

新潟大学自然科学研究科

平成 28 年度博士後期課程学位論文

論文題目	トゲズネハリアリの生活史および社会認識機構
------	-----------------------

専攻	環境科学
研究教育群	地域環境学
在籍番号	F11N001K
氏名	山口勇氣

目次

1 章. 研究背景	・ ・ ・ ・ ・ 1
1-1. アリ類の系統と分類	
1-2. アリ類、特にハリアリ亜科の分布や生息環境、食性、生態	
1-3. トゲズネハリアリ属およびトゲズネハリアリにおける研究	
1-4. 多巣性に関する研究	
1-5. 本研究の目的	
2 章. 生活史	・ ・ ・ ・ ・ 18
2-1. 背景	
2-2. 方法	
2-3. 結果	
2-4. 考察	
3 章. 繁殖システムと社会構造	・ ・ ・ ・ ・ 48
3-1. 背景	
3-2. 方法	
3-3. 結果	
3-4. 考察	

4 章. 成虫間の巣仲間認識	・ ・ ・ ・ ・ 87
4-1. 背景	
4-2. 方法	
4-3. 結果	
4-4. 考察	
5 章. 成虫と幼虫間の巣仲間認識	・ ・ ・ ・ ・ 139
5-1. 背景	
5-2. 方法	
5-3. 結果	
5-4. 考察	
6 章. 総合考察	・ ・ ・ ・ ・ 184
謝辞	・ ・ ・ ・ ・ 190
引用文献	・ ・ ・ ・ ・ 191

1 章. 研究背景

1 章. 研究背景

1-1. アリ類の系統と分類

寺山ら (2014) によると、最近行われた分子系統解析の結果から、膜翅目 (Hymenoptera) のスズメバチ上科群にはセイボウ上科やミツバチ上科、スズメバチ上科、クモバチ上科、ツチバチ上科、コツチバチ上科、アゴバチ上科およびアリ上科の合計 8 上科があり、アリ上科 (Formicoidea) にはアリ科 (Formicidae) のみが存在する。アリ科の亜科レベルでの分類体系については、Roger (1863) が初めて Formicidae と Poneridae の 2 群に大別したが、その後、大きく変遷してきた ; Emery (1913~1925) は 5 亜科、Wheeler (1922) は 7 亜科、Brown (1954) は 9 亜科、Wilson (1971) は 11 亜科、Bolton (1994) は 16 亜科。最近では、Bolton (2003) がアリ科には 21 亜科があるとし、これが受け入れられている。アリ科は世界で 21 亜科 308 属 12908 種が報告されており、日本では 10 亜科 62 属 296 種が報告されている (寺山ら 2014)。

日本に生息する 10 亜科および日本でみられる属数および種数を表 1-1 に示す。日本では、フタフシアリ亜科 (Myrmicinae) のアリが最も多く (24 属 148 種)、次にヤマアリ亜科 (Formicinae) のアリが多い (13 属 84 種)。フタフシアリ亜科とヤマアリ亜科に、ハリアリ亜科 (Ponerinae) を加えた 3 亜科で日本に生息するアリの約 9 割の種を含んでいることから、これら 3 亜科は日本のアリにおいて主要な亜科であるといえる。本研究で扱うトゲズネハリアリ (*Cryptopone sauteri*) は、ハリアリ亜科に属するアリである。ハリアリ亜科は世界で 47 属 1400 種が記載されており、日本では 11 属 31 種が報告されている (寺山ら 2014)。ハリアリ亜科のうち、日本に生息する属と種数を表 1-2 に示す。日本に生息するハリアリ亜科では、ニセハリアリ属 (*Hypoponera*) とハリアリ属 (*Ponera*) がそれぞれ 8 種ずつ報告されており、他の属は 1~3 種と少ない。

1-2. アリ類、特にハリアリ亜科の分布や生息環境、食性、生態

アリの分布や生息環境、食性に加え、コロニーの構成や創設方法のような生態について、一般的にみられる特徴からトゲズネハリアリが属するハリアリ亜科でみられる特徴について述べる。

アリは熱帯から冷帯まで、砂漠や草原、森林など、南極と北極を除く陸上のあらゆる環境に適応し分布していることに加え（Hölldobler & Wilson 1990）、営巣場所も地中や樹上、朽木、枯れ枝など多岐にわたる。例えば、寺山ら（2014）によると、ヤマアリ属（*Formica*）のアリは地中に営巣するが、シリアゲアリ属（*Crematogaster*）のアリは主に樹上に営巣する。また、ウロコアリ属（*Strumigenys*）の多くの種は林床の朽木や落葉層に営巣する。さらに、ヒメアリ属（*Monomorium*）の一種イエヒメアリ（*M. pharaonis*）は家屋に営巣する害虫をして知られている（Jeanson et al. 2003）。他にも、アミメアリ属（*Pristomyrmex*）の一種アミメアリ（*P. pungens*）は定住する巣を作らず、倒木や落葉層に野営の巣を作り、頻繁に移動する（Itow et al. 1984）。このように営巣環境や営巣場所が多様である上に、食性も肉食や草食、菌食、雑食とさまざまである。例えば、オオアリ属（*Camponotus*）のアリは雑食性であるが、ナガアリ属（*Stenamma*）やクロナガアリ属（*Messor*）のアリは主な餌として種子を集め、*M. aciculatus* ではイネ科やシソ科、タデ科などの種子を対象とすることが報告されている（寺山ら 2014）。ハキリアリ属（*Atta*）やトガリハキリアリ属（*Acromyrmex*）のアリは菌食性であり、植物の葉を切り取って巣に持ち帰り、植物の葉を栄養源にして菌類を育て、その菌類をエサにする（Hölldobler & Wilson 2010）。寺山ら（2014）によると、カギバラアリ属（*Proceratium*）のアリがムカデやクモの卵をエサとして特化し、巣内に貯えていると報告している。

伊藤（2002）によると、ハリアリ亜科のアリは日本のような温帯地域にも分布しているが、熱帯地域の方が圧倒的に種数も個体数も多いと述べられている。営巣場所については、ハリアリ亜科のアリは地中や倒木、朽木に営巣する種が多く、寺山ら（2014）によると、日本に生息するハリアリ亜科の 31 種のうち地中に営巣する種が 17 種、倒木や

朽木に営巣する種が 7 種、倒木と地中に営巣する種が 4 種、放浪種が 2 種、不明種が 1 種であると記載されている。また、ハリアリ亜科のアリは肉食性の種が多い上、限定された動物だけを捕食することが報告されている。例えば、オオハリアリ属 (*Bachyponera*) のアリはシロアリを好んで捕食し (アリ類データベース 2008)、エチオピア産のハリアリ *Plectroctena* 属のアリはヤスデを専食する (増子 2002)。

アリのコロニーは、卵や幼虫、蛹といった未成熟個体と 2 種類の階級 (カースト) からなるメス (女王とワーカー) やオスといった成虫によって構成される (図 2-2)。成虫は通常形態的に異なっており、オスはメスと比べ、複眼が大きく、触角が一節長いため、雌雄を容易に区別できる。また女王には単眼があり、脱翅痕がみられるが、ワーカーの複眼は女王に比べてとても小さい。さらに、女王とワーカーは形態的に異なるだけでなく、巣内での役割も異なる。女王は巣内で産卵のみを行い、ワーカーは産卵能力がないか、女王と比べ著しく劣り、コロニー内外の様々な仕事に従事する。オスは新女王とともに特定の時期にみられ、温帯以北に生息するアリでは新女王とオスが結婚飛行を行うことが多い (寺山ら 2014)。結婚飛行を行うアリでは、新女王やオスは翅をもって出現し、飛行中に新女王がオスと交尾をする (東 1993)。例えば、北米産のヒアリ *Solenopsis invicta* では約 250m 上空で新女王やオスの群飛が確認されている (Markin et al. 1971)。このように結婚飛行後の新女王が新たなコロニーを作り始めるアリがいる一方で、結婚飛行を行わずに、一部の女王とワーカーが元のコロニーを離れて、新たなコロニーを創設する「巣分かれ」を行うアリもいる。巣分かれを行う場合、新女王が巣の近くでオスの誘引行動 (female-calling; 山内 1993) を行う。交尾を終えた新女王は元のコロニーに戻り、巣内の特定のワーカーと徐々に結びつきを強め、やがてコロニーを離れて、新たなコロニーを創設する (Schneirla 1971)。例えば、石狩海岸のクロヤマアリ (*F. japonica*) では、春に盛んに巣分かれが観察され、元のコロニーと新しいコロニーの間のワーカーの往来は間もなく途絶えることが報告されている (Higashi 1979)。

ハリアリ亜科のアリも、未成熟個体 (卵や幼虫、蛹) と成虫 (女王やワーカー、オス)

によって構成されるが、繁殖個体に関する社会構造は注目すべき多様性を示すことが知られている (Peeters & Ito 2001; Peeters & Molet 2010)。ハリアリ亜科のアリでは他の多くのアリ類と同様に有翅の新女王が結婚飛行を行い、棄翅した既交尾女王が産卵を行う種 (Alate queen 種) がもっとも一般的であるものの、無翅女王のみが交尾を行って繁殖する種 (Ergatoid queen 種) や形態的に区別できる女王が巣内に存在しない代わりに、交尾した産卵ワーカーが繁殖を行う種 (Gamergate 種) もある (Peeters & Ito 2001; Peeters & Molet 2010)。またハリアリ亜科の多くの種では、女王とワーカー間で体サイズに顕著な差がなく、ワーカーも女王と同様に卵巣を保持する上、卵巣小管数は女王とワーカーの間でほとんど差がないことから、ハリアリ亜科は原始的なグループとみなされてきた (Hölldobler & Wilson 1990; Peeters & Ito 2001; Peeters & Molet 2010)。例えば、ヤマアリ亜科 (Formicinae) やフタフシアリ亜科 (Myrmicinae) では、カースト間で形態が著しく異なるばかりでなく、体サイズは女王の方がワーカーよりかなり大きく、卵巣小管数についても、女王とワーカーの間で顕著な差があることが知られている (Hölldobler & Wilson 1990; Bourke & Franks 1995)。一方で、ハリアリ亜科ではカースト間の形態や生理状態の差は大きくない (Hölldobler & Wilson 1990; Peeters 1991)。Ito & Ohkawara (1994) は、35 種のハリアリ類において女王とワーカーの間で形態や生理状態を比較したところ、体サイズではわずか 1 種においてのみカースト間で著しい差があり、卵巣小管数については顕著な差がカースト間であったのは 5 種だけであったことを報告した。

ハリアリ亜科では、結婚飛行を行う種と巣別れ創設を行う種の両方が存在する。伊藤 (2002) は Alate queen 種では結婚飛行を行う種が多く、Ergatoid queen 種や Gamergate 種では巣別れ創設を行う種が多いと報告している。また東 (1993) は、結婚飛行を行うことにより有翅虫を分散できるというメリットがあるものの、女王のみでコロニーの創設を行うことに対する危険性を指摘し、繁殖個体が翅をもたない Ergatoid queen 種や Gamergate 種では女王がワーカーを引き連れてコロニーを創設するため、コロニー創設の初期の生存において有利であると述べている。

アリではコロニー内で繁殖を行う女王が 1 個体の場合と複数個体の場合が知られており、前者を「単女王制 (Monogyny)」といい、後者を「多女王制 (Polygyny)」という。東 (1993) は、アリでは単女王制が一般的であると述べたが、寺山 (2014) は、その後多女王制も多くアリの分類群で確認されていると報告している。例えば、日本に生息するフタフシアリ亜科のアリではヒメアリ属 (*Monomorium*) のヒメアリ (*M. intrudens*) やトフシアリ属 (*Solenopsis*) のトフシアリ (*S. japonica*)、オオズアリ属 (*Pheidole*) のアズマオオズアリ (*P. fervida*)、ヤマアリ亜科のアリではケアリ属 (*Lasius*) のカワラケアリ (*L. sakagami*) やアシナガキアリ属 (*Anoplolepis*) のアシナガキアリ (*A. gracilipes*) が多女王制種であることが報告されている (寺山ら 2014)。また、アリでは巣の構造を示す言葉として、「単巢性 (Monodomy)」と「多巢性 (Polydomy)」という区分がある。単巢性のアリでは 1 つのコロニーが 1 つの巣で生活しているが、多巢性のアリでは 1 つのコロニーが空間的に分離した複数の巣をもち、ワーカー自身だけでなく、ワーカーにより未成熟個体も行き来をしている (Debout et al. 2007)。アリでは多巢性は古くから知られており (Way 1954; Traniello & Levings 1986; Buschinger et al. 1994; Ebie et al. 2015)、Debout et al (2007) によると 7 亜科 47 属 176 種で多巢性のアリが報告されている。最近では、シリアゲアリ属 (*Crematogaster*) の *C. pygmea* が多巢性種であると報告されている (Segundo et al. 2012)。

ハリアリ亜科では、単女王制種と多女王制種の両方が存在するものの、多くは単女王制であることが報告されている (Peeters & Ito 2001)。Ito (1998) は、東南アジアにおける調査で、ハリアリの 74% が単女王制種であることを報告し、特に Alate queen 種と Ergatoid queen 種では単女王制種が多いと述べている (伊藤 2002)。寺山 (2014) によると、日本に生息するハリアリ亜科 11 属 31 種のうち、10 種でコロニー内の女王数に関する記載があり、ホンハリアリ属 (*Euponera*) のケブカハリアリ (*E. pilosior*) やニセハリアリ属 (*Hypoponera*) のヒゲナガニセハリアリ (*H. nippona*)、ニセハリアリ (*H. sauteri*) など 4 属 7 種が単女王制種であり、オオハリアリ (*B. chinensis*) とツヤオオハ

リアリ (*B. luteipes*)、トビニセハリアリ (*H. punctatissima*) の 2 属 3 種が多女王制種であると報告されている。ハリアリ亜科のアリでは単巢性種と多巢性種の両方が存在するものの、多巢性種は少なく、Debout et al. (2007) によると 6 属 9 種のみである。最近、Tofolo et al. (2014) は *Ectatomma* 属の *E. opaciventre* が多巢性種であることを報告した。日本に生息するハリアリ亜科 31 種では、オオハリアリ (*B. chinensis*) とトビニセハリアリ (*H. punctatissima*) の 2 種のみで多巢性種が確認されている (寺山 2014)。

1-3. トゲズネハリアリ属およびトゲズネハリアリにおける研究

トゲズネハリアリ属 (*Cryptopone*) はハリアリ亜科に属し、新熱帯区や新北区、旧北区、熱帯アフリカ区、東洋亜区、オーストラリア区といった熱帯・亜熱帯アジアに多く分布している小さなグループである (Bharti & Wachkoo 2013)。寺山 (2014) によると、現在トゲズネハリアリ属のアリは 24 種が報告されている。日本に生息するトゲズネハリアリ属のアリは 2 種で、トゲズネハリアリ (*C. sauteri*) は本州以南から奄美大島まで、ハナダカハリアリ (*C. tengu*) は琉球列島と小笠原諸島にのみ生息している (寺山 2014)。世界的にみても、トゲズネハリアリ属に関する研究は少なく、分類や系統、分布に関する研究が主で (Terayama 1999; Moreau et al. 2006; Bharti & Wachkoo 2013)、生態についての研究はほとんどない。Terayama (1999) は、トゲズネハリアリ属の新種としてハナダカハリアリを報告し、日本に生息するトゲズネハリアリ属が 2 種であることを述べた。Moreau et al. (2006) はアリ類の系統関係を検討し、トゲズネハリアリ属とフトハリアリ属 (*Pachycondyla*) が近縁であることを示した。また最近では、Bharti & Wachkoo (2013) がインドに生息する *C. subterranea* が新種であることを報告し、その形態学的特徴を示した。トゲズネハリアリに関しては、村田 (1994) が蟻類研究会の会報で報告した短い内容の報告がある。それによると、本種は単女王制で、9 月初旬頃に結婚飛行を行い、林庄や朽ち木中に営巣し、双翅目の幼虫を捕食するとのことである。しかし、村田 (1994) の報告は学術雑誌に掲載されたものでないためか、トゲズネハリアリに関するこ

これらの情報についてわずか1ページの記述があるだけで、調査方法も書かれてなければ、データも一切掲載されていない。したがって、トゲズネハリアリを含むトゲズネハリアリ属の生態に関する情報は今のところほとんどないと言える。日本産アリ類図鑑(2014)をみると、トゲズネハリアリは新潟県やその隣県の山形県や福島県、富山県を含め、日本本土に幅広く分布している極めて一般的な種である(アリ類データベース 2008)。それにも関わらず、本種の生態についての研究が事実上行われてこなかったことは驚きである。

1-4. 多巣性に関する研究

第二章と第三章では、それぞれ生活史と繁殖システムおよび社会構造を扱う。これらの章で、トゲズネハリアリの巣の多くに女王が存在しないことが示されたことから、本種が多巣性の営巣様式をとることが強く示唆された。アリでは多巣性は古くから知られている(Way 1954; Traniello & Levings 1986; Buschinger et al. 1994; Ebie et al. 2015)。そして、多巣性のアリを扱った研究では、多巣性システムの適応的意義についての研究や社会構造に関する研究、巣仲間認識に関する研究など多岐にわたる。

これまでに、多巣性システムの適応的意義については、10以上の仮説が提案されている(Snyder & Herbers 1991; Banschbach & Herbers 1996; Pedersen & Boomsma 1999; Dillier & Wehner 2004; Denis et al. 2006; Debout et al. 2007; Gotoh & Ito 2008; Lanan et al. 2011)。その中でも主要な考えを8種類挙げる。

- (1) 採餌エリアの拡大 (Denis et al. 2006; Lanan et al. 2011)
- (2) 捕食者や寄生者に対するコロニーの防衛 (Denis et al. 2006)
- (3) 発達段階の異なる未成熟個体の養育 (Pedersen & Boomsma 1999; Gotoh & Ito 2008)
- (4) 巣の物理的な制限 (Debout et al. 2007)
- (5) 急激な気象変化への対応 (Denis et al. 2006)

- (6) 巣別れの過程の副産物 (Debout et al. 2007)
- (7) 多女王制コロニーにおける女王間の軋轢の解消 (Pedersen & Boomsma 1999)
- (8) ワーカーが産卵する種における女王とワーカー間の軋轢の解消 (Snyder & Herbers 1991)

ここでは、比較的最近も議論されている(1)～(3)までの仮説を取り上げる。まず(1)について、Dillier & Wehner (2004) や Lanan et al. (2011) では、多巣性コロニーは空間的に分離した複数の巣をもつことから、巣と周囲の餌資源との間の距離が減少するため、利用可能な食物源の量が増加すると述べている。最近、Cook et al. (2013) はモデル解析を行い、餌資源が集中している場合では、単巣性と多巣性の採餌効率に差はないが、餌資源が分散している場合では、多巣性は採餌効率が良いことを示した。(2)について、McGlynn et al. (2004) や Ellis & Robinson (2014) は、多巣性コロニーは複数の巣をもつことから、その一部が捕食者や寄生者に破壊されても、コロニー全体が壊滅されることはないため、コロニーの生存にとって利益があると述べた。また Orivel & Dejean (1999) は、多巣性コロニーでは捕食者や寄生者により攻撃されたサテライト巣内の個体は同じコロニーの他の巣に避難する可能性を示唆した。最後に(3)について、Gotoh & Ito (2008) は、枯れ枝に生息する多巣性のオオハリアリ (*B. chinensis*) において、その可能性を議論した。アリの未成熟個体は一般的に成長するために適した環境条件が発達段階で異なる。繭は高い温度と低い湿度が必要となり、卵や幼虫の生存には高い湿度が必要とされる (Scherba 1959)。Gotoh & Ito (2008) は、多巣性コロニーは空間的に分離した複数の巣をもつことから、未成熟個体の発達段階に応じてより適した環境に移動させている可能性を述べた。

多巣性種の社会構造に関する研究も盛んに行われている。その中でも、多巣性と女王制については最近でもよく議論されている。Debout et al. (2007) は多巣性のアリには単女王制種も多女王制種も存在することから、多巣性と多女王制の関係性は弱いと述べた。

しかしその後、東（2008）はヒアリ（*Solenopsis* sp.）のコロニーには単女王制コロニーと多女王制コロニーがあり、単女王制コロニーは基本的に単巢性であるのに対し、多女王制コロニーでは多巢性になることが多いと報告した。さらに最近、Steinmeyer et al.（2012）は、ケアリ属（*Lasius*）の *L. flavus* は多巢性種で、単女王制コロニーと多女王制コロニーがあるが、約半分以上が多女王制であると示した。他にも、多巢性と性比の関係について扱われてきた。血縁選択理論では、女王はオスとメスに対して同等の投資（メス：オス＝1：1）を好むが、ワーカーはメスに偏った投資（メス：オス＝3：1）を好むことが期待される（辻 1993）。多巢性コロニーでは空間的に分離した複数の巣をもつことから、同じコロニー内で女王が存在する巣と女王が存在しない巣が生じる。実際に、ムネボソアリ属（*Leptothorax*）の *L. longispinosus* は多巢性種で、巣内の女王数は0個体か1個体である場合が多いが、女王数が5個体以上の巣もあるなど巣ごとの女王数には変異がある。Herbers（1984）は *L. longispinosus* の巣ごとの性比を調べ、女王がいない巣＞女王が1個体の巣＞女王が2～4個体の巣＞女王が5個体以上の巣の順にメスバイアスになることを報告した。著者らは、多巢性コロニーにおいて女王のいない巣ではワーカーが好む性比が実現されているが、女王数が増すにつれ、女王が好む性比が実現されている可能性を示唆した。Snyder & Herbers（1991）も同様に、多巢性のアリ *Myrmica punctiventris* において、女王不在巣では繁殖虫がメスバイアスで生産されることを示した。

多巢性のアリでは、巣仲間認識に関する研究も行われてきた。社会性昆虫は近縁者に対する投資を行い、遺伝的利益を高めるために、巣仲間を認識する（アリ：Vander Meer & Morel 1998；社会性ハチ類：Singer et al. 1998）。羽化したばかりの成虫は、羽化後数時間以内にコロニー特有の“臭い”を獲得する（Isingrini et al. 1985；Feneron & Jaisson 1995；Signorotti et al. 2013）。“臭い”は成虫の体表炭化水素（Cuticular Hydrocarbons, 以下 CHCs と省略）として表現され、巣内において個体間の栄養交換やグルーミングが行われると巣仲間で CHCs が共有される（Vargo & Passera 1991）。その結果、巣仲間の個体どうし

であればその成分は似ている。2 個体の成虫が出会ったとき、2 個体は互いの CHCs の成分や組成を確認し、異なるときには攻撃的な行動へと発展していくが、似た成分や組成であれば栄養交換を行うなど、友好的な行動を示す。例えば Ozaki et al. (2005) は、日本に広く分布するクロオオアリ (*Camponotus japonicus*) では、ワーカーは異なるコロニー由来のワーカーに対して攻撃的で、その CHCs はコロニー間で異なることを示した。アリでは幅広い分類群で巣仲間認識を検証した研究がみられるが、その多くは単巢性種を扱ったもので、多巢性種については少ない (Lahav et al. 1999; van Wilgenburg et al. 2006, 2007; Steinmeyer et al. 2012)。単巢性のアリであれば、異なる巣の個体は異なるコロニーの個体であるが、多巢性のアリは一つのコロニーが複数の独立した巣をもつため、異なる巣でも同じコロニーに属する個体の可能性がある。そのため、野外ではどの巣が同じコロニーに属するか判断することは困難な場合が多く、多巢性のアリにおける巣仲間認識を検証した研究は少ないのだろう。また、多巢性のアリで巣仲間認識を検証した研究は、結果に一貫性がみられない。例えば、ワーカーが巣仲間でない個体に対して攻撃的である場合もある一方で (Steinmeyer et al. 2012)、巣仲間ではない個体に対して特別攻撃でないことも報告されている (van Wilgenburg et al. 2007)。さらに、ワーカーは巣仲間認識を示すものの、その程度が弱い種もある (van Wilgenburg et al. 2006)。多巢性種における巣仲間認識に関する先行研究では、実験や観察の手法上の問題（ブラインド下での観察や反復実験が行われなかった）があることも指摘されている (Panek & Gamboa 2000)。また、多巢性のアリにおいて CHCs の面から成虫間の巣仲間認識について検討した研究は少なく、ヤマアリ亜科の *Lasius flavus* (Steinmeyer et al. 2012) や *C. niger* (Lahav et al. 1999)、フタフシアリ亜科の *Lridomyrmex purpureus* (Wilgenburg et al. 2006) の 3 種で報告されている。これらの報告では、ワーカーが異なるコロニーのワーカーに対して攻撃的で、その CHCs の組成比はコロニー間で異なっていた。しかし、まだ限られた分類群で検討が行われただけである。

社会性昆虫では、成虫間の巣仲間認識だけでなく、ワーカーが自らと同巣の幼虫を認

識できるかを検討した研究がわずかながら行われてきた。血縁選択理論によれば、ワーカーは近縁者に対する投資を高めることにより遺伝的な利益を得ているため (Hamilton 1964)、近縁な幼虫を認識する必要があると考えられる。しかし、アリではその研究例は少ない。そして、ワーカーが自らと同じコロニーの幼虫と他コロニーの幼虫を識別できると報告された結果がある一方で (Lenoir 1984; Bonavita-Cougourdan et al. 1989; Feneron & Jaisson 1995; Hare 1996)、識別できなかったという結果もある (Crosland 1988; Larsen et al. 2014)。これらの研究のうち、Lenoir (1984) が扱った *C. cursor* や Hare (1996) が扱った *L. longispinosus* は多巣性種であるが (Debout et al. 2007)、成虫どうしの認識と同様に、実験や観察の手法上の問題がある上に、CHCs の分析が事実上行われていない。(Bonavita-Cougourdan et al. 1989 が多巣性の *C. vagus* において、幼虫の CHCs を分析したが、CHCs の組成比がワーカーによる幼虫認識に影響するかは検討されていない)。したがって、多巣性のアリにおいて、ワーカーが幼虫を認識するかについては、いまだに適切な評価が行われていないと言える。

1-5.本研究の目的

トゲズネハリアリは日本本土に幅広く分布している極めて一般的な種である。しかし、本種の生態についての研究は事実上行われていないため、その必要性は大きい。また、トゲズネハリアリが多巣性種であることが示唆されることから、多巣性に関連した疑問について扱うべきと考えた。そこで本研究では、トゲズネハリアリについて、以下の三つの目的で研究を行う。

(1) 生活史

まずトゲズネハリアリの基本的な生態を明らかにするため、本種の生活史について検討した (第二章)。温帯のアリでは、越冬が終わって営巣活動を再開し、ワーカーや繁殖虫を生産する活動が始まる。どの時期に越冬が終わって、繁殖虫が出現し、再び越冬

を始めるかを明らかにすることはアリの生活史を知る上で重要である。村田（1994）はトゲズネハリアリの巣内では繭が7月に出現した後、9月末までの間に有翅虫とワーカーが羽化すると述べている。さらに、9月中旬に巣内では有翅虫がほとんど見られなくなることから、結婚飛行は9月初旬頃と推定している（村田 1994）。しかし、有翅虫を含めて新成虫が一年にどれくらいの頻度で出現するのか、あるいはそれと関連して未成熟個体の数がどのように季節変化するについての情報は知られていない。また、越冬を終えて営巣を再開する時期、営巣活動を終了して越冬を始める時期については情報が無い。本研究では、トゲズネハリアリの巣を定期的に採集して、コロニーもしくは巣の発達についての季節消長を3年間に渡り明らかにした。結婚飛行の時期を含む生活史に係る形質は気温や湿度の影響を強く受ける（例えば、東 1993）。そこで、複数年にわたって生活史に関する調査を行うことで、それらの形質の年次変化についても検討した。

（2）繁殖システムおよび社会構造

本研究の第二の目的は、トゲズネハリアリの繁殖システムや社会構造を明らかにすることである（第三章）。村田（1994）によると、トゲズネハリアリは単女王制で、ワーカーによる産卵が示唆されているが、これらの情報がどのようなデータによって裏付けられているかについては示されていない。アリの多くでは、交尾を行った女王が繁殖を行い、ワーカーは未成熟個体の養育や巣外での採餌に従事する。しかし、多くのアリではワーカーも卵巣小管をもち、交尾をしなくてもオス卵を産むことができる（Hölldobler & Wilson 1990; Peeters & Ito 2001; Peeters & Molet 2010）。コロニーにどれくらいの優位な繁殖個体がいるか（女王制）、ワーカーが繁殖に関わることがあるかを知ることは、そのアリの繁殖システムや社会構造を明らかにする上で欠かせない。さらに、女王とワーカーの繁殖力を評価するために、第三章では体サイズや卵巣小管数を検討し、女王とワーカーの間で比較した。ハリアリ亜科は、女王とワーカーの間で体サイズや卵巣小管数に大きな違いがみられないことから、原始的なグループとみなされてきた（Hölldobler

& Wilson 1990; Peeters & Ito 2001; Peeters & Molet 2010)。また、ハリアリ亜科では単女王制種と多女王制種の両方が存在するものの、多くは単女王制であることが報告されている (Peeters & Ito 2001)。トゲズネハリアリにおいて女王制や女王とワーカーの間の体サイズや繁殖力 (卵巣小管の本数) の違いを明らかにし、ハリアリ亜科で報告されている特徴と比較・検討を行う。

(3) 巣仲間認識 -成虫間および成虫と幼虫間-

本研究の第三の目的は、トゲズネハリアリにおいて成虫間や成虫と幼虫間の認識機構を明らかにすることである (それぞれ第四章と第五章)。多巢性のアリにおける巣 (コロニー) 仲間認識は非常に興味深い。単巢性のアリであれば、「巣=コロニー」である。すなわち、巣仲間以外は全て異なるコロニー由来のアリであり、ワーカーは巣仲間の個体のみを受け入れればよい。しかし、多巢性のアリの場合、同じコロニーであるにも関わらず、異なる巣で生活する個体も存在するため、巣が異なる個体であっても、同じコロニー由来であれば受け入れなければならない。巣 (コロニー) 仲間の認識機構が正確に機能していなければ、異なるコロニー由来のワーカーの侵入を許すことになるし、異なるコロニー由来の幼虫を受け入れてしまう結果、包括適応度を下げることになる。多巢性のアリでは社会認識の機構は複雑であろう。

アリでは、幅広い分類群で巣 (コロニー) 仲間の認識を検証した研究がみられるが、その多くは単巢性種を扱ったもので、多巢性種についてはわずかしかない。また、多巢性のアリでは CHCs を分析し、化学的な側面から評価を行った研究も事実上ない。したがって、多巢性のアリにおける巣 (コロニー) 仲間の認識機構については、いまだに適切な評価が行われていていないと言える。トゲズネハリアリは多巢性種であることが第二章と第三章で示唆されるが、本種が地表を移動することではなく、リター層でよく採集されることから (山口未発表)、行動範囲が狭いと予想される。そのため、距離が離れた巣は異なるコロニーに由来する可能性が非常に高く、コロニーの由来を区別すること

が一定可能である。すなわち、トゲズネハリアリは巣（コロニー）仲間の認識機構を明らかにするために最も適した多巣性種である。本研究では、行動観察と化学分析による評価から、多巣性アリにおける成虫間や成虫と幼虫間の認識機構を評価する。

表 1-1. 日本に生息するアリ科 10 亜科および日本でみられる属数および種数
(寺山ら 2014 を改編)

亜科名	属数	種数
ノコギリハリアリ亜科 <i>Amblyoponinae</i>)	1	4
カギバラアリ亜科 <i>Proceratiinae</i>)	3	8
ハリアリ亜科 <i>Ponerinae</i>)	11	31
クビレハリアリ亜科 <i>Cerapachyinae</i>)	1	4
クシフタフシアリ亜科 <i>Pseudomyrmecinae</i>)	1	1
ヒメサスライアリ亜科 <i>Aenictinae</i>)	1	1
ムカシアリ亜科 <i>Leptanillinae</i>)	2	8
フタフシアリ亜科 <i>Myrmicinae</i>)	24	148
カタアリ亜科 <i>Dolichoderinae</i>)	5	7
ヤマアリ亜科 <i>Formicinae</i>)	13	84

表 1-2. ハリアリ亜科のうち日本に生息する属と種数

属名	種数
ヒメアギトアリ属 <i>Anochetus</i>)	1
オオハリアリ属 <i>Brachyponera</i>)	3
トゲズネハリアリ属 <i>Cryptopone</i>)	2
トゲオオハリアリ属 <i>Diacamma</i>)	1
ツシマハリアリ属 <i>Ectomomyrmex</i>)	2
ホンハリアリ属 <i>Euponera</i>)	2
ニセハリアリ属 <i>Hypoponera</i>)	8
ハシリハリアリ属 <i>Leptogenys</i>)	1
アギトアリ属 <i>Odontomachus</i>)	2
コガタハリアリ属 <i>Parvaponera</i>)	1
ハリアリ属 <i>Ponera</i>)	8

2 章. 生活史

2 章. 生活史

2-1. 背景

アリの生活史を詳細に検討した研究は少ない(Hölldobler & Wilson1990; Bourke & Franks1995; Peeters & Molet 2010)。例えば、Bourke & Franks (1995) は、一般的なアリにおける生活史をレビューしているが、当時生活史を扱った研究は少なく、“アリにおける生活史の分析は始まったばかりである”と述べている。比較的最近になり、Schlick-Steiner *et al.* (2005) も、多くの研究がアリの社会構造を検討することに焦点を当てており、生活史を明らかにした研究は少ないと指摘している。最近では、Hart & Tschinkel (2012) が、フロリダ州に生息する *Odontomachus brunneus* の生活史を明らかにした。それによると、*O. brunneus* のワーカーは1年間を通して採集されるが、繁殖虫は6～7月のみ生産される。また、幼虫や蛹は冬の間全く見られず、春以降に増加し、12月には再び見られなくなった。外国産のアリにおいて、その生活史があまり多く明らかにされていないのと同様に、日本産のアリについても十分に調査されていない。寺山ら (2014) によれば、日本には10 亜科 62 属 296 種のアリが生息しているが、これらの大半が分類学上の記載のみで、生活史や生態学的特徴などについてはほとんど明らかにされていない。Gotoh & Ito (2008) は、温帯のアリにおける生活史の解明は生態学的研究の基礎であると述べ、十分なサンプリングが行われた研究はわずかな種においてのみであると指摘している。ただし、DNA 分析による分子遺伝学的研究が増えた最近でも、日本産アリ数種では、生活史や生態学的側面についての研究が細々とではあるが行われている(Masuko 2003; Gotoh & Ito 2008; Shimoji *et al* 2012)。分子遺伝学もしくは化学分析の結果からアリの社会構造を明らかにする研究は増えているが、そのような基礎的な研究を行なう上でも、個々のアリ種において生活史を明らかにする重要性は高い。

ハリアリ亜科の多くの種では、女王とワーカー間で体サイズに顕著な差がなく、ワーカーも女王と同様に機能的に卵巣を保持する上、卵巣小管数は女王とワーカーの間では

とんど差がないことから、ハリアリ亜科は原始的なグループとみなされてきた (Hölldobler & Wilson 1990; Peeters & Ito 2001; Peeters & Molet 2010)。また、ハリアリ類の社会構造は注目すべき多様性を示しており (Peeters & Ito 2001; Peeters & Molet 2010)、他の多くのアリ類と同様に有翅女王だけが交尾し、棄翅した既交尾女王が産卵を行う種 (Alate queen 種) がもっとも一般的であるが、無翅女王のみが交尾を行って繁殖する種 (Ergatoid queen 種) や形態的に区別できる女王が巣内に存在しない代わりに、交尾した産卵ワーカーが繁殖を行う (Gamergate) 種もある。ワーカーによる有性繁殖は社会構造の進化を説明する上で重要であるため、現在までに Gamergate 種では、多くの生態学的研究がされている (e.g. Komene *et al.* 1999; Gobin *et al.* 2001; Andr *et al.* 2006; Monnin & Peeters 2008; Shimoji *et al.* 2012)。実際、Gotoh & Ito (2008) は、ハリアリ亜科の中でも Alate queen 種については扱われた研究が少ないと指摘した上で、Alate queen 種である *Pachycondyla chinensis* におけるコロニー構成や季節変動を報告した。香川県で行われたこの研究によれば、ワーカーは 1 年間を通して巣内から採集されるが、未成熟個体は冬の間全く見られなかった。また繁殖虫は 6 月のみ生産されることから、この時期に結婚飛行が行われることが示唆された。しかしながら、Gotoh & Ito (2008) による研究はあるものの、ハリアリ亜科において Alate queen 種に焦点を当てた研究は依然として少ない (Masuko 2003; Kikuchi *et al.* 2007; Hart & Tschinkel 2012)。

トゲズネハリアリの生活史に関しては、村田 (1994) が蟻類研究会の会報で報告している。それによると、本種は単女王制で、繭が 7 月に出現した後、9 月末までの間に有翅虫とワーカーが羽化する。さらに、9 月中旬に有翅虫がほとんど巣内で見られなくなることから、結婚飛行は 9 月初旬頃と推定されている。しかし、村田 (1994) の報告は学術雑誌に掲載されたものでない上、詳細なデータが提示されていない。そこで本章ではまず、野外で本種の巣を定期的に採集して、コロニーもしくは巣の発達についての季節消長を明らかにした。また複数年にわたって同様な調査を行うことで、継続することにより、季節消長についての年次変化についても検討した。

2-2. 方法

調査は新潟県十日町市立里山科学館に隣接する「キョロロの森」(37°05'N, 138°37'E)において行なった。「キョロロの森」は「森の学校」キョロロが管理する特別自然保護区で、ブナやミズナラ、コナラ、スギの林が広がり、ヨシやカササゲの湿地が点在する80haの広さの里山である(図 2-1)。気象庁データベースによると、調査地の年平均気温は11.7 °C(maximum: 24.9 °C, minimum: -0.2 °C)であり、年降水量は2496.7 mmである(期間: 1981~2010)。調査は2008年から2010年の4月から11月の間、およそ2週間に一度の間隔で合計45回(調査間隔: 14.33 ± 0.47 日, 平均 \pm SE)行なった(表 1~3)。毎回の調査ではアリが営巣している朽ち木をビニール袋に入れて、研究室に持ち帰った。2008年と2009年の調査では調査地で見つけられたすべての巣を採集した。結果で述べるが、トゲズネハリアリは多巣性である見込みが高く、2008年と2009年のような調査では女王不在の巣が多く含まれる。そこで、2010年の調査では、女王が存在すると期待される大きい朽木に営巣していた巣を採集した。そのため、巣のサイズが2008年や2009年と2010年では異なると予測される。研究室において、持ち帰った朽ち木をピンセットや剪定バサミなどを用いて慎重に壊し、朽ち木内の成虫や未成熟個体を取り出した。成虫と未成熟個体について図 2-2 に示す(A; 女王、B; ワーカー、C; 有翅メス、D; オス、E; 繭と蛹、F; 幼虫)。成虫については雌雄を判別し、さらにカースト(女王、有翅メス、ワーカー)を判別した上で計数した。オスはメスと比べ、複眼が大きく、触角が一節長いため、雌雄を容易に区別できる。女王とワーカーは、次のように形態から区別できる。女王には単眼があり、脱翅痕がみられるが、ワーカーの複眼は女王に比べてとても小さい。また、未成熟個体については、蛹、幼虫、卵のそれぞれについて計数した。計数後、成虫や未成熟個体は、99%アルコール中に保存した。



図 2-1. 調査地の概要写真; 上: キョロロの森の大部分を占めるブナ林、下: トゲズネハ
リアリが頻繁に採集されるミズナラ林

表 1. 巣の構成(平均個体数±SE) : 2008年

採集日	巣の数	成虫				未成熟個体		
		女王	ワーカー	有翅メス	オス	蛹	幼虫	卵
4月29日	—	—	—	—	—	—	—	—
5月12日	—	—	—	—	—	—	—	—
5月28日	11	0.27±0.14	28.27±11.18	0	0	0	13±8.04	0
6月14日	7	0.14±0.14	6±2.27	0	0	0	5±5	0
6月27日	5	0.2±0.2	5±3.02	0	0	0	2±2	0
7月12日	3	1±0.58	1.67±0.88	0	0	0	0	0
7月21日	9	0	6.67±3.97	0	0	2.78±2.78	3.11±3.11	0
8月7日	6	0.83±0.31	3.33±1.69	0	0	5.17±4.97	0.67±0.67	0
8月22日	6	0.33±0.17	14±4.67	3.5±1.83	8.85±2.95	10.07±3.36	0	0
9月4日	18	0.33±0.11	30.17±11.36	2±1.37	7.22±3.12	10.44±5.27	14.39±7.49	0.17±0.09
9月16日	9	0.44±0.16	11.89±4.71	0.78±0.78	1.33±1.33	3.67±3.67	3.56±3.56	0
10月4日	7	0.71±0.36	2.14±0.77	0	0	0	0	0
10月16日	12	1.08±0.47	6.58±6.04	0	0	0	4.5±4.5	0
10月28日	22	0.91±0.23	2.91±1.89	0	0	0	0	0
11月11日	18	0.67±0.21	7.11±2.92	0	0	0	0.11±0.11	0
11月26日	1	5	0	0	0	0	0	0

表2. 巣の構成(平均個体数±SE) : 2009年

採集日	巣の数	成虫				未成熟個体		
		女王	ワーカー	有翅メス	オス	蛹	幼虫	卵
5月11日	17	0.53±0.15	14±6.41	0	0	0	12.29±9.71	0
5月25日	15	0.6±0.19	8±3.26	0	0	0	2.53±2.53	0
6月5日	12	0.75±0.18	2.83±1.19	0	0	0	9.92±9.65	0
6月20日	11	0	11.73±9.19	0	0	0	11.27±8.26	0
7月3日	10	0.2±0.13	15.2±7.61	0	0	11.1±8.91	17±15.05	0
7月17日	12	0.17±0.11	6.67±2.23	0	0	14.83±5.73	2.42±1.43	0
7月29日	8	0	5.88±1.77	0	0	22.13±12.41	1.38±0.98	0
8月8日	10	0.4±0.31	9.20±4.47	1.8±1.8	0	19.20±13.48	0.2±0.13	0
8月20日	10	0.1±0.1	34.9±15.36	17.5±8.66	19.7±9.85	50.1±24.93	5±4.57	0
9月1日	10	0.5±0.22	7.5±4.53	0.9±0.9	1.7±1.25	8.7±5.99	0.1±0.1	0
9月16日	16	0.75±0.23	4.56±1.9	0	0	1.38±1.12	0.25±0.14	0
10月1日	19	0.95±0.36	3.68±1.26	0	0	0.05±0.05	1.89±1.89	0
10月16日	21	0.52±0.16	9.33±3.40	0	0	0	2.33±2.33	0
10月30日	25	1±0.28	10.96±4.78	0	0	0	2.76±1.66	0
11月22日	1	4	0	0	0	0	0	0

表3. 巣の構成(平均個体数±SE) : 2010年

採集日	巣の数	成虫				未成熟個体		
		女王	ワーカー	有翅メス	オス	蛹	幼虫	卵
5月19日	20	0.65±0.24	11.95±3.53	0	0	0	9.6±8.16	0
6月4日	19	0.37±0.14	25.37±9.82	0	0	0	12.32±8.42	0
6月15日	23	0.43±0.14	18.48±4.07	0	0	0	17.70±6.86	0
7月1日	12	0.42±0.14	10.58±5.14	0	0	1.92±1.42	1.50±1.11	0
7月19日	11	0.18±0.09	27.64±7.67	0	0	57.64±15.96	8.18±3.19	0
8月1日	10	0.4±0.11	28.4±7.37	0.3±0.21	0	109.6±3.62	10.6±3.63	0
8月21日	18	1.59±0.37	37.89±11.75	14.33±5.97	12.78±5.49	21.61±9.37	4.72±2.38	0
9月1日	16	1±0.38	49.94±10.14	23.13±6.01	31.13±10.35	9.81±3.25	25.81±8.73	0.13±0.07
9月10日	17	2.18±1.49	33.59±7.71	0.941±0.41	0.235±0.16	1.141±0.57	10.941±4.37	0
9月27日	22	0.55±0.16	11.045±4.51	0	0.409±0.41	0	9.54±6.85	0.05±0.05
10月8日	13	0.62±0.24	8.46±1.99	0	0	0	0	0
10月31日	10	1±0.49	17.2±5.74	0	0	0	8.5±5.58	0
11月13日	7	0.57±0.17	45.43±12.27	0	0	0	30±8.17	0
11月31日	4	1.25±0.11	0	0	0	0	1±0.43	0

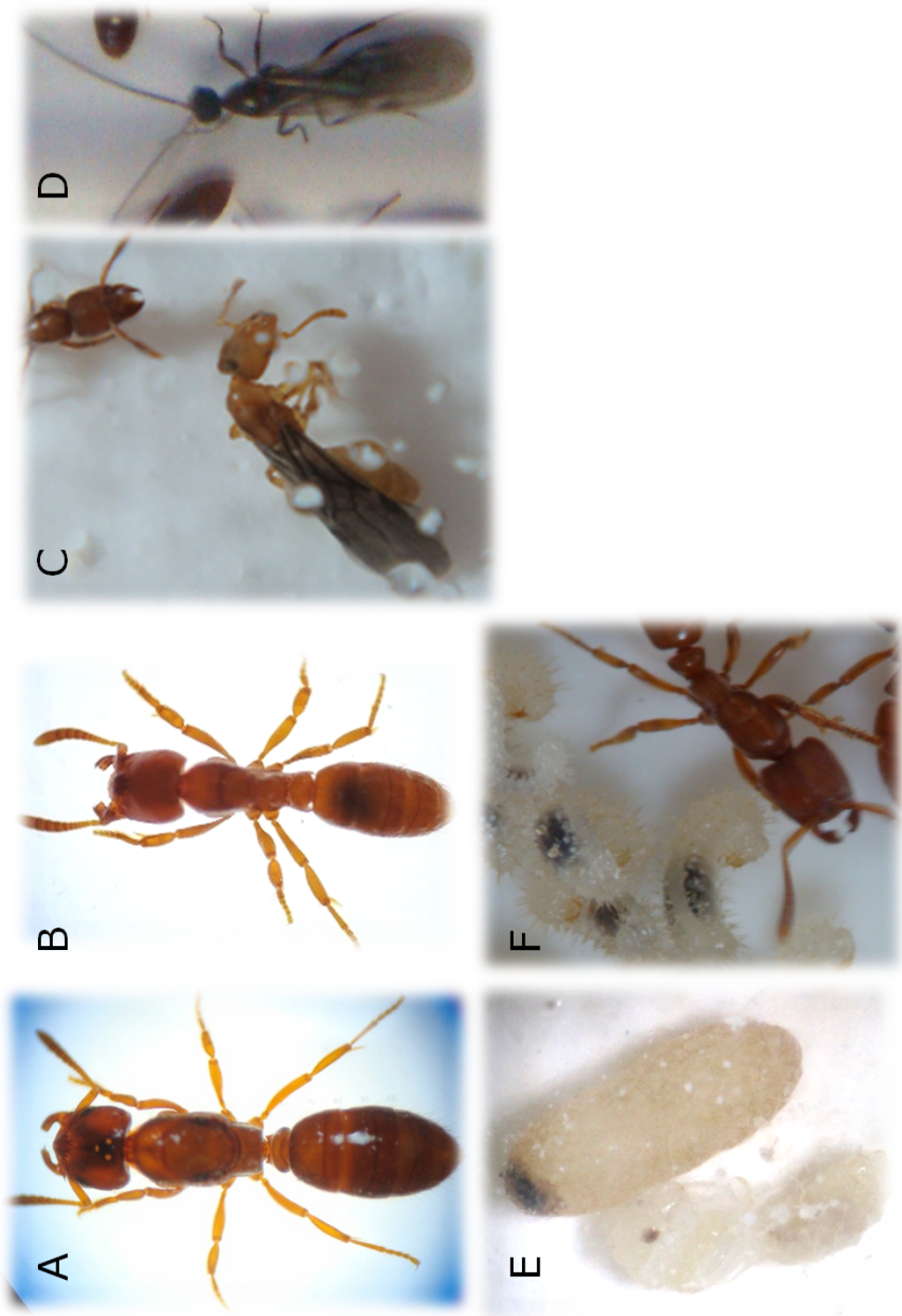


図 2-2. トゲズネハリアリの成虫(A: 女王、B: ワーカー、C: 有翅メス、D: オス)と未成熟個体(E: 繭と蛹、F: 幼虫)

2-3. 結果

2-3-1. 巣構成

巣あたりの平均成虫メス数(女王、既交尾女王、未交尾女王やワーカー)と平均未成熟個体数(蛹や幼虫)を表 1 に示す。なお、後で述べるが、卵については 3 年間を通してわずか 3 回しか採集されなかったため、表 1 には載せていない。巣あたりの平均成虫メス数と平均未成熟個体数を年間で比較したところ、有意差があった(ANOVA, $P < 0.01$)。そこで、t-検定を行ったところ、女王数や既交尾女王数、未交尾女王数、ワーカー数や幼虫数では 2008 年や 2009 年と比べて 2010 年の方が多かった(sequential Bonferroni 法による補正後, $P < 0.01$)。また蛹数については、3 年間の全てで有意差がみられ、2010 年が最も多かった(sequential Bonferroni 法による補正後, $P < 0.01$)。材料と方法で述べたとおり、2010 年ではその前 2 年と違って、巣の採集方法が異なったため、成虫メスや未成熟個体の数が多かったと考えられる。そこで以降で成虫メス数や未成熟個体数の季節変化を年間で比較する場合には、生物、環境要因について検討できる 2008 年と 2009 年の間においてのみ行う。

2-3-2. 成虫数と未成熟個体数の季節変化

調査は 2008 年では 4 月初旬から、2009 年と 2010 年では 5 月初旬から始めたが、最初に巣が採集できたのは年により異なった。2008 年では 5 月 28 日、2009 年では 5 月 11 日、2010 年では 5 月 19 日であった。女王や既交尾女王、未交尾女王、ワーカー、有翅のオスとメス、未成熟個体(蛹、幼虫)の個体数変動を図 2-3~2-8 に示す。

2-3-3. 女王数の季節変化

女王は一年を通して採集できた。巣あたりの女王数は一年を通して 0.5~1.0 個体の間を概ね推移した(図 2-3)。ただし、8 月以降女王数が増加したように見られたため、5~7

月に採集した巣と 8~11 月に採集した巣の間で、平均女王数を比較したところ、2008 年と 2009 年ともに 8~11 月の方が女王数は多かった (t-test, $t=0.754$, $P<0.05$)。次に 2008 年と 2009 年の間で女王数を比較したが、有意な差はなかった (paired t-test, $t=1.221$, $P=0.236$)。

第 3 章で述べるが、本種には年間を通して交尾した女王の他に棄翅した交尾していない女王が巣内に存在したため、女王を既交尾女王と未交尾女王に分けて扱った。

既交尾女王も一年を通して採集できた。巣あたりの既交尾女王数は一年を通して 0.5~1.0 個体の間を概ね推移した (図 2-4)。ただし、既交尾女王数も 8 月以降増加したように見られたため、女王数と同様に、5~7 月に採集した巣と 8~11 月に採集した巣の間で、平均既交尾女王数を比較したところ、2008 年と 2009 年ともに 8~11 月の方が多かった (t-test, $t=0.824$, $P<0.01$)。次に 2008 年と 2009 年の間で既交尾女王数を比較したが、有意な差はなかった (paired t-test, $t=1.465$, $P=0.316$)。

未交尾女王も一年を通して採集できた。巣あたりの未交尾女王数は一年を通して 0.2~1.0 個体の間を概ね推移した (図 2-5)。未交尾女王数も女王数と同様に、5~7 月に採集した巣と 8~11 月に採集した巣の間で比較したが、有意な差はなかった (t-test, $t=0.465$, $P=0.372$)。次に 2008 年と 2009 年の間で未交尾女王数を比較したが、有意な差はなかった (paired t-test, $t=2.465$, $P=0.093$)。

2-3-4. ワーカー数の季節変化

女王と同様に、ワーカーも一年間を通して採集できた。巣あたりのワーカー数は一年を通して 10~40 個体の間を概ね推移した (図 2-6)。ワーカーは 5 月から採集でき、その採集数は 8 月下旬から 9 月上旬あたりで増加し、9 月中旬以降に減少した。2010 年では、11 月中旬に再び採集数は増加した後減少した。年の間でワーカー数を比較したが、2008 年と 2009 年の間で有意差はなかった (paired t-test, $t=2.465$, $P=0.356$)。

2-3-5. 有翅虫数の季節変化

有翅メスとオスは、8月から出現し始め、その後採集数は増加したが、10月以降採集されなかった(図 2-7, 図 2-8)。このような傾向は3年間共通していた。有翅メス数とオス数は、2008年では8月22日、2009年では8月20日に最大となったが、2010年では9月1日に最大になり、2010年の採集数のピークは他の2年より遅かった。2008年と2009年の間で有翅メス数を比較したところ、2008年より2009年の方が有翅メス数は多かった (paired t-test, $t=1.215$, $P<0.01$)。2008年と2009年の間で有翅オス数を比較したところ、有翅メス数の年間比較と同様に、2008年より2009年の方が多かった (paired t-test, $t=1.362$, $P<0.01$)。

2-3-6. 未成熟個体数の季節変化

ワーカーや有翅虫の蛹のほとんどは繭に覆われた状態で採集されたが、稀に繭を作らない状態の蛹がみられた(図 2-1E)。定量的なデータはないが、1年間の調査で約300個体の繭を採集したうち、繭を作らない蛹は数個体しか採集されなかった。すべての蛹を使用し、巣あたりの蛹数の季節変化を図 2-9 に示した。蛹は7月に採集されるようになり、その採集数は2008年では9月4日まで、2009年では8月20日まで、2010年では8月1日まで増加したが、10月以降採集されなかった(図 2-9)。有翅虫の採集数のピークは2008年から2010年に移るにしたがい遅れたが、蛹数については年々早まった。2008年と2009年の間で蛹数を比較したところ、2008年より2009年の方が蛹数は多かった (paired t-test, $t=1.662$, $P<0.01$)。

女王やワーカーと同様に、幼虫も一年間を通して採集できた。また一年間を通してサイズの小さい幼虫から大きい幼虫まで巣内で確認できたことから、齢の異なる幼虫が年間を通して巣内に存在することが示唆された。幼虫は5月から採集でき、11月まで巣あたりの幼虫数は5~20個体の間を概ね推移した(図 2-10)。すでに述べたとおり、3年のいずれの年についても、7月以降に蛹が採集されたことから、7月以降は5、6月と比

べて幼虫数が減ると考えられた。この傾向は特に 2009 年で顕著にみられたので(図 2-10)、巣あたりの幼虫数を 5、6 月と 7 月以降で比較したところ、2008 年と 2010 年では有意差は見られなかったが、2009 年では有意差がみられた(t-test, 2008 年: $t=1.752$, $P=0.289$; 2009 年: $t=1.451$, $P<0.001$; 2008 年: $t=2.738$, $P=0.562$)。また 2008 年と 2009 年の間で幼虫数を比較したが、有意差はなかった (paired t-test, $t=3.735$, $P=0.136$)。

卵は 2008 年と 2010 年の 8 月上旬から 9 月下旬の間に合計 3 巣で採集できたが、2009 年には採集されなかった (Cs08056:既交尾女王 1 個体、ワーカー97 個体、有翅メス 57 個体、オス 27 個体、蛹 39、幼虫 139 個体; Cs 10086:既交尾女王 1 個体、ワーカー60 個体、蛹 69、幼虫 47 個体; Cs10152:既交尾女王 1 個体、ワーカー32 個体、幼虫 64 個体)。

表 1. トゲズネハリアリの巣構成: 巣あたりの平均成虫メス数と未成熟個体数

(異符号間で有意差有り)

	2008	2009	2010
女王	0.48 ± 0.04^A	0.54 ± 0.08^A	0.78 ± 0.11^B
既交尾	0.21 ± 0.06^A	0.28 ± 0.05^A	0.46 ± 0.07^B
未交尾	0.28 ± 0.05^A	0.26 ± 0.06^A	0.32 ± 0.09^B
ワーカー	12.8 ± 1.22^A	15.2 ± 1.34^A	20.3 ± 1.61^B
未成熟個体			
蛹	3.28 ± 1.23^A	6.28 ± 1.11^B	12.48 ± 1.36^C
幼虫	4.97 ± 0.78^A	5.23 ± 0.56^A	10.72 ± 0.69^B

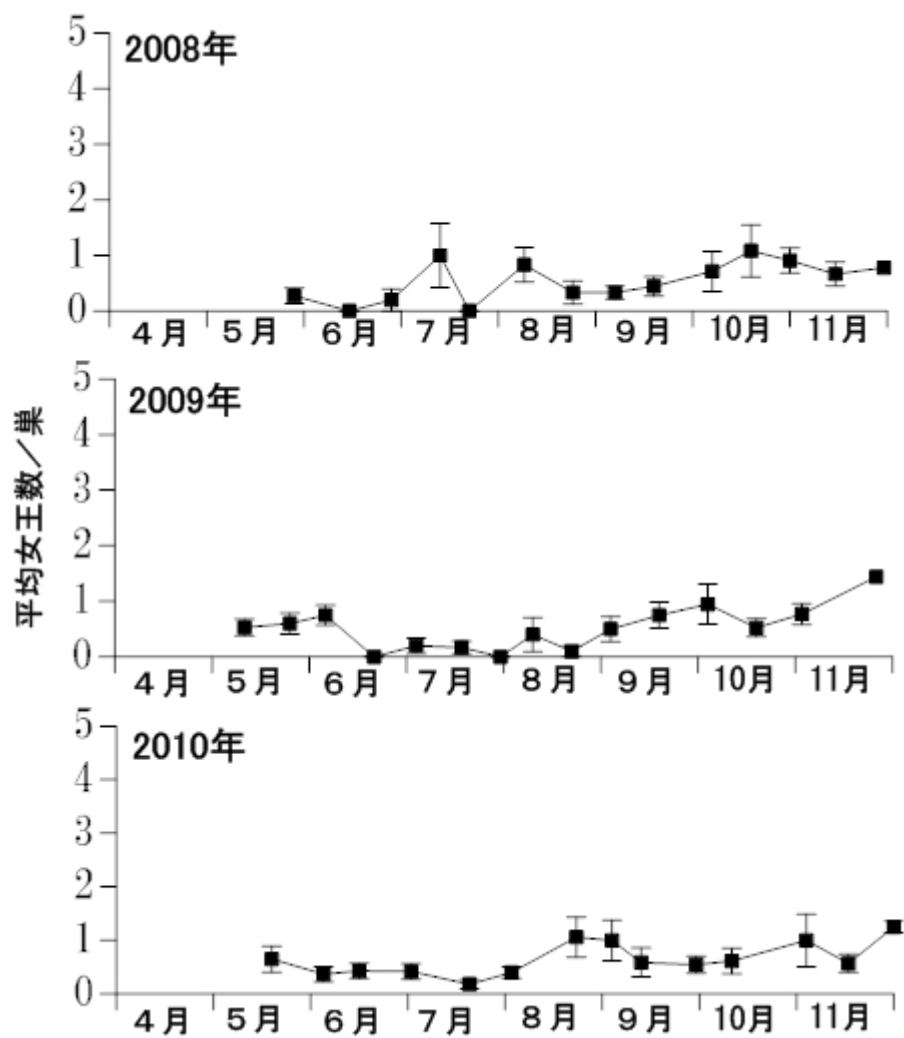


図 2-3. 巣あたりの女王数の季節変化 (平均±SE)

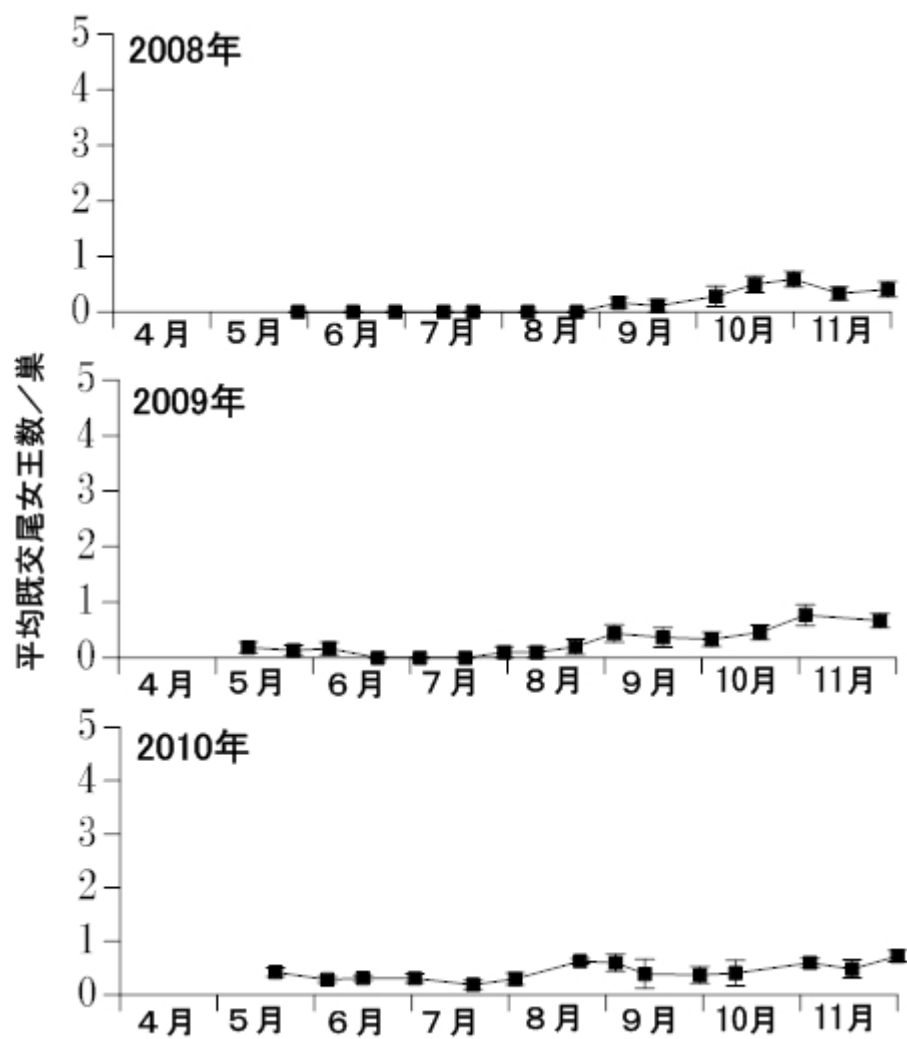


図 2-4. 巣あたりの既交尾女王数の季節変化 (平均±SE)

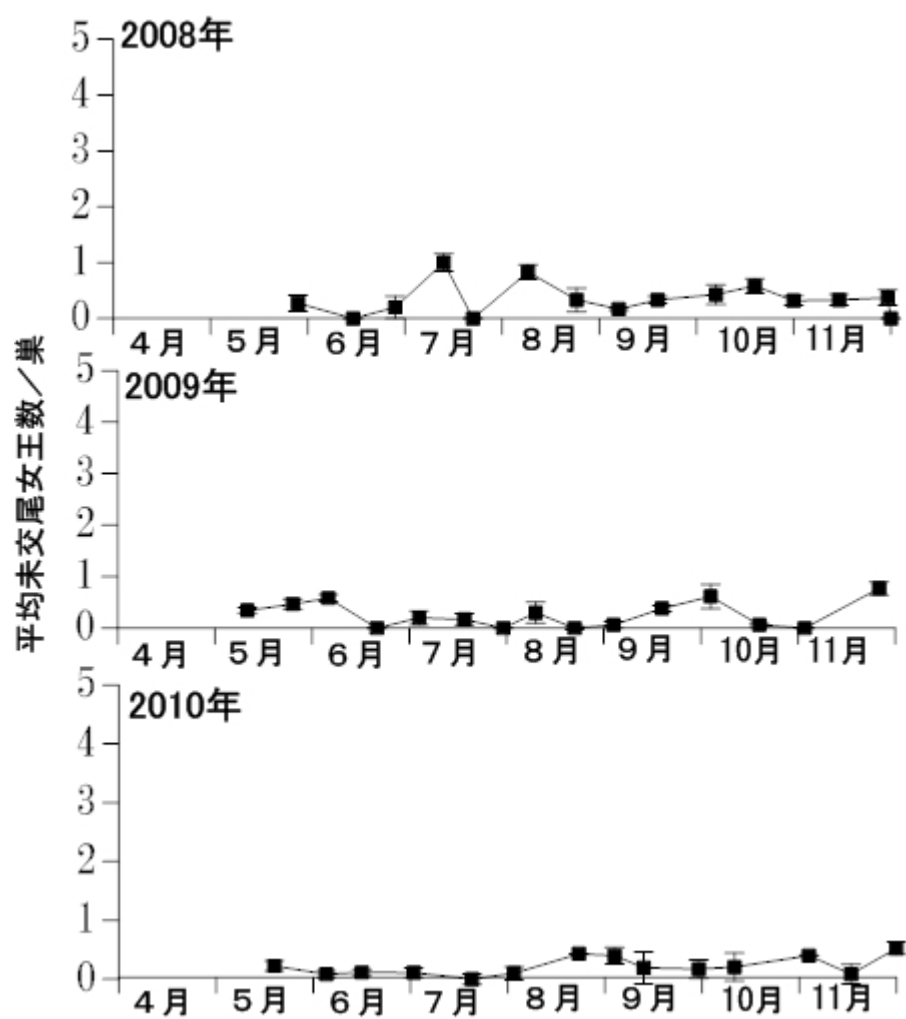


図 2-5. 巣あたりの未交尾女王数の季節変化 (平均±SE)

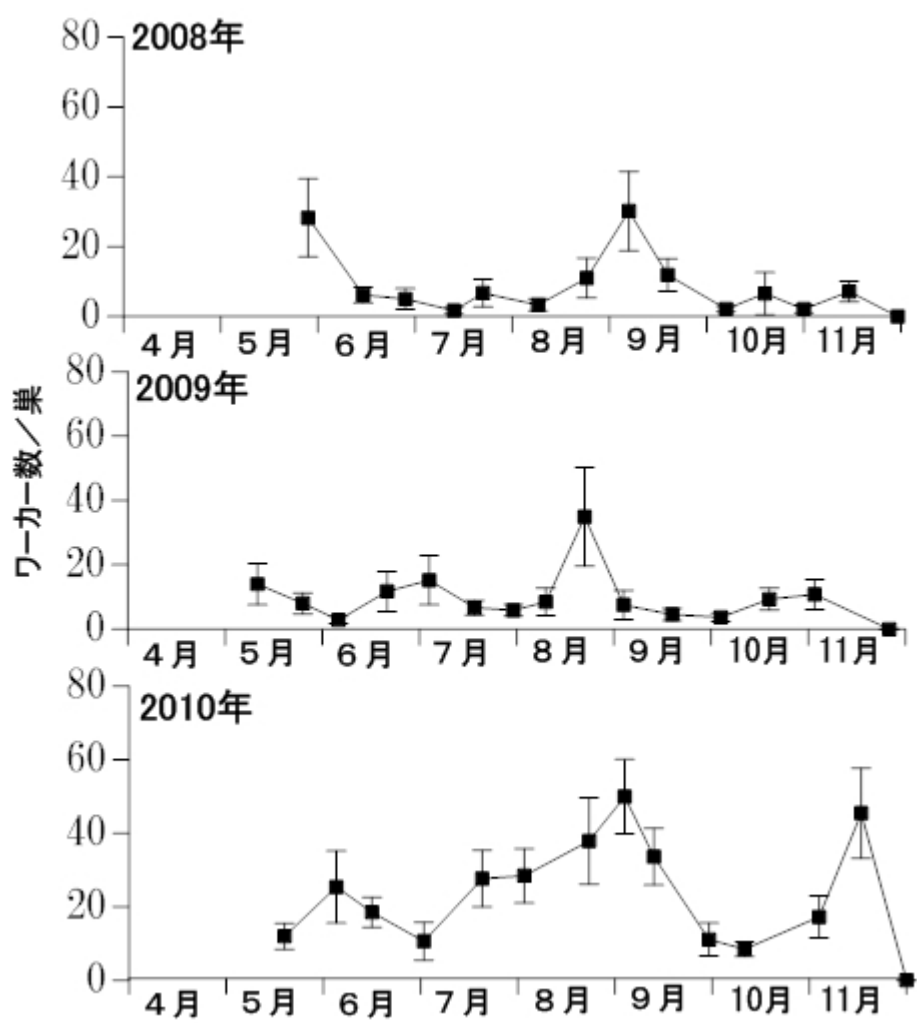


図 2-6. 巣あたりのワーカー数の季節変化(平均±SE)

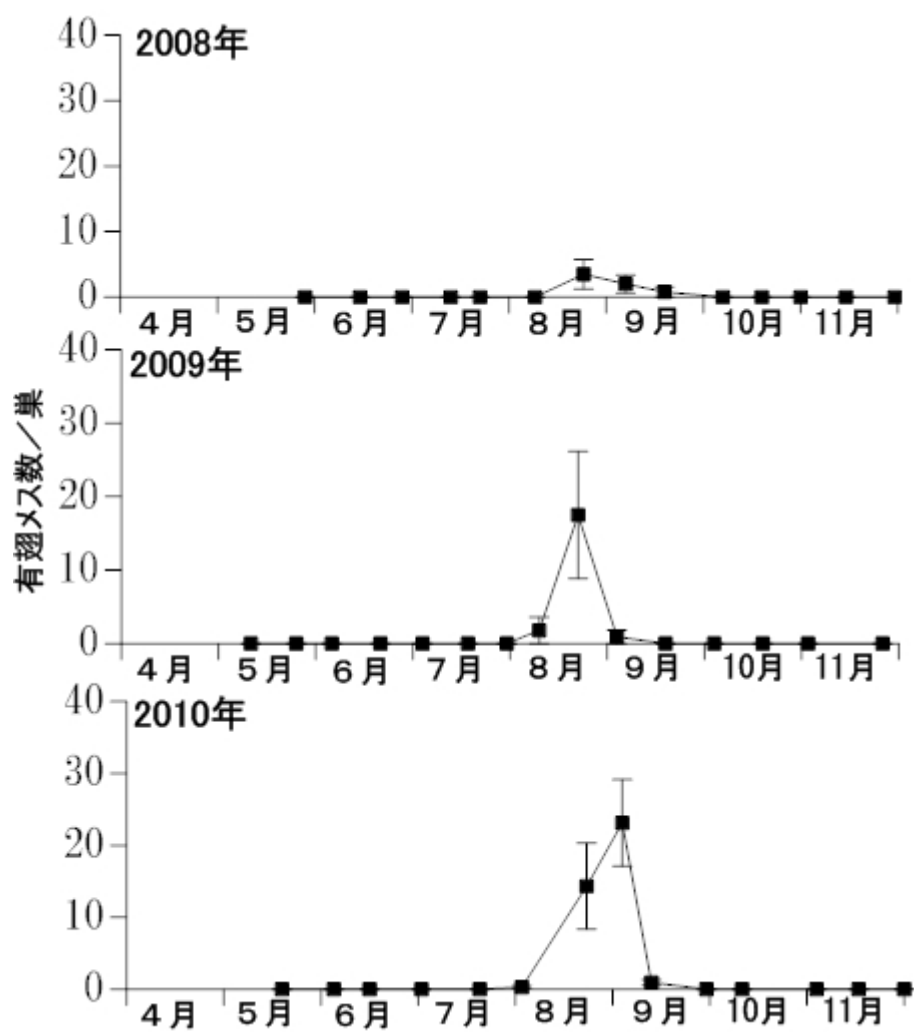


図 2-7. 巣あたりの有翅メス数の季節変化(平均±SE)

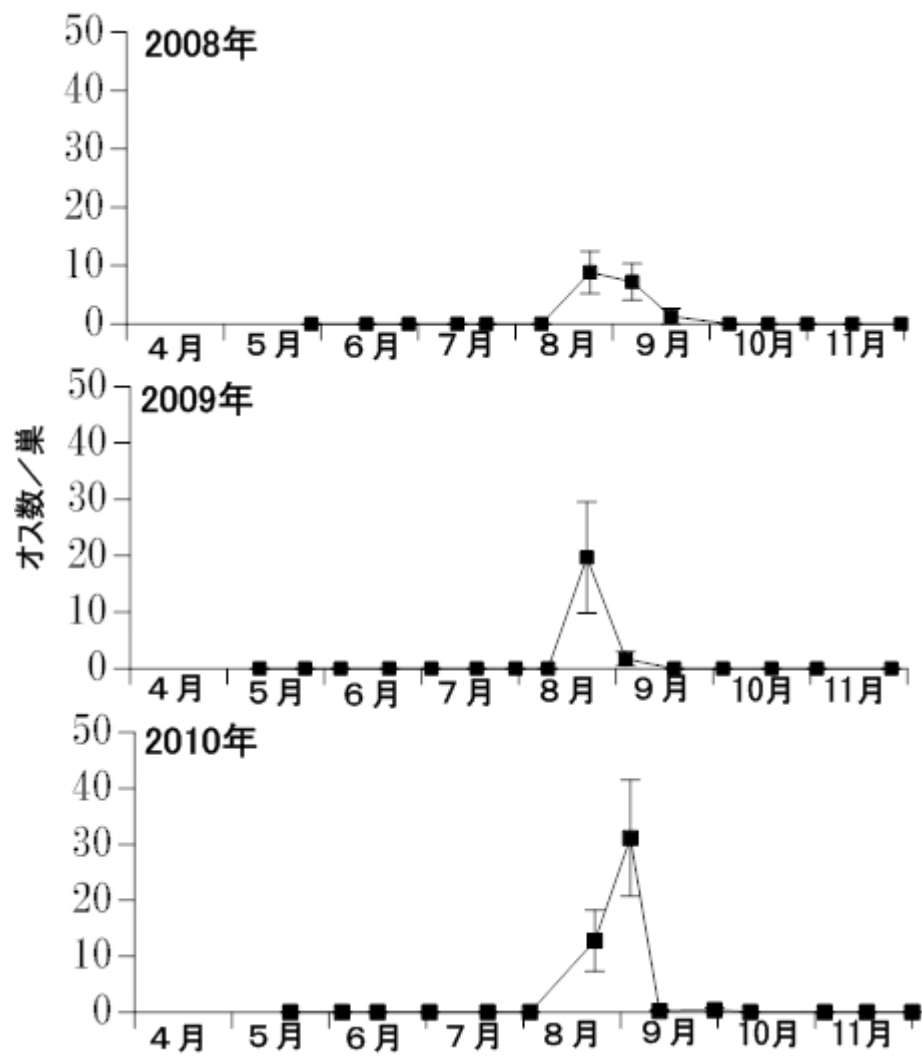


図 2-8. 巣あたりのオス数の季節変化(平均±SE)

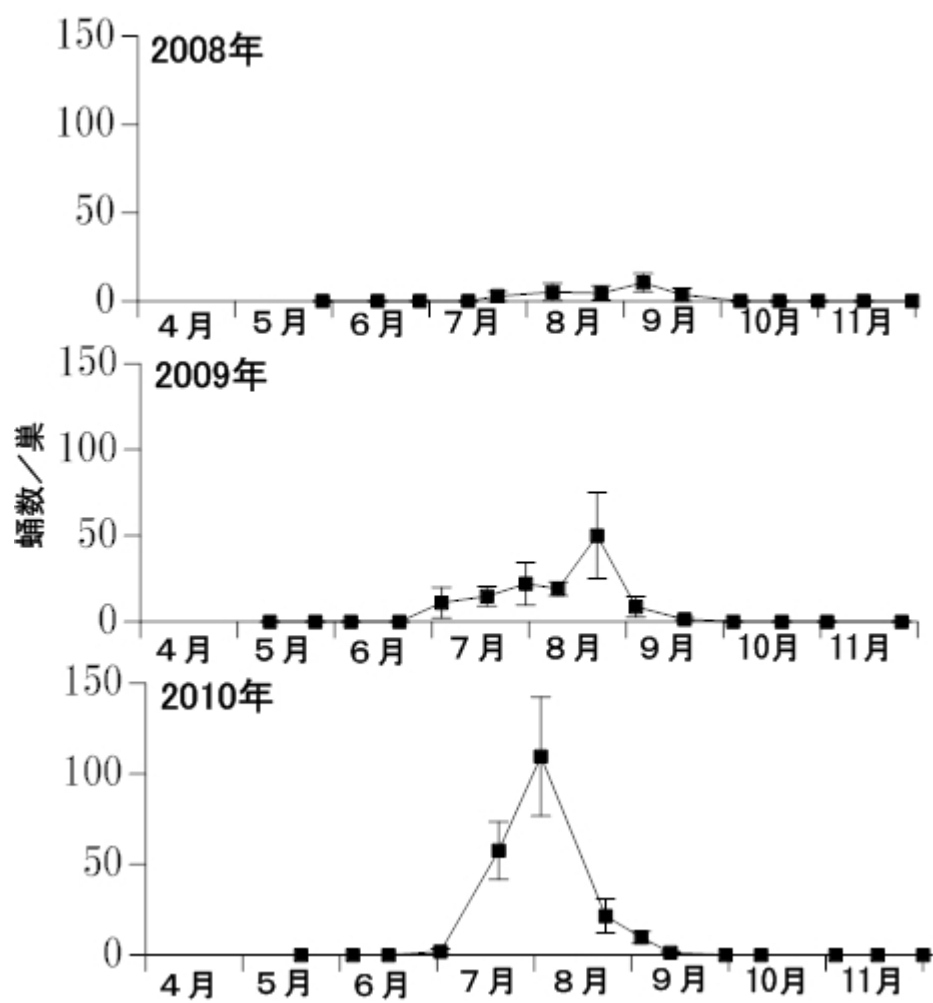


図 2-9. 巣あたりの蛹数の季節変化(平均±SE)

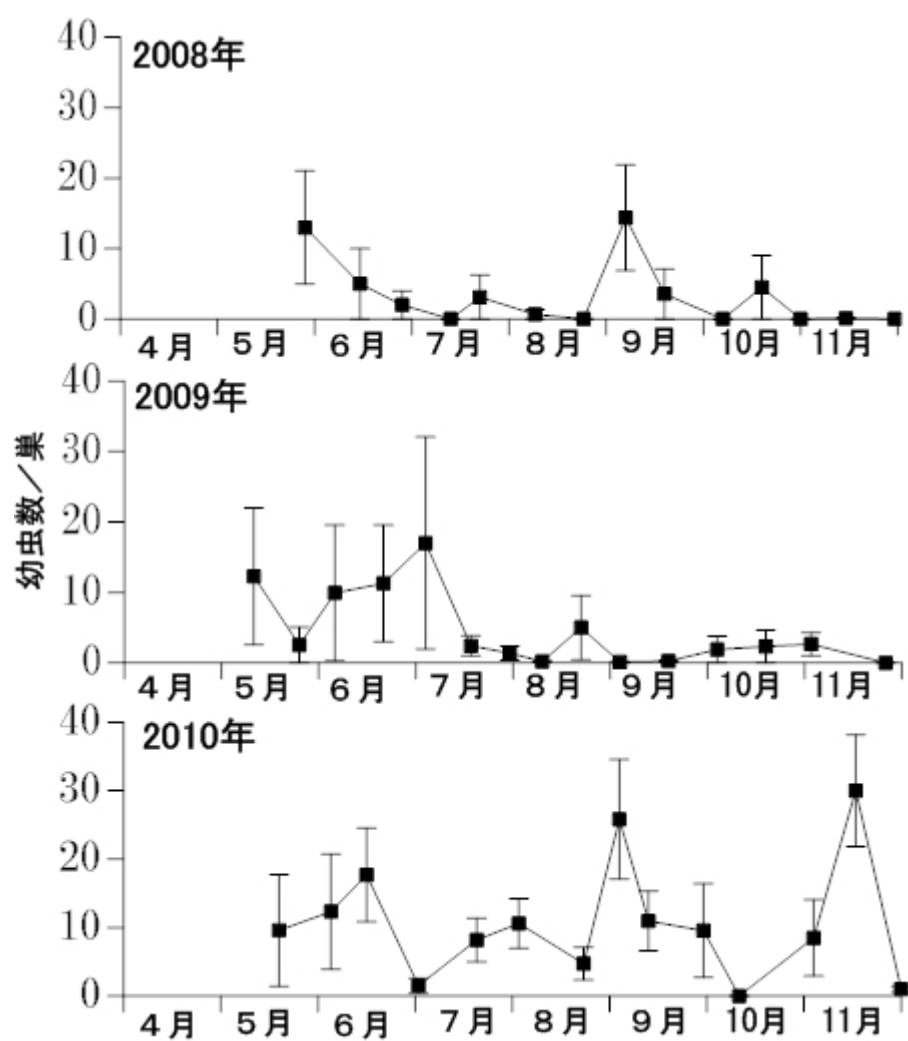


図 2-10. 巣あたりの幼虫数の季節変化(平均±SE)

2-4. 考察

トゲズネハリアリの生活史を明らかにするため、成虫数や未成熟個体数の季節変化を3年間調査した。女王やワーカー、幼虫は年間を通して採集されたが、蛹は7～9月にみられ、有翅虫やワーカーはその後8～9月に出現した。卵については3年間の調査で8月上旬から9月下旬の間にわずか3回しか採集できなかった。また、交尾した女王の他に棄翅しているが交尾をしていない女王も年間を通して採集された。

調査を行った年にもよるが、蛹は7月になると見られるようになり、その後8月から9月末までの間に有翅虫を採集できた。また、無翅の女王が採集されなかったことや、有翅メスとオスが同時期に出現していた(図 2-7 と図 2-8)ことから、本種は繁殖個体が結婚飛行を行う可能性があり、その時期は夏の終りであると言える。日本産ハリアリ類の多くの種では、8～9月に有翅虫が結婚飛行に飛び立つことが知られている(表 1)。8～11月に採集した巣に5～7月に採集した巣よりも多くの既交尾女王数がいたことについても、夏の終わりに有翅の繁殖個体が交尾を行ったことを強く示唆する。村田 (1994)も、関東地域における調査でトゲズネハリアリの有翅虫が9月初旬頃に出現したと報告した。ただし、関東地域における村田の調査と冬に積雪量が多くトゲズネハリアリの活動開始が遅い本調査地の間で、有翅の繁殖個体の出現時期が一致したことは興味深い。東 (1993) によれば、スイスのアカヤマアリ類は標高 500m 付近では6月上旬に飛行するのに対し、2000m 付近では8月上旬に飛行する。このことは、個体群間の気温の違いにより、結婚飛行の時期が異なるケースがあることを示すが、トゲズネハリアリでは、このような顕著な違いは個体群間でみられていない。しかし、トゲズネハリアリの有翅の繁殖個体が野外で実際に結婚飛行を行うかについては、今後注意をして観察する必要がある。いくつかの分類群のアリでは Female-calling が知られており (Haskins 1978; Holldobler & Bartz 1985)、有翅の未交尾女王でも飛行をせず、地上や背丈の低い植物上で、性フェロモンを放出してオスを呼び寄せ、交尾する場合がある (Villet 1989)。山内 (1993)は、このようなアリとして、ノコギリハリアリ (*Amblyopone silvestrii*)やゴウシュウハリアリ

(*Rhytidoponera* sp.)、アカツキアリ (*Nothomyrmecia* sp.)など 8 種を示し、それらに共通する生態的特徴として、次の 3 点を挙げている：(1)ワーカー数が少なく(約 20～1000 個体)、(2)比較的少数の繁殖虫を生産し (毎年数百個体以下)、(3)女王は 1 回交尾である。トゲズネハリアリでは、巣あたりのワーカー数はたいてい 10～40 個体であり、繁殖虫数も有翅メスとオスが最大でそれぞれ 112 個体と 173 個体で、平均的には 25 個体程度だった。さらに、DNA マイクロサテライト分析の結果から、トゲズネハリアリの女王は 1 回交尾であることが示唆されている (楨田 2014)。Female-calling を行う種の生態的特徴が、トゲズネハリアリで得られた結果と共通することから、トゲズネハリアリの有翅の未交尾女王も野外でオスをフェロモンで誘引して交尾している可能性もある。今後、野外でフライト・インターセプト・トラップを仕掛けるなどの調査を行い、トゲズネハリアリの未交尾女王が結婚飛行を行うかを観察する必要がある。

ハリアリ類において、野外の女王がいつ産卵を行うかを明らかにした論文は少ない。例えば、ノコギリハリアリの女王は年に複数回産卵する(Masuko 2003)一方で、オオハリアリ (*Pachycondyla chinensis*)の女王は、年に一度、5 月に産卵することが確認されている (Gotoh & Ito 2008)。トゲズネハリアリでは、卵は 2008 年と 2010 年の 8 月上旬から 9 月下旬の間に合計 3 巣でしか採集することができなかった。この時期にのみ女王が産卵したとも考えられるが、一年間を通してサイズの異なる幼虫を採集できたことから、その可能性は低いだろう。また第 3 章で述べるが、卵巣を発達させた既交尾女王が一年間を通して採集されたことから、女王の繁殖活動は少なくとも気温が高くなって活発に活動している間に一定の頻度で行われると考えられる。トゲズネハリアリの卵を一定の時期に数回しか採集できなかったことの原因ははっきりしないが、本種は多巣性である可能性が高いため(第 3 章で詳しく述べる)、卵を含む巣は高湿度が維持されている地下に存在するのに対し、蛹や幼虫を含む巣はそれらの成長を促す地表付近にあったのかもしれない。ヤマアリ亜科の *Formica ulkei* では、卵の成長のためには高い相対湿度が必要であるのに対し、蛹と幼虫のような成長した未成熟個体ではむしろより高い温度が必要に

なると報告されている(Scherba 1959)。同様に、オーストラリアのハリアリの一種 *Myrmecia brevinoda* では、アリ塚や地下の巣では、繭は塚の上部に置かれるが、卵は巣の下部に存在する (Higashi & Peeters 1990)。さらに最近、Gotoh & Ito (2008)は、オオハリアリにおいて未成熟個体が発達段階に応じて異なる環境に移動されることを示唆している。

幼虫に関しては、一年間を通してサイズの異なる個体が採集された。本研究では幼虫の齢を特定していないが、この結果は異なる齢の幼虫が年間を通して存在していたことを示唆する。しかし、この結果は蛹が出現したのが 7~9 月の期間だけであったことと矛盾するようにみえる。アリでは幼虫期間は一般的に 50 日前後である (Hölldobler & Wilson 1990)。東 (1993) は、アリの幼虫期は飼育温度や栄養条件に左右されるものの、約 20 日 (*Solenopsis invicta*) から 100 日 (*Myrmecia forficata*) であると述べている。そのため、トゲズネハリアリでも春に巢内に存在する幼虫は同年の夏に蛹になり、秋に巢内にいた幼虫は越冬し、翌年の夏に蛹になるのだろう。寒冷地に生息するアリ種のうち、幼虫が成虫とともに越冬する種では幼虫期が長くなることが知られている(東 1993)。例えば、札幌近郊のシワクシケアリ (*Myrmica kotokui*) やトビイロケアリ (*Lasius japonicus*)は 10 月から 4 月までが越冬期で最大 10 か月間を幼虫として巢内に存在することが報告されている (東 1993)。しかし、蛹が出現する直前にサイズの小さな幼虫が採集されたこともあったし、結婚飛行後に十分に成長していた幼虫も採集されたことは、トゲズネハリアリの幼虫の期間が一年間以上になる可能性を示唆している。今後、トゲズネハリアリの幼虫の齢構成の季節変化を定量化し、検討する必要がある。例えば、Masuko (2003) は、ノコギリハリアリの幼虫の齢構成を年間を通して明らかにし、ノコギリハリアリ蛹や成虫は夏から秋の一時期にしか採集されないのにもかかわらず、サイズの異なる幼虫が一年間を通して存在したことを示した。2 齢幼虫や 3 齢幼虫は季節的に増減するものの、年間を通してほぼいつでもみられると報告した。トゲズネハリアリでも、ノコギリハリアリと同様な幼虫の齢構成の変化が季節によって起こっているのか

もしれない。

ワーカー数は8～9月に増加したが、これは7月から出現した繭から出現したためだと考えられる。実際、飼育下の観察から、ワーカーが有翅虫とともに繭から出現したことを確認している(山口未発表)。これらの結果は、トゲズネハリアリのコロニーの成長(ワーカーの出現)が限定されていることを示唆しているが、これは本種のコロニーサイズ(ワーカー数)が小さいことや巣場所が限定されていること、あるいは限定された動物しか捕食しないことと関係しているかもしれない。まず最初のコロニーサイズについてだが、東(1993)は、高等なアリでは女王の産卵能力が高く、比較的大きいコロニーを作り、コロニーの成長が速いと述べている。特にグンタイアリ亜科(Ecitoninae)やサスライアリ亜科(Dorylinae)では、複数の女王が年間200万個の卵を産卵し、2000万個体を超えるコロニーを形成することもある。一方で、アカツキアリ亜科(Nothomyrmecinae)やキバハリアリ亜科(Myrmecinae)、ハリアリ亜科などの原始的な系統では、数十から数百程度の比較的小さいコロニーを形成し、コロニーの成長は遅いことが知られている(東 1993)。トゲズネハリアリはハリアリ亜科に属しており、巣あたりのワーカー数は10～40個体程度で小さいが、これはワーカーの出現が限定された時期にしかみられないことと関係があるだろう。また第二に、トゲズネハリアリは朽木の樹皮と幹の小さな隙間に生息することから、営巣場所が限られ、コロニーの成長が遅い可能性が考えられる。東(1993)は、アリのコロニーの成長は生息環境にも左右され、朽木や枯れ枝に営巣する種はコロニーサイズが小さく、成長も遅い一方で、地中や樹冠に営巣する種のコロニーサイズは大きく、成長も早いと述べている。実際、枯れ枝に営巣するハリアリの一種オオハリアリのコロニーでは、ワーカー数が多い時期でも200個体程度であり、女王は春にしか産卵しない(Gotoh& Ito 2008)。一方で、地中に営巣するヒアリ *Solenopsis invicta* のコロニーは、創設後約5年で20万以上のワーカー数に達する(Tschinkel 1988)。最後に、トゲズネハリアリのコロニーの成長が一時期に限定している理由として餌の量や質による影響が考えられる。コロニーを成長させるためには多く

の餌が必要であり、多くの餌を得るためには多様な動物を狩る必要があるだろう。ヤマアリ亜科 (Formicinae) の多くは雑食性で、地表で採餌を行っているワーカーを観察する機会は多く、年間を通してワーカーは出現する (東 1993)。一方で、ノコギリハリアリ *A. silvestrii* は主にジムカデの仲間 (Geophilomorpha) を専食し (増子 2002)、成虫が出現するのは秋の一時期のみである (Masuko 2003)。また、ハリアリ亜科のオオハリアリはシロアリ類を好んで捕食すると報告されており (アリ類データベース 2008)、女王は春にしか産卵しない (Gotoh & Ito 2008)。トゲズネハリアリは主にハエ目の幼虫を野外で捕食している可能性が高い (村田 1994)。実際、トゲズネハリアリを飼育すると、ハエ目の幼虫を捕食することが確かめられている (山口他 2010)。トゲズネハリアリのワーカーはハエ目の幼虫のみをほぼ餌とするため、ノコギリハリアリやオオハリアリと同様に、コロニーのサイズは小さく、成長も遅いのかもしれない。

トゲズネハリアリの巣から採集された有翅虫数のピークは、2008 年では 8 月 22 日、2009 年では 8 月 20 日、2010 年では 9 月 1 日で、2010 年は前年までの 2 年間より遅かった (図 2-7、2-8)。この違いについて、3 種類の気象条件 (気温と降水量、日照時間) から検討した。一つ目は気温の影響である。アリの活動は気温に左右されるため (Higashi & Peeters 1990; Heinrich 1993)、気温がワーカーの活動時間や未成熟個体の成長期間に影響を与え、有翅虫の出現時期を遅らせた可能性が考えられる。すでに述べたとおり、本種の未成熟個体は一年間で卵から成虫に成長すると考えられるため、前年の結婚飛行が終わった 9 月から翌年に蛹が出現する直前の 6 月までの気象条件が、卵や幼虫、蛹の発達に影響した可能性がある。そのため、例えば 2008 年の有翅虫であれば、2007 年の結婚飛行を終えた 9 月から 2008 年に蛹が出現する直前の 6 月までの気象条件を検討する必要がある。そこで、前年の 9 月から当年の 6 月までの気温を 3 年間で比較したところ、有意差があった (Friedman's test, $\chi^2 = 7.40$, $P < 0.05$)。paired t-test により年間で改めて比較したところ、sequential Bonferroni 法による補正後、有意差は検出されなかったが、2009 年と 2010 年の間で弱い有意性 ($P = 0.033$) があり、2010 年は低温な傾向があった。二

つ目に雨や雪の影響である。アリの活動は雨に左右され(Hölldobler & Wilson1990;東1993)、さらに本調査地は豪雪地域であるため、降水量はワーカーの活動時間に影響を与える可能性が考えられる。そこで、2008年から2010年の各年の前年の9月から当年の6月までの降水量を比較したが、有意な差はなかった(Friedman's test, $\chi^2 = 5.00$, $P > 0.05$)。三つ目は日照時間の影響である。多くのアリは昼行性で、日照時間がワーカーの活動時間に影響を与える可能性が考えられる。そこで、3年間の日照時間を気温や降水量と同様な方法で比較したが、有意な差はなかった(Friedman's test, $\chi^2 = 0.20$, $P > 0.05$)。降水量や日照時間の年間比較では有意差は得られなかったが、気温については2009年と比べて2010年の方が低い傾向があったことから、2010年については未成熟個体の成長が遅れた結果、有翅虫の出現が遅れた可能性はある。しかし有翅虫の出現が遅れた要因については、気象条件以外にも餌量が考えられる。その量が少なければ、幼虫の成長が遅れ、有翅虫の出現は遅れるだろう。

トゲズネハリアリの巣から採集された女王やワーカー、有翅メス、有翅オス、蛹、幼虫の数を2008年と2009年の間で比較したところ、有翅メス、有翅オス、蛹の数は2009年の方が多かった(図2-7, 2-8, 2-9)。これらの差について、先の3種類の気象条件から検討した。しかし、有翅虫の出現時期の年間比較と同様な方法により、2008年と2009年の間で気温や降水量、日照時間を比較したが、有意差はなかった(気温: paired t-test, $t = 1.189$, $P = 0.264$, 降水量: paired t-test, $t = 0.604$, $P = 0.537$, 日照時間: paired t-test, $t = 0.568$, $P = 0.583$)。ワーカー数は2年間で差がなかったことから、蛹数が2009年の方が多かったことは、この年により多くの有翅虫を生産していたことを示す。2009年に多くの有翅虫が出現していた理由は気象条件ではないため、餌が関係していたかもしれない。もし2009年には2008年と比べて多くの餌を得ることができれば、コロニーはワーカーを一定数生産した後、繁殖虫を多く生産して適応度をあげるようにしたかもしれない。

トゲズネハリアリの巣を3年間定期的に採集し、コロニーや巣の発達についての季節消長を調査した。有翅虫やワーカーの出現は年に一回だけで、本種の結婚飛行は夏の終

わりに行われていた。女王の繁殖活動は年間を通して行われており、本種の未成熟個体は一年間で卵から成虫に成長すると考えられた。有翅虫数の出現ピークは、3年間で変化していたが、一部の年に低温だったことが影響したと考えられた。また、有翅虫や一部の未成熟個体数が年間で異なったが、気象条件ではなく、餌量が影響していたようだった。最後に、本種の巣内には交尾した女王の他に棄翅しているが交尾をしていない女王も年間を通して採集された。このような未交尾女王については、次章で生理学的状態や形態からその意義について考察する。

表 1. 日本産ハリアリ亜科の結婚飛行の時期（日本産アリ類図鑑により作成）

学名	和名	時期
<i>Pachycondyla chinensis</i>	オオハリアリ	9月
<i>Pachycondyla pilosior</i>	ケブカハリアリ	8~9月
<i>Hypoponera nippona</i>	ヒゲナガニセハリアリ	8月下旬
<i>Hypoponera nubatama</i>	クロニセハリアリ	10月
<i>Hypoponera sauteri</i>	ニセハリアリ	8月
<i>Hypoponera zwaluwenburgi</i>	マルフシニセハリアリ	6月
<i>Odontomachus monticola</i>	アギトアリ	8~10月
<i>Ponera kohmoku</i>	マナコハリアリ	8月

3 章. 繁殖システムと社会構造

3 章．繁殖システムと社会構造

3-1. 背景

高度真社会性種では、女王とワーカーの二型性が知られており、カースト間で形態や行動が異なる(Wheeler 1991)。また、高度真社会性種における多くの種では、ワーカーは卵巢小管が退化する上に貯精嚢が欠如することもあるため、繁殖を行うことができない(Wheeler 1991)。このように、高度真社会性種では、カースト間で形態や行動、生理状態が異なることが報告されている。アリでは、種によってカースト間で形態的な分化の程度が異なる。例えば、ヤマアリ亜科 (Formicinae) やフタフシアリ亜科 (Myrmicinae) では、カースト間で形態が著しく異なるばかりでなく、体サイズは女王の方がワーカーよりかなり大きい。さらに、卵巢小管数についても、女王とワーカーの間で顕著な差があることが知られている (Hölldobler & Wilson 1990; Bourke & Franks 1995)。一方で、ハリアリ亜科ではカースト間の形態や生理状態の差は大きくない (Hölldobler & Wilson 1990; Peeters 1991)。Ito & Ohkawara (1994) は、35 種のハリアリ類において女王とワーカーの間で形態や生理状態を比較したところ、体サイズではわずか 1 種においてのみカースト間で著しい差があり、卵巢小管数については顕著な差がカースト間であったのは 5 種だけであったことを報告した。

ハリアリ亜科の多くの種では、女王とワーカー間で体サイズに顕著な差がなく、ワーカーも女王と同様に卵巢を保持する上、卵巢小管数は女王とワーカーの間でほとんど差がないことから、ハリアリ亜科は原始的なグループとみなされてきた (Hölldobler & Wilson 1990; Peeters & Ito 2001; Peeters & Molet 2010)。また、ハリアリ亜科の社会構造は注目すべき多様性を示すことが知られており (Peeters & Ito 2001; Peeters & Molet 2010)、他の多くのアリ類と同様に有翅女王だけが交尾し、棄翅した既交尾女王が産卵を行う種 (Alate queen 種) がもっとも一般的であるものの、無翅女王のみが交尾を行って繁殖する種 (Ergatoid queen 種) や形態的に区別できる女王が巣内に存在しない代わりに、交尾

した産卵ワーカーが繁殖を行う (Gamergate) 種もある。ワーカーによる有性繁殖は社会構造の進化を説明する上で重要であるため、現在までに Gamergate 種では、多くの生態学的研究がされている (e.g. Komene *et al.* 1999; Gobin *et al.* 2001; Andr *et al.* 2006; Monnin & Peeters, 2008; Shimoji *et al.* 2012)。一方、Alate queen 種についての研究も進んでいる。Peeters (1993) は、Alate queen を生産する 10 種において、女王数やコロニーサイズなどの社会構造を報告している。Ito & Ohkawara (1994) は、Alate queen を生産する 13 種において、女王とワーカー間での形態や生理状態を比較したところ、体サイズに著しい差がみられた種はなく、卵巢小管数では 3 種で著しい差を発見したと述べている。また、Gotoh & Ito (2008) は、ハリアリ亜科の中でも Alate queen 種について扱われた研究が少ないと指摘した上で、Alate queen 種である *Pachycondyla chinensis* におけるコロニー構成や繁殖システムを報告した。さらに最近では、Oliveira *et al.* (2011) は、ブラジル産ハリアリ *Odontomachus shastatus* において、女王数がコロニー間で大きく異なることを報告した。しかしながら、Gotoh & Ito (2008) や Oliveira *et al.* (2011) による研究はあるものの、ハリアリ亜科において Alate queen 種に焦点を当てた研究は依然として少ない (Masuko 2003; Kikuchi *et al.* 2007; Hart & Tschinkel 2012)。

第二章の結果から、トゲズネハリアリが Alate queen 種であることを確認した。トゲズネハリアリの繁殖システムに関しては、村田 (1994) が蟻類研究会の会報で報告している。それによると、本種は単女王制で、ワーカーによる産卵の可能性が示唆されているが、定量的なデータは示されていない。また、カースト間で体サイズや繁殖器官の状態が異なるかについても検討されていない。そこで本章では、トゲズネハリアリの繁殖システムを評価するために、野外で定期的に採集した巣から得た女王やワーカーを使用し、カースト間で体サイズや卵巢小管数、および卵巢発達の程度を比較した。また、トゲズネハリアリの巣内には交尾を行った女王の他に、棄翅しているものの交尾をしていない女王が年間を通して存在する。このような未交尾女王についても、既交尾女王やワーカーと体サイズや生理状態を比較することにより、その存在意義について考察する。

3-2. 方法

3-2-1. 採集

調査は新潟県十日町市立里山科学館に隣接する「キョロロの森」(37°05'N, 138°37'E)において行なった。採集方法は第二章で述べた方法と同であるが、本章に関係する部分については改めて述べる。2008 年から 2010 年の 4 月から 11 月の間、およそ 2 週間に一度の間隔で合計 45 回(調査間隔: 14.33 ± 0.47 日, 平均 \pm SE)採集した。毎回の調査ではアリが営巣している朽ち木をビニール袋に入れて、研究室に持ち帰った。2008 年と 2009 年の調査では調査地で見つけられたすべての巣を採集した。第二章の結果で示したように、トゲズネハリアリは多巣性である見込みが高く、2008 年と 2009 年のような調査では女王不在の巣が多く含まれた。そこで、2010 年の調査では、女王が存在すると期待される大きい朽木に営巣していた巣を採集した。研究室において、持ち帰った朽ち木をピンセットや剪定バサミなどを用いて慎重に壊し、朽ち木内の成虫や未成熟個体を取り出した。採集した成虫や未成熟個体については、計数後、石膏を用いた巣で飼育し(山口他 2010)、遅くとも 3 日以内に以下に述べるような方法で解剖と体サイズの測定を行った。野外から採集した巣は解剖までの間、恒温室(15°C)で維持したため、飼育していた間に成虫の卵巣の発達状態が大きく変化したとは考えられない。

3 年間の調査で採集した全ての女王 ($n = 323$) と 2008 年の調査で採集された全てのワーカー ($n = 813$) を解剖し、体サイズを測定した。ただし、2008 年 5 月 28 日の調査で採集した女王とワーカーについては、解剖前にアルコールに浸したため、卵母細胞の発達程度を確認したり、卵巣小管数を計数することはできなかったことから、データから除いた(女王 2 個体、ワーカー 192 個体)。

3-2-2. 解剖

双眼実体顕微鏡下(オリンパス, SZ2-ILST)で女王やワーカーの腹部を解剖し、受

精の有無や卵巢小管の数、卵巢の発達を観察した。交尾をしていた場合、貯精嚢は銀色に見える。また卵巢小管の数を計数し、記録した。卵巢の発達具合については、卵母細胞の発達程度から次の3種類のタイプに分けた。

タイプ I：全く発達していない。

タイプ II：卵母細胞はあるが小さく、卵巢は完全に発達していない。

タイプ III：卵巢は発達しており、産卵可能な卵を多数保有している。

卵巢小管内の卵母細胞が十分に発達し、産卵可能な状態であるかを判断した：採集した卵からランダムに5個を選択して、長径・短径を測定し、それぞれの平均値以上の卵母細胞であれば産卵可能な卵母細胞として扱った。

3-2-3. 体サイズの測定

双眼実体顕微鏡下でマイクロメーターを用いて、女王とワーカーの体サイズを測定した。第二章で明らかになったとおり、本種には既交尾女王と未交尾女王が通年見られる。本章では、ワーカーの他に既交尾女王と未交尾女王の体サイズを区別して計測した。測定した箇所は、頭幅 (head width) と胸幅 (thorax width)、腹幅 (abdomen width) である (図 3-1)。

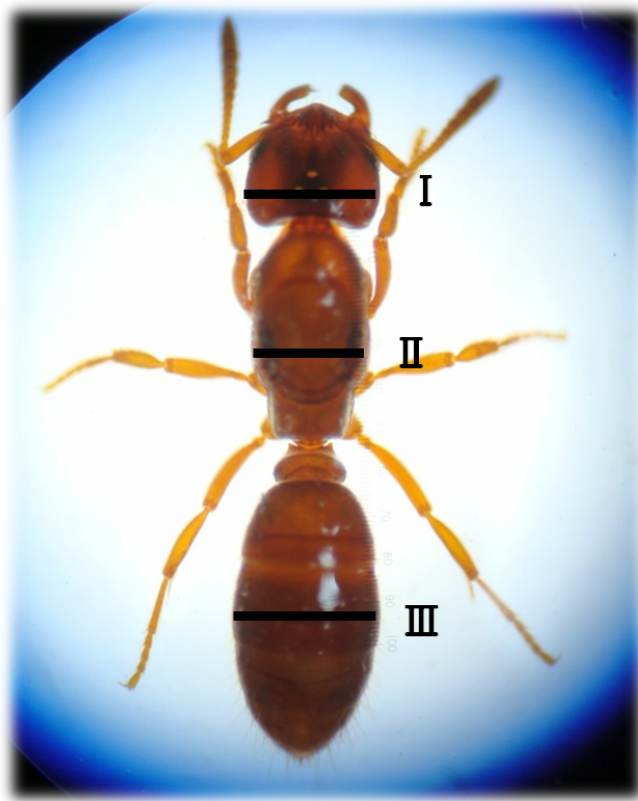


図 3-1. トゲズネハリアリの女王と形質サイズを測定した部位

I: 頭幅(head width), II: 胸幅(thorax width), III: 腹幅(abdomen width)

3-3. 結果

3-3-1. 成虫メスの卵巢発達

合計 942 個体（女王を 321 個体、ワーカーを 621 個体）を解剖し、卵巢小管の本数を計測するとともに卵巢の発達の程度を観察した。女王 321 個体のうち、194 個体には受精嚢に精子があったが、残りの 127 個体には受精嚢に精子はなかった。そこで以後、これらの女王をそれぞれ既交尾女王と未交尾女王として扱う。既交尾女王は結婚飛行（8 月と 9 月）後に増加し、未交尾女王は年間を通じて巢内に存在した（図 3-1）。

女王とワーカーの卵巢の発達の程度を評価するため、卵母細胞の発達の程度を 3 タイプ（材料と方法を見よ）に分けた（表 3-1）。既交尾女王の卵巢の発達程度は 29.89%がタイプ I、28.87%がタイプ II、41.24%がタイプ III であった。未交尾女王の卵巢の発達程度は 70.08%がタイプ I、28.35%がタイプ II、1.57%がタイプ III であった。ワーカーの卵巢の発達程度は 66.34%がタイプ I、33.66%がタイプ II であった。ワーカーで卵巢を十分に発達させていた個体（タイプ III）はいなかった。

既交尾女王と未交尾女王、ワーカーの間で卵巢を十分に発達させていた個体(タイプ III)の頻度を比較したところ、既交尾女王と未交尾女王間、既交尾女王とワーカー間に有意差があり（Fisher の正確確率検定後 sequential Bonferroni 法による補正後 $P < 0.001$ ）（図 3-2）、既交尾女王は未交尾女王やワーカーと比べ卵巢を発達させていた。本種の結婚飛行は 8 月下旬に行われると考えられるため、8 月以降に採集した女王には、結婚飛行後に脱翅した新女王が含まれている可能性がある（図 2-7）。女王の卵巢発達の程度を評価するにあたり、新女王と前年以前に結婚飛行を行った女王を分けて扱う方がより適切であると考えられるが、結婚飛行後の女王には営巣を開始した直後でまだ卵巢を発達させていない女王が含まれる可能性がある。そこで既交尾女王と未交尾女王を、結婚飛行前の 5~7 月に採集した女王と結婚飛行後の 8~11 月に採集した女王に分けて、卵巢の発達の程度を評価した（図 3-3）。結婚飛行の前後で分けた既交尾女王と未交尾女

王、ワーカーの間で卵巣を十分に発達させていた個体(タイプ III)の頻度について比較したところ、既交尾女王は未交尾女王やワーカーと比べて卵巣を発達させていた (Fisher の正確確率検定後、sequential Bonferroni 法による補正後 $P < 0.001$)。また予想された通り既交尾女王で卵巣を十分に発達させていた個体の頻度は結婚飛行前の方がその後よりも高かった (sequential Bonferroni 法による補正後 $P < 0.001$)。

次に卵巣小管数について評価した。卵巣小管数についてはカースト間で差があることが期待される。また女王については交尾の有無との関係を検討する必要がある。そこで、既交尾女王と未交尾女王、ワーカーの間で卵巣小管の数を比較した (図 3-4)。既交尾女王の 55.67%は 8 本、44.33%は 10 本の卵巣小管を持っていた (8.88 ± 0.12 , 平均 \pm SE)。一方、未交尾女王の 70.87%は 8 本、29.13%は 10 本の卵巣小管を持っていた (8.58 ± 0.09 , 平均 \pm SE)。また、ワーカーの 31.5%は 4 本、68.5%は 6 本の卵巣小管を持っていた (5.37 ± 0.02 , 平均 \pm SE)。既交尾女王と未交尾女王、ワーカーの間で卵巣小管数を比較したところ、有意差が見られた (ANOVA, $F=766.71$, $P < 0.001$)。そこで、t-検定を行い、どの比較の間に差があるかを検討したところ、既交尾女王とワーカー間、未交尾女王とワーカー間に有意差が見られ (sequential Bonferroni 法による補正後, $P < 0.001$) (図 3-4)、女王はワーカーよりも多くの卵巣小管をもっていることが判った。

さらに、既交尾女王と未交尾女王を既交尾で卵巣が発達した女王 (既交尾女王でタイプ III, $n=80$)、既交尾で卵巣が未発達な女王 (既交尾女王でタイプ I~II, $n=114$)、未交尾で卵巣が未発達な女王 (未交尾女王でタイプ I~II, $n=125$)に分け、卵巣小管の数をワーカーとともに比較した。なお、未交尾で卵巣が発達した女王 (未交尾女王でタイプ III, $n=2$)は個体数が少ないため、比較に用いなかった。既交尾で卵巣が発達した女王の 51.25%は 8 本、49.75%は 10 本 (8.97 ± 0.12 , 平均 \pm SE)、既交尾で卵巣が未発達な女王の 60.53%は 8 本、39.47%は 10 本 (8.79 ± 0.11 , 平均 \pm SE)、未交尾で卵巣が未発達な女王の 71.2%は 8 本、28.8%は 10 本 (8.58 ± 0.07 , 平均 \pm SE)の卵巣小管を持っていた。これらの 4 タイプのメスの間には卵巣小管数に差があった (ANOVA, $F=504.54$,

P<0.001)。そこで t-検定を行ったところ、女王とワーカーの間には強い有意差があり、すべての女王のタイプはワーカーよりも多く卵巢小管を保有していたが (sequential Bonferroni 法による補正後,P<0.001)、既交尾で卵巢が発達した女王と既交尾で卵巢が未発達な女王、未交尾で卵巢が未発達な女王の間で卵巢小管数に差はなかった (図 3-5)。

3-3-2. 体サイズ

体サイズはカースト間で差があることが期待される。また女王については交尾との関係を検討する必要がある。そこで、合計 942 個体 (女王 321 個体,ワーカー621 個体)について、体サイズを計測し、既交尾女王と未交尾女王、ワーカーの間で各形質を比較した (図 3-6A~C)。既交尾女王と未交尾女王、ワーカーの間で比較したところ、全ての形質で有意差が見られた (ANOVA,頭幅:F=447.96,P<0.001,胸幅:F=2610.21,P<0.001,腹幅:F=1388.27,P<0.001)。そこで、t-検定を行ったところ、全ての形質において女王はワーカーよりも有意に大きかったが (sequential Bonferroni 法による補正後,P<0.001)、既交尾女王と未交尾女王の間に有意差はなかった (図 3-6A~C)。

さらに、既交尾女王と未交尾女王を既交尾で卵巢が発達した女王 (既交尾女王でタイプ III, n = 80)、既交尾で卵巢が未発達な女王 (既交尾女王でタイプ I~II, n = 114)、未交尾で卵巢が未発達な女王 (未交尾女王でタイプ I~II, n =125)に分け、体サイズをワーカーとともに比較した。なお、未交尾で卵巢が発達した女王 (未交尾女王でタイプ III) は個体数が少ないため (n = 2)、比較に用いなかった。その結果、全ての形質で有意差が見られたが(ANOVA, 頭幅: F=298.57, P<0.001, 胸幅: F=2152.1, P<0.001, 胸長: F=1597.11, P<0.001, 腹幅: F=1001.85, P<0.001)、全ての形質において女王はワーカーよりも有意に大きかったものの (t-test, sequential Bonferroni 法による補正後 P<0.001)、女王は交尾の有無や卵巢の発達の程度により体サイズに違いはなかった (図 3-7A~C)。

3-3-3. 女王の交尾状態と巣構成の関係

トゲズネハリアリはブナ科の朽ち木を好んで営巣しており、特にミズナラ (*Quercus crispula*)やコナラ (*Quercus serrata*)に多くの巣がみられた。3年間で合計 533 巣を採集した (2008 年 : 134 巣、2009 年 : 197 巣、2010 年 : 202 巣) が、その内 327 巣では女王が存在しなかった。女王が存在した 206 巣のうち、127 巣では既交尾女王がいて、そのうち 98 巣は既交尾女王が 1 個体のみ存在した。127 巣のうちの残りの 33 巣では、2 個体以上の既交尾女王が巣内に存在したが、さらにその中の 27 巣では複数の既交尾女王が巣内に存在していたものの 1 個体の既交尾女王のみが卵巣を十分に発達させていた。これらの巣の頻度は季節を通して変化した (5 月 : 0 巣, 6 月 : 3 巣, 7 月 : 3 巣, 8 月 : 2 巣, 9 月 : 8 巣, 10 月 : 10 巣, 11 月 : 1 巣)。

交尾をした女王がいた場合といない場合で、巣構成に違いがあるかを評価するため、既交尾女王が存在した巣と存在しなかった巣の間で成虫 (ワーカーや有翅メス、オス、未交尾女王) や未成熟個体 (蛹と幼虫) の数を比較した (図 3-8~3-14)。その結果、ワーカー数では有意差はみられなかった (t -test, $F=0.01, P=0.98$) (図 3-8) が、有翅メス数については有意差がみられ、既交尾女王存在巣の方が多かった (t -test, $F=4.47, P<0.05$) (図 3-9)。既交尾女王存在巣と不在巣の間でオス成虫数に有意差はみられなかった (t -test, $F=1.32, P=0.25$) (図 3-10)。次に、既交尾女王存在巣と不在巣の間で未交尾女王数を比較したところ、有意差がみられ、既交尾女王存在巣の方が多かった (t -test, $F=38.01, P<0.001$) (図 3-11)。最後に、既交尾女王存在巣と不在巣の間で未成熟個体数や蛹数、幼虫数を比較したが、有意差はなかった (未成熟個体 : t -test, $F=0.02, P=0.88$, 図 3-12; 蛹数 : t -test, $F=0.63, P=0.43$, 図 3-13; 幼虫数 : t -test, $F=0.83, P=0.36$, 図 3-14)。

表 3-1. 女王とワーカーにおける卵巢の発達の種類

	ワーカー	未交尾女王	既交尾女王
タイプ I	412	89	58
タイプ II	209	36	56
タイプ III	0	2	80

タイプ I：全く発達していない。

タイプ II：卵母細胞はあるが小さく、卵巢は完全に発達していない。

タイプ III：卵巢は発達しており、産卵可能な卵を多数保有している。

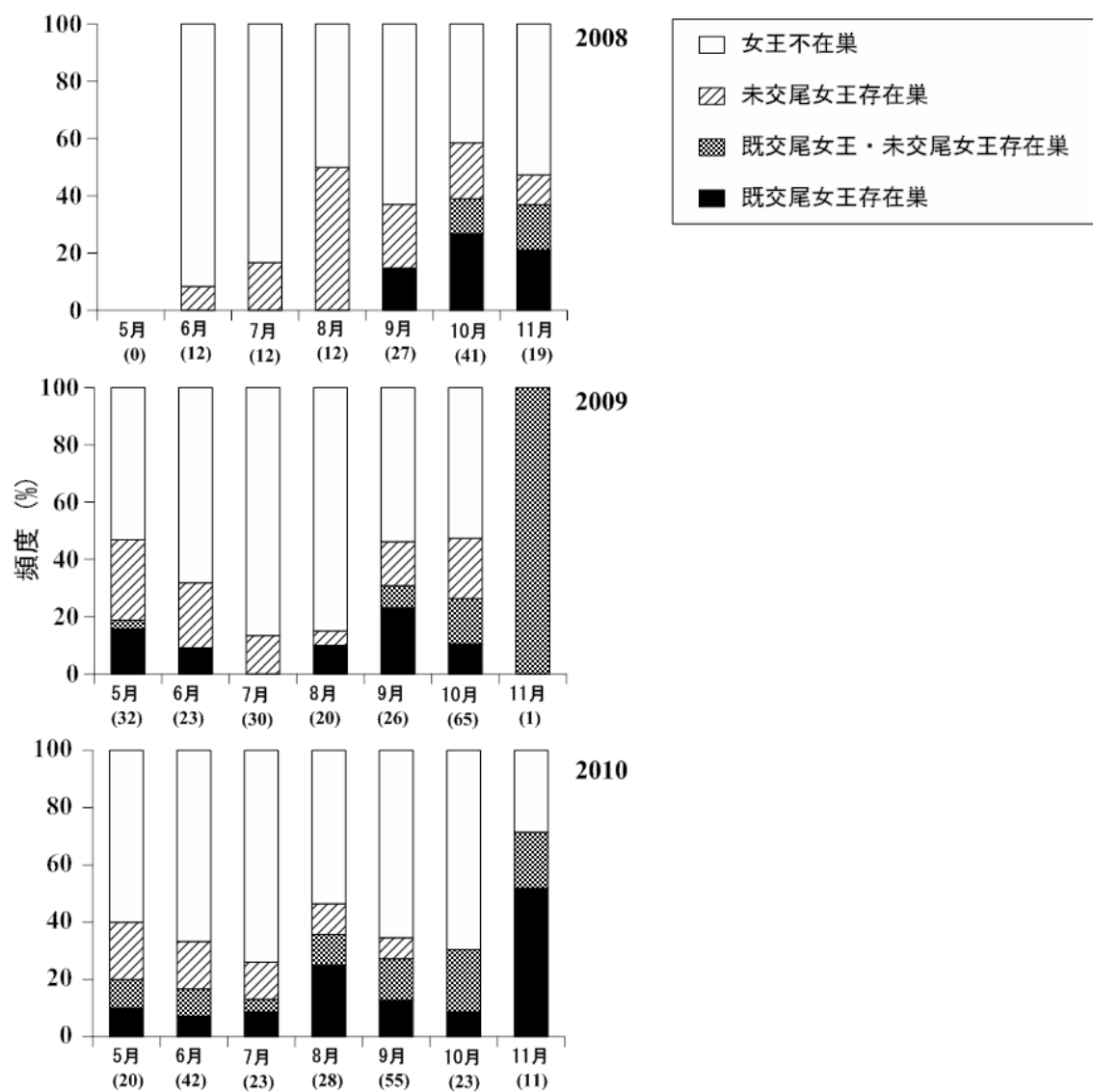


図 3-1. 女王存在巣と女王不在巣の頻度の季節変化

カッコ内は巣の数を示す。

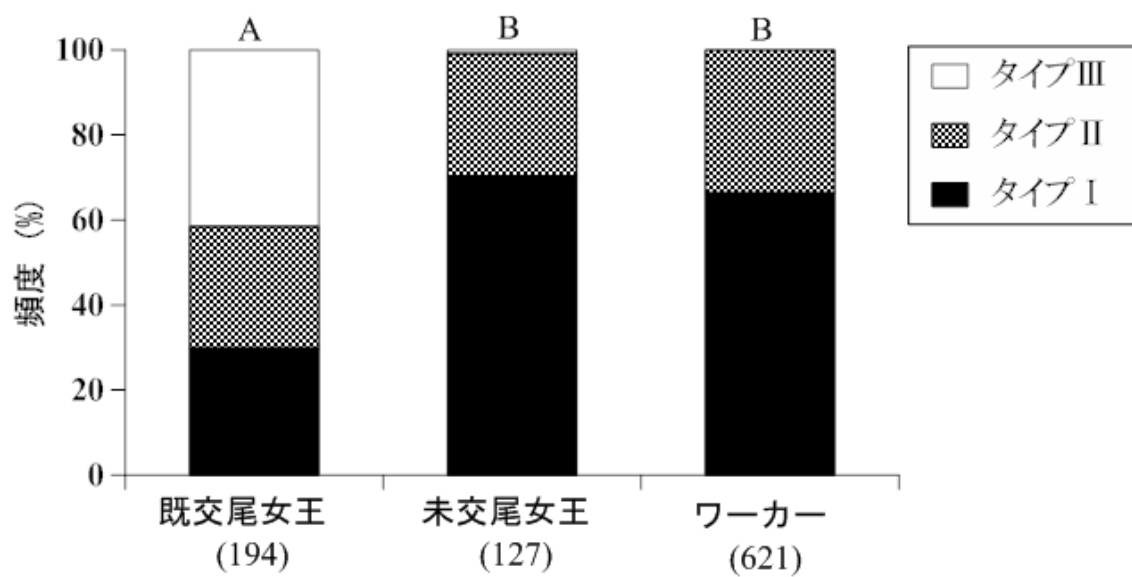


図 3-2. 既交尾と未交尾女王、ワーカー間における卵巣の発達と比較

カッコ内は個体数を示す。タイプ III の頻度について異符号間で有意差有(Fisher の正確確率検定後 sequential Bonferroni 法による補正後 $P < 0.001$)。

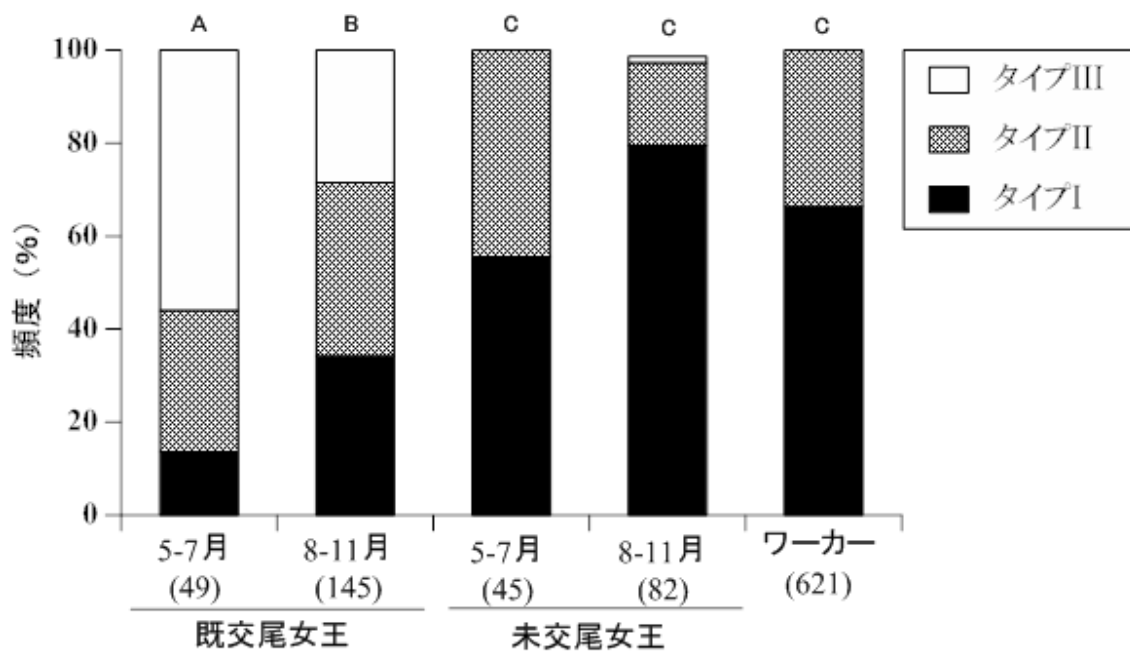


図 3-3. 結婚飛行前後の既交尾女王と未交尾女王、ワーカー間における卵巢発達の比較
 カッコ内は個体数を示す。タイプ III の頻度について異符号間で有意差有 Fisher の正
 確確率検定後 sequential Bonferroni 法による補正後 $P < 0.001$ 。

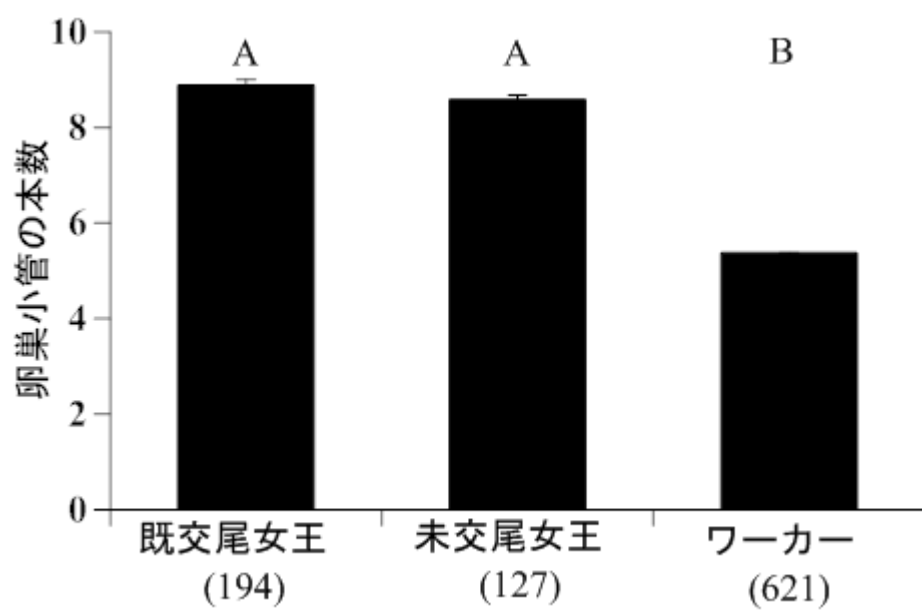


図 3-4. 既交尾女王と未交尾女王、ワーカー間の卵巣小管数の比較(縦棒は SE)

カッコ内は個体数を示す。t-検定により異符号間で有意差有, sequential

Bonferroni 法による補正後, $P < 0.001$ 。

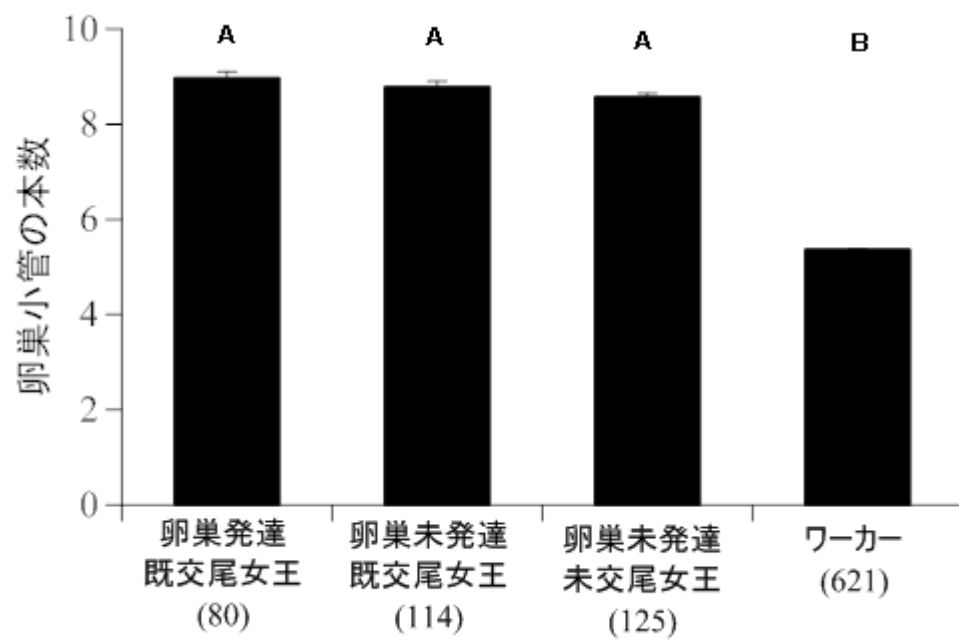


図 3-5. 既交尾女王と未交尾女王、ワーカーの卵巣小管数の比較(縦棒は SE)

カッコ内は個体数を示す。t-検定により異符号間で有意差有 (sequential Bonferroni 法による補正後 $P < 0.001$)。

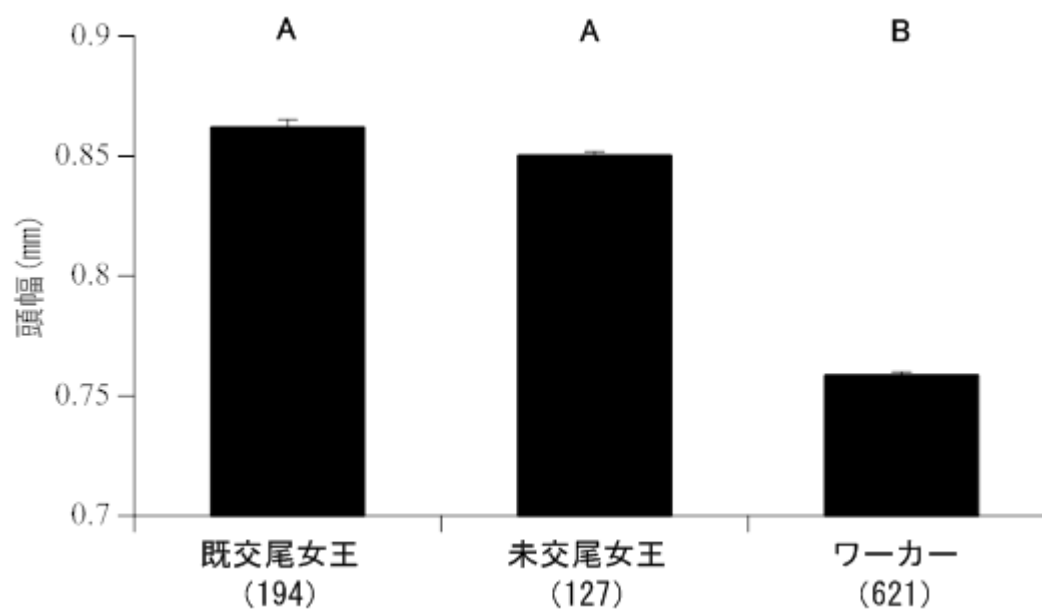


図 3-6 A. 既交尾女王と未交尾女王、ワーカーの頭幅の比較(縦棒は SE)
カッコ内は個体数を示す。t-検定により異符号間で有意差有 (sequential Bonferroni 法による補正後 $P < 0.001$)。

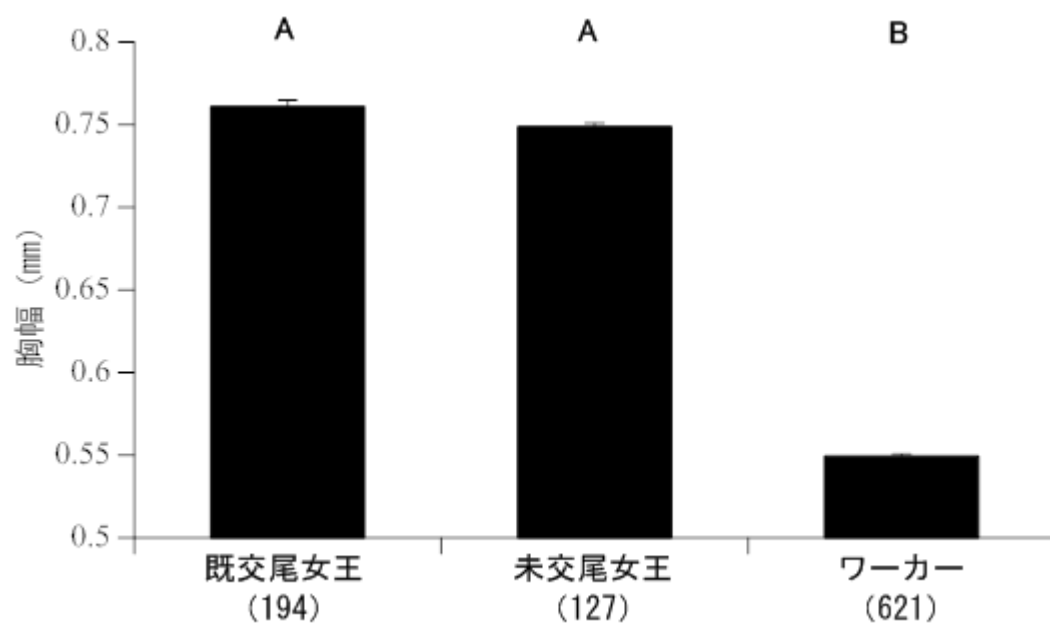


図 3-6 B. 既交尾女王と未交尾女王、ワーカーの胸幅の比較(縦棒は SE)
カッコ内は個体数を示す。t-検定により異符号間で有意差有 (sequential Bonferroni 法による補正後 $P < 0.001$)。

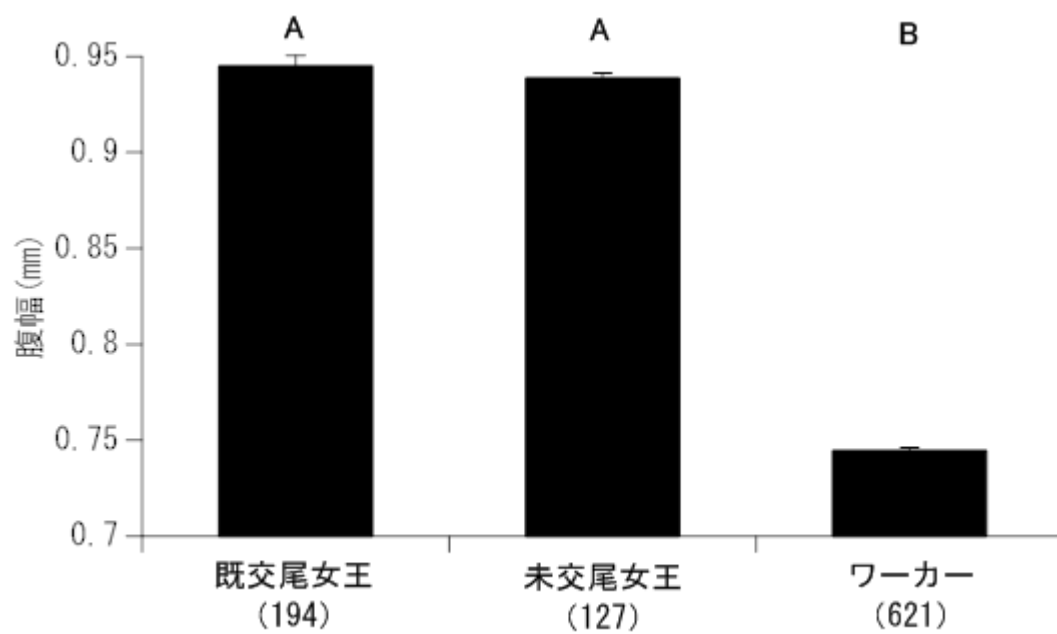


図 3-6 C. 既交尾女王と未交尾女王、ワーカーの腹幅の比較(縦棒は SE)
カッコ内は個体数を示す。t-検定により異符号間で有意差有 (sequential Bonferroni 法による補正後 $P < 0.001$)。

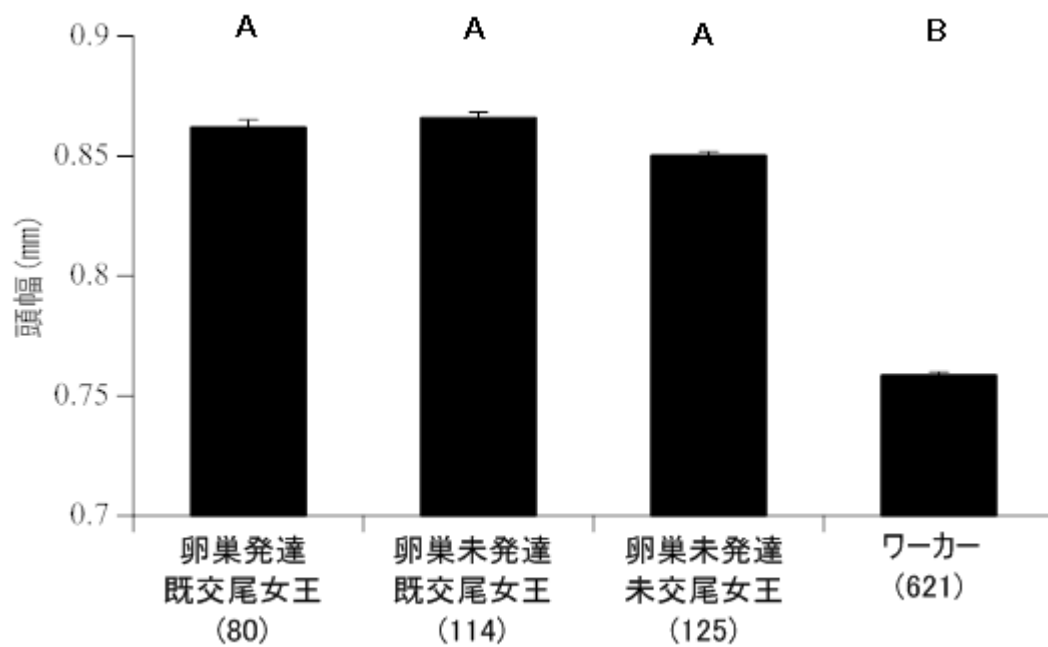


図 3-7 A. 既交尾女王と未交尾女王、ワーカーの頭幅の比較(縦棒は SE)
カッコ内は個体数を示す。t-検定により異符号間で有意差有 (sequential Bonferroni 法による補正後 $P < 0.001$)。

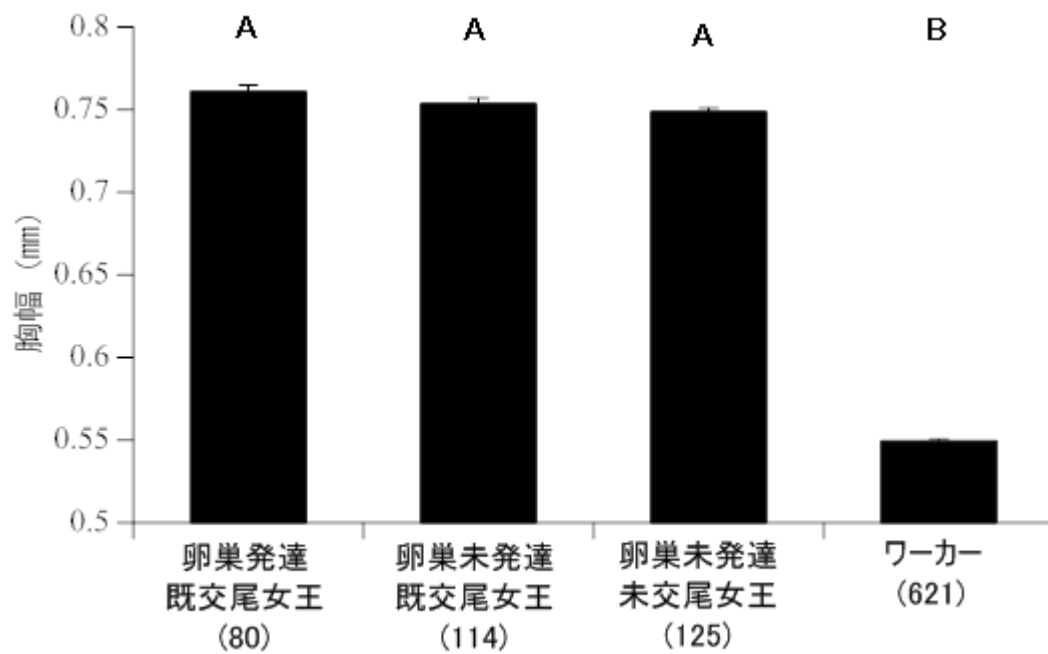


図 3-7 B. 既交尾女王と未交尾女王、ワーカーの胸幅の比較(縦棒は SE)

カッコ内は個体数を示す。t-検定により異符号間で有意差有 (sequential Bonferroni 法による補正後 $P < 0.001$)。

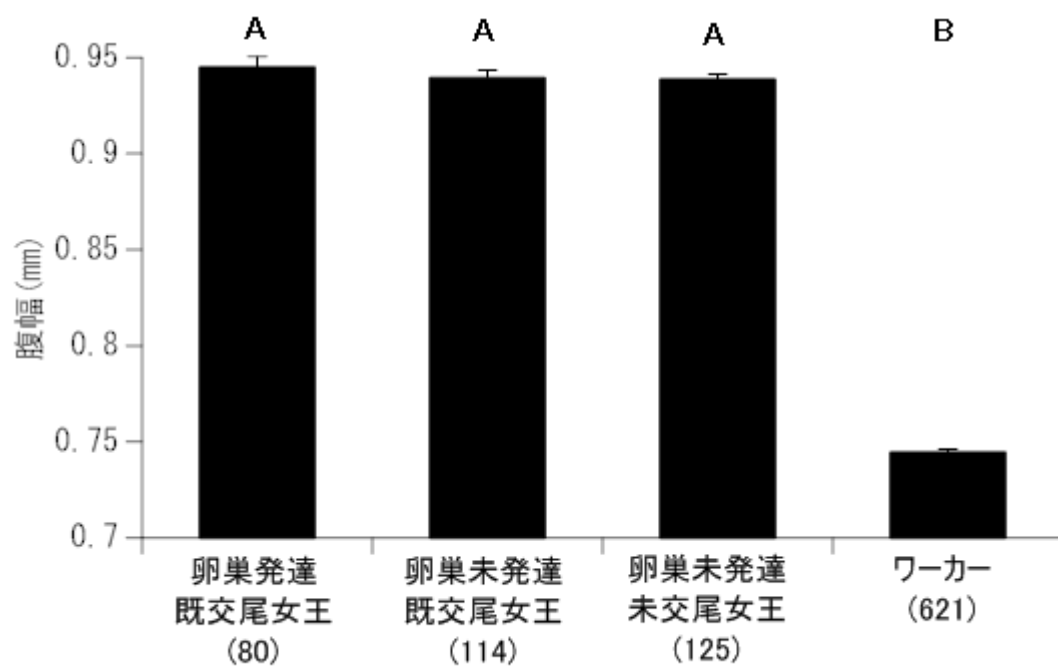


図 3-7 C. 既交尾女王と未交尾女王、ワーカーの腹幅の比較(縦棒は SE)

カッコ内は個体数を示す。t-検定により異符号間で有意差有 (sequential Bonferroni 法による補正後 $P < 0.001$)。

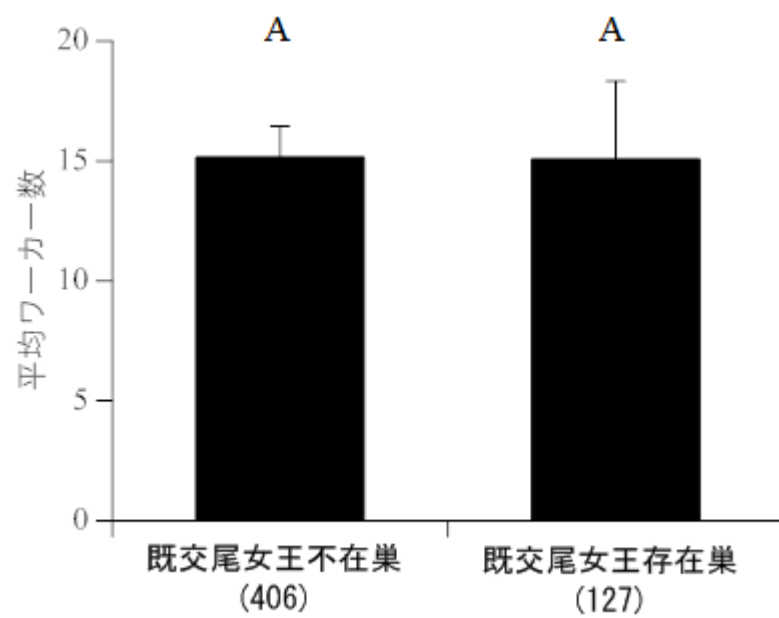


図 3-8. 既交尾女王不在巣と存在巣の間でワーカー数を比較(縦棒は SE)

カッコ内は巣数を示す。t-検定有意差無。

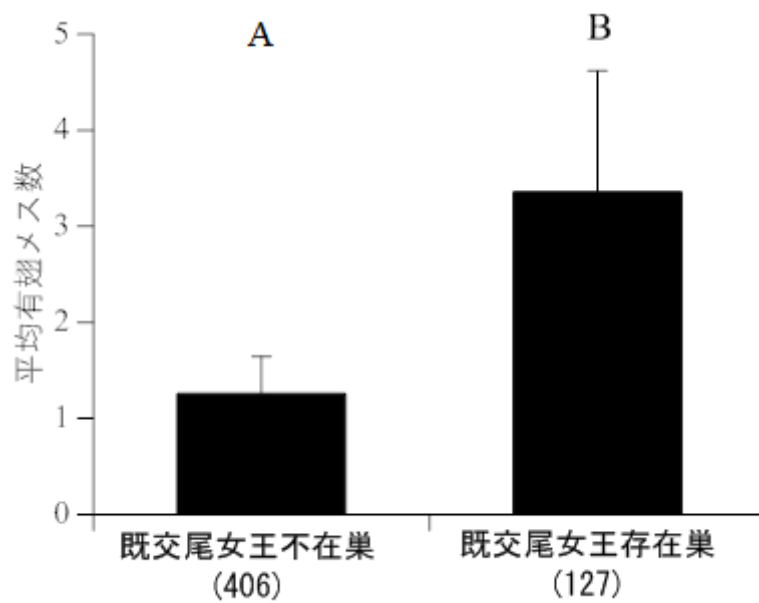


図 3-9. 既交尾女王不在巣と存在巣の間で有翅メス数を比較(縦棒は SE)

カッコ内は巣数を示す。t-検定異符号間で有意差有($P < 0.05$)。

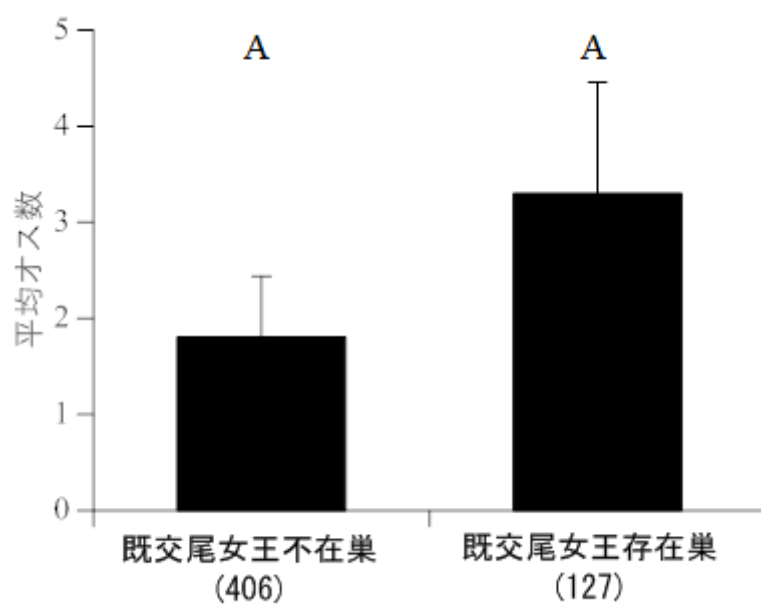


図 3-10. 既交尾女王不在巢と存在巢の間でオス数を比較(縦棒は SE)

カッコ内は巣数を示す。t-検定有意差無。

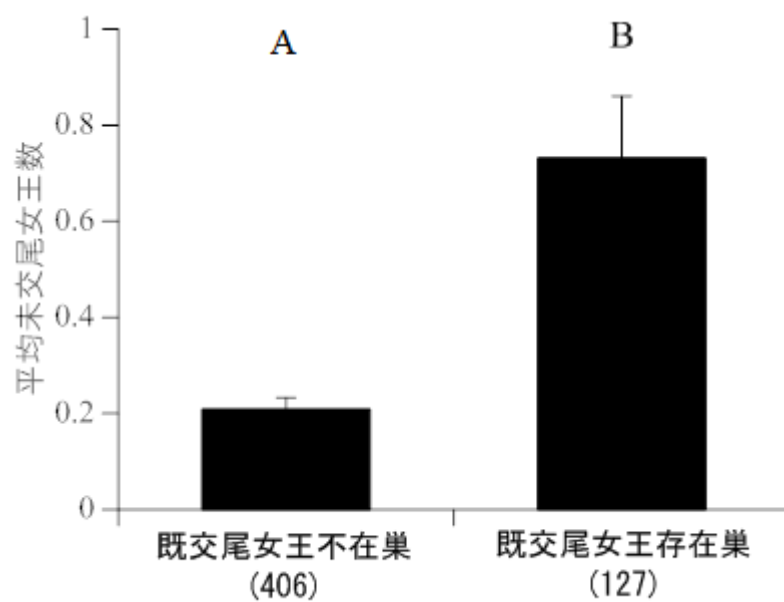


図 3-11. 既交尾女王不在巣と存在巣の間で未交尾女王数を比較(縦棒は SE)

カッコ内は巣数を示す。t-検定異符号間で有意差有 ($P < 0.05$)。

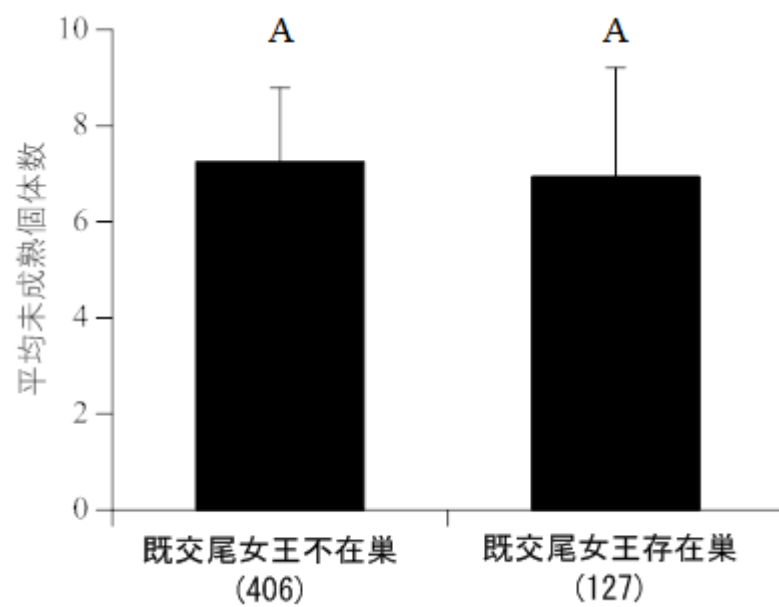


図 3-12. 既交尾女王不在巣と存在巣の間で未成熟個体数を比較(縦棒は SE)

カッコ内は巣数を示す。t・検定有意差無。

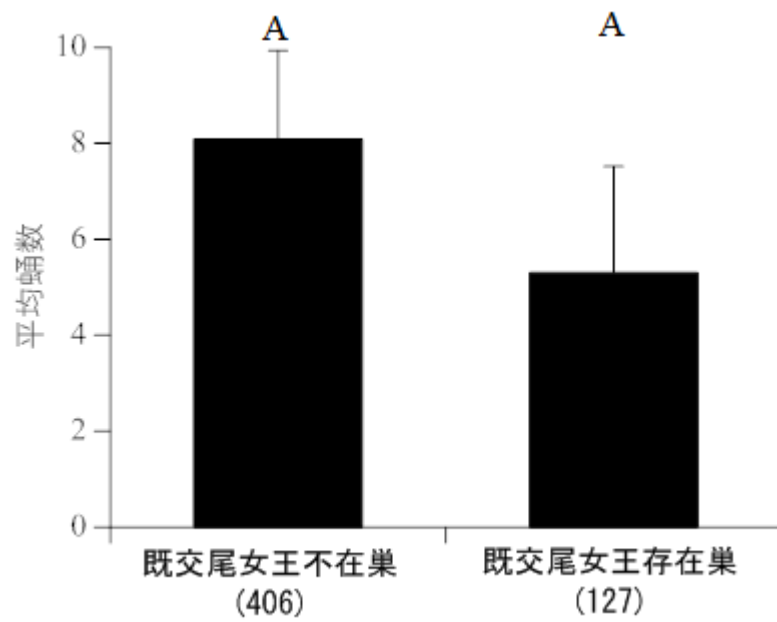


図 3-13. 既交尾女王不在巢と存在巢の間で蛹数を比較(縦棒は SE)

カッコ内は巣数を示す。t-検定有意差無。

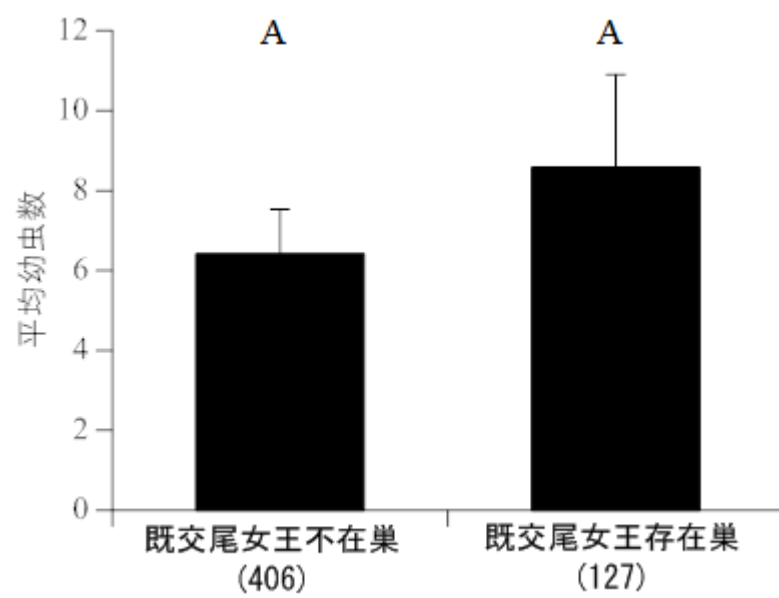


図 3-14. 既交尾女王不在巣と存在巣の間で幼虫数を比較(縦棒は SE)

カッコ内は巣数を示す。t-検定有意差無。

3-3. 考察

3-3-1. 女王 - ワーカー間のサイズおよび生理的特徴の比較

ハリアリ類は以下で述べるいくつかの理由によって、原始的と扱われてきた: (1) 女王とワーカー間で体サイズに顕著な差がなく、(2) ワーカーも女王と同様に卵巢を保持する上、(3) 卵巢小管数についても女王とワーカーの間でほとんど差がない (Hölldobler & Wilson 1990; Peeters & Ito 2001; Peeters & Molet 2010)。ハリアリ類でカースト間の生理状態と形態的特徴が比較されている。Peeters (1993) は、女王とワーカー間で卵巢小管の本数や体サイズを比較し、女王とワーカーがほぼ同じ卵巢小管数であった上、体サイズ差についてもヤマアリ亜科やフタフシアリ亜科のように顕著ではないことを報告した。Ito & Ohkawara (1994)は、ハリアリ類 33 種においてカースト間で卵巢小管数を比較し、その差が 5 種では顕著であったが、残りの 28 種では、女王とワーカーがほぼ同じ数であることを示した。また著者らは、33 種のハリアリの内わずか 1 種で体サイズ (頭幅) に著しい分化があっただけで、ほとんどの種ではカースト間で体サイズに顕著な差がないことを示した。トゲズネハリアリではカースト間で卵巢小管数や体サイズで有意な差が示されたが、この差は他のハリアリ類と同様に顕著な差ではない。ヤマアリ亜科やフタフシアリ亜科の報告では女王の体サイズはワーカーと比べてはるかに大きい (*Lasius psammophilus*: 31.60 倍, *Formica fusca*: 8.96 倍, *Myrmica rubra*: 9.11 倍, Marie 1996)。

トゲズネハリアリにおける腹幅の女王 / ワーカー比は 1.27 で、Ito & Ohkawara (1994) で報告されている Alate queen の 11 種で観察された平均値 (1.28) と同様だった。トゲズネハリアリにおける頭幅の女王 / ワーカー比は、1.13 であったが、これは Kikuchi & Tsuji (2005) によって報告された Alate queen 種 *Probolomyrmex longinodus* の結果 (1.16) と類似している。さらに、Kikuchi & Tsuji (2005)は、この種において女王とワーカーがほぼ同じ卵巢小管数であったことを報告している。対照的に、Gotoh & Ito (2008) は Alate

queen 種のオオハリアリにおいて、ワーカーが卵巣を退化させている一方で女王が平均 26 本の卵巣小管数をもっているが、頭幅の女王 / ワーカー比は小さく、1.14 であったと報告した。なお、Peeters (1993) や Ito & Ohkawara (1994) では、女王とワーカー間の体サイズの差を統計的に検討していないが、Kikuchi & Tsuji (2005)や Gotoh & Ito (2008) では、女王がワーカーよりも統計的に大きいことが示されている。ハリアリ類において得られている女王とワーカー間の卵巣小管数や体サイズ差についての先行研究は、ハリアリ類におけるカースト間の形態的な違いはたいてい小さいものの、生理的な違いには変異が大きい種があることも示しており、今後さらに多くの種において検討されるべきである。

3-3-2. 社会構造

コロニーや巣の中でどの個体が繁殖を行うかを明らかにすることは、メンバー間の繁殖上の軌轢や共同のメカニズムを解き明かす上で重要である(Hölldobler & Wilson1990)。アリの多くでは、交尾した女王が繁殖を行い、ワーカーが未成熟個体の養育や巣外での採餌に従事する一方で、ワーカーも卵巣小管をもち、交尾をしなくてもオス卵を産むことができる。トゲズネハリアリにおいて、交尾をした女王とワーカーのどちらが繁殖に関わったかを議論する必要があるが、本種には既交尾女王の他に未交尾女王がいて、未交尾女王は一年間を通して存在していた (図 3-1)。第 2 章の結果から、繁殖虫の交尾は 8 月以降に起こると考えられるため、5~7 月に採集できた未交尾女王は前年までに出現した個体であると言える。そこでまず、未交尾女王と既交尾女王のどちらが繁殖に関わっていたかを議論する。既交尾女王と未交尾女王の間で卵巣の発達を比較したところ、既交尾女王は未交尾女王に比べ卵巣を発達させていた (図 3-2)。未交尾女王の一部にも産卵可能な卵をもった個体 (タイプ III)はいたが、その頻度は大変低かった (図 3-2)。したがって、本種には未交尾女王と既交尾女王がコロニー内に存在していても、既交尾女王がほぼ独占的に繁殖を行っていると言える。既交尾女王と未交尾女王の間で

卵巢の発達程度は大きく異なっていた一方で、卵巢小管数は既交尾女王と未交尾女王の間に差はなかった (図 3-4)。さらに、交尾をしていたかだけでなく、卵巢の発達の程度により卵巢小管数に差があるかについても検討したが、卵巢小管数に有意な差はなかった (図 3-5)。このことから、卵巢小管の多い女王、すなわち潜在的に繁殖能力の高い女王が繁殖に関わっていたと結論付けることはできない。また体サイズについても卵巢を発達させた既交尾女王と、卵巢を発達させていなかった既交尾女王や未交尾女王の間に差はなかった (図 3-7 A~C)。したがって本種では、体サイズの差が要因となり繁殖個体が決定しているとも考えられない。しかし、数は少ないが、2 個体の未交尾女王が産卵可能な卵をもっていた。これらの未交尾女王は既交尾女王が存在しない巣から採集されたため、優位な個体が存在しない条件下では未交尾女王も稀に産卵を行うことがあるのかもしれない。

トゲズネハリアリのワーカーには、女王よりも少ないものの、卵巢小管があった (図 3-4)。このことは、ワーカーが卵巢を発達させることも潜在的には可能であることを示唆する。また、榎田 (2013) によると、トゲズネハリアリでは 1 回交尾した 1 個体の女王が繁殖を行っているため、ワーカーからみた兄弟に対する血縁度 (0.25) と比べ、自身の息子 (0.5) や他のワーカーの息子 (甥) (0.375) の方が高い。この場合、ワーカーによるオスの生産がワーカーにとって遺伝的利益があることになる。しかし、本研究からトゲズネハリアリのワーカーで産卵可能な卵母細胞をもつ個体 (タイプ III) はいなかった (図 3-2)。しかも、本種が多巣性であることを考えると、女王不在の巣にいたワーカーが繁殖を開始しなかったことは驚きである。そこでトゲズネハリアリにおいてワーカーの繁殖が抑制されている要因について検討する。まず、第一に女王が直接的にワーカーの繁殖を抑える *queen policing* が考えられる。女王にとっては自身の息子に対する血縁度 ($r=0.5$) の方が、ワーカーの息子に対する血縁度 ($r=0.25$) よりも高いため、女王はワーカーへの攻撃行動 (Tsuji et al. 1999) や、ワーカー卵を食べること (Monnin & Ratnieks 2001) によりワーカーの繁殖活動を抑制することが期待される。しかし、トゲ

ズネハリアリは多巣性種であり、女王により全てのワーカーに対し直接的に接触が行われることは難しいため、この可能性は低いだろう。第二に女王の存在を知らせる情報物質を通して、ワーカーの繁殖を抑制している可能性が考えられる。ワーカーの繁殖を取り締まる女王存在物質については近年複数のアリの分類群で調べられており (Ortius & Heinze 1999; Heinze et al. 2002; Hannonen et al. 2002; Dietemann et al. 2005; Monnin 2006)、女王存在物質の存在は実験的に証明され、コロニーメンバー間で女王存在物質が共有されていることが明らかにされた (Endler et al. 2004; Liebig et al. 2005)。例えば、フロリダオオアリ (*Camponotus floridanus*) では、女王存在物質は女王が産んだ卵の表面上に存在し、ワーカーはそれらの卵を巣の隅々にまで広範囲にわたって置いている。そして、それらの卵を媒介とした女王存在物質によりワーカーの繁殖は抑制される (Endler et al. 2004)。しかし、トゲズネハリアリのワーカーは巣内に卵がない状況でも産卵を行っていなかったことから、本種ではこの可能性は低いと考えられる。また最近、単女王で多巣性種の *Novomessor cockerelli* では、女王不在巣のワーカーは卵と接触しても繁殖を始める個体が出現する一方、幼虫と接触すると繁殖が抑制されることが報告された (Ebieet al. 2015)。しかし、トゲズネハリアリのワーカーは巣内に卵や幼虫が存在するしないに関わらず、産卵を行っていなかったことから、本種では *N. cockerelli* で報告された現象は当てはまらない。一方で、巨大なコロニーを持つミツバチやオオアリ類では、女王と直接接触して女王存在物質を受け取ったワーカー (メッセンジャーワーカー) が女王と直接接触していない他のワーカーと接触することで、女王存在物質が全コロニーメンバーに伝達され、ワーカーは繁殖を抑制する (Seeley 1979; Neumann et al. 1991; Endler et al. 2006)。トゲズネハリアリは多巣性種であるが、女王が存在しない巣であってもワーカーによる交流が行われていると考えられるため、メッセンジャーワーカーを媒介とした女王存在物質によりワーカーの繁殖が抑制される可能性はある。第三にワーカーが産卵を行うことによってコロニーの生産性を低下することが考えられる。産卵に関わるワーカーが存在すれば、その分、労働量は減少するため、全てのワーカーが利己

的に産卵を行うとコロニー全体の生産性が低下する。結果的にコロニーや巣という単位でみると不利になるため、ワーカーによる産卵は進化しないという考え方である(Cole 1986; Ratnieks 1988; Iwashi 2003)。この考え方については、トゲズネハリアリにおけるワーカーの繁殖が抑制されている要因を説明できるかもしれない。

3-3-3. 単女王制と未交尾女王の存在

一般的にハリアリ類の多くは単女王制であることが報告されている (Peeters & Ito 2001)。Ito (1998)は、東南アジアにおける調査でハリアリの 74%が単女王制種であることを報告した。トゲズネハリアリでも既交尾女王を含む巣の多くは、既交尾女王が 1 個体であった。実際に、分子遺伝学的データは、トゲズネハリアリでは 1 個体の女王が繁殖を行っていることを示した(楨田 2014)。また、トゲズネハリアリにおいて複数の既交尾女王を含む巣もわずかにあったが、それらの巣のほとんどは卵巣を発達させていた個体が 1 個体であった。すなわち、これらの巣は機能的単女王制 (Functional monogyny) である可能性を示唆している。多女王制種では巣内に存在する複数の女王が産卵を行うが、機能的単女王種では巣内に複数の既交尾女王が存在していても、最も優位な女王だけが産卵を行う (Heinze & Gratiashvili 2015)。機能的単女王制はムネボソアリ亜科でよく知られているが、他の亜科では稀であり、女王の形質や齡、餌資源などの至近的要因によって生じることが報告されている (Bourke & Franks 1995)。

一方、トゲズネハリアリでは、既交尾女王の他に未交尾女王を含む巣が年間を通じて多く採集された。未交尾女王の存在は、多女王制種において 10 属 18 種で報告されており (Bourke & Franks 1995; Brown 1999; Johnson et al. 2007)、機能的単女王制種において 2 種のみが知られている (*Pyramica hexamera*: Ohkawara et al. 1993; *Probolomyex longinodus*: Kikuchi & Tsuji 2005)。本種において一年間を通して存在していた未交尾女王にはどのような役割があるのだろうか。繁殖カーストである女王は、基本的に繁殖に関する仕事以外は行わない。そのため、労働に特化し、繁殖を行わないワーカーがコロニ

一内に多く存在し、コロニーの維持に関する様々な仕事に努める。しかし、本種で通年確認された未交尾女王は体サイズがワーカーよりも大きく、その生産にエネルギー上のコストがかかる上、巣内の餌を消費するため、その存在はコロニーにとって大きな不利と考えられる。したがって、未交尾女王は巣内、もしくはコロニー内で何らかの役割を果たしていると考えた方が良いだろう。そこで、私たちはトゲズネハリアリにおいて通年見られる棄翅の未交尾女王の適応的意義についていくつかの可能性を検討する。これまでに未交尾女王の存在を説明した 5 つの仮説が提案されている。第一に、Bourke & Franks (1995) は、未交尾女王が未受精卵 (オス卵) を生産する社会寄生者である可能性を述べているが、本種の未交尾女王が産卵を行っている証拠は発見できなかったため、この仮説はトゲズネハリアリではほとんどありえない。第二に、Vargo (1993) は、*Solenopsis geminata* の未交尾女王が主に栄養卵の生産者の役割を果たすことを報告している。しかし、本種のワーカーは機能的に卵巣を持ち、潜在的に卵を産むことができることから、未交尾女王が栄養卵を産む利益は低いだろう。第三に、Brown (1999) や Johnson et al. (2007) は、*Messor andrei* や *Pogonomyrmex pima* の未交尾女王が産卵を放棄し、労働力として生まれた巣にとどまることを示唆している。しかし、トゲズネハリアリを飼育しても既交尾女王だけでなく、未交尾女王も採餌活動を行わず、未成熟個体の近辺にいることから、トゲズネハリアリで採集された多くの未交尾女王が労働のために存在する可能性は低いだろう(山口 2010)。一方、Kikuchi & Tsuji (2005) は、約 85% の女王が未交尾である *P. longinodus* において、すでに述べた 3 種類の仮説をあてはめることはできず、未交尾女王が単に結婚飛行に失敗した結果である可能性や、次の繁殖期に交尾するために未交尾女王が生まれた巣に留まる「遅延交尾戦略」を採用する可能性を提案している。これらの最後の 2 つの仮説については、トゲズネハリアリで採集された未交尾女王について説明できるかもしれない。

3-3-4. 多巢性

本種の生態で注目すべき特徴の一つは、女王不在の巣が通年で、しかも 3 年間の調査を通して高い頻度で出現したことである (平均 : 60.12%)。このように女王不在巣が著しく高い頻度で存在することは、隣接した巣間の血縁関係が分からないため断言できないが、トゲズネハリアリが多巣性であることを強く示唆している。多巣性のアリでは、1 つのコロニーが空間的に分離した複数の巣をもち、ワーカー自身だけでなく、ワーカーにより未成熟個体や餌が行き来をしている (Debout et al. 2007)。アリでは多巣性は古くから知られており (Way 1954; Traniello & Levings 1986; Buschinger et al. 1994; Ebie et al. 2015)、いくつかのハリアリ類でも知られている (*Hypoponera bondroiti*: Yamauchi et al. 1996; *Pachycondyla goeldii*: Denis et al. 2006)。現在、多巣性システムの適応的意義について、10 以上の仮説が提案されている (Snyder & Herbers 1991; Banschbach & Herbers 1996; Pedersen & Boomsma 1999; Dillier & Wehner 2004; Denis et al. 2006; Debout et al. 2007; Gotoh & Ito 2008; Lanan et al. 2011)。その中でも主要な考えを 8 種類挙げる。

- (1) 採餌エリアの拡大 (Denis et al. 2006; Lanan et al. 2011)
- (2) 捕食者や寄生者に対するコロニーの防衛 (Denis et al. 2006)
- (3) 発達段階の異なる未成熟個体の養育 (Pedersen & Boomsma 1999; Gotoh & Ito 2008)
- (4) 巣の物理的な制限 (Debout et al. 2007)
- (5) 急激な気象変化への対応 (Denis et al. 2006)
- (6) 巣別れの過程の副産物 (Debout et al. 2007)
- (7) 多女王コロニーにおける女王間の軋轢の解消 (Pedersen & Boomsma 1999)
- (8) ワーカーが産卵する種における女王とワーカー間の軋轢の解消 (Snyder & Herbers 1991)

トゲズネハリアリで多巣性が進化した適応的意義について説明可能な仮説がいくつかある。最初は (1) で、多巣性では採餌効率が増すことに関係する。多巣性コロニーは

空間的に分離した複数の巣をもつことから、巣と周囲の餌資源との間の距離が減少するため、利用可能な食物源量が増加する(Dillier & Wehner 2004; Lanan et al. 2011)。トゲズネハリアリのワーカーは、リター内に少数存在する双翅目幼虫を餌として好む(山口他 2010)。そのため、この説明はトゲズネハリアリで多巣性が進化した適応的意義について説明できる可能性がある。(2) についても、トゲズネハリアリで説明できるだろう。トゲズネハリアリにおける多数のサテライト巣はその一部が捕食者や寄生者に破壊されても、コロニー全体が壊滅されることはないかもしれない (McGlynn et al. 2004 ; Ellis & Robinson 2014)。あるいは、捕食者や寄生者により攻撃されたサテライト巣内の個体は同じコロニーの他の巣に避難することができるだろう (Orivel & Dejean 1999)。(3) についても、トゲズネハリアリで説明できる。トゲズネハリアリで採集された多数のサテライト巣は、未成熟個体を効率的に養育するために機能するかもしれない。枯れ枝に生息する多巣性のオオハリアリにおいて、その可能性が議論されている (Gotoh & Ito 2008)。アリの未成熟個体は一般的に成長するために適した環境条件が発達段階で異なる。繭は高い温度と低い湿度が必要となり、卵や幼虫の生存には高い湿度が必要とされる (Scherba 1959)。本調査地においてトゲズネハリアリの巣は、冬の間(12~4月)、朽木から採集されなかった。これは本種が冬の間地中に移動し、夏の間地上の朽木に営巣しているためと考えられる。このことから本種は気候の変化に応じて巣を移動している可能性が高い。同様に未成熟個体についても、発達段階に応じてより適した環境に移動させている可能性が考えられる。また、(4)についても、トゲズネハリアリで説明できるだろう。地中に巣を作る種に比べ、樹上や朽木に営巣する種は営巣する空間に物理的な制限がある。トゲズネハリアリは朽木内の限られた空間に営巣するため、コロニーが成長して個体数が増えると、一部が空間的に独立した巣に移動するのかもしれない。その他、豪雨のときにサテライト巣の一部が失われた場合でもコロニー全体への影響が限定的と述べた仮説 (5) についても、トゲズネハリアリにおける多巣性の存在を説明できるだろう。一方、(6) については、トゲズネハリアリは *Alate queen* 種であることから (第

2 章)、適応できないし、(7)についても、トゲズネハリアリは単女王種であることから（第 3 章）、この可能性はないだろう。さらに、(8)についても、トゲズネハリアリのワーカーが産卵を行った証拠は得られていないことから、見込みはないだろう。

4 章. 成虫間の巣仲間認識

4 章. 成虫間の巣仲間認識

4-1. 背景

社会性昆虫は近縁者に対する投資を行い、遺伝的利益を高めるために、巣仲間を認識する（アリ: Vander Meer & Morel 1998; 社会性ハチ類: Singer et al. 1998）。羽化したばかりの成虫は、羽化後数時間以内にコロニー特有の“臭い”を獲得する (Isingrini et al. 1985; Feneron & Jaisson 1995; Signorotti et al. 2013)。“臭い”は成虫の体表炭化水素 (Cuticular Hydrocarbons, 以下 CHCs と省略) として表現され、巣内において個体間の栄養交換やグルーミングが行われると巣仲間で CHCs が共有される (Vargo & Passera 1991; Lenoir et al. 1998)。その結果、巣仲間の個体どうしであればその成分は似ている。2 個体の成虫が出会ったとき、2 個体は互いの CHCs の成分や組成を確認し、異なるときには攻撃的な行動へと発展していくが、似た成分や組成であれば栄養交換を行うなど、友好的な行動を示す。例えば、Ozaki et al. (2005) は、日本に広く分布するクロオオアリ (*Camponotus japonicus*) では、ワーカーは異なるコロニー由来の個体に対して攻撃的に振舞い、その CHCs はコロニー特異的な組成比を示すことを明らかにした。

いくつかのアリ種では、ワーカー間の攻撃行動には巣間の距離が関係していることが報告されている。オオズアリ属 (*Pheidole*) に属する *P. tucsonica* と *P. gilvescens* では、異なるコロニーの個体に対するワーカーの攻撃性は、コロニー間の距離が遠い場合よりも近いときの方が弱い (Langen et al. 2000)。同様に、巣間の距離が離れるほどワーカー間の攻撃性が増すことが、ヒメキアリ属の一種 *Plagiolepis pygmaea* (Nicolas & Serge 2008) やツムギアリの一種 *Oecohyllas maragdina* (Newey et al. 2010) でも示されている。縄張りをもつアリ種では、ワーカーは近くにある他巣のワーカーと頻繁に接触する機会があるため、その巣の CHCs 成分を学習し、攻撃行動を緩和するのだと理解されている (Dear-enemy 仮説)。一方、Sanada-Moriura et al. (2003) は、アミメアリ (*Pristomyrmex pungens*) において、巣間の距離が近いときほどワーカー間の攻撃性が増すことを報告

した。著者らは、アミメアリは頻繁に営巣場所を移動するため、常に縄張りを新たにしなければならず、巣間の距離が近い巣のワーカーに対して攻撃的に振舞うと解釈した。

第三章では、トゲズネハリアリが多巢性の社会構造をとることを示した。多巢性種の場合、コロニー（巣間）のボーダーは不明瞭であるが、巣間の距離が近いときにはそれらの巣は同じコロニーに属すると期待される。その結果、巣間の距離が遠いときほど、ワーカーどうしはより攻撃的に振舞うことが予測される。アリにおける巣仲間認識についてこれまで研究されてきた多くは、単巢性のアリを扱ったものであり、多巢性のアリに関する研究は少ない（Lahav et al.1999; van Wilgenburg et al. 2006, 2007; Steinmeyer et al. 2012）。多巢性種であるケアリ属に属する *Lasius flavus* （Steinmeyer et al. 2012）や砂漠にすむ *Cataglyphis* 属のアリ *C. niger* （Lahav et al.1999）では、異巣（コロニー）のワーカーに対して攻撃的に振舞うことが示されているが、キバハリアリ亜科の一種 *Myrmeciani griceps* では、ワーカーは巣（コロニー）仲間ではない個体に対して特別攻撃的に振舞わないことが報告されている（van Wilgenburg et al.2007）。また、カタアリ亜科に属する *Lridomyrmex purpureus* では、ワーカーは異なるコロニーの個体を認識して攻撃的に振舞うが、同じコロニーの異なる巣のワーカーに対しても弱い攻撃性を示すことが報告されている（van Wilgenburg et al. 2006）。このように、多巢性のアリにおける巣仲間認識機構は複雑である。単巢性のアリであれば、「巣＝コロニー」である。すなわち、巣仲間以外は全て異なるコロニー由来のアリで、巣仲間の個体のみを受け入れればよい。しかし多巢性のアリの場合、同じコロニーであるにも関わらず、同巣と異巣に個体が存在する。そのため、巣は異なる場合でも、同じコロニーメンバーであれば受け入れる必要があるが、異なるコロニーの個体は拒まなければならない。トゲズネハリアリの場合、同じコロニー由来の個体が朽木の異なる場所で営巣しているが、ワーカーが巣仲間を認識しているかは明らかにされていない。本章では、ワーカーを用いた2種類のデザインで攻撃性テストを行い、ワーカーが巣仲間を認識して攻撃行動を示すかを検討する。

昆虫の体表にはクチクラワックス (cuticular wax) と呼ばれる脂質があり、体表からの水分の蒸発を防ぐ役割がある (Fielde 1901; Hölldobler & Wilson 1990)。その主成分は分子量の大きな不揮発性の炭化水素類で (Guerrieri et al. 2008)、二次的に様々なコミュニケーションのために機能している (Hölldobler & Wilson 1990; d'Ettorre & Lenoir 2010)。例えば、配偶行動において異性の個体を誘引する「性フェロモン」(ガ: Nakanishi et al. 2013, ハチ: Hrabar et al. 2015, カミキリムシ: Hughes et al. 2015) や危険を察知した際に巣仲間の警戒行動を促す「警報フェロモン」(ハチ: Li et al. 2014, アブラムシ: Wu et al. 2014) が知られている。また、最近の研究では、寄生バエ *Pseudacteon* spp. がホストのアリを選ぶとき、CHCs を利用しているという報告もあり (Mathis & Tsutsui 2016)、昆虫の体表に存在する炭化水素の様々な役割が明らかにされている。

アリにおける CHCs は、「種特異性」(Neems & Butlin 1995; Lenoir & Yamaoka 1997; Dapporto 2007) と「巣 (コロニー) 仲間特異性」がある。「種特異性」とは、種によって CHCs の成分が異なることで、「巣 (コロニー) 仲間特異性」とは、同種であってもコロニーが異なると CHCs の組成比が異なることを意味する。また、同じコロニーであってもオスとメスで CHCs の組成比が異なる「性特異性」(Vander & Morel 1998; Howard & Blomquist 2005; Chernenko et al. 2012) や、同じメスであってもカーストが異なると CHCs の組成比が異なる「カースト特異性」(Langen et al. 2000; Antonialli et al. 2007; Hojo et al. 2009; Ruel et al. 2012) も知られている。さらに CHCs は、齢や卵巣の発達状態などの生理状態を反映することも確認されており (Hölldobler 1995; Peeters et al. 1999; Cuvillier-Hot et al. 2001; Monnin 2006; Evison et al. 2012; Teseo et al. 2014)、アリのコミュニケーションにおいて様々な役割を果たす。

本章では、CHCs がもつ複数の役割のうち、「巣 (コロニー) 仲間特異性」に注目する。アリでは CHCs の組成比が巣 (コロニー) 仲間で共有され、異なる巣 (コロニー) との間で CHCs の組成比が異なるため、異なる巣 (コロニー) の個体に攻撃的に振舞うことが知られている (例えば、Steinmeyer et al. 2012)。アリのワーカーによる異なる巣 (コロニー) の個体への攻撃行動と CHCs の関係は 1980 年代後半から報告されるようになり

(Fletcher & Michener 1987; Vargo & Passera 1991; Soroker et al. 1995; Vander Meer & Morel 1998; Wagner et al. 2000; Akino et al. 2004; van Wilgenburg et al. 2007; d'Ettorre & Lenoir 2010; Smith et al. 2012; Kather & Martin 2015)、多くの研究ではワーカーの CHCs の組成比が巣（コロニー）間で異なることが影響すると推測されている。しかし、ワーカーが異なる巣（コロニー）の個体がもつ体表炭化水素に反応し、攻撃行動を示すことが確認された例は少ない。Ozaki et al. (2005) は、クロオオアリのワーカーの体表から抽出した全ての化学物質（体表粗抽出物）やそこから単離した炭化水素、炭化水素以外の成分をガラスビーズに塗布し、ワーカーがどれに対して攻撃行動を示すかを検討した。Ozaki et al. (2005) はこの手法により、ワーカーが体表の炭化水素を手がかりに巣仲間を認識することを示した。このような手法により、ワーカーが体表の炭化水素を手がかりにして巣仲間認識を認識していることを確認した研究は、クロオオアリ (Ozaki et al. 2005) 以外では、フタフシアリ亜科に属する収穫アリの一種 *Pogonomyrmex barbatus* (Greene & Gordon 2007) や *Linepithema humile*、*Aphaenogaster cockerelli* (Diane et al. 2000) でも知られている。これらの先行研究で報告された種のうち、*A. cockerelli* は多巣性種で、残り 3 種は単巣性種である。Diane et al. (2000) は、*A. cockerelli* のワーカーの体表に存在する体表粗抽出物やそこから単離した炭化水素、炭化水素以外の成分をガラスビーズに塗布した。そして、ワーカーが同じコロニーと異なるコロニー由来のそれぞれの抽出物に対し、どのように反応するかを観察した。その結果、ワーカーは異なるコロニーのワーカーから抽出した粗抽出物や炭化水素を塗布したビーズに対して強い攻撃行動を示したのに対し、炭化水素以外の成分を塗布したビーズに対して攻撃行動を示さなかったことから、著者らはワーカーが体表の炭化水素を手がかりにして巣仲間認識を認識していると結論づけた。このように、ワーカーが体表に存在する炭化水素以外の成分に反応して攻撃行動を示す可能性もあるため、慎重に評価を行う必要がある。しかし、多巣性のみならず、アリにおいて、ワーカーが体表の炭化水素を手がかりにして巣仲間を認識し、攻撃行動を示すことが確認された研究はわずか数例しかない。またヤマアリ

亜科やフタフシアリ亜科だけでなく、より広い分類群のアリにおいて巣仲間認識機構を詳細に検討する必要がある。

本章では、多巣性種であるトゲズネハリアリのワーカーが体表の炭化水素を手がかりにして巣仲間を認識し攻撃行動を示すかを明らかにする。すでに述べたとおり、ワーカーを用いた 2 種類の攻撃性テストを行い、ワーカーが巣仲間を認識して攻撃行動を示すかを検討する。また、異なる巣のワーカー間で CHCs の組成比を比較する。最後に、ワーカーが体表から抽出した体表粗抽出物や炭化水素、それ以外の成分のどれに反応するかを検討する。

4-2. 方法

4-2-1. 採集

採集方法は第二章で述べた方法と同様であるが、本章に関係する部分については改めて述べる。新潟県十日町市立里山科学館に隣接する「キョロロの森」(37°05'N, 138°37'E)と新潟県「胎内市胎内第二ダム」(38°00'N, 139°30'E)近辺の雑木林、滋賀県甲賀市みなくち子どもの森自然館に隣接する「みなくち子どもの森」(34°57'N, 136°07'W)で採集を行なった。「キョロロの森」と「胎内市胎内第二ダム」は約 120km、「キョロロの森」と「みなくち子どもの森」は約 320km 離れている。「キョロロの森」では、2009 年から 2012 年の 4 月から 11 月の間、およそ 2 週間に一度の間隔で計 40 回（調査間隔:15.08±1.146 日、平均±SE）調査を行い、本種が営巣している朽ち木を回収した。「キョロロの森」では、20m の巻尺と 10m 刻みに印をつけたロープでトゲズネハリアリが営巣していた朽ち木間の距離を測定し、それを巣間の距離とした。巻尺やロープで測定不可能な場合には、地図上に巣の位置を記録することによって巣間の距離を得た。「胎内市胎内第二ダム」近辺の雑木林はコナラ、アカマツを主体とした二次林とスギの人工林から成るが、採集を行ったのはコナラ主体の二次林内である。「胎内市胎内第二ダム」近辺の雑木林では、2010 年の 8 月と 9 月に計 3 回調査を行った。「みなくち子どもの森」は 2001 年に開園した里山をテーマとした都市公園で、コナラやアカマツを主体とした二次林とスギ、ヒノキの人工林、竹林、湿地、草地などから構成され、面積は約 34ha である。「みなくち子どもの森」では、2010 年の 5 月から 11 月の間に計 12 回調査を行った（5 月：2 回；6 月：2 回；7 月：1 回；8 月：2 回；9 月：2 回；10 月：2 回；11 月：1 回）。すべての調査では、採集した朽ち木を研究室に持ち帰った後、ピンセットや剪定バサミなどを用いて慎重に壊し、吸虫管を用いて朽ち木内の成虫を取り出した。採集した個体のカーストを判別した後、個体数を記録した。実験室に持ち帰ってから攻撃性テストを行うまでの間、石膏を敷いたプラスチックケースで各巣を飼育した。飼育条件

は常温とし、餌としてキンバエ (*Lucilia caesar*) の幼虫を与え、湿度調節のため水を含ませた脱脂綿をケース内に置いた (山口他 2010)。

4-2-2. 攻撃性テスト

実験 1 : 一対一の攻撃テスト

ワーカー間の攻撃性の程度を評価するため、一対一の攻撃テストを行った。同じ巣由来のワーカーどうし (以下、同巣のテスト) で 16 ペア 84 回のテストを行い、異なる巣由来のワーカーを用いたテスト (以下、異巣間のテスト) を 62 ペアで 311 回行なった。同巣のテストについては、すべて「キョロロの森」で採集した巣を用いた。異巣間のテストのうち、「キョロロの森」で採集した巣の間でのテストについては、巣間の距離がおおよそ 0~400m 離れている巣を用いて 51 ペアで 256 回行い、「キョロロの森」で採集した巣と「胎内市第二ダム」で採集した巣の間のテストについては 3 ペアで 15 回行い、「キョロロの森」で採集した巣と「みなくち子どもの森」で採集した巣の間のテストについては 8 ペアで 40 回行なった。

同一の巣から 2 個体、あるいは異なる巣から 1 個体ずつワーカーを任意に選んだ。そして、両個体の胸部にマーキングを行い、観察を行う前の 10 分間、ろ紙を敷いた直径 5.0cm のプラスチックシャーレに別々に置いた。その後、ろ紙を敷いた同サイズの別のプラスチックシャーレに 2 個体を同時に入れ、2 個体の行動を 10 分間観察した。攻撃性スコアを以下のようにつけた。

0 : 無視

1 : 触角の触れ合い

2 : 避ける

3 : おどし (腹部の歪曲)

4 : 攻撃 (引っ張る、噛み付く行為)

5 : 闘い (長い攻撃)

Sunamura et al. (2009) によるアルゼンチンアリ (*Linepithema humile*) と Vogel et al. (2009) による *Diacamma nilgiri* における攻撃性スコアを参考にし、スコア 0 とスコア 1 は非攻撃的な行動、スコア 2~5 は攻撃的な行動とみなした。観察中、各スコアの回数を記録した。2 個体がどの巣由来であるかを観察者が判断できないよう、すべてのテストはブラインドして行った。テストは同じペアの巣で 5 回以上行い (replication)、各巣のペアで行ったテストの平均値を巣間の攻撃性として扱った。ただし、同じワーカーは二度と使用しなかった。観察後、テストで使用したシャーレはきれいに洗い、ろ紙はテストごとに取り替えた。全てのテストは巣を解体してから 7 日以内に行った。

攻撃性は、観察されたスコアの最大値 (以下、最大スコア) (Sunamura et al. 2009; Steinmeyer et al. 2012; Buczkowski 2012; Pikart et al. 2015) と攻撃性の程度を表す aggression index (以下、AI とする) (Pacheco & Claro 2015; Pikart et al. 2015) で評価した。AI は以下の式を用いて算出した。

$$AI = \frac{\sum_{i=1}^n AI_i \cdot f_i}{F}$$

AI_i と f_i 、 F は、それぞれ接触したときのスコア、各スコアの回数、接触した回数の総計を示している。

実験 2 : 巣への導入テスト

テストの方法は、Kikuchi et al. (2007) を参考にし、35 個体以上のワーカーと未成熟個体が存在する巣を用いた。朽木を解体してから一週間アリを石膏巣に定着させた後、使用する巣の全てのワーカーに同じ色のマーキングを行なった。マーキングを行ってから 24 時間後に、導入先の巣と同じ巣または異なる巣からワーカーを 1 個体選び (以下、導入ワーカーとする)、胸部に別の色のマーキングを行った。ろ紙を敷いたプラスチックシャーレに 10 分間置いた後、導入先の巣の育室内に導入ワーカーを入れ、導入ワーカーと接触した巣内のワーカー (導入先の巣に営巣しているワーカー) の行動を観

察するとともにビデオに録画した。

行動観察は、導入ワーカーと巣内のワーカーの接触回数が 100 回に達するまで行った。使用するワーカーの齢を一定にするために、新成虫が巣内に存在する期間にテストを行なう場合には、体表の色を参考にして羽化したばかりのワーカーを導入ワーカーとして使用しないようにした。また、導入ワーカーと巣内の新ワーカーの接触については観察しなかった。

巣内のワーカーによる導入ワーカーに対する行動の時間的な変化を知るために、導入してから 12 時間後と 24 時間後にも再び観察を行なった。この観察についても、導入ワーカーと巣内のワーカーの接触回数が 100 回に達するまで行った。テストは、ワーカーを導入した直後の観察と 12 時間後、24 時間後の観察を 1 セットとして、同じペアの巣で 5 セット行った。しかし、24 時間後の観察を終えた導入ワーカーは巣から取り除き、同じ導入ワーカーは二度と使用しなかった。導入先の巣を繰り返し使用する場合には、1 セットの実験が終了した後、24 時間空けて次の実験を行なった。全ての観察はブラインド下で行い、朽木を解体してから 1 カ月以内に行った。

同巣のテストと異巣間のテストをそれぞれ 10 ペア 50 セットずつ行なった。同巣のテストのうち、「キョロロの森」で採集した巣を用いたテストは 8 ペアで 40 セット行ない、「みなくち子どもの森」で採集した巣を用いたテストは 2 ペアで 10 セット行なった。異巣間のテストのうち、「キョロロの森」から採集した巣の間でのテストは 7 ペア 35 セット行ない、「みなくち子どもの森」から採集した巣の間でのテストは 3 ペアで 15 回行なった。多くの多巣性種では、コロニーが狭い範囲に営巣することが知られている（トビニセハリアリ *Hypoponera bondroiti*: 50m² 以内, Yamauchi et al. 1996; フトハリアリ属の一種 *Pachycondyla goeldii*: 100 m² 以内, Denis et al. 2006; シリアゲアリの一種 *Crematogaster levior*: 100 m² 以内, Virginia & Neil 2013)。本種についても同じコロニーに属する巣の点在範囲は狭いことが予測されるため、巣間の距離が 200m 以上離れていればそれらの巣は異なるコロニーに属する可能性が高いと考えられる。そこで、異なる巣

のペアでテストをする場合には巣間の距離が 200m 以上離れた巣を用いた。ただし、同巣のテストに使用した 1 個体の導入ワーカー（「キョロロの森」で採集した 1 個体）と異巣間のテストに使用した 6 個体の導入ワーカー（「キョロロの森」で採集した 4 個体と「みなくち子どもの森」で採集した 2 個体）が、1 セットの観察を終了するまでの間に死亡した。導入ワーカーの死亡を確認したのは全て観察時間外であったため、直接的な死因は不明であるが、死亡した全ての導入ワーカーは観察時間中に巣内のワーカーからスコア 4 や 5 を受けていた。死亡した導入ワーカーについては、生きている間に観察したデータのみを使用した。

攻撃性の評価は、一対一の攻撃テストと同様に最大スコアと AI を用いて行い、各巣のペアで 5 回行ったテスト (replication) の平均値を巣間の攻撃性として扱った。

4-2-3. ワーカーの体表炭化水素の分析

本種のワーカーの体表炭化水素 (CHCs) 組成を明らかにするとともに、巣内や巣間でその成分が異なるかを比較するために、GC / MS 分析を行った。分析には、2012 年 9 月にキョロロの森で採集した 5 巣（巣 A,B,C,D,E）を用いた。これらの 5 巣にはワーカーと未成熟個体が存在しており、野外では互いに 200m 以上離れていた。1 巣当たりそれぞれ 10 個体のワーカーをランダムに選び、 -20°C に保ったディープフリーザーへ入れ、凍殺した。また分析に用いるワーカーは、体表の色を参考にして羽化したばかりのワーカーを使用しないようにした。冷凍したワーカーは CHCs の抽出を行うまでの間、ディープフリーザー内で保存した。ワーカーを 1 個体ずつ、ガラスバイアル内で $100\mu\text{l}$ のヘキサン（Wako、クロマトグラフ用ヘキサン 086-01166）に 15 分間浸し、CHCs を抽出した。

CHCs を抽出する時間を決定するために予備実験を行った。ヘキサン：酢酸エチル＝10：1 で作成した展開液と順相のシリカゲルが塗布してある薄層板を用いて薄層クロマトグラフィー (TLC) 分析を行い、ワーカーの体内由来の成分が体表の抽出液に溶解し

ていないことを確認した。また、ヘキサンにワーカーを浸すことによって得た粗抽出液と、ヘキサンを展開溶媒に用いたシリカゲルカラムクロマトグラフィーによって粗抽出液から炭化水素以外の成分を分離したサンプルを GC / MS によって分析し、クロマトグラムを比較することにより、炭化水素以外の成分のリテンションタイムを確認した。

抽出後、マイクロシリンジを用いて抽出液を採り、別のバイアルに移した。この抽出液についても、GC / MS 分析を行うまでの間、ディープフリーザー内で保存した。GC / MS 分析を行なう直前に溶媒を揮発させた後、2 μ l のヘキサンを加えて CHCs を溶解させた。ガスクロマトグラフィー (GC) は SHIMADZU 社製の GC-2014 を使用し、質量分析装置 (MS) は SHIMADZU 社製の GC-MS QP5000 を使用した。GC のカラムには、アジレント・テクノロジー社製の DB-1HT (長さ×内径×液層の膜厚：15m×0.25mm×0.1 μ m) を使用した。キャリアガスにはヘリウムを用い、カラム流量を 1.0 (ml/分) に設定した。注入口の温度は 320°C に設定し、スプリットレスモードで 1 μ l の抽出液を注入した。GC のオーブン温度は 100°C で 2 分間保ち、100°C から 230°C まで 25°C/分で上昇させ、さらに 320°C まで 10°C/分で上昇させた、320°C で 40 分間保った。質量スペクトルは、電子イオン化法 (EI 法) によってイオン化電圧 70eV で記録した。各成分の推定は、マススペクトルの読み取りや質量スペクトルデータライブラリによる検索、高分解能測定による組成推定によって行なった。しかし、二重結合の位置については推定しなかった。

4-2-4. ガラスビーズを用いた生物検定

本種のワーカーが体表炭化水素 (CHCs) に反応して、巣仲間の CHCs と非巣仲間の CHCs に対して異なる攻撃行動を示すかを検討するために、ガラスダミーを用いた生物検定を行った。分析には、2012 年にキョロロの森で採集したワーカーと未成熟個体が存在する 16 巣を用いた。ガラスダミーを用いた生物検定では、同じ巣、あるいは異なる巣のワーカーから抽出した体表の化学物質をガラスダミーに塗布し、ワーカーに提示した。塗布したワーカーから抽出した溶媒は 3 種類である；粗抽出物ダミー：ワーカー

の体表から抽出した全ての化学物質をガラスダミーに塗布，体表炭化水素ダミー：シリカゲルカラムを用いて、ワーカーから抽出した体表の化学物質を炭化水素と体表炭化水素以外の残渣に分離し、体表炭化水素成分のみをガラスダミーに塗布，残渣ダミー：シリカゲルカラムを用いて、ワーカーから抽出した体表の化学物質を炭化水素と体表炭化水素以外の残渣に分離し、残渣のみをガラスダミーに塗布。またワーカーから抽出した溶媒の他にもコントロールとしてガラスダミーにヘキサンを塗布し、ワーカーに提示した。同巢のテストにおいて、粗抽出物ダミーと体表炭化水素ダミー、残渣ダミーを用いたテストをそれぞれ 8 ペアで 5 セットずつ行い、合計のテストの回数は 120 回であった。異巢間のテストにおいても、粗抽出物ダミーや体表炭化水素ダミー、残渣ダミーを用いたテストをそれぞれ 8 ペアで 5 セットずつ行い、合計のテストの回数は 120 回であった。巢への導入テストと同様に、異巢間でテストをする場合には巢間の距離が 200m 以上離れた巢を用いた。またコントロールとしてヘキサンを塗布したダミーを 5 ペアで 25 回行なった。

それぞれのガラスダミーをろ紙を敷いた直径 5.0cm のプラスチックシャーレ内でワーカーに示し、15 分間ワーカーの行動を観察した。観察中、各スコアの回数を記録した。ワーカーやガラスダミーがどの巢由来であるかを観察者が判断できないよう、すべてのテストはブラインドして行った。テストは各ペアで 5 回以上行い (replication)、各ペアで行ったテストの平均値を巢間の攻撃性として扱った。ただし、同じワーカーは二度と使用しなかった。観察後、テストで使用したシャーレはきれいに洗い、ろ紙はテストごとに取り替えた。全てのテストは巢を解体してから 7 日以内に行った。

攻撃性の評価は、一対一の攻撃テストと同様に最大スコアと AI を用いて行い、各巢のペアで 5 回行ったテスト (replication) の平均値を巢間の攻撃性として扱った。

4-3. 結果

4-3-1. 攻撃性テスト

実験 1：一対一の攻撃テスト

同じ巣由来のワーカーに対する攻撃性と異巣由来のワーカーに対する攻撃性に違いがあるかを検討するため、同巣のテスト（16 ペア）と異巣間のテスト（62 ペア）の 2 種類の組み合わせに分け、最大スコアと AI をそれぞれ比較した。その結果、攻撃性は最大スコア、AI とともに同巣のテストよりも異巣間のテストの方が高い傾向があったものの、有意な差はなかった（Wilcoxon rank-sum test, 最大スコア : $Z=-1.912$, $p=0.056$; AI : $Z=-1.863$, $p=0.063$ ）（図 4-1）。しかし、トゲズネハリアリは多巣性種であるため、異巣間のテストには巣間の距離が比較的近く、同じコロニーに属するペアが含まれていた可能性があり、有意な差を検出できなかったのかもしれない。そこで次に、異巣間のテストのうち、異なるコロニーに属することが期待される巣間で行なったと思われるテストのみを扱い、同巣のテストと攻撃性に違いがあるかを検討した。すなわち、「キョロロの森」で採集した巣の中で、異なるコロニーに属することが期待される巣間の距離として 200~400m 以上離れている巣の間で行なったテストを far（12 ペア）、「キョロロの森」で採集した巣と「胎内市第二ダム」や「みなくち子どもの森」で採集した巣の間で行なったテストを 100km<（11 ペア）と区分し、同巣のテストを含めた 3 種類の組み合わせの間で最大スコアと AI をそれぞれ比較した。最大スコアでは、3 種類の組み合わせの間で弱い有意差が得られたが（Kruskal-Wallis test ; 最大スコア : $\chi^2=6.082$, $p=0.048$ ）、3 種類の区分間で Wilcoxon rank-sum test によって最大スコアの比較を行なった後に sequential Bonferroni 法で補正したところ、有意な差はなかった（図 4-2B）。一方、3 種類の組み合わせの間でも AI には有意な差はなかった（Kruskal-Wallis test ; $\chi^2=5.028$, $p=0.081$ ）（図 4-2A）。

図 4-2 において示されたように、強い差はなかったものの、攻撃性は巣間の距離が遠

い巣に対して高い傾向があったことから、次に巣間の距離と攻撃性の関係について検討した。異巣間のテストのうち、巣間の距離が比較的近く、同じコロニーに属することが期待される巣間の距離が 0~10m 離れている巣の間のテストを near (9 ペア) と区分し、far や 100km<、同巣のテストを含めた 4 種類の組み合わせの間に攻撃性を比較した。その結果、4 種類の組み合わせの間に最大スコアに有意な差はなかった (Kruskal-Wallis test; $\chi^2=5.028$, $p=0.170$) (図 4-3A)。一方、AI では、有意な差が得られたが (Kruskal-Wallis test; AI: $\chi^2=8.760$, $p=0.033$)、4 種類の区分間で Wilcoxon rank-sum test によって AI の比較を行なった後に sequential Bonferroni 法で補正したところ、有意な差はなかった (図 4-3B)。さらに、「キョロロの森」で採集した巣を用いた異巣間のテスト結果を用いて、巣間の距離と攻撃性の関係を検討した。しかし、最大スコア、AI とともに巣間の距離は攻撃性とで相関しなかった (Pearson's correlation; 最大スコア: $r=0.022$, $p=0.878$; AI: $r=-0.030$, $p=0.833$) (図 4-4)。しかし、図 4-4 の回帰分析では、異巣間のテストとして同じコロニーに属する巣を使用したテストや異なるコロニーに属する巣間で行なったテストが混在している可能性がある。そこで、異なるコロニーに属することが期待される巣間の距離が 200~400m 以上離れている巣の間でのテストを用いて、巣間の距離と攻撃性の間に関係があるかを検討した。しかし、巣間の距離と最大スコアや AI の間に相関関係はなかった (Pearson's correlation; 最大スコア: $r=0.009$, $p=0.979$; AI: $r=-0.069$, $p=0.832$) (図 4-5)。さらに、巣間の距離が 0~10m 離れている巣の間でのテストを用いて、巣間の距離と攻撃性の間に関係があるかを検討した。しかし、巣間の距離と最大スコアや AI の間に相関関係はなかった (Pearson's correlation; 最大スコア: $r=0.199$, $p=0.534$; AI: $r=0.392$, $p=0.645$)。一対一の攻撃テストの結果から、巣間の距離が離れると攻撃性が増す傾向はあったが、非常に大きく攻撃性が増大するわけではないことが判った。

実験 2：巣への導入テスト

同巢のテストと異巢間のテストで得られた最大スコアと AI を two-way repeated measures ANOVA によって比較したところ、最大スコアは異巢間のテストで高く、時間経過に伴って減少した（図 4-6、表 4-1）。また、異巢間のテストで観察された最大スコアは全ての時間で同巢のテストよりも有意に高く（Wilcoxon rank-sum test；導入直後： $Z=-3.535$, $p<0.001$ ；12 時間後： $Z=-2.364$, $p=0.012$ ；24 時間後： $Z=-2.437$, $p=0.015$ ）、導入直後よりも 24 時間後の方が有意に低かった（Sign test；sequential Bonferroni 法による補正後 $p<0.01$ ）（図 4-6）。一方、AI は導入ワーカーの由来とは関係なかったが、時間経過に伴って減少した（図 4-7、表 4-2）。異巢間のテストで観察された AI は導入直後よりも 12 時間後や 24 時間後の方が有意に低かった（Sign test；導入直後 vs 12 時間後：sequential Bonferroni 法による補正後 $p<0.03$ ；12 時間後 vs 24 時間後：sequential Bonferroni 法による補正後 $p<0.01$ ）（図 4-7）。最大スコアでは two-way repeated measures ANOVA で導入ワーカーの由来について有意な差が得られたのに対し、AI では有意な差が得られなかった。導入直後では 12 時間後や 24 時間後よりスコア 2 以上が多く観察されたが、100 回の接触中に観察された攻撃性スコアのほとんどがスコア 0 や 1 であったために異巢間のテストの AI が低くなり、同巢のテストとの間で差が得られなかったと考えられる（図 4-8）。

最大スコアの比較によって示されたように、ワーカーは同巢由来の導入ワーカーよりも異巢由来の導入ワーカーに対して攻撃的であった。そこで巣間の距離と攻撃性の間に関係があるかを各時間経過で検討した。ここでは、「キョロロの森」から採集した 7 巣を用いた異巢間のテストの結果を用いた。しかし、全ての時間経過で、巣間の距離と最大スコアの間に相関関係はなかった（Pearson's correlation；最大スコア；導入直後： $r=0.216$, $p=0.212$ ；12 時間後： $r=-0.029$, $p=0.877$ ；24 時間後： $r=-0.280$, $p=0.135$ ）（図 4-9）。巣への導入テストの結果から、ワーカーは異巢由来のワーカーに対して攻撃行動を示したが、その攻撃性は時間経過とともに減少することが判った。

4-3-2. ワーカーの体表炭化水素および巣間比較

GC/MS 分析により、トゲズネハリアリのワーカーの CHCs は炭素数 23~45 のアルケンやジエン、トリエンを含む 36 種類から成ることが判った (表 4-3, 図 4-10)。

まず、ワーカーの CHCs を巣内や巣間で比較した。ただし、ここではワーカー 1 個体中のピーク面積の 2%以上を占め、70%以上の個体に存在する主要な 8 種類の CHCs ピークを用いた (表 4-3 中の下線を引いたピーク)。最初に、巣内のワーカー間で CHCs が類似するかを検討した; 5 巣それぞれにおいてワーカー 10 個体の間でピーク面積の割合を二試料 χ^2 検定によって比較。その結果、5 巣すべてにおいてワーカー間の CHCs が異なることが判った (A 巣: $\chi^2=12.673$, $p<0.001$, 図 4-11; B 巣: $\chi^2=21.522$, $p<0.001$, 図 4-12; C 巣: $\chi^2=13.823$, $p<0.001$, 図 4-13; D 巣: $\chi^2=14.021$, $p<0.001$, 図 4-14; E 巣: $\chi^2=22.216$, $p<0.001$, 図 4-15)。次に、5 巣の間で各ピーク面積の割合を二試料 χ^2 -test によって比較し、CHCs の組成比が異なるかを検討したところ、有意に異なった ($\chi^2=23.616$, $p=0.001$) (図 4-16)。そこで、どの巣の間で CHCs が異なっていたかを二試料 χ^2 -test により検討したところ、A 巣と C 巣の間でのみ有意な差が検出された (A 巣 vs C 巣: sequential Bonferroni 法による補正後 $p=0.012$)。

主要な 8 種類の CHCs ピークを用いて主成分分析を行なったところ、第 1 主成分と第 2 主成分の寄与率はそれぞれ 57.28%と 28.12%で、第 1 主成分と第 2 主成分を合わせると全変異の約 85%を説明することができた (表 4-4)。そこで、第 1 主成分と第 2 主成分を用いて 5 巣のワーカーの CHCs を散布図にプロットした。5 巣のうち、巣 B のワーカー CHCs の一部は巣 C にオーバーラップしていたが、その他ではオーバーラップすることなく分離した (図 4-17)。

4-2-3. 体表炭化水素がワーカーの攻撃行動に及ぼす影響

ワーカーが異巣と同巣のワーカーの体表から抽出された体表粗抽出物と体表炭化水

素、残渣のそれぞれのダミーに反応するかを検討した。ワーカーは同巢と比べ、異巢のワーカー上の体表粗抽出物に対し、強い攻撃行動を示した（最大スコア, コントロール vs 同巢 : $Z=4.254$, $p<0.001$, コントロール vs 異巢 : $Z=3.442$, $p<0.001$, 同巢 vs 異巢 : $Z=5.627$, $p<0.001$, すべての検定は Wilcoxon rank-sum test 後 sequential Bonferroni 法による補正済み）(AI, コントロール vs 同巢 : $Z=2.273$, $p<0.001$, コントロール vs 異巢 : $Z=2.865$, $p<0.001$, 同巢 vs 異巢 : $Z=4.187$, $p<0.001$, すべての検定は Wilcoxon rank-sum test 後 sequential Bonferroni 法による補正済み) (図 4-18)。また、ワーカーは同巢と比べ、異巢のワーカー上の体表炭化水素に対し、強い攻撃行動を示した（最大スコア, コントロール vs 同巢 : $Z=5.276$, $p<0.001$, コントロール vs 異巢 : $Z=4.976$, $p<0.001$, 同巢 vs 異巢 : $Z=1.563$, $p<0.001$, すべての検定は Wilcoxon rank-sum test 後 sequential Bonferroni 法による補正済み）(AI, コントロール vs 同巢 : $Z=3.251$, $p<0.001$, コントロール vs 異巢 : $Z=1.375$, $p<0.001$, 同巢 vs 異巢 : $Z=5.241$, $p<0.001$, すべての検定は Wilcoxon rank-sum test 後 sequential Bonferroni 法による補正済み) (図 4-19)。しかし、ワーカーは上の体表炭化水素を除いた残渣に対し、同巢と異巢に関係なく、低い攻撃行動を示した（最大スコア, コントロール vs 同巢 : $Z=1.675$, $p<0.001$, コントロール vs 異巢 : $Z=3.251$, $p<0.001$, 同巢 vs 異巢 : $Z=6.326$, $p=0.231$, すべての検定は Wilcoxon rank-sum test 後 sequential Bonferroni 法による補正済み）(AI, コントロール vs 同巢 : $Z=2.134$, $p<0.001$, コントロール vs 異巢 : $Z=3.165$, $p<0.001$, 同巢 vs 異巢 : $Z=5.221$, $p=0.364$, すべての検定は Wilcoxon rank-sum test 後 sequential Bonferroni 法による補正済み) (図 4-20)。

2 種類の攻撃性テストとワーカーの体表炭化水素の分析、ダミーを用いた生物検定の結果から、トゲズネハリアリのワーカーは巢間で体表の炭化水素体表が異なり、炭化水素を手がかりに巢仲間ではない個体を認識し、攻撃行動を示すことが示された。

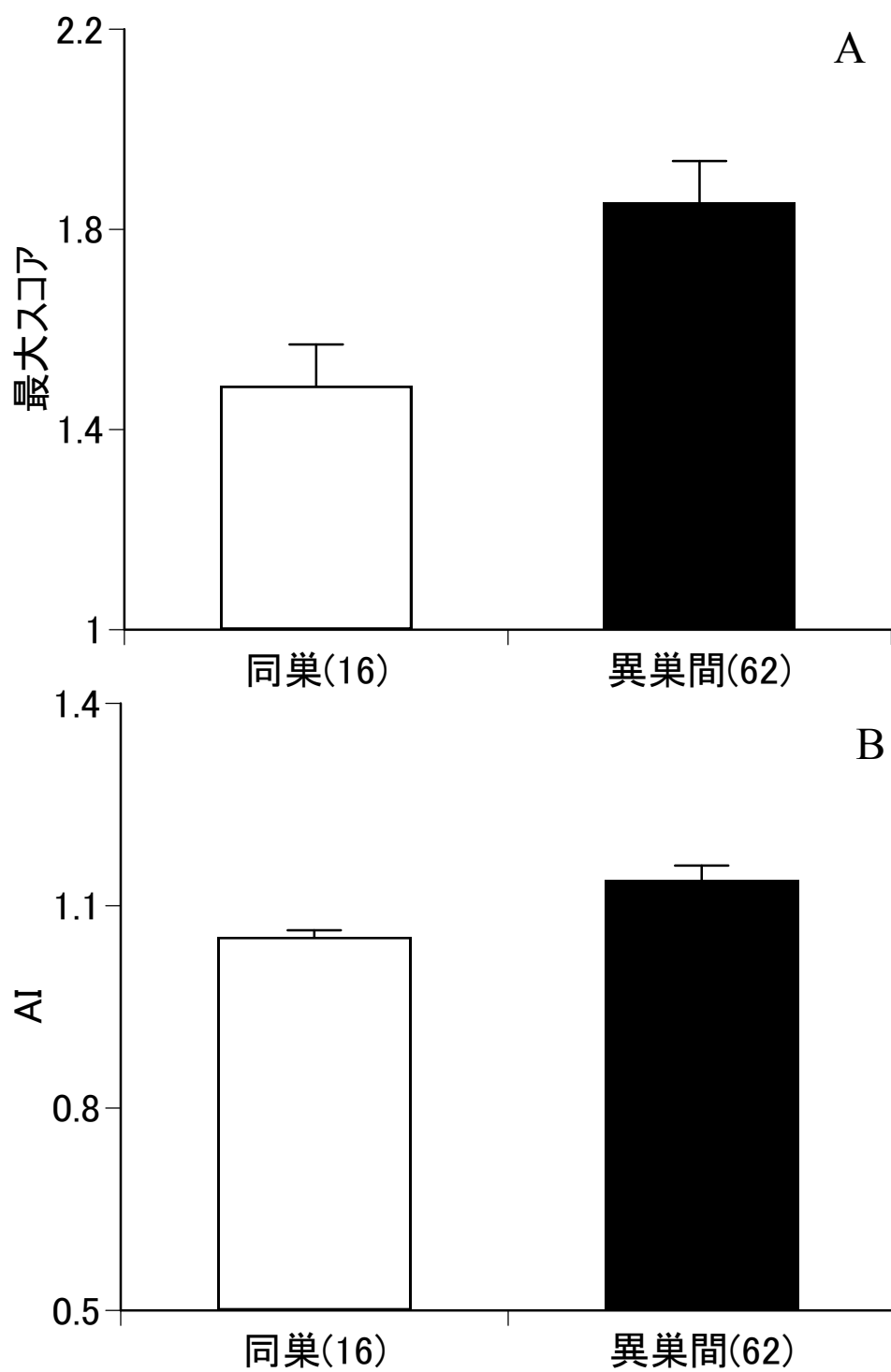


図 4-1 同じ巣由来のワーカーどうしと異なる巣由来のワーカー間の攻撃テストの比較
(A : 最大スコア, B : AI)

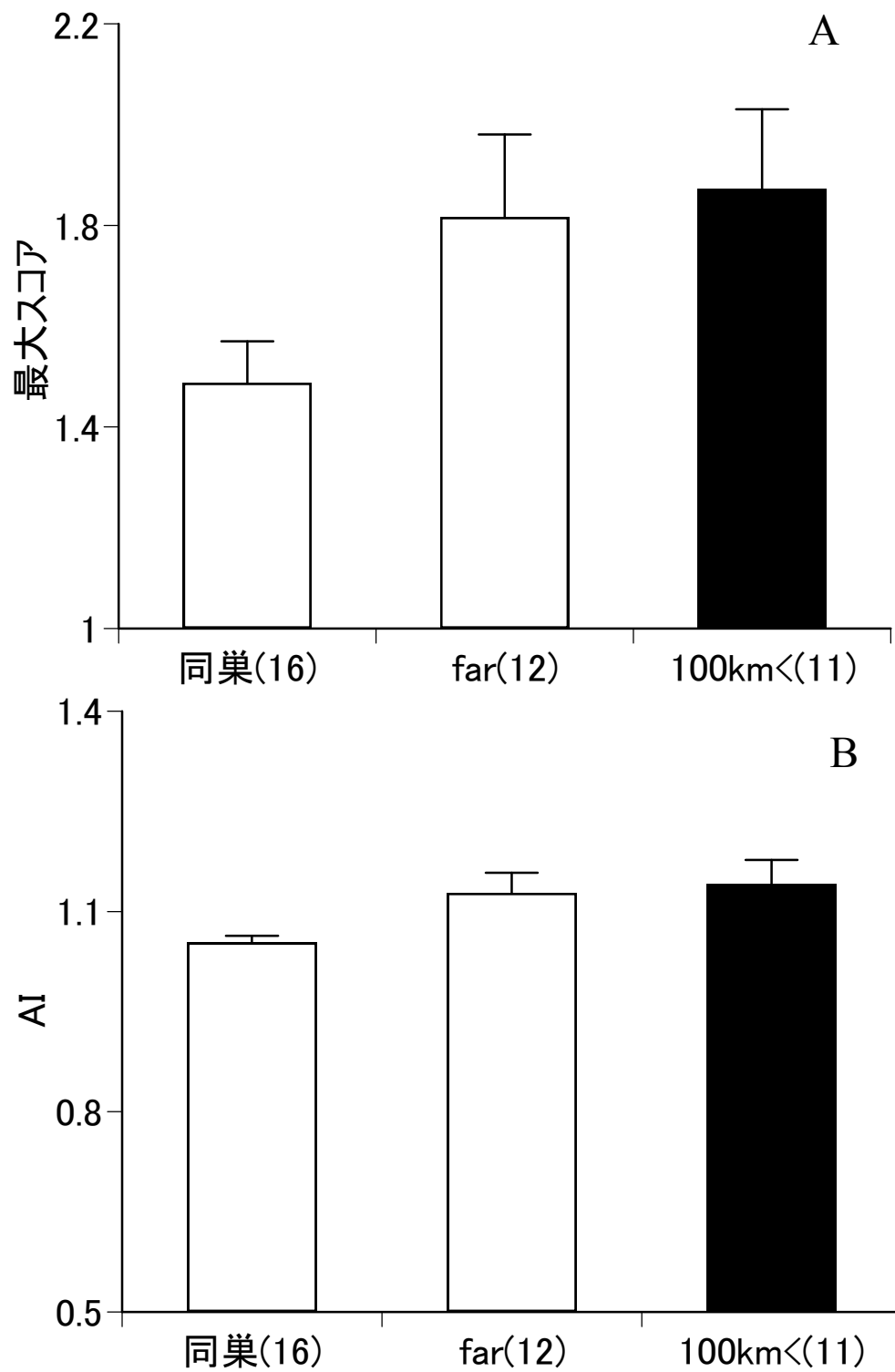


図 4-2 同じ巣由来のワーカーどうしのテストとキョロロの森で巣間の距離が 200m 以上離れた巣の間でのテスト (far)、巣間の距離が 100km 以上離れた巣の間でのテスト (100km<) の間で最大スコア (A) と AI (B)を比較

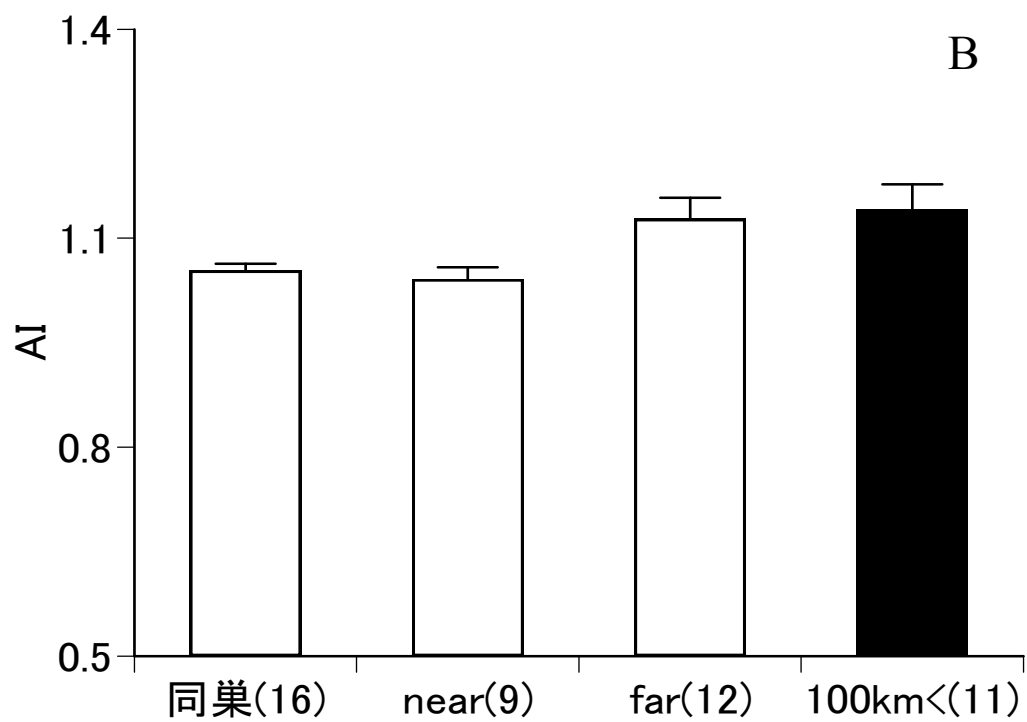
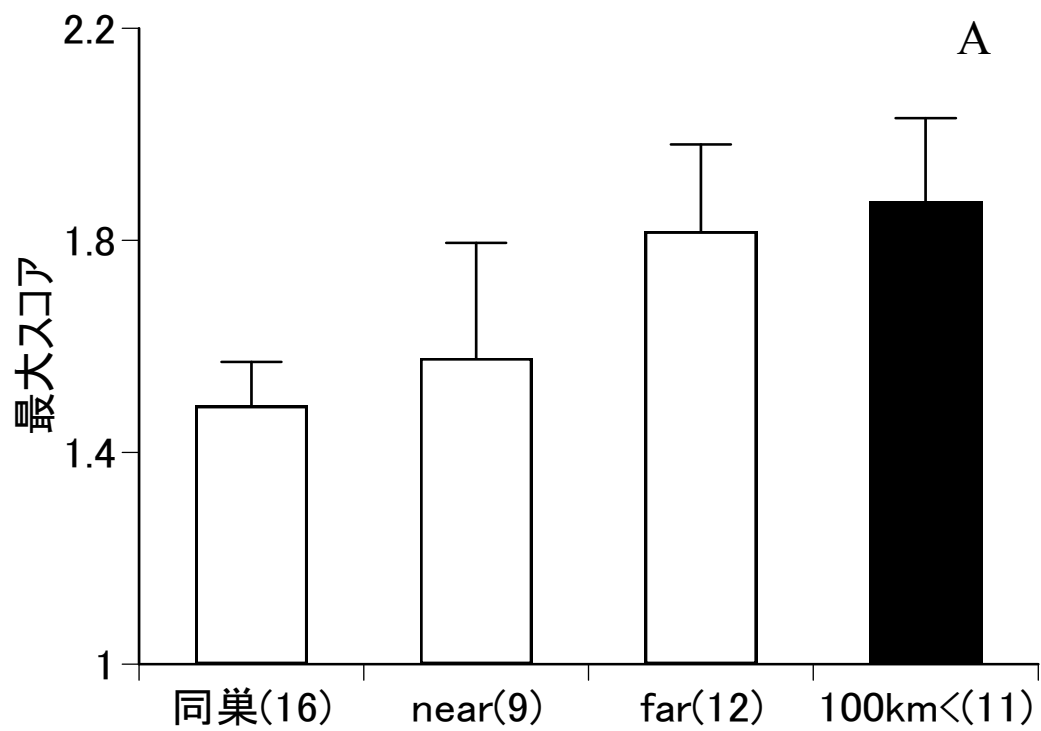


図 4-3 同巣のテストと near (キヨロロの森で巣間の距離が 0~10m)、far (キヨロロの森で巣間の距離が 200~400m)、100km< (巣間の距離 100km 以上) の間で最大スコア (A) と AI (B)を比較

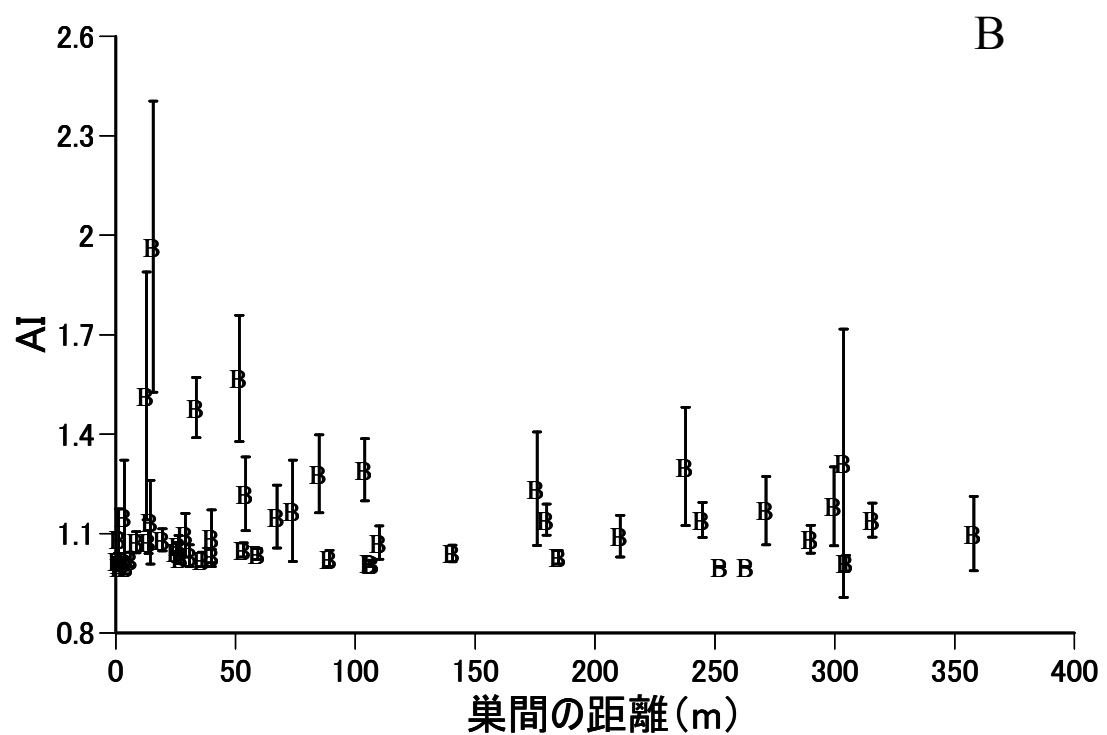
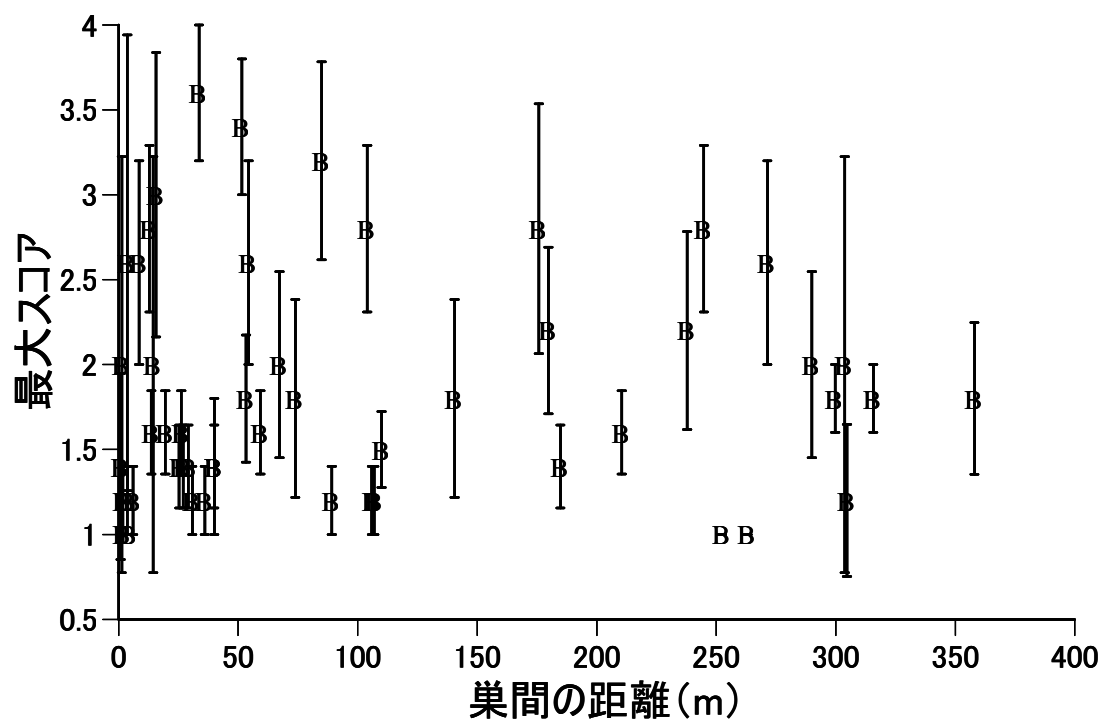


図 4-4 巣間の距離と最大スコア (A) や AI (B) の関係 (縦棒は標準誤差を示す)

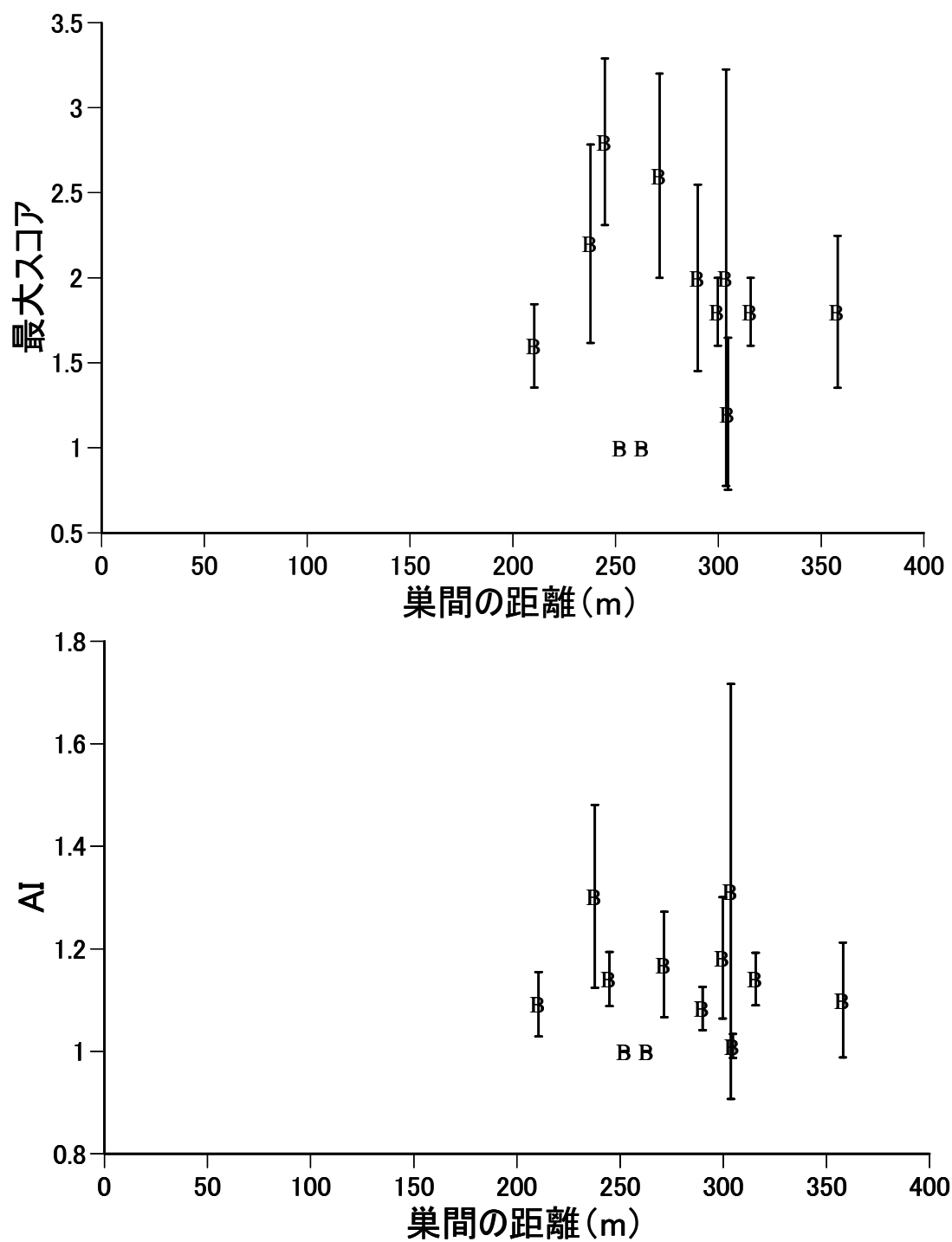


図 4-5 異なるコロニーに属することが期待されるテストにおける巣間の距離と最大スコア (A) や AI (B) の関係 (縦棒は標準誤差を示す)

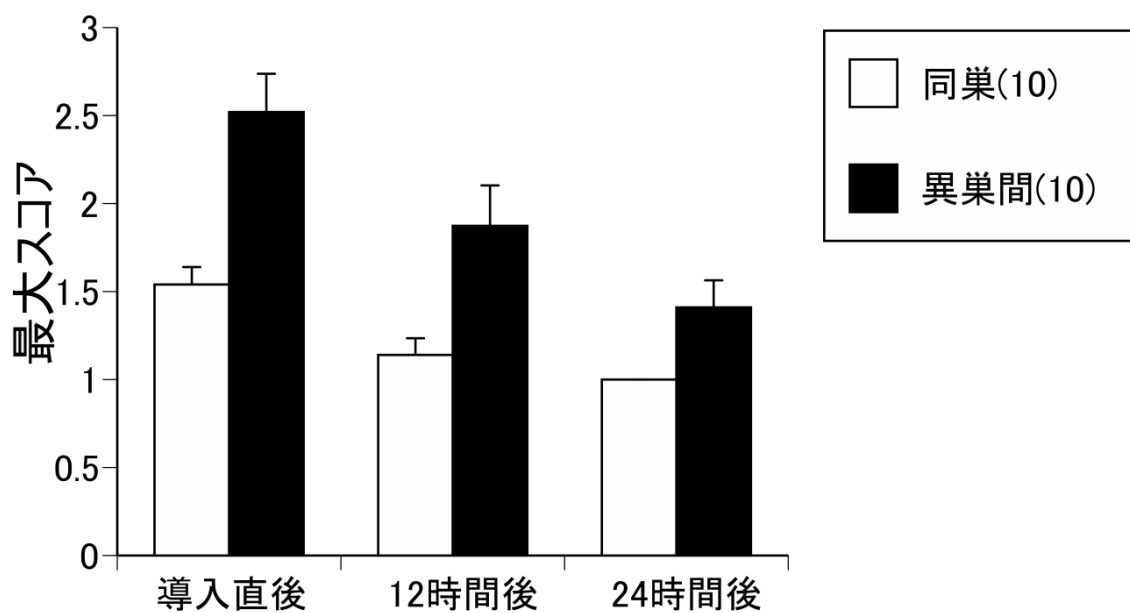


図 4-6 時間経過に伴う導入ワーカーに対する巣内ワーカーによる攻撃性を最大スコアで評価（縦棒と凡例の括弧内はそれぞれ標準誤差とテストのペア数を示す）

表 4-1 時間経過に伴う導入ワーカーに対する巣内ワーカーによる攻撃性の最大スコア
についての分散分析表 (Two-way repeated measures ANOVA)

要因	平方和	自由度	F	P
導入ワーカーの由来	7.806	1	33.963	<0.0001
時間	7.157	2	14.327	<0.0001
導入ワーカーの由来 × 時間	0.762	2	1.657	0.210

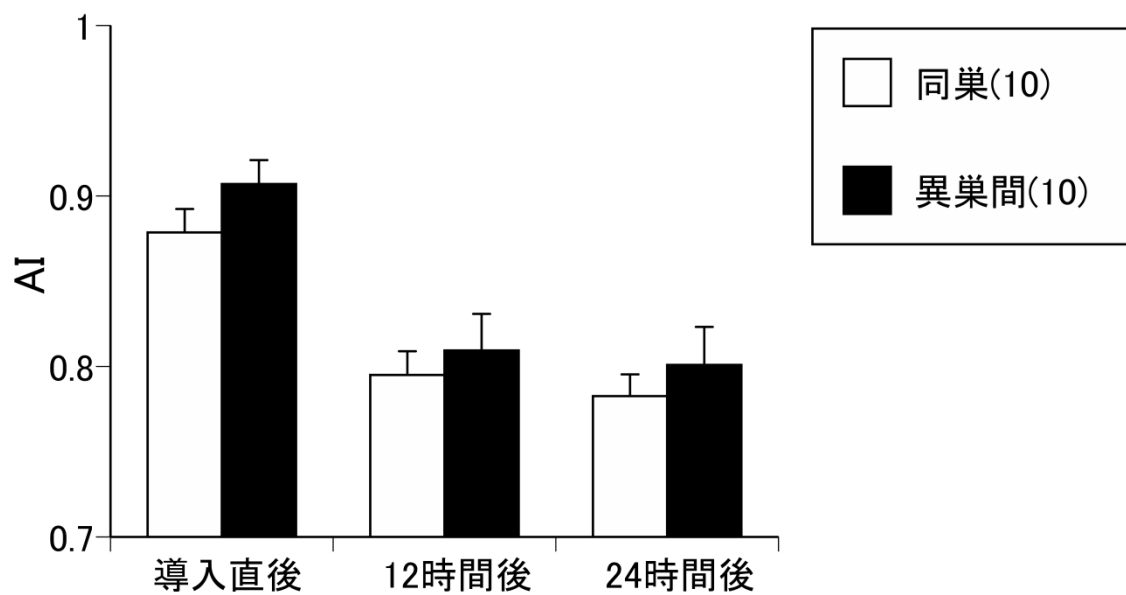


図 4-7 時間経過に伴う導入ワーカーに対する巣内ワーカーによる攻撃性を AI で評価

(縦棒と凡例の括弧内はそれぞれ標準誤差とテストのペア数を示す)

表 4・2 時間経過に伴う導入ワーカーに対する巣内ワーカーによる攻撃性の AI についての分散分析表（Two-way repeated measures ANOVA）

要因	平方和	自由度	F	P
導入ワーカーの由来	0.001	1	0.131	0.720
時間	0.099	2	14.358	<0.0001
導入ワーカーの由来 × 時間	0.004	2	0.339	0.716

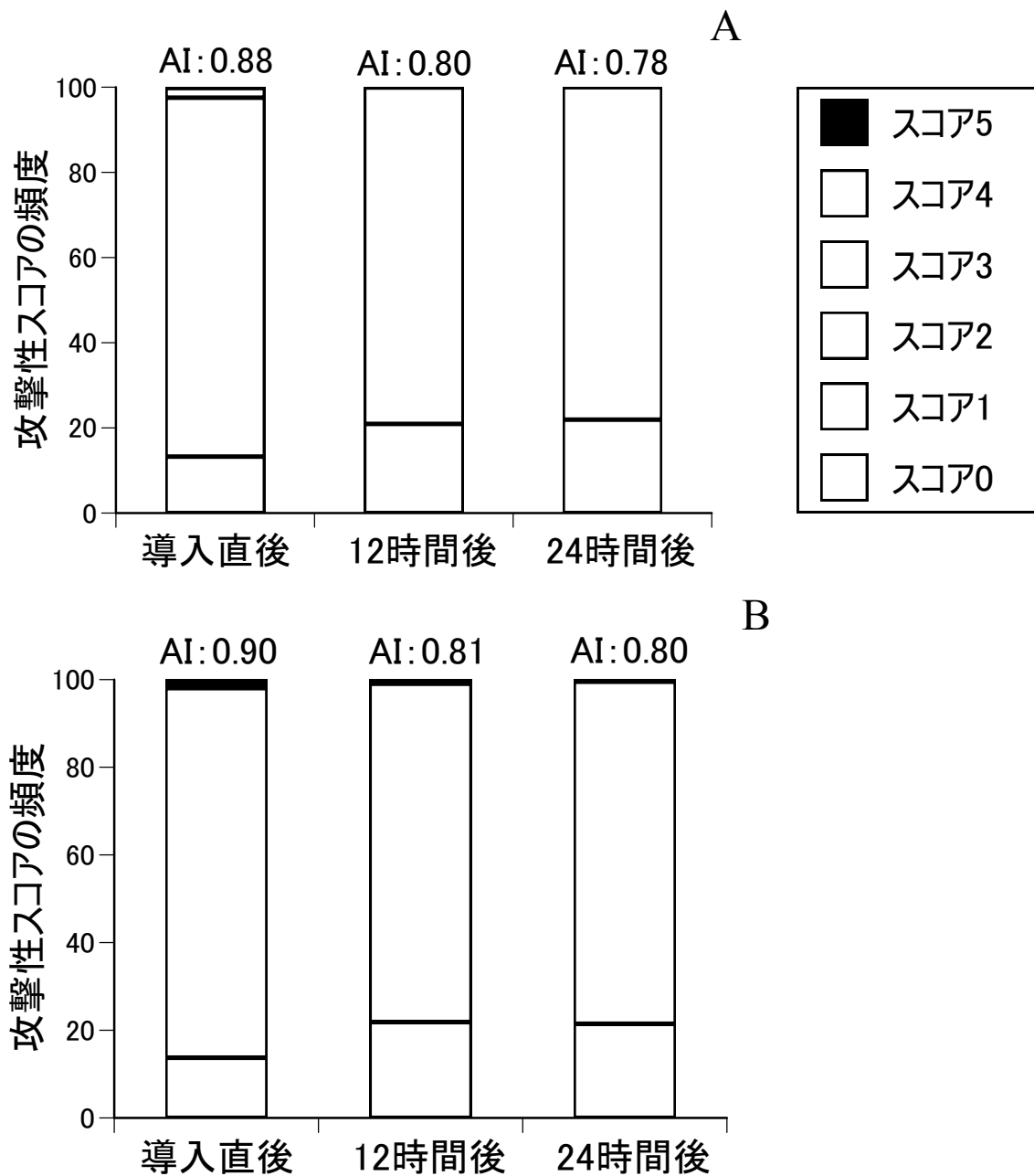


図 4-8 同巢のテスト (A) と異巢間のテスト (B) の各時間における攻撃性テストにおいて観察された攻撃性スコアの頻度.

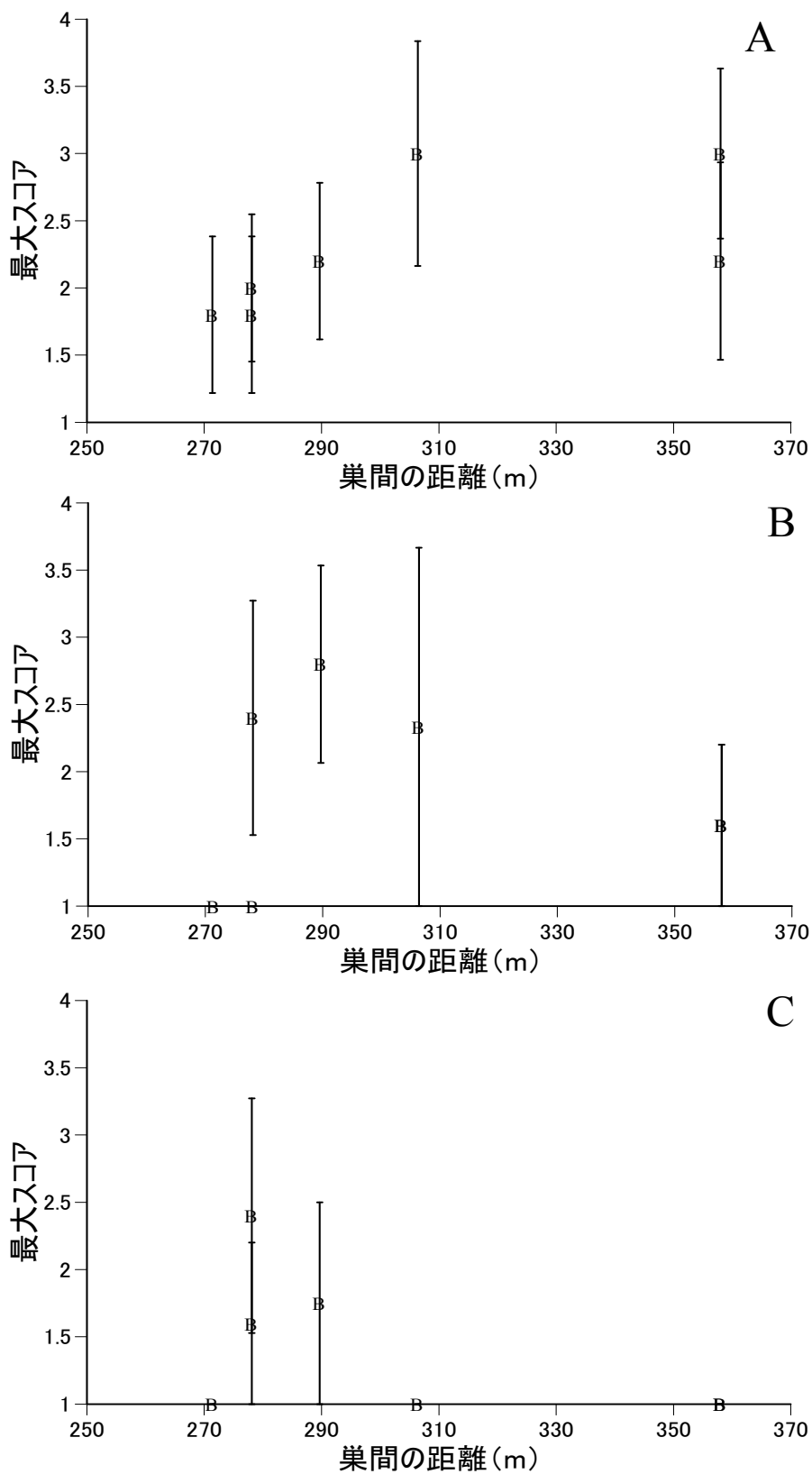


図 4-9 導入ワーカーの導入直後 (A) と 12 時間後 (B)、24 時間後 (C) における巣間の距離と最大スコアの関係 (縦棒は標準誤差を示す)

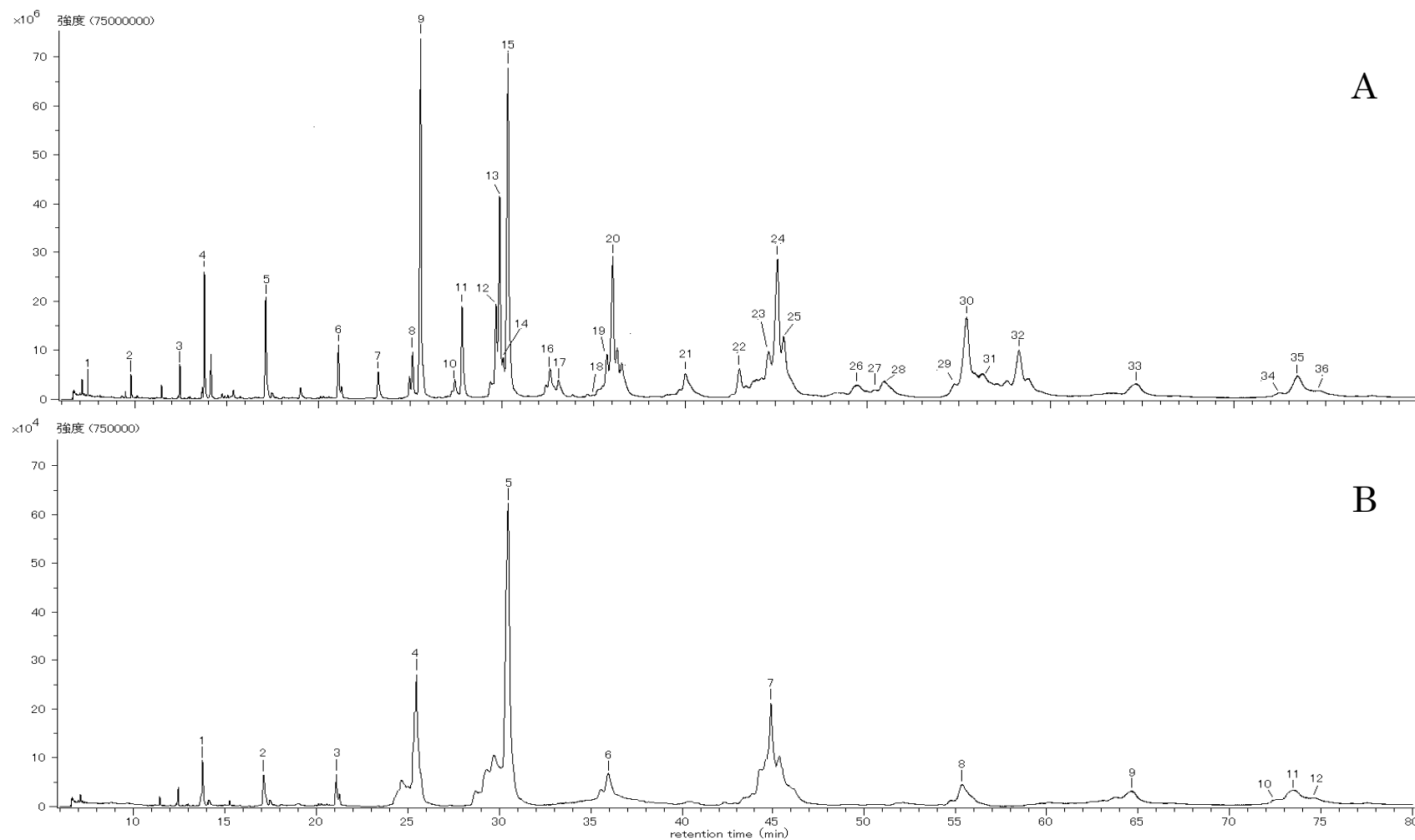


図 4-10 ワーカー (A) と幼虫 (B) の CHCs の主要ピークを示した Total ion chromatogram
(図中の数字はピーク番号を示し、表 4-3 に対応し、表 5-10 に対応する)

表 4-3 ワーカーの CHCs 組成

コロンの後ろの数字と下線は、それぞれ二重結合の数と検定に用いたピークを示す。

ピーク番号	リテンションタイム(分)	化合物名	
1	7.93	Tricosene	C23:1
2	8.62	Tetracosene	C24:1
3	9.25	Pentacosane	C25:1
4	13.76	Nonacosene	C29:1
5	17.1	Hentriacontene	C31:1
6	21.06	Trtriacontadiene	C33:2
7	23.23	Tetratriacontene	C34:1
8	25.11	Pentatriacontadiene	C35:1
<u>9</u>	<u>25.5</u>	<u>Pentatriacontene</u>	<u>C35:1</u>
10	27.42	Hexatriacontadiene	C36:1
11	27.8	Hexatriacontene	C36:1
<u>12</u>	<u>29.65</u>	<u>Heptatriacontadiene</u>	<u>C37:1</u>
<u>13</u>	<u>29.83</u>	<u>Heptatriacontadiene</u>	<u>C37:2</u>
14	30.03	Heptatriacontadiene	C37:2
<u>15</u>	<u>30.24</u>	<u>Heptatriacontadiene</u>	<u>C37:2</u>
16	32.81	Octatriacontadiene	C38:2
17	33.05	Octatriacontadiene	C38:2
18	34.64	Nonatriacontatriene	C39:2
19	35.69	Nonatriacontadiene	C39:2
<u>20</u>	<u>35.97</u>	<u>Nonatriacontadiene</u>	<u>C39:2</u>
21	39.96	Tetracontadiene	C40:2
<u>22</u>	<u>42.95</u>	<u>Hentetracontatriene</u>	<u>C41:1</u>
23	44.5	Hentetracontadiene	C41:2
<u>24</u>	<u>44.91</u>	<u>Hentetracontadiene</u>	<u>C41:2</u>
25	45.31	Hentetracontadiene	C41:2
26	49.17	Dotetracontadiene	C42:2
27	50.27	Dotetracontadiene	C42:2
28	50.75	Dotetracontadiene	C42:2
29	54.65	Tritetracontatriene	C43:3

<u>30</u>	<u>55.23</u>	<u>Tritetracontatriene</u>	<u>C43:3</u>
31	56.12	Tritetracontadiene	C43:2
32	58.01	Tritetracontadiene	C43:2
33	64.24	Tetratetracontatriene	C44:3
34	72.26	Pentatetracontatriene	C45:3
35	73.23	Pentatetracontatriene	C45:3
36	73.91	Pentatetracontatriene	C45:3

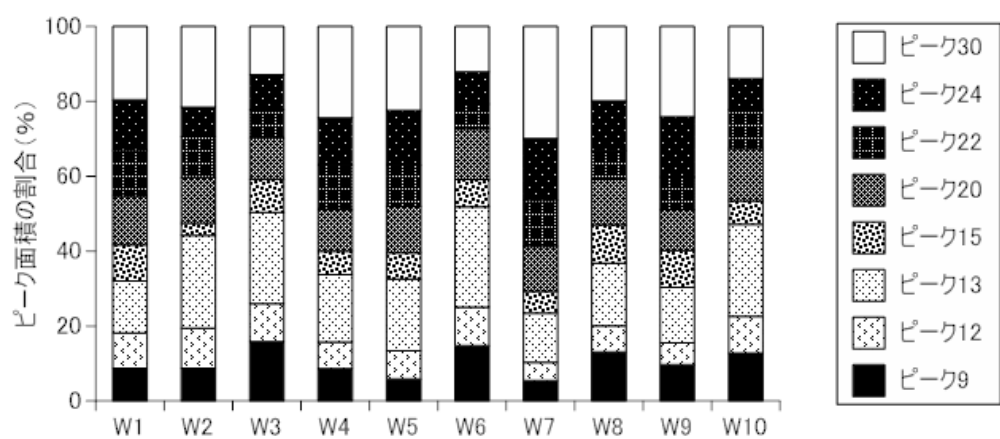


図 4-11 巣 A のワーカー間における主要な CHCs ピーク面積の比較

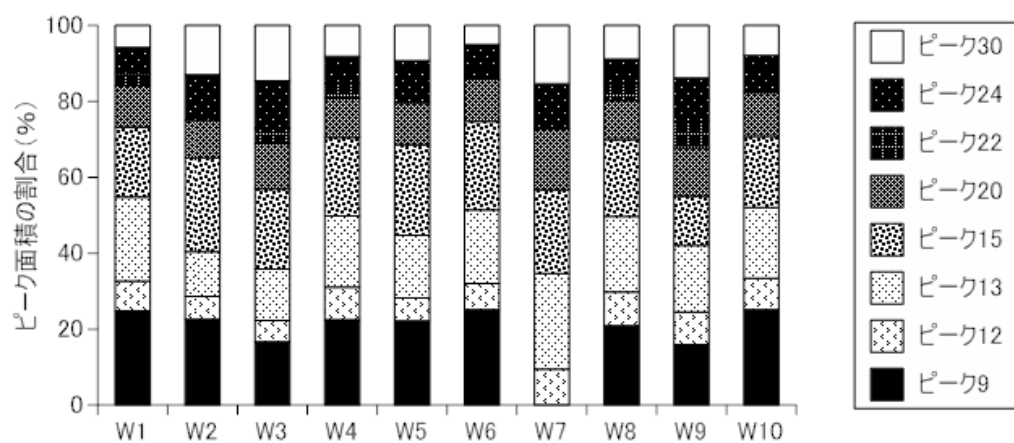


図 4-12 巣 B のワーカー間における主要な CHCs ピーク面積の比較

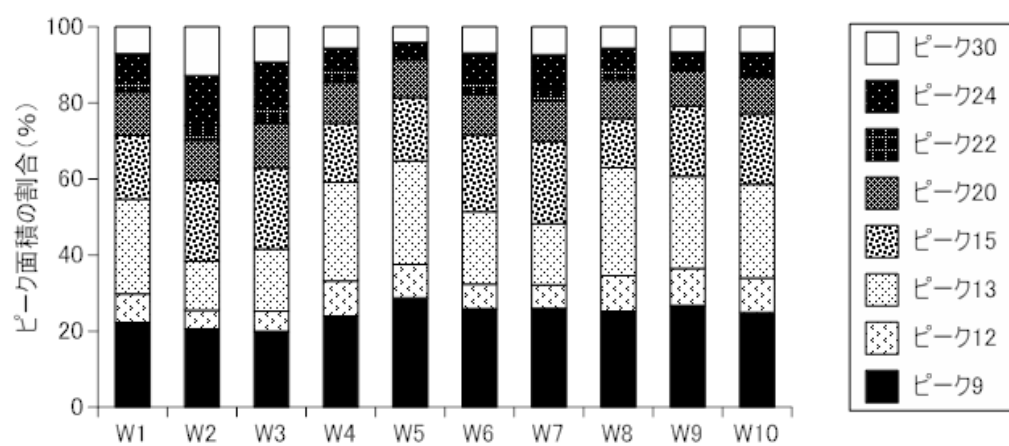


図 4-13 巣 C のワーカー間における主要な CHCs ピーク面積の比較

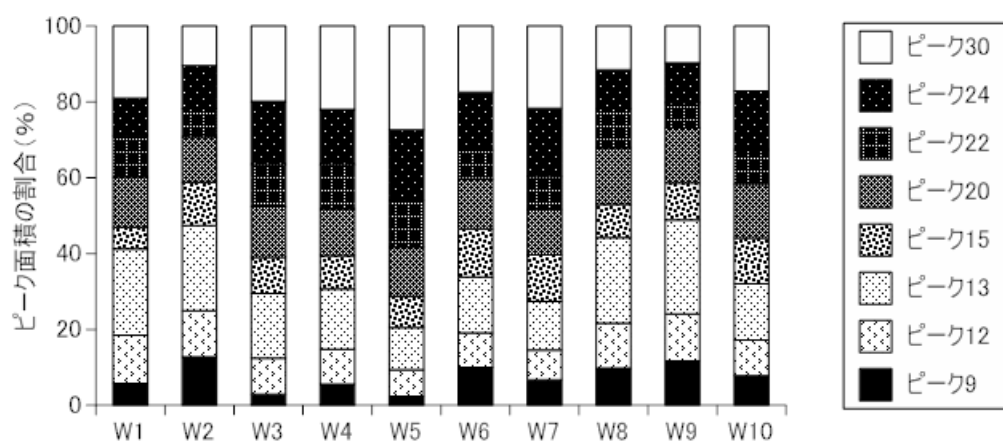


図 4-14 巣 D のワーカー間における主要な CHCs ピーク面積の比較

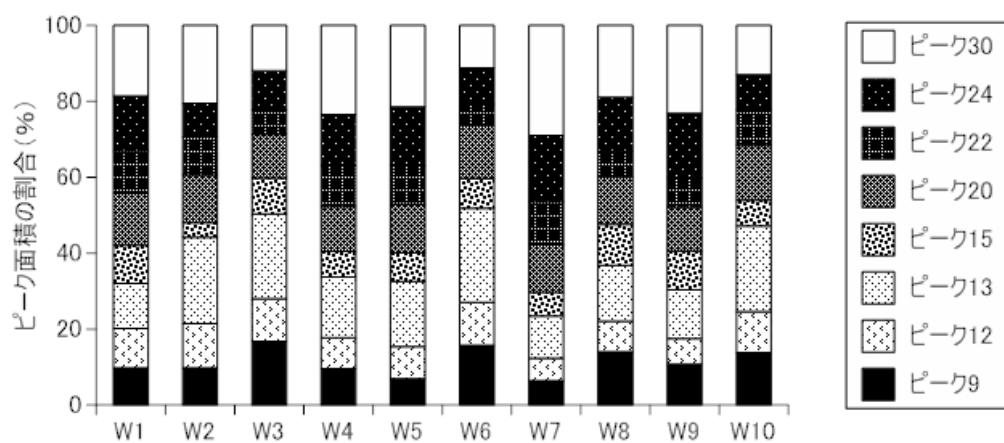


図 4-15 巣 E のワーカー間における主要な CHCs ピーク面積の比較

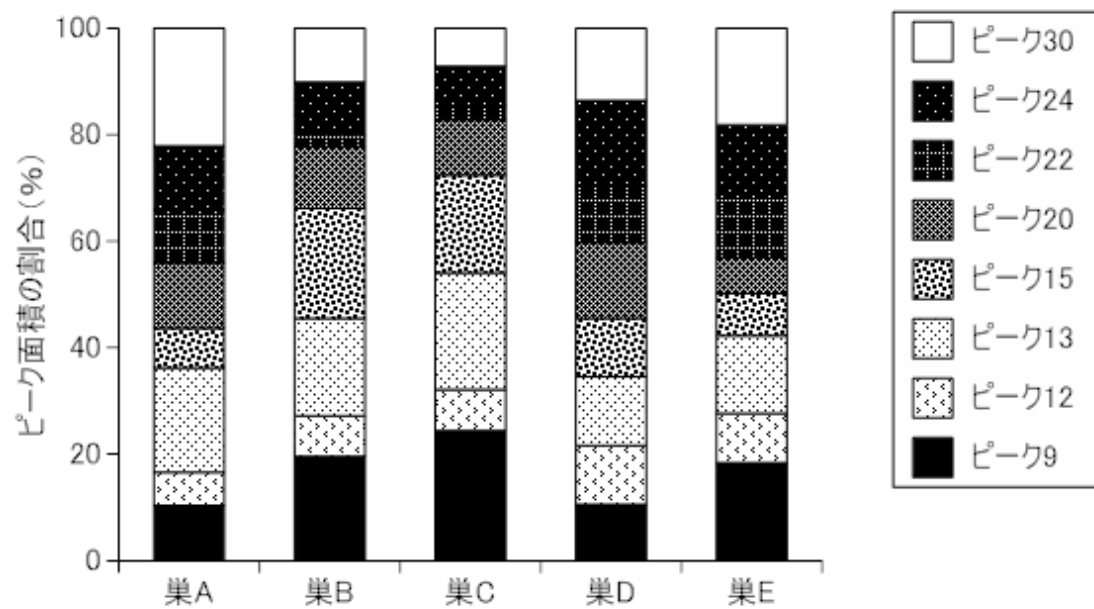


図 4-16 5 巣のワーカー間における主要な CHCs ピーク面積の比較

表 4-4 主要な 8 種類の CHCs ピークを用いた主成分分析の結果

			第1主成分	第2主成分	第3主成分	第4主成分	第5主成分	第6主成分	第7主成分	第8主成分
固有値			4.582	2.25	0.814	0.147	0.101	0.082	0.024	<0.001
寄与率			57.28	28.12	10.175	1.835	1.268	1.021	0.301	<0.001
累積寄与率			57.28	85.4	95.575	97.41	98.678	99.699	100	100
固有ベクトル	ピーク 9	C35:1	-0.329	0.106	0.219	0.283	-0.151	0.142	0.102	0.312
	ピーク 12	C37:1	-0.278	0.231	-0.139	0.236	0.522	-0.112	-0.212	0.231
	ピーク 13	C37:2	0.048	-0.334	-0.219	-0.143	-0.387	0.002	0.132	0.022
	ピーク 15	C37:2	-0.172	0.124	0.051	0.037	0.217	0.235	0.203	0.194
	ピーク 20	C39:2	0.151	-0.181	0.625	-0.158	-0.161	-0.106	-0.11	0.043
	ピーク 22	C41:1	0.413	0.272	-0.248	0.291	0.235	0.264	-0.143	0.321
	ピーク 24	C41:2	0.112	0.354	0.325	-0.161	0.031	-0.516	0.584	0.145
	ピーク 30	C43:3	0.275	-0.159	-0.187	-0.321	-0.211	0.106	-0.291	0.367

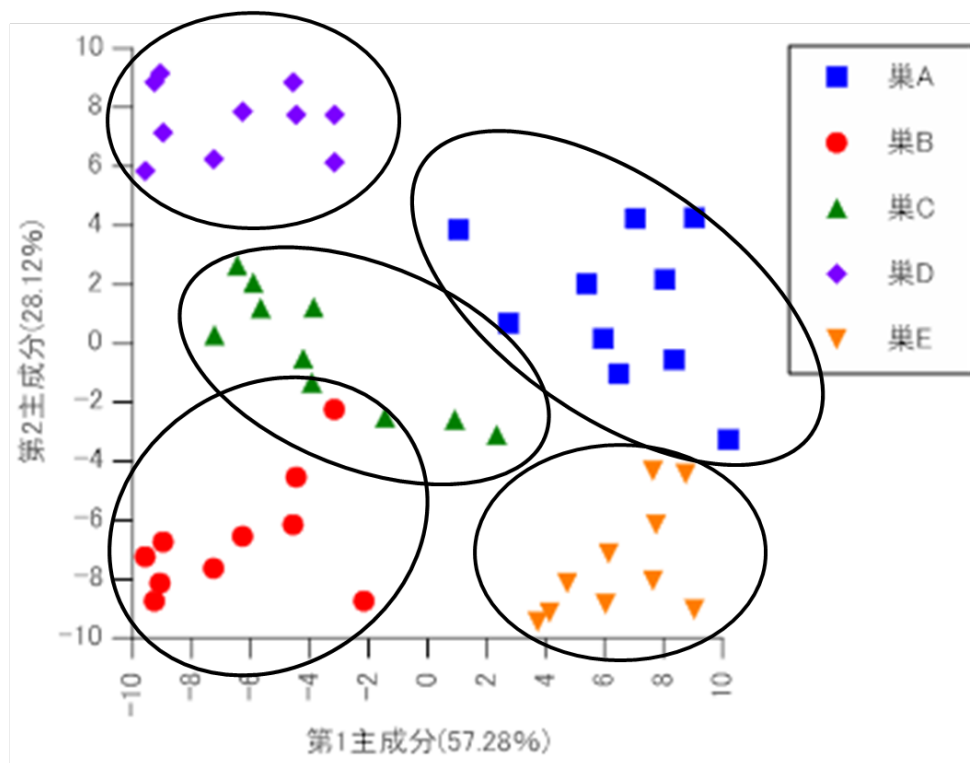


図 4-17 主要 8 ピークを用いた主成分分析によるワーカーの CHCs の散布図

(軸の括弧内は寄与率を示す)

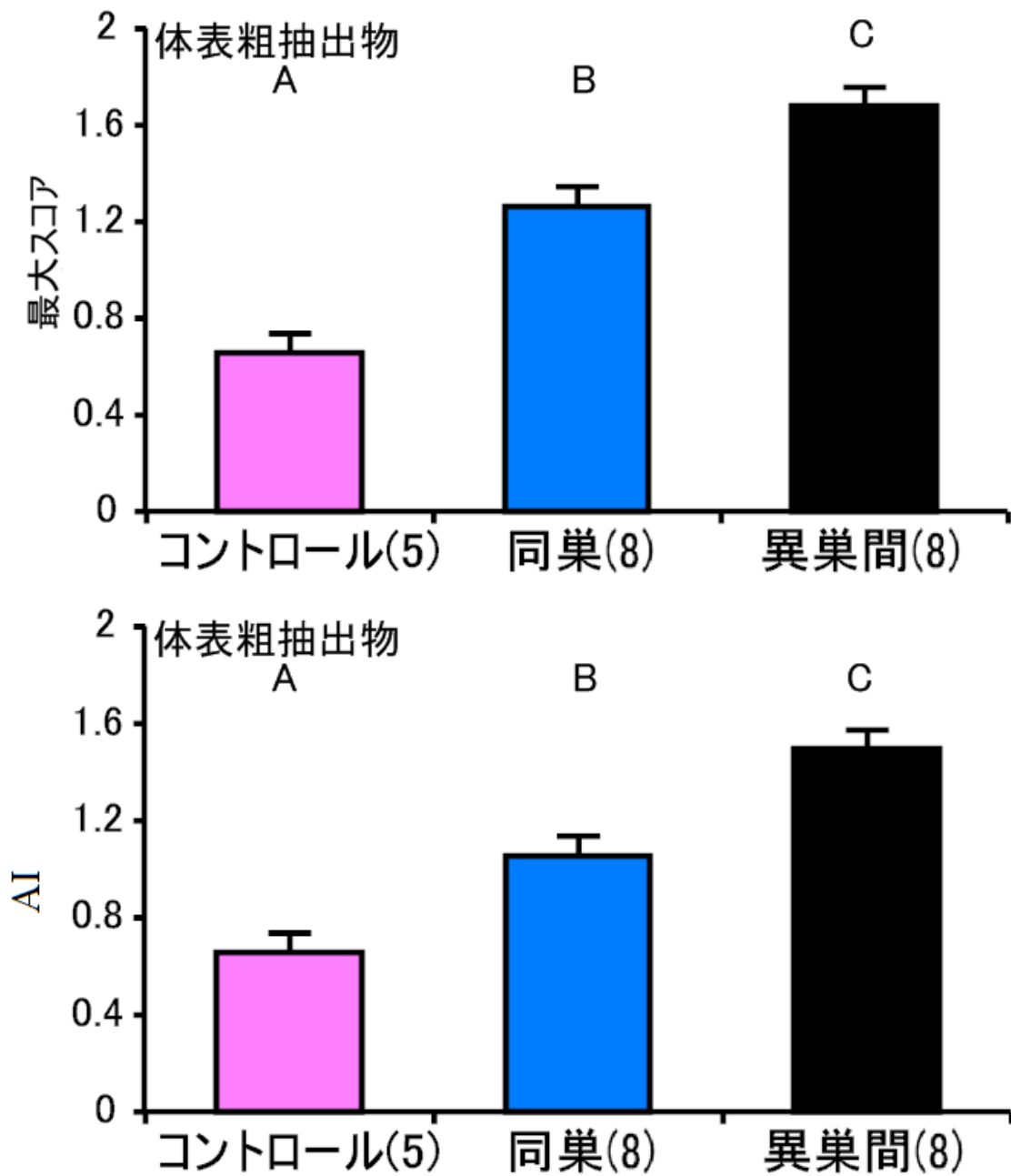


図 4-18 同巢のワーカーと異巢のワーカーの粗抽出物を塗布したダミーに対する攻撃テストの比較（縦棒と括弧内の数字はそれぞれ標準誤差とテストのペア数を示す）

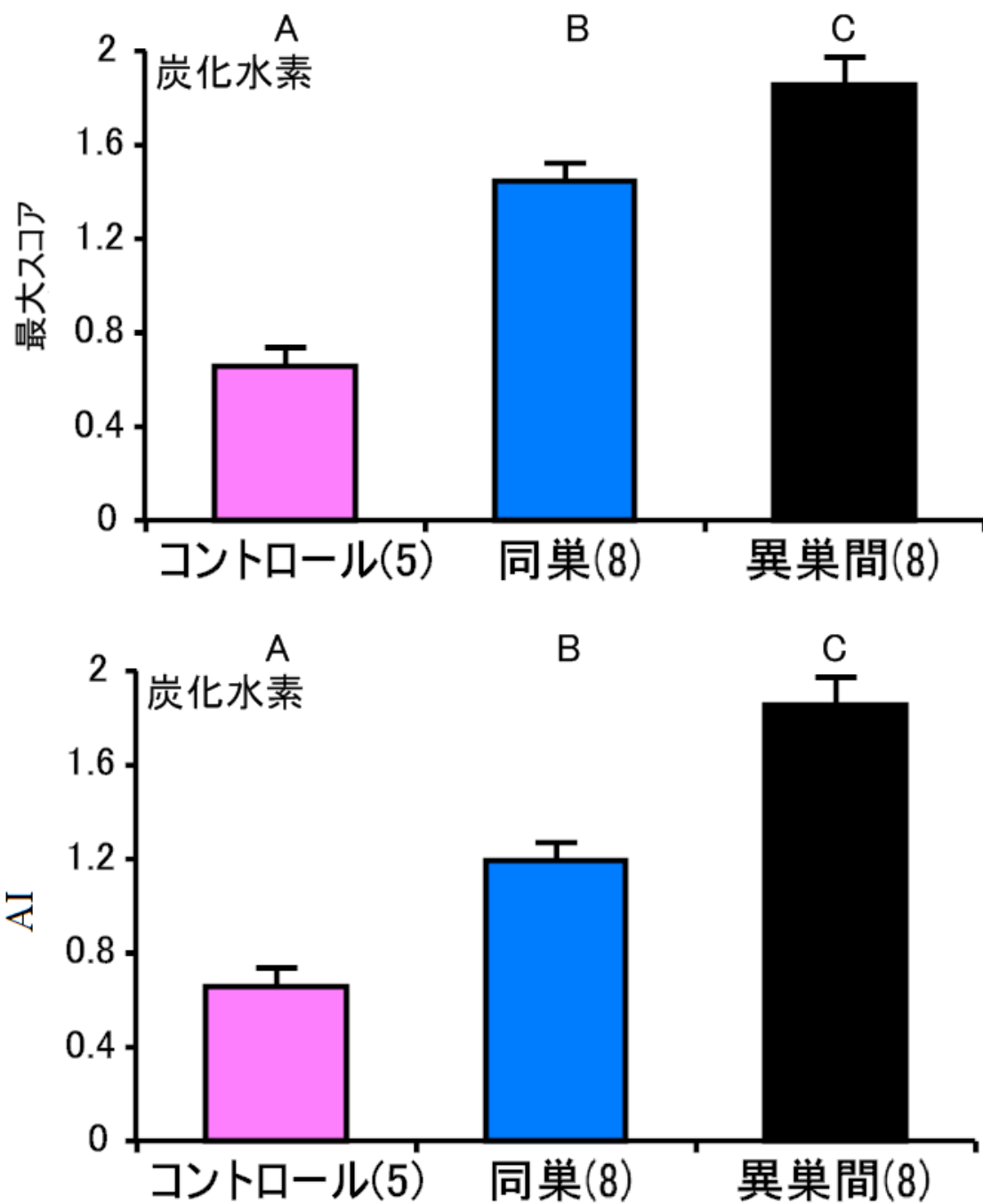


図 4-19 同巢のワーカーと異巢のワーカーの体表炭化水素を塗布したダミーに対する攻撃テストの比較（縦棒と括弧内の数字はそれぞれ標準誤差とテストのペア数を示す）

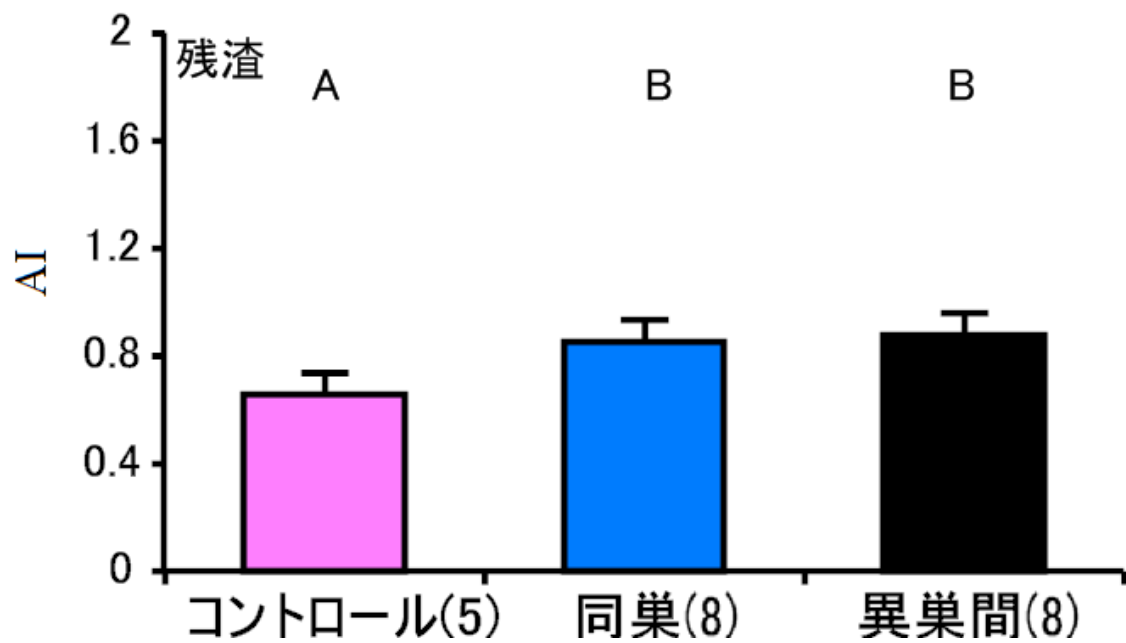
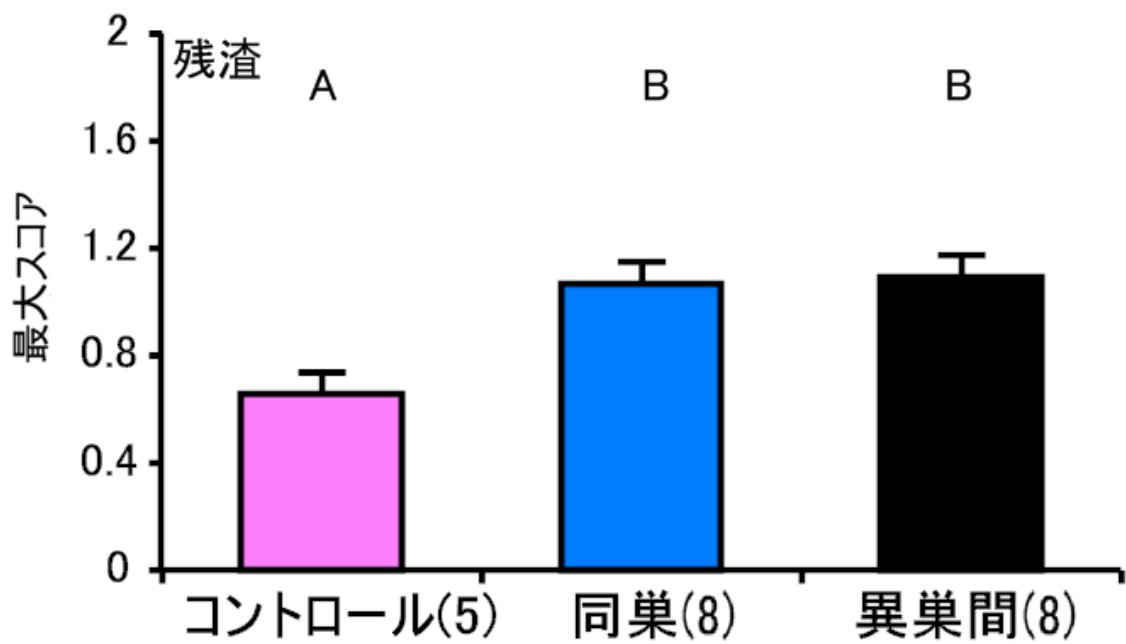


図 4-20 同巢のワーカーと異巢のワーカーの残渣を塗布したダミーに対する攻撃テストの比較（縦棒と括弧内の数字はそれぞれ標準誤差とテストのペア数を示す）

4-4. 考察

4-4-1. 巣仲間認識と攻撃行動

一対一の攻撃性テストにおいて同じ巣由来のワーカーに対する攻撃性と異なる巣由来のワーカーに対する攻撃性に違いがあるかどうかを比較したが、有意な差はなかった（図 4-1）。しかし、本種は多巣性であるため、同じコロニーに属するワーカーを異巣に含めていたために差が出にくくなった可能性がある。そこで、巣間の距離が遠く、異なるコロニーに属することが期待される巣間の距離が 200m 以上離れた巣や、100km 以上離れた巣に対する攻撃性を同巣由来のワーカーに対する攻撃性と比較した。その結果、攻撃性は巣間の距離が遠いワーカーに対して高かったが、その差は小さかった（図 4-2）。一方、巣への導入テストでは、巣間の距離が 200m 以上離れた巣由来のワーカーに対する攻撃性は、同じ巣由来のワーカーに対する攻撃性よりも高く、強い差が検出された（図 4-6, 4-7）。これらの結果から、一対一の攻撃性テストと巣への導入テストでは異なる結果が得られたものの、トゲズネハリアリのワーカーは巣仲間と非巣仲間を認識して攻撃行動を示すと結論付けることができる。一対一の攻撃性テストは、攻撃性テストで用いられる一般的な手法である（Sunamura et al. 2009; Vogel et al. 2009; Buczkowski 2012; Pikart et al. 2015）。しかし、トゲズネハリアリは移動能力が乏しい（山口他未発表）。そのため、ワーカーが巣外で異巣のワーカーに一対一で遭遇する機会は少なく、攻撃行動を示しにくかったのかもしれない。あるいは、野外でワーカーどうしが一対一で遭遇した場合でも、攻撃行動を起こさずに回避した方が良いように思われる。一方、巣への導入テストでは、巣仲間でない個体が巣内へ直接侵入するため、一対一の攻撃テストよりも強い攻撃行動が示されたのだろう。朽木に営巣するムネボソアリ属のアリ（*Leptothoraxny landeri*）においても、本種と同様に一対一の攻撃性テストよりもワーカーを異巣に導入した方がワーカーどうしはより攻撃的に振舞うことが報告されており（Heinze et al. 1996）、本研究と一致している。Buczkowski（2012）

は、一対一の攻撃性テストとプロテインマーカー分析によってケアリ属に属する多巢性の *Lasius niger* においてコロニーの範囲を調査し、プロテインマーカー分析よりも一対一の攻撃性テストの結果による推定の方が、コロニーの範囲が大きく見積もられたことを報告した。著者は2種類の手法によって異なる結果が得られたことに関して、一対一の攻撃性テストでは人工的な実験エリアにワーカーを配置することにより社会的・生態学的な合図が失われたため、攻撃行動が観察されず、正確な見積もりができなかった可能性があるとして述べている (Buczowski 2012)。本研究においても、一対一の攻撃性テストという野外では通常置かれない環境では強い攻撃行動が示されなかったのかもしれない。

巣への導入テストでは、異なる巣由来のワーカーに対して攻撃行動が示されたが、この攻撃性は時間経過とともに減少した (図 4-6)。攻撃性が減少したことから、導入ワーカーの CHCs が巣内のワーカーのものに似るように変化することが示唆されるが、これは2つの可能性によって説明できるかもしれない。一つ目は、導入ワーカーが導入先の巣で社会寄生的に振舞うために自身の CHCs を変化させた可能性である。ミツバチやハナバチでは、ワーカーが血縁関係のない同種コロニーへ入り、オス卵を産卵することが知られている (セイヨウミツバチ : Neumann & Moritz 2002 ; ツチマルハナバチ : Carlos et al. 2004 ; ヒメミツバチ : Piyamas et al. 2005)。トゲズネハリアリのワーカーは卵巣小管を持っているため潜在的に繁殖が可能であり (Yamaguchi et al. 2016)、飼育下において、女王不在の巣のワーカーが産卵したケースが確認されている (山口他未発表)。槇田 (2013) は、有翅メス間血縁度と蛹 (新ワーカー) 間血縁度、幼虫間血縁度は単女王制・一回交尾で期待される値と矛盾しなかったが、ワーカー間の平均血縁度が単女王制・一回交尾の場合に期待される値より低かったことから、遺伝的に異なるワーカーが巣内に存在したことを示唆した。本種のワーカーもミツバチやハナバチと同様に異なる巣で社会寄生的に産卵するならば、侵入したワーカーが自身の CHCs を侵入した巣に似せることにより、攻撃を受けにくくなる可能性はある。二つ目

は、grooming による CHCs の混合の可能性である。フトハリアリ属のツヤオオハリアリ (*Pachysondy laluteipes*) でも、巣への導入テストにおいて巣仲間よりも巣仲間以外の導入ワーカーに対する攻撃性の方が高いことが示されている (Kikuchi et al. 2007)。このとき、導入先のワーカーは巣仲間よりも導入ワーカーに対してより頻繁に grooming を行っていた。このことから、著者らは異巣のワーカーに対する grooming を受け入れと排除の中間の行動だと評価した (Kikuchi et al. 2007)。巣への導入テストでの観察中、トゲズネハリアリのワーカーによる grooming は異巣由来の導入ワーカーに対しても示されていた。CHCs は grooming によってワーカー間で交換されていることが知られているが (Vargo & Passera 1991; Lenoir et al. 1998)、導入先のワーカーが導入ワーカーを grooming することで互いの CHCs が混合され、その混合された CHCs が導入先のワーカー間で共有されたために、導入先のワーカーによる攻撃行動が減少したのかもしれない。

いくつかのアリの種では、巣間の距離とワーカー間の攻撃性は相関することが明らかにされている (Beye et al. 1998; Pirk et al. 2001; Nicolas & Serge 2008; Zinck et al. 2008; Newey et al. 2010; Pacheco et al. 2015)。トゲズネハリアリは多巣性種であることから、近くの巣は同じコロニーに属する可能性が高いため攻撃性は低くなり、遠い巣に対して攻撃性は高くなることが予想されるが、本研究では 2 種類の攻撃性テストを行ったが、どちらでも巣間の距離と攻撃性は相関しなかった (図 4-5, 図 4-9)。しかし、巣間の距離と攻撃性が相関しないことが示された報告もある。ツヤオオハリアリ (*P. laluteipes*) やハキリアリ的一种 *Acromyrmex lobicornis*、ケアリ属に属する多巣性の *L. neoniger* でも、本研究と同様に攻撃性は巣間の距離とともに増加しないという結果が報告されている (ツヤオオハリアリ : Kikuchi et al. 2007, *A. lobicornis* : Dimarco et al. 2010, *L. neoniger* : Buczkowski 2012)。 *A. lobicornis* において巣間の距離とワーカー間の攻撃性が相関しなかった原因について、著者らは生息環境の影響を挙げている。 *A. lobicornis* は似たような植生下に生息し、同様な餌資源を利用している。そのため著

者らは、体表の化学物質が似て、攻撃性に差が出なかった可能性を挙げている (Dimarco et al. 2010)。トゲズネハリアリも餌資源としてハエ目の幼虫を好む傾向があることから、巣間の距離とワーカー間の攻撃性の間に関係がなかったとも考えられる。しかし、トゲズネハリアリでは化学分析の結果から体表の化学物質には巣間で変化が生じていたため、営巣環境や食性が影響した可能性は低いだろう。また、トゲズネハリアリと同じ多巣性種であるケアリ *L. neoniger* でも、巣間の距離と攻撃性が相関しないことが示されている (Buczkowski 2012)。著者はその理由としてコロニーの範囲を挙げている (Buczkowski 2012)。 *L. neoniger* では、ワーカー間の攻撃行動は巣間の距離が約 170cm を境界に強くなり、それより長く距離が離れても攻撃性は一定であった。同様に、トゲズネハリアリのコロニーが活動する範囲もとても小さいのかもしれないが、一対一の攻撃性テストでは 10m 以内の近い巣間でワーカー間の攻撃行動は変化しなかった。今後は巣に導入する実験において近い巣間で攻撃行動を観察する必要があるだろう。

4-4-2. 巣仲間認識と体表炭化水素

トゲズネハリアリのワーカーの CHCs は、炭素数 23~45 のアルケンやジエン、トリエンを含む 36 個の炭化水素から構成されていた (表 4-3, 図 4-10)。Martin & Drijfhout (2009) は 5 亜科 78 種のアリの CHCs に存在する炭化水素の組成を比較し、最も多く含まれる炭化水素は直鎖アルカンで、次いでモノメチルアルカンやジメチルアルカン、アルケン、ジエン類が多く含まれることを報告した。トゲズネハリアリのワーカーの CHCs には直鎖アルカンや分枝アルカンは含まれていなかったが、ヤマアリ属の *F. gnava* や *F. occulta* の女王においても、本種のワーカーと同様に直鎖アルカンが CHCs に含まれていないことが報告されている (Johnson et al. 2001)。また、Martin & Drijfhout (2009) はアリの CHCs の鎖長は 19~33 のものがほとんどであることを報告したが、トゲズネハリアリの CHCs は鎖長 34 以上の炭化水素がそのほとんどを占め

ていた(表 4-3)。しかし、このことについても *F. pratensis* やフトハリアリ属の *P. villosa* において、ワーカーの CHCs は炭素数 34 以上の炭化水素を多く含むことが報告されており (*F. pratensis* : Martin & Drijfhout 2009 b ; *P. villosa* : Lucas et al. 2004)、本研究と一致する。トゲズネハリアリのワーカーの CHCs は、他のアリの CHCs と比べてアルカンが存在せず、炭素数の多い炭化水素がほとんどを占める点で特徴的な組成であると言えるかもしれない。

200m 以上離れた異なる巣間では CHCs の組成比が異なり (図 4-16)、ほとんどすべての巣が分離された (図 4-17)。この結果から、トゲズネハリアリのワーカーには巣あるいはコロニー特有の CHCs の組成比が存在していることが示唆される。また、この結果は、アリにおいて CHCs の組成比が巣仲間の認識に関わっていることを報告した先行研究と一致する (Ozaki et al. 2005; Martin & Drifhout 2009; d’Ettorre & Lenoir 2010; Kather & Martin 2015; Esponda & Gordon 2015)。クロオオアリ (*Camponotus japonicus*) では、ワーカーは異なるコロニー由来の個体に対して攻撃的で、その CHCs はコロニー特異的な組成比を示すことが明らかにされている (Ozaki et al. 2005)。多巣性のアリ数種においても、同様な関係が報告されている。ケアリ属に属する *Lasius flavus* (Steinmeyer et al. 2012) やカタアリ亜科に属する *Lridomyrmex purpureus* (Wilgenburg et al. 2006)、砂漠にすむ *Cataglyphis* 属のアリ *C. niger* (Lahav et al. 1999) では、ワーカーが異なるコロニーのワーカーに対して攻撃的で、その CHCs の組成比はコロニー間で異なる。第 2 章の結果から、トゲズネハリアリが多巣性種であることが示唆されたが、本研究は多巣性種においても CHCs により巣 (コロニー) 仲間の認識が行われていることを示した数少ない成果である。

アリの巣仲間認識合図 (recognition cues) は、遺伝的要因 (Breed et al. 1985; Beye et al. 1997; van Zweden et al. 2009; d’Ettorre and Lenoir 2010; Kather & Martin 2015) や餌や巣材などの環境要因 (Breed et al. 1995; Heinze et al. 1996; Richard et al. 2004; Buczkowski et al. 2005; Martin et al. 2013) のどちらか、あるいは両方による

影響を受けることが知られている(Vander Meer & Morel 1998; Wilgenburg et al. 2006)。例えば、Heinze et al. (1996) は、ムネボソアリ属に属する *Leptothorax nylanderi* において、巣仲間を別々の巣材で飼育することによって攻撃行動が変化し、異なる巣材で営巣していた場合には巣仲間を認識しなくなることを報告した。また、Richard et al. (2004) は、ハキリアリの一種 *Acromyrmex subterraneus* において、異なる巣のワーカーに同じ餌を与えると CHCs の組成比が似るように変化したことをつきとめた。さらに著者らは、ワーカーは異なる餌を与えた同巣のワーカーに対して攻撃的になったことから、餌が巣仲間認識に影響することを報告した。一方で、van Zweden et al. (2009) は、ヤマアリ亜科の *Camponotus aethiops* において、異なるコロニーを同じ環境で 1 年間飼育するとワーカーの CHCs の組成比が似てくるが、異なるコロニーの個体に対して依然として攻撃的で、巣仲間認識を行う能力が保持されていることを示した。そのため著者らは、遺伝的要因が巣仲間認識に影響すると考えた。

本研究では、巣仲間認識合図が環境要因と遺伝的要因のどちらか、もしくは両方の影響を受けているかを検証していないが、検討を行う。まず遺伝的な影響についてだが、一般的に、多女王制であったり、単女王制でも女王が複数回交尾するような遺伝的に多様なコロニーでは、巣仲間認識合図も多様化することが示されている (van Zweden et al. 2009; Kather & Martin 2015)。トゲズネハリアリは第 2 章からも単女王制であることが示唆されており、マイクロサテライト DNA 分析の結果からも単女王制・一回交尾であることが示唆されている (楨田 2013)。そのため、巣仲間認識合図もコロニー内では比較的変異が大きくなかった可能性がある (ただし、巣内のワーカー間では CHCs の組成比が統計的に有意に異なっていた)。そして、200m 以上離れた異なる巣 (コロニー) 間では CHCs の組成比が異なったのかもしれない。このことは、トゲズネハリアリでは、遺伝的要因により巣仲間認識合図が形成された可能性を示唆する。

一方で、巣への導入実験では、巣内に導入された異巣のワーカーに対する攻撃は時間とともに減少した。異巣のワーカーは導入先で grooming を受けたため、CHCs の組成

が時間の経過に伴い導入先の巣の CHCs と類似したのかもしれない。このことは、トゲズネハリアリのワーカーの CHCs 組成が環境要因によっても短時間で変化することを示唆している。環境要因が巣仲間認識合図に影響する場合、多巢性種のアリでは同じコロニーであっても巣間で微環境が異なるため、ワーカーの CHCs が異なる可能性がある。トゲズネハリアリにおいて、同じコロニーの異なる巣間で CHCs が共有されるメカニズムについて検討する。アリでは grooming によってワーカー間で CHCs が交換されていることが知られている (Vargo & Passera 1991; Lenoir et al. 1998)。例えば、Lenoir et al. (1998) は、アリの体表にある炭化水素のほとんどが常温では揮発性が乏しく、grooming や栄養交換のような直接的な接触によってワーカー間で共有されることを示した。多巢性のアリは一つのコロニーが複数の巣に分かれて営巣しているが、巣間でワーカーや未成熟個体の行き来が行われる。トゲズネハリアリでもワーカーが移動先のワーカーと grooming することで互いの CHCs が共有され、その共有された CHCs が異なる巣間で共有されるのかもしれない。あるいは、ヤマアリ亜科のフロリダオオアリ (*Camponotus floridanus*) やハリアリ亜科の *Diacamma* sp. では、女王が産んだ卵の表面上には女王由来の化学物質が存在することが示されている (Endler et al. 2004; Shimoji et al. 2012)。トゲズネハリアリでも女王が産んだ卵がワーカーによってコロニー内の異なる巣に運ばれることによって、CHCs が共有されるのかもしれない。トゲズネハリアリのワーカーの巣仲間認識合図がどのような要因によって形成されるかを検討するためには、今後分子遺伝学的手法や室内における操作実験によって検討する必要がある。

巣内のワーカー間で CHCs の組成比が有意に異なったことについても考察する (図 4-11 ~ 図 4-15)。このことは、多巢性種であることと関係しているのかもしれない。多巢性種では、1 つのコロニーが異なる複数の巣で営巣している。カタアリ亜科に属する多巢性のアリ *Lridomyrmex purpureus* では、同じコロニーであっても、巣間で微環境が異なり、CHCs の組成比に変異が生じることが報告されている (Wilgenburg et al.

2006)。しかし、もしワーカーが **CHCs** のわずかな違いを厳密に識別して攻撃行動へと発展させてしまえば、同じコロニーだが異なる巣のワーカーに対して攻撃してしまうかもしれない。多巣性のアリでは、“コロニー特有の **CHCs** 組成はあるが、多少の変異をもつ” ことにより、同コロニーでも異巣のワーカーと交流することができるのかもしれない。このことは、Reeve (1989) による **optimal threshold hypothesis** が支持されることを意味する。多巣性により異なる巣に存在するワーカーどうしが同じコロニーのメンバーとして攻撃しないようにするためには、巣間で **CHCs** が多少異なっても同じコロニー仲間として認識できることが適応的と言えるだろう。朽木に営巣するトゲズネハリアリのコロニーの範囲を野外で特定することは非常に難しいが、近い巣は同じコロニーに属している可能性が高いため、隣接する複数の巣を採集し、巣間の遺伝的な関係を明らかにした上で、**CHCs** 組成を分析すれば、コロニー内の異なる巣間に存在する **CHCs** の変異を検討できるだろう。

2 種類の攻撃性テストと **CHCs** 分析の結果から、トゲズネハリアリのワーカーは異巣（異なるコロニー）のワーカーに対して攻撃的で（図 4-6, 4-7）、ワーカーの **CHCs** の組成比は巣間で異なっていた（図 4-16, 4-17）。しかし、このことはワーカーが体表炭化水素に対して反応し、攻撃行動を示しているとは限らない。例えば、ワーカーの体表に存在する炭化水素以外の成分に反応している可能性もある。ワーカーが異巣と同巣のワーカーの体表から抽出された体表粗抽出物と体表炭化水素、残渣のそれぞれのダミーにどのように反応するかを検討したところ、体表粗抽出物と体表炭化水素を塗布したダミーでは、同巣よりも異巣ときに攻撃的な行動がみられた。一方、体表炭化水素を除いた残渣を塗布したダミーでは、攻撃行動は同巣と異巣の間に違いは見られなかった（図 4-18 ~ 4-20）。これらの結果はトゲズネハリアリのワーカーが炭化水素を手がかりに巣仲間と巣仲間以外の個体を区別し、攻撃行動を起こすことを示している。ワーカーの体表の炭化水素が巣仲間認識の手掛かりとして使用されていることは、日本に広く分布するヤマアリ亜科に属するクロオオアリ（Ozaki et al. 2005）やフタフシアリ亜科に属す

る収獲アリの一種 *Pogonomyrmex barbatus* (Greene & Gordon 2007)、アシナガアリ亜科の *Linepithema humile* と *Aphaenogaster cockerelli* (Diane et al.2000) でも、確認されている。例えば、Ozaki et al. (2005) は、クロオオアリでは体表に存在する化学物質の中でも炭化水素が巣仲間認識に関わることを示した上、触角上の知覚感覚子によって体表炭化水素が検出されていることを示した。これらの先行研究で報告された種のうち、*A. cockerelli* は多巣性種であるが、残りの3種は単巣性種である。そのため、今のところ検討された種数は少ないものの、アリでは多巣性であっても単巣性であっても、ワーカーが炭化水素を手がかりに巣仲間ではない個体を認識し、攻撃行動を示すといえる。また、本研究はハリアリ亜科において体表炭化水素が巣仲間認識を行うための手掛かりとして利用されていることを示した数少ない報告である。

5 章. 成虫と幼虫間の巣仲間認識

5 章. 成虫と幼虫間の巣仲間認識

5-1. 背景

社会性昆虫では、一般にワーカーは自巣のワーカーを認識することができ、異巣由来のワーカーに対しては攻撃的な行動を示すことが知られている (Fletcher et al. 1987)。また、ワーカーが自巣の幼虫を認識するかについて検討した研究もみられる (reviewed by van Zweden & d'Ettorre 2010)。シロアリでは、アフリカ産収獲シロアリの一種 *Hodotermes mossambicus* において、ワーカーは異なるコロニーの幼虫に対して攻撃行動を示すことはなかったが、同じコロニーの幼虫をより頻繁に世話することが示されたことから、自巣のワーカーだけでなく幼虫も認識すると考えられた (Kirchner & Minkley 2003)。カリバチにおいても、ワーカーが自巣の幼虫を認識できるか検討されている。北米産アシナガバチ属 (*Polistes*) の一種 *P. fuscatus* では、創設メスは自身のコロニーの幼虫と血縁にないコロニーの幼虫を区別できるだけでなく、姉妹コロニーの幼虫と血縁にないコロニーの幼虫の区別もできることが報告された (Panek & Gamboa 2000)。著者らは *P. fuscatus* の創設メスが幼虫を血縁認識する理由について、*P. fuscatus* では頻繁に乗っ取りが起こるため、創設メスは自らと姉妹の巣内にいる幼虫 (従姉妹) を認識する必要があると考えた。さらに著者らは、同じコロニーの成虫と幼虫であれば、CHCs の成分が似ることも示した。最近 Kudô et al. (2016) は、南米産多女王制アシナガバチの一種 *Polybia paulista* において、ワーカーは異巣の幼虫に対して頻繁に噛みつくことはないものの、自巣の幼虫をより頻繁に舐めることを示した。さらに著者らは、幼虫の CHCs の成分をコロニー間で比較し、その組成比がコロニー特有であることを示した。これらの結果から、カリバチでは女王が複数存在し、コロニー内の CHCs の組成比が複雑になると予想される場合でも、ワーカーは自巣の幼虫を認識できると言える。また、Kudô et al. (2016) は、*P. fuscatus* とは違って乗っ取りが見られない *P. paulista* においてワーカーが幼虫を認識することの意義について、ワーカー

が幼虫の母系を知るために、化学的な手掛かりを利用している可能性を示唆した。またカリバチでは、環境要因が幼虫の CHCs に影響を与える可能性も示唆されている。オーストラリア産クロスズメバチ属 (*Vespula*) の一種 *V. germanica* では、幼虫から蛹、さらに成虫に成長するとともに体表の CHCs が変化するが、ワーカーと幼虫の CHCs の組成比が似ていることが示された (Brown et al. 1991)。Brown et al. (1991) は、ワーカーと幼虫の CHCs の組成比が似ていることについて、ワーカーと幼虫が栄養交換を含めて密接に関わるためと推測した。このように、シロアリやカリバチではワーカーが自巣の幼虫を認識できることが明らかになっていることに加え、その機構と幼虫の体表にある CHCs が関連する可能性についても、一定理解が進んでいる。

アリについても、ワーカーが幼虫を認識できるか検討した研究は行われてきた。しかし、ワーカーが自らと同じコロニーの幼虫と他コロニーの幼虫を識別できると報告された結果があった一方で (*Cataglyphis cursor* : Lenoir 1984, *Camponotus vagus* : Bonavita-Cougourdan et al. 1989, *Ectatomma tubercalutum* : Feneron & Jaisson 1995, *Leptothorax longispinosus* : Hare 1996)、識別できなかったという結果もある (*Rhytidoponera confusa* : Crosland 1988, *Acromyrmex echinator* : Larsen et al. 2014)。*Cataglyphis* 属の一種 *C. cursor* では、幼虫を入れた飼育巣に幼虫と同じ巣由来のワーカーを導入した場合と異なる巣由来のワーカーを導入した場合で、自巣の幼虫と異巣の幼虫がワーカーから受ける行動を比較したところ、ワーカーは異巣の幼虫に対して攻撃的な行動を示さない一方で、自巣の幼虫に対してより長い時間世話をしたことから、ワーカーが自巣の幼虫を認識できると報告された (Lenoir 1984)。*Bonavita-Cougourdan et al.* (1989) は、オオアリ属 (*Camponotus*) の一種 *C. vagus* のワーカーが自巣の幼虫を識別できる上に、幼虫の体表炭化水素の組成比がコロニー間で異なることを示した。また、Feneron & Jaisson (1995) は、シャーレ内において *Ectatomma* 属の一種 *E. tubercalutum* のワーカーと幼虫を対面させる実験を行い、ワーカーが自巣の幼虫に対してより長い時間世話をしたことから、自巣の幼虫を識別でき

ると結論付けた。さらに Hare (1996) は、ムネボソアリ属 (*Leptothorax*) の一種 *L. longispinosus* の飼育巣に自巣の幼虫や異なる巣の幼虫を導入したところ、ワーカーは自巣の幼虫を優先して巣内に運搬することから、ワーカーが自巣の幼虫を認識していると結論付けた。これらの研究は、ワーカーが自巣の幼虫を認識することを示唆しているが、ブラインド下で観察されていないことから、その結果は疑問視されている (Panek & Gamboa 2000)。一方、ワーカーによる幼虫認識についてブラインド下で観察を行った研究は少なく、しかも異なる結果が得られている。Crosland (1988) は *Rhytidoponera* 属の一種 *R. confusa* において、ブラインド下でシャーレ内のワーカーに自巣と異巣の幼虫を対峙させ行動を観察する実験を行い、さらに飼育巣内に自巣や異巣の幼虫を導入し、巣内で自巣と異巣の幼虫がワーカーから受ける行動を比較した。しかし、どちらの実験でもワーカーによる幼虫に対する噛み付きの頻度や舐める時間に顕著な差はなく、ワーカーは自巣と異巣の幼虫を識別できないと結論づけた。著者らは、他コロニーから幼虫を強奪する場合には自らのコロニーと他コロニーの幼虫を識別する必要があるが、*R. confusa* のように他コロニーから幼虫を強奪しない場合にはワーカーが自らの巣の幼虫を識別する必要がないと考えた。また最近では、Larsen et al. (2014) がハキリアリの一種 *Acromyrmex echinator* において、ワーカー（メジャーとマイナーともに）が自巣と異巣の幼虫を認識できるかを検討するため、シャーレ内でワーカーによる幼虫に対する噛み付きの頻度や舐める時間をブラインド下で観察した。その結果、ワーカーは巣の由来に関係なく幼虫に対して行動したことから、ワーカーが自巣と異巣の幼虫を識別できないと示唆された。このようにアリでは、ワーカーが自身と同じコロニーの幼虫と他コロニーの幼虫を識別できた結果が報告されている一方で、識別できなかった報告もある。そして、その結果の違いは、観察の際にブラインドが行われたかが大きく影響したようにもみえる。

アリには単巣性と多巣性が知られており、それぞれの営巣方法によって幼虫認識に関わる状況は異なると期待される；単巣性のアリでは、未成熟個体が巣内で移されること

はあっても、巣間で移されることはほとんどないのに対し、多巣性のアリでは同じコロニーだが異なる巣の間で未成熟個体が行き来する (Debout et al. 2007)。そのため多巣性のアリでは、ワーカーが自身の運んでいる未成熟個体あるいは運ばれてきた未成熟個体が自身と血縁関係にあるかを認識できることは、包括適応度を得るために重要なはずである。すでに述べたアリにおける幼虫認識についての研究のうち、*C. cursor* や *L. longispinosus* は多巣性種で (Debout et al. 2007)、これらの種ではワーカーが自巣と異巣の幼虫を識別できると結論づけられている (Lenoir 1984; Hare 1996)。しかし、これらの研究では観察の際にブラインドが行われていないため、適切な評価が行われていたか疑問がある。すなわち、単巣性種と比べて多巣性種では、ワーカーはより厳しく幼虫を認識する機構を保持していると期待されるが、先行研究ではブラインドによる観察が行われておらず、改めて評価を行う必要がある。また、ワーカーが自身の幼虫を認識するかを検討したアリの研究では、その認識機構に影響を及ぼすと考えられる CHCs についての評価が十分に行われていない (アリでは、Bonavita-Cougourdan et al. (1989) が *C. vagus* において幼虫の CHCs を分析したが、統計解析による評価を行っていない)。

そこで本章では、トゲズネハリアリのワーカーが CHCs を手がかりにして巣仲間の幼虫を認識することができるかを明らかにする。第二章では、野外において女王がいない巣が高い頻度で採集されたことから、トゲズネハリアリは多巣性種であることが示唆された。すでに述べたとおり、多巣性種においてワーカーが自巣の幼虫を認識できるかについて、ブラインド下で観察が行われておらず、改めて検証するためにはトゲズネハリアリは適していると考えられる。また、ワーカーが自巣の幼虫を認識するかを検討した研究では、CHCs の結果も同時に扱われたことは事実上ない。第四章では、トゲズネハリアリのワーカーが CHCs を手がかりにして巣 (コロニー) 仲間のワーカーを認識し、非巣 (コロニー) 仲間のワーカーに対して攻撃行動を示すことを明らかにした。ただし、ワーカーをシャーレ内において一対一で対面させると、ワーカーは異巣 (コロニー) 由来のワーカーに対し攻撃的な行動を示さず、石膏容器に営巣している巣内に異巣 (コロ

ニー) 由来のワーカーを導入すると、攻撃的な行動が観察された。このことは、トゲズネハリアリのワーカーが野外での営巣条件に近い環境下では他コロニー由来のワーカーに対し、攻撃行動を示したと解釈される。そこで本章では第四章で行ったシャーレ内での実験に加え、石膏巣に他巣(コロニー)由来の幼虫を導入した時のワーカーの反応を観察する。ブラインド下で幼虫を導入する実験は、Crosland (1988) が行っており、ワーカーは自巣と異巣の幼虫を識別できないという結果が得られている。

5-2. 方法

5-2-1. 採集

採集方法は第4章で述べた方法と同様であるが、本章に関係する部分については改めて述べる。新潟県十日町市立里山科学館に隣接する「キョロロの森」(37°05'N, 138°37'E)と新潟県「胎内市胎内第二ダム」(38°00'N, 139°30'E)近辺の雑木林、滋賀県甲賀市みなくち子どもの森自然館に隣接する「みなくち子どもの森」(34°57'N, 136°07'W)で採集を行なった。「キョロロの森」では、2010年5月19日～11月30日まで、およそ2週間に一度の間隔で計14回(調査間隔: 15.08 ± 1.25 日, 平均 \pm SE)採集を行い、毎回の調査でトゲズネハリアリが営巣している朽木を回収した。「胎内市胎内第二ダム」近辺の雑木林では、2010年の8月と9月に計3回調査を行い、「みなくち子どもの森」では、2010年の5月から11月の間に計12回調査を行った(5月: 2回; 6月: 2回; 7月: 1回; 8月: 2回; 9月: 2回; 10月: 2回; 11月: 1回)。すべての調査では、採集した朽ち木を研究室に持ち帰った後、ピンセットや剪定バサミなどを用いて慎重に壊し、吸虫管を用いて朽ち木内の成虫と未成熟個体を取り出した。採集した成虫のカーストを判別した後、成虫や未成熟個体(幼虫や蛹)の個体数、卵の有無を記録した。実験室に持ち帰ってから攻撃性テストを行うまでの間、石膏を敷いたプラスチックケースで各巣を飼育した。飼育条件は常温とし、餌としてキンバエ(*Lucilia caesar*)の幼虫を与え、湿度調節のため水を含ませた脱脂綿をケース内に置いた(山口他 2010)。

5-2-2. 攻撃性テスト

実験1: シャーレ内実験

ワーカーが同巣と異巣の幼虫に対してどのように行動するかを観察するため、まずワーカー1個体に対して2個体の幼虫をシャーレ内で示す実験を行った。第4章の結果から、200m以上離れて採集された巣間ではワーカーどうしに攻撃行動がみられたことか

ら、トゲズネハリアリでは 200m 以上離れた巣は異なるコロニーに属している可能性が高い。そこで、異なるコロニー由来の幼虫に対してワーカーがどのような行動を示すかを観察するために、同じコロニー由来の幼虫と 200m 以上離れた地点で採集した幼虫を巣から取り出し (Treatments)、シャーレ内のワーカーに示した (図 5-1)。本実験にはおよそ 1.5mm (4 齢幼虫 : 増子私信) まで成長した幼虫を用いた。アリの若い幼虫は巣内で女王の近くに置かれることが多いが、成長した幼虫はワーカーによって頻繁に運ばれる。そのため、若い幼虫より成長した幼虫の方がワーカーによって扱われる行動の種類を多く評価できると期待される (Peeters & Molet 2010)。まず、ろ紙を敷いた直径 5.0 cm のプラスチックシャーレの端に異なる巣 (高い確率で異なるコロニー) 由来の幼虫を置き、その中心には仕切り板として直径 3.0 cm のプラスチックの筒を設置した (図 5-2)。筒の内部には 1 個体のワーカーを入れた。アリをシャーレ内の環境に馴染ませるために、その状態で 10 分間放置した後、筒を外してワーカーの行動を 15 分間観察した。Control として、ワーカーに対し同巣の幼虫 2 個体をシャーレに置き (図 5-3)、ワーカーが同巣の幼虫に対してどのような行動を示すかを観察した。ワーカーの行動については、Crosland (1988) によるハリアリ類の *Rhytidopone raconfusa* における攻撃性スコアを参考にし、以下のようにスコアをつけた。

0 : 運搬

1 : 舐め

2 : 無視

3 : 弱いアンテナレーション

4 : 強いアンテナレーション

5 : 後退

6 : 威嚇 (腹部の屈曲)

7 : 噛みつき

第4章で行った成虫どうしのテストでは「噛みつき」より高いスコアとして「闘争(長い攻撃)」が観察されたが、幼虫に対しては見られなかった。ワーカーを幼虫に対面させると、ワーカーは幼虫を運搬したり、舐めたが、これらは幼虫に対して友好的な行動と考えられたため、「無視」より低いスコアとして評価した。スコア0の運搬については、回数だけでなく時間も測定した。第4章ではワーカーどうしの攻撃性を同巣と異巣の間で最大スコアとAIで評価した。しかし、AIでは差がみられなかったものの、最大スコアでは有意差こそなかったが、異巣のワーカーに対して攻撃的である傾向がみられた。そこで本章では、より攻撃的な行動が起こると期待される最大スコアにより攻撃性を評価した。すべての Treatments と Control において、同じ巣由来の幼虫の組み合わせで5回反復して観察し、Treatments と Control とともに、5回の反復で得られた値の平均をその組合せの行動として評価した。テストは朽木を解体してから一週間以内に行い、各行動の回数や時間だけでなく、どちらの幼虫にどのような行動を起こしたかを記録した。ただし、一度観察に使ったワーカーと幼虫は使用しなかった。観察後、テストで使用したシャーレは綺麗に洗い、ろ紙はテストごとに取り換えた。なお、すべてのテストはブラインド下で行い、観察者はワーカーと幼虫がどの巣に由来するかについての情報を知らない。

実験2：導入実験

第4章では、成虫どうしが巣仲間を認識するかを検討するため、まずシャーレ内での一対一の攻撃テストを行った。ワーカーは、同巣(コロニー)と異巣(コロニー)のワーカーに対し、異なる攻撃性を示すことはなかった。しかし、ワーカーを異巣(コロニー)由来の巣内に導入すると、異巣(コロニー)のワーカーから強く攻撃された。ワーカーが幼虫を認識し、異巣(コロニー)由来の幼虫に対して攻撃を示すかもしれないが、実験1のようなシャーレ内の状態では攻撃性は現れにくいかもしれない。そこで本章で

も、幼虫を巣内に導入する実験を行った。

巣への幼虫導入実験の準備として、野外で採集してから一ヶ月以内の飼育巣から、ワーカー25 個体とおよそ 1.5mm まで成長した幼虫 15 個体を任意に取り出し、石膏を敷いたプラスチックケース（19.4×10.4×2.6 cm）に入れた。ワーカーは新しい飼育ケースの育室（4×4×1 mm）にすべての自巣の幼虫を 2 日以内に運び入れた。この期間中にワーカー数や幼虫数は減少することはなかった。また、実験にはワーカー25 個体と幼虫 15 個体を用いたが、これはトゲズネハリアリにおける未成熟個体を含む巣の平均的な個体数である（第二章表 2-2）。

巣への幼虫導入実験は、ワーカーが新しい飼育ケース内の育室にすべての自巣の幼虫を運び入れた翌日から開始した。まず、異巣の幼虫がワーカーからどのように扱われるかを観察した。ワーカーによって飼育ケースの育室に移された幼虫を全て取り除き、200m 以上離れた地点から採集した異巣（コロニー）の幼虫 15 個体を育室の入り口から 5 cm離れた場所にすべて置いた（Treatments：図 5-4）。Control として、ワーカーによって飼育ケースの育室に移された幼虫をすべて一旦取り出し、再度同じ巣内の育室の入り口から 5 cm離れた場所にすべて戻した（図 5-5）。異巣（コロニー）と同巣（コロニー）の幼虫の間でワーカーによる扱われ方に差があるかを比較するため、幼虫を置いてからすべての幼虫が育室に運ばれるまで（およそ 1 時間、結果を見よ）、5 分ごとに導入された幼虫の生存数や巣内に運ばれた幼虫数を記録した。また、異巣（コロニー）と同巣（コロニー）の幼虫が長期の間で扱われ方に差がある可能性もあるため、すべての幼虫が巣内に運び込まれた翌日から 1 ヶ月間、毎日幼虫の生存数を記録した。観察期間中の飼育条件は、すでに述べたとおりである。実験には体表の色を参考にして羽化したばかりのワーカーを使用しなかった。また、一度観察に使ったワーカーと幼虫は再び使用しなかった。なお、すべてのテストはブラインド下で行い、観察者はワーカーと幼虫がどの巣に由来するかについての情報を知らない。

5-2-3. 幼虫の体表炭化水素の分析

幼虫の CHCs を明らかにするとともに、巣内や巣間でその成分が異なるかを比較するために、GC / MS 分析を行った。分析には、2012 年 9 月にキョロロの森で採集した 3 巣（巣 A,B,C）を用いた。これらの 3 巣にはワーカーと幼虫が存在しており、野外では互いに 200m 以上離れていた。1 巣当たりそれぞれ 10 個体の幼虫を選び、-20℃に保ったディープフリーザーへ入れ、凍殺した。析にはおよそ 1.5mm まで成長した幼虫を使用した。凍殺した幼虫は CHCs を抽出するまでの間、ディープフリーザー内に保存した。幼虫を 1 個体ずつ、ガラスバイアル内の 100μl のヘキサン（Wako、クロマトグラフ用ヘキサン 086-01166）に 15 分間浸し、CHCs を抽出した。抽出後、マイクロシリンジを用いて抽出液を採り、別のバイアルに移した。この抽出液についても、GC/ MS 分析を行うまでの間、ディープフリーザー内に保存した。GC/ MS 分析を行なう直前に溶媒を揮発させた後、2μl のヘキサンを加えて CHCs を溶解させた。ガスクロマトグラフィー（GC）は SHIMADZU 社製の GC-2014 を使用し、質量分析装置（MS）は SHIMADZU 社製の GC-MS QP5000 を使用した。GC のカラムには、アジレント・テクノロジー社製の DB-1HT（長さ×内径×液層の膜厚：15m×0.25mm×0.1μm）を使用した。キャリアガスにはヘリウムを用い、カラム流量を 1.0（ml/分）に設定した。注入口の温度は 320℃に設定し、スプリットレスモードで 1μl の抽出液を注入した。GC のオープン温度は 100℃で 2 分間保ち、100℃から 230℃まで 25℃/分で上昇させ、さらに 320℃まで 10℃/分で上昇させた後、320℃で 40 分間保った。質量スペクトルは、電子イオン化法（EI 法）によってイオン化電圧 70eV で記録した。各成分の推定は、マススペクトルの読み取りや質量スペクトルデータライブラリによる検索、高分解能測定による組成推定によって行なった。しかし、二重結合の位置については推定しなかった。

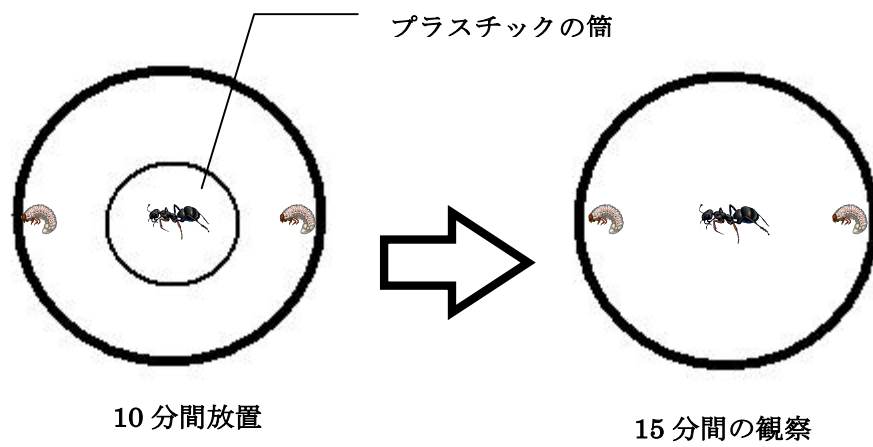


図 5-1 シャーレ内実験の全体的な概要



図 5-2 シャーレ内実験における Treatment の概要：同巣の幼虫と異巣の幼虫をワーカーに提示



図 5-3 シャーレ内実験における Control の概要：同巣の幼虫 2 個体をワーカーに提示

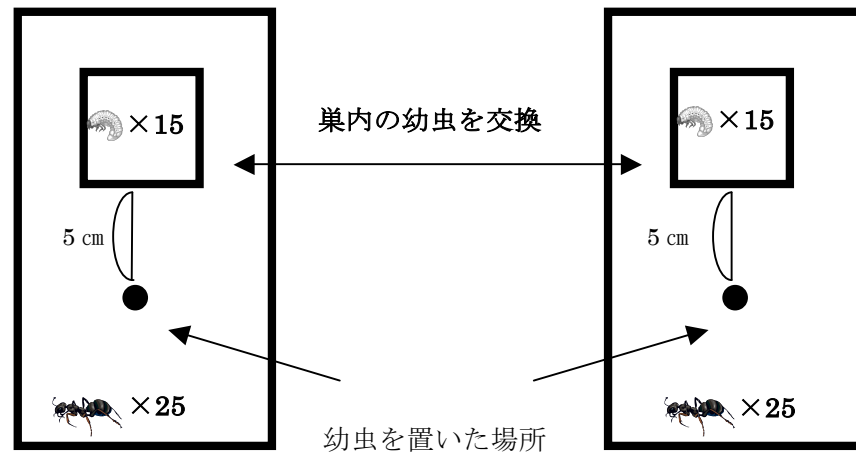


図 5-4 導入実験における Treatment の概要：異巣間で幼虫を交換し、成虫による異巣（コロニー）幼虫に対する行動を観察

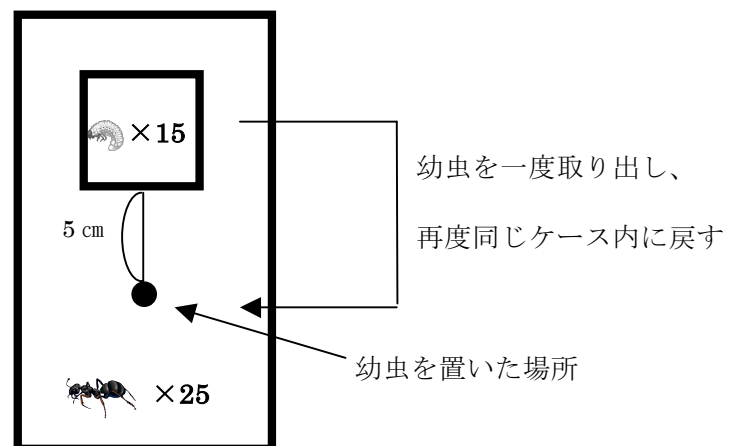


図 5-5 導入実験における Control の概要：巣から幼虫を一度取り出し、再度同じケースに戻し、成虫による自巣の幼虫に対する行動を観察

5-3. 結果

調査は5月19日～11月30日まで行い、202巣を採集した。実験に使用したすべての巣の構成を示す（シャーレ内実験；表 5-1～5-3, 導入実験；表 5-4～5-6）。採集した巣のうち、シャーレ内実験には35巣を用い、Controlを21ペア105回、Treatmentsを同一個体群内で16ペア80回、キョロロ水口間およびキョロロ胎内間で14ペア70回行った。また、導入実験には32巣を用い、Controlを10回、Treatmentsを同一個体群内で9回、キョロロ水口およびキョロロ胎内間で13回行った。シャーレ実験と導入実験で重複して使用した巣は13巣だった。

5-3-1. 攻撃性テスト

実験1：シャーレ内実験

同一個体群内で200m以上離れた巣間の幼虫に対して観察された各行動の回数を同巣と異巣の間で比較したが（キョロロ内；n=10, 水口；n=6, 合計；n=16）、すべての行動において有意差はなかった（表 5-7）。同様に、運搬時間についても同巣と異巣の幼虫間で有意差はなかった（キョロロ内；n=10, 水口；n=6, 合計；n=16, Sign test; $p=0.804$ ）（図 5-6）。さらに、最大スコアを用いて同巣と異巣の幼虫間でワーカーによる攻撃性を比較したが、有意差はなかった（キョロロ；n=9, 水口；n=6, 合計；n=15, Sign test; $p=0.424$ ）（図 5-7）。

ワーカーによる幼虫に対する行動を数百km離れた個体群間で観察し（キョロロと水口間；n=13, キョロロと胎内間；n=1, 合計；n=14）、同巣の幼虫に対する行動の頻度と比較したが、有意差はなかった（表 5-8）。同様に、運搬時間についても数百km離れた個体群間で有意な差はなかった（キョロロ vs 水口；n=13, キョロロ vs 胎内；n=1, Sign test; $p=0.424$ ）（図 5-8）。さらに、最大スコアを用いて同巣と異巣の幼虫間でワーカーによる攻撃性を比較したが、有意差はなかった（キョロロ vs 水口が n=11, キョロロ vs 胎

内が $n=1$, Sign test; $p=0.549$) (図 5-9)。

同一個体群内で 200m 以上離れた巣間のデータと数百km離れた個体群間のデータを合わせて、同巣と異巣の幼虫間で差があるかを検討したが、幼虫に対して観察された運搬時間に有意な差はなかった ($n=30$, 232.557 ± 45.238 秒 vs 167.642 ± 40.387 秒, Sign test; $p=0.523$)。同様に、最大スコアを用いて同巣と異巣の幼虫間でワーカーによる攻撃性を比較したが、有意差はなかった ($n=27$, 3.237 ± 0.143 vs 3.364 ± 0.192 , Sign test; $p=0.493$)。

実験 2：巣への導入実験

幼虫を自巣に再導入した場合 (Control, $n=10$) と同一個体群 (キョロロ内) で 200m 以上離れた巣由来の幼虫を交換した場合 ($n=9$)、個体群間 (キョロロ - 水口間) で幼虫を交換した場合 ($n=13$) のワーカーによる幼虫の運搬行動を観察した。ワーカーは巣の由来に関係なく、すべての幼虫を飼育室に運び入れた。またワーカーが石膏巣の育室にすべての幼虫を運び終えるまでの時間は、すべての実験で 65 分以内であった。巣の由来によってすべての幼虫を巣内に入れるまでにかかった時間に違いがあるかを比較したが、有意差はなかった (Kruskal-Wallis test; $\chi^2=4.224$, $p=0.121$) (図 5-10)。また、同一個体群内のデータと数百km離れた個体群間のデータをまとめ、同巣と異巣の幼虫間で差があるかを検討したが、すべての幼虫を巣内に入れるまでにかかった時間に有意な差はなかった (Wilcoxon rank-sum test, $Z=2.912$, $p=0.256$) (図 5-11)。

育室内に運搬された幼虫は、ワーカーによって共食いされることが何度か観察された。そこで、育巣内に運ばれた幼虫の生存数を検討するため、幼虫を自巣に再導入した場合 (Control, $n=10$) と同一個体群 (キョロロ内) で 200m 以上離れた巣由来の幼虫を交換した場合 ($n=9$)、個体群間 (キョロロ - 水口間) で幼虫を交換した場合 ($n=13$) の 3 種類の間で比較した。幼虫数は巣の由来に関係なく時間経過に伴って減少した (図 5-12, 表 5-8)。さらに、自巣に再導入した場合 ($n=10$) と異巣の幼虫を交換した場合

(n=22) の間で幼虫数の変化を比較したが、幼虫数は巣の由来に関係なく時間経過に伴って減少した (図 5-13, 表 5-9)。これらの結果から、シャーレ内の実験と同様に、ワーカーは同巣と異巣の幼虫を区別していないことが示された。

5-3-2. 幼虫の体表炭化水素および巣間比較

GC/MS 分析により、トゲズネハリアリの幼虫の CHCs は炭素数 29~45 のアルケンやジエン、トリエンを含む 12 種類から成ることが判った (図 4-10B, 表 5-10)。幼虫の体表に存在した炭化水素のすべてがワーカーの体表にも存在する成分であった。また幼虫の体表に存在するそれぞれの炭化水素の量はワーカーに比べて少なかった (図 4-10B)。

まず、幼虫の CHCs を巣内や巣間で比較した。ただし、ここでは幼虫 1 個体中のピーク面積の 2%以上を占め、70%以上の個体に存在する主要な 5 種類の CHCs ピークを用いた (表 5-10 中の下線を引いたピーク)。最初に、巣内の幼虫間で CHCs が類似するかを検討した; 3 巣それぞれにおいて幼虫 10 個体の間でピーク面積の割合を二試料 χ^2 検定によって比較。その結果、3 巣すべてにおいて幼虫間の CHCs が異なることが判った (A 巣: $\chi^2=11.528$, $p<0.001$, 図 5-14; B 巣: $\chi^2=15.342$, $p<0.001$, 図 5-15; C 巣: $\chi^2=16.714$, $p<0.001$, 図 5-16)。次に、3 巣の間で各ピーク面積の割合を二試料 χ^2 -test によって比較し、CHCs の組成比が異なるかを検討したところ、差はなかった ($\chi^2=23.616$, $p=0.248$) (図 5-17)。

主要な 5 種類の CHCs ピークを用いて主成分分析を行なったところ、第 1 主成分と第 2 主成分の寄与率はそれぞれ 51.88%と 29.27%で、第 1 主成分と第 2 主成分を合わせると全変異の約 80%を説明することができた (表 5-11)。そこで、第 1 主成分と第 2 主成分を用いて 3 巣の幼虫の CHCs を散布図にプロットした。幼虫の CHCs のプロットは各巣間で明確に分離することではなく、それぞれがオーバーラップしていた (図 5-18)。

表 5-1 シャーレ内実験に Control として使用した巣の構成（Cs:キョロロ, Csm:水口）

巣番号	成虫				未成熟個体		
	女王	ワーカー	有翅メス	オス	蛹	幼虫	卵
Cs10002	0	55	0	0	0	162	0
Cs10021	0	123	0	0	0	81	0
Cs10029	0	127	0	0	0	138	0
Cs10040	0	50	0	0	0	62	0
Cs10041	0	50	0	0	0	102	0
Cs10051	0	28	0	0	0	19	0
Cs10056	0	24	0	0	0	88	0
Cs10057	0	20	0	0	0	18	0
Cs10063	0	82	0	0	23	18	0
Cs10118	2	154	77	10	33	132	1
Cs10119	0	105	60	47	37	74	0
Cs10136	0	60	0	0	0	57	0
Csm10005	0	28	0	0	0	20	0
Csm10006	0	35	0	0	0	30	0
Csm10008	0	72	0	0	0	53	0
Csm10009	0	27	0	0	0	20	0
Csm10010	0	17	0	0	0	157	0
Csm10011	0	26	0	0	0	26	0
Csm10012	0	37	0	0	5	274	0
Csm10014	0	17	0	0	50	34	0
Csm10015	0	13	0	0	25	27	0

表 5-2 シャーレ内実験に Treatments として使用した巣の構成(同一個体群;
Cs:キョロロ, Csm: 水口)

巣番号	成虫				未成熟個体		
	女王	ワーカー	有翅メス	オス	蛹	幼虫	卵
Cs10002	0	55	0	0	0	162	0
Cs10018	3	24	0	0	0	30	0
Cs10021	0	123	0	0	0	81	0
Cs10029	0	127	0	0	0	138	0
Cs10032	0	60	0	0	0	15	0
Cs10040	0	50	0	0	0	62	0
Cs10041	0	50	0	0	0	102	0
Cs10051	0	28	0	0	0	19	0
Cs10056	0	24	0	0	0	88	0
Cs10057	0	20	0	0	0	18	0
Csm10010	0	17	0	0	0	157	0
Csm10011	0	26	0	0	0	26	0
Csm10012	0	37	0	0	5	274	0
Csm10014	0	17	0	0	50	34	0
Csm10015	0	13	0	0	25	27	0
Csm10016	0	13	0	8	7	6	0
Csm10019	0	18	5	4	39	6	0

表 5-3 シャーレ内実験に Treatments として使用した巣の構成（個体群間；
Cs:キョロロ, Csm: 水口, Cst: 胎内）

巣番号	成虫				未成熟個体		
	女王	ワーカー	有翅メス	オス	蛹	幼虫	卵
Cs10002	0	55	0	0	0	162	0
Cs10021	0	123	0	0	0	81	0
Cs10029	0	127	0	0	0	138	0
Cs10063	0	82	0	0	23	18	0
Cs10098	2	177	112	42	69	32	1
Cs10103	1	151	30	104	83	33	0
Cs10110	0	74	0	0	21	20	1
Cs10150	0	97	0	0	0	139	0
Cs10154	1	24	0	0	0	66	1
Csm10005	0	28	0	0	0	20	0
Csm10006	0	35	0	0	0	30	0
Csm10007	0	27	0	0	0	9	0
Csm10008	0	72	0	0	0	53	0
Csm10009	0	27	0	0	0	20	0
Csm10023	0	33	0	0	31	12	0
Csm10029	0	78	0	0	0	78	0
Csm10030	0	47	0	0	8	74	1
Cst10002	2	55	0	0	0	30	0

表 5-4 巣内への導入実験に Control として使用した巣の構成 (Cs:キョロロ, Csm:
水口)

巣番号	成虫				未成熟個体		
	女王	ワーカー	有翅メス	オス	蛹	幼虫	卵
Cs10021	0	123	0	0	0	81	0
Cs10029	0	127	0	0	0	138	0
Cs10040	0	50	0	0	0	62	0
Cs10041	0	50	0	0	0	102	0
Cs10076	0	36	0	0	74	17	0
Cs10077	0	118	0	0	193	50	0
Cs10098	2	177	112	42	69	32	1
Cs10115	0	107	80	21	16	79	0
Cs10118	2	154	77	10	33	132	1
Cs10119	0	105	60	47	37	74	0

表 5-5 巣内への導入実験に Treatments として使用した巣の構成 (同一個体群; Cs:キヨロロ, Csm: 水口)

巣番号	成虫				未成熟個体		
	女王	ワーカー	有翅メス	オス	蛹	幼虫	卵
Cs10021	0	123	0	0	0	81	0
Cs10029	0	127	0	0	0	138	0
Cs10087	0	57	0	0	242	0	0
Cs10090	0	35	3	0	153	0	0
Cs10094	0	28	0	0	52	23	0
Cs10098	2	177	112	42	69	32	1
Cs10110	0	74	0	0	21	20	1
Cs10114	5	69	21	22	0	74	1
Cs10115	0	107	80	21	16	79	0
Cs10117	0	83	32	112	28	7	0
Cs10118	2	154	77	10	33	132	1
Cs10119	0	105	60	47	37	74	0
Cs10121	3	78	5	6	0	29	0

表 5-6 巣内への導入実験に Treatments として使用した巣の構成(個体群間;
Cs:キョロロ, Csm: 水口, Cst: 胎内)

巣番号	成虫				未成熟個体		
	女王	ワーカー	有翅メス	オス	蛹	幼虫	卵
Cs10021	0	123	0	0	0	81	0
Cs10103	1	151	30	104	83	33	0
Cs10104	1	115	49	31	167	0	0
Cs10105	3	50	21	3	34	0	0
Cs10136	0	60	0	0	0	57	0
Cs10138	0	27	0	0	9	57	0
Cs10143	0	30	2	3	7	37	0
Cs10150	0	97	0	0	0	139	0
Csm10008	0	72	0	0	0	53	0
Csm10023	0	33	0	0	31	12	0
Csm10024	1	67	0	1	1	139	1
Csm10025	0	31	0	0	1	16	0
Csm10026	0	33	0	2	0	2	1
Csm10029	0	78	0	0	0	78	0
Csm10030	0	47	0	0	8	74	1

表 5-7 同一個体群内で 200m 以上離れた巣間の幼虫において観察されたワーカーによ

行動	同巣 \bar{x} (=16)	異巣 \bar{x} (=16)	p値	
			sign	test
無視	10.786±2.014	11.325±2.056		0.791
後退	0.100±0.048	0.100±0.052		1
威嚇	0	0		—
噛みつき	0.025±0.017	0.050±0.039		1
アンテナ—シヨシ 弱)	5.213±0.605	6.088±0.970		0.791
アンテナ—シヨシ 強)	0.750±0.216	1.263±0.338		0.267
舐める	0.175±0.150	0.100±0.066		1
運搬	0.638±0.105	0.738±0.216		0.549

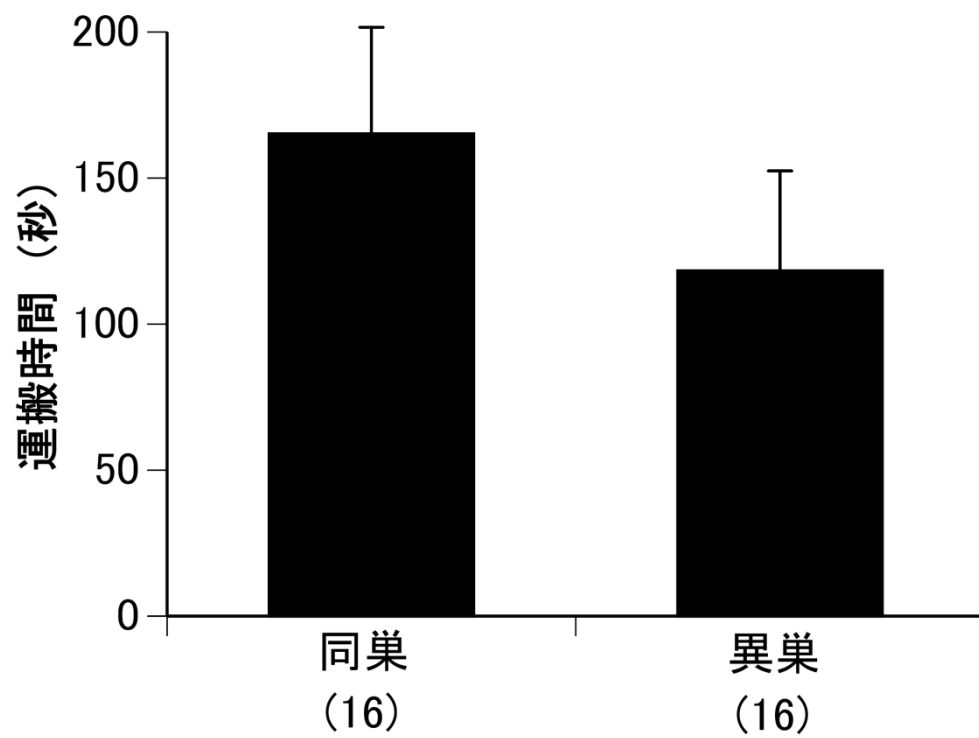


図 5-6 同一個体群内で 200m 以上離れた巣間の幼虫と同巢の幼虫において観察されたワーカーによる運搬行動の時間 (平均 \pm SE)

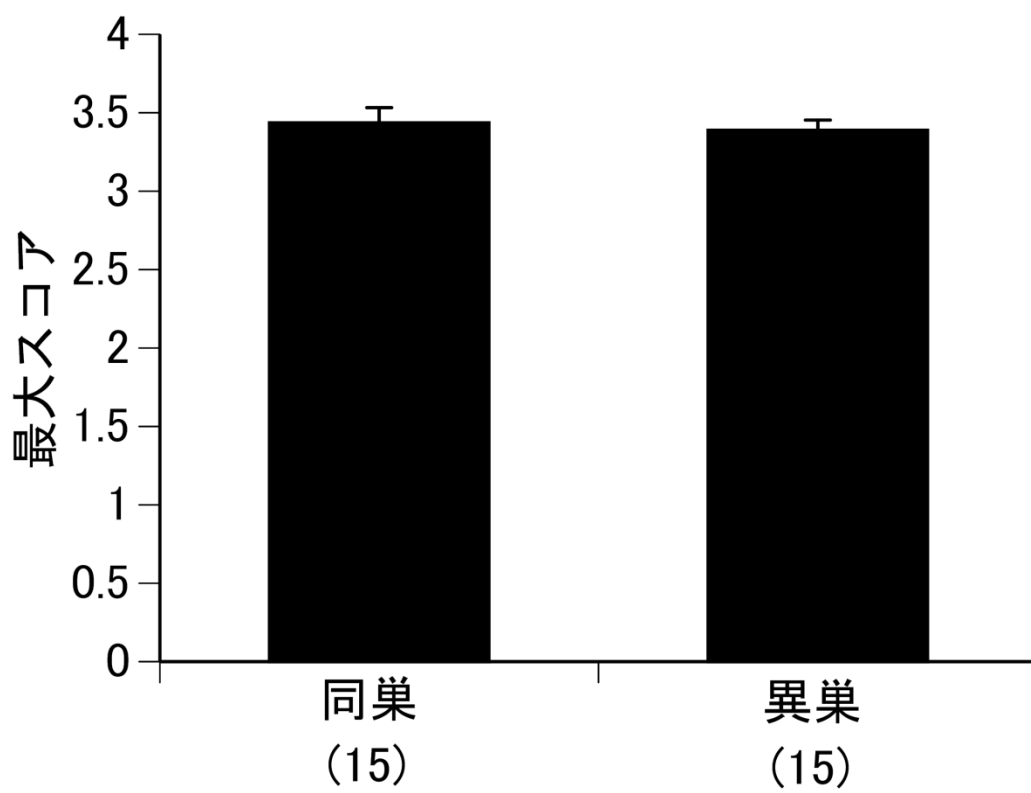


図 5-7 同一個体群内で 200m 以上離れた異巢の幼虫と同巢の幼虫において観察されたワーカーによる攻撃行動の比較 (平均±SE)

表 5-8 数百km離れた個体群間でワーカーによる幼虫に対する各行動の頻度(15 分)を観
察し、同巢との間で比較 (平均±SE)

行動	同巢 \bar{x} (14)	異巢 \bar{x} (14)	p値	
			sign test	
無視	4.629±0.831	4.100±0.526	0.581	
後退	0	0.257±0.197	0.063	
威嚇	0	0.014±0.014	1	
噛みつき	0	0	—	
アンテナ—シヨ(弱)	2.843±0.722	3.586±0.919	0.267	
アンテナ—シヨ(強)	0.743±0.232	0.700±0.140	1	
舐める	0.129±0.100	0.043±0.031	1	
運搬	0.614±0.108	0.643±0.109	0.774	

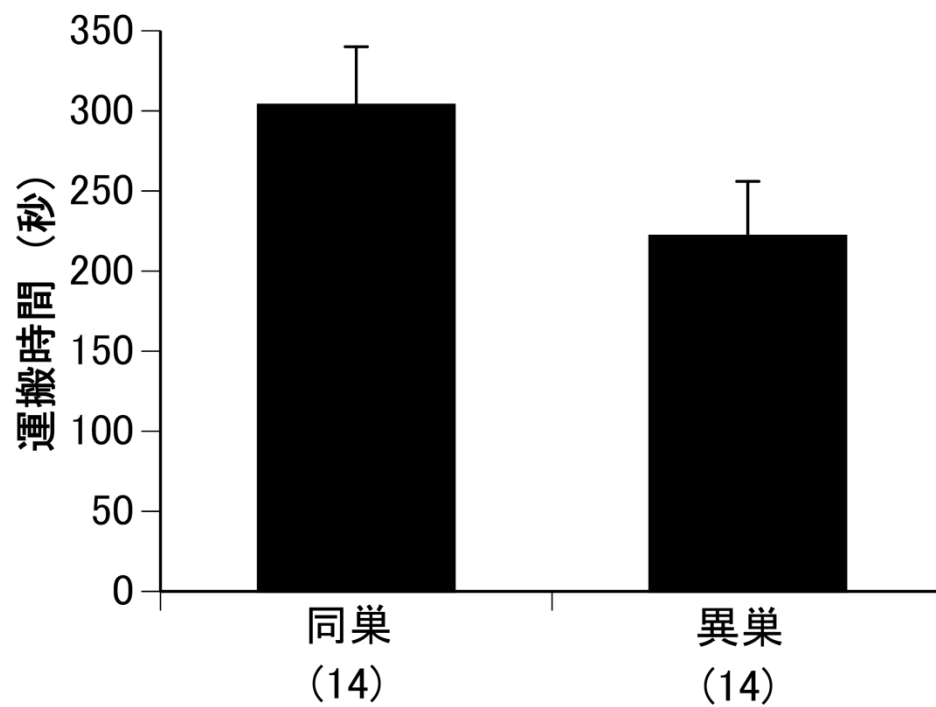


図 5-8 数百km離れた個体群間の異巢の幼虫と同巢の幼虫において観察されたワーカーによる運搬行動の時間 (平均±SE)

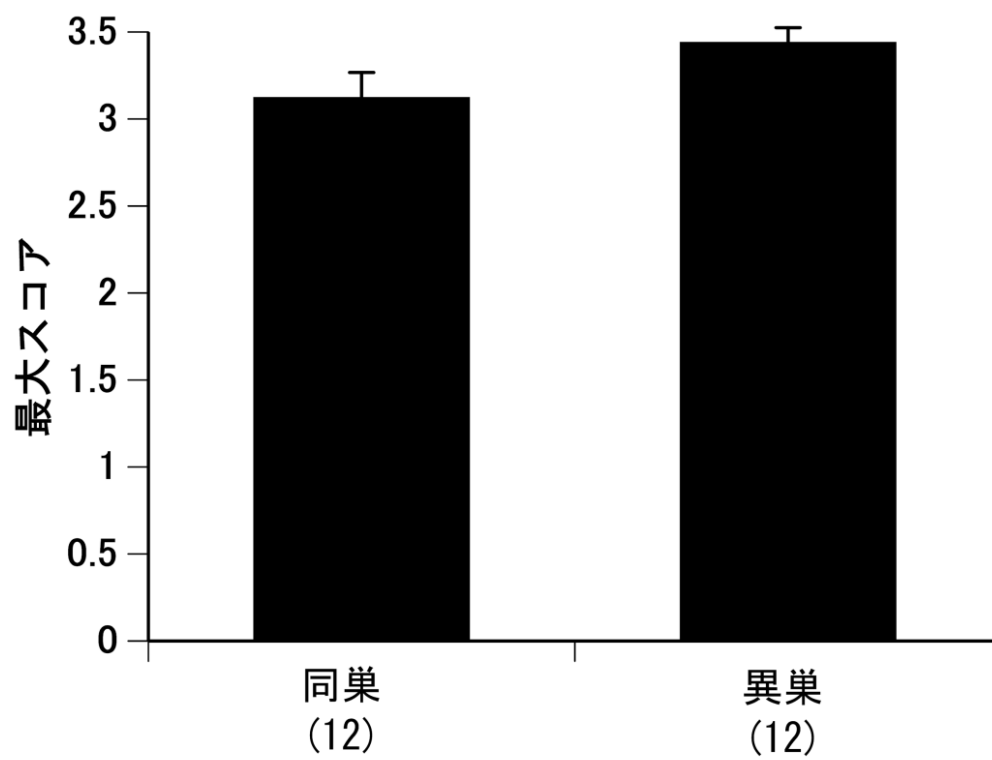


図 5-9 数百km離れた個体群間の異巢の幼虫と同巢の幼虫において観察されたワーカーによる攻撃行動の比較（平均±SE）

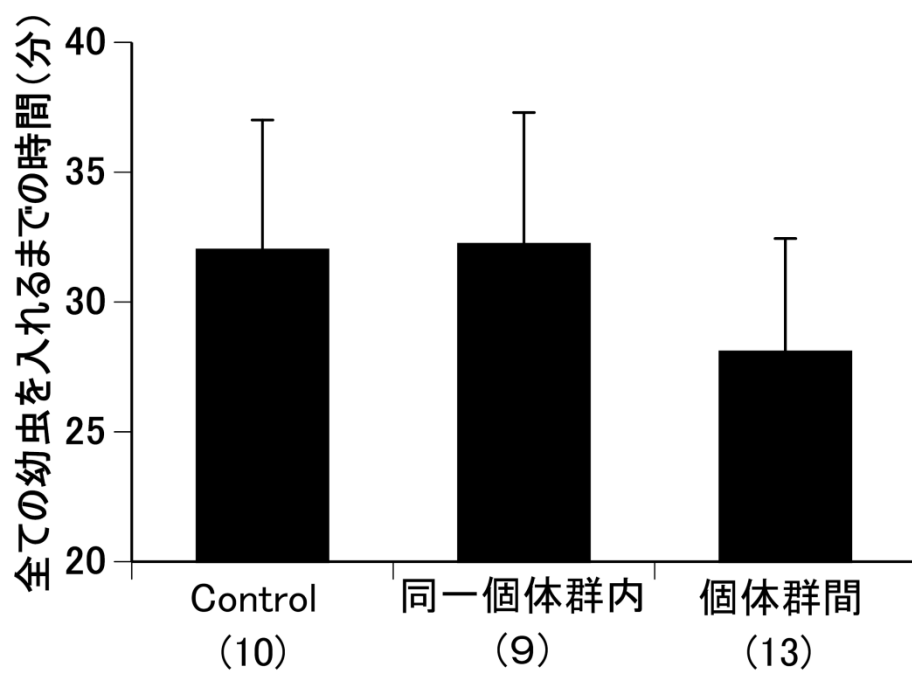


図 5-10 すべての幼虫を育室内に入れるまでの時間 (平均±SE)

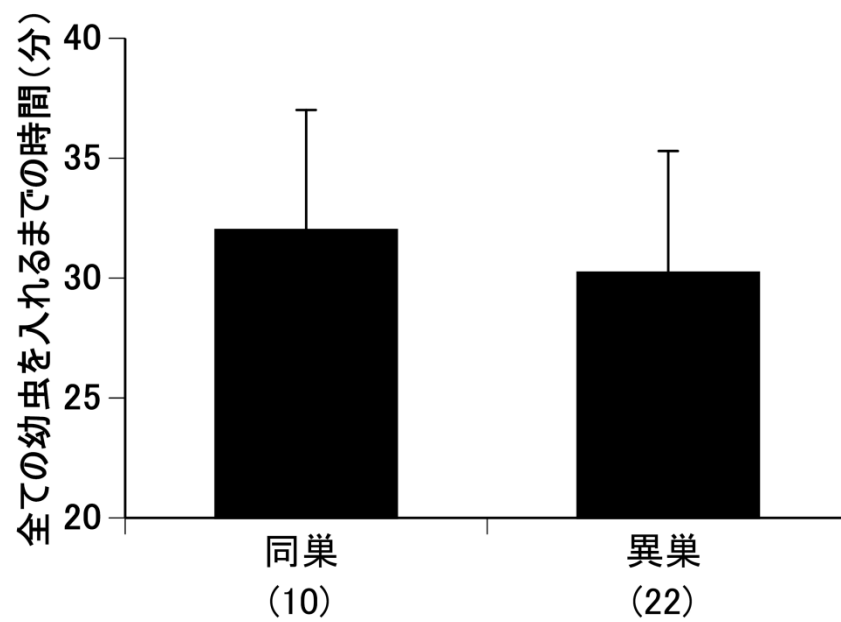


図 5-11 すべての幼虫を育室内に入れるまでの時間 (平均±SE)

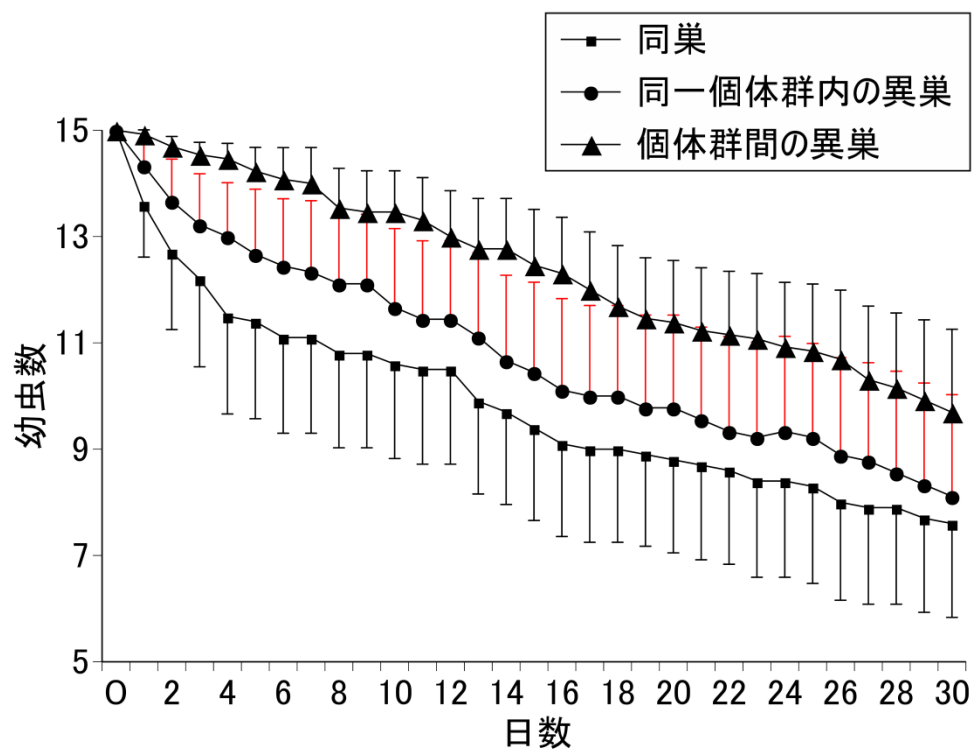


図 5-12 同巢の幼虫を再導入した場合と同一個体群や個体群間の異巢の幼虫と交換した場合の時間経過に伴う幼虫数の変化 (平均 \pm SE)

表 5・8 各時間経過に伴う 3 巢の幼虫の生存についての分散分析表

(Two-way repeated measures ANOVA)

要因	平方和	自由度	F	P
由来	1205.566	2	1.079	0.353
時間	2371.101	29	23.760	<0.0001
由来 × 時間	31.337	58	0.157	>0.9999

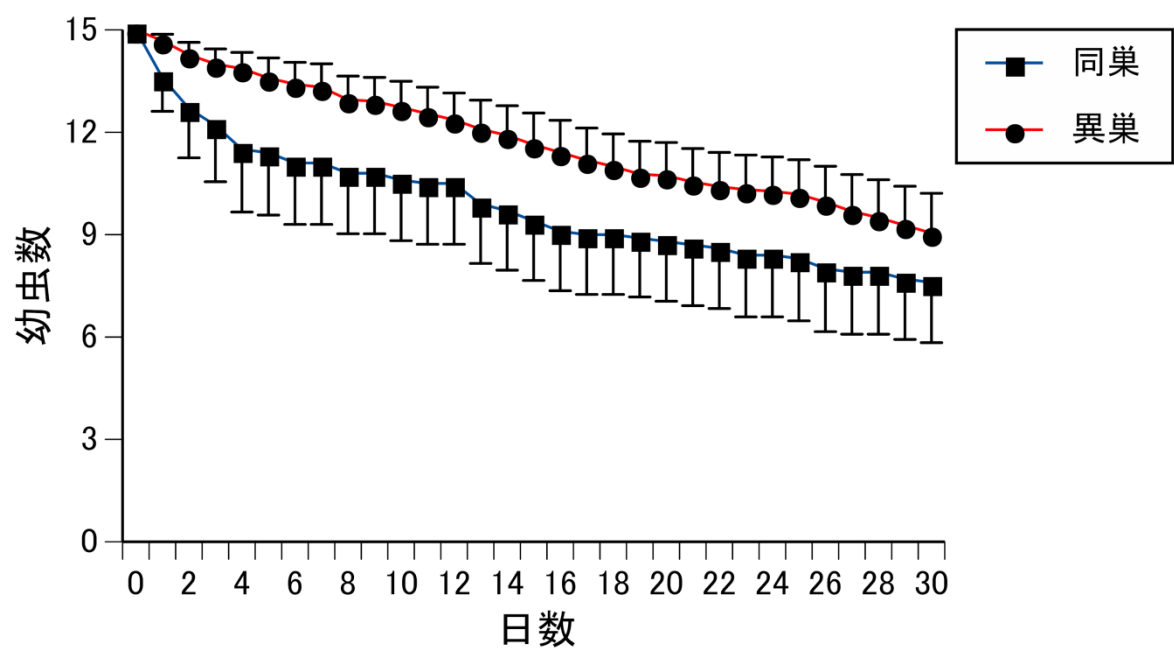


図 5-13 同巢の幼虫を再導入した場合と異巢の幼虫と交換した場合の時間経過に伴う幼虫数の変化

表 5・9 各時間経過に伴う同巢と異巢の幼虫の生存についての分散分析表

(Two-way repeated measures ANOVA)

要因	平方和	自由度	F	P
由来	784.022	1	1.415	0.2444
時間	2044.844	29	21.092	<0.0001
由来×時間	16.857	29	0.174	>0.9999

表 5-10 幼虫の CHCs 組成

(コロンの後ろの数字と下線は、それぞれ二重結合の数と検定に用いたピークを示す。)

ピーク番号	リテンションタイム		化合物名
	(分)		
1	13.81	Nonacosene	C29:1
2	17.18	Hentriacontene	C31:1
3	21.14	Tritriacontadiene	C33:2
<u>4</u>	<u>25.58</u>	<u>Pentatriacontene</u>	<u>C35:1</u>
<u>5</u>	<u>30.34</u>	<u>Heptatriacontadiene</u>	<u>C37:2</u>
<u>6</u>	<u>36.02</u>	<u>Nonatriacontadiene</u>	<u>C39:2</u>
<u>7</u>	<u>44.98</u>	<u>Hentetracontadiene</u>	<u>C41:2</u>
<u>8</u>	<u>55.35</u>	<u>Tritetracontatriene</u>	<u>C43:3</u>
9	64.34	Tetratetracontatriene	C44:3
10	72.36	Pentatetracontatriene	C45:3
11	73.31	Pentatetracontatriene	C45:3
12	74.07	Pentatetracontatriene	C45:3

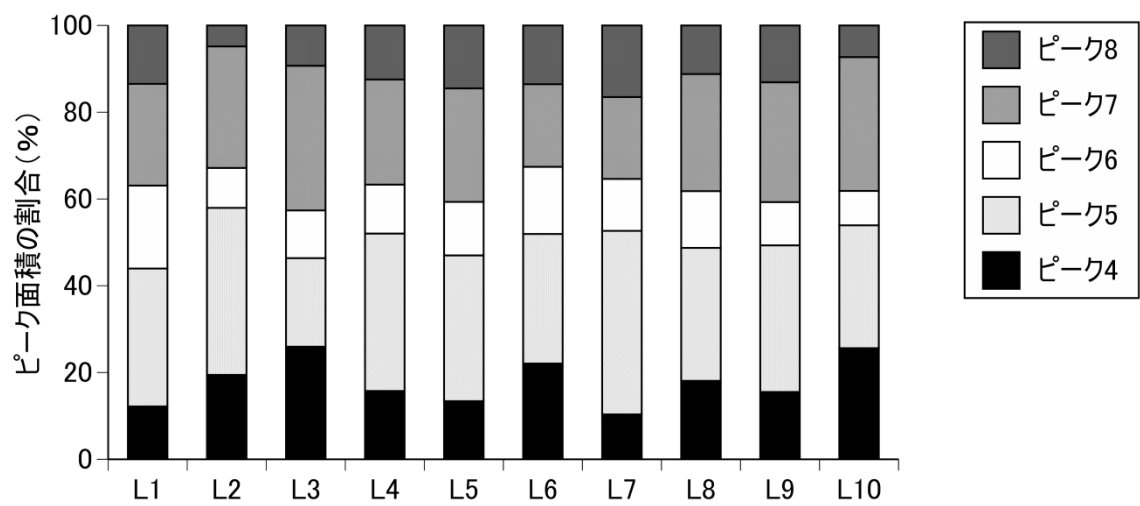


図 5-14 巣 A の幼虫間における主要な CHCs ピーク面積の比較

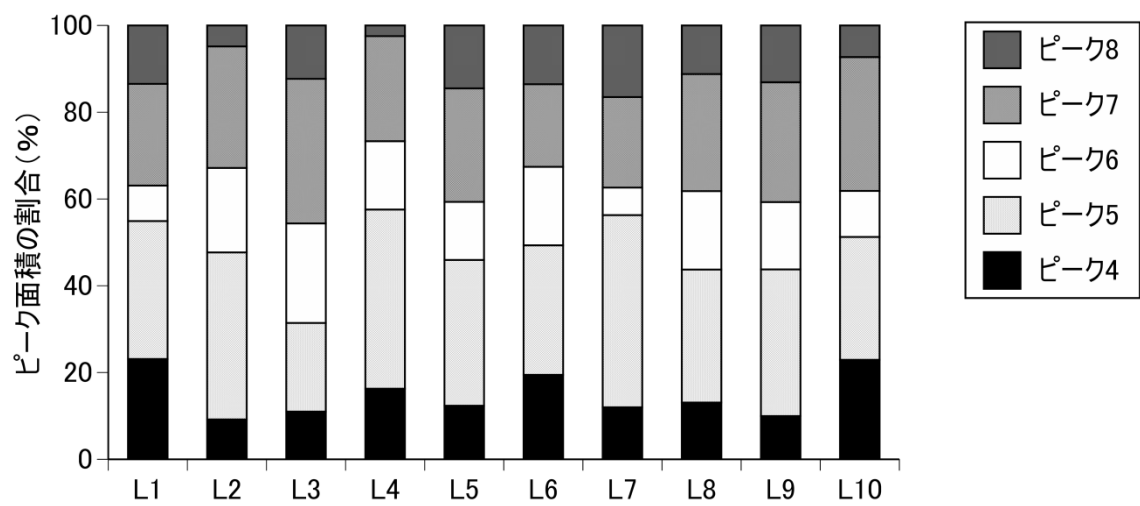


図 5-15 巣 B の幼虫間における主要な CHCs ピーク面積の比較

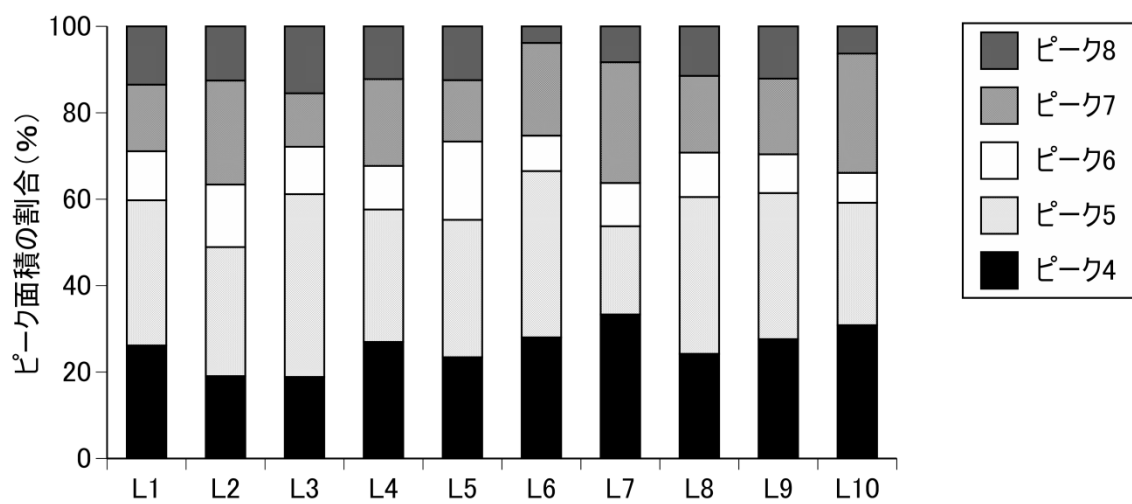


図 5-16 巣 C の幼虫間における主要な CHCs ピーク面積の比較

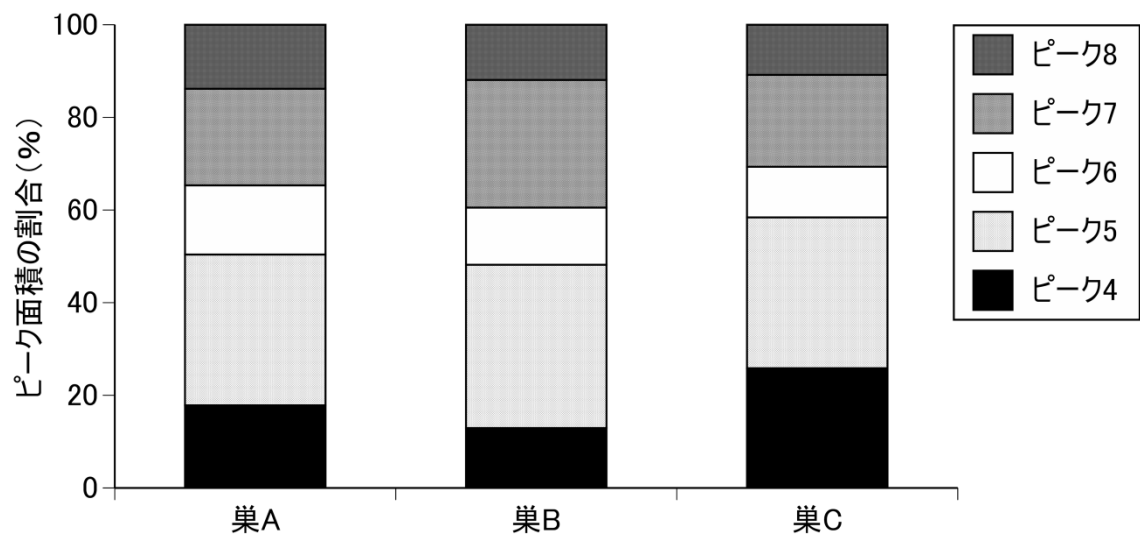


図 5-17 3 巣の幼虫間における主要な CHCs ピーク面積の比較

表 5-11 主要な 5 種類の CHCs ピークを用いた主成分分析の結果

			第 1 主成分	第 2 主成分	第 3 主成分	第 4 主成分	第 5 主成分
固有値			2.594	1.464	0.814	0.101	0.106
寄与率			51.88	29.27	16.28	1.36	1.21
累積寄与率			51.88	81.15	97.43	98.79	100
固有ベクトル	ピーク 4	C35:1	-0.143	-0.219	-0.387	0.002	0.132
	ピーク 5	C37:2	0.037	0.051	0.217	0.235	0.291
	ピーク 6	C39:2	-0.106	-0.158	-0.161	0.625	-0.161
	ピーク 7	C41:2	0.264	0.203	0.235	-0.248	-0.143
	ピーク 8	C43:3	0.325	-0.11	0.031	-0.516	0.584

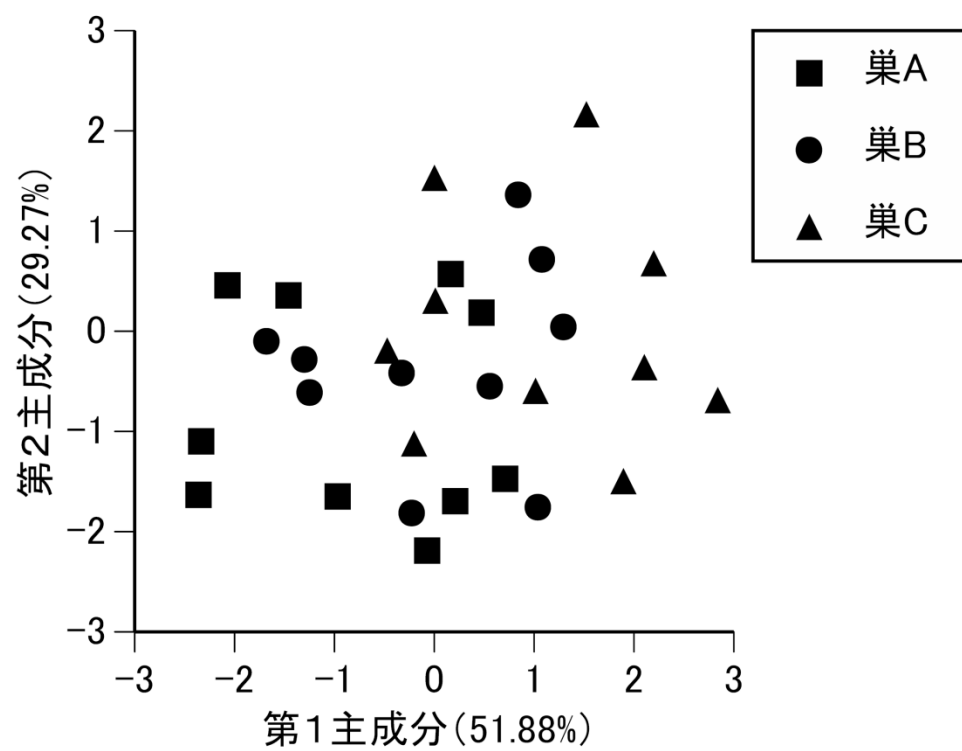


図 5-18 主要 5 ピークを用いた主成分分析による幼虫の CHCs の散布図

5-4. 考察

シャーレ内に置いた同巢の幼虫と異巢の幼虫に対するワーカーの行動の間に差はなかった。また、石膏巢内に異巢の幼虫を導入した場合でも、ワーカーは同巢の幼虫に対する行動と変わりなく、幼虫を巢内に運搬した。さらに、これらの行動観察の結果を支持するように、幼虫の体表の CHCs は巢間で変わらなかった。

5-4-1. ワーカーによる幼虫認識

アリのワーカーによる幼虫認識についてのこれまでの研究では、ワーカーが自身と他コロニーの幼虫を認識できた結果が得られている一方で (*C. cursor*: Lenoir 1984, *C. vagus*: Bonavita-Cougourdan et al. 1989, *E. tuberculatum*: Feneron&Jaisson 1995, *L. longispinosus*: Hare 1996)、認識できなかった結果も得られている (*R. confusa*: Crosland 1988, *A. echinatio*: Larsen et al. 2014)。ワーカーが自身の巢 (コロニー) の幼虫を認識できないことが示唆された 2 例のうち、Larsen et al. (2014) では、その理由が議論されていない。一方、Crosland (1988) は、*R. confusa* のワーカーが自身と他コロニーの幼虫を認識できないことについて、ワーカーが同種他コロニーから幼虫を強奪しないため、自巢と他巢の幼虫が混在することがなく、自身のコロニーの幼虫を認識する機会がないと考えた。Crosland (1988) は、例えばサスライアリ属 (*Aenictus*) のアリでは、同種や他種のアリの巢を襲い、未成熟個体を強奪し、自身の巢に持ち帰って餌とするため (Schneirla & Reyes 1988)、これらの種では自身と血縁関係にない幼虫が巢外から頻繁に運ばれてくることを挙げている。しかし、他コロニーから幼虫を強奪しない場合でも、多巢性種では巢外から幼虫が頻繁に運ばれてくる (Debout et al. 2007)。トゲズネハリアリは多巢性種であることが示唆されたため、同じコロニーだが異なる巢の間で未成熟個体が行き来すると考えられる。そのため、ワーカーにとって巢外から運ばれてきた幼虫が自身と血縁関係にあるかを認識できることは、包括適応度を

高めるうえでは重要なはずである。それにも関わらず、トゲズネハリアリのワーカーが自身と他のコロニーの幼虫を区別して行動しない理由として3種類の可能性が考えられる；（１）ワーカーは異なるコロニーの幼虫を区別しているが行動の変化を示さない、（２）ワーカーを認識することができれば幼虫を認識する必要はない、（３）幼虫の CHCs が単純であるためにワーカーは自巣（コロニー）の幼虫認識できない。

まず、（１）についてである。アリでは幼虫期もしくは羽化直後にコロニー特有の匂いを学習することが報告されている（Isingrini et al. 1985; Signorotti et al. 2014）。例えば、*A. senilis* のワーカーは、血縁関係にない他コロニーで幼虫期を過ごした場合、姉妹の未成熟個体よりも他コロニーの未成熟個体を長時間世話することが示されている（Signorotti et al. 2014）。このように、幼虫期にコロニー特有の匂いを学習するのであれば、異なるコロニーの幼虫を巣内に受け入れても、その幼虫は入った先の巣の匂いを学習する。その結果、受け入れ先のワーカーにとっては労働力が確保され、利益があるかもしれない。しかし、トゲズネハリアリの幼虫の CHCs の組成比は巣間で変わらなかった。これはトゲズネハリアリのワーカーが幼虫の CHCs を手がかりにして、巣（コロニー）仲間を認識できないことを示唆している。つまり、（１）の見込みはほぼない。（２）についてだが、例えばある巣が異なる巣から運ばれてきた幼虫を受け入れるような場面があったとき、通常その幼虫と運んできたワーカーのコロニーの由来は同じであり、ある巣のワーカーは幼虫を運んできたワーカーが同じコロニーかを確認するだけで良い。すなわち、ワーカーどうしの認識さえ正確であれば良いのである。第４章で、トゲズネハリアリのワーカーは他コロニー由来のワーカーを認識し、攻撃的な行動を示す結果が得られている。最後に（３）についてだが、Martin & Falko (2009) は、幼虫の CHCs はワーカーと比べ、種類だけでなく量も少ないと述べている。トゲズネハリアリでも、幼虫はワーカーに比べて体表に存在する CHCs の種類と量は少なかった。ワーカーが幼虫のコロニーの由来を認識するために必要な CHCs の種類や量は詳細に明らかにされていないが（Ichinose & Lenoir 2010）、トゲズネハリアリでは幼虫

の CHCs の種類や量が少ないために自巢（コロニー）の幼虫を認識することができないのかもしれない。トゲズネハリアリのワーカーが自身と他のコロニーの幼虫を区別して行動しない理由については、幼虫の CHCs の種類や量が少なく、ワーカーどうしの認識機構が十分に発達していれば良いと考えられた。

アリのワーカーによる幼虫認識に関して、*C. cursor* や *L. longispinosus* は多巣性種で (Debout et al. 2007)、これらの種ではワーカーが自巢と異巢の幼虫を認識できると結論づけられている (Lenoir 1984; Hare 1996)。これらの先行研究とは異なり、トゲズネハリアリのワーカーは自身と他のコロニーの幼虫を区別して行動していなかった。しかし、*C. cursor* や *L. longispinosus* において報告された研究では、観察の際にブラインドが行われていないため、適切な評価が行われていたか疑問がある。Panek & Gamboa (2000) はこれらの研究がブラインド下で観察を行っていないことに関して、手法に問題があると指摘している。また最近では、行動観察をする際に観察者にブラインドを行わないことが実験結果に影響すると報告されている (Conversano et al. 2014)。本研究ではブラインド下で行動を観察しているため、多巣性のアリのワーカーによる幼虫認識を適切に評価したが、ワーカーは自身と他のコロニーの幼虫を認識できなかった。

5-4-2. 幼虫の体表炭化水素

トゲズネハリアリの幼虫の CHCs は炭素数 29~45 で、12 種類あったのに対し、ワーカーは炭素数 23~45 で、36 種類あった（第 4 章の結果を見よ）。幼虫の CHCs については、炭素数は大きく変わらないが、種類はワーカーと比べてかなり少なかった。Martin & Falko (2009) は、幼虫の CHCs はワーカーと比べ、種類や量が少ないと述べている。*C. vagus* では、幼虫の CHCs は 26 種類から成るが (Bonavita-Cougourdan et al. 1989)、ワーカーでは 54 種類もあると報告されている (Meskali 1995)。CHCs の種類がワーカーよりも幼虫で少ないことは、本研究と先行研究で共通している。

ワーカーが自巢の幼虫を認識できるかを検討し、CHCs についても分析した先行研究

では、幼虫に巣（コロニー）特有の CHCs が存在すると報告されている。アシナガバチ 2 種（*P. fuscatus* と *P. paulista*）では、幼虫にはコロニー特有の CHCs の組成比があることが示されている（*P. fuscatus*: Panek & Gamboa 2000; *P. paulista*: Kudô et al. 2016）。また、*C. vagus* の幼虫では組成比は示されていないが、コロニー特有の CHCs があることが示されている（Bonavita-Cougourdan et al. 1989）。これらのハチやアリでは、ワーカーが自身と他の巣（コロニー）の幼虫を認識できると報告されている（ただし、Bonavita-Cougourdan et al. 1989 では行動観察の際にブラインドが行われていない）。一方、トゲズネハリアリの幼虫では CHCs の組成比は巣間で変わらなかった。これは、トゲズネハリアリの幼虫に巣（コロニー）特有の CHCs もしくはその組成比が存在しないことを示唆しており、ワーカーが同巣（コロニー）と異巣（コロニー）の幼虫を区別して行動しなかった結果を支持する。このように、ワーカーが自身の巣（コロニー）の幼虫を認識する種では、巣（コロニー）特有の CHCs がみられるのに対し、ワーカーが自身の巣（コロニー）の幼虫を認識しないトゲズネハリアリでは巣（コロニー）特有の CHCs がみられなかった。この傾向は、幼虫を認識する際にも体表に存在する CHCs が用いられる可能性を示唆する。

トゲズネハリアリにおいて、幼虫に巣（コロニー）特有の CHCs の組成比が存在しない理由として、幼虫とワーカー間で栄養交換が行われないことが関係しているかもしれない。原始的なアリでは、ワーカーと幼虫間の栄養交換システムが未発達である（東 1993）。ハリアリ亜科は原始的なグループで（Hölldobler & Wilson 1990; Peeters & Ito 2001; Peeters & Molet 2010）、トゲズネハリアリにおいてもワーカーと幼虫の間に栄養交換は確認されていない（山口他未発表）。ワーカー間では栄養交換によって巣（コロニー）特有の CHCs が共有されることが示されているため（Lenoir et al. 1998）、幼虫でも同様に、ワーカーと幼虫が栄養交換を行うことにより、幼虫の体表に巣（コロニー）特有の CHCs が形成されるのかもしれない。ワーカーと幼虫の間に栄養交換が行われることが、ワーカーによる幼虫の認識に影響するかについては、今後検証すべき課

題である。

5-4-3. 多巣性のアリにおけるワーカーによる幼虫認識

多巣性のアリにおいて、ワーカーによる幼虫認識を検討した研究は少なく、ブラインドされていない条件下では、ワーカーは自身と他のコロニーの幼虫を認識できた結果が得られている (*C. cursor*: Lenoir 1984, *L. longispinosus*: Hare 1996)。本研究は、多巣性のアリにおいて、ブラインド下でワーカーの行動を観察したが、ワーカーは自身と他のコロニーの幼虫を認識しなかった。また、幼虫には巣（コロニー）特有の CHCs もしくはその組成比は存在しなかった。これらの結果から、ワーカーと違って幼虫では、巣（コロニー）特有の CHCs もしくはその組成比が存在しないため、ワーカーは自身と同じコロニーの幼虫を認識しないと考えられた。しかし、ワーカーが自身と他のコロニーの幼虫を区別しなかったとしても、適応度上の損失はないと考えられる。なぜなら、多巣性のアリでは、ワーカーは同じコロニーでも異巣のワーカーを正確に認識して受け入れさえすれば、異なるコロニー由来の幼虫が入り込み、養育する機会は見込めないからである。このような解釈は、多巣性の別の種でも共通してみられると期待される。今後さらに多くの多巣性種において、ワーカーによる幼虫認識に関する研究が行われれば、この解釈についての検証が進むであろう。

6 章. 総合考察

6 章. 総合考察

トゲズネハリアリは、日本本土に幅広く分布する極めて一般的な種であるものの、その生物情報はほとんど知られていない。まず、生活史を検討したところ、冬季の越冬を終えたコロニーが 5 月から活動を開始し、夏の終わりに有翅の繁殖虫およびワーカーを一括で生産する *Alate queen* 種であった。次に繁殖システムや社会構造を検討したところ、多くの巣では既交尾女王と未交尾女王、ワーカーがいるが、既交尾女王がほぼ繁殖を独占しており、ワーカー産卵の証拠は得られなかった。また、既交尾女王は通年巢内に 1 個体だけ存在したが、複数の既交尾女王がいる場合でも、機能的単女王の状態であった。さらにトゲズネハリアリが多巣性種であることが示唆されたことから、ワーカー間およびワーカーと幼虫間の巣仲間認識機構を検討した。ワーカーは *CHCs* を手がかりにして異なる巣（コロニー）のワーカーを認識して攻撃行動を示したが、幼虫については *CHCs* によって自巣と異巣の区別をしていなかった。

生活史

第二章と第三章で得られた結果から、トゲズネハリアリの生活史と社会構造の概略を図 6-1 に示す。コロニーは気温の変化が少ない地中で越冬を終えると、温帯に生息するオオハリアリで知られているように (Gotoh & Ito 2008)、地表付近に移動を始める。地表付近に移動したコロニーは、図 6-1 の冬から春の変化で示したように、サテライト巣を作り始める。野外調査の経験から、女王が活発に産卵活動を行っている巣は地表近辺にあるが、サテライト巣は地表近辺の朽ち木に作られる (山口未発表)。このようにして活動期に多巣化する状態は季節的多巣性 (*seasonal polydomy*) と呼ばれる (Alloway et al. 1982; Herbers 1990; Partridge 1997)。春から初夏にかけて、コロニーには女王とワーカー、幼虫、そしておそらく卵もいるはずである (図 6-1)。7 月になると、コロニー内には蛹が現れ、8 月下旬から 9 月中旬にかけて新成虫（有翅虫およ

びワーカー）が出現する（図 6-1）。すべての新女王とオスが有翅であったことから、トゲズネハリアリの繁殖虫は結婚飛行により交尾を行うと考えられる。交尾を行った女王は地上に降り、翅を落として、営巣活動を開始する。しかしこのとき、女王は2通りのコロニーの創設方法を示すと考えられる（図 6-1 の夏の部分を参照）。一つは、女王が単独で営巣を始めることである。第2章でも述べたように、既交尾女王のいた巣の多くは単女王であった（77.7%）。もう一つは、交尾を行った女王が、すでに営巣していた巣に入り込む方法（joining）である。トゲズネハリアリでは、複数の既交尾女王がいる巣がみられた（22.3%）。こういった巣では活発に繁殖を行っていた女王は1個体だけであった（機能的単女王制）。夏以降に多くの機能的単女王制の巣が採集されるようになったことは（第三章）、この可能性を支持する。コロニーは秋になると、次第にサテライトの数を減らしていき、越冬に備えると考えられる（図 6-1 の秋の部分を参照）。本研究では、卵の存在する巣を採集する機会が少なかったため、女王の産卵活動については十分な理解が得られていない。しかし、春から秋にかけて、サイズの異なる幼虫や卵巣を発達させた既交尾女王を採集できたことから（第三章）、女王の産卵活動は少なくとも春から秋にかけての活動期には一定の頻度で行われると考えられる。

繁殖システムおよび社会構造

トゲズネハリアリの繁殖システムや社会構造として、まずは単女王制が基本だと述べてい。1個体の既交尾女王が存在する巣がほとんどであったし、複数の既交尾女王が存在する巣でも、機能的単女王制であったからである。このことは、槇田（2013）による分子遺伝学研究からも裏付けられる。槇田（2013）は、トゲズネハリアリの巣内個体間の血縁関係をマイクロサテライトマーカーにより明らかにし、ワーカー間や幼虫間が同父母姉妹間で期待される血縁関係（ $r=0.75$ ）と変わらないことを示した。しかし、それにも関わらず、女王とワーカーあるいは女王と幼虫の間の血縁度は理論値（ $r=0.5$ ）を下回るケースがあった（槇田 2013）。このことは、一部の巣が機能的単女王制であっ

たため、女王とワーカーあるいは女王と幼虫の間で血縁関係が低下したのだと推測される。

一方、オスの生産に関しては、まだ十分な理解が得られていない。村田（1994）は、トゲズネハリアリにおいてワーカー産卵の可能性を述べた。また、槇田（2013）はオスが複数のメスにより生産されたコロニーがあったことを示した。しかし、本研究からはワーカーが卵巣を発達させている証拠は得られなかった。飼育下で女王から隔離された巣では、ワーカーは産卵を始め、その卵は幼虫へと発達することが確認されているものの（山口未発表）、自然下ではワーカーによる繁殖の機会はほとんど期待できないだろう（第二章で議論したように、女王がワーカーの繁殖を直接抑制、あるいは女王の存在を知らせる情報物質を介しての間接的な抑制が考えられる）。それでは、既交尾で優位女王あるいはワーカー以外でオスの生産に関わる個体は何だろうか？可能性としては、「機能的単女王巣における劣位な既交尾女王」と「未交尾女王」がある（第三章）。本研究から、年間を通して多くの巣で未交尾女王が存在していたことが示された。第三章で議論したように未交尾女王の存在意義については不明であるが、一部の個体とはいえ卵巣を発達させていたことから、オスの生産に関与する可能性はある。今後の研究では、トゲズネハリアリの女王の活動にも目を向けるべきで、特に機能的単女王コロニーにおける女王間の血縁関係や各女王の繁殖の状態、あるいは未交尾女王の繁殖活動を検討すべきである。

巣仲間認識

多巣性のアリを扱った研究では、多巣性システムの適応的意義や社会構造、巣仲間認識など幅広い関心がもたれてきた。しかし、巣仲間認識については十分な理解が得られてこなかった。トゲズネハリアリのワーカーは、CHCsを手がかりにして異なる巣（コロニー）のワーカーを認識して攻撃行動を示した（第四章）。コロニーが活動期に入り、多巣化すると、ワーカーが未成熟個体や餌を頻繁に移動させるはずである。その際ワー

カーは、CHCs を頼りにして、同じコロニーでも異なる巣と異なるコロニーのワーカーを正確に区別しなければならない。異なるコロニー由来のワーカーを巣に招き入れれば、自身のコロニー内の資源が奪われるリスクが増すし、血縁関係にない未成熟個体を養育することもあるかもしれない。一方、ワーカーは同じコロニーと異なるコロニーの幼虫を区別していなかった（第五章）。ただしこの場合、ワーカーにとって適応度上の損失はないと考えられる。なぜなら、ワーカーは自身と同じコロニーと異なるコロニーのワーカーを正確に区別していれば、異なるコロニー由来の幼虫が入り込むリスクはないからである。

トゲズネハリアリでは、ワーカーは異なるコロニー由来のワーカーの体表上の CHCs に対して、攻撃行動を示した。アリでは幅広い分類群で、成虫間の巣仲間認識を検討した研究があり、実際に CHCs がその手がかり（cues）として機能していることを確認した研究もある。しかし、一般に CHCs を単離してその有用性を検討した研究は少なく、多巣性のアリではそのような検討は事実上されてこなかった。その上、ワーカーが自身と同じコロニーと異なるコロニーの幼虫を区別しないことは、CHCs の類似性が関係していることも示唆された。本研究は、成虫間および成虫と幼虫間の認識能力に加え、CHCs の役割も検討しており、単巣性のみならず多巣性のアリも含めて貴重な情報を提供するものである。

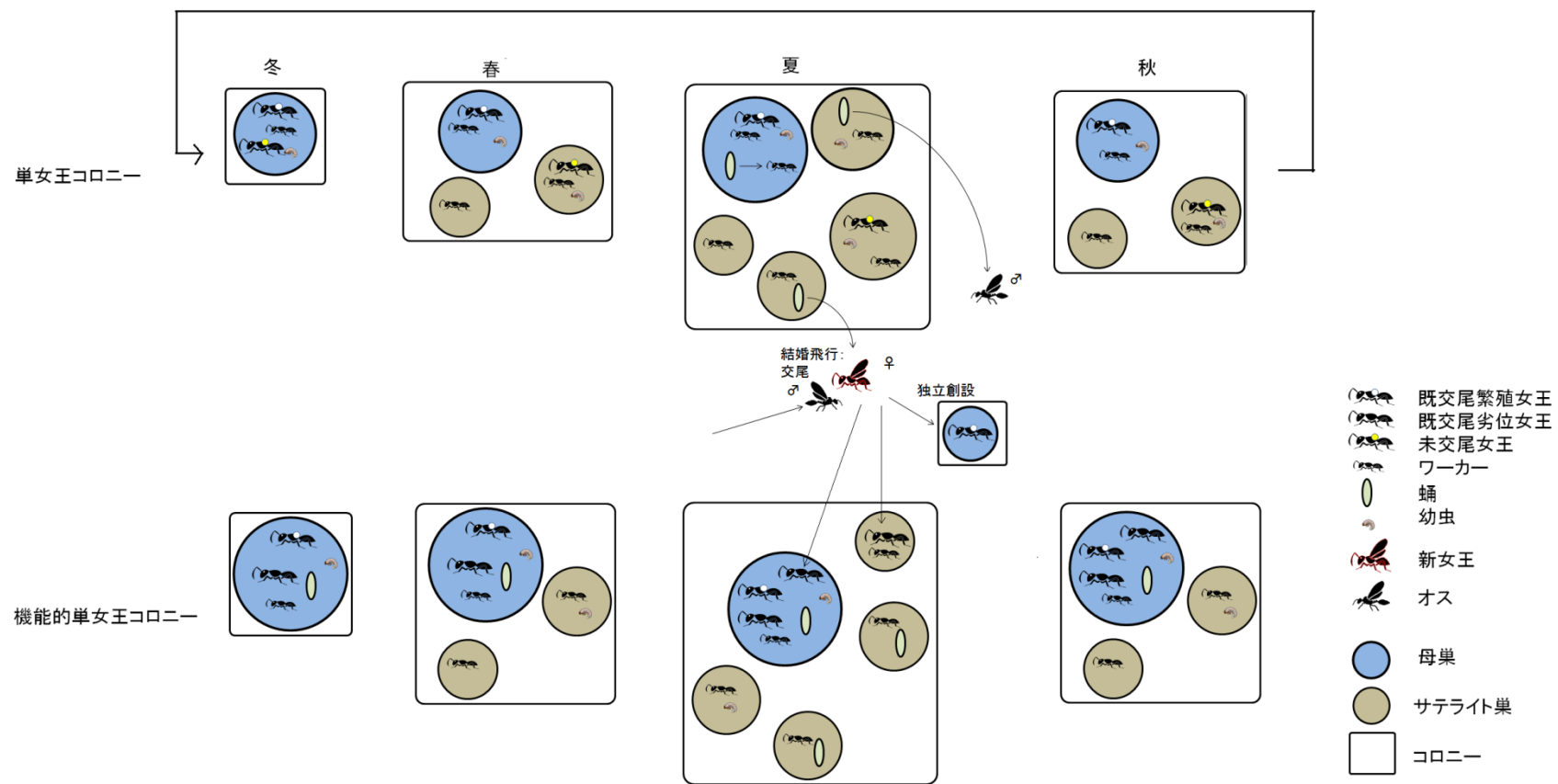


図 6-1. トゲズネハリアリの生活史と社会構造の概略

謝 辞

本研究を遂行するにあたり、主指導教員である新潟大学自然科学研究科の関島恒夫教授には、研究の計画段階からご指導ご鞭撻をいただくとともに、研究資金面でも大きなご配慮をいただいた。新潟大学教育学部の工藤起来准教授には、研究の全般にわたり、指導ご鞭撻をいただくとともに、本研究論文を取りまとめるにあたり、懇切なご指導およびご協力を賜った。ここに、格別の感謝の意を表したい。新潟大学自然科学研究科の箕口秀夫教授と中田誠教授には本論文を査読していただくとともに丁寧なご意見を賜った。島根県ホシザキグリーン財団の岩西哲博士にはアリの調査に同行していただいただけでなく、共同研究者としてアリの研究に関する様々な指導およびご協力を賜った。新潟大学教育学部の志賀隆准教授、森田龍義博士、福原晴夫博士には本研究の全体的な調査方法や解析方法について貴重なご意見を頂いた。新潟大学教育学部技術部の佐藤雄二さんは研究を進めるために必要な用具を確保してくださった。京都工芸繊維大学の秋野順治教授には GC・MS 分析の実験装置を快く使用させていただいただけでなく、データの解析手法をご教授いただいた。専修大学の増子恵一教授にはアリの生態に関して貴重なご意見をいただいた。キョロロの森を調査地として提供して下さった永野昌博博士、大脇淳博士、小林誠博士、十日町市立里山科学館越後松之山「森の学校」の職員の皆さんに感謝したい。また、新潟大学関島研究室の皆さまと工藤研究室の皆さまには、調査に協力していただいただけでなく、議論を通して新鮮なご意見をいただいた。以上の多くの方々のご高配なくして、本研究を成し遂げることはできなかった。この場を借りて、感謝の意を表するとともに、厚く御礼申し上げる。最後に、本研究を続けるにあたり、深い理解と支援をくださった両親には、心から感謝の気持ちとともにお礼を申し上げる。

引用文献

- André JB. Peeters C. Huet M. Doums C. (2006) Estimating the rate of gamergate turnover in the queenless ant *Diacamma cyaneiventris* using a maximum likelihood model. *Insectes Sociaux* **53**: 233- 240.
- Bansbach VS. & Herbers JM. (1996) Complex colony structure in social insects: I. Ecological determinants and genetic consequences. *Evolution* **50**: 285-297.
- Beye M. Neumann P. Chapuisat M. Pamilo P. Moritz RFA. (1998) Nestmate recognition and the genetic relatedness of nests in the ant *Formica pratensis*. *Behavioral Ecology & Sociobiology* **43**:67-72.
- Beye M. Neumann P. Moritz RFA. (1997) Nestmate recognition and the genetic gestalt in the mound-building ant *Formica polyctena*. *Insectes Sociaux* **44**:49-58.
- Bharti H. & Wachkoo AA. (2013) *Cryptopone subterranea* sp. nov., a rare new cryptobiotic ant species (Hymenoptera: Formicidae) from India. *Asian Myrmecology* **5**: 1–4.
- Brown W L Jr. (1954) Remarks on the internal phylogeny and subfamily classification of the family *Formicidae*. *Insectes Sociaux* **1**: 21-31.
- Brown MJF. (1999) Semi-claustral founding and worker behaviour in gynes of *Messorandrei*. *Insectes Sociaux* **46**: 194–195.
- Bonavita-Cougourdan A. Clement JL. Lange C. (1989) The role of cuticular hydrocarbons in recognition of larvae by workers of the ant *Camponotus vagus*: changes in the chemical signature in response to social environment (Hymenoptera: Formicidae). *Sociobiology* **16**:49-74.
- Bolton B. (1994) Identification guide to the ant genera of the world. Harvard university press. pp. 222.
- Bolton B. (2003) Synopsis and classification of Formicidae. *Memoirs of the American*

Entomological Institute. 71: 1-370.

Bonavita-Cougourdan A. Clement J L. Lange C. (1989) The role of cuticular hydrocarbons in recognition of larvae by workers of the ant *Camponotus vagus*: changes in the chemical signature in response to social environment (Hymenoptera: Formicidae). *Sociobiology* 16: 49-74.

Bourke AFG. & Franks NR. (1995) Social evolution in ants. Princeton University Press. pp. 529.

Buschinger A. (1979) Functional monogyny in the American guest ant *Formicoxenus hirticornis* (Emery) (= *Leptothorax hirticornis*), (Hym., Form.). *Insectes Sociaux* 26: 61-68.

Buczkowski G. (2012) Colony spatial structure in polydomous ants: complimentary approaches reveal different patterns. *Insectes Sociaux*.

Carlos LV. Koning JW. Ruth MB. William CJ. Andrew FGB. (2004) *Nature*, 430:557-560.

Cole BJ. (1986) The social behavior of *Leptothorax allardycei* (Hymenoptera, Formicidae): time budgets and the evolution of worker reproduction. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 3: 165-173.

Cook Z. Franks DW. Robinson EJH. (2013) Exploration versus exploitation in polydomous ant colonies. *Journal of theoretical biology* 323: 49-56.

Cotoneschi C. Dani RF. Cervo R. Sledge FM. Turillazzi S. (2007) *Polistes dominulus* (Hymenoptera: Vespidae) larvae possess their own chemical signatures. *Journal of Insect Physiology* 53:954-963.

Crosland MW. (1988) Inability to discriminate between related and unrelated larvae in the ant *Rhytidoponera confusa* (Hymenoptera: Formicidae). *Annals of the Entomological Society of America* 81:844-850.

Debout G. Schatz B. Elias M. McKey D. (2007) Polydomy in ants: What we know, what we think we know, and what remains to be done. *Biological Journal of the Linnean Society* 90:

319-348.

Denis D. Orivel J. Hora R R. Chameron S. Fresneau D. (2006) First Record of Polydomy in a Monogynous Ponerine Ant: A Means to Allow Emigration Between *Pachycondyla goeldii* Nest. Journal of Insect Behavior 19: 279-291.

Dietemann V. Liebig J. Holldobler B. Peeters C. (2005) Changes in the cuticular hydrocarbons of incipient reproductives correlate with triggering of worker policing in the bulldog ant *Myrmecia gulosa*. Behav. Ecol. Sociobiol 58: 486-496.

Dillier FX. & Wehner R. (2004) Spatio-temporal patterns of colony distribution in monodomous and polydomous species of North African desert ants, genus *Cataglyphis*. Insectes Sociaux 2: 186-196.

Dimarco RD. Farji-Brener AG. Premoli AC. (2010) Dear enemy phenomenon in the leaf-cutting ant *Acromyrmex lobicornis*: behavioral and genetic evidence. Behavioral Ecology 21:2:304-310.

Dreier S. D'Ettorre P. (2009) Social context predicts recognition systems in ant queens. Journal of Evolutionary Biology 22:644-649.

Ebie JD. Hölldobler B. Liebig J. (2015) Larval regulation of worker reproduction in the polydomous ant *Novomessor cockerel*. The Science of Nature 102: 11-12.

Ellis S. & Robinson EJH. (2014) Polydomy in red wood ants. Insectes sociaux 61:111-122.

Emery C. (1913) Hymenoptera, Fam. Formicidae, subfam. Dolichoferinae. In P. Wytaman ed "Genera Insectorum" 137: 1-50.

Emery C.(1921) Hymenoptera, Fam. Formicidae, subfam. Myrmicinae. In P. Wytaman ed "Genera Insectorum" 174A: 1-94.

Emery C.(1922) Hymenoptera, Fam. Formicidae, subfam. Myrmicinae. In P. Wytaman ed "Genera Insectorum" 174B-C: 95-397.

Emery C.(1925) Hymenoptera, Fam. Formicidae, subfam. Formicainae. In P. Wytaman ed

“Genera Insectorum” 183: 1-302.

Endler A. Liebig J. Holldobler B. (2006) Queen fertility, egg marking and colony size in the ant *Camponotus floridanus*. Behavioral Ecology and Sociobiology 59: 490-499.

Endler A. Liebig J. Schmit T. Parker J. Jones GR. Schreier P. Holldobler B. (2004) Surface hydrocarbons of queen eggs regulate worker reproduction in a social insect. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 101: 2945-2950.

Feneron R. & Jaisson P. (1992) Nestmate-brood recognition among workers of different social status in *Ectatomma tuberculatum* Oliver (Formicidae, Ponerinae). Behavioural processes 27:45-52.

Feneron R. & Jaisson P. (1995) Ontogeny of nestmate brood recognition in a primitive ant, *Ectatomma tuberculatum* Oliver (Ponerinae). Animal Behaviour 50: 9-14.

Fielde AM. (1901) Further Study of an Ant. Proceedings of the Academy of Natural Sciences of Philadelphia 53: 521-544.

Gotoh A. & Ito F. (2008) Seasonal cycle of colony structure in the Ponerine ant *Pachycondyla chinensis* in western Japan (Hymenoptera, Formicidae). Insectes Sociaux 55: 98-104.

Guerrieri FJ & d'Ettorre P. (2008) The mandible opening response: quantifying aggression elicited by chemical cues in ants. Journal of Experimental Biology 211: 1109-1113.

Hare J. (1996) Discrimination of nestmate larvae by the ant *Leptothorax longispinosus*. Canadian Journal of Zoology 74:2055-2061.

Hamilton W D. (1994) The genetical evolution of social behaviour. I II. Journal of theoretical biology 7: 1-52.

Hannonen M. Sledge MF. Turillazzi S. Sundstrom L. (2002) Queen reproduction, chemical signalling and worker behavior in polygyne colonies of the ant *Formica fusca*. Anim. Behav 64:477-485.

Hart LM. Tschinkel WR. (2012) A seasonal natural history of the ant, *Odontoma chusbrunneus*.

Insectes Sociaux **59**: 45–54.

Herbers JM. (1984) Queen-worker conflict and eusocial evolution in a polygynous ant species.

Evolution 3: 631-643.

Heinze J. Foitzik S. Hippert A. Hölldobler B. (1996) Dear-enemy phenomenon and environment-based recognition cues in the ant *Leptothorax nyhnderi*. Ethology 102: 510-522.

Heinze J. Stengl B. Sledge M.F. (2002) Worker rank, reproductive status and cuticular hydrocarbon signature in the ant, *Pachycondyla cf. inversa*. Behav. Ecol. Sociobiol 52: 59-65,

東正剛. (1993) アリの生活史戦略と社会進化. 松本忠夫・東正剛共編. 社会性昆虫の進化生態学. 海遊舎. pp. 390.

Higashi S. (1979) Polygyny, Nest Budding and Internest Mixture of Individuals in *Formica* (*Serviformica*) *japonica* Motschulsky at Ishikari Shore. Ibid 47: 381-389.

Higashi S. Peeters C. (1990) Worker polymorphism and nest structure in *Myrmecia brevinoda* Forel (Hymenoptera: Formicidae). *Australian Journal of Entomology* **29**: 327–331.

Hölldobler B. Bartz SH. (1985) Sociobiology of reproduction in ants. In: Experimental behavioural ecology and sociobiology (Hölldobler B, Lindauer M, eds). Stuttgart: Gustav Fischer Verlag: 237–257.

Hölldobler B & Wilson EO. (1990) the ANTS. springer-Verlag. pp. 732.

Hölldobler B & Wilson EO. (2010) The Leafcutter Ants: Civilization by Instinct. W W Norton & Company. pp.160.

Isingrini M. Lenoir A. Jaisson P. (1985) Preimaginal learning as a basis of colony-brood recognition in the ant *Cataglyphis cursor*. Proceedings of the National Academy of Sciences 82:8545-8547.

今井弘民・鶴川義弘・緒方一夫・小野山敬一・木原章・久保田政雄・栗林慧・近藤正樹・

園部力雄・月井雄二・寺山守・森下正明・山内克典・山根正気・吉村正志・渡邊啓文. (2008) 日本産アリ類画像データベース 2008. アリ類データベース作成グループ.

Ito F. (1998) Diversity of colony structure in oriental ponerine ants. In: Schwarz MP, Hogendoorn K (eds) *Social Insects at the Turn of the Millennium: Proceedings of 13th International Congress*, International Union for the Study of Social Insects, Adelaide. p 226.

伊藤文紀. (2002) 東南アジア産ハリアリ類の多彩な社会構造. 杉浦直人・伊藤文紀・前田泰生編著. ハチとアリの自然史本能の進化学. 北海道大学図書刊行会. pp. 732.

Ito F. & Ohkawara K. (1994) Spermatheca size differentiation between queens and workers in primitive ants: relationship with reproductive structure of colonies. *Naturwissenschaften* **81**: 138–140.

Itow T. Kobayashi K. Kubota M. Ogata K. Imai T. Crozier R H. (1994) The reproductive cycle of the queenless ant *Pristomyrmex pungens*. *Insectes Sociaux* 31: 87-102.

Jaisson P. Fresneau D. Taylor RW. Lenoir A. (1992) Social organization in some primitive Australian ants. I. *Nothomyrmecia macrops* Clark. *Insectes Sociaux* 39:425-438.

Jeanson R. Ratnieks FW. Deneubourg J. (2003) Pheromone trail decay rates on different substrates in the Pharaoh's ant, *Monomorium pharaonis*. *Physiological Entomology* 3: 192–198.

Johnson RA. Holbrook CT. Strehl C. Gadau J. (2007) Population and colony structure and morphometrics in the queen dimorphic harvester ant, *Pogonomyrmex pima*. *Insectes Sociaux* **54**: 77 – 86.

Kikuchi T. Tsuji K. (2005) Unique social structure of *Probolomyrmex longinodus*. *Entomological Science* 8: 1–3.

Kikuchi T. Tsuji K.. Ohnishi H. Julien LB. (2007) Caste-biased acceptance of non-nestmates in

- a polygynous ponerine ant. *Animal Behaviour* 73: 559-565.
- Komene Y. Higashi S. Ito F. Miyata H. (1999) Effect of colony size on the number of gamergates in the queenless ponerine ant *Rhytidoponera aurata*. *Insectes Sociaux* 46: 29-33.
- Lahav S. Soroker V. Hefetz A. Vander MRK. (1999) Direct behavioral evidence for hydrocarbons as ant recognition discriminators. *Naturwissenschaften* 5: 246-249.
- Lanan MC. Dornhaus A. Bronstein JL. (2011) The function of polydomy: the ant *Crematogaster torosa* preferentially forms new nests near food sources and fortifies outstations. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 5: 959-968.
- Langen T A. Tripet F. Nonacs P. (2000) The red and the black: habituation and the dear-enemy phenomenon in two desert *Pheidole* ants. *Behavioral Ecology & Sociobiology* 48: 285-292.
- Lenoir A. (1984) Brood-colony recognition in *Cataglyphis cursor* worker ants (Hymenoptera : Formicidae). *Animal Behavior* 32: 942-944.
- Liebig J. Monnin T. Turillazzi S. (2005) Direct assessment of queen quality and lack of worker suppression in a paper wasp. *Proc. R. Soc. Lond. B.* 272: 1339-1344.
- Lucas C. Pho DB. Fresmeau D. Jallon JM. (2004) Hydrocarbon circulation and colonial signature in *Pachycondyla villosa*. *Journal of Insect Physiology* 50:595-607.
- 槇田宏治. (2014) トゲズネハリアリにおける巣内の血縁構造. 新潟大学教育学部教育学研究科修士論文. pp. 24.
- Markin GP. Dillier JH. Hill SO. Blum MS. Hermann HR. (1971) Nuptial flight and flight ranges of the imported fire ant, *Solenopsis saevissimarichteri* (Hymenoptera: Formicidae). *Journal of the Georgia Entomological Society* 6: 145-156.
- Martin SO. (1986) Nestmate recognition cues in Laboratory and field colonies of *Solenopsis invicta* Buren (Hymenoptera: Formicidae). *Journal of Chemical Ecology* 12:9:1965-1975.

- Martin SJ. Helantera H. Drijfhout F. (2008) Chemical basis of nest-mate discrimination in the ant *Formica exsecta*. *Proc. R. Soc. B* 275:1271–1278
- Martin SJ. Helantera H. Kiss K. Lee YR. Drijfhout FP. (2009) Polygyny reduces rather than increases nestmate discrimination cue diversity in *Formica exsecta* ants. *Insectes Sociaux* 56:375-383.
- Martin S. & Drijfhout F. (2009) A Review of Ant Cuticular Hydrocarbons. *J Chem Ecol* 35:1151–1161.
- 増子恵一. (2002) 多足類やコムシ類を捕食するアリたち. 杉浦直人・伊藤文紀・前田泰生編著. ハチとアリの自然史本能の進化学. 北海道大学図書刊行会. pp. 732.
- Masuko K. (2003) Analysis of brood development in the ant *Amblyopone silvestrii*, with special reference to colony bionomics. *Entomological Science* 6: 237–245.
- Moreau CS. Bell CD. Vila R. Archibald B. Pierc NE. (2006) Phylogeny of the Ants: Diversification in the Age of Angiosperms. *Science* 312: 101.
- 村田和彦. (1994) 蟻. No17:3.
- Monnin T. (2006) Chemical recognition of reproductive status in social insects. *Ann. Zool. Fennici* 43: 515-530,
- Monnin T. &Peeters C. (2008) How many gamergates is an ant queen worth ?. *Naturwissenschaften* 95: 109-116.
- Monnin T. Ratnieks FL. (2001) Policing in queenless ponerine ants. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 2: 97-108.
- Nanork P. Paar J. Chapman NC. Wongsiri S. Oldroyd BP. (2005) Asian honeybees parasitize the future dead. *Nature* 6:437:829.
- Neumann K. Winston ML. Slessor KN. Prestwich GD. Webster FX. (1991) Production and transmission of honey bee queen (*Apis mellifera* L.) Mandibular gland pheromone. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 29:321-332.

- Neumann P. Moritz RFA. (2002) The Cape honeybee phenomenon: the sympatric evolution of a social parasite in real time? *Behavioral Ecology and Sociobiology* 52:271-281.
- Newey PS. Robson SKA. Crozier RH. (2010) Weaver ants *Oecophylla smaragdina* encounter nasty neighbors rather than dear enemies. *Ecology* 91:2366-2372.
- Nicolas T. & Serge A. (2008) Seasonal nestmate recognition in the polydomous ant *Plagiolepis pygmaea*. *Behavioral Ecology & Sociobiology*. 75:1023-1030.
- Ohkawara K. Ito F. Higashi S. (1993) Production and reproductive function of intercastes in *Myrmecina graminicola nipponica* colonies (Hymenoptera: Formicidae). *Insectes Sociaux* 40: 1–10.
- Ortius D. & Heinze J. (1999) Fertility signaling in queens of a North American ant. *Behav. Ecol. Sociobiol.* 45:151-159.
- Orivel J. & Dejean A. (1999) Selection of epiphyte seeds by ant-garden ants. *Ecoscience* 1:-51-55.
- Oliveira PS. Camargo RX. Fourcassié V. (2011) Nesting patterns, ecological correlates of polygyny and social organization in the neotropical arboreal ant *Odontomachus hastatus* (Formicidae, Ponerinae). *Insectes Sociaux* 58: 207–217.
- Ozaki M. Wada-Katsumata A. Fujikawa K. Iwasaki M. Yokohari F. Satoji Y. Nisimura T. Yamaoka R. (2005) Antnestmate and non - nestmate discrimination by a chemosensory sensillum. *Science* 309:311-314.
- Panek L M. Gamboa G J. (2000) Queens of the paper wasp *Polistes fuscatus* (Hymenoptera : Vespidae) discriminate among larvae on the basis of relatedness. *Ethology* 106:159-170.
- Pedersen JS. & Boomsma JJ. (1999) Genetic analysis of colony structure in polydomous and polygynous ant populations. *Journal of Evolutionary Biology* 5: 903-917.
- Peeters C. (1991) The occurrence of sexual reproduction among ant workers. *Biological Journal of the Linnean Society* 44: 141–152.

- Peeters C. (1993) Monogyny and polygyny in ponerine ants with or without queens. In: Keller L (ed.) Queen number and sociality in insects. Oxford University Press, Oxford. pp.234-261.
- Peeters C. & Ito F. (2001) Colony dispersal and the evolution of queen morphology in social Hymenoptera. *Annual Review of Entomology* 46:601-30.
- Peeters C. & Molet M. (2010) Ant ecology. University Press New York. pp. 402.
- Pirk CWW, Neumann P, Moritz RFA, Pamilo P. (2001) Intranest relatedness and nestmate recognition in the meadow ant *Formica pratensis* (R). *Behavioral Ecology and Sociobiology* 49:366-374.
- Ratnieks FLW (1988). Reproductive Harmony via Mutual Policing by Workers in Eusocial Hymenoptera. *American Naturalist* 2: 217-236.
- Roger J. (1863) Verzeichniss der Formiciden-Gattungen und Arten. *Berliner entomologische Zeitschrift*. 7: 1-65.
- Sanada-Moriura S, Minai M, Yokoyama M, Hirota T, Satoh T, Obara Y. (2003) Encounter-induced hostility to neighbors in the ant *Pristomymex pungens*. *Behavioral Ecology* 14:713-718.
- Sceley TD. (1979) Queen Substance Dispersal by Messenger Workers in Honeybee Colonies. *Behav. Ecol. Sociobiol.* 5:391-415.
- Scherba G. (1959) Moisture regulation in mound nests of the ant, *Formica ulkei* Emery. *American Midland Naturalist* 61: 499–508.
- Schlick-Steiner BC, Steiner FM, Stauffer C, Buschinger A. (2005) Life history traits of a European Messor harvester ant. *Insectes Sociaux* 52: 360–365.
- Schneirla TC. (1971) Army ants. Freeman & Company. pp. 349.
- Segundoa GB, M.Biseaub JC, Quinet Y. (2012) Queens defense by workers in the highly polygynous ant *Crematogaster pygmaea* (Hymenoptera: Myrmicinae). *Behavioural Processes* 3: 282-290.

- Signorotti L. Jaisson P. d'Ettorre P. (2014) Larval memory affects adult nest-mate recognition in the ant *Aphaenogaster senilis*. *Proceedings of the royal society* 1774.
- Shimoji H. Fujiki Y. Yamaoka R. Tsuji K. (2012) Egg discrimination by workers in *Diacamma* sp. from Japan. *Insectes Sociaux* **59**: 201–206.
- Singer TL. Espelie KE. Gamboa GI. (1998) Nest and nestmate discrimination in independent-founding paper wasps. In: *Pheromone Communication in Social Insects*. Boulder, Colorado: Westview Press. pp. 57–78.
- Snyder LE. & Herbers JM. (1991) Polydomy and sexual allocation ratios in the ant *Myrmica punctiventris*. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 6: 409-415.
- Steinmeyer C. Pennings PS. Foitzik S. (2012) Multicolonial population structure and nestmate recognition in an extremely dense population of the European ant *Lasius flavus*. *Insectes sociaux* 4: 499-510.
- Sunamura, E. Espadaler X. Sakamoto H. Suzuki S. Terayama M. Tatsuki S. (2009) Intercontinental union of Argentine ants: behavioral relationships among introduced populations in Europe, North America and Asia. *Insectes Sociaux* 56:143-147.
- 寺山守・久保田敏・江口克之. (2014) 日本産アリ類図鑑. 株式会社朝倉書店. pp.278.
- Terayama M. (1999) Taxonomic studies of the Japanese Formicidae, Part 4. Three new species of Ponerinae. *Memoirs of the Myrmecological Society of Japan* 1: 7-11.
- Tofolo VC. Giannotti E. Neves EF. Andrade LHC. Lima SM. Suárez YR. Antonialli WF. (2014) Polydomy in the ant *Ectatomma opaciventre*. *Journal of Insect science* 14: 1-16.
- Traniello JFA. & Levings SC. (1986) Intra-and intercolony patterns of nest dispersion in the ant *Lasius neoniger*: correktations with territoriality and foraging ecology. *Oecologia* 69: 413-419.
- Tsuji K. Egashira K. Hölldobler B. (1999) Regulation of worker reproduction by direct physical contact in the ant *Diacamma* sp. from Japan. *Animal Behaviour* 2: 337-343.

- Tschinkel WR. (1988) Distribution of the Fire Ants *Solenopsis invicta* and *S. geminata* (Hymenoptera: Formicidae) in Northern Florida in Relation to Habitat and Disturbance. *Annals of the Entomological Society of America* 76: 76-81
- Vargo EL. & Passera L. Scholar. (1991) Pheromonal and behavioral queen control over the production of gynes in the Argentine ant *Iridomyrmex humilis* (Mayr). *Behavioral Ecology and Sociobiology* 3: 161-169.
- Vargo EL. (1993) Colony reproductive structure in a polygyne population of *Solenopsis geminate* (Hymenoptera: Formicidae). *Annals of the Entomological Society of America* 86: 441-449.
- Vander MRK. & Morel L. (1998) Nestmate recognition in ants, in R. K. VanderMeer, M. Breed, M. Winston, and K. E. Espelie (eds.). *Pheromone Communication in Social Insects*. Westview Press, Boulder. pp. 79-103.
- van Wilgenburg E. Dang S. Forti AL. Koumoundouros TJ. Ly A. Elgar MA. (2007) An absence of aggression between non-nestmates in the bull ant *Myrmecia nigriceps*. *Naturwissenschaften* 94: 787-790.
- van Wilgenburg E. Ryan D. Morrison P. Marriott PJ. Elgar M. (2006) Nest- and colony-mate recognition in polydomous colonies of meat ants (*Iridomyrmex purpureus*). *Naturwissenschaften* 93: 309-314.
- Villet M. (1989) A syndrome leading to ergatoid queens in ponerine ants (Hymenoptera: Formicidae). *Journal of natural history* 4: 825-832.
- Way MJ. (1954) Studies of the life history and ecology of the ant *Oecophylla longinoda* Latreille. *Bulletin of Entomological Research* 45: 93-112.
- Wheeler WM. (1922) Ants of the American Museum Congo Expedition: A Contribution to the Myrmecology of Africa. *American Museum of Natural History* 45: 34-45.
- Wheeler DE. (1991) The developmental basis of worker caste polymorphism in ants. *American*

Naturalist 138: 1218–1238.

Wilson EO. (1971) The insect societies. Harvard university press. pp. 548.

山内克典. (1993) アリ類における雄の繁殖戦略. 松本忠夫・東正剛共編. 社会性昆虫の進化生態学. 海遊舎. pp. 390.

山口勇氣・矢澤ひろみ・岩西哲・工藤起来. (2010) トゲズネハリアリ (*Cryptopone sauteri*) の飼育法. 新潟大学教育学部紀要第3巻第1号: pp.41～46.