

絶対単為生殖種キイロヒメアリの繁殖生態と社会構造

2022

井戸川 直人

目次

第1章 序論.....	5
単為生殖性生物を材料とした研究の意義.....	5
社会性昆虫における単為生殖.....	6
アリ類における産雌性単為生殖.....	7
繁殖システムとコロニーの血縁構造.....	10
研究モデルとしての単為生殖性アリ.....	12
本研究の目的とキイロヒメアリの特長.....	13
本論文の構成.....	15
第2章 女王による絶対産雌性単為生殖の多角的検証.....	17
はじめに.....	17
材料と方法.....	18
結果.....	28
考察.....	31
第2章付録1 キイロヒメアリのワーカーの解剖.....	35
第2章付録2 キイロヒメアリの体内細菌叢.....	36
第2章付録3 ミトコンドリアの全ゲノム構造決定.....	41
第3章 発生ステージの記載とアリ類の幼虫における新規カースト二型.....	46
はじめに.....	46
材料と方法.....	47
結果.....	50
考察.....	66
第4章 巣レベルの自己複製システムと社会遺伝構造.....	71
はじめに.....	71

材料と方法.....	73
結果.....	83
考察.....	105
第5章 総合考察.....	110
要約.....	117
謝辞.....	120
学位公表論文.....	124
巻末付録1 ヒメアリ類のブルードを専食するクロクビレハリアリのコロニー構造と生活史..	125
巻末付録2 キイロヒメアリの巣のデモグラフィックデータ	140
引用文献.....	163

第1章 序論

単為生殖性生物を材料とした研究の意義

単為生殖とは有性生殖の一形態で、メスが単独で子を作ることを指し、未受精の生殖細胞から子が発生する繁殖様式である。無性生殖と同義で用いられることもあるが、狭義の無性生殖は減数分裂と接合をとまわず、子が親のクローンとなる場合、たとえば分裂や出芽、あるいは無配生殖（アポミクシス）のみを指す。そのため、単為生殖は、狭義の無性生殖とは異なる概念といえる（Meeûs, and Agnew 2007）。

一般に、単為生殖性の生物の研究には大きく2つの価値がある。ひとつは、単為生殖そのものの意義やメカニズムの解明であり、もう一つは、単為生殖の研究モデルとしての利点を活用した研究の展開である。第一に、単為生殖性の生物の研究は、なぜ性が進化し普遍的に維持されているのかという進化生物学上の重要課題に直接的な検証の機会を与える。産雌性単為生殖は、増殖に寄与しないオスを生産するコストが不要となるため、増殖率の観点から利益の大きい繁殖様式といえる（Maynard Smith 1978）。ところが実際には、動物界の様々な系統において、産雌性単為生殖の分布は散発的であり、進化的には持続的でないと考えられている（Judson and Normark 1996）。その理由としては、有害遺伝子の蓄積（Muller 1964）や病原体との進化的軍拡競争における不利益（Van Valen 1973）などの仮説が提出されてきた。単為生殖による繁殖システムをもつ種は、実際にそのような不利益が生じているのか、あるいはどのように不利益が回避されているのかを検証する好材料といえ、生物における繁殖システムの進化に新たな見方をもたらす可能性を秘めている。また、植物や菌類、群体生物などにおいては栄養生殖など受精をとまわらない繁殖システムをもつものが珍しくない（Taylor et al. 2015; Bittebiere et al. 2020）。さらには、体細胞分裂によって分裂するガン細胞にも突然変異によりサブクローンが生じ、自然選択によるクローン進化が起こる（Pepper et al. 2009）。性をとまわらない繁殖様式の知見を様々な種において蓄積していくことは、このような分類群とスケールを超えた生物の自己複製システムの理解への第一歩といえる。

また単為生殖の第二の価値として、単為生殖により実現される特殊な遺伝様式や、増殖が容

易であることに由来する実験材料としての扱いやすさが、生物学の諸分野において活用されている。たとえば単為生殖のなかでも、子が親の遺伝的クローンとみなせるような遺伝様式をもつ種は、個体の発生的な可塑性を検証するまたとない材料といえる (Dybdahl and Kane 2005; Henning-Lucass et al. 2016)。実験に用いる個体の遺伝的背景を均一化し、非遺伝的条件が形態や行動に与える影響に焦点を絞ることが容易だからである。さらに、単為生殖メカニズムの理解は人類に直接的な有用性ももたらす。有用な遺伝子型をそのまま次世代に残すことができる単為生殖技術は、作物や家畜の系統維持の観点からはひとつの理想的手法といえる。一方で、単為生殖性のコストの研究は、遺伝的多様性の乏しい資源に人類が依存することのリスクも示唆している (Dalin 2009)。

社会性昆虫における単為生殖

複数の世代に属する個体が集団生活を営み、繁殖個体と非繁殖個体による分業をともなう生活様式を真社会性という。真社会性の生物にとっては、単為生殖は包括適応度上の観点から利益の大きい繁殖様式である。単為生殖を行なう生物は、しばしば単純なクローンからなる集団を形成する。このような血縁構造をもつ集団では、個体間の血縁度がきわめて高くなるため、利他的形質が進化しやすいと予測される (Hamilton 1964)。親が子の遺伝的クローンとなるアポミクシスという単為生殖メカニズムをもつアブラムシ類はその好例といえ、さまざまな昆虫の分類群のなかでもっとも頻繁に真社会性を進化させた分類群と考えられている (Pike et al. 2007)。しかし一方で、アブラムシの生活環には有性生殖世代も含まれており、雌雄をともなう繁殖システムは失われていない。また、社会性を示す膜翅目昆虫やシロアリ類においても、ほとんどの種は主に有性生殖で繁殖している。これらのグループではこの 10 年余りの間に、単為生殖を組み込んだ繁殖システムが相次いで発見されてきたものの、その多くは有性生殖と単為生殖を巧みに使い分けるメカニズムを合わせて獲得している (たとえば Percy et al. 2004; Matsuura et al. 2009; Yashiro et al. 2014)。オスを喪失した絶対単為生殖の例はきわめてまれであり、シロアリ (約 3,000 種) で 1 例、ハナバチ (約 2,000 種) で 1 例、アリ (約 14,000 種) で約 10 例に過ぎず、カリバチ (約 1,000 種)

では報告されていない (Engel 2001; Yashiro et al. 2018; Anderson 1963; Yagound et al. 2020; Goudie and Oldroyd 2018)。この傾向は真社会性昆虫が、血縁度上高い利益をもたらさうる単為生殖よりも、遺伝的多様性を高める有性生殖の方向に進化してきたこと (Hughes et al. 2008a) を裏付けており興味深い。

アリ類における産雌性単為生殖

社会性昆虫において、単為生殖による繁殖システムの知見が最も蓄積されているのがアリ類である。アリ類を含む膜翅目の昆虫は単数倍数性の性決定様式をもち、繁殖個体である女王は有性生殖によって二倍体のメスを、産雌性単為生殖によって半数体のオスを生産する (Crozier 1975)。この性決定システムは受精をとまわずに卵を発生させるメカニズムを必要とするため、産雌性単為生殖の前適応となったという見方がある (Rabeling and Kronauer 2013)。実際、膜翅目全体では 586 種にのぼる産雌性単為生殖の報告がある (Kooi et al. 2017)。アリ類においても、メスを単為生殖により生産する繁殖システムが発見されてきた。これらはコロニー内のどのカーストが、どのカーストを産むのかという組み合わせパターンにより次の3つのタイプに類型されている (表 1-1 : Himler et al. 2009; Rabeling et al. 2009)。

第1型はワーカーによる完全産雌性単為生殖で、メスのワーカーが産雌性単為生殖によって次世代の女王とワーカーを生産する。アリのコロニーでは通常、ワーカーの繁殖能力は女王の存在により抑制されているが、女王の死によりコロニーが孤児化すると、しばしばワーカーがオス卵を産むことが知られている (Rabeling and Kronauer 2013)。さらにワーカーがメス卵も生産できるようになったのがこのタイプの単為生殖である。ワーカーが交尾を経ずに繁殖できるこのような種では、巣内における繁殖者としての女王の意義が低下するため、しばしば女王カーストの喪失がみられる (Goudie and Oldroyd 2018)。フタフシアリ亜科のアミメアリ (*Pristomyrmex punctatus*: Itow et al. 1984)、サスライアリ亜科のクビレハリアリ (*Ooceraea biroi*: Tsuji and Yamauchi 1995)、ハリアリ亜科のヒラバナハリアリ (*Platythyrea punctata*, Schilder et al. 1999a) の3種がこの様式を採用している。

第II型は、女王が産雌性単為生殖により女王を生産し、有性生殖によりワーカーを生産するという使い分け単為生殖システムである。このシステムにより女王は、ワーカーの遺伝的多様性を高めることでコロニーのパフォーマンスを高めると同時に、次世代の繁殖個体は自らのクローンとして生産することが可能である。興味深いことに、このタイプの繁殖システムでは、雌雄の繁殖虫はしばしば遺伝的交流がない別系統となり、オスもクローン生産 (androgenesis) を行なう。その過程では受精卵からメスゲノムが除去されるという説や (Fournier et al. 2005)、メスが核のない卵を生産するという説 (Foucaud et al. 2007) が提唱されている。コカミアリ (*Wasmannia auropunctata*) を用いた交配実験では、オスクローンの生産は女王アリ側の形質であることが示されており (Rey et al. 2013)、女王アリがワーカーの遺伝的多様性を保つための戦略としてオスの存在を許しているという見方ができる。使い分け単為生殖による繁殖システムはフタフシアリ亜科の4属 (Fournier et al. 2005; Kobayashi et al. 2008; Okita and Tsuchida 2016; Lacy et al. 2019) と、ヤマアリ亜科の3属 (Pearcy et al. 2004; Pearcy et al. 2011; Gruber et al. 2013) で知られている。

そして第III型は、女王が産雌性単為生殖により女王とワーカーを生産する絶対産雌性単為生殖である。オスは生産されないか、あるいはごくまれにしか出現しない。現在のところフタフシアリ亜科のみから報告されている繁殖システムで、イバラキノコアリ属 (Fournier et al. 2005; Foucaud et al. 2005)、カドフシアリ属 (Masuko 2014)、ウロコアリ属 (Ito et al. 2010; Masuko 2013; Lee et al. 2018)、ヒメアリ属 (Ito et al. 2021) の4属から発見されている。

なお、Goudie and Oldroyd (2018) は有性生殖を含むアリ類全体の繁殖システムを、女王の繁殖様式とワーカーの繁殖様式の組み合わせに基づく9通りに区分した。その中では、産雌性単為生殖を含む繁殖システムとして、女王は有性生殖を行なうが、ワーカーは単為生殖でメスを生産するという第4のカテゴリも設けられている。ヤマアリ亜科のウマアリ属 (Timmermans et al. 2008; Leniaud et al. 2011; Aron et al. 2016; Amor et al. 2017) や、フタフシアリ亜科のクロナガアリ属 (Grasso et al. 2000) でこれに該当する例が報告されている。

表 1-1. アリ類における産雌性単為生殖のタイプと分類群ごとの分布

Himler et al. (2009); Rabeling et al. (2009); Goudie and Oldroyd (2018) に基づき作成。

亜科名	種名	主な繁殖者	女王の繁殖様式	ワーカーの繁殖能力	単為生殖のタイプ	文献
サスライアリ亜科	<i>Ooceraea biroi</i>	ワーカー	該当せず	絶対産雌性単為生殖	I型	Ravary and Jaisson 2004
ハリアリ亜科	<i>Platythyrea punctata</i>	ワーカー	該当せず	絶対産雌性単為生殖	I型	Schilder et al. 1999a
フタフシアリ亜科	<i>Pristomyrmex punctatus</i>	ワーカー	該当せず	絶対産雌性単為生殖	I型	Itow et al. 1984
ヤマアリ亜科	<i>Paratrechina longicornis</i>	女王	使い分け単為生殖	不妊	II型	Pearcy et al. 2011
フタフシアリ亜科	<i>Vollenhovia emeryi</i>	女王	使い分け単為生殖	不妊	II型	Kobayashi et al. 2008
フタフシアリ亜科	<i>Wasmannia auropunctata</i>	女王	使い分け単為生殖	不妊	II型	Fournier et al. 2005
フタフシアリ亜科	<i>Cardiocondyla kagutsuchi</i>	女王	使い分け単為生殖	不妊	II型	Okita and Tsuchida 2016
フタフシアリ亜科	<i>Solenopsis geminata</i>	女王	使い分け単為生殖	不妊	II型	Lacy et al. 2019
ヤマアリ亜科	<i>Anoplolepis gracilipes</i>	女王	使い分け単為生殖	産雄性単為生殖	II型	Gruber et al. 2013; Lee et al. 2017
ヤマアリ亜科	<i>Cataglyphis cursor</i>	女王	使い分け単為生殖	産雌性単為生殖	II型	Pearcy et al. 2004
ヤマアリ亜科	<i>Cataglyphis hispanica</i>	女王	使い分け単為生殖	産雌性単為生殖	II型	Leniaud et al. 2012
ヤマアリ亜科	<i>Cataglyphis mauritanica</i>	女王	使い分け単為生殖	産雌性単為生殖	II型	Eyer et al. 2013
ヤマアリ亜科	<i>Cataglyphis velox</i>	女王	使い分け単為生殖	産雌性単為生殖	II型	Eyer et al. 2013
フタフシアリ亜科	<i>Monomorium triviale</i>	女王	絶対単為生殖	不妊	III型	Gotoh et al. 2012
フタフシアリ亜科	<i>Myocepurus smithii</i>	女王	絶対単為生殖	不妊	III型	Rabeling et al. 2009
フタフシアリ亜科	<i>Strumigenys membranifera</i>	女王	絶対単為生殖	不妊	III型	Ito et al. 2010
フタフシアリ亜科	<i>Strumigenys hexamera</i>	女王	絶対単為生殖	不妊	III型	Masuko 2013
フタフシアリ亜科	<i>Strumigenys rogeri</i>	女王	絶対単為生殖	不妊	III型	Lee et al. 2017
フタフシアリ亜科	<i>Monomorium hiten</i>	女王	絶対単為生殖	不妊	III型	Ito et al. 2021
フタフシアリ亜科	<i>Myrmecina nipponica</i>	女王	絶対単為生殖	産雌性単為生殖	III型	Masuko 2014, Masuko 2020
ヤマアリ亜科	<i>Cataglyphis sabulosa</i>	女王	有性生殖	産雌性単為生殖	IV型	Timmermans et al. 2008
ヤマアリ亜科	<i>Cataglyphis savignyi</i>	女王	有性生殖	産雌性単為生殖	IV型	Leniaud et al. 2011
ヤマアリ亜科	<i>Cataglyphis viatica</i>	女王	有性生殖	産雌性単為生殖	IV型	Aron et al. 2013
ヤマアリ亜科	<i>Cataglyphis floricola</i>	女王	有性生殖	産雌性単為生殖	IV型	Amor et al. 2017
フタフシアリ亜科	<i>Messor capitatus</i>	女王	有性生殖	産雌性単為生殖	IV型	Grasso et al. 2000

それぞれのタイプの繁殖様式が属や亜科をまたいで確認されていることは、産雌性単為生殖がアリ類において繰り返し進化してきたことを示している。しかし、ウマアリ属における系統学的研究 (Aron et al. 2016; reviewed in Doums and Monnin 2019) などの例があるものの、これらの特殊な繁殖様式がどのように進化してきたのかという進化史の復元には、統一的な見解は提出されていない (Kuhn et al. 2019)。また、ある種が産雌性単為生殖を行なうかどうか検証するためには、厳密な飼育実験や個体の遺伝子型の調査が不可欠である。14,000 種あまりが記載されているアリ類のうち、このような検証が行なわれている種はごくわずかにすぎず、現在知られている産雌性単為生殖種のリストは氷山の一角に過ぎないのかもしれない。幅広い種で繁殖システムの知見が蓄積されていくことで、アリ類における産雌性単為生殖の進化パターンの輪郭が浮かび上がると期待される。

繁殖システムとコロニーの血縁構造

単為生殖の生態学的意義を議論する際には、コロニーの血縁構造が、個体レベルのみならず細胞レベルや巣レベルのメカニズムによっても形作られることに注意する必要がある。社会性昆虫に限らず、単為生殖は必ずしもクローン繁殖を意味しない。生まれる子の遺伝子型は、単為生殖がどのような細胞学的メカニズムによって行なわれるのかにより異なるからである。二倍体生物の単為生殖では、体細胞分裂と同様の均等的分裂により、母と子の遺伝子型が等しくなるアポミクシスと、減数分裂と核相回復をとめない、組み換えの影響を受けるオートミクシスという2つのメカニズムがある。オートミクシスはさらに核相回復のタイミングにより中央融合型、末端融合型、生殖核倍加型に分けられる。生まれる子の遺伝子型は、中央融合型では組み換えが生じた遺伝子座を除きヘテロ接合、末端融合型では組み換えが生じた遺伝子座を除きホモ接合となる。生殖核倍加型では組み換えの影響を受けず、子の遺伝子型はすべての遺伝子座でホモ接合となる (Labeling and

Kronauer 2013)。単為生殖システムをもつ社会性昆虫のなかでも、シロアリの使い分け単為生殖は下等シロアリと高等シロアリで繰り返し進化してきたと考えられるが、その細胞学的メカニズムと遺伝様式は種ごとに異なり、下等シロアリでは末端融合型オートミクシス、高等シロアリでは中央融合型オートミクシスや生殖核倍加が採用されている (Matsuura 2017)。これに対して、アリ類の単為生殖システムではヘテロ接合が維持される遺伝様式が優占しており、その細胞学的メカニズムは中央融合型オートミクシスかアポミクシスであると推測されている (Rabeling and Kronauer 2013; Barros et al. 2022)。

また、巣レベルの繁殖システムも、コロニーの遺伝構造に大きく影響する。単為生殖により生産される子が親と同じ遺伝子型となるような遺伝様式の種でも、巣内で複数の個体が繁殖者の座にある多女王制の場合、異なるクローン系統が共存しうるからである。アリ類における巣レベルの繁殖システムには、女王のみで新巣を立ち上げる独立創設と、女王がワーカーとともに母巣を出て、分集団として新巣を開始する従属創設がある (Hölldobler and Wilson 1990)。独立創設はさらに女王 1 個体による単雌創設 (haplometrosis) と複数個体の女王が共同で営巣する多雌創設 (pleometrosis) に分類できる。多雌創設による多女王制は一次的多女王制、単雌創設ののちに巣内で補充生殖虫が生産されることによる多女王制は二次的多女王制と呼ばれ区別される。前者は必ずしも血縁関係にない女王からなるのに対し、後者の女王は母娘あるいは姉妹関係にある。また従属創設では、繁殖虫の生産と同調してごく少数の女王が巣を離れ、その後は巣間の交流が失われるパターンと、機会的に巣の分裂が起こり、その後も巣間の交流が維持されて多女王多巣性となるパターンが経験的に知られている (Cronin et al. 2013)。前者は分巣 (fission)、後者は出芽 (budding) と呼ばれることが多いが、その定義は明確でない (Peeters and Ito 2001)。

研究モデルとしての単為生殖性アリ

アリ類における特殊な繁殖様式の発見は、コロニーや集団の例外的ともいえる血縁構造や社会構造を利用した、社会生物学上の現象や仮説のユニークな検証を可能にしてきた (Wenseleers and Oystaeyen 2011)。大きな利点のひとつは、個体間の血縁度上の対立を単純に解釈できる点にある。たとえば、コロニー内のワーカー間血縁度が 1.0 となるヒラバナハリアリやクビレハリアリでは、ワーカー間のポリシングが個体の無秩序な繁殖を抑制し、集団の効率を高めることが検証された (Hartmann et al. 2003; Teseo et al. 2013)。また、ウマアリの 1 種である *Cataglyphis cursor* では、女王間の血縁度が 1.0 であることを利用して、繁殖虫性投資比における局所的配偶競争の効果が検証された (Pearcy and Aron, 2006)。

また、繁殖や行動の可塑性という、社会性昆虫に不可欠な分業システムの基盤を理解するうえでも、コロニー内に遺伝的な差異がない単為生殖種はまたとない材料といえる。女王が単為生殖によりワーカーを生産するトカラウロコアリ (*Strumigenys membranifera*) では、遺伝的なクローンであるワーカー個体にも適応的な表現型のばらつきが生じることが示された (Hasegawa et al. 2018)。クビレハリアリのクローン系統を用いた研究は、個体の経験が分業システムの成立要因となりうることを示した (Ravary et al. 2007)。また本種では、集団における分業の利益が小規模の集団サイズにおいても生じるという論理的予測が裏付けられた (Ulrich et al. 2018)。カースト二型をもたないヒラバナハリアリでは、分業システムにおいて繁殖力と寿命のトレードオフが打破されていることが示され、その生理的メカニズムも解析されている (Hartmann and Heinze 2003; Bernadou et al. 2020)。また産雌性単為生殖を行なうアリの分業システムをめぐっては、アミメアリで発見された繁殖のみを行なう利己的な系統を用いて、コロニー全体の利益と個体の利益が対立する「公

共財のジレンマ」がアリの社会でも生じることが確かめられた (Dobata et al. 2013)。また、アリ類で初めてのゲノム編集技術がクビレハリアリにおいて確立される (Trible et al. 2017) など、分子生物学的手法の発展とともに、単為生殖システムを利用した研究の可能性はさらに広がると期待される。

本研究の目的とキイロヒメアリの特長

社会性昆虫から報告されてきた特殊な単為生殖システムの理解を深めるうえで重要なのは、単為生殖システムと他の生活史形質との関連である。アリ類は 14,000 種以上からなる多様なグループであり (Bolton 2022)、その社会のありようは種や個体群によって大きく異なる。コロニーの総個体数やカースト構成、コロニーあたりの繁殖者や巣の数などの社会構造の多様性を近縁種間で比較することは、社会性昆虫の形質進化を検証する機会を提供している (Heinze 2017)。また、社会進化の過程を議論する上で血縁選択の視点を欠くことはできず (Hughes et al. 2008b)、コロニーや巣を構成する個体同士がどのような遺伝的關係にあるのかという社会遺伝構造を解明することも重要である。しかし現在のところ、特殊な単為生殖システムをもつアリにおいて、社会構造や社会遺伝構造が解明された種はごくわずかであり、また特定の単為生殖タイプに偏っている。本研究の目的は、生活史の知見がまだ蓄積されていない、女王による絶対産雌性単為生殖 (Ⅲ型の産雌性単為生殖) を行なうアリの繁殖システムと、社会構造および社会遺伝構造を明らかにし、社会性昆虫の繁殖システムの多様性と進化の理解に貢献することである。

これまで、絶対産雌性単為生殖種の研究は、女王カーストを喪失した I 型の単為生殖システムをもつ種を中心に行なわれてきた。これらの種が示す遺伝的にも形態的にも単純な社会構造は、他に類を見ないユニークな実験系といえる。しかし一方で、このような種は真社会性昆虫の最も根本的な形質である繁殖カーストと不妊カーストの繁殖分業の研究モデルとしては適さない。一方で、Ⅲ型の絶対単為生殖種は、遺伝的には同一でありなが

ら大きな表現型可塑性を示し、労働個体と繁殖個体が生涯を通して分離している点で興味深い材料といえる。ところが、このタイプの単為生殖を行なう種においてカーストの分化プロセスやコロニーの社会遺伝構造など、研究モデル化に不可欠な情報が提供されている種はなかった。そこで本研究では、キイロヒメアリ (*Monomorium triviale*: Wheeler 1906) に着目した。本種は日本の本州と四国、朝鮮半島および中国大陆に分布するフタフシアリ亜科のアリで (Guénard et al 2017)、コロニーは女王とワーカーのみからなり (図 1-1)、オスや受精した女王が発見されていないことから、女王が単為生殖によりワーカーと次世代の女王を生産するⅢ型の産雌性単為生殖種であると予測されてきた (Gotoh et al. 2012)。



図 1-1. キイロヒメアリ *Monomorium triviale* におけるカースト二型
コロニーは大型で単眼をもつ女王と、小型で単眼を欠くワーカーからなる。

キイロヒメアリが属するヒメアリ属は、飼育の容易さや種間比較が行ないやすい点から、好適な研究モデルといえる。特にイエヒメアリ (*Monomorium pharaonis*) は、実験室内で累代飼育が可能な数少ないアリのひとつであり (Schmidt et al. 2010)、古くから

社会性昆虫研究におけるフェロモン研究 (Jefford et al. 1991; Oliveira et al. 2020) や自己組織化メカニズム (Beekman et al. 2001; Jackson et al. 2004; Robinson et al. 2005) のモデル生物として研究されてきた歴史をもつ。近年では全ゲノム構造の決定 (Gao et al. 2020) やカースト分化機構の研究 (Pontieri et al. 2020) も進んでおり、アリ類においてもっとも多角的な知見が蓄積されている種のひとつである (Pontieri and Linksvayer 2019)。国内には少なくとも5種の同属種が報告されており、これらには有性生殖種と単為生殖種の両者が含まれることから (Ito et al. 2021)、近縁種との比較も可能である。このような特性をもつ本種を用いれば、将来的には、各カーストにおける遺伝子の多面的発現や、利害対立のない社会で生じる個体間相互作用、カースト分化の制御メカニズム、種内・種間の継子実験による形態や行動の可塑性などを検証することができると期待される。また、女王が単為生殖によりワーカーと次世代の女王を生産するⅢ型の産雌性単為生殖種において、単為生殖による遺伝様式や定量的な生活史情報が明らかになっているのはイバラキノコアリのみである。キイロヒメアリの繁殖システムと社会構造を解明することは、アリ類の繁殖システムの進化パターンの理解に貢献するとともに、将来の社会生物学的な研究のための基盤を提供する。

本論文の構成

本論文は本序論と総合考察を含めた5章からなる。まず第2章では、これまで明確な根拠が提出されていなかったキイロヒメアリの産雌性単為生殖を多角的に検証し、女王による絶対産雌性単為生殖の確証を得た。また、単為生殖を誘導する細胞内共生細菌への感染や、ワーカーの妊性の有無についても調べた。そのうえで既知の単為生殖種との比較を行ない、単為生殖種の進化パターンについて提唱されてきた仮説との整合性を議論した。次に第3章では、絶対産雌性単為生殖を行なうアリにおいて、女王とワーカーという二型のカーストの発生プロセスを初めて明らかにした。卵から幼虫を経て蛹にいたるまでの各

発生段階を記載するとともに、本種の女王が無翅型であることを報告した。また、その過程で女王幼虫に特異的な体表構造を発見し、アリ類の幼虫における新規カースト二型と位置付けた。さらに第4章では、キイロヒメアリの集団遺伝構造と巣間の個体間相互作用に着目し、本種が融合コロニー性という、類似の単為生殖システムをもつアリにはみられない特異な社会構造をもつことを明らかにした。その理由として繁殖個体の分散能力に着目し、単為生殖システムの獲得から融合コロニー性に至るシナリオを提起した。最後に第5章において、産雌性単為生殖を行なうアリを用いた研究の今後の展望を述べた。

第2章 女王による絶対産雌性単為生殖の多角的検証

はじめに

膜翅目昆虫は、受精卵から二倍体のメスを、未受精卵から半数体の雄を生産する、単数倍数性の性決定システムを特徴としている (Rabeling and Kronauer 2013)。しかし例外的に、未受精卵から二倍体の雌が生産される産雌性単為生殖も報告されてきた (Engelstädter 2008)。このような単為生殖は、なぜ真核生物において普遍的に性が維持されているのかという進化生物学上の問題を実証的に検証する機会を提供している (Neiman and Schwander 2011)。近年、特に真社会性の膜翅目昆虫において、産雌性単為生殖の報告が続いてきた (Goudie and Oldroyd 2018)。この繁殖システムを採用する種はシンプルな生活環や遺伝様式を示すものが多く、社会性昆虫における行動生態学 (Hartmann et al. 2003; Ravary et al. 2007; Dobata et al. 2013) や社会性のゲノム基盤の解明 (Oxley et al. 2014) のモデル系として利用されている。

序論において、アリ類における産雌性単為生殖が3つのタイプに分類されてきたことを述べた。本章では、キイロヒメアリ (*M. triviale*, Wheeler 1906) が、第III型の単為生殖、すなわち女王による絶対産雌性単為生殖を行なうことを包括的に検証する。ヒメアリ属はアリ類のなかでも最も種数の多い属のひとつであり (Bolton 2022)、その分布は汎世界的である (Guénard et al 2017)。しかし、重要な家屋害虫であるイエヒメアリ (*M. pharaonis*) を除き、ほとんどの種の生態は解明されていない (Pontieri and Linksvayer 2019)。日本や韓国、中国を含む東アジアから報告されているキイロヒメアリは、オスや受精した女王が発見されていないことから、さまざまな研究で産雌性単為生殖種として言及されている (Rabeling and Kronauer 2013; Goudie and Oldroyd 2018; Rabeling et al. 2011;

Gotoh et al. 2012; Masuko 2013; Masuko 2014; Kooi and Schwander 2014; Lee et al. 2018)。

それにもかかわらず、本種が産雌性単為生殖を行なうことの直接的な証拠は提出されてこなかった。本研究では、野外で採集した女王の受精嚢の解剖と、未交尾女王による繁殖の観察、母娘でのマイクロサテライトマーカーによる遺伝子型判定という複数のアプローチにより、キイロヒメアリの産雌性単為生殖を多角的に検証した。さらに、単為生殖を誘導する細胞内細菌の存在や、日本国内の個体群間の系統関係についても解析した。

材料と方法

巣のサンプリング

日本国内の 14 か所の地域集団から、合計 333 個のキイロヒメアリの巣を採集した (図 2-1、表 2-1)。営巣場所は枯枝の中空部やカシ類のドングリの中など、植物の枯死体や腐朽部であった。巣の規模は平均 200 頭程度であり、全体を容易に回収することができた。また、野外調査の過程で、オス個体は一度も発見されなかった。採集された巣はできるだけ早く実験室の人工巣に移し、実験に供するまで 25°C で維持した。また、生体の得られなかった 3 地点からは液浸標本の提供を受け、これらも解析に加えた (図 2-1, No.15-17)。

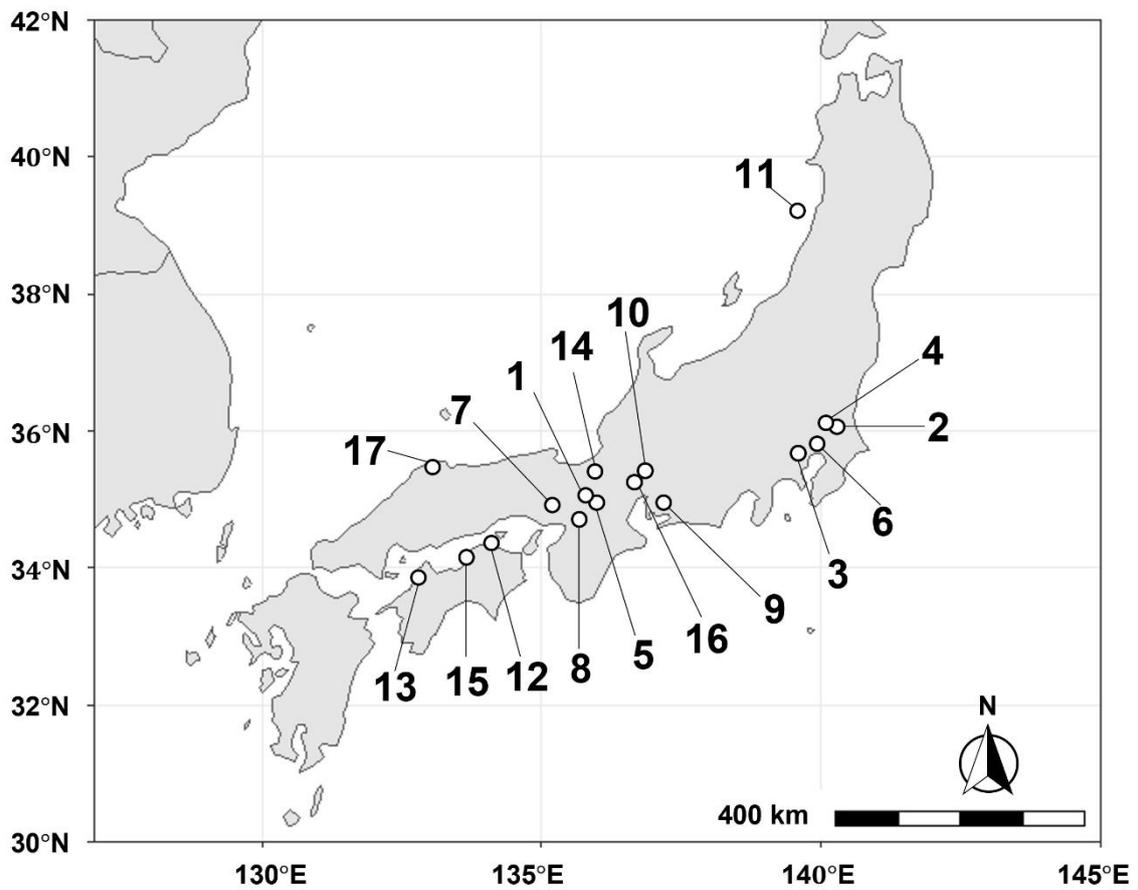


図 2-1. 日本における 14 のサンプリング地点 (1-14) および液浸標本の提供を受けた 3 つの個体群 (15-17) の位置関係

サイト名、採取した巣の数、分析の内容は表 2-1 に示す。地図データはナチュラルアース (<http://www.naturalearthdata.com/>) による。

表 2-1. キイロヒメアリのサンプリング地点と実施した実験内容

海津市（地点番号 10）と飛島（地点番号 11）の巣は、大河原恭祐博士に提供を受けた。東大阪市（No.7）と高島市（No.14）のサンプルはそれぞれ貞廣邦夫氏、野崎友成博士に提供を受けた。観音寺市、各務原市、松江市（No.15～17）のエタノール保存試料は、伊藤文紀博士に提供を受けた。それぞれの地点のサンプルが用いられた実験の内容は次のように略記されている。SP：野生女王の精囊の解剖，VR：処女王の生殖の観察，SEQ: 分子系統解析。

地点 ID	採集地名	緯度	経度	採集時期	巣の数	実験内容
#1	京都府京都市	35.06	135.79	2017/4/19 から 2017/11/27 まで (24 回)	176	SP、VR、 SEQ
#2	茨城県土浦市	36.08	140.17	2017/6/20, 2018/10/09	28	SP、VR、 SEQ
#3	東京都調布市	35.67	139.55	2017/6/16, 2018/9/27	28	SP、VR、 SEQ
#4	茨城県つくば市	36.11	140.1	19/6/2017, 08/10/2018	26	SP、VR、 SEQ
#5	滋賀県大津市	34.97	135.96	2017/6/17	26	SP、VR、 SEQ
#6	千葉県松戸市	35.77	139.90	2017/6/19, 2018/9/28	22	SP、VR、 SEQ
#7	大阪府東大阪市	34.67	135.67	2017/11/9	5	SP、SEQ
#8	愛知県岡崎市	34.94	137.18	2017/9/3	1	SP、SEQ
#9	兵庫県三田市	34.91	135.17	2017/5/9	1	VR、SEQ
#10	岐阜県海津市	35.22	136.63	2018/6/6	1	SP
#11	山形県酒田市飛島	39.19	139.55	2018/9/20	2	SP
#12	香川県高松市	34.36	134.10	2017/6/17	16	SEQ
#13	愛媛県松山市	33.84	132.77	2018/9/19	2	SEQ
#14	滋賀県高島市	35.37	135.92	2017/5/30	1	SEQ
#15	香川県観音寺市	34.12	133.66	実験室での飼育	該当なし	SEQ
#16	岐阜県各務原市	35.4	136.85	実験室での飼育	該当なし	SEQ
#17	島根県松江市	35.47	133.05	実験室での飼育	該当なし	SEQ
合計					333	

野生の女王の解剖

野外における女王の繁殖ステータスを確認するため、採集後 6 ヶ月以内にキイロヒメアリの 10 個体群の 38 巣から 63 個体を解剖した (表 2-2)。まず、女王を 70%エタノールに 3 分間浸して固定した。その後、蒸留水を満たした 30 mmシャーレに体を移し、双眼実体顕微鏡 (SZ40; OLYMPUS Optical, Tokyo, Japan) 下で精密ピンセットを用いて腹部末端から生殖器官を引き抜いた。女王の交尾状態は、精子の貯蔵器官である受精囊内の精子の有無で判断した。また産卵経験の指標として、卵巢に黄体が蓄積されているかどうかを確認した。また有性生殖種のポジティブコントロールとして、同属種であるヒメアリ (*M. intrudens*) の女王 11 頭を同様の方法で解剖した。

未交尾女王の飼育実験

野生から得られた巣を、底に石膏を敷いたプラスチック容器 (68 × 39 × 15 mm) に移して飼育することで、未交尾の新女王を得た。巣は実験室内で 25°Cに保たれ、水と餌は 3 日ごとに補充された。巣には、約 5 mm の長さに切ったミールワーム (*Tenebrio molitor*) の幼虫を与えた。2017 年 7 月から 8 月にかけて、7 個体群の 21 巣から合計 44 頭の女王ブルード (幼虫または蛹) を生産した (表 2-3)。これらの女王ブルードを、プラスチック容器 (36 × 36 × 14 mm) 内で 10 頭のワーカーとともに 1 個体ずつ隔離した。それぞれの実験巣を供給元の巣と同じ条件下で 6 ヶ月間にわたり飼育し、未交尾女王がワーカーを生産するかどうか観察した。最後に、生存していたすべての女王を解剖し、受精囊内に精子が存在しないことを確認した (表 2-4)。

表 2-2. 各地で採集された女王の解剖結果

受精嚢内の精子の有無と、黄体の蓄積の有無ごとに個体数を示した。ポジティブコントロールとして、有性生殖種であるヒメアリ (*Monomorium intrudens*) の解剖も実施した。

地点 ID	採集地点	巣の数	女王数	受精の有無		黄体の有無	
				あり	なし	あり	なし
#1	京都府京都市	3	10	0	10	9	1
#2	茨城県土浦市	8	8	0	8	7	1
#3	東京都調布市	8	8	0	8	5	3
#4	茨城県つくば市	8	8	0	8	3	5
#5	滋賀県大津市	2	9	0	9	9	0
#6	千葉県松戸市	4	8	0	8	8	0
#7	大阪府東大阪市	1	1	0	1	1	0
#8	愛知県岡崎市	1	8	0	8	8	0
#10	岐阜県海津市	1	1	0	1	1	0
#11	山形県酒田市飛島	2	2	0	2	1	1
	合計	38	63	0	63	52	11
-	京都府京都市 <i>Monomorium intrudens</i>	4	11	10	1	11	0

表 2-3. 未交尾女王により生産されたワーカーの個体数

地点 ID	採集場所	巣の数	隔離された女王の個体数	6ヶ月間生存した女王の個体数	生産されたワーカーの個体数
#1	京都府京都市	6	10	6	17
#2	茨城県土浦市	3	7	2	11
#3	東京都調布市	3	5	5	26
#4	茨城県つくば市	3	5	5	28
#5	滋賀県大津市	3	8	8	52
#6	千葉県松戸市	2	7	8	28
#9	兵庫県三田市	1	2	2	15
	合計	21	44	36	177

表 2-4. ワーカーを生産した未交尾女王の解剖結果

地点 ID	採集地	解剖された女王の数	受精の有無		黄体の有無	
			あり	なし	あり	なし
#1	京都府京都市	0 ^a	–	–	–	–
#2	茨城県土浦市	2	0	2	2	0
#3	東京都調布市	5	0	5	3	2
#4	茨城県つくば市	5	0	5	2	3
#5	滋賀県大津市	8	0	8	3	5
#6	千葉県松戸市	7	0	7	2	5
#9	兵庫県三田市	2	0	2	1	1
	合計	29	0	29	13	16

^a 京都の女王は解剖前に死亡したため、解剖していない。

マイクロサテライトマーカーによる遺伝子型判定

産雌性単為生殖の遺伝的証拠を得るために、飼育実験に用いた 33 頭の未交尾女王 (7 個体群、17 巣; 表 2-5) とその娘ワーカー (合計 174 個体) について、*M. pharaonis* において開発されたマイクロサテライト遺伝子座 *Mp-1* (f: GCCAATGGTTTAATCCCTCA; r: TCATACTGCGTGCCTTTC) で遺伝子型を決定した (Schmidt 2010)。各個体の胸部を破砕し、100 μ L の DNA 抽出試薬 (PrepMan Ultra Reagent, Applied Biosystems, Foster City, CA, USA) を入れた 0.2 mL マイクロチューブに入れた。PCR は、1 μ L の鋳型 DNA、0.3 μ L の 25mM MgCl₂、0.3 μ L の 10mM dNTPs、1.5 μ L の 10 \times PCR Buffer、0.1 μ L 5U/ μ L Taq DNA Polymerase (QIAGEN, Valencia, CA, USA) , 0.2 μ L の U19 fluorescent dye と 1.0 μ L のプライマーペアに、蒸留水を加えて総量を 15.2 μ L とした系で行なった。PCR プログラムは、最初に 94 $^{\circ}$ C で 180 秒間変性処理し、その後、94 $^{\circ}$ C で 30 秒 (変性処理)、57 $^{\circ}$ C で 60 秒 (アニーリング)、72 $^{\circ}$ C で 60 秒 (伸長反応) を 35 サイクル行ない、最後に 72 $^{\circ}$ C で 10 分ステップから構成された。PCR 産物は Hi-Di formamide と GS-600 LIZ size standard と混合し、

3500 Series Genetic Analyzer と GeneMapper 5.0 software (Applied Biosystems) を用いて解析した。

表 2-5. マイクロサテライト解析の結果

それぞれの採集地点において、すべての個体が同じヘテロ接合の遺伝子型を示した (*Mp-1*; Schmidt 2010)。女王が有性生殖により繁殖していると仮定した場合に、すべての娘ワーカーがヘテロ接合である確率 ($= (1/2)^{\text{子の個体数}}$) を計算した。

地点 ID	採集地	巣の数	女王の 個体数	ワーカーの 個体数	遺伝子型	すべての子がヘテロ 接合体である確率
#1	京都府京都市	4	4	15	222/234	3.05×10^{-5}
#2	茨城県土浦市	1	2	11	220/232	4.88×10^{-4}
#3	東京都調布市	3	5	26	222/232	1.49×10^{-8}
#4	茨城県つくば市	3	5	28	220/232	3.73×10^{-9}
#5	滋賀県大津市	3	8	52	220/228	2.22×10^{-16}
#6	千葉県松戸市	2	7	27	220/234	7.45×10^{-9}
#9	兵庫県三田市	1	2	15	222/238	3.05×10^{-5}
合計		17	33	174	-	4.18×10^{-53}

体内細菌叢の解析

キイロヒメアリの産雌性単為生殖が細胞内細菌により誘導された可能性を評価するため、成虫の全身を用いたアンプリコンシーケンシングを行ない、膜翅目昆虫において産雌性単為生殖を引き起こす細菌が検出されるかどうか調べた。2020年8月、京都府京都市の宝ヶ池公園（北緯 35.060087、東経 135.788488）において採集した3つの巣を用いた。すべてのコロニーを底に石膏を敷いたプラスチック容器（68 × 39 × 30 mm）に移して25°Cで維持し、水の補充とミールワームの給餌を3日おきに行なった。2020年10月に、各巣から10頭の女王と100頭のワーカーを取り出し、巣ごと、カーストごとに分けてアセトン中にて-30°Cで固定した。各レプリケート中の全個体を風乾し、1.5mLプラスチックチューブにプールし、QIAamp DNA Micro Kit（QIAGEN社製）を用いてDNAを抽出した。グラム陽性菌の細胞壁を確実に溶解するために、プロトコルに熱サイクルとリゾチームという追加ステップを設けた。虫体を180μLのATLバッファー中で破碎した後、プラスチックチューブ内で-80°Cで30分と50°Cで5分という2サイクルを行なった。次に室温下で、卵白由来のリゾチーム（ナカライテスク、京都、日本；20μg/μL TE buffer）2μLをそれぞれのサンプルに加え、37°Cで30分間インキュベーションした。

16S rRNA アンプリコンシーケンスとその後のデータ解析は、生物技研（Sagamihara, Kanagawa, Japan）のワークフローに従って行なった。V4領域は1 ngの鋳型DNAからExTaq HS（Takara Bio, Otsu, Shiga, Japan）polymeraseと515f-806r primerペアを用いて増幅した。配列はMiSeq reagent kit v3（Illumina, San Diego, CA, USA）を用いてMiSeqシステムで決定し、2×300-bpのペアードエンドリードを得た。Fastx toolkit（ver. 0.0.14, http://hannonlab.cshl.edu/fastx_toolkit/）とdada2 plugin for Qiime2（ver. 2020.8）（Bolyen et

al. 2019) を用いて、ペアエンドリードのデマルチプレックス、アダプタートリミング、クオリティフィルタリング (phred score \geq 20; プライマー配列、両 3'端 50 bp、ノイズおよびキメラリードを除去) し、代表配列と OTU (Operational taxonomic unit) のテーブルを作成した。EzBioCloud 16S reference データベース (<https://www.ezbiocloud.net/>) 上で、Qiime2 の feature-classifier plugin のデフォルト設定を用いて、適切な分類群 (信頼度 > 0.7) の割り当てを実施した。

系統解析

キイロヒメアリの系統的位置を決定するとともに、単為生殖系統の種内多様性を明らかにするために、ミトコンドリアゲノムのシトクローム酸化酵素 I (COI) 領域を用いた系統解析を行なった。LCO1490 (GGTCAACAAATCATAAAGATTGG) と HCO2198 (TAAACTTCAGGTGACCAAAAATCA) というプライマーの組み合わせによる PCR を行ない、639 bp の配列を決定した (Folmer 1994)。キイロヒメアリの 15 の地域集団 (表 2-1) から無作為に選んだワーカー1 頭と、近縁種として三重県紀北町 (北緯 34.21、東経 136.33) で採集したヒメアリ (*M. intrudens*) のワーカー1 頭について塩基配列を決定した。DNA 抽出と PCR ミックスのプロトコルは、マイクロサテライト解析と同様であった。熱サイクルは、94 °C で 1 分間の初期変性を行なったのち、94 °C で 30 秒間の変性処理、50 °C で 30 秒間のアニーリング、72 °C で 60 秒間の伸長反応を 35 サイクル繰り返し、最後に 72 °C で 10 分間の最終伸長を設けた。PCR 産物をエタノール沈殿させ、3500 Series Genetic Analyzer (Applied Biosystems) 上の BigDye Terminator v3.1 cycle sequencing kit を使用して、塩基配列を決定した。得られた配列は日本 DNA データバンク (DDBJ) にア

クセッション番号 LC592050 から LC592065 のもとに登録された (図 2-3)。また、Myrmicinae 亜科の系統学上の位置づけを明らかにするため、同属種のイエヒメアリ (*M. pharaonis*: GenBank accession number GU710434) とかつてヒメアリ属とされていたカドヒメアリ (*Sylophopsis sechellensis*: EF609858) と シワヒメアリ (*Erromyrmex latinodis*: GU709833) を解析対象に追加した (Ward et al. 2014)。さらに外群として、ヒアリ (*Solenopsis invicta*: HQ928672) の配列を使用した。キイロヒメアリおよびヒメアリの 16 配列に加えて、上記 4 種の配列を MEGA 10.0 (Kumar et al. 2018) の ClustalW (Thompson et al. 1994) を用いてアラインメントした。最尤法系統樹の作成には MEGA 10.0 で実装されている GTR+I+ Γ モデルを用い、反復回数 1000 回でブートストラップ値を評価した。

結果

野生の女王の解剖

解剖の結果、野外において採集されたキイロヒメアリの 63 頭の女王は、すべて受精嚢内に精子がみられなかった (図 2-2、表 2-2)。しかし、女王が産卵を経験していることを示す黄体は、10 カ所のサンプリング地点すべてでみられ、合計 52 個体で確認された。一方、ポジティブコントロールとして解剖したヒメアリ (*M. intrudens*) の女王は、11 個体中 10 個体が精嚢内に精子を保有していた。また、キイロヒメアリのワーカーは卵巣を喪失していることが確認され (第 2 章付録 1)、先行研究 (Hölldobler and Wilson 1990; Ito and Yamane 2014) で報告されているように、完全に不妊であることが示唆された。

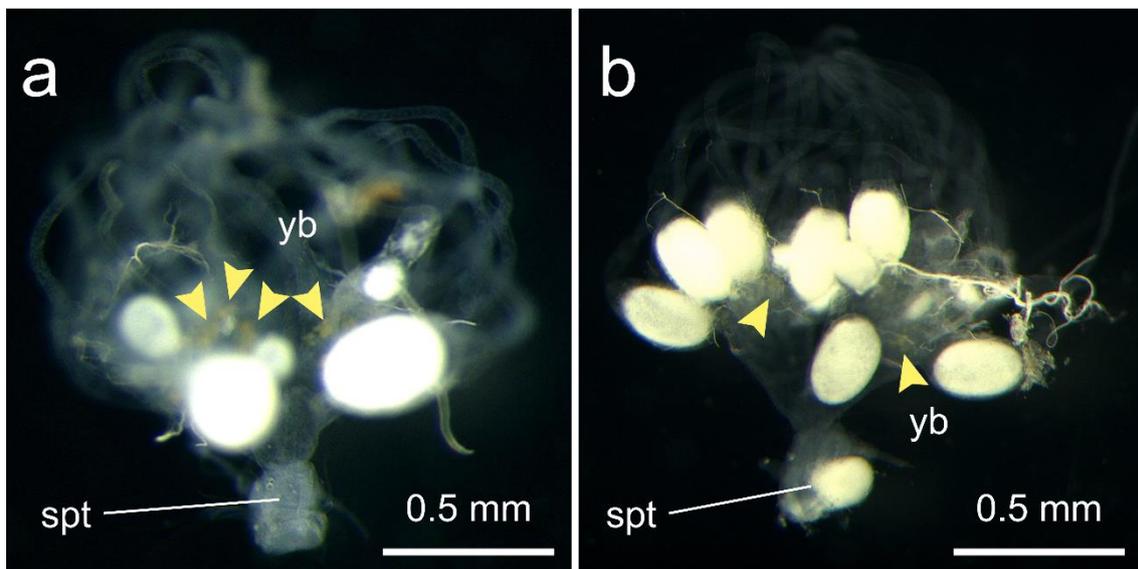


図 2-2. キイロヒメアリ *Monomorium triviale* とヒメアリ *M. intrudens* の女王の生殖器官
(a) キイロヒメアリ: 半透明の (空の) 受精嚢 (spt) と、卵細胞および明らかな黄体 (yb) から、未交尾女王が性成熟して産卵していることが示唆される。(b) ヒメアリ: 不透明な (精子で満たされた) 受精嚢は、女王が交尾済みであることを意味している。

飼育実験

ワーカーを生産する前に死亡した 8 頭の女王を除き、7 つの地域集団から 36 頭の未交尾女王が少なくとも 1 頭のワーカーを産んだ (表 2-3)。実験期間を通して、合計 177 頭のワーカーが生産されたが、オスは全く生産されなかった。また、解剖したすべての女王の精嚢は空であった (表 2-4)。また、すべての女王がワーカーの生産に至ったが、明瞭な黄体を保有していた女王は 29 頭中 13 頭のみであった。

マイクロサテライトマーカーによる遺伝子型判定

33 頭の女王と 174 頭のワーカーを分析した結果、すべての個体が *Mp-1* 遺伝子座においてヘテロ接合であり、すべての娘ワーカーの遺伝子型は母親の遺伝子型と同一であることがわかった (表 2-5)。また、同じ地域集団内の個体はすべて同じ遺伝子型を示していた。母親である女王と、娘であるワーカーの遺伝子型を比較することで、有性生殖の発生確率について推定することができる。もしも有性生殖が行なわれていた場合、ヘテロ接合体である母親 (遺伝子型 AB) と交尾するオスは、母親と同じ *Mp-1* の対立遺伝子 (A または B) か、あるいはそれ以外の対立遺伝子をもつかのどちらかである。後者の可能性は娘の遺伝子型から除外できる。前者の場合、母親が有性生殖により生産された娘たちは、1 : 1 の割合で 2 つの遺伝子型を示すと期待される。一つは母親と同じ遺伝子型 (AB) であり、もう一つは 2 つの母親対立遺伝子のどちらかでホモ接合である (父親の遺伝子型が A であれば AA、B であれば BB)。つまり、有性生殖のもとでは、娘が母親と同じヘテロ接合型に偏ることはきわめて稀であり、今回解析した個体が有性生殖により生産された可能性は限りなく低いと考えられた。

体内細菌叢の解析

MiSeq シーケンスと Qiime2 に基づく解析により、巣およびカーストによるレプリケートあたり 8364 から 46817 リードが得られ、合計 267 の OTU (第 2 章付録 2) が得られた。そのうち、リードの 99.9% から 100% を占める 263 OTU が細菌に分類され、117 OTU (リードの 92.4% から 99.5%、ただし巣 B の女王からのリードでは 54.7%、下記参照) は少なくとも門レベルに分類された。また、*Cardinium*、*Rickettsia*、*Wolbachia* など、ハチ目昆虫の単為生殖を誘導することが知られている細菌属 (Rabeling and Kronauer 2013) には、リードが割り当てられなかった。女王、ワーカーともに 3 レプリケート中、2 つの巣 (A、C) において、最も豊富なリードは *Spiroplasma platyhelix* に由来すると判別された (巣 A の女王、ワーカーの複製からのリードはそれぞれ 88.4%、67.4%、巣 C はそれぞれ 91.5%、91.1%)。巣 B から得られたレプリケートは、*S. platyhelix* の出現頻度について異なるパターンを示し、女王においては 0%、ワーカーでは 13.2% であった。巣 B の女王から *S. platyhelix* の配列が得られなかったのは、総リード数が比較的少なかった (8364 vs. >30,000, S2 Table) ことと関連していると考えられる。

系統解析

ミトコンドリアゲノムの *COI* 領域における 639 bp の配列は、キイロヒメアリ (*M. triviale*) の 15 個体群を代表するすべての個体で完全に一致した (図 2-3)。また、これらの個体は、ヒメアリ (*M. intrudens*)、イエヒメアリ (*M. pharaonis*) とともに単系統群に属することがわかった。近年、ヒメアリ属は多系統であることが指摘されているが

(Ward et al. 2014; Sparks et al. 2019)、この結果はキイロヒメアリが狭義のヒメアリ属に含まれることを示唆している。

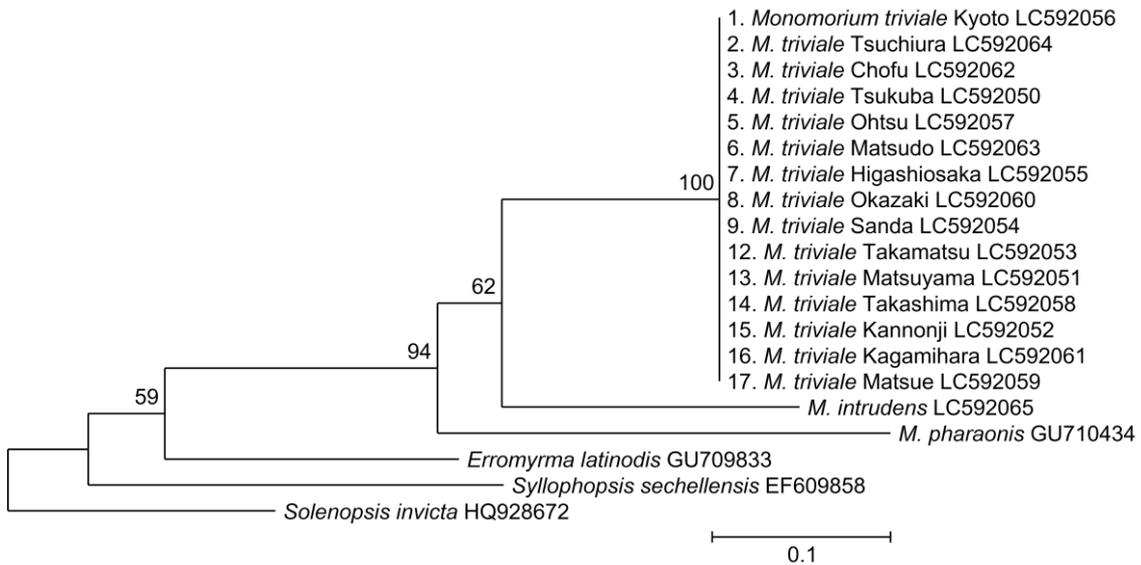


図 2-3. キイロヒメアリとその近縁種 COI 配列に基づく最尤法系統樹

系統樹の各枝の数字はブートストラップ率（1000 回反復）を表す。分類群名・採集地名の後には、GenBank アクセッション・コードを示している。スケールバーは座位あたり置換数 0.1 を表している。

考察

本研究の多角的な検証により、キイロヒメアリが産雌性単為生殖を行なうことの明確な根拠がもたらされた。また、その繁殖システムが女王による絶対産雌性単為生殖であることが、次の 4 つの証拠に基づいて確認された。①野外で採集された巣における雄や受精した女王の不在、②実験室において確認された未交尾の女王によるワーカーの生産、③ワーカーを生産した女王の受精嚢内に精子が存在しないこと、④母である女王と娘であるワーカーの遺伝子型が同じであること。これらの特徴は検証を行なったすべての地域個体群

で共通しており、少なくとも日本において、産雌性単為生殖はキイロヒメアリの優占的な繁殖様式であることが示唆された。

ただし、クビレハリアリ *Ooceraea biroi* (Kronauer et al. 2012) やアミメアリ *Pristomyrmex punctatus* (Yamada et al. 2016) などの他の絶対産雌性単為生殖を行なうアリでは、まれに雄が生産されることが報告されている。また、キイロヒメアリの受精嚢の構造は有性生殖種であるヒメアリと比べて著しい退化は認められず、絶対産雌性単為生殖への特殊化の程度は低いことが示唆されている (Gotoh et al. 2012)。さらに、イバラキノコアリ (*Mycocepurus smithii*) やカドフシアリ (*Myrmecina nipponica*)、ヒラバナハリアリ (*Platythyrea punctata*) など、いくつかの産雌性単為生殖種では、有性・単為生殖の地理的変異が報告されている (Rabeling et al 2011; Masuko 2014; Kellner et al. 2013)。特に日本以外の個体群において、キイロヒメアリが有性生殖を行なうかどうか、またその頻度については、今後さらなる調査が必要である。

キイロヒメアリの細菌群集の探索的な解析は、今後の宿主-共生関係研究のための基礎情報を提供する。また、本種が単為生殖を誘発する細菌に感染している証拠は認められず、アリ類において細菌によって産雌性単為生殖が誘発された例はないというこれまでの報告 (Himler et al. 2009; Wenseleers and Billen 2000; Kautz et al 2013) が裏付けられた。今回、キイロヒメアリから多数検出された *Spiroplasma* は様々なアリで報告されており、その中には同じく第Ⅲ型の単為生殖種であるイバラキノコアリも含まれる (Sen et al. 2009)。また、ヒメアリ属に近縁のトフシアリ属 (*Solenopsis*) では、*Spiroplasma* がアカカミアリ (*S. geminata*) の成虫から検出されている (Ishak 2011)。興味深いことに、アカカミアリの多雌性コロニーからは第Ⅱ型の使い分け単為生殖が発見されている (Lacy et al.

2019)。ショウジョウバエにおいては、*Spiroplasma* は性比歪曲因子として知られており (Paredes et al. 2015)、アリの繁殖システムにおける役割の解明が望まれる。

キイロヒメアリの国内の個体群を用いた系統解析では、*COI* 配列のきわめて低い多様性が明らかとなり、近い過去に急速に分布が拡大したか、または選択的一掃が生じた可能性を示唆している (Avice 2000)。昆虫類で報告されている 3.54%/My (Papadopoulou 2010) という塩基置換率を仮定した場合、*COI* 配列の 639 bp に変異がないことから、推定分岐年代は約 45,000 年以下であると推定できる。さらに、キイロヒメアリと他のヒメアリ類との系統関係は、本種が狭義のヒメアリ属の一員であることを支持している。この結果は、アリ類においてよく研究されてきたモデル系であるイエヒメアリで確立した研究デザイン (Jefford et al. 1991; Jackson et al. 2004; Robinson et al. 2005; Warner et al. 2017; Oliveira et al. 2020) が、将来の比較研究に適用できるという点で有利である。

単為生殖はしばしば外来種や侵入種のアリに多くみられる形質と考えられている (Trible et al. 2020)。キイロヒメアリを侵略性のアリとみなす研究もあるが (Rabeling and Kronauer 2013; Kronauer et al. 2012)、これまでのところ自然分布域外からの報告はなく (Guénard et al 2017)、本種が侵略性を示す根拠は十分ではない。さらに本種の分布域は、イエヒメアリ (Wetterer et al. 2010a) やフタイロヒメアリ (Wetterer et al. 2010b) などの有性生殖を行なう放浪性の種と比べて、はるかに限定されている。また、侵入アリに広く共通される特徴として、攪乱の多い場所や都市部の生息地を好むことが挙げられる (Rabitsch 2011)。Ito et al. (2010) は、キイロヒメアリをトカラウロコアリ *Strumigenys membranifera* やアミメアリ、クビレハリアリとともに「開放的な、攪乱の多い場所」で見られる産雌性単為生殖性のアリとして挙げている。しかし、キイロヒメアリの生活史に関する定量的な記載は不足している。本研究では主に、落葉広葉樹が優占する雑木林におい

てキイロヒメアリの巣が発見されたが、これは「開放的な攪乱地」としては典型的でない。ただしこれらの情報は、キイロヒメアリが将来的に自然分布域外に侵入する可能性を否定するものではない。本種の潜在的な侵入リスクを評価するためには、巣あたりの女王の数や新巣の創設様式など、アリの侵略性との関連が指摘されているコロニーレベルの形質も明らかにしていく必要がある。

第2章付録1 キイロヒメアリのワーカーの解剖

方法

キイロヒメアリのワーカーの繁殖能力を確かめるため、相対的に若齢と考えられる 100 頭の内勤個体を解剖した。このうち 80 頭は京都府で採集された 8 巣、20 頭は東京都から採集された 2 巣の個体を用いた。それぞれの個体を 70%エタノールに 3 分間浸漬して固定し、蒸留水を満たした 30 mm シャーレに沈めた。双眼実体顕微鏡 (SZ40; OLYMPUS Optical, Tokyo, Japan) の下で、腹部末端から内部生殖器を取り出した。各個体について、卵巣および各器官 (そ嚢、中腸、直腸、毒腺) の有無を記録した。

結果

100 個体のうち 95 個体について、内部生殖器を損傷することなく観察することができた。すべてのワーカーにおいて、女王と相同の位置に卵巣は認められず、本種のワーカーが完全に不妊であることが示唆された (図 2S-1-1)。

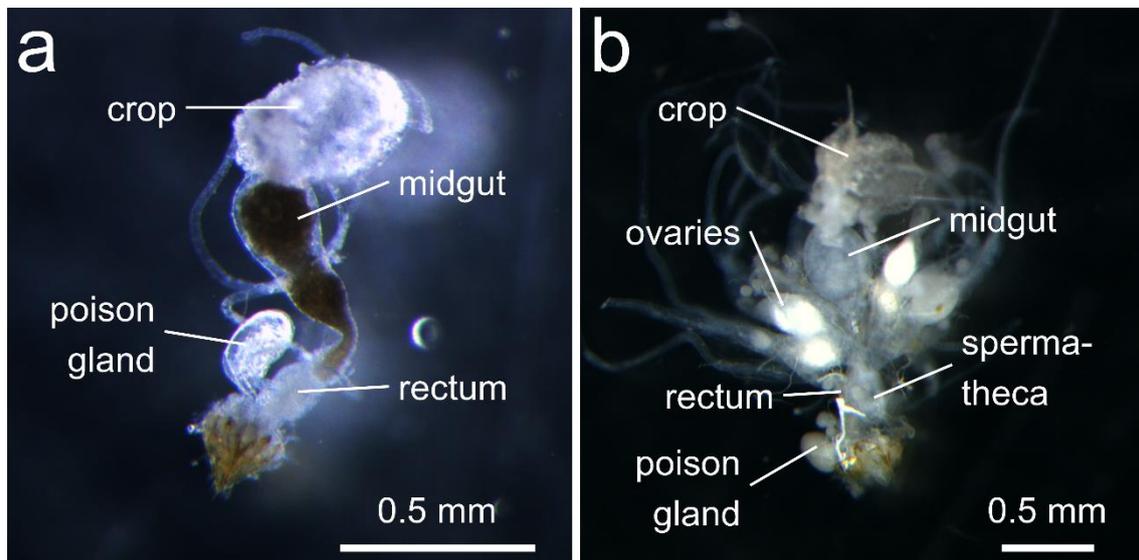


図 2S-1-1. キイロヒメアリのワーカーと女王の解剖写真

ワーカー (a) と女王 (b) は通常の消化器官 (そ嚢 crop, 中腸 midgut および直腸 rectum) と毒腺 (poison gland) を備えていた。生殖器官 (卵巣 ovaries および受精嚢 spermatheca) は、女王のみに認められた。

第2章付録2 キイロヒメアリの体内細菌叢

表 2S-2-1. キイロヒメアリの女王とワーカーから検出された体内細菌叢の概要

16S rRNA 配列に基づき、カーストおよび巣ごとのレプリケートにおいて検出されたリード数とその同定結果（総リード数に対する割合）。

巣 ID	カースト	フィルタリング後のリード数	界レベルで同定されたリードの割合[%]	門レベルで同定されたリードの割合[%]
Nest A	女王	31290	99.95	92.45
Nest B	女王	8364	100.00	54.66
Nest C	女王	37789	99.90	96.99
Nest A	ワーカー	30913	99.97	95.29
Nest B	ワーカー	37494	100.00	99.21
Nest C	ワーカー	46817	100.00	99.52

表 2S-2-1. キイロヒメアリの女王とワーカーから検出された細菌類とその相対的存在量[%]

界	OUT 数	門	綱	目	科	属	種	MtriA	MtriB	MtriC	MtriA	MtriB	MtriC
								女王	女王	女王	ワーカー	ワーカー	ワーカー
Bacteria	1	Acidobacteria	Acidobacteriia	Acidobacteriales	Acidobacteriaceae	<i>Edaphobacter</i>	JF033699 s	0.000	0.000	0.191	0.000	0.000	0.000
Bacteria	1	Acidobacteria	Acidobacteriia	Acidobacteriales	Acidobacteriaceae	<i>Edaphobacter</i>	JUGR s	0.614	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
Bacteria	1	Acidobacteria	PAC001852 c	PAC001852 o	PAC001852 f	<i>PAC001852 g</i>	NA	0.000	0.000	0.000	0.000	0.032	0.000
Bacteria	1	Actinobacteria	Actinobacteria c	Actinomycetales	Actinomycetaceae	<i>Actinomyces</i>	<i>Actinomyces dentalis</i>	0.032	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
Bacteria	1	Actinobacteria	Actinobacteria c	Corynebacteriales	Mycobacteriaceae	<i>Mycobacterium</i>	NA	0.000	0.000	0.000	0.000	0.056	0.000
Bacteria	1	Actinobacteria	Actinobacteria c	Corynebacteriales	Nocardiaceae	<i>Gordonia</i>	<i>Gordonia didemmi</i>	0.000	12.793	0.000	0.278	0.024	0.034
Bacteria	1	Actinobacteria	Actinobacteria c	Corynebacteriales	Nocardiaceae	NA	NA	0.000	0.000	0.000	0.000	0.053	0.000
Bacteria	1	Actinobacteria	Actinobacteria c	Corynebacteriales	Nocardiaceae	<i>Nocardia</i>	NA	0.387	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

界	OUT 数	門	綱	目	科	属	種	MtriA 女王	MtriB 女王	MtriC 女王	MtriA ワーカー	MtriB ワーカー	MtriC ワーカー
Bacteria	1	Actinobacteria	Actinobacteria c	Frankiales	Antricoccus f	<i>Cumulibacter</i>	<i>Cumulibacter manganitolerans</i>	0.000	0.000	0.000	0.000	0.072	0.000
Bacteria	1	Actinobacteria	Actinobacteria c	Micrococcales	Brevibacteriaceae	<i>Brevibacterium</i>	NA	0.438	10.904	0.000	1.666	3.403	0.000
Bacteria	2	Actinobacteria	Actinobacteria c	Micrococcales	Dermabacteraceae	<i>Brachybacterium</i>	NA	0.000	0.000	0.000	0.052	0.821	0.000
Bacteria	1	Actinobacteria	Actinobacteria c	Micrococcales	Microbacteriaceae	<i>Leucobacter</i>	NA	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.079
Bacteria	1	Actinobacteria	Actinobacteria c	Micrococcales	Micrococcaceae	<i>Glutamicibacter</i>	NA	0.000	23.338	1.395	0.828	0.315	0.100
Bacteria	1	Actinobacteria	Actinobacteria c	Micrococcales	Micrococcaceae	NA	NA	0.000	0.000	0.000	0.000	0.059	0.000
Bacteria	1	Actinobacteria	Actinobacteria c	Micromonosporales	Micromonosporaceae	NA	NA	0.000	0.000	0.127	0.000	0.000	0.000
Bacteria	1	Actinobacteria	Actinobacteria c	Propionibacteriales	Nocardiodaceae	<i>Kribbella</i>	NA	0.339	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
Bacteria	2	Actinobacteria	Actinobacteria c	Propionibacteriales	Nocardiodaceae	<i>Nocardioides</i>	NA	0.000	0.000	0.000	0.084	0.101	0.000
Bacteria	2	Actinobacteria	Actinobacteria c	Pseudonocardiales	Pseudonocardiaceae	<i>Pseudonocardia</i>	NA	0.000	0.717	0.000	0.120	0.027	0.000
Bacteria	3	Actinobacteria	Actinobacteria c	Streptomycet ales	Streptomycetaceae	<i>Streptomyces</i>	NA	0.000	2.009	0.114	0.252	32.568	0.000
Bacteria	1	Actinobacteria	Rubrobacteria	AB240334 o	AB240334 f	AB240334 g	NA	0.000	0.000	0.339	0.000	0.000	0.000
Bacteria	1	Actinobacteria	Rubrobacteria	Gaiellales	PAC000097 f	PAC000097 g	PAC000667 s	0.000	0.000	0.000	0.000	0.021	0.000
Bacteria	1	Actinobacteria	Thermoleophilia	Solirubrobacterales	Conexibacteraceae	<i>Conexibacter</i>	NA	0.000	0.000	0.000	0.000	0.069	0.000
Bacteria	1	Actinobacteria	Thermoleophilia	Solirubrobacterales	Solirubrobacteraceae	<i>Solirubrobacter</i>	NA	0.000	0.000	0.000	0.000	0.016	0.000
Bacteria	1	Actinobacteria	Thermoleophilia	Thermoleophilales	Thermoleophilaceae	PAC000142 g	NA	0.000	0.000	0.000	0.000	0.043	0.000
Bacteria	1	Armatimonadetes	Fimbriimonadia	Fimbriimonadales	Fimbriimonadaceae	<i>Fimbriimonas</i>	NA	0.000	0.000	0.000	0.000	0.040	0.000
Bacteria	1	Bacteroidetes	Flavobacteria	Flavobacteriales	Flavobacteriaceae	<i>Chryseobacterium</i>	NA	0.000	0.000	0.000	0.000	0.581	0.028
Bacteria	5	Bacteroidetes	Flavobacteria	Flavobacteriales	Flavobacteriaceae	<i>Myroides</i>	<i>Myroides indicus</i>	0.000	0.000	0.000	5.933	1.198	0.070
Bacteria	1	Bacteroidetes	Sphingobacteriaii	Sphingobacteriales	Sphingobacteriaceae	<i>Mucilaginibacter</i>	NA	0.000	0.000	0.593	0.000	0.000	0.000
Bacteria	1	Bacteroidetes	Sphingobacteriaii	Sphingobacteriales	Sphingobacteriaceae	<i>Olivibacter</i>	NA	0.000	0.000	0.000	0.000	0.627	0.000
Bacteria	3	Bacteroidetes	Sphingobacteriaii	Sphingobacteriales	Sphingobacteriaceae	<i>Sphingobacterium</i>	NA	0.000	0.000	0.000	0.000	3.409	0.000

界	OUT 数	門	綱	目	科	属	種	MtriA 女王	MtriB 女王	MtriC 女王	MtriA ワーカー	MtriB ワーカー	MtriC ワーカー
Bacteria	1	Bacteroidetes	Sphingobacteria	Sphingobacteriales	Sphingobacteriaceae	<i>Sphingobacterium</i>	<i>Sphingobacterium terra</i>	0.000	0.000	0.000	0.259	0.000	0.000
Bacteria	1	Chlamydiae	Chlamydiae c	Chlamydiales	Parachlamydiaceae	NA	NA	0.000	0.000	0.000	0.000	0.064	0.000
Bacteria	1	Cyanobacteria	NA	NA	NA	NA	NA	0.000	2.104	0.000	0.000	0.000	0.000
Bacteria	1	Firmicutes	Bacilli	Bacillales	Bacillaceae	<i>Bacillus</i>	NA	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.032
Bacteria	1	Firmicutes	Bacilli	Bacillales	Staphylococcaceae	<i>Staphylococcus</i>	NA	0.678	0.000	0.000	3.549	0.853	0.000
Bacteria	1	Firmicutes	Bacilli	Lactobacillales	Enterococcaceae	<i>Enterococcus</i>	NA	0.000	1.052	0.000	0.000	0.000	0.000
Bacteria	1	Firmicutes	Bacilli	Lactobacillales	Lactobacillaceae	<i>Pediococcus</i>	NA	0.000	0.000	0.000	0.453	0.000	0.000
Bacteria	1	Firmicutes	Tissierellia	Tissierellales	Peptoniphilaceae	<i>Anaerococcus</i>	<i>Anaerococcus provencensis</i>	0.000	0.000	0.040	0.000	0.000	0.000
Bacteria	146	NA	NA	NA	NA	NA	NA	7.498	45.337	2.726	4.674	0.795	0.481
Bacteria	1	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Caulobacterales	Caulobacteraceae	<i>Brevundimonas</i>	<i>Brevundimonas olei</i>	0.000	0.000	0.000	0.000	0.789	0.000
Bacteria	1	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Micropepsales	Micropepsaceae	<i>Rhizomicrobium</i>	NA	0.000	0.000	0.000	0.000	0.069	0.000
Bacteria	1	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Afifella f	FOFG g	NA	0.000	0.000	0.000	0.000	0.125	0.000
Bacteria	2	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Bauldia f	<i>Bauldia</i>	NA	0.000	0.000	0.000	0.000	0.115	0.000
Bacteria	1	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Beijerinckiaceae	NA	NA	0.294	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
Bacteria	1	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Bosea f	<i>Bosea</i>	<i>Bosea robiniae</i>	0.000	0.000	0.000	0.000	0.123	0.000
Bacteria	1	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Bradyrhizobiaceae	<i>Afipia</i>	NA	0.000	0.000	0.000	0.000	0.112	0.000
Bacteria	2	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Bradyrhizobiaceae	<i>Bradyrhizobium</i>	NA	0.000	0.000	0.000	0.000	0.456	0.000
Bacteria	1	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Bradyrhizobiaceae	NA	NA	0.000	0.000	0.000	0.000	0.043	0.000
Bacteria	1	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Bradyrhizobiaceae	<i>Tardiphaga</i>	<i>Tardiphaga robiniae</i>	0.000	0.000	0.000	0.000	0.053	0.000
Bacteria	1	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Brucellaceae	NA	NA	0.000	0.000	0.000	0.000	0.256	0.000
Bacteria	1	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Brucellaceae	<i>Ochrobactrum</i>	NA	0.000	0.000	0.344	0.983	6.737	0.000

界	OUT 数	門	綱	目	科	属	種	MtriA 女王	MtriB 女王	MtriC 女王	MtriA ワーカー	MtriB ワーカー	MtriC ワーカー
Bacteria	1	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Devosia f	<i>Devosia</i>	NA	0.000	0.000	0.000	0.000	0.072	0.000
Bacteria	1	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Labrys f	<i>Labrys</i>	NA	0.000	0.000	0.000	0.000	0.109	0.000
Bacteria	1	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Methylobacteriaceae	<i>Microvirga</i>	NA	0.000	0.000	0.000	0.000	0.120	0.000
Bacteria	2	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	NA	NA	NA	0.000	0.000	0.000	0.000	0.075	0.000
Bacteria	1	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Phyllobacteriaceae	<i>Mesorhizobium</i>	AVBN s	0.000	0.000	0.000	0.000	0.032	0.032
Bacteria	1	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Phyllobacteriaceae	NA	NA	0.000	0.000	0.000	0.000	0.189	0.000
Bacteria	1	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Rhizobiaceae	NA	NA	0.000	0.000	0.000	0.000	0.075	0.000
Bacteria	2	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Rhizobiaceae	<i>Rhizobium</i>	NA	0.000	0.000	0.000	0.000	0.261	0.000
Bacteria	1	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhodospirillales	Rhodospirillaceae	<i>Reyranella</i>	<i>Reyranella aquatilis</i>	0.000	0.000	0.000	0.000	0.093	0.000
Bacteria	1	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Sphingomonadales	Sphingomonadaceae	<i>Novosphingobium</i>	<i>Novosphingobium rosa</i>	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	1.493
Bacteria	1	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Sphingomonadales	Sphingomonadaceae	<i>Sphingomonas</i>	NA	0.000	0.000	0.000	0.000	0.232	0.000
Bacteria	1	Proteobacteria	Betaproteobacteria	Burkholderiales	Alcaligenaceae	<i>Alcaligenes</i>	NA	0.000	0.000	0.000	4.144	1.136	0.132
Bacteria	1	Proteobacteria	Betaproteobacteria	Burkholderiales	Alcaligenaceae	<i>Bordetella</i>	NA	0.000	0.000	0.000	0.000	0.285	0.000
Bacteria	1	Proteobacteria	Betaproteobacteria	Burkholderiales	Alcaligenaceae	NA	NA	0.000	0.000	0.000	1.397	2.486	0.000
Bacteria	2	Proteobacteria	Betaproteobacteria	Burkholderiales	Alcaligenaceae	<i>Pigmentiphaga</i>	NA	0.000	0.000	0.000	0.000	11.250	0.000
Bacteria	1	Proteobacteria	Betaproteobacteria	Burkholderiales	Alcaligenaceae	<i>Pusillimonas</i>	<i>Pusillimonas noertemannii</i>	0.000	0.000	0.000	0.000	0.045	0.000
Bacteria	2	Proteobacteria	Betaproteobacteria	Burkholderiales	Burkholderiaceae	<i>Burkholderia</i>	NA	0.000	0.000	0.000	0.097	0.000	0.066
Bacteria	1	Proteobacteria	Betaproteobacteria	Burkholderiales	Burkholderiaceae	<i>Caballeronia</i>	NA	0.000	0.000	0.000	0.000	0.061	0.000
Bacteria	2	Proteobacteria	Betaproteobacteria	Burkholderiales	Burkholderiaceae	NA	NA	0.000	0.430	0.000	0.000	0.141	0.000
Bacteria	3	Proteobacteria	Betaproteobacteria	Burkholderiales	Burkholderiaceae	<i>Paraburkholderia</i>	NA	0.000	0.000	0.000	0.000	0.944	0.000
Bacteria	1	Proteobacteria	Deltaproteobacteria	Myxococcales	Haliangiaceae	PAC000245 g	NA	0.000	0.000	0.000	0.000	0.053	0.000

界	OUT 数	門	綱	目	科	属	種	MtriA 女王	MtriB 女王	MtriC 女王	MtriA ワーカー	MtriB ワーカー	MtriC ワーカー
Bacteria	3	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Carsonella o	Carsonella f	<i>Carsonella</i>	NA	0.022	0.191	0.000	0.000	0.000	0.000
Bacteria	1	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Enterobacteriales	Morganellaceae	<i>Providencia</i>	NA	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.034
Bacteria	2	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Enterobacteriales	NA	NA	NA	0.000	0.000	0.000	0.000	0.635	0.000
Bacteria	1	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Enterobacteriales	Yersiniaceae	NA	NA	0.000	0.000	0.000	7.735	9.676	0.000
Bacteria	1	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Legionellales	Coxiellaceae	<i>Aquicella</i>	NA	0.000	0.000	0.000	0.000	0.125	0.000
Bacteria	2	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Pseudomonadales	Moraxellaceae	<i>Acinetobacter</i>	NA	0.853	0.000	1.691	0.000	0.749	3.287
Bacteria	1	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Pseudomonadales	Pseudomonadaceae	<i>Pseudomonas</i>	NA	0.246	0.000	0.228	0.000	0.000	0.205
Bacteria	1	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Steroidobacter o	Steroidobacter f	PAC000240 g	PAC000728 s	0.000	0.000	0.000	0.000	0.059	0.000
Bacteria	1	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Xanthomonadales	Xanthomonadaceae	<i>Dokdonella</i>	PAC000322 s	0.000	0.000	0.000	0.000	0.085	0.000
Bacteria	1	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Xanthomonadales	Xanthomonadaceae	<i>Luteimonas</i>	NA	0.000	0.000	0.500	0.000	0.312	0.085
Bacteria	1	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Xanthomonadales	Xanthomonadaceae	NA	NA	0.000	0.000	0.116	0.000	0.083	0.000
Bacteria	2	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Xanthomonadales	Xanthomonadaceae	<i>Stenotrophomonas</i>	NA	0.000	0.000	0.000	0.000	0.464	0.000
Bacteria	4	Proteobacteria	NA	NA	NA	NA	NA	0.070	1.124	0.016	0.071	0.000	0.000
Bacteria	1	Saccharibacteria TM7	Saccharimonas c	Saccharimonas o	Saccharimonas f	<i>Saccharimonas</i>	CP006915 s	0.000	0.000	0.000	0.000	0.035	0.000
Bacteria	1	Tenericutes	Mollicutes	Entomoplasmatales	Spiroplasmataceae f1	<i>Spiroplasma</i> g1	DQ163948 s	0.000	0.000	0.000	0.000	2.768	2.736
Bacteria	2	Tenericutes	Mollicutes	Entomoplasmatales	Spiroplasmataceae f2	<i>Spiroplasma</i> g2	<i>Spiroplasma platyhelix</i>	88.383	0.000	91.484	67.392	13.221	91.104
Bacteria	1	Verrucomicrobia	Verrucomicrobiae	Methylacidiphilales	LT629781 f	EU680463 g	NA	0.093	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
Unassigned	4	NA	NA	NA	NA	NA	NA	0.054	0.000	0.098	0.032	0.000	0.000

NA: Not available.

第2章付録3 ミトコンドリアの全ゲノム構造決定

著しい多様性を示すアリ亜科において、ヒメアリ属 (*Monomorium*) はもっとも多く
の種を擁するグループのひとつであり、300 種以上が記載されている。その中には、フタ
イロヒメアリ (*M. floricola*) やムネアカヒメアリ (*M. salomonis*)、イエヒメアリ (*M.*
pharaonis) などいくつかの成功した放浪種が含まれる (Pontieri and Linksvayer 2019)。し
かし、最近の研究 (Ward 2015, Sparks 2019) により、本属が多系統であることが明らか
になってきた。このような分類学上の問題を解決するためには、ゲノムリソースが不可欠
である。

東アジアに分布するキイロヒメアリ (*M. triviale* Wheeler, W.M. 1906) は、未交尾の女
王がワーカーと次世代女王を産む産雌性単為生殖を行なうことから、特に注目されている
(Gotoh et al. 2012; Idogawa et al. 2021)。現在までにミトコンドリア DNA の部分配列
(*COI*, 639 bp) のみが報告されており、そのすべてが日本国内の個体群間で同一である
(Idogawa et al. 2021)。本稿では、本種のミトコンドリアの全ゲノム構造を決定し、さら
なる解析のための情報を提供する。また、日本国内の個体群間のミトコンドリアゲノムの
変異に基づき、キイロヒメアリの分岐年代推定も行なった。

2017 年 9 月 9 日、京都府京都市の宝ヶ池公園 (35.060087 N, 135.788488 E) において、
女王 1 頭を含むキイロヒメアリのコロニーを採集した。女王とその後の実験室で生産され
た単為生殖ブルード (幼虫と蛹、約 100 個体) を 99.5% EtOH で固定した。プールした個
体から DNeasy Blood and Tissue kit (Qiagen, Hilden, Germany) を用いてゲノム DNA を抽出
した。マクロジェン・ジャパン株式会社 (東京) の HiSeq X シーケンサー (Illumina, San
Diego, CA) で塩基配列を決定した。Trimmomatic v0.39 (Bolger et al. 2014) でアダプタ
ー配列を除去した後、NOVOPlasty v3.6 (Dierckxsens et al. 2017) を用いて、ヒアリ

(*Solenopsis invicta*) のミトゲノム配列 (NCBI accession: NC_014672) をシード配列として de novo アセンブリを実施した。4,327,159 個のペアエンド配列リードから、平均リードカバレッジ 37,840 のアセンブル結果が得られた。GeSeq (Tillich et al. 2017)、MITOS (Bernt et al. 2013)、NCBI ORF-finder (Rombel et al. 2002)、ARWEN (Laslett and Canbäck 2008) を用いてタンパク質コード遺伝子 (PCGs)、rRNA、tRNA のアノテーションを行なった。配列情報は、日本 DNA データバンク (DDBJ) にアクセッション番号 LC605004 で登録されている。

キイロヒメアリのミトコンドリアゲノムの全長は 16,920 bp であり、他の既知のアリ類のものと同程度であった。ヌクレオチド組成は AT に偏っていた (82%)。また、ほとんどの後生動物に典型的にみられるように、ミトコンドリアゲノムは 13 のタンパク質コード遺伝子 (PCG)、2 つの rRNA、22 の tRNA から構成されていた。すべての PCG は、開始コドンとして ATG または ATT を、停止コドンとして TAA または TAG を使用していた。tRNA のサイズは 59-74 bp で、他のアリ (54-90 bp) と同程度であった。コントロール領域は、タンパク質をコードしない AT-rich 領域 (569 bp、A+T 94%) が相当すると推定された。キイロヒメアリのミトコンドリアゲノムにおける各遺伝子の順序は同属種のイエヒメアリ (NC_051486.1) と同じであった。注目すべきことに、ヒメアリ属の 2 種の遺伝子順序には 2 つの遺伝子再配列が見いだされた。すなわち、trnP と *ND1* 間の逆位 (Myrmicinae, *ND6-CYTB-trnS*; *Monomorium*, *trnS-CYTB-ND6*; 下線は逆位遺伝子)、*ND3* と *trnF* 間の転座 (Myrmicinae common, *trnA-trnR-trnN-trnS-trnE*; *Monomorium*, *trnR-trnE-trnA-trnN-trnS*) である。この特徴は、フタフシアリ亜科にひろく共有されている遺伝子順序とは異なり、ヒメアリ属に特有のものであると思われた (Babbucci et al.2014; Park 2020)。このことは、塩基配列情報に加えて、狭義のヒメアリ属の同定に役立つと考えられる。

セイヨウミツバチ (*Apis mellifera*) を外群として、タンパク質をコードする 13 個の遺伝子の塩基配列を連結したものをを用いて、25 種のアリの系統関係を解析した。配列アライメントは、MEGA-X (Kumar et al. 2018) に実装された ClustalW (Thompson et al. 2003) を用いて構築した。ModelTest-NG v0.1.6 (Darriba et al. 2020) により GTR + I + G モデルを最適モデルとして決定した。RAxML-NG v1.0.0 (Kozlov et al. 2019) で作成した最尤樹と MrBayes v3.2.7 (Ronquist et al. 2012) で作成したベイズ推定樹は、いずれもフタフシアリ亜科におけるヒメアリ属の現在の系統的位置を一貫して支持していた (図 2S-3-1)。

このように、キイロヒメアリのミトコンドリアゲノムは、分類学的に問題の多いヒメアリ属の系統的位置づけや、単為生殖性のアリの比較ゲノム解析のための新たなリソースを提供するものである。

さらに、本種の分岐年代を推定するため、日本国内の 9 つの個体群についても、ミトコンドリア全ゲノム構造の決定を行なった。女王 (島根県についてはワーカー : 表 2S-3-1) 1 個体から得たリシーケンスデータに基づき、京都個体のミトコンドリアゲノム配列をレファレンスとして、京都個体と同様のパイプラインによりゲノム配列を決定した。その結果、愛媛県のサンプルを除く 8 個体群で全ゲノム構造が決定され、その全長は 16291 bp から 16306 bp であった。また、愛媛県のサンプルについても、Papadopoulou et al. (2010) によって 100 万年あたりの変異率が推定されている COI 領域 (3.54%/My) および 16S rRNA 領域 (1.06%/My) の配列を決定できた。これらの領域について、京都でサンプリングされた個体のレファレンス配列を加えた 10 個体群を用いて年代推定を行なった。

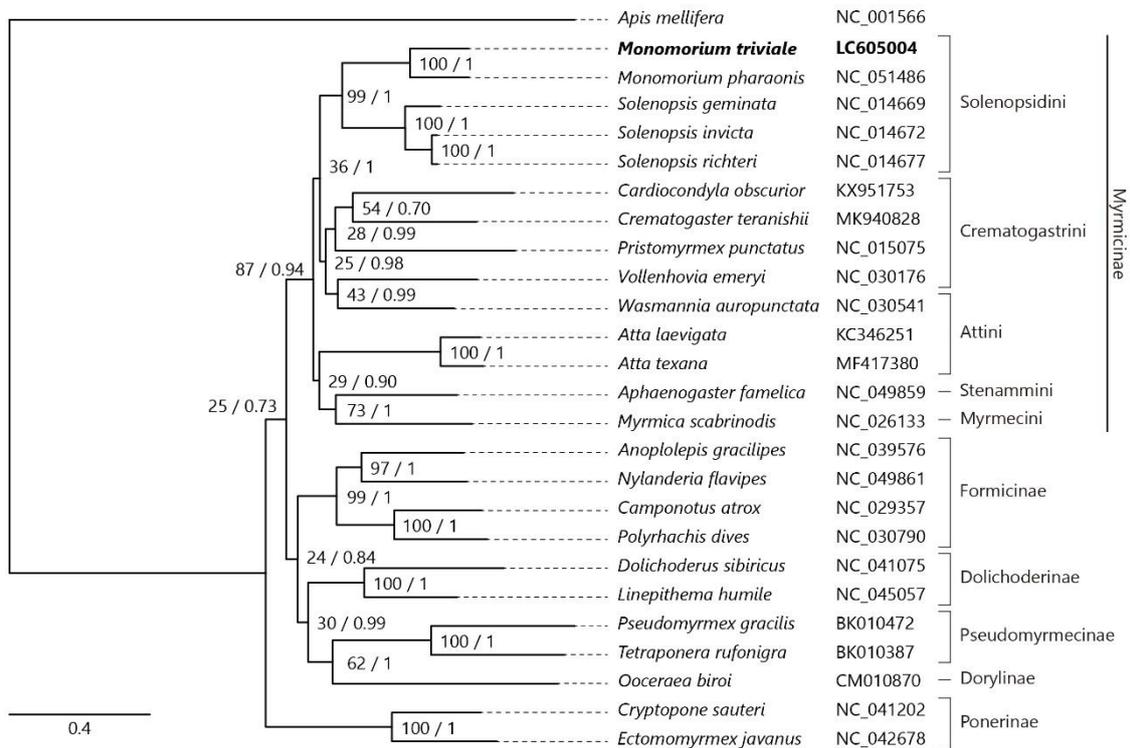


図 2S-3-1. 最尤法 (1,000 ブートストラップリピート) とベイズ推定 (10 万世代) の解析結果にもとづく、25 種のアリのミトコンドリアゲノムの系統関係

外群としてミツバチ (*Apis mellifera*) を使用した。系統樹は最尤樹に基づいて作成された。各枝の上の数字は、順に最尤樹のブートストラップサポート値と、ベイズ推定樹の事後確率を示す。

表 2S-3-1. 年代推定に用いた全国各地のキイロヒメアリのサンプル

都道府県	市町村	ネスト ID	カースト	緯度	経度
茨城県	つくば市	Mtri_20161115_1	女王	36.100584	140.101497
茨城県	土浦市	Mtri_20170620_3	女王	36.077921	140.165479
千葉県	松戸市	Mtri_20170618_10	女王	35.774874	139.899289
東京都	調布市	Mtri_20170616_16	女王	35.668231	139.549038
大阪府	東大阪市	Mtri_20171109_4	女王	34.665748	135.671267
島根県	松江市	M014-34	ワーカー	35.468111	133.048528
兵庫県	三田市	Mtri_20170509_1	女王	34.915276	135.166319
香川県	高松市	Mtri_20170608_10	女王	34.364134	134.097999
愛媛県	松山市	Mtri_20171111_1	女王	33.844603	132.771513

キイロヒメアリの *COI* 領域 (1530 bp) における変異は、茨城県のつくば市と愛媛県のサンプルにおいてそれぞれ 1 塩基が認められた。したがって、調査集団の分岐年代は、 $\left(\frac{1}{1530} [\text{bp}]\right) \div \left(\frac{0.0354 [\text{bp}]}{1000000 [\text{year}]}\right) \cong 18500 [\text{year}]$ と計算された。また、*16S rRNA* 領域 (1367 bp) では、東京のサンプルにおいて 5 塩基の挿入が認められ、また兵庫のサンプルでは塩基の種類が定まらないワイルドカードが 3 塩基存在した。これらを除外した 1359 bp には変異がみられなかった。1 塩基の変異が生じた場合の分岐年代は、 $\left(\frac{1}{1359} [\text{bp}]\right) \div \left(\frac{0.0106 [\text{bp}]}{1000000 [\text{year}]}\right) \cong 69400 [\text{year}]$ と計算され、調査集団の分岐年代はこの値よりも浅いと考えられた。これらの結果は、第 2 章において計算された約 45,000 年以下という分岐年代 (*COI*, 16 個体群, 639 bp) とともに、Papadopoulou et al. (2010) の塩基置換率を当てはめた場合、本種の単為生殖系統が国内において数万年 (約 2~7 万年) の歴史をもつことを示唆している。

第3章 発生ステージの記載とアリ類の幼虫における新規カースト二型

はじめに

アリ類の最大の特徴は、生殖能力を持つ女王と不妊のワーカーという2つの表現型のメス個体による繁殖分業である (Hölldobler and Wilson 1990)。多くの種において、これら2つのカーストは遺伝的背景を共有し、卵や幼虫といった発生過程における社会環境要因に反応してエピジェネティックに分化する (Rajakumar et al.2018)。また、アリの幼虫は餌を消化して巣仲間に栄養分を分配することで、コロニーの動態や生理的統合に重要な役割を果たす (Dussutour and Simpson 2009; Schultner et al.2017; Masuko 2019)。そのため、アリ類の幼虫における形態学的研究は、進化発生学や社会生理学の観点から重要である。それにもかかわらず、幼虫の齢数、成長率、発育期間など、アリの未熟期に関する知識は驚くほど少ない。観察が容易なワーカーカーストでさえ、現存する 14,000 種以上のうち、幼虫の完全な記述があるのはわずか 0.5%にとどまる (Bharti et al.2019; Bolton 2021)。繁殖カーストである女王や雄は、通常、限られた季節にのみ生産されるため、その発生過程に関する情報はさらに少ない。

本章では、アリ科の一種であるキイロヒメアリ (*Monomorium triviale*, Wheeler 1906) の発生ステージについて、その幼虫期におけるカースト二型に注目し、詳細な記載を行なった。ヒメアリ属 (*Monomorium*) は、きわめて多様性の高いフタフシアリ亜科のなかでも最も種数の多い属のひとつであり、汎世界的な分布を示す。近年の系統学的研究によって多くの種が別属に移されたが (Ward et al. 2015; Sparks et al. 2019)、約 300 種を擁し、多数の未記載種が残されている (Pontieri and Linksvayer 2019)。本属では 11 種から幼虫の形態が記載されているが (Wheeler and Wheeler 1955, 1973, 1980; Bernard 1955; Ettershank 1965)、イエヒメアリ (*M. pharaonis*: Alvares et al. 1993; Pontieri et al. bioRxiv) とフタイロ

ヒメアリ (*M. floricola*: Solis et al. 2010a) を除き、幼虫の齢数は明らかとなっていない。東アジア産に分布するキイロヒメアリは、産雌性単為生殖を行なうヒメアリ属の1種である (Gotoh et al. 2012; Idogawa et al. 2021; Ito et al. 2021)。本種のオスはこれまで報告されておらず、女王は未交尾のままワーカーと次世代の女王を生産する。本研究では、体長の分布パターンと体毛の形質から、キイロヒメアリの幼虫の齢数を推定した。また、各齢における幼虫の形態的特徴を光学顕微鏡および走査型電子顕微鏡で観察した。さらに、その過程で発見された女王特異的な体表構造について組織学的観察を行なった。最後に、各ステージに必要な発育期間を飼育実験により調べた。

材料と方法

サンプリング

2017年から2021年にかけて、京都府京都市にある落葉広葉樹を主体とした雑木林（北緯35°03'33"、東経135°47'01"、高度90m）においてキイロヒメアリの巣を採取した。すべての発生ステージを得るため、コロニーを底に石膏を敷いたプラスチック容器（68 × 39 × 15 mm）内に移し、25°Cの実験室内で保管した。水と餌（ミールワーム (*Tenebrio molitor*) の幼虫を約5 mmの長さに切ったもの）は3日おきに補充した。

幼虫の齢数の判定

アリ類の幼虫における先行研究では、頭幅のサイズ分布パターンから幼虫の齢数を推定しているものが多い（例：Parra and Haddad 1989）。しかしMasuko (2017) は、サイズに基づく推定では、出現頻度の少ない齢期（特に1齢）を見落とす可能性があるとして指摘している。ヒメアリ属では、体毛の形状や分布が幼虫の齢期の識別に有用であることが報告され

ている (Solis et al.2010a)。そこで、キイロヒメアリの幼虫の齢期を各部のサイズという量的形質と体毛のタイプや数という質的特徴の組み合わせにより推定した。

また、1 齢と最終齢に属する個体は、次の方法で明示的に同定することができた。1 齢幼虫を得るために、巣内の卵塊の中から 62 頭の卵膜の付着した幼虫（孵化直後＝間違いなく 1 齢）を採集した。また、蛹化直前の前蛹（間違いなく最終齢）も 35 頭採集した。これらの幼虫をデジタル顕微鏡（VHX-900；キーエンス）で撮影し、ImageJ ソフトウェア (Schneider et al.2012) を用いて頭部の最大幅を測定した。次に、無作為に選んだ 582 頭の幼虫を測定し、頭幅の分布パターンをヒストグラムにプロットした。ヒストグラムの明瞭なピークを検出し、1 齢と最終齢の間の中間的な齢を探し出した。その後、各ピークを代表する 5 個体以上を抽出し、体毛の数や種類などの形態的な差異を調べた。最終的に、質的形質と量的形質のコンセンサスにより、幼虫の齢数を決定した。データの計算と可視化には R ver.4.0.0 ソフトウェア (R Core Team 2021) を用いて行なった。

この測定の過程で、一般的なワーカーの終齢幼虫よりも明らかに大きな幼虫が発見された。これらの幼虫（約 50 個体）を実験室で羽化するまで飼育したところ、女王カーストであることを確認した。本種のコロニーは初夏にごく少数の女王幼虫（1-10 個体）しか生産しないため、ワーカーと同様の方法で女王幼虫の齢数を推定することはできなかった。

各齢の形態学的観察

それぞれの発生ステージを特徴づけるために、双眼実体顕微鏡（SZ40; OLYMPUS Optical, Tokyo, Japan）、デジタル顕微鏡（VHX-900; Keyence, Osaka, Japan）、および走査電子顕微鏡（SEM: VE-8800; Keyence, Osaka, Japan）で外部形態を観察した。双眼実体顕微

鏡およびデジタル顕微鏡観察を用いた観察では、生体を粘着性のある滑り止めゲルパッド（セイワプロ，大阪，日本）によりスライドガラス上に注意深く固定した。SEM 観察では、新鮮な試料を -20°C のディープフリーザーで 15 分間凍結し、導電性カーボン両面テープでアルミニウムステージに素早く取り付けた。観察および写真撮影は、試料の準備後、できるだけ早く行なった。幼虫の記述に用いる用語はすべて Wheeler and Wheeler (1976) と Solis et al.に従った。カースト二型の比較のために、日本で入手可能なヒメアリ属 3 種、ヒメアリ (*M. intrudens*) とクロヒメアリ (*M. chinense*)，フタモンヒメアリ (*M. hiten*) についても同様の方法で追加観察を行なった。

女王特異的な体表構造の組織学的観察

最終齢幼虫の外部形態にカースト二型がみられたため、女王幼虫の組織学的特徴を調べた。幼虫は FAA（純エタノール：ホルムアルデヒド：酢酸=16：6：1）で 24 時間固定し、パラフィンに包埋する前に段階的なエタノール系列で脱水した。切片は $4\ \mu\text{m}$ で切断し、Gotoh ら (2016) の手法にしたがってヘマトキシリンとエオシンで染色した。組織学的観察は、Leica DM IL LED 倒立顕微鏡および Leica MC 170 HD カメラ（Leica Microsystems, Wetzlar, Germany）を用いて行なった。

発育期間

キイロヒメアリのワーカーについて、各発生ステージの発育期間を決定するために飼育実験を行なった。なお、1 齢幼虫と 2 齢幼虫の区別が難しいため、これらのステージは「若齢幼虫」として扱った。まず卵を得るため、野外で採集した 18 個の巣から、女王 1

個体とワーカー10 個体を人工巣に分離して産卵させた。50 日間、新たに産み落とされた卵と孵化した幼虫を計数し、孵化までの日数を求めた。

幼虫期と蛹期の判定は、対象ステージの直前（若齢幼虫は卵、終齢幼虫は若齢幼虫、蛹は終齢幼虫）の個体を 10 頭ずつ母巣から取り出し、ワーカー10 頭とともに分離した。各ステージに属する個体数を毎日数えた。野外採集した 11 個の巣から、若齢幼虫のために 7 巣、終齢幼虫のために 8 巣、蛹のために 7 巣の繰り返しを設けた。観察は、すべての個体が次のステージに脱皮するか死亡するまで、最長 1 ヶ月間継続した。実験巣はすべて底に石膏を敷いたプラスチック容器（36 × 36 × 14 mm）内に隔離し、25°Cの実験室内で保管した。水と餌（ミールワーム (*Tenebrio molitor*) の幼虫を約 5 mm の長さに切ったもの）は 3 日おきに補充した。

結果

幼虫の齢数の判定

頭幅の計測の結果、孵化直後の幼虫（初齢幼虫、 $n = 62$, $\text{mean} \pm \text{SD} = 0.123 \pm 0.007 \text{ mm}$ ）と前蛹（終齢幼虫、 $n = 35$, $0.173 \pm 0.006 \text{ mm}$ ）は、無作為に計測した幼虫の頭幅の下限と上限に相当することがわかった。また、幼虫の頭幅のヒストグラム（ $n = 590$, $\text{bin width} = 0.005 \text{ mm}$ ）では、0.135-0.140 mm 付近に中間的なピークがあり、もう 1 つの幼虫齢の存在が示唆された。さらに、これら 3 つの頭幅の範囲における幼虫の毛の数や形状は明らかに異なっており、初齢：100-150 本の単純な毛、中間齢：500-600 本の単純な毛、終齢：400-500 本の錨状に分岐した毛という特徴を示した（表 3-1）。体サイズの量的特徴と体毛の質的特徴のコンセンサスにより、キイロヒメアリのワーカー幼虫は 3 齢であると推定された。

1 齢幼虫 (0.122 ± 0.006 mm, range: 0.107-0.137 mm, $n = 84$)、2 齢幼虫 (0.137 ± 0.006 mm, range: 0.124-0.152 mm, $n = 226$)、3 齢幼虫 (0.175 ± 0.008 mm, range: 0.146-0.191 mm, $n = 116$) の頭幅の範囲は重複していた (図 3-1)。齢間の頭幅の成長率は平均 1.20 (1 齢と 2 齢の間は 1.12、2 齢と 3 齢の間は 1.27) であった。

表 3-1. キイロヒメアリの幼虫の各齢における形態学的特徴

幼生期	頭幅 (mm)	体長 (mm)	体毛数	体毛のタイプ	突起物
1 齢	0.122 ± 0.006 (0.107-0.137)	0.328 ± 0.036 (0.237-0.416)	100-150	直毛	なし
2 齢	0.137 ± 0.006 (0.124-0.152)	0.459 ± 0.074 (0.281-0.593)	500-600	直毛	なし
3 齢のワーカー	0.175 ± 0.008 (0.146-0.191)	0.847 ± 0.192 (0.414-1.20)	400-500	分岐・錨型	なし
最終齢の女王	0.187 ± 0.013 (0.16-0.220)	1.756 ± 0.329 (0.742-2.291)	ほとんど無毛	直毛	あり

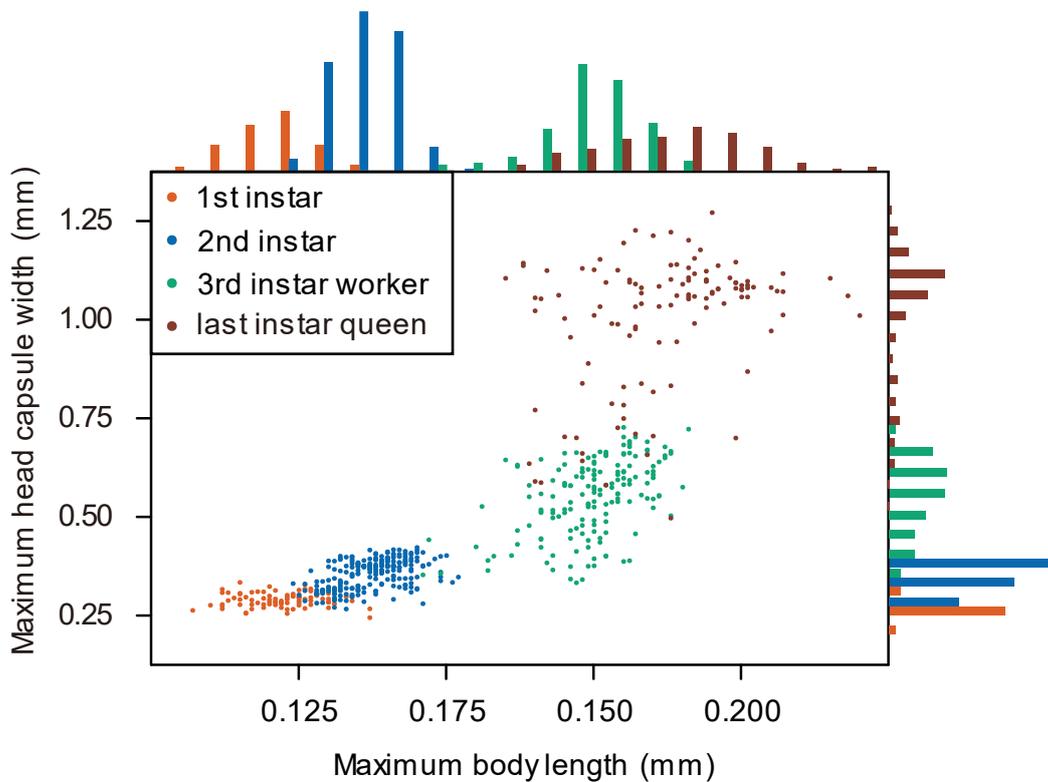


図 3-1. キイロヒメアリの幼虫の頭幅 (mm) と体長 (mm) の関係

1 齢 (オレンジ色・円、 $n = 84$)、2 齢 (青色・三角形、 $n = 226$)、3 齢 (緑色・四角形、 $n = 164$)、終齢女王 (茶色・十字形、 $n = 116$) 幼虫の齢は形態と体毛の特長によって決定された。頭幅と体長のヒストグラムのビン幅はそれぞれ 0.005 mm と 0.1 mm である。

キイロヒメアリの発生ステージの記載

卵

卵は楕円形で、乳白色で半透明の卵殻に覆われている (図 3-2a)。長径は 0.31 ± 0.02 mm (0.24 - 0.35 mm)、短径は 0.19 ± 0.01 mm (0.16 - 0.22 mm) であった (すべて $n = 183$)。卵の長径：短径の比率は平均して 1.62 であった。

1 齢幼虫

全身 白色で、Wheeler and Wheeler (1976) の定義する “pheidoloid” 型の形態を示す。

すなわち、側面から見て腹部は短く直線的で、前胸部は短く、末端は腹側に丸みを帯びる

(図 3-2b) ; 腹面から見て体節は明瞭であり、頭部は亜円形 (subcircular) を呈し、肛門は末端近くに位置する (図 3-2c)。体長は 0.328 ± 0.036 mm (0.237-0.416 mm, $n = 84$)、体幅は 0.161 ± 0.014 mm (0.123-0.20 mm, $n = 84$)。気門を通る長さ (Length through spiracles) は 0.44 ± 0.34 mm ($n = 6$)。体毛は長さ 8.4 ± 2.0 μ m (5 個体の $n = 25$) で枝分かれせず、1 個体あたりの本数は 100-150 本である ($n = 5$)。隣接する 2 本の毛の間隔は 25.6 ± 9.1 μ m (5 個体にもとづく, $n = 25$, 図 3-2d)。10 個の気門があり、気門間の距離は 29.2 ± 9.0 μ m ($n = 5$) であった。気門に縁取りはなく、第 1 気門の直径は 0.8 ± 0.3 μ m、その他の気門の直径は 0.5 ± 0.2 μ m ($n = 5$) であった。

頭部 頭蓋は亜円形で、長さ 0.125 ± 0.011 mm (0.091-0.149 mm, $n = 84$)、幅 0.122 ± 0.006 mm (0.107-0.137 mm, $n = 84$)、頭蓋指数 (cranium index, length / width \times 100; Bharti et al. 2019) は 102.3 ± 9.6 であった。頭部表面は滑らかで、26 本の分枝しない毛をそなえていた : 頭盾の腹縁に沿って 4 本、頬部 (gena) に 12 本、額部 (frons) に 4 本、頭頂部 (vertex) に 2 本、後頭部の縁に沿って 4 本。毛の長さは 8.7 ± 1.9 μ m (5 個体中 $n = 25$) であった。

口器 頭盾 (clypeus) は明瞭で感覚子をもたない (図 3-2e)。上唇 (labrum) は二葉型 (bilobed) で前面に 6 個の感覚子を持ち、幅は 62.1 ± 1.7 μ m ($n = 5$) であった。大顎 (mandibles) は亜三角形 (subtriangular) で底部は広く、内歯を欠く (図 3-2e)。長さは 0.034 ± 0.002 mm (0.029-0.038 mm, $n = 9$) である。小顎 (maxilla) は円錐形で、幅 36.1 ± 2.1 μ m ($n = 10$) であった。外葉 (galea) には 2 個の感覚子が付属する。小顎肢

(maxillary palp) は 2 個の感覚子をともなう。下唇 (Labium) は楕円形で、幅 $52.3 \pm 2.8 \mu\text{m}$ ($n = 5$) であった。下唇肢 (labial palp) は上部に感覚子をそなえる。

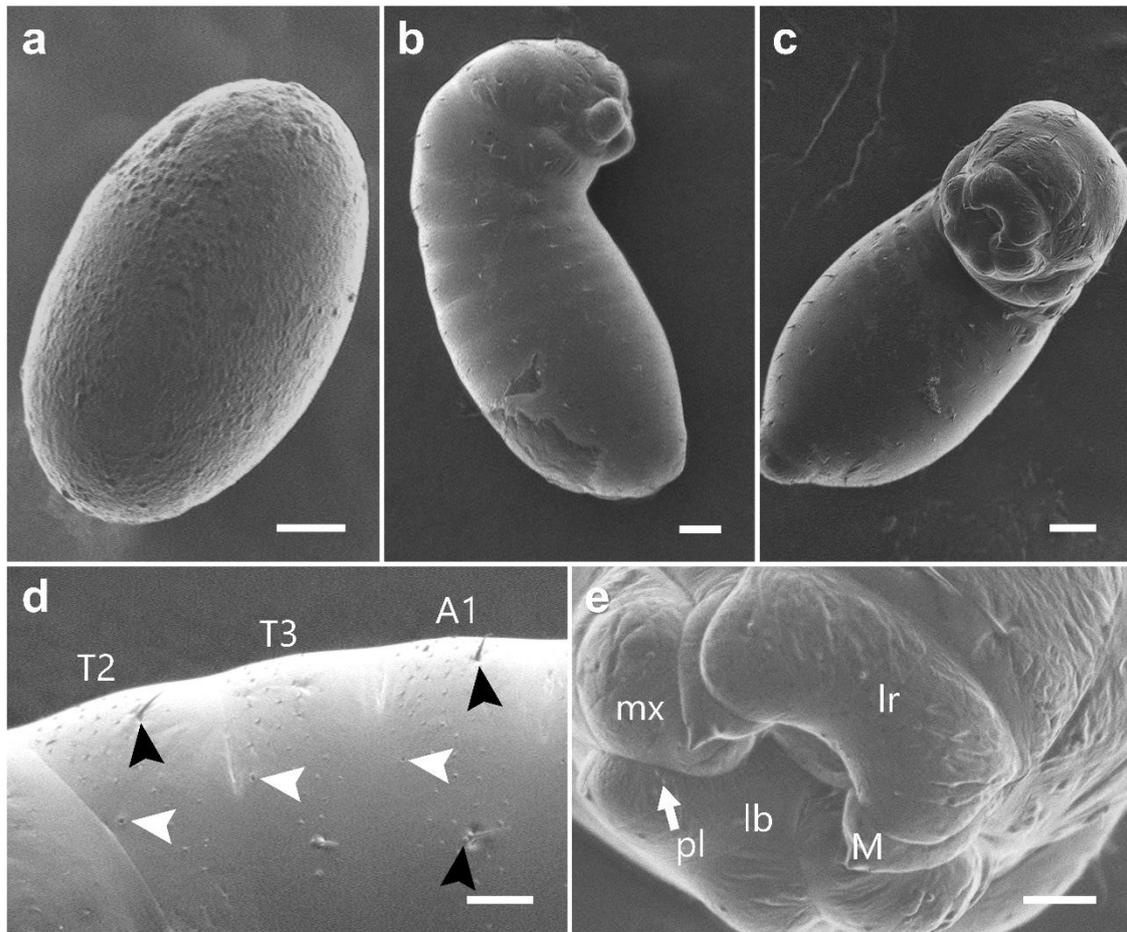


図 3-2. キイロヒメアリの卵と 1 齢幼虫

(a) 卵の側面図。(b) 側面から見た 1 齢幼虫。(c) 腹面から見た 1 齢幼虫。(d) 胸部第 2-3 節 (T2-T3) と腹部第 1 節 (A1) の気門 (白矢印) と体毛 (黒矢印)。(e) 1 齢幼虫の口器：上唇 (lr)，小顎 (mx)，大顎 (M)，下唇 (lb)，下唇肢 (pl)。スケールバーは、 $33.3 \mu\text{m}$ (a, b, c) あるいは $14.2 \mu\text{m}$ (d, e) を示す。

2 齢幼虫

全身 白色で、“pheidoloid” 型の形態を示す (図 3-3a)。腹面から見て体節は明瞭であり、頭部は垂円形を呈し、肛門は末端近くに位置する (図 3-3b)。体長は 0.459 ± 0.074

mm (0.281-0.593 mm, $n = 226$)、体幅 0.189 ± 0.021 mm (0.149-0.250 mm, $n = 226$)。気門を通る長さは 0.77 ± 0.18 mm ($n = 5$)。体毛は枝分かれせず、長さは 6.8 ± 2.0 μm (5 個体の $n = 25$) で、1 個体あたり 500-600 本 ($n = 5$)。隣り合う 2 本の毛の間隔は 13.8 ± 2.9 μm (5 個体の $n = 25$, 図 3-3c) であった。10 個の気門をもち、気門間の距離は 46.8 ± 4.8 μm ($n = 5$) であった。気門に縁取りはなく、第 1 気門の直径は 2.1 ± 0.3 , その他の気門の直径は 0.6 ± 0.1 μm ($n = 5$) であった。

頭部 頭蓋は亜円形で、長さ 0.146 ± 0.016 mm (0.108-0.189 mm, $n = 226$)、幅 0.137 ± 0.006 mm (0.124-0.152 mm, $n = 226$)、頭蓋指数は 106.4 ± 10.5 であった。頭部表面は滑らかで、26 本の 26 本の分枝しない毛をそなえていた。頭部表面は滑らかで、26 本の分枝しない毛をそなえていた：頭盾の腹縁に沿って 4 本、頬部に 12 本、額部に 4 本、頭頂部に 2 本、後頭部の縁に沿って 4 本。毛の長さは 12.9 ± 3.3 μm (5 個体の $n = 25$) であった。

口器 上唇は二葉型で前面に 6 個の感覚子をもち、幅は 67.3 ± 1.3 μm ($n = 5$, 図 3-3d) であった。大顎は Wheeler and Wheeler (1976) の定義によれば “ectatommoid”、すなわち「亜三角形で、内側に 1-2 個の歯をもち、先端は内側に曲がって歯を形成する」で、少なくとも 2 個の歯をもち、長さは 0.042 ± 0.002 mm (0.039-0.046 mm, $n = 13$) である。小顎は円錐形で、幅は 40.1 ± 1.6 μm ($n = 8$) である。外葉には 2 個の感覚子が付属する。小顎肢は 2 個の感覚子をそなえる。下唇は楕円形で、幅 51.5 ± 2.5 μm ($n = 5$)。下唇肢は上部に感覚子をともなう。

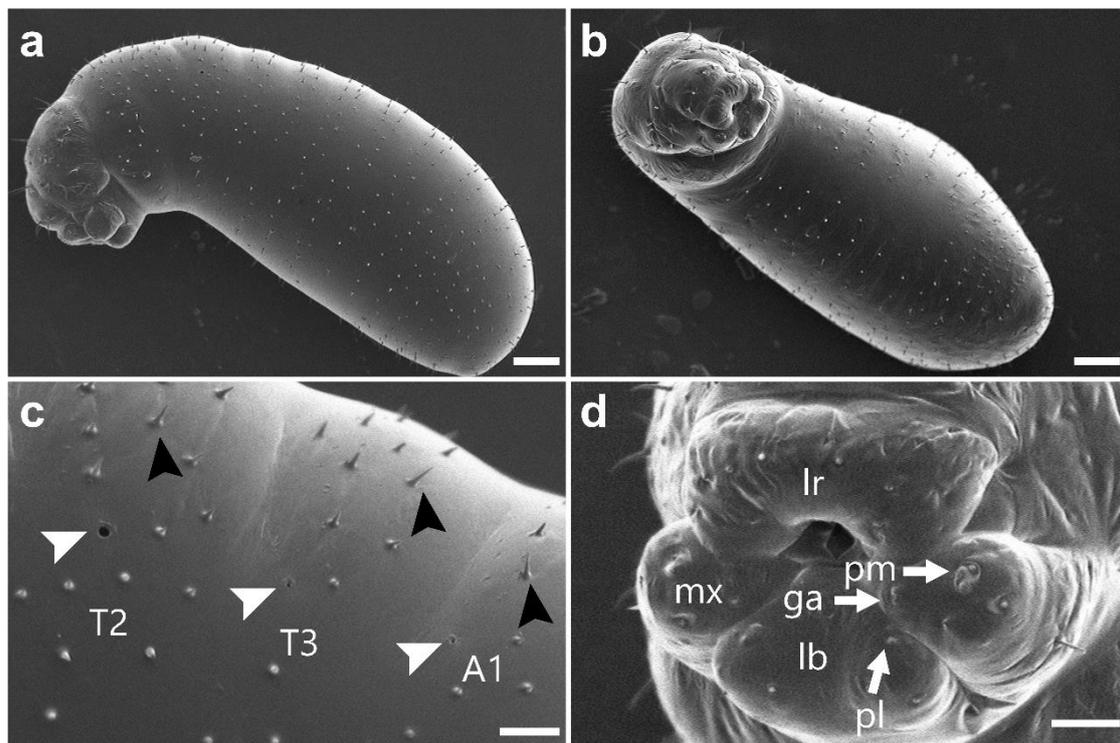


図 3-3. キイロヒメアリの 2 齢幼虫

(a) 側面。(b) 腹面。(c) 胸部第 2-3 節 (T2-T3) と腹部第 1 節 (A1) の気門 (白矢印) と体毛 (黒矢印)。(d) 口器：上唇 (lr)，小顎 (mx)，下唇 (lb)，小顎肢 (pm) と下唇肢 (pl)。スケールバーは、50 μm (a, b) あるいは 14.2 μm (c, d) を示す。

3 齢幼虫 (ワーカー)

全身 白色で、“pheidoloid” 型の形態を示す (図 3-4a)。腹面から見て体節は明瞭であり (図 3-4b)、頭部は垂円形を呈し (図 3-4c)、肛門は末端近くに位置する。体長は $0.847 \pm 0.192 \text{ mm}$ ($0.414\text{-}1.20 \text{ mm}$, $n = 164$)、幅は $0.360 \pm 0.087 \text{ mm}$ ($0.192\text{-}0.608 \text{ mm}$, $n = 164$)。気門を通る長さは $0.95 \pm 0.05 \text{ mm}$ ($n = 5$)。体毛は深く分岐して錨型となり、長さは $32.5 \pm 4.4 \mu\text{m}$ (5 個体の $n = 25$) で、1 個体あたり 400-500 本 ($n = 5$)。隣り合う 2 本の毛の間隔は $26.4 \pm 5.3 \mu\text{m}$ (5 個体の $n = 25$, 図 3-4d) であった。10 個の気門をもち、気門間の距離は $57.8 \pm 9.2 \mu\text{m}$ ($n = 5$)。気門に縁取りはなく、第 1 気門の直径は 2.2 ± 0.4 、その他の気門の直径は $0.7 \pm 0.2 \mu\text{m}$ ($n = 5$, 図 3-4e) であった。

頭部 頭蓋は亜円形で、長さ 0.189 ± 0.017 mm (0.134-0.227 mm, $n = 164$)、幅 0.175 ± 0.008 mm (0.146-0.191 mm, $n = 164$) ; 頭蓋指数は 108.3 ± 8.0 であった。頭部表面は滑らかで、26本の分枝した毛をそなえていた：頭盾の腹縁に沿って4本、頬部に12本、額部に4本、頭頂部に2本、後頭部の縁に沿って4本。毛の長さは 12.9 ± 3.3 μ m (5個体中 $n = 25$) であった。

口器 頭盾は明瞭で感覚子をともなわない (図 3-4d)。上唇は二葉型で前面に6個の感覚子をもち、幅は 65.5 ± 1.3 μ m ($n = 5$) であった。大顎は“ectatommoid”で3歯をもち、2齢のものより硬く、長さは 0.067 ± 0.003 mm (0.063-0.071 mm, $n = 5$) であった。小顎は円錐形で、幅は 46.9 ± 1.2 μ m ($n = 8$) であった。外葉には2個の感覚子が付属する。小顎肢は2個の感覚子をそなえる。下唇は楕円形で幅は 55.5 ± 4.2 μ m ($n = 5$)。下唇肢は上部に感覚子をもつ。

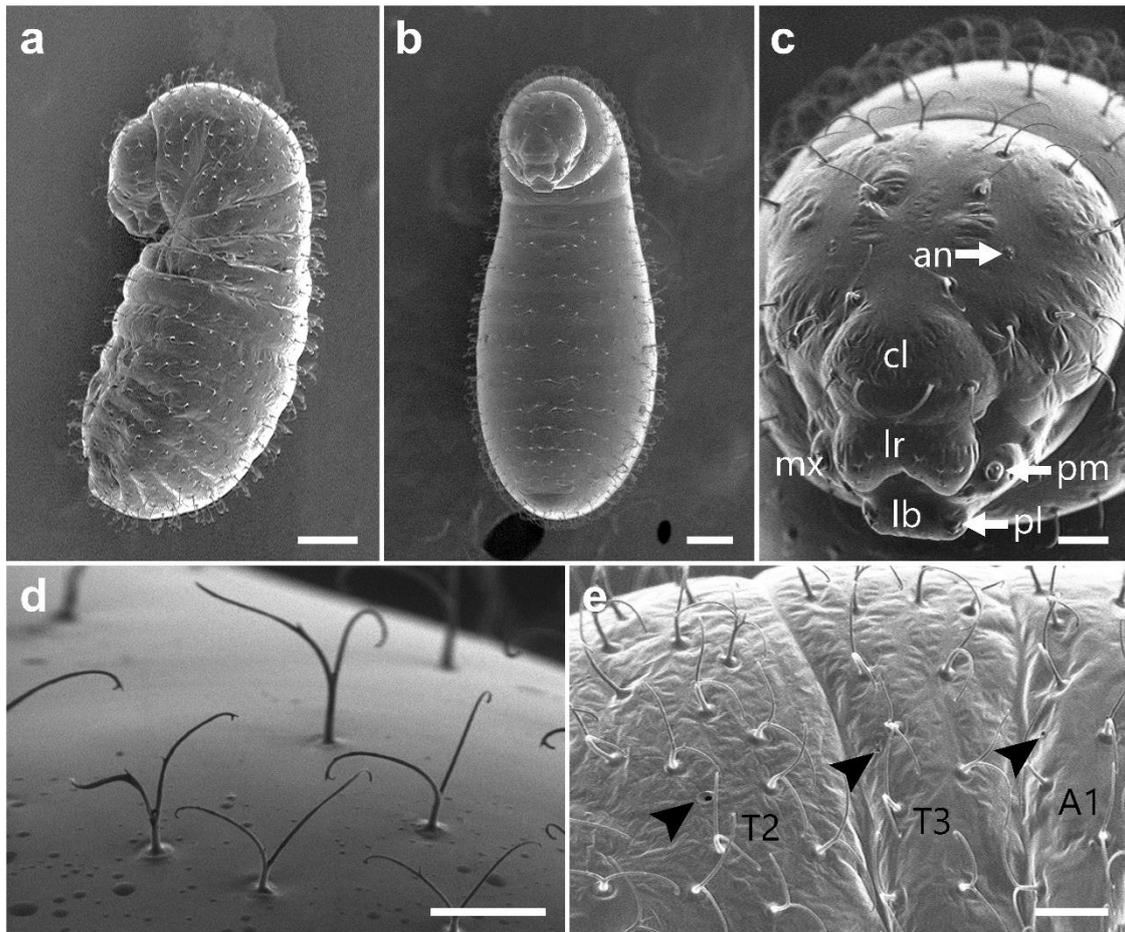


図 3-4. キイロヒメアリの 3 齢幼虫

(a) 側面。(b) 腹面。(c) 頭部および口器：触角 (an)，頭盾 (cl)，上唇 (lr)，小顎 (mx)，下唇 (lb)，小顎肢 (pm)，下唇肢 (pl)。(d) 胸部背面の錨状の体毛。(e) 胸部第 2-3 節 (T2-T3) と腹部第 1 節 (A1) 節の気門 (黒矢印) を示す。スケールバーは 100 μm (a, b) あるいは 25 μm (c, d, e) を示す。

終齢幼虫 (女王)

全身 白色で、胸部と腹部の間がくびれており (図 3-5a)、Wheeler and Wheeler (1976) の定義する “aphaenogastroid” の形態を示す。；腹面から見て体節は明瞭であり、頭部は垂円形を呈し、肛門は末端近くに位置する (図 3-5b)。体長は 1.756 ± 0.329 mm (0.742-2.291 mm, $n = 116$)、幅は 0.873 ± 0.194 mm (0.408-1.214 mm, $n = 116$)、気門を通る長さは 1.8-2.1 mm ($n = 2$) であった。腹部体節は無毛 (図 3-5a-c) であり、前胸部には分岐しな

い長さ $52.8 \pm 14.9 \mu\text{m}$ (2 個体の $n = 20$, 図 3-5d, e) の体毛が 1 個体あたり 50-70 本生えていた ($n = 2$)。隣り合う 2 本の毛の間の距離は $25.3 \pm 5.9 \mu\text{m}$ (2 個体の $n = 20$) であった。10 個の気門があり、気門間の距離は $118.5\text{-}213.4 \mu\text{m}$ ($n = 6$) だった。気門に縁取りはなく、第 1 気門の直径は $2.7\text{-}3.1 \mu\text{m}$ ($n = 4$)、その他の気門の直径は $1.3\text{-}1.8 \mu\text{m}$ ($n = 2$) であった。

頭部 頭蓋は歪円形 (図 3-5d) で、長さ $0.194 \pm 0.027 \text{ mm}$ ($0.096\text{-}0.256 \text{ mm}$, $n = 116$)、幅 $0.187 \pm 0.013 \text{ mm}$ ($0.16\text{-}0.220 \text{ mm}$, $n = 116$)、頭蓋指数は 103.9 ± 12.7 であった。頭部表面は滑らかで、26 本の分枝しない毛をそなえていた：頭盾の腹縁に沿って 4 本、頬部 (gena) に 12 本、額部 (frons) に 4 本、頭頂部 (vertex) に 2 本、後頭部の縁に沿って 4 本。毛の長さは $28.3 \pm 9.3 \mu\text{m}$ (2 個体の $n = 20$) であった。

口器 上唇は二葉型で前面に 6 個の感覚子をもち、幅は $77.5 \pm 2.2 \mu\text{m}$ ($n = 5$) であった。大顎は “ectatommoid” で 3 歯をもち、長さは $0.069\text{-}0.070 \text{ mm}$ ($n = 2$) であった。小顎は円錐形で、幅は $51.8 \pm 3.4 \mu\text{m}$ ($n = 8$) であった。下顎骨には 2 個の感覚子がある。外葉には 2 個の感覚子が付属する。小顎肢は 2 個の感覚子をそなえていた。下唇は楕円形で幅は $59.1 \pm 2.2 \mu\text{m}$ ($n = 5$)。下唇肢は上部に感覚子をもつ。

突起構造 背面に 9 対、側面に 6 対、腹面に 7 個という、合計 37 個の突起が発見された (表 3-2)。背面には、胸部 2-3 節と腹部 1-4 節に一对のドアノブ状の背面突起があり、直径は $72.3 \pm 9.4 \mu\text{m}$ 、長さは $134.0 \pm 52.7 \mu\text{m}$ ($n = 12$) であった。体の側面には、胸部 2-3 節と腹部 1-7 節にドアノブ状の突起があり、直径 $73.4 \pm 9.9 \mu\text{m}$ 、長さ $103.7 \pm 33.9 \mu\text{m}$ ($n = 36$) であった。腹部の突起は Wheeler and Wheeler (1976) の定義による “bosses”、すなわち「丸い末端を持つ隆起した構造」であった。胸部第 3 節と腹部第 1-3 節の前部 4 個の突起は、幅 $260.7 \pm 95.0 \mu\text{m}$ 、長さ $105.4 \pm 40.5 \mu\text{m}$ 、高さ $116.5 \pm 35.9 \mu\text{m}$

であり、明確な輪郭をもつ ($n = 8$)。腹部 4-6 節目の後方 3 つの突起は体からわずかに隆起し、明瞭な境界をもたない。すべての突起の表面には、微細な乳頭状の凹凸がみられた (図 3-5f, g)。それぞれの突起の表面には、開口部や分泌器官のような構造は認められなかった。

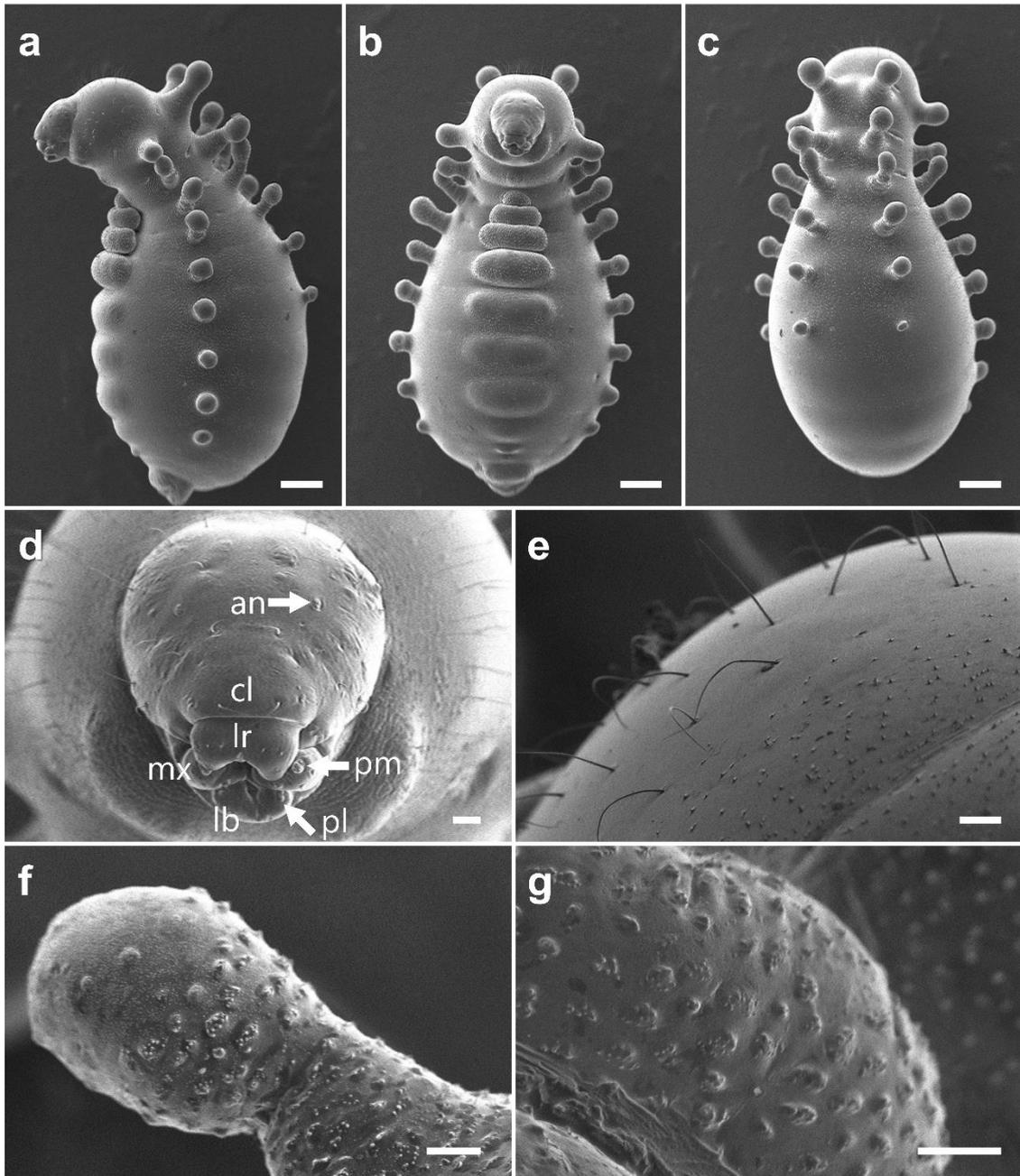


図 3-5. キイロヒメアリの女王の終齢幼虫

(a) 側面。(b) 腹面。(c) 背面。(d) 頭部と口器：触角 (an)，頭盾 (cl)，上唇 (lr)，小顎 (mx)，下唇 (lb)，小顎肢 (pm) と下唇肢 (pl)。(e) 体毛。(f) ドアノブ状の突起。(g) 腹部の突起構造。スケールバーはそれぞれ 142 μm (a, b, c) ; 20 μm (d, e, f, g) を示す。

表 3-2. キイロヒメアリの女王の終齢幼虫から発見された突起構造の位置とサイズ

体節	体側の突起サイズ (μm)		背面の突起サイズ (μm)		腹面の突起サイズ (μm)		
	直径	長さ	直径	長さ	幅	長さ	高さ
胸部第 1 節	なし	なし	なし	なし	なし	なし	なし
胸部第 2 節	61-76	116-141	80-95	184-210	なし	なし	なし
胸部第 3 節	77-87	102-120	67-82	160-210	101-217	52-75	43-79
腹部第 1 節	60-86	130-161	70-73	135-173	181-277	66-109	116-122
腹部第 2 節	66-93	119-168	69-73	113-135	238-349	89-138	123-152
腹部第 3 節	68-92	107-127	62-69	82-95	293-430	134-180	137-159
腹部第 4 節	73-82	92-111	59-67	46-65	不明瞭	不明瞭	不明瞭
腹部第 5 節	66-81	79-90	なし	なし	不明瞭	不明瞭	不明瞭
腹部第 6 節	55-75	54-70	なし	なし	不明瞭	不明瞭	不明瞭
腹部第 7 節	55-66	38-58	なし	なし	なし	なし	なし
腹部第 8 節	なし	なし	なし	なし	なし	なし	なし
腹部第 9 節	なし	なし	なし	なし	なし	なし	なし
腹部第 10 節	なし	なし	なし	なし	なし	なし	なし

蛹

繭を作らない裸蛹である。体長は、ワーカーで 0.99–1.12 mm ($n = 10$ 、図 3-6a)、女王では 2.20–2.49 mm ($n = 2$ 、図 3-6b) であった。蛹化直後は乳白色で、羽化が近づくにつれて、複眼は黒く、体は黄褐色となる。女王の胸部には翅が形成されていなかった。(図 3-6c)。

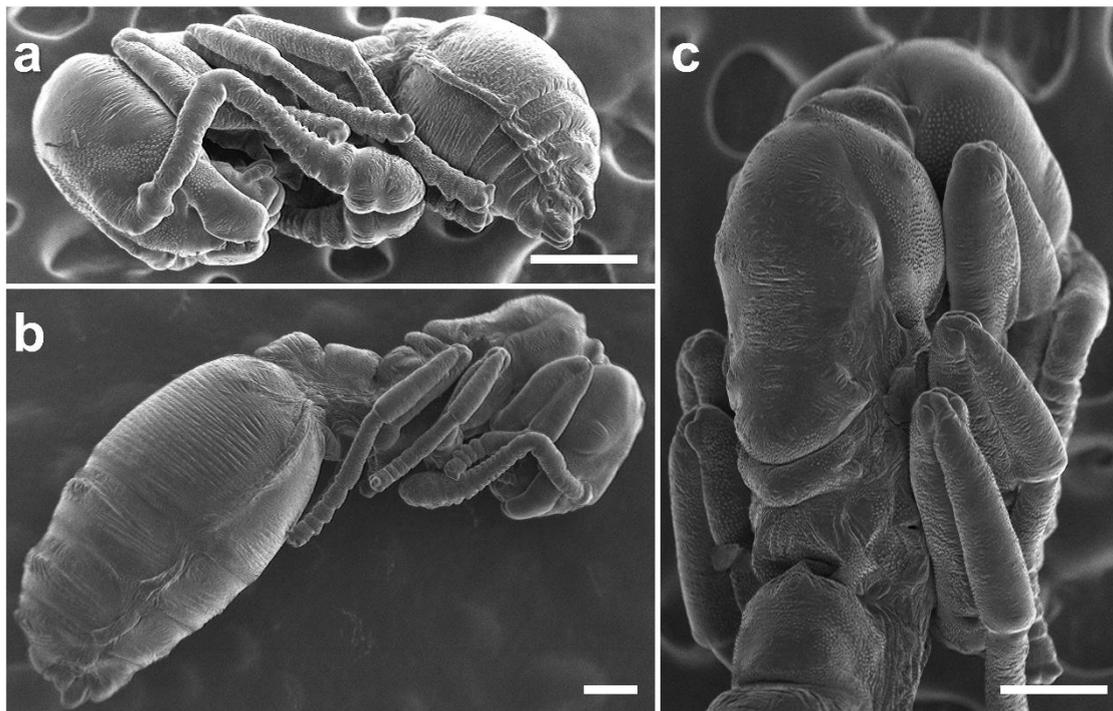


図 3-6. キイロヒメアリの蛹

(a) 側面から見たワーカーの蛹。(b) 側面から見た女王の蛹。(c) 背面から見た女王蛹の胸部。スケールバーは 200 μm を示す。

同属種におけるカーストの二型性

フタモンヒメアリ (*M. hiten*) とヒメアリ (*M. intrudens*), クロヒメアリ (*M. chinense*) の 3 種の終齢幼虫は、腹面から見た明瞭な体節、亜円形の頭部、末端付近に位置する肛門という形態的特徴を共有していた。ワーカーの幼虫は 3 種とも “pheidoloid” 型であり、胸部と腹部の体節には錨状の毛が見られた (図 3-7a~c)。また、フタモンヒメアリでは、生殖期のオスや女王の幼虫も “pheidoloid” 型であった (図 3-7d)。しかし、ヒメアリ (図 3-7e) とクロヒメアリ (図 3-7f) では、生殖幼虫は Wheeler and Wheeler (1976) が定義する “attoid” 型 (上唇から肛門までの距離と直径がほぼ等しい) を示していた。3 種ともに、生殖幼虫には錨状の分岐した毛は見られなかった。

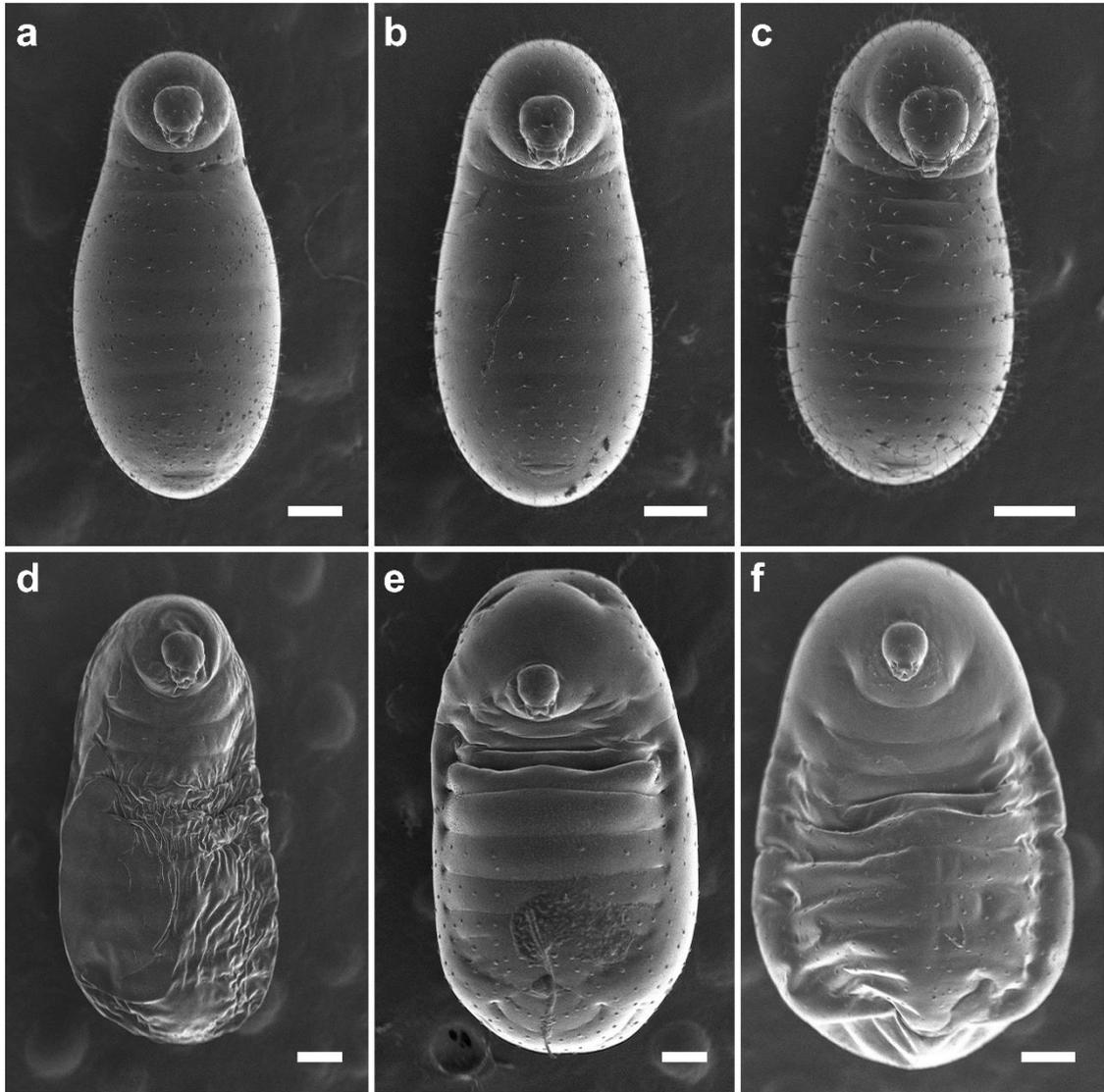


図 3-7. 腹面から見たヒメアリ属の最終齢幼虫の形態

(a) フタモンヒメアリ (*M. hiten*) ワーカー。(b) ヒメアリ (*M. intrudens*) ワーカー。
 (c) クロヒメアリ (*M. chinense*) ワーカー。(d) フタモンヒメアリ生殖虫。(e) ヒメアリ生殖虫。
 (f) クロヒメアリ生殖虫。スケールバーは 200 μm を示す。

女王の終齢幼虫の内部形態

女王の終齢幼虫を組織学的に観察したところ、背面と体側面のドアノブ状の突起（図 3-8a~b）と腹面の隆起（図 3-8c~d）は、表皮とクチクラが伸長した構造であった。これらの構造の内部には、筋肉や神経は認められなかった。ドアノブ状の突起では、クチクラの厚さは $8.6 \pm 1.8 \mu\text{m}$ ($n = 7$)、表皮の厚さは $11.6 \pm 3.3 \mu\text{m}$ ($n = 7$) で、他の部位におけるクチクラ ($4.2 \pm 0.2 \mu\text{m}$, $n = 9$) や表皮 ($4.9 \pm 1.0 \mu\text{m}$, $n = 9$) と比較して 2 倍程度厚かった。腹面の隆起は、やや厚いクチクラ ($5.78 \pm 1.11 \mu\text{m}$, $n = 5$) と著しく厚い表皮 ($16.42 \pm 4.09 \mu\text{m}$, $n = 5$) で形成されていた。また、腹面の隆起には、表皮に囲まれた小さな細胞（脂肪体の可能性がある）が観察された（図 3-8d）。ドアノブ状の突起や腹面の隆起において、特殊な分泌細胞や開口部のような構造は見いだせなかった。

発育期間

53 日間の実験期間中に、211 個の卵が産下され、166 頭の 1 齢幼虫が巢内に出現した（表 3-3）。産卵からふ化までの平均期間は 13.39 ± 2.28 日と推定された。また、若齢幼虫（=1 齢および 2 齢）については、導入された 70 個の卵のうち、孵化した 32 頭すべてが終齢幼虫となり、平均期間は 7.31 ± 1.00 日と算出された。終齢幼虫の処理区では、80 頭の若齢幼虫のうち 72 頭が脱皮し、そのうち 51 頭が蛹化に至った。終齢幼虫の期間は 4.43 ± 1.10 日と推定された。蛹の処理区では、70 頭の最終齢幼虫のうち 33 頭が蛹になり、22 頭がワーカーとして羽化した。羽化までに要する蛹期間は 16.87 ± 1.55 日と計算できた。このことから、キイロヒメアリのワーカーの卵から成虫に至るまでの発育期間は合計 59 日と推定された。

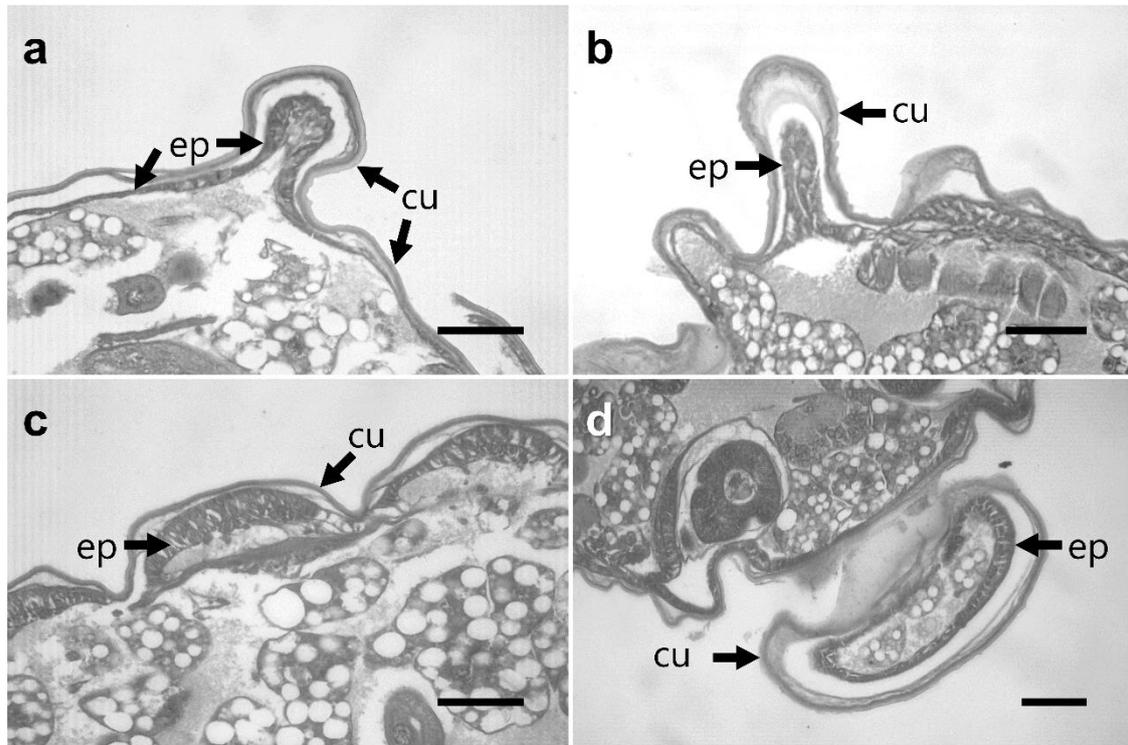


図 3-8. キイロヒメアリの女王の終齢幼虫における突起構造の組織学的観察

(a) 背面ドアノブ状突起の断面図。(b) 側面ドアノブ状突起の断面図。(c) 腹部の楕円状突起の縦断面。(d) 腹部楕円状突起の断面図。スケールバーはすべて 50 μm を示す。また、表皮 (ep) とクチクラ (cu) を矢印で示す。

表 3-3. キイロヒメアリの未成熟期の発育期間と各期の観察個体数

発生ステージ	使用した巣の数	観察個体数	発育期間 (日)	
			平均値 \pm SD	範囲
卵	18	166	13.39 \pm 2.28	8-22
若齢幼虫	7	32	7.31 \pm 1.00	6-9
老齢幼虫	8	51	18.31 \pm 3.29	13-26
前蛹	8	51	4.43 \pm 1.10	1-7
蛹	7	23	16.87 \pm 1.55	13-20

考察

キイロヒメアリの幼虫は、体長の分布パターンと体毛タイプの組み合わせから、3 齢を経て蛹に至ると推定された。これは一般にアリ科で最も少ない幼虫齢数であり、サスライアリ亜科 (Dorylinae)、デコメハリアリ亜科 (Ectatomminae)、ヤマアリ亜科

(Formicinae)、フタフシアリ亜科 (Myrmicinae) の 4 亜科から報告されている (Solis et al. 2010a)。フタフシアリ亜科では、ヒメアリ属のイエヒメアリとフタイロヒメアリを含む 16 種から 3 齢の幼虫が知られている (Solis et al. 2010a; Bharti and Gill 2011; Bharti et al. 2019)。キイロヒメアリにおいて計算された各齢の間の成長率は、脱皮による成長の比率が 1.1~1.9 で一定であるという Dyar の法則と一致する (Parra and Haddad, 1989)。キイロヒメアリの幼虫の成長率は 1.19 で、フタイロヒメアリ (1.23; Solis et al. 2010a) やイエヒメアリ (1.36; Alvares et al. 1993) に比べて小さいことがわかった。これは成虫の体長が、キイロヒメアリでは約 1.5 mm、フタイロヒメアリでは 1.7-2.0 mm (Wetterer 2010a)、イエヒメアリでは 2.2-2.4 mm (Wetterer 2010b) と異なることを反映しているのかもしれない。

キイロヒメアリの全発生期間は約 59 日 (卵 : 13 日 + 幼虫 : 29 日 + 蛹 : 17 日) と推定された。この結果は、熱帯に分布する同属種のイエヒメアリ (egg: 11 days + larva: 22 days + pupa: 12 days, 27°C; Pontieri et al. bioRxiv) やフタモンヒメアリ (egg: 12 days + larva: 17 days + pupa: 20 days, 24°C; Ito et al. 2021) よりもやや長い。なお、キイロヒメアリは日本の温帯地域に分布し、越冬時には幼虫が発育を停止するため、自然条件下では幼虫期間が延長される可能性がある。

Adams ら (2021) は、アリの幼虫の性やカーストの識別には、量的形質と質的形質の組み合わせが有効であることを示唆した。今回の結果から、キイロヒメアリにおいてもこの手法が効果的であることが示された。各齢の体サイズは重複していたものの (図 3-1)、体毛の数や形状を考慮することで区別できた (表 3-1)。ヒメアリ属のいくつかの種では、幼虫が深く枝分かれした錨状の体毛をもつことが報告されている (Solis et al. 2010a; Penick et al. 2012)。キイロヒメアリにおいても、3 齢のワーカー幼虫はこの錨状の体毛を

全身に保有していた。これに対して、女王の終齢幼虫は前胸部にのみ単純な体毛をもつ。同属のヒメアリとクロヒメアリ、フタモンヒメアリの3種でも、ワーカー幼虫には枝分かれした体毛があり、繁殖虫の幼虫にはほとんど毛がないという、カースト特異的なパターンが共有されていた。このような体毛のカースト二型は、同属種である *M. minimum* (Wheeler and Wheeler 1955) やイエヒメアリ (Edwards 1991) で以前から知られていた。このパターンはヒメアリ属で広く共有されており、幼虫のカーストを識別するために有用な形質であると考えられる。

キイロヒメアリの終齢幼虫のカースト二型は、観察された他の近縁種よりもさらに顕著であった。キイロヒメアリの女王幼虫は“*aphaenogastroid*”型で、胸部と腹部の背面と側面にはドアノブ状の突起が並んでおり、また腹部の腹面には楕円形の隆起がある。これらの構造が側方、背方、腹方で明確に区分され、特に胸部の第1節と腹部末端に存在しないというパターンがみられた (表 3-2)。胸部の第1節 (Keller et al. 2014) と腹部の末端 (Lieberman et al. 2021) は特にカースト分化において顕著な差異がみられる部位として知られており、カースト特異的な発生過程を調べるよい機会を提供している。

また、キイロヒメアリの女王の蛹は、胸部に翅をもたない無翅型であった。無翅女王の報告は、本種のように女王が絶対産雌性単為生殖を行なうアリでは初となる (4章および5章にて詳述)。

アリの幼虫では、様々な亜科から特異な形態が報告されている (表 3-4)。フタフシアリでは、キイロヒメアリに類似したカースト二型がシリアゲアリ属 (*Crematogaster*) で報告されている。*C. rivai* var. *luctuosa* や *C. scutellari* の老齢幼虫には、腹部側面に突起構造の列があり (Menozzi 1930; Eidmann 1926)、それらの個体は女王への分化が推測されるという (Casevitz-Weulersse 1984)。一方、カタアリ亜科 (Dolichoderinae) の中には、ワ

一カー幼虫にしか突起がみられないものもある (Solis et al.2010b など)。これらの突起構造の発生学的な相同性は不明であるものの、このような系統樹上の分布は幼虫における収斂進化を示唆している。

Wheeler and Wheeler (1976) は、アリの幼虫における突起の機能として、(1) 姿勢の維持、(2) 幼虫どうしの共食いに対する防御、(3) 巣の天井や壁への付着、(4) 成虫との栄養交換のための器官、(5) 体表に餌を保持するための構造、の5つを提唱した。これらの仮説は、Masuko (2019)、Fox ら (2017) など一部の例外を除き、十分に検証されていない。今回の形態学的・組織学的観察では、キイロヒメアリの女王幼虫の突起に開口部や分泌細胞などの特殊な構造は認められなかった。他の多くの事例と同様に、キイロヒメアリ幼虫の女王特異的な突起構造の機能は、現時点ではまだ不明である。この女王幼虫が巣内の他個体とどのような相互作用をもつのか、行動学的な解析を行なう必要がある。このような特殊な幼虫の機能をさらに詳しく調べることで、複雑なアリ社会で幼虫が果たしている、隠れた本質的な役割を理解することができるだろう。

表 3-4. これまでに報告されたアリ類の幼虫における特殊な体表構造

引用した文献は次の通り。1, Masuko 1989; 2, Masuko 2019; 3, Taylor 1965; 4, Wheeler 1918; 5, Villet et al. 1990; 6, Petralia and Vinson; 1979; 7, Taylor 1967; 8, Wheeler and Wheeler 1971; 9, Peeters and Hölldobler 1992; 10, Fox et al. 2017; 11, Wheeler and Wheeler 1966; 12, Shattuck 1992; 13, Solis et al. 2010b; 14, Eidmann 1926; 15, Menozzi 1930; 16, Casevitz-Weulersse 1984.

亜科	属	体節	位置	構造	カースト	齢	機能	文献
Leptanillinae	<i>Leptanilla</i>	腹部	背面	ダクト状の開口部	NA	終齢	栄養交換	1
Proceratiinae	<i>Probolomyrmex</i>	腹部	後背面	吸盤のような付属物	NA	-	壁や天井への付着	3
Proceratiinae	<i>Proceratium</i>	腹部	背面	スリット状の開口部	NA	終齢	栄養交換	2
Pseudomyrmecinae	<i>Tetraponera</i>	胸部, 腹部	腹面	大きな突起構造	NA	すべての齢	栄養交換	4
Ponerinae	<i>Odontomachus, Pachycondyla, Leptogenys</i>	腹部	背面	突起構造	NA	-	餌の保持	6
Ponerinae	<i>Brachyponera, Cryptopone, Hypoponera, Odontomachus, Ponera, Myopias, Simopelta, Belonopelta</i>	腹部	背面	対をなすドアノブ状の突起	NA	種ごとに異なる	姿勢の維持, 付着	7, 8, 9, 10
Ponerinae	<i>Platythyrea</i>	腹部	腹面	単一の円錐状の突起	ワーカー	終齢	栄養交換	5
Dolichoderinae	<i>Tapinoma</i>	腹部	後背面	単一の突起	ワーカー	NA	NA	11, 12
Dolichoderinae	<i>Froggattella</i>	腹部	背面	対をなさない突起	ワーカー	すべての齢	NA	11, 12
Dolichoderinae	<i>Linepithema</i>	腹部	背面	単一の突起	ワーカー	すべての齢	NA	12, 13
Myrmecinae	<i>Monomorium</i>	胸部, 腹部	側面, 背面	対をなすドアノブ状の突起	女王	終齢	NA	本研究
Myrmecinae	<i>Monomorium</i>	胸部, 腹部	腹面	楕円状の隆起	女王	終齢	NA	本研究
Myrmecinae	<i>Crematogaster</i>	腹部	側面	よく発達した伸長構造	女王?	終齢	NA	14, 15, 16

第4章 巣レベルの自己複製システムと社会遺伝構造

はじめに

アリ類は 14,000 種以上からなる多様なグループであり (Bolton 2022)、その社会のありようは種や個体群によって大きく異なる。コロニーの総個体数やカースト構成、コロニーあたりの繁殖者や巣の数などの社会構造の多様性は、集団レベルの生活史形質がいかに進化してきたのかを検証する機会を提供している (Heinze 2017)。また、社会進化の過程を議論する上で血縁選択の視点を欠くことはできず (Hughes et al. 2008a)、コロニーや巣を構成する個体同士がどのような遺伝的關係にあるのかという社会遺伝構造を解明することも重要である。社会構造や社会遺伝構造は、各カーストの形態やサイズ、遺伝様式や交尾回数などの個体に帰属する要因と、新巣の創設様式やカースト分化の社会的制御機構、巣仲間認識機構などコロニーレベルの要因の組み合わせにより形作られる。

産雌性単為生殖を行なうアリは、コロニー集団に単純な社会遺伝構造をもたらさう点で興味深い個体レベルの繁殖システムである。アリ類の産雌性単為生殖システムには、I型：ワーカーによる絶対産雌性単為生殖、II型：女王による使い分け産雌性単為生殖、III型：女王による絶対産雌性単為生殖の3つのタイプがある (Fournier et al. 2005; Foucaud et al. 2005, 1章を参照)。いずれのシステムにおいても、遺伝様式が明らかになっている種では母と娘が同じヘテロ接合の遺伝子型となることが知られている (Rabeling and Kronauer 2013; Barros et al. 2022)。とりわけI型およびIII型の絶対産雌性単為生殖を採用する種では、コロニーのすべての個体が単為生殖により生産されるため、単一クローンからなる極端な社会遺伝構造が出現しうる。実際、ワーカーが産雌性単為生殖を行なうクビレハリアリ (*Ooceraea biroii*) では、コロニー内の血縁度は 0.996 と高い値を示す (Oxley et al. 2014)。しかし一方で、絶対産雌性単為生殖が必ずしも高い血縁度に帰結しない例もある。クビレハリアリと同じ単為生殖システムをもつアミメアリ (*Pristomyrmex punctatus*) やヒラバナハリアリ (*Platythyrea punctata*) では、しばしば一つのコロニー内に複数のクローン系統がみられる (Schilder et al. 1999b; Dobata et al. 2009)。これらの種では越冬時や

巣場所の不足時にコロニーが融合すると考えられており (Kellner et al. 2010; Satow et al. 2013)、単為生殖種の社会遺伝構造を調べるうえでコロニーレベルの生活史に注目する必要性を強調している。

これらの I 型の単為生殖種とは対照的に、女王が絶対産雌性単為生殖を行なう III 型の単為生殖システムをもつアリの社会遺伝構造に関するデータは不足している。これまでに、単一のマイクロサテライト遺伝子座を用いたイバラキノコアリ (*Mycocetopus smithii*) の例 (54 個体/9 巣; Himler et al. 2009) と、RAPD 法によりトカラウロコアリ (*Strumigenys membranifera*) を調べた例 (10 個体/実験室内で累代飼育された 1 巣; Hasegawa et al. 2018) のみが報告されている。このタイプの単為生殖種の社会遺伝構造を議論するためには、より解像度の高いデータセットが必要となる。

そこで、女王が絶対産雌性単為生殖を行なう III 型の単為生殖であるキイロヒメアリ (*Monomorium triviale*) の社会構造と遺伝構造を明らかにした。ヒメアリ属 (*Monomorium*) は本種とフタモンヒメアリ (*M. hiten*) の 2 種において III 型の単為生殖システムが独立に獲得されたことが示唆されている注目すべき属であるとともに、多様なコロニーレベルの生活史形質が知られている。特にコロニーの分散戦略は属内で繰り返し進化してきたと考えられ、女王が有翅型 (通常、女王が単独で独立創設) の種と無翅型 (通常、女王がワーカーをともなって従属創設) の種、あるいは種内で二型性を示す種が報告されている (Johnson and Overson 2017)。また、イエヒメアリ (*M. pharaonis*) やフタイロヒメアリ (*M. floricola*) は、種内において個体間の敵対性が失われた融合コロニー性とみなされている (Helanterä et al. 2009)。

本研究では、キイロヒメアリの社会構造を明らかにするために、野外調査を行なって巣を構成する女王とワーカーの個体数を調べた。また、ワーカーと女王の間接的な個体や、女王内のサイズ多型の有無を確かめるために、ワーカーと女王のサイズ分布を調べた。さらに、巣内で発見された複数の女王のうち、実際に繁殖に関与している個体の内訳を調べるために、解剖により繁殖ステータスを確認した。そのうえで、本種の社会遺伝構造を解

明するために集団遺伝学的解析を行ない、社会構造の調査結果との整合性を確かめた。また、本種の短距離分散性から予想される距離による隔離 (Isolation by distance: IBD) のパターンが遺伝的距離にみられるかどうか検証した。さらに、本種は女王の形態から従属創設による短距離分散を行なうと考えられ、母巢と娘巢がごく近い距離にあると予想された。そこで巣間の相互作用に着目し、異なる巣のワーカー間において敵対的な行動がみられるか調べた。

材料と方法

巣内のカースト構成

キイロヒメアリの巣のカースト構成を明らかにするため、2017年から2021年にかけて、京都府京都市の宝ヶ池公園（北緯 35.060087、東経 135.788488）において、キイロヒメアリの巣を350個採集した（巻末付録2）。営巣場所は枯枝の中空部やカシ類のドングリの中、シダ類の枯れ葉の葉柄の中など、植物の枯死体や腐朽部であり、全体を容易に回収することができた。各巣の採集地点を、GPS ロガー (MAP64scJ, GARMIN, USA) により記録した。採集した巣を実験室に持ち帰り、30 mmシャーレに全個体を取り出して、女王とワーカー、および各カーストのブルード（幼虫と蛹）を計数した。巣の女王数がワーカー数に与える効果を調べるため、ワーカーの個体数を応答変数に、女王数およびカテゴリ化した採集月・採集年を説明変数に、巣の ID をランダム効果として、ポアソン分布を仮定した GLMM を用いた。説明変数の効果が有意かを調べるために尤度比検定を行なった。また野外調査の結果、夏季（2017年7月18日から8月19日、2019年7月24日、2020年7月12日から8月1日、2021年6月28日と7月6日）に採集した巣において女王の幼虫や蛹がみられたため、この期間に得られた109巣を繁殖時季の巣として抽出し、巣の女王数やワーカー数がブルードの総生産数やブルードのカースト分化運命（女王ブルードとワーカーブルードの比率）に与える影響を解析した。ブルードの総個体数や総個体数に占める女王ブルードの割合を応答変数に、女王数とワーカー数を説明変数に、巣の ID をラン

ダム効果として、ブルードの総生産数にはポアソン分布、女王ブルードとワーカーブルードの比率には二項分布を仮定した GLMM を用いた。説明変数の効果が有意かを調べるために尤度比検定を実施した。

カーストのサイズ分布

キイロヒメアリにサブカーストや中間カーストが存在するかどうかを調べるため、カーストごとのサイズ分布を調べた。2017年から2020年にかけて採集した30巣から得た、形態的に女王と考えられる104頭、ワーカーと考えられる48頭をデジタル顕微鏡（VHX-900；キーエンス）で撮影し、体サイズの指標として、頭部の最大幅を ImageJ（Schneider et al.2012）を用いて測定した。それぞれのカーストの頭幅の分布が正規性を満たすかどうか、Shapiro-Wilk 検定により調べた。また、女王の潜在的な繁殖能力の指標として、卵巣小管数を解剖により調べた（方法は次項にて述べる）。女王の体サイズと潜在的な繁殖能力卵巣小管数の関係を調べるため、個体の卵巣小管関数を従属変数に、頭幅を説明変数に、巣の ID をランダム効果として、正規分布を仮定した GLMM を用いた。説明変数（頭幅）の効果が有意かを調べるために尤度比検定を用いた。

巣内の女王における繁殖の偏り

巣内から得られた女王の繁殖ステータスを調べるため、2020年に得られた16巣から41個体を取り出し、内部生殖器を解剖した。まず、女王を70%エタノールに3分間浸して固定した。その後、蒸留水を満たした30mmシャーレに体を移し、双眼実体顕微鏡（SZ40; OLYMPUS Optical, Tokyo, Japan）下で精密ピンセットを用いて腹部末端から生殖器官を引き抜いた。各個体の卵巣小管を計数するとともに、産卵経験の指標として、卵巣に黄体が蓄積されているかどうかを確認した。

社会遺伝構造

サンプリング

2020年から2021年にかけて、京都府京都市の山林においてキイロヒメアリの巣を採集した。巣ごとの遺伝構造を調べるために、生息地内の約400 m離れた2つの採集サイトから、構成個体数にばらつきのある6巣ずつを選んだ。それぞれの採集サイトは約10×5 mの連続したササの茂みからなる。キイロヒメアリは、地表に落ちていたササの枯枝に営巣していた。各巣からはワーカーを8個体、女王を1から8個体取り出し、解析に供した。また、調査集団における遺伝子頻度のレファレンスとするために、33巣から1個体ずつ取り出した女王個体も用いた。さらに京都集団の単系統性を検証するため、京都以外の国内10産地から得た10個体も加え、合計192個体からDNAを抽出した(表4-1)。

DNA 配列データの取得

全ての個体を99.5%エタノールで固定したのち、QIAamp DNA Micro Kit 50 (QIAGEN, Valencia, CA, USA) で全身からゲノムDNAを抽出した。得られたDNA収量をQubit 4 Fluorometer (Thermo Fisher Scientific) により測定したところ、十分量(20ng/uL×5uL)に達していなかったため、GenomiPhi DNA Amplification Kit (Amersham Biosciences, NJ, USA) を用いて全ゲノム増幅を行なった。RAD-Seq用ライブラリーはEtter et al (2011)の方法に従って作成した。制限酵素としてEcoRIおよびBglIIを用い、Illumina HiSeq X (Illumina, San Diego, CA, USA) の150 bp ペアードエンドリードで配列を決定した。

SNP 多型の検出

FASTQ形式の塩基配列データから、Trimmomatic v0.39 (Bolger et al. 2014) を用いてアダプター配列を除去した。各個体の配列について、Bowtie 2 version 2.4.5 (Langmead and Salzberg, 2012) によりキイロヒメアリのドラフトゲノム (Dobata unpublished) へのマッピングを行なった。これにより得られたBAM形式のマッピング結果ファイルから、

Stacks 2 (Catchen et al. 2011; 2013; Rochette 2019) を用いて SNP コールを行なった。全個体数のうち 80% で遺伝子型が決定されている座位を抽出し、以降の解析に用いた。

表 4-1. 集団遺伝学的解析に用いた個体の内訳とフィルタリングの結果

処理区	個体群	巣の ID	サンプリング 個体数		フィルタリング 通過個体数	
			女王	ワーカー	女王	ワーカー
巣の遺伝構造の解析	京都	Mtri_20210628_02	3	8	3	7
〃	〃	Mtri_20210628_04	8	8	8	8
〃	〃	Mtri_20210628_05	8	8	8	7
〃	〃	Mtri_20210628_06	7	8	7	2
〃	〃	Mtri_20210628_07	1	8	1	8
〃	〃	Mtri_20210628_09	8	8	8	8
〃	〃	Mtri_20210706_02	6	8	5	5
〃	〃	Mtri_20210706_05	4	8	3	3
〃	〃	Mtri_20210706_06	2	8	2	4
〃	〃	Mtri_20210706_07	3	8	3	2
〃	〃	Mtri_20210706_08	2	8	1	7
〃	〃	Mtri_20210706_10	1	8	0	4
コンセンサス配列決定のための レファレンス個体	京都	Mtri_20200604_01 ほか 33 巣	33	0	23* ¹	0
外群	島根	MO_37	0	1	0	0
〃	岐阜	M015-33	0	1	0	0
〃	千葉	Mtri_20170618_14	1	0	0	0
〃	大阪	Mtri_20171109_02	1	0	0	0
〃	香川	Mtri_20210630_09	1	0	1	0
〃	愛媛	Mtri_20210701_01	1	0	1	0
〃	茨城	Mtri_20210709_33	1	0	1	0
〃	東京	Mtri_20210710_04	1	0	1	0
〃	愛知	Mtri_20210711_09	1	0	1	0
〃	滋賀	Mtri_20210716_01	1	0	0	0

*1: 2 段階のフィルタリングのうち、最初のステップを通過したもの

SNP データのフィルタリング

RADseq データセットからは数千の SNP が得られるが、その中には低クオリティのサンプルに由来する配列や、カバレッジが異常に高い、あるいは低いデータによるジェノタイプングエラーが含まれ、適切なフィルタリングを行なう必要がある (O'Leary et al 2018)。とりわけ、今回のように全ゲノム増幅により得られたデータセットでは、対立アレルの一方が異常に増幅されることにより誤ってホモ接合と判別されるおそれがある (de Medeiros and Farrell 2018)。このジェノタイプングエラーを除去するため、大きく 2 つのステップからなるフィルタリングスキームを採用した。まず、SNP データのカバレッジに基づく厳格なフィルタリングにより、京都集団におけるコンセンサス配列を決定した。そのうえで各個体において、コンセンサス配列との異同を考慮した SNP データのフィルタリングを実施した。コンセンサス配列の決定と、個体の SNP データのフィルタリングの具体的な手順を以下に述べる。

京都集団におけるコンセンサス配列を決定するために、まず個体ごとに各 SNP サイトのカバレッジを集計した。各個体において、カバレッジが上位 10%以上と下位 10%以下の SNP は、過剰または過少なデータとして欠測値とみなした。さらにカバレッジが 15 に満たない SNP も欠測値とした。その上で、マイナーアレル頻度が 5%に満たない SNP サイトを除去した。また、1 個体のみで検出された稀なジェノタイプ (シングルトン) も欠測値とした。最後に、全個体数のうち欠測個体数が 3 割を超える SNP サイトを除去するとともに、全 SNP サイト数のうち欠測サイト数が 3 割を超える個体を除去した。これらのフィルタリングにより、136 個体、1117 SNPs からなるデータセットを得た。このデータセットのうち、京都集団のレファレンスとするために各巣から 1 個体ずつ取り出した女王 23 個体を抽出した。これらの個体において多数を占める遺伝子型を調べ、コンセンサス配列を決定した。なお、それぞれの SNP 座位において、多数を占める遺伝子型の遺伝子頻度は 1.0 から 0.68 であった。

上記のフィルタリングにより得られたコンセンサス配列をもとに、個体の SNP データ

のフィルタリングを行なった。まず各個体において、コンセンサス配列と整合する SNP 座位については、カバレッジが 5 に満たないデータのみを欠測値とした。これに対して、コンセンサス配列とは異なる遺伝子型を示すデータについてはより厳しいフィルタリング基準を設け、各個体において、カバレッジが上位 10%以上と下位 10%以下の SNP は欠測値とみなすとともに、カバレッジが 15 に満たない SNP も欠測値とした。その後、全 SNP サイト数のうち欠測サイト数が 1 割を超える個体を除去した。一連のフィルタリングを通過した京都集団の 12 巣から得られた 114 個体と、京都以外の産地から得られた 5 個体を、以下の解析に用いた (表 4-1)。

集団遺伝学的解析

集団遺伝学的解析には、SNP 間の連鎖不平衡が集団構造や系統解析にもたらすバイアスを避けるため、1 遺伝子座につきランダムな SNP を 1 つだけ保持し、合計 805 SNPs からなるデータセット (欠測率 1.98%) を用いた。2 つの採集サイト間および巣間の遺伝構造を調べるため、統計解析ソフト R v4.1.2 (R Core Team 2021) を用いて次の解析を行なった。パッケージ hierfstat (Goudet 2005) により、各巣をサブ集団として、全集団の F 統計量を求めた。採集サイトおよび巣ごとに遺伝的なまとまりがみられるか調べるため、パッケージ adegenet (Jombart 2008) を用いて主成分分析 (PCA) を行なった。また、個体間の系統関係を明らかにするための遺伝的距離を計算するにあたり、キイロヒメアリの単為生殖性を鑑みて、個体間のホモ接合の共有に注目した。多くの単為生殖性の生物では世代ごとにヘテロ接合性の喪失 (Loss of heterozygosity: LOH) が生じるため、ある個体どうしがホモ接合性を共有していることは、個別のアリルを共有していること以上に系統的な近縁性を反映していると考えられたからである。そこで、すべての個体の組み合わせに対して、個体間の接合性共有率を算出し、これを 1 から差し引いた接合性共有距離 (Zygosity sharing distance) を個体間の遺伝的距離の指標に用いた。なお計算に際しては、データセットに含まれる欠測値が接合性共有距離の計算にもたらす影響を抑えるために、

各座位における欠測値を集団全体の平均値に置き換えた。

これにより得られた個体間の距離行列をもとに、パッケージ `ape` (Paradis and Schliep 2019) により、近隣結合法による系統樹を描画した。外群には、茨城県および東京都、愛知県、香川県、愛媛県から得られた各 1 個体の女王を用いた。また、各枝のブートストラップ支持確率を 100 回の反復試行により求めた。さらに系統樹とは異なるアプローチとして、コンセンサス配列を祖先状態とみなし、個体間の接合性共有距離に基づいて、ランダム化最小全域ネットワーク (randomized minimum spanning tree, Paradis 2017) を作成した。計算には、パッケージ `pegas` (Paradis et al. 2021) を用いた。また、巣間の遺伝的な距離を調べるため、Chakraborty and Jin (1993) による集団間のアリル共有距離の算出法を参考に、2 巣間の接合性共有距離を求めた。これによって得られた距離行列をもとに、巣間の系統関係を明らかにするため、近隣結合法による無根系統樹を作成した。枝のブートストラップ支持確率を 100 回の反復試行により求めた。

キイロヒメアリの空間遺伝構造が距離による隔離 (Isolation by distance) のパターンに当てはまるか調べるために、個体間および巣間の接合性共有距離と、採集サイト間の地理的距離との相関関係について、パッケージ `vegan` (Oksanen et al. 2013) を用いたマンテル検定 (ピアソンの積率相関係数, 並べ替え検定=9999 回) を実行した。また、巣仲間と非巣仲間の組み合わせによって遺伝的距離が異なるかどうかを調べるため、同じ採集サイトから得られた個体間の組み合わせについて、巣仲間どうしを距離 0、非巣仲間どうしを距離 1 と置き換え、接合性共有距離との相関をマンテル検定により求めた。

社会性昆虫のコロニーにおける遺伝的な不均一性は、個体間の血縁度上の利害対立をもたらしうる一方で、分業の効率化や病原体への抵抗性の向上といった観点から集団のパフォーマンスを高める可能性もある。そこで各巣の個体間における接合性共有距離の平均値や分散が、巣あたりのブルードや新女王の生産パフォーマンスに与える影響を調べた。巣内から得られた幼虫や蛹における各カーストの個体数や比率を従属変数に、個体間の接合性共有距離の平均値や分散、また巣の女王数とワーカー数を説明変数に、巣の ID をラン

ダム効果として、ポアソン分布あるいは二項分布を仮定した GLMM を用いた。説明変数（個体間の接合性共有距離の平均値や分散）の効果があるかを調べるために尤度比検定を用いた。

巣間の敵対性試験

異なる巣に属する個体間の相互作用を調べるため、ワーカーを 1 対 1 で対峙させる敵対性試験を行なった。敵対性試験は、近縁種イエヒメアリにおいて行なわれた Schmidt ら (2010) の手順を参考に、次のように実施した。行動観察用のアリーナは、ガラス板（スライドガラス）と厚さ 0.3 mm のシリコン樹脂製のマットからなる。マットにパンチホールで直径 5 mm の孔をあけ、アリが動き回ることができる空間を設けた。実験ではこのユニットを 2 つ用意し、マット内の空間にキイロヒメアリのワーカー 1 頭を入れ、透明な樹脂フィルムで蓋をして 5 分間馴致させた。次に、2 つのユニットを蝶番のように向かい合せ、マット内の空間が同じ位置となるように重ねた。その後、透明な樹脂フィルムを慎重に引き抜くことで、2 個体のワーカーが接触できるようにした（図 4-1）。フィルム除去後から 6 分間、2 個体の相互作用をシングルボードコンピュータ（Raspberry Pi 3B+, Raspberry Pi Foundation, UK）で録画した。個体間の相互作用を、0 から 5 のスケールで区別して記録した：0=無視、1=アンテナেশョン、2=逃避、3=腹を上げて威嚇、4=噛みつく、5=継続的な戦闘。観察したそれぞれのペアについて、観察されたもっとも高いスケールを敵対性スコアとして記録した。なお、事前知識による観察結果のバイアスを避けるため、スコアリングは動画ファイルのファイル名をブラインド化したうえで実施した。また、すべての個体は 1 回のみ実験に使用された。以下の 5 つの処理区を設けた：①京都市宝ヶ池個体群の同じ巣から取り出した巣仲間どうし（ネガティブコントロール）、②京都市宝ヶ池個体群の同じ採集サイトの異なる巣から取り出した非巣仲間どうし、③京都市宝ヶ池個体群の異なる採集サイトの異なる巣から取り出した非巣仲間どうし、④京都市宝ヶ池個体群と、日本各地の別個体群からの巣から取り出した非巣仲間どうし、⑤同属種であるヒメ

アリ (*Monomorium intrudens*: ポジティブコントロール, ヒメアリ側から敵対行動が生じないよう、触角の鞭節を切除した)。①および⑤の条件では3巣から5ペアずつ、②では3地点から5ペアずつの各15繰り返しを観察した(表4-2)。また、③の条件では乱数を用いて無作為に選んだ30ペアを用いた。④の条件では、京都府京都市の宝ヶ池公園の18巣から得られた個体と、日本国内の5つの個体群(茨城, 東京, 愛知, 滋賀, 香川)の47巣から得られた個体からなる47ペアを対戦させた。①②③⑤の条件では、2020年の6月4日に、京都府京都市の宝ヶ池公園の最低80m、最大700m離れた7か所のササ群生地から採集した14巣の個体を用いた。④の条件では、2021年の6月から7月にかけて各地の個体群から得た65巣の個体を用いた。合計122ペアの相互作用を記録し、統計解析ソフトR v4.1.2 (R Core Team 2021)によって結果の解析を行なった。



図 4-1. 観察用アリーナ内のキイロヒメアリのワーカー
直径 5 mm、高さ 0.3 mm の空間にアリを 1 個体ずつ入れ、2つ重ね合わせたのちに間仕切りを取り除くことで両個体を遭遇させた。

表 4-2. 敵対性試験に用いた個体の内訳

処理区はそれぞれ、次の組み合わせで個体1と個体2を対戦させたことを表す：①京都市宝ヶ池個体群の同じ巣から取り出した巣仲間どうし（ネガティブコントロール）、②京都市宝ヶ池個体群の同じ採集サイトの異なる巣から取り出した非巣仲間どうし、③京都市宝ヶ池個体群の異なる採集サイトの異なる巣から取り出した非巣仲間どうし、④京都市宝ヶ池個体群と、日本各地の別個体群からの巣から取り出した非巣仲間どうし、⑤同属種であるヒメアリ（*Monomorium intrudens*）との対戦。

処理区	個体1			個体2			供試サイト数	距離[m]	観察ペア数
	個体群	供試巣数	採集日	個体群	供試巣数	採集日			
① 同巢個体	京都	3	2020/6/4	京都（個体1と同巢）	3	2020/6/4	3	0	15
② 同サイト	京都	6	2020/6/4	京都（個体1と同サイト）	6	2020/6/4	3	> 10	15
③ 別サイト	京都	9	2020/6/4	京都（個体1と別サイト）	12	2020/6/4	7	82 - 714	30
④ 別個体群	京都	7	2021/6/28 あるいは 2021/7/6	滋賀	10	2021/7/15	1	19,000	10
〃	〃	6	〃	愛知	9	2021/7/11	1	127,000	9
〃	〃	4	〃	香川	8	2021/6/30	1	173,000	8
〃	〃	7	〃	東京	10	2021/7/10	1	348,000	10
〃	〃	5	〃	茨城	10	2021/7/9	1	408,000	10
⑤ 同属別種 (<i>M. intrudens</i>)	京都	3	2020/6/4	京都	データなし	データなし	データなし	データなし	15

結果

巣内のカースト構成

巣内の女王個体数は 6.02 ± 5.78 頭 ($n = 350$, mean \pm SD) で、最小 0 頭から最大 34 頭までばらついていた。このうち、女王をもたない巣は 13 巣 (全体の 3.71%)、1 頭のみは 40 巣 (同 11.42%) のみであった。ワーカーの個体数は 135.70 ± 134.10 ($n = 350$) 頭で、最も少ない巣では 1 頭、最も多い巣では 1128 頭であった。ワーカー個体数に対して、女王個体数は有意な正の効果をもっていた (図 4-2, GLMM with Poisson error; number of queens: slope \pm SEM = 0.062 ± 0.0067 ; LRT, 1 df, $\chi^2 = 75.27$, $p < 0.001$, $n = 350$)。

繁殖時季における巣の構成とブルード生産

繁殖時季に採集された 109 巣のうち、女王ブルードを生産していた巣は全体の 34.9% にあたる 38 巣だった。女王ブルードを生産していた巣では、1 巣あたり平均 4.18 ± 4.87 頭 ($n = 38$, mean \pm SD) が生産されており、最大で 22 頭の女王ブルードがみられた。また、女王ブルードを生産していた巣の女王数は 4.32 ± 5.20 頭 ($n = 38$)、ワーカー数は 216.92 ± 191.12 頭 ($n = 38$) だった。これに対して、女王ブルードを生産していなかった巣の女王数は 6.17 ± 6.18 頭 ($n = 71$)、ワーカー数は 146.96 ± 119.52 頭 ($n = 71$) であった。

この期間に採集されたすべての巣を用いた尤度比検定の結果、ブルードの総生産数に対しては、巣内の女王数はいずれも有意な正の効果をもつことが認められた (GLMM with Poisson error; number of queens: slope \pm SEM = 0.092 ± 0.009 ; LRT, 1 df, $\chi^2 = 106.35$, $p < 0.001$, $n = 109$; number of workers: slope \pm SEM = 0.326 ± 0.007 ; LRT, 1 df, $\chi^2 = 2264.6$, $p < 0.001$, $n = 109$)。一方で、ブルードの女王分化率 (総ブルード数に占める女王ブルードの割合) に対しては、巣内の女王数は負の、ワーカー数は正の効果をもっていた (GLMM with binomial error; number of queens: slope \pm SEM = -2.624 ± 0.295 ; LRT, 1 df, $\chi^2 = 175.44$, $p < 0.001$, $n = 109$; number of workers: slope \pm SEM = 0.852 ± 0.195 ; LRT, 1 df, $\chi^2 = 48.537$, $p < 0.001$, $n = 109$)。

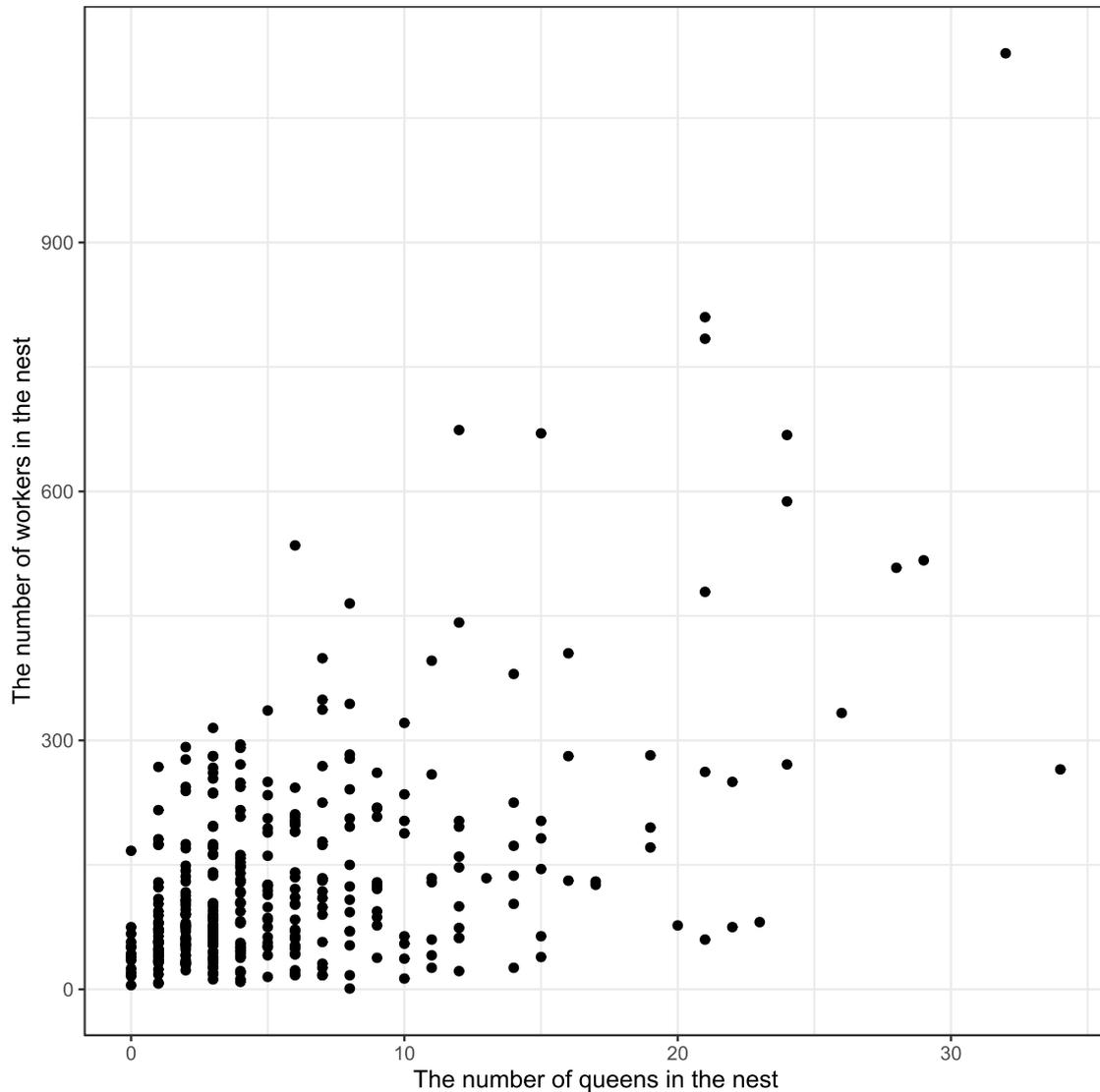


図 4-2. 野外から採集された 350 巣における女王数とワーカー数の関係
 尤度比検定の結果、ワーカー個体数に対して女王個体数は有意な正の効果をもっていた
 (GLMM with Poisson error; number of queens: slope \pm SEM = 0.062 \pm 0.0067; LRT, 1 *df*, $\chi^2 =$
 75.27, $p < 0.001$, $n = 350$)。

カーストのサイズ分布

形態計測の結果、ワーカーの頭幅は 0.323 ± 0.007 mm ($n = 48$, mean \pm SD) で、最小
 0.308 mm、最大 0.344 mm だった (図 4-3)。これに対して、女王の頭幅は 0.442 ± 0.007
 mm ($n = 104$) であり、最小 0.423 mm、最大 0.458 mm であり、カースト間のオーバーラ
 ップはみられなかった。Shapiro-Wilk 検定の結果、ワーカー ($W = 0.986$, $p = 0.815$) と女

王 ($W = 0.992$, $p = 0.829$) のいずれにおいても、頭幅の分布が正規分布に従うという帰無仮説は棄却されなかった。また、女王の卵巢小管数は 17.28 ± 2.23 本 ($n = 81$) で、最小値は 11 本、最大値は 24 本であった。尤度比検定の結果、女王の頭幅は卵巢小管数に有意な効果をもっていなかった (図 4-4, GLMM, 尤度比検定, $\chi^2 = 0.008$, $p = 0.928$, $n = 76$)。

巢内の繁殖者数

解剖した 41 頭の女王のうち、卵巢に黄体の蓄積がみられない女王は 3 頭のみで、全体の 92%にあたる 38 頭から黄体が確認された。また、17 巣すべてにおいて、複数の女王が黄体を保有していた (表 4-3)。

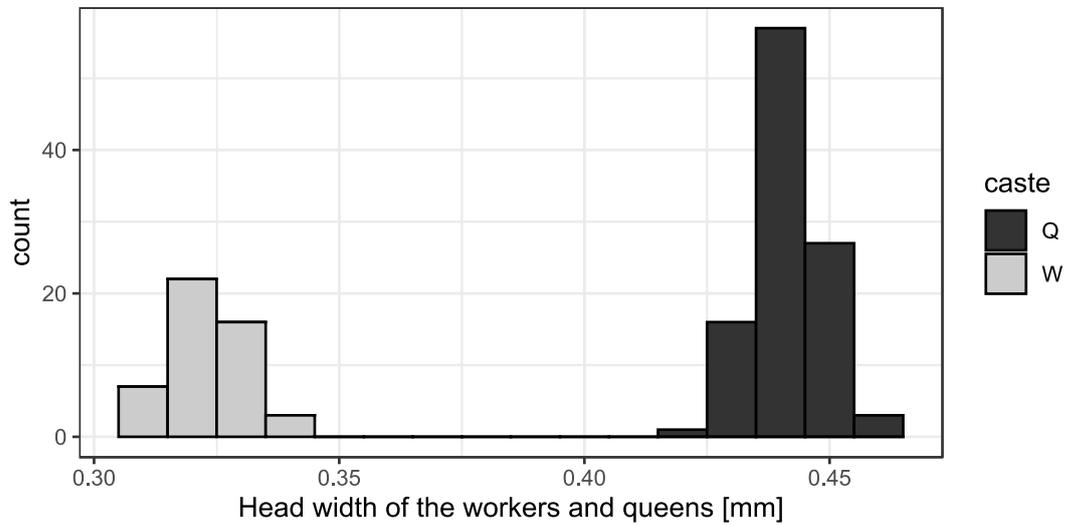


図 4-3. キイロヒメアリの女王とワーカーにおける頭幅のヒストグラム
 灰色がワーカー ($n = 48$)、黒が女王 ($n = 104$) を表す。ヒストグラムのビン幅は 0.01 mm。

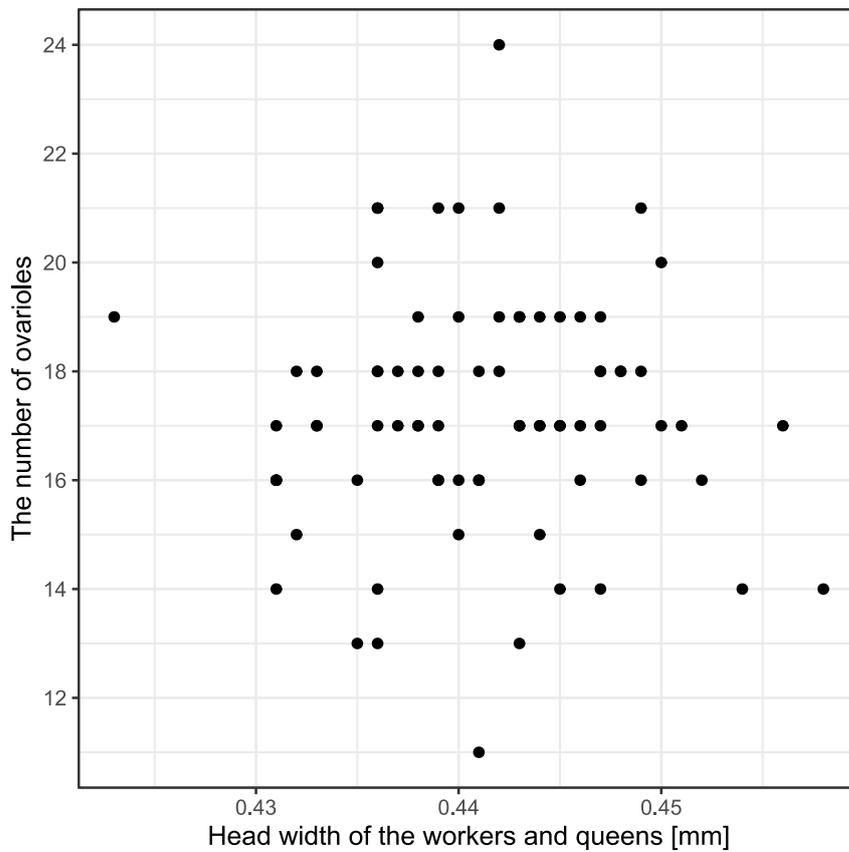


図 4-4. キイロヒメアリの女王における頭幅と卵巢小管数の関係
 尤度比検定の結果、女王の頭幅は卵巢小管数に有意な効果をもたなかった (GLMM, 尤度比検定, $\chi^2 = 0.008, p = 0.928, n = 76$)。

表 4-3. 野外の巣から取り出した女王の解剖結果

巣の ID	巣内の女王の個体数	解剖した女王の個体数	黄体の有無	
			あり	なし
Mtri_20200615_02	8	3	2	1
Mtri_20200615_04	17	3	3	0
Mtri_20200615_09	3	2	2	0
Mtri_20200615_10	3	2	2	0
Mtri_20200615_11	6	3	3	0
Mtri_20200708_01	9	3	2	1
Mtri_20200708_04	2	2	2	0
Mtri_20200712_01	3	3	3	0
Mtri_20200712_02	4	3	2	1
Mtri_20200730_02	2	2	2	0
Mtri_20200730_06	3	2	2	0
Mtri_20200730_07	8	3	3	0
Mtri_20200730_10	7	3	3	0
Mtri_20200801_03	6	3	3	0
Mtri_20200801_04	3	2	2	0
Mtri_20200801_09	2	2	2	0
合計	86	41	38	3

集団遺伝学的解析

12 巣、114 個体から得られた 805 個の SNP 座位のうち、83.4%を占める 642 座位において、欠測個体を除くすべての個体がヘテロ接合であった。その結果、近交係数 F_{IS} は 0.9914 と著しく低かった。各巣をサブ集団とみなした解析の結果、全集団の遺伝的分化を示す F_{ST} も 0.0004 と低い値を示した。また、個体間の遺伝的距離の指標として算出された接合性共有距離は最小で 0.00002 (805 座位のうち、0.019 個の変異に相当)、最大で 0.02999 (24.14 個の変異に相当) であった。

主成分分析 (PCA) では、第四主成分までを用いて二次元平面に結果を示した (図 4-5)。第一主成分 (PC1) の寄与率と固有値はそれぞれ 9.70%と 0.171、第二主成分 (PC2) の寄与率と固有値はそれぞれ 9.61%と 0.169、第三主成分の寄与率と固有値は 7.11%と 0.125、第四主成分の寄与率と固有値は 5.88%と 0.104 であった。各採集サイトから得られた個体の二次元平面上における分布パターンを調べると、PC1 によりサイト 0628 の一部の個体が大きく分離されるとともに、他のサイト 0628 とサイト 0706 の個体もわずかに分離されるパターンがみられた (図 4-5a)。PC2 と PC3 においてはサイト間の明瞭なパターンはみられなかったが (図 4-5c)、PC4 においてサイト 0628 とサイト 0706 の分離が示された (図 4-5e)。さらに二次元平面上における各巣から得られた個体の分布パターンを調べたところ、PC1 により巣 0628N04 および 0628N02 の一部の個体が分離したが (図 4-5b)、全体として巣ごとの明瞭なクラスターはみられなかった (図 4-5d, f)。

個体間の接合性共有距離に基づく近隣結合法系統樹では、トポロジーを支持するブートストラップ値は全体的に低いものの、主成分分析と矛盾しない分岐パターンがみられた。外群として京都以外の 5 産地から得られた個体を加えた系統樹において、京都で採集された個体はブートストラップ値=64 で支持される単系統群を形成していた (図 4-6)。京都個体群の中では、巣 0628N04 の一部の個体からなるクレードがまず分岐し、その後に分岐したクレードには、採集サイトごとにある程度のまとまりがみられた。しかし、巣 0628N04 の一部の個体を除いて、巣ごとのクレードのまとまりはみられなかった。なお、

巣間の接合性共有距離に基づく近隣結合法系統樹では、12 個の巣が2つの採集サイトによってまとまったクレードを示した (図 4-7)。

マンテル検定の結果、個体間の接合性共有距離と、2 巣間の地理的距離との間には弱い相関が認められた (図 4-8, Mantel test, permutations=9999, $r = 0.1281$, $p = 0.0005$)。しかし、同じ採集サイト内から得られた巣の個体のみを用いた検定では、いずれの採集サイトでも有意な相関はみられなかった (Mantel test with Bonferroni correction, permutations=9999, site 0628: 6 nest, 75 individuals, $r = 0.015$, $p = 1$, site 0706: 6 nest, 39 individuals, $r = 0.06648$, $p = 0.4024$)。2 巣間の接合性共有距離も同様のパターンを示し、巣間の地理的距離と有意な相関が検出されたものの (図 4-9, Mantel test, permutations=9999, $r = 0.5306$, $p = 0.0017$)、同じ採集サイト内から得られた巣の組み合わせのみでは有意な相関はみられなかった (Mantel test with Bonferroni correction, permutations=9999, site 0628: 6 nest, $r = -0.09649$, $p = 1$, site 0706: 6 nest, $r = 0.07948$, $p = 0.66112$)。

接合性共有距離に基づいてランダム化最小全域ネットワークを作成したところ、個体間を接続するエッジは1つのループを除いて一意に定まった (図 4-10)。コンセンサス配列をルート (根) とみなしたとき、トポロジーは高さ (末端までの最大エッジ数) 10 の木構造をとった。採集サイト 0706 の個体はこのネットワークの末端付近に位置する傾向にあり、高さ 0 (=末端) のノードに 30 個体、1 のノードが 6 個体、2 のノードに 3 個体が配置されていた (図 4-10a)。2つの採集サイトによる明瞭なクラスターの分離はみられなかったが、一部の部分木において採集サイトごとのまとまりがみられた。さらに、ネットワーク上における各巣の個体の配置を調べると、同じ巣に属する個体のまとまった配置はみられず、トポロジー内の離れた位置に散らばっていた (図 4-10b~m)。

それぞれの採集サイトについて、巣仲間どうしの組み合わせを距離 0、非巣仲間どうしの組み合わせを距離 1 と置き換えたうえでマンテル検定を実行し、接合性共有距離との相関を調べたところ、いずれの採集サイトにおいても有意な関係は認められなかった (図 4-11, Mantel test with Bonferroni correction, permutations=9999, site 0628: 6 nest, 75 individuals, $r =$

0.03275, $p = 0.0984$, site 0706: 6 nest, 39 individuals, $r = 0.01416$, $p = 0.6864$).

解析に用いた 12 巣について、巣の遺伝構造が巣あたりのブルード生産性に与える影響を調べた結果、有意な効果は検出されなかった。GLMM を用いた尤度比検定の結果、巣内の個体間平均接合性共有距離はワーカーブルードの生産個体数 (GLMM with Poisson error; mean zygosity sharing distance between nestmates: slope \pm SEM = -0.01952 ± 0.09568 ; LRT, 1 *df*, $\chi^2 = 0.0413$, $p = 0.8389$, $n = 12$) や新女王生産個体数 (GLMM with Poisson error; mean zygosity sharing distance between nestmates: slope \pm SEM = -0.2484 ± 0.5371 ; LRT, 1 *df*, $\chi^2 = 0.2191$, $p = 0.6397$, $n = 12$)、全ブルード個体数に占める新女王の割合 (GLMM with binomial error; mean zygosity sharing distance between nestmates: slope \pm SEM = -0.1543 ± 0.4978 ; LRT, 1 *df*, $\chi^2 = 0.0981$, $p = 0.7541$, $n = 12$) に有意な効果をもたなかった。また、巣内における個体間の接合性共有距離の分散も、ワーカーブルードの生産個体数 (GLMM with binomial error; variance of zygosity sharing distance between nestmates: slope \pm SEM = 0.13392 ± 0.09558 ; LRT, 1 *df*, $\chi^2 = 1.7851$, $p = 0.1815$, $n = 12$) と新女王生産個体数 (GLMM with binomial error; variance of zygosity sharing distance between nestmates: slope \pm SEM = 0.2156 ± 0.5509 ; LRT, 1 *df*, $\chi^2 = 0.1534$, $p = 0.6953$, $n = 12$)、および全ブルード個体数に占める新女王の割合 (GLMM with binomial error; variance of zygosity sharing distance between nestmates: slope \pm SEM = 0.3444 ± 0.4854 ; LRT, 1 *df*, $\chi^2 = 0.496$, $p = 0.4813$, $n = 12$) に有意な効果をもっていなかった。

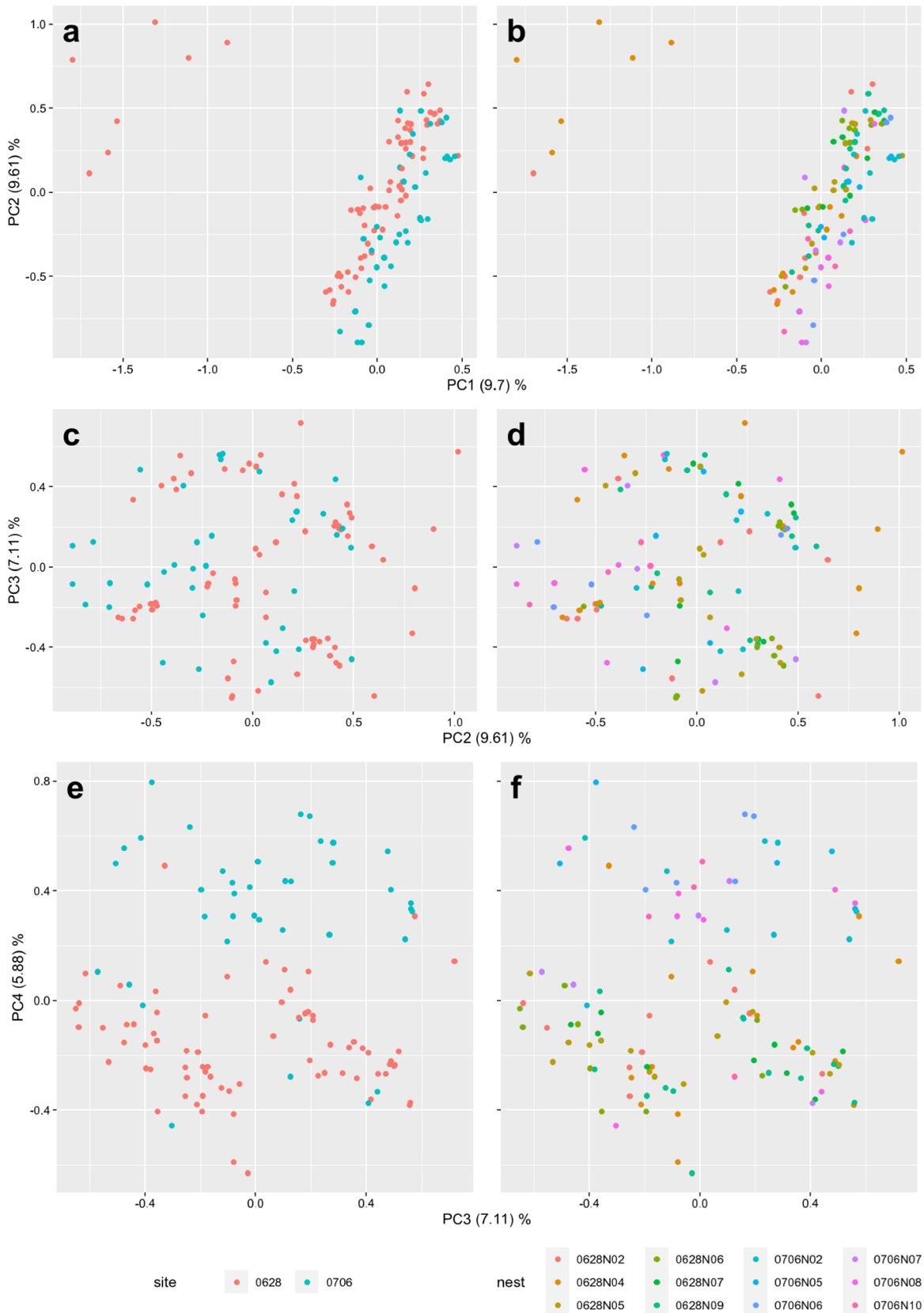


図 4-5. キイロヒメアリの京都集団における SNP データの主成分分析の結果

第一主成分（寄与率 9.7%）と第二主成分（寄与率 9.61%）、第三主成分（寄与率 7.11%）、第四主成分（寄与率 5.88%）を用いた。(a) および (b) では第一主成分と第二主成分の関係を、(c) および (d) では第二主成分と第三主成分の関係を、(e) および (f) では第三主成分と第四主成分の関係を表している。また、(a) および (c)、(e) は 2 か所の採集サイトごと、(b) および (d)、(f) は 12 個の巣ごとに異なる色でプロットされている。

図 4-6. 京都市左京区の生息地にて採集されたキイロヒメアリの系統関係

京都市左京区にて採集された 114 個体と、外群として京都以外の産地から得た 5 個体を用いた。系統樹は 805 座位の SNP データから、Zygoty sharing distance に基づく近隣結合法で作成した。分岐上の数値はブートストラップ値 (100 回)。各個体が所属する巣を図の右側に示した。垂直線は 12 個の巣を表しており、線上に並んだ個体と同じ巣に属することを意味している。プロット内のアルファベットは個体のカースト (女王 : Q, ワーカー : W) を表している。

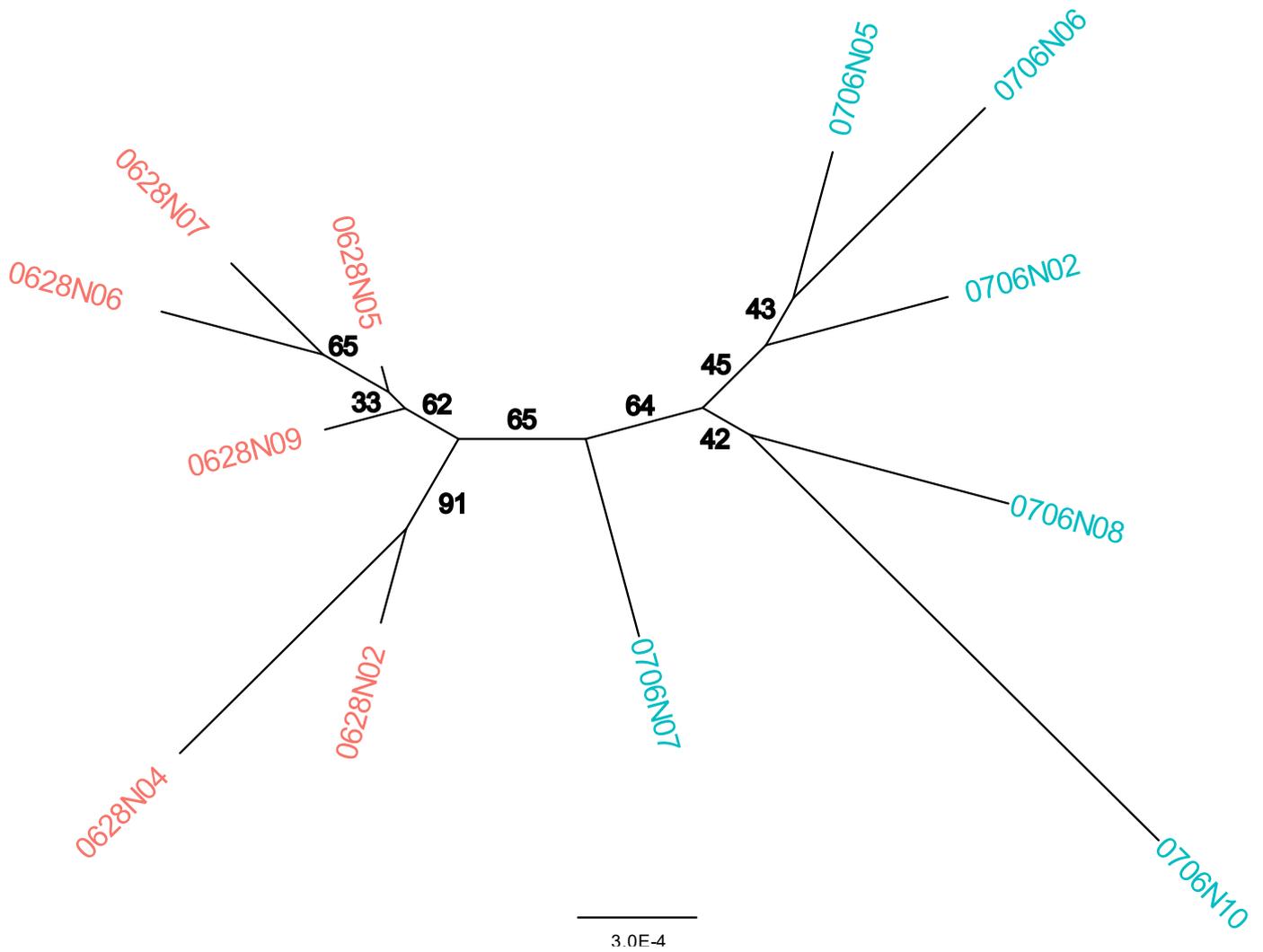


図 4-7. 京都市左京区の生息地にて採集されたキイロヒメアリの巣の系統関係

京都市左京区の生息地にて採集された 12 巣を用いた。系統樹は 805 座位の SNP データをもとに、Zygosity sharing distance に基づく近隣結合法で作成した。各枝上の数値はブートストラップ値 (100 回)。各巣の ID は、2 か所の採集サイト (サイト 0628 : 赤, サイト 0706 : 青) で色分けされている。

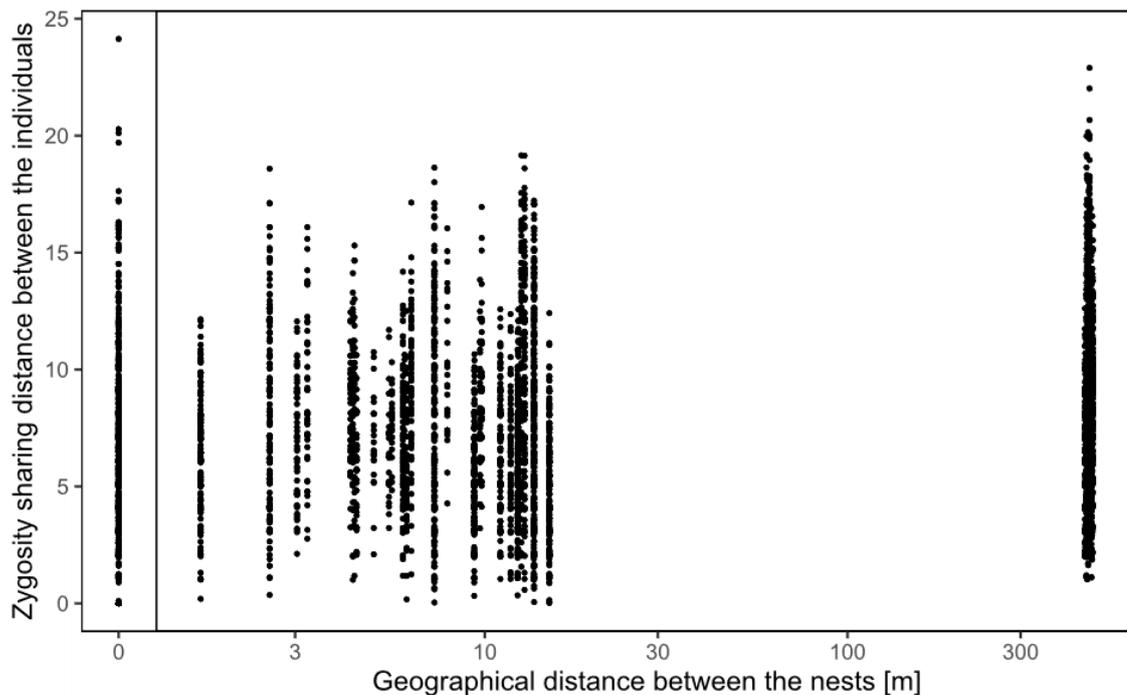


図 4-8. 京都市左京区の生息地におけるキイロヒメアリの個体間の遺伝的距離と地理的距離の関係
 横軸は対数軸で巣間の地理的距離 (m) を表し、縦軸には 2 個体間の遺伝的距離 (接合性共有距離) を示している。マンテル検定の結果、地理的距離と遺伝的距離の間に有意な相関関係が認められた (Mantel test, permutations=9999, $r = 0.1281$, $p = 0.0005$)。

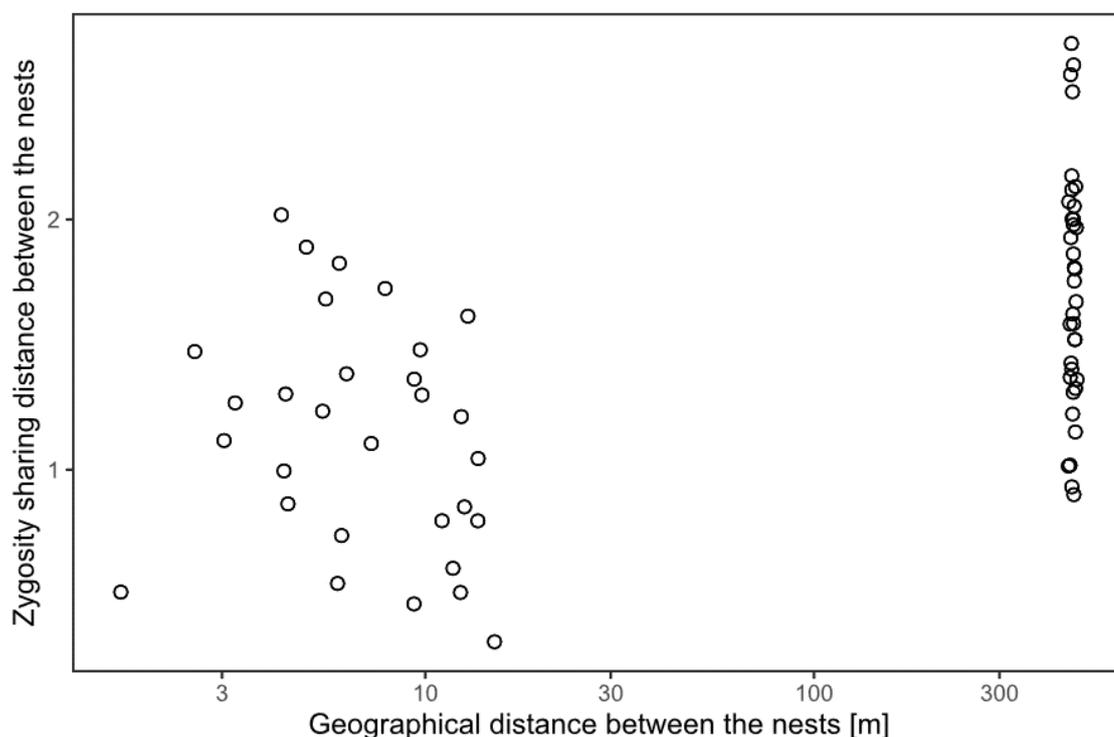
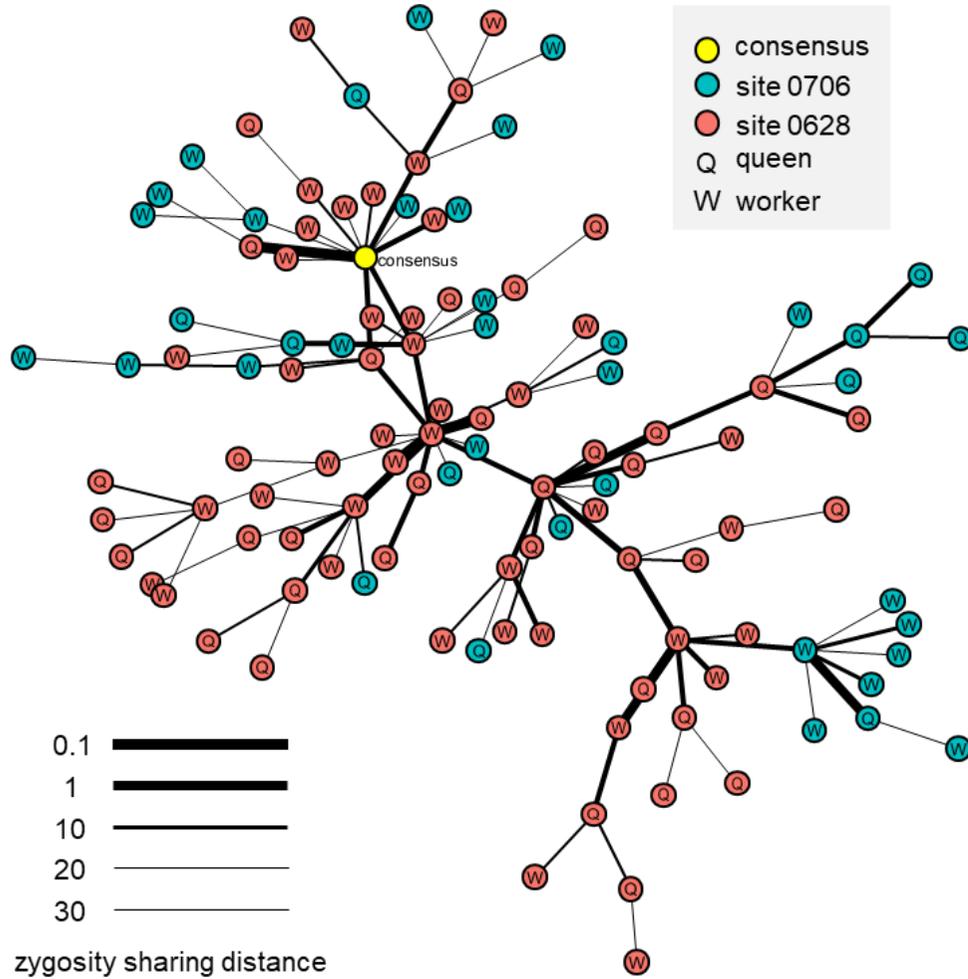
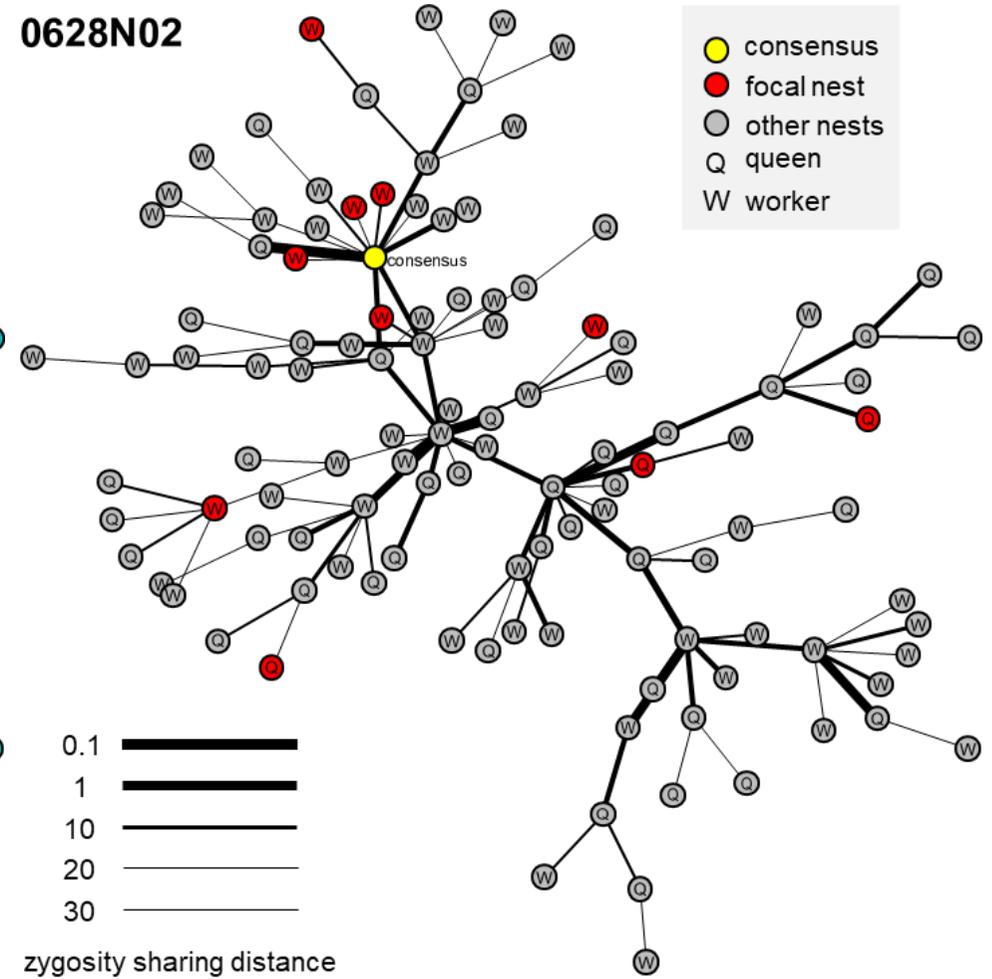
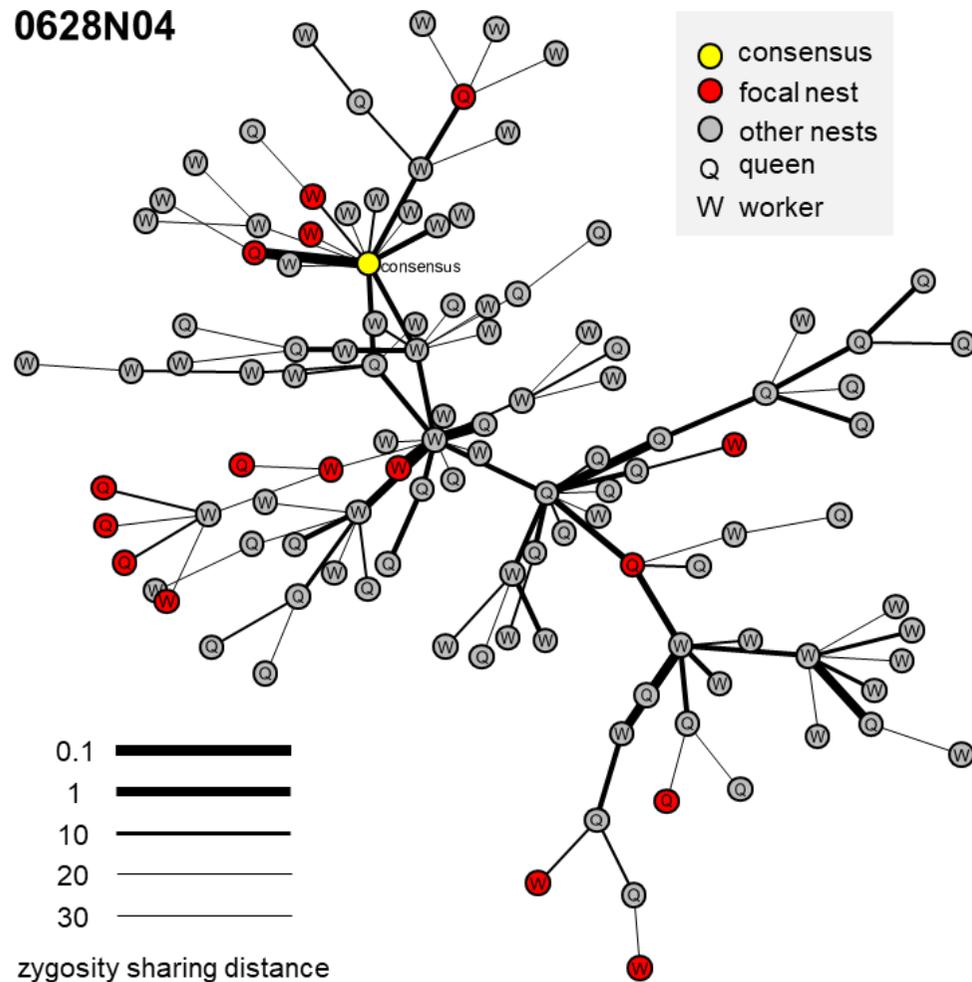
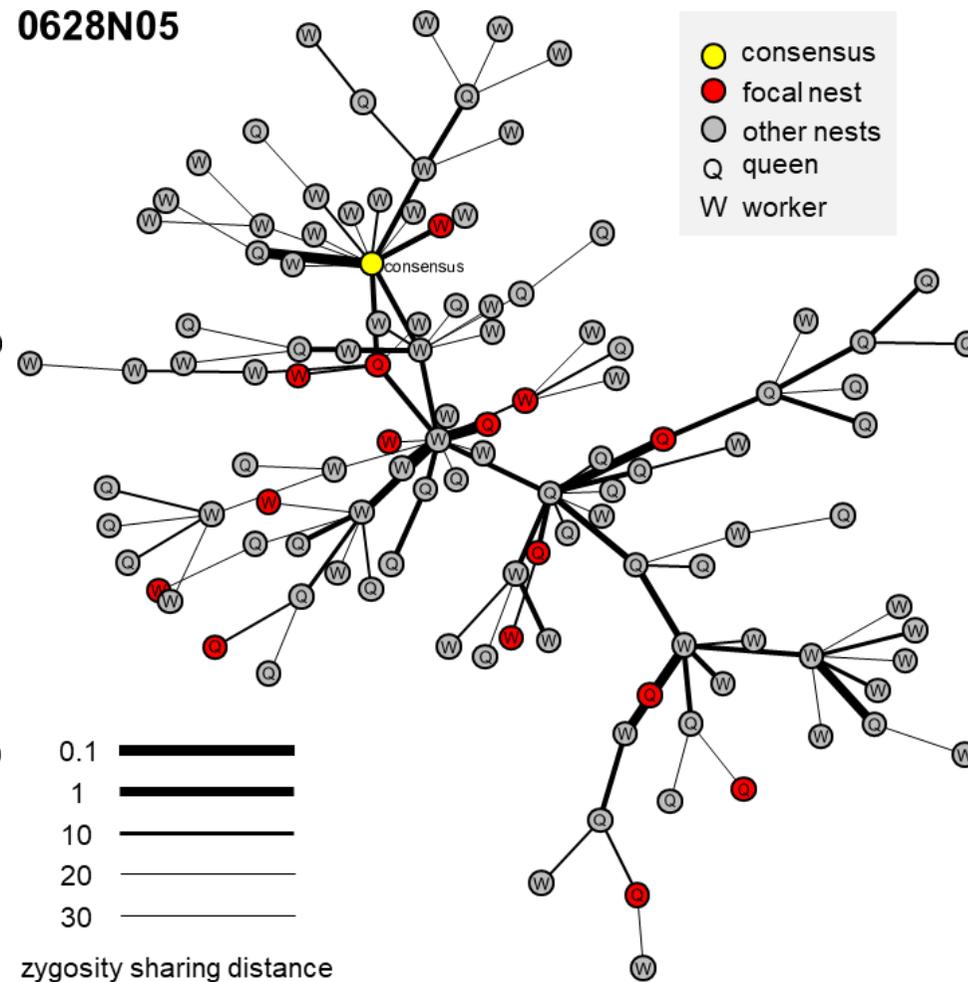
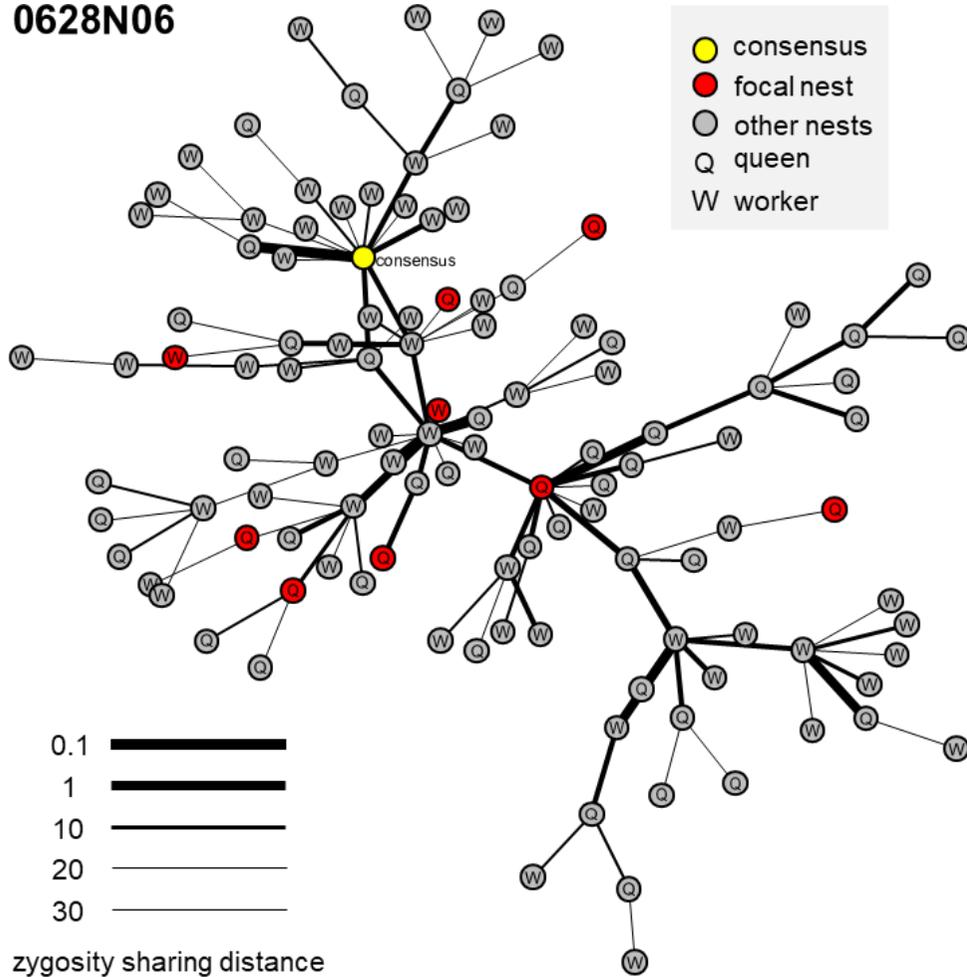
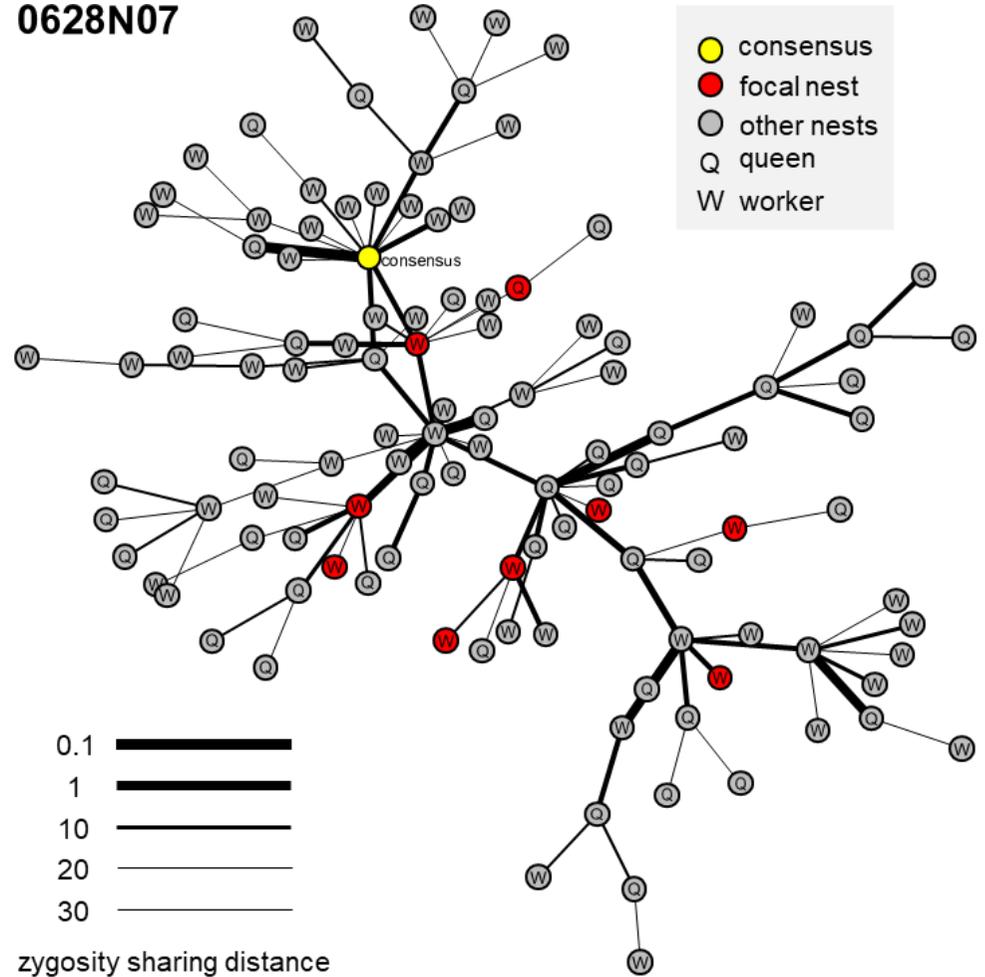
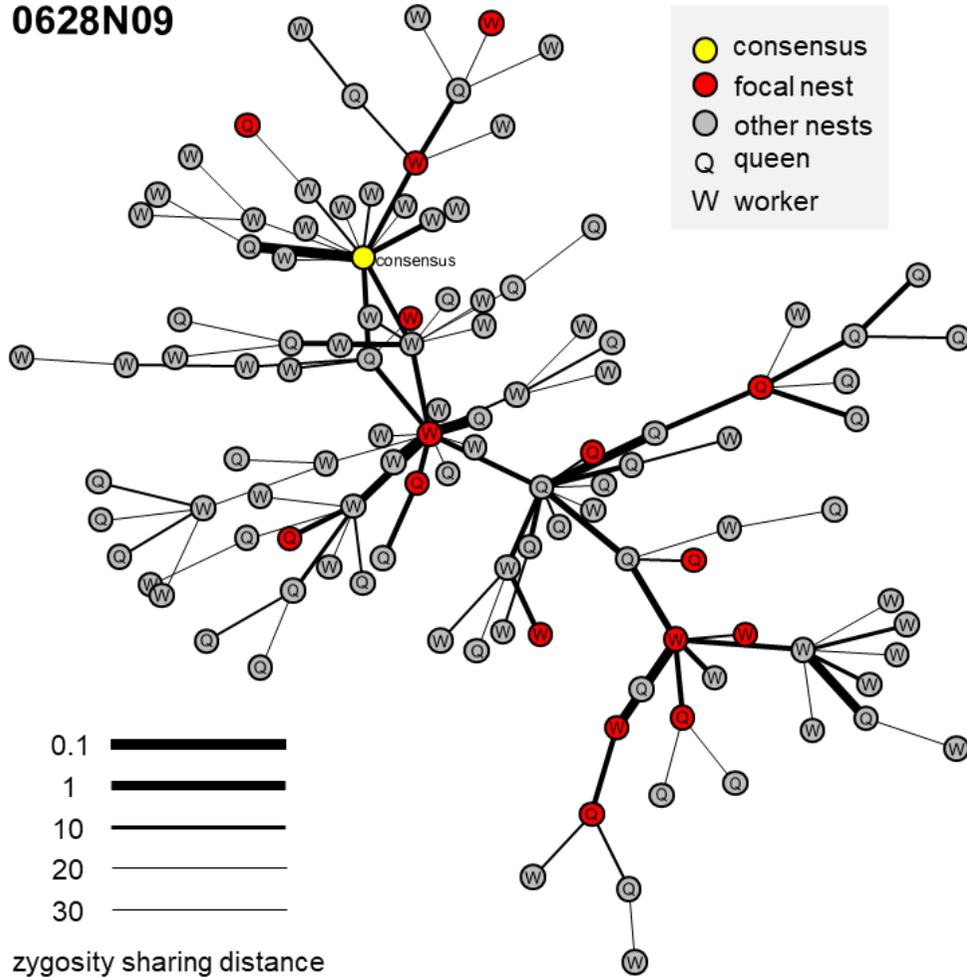
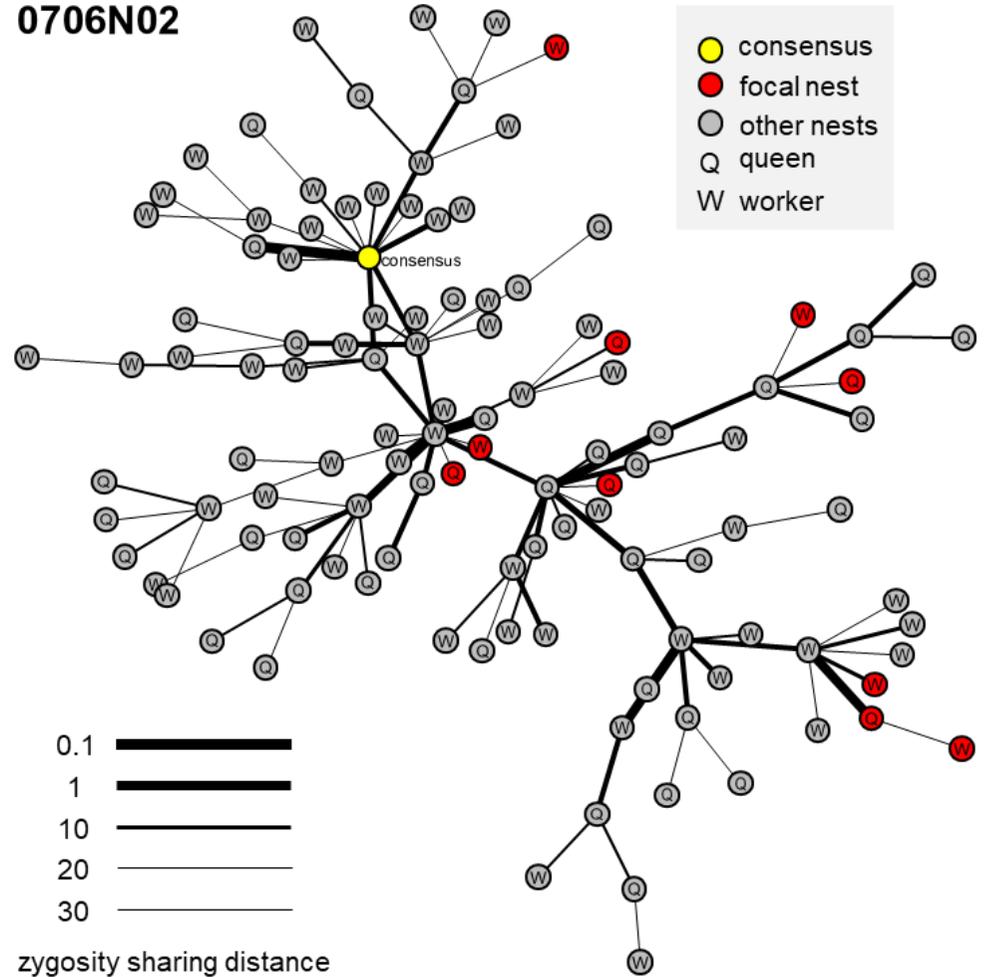


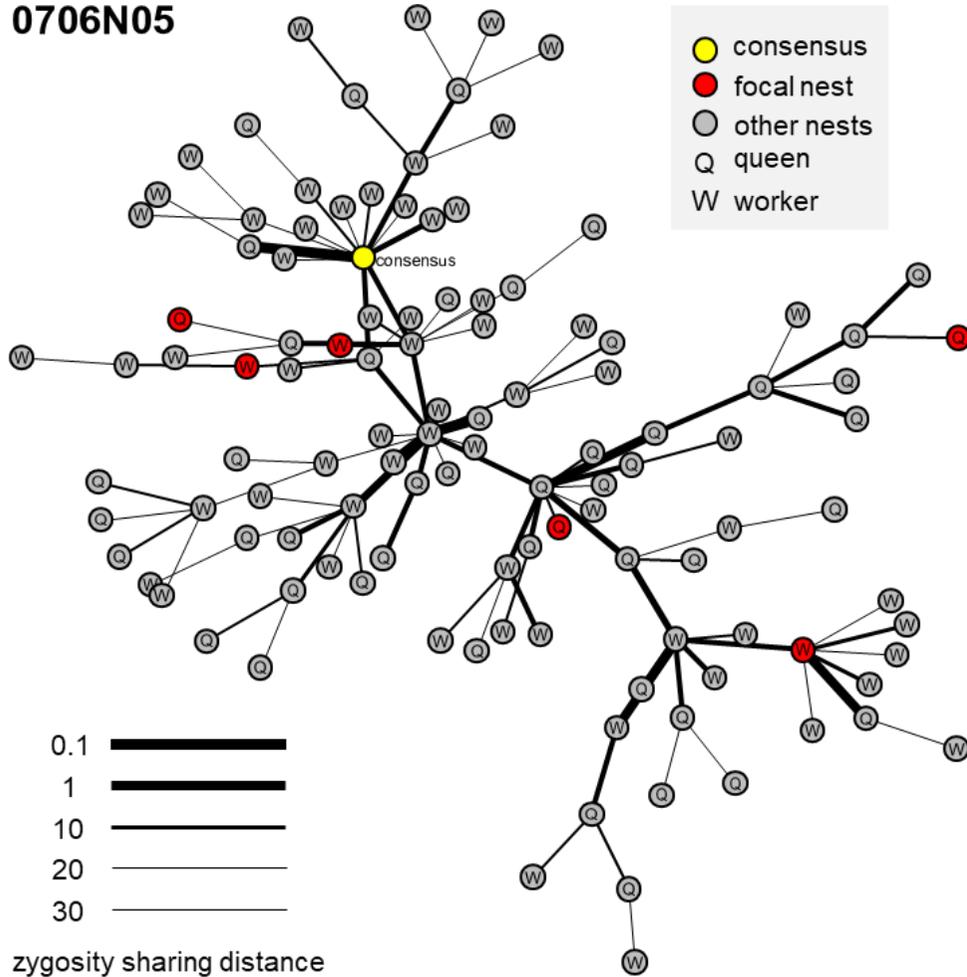
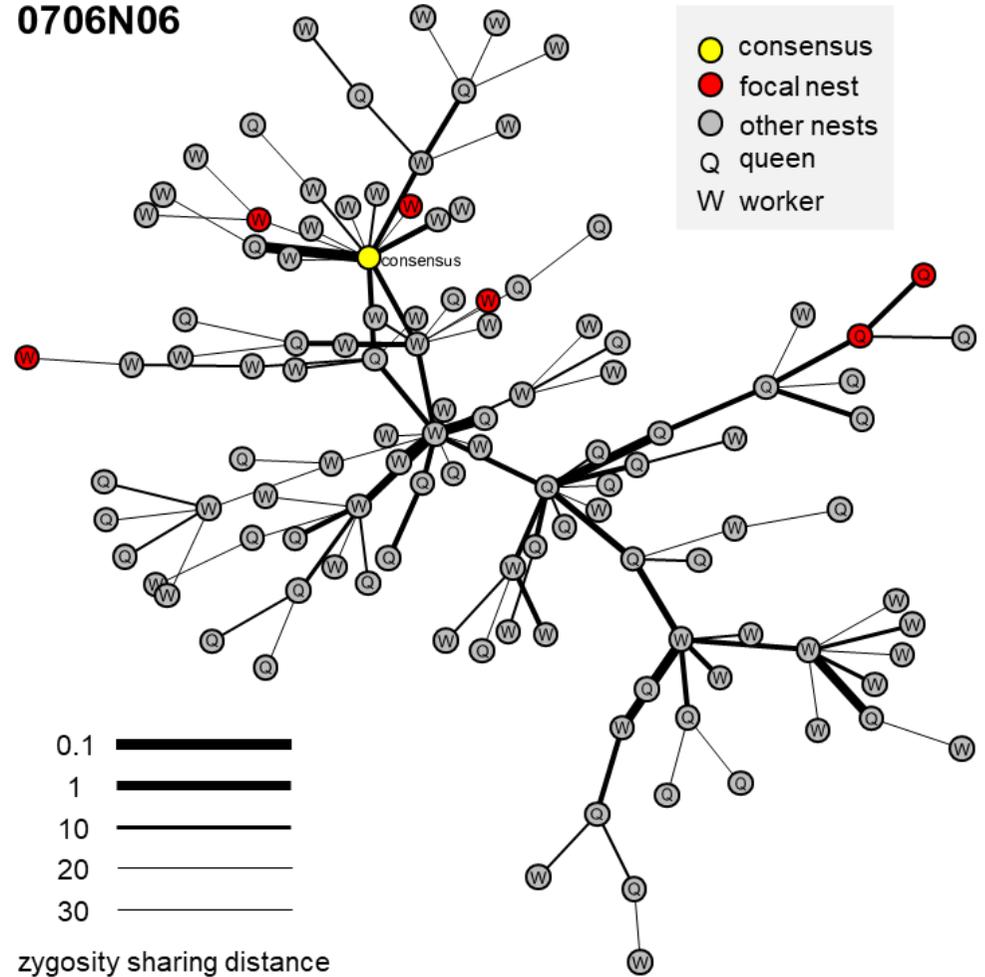
図 4-9. 京都市左京区の生息地におけるキイロヒメアリの巣間の遺伝的距離と地理的距離の関係
 横軸は対数軸で巣間の地理的距離 (m) を表し、縦軸には 2 巣間の遺伝的距離 (接合性共有距離) を示している。マンテル検定の結果、地理的距離と遺伝的距離の間に有意な相関関係が認められた (Mantel test, permutations=9999, $r = 0.5306$, $p = 0.0017$)。

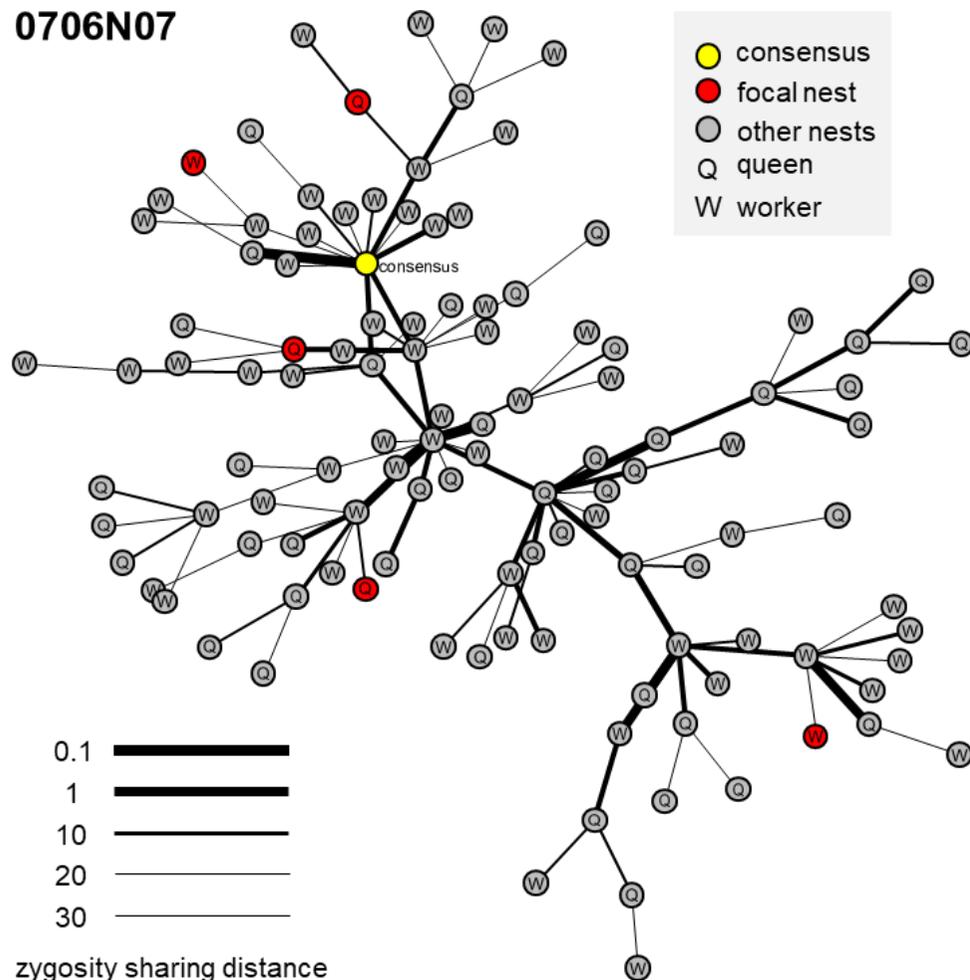
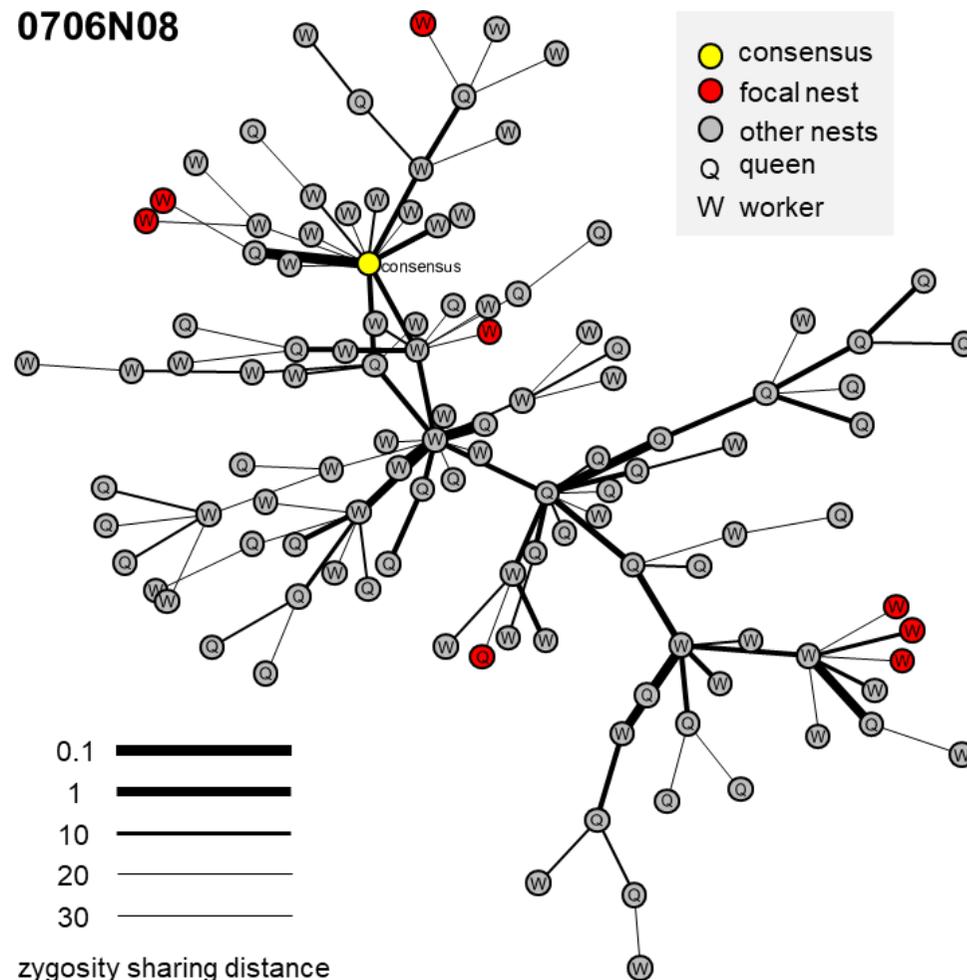
a**b**

c**0628N04****d****0628N05**

e**0628N06****f****0628N07**

g**0628N09****h****0706N02**

i**0706N05****j****0706N06**

k**0706N07****l****0706N08**

m

0706N10

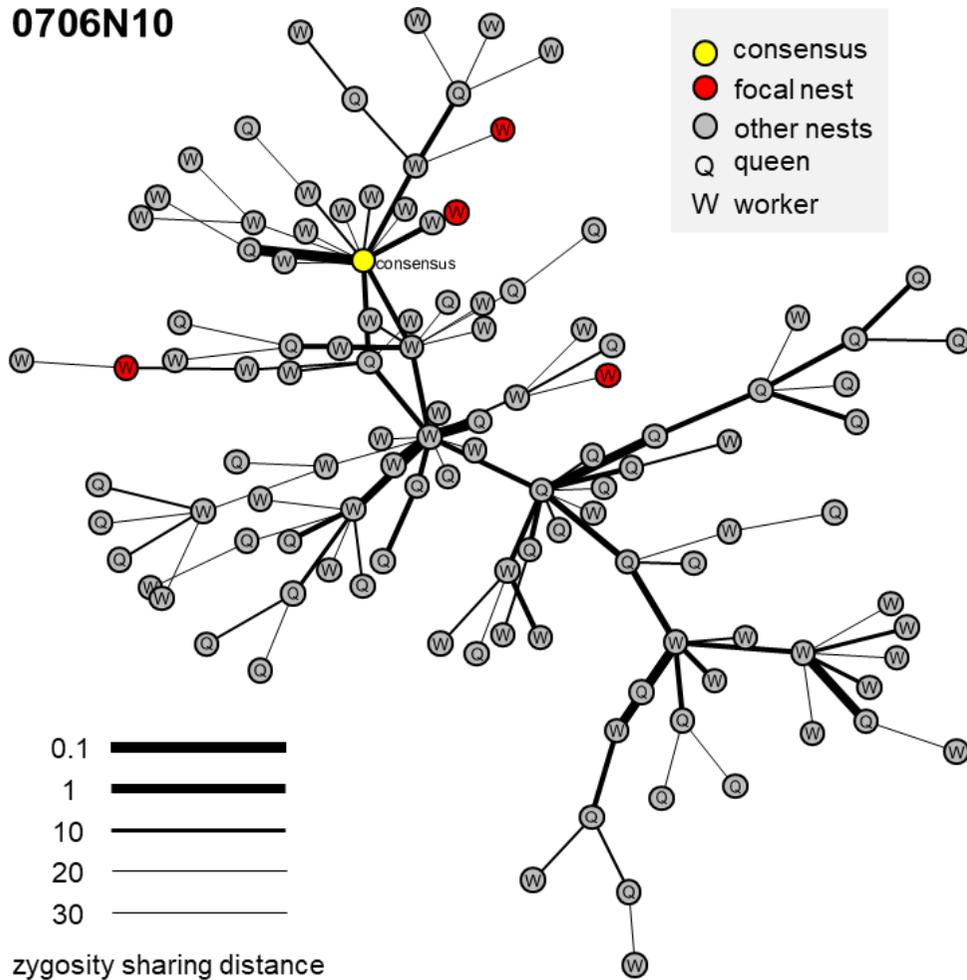


図 4-10. 接合性共有距離に基づいて作成されたランダム化最小全域ネットワーク

京都市左京区の生息地にて採集された 114 個体を用いた。各枝の太さは個体間の距離を表している。円の中のアルファベットは個体のカーストを表し、(a) は 2 か所の採集サイトごと、(b ~ m) は 12 個の巣ごとに色分けされている。

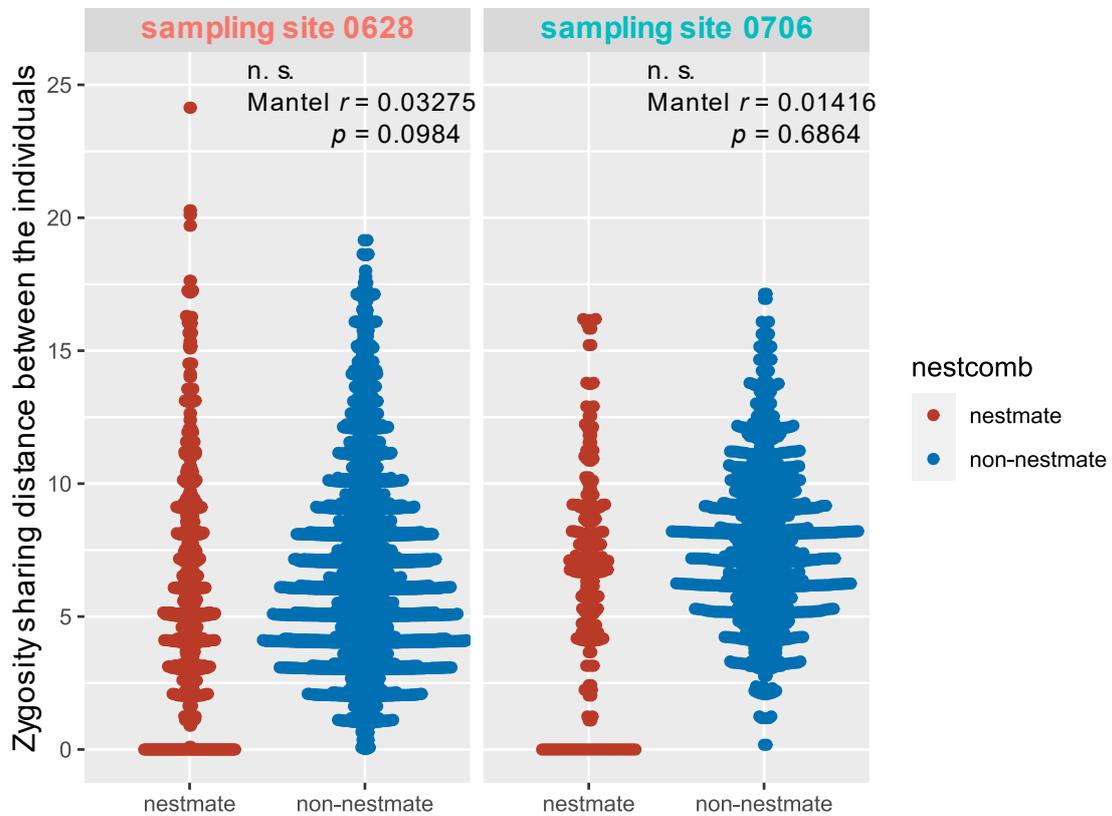


図 4-11. 京都市左京区各採集サイトにおけるキイロヒメアリの巣仲間どうしと非巣仲間どうしの遺伝的距離

横軸は個体の組み合わせ（巣仲間どうし=距離0，非巣仲間どうし=距離1）を表し、縦軸には2個体間の遺伝的距離（接合性共有距離）を示している。マンテル検定の結果、個体の組み合わせが巣仲間同士の組み合わせであるかどうかと遺伝的距離の間に有意な相関関係は認められなかった（Mantel test with Bonferroni correction, permutations=9999, site 0628: 6 nest, 75 individuals, $r = 0.03275$, $p = 0.0984$, site 0706: 6 nest, 39 individuals, $r = 0.01416$, $p = 0.6864$ ）。

巣間の敵対性

観察した 122 ペアのすべてにおいて個体間の接触が観察され、敵対性スコアが記録された。それぞれの処理区における敵対性スコアは、①同じ巣から取り出した巣仲間どうし ($n = 15$, ネガティブコントロール) ではすべて 1 で、アンテナーションのみが観察された。②同じ採集サイトの異なる巣から取り出した非巣仲間どうし ($n = 15$) では 1 ペアで 4 (噛みつき)、2 ペアで 3 (腹を曲げて威嚇) が記録されたが、残るペアではアンテナーションのみが観察された (図 4-12)。③異なる採集サイトの異なる巣から取り出した非巣仲間どうし ($n = 30$) では 2 ペアでのみ 3 (腹を曲げて威嚇) が記録され、残る 28 ペアではアンテナーションのみが観察された。④異なる個体群の巣から取り出した非巣仲間どうし ($n = 47$) では 3 ペアで 5 (継続的な戦闘)、1 ペアで 4 (噛みつき)、1 ペアで 3 (腹を曲げて威嚇) が記録されたものの、残る 42 ペアではアンテナーションのみがみられた。これに対して、⑤同属種であるヒメアリとの対戦 ($n = 15$, ポジティブコントロール) では 10 ペアで 5 (継続的な戦闘)、1 ペアで 2 (逃避) が記録され、アンテナーションのみを示したのは 3 ペアにとどまった。なお、1 ペアはスコア 0 (無反応) であった。Kruskal-Wallis 検定の結果、敵対性スコアに対する処理区の有意な効果が検出され ($\chi^2 = 28.451$, $df = 4$, $p < 0.001$)、⑤同属種であるヒメアリとの対戦で記録された敵対性スコアは他の処理区より有意に高かった (Wilcoxon rank sum test, Holm-Bonferroni method, $df = 4$, $p < 0.05$, 図 4-12)。

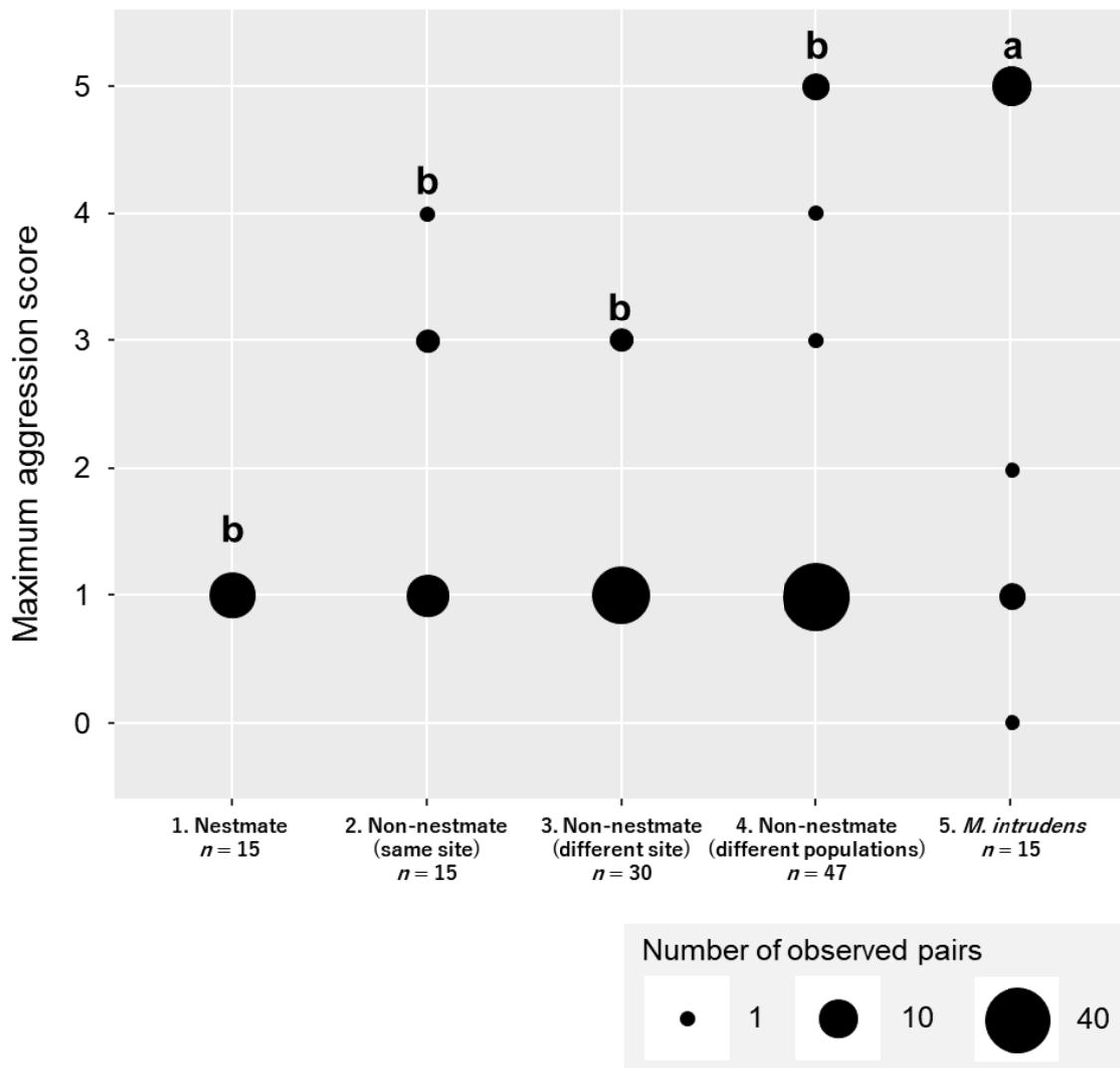


図 4-12. 敵対性試験の結果

横軸は処理区を表し、左から順に 1. 同じ巣から取り出した巣仲間どうし ($n = 15$)、2. 同じ採集サイトの異なる巣から取り出した非巣仲間どうし ($n = 15$)、3. 異なる採集サイトの異なる巣から取り出した非巣仲間どうし ($n = 30$)、4. 異なる個体群から取り出した非巣仲間どうし ($n = 47$)、5. 同属種であるヒメアリ (*Monomorium intrudens*) との対戦 ($n = 15$) を表す。縦軸は 1 回の観察で記録された最大の敵対性スコアを表し、プロットの円の大きさはそのスコアを記録したペアの数を表す。異なるアルファベット間で有意差が認められた (Wilcoxon rank sum test, Holm–Bonferroni method, $df =$, $p < 0.05$)。

考察

巣内における繁殖者数とその制御要因

本研究はキイロヒメアリの巣のカースト構成や新女王の生産様式といった基礎的な生活史情報を定量的に明らかにした。野外調査の結果、キイロヒメアリの巣の大部分は複数の

女王をもつ多女王制であった。また内部生殖器の観察から、巣内の女王のほとんどで黄体の蓄積がみられ、産卵経験をもつことが示唆された。これらの結果は、本種が複数の繁殖者からなる機能的多女王制の社会構造をもつことを示している。多女王制はヒメアリ属の多数の種において報告されており (Bhatkar 1992; Stringer and Lester 2007; Peeters and Tinaut 2014; Pontieri and Linksvayer 2019; Ito et al. 2021)、本属で広く共有されている社会的形質といえる。また、ヒメアリ属の一部の種では女王とワーカーの中間的なカースト (インターカースト) や女王カーストの二型が発見されてきた (reviewed in Johnson and Overson 2017)。しかし、キイロヒメアリの女王とワーカーのサイズ分布は完全に分離しており、女王のサイズ分布も正規分布に従っていた。そのため、本種において繁殖を担うのは単型の女王であり、インターカーストや女王の多型は存在しないと考えられた。

本種の女王は蛹化時から機能的な翅をもたず (Idogawa et al. 2022 ; 第3章を参照)、新巣を創設する際にはワーカーとともに近傍へと移動する従属創設を行なうと考えられる。このような分散様式を採用する種は、女王による独立創設を行なう種よりも繁殖虫の生産数が少ないことが知られている (Cronin et al. 2013)。繁殖時季である夏季の巣の調査において、キイロヒメアリでも女王ブルードがごく少数しか生産されていなかったことは、このパターンと合致する。なお夏季の調査において、京都集団全体で採集された女王は 602 個体であったが、生産されていた女王ブルードの総数は 159 個体にとどまり、当年に生まれる新女王は既存女王数より少ないと考えられた。したがって、本種の女王は複数年にわたって生存し繁殖を担うと推測された。

また、女王ブルードの生産数に対しては、既存の女王個体数は負の効果を、ワーカー個体数は正の効果をもっていた。このようなパターンは本種と同様に従属創設を行なうアシナガアリの 1 種, *Aphaenogaster senilis* でも観察されており、コロニーサイズ (ワーカー数) の大きな巣でより多くの繁殖虫が生産され、女王の存在下では繁殖虫の生産が抑制されていた (Boulay et al. 2007)。また、女王による繁殖カースト生産の抑制は、同属種のイエヒメアリにおいても報告されており (Tay et al. 2014; Boonen and Billen 2017)、女王特異

的化合物であるネオセンブレンが繁殖虫の生産抑制フェロモンとして機能することが明らかになっている (Oliveira et al. 2020)。ネオセンブレンはヒメアリ属の他種においても広く女王特異的化合物として報告されていることから (Zhao et al. 2018)、キイロヒメアリもイエヒメアリと同様の女王ブルード生産の制御メカニズムをもつ可能性がある。

本研究は、アリ類における個体レベルの繁殖システムと巣レベルの繁殖システムの新たな組み合わせを提示している。キイロヒメアリにおいて機能的な翅をもたない女王が少数のみ生産されることは、集団遺伝学的解析により示された距離による隔離 (Isolation by distance) のパターンと併せて、本種の巣レベルの繁殖が従属創設によって行なわれることを示唆している。女王による絶対産雌性単為生殖は、キイロヒメアリを含めて7種のアリから報告されているが (Ito et al. 2021)、キイロヒメアリ以外のすべての種が有翅女王を生産しており、いくつかの種では独立創設が可能であることが実験的に確かめられている (Fang et al. 2020; Ito et al. 2010; Ito et al. 2021)。

集団遺伝構造と融合コロニー性

本研究はさらに遺伝構造と社会行動の観点から、キイロヒメアリが巣レベルのコロニーの境界性を失っていることを明らかにした。集団遺伝学的解析において、調査集団から得られた SNP データセットは、集団中の全個体でヘテロ接合を示す固定ヘテロ接合座位の多さと、きわめて低い F_{IS} および F_{ST} 値によって特徴づけられた。近交係数 F_{IS} は、集団が完全にクローナルな繁殖のみを行なうとき、最低値である-1 となる (Balloux et al. 2003)。今回の解析で得られた F_{IS} 値はこれに近い-0.9942 であり、調査集団で有性生殖が生じている可能性は著しく低いことが示唆された。この結果により、本種の単為生殖性が集団遺伝学的にも支持された。また、サブ集団間の遺伝的分化の指標である F_{ST} は 0.0004 と低く、今回の分析におけるサブ集団である巣間の遺伝的分化はごくわずかであると考えられた。

また主成分分析や接合性共有距離に基づく解析は、2か所の採集サイトごとにある程度の分化がみられるものの、巣ごとのまとまりは明瞭でないという一貫したパターンを示し

ていた。個体間や巣間の接合性共有距離については、地理的距離が離れるほど遺伝的分化の程度は大きくなるという距離による隔離 (Isolation by distance: IBD) のパターンがみられた。これはキイロヒメアリの女王が機能的な翅をもたず、長距離分散できないことにより生じた空間遺伝構造であると考えられる。本種と同様に従属創設により短距離分散し、使い分け単為生殖で新女王を生産するウマアリ (*Cataglyphis cursor*) においても、数百メートルのスケールで遺伝的分化が認められている (Clémencet et al. 2005)。

一方で、2地点の採集サイト内のスケール (約 10×5 m) では、地理的距離と有意な相関は認められなかった。また、近隣結合法系統樹やランダム化最小全域ネットワークにおける巣ごとの個体の分布パターンは、巣内に遺伝的距離の離れた個体が混在していることを示している。さらに、それぞれの採集サイト内において、ある個体のペアが巣仲間かそうでないかは、個体間の遺伝的距離に有意な効果をもたなかった。これらの一連の結果により、キイロヒメアリの巣の遺伝構造は、巣ごとの遺伝的分化が小さく、かつ巣内に遺伝的に遠縁な個体が混在するという特徴をもつことが明らかになった。

さらに敵対性試験の結果、本種のワーカーは別種であるヒメアリには敵対的行動をとった一方で、非巣仲間の同種ワーカーに対しては有意な敵対性を示さないことがわかった。敵対性の欠如は、同じ採集サイト内で近接する巣間だけでなく、ワーカー (体長約 1.5 mm) の往来が困難と考えられる、80~700 m 離れた異なる採集サイト間でも一貫していた。そればかりか、京都の個体群と最大約 400 km 離れた他個体群から取り出した個体のペアにおいても有意な敵対性は認められなかった。

本研究により、キイロヒメアリは巣ごとに分化した遺伝構造や他巣個体への敵対性をもたないことが明らかになった。この結果は、離れた巣の個体同士の直接的な相互作用が不可能なほどの地理的スケールにおいて、単一のコロニーとみなすことができる個体群や種の状態 (Helanterä et al. 2009; Helanterä 2022) という融合コロニー性の定義に当てはまる。少なくとも京都の調査個体群において、キイロヒメアリは融合コロニー的であると考えられた。この発見は、絶対産雌性単為生殖を行なうアリにおける、融合コロニー性の初めて

の報告と位置付けられる。

本種においては、絶対産雌性単為生殖と従属創設による短距離分散の組み合わせが融合コロニー性を誘導したというシナリオを提唱する。この繁殖システムの下では、隣り合う巣間の遺伝的距離がきわめて近くなり、巣仲間識別の標識となる遺伝子座の対立遺伝子の多様性が失われることで、種内における敵対性の消失に至ると考えられる。融合コロニー性の出現プロセスとしては、主に侵略的外来種において、人為的な移入によるボトルネック (Helanterä et al. 2009) によって巣仲間識別の標識となる遺伝子座の対立遺伝子の多様性が失われるという仮説が提出されてきた。キイロヒメアリにおいて提起した新たなシナリオは、小規模コロニーの融合 (Steiner et al. 2007) などとともに、自然条件下において融合コロニー性が生じうる道筋を示している。

現在のところ、女王が絶対産雌性単為生殖を行なう他の種における融合コロニー性の検証は行なわれていない。これらの種は有翅女王をともない、独立創設によって単女王制か (Masuko 2013; Masuko 2014)、あるいは単女王制を経る二次的多女王制にいたると考えられている (Fang et al. 2020; Ito et al. 2010; Ito et al. 2021)。生活史、とりわけ分散能力の異なる絶対産雌性単為生殖種が融合コロニー性を示すかどうか明らかにすることで、上記のシナリオの妥当性を検討できると期待される。特に同属種でありながら分散戦略の異なるフタモンヒメアリとの比較は重要である。

第5章 総合考察

動物や植物の大多数は有性生殖を行ない、アリやハチ、シロアリなどの真社会性昆虫もその例外ではない。しかしこの10年余りの間に、真社会性昆虫において単為生殖を組み込んだ特殊な繁殖システムが相次いで報告されてきた (Wenseleers and Oystaeyen 2011)。これらの発見は、なぜ性が進化し普遍的に維持されているのかという進化生物学上の重要課題に社会性昆虫ならではの検証の機会を与えてきた (Pearcy 2004; Matsuura et al. 2009)。またそれだけでなく、単為生殖の結果として生じる個体間やコロニー内の特殊な遺伝構造は、社会性昆虫の研究者にとってユニークなモデル系をもたらした。その最大の利点は、巣仲間における血縁度上の利害対立の解釈が容易なことや、遺伝的に均一な個体が多数得られることである。実際にいくつかの単為生殖種を用いて、真社会性の基盤ともいえる分業システムや発生の可塑性の研究が発表され続けている (Ulrich et al. 2018; Chandra et al. 2018; Bernadou et al. 2018)。

しかし社会性昆虫のほとんどの種において、繁殖システムの詳細な調査は行なわれていない。相対的に研究の進んでいる日本に生息するアリでは、11種から何らかのタイプの産雌性単為生殖が報告されており、これは日本産アリ類(約300種)のおよそ3.7%にあたる。全世界では約14,000種のアリが記載されていることを踏まえると (Bolton 2022)、産雌性単為生殖をともなう繁殖様式はかなり多いと予想される。個別の種における繁殖生態の解明は、アリ類の繁殖システムの多様性と進化パターンを浮かび上がらせるために避けて通れないステップといえる。

現在のところ、代表的な社会性昆虫であるアリ類において、産雌性単為生殖をともなう繁殖システムは、I型：ワーカーによる絶対産雌性単為生殖、II型：女王による使い分け産雌性単為生殖、III型：女王による絶対産雌性単為生殖の3つのタイプに大別されている (Fournier et al. 2005; Foucaud et al. 2005)。とりわけIII型の繁殖システムは、遺伝的に同一な女王とワーカーが生産される点で興味深い材料といえる。しかし、このタイプの単為生殖を行なう種におけるカースト発生の過程や巣内におけるカースト構成、コロニーの遺

伝構造などのデータは不足しており、研究モデルとして扱うことが困難であった。

本学位論文では、オスが発見されておらず、女王が絶対産雌性単為生殖によりワーカーと次世代の女王を生産するⅢ型の単為生殖システムをもつと考えられてきたキイロヒメアリ *Monomorium triviale* に着目し、その生活史を包括的に解明することを目的とした。その結果、キイロヒメアリの単為生殖種システムと生活史は次のように特徴づけられた。

まず、本種は国内のすべての調査個体群において完全産雌性単為生殖を行っており、有性生殖個体群と単為生殖個体群が認められる地理的単為生殖種ではないと考えられた。なお、国内におけるミトコンドリアゲノム配列の多様性は低く、それぞれの調査個体群は数万年以内に分岐したと推定された。また、膜翅目昆虫において単為生殖を誘導することが知られている細菌は検出されず、本種の単為生殖は内因性である可能性が高い。母個体がヘテロ接合を示す遺伝子座は娘個体においてもヘテロ接合であり、親子が同じ遺伝子型となる遺伝様式をもつと考えられた。カーストは単型で機能的な翅をもたない女王と、卵巣をもたず完全不妊のワーカーからなり、本種が従属創設により新巣を立ち上げることが示唆された。なお、女王の終齢幼虫からは特異的な突起状の体表構造が発見された。野外から採集された巣には複数の女王がみられ、かつそのほとんどが繁殖に関与する機能的多女王制であった。また、巣内に遺伝的距離の離れた個体を含む社会遺伝構造が見いだされ、非巣仲間の同種個体に対しても敵対性を示さないことも明らかになったことから、本種は融合コロニー性を示すと考えられた。

女王が絶対産雌性単為生殖によりワーカーと次世代の女王を生産する、Ⅲ型の単為生殖システムをもつアリにおいて、このような包括的な生活史情報がもたらされたのは初めてである。これらの知見は、本種を社会生物学の新規モデルとして研究を展開していくための基盤を提供している。

本論文の第2章で明らかになった、本種の絶対産雌性単為生殖システムの実態は、これまでに発見されてきたアリ類の単為生殖種が示す2つのパターンと一致している。第一に、単為生殖を誘導する細胞内細菌が存在しないことが挙げられる (Wenseleers and

Billen 2000)。その理由として、ボルバキアなどの細菌は子がホモ接合となる生殖核倍加型の単為生殖を誘発するため、真社会性膜翅目の性決定遺伝子座 CSD による性決定システムと相容れないことが指摘されている (Rabeling and Kronauer 2013)。一部のアリは CSD ホモログをもたないという報告もある (Gao et al. 2020) が、当該論文では同属種イエヒメアリ (*M. pharaonis*) から CSD が検出されており、この見解と矛盾しない。ただしキイロヒメアリからは、ショウジョウバエの性比歪曲因子として知られる *Spiroplasma* (Paredes et al. 2015) が検出された。一般に、社会性膜翅目昆虫の産雌性単為生殖における細胞内共生細菌の役割は、単為生殖種から細菌が検出されたかどうかというパターンをもとに議論されてきた。抗生物質の投与による細胞内共生細菌の除去や、人為的な導入といった操作実験は、産雌性単為生殖の起源やメカニズムの解明に貢献しうると考えられる。

第二に、女王による絶対産雌性単為生殖はワーカーが完全不妊である種でのみ進化するという予測 (Goudie and Oldroyd 2018) があり、キイロヒメアリはこのパターンに当てはまる。この予測によれば、ワーカーの繁殖能力が失われていない種において女王の産雌性単為生殖能力が獲得されると、ワーカーも産雌性単為生殖能力が可能となり、女王カーストの喪失を招くという。しかし最近、女王が絶対産雌性単為生殖を行なうカドフシアリ (*Myrmecina nipponica*) において、ワーカーも単為生殖によりワーカーを生産できることが報告された (Masuko 2020)。この観察は女王が死亡した孤児コロニーで行なわれており、女王存在下でワーカーの繁殖が抑制されているのかどうかは不明である。カドフシアリの女王カーストがなぜ維持されているのかは、この予測を検証する鍵となるかもしれない。女王による絶対産雌性単為生殖は、これまでフタフシアリ亜科のみで報告されている (Goudie and Oldroyd 2018)。ワーカーが完全不妊の種は特にフタフシアリ亜科で数多く報告されているが (Nonacs and Tobin 1992, Peeters and Ito 2015)、ハリアリ亜科やサスライアリ亜科 (Bourke and Franks 1995) でも確認されている。これら複数の分類群における検証も必要となるだろう。

第3章では、キイロヒメアリの女王とワーカーの発生過程を明らかにし、特に女王の

終齢幼虫において特異な体表構造を報告した。これは、完全産雌性単為生殖を行なうアリにおける初めての両カーストへの発生過程の記載である。遺伝的に同一であるはずの単為生殖卵から生じる著しい形態の可塑性は、生態発生学的に興味深い現象といえる。特に女王の終齢幼虫のみでみられた突起状の構造は、アリ類の幼虫における新たなカースト二型と位置付けられた。興味深いことに、この突起構造は胸部前方と腹部末端という、アリの女王において翅や生殖器が形成される体節 (Keller et al. 2014; Lieberman et al. 2021) には存在しなかった。この体節上の配置パターンは本種に対する生態発生学的な関心を際立たせている。イエヒメアリでは、女王の終齢幼虫において RNAi を行ない、女王分化をキャンセルする *Freja* 遺伝子をノックアウトすると、成虫の胸部と生殖器官が退縮することが確かめられた (Qiu et al. Research Square)。キイロヒメアリの女王特異的な突起は、カースト分化を制御する発生学的な機構を明らかにするための目印として利用できるかもしれない。

さらに発生過程の観察からは、女王個体の蛹化時に機能的な翅が形成されないことも明らかとなった。これはⅢ型の単為生殖システムをもつアリでは本種のみにもみられる形質であり、本種の女王はワーカーをともなって短距離分散すると考えられた。絶対産雌性単為生殖と無翅女王による従属創設の組み合わせはアリ類における個体レベルと巣レベルの繁殖システムの新たなパターンの発見と位置付けられる。基本的に固着性の生活史をもち、次世代の生産と移動分散を同時に行なうという点において、社会性昆虫と植物の繁殖は類似している。次世代の生産に性を用いるかどうか、長距離分散か短距離分散かという繁殖システムの多様性は植物にもみることができる。アリの女王と植物の散布体を比較すると、キイロヒメアリの繁殖システムは、無性的に繁殖し、短距離分散を行なうという点において、イチゴやタケにみられるような栄養繁殖に特に似ている。一方で、有翅女王を生産する絶対産雌性単為生殖種は、アポミクシスで無性的に種子を生産し、風散布を行なうタンポポのような戦略とみなすことができる。したがって、植物の繁殖システムと空間遺伝構造について蓄積されてきた知見は、アリの研究においてもよい道標となるだろう。ただし、

アリと植物のシステムには相違点もある。アリを含めた社会性昆虫の繁殖システムは個体の生産と新たなコロニー創設という階層の異なる2つのプロセスからなる。一方で、植物の繁殖システムにおいて、散布体の生産には社会性昆虫のような階層性はみられない。アリと植物の繁殖システムの比較は、生物における生活史戦略の多様性と、分類群を超えた普遍性を示している。

また第4章では、巣ごとの遺伝的分化の程度がごく小さく、さらに他巣の個体に対する敵対性を示さないことから、キイロヒメアリが融合コロニー性の社会をもつと結論付けた。本種の社会遺伝構造が形成されたプロセスには、3つの仮説が考えられる。第一に、従属創設の際に複数個体の女王が移動して、母巣の遺伝的多様性が娘巣でも保たれるというパターンが挙げられる。また第二に、アミメアリやヒラバナハリアリで知られているような、季節や営巣場所の制約によって複数の巣が融合する (Schilder et al. 1999b; Dobata et al. 2009) ことも考えられる。そして第三の仮説は、異なる巣間を継続的に個体が往来する多巣性による遺伝子流動であり、これは融合コロニー性と矛盾しない。3つの仮説は互いに排他的でなく、それぞれの可能性を集中的なフィールドワークによって検証する必要がある。いずれにしても、III型の単為生殖システムをもつアリの社会遺伝構造が解明されたのは初めてであり、今後、他種との比較が待たれる。特に同属でありながら女王の分散様式が異なるフタモンヒメアリ (*M. hiten*) との対比は、絶対産雌性単為生殖と従属創設の組み合わせにより融合コロニー性が獲得されたという本研究の予測を確かめる機会となるだろう。

アリのコロニーは女王やワーカーといったモジュールから構成されるシステムとみなすことができ、同じくモジュール性を示す群体生物やクローナル植物との生活史戦略の類似性が指摘されてきた (López et al. 1994; Stuefer 1998)。クローナル植物では、独立に生存可能なモジュールであるラメットがクローン成長により繰り返し生産され、遺伝的な個体であるジェネットを構成する。それぞれのラメットは地下茎や走出枝といったスペーサーで互いに接続されており、水分や同化産物などをジェネット内でやりとりする生理的統

合 (physiological integration, Pitelka and Ashmun 1985) を行なう。キイロヒメアリの生活史においては、従属創設により再生産され、互いに敵対性をもたないそれぞれの巣もまた、コロニーを構成するモジュールとみなすことができる。クローナル植物のジェネットーラメット構造のように、キイロヒメアリの巣間でも個体の移動がスペーサーの役割を果たし、栄養や労働力が融通されているかもしれない。またクローナル植物では、ジェネットのうち一部のラメットのみが有性生殖を行なうという繁殖分業が知られている (Stuefer 1998; Wang et al. 2017)。キイロヒメアリにおいて一部の巣でのみ女王ブルードが生産されていたことは、これに類似している。融合コロニーにおける巣間の相互作用、特に個体の移動によりもたらされる栄養学的な交流や、巣仲間の遺伝的多様性の増加が巣の生産性にもたらす効果は興味深いテーマである。

なお、本研究により明らかになったキイロヒメアリの生活史形質は、本種が自然分布域外に移入された場合の潜在的なリスクも示唆している。絶対単為生殖性で、少数の個体から急速に増殖可能であること、ワーカーをともなって分散するため、新巣を創設する際の死亡率が低いこと、多女王制であるため卵生産能力が高く、また繁殖個体を喪失しにくいこと、融合コロニー性で、在来種との種間競争に強い可能性があることなどの形質は、移入先において有利となりうることが指摘されている (Eyer and Vargo 2021)。このように在来性のアリの生活史を解明することは、将来の侵略リスクの評価と未然防止に貢献すると考えられる。

一連の研究により、キイロヒメアリは女王による絶対産雌性単為生殖で個体を生産し、従属創設により新巣を生産することで、融合コロニー性の社会を形成することが明らかになった。現時点において、これは他のアリに類をみない繁殖システムと社会構造の組み合わせといえ、その意味で本学位論文はアリ類の社会進化に新しいパターンを示したといえる。しかし、ヒメアリ属において、絶対産雌性単為生殖や従属創設が複数種で進化してきた (Ito et al. 2021; Johnson and Overson 2017) ことを考えると、本種と同様のパターンを示す種は少なくないと予測される。ヒメアリ属はこれまでに考えられてきた以上に多様で

あることが近年明らかになりつつある。たとえば、オーストラリアに生息する *M. nigrius* 種群からは1種のみが記載されているが、実際には300種以上の隠蔽種を含むと推定された (Andersen et al. 2022)。これは現在記載されているヒメアリ属の種数に匹敵する (Bolton 2022)。また、社会性昆虫の研究モデルとして古い歴史をもつイエヒメアリにおいては、染色体レベルの全ゲノム構造の決定 (Gao et al. 2020) や女王フェロモンの同定 (Oliveira et al. 2020)、胚発生からカースト分化に至るまでの全発生プロセスの解明 (Pontieri et al. bioRxiv)、発生初期からカースト分化をキャナライズする遺伝子群の特定 (Qiu et al. Research Square) など、最近重要な発見が続いている。このような状況は、モデル生物と注目すべき生態学的特徴をそなえた近縁種で展開されている比較ゲノミクスのアプローチ (Koenig and Weigel 2015) の好機といえる。キイロヒメアリを含む単為生殖性のヒメアリ類は、その有望な材料である。このアプローチのためには、生活史形質の多様性の地道な解明と、分野横断的に新たな手法を取り入れて研究を進めることが重要となるだろう。

要約

多くの動物は雌雄の配偶子を接合させる有性生殖により繁殖している。増殖に直接貢献しないオスの生産はコストであるにもかかわらず、メスのみで繁殖する単為生殖を行なう種は少ない。とりわけ社会性昆虫においては、単為生殖は家族集団の血縁度を高めるため、包括適応度の観点から社会性昆虫に高い利益をもたらさう。しかし、代表的な社会性昆虫であるアリ類において、オスをともなわない絶対産雌性単為生殖が報告されている種は全体の 0.01% に満たない。このような種の生活史を明らかにすることは、なぜ性が進化し普遍的に維持されているのかという問いに検証の材料を与える。また、単為生殖の結果として生じる個体間やコロニー内の特殊な遺伝構造は、真社会性の基盤をなす分業システムや発生の可塑性のユニークなモデル系として利用できる。本研究では、オスが発見されておらず、女王が絶対産雌性単為生殖によりワーカーと次世代の女王を生産すると考えられるキイロヒメアリ *Monomorium triviale* に着目し、その生活史を包括的に解明することを目的とした。本論文は以下のように要約される。

第 1 章では、単為生殖性の生物を対象とした研究の意義について述べるとともに、社会性昆虫から報告されてきた単為生殖を組み込んだ繁殖システムの類型を概観した。さらに単為生殖性の社会性昆虫が研究モデルとして有用であることを示したうえで、新規モデルとしてキイロヒメアリに着目する理由を述べた。

第 2 章では、キイロヒメアリの女王による絶対産雌性単為生殖を多角的に検証した。国内の分布域をカバーする全国各地の個体群を用いて、飼育実験とマイクロサテライトマーカーによるジェノタイプングを行なった結果、すべての調査個体群が絶対産雌性単為生殖を行なうと考えられた。また、各個体群のミトコンドリア DNA 配列に基づく年代推定を行なったところ、個体群間の変異は小さく、2～7 万年以内に生じうる程度のものであ

ると推定された。このことから、本種の単為生殖系統が国内において急速に分布を拡大したことが示唆された。さらに産雌性単為生殖の起源に着目し、キイロヒメアリの体内細菌叢を解析したところ、膜翅目において単為生殖を誘導する細胞内共生細菌は検出されず、本種の産雌性単為生殖能力は内因性であると考えられた。なお解剖学的観察の結果、ワーカーは卵巣を喪失しており、女王による絶対産雌性単為生殖はワーカーが完全不妊の種からのみ進化するという先行研究の見解と一致した。

第3章では、キイロヒメアリのカースト発生に着目し、女王とワーカーの発生段階を記載した。形態計測と飼育実験の結果、将来女王となる終齢幼虫は特異的な突起状の体表構造をもつことが分かった。このような女王特異的な構造はこれまで報告されておらず、アリ類の幼虫における新奇カースト二型として位置付けられた。さらに発生過程の観察からは、女王個体の蛹化時に機能的な翅が形成されないことも明らかとなった。このことから、本種の女王は飛行能力をもたず、歩行によって分散し新巣を創設すると考えられた。長距離分散できない無翅女王の発見は、絶対産雌性単為生殖を行なうアリにおいて初めてであり、アリ類における個体レベルと巣レベルの繁殖システムの新たな組み合わせを見出した。

第4章では、絶対産雌性単為生殖という個体レベルの繁殖システムと、無翅女王による短距離分散という巣レベルの繁殖システムの組み合わせがもたらす空間遺伝構造に着目した。京都府内の集団について RAD-seq 法を用いて SNP 多型を検出し、集団遺伝学的解析を行なったところ、異なる採集サイト間で遺伝的分化が認められた。この結果は、本種が長距離分散できないことを反映していると考えられた。一方で、各採集サイト内における巣間の遺伝的分化は小さく、それぞれの巣には遺伝的に均一でない個体が含まれていた。さらに行動観察により、本種のワーカーは異なる巣の同種個体にも敵対行動を示さないこ

とも確かめられた。一連の結果は、離れた巣の個体同士の直接的な相互作用が不可能なほどの地理的スケールにおいて、単一のコロニーとみなすことができる個体群や種の状態という融合コロニー性の定義に当てはまる。この結果は、絶対産雌性単為生殖を行なうアリにおける、融合コロニー性の初めての報告と位置付けられた。女王アリが絶対産雌性単為生殖を行ない、かつ長距離分散できない本種では、隣り合う巣の遺伝的距離がきわめて近くなり、巣仲間識別の標識となる対立遺伝子座の多様性が失われた結果、この特殊な社会構造が獲得されたというシナリオを提起した。

第5章では本研究の総合考察と、産雌性単為生殖を行なうアリを用いた研究の今後の展望を述べた。

謝辞

本研究を進めるうえで多くの方々にたいへんお世話になりました。この場を借りてお礼申し上げます。

まず、指導教員である京都大学農学研究科昆虫生態学研究室の松浦健二教授には、科学者としての姿勢や生存戦略、人生で直面する困難への向き合い方など、研究指導にとどまらない多大な指導を賜りました。他大学から昆虫生態学研究室の門を叩いた私を温かく迎え入れてくださり、また決して要領のよくない私を根気強くご指導いただきました。心より御礼申し上げます。また、東京大学大学院総合文化研究科の土畑重人准教授には、京都大学昆虫生態学研究室に助教として在籍されていた当時から、アリの研究について実質的なご指導をいただきました。野外調査や実験、論文執筆など、昼夜を問わず膨大な労力を割いてくださり、感謝してもしきれない思いです。個別の材料や具体的な現象にとらわれがちな私にとって、理論と実証の両輪を意識したご指摘はきわめて示唆に富んでいました。本当にありがとうございました。昆虫生態学研究室の高田守助教には、アリの研究経験に基づき、研究の方向性や研究計画書に有益なコメントを何度となくいただきました。また、研究者の人生設計や心構えについて、ご自身の経験に基づき実践的にご教示いただき、たいへん参考になりました。心から感謝いたします。バージニア工科大学 **Chin-Cheng Yang** 助教には、京都大学生存圏研究所に講師として在籍されていた当時からシンポジウムへの招待や共著論文執筆の機会をいただきました。また台湾のアリ研究者との交流の場も設けてくださり、研究交流のネットワークを大きく広げさせていただきました。また、本論文の主査を担当して頂いた松浦健二教授のほか、副査を担当して頂いた京都大学農学研究科昆虫生理学研究室の大門高明教授、植物遺伝学研究室の吉田健太郎教授には、論文へのコメント・審査の労を賜りました。心より御礼申し上げます。また、昆虫生理学

研究室の大出高弘助教には、遺伝子実験に際して研究室の機器を利用させていただいたほか、発生学的観点から示唆的なコメントをいただきました。併せて御礼申し上げます。

昆虫生態学研究室のポスドクの方々にも多くの薫陶を受けました。矢代敏久博士（現：国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構）には、電子顕微鏡の使用方法を丁寧にご教示いただきました。前野浩太郎博士（現：国際農林水産業研究センター）にはご著書や激励の品をたびたびご恵贈くださり、また心のこもった激励のお言葉もいただきました。田崎英祐博士（現：新潟大学）には分子実験の多くをご指導いただいたほか、申請書にも的確なコメントをいただきました。三高雄希博士（現：テキサス A&M 大学）は博士課程学生として昆虫生態学研究室に在籍されていたころから数え切れないほどの相談に乗ってくださり、親身なご助言にいつも心救われました。石橋朋樹博士（現：理化学研究所）からは発生生物学の観点と、分野を超えて研究を展開する姿勢を学びました。高橋迪彦博士には遺伝子解析について具体的なアドバイスを数多く賜りました。皆様に深く御礼申し上げます。

研究室の先輩にも恵まれました。とりわけ、先述の三高博士をはじめ、水元惟暁博士（現：沖縄科学技術大学院大学）や野崎友成博士（現：産業総合研究所）、稲垣辰哉博士（現：東京工業大学）など、博士課程の先輩方には、公私にわたり多くの助言をいただき、また研究生活のロールモデルを示していただきました。李志琦博士（現：ハイファ大学）にはゲノム解析の手法についてご指導いただきました。Matthew T. KAMIYAMA 博士には英文原稿を丁寧に添削していただきました。ここではお名前を挙げきれませんが、昆虫生態学研究室の学生諸氏のご協力なくして、5年間を過ごすことはできませんでした。他愛もない会話から研究のディスカッションに至るまで、多くの楽しい時間を共有させていただきました。まことにありがとうございます。また、事務の中西智子氏には物品の購入

や予算の管理など、事務手続きに関して大変お世話になりました。併せて御礼申し上げます。

琉球大学の辻和希教授には、キイロヒメアリを用いた研究の方針について多くのご助言をいただくとともに、共著論文のご指導をいただきました。また、甲南大学の後藤彩子准教授には、アリの組織切片の観察技術を教示いただくとともに、論文執筆についてもご指導いただきました。また、専修大学の増子恵一教授にはアリの幼虫形態について示唆的なコメントをいただきました。東京農工大学の佐藤俊幸准教授と東京都立大学の Adam Cronin 准教授には、クロクビレハリアリに関する論文執筆で有意義なご助言をいただきました。

全国各地や台湾でのサンプリングにご協力いただき、調査の合間には有意義なコメントをいただいた、香川大学の伊藤文紀教授と貞廣邦夫氏、金沢大学の大河原恭祐准教授、関西学院大学の北條賢准教授と下地博之助教および田中康就氏、国立彰化師範大学の林宗岐教授、龍谷大学の武田和也博士、九州大学の久末遊氏、東京大学の徐伯瑋氏にも心より御礼申し上げます。

2020年にご逝去されたソルボンヌ大学の Christian Peeters 教授には、来日の折にさまざまなお助言をいただいたほか、ブラジルおよび仏領ギアナにて数週間にわたり、アリの研究法についてご指導いただきました。先生とのフィールドワークは生涯忘れえぬ思い出です。南米での日々を共に過ごした Adam Khalife 博士と水野理央博士にも併せて御礼申し上げます。

東京都立大学の岡田泰和准教授と若宮健博士には、本学位論文の執筆を温かく見守っていただくとともに、遺伝子解析について具体的なアドバイスをいただきました。心より感謝しております。また、学部生時代の研究をご指導いただいた筑波大学の渡辺守教授

(現：三重大学名誉教授)と横井智之助教、小長谷達郎博士(現：奈良教育大学准教授)

にも厚く御礼申し上げます。

本研究の大部分は日本学術振興会特別研究員制度および科研費に支援されました。また一部は、セコム科学技術振興財団による支援を受けました。

最後に、これまでの学生生活を心身共に支えてくれた家族に心から御礼申し上げます。ありがとうございました。

学位公表論文

Idogawa N, Sasaki T, Tsuji K, Dobata S (2021) Comprehensive analysis of male-free reproduction in *Monomorium triviale* (Formicidae: Myrmicinae). PLoS One 16:e0246710. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0246710>

Idogawa N, Lee CC, Yang CCS, Dobata S (2021) The complete mitochondrial genome of a parthenogenetic ant, *Monomorium triviale* (Hymenoptera: Formicidae). Mitochondrial DNA Part B: Resources 6:2793-2795. <https://doi.org/10.1080/23802359.2021.1970632>

Idogawa N, Gotoh A, Dobata S (2022) Morphology of immatures of the thelytokous ant, *Monomorium triviale* Wheeler (Formicidae: Myrmicinae: Solenopsidini) with descriptions of the extraordinary last-instar queen larvae. Zootaxa 5105:253–268. <https://doi.org/10.11646/zootaxa.5105.2.5>

Idogawa N, Dobata S (2018) Colony structure and life history of *Lioponera daikoku* (Formicidae: Dorylinae). Asian Myrmecology. 10:e010006. <https://doi.org/10.20362/am.010006>

巻末付録1 ヒメアリ類のブルードを専食するクロクビレハリアリのコロニー構造と生活史

はじめに

サスライアリ亜科 (Dorylinae) は、主に熱帯・亜熱帯地域に分布する単系統の捕食性アリのグループである (Brady et al 2014; Guénard et al 2017)。本亜科には、いわゆる軍隊アリと略奪アリが包まれる。ヒサスライアリ属 (*Aenictus*)、グンタイアリ属 (*Eciton*)、サスライアリ属 (*Dorylus*) などの一部の軍隊アリ類は、放浪的な生活史、極端な女王・ワーカーの二型、特殊な集団捕食など、しばしば“軍隊アリシンドローム”と総称される特異な形質群を共有する (Schneirla 1971; Gotwald 1995)。その社会システムは、“超個体”の典型例として広く研究されている (Camazine et al.2001)。近年では、クビレハリアリ (*Ooceraea biroi*: 以前は Cerapachyinae 亜科の *Cerapachys biroi* とされていた) のドラフトゲノム配列が決定され (Oxley et al. 2014)、この亜科は分子機構から社会組織まで網羅する統合生物学の新しいモデルシステムとなっている (Kronauer 2009)。

この亜科の多様性をより深く理解するためには、比較研究のアプローチが欠かせない。種の生態や系統関係の詳細な情報は、その特異な生活史の適応的意義や多様化の進化史に洞察をもたらすはずである。最近の分類学的改訂 (Borowiec 2016) と大規模な分子系統学的研究 (Brady et al.2014; Borowiec 2019) がこれを可能にしている。

クロクビレハリアリ属 (*Lioponera*) は Mayr (1879) によって記載されたのち、*Cerapachys* 属の亜属に格下げされた (Brown 1975)。最近、(Borowiec 2016) により分子系統学に基づくサスライアリ亜科の属として分類学的地位が復活した (Brady et al.2014)。*Lioponera* 属はサスライアリ亜科の中で系統的に最も古くから分岐したグループの 1 つであり (Borowiec 2019)、既知の種はすべてアリの専門的捕食者である (Borowiec 2016)。

またこのグループは、旧世界に分布する狭義の軍隊アリ（Borowiec 2016）以外では、最も種数が多いグループである。本稿では、サスライアリ亜科のなかでも最北に分布する（Terayama 1996; Guénard et al 2017）クロクビレハリアリ（*L. daikoku*）の基本的な生活史情報を報告する。コロニー構成、コロニーサイズ、営巣基質、繁殖虫の季節的生産、餌となる生物について報告する。また、本種の雄について形態学的特徴を記載する。

材料と方法

調査地は、京都市左京区に位置する落葉広葉樹を主体とする雑木林（北緯 35°03'33"、東経 135°47'01"、高度 90m）である。2017年5月5日から11月27日に実施した野外調査において、ササ類の枯枝の空洞に営巣するクロクビレハリアリと、その他のアリ類を採集した。巣内の各カースト（女王、ワーカー、有翅女王、雄）の個体数を、採集後すぐに実験室で記録した。*Lioponera* 属におけるいくつかの先行研究は、本属の種が他のアリの専門的な捕食者であることを示唆している（Wilson 1958; Hölldobler 1982）。そのため、調査地のアリ相を明らかにするために、調査の過程で採集された他のアリ類を、寺山ら（2014）の検索表を用いて同定した。また8月8日から11月27日にかけて採集された巣は、デジタルノギス（精度 0.1 mm、DT-150、新潟精機）を用いて巣材であるササの枯枝の直径を測定し、得られたすべてのアリ種について営巣場所の選好性を調査した。

クロクビレハリアリのカースト間の形態の差を明らかにするために、それぞれのカーストの成虫をデジタル顕微鏡（VHX-900；キーエンス社）で撮影した。体サイズの指標として、頭部、胸部、腹部の幅を ImageJ ソフトウェア（Open Source: <http://imagej.nih.gov/ij/>）を用いて測定した。一部の女王とワーカーは双眼実体顕微鏡（SZ40; OLYMPUS）

のもとで解剖し、卵巣小管の数を記録した。統計学的検定は、すべて R ソフトウェア (ver.3.3.1; R Development Core Team 2013) を用いて実施した。

結果

コロニー構成

5月5日から9月30日の間に23のコロニーを採集した(表 S-1)。平均コロニーサイズはワーカー 12.74 ± 12.60 頭 (mean \pm SD, $n = 23$) で、1頭(創設女王)から44頭までばらばらについていた。23コロニーのうち、19コロニー(82.6%)で1頭のみ女王、3コロニー(13.0%)で複数の女王がみられ、1コロニー(4.3%)では女王がみられなかった(表 S-1)。また、コロニー内には異なるステージのブルードが共存していた。5月16日に採集した2つのコロニーで有翅虫が初めて観察され、最後にクロクビレハリアリのコロニーを採集した9月30日まで、継続して有翅虫が採集された。有翅虫を生産していたコロニーの個体数は5-44個体であった。また、コロニーサイズと有翅虫生産数の間に関係はみられなかった(ポアソン回帰、尤度比検定、 $\chi^2 = 0.279$, $df = 1$, $p = 0.598$, $n = 9$; 図 S-1)。これらのコロニーの多くは、コロニーサイズよりも多くの有性生殖体を生産していた(図 S-1)。また、有翅女王を1個体だけ生産していたコロニーが2つあり(表 S-1: #10 および #14)、この2つのコロニーを除くと、コロニーサイズと有翅虫生産数の間に有意に正の関係が検出された(ポアソン回帰、尤度比検定、 $\chi^2 = 23.985$, $df = 1$, $p < 0.001$, $n = 7$)。有翅虫全体に占める雄の割合は0-0.65で、平均値は0.30であった。5月27日、6月3日、7月2日に単独の女王(ブルードをとまわず、創設初期と思われる)が確認された。これらの女王はササの枯枝の中空部に営巣した。

表 S-1. クロクビレハリアリのコロニー構成と、巣内から発見されたヒメアリ属のブルードの個体数

コロニーID	日付	クロクビレハリアリ						<i>Monomorium</i> spp.		
		女王	ワーカー	オス	有翅女王	蛹	幼虫	卵	幼虫	蛹
#1	2017/5/5	1	2	0	0	0	0	0	0	0
#2	2017/5/11	1	13	0	0	0	0	0	0	0
#3	2017/5/11	1	1	0	0	0	0	0	0	0
#4	2017/5/16	1	15	0	0	0	0	0	0	0
#5	2017/5/16	1	34	30	16	0	0	0	60	0
#6	2017/5/16	1	20	16	32	0	1	1	202	0
#7	2017/5/20	1	29	0	0	0	30	4	70	0
#8	2017/5/27	1	0	0	0	0	0	0	0	0
#9	2017/5/27	1	0	0	0	0	0	0	20	0
#10	2017/5/27	1	44	0	1	0	29	0	150	0
#11	2017/6/3	1	0	0	0	0	0	0	0	0
#12	2017/7/2	1	0	0	0	0	0	0	10	1
#13	2017/7/2	3	14	0	0	0	6	7	102	40
#14	2017/7/2	2	24	0	1	14	36	29	42	0
#15	2017/7/2	1	20	0	0	3	27	13	112	34
#16	2017/7/25	5	0	0	0	33	39	35	105	5
#17	2017/7/25	1	3	0	0	10	4	6	59	14
#18	2017/8/8	1	18	0	23	47	23	10	177	0
#19	2017/8/19	0	5	2	3	4	0	0	1	0
#20	2017/9/19	1	27	14	31	0	58	5	123	0
#21	2017/9/30	1	9	14	17	0	14	0	53	0
#22	2017/9/30	1	3	0	0	4	12	2	7	14
#23	2017/9/30	1	12	20	15	0	47	4	108	4

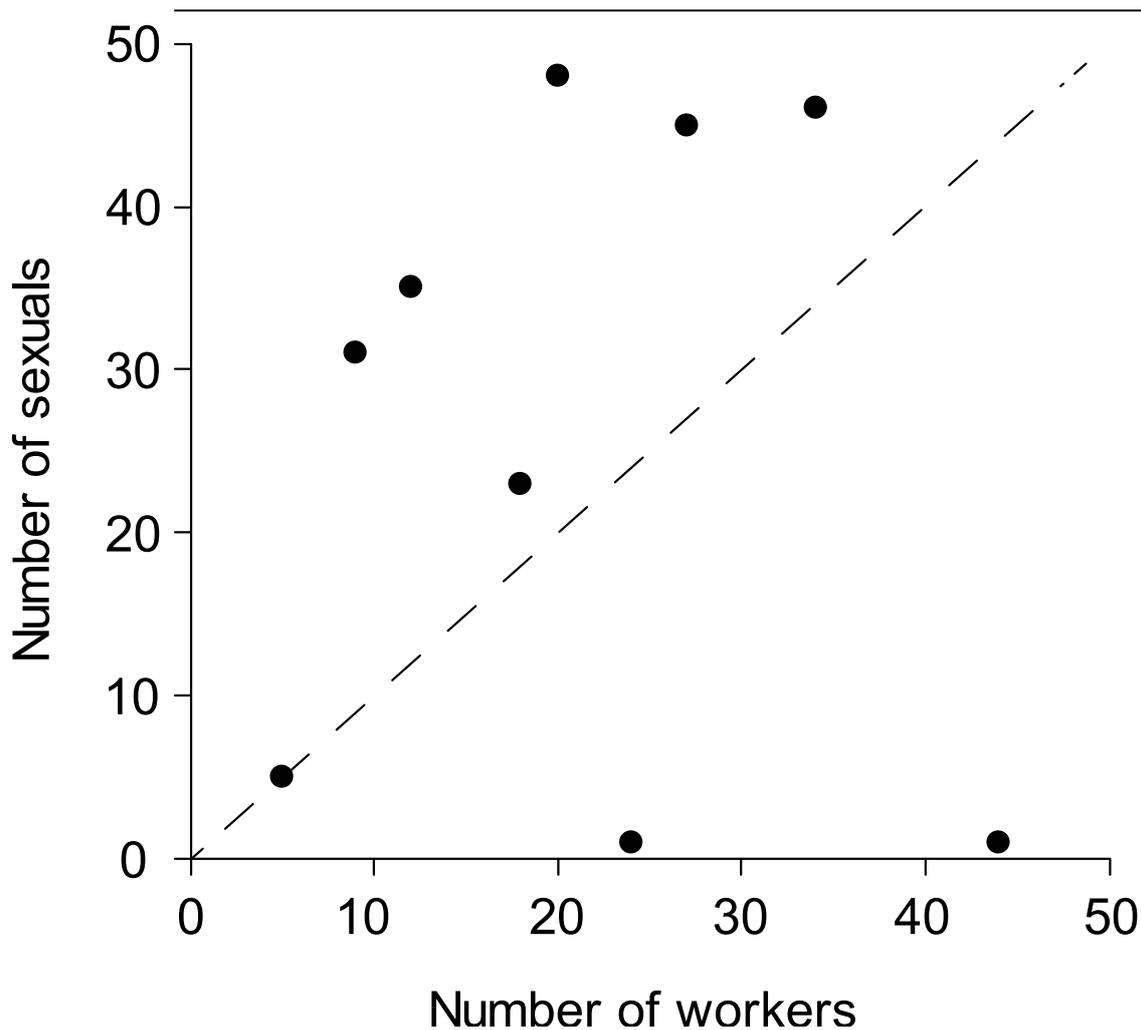


図 S-1. コロニーサイズと有翅虫の生産数の関係

ほとんどのコロニーで、ワーカーの数に比べて生殖虫数が多い（つまり、破線より上にプロットされる）。

カースト二型

女王とワーカーの間には、以下の部位において有意なサイズ二型が観察された。頭

幅：女王の頭幅は 0.50 ± 0.02 mm (mean \pm SD, $n = 43$, 0.45-0.56 mm)、ワーカーは $0.48 \pm$

0.02 mm (mean \pm SD, $n = 48$, 0.44-0.51 mm; Welch's t test, $t = -5.38$, $df = 69.41$, $p = 0.001$) ;

胸幅：女王は 0.45 ± 0.03 mm (mean \pm SD, $n = 43$, 0.40-0.53 mm)、ワーカーで 0.37 ± 0.02

mm (mean \pm SD, $n = 48$, 0.34-0.41 mm; Welch's t test, $t = -15.77$, $df = 63.40$, $p = 0.001$) ; 腹幅 : 女王は 0.57 ± 0.03 mm (mean \pm SD, $n = 43$, 0.52-0.66 mm)、ワーカー 0.52 ± 0.02 (mean \pm SD, $n = 48$, 0.46-0.56 mm; Welch's t test, $t = -8.95$, $df = 68.36$, $p = 0.001$) であった。また、成虫の胸部構造には女王とワーカーの顕著な違いがみられた (図 S-2a, b)。女王の胸部には前胸部、中胸部、後胸部の間に明確な境界線 (縫合線) があり (図 S-3a, c)、翅は退化しておらず、中胸部および後胸部に付着していた。一方で、ワーカーの胸部背面は完全に融合していた (図 S-3b, d)。女王 ($n = 43$) は卵巢小管の数が4つ (2 + 2) であるのに対し、1頭を除くすべてのワーカー ($n = 48$) は2つ (1 + 1) であった。外部形態から「ワーカー」と判断された1頭は卵巢小管を4つ (2 + 2) 保有していた。

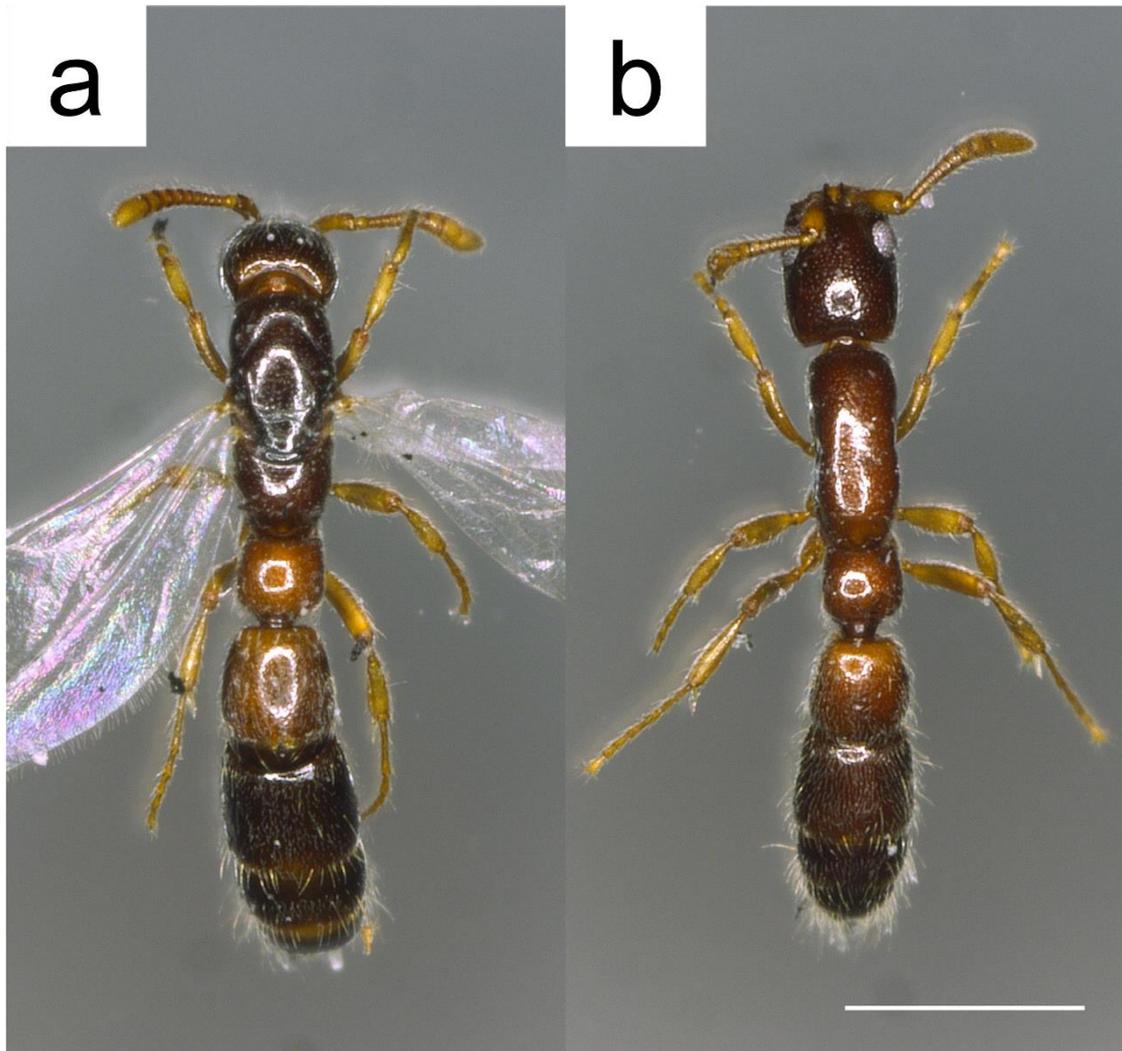


図 S-2. 背面から見たクロクビレハリアリの両カースト
(a) 女王。 (b) ワーカー。スケールバーは 1.0 mm を示す。

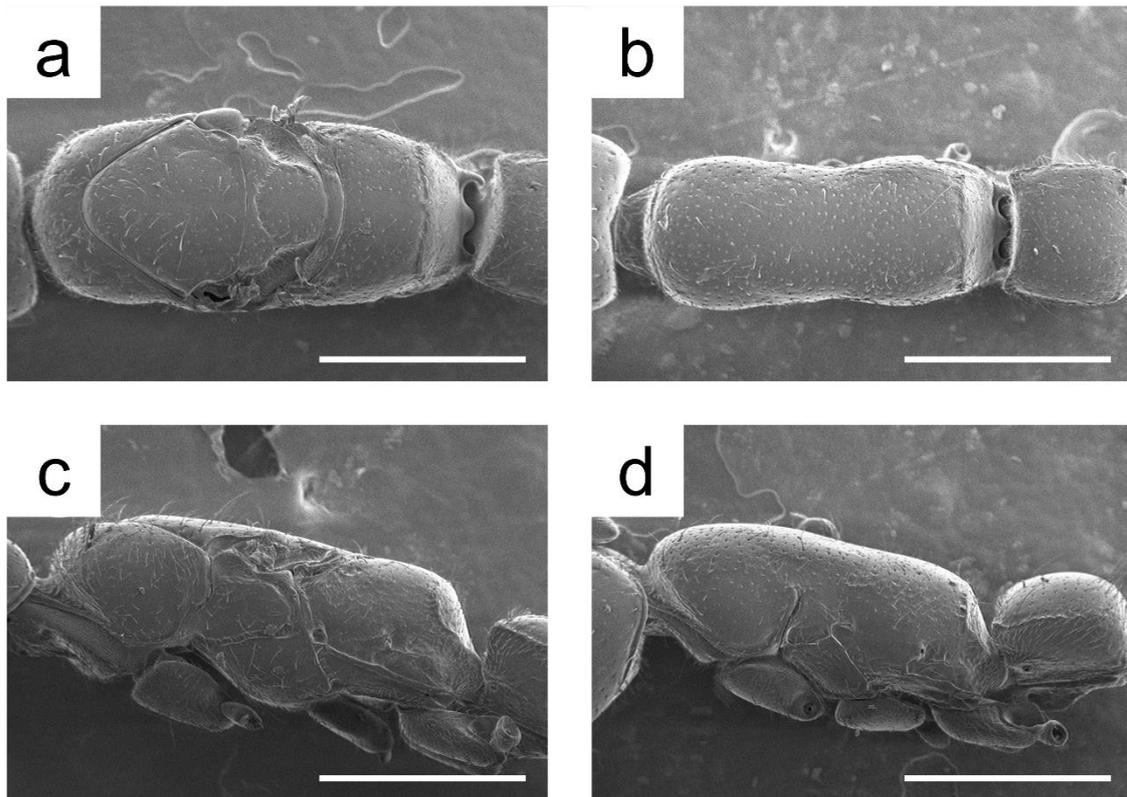


図 S-3. クロクビレハリアリの両カーストの胸部構造

(a) 女王の背面図（翅を除去している）。(b) ワーカーの背面図。(c) 女王の側面図。
 (d) ワーカーの側面図。スケールバーは 0.5 mm を示す。

営巣と食性

調査地において、ササの枯枝の中には 6 種のアリが営巣していた。キイロヒメアリ (*Monomorium triviale*: 32 巣)、ヤマヨツボシオオアリ (*Camponotus yamaokai*: 22 巣)、ムネボソアリ類 (*Temnothorax* spp.: 20 巣)、テラニシシリアゲアリ (*Crematogaster teranishii*: 9 巣)、シベリアカタアリ (*Dolichoderus sibiricus*: 3 巣)、ヒメアリ (*M. intrudens*: 1 巣) とクロクビレハリアリ 6 巣を含む。最も多い 3 種が巣の大部分を占めていた ($74/87 = 85\%$)。巣として利用されていた枯枝の直径は、ヤマヨツボシオオアリがク

クロクビレハリアリを含む他の種に比べて有意に大きく (Tukey-Kramer 検定, $p \leq 0.0046$)、他の種の間で有意な差は認められなかった ($p \geq 0.252$; 図 S-4)。

また、野外調査を通じて、クロクビレハリアリの巣からヒメアリ属のアリの幼虫や蛹が発見された (表 S-1、図 S-5)。これらのヒメアリ類は、同所的に採集されたヒメアリやキイロヒメアリである可能性が高い。また、実験室で行なった摂食実験では、クロクビレハリアリのワーカーはヒメアリとキイロヒメアリの幼虫を針で刺し、巣に持ち帰ったが (図 S-6)、ヤマヨツボシオオアリとムネボソアリ属の幼虫を与えた場合には、そのような行動はみられなかった。

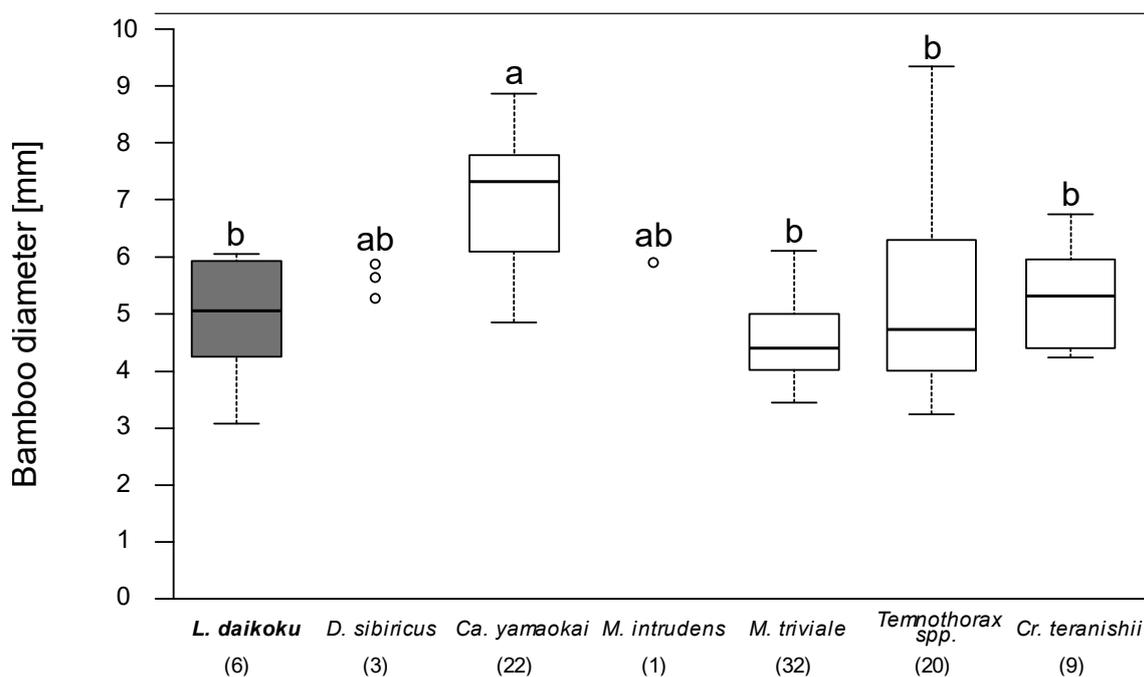


図 S-4. クロクビレハリアリを含む7種のアリが営巣していたササの枯枝の直径
箱ひげ図には、上下4分位、最大値、最小値、中央値 (太線) が示されている。種名の下
の括弧内の数字は、測定された巣の総数を示す。異なる文字は有意差を示す (Tukey-
Kramer 検定, $p < 0.05$)。

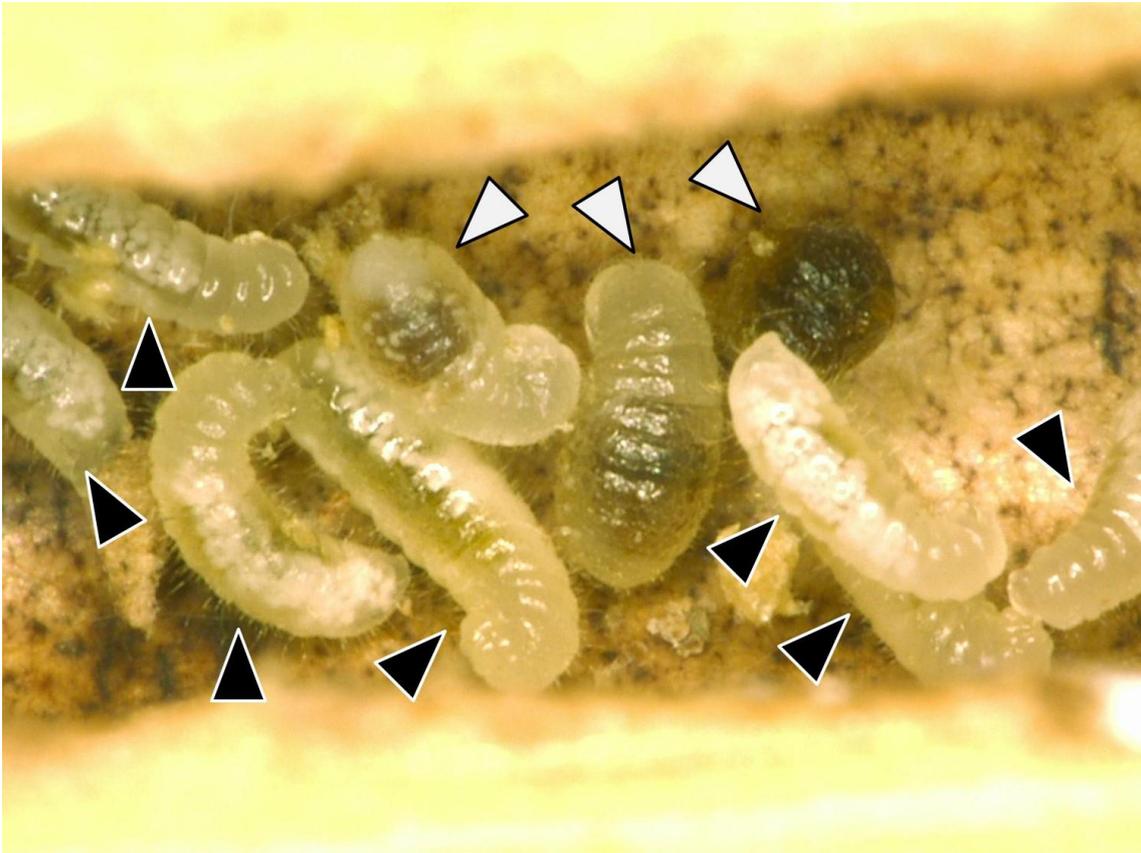


図 S-5. 野外で採集された巣の中でクロクビレハリアリの幼虫とともに見つかったヒメアリ属の幼虫

ヒメアリ属の幼虫（白い矢印）は数週間で姿を消したため、クロクビレハリアリの成虫または幼虫（黒い矢印）に摂食されたと思われる。



図 S-6. 実験室におけるクロクビレハリアリのワーカーの採食行動

クロクビレハリアリのワーカーは、人為的に与えたキイロヒメアリの幼虫を嚙んだり、刺したりしていた。

オスの形態

12 個体の標本にもとづき、各部について以下の計測値を得た。体長： 2.94 ± 0.17 mm (2.63-3.26 mm)。頭部 (図 S-7a)：頭幅 0.51 ± 0.01 mm (0.49-0.53 mm)；頭部長 0.56 ± 0.02 mm (0.54-0.58 mm)；眼幅 0.19 ± 0.01 mm (0.16-0.22 mm)；眼長 0.25 ± 0.02 mm (0.21-0.29 mm)；柄節長 0.20 ± 0.01 mm (0.18-0.21 mm)。胸部および腹部 (図 S-7b、c)：背方から見た胸部の幅は 0.55 ± 0.02 mm (0.52-0.58 mm)、胸部長は 1.04 ± 0.05 mm (0.94-1.10 mm)、胸部高は 0.47 ± 0.02 mm (0.44-0.51 mm) 背方から見た腹柄節の幅は 0.32 ± 0.02 mm (0.28-0.35 mm) そして腹柄節の長さは 0.27 ± 0.03 mm (0.23-0.33 mm) 腹

柄節の高さは 0.28 ± 0.02 mm (0.26-0.34 mm) .右翅 (図 S-7d、e) : 前翅の幅、 0.67 ± 0.02 mm (0.63-0.69 mm) ; 前翅の長さ、 2.23 ± 0.05 mm (2.13-2.35 mm) ; 後翅の幅、 0.40 ± 0.01 mm (0.38-0.42 mm) ; そして後翅の長さは 1.75 ± 0.06 mm (1.60-1.83 mm)。

クロクビレハリアリ属のオスは、(1) 触角が 13 節であること、(2) 前翅に前縁脈 (costal vein) がいないこと、(3) 前翅に径脈 (stigmatal vein) があることが特徴である (Borowiec, 2016) 。これらの形質はすべてクロクビレハリアリの雄にも共通していた。また、他のクロクビレハリアリ属の種と同様に、大顎は無歯であり、脛節には 1 本の突起があり、前翅には大きな褐色の斑紋があった。体の大部分は黒色で、大顎と触角、脚は黄褐色であり、翅脈はきわめて淡かった。本種のオスは本属のタイプ種である *L. longitarsus* に似るが、中胸背板に V 字型の溝 (=notaulus) があり、体色が黒いことで区別される。

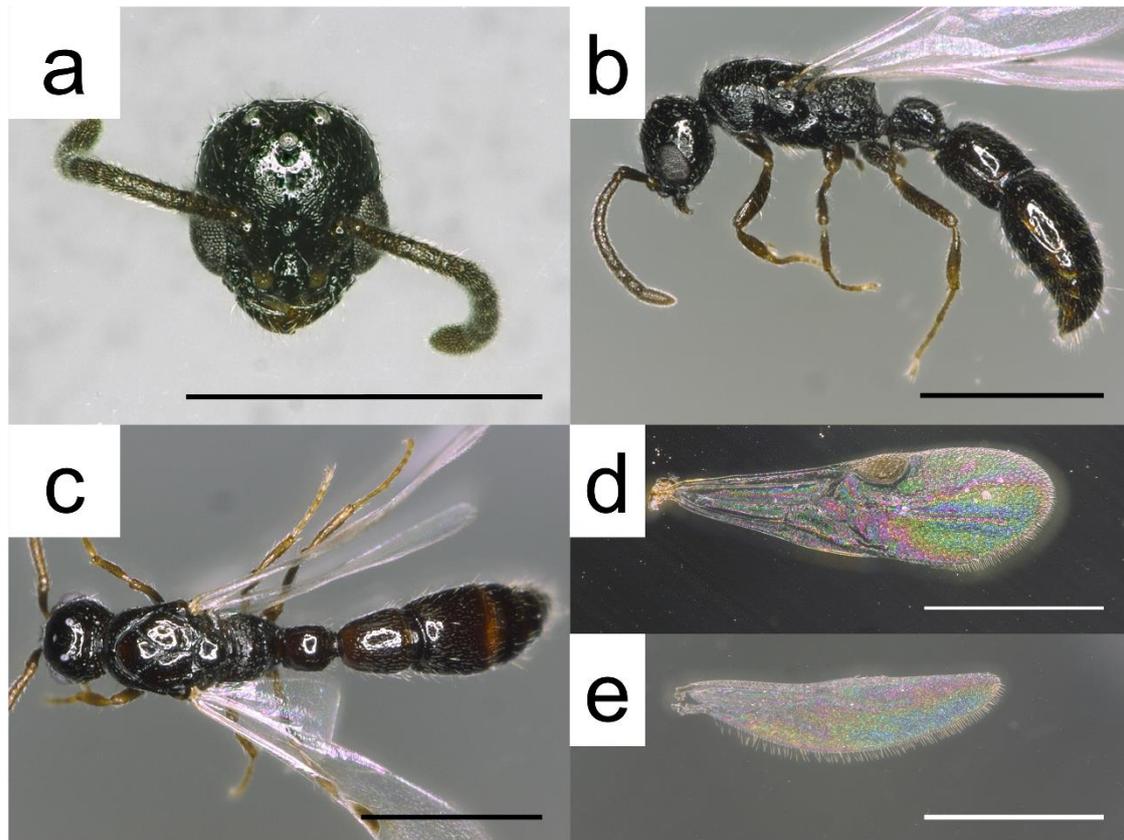


図 S-7. クロクビレハリアリのオス

(a) 頭部正面図。(b) 側面。(c) 背面。(d) 右前翅 (e) 右後翅。スケールバーは 1.0 mm を示す。

考察

サスライアリ亜科 (Dorylinae) のコロニーサイズ (ワーカー数) は種によって著しく異なり、ツチクビレハリアリ (*Syscia humicola*) の 9.1 個体 (Masuko 2006) から、クビレハリアリの 150-600 個体 (Tsuji and Yamauchi 1995)、グンタイアリ属 (*Dorylus*) の 2000 万個体以上 (たとえば Vosseler 1905, Raignier and Boven 1955) まで知られている。クロクビレハリアリのコロニーサイズは平均 10 個体程度と、これまでのクロクビレハリアリ属の記録 (Clark 1924; Wilson 1958, 数十個) の中では最も小さく、サスライアリ亜科における本種の祖先的な地位を考える上でも興味深い。クロクビレハリアリの社会構造は単女王

制が優占していた。しかし、23 コロニーのうち 3 コロニーでは、繁殖ステータスが不明な棄翅女王が複数個体存在していた。そのうち 1 つは 2017 年 7 月 25 日に採集されたもの（コロニー16）で、ワーカーがいないにもかかわらず、5 頭の棄翅女王と多くのブルードを有していた（表 S-1）。これらの女王は解剖されなかったが、これは多雌創設の可能性を示唆するものである。Clark (1924) や Hölldobler (1982) は、クロクビレハリアリ属の他の種で多女王制を報告しており、種内・種間の社会構造の多様性が存在することを示唆している。また、クロクビレハリアリではブルードの同期的な成長が観察されず、本種は非周期的に繁殖を行なうことが示された (Ito et al. 2018 も参照)。Gotwald (1988) は、軍隊アリや略奪アリの周期的な生活様式は、非周期的な祖先から二次的に進化したと議論している。最新の系統学的研究樹 (Borowiec 2019) とクロクビレハリアリ属の生活環の研究 (reviewed in Borowiec 2016) は、この仮説を支持している。本研究では、有翅虫は 8 月に清算され、翌年の 5 月に交尾飛行が行なわれることが示唆された。野外では脱翅女王が単独で発見され、本種は独立創設を採用していると考えられた。本属の中には無翅女王をもち、コロニー分裂によって繁殖する種があるため (Borowiec 2016)、本属の新巢の創設様式の比較研究は興味深いテーマである。

野外および実験室での観察からクロクビレハリアリは他種のアリの幼虫、特にヒメアリ属を専門に捕食することが強く示唆された。クロクビレハリアリ属はアリを専門に捕食するグループとして知られているが、捕食するアリの発達段階は種によって様々である。Hölldobler (1982) と Brown (1975) は、クロクビレハリアリ属のワーカーがオオズアリ属 (*Pheidole*) の成虫と幼虫のいずれも捕食することを報告している。今回観察されたクロクビレハリアリにおいては、ワーカーがヒメアリ類の成虫を毒針で刺して殺すものの、食べずに捨ててしまうことから、幼虫と蛹のみを捕食していることが示唆される。また、

調査地ではクロクビレハリアリよりも成虫の体サイズが小さいのはヒメアリ属のみであり、本属が選好される理由となっている可能性がある。調査地には2種のヒメアリ属が生息しているが、キイロヒメアリ, *M. triviale* が相対的に多く、コロニーサイズも小さいため、クロクビレハリアリの主要な餌であると推定される。なお、クロクビレハリアリの採餌行動を野外で観察することはできなかった。佐藤俊幸博士（私信）によれば、本種のワーカーは樹上の枝の上で行列を作り、集団で採餌を行なうという。他の同属種の研究でも、集団採餌が報告されている（reviewed in Borowiec 2016）。興味深いことに、クロクビレハリアリの巣にあるヒメアリ属の幼虫や蛹の数は、ワーカーが一度に運搬できる個体数をはるかに超えているようだった（表 S-1）。タイに生息する *Cerapachys* sp. では、餌となるアリの巣にコロニーが移動し、巣内に残っているブルードを捕食することが観察されている（水野, 私信）。クロクビレハリアリをはじめとする祖先的なサスライアリ亜科の採餌行動については、さらなる研究が必要である。

最後に、クロクビレハリアリでは女王と働き手の間の二形性が小さく、ワーカーは単型であった。これはサスライアリ亜科の祖先的なグループに共有された特徴である。今回発見された、ワーカーと同じ外部形態で、女王と同数の卵巣小管をもつメス個体はインターカーストと区分される（Peeters 1991, Molet et al. 2012）。同様の個体は同属の *L. clarki*（Clark 1924）でも報告されており、このグループのカーフト二型性の小ささを反映しているのかもしれない。

巻末付録2 キイロヒメアリの巣のデモグラフィックデータ

巣の採集者は、NI (Naoto Idogawa), AY(Aki Yoshioka), CT(Chihiro Tamaki), FI(Fuminori Ito), HS(Hiroyuki Shimoji), KL(Liu kunpeng), KO(Kyosuke Ohkawara), KS(Kunio Sadahiro), KT(Kazuya Takeda), SD(Shigeto Dobata), SO(Sakito Okamoto), TN(Tomonari Nozaki)を示している。NA はデータが得られていないことを表す。

巣の ID	採集年月日	県名	地名	緯度	経度	営巣基質	巣内の個体数				採集者
							女王	ワーカー	幼虫	蛹	
Mtri_20161115_01	2016/11/15	茨城県	つくば市	NA	NA	リター内	2	120	NA	NA	NI
Mtri_20161116_01	2016/11/16	茨城県	つくば市	NA	NA	ドングリ	2	400	NA	NA	NI
Mtri_20161118_01	2016/11/18	茨城県	つくば市	NA	NA	朽木	3	100	NA	NA	NI
Mtri_20161118_02	2016/11/18	茨城県	つくば市	NA	NA	リター内	4	150	NA	NA	NI
Mtri_20161118_03	2016/11/18	茨城県	つくば市	NA	NA	リター内	1	10	NA	NA	NI
Mtri_20170419_01	2017/4/19	京都府	京都市	35.0595	135.78431	ササ枯枝	1	268	94	0	NI
Mtri_20170419_02	2017/4/19	京都府	京都市	35.05952	135.78431	ササ枯枝	4	153	178	0	NI
Mtri_20170419_03	2017/4/19	京都府	京都市	35.05955	135.78431	ササ枯枝	8	465	450	0	NI
Mtri_20170503_01	2017/5/3	京都府	京都市	NA	NA	ササ枯枝	3	20	22	0	NI
Mtri_20170503_02	2017/5/3	京都府	京都市	NA	NA	ササ枯枝	1	36	23	0	NI
Mtri_20170503_03	2017/5/3	京都府	京都市	NA	NA	ササ枯枝	5	99	NA	NA	NI
Mtri_20170503_04	2017/5/3	京都府	京都市	NA	NA	ササ枯枝	8	1	0	0	NI
Mtri_20170503_05	2017/5/3	京都府	京都市	NA	NA	ササ枯枝	23	81	31	0	NI
Mtri_20170503_06	2017/5/3	京都府	京都市	NA	NA	ササ枯枝	2	117	167	0	NI
Mtri_20170505_01	2017/5/5	京都府	京都市	NA	NA	ドングリ	2	77	98	0	NI
Mtri_20170505_02	2017/5/5	京都府	京都市	NA	NA	ササ枯枝	8	70	101	0	NI
Mtri_20170509_01	2017/5/9	兵庫県	三田市	NA	NA	木本枯枝	NA	NA	NA	NA	HS
Mtri_20170511_01	2017/5/11	京都府	京都市	35.058993	135.783312	ササ枯枝	20	77	163	0	NI
Mtri_20170511_02	2017/5/11	京都府	京都市	NA	NA	ササ枯枝	4	40	10	0	NI
Mtri_20170511_03	2017/5/11	京都府	京都市	35.058974	135.783318	ササ枯枝	3	70	160	0	NI
Mtri_20170511_04	2017/5/11	京都府	京都市	35.059066	135.783203	ササ枯枝	6	23	49	0	NI
Mtri_20170511_05	2017/5/11	京都府	京都市	35.05886	135.783458	ササ枯枝	7	17	55	0	NI
Mtri_20170511_06	2017/5/11	京都府	京都市	35.059354	135.78317	ササ枯枝	4	132	141	0	NI

巣の ID	採集年月日	県名	地名	緯度	経度	営巣基質	巣内の個体数				採集者
							女王	ワーカー	幼虫	蛹	
Mtri_20170511_07	2017/5/11	京都府	京都市	35.059284	135.783162	ササ枯枝	1	8	31	0	NI
Mtri_20170511_08	2017/5/11	京都府	京都市	35.058938	135.783256	ササ枯枝	3	12	5	0	NI
Mtri_20170511_09	2017/5/11	京都府	京都市	35.059175	135.78337	ササ枯枝	7	110	57	0	NI
Mtri_20170511_10	2017/5/11	京都府	京都市	35.059145	135.783355	ササ枯枝	2	101	200	0	NI
Mtri_20170513_01	2017/5/13	京都府	京都市	35.059025	135.783556	ササ枯枝	17	126	127	0	NI
Mtri_20170513_02	2017/5/13	京都府	京都市	35.059332	135.783438	ササ枯枝	6	190	129	0	NI
Mtri_20170513_03	2017/5/13	京都府	京都市	35.060014	135.783539	ササ枯枝	2	61	19	0	NI
Mtri_20170513_04	2017/5/13	京都府	京都市	35.059596	135.78338	ササ枯枝	6	111	179	0	NI
Mtri_20170513_05	2017/5/13	京都府	京都市	35.059452	135.783272	ササ枯枝	12	674	384	0	NI
Mtri_20170513_06	2017/5/13	京都府	京都市	35.059452	135.783272	ササ枯枝	14	225	209	0	NI
Mtri_20170513_07	2017/5/13	京都府	京都市	35.059556	135.783508	ササ枯枝	8	278	304	0	NI
Mtri_20170516_01	2017/5/16	京都府	京都市	35.059394	135.783367	ササ枯枝	21	60	16	NA	NI
Mtri_20170516_02	2017/5/16	京都府	京都市	35.059397	135.783626	ササ枯枝	11	41	85	NA	NI
Mtri_20170516_03	2017/5/16	京都府	京都市	35.059418	135.783402	ササ枯枝	15	39	67	4	NI
Mtri_20170516_04	2017/5/16	京都府	京都市	35.059411	135.7834	ササ枯枝	8	53	116	0	NI
Mtri_20170516_05	2017/5/16	京都府	京都市	35.059375	135.783381	ササ枯枝	0	20	79	0	NI
Mtri_20170516_06	2017/5/16	京都府	京都市	35.058761	135.783624	ササ枯枝	14	103	182	0	NI
Mtri_20170516_07	2017/5/16	京都府	京都市	35.059363	135.783458	ササ枯枝	0	35	24	2	NI
Mtri_20170516_08	2017/5/16	京都府	京都市	35.059407	135.783431	ササ枯枝	6	17	20	0	NI
Mtri_20170516_09	2017/5/16	京都府	京都市	35.059447	135.783407	ササ枯枝	2	61	24	0	NI
Mtri_20170516_10	2017/5/16	京都府	京都市	35.059457	135.783359	ササ枯枝	14	26	4	0	NI
Mtri_20170516_11	2017/5/16	京都府	京都市	35.059238	135.783563	ササ枯枝	4	20	9	0	NI
Mtri_20170516_12	2017/5/16	京都府	京都市	35.059238	135.783563	ササ枯枝	10	37	79	0	NI
Mtri_20170516_13	2017/5/16	京都府	京都市	35.059421	135.783411	ササ枯枝	15	182	273	NA	NI
Mtri_20170516_14	2017/5/16	京都府	京都市	35.059486	135.783634	ササ枯枝	12	74	216	0	NI
Mtri_20170516_15	2017/5/16	京都府	京都市	35.059447	135.783528	ササ枯枝	4	118	28	0	NI
Mtri_20170516_16	2017/5/16	京都府	京都市	35.059479	135.783504	ササ枯枝	7	57	199	0	NI
Mtri_20170516_17	2017/5/16	京都府	京都市	35.059451	135.783452	ササ枯枝	9	87	24	0	NI
Mtri_20170516_18	2017/5/16	京都府	京都市	35.059534	135.78363	ササ枯枝	4	158	174	0	NI
Mtri_20170520_01	2017/5/20	京都府	京都市	35.059473	135.783363	ササ枯枝	3	27	33	NA	NI

巣の ID	採集年月日	県名	地名	緯度	経度	営巣基質	巣内の個体数				採集者
							女王	ワーカー	幼虫	蛹	
Mtri_20170520_02	2017/5/20	京都府	京都市	35.059548	135.783495	ササ枯枝	5	161	179	NA	NI
Mtri_20170520_03	2017/5/20	京都府	京都市	35.059492	135.783508	ササ枯枝	7	90	122	NA	NI
Mtri_20170520_04	2017/5/20	京都府	京都市	35.059496	135.783515	ササ枯枝	1	34	47	NA	NI
Mtri_20170520_05	2017/5/20	京都府	京都市	35.059518	135.783364	ササ枯枝	15	203	434	NA	NI
Mtri_20170520_06	2017/5/20	京都府	京都市	35.059538	135.783377	ササ枯枝	3	85	94	NA	NI
Mtri_20170520_07	2017/5/20	京都府	京都市	35.059602	135.783346	ササ枯枝	24	271	660	NA	NI
Mtri_20170520_08	2017/5/20	京都府	京都市	35.059573	135.783346	ササ枯枝	6	121	280	NA	NI
Mtri_20170520_09	2017/5/20	京都府	京都市	35.059559	135.78337	ササ枯枝	10	203	253	NA	NI
Mtri_20170520_10	2017/5/20	京都府	京都市	35.059597	135.783348	ササ枯枝	19	195	275	NA	NI
Mtri_20170520_11	2017/5/20	京都府	京都市	35.059594	135.783351	ササ枯枝	6	43	136	NA	NI
Mtri_20170520_12	2017/5/20	京都府	京都市	35.059594	135.783362	ササ枯枝	4	46	82	NA	NI
Mtri_20170520_13	2017/5/20	京都府	京都市	35.059555	135.783419	ササ枯枝	8	70	98	NA	NI
Mtri_20170520_14	2017/5/20	京都府	京都市	35.05955	135.783435	ササ枯枝	5	126	186	NA	NI
Mtri_20170520_15	2017/5/20	京都府	京都市	35.059559	135.783434	ササ枯枝	7	99	205	NA	NI
Mtri_20170520_16	2017/5/20	京都府	京都市	35.059516	135.783297	ササ枯枝	5	63	94	NA	NI
Mtri_20170520_17	2017/5/20	京都府	京都市	35.059543	135.783359	ササ枯枝	6	61	117	NA	NI
Mtri_20170520_18	2017/5/20	京都府	京都市	35.059592	135.783356	ササ枯枝	29	517	90	NA	NI
Mtri_20170520_19	2017/5/20	京都府	京都市	35.05952	135.783352	ササ枯枝	6	190	189	NA	NI
Mtri_20170520_20	2017/5/20	京都府	京都市	NA	NA	ササ枯枝	3	44	91	NA	NI
Mtri_20170527_01	2017/5/27	京都府	京都市	35.060125	135.784656	ササ枯枝	4	104	175	6	NI
Mtri_20170527_02	2017/5/27	京都府	京都市	35.060077	135.784709	ドングリ	6	84	23	0	NI
Mtri_20170527_03	2017/5/27	京都府	京都市	35.060074	135.784673	ササ枯枝	3	83	176	0	NI
Mtri_20170527_04	2017/5/27	京都府	京都市	35.060227	135.784462	ササ枯枝	9	129	221	5	NI
Mtri_20170527_05	2017/5/27	京都府	京都市	35.060227	135.784462	ササ枯枝	4	12	8	0	NI
Mtri_20170527_06	2017/5/27	京都府	京都市	35.060227	135.784462	ササ枯枝	7	31	36	0	NI
Mtri_20170527_07	2017/5/27	京都府	京都市	35.059528	135.783364	ササ枯枝	3	54	73	NA	NI
Mtri_20170527_08	2017/5/27	京都府	京都市	35.059528	135.783364	ササ枯枝	4	9	1	0	NI
Mtri_20170527_09	2017/5/27	京都府	京都市	35.05829	135.783999	ササ枯枝	1	7	37	0	NI
Mtri_20170527_10	2017/5/27	京都府	京都市	35.058931	135.783033	ササ枯枝	3	75	204	24	NI
Mtri_20170527_11	2017/5/27	京都府	京都市	35.059977	135.784533	ササ枯枝	5	52	45	11	NI

巣の ID	採集年月日	県名	地名	緯度	経度	営巣基質	巣内の個体数				採集者
							女王	ワーカー	幼虫	蛹	
Mtri_20170530_01	2017/5/30	滋賀県	高島市	35.3677	135.91685	スギ朽木	12	NA	NA	NA	TN
Mtri_20170603_01	2017/6/3	京都府	京都市	35.059984	135.784589	ササ枯枝	16	131	84	41	NI
Mtri_20170603_02	2017/6/3	京都府	京都市	35.05946	135.784262	ササ枯枝	11	60	44	126	NI
Mtri_20170603_03	2017/6/3	京都府	京都市	35.059616	135.783399	ササ枯枝	6	72	26	63	NI
Mtri_20170603_04	2017/6/3	京都府	京都市	35.059577	135.783305	ササ枯枝	9	121	62	80	NI
Mtri_20170603_05	2017/6/3	京都府	京都市	35.059605	135.783319	ササ枯枝	3	90	112	68	NI
Mtri_20170603_06	2017/6/3	京都府	京都市	35.059612	135.783343	ササ枯枝	1	55	94	94	NI
Mtri_20170603_07	2017/6/3	京都府	京都市	35.059619	135.783354	ササ枯枝	4	149	248	74	NI
Mtri_20170603_08	2017/6/3	京都府	京都市	35.059617	135.783356	ササ枯枝	12	160	141	141	NI
Mtri_20170608_01	2017/6/8	香川県	高松市	34.364349	134.098205	シダ類枯葉柄	2	28	10	0	NI, SD, FI, KS
Mtri_20170608_02	2017/6/8	香川県	高松市	34.364349	134.098205	ササ枯枝	5	44	64	14	NI, SD, FI, KS
Mtri_20170608_03	2017/6/8	香川県	高松市	34.364349	134.098205	ササ枯枝	5	82	129	16	NI, SD, FI, KS
Mtri_20170608_04	2017/6/8	香川県	高松市	34.364349	134.098205	シダ類枯葉柄	1	65	72	5	NI, SD, FI, KS
Mtri_20170608_05	2017/6/8	香川県	高松市	34.364349	134.098205	シダ類枯葉柄	8	153	261	27	NI, SD, FI, KS
Mtri_20170608_06	2017/6/8	香川県	高松市	34.364349	134.098205	シダ類枯葉柄	2	59	98	0	NI, SD, FI, KS
Mtri_20170608_07	2017/6/8	香川県	高松市	34.364349	134.098205	シダ類枯葉柄	2	80	53	9	NI, SD, FI, KS
Mtri_20170608_08	2017/6/8	香川県	高松市	34.364349	134.098205	シダ類枯葉柄	4	79	118	37	NI, SD, FI, KS
Mtri_20170608_09	2017/6/8	香川県	高松市	34.364349	134.098205	シダ類枯葉柄	2	47	5	12	NI, SD, FI, KS
Mtri_20170608_10	2017/6/8	香川県	高松市	34.364349	134.098205	シダ類枯葉柄	1	14	18	3	NI, SD, FI, KS
Mtri_20170608_11	2017/6/8	香川県	高松市	34.364349	134.098205	シダ類枯葉柄	13	18	40	5	NI, SD,

巢の ID	採集年月日	県名	地名	緯度	経度	営巣基質	巢内の個体数				採集者
							女王	ワーカー	幼虫	蛹	
Mtri_20170608_12	2017/6/8	香川県	高松市	34.364349	134.098205	シダ類枯葉柄	5	28	35	1	FI, KS NI, SD, FI, KS
Mtri_20170608_13	2017/6/8	香川県	高松市	34.364349	134.098205	シダ類枯葉柄	2	90	93	8	NI, SD, FI, KS
Mtri_20170608_14	2017/6/8	香川県	高松市	34.364349	134.098205	シダ類枯葉柄	3	37	29	0	NI, SD, FI, KS
Mtri_20170608_15	2017/6/8	香川県	高松市	34.364349	134.098205	シダ類枯葉柄	4	81	131	8	NI, SD, FI, KS
Mtri_20170608_16	2017/6/8	香川県	高松市	34.364349	134.098205	シダ類枯葉柄	4	103	112	2	NI, SD, FI, KS
Mtri_20170610_01	2017/6/10	滋賀県	大津市	34.970262	135.956026	つる植物枯枝	1	98	88	17	NI
Mtri_20170610_02	2017/6/10	滋賀県	大津市	34.970274	135.956056	ササ枯枝	0	2	0	0	KT
Mtri_20170610_03	2017/6/10	滋賀県	大津市	34.970296	135.956027	つる植物枯枝	3	104	94	22	NI
Mtri_20170610_04	2017/6/10	滋賀県	大津市	34.970293	135.956058	ササ枯枝	1	62	114	3	KT
Mtri_20170610_05	2017/6/10	滋賀県	大津市	34.97027	135.956114	つる植物枯枝	4	133	95	29	NI
Mtri_20170610_06	2017/6/10	滋賀県	大津市	34.970251	135.956073	つる植物枯枝	5	48	85	3	NI
Mtri_20170610_07	2017/6/10	滋賀県	大津市	34.970333	135.956114	つる植物枯枝	2	71	51	4	KT
Mtri_20170610_08	2017/6/10	滋賀県	大津市	34.970184	135.956124	ササ枯枝	7	117	154	13	NI
Mtri_20170610_09	2017/6/10	滋賀県	大津市	34.970332	135.956116	つる植物枯枝	1	100	24	14	NI
Mtri_20170610_10	2017/6/10	滋賀県	大津市	34.970349	135.956147	ササ枯枝	8	72	117	37	KT
Mtri_20170610_11	2017/6/10	滋賀県	大津市	34.970321	135.956111	つる植物枯枝	1	64	114	17	NI
Mtri_20170610_12	2017/6/10	滋賀県	大津市	NA	NA	つる植物枯枝	2	118	102	27	NI
Mtri_20170610_13	2017/6/10	滋賀県	大津市	34.970269	135.956073	つる植物枯枝	9	246	96	26	NI
Mtri_20170610_14	2017/6/10	滋賀県	大津市	NA	NA	つる植物枯枝	4	204	189	36	NI
Mtri_20170610_15	2017/6/10	滋賀県	大津市	NA	NA	つる植物枯枝	6	87	21	4	NI
Mtri_20170610_16	2017/6/10	滋賀県	大津市	34.970259	135.956072	つる植物枯枝	19	250	135	22	NI
Mtri_20170610_17	2017/6/10	滋賀県	大津市	34.970283	135.956093	つる植物枯枝	9	197	95	4	NI
Mtri_20170610_18	2017/6/10	滋賀県	大津市	34.97029	135.95611	ササ枯枝	2	16	7	0	NI
Mtri_20170610_19	2017/6/10	滋賀県	大津市	34.970212	135.956101	つる植物枯枝	8	105	180	24	NI

巣の ID	採集年月日	県名	地名	緯度	経度	営巣基質	巣内の個体数				採集者
							女王	ワーカー	幼虫	蛹	
Mtri_20170610_20	2017/6/10	滋賀県	大津市	NA	NA	つる植物枯枝	1	21	22	0	KT
Mtri_20170610_21	2017/6/10	滋賀県	大津市	NA	NA	つる植物枯枝	1	109	127	51	NI
Mtri_20170610_22	2017/6/10	滋賀県	大津市	34.970309	135.956114	つる植物枯枝	11	344	392	107	NI
Mtri_20170610_23	2017/6/10	滋賀県	大津市	34.97023	135.956143	つる植物枯枝	4	148	64	0	NI
Mtri_20170610_24	2017/6/10	滋賀県	大津市	NA	NA	つる植物枯枝	8	193	82	24	NI
Mtri_20170610_25	2017/6/10	滋賀県	大津市	34.97026	135.956109	つる植物枯枝	12	308	100	45	NI
Mtri_20170610_26	2017/6/10	滋賀県	大津市	34.970433	135.956109	つる植物枯枝	1	24	11	4	NI
Mtri_20170615_01	2017/6/15	京都府	京都市	35.059679	135.783353	ササ枯枝	26	333	165	63	NI
Mtri_20170615_02	2017/6/15	京都府	京都市	35.059666	135.783353	ササ枯枝	1	40	11	30	NI
Mtri_20170616_01	2017/6/16	東京都	調布市	35.668294	139.549026	朽木	4	82	61	39	NI
Mtri_20170616_02	2017/6/16	東京都	調布市	35.668198	139.548978	朽木	3	141	80	40	NI
Mtri_20170616_03	2017/6/16	東京都	調布市	35.668181	139.549041	ササ枯枝	6	84	71	38	NI
Mtri_20170616_04	2017/6/16	東京都	調布市	35.668049	139.548745	ササ枯枝	5	7	11	106	NI
Mtri_20170616_05	2017/6/16	東京都	調布市	35.668136	139.548704	ササ枯枝	24	28	115	182	NI
Mtri_20170616_06	2017/6/16	東京都	調布市	35.66812	139.548706	ササ枯枝	18	106	222	177	NI
Mtri_20170616_07	2017/6/16	東京都	調布市	35.668111	139.548714	ササ枯枝	4	146	165	190	NI
Mtri_20170616_08	2017/6/16	東京都	調布市	35.668129	139.548717	ササ枯枝	2	66	32	131	NI
Mtri_20170616_09	2017/6/16	東京都	調布市	35.668079	139.548694	ササ枯枝	0	39	21	0	NI
Mtri_20170616_10	2017/6/16	東京都	調布市	35.668101	139.548724	ササ枯枝	2	24	13	87	NI
Mtri_20170616_11	2017/6/16	東京都	調布市	35.668101	139.548724	ササ枯枝	12	102	209	412	NI
Mtri_20170616_12	2017/6/16	東京都	調布市	35.667974	139.54879	ササ枯枝	0	0	0	0	NI
Mtri_20170616_13	2017/6/16	東京都	調布市	35.667974	139.54879	ササ枯枝	3	117	278	430	NI
Mtri_20170616_14	2017/6/16	東京都	調布市	35.667974	139.54879	ササ枯枝	38	247	437	668	NI
Mtri_20170616_15	2017/6/16	東京都	調布市	35.668115	139.548549	ササ枯枝	6	263	261	478	NI
Mtri_20170616_16	2017/6/16	東京都	調布市	35.668187	139.548663	ササ枯枝	40	273	350	354	NI
Mtri_20170616_17	2017/6/16	東京都	調布市	35.668228	139.548641	ササ枯枝	11	184	161	221	NI
Mtri_20170616_18	2017/6/16	東京都	調布市	NA	NA	ササ枯枝	6	81	22	51	NI
Mtri_20170618_01	2017/6/18	千葉県	松戸市	35.775516	139.899895	ササ枯枝	16	138	NA	NA	NI
Mtri_20170618_02	2017/6/18	千葉県	松戸市	35.774654	139.898726	ササ枯枝	4	0	NA	NA	NI
Mtri_20170618_03	2017/6/18	千葉県	松戸市	35.773614	139.899376	ササ枯枝	2	44	NA	NA	NI

巣の ID	採集年月日	県名	地名	緯度	経度	営巣基質	巣内の個体数				採集者
							女王	ワーカー	幼虫	蛹	
Mtri_20170618_04	2017/6/18	千葉県	松戸市	35.77484	139.899331	ササ枯枝	5	57	NA	NA	NI
Mtri_20170618_05	2017/6/18	千葉県	松戸市	35.774898	139.899258	常緑樹枯枝	0	17	NA	NA	NI
Mtri_20170618_06	2017/6/18	千葉県	松戸市	35.774829	139.899331	常緑樹枯枝	7	92	NA	NA	NI
Mtri_20170618_07	2017/6/18	千葉県	松戸市	35.774799	139.89948	常緑樹枯枝	51	364	NA	NA	NI
Mtri_20170618_08	2017/6/18	千葉県	松戸市	35.774884	139.899419	常緑樹枯枝	2	28	NA	NA	NI
Mtri_20170618_09	2017/6/18	千葉県	松戸市	35.774839	139.89941	常緑樹枯枝	8	185	NA	NA	NI
Mtri_20170618_10	2017/6/18	千葉県	松戸市	35.774839	139.89941	常緑樹枯枝	11	139	NA	NA	NI
Mtri_20170618_11	2017/6/18	千葉県	松戸市	35.774816	139.899277	常緑樹枯枝	9	11	NA	NA	NI
Mtri_20170618_12	2017/6/18	千葉県	松戸市	35.774855	139.899209	常緑樹枯枝	1	9	NA	NA	NI
Mtri_20170618_13	2017/6/18	千葉県	松戸市	NA	NA	ササ枯枝	10	134	NA	NA	NI
Mtri_20170618_14	2017/6/18	千葉県	松戸市	35.774874	139.899289	常緑樹枯枝	8	36	NA	NA	NI
Mtri_20170618_15	2017/6/18	千葉県	松戸市	35.774794	139.899262	常緑樹枯枝	3	166	NA	NA	NI
Mtri_20170618_16	2017/6/18	千葉県	松戸市	35.774816	139.899265	常緑樹枯枝	4	77	NA	NA	NI
Mtri_20170618_17	2017/6/18	千葉県	松戸市	35.775678	139.899135	ササ枯枝	4	323	NA	NA	NI
Mtri_20170618_18	2017/6/18	千葉県	松戸市	35.775671	139.899136	ササ枯枝	12	495	NA	NA	NI
Mtri_20170619_01	2017/6/19	茨城県	つくば市	36.100348	140.101505	ササ枯枝	2	15	NA	NA	NI
Mtri_20170619_02	2017/6/19	茨城県	つくば市	36.100176	140.101718	ササ枯枝	2	34	NA	NA	NI
Mtri_20170619_03	2017/6/19	茨城県	つくば市	36.100283	140.101679	ササ枯枝	5	77	NA	NA	NI
Mtri_20170619_04	2017/6/19	茨城県	つくば市	36.100877	140.102279	ササ枯枝	13	492	NA	NA	NI
Mtri_20170619_05	2017/6/19	茨城県	つくば市	36.100319	140.101507	ササ枯枝	42	235	NA	NA	NI
Mtri_20170619_06	2017/6/19	茨城県	つくば市	36.100308	140.101508	ササ枯枝	13	131	NA	NA	NI
Mtri_20170619_07	2017/6/19	茨城県	つくば市	36.10047	140.101578	ササ枯枝	3	97	NA	NA	NI
Mtri_20170619_08	2017/6/19	茨城県	つくば市	NA	NA	ササ枯枝	4	62	NA	NA	NI
Mtri_20170619_09	2017/6/19	茨城県	つくば市	36.100415	140.101297	ササ枯枝	1	27	NA	NA	NI
Mtri_20170619_10	2017/6/19	茨城県	つくば市	36.100561	140.101299	木本枯枝	11	199	NA	NA	NI
Mtri_20170619_11	2017/6/19	茨城県	つくば市	36.098593	140.101921	木本枯枝	9	52	NA	NA	NI
Mtri_20170619_12	2017/6/19	茨城県	つくば市	NA	NA	ササ枯枝	4	268	NA	NA	NI
Mtri_20170619_13	2017/6/19	茨城県	つくば市	36.100205	140.101637	ササ枯枝	0	49	NA	NA	NI
Mtri_20170619_14	2017/6/19	茨城県	つくば市	36.100208	140.101639	ササ枯枝	8	37	NA	NA	NI
Mtri_20170619_15	2017/6/19	茨城県	つくば市	36.100222	140.101533	ササ枯枝	10	53	NA	NA	NI

巣の ID	採集年月日	県名	地名	緯度	経度	営巣基質	巣内の個体数				採集者
							女王	ワーカー	幼虫	蛹	
Mtri_20170619_16	2017/6/19	茨城県	つくば市	36.100208	140.101531	ササ枯枝	10	128	NA	NA	NI
Mtri_20170620_01	2017/6/20	茨城県	土浦市	NA	NA	朽木	9	84	NA	NA	NI
Mtri_20170620_02	2017/6/20	茨城県	土浦市	36.077436	140.165469	ササ枯枝	16	97	NA	NA	NI
Mtri_20170620_03	2017/6/20	茨城県	土浦市	36.077568	140.165464	ササ枯枝	11	54	NA	NA	NI
Mtri_20170620_04	2017/6/20	茨城県	土浦市	36.077568	140.165464	ササ枯枝	1	27	NA	NA	NI
Mtri_20170620_05	2017/6/20	茨城県	土浦市	36.077568	140.165464	ササ枯枝	3	25	NA	NA	NI
Mtri_20170620_06	2017/6/20	茨城県	土浦市	36.077973	140.16543	ササ枯枝	7	69	NA	NA	NI
Mtri_20170620_07	2017/6/20	茨城県	土浦市	36.077927	140.165472	ササ枯枝	7	54	NA	NA	NI
Mtri_20170620_08	2017/6/20	茨城県	土浦市	36.077927	140.165472	ササ枯枝	4	51	NA	NA	NI
Mtri_20170620_09	2017/6/20	茨城県	土浦市	36.077927	140.165473	ササ枯枝	1	68	NA	NA	NI
Mtri_20170620_10	2017/6/20	茨城県	土浦市	36.077921	140.165479	ササ枯枝	6	75	NA	NA	NI
Mtri_20170620_11	2017/6/20	茨城県	土浦市	36.077921	140.165479	ササ枯枝	16	30	NA	NA	NI
Mtri_20170620_12	2017/6/20	茨城県	土浦市	36.077866	140.165327	ササ枯枝	6	97	NA	NA	NI
Mtri_20170620_13	2017/6/20	茨城県	土浦市	36.07791	140.165419	ササ枯枝	3	70	NA	NA	NI
Mtri_20170620_14	2017/6/20	茨城県	土浦市	36.07791	140.165419	ササ枯枝	4	80	NA	NA	NI
Mtri_20170620_15	2017/6/20	茨城県	土浦市	36.07791	140.165419	ササ枯枝	8	220	NA	NA	NI
Mtri_20170620_16	2017/6/20	茨城県	土浦市	36.07791	140.165419	ササ枯枝	9	200	NA	NA	NI
Mtri_20170620_17	2017/6/20	茨城県	土浦市	36.07791	140.165419	朽木	21	124	NA	NA	NI
Mtri_20170620_18	2017/6/20	茨城県	土浦市	36.07791	140.165515	ササ枯枝	33	126	NA	NA	NI
Mtri_20170702_01	2017/7/2	京都府	京都市	35.060064	135.788199	ササ枯枝	3	70	71	19	NI
Mtri_20170702_02	2017/7/2	京都府	京都市	35.060037	135.788205	シダ類枯葉柄	2	73	92	5	NI
Mtri_20170702_03	2017/7/2	京都府	京都市	35.060054	135.78823	ササ枯枝	5	126	68	121	NI
Mtri_20170702_04	2017/7/2	京都府	京都市	35.060068	135.788273	シダ類枯葉柄	2	41	18	6	NI
Mtri_20170702_05	2017/7/2	京都府	京都市	35.060084	135.788365	シダ類枯葉柄	2	32	31	14	NI
Mtri_20170702_06	2017/7/2	京都府	京都市	35.060148	135.788464	ドングリ	2	30	30	20	NI
Mtri_20170702_07	2017/7/2	京都府	京都市	35.060204	135.788547	ササ枯枝	9	94	101	27	NI
Mtri_20170710_01	2017/7/10	京都府	京都市	35.060462	135.788101	ドングリ	9	77	39	66	NI
Mtri_20170710_02	2017/7/10	京都府	京都市	35.060145	135.788101	シダ類枯葉柄	1	81	35	63	NI
Mtri_20170710_03	2017/7/10	京都府	京都市	35.060156	135.788098	ドングリ	3	141	68	106	NI
Mtri_20170710_04	2017/7/10	京都府	京都市	35.060193	135.788135	ササ枯枝	14	137	86	96	NI

巣の ID	採集年月日	県名	地名	緯度	経度	営巣基質	巣内の個体数				採集者
							女王	ワーカー	幼虫	蛹	
Mtri_20170710_05	2017/7/10	京都府	京都市	35.060192	135.788137	シダ類枯葉柄	6	102	59	101	NI
Mtri_20170710_06	2017/7/10	京都府	京都市	35.060093	135.788193	シダ類枯葉柄	1	58	11	33	NI
Mtri_20170710_07	2017/7/10	京都府	京都市	35.060007	135.78836	シダ類枯葉柄	5	119	60	163	NI
Mtri_20170710_08	2017/7/10	京都府	京都市	35.059893	135.788394	ドングリ	11	134	86	131	NI
Mtri_20170718_01	2017/7/18	京都府	京都市	35.060219	135.788064	ドングリ	0	57	92	0	NI
Mtri_20170718_02	2017/7/18	京都府	京都市	35.060179	135.788081	ドングリ	2	175	151	90	NI
Mtri_20170718_03	2017/7/18	京都府	京都市	35.060176	135.788084	ドングリ	12	196	248	79	NI
Mtri_20170718_04	2017/7/18	京都府	京都市	35.060177	135.788087	ドングリ	14	173	160	141	NI
Mtri_20170718_05	2017/7/18	京都府	京都市	35.060041	135.788167	シダ類枯葉柄	6	211	220	105	NI
Mtri_20170718_06	2017/7/18	京都府	京都市	35.06009	135.788302	シダ類枯葉柄	4	38	66	26	NI
Mtri_20170718_07	2017/7/18	京都府	京都市	35.060028	135.788339	ササ枯枝	4	271	295	24	NI
Mtri_20170718_08	2017/7/18	京都府	京都市	35.059881	135.788288	ドングリ	8	241	217	112	NI
Mtri_20170725_01	2017/7/25	京都府	京都市	35.059962	135.788514	シダ類枯葉柄	34	265	195	44	NI
Mtri_20170725_02	2017/7/25	京都府	京都市	35.059985	135.788519	ササ枯枝	2	32	48	65	NI
Mtri_20170725_03	2017/7/25	京都府	京都市	35.059618	135.786206	ササ枯枝	9	219	152	134	NI
Mtri_20170725_04	2017/7/25	京都府	京都市	35.059631	135.786236	ササ枯枝	1	103	68	69	NI
Mtri_20170725_05	2017/7/25	京都府	京都市	35.059571	135.786198	ササ枯枝	7	174	171	61	NI
Mtri_20170725_06	2017/7/25	京都府	京都市	35.059653	135.786175	ササ枯枝	NA	NA	NA	NA	NI
Mtri_20170725_07	2017/7/25	京都府	京都市	35.059566	135.783358	ササ枯枝	5	124	109	12	NI
Mtri_20170725_08	2017/7/25	京都府	京都市	35.059636	135.783534	ササ枯枝	3	103	72	34	NI
Mtri_20170801_01	2017/8/1	京都府	京都市	35.057934	135.782017	ササ枯枝	4	47	88	92	NI
Mtri_20170801_02	2017/8/1	京都府	京都市	35.057998	135.78185	ササ枯枝	3	87	84	20	NI
Mtri_20170801_03	2017/8/1	京都府	京都市	35.057964	135.781855	ササ枯枝	3	95	64	42	NI
Mtri_20170801_04	2017/8/1	京都府	京都市	35.057925	135.781702	ササ枯枝	4	43	49	128	NI
Mtri_20170801_05	2017/8/1	京都府	京都市	35.05806	135.781998	ササ枯枝	1	24	60	73	NI
Mtri_20170801_06	2017/8/1	京都府	京都市	35.058046	135.781925	ササ枯枝	3	66	102	151	NI
Mtri_20170801_07	2017/8/1	京都府	京都市	35.058076	135.781844	ササ枯枝	3	75	147	81	NI
Mtri_20170801_08	2017/8/1	京都府	京都市	35.057725	135.781667	ササ枯枝	2	244	290	245	NI
Mtri_20170808_01	2017/8/8	京都府	京都市	35.059998	135.788496	ササ枯枝	4	80	173	61	NI
Mtri_20170808_02	2017/8/8	京都府	京都市	35.060003	135.785906	ササ枯枝	7	131	26	0	NI

巣の ID	採集年月日	県名	地名	緯度	経度	営巣基質	巣内の個体数				採集者
							女王	ワーカー	幼虫	蛹	
Mtri_20170808_03	2017/8/8	京都府	京都市	35.059675	135.788416	ササ枯枝	3	281	145	38	NI
Mtri_20170808_04	2017/8/8	京都府	京都市	35.059742	135.785948	ササ枯枝	11	259	308	48	NI
Mtri_20170808_05	2017/8/8	京都府	京都市	35.059598	135.783419	ササ枯枝	19	282	322	94	NI
Mtri_20170808_06	2017/8/8	京都府	京都市	35.059585	135.783441	ササ枯枝	3	86	130	55	NI
Mtri_20170808_07	2017/8/8	京都府	京都市	35.057852	135.781746	ササ枯枝	32	1128	1635	512	NI
Mtri_20170813_01	2017/8/13	京都府	京都市	35.059737	135.786186	ササ枯枝	6	208	124	7	NI
Mtri_20170813_02	2017/8/13	京都府	京都市	35.059751	135.786202	ササ枯枝	2	170	111	5	NI
Mtri_20170813_03	2017/8/13	京都府	京都市	35.059763	135.786199	ドングリ	5	194	109	28	NI
Mtri_20170813_04	2017/8/13	京都府	京都市	35.059748	135.786154	ササ枯枝	6	243	178	11	NI
Mtri_20170813_05	2017/8/13	京都府	京都市	35.059747	135.786154	ササ枯枝	14	380	360	76	NI
Mtri_20170813_06	2017/8/13	京都府	京都市	35.059753	135.786155	ササ枯枝	5	234	187	45	NI
Mtri_20170813_07	2017/8/13	京都府	京都市	35.059758	135.786165	ササ枯枝	9	218	278	28	NI
Mtri_20170813_08	2017/8/13	京都府	京都市	35.059753	135.786204	ドングリ	3	281	197	27	NI
Mtri_20170819_01	2017/8/19	京都府	京都市	NA	NA	ササ枯枝	2	108	49	15	NI
Mtri_20170819_02	2017/8/19	京都府	京都市	NA	NA	ササ枯枝	6	42	34	2	NI
Mtri_20170819_03	2017/8/19	京都府	京都市	NA	NA	ササ枯枝	1	175	48	0	NI
Mtri_20170819_04	2017/8/19	京都府	京都市	NA	NA	ササ枯枝	4	244	201	49	NI
Mtri_20170819_05	2017/8/19	京都府	京都市	NA	NA	ササ枯枝	3	196	126	125	NI
Mtri_20170819_06	2017/8/19	京都府	京都市	NA	NA	ササ枯枝	3	76	123	42	NI
Mtri_20170819_07	2017/8/19	京都府	京都市	NA	NA	ササ枯枝	13	134	115	26	NI
Mtri_20170819_08	2017/8/19	京都府	京都市	NA	NA	ササ枯枝	NA	NA	NA	NA	NI
Mtri_20170903_01	2017/9/3	愛知県	岡崎市	34.941529	137.175594	落葉樹枯枝	NA	NA	NA	NA	NI, SD
Mtri_20170909_01	2017/9/9	京都府	京都市	35.05964	135.786084	ササ枯枝	11	396	534	52	NI
Mtri_20170909_02	2017/9/9	京都府	京都市	35.059687	135.786139	ササ枯枝	8	283	249	66	NI
Mtri_20170909_03	2017/9/9	京都府	京都市	35.059835	135.786065	ササ枯枝	6	202	231	37	NI
Mtri_20170909_04	2017/9/9	京都府	京都市	35.059786	135.786094	ササ枯枝	1	123	215	42	NI
Mtri_20170909_05	2017/9/9	京都府	京都市	35.059741	135.786173	ササ枯枝	1	57	63	6	NI
Mtri_20170909_06	2017/9/9	京都府	京都市	NA	NA	ササ枯枝	16	281	353	46	NI
Mtri_20170909_07	2017/9/9	京都府	京都市	35.059024	135.783193	ササ枯枝	5	250	206	70	NI
Mtri_20170909_08	2017/9/9	京都府	京都市	35.059036	135.783205	ササ枯枝	8	124	112	25	NI

巣の ID	採集年月日	県名	地名	緯度	経度	営巣基質	巣内の個体数				採集者
							女王	ワーカー	幼虫	蛹	
Mtri_20170919_01	2017/9/19	京都府	京都市	35.059734	135.786151	ササ枯枝	9	261	221	51	NI
Mtri_20170919_02	2017/9/19	京都府	京都市	35.059668	135.786047	ササ枯枝	21	784	807	26	NI
Mtri_20170919_03	2017/9/19	京都府	京都市	35.059765	135.786099	ササ枯枝	4	104	132	1	NI
Mtri_20170919_04	2017/9/19	京都府	京都市	35.059746	135.786253	ササ枯枝	21	262	595	4	NI
Mtri_20170919_05	2017/9/19	京都府	京都市	35.059759	135.786238	ササ枯枝	7	118	154	5	NI
Mtri_20170919_06	2017/9/19	京都府	京都市	35.059499	135.783374	ササ枯枝	3	162	166	43	NI
Mtri_20170919_07	2017/9/19	京都府	京都市	35.059739	135.78605	ササ枯枝	15	670	587	68	NI
Mtri_20170919_08	2017/9/19	京都府	京都市	35.059736	135.786046	ササ枯枝	4	208	283	36	NI
Mtri_20170930_01	2017/9/30	京都府	京都市	NA	NA	つる植物枯枝	10	55	102	9	NI
Mtri_20170930_02	2017/9/30	京都府	京都市	35.060087	135.788488	ササ枯枝	5	206	213	3	NI
Mtri_20170930_03	2017/9/30	京都府	京都市	35.059994	135.788415	ササ枯枝	3	237	268	0	NI
Mtri_20170930_04	2017/9/30	京都府	京都市	35.060058	135.788378	ササ枯枝	4	249	324	1	NI
Mtri_20170930_05	2017/9/30	京都府	京都市	35.059811	135.789252	ササ枯枝	6	535	485	37	NI
Mtri_20170930_06	2017/9/30	京都府	京都市	35.05981	135.790404	ササ枯枝	16	405	535	2	NI
Mtri_20170930_07	2017/9/30	京都府	京都市	35.059757	135.786385	ササ枯枝	24	668	770	8	NI
Mtri_20170930_08	2017/9/30	京都府	京都市	35.059578	135.783399	ササ枯枝	7	178	167	28	NI
Mtri_20171109_01	2017/11/9	大阪府	東大阪市	34.665748	135.671267	ドングリ	7	NA	NA	NA	KS
Mtri_20171109_02	2017/11/9	大阪府	東大阪市	34.665748	135.671267	ドングリ	1	NA	NA	NA	KS
Mtri_20171109_03	2017/11/9	大阪府	東大阪市	34.665748	135.671267	ドングリ	1	NA	NA	NA	KS
Mtri_20171109_04	2017/11/9	大阪府	東大阪市	34.665748	135.671267	ドングリ	8	NA	NA	NA	KS
Mtri_20171109_05	2017/11/9	大阪府	東大阪市	34.665748	135.671267	木本枯枝	3	NA	NA	NA	KS
Mtri_20171111_01	2017/11/11	愛媛県	松山市	33.845539	132.765722	朽木	2	NA	NA	NA	NI
Mtri_20171111_02	2017/11/11	愛媛県	松山市	33.845539	132.765722	シダ類枯葉柄	5	NA	NA	NA	NI
Mtri_20171127_01	2017/11/27	京都府	京都市	35.060031	135.788287	ドングリ	1	48	56	0	NI
Mtri_20180608_01	2018/6/8	岐阜県	海津市	NA	NA	NA	5	90	あり	0	KO
Mtri_20180827_01	2018/8/27	滋賀県	大津市	35.264527	135.86664	朽木	9	約 350	約 100	あり	TN
Mtri_20180913_01	2018/9/13	京都府	京都市	NA	NA	リター内	NA	3	NA	NA	NI
Mtri_20180919_01	2018/9/19	京都府	京都市	35.028422	135.786212	ササ枯枝	3	172	87	NA	NI
Mtri_20180919_02	2018/9/19	京都府	京都市	35.028422	135.786212	ドングリ	3	166	0	NA	NI
Mtri_20180920_01	2018/9/20	山形県	酒田市飛島	NA	NA	NA	5	120	あり	0	KO

巣の ID	採集年月日	県名	地名	緯度	経度	営巣基質	巣内の個体数				採集者
							女王	ワーカー	幼虫	蛹	
Mtri_20180920_02	2018/9/20	山形県	酒田市飛島	NA	NA	NA	5	269	あり	0	KO
Mtri_20180927_01	2018/9/27	東京都	調布市	35.668116	139.549096	イチヨウ枯枝	11	365	あり	あり	NI
Mtri_20180927_02	2018/9/27	東京都	調布市	35.668139	139.549095	イチヨウ枯枝	28	627	あり	あり	NI
Mtri_20180927_03	2018/9/27	東京都	調布市	35.668134	139.549078	イチヨウ枯枝	14	519	あり	あり	NI
Mtri_20180927_04	2018/9/27	東京都	調布市	35.668228	139.549027	イチヨウ枯枝	19	781	あり	あり	NI
Mtri_20180927_05	2018/9/27	東京都	調布市	35.668199	139.549047	イチヨウ枯枝	10	493	あり	あり	NI
Mtri_20180927_06	2018/9/27	東京都	調布市	35.668366	139.549067	イチヨウ枯枝	2	250	あり	あり	NI
Mtri_20180927_07	2018/9/27	東京都	調布市	35.668299	139.549063	イチヨウ枯枝	2	103	あり	あり	NI
Mtri_20180927_08	2018/9/27	東京都	調布市	35.668214	139.549098	イチヨウ枯枝	4	169	あり	あり	NI
Mtri_20180927_09	2018/9/27	東京都	調布市	35.668182	139.549061	イチヨウ枯枝	5	50	あり	あり	NI
Mtri_20180927_10	2018/9/27	東京都	調布市	35.668236	139.548961	ササ枯枝	11	461	あり	あり	NI
Mtri_20180928_01	2018/9/28	千葉県	松戸市	35.774784	139.899359	カクレミノ枯枝	22	281	あり	あり	NI
Mtri_20180928_02	2018/9/28	千葉県	松戸市	35.774783	139.899353	針葉樹枯枝	25	1054	あり	あり	NI
Mtri_20180928_03	2018/9/28	千葉県	松戸市	35.774788	139.899362	針葉樹枯枝	55	560	あり	あり	NI
Mtri_20180928_04	2018/9/28	千葉県	松戸市	35.774787	139.899362	カクレミノ枯枝	32	640	あり	あり	NI
Mtri_20181008_01	2018/10/8	茨城県	つくば市	NA	NA	朽木	62	1144	あり	0	NI
Mtri_20181008_03	2018/10/8	茨城県	つくば市	NA	NA	朽木	0	35	0	0	NI
Mtri_20181008_04	2018/10/8	茨城県	つくば市	NA	NA	ドングリ	4	123	あり	0	NI
Mtri_20181008_05	2018/10/8	茨城県	つくば市	NA	NA	朽木	20	233	あり	0	NI
Mtri_20181008_06	2018/10/8	茨城県	つくば市	NA	NA	朽木	22	419	あり	0	NI
Mtri_20181008_07	2018/10/8	茨城県	つくば市	NA	NA	NA	15	220	あり	0	NI
Mtri_20181008_08	2018/10/8	茨城県	つくば市	NA	NA	朽木	22	463	あり	0	NI
Mtri_20181008_09	2018/10/8	茨城県	つくば市	NA	NA	朽木	3	91	あり	0	NI
Mtri_20181008_10	2018/10/8	茨城県	つくば市	NA	NA	朽木	21	192	NA	NA	NI
Mtri_20181008_11	2018/10/8	茨城県	つくば市	NA	NA	朽木	2	183	あり	0	NI
Mtri_20181009_01	2018/10/9	茨城県	土浦市	NA	NA	朽木	2	47	0	0	NI
Mtri_20181009_02	2018/10/9	茨城県	土浦市	NA	NA	朽木	6	125	あり	0	NI
Mtri_20181009_03	2018/10/9	茨城県	土浦市	NA	NA	つる植物枯枝	3	228	あり	0	NI
Mtri_20181009_04	2018/10/9	茨城県	土浦市	NA	NA	つる植物枯枝	8	258	あり	0	NI
Mtri_20181009_05	2018/10/9	茨城県	土浦市	NA	NA	朽木	1	22	0	0	NI

巣の ID	採集年月日	県名	地名	緯度	経度	営巣基質	巣内の個体数				採集者
							女王	ワーカー	幼虫	蛹	
Mtri_20181009_06	2018/10/9	茨城県	土浦市	NA	NA	ササ枯枝	4	209	あり	0	NI
Mtri_20181009_07	2018/10/9	茨城県	土浦市	NA	NA	ササ枯枝	5	196	あり	0	NI
Mtri_20181009_08	2018/10/9	茨城県	土浦市	NA	NA	ササ枯枝	6	203	あり	0	NI
Mtri_20181009_09	2018/10/9	茨城県	土浦市	NA	NA	つる植物枯枝	3	254	あり	0	NI
Mtri_20181009_10	2018/10/9	茨城県	土浦市	NA	NA	朽木	28	538	あり	0	NI
Mtri_20190601_01	2019/6/1	京都府	京都市	NA	NA	ササ枯枝	3	56	63	0	NI
Mtri_20190601_02	2019/6/1	京都府	京都市	NA	NA	ササ枯枝	9	38	22	0	NI
Mtri_20190601_03	2019/6/1	京都府	京都市	NA	NA	ササ枯枝	5	86	43	0	NI
Mtri_20190611_01	2019/6/11	京都府	京都市	NA	NA	ササ枯枝	10	64	37	23	NI
Mtri_20190611_02	2019/6/11	京都府	京都市	NA	NA	ササ枯枝	2	107	62	81	NI
Mtri_20190611_03	2019/6/11	京都府	京都市	NA	NA	ササ枯枝	3	171	129	87	NI
Mtri_20190611_04	2019/6/11	京都府	京都市	NA	NA	ササ枯枝	10	13	11	42	NI
Mtri_20190611_05	2019/6/11	京都府	京都市	NA	NA	ササ枯枝	6	103	3	1	NI
Mtri_20190617_01	2019/6/17	京都府	京都市	35.059755	135.789258	ササ枯枝	12	203	109	106	NI
Mtri_20190617_02	2019/6/17	京都府	京都市	35.059735	135.789216	ササ枯枝	2	96	52	64	NI
Mtri_20190617_03	2019/6/17	京都府	京都市	35.059755	135.789258	ササ枯枝	0	167	197	99	NI
Mtri_20190617_04	2019/6/17	京都府	京都市	35.059748	135.789241	ササ枯枝	1	57	37	88	NI
Mtri_20190617_05	2019/6/17	京都府	京都市	35.060311	135.787824	ササ枯枝	6	64	73	45	NI
Mtri_20190617_06	2019/6/17	京都府	京都市	35.059738	135.786119	ササ枯枝	4	216	157	153	NI
Mtri_20190724_01	2019/7/24	京都府	京都市	35.059437	135.784157	ササ枯枝	0	43	24	4	NI
Mtri_20190724_02	2019/7/24	京都府	京都市	35.059464	135.784168	ササ枯枝	2	136	74	57	NI
Mtri_20190724_03	2019/7/24	京都府	京都市	35.059569	135.783453	ササ枯枝	0	51	84	3	NI
Mtri_20190724_04	2019/7/24	京都府	京都市	35.059569	135.783453	ササ枯枝	3	267	192	136	NI
Mtri_20190724_05	2019/7/24	京都府	京都市	35.059688	135.783443	ササ枯枝	2	78	43	26	NI
Mtri_20190724_06	2019/7/24	京都府	京都市	35.059672	135.783396	ササ枯枝	11	26	44	27	NI
Mtri_20190724_07	2019/7/24	京都府	京都市	35.059668	135.783383	ササ枯枝	4	116	85	47	NI
Mtri_20190724_08	2019/7/24	京都府	京都市	35.059648	135.783345	ササ枯枝	8	206	87	44	NI
Mtri_20190724_09	2019/7/24	京都府	京都市	35.05965	135.783494	ササ枯枝	2	292	166	45	NI
Mtri_20190801_01	2019/8/1	京都府	京都市	35.05968	135.789418	ササ枯枝	3	100	41	2	NI
Mtri_20190801_02	2019/8/1	京都府	京都市	35.059701	135.783328	ササ枯枝	5	336	82	0	NI

巣の ID	採集年月日	県名	地名	緯度	経度	営巣基質	巣内の個体数				採集者
							女王	ワーカー	幼虫	蛹	
Mtri_20190801_03	2019/8/1	京都府	京都市	35.059707	135.783332	落葉樹枯枝	4	22	57	14	NI
Mtri_20190801_04	2019/8/1	京都府	京都市	35.059579	135.783336	ササ枯枝	2	90	24	0	NI
Mtri_20190801_05	2019/8/1	京都府	京都市	35.059667	135.783252	落葉樹枯枝	3	75	75	17	NI
Mtri_20191017_02	2019/10/17	京都府	京都市	35.059618	135.78335	ササ枯枝	7	337	300	0	NI
Mtri_20191017_03	2019/10/17	京都府	京都市	35.059618	135.78335	ササ枯枝	3	197	121	30	NI
Mtri_20191017_04	2019/10/17	京都府	京都市	35.059565	135.783411	ササ枯枝	4	105	85	0	NI
Mtri_20191017_05	2019/10/17	京都府	京都市	35.059565	135.783411	ササ枯枝	3	163	115	1	NI
Mtri_20191017_06	2019/10/17	京都府	京都市	35.059567	135.783422	ササ枯枝	4	129	102	0	NI
Mtri_20191017_07	2019/10/17	京都府	京都市	35.059532	135.783385	ササ枯枝	3	172	138	0	NI
Mtri_20191026_01	2019/10/26	京都府	京都市	35.059695	135.789299	ササ枯枝	2	75	85	0	NI
Mtri_20191026_02	2019/10/26	京都府	京都市	35.059695	135.789299	ササ枯枝	1	73	60	0	NI
Mtri_20191028_01	2019/10/28	京都府	京都市	35.059739	135.789326	ササ枯枝	4	50	74	0	NI
Mtri_20191028_02	2019/10/28	京都府	京都市	35.060025	135.78843	ササ枯枝	6	198	242	0	NI
Mtri_20191028_03	2019/10/28	京都府	京都市	35.060058	135.788415	ササ枯枝	6	203	264	0	NI
Mtri_20191028_04	2019/10/28	京都府	京都市	35.060088	135.788351	ドングリ	6	135	177	0	NI
Mtri_20191028_05	2019/10/28	京都府	京都市	35.059765	135.786095	ドングリ	3	315	185	9	NI
Mtri_20200404_01	2020/4/4	京都府	京都市	35.05975	135.786094	ササ枯枝	1	48	95	0	NI
Mtri_20200404_02	2020/4/4	京都府	京都市	35.05975	135.786094	ササ枯枝	11	129	188	0	NI
Mtri_20200404_03	2020/4/4	京都府	京都市	35.05975	135.786094	ササ枯枝	10	188	167	0	NI
Mtri_20200404_04	2020/4/4	京都府	京都市	35.05954	135.783341	ササ枯枝	2	35	53	0	NI
Mtri_20200405_01	2020/4/5	京都府	京都市	35.059786	135.789381	ササ枯枝	3	261	67	0	NI
Mtri_20200405_02	2020/4/5	京都府	京都市	35.059786	135.789381	ササ枯枝	4	295	292	0	NI
Mtri_20200405_03	2020/4/5	京都府	京都市	35.059786	135.789381	ドングリ	21	810	694	0	NI
Mtri_20200405_04	2020/4/5	京都府	京都市	35.059775	135.786147	ドングリ	1	34	38	0	NI
Mtri_20200405_05	2020/4/5	京都府	京都市	35.059796	135.786167	ササ枯枝	12	62	180	0	NI
Mtri_20200405_06	2020/4/5	京都府	京都市	35.0597	135.783352	ササ枯枝	2	80	28	0	NI
Mtri_20200405_07	2020/4/5	京都府	京都市	35.059428	135.783444	ササ枯枝	1	129	146	0	NI
Mtri_20200415_01	2020/4/15	京都府	京都市	35.057799	135.777762	ササ枯枝	22	75	225	0	NI
Mtri_20200415_02	2020/4/15	京都府	京都市	35.059546	135.783386	ササ枯枝	2	30	49	0	NI
Mtri_20200415_03	2020/4/15	京都府	京都市	35.059546	135.783386	ササ枯枝	3	26	60	0	NI

巣の ID	採集年月日	県名	地名	緯度	経度	営巣基質	巣内の個体数				採集者
							女王	ワーカー	幼虫	蛹	
Mtri_20200415_04	2020/4/15	京都府	京都市	35.059546	135.783386	ササ枯枝	1	64	70	0	NI
Mtri_20200415_05	2020/4/15	京都府	京都市	35.059546	135.783386	木本枯枝	6	53	112	0	NI
Mtri_20200425_01	2020/4/25	京都府	京都市	35.059689	135.789154	ササ枯枝	7	225	264	0	NI
Mtri_20200425_02	2020/4/25	京都府	京都市	35.059689	135.789154	ササ枯枝	2	90	84	0	NI
Mtri_20200425_03	2020/4/25	京都府	京都市	35.059737	135.786179	ササ枯枝	15	145	381	0	NI
Mtri_20200425_04	2020/4/25	京都府	京都市	35.059508	135.783436	ササ枯枝	5	51	149	0	NI
Mtri_20200425_05	2020/4/25	京都府	京都市	35.059508	135.783436	ササ枯枝	1	42	90	0	NI
Mtri_20200425_06	2020/4/25	京都府	京都市	35.059508	135.783436	ササ枯枝	5	41	98	0	NI
Mtri_20200429_01	2020/4/29	京都府	京都市	35.05978	135.786107	ササ枯枝	2	130	173	0	NI
Mtri_20200429_02	2020/4/29	京都府	京都市	35.059021	135.783399	ササ枯枝	7	26	106	0	NI
Mtri_20200429_03	2020/4/29	京都府	京都市	35.059716	135.783417	ササ枯枝	4	94	0	0	NI
Mtri_20200508_01	2020/5/8	京都府	京都市	35.059625	135.783316	ササ枯枝	3	78	134	0	NI
Mtri_20200508_02	2020/5/8	京都府	京都市	35.05955	135.783358	ササ枯枝	3	65	121	0	NI
Mtri_20200508_03	2020/5/8	京都府	京都市	35.059593	135.783336	ササ枯枝	2	59	33	0	NI
Mtri_20200508_04	2020/5/8	京都府	京都市	35.059593	135.783336	ササ枯枝	2	70	88	0	NI
Mtri_20200508_05	2020/5/8	京都府	京都市	35.059603	135.783426	ササ枯枝	3	60	150	0	NI
Mtri_20200508_06	2020/5/8	京都府	京都市	35.059603	135.783426	ササ枯枝	1	69	36	0	NI
Mtri_20200508_07	2020/5/8	京都府	京都市	35.059613	135.783341	ササ枯枝	1	32	34	0	NI
Mtri_20200508_08	2020/5/8	京都府	京都市	35.059566	135.783366	ササ枯枝	1	33	65	0	NI
Mtri_20200508_09	2020/5/8	京都府	京都市	35.059987	135.788318	ササ枯枝	2	23	81	0	NI
Mtri_20200508_10	2020/5/8	京都府	京都市	35.05995	135.788332	ササ枯枝	1	44	155	0	NI
Mtri_20200519_01	2020/5/19	京都府	京都市	35.060048	135.788377	ササ枯枝	1	49	103	0	NI
Mtri_20200519_02	2020/5/19	京都府	京都市	35.060249	135.787924	ササ枯枝	8	196	217	0	NI
Mtri_20200519_03	2020/5/19	京都府	京都市	35.059696	135.786156	ササ枯枝	0	16	3	0	NI
Mtri_20200519_04	2020/5/19	京都府	京都市	35.058885	135.783898	ササ枯枝	1	72	110	0	AY
Mtri_20200519_05	2020/5/19	京都府	京都市	35.058885	135.783898	ササ枯枝	2	76	89	1	AY
Mtri_20200519_06	2020/5/19	京都府	京都市	35.058885	135.783898	ササ枯枝	2	56	91	0	SO
Mtri_20200519_07	2020/5/19	京都府	京都市	35.058885	135.783898	ササ枯枝	0	75	84	0	SO
Mtri_20200519_08	2020/5/19	京都府	京都市	35.058885	135.783898	ササ枯枝	6	51	94	0	CT
Mtri_20200519_09	2020/5/19	京都府	京都市	35.058885	135.783898	ササ枯枝	15	64	180	0	CT

巣の ID	採集年月日	県名	地名	緯度	経度	営巣基質	巣内の個体数				採集者
							女王	ワーカー	幼虫	蛹	
Mtri_20200528_01	2020/5/28	京都府	京都市	35.060312	135.787949	ササ枯枝	8	17	46	1	KL
Mtri_20200528_02	2020/5/28	京都府	京都市	35.059717	135.789242	ササ枯枝	7	349	242	4	NI
Mtri_20200528_03	2020/5/28	京都府	京都市	35.060056	135.788384	ササ枯枝	3	37	134	0	NI
Mtri_20200528_04	2020/5/28	京都府	京都市	35.060312	135.787949	ササ枯枝	2	51	165	0	NI
Mtri_20200528_05	2020/5/28	京都府	京都市	35.060312	135.787949	ササ枯枝	3	39	50	0	NI
Mtri_20200528_06	2020/5/28	京都府	京都市	35.05964	135.783375	ササ枯枝	1	58	83	0	KL
Mtri_20200528_07	2020/5/28	京都府	京都市	35.05964	135.783375	ササ枯枝	0	39	94	0	NI
Mtri_20200528_08	2020/5/28	京都府	京都市	35.05964	135.783375	ササ枯枝	2	54	55	0	NI
Mtri_20200528_09	2020/5/28	京都府	京都市	35.05964	135.783375	ササ枯枝	2	53	52	24	NI
Mtri_20200528_10	2020/5/28	京都府	京都市	NA	NA	ササ枯枝	2	33	41	7	NI
Mtri_20200603_01	2020/6/3	京都府	京都市	35.059832	135.789283	ササ枯枝	2	277	350	24	NI
Mtri_20200603_02	2020/6/3	京都府	京都市	35.060031	135.788505	ササ枯枝	0	67	162	7	NI
Mtri_20200603_03	2020/6/3	京都府	京都市	35.06015	135.788329	ササ枯枝	4	54	175	25	NI
Mtri_20200603_04	2020/6/3	京都府	京都市	35.060164	135.788051	ササ枯枝	22	250	358	28	NI
Mtri_20200603_05	2020/6/3	京都府	京都市	35.059973	135.787449	ササ枯枝	4	140	319	13	NI
Mtri_20200604_01	2020/6/4	京都府	京都市	35.05977	135.789213	ササ枯枝	2	104	21	51	NI
Mtri_20200604_02	2020/6/4	京都府	京都市	35.05977	135.789213	ササ枯枝	2	41	21	11	NI
Mtri_20200604_03	2020/6/4	京都府	京都市	35.05977	135.789213	ササ枯枝	4	56	49	31	NI
Mtri_20200604_04	2020/6/4	京都府	京都市	35.060208	135.788492	ササ枯枝	4	51	88	18	NI
Mtri_20200604_05	2020/6/4	京都府	京都市	35.060208	135.788492	ササ枯枝	1	72	111	27	NI
Mtri_20200604_06	2020/6/4	京都府	京都市	35.059933	135.787555	ササ枯枝	3	56	106	0	NI
Mtri_20200604_07	2020/6/4	京都府	京都市	35.059933	135.787555	ササ枯枝	4	80	126	6	NI
Mtri_20200604_08	2020/6/4	京都府	京都市	35.059748	135.786217	ササ枯枝	12	22	55	2	NI
Mtri_20200604_09	2020/6/4	京都府	京都市	35.059748	135.786217	ササ枯枝	1	57	96	20	NI
Mtri_20200604_10	2020/6/4	京都府	京都市	35.060175	135.784613	ササ枯枝	12	147	24	0	NI
Mtri_20200604_11	2020/6/4	京都府	京都市	35.060175	135.784613	ササ枯枝	3	18	139	46	NI
Mtri_20200604_12	2020/6/4	京都府	京都市	35.059667	135.783475	ササ枯枝	1	89	103	10	NI
Mtri_20200604_13	2020/6/4	京都府	京都市	35.059667	135.783475	ササ枯枝	4	162	208	71	NI
Mtri_20200604_14	2020/6/4	京都府	京都市	35.057814	135.781757	ササ枯枝	4	82	74	2	NI
Mtri_20200604_15	2020/6/4	京都府	京都市	35.057814	135.781757	ササ枯枝	21	479	0	0	NI

巣の ID	採集年月日	県名	地名	緯度	経度	営巣基質	巣内の個体数				採集者
							女王	ワーカー	幼虫	蛹	
Mtri_20200615_01	2020/6/15	京都府	京都市	35.059672	135.789223	ササ枯枝	1	79	59	29	NI
Mtri_20200615_02	2020/6/15	京都府	京都市	35.060026	135.788572	ササ枯枝	8	93	55	61	NI
Mtri_20200615_03	2020/6/15	京都府	京都市	35.060276	135.787898	ササ枯枝	10	321	148	129	NI
Mtri_20200615_04	2020/6/15	京都府	京都市	35.0601	135.787494	ササ枯枝	17	130	260	102	NI
Mtri_20200615_05	2020/6/15	京都府	京都市	35.059791	135.78614	ササ枯枝	12	100	137	163	NI
Mtri_20200615_06	2020/6/15	京都府	京都市	35.060222	135.784488	ササ枯枝	0	51	86	57	NI
Mtri_20200615_07	2020/6/15	京都府	京都市	35.059404	135.783418	ササ枯枝	5	56	64	68	NI
Mtri_20200615_08	2020/6/15	京都府	京都市	35.059593	135.783375	ササ枯枝	2	48	40	139	NI
Mtri_20200615_09	2020/6/15	京都府	京都市	35.059593	135.783375	ササ枯枝	3	62	37	63	NI
Mtri_20200615_10	2020/6/15	京都府	京都市	35.059593	135.783375	ササ枯枝	3	36	37	8	NI
Mtri_20200615_11	2020/6/16	京都府	京都市	35.057843	135.78165	ササ枯枝	6	49	46	114	NI
Mtri_20200708_01	2020/7/8	京都府	京都市	35.060216	135.787907	ササ枯枝	9	125	115	29	NI
Mtri_20200708_02	2020/7/8	京都府	京都市	35.060237	135.787896	ササ枯枝	1	216	85	10	NI
Mtri_20200708_03	2020/7/8	京都府	京都市	35.059758	135.786075	ササ枯枝	19	171	234	37	NI
Mtri_20200708_04	2020/7/8	京都府	京都市	35.059628	135.783364	ササ枯枝	2	113	133	76	NI
Mtri_20200712_01	2020/7/12	京都府	京都市	35.059619	135.783298	ササ枯枝	3	137	151	59	NI
Mtri_20200712_02	2020/7/12	京都府	京都市	35.059619	135.783298	ササ枯枝	4	147	83	48	NI
Mtri_20200712_03	2020/7/12	京都府	京都市	35.059698	135.783353	ササ枯枝	2	91	46	6	NI
Mtri_20200712_04	2020/7/12	京都府	京都市	35.059634	135.783426	ササ枯枝	5	75	143	58	NI
Mtri_20200712_05	2020/7/12	京都府	京都市	35.059614	135.783456	ササ枯枝	1	46	69	23	NI
Mtri_20200712_06	2020/7/12	京都府	京都市	35.067428	135.794637	シダ類枯葉柄	3	65	75	13	NI
Mtri_20200712_07	2020/7/12	京都府	京都市	35.067283	135.794691	木本枯枝	6	484	404	268	NI
Mtri_20200712_07	2020/7/16	京都府	京都市	35.067525	135.79463	木本枯枝	4	498	392	282	NI
Mtri_20200712_07	2020/7/16	京都府	京都市	35.067525	135.79463	木本枯枝	5	379	378	220	NI
Mtri_20200712_07	2020/7/16	京都府	京都市	35.067525	135.79463	木本枯枝	1	356	210	141	NI
Mtri_20200712_07	2020/7/16	京都府	京都市	35.067525	135.79463	木本枯枝	2	115	172	47	NI
Mtri_20200730_01	2020/7/30	京都府	京都市	35.059758	135.789233	ササ枯枝	7	269	177	55	NI
Mtri_20200730_02	2020/7/30	京都府	京都市	35.059648	135.789235	ササ枯枝	2	149	62	87	NI
Mtri_20200730_03	2020/7/30	京都府	京都市	35.059648	135.789235	ササ枯枝	4	291	202	54	NI
Mtri_20200730_04	2020/7/30	京都府	京都市	35.059648	135.789235	ササ枯枝	3	236	157	88	NI

巣の ID	採集年月日	県名	地名	緯度	経度	営巣基質	巣内の個体数				採集者
							女王	ワーカー	幼虫	蛹	
Mtri_20200730_05	2020/7/30	京都府	京都市	35.060097	135.788408	ササ枯枝	7	133	152	59	NI
Mtri_20200730_06	2020/7/30	京都府	京都市	35.060097	135.788408	ササ枯枝	3	89	71	8	NI
Mtri_20200730_07	2020/7/30	京都府	京都市	35.06005	135.788319	ササ枯枝	8	150	210	76	NI
Mtri_20200730_08	2020/7/30	京都府	京都市	35.060082	135.788296	ササ枯枝	6	70	98	5	NI
Mtri_20200730_09	2020/7/30	京都府	京都市	35.060082	135.788296	ササ枯枝	2	54	25	10	NI
Mtri_20200730_10	2020/7/30	京都府	京都市	35.060306	135.787895	ササ枯枝	7	399	197	51	NI
Mtri_20200730_11	2020/7/30	京都府	京都市	35.059661	135.786296	ササ枯枝	3	254	186	159	NI
Mtri_20200730_12	2020/7/30	京都府	京都市	35.05968	135.786361	ササ枯枝	9	208	247	71	NI
Mtri_20200730_14	2020/7/30	京都府	京都市	35.059692	135.786281	ササ枯枝	8	344	258	141	NI
Mtri_20200730_15	2020/7/30	京都府	京都市	35.059878	135.786165	ササ枯枝	1	181	121	36	NI
Mtri_20200730_16	2020/7/30	京都府	京都市	35.059878	135.786165	ササ枯枝	5	114	119	44	NI
Mtri_20200801_01	2020/8/1	京都府	京都市	35.059195	135.783383	ササ枯枝	0	19	NA	NA	NI
Mtri_20200801_02	2020/8/1	京都府	京都市	35.06019	135.787972	朽木	3	175	138	20	NI
Mtri_20200801_03	2020/8/1	京都府	京都市	35.060266	135.787888	ササ枯枝	6	141	166	26	NI
Mtri_20200801_04	2020/8/1	京都府	京都市	35.060158	135.788114	ドングリ	3	104	119	21	NI
Mtri_20200801_05	2020/8/1	京都府	京都市	35.060158	135.788114	ササ枯枝	3	32	39	16	NI
Mtri_20200801_06	2020/8/1	京都府	京都市	35.060158	135.788114	ドングリ	NA	NA	NA	NA	NI
Mtri_20200801_07	2020/8/1	京都府	京都市	35.060163	135.788028	つる植物枯枝	24	588	866	106	NI
Mtri_20200801_08	2020/8/1	京都府	京都市	35.06027	135.787898	つる植物枯枝	28	508	334	54	NI
Mtri_20200801_09	2020/8/1	京都府	京都市	35.06027	135.787898	ササ枯枝	2	239	112	49	NI
Mtri_20200801_10	2020/8/1	京都府	京都市	35.060157	135.787897	ササ枯枝	12	442	317	37	NI
Mtri_20200926_01	2020/9/26	京都府	京都市	35.059642	135.783458	ササ枯枝	3	74	NA	NA	NI
Mtri_20210628_01	2021/6/28	京都府	京都市	35.059642	135.783372	ササ枯枝	1	109	129	122	NI
Mtri_20210628_02	2021/6/28	京都府	京都市	35.059642	135.783372	ササ枯枝	3	46	70	36	NI
Mtri_20210628_03	2021/6/28	京都府	京都市	35.059614	135.783442	ササ枯枝	6	19	79	52	NI
Mtri_20210628_04	2021/6/28	京都府	京都市	35.05954	135.783433	ササ枯枝	10	235	300	198	NI
Mtri_20210628_05	2021/6/28	京都府	京都市	35.059616	135.783315	ササ枯枝	12	62	200	151	NI
Mtri_20210628_06	2021/6/28	京都府	京都市	35.059621	135.783332	ササ枯枝	7	17	172	107	NI
Mtri_20210628_07	2021/6/28	京都府	京都市	35.059534	135.783406	ササ枯枝	1	18	26	20	NI
Mtri_20210628_08	2021/6/28	京都府	京都市	35.059673	135.783499	ササ枯枝	5	84	149	17	NI

巣の ID	採集年月日	県名	地名	緯度	経度	営巣基質	巣内の個体数				採集者
							女王	ワーカー	幼虫	蛹	
Mtri_20210628_09	2021/6/28	京都府	京都市	35.059594	135.783478	ササ枯枝	7	134	247	188	NI
Mtri_20210630_01	2021/6/30	香川県	高松市	34.364276	134.097991	シダ類枯葉柄	4	40	90	92	NI
Mtri_20210630_02	2021/6/30	香川県	高松市	34.364306	134.097875	シダ類枯葉柄	3	47	75	60	NI
Mtri_20210630_03	2021/6/30	香川県	高松市	34.364306	134.097875	シダ類枯葉柄	0	11	25	35	NI
Mtri_20210630_04	2021/6/30	香川県	高松市	34.364091	134.09798	ササ枯枝	4	15	56	5	NI
Mtri_20210630_05	2021/6/30	香川県	高松市	34.364091	134.09798	ササ枯枝	NA	NA	NA	NA	NI
Mtri_20210630_06	2021/6/30	香川県	高松市	34.364091	134.09798	ササ枯枝	2	68	61	44	NI
Mtri_20210630_07	2021/6/30	香川県	高松市	34.364194	134.098084	木本枯枝	8	66	99	3	NI
Mtri_20210630_08	2021/6/30	香川県	高松市	34.364062	134.097762	ササ枯枝	1	25	34	0	NI
Mtri_20210630_09	2021/6/30	香川県	高松市	34.364134	134.097999	ササ枯枝	1	40	57	43	NI
Mtri_20210630_10	2021/6/30	香川県	高松市	34.364323	134.098185	シダ類枯葉柄	4	52	80	99	NI
Mtri_20210630_11	2021/6/30	香川県	高松市	34.36407	134.09781	シダ類枯葉柄	12	79	172	128	NI
Mtri_20210630_12	2021/6/30	香川県	高松市	34.364055	134.097845	シダ類枯葉柄	3	60	140	64	NI
Mtri_20210630_13	2021/6/30	香川県	高松市	34.364168	134.097994	シダ類枯葉柄	4	43	81	99	NI
Mtri_20210630_14	2021/6/30	香川県	高松市	34.364183	134.097943	シダ類枯葉柄	2	27	33	41	NI
Mtri_20210630_15	2021/6/30	香川県	高松市	34.364213	134.097978	ササ枯枝	5	56	27	17	NI
Mtri_20210630_16	2021/6/30	香川県	高松市	34.364129	134.098008	ササ枯枝	3	101	51	11	NI
Mtri_20210630_17	2021/6/30	香川県	高松市	34.364123	134.09772	ササ枯枝	4	107	180	201	NI
Mtri_20210630_18	2021/6/30	香川県	高松市	34.364245	134.097968	ササ枯枝	2	44	33	0	NI
Mtri_20210630_19	2021/6/30	香川県	高松市	34.364207	134.098223	シダ類枯葉柄	2	30	39	63	NI
Mtri_20210630_20	2021/6/30	香川県	高松市	34.364244	134.097998	シダ類枯葉柄	2	65	106	90	NI
Mtri_20210701_01	2021/7/1	愛媛県	松山市	33.844603	132.771513	シダ類枯葉柄	2	71	127	53	NI
Mtri_20210706_01	2021/7/6	京都府	京都市	35.059992	135.788448	ササ枯枝	2	143	203	123	NI
Mtri_20210706_02	2021/7/6	京都府	京都市	35.059976	135.78845	ササ枯枝	8	108	212	175	NI
Mtri_20210706_03	2021/7/6	京都府	京都市	35.059941	135.788493	ササ枯枝	5	15	49	5	NI
Mtri_20210706_04	2021/7/6	京都府	京都市	35.060021	135.788482	ササ枯枝	3	54	67	104	NI
Mtri_20210706_05	2021/7/6	京都府	京都市	35.059922	135.788462	ササ枯枝	5	189	153	180	NI
Mtri_20210706_06	2021/7/6	京都府	京都市	35.05996	135.788477	シダ類枯葉柄	1	94	83	128	NI
Mtri_20210706_07	2021/7/6	京都府	京都市	35.059894	135.788413	ササ枯枝	1	39	52	52	NI
Mtri_20210706_08	2021/7/6	京都府	京都市	35.059941	135.788504	ササ枯枝	2	63	71	56	NI

巣の ID	採集年月日	県名	地名	緯度	経度	営巣基質	巣内の個体数				採集者
							女王	ワーカー	幼虫	蛹	
Mtri_20210706_09	2021/7/6	京都府	京都市	35.059959	135.788511	ササ枯枝	0	5	48	9	NI
Mtri_20210706_10	2021/7/6	京都府	京都市	35.059948	135.788418	ササ枯枝	1	174	116	87	NI
Mtri_20210706_11	2021/7/6	京都府	京都市	35.060042	135.788417	ササ枯枝	3	53	116	80	NI
Mtri_20210706_12	2021/7/6	京都府	京都市	35.059973	135.788549	ササ枯枝	0	25	27	21	NI
Mtri_20210709_01	2021/7/9	茨城県	つくば市	36.100365	140.101547	ササ枯枝	21	61	NA	NA	NI
Mtri_20210709_02	2021/7/9	茨城県	つくば市	36.100409	140.101582	落葉樹枯枝	18	272	NA	NA	NI
Mtri_20210709_03	2021/7/9	茨城県	つくば市	36.100409	140.101582	ササ枯枝	16	203	NA	NA	NI
Mtri_20210709_04	2021/7/9	茨城県	つくば市	36.100421	140.101559	ササ枯枝	20	127	NA	NA	NI
Mtri_20210709_05	2021/7/9	茨城県	つくば市	36.100422	140.101452	ササ枯枝	23	96	NA	NA	NI
Mtri_20210709_06	2021/7/9	茨城県	つくば市	36.100441	140.101484	ササ枯枝	13	338	NA	NA	NI
Mtri_20210709_07	2021/7/9	茨城県	つくば市	36.100357	140.101549	ササ枯枝	7	228	NA	NA	NI
Mtri_20210709_08	2021/7/9	茨城県	つくば市	36.100327	140.101545	ササ枯枝	7	213	NA	NA	NI
Mtri_20210709_09	2021/7/9	茨城県	つくば市	36.100383	140.101481	ササ枯枝	2	354	NA	NA	NI
Mtri_20210709_10	2021/7/9	茨城県	つくば市	36.100287	140.101417	ササ枯枝	1	135	NA	NA	NI
Mtri_20210709_11	2021/7/9	茨城県	つくば市	36.100375	140.101479	ササ枯枝	22	216	NA	NA	NI
Mtri_20210709_12	2021/7/9	茨城県	つくば市	36.100385	140.101434	ササ枯枝	18	71	NA	NA	NI
Mtri_20210709_13	2021/7/9	茨城県	つくば市	36.10024	140.101512	ササ枯枝	2	51	NA	NA	NI
Mtri_20210709_14	2021/7/9	茨城県	つくば市	36.100196	140.101404	ササ枯枝	4	33	NA	NA	NI
Mtri_20210709_15	2021/7/9	茨城県	つくば市	36.100273	140.10149	ササ枯枝	18	255	NA	NA	NI
Mtri_20210709_16	2021/7/9	茨城県	つくば市	36.1003	140.101556	ササ枯枝	1	92	NA	NA	NI
Mtri_20210709_17	2021/7/9	茨城県	つくば市	36.100371	140.101589	ササ枯枝	1	98	NA	NA	NI
Mtri_20210709_18	2021/7/9	茨城県	つくば市	36.1003	140.101523	ササ枯枝	6	138	NA	NA	NI
Mtri_20210709_19	2021/7/9	茨城県	つくば市	36.100292	140.101545	ササ枯枝	1	187	NA	NA	NI
Mtri_20210709_20	2021/7/9	茨城県	つくば市	36.100268	140.101473	落葉樹枯枝	9	308	NA	NA	NI
Mtri_20210709_21	2021/7/9	茨城県	つくば市	36.100225	140.101475	ササ枯枝	9	126	NA	NA	NI
Mtri_20210709_22	2021/7/9	茨城県	つくば市	36.100223	140.101448	ササ枯枝	14	172	NA	NA	NI
Mtri_20210709_23	2021/7/9	茨城県	つくば市	36.100298	140.10136	ササ枯枝	19	49	NA	NA	NI
Mtri_20210709_24	2021/7/9	茨城県	つくば市	36.10023	140.101371	ササ枯枝	1	23	NA	NA	NI
Mtri_20210709_25	2021/7/9	茨城県	つくば市	36.100298	140.101373	ササ枯枝	8	280	NA	NA	NI
Mtri_20210709_26	2021/7/9	茨城県	つくば市	36.100224	140.101436	ササ枯枝	4	123	NA	NA	NI

巣の ID	採集年月日	県名	地名	緯度	経度	営巣基質	巣内の個体数				採集者
							女王	ワーカー	幼虫	蛹	
Mtri_20210709_27	2021/7/9	茨城県	つくば市	36.100282	140.101444	ササ枯枝	20	279	NA	NA	NI
Mtri_20210709_28	2021/7/9	茨城県	つくば市	36.100196	140.101449	ササ枯枝	2	238	NA	NA	NI
Mtri_20210709_29	2021/7/9	茨城県	つくば市	36.100141	140.101484	ササ枯枝	2	198	NA	NA	NI
Mtri_20210709_30	2021/7/9	茨城県	つくば市	36.10016	140.101537	ササ枯枝	6	134	NA	NA	NI
Mtri_20210709_31	2021/7/9	茨城県	つくば市	36.100503	140.101816	ササ枯枝	8	182	NA	NA	NI
Mtri_20210709_32	2021/7/9	茨城県	つくば市	36.100733	140.101552	落葉樹枯枝	3	335	NA	NA	NI
Mtri_20210709_33	2021/7/9	茨城県	つくば市	36.100584	140.101497	落葉樹枯枝	6	141	NA	NA	NI
Mtri_20210710_01	2021/7/10	東京都	調布市	35.668174	139.548951	落葉樹枯枝	7	77	NA	NA	NI
Mtri_20210710_02	2021/7/10	東京都	調布市	35.668173	139.548899	落葉樹枯枝	8	201	NA	NA	NI
Mtri_20210710_03	2021/7/10	東京都	調布市	35.668089	139.549015	落葉樹枯枝	2	105	NA	NA	NI
Mtri_20210710_04	2021/7/10	東京都	調布市	35.668231	139.549038	落葉樹枯枝	1	77	NA	NA	NI
Mtri_20210710_05	2021/7/10	東京都	調布市	35.668163	139.549021	落葉樹枯枝	5	215	NA	NA	NI
Mtri_20210710_06	2021/7/10	東京都	調布市	35.668186	139.548571	落葉樹枯枝	3	41	NA	NA	NI
Mtri_20210710_07	2021/7/10	東京都	調布市	35.668186	139.548571	落葉樹枯枝	9	130	NA	NA	NI
Mtri_20210710_08	2021/7/10	東京都	調布市	35.668186	139.548571	ササ枯枝	7	182	NA	NA	NI
Mtri_20210710_09	2021/7/10	東京都	調布市	35.668186	139.548571	落葉樹枯枝	NA	NA	NA	NA	NI
Mtri_20210710_10	2021/7/10	東京都	調布市	35.668186	139.548571	落葉樹枯枝	0	31	NA	NA	NI
Mtri_20210710_11	2021/7/10	東京都	調布市	35.668157	139.548677	ササ枯枝	6	34	NA	NA	NI
Mtri_20210710_12	2021/7/10	東京都	調布市	35.668157	139.548677	落葉樹枯枝	2	47	NA	NA	NI
Mtri_20210710_13	2021/7/10	東京都	調布市	35.668157	139.548677	ササ枯枝	19	433	NA	NA	NI
Mtri_20210710_14	2021/7/10	東京都	調布市	35.668157	139.548677	落葉樹枯枝	4	70	NA	NA	NI
Mtri_20210710_15	2021/7/10	東京都	調布市	35.668166	139.548778	ササ枯枝	18	198	NA	NA	NI
Mtri_20210710_16	2021/7/10	東京都	調布市	35.668166	139.548778	落葉樹枯枝	0	113	NA	NA	NI
Mtri_20210710_17	2021/7/10	東京都	調布市	35.668166	139.548778	落葉樹枯枝	1	29	NA	NA	NI
Mtri_20210710_18	2021/7/10	東京都	調布市	35.668181	139.549027	落葉樹枯枝	11	123	NA	NA	NI
Mtri_20210710_19	2021/7/10	東京都	調布市	35.668186	139.548571	落葉樹枯枝	1	66	NA	NA	NI
Mtri_20210710_20	2021/7/10	東京都	調布市	35.668186	139.548571	落葉樹枯枝	1	66	NA	NA	NI
Mtri_20210710_21	2021/7/10	東京都	調布市	35.668181	139.549027	落葉樹枯枝	17	263	NA	NA	NI
Mtri_20210710_22	2021/7/10	東京都	調布市	35.668181	139.549027	落葉樹枯枝	8	346	NA	NA	NI
Mtri_20210711_01	2021/7/11	愛知県	岡崎市	34.941612	137.175551	シダ類枯葉柄	7	77	NA	NA	NI

巣の ID	採集年月日	県名	地名	緯度	経度	営巣基質	巣内の個体数				採集者
							女王	ワーカー	幼虫	蛹	
Mtri_20210711_02	2021/7/11	愛知県	岡崎市	34.941003	137.174613	シダ類枯葉柄	7	60	NA	NA	NI
Mtri_20210711_03	2021/7/11	愛知県	岡崎市	34.941003	137.174613	シダ類枯葉柄	22	186	NA	NA	NI
Mtri_20210711_04	2021/7/11	愛知県	岡崎市	34.941003	137.174613	シダ類枯葉柄	10	137	NA	NA	NI
Mtri_20210711_05	2021/7/11	愛知県	岡崎市	34.941003	137.174613	シダ類枯葉柄	4	214	NA	NA	NI
Mtri_20210711_06	2021/7/11	愛知県	岡崎市	34.941003	137.174613	シダ類枯葉柄	18	128	NA	NA	NI
Mtri_20210711_07	2021/7/11	愛知県	岡崎市	34.941003	137.174613	シダ類枯葉柄	2	56	NA	NA	NI
Mtri_20210711_08	2021/7/11	愛知県	岡崎市	34.941003	137.174613	シダ類枯葉柄	5	87	NA	NA	NI
Mtri_20210711_09	2021/7/11	愛知県	岡崎市	34.941003	137.174613	シダ類枯葉柄	1	62	NA	NA	NI
Mtri_20210711_10	2021/7/11	愛知県	岡崎市	34.941003	137.174613	シダ類枯葉柄	6	152	NA	NA	NI
Mtri_20210711_11	2021/7/11	愛知県	岡崎市	34.941035	137.174504	シダ類枯葉柄	11	236	NA	NA	NI
Mtri_20210711_12	2021/7/11	愛知県	岡崎市	34.941035	137.174504	シダ類枯葉柄	5	105	NA	NA	NI
Mtri_20210711_13	2021/7/11	愛知県	岡崎市	34.941035	137.174504	シダ類枯葉柄	5	202	NA	NA	NI
Mtri_20210711_14	2021/7/11	愛知県	岡崎市	34.941035	137.174504	シダ類枯葉柄	5	63	NA	NA	NI
Mtri_20210711_15	2021/7/11	愛知県	岡崎市	34.941035	137.174504	シダ類枯葉柄	6	77	NA	NA	NI
Mtri_20210711_16	2021/7/11	愛知県	岡崎市	34.941035	137.174504	シダ類枯葉柄	14	188	NA	NA	NI
Mtri_20210711_17	2021/7/11	愛知県	岡崎市	34.941035	137.174504	シダ類枯葉柄	6	73	NA	NA	NI
Mtri_20210711_18	2021/7/11	愛知県	岡崎市	34.941035	137.174504	シダ類枯葉柄	3	41	NA	NA	NI
Mtri_20210711_19	2021/7/11	愛知県	岡崎市	34.941035	137.174504	シダ類枯葉柄	3	110	NA	NA	NI
Mtri_20210711_20	2021/7/11	愛知県	岡崎市	34.941035	137.174504	シダ類枯葉柄	14	141	NA	NA	NI
Mtri_20210711_21	2021/7/11	愛知県	岡崎市	34.941035	137.174504	シダ類枯葉柄	5	96	NA	NA	NI
Mtri_20210715_01	2021/7/15	滋賀県	大津市	34.97021	135.95608	つる植物枯枝	11	249	NA	NA	NI
Mtri_20210715_02	2021/7/15	滋賀県	大津市	34.970238	135.956112	ササ枯枝	3	149	NA	NA	NI
Mtri_20210715_03	2021/7/15	滋賀県	大津市	34.970287	135.956115	ササ枯枝	17	84	NA	NA	NI
Mtri_20210715_04	2021/7/15	滋賀県	大津市	34.97023	135.95608	ササ枯枝	1	157	NA	NA	NI
Mtri_20210715_05	2021/7/15	滋賀県	大津市	34.970257	135.956107	ササ枯枝	4	122	NA	NA	NI
Mtri_20210715_06	2021/7/15	滋賀県	大津市	34.970242	135.956158	ササ枯枝	1	47	NA	NA	NI
Mtri_20210715_07	2021/7/15	滋賀県	大津市	34.970239	135.95612	つる植物枯枝	1	167	NA	NA	NI
Mtri_20210715_08	2021/7/15	滋賀県	大津市	34.970331	135.956072	ササ枯枝	4	99	NA	NA	NI
Mtri_20210715_09	2021/7/15	滋賀県	大津市	34.970337	135.956101	ササ枯枝	3	316	NA	NA	NI
Mtri_20210715_10	2021/7/15	滋賀県	大津市	34.970276	135.956092	ササ枯枝	11	124	NA	NA	NI

巣の ID	採集年月日	県名	地名	緯度	経度	営巣基質	巣内の個体数				採集者
							女王	ワーカー	幼虫	蛹	
Mtri_20210715_11	2021/7/15	滋賀県	大津市	34.970269	135.956036	ササ枯枝	5	112	NA	NA	NI
Mtri_20210715_12	2021/7/15	滋賀県	大津市	34.970334	135.956128	つる植物枯枝	2	86	NA	NA	NI
Mtri_20210715_13	2021/7/15	滋賀県	大津市	34.97024	135.956065	ササ枯枝	3	94	NA	NA	NI
Mtri_20210715_14	2021/7/15	滋賀県	大津市	34.970255	135.956082	つる植物枯枝	6	199	NA	NA	NI
Mtri_20210715_15	2021/7/15	滋賀県	大津市	34.970289	135.956078	ササ枯枝	3	78	NA	NA	NI
Mtri_20210715_16	2021/7/15	滋賀県	大津市	34.97025	135.956055	つる植物枯枝	8	238	NA	NA	NI
Mtri_20210715_17	2021/7/15	滋賀県	大津市	34.970263	135.956074	つる植物枯枝	15	183	NA	NA	NI
Mtri_20210715_18	2021/7/15	滋賀県	大津市	34.970279	135.956087	つる植物枯枝	4	169	NA	NA	NI
Mtri_20210715_19	2021/7/15	滋賀県	大津市	34.970333	135.956084	ササ枯枝	3	156	NA	NA	NI
Mtri_20210715_20	2021/7/15	滋賀県	大津市	34.970353	135.956195	ササ枯枝	5	78	NA	NA	NI
Mtri_20210715_21	2021/7/15	滋賀県	大津市	34.970236	135.956126	ササ枯枝	21	180	NA	NA	NI
Mtri_20210715_22	2021/7/15	滋賀県	大津市	34.97026	135.956106	ササ枯枝	2	61	NA	NA	NI
Mtri_20210715_23	2021/7/15	滋賀県	大津市	34.970362	135.956059	ササ枯枝	7	53	NA	NA	NI

引用文献

- Adams RM, Larsen RS, Stylianidi N, Cheung D, Qiu B, Murray SK, Zhang G, Boomsma JJ (2021) Hairs distinguish castes and sexes: identifying the early ontogenetic building blocks of a fungus-farming superorganism (Hymenoptera: Formicidae). *Myrmecological News* 31:201–216. https://doi.org/10.25849/Myrmecological_News_031:201
- Alvares LE, Bueno OC, Fowler HG (1993) Larval instars and immature development of a Brazilian population of pharaoh's ant, *Monomorium pharaonis* (L.) (Hym., Formicidae). *Journal of Applied Entomology* 116:90–93. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0418.1993.tb01171.x>
- Amor F, Ortega P, Boulay R, Cerdá X (2017) Frequent colony orphaning triggers the production of replacement queens via worker thelytoky in a desert-dwelling ant. *Insectes Sociaux* 64:373–378. <https://doi.org/10.1007/s00040-017-0556-9>
- Andersen AN, Brassard F, Hoffmann BD (2022) Unrecognized ant megadiversity in monsoonal Australia: diversity and its distribution in the hyperdiverse *Monomorium nigrius* Forel group. *Diversity* 14:46. <https://doi.org/10.3390/d14010046>
- Anderson RH (1963) The laying worker in the Cape honeybee, *Apis Mellifera Capensis*. *Journal of Apicultural Research* 2:85–92. <https://doi.org/10.1080/00218839.1963.11100065>
- Aron S, Mardulyn P, Leniaud L (2016) Evolution of reproductive traits in *Cataglyphis* desert ants: mating frequency, queen number, and thelytoky. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 70:1367–1379. <https://doi.org/10.1007/s00265-016-2144-9>
- Avisé JC (2000) *Phylogeography: the history and formation of species*. Harvard university press. <https://doi.org/10.2307/j.ctv1nzhfgj7>

- Babbucci M, Basso A, Scupola A, Patarnello T, Negrisolo E (2014) Is it an ant or a butterfly?
Convergent evolution in the mitochondrial gene order of Hymenoptera and Lepidoptera.
Genome Biology and Evolution 6:3326–3343. <https://doi.org/10.1093/gbe/evu265>
- Balloux F, Lehmann L, de Meeûs T (2003) The population genetics of clonal and partially clonal
diploids. Genetics 164:1635–1644. <https://doi.org/10.1093/genetics/164.4.1635>
- Barros LA, Rabeling C, Teixeira GA, dos Santos Ferreira Mariano C, Delabie JH, de Aguiar HJ
(2022) Decay of homologous chromosome pairs and discovery of males in the thelytokous
fungus-growing ant *Mycocepurus smithii*. Scientific Reports 12:4860.
<https://doi.org/10.1038/s41598-022-08537-x>
- Beekman M, Sumpter DJT, Ratnieks FLW (2001) Phase transition between disordered and
ordered foraging in Pharaoh's ants. Proceedings of the National Academy of Sciences
98:9703–9706. <https://doi.org/10.1073/pnas.161285298>
- Bernadou A, Hoffacker E, Pable J, Heinze J (2020) Lipid content influences division of labour in
a clonal ant. Journal of Experimental Biology 223:jeb219238.
<https://doi.org/10.1242/jeb.219238>
- Bernadou A, Schrader L, Pable J, Hoffacker E, Meusemann K, Heinze J (2018) Stress and early
experience underlie dominance status and division of labour in a clonal insect. Proceedings of
the Royal Society B 285. <https://doi.org/10.1098/rspb.2018.1468>
- Bernard F (1955) Morphologie et comportement des fourmis lestobiotiques du genre *Epixenus*
Emery. Insectes Sociaux 2:273–283. <https://doi.org/10.1007/BF02331506>
- Bernt M, Donath A, Jühling F, Externbrink F, Florentz C, Fritsch G, Pütz J, Middendorf M,
Stadler PF (2013) MITOS: Improved de novo metazoan mitochondrial genome annotation.

- Molecular Phylogenetics and Evolution 69:313–319.
<https://doi.org/10.1016/j.ympev.2012.08.023>
- Bharti H, Gill A (2011) SEM studies on immature stages of *Pheidole indica* Mayr, 1879 (Hymenoptera: Formicidae) from India. *Halteres* 3:38–44.
- Bharti H, Kaur P, Bharti M (2019) Description of the ant larvae of two species of the genus *Myrmica* Latreille, 1804 (Hymenoptera: Formicidae) from Indian Himalayas. *Asian Myrmecology* 11. <https://doi.org/10.20362/am.011004>
- Bhatkar AP (1992) Mating success in *Monomorium minimum* (Hymenoptera: Formicidae). *Journal of the Kansas Entomological Society* 65:244–250.
- Bittebiere A-K, Benot M-L, Mony C (2020) Clonality as a key but overlooked driver of biotic interactions in plants. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics* 43:125510. <https://doi.org/10.1016/j.ppees.2020.125510>
- Bolger AM, Lohse M, Usadel B (2014) Trimmomatic: a flexible trimmer for Illumina sequence data. *Bioinformatics* 30:2114–2120. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btu170>
- Bolton, B (2022) An online catalog of the ants of the world. Available from <https://antcat.org>. (accessed Sep. 17, 2022)
- Bolyen E, Rideout JR, Dillon MR, Bokulich NA, Abnet CC, Al-Ghalith GA, Alexander H, Alm EJ, Arumugam M, Asnicar F, Bai Y (2019) Reproducible, interactive, scalable and extensible microbiome data science using QIIME 2. *Nature Biotechnology* 37:852–857. <https://doi.org/10.1038/s41587-019-0209-9>

- Boonen S, Billen J (2017) Caste regulation in the ant *Monomorium pharaonis* (L.) with emphasis on the role of queens. *Insectes Sociaux* 64:113–121. <https://doi.org/10.1007/s00040-016-0521-z>
- Borowiec ML (2016) Generic revision of the ant subfamily Dorylinae (Hymenoptera, Formicidae). *Zookeys* 1–280. <https://doi.org/10.3897/zookeys.608.9427>
- Borowiec ML (2019) Convergent evolution of the army ant syndrome and congruence in big-data phylogenetics. *Systematic Biology* 68:642–656. <https://doi.org/10.1093/sysbio/syy088>
- Boulay R, Hefetz A, Cerdá X, Devers S, Francke W, Twele R, Lenoir A (2007) Production of sexuals in a fission-performing ant: Dual effects of queen pheromones and colony size. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 61:1531–1541. <https://doi.org/10.1007/s00265-007-0385-3>
- Bourke AFG, Franks NR (1995) *Social evolution in ants*. Princeton University Press
- Brady SG, Fisher BL, Schultz TR, Ward PS (2014) The rise of army ants and their relatives: diversification of specialized predatory doryline ants. *BMC Evolutionary Biology* 14. <https://doi.org/10.1186/1471-2148-14-93>
- Brown W (1975) Contributions toward a reclassification of the Formicidae. V. Ponerinae, Tribes Platythyreini, Cerapachyini, Cyldromyrmecini, Acanthostichini, and Aenictogitini. *Search* (Ithaca) 5:1–115.
- Camazine S, Deneubourg JL, Franks NR, Sneyd J, Theraula G, Bonabeau E (2001) *Self-organization in biological systems*. Princeton university press.
- Casevitz-Weulersse J (1984) Les larves à expansions latérales de *Crematogaster* (*Acrocoelia*) *scutellaris* (Olivier) (Hym. Formicidae). *Actes des Colloques Insectes Sociaux* 1:131–138.

- Catchen J, Hohenlohe PA, Bassham S (2013) Stacks: an analysis tool set for population genomics. *Molecular Ecology* 22:3124–3140. <https://doi.org/10.1111/mec.12354>
- Catchen JM, Amores A, Hohenlohe P (2011) Stacks: building and genotyping loci de novo from short-read sequences. *G3 Genes|Genomes|Genetics* 1:171–182. <https://doi.org/10.1534/g3.111.000240>
- Chakraborty R, Jin L (1993) Determination of relatedness between individuals using DNA fingerprinting. *Human Biology* 65:875–895.
- Chandra V, Fetter-Pruneda I, Oxley PR, Ritger AL, McKenzie SK, Libbrecht R, Kronauer DJ (2018) Social regulation of insulin signaling and the evolution of eusociality in ants. *Science* 361:398–402. <https://doi.org/10.1126/science.aar5723>
- Clark J (1924) Australian Formicidae. *Journal and Proceedings of the Royal Society of Western Australia* 9:72–89.
- Clémencet J, Viginier B, Doums C (2005) Hierarchical analysis of population genetic structure in the monogynous ant *Cataglyphis cursor* using microsatellite and mitochondrial DNA markers. *Molecular Ecology* 14:3735–3744. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2005.02706.x>
- Cronin AL, Molet M, Doums C, Monnin T, Peeters C (2013) Recurrent evolution of dependent colony foundation across eusocial insects. *Annual Review of Entomology* 58:37–55. <https://doi.org/10.1146/annurev-ento-120811-153643>
- Crozier, RH (1975) Hymenoptera. *Animal Cytogenetics* 3.
- Dalin P, Kindvall O, Björkman C (2009) Reduced population control of an insect pest in managed willow monocultures. *PLoS One* 4:e5487. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0005487>

- Darriba D, Posada D, Kozlov AM, Stamatakis A, Morel B, Flouri T (2020) ModelTest-NG: a new and scalable tool for the selection of DNA and protein evolutionary models. *Molecular Biology and Evolution* 37:291–294. <https://doi.org/10.1093/molbev/msz189>
- de Medeiros BAS, Farrell BD (2018) Whole-genome amplification in double-digest RADseq results in adequate libraries but fewer sequenced loci. *PeerJ* 6:e5089. <https://doi.org/10.7717/peerj.5089>
- Dierckxsens N, Mardulyn P, Smits G (2017) NOVOPlasty: de novo assembly of organelle genomes from whole genome data. *Nucleic Acids Research* 45. <https://doi.org/10.1093/nar/gkw955>
- Dobata S, Sasaki T, Mori H, Hasegawa E, Shimada M, Tsuji K (2009) Cheater genotypes in the parthenogenetic ant *Pristomyrmex punctatus*. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 276:567–574. <https://doi.org/10.1098/rspb.2008.1215>
- Dobata S, Tsuji K (2013) Public goods dilemma in asexual ant societies. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 110:16056–16060. <https://doi.org/10.1073/pnas.1309010110>
- Doums C, Monnin T (2020) To have and not to have sex: When multiple evolutions of conditional use of sex elegantly solve the question in the ant genus *Cataglyphis*. *Molecular Ecology* 29:445–447. <https://doi.org/10.1111/mec.15352>
- Dussutour A, Simpson SJ (2009) Communal nutrition in ants. *Current Biology* 19:740–744. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2009.03.015>
- Dybdahl MF, Kane SL (2005) Adaptation vs. phenotypic plasticity in the success of a clonal invader. *Ecology* 86:1592–1601. <https://doi.org/10.1890/04-0898>

- Edwards JP (1991) Caste regulation in the pharaoh's ant *Monomorium pharaonis*: recognition and cannibalism of sexual brood by workers. *Physiological Entomology* 16:263–271.
<https://doi.org/10.1111/j.1365-3032.1991.tb00565.x>
- Eidmann H (1926) Die ameisenfauna der balearen. *Zoomorphology* 6:694–742.
<https://doi.org/10.1007/BF00409039>
- Engel MS (2001) Monophyly and extensive extinction of advanced eusocial bees: insights from an unexpected Eocene diversity. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 98:1661–1664. <https://doi.org/10.1073/pnas.98.4.1661>
- Engelstädter J (2008) Constraints on the evolution of asexual reproduction. *Bioessays* 30:1138–1150. <https://doi.org/10.1002/bies.20833>
- Etter PD, Bassham S, Hohenlohe PA, Johnson EA, Cresko WA (2011) SNP discovery and genotyping for evolutionary genetics using RAD sequencing. *Methods in Molecular Biology* 772:157–178. https://doi.org/10.1007/978-1-61779-228-1_9
- Ettershank G (1965) A new species of *Megalomyrmex* from the Chilean Andes (Formicidae, Hymenoptera). *Psyche* 72:55–58.
- Eyer PA, Leniaud L, Darras H, Aron S (2013) Hybridogenesis through thelytokous parthenogenesis in two *Cataglyphis* desert ants. *Molecular Ecology* 22:947–955.
<https://doi.org/10.1111/mec.12141>
- Eyer P-A, Vargo EL (2021) Breeding structure and invasiveness in social insects. *Current Opinion in Insect Science*. <https://doi.org/10.1016/j.cois.2021.01.004>

- Fang CC, Chang FH, Duong P, Kurian J, Mueller UG (2020) Colony fitness and garden growth in the asexual fungus-growing ant *Mycocepurus smithii* (Attini, Formicidae). *Insectes Sociaux* 67:35–49. <https://doi.org/10.1007/s00040-019-00741-9>
- Foucaud J, Fournier D, Orivel J, Delabie JH, Loiseau A, Le Breton J, Kergoat GJ, Estoup A (2007) Sex and clonality in the little fire ant. *Molecular Biology and Evolution* 24:2465–2473. <https://doi.org/10.1093/molbev/msm180>
- Fournier D, Estoup A, Orivel J, Foucaud J, Jourdan H, Breton JL, Keller L (2005) Clonal reproduction by males and females in the little fire ant. *Nature* 435:1230–1234. <https://doi.org/10.1038/nature03705>
- Fox EGP, Smith AA, Gibson JC, Solis DR (2017) Larvae of trap jaw ants, *Odontomachus* Latreille, 1804 (Hymenoptera: Formicidae): morphology and biological notes. *Myrmecological News* 25:17–28.
- Gao Q, Xiong Z, Larsen RS, Zhou L, Zhao J, Ding G, Zhao R, Liu C, Ran H, Zhang G (2020) High-quality chromosome-level genome assembly and full-length transcriptome analysis of the pharaoh ant *Monomorium pharaonis*. *Research Square* 1–14. <https://doi.org/10.1093/gigascience/giaa143>
- Gotoh A, Billen J, Hashim R, Ito F (2016) Degeneration patterns of the worker spermatheca during morphogenesis in ants (Hymenoptera: Formicidae). *Evolution and Development* 18:96–104. <https://doi.org/10.1111/ede.12182>
- Gotoh A, Billen J, Tsuji K, Sasaki T, Ito F (2012) Histological study of the spermatheca in three thelytokous parthenogenetic ant species, *Pristomyrmex punctatus*, *Pyramica membranifera*

- and *Monomorium triviale* (Hymenoptera: Formicidae). *Acta Zoologica* 93:200–207.
<https://doi.org/10.1111/j.1463-6395.2010.00498.x>
- Gotwald WH (1988) On becoming an army ant. In: TRAGER, J.C. (Ed.): *Advances in Myrmecology* :227–235.
- Gotwald WH (1995) *Army ants: the biology of social predation*. Ithaca (NY): Cornell University Press.
- Goudet J (2005) hierfstat, a package for r to compute and test hierarchical F-statistics. *Molecular Ecology Notes* 5:184–186. <https://doi.org/10.1111/j.1471-8286.2004.00828.x>
- Goudie F, Oldroyd BP (2018) The distribution of thelytoky, arrhenotoky and androgenesis among castes in the eusocial Hymenoptera. *Insectes Sociaux* 65:5–16.
<https://doi.org/10.1007/s00040-017-0597-0>
- Grasso DA, Wenseleers T, Mori A, Le Moli F, Billen J (2000) Thelytokous worker reproduction and lack of Wolbachia infection in the harvesting ant *Messor capitatus*. *Ethology Ecology and Evolution* 12:309–314. <https://doi.org/10.1080/08927014.2000.9522803>
- Gruber MAM, Hoffmann BD, Ritchie PA, Lester PJ (2013) The conundrum of the yellow crazy ant (*Anoplolepis gracilipes*) reproductive mode: No evidence for dependent lineage genetic caste determination. *Insectes Sociaux* 60:135–145. <https://doi.org/10.1007/s00040-012-0277-z>
- Guénard B, Weiser MD, Gomez K, Narula N, Economo EP (2017) The Global Ant Biodiversity Informatics (GABI) database: synthesizing data on the geographic distribution of ant species (Hymenoptera: Formicidae). *Myrmecological News* 24:83–89.
https://doi.org/10.25849/Myrmecological_News_024:083

- Hamilton WD (1964) The genetical evolution of social behaviour. I. *Journal of Theoretical Biology* 7:1–16. [https://doi.org/10.1016/0022-5193\(64\)90038-4](https://doi.org/10.1016/0022-5193(64)90038-4).
- Hartmann A, Heinze J (2003) Lay eggs, live longer: Division of labor and life span in a clonal ant species. *Evolution* 57:2424–2429. <https://doi.org/10.1111/j.0014-3820.2003.tb00254.x>
- Hartmann A, Wantia J, Torres JA, Heinze J (2003) Worker policing without genetic conflicts in a clonal ant. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 100:12836–12840. <https://doi.org/10.1073/pnas.2132993100>
- Hasegawa E, Watanabe S, Murakami Y, Ito F (2018) Adaptive phenotypic variation among clonal ant workers. *Royal Society Open Science* 5. <https://doi.org/10.1098/rsos.170816>
- Heinze J (2017) Life-history evolution in ants: the case of *Cardiocondyla*. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 284. <https://doi.org/10.1098/rspb.2016.1406>
- Helanterä H (2022) Supercolonies of ants (Hymenoptera: Formicidae): ecological patterns, behavioural processes and their implications for social evolution. *Myrmecological News* 32:1–22. https://doi.org/10.25849/myrmecol.news_032:001
- Helanterä H, Strassmann JE, Carrillo J, Queller DC (2009) Uniclonal ants: where do they come from, what are they and where are they going? *Trends Ecology and Evolution* 24:341–349. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2009.01.013>
- Henning-Lucass N, Cordellier M, Streit B, Schwenk K (2016) Phenotypic plasticity in life-history traits of *Daphnia galeata* in response to temperature - a comparison across clonal lineages separated in time. *Ecology and Evolution* 6:881–891. <https://doi.org/10.1002/ece3.1924>

- Himler AG, Caldera EJ, Baer BC, Fernandez-Marin H, Mueller UG (2009) No sex in fungus-farming ants or their crops. *Proceedings of The Royal Society B-Biological Sciences* 276:2611–2616. <https://doi.org/10.1098/rspb.2009.0313>
- Hölldobler B (1982) Communication, raiding behavior and prey storage in *Cerapachys* (Hymenoptera; Formicidae). *Psyche* 89:3–23. <https://doi.org/10.1155/1982/28390>
- Hölldobler B, Wilson EO (1990) *The ants*. Harvard University Press
- Hughes WOH, Oldroyd BP, Beekman M, Ratnieks FLW (2008a) Ancestral monogamy shows kin selection is key to the evolution of eusociality. *Science* 320:1213–1216. <https://doi.org/10.1126/science.1156108>
- Hughes WOH, Ratnieks FLW, Oldroyd BP (2008b) Multiple paternity or multiple queens: two routes to greater intracolony genetic diversity in the eusocial Hymenoptera. *Journal of Evolutionary Biology* 21:1090–1095. <https://doi.org/10.1111/j.1420-9101.2008.01532.x>
- Idogawa N, Gotoh A, Dobata S (2022) Morphology of immatures of the thelytokous ant, *Monomorium triviale* Wheeler (Formicidae: Myrmicinae: Solenopsisini) with descriptions of the extraordinary last-instar queen larvae. *Zootaxa* 5105:253–268. <https://doi.org/10.11646/zootaxa.5105.2.5>
- Idogawa N, Sasaki T, Tsuji K, Dobata S (2021) Comprehensive analysis of male-free reproduction in *Monomorium triviale* (Formicidae: Myrmicinae). *PLoS One* 16:e0246710. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0246710>
- Ishak HD, Plowes R, Sen R, Kellner K, Meyer E, Estrada DA, Dowd SE, Mueller UG (2011) Bacterial diversity in *Solenopsis invicta* and *Solenopsis geminata* ant colonies characterized

by 16S amplicon 454 Pyrosequencing. *Microbial Ecology* 61:821–831.

<https://doi.org/10.1007/s00248-010-9793-4>

Ito F, Jaitrong W, Hashim R, Mizuno R (2018) Colony composition, brood production and caste dimorphism in two species of the doryline genus *Lioponera* in the Oriental tropics

(Formicidae: Dorylinae). *Asian Myrmecology* 10: e010007

Ito F, Touyama Y, Gotoh A, Kitahiro S, Billen J (2010) Thelytokous parthenogenesis by queens in the dacetine ant *Pyramica membranifera* (Hymenoptera: Formicidae). *Naturwissenschaften*

97:725–728. <https://doi.org/10.1007/s00114-010-0688-5>

Ito F, Yamane S (2014) Reproduction by ergatoid queens in the myrmicine ant *Monomorium*

brocha (Bolton) (Hymenoptera: Formicidae) in West Java, Indonesia, with a description of the male. *Asian Myrmecology* 6:105–113.

Ito, F., Makita, S., Nakao, H., Hosokawa, R., Kikuchi, T. and Yamane, S (2021) Thelytokous

parthenogenesis by dealate queens in the myrmicine ant *Monomorium hiten* distributed in

Nansei Islands, western Japan, with description of the male. *Asian Myrmecology* e012006,

2021.

Ito T, Kobayashi K, Kubota M, Ogata K, Imai HT, Crozier RH (1984) The reproductive cycle of

the queenless ant *Pristomyrmex pungens*. *Insectes Sociaux* 31:87–102.

<https://doi.org/10.1007/BF02223694>

Jackson DE, Holcombe M, Ratnieks FLW (2004) Trail geometry gives polarity to ant foraging

networks. *Nature* 432:907–909. <https://doi.org/10.1038/nature03105>

- Jefford CW, Tang Q, Zaslona A (1991) Short, Enantiogenic Syntheses of (-)-Indolizidine 167B and (+)-Monomorine. *Journal of the American Chemical Society* 113:3513–3518.
<https://doi.org/10.1021/ja00009a043>
- Johnson RA, Overson RP (2017) Population and colony structure and morphometrics in the queen dimorphic little black ant, *Monomorium* sp. AZ-02, with a review of queen phenotypes in the genus *Monomorium*. *PLoS One* 12:e0180595. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0180595>
- Jombart T (2008) adegenet: a R package for the multivariate analysis of genetic markers. *Bioinformatics* 24:1403–1405. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btn129>
- Judson OP, Normark BB (1996) Ancient asexual scandals. *Trends Ecology and Evolution* 11:41–46. [https://doi.org/10.1016/0169-5347\(96\)81040-8](https://doi.org/10.1016/0169-5347(96)81040-8)
- Kautz S, Rubin BE, Moreau CS (2013) Bacterial infections across the ants: frequency and prevalence of *Wolbachia*, *Spiroplasma*, and *Asaia*. *Psyche*:936341.
<https://doi.org/10.1155/2013/936341>
- Keller RA, Peeters C, Beldade P (2014) Evolution of thorax architecture in ant castes highlights trade-off between flight and ground behaviors. *eLife* 2014:1–19.
<https://doi.org/10.7554/eLife.01539>
- Kellner K, Barth B, Heinze J (2010) Colony fusion causes within-colony variation in a parthenogenetic ant. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 64:737–746.
<https://doi.org/10.1007/s00265-009-0891-6>
- Kellner K, Seal JN, Heinze J (2013) Sex at the margins: parthenogenesis vs. facultative and obligate sex in a Neotropical ant. *Journal of Evolutionary Biology* 26:108–117.
<https://doi.org/10.1111/jeb.12025>

- Kobayashi K, Hasegawa E, Ohkawara K (2008) Clonal reproduction by males of the ant *Vollenhovia emeryi* (Wheeler). *Entomological Science* 11:167–172.
<https://doi.org/10.1111/j.1479-8298.2008.00272.x>
- Koenig D, Weigel D (2015) Beyond the thale: comparative genomics and genetics of *Arabidopsis* relatives. *Nature Reviews Genetics* 16:285–298. <https://doi.org/10.1038/nrg3883>
- Kooi CJ, Schwander T (2014) On the fate of sexual traits under asexuality. *Biological reviews of the Cambridge Philosophical Society* 89:805–819. <https://doi.org/10.1111/brv.12078>
- Kozlov AM, Darriba D, Flouri T, Morel B, Stamatakis A (2019) RAxML-NG: a fast, scalable and user-friendly tool for maximum likelihood phylogenetic inference. *Bioinformatics* 35:4453–4455. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btz305>
- Kronauer DJC (2009) Recent advances in army ant biology (Hymenoptera: Formicidae). *Myrmecological News* 12:51–65.
- Kronauer DJC, Pierce NE, Keller L (2012) Asexual reproduction in introduced and native populations of the ant *Cerapachys biroi*. *Molecular Ecology* 21:5221–5235.
<https://doi.org/10.1111/mec.12041>
- Kuhn A, Darras H, Paknia O, Aron S (2020) Repeated evolution of queen parthenogenesis and social hybridogenesis in *Cataglyphis* desert ants. *Molecular Ecology* 29:549–564.
<https://doi.org/10.1111/mec.15283>
- Kumar S, Stecher G, Li M, Knyaz C, Tamura K (2018) MEGA X: molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms. *Molecular Biology and Evolution* 35:1547–1549. <https://doi.org/10.1093/molbev/msy096>

- Lacy KD, Shoemaker D, Ross KG (2019) Joint evolution of asexuality and queen number in an ant. *Current Biology* 29:1394–1400. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2019.03.018>
- Langmead B, Salzberg SL (2012) Fast gapped-read alignment with Bowtie 2. *Nature methods* 9:357–359. <https://doi.org/10.1038/nmeth.1923>
- Laslett D, Canback B (2008) ARWEN: a program to detect tRNA genes in metazoan mitochondrial nucleotide sequences. *Bioinformatics* 24:172–175. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btm573>
- Lee CC, Hsu SF, Yang CC, Lin CC (2018) Thelytokous parthenogenesis in the exotic dacetine ant *Strumigenys rogeri* (Hymenoptera: Formicidae) in Taiwan. *Entomological Science* 21:28–33. <https://doi.org/10.1111/ens.12277>
- Leniaud L, Heftez A, Grumiau L, Aron S (2011) Multiple mating and supercoloniality in *Cataglyphis* desert ants. *Biological Journal of the Linnean Society* 104:866–876. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8312.2011.01772.x>
- Lieberman ZE, Billen J, van de Kamp T, Boudinot BE (2022) The ant abdomen: The skeletomuscular and soft tissue anatomy of *Amblyopone australis* workers (Hymenoptera: Formicidae). *Journal of Morphology* 283:693–770. <https://doi.org/10.1002/jmor.21471>
- López F, Serrano JM, Acosta FJ (1994) Parallels between the foraging strategies of ants and plants. *Trends Ecology and Evolution* 9:150–153. [https://doi.org/10.1016/0169-5347\(94\)90185-6](https://doi.org/10.1016/0169-5347(94)90185-6)
- Masuko K (1989) Larval hemolymph feeding in the ant *Leptanilla japonica* by use of a specialized duct organ, the “larval hemolymph tap” (Hymenoptera: Formicidae). *Behavioral Ecology and Sociobiology* 24:127–132. <https://doi.org/10.1007/BF00299644>

- Masuko K (2006) Collection and the result of dissection of the ant *Cerapachys humicola*. ARI (Journal of the Myrmecological Society of Japan) 28: 1–6.
- Masuko K (2013) Thelytokous parthenogenesis in the ant *Strumigenys hexamera* (Hymenoptera: Formicidae). Annals of the Entomological Society of America 106:479–484.
<https://doi.org/10.1603/AN12144>
- Masuko K (2014) Thelytokous parthenogenesis in the ant *Myrmecina nipponica* (Hymenoptera: Formicidae). Zoological Science 31:582–586. <https://doi.org/10.2108/zs140050>
- Masuko K (2017) Larval instars of the ant *Strumigenys solifontis* Brown (Hymenoptera: Formicidae): the fallacy of size distribution. Journal of Natural History 51:115–126.
<https://dx.doi.org/10.1080/00222933.2016.1254299>
- Masuko K (2019) Larval hemolymph feeding and hemolymph taps in the ant *Proceratium itoi* (Hymenoptera: Formicidae). Myrmecological News 29:21–34.
https://doi.org/10.25849/Myrmecological_News_029:021
- Masuko K (2020) Thelytokous parthenogenesis by workers of the ant, *Myrmecina nipponica* (Hymenoptera: Formicidae). ARI (Journal of the Myrmecological Society of Japan) 41:1-2.
- Matsuura K (2017) Evolution of the asexual queen succession system and its underlying mechanisms in termites. Journal of Experimental Biology 220:63–72.
<https://doi.org/10.1242/jeb.142547>
- Matsuura K, Vargo EL, Kawatsu K, Labadie PE, Nakano H, Yashiro T, Tsuji K (2009) Queen succession through asexual reproduction in termites. Science 323:1687.
<https://doi.org/10.1126/science.1169702>
- Maynard-Smith J (1978) The evolution of sex. Cambridge University Press Cambridge

- Mayr G (1879) Beiträge zur Ameisen-Fauna Asiens. Verhandlungen der Kaiserlich-Königlichen Zoologisch-Botanischen Gesellschaft in Wien 28:645–686.
- Meeûs T, Prugnolle F, Agnew P (2007) Asexual reproduction: genetics and evolutionary aspects. Cellular and Molecular Life Sciences 64:1355–1372. <https://doi.org/10.1007/s00018-007-6515-2>
- Menozzi C (1930) Formiche della Somalia italiana meridionale. Memorie della Società Entomologica Italiana 9:76–130.
- Molet M, Wheeler DE, Peeters C (2012) Evolution of novel mosaic castes in ants: Modularity, phenotypic plasticity, and colonial buffering. American Naturalist 180:328–341. <https://doi.org/10.1086/667368>
- Muller HJ (1964) The relation of recombination to mutational advance. Mutation Research 106:2–9. [https://doi.org/10.1016/0027-5107\(64\)90047-8](https://doi.org/10.1016/0027-5107(64)90047-8)
- Neiman M, Schwander T (2011) Using parthenogenetic lineages to identify advantages of sex. Evolutionary Biology 38:115–123. <https://doi.org/10.1007/s11692-011-9113-z>
- Nonacs P, Tobin JE (1992) Selfish larvae: development and the evolution of parasitic behavior in the Hymenoptera. Evolution 46:1605–1620. <https://doi.org/10.1111/j.1558-5646.1992.tb01157.x>
- Okita I, Tsuchida K (2016) Clonal reproduction with androgenesis and somatic recombination: The case of the ant *Cardiocondyla kagutsuchi*. Science of Nature 103:1–6. <https://doi.org/10.1007/s00114-016-1349-0>
- Oksanen J (2013) Vegan: ecological diversity. R Project 368:1–11.

- O'Leary SJ, Puritz JB, Willis SC, Hollenbeck CM, Portnoy DS (2018) These aren't the loci you're looking for: Principles of effective SNP filtering for molecular ecologists. *Molecular Ecology* 27:3193–3206. <https://doi.org/10.1111/mec.14792>
- Oliveira RC, Warson J, Sillam-Dussès D, Herrera-Malaver B, Verstrepen K, Millar JG, Wenseleers T (2020) Identification of a queen pheromone mediating the rearing of adult sexuals in the pharaoh ant *Monomorium pharaonis*. *Biology Letters* 16. <https://doi.org/10.1098/rsbl.2020.0348>
- Oxley PR, Ji L, Fetter-Pruneda I, McKenzie SK, Li C, Hu H, Zhang G, Kronauer DJ (2014) The genome of the clonal raider ant *Cerapachys biroi*. *Current Biology* 24:451–458. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2014.01.018>
- Papadopoulou A, Anastasiou I, Vogler AP (2010) Revisiting the insect mitochondrial molecular clock: the Mid-Aegean trench calibration. *Molecular Biology and Evolution* 27:1659–1672. <https://doi.org/10.1093/molbev/msq051>
- Paradis E, Schliep K (2019) ape 5.0: an environment for modern phylogenetics and evolutionary analyses in R. *Bioinformatics* 35:526–528. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bty633>
- Paredes JC, Herren JK, Schüpfer F, Marin R, Claverol S, Kuo CH, Lemaitre B, Béven L (2015) Genome sequence of the *Drosophila melanogaster* male-killing *Spiroplasma* strain MSRO Endosymbiont. *MBio* 6. <https://doi.org/10.1128/mBio.02437-14>
- Park J, Xi H, Park J (2020) The complete mitochondrial genome of *Aphaenogaster famelica* (Smith, 1874) (Hymenoptera: Formicidae). *Mitochondrial DNA part B-resources* 5:492–494. <https://doi.org/10.1080/23802359.2019.1698992>

- Parra JRP, Haddad M de L (1989) Determinação do número de instares de insetos. Piracicaba, Fundação de Estudos, Agrários Luiz de Queiroz 1989:1–49.
- Pearcy M, Aron S, Doums C, Keller L (2004) Conditional use of sex and parthenogenesis for worker and queen production in ants. *Science* 306:1780–1783.
<https://doi.org/10.1126/science.1105453>
- Pearcy M, Goodisman MAD, Keller L (2011) Sib mating without inbreeding in the longhorn crazy ant. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 278:2677–2681.
<https://doi.org/10.1098/rspb.2010.2562>
- Peeters C (1991) Ergatoid queens and intercastes in ants: Two distinct adult forms which look morphologically intermediate between workers and winged queens. *Insectes Sociaux* 38:1–15.
<https://doi.org/10.1007/BF01242708>
- Peeters C, Hölldobler B (1992) Notes on the morphology of the sticky “doorknobs” of larvae in an Australian *Hypoconer* sp. (Formicidae; Ponerinae). *Psyche* 99:23–30.
<https://doi.org/10.1155/1992/96238>
- Peeters C, Ito F (2001) Colony dispersal and the evolution of queen morphology in social Hymenoptera. *Annual Review of Entomology* 46:601–630.
<https://doi.org/10.1146/annurev.ento.46.1.601>
- Peeters C, Ito F (2015) Wingless and dwarf workers underlie the ecological success of ants (Hymenoptera: Formicidae). *Myrmecological News* 21:117–130.
- Peeters C, Tinaut A (2014) Reconstructing life history in ants: Ergatoid queens, facultative monogyny, and dependent colony foundation in *Monomorium algiricum* (Hymenoptera: Formicidae). *Myrmecological News* 20:77–85.

- Penick CA, Copple RN, Mendez RA, Smith AA (2012) The role of anchor-tipped larval hairs in the organization of ant colonies. *PLoS One* 7:e41595.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0041595>
- Pepper JW, Scott Findlay C, Kassen R, Spencer SL, Maley CC (2009) Cancer research meets evolutionary biology. *Evolutionary Applications* 2:62–70. <https://doi.org/10.1111/j.1752-4571.2008.00063.x>
- Petralia RS, Vinson SB (1979) Comparative anatomy of the ventral region of ant larvae, and its relation to feeding behavior. *Psyche* 86:375–394. <https://doi.org/10.1155/1979/70316>
- Pike N, Whitfield JA, Foster WA (2007) Ecological correlates of sociality in *Pemphigus* aphids, with a partial phylogeny of the genus. *BMC Evolutionary Biology* 7:185.
<https://doi.org/10.1186/1471-2148-7-185>
- Pitelka LF, Ashmun JW (1985) Physiology and integration of ramets in clonal plants. *population biology and evolution of clonal organisms* Yale University Press 399–436.
- Pontieri L, Linksvayer TA (2019) *Monomorium*. In: *Encyclopedia of Social Insects*. Springer International Publishing, Cham, pp. 1–6. https://doi.org/10.1007/978-3-319-90306-4_171-1.
- Pontieri L, Rajakumar A, Rafiqi AM, Larsen RS (2020) From egg to adult: a developmental table of the ant *Monomorium pharaonis*. *bioRxiv*. <https://doi.org/10.1101/2020.12.22.423970>
- Qiu B, Dai X, Li P, Larsen R, Li R, Price A, Ding G, Texada M, Zhang X, Zuo D, Gao Q (2022) Canalized gene expression during development mediates caste differentiation in ants. *Research Square* <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-1432093/v1>
- R Core Team (2020) R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>

- Rabeling C, Gonzales O, Schultz TR, Bacci Jr M, Garcia MV, Verhaagh M, Ishak HD, Mueller UG (2011) Cryptic sexual populations account for genetic diversity and ecological success in a widely distributed, asexual fungus-growing ant. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 108:12366–12371. <https://doi.org/10.1073/pnas.1105467108>
- Rabeling C, Kronauer DJC (2013) Thelytokous parthenogenesis in eusocial Hymenoptera. *Annual Review of Entomology* 58:273-292. <https://doi.org/10.1146/annurev-ento-120811-153710>
- Rabeling C, Lino-Neto J, Cappellari SC, Dos-Santos IA, Mueller UG, Bacci Jr M (2009) Thelytokous parthenogenesis in the fungus-gardening ant *Mycocepurus smithii* (Hymenoptera: Formicidae). *PLoS One* 4:e6781. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0006781>
- Rabitsch W (2011) The hitchhiker's guide to alien ant invasions. *Biocontrol* 56:551–572. <https://doi.org/10.1007/s10526-011-9370-x>
- Raignier A, Boven JKA (1955) Étude taxonomique, biologique et biométrique des *Dorylus* du sous-genre *Anomma* (Hymenoptera Formicidae). *Annales du Musée Royal du Congo Belge. Nouvelle Série* in.
- Rajakumar R, Koch S, Couture M, Favé MJ, Lillico-Ouachour A, Chen T, De Blasis G, Rajakumar A, Ouellette D, Abouheif E (2018) Social regulation of a rudimentary organ generates complex worker-caste systems in ants. *Nature* 562:574–577. <https://doi.org/10.1038/s41586-018-0613-1>
- Ravary F, Jaisson P (2004) Absence of individual sterility in thelytokous colonies of the ant *Cerapachys biroi* Forel (Formicidae, Cerapachyinae). *Insectes Sociaux* 51:67–73. <https://doi.org/10.1007/s00040-003-0724-y>

- Ravary F, Lecoutey E, Kaminski G, Châline N, Jaisson P (2007) Individual experience alone can generate lasting division of labor in ants. *Current Biology* 17:1308–1312.
<https://doi.org/10.1016/j.cub.2007.06.047>
- Rey O, Facon B, Foucaud J, Loiseau A, Estoup A (2013) Androgenesis is a maternal trait in the invasive ant *Wasmannia auropunctata*. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 280:20131181. <https://doi.org/10.1098/rspb.2013.1181>
- Robinson EJM, Jackson DE, Holcombe M, Ratnieks FLW (2005) Insect communication - “No entry” signal in ant foraging. *Nature* 438:442–442. <https://doi.org/10.1038/438442a>
- Rochette NC, Rivera-Colón AG, Catchen JM (2019) Stacks 2: Analytical methods for paired-end sequencing improve RADseq-based population genomics. *Molecular Ecology* 28:4737–4754.
<https://doi.org/10.1111/mec.15253>
- Rombel IT, Sykes KF, Rayner S, Johnston SA (2002) ORF-FINDER: a vector for high-throughput gene identification. *Gene* 282:33–41. [https://doi.org/10.1016/S0378-1119\(01\)00819-8](https://doi.org/10.1016/S0378-1119(01)00819-8)
- Ronquist F, Teslenko M, Van Der Mark P, Ayres DL, Darling A, Höhna S, Larget B, Liu L, Suchard MA, Huelsenbeck JP (2012) MrBayes 3.2: Efficient bayesian phylogenetic inference and model choice across a large model space. *Systematic Biology* 61:539–542.
<https://doi.org/10.1093/sysbio/sys029>
- Satow S, Satoh T, Hirota T (2013) Colony fusion in a parthenogenetic ant, *Pristomyrmex punctatus*. *Journal of Insect Science* 13:1–16.
- Schilder K, Heinze J, Gross R, Hölldobler B (1999b) Microsatellites reveal clonal structure of populations of the thelytokous ant *Platythyrea punctata* (F. Smith) (Hymenoptera;

- Formicidae). *Molecular Ecology* 8:1497–1507. <https://doi.org/10.1046/j.1365-294X.1999.00727.x>
- Schilder K, Heinze J, Hölldobler B (1999a) Colony structure and reproduction in the thelytokous parthenogenetic ant *Platythyrea punctata* (F. Smith) (Hymenoptera, Formicidae). *Insectes Sociaux* 46:150–158. <https://doi.org/10.1007/s000400050126>
- Schmidt AM, d'Ettorre P, Pedersen JS (2010) Low levels of nestmate discrimination despite high genetic differentiation in the invasive pharaoh ant. *Frontiers in Zoology* 7:20. <https://doi.org/10.1186/1742-9994-7-20>
- Schneider CA, Rasband WS, Eliceiri KW (2012) NIH Image to ImageJ: 25 years of image analysis. *Nature Methods* 9:671–675. <https://doi.org/10.1038/nmeth.2089>
- Schneirla TC (1971) *Army ants: A study in social organization*.
- Schultner E, Oettler J, Helanterä H (2017) The role of brood in eusocial Hymenoptera. *The Quarterly Review of Biology* 92:39–78. <https://doi.org/10.1086/690840>
- Sen R, Ishak HD, Estrada D, Dowd SE, Hong E, Mueller UG (2009) Generalized antifungal activity and 454-screening of *Pseudonocardia* and *Amycolatopsis* bacteria in nests of fungus-growing ants. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 106:17805–17810. <https://doi.org/10.1073/pnas.0904827106>
- Shattuck S (1992) Generic revision of the ant subfamily Dolichoderinae (Hymenoptera: Formicidae). *Sociobiology* 21:1-181.
- Solis DR, Fox EG, Kato LM, Jesus CM, Yabuki AT, Campos AE, Bueno OC (2010a) Morphological description of the immatures of the ant, *Monomorium floricola*. *Journal of Insect Science* 10 <https://doi.org/10.1673/031.010.1501>

- Solis DR, Fox EGP, Rossi ML, Bueno OC (2010b) Description of the immatures of *Linepithema humile* Mayr (Hymenoptera: Formicidae). *Biological Research* 43:19–30.
<http://dx.doi.org/10.4067/S0716-97602010000100004>
- Sparks KS, Andersen AN, Austin AD (2019) A multi-gene phylogeny of Australian *Monomorium* Mayr (Hymenoptera: Formicidae) results in reinterpretation of the genus and resurrection of *Chelaner* Emery. *Invertebrate Systematics* 33:225–236. <https://doi.org/10.1071/IS16080>
- Steiner FM, Schlick-Steiner BC, Moder K, Stauffer C, Arthofer W, Buschinger A, Espadaler X, Christian E, Einfinger K, Lorbeer E, Schafellner C (2007) Abandoning aggression but maintaining self-nonsel self discrimination as a first stage in ant supercolony formation. *Current Biology* 17:1903–1907. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2007.09.061>
- Stringer LD, Lester PJ (2007) Foraging characteristics and intraspecific behaviour of the exotic species *Monomorium sydneyense* (Hymenoptera: Formicidae) in New Zealand, with implications for its management. *New Zealand Journal of Zoology* 34:25–34.
<https://doi.org/10.1080/03014220709510060>
- Stuefer JF (1998) Two types of division of labour in clonal plants: benefits, costs and constraints. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics* 1:47–60.
<https://doi.org/10.1078/1433-8319-00051>
- Tay J-W, Neoh K-B, Lee C-Y (2014) The roles of the queen, brood, and worker castes in the colony growth dynamics of the pharaoh ant, *Monomorium pharaonis* (Hymenoptera: Formicidae). *Myrmecological News* 20:87–94.

Taylor JW, Hann-Soden C, Branco S, Sylvain I, Ellison CE (2015) Clonal reproduction in fungi.

Proceedings of the National Academy of Sciences 112:8901–8908.

<https://doi.org/10.1073/pnas.1503159112>

Taylor RW (1965) A monographic revision of the rare tropicopolitan ant genus *Probolomyrmex*

Mayr (Hymenoptera: Formicidae). Transactions of the Royal Entomological Society of

London, 117, 345–365. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2311.1965.tb00044.x>

Taylor RW (1967) A monographic revision of the ant genus *Ponera* Latreille (Hymenoptera:

Formicidae). Pacific Insects Monograph 13:1–112.

Terayama M (1996) Taxonomic studies on the Japanese Formicidae, part 2 seven genera of

Ponerinae, Cerapachyinae and Myrmicinae. Nature and Human Activities 1 9–32.

https://doi.org/10.24713/nha.1.0_9

Teseo S, Kronauer DJC, Jaisson P, Châline N (2013) Enforcement of reproductive synchrony via

policing in a clonal ant. Current Biology 23:328–332.

<https://doi.org/10.1016/j.cub.2013.01.011>

Thompson JD, Higgins DG, Gibson TJ (1994) CLUSTAL W: Improving the sensitivity of

progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap

penalties and weight matrix choice. Nucleic Acids Research 22:4673–4680.

<https://doi.org/10.1093/nar/22.22.4673>

Tillich M, Lehwark P, Pellizzer T, Ulbricht-Jones ES, Fischer A, Bock R, Greiner S (2017) GeSeq

- versatile and accurate annotation of organelle genomes. Nucleic Acids Research 45:6–11.

<https://doi.org/10.1093/nar/gkx391>

- Timmermans I, Hefetz A, Fournier D, Aron S (2008) Population genetic structure, worker reproduction and thelytokous parthenogenesis in the desert ant *Cataglyphis sabulosa*. *Heredity* 101:490–498. <https://doi.org/10.1038/hdy.2008.72>
- Trible W, McKenzie SK, Kronauer DJ (2020) Globally invasive populations of the clonal raider ant are derived from Bangladesh. *Biology letters* 16:20200105. <https://doi.org/10.1098/rsbl.2020.0105>
- Trible W, Olivos-Cisneros L, McKenzie SK, Saragosti J, Chang NC, Matthews BJ, Oxley PR, Kronauer DJ (2017) orco mutagenesis causes loss of antennal lobe glomeruli and impaired social behavior in ants. *Cell* 170:727–735.e10. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2017.07.001>
- Tsuji K, Yamauchi K (1995) Production of females by parthenogenesis in the ant, *Cerapachys biroi*. *Insectes Sociaux* 42:333–336. <https://doi.org/10.1007/BF01240430>
- Ulrich Y, Saragosti J, Tokita CK, Tarnita CE, Kronauer DJ (2018) Fitness benefits and emergent division of labour at the onset of group living. *Nature* 560:635–638. <https://doi.org/10.1038/s41586-018-0422-6>
- Van Valen L (1973) A new evolutionary law. *Evolutionary Theory* 1:1–30.
- Villet MH, Hanrahan SA, Walther C (1990) Larval structures associated with larva-to-adult trophallaxis in *Platythyrea* (Hymenoptera: Formicidae). *International Journal of Insect Morphology and Embryology* 19:243–256. [https://doi.org/10.1016/0020-7322\(90\)90010-M](https://doi.org/10.1016/0020-7322(90)90010-M)
- Vosseler (1905) Die ostafrikanische Treiberameise (Siafu). *Pflanzer* 1:289–302.
- Wang L, Wang H, He C, Sheng L, Tang Z (2017) An irreversible division of labor through a sexually dependent system in the clonal plant *Iris laevigata* (Iridaceae). *Ecosphere* 8:e01757. <https://doi.org/10.1002/ecs2.1757>

- Ward PS, Brady SG, Fisher BL, Schultz TR (2015) The evolution of myrmicine ants: phylogeny and biogeography of a hyperdiverse ant clade (Hymenoptera: Formicidae). *Systematic Entomology* 40:61–81. <https://doi.org/10.1111/syen.12090>
- Warner MR, Mikheyev AS, Linksvayer TA (2017) Genomic signature of kin selection in an ant with obligately sterile workers. *Molecular Biology and Evolution* 34:1780–1787. <https://doi.org/10.1093/molbev/msx123>
- Wenseleers T, Billen J (2000) No evidence for *Wolbachia*-induced parthenogenesis in the social Hymenoptera. *Journal of Evolutionary Biology* 13:277–280. <https://doi.org/10.1046/j.1420-9101.2000.00168.x>
- Wenseleers T, Van Oystaeyen A (2011) Unusual modes of reproduction in social insects: shedding light on the evolutionary paradox of sex. *BioEssays* 33:927–937. <https://doi.org/10.1002/bies.201100096>
- Wetterer JK (2010a) Worldwide spread of the pharaoh ant, *Monomorium pharaonis* (Hymenoptera: Formicidae). *Myrmecological News* 13:115–129.
- Wetterer JK (2010b) Worldwide spread of the flower ant, *Monomorium floricola* (Hymenoptera: Formicidae). *Myrmecological News* 13:19–27.
- Wheeler GC, Wheeler J (1955) The ant larvae of the Myrmicine tribe Solenopsidini. *American Midland Naturalist* 54:119.
- Wheeler GC, Wheeler J (1966) The ant larvae of the subfamily Dolichoderinae: Supplement. *Annals of the Entomological Society of America* 59:726–732.
- Wheeler GC, Wheeler J (1971) Ant larvae of the subfamily Ponerinae: second supplement. *Annals of the Entomological Society of America* 64:197–1217.

- Wheeler GC, Wheeler J (1973) ant larvae of six tribes: second supplement (Hymenoptera: Formicidae: Myrmicinae). *Journal of the Georgia Entomological Society*
- Wheeler GC, Wheeler J (1976) Ant larvae: review and synthesis. *Memoirs of the Entomological Society of Washington* 7:1–108.
- Wheeler GC, Wheeler J (1980) Supplementary studies on ant larvae: Ponerinae, Myrmicinae and Formicinae. *Transactions of the American Entomological Society* 106:527–545.
- Wheeler WM (1918) A study of some ant larvae, with a consideration of the origin and meaning of the social habit among insects. *Proceedings of the American Philosophical Society* 57:293–343.
- Wilson EO (1958) Observations on the behavior of the cerapachyine ants. *Insectes Sociaux* 5:129–140. <https://doi.org/10.1007/BF02222432>
- Yagound B, Dogantzis KA, Zayed A, Lim J, Broekhuysse P, Remnant EJ, Beekman M, Allsopp MH, Aamidor SE, Dim O, Buchmann G (2020) A single gene causes thelytokous parthenogenesis, the defining feature of the Cape honeybee *Apis mellifera capensis*. *Current Biology* 30:2248–2259.e6. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2020.04.033>
- Yamada A, Eguchi K (2016) Description of the male genitalia of *Pristomyrmex punctatus* (Smith, 1860) (Hymenoptera, Formicidae, Myrmicinae). *Asian Myrmecology* 8:87–94. <https://doi.org/10.20362/am.008010>
- Yashiro T, Lo N, Kobayashi K, Nozaki T, Fuchikawa T, Mizumoto N, Namba Y, Matsuura K (2018) Loss of males from mixed-sex societies in termites. *BMC Biology* 16:1–18. <https://doi.org/10.1186/s12915-018-0563-y>

Yashiro T, Matsuura K (2014) Termite queens close the sperm gates of eggs to switch from sexual to asexual reproduction. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 111:17212–17217.
<https://doi.org/10.1073/pnas.1412481111>

Zhao R, Lu L, Shi Q, Chen J, He Y (2018) Volatile terpenes and terpenoids from workers and queens of *Monomorium chinense* (Hymenoptera: Formicidae). *Molecules* 23.
<https://doi.org/10.3390/molecules23112838>

寺山守, 江口克之, 久保田敏 (2014) 日本産アリ類図鑑. 朝倉書店