

令和 6 年 6 月 11 日現在

機関番号：12501

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2021～2023

課題番号：21K06329

研究課題名(和文) 集団レベルの活動リズムを生み出す自己組織化機構の解明

研究課題名(英文) Self-organization of ultradian rhythm activity in colony level

研究代表者

菊地 友則 (Kikuchi, Tomonori)

千葉大学・海洋バイオシステム研究センター・准教授

研究者番号：80608547

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)：本申請課題では、社会性昆虫が示す集団レベルのウルトラディアンリズムの生成メカニズムを構成論的アプローチから解明を目指した。その結果、1) 個体レベルでウルトラディアンリズムが確認されただけでなく、これらがカースト間で異なること、2) 歩行速度や歩行量もカースト間で異なり、集団サイズの影響を受けることが明らかになった。また、女王との接触が、ワーカーが示すウルトラディアンリズムに影響を与える可能性も確認された。以上のことから、アリの社会はリズムの異なる個体の集まりであり、個体間相互作用、特に女王との接触により個体レベルのリズムが調整された結果、集団レベルのリズム発現が生じていることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

サーカディアンリズムに比べ、ウルトラディアンリズムの研究は少なく特に社会性昆虫では皆無であった。本申請課題の成果により、少なくともアリ類にウルトラディアンリズムとその制御因子が広く存在する可能性が示唆された。このことは、リズム活動という新たな視点から社会性を評価できる可能性があると同時に、多細胞生物である人間のサーカディアンリズムの制御と同じロジックで、集団生物のリズム活動を扱えることを示している。

研究成果の概要(英文)：In this project, we aimed to elucidate the mechanisms underlying the emergence of ultradian rhythms at the colony level in social insects. Our findings revealed that: 1) all castes, including queens, internal and external workers, showed ultradian rhythms, and these rhythms also differed among castes; 2) walking speed and walking activity also varied between castes and were related with colony size. Additionally, it was confirmed that contact with the queen could potentially influence the period of ultradian rhythms of workers. From these results, it is suggested that ant societies consist of individuals with different rhythms, and that interactions among individuals, particularly contact with the queen, result in the adjustment of individual rhythms, leading to the expression of rhythms at the colony level.

研究分野：行動生態学

キーワード：自己組織化 ウルトラディアンリズム 社会性昆虫 トゲオオハリアリ

1. 研究開始当初の背景

自律的な個体が集合することによって秩序が生まれる集団行動は、社会性昆虫の特徴でありその発生メカニズムの解明は構成論的アプローチの代表として生物学のみならず群ロボティクス、アクティブマター物理学で盛んに研究がされてきた(例えば Couzin et al., 2002, Sugi et al., 2019)。例えば、採餌行動や巣作りなどの集団行動は、個体が局所的情報によってのみ基づいて独立に行動した結果、創発される自己組織化機構によって生まれることがわかっている(Camazine et al., 2002)。これら単発の集団行動発現メカニズムの解明が進んでいる一方、アリのコロニーで古くから観察されている分オーダーで「活動期と休息期が規則的に繰り返される」恒常的な集団レベルの活動リズムの生成機構は未だ明らかになっていない。サーカディアンリズムよりも短い、秒あるいは分オーダーで刻まれる周期はウルトラディアンリズムと呼ばれ様々な行動で確認されている。例えば、コオロギは約60分の交尾サイクルを持ち、ユーラシアハタネズミは1~4時間程度の活動周期を示す(富岡ら 2003)。近年、このウルトラディアンリズムも、サーカディアンリズムと同様に内因性の振動体で生成されることがわかっている(Wu et al 2018)。一方で、サーカディアンリズムの制御で用いられている昼夜変化のような外的なリズム調節因子はウルトラディアンリズムでは未だ見つかっておらず、また時間スケールからも適正な環境因子があるとは考えにくい。そのため、**リズム調節因子を持たない個体の集合(社会)が如何に集団レベルでリズムを生成するのかは未解決の疑問**となっていた。

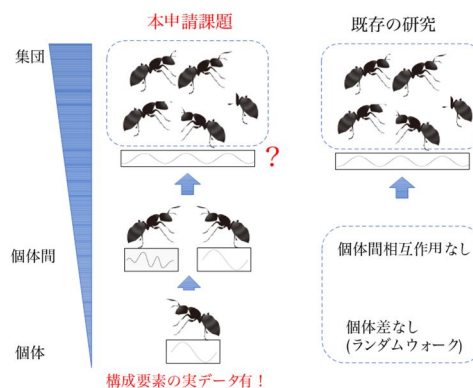


図1 既存の集団行動の自己組織化研究と本申請課題との違い

自己組織化機構を扱う構成論的アプローチで

は、全構成要素の特性をあらかじめ明らかにすることが不可欠だが、社会性昆虫を扱った研究ではこれまで皆無であった(図1右)。これは、真社会性という特異な生態とそれに付随したコロニーレベルの選択の存在によって、集団=超個体という見方が強く、個体レベルの視点(個性やばらつき)が軽視されてきたことが大きい。しかし、近年、個体の利己的行動が多数報告されているようになり、アリの社会はむしろ利害対立を内在する異質な個体の集まりという視点が正しいと考えられるようになってきた(Kikuta & Tsuji 1999)。このような流れの中で、集団行動の研究においても、我々は社会性という見方を一度はずし、そもそも各個体は単独ではどのように行動しているのか、個体間相互作用の影響はあるのかという素朴な疑問に立ち返り、リズム活動という視点から研究を行ってきた(図1左)。そこで得られたリズム活動の個体差や、個体間接触による活動リズムの同調という現象から、このような行動特性をもつ個体の集団では、個体間相互作用によってどんな社会特性が創発されるのかという疑問をもち、本研究の着想にいたった。

2. 研究の目的

上述した研究背景を踏まえ、本研究課題ではトゲオオハリアリを材料に実コロニーを用いた実験とシミュレーション解析から集団レベルの活動周期を生み出す自己組織化機構の解明を目的とした。具体的には、1) 集団の重要な構成要素のうち、まだウルトラディアンリズム特性が不確定な女王(データはあるがサンプル数が不十分)及びワーカーについて十分なサンプル数での再調査を行う。また女王の接触がワーカーの利己的繁殖活動を抑制することは広く知られているが、リズム活動への影響は全く調査されていない。そこでこの女王効果についても調査する。加えて、2) 集団サイズがリズム周期と個体間ネットワーク構造に与える影響、と3) 女王が中枢時計のような機能をもつのか、女王の有無が集団レベルのリズムパターンへの影響を検証する。最後に、4) 実験から明らかになった各種パラメーターを用いて集団レベルのリズム周期が自己組織化機構によって創発されるのかエージェントベースモデルで検討する。これらの結果をもとに、ウルトラディアンリズム適応的意義について社会制御という点から議論することを当初の目的に設定した。しかしながら、様々な理由から計画は1)~3)段階で終了してしまい、4)を実施することが出来なかった。故に、以後は実験1)~3)の方法と研究成果を中心に報告を行う。

3. 研究の方法

1) 女王及びワーカー単独時のウルトラディアンリズムの測定

まず初めに、ワーカーを内役と外役に分類するために、1日1回、計5日間飼育巣を観察し、巣外で活動している個体を確認しその全てにマーキングを施した。観察終了後、3回以上マーキングされた個体を外役、一度もマーキングされていない個体を内役と定義した。各コロニーから、女王、外役(2匹)、内役(2匹)を取り出し動画撮影に用いた。撮影は、サーカディアンリズムの影響をなくすために、昼間(8時~18時)だけで行なった。直径12cm、高さ5cmのプラスチックケースに、乾燥防止用の石膏を約5mmほど敷き、壁面には逃走防止用の薬剤を塗布したものを撮影に用いた。ここに1個体入れ、デジタルビデオカメラで10時間撮影を行なった(Frame rate = 2)。データ解析時には順化するまでの最初の1時間半をカットして、残りの時間を解析に用いた。本課題では、アリが示す様々な活動のうち歩行だけに着目した。その理由は、アリが示す活動が多岐に渡りその頻度も目的も異なるため、これらを区別することなく用いるのは問題と考えたためである。今回着目した歩行は、アリの活動中で最も大きなウエイトを占め(静止時間を除き)個体間接触や巣内への情報伝達に重要な役割を果たしている(Kikuchi & Higashi, 2000, Kikuchi et al., 2009)。本課題では、歩行を0.5秒のうち半体サイズ(11.415[px])以上の座標変化と定義した。それ以下の変化(セルフグルーミングや方向転換など)は静止(移動0)とし、半体サイズ以上の座標変化が継続するFrameを合わせて一回の歩行とみなした。これらの定義をもとに、観察時間を歩行(1)と静止(0)の2値化した。また、歩行の特性として最大速度を求めた。動物は最大速度に達するまでに一定時間が必要なため(Hirt et al., 2018)最大速度は1度の速度で5体サイズ以上の座標変化時の平均速度と定義した。ウルトラディアンリズムは、10分単位の歩行時間とその歩行量からスペクトル解析を行い(Rパッケージ: spec.pgram)有意かつ最大のスペクトル密度を取る周期の値と定義した。加えて、得られたカースト毎の歩行特性とコロニーサイズの関係性についても調査を行なった。

2) 個体レベルのウルトラディアンリズムに及ぼす個体間相互作用の影響

単独性の動物とは異なり、社会性昆虫では日々個体間で情報伝達を行い、様々な集団行動が発現している。社会性昆虫にとって、個体間相互作用は個体もしくは集団レベルの動態を考える上で必須の要素であり、その中でも特に女王とのコンタクトは重要と考えられている(Kikuchi et al., 2009)。多くのアリでは女王との接触が消失すると、ワーカーが繁殖を開始する(Kikuchi & Higashi 2001)。つまり、ワーカーにとって女王シグナルが自ら行動を変化させる際の情報として機能している。そのため、本研究課題で明らかになった個体レベルのウルトラディアンリズムもこれらリズム特性が全て個体に由来するものなのか、女王などの他個体との相互作用によって調整された結果のものなのか十分に明らかにする必要がある。そこで、女王との接触が個体のウルトラディアンリズムに影響を及ぼすのか調査を行なった。

野外から採取したコロニーを実験室内で飼育した。飼育ケースには158×283×95mmのプラスチックケースを使い、水道水を半分まで入れ、脱脂綿で10mmほど詰めた試験管(125mm)を居住エリアとし、これを巣と定義した。コロニー個体数20につき1本の試験管をプラスチックケース内に並べ、型紙で覆って遮光した。餌は週2回、小さくカットしたミルワームを与えた。実験1と同様の方法でワーカーを内役と外役に分類した後撮影に用いた。女王との接触がワーカーの活動リズムに与える影響を調査するために、女王から隔離直後(0日)、1日後、3日後、7日後、14日後に10時間撮影を行い、ウルトラディアンリズムの周期の変化の有無を調査した。飼育コロニーから取り出し撮影に用いたワーカーは、女王のいる飼育コロニーには戻さず、隔離専用の飼育ケースで実験終了まで飼育した。隔離用の飼育ケースには90×140×50mmのプラスチックケースを使い、上述した試験管1本を配置し、実験中のアリと同じコロニーに属するアリ(ワーカー)を3匹同居させた。同居されたワーカーは順位行動を示さない外役個体を用いた。ウルトラディアンリズムの解析は実験1と同様の方法で行なった。

4. 研究成果

1) 女王及びワーカーの単独時のウルトラディアンリズム

解析した9コロニーのうち、58%の女王(6/9)、44.4%の内役(8/18)、82.7%(14/17)の外役でウルトラディアンリズムが検出された。また検出されたウルトラディアンリズムの周期は、女王が $33.36 \pm SD10.2$ 分、内役が $45.97 \pm SD13.5$ 分、外役が $45.59 \pm SD12.1$ 分と、ワーカーに比べて女王で短い傾向が見られた。最大歩行速度、総歩行量もカースト間で違いがみられ、平均最大速度は女王が最も高い値を示したが、平均総歩行量は逆にワーカー、特に外役で最も高い値を示した(図2)。また歩行速度の頻度分布を見ると、ワーカーと女王の違いは顕著であり、女王はワーカーではほとんど観察され

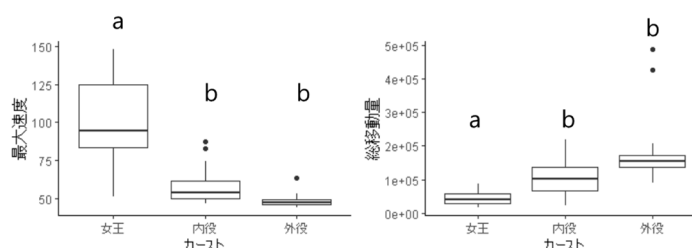


図2 カースト間の歩行特性比較 (左: 最大速度、右: 総歩行量)

ないような早い速度で頻繁に移動していた(図2)。また最大歩行速度では、外役ワーカー、内役ワーカーともに集団サイズと有意な関係は見られなかったが、女王はコロニーサイズと有意な正の関係が見られた(図3)。一方、各カーストの総歩行量とコロニーサイズの関係はいずれも有意ではなかった。以上の結果から、トゲオオハリアリの社会は、歩行特性の異なる個体によって構成されることが明らかになった。これまで個体レベルでウルトラディアンリズムが測定されている種は少なく、特にトゲオオハリアリを用いた本申請課題の成果は、比較的原始的なグループとされるハリアリ亜科における初めて報告となる。このことは、個体レベルのウルトラディアンリズムやその制御因子がアリ類で普遍的に存在する可能性を示しており、今後、社会進化とリズム活動という新たな視点からの研究が進んでいくと期待される。また、歩行リズムだけでなく、歩行スピードや歩行量などの歩行特性がカースト間で大きく異なることは予想外の発見であった。アリなどの集団生物は自己組織化的にシステムが維持されると仮定されるが、そこに含まれる個体形質の変動はこれまで考慮されてこなかった。今回明らかになったカースト毎の歩行特性を自己組織化機構に組み込むことで、形質発現の新たなパターンを生み出すことができるかもしれない。

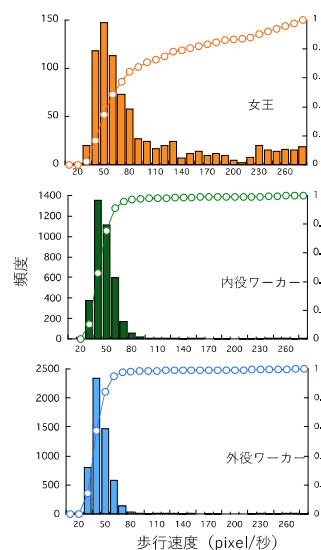


図3 歩行速度の頻度分布

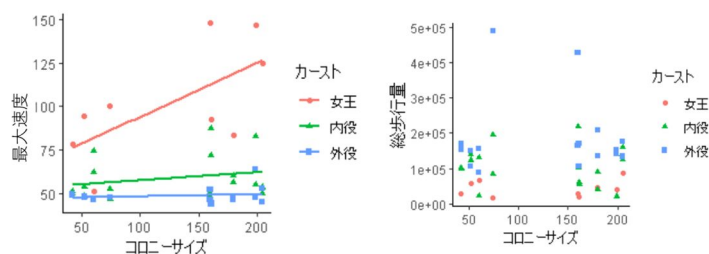


図4 歩行特性とコロニーサイズの関係(左:最大速度、右:総歩行量)

2) 個体レベルのウルトラディアンリズムに及ぼす個体間相互作用の影響

ワーカーの歩行リズムは女王との接触によって影響を受け、女王からの隔離期間によって変化することが明らかになった(外役、0日後: $38.8 \pm \text{SD}16.3$ 分, 1日後: 35.8 ± 15.5 分, 38.3 ± 15.6 分, 42.6 ± 17.0 分, 42.3 ± 18.4 分、内役、0日後: $45.1 \pm \text{SD}12.9$ 分, 1日後: 43.4 ± 15.5 分, 51.7 ± 10.4 分, 50.2 ± 12.8 分, 51.1 ± 15.9 分)。具体的には、内役、外役ともに女王から隔離直後(隔離後1日)周期が一旦短くなる傾向が見られた。またその際に30分ごとの歩行量も低下することから、ワーカーは低い活動量で頻繁に歩行していることが示された。その後、隔離期間の延長に伴い(3日、5日、7日、14日)、徐々に歩行周期の長期化、歩行量の増加が観察された。これらのことから、ワーカー(外役、内役)が示す歩行リズムは個体特性に加え、女王との接触で調整されていることが示唆された。これは多くの先行研究(女王存在下と女王不在下では分業パターンや活動量が変化)とも一致している。しかし、サンプルサイズ(2コロニー、外役、内役各5個体、計20個体)が十分とは言えないため、今後追加実験を行い補強する必要がある。

今回の結果から、女王は人の体内時計の調整機構における視床下部と同じ中枢時計としての機能を持つ可能性が考えられた。つまり、女王がワーカーのリズム活動を調節することで、集団レベルの同調性生み出しているのかもしれない。また、女王が集団レベルの歩行リズムに影響を与えるのであれば、例えば女王数と集団レベルのリズム活動の関係性について新たな仮説も考えられる。一般に単女王コロニーに比べて多女王コロニーの活動性が高いが、これは女王が複数存在することにより、周期自体の消失や複数の周期による打ち消し合いが生じているのかもしれない。今後は、女王の影響に加えて、ワーカー同士の接触効果を明らかにすることにより、より詳細な集団レベルの歩行リズム創発メカニズムが明らかになることが期待される。

引用文献

Cuisinon et al., (2002): Collective Memory and Spatial Sorting in Animal Groups. Journal of theoretical biology, 218:1-11

Sugi et al., (2019): *C. elegans* collectively forms dynamical networks. *Nature communication*, 10:683

Camazine et al., (2002): *Self-Organization in Biological Systems*. Princeton University Press, pp652

富岡ら (2003): *時間生物学の基礎*. 裳華房, pp234

Wu et al.,(2018): Ultradian calcium rhythms in the paraventricular nucleus and subparaventricular zone in the hypothalamus. *PNAS*, 115: E9469-E9478

Kikuta & Tsuji (1999): Queen and worker policing in the monogynous and monandrous ant, *Diacamma* sp. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 46:180-189.

Kikuchi & Higashi (2001): Task allocation and alate production in monogynous, polygynous and orphan colonies of *Myrmica kotokui*. *Ethology Ecology & Evolution*,13:151-159.

Kikuchi et al., (2009): Changes in relative importance of multiple social regulatory forces with colony size in the ant *Diacamma* sp. from Japan. *Animal Behavior*, 76:2069-2077.

Hirt et al., (2018): Bridging Scales: Allometric Random Walks Link Movement and Biodiversity Research. *Trends in Ecology and Evolution*, 33:701-712.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件 / うち国際共著 2件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Adejumo Simeon, Kikuchi Tomonori, Tsuji Kazuki, Maruyama-Onda Kana, Sugawara Ken, Hayashi Yoshikatsu	4. 巻 19
2. 論文標題 A real-time feedback system stabilises the regulation of worker reproduction under various colony sizes	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 PLOS Computational Biology	6. 最初と最後の頁 1010840 ~ 1010840
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1371/journal.pcbi.1010840	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 該当する

1. 著者名 Tomonori Kikuchi, Yoshikatu Hayashi, Yuka Fujito, Nao Fujiwara-Tsujii, Shinichi Kawabata, Ken Sugawara, Ryouhei Yamaoka, Kazuki Tsuji	4. 巻 -
2. 論文標題 Test of the negative feedback hypothesis of colony size sensing in social insects	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Biology letters	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1098/rsbl.2024.0102	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 該当する

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 佐々木拓真、菅原研、林叔克、辻和希、菊地友則
2. 発表標題 社会性昆虫にみられる歩行パターンの時間的特性
3. 学会等名 第67回応用動物昆虫学会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 中山萌、菊地友則
2. 発表標題 女王シグナルに対する社会的制裁機構の応答時間
3. 学会等名 第68回応用動物昆虫学会
4. 発表年 2024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
研究 分担者	菅原 研 (Sugawara Ken) (50313424)	東北学院大学・教養学部・教授 (31302)	

	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 協力者	林 叔克 (Hayashi Yoshikatsu)		

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