

令和 2 年 6 月 5 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17H03731

研究課題名(和文) 寄生蜂の学習行動を生起する匂い物質から見たスイッチング捕食の3者系動態理論

研究課題名(英文) Dynamical theory of switching predation based on chemical substances arising learning behaviors in the parasitic wasp

研究代表者

嶋田 正和 (SHIMADA, Masakazu)

東京大学・大学院総合文化研究科・名誉教授

研究者番号：40178950

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,500,000円

研究成果の概要(和文)：ゾウムシコガネコバチが宿主マメゾウムシ2種の探索に利用するカイロモンの同定と合成を試みた。各宿主のヘキササン抽出物を分画し、バイオアッセイを行い、GC-MSで構造を推定した。その結果、カイロモンは分枝鎖飽和炭化水素で、アズキゾウムシ主要成分11-MeC27と、ヨツモン主要成分9-MeC27など3つを特定できた。天然物に似せて4成分をブレンドすることで蜂の正の産卵学習と記憶効果を再現できた。一方、蜂は産卵なしでカイロモンだけを嗅ぎ続けると馴化して、興味が他のカイロモンに移った。蜂の馴化能力は、宿主選好性の切り替えを可能にするため、正の学習能力とともに、数の多い餌種を効率的に探索するうえで重要であろう。

研究成果の学術的意義や社会的意義

学術的意義は、多様に変化する複数の環境(既知宿主と未知宿主)に適応可能な寄生性の天敵昆虫の学習行動システムを理解する上で、行動生態学と神経行動学を結ぶ学問を構築し、心理学的視点の重要性を示した。社会的意義としては、天敵を利用した生物防除の理論と実証に大いに役立つ。生物多様性の意義や重要性の理解に役立つ。また、生物多様性の保全方法について科学的な視点から具体的な提言を行なえる。

研究成果の概要(英文)：We determined kairomones that the parasitic wasp uses and learns to find a common host species for oviposition in one parasitoid (*Anisopteromalus calandrae*) and two bruchine hosts (*Callosobruchus chinensis*, *C. maculatus*)

In the experimental system. The parasitoid performed frequency-dependent predation on two host species with olfactory cues and switched the preference depending on their abundance. We collected and extracted footprint chemicals of each host, and determined their chemical structures using GC-MS. Kairomones of *C. chinensis* were mainly 11-MeC27, and those of *C. maculatus* were primarily 9-MeC27, 3-MeC29, 9,13-diMeC29. When we synthesized the four substances and presented them alone or in a blend to wasps, we were able to reproduce learning and memory effects, inducing wasps' host parasitizing behaviors. We also observed the ability of wasps to habituate kairomones in order to explore a mechanism that allows host switching.

研究分野：行動生態学

キーワード：寄生蜂ゾウムシコガネコバチ 化学コミュニケーション 行動生態学 匂い学習と選好性 スwitchング捕食 3者系の共存安定化 カイロモン 馴れ

1. 研究開始当初の背景

動物の採餌戦略や繁殖戦略の「適応度」をベースに、行動生態学と個体群動態を連携させる機運が 1985 年頃に見られた。最適採餌行動を取り込んだ個体群動態の数理モデルの提唱も一時あったが、実証研究はまれであった。一方、神経行動学は 1980 年代から隆盛となり、21 世紀に入って爆発的に成果が出始めた。神経行動学は至近要因(生理的可塑性、学習行動、その遺伝子発現調節)をベースとして、動物の行動研究を進展させている。さらに、米国では Movement Ecology が盛んになり、2005 年に PNAS で特集も組まれている。嶋田は(Shimada 2010)「迅速な適応性」現象として、生物の表現型可塑性や学習行動の背景にある物質基盤や遺伝子発現を体系立てて解説した。

そして、Ishii and Shimada (2012, PNAS) は、寄生蜂ゾウムシコガネコバチと宿主マメゾウムシ 2 種からなる 3 者系で、寄生蜂が宿主密度に依存した寄生学習によるスイッチング捕食 (Murdoch and Oaten 1975 の理論提唱) を介して、宿主 2 種の個体数が長期的に交替振動する現象(捕食圧が中程度の時に発生)を発見した。これは多数派の優占種を寄生で減少させ、少数派の被食者を見逃すことで有利にするため、異なる餌種の共存を可能にし、「食物網の永続化」を促す。寄生蜂介在下でのマメゾウムシ 2 種の交替振動には、マメゾウムシから発する匂い物質(カイロモン)の記憶にもとづく寄生蜂の学習が関係している。寄生蜂を一方の宿主に 12 時間~48 時間寄生させ「条件づけ」し、条件づけ終了後に 2 種のマメゾウムシを 1:1 で与えると、学習し記憶した条件づけの宿主種に選好性を示す。つまり、数の多い宿主種に選好性を示すが、現在の宿主種が数を減らして他方の宿主種が増加すると、そちらの宿主に寄生選好を切り替える「スイッチング捕食」となる。宿主のいない空の豆に宿主 2 種のアセトン抽出物を塗布するだけでも、蜂は条件づけされた宿主の匂い物質が塗りつけられた豆に接近し、針刺し行動まで示す。条件づけがないと軌跡はランダム歩行となる (Ishii and Shimada 2010)。

このように、ゾウムシコガネコバチは、各宿主の特有の匂い物質を学習し記憶することで個体数の多い宿主種へと産卵選好性を偏らせることにより、効率的な餌探索を実現していると考えられる。その結果としてスイッチング捕食が起こり、3 者系での宿主の交替振動が生じると想定される。寄生蜂 宿主 2 種 3 者系での個体数動態パターンに関わる昆虫の学習行動とその背景にある物質基盤を解析した研究は、世界的にも皆無である。

2. 研究の目的

ゾウムシコガネコバチは、豆内に潜む宿主マメゾウムシ 2 種の幼虫を探索する際に、寄生豆表面の宿主種の匂いをカイロモンとして利用・学習し、産卵を経験した宿主種への選好性を増加させることで、豊富な餌種に対する効率的な探索を実現すると考えられる。この作業仮説を検証するため、寄生蜂が知覚する宿主 2 種由来の匂い物質を特定し、学習・記憶効果のバイオアッセイ実験を実施する。すなわち、宿主の匂い物質を GC-MS で分析し、化学物質を特定するとともにそれらを化学合成し、バイオアッセイで天然物と同等の学習行動を誘発するかを明らかにする。さらに、寄生蜂が現在の宿主種を諦めて新奇な宿主種へと選好性を切り替えるメカニズムとして、無報酬刺激に対する馴化能力に着目する。寄生蜂のカイロモンに対する「正の学習」と「馴化」を介した効率的な宿主探索機構の解明をめざす。

3. 研究の方法

寄生蜂ゾウムシコガネコバチおよび 2 種の宿主(アズキゾウムシ、ヨツモンマメゾウムシ)からなる捕食者 1 種 被食者 2 種の 3 者系を用いた。寄生蜂が宿主 2 種を識別し、産卵学習を通じて宿主探索に利用しているカイロモンを特定するために、まず各宿主の匂い物質をヘキササンで抽出し、シリカゲルカラムクロマトグラフィー・モレキュラーシーブ法を駆使して分画し、バイオアッセイで活性画分の絞り込みを行い、候補化合物について GC-MS 分析を行って化学構造を推定した。

次に候補化合物の化学合成を行い、合成品を単独またはブレンドして幼虫不在の豆に塗布して与え、寄生蜂の記憶・学習効果が再現できるかを観察した。そして、産卵なしで長時間カイロモンだけを嗅ぎ続けた場合に学習したカイロモン物質に対する馴化が起こるかを、一方の宿主種に寄生させて条件づけされた蜂に対して宿主 2 種の「匂い物質」のヘキササン画分を幼虫不在の豆

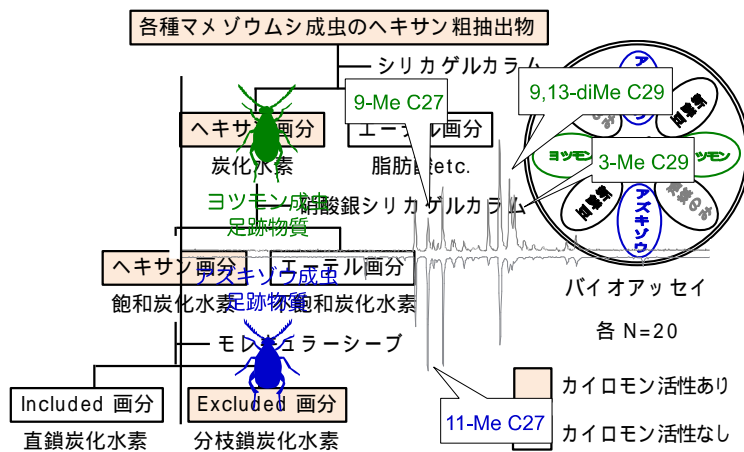


図 1 化学物質の抽出・分画・カイロモン活性

に塗布して与えて観察した。さらに、アズキゾウのカイロモン合成産物を用いて馴化および馴化からの回復が見られるかを観察した。

4. 研究成果

嶋田・松山・笹川・柴尾は、ゾウムシコガネコバチが宿主2種（アズキゾウとヨツモン）を識別し、産卵学習を通じて宿主探索に利用しているカイロモンを特定するために、各宿主の匂い物質を抽出し、各種クロマトグラフィー法を駆使しながらバイオアッセイとGC-MSによる化学分析、化学合成を行なった。その結果、ゾウムシコガネコバチが利用する産卵学習カイロモンは、宿主2種の雌成虫が残した足跡に含まれる物質であり、雌成虫の体表ワックスに多く含まれる、分枝鎖飽

図2 アズキゾウとヨツモンの匂い物質の違いを示すGC-MSのトータル・イオンカレント・クロマトグラム。マメゾウムシ2種特有のカイロモン候補物質を示す。

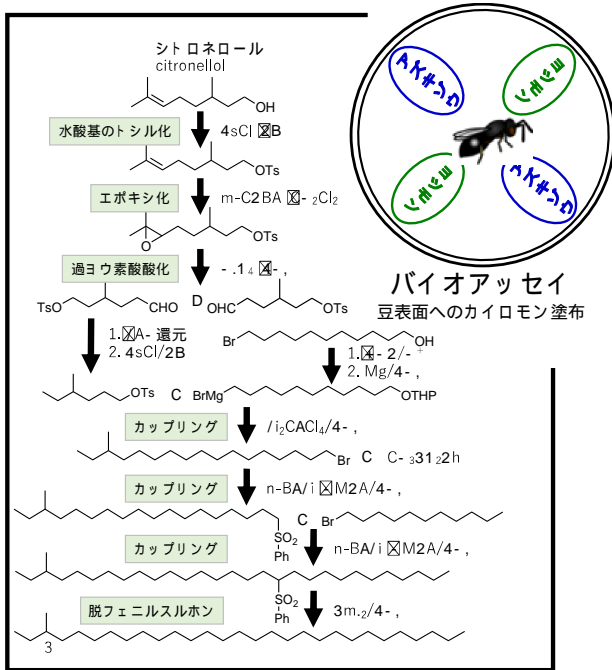


図3 匂い物質の1つの化学合成。直鎖型と分枝型では、分枝型が選択性を決める。

和炭化水素であった(図1)。宿主2種のカイロモン候補物質として、アズキゾウに特有かつ主要な成分である11-methylheptacosane(11-MeC27)およびヨツモンに特有かつ主要な成分である9-methylheptacosane(9-MeC27)、3-methylnonacosane(3-MeC29)、9,13-dimethylnonacosane(9,13-diMeC29)の4つに絞り込んだ(図2)。これら4成分の合成産物をバイオアッセイに供した結果、各成分を単独で提示した場合、蜂はより複雑な構造を持った分枝鎖炭化水素(メチル側鎖が複数あり、中央に位置するもの)をよく覚えていた(図3)。しかし、アズキゾウ学習蜂はアズキゾウの主要な単一成分をよく覚えており、ヨツモン学習蜂ではヨツモンの天然物に似せて主要な3成分(単体では効果のない成分も含む)を0.1個体当量以上でブレンドした場合に、特に高い正の学習・記憶効果を引き出した(図4)。したがって、蜂の産卵学習行動を解発するカイロモンは、宿主2種特有の11-MeC27、9-MeC27、3-MeC29、9,13-diMeC29の4物質であることが確認された。本種は宿主2種のカイロモン濃度を個体数密度の違いを示すシグナルとして利用しており、これらの成分を単独または混合カクテルとして知覚し、数の多い宿主種に対する探索像を形成・記憶することで正の頻度依存捕食を実現すると考えられる。

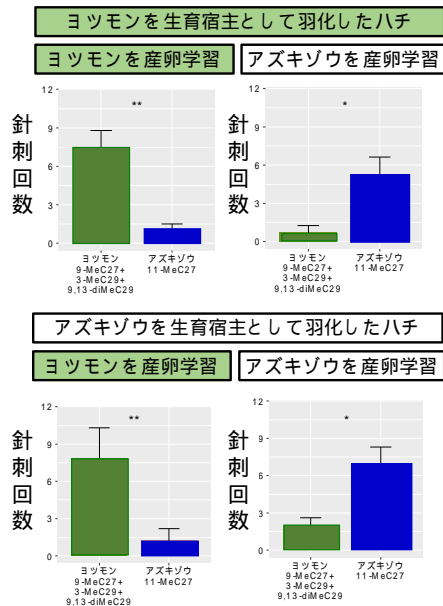


図2 合成カイロモンによる学習・記憶効果の再現。ヨツモンは3成分のブレンド、アズキゾウは単一成分でテストした。ウィルコクソンの符号順位検定: 片側検定 NS 有意差なし, * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ 各 $N=10\sim 20$

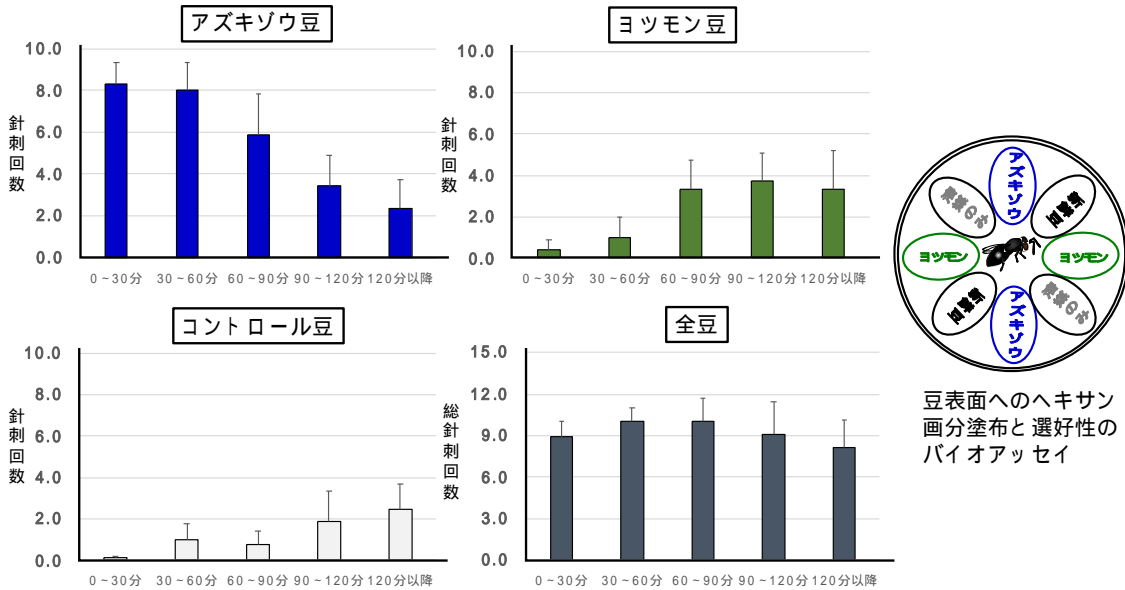


図 3 アズキゾウ学習ハチの各豆への針刺回数および全豆への総針刺回数の時間的变化

次に、寄生蜂が現在の宿主種を諦めて新しい宿主種へと選好性をシフトさせるメカニズムについて検討した。寄生蜂は数の多い宿主種に対して選好性を示し、その宿主種が集中して寄生されるので数を減らし、他方の宿主が寄生を逃れて増加するので、そちらの宿主に選好性を切り替える...という負と正の学習が交互に介在することで「スイッチング捕食」が生じると考えられる。これには、宿主種が寄生し尽くされたと知覚する「負の産卵学習」や、「馴化」のような無報酬刺激に対する単純な非連合学習が必要かもしれない。今回は後者に着目して以下の二つの実験を行なった。

一つ目の実験では、一方の宿主種に寄生させて条件づけされた蜂に対して、宿主2種の「匂い物質」を幼虫不在の豆に塗布して与え、3.5時間の長時間観察を行なった。その結果、蜂は最初の30分~1.5時間は条件づけされた宿主の匂い物質を塗った豆に接近し、活発な針刺し行動を示したが、やがてその豆上での探索時間は短くなり、条件づけされていない宿主種の匂い物質を塗った豆へ移動して探索行動や針刺し行動を示したり、豆外に滞在する時間が増えていった(図5)。後半には再び元の豆に戻ってきて探索行動や針刺し行動を示す蜂も少数ながら観察された。宿主2種の匂い物質は多数の炭化水素を含み、バイオアッセイは長時間に及んだが、観察中、蜂はほとんど休むことなく、せわしく歩き回っていた。興味深いことに、条件づけされた宿主種の匂い刺激に対する蜂の反応が減衰していく中、条件づけされていない宿主種の匂い刺激に対して、蜂は積極的な探索行動や針刺し行動を示すようになった(図5)。これらの結果から、条件づけされた宿主の匂い刺激に対する蜂の反応の減衰は、末梢の感覚器の順応や効果器の疲労によるものではなく、脳・中枢のレベルで起こる「馴化」という単純な非連合学習の結果と考えられる。

二つ目の実験では、アズキゾウに寄生させて条件づけされた蜂に対して、アズキゾウの「合成カイロモン (=11-MeC27)」のみを幼虫不在の豆に塗布して

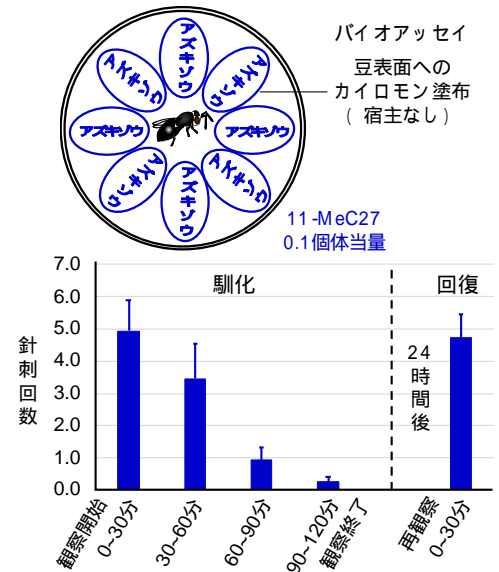


図 4 アズキゾウ学習ハチの豆への針刺回数の時間的变化 馴化および馴化からの回復

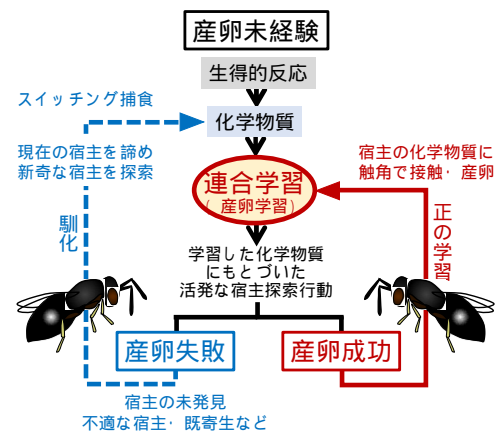


図 5 ゾウムシコガネコバチの「正の学習」と「馴化」の2つの学習を介したスイッチング捕食の仮説的なメカニズム

与え、学習したカイロモン物質に対する馴化が起こるかを2時間観察した。さらに観察終了後、24時間が経過したところで蜂に再びカイロモンを塗布した幼虫不在の豆を与え、馴化からの回復が見られるかを30分間観察した。その結果、蜂は最初のうちはカイロモンを塗布した豆上に長く滞在して活発に探索行動や針刺し行動を示していたが、やがて徐々に針刺し行動の回数は減少していき豆外に滞在する時間が増えていった(図6)。ところが、24時間後に再び観察したところ、蜂はカイロモン豆に接近し、活発な探索行動や針刺し行動を示すようになった(図6)。蜂の反応に減衰・回復のパターンが見られるのは、「負の学習」ではなく、「馴化」が起こったことを意味している。蜂は遅くとも24時間経過すると、馴化から回復することも分かった。以上の結果から、蜂は無報酬(=産卵なし)でカイロモンだけを嗅ぎ続けると「馴化」が起こり、そのカイロモンへの関心が薄れ、別のカイロモンに興味を示すようになることが分かった。蜂のカイロモンに対する馴化能力は、宿主選好性の切り替えを可能にするため、カイロモンに対する正の学習能力とともに、捕食者が数の多い餌種を効率的に探索するうえで重要であろう(図7)。

<引用文献>

- Ishii Y. and Shimada M. (2010) The effect of learning and search image on prey-predator interactions. *Popul. Ecol.*52: 27-35.
- Murdoch W. W. and Oaten A. (1975) Predation and population stability. *Adv. Ecol. Res.* 9: 2-131
- Shimada M., Ishii Y. and Shibao H. (2010) Rapid adaptation: a new dimension for evolutionary perspective in ecology. *Popul. Ecol.*52: 5-14.
- Ishii Y. and Shimada M. (2012) Learning predator promotes coexistence of prey species in host-parasitoid systems. *PNAS* 109(13): 5116-4120.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計5件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 柴尾晴信、松山茂、嶋田正和
2. 発表標題 寄生蜂の選択的宿主探索行動と産卵学習を規定する化学物質 - 多数派宿主種への強化学習と炭化水素カクテルへの選好 -
3. 学会等名 第63回日本応用動物昆虫学会大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 嶋田正和、笠田実、長瀬泰子
2. 発表標題 Projection matrix analysis with life history plasticity and learning of parasitic wasps
3. 学会等名 第1回日本発デモグラファー会議（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 柴尾晴信、石井弓美子、松山茂、嶋田正和
2. 発表標題 寄生蜂の選択的宿主探索行動を解発する宿主由来のカイロモン同定 - ハチは多数派の宿主種の炭化水素カクテルがお好き？ -
3. 学会等名 第62回日本応用動物昆虫学会大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 嶋田正和、笠田実、長瀬泰子
2. 発表標題 たく短く生きよ！ - 変動環境下で推移行列の表現型可塑性を示す寄生蜂の適応動態
3. 学会等名 日本生態学会大会第65回大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Shimada M., Nagase Y. and Kasada M.
2. 発表標題 Analyzing elasticity of Leslie matrix with phenotypic plasticity in the parasitic wasps, <i>Anisopteromalus calandrae</i> and <i>A. quinaris</i>
3. 学会等名 第33回個体群生態学会大会
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

<p>MASAKAZU SHIMADA'S HOMEPAGE https://sites.google.com/view/shimada-lab/publications MASAKAZU SHIMADA'S HOMEPAGE https://sites.google.com/view/shimada-lab/publications</p>

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	松山 茂 (MATSUYAMA Shigeru) (30239131)	筑波大学・生命環境系・講師 (12102)	
研究分担者	笹川 幸治 (SASAKAWA Koji) (30647962)	千葉大学・教育学部・准教授 (12501)	