

学 位 論 文 要 旨	
氏 名	下地 博之
題 目	日本産トゲオオハリアリにおける繁殖分業の維持メカニズム (Regulatory mechanisms of reproductive division of labor in <i>Diacamma</i> sp. from Japan)
<p>アリやミツバチなどのハチ目は真社会性昆虫と呼ばれ、それらの不妊ワーカーが示す利他行動は進化生物学上の難題である。しかし、多くの種でワーカーは交尾出来ないが、実は単為生殖により将来オスになる未受精卵を産卵できる。そこでワーカーがなぜ自身でオスを産まないのかが、近年の進化生態学の焦点の1つになっている。まず、その至近要因としては、女王フェロモンの関与が考えられている。また、有力な究極要因として、ワーカー相互の繁殖妨害（ワーカーポリシング）が議論されている。当初ワーカーポリシングは単女王制・女王一回交尾種では進化しないと理論的に考えられていた。しかし、近年提唱された繁殖スケジュール仮説は定説を覆す新予測を導いている。この仮説は単女王・女王1回交尾下でもコロニーが小さい時はワーカーポリシングが起こるが、コロニーが十分に成長すると相互妨害が緩みワーカー繁殖が起こるだろうと予測する。</p> <p>本論では、単女王性女王1回交尾で、女王存在下ではワーカーによる産卵が稀で、ワーカーポリシング行動の存在も知られている日本産トゲオオハリアリを材料に、以下の項目について経験的テストを行った。始めにワーカーの卵破壊行動に焦点を当て、ワーカーが女王の産んだ卵とワーカーの産んだ卵を識別できるかテストした。また、両者の卵表面の炭化水素組成を比較した。その結果、ワーカーはワーカーが産んだ卵を選択的に破壊することが判明した。卵表面炭化水素の構成比は女王が産んだ卵とワーカーが産んだ卵で有意に異なっていた。従って、この差異を鍵刺激にワーカーが卵破壊をする可能性が考えられた。次にコロニーサイズとワーカーポリシング強度の関係を調べ、繁殖スケジュール仮説の経験的にテストした。結果は仮説を支持し、小さな労働ステージのコロニーにだけ強いワーカーポリシングが観察された。マイクロサテライト核 DNA マーカーによる母性判定の結果もまた仮説を支持し、全てのコロニーでワーカー産卵由来のオスの羽化が検出された。最後に卵による女王存在情報伝達の可能性について調べた。これまでの知見と異なり、卵にも女王の存在情報が存在し、それがワーカーの利己的行動（順位行動）を抑制する効果を持つことが判明した。しかしその効果は比較的小さいと考えられた。</p> <p>これらの結果から、日本産トゲオオハリアリにおけるワーカーポリシングの至近・究極要因を議論し、社会性ハチ目昆虫の社会における繁殖分業の維持機構に関与するコロニーサイズ変化の重要性を指摘した。</p>	

学 位 論 文 要 旨

氏 名 Hiroyuki Shimoji

題 目 Regulatory mechanisms of reproductive division of labor in *Diacamma* sp. from Japan
(日本産トゲオオハリアリにおける繁殖分業の維持メカニズム)

Eusocial Hymenoptera, such as ants and honeybees, are characterized by reproductive division of labor among adult females. Altruism of sterile workers in those insects has been a major challenge in the natural selection theory. However, in many species, workers retain functional ovaries and can produce male-destined eggs without mating. Therefore, why workers in the presence of the queen do not produce males by themselves is a focus in recent evolutionary biology. As for the proximate mechanism of this phenomenon, the existence of queen pheromone, by which workers can recognize information of the queen and forgo reproduction, has been discussed. As an ultimate mechanism, worker policing (aggression toward ovary-developed workers and destruction of worker-laid eggs) has been recently discussed as important. Previously, theory predicted that under queen monandry and monogyny worker policing would not evolve. However, recently the reproductive schedule hypothesis provided new prediction: under monogyny and monandry when colony size is small worker policing occurs, whereas when the colony has grown into maturity, the worker policing would be relaxed and worker-derived males will emerge

In this thesis, I used the ant *Diacamma* sp. from Japan, a mongynous and monandrous ant with worker policing, to empirically examine these hypotheses on the proximate and ultimate factors regulating reproductive division of labor. Firstly, by focusing on the egg-destruction behavior of workers, I showed that workers can discriminate queen-laid egg from worker-laid eggs and selectively destroy the latter. The profile of eggs surface hydrocarbons (SHCs) differed between the two eggs categories. I discuss that SHCs can be a possible key stimulus for this differential egg destruction. Secondly, I examined the relationship between colony size and the strength of worker policing in order to test the reproductive schedule hypothesis. Results support the prediction that strong worker policing occurs only in immature colonies. Also supporting the reproductive schedule hypothesis, the analysis of male parentage using microsatellite DNA markers detected worker-derived males in all colonies. Finally, I tested the hypothesis that the queen-laid eggs play a role as a medium for distributing information on the queen presence. Contrary to previous reports, it turned out that eggs can inform the presence of queen and stop workers' selfish behavior. However, the efficiency of this effect seems to be relatively small.

From these results, I comprehensively discuss the proximate and the ultimate factor of worker policing in *Diacamma* sp. Moreover I discuss the importance of colony size dynamics in regulatory mechanisms of reproductive division of labor in eusocial Hymenoptera.

学位論文審査結果の要旨	
学位申請者 氏名	下地 博之
審査委員	主査 琉球 大学 教授 辻 瑞樹
	副査 琉球 大学 准教授 立田晴記
	副査 佐賀 大学 准教授 野間口真太郎
	副査 鹿児島 大学 教授 山根正氣
	副査 鹿児島 大学 教授 坂巻祥孝
審査協力者	印
題目	Regulatory mechanisms of reproductive division of labor in <i>Diacamma</i> sp. from Japan (日本産トゲオオハリアリにおける繁殖分業の維持メカニズム)
<p>アリやミツバチなどのハチ目は真社会性昆虫と呼ばれ、多くの陸上環境において優勢であり生態系における重要な位置を占めている。その繁栄は女王と不妊ワーカーの間の分業に支えられているが、この利他性・利他行動は進化生物学上の難題である。実は、多くの種でワーカーは交尾出来ないが、単為生殖により将来オスになる未受精卵を産卵できる。そこでワーカーがなぜ自身でオスを産まないのかが、近年の進化生態学の焦点の1つになっている。まず、その至近要因として、女王フェロモンの関与が考えられている。また、有力な究極要因として、ワーカー相互の繁殖妨害（ワーカーポリシング）が議論されている。当初ワーカーポリシングは単女王制・女王一回交尾種では進化しないと理論的に考えられていた。しかし、近年提唱された繁殖スケジュール仮説は定説を覆す新予測を導いている。この仮説は単女王・女王1回交尾下でもコロニーが小さい時はワーカーポリシングが起こるが、コロニーが十分に成長すると相互妨害が緩みワーカー繁殖が起こるだろうと予測する。</p> <p>本研究では、単女王性女王1回交尾で、女王存在下ではワーカーによる産卵が稀で、ワーカーポリシング行動の存在も知られている日本産トゲオオハリアリを材料に、以下の項目について実験的テストを行った。始めにワーカーの卵破壊行動に焦点を当て、ワーカーが女王の産んだ卵と</p>	

ワーカーの産んだ卵を識別できるかテストした。また、両者の卵表面の炭化水素組成を定量的に比較した。その結果、ワーカーは女王が産んだ卵よりもワーカーが産んだ卵を選択的に破壊することが判明した。卵表面炭化水素の構成比は女王が産んだ卵とワーカーが産んだ卵で有意に異なっていた。従って、この差異を鍵刺激にワーカーが卵破壊をする可能性が考えられた。次にコロニーサイズとワーカーポリシングの強度の関係を調べ、繁殖スケジュール仮説の経験的にテストした。結果は仮説を支持し、小さな労働ステージのコロニーにだけ強いワーカーポリシングが観察された。マイクロサテライト核DNAマーカーによる母性判定の結果もまた仮説を支持し、全てのコロニーでワーカー産卵由来の雄の羽化が検出された。最後に卵による女王存在情報伝達の可能性について調べた。これまでの知見と異なり、卵にも女王の存在情報が存在し、それがワーカーの利己的行動（順位行動）を抑制する効果を持つことが判明した。しかしその効果は女王自身による効果に比較し小さいと考えられた。これらの結果から、日本産トゲオオハリアリにおけるワーカーポリシングの至近・究極要因を議論し、社会性ハチ目昆虫の社会における繁殖分業の維持機構に關与するコロニーサイズ変化の重要性を指摘した。ハチ目昆虫の系統樹と血縁構造の比較研究の知見と総合すると、ワーカーポリシングは高血縁度社会でコロニーの繁殖スケジュールを（小さなコロニーでは労働力を増強させ、コロニーが成長してから繁殖虫生産に資源を配分する）維持するためにまず進化し、後に低血縁度化によるコロニーメンバー対立解消に転用されたとの説が提出できる。

最終試験結果の要旨	
学位申請者 氏名	下地 博之
審査委員	主査 琉球 大学 教授 辻 瑞樹
	副査 琉球 大学 准教授 立田晴記
	副査 佐賀 大学 准教授 野間口真太郎
	副査 鹿児島 大学 教授 山根正氣
	副査 鹿児島 大学 教授 坂巻祥孝
審査協力者	
実施年月日	平成24年1月21日
試験方法 (該当のものを○で囲むこと。)	
<input checked="" type="radio"/> 口答 <input type="radio"/> 筆答	
<p>主査及び副査は、平成24年1月21日の公開審査会において学位申請者に対して、学位申請論文の内容について説明を求め、関連事項について試問を行った。具体的には別紙のような質疑応答がなされ、いずれも満足できる回答を得ることができた。</p> <p>以上の結果から、審査委員会は申請者が博士（農学）の学位を受けるに必要な十分の学力ならびに識見を有すると認めた。</p>	

学位申請者
氏名

下地 博之

質問 1 : ワーカーポリシングを行う個体に特徴はあるのか。

回答 1 : 先行研究で卵巣未発達個体であることが知られています。すなわち低順位の個体と思われれます。

質問 2 : 卵の時点では女王由来の子とワーカー由来の子で化学的特徴が違うということだが、成長後も違うのか。また、たとえばワーカー由来の子供だけがワーカーポリシングをするなど行動の母性遺伝のような現象は考えられないか。

回答 2 : 近縁種の研究で卵の化学的特徴は成長すると失われる事が知られています。また、ワーカー由来の子供は本種の場合全て雄でワーカーになることはありません。

質問 3 : 発表では述べられていなかったが、遺伝マーカーには何を用いたのか。

回答 3 : 核DNAマイクロサテライト長の変異をシーケンサで分析し用いました。

質問 4 : この研究の生物学上のより一般的文脈での位置付けはなにか

質問 4 : 動的な社会環境下で適応的な行動の実例を示した事。群れのサイズが変化し続けている状況下では、他の生物にも同様な行動が存在し得ると考えられます。

質問 5 : 新しいコロニーの創設方法とその時期は？

回答 5 : コロニーの一部が分かれる分巢です。本種では一時的に女王を欠いても雌蛹があれば新女王を補充可能です。季節性はなく、巢の引っ越しに付随し年中起ります。

質問 6 : とすれば小さなコロニーで強いワーカーポリシングが存在していることを、この周年交尾可能性で説明できないか。小さなコロニーでは強力は女王ポリシングが存在し、ワーカーポリシングは補助的で必ずしも必要ではないように思える。しかしそれで存在するのは、雄を生産すればそれがいつでも交尾できることがワーカーに自己産卵の進化的インセンティブを与えているから、つまり過去に自己産卵ワーカーが繰り返し生じてきたからではなからうか。

回答 6 : 本種のワーカーの産卵能力は女王並なのでそれも考えられますが、小さなコロニーで雄を生産することの大きなコストが進化的な要因と私は考えます。

質問 7 : ワーカーは卵の由来を識別できるとのことだが、卵の性は識別できないのか。

回答 7 : 社会性ハチ目一般に子の性はもっと後のステージまで成長しないと昆虫自身にも区別できないとされています。理論では性識別の困難さが女王由来卵がワーカーに破壊されないことの一般的理由ではないかと議論されています。

質問 8 : ハチ目で真社会性進化が起ったのは、母親が雄雌を産み分けられること関係が

あると私は考えるが、どうか。

回答 8 : 興味深いご意見です。

質問 9 : データでは女王が産んだ卵でも中間サイズのコロニーでは高頻度にワーカーに破壊されているように見えるが。

回答 9 : 御指摘の通りと思います。理論的には中間コロニーサイズで女王とワーカーの潜在的利害対立が最も高まることが予測されているので、それを反映しているのかもしれませんが。しかし今のデータはそれを議論するには情報が不十分です。

質問 10 : 野外のコロニーでは繁殖虫生産を始めるコロニーサイズは分かっているのか？

回答 10 : 野外では定性的なデータしかありませんが、大きなコロニーでないと羽アリがでないという傾向は室内コロニーと一致しています。

質問 11 : 順位行動とポリシングはどう区別される。実際に判別できるのか。

回答 11 : できます。順位行動は自分の直接的な適応度を高めるための行動ですが、ワーカーポリシングは間接的な適応度を高めるための行動です。順位行動は産卵する可能性の高い優位個体が行う1対1の対戦ですが、ワーカーポリシングは自己産卵しない劣位個体が起こす行動で、複数個体が1個体に対して行う特徴があります。

質問 12 : ポリシング行動とワーカーの齢の関係は。

回答 12 : 今後調べるべき問題ですが、私は関係すると考えています。

質問 13 : 動画で破壊されたのは幼虫では？

回答 13 : いいえ卵です。本種の卵は大きいですが、

質問 14 : 女王はそんな巨大な卵を最大1日何個産むのか。

回答 14 : 女王にストレスを与えなければ最大1日に5-6個産みます。

質問 15 : *Diacamma*属は全て単女王性か。

回答 15 : 文献情報からはそう考えられます。

質問 16 : ワーカーポリシングの強度がコロニーサイズで変化するのはわかる。しかしワーカー産卵自体もコロニーサイズ依存しないか。それはもっと単純に女王制御が行き届かなくなるからではないか。

質問 16 : 先行研究でワーカー産卵行動もコロニーサイズに依存する事が示されています。本研究では女王が関与しなかった卵破壊、すなわちワーカー自身が卵を破壊する頻度のコロニーサイズに依存した変化を計測しており、それにより大きなコロニーで女王制御が不十分になることだけではワーカー産卵の発生を説明出来ない証拠を提示できたと私は考えています。