

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 3 年 6 月 10 日現在

機関番号：32612

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2020

課題番号：19K16235

研究課題名（和文）クモの造網行動の生体内分子機構を基軸としたクモヒメバチによる網操作の分子機構解明

研究課題名（英文）Elucidation of the mechanism of host web manipulation by spider-ectoparasitoids based on the molecular mechanism of web-building behavior

研究代表者

高須賀 圭三（TAKASUKA, Keizo）

慶應義塾大学・政策・メディア研究科（藤沢）・特任助教

研究者番号：00726028

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,100,000円

研究成果の概要（和文）：クモの造網行動に関わる神経受容体の拮抗剤の特定を目指し、神経伝達物質を中心に生理活性物質のクモ腹部へのインジェクションを行った後に造網行動の変化を追跡したが、実験系の効率に問題が生じるなど期間中に拮抗剤の推定には至れなかった。ただし、ネガティブな結果から造網行動に影響を与えない生理活性物質を複数特定することができた。

また、野外においてアカクモヒメバチによるジョロウグモへの寄生の痕跡（ハチ成虫は確保し、クモの個体はすでになかったが網の特徴からジョロウグモと推定）および網操作の証拠が得られた。本種は亜科を超えてクモを利用でき、同種でも寄主が異なると大きく異なる行動操作を行っていることがわかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

網を作るというクモの造網行動はよく知られているものの、その分子機構はほとんどわかっていない。今回造網行動の生理基盤を司る生理活性物質のスクリーニングを目指し、特定には至れなかったものの、造網生理には関与していない複数の物質を明らかにできたほか、クモへのインジェクション実験確立に近づく土台を築けた。これらの基礎的な知見や技術の蓄積は、タンパク質マテリアルになりうるクモ系の生体内合成メカニズムや造網行動の神経生理の解明に向けた足掛かりとなる。

また、一般にも広く知られるジョロウグモで初めて寄生バチの存在を発見し、その造網行動を操作していることを明らかにしたことは一般社会に対してインパクトがある。

研究成果の概要（英文）：In order to identify the antagonists of the neuroreceptors involved in spider's web-building behavior, I observed the changes in behavior after injecting bioactive substances, mainly neurotransmitters, into the spider's abdomen, but I was unable to identify the antagonists during the study period due to problems with the efficiency of the injection system. However, several bioactive substances that did not affect the web-building behavior were identified from the negative results.

I also found a spider-ectoparasitoid, *Eriostethus rufus*, which most probably parasitized a nephiline spider, *Trichonephila clavata*, supposed by several circumstantial evidences left in the modified web from which the wasp cocoon hung, in Tsuruoka city, Yamagata Prefecture. This is a new host record of the species and even among all spider-ectoparasitoids, and thus the first case of web manipulation against *T. clavata*.

研究分野：昆虫生態学

キーワード：ナガコガネグモ ジョロウグモ 網操作 造網行動 アカクモヒメバチ マイクロインジェクション

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

クモヒメバチというクモの造網行動を操作する寄生バチがあり、その操作メカニズムを解明するためには、その基盤研究として、クモヒメバチ幼虫が生理的に干渉することによって網操作を実現しているクモの造網行動の生理機構を明らかにする必要があると考えた。また、操作メカニズムに迫るには、健全なクモと比較して操作されているクモの体内で起こっている生理変化を探索する必要がある。体内で生じている生理的作用に加え、野外に潜在する未発見の網操作系から得られる表現型データは、作用機序解明やスクリーニングを目指す上で大きな手がかりを含んでいる場合がある。

2. 研究の目的

造網行動の生体内分子機構を解明するために、その取り掛かりとして様々な生理活性物質を健全な(寄生などされていない)クモの腹部にインジェクションし、その後には張られる網の変化に再現性が得られる場合に、その物質が造網行動に関わる神経受容体の拮抗剤であるとみなし、投与物質から受容体の候補因子の絞り込みを行う。また、操作されて造網行動を改変させられているクモは、造網行動の分子機構に何らかの干渉を受けて行動変化に至っているのであり、干渉の結果生じた生理変化に注目し、健全クモと被操作のクモでメタボローム解析を実施し、比較を行う。

クモヒメバチでは多数の種で、特異的な網操作様式が種ごとあるいはまれに同種内で寄主クモごとに進化しており、これらの知見はそれ自体や事例間比較によって、網操作のメカニズムを予想する上で表現型から重要な手がかりを与えうる。そのため、実験に用いるクモのサンプリングと同時に、クモヒメバチ類の調査も行った。

3. 研究の方法

経口投与ではなく物理的な損傷を伴うインジェクションであるので、まずはクモヒメバチの寄主として利用されている小型の種ではなく(将来的には対象とすることを見据えている)、ナガコガネグモやジョロウグモといった大型種を野外から採集し実験に用いた。投与する生理活性物質は、神経伝達物質を基本として、チラミン、アスパラギン酸、グリシン、アドレナリン、ヒスタミン、セリン、 γ -アミノ酪酸を候補として選び、20-ヒドロキシエクジソン(20;脱皮ホルモン)も選択した。生理食塩水等を溶媒としてこれらの水溶液を作成し、被験クモの体重の200、500、1000、2000、5000分の1の重量と同じだけ溶質を注入するための水溶液量を算出してインジェクションを行った。その後、クモが張る網に特定の変化が現れるかどうかを観察し、造網行動に関わる神経受容体の拮抗剤候補を絞り込むことを試みた。

ギンメッキゴミグモを操作するニールセンクモヒメバチの寄生系を利用し、健全なギンメッキゴミグモとハチに操作されているギンメッキゴミグモそれぞれ11個体をメタボローム解析用に前処理し、各個体を2分割してIC-MSおよびLC-MSに供試した。

クモの採集時には、種を問わずクモヒメバチに寄生されたクモや網にぶら下がるハチの蛹を探索し、新知見の蓄積に努めた。

4. 研究成果

延べ58個体のナガコガネグモおよび7個体のジョロウグモに各種物質を順次ガラスキャピラリーで打ち込んでいったが、インジェクションを行う上で大きく立ちはだかった問題点がいくつかあった。

(1) 外骨格が固く、ガラスキャピラリーの先端を太くせざるを得ない、(2) 水溶液を体内にうまく注入で

きて、キャピラリを抜針した瞬間に逆流する、(3) 物質によっては水溶液がすぐに飽和状態となり、その結果打ち込みたい濃度に要する液量が打ち込み許容量を超える、(4) 打ち込みの影響でクモが死亡する、(5) 打ち込まれた影響かどうかは不明だが、打ち込まれたクモがその後何日も網を張らず、行動への影響を評価できない。以上の事情から、結論として再現性のある造網行動変化を得られるには至らなかった。しかしながら、浮き彫りとなったこれらの課題から技術面および機器面での改良の余地が見出された。まだ時間を要するものの改良を重ねていけば重要な技術となることは明確なため、期間終了後も引き続き技術確立に努め、拮抗剤探索および操作責任物質候補バイオアッセイ実験への適用を目指す。クモのマイクロインジェクション系の課題の明確化と技術土台を構築したという点では、本研究の成果としてみる事ができる。

また、ナガコガネグモで打ち込みがうまくいったが、翌日に完全な円網が張られた例が、チラミン 5000 分の 1 濃度で 3 例、ヒスタミン 500 分の 1 濃度で 2 例、1000 分の 1 濃度で 1 例、2000 分の 1 濃度で 1 例、20E 2000 分の 1 濃度で 1 例、セリン 500 分の 1 濃度で 1 例、 γ -アミノ酪酸 200 分の 1 濃度で 1 例、500 分の 1 濃度で 1 例あった。円網を張ったジョロウグモ 4 個体に、ヒスタミン 1000 分の 1 濃度を打ち込んで、その後の網の変化を追ったが、4 例とも変化は見られなかった。これらの結果から、以上の物質は少なくとも即時的に造網行動へ干渉する効果はないと考えられる。

メタボローム解析の結果、健全なクモに対し 2 倍以上かつ統計的有意に高く検出された代謝物質が 58 種見出された。現在、これらの物質の既知の機能について検討しており、物質名について公表できる段階ではないが、ハチの操作メカニズムによって造網行動生理が干渉を受けた結果高くなった物質も含まれていると予想しており、それらが特定でき次第公表する予定である。

野外での寄生系探索の結果、状況的にジョロウグモ(コガネグモ科ジョロウグモ亜科)の網を改変したと見られる操作網にアカクモヒメバチ *Eriostethus rufus* のまゆが吊り下がっているところを山形県鶴岡市で発見した(図 1)。ハチは形態情報(図 2)に加え COI 領域の配列決定による分子情報に基づいた同定を行い、既存の同種配列 541bp(奈良県産・寄主不明)と 100%の一致が得られた。今回の採集例により、本種の分布記録としては最北端を更新した。取得配列は NCBI から参照できる(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/LC604891.1>)。ジョロウグモに対するクモヒメバチの寄生例は記録がなく、ジョロウグモへの寄生が間違いなければ本件が初めてとなる。寄主をジョロウグモと判断した根拠として、(1) 当該個体が採集された場所および造網環境に多数のジョロウグモが造網していた、(2) 操作網が 50cm を超える大型で、形状がジョロウグモの造網するバリア網およびその支持系(図 3)と酷似する、(3) ジョロウグモの特徴である網に吊るされた残滓(図 3 矢印 2)と同じものが操作網にも存在していた(図 1)、など複数の状況証拠が見ついている。



図 1 アカクモヒメバチのまゆが吊り下がっていた操作網. A 実際の写真, B 網とまゆ、残滓のみを描写した線画.



図 2 アカクモヒメバチ本体とまゆの標本



図 3 健全なジョロウグモ成体の網. 矢印 1 バリア網, 矢印 2 吊るされた残滓, 3 バリア網の支持系, 4 小型の別個体の円網枠系か支持系か不明.

アカクモヒメバチは、コガネグモ科 ARA-clade(広義のコガネグモ亜科)に属するサツマノミダマシとワキグロサツマノミダマシに寄生している記録があり、後者では球形に近い不規則な操作網を張らせることが報告されている。一方、ジョロウグモを操作した場合は縦方向に長さのある逆三角形の不規則な形状に変わった(図 1)。網の形状から考えると、これらの網を張らせるために必要とする造網行動には大きな違いがあるはずで、球形網を張らせるには距離の短い糸引き行動を繰り返し、何度も方向転換をさせる必要があるのに対し、逆三角形網を張らせるには距離の長い糸引き行動が必要である。分子同定のリファレンスとなった奈良県産の個体がどの種のクモに寄生していたかはわからないが、もし寄主を違えても遺伝的の差異が存在せず、種内における寄主選好性が存在しないと仮定すると、まったく同じ操作メカニズム(寄主系統が存在したとしても操作メカニズムに差異があるとは限らない)をもってして寄主が異なると大きく異なる造網行動が誘発され、その結果形状の異なる操作網が生み出されていると考えられる。この事実は、操作メカニズムが比較的単純で、亜科を超えてクモの種を違えても作用は有効であり、かつそれを受けたクモの造網行動生理反応は種や系統によって異なる、と言い換えることもでき、操作メカニズム解明に向けた重要な示唆を

含んでいる。この成果は、Takasuka (2021) *Entomological Communications* に発表した。

Takasuka K. (2021) The northernmost record of *Eriostethus rufus* (Uchida, 1932) (Hymenoptera, Ichneumonidae) with an indication of new host, *Trichonephila clavata* (Koch, 1878) (Araneae, Araneidae) and its web manipulation. *Entomological Communications* **3** ec03014.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Takasuka Keizo	4. 巻 68
2. 論文標題 The second record of <i>Allagelena opulenta</i> (Araneae, Agelenidae) parasitized by the spider-ectoparasitoid, <i>Brachyzapus nikkoensis</i> (Hymenoptera, Ichneumonidae)	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Acta Arachnologica	6. 最初と最後の頁 77-80
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2476/asjaa.68.77	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 Takasuka Keizo	4. 巻 47
2. 論文標題 Evaluation of manipulative effects by an ichneumonid spider-ectoparasitoid larva upon an orb-weaving spider host (<i>Araneidae</i> , <i>Cyclosa argenteoalba</i>) by means of surgical removal and transplantation	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Arachnology	6. 最初と最後の頁 181-189
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1636/JoA-S-18-082	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 Koshidaka Naoki, Takasuka Keizo	4. 巻 18
2. 論文標題 Discovery of a bagworm devouring an orb-web	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Arachnology	6. 最初と最後の頁 147-149
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.13156/arac.2018.18.2.147	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 Takasuka Keizo	4. 巻 3
2. 論文標題 The northernmost record of <i>Eriostethus rufus</i> (Uchida, 1932) (Hymenoptera, Ichneumonidae) with an indication of new host, <i>Trichonephila clavata</i> (Koch, 1878) (Araneae, Araneidae) and its web manipulation	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Entomological Communications	6. 最初と最後の頁 ec03014 ~ ec03014
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.37486/2675-1305.ec03014	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 -

〔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 高須賀圭三, 原口岳, 安井知己, 河野暢明, 荒川和晴, 富田勝, 前藤薫
2. 発表標題 ゴミグモヒメバチ属3種による操作網の種間プロパティ比較
3. 学会等名 日本蜘蛛学会第51回大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 高須賀圭三
2. 発表標題 行動から見るクモ寄生バチによる造網行動操作の究極要因と至近要因（2019年度日本動物行動学会賞受賞講演）
3. 学会等名 日本動物行動学会第38回大会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 高須賀圭三
2. 発表標題 趣旨説明（シンポジウム『現在～未来の蜘蛛学を担う若者たちのクモトーク』）
3. 学会等名 日本蜘蛛学会第51回大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 高須賀圭三, 平山明由, 曾我朋義, 富田勝, 河野暢明, 荒川和晴
2. 発表標題 メタボローム解析を用いたクモ寄生バチによる造網行動操作の責任物質探索
3. 学会等名 第43回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 高須賀圭三, Niclas R. Fritzen, 田仲義弘, 松本吏樹郎, 前藤薫, Mark R. Shaw
2. 発表標題 クモヒメバチ産卵行動様式の大進化
3. 学会等名 日本蜘蛛学会第52回大会
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 前藤薫	4. 発行年 2020年
2. 出版社 一色出版	5. 総ページ数 350
3. 書名 寄生バチと狩りバチの不思議な世界	

〔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
---------	---------