



岐阜大学機関リポジトリ

Gifu University Institutional Repository

ハダカアリ Cardiocondyla kagutsuchi
の種内分化と繁殖様式に関する分子遺伝学的研究

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 公開日: 2018-11-01 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 沖田, 一郎 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/20.500.12099/56283

ハダカアリ *Cardiocondyla kagutsuchi* の種内分化と
繁殖様式に関する分子遺伝学的研究

2017 年

岐阜大学大学院連合農学研究科

生物環境科学

(岐阜大学)

沖田一郎

ハダカアリ *Cardiocondyla kagutsuchi* の種内分化と
繁殖様式に関する分子遺伝学的研究

沖田一郎

目次

	ページ
第1章 緒論	1
第2章 mtDNAの分子系統解析からみたハダカアリの種内分化	6
1 はじめに	6
2 材料と方法	9
2-1 採集	9
2-2 分子系統解析	11
2-3 分岐年代の推定	13
3 結果	14
3-1 分子系統解析から推定されたハダカアリの系統	14
3-2 日本産の各ハプロタイプの分布	14
3-3 日本産の各ハプロタイプの翅多型の有無と生殖虫の個体数	15
3-4 ハダカアリの系統とオスの翅多型の関係	15
3-5 ハダカアリの系統における分岐年代の推定	16
4 考察	17
4-1 コロニー内の生殖虫の構成と無翅オスの攻撃性	17
4-2 分子系統解析から見たハダカアリの翅多型の進化	18
4-3 塩基置換率の大きさからみた日本産ハダカアリの種内分化	19
第3章 働きアリの形態におけるハダカアリの種内分化	21
1 はじめに	21
2 材料と方法	21
3 結果	23
4 考察	25

第4章	核DNAの分子系統解析からみたハダカアリの種内分化	27
1	はじめに	27
2	材料と方法	28
3	結果	32
4	考察	35
第5章	総合考察	43
謝辞		47
引用文献		48
表		59
図		72

第1章 緒論

種は生物分類の基本単位の一つである。種の定義として Mayr(1963)は、「現実には、または潜在的に、交配が可能な自然集団の全群で、他の同様な集団から生殖的に隔離されているもの」とした。Mayr のこの種概念は「生物学的種概念」と呼ばれる(片倉 1996)。種概念には、古くはリンネの類型学的種概念があり、ほかには、形態学的種概念、進化学的種概念など様々なものが提唱されている(馬渡 1996)。そのなかでも、現在、昆虫も含めた動物の種分類において、最も違和感なく受け入れられている種概念は、先に紹介した、生殖的隔離の有無を基準とする Mayr の生物学種概念だとされている(久保田 2008、千葉 2012、寺山ら 2014)。しかし、種ごとに、他種と生殖的に隔離していることを確認することは、実際には困難である。そこで、外部形態の不連続性を生殖的な隔離の結果と考え、外部形態の調査によって別種か否かを判断することが通常である。しかし、ヤマキマダラヒカゲ *Neope niphonia* とサトキマダラヒカゲ *N. goschkevitschii* や、ナミテントウ *Harmonia axyridis* とクリサキテントウ *H. yedoensis* のように、外部形態差が見られなくても、遺伝子の交流がなく、別種である場合もある。そのため、外部形態の調査のみによる分類には限界があることが指摘されてきた(馬渡 1996、上島 2008、寺山 2009、寺山ら 2014)。

近年、PCR を始めとした遺伝子実験技術の進歩により、生物のもつ DNA 分子や RNA 分子の塩基配列の情報が、誰にでもたやすく得られるようになった。さらに、それらの分子情報をもとに、「ある生物の過去の進化の道筋」(馬渡 1996)である「系統」を推定する分子系統解析の手法は、対象となっている生物の系統に関する情報を、客観的に検証が可能な形で、分類学の研究現場に提供してくれるようになった。そして、外部形態の調査のみでは検出できなかったと思われる新種の存在が、分子系統解析により次々と報告されるようになった(Bickford et al. 2007)。アリ科の研究においても、分

子系統解析は盛んに用いられ、あるアリ種の系統がどのようなクレードで構成されているのか分かるようになった(Heinze et al. 2005、Schlick-Steiner et al. 2006、Ross et al. 2010、Yashiro et al. 2010、Bernasconi et al. 2011、Goropashnaya et al. 2012、Ueda et al. 2012、Barth et al. 2015)。さらに、異なるクレード間に外部形態差などが新たに検出され、隠れていた新しい種が報告されるようになった(Schlick-Steiner et al. 2006、Ross et al. 2010、Yashiro et al. 2010、Bernasconi et al. 2011)。例えば、ヨーロッパで普通に見られるトビイロシワアリの一種 *Tetramorium caespitum* は、mtDNA の分子系統解析と体表炭化水素の組成比較から7種に再分類された(Schlick-Steiner et al. 2006)。また、オオハリアリ *Pachycondyla chinensis* では、mtDNA の分子系統解析と外部形態の解析から、2種に分けられた(Yashiro et al. 2010)。

ハダカアリ属 *Cardiocondyla* は、アリ科フタフシアリ亜科の1属で、これまでに48種が記載されている(Seifert 2003)。これらの48種のアリ種には、オスアリに有翅と無翅が見られる翅多型の種と、無翅のみ見られる翅単型の種が知られている(Kugler 1983、Heinze et al. 1998、Heinze 1999、Terayama 1999、Seifert 2003、Heinze et al. 2005、Yamauchi et al. 2005、Oettler et al. 2010)。ハダカアリ属の有翅のオスアリ(以下、有翅オス)は、単眼を持ち、無翅のオスアリ(以下、無翅のオス)と較べて大きな複眼と長い鞭状の触覚を持ち、アリ類では典型的なオスの形態をしている。一方、無翅オスには単眼はなく、有翅オスと較べて複眼は小さく、触覚も短い職蟻型オス(ergatoid male)である(Yamauchi & Kawase 1992、山内・木野村 1993、Heinze et al. 1998)。有翅オスは、一年の間の特定の時期にのみ羽化し、巣内に未交尾のメスがいなければ、巣外に交尾相手を求める。一方、無翅オスは、年中巣内に見られ、巣内で羽化する有翅メスと交尾をし続ける(Kinomura & Yamauchi 1987、山内・木野村 1993、Heinze et al. 1998、Yoshizawa et al. 2011)。無翅オスは発達した大あごをもち、巣内に無翅オスが1匹になるまで互いに殺しあい、結果的に、巣内の未交尾のメスとの交尾の機会を独占

することが知られている。一方、有翅オスには無翅オスのような攻撃性は存在せず、化学的にメス生殖虫に擬態して、無翅オスの攻撃から逃れることが知られている (Kinomura & Yamauchi 1987、Yamauchi & Kawase 1992、山内・木野村 1993、Heinze et al. 1998、Cremer et al. 2002)。有翅オスは蛹の段階で精子形成が終了しているが、無翅オスでは、終生、精子を生産し続ける (Hölldobler & Wilson 1990、Heinze & Hölldobler 1993、Heinze et al. 1998、Yamauchi et al. 2005)。

ハダカアリ属の1種ハダカアリ *C. kagutsuchi* Terayama は、日本を含めた東アジア、東南アジア、南アジア及び太平洋の島々に広く分布するアリ種である (寺山ら 1992、Seifert 2003、AntWeb)。このアリには、「種内」に、オスに翅多型が見られるグループ (以下、翅多型グループとする) と翅単型のグループ (以下、翅単型グループとする) の両方が存在する。翅多型グループのコロニーには有翅オス (図1) と無翅オス (図1) の両方が見られるが、翅単型グループのコロニーには無翅オスのみしか見られない (寺山ら 1992、Terayama 1999、Seifert 2003、Heinze et al. 2005、Yamauchi et al. 2005)。ハダカアリの翅多型グループは、東南アジア及び日本の石垣島で分布が知られており (Terayama 1999、Heinze et al. 2005、Yamauchi et al. 2005)、翅単型グループは、日本の本州・四国・九州・小笠原諸島・沖縄本島およびハワイでの分布が知られている (寺山ら 1992、Heinze et al. 2013)。この2つのグループは、一方は翅多型があり、他方は翅単型であることや、日本産については、両グループ間で染色体数が異なっていた (Terayama 1999) ことから、かつては別々の種として扱われていた時代があった (寺山ら 1992、Terayama 1999)。しかし、Seifert (2003) は、この2“種”の働きアリの外部形態を比較した結果、両者の形態が酷似しているという理由で、この2“種”を1つの種 *C. kagutsuchi* にまとめた。

その後、*C. kagutsuchi* は、複合種 (species complex) や種群 (species group) として今日まで扱われてきた (Yamauchi et al. 2005、Seifert 2008、Oettler et al. 2010)。

その理由として、種内に翅多型グループと翅単型グループの両方が内包されていることや、日本産においては、この両グループの染色体数が異なることのほかに、2“種”を1つの種 *C. kagutsuchi* にまとめた Seifert (2003) 以降に新たに行われた、次の分子系統解析の成果が挙げられるだろう。Yamauchi et al. (2005) は、ハダカアリの東南アジア産の翅多型グループと、沖縄本島産の翅単型グループを対象にして、ミトコンドリアDNA (mtDNA) の分子系統解析を行った。その結果、ハダカアリの系統は2つのクレードで構成されることが明らかとなり、このうち一方のクレードは翅多型グループで構成されたサブクレードと翅単型グループで構成されたサブクレードで構成され、もう一方のクレードは翅多型グループで構成されることが明らかになったのである。

Yamauchi et al. (2005) の研究成果は、ハダカアリの種内構造に関する従来の捉え方を見直す必要があることを示唆している。すなわち、これまでハダカアリは、翅多型グループと翅単型グループの2グループで構成されていると捉えられていた。しかし、Yamauchi et al. (2005) によって、(1) ハダカアリの翅多型グループは、遺伝的に2つのグループ (aとbとする) に細分化され、さらに、(2) このaとbは姉妹群ではなく、aの姉妹群は、翅単型グループ (cとする) であることが明らかになったのである。つまり、従来のように、ハダカアリを翅多型グループのa+bと、翅単型グループのcの2グループで構成されていると捉えるよりも、(A) a+cの翅多型と翅単型の両方を含むグループと、bの翅多型のグループの2グループで構成されていると捉えるか、または、(B) a、b、cの3グループで構成されていると捉える方が、ハダカアリの種内分化を捉えるうえでは適切であることが分子系統解析の結果から明らかになったのである。

以上のことから、現在、複合種や種群として扱われているハダカアリの“種内”に、どのような種が何種内包されているかを明らかにしていくうえでは、以下の方法で調査をする必要があると考える。そこでは、ハダカアリを、翅多型グループと翅単型グループの2つのグループで構成されていると捉えて、両グループの間に外部形態の違いや生

態の違いがあるかを調べる方法 (Terayama 1999、Seifert 2003) を採用しない。すなわち、分子系統解析によって、まずハダカアリがどのようなクレードやサブクレードで構成されているか、すなわち、ハダカアリの種内分化の様子を分子系統解析によって調べ、次に、それらのクレードやサブクレード間に、外部形態の違いや生態の違いなどがあるかを調べる方法を採用するのである。

そこで、本研究では、ハダカアリの種内分化の様子を、分子系統解析と外部形態の調査によって明らかにすることを目的とした。第2章では、日本産、マレーシア産、インドネシア産、ハワイ産のハダカアリについて、mtDNAのシーケンス実験を行い、ハダカアリからいくつのハプロタイプが検出されるか報告する。また、分子系統解析から推定したハダカアリの系統関係を報告する。第3章では、日本産のハダカアリの働きアリの外部形態について、第2章でみつかったハプロタイプ間で違いが検出できるかどうかについて報告する。さらに、第4章では、日本産ハダカアリの核DNAの分子系統解析で推定された系統関係を報告する。また、その解析過程で見つかった疑似有性生殖についても報告する。そして、第5章の総合考察では、第2章、第3章、第4章の結果を踏まえ、現在、ハダカアリと呼ばれている日本産のアリ種の種内分化の様子とハダカアリの繁殖システムについて総合的に記述し考察する。

第2章 mtDNAの分子系統解析からみたハダカアリの種内分化

1 はじめに

ハダカアリ属 *Cardiocondyla*には、オスアリに有翅と無翅の翅多型が見られる種と、無翅のみの翅単型の種が知られている (Kugler 1983、Heinze et al. 1998、Heinze 1999、Terayama 1999、Seifert 2003、Heinze et al. 2005、Yamauchi et al. 2005、Oettler et al. 2010)。一方、この属の一種ハダカアリ *C. kagutsuchi*には、「種内」に、オスアリに翅多型が見られるグループ (以下、翅多型グループ) と、翅単型のグループ (以下、翅単型グループ) の両方が存在する (寺山ら 1992、Terayama 1999、Seifert 2003)。種内に、翅多型グループと翅単型グループの両方が存在することなどを理由に、ハダカアリは複合種 (species complex) や種群 (species group) として扱われてきた (Yamauchi et al. 2005、Seifert 2008、Oettler et al. 2010)。

しかし、これまでにハダカアリの翅多型グループと翅単型グループの関係を分子系統解析で調べた研究は、Yamauchi et al. (2005)のみである。この研究では、ハダカアリの翅多型グループの中には、有翅オスの翅の長さが異なるグループが存在することが新たに報告されている。このグループは、それまでに知られていたハダカアリの有翅オス (長翅オスとする) よりも翅の短い短翅オスを産するグループであり、短翅オスと無翅オスの両方を産する翅多型グループであった。さらにこの論文は、以下のハダカアリについてmtDNAのCOI/II及び16SrRNA領域の分子系統解析を行った結果も報告している。すなわち、マレーシア産及びインドネシア産の翅多型グループ (長翅オスと無翅オス)、マレーシア産の翅多型グループ (短翅オスと無翅オス)、沖縄本島産の翅単型グループ (無翅オスのみ)、そして、翅多型の有無については不明なハワイ産のハダカアリである。この分子系統解析の結果、これらのハダカアリの分子系統はクレード1と2で構成され (図2)、クレード1はさらに次の2つのサブクレード1と2で構成された。そのうち、

サブクレード1は、マレーシア産の翅多型グループ(短翅オスと無翅オス)のサブサブクレード1と、沖縄本島産の翅単型グループ(無翅オスのみ)のサブサブクレード2で構成されていた。もう一方のサブクレード2は、マレーシア産及びインドネシア産の翅多型グループ(長翅オスと無翅オス)で構成されていた。同様に、クレード2も2つのサブクレード3と4で構成されていた。そのうち、サブクレード3は、ハワイ産で翅多型の有無については不明なハダカアリで構成されていた。もう一方のサブクレード4は、マレーシア産の翅多型グループ(長翅オスと無翅オス)で構成されていた。つまり、翅多型グループ(長翅オスと無翅オス)は、クレード1と2のそれぞれでサブクレード2と4を構成することになる。さらに、翅単型グループは、翅多型グループとは別のサブサブクレード2を形成し、翅単型グループと翅多型グループが、遺伝的には別のグループに属することが示唆されている。

さて、ハダカアリの翅単型グループ(無翅オスのみ)は、日本では、本州、四国、九州、沖縄本島、小笠原諸島で分布が知られており、海外では、ハワイでもその分布が知られている(寺山ら 1992、Heinze et al. 2013)。しかし、ハダカアリの翅単型グループに関する分子系統解析の研究は、先に示したYamauchi et al. (2005)のみであり、その研究でも、翅単型グループで解析に加えられたのは、沖縄本島産の2サンプルのみであった(図2)。そのため、沖縄本島以外の地域に分布するハダカアリの翅単型グループが、ハダカアリの系統においてどのような位置を占めるのかは明らかになっていない。さらに、*C. kagutsuchi*は石垣島で採集されたオスに翅多型(長翅オスと無翅オス)が見られるアリをタイプ標本とした種であるが(Terayama 1999)、石垣島の翅多型グループも含めた分子系統解析は、これまでに行われていない。つまり、沖縄本島以外の地域に分布するハダカアリの翅単型グループと、石垣島の翅多型グループを含めたハダカアリの分子系統解析は、これまでに行われていないのである。

一方、ハダカアリ属のなかの、オスアリに有翅と無翅の翅多型が見られる *C. wroughtonii*, *C. obscurior*, *C. minitior*, *C. emeryi* の4種は、いずれも多女王制で (Oettler et al. 2010) あり、無翅オスは互いに攻撃的であり、最後の一匹になるまでコロニー内で闘うことが報告されている (Boomsma et al. 2005)。また、ハダカアリ属のなかの、オスアリが無翅のみの翅単型の種では、単女王制・多女王制のいずれでも、巢内に複数の無翅オスが見られることが知られている。この翅単型の種のうち、単女王制の *C. elegans* と *C. batesii* の2種では、コロニー内に複数の非攻撃的な無翅オスが見られ (Schrempf et al. 2005, Lenoir et al. 2007)、多女王制の種 *C. mauritanica* では、無翅オスは、相手の無翅オスが羽化後間もないうちにしか攻撃しないため、しばしばコロニー内に、オス同士の攻撃から逃れて成熟した複数の無翅オスが共存していることが知られている (Boomsma et al. 2005)。このようにハダカアリ属では、オスに翅多型が見られる種では、無翅オスは互いに致死的な闘いを行うため、各コロニーに1匹のみしか見られない。一方、翅単型の種では、無翅オスは、翅多型の種の無翅オスと比較すると攻撃性は低いか全く攻撃性が見られない程度であるため、各コロニーに複数の無翅オスが見られることが知られている。しかしながら、ハダカアリについては、翅多型および翅単型のそれぞれについて、コロニー内の無翅オスの個体数については調査されてこなかった。

そこで本章では、まず、(1) ハダカアリの翅多型グループと翅単型グループについて、mtDNAの分子系統関係を明らかにした。解析した塩基配列は、翅多型グループは、GenBankに既に登録されている東南アジア産ハダカアリの塩基配列と、今回調べた日本の石垣島産ハダカアリの塩基配列である。また、翅単型グループは、日本の本州、四国、九州、沖縄本島、石垣島、西表島産ハダカアリの塩基配列である。分子系統解析では、特に、ハダカアリの翅多型グループと翅単型グループが、系統上、どのような関係にあるのかに注目した。そして、ハダカアリの翅多型がどのように進化したのかにつ

いて考察した。また、ハダカアリ属では、一般的に、「オスアリに翅多型が見られる種は多女王でありコロニー内の無翅オスは1匹である」という関係と、その反対の「オスアリが翅単型の種はコロニー内の無翅オスは複数である」という関係が認められている。そこで、(2)採集したコロニーのメス生殖虫(メスアリ)の個体数や、有翅オスと無翅オスの個体数を調べ、このような関係性がハダカアリにも当てはまるのかどうか調査した。同時に、ハダカアリの翅多型グループと翅単型グループのそれぞれについて、無翅オスの攻撃性の有無やその程度について評価した。

2 材料と方法

2-1 採集

ハダカアリは、東南アジアを中心に、日本を含めた東アジアや太平洋の島々に広く分布している(寺山ら 1992、Seifert 2003、AntWeb)。日本では、神奈川県から西の本州、四国、九州、琉球列島、小笠原諸島で分布が確認されている(Japanese Ant Image Database Group、以下、JADGとする 2008、図3)。ハダカアリの営巣場所は、草木が生えていないか、生えていてもまばらな裸地だとされる(JADG 2008)。一方で、林や森の中には営巣しないことが報告されている(進藤 1980、吉澤 2011)。また、小笠原諸島の父島を調査した進藤(1980)や、伊豆半島を調査した久保田(1988)の報告によれば、裸地のなかでも海岸沿いに多く見られるという。そこで、2006年9月から2014年11月にかけて、神奈川県から西の本州、四国、九州、沖縄本島、石垣島、西表島の海岸沿い(図4)の裸地において、ハダカアリを採集した。また、Heinze et al. (2006)によれば、ハダカアリは、人為的な攪乱地にも侵入する放浪種であるという。そこで、海岸以外には、公園の花壇やショッピングセンターの駐車場などの人為的な攪乱地でも採集を行った。採集では、地上を歩行する働きアリを探し、それを追跡してコロニーの入り口を探した。見つけたコロニーが土中にあった場合には、スコップを使ってコロニーを注意

深く掘り、コロニー全体を採集した(図5)。コロニーが岩の割れ目などに存在してコロニー全体を採集することが困難な場合には(図4)、それぞれのコロニーの入り口から出巣してきた働きアリを少なくとも10個体以上採集し、それらを同一コロニー由来の個体として扱った。採集した働きアリは、分子系統解析および第3章で記載する外部形態の調査に用いた。一方、巣の入り口が見つからなかった場合には、その地点を歩行していた働きアリを採集し、分子系統解析に用いた。また、採集地点周辺の緯度経度は、Google Earthを使って確認し、記録をした。そして、それぞれの緯度経度を、Geocoding and Mapping(<http://ktgis.net/gcode/index.php>)を使って、地図上に落とした。

採集の結果、17県109地点からハダカアリを採集することができた(表1、図6)。このうち、コロニーを採集できたのは67地点(表1)で、合計で78コロニーを採集した。これら78コロニーのうち、温帯地域に含まれる本州、四国、九州では、36地点で38コロニーを採集した。なお、表1で示した採集地番号19と29では、それぞれ2コロニーを採集したが、それ以外の地点では1地点あたり1コロニーを採集した。また、亜熱帯地域の沖縄本島では、13地点で14コロニーを採集した。なお、採集地番号80では2コロニーを採集した。同様に、亜熱帯地域の石垣島・西表島の18地点では、26コロニーを採集した。なお、採集地番号94では9コロニーを採集した。一方、歩行する働きアリは採集できたが、コロニーの入り口を見つけられず、コロニーの採集はできなかつた地点が42地点(表1)あった。その42地点の内訳は、温帯地域の本州、四国、九州では37地点、亜熱帯地域の沖縄本島では1地点、亜熱帯地域の石垣島・西表島では4地点であった。採集したコロニーに生殖虫(有翅オス、無翅オス、有翅メス、無翅メス)が含まれていた場合には、生殖虫別に個体数を計測した。採集個体は99%エタノールで保存するか、一部のコロニーについては持ち帰って室内で飼育した。78コロニーについては、各コロニーから1

個体の働きアリを分子系統解析に使用した。一方、コロニーを採集できなかった42地点の個体については、各地点につき働きアリ1個体を分子系統解析に使用した。

2-2 分子系統解析

分子系統解析には、Heinze et al. (2005)を参考に、mtDNAのCO I / II 領域の一部の塩基配列 (829bp) を使用した。1個体ごとに、Cheung et al. (1993)の方法でDNAを抽出し、抽出したDNAはオートクレーブした蒸留水 (DW²) に溶解し、-20°Cで保存した。CO I / CO II 領域を増幅するプライマーは、フォワードプライマーに C1-J-2195 を、リバースプライマーに C2-N-3661 (Simon et al. 1994) を使用した (Heinze et al. 2005)。PCR反応はThermal Cycler (Dice ver. III TP600、TaKaRa、Otsu, Shiga, Japan) を用いて、次の反応液中で行った。DNAを溶解したDW²を2 μ l、フォワードとリバースプライマーをそれぞれ0.55 μ M、*Ex Taq* Hot Start Version (TaKaRa)を0.65 U、10 \times PCR Buffer (100 mM Tris-HCl, pH 8.3, 500 mM KCl, 15 mM MgCl₂)、dNTPをそれぞれの塩基につき0.25 mMを反応液に加えた。反応サイクルは、95°Cで4分間の熱変性を1回行った後、95°Cで1分間の熱変性、59°Cで1分間アニーリング、72°Cで2分間の伸張反応を34サイクルとした。増幅産物は、PCR Purification Kit (Qiagen, Hilden, Germany) を用いて精製したのち、BigDyeTM Terminator v 3.1 Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA) とプライマー C1-J-2195 (Simon et al. 1994) 及び、C1-J-2195 とC2-N-3661の間に設計した3Fプライマー [5'-CCTTTAATTAGAGGATACAC-3'、静岡県農林技術研究所の貫井秀樹博士が設計] を用いてシーケンス反応を行った。シーケンス反応は、Thermal Cycler (Dice ver. III TP600、TaKaRa) を用いて、96°Cで1分間の熱変性の後に、96°Cで10秒の熱変性、50°Cで5秒アニーリング、60°Cで4分間の伸張反応を25サイクルとし、反応後は4°Cで冷却した。シーケンス反応後の反応液から、増幅産物をエタノール沈

殿で回収し、それにHiDiを10 μ l 加え、ABI PRISM 3100 (Applied Biosystems)によって塩基配列を解読した。

今回のシーケンス実験の結果、67地点で採集した78個のコロニーから1つずつの塩基配列が得られた。一方、コロニーが採集できなかつた42地点うち、13地点で採集した個体から、各地点につき1つずつの塩基配列を得ることができた。しかし、残りの29地点については、採集したサンプルが少なく、DNAの抽出に失敗して再抽出をしているうちにサンプルを使い果たしてしまったため、塩基配列データを得ることができなかった。その結果、合計80地点で採集した91個体のハダカアリ *C. kagutsuchi* から塩基配列が得られた。この91個の塩基配列の他に、GenBank から得られた次の26個の塩基配列 (Heinze et al. 2005)も解析に加えた (accession 番号: AY754686、DQ023061、DQ023064、DQ023068、DQ023071、DQ023080、DQ023081、DQ023082、DQ023083、DQ023084、DQ023085、DQ023086、DQ023087、DQ023088、DQ023089、DQ023091、DQ023094、DQ023095、DQ023096、DQ023102、DQ023105、DQ023107、DQ023108、DQ023109、DQ023113、DQ023118)。これら26の塩基配列のうちの9つの塩基配列は、日本の沖縄本島、ハワイ、インドネシア、マレーシア産のハダカアリ *C. kagutsuchi* のものであり、15の塩基配列は、ハダカアリ属の他種 (*Cardiocondyla atalanta*、*C. batesii*、*C. bulgarica*、*C. elegans*、*C. koshewnikovi*、*C. mauritanica*、*C. minutior*、*C. nigra*、*C. obscurior*、*C. parvinoda*、*C. stambuloffi*、*C. strigifrons*、*C. tjibodana*、*C. ulianini* and *C. wroughtonii*) の塩基配列であった。また、残りの2つの塩基配列は、Heinze et al. (2005) と Moreau et al. (2006) を参考にして外群として取り入れた他属のアリ2種 (*Monomorium pharaonis*、*Harpagoxenus sublaevis*) のものであった。

分子系統解析は、MEGA5.2 (Tamura et al. 2011) でアラインメントした塩基配列に対して、近隣結合法、最尤法及びベイズ法によって行った。近隣結合法では、Heinze et al. (2005) を参考に Kimura2-parameter distance method (Kimura 1980) を用

いた。最尤法では、バイズ情報量基準をもとに最適と判定されたGTR+I+Gのモデルを使用した。近隣結合法と最尤法での分子系統解析はMEGA5.2により行い、ブーツストラップ系統樹を5000回作成して得られたブーツストラップ値により得られた系統樹の評価を行った。また、バイズ法では、Mrmodeltest 2.3 (Nylander 2004) によって赤池情報量基準をもとに選択されたGTR+I+Gのモデルを使用し、MrBayes ver. 3.2.2 (Ronquist et al. 2012) を用いて系統樹を作成した。4つのマルコフ連鎖からなるマルコフ連鎖モンテカルロ法による繰り返しを1,000,000世代実行した。100世代ごとに系統樹をサンプリングし、得られた全系統樹のうち後半の75%の系統樹(7,500個)を用いて、コンセンサス系統樹を一つ得て、事後確率を求めた。

2-3 分岐年代の推定

分子系統解析で推定されたハダカアリの系統の各分岐年代の推定にはMEGA5.2を用いた。MEGA5.2は、近隣結合法で推定された系統樹における各分岐年代を、こちらが指定したmtDNAの塩基置換速度をもとに計算してくれる。そこで、MEGA5.2によってハダカアリの近隣結合法による系統樹の各分岐年代を推定した。mtDNAの塩基置換速度は、対象とする分類群やmtDNAの領域によって異なることが知られているが(DeSalle et al. 1987, Brower 1994, Papadopoulou et al. 2010)、アリ科を含めた膜翅目では調べられていない。そこで、mtDNAの分子系統解析から分岐年代を推定した近年の研究の中から、膜翅目を扱った研究を探したところ、Menezes et al.(2015)と、Eguchi et al.(2016)が見つかった。前者は、スズメバチ科の*Synoeca*属を、後者は、アリ科の*Pheidole*属を扱った研究である。いずれの研究でも、Brower(1994)が示した塩基置換速度を分岐年代の推定で採用していた。Brower(1994)は、節足動物の5つの目(ハエ目、カメムシ目、バッタ目、コウチュウ目、10脚目)のmtDNAのCOI領域や12SrRNAなどの領域を含む塩基置換速度をもとに、mtDNAでは、100万年で1.1%か

ら1.2%の塩基置換が生じるとした。そこで、ハダカアリ属のmtDNAのCOI/II領域においても、100万年で1.1%から1.2%の塩基置換が生じると仮定して、分岐年代を推定した。

3 結果

3-1 分子系統解析から推定されたハダカアリの系統

ハダカアリから、7つのmtDNAのハプロタイプ(A、B、C、D、E、F、G)が検出された(図7と8)。このうち、日本産ハダカアリから今回のシーケンス実験で検出されたハプロタイプは4つであった(ハプロタイプA、B、D、G:図7と8)。この4つのハプロタイプのGenBankにおけるAccession 番号は、ハプロタイプA、B、D、Gの順に、AB723724、AB723726、AB723727、AB723725である。これら4つのハプロタイプ間の塩基置換率(表2)は、ハプロタイプAとBの間は0.2%、AとDの間は1.2%、AとGの間は3.9%、BとDの間は1.2%、BとGの間は3.6%、DとGの間は3.9%であった。また、ハダカアリ属の最も近縁な2種は、*C. obscurior* と *C. wroughtonii*であったが(図7と8)、この2種間の塩基置換率は0.6%であった。

分子系統解析の結果、ハダカアリの系統は、近隣結合法、最尤法、ベイズ法のいずれの推定方法でも、クレード1とクレード2に分かれた。このうちクレード1は、さらにサブクレード1と2に分かれた(図7と8)。また、クレード2には、別種の*C. strigifrons*のハプロタイプが含まれ、近隣結合法および最尤法による推定では、日本産のハプロタイプGともっとも近縁であった(図7)。

3-2 日本産の各ハプロタイプの分布

ハプロタイプAは日本の本州、四国、九州、沖縄本島、石垣島、西表島に分布しており(図9-1)、ハプロタイプBは、沖縄本島、石垣島、西表島に(図9-2)、ハプロタイ

プロDは石垣島のみ(図9-3)、そして、ハプロタイプGは本州、四国、九州、沖縄本島、石垣島、西表島に分布していた(図9-4)。このうち、採集地番号29の静岡県浜松市(雄踏)では、ハプロタイプAとGの両方が分布しており、また、採集地番号94の沖縄県石垣市(高田植物園)では、ハプロタイプDとGの両方が分布していた。

3-3 日本産の各ハプロタイプの翅多型の有無と生殖虫の個体数

採集をしたハダカアリの78コロニーのうち、生殖虫(有翅オス、無翅オス、有翅メス、無翅メス)は25コロニーから採取された(表3)。そのうち、7コロニーはハプロタイプA、1コロニーがハプロタイプB、8コロニーがハプロタイプD、9コロニーがハプロタイプGであった。ハプロタイプAとハプロタイプGの約半数のコロニー(ハプロタイプA:5/7、ハプロタイプG:6/9)が、2個体以上の脱翅したメスアリ(無翅メス)を含んでおり、約半数のコロニー(ハプロタイプA:3/7、ハプロタイプG:4/9)が、2個体以上の無翅オスを含んでいた。また、ハプロタイプAとハプロタイプGでは、有翅オスは認められなかった。一方、ハプロタイプDでは、1コロニーが13個体の脱翅したメスアリ(無翅メス)を含んでいた。また、6コロニーが1または2個体の有翅オスを含んでいた。さらに、2コロニーに無翅オスが見られたが、いずれも1個体ずつであった。この無翅オスが見られた2コロニーには、有翅オスも含まれていた。また、ハプロタイプBの1コロニーでは、1個体の脱翅したメスアリ(無翅メス)と、2個体の無翅オスが含まれていた(表3)。以上をまとめると、オスに翅多型が見られたのは、ハプロタイプDのみであり、他のハプロタイプA、B、Gは、無翅オスのみが見られ、翅単型であった。また、オスが翅単型であったハプロタイプA、B、Gからは、同一コロニー内に2個体以上の無翅オスが検出された。さらに、ハプロタイプA、D、Gからは、同一コロニー内に2個体以上の脱翅したメスアリ(無翅メス)が検出された(表3)。

3-4 ハダカアリの系統とオスの翅多型の関係

ハダカアリの翅単型グループと翅多型グループが、ハダカアリの系統でどの位置を占めているかを図7と8に示した。まず、翅単型グループは、クレード1とクレード2のいずれにも見られた。このうち、クレード1では、サブクレード1の中の2つのハプロタイプAとBが翅単型グループであった。また、クレード2では、ハプロタイプGが翅単型グループであった。一方、翅多型グループ(長翅オスと無翅オス)も、クレード1とクレード2のいずれにも見られた。このうちクレード1では、サブクレード2を構成するハプロタイプDとEが翅多型グループ(長翅オスと無翅オス)であった。また、クレード2では、ハプロタイプFが翅多型グループ(長翅オスと無翅オス)であった。また、翅多型グループ(短翅オスと無翅オス)は、クレード1のサブクレード1のハプロタイプCが翅多型グループ(短翅オスと無翅オス)であった。

3-5 ハダカアリの系統における分岐年代の推定

ハダカアリの系統(図7と8)の分岐年代を、分岐の古い順に推定した。なお、各分岐年代が、どの年代区分にあたるかの定義は、古川・藤谷(2014)を参照した。まず、最初の分岐であるクレード1とクレード2の分岐の年代は、今から165万年前から180万年前の更新世前期と推定された。また、次の分岐であるクレード2のハプロタイプFとGの分岐の年代は、今から128万年前から139万年前の更新世前期と推定された。また、次の分岐である、クレード1の中の、サブクレード1とサブクレード2の分岐の年代は、今から54万年前から59万年前の更新世中期と推定された。さらに、次の分岐である、サブクレード1の中の、ハプロタイプAとBからハプロタイプCが分岐した年代は、今から10万年前から11万年前の更新世の後期であると推定された。さらに、ハプロタイプAとハプロタイプBが分岐した年代も、今から10万年前から11万年前の更新世の後期であると推定された。さらに、ハプロタイプDからハプロタイプEが分岐した年代も、今から10万年前から11万年前の更新世の後期であると推定された。

4 考察

4-1 コロニー内の生殖虫の構成と無翅オスの攻撃性

アリ科を含む膜翅目昆虫では、性選択のひとつである、メスによるオスの選り好みという交尾前選択が起こらないとされており(Boomsma et al. 2005)、一般的に交尾を有利にするようなオスの形態進化が見られない(Boomsma et al. 2005)。しかし、ハダカアリ属の無翅オスは発達した大あごをもち、巣内に無翅オスが1匹になるまで互いに殺しあい、未交尾のメスアリとの交尾の機会を独占する種が存在することが知られている(Kinomura & Yamauchi 1987、Stuart et al. 1987、Yamauchi & Kawase 1992、山内・木野村1993、Heinze et al. 1998)。そのため、Boomsma et al. (2005)はハダカアリ属が先の法則に則らない唯一の例外であると解説している。ハダカアリ属では、オスアリに翅多型が見られる種の*C. wroughtonii*、*C. obscurior*、*C. minitior*、*C. emeryi* の4種は、いずれも多女王制であり、無翅オスは巣内に1匹になるまで致死的な闘争を行う。一方、オスアリに翅多型が見られない無翅オスのみの翅単型の種においては、多女王制の*C. mauritanica*では、無翅オスは相手が羽化直後の幼弱な期間にだけ攻撃を行い、巣内に複数の無翅オスが見られる。また、単女王制の*C. elegans*と *C. batesii*では、無翅オスは互いに非攻撃的であり、巣内に複数の無翅オスが見られる(Boomsma et al. 2005、Schrempf et al. 2005、Lenoir et al. 2007) (表4)。ここで、オス翅多型をMWP (Male Wing Polymorphism)、オス翅単型をMWM (Male Wing Monomorphism)としよう。コロニー内の無翅オスは1匹という形質をSAM (Single Apterous Male)、無翅オスは複数という形質をMAM (Multiple Apterous Male)としよう。また、多女王制をMQ (Multiple Queen)とし、単女王をSQ (Single Queen)としよう。ハダカアリ属においては、「MWP=SAM=MQ」「MWM=MAM=MQ/SQ」という大きな2つの傾向があると推察できそうである。そして、この2つのいずれでも、コロニー内の無翅オスの個体数は、無翅オスの攻

撃性の有無や程度によって決まっていると推察できるであろう。本研究で明らかになった日本産ハダカアリの4ハプロタイプ(A、B、D、G)のうち、オスアリに翅多型が見られたのはハプロタイプDのみである。このハプロタイプでは1コロニーあたり複数のメスアリが採集されたが、1コロニーあたりで採集された無翅オスは1個体のみであった(表3)。すなわち、ハプロタイプDにおいても、「MWP=SAM=MQ」という関係が当てはまる可能性が高いと考えられる。したがって、このハプロタイプでは、*C. wroughtonii*、*C. obscurior*、*C. minitior*、*C. emeryi* のように、巣内の無翅オスは互いに致死的な戦いを行うと予想される(表4)。一方、ハプロタイプA、B、Gからは無翅オスのみしか見られず、翅単型であったが、これらの3ハプロタイプからは、同一巣内に複数の無翅オスが観察された。すなわち、ハプロタイプA、B、Gには、「MWM=MAM= MQ/SQ」という関係が当てはまると考えられる。さらに、ハプロタイプAとGからは、コロニー内に複数のメスアリが見つかっており、多女王制である可能性が高い。以上のことから、ハプロタイプAとGは、*C. mauritanica*と同様に、「オス翅単型」であり、「コロニー内の無翅オスは複数」であることから「MWM=MAM= MQ/SQ」である可能性が高いと推察される。したがって、ハプロタイプAとGの無翅オスは、*C. mauritanica*のように相手の無翅オスが羽化直後の幼弱な期間だけ攻撃を行うと推察される(表4)。

4-2 分子系統解析から見たハダカアリの翅多型の進化

mtDNAのCOI/II領域の塩基配列(829bp)の分子系統解析の結果、ハダカアリの系統はクレード1とクレード2に分かれ、2つにわかれたクレードのそれぞれにおいて、翅多型グループ(長翅オスと無翅オス)のハプロタイプと、翅単型グループ(無翅オスのみ)のハプロタイプがみられた。つまり、両クレードにおいて、翅多型から翅単型への進化、または、翅単型から翅多型への進化が独立に起こった可能性が考えられる。これまで、ハダカアリ属の翅多型の進化について扱った研究は2つ認められる。Heinze et al.

(2005) は、オスアリの翅多型の形態が分かっているハダカアリ属13種について、mtDNAの分子系統解析を行い、(1)ハダカアリ属の系統の基部、すなわち、ハダカアリ属の祖先種には、有翅オスと無翅オスの両方が見られ、(2)その後、ハダカアリ属の一部の分類群は有翅オスを失った、という結果を報告している。また、ハダカアリ属21種についての核DNAの分子系統解析から、オスアリの翅多型の進化を調べたOettler et al.(2010)は、Heizne et al. (2005)の(1)と(2)の結論を支持しつつも、(3)ハダカアリとその近縁種(*C. mauritanica*や*C. atalanta*) (図7と8)の共通の祖先種においては、オスアリは無翅のみであり、(4)その後、ハダカアリ*C. kagutsuchi*の一部の集団については、有翅オスの形質を再び獲得した、としている。Oettler et al. (2010) は失った有翅オスの形質を再獲得した、という点で新奇である。以上の(1)から(4)の結果に従って本研究結果を見てみると、ハダカアリの翅多型については次のように進化のシナリオが考えられる。すなわち、(A)ハダカアリ*C. kagutsuchi*の系統の基部では、無翅オスの翅単型であった。(B)今から165万年前から180万年前に、クレード1とクレード2に分岐した。(C)クレード1では、今から54万年前から59万年前に、サブクレード1とサブクレード2に分岐し、サブクレード2は有翅オス(長翅)を再獲得して翅多型(長翅・無翅)となった。(D)一方、クレード2では、今から128万年前から139万年前に、ハプロタイプFとGに分岐し、ハプロタイプFは有翅オス(長翅)を再獲得し翅多型(長翅・無翅)となった。(E)さらに、サブクレード1は、今から10万年前から11万年前に、ハプロタイプCが有翅オス(短翅)を再獲得し翅多型(短翅・無翅)となったと推論される。

4-3 塩基置換率の大きさからみた日本産ハダカアリの種内分化

シーケンス実験の結果、日本産ハダカアリは4つのハプロタイプ(A、B、D、G)に分かれた(図7と8)。ハプロタイプ間の塩基置換率の大きさを遺伝的な距離の大きさと同義とすると、これら4ハプロタイプ(A、B、D、G)のなかで、ハプロタイプGが、残りの3

つのハプロタイプA、B、Dとの遺伝的な距離が最も大きく(GとA:3.9%、GとB:3.6%、GとD:3.9%;表2)、このハプロタイプGとハプロタイプA、B、Dとの遺伝的な距離の大きさは、ハダカアリ属の最も近縁な2種(図7と8)である*C. obscurior* と *C. wroughtonii* (塩基置換率0.6%)の遺伝的な距離よりも大きかった。また、残りの3つのハプロタイプ(A、B、D)の中では、ハプロタイプDが、残りの2つのハプロタイプA、Bとの遺伝的な距離が最も大きく(DとA:1.2%、DとB:1.2%;表2)、このハプロタイプDとハプロタイプA、Bとの遺伝的な距離の大きさは、*C. obscurior* と *C. wroughtonii* (塩基置換率0.6%)の遺伝的な距離よりも大きかった。一方、ハプロタイプAとBは、日本産の4つのハプロタイプの中で、最も遺伝的な距離が小さく(AとB:0.2%、表2)、ハプロタイプAとBの遺伝的な距離の大きさは、*C. obscurior* と *C. wroughtonii* (塩基置換率0.6%)の遺伝的な距離よりも小さかった。ハダカアリ属の最も近縁な2種である*C. obscurior* と *C. wroughtonii* の間の遺伝的な距離の大きさを、ハダカアリの種内分化の基準とするならば、日本産ハダカアリは、ハプロタイプAとB、ハプロタイプD、ハプロタイプGの3つのグループに分化していると考えられた。

第3章 働きアリの形態におけるハダカアリの種内分化

1 はじめに

第2章ではmtDNAのシーケンス実験の結果を報告し、ハダカアリ *Cardiocondyla kagutsuchi*からは7つのハプロタイプ(AからG)が検出された(図7と8)ことを報告した。このうち、日本産からは、4つのハプロタイプ(A、B、D、G)が検出されたことを報告した。第3章では、日本産ハダカアリの種内分化について、働きアリの外部形態の調査結果から報告する。具体的には、mtDNAのシーケンス実験によって、4ハプロタイプ(A、B、D、G)のいずれかに属するかすでに分かっている働きアリ395個体について、頭部の長さや頭部の幅など6形質のサイズを測った。そして、それぞれの働きアリが、それぞれの外部形態データによって、4ハプロタイプのどれに属するのか正しく識別できるかどうかを、線形判別分析を用いて解析した。

2 材料と方法

第2章の分子系統解析により、日本産のハダカアリ78コロニー(表1)と山内克典博士が沖縄本島の安田で採集した1コロニー(Heinze et al. 2005)は4ハプロタイプ(A、B、D及びG)に分かれることが明らかとなった(図7と8)。そこで、これらのハプロタイプ間の外部形態差について調査を行った。系統解析に用いたハダカアリ79コロニーから、各5個体の働きア리를任意に選び出した。ハプロタイプAは32地点33コロニー165個体(図9-1、採集地番号19は2コロニー)、ハプロタイプBは14地点15コロニー75個体(図9-2、採集地番号80は2コロニー)、ハプロタイプDは3地点10コロニー50個体(図9-3、採集地番号94は8コロニー)、ハプロタイプGは21地点21コロニー105個体を使用した(図9-4)。同様の調査は、ハダカアリのパラタイプ標本($n=4$)でも行った。このパラタイ

標本は、Terayama (1999) が *C. kagutsuchi* を記載した際にパラタイプに指定した石垣島産の働きアリの標本を使用した。

働きアリの外部形態の計測は、デジタルカメラ (DP21、Olympus) を搭載した双眼実体顕微鏡 (SZX7、Olympus) と画像処理ソフト (cellSens Standard、Olympus) により行った。一部の個体では、走査型電子顕微鏡 (SEM; JSM-6610LA、JEOL) による撮影も行った。Seifert (2003) を参考に、図10に示した外部形質の6形質を計測した。各測定箇所の説明は、Seifert (2003) のものを一部改変したものである。

1. 頭長 [Head length (HL)]: 頭部の長さ。
2. 頭幅 [Head width (HW)]: 頭部の幅。
3. 後胸溝の深さ [Metanotal groove (MGr)]: 前中胸背板と前伸腹節背板に接線を引き、その線から後胸背板溝に下ろした垂線の長さ。
4. 前伸腹節刺の高さ [Spine height (SpH)]: 前伸腹節背板と前伸腹節刺の先端に接線 (接線) を引き、この接線からの前伸腹節背面までの距離。
5. 腹柄節の長さ [Petiole length (PeL)]: 横から見た腹柄節の長さ。腹柄節前方の下部突起から、腹柄節後方上部の端までの対角線の長さ。
6. 腹柄節の高さ [Petiole height (PeH)]: 横から見た腹柄節の節部の高さ。

得られた6形質のデータを独立変数とし、各ハプロタイプを説明変数として、線形判別分析を行った。判別に用いた変数の選択は、ステップワイズ法に基づき、各ステップで全体の Wilks の λ を最小化する変数を選択していくこととし、投入のためのF値の有意確率の最大値を0.05、削除するための最小値を 0.10 に設定した。さらに、得られた判別関数でハプロタイプ間の識別が可能であった場合には、これらの判別関数を用いてハダカアリのパラタイプ標本 ($n=4$) がどのハプロタイプに属するかを予想した。これらの判別分析は、SPSS v. 22 (IBM) を用いて行った。

第2章の分子系統解析の結果(図7と8)、ハダカアリのハプロタイプGは、遺伝的に *C. strigifrons* と近縁であることが明らかとなった。そこで、ハプロタイプGと *C. strigifrons* の外部形態の比較を行った。Seifert (2003)は、*C. strigifrons*の働きアリは、頭幅(HW)に対する頭長(HL)の割合(HL/HW)が、ハダカアリの働きアリよりも大きいことを報告している。そこで、頭幅(HW)に対する頭長(HL)の割合(HL/HW)について、外部形態の調査に使用したハプロタイプGの働きアリ($n=105$)と、系統解析(図7と8)に使用した *C. strigifrons* の1コロニーから任意に選んだ5個体の働きアリを比較し、t-testを用いて両者の違いを検定した。

3 結果

外部形態の測定結果を表5に示した。線形判別分析において、ステップワイズ法により投入された変数は、投入された順にSpH、PeH、PeL、MGrであり、全体のWilksの λ は0.169であり、投入された各変数は判別に対して統計的に有意な効果を示した($F_{12, 1026.843} = 81.990, p < 0.001$)。判別分析による各個体の正判別率は、ハプロタイプAが42.4%、ハプロタイプBが40.0%、ハプロタイプDが90.0%、ハプロタイプGが97.1%であった(表6)。この結果から、ハプロタイプDとGはそれぞれ90.0%と97.1%の確率で正しく判別できるが、ハプロタイプAとBの間の識別はそれぞれ50%以下であり、正しく判別されないことが明らかとなった。これらの解析から、ハプロタイプ間を統計的に有意に識別する2つの判別関数が得られた。第1判別式(Wilks' $\lambda = 0.169, d. f. = 12, \chi^2 = 693.403, p < 0.001$)は、 $0.401 \times \text{SpH} + 0.175 \times \text{MGr} + 0.104 \times \text{PeH} - 0.062 \times \text{PeL} - 1.73$ であった。第2判別式(Wilks' $\lambda = 0.547, d. f. = 6, \chi^2 = 235.304, p < 0.001$)は、 $0.211 \times \text{SpH} + 0.080 \times \text{MGr} - 0.207 \times \text{PeH} + 0.086 \times \text{PeL} + 4.238$ であった。第1判別式で全体の分散の73.1%を説明し、第2判別式で26.6%を説明していた。判別スコアの平均値(表7)から、第1判別関数は、判別スコアの平均値が正の値(2.495 ± 0.105 、平均

値±標準誤差)であるハプロタイプGを、判別スコアの平均値が負の値であるハプロタイプA、B、D(それぞれ、 -0.924 ± 0.080 、 -0.924 ± 0.111 、 -0.543 ± 0.108)から区別する軸であった。また、第2判別関数は、判別スコアの平均値が正の値(2.165 ± 0.117)であるハプロタイプDを、判別スコアの平均値が負の値である系統AとBとG(それぞれ -0.572 ± 0.072 、 -0.657 ± 0.124 、 -0.294 ± 0.109)とから区別する軸であった。この2つの判別関数によって得られた各個体の判別スコアを図11に示した。その結果、ハプロタイプAとBからなる第1グループ、ハプロタイプDからなる第2グループ、そしてハプロタイプGからなる第3グループに分けられることが明らかとなった。では、これら3つのグループは、外部形態にどのような特徴があるのだろうか。標準化された判別関数の係数(表8)は、他の変数(形質)の影響を取り除いたとき、それぞれの独立変数(形質)が従属変数(ハプロタイプの判別)に及ぼしている影響の大きさと向きを示している(古谷野 1988)。今回の2つの判別関数は、関数1がハプロタイプGを他のハプロタイプから区別し、その判別スコアは正の値(+)であった。また、関数2はハプロタイプDを他のハプロタイプから区別し、その判別スコアは正の値(+)であった(表7)。各形質の標準化判別係数を検討すると(表8)、関数1では、係数の大きな順に、PeHが0.852、SpHが0.806、MGrが0.425、PeLが -0.970 であった。関数1は、ハプロタイプG(+)を他のハプロタイプ(-)から区別する軸であったので、ハプロタイプGは、PeLのサイズが小さく、PeH、SpH、MGrのサイズが大きいことが特徴であると考えられた。一方、関数2は、ハプロタイプD(+)を他のハプロタイプ(-)から区別する軸であったので、ハプロタイプDは、PeHのサイズが小さく、PeLやSpHのサイズが大きいことが特徴であると考えられた。また、得られた判別関数を用いて、ハダカアリのパラタイプ($n=4$)の4ハプロタイプに対する帰属性を判定した。その結果、4個体全てが90%以上の確率でハプロタイプDに属すると判定された(96.3%、93.5%、91.1%、99.6%)。

ハダカアリのハプロタイプGと、その近縁種の*C. strigifrons*(図7と8)の頭部の外部形態を比較した。その結果、ハプロタイプGの働きアリ($n=105$)のHL/HW値は $1.175 \pm 0.002 \mu\text{m}$ であり、*C. strigifrons*の働きアリ($n=5$)の値($1.274 \pm 0.010 \mu\text{m}$)との間に統計的に有意な差が認められた($t_{\text{cal}}=-10.13$, d. f. =108, $p<0.001$)。

4 考察

本章では、働きアリの外部形態の計測から、日本産ハダカアリの4ハプロタイプ(A、B、D、G)を、判別分析によって判別が可能であるかを解析した。その結果、日本産ハダカアリのハプロタイプの中で、最初に他の3ハプロタイプの系統と分岐をしたハプロタイプG(図7と8)は、判別分析において高い判別率(97.1%)で他の3つのハプロタイプから区別された。また、残りの3ハプロタイプ(A、B、D)の中で、他の2ハプロタイプと最初に分岐をしたハプロタイプD(図7と8)も、高い判別率(90.0%)で他のハプロタイプから区別された。一方、4ハプロタイプの中で、最も遅く分岐をしたハプロタイプAとBは、外部形態によって区別することができなかった。すなわち、日本産ハダカアリは、外部形態では、3グループ(ハプロタイプA+B、ハプロタイプC、ハプロタイプD)に分化していることが明らかになった。

*Cardiocondyla kagutsuchi*は、もともとはTerayama(1999)によって、石垣島の於茂登岳から採集されたアリにつけられた学名である。このアリのコロニーからは、有翅オスと無翅オスの両方が見ついている(Terayama 1999)。今回、ハプロタイプDの全てのコロニーは石垣島で採集されたものであり(図9-3)、第2章で行った調査により、これらのコロニーからは有翅オスと無翅オスの両方が検出された(表3)。一方、他のハプロタイプのコロニーは石垣島以外からも見つかり(図9-1、9-2、9-4)、オスアリについては無翅オスしか検出されなかった(表3)。さらに、判別分析により、*C. kagutsuchi*の働きアリのパラタイプ標本($n=4$)は、高い確率(96.3%、93.5%、91.1%、

99.6%)でハプロタイプDに属すると判定された。このように、ハプロタイプDのアリと Terayama (1999) が報告した *Cardiocondyla kagutsuchi* は、(1) 分布が一致し、(2) オスアリに翅多型が見られる点が一致し、(3) 働きアリの外部形態が同じグループと判定されたことから、ハプロタイプDは Terayama (1999) が報告した *Cardiocondyla kagutsuchi* であると考えられる。一方、ハプロタイプGは、遺伝的に近縁であった *C. strigifrons* (図7と8) との間に、働きアリの頭部の形において、違いが認められた。この結果は、*C. strigifrons* の働きアリは、頭幅 (HW) に対する頭長 (HL) の割合 (HL/HW) が、ハダカアリの働きアリよりも大きいという、Seifert (2003) の報告と一致しており、ハプロタイプGは遺伝的な近縁種 *C. strigifrons* とは異なる種であることが示唆された。

第4章 核DNAの分子系統解析からみたハダカアリの種内分化

1 はじめに

ハダカアリ *Cardiocondla kagutsuchi* には、有翅オスと無翅オスの両方が見られる翅多型グループと、無翅オスのみが見られる翅単型グループがあり、現在は複合種または種群として扱われている分類群である (Yamauchi et al. 2005、Seifert 2008、Oettler et al. 2010)。第2章の結果から、日本の本州、四国、九州、沖縄本島、石垣島、西表島で採集したハダカアリは、A、B、D、Gの4つのハプロタイプで構成されていることが明らかとなった(図7と8)。この4ハプロタイプは、ハプロタイプAとGが、本州、四国、九州、沖縄本島、石垣島、西表島に、ハプロタイプBが、沖縄本島、石垣島、西表島に、ハプロタイプDが、石垣島に分布していた(図9)。また、ハプロタイプごとのオスアリの翅多型のタイプを調べたところ、ハプロタイプA、B、Gからは、無翅オスのみが得られ、翅単型であった。一方、ハプロタイプDからは、有翅オスと無翅オスの両方が得られ、翅多型であった(表3)。

動物の有性生殖では、mtDNAについては、メスのDNAのみが子孫に受け継がれるのに対して、核DNAについては、オス・メス両方のDNAが子孫に受け継がれるのが一般的である。このように、mtDNAと核DNAでは遺伝様式が異なるため、核DNAの分子系統解析で推定された系統と、mtDNAの分子系統解析で推定された系統が、異なる場合も存在する。また、mtDNAの遺伝子型と核DNAの遺伝子型の対応関係を調べれば、メスによる遺伝子流動とオスによる遺伝子流動の違いやその動態を明らかにすることができる。

一般的に膜翅目昆虫では、オスは未受精卵から発生する単数体であり、母親の核DNAとmtDNAを受け継ぎ、生殖虫となる。一方、メスは受精卵から発生し、娘は両親の核DNAと母親のmtDNAを受け継ぐ。社会性昆虫では、受精卵は、その後の栄養状

態に依存して生殖虫になるか、非生殖虫になるかが決定される傾向にある(Wheeler 1986)。この場合、同一の交配集団に属しているならば、膜翅目の一科であるアリ科においても核DNAの遺伝子型の組成には、生殖虫であるオスアリ、メスアリと、非生殖虫である働きアリの3者間で違いはないと期待される。ところが近年、この繁殖様式とは異なる例が複数報告されてきた。例えば、シュウカクアリ(*Pogonomyrmex*)属やヒアリ(*Solenopsis*)属の一部の種では、種間交雑由来の卵からは働きアリが発生し、種内交配由来の卵からはメスアリが発生するSocial Hybridogenesisと呼ばれる繁殖様式が報告されている(Helms Cahan et al. 2002、Julian et al. 2002、Volny & Gordon 2002、Helms Cahan & Keller 2003、Helms Cahan & Vinson 2003)。また、コカミアリ *Wasmannia auropunctata*、ウメマツアリ *Vollenhovia emeryi*、ヒゲナガアメイロアリ *Paratrechina longicornis*では、オスアリ、メスアリ、働きアリの3者間で、同一コロニー内にも関わらず、核遺伝子の構成が有意に異なることが報告されており、この3種では、働きアリは受精卵から発生して、両親の核遺伝子を受け継ぐが、メスアリは母親の核遺伝子のみを受け継ぎ、オスアリは父親の核遺伝子のみを受け継ぐとされている(Fournier et al. 2005、Ohkawara et al. 2006、Kobayashi et al. 2008、Pearcy et al. 2011)。

本章では、ハダカアリのオスアリ、メスアリ、働きアリの核DNA(ITS1とITS2領域)の分子系統解析を行った結果から、日本産ハダカアリの種内分化について報告する。また、その解析過程で見つかった、疑似有性生殖(parasexuality)を伴うハダカアリの繁殖様式について報告する。

2 材料と方法

DNA抽出には、Cheung et al. (1993)の方法を用いた。オスアリと働きアリについては成虫全身から、メスアリについては成虫の頭部と胸部からDNAを抽出した。DNAの

抽出は、日本の本州、四国、九州、沖縄本島、石垣島、西表島で採集した86コロニーの140個体から行った。このうち、無翅のオスアリは18個体、有翅のオスアリは22個体、メスアリは42個体、働きアリは58個体であった。抽出したDNAはオートクレーブした蒸留水(DW²)に溶解し、-20°Cで保存した。抽出したDNAの塩基配列を次の2領域について分析した。まず、mtDNAのCOI/II領域(829bp)の塩基配列を第2章で用いた方法で解析した。そして、得られた塩基配列から、オスアリとメスアリのそれぞれの個体をmtDNAの4ハプロタイプ(A、B、D、G)に分類した。働きアリについては、各コロニーから1個体を任意に選んで塩基配列を解析し、得られた塩基配列から、各コロニーの働きアリの、mtDNAの4ハプロタイプへ分類した。この分類の結果、採集したハダカアリの内訳は、ハプロタイプAの31コロニーから37個体(無翅オスアリ7個体、メスアリ5個体、働きアリ25個体)、ハプロタイプBの10コロニーから13個体(無翅オスアリ1個体、メスアリ2個体、働きアリ10個体)、ハプロタイプDの24コロニーから63個体(無翅オスアリ2個体、有翅オスアリ22個体、メスアリ26個体、働きアリ13個体)、ハプロタイプGの21コロニーから27個体(無翅オスアリ8個体、メスアリ9個体、働きアリ10個体)であった。なお、1つのコロニーからは1つのハプロタイプのみが検出された。それぞれのコロニーの採集地点を図12に示した。mtDNAのハプロタイプが決定された、これらのすべての個体について、核DNAのITS1とITS2の領域の一部(1850bps)の塩基配列を解析した。PCR反応は、サーマルサイクラーDice ver. III TP600(TaKaRa, Otsu, Shiga, Japan)を用いて、KOD plus (TOYOBO, Osaka, Osaka, Japan) と、設計した2つのプライマー ITS1f: 5'-ttgtcggtcgggatgagtgctcg-3' と ITS2r: 5'-gctttcgtggactcgggaacac-3' を使用して行った。この2つの新しいプライマーは、Ji et al. (2003)のプライマーを用いて得られたハダカアリ1個体のITS1とITS2の領域の塩基配列をもとに、新たに設計をした。PCRサイクルは、熱変成を94°Cで2分行った後、98°Cを10秒と68°Cを2分30秒のセットを35サイクル行った。PCR産物を1.0%アガロースゲルで泳動し、ゲルから切り出した目的の長さの

増幅産物(1850bps)を、Gel Extraction Kit (TaKaRa) を用いて精製した。シークエンス反応は、BigDye™ Terminator v 3.1 Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA) を用いて行い、その際のプライマーは、ITS1fとITS2r、そして両者の間のプライマーとして設計した5p8sB2: 5'-tggtcgtcatcgttcgctc-3'、および、CAS5p8sFt (Ji et al. 2003) の4種類のプライマーを1種類ずつ使用した。そして、4種類それぞれのプライマーを用いて得られた4つの塩基配列をつなぎ合わせて、目的とするITS領域(1850bps)の塩基配列を得た。シークエンス反応は、熱変成を96°Cで1分行った後、96°Cで10秒と60°Cで4分のセットを25サイクル行った。塩基配列の解読は、ABI PRISM 3100 (Applied Biosystems)で行い、ヘテロ接合と考えられた場合には、以下の方法でサブクローニングを行い、塩基配列を決定した。まず、(1)塩基配列を決定したいPCR産物の両末端に、A-Attachment Kit (TOYOBO)を用いてアデニンを付加した。(2)末端にアデニンを付加したPCR産物を、Mighty TA cloning Kit (TaKaRa)を用いて、キットに付属していたベクター(pMD20-T)に次の方法で挿入した。すなわち、オートクレーブした蒸留水(DW²) 3 μlと、キットに付属していたベクター(pMD20-T) 1 μlと、末端にアデニンを付加したPCR産物 1 μlの混合液 5 μlに、キットのLigation Mighty Mixを氷上で融解させたのちに5 μl加え、16°Cで30分間、温めた。(3)目的の塩基配列が挿入されたと思われるベクターを、大腸菌DH-5 α K12コンピテントセル(TaKaRa)に次の方法で取り込ませた。すなわち、(2)の操作が完了した溶液に、氷上で融解させた大腸菌DH-5 α K12コンピテントセル100 μlを加え、ピペットで穏やかに攪拌した後、氷上で30分間静置した。これを、42°Cの温水に45秒間浸した後、再び、氷上で2分間静置した。(4)ジメチルホルムアミドに溶解した20mg/mlのX-Galを20 μlと、20mMのIPTGを100 μl塗布した、50 μg/mlの濃度のアンピシリンを含む15mlのLB培地上に、(3)の操作が完了した溶液全量をコーンラージ棒で塗布し、37°Cで16時間から18時間培養した。(5)培養された大腸菌のコロニーのなかで、形質転換型のホワイトコロニーを目視で選

び、マイクロピペット用のチップの先端でコロニーを突いた。そして、コロニーの一部が付着したチップの先端をPCR反応液に浸すことでコロニーを反応液に加え、コロニーPCRを行った。このPCRは、プライマーITS1f、ITS2rとBlend Taq (TOYOBO) により、熱変成を94°Cで2分行った後、98°Cを10秒と68°Cを2分30秒のセットを35サイクルの条件で行った。このPCR産物を1.0%アガロースゲルで泳動し、増幅産物がベクターに挿入した塩基配列と同じ長さ(1850bps)であることが確認できた場合には、その増幅産物をアガロースゲルから先の方法で回収し、同じく、先に示した方法でシーケンス反応を行って塩基配列を決定した。

得られた塩基配列は、MEGA ver. 5.2 (Tamura et al. 2011) を用いてアラインメントを行った。その際、ITS1とITS2領域の間を埋める5.8srRNAをコードする塩基配列は解析から除外し、非コード領域であるITS1とITS2領域のみ(1736bps)を以降の解析に使用した。分子系統解析は、最節約法とベイズ法により行った。最節約法による解析は、PAUP* ver. 4.0で発見的探索により行い、ブートストラップ系統樹を1000個作り、ブートストラップ値を求めた。ベイズ法による解析では、塩基置換モデルは、Kakusan4 (Tanabe 2011) がベイズ情報量規準 (BIC) をもとに選択したF81モデル (Felsenstein 1981) を採用した。解析はMrBayes ver. 3.2 (Ronquist et al. 2012) で行い、マルコフ連鎖は1, 000, 000世代実行し、100世代ごとに樹形を得た。そして、得られた樹形の後半の7500個から、コンセンサス系統樹と事後確率を求めた。

ウロコアリ (*Strumigenys*) 属のITS領域の塩基配列には、マイクロサテライト領域が含まれることが報告されている (Hung et al. 2004)。したがって、ハダカアリのITS領域にも、塩基配列長の多型を生み出すマイクロサテライト領域が含まれることや、得られた塩基配列をアラインメントした際には、欠失の有無の多型がサンプル間でみられることが予想された。ITS領域の塩基配列に含まれる欠失はホモブラシーによって生じたものではなく、この領域の欠失の有無の情報は系統関係を反映していることが報告されている

(Simmons & Ochoterena 2000)。そこで、最節約法では、得られたITS領域の塩基配列に欠失が含まれていた場合には、それらの欠失を“第5の塩基”として扱った。また、ベイズ法ではSimple Indel Coding Method (Simmons & Ochoterena 2000)に従って、コードした欠失のデータと塩基配列データを連結し、分離モデル(Tanabe 2011)を用いて解析を行った。

ハダカアリのオスアリ(成虫)、メスアリ(蛹)、働きアリ(蛹)の1細胞あたりのDNA量を測定して、それらのDNA量を比較した。それぞれの生きたサンプルをスライドガラスの上でピンセットを用いて細かく切り刻んだ。刻んだ断片を1.5mlのチューブに移し、そこに-20℃にあらかじめ冷やしておいた70%エタノールを400 μ l加え、-20℃で8時間静置した後、リン酸緩衝食塩水(PBS)を600 μ l加え、それを1分間につき2500回転の速さで5分間、4℃で遠心分離をした。上清を、メッシュ付きのキャップBD Falcon™(Becton Dickinson and Company, Franklin Lakes, NJ, USA)を通して5mlチューブに移し、そこに、PI/RNaseバッファー(Becton Dickinson and Company)を250ml加え、室温の暗黒状態に15分間静置したのち、フローサイトメトリー(BD FACSCanto II™, Becton Dickinson and Company)を用いて分析をした。

3 結果

オスアリとメスアリから得られた核DNAのITS領域の塩基配列は全部で6種類であった(Accession Nos. LC038152-LC038157)。全てのオスアリとメスアリは、それぞれ1つの塩基配列をもち、対象領域においては、オスアリはヘミ接合、メスアリはホモ接合と考えられた。オスアリとメスアリのITS領域の塩基配列から最節約法とベイズ法で分子系統樹を作成したところ、2つの方法から同一の樹形の系統樹が得られた(図13の左半分)。また、オスアリとメスアリのmtDNAの近隣結合法による分子系統樹も、図13の右半分に示した。その結果、ITS領域の塩基配列から推定されるハダカアリの系統図は、4

つのクレードで構成された。このうち、1つ目のクレードに、mtDNAのハプロタイプGのすべてのオスアリとメスアリが入り、これらの個体は、1つのITS遺伝子型 (LC038153) を共有していた。2つ目のクレードには、mtDNAのハプロタイプAとハプロタイプBのすべてのオスアリとメスアリが入り、これらの個体は、1つのITS遺伝子型を共有していた (Accession No. LC038152)。一方、残りの2つのクレードは、mtDNAのハプロタイプDのオスアリとメスアリで構成されていた。この2つのクレードのうち、一方のクレードはすべてオスアリ (20個体) で構成され (以下「オスクレード」)、もう一方のクレードは主にメスアリ (オスアリ4個体、メスアリ26個体) で構成されていた (以下「メスクレード」)。これらのハプロタイプDのオスについて、コロニーごとに見てみると、コロニー番号138のオスアリ6個体のうち、3個体はオスクレードに属し、3個体はメスクレードに属した。また、コロニー番号389のオスアリ ($n=1$) はメスクレードに属した。一方、残りの10コロニー (コロニー番号53、58、132、134、135、381、382、386、387、390) の全てのオスアリ ($n=17$) はオスクレードに属した。オスクレードの個体は、2つのITS遺伝子型のいずれかを持ち (3個体は Accession No. LC038154、17個体は Accession No. LC038155)、メスクレードのオスアリ4個体とメスアリ26個体も2つのITS遺伝子型のいずれかをもっていた (オスアリ1個体は Accession No. LC038156、オスアリ3個体とメスアリ26個体は Accession No. LC038157)。

ハプロタイプA、B、Gの全ての働きアリは、各ハプロタイプのオスアリやメスアリと同じITS遺伝子型を共有していた (ハプロタイプA、B: Accession No. LC038152、ハプロタイプG: Accession No. LC038153)。一方、ハプロタイプDの全ての働きアリ ($n=13$) は、2つもしくは2つ以上の異なるITS遺伝子型を持っており、少なくとも、ヘテロ接合しているものと考えられた (表9)。そのうち、7コロニーから得られた8個体の働きアリは、2つの異なるITS遺伝子型を持っており、各ITS遺伝子型は、ハプロタイプDのオスクレードの個体のITS遺伝子型 (Accession No. LC038155) とメスクレードの個体のITS遺伝子型

(Accession No. LC038157)と一致しており、これらの働きアリはヘテロ接合体であると判断して矛盾が無いものと考えられた。一方、残りの5コロニーの5個体の働きアリは、2つ以上の異なるITS遺伝子型を持っており、各ITS遺伝子型は、オスクレードの個体のITS遺伝子型 (Accession No. LC038155)とメスクレードの個体のITS遺伝子型 (Accession No. LC038157)の両方または片方に加えて、オスクレードの個体のITS遺伝子型の塩基配列と、メスクレードの個体のITS遺伝子型の塩基配列の、組み換え型と考えられる塩基配列を有していた (Accession No. LC038158-LC038162、表9)。

mtDNAのハプロタイプDに関しては、7コロニーから、オスアリ、メスアリ、働きアリの全カーストのITS遺伝子型が得られた (コロニー番号134、135、138、382、386、387、390、表9、図13)。これら7コロニーのうち、6コロニー (コロニー番号134、135、382、386、387、390)の全てのオスアリ ($n=12$)は、オスクレードに属し、残りの1コロニー (コロニー番号138)では、3個体がオスクレードに属し、3個体がメスクレードに属していた。一方、7コロニーの全てのメスアリ ($n=9$)はメスクレードに属していた。また、4コロニー (コロニー番号134、135、138、382)の全ての働きアリ ($n=5$)は、オスクレードの個体のITS遺伝子型とメスクレードの個体のITS遺伝子型の両方を持っていた。残りの3つのコロニー (コロニー番号386、387、390)の全ての働きアリ ($n=3$)はオスクレードまたはメスクレードの個体のITS遺伝子型に加えて、1ないし2個の組み換え型の塩基配列を持っていた。

フローサイトメトリーを使って細胞あたりのDNA量を測定した結果、ハプロタイプDのメスアリ ($n=2$)と働きアリ ($n=3$)の細胞あたりのDNA量は、ハプロタイプDの有翅のオスアリ ($n=2$)のその2倍量であった (図14)。この結果から、ハプロタイプDにおいて、メスアリと働きアリの核相は2倍体であり、一方、オスアリは1倍体であることが明らかとなった。

4 考察

第2章では、日本産ハダカアリのmtDNAの4ハプロタイプ(A、B、D、G)のうち、ハプロタイプA、B、Gのコロニーからは、オスアリについては無翅のみが得られ、ハプロタイプDのコロニーからは、無翅と有翅の両方が得られていることを報告した。ハダカアリの無翅オスは、巣内で羽化する有翅メスと交尾をするが、有翅オスは、巣内に未交尾のメスアリがいなければ、巣外に交尾相手を求めることが示唆されている(Kinomura & Yamauchi 1987、山内・木野村 1993、Heinze et al. 1998、Yoshizawa et al. 2011)。したがって、少なくとも、ハプロタイプDは有翅オスを持つハプロタイプなので、それらの有翅オスの巣外交尾によって、同所的に分布をしている他のハプロタイプと交配をしている可能性も考えられる。今回、核DNAのITS遺伝子型を調査した日本産ハダカアリの採集地点を見てみると(図12)、石垣島からは、4ハプロタイプ全てが得られている。すなわち、少なくとも石垣島では、ハプロタイプDの有翅オスの巣外交尾によって、ハダカアリの異なるハプロタイプ間で交配をしていることが予想される。

しかし、今回、調査をしたすべての地域において、異なるハプロタイプを持った個体間で同じ核DNAのITS遺伝子型を共有していたのは、ハプロタイプAとBだけであった(図13)。すなわち、今回の結果からは、ハプロタイプAまたはBは、ハプロタイプDやハプロタイプGと交配をしていないことが示唆され、同じく、ハプロタイプDはハプロタイプGと交配をしていないことが示唆される。

膜翅目昆虫では、一般的には単数倍数性の性決定機構に基づく発生機構によって、受精卵(2倍体卵)からはメスが、未受精卵(1倍体卵)からはオスが発生し、メスは養育条件によって、生殖虫になるか非生殖虫になるかが決定される傾向にある(Wheeler 1986、図15)。膜翅目の一科であるアリ科においても、未受精卵からは生殖虫であるオスアリが発生し、母親のメスアリのゲノムの半分を受け継ぎ、一方、受精卵からは生殖虫であるメスアリや非生殖虫である働きアリが発生し、父親のオスアリのゲノム

と、母親のメスアリのゲノムの半分を受け継ぐ。この膜翅目の一般的な繁殖様式、すなわち、オスを単為生殖で産み(産雄単為生殖)、メスを有性生殖で産む繁殖様式(図15のA)に従えば、少なくとも同じ交配集団の個体ならば、オスアリ、メスアリ、働きアリの3者間で、同じ核DNAの遺伝子型を共有し、3者間で遺伝子流動があると期待される。

今回の結果、日本産の4ハプロタイプのうち、ハプロタイプA、B、Gでは、同じハプロタイプに属するオスアリ、メスアリ、働きアリは、同じ核DNAのITS遺伝子型を有していた(ハプロタイプAとB:LC038152、ハプロタイプG:LC038153)。オスアリ、メスアリ、働きアリの3者間で同じ核DNAの遺伝子型を共有していることから、これら3ハプロタイプ内では、先に述べた産雄単為生殖と有性生殖から成る繁殖様式で繁殖をしていると考えても矛盾はないといえる。しかし、ハプロタイプDについては、これらハプロタイプA、B、Gとは異なる結果が得られた。このハプロタイプDでは、メスアリ26個体は、全ての個体が同一のITS遺伝子型を有し(LC038157)、同じクレード(メスクレード)に属した。一方、このハプロタイプのオスアリ(24個体)では、メスクレードに属した個体が24個体中4個体(16.7%)であり、残りの20個体(83.3%)は、メスアリとは異なるITS遺伝子型を持ち、メスアリとは別のクレード(オスクレード)に属した(図13)。また、ハプロタイプDのうち、オスアリとメスアリそれぞれ1個体以上のITS遺伝子型を調べたコロニーが全部で8コロニーあった。このうち、同じITS遺伝子型をもつオスアリとメスアリが得られたコロニーは2コロニー(コロニー番号138と389)で、残りの6コロニーのオスアリとメスアリは、互いに異なるITS遺伝子型を持ち、それぞれがオスクレードとメスクレードに属した(図13)。すなわち、ハプロタイプDでは、オスアリとメスアリが同じITS遺伝子型を持ち、同じクレードに属することが例外的であり、大部分のオスアリとメスアリは、互いに異なるITS遺伝子型を持ち、別々のクレードに属していると考えられた。ハプロタイプDの大部分のオスアリとメスアリが、互いに異なるITS遺伝子型を持ち、異なるクレードに属していることは、このハプロタイプのオスアリとメスアリが異なる遺伝子プールを持っていることを強く示唆している。さ

らに、ハプロタイプDの働きアリ13個体(10コロニー)については、69%にあたる9個体(7コロニー)の働きアリは、オスクレードのITS遺伝子型(LC038155)とメスクレードのITS遺伝子型(LC038157)の両方を少なくとも持っていたことから(表9)、ハプロタイプDの働きアリの多くは、オスクレードのITS遺伝子型とメスクレードのITS遺伝子型の両方を持っていると考えられる。

大部分のオスアリとメスアリがそれぞれ別々のITS遺伝子型を持っているというハプロタイプDのITS遺伝子型の構成は、膜翅目で一般的な産雄単為生殖と有性生殖から成る繁殖様式(図15のA)では、次の2つの理由から説明しにくい。すなわち、(1)膜翅目では、一般的に、メスアリはオスアリとの交配(有性生殖)で生じる受精卵から発生するため(図15のA)、メスアリは両親(オスアリとメスアリ)のITS遺伝子型の両方をもつと期待される。今回、ITS遺伝子型を調べたハプロタイプDのメスアリのITS遺伝子型は1種類(LC038157)であったが、これらのメスアリが有性生殖由来だとすると、その有性生殖には、メスアリと同じITS遺伝子型(LC038157)をもつオスアリとの交配が期待される。しかし、このようなメスアリと同じITS遺伝子型(LC038157)を持つオスアリは、ハプロタイプDのオスアリ24個体のうち3個体(12.5%)であり、コロニー数で集計すると、ハプロタイプDのオスアリを得た12コロニーのうち2コロニー(16.7%)であった。すなわち、ハプロタイプDでは、メスアリと同じITS遺伝子型(LC038157)をもつオスアリの割合は少数派であり、このようなオスアリと交配(有性生殖)をする機会も少ないと考えられる。そのため、ハプロタイプDのメスアリが有性生殖のみに由来するとは考えにくい。また、(2)膜翅目では、一般的に、オスアリはメスアリの単為生殖に由来する未受精卵から発生する(図15のA)。そのため、オスアリはメスアリのもつITS遺伝子型の一方を引き継ぐと期待される。今回、ITS遺伝子型を調べたハプロタイプDのオスアリ24個体のうち、83.3%にあたるオスクレードのオスアリ20個体の2つのITS遺伝子型(LC038152、LC038153)のうち、どちらか一方または両方のITS遺伝子型を持っているハプロタイプDのメスアリは、ハプロタイプDの

メスアリ26個体(19コロニー)のうち、1個体もなかった。すなわち、ハプロタイプDのオスアリが、ハプロタイプDのメスアリの単為生殖のみで作られているとは考えにくい。

それでは、ハプロタイプDの大部分のオスアリとメスアリは、どのような繁殖様式のもとで作られたのだろうか。ここで、コカミアリ *Wasmannia auropunctata*、ウメマツアリ *Vollenhovia emeryi*、ヒゲナガアメイロアリ *Paratrechina longicornis* の3種のアリで見つかった繁殖様式について説明しよう。これら3種のアリの核DNAの調査では、働きアリは受精卵から発生するが、オスアリとメスアリはそれぞれ同性の親の遺伝的なクローンとして発生することが報告されている(Fournier et al. 2005、Ohkawara et al. 2006、Kobayashi et al. 2008、Pearcy et al. 2011)。これらのアリ種で報告されている、オスアリの童貞生殖(androgenesis)とメスアリのクローン繁殖を伴う繁殖様式(clonal reproduction with androgenesis、以下CRAとする:図15のB)では、メスアリのクローン繁殖は、減数分裂と染色体の融合を伴うオートミクシス(automixis)のうち、減数第一分裂時の異なる極体同士が融合する中央融合(セントラルフュージョン:central fusion、図16)であると考えられている(Pearcy et al. 2006、Rey et al. 2011、大河原 2015)。また、オスアリの童貞生殖の発生機構には2つの説が考えられており、(1)卵細胞に精子が侵入したあと、メスゲノムが除去あるいは機能的に消失することによって、オスゲノムのみでオスアリが受精卵から発生する「メスゲノム消去説」(Fouriner et al. 2005、図15のB-1)と、(2)メスアリが核の無い無核卵をつくり、そこに精子を受精させ発生させるという「無核卵説」(Foucaud et al. 2007)である(図15のB-2)。しかし、細胞学的な調査はまだなされておらず、未だに明確な仕組みは分かっていないのが現状である。この2つの機構のいずれにしろ、CRAという繁殖様式では、オスアリとメスアリが別々の核DNAの遺伝子型を持ち、働きアリがオスアリとメスアリの核DNAの遺伝子型の両方を持つことが期待され、ハプロタイプDの核DNAのITS遺伝子型を矛盾なく説明することができると考えられる。ただし、ハプロタイプA、B、Gと同様に、ハプロタイプDにも、メスアリと同じITS遺伝子

型 (LC038157) を持っているオスアリも少数 ($n=3$) ではあるが見つかっており (図 13)、ハプロタイプ D の一部のオスアリが、膜翅目で一般的な産雄単為生殖 (図 15 の A) に由来する可能性も否定は出来ないと考えられる。

今回の研究では、ハプロタイプ D の働きアリには、(1) 3 つの ITS 遺伝子型をもつ個体 (表 9 の個体番号 9、11、13) や、(2) オスクレードとメスクレードの ITS 遺伝子型の他に、オスクレードとメスクレードのそれぞれの ITS 遺伝子型の塩基配列の組み換え型配列をもつ個体 (表 9 の個体番号 9、10、11、12、13) が見つかった。膜翅目では、一般に、メスアリや働きアリの核相は 2 倍体でオスアリは 1 倍体である。しかし、ハプロタイプ D の働きアリのなかに、3 つの ITS 遺伝子型をもつ個体が検出されたことは、これらの働きアリの核相は 3 倍体である可能性を示唆していた。しかし、フローサイトメリーの解析結果は、ハプロタイプ D の働きアリの細胞あたりの DNA 量は、メスアリのそれとほぼ同じで、有翅のオスアリのそれのほぼ 2 倍量であることを示していた (図 14)。すなわち、現時点では、3 つ以上の ITS 遺伝子型をもつ働きアリが、3 倍体である可能性は低いと考えられた。

今回、ハプロタイプ D の働きアリから検出された組み換え型の塩基配列は、ハプロタイプ D のオスアリ、メスアリからは全く検出されなかった。また、ハダカアリ属の働きアリには卵巣がないため (Heinze et al. 2006)、働きアリの体内で減数分裂により組み換え型の塩基配列が作られる可能性は低いと考えられる。したがって、組み換え型の塩基配列は、働きアリの受精卵からの発生過程で、体細胞分裂で組み換えが起こることに由来する可能性が考えられる。同一個体内において 2 つの体細胞が融合し、染色体間で乗り換えを起こした後に分裂をする現象は、コウジカビ *Aspergillus nidulans* で最初に報告され (Pontecorvo & Roper 1952)、その後、多くの子囊菌類や担子菌類で見出され (Clutterbuck 1996)、疑似有性生殖または準有性生殖 (parasexuality、Pontecorvo 1954) と呼ばれている。この疑似有性生殖は、最近では原生動物でも確認されている

(Tekle et al. 2014)。村上(2013)によると、菌類における疑似有性生殖は、次の過程で行われる(図17)。(1)異なる単相(n)の菌糸体の融合により、遺伝的に異なる2つの核が1つの体細胞の中に共存する。(2)この共存する2つの核が核融合を起こし、2倍体核(2n)を形成する。(3)核の分裂に伴い、体細胞組換え(somatic recombination)が起こり、新たな単相核が形成される。この菌類における疑似有性生殖の過程(1)で示した「1つの体細胞中に細胞膜で仕切られていない2つの核が共存する」状態は、昆虫類の胚発生でも類似の状態が見られる。辻村(1995)によると、昆虫類の初期の胚発生は、次の過程で行われる(図18)。(1)受精後、まず核分裂が起こる。この際、細胞質の分裂は起こらない。(2)分裂を繰り返して増えた核が卵内に広く分布するようになる。(3)核は次第に卵表に向けて移動を始め、やがて、全卵表に分布するようになる。(4)卵表面に並ぶ核と核の間に細胞膜が陥入し、核は細胞膜で仕切られる。昆虫類のこのような卵割の仕組みは表割と呼ばれているが、菌類における疑似有性生殖の過程(図17のC)でも見られるように、1つの細胞内に細胞膜で仕切られていない複数の核が近接する時期が見られる(図18のB、C、D)。このことから、ハプロタイプDの働きアリで体細胞組換えが起こっていると仮定した場合、それが働きアリの胚発生の初期に、細胞膜で仕切られていない2つの核が融合することで起こっている可能性も考えられる。

体細胞における核DNAの組み換え現象は、昆虫類では、X線を照射したショウジョウバエ*Drosophila Melanogaster*で人工的に引き起こされ、ショウジョウバエの体に、周囲の細胞とは核遺伝子型の異なる細胞から成る、モザイクを引き起こすことが知られている(Griffin et al. 2014)。これと同様に、ハダカアリのハプロタイプDの働きアリにおいて、体細胞における組み換えが起こっているとしたら、少なくとも核遺伝子型が異なる2タイプの体細胞が、キメラ状に働きアリの個体内に組み合わさって存在することが期待される。つまり、1つは組み換えが起こった体細胞であり、もう一つは組み換えが起こっていない体細胞である。核遺伝子型が異なる2種類以上の体細胞で構成されたキメラ個体

からは、3つ以上の核遺伝子型が得られることが期待される。今回、ハプロタイプDの働きアリのなかに、3つの核遺伝子型をもつ個体(表9の個体番号9、11、13)が見られたが、このことは、ハダカアリのハプロタイプDの働きアリにおいて、核遺伝子型が異なる細胞がキメラ状に組み合わさっているという考えと矛盾しない。

本章では、ハダカアリのmtDNAのハプロタイプDの大部分の個体が、CRAによって生産されている可能性があることを示した。さらに、このハプロタイプの働きアリが、ITS領域において、オスクレードの個体とメスクレードの個体のそれぞれの塩基配列の組み換え型の塩基配列を持っていることを明らかにした。ところで、CRAを行うことで知られるココミアリは、流木や輸入材に混じって世界的に分布を拡大させた侵入種であるが(Global Invasive Species Database 2017)、原産地の南米においては、有性生殖によってメスアリを、また、メスアリの単為生殖によってオスアリを作り出す膜翅目で一般的な繁殖(図15のA)も行うことが知られている(Foucaud et al. 2007)。このココミアリのうち、ニューカレドニア島や中央アフリカに侵入したCRAを行う集団からは、侵入後に行われた有性生殖によって、CRAを行う新たなメスアリやオスアリの系統が発生していることが、核DNAのマイクロサテライト領域の調査から明らかとなっている(Foucaud et al. 2006、Mikheyev et al. 2009)。また、ココミアリのCRAを行う集団が、有性生殖によって低頻度ではあるがメスアリを産することが、実験室で確認されている(Foucaud et al. 2010)。一方、アリ科における産雌単為生殖(未受精卵から2倍体のメスが発生する生殖)の仕組みは、減数分裂と染色体の融合を伴うオートミクシスのうち、減数第一分裂時の異なる極体同士が融合するセントラルフュージョン(図16)が知られているが(Wenseleers & Van Oystaeyen 2011、大河原 2015)、CRAを行うココミアリでは、メスアリが行う減数分裂において組み換え率が極めて低いことが報告されている(Rey et al. 2011、図16)。このことは、CRAを行うココミアリでは、有性生殖によって稀にメスアリが作られたとしても、そのメスアリが新しい核遺伝子型を、減数分裂における組み換えによって創出する可能性

が低いことを示している。今回の研究では、ハプロタイプDの働きアリから組み換え型の塩基配列が検出された。そして、それらの組み換え型の塩基配列は、体細胞分裂で組み換えが起こることに由来する可能性が考えられることを示した。ハプロタイプDにおいて示唆された体細胞における組み換えは、減数分裂における組み換えという機構と同様に、新しい核遺伝子型や新しい系統の創出に貢献しているのかもしれない。

今回の研究では、ハダカアリのハプロタイプDの働きアリから、オスクレードの個体とメスクレードの個体の組み換え型の塩基配列が検出された。また、組み換え型の塩基配列は、働きアリの受精卵からの発生過程で、体細胞分裂で組み換えが起こることに由来する可能性が考えられることを示した。このハプロタイプの働きアリにおいて、体細胞組み換えが行われているかの解明は、先に示したように、今後、このハプロタイプの初期の胚発生において核の融合が行われているかどうかなど、細胞学的な研究を行う必要がある。さらに、ITS領域以外の核DNAの領域においても、体細胞組み換えによって生じたと考えられる塩基配列が得られるかどうかを、調査する必要があると考えられる。

第5章 総合考察

ハダカアリ属 *Cardiocondyla*には、オスアリに翅多型が見られる種と、翅多型が見られない翅単型の種が存在することが報告されている(Oettler et al. 2010)。前者には、*C. obscurior*、*C. wroughtonii*、*C. emeryi*、*C. minutior*などが含まれ、同一コロニー内で有翅オスと無翅オスの両方が生産される。また、後者には、*C. batesii*、*C. nigra*、*C. elegans*、*C. mauritanica*などが含まれ、無翅オスのみが生産される(Oettler et al. 2010)。一方、本研究の対象であるハダカアリ *C. kagutsuchi*には、同一コロニー内で有翅オスと無翅オスの両方が生産される翅多型グループと、無翅オスのみが生産される翅単型グループが存在することが報告されている(寺山ら 1992、Terayama 1999、Seifert 2003)。種内に翅多型グループと翅単型グループの両方を含むことなどから、ハダカアリは複合種(species-complex)または種群(species group)として扱われている分類群である(Yamauchi et al. 2005、Seifert 2008、Oettler et al. 2010)。本研究では、この分類群の種内分化の実態を、mtDNAと核DNAの分子系統解析および働きアリの外部形態の調査によって明らかにすることを試みた。

第2章では、mtDNAの分子系統解析の結果を報告した。それによると、日本産、東南アジア産、ハワイ産のハダカアリは、全部で7つのハプロタイプ(AからG)で構成されていることが明らかとなった(図7と8)。このうち、日本産ハダカアリについては、4ハプロタイプA、B、D、Gで構成されていることが明らかとなった(図7と8)。これら4ハプロタイプが採集された場所は、ハプロタイプAとGは本州、四国、九州、沖縄本島、石垣島、西表島であり、ハプロタイプBは沖縄本島、石垣島、西表島であり、ハプロタイプDは石垣島のみであった。また、これら4ハプロタイプのうち、オスアリに翅多型が見られたのは、ハプロタイプDのみであり、残りのハプロタイプA、B、Gは翅単型であった。また、これら4ハプロタイプ間のmtDNAの塩基置換率の大きさ(表2)から、日本産ハダカアリは3つの

グループに分化していると考えられた。すなわち、ハプロタイプAとBのグループ、ハプロタイプDのグループ、ハプロタイプGのグループの3つのグループである。

第3章では、日本産ハダカアリのmtDNAの4ハプロタイプ(A、B、D、G)は、働きアリの外部形態において違いがあるかどうかを判別分析で分析した。その結果、日本産ハダカアリの4ハプロタイプは、外部形態において互いに区別できる3つのグループで構成されていることが明らかとなった。すなわち、ハプロタイプAとBで1つのグループを構成し、ハプロタイプDで1つのグループを構成し、ハプロタイプGで1つのグループを構成していた(図11)。

第4章では、日本産ハダカアリの核DNAのITS領域について、オスアリ、メスアリ、働きアリの3者について遺伝子型を調べ、分子系統解析を行った結果を報告した。それによると、日本産ハダカアリの系統は4つのクレードで構成されていることが明らかとなった(図13)。このうち、1つ目のクレードは、ハプロタイプGのすべてのオスアリ、メスアリ、働きアリが入り、2つ目のクレードには、ハプロタイプAとハプロタイプBのすべてのオスアリ、メスアリ、働きアリが入った。一方、3つ目のクレードには、ハプロタイプDのオスアリの大部分が入り、4つ目のクレードには、ハプロタイプDのすべてのメスアリとハプロタイプDの残りのオスアリが入った。なお、ハプロタイプDの働きアリについては、3つ目のクレードの個体を持つITS遺伝子型と4つ目のクレードの個体を持つITS遺伝子型の両方または片方を少なくとも持っていた(表9)。また、ハプロタイプDの働きアリの中には、他のハプロタイプ(A、B、G)の個体のITS遺伝子型を持っているものは、1個体もなかった(表9)。これらの結果から、ハプロタイプAまたはBは、ハプロタイプDとGとは異なる遺伝子プールを持っていることが示唆され、同様に、ハプロタイプDはハプロタイプGとは異なる遺伝子プールを持っていることが示唆された。つまり、ハプロタイプAまたはBを持つ個体は、ハプロタイプDやハプロタイプGを持つ個体とは交配をしていないことが示唆され、

同様に、ハプロタイプDを持つ個体はハプロタイプGを持つ個体とは交配をしていないことが示唆された。

これらのmtDNAの分子系統解析、働きアリの外部形態の調査、核DNAの分子系統解析から、日本産のハダカアリは、3つの種で構成されている可能性があると考えられる。すなわち、mtDNAのハプロタイプAとBで構成される種、ハプロタイプDの種、そして、ハプロタイプGの種である。もちろん、ハダカアリは日本だけでなく、少なくとも東南アジアやハワイにも分布しているため(Seifert 2003)、日本産のものだけに注目しても、この推察が正しいかどうかを判定するのは困難である。したがって、今後明らかにする課題としては、(1) 東南アジアやハワイ産のハダカアリの働きアリの形態調査が必要であろう。具体的には、mtDNAのハプロタイプC、E、F(図7と8)の働きアリの外部形態を調査し、ハダカアリが全体として、いくつの形態グループに分かれるのか調べる必要があるであろう。さらに、(2) 東南アジアやハワイ産のハダカアリも含めたハダカアリ全体の核DNAの分子系統解析が必要であろう。

第4章で報告した核DNAのITS領域における分子系統解析の結果では、日本産ハダカアリのmtDNAのハプロタイプD(図7と8、13)は、有性生殖と産雄単為生殖から成る膜翅目一般の繁殖様式(図15のA)とは異なる繁殖様式を行っている可能性を明らかにした。その繁殖様式とは、働きアリは有性生殖により両親の核DNAが半分ずつ入った受精卵から発生するが、対照的に、生殖虫であるメスアリとオスアリはそれぞれ同性の親の核DNAにおけるクローンとして発生するというものである(Clonal reproduction with androgenesis: CRA)。これまでに、コカミアリ *Wasmannia auropunctata*、ウメマツアリ *Vollenhovia emeryi*、ヒゲナガアメイロアリ *Paratrechina longicornis* の3種のアリが、CRAにより繁殖していることが明らかになっている(Fournier et al. 2005、Ohkawara et al. 2006、Kobayashi et al. 2008、Pearcy et al. 2011)。

CRAは、オスアリ、メスアリにとっては、自身の核DNAの遺伝情報を最大限残すことができるという利点がある。また、CRAを行う集団にとっては、父系と母系の核遺伝子プールが独立しているため、兄弟姉妹間で近親交配をしても、その子孫である働きアリの遺伝的な多様性が失われない利点があるとされている(Pearcy et al. 2011)。では、CRAによる繁殖の不利益にはどんなことが考えられるだろうか。一般に、新たな核遺伝子型の創出は、核DNAにおける突然変異のほかには、減数分裂において相同染色体同士の乗り換えが起こった際に、核DNAが組み換わることでなされる。膜翅目では、通常オスは1倍体(n)なので、組み換えによる新たな遺伝子型の創出は2倍体のメスで行われると期待される。一方、CRAでは、メスアリが行う減数分裂において組み換え率が極めて低い(Rey et al. 2011)ため、新たな遺伝子型を創出できないと考えられている。本研究では、CRAを行っている可能性があると考えられたハダカアリのハプロタイプDにおいて、核DNAのITS領域の塩基配列において、組み換え型配列を持つ働きアリが検出された(表9)。これらの組み換え型配列は、オスアリやメスアリからは見つかっておらず、受精卵からの体細胞分裂において、オスアリ由来の核DNAとメスアリ由来の核DNAが組み換わって作られた可能性が考えられる。体細胞における組み換えは、菌類と原生動物で知られており、疑似有性生殖と呼ばれている。今回の研究は、減数分裂における組み換えによらずに、核DNAにおいて新たな遺伝子型を創出する疑似有性生殖のメカニズムを、ハダカアリのハプロタイプDも持っている可能性を示唆している。この可能性の正否を明らかにするためには、より多くの遺伝子座を用いた分子生物学的な研究や細胞学的な研究が必要と考えられる。

謝辞

本研究を遂行するにあたり、粘り強く、的確にご指導をしてくださった、岐阜大学応用生物科学部昆虫生態学研究室の土田浩治教授にお礼を申し上げます。また、研究を進めるにあたって、貴重なご助言をくださった、岐阜大学応用生物科学部多様性保全学研究室の川窪伸光教授と、静岡大学農学部応用昆虫学研究室の西東力教授にお礼を申し上げます。また、東京大学農学部の寺山守博士と、名古屋市立大学大学院システム自然科学研究科の村瀬香准教授には、投稿論文の執筆においてご指導をいただいた。お礼を申し上げます。また、岐阜大学の山内克典名誉教授には、貴重なご助言をいただくとともに、サンプルをお貸しいただいた。お礼を申し上げます。また、遺伝子実験において、丁寧にご指導をしてくださった、岐阜大学応用生物科学部人獣共通感染症学研究室の伊藤直人准教授および農業生物資源研究所の横井翔博士にお礼を申し上げます。また、東京大学新領域創成科学研究科の近藤勇介博士には、統計処理やフローサイトメトリーを用いた実験において、ご指導をいただいた。お礼申し上げます。また、農業生物資源研究所の奥野正樹博士と東京大学附属生態調和農学機構の山崎和久博士には、終始、貴重な助言や討論をしていただき、また、研究がなかなか進まない私を励ましていただいた。お礼を申し上げます。また、ハダカアリの採集するにあたって、本当にたくさんの方のご協力をいただいた。皆様にお礼を申し上げます。

最後になるが、家族や両親の支えがなければ本研究は行えなかった。特に、仕事を休職して研究することを勧めてくれ、復職した後も、終始、全面的に私の研究を支えてくれた妻には心から感謝している。

引用文献

- AntWeb. Available from <http://www.antweb.org>. Accessed 10 March 2017
- Barth, M., Moritz, R. & Kraus, F. (2015) Genetic differentiation at species level in the Neotropical army ant *Labidus praedator*. *Insectes Sociaux*, 62, 299–306.
- Bernasconi, C., Cherix, D., Seifert, B. & Pamilo, P. (2011) Molecular taxonomy of the *Formica rufa* group (red wood ants) (Hymenoptera: Formicidae): a new cryptic species in the Swiss Alps? *Myrmecological News*, 14, 37–47.
- Bickford, D., Lohman, D.J., Sodhi, N.S., Ng, P.K.L., Meier, R., Winker, K., Ingram, K.K. & Das, I. (2007) Cryptic species as a window on diversity and conservation. *Trends in Ecology & Evolution*, 22, 148–155.
- Boomsma, J.J., Baer, B. & Heinze, J. (2005) The evolution of male traits in social insects. *Annual Review of Entomology*, 50, 395–420.
- Brower, A. (1994) Rapid morphological radiation and convergence among races of the butterfly *Heliconius erato* inferred from patterns of mitochondrial DNA evolution. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 91, 6491–6495.
- Cheung, W., Hubert, N. & Landry, B. (1993) A simple and rapid DNA microextraction method for plant, animal, and insect suitable for RAPD and other PCR analyses. *Genome Research*, 3, 69–70.
- 千葉聡 (2012) 種の創出機構. 宮下直・井鷲裕司・千葉聡共編. 生物多様性と生態学. 朝倉書店, 東京, pp. 48–72.
- Clutterbuck, A.J. (1996) Parasexual recombination in fungi. *Journal of Genetics*, 75, 281–286.
- Cremer, S., Sledge, M.F. & Heinze, J. (2002) Chemical mimicry: male ants disguised by the queen's bouquet. *Nature*, 419, 897–897.

- DeSalle, R., Freedman, T., Prager, E.M. & Wilson, A.C. (1987) Tempo and mode of sequence evolution in mitochondrial DNA of Hawaiian *Drosophila*. *Journal of Molecular Evolution*, 26, 157-164.
- Eguchi, K., Viet, B.T., Oguri, E. & Yamane, S. (2016) The first discovery of the “*Pheidole quadricuspis* group” in the Indo-Chinese Peninsula (Insecta: Hymenoptera: Formicidae: Myrmicinae). *Revue suisse de Zoologie*, 123, 45-55.
- Felsenstein, J. (1981) Evolutionary trees from DNA sequences: a maximum likelihood approach. *Journal of Molecular Evolution*, 17, 368-376.
- Foucaud, J., Jourdan, H., Le Breton, J., Loiseau, A., Konghouleux, D. & Estoup, A. (2006) Rare sexual reproduction events in the clonal reproduction system of introduced populations of the little fire ant. *Evolution*, 60, 1646-1657.
- Foucaud, J., Fournier, D., Orivel, J., Delabie, J.H.C., Loiseau, A., Le Breton, J., Kergoat, G.J. & Estoup, A. (2007) Sex and clonality in the little fire ant. *Molecular biology and evolution*, 24, 2465-2473.
- Foucaud, J., Estoup, A., Loiseau, A., Rey, O. & Orivel, J. (2010) Thelytokous parthenogenesis, male clonality and genetic caste determination in the little fire ant: new evidence and insights from the lab. *Heredity*, 105, 205-212.
- Fournier, D., Estoup, A., Orivel, J., Foucaud, J., Jourdan, H., Le Breton, J. & Keller, L. (2005) Clonal reproduction by males and females in the little fire ant. *Nature*, 435, 1230-1234.
- 福政幸隆 (2013) ヘテロカリオンの形成機構とクランプ結合形成. 日本菌学会編. 菌類の事典. 朝倉書店, 東京, pp. 81-85.

- 古川雅英, 藤谷卓陽 (2014) 琉球弧に関する更新世古地理図の比較検討 琉球大
学理学部紀要= Bulletin of the Faculty of Science, University of the Ryukyus,
98, 1-8.
- Global Invasive Species Database (2017) Downloaded from
http://www.iucngisd.org/gisd/100_worst.php on 08-03-2017.
- Goropashnaya, A.V., Fedorov, V.B., Seifert, B. & Pamilo, P. (2012) Phylogenetic
Relationships of Palaearctic *Formica* Species (Hymenoptera, Formicidae)
Based on Mitochondrial Cytochrome b Sequences. PLoS One, 7, e41697.
- Griffin, R., Binari, R. & Perrimon, N. (2014) Genetic odyssey to generate marked
clones in *Drosophila* mosaics. Proceedings of the National Academy of
Sciences, 111, 4756-4763.
- Heinze, J. & Hölldobler, B. (1993) Fighting for a harem of queens: physiology of
reproduction in *Cardiocondyla* male ants. Proceedings of the National
Academy of Sciences, 90, 8412-8414.
- Heinze, J., Holldobler, B. & Yamauchi, K. (1998) Male competition in *Cardiocondyla*
ants. Behavioral Ecology and Sociobiology, 42, 239-246.
- Heinze, J. (1999) Male polymorphism in the ant species *Cardiocondyla minutior*
(Hymenoptera: Formicidae). Entomologia Generalis, 23, 251-258.
- Heinze, J., Trindl, A., Seifert, B. & Yamauchi, K. (2005) Evolution of male
morphology in the ant genus *Cardiocondyla*. Molecular Phylogenetics and
Evolution, 37, 278-288.
- Heinze, J., Cremer, S., Eckl, N. & Schrempf, A. (2006) Stealthy invaders: the
biology of *Cardiocondyla* tramp ants. Insectes Sociaux, 53, 1-7.

- Heinze, J., Frohschammer, S. & Bernadou, A. (2013) Queen life-span and total reproductive success are positively associated in the ant *Cardiocondyla* cf. *kagutsuchi*. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 67, 1555–1562.
- Helms Cahan, S.H., Parker, J.D., Rissing, S.W., Johnson, R.A., Polony, T.S., Weiser, M.D. & Smith, D.R. (2002) Extreme genetic differences between queens and workers in hybridizing *Pogonomyrmex* harvester ants. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, 269, 1871–1877.
- Helms Cahan, S.H. & Keller, L. (2003) Complex hybrid origin of genetic caste determination in harvester ants. *Nature*, 424, 306–309.
- Helms Cahan, S.H. & Vinson, S.B. (2003) Reproductive division of labor between hybrid and nonhybrid offspring in a fire ant hybrid zone. *Evolution*, 57, 1562–1570.
- Hölldobler, B. & Wilson, E.O. (1990) *The ants*. Harvard University Press, Cambridge, MA, pp. 732.
- Hung, Y.T., Chen, C.A., Wu, W.J., Lin, C.C. & Shih, C.J. (2004) Phylogenetic utility of the ribosomal internal transcribed spacer 2 in *Strumigenys* spp. (Hymenoptera: Formicidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 32, 407–415.
- Japanese Ant Image Database Group (2008) <http://ant.edb.miyakyo-u.ac.jp/J/index.html>
- Ji, Y., Zhang, D. & He, L. (2003) Evolutionary conservation and versatility of a new set of primers for amplifying the ribosomal internal transcribed spacer regions in insects and other invertebrates. *Molecular Ecology Notes*, 3, 581–585.

- Julian, G.E., Fewell, J.H., Gadau, J., Johnson, R.A. & Larrabee, D. (2002) Genetic determination of the queen caste in an ant hybrid zone. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 99, 8157-8160.
- 片倉晴雄 (1996) 動物における種分化の機構. 岩槻邦男・馬渡峻輔共編. 生物の種多様性. 裳華房, 東京, pp.190-216.
- Kimura, M. (1980) A simple method for estimating evolutionary rates of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. *Journal of Molecular Evolution*, 16, 111-120.
- Kinomura, K. & Yamauchi, K. (1987) Fighting and mating behaviors of dimorphic males in the ant. *Journal of Ethology*, 5, 75-81.
- Kobayashi, K., Hasegawa, E. & Ohkawara, K. (2008) Clonal reproduction by males of the ant *Vollenhovia emeryi* (Wheeler). *Entomological Science*, 11, 167-172.
- 古谷野亘 (1988) 数学が苦手な人のための多変量解析ガイド—調査データのまとめかた—. 川島書店, 東京, pp.81-94.
- 久保田耕平 (2008) 生殖隔離と種分化. 石川良輔編. 節足動物の多様性と系統. 裳華房, 東京, pp.50-70.
- 久保田正雄 (1988) ありとあらゆるアリの話. 講談社, 東京, pp.107-109.
- Kugler, J. (1983) The males of *Cardiocondyla* Emery (Hymenoptera: Formicidae) with the description of the winged male of *Cardiocondyla wroughtoni* (Forel). *Israel Journal of Entomology*, 17, 1-21.
- Lenoir, J.Ä., Schrempf, A., Lenoir, A., Heinze, J. & Mercier, J.Ä. (2007) Genetic structure and reproductive strategy of the ant *Cardiocondyla elegans*: strictly monogynous nests invaded by unrelated sexuals. *Molecular Ecology*, 16, 345-354.

- 馬渡峻輔 (1996) 分類学はこれまで何をしてきたか. 岩槻邦男・馬渡峻輔共編. 生物の種多様性. 裳華房, 東京, pp.12-52.
- Mayr, E. (1963) Animal species and evolution. Belknap Press of Harvard University Press Cambridge, Massachusetts.
- Menezes, R.S.T., Brady, S.G., Carvalho, A.F., Del Lama, M.A. & Costa, M.A. (2015) Molecular phylogeny and historical biogeography of the neotropical swarm-founding social wasp genus *Synoeca* (Hymenoptera: Vespidae). PloS one, 10, e0119151.
- Mikheyev, A., Bresson, S. & Conant P (2009) Single-queen introductions characterize regional and local invasions by the facultatively clonal little fire ant *Wasmannia auropunctata*. Molecular Ecology, 18, 2937-2944.
- 村上重幸 (2013) 準有性生殖. 日本菌学会編. 菌類の事典. 朝倉書店, 東京, pp. 85-86.
- Moreau, C.S., Bell, C.D., Vila, R., Archibald, S.B. & Pierce, N.E. (2006) Phylogeny of the ants: diversification in the age of angiosperms. Science, 312, 101-104.
- Nylander, J.A.A. (2004) MrModeltest ver. 2. Program distributed by the author. Evolutionary Biology Centre, Uppsala University. (Available from: <https://github.com/nylander/MrModeltest2>)
- Oettler, J., Suefuji, M. & Heinze, J. (2010) The evolution of alternative reproductive tactics in male *Cardiocondyla* ants. Evolution, 64, 3310-3317.
- 大河原恭祐 (2015) アリ社会の最新男女事情. 坂本洋典・村上貴弘・東正剛共著. アリの社会. 東海大学出版部, 神奈川県, pp. 205-225.

- Ohkawara, K., Nakayama, M., Satoh, A., Trindl, A. & Heinze, J. (2006) Clonal reproduction and genetic caste differences in a queen-polymorphic ant, *Vollenhovia emeryi*. *Biology Letters*, 2, 359–363.
- Papadopoulou, A., Anastasiou, I. & Vogler, A.P. (2010) Revisiting the insect mitochondrial molecular clock: the mid-Aegean trench calibration. *Molecular biology and evolution*, 27, 1659–1672.
- 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.
- Pearcy, M., Hardy, O. & Aron, S. (2006) Thelytokous parthenogenesis and its consequences on inbreeding in an ant. *Heredity*, 96, 377–382.
- Pearcy, M., Goodisman, M. A. & Keller, L. (2011) Sib mating without inbreeding in the longhorn crazy ant. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, 278, 2677–2681.
- Pontecorvo, G. & Roper, J. (1952) Genetical analysis without sexual reproduction by means of polyploidy in *Aspergillus nidulans*. *Journal of genetic Microbiology*, 6, 1–2.
- Pontecorvo, G. (1954) Mitotic recombination in the genetic systems of filamentous fungi. *Caryologia*, 6, 192–200.
- Rey, O., Loiseau, A., Facon, B., Foucaud, J., Orivel, J., Cornuet, J.M., Robert, S., Dobigny, G., Delabie, J.H.C., Mariano, C.D.S.F. & Estoup, A. (2011) Meiotic recombination dramatically decreased in thelytokous queens of the little fire ant and their sexually produced workers. *Molecular Biology and Evolution*, 28, 2591–2601.

- Ronquist, F., Teslenko, M., van der Mark, P., Ayres, D.L., Darling, A., Höhna, S., Larget, B., Liu, L., Suchard, M.A. & Huelsenbeck, J.P. (2012) MrBayes 3.2: efficient Bayesian phylogenetic inference and model choice across a large model space. *Systematic Biology*, 61, 539–542.
- Ross, K.G., Gotzek, D., Ascunze, M.S. & Shoemaker, D.D.W. (2010) Species delimitation: a case study in a problematic ant taxon. *Systematic Biology*, 59, 162–184.
- Schlick-Steiner, B.C., Steiner, F.M., Moder, K., Seifert, B., Sanetra, M., Dyreson, E., Stauffer, C. & Christian, E. (2006) A multidisciplinary approach reveals cryptic diversity in Western Palearctic *Tetramorium* ants (Hymenoptera: Formicidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 40, 259–273.
- Schrempf, A., Reber, C., Tinaut, A. & Heinze, J. (2005) Inbreeding and local mate competition in the ant *Cardiocondyla batesii*. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 57, 502–510.
- Seifert, B. (2003) The ant genus *Cardiocondyla* (Insecta: Hymenoptera: Formicidae)—a taxonomic revision of the *C. elegans*, *C. bulgarica*, *C. batesii*, *C. nuda*, *C. shuckardi*, *C. stambuloffii*, *C. wroughtonii*, *C. emeryi* and *C. minutior* species groups. *Annalen des Naturhistorischen Museums in Wien*, 104 (B), 203–338.
- Seifert, B. (2008) *Cardiocondyla atalanta* FOREL, 1915, a cryptic sister species of *Cardiocondyla nuda* (MAYR, 1866)(Hymenoptera: Formicidae). *Myrmecological News*, 11, 43–48.
- Simmons, M.P. & Ochoterena, H. (2000) Gaps as characters in sequence-based phylogenetic analyses. *Systematic Biology*, 49, 369–381.

- Simon, C., Frati, F., Beckenbach, A., Crespi, B., Liu, H. & Floors, P. (1994)
Evolution, weighting, and phylogenetic utility of mitochondrial gene
sequences and a compilation of conserved polymerase chain reaction primers.
Annals of the Entomological Society of America, 87, 651-701.
- 進藤正男 (1980) ハダカアリ (*Cardiocondyla* sp.) のコロニー形成について. 都生研
会誌, 16, 19-23.
- Stuart, R., Francoeur, A. & Loiselle, R. (1987) Lethal fighting among dimorphic
males of the ant, *Cardiocondyla wroughtonii*. Naturwissenschaften, 74,
548-549.
- Tamura, K., Peterson, D., Peterson, N., Stecher, G., Nei, M. & Kumar, S. (2011)
MEGA5: molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood,
evolutionary distance, and maximum parsimony methods. Molecular Biology
and Evolution, 28, 2731-2739.
- Tanabe, A.S. (2011) Kakusan4 and Aminosan: two programs for comparing
nonpartitioned, proportional and separate models for combined molecular
phylogenetic analyses of multilocus sequence data. Molecular Ecology
Resources, 11, 914-921.
- Tekle, Y.I., Anderson, O.R. & Lecky, A.F. (2014) Evidence of Parasexual Activity in
“Asexual Amoebae” *Cochliopodium* spp. (Amoebozoa): Extensive Cellular
and Nuclear Fusion. Protist, 165, 676-687.
- 寺山守・山内克典・森下正明 (1992) ハダカアリ属 *Cardiocondyla*. 日本蟻類研究会
編. 日本産アリ類の検索と解説 (III). 日本蟻類研究会, 東京, pp. 31-32.

- Terayama, M. (1999) Taxonomic studies of the Japanese Formicidae, part 6. Genus *Cardiocondyla* Emery. Memoirs of the Myrmecological Society of Japan, 1, 99-107.
- 寺山守 (2009) 昆虫学の基礎 分類・系統・進化. 田付貞洋・河野義明共編. 最新応用昆虫学. 朝倉書店, 東京, pp.41-61.
- 寺山守・久保田敏・江口克之 (2014) 日本産アリ類図鑑. 朝倉書店, 東京, pp. 278.
- 辻村秀信 (1995) 胚発生. 小原嘉明編. 昆虫生物学. 朝倉書店, 東京, pp. 147-168.
- Ueda, S., Nozawa, T., Matsuzuki, T., Seki, R. i., Shimamoto, S. & Itino, T. (2012) Phylogeny and phylogeography of *Myrmica rubra* complex (Myrmicinae) in the Japanese Alps. *Psyche: A Journal of Entomology*, 12, 1-7.
- 上島励 (2008) 節足動物の分子系統学, 最近の展開. 石川良輔編. 節足動物の多様性と系統. 裳華房, 東京, pp. 28-48.
- Volny, V.P. & Gordon, D.M. (2002) Genetic basis for queen-worker dimorphism in a social insect. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 99, 6108-6111.
- 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.
- Wheeler, D.E. 1986 Developmental and physiological determinants of caste in social Hymenoptera: evolutionary implications. *American Naturalist*, 13-34.
- Yamauchi, K. & Kawase, N. (1992) Pheromonal manipulation of workers by a fighting male to kill his rival males in the ant *Cardiocondyla wroughtonii*. *Naturwissenschaften*, 79, 274-276.

- 山内克典・木野村恭一(1993)ハダカアリ類における雄間闘争と繁殖戦略. 井上民二・山根爽一共編. 昆虫社会の進化. 博品社, 東京, pp. 373-402.
- Yamauchi, K., Asano, Y., Lautenschlager, B., Trindl, A. & Heinze, J. (2005) A new type of male dimorphism with ergatoid and short-winged males in *Cardiocondyla* cf. *kagutsuchi*. *Insectes Sociaux*, 52, 274-281.
- Yashiro, T., Matsuura, K., Guenard, B., Terayama, M. & Dunn, R.R. (2010) On the evolution of the species complex *Pachycondyla chinensis* (Hymenoptera: Formicidae: Ponerinae), including the origin of its invasive form and description of a new species. *Zootaxa*, 2685, 39-50.
- 吉澤樹里(2011)ハダカアリ(*Cardiocondyla*)属の社会構造および繁殖生態に関する研究. 岐阜大学大学院連合農学研究科. 博士論文.
- Yoshizawa, J., Yamauchi, K. & Tsuchida, K. (2011) Decision-making conditions for intra-or inter-nest mating of winged males in the male-dimorphic ant *Cardiocondyla minutior*. *Insectes Sociaux*, 58, 531-538.

表1 ハダカアリの採集地点名、採集地点の緯度経度、コロニー採集の成否。採集地番号は図6と図9と対応させた。コロニーを採集できた場所を*で示した。

採集地番号	採集地点名	北緯, 東経(10進法で表示)	コロニー採集
1	神奈川県湯河原町(真鶴岬)	35.150719, 139.134267	*
2	静岡県熱海市(熱海サンビーチ)	35.099418, 139.077952	*
3	静岡県伊東市(城ヶ崎いかいが根)	34.876677, 139.125545	
4	静岡県下田市(爪木崎)	34.660252, 138.986429	*
5	静岡県沼津市(内浦重寺)	35.032431, 138.893497	
6	静岡県富士市(田子の浦)	35.134169, 138.741320	
7	静岡県富士市(富士常葉大学)	35.196544, 138.691133	
8	静岡県清水市(県柑橘試験場)	34.973884, 138.492192	*
9	静岡県静岡市(沼上霊園)	35.029144, 138.412710	
10	静岡県焼津市(小浜)	34.895131, 138.346561	*
11	静岡県焼津市(東名日本坂 SA 上り線)	34.889818, 138.317934	
12	静岡県島田市(田代温泉)	34.873017, 138.156009	
13	静岡県牧之原市(ホテルスウィングビーチ)	34.729403, 138.227026	
14	静岡県御前崎市(浜岡砂丘)	34.629789, 138.122166	
15	静岡県御前崎市(池新田高校)	34.650929, 138.128389	
16	静岡県御前崎市(高松公園)	34.652272, 138.094194	
17	静岡県袋井市(見取)	34.791090, 137.864538	*
18	静岡県磐田市岩井(兼松さん茶畑)	34.740234, 137.888042	
19	静岡県磐田市(桶ヶ谷沼ビジターセンター)	34.740056, 137.887526	*
20	静岡県磐田市(富士見町)	34.732544, 137.868062	
21	静岡県磐田市(見付)	34.747247, 137.862700	
22	静岡県磐田市(ららぽーと磐田の公園)	34.748764, 137.842326	
23	静岡県磐田市(上神増)	34.832798, 137.844520	

採集地番号	採集地点名	北緯, 東経(10進法で表示)	コロニー採集
24	静岡県磐田市(一言)	34.722970, 137.838807	*
25	静岡県浜松市(鴨江児童遊園)	34.706827, 137.708581	
26	静岡県浜松市(浜松大平台高校)	34.711755, 137.674530	*
27	静岡県浜松市(荒川園芸)	34.770964, 137.662750	*
28	静岡県浜松市(浜松ガーデンパーク)	34.716147, 137.604460	*
29	静岡県浜松市(雄踏)	34.701356, 137.634967	*
30	愛知県蒲郡市(竹島)	34.810781, 137.232207	*
31	愛知県田原市(伊良湖岬)	34.587264, 137.025725	*
32	愛知県美浜町(南知多おもちゃ王国)	34.789421, 136.855043	*
33	愛知県美浜町(かんぼの宿の南)	34.782729, 136.851955	*
34	和歌山県那智勝浦町(那智駅)	33.644066, 135.936644	
35	和歌山県那智勝浦町(紀伊勝浦)	33.626703, 135.943700	
36	和歌山県和歌山市(深山海岸)	34.289486, 135.070770	
37	和歌山県和歌山市(加太海水浴場)	34.287842, 135.071596	*
38	和歌山県湯浅町(栖原海岸)	34.044657, 135.162137	
39	和歌山県由良町(白崎海洋公園)	33.976324, 135.072768	*
40	兵庫県相生市(金ヶ崎)	34.764420, 134.471590	
41	岡山県瀬戸内市(牛窓海岸)	34.619198, 134.172761	*
42	岡山県玉野市(沼)	34.528832, 133.998882	*
43	岡山県倉敷市(児島唐琴町海岸)	34.461101, 133.875704	*
44	岡山県倉敷市(下津井田ノ浦)	34.434127, 133.809620	
45	広島県福山市(田尻町)	34.426942, 133.396256	
46	広島県竹原市(忠海町冠崎公園)	34.335990, 132.996319	*
47	広島県竹原市(竹原町の場海水浴場)	34.325714, 132.922408	*

採集地番号	採集地点名	北緯, 東経(10進法で表示)	コロニー採集
48	広島県蒲刈町(上蒲刈島県民の浜)	34.164114, 132.741978	
49	広島県呉市(川尻町小用七浦海岸)	34.242227, 132.734382	*
50	広島県江田島市(大柿町長浜ビーチ)	34.144874, 132.481562	*
51	山口県岩国市(通津美ヶ浦海岸)	34.075791, 132.210107	*
52	山口県周防大島町(立石海岸)	33.896631, 132.295736	*
53	山口県下松市(笠戸島はなぐり海岸)	33.977892, 131.855798	
54	山口県下関市(関見台公園)	33.989551, 130.995796	*
55	香川県高松市(屋島)	34.369032, 134.092154	*
56	香川県宇多津町(臨海公園)	34.312195, 133.807456	
57	徳島県鳴門市(亀浦漁港)	34.215523, 134.630363	*
58	徳島県阿南市(北の脇海水浴場)	33.899019, 134.686089	*
59	高知県高知市(桂浜)	33.498460, 133.575922	
60	高知県土佐市(宇佐漁港)	33.451835, 133.447262	
61	愛媛県今治市(大三島ふるさと憩の家)	34.194228, 132.953081	
62	愛媛県今治市(今治港)	34.068098, 133.007007	
63	愛媛県松山市(三津浜)	33.867760, 132.711506	
64	大分県日出町(豊後豊岡駅南)	33.360852, 131.498691	
65	大分県大分市(大分港)	33.246129, 131.586419	
66	大分県臼杵市(海辺小学校前)	33.134787, 131.809944	*
67	宮崎県延岡市(須美江)	32.659242, 131.764454	*
68	宮崎県門川市(庵川港)	32.477495, 131.670448	*
69	宮崎県日向市(美々津)	32.340911, 131.624933	
70	宮崎県高鍋町(蚊口浦)	32.124499, 131.536957	
71	宮崎県宮崎市(青島)	31.773770, 131.482771	

採集地番号	採集地点名	北緯, 東経(10進法で表示)	コロニー採集
72	鹿児島県鹿児島市(桜島)	31.591452, 130.594986	*
73	熊本県八代市(日奈久)	32.426569, 130.562757	*
74	沖縄県東村(有銘海岸)	26.603774, 128.123470	*
75	沖縄県名護市(屋我地ビーチ)	26.649581, 128.033455	*
76	沖縄県名護市(嘉陽小学校前)	26.551085, 128.110175	*
77	沖縄県名護市(瀬高海岸)	26.547726, 128.050308	*
78	沖縄県名護市(久志海岸)	26.513005, 128.012879	*
79	沖縄県金武町(金武インター南の浜)	26.450021, 127.898372	
80	沖縄県読谷村(残波岬)	26.436466, 127.714997	*
81	沖縄県うるま市(具志川小学校前)	26.363846, 127.872720	*
82	沖縄県中城村(沖縄自動車道中城 PA 上り線)	26.274995, 127.780616	*
83	沖縄県宜野湾市(トロピカルビーチ)	26.282288, 127.731652	*
84	沖縄県那覇市(識名園)	26.203921, 127.715222	*
85	沖縄県南城市(安座真港)	26.179231, 127.827241	*
86	沖縄県南城市(あざまサンサンビーチ)	26.178184, 127.827804	*
87	沖縄県糸満市(平和創造の森公園)	26.084141, 127.688470	*
88	沖縄県糸満市(西崎運動公園)	26.144411, 127.661655	*
89	沖縄県石垣市(米原海岸)	24.452847, 124.185807	*
90	沖縄県石垣市(大高)	24.444769, 124.147561	
91	沖縄県石垣市(川平湾)	24.459441, 124.141561	
92	沖縄県石垣市(崎枝)	24.423654, 124.083405	*
93	沖縄県石垣市(於茂登岳福本さん畑)	24.407158, 124.174010	*
94	沖縄県石垣市(於茂登岳嵩田植物園)	24.407771, 124.172988	*
95	沖縄県石垣市(名倉ダム西)	24.407883, 124.173627	

採集地番号	採集地点名	北緯, 東経(10進法で表示)	コロニー採集
96	沖縄県石垣市(名蔵の浜)	24.410753, 124.144292	*
97	沖縄県石垣市(ハンナ岳公園)	24.381083, 124.172742	
98	沖縄県石垣市(新石垣空港の東)	24.387493, 124.250848	*
99	沖縄県石垣市(白保海岸)	24.352242, 124.244035	*
100	沖縄県石垣市(大浜海岸)	24.341555, 124.197391	*
101	沖縄県石垣市(石垣漁港付近)	24.334952, 124.158539	*
102	沖縄県石垣市(美崎町石垣港)	24.336865, 124.153937	*
103	沖縄県石垣市(観音崎)	24.365614, 124.111885	*
104	沖縄県竹富町(美原の由布島へ面した浜)	24.344575, 123.927365	*
105	沖縄県竹富町(西表島の前良橋の下)	24.313793, 123.906248	*
106	沖縄県竹富町(西表島の仲間崎)	24.274712, 123.902262	*
107	沖縄県竹富町(西表島の大原港)	24.272798, 123.882854	*
108	沖縄県竹富町(西表島の豊原)	24.258175, 123.865173	*
109	沖縄県竹富町(西表島の南風見田の浜)	24.272409, 123.828566	*

表2 日本産ハダカアリ *Cardiocondyla kagutsuchi* の4つの mtDNA のハプロタイプ (A、B、D、G; 図7、8) 間の mtDNA の COI/II 領域 (829bp) における塩基置換率 (%)。

ハプロタイプ	A	B	D	G
A	-	0.2	1.2	3.9
B	-	-	1.2	3.6
D	-	-	-	3.9

表3 日本産ハダカアリ *Cardiocondyla kagutsuchi* の4つの mtDNA のハプロタイプ (A、B、D、G; 図7、8) 25コロニーに含まれていた生殖虫の数。4コロニーにおいて、メス生殖虫が含まれていないのは、コロニー採集が完全ではなかったためと思われる。

ハプロタイプ	個体数				採集した月
	オス生殖虫		メス生殖虫		
	有翅	無翅	有翅	無翅(脱翅)	
A	0	0	0	2	5
	0	0	1	0	7
	0	3	0	0	7
	0	2	13	19	8
	0	1	1	3	9
	0	1	3	5	11
	0	4	5	4	11
B	0	2	0	1	6
D	2	1	2	0	5
	1	0	0	1	6
	1	0	0	1	6
	1	0	0	0	6
	1	0	0	0	6
	0	0	1	13	6
	0	0	0	1	6
	1	1	3	1	6
G	0	3	0	1	6
	0	2	3	0	6
	0	1	14	4	8
	0	1	0	0	8
	0	3	22	9	8
	0	6	65	58	9
	0	0	4	7	9
	0	0	2	4	9
	0	1	1	2	10

表4 日本産ハダカアリ *Cardiocondyla kagutsuchi* の4ハプロタイプ(A, B, D, G: 図7と8)とハダカアリ属の他種(7種)のコロニー内社会構造。社会構造は、単女王制なのか多女王制なのか、オスアリは翅多型か翅単型か、コロニー内の無翅オスは単数か複数かについて示した。また、ハダカアリ属の他種(7種)について無翅オス同士の攻撃の有無や程度も示した。日本産4ハプロタイプの無翅オス同士の攻撃の有無や程度については予想されるものを示した。ハダカアリ属の他種(7種)についての各情報は、Boomsma et al. (2005)、Schrempf et al. (2005)、Lenoir et al. (2007)、Oettler et al. (2010)を参照した。

種名またはハプロタイプ名	女王アリの数	オス翅多型タイプ	無翅オスの数	無翅オス同士の攻撃の有無
<i>C. wroughtonii</i>	多女王制	翅多型	単数	常に有り
<i>C. obscurior</i>	多女王制	翅多型	単数	常に有り
<i>C. minitior</i>	多女王制	翅多型	単数	常に有り
<i>C. emeryi</i>	多女王制	翅多型	単数	常に有り
<i>C. mauritanica</i>	多女王制	翅単型	複数	有り(相手が幼若なうちのみ)
<i>C. elegans</i>	単女王制	翅単型	複数	無し
<i>C. batesii</i>	単女王制	翅単型	複数	無し
ハプロタイプ A	多女王制の可能性が高い	翅単型	複数	おそらく有り(相手が幼若なうちのみ)
ハプロタイプ B	不明	翅単型	複数	不明
ハプロタイプ D	多女王制の可能性が高い	翅多型	単数	おそらく常に有り
ハプロタイプ G	多女王制の可能性が高い	翅単型	複数	おそらく有り(相手が幼若なうちのみ)

表5 日本産ハダカアリの mtDNA の4ハプロタイプ (A、B、D、G) の働きアリの外部形態6箇所の測定値(平均値±標準誤差、 μm)。HL は頭長、HW は頭幅、MGr は後胸溝の深さ、SpH は前伸腹節刺の高さ、PeL は腹柄節の長さ、PeH は腹柄節の高さを示した(図 10 を参照)。

ハプロタイプ						
タイプ	HL	HW	MGr	SpH	PeL	PeH
A	556.6 ± 2.0	465.1 ± 1.4	8.0 ± 0.2	4.7 ± 0.1	303.7 ± 1.3	157.3 ± 0.7
B	563.3 ± 2.7	467.0 ± 2.2	7.8 ± 0.2	4.8 ± 0.2	306.5 ± 1.5	158.9 ± 0.8
D	563.6 ± 3.2	472.1 ± 2.7	9.1 ± 0.4	7.8 ± 0.3	308.0 ± 2.4	149.5 ± 1.2
G	566.8 ± 2.2	482.7 ± 1.9	12.0 ± 0.3	10.2 ± 0.2	308.2 ± 1.5	165.0 ± 0.8

表6 ハダカアリの4ハプロタイプ(A、B、D、G)の働きアリの判別分析による正判別数と正判別率(%)。

判別されたハプロタイプのコラム内の数字は、そのハプロタイプに分類された個体数を表した。

ハプロタイプ	判別されたハプロタイプ				正判別数 (%)
	A	B	D	G	
A	70	76	9	10	70/165 (42.4)
B	38	30	6	1	30/75 (40.0)
D	3	1	45	1	45/50 (90.0)
G	0	3	0	102	102/105 (97.1)

表7 日本産ハダカアリの4つのハプロタイプ (A、B、D、G) の判別スコアの平均値(平均値±標準誤差)を示した。スコアの正負の符号から、判別式1ではハプロタイプ Gを区別し、判別式2ではハプロタイプ Dを区別していたと判定された。

ハプロタイプ	判別式	
	1	2
A	-0.924 ± 0.080	-0.572 ± 0.072
B	-0.924 ± 0.111	-0.657 ± 0.124
D	-0.543 ± 0.108	+2.165 ± 0.117
G	+2.495 ± 0.105	-0.294 ± 0.109

表8 標準化された2つの判別関数の係数を示した。第1関数はハプロタイプ Gを区別し、第2関数はハプロタイプ D を区別していた。SpH、MGr、PeH、PeL で、それぞれ、前伸腹節刺の高さ、後胸溝の深さ、腹柄節の高さ、腹柄節の長さを示した。

	判別式	
	1	2
SpH	0.806	0.424
MGr	0.425	0.195
PeH	0.852	-1.688
PeL	-0.970	1.346

表9 ハダカアリのハプロタイプ D の働きアリ ($n=13$) から得られた核 DNA の ITS 領域の一部の塩基配列とその遺伝子型。例えば、遺伝子型 M の場合では、ハプロタイプ D のオスクレードの塩基配列を示し、F でメスクレードの塩基配列を示した。また、M+F で、オスクレードとメスクレードの塩基配列の組み換え型の配列を示した。塩基配列のうち、“-”で欠失を、“...”ですべての遺伝子型で共通の塩基配列部分を示した。また、オスクレードに特有の塩基配列を青色で、メスクレードに特有の塩基配列を赤色で示した。

個体番号(コローニ番号)	遺伝子型	塩基配列の一部	Accession No.
		250 259 316 404 671 1161 1218	
1 to 8	M	...TT CGG ...GCCCT...AG GG AG...AG--GA...AA--GG...TAGAAA...T CCA TCTT...	LC038155
(134,135,138,377,382,382,398)	F	...TT TGG ...GCCCT...AG-AG...AG AGGA ...AA GG ...TA--AA...TC--TT...	LC038157
9 (377)	F	...TT TGG ...GCCCT...AG-AG...AG AGGA ...AA GG ...TA--AA...TC--TT...	LC038157
	M+F	...TT TGG ...GCCCT...AG-AG...AG--GA...AA--GG...TAGAAA...T CCA TCTT...	LC038158
	M+F	...TT CGG ...GCCCT...AG GG AG...AG--GA...AA GG ...TA--AA...TC--TT...	LC038159
10 (386)	F	...TT TGG ...GCCCT...AG-AG...AG AGGA ...AA GG ...TA--AA...TC--TT...	LC038157
	M+F	...TT CGG ...GCCCT...AG GG AG...AG--GA...AA--GG...TA--AA...TC--TT...	LC038160
11 (387)	M	...TT CGG ...GCCCT...AG GG AG...AG--GA...AA--GG...TAGAAA...T CCA TCTT...	LC038155
	M+F	...TT TGG ...GCCCT...AG-AG...AG AGGA ...AA--GG...TAGAAA...T CCA TCTT...	LC038161
	M+F	...TT TGG ...GCCCT...AG-AG...AG AGGA ...AA--GG...TA--AA...TC--TT...	LC038162
12 (390)	F	...TT TGG ...GCCCT...AG-AG...AG AGGA ...AA GG ...TA--AA...TC--TT...	LC038157
	M+F	...TT TGG ...GCCCT...AG-AG...AG AGGA ...AA--GG...TAGAAA...T CCA TCTT...	LC038161
13 (398)	M	...TT CGG ...GCCCT...AG GG AG...AG--GA...AA--GG...TAGAAA...T CCA TCTT...	LC038155
	F	...TT TGG ...GCCCT...AG-AG...AG AGGA ...AA GG ...TA--AA...TC--TT...	LC038157
	M+F	...TT TGG ...GCCCT...AG-AG...AG AGGA ...AA--GG...TAGAAA...T CCA TCTT...	LC038161

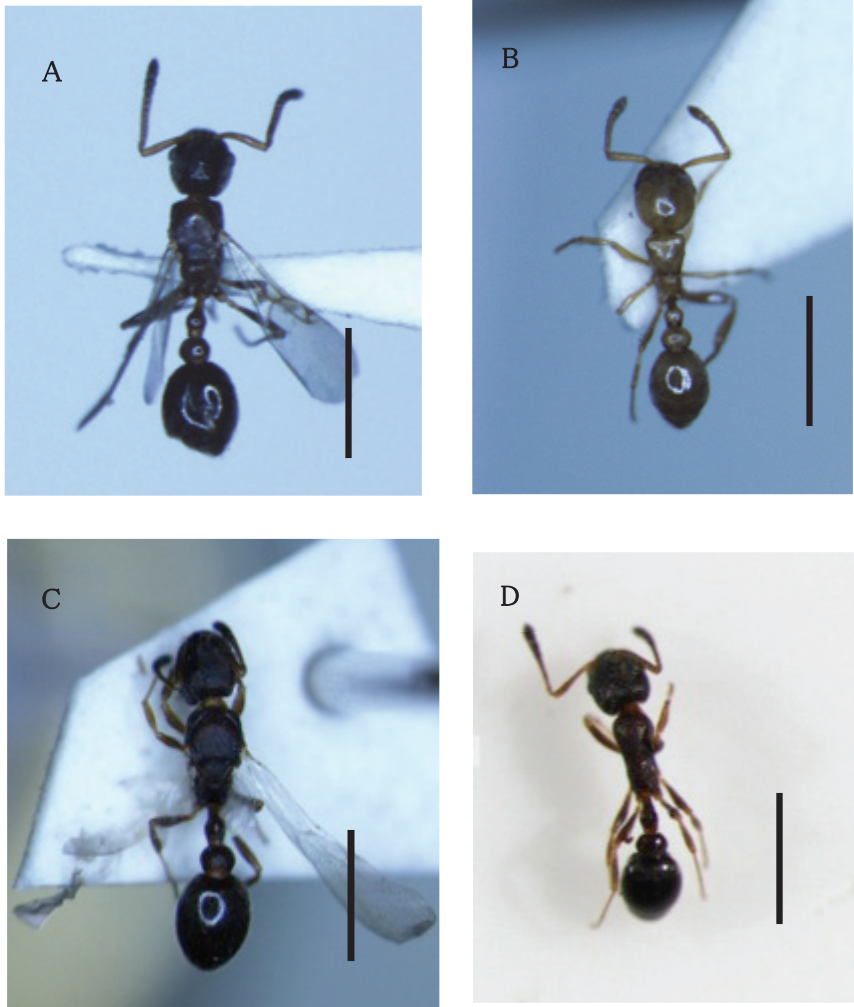


図1 ハダカアリ *Cardiocondyla kagutsuchi* の有翅オス(A 石垣島産)、無翅オス(B 静岡県浜松市産)、有翅メス(C 静岡県浜松市産)、働きアリ(D 石垣島産)の写真を示した。スケールバーは1mmである。

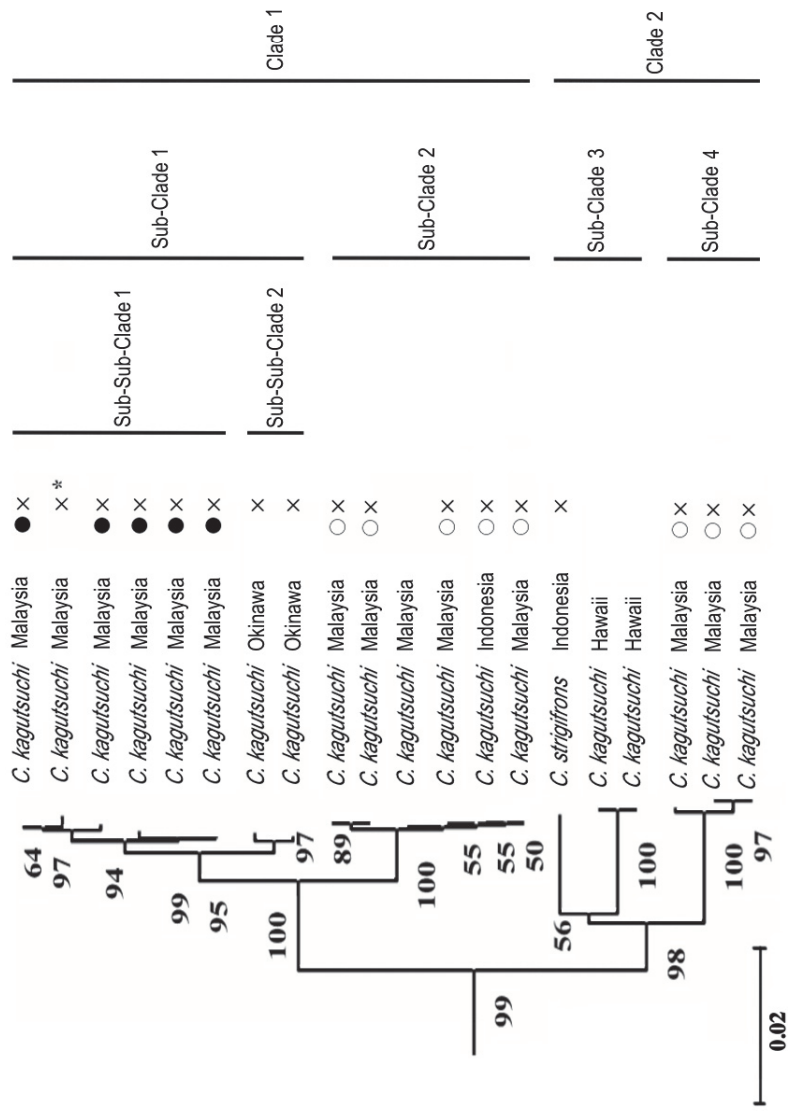


図2 Yamauchi et al. 2005 で作成された、ハダカアリ *Cardiocondyla kagutsuchi*(*C. kagutsuchi*)とハダカアリ属の一種 *C. strigifrons* の mtDNA の COI/II 領域の塩基配列についての近隣結合法による系統樹を筆者が一部改変したもの。クレード名、サブクレード名、サブサブクレード名は筆者が書き加えた。各サンプル名は、種名、採集地、オスの翅多型のタイプの順で表示されている。オスの翅多型タイプは、○：有翅オス(長翅)、●：有翅オス(短翅)、×：無翅オスを示しており、例えば、○×ならば、そのサンプルのコロニーからは、長翅オスと無翅オスの両方が得られたことを示している。翅多型のタイプが示されていないサンプルは、翅多型のタイプが不明であった。*のサンプルのコロニーは、実験室での飼育中に無翅オスのみを生産し、5ヶ月で絶滅した。

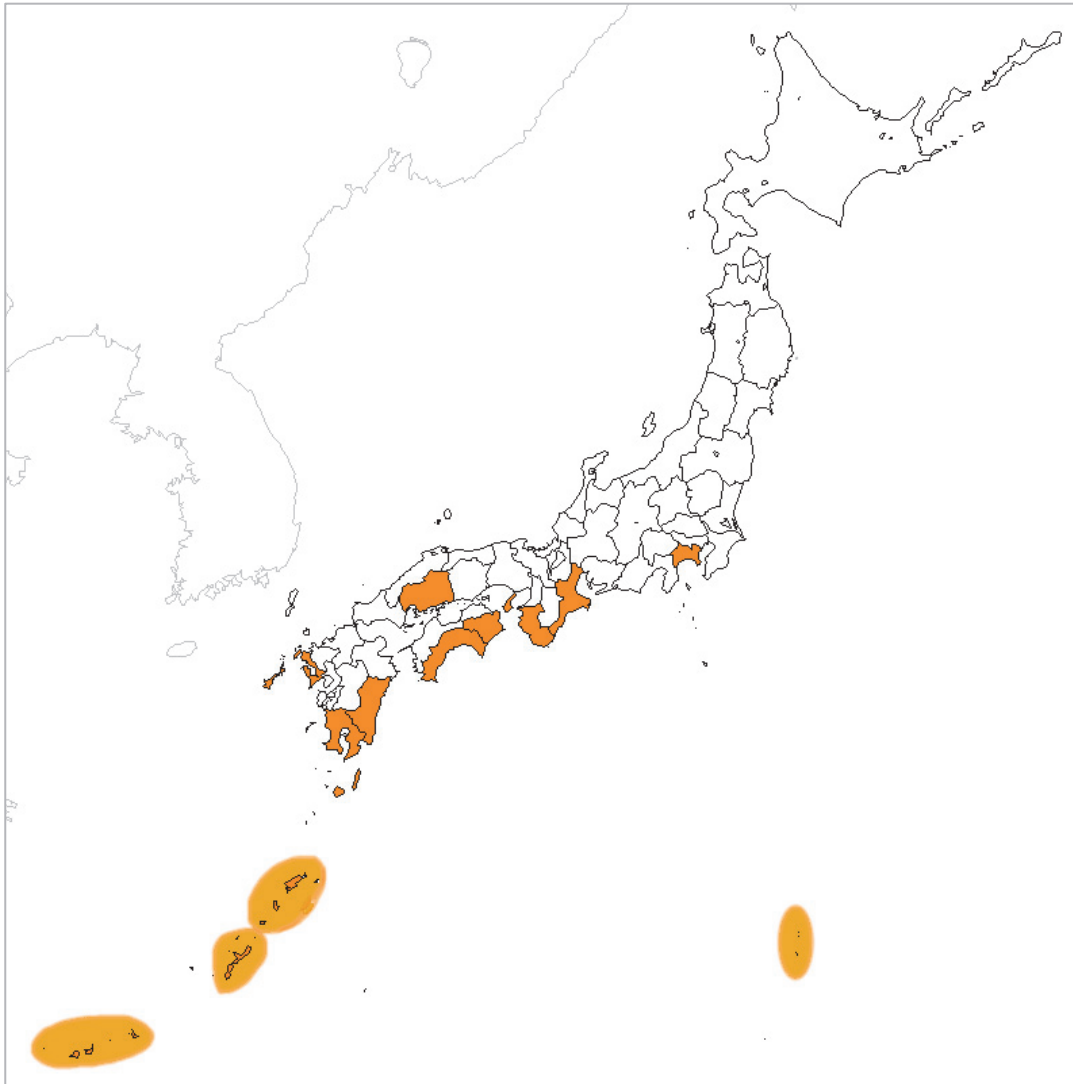


図3 ハダカアリ *Cardiocondyla kagutsuchi* の日本国内における分布図。オレンジ色で塗られている県や島嶼で分布が記録されている。Japanese Ant Image Database Group(2008)を参考に作成した。

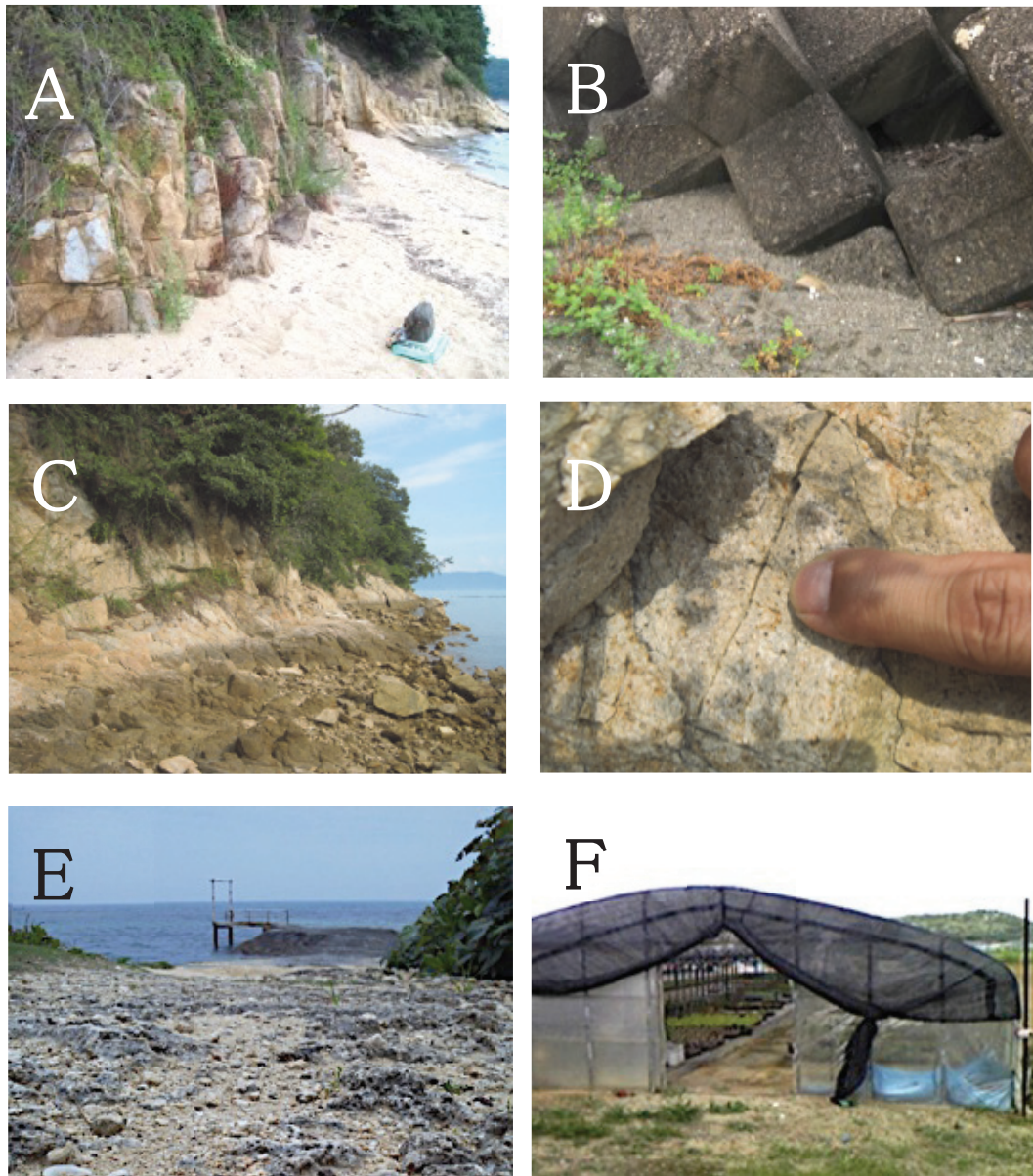


図4 ハダカアリの採集場所。カッコ内の数字は表1の採集地番号に対応させた。A:岡山県瀬戸内市牛窓海岸(41)では砂浜に続く岩壁に巣が見られた。B:宮崎県高鍋市蚊口浦(70)ではテトラポットの下に砂浜に巣が見られた。C:広島県呉市小用七浦海岸(49)では岩壁の穴(D の写真の指の先)に巣口が見られた。E:沖縄県読谷村残波岬(80)では海岸の珊瑚の岩の中に巣が見られ、ツルハシで砕いて採集した。F:静岡県浜松市の園芸店(27)では温室内部に多数の巣が見られた。



図5 沖縄県石垣市高田植物園でハダカアリ *Cardiocondyla kagutsuchi* のコロニーを掘っている様子。コロニーの入り口(遠沈管の青色のキャップの下にある)から 10cm ほどはなれた場所を、スコップやツルハシで10cmの深さまで掘り、コロニーを含むと思われる土の塊を円筒状(半径10cm, 高さ10cm)にした(写真 A)。そして、塊を崩さないようにその円筒状の土をバットや紙の上などに移し(B)、小さなスコップや手で土の塊を注意深く崩し、巣室(C)が現れたら吸虫管でアリを採集した。巣を探し始めてから見つけたコロニーのアリを全て採集し終わるまで、少なくとも1時間はかかった。

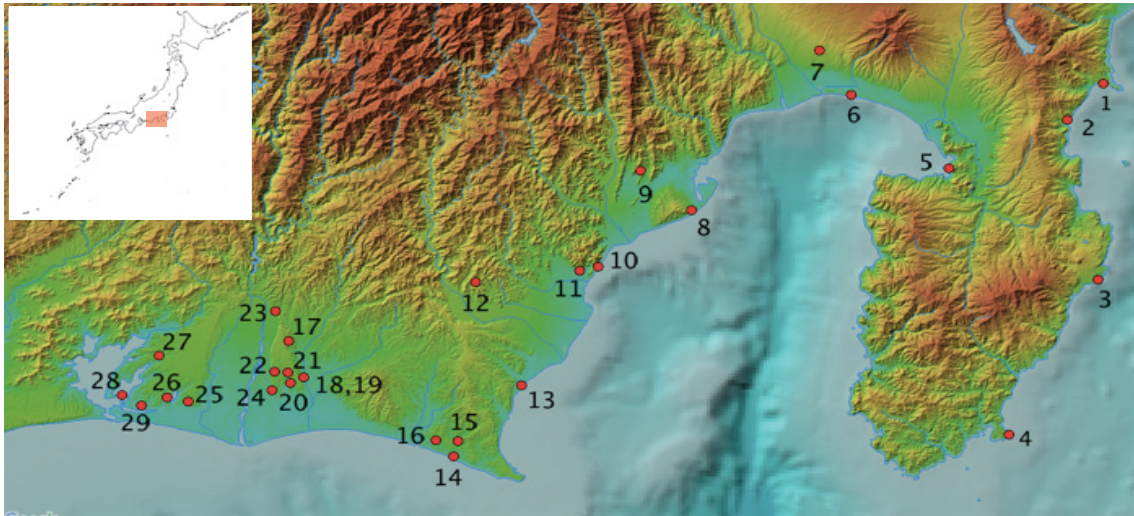


図6-1 神奈川県及び静岡県におけるハダカアリの採集地点。各採集地点の数字は表1の採集地番号に対応させた。

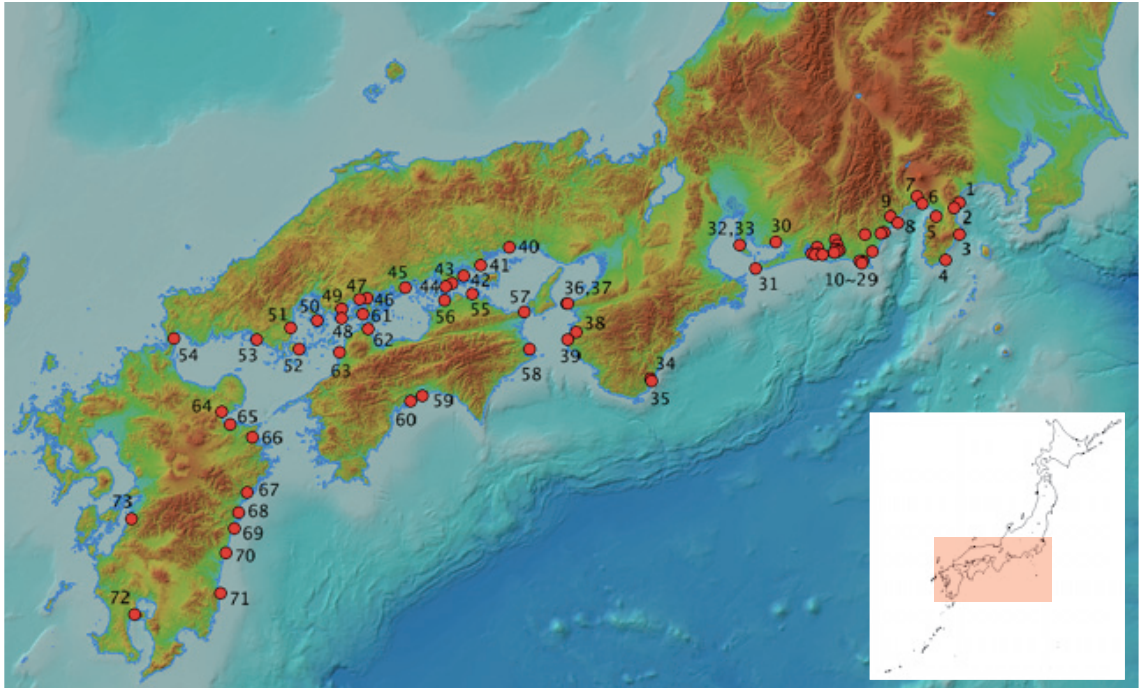


図6-2 本州、四国、九州におけるハダカアリの採集地点。採集地番号1から 29 の詳しい採集地点は図6-1に載せた。地点 32 と 33、36 と 37 は重なって表示させた。各採集地点の数字は表1の採集地番号に対応させた。

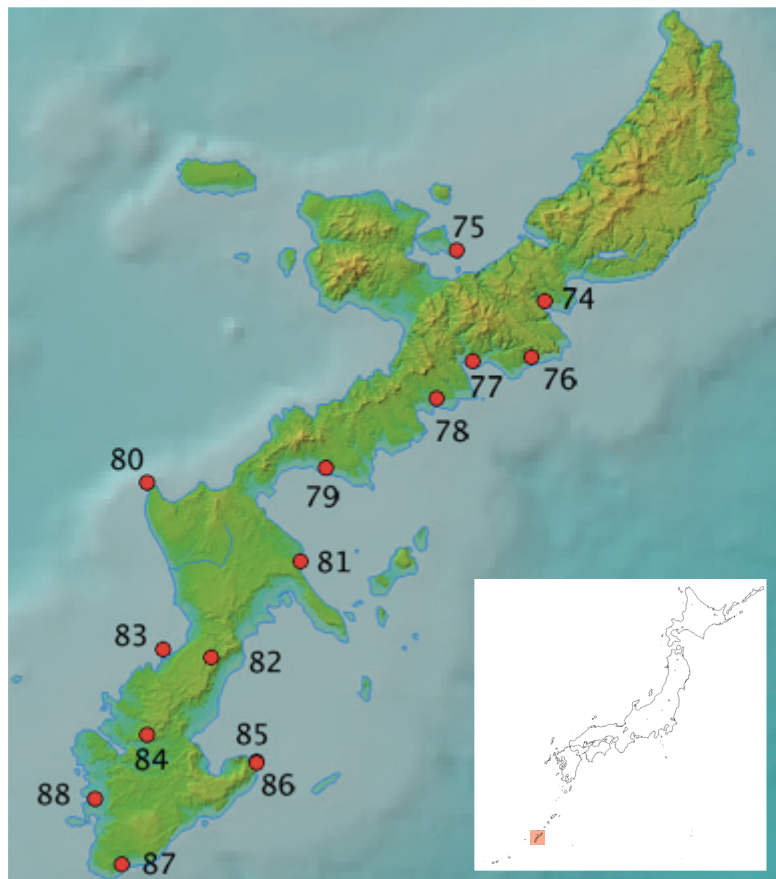


図6-3 沖縄本島におけるハダカアリの採集地点。各採集地点の数字は表1の採集地番号に対応させた。

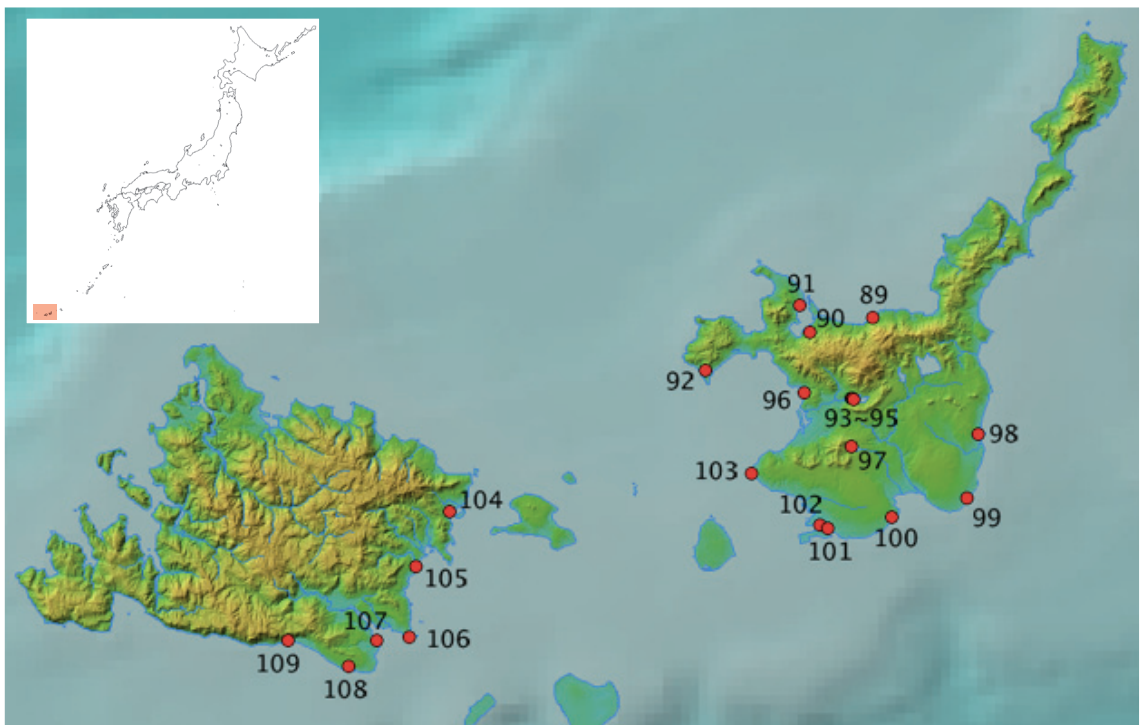


図6-4 石垣島、西表島におけるハダカアリの採集地点。各採集地点の数字は表1の採集地番号に対応させた。

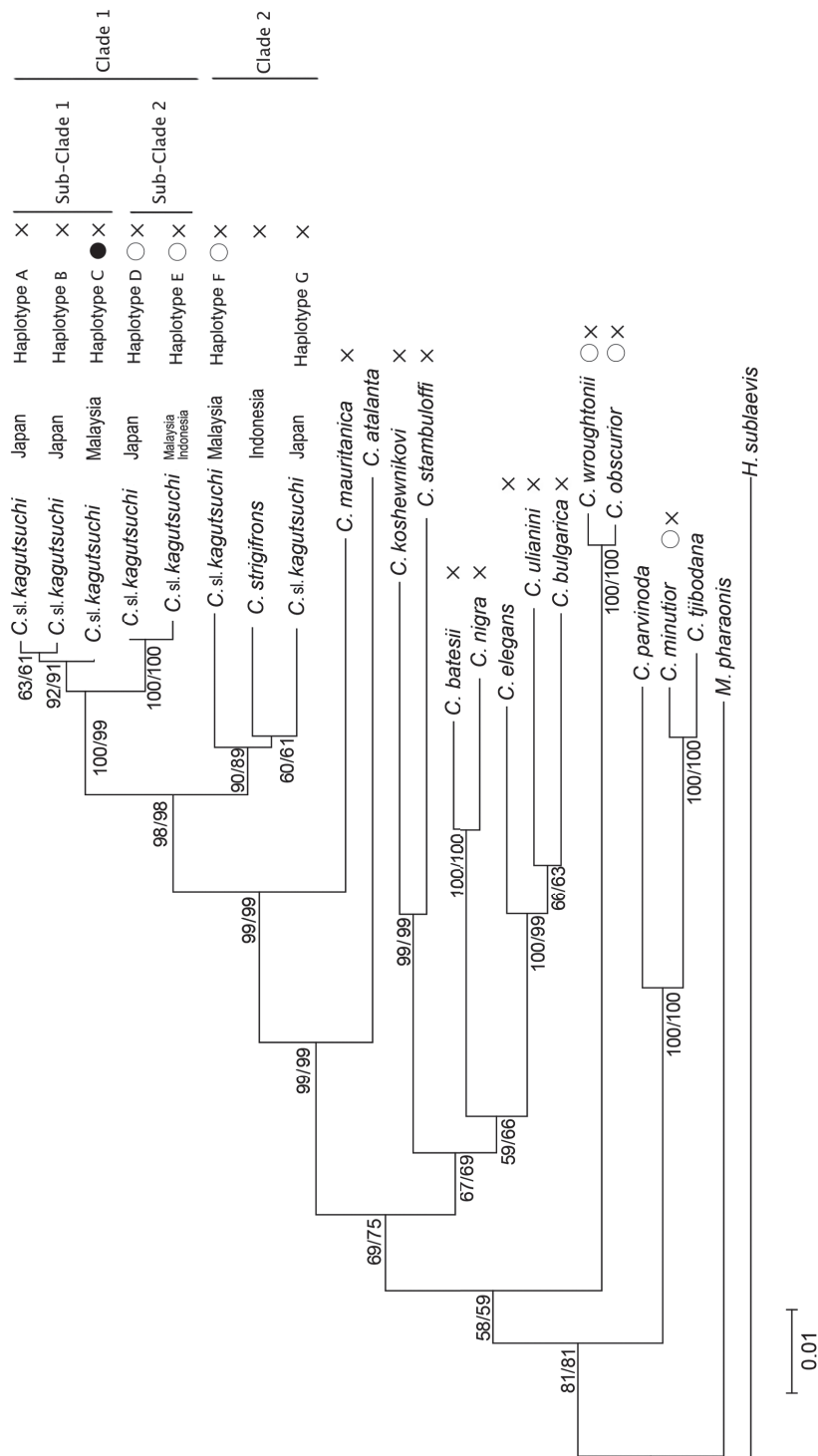


図7 ハダカアリ属 (*Cardiodiandyla*) および他の2属の mtDNA の COI/II 領域 (829bp) の塩基配列についての近隣結合法による系統樹。ノードの数字は、ブートストラップ系統樹を 5000 回作成して得られたブートストラップ値で、左に近隣結合法、右に最尤法のものを示した。属名は以下の様に略して示した: *C* - *Cardiodiandyla*, *M* - *Monomorium*, *H* - *Harpagoxenus*。ハダカアリ *C. kagutsuchi* と、*C. strigifrons* については、それぞれ採集した国名を示した。ハダカアリの各ハプロタイプの GenBank の Accession 番号は、ハプロタイプ A は AB723724 と DQ023082、ハプロタイプ B は AB723726、ハプロタイプ C は DQ023083 と DQ023084、ハプロタイプ D は AB723727、ハプロタイプ E は DQ023081、DQ023085、DQ023086、DQ023087、ハプロタイプ F は DQ023080、ハプロタイプ G は AB723725 と DQ023088 である。ハプロタイプまたは種ごとのオスの翅多型のタイプを、○: 有翅オス(長翅)、●: 有翅オス(短翅)、×: 無翅オスで示した。例えば、○×ならば、そのハプロタイプまたは種のコロニーからは、長翅オスと無翅オスの両方が得られたことを示している。これらのハプロタイプまたは種ごとのオスの翅多型のタイプについては、本研究の他に、Heinze et al. 2005 及び Yamauchi et al. 2006 を参考に示した。また、*C. atalanta*, *C. parvinoda*, *C. tjobodana* の 3 種については、オスの形態が知られていなかった。

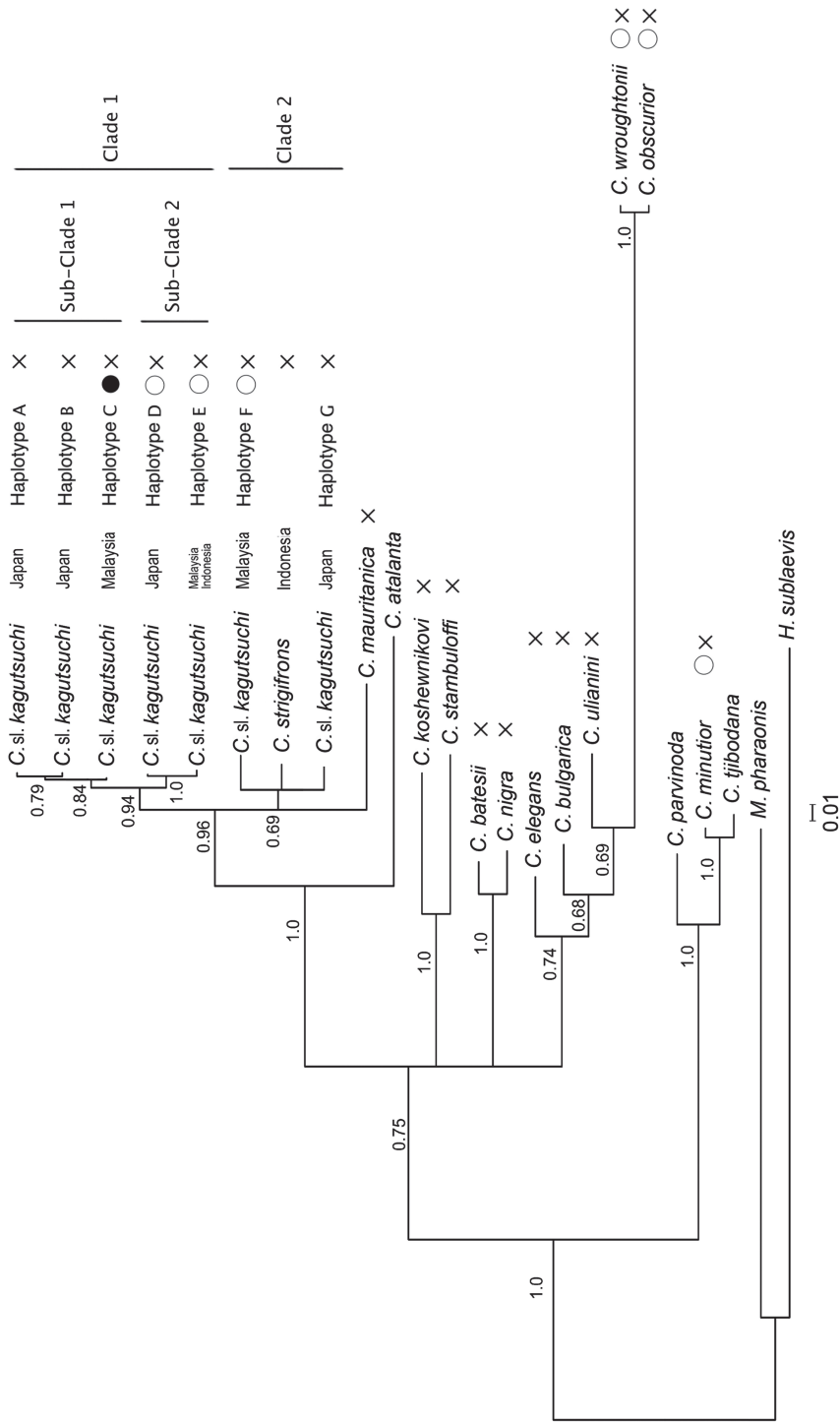


図8 ハダカアリ属 (*Cardiodondyla*) および他の2属のmtDNAのCOI/II 領域 (829bp) の配列についてのベイズ法による系統樹。ノードの数字で事後確率を示した。属名は以下のように略して示した: C-*Cardiodondyla*, M-*Monomorium*, H-*Harpagoxenus*。ハダカアリ *C. kagutsuchi* と、*C. strigifrons* については、それぞれ採集した国名を示した。ハダカアリの各ハプロタイプのGenBankのAccession 番号は、ハプロタイプAは AB723724 と DQ023082、ハプロタイプBは AB723726、ハプロタイプCは DQ023083 と DQ023084、ハプロタイプDは AB723727、ハプロタイプEは DQ023081、DQ023085、DQ023086、DQ023087、ハプロタイプFは DQ023080、ハプロタイプGは AB723725 と DQ023088であった。ハプロタイプまたは種ごとのオスの翅多型のタイプを、○: 有翅オス(長翅)、●: 有翅オス(短翅)、×: 無翅オスで示した。例えば、○×ならば、そのハプロタイプまたは種のコロニーからは、長翅オスと無翅オスの両方が得られたことを示している。これらのハプロタイプまたは種ごとのオスの翅多型のタイプについては、本研究の他に、Heinze et al. 2005及びYamauchi et al. 2006を参考にした。また、*C. atalanta*、*C. parvinoda*、*C. tjibodana* の3種については、オスの形態が知られていなかった。

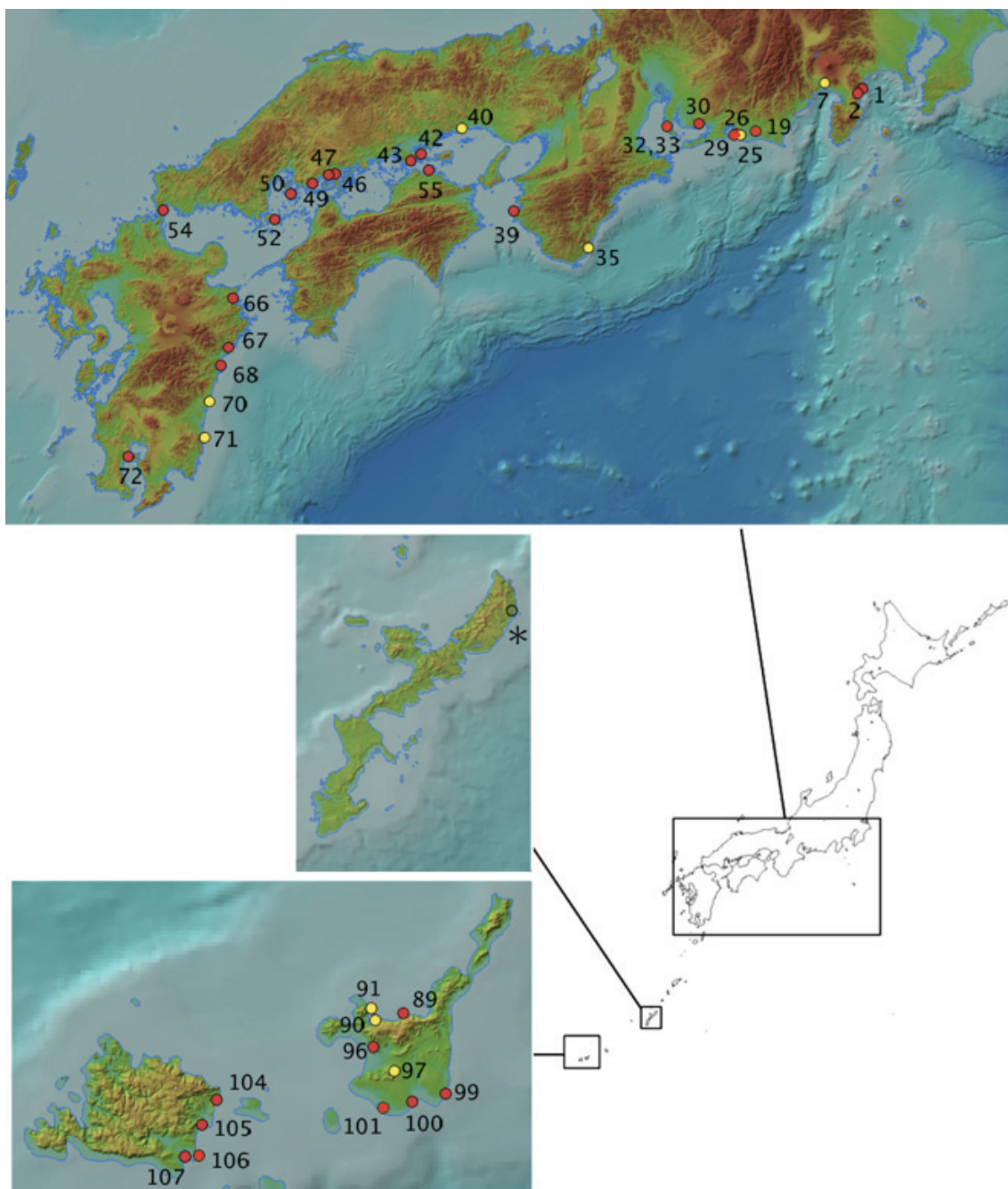


図9-1 ハダカアリのハプロタイプ A(図7、8)の採集地点(41 地点)。採集地点の数字は表1の採集地番号に対応させた。採集地点7、25、35、40、70、71、90、91、97(9地点、黄丸)では巣口を発見できず、歩行していた個体を採集し、それ以外の地点(32 地点、赤丸)ではコロニー($n=33$)を採集した。各採集地点の緯度経度は表1に載せた。採集地点26は25と29の間にあった。32と33の丸の表示は重なった。*は、山内克典博士がハダカアリのコロニーを採集した沖縄県国頭村安田付近を示した。採集地点29からは、ハプロタイプ G のコロニーも得られた。

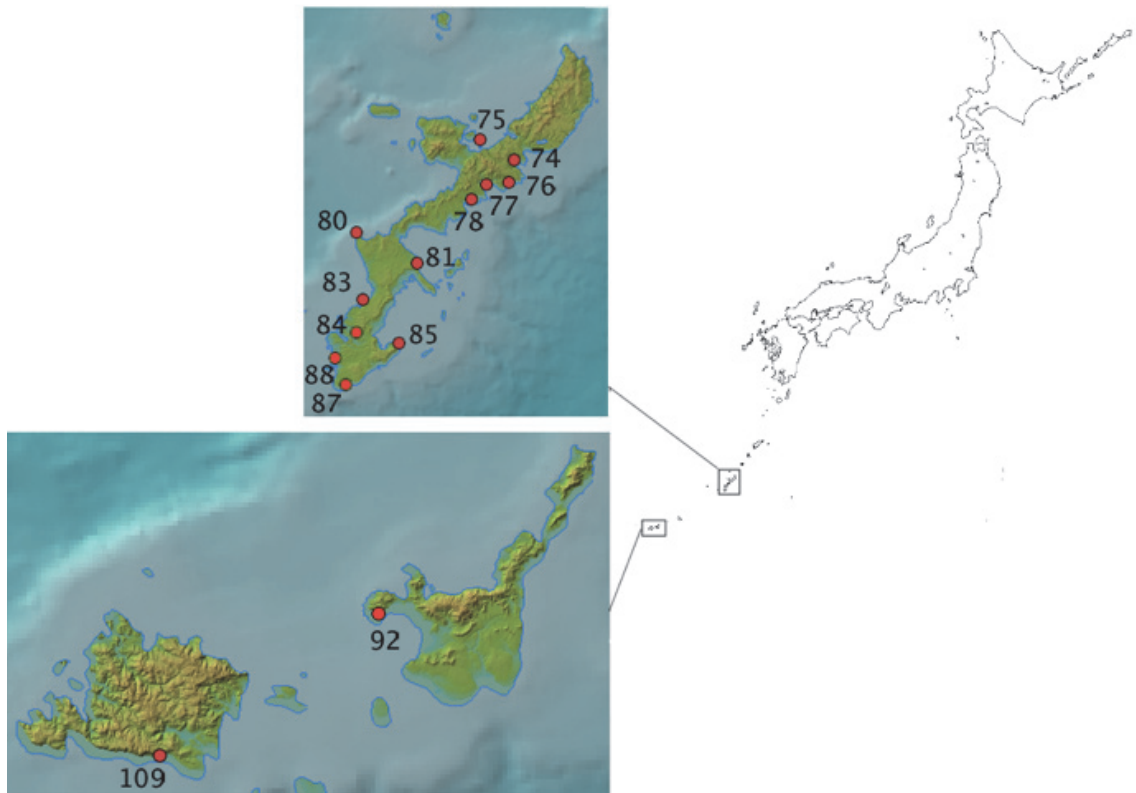


図9-2 ハダカアリのハプロタイプ B(図7、8)の採集地点(14 地点)。採集地点の数字は表1の採集地番号に対応させた。いずれの採集地点でも、コロニー($n=15$)を採集した。各採集地点の緯度経度は表1に載せた。

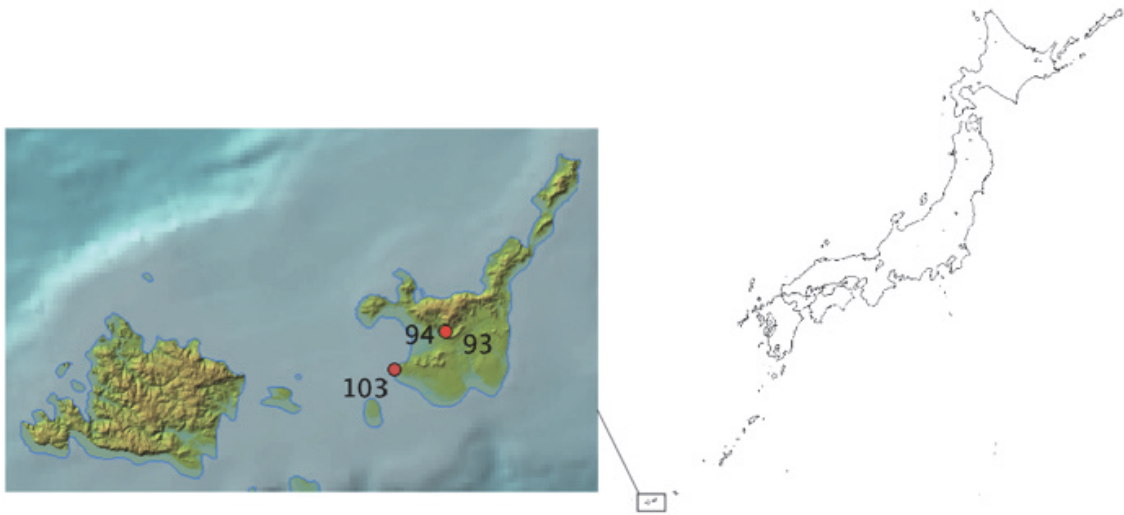


図9-3 ハダカアリのハプロタイプ D(図7、8)の採集地点(3地点)。採集地点の数字は表1の採集地番号に対応させた。いずれの採集地点でもコロニー($n=10$)を採集した。各採集地点の緯度経度は表1に載せた。採集地番号 93 と 94 の丸の表示は重なった。また、採集地番号 94 からは、ハプロタイプ G のコロニーも得られた。

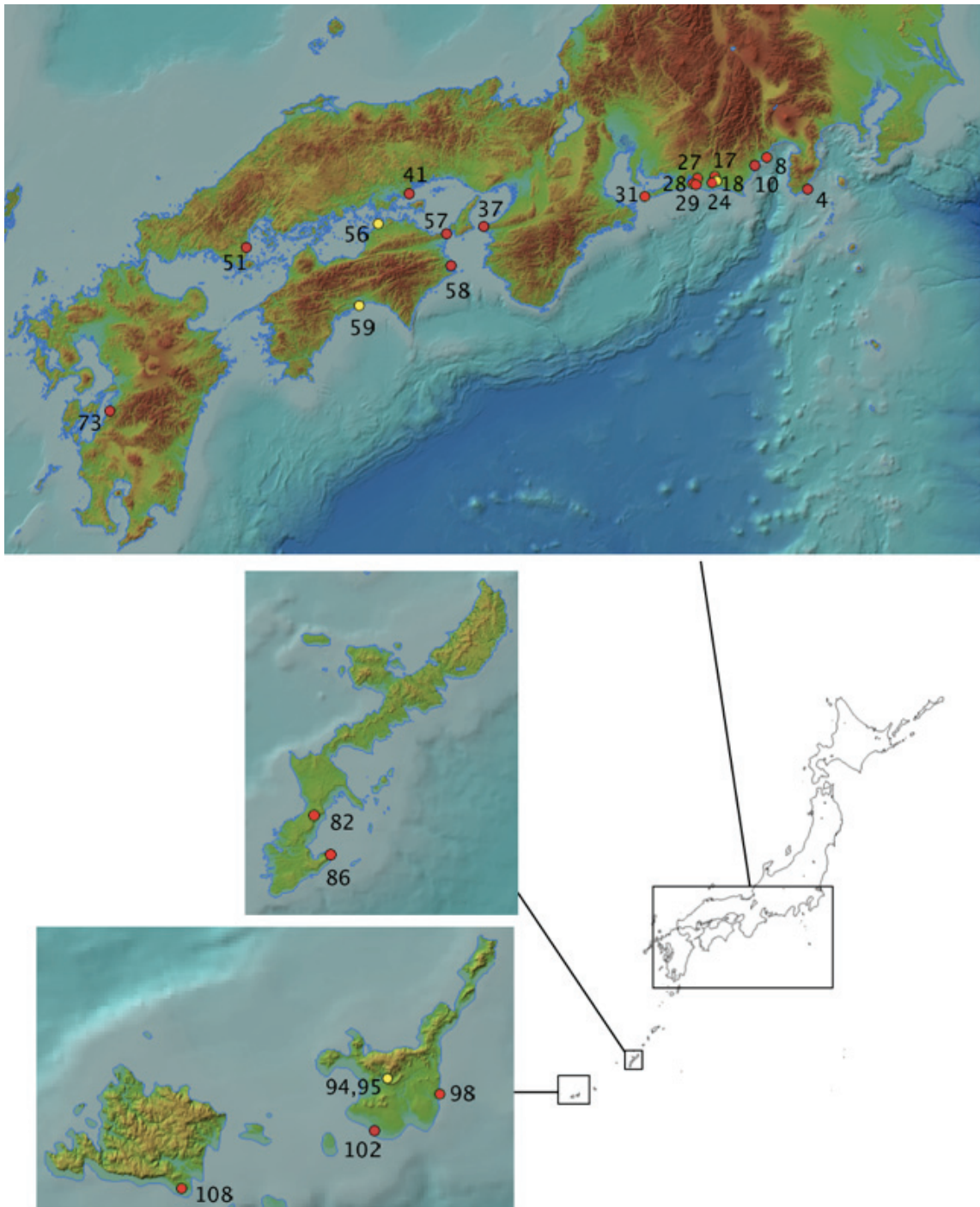


図9-4 ハダカアリのハプロタイプ G(図7、8)の採集地点(25 地点)。採集地点の数字は表1の採集地番号に対応させた。採集地点 18、56、59、95(4地点、黄丸)では巣口を発見できず、そこを歩行していた個体を採集し、それ以外の地点(21 地点、赤丸)ではコロニー($n=21$)を採集した。各採集地点の緯度経度は表1に載せた。採集地番号 94 と 95 の丸の表示は重なった。また、採集地番号 29 からはハプロタイプ A のコロニーも、採集地番号 94 からはハプロタイプ D のコロニーも得られた。

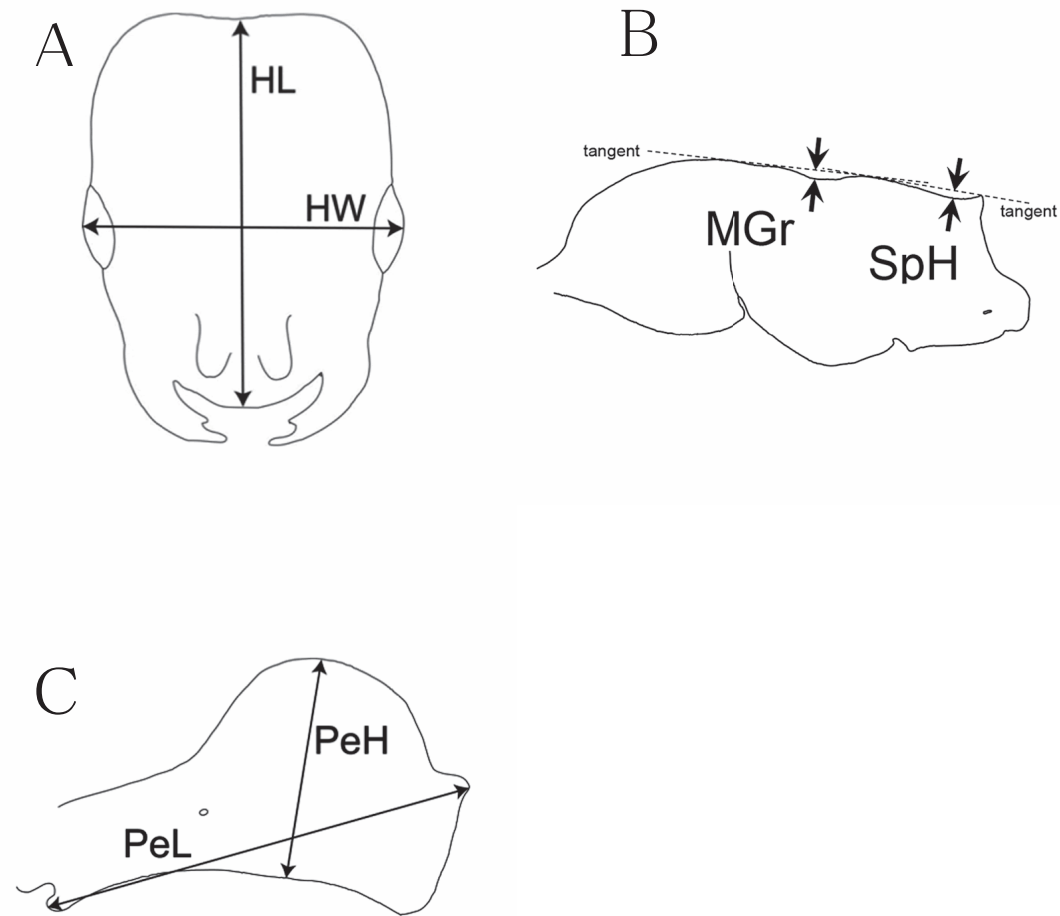


図10 日本産 *C. kagutsuchi* の4ハプロタイプ間の働きアリの体サイズ比較のために、長さを測定した6箇所(HL、HW、MGr、SpH、PeL、PeH)。A は頭部を上方から見たもので、HL(頭部長さ)とHW(頭部幅)を示した。B は胸部を側方から見たもので、MGr(後胸溝の深さ)と、SpH(前伸腹節刺の高さ)を示した。C は腹柄節を側方から見たもので、PeL(腹柄節の長さ)とPeH(腹柄節の高さ)を示した。

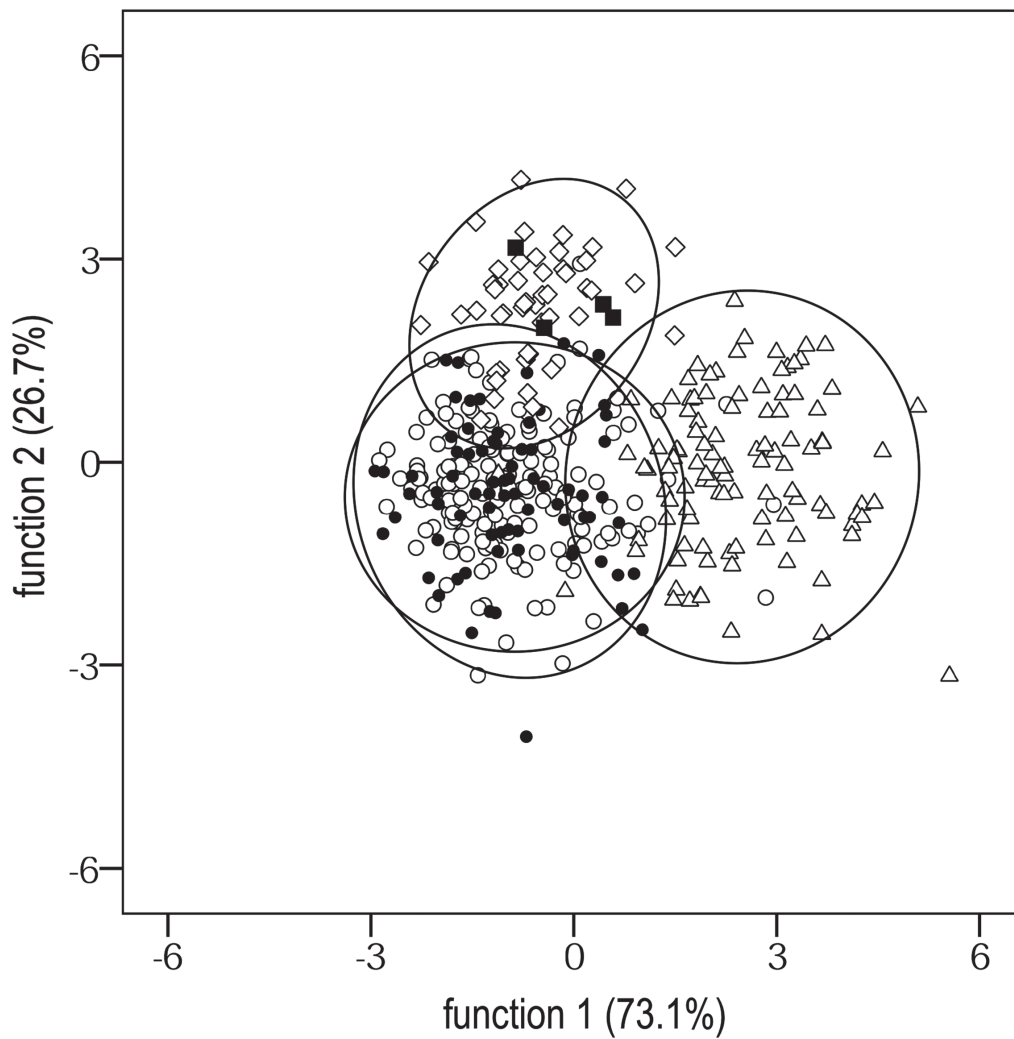


図 11 判別分析の第1、2関数を用いて作図された、日本産ハダカアリの4ハプロタイプ(A、B、D、G:図7、8)とパラタイプの働きアリの判別スコアの散布図。ハプロタイプ A の個体($n=165$)は白丸、ハプロタイプ B の個体($n=75$)は黒丸、ハプロタイプ D の個体($n=50$)は菱形、ハプロタイプ G の個体($n=105$)は三角形、パラタイプ($n=4$)は黒四角で示した。楕円で 95%確率楕円を表示した。

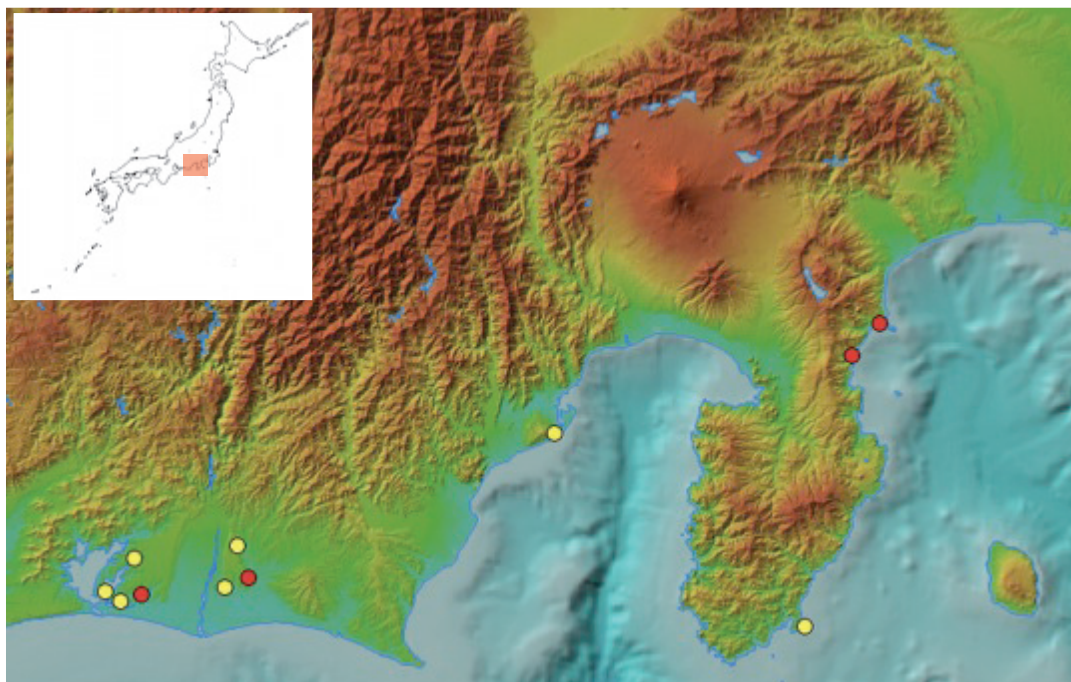


図 12-1 核 DNA の分子系統解析に使用した、ハダカアリのコロニーの静岡県と神奈川県における採集地点を、ハプロタイプ (図7、8) ごとに色を分けて示した。赤丸はハプロタイプ A のコロニーを、黄丸はハプロタイプ G のコロニーをそれぞれ採集した地点を示した。

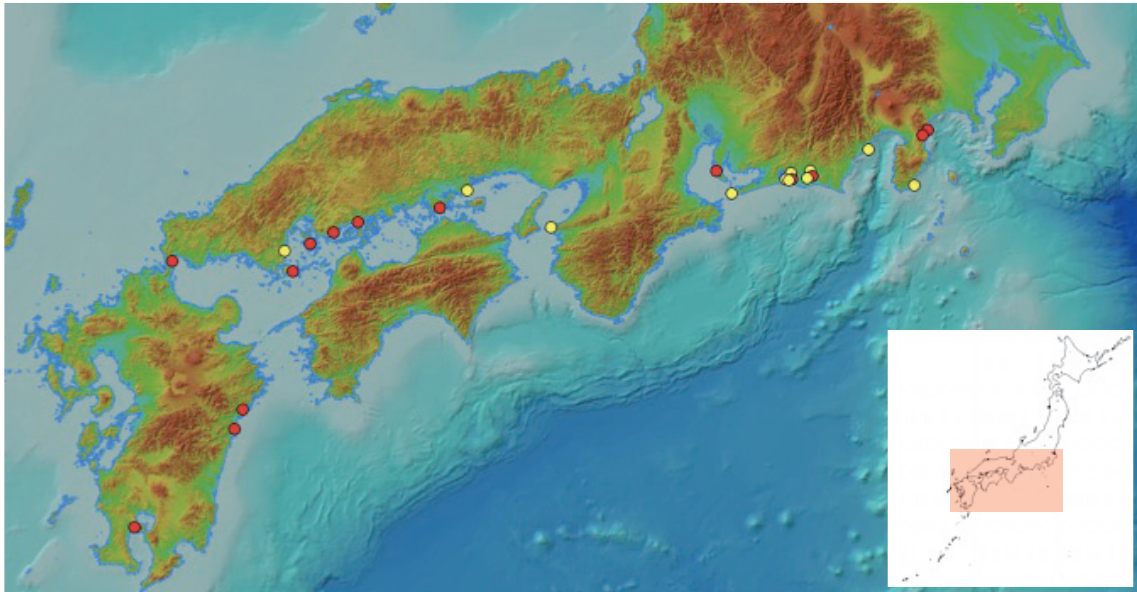


図 12-2 核 DNA の分子系統解析に使用した、ハダカアリのコロニーの本州、四国、九州における採集地点を、ハプロタイプ (図7、8) ごとに色を分けて示した。赤丸はハプロタイプ A のコロニーを、黄丸はハプロタイプ G のコロニーをそれぞれ採集した地点を示した。

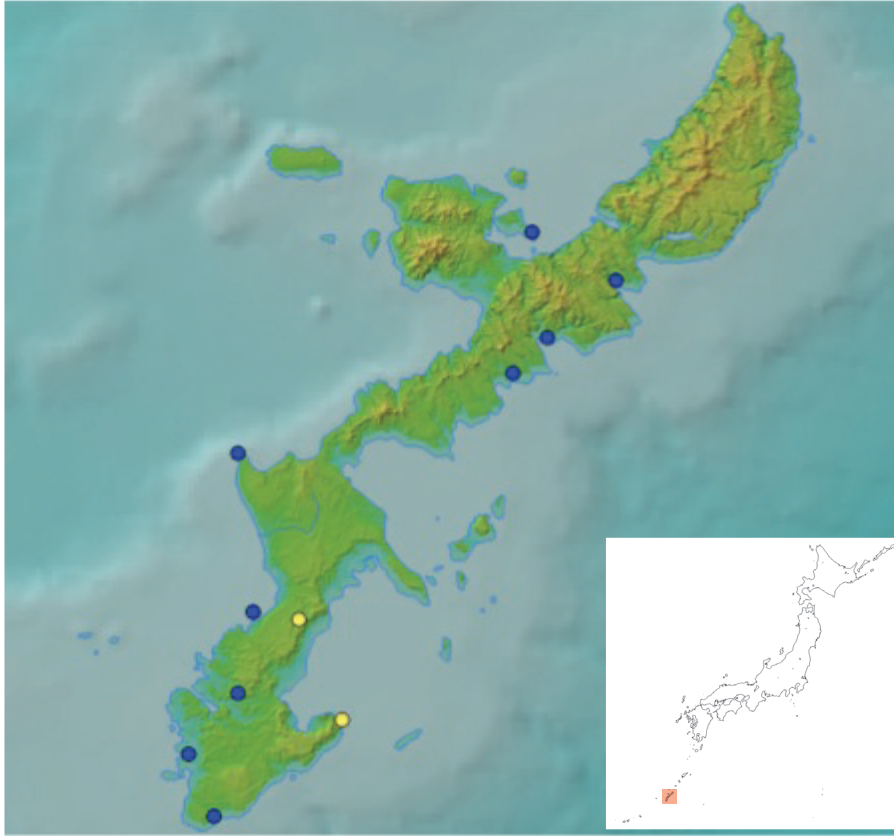


図 12-3 核 DNA の分子系統解析に使用した、ハダカアリのコロニーの沖縄本島における採集地点を、ハプロタイプ (図7、8) ごとに色を分けて示した。青丸はハプロタイプ B のコロニーを、黄丸はハプロタイプ G のコロニーをそれぞれ採集した地点を示した。

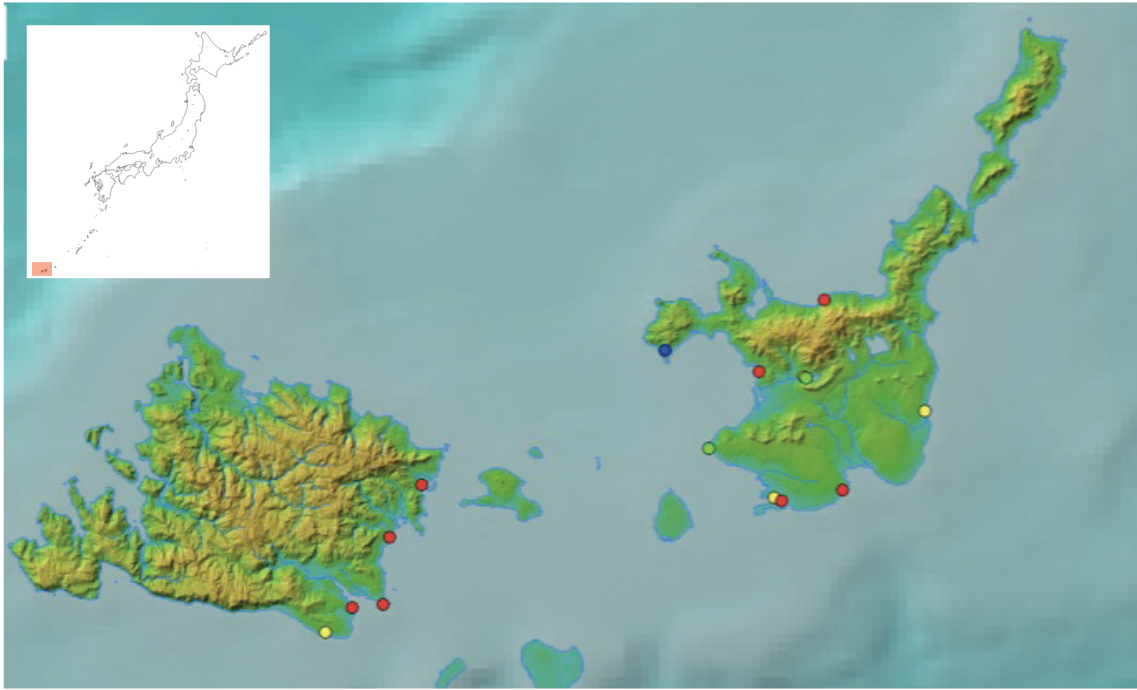


図 12-4 核 DNA の分子系統解析に使用した、ハダカアリのコロニーの石垣島と西表島における採集地点を、ハプロタイプ (図7、8) ごとに色を分けて示した。赤丸はハプロタイプ A の、青丸はハプロタイプ B の、緑丸はハプロタイプ D の、黄丸はハプロタイプ G のコロニーをそれぞれ採集した地点を示した。

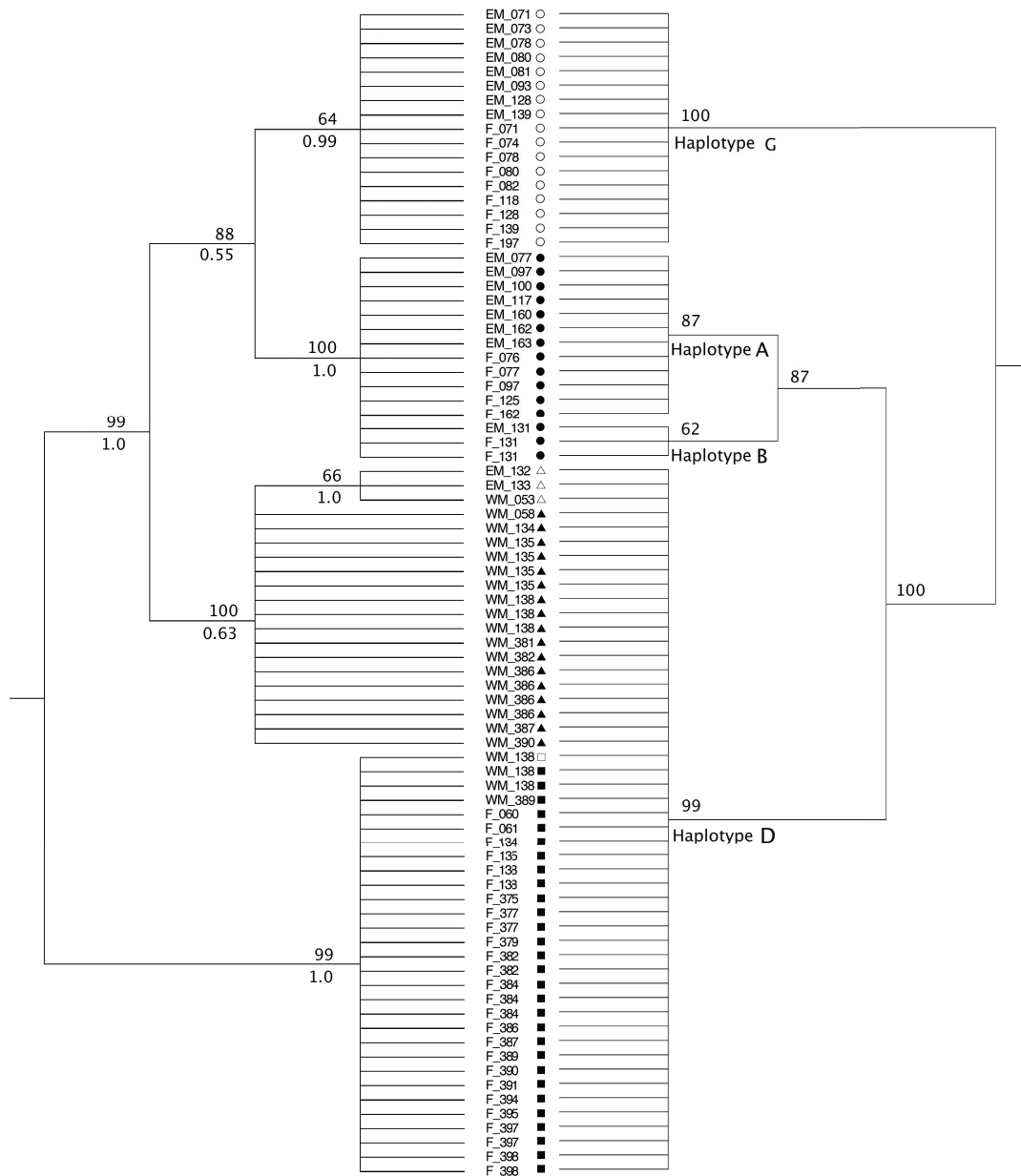


図13 ハダカアリのオスアリとメスアリの核DNA (ITS 領域) の配列情報から、最節約法により作成された分子系統樹(左)。ベイズ法で作成した系統樹もこれと同じ樹形であった。枝上の数字は最節約法によるブーツストラップ値で、枝下の数字はベイズ法による事後確率を示した。各サンプル名は次の順に示した: カースト名 (EM: 無翅オスアリ、WM: 有翅オスアリ、F: メスアリ)、コロニー番号、GenBank の Accession No. を示す記号 (○: LC038153、●: LC038152、△: LC038154、▲: LC038155、□: LC038156、■: LC038157)。それぞれのサンプルの mtDNA (COI/II 領域) の配列について、近隣結合法により作成した分子系統樹(右)も示した。枝の数字はブーツストラップ値を示した。

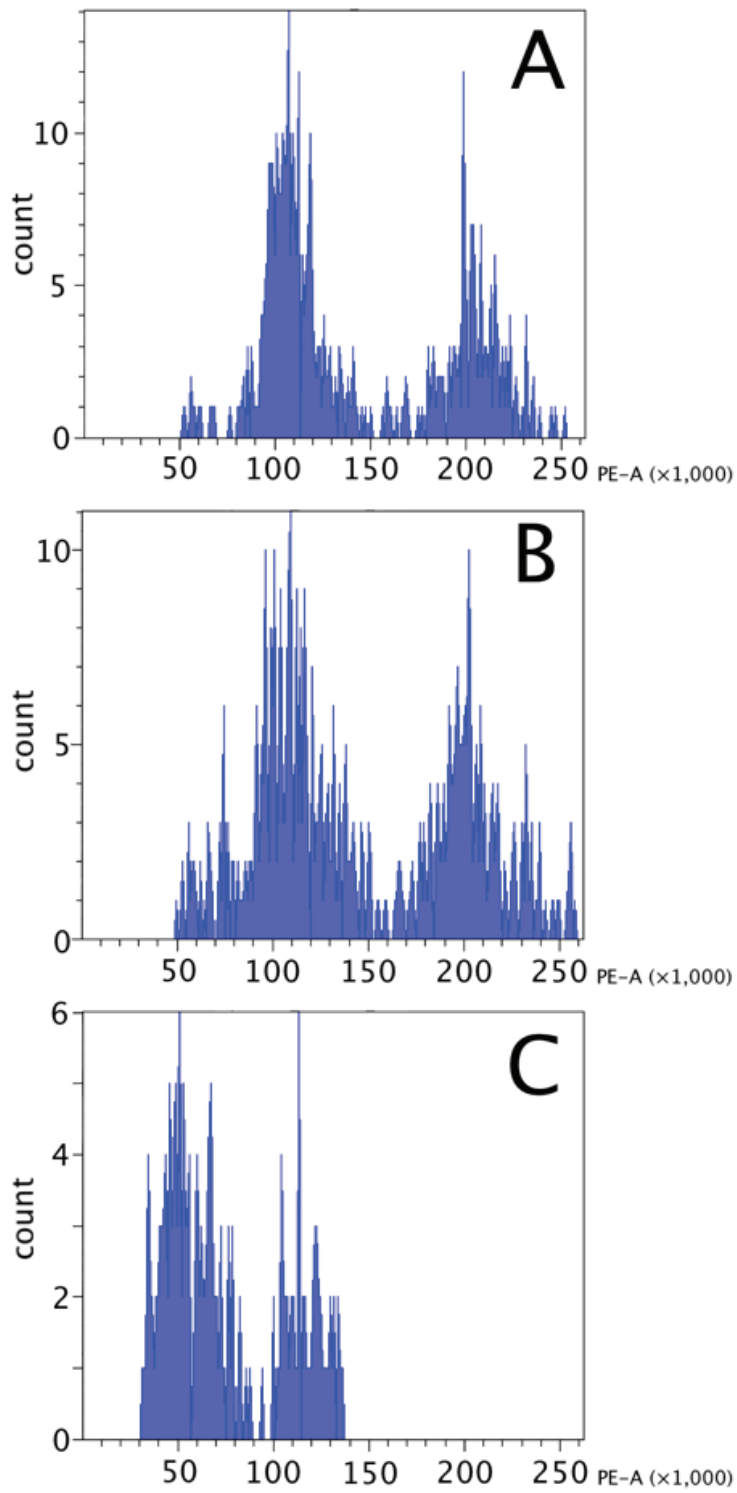


図14 フローサイトメトリーによる、ハダカアリのハプロタイプ D(図7、8)の、働きアリ(蛹:A)、メスアリ(蛹:B)、有翅のオスアリ(成虫:C)の1細胞あたりのDNA量。横軸でDNA量を、縦軸でそれぞれのDNA量をもった細胞の個数を示した。

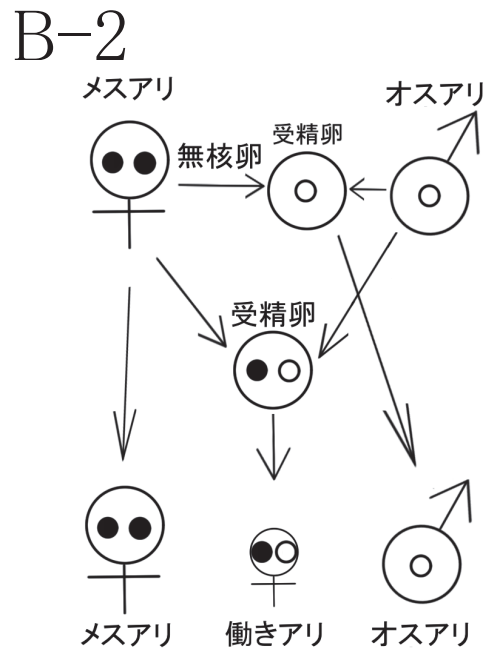
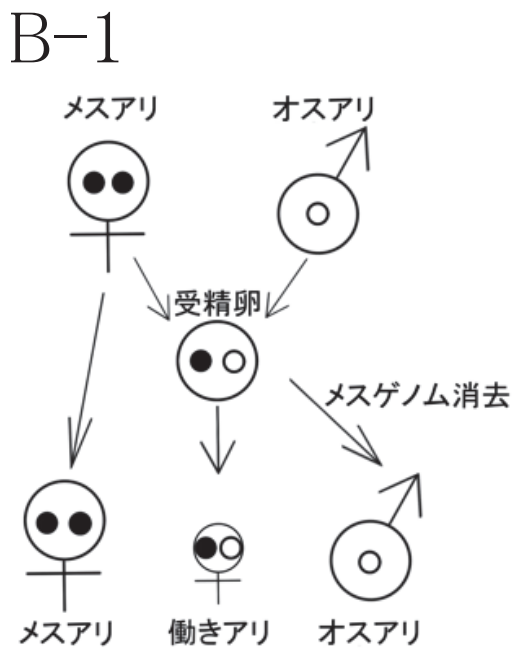
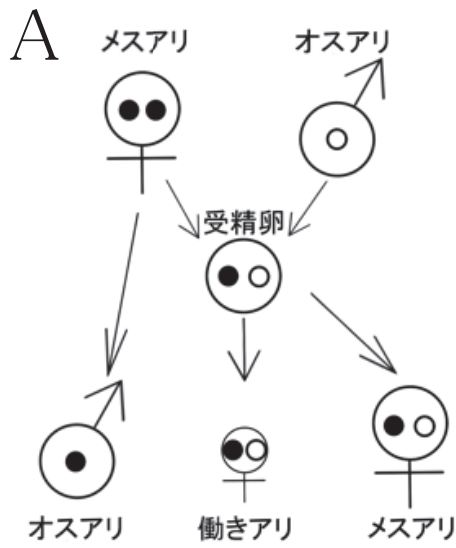
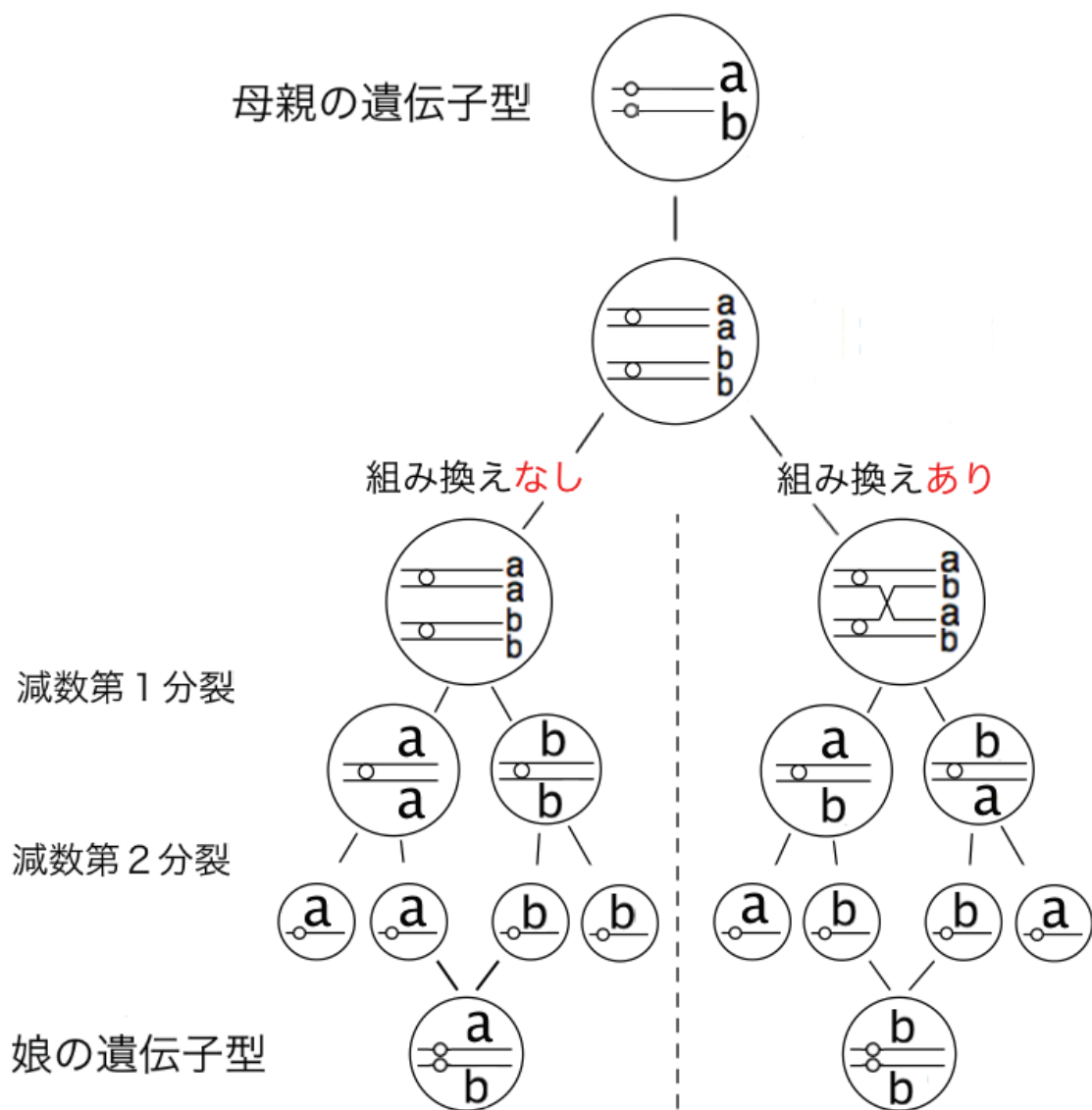


図 15 有性生殖と産雄単為生殖から成る膜翅目で一般的な繁殖様式(Wheeler 1986:A)と、「メスゲノム消去説」(Fouriner et al. 2005:B-1)及び「無核卵説」(Foucaud et al. 2007:B-2)で説明されるCRA(Clonal Reproduction with Androgenesis)による繁殖様式。●や○で、それぞれの個体や受精卵が持つ核遺伝子型を示した。



Pearcy et al. 2006 を改変

図 16 減数分裂と染色体の融合を伴うオートミクシスの中の、減数第一分裂時の異なる細胞同士が融合する中央融合型オートミクシス(セントラルフュージョン)の説明。CRA(Clonal Reproduction with Androgenesis)における産雌単為生殖は、組み換えなしの方の経路で行われていると考えられる(Rey et al. 2011)。

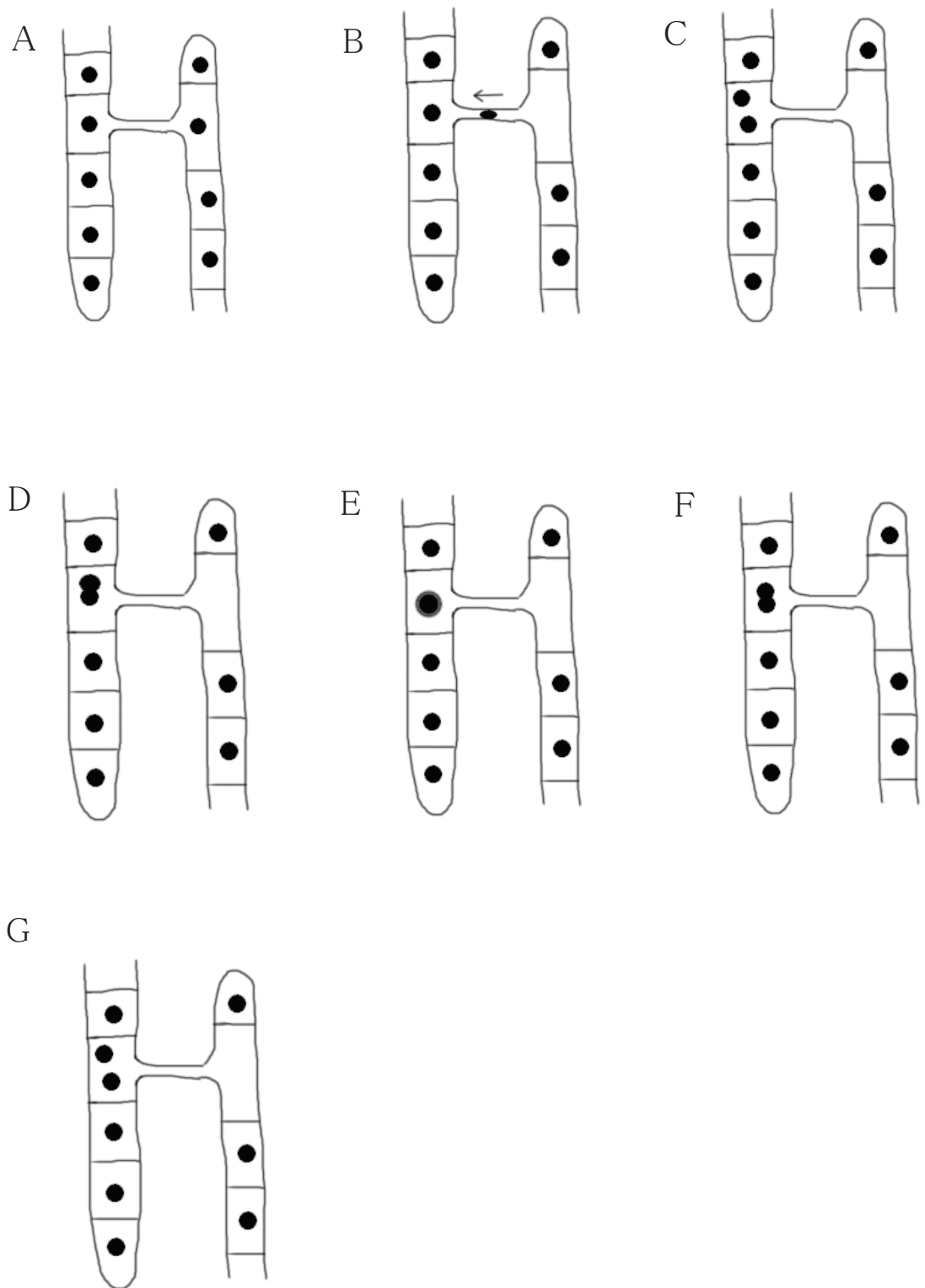


図 17 菌類における疑似有性生殖(A から G の順)。福政(2013)と村上(2013)を参考に作成した。
 (1)A、B、C:異なる単相(n)の菌糸体の融合により、2つの核(●で表示)が1つの体細胞の中に共存する。(2)D、E:この共存する2つの核が核融合を起こし、2倍体核(2n)を形成する。(3)F、G:核の分裂に伴い、体細胞組換え(somatic recombination)が起こり、新たな単相核が形成される。

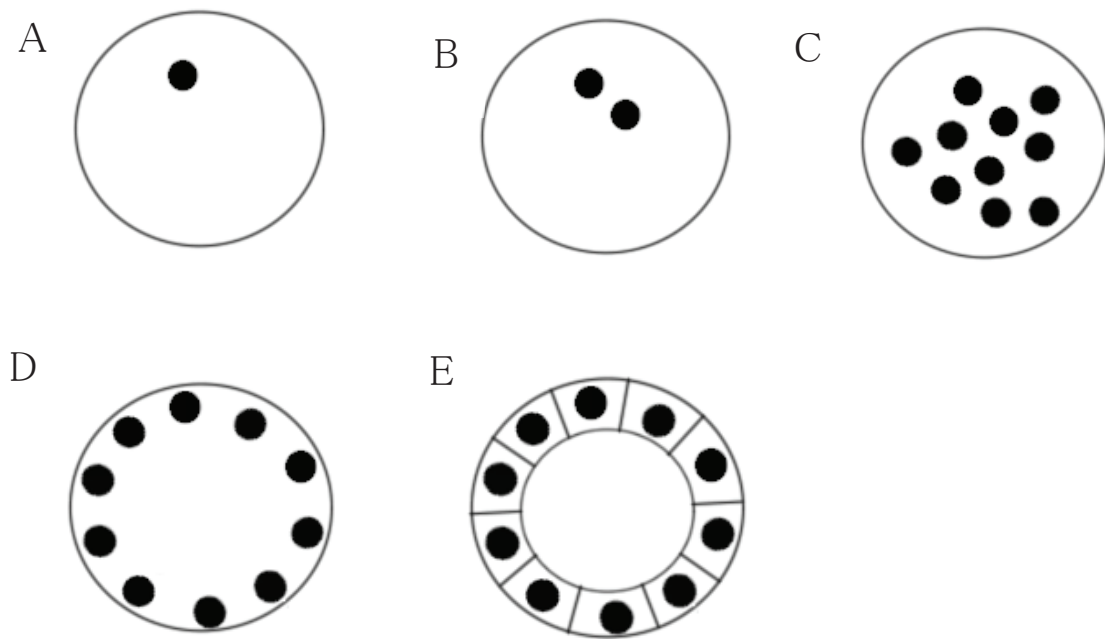


図 18 昆虫の初期胚発生の様子(A から E の順)。辻村(1995)をもとに作成した。(1)A、B:受精後、まず核分裂が起こる。この際、細胞質の分裂は起こらない。(2)C:分裂を繰り返して増えた核が卵内に広く分布するようになる。(3)D:核は次第に卵表に向けて移動を始め、やがて、全卵表に分布するようになる。(4)E:卵表面に並ぶ核と核の間に細胞膜が陥入し、核は細胞膜で仕切られる。