

平成 30 年 5 月 23 日現在

機関番号：15301

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2014～2017

課題番号：26291091

研究課題名(和文) 生理活性物質が制御する生物の動きと適応度に関する進化生態学的解析

研究課題名(英文) Evolutionary Ecological Analysis of Animal Movement and its Fitness controlling by Biogenic Amine

研究代表者

宮竹 貴久 (Miyatake, Takahisa)

岡山大学・環境生命科学研究所・教授

研究者番号：80332790

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 12,200,000円

研究成果の概要(和文)：コクヌストモドキの「動き」についてカラトラッカーを利用して計測し、遺伝的によく歩く系統と歩かない系統を選抜した。その結果、歩かない系統は歩く系統に比べて天敵であるコメグラサシガメに捕食されにくい反面、オスにおいては有意に多くのメスとの出会いがあり、交尾に成功しやすいことが分かった。さらに歩かない系統はオスでのみ有意に脚(前・中・後とも)が長くなり、系統間の違いには性選択が関与した可能性が高かった。歩かない系統は交尾前の性選択では不利であったが、交尾後の性選択(つまり精子間競争)では歩く系統に比べて有利であった。両系統は外部生殖器の形態にも差が認められたことから生殖隔離への関与も示唆された。

研究成果の概要(英文)：Walking behavior of a model beetle, the red flour beetle, *Tribolium castaneum*, has been artificially selected for over 20 generations. The strains selected for longer (WL) and shorter walking (WS) ability have been established. WL strains had higher mating success than WS strains only in males but WS strains had lower attack rates from predator than WL strains. The investigation of sexual traits showed that WS strains males had higher sperm competition ability than WL males, indicating these have different strategies for pre-mating and post-mating in the two strains. Also, the two strains had different shape in their genital organs, suggesting reproductive isolation concerning for dispersal ability by walking in insects.

研究分野：進化生態学

キーワード：活動性 生理活性物質 選択実験 適応度 コクヌストモドキ 交尾成功 捕食回避 生体アミン

1. 研究開始当初の背景

異なる環境の生態系では異質な特性を持つ個体で形成される集団・群集が存在する。生物個体の表現型において、本質的な鍵形質のひとつは活動性である。そして生物の動き(=活動性)を決めるのは、体内で発現する生理活性物質である。つまり、活動性を支配する神経作用性物質(生体アミン類)や血中ホルモンなどが、個体の形質を支配し、それが個体間の相互作用に影響を及ぼし、さらにはエサ集団や捕食者集団で構成される群集構造にまで影響を及ぼす。

ところが、生物の集団と生態を考える際に、個々の生物体内の生理活性物質の増減が個体間関係に及ぼす影響についてはこれまでほとんど研究されてこなかった。生理・遺伝子から個体間相互作用と群集までを繋ぐ動物の研究が困難であった理由は、生態学がよりマクロ科学である社会学と結びつきを強め、一方生理学がよりミクロを目指し続けた結果、生態学と生理学が乖離しているという学術的背景に一因があるだろう。生態生理学の強化を図る必要性は、特に動物において望まれている(動かない植物ではこの分野の研究は盛んである)。なぜ動物生理学から生態学を繋ぐシステム的な研究の実施が難しいのか? それは野外での生態から至近メカニズムまでを簡易に扱えるモデル動物がなかったためである。

申請者らは、貯穀害虫でありモデル生物でもあるコクヌストモドキとその天敵であるクモ類と捕食性カメムシを使えば、生体アミン類という神経作用性物質(とその分子基盤)が生物間相互作用(行動と集団の関係)と群集形成に及ぼす影響までを野外で解析可能なことをこの数年をかけて予測した。申請者らは、すでにコクヌストモドキの脳を解剖して生体アミン類を測定する技術を過去に取得した科研費萌芽研究で確立した。その挑戦的萌芽研究ではドーパミンに焦点をあてて解析し成果を上げたが、現在、我々が持てる能力と本科研費によって、他に関与する生体アミン類も解析でき、さらにその結果を野外の群集構造にまで還元して包括的に研究を展開できる見込みが分かった。

2. 研究の目的

集団以上レベルから遺伝子までを繋ぐ材料としては、累代飼育が容易なため集団(量的)遺伝学も扱え、生理学を確立させており、さらにゲノム配列の解析も済んでいるコクヌストモドキは理想的なモデルである。コクヌストモドキは人類の出現とともに、その生息場所を小麦粉など貯蔵穀類の放置場所(吹きだまり)を主な生息場所とし、そこで進化して、小さな生態系を作っている。この天敵とエサを使って、野外でエンクロージャー(囲い込み)実験を行うことは容易であり、室内での活動性に対する選抜実験も行える。申請者らは、すでにハエトリグモと捕食性サ

シガメ類が、本種の主要な天敵相であることを解明している。さらに、野外において天敵の存在する集団と存在しない集団が生息する場所を突き止めている。

(1)活動性に対する人為選抜系統、(2)捕食者と共存あるいは非共存させて累代飼育した系統、(3)野外で捕食者のいる集団といない集団を採集して、個体の脳内で発現する生体アミン類の含有量を測定・比較し、その発現あるいは受容体の遺伝子発現を解析することで、異なる選択圧にさらされた集団間で生理活性物質の仕組みの違いを明らかにできる。申請者はエサ集団に活動性の異なる個体が侵入することで、捕食・被食の構成種の変化する可能性も室内実験で明らかにした(Miyatake et al. 2009 Proc R Soc B)。これは生理活性物質の動態が群集構造に影響することを示唆している。本研究ではそれを本被食者・捕食者にとっての野外でも検証する。

3. 研究の方法

本研究計画の構成は次の3点である。

人為選抜実験：人為選抜により、活動性が大きく異なる系統間で対捕食者反応と配偶行動を調べ、系統間で生体アミン類と関連遺伝子の変化を調べる。この際に選抜世代数に対応した経時的な脳内アミン類の含有量の相関変化も調べる。活動性の測定には活動自動記録装置であるカラトラッカーを用い、よく歩く系統(WL系統)とあまり歩かない系統(WS系統)を作成する。系統が確立したのちは、系統間で天敵に対する対捕食者回避行動、異性との出会い確立、交尾成功、受精成功、生殖と繁殖形質、生体アミン類での脳内発現量、および外部生殖器の比較を行う。

野外選抜実験：コクヌストモドキの天敵である捕食者存在下と非存在下で累代飼育した系統を作成し、系統間で活動性と捕食者への応答を調べる。具体的にはコメグラサシガメが捕食者の系(逃避が有効なため活動量は上昇予想)を作成し、生理生態の反応を解析する。野外検証：活動性の異なるコクヌストモドキ野外集団を採集し、集団間で活動性や不動行動の測定を行い、同時に推定する予定であり捕食圧の違いとの関連を調べる。

4. 研究成果

コクヌストモドキの「動き」について、カラトラッカーを利用して計測し、遺伝的によく歩く系統と歩かない系統を選抜した。選抜に際しては、雌雄それぞれ75個体の成虫を光電センサー装置(アクトグラフシステム)に設置して、センサーを横切る回数を調べ、もっともセンサーをよく横切ったよく歩く雌雄10個体をWL(Walking Long)系統、もっとも横切らなかった歩かない雌雄10個体をWS(Walking Short)系統としたプロトコルに従って15世代以上の選抜実験を行った。その結果、選抜に対してとりわけ動かな

い方向には有意な実現遺伝率が計測され、遺伝的に動く系統と動かない系統を選抜することができた。それらの系統から抽出した成虫を使って、交尾実験と捕食回避行動実験を行った。その結果、歩かない系統は歩く系統に比べて天敵であるコメグラサシガメに捕食されにくい反面、オスにおいては有意に多くのメスとの出会いがあり、交尾に成功しやすいことが分かった。確立した系統間で生体アミン類の脳内発現量の測定を行ったが、オクトパミン、N-アセチルドーパミン、ドーパミン、N-ヒドロキシトリプタミンの発現量は系統間で差が認められなかった。これとは別に、死んだふりの長さに対して人為選抜を施した結果、よく動くようになった系統と、動かなくなった系統の間では、脳内に発現するドーパミンの量が有意に異なったことから、コクヌストモドキの動きを支配するにあたり生理活性物質が果たす役割は当初考えていたものより、複雑なメカニズムが内在している可能性が示唆された。

我々は、WL 系統と WS 系統において、外部形態と交尾・繁殖行動の比較も行った。その結果、歩かない系統はオスでのみ有意に脚（前・中・後とも）が長くなり、系統間の違いには性選択が関与した可能性が高かった。そして歩かない系統は交尾前の性選択では不利であったが、交尾後の性選択（つまり精子間競争）では歩く系統に比べて有利であった。両系統は外部生殖器の形態にも差が認められたことから生殖隔離への関与も示唆された。

これとは別に、捕食者であるコメグラサシガメが存在する状況と、存在しない状況において、コクヌストモドキの継代飼育を約5世代続けた結果、捕食者存在下で累代飼育したコクヌストモドキは、捕食者のいない条件下で累代飼育した集団に比べてより動くように進化する傾向が認められた。しかし、統計処理の結果、両集団の歩行移動量に有意な差は認められなかった。

最終年度は、動きに対して選抜して確立した WL 系統と WS 系統の個体の自由な歩行軌跡を解析するために工学系研究者との共同研究を行い、新型トレッドミルを用いた歩行軌跡解析を行った。その結果、系統の歩行軌跡パターンに違いが認められた。

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 14 件)

1 . Kentarou Matsumura, Takahisa Miyatake (2018) Responses to relaxed and reverse selection in strains artificially selected for duration of death-feigning behavior in the red flour beetle, *Tribolium castaneum*. Journal of Ethology

doi.org/10.1007/s10164-018-0548-x (査読有)

- 2 . Hironaka M, Kamura T, Osada M, Sasaki R, Shinoda K, Hariyama T, Miyatake T (2017) Adults of *Lasioderma sericornis* and *Stegobium paniceum* (Anobiidae: Coleoptera) are attracted ultraviolet (UV) over blue light LEDs. Journal of Economic Entomology, 110 (4), 1911-1915, doi.org/10.1093/jee/tox127 (査読有)
- 3 . Matsumura K, Fuchikawa T, Miyatake T (2017) Decoupling of behavioral trait correlation across life stages in two holometabolous insects. Behavior Genetics, 47 (4) 459-467, doi.org/10.1007/s10519-017-9847-1 (査読有)
- 4 . Sumi T, Miura K, Miyatake T (2017) Wolbachia density changes seasonally amongst populations of the pale grass butterfly, *Zizeeria maha* (Lepidoptera: Lycaenidae). PLoS ONE, doi.org/10.1371/journal.pone.0175373 (査読有)
- 5 . Miyatake T (2017) Faster (or slower) developers have a shorter (or longer) circadian period in *Bactrocera cucurbitae*. Physiol. Entomol. 42, 98-102. doi.org/10.1111/phen.12182 (査読有)
- 6 . Miyatake T, Yokoi T, Fuchikawa T, Korehisa N, Kamura T, Nanba K, Ryouji S, Kamioka N, Hironaka K, Osada M, Hariyama T, Sasaki R, Shinoda K (2016) Monitoring and detecting the cigarette beetle (Coleoptera: Anobiidae) using ultraviolet (LED) direct and reflected lights and/or pheromone traps in a laboratory and a storehouse. Journal of Economic Entomology 109, 2551-2560. (査読有)
- 7 . Aizawa M, Watanabe T, Kumano A, Miyatake T, Sonoda S (2016) Cypermethrin resistance and reproductive types in onion thrips, *Thrips tabaci* (Thysanoptera: Thripidae). Journal of Pesticide Science 41, 167-170. doi.org/10.1584/jpestics.D16-049 (査読有)
- 8 . Matsumura K, Sasaki K, Miyatake T (2016) Correlated responses in deathfeigning behavior, activity, and brain biogenic amine expression in red

flour beetle *Tribolium castaneum* strains selected for walking distance. Journal of Ethology May 2016, Volume 34, Issue 2, pp 97-105, doi.org/10.1007/s10164(査読有)

- 9 . Gotoh H, Ishiguro M, Nishikawa H, Morita S, Okada K, Miyatake T, Yaginuma T, Niimi T (2016) Molecular cloning and functional characterization of the sex determination gene doublesex in the sexually broad-horned beetle *Gnatocherus cornutus* (Coleoptera: Tenebrionidae). Scientific Reports 6, 29337. DOI:10.1038/srep29337.(査読有)
- 10 . Hajime Yaguchi, Takaya Inoue, Ken Sasaki, Kiyoto Maekawa (2016) Dopamine regulates termite soldier differentiation through trophallactic behaviours. Royal Society Open Science, DOI: 10.1098/rsos.150574(査読有)
- 11 . Yū Suzaki, Masako Katsuki, Takahisa Miyatake, Yasukazu Okada (2015) Relationships among male sexually selected traits in the bean bug, *Riptortus pedestris* (Heteroptera: Alydidae) Entomological science 18, 278-282 doi.org/10.1111/ens.12114(査読有)
- 12 . Matsumura K, Miyatake T (2015) Differences in attack avoidance and mating success between strains artificially selected for dispersal distance in *Tribolium castaneum*. PLoS ONE 10 (5): e0127042. Doi :10/1371/journal.pone.0127042(査読有)
- 13 . Fuchikawa T, Okada Y, Miyatake T, Tsuji K (2015) Social dominance modifies behavioral rhythm in a queenless ant. Behavioral Ecology and Sociobiology 68, 1843-1850. doi.org/10.1007/s00265-014-1793-9 (査読有)
- 14 . Kiyotake H, Matsumoto H, Nakayama S, Sakai M, Miyatake T, Ryuda M, Hayakawa Y (2014) Gain of long tonic immobility behavioral trait causes the red flour beetle to reduce anti-stress capacity. Journal of Insect Physiology 60, Pages 92-97, doi.org/10.1016/j.jinsphys.2013.11.008 (査読有)

[学会発表](計 27 件)

- 1 . 朝倉 雅也・宮竹 貴久、コメグラサシガ

メは動かない餌にも反応するのか? 第 62 回日本応用動物昆虫学会大会、2018 年 3 月 25 日~27 日、鹿児島大学(鹿児島県、鹿児島市)

- 2 . 松村 健太郎・宮竹 貴久、コクヌストモドキの死にまね行動に地理的変異はあるか? 第 62 回日本応用動物昆虫学会大会、2018 年 3 月 25 日~27 日、鹿児島大学(鹿児島県、鹿児島市)
- 3 . 松村健太郎、宮竹貴久、コクヌストモドキにおける歩行能力への人為選抜が生活史形質へ及ぼす影響。ESJ65、2018 年日本生態学会(札幌コンベンションセンター、2018 年 3 月 14 日~3 月 18 日、ポスター発表。(北海道、札幌市)
- 4 . 宮竹貴久、不動行動の生態と機能、ESJ65、2018 年日本生態学会(札幌コンベンションセンター、2018 年 3 月 14 日~3 月 18 日、自由集会 W20 3 月 17 日 18:00-20:00 B 会場(「昆虫の動きと不動を科学する」: 生理学と生態学の融合を目指して、企画者: 松村健太郎・宮竹貴久(岡山大)(北海道、札幌市)
- 5 . Takahisa Miyatake, Kentarou Matsumura, Shintaro Tanabe, Yui Sasaki, Ryouta Kitayama(Okayama University), Ryusuke Fujisawa (Hachinohe Institute of Technology) and Naohisa Nagaya (Kyoto Sangyo University) : Try to measure of walking activity by ANTAM in the beetle strains selected for the duration of Tonic Immobility. 13:40-14:40 Session WeP1b: OS2: Insect's movement patterns revealed by virtual reality system (2)Wednesday, November 1st, SWARM 2017: The 2nd International Symposium on Swarm Behavior and Bio-Inspired Robotics, October 29-November 1, Kyoto, Japan (京都府、京都市)

- 6 . 日ノ澤祥悟・宮竹貴久・佐々木謙：コクヌストモドキの死にまね系統間におけるインスリン・チロシン関連遺伝子の発現比較、2017年11月19日、日本昆虫学会支部会、玉川大学（東京都、町田市）
- 7 . Takahisa Miyatake, Kentarou Matsumura : Loss of circadian rhythm in a beetle population reared long-term. 第33回個体群生態学会、2017年10月13日-15日、九州大学西新プラザ Oct. 13 (Fri) - 15 (Sun), 2017 at Nishijin Plaza, Kyushu Univ. (Fukuoka, Japan) (福岡県、福岡市)
- 8 . 小西加奈・宮竹貴久：カシミールコクヌストモドキの死にまね行動に対する人為選抜への直接反応、2017年10月13日、平成29年度西日本応用動物昆虫研究会・日本昆虫学会中国支部会合同例会、神戸大学瀧川記念学術交流会館大会議室（兵庫県、六甲市）
- 9 . 松村健太郎・宮竹貴久：コクヌストモドキの分散シンドロームに地理的変異はあるか？ KOUDOU2017（日本動物行動学会関連学会合同大会）、2017年8月30日-9月1日、東大駒場キャンパス（東京都）
- 10 . 田邊眞太郎・山岡孝平・宮竹貴久・粕谷英一：ニホンアマガエルにおける給餌に対する慣れと記憶、第61回日本応用動物昆虫学会大会、東京農工大学小金井キャンパス、2017年3月27日-29日（東京都、府中市）
- 11 . 松村健太郎・宮竹貴久：死にまねと雄の繁殖戦略の関係～魅力度と父性に注目して～、第61回日本応用動物昆虫学会大会、東京農工大学小金井キャンパス2017年3月27日-29日（口頭発表）（東京都、府中市）
- 12 . 松村健太郎・伊藤遼平・宮竹貴久：コメグラサシガメにおける個性と生活史そして概日リズムの関係。日本動物行動学会第35回大会、新潟大学五十嵐キャンパス、2016年11月11日-13日（新潟県、新潟市）
- 13 . 宮竹貴久：日本動物行動学会日高賞受賞講演。日本動物行動学会第35回大会、新潟大学五十嵐キャンパス、2016年11月11日-13日（新潟県、新潟市）
- 14 . 松村健太郎・宮竹貴久：コクヌストモドキにおける死にまね時間に対する人為選抜系統：リラックスと逆選抜への応答。日本応用動物昆虫学会中国支部・日本昆虫学会中国支部平成28年度合同大会例会、鳥取大学、2016年10月21日（鳥取県、鳥取市）
- 15 . 内山博允・佐々木謙・矢嶋俊介・松村健太郎・宮竹貴久：死にまねをする系統としない系統で発現が異なる遺伝子群の解析。日本進化学会第18回大会、東京工業大学大岡山キャンパス、2016年8月25日-28日（東京都）
- 16 . Kentarou Matsumura・Takahisa Miyatake: Dispersal syndrome, sperm competition and reproduction in a beetle. ISBE 2016 Conference, 2016年7月28日-8月3日（エクセター、イギリス）
- 17 . 松村健太郎・宮竹貴久：よく歩く雌は多産で短命？異なる歩行移動能力を示す集団間の繁殖と寿命のトレードオフ。日本昆虫学会第76回大会・第60回日本応用動物昆虫学会合同大会、大阪府立大学、2016年3月26日-29日（大阪府、大阪市）
- 18 . Kentarou Matsumura, Takahisa Miyatake: Genetic link between moving activity and male reproductive strategies, in the red flour beetle. ESJ63 第63回日本生態学会大会、仙台国際センター The 63rd Annual Meeting of the Ecological Society of Japan,

- 2016年3月20日 24日(宮城県、仙台市)
19. 松村健太郎・佐々木謙・宮竹貴久: 分散能力に対する人為選抜が擬死行動、活動性、生体アミン量へ及ぼす影響、日本動物行動学会第34回大会、東京海洋大学、2015年11月20-22日(東京都、品川区)
20. 松村健太郎・宮竹貴久: コクヌストモドキの移動能力に対する人為選抜が雌の繁殖能力に与える影響。日本応用動物昆虫学会中国支部・日本昆虫学会中国支部平成27年度合同例会、広島大学、2015年10月2日(広島県、西条市)
21. 日室千尋・宮竹貴久: 雄の体サイズは射精物の効果に影響するのか? 第59回日本応用動物昆虫学会大会、山形大学小白川キャンパス 2015年3月26-28日(山形県、山形市)
22. 松村健太郎・宮竹貴久: 歩行分散距離に対する人為選抜が精子競争に及ぼす影響: コクヌストモドキの実験例。第59回日本応用動物昆虫学会大会、山形大学小白川キャンパス 2015年3月26-28日。(山形県、山形市)
23. Himuro Chihiro · Takahisa Miyatake: Are small males strong in the restraint to their mates in the seed bug, Togo hemipterus? 第62回日本生態学会大会、鹿児島大学。2015年3月18-22日。(鹿児島県、鹿児島市)
24. 松村健太郎・宮竹貴久: 移動能力と交尾に関する形質の関係~コクヌストモドキの移動シンドロームに注目して~。一般講演、第62回日本生態学会大会、鹿児島大学。2015年3月18-22日。(鹿児島県、鹿児島市)
25. 松村健太郎・宮竹貴久: コクヌストモドキの移動距離への人為選抜が交尾に関する形質に及ぼす影響。日本動物行

- 動学会第33回長崎大会、2014年11月1-3日。(長崎県、長崎市)
26. 宮竹貴久: 生き物の行動を科学する。日本昆虫学会公開シンポジウム「2014昆虫学会秋の学校: 企画者 三浦一芸」、日本昆虫学会第74回大会広島大会、2014年9月13-16日(広島県、西条市)
27. 宮竹貴久: 愛は戦いである: 雌と雄の性的対立。日本動物学会 第85回仙台大会 シンポジウム「性的対立~対立の構図: 行動から分子へ、2014年9月11-13日、東北大学川内北キャンパス、(宮城県、仙台市)

[図書](計2件)

宮竹貴久、山川出版社、生命の不思議に挑んだ科学者たち、2015年、228
宮竹貴久、集英社新書、したがるオスと嫌がるメスの生物学、2018年、240

[産業財産権]

出願状況(計0件)
取得状況(計0件)

[その他]

ホームページ等

<http://www.agr.okayama-u.ac.jp/LAPE/miyatake.html>

<http://www.agr.okayama-u.ac.jp/LAPE/miyatakepubl.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

宮竹 貴久 (MIYATAKE, Takahisa)
岡山大学・環境生命科学研究科・教授
研究者番号: 80332790

(2) 研究分担者

佐々木 謙 (SASAKI, Ken)
玉川大学・農学部・准教授
研究者番号: 40387353

(3) 研究分担者

藤澤 隆介 (FUJISAWA, Ryusuke)
八戸工業大学・工学部・講師
研究者番号: 40550554

(4) 研究分担者

永谷 直久 (NAGAYA, Naohisa)
京都産業大学・コンピュータ理工学部・助教
研究者番号: 10636418