

第2章 外来アリ類（ヒアリ等）の監視技術・体制の確立

1. 有効なモニタリング手法の検討

1-1. 外来アリ類の侵入状況の現状評価概要（予報）

沖縄県内におけるモニタリング体制の整備に先立ち、ヒアリを中心とした侵略的外来アリ類について、その侵入の有無と分布の現状を把握することを目的に、予備調査を行った。平成28年度は、調査対象地区として、主要交易港を抱える沖縄本島と石垣島を選定した。

沖縄本島では、港湾地区での調査区選定を進めるとともに、沖縄科学技術大学院大学が研究プロジェクトで運営する昆虫採集システムを利活用することで、短期間での広域かつ網羅的な予備調査を目指した。石垣島では、港湾地区における調査区の選定及び、アリ相把握を目的とした予備調査を実施した。本調査にて採集され、データとして使用されたアリ類標本は、すべて沖縄科学技術大学院大学生物多様性・複雑性研究ユニットのコレクションとして保管されている。

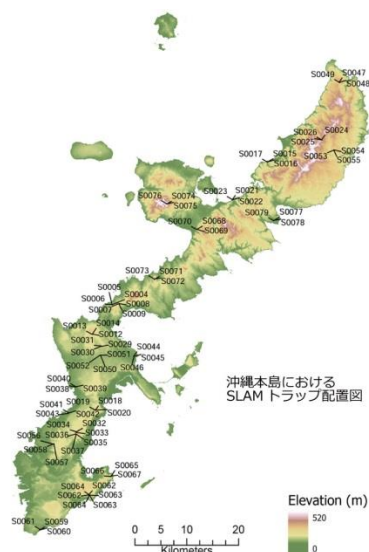
今年度を実施した県内での予備調査において、いまのところヒアリ類を含む特定外来指定のアリ類は確認されていない。

1-2. 外来アリ類の侵入状況 予備調査

(1) 調査方法

① 沖縄本島

沖縄科学技術大学院大学が現在実施している「OKEON 美ら森プロジェクト」の昆虫モニタリングシステムを利用し、2015年度から設置された本島内72カ所の昆虫捕獲器SLAMトラップ（テント型変形マレーゼトラップ）により捕獲されたアリ類を調査対象とした。本研究では、沖縄本島の北から南まで、連続的な森林から農地までを含む多様な環境に、合計24カ所の調査区を設けている。それぞれの地点に半径100mの円形調査区を設定し、その範囲内にSLAMトラップを3基ずつ設置。1年を通して2週間毎に各トラップで採集される昆虫類を回収している。すでに昆虫の活動が活発になる4月を含む約7ヶ月にわたる連続定点採集を行っていることになり、これら1,000本を超える昆虫液浸サンプルの中から、以下の手順に従ってアリ類を探索、同定し、標本として保管した。なお、本事業が開始した11月時点、そしてそれ以降も、野外からのアリ類の試料の回収は継続して実施している。



SLAMトラップ

1. トラップから回収されたエタノール液浸試料からのアリ類の抜き出し。
2. 各試料から抽出されたアリ類を、液浸中で形態種へと仕分ける。
3. 各試料から各形態種数個体を乾燥標本にする。
4. 標本情報に標識コードを与えてデータベースに登録。
5. 乾燥標本を基に種を同定。
6. 乾燥標本を「OKEON 美ら森プロジェクト」の標本管理システムにより保管・管理。



SLAM トラップから回収されたボトル



ソーティングを行うスタッフとソーティング室



SLAM トラップの試料から抜き出されたアリ類



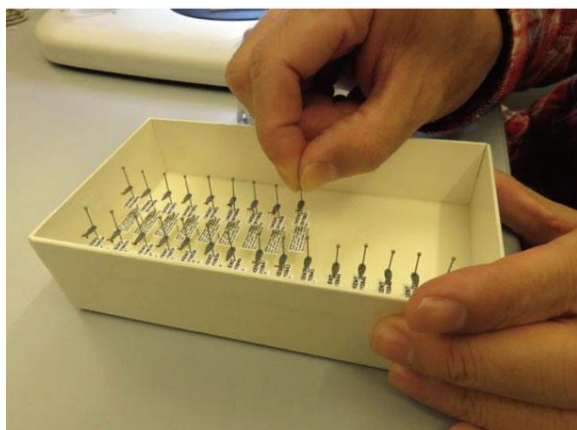
エタノール中で形態種へと分けられたアリ類



乾燥標本作製のため台紙への貼付け



採集データによるラベル作成



ラベルをつけられたアリ類乾燥標本



調査地、トラップ毎に整理されたラベル



標本収納キャビネット



標本箱

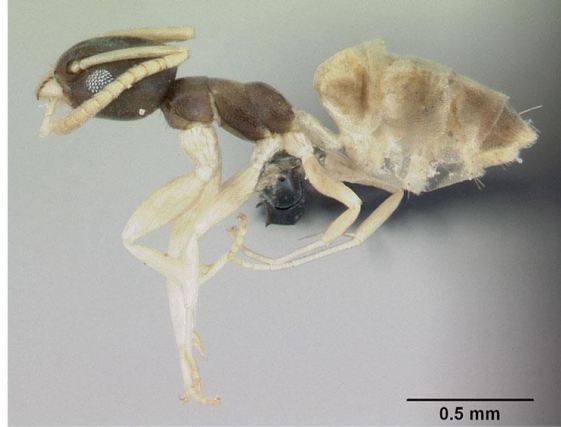


種まで同定され、整理された石垣島アリ類標本

今年度の予備調査では、ヒアリ及びアルゼンチンアリを含む、特定外来生物指定種 4 種と侵略的外来種ワースト 100 指定種 2 種、さらに、専門的見地から選出した外来 3 種を加えた合計 9 種に着目し、各トラップからの出現の有無と、そのデータによる侵入アリ類の沖縄本島内分布現状について調査した。以下に調査対象種 9 種の一覧を挙げる。



アルゼンチンアリ
Linepithema humile [特定外来生物] Photo: Michael Branstetter



アワテコヌカアリ
Tapinoma melanocephalum Photo: April Nobile



アシナガキアリ
Anoplolepis gracilipes Photo: Erin Prado



ヒゲナガアメイロアリ
Paratrechina longicornis Photo: Michele Esposito



ツヤオズアリ
Pheidole megacephala Photo: Shannon Hartman



アカカミアリ
Solenopsis geminata [特定外来生物] Photo: April Nobile

from www.AntWeb.org



ヒアリ
Solenopsis invicta [特定外来生物]



オオシワアリ
Tetramorium bicarinatum

Photo: April Nobile



コカミアリ
Wasmannia auropunctata [特定外来生物]

Photo: Michele Esposito

from www.AntWeb.org

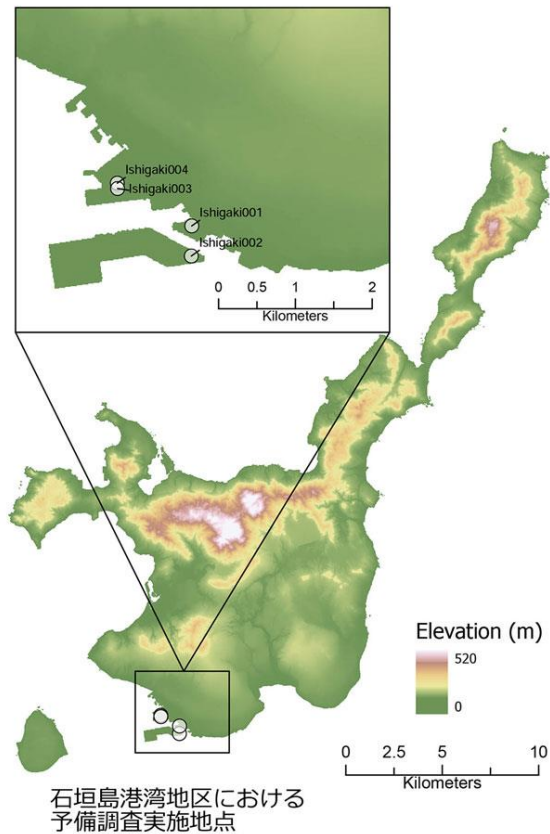
特定 外来 指定	亜科名	学名	和名
X	Dolichoderinae	<i>Linepithema humile</i>	アルゼンチンアリ (カタアリ亜科)
	Dolichoderinae	<i>Tapinoma melanocephalum</i>	アワテコヌカアリ (カタアリ亜科)
	Formicinae	<i>Anoplolepis gracilipes</i>	アシナガキアリ (ヤマアリ亜科)
	Formicinae	<i>Paratrechina longicornis</i>	ヒゲナガアメイロアリ (ヤマアリ亜科)
	Myrmicinae	<i>Pheidole megacephala</i>	ツヤオオズアリ (フタフシアリ亜科)
X	Myrmicinae	<i>Solenopsis geminata</i>	アカカミアリ (フタフシアリ亜科)
X	Myrmicinae	<i>Solenopsis invicta</i>	ヒアリ (フタフシアリ亜科)
	Myrmicinae	<i>Tetramorium bicarinatum</i>	オオシワアリ (フタフシアリ亜科)
X	Myrmicinae	<i>Wasmannia auropunctata</i>	コカミアリ (フタフシアリ亜科)

② 石垣島

石垣島は、台湾に近く、気候や土地利用形態が似ているため、重点地域のひとつに位置づけるべきだと考える。

台湾の専門家からの聞き取りから、特に侵入経路として危険性が高いのは港湾地区との意見が多かった。よって、まずは港湾地区に調査区を設定した。各関係機関への許認可申請や設置準備と並行して、港湾地区内の緑地4カ所でアリ相を把握することを目的に予備調査を行った。各緑地に、400平方メートルの調査区を1つもしくは2つ設定し、その中で15分間単位時間採集を各6回実施した。合計すると、調査面積は1,600平方メートルとなる。この調査面積内で、15分間の採集を24セット実施した計算となり、累積の総調査時間は360分となった。15分間単位時間採集法による調査では、地表や木の幹を徘徊する働きアリ

のを見つけ採りにとどまらず、草むらや木の葉のピーティング、木の根元などにたまった枯れ草や落ち葉のシフティングなど、複数の方法を組み合わせた採集を行い、単位時間あたりの採集種数が最大になるよう努める。そのため、特定の採集方法に偏らずに、調査実施調査区内に生息するアリ相を短時間で把握するのに適するとされる。また、通常の見つけ採りによる踏査と比べて、サンプルが細かいユニットに別れるため、調査努力量やその効果を解析しやすい利点もある。加えて、侵入を初期で検出するには、アリ相の時間的な変化も重要な要素になるかもしれず、その解明には、採集した標本の蓄積が必須となる。台湾におけるヒアリ侵入地と、沖縄における未侵入地を比較すると、アリ相を構成する種の違いが顕著である印象を受けたためである。従来用いられてきた粘着トラップによる調査では、標本の処理と蓄積が難しい。15分間単位時間採集法は、標本の蓄積という面においても有力な選択肢となり得るだろう。





方形区設置風景



見つけ採り



ピーティング (たたき)



シフティング (ふるい)



踏査による調査



ルーペによる観察と同定

今年度に設定した各調査区の位置データ及び調査日は以下の通りである。

調査区コード Ishigaki001

緯度経度データ 24.33485, 124.15874 標高 5m

調査日 2016年12月26日

調査区コード Ishigaki002

緯度経度データ 24.33132, 124.15878 標高 10m

調査日 2016年12月26日

調査区コード Ishigaki003

緯度経度データ 24.33903, 124.14912 標高 8m

調査日 2017年1月27日

調査区コード Ishigaki004

緯度経度データ 24.33966, 124.14907 標高 8m

調査日 2017年1月27日



調査地 Ishigaki001



調査地 Ishigaki002



調査地 Ishigaki003



調査地 Ishigaki004

さらに、上記に上げた15分間単位時間採集法による調査に加え、付近の道路や緑地などを可能な限り踏査し、予備調査を実施した。目視及びルーペを使用した簡易な現地同定を用いて、周辺のアリ類の生息状況を確認し、港湾地区とその周辺地域でヒアリを中心とした特定外来指定アリ類の侵入の有無を調査した。

(2) 調査結果

今年度に沖縄本島及び石垣島で実施した予備的調査の結果を以下に示す。

① 沖縄本島に設置した SLAM トラップ 72 基から回収された対象種

沖縄科学技術大学院大学が現在実施している「OKEON 美ら森プロジェクト」の昆虫モニタリングシステムを使い、沖縄本島内の SLAM トラップ（変形マレーゼトラップ）72 基より回収された試料を探索した。そこから発見された対象 9 種のアリ類について、結果を以下に示す。

特定外来生物に指定された外来性アリ類、アルゼンチンアリ、アカカミアリ、ヒアリ、ココミアリの 4 種は、いずれも発見されなかった。その他の調査対象種 5 種については、いずれも人口的な攪乱環境によく適応していることがうかがえる。そして共通しているのは、集落を含む人口密集地を中心にその分布を拡大させていることを示唆する分布パターンである。逆に、北部や本部半島森林環境に設置したトラップからの出現は限られている。

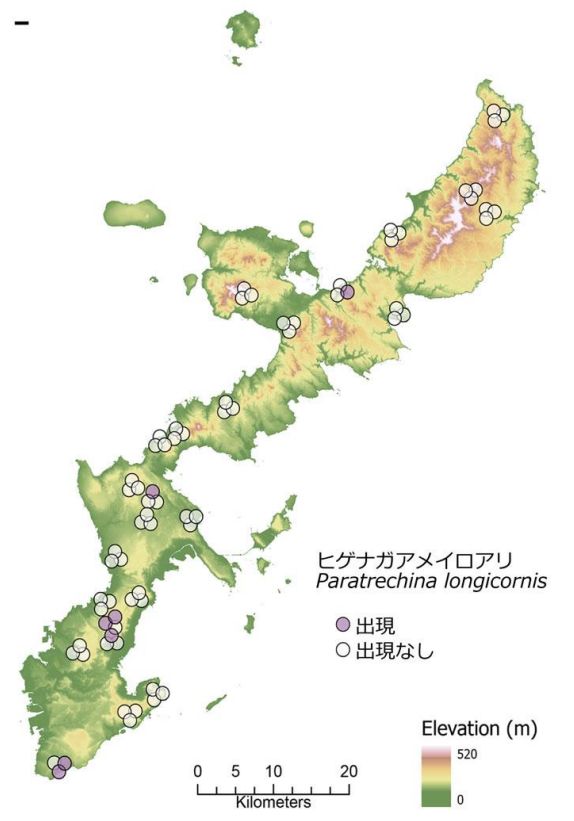
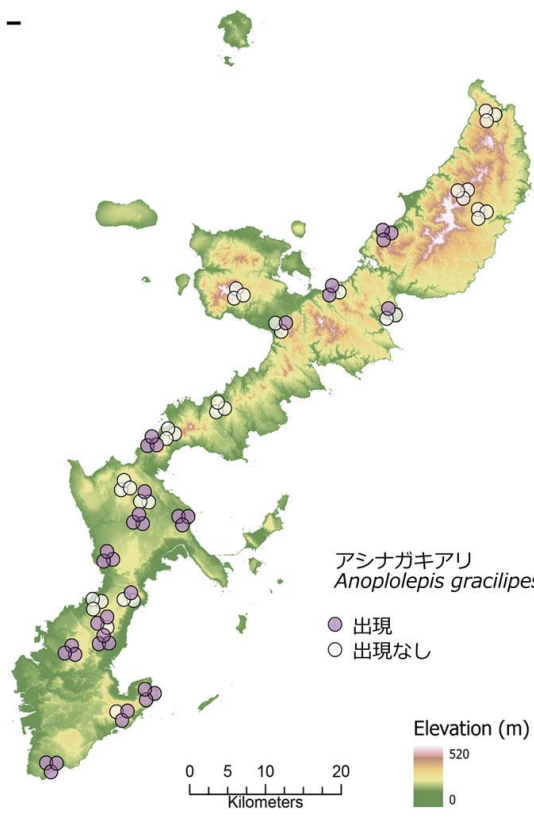
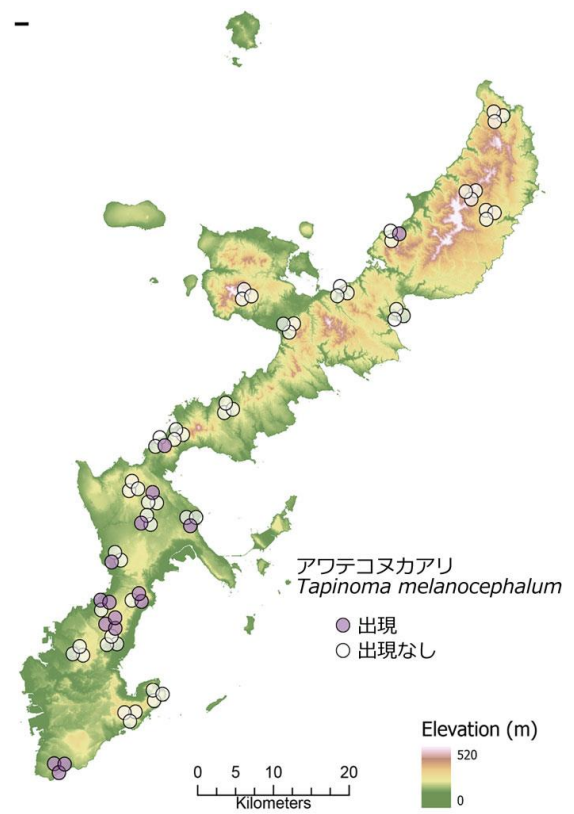
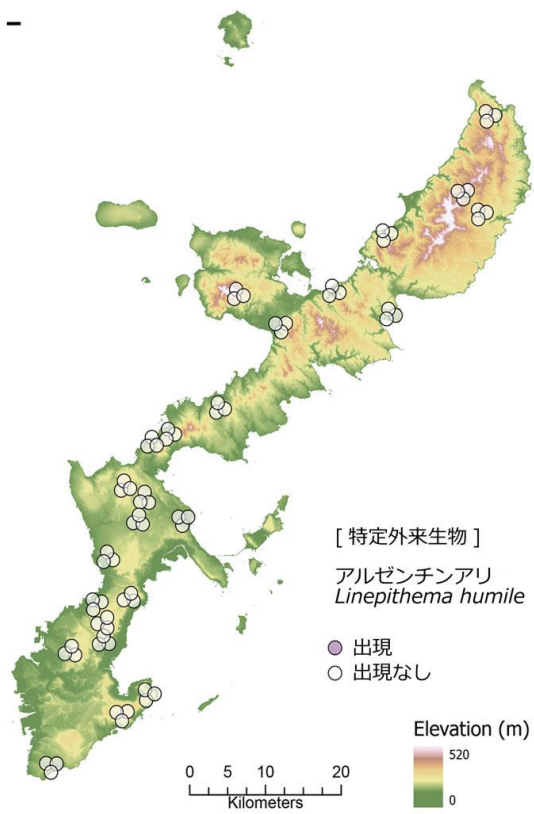
アワテコヌカアリの出現地点は 72 地点中 16 地点、22.2%であった。台湾での予備調査では、ヒアリ侵入地域であっても本種の生息が認められ、本予備調査においても、全ての対象種と同所的な分布を示している。このことから、これら外来性の種との競合が少ない可能性が示唆される。

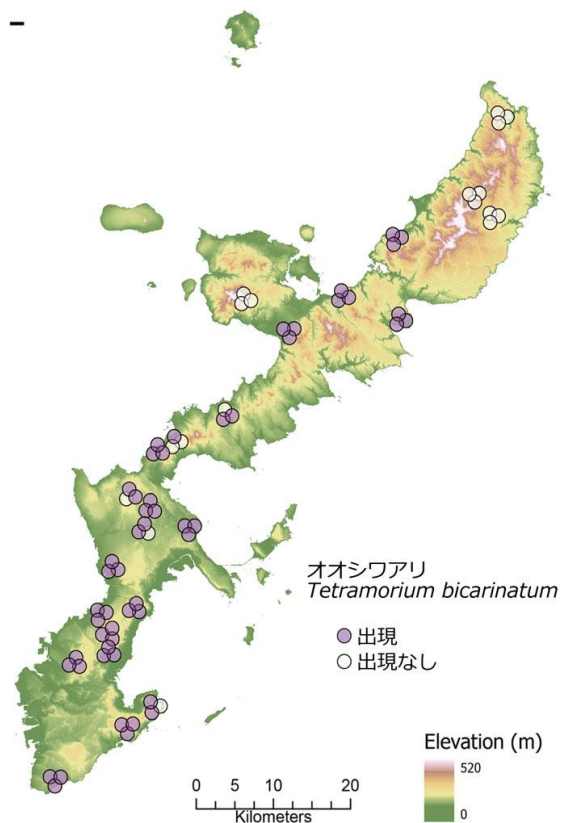
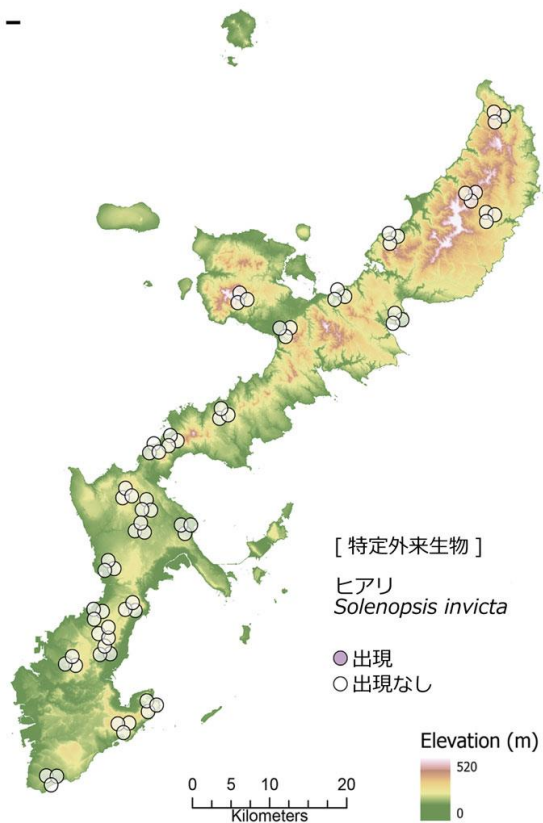
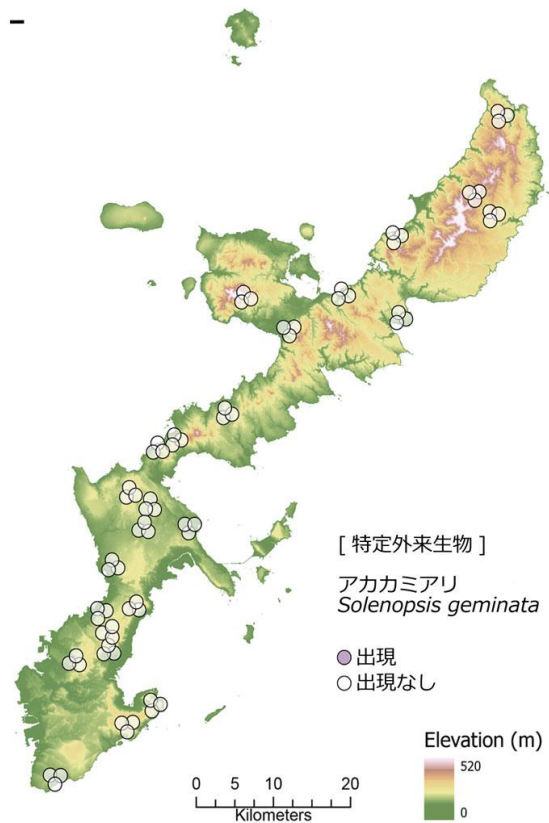
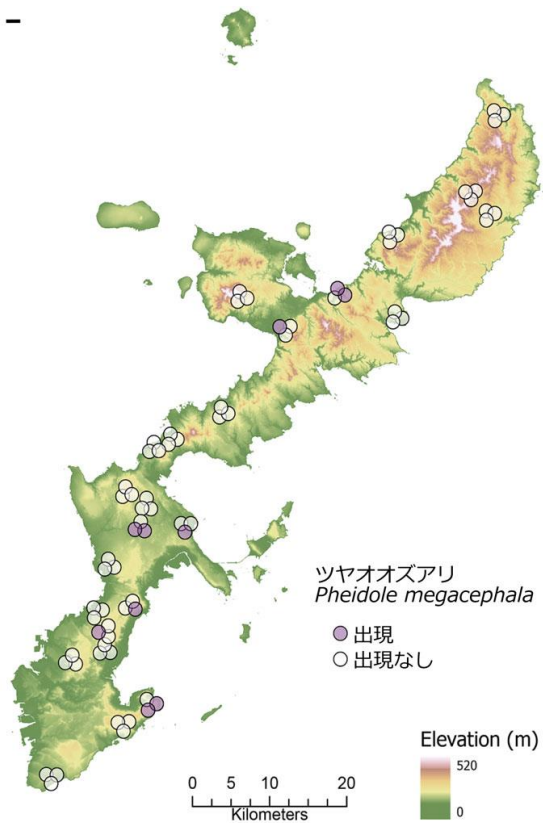
アシナガキアリの出現地点は 72 地点中 37 地点、51.4%と、調査地点の半数を超える。本種が沖縄県各島において、生物多様性に与える影響に関するデータを、今後も蓄積していくことが必要だろう。

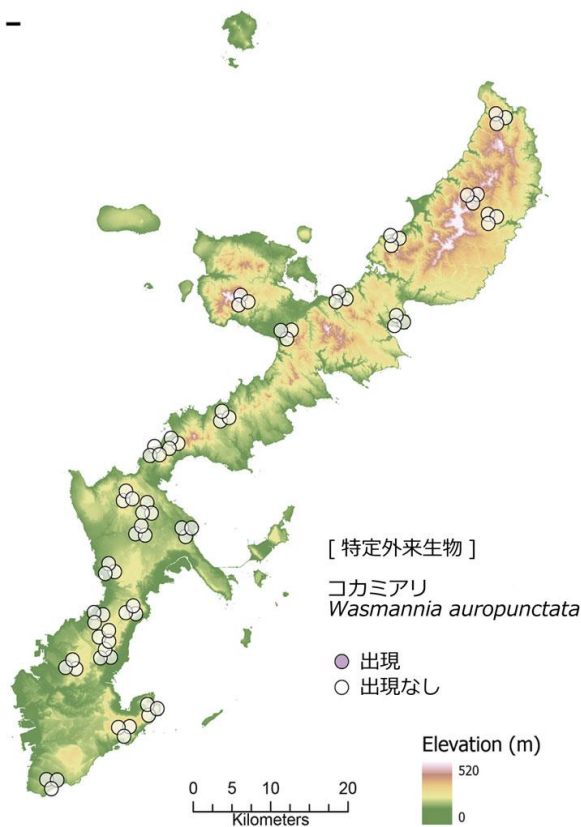
ヒゲナガアメイロアリの出現地点は 72 地点中 7 地点、9.7%と、特定外来生物指定種以外の対象 5 種の中では最も少なかった。しかし、すでに源河で確認されていること、石垣島の予備調査においては、非常に高密度な生息が観察されていることから、今後注意する必要がある種のひとつであると思われる。

ツヤオオズアリの出現地点は 72 地点中 10 地点、13.9%と、相対的に多くはないものの、その分布はすでに北部やんばる地域にまでせまる。森林環境に設置したトラップからも出現しており、森林への侵入も予想される。また、沖縄島内の侵入地点でアリ類群集の多様性を低下させることを示唆する事例もあることから、今後の動向とその影響に注意が必要である。

オオシワアリは、今回調査した中で最も出現地点が多く、72 地点中 54 地点、75%の地点から出現している。中南部では都市部から森林までほぼすべての環境から出現しており、その適応環境幅の広さがうかがえる。







② 石垣島港湾区域での予備調査（15分間単位時間採集法）により採集されたアリ類

石垣島港湾区域内の緑地4地点で、各6回、合計24回の15分間単位時間採集法により予備調査を実施した。その結果確認されたアリ類は、4亜科9属15種となった。以下にその内訳を示す。サンプルユニット単位でのより詳細な解析は、来年度以降の課題とする。

平成28年度の石垣港湾地域で実施した予備調査により、採集された種の一覧

亜科	subfamily	属	和名	
1 カタアリ亜科	Dolichoderinae	コヌカアリ属	アワテコヌカアリ	<i>Tapinoma melanocephalum</i>
2 ヤマアリ亜科	Formicinae	オオアリ属	ホソウメマツオオアリ	<i>Camponotus bishamon</i>
3 ヤマアリ亜科	Formicinae	ヒゲナガアメイロアリ属(仮)	ヒゲナガアメイロアリ	<i>Paratrechina longicornis</i>
4 フタフシアリ亜科	Myrmicinae	ハダカアリ属	ハダカアリ	<i>Cardiocondyla kagutsuchi</i>
5 フタフシアリ亜科	Myrmicinae	ハダカアリ属	ヒメハダカアリ	<i>Cardiocondyla minutilior</i>
6 フタフシアリ亜科	Myrmicinae	ヒメアリ属	クロヒメアリ	<i>Monomorium chinense</i>
7 フタフシアリ亜科	Myrmicinae	ヒメアリ属	フタイロヒメアリ	<i>Monomorium floricola</i>
8 フタフシアリ亜科	Myrmicinae	オオズアリ属	インドオオズアリ	<i>Pheidole indica</i>
9 フタフシアリ亜科	Myrmicinae	オオズアリ属	ツヤオオズアリ	<i>Pheidole megacephala</i>
10 フタフシアリ亜科	Myrmicinae	オオズアリ属	ナンヨウテンコクオオズアリ	<i>Pheidole parva</i>
11 フタフシアリ亜科	Myrmicinae	カドヒメアリ属(仮)	カドヒメアリ	<i>Sylophopsis sechellensis</i>
12 フタフシアリ亜科	Myrmicinae	シワアリ属	オオシワアリ	<i>Tetramorium bicarinatum</i>
13 フタフシアリ亜科	Myrmicinae	シワアリ属	イカリゲシワアリ	<i>Tetramorium lanuginosum</i>
14 フタフシアリ亜科	Myrmicinae	シワアリ属	カドムネシワアリ	<i>Tetramorium smithi</i>
15 ハリアリ亜科	Ponerinae	ニセハリアリ属	フシナガニセハリアリ	<i>Hypoponera ragusai</i>

1-3. モニタリング手法の検討

(1) 予報

アリ類の生態は種によって大きく異なるため、調査対象や目的に応じて適切な採集方法を選択することが重要である。外来性アリ類のモニタリングに最適な採集方法を検討するためには、以下のような手順による調査が必要だろう。

- (1) 調査対象地区のアリ相概要の把握。
- (2) 採集対象種の絞り込み。
- (3) それら対象種の採集に適した手法の選択もしくは開発。
- (4) 調査対象区での効果の検証。

一般的にアリ類の採集方法は、能動的な採集方法と、受動的な採集方法に分類される。能動的な採集法の例としては、見つけ採り法を中心として、スウィーピング（網振り）、ビーティング（叩き）、シフティング（ふるい）などが含まれる。意図的に採集することから採集効率は良いが、採集者の技量に大きく影響を受けるため、定量的な評価には工夫が必要となる。その一方で、受動的な採集法としては、ベイトトラップ（餌誘引）、ピットフォール（落とし穴）、粘着トラップ、マレーゼトラップ（飛翔昆虫捕獲器）、FIT（衝突板）などが含まれる。これらの採集法では、実施者の技量による違いが能動的な採集に比べて少ないとされ、定量的な調査を目的に一般的に採用される採集法となっている。その反面、努力量に対しての採集効率は能動的採集法に比べて一般的に低い。また、餌などを使った誘引法の場合には、使用する誘引源への嗜好性が結果を大きく左右することを意識すべきである。能動的、受動的な採集方法ともに、いずれの採集法もすべてのアリ類に対して万能というものはなく、検出すべきグループの生態的特徴を知り、それに適した方法を複数組み合わせるのが効果的だろう。

この採集法の選択に加えて、試料の保存方法とその管理の簡便さも重要な要素である。標本の保存なしには、その後の調査結果の検証や再利用が難しいからである。大きな理由のひとつに、2006年以降の分子解析による世界のアリ類の分類体系再検討が挙げられる。この影響は日本産アリ類にも少なからず影響を与えており、2008年以降、学名や和名などの変更件数は実に50件を超え、これは日本産種のおよそ16%にあたる。加えて、地域レベルでは、種の分類が未確定なグループの存在も忘れてはならない。沖縄県内においても、特に人為的環境において優占種として挙げられるハダカアリ *Cardiocondyla kagutsuchi* やナンヨウテンコクオオズアリ *Pheidole parva* を筆頭に、将来的にその分類学的扱いが変更される可能性が大きい種が分布している。報告書など、文字データのみでの記録では、数年でその情報価値が失われかねない。調査法を検討する際には、試料からの標本作製までの手間と、作成した標本の管理体制を考慮に入れることが重要だろう。その観点においては、能動的な採集法は一般的にアリ類を選択的に採集することが多いことから混入物が少なく、標本数も少ない。受動的な採集法では一般的に、他の採集物や混入物からのアリ類の寄りわけ作業に労力がかかり、標本数も多くなる。

(2) 15 分間単位時間採集法の採集効率

今年度の石垣港における予備調査では、15 分間の単位時間採集法を採用した。単位時間採集法は限られた時間内にアリ相全体を明らかにするには、他の方法と比較しても優れた方法であるとされている(緒方, 2007)。石垣島における、当採集法の実施例はないと思われるため、その採集効率を、過去に同地域で行われた複数の調査データと比較することで検証することを試みた。

それぞれの調査の時期や地点は同じではない。検証の不確実性を補完するため、過去の調査データについても、以下に分かる範囲で記述する。

① 15 分間単位時間採集法 (TUS)

今年度の予備調査においては、効率的に調査地内のアリ相の概要を明らかにする必要があった。そこで、吉村ら (2016) の方法にしたがって、各緑地に 400 平方メートルの調査区を 1 つもしくは 2 つ設定し、その中で調査員 2 名によって 15 分間単位時間採集を調査区毎に 6 回ずつ実施した。実施日は 2016 年 12 月 26 日 (平均気温 23.9°C、最高気温 26.9°C、最低気温 20.7°C : 気象庁統計データ、以下同) 及び、2017 年 1 月 27 日 (平均気温 20.0°C、最高気温 24.0°C、最低気温 16.4°C)。調査地点の概要については「予備調査方法」の項を参照。

15 分間をユニットとした単位時間採集法 (TUS Time Unit Sampling method) は、「OKEON 美ら森プロジェクト」と県内の高校が協働で行っている調査法でもあり、緒方・竹松 (2001) を改良したものである。その概要は、吉村ら (2016) に紹介されているため、以下にその部分を引用する。なお、下記 20 平方メートルの方形区は、一辺 20 メートルの方形区の誤りである。

-吉村ら (2016) より引用-

15 分をひと区切りにした単位時間採集法は、特定の小面積の調査区の、包括的なアリ相を調査するのに優れた方法であり、時間的なコストパフォーマンスに優れていることから、高校での研究プログラムに適している。方法としては、時間を 15 分間のユニットに区切り、その 15 分間の間に各自があらゆる能動的な採集法を駆使して最大数の種数を採集する、というものである。バイアルはユニットごと、採集者ごとに別とする。各ユニットで、各種の得られた個体数は加味せず、出現の有無をデータとして利用する。ユニット間での種の重複は気にせずに前回採集した種でも積極的に採集し、そのユニットの採集種数を最大にする努力をする。緒方・竹松(2001)によれば、この調査方法は、一定の面積の種類を採集することを目的としたものではないとされる。しかし今回は、緒方・竹松(2001)の調査法を改良し、20 平方メートルの方形区、もしくはそれと同等の面積を持つ調査区を設定してその中で実施することにより、定面積間での比較を可能にした。本調査法のメリットは、複数の能動的な採集法を組み合わせることで、その調査区内のアリ類を網羅的に採集できること、そして、調査者と時間とを区切ってユニット化することによって、短時間で大量のデータセットが得られることである。たとえば、5 人で 90 分の調査を行うと、最大で $5 \times (90 \div 15) = 30$ ユニットができる。これによって単純な見つけ採りに比べると、より多くの解析が可能になる。どこにでも生息し、各種がコロニーに多くの個体を抱えるアリ類に適した調査法であると言えるだろう。また、単位時間採集法は限られた時間内にアリ相全体を明らかにするには、他の方法と比較しても優れた方法であるとされる(緒方, 2007)。

-引用ここまで-

② 平成 28 年度外来種対策事業 港湾・基地周辺における現地調査

本事業に先行して実施された平成 28 年度外来種対策事業、港湾・基地周辺における現地調査予備調査では、粘着トラップと踏査調査の 2 つが採用された。石垣港湾地域 4 カ所に 100m のトランセクトを設置。粘着トラップは同年 8 月 11 日、12 日（平均気温 29.0℃、最高気温 31.7℃、最低気温 26.6℃）、13 日（平均気温 30.0℃、最高気温 32.3℃、最低気温 28.8℃）の 3 日間設置された。踏査調査は 2016 年 8 月 11 日（平均気温 29.1℃、最高気温 32.9℃、最低気温 26.3℃）に実施され、100m をそれぞれ 1 時間ほどかけて踏査し、アリ類を採集した。



平成 28 年度外来種対策事業 港湾・基地周辺における現地調査地点（石垣港）。

③ 糖蜜誘引による採集調査（原田ら，2015）

—原田ら(2015) の調査方法より引用—

代表的な環境を 3 カ所選び、それぞれに 1 つの調査区を設けて、各調査区に 1 本ずつライントランセクトを設置した。アリを集めるベイトとして、約 30% に薄めた蜂蜜を脱脂綿にしみ込ませたハニーベイトを用いた。ベイトは、各トランセクトで 2m おきに 10 個ずつ、各港で合計 30 個設置した。また、ベイトの近くに 80% エタノールの入ったチューブを置き、全ベイトを設置後、60 分間、トランセクトを往復しながらベイトに集まってきたアリをピンセットで種類ごとに数個体ずつ採集し、エタノールチューブに液浸した。また、ハニーベイトトラップによる採集漏れを軽減するために、ベイトでの採集と同じ時間帯で見つけ採りを行った。なお、ベイトでの採集は、原則トランセクト 1 名ずつの計 3 名で、見つけ採りは原則 1 名で行った。

—引用ここまで—

この調査で採集した標本を用いたと思われる報告（中村ら，2016）より、調査日は 2015 年 5 月 1 日（平均気温 24.3℃、最高気温 27.5℃、最低気温 21.1℃）と推測される。

④ 石垣港において、各調査法で採集されたアリ類の内訳

石垣港湾地域で実施されたアリ類調査において、各手法によって採集された種の内訳を以下に示す。

石垣港湾地域で実施された過去の調査と、本予備調査における採集種の比較

亜科	subfamily	属	和名		TUS予備調査	粘着(28年度調査)	踏査(28年度調査)	糖蜜(原田ら, 2015)	
1	カタアリ亜科	Dolichoderinae	ルリアリ属	ルリアリ	<i>Ochetellus glaber</i>		1	1	
2	カタアリ亜科	Dolichoderinae	コヌカアリ属	アワテコヌカアリ	<i>Tapinoma melanocephalum</i>	1	1	1	
3	ヤマアリ亜科	Formicinae	アシナガキアリ属	アシナガキアリ	<i>Anoplolepis gracilipes</i>		1		
4	ヤマアリ亜科	Formicinae	オオアリ属	ホソウメマツオオアリ	<i>Camponotus bishamon</i>	1		1	
5	ヤマアリ亜科	Formicinae	アメイロアリ属	ケブカアメイロアリ	<i>Nylanderia amia</i>			1	
6	ヤマアリ亜科	Formicinae	アメイロアリ属	リュウキュウアメイロアリ	<i>Nylanderia ryukyuensis</i>		1		
7	ヤマアリ亜科	Formicinae	ヒゲナガアメイロアリ属(仮)	ヒゲナガアメイロアリ	<i>Paratrechina longicornis</i>	1	1	1	
8	フタフシアリ亜科	Myrmicinae	ハダカアリ属	ハダカアリ	<i>Cardiocondyla kagutsuchi</i>	1		1	
9	フタフシアリ亜科	Myrmicinae	ハダカアリ属	ヒメハダカアリ	<i>Cardiocondyla minutior</i>	1			
10	フタフシアリ亜科	Myrmicinae	ヒメアリ属	クロヒメアリ	<i>Monomorium chinense</i>	1	1	1	
11	フタフシアリ亜科	Myrmicinae	ヒメアリ属	フタイロヒメアリ	<i>Monomorium floricola</i>	1			
12	フタフシアリ亜科	Myrmicinae	オオズアリ属	インドオオズアリ	<i>Pheidole indica</i>	1	1	1	
13	フタフシアリ亜科	Myrmicinae	オオズアリ属	ツヤオオズアリ	<i>Pheidole megacephala</i>	1	1	1	
14	フタフシアリ亜科	Myrmicinae	オオズアリ属	ナンヨウテンコクオオズアリ	<i>Pheidole parva</i>	1	1		
15	フタフシアリ亜科	Myrmicinae	カドヒメアリ属(仮)	カドヒメアリ	<i>Sylophopsis sechellensis</i>	1			
16	フタフシアリ亜科	Myrmicinae	シワアリ属	オオシワアリ	<i>Tetramorium bicarinatum</i>	1	1	1	
17	フタフシアリ亜科	Myrmicinae	シワアリ属	イカリゲシワアリ	<i>Tetramorium lanuginosum</i>	1	1		
18	フタフシアリ亜科	Myrmicinae	シワアリ属	カドムネシワアリ	<i>Tetramorium smithi</i>	1			
19	ハリアリ亜科	Ponerinae	ニセハリアリ属	フシナガニセハリアリ	<i>Hypoponera ragusai</i>	1			
					採集種数	15	11	13	6

2015年から現在までに行われた3つの調査によって石垣港湾地域から確認されたアリ類は、合計4亜科12属19種であった。いずれの調査においても、ヒアリを始め、本事業で問題とする特定外来生物指定種は確認されていない。

調査ごとの採集種内訳を見てみたい。採集種数が多かった順に、単位時間採集(4亜科9属15種)、平成28年度事業踏査(3亜科10属13種)、粘着トラップ(3亜科8属11種)、糖蜜トラップ(3亜科5属6種)、となっている。このデータでは、「能動的採集>非誘引トラップ>誘引トラップ」となっている。トラップはいずれも受動的採集に位置づけられ、「能動的採集>受動的採集」の傾向が本比較においてもみられる。実施条件が同一の28年度調査内においても、能動的な踏査調査のほうが、受動的な粘着トラップの採集種を上回っている。糖蜜トラップ調査による採集種が他の手法に比べて顕著に少ないのは、糖蜜に対して嗜好性を示す種だけが選択的に誘引されていることが大きな原因だと思われる。単位時間採集法による予備調査が、アリ類の動きが悪い冬期(12月と1月)に実施されたことを考慮すれば、適切な時期の実施による採集種の上乗せが期待できる。ただし、これらそれぞれの調査は、本比較を意図してデザインされたものではなく、調査時期や調査実施地点、また努力量などが統一されていない。あくまでこれらの傾向は初期段階の参考にはなっても、比較としては不十分である。来年度以降、本予備調査のデータ解析を始め、引き続き適切な方法を検討するための調査継続が必要である。

(3) 特定外来生物指定種ヒアリの誘引剤選定

特定外来生物指定のヒアリ *Solenopsis invicta* を侵入初期段階で検出するには、広い地域を網羅的にモニタリングすることが求められる。その場合、その採集サンプルの処理や標本作製の簡便さ等を考慮すると、誘引剤によるモニタリングは有効な手段である。ただし、石垣島の調査例からも見て取れるように、誘引剤による採集の効率は一般的な採集法よりも低く、採集可能な種はその餌源への嗜好性に大きく左右される。調査対象種を効率よく採集するためには、その誘引餌の選定が重要となるだろう。

ヒアリは、糖蜜よりも油脂を好むとされており、侵入地台湾では、 $A(a)$

を誘引剤として使ったモニタリングが標準となっている。本年度の予備調査では、

(1) 沖縄県内で容易に入手可能な菓子の中に、ヒアリに対して有効な誘引剤となるものがあるか、(2) 選抜された誘引源に、沖縄ではどのような種が誘引されるか、を明らかにすることを目標とした。

① ヒアリに対して有効な誘引剤

ヒアリが生息する台湾において、沖縄から 6 種類の一般的なスナック菓子を持参し、ヒアリに対しての誘引性を試験した。持参した 6 種類のスナック菓子の内訳と選定基準は以下の通り。

- ・ B : チーズの香りが効果的なのではないか？
- ・ C : エビの香りが効果的なのではないか？
- ・ D : 台湾で採用されている、 $A(a)$ に似ている。
- ・ E (a) : サンプル管に収まりやすい。
- ・ F : ラードとバニラが効果的なのではないか？
- ・ A (b) : コンソメの香りが効果的？

2017 年 1 月 18 日 (最高気温 23°C、最低気温 18°C : <http://www.accuweather.com>)、台湾視察の際に、St.2 付近 (台湾視察報告参照: 24.979430° , 121.450470° , 18m alt.) にて、誘引予備実験を実施した。日本から持参した上記 6 種のスナック菓子に、コントロールとして台湾で標準使用されている $A(a)$ を加えた 7 種類を円形に配置し、誘引の強弱を観察した。

結果：冬季でアリ類の活動活性が低いこともあり、台湾標準の $A(a)$ を含めてヒアリへの誘引はごく僅かであった。E (a) 、 A (b) 、 F 、 D には誘引性があるように見られたが、その効果の差を見ることはできなかった。そこで、E (a) 、 A (b) 、 F 、 D を直接ヒアリの巣のマウンド上に配置し、それに対しての反応を観察することとした。その結果、 $E(a) > A(b) > F = D$ の順に誘引力が高く、中でも上位 2 種類のスナックが菓子の誘引力は他に比べて顕著に高いように見受けられた。扱いやすさも考慮して、E (a) を当面の誘引源として採用することとした。

② 沖縄において、 E (b) に誘引されたアリ類

2017年1月27日(平均気温20.0℃、最高気温24.0℃、最低気温16.4℃:気象庁統計データ)に、Ishigaki003及びIshigaki004において、誘引予備実験を実施した。 E (a)

が現地調達できなかったため、 E (b) で代用した。調査区範囲内に、 E (b) と蜂蜜を等間隔にそれぞれ20個ほど設置し、1時間放置した。1時間後、それぞれ設置した誘引源を目視観察、状態を確認した。アリ類が誘引されている場合には、同定のため、数個体を採集し、99.5%エタノール液浸として研究室に持ち帰った。

石垣港湾地域で採集された種のうち、誘引剤使用予備実験により採集された種一覧

亜科	subfamily	属	和名	種名	蜂蜜	とんがりコーン	
1	カタアリ亜科	Dolichoderinae	コヌカアリ属	アワテコヌカアリ	<i>Tapinoma melanocephalum</i>	1	
2	ヤマアリ亜科	Formicinae	オオアリ属	ホソウメマツオオアリ	<i>Camponotus bishamon</i>		
3	ヤマアリ亜科	Formicinae	ヒゲナガアメイロアリ属(仮)	ヒゲナガアメイロアリ	<i>Paratrechina longicornis</i>	1	
4	フタフシアリ亜科	Myrmicinae	ハダカアリ属	ハダカアリ	<i>Cardiocondyla kagutsuchi</i>		
5	フタフシアリ亜科	Myrmicinae	ハダカアリ属	ヒメハダカアリ	<i>Cardiocondyla minutior</i>	1	
6	フタフシアリ亜科	Myrmicinae	ヒメアリ属	クロヒメアリ	<i>Monomorium chinense</i>	1	1
7	フタフシアリ亜科	Myrmicinae	ヒメアリ属	フタイロヒメアリ	<i>Monomorium floricola</i>		
8	フタフシアリ亜科	Myrmicinae	オオズアリ属	インドオオズアリ	<i>Pheidole indica</i>		
9	フタフシアリ亜科	Myrmicinae	オオズアリ属	ツヤオオズアリ	<i>Pheidole megacephala</i>		
10	フタフシアリ亜科	Myrmicinae	オオズアリ属	ナンヨウテンコクオオズアリ	<i>Pheidole parva</i>	1	1
11	フタフシアリ亜科	Myrmicinae	カドヒメアリ属(仮)	カドヒメアリ	<i>Sylophopsis sechellensis</i>		
12	フタフシアリ亜科	Myrmicinae	シワアリ属	オオシワアリ	<i>Tetramorium bicarinatum</i>	1	1
13	フタフシアリ亜科	Myrmicinae	シワアリ属	イカリゲシワアリ	<i>Tetramorium lanuginosum</i>		
14	フタフシアリ亜科	Myrmicinae	シワアリ属	カドムネシワアリ	<i>Tetramorium smithi</i>		
15	ハリアリ亜科	Ponerinae	ニセハリアリ属	フシナガニセハリアリ	<i>Hypoponera ragusai</i>		
種数合計						6	3

研究室でのソートの結果、蜂蜜には3亜科6属6種、 E (b) には1亜科3属3種の種が誘引されていた。種数では蜂蜜のほうが多かったものの、蜂蜜に誘引された個体数は E (b) に比べて少ない印象であった。 E (b) に誘引されたすべての種は、蜂蜜にも誘引されていた。蜂蜜に対して嗜好性を示す種の範囲は広いが、その誘引力は E (b) に比べて弱いかもしれない。同様に蜂蜜を用いた原田ら(2015)の調査結果と今回の予備調査を比較すると、双方と6種を記録しながらも、内訳は微妙に異なる。原田ら(2015)ではインドオオズアリとツヤオオズアリが誘引されていたものの、今回はみられず、逆に今回誘引されたナンヨウテンコクオオズアリとヒメハダカアリは、原田ら(2016)では記録されていない。双方をあわせた8種は、少なくとも蜂蜜に誘引されるということだろう。

1-4. 化学物質に着目した誘引剤（フェロモン・脂肪酸）

(1) ベイトを用いたトラップ

ヒアリの侵入監視方法として、ベイトを用いたトラップが安価で簡易な方法として広く用いられている。また、これらベイトには主に **A** がヒアリの誘引力の強さ、安価、取扱いの容易性などの理由から用いられている（表 1-4_1）。

表 1-4_1 ベイトトラップの設置方法

監視範囲	ベイト	容器及び固定方法	トラップ密度と回収時間
狭い	A , 人口餌（例：ピーナッツバター、大豆油、ピーナッツバターと大豆油の混合物、ツナ缶、ホットドックまたは砂糖の溶液など高脂肪食品）	プラスチックケースを土中に埋める	1個/100m ² 、 1~3hr
広い	A	コーンチューブ（50ml）を地面に置く	1個/100m間隔、 40~60min

ヒアリ標準作業手順書：行政院農業委員会 台湾翻訳資料

また、その他のベイトとして、オリーブオイル、ピーナッツオイル、コーン油、コーンチップス、缶詰の肉、ピーナッツクッキーなども利用されている（USDA Imported Fire Ant Program Manual）。



図 1-4_1 ベイトトラップの設置風景と誘引されたヒアリ。ベイトとして **D** を使用

すでにヒアリの生息分布が広域な台湾では、ベイトとして **A** が非常に有効である（図 1-4_1）。しかし、日本のようにまだヒアリの侵入が記録されていない地域で、ヒアリが侵入しそうな港湾、運搬資材置き場など狭い範囲をターゲットとした場合、発見効率やより監視力の高いトラップが好ましい。そのため誘引力の高いベイト開発は、非常に重要な課題と考える。

このような取り組みは、米国の USDA (United States Department of Agriculture) においても同様に展開されている。USDA では誘引力の高いベイトとして女王フェロモンと天然物に着目している。

ヒアリの女王フェロモンは、現在までに3物質単離されており(図1-4_2)、同時添加した場合、働きアリの誘引にもっとも効果があることが報告されている(USDA ホームページ)。またBとCは、光学活性体で2つの鏡像異性体が存在し、どちらの鏡像異性体にも誘引活性があることが知られている。

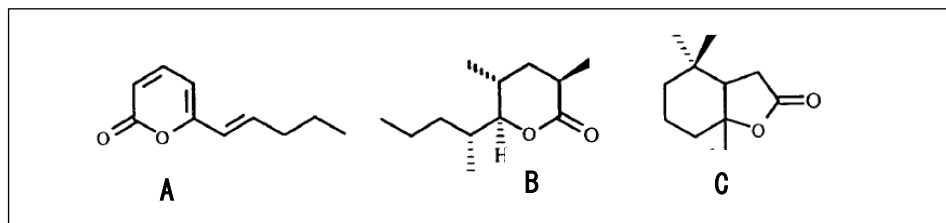


図1-4_2 ヒアリの女王フェロモン. Pyrone, (E)-6-(1-pentyl)-2H-pyran-2-one (A), invictolide (B), dihydroactinidiolide (C).

室内実験において、Bをベイトの添加剤として用いた場合、コントロールベイトに比べておよそ1/2の時間でワーカーがベイトにたどりつくことが報告されている(USDA ホームページ)。しかしながら、4つの不斉炭素中心を持つBの化学合成は、非常に高額となり、現場での適応は難しいと考えられる。

揮発性物質の臭気を用いた誘引活性試験(オルファクトメーター)によって、大豆油にヒアリワーカーの誘引活性があることが判った。さらに、その大豆油の揮発成分 trans, trans-2, 4-heptadienal と trans, cis-2, 4-heptadienal が、ベイト添加剤として効果があることが判った。これら化合物の内 trans, trans-2, 4-heptadienal (TTHD) は購入可能な試薬として販売されている(Vander 1999)。この報告では、室内試験によって大豆油の揮発成分の有効性を証明した後、すぐにヒアリの成長阻害剤 Nylar 含有ベイトの添加剤として野外試験で実用性が試されている。

我々はこの大豆油の揮発成分 TTHD を現在の安価ベイトの代表的存在である A に添加して、侵入監視型ベイトとしての利用を考えている。

(2) 混合脂肪酸を利用したトラップベイトの開発（擬似昆虫による働きアリの誘引）

ヒアリの基礎的な摂餌に関する報告は、Leeanne ら（1991）によって2種のアリを比較することによって行われている（ヒアリ *Solenopsis invicta*、アカカミアリ *Solenopsis geminata*）。両種のアリとも固体状餌より液体状餌を好む傾向にある。また、固体餌の81%分を植物の種で集めるアカカミアリに比べ、ヒアリはその殆どを昆虫（幼生や蛹を含む）や未同定動物片を採餌していることが報告されている（植物の種の採餌率は全個体餌の4.8%）。したがってヒアリのワーカーは、昆虫や動物（死骸も含め）のもつ普遍的な匂いを餌の探索に利用していることが推察できる。

植物の種に付着するエライオソームは、種子を昆虫食のアリに運んでもらうために、進化したと考えられている柔らかい付着物である（**図 1-4_3** 赤矢印）。これら付着物の脂肪酸組成は、一般の種子と大きく異なることが知られている。一般の種子に含まれる上位3つの脂肪酸組成は、オレイン（38.42%）、リノール酸（30.41%）、アラキジン酸（15.79%）であるのに対し、エライオソームのそれは、オレイン酸（38.92%）、リノール酸（21.52%）、パルミチン酸（21.69%）となっており、アラキジン酸はほとんど含まれていない（0.18%）。したがって、これらオレイン酸、リノール酸、パルミチン酸の混合脂肪酸または混合率が、昆虫食のアリの採餌行動を刺激し、エライオソームを巣に持ち帰ると考えられている（Hughes ら 1994）。また、これら脂肪酸は、表 1-4_2 に示す昆虫3目による脂肪酸組成（平均値）の上位3位の脂肪酸ともよく一致する（Thompson 1973）。したがってオレイン酸、リノール酸、パルミチン酸は、昆虫食アリワーカーの採餌・摂餌行動刺激物質となっている可能性が高いと考えられる。

我々は、現在ヒアリのベイトとして用いられている A（台湾では A（a））にも、これら脂肪酸が含有しており、その脂肪酸によってヒアリが誘引されているという仮説を立て、A（a）を含む台湾で試されたスナック3種についての遊離脂肪酸分析をガスクロマトグラフィー水素炎イオン化検出器（GC-FID）によって行った。

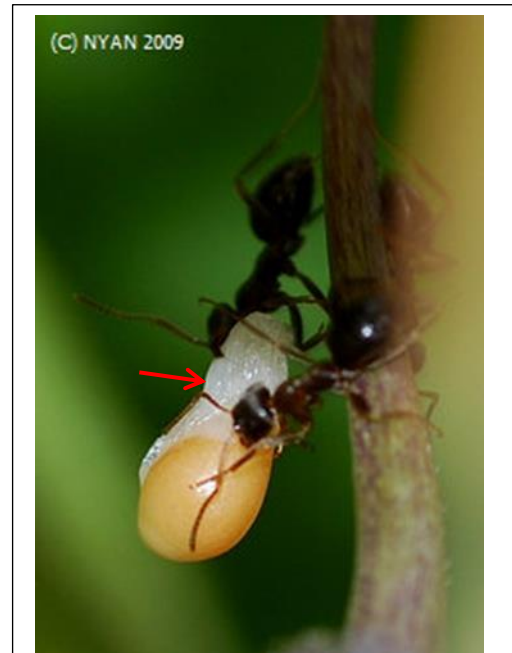


図 1-4_3 エライオソーム（赤矢印）を含む種子を運ぶアリ
(<http://www.io-net.com/help/elaiosome.htm>)

表 1-4_2 昆虫 3 目による脂肪酸組成 (Thompson 1973)

Order	Fatty acids							
	14:0 myristic	14:1 myristoleic	16:0 palmitic	16:1 palmitoleic	18:0 stearic	18:1 oleic	18:2 linoleic	18:3 linolenic
Coleoptera (n=26 spp.)	1.11	0.03	19.66	5.31	4.84	37.87	19.19	9.70
Dictyoptera (n=9 spp.)	3.33	0.00	33.56	7.28	4.33	42.30	1.06	0.00
Diptera (n=20 spp.)	2.81	0.99	22.55	25.89	4.41	28.24	12.18	2.23
Hemiptera (n=50 spp.)	41.63	0.85	19.90	2.06	3.28	15.51	8.90	1.43
Hymenoptera (n=11 spp.)	1.55	0.00	15.49	4.46	4.30	45.77	10.69	15.54
Lepidoptera (n=51 spp.)	0.74	0.00	25.89	6.36	2.27	31.63	7.67	22.18
Orthoptera (n=9 spp.)	2.04	0.00	28.54	2.99	8.38	31.52	11.69	8.97
Mean	7.60	0.27	23.66	7.76	4.54	33.26	10.20	8.58
±SD	15.03	0.45	6.12	8.20	1.90	10.00	5.46	8.16

表 1-4_3 スナック菓子の遊離脂肪酸組成

	脂肪酸組成率(%)				
	16:0 パルミチン酸	18:0 ステアリン酸	18:1 オレイン酸	18:2 リノール酸	未同定
E	30.0	5.0	25.0	6.0	34.0
A(a)	28.0	4.0	25.0	6.0	37.0
A(b)	11.0	2.0	15.0	7.0	65.0
F	6.0	3.0	7.0	4.0	80.0

表 1-4_4 スナック菓子の遊離脂肪酸含有量

	100gあたりの脂肪酸量(g)	
	16:0 パルミチン酸	18:1 オレイン酸
E	0.02	0.01
A(a)	0.02	0.01
A(b)	0.01	0.02
F	検出されず	検出されず

スナック菓子の遊離脂肪酸は、45 種遊離脂肪酸のうち、パルミチン酸、ステアリン酸、オレイン酸、リノール酸の 4 種脂肪酸が同定・定量された (表 1-4_3、表 1-4_4)。また、E と A (a) で、パルミチン酸とオレイン酸の組成率が高くなっており、昆虫 3 目による脂肪酸組成率 (平均値) の上位 2 位の脂肪酸とよく一致した (表 1-4_2)。E と A (a) は、台湾で行われたトラップ誘引試験でも、他のスナック (A (b)、B、D) に比べ比較的良好な成績であった。また、誘引効果の一番低かった “ F ” におけるパルミチン酸とオレイン酸の量は、検出下限値以下であった (表 1-4_4)。

上記結果より、「 A 含有脂肪酸がヒアリを誘引する」という我々の仮説は、ある程度検証された。今後、ベイトの脂肪酸組成率の調整、物質量の調整を行い、現行ベイトに勝る誘引力を持つベイト開発を行う予定である。

また、ヒアリの採餌に昆虫種による差が見られた場合、その昆虫種の脂肪酸組成率を真似ることにより、ヒアリ特定なベイト開発の可能性も期待される。

USDA Imported Fire Ant Program Manual.

https://www.aphis.usda.gov/import_export/plants/manuals/domestic/downloads/fire_ant.pdf

USDA ホームページ : United States Department of Agriculture -Agricultural Research Service-

<https://www.ars.usda.gov/southeast-area/gainesville-fl/center-for-medical-agricultural-and-veterinary-entomology/imported-fire-ant-and-household-insects-research/docs/attractant-for-social-insects/>

Vander Meer, *et al.* (1999) United States Patent, Patent Number: 5897859, Date of Patent: Apr. 27

E. Leeanne, *et al.* (1991) Comparison of two fire ant species (Hymenoptera: formicidae): Solid and liquid components, *J. Entomol. Sci.*, 26, 450-465

L. Hughes, *et al.* (1994) Convergence of elaiosomes and insect prey: evidence from ant foraging behaviour and fatty acid composition, *Functional Ecology*, 8, 358-365

S.N. Thompson (1973) A review and comparative characterization of the fatty acid compositions of seven insect orders. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 45, 467-482

1-5. ヒアリ探索犬の検討

ヒアリのモニタリング手法として、台湾ではヒアリ探索犬が実用化されている。検出力は非常に高く、働きアリのみでも反応する。ヒアリの早期発見のために、この探索犬の技術を活かすことができるのではないかと考え、以下の2通りの方法を検討している：①台湾から探索犬を日本に連れてくる、②日本で探索犬を育成する。それぞれの利点と欠点を表1-5_1に示す。

表1-5_1 探索犬を台湾から連れてくる場合と日本で育成する場合の利点と欠点

	① 台湾から連れてくる場合	② 日本で育成する場合
利点	<ul style="list-style-type: none"> ・実績がある ・犬が野外のヒアリ探索に慣れている 	<ul style="list-style-type: none"> ・移動コストがかからない ・日常的なモニタリングが可能
欠点	<ul style="list-style-type: none"> ・移動コストがかかる ・高頻度のモニタリングは難しい ・狂犬病の検疫のため、新しい犬を持ち込むには時間がかかる 	<ul style="list-style-type: none"> ・ヒアリの匂いを覚えさせることは技術的に可能だが、野外での探索経験を積ませることが難しい ・育成・維持のコストがかかる

いずれにしても導入コスト・ランニングコストが大きな課題のひとつである。台湾で探索犬を用いたヒアリのモニタリングを実施する業者に、沖縄にヒアリ探索犬を連れてきてモニタリングを行った場合の見積もりを依頼した。その回答を以下に示す。日本で育成する場合のコストについては、次年度に検討する。

● モニタリング条件

候補地：南ぬ浜町（石垣島の人工島） 約75ヘクタール

回数：年1～2回



図1-5_1 南ぬ浜町

● 見積り結果

見積り例（初回）

作業面積： 75 ヘクタール

作業人数： 4人（ハンドラー2人、助手1人、獣医1人）

犬： 2匹

作業日数： 8日

見積金額： 280万円（交通費、宿泊費、保険費を含む）

※検疫のため、犬の移動に申請から約9ヶ月を要する。

見積り例（3～5回目以降）

作業面積： 50ヘクタール（重点区域のみ）

作業者： 2人（ハンドラー1人、助手1人）

作業日数： 5日

見積金額： 160万円

※2回目以降、検疫に必要な期間は1ヶ月。

注意事項

- ・ 初回はハンドラー2人、助手1人、獣医1人の4人体制だが、特に問題がなければ2回目以降獣医の随行は不要。3～5回目以降、作業に慣れてくればハンドラー1名、助手1名の体制にすることも可能。
- ・ 回数を増やせば単価は抑えられる。

1-6. 今後のモニタリング計画と課題

(1) SLAM トラップを利用した定点採集による監視網

① OKEON 美ら森プロジェクトの観測網を使用した調査の継続

沖縄本島内 72 カ所の定点採集は継続し、蓄積されるサンプルによって、本島全域での外来性アリ類の分布現状解析を進める。調査対象各種の分布域の拡大も起こりうるため、その時間的変化の追跡を続ける。また、必要に応じて調査対象種枠を拡大し、分布情報の蓄積と解析を行う。ただし、本島内全域にわたる 72 カ所の採集地点からの定期回収と採集機器の保守点検や台風時の緊急対応、年間 1,800 を超えるサンプルのソーティング、標本作製、データ入力、及び標本管理には、多大な人的コストを要するため、長期的な監視体制における体制を検討する必要がある。

② 新たな定点採集地点の稼働

現在稼働する 72 カ所の定点採集地点に加え、重要監視地区である沖縄県内主要港湾地区への採集地点増設を図る。すでに本島那覇港湾地域と石垣島港湾地域での調査及び機器設置許可申請については、現在進行中である。ただし、離島における定期回収システムの構築には多大なコストが見込まれるため、これを解決するための方策を検討することが必要である。

③ SLAM トラップの特性を活かした、羽アリによる調査対象種の検出技術開発

SLAM トラップによる定点採集の大きな強みは、分布拡大の鍵となる羽アリ（生殖虫）を採集できることである。そのため、生殖虫による検出に必須の同定技術の整備が急がれる。OIST 研究員の専門技術によって、この技術開発を進める。

(2) 15 分間単位時間採集法によるアリ相調査

① 調査地点の拡充

15 分間単位時間採集法による調査結果は、予備調査の段階ながら、その他従来採用されてきた調査方法に比べ、その地区のアリ相の概観をつかむのに適していることを示している。来年度以降には、沖縄本島港湾地区を始めとした港湾地域及びコンテナ保管地域を中心に、重点調査区域を選定し、調査地点数を増やすことで、よりきめ細かい外来性アリ類の分布状況把握に努める。

② 採集試料の解析

すでに蓄積された試料については、今後さらなる解析を進める。今年度予備調査を実施した石垣港湾地区に関しては、冬季以外の季節での調査実施により、アリ相季節変化と調査適期の特定を進める。

(3) 誘引剤を使用した採集法によるヒアリ監視と対策検討

① 誘引剤によるヒアリ調査の実施

15 分間単位時間採集法によるアリ相の把握と並行して、その調査地点内、及びその付近で誘引剤によるヒアリ調査を行う。

② ヒアリに有効なベイト投与方法の検討

調査地点においては、誘引剤の各種アリ類に対しての効果や、その採餌行動を参考に、ヒアリ防除により有効なベイト剤投与の方法を検討する。

③ トランセクト調査手法としての、誘引剤活用。

調査地点付近の補助的調査や、コンテナヤード付近などの調査地点設置が難しい場所での、トランセクト方式の調査として実施する。

④ TTHD や脂肪酸による誘引剤の勝発

大豆油の揮発成分 TTHD の添加や、脂肪酸の有効な組成率や物質量の調整を行い、誘引力を高いベイト開発を行う。

(4) その他のモニタリング手法の検討

台湾での事例で既に明らかなように、専門家のみによる監視網の充実やその維持には限界がある。監視網の裾野を沖縄社会全体へと広げるための方法を検討する。

① 医療機関などとの連携の検討

医療機関などと連携し、ヒアリの被害患者が発生した情報をいち早く集約できる仕組みを検討する。

② 地域密着型の同定技術の開発

沖縄本島をはじめ、各離島などそれぞれの地域に合わせた、平易な特定外来生物指定アリ類の同定資料の開発を試みる。

③ 普及手法の検討

アリ類の多様性を通して、特定外来生物指定アリ類の防除の必要性や、そのために必要な知識を、一般の人達が楽しみながら学べるコンテンツの開発を検討する。

④ ヒアリ探索犬の検討

ヒアリ探索犬を日本で育成する場合のコスト等の検討を行う。

2. 同定技術の検討

2-1. 人材育成プログラム・同定マニュアル

沖縄県にヒアリ *Solenopsis invicta* が侵入した場合、どれだけ初期段階でそれを発見できるかが、その後の防除の可能性を大きく左右すると言っても過言ではない。そのためには、簡便な同定技術の開発と提供により、監視体制の裾野を広げることが有効な手段になってくるだろう。全く違う形態的特徴を持ち、専門家にとっては間違えようがない種類同士でも、その経験がないものには見分けが難しいことが少なくない。台湾においては、巣のマウンドを発見したとの通報が多いとのことであった。沖縄県に生息する 140 種を超えるアリ類の中から、地域、大きさや色、野外での動き、生息環境や、巣の特徴など、複合的な要素で見分けられる同定ツールの開発が必要である。台湾での野外観察と、石垣港湾地域の調査、加えてこれまでの経験から、ヒアリとの区別が難しい種の候補を以下に挙げる。

(1) ツヤオオズアリ *Pheidole megacephala* (フタフシアリ亜科)

営巣環境、色、個体数の多さなど、ヒアリに良く似る。坑道を掘り、地上部には低い塚状の巣を作ることから、ヒアリの初期巣との見分けが難しいだろう。

(2) オオシワアリ *Tetramorium bicarinatum* (フタフシアリ亜科)

生息環境、色、動きがヒアリに良く似る。塚などを作ることはないが、人の目に触れる機会が多く、誤同定が起こりやすいだろう。今年度の沖縄本島 7 2 トラップの調査では、最普通種のひとつである。

(3) アミメアリ *Pristomyrmex punctatus* (フタフシアリ亜科)

沖縄では多くないものの、色、体型、動きがヒアリに良く似る。ヒアリと同様に、多くの個体が列を作って移動する。



オオズアリ属の 1 種
(ツヤオオズアリ *Pheidole megacephala* だと思われる)
の巣の地上部。ヒアリの初期巣と酷似している可能性大。



from www.AntWeb.org

0.5 mm

アミメアリ
Pristomyrmex punctatus
動きと野外で見る体型がヒアリに似る。

Photo: Erin Prado

同定マニュアルの参考資料として、下記を示す。本マニュアルは日本国内での利用が想定されており、沖縄で使用するには沖縄で間違いやすい種類との比較が必要になる。

参考資料：ストップ・ザ・ヒアリ

□ 4

ヒアリの特徴：色・かたち

大きさは2.5mm～6.0mm

カラダは赤茶色、お尻には毒針

ヒアリ

体長2.5mm～6.0mm。全体的に赤茶色。腹部は濃い赤色で黒っぽく見える。お尻の毒針で積極的に刺す。



◆ ヒアリと似ている在来種



ヒメアリ属

体長1.5mm～3mm。触角のこん棒部分は3節。刺されてもあまり感じない。



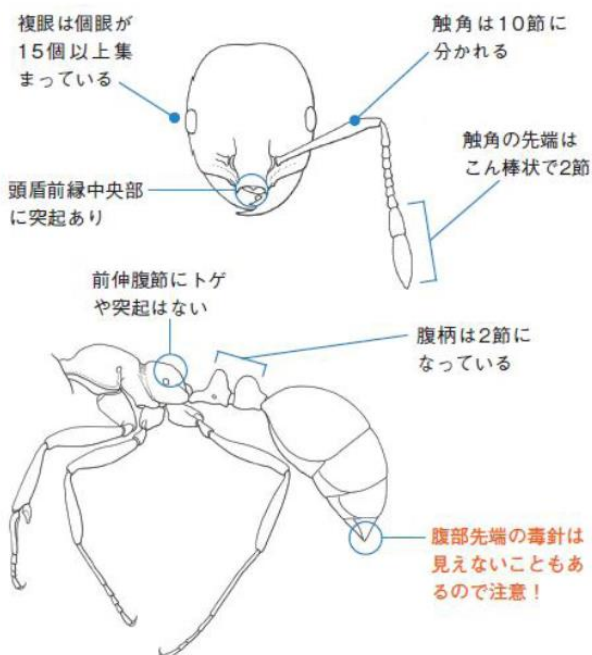
クシケアリ属

体長3.0mm～5.5mm。胸の後背部（前伸腹節）にトゲ。お尻の毒針で刺すことがある。



オオズアリ属

体長1.5mm～4.5mm。頭部が大きい兵アリがいる。刺さない。



大小さまざまなサイズが混在するヒアリ



ヒアリには2.5mm～6.0mmと様々なサイズの働きアリがいる。ただし、オオズアリ属のように大型の働きアリで頭部だけが極端に巨大化するようなことはない。

2-2. 抗体・遺伝子・化学物質による同定技術の検討

ヒアリを迅速かつ的確に同定できる技術手法を検討することを目的として、抗体による種判別、遺伝子、化学物質による種判別手法を検討した。

アリの種同定は顕微鏡等を用いて形態的特徴を基に行われるが、専門性が求められるため、本事業においては沖縄で他のアリ類と区別が可能な同定ツール等の開発を計画している（前述）。一方、近年、抗体によってヒアリを特異的に現場で検出する技術が報告されている（Valles ら 2016）。また、各種モニタリングによって採集されたアリ類のソーティング作業には多くの労力が必要となるが、今後継続的にモニタリングを実施するためにはその省労力化が求められる。

(1) 抗体

現場での簡易な種判別方法の確立を目的に、抗体による種判別は、Valles ら（2016）を参考に、ヒアリ特異的に反応する抗体の作成を行った。Valles ら（2016）ではモノクローナル抗体を作成しているが、コスト及び時間を要するため、低コスト・短時間で作成可能なポリクローナル抗体を作成している。対象領域は Valles らが作成した領域に加えて、抗原性の高い部位についても選択した。

次年度は、作成した抗体を用いて、ウエスタンブロット法によって目的とするタンパク質に対する抗体の特異性を確認し、ELISA 法の確立や Valles らが開発した妊娠検査薬等に使用されるイムノクロマトの検討を進める。

■タンパク質名 : venom protein 2 (Sol12) ■Genbank Accession No: P35775
 1 mksfvlatlcl lgfaqiiyad nkelkiirkd vaecrtlpk cgnqpdpla rvdvwhcama
 61 krgvyonpdp avikersmkm ctkiitdpan venckkvasr cvdretqgpk snrqkavnii
 121 gcalragvae ttvlarkk

凡例

Valles ら（2016）で使用されている領域
 _____ 抗原性の高い部位として設計した領域

図 2-2_1 ヒアリ特異的な抗体作成用の抗原

S.M. Valles, C.A. Strong, A-M.A. Callcott (2016) Development of a lateral flow immunoassay for rapid field detection of the red imported fire ant, *Solenopsis invicta* (Hymenoptera: Formicidae). Anal Bioanal Chem. 408(17), 4693-703.

(2) 遺伝子

アリ類のソーティング作業の省労力化を目的に、遺伝子によるヒアリの同定技術の検討している。Jacobson ら (2006) は、ミトコンドリア DNA (COI, tRNA^{leu}, COII) を対象に PCR と制限酵素によってヒアリと近縁種の *S. xyloni* の判別技術を報告している。また、Krieger & Ross (2002) が開発した Gp-9 遺伝子用のプライマーでは近縁の *Monomorium* 数種では DNA 増幅が見られなかった。Gp-9 遺伝子では、単女王制か多女王制を判別するプライマーも開発されている (Valles & Porter, 2003)。いずれかのヒアリもしくはトフシアリ属を特異的に増幅できるプライマーを選択し、多数のヒアリ以外のサンプルからヒア리를簡易に判別できる手法を検討する。

現在、港湾等でよく出現する 14 種のアリ類 (以下、沖縄産アリとする) を捕獲後、DNA を抽出し、ヒアリに特異的な PCR 条件を検討した (表 2-2_1)。

その結果、Gp-9①、Gp-9②、COI+II②のプライマーではヒアリ特異的に増幅した (表 2-2_2)。

表 2-2_1 PCR に用いたプライマー一覧

対象遺伝子	No	プライマー名	配列	PCR産物(bp)	文献
Gp-9	Gp-9①	F 26BS	5'-CTCGCCGATTCTAACGAAGGA-3'	517, 423	Valles & Porter 2003
		R 16BAS	5'-ATGTATACTTTAAAGCATTCTAATATTTTGTC-3'		
		F 24bS	5'-TGGAGCTGATTATGATGAAGAGAAAATA-3'		
		R 25bAS	5'-GCTGTTTTTAATTGCATTTCTTATGCAG-3'		
	Gp-9②	F 7GP9S	5'-TAAAATTCCAAATCTAGGCTTTCGC-3'	494	Valles et al. 2002
		R 8GP9AS	5'-CAAACATGAGAGTGACGTGTGAACA-3'		
COI	COI	F LCO1490	5'-GGTCAACAAATCATAAAGATATTGG-3'	710	Folmer et al. 1994
		R HCO2198	5'-TAAACTTCAGGGTGACCAAAAATCA-3'		
COI+II	COI+II①	F CI-J-2195	5'-TTGATTTTTTGGTCATCCAGAAGT-3'	938	Jacobson et al. 2006
		R Jerry Garcia-CI	5'-GGGAATTAGAATTTTGAAGAG-3'		
	COI+II②	F CI-J-2195	5'-TTGATTTTTTGGTCATCCAGAAGT-3'	920	Ross & Shiemaker 1997
		R DDS-COI-4	5'-TAAGATGGTTAATGAAGAGTAG-3'		

表 2-2_2 ヒアリ及び沖縄産アリ類の PCR 結果

亜科名	和名	学名	Gp-9①	Gp-9②	COI	COI+II①	COI+II②
Myrmicinae	ヒアリ	<i>Solenopsis invicta</i>	●	●	●	●	●
Dolichoderinae	アワテコヌカアリ	<i>Tapinoma melanocephalum</i>	×	×	●	×	×
Formicinae	アシナガキアリ	<i>Anoplolepis gracilipes</i>	×	×	●	●	×
	ケブカアメイロアリ	<i>Nylanderia amia</i>	×	×	●	●	×
	リュウキュウアメイロアリ	<i>Nylanderia ryukyuensis</i>	×	×	●	●	×
	ヒゲナガアメイロアリ	<i>Paratrechina longicornis</i>	×	×	●	●	×
Myrmicinae	ヒメハダカアリ	<i>Cardiocondyla minutior</i>	×	×	●	×	×
	トゲハダカアリ	<i>Cardiocondyla sp. A</i>	×	×	●	×	×
	クロヒメアリ	<i>Monomorium chinense</i>	×	×	●	●	×
	フタイロヒメアリ	<i>Monomorium floricola</i>	×	×	●	●	×
	インドオズアリ	<i>Pheidole indica</i>	×	×	●	●	×
	ツヤオズアリ	<i>Pheidole megacephala</i>	×	×	●	×	×
	ナンヨウテンコクオズアリ	<i>Pheidole parva</i>	×	×	●	●	×
	オオシワアリ	<i>Tetramorium bicarinatum</i>	×	×	●	△	×
	イカリゲンシワアリ	<i>Tetramorium lanuginosum</i>	×	×	●	×	×

● : 特異的な増幅有り、× : 増幅無し、もしくは非特異的な増幅

次に、沖縄産アリ類のサンプル中にヒアリがどの程度混入した場合まで、PCR (Gp-9①、Gp-9②、COI+II②) で特異的に検出できるか検討した。沖縄産アリ類のサンプルは 14 種の DNA 溶液を等量ずつ混合し、そこにヒアリの DNA 溶液を添加した。

その結果、1 回目の PCR では混入率 1% までしかバンドは判別できなかった (表 2-2_3)。そこで、PCR を再度繰り返すと、Gp-9②では混入率 0.01% までヒアリ特異的な増幅を確認できた (図 2-2_2)。ただし、沖縄産アリのみでも長さの異なるバンドが検出されている点には注意が必要と考える。今回 14 種のみでの検討であるが、ソーティングの省労力化に遺伝子を用いた技術の適応の可能性が示唆された。

表 2-2_3 ヒアリ特異的な混入率の検討結果

ヒアリの混入率	Gp-9①	Gp-9②	COI+II②
100%	●	●	●
10%	●	●	●
1%	×	●	×
0.1%	×	×	×
0.01%	×	×	×
0%	×	×	×

●：特異的な増幅、×：増幅無し

ヒアリの混入率とは、沖縄産アリ 14 種を等量ずつ混合した DNA 溶液に、ヒアリの DNA 溶液を混ぜた割合である。

ヒアリ 100% はヒアリのみの DNA 溶液、ヒアリ 0% は沖縄産アリのみの DNA 溶液となる。

ヒアリ (%)	100	10	1	0.1	0.01	0	ネガ
沖縄産アリ (%)	0	90	99	99.9	99.99	100	コン

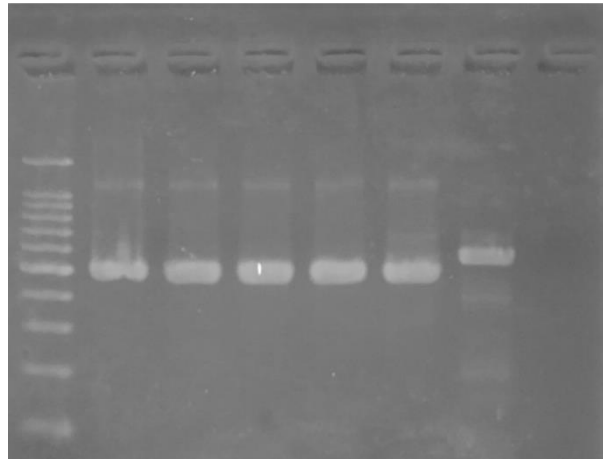


図 2-2_2 2 回目の PCR (Gp-9②) による電気泳動結果

Folmer O, Black M, Hoeh W, Lutz R, Vrijenhoek R. (1994) DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Mol Mar Biol Biotechnol.* 3(5):294-299

Jacobson AL, Thompson DC, Murray L, Hanson SF (2009) Establishing Guidelines to Improve Identification of Fire Ants *Solenopsis xyloni* and *Solenopsis invicta*. *Journal of Economic Entomology.* 99(2),

313-322.

Krieger MJ, Ross KG (2002) Identification of a major gene regulating complex social behavior. *Science*. 11;295(5553):328-32

Ross KG & Shiemaker DD (1997) Nuclear and mitochondrial genetic structure in two social forms of the fire ant *Solenopsis invicta*: Insights into transitions to an alternate social organization. *Heredity* 78. 590-602

Valles SM & Porter SD (2003) Identification of polygyne and monogyne fire ant colonies (*Solenopsis invicta*) by multiplex PCR of Gp-9 alleles. *Insectes Sociaux*, 50 (2). 199-200

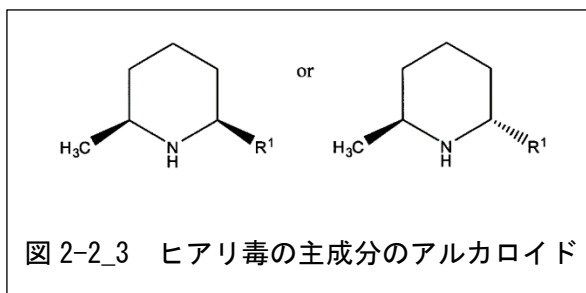
Valles SM, Oi DH, Perera OP, Williams DF (2002) Detection of *Thelohania solenopsae* (Microsporidia: Thelohaniidae) in *Solenopsis invicta* (Hymenoptera: Formicidae) by multiplex PCR. *J Invertebr Pathol*. 81(3):196-201

(3) 化学物質

アリ類のソーティング作業の省労力化を目的に、化学物質によるヒアリの同定技術も検討した。

【GC による毒の同定と定量】

ヒアリの毒性物質としてアルカロイド 2-methyl-6-alkylpiperidine (図 2-2_3) が単離されている。この物質は、ヒアリ類を含む *Solenopsis* 属とその近縁属の *Monomorium* 属の毒腺で確認されている。また、この物質を詳しく分析すると、



- 1) アルキル基の炭素数 11 個 (C_{11}), 13 個 (C_{13}), 及び 15 個 (C_{15}) のアルカロイドがある
- 2) アルキル基には、飽和アルキル (2 重結合なし) と 2 重結合が一つ含まれる不飽和アルキルがある ($C_{11:0}$ と $C_{11:1}$)
- 3) それぞれのアルカロイドで、六員環の面に対してメチル基とアルキル基が同じ側にあるシス型と反対側に位置するトランス型がある ($cis-C_{11}$ と $trans-C_{11}$)

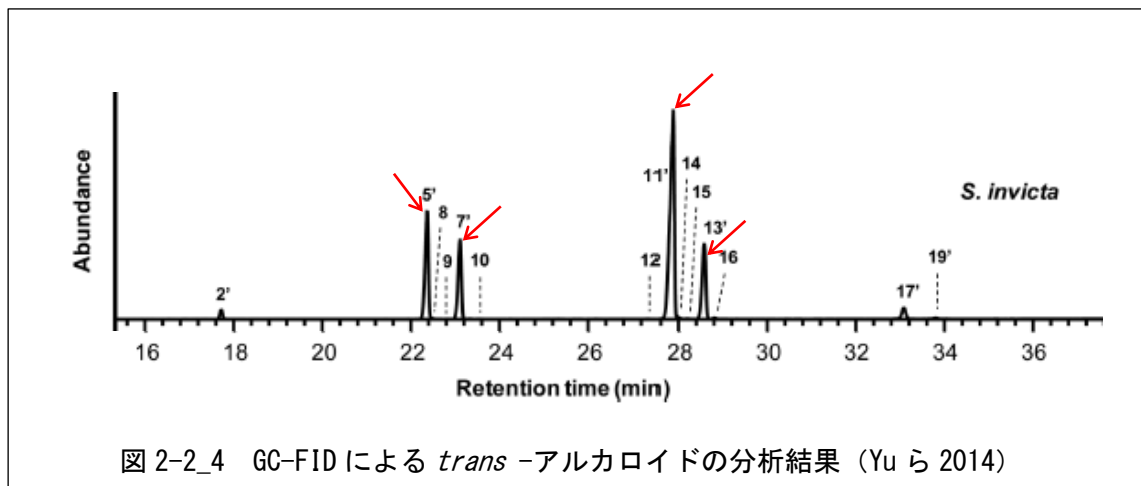
よって 12 種類のアルカロイドに分類でき、総称として“ソレノプシン”と呼ばれている (Thompson 1973)。

表 2-2_4 ヒアリ属 4 種のワーカーにおけるソレノプシン組成の比較 (東ら 2008)

	$cis-C_{11}$	$trans-C_{11}$	$cis-C_{13}$	$trans-C_{13}$	$cis-C_{15}$	$trans-C_{15}$
ホクベイヒアリ	70%	30%	微量	微量	なし	なし
アカカミアリ	60%	40%	微量	微量	なし	なし
クロヒアリ	微量	20%	微量	80%	なし	なし
ヒアリ	微量	5%	微量	35%	微量	60%

これら 12 種類のアルカロイドであるが、トランス体の毒性が強く、ヒアリに含まれるアルカロイドの殆どは、トランス体である。またアルキル基の炭素数にも大きな差があり、ヒアリの持つ $trans-C_{15}$ (60%) は、他のヒアリ類に含まれない。このように、ソレノプシン組成率には、種間差が見られ種の分類や同定に使用できるとされている (東ら 2008)。

Yu ら (2014) による GC-FID を用いたヒアリワーカーのソレノプシン類の定量分析では、*trans*-C_{13:1} (図 2-2_4 中 5')、*trans*-C₁₃ (7')、*trans*-C_{15:1} (11')、*trans*-C₁₅ (13') が明瞭なシグナルとして観察され、その積分値を用い精確な量を算出している (図 2-2_4 赤矢印)。しかしながら、ワーカー 1g (アリ 1 個体の重量は 1~5mg 程度) をサンプル量として用いており、大量のアリを必要とする。



一方、GC-MS (質量分析計) を用いた場合、計算上 0.05 個体分のヒアリ抽出液で、ソレノプシン類の同定が可能であり (Yu ら 2014)、ベイトトラップに入ったアリ 1 個体がヒアリか否か判定できる。しかし、定量分析ができないため、トラップ中に何個体捕獲できていたかを推定できない。一般に、GC-MS による一斉定量は、イオン化効率が各分子によって異なるため向いてないとされる。

今後、これらソレノプシン類の GC-MS による定量は、分析したい分子を *trans*-C_{15:1}、又は *trans*-C₁₅ などの含量が多く、さらにヒアリ特異的なソレノプシン類に絞り、検討していく予定である。

S.N. Thompson (1973) A review and comparative characterization of the fatty acid compositions of seven insect orders. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 45, 467-482

東正剛ら (2008) ヒアリの生物学—行動生態と分子基盤—, 海游舎

Y. Yu, *et al.* (2014) Quantitative analysis of alkaloidal constituents in imported fire ants by gas chromatography, *J. Agric. Food Chem.*, 62, 5907-5915