

令和 3 年 6 月 4 日現在

機関番号：34504

研究種目：基盤研究(B)（一般）

研究期間：2018～2020

課題番号：18H02512

研究課題名（和文）行動操作がもたらす相利共生維持機構の解明

研究課題名（英文）Mechanisms of mutualism maintenance by behavioral manipulation

研究代表者

北條 賢（Hojo, Masaru）

関西学院大学・理工学部・准教授

研究者番号：70722122

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 13,400,000円

研究成果の概要（和文）：利己的な行動操作による相利共生の維持機構を理解するために、シジミチョウとアリの相利共生系を用いて行動操作のメカニズムと共生がアリの利益（次世代生産数）に与える影響を調べた。シジミチョウの蜜にはアリの行動を操作する化学物質が含まれること、蜜は脳内ドーパミン経路やシグナル伝達に関わる遺伝子発現を低下させること、共生がアリに与える利益はアリの栄養状態に依存して変化するが、短期的な損得に関わらずアリはシジミチョウとの共生関係を維持することを見出した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

相利共生の維持機構を理解することは、生物間の協力的な関係がどのように進化し維持されているのかを理解することにつながり、学術的な意義がある。協力的な関係とその崩壊はヒトの社会にも広くみられることから、ヒトの社会組織にも適応できる知見を提供しうる点で社会的意義がある。

研究成果の概要（英文）：In order to understand the maintenance mechanisms of mutualistic associations through selfish behavioral manipulation, we investigated the mechanism of behavioral manipulation and the effect of mutualism on an ant fitness using a mutualistic system between a lycaenid butterfly and an ant. We found that the nectar of the lycaenid butterfly contains some chemicals that manipulate the behavior of ants, the nectar decreases the expression of genes involved in the dopamine pathway and signal transduction in the brain of ants. We also found that the benefits of mutualism to the ants vary depending on the nutritional status of the ants, but the ants maintain the associations with the lycaenid butterfly regardless of short-term fitness losses.

研究分野：動物行動

キーワード：相利共生 社会性昆虫 行動操作

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

相利共生は異なる生物同士がお互いに協力し合う関係であり、生態系で広く見られる一般的な現象である。これまでの研究から、相利共生には潜在的な利害対立が存在し、自身は何も与えずに相手から利益を得る「裏切り」とその相互監視による「罰」によって進化的に維持されるとの理解が深まってきた。一方で、近年様々な相利共生系において、パートナーの生理機能や行動を操作し、共生関係に対するパートナー依存度を高める現象が相次いで発見され、相利共生関係が一方の利己的な行動操作によって維持されている可能性が示されているが、その詳細なメカニズムや共生関係に与える影響は未解明である。

2. 研究の目的

本研究の目的はシジミチョウとアリの相利共生を題材にシジミチョウによるアリの行動操作の化学・分子・神経メカニズムを明らかにするとともに、共生関係がアリの適応度に与える影響を明らかにすることで、行動操作による相利共生の維持機構を解明する。研究代表者らの先行研究から、ムラサキシジミとアミメアリの共生関係において、ムラサキシジミ幼虫から分泌される蜜を摂食したアリは歩行活動性が減少し、攻撃性が上昇することが示されている。また蜜を摂食したアリは脳内のドーパミン量が低下することから、シジミチョウの蜜はアリ脳のドーパミン神経系に作用して、アリの行動を操作することで協力的な関係を維持していることが示唆されてきた。そこで本研究では、(1) アリの行動を操作する化学物質を探索し、(2) 行動操作に関わる遺伝子および神経回路を特定するとともに、(3) シジミチョウとの共生がアリの適応度に与える影響を明らかにする。

3. 研究の方法

(1) アリの行動を操作する化学物質の探索

シャーレにアミメアリの外役ワーカー1頭を入れて5分間放置したのち、水・人工蜜とムラサキシジミ幼虫から採集した蜜のいずれか0.5ulを提示し、10分間摂食させた。その後、アリの歩行活動を1時間おきに15分間ビデオカメラで撮影した。得られた動画からアリがシャーレの中央線を横切る回数を計測し、歩行活動性を評価した。またムラサキシジミ幼虫から採集した蜜を75%メタノールで希釈したのちにLC/MS/MSで分析し、蜜中に含まれる成分を探索した。

(2) 行動操作に関わる遺伝子および神経回路の特定

アリのみで飼育した「未経験アリ」・シジミチョウ幼虫と飼育した「経験アリ」・蜜腺を塞いだシジミチョウ幼虫と飼育した「無報酬アリ」・対照区の「無処理アリ」の4処理区を作成した。各処理区のワーカー脳からRNA抽出し、RNA-seqを行った。同様に作成した4処理区を作成してRNA-seq解析より検出された候補遺伝子の発現量をqRT-PCRにより解析した。また、3つのドーパミン受容体のDIG標識RNAプローブを合成し、ワーカー脳における各種ドーパミン受容体の発現局在をWhole-mount in-situ hybridizationにより調べた。

(3) シジミチョウとの共生がアリの適応度に与える影響

アミメアリ1コロニーから巣外・巣内の個体100頭ずつ、計200頭からなるサブコロニーを6つ作成し、全てのサブコロニーにタンパク質(P)と炭水化物(C)の比率が同じ人工餌料(P:C=1:1)を与え1週間飼育した。餌は週に3回、水は適宜与え、死亡個体をカウントしすぐに取り除いた。その後、巣外の個体を補充しコロニーサイズを200頭に戻した。次に、各サブコロニーにタンパク質(P)と炭水化物(C)の比率が異なる人工餌料(P:C=1:3, 1:1, 3:1)を提示し、ムラサキシジミ幼虫と共に飼育アリのみで飼育したサブコロニーを3つずつ用意した。人工餌料を与える日に、1時間おきの写真撮影を行い、人工餌料を採餌している個体数と、シジミチョウ幼虫に随伴している個体数を記録した。4週間後、各サブコロニーで生産されたアリの卵と幼虫の数を計測し対照区との比較を行った。

4. 研究成果

(1) アリの行動を操作する化学物質の探索

ムラサキシジミから採集した蜜をアリに摂食させた結果、蜜摂食から7時間後にアリの歩行活動性が有意に低下し、この傾向は摂食24時間後まで継続した(図1)。このことから、シジミチョウの蜜中にはアリの行動を操作する化学物質が含まれていることが示唆された。シジミチョウの蜜をLC/MS/MS分析に供した結果、これまで報告されている糖類や遊離アミノ酸類に加えて、少量のアルカロイドと4~6個のアミノ酸からなるペプチド類が検出された。今後はこれらの詳細な化学構造を明らかにするとともに、合成品を用いた生物検定を行う必要がある。

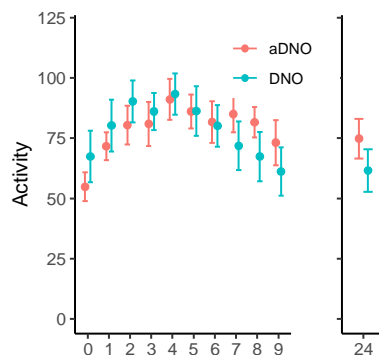


図1 蜜を摂食したアリの歩行活動性 (DNO: シジミチョウの蜜, aDNO: 蜜の糖とアミノ酸のみを再現した液体)

(2) 行動操作に関わる遺伝子および神経回路の特定

RNA-seqの結果、経験区のみで発現量が有意に低下する複数のGO解析の結果、いずれのクラスターにおいても遺伝子群のシナプスを介したシグナル伝達に関わる遺伝子が検出された。また経験区のアリではドーパミン合成に関わる *Tyrosine hydroxylase* やドーパミン受容体である *D1-like receptor* の発現量が低下する傾向が見られた。*D1-like receptor* の *in-situ* hybridization より、*D1-like receptor* はキノコ体傘部周辺の大部分の細胞で発現しており(図2)、シジミチョウが分泌する蜜はキノコ体におけるドーパミンの働きを低下させることが示唆された。今後は、今回RNA-seqにより見出された候補遺伝子の発現量低下がアリの行動変化を引き起こすかを解析する必要がある。

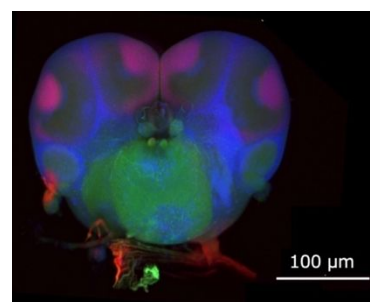


図2 アリ脳に *D1-like receptor* の発現部位 (ピンク色)

(3) シジミチョウとの共生がアリの適応度に与える影響

様々な栄養状態にあるアリコロニーをムラサキシジミ幼虫と共生させた結果、高炭水化物条件にあるコロニーでは、ムラサキシジミとの共生によりアリの生存個体数と次世代の生産数が増加した(図3)。一方、高タンパク質条件では、共生関係により次世代の生産数が有意に減少した(図3)。これらの結果から、ムラサキシジミとの共生がアリにもたらす利益はアリの栄養状態に依存して変化し、高タンパク質条件ではムラサキシジミとの共生関係がアリにとってコストとなることが示唆された。一方、ムラサキシジミに対する随伴行動はアリの栄養状態に依らず確認できた。高タンパク質条件のコロニーでは巣外で採餌する個体の割合が増加し、また随伴個体数はその他の処理区に比べ高タンパク質条件において有意に多かったことから(図4)、アリは短期的な損得にかかわらずシジミチョウとの共生関係を維持し、特に乏しい栄養条件においては両者の結びつきが強くなることが示唆された。今後はアリの栄養状態と行動操作の関係性に着目して研究を進める必要がある。

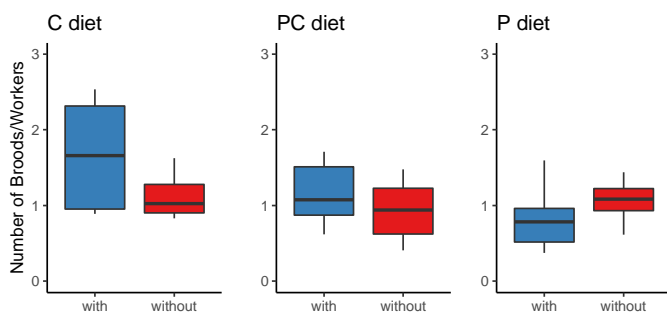


図3 各栄養状態におけるシジミチョウとの共生がアリの適応度に与える影響 (青: 共生有り、赤: 共生無し)

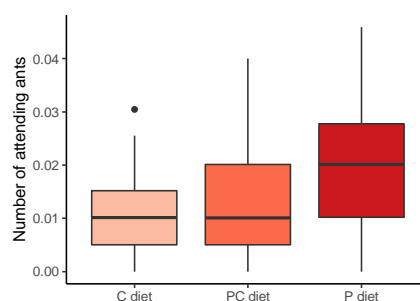


図4 各栄養状態におけるシジミチョウ幼虫に対するアリの随伴数

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 5件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 持田浩治, 香田啓貴, 北條賢, 高橋宏司, 須山巨基, 伊澤 栄一, 井原泰雄	4. 巻 70
2. 論文標題 社会学習による行動伝播の生態学における役割	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 日本生態学会誌	6. 最初と最後の頁 177
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.18960/seitai.70.3_177	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Shimoji H, Kasutani N, Ogawa S, Hojo MK	4. 巻 74
2. 論文標題 Worker propensity affects flexible task reversion in an ant.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Behavioral Ecology and Sociobiology	6. 最初と最後の頁 92
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00265-020-02876-3	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 -

1. 著者名 北條 賢	4. 巻 54
2. 論文標題 アリとシジミチョウの相利共生メカニズム	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 昆虫と自然	6. 最初と最後の頁 12-14
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
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16件（うち招待講演 3件／うち国際学会 1件）

1. 発表者名 森津悠貴, 矢口甫, 山口勝司, 重信秀治, 北條賢
2. 発表標題 シジミチョウとの共生がアリ脳の遺伝子発現に与える影響
3. 学会等名 第65回日本応用動物昆虫学会大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 松本恭士、下地博之、北條賢
2. 発表標題 ムラサキシジミとの共生はアミメアリに利益をもたらすのか？
3. 学会等名 第68回日本生態学会大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Masaru K. Hojo
2. 発表標題 Appetitive learning and its exploitation in a lycaenid butterfly-ant mutualism
3. 学会等名 International Union for the Study of Social Insects 2018 (国際学会)
4. 発表年 2018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
---------	---------