

令和 6 年 6 月 20 日現在

機関番号：14303

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2023

課題番号：20K06073

研究課題名(和文)アリにおける集団社会の維持機構：自己・他己認識の成立とその認識因子の解明

研究課題名(英文) Maintenance mechanism of collective ant society: Establishment of nestmate recognition to elucidate the recognition signals

研究代表者

秋野 順治 (Akino, Toshiharu)

京都工芸繊維大学・応用生物学系・教授

研究者番号：40414875

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,000,000円

研究成果の概要(和文)：日本で最普通種であるクロヤマアリは、他種アリ同様に高い巣仲間認識能力を有するが、本種においてその能力は、成虫羽化後の3～4日程度で獲得形成されることを、先行研究で明らかにしてきた。本研究では、その能力獲得期において、巣仲間と接する際の化学刺激受容が重要な鍵刺激として機能するという仮説をもとに、羽化直後の隔離個体に対し人為的に化学刺激を提示する試験区を設け、化学刺激提示なしで単独飼育し続けた場合、および通常通り周囲に世話役ワーカーが存在する状態で飼育した場合との間で、新羽化個体が示す行動を比較した。その結果、化学刺激提示区では世話役ワーカー存在区と同様に、巣仲間認識能の獲得が確認された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

社会性を有する生物の幼生個体が社会への帰属意識を獲得・形成する過程と要因を解明するにあたって、脊椎動物よりも神経システムがシンプルな真社会性昆虫であるアリ類を研究対象とすることによって、その過程と主要因：特定時期の特定シグナル体験が巣仲間認識能形成に必須であることが明らかになった。近年、外来生物として真社会性昆虫類の侵入も相次いでおり、その防除の難しさが浮き彫りになっているが、社会基盤の構築にかかわるプロセスを逆にとることで、巣仲間認識を崩壊させるような新規防除剤開発も可能になるだろう。

研究成果の概要(英文)：One of the most common species of Japanese ants, the black wood ant *Formica japonica* has a high ability to identify nestmates. Our previous studies have shown that in this ant species develops the ability within 3 to 4 days after the adult emerges. The current study focusing on the process of acquiring it tested the hypothesis that receiving chemical stimuli during contact with nestmates serves as an important key stimulus. A series of behavioral tests were conducted to determine the effects of artificially applied chemical stimuli on individuals isolated immediately after emergence. When comparing the behaviour of newly emerged individuals between three groups; one was reared alone without any chemical stimulation, the second was reared alone but with chemical stimulation, the third was reared normally with a caregiver nearby, the first group failed to acquire the ability but the second group succeeded as well as the third group. These results support our hypothesis.

研究分野：化学生態学

キーワード：同巣認識 羽化後経験学習 体表炭化水素 不飽和炭化水素 飽和炭化水素

1. 研究開始当初の背景

集団社会生活を営むアリ類では、血縁関係にある同巣個体が強い結束を示すことで、安全かつ安定的な住環境を維持しつつ、幼生の共同育児をおこなっている (Hölldoler & Wilson 1990)。他方、非血縁関係にある異種や同種別巣個体に対しては強い排他性を示す。この家族の結束と、他者への排他性は、いずれも情報化学物質による化学交信を通して成立しており、特に同巣個体を識別できる能力のことを「同巣認識能」と呼んでいる。この認識にかかわる情報化学物質は、同巣認識フェロモンと呼ばれるが、多くのアリ類においてはその体表面を覆う体表ワックス中の量的主成分である炭化水素類 (cuticular hydrocarbons: CHCs) がその活性本体であると考えられている。一般に、CHCs の組成は種特異性を示すが、その成分組成比 (cuticular hydrocarbon profiles: CHPs) は巣特異性を示す。同じ種のも同じ巣に属する構成員は、互いに共通した CHPs を有しており、それを認識することで同巣仲間を認識している。そのため、その CHPs が居住証明として機能していると考えられる。このことの傍証として、アリ巣内に寄生的に居住することが可能な別種の昆虫—これを蟻客 (好蟻性昆虫) と呼ぶ—が、総じて宿主となるアリ種の種特異的 CHCs と巣特異的な CHPs を化学的に模倣していることがあげられる (Hölldoler & Wilson 1990, Vander Meer et al. 1998)。

アリ巣内において同巣認識能を発揮し、余所者の排除・巣の防衛を担うのは成虫で不妊カストの働きアリで、繁殖に専念する繁殖カストの女王や、繁殖期に生産されるオスアリ、およびそれらすべての幼生 (幼虫や蛹) はその任には当たらない。とりわけ幼生期においては、同種異巣の幼生や、ときに近縁異種の幼生は一時的であれば社会に受容され、保護対象として養育されることが知られている (Hölldoler & Wilson 1990)。実際、幼生時期には CHC 組成そのものが成虫とは異なっているが、成虫羽化にともない組成が変化する。そのため、幼生時期には CHC を含む体表ワックス中に、成虫による庇護行動を解発する機能をもった幼生認識フェロモン (幼虫認識フェロモン・蛹認識フェロモン) が含まれると考えられているが、その実態は明らかにされていない。一方、羽化後の成虫については CHC 組成が成虫型に変容していることから、幼生のような庇護対象ではなく、同巣認識行動を示される対象となると同時に、他個体に対して同巣認識行動を示す主体としてふるまうことが予測される。

この課題では、CHCs・CHPs が同巣認識フェロモンとして機能することの証明に成功 (Akino et al. 2004) したクロヤマアリ *Formica japonica* を検証対象として、キャロウと呼ばれる新羽化個体の行動を経時的に観察・比較することによって、家族社会への帰属認識を獲得・形成する過程と、その獲得に必須な至近要因の解明を試みた。アリ類の CHC 構成成分は、一般に種々の分枝飽和炭化水素 (メチルアルカン) 類を含むことが多く、その組成の複雑性から人工的な組成再構築実験が難しい。しかしながら、クロヤマアリの中の隠蔽種群の一つであるニシクロヤマアリは、直鎖飽和炭化水素 (*n*-アルカン) と直鎖不飽和炭化水素 (*n*-アルケン) とで構成される CHC を持つことから、必要に応じて人工的な組成再構築実験を組みやすいという利点がある。その利点を活かしつつ、新羽化個体自身が家族集団への帰属を認識できるようになる過程: 自己認識と、他個体から集団への帰属を識別されるようになる過程: 他己認識の2つの側面について、それぞれの形成時期と、獲得に必要な至近要因の探求を試みた。形成時期解明に関しては、従前の同巣認識にかかわる生物検定法を適用することが可能であるという見通しが立てられたが、認識能力の獲得に寄与する至近要因の探求に関しては、その検証方法そのものの開発から進める必要があり、それを実行するための科研費であったと考える。

2. 研究の目的

通常のアリ巣内においては、世話役にあたる内役の働きアリが蛹殻の剥き取りから成虫脱皮の補助、その後の栄養交換などによる給餌を行うことが知られているが、それらの複合的経験による自己認識・他己認識形成への影響を評価する必要がある。新羽化個体において自己認識が形成されれば、遭遇した異巣個体に対して排他的な行動を示し、また他己認識が形成されれば、遭遇した異巣個体が新羽化個体に対して排他的な行動を示すと予測した。これと同時に、羽化後の日齢に応じて新羽化個体の CHCs・CHPs の変化をガスクロマトグラフ分析により比較することで、経時的な CHC 変化の追跡を試みた。

さらに、新羽化個体の自己認識能形成を促す至近要因が、内役の働きアリとの接触にあると仮説を立て、その検証を試みた。ただし、内役の働きアリが新羽化個体に対して与える物理的な刺激の再現は困難であることから、内役働きアリ由来の CHCs が自己認識能形成を促すという仮説の検証を目的とした。そのため、単独隔離した新羽化個体に同巣・異巣由来の CHCs を一定期間提示し、これを被験者としてその後外役ワーカーと遭遇した際の行動を比較した。

3. 研究の方法

(1) 新羽化個体による自己認識と他己認識の形成・獲得時期

野外から採集したクロヤマアリを人工巣で維持・飼育し、生産される蛹を回収、新羽化個体の胸部背面にマーキングを行ったうえで、内・外役の働きアリ総数 200~300 個体を導入した人工巣内に戻した。羽化直後を含め、羽化後の経過日数別に、①同巣外役の働きアリおよび②異巣外役の働きアリとそれぞれ遭遇させ、新羽化個体が他者に対して示す行動応答および他者が新羽化個体に対して示す行動応答を計測した。外役の働きアリと比べて、新羽化個体は活動性が低いため、遭遇頻度を確保するためにピペットチップ内に固定した新羽化個体を外役ワーカーに提示し、行動応答を計測した (図 1)。

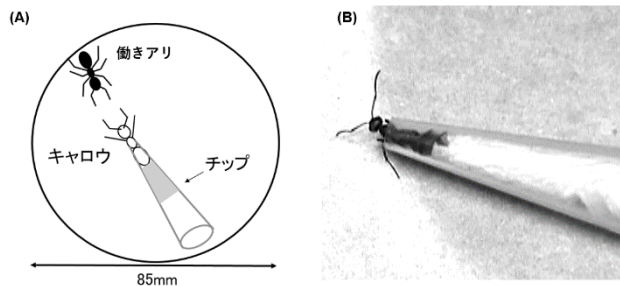


図1 新羽化個体 (キヤロウ) と働きアリの遭遇試験 (A) ピペットチップに固定したキヤロウ (B)

同様の方法で、同種異巣の巣内に里子に出して 14 日経過した新羽化個体について、その行動応答を検証した。

(2) 新羽化個体の CHCs・CHPs の比較ガスクロマトグラフ分析

羽化後日齢別の新羽化個体について、①同一個体の CHCs 変化を検証するために、その胸部・腹部背面を、あらかじめヘキサンで洗浄し乾燥させた脱脂綿で 10 回擦りとり、それをヘキサン 500 μ L に 5 分間浸漬して体表ワックス抽出液を得た。処理後の新羽化個体は巣内に戻し、日を改めて同じ操作を繰り返した。②各新羽化個体を、凍死させたのちに速やかにヘキサン 500 μ L に 5 分間浸漬して体表ワックス抽出液を得た。同様に、同巣・異巣の外役働きアリについても、凍死させたのちのヘキサン浸漬で体表ワックス抽出液を得たのち、カラムクロマトグラフィーにより炭化水素成分を分離した。得られた抽出液は、メチルシリコン系の無極性カラムを用いた FID-ガスクロマトグラフ分析装置による分析に供した。得られたガスクロマトグラムを基に、CHCs 総量およびアルカン・アルケン量の変動を調査した。

(3) 単独隔離と人工的 CHCs 提示による同巣認識 (自己認識) への影響調査

単独で隔離条件下においた新羽化個体に CHCs 刺激を人為的に提示することで、その同巣認識 (自己認識) 能の形成が促されるという仮説検証を目的に実験をおこなった。

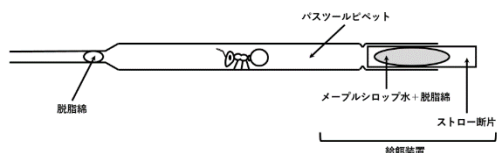


図2 働きアリの隔離飼育用装置

隔離装置には、市販のバスターピペットを用い、細口側を脱脂綿で栓し、広口側にはストロー片を差し込み、そこでメープルシロップ漬の脱脂綿を提示し給餌した。隔離個体が採餌を行う際に CHCs を受容できるように、同差し込み口周囲のガラス壁面には予め CHCs を塗布した (図 2)。

この方法で、新羽化個体を CHCs 提示・非提示の各条件下で一週間隔離したのち、(1) 同様の行動検定法によって、遭遇した同巣・異巣の外役働きアリに対する行動応答を確認・比較した。

4. 研究成果

(1) 新羽化個体による自己認識と他己認識の形成・獲得時期

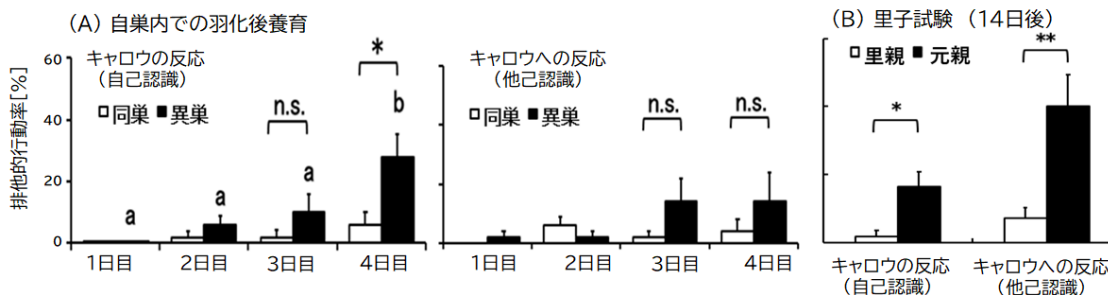


図3 羽化後日齢による自己認識と他己認識 (A) および里子試験による認識の変化 (B)

新羽化個体が遭遇した同巣・異巣の外役働きアリに対して示す排他的な行動応答の頻度は、羽化後 4 日間を実験巣内で経過した時点で、有意に異なる傾向を示した (Tukey-HSD test, $p < 0.05$)。一方、遭遇した外役働きアリが新羽化個体に対して示す排他的行動に関しては、羽化後 4 日間経

過した個体に対しても、同巢・異巢間で有意な差は認められなかった。これは、新羽化個体が自身の帰属を認識できるようになる自己認識は、羽化後4日目あたりに獲得・形成される一方、新羽化個体に対する他己認識はまだ獲得・形成されていないことを示唆する結果であり、社会集団における二つの認識形成には時間的ずれがあることを意味している。新羽化個体が自らを社会の一員として認識し始めた時点においても、外役の働きアリからは未だ庇護を受ける対象として認識されていることを示唆する。同成果については、2021年の第65回日本応用動物昆虫学会大会（オンライン開催）にて口頭発表したものであり、現在投稿中である。

(2) 新羽化個体の CHCs・CHPs の比較ガスクロマトグラフ分析

羽化後日齢（経過日数）に伴う CHCs 総量、および *n*-アルカン、*n*-アルケン量の推移を比較した（図4）ところ、羽化直後のキャロウの CHCs 総量は外役の働きアリ（ワーカー）の1/3程度量と有意に少ないが、羽化後2日目には成虫と同程度量の CHCs を持つようになることが判明した。しかし成分別でみると、羽化後4日目においても、総 CHCs に占める *n*-アルケン量は成熟ワーカーと比べて高い値を示す一方、*n*-アルカン量は総じて低い値を示した。

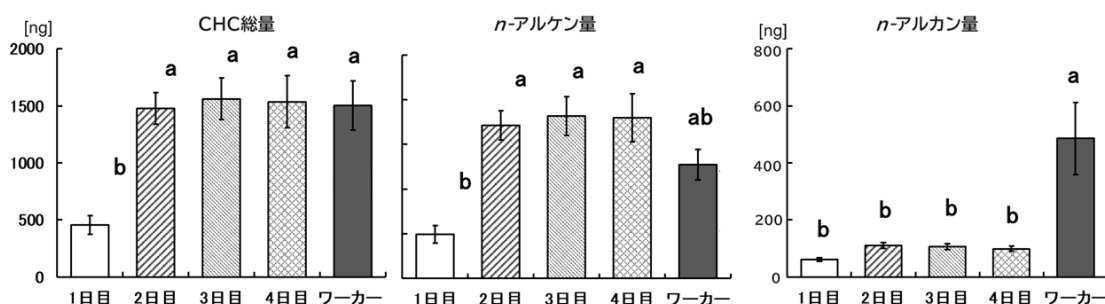


図4 羽化後日齢に伴うCHC量の変化 総量(左)・*n*-アルケン量(中)・*n*-アルカン量(右)

近年の研究では、アリ類の CHCs を構成する *n*-アルカンは加齢やストレスに伴い増加する成分であると示唆されているが、本研究で示された新羽化個体における CHCs の成分特性は *n*-アルカンの機能に関して別の視点からの示唆を与えるものであり、本種の同巢認識フェロモンに関する Akino et al. (2004) の報告に照らし合わせても、*n*-アルカンその活性発現に関する新たなクラスター分析によりこれらの CHPs を比較すると、羽化後4日目の新羽化個体群は、外役の働きアリ（ワーカー）とは異なるクラスターを形成した。これは(1)で示した行動検定において、羽化後4日目の新羽化個体においても他己認識がまだ獲得形成されていなかったことと関連する可能性が高い。同成果については、2022年の第66回日本応用動物昆虫学会大会にて口頭発表したものであり、(1)の結果と合わせて現在投稿中のものである。

(3) 単独隔離と人工的 CHCs 提示による同巢認識（自己認識）への影響調査

本来であれば、世話役の内役働きアリとの相互作用時に受容すると予測される化学刺激を、人工的に単独隔離した新羽化個体に提示する実験条件の検討をおこなった。試行錯誤を重ねた結果、図2に示す方法で CHCs 刺激を提示し、単独隔離中の新羽化個体が採餌摂食時に触角で触れることができる位置に CHCs を処理することに成功した。

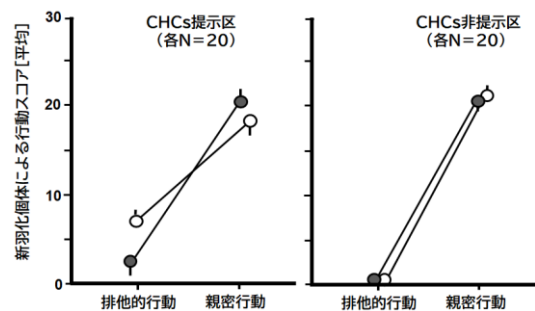


図5 単独隔離期間中のCHCs提示が新羽化個体の同巢認識(自己認識)に及ぼす効果
● 同巢アリに対する行動 ○ 異巢アリに対する行動

同法を用いて CHCs 非提示区と提示区を設け、処理後の新羽化個体が示す行動応答を比較した（図5）。CHCs 非提示区では、1週間単独隔離した新羽化個体は、同巢・異巢いずれの外役働きアリにも威嚇や噛み付き等の排他的行動は示さず、触角による相互接触やグルーミングなどの親密行動を示した（右）。一方、隔離期間中 CHCs を提示した実験区では、新羽化個体による異巢の外役働きアリに対する排他的行動は増加し、親密行動が低下する有意な傾向が認められた（Tukey-HSD test, $p < 0.05$ ）。

この結果は、隔離期間中に CHCs を受容することで同巢認識（自己認識）能の獲得・形成が促されることを示すものと解釈できる。新羽化個体が示した排他性の強度は、外役働きアリと比べて低いものであったことから、追加検証として内役・外役の働きアリが示す排他性強度の比較をおこなっている。新羽化個体が最初に従事するタスクは内役仕事であることから、その排他性の

発現程度は内役働きアリに近いものと予測される。この仮説の検証結果と合わせたうえで、研究成果としての学術誌への投稿を準備している。なお、同成果については、2023年の第67回日本応用動物昆虫学会大会にてポスター発表をおこなった。

<引用文献>

Hölldorfer B & Wilson EO 1990 "The ants." Harvard University Press

Vander Meer RK et al. 1998 "Pheromone Communication in Social Insects" Westview Press

Akino T et al. 2004 Applied Entomology and Zoology 39: 381-387

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 川本晴俊・秋野順治
2. 発表標題 生みの親より育ての親：クロヤマアリの巣仲間認識能形成
3. 学会等名 日本応用動物昆虫学会 明治大学大会（オンライン開催）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 小松駿一・秋野順治
2. 発表標題 経験・学習を通して巣仲間認識能を獲得するクロヤマアリ
3. 学会等名 日本応用動物昆虫学会 摂南大学大会（オンサイト開催）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 川本晴俊・秋野順治
2. 発表標題 生みの親より育ての親：クロヤマアリの巣仲間認識能形成
3. 学会等名 日本応用動物昆虫学会 明治大学大会（オンライン開催）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 川本晴俊・秋野順治
2. 発表標題 クロヤマアリの新羽化成虫による同巣認識能の獲得時期
3. 学会等名 日本応用動物昆虫学会大会（オンライン・島根大会）
4. 発表年 2021年

〔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
--	---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------