

論文の内容の要旨

論文題目

Song discrimination by female Bengalese finches:
song elements or sequence?

(ジュウシマツのメスによる求愛歌の弁別：系列と音要素の検討)

氏名 加藤 陽子

1. 序論

歌鳥のオスは「歌」と呼ばれる発声を求愛に用いる。歌には音響構造の異なる複数の音要素が含まれ、それら音要素がある規則を持って配列される。オスはお手本となる歌（父親の歌）を聞き覚え、発声学習によって歌を獲得する(Brainard and Doupe 2002)。歌鳥の脳内には歌を学習し、歌うための神経回路が発達している。歌を学習する時期にはこの神経回路が成熟していくことが判っている。そのため発達時に十分な栄養をとれないなど、外的なストレスを受けると、歌の学習精度が低下することが報告されている(Nowicki et al. 1998)。したがって成長後の歌は、オスの学習期における発達状態の良さを反映すると考えられる。このためメスにとって、歌を指標としてオスを選ぶことはより発達状態の良いオスを選ぶことにつながると考えられる。一方でメスは発達期に父親の歌を聞き覚え、自種の歌に対する選好を獲得することが示されている(Clayton 1990, Lauay et al. 2004)。

ジュウシマツはオスのみが求愛のために歌をうたう。歌には無音区間で区切られた複数の音要素が含まれる。音要素にはいつも同じ順序で歌われる系列があり、これをチャンクと呼ぶ。歌はこのチャンクが複数の遷移パターンで歌われる構造を持っている(Honda and Okanoya 1999)。ジュウシマツの歌には個体によって音要素の違いと、それらの組み合わせである系列の違いがみられる。オスの歌系列の複雑さは発達条件によって影響を受けることから(Soma 2006)、メスはより複雑な歌を選好することによって繁殖を有利に行えること

が考えられる。これまでの研究で、メスに複雑な歌を提示するとより繁殖準備行動を行うことが報告されている(Okanoya 2004)。また、複雑な歌と単純な歌を選択させると、メスは個体によって異なる選好を示すことも報告されている(Morisaka et al. 2008)。本研究では、ジュウシマツのメスがオスの求愛歌にみられる系列の違いを聞き分け、えり好みを行っているのかを、行動実験と聴覚領域における即初期遺伝子 ZENK を用いた実験によって検討した。

2. 行動実験による歌選好の検討

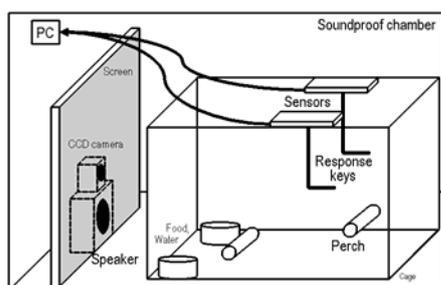


図1 行動実験装置
レバーへの反応で歌が提示される。

メスの歌に対する選好を実験的に調べる方法として、本研究ではオペラント選択実験を用いた。オペラント選択課題では二つの歌それぞれに対して一つずつ反応キーが関連付けられ、キーへ反応することによって歌刺激が提示される(図1)。歌鳥はほかの報酬(例えばエサ)などの追提示なしに、歌を聞くためにキーに対して反応を行うようになる。

実験1では刺激として発達初期に聞いた父親の歌と新奇な歌を提示した。これによりメスが求愛歌の要素の違いによって選好を示すか、また親近な歌と新奇な歌のどちらを好むのかを検討した。実験2では父親の歌とその音要素の系列を逆順に入れ替えた歌(Order reversed song, OREV)を提示し、音要素の系列の違いにたいして選好を示すかどうかを検討した。父親の歌とOREVを違う歌として認識するのであれば、実験1同様に親近な歌に対して、または新奇な歌に対して選好がみられると予測された。

実験1では全ての被験体が新奇な歌よりも父親歌に対して多く反応した。(Wilcoxon signed rank test, $n = 6$, $p = 0.031$, 図2左)。したがって、メスは音要素の違いを聞き分け、父親の歌に対して選好を示すことがわかった。実験2では、父歌とその逆順序歌に対する反応数に有意差はみられなかった(Wilcoxon signed rank test, $n = 7$, $p = 0.94$, 図2右)。

これらの結果から、メスは音要素の違いを聞き分け、親近な父親の歌に対して選好を持つことがわかった。しかし、本実験ではメスの系列の違いに対する選好は検出されなかった。

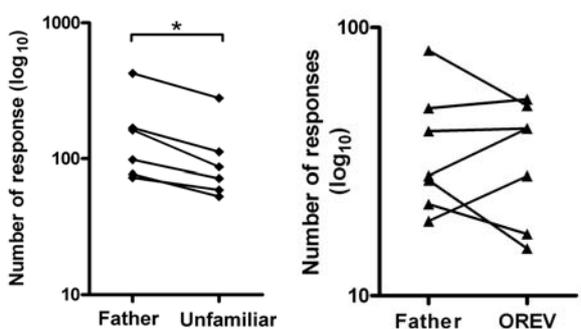


図2 左：父親の歌(Father)と新奇な歌(Unfamiliar)に対する反応数。メスは父親の歌に対して有意に多く反応した。右：父親の歌(Father)とその音要素系列を逆順序にした歌(OREV)。反応数に有意な差はみられなかった。グラフは縦軸を対数表示とした。* $p < 0.05$

3. 即初期遺伝子の発現からみた系列に対する聴覚処理の検討

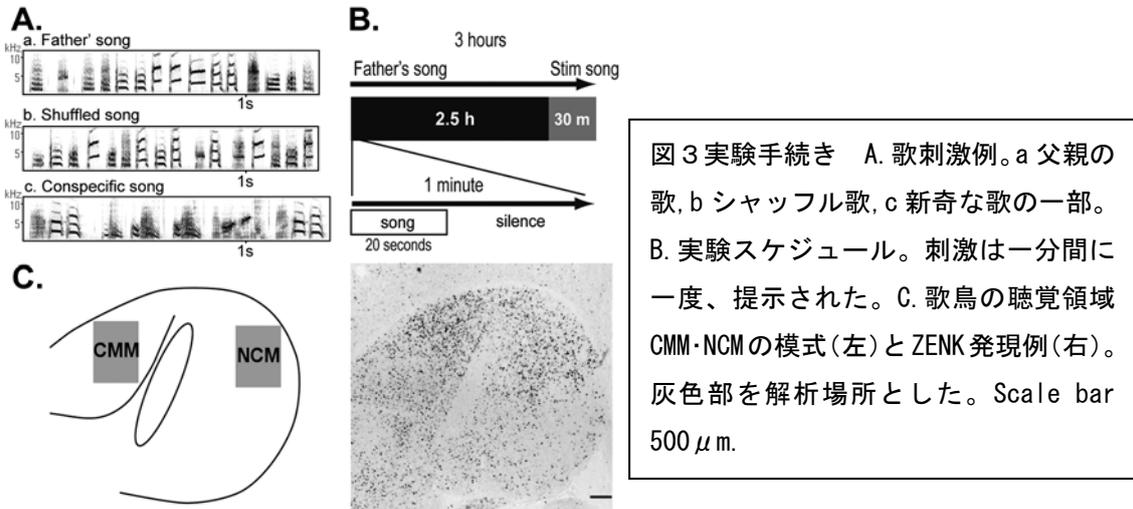


図3 実験手続き A. 歌刺激例。a 父親の歌, b シャッフル歌, c 新奇な歌の一部。B. 実験スケジュール。刺激は一分間に一度、提示された。C. 歌鳥の聴覚領域 CMM・NCMの模式(左)とZENK発現例(右)。灰色部を解析場所とした。Scale bar 500 μ m.

行動実験ではメスは音要素の違いに対して選好を示したが、系列の違いに対する選好は検出されなかった。このため次に、メスの聴覚領域において系列の違いが処理されているのかを検討した。

歌鳥の聴覚領域 NCM・CMM は歌の記憶に関わり、メスのえり好みにおいても重要であることが示唆されている(Bolhuis and Gahr 2006)。聴覚領域では歌の提示によって即初期遺伝子 ZENK が発現する(Mello et al. 1992)。またこの ZENK 発現は、同じ歌を繰り返し提示することで減少する事が報告されている。これは、同じ歌刺激の提示に対する馴化を反映していると考えられる。馴化が起こった後に、異なる歌を提示すると、ZENK は再び誘導される。これは脱馴化を示すと考えられる(Mello et al. 1995)。

本実験では、メスに父親の歌(Father song)を繰り返し提示したのちに、引き続いて異なる刺激を提示し、聴覚領域における ZENK 発現を計測した (図3)。

実験には三つの群を用いた。実験群 (F/S 群 $n = 7$) では、父親の歌を繰り返し提示し、馴化を起こさせた後で、続いて系列をランダムに並び替えた歌 (Shuffle song) を提示した。対照群として父親の歌を提示し続ける群 (F/F 群 $n = 7$)、新奇な歌(Conspecific song)を提示する群 (F/C 群 $n = 7$) を用いた (図3A)。先行研究から、F/F 群では父親の歌に馴化し、ZENK の発現が減少すること、F/C 群では脱馴化により ZENK が誘導されることが予測された。シャッフル歌を提示した F/S 群で ZENK が発現するのであれば、系列の違うシャッフル歌は父親の歌と異なる歌であると処理されていると考えられた。反対に、ZENK 発現が減少するのであれば、聴覚領域 NCM・CMM は系列の違いを処理していないことが予測された。

in situ hybridization 法によって ZENK を可視化し、聴覚領域 NCM・CMM それぞれにおいて顕微鏡写真を撮影した (図3C)。ZENK の発現量は画像解析ソフト Image J によって定量化した。結果、NCM、CMM の両領域においてシャッフル歌を聞いた F/S 群の ZENK

発現は、父親の歌を聞いた F/F 群と同程度であり、新奇な歌を聞いた F/C 群よりも有意に少なかった (図 4、ANOVA; NCM $F[2, 18] = 13.61, *p < 0.01$, CMM $F[2, 18] = 32.03, *p < 0.01$)。したがってメスの聴覚領域 NCM・CMM では系列の違いによらず、同一な音要素かどうかを基準として処理が行われていることが示唆された。

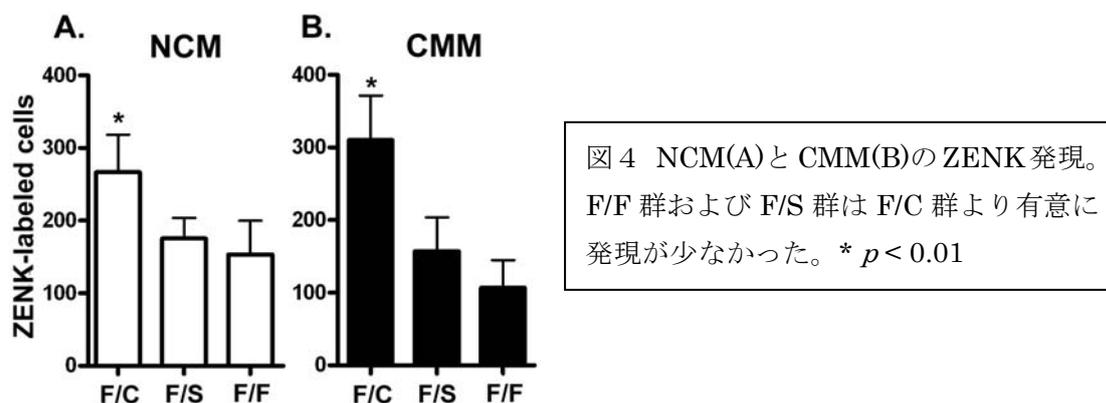


図 4 NCM(A)と CMM(B)の ZENK 発現。F/F 群および F/S 群は F/C 群より有意に発現が少なかった。* $p < 0.01$

4. 考察

ジュウシマツの求愛歌には音要素と系列の二つの個体差がある。系列の複雑さはオスの発達状態の状態を示す(Soma et al. 2006)ため、メスは系列の複雑さを聞き分け、選好を持つことが予測された。

行動実験において、メスは新奇な歌よりも父親の歌を好む選好をみせた (図 2 左)。近縁種であるキンカチョウでは発達初期に聞く父親の歌は、自種の歌に対する選好獲得に重要であることが示されている(Clayton 1990, Lauay et al. 2004)。またメスは成長後も発達初期に聞いた歌を選好する(Riebel 2000)。本研究ではジュウシマツのメスも発達初期に聞いた父親の歌を聞き覚え、選好を持つことが示された。したがってジュウシマツにおいても父親の歌が選好獲得に影響していることが考えられる。また、実験 1 からメスは音要素の違いを聞き分け、選好を示すことが判った。実験 2 ではメスが系列の違いを聞き分け、選好を示すかを検討した。結果、メスの系列に対する選好は検出されなかった (図 2 右)。この結果からは、メスが系列に対して選好を持っているか、持っていないのかを結論づけることはできない。メスが系列に対して選好を示すのかどうかについては、今後さらに検討することが必要だと考えられる。

次に、聴覚領域 NCM・CMM における系列情報の処理を、即初期遺伝子 ZENK の発現を指標として検討した。結果、聴覚領域 NCM・CMM はランダムに系列を入れ替えた父親の歌 (シャッフル歌) に対して、正常な父親の歌と同じような反応を示した (図 4)。したがって、この領域では系列の違いを処理せず、同じ音要素であれば同じ歌であると処理していることが示唆された。一方で、音要素の違いに対しては ZENK の発現が誘導された。このため、聴覚領域 NCM・CMM は音要素の違いに基づいた処理を行っていることが示唆された。

本研究における検討からは、ジュウシマツのメスが歌の系列を聞き分けていることは示されなかった。一方、音要素の違いに基づく歌の選好および聴覚処理が示唆された。歌に含まれる音要素の音響情報も重要な特徴である。発達状態の違いは系列だけでなく、音要素の種類数にも反映される(Soma et al. 2006)。したがってメスは、音情報に基づいた選好によっても、よりよいオスと番うことができると考えられる。今後、歌に対するメスのえり好みをさらに詳しく検討することによって、ジュウシマツの求愛歌がもつ機能や、その進化過程に対して理解が進むことが期待される。