

平成30年6月1日現在

機関番号：22604

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K07193

研究課題名(和文) 日本産アリ類における「隠れた種多様性」の解明～統合的アプローチの提案～

研究課題名(英文) Revealing cryptic species diversity of Japanese ants, a proposal of "Integrated approach"

研究代表者

江口 克之 (Eguchi, Katsuyuki)

首都大学東京・理工学研究科・准教授

研究者番号：30523419

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：分子系統解析、接合前隔離隔離機構に関連する形態形質の詳細な観察、配偶者認識に用いられる体表炭化水素組成解析、接合後隔離機構に関連する核型の解析などを取り入れた Integrated Taxonomyによって、アリ類やハエトリグモ類における隠れた種多様性の解明(隠蔽種の探索)に取り組んだ。その結果、インドシナ北部に広域分布する *Acanthomyrmex glabfemoralis* が複数の隠蔽種や遺伝的に明瞭な集団からなる種群であることが明らかとなった。また、ベトナムにハエトリグモ科 *Phintella* 属が22種分布することを明らかにした。それらを含む成果は12編の論文として発表した。

研究成果の概要(英文)：Cryptic species diversity of ants and jumping spiders were revealed by "Integrated Taxonomy", a combination of molecular phylogenetic analyses, examination of morphological features which are related to prezygotic isolation, analyses of cuticular hydrocarbons which are used in mate recognition, and examination of chromosomal composition which is related to postzygotic isolation. *Acanthomyrmex glabfemoralis*, which is widespread in northern Indochina, was revealed to be a species complex consisting of multiple biological species and genetically distinct groups. A total of 22 species of the genus *Phintella* (the family Salticidae) were recognized from Vietnam. The results including those mentioned above were published as 12 scientific papers.

研究分野：系統分類学

キーワード：アリ 隠蔽種 Integrated Taxonomy DNA barcoding

1. 研究開始当初の背景

今日、「隠れた種多様性 (= 隠蔽種を含む種多様性)」の解明は分類群を問わず生物多様性研究における中心的課題の一つとなっている。隠蔽種群に含まれる経済的あるいは公衆衛生的に重要な種の誤同定は、生物資源の開発・管理や有害種の防除などにおいて、深刻な問題を引き起こす可能性が認識されている (Bickford et al. 2007)。隠蔽種の存在を証明するためのもっとも説得力のある手法は、野外での配偶行動の観察や飼育条件下での交配実験によって、集団間の交配前および交配後生殖隔離の有無を直接確認することである (Dinca et al., 2013)。しかし、動物では交配に際して特定の環境条件を要する機会が多いことから、それは容易ではない。そのため、いくつかの間接的手法が考案・実施されてきた。

DNA barcoding は 2000 年初頭から急速に普及しはじめた手法である。種の違いを反映しているような遺伝子領域を標準的な「DNA barcode」とし、その塩基配列情報に基づいて種を識別する手法である。実験手法の簡便化・低コスト化などの技術的進歩に伴い、分類群や地域毎に網羅的な DNA barcode データベースが構築されはじめており、害虫・外来種の監視・防除、農水産物品質管理などの実学分野において、対象となる種の簡易同定法として活用されている。一方で、多様性生物学分野においては、隠蔽種の存在を確認する手法としても広く用いられている。

他の有望な間接的手法として、体表炭化水素組成分析が挙げられる。様々な陸上節足動物において体表炭化水素の組成は種特異性が高く、配偶行動など遭遇時における種認識シグナルとして利用されている (Akino et al., 2002; 秋野・山岡, 2012)。

また、動物においては、核型 (染色体の構成) の違いは強力な交配後生殖隔離機構として働く場合が多いので、核型の比較は隠蔽種の認識において有用であると考えられる。

したがって、「隠れた種多様性」の解明においては、上述のような間接的手法を複数組み合わせ合わせた統合的なアプローチを採用することが望ましいとされている (Seifert, 2009)。しかし、そうした研究例は世界的に見てもまだ少ない (Schlick-Steiner et al., 2006; Steiner et al., 2010)。

2. 研究の目的

環境指標生物であるアリ類は、生物多様性の研究や保全、外来種の防除に関する様々なプログラムにおいて重要なターゲットとなっており、したがって、アリ類を正確に種同定するための分類学的情報を集積することの学術的、社会的意義は大きい。日本産アリ類に関する分類学的な研究は世界的に見ても進んでいるが、近年、隠蔽種の発見が相次いでいる。本研究では、日本に広域に分布する「種」を対象として、異なる手法からなる

統合的アプローチにより隠蔽種の探索を行い、種分化のプロセス、ハビタット分割の様式を解明する。これらの結果を踏まえ、日本産アリ類の正確な種同定において有用な情報、すなわち形態、分布、生活史、DNA barcode、体表炭化水素組成、核型に関する情報を集積した「日本産アリ類種同定情報データベース」を構築する。

3. 研究の方法

3年間の研究期間内で、日本に広域に分布する種を対象とした「隠れた種多様性の解明」(課題)と、「日本産アリ類種同定情報データベース」構築 (課題)に取り組む。課題 については、DNA barcoding、体表炭化水素組成分析、核型分析、形態解析を組み合わせ合わせた統合的アプローチにより、「隠れた種多様性」を検証する。さらに、Species Distribution Model を用いて異なる空間スケールで分布解析を行うことで、地理的隔離・種分化のプロセス、ハビタット分割の様式を明らかにする。課題 については、本州および九州本土に生息する種を中心に、形態、分布、生活史、DNA barcode、体表炭化水素組成、核型に関する情報を集積し、データベースを構築し、Web ページとして公開する。

4. 研究成果

研究計画段階では日本産アリ類を研究対象群とすることを計画していた。しかし、その後、日本周辺地域 (台湾やベトナム) で野外調査が可能となったため、研究対象群を以下のように変更した: *Cerapachys sulcinodis* 種群 (東南アジア)、*Gnamptogenys bicolor* 種群 (東南アジア)、*Odontomachus* spp. (日本~東南アジア)、*Brachyponera* spp. (日本~東南アジア)、*Acanthomyrmex glabfemoralis* 種群 (東南アジア)、*Pheidole noda* 種群 (日本~東南アジア)、*Nylanderia flavipes* 種群 (日本及び周辺地域); ハエトリグモ科の *Phintella* 属。そのうち、*Acanthomyrmex glabfemoralis* 種群、*Odontomachus* spp. および *Phintella* 属について顕著な研究成果が得られたため、以下に要約する。また、課題 に関しては、現在、アリ類の分類・分布・生活史情報のデータベース化が世界規模で進んでいるため、日本産種に限定したデータベースを新たに構築することの意義が薄れた。そこで、将来的に世界規模データベースに提供する分布情報、DNA Barcode 情報の蓄積に注力した。

(1) *Acanthomyrmex glabfemoralis* 種群

A. glabfemoralis、*A. crassispinus* のタイププロカリティを含む、ベトナム、中国、台湾の 17 の地域から合計で 138 のコロニーを収集することができた。

ミトコンドリア COI 遺伝子のデータセットに基づく ABGD 解析の結果、10 の MOTU (molecular operational taxonomic

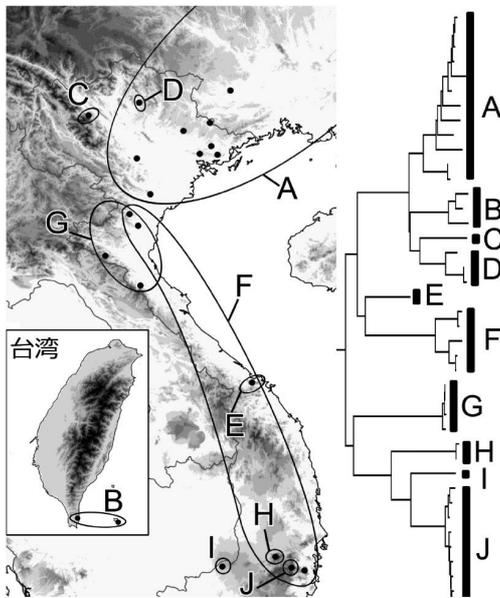


図1. COI系統樹と各MOTUの地理的分布

unit) が認識された(図 1、A~J)。大部分の MOTU は核リボソーム ITS1 領域のデータセットに基づく解析でも支持されたが、一部において齟齬が見られた。MOTU A は *A. glabfemorialis* のタイプロカリティから得られた標本を含み、狭義の *A. glabfemorialis* と対応する集団であることが分かった。台湾から知られていた *A. crassispinus* は、それとは独立した MOTU B として認識されたが、ITS1 に基づく解析ではこの二つの MOTU は一つに統合された。また、ベトナム北部および中部の 5 箇所において、異なる MOTU の同所的または側所的分布が見られた(図 1、例えば A と D、F と G)。このことは、これらの MOTU 間に生殖隔離があることを示唆している。

全ての MOTU についてオスや女王を含む詳細な形態比較を行うことはできなかった。しかしながら、同所的・側所的に共存している MOTU ペアの間には、特にオスの頭部形状や触角形態に顕著な形態学的差異があることがわかった。これらの形態形質は交尾行動や配偶者認識に関わることで、生殖隔離機構として機能している可能性が考えられた。一方で、異所的に分布する *A. crassispinus* (MOTU B) と狭義の *A. glabfemorialis* (MOTU A) の間には明瞭な形態差は見出されなかった。

MOTU B と MOTU G を対象に、核型の観察を行った。その結果、両者ともに、染色体数は $2n=46$ 前後であることがわかったが、染色体数の多さ、個々の染色体の小ささ故に、明瞭な染色体像を得るのが難しく、染色体数や各染色体の形態を正確に観察することができなかった。

MOTU B と MOTU G を対象に体表炭化水素組成を調べた。ガスクロマトグラムのパターンは、MOTU 間で明瞭に異なっていた(図 2)。このことは、二つの MOTU 間で体

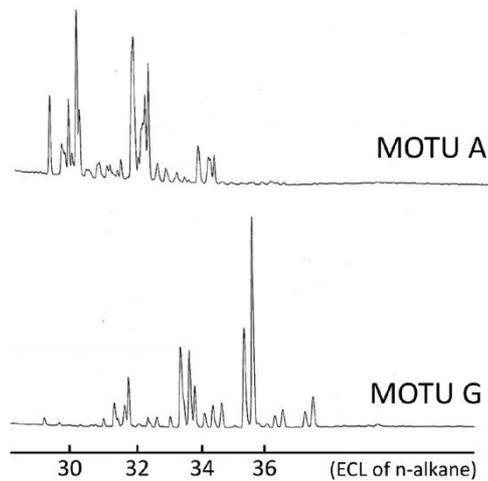


図2. MOTU AおよびBにおける体表炭化水素のガスクロマトグラム

表炭化水素の成分が異なっていることを意味しており、これらの MOTU が異なる種に属することを支持する。

種の境界を完全に明らかにするまでは到達できなかったが、MOTU 間の核 DNA、ミトコンドリア DNA マーカーで一貫した遺伝的差異、同所的分布、形態学的差異、および体表炭化水素組成の差異は *A. glabfemorialis* が複数の生物学的種を含む隠蔽種種群であることを強く示した。一方で、台湾から知られていた *A. crassispinus* は、COI に基づく解析では狭義の *A. glabfemorialis* とは遺伝的に異なった系統であったが、ITS1 や形態比較ではこれらの間に明瞭な差異は見つからなかった。異所的に分布していることを考え合わせると、これらの二系統が異なる種であることを示す有力な証拠は得られなかった。

多くのコロニーは主に通常の有翅女王のみによって繁殖していた一方で、北方に分布する三つの MOTU (図 1、B~D) では無翅女王のみによって繁殖していることがわかった。また分子系統解析の結果からは、有翅女王の無翅女王による置換が少なくとも複数回独立に生じている可能性が示唆された。地理的に隔離された環境や、過去の気候変動による森林の縮小・断片化などといった要因が、本種群における職型女王による有翅女王の置換を引き起こした可能性が考えられるが、その進化的要因の解明には今後のさらなる研究が必要である。

(2) *Odontomachus* spp.

インドシナ亜区、インドマレー亜区、および周辺地域から集められたアギトアリ属 97 サンプルを対象として、DNA barcoding、分子系統解析、形態比較、分布様式の検討を組み合わせた Integrated Taxonomy を用いて種の識別を行った。まず、ミトコンドリア COI 遺伝子のデータセットに基づく ABGD 解析および PTP 解析を行うことで、40 の MOTU が識別できた。ついで、最尤法及びベイズ法による分子系統解析を行い、

得られた系統樹に基づき、各 MOTU の単系統性を評価した。単系統性が支持された場合は、独立した MOTU として扱い、単系統性が支持されなかった場合は、単系統群となるまで近隣の MOTU と統合した。その結果、35 の MOTU に統合できた。最後に、これらの MOTU について詳細な形態比較を行った結果、形態学的識別形質を有する 12 の種に統合できた。そのうち、インドシナ亜区、インドマレー亜区からは 11 種が確認された。Brown (1976) は *O. kuroiwae* を *O. monticola* のシノニムとしたが、Yoshimura et al. (2007) は前者を独立した種として扱った。本研究は Yoshimura et al. (2007) の見解を支持した。また、Brown (1976) は *O. procerus* を *O. latidens* のシノニムとしたが、Satria et al. (2015) は両者を別種とした。本研究の最終的な解析結果も Satria et al. (2015) を支持した。*O. pararixosus* と *O. minangkabau* は、*O. rixosus* の隠蔽種として、Terayama & Ito (2014) と Satria et al. (2015) によって、それぞれ記載されたが、それらの見解も本研究の最終的な解析結果によって支持された。さらに、*O. sp. 1* は *O. monticola* のシノニムのうちの 1 つに対応し、独立種であり、*O. sp. 2* は新種であることが明らかとなった。

(3) ハエトリグモ科 *Phintella* 属

ベトナムから得られた *Phintella* 属 129 標本と、*Phintella* 属と極めて形態的に類似する *Laufeia squamata* 3 標本を解析対象とし、13 属 15 種 18 標本を外群として、Integrated Taxonomy による種の識別を行った。まず、ミトコンドリアの COI 遺伝子、16S-ND1 遺伝子、核の 28S 遺伝子のデータセットに基づき、ABGD 解析および bPTP 解析を行うことで、20 から 43 の MOTU を識別した。ついで、前述の 3 つのデータセットを元に最尤法及びベイズ法による分子系統解析に基づき、各 MOTU の単系統性を評価した。単系統性が支持された場合は、独立した MOTU として扱い、単系統性が支持されなかった場合は、単系統群となるまで近隣の MOTU と統合した。その結果、15 から 22 の MOTU に統合された。最後に、これらの MOTU について詳細な形態比較を行った結果、22 の MOTU が生殖的隔離に関連する交尾器の形態 (図 3) によっても識別できた。したがって、これら 22 の MOTU を互いに独立した種であると結論付けた。研究開始前にベトナムから記録されていた種数は 9 であったため、本研究により種数が 2.5 倍に増加したことになる。一方で、*P. aequipeiformis* Zabka, 1985 と *P. lucai* Zabka, 1985、*P. debilis* (Thorell, 1891) と *P. bifurcilinea* (Bösenberg & Strand, 1906)、*P. suavis* (Koch, 1846) と *P. vittata*

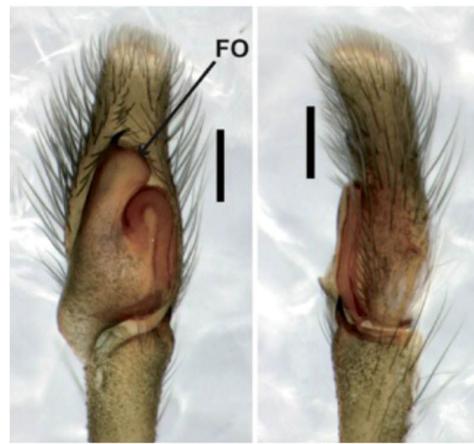


図3. *Phintella*類の雄の触肢末端部分 (機能上の交尾器)

(Koch, 1846)が、それぞれ同種であることが判明した。また、雌雄の対応関係が、12 種について新たに判明した。さらに、Logunov & Jäger (2015) が示した *L. squamata* の雌雄の対応関係が誤りであり、この種も *Phintella* 属に位置づけられるべきであることが判明した。

5 . 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 12 件)

- Dang VA, Yamane S, Nuyen DA, Eguchi K. New Combination and redescription of *Brachyponera mesoponeroides* Radchenko, 1993 (Hymenoptera: Formicidae: Ponerinae). *Revue suisse de zoologie*, accepted (in press).
- Leong CM, Lin CC, Shiao SF, Nguyen DD, Eguchi K. Taxonomic notes on *Ponera guangxiensis* Zhou, 2001 (Hymenoptera: Formicidae: Ponerinae), with a new distribution record from Vietnam and the first description of queen, male, and larva. *Revue suisse de zoologie*, accepted (in press).
- Yamada A, Ito F, Hashim R, Eguchi K. Queen polymorphism in *Acanthomyrmex careoscrobis* Moffett, 1986 in Peninsular Malaysia (Hymenoptera: Formicidae: Myrmicinae), with descriptions of hitherto unknown female castes and males. *Asian Myrmecology*, 10, e010009, 2018 (in press).
- Satria R, Itioka T, Meleng P, Eguchi K. Second discovery of the subdichthadiigyne in *Yunodorylus* (Borowiec, 2009) (Formicidae: Dorylinae). *Revue suisse de zoologie*,

125, 73-78, 2018.
doi: 10.5281/zenodo.1196017
Satria R, Bui TV, Eguchi K. New synonymy and redescription of *Anochetus mixtus* Radchenko, 1993, and distinction from the other members of the *Anochetus rugosus* group (Hymenoptera: Formicidae: Ponerinae). Asian Myrmecology, 9, e009006, 2017.
doi: 10.20362/am.009006
Syoji K, Eguchi K. Nesting site selection of *Temnothorax congruus* from Japanese broad-leave forests: a trade-off between nest site quality and distance from sympatric *Crematogaster teranishii* colonies. Asian Myrmecology, 9, 1-8, 2017.
doi: 10.20362/am.009002
doi: 10.11646/zootaxa.4048.1.1.
Eguchi K, Bui TV, Oguri E, Yamane Sk. The first discovery of the “*Pheidole quadricuspis* group” in the Indo-Chinese Peninsula (Insecta: Hymenoptera: Formicidae: Myrmicinae). Revue suisse de Zoologie, 123, 45-55, 2016.
doi: 10.5281/zenodo.46289
Eguchi K, Mizuno R, Ito F, Satria R, Dang VA, Bui TV, Phung THL. First Discovery of subdichthadiigyne in *Yunodorylus* Xu (Formicidae: Dorylinae). Revue suisse de Zoologie, 123, 307-314, 2016.
doi: 10.5281/zenodo.155307
Phung THL, Yamasaki T, Eguchi K. Conspicuity of *Phintella aequipeiformis* Zabka, 1985 and *P. lucai* Zabka, 1985 (Araneae: Salticidae) confirmed by DNA barcoding. Revue suisse de Zoologie, 123, 283-290, 2016.
doi: 10.5281/zenodo.155301
Satria R, Sasaki O, Bui TV, Oguri E, Syoji K, Fisher BL, Yamane Sk, Eguchi K. Description of the first Oriental species of the ant genus *Xymmer* (Hymenoptera: Formicidae: Amblyoponinae). Zootaxa, 4168, 141-150, 2016.
doi: 10.11646/zootaxa.4168.1.7.
Eguchi K, Bui TV, Yamane Sk, Terayama M. Redefinition of the genus *Bannapone* and description of *B. cryptica* sp. nov. (Hymenoptera: Formicidae: Amblyoponinae). Zootaxa, 4013:77-86, 2015.
doi: 10.11646/zootaxa.4013.1.5.
Satria R, Kurushima H, Herwina H, Yamane Sk, Eguchi K. The trap-jaw

ant genus *Odontomachus* Latreille (hymenoptera: formicidae) from Sumatra, with a new species description. Zootaxa, 4048, 1-36, 2015.

〔学会発表〕(計5件)

Liao HC, Eguchi K, Terayama M. Distribution and Taxonomy of Taiwanese species of the genus *Apenesia* Westwood, 1874 (Hymenoptera: Bethyridae). Taiwan Entomological Society, 38th Annual Meeting (Taiwan, 2017).

伊藤文紀, 江口克之, Nguyen DD. ノゴゴリハリアリ亜科オオバナハリアリの生態と行動. 第27回日本熱帯生態学会年次大会 (広島県東広島市, 2017).

Phung THL, Yamasaki T, Eguchi K. Taxonomic study of Vietnamese species of the genus *Phintella* (Araneae: Salticidae). 日本蜘蛛学会第48回大会 (千葉県柏市, 2016).

山田藍生, 江口克之. ベトナム産ナミバラアリ属 *Acanthomyrmex* の分類学的研究. 日本昆虫学会第76回大会・第60回日本応用動物昆虫学会大会合同大会 (大阪府堺市, 2016).

Yamada A, Bui TV, Eguchi K. Taxonomic and Biogeographical studies of ants (Insecta: Hymenoptera: Formicidae) in Vietnam. Vietnam-Japan Biodiversity Informatics Workshop (茨城県つくば市, 2016).

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計0件)

名称 :
発明者 :
権利者 :
種類 :
番号 :
出願年月日 :
国内外の別 :

取得状況 (計0件)

名称 :
発明者 :
権利者 :
種類 :
番号 :
取得年月日 :
国内外の別 :

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

江口 克之 (EGUCHI, Katsuyuki)
首都大学東京・理工学研究科・准教授
研究者番号：30523419

(2) 研究分担者

鶴崎 展巨 (TSURUSAKI, Nobuo)
鳥取大学・地域学部・教授
研究者番号：00183872

(3) 研究分担者

小栗 恵美子 (OGURI, Emiko)
首都大学東京・理工学研究科・客員研究員
研究者番号：10608954

(4) 研究分担者

秋野 順治 (AKINO, Toshiharu)
京都工芸繊維大学・昆虫先端研究推進セン
ター生物資源フィールド科学研究部門・
教授
研究者番号：40414875

(5) 研究協力者

山田 藍生 (YAMADA, Aiki)
首都大学東京・理工学研究科・客員研究員

(6) 研究協力者

リジャル サトリア (SATRIA, Rijal)
首都大学東京・理工学研究科・客員研究員

(7) 研究協力者

フン チ ホン ルオン
(PHUNG, Thi Hong Luong)
首都大学東京・理工学研究科・客員研究員