

氏名(本籍)	小山哲史(神奈川県)		
学位の種類	博士(獣医)		
学位記番号	獣医博甲第278号		
学位授与年月日	平成21年3月13日		
学位授与の要件	学位規則第3条第1項該当		
研究科及び専攻	連合獣医学研究科 獣医学専攻		
研究指導を受けた大学	東京農工大学		
学位論文題目	Behavioral Ecological Studies on Conflict Caused by Polyandry in Honeybee Colonies (ミツバチ女王の多回交尾に起因する利害対立に関する行動生態学的研究)		
審査委員	主査	東京農工大学	教授 神田尚俊
	副査	帯広畜産大学	教授 北村延夫
	副査	岩手大学	教授 谷口和之
	副査	東京農工大学	教授 田谷一善
	副査	岐阜大学	教授 志水泰武

## 論文の内容の要旨

血縁者に対して協力行動を行う戦略は個体の適応度を高めることができる。協力行動を受けることで生じた利益( $b$ )とその行動が行われた個体間の血縁度( $r$ )を掛け合わせた値が、協力行動を行うことで生じたコストに勝るならば( $rb > c$ )、協力行動は個体群内で頻度を増やしやすくなる。つまり、協力行動の利益とコストが一定ならば、血縁の近い個体に対して協力行動は起こりやすい。この理論は血縁選択説と呼ばれ、血縁の近い個体に対して協力するような「血縁者びいき」行動を予測している。特にミツバチにおいては産卵行動を行わない働き蜂に、異父姉妹( $r=0.25$ )よりも同父姉妹( $r=0.75$ )に偏って協力行動を行う「血縁者びいき」の存在が予想される。本研究では、ミツバチ群内において「血縁者びいき」行動があるかどうかを検証した。

第一章では、これまで行われてきたミツバチの「血縁者びいき」に関する研究を総括した。また、「血縁者びいき」の代替仮説として提唱されている、「royalty alleles」仮説や、雌雄間のトレードオフ仮説についても言及した。

第二章ではセイヨウミツバチ次期女王育成時における働き蜂の世話行動に「血縁者びいき」行動が見られるか検証した。ミツバチ群においてどの個体が女王蜂として産卵を行うかは、個体群の遺伝子構成に大きな影響を及ぼす。そのため「血縁選択説」によれば、働き蜂は自己により血縁の近い個体を女王蜂として育成すると期待される。この予測を検証するため、人工的に育成された女王蜂幼虫を無王群に移入し、この群の働き蜂を個体識別し、その働き蜂による女王蜂への世話行動の頻度・時間を観察した。行動観察終了後、個体識別した働き蜂と観察に用いた女王蜂幼虫を採取し、DNAマイクロサテライトマーカーを用いて父系を判定した。さらに、働き蜂による同父姉妹女王蜂幼虫と異父姉妹女王蜂幼虫へ対する「平均世話時間」、「世話頻度」および「世話時間の合計」に差があるかを調べ

た。その結果、働き蜂による次期女王蜂への「世話時間」・「世話頻度」には、働き蜂と次期女王蜂間の血縁の違いによる有意差は見られず、「血縁者びいき」は検出されなかった。

第三章では、ニホンミツバチ次期女王育成時において「血縁者びいき」が見られるか調べた。セイヨウミツバチは少なくとも150年の家畜化と選別の歴史があり、セイヨウミツバチにおいて「血縁者びいき」の存在を検出できなかった理由が、セイヨウミツバチへの人為淘汰の結果である可能性があり、野生のニホンミツバチを用いればこの点を検証することができる。女王蜂を養育する働き蜂が「血縁者びいき」行動を行うならば、働き蜂における父系の割合と女王蜂における父系の割合が異なると予想される。そこでニホンミツバチ群を用いて無王群を作成し、そこで育成された女王蜂幼虫と働き蜂を採取した後、DNAマイクロサテライトマーカーにより父系を判定し、女王蜂と働き蜂についてそれぞれの父系に属する個体の頻度を比較した。その結果、女王蜂幼虫と働き蜂間で父系の割合に有意差は検出されず、ニホンミツバチの次期女王育成時において「血縁者びいき」は検出されなかった。

第四章では、ニホンミツバチ無王群内における行動に「血縁者びいき」があるかを調べるため、働き蜂間の「攻撃行動」と「栄養交換行動」に注目して検証を行った。ニホンミツバチ無王群では働き蜂も産卵するようになるため、働き蜂間の相互作用が次世代以降の遺伝子構成に影響を及ぼすと予想される。さらにニホンミツバチは、他種のミツバチよりも働き蜂が卵巣を発達させやすく産卵を行いやすいため、無王群における働き蜂間の相互作用において「血縁者びいき」行動の検証を行うのに適している。そこで働き蜂間の「攻撃行動」と「栄養交換行動」が働き蜂の産卵に影響を及ぼす可能性に注目し、これらの行動を指標に実験を行った。方法としては、ニホンミツバチ群から無王群を作成し、その無王群において働き蜂間の「攻撃行動」または「栄養交換行動」が見られたときに、その行動に関わった個体を採取し、DNAマイクロサテライトマーカーにより父系を判定した。その結果、「攻撃行動」においては「血縁者びいき」行動は見られなかったが、巣内で行われた「栄養交換行動」はより血縁度の高い個体間において、ランダムな期待値より有意に高い頻度で行われていることが明らかになった。

これらの結果から、ミツバチは巣仲間との血縁を認識して「血縁者びいき」を行う能力があるが、無王群の「栄養交換行動」においてのみ、「血縁者びいき」を行っており、ミツバチは行動のタイプによって「血縁者びいき」を行うかどうかを変えていることが示唆された。

## 審 査 結 果 の 要 旨

動物行動においては、血縁者に対して協力行動を行う戦略は個体の適応度を高めることから種にとって有利性があると考えられる。この場合、協力行動を受けることで生じた利益( $b$ )とその行動が行われた個体間の血縁度( $r$ )を掛け合わせた値が、協力行動を行うことで生じたコストに勝るならば( $rb > c$ )、協力行動は個体群内で頻度を増やしやすくなる。従って、協力行動の利益とコストが一定ならば、血縁の近い個体に対して協力行動は起こりやすくなる。この理論は血縁選択説と呼ばれるが、血縁の近い個体に対して協力するような「血縁者びいき」行動を予測している。特にコロニーを形成し社会生活を営むミツバチでは産卵行動を行わない働き蜂に、異父姉妹( $r=0.25$ )よりも同父姉妹( $r=0.75$ )に偏って協力行動を行う「血縁者びいき」の存在が予想される。本研究ではミツバチ群内において、このような「血縁者びいき」行動があるかどうかを検証された。

申請者は、まずセイヨウミツバチ次期女王育成時における働き蜂の世話行動に「血縁者びいき」行動が見られるか検証した。ミツバチ群においてどの個体が女王蜂として産卵を行うかは、個体群の遺伝子構成に大きな影響を及ぼす。そのため「血縁選択説」によれば、働き蜂は自己により血縁の近い個体を女王蜂として育成すると期待される。この予測を検証するため、人工的に育成された女王蜂幼虫を女王蜂のいない無王群に移入し、この群の働き蜂を個体識別し、その働き蜂による女王蜂への世話行動の頻度・時間を観察した。行

動観察終了後、個体識別した働き蜂と観察に用いた女王蜂幼虫を採取し、DNA マイクロサテライトマーカーを用いて父系を判定した。さらに、働き蜂による同父姉妹女王蜂幼虫と異父姉妹女王蜂幼虫へ対する「平均世話時間」、「世話頻度」および「世話時間の合計」に差があるかを調べた。その結果、この実験においては働き蜂による次期女王蜂への「世話時間」・「世話頻度」について、働き蜂と次期女王蜂間の血縁の違いによる有意差は見られず、「血縁者びいき」は検出されなかった。

セイヨウミツバチは少なくとも150年の家畜化と選別の歴史があり、セイヨウミツバチにおいて「血縁者びいき」の存在を検出できなかった理由が、セイヨウミツバチへの人為淘汰の結果である可能性がある。そこで、野生のニホンミツバチを用いればこの点を検証することができるのではないかと考えさらに実験を行った。この場合、女王蜂を養育する働き蜂が「血縁者びいき」行動を行うならば、働き蜂における父系の割合と女王蜂における父系の割合が異なると予想される。そこでニホンミツバチ群を用いて無王群を作成し、そこで育成された女王蜂幼虫と働き蜂を採取した後、DNA マイクロサテライトマーカーにより父系を判定し、女王蜂と働き蜂についてそれぞれの父系に属する個体の頻度を比較した。その結果、女王蜂幼虫と働き蜂間で父系の割合に有意差は検出されず、ニホンミツバチの次期女王育成時においても「血縁者びいき」は検出されなかった。

そこで、申請者は、ニホンミツバチ無王群内における行動に「血縁者びいき」があるかを調べるため、働き蜂間の「攻撃行動」と「栄養交換行動」に注目してさらなる検証を行った。この実験では、ニホンミツバチ無王群では働き蜂も産卵するようになるため、働き蜂間の相互作用が次世代以降の遺伝子構成に影響を及ぼすと予想される。さらにニホンミツバチは、他種のミツバチよりも働き蜂が卵巣を発達させやすく産卵を行いやすいため、無王群における働き蜂間の相互作用において「血縁者びいき」行動の検証を行うのに適している。実験方法としては、ニホンミツバチ群から無王群を作成し、その無王群において働き蜂間の「攻撃行動」または「栄養交換行動」が見られたときに、その行動に関わった個体を採取し、DNA マイクロサテライトマーカーにより父系を判定した。その結果、「攻撃行動」においては「血縁者びいき」行動は見られなかったが、巣内で行われた「栄養交換行動」はより血縁度の高い個体間において、ランダムな期待値より有意に高い頻度で行われていることが明らかになった。

申請者は、これらの結果から、ミツバチは巣仲間との血縁を認識して「血縁者びいき」を行う能力があるが、無王群の「栄養交換行動」においてのみ、「血縁者びいき」を行っており、ミツバチは行動のタイプによって「血縁者びいき」を行うかどうかを変えていることを明らかにした。

以上の内容について、審査委員全員一致で本論文が岐阜大学連合獣医学研究科の学位論文として十分価値あるものと認めた。

#### 基礎となる学術論文

- 1) 題 目: Rearing of candidate queens by honeybee, *Apis mellifera*,  
Workers (Hymenoptera: Apidae) is independent of genetic relatedness  
著 者 名: Koyama S., Harano K., Hirota T., Satoh T. and Obara Y.  
学術雑誌名: Applied Entomology and Zoology  
巻・号・頁・発行年: 42 (4): 541-547, 2007

#### 既発表学術論文

- 1) 題 目: Interactions between the parasitoid wasp *Dinocampus coccinellae*  
and two species of coccinellid from Japan and Britain  
著 者 名: Koyama, S. and Majerus, M. E. N.  
学術雑誌名: BioControl  
巻・号・頁・発行年: 53(1): 253-264, 2008

- 2) 題 目: Mitochondrial cytochrome *b* gene sequence diversity among Steller's sea lion rookeries in the kuril Islands and the Sea of Okhotsk  
著 者 名: Kariya, T., Igarashi, M., Wada, K., Burkanov, V.N., Koyama, S., Hoshino, H. and Oshida, T.  
学術雑誌名: Mammal Study  
卷・号・頁・発行年: 33(3): 125-129, 2008
- 3) 題 目: Genetic structure of Steller sea lion (*Eumetopias jubatus*) rookeries in the sea of Okhotsk  
著 者 名: Koyama, S., Fujita, S., Hirota, T., Satoh, T., Obara, Y., Hoshino, H., Wada, A., Burkanov, V.N. and Wada, K.  
学術雑誌名: Zoological Studies  
卷・号・頁・発行年: 47(6): 781-787, 2008
- 4) 題 目: Lack of sequence variation of Y chromosome-liked loci in Steller's sea lions (*Eumetopias jubatus*) from lony Island and the kuril Islands  
著 者 名: Kariya, T., Igarashi, M., Wada, K., Burkanov, V.N., Koyama, S., Hoshino, H. and Oshida, T.  
学術雑誌名: Mammal Study  
卷・号・頁・発行年: in press
- 5) 題 目: Variable microsatellite loci isolated from the Asian honeybee, *Apis cerana* (Hymenoptera; Apidae)  
著 者 名: Takahashi, J., Shimizu, S., Koyama, S., Kimura, K., Shimizu, I., Nakamura, J., Matsuka, M. and Yoshida, T.  
学術雑誌名: Molecular Ecology Resources  
卷・号・頁・発行年: in press