

機関番号：10101  
 研究種目：基盤研究（B）  
 研究期間：2007～2010  
 課題番号：19405007  
 研究課題名（和文） 広域分布を示すアジア産アリ類の系統地理解析によるインド・レフュー  
 ジア説の検証  
 研究課題名（英文） Verification of Indian refugium hypothesis by analyzing  
 phylogeography of ants, widely distributed in Asia  
 研究代表者  
 東 正剛（HIGASHI SEIGO）  
 北海道大学・大学院地球環境科学研究院・教授  
 研究者番号：90133777

## 研究成果の概要（和文）：

インドとその周辺のツムギアリについて分子系統解析を行い、インド・スリランカ個体群はバングラディッシュまで分布する東南アジア個体群とは明らかに異なる系統であり、乾燥・寒冷期にインド南西部にあったレフュージア熱帯林から拡散したことが明らかとなった。系統上近縁と考えられているアシナガキアリはツムギアリほど明瞭な系統地理を示さず、人為的攪乱の影響を大きく受けていることが明らかとなった。DNA解析と生態調査の結果、生態系攪乱規模の違いは遺伝的なものではなく、侵入先の生態系が大きく関わっていることが示唆された。

## 研究成果の概要（英文）：

Phylogeography of *Oecophylla smaragdina* and *Anoplolepis gracilipes* was inferred from analyses of mitochondrial DNA and microsatellite DNA. *O. smaragdina* showed that Indian populations were phylogenetically different from South-Eastern populations distributed up to Bangladesh, indicating that there had been a refuge rainforest in southwestern India from which the present populations had dispersed to northern and eastern India. On the other hand, the phylogenetically close ant *A. gracilipes* did not show clear phylogeography, indicating the current disturbance by human being. The DNA analyses and ecological studies of this invasive species suggest that the variation of their impact on different island ecosystems is not due to the population-specific genetics but to the island-specific ecosystems.

## 交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	3,600,000	1,080,000	4,680,000
2008年度	3,000,000	900,000	3,900,000
2009年度	2,800,000	840,000	3,640,000
2010年度	1,100,000	330,000	1,430,000
年度			
総計	10,500,000	3,150,000	13,650,000

## 研究分野：動物生態学

科研費の分科・細目：生物学・生態・環境

キーワード：(1)放浪種 (2)系統地理 (3)アシナガキアリ (4)生態系攪乱 (5)インド・レフュージア (6)チトクローム b 遺伝 (7)マイクロサテライト DNA

## 1. 研究開始当初の背景

アジアに分布する生物の起源を辿ると、その多くがインドシナ半島周辺に行き着く。これはこの地域が氷期や乾燥期のレフュージアとして機能していたからであるが、近年、インドシナ半島周辺とともにインド亜大陸南部

域も多くの生物のレフュージアとして重要な役割を果たしていた可能性が指摘されるようになってきた。これは主にハツカネズミなどの小型哺乳類の系統地理学的研究から分かってきたことであるが(Suzuki *et al.* 2004, Corbet & Hill 1992)、他の動物や植物でもこの地域固

有の系統は少なくない。ヒマラヤ山脈が南北方向への移動を阻んでいることも一因ではあるが、東西方向への環境の連続性を考えると、「インド・レフュージア」説の検証は生物地理学上重要な課題である。

近年、Bolton (1995)や分担者である緒方一夫を含む日本人研究者らによるアジア産アリ類の分類学的整理が進み、分布からみてインド亜大陸で分化したと思われる系統が少なくないことが示唆されている。この中には、他の大陸や地域では全く見られないハリルリアリに代表されるように、明らかに大陸移動説で説明すべきレベルの分化も含まれているが、数十万年から数百万年単位の現象である「インド・レフュージア」説で説明できると考えられる事実も報告されるようになってきた。例えば、研究代表者らは、樹上営巣性で熱帯アジアに広く分布するアジアツムギアリの分子系統解析結果から、インド南部の個体群は他のアジア域の個体群と遺伝的にかなり異なり、しかも最も古い系統である可能性があることを初めて明らかにした (Azuma *et al.* 2006)。このことは、人為的攪乱の影響を受け易いと考えられてきた広域分布種でも地史を反映する遺伝構造を保持していること、今から数十万年から数百万年前に生じたと思われるイベントの検証には、広域分布種の個体群間系統解析が有効であることを示している。昆虫分類学上最も信頼性の高い形質は交尾器などの生殖器官であるが、社会性昆虫であるアリ類の分類には個体数の多いワーカーカースト（ハタラキアリ）を用いることが多く、同胞種や亜種の分類はしばしば混乱している。研究代表者らによるツムギアリの研究は、広域分布種の分類に分子系統解析が非常に有効であることも示している。

しかし、近年調査が盛んに行われている東南アジア産アリ類に比べると、インド、バングラデシュ、スリランカなど南アジア地域のアリ類に関する系統地理学・生態学的研究はあまり進んでいない。これには民族対立や経済的不安定性に起因する政情不安が関わっていたが、インドを中心とした経済発展により、現地研究者との双方向的な共同研究が可能になってきた。また、インド政府が遺伝子資源を含む生物資源の防衛に熱心であり、生物標本の持ち出しを厳しく制限していることも研究の進展を妨げる要因の1つであるが、広域分布を示すアリ類は外国からの移入種とされ、生物資源防衛の対象となっていない。さらに、インド経済の発展により、研究機関の設備も充実してきており、優れたカウンターパートを得ることができれば、現地でのDNA分析も

可能となってきた。本研究では、インド国内だけでなく国際的にも高く評価されている社会性昆虫学者 Raghavendra Gadagkar 教授（インド科学院・バンガロール）と共同し、熱帯アジアで広域分布を示すアリ類の系統地理学的研究を進める。

広域分布を示すアリ類に関する研究は、北米やヨーロッパに分布を拡げ、生態系攪乱を引き起こしている南米原産のアリ類について盛んに行われている (e.g. Payne *et al.* 2004, McGlynn 1999, Suarez *et al.* 1998)。これらのアリ類が急速に分布を拡大するようになった理由については、多雌性などもともと分布を拡大しやすい性質をもっていた種や個体群が拡がったという説と、容易に新しいコロニーを形成する突然変異型が流通を通じた人為選択によって有利となって分布を拡大したという説とがあり、欧米の研究者による遺伝子レベルおよび生態レベルでの検証が進んでいる。これに対し、広域分布を示すアジア産アリ類の多くは分布拡大の歴史が古く、既に各地の生態系に組み込まれて安定したニッチを獲得していると考えられる例も少なくない。例えば、インド原産と考えられているアシナガキアリは比較的近年侵入したセイシェル島で鳥・トカゲ・カニなどの繁殖を妨げているという報告 (Holway *et al.* 2002) や近年侵入した小笠原では生態系を攪乱しているという例もあるが、少なくとも70年以上前から生息が確認されている沖縄ではむしろ農林業害虫の捕食者として安定したニッチを占めている。インド洋周辺かアフリカが起源と考えられているツヤオオズアリもオーストラリアなどで生態系攪乱が報告されているものの、アジア地域ではそのような報告はほとんどなく、アリ群集の中で比較的安定したニッチを獲得している可能性もある。

## 2. 研究の目的

以上の背景をふまえ、本研究では以下の課題と取り組む。

(1)インドとスリランカの多数の地点からツムギアリを採集し、個体群間の分子系統解析を行う。これを、これまで東南アジアやオーストラリアで得られている結果と比較し、インド産ツムギアリの系統地理学的位置づけを検討する。

(2)ツムギアリの近縁系統であるアシナガキアリを同様に採集し、他の熱帯アジア地域で採集してある個体群を含めて系統解析を行い、インド起源説を検証する。このアリについてはさらに生態調査を行い、セイシェルやクリスマス島の個体群のように生態系攪乱を引き

起こす原因を生態系と系統の両面から考察する。

(3)その他の広域分布種(ツヤオオズアリやアカカミアリなど)についても随時採集し、これまで他の熱帯アジア地域で採集してある標本と合わせて系統解析を行う。

これらの成果とこれまで日本および東南アジアで蓄積してきたデータを総合し、熱帯アジアに広域分布するアリ類の系統地理学的位置づけを行うとともに、「インド・レフュージア」がアリ類にとってどの程度重要であったかを考察する。

### 3. 研究の方法

以上の研究目的を達成するために、主にインド国内およびインド洋周辺地域から広域分布アリ類を多数採集して個体群間の分子系統解析や形態比較を行うとともに、アシナガキアリやツヤオオズアリなどが生態系に及ぼす影響について生態調査を行う。

#### (1)DNA抽出と塩基配列判読

インドで採集した標本については、バンガロールにあるインド科学院・ガダカール教授の研究室に設置されているサーマルサイクラーやオートシーケンサーを使用してDNAを抽出・分析する。その他の標本は北海道大学大学院地球環境科学研究院の機器を用いて分析する。

ツムギアリのDNA分析は基本的にAzuma et al. (2006)の方法に従い、進化速度の速いミトコンドリア遺伝子Cytbの647bpやCO1の1,026bpの塩基配列を判読するが、必要に応じてLWRh遺伝子やマイクロサテライトDNAなどの核遺伝子も使用する。既にAzuma et al. (2004)はツムギアリの遺伝構造解析に有効なマイクロサテライト遺伝子座を13カ所見つけ、それぞれのPCRプライマーを開発している。今回はこれらのマイクロサテライトDNAを使用する。ツムギアリの近縁系統とされているアシナガキアリについては、まず、ツムギアリに使用する遺伝子領域やPCRプライマーの有効性を試験し、必要に応じてDNA領域を探索し、PCRプライマーを開発する。ツヤオオズアリの遺伝構造解析は生態系攪乱が問題となっているオーストラリアの生態遺伝研究グループが開始しており、既にこのアリに有効なPCRプライマーが開発されている。このグループとは1986年～1989年に行った国際学術研究以来交流を続けており、今回も共同研究としてツヤオオズアリの分子系統解析を行う。

#### (2)形態比較

これまで東南アジアで採集されたアリ標本が緒方研究室に多数保管されており、これらの標本と形態を比較しながら同定作業を進め

る。アジアツムギアリ *Oecophylla smaragdina* には、アフリカツムギアリ *O. longinoda* によく似た褐色の個体からオーストラリアのツムギアリのように鮮やかな緑色の個体まで体色変異があり、主に体色にもとづいて少なくとも7亜種が報告されている。本研究ではAzuma et al. (2006)の分子系統解析結果も参考にしながら、亜種レベルの分類学的整理を行う。アシナガキアリはBolton (1995)によって *Anoplolepis gracilipes* Smith F. として1種にまとめられたが、それまでインドのアシナガキアリは *A. longipes* Jerdon として別種扱いであった経緯がある。本研究では分子系統解析結果も参考にしながら、地域個体群間の形態比較を行う。ツヤオオズアリ *Pheidole megacephala* (Fabricius)にはインド起源説とアフリカ起源説とがあり、個体群間の形態比較と分子系統解析によっていずれが有力かを検証する。

#### (3)アシナガキアリなどの生態調査

アシナガキアリによる生態系攪乱が報告されているセーシェル島とクリスマス島、生態系攪乱が顕著ではない沖縄本島にて生態調査を行う。特に琉球大学演習林内で詳しい調査を行い、森林および開放環境におけるアリ群集のギルド構造、移入種が群集の種多様性や安定性に及ぼす影響などを明らかにし、広域分布種による生態系攪乱に地域差がある理由を考察する。

### 4. 研究成果

ツヤオオズアカアリの系統地理解析と採集した標本の分類学的整理は現在も進行中であるが、ツムギアリとアシナガキアリの系統地理については北海道大学の修士論文2編に、沖縄の生態系におよぼす広域分布種の影響については琉球大学の学位論文1編にまとめられ、その内容を英文ジャーナルに掲載もしくは投稿中である。

#### (1)ツムギアリの系統地理

インド、スリランカ、バングラデッシュの計24地点から集めたツムギアリからDNAを抽出し、mDNAのCytb遺伝子の800bpとCO1遺伝子の1200bpの塩基配列を判読した。これを既に分析済みの東南アジア・オーストラリア個体群に関するデータと合わせ、個体群間の系統関係を推定したところ、インド・スリランカ個体群は東南アジア個体群とは異なるクラスターを形成し、その境界はガンジス川周辺にあることが明らかとなった。そこで、今回得た31ハプロタイプのネットワーク解析を行ったところ、インド南西部の個体群が中心に位置し、そこからまずスリランカ個体群が

分岐し、更にインド東部や北部の個体群が放散したことを示唆した。しかもその放散年代はインドシナを中心とした東南アジア個体群の放散年代とほぼ一致した。分子時計の精度を更に引き上げる必要はあるが、アリで一般に使われているmDNA分子時計を用いると約50万年～100万年前に分散したと推定され、この頃にインドから東南アジアにかけての地域で寒冷乾燥化が進み、インドシナ半島とインド南西部に森林生物のレフュージアとなる熱帯林が残され、その後の放散源となったことが示唆された。インドシナ半島のレフュージアに関する証拠は数多く存在するが、インドのレフュージアをこれ程明確に示唆した研究は本研究が初めてである。

## (2) アシナガキアリの系統地理

アシナガキアリは人間活動によって分布を広げる放浪種であり、現在世界中の熱帯、亜熱帯、暖温帯に分布している。放浪種は侵入地域でスーパーコロニーを形成する特徴を持ち、生物群集に様々な影響を及ぼす。本種もその例外ではなく、これまでにインド洋のクリスマス島やセイシェル島で爬虫類や鳥類の生息を妨害し、生物多様性を低める原因の1つとなっていることから、IUCNの「世界の侵略的外来種ワースト100」の1つに指定されている。このため、環境省は本種を「特定外来生物」に指定しようとしたが、日本の南西諸島では被害の報告がないため、まず生態や分布拡大に関する詳しい調査・研究を行い、その結果に基づいて慎重に判断されることとなった。本研究はその一翼を担うものである。生息地によって有害性の程度が異なる原因として、1) 侵入先の生態系が異なる、2) 侵入アリの系統が異なるという2つが考えられるが、本研究は主に2)の検証を目的としている。そのため、南西諸島、クリスマス島、セイシェル島、インド、インドネシア諸島、オーストラリアなどの計22地点でアシナガキアリのワーカーを採集し、ミトコンドリアDNA (mtDNA) およびマイクロサテライトDNA (SSR) を用いて分子系統解析と遺伝的構造解析を行った。主な結果は以下の通りである。

① ツムギアリを外群とするmtDNA分子系統樹では22個体群がA) インドの1個体群、B) オーストラリア2個体群、インドネシア3個体群、マレーシア1個体群、C) 南西諸島、セイシェル島、クリスマス島を含むその他の15個体群の3グループに分かれた。② グループAのインドの1個体群が最初に分岐したがブートストラップ値が低く、さらにインド個体群を増やして検証する必要がある。③ 比較

的地理的に近い個体群がグループBを形成しており、地理と遺伝的類似性の関係が今でもわずかながら維持されていることを示唆している。④ しかし、グループCは地理的に離れた個体群からなり、一部の系統が恐らく人為的運搬によって各地に分散したことを示唆している。特にグアム、バリ島、クリスマス島、セイシェル島などのリゾート地がこの中に含まれていることも人為的な攪乱の介在を強く示している。⑤ グループCの中で、セイシェル島とクリスマス島は比較的離れていること、生態系攪乱が見られない沖縄の個体群もグループに含まれていることから、有害性は系統とはほとんど無関係と思われる。(3) 沖縄本島における広域分布種(放浪種)と在来種の生態比較

沖縄本島北部に位置する琉球大学研究林内に多数のベイトトラップを設置し、優占的なアリ種の採餌活動の季節変動を比較した。優占種は*Pheidole fervens*, *Ph. noda*, *Monomorium chinense*, *Anoplolepis gracilipes* (アシナガキアリ), *Pristomyrmex punctatus*, *Paratrechina ryukyensis*の6種であり、うち*A. gracilipes*と*Ph. fervens*は放浪種、他の4種は在来種である。いずれの種も1年間を通じて採餌活動を行ったが、在来種は春から初夏にかけて特に活動的であったのに対し、放浪種は特に晩夏から冬にかけて活動的だった。この季節変動性は在来種においてより固定的であるのに対し、放浪種では優占アリ相の違いによって多少融通性がみられる。このことから、放浪種の活動は侵入先の気候だけでなくアリ相にも大きく左右されると考えられる。

アシナガキアリはセイシェル島やクリスマス島では深刻な生態系攪乱が報告されているのに対し、沖縄本島ではむしろ農業害虫などの捕食者として有益という報告もある。この違いは、有害な系統と無害な系統の遺伝的な違いによるという説と侵入先の生態系の違いによるという説があるが、本研究の結果は、遺伝的な違いではなく生態系の違いによることを強く示唆している。

## 引用文献

- Azuma, N., K. Ogata, T. Kikuchi & S. Higashi 2006. Phylogeography of Asian weaver ants *Oecophylla smaragdina*. *Ecological Research* 21:126-136.
- Bolton, B 1995. *A New General Catalogue of the Ants of the World*. 504 pp. Harvard University Press.
- Corbet, G.B. & J.E. Hill 1992. *The Mammals of the Indomalayan Region: A Systematic Review*. Oxford University Press, London.

Holway, D.A., L. Lach, A.V. Suarez, N.D. Tsutui & T.J. Case 2002. The cause and consequences of ant invasions. Annual Review of Ecology and Systematics 33: 181-233.

McGlynn, T. P. 1999. Non-native ants are smaller than related native ants. The American Naturalist 154: 690-699.

Payne, C. M., C.V. Tillberg & A.V. Suarez 2004. Recognition systems and biological invasions. Ann. Zool. Fennici 41: 843-858.

Suarez A. V., D.T. Bolger & T.J. Case 1998. Effects of fragmentation and invasion on native ant communities in coastal southern California. Ecology 79: 2041-2056.

Suzuki, H., T. Shimada, M. Terashima, K. Tsuchiya & K. Aplin 2004. Temporal, spatial, and ecological modes of evolution of Eurasian *Mus* based on mitochondrial and nuclear gene sequences. Molecular Phylogenetics and Evolution 33: 626-646

#### 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 32 件)

- ① Suwabe M., Ohnishi, H., Kikuchi, T., Kawara, K. and Tsuji, K. Difference in seasonal activity pattern between non-native and native ants in subtropical forest of Okinawa Island, Japan, Ecological Research, 査読有, 24, pp637-643, 2009
- ② Yoshimura, M., Hosoiishi, S., Kuboki, Y., Onoyama, K. and K. Ogata. New synonym and new Japanese record of the ant genus *Ponera* (Hymenoptera: Formicidae), Entomological Science, 査読有, 12, pp194-201, 2009

[学会発表] (計 35 件)

- ① Asaka, Y. and Higashi, S. Phylogeography of the Weaver ant *Oecophylla smaragdina* supporting southern Indian refugia hypothesis, XVI IUSSI(the International Union for the study of social insects) Congress, 2010年8月10日, Copenhagen, Denmark.
- ② 朝香友紀子、東正剛 南インドレフュージア仮説を支持するツムギアリの系統地理, 日本生態学会北海道地区大会, 2010年2月20日, 北海道大学低温科学研究所 (札幌, 北海道)
- ③ 諏訪部真友子、辻和希、東正剛 侵略的外来種アシナガアリの侵入に林道が与える影響, 第53回日本応用動物昆虫学会大会, 2009年3月28日, 北海道大学・高等教育機能開発総合センター (札幌, 北海道)

[図書] (計 6 件)

辻和希 Academic Press, Oxford, Unicolonial ants: Loss of colony identity. (chapter173), In encyclopedia of Animal Behavior (eds MD Breed & J Moore), 2010, pp469-474

#### 6. 研究組織

##### (1)研究代表者

東 正剛 (HIGASHI SEIGO)

北海道大学・大学院地球環境科学研究所・教授

研究者番号 : 90133777

##### (2)研究分担者

なし

##### (3)連携研究者

緒方 一夫 (OGATA KAZUO)

九州大学・熱帯農学研究センター・教授

研究者番号 : 40224092

辻 瑞樹 (TSUZI MIZUKI)

琉球大学・農学部・教授

研究者番号 : 20222135