

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 7 日現在

機関番号：17102

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26440221

研究課題名(和文) 地下性シリアゲアリ類の系統的位置・形態的特殊化・専門的捕食の解明

研究課題名(英文) Phylogenetic position, morphological differentiation and specialized predatory of subterranean *Crematogaster* ants

研究代表者

細石 真吾 (Hosoishi, Shingo)

九州大学・熱帯農学研究センター・助教

研究者番号：80571273

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)：熱帯アジアにおける野外調査の結果、地下性シリアゲアリ類を3種確認し、ベトナム産の種を新種として記載した。複眼の退化傾向は様々で、10個程度に減少している種もあれば、5～6個まで極端に減少している種も見られた。形態形質を用いた最節約的な系統解析によると、地下性種は複数系統で独立して生じていることが明らかになった。大あご基部の形状が地上性種と異なり、専門的捕食の可能性が考えられた。また、発達した体毛や相対的に大きい気門、薄くなった体色などの形態的特殊化が見られた。

研究成果の概要(英文)：Field surveys conducted in tropical Asia revealed three subterranean *Crematogaster* species. I described one Vietnamese taxa as new species. Those subterranean species had reduced compound eyes with 10 ommatidia to 5-6 ommatidia. Cladistic analysis using morphological characters revealed that subterranean form evolved independently in different lineages. The basal margin of mandibles in subterranean species is different from normal ground-dwelling species, suggesting specialized predator. Morphological specializations such as developed body hairs, relatively large spiracles, and light yellow body color were found in those species.

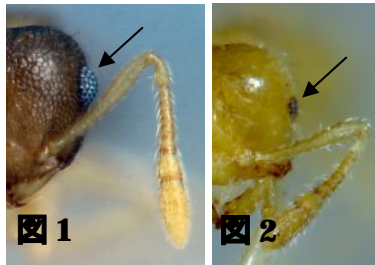
研究分野：系統昆虫分類学

キーワード：系統 形態的特殊化 地下性

1. 研究開始当初の背景

アリ類は地上のほとんどの環境で見られ、陸上生態系の10~15%ものバイオマスを持っており、特に地中性のグループは種多様性が高い。地中性の種はアリ類の中でも原始的な種を多く含み、特に熱帯地域のさらに土中深くの地下部からは近年においても新亜科がアマゾンから発見されたり、新属が東南アジアから発見されたりするなど、未踏査の領域であり、アリ類の系統進化を考える上で重要である。巨大分類群であるシリアゲアリ属(約400種)においても地下性種が知られているが、東南アジアから3種、中南米から1種が知られているだけである。あまり研究が進んでいないのは、アクセスしやすい地上部や低木層に比べ、地中、特にさらに深い地下部(約20cm~50cm以深)は、地上表層の落ち葉や土壌を手作業で集めて用いるウインクラ抽出法などでは採集することが難しいことが原因として考えられる。

シリアゲアリ属の多くの種は複眼を構成する個眼が30個程度で頭部側面から突出している(図1)、地下性の種は個眼が10個以下しかなく(図2)、地表に出ることが殆どない完全な地下生活者であると思われる。地下性種には、体色の淡色化や気門の巨大化といった形態的特殊化が見られる。それらの特殊な形態のために形態形質では近縁な種がわからず、既存の種群への体系化が困難である。その種は乾燥標本のみであり保存状態が悪かったためか、ミトコンドリアDNAのPCRも成功していない。同属は雑食性であるが、地下環境ではトビムシや小型のムカデが見られる程度で餌資源が制限されると思われる。地下性種の大あごは近縁他種とは異なる形態をしており、限られた餌資源に特殊化した食性を持つことが予想される。



近年、シリアゲアリ属124種を用いた包括的な分子系統樹が提示されているが、その中に地下性種は中南米産の1種しか用いられていない。一方、応募者のこれまでの形態学的研究により、アジア産の種について近縁種群が示唆されており、地下性種に見られるような形態的特殊化が複数回生じているのではないかと予想されている。

本研究では、分子系統学のアプローチにより、シリアゲアリ属の地下性種の系統的 위치を明らかにし、気門の巨大化や食性などの形態進化を検証する。直接の観察が困難である地下性種の消化器内容物のDNA解析によって食性を明らかにする。

2. 研究の目的

(1)対象とする種数と系統的位の解明

地下性種2~3種について新鮮なサンプルを入手し、分子系統解析から、系統関係を推定する。

シリアゲアリ属のキイロシリアゲアリ亜属から地上性~地下性種が知られており、属全体の分子系統樹では35種の系統関係が示されている。本研究では、アジア産地下性種がどの系統的位に該当するかを明らかにし、共有派生形質となる形態特徴を基に種群を用いたグルーピングを行う。

(2)形態進化の解明

得られた系統樹に複眼の退化や気門の大きさ、大あごの形状などを配置していく。

シリアゲアリ属の複眼を構成する個眼は一般的に30個程度であるが、地下性種では(i)9~10個程度、(ii)5~6個程度、(iii)3~4個程度、(iv)1個と段階的に見られる。(i)~(iv)へと個眼の数が減少する傾向があると思われ、その形態進化が妥当であるのかを検証する。

呼吸器官の一部である気門は体の各部分に見られるが、地下性種の前伸腹節にある気門は比較的大きいことがこれまでの研究でわかっている。地下性種の中でも、採餌活動のために地上まで上がってくる種もいれば、50cm以深付近だけに留まって地上まで上がってこない種もいると思われる。活動範囲によって気門の相対的な大きさが異なり、地下深部だけに生息する種では大きな気門を持っていることが予想される。

一般的にシリアゲアリ属の大あごは、咀嚼部分に細かい歯が4~5本等間隔に並んでいる状態を示す。しかし、地下性種では全ての歯が等間隔に並ばず、一部の歯が離れて位置したりするなど独特の形態を持つ。特定の節足動物(トビムシなど)を専門的に捕食することや、他種アリ類の餌を盗むことなどに適した形態である可能性が考えられる。このような大あごの形状は独立して複数の系統で出てくるのではないかと予想される。

(3)専門的捕食の解明

地下環境は地上付近と比べて、より密閉された狭い空間である。そのため、ナガコムシやトビムシ、小型のムカデなどがわずかに生息しているだけであり、シリアゲアリの地下性種はそれらを専門的に捕食していることが予想される。アリ類には食道部分だけでなく、一時的に食物を蓄えておく器官である口下嚢という構造を持っており、それらに残された内容物のDNA解析を行うことによって、捕食性を明らかにする。一方で、その内容物の分解が進んでDNA解析ができないことも予想される。その点も考慮し、採集された地下性種をなるべく生かしたままにしておき、節足動物を与える実験も行う。

3. 研究の方法

(1)野外調査: 系統解析のための新鮮なサンプルと解剖に十分な個体数を得るために、種多様性が高く、地下性種が多く分布していると思われる熱帯地域のシンガポールへ赴く。地下深部において効率的に採集するため、土中ベイトトラップとウインクラ抽出法(深部の土壌を対象)を用いる。現地の研究機関に共通のコードを付けた重複標本を常に所蔵する。

シンガポールの Bukit Timah 森林保護区においては、シンガポール国立大学・Lee Kong Chian 自然史博物館の Wendy Wang 博士の協力を仰いで調査許可・持ち出し許可を申請取得した。

・土中ベイトトラップ 落ち葉層よりも深く掘り進み、地点の深さ 20cm~50cm に、穴を開けてトピムシや小型のムカデなどのベイト(餌)を入れた 50ml チューブを埋め込んでいき、誘引して採集する。簡便で低コストであり、一度に大量のアリ類を採集することが可能であり、1 回の調査で 10 個用いる。
・ウインクラ抽出法 従来対象とする地上表層の土壌ではなく、深さ 20cm~50cm にある土壌だけをウインクラバッグに吊るして、下部に落ち込んでくるアリ類を採集する。ベイトを用いていないので、地下性アリ類が本来何を食べているのかを解剖して知る上で重要である。

(2)液浸標本調査: 短期間の野外調査で採集が困難、または地域固有の稀な種を対象に、海外の研究機関に液浸標本の借用依頼を行う。
・東南アジアの研究機関 シンガポールのシンガポール国立大学・Lee Kong Chian 自然史博物館の Wendy Wang 博士のアリ研究者との連携によって液浸標本を借用する。

(3)分子系統解析: 収集した新鮮なサンプル(99%エタノール液浸標本)から DNA を抽出し、核遺伝子の 5 領域: LWRh、ArgK、CAD、Top1、Wg を PCR 法によって増幅する(約 3300bp 程度)。これらの 5 領域はシリアゲアリ類の高次レベルでの系統解析に有効であることが判明している。塩基配列の解析ソフトである MEGA5 と Vector NTI Advance TM v11 を用いてアライメントを行い、シーケンサーを用いて塩基配列の決定を行う。ベイズ法を用いて系統樹構築を行い、確からしい分子系統樹を描く。最も事後確率が高い系統樹を評価し、厳密合意樹を提示する。地下性種以外の種については、GenBank や DDBJ 上で既に登録された配列情報を用いて解析する。

乾燥標本から DNA 抽出を行う場合、DNA の断片化が進行していることが予想される。内部プライマーの使用や DNA ゲル抽出キットも併用して効率的に実験を進める。

(4)形質進化の解明: 得られた系統樹上に複眼の退化傾向や前伸腹節の気門のサイズ、大あ

このタイプ、食性に関する情報を配置していく。

複眼を構成する個眼の数をカウントするだけでなく、複眼全体の短径と長径を測定し、頭部全体に対する複眼の比率を算出していく。気門のサイズは体サイズにも影響されるため、中体節(みかけの胸部)の長さと幅を測定し、前伸腹節の気門の縦と横の長さを測定してから、相対的な気門のサイズを算出する。比較対象となる樹上性、地上性、地下性種の気門のサイズを散布図にプロットするとともに、系統樹上に配置する。大あごのタイプを咀嚼縁にある歯の並びや表面に分布する剛毛の種類によって 4~5 タイプに類別化して形質情報を整理する。

(5)分類学的研究: これまでのタイプ標本調査から、発見された地下性種は多くが未記載種である可能性が高い。それらの新種記載を行っていくが、同時に系統的な位置や食性情報などを追加して、複数のトピックをまとめた内容を論文発表や学会発表で示していく。

4. 研究成果

(1)地下性シリアゲアリ類のサンプル

標本調査によって、地下性シリアゲアリ類の比較的新鮮なサンプル 2 種を確認し、DNA 抽出、シーケンスを行い、部分的ではあるが核遺伝子領域の塩基配列の一部を決定した。

シンガポールの Bukit Timah 森林保護区において野外調査を行い、地下性種である *C. myops* の新鮮なサンプルを大量に(100 個体以上)入手した。DNA を抽出してシーケンスを行い、核遺伝子領域の塩基配列の一部を決定した。

今後の展望: 中南米からも地下性種が知られているが、非常に稀であるために様々な解析に十分な個体数が得られていない。本研究においてシンガポールで新鮮なサンプルが大量に得られた意義は大きく、今後、形態や分子レベルでの解析に有効活用できる。

(2)系統解析と形質進化

地下性種の塩基配列は分子系統解析にはまだ不十分な長さであるため、形態形質を用いた系統解析を行った。地下性種 3 種(未記載種 1 種(図 3))を含むアジア産キロシリアゲアリ亜属 27 種について、33 形態形質を用いた最節約法により系統解析を行った(図 4)。その結果、地下性種は異なる系統で独立して生じていることが明らかになった。それらの結果は国際誌である *Zoological Journal of the Linnean Society* に掲載された。複眼の退化や気門の拡大、体色の薄色化、体毛の発達といった形質進化が見られた。一般的な地上性種は複眼を構成する個眼が 20~30 個であるが、地下性種では 10 個程度から 5~6 個までと段階的に個眼が減少する形態進化の方向が明らかになった。触角表面に分布する感覚子は地下性種でより発達しており、本

数が地上性種よりも 2~3 倍多く分布していることが明らかになった。



図 3

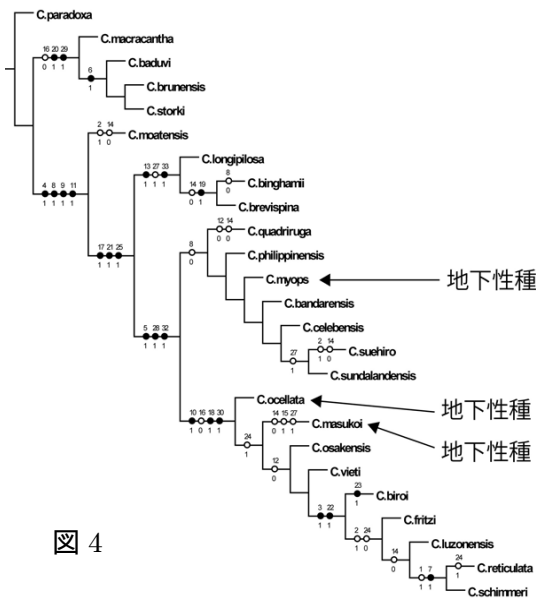


図 4

(4)分岐年代推定

核遺伝子領域を用いた分子系統解析において、インドシナ半島の種について系統関係と化石情報を用いて分岐年代推定を行った。その結果、共通祖先が中新世の約 1500 万年前に分かれたことが明らかになった。

今後の展望：地下性種についても同様の解析を行うことで分岐年代を推定することが可能となり、地下性種の出現時期が特定の地史的イベントと関連しているのかを検証することができると思われる。

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 9 件)

Hosoishi, S. and Ogata, K. 2017. Phylogenetic analysis and systematic position of two new species of the ant genus *Crematogaster* (Hymenoptera: Formicidae) from Southeast Asia. *European Journal of Taxonomy* (in press). 査読有

Hosoishi, S., Hashimoto, Y., Park, S.-H., Yamane, Sk. and Ogata, K. 2017. A comparison of ground-dwelling and arboreal ant assemblages

(Hymenoptera: Formicidae) in lowland forests of Cambodia. *The Raffles Bulletin of Zoology* (in press). 査読有

Hosoishi, S. and Ogata, K. 2016. Discovery of a new *Crematogaster* species with 10-segmented antennae from the Indochina region, with description of the species and its phylogenetic position (Hymenoptera: Formicidae). *Annals of the Entomological Society of America* 109 (5): 805–811. doi: 10.1093/aesa/saw047 査読有

Hosoishi, S. and Ogata, K. 2016. Systematics and biogeography of the ant genus *Crematogaster* Lund subgenus *Orthocrema* Santschi in Asia (Hymenoptera: Formicidae). *Zoological Journal of the Linnean Society* 176: 547–606. 査読有

Hosoishi, S., Park, S.-H. and Ogata, K. 2015. A contribution to the knowledge of ant genera of Cambodia (Hymenoptera: Formicidae). *Cambodian Journal of Natural History* 2015 (2): 144–147. 査読有

Hosoishi, S. and Ogata, K. 2015. Taxonomy and DNA sequencing of *Crematogaster coriaria* Mayr, 1872 (Hymenoptera: Formicidae) with redescription of the worker, queen and male castes. *Psyche*. vol. 2015, Article ID 541351, 8 pages, 2015. doi:10.1155/2015/541351. 査読有

Hosoishi, S. and Ogata, K. 2015. Review of the *Crematogaster popohana*-group with description of a new species from the Indochinese Peninsula (Hymenoptera: Formicidae). *Asian Myrmecology* 7: 11–18. 査読有

Hosoishi, S., Tase, W., Park, S.-H., Le Ngoc, A., Kuboki, Y. and Ogata, K. 2015. Annual fire resilience of ground-dwelling ant communities in Hiraodai Karst Plateau grassland in Japan. *Entomological Science* 18: 254–261. 査読有

Hosoishi, S. 2015. Revision of the *Crematogaster ranavalonae*-group in Asia, with the descriptions of two new species (Hymenoptera, Formicidae). *Journal of Hymenoptera Research* 42: 63–92. 査読有

〔学会発表〕(計 8 件)

細石真吾, 熱帯アジアのアリ分類学: 分子系統と地史からの統合的アプローチ, 日本分類学会連合第 16 回公開シンポジウム「若手分類学者の底力を見よ! 社会の眼も意識しつつ」, 国立科学博物館 2017 年 1 月 7 日【招待講演】

細石真吾, 東南アジアに広域分布する *C. ferrarii* 種群の系統地理. 第 59 回日本蟻類研究会大会, 大阪府河内長野市, 2016 年 8 月 25 ~ 27 日.

細石真吾・緒方一夫, マカランガ共生アリと類似したシリアゲアリ類の系統的位置・形態進化. 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, 大阪府立大学, 2016 年 3 月 26 ~ 29 日.

細石真吾・緒方一夫, アジア産キイロシリアゲアリ亜属の形態系統解析と生物地理. 日本昆虫学会第 75 回大会, 九州大学, 2015 年 9 月 19 ~ 21 日.

Hosoishi, S., Tasen, W., Park, S.-H., Le Ngoc, A., Kuboki, Y. and Ogata, K. Annual fire resilience of ground-dwelling ant communities in Hiraodai Karst Plateau grassland, Japan. The 10th ANeT meeting, Kelaniya University, SRI LANKA, 23th to 26th October 2015.

細石真吾・緒方一夫, ネオナウクレアからマカランガへの寄主転換における共生アリ類の形態進化. 日本生態学会第 62 回全国大会, 2015 年 3 月, 鹿児島大学.

細石真吾・緒方一夫, アカネ科アリ植物 *Neonauclea celebica* と共生関係にあるシリアゲアリの分類と系統的位置について. 日本昆虫学会第 74 回大会, 広島大学, 2014 年 9 月 14 ~ 16 日.

Hosoishi, S., Maruyama, M. and Ogata, K. Molecular phylogeny and character evolution of *Crematogaster inflata*-group. The International Union for the Study of Social Insects (IUSI), Cairns, Australia, 13-18th July 2014.

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

取得状況(計 0 件)

〔その他〕

ホームページ等

HOSOISHI Shingo 's web site

<https://sites.google.com/site/hosoishishingowebsite/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

細石 真吾 (Hosoishi, Shingo)

九州大学・熱帯農学研究センター・助教

研究者番号: 80571273