

# 様式 C-19

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年 5月 8日現在

機関番号：32622

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2009～2011

課題番号：21570023

研究課題名（和文）好蟻性シジミチョウのアリ認知および随伴アリの行動制御のメカニズムについて

研究課題名（英文）Studies on elucidation of mechanisms to recognize the ant and to control the behavior of the ant tending *Lycaenids* butterfly's immature

研究代表者

萩原 康夫（HAGIWARA YASUO）

昭和大学・富士吉田教育部・講師

研究者番号：80317586

研究成果の概要（和文）：複数種のアリと条件的共生関係を示すミヤマシジミは、アリとの接触経験により体表面にある好蟻性器官の一つである樹状刺毛の数および長さを変化させたことに加え、随伴アリ種の違いにも変化を示したことから、アリを積極的に認識して、より細かいレベルで反応している可能性が高い。また、アリに対する鎮静機構については揮発性が高い化学物質を利用している可能性が示唆された。

研究成果の概要（英文）：The *Lycaenids* butterfly *Lycaeides argyrognomon* which shows facultative symbiotic association with numerous ant species changed a number and length of dendritic setae by the contact experience with tending ant and even by the difference of ants species. The possibility that the butterfly recognized an ant positively was suggested. In addition, it was suggested that the butterfly used a highly volatile chemical substance as appeasement mechanism for the ant.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	800,000	240,000	1,040,000
2010年度	400,000	120,000	520,000
2011年度	300,000	90,000	390,000
年度			
年度			
総計	1,500,000	450,000	1,950,000

研究分野：生物学

科研費の分科・細目：基礎生物学・生態・環境

キーワード：好蟻性器官、アリ、シジミチョウ、共生

### 1. 研究開始当初の背景

アリとチョウの共生関係については単純な相利共生関係と考えられがちである。しかし、生活史の中でアリとの関係が不可欠な絶対的共生関係や、アリ不在でもチョウ幼虫が

生存可能である条件的共生関係まで幅広くみられるなど、実際には種ごとに多様な相互作用を示し、より複雑な関係にある。

クロシジミやゴマシジミなどのアリと絶対的共生関係を示すチョウはアリ巢内で生活するため、その生活の場は常にアリが存在

する環境にある。しかし、アリと条件的共生関係を示すチョウはアリ巢内に入らず餌植物上で幼虫期を過ごすため、生活の場にアリが常に存在するとは限らない。そのようなチョウがアリとの共生関係を維持するには、アリとの接触機会が高くアリがチョウに興味をもつようにすること、そして興味を持ったアリの攻撃性を抑制させる能力を有すること、さらに継続的に随伴させる能力を有することが必要になる。特にアリの攻撃性を抑制しつつ随伴状態を維持するためには、アリを認識する能力を有することが不可欠になる。

好蟻性チョウの幼虫体表面には、好蟻性器官と呼ばれる特殊な器官が数種類見られ、それぞれの器官の働きでアリの行動を制御すると考えられる。また、絶対的共生関係を示す好蟻性チョウに関して、化学擬態の観点で未成熟個体の体表炭化水素の組成が随伴アリの組成比と似るということが明らかになってから、絶対的共生関係の複数種で分析等が進められているが、条件的共生関係の種を用いた分析例は少ない。アリとチョウの共生進化を解明する上では、様々なレベルでの共生関係が見られる条件的共生関係の種に関する研究はより重要と考えられる。

本研究の対象とするミヤマシジミは、卵期から蛹期までの全未成熟期間を食草上で過ごすことが報告されており、その時期に複数種のアリと弱い条件的共生関係を持つと考えられてきた。しかし研究代表者は、クロオオアリなどが随伴するミヤマシジミの生活史がこれまでに報告されたものとは異なり、蛹化を迎えた終令幼虫が随伴アリの巢内もしくは地中の穴に入って蛹化すること、蛹期にもアリが随伴することを明らかにした。その一方で、クロオオアリやエゾアカヤマアリ以外のアリが優占する食草群落では本種幼虫が従来の報告にあるような生活史を示す傾向

が認められた。このようにミヤマシジミは複数種のアリをコントロールする能力を有している一方で、アリ種によって異なる生活史を呈する傾向がみられることから、ミヤマシジミはアリ種を認識し、複数種のアリを鎮静させるメカニズムを有していることが予想される。

## 2. 研究目的

好蟻性シジミチョウがアリと共生関係を築くには、①アリの誘引、②アリによる攻撃の回避(攻撃抑制)、③アリの随伴(ケア行動)誘起というステップが考えられる。②や③については、アリの巣仲間認識機構に関する体表炭化水素の組成(CHC)および組成比(CHP)など化学擬態の観点で好蟻性シジミチョウのCHC・CHPを調べる研究は多い。しかし、②および③の機構が成立するには、前提としてアリの認識が必要になると思われる。さらに、複数種のアリと共生関係を有するためには、より細かい認識レベルが必要になるであろう。

本研究では、複数種のアリと条件的共生関係を呈するミヤマシジミを対象として、(1)アリを認識しているのか、(2)アリ認識が認められるのであれば、識別レベルはどの程度なのか、そして(3)複数種のアリを宥める(鎮静させる)機構について検証を行うことを目的とした。

## 3. 研究の方法

1)「ミヤマシジミはアリを認識しているのか」を検証するために、飼育容器内にミヤマシジミ幼虫のみで飼育した場合(アリ随伴経験なし条件)と複数個体のクロオオアリを同じ飼育容器に入れた場合(アリ随伴経験あり条件)の2つの条件で飼育を行い、各条件で飼育した幼虫および蛹の体表面に観察される好蟻性器官の数や形状の

違いを比較した。なお、ミヤマシジミ幼虫に見られる好蟻性器官としては、腹部蜜腺 (DNO)、伸縮突起 (TO)、キューボラ状器官 (PCO)、樹状刺毛 (DS) などが挙げられる。

2) 「ミヤマシジミのアリ識別のレベル」を検証するために、複数のアリ種 (トビイロケアリ、エゾクシケアリ、クロヤマアリ、カラフトクロオオアリ、クロオオアリ) を使用して、それぞれの種ごとに1) のアリ随伴経験あり条件で飼育を行い、蛹の前胸背楯板 (右側) にある樹状刺毛 [前述1) の実験でアリの随伴により違いを示した好蟻性器官] について比較した。

3) 「アリに対する鎮静機構」を検証するために、アリの幼虫が働きアリの攻撃性を抑える効果 (宥め効果) をもつことに着目した生物検定法 (具体的には働きアリを拘束した状態で警報フェロモンにより興奮させた後、アリ幼虫もしくはチョウ蛹・蛹殻などを提示してその攻撃性が抑制されるかどうかを評価する) を構築し、その有効性について検討した。

なお、上記1) ~ 3) の実験を行うにあたっては、以下の条件で飼育した未成熟個体を使用した。

野外生息地から成虫♂♀2頭ずつ合計4頭を採取し、鉢植えのコマツナギにて交尾および産卵を行わせた後に卵を採取した。

採取した卵は複数卵をまとめて1つのシャーレ (直径 9cm 深さ 2cm) に入れ、恒温飼育器 (20°C、明条件: 05:00~19:00、暗条件: 19:00~05:00) にて孵化するまで飼育した。孵化した幼虫は孵化日を記録するとともに、1つのシャーレに1個体ずつ入れて2令

幼虫になるまで飼育した。なお、本種は絶滅危惧II類に指定されている種なので、原則として羽化した成虫は生息地に戻した。

#### 4. 研究成果

1) アリの存在がミヤマシジミの幼虫および蛹の好蟻性器官に与える影響

1令幼虫期にみられる好蟻性器官はキューボラ状器官 (PCOs) と思われる器官のみで、腹部蜜腺 (DNO) や樹状刺毛 (DS) は2令幼虫になり出現した。4種の好蟻性器官が確認されるのは3令および4令幼虫期で、蛹になると腹部蜜腺および伸縮突起 (TOs) は確認されなかった (表1)。

表1) 好蟻性器官の経令変化

	1令	2令	3令	4令	蛹
PCOs	○	○	○	○	○
DNO	×	○	○	○	×
DS	×	○	○	○	○
TOs	×	×	○	○	×

幼虫期におけるアリの随伴経験 (接触経験) の有無で、幼虫と蛹にみられる好蟻性器官を比較した。幼虫期の腹部蜜腺や伸縮突起の数や大きさ、DNO周辺にみられるキューボラ状器官と思われる器官の数についても随伴経験の違いによる変化はなかった。しかし、幼虫および蛹にみられる樹状刺毛の数および長さについては、アリの随伴経験の違いによって変化した (表2 & 図1)。

表2) アリ随伴経験の違いによる樹状刺毛数

刺毛数	アリ随伴経験		
	有	無	
	平均±SD	平均±SD	
幼虫*1	樹状刺毛数	<b>230±96.1</b>	<b>151.5±25.6</b>
蛹*2	樹状刺毛数	<b>117.4±36.5</b>	<b>50.6±10.3</b>
	単純刺毛数	<b>53.2±26.9</b>	<b>161.2±46.6</b>

\*1) 4令幼虫の胸腹部側面にある樹状刺毛

\*2) 蛹体表面にある全刺毛

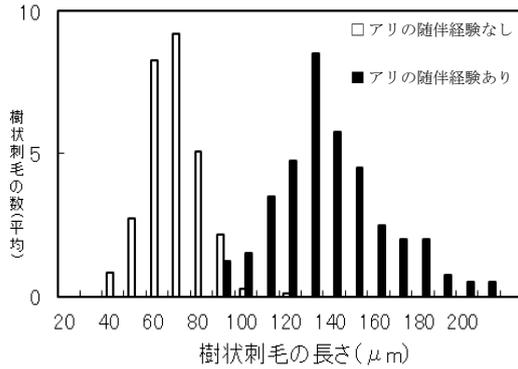


図1) 蛹腹部の樹状刺毛長の頻度分布

ミヤマシジミは幼虫期におけるアリと接触する経験の有無、つまりアリの存在の有無によって体表面にある樹状刺毛の数を増やし、長さを変化させていることからアリの存在を認識している可能性が高い。

2) ミヤマシジミのアリ識別レベルの検証

樹状刺毛の数や長さは随伴させたアリ種によって異なることが判明したことから、ミヤマシジミはアリをより細かいレベルで認識している可能性が考えられる(表3)。特に、随伴するアリの体長と樹状刺毛の数や長さとは強い相関を示したことから、アリの体サイズによる接触の強さなどの違いを認識している可能性が考えられる(図2)。今後は接触強度なども踏まえて実験を行う必要があるだろう。

表3) 随伴種の違いによる前胸背楯盤(右側)の樹状刺毛数と長さの違い

	標本数	樹状刺毛数		樹状刺毛長	
		平均値	標準偏差	平均値	標準偏差
アリ経験なし	5	30.8	3.5	81.8	13.6
トビイロケアリ	8	48.1	8.1	101.7	24.0
エゾクシケアリ	6	35.7	14.1	84.1	16.2
クロヤマアリ	7	46.3	5.3	131.1	30.6
クロオオアリ	6	63.5	11.6	184.2	36.0
カラフトクロオオアリ	5	62.8	8.6	173.0	36.6

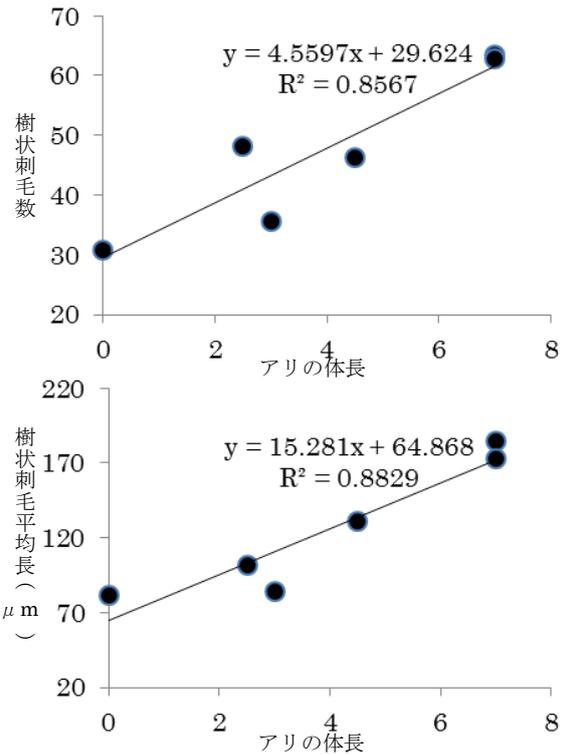


図2) 随伴アリの体サイズと樹状刺毛の数と長さの関係

3) アリに対する鎮静機構を評価する生物検定系の確立

拘束して警報フェロモンを提示した働きアリにアリ幼虫を提示すると、鎮静(宥め)効果を評価できることが明らかになった(図3)。この検定法を用いることで、羽化前後における蛹および蛹殻による宥め活性を検証し、定量的に働きアリの行動の変化を評価することに成功した(図4)。その結果、蛹殻に裂け目が入るころから宥め活性が上昇し、羽化後は速やかに消失することを再確認することができた。このことから、揮発性が高い化学物質がアリの鎮静機構に関与していると推察される。

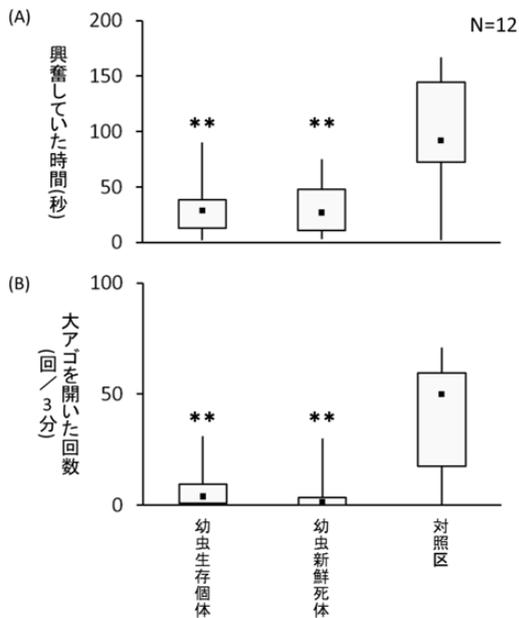


図3) アリ幼虫 (生存個体および新鮮死体) による働きアリに対する鎮静 (宥め) 効果

\*供試アリはヒゲナガケアリ

\*(A)\*\*は対応2試料t検定で有意 ( $p < 0.01$ )

\*(B)\*\*は Wilcoxon の符合順位検定で有意 ( $p < 0.01$ )

\*箱ひげ図の高低線の上端は最大値、下端は最小値、箱の上部、下部は第1四分点、第3四分点を、■は中央値を示す。

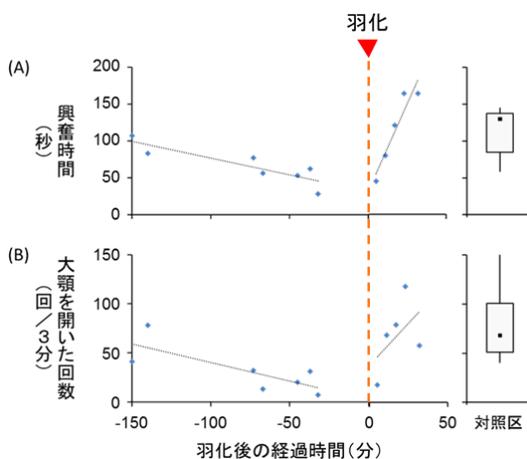


図4) 羽化前後のミヤマシジミ蛹および蛹殻による働きアリに対する鎮静 (宥め) 活性

\*供試アリはヒゲナガケアリ

#### 4) まとめ

今回の解析結果より、ミヤマシジミは随伴するアリを積極的に認識し、それに対してより細かいレベルで反応をしていることが実証された。ただし、随伴アリの認識機

構が物理的機構なのか、もしくは化学物質によるものなのかについては、今後より詳細な検証を行う必要がある。さらに、アリ随伴の経験が樹状刺毛を変化させていることから、様々な共生関係レベルの好蟻性シジミチョウの樹状刺毛についても検証を行う必要があるだろう。

今回の生物検定法は、蛹や蛹殻そのものだけではなく、それらに由来する化学成分を提示することでも評価が可能になる。そのため、アリとチョウの共生関係の維持機構に化学シグナルが関与することの証明だけではなく、活性成分の特定も行えるようになるかと予想される。

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計0件)

[学会発表] (計7件)

- ① 萩原康夫、好蟻性ミヤマシジミ幼虫および蛹体表面上の樹状刺毛のアリ随伴頻度に伴う長さ・数・場所の変化について、2009年、第4回好蟻性生物勉強会
- ② 萩原康夫、秋野順治、北條賢、好蟻性シジミチョウ蛹体表面の樹状刺毛長とアリの随伴頻度、2009年、日本昆虫学会第69回大会
- ③ 萩原康夫、秋野順治、坂本洋典、北條賢、好蟻性シジミチョウ蛹体表面の樹状刺毛の機能、2010年、日本応用動物昆虫学会第54回大会
- ④ 萩原康夫、好蟻性シジミチョウと共生関係を呈する働きアリの労働分化 (予報)、2010年、第5回好蟻性生物勉強会
- ⑤ 萩原康夫、秋野順治、坂本洋典、好蟻性シジミチョウ幼虫に随伴する働きアリの労働タスク、2011年、日本応用動物昆虫学会第55回大会
- ⑥ 萩原康夫、秋野順治、坂本洋典、北條賢、

ミヤマシジミ幼虫はアリの随伴経験をもとに  
樹状刺毛長を変化させている、2011年、日本  
昆虫学会第71回大会

- ⑦ 水野貴文、秋野順治、萩原康夫、ミヤマシ  
ジミの蛹はなぜアリの攻撃されないのか？  
2012年、日本応用動物昆虫学会第56回大会

〔図書〕（計0件）

〔産業財産権〕

○出願状況（計0件）

○取得状況（計0件）

〔その他〕

なし

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

萩原 康夫 (HAGIWARA YASUO)

昭和大学・富士吉田教育部・講師

研究者番号：80317586

### (2) 研究分担者

秋野 順治 (AKINO TOSHIHARU)

京都工芸繊維大学・工芸科学研究科・准教授

研究者番号：40414875

### (3) 連携研究者

なし