定されることが明らかとなった。また、特定のコロニーが強い女王的なシグナルが存在することが明らかとなった。これまで、ワーカーは産卵能力獲得後は女王的になることが *Polistes dominula* で報告されてきたが、今回の発見は、それ以外の道筋が存在することを強く示唆している。また、女王シグナルには強いコロニーと弱いコロニーが存在することが明らかとなり、女王間にもシグナル変異が存在することを示した初めての知見と考えられる。

研究成果の概要(英文)：Changes in cuticular hydrocarbons of egg-laying workers and queens of the paper wasp (*Polistes chinensis*) were continuously collected immediately after worker hatching and every week thereafter, and analyzed by GC/MS. The results showed that egg-laying workers did not show any particular change in their cuticular hydrocarbons before and after acquiring egg-laying ability, and were clearly distinguishable from those of the queen, suggesting that cuticular hydrocarbons function as a signal for the queen. In addition, egg transfer experiments revealed that 16.2% (12/74) of the eggs survived in other colonies, and 75% (9/12) of them originated from a particular colony. This result indicated the presence of intercolony variation in the cuticular hydrocarbons of the eggs and the presence of colonies with a strong signal.

研究分野：昆虫生態学

キーワード：ワーカー産卵 ポリシング 体表炭化水素 移植実験

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

真社会性昆虫の特徴の一つは、女王は産卵を独占し、ワーカーは卵や幼虫の世話を分担する繁殖分業である。真社会性種では、ワーカーの産卵は強く抑制されており、たとえ産卵したとしても、その卵は他のワーカーや女王に食卵される。その機構として、女王のシグナルが重要である事が明らかとなっている。つまり、女王の産卵能力を示すシグナル(fertility signal)がワーカーによって感知され、それによってワーカー産卵が自ら抑制されるのである(Van Oysaeyen et al. 2014; Van Zweden et al. 2014)。一般にこのシグナルは体表炭化水素(CHC)が担っている。しかし、フタモンアシナガバチでは、その産卵抑制効果が不十分であると推察され、女王存在下でも39%のオス成虫が遺伝的にワーカー由来であると推定されている(Tsuchida et al. 2003)。これらのことは、真社会性の進化には、シグナルの進化とそれに伴う産卵抑制が関わっている事を強く示唆している。

2. 研究の目的

本研究の目的は、ワーカー産卵が許容されるメカニズムを、シグナルのカスト間分化を明らかにすることを目的とする。社会性昆虫では繁殖能力が体表炭化水素(CHC)の特異的なプロフィールで認識され、ワーカー産卵は抑制されている。しかし、フタモンアシナガバチは女王存在下でもワーカーが産卵することから、制御メカニズムが攪乱されている可能性がある。そこで、女王とワーカーの卵巣発育と行動の変化に伴うCHCの変化を経時的に追跡し、それらの因果関係を明らかにする。さらに、産卵された卵をコロニー間で移植して、その生存率を調査し、ポリシングに関わる要因を明らかにする。

3. 研究の方法

CHC の swabbing : 第1ワーカーの羽化日、一週間後、二週間後、三週間後、四週間後の5回に渡りCHCを脱脂綿で回収し、GCもしくはGC/MSで分析した。実験には女王とワーカーを用いた。

nC₂₇の卵への処理 : 人工的に合成したnC₂₇をTween80で希釈し、100pg/uLと500pg/uLに調節した。巣のセルから卵を除去して、そこに丁度入るような紙製のセルキャップを作製した。セルキャップに産卵が確認されたら、それをセルキャップごとピンセットで抜き取り、顕微鏡下で先のnC₂₇を3uL滴下した。風乾後に元のセルに戻した。セルに戻した後、1時間ビデオ観察し、卵の除去率を観察した。

卵の swapping : あらかじめセルから卵を除去し、そのセルにセルキャップを挿入した。ビデオ観察中にそのセルに産卵した個体を記録し、その卵をセルキャップごと回収した。回収した卵が付いたセルキャップを、他のコロニーに移植した。移植後1時間はビデオで観察し、卵が除去される割合を計測した。また、卵が孵化した後に、それらの個体を回収した。回収した個体からDNAを回収し、12マイクロサテライト遺伝子座について遺伝子型を決定し、親子判定を行った。

4. 研究成果

女王、産卵ワーカー、非産卵ワーカーの3カストのCHCを追跡調査した。女王と非産卵ワーカー、女王と産卵ワーカーの間には羽化後の時間が経過しても明確な違いが認められた(図1と

2)。

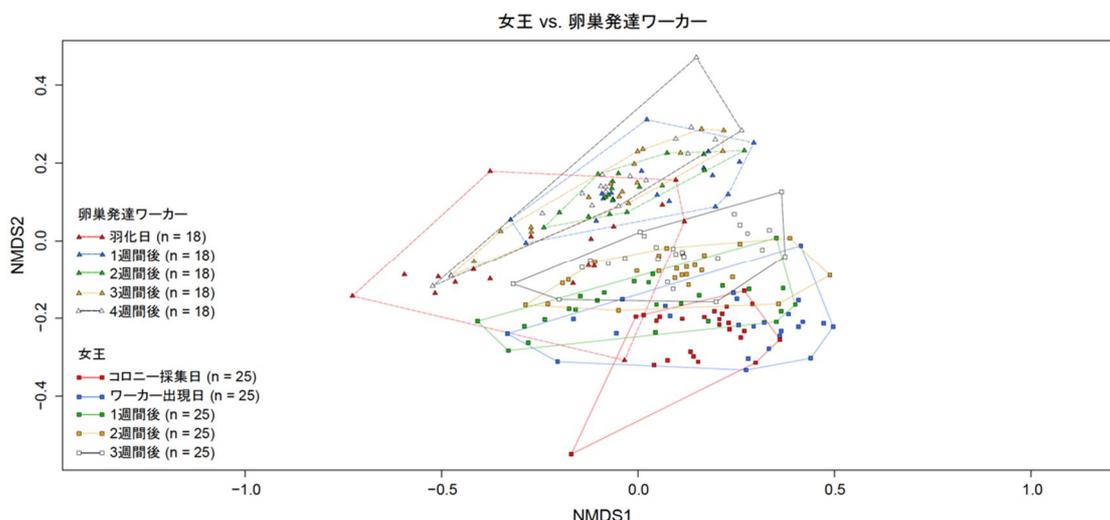


図1. 女王と卵巣発達ワーカーの体表炭化水素のNMDSによる分析. 羽化直後のワーカーのCHCは女王の物と重なるがそれ以外の物は明確に異なっていた。

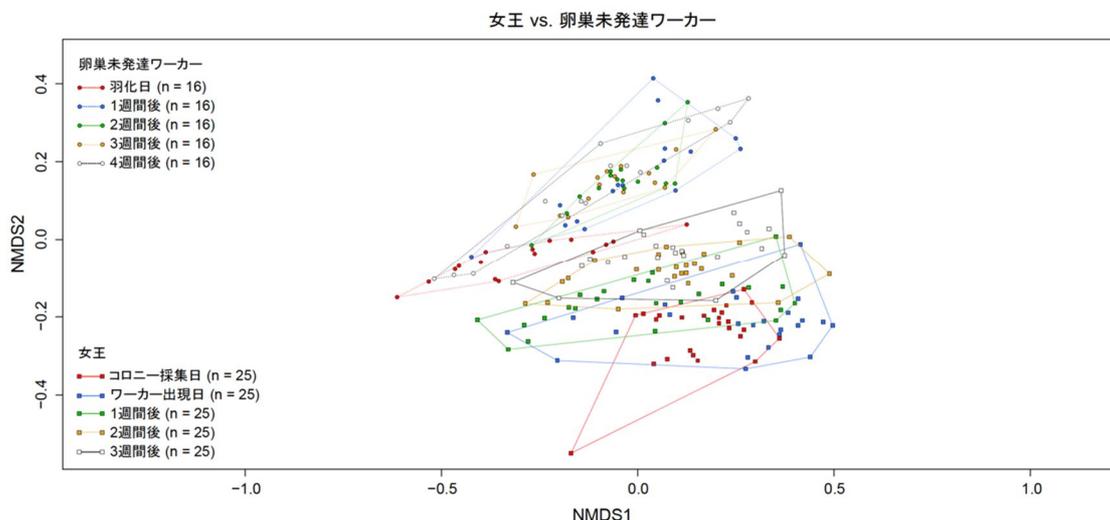


図2. 女王と卵巣未発達ワーカーの体表炭化水素のNMDSによる分析. 羽化直後のワーカーのCHCは女王の物と重なるがそれ以外の物は明確に異なっていた。

それぞれの時期で、女王と卵巣発達ワーカーのCHCの違いをPERMANOVAで検定した。その結果、全ての時期で有意な差が認められた[女王(ワーカー出現日) vs. ワーカー(羽化日); NMDS: 2D Stress = 0.059; PERMANOVA, $p = 0.000999$ 、女王(ワーカー出現日) vs. ワーカー(1週間後); NMDS: 2D Stress = 0.070; PERMANOVA, $p = 0.000999$ 、女王(ワーカー出現日) vs. ワーカー(2週間後); NMDS: 2D Stress = 0.063; PERMANOVA, $p = 0.000999$ 、女王(ワーカー出現日) vs. ワーカー(3週間後); NMDS: 2D Stress = 0.056; PERMANOVA, $p = 0.000999$ 、女王(ワーカー出現日) vs. ワーカー(4週間後); NMDS: 2D Stress = 0.066; PERMANOVA, $p = 0.000999$]。以上のことから、ワーカーの体表炭化水素は卵巣を発達させて産卵能力を獲得しても、女王の物とは明確に区別できることが明らかとなった。

Random Forest 法によって、女王とワーカーの違いに重要な役割を果たす物質を 5 成分抽出した (図 3)。そして、各成分について、コロニー採集日からワーカー羽化後 3 週間までの相

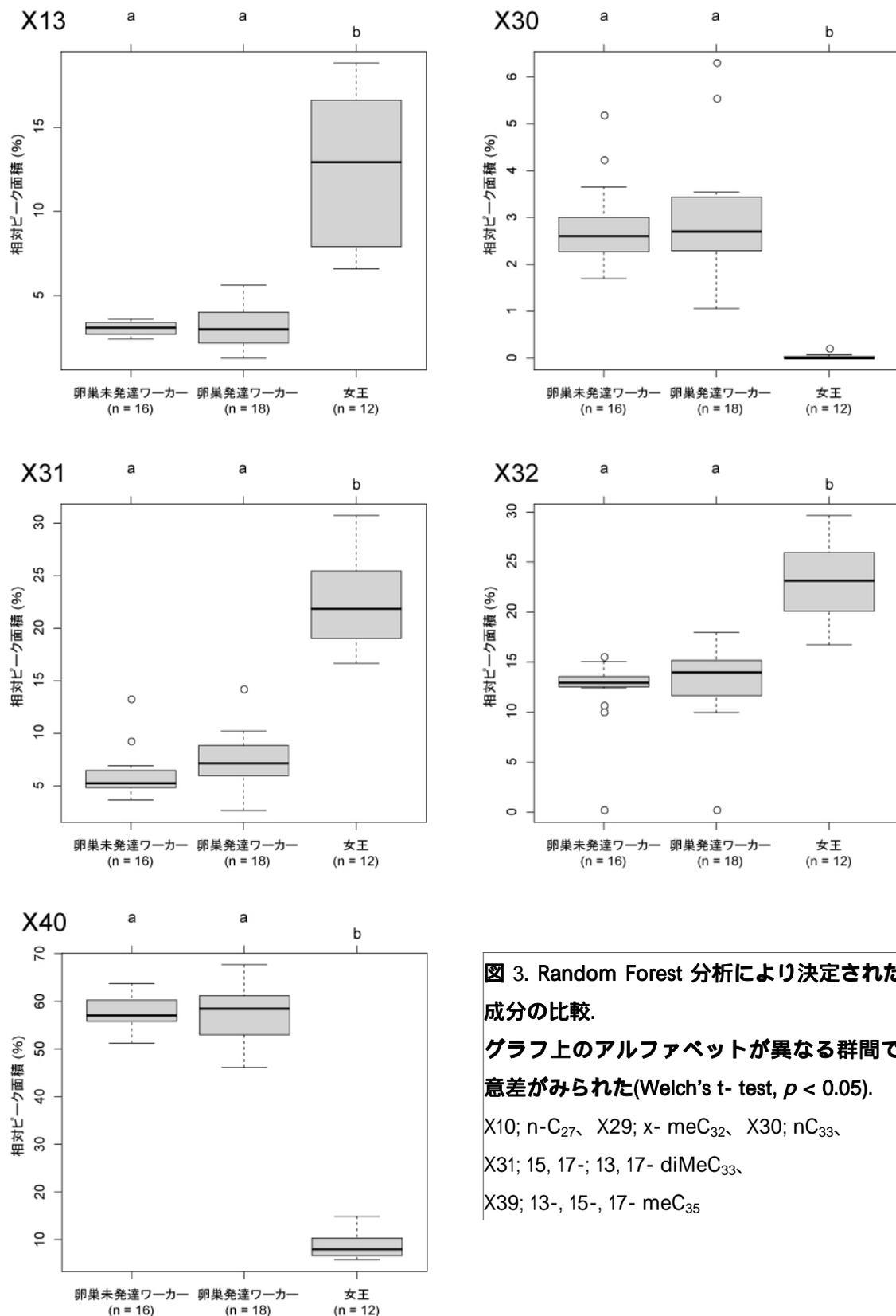


図 3. Random Forest 分析により決定された CHCs の各成分の比較。

グラフ上のアルファベットが異なる群間で平均値に有意差がみられた(Welch's t-test, $p < 0.05$).

X10; n-C₂₇、X29; x-meC₃₂、X30; nC₃₃、

X31; 15-, 17-; 13-, 17- diMeC₃₃、

X39; 13-, 15-, 17- meC₃₅

対ピーク面積の推移を比較した。その結果、nC₂₇がワーカー出現日に有意に増加した事が明らかとなった。

卵の移植実験を行った結果、90 卵のコロニー間移植実験のうち、74 卵について親子関係

を明らかにする事ができた。74 卵のうち 63.5% (47/74) が受け入れ(recipient)コロニーの女王の卵にすり替えられていた。また、20.2% (15/74) が受け入れコロニーのワーカーの卵にすり替えられていた。さらに、16.2% (12/74) が提供(donor)コロニーの卵のままであった。これら 12 卵のうち、9 卵が 2012 コロニー、1 卵が 2009 コロニー、2 卵が 2013 コロニーに由来した。2012 コロニーからは 18 卵が他のコロニーに移植されたが、その生存率は 44.4%と高かった。それ以外のコロニーでは、2009 コロニーが 20% (1/5)、2013 コロニーが 100% (1/1)であったが、2007 と 2010 コロニーは 0%であった (それぞれ、0/6、0/3)

卵に nC₂₇ の塗布を行った。コントロールでは生存率が 33.3% (3/9)であったが、100pg/uL 処理区では 44.4% (4/9)、500pg/uL 処理区では 100%(4/4)であった。

5. 考察

今回の研究から、フタモンアシナガバチではワーカーが産卵能力を獲得しても CHC の変化は少なく、女王とは異なるものである事が明らかになった。したがって、本種の CHC と産卵能力は独立していることが明らかとなった。また、女王の CHC は女王という形質に由来するものであり、ワーカーには獲得できないことが示唆された。

女王特有の CHC 成分のうち、nC₂₇ が重要な成分である事が示唆された。この成分はほかの社会性昆虫においても女王シグナルである事が示唆されており、本種でもそれが支持される結果となった。興味深いのは、nC₂₇ がワーカーの羽化直後に一時的に増えることである。女王はワーカーの羽化に対応して一時的に nC₂₇ を増やしているのかもしれない。

卵の移植実験をコロニー間で行った結果、83.7% (62/74) の卵が受け入れコロニーの女王かワーカーによって除去されていることが明らかとなった。そして、16.2%の提供コロニーの卵が生き残った。この実験に使ったのはすべてワーカー卵であり、そのほとんどが 2012 コロニーに由来した。特に、2012 コロニー由来の卵は 44.4%と他のコロニーと比較して高い確率で卵が生存した。このことはコロニーの特性が卵の生存に影響する可能性がある事を示唆している。また、nC₂₇ の処理量を 500pg/uL にすると生存率が 100%となったことも興味深い。残念ながら成功した卵数が 4 卵である事から、今後の追試が必要であると考えられる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Tsuchida Koji, Saigo Takaharu, Asai Kazuyuki, Okamoto Tomoko, Ando Masaki, Ando Tetsu, Sasaki Ken, Yokoi Kakeru, Watanabe Dai, Sugime Yasuhiro, Miura Toru	4. 巻 31
2. 論文標題 Reproductive workers insufficiently signal their reproductive ability in a paper wasp	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Behavioral Ecology	6. 最初と最後の頁 577 ~ 590
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1093/beheco/arz212	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 （ローマ字氏名） （研究者番号）	所属研究機関・部局・職 （機関番号）	備考
研究分担者	岡本 朋子 (Okamoto Tomoko) (50588150)	岐阜大学・応用生物科学部・助教 (13701)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関