

オオバギーアリ共生系における種特異性の維持機構に関する生態学的研究

Mechanism for maintenance of the species-specificity in *Macaranga* - *Crematogaster* mutualism

村瀬 香

Kaori MURASE

目次

第1章 序論		4-3-2. ワーカーによる栄養体選好性実験	38
第2章 オオバギ属植物および共生アリの生活史特性		4-4. 考察	38
2-1. 調査地	29		
2-2. 材料の生活史の概要	30		
第3章 新女王の定着時におけるオオバギ種選好性		第5章 原生林と二次林におけるアリ植物性の変異	
3-1. 緒言	31	5-1. 緒言	40
3-2. 方法	32	5-2. 方法	41
3-2-1. 野外調査	32	5-2-1. 野外観察と採集	41
3-2-2. 新女王によるオオバギ種の選好性実験	32	5-2-2. 非アリ防衛の強度の評価	41
3-3. 結果	33	5-3. 結果	41
3-4. 考察	35	5-3-1. <i>M. bancana</i> の幼木を占有していたアリ種	41
		5-3-2. 食害	42
第4章 オオバギと共生アリの実験的入れ替えが共生関係に与える影響		5-3-3. 非アリ防衛の強度	42
4-1. 緒言	35	5-4. 考察	42
4-2. 方法	36	第6章 総合考察	
4-2-1. 新女王入れ替え実験	36	謝辞	44
4-2-2. ワーカーによる栄養体選好性実験	37	引用文献	44
4-3. 結果	37	摘要	46
4-3-1. 新女王入れ替え実験	37	Summary	47

第1章 序論

世界中の熱帯域では、アリ類に被食防衛をゆだねている植物が数多く報告されている (Beattie 1985; Buckley 1982; Davidson and McKey 1993; Huxley and Cutler 1991; Janzen 1966; McKey *et al.* 1993)。その中には、特定のアリ類に体の一部を巣場所として提供して、そのアリ類と共生している植物が知られている (Davidson and McKey 1993; Huxley and Cutler 1991; Janzen 1966; McKey *et al.* 1993)。このような植物をアリ植物と呼ぶ。アリ植物と共生する以外には生息できないほどアリ植物に特殊化したアリ類を、植物アリと呼ぶ。両者は、お互いなしでは生存できないほど相手に依存している絶対的な相利共生関係にあることが知られている (Buckley 1982; Beattie 1985; Huxley and Cutler 1991; McKey *et al.* 1993)。

東南アジア熱帯域を中心に分布するオオバギ属 (*Macaranga*: Euphorbiaceae, トウダイグサ科) は、こうした絶対共生型のアリ植物種を数多く含んでいる (Whitmore 1969, 1975; Fiala *et al.* 1989, 1994)。オオバギ属のアリ植物は共生アリに巣場所を提供するだけでなく、餌(栄養体)も提供している (Fiala *et al.* 1989)。一方共生アリは、栄養体を主な餌資源として利用し、植物を植食者から防衛し、植物上のみで生活している (Fiala and Maschwitz 1991, 1992a, b; Fiala and Linsenmair 1995)。オオバギ属のアリ植物種の多くは、それぞれの種に特殊化したアリ種のみと絶対的な相利共生系を結んでいることが、オオバギ成木の調査から分かっている (Fiala *et al.* 1999; Itino *et al.* 2001; 図1)。そこで、本研究では、オオバギ属のアリ植物とその共生アリを材料に、種特異性を維持する機構を実証的に明らかにすることを目的とした。

オオバギ-アリ共生系における、種特異的な関係の維持機構を明らかにするには、まず始めに共生アリの新女王の定着過程を調査する必要がある。なぜなら、新女王がオオバギ成木から分散してオオバギ実生に定着することで、オオバギとアリの共生関係が開始されるからである (図2)。そこで、調査対象樹種であるオオバギ属植物とその共生アリの生活史について第2章で触れた後、第3章では新女王のオオバギ実生への定着時期を明らかにするとともに、新女王によるオオバギ種に対する選好性について調査した。

第3章の結果、実生に定着していた新女王の約3割は、成木ではみられないアリ種であった。このことから、新女王定着後にも、種特異的な関係を維持する機構が働いていると考えられる。そこで第4章では、新女王定着後に働く種特異性の維持機構を明らかにするため、同所的に生息する絶対アリ共生型のオオバギ3種の実生に、成木ではみられないアリ種の新女王を人工的に定着させる“新女王入れ替え実験”を苗床で行い、その後の過程を追った。さらには、アリによる栄養体に対する選好性があるのかを明らかにするために、成木に共生しているアリ種のワーカーに、

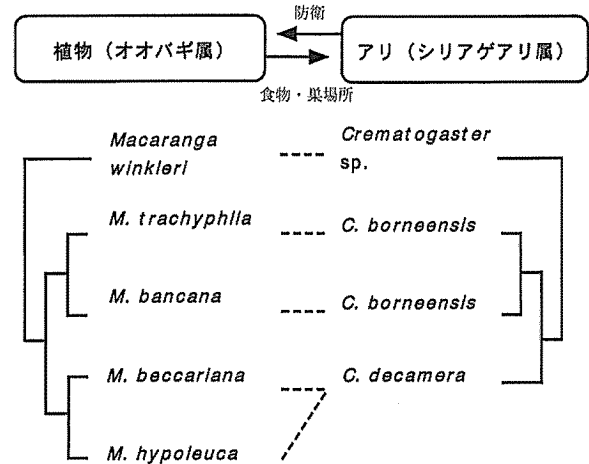


図1. 本研究調査地における、オオバギ属のアリ植物とその共生アリとの関係

波線は、成木でみられる本来の共生相手を示す。植物は形態を、アリは mt DNA をもとに (Itino *et al.* (2001) より抜粋) 分類した。C. borneensis は、m DNA レベルで2つのタイプに分けられることが分かっている (詳しくは Itino *et al.* (2001))。

各種オオバギの栄養体を与えて、ワーカーの行動を調査した。

第5章では、原生林から二次林まで、広範囲に生息している一種のアリ植物種に注目した。原生林と、人為的攪乱などで生じた二次林とでは、光条件などの環境条件が全く異なる。環境条件が異なっても、種特異性は維持されているのかを明らかにするために、アリとの関係・アリによる防衛 (以下、アリ防衛と呼ぶ) の強度・アリ防衛以外の防衛 (以下、非アリ防衛と呼ぶ) の強度といったアリ植物の特性 (以下、アリ植物性と呼ぶ) に、森林間で変異があるかを調査した。

第6章では、オオバギ-アリ共生系における、種特異性を維持する機構について総合的に討論した。

第2章 オオバギ属植物および共生アリの生活史特性

2-1. 調査地

本研究におけるすべての野外調査、サンプリング、操作実験は、東南アジア熱帯域に属する熱帯低地林で行った。第3章と第4章の研究は、マレーシア、ボルネオ島、サラワク州、ランビルヒルズ国立公園 (4°2'N, 113°50'E, altitude 50-150 m, 以下、ランビルと略す) 内の原生林で行った (図3)。第5章の研究は、ランビル内の原生林と、その周辺の二次林で行った (図8)。

本調査地は、明瞭な雨期・乾期が見られず、平均気温の季節的変動が非常に乏しいことから、非季節性の熱帯雨林と考えられている (Kato *et al.* 1995)。また、フタバガキ属が森林の優先樹種であることから、低地混交フタバガキ林と呼ばれている。

2-2. 材料の生活史の概要

オオバギ属は、南太平洋諸島から西アフリカまで約300種が分布しており、東南アジア熱帯の典型的なパイオニア種である(Whitmore 1969, 1975)。マレーシア(ボルネオ島およびマレー半島)では、52種以上のオオバギ種が報告されており、そのうちの25種以上がアリ植物である(Fiala and Maschwitz 1991, 1992a, b)。

オオバギ属のアリ植物は、アリの営巣に好都合のように茎を中空にし、その内部に特定のアリ種を住ませる。さらに、若い葉の裏面や茎頂付近の托葉という器官から、Food bodyと呼ばれる栄養体を分泌し、これを餌としてアリに提供する。アリ植物から離れては存在できないほど特殊化したアリを“植物アリ”と呼ぶ。植物アリは、高い攻撃能力を持ち、巣場所となるアリ植物を植食者から防衛する。さらに、アリ植物をよじ登ろうとするツル植物などの他の植物を噛み切って排除する。このように、オオバギ属のアリ植物と植物アリの共生関係では、植物が巣場所や餌を提供し、その代わりに、アリが被食防衛や競争者排除を提供するといった相利関係が成立している。

オオバギ属のアリ植物の共生相手となるアリ種の大半は、シリアゲアリ属(*Crematogaster*: Myrmicinae)に属している。オオバギ-シリアゲアリ系では、1種のアリ植物は、その種のみあるいはその種の近縁種を含む少数の種群のみに特殊化した1-2種のシリアゲアリ種と共生関係をもつことが、これまでの研究から分かっている(Fiala *et al.*

1999; Itino *et al.* 2001)。こうした研究は、アリとの共生関係が確立しているオオバギ成木のみを対象を絞って行われてきた。

オオバギ属のアリ植物の多くは、成長の初期(実生の時期)に共生が始まる(図2)。オオバギ実生の高さが10-20 cm程になる頃には茎が膨らんで中空になる。この頃に共生相手となるアリ種の新女王が、オオバギ成木から単独でオオバギ実生に飛来し、茎の表面に穴をあけて中空の茎の内部に潜入する。中空の茎の内部は、葉の基部ごとに隔壁(節)があり区切れている。新女王は、この節間の茎の内部に潜入するとすぐに茎の内部の植物組織を用いて、茎の表面に開けた穴を閉じる。こうして、新女王による実生への定着が完了する。節間の茎の内部に定着した新女王は、自分の飛翔筋を消化して餌にかえ、それを幼虫と与えて最初のワーカーを育てる(以下、新女王が単独で育てたワーカーを最初のワーカーと呼ぶ)。最初のワーカーが出現するまでの約1, 2ヶ月間、新女王は1つの節間の茎の内部にこもり、1匹で育児に専念する。この育児が成功し、最初のワーカーがオオバギ上に出現して初めて、相利的な共生関係が始まる。オオバギ属のアリ植物の実生には、節で区切られた中空の空間が複数存在するため、1個体の複数の節間に、複数の新女王が同時期に定着することがある。しかし、ワーカーが出現した後は、ワーカーが他の新女王を排除して、1個体の新女王由来のコロニーがオオバギ1株全体を占有する。ワーカーは栄養体を収穫するとともに、葉上を巡回

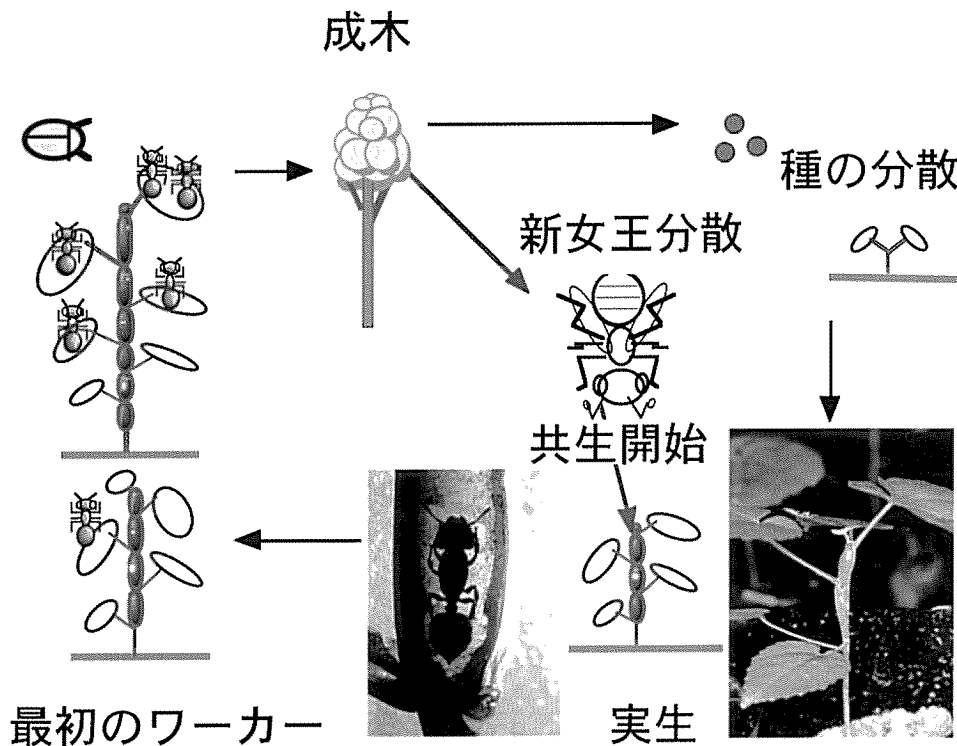


図2. オオバギ属のアリ植物と共生アリの生活史

する。そして植食者を発見すると激しく攻撃し、オオバギ上から排除する。ワーカーは、共生しているオオバギ個体上から離れて採餌することはない。また、オオバギの高さが数m以上になると、茎内部にカタカイガラムシが共生することがあり、これが排出する甘露とカイガラムシの生体そのものもアリの餌となりうる。植物の成長とともに、アリコロニーも成長を続ける。オオバギ属のアリ植物は十分に成長すると花を咲かせ種子を生産し、アリの力を借りずに種子分散・発芽する。また共生している植物アリも、コロニーが十分な大きさに成長すると新女王を生産し、その新女王は単独で分散する。

本研究調査地には、オオバギ属が16種以上生息しており、そのうち11種がアリ植物である。これら11種のアリ植物のいくつかは同じ生息場所に集中する傾向があり、一つのギャップに複数種が混在していることも多い。

本研究では、特殊なアリ種のみと相利共生していることが分かっている、オオバギ属のアリ植物4種を用いた (Itino *et al.* 2001)。第3章・第4章では、同所的に生息するオオバギ3種 (*M. winkleri*, *M. trachyphylla*, *M. beccariana*) を用いた。これら3種のオオバギは、同所的に生息しながらも、それぞれのオオバギ種に特殊化したシリアゲアリ種1種 (*Crematogaster* sp., *C. borneensis*, *C. decamera*) のみと共生関係をもっている (図1)。これらのオオバギ3種は、ギャップ、林縁部、川岸で頻繁に見られ、それぞれの生活史の特性も非常に似ている (Davies *et al.* 1998)。これまでの研究で、これら3種のオオバギは、共生アリを排除すると、植食者からの著しい食害を受け、生存できなくなることが分かっている (Itioka *et al.* 2000)。また、アリ3種も、共生するオオバギが枯れても、ワーカーは植物上から離れないため、最終的に、アリコロニーも衰弱して崩壊してしまうことが分かっている (野外観察 未発表)。これらの事実から、これらオオバギ3種と、各オオバギ種に特殊化した植物アリ3種の関係は、双方が自身の生存を相手に完全に依存している絶対共生と呼ぶことのできる関係である。さらに、本研究の第5章では、原生林から二次林まで幅広く分布する、*M. bancana* を用いた。これまでの調査で、*C. borneensis* には、複数の mt DNA タイプが存在することが分かっている (Itino *et al.* 2001)。原生林に生息する *M. bancana* は、*M. trachyphylla* の本来の共生相手とは異なるタイプの、*C. borneensis* と絶対的な共生関係にあることが分かっている (Fiala *et al.* 1999; Itino *et al.* 2001; 図1)。

第3章 新女王の定着時におけるオオバギ種選好性

3-1. 緒言

アリ植物-植物アリ共生系は、動物と植物の共生の共進化のなかで最も顕著な例の一つである (Huxley and Cutler 1991; Davidson and McKey 1993)。この共生系では、植物アリは植食者やツル植物から宿主植物を守り、宿主

植物 (アリ植物) は巣場所や食物をアリに提供している (Janzen 1966; Buckley 1982; Davidson and McKey 1993)。アリ植物-植物アリ共生系は、植物とアリの両者が共生相手なしでは生存できないほど相手に依存している絶対的な共生関係であることが多い。アリ植物と植物アリの両者もつ多くの特徴は、著しく特殊化しており、共生することに適応している (Davidson and McKey 1993)。

オオバギ属は東南アジアの熱帯域を中心に分布し、少なくとも25種以上のアリ植物を含んでいる (Whitmore 1969; Fiala and Maschwitz 1991, 1992a)。ほとんどのアリ植物は、シリアゲアリ属かオオアリ属に属する種特異的なアリ種のみと、絶対的な共生関係をもっている。オオバギ属のアリ植物-植物アリ共生系では、植物が巣場所や餌を提供し、その代わりに、アリが被食防衛や競争者排除を提供するといった相利関係が成立している (Fiala *et al.* 1989; Fiala and Maschwitz 1991, 1992b)。植物アリと絶対共生関係をもつアリ植物のほとんどは、植物が小さな実生である時期に、その植物種の共生相手となるアリ種の新女王が単独で飛来し実生に定着することで、相利共生関係が開始する。その後新女王は、宿主植物上を巡回し植食者を排除するワーカーを生産する (Fiala *et al.* 1989)。宿主植物と植物アリの双方が、自身の生存を共生相手に依存している (Fiala and Maschwitz 1990; Fiala *et al.* 1999)。

アカシア (Leguminosae)、セクロピア (Cecropiaceae)、オオバギなどで、多くのアリ植物種が進化している (McKey and Davidson 1993)。しかし、オオバギ-シリアゲアリ共生系は、1つの属に多様なアリ植物種を含んでおり、植物とアリの種特異性が高い唯一のケースである (Fiala *et al.* 1999)。オオバギ属のアリ植物では、1種のアリ植物が主に1、2種の植物アリ種のみと共生関係にあり、1種の植物アリは狭い範囲の (いくつかの場合1、2種の) オオバギ種と共生関係にある (Fiala *et al.* 1999)。オオバギ属のアリ植物のうちの複数種は、同じ地域の似通った生息場所にたびたび同所的に生息する (Davies *et al.* 1998; Itioka *et al.* 2000) にも関わらず、各アリ植物はそれぞれの種に特殊化したアリ種のみと種特異的な関係を維持している (Itino *et al.* 2001)。どのような要因が、オオバギ-シリアゲアリ共生系における種特異性に影響を与えているのだろうか? オオバギ-シリアゲアリ共生系における種特異性が、野外においてどのように維持されているのかを明らかにした研究はない。

これまでの研究は、アリによる防衛効果が十分働いている、相利共生関係成立後のオオバギ成木のみを対象に、アリ種の採集や観察が行われていた。そこで本研究では、オオバギ成木に共生しており、かつ、植物と相利共生関係をもつ植物アリ種のことを、“本来の共生相手”のアリ種と呼ぶことにする。成木でみられるような種特異的な関係が、新女王の定着時期にもみられるかどうかは、これでは注目されてこなかった。オオバギ-アリ共生系においては、オオ

バギの種子の分散と新女王の分散が独立して行われるため、一時的に両者の関係が中断されるという特徴がある。そのため、オオバギ-アリ共生系における種特異的な関係を維持する機構を解明するには、オオバギと新女王が共生を開始する時期を明らかにすること、新女王が本来の共生相手のオオバギ種を選択しているかどうかを明らかにすることが重要である。

もし、各オオバギ種の実生の出現時期が異なり、かつ、各植物アリ種の新女王の出現時期も本来の共生相手のオオバギ種の実生の出現時期に限定されているとすれば、新女王が定着できるオオバギ種は、本来の共生相手のオオバギ種のみ限定されるであろう。もしそうならば、オオバギ-シリアゲアリ共生系間で、新女王の定着時期において時間的な棲み分けがおり、結果として、種特異的な関係が維持されることになるだろう。本章の第一の目的は、こうした時間的な棲み分けが行われているのかを明らかにすることである。

本章の第二の目的は、新女王によるオオバギ種の実生の選択が、種特異性の維持にどのように関与しているのかを明らかにすることである。本来の共生相手のオオバギ種に、新女王は正確に定着しているのだろうか。また、本来の共生相手のオオバギ種と、同所的に生息している本来の共生相手以外のオオバギ種とを、新女王は区別することができるのだろうか。

これらを明らかにするために、野外で同所的に生息する複数種のオオバギ実生を定期的に採集し、1) どのようなアリ種が実生に定着しているのか、2) 定着可能な実生の出現量および新女王の定着頻度について季節的な変化があるのかを調査した。さらに、3) 各オオバギ種の実生を栽培し、その実生を新女王に与えて定着するのかを観察した。

3-2. 方法

3-2-1. 野外調査

本章の野外調査は、同所的に生息する近縁種 *M. winkleri*, *M. trachyphylla*, *M. beccariana* の3種のオオバギを対象とした。3種のオオバギの成木にはそれぞれ、*Crematogaster* sp., *C. borneensis*, *C. decamera* が共生している (Itino *et al.* 2001; 図1)。始めに、新女王受け入れ時期にある実生の高さを特定するために、様々な高さの実生を採集し、アリがすでに定着しているかどうかを調べた。この予備調査の結果(本章の結果参照)、新女王受け入れ時期にある実生の高さは80 cm以下であった。

新女王が定着可能である実生(80 cm以下)の出現時期および新女王の定着時期に、季節性があるか、または特定の時期に限定される傾向があるかを明らかにするために、1997年の7月、8月、9月、11月、12月と、1998年の5月と6月に実生の野外観察を行った。巨木が倒れて出来たギャップや、川岸がいくつか存在するような経路を3本(図3)設定した(合計で3.5 km)。調査の範囲は、経路の両端から10 mまでとした。1回の調査で、3本の経路のうち

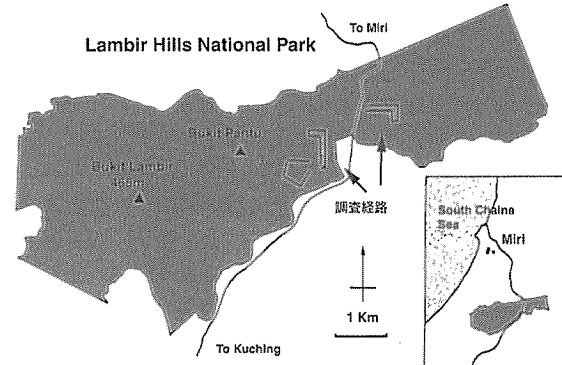


図3. 調査地の地図

の2本の経路をまわり、新女王が定着可能でかつ、ワーカーが出現していないすべての実生において、1) 実生の高さ(地際から、茎の先端まで)、2) 中空になった節間の数、3) 新女王が定着していた節間数(茎の外から、新女王が潜入した痕があるか観察した)を測定した。

さらに、新女王定着時期におけるオオバギとアリの種特異性の高さを明らかにするために、1999年の2月、3月、4月、5月、6月には実生を採集した。1回の調査で、3本の経路のうち2本の経路をまわり、少なくとも1匹以上の新女王が定着した実生で、かつ、最初のワーカーがまだ茎表面に出現していない、高さが80 cm以下の実生を採集した。1999年の調査では新女王が一匹もない実生は採集しなかった。採集後同日中に実験室で以下の項目1) 実生の高さ(地際から、茎の先端まで)、2) 中空になった節間の数、3) 葉数、4) 共生相手のアリ種の新女王が定着していた節間数、5) 本来の共生相手ではないアリ種の新女王が定着していた節間数、6) 新女王が定着していなかった節間数、7) 死亡した新女王がみつかった節間数、を測定した。

3-2-2. 新女王によるオオバギ種の選好性実験

同所的に生息している3種のオオバギ種を新女王が区別して選択しているのかを明らかにするために、各アリ種の新女王に各オオバギ種の実生を与える実験を、1998年の10月から1999年の3月にかけて行った。この実験では、同所的に生息するオオバギ3種 (*M. winkleri*, *M. trachyphylla*, *M. beccariana*) 以外に、*M. beccariana* の近縁種である *M. hypoleuca* を用いた。これまでの研究で、実生の節間表面の化学物質のパターンは、*M. winkleri*, *M. trachyphylla*, *M. beccariana* の3種間では異なっているが、*M. beccariana* と *M. hypoleuca* の2種間では似ていることが分かっている (Inui *et al.* 私信)。 *M. hypoleuca* は、*M. beccariana* の本来の共生相手である *C. decamera* と近縁にあるアリ種と共生している(以下、このアリ種を、*M. hypoleuca* の本来の共生相手である *C. decamera* と呼ぶ)。

新女王が定着していない実生を実験で使用するため、ま

ず、野外で発芽直後の実生を採集して、その後、茎の内部が中空になり肥大成長した節間が2、3個できる（高さは10 cm 以上 30 cm 未満）まで苗床のポットで育てた。苗床は、林縁から隔離して設営し、黒い遮光ネットを複数用いてギャップとほぼ同じ明るさに調整した。3本の経路のいずれかをまわり、野外の実生（高さは10 cm 以上 20 cm 未満）から新女王を採集した。実験には、産卵前の新女王を選択的に用いた。節間内に一つも卵がなく、新女王しかいない場合、その新女王を産卵前の新女王とした。各種の新女王は形態で区別した。明らかに本来の共生相手の植物アリ種の新女王でない場合実験から排除した。一匹の新女王を、苗床で育てた実生の先端葉に乗せ、1時間後と1日後に、実生の節間に穴をあけて潜入したかを調べた。1匹の新女王個体は、1度のみ実験に用いた。ただし、実生へ潜入しなかった新女王の一部は、別のオオバギー種の実生に乗せて同様の実験に用いた。1株の実生個体は、1度のみ実験に用いた。

3-3. 結果

新女王受け入れ時期にある実生の高さを特定するための予備調査の結果、どのオオバギー種においても、1 m 以下のほとんどすべての株はアリのコロニーに占有されていた。少なくとも1匹以上の新女王が定着した実生で、しかも、その新女王が最初のワーカーを産出していない実生の高さは、*M. trachyphylla* で 10.2-52.4 cm (mean=17.7 cm, SD=10.00), *M. winkleri* で 8.7-17.3 cm (mean=13.5 cm, SD=6.92), *M. beccariana* で 6.5-18.2 cm (mean=11.4 cm, SD=3.92) であった。また同時期の実生の節間数は、*M. trachyphylla* で 2-8 (mean=4.51, SD=2.28), *M. beccariana* で 1-8 (mean=3.98, SD=1.53), *M. winkleri* で 1-4 (mean=1.85, SD=0.94) であった (図4)。

新女王定着時期における、オオバギーとアリの種特異性の高さを調査した結果、どのオオバギー種においても、新女王が定着していた節間のうち、本来の共生相手のアリ種の新女王が定着していた割合は70%以上であった(図5)。この割合は、*M. winkleri* で最も高く、*M. beccariana* で最も低かった(図5)。植物アリではないアリ種は、*M. trachyphylla* で6.7%, *M. beccariana* で11.1%見つかった(図5)。また、新女王が定着していた節間のうち、本来の共生相手のアリ種の新女王が定着していた割合は、調査月ごとに異なった。この割合は、*M. trachyphylla* では71.5%から95%まで、*M. beccariana* では70%から90%までの間で変動した。

新女王にとって利用可能な高さの実生の節間数(図6)と、新女王が定着していた節間割合(図7)について調査した結果、どのオオバギー種においても、調査時期を通して新女王が定着していた節間が観察された。その割合を調査月ごとにみると、すべてのオオバギー種において、10%から90%までの範囲で変動した(ただし、1997年12月の調査で*M. beccariana* が示した100%は例外とする)。

新女王によるオオバギー種の選好性実験の結果、どの種の新女王も、自身の本来の共生相手でないオオバギー種より本来の共生相手のオオバギー種に定着した頻度が有意に高かった(表1, Fischer's exact test, *M. winkleri* の本来の共生相手の *Crematogaster* sp. で、 $\chi^2=20.263, P<0.0001$, *M. trachyphylla* の本来の共生相手の *C. borneensis* で、 $\chi^2=19.177, P<0.0001$, *M. beccariana* の本来の共生相手の *C.*

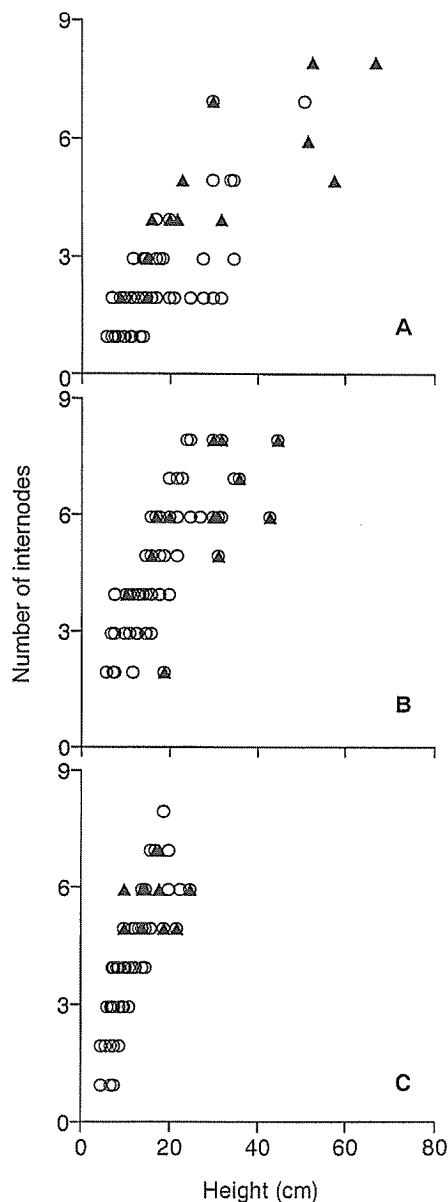


図4. 最初のワーカーを産出していない新女王が1匹以上定着していた実生(○)と、最初のワーカーを産出した新女王が1匹以上定着していた実生(▲)における、サイズ(茎の高さ、茎の節間の数)の分布
A: *M. winkleri*, B: *M. trachyphylla*, C: *M. beccariana*

decamera で、 $\chi^2=8.694, P<0.0069$)。 *M. winkleri* の本来の共生相手の *Crematogaster* sp. の新女王は、 *M. hypoleuca* も含め本来の共生相手でないオオバギ種の実生には定着しなかった。しかし、 *M. trachyphylla* の本来の共生相手の *C. borneensis* の新女王と、 *M. beccariana* の本来の共生相手の *C. decamera* の新女王は、自身の本来の共生相手ではないオオバギ種の実生に定着する場合があった。 *M. trachyphylla* の本来の共生相手の *C. borneensis* の新女王はすべての *M. hypoleuca* の実生には定着しなかったが、 *M. bec-*

cariana の本来の共生相手の *C. decamera* の新女王は *M. hypoleuca* の実生に高い頻度で定着した (77.8%)。 *M. beccariana* の本来の共生相手の *C. decamera* の新女王が、 *M. beccariana* の実生と *M. hypoleuca* の実生に定着した頻度には有意な差はなかった (Fischer's exact test, $\chi^2=1.479, P=0.377$)。 *M. hypoleuca* の本来の共生相手の *C. decamera* が、 *M. hypoleuca* に定着した頻度は、他の3種のオオバギ種に定着した頻度と有意な差がなかった (Fischer's exact test, $\chi^2=1.545, P=0.324$)。 *M. hypoleuca* の本来の共生相手の *C. decamera* は、 *M. hypoleuca* の実生と *M. beccariana* の実生のどちらにも、ほぼ同じ頻度で定着した。

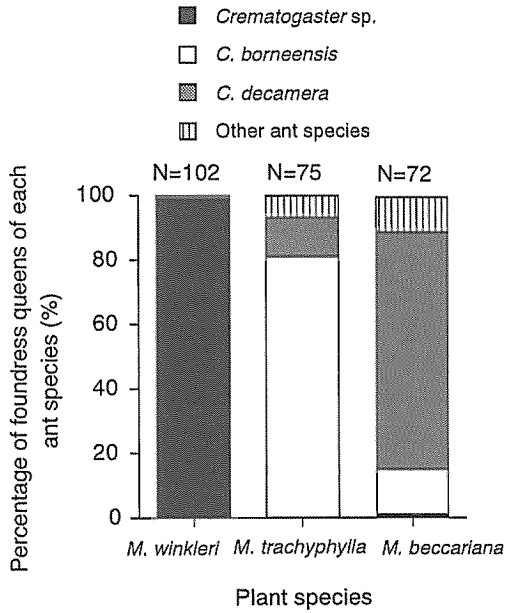


図5. 同所的に生息するオオバギ属のアリ植物3種の実生に、各アリ種の新女王が定着した割合

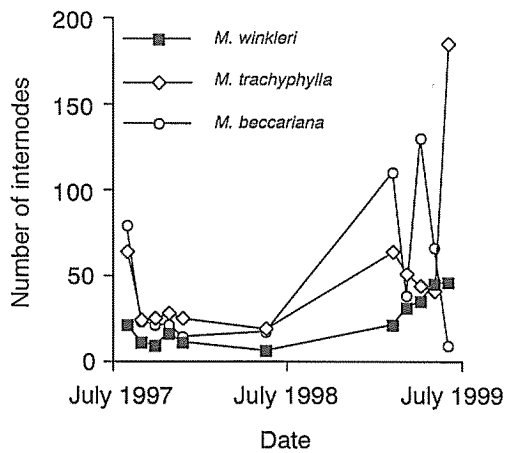


図6. 少なくとも一匹以上の新女王が定着し、最初のワーカーが産出されていない実生を対象とした、合計節間数の季節的な変化

(1998年7月からは、調査方法が異なるため、この前後で比較はできない。詳しくは本文参照。)

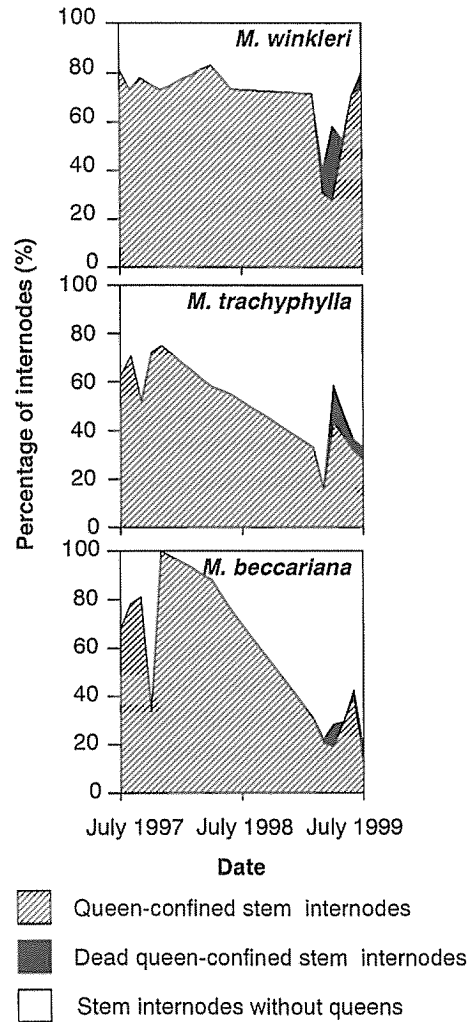


図7. 少なくとも一匹以上の新女王が定着し、最初のワーカーが産出されていない実生を対象とした、新女王が定着している節間の割合の季節的な変化

表1. 新女王によるオオバギ種（実生）に対する選好性

Plant species	Ant species [plant species that ant queens associates with]			
	C. sp. [<i>M. winkleri</i>]	<i>C. borneensis</i> <i>M. trachyphylla</i>	<i>C. decamera</i> <i>M. beccariana</i>	<i>C. decamera</i> <i>M. hypoleuca</i>]
<i>M. winkleri</i>	77.8 (18)	15.3 (13)	42.9 (7)	40.0 (5)
<i>M. trachyphylla</i>	0 (8)	71.0 (31)	50.0 (4)	60.0 (5)
<i>M. beccariana</i>	0 (7)	13.3 (15)	91.3 (23)	81.3 (16)
<i>M. hypoleuca</i>	0 (7)	0 (4)	77.8 (18)	84.0 (25)

数値は、それぞれの実生に新女王が穿入した割合（％）を示す
 () 内の数値は、実験を行った女王個体数を示す
 [] 内は、各アリ種の本来の共生相手のオオバギ種を示す

3-4. 考 察

定期的な実生の採集の結果、どのオオバギ種においても、新女王にとって利用可能な節間をもった実生は常時存在したことが示された。さらに、どのオオバギ種においても、新女王が定着していた節間が常時存在したことから、新女王の定着は季節性がなく常時行われていることが示唆された。したがって、新女王が定着する際、本来の共生相手のオオバギ種だけではなく、本来の共生相手ではないオオバギ2種においても、新女王にとって利用可能な節間をもった実生が存在することが明らかとなった。これらの結果から、新女王の定着時期と実生の出現時期がオオバギ-シリアゲアリ共生系間で異なるため時間的な棲み分けがおり、結果として、種特異的な関係が維持されるという仮説は支持されなかった。

本調査により、各種の新女王は常時分散・定着していることが強く示唆されたが、*M. trachyphylla* および *M. beccariana* における新女王が定着していた節間の割合は、1998年の1月から著しく低下した。これは、1998年前半に、調査地で起こった大乾燥 (Nakagawa *et al.* 2000) が原因であると思われる。この時期に、ほんの数カ月間で、多くのオオバギ成木が枯死し、その共生アリコロニーも崩壊した(未発表データ)。大抵のオオバギ成木では、その茎内に分散する前の新女王が複数存在する。このことから、大乾燥がおこったことで、結果的に数カ月にわたって新女王の供給を低下させたと思われる。これが、*M. trachyphylla* および *M. beccariana* における新女王が定着していた節間の割合が低下した理由であろう。例外的な気象変動があった時期にも関わらず、各種の新女王は、自身の本来の共生相手のオオバギ種に選択的に定着をしていた。

さらに、新女王を人工的にオオバギ上に乗せてその行動を観察した、オオバギ種に対する選好性実験から、新女王は新女王受け入れ時期の実生の表面に接触することで、自身の本来の共生相手のオオバギ種を認識することができるが示唆された。また、本来の共生相手のオオバギ種を認識する能力、もしくは本来の共生相手のオオバギ種に対する選好性の強度が、アリの種間で異なることが明らかとなった。*M. winkleri* の本来の共生相手の新女王と、*M. trachyphylla* の本来の共生相手の新女王は、自身の本来の共生相手のオオバギ種により多く定着した。*M. hypoleuca*

の本来の共生相手の新女王と *M. beccariana* の本来の共生相手の新女王は、自身の本来の共生相手のオオバギ種により多く定着したものの、両種の新女王は、*M. hypoleuca* と *M. beccariana* の両方にほぼ同じ頻度で定着した。これは、両オオバギ種の化学成分のパターンが似ている (Inui *et al.* 私信) ためであると考えられる。以上の結果から、化学物質を基にして新女王が本来の共生相手のオオバギ種へ選好性を示すことが、種特異的な関係の維持にとって重要であることが示された。この室内実験では、新女王に与えられた実生は1種のみであったが、野外では複数のオオバギ属のアリ植物の実生が混在している。野外調査の結果、どのオオバギ種においても、本来の共生相手ではないアリ種の新女王が定着していた頻度よりも、本来の共生相手のアリ種の新女王が定着していた頻度が著しく高かった。この結果から、野外においても、新女王が本来の共生相手のオオバギ種に選択的に定着していることが、種特異的な関係の維持に貢献していることが示唆された。

しかしながら、どのオオバギ種においても、野外の実生から採集された新女王のうち約1%~30%ほどのアリ種は、本来の共生相手でなかった。この結果は、新女王による定着オオバギ種選好性が重要ではあるとはいえ、それだけでは、成木でみられるような種特異的な関係が維持できないことを示している。新女王の定着以後におこる、アリコロニーもしくは植物とアリコロニーの両方の生存過程が、種特異的な関係の維持に貢献していると考えられる。私は、オオバギが成木に至る前に、本来の共生相手以外のアリ種の新女王が定着した実生は、本来の共生相手のアリ種の新女王が定着した実生よりもより高い頻度で共生関係が崩壊すると予想している。次章では、新女王の定着以後の過程に注目して、さらなる種特異的な関係の維持機構を検証していきたい。

第4章 オオバギと共生アリの実験的入れ替えが共生関係に与える影響

4-1. 緒 言

ランビルに同所的に生息するオオバギ属のアリ植物3種は、それぞれの植物種に特殊化したアリ種のみと共生関係を持ち、それ以外のアリ種が共生することはない (Itino *et*

al. 2001)。前章の野外調査の結果、各種オオバギの実生に潜入していたアリの約70%~99%は、成木でみられるような本来の共生相手のアリ種の新女王であった。このため、新女王が本来の共生相手のオオバギ種に選択的に定着することが、種特異な関係の維持に貢献していることが示唆された。しかしその一方で、各種オオバギに定着していた残りのアリ種(約1%~30%)は、本来の共生相手でないアリ種の新女王であった。オオバギ実生においては本来の共生相手以外のアリ種の新女王が定着する場合があるにも関わらず、オオバギ成木においては本来の共生相手のアリ種のコロニーのみが共生しているのはなぜであろうか。

新女王が低頻度ではあるが本来の共生相手ではないオオバギ種の実生に定着するという事実と、Fiala *et al.* (1999) や Itino *et al.* (2001) が示したような成木における共生関係の高い種特異性という2つの事実を、矛盾なく説明する過程はいかなるものであろうか。ひとつの可能性として、本来の共生相手との組み合わせではないオオバギ-アリ系では、成木に至るまでに、アリコロニーとオオバギ実生の双方に高い死亡率がかかって消滅するという過程が考えられる。この過程の有無を検証するのが、本章の第一の目的である。さらにはこの過程が、成木に至るまでのどの段階で機能するのかを調べるのが、本章の第二の目的である。

どのオオバギ属のアリ植物種であっても、限られた資源を、防衛のみならず成長や繁殖にも投資する必要があるため、アリによる防衛(以下、アリ防衛と呼ぶ)・アリに頼らない物理的や化学的防衛(以下、非アリ防衛と呼ぶ)の両方に高い投資は望めないと考えられる。これまでの研究から、第3章で用いた同所的に生息する絶対アリ共生型のオオバギ3種(成木)には、アリ防衛への投資量(栄養体の生産量や、栄養体のC/N比)に種間差があることが明らかとなっている(Hatada *et al.* 2001)。また、アリ防衛への投資量が多いオオバギ種ほど、非アリ防衛の強度は、逆に低くなっていることが分かっている(Itioka *et al.* 2000; Nomura *et al.* 2000)。さらに、アリ防衛への投資量が多いオオバギ種ほど、本来の共生相手のアリ種の攻撃性は高いことが分かっている(Itioka *et al.* 2000)。以上の研究結果から、同所的に生息する絶対共生型オオバギ種3種(成木)は、それぞれ異なった対植食者戦略があり、アリ防衛と非アリ防衛はトレードオフの関係にあることが示唆される。

こうしたことから、オオバギのアリ防衛への投資量と、アリのオオバギに対する資源要求性が、両種の組み合わせごとに一致していること(両者の利害バランスが一致していること)が共生系の維持には必要と考えられる。もしそうならば、最もアリ防衛への投資量が少ないオオバギ種に、資源要求性がより高いアリ種が共生した場合、栄養体の量が十分ではないため、コロニー維持ができなくなり、その共生系は崩壊してしまうであろう。逆に、最もアリ防衛への投資量が多いオオバギ種においては、十分な量の栄養体が提供できるため、どのアリ種においてもコロニー維持が

可能であろう。しかし、資源要求性が低いアリ種は、その攻撃性も低いため、植食者が生息する野外においては、アリ防衛が十分機能せずオオバギの食害が高まり、オオバギが衰弱、枯死することで、このような共生系も崩壊してしまうであろう。いずれにしても、両者の利害バランスの一致が崩れた組み合わせでは、アリによる対植食者防衛が十分機能しなくなり、両者の共生系が崩壊してしまうであろう。もしそうならば、結果として、両者の利害バランスの一致した本来の共生相手とのオオバギ-アリ共生系のみが生き残り、これが種特異性の維持機構として機能すると考えられる。そこで、同所的に生息するオオバギ3種の実生を苗床で栽培し、その実生に本来の共生相手ではないアリ種の新女王を人為的に定着させる“新女王入れ替え実験”を行った。その後、本来の共生相手ではない種の組み合わせの共生系がどうなるのかを、本来の共生相手との共生系と比較しながら調べた。

一方、オオバギ側に本来の共生相手以外のアリ種から栄養体を守る機構が備わっている可能性もある。もしそうならば、栄養体の生産量や栄養体のC/N比に関わらず、各種の共生アリは、自身の本来の共生相手であるオオバギ種の栄養体に最も選好性を示すであろう。そこで、本来の共生相手のアリ種が共生するオオバギ成木を野外で選び、そのワーカーに、各オオバギ種の栄養体を与えてその行動を観察する“ワーカーによる栄養体選好性実験”を行った。

4-2. 方法

4-2-1. 新女王入れ替え実験

本章では、3章と同じ(同所的に生息する近縁種 *M. winkleri*, *M. trachyphylla*, *M. beccariana* の3種)のオオバギを対象とした。実験に用いるオオバギ実生を苗床で栽培するために、1999年の4月と5月に、ランビル内の複数のギャップや川岸から、高さが10 cm未満の実生を、各種約100個体ずつ無作為に採集した。高さが10 cm未満の実生であっても、節間が膨らみ初めている実生は採集しなかった。調査地の土と砂を1:1に混ぜた土壌を、1-Lのポットに詰め、採集した実生1株ずつをポットに植えかえた。これらの株を、第3章と同じ苗床に配置した。その後、各オオバギ種が、新女王を受け入れる高さ(第3章参照)になるまで育てた。

実験に用いる新女王を採集するために、1999年8月と9月に、ランビル内の複数のギャップや川岸の実生(高さは約10 cmから50 cm)から新女王を採集した。実験には、節間内に1つも卵がない、産卵前の新女王を選択的に用いた。各アリ種は新女王の形態で区別した。明らかに本来の共生相手の植物アリの新女王でない場合実験から排除した。

新女王の入れ替えは、栽培した実生の、十分に肥大した節間の茎の表面に7 mmほどの穴をあけ、CO₂処理により眠らせた1匹の新女王をその穴から節間の茎内に挿入し、その穴をオオバギの組織で人工的におおうという方法で

行った。(オオバギ種-アリ種) 1つの種の組み合わせを20反復したため、実験で用いた株は合計で(20×3×3)180株となった。これらの株を、第3章と同じ苗床に配置した。

その後、植物の健康状態を把握するために、実生の高さ(地際から、茎の先端までの長さ)と、中空になった節間の数と、葉数を毎週測定した。また、すべての株において、最初のワーカーが出現したかどうかを2日に1回確認した。最初のワーカーが出現した場合、オオバギの餌を回収できるか観察した。その後1か月間、オオバギ上にワーカーが巡回しているかを、2日に1回確認した。

新女王の入れ替え実験開始から6ヶ月後、実験に用いた株上にワーカーが巡回しているかを確認した。この時点で、アリコロニーが崩壊していない株は野外に移植した。移植から4週間後に、各株の先端葉7枚の食害率を測定した。さらに、野外への移植から1年後、野外で生き残っている共生系はどの組み合わせかを調査した。

4-2-2. ワーカーによる栄養体選好性実験

2001年10月と2002年5月に、ランビル内の複数のギャップや川岸から、本来の共生相手のアリ種が共生している、(高さが、約1mから3mの)各種のオオバギ成木を無作為に(32から42個体)選んだ。各アリ種は、ワーカーの形態で区別した。明らかに本来の共生相手の植物アリのワーカーでない場合、実験から排除した。1度実験に用いたオオバギ個体は、再度利用しなかった。

各オオバギ種の栄養体は、実験に用いなかった別のオオバギ個体(高さは、約70cmから3m)から採集した。採集した栄養体を、同日中に、各種オオバギの茎の先端付近に5粒づつ筆で乗せ、ワーカーの行動を観察した。そして、5粒の栄養体のそれぞれが、最終的にどうなるかを記録し

た。

4-3. 結果

4-3-1. 新女王入れ替え実験

すべての組み合わせから、最初のワーカーが出現した(表2)。どの組み合わせでも、最初のワーカーが出現した割合は、本来の共生相手のアリ種との組み合わせで最も高かった。この割合は、*M. winkleri* - *C. sp.* 共生系で最も高く、*M. trachyphylla* - *C. borneensis* 共生系で最も低かった(表2, Fischer's exact test, *M. winkleri* で、 $\chi^2=10.83$, $P=0.0044$, *M. trachyphylla* で、 $\chi^2=1.76$, $P=0.4138$, *M. beccariana* で、 $\chi^2=5.84$, $P=0.054$)。また、どの組み合わせにおいても、ワーカーが、栄養体を巣に運ぶことが確認された。

最初のワーカーが出現した株のうち、その後コロニーが6ヶ月以上維持された株は、本来の共生相手のアリ種との組み合わせで有意に高かった。この割合は、*M. winkleri* - *C. sp.* 共生系で最も高く、*M. trachyphylla* - *C. borneensis* 共生系で最も低かった(表3, Fischer's exact test, *M. winkleri* で、 $\chi^2=21.68$, $P<0.0001$, *M. trachyphylla* で、 $\chi^2=11.53$, $P=0.0031$, *M. beccariana* で、 $\chi^2=8.63$, $P=0.0134$)。*C. sp.* は、本来の共生相手である*M. winkleri*以外のオオバギ種では、6ヶ月以上コロニーが維持できなかった。*M. beccariana*の本来の共生相手である*C. decamera*は、本来の共生相手ではない*M. trachyphylla*上で、6ヶ月以上コロニーが維持できた株の割合が42.6%であった。6ヶ月以上コロニーが維持できた37株のうち、本来の共生相手ではないアリ種との組み合わせは6株あった(表3)。

新女王入れ替え実験に用いた全株(各組み合わせ20株ずつ)のうち、コロニーが6ヶ月以上維持できた株の割合は、

表2. 新女王入れ替え実験後、最初のワーカーが出現した株の割合 (%)

Plant species	Ant species [plant species that ant queens associates with]		
	<i>C. sp.</i> [<i>M. winkleri</i>]	<i>C. borneensis</i> <i>M. trachyphylla</i>	<i>C. decamera</i> <i>M. beccariana</i>]
<i>M. winkleri</i>	80.0 (16/20)	40.0 (8/20)	30.0 (6/20)
<i>M. trachyphylla</i>	30.0 (6/20)	55.0 (11/20)	35.0 (7/20)
<i>M. beccariana</i>	65.0 (13/20)	35.0 (7/20)	65.0 (13/20)

() 内の数値は、ワーカー出現株数/実験株数を示す
[] 内は、各アリ種の本来の共生相手のオオバギ種を示す

表3. 新女王入れ替え実験後、最初のワーカーが出現した株のうち、さらに6ヶ月間コロニーが維持できた株の割合 (%)

Plant species	Ant species [plant species that ant queens associates with]		
	<i>C. sp.</i> [<i>M. winkleri</i>]	<i>C. borneensis</i> <i>M. trachyphylla</i>	<i>C. decamera</i> <i>M. beccariana</i>]
<i>M. winkleri</i>	75.0 (12/16)	12.5 (1/8)	16.7 (1/6)
<i>M. trachyphylla</i>	0.0 (0/6)	72.7 (8/11)	42.6 (3/7)
<i>M. beccariana</i>	0.0 (0/13)	14.3 (1/7)	84.6 (11/13)

() の数値は、6ヶ月間コロニー維持できた株数/ワーカー出現株数を示す
[] 内は、各アリ種の本来の共生相手のオオバギ種を示す

表4. 新女王入れ替え実験に用いた全株(各20株)のうち、6ヶ月間コロニーが維持できた株の割合(%)

Plant species	Ant species [plant species that ant queens associates with]		
	C. sp.	<i>C. borneensis</i>	<i>C. decamera</i>
	[<i>M. winkleri</i>]	<i>M. trachyphylla</i>	<i>M. beccariana</i>]
<i>M. winkleri</i>	60.0 (12/20)	5.0 (1/20)	5.0 (1/20)
<i>M. trachyphylla</i>	0.0 (0/20)	40.0 (8/20)	15.0 (3/20)
<i>M. beccariana</i>	0.0 (0/20)	5.0 (1/20)	55.0 (11/20)

()内の数値は、6ヶ月間コロニー維持できた株数/全実験株数を示す

[]内は、各アリ種の本来の共生相手のオオバギ種を示す

表5. 新女王入れ替え実験後、6ヶ月間コロニー維持できた株を野外移植し、4週間目に測定した、先端葉7枚の平均食害率(%)

Plant species	Ant species [plant species that ant queens associates with]		
	C. sp.	<i>C. borneensis</i>	<i>C. decamera</i>
	[<i>M. winkleri</i>]	<i>M. trachyphylla</i>	<i>M. beccariana</i>]
<i>M. winkleri</i>	2.55 ± 2.37 (12/20)	8.0 (1/20)	5.2 (1/20)
<i>M. trachyphylla</i>	-	1.71 ± 1.05 (8/20)	6.04 ± 3.20 (3/20)
<i>M. beccariana</i>	-	1.3 (1/20)	1.69 ± 1.08 (11/20)

()の数値は、6ヶ月間コロニー維持できた株数/全実験株数を示す

[]内は、各アリ種の本来の共生相手のオオバギ種を示す

表6. 新女王入れ替え実験株を野外に移植した1年後に、共生系を維持していた株の割合(%)

Plant species	Ant species [plant species that ant queens associates with]		
	C. sp.	<i>C. borneensis</i>	<i>C. decamera</i>
	[<i>M. winkleri</i>]	<i>M. trachyphylla</i>	<i>M. beccariana</i>]
<i>M. winkleri</i>	100.0 (12/12)	0.0 (0/1)	0.0 (0/1)
<i>M. trachyphylla</i>	-	100.0 (8/8)	0.0 (0/3)
<i>M. beccariana</i>	-	0.0 (0/1)	100.0 (11/11)

()の数値は、一年間共生系を維持できた株数/野外に移植した株数を示す

[]内は、各アリ種の本来の共生相手のオオバギ種を示す

本来の共生相手のアリ種との組み合わせが有意に高かった。この割合は、*M. winkleri* - *C. sp.* 共生系で最も高く、*M. trachyphylla* - *C. borneensis* 共生系で最も低かった(表4, Fischer's exact test, *M. winkleri* で、 $\chi^2=30.00$, $P<0.0001$, *M. trachyphylla* で、 $\chi^2=11.76$, $P=0.0028$, *M. beccariana* で、 $\chi^2=14.93$, $P=0.0006$)。

これらの株を野外に移植し、4週間後の食害率を測定した結果、本来の共生相手のアリ種との組み合わせの方が食害率が低かった。ただし、本来の共生相手ではない *M. beccariana* - *C. borneensis* 共生系は、食害率が1.3%と低かった(表5)。

移植1年後、食害もほとんどなく共生系が維持できていたのは、本来の共生相手のアリ種との組み合わせのみであった(表6)。

4-3-2. ワーカーによる栄養体選好性実験

どのアリ種のワーカーも、本来の共生相手でないオオバギ種より、本来の共生相手のオオバギ種の栄養体を巣に持

ち運ぶ頻度が有意に高かった(表7, Fischer's exact test, *M. winkleri* で、 $\chi^2=152.00$, $P<0.0001$, *M. trachyphylla* で、 $\chi^2=100.51$, $P<0.0001$, *M. beccariana* で、 $\chi^2=100.51$, $P<0.0001$)。 *M. winkleri* の本来の共生相手の *C. sp.* 2 は、*M. winkleri*, *M. trachyphylla*, *M. beccariana* の順に好んだ。 *M. trachyphylla* と *M. beccariana* の本来の共生相手の *C. decamera* と *C. borneensis* は、本来の共生相手の栄養体の次に *M. winkleri* の栄養体を好んだ(表7)。本来の共生相手以外の栄養体を、1粒以上巣内に持ち込んだアリコロニーの割合は、*M. beccariana* の本来の共生相手の *C. decamera* で最も多かった(表8)。

4-4. 考察

本章の結果は、本来の共生相手との組み合わせではないオオバギ-アリ系は、成木に至るまでに淘汰されるという可能性を支持した。同所的に生息するオオバギ3種とその共生アリ3種には、種特異性を維持するための様々な機構が、段階的にはたらいっていることが示唆された。新女王の入れ

表7. 本来の共生相手のアリ種(ワーカー)に、各種オオバギの栄養体を与えた場合の選好順位とその比率(%)

Ant species	Ranking	Food bodies of plant species		
		<i>M. winkleri</i>	<i>M. trachyphylla</i>	<i>M. beccariana</i>
<i>C. sp.</i>	1	100.0 (27/27)	0.0 (0/27)	0.0 (0/27)
	2	0.0 (0/27)	100.0 (27/27)	0.0 (0/27)
	3	0.0 (0/27)	0.0 (0/27)	100.0 (27/27)
<i>C. borneensis</i>	1	0.0 (0/35)	100.0 (35/35)	0.0 (0/35)
	2	60.0 (21/35)	0.0 (0/35)	40.0 (14/35)
	3	40.0 (14/40)	0.0 (0/35)	60.0 (21/35)
<i>C. decamera</i>	1	0.0 (0/35)	0.0 (0/35)	100.0 (35/35)
	2	57.1 (20/35)	42.9 (15/35)	0.0 (0/35)
	3	42.9 (15/35)	57.1 (20/35)	0.0 (0/35)

Ranking: 1つのアリコロニーに3種のオオバギの栄養体を与えた時、最も多くアリの巣内に運ばれた栄養体を Ranking 1 に、最も運ばれなかった栄養体を Ranking 3 とした
() 内の数値は、1~3位のうちのある順位となった回数/実験反復回数を示す

表8. 本来の共生相手のアリ種に、各種オオバギの栄養体を与えた場合、ワーカーが1粒以上巣内に運んだ株の割合(%)

Ant species	Food bodies of plant species		
	<i>M. winkleri</i>	<i>M. trachyphylla</i>	<i>M. beccariana</i>
<i>C. sp.</i>	100.0 (32/32)	62.5 (20/32)	9.4 (3/32)
<i>C. borneensis</i>	30.0 (12/40)	100.0 (40/40)	17.5 (7/40)
<i>C. decamera</i>	52.4 (22/42)	45.2 (19/42)	100.0 (42/42)

() の数値は、1粒以上巣内に運んだ回数/実験反復回数を示す

替え実験の結果、すべての組み合わせから最初のワーカーが出現した。しかしその割合は、本来の共生相手ではないアリ種に比べ、本来の共生相手のアリ種との組み合わせで高かった。このことから、本来の共生相手ではない実生に定着した場合、茎内の閉鎖環境でおこなう最初のワーカーの生産に失敗しやすいことが、高い種特異性の維持に貢献していると考えられる。節間の茎内における(湿度やその広さといった)環境の変異性が、最初のワーカーの産出率に影響しているのかもしれない。

M. winkleri, *M. trachyphylla*, *M. beccariana* の3種は、栄養体の生産部位が異なる。*M. winkleri* では托葉の下部から、*M. trachyphylla* では托葉の内部から、*M. beccariana* では先端葉の裏から栄養体を生産している。しかし、新女王の入れ替え実験の結果、各アリ種のワーカーは、本来の共生相手ではないオオバギ種の栄養体も巣に運ぶことができた。これにより、栄養体の生産部位・形状の変異性は、種特異性を維持する機構の一つとして機能しないことが示唆された。

新女王の入れ替え実験において、苗床でコロニーが6ヶ月以上維持できた割合は、本来の共生相手のアリ種との組み合わせで最も高かった。この結果は、アリ防衛への投資量が少ないオオバギ種に、資源要求性がより高いアリ種が共生した場合、コロニー維持ができなくなりその共生系は崩壊してしまうという予想を支持する結果であった。しかし、アリ防衛への投資量が多いオオバギ種に資源要求性がより低いアリ種が共生した場合、コロニー維持が可能とい

う予想は支持されなかった。栄養体の生産量がアリの資源要求性より高い組み合わせであるにも関わらず、共生系が維持できなかったことから、これらの共生系では、栄養体の生産量の量ではなく、栄養体を利用できるかどうか、種特異性の維持にとって重要だと考えられる。

ワーカーによる栄養体選好性実験から、どのアリ種のワーカーにおいても、本来の共生相手でないオオバギ種より、本来の共生相手のオオバギ種の栄養体を巣に持ち運ぶ頻度が有意に高かった。これは、各アリ種は、栄養体の生産量や、栄養体のC/N比に関わらず、本来の共生相手であるオオバギ種の栄養体を最も好むことを示している。さらに、新女王の入れ替え実験において、苗床でコロニーが6ヶ月以上維持できた割合は本来の共生相手のアリ種との組み合わせで最も高かったことから、各アリ種は本来の共生相手の栄養体でなければ(効率良く)利用できないと考えられた。そのため、栄養体の種間変異が、種特異性を維持する機構の一つであることが強く示唆された。

しかし、新女王の入れ替え実験では、本来の共生相手の栄養体でなくても共生系を6ヶ月間維持できたコロニーが6コロニーあった。これらの株と、本来の共生相手のアリ種との組み合わせの株を野外に移植し、4週間後の食害率を測定した結果、本来の共生相手のアリ種との組み合わせの方が低かった。さらに移植1年後、食害がほとんどない状態で共生系が維持できていた株は、本来の共生相手のアリ種との組み合わせのみであった。これらの結果から、本来の共生相手ではない組み合わせの共生系は、自然条件下

の被食圧に耐えることができずに系が崩壊してしまうことが示唆された。また、アリ防衛への投資が最も低いと考えられるオオバギ種と共生関係にあるアリ種 (*C. decamera*) は、他種のオオバギの栄養体を運ぶ傾向が最も高かった。アリ防衛の強度は、鋏 (アリ) と錠 (栄養体) の関係の正確さに影響を与えていることが示唆された。

同所的に生息するオオバギ種であっても、アリ防衛への投資 (アリ防衛への依存度) が最も高いオオバギ種 (*M. winkleri*) で、種特異性を維持する機構のすべてにおいてその強度 (本来の共生相手のアリ種以外を排除する、ふるいの正確さ) が高かった。アリ防衛への依存度が高いオオバギ種ほど栄養体に払うコストも高いため、それにあった防衛を提供できるアリ種以外をより確実に排除するために、ふるいがより正確となったのかもしれない。

花と送粉者の共生系では、盗蜜などを行う搾取種を排除するために、花の形態を送粉者のみに特殊化させる物理的障壁が進化したと考えられている (Begon *et al.* 1996)。オオバギ-アリ共生系においても、どのアリ植物種も栄養体に高い投資を行っているため、植物を防衛しないで栄養体のみを搾取するアリ種を排除するために、なんらかの障壁があるのかもしれない。さらには、アリ防衛が十分に機能しない植物アリ種をも排除するために、栄養体の成分をアリ防衛が機能するアリ種だけに特殊化させる化学的障壁を進化させているのかもしれない。これが本当であるなら、これまで様々なアリ植物においてアリが一方的に植物種を選択すると考えられてきたが、植物側もアリ種を選択していると言えるであろう。今後はこの興味深い現象を検証するために、栄養体成分、形態、大きさなど分析を行い、栄養体の何が種特異性を維持する機構となるのかを明らかにしていく必要があるだろう。

第5章 原生林と二次林におけるアリ植物性の変異

5-1. 緒言

第3章、第4章においては、ギャップや川岸といった限られた生息地に同所的に生息するオオバギ3種を材料として研究を行った。しかし、オオバギ属のアリ植物の中には、原生林から二次林まで広く分布する種がある。広範囲に分布するオオバギ属のアリ植物においても、共生するアリ種の調査は原生林のみで行われてきた (Fiala *et al.* 1999)。オオバギ-アリ共生系における種特異性は、環境が異なる二次林でも維持されているのだろうか。

近年、光が植物の特性に与える効果について、かなりの研究が行われてきた。光条件は、植物の光合成産物に大きく影響する (Begon *et al.* 1996; Chazdon 1986; Coley *et al.* 1985; Herms and Mattson 1992; Larsson *et al.* 1986; Nichols-Orians 1991a, b; Nicotra *et al.* 1999; Seemann *et al.* 1987)。光合成により生産された資源をもとに、植物は成長・繁殖・植食者に対する被食防衛などを行っているため、植物の様々な生活史戦略は光条件の影響を受ける。

光条件によって制限された、限りある資源のもとでは、資源をどのように分配すべきか (“防衛、それとも成長?”) というジレンマを植物は抱えている (Coley *et al.* 1985; Herms and Mattson 1992; McKey 1974, 1984; Siemens *et al.* 2002; Simms 1992; Zangerl and Bazzaz 1992)。光合成などで得られた限られた、しかし必要なだけの資源を、植物は生活史の様々な事象に適切なバランスで配分している。したがって、被食防衛の強度やその様式は、光条件の影響を受けると考えられる。

植物の様々な生活史特性や、植食者に対する被食防衛でもみられたように、アリ防衛も、光合成産物を含めた資源の限界に制約されていると考えられる (Coley *et al.* 1985; Herms and Mattson 1992; Koricheva *et al.* 1998; Larsson *et al.* 1986; Nichols-Orians 1991a, b)。

これまでは、新熱帯に分布するセクロピア (*Cecropia*) のアリ植物を用いて、生息地の光条件と共生アリの割合をアリ植物種間で比較したり、実験的に光の強度を増加させることでアリ防衛にあたる効果を測定するなどの研究が行われてきた (Davidson and Fisher 1991; Longino 1989; Yu and Davidson 1997)。しかし、これらの研究は、野外での光条件に関連したアリ植物性 (アリとの関係やアリ防衛の強度といった特性) の種内 (個体群内) の変異については扱っていない。もし、様々な光条件の生息地に1種のアリ植物種が分布しているとすれば、アリ植物性は、光条件に関連した空間的な変異がみられる可能性が高い。

アリ植物は、共生アリによるアリ防衛に依存しているとはいえ、アリ植物以外の植物と同じように化学的・物理的防衛 (非アリ防衛) も行っている (Eck *et al.* 2001; Folgarait and Davidson 1994; Nomura *et al.* 2000)。アリ防衛と、非アリ防衛は強く関連していると考えられる。なぜなら、限られた資源のもとでは、両方の防衛に高い投資はできないからである (Agrawal and Rutter 1998; Davison and Fisher 1991; Janzen 1966; McKey 1984)。アリ植物の種間比較を扱ったいくつかの研究は、いくつかのアリ植物間で、アリ防衛と、非アリ防衛は強く関連している、もしくはトレードオフの関係があると指摘している (Eck *et al.* 2001; Nomura *et al.* 2000; Rehr 1973)。さらに、これらの研究は、もし1種のアリ植物の個体群が多様な光条件に生息しているなら、光条件が、アリ防衛・非アリ防衛の種内変異に影響を与えるだろうと予想している。こういったことから、もし野外に光条件の変異に関連したアリ防衛の強度の種内変異があるならば、非アリ防衛も光条件の変異に関連していると予想される。

そこで本研究では、原生林から二次林まで広く分布し、特殊なアリ種のみと絶対的な共生関係をもつアリ植物、*Macaranga bancana* を対象に (Itino and Itioka 2001; Itino *et al.* 2001; Davies *et al.* 1998)、アリ植物性について、光条件に関連した空間的な変異がみられるのか調査を行った。両森林において、1) 本来の共生相手のアリ種の割合、2) アリによる攻撃性、3) 食害度、4) 非アリ防

衛の強度について比較した。原生林と二次林における非アリ防衛の強度を比較するために、広食性昆虫のハスモンヨトウに、両森林に生息する *M. bancana* の成熟葉を食べさせる生物検定を行った。

5-2. 方法

5-2-1. 野外観察と採集

原生林と二次林に、それぞれ7本の帯状プロットを作成した(図8)。各帯状プロットの大きさは、縦300 m、横20 mとした。原生林の帯状プロットは川岸に、二次林の帯状プロットは川岸(3本)と林縁(4本)に作成した。1999年6月に、各帯状プロットにて観察と採集を行った。原生林と二次林の帯状プロットから、それぞれ合計39本、77本の幼木を任意に採集した。どの帯状プロットにおいても、同じギャップのみから集中的に採集することなく、散在しているギャップ、川岸、林縁など複数の地点から採集した。高さが70 cmから300 cmまでの幼木を選択的に採集した。典型的な原生林と、典型的な二次林からサンプルを採集するために、原生林においては極端に明るい場所に生息する幼木、二次林においては極端に暗い場所に生息する幼木は採集しなかった。幼木を採集する前に、幼木を揺らして攻撃性を評価し、ワーカーの行動を観察した。その後、採集場所で、幼木全体(アリコロニーと、根、茎、葉、など)をプラスチック袋に入れ実験室に運んだ。実験室では、食害率を評価するために、各幼木の上部7枚の成熟葉を対象に、1枚ごとに食害率を測定した。これらの値から、各幼木の平均食害率を計算した。その後、アリ種を同定するために、茎を割ってその節間内からアリを採集した。アリ種の同定は形態学に基づいて行った。ワーカーが *C. bor-neensis* の形態的特徴をもっていた場合、ワーカーが著しい防衛行動や攻撃行動をとり、かつ幼木内に女王がいたアリコロニーに限り、*M. bancana* の“本来の共生相手の植物アリ種”であるとみなした。すべての“本来の共生相手の植物アリ種”は、これまでの研究で報告されている、*M.*

bancana の共生アリの2タイプ (Fiala *et al.* 1999) のどちらかに属すると思われる。幼木から、シリアゲアリ属でないアリ種が見つかった場合は、茎表面にあるワーカーの出入り口から、*M. bancana* の葉の破片を近付けてワーカーの攻撃性を測定した。

5-2-2. 非アリ防衛の強度の評価

広食性の植食者に対する非アリ防衛の強度を測定するために、各種オオバギの葉をハスモンヨトウ *Spodoptera litura* (Fabricius) (Lepidoptera: Noctuidae) に与える生物検定を、Nomura *et al.* (2000) と同様の方法で行った。原生林と二次林に生息する *M. bancana* の幼木から採集した、食害のない成熟した新鮮な葉(以下、これを成熟葉と呼ぶ)をハスモンヨトウの幼虫に与え、その生存率と成長阻害効果を測定した。ハスモンヨトウは著しい広食性をもつ植食者である (Okamoto and Okada 1968) ことから、この阻害効果は、広食性の植食者に対する非アリ防衛の強度の指標となると考えられる。

1999年6月に、高さが70 cmから100 cmまでの幼木を任意に選択し、その先端の成熟葉をハスモンヨトウの餌として採集した。葉あたりの食害率が3%以下で、本来の共生相手の植物アリ種が共生している無傷の成熟葉のみを選択した。

生物検定には、240匹の幼虫を用いた。幼虫は、卵からかえってから12時間以内に、24箱のプラスチックケース(22.0 cm×14.0 cm×3.7 cm)に1箱10頭ずつ割り当てられた。12箱には、原生林の成熟葉を、残りの12箱には二次林の成熟葉を用いた。すべての幼虫は、28度に調節された実験室内で飼育された。2日おきに、成熟葉を取りかえ、幼虫の生存を確認した。

5-3. 結果

5-3-1. *M. bancana* の幼木を占有していたアリ種

原生林では、すべての幼木に本来の共生相手の植物アリ種(2タイプ)のみが共生していた(図9)。幼木を揺らすとすぐに、これらのアリ種のワーカーが植物表面上に多数出現した。さらに、幼木の茎を切断すると、複数のワーカーが切断口に集まり、調査者の手を噛むなど激しく攻撃した。

二次林では、53.2%の幼木に本来の共生相手の植物アリ種が共生していた(図9)。残りの幼木の2/3は、ワーカーの形態的特徴が本来の共生相手の植物アリ種と似ているものの、本来の共生相手ではないシリアゲアリ属が占有していた。このようなアリ種のコロニーでは、幼木の茎内に女王がみられず、幼木を揺らした後もワーカーが植物上に集まってこなかった。このようなアリ種が共生していた幼木の茎を切断しても、ワーカーは稀に単独で攻撃するか、逃げるかであった。また、残った1/3の幼木は、シリアゲアリ属以外のアリ種のコロニー(7属7種)が共生していた(表9)。このようなアリ種は、幼木を揺らしても全く反応がなく、茎を切断しても逃げるのみであった。

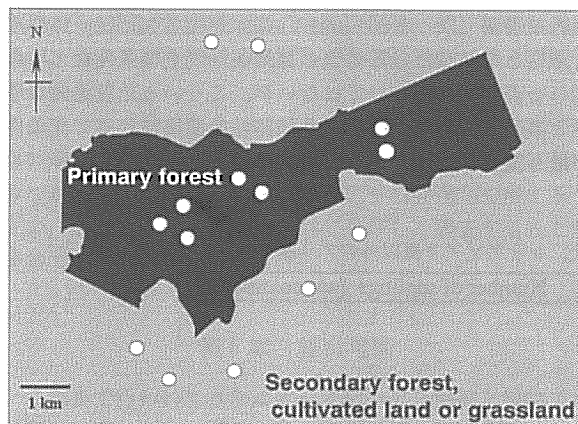


図8. 原生林と二次林に制作した、合計14本の帯状プロット
の場所。白丸(○)が、その場所を指す。

5-3-2. 食害

原生林と二次林のどちらの森林においても、本来の共生相手の植物アリ種が共生していた幼木では、葉の食害はほとんど無かった。本来の共生相手ではないアリ種が共生していた二次林の幼木では、葉の食害率は10%から60%であった（平均=17.6, SD=14.6）。

5-3-3. 非アリ防衛の強度

原生林の幼木の成熟葉を与えたハスモンヨトウと、二次林の幼木の成熟葉を与えたハスモンヨトウとでは、それぞれの生存率の間に有意な差がみられた（Logrank-test, $X=45.548, p<0.0001$; 図10）。両成熟葉ともに、ハスモンヨトウによる摂食行動を確認した。生物検定に用いたすべての幼虫は成虫に至らなかった。

5-4. 考察

光の強度が高まると、タンニン、フェノール類といった炭素を基とした化学防衛の強度とアリへの栄養体の生産が増加することを、Folgarait and Davidson (1994) はいくつかのセクロピア属のアリ植物で示した。しかし、この研

究では、植物の生理学的な変化のみで、光条件に関連した共生関係の変化について扱われていない。またこの研究では、アリ植物における、光条件の変化に関連した被食防衛の反応の最適性については指摘しているが、アリとの関係と野外の光条件の多様性の間にみられる関連性については調査していない。さらに、これまでの研究は、近縁種のオオバギ間にみられる種間変異のみに注目し、種内変異については重要視してこなかった（Longino 1989）。アリとの共生関係の種内変異に言及している研究例は、原生林と二次林に生息する *M. lamellata* に異なった共生アリ種が共生している（Maschwitz *et al.* 1996）という記述的な論文があるのみである。本章の結果は、野外の微小環境間の光条件に関連したアリ植物性の特性の種内変異を報告した2番目の報告である。

M. bancana は、本来の共生相手である特殊なアリ種のみと共生する、絶対共生型のアリ植物であると考えられてきた（Fiala *et al.* 1994, 1999; Itino *et al.* 2001）。しかし、*M. bancana* と本来の共生相手の植物アリ種（2種）における絶対的な種間関係が変化しようということを、本章の結果は証明した。原生林の幼木のすべてが本来の共生相手の植物アリ種と共生していたとはいえ、採集された幼木の約半分は、本来の共生相手ではない植物アリ種と共生していた。これと同時に、非アリ防衛の強度は、原生林よりも二次林の幼木が高かった。

ではなぜ、*M. bancana* の絶対共生の強度、もしくはアリ防衛と非アリ防衛のバランスは、原生林と二次林で異なったのだろうか。おそらく、両森林間で最も異なると思われる、光条件が影響しているだろう。これまでにも、光条件は、被食防衛を含めた生活史戦略を制限することになる、植物の資源配分に影響を与えているであろうことを多くの研究が指摘している（Davidson and Fisher 1991; Herms and Mattson 1992; Koricheva *et al.* 1998; Larsson *et al.* 1986; Nichols-Orians 1991a, b）。光の強度がより高い二次林で、非アリ防衛の強度が高かったという本章の結果は、McKey (1984) や Davidson and Fisher (1991) の理論的な予測（Davidson and Fisher 1991; McKey 1984）と矛盾しなかった。その他の環境条件（土壌条件など）の関与を否定できたわけではないが、こういった理論的な予測と本研究の結果から、アリ植物性の変異にとって光条件が最も重要な要因であると考えられる。

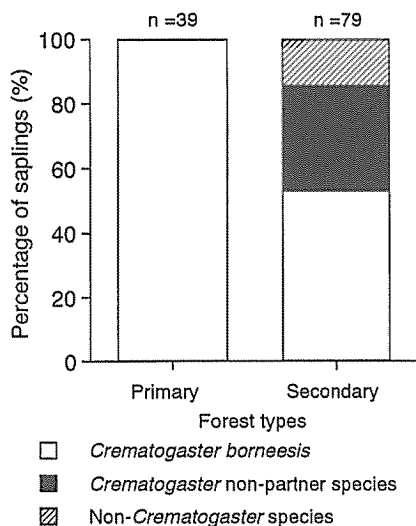


図9. 原生林と二次林に生息する、*M. bancana*の幼木を占有していたアリ種割合

表9. *M. bancana* の幼木を占有していた、シリアゲアリ属以外のアリ種

Ant species	Number of saplings (ant colonies)
<i>Cardiocondyla wroughtonii</i> (Forel, 1890)	1
<i>Cerapachys</i> sp.	1
<i>Monomorium</i> sp. aff. <i>frolicola</i> (Jerdon, 1851)	2
<i>Pheidole aristotelis</i> Forel, 1911	1
<i>Philidris</i> sp.	1
<i>Tetramorium insolens</i> (F. Smith, 1861)	4
<i>Tetraoponera allaborans</i> (Walker, 1859)	1

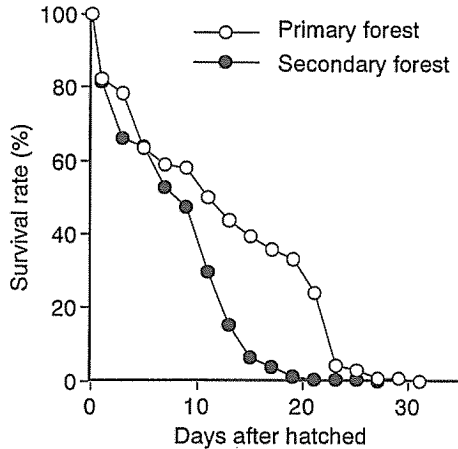


図10. 原生林と二次林に生息する *M. bancana* の幼木の葉を食べたハスモンヨトウの幼虫の生存曲線

二次林の幼木でみられた高い食害率は、本来の共生相手の植物アリ種との共生が崩れることで、二次林の幼木の死亡率が高まることを示している。二次林の成木のほとんどでは、本来の共生相手の植物アリ種が共生している（未発表データ）ことから、本来の共生相手の植物アリ種以外のアリ種が共生している幼木は、成木に至る前に淘汰されると思われる。ではどうして、二次林では多様なアリ種が共生していたのだろうか。本来の共生相手の植物アリ種が、二次林の幼木への定着を避けているのかもしれないし、二次林ではアリ種間競争が激しいのかもしれない。これは今後の課題である。

非アリ防衛の強度が両森林間で異なった理由として考えられる仮説は2つある。1つは、光条件のよい二次林の幼木では、より多くの炭素を非アリ防衛に投資できるため、アリ防衛への投資を下げ非アリ防衛への投資を上げているという仮説である。もう1つは、二次林の幼木は、すでに別の系統であるという仮説である。これらの仮説は検証できなかったが、微小環境での光の変異や、アリ植物性の変異が、共生系の多様性を創出したり破壊したりする可能性が示唆された。

いくつかの幼木から、本来の共生相手の植物アリ種ではないが、ワーカーの形態が酷似しているシリアゲアリ種が見つかった。今後は、オオバギとアリの共進化を考えるうえで、このようなアリ種についても詳しく調査することが重要であろう。

第6章 総合考察

これまで行われてきたオオバギ属のアリ植物と植物アリの種間関係に関する研究では、両者の種の組み合わせのパターンを明らかにすることが中心であった (Fiala *et al.* 1999; Itino *et al.* 2001)。そのため、両者の共生関係を維

持、促進（あるいは阻害、崩壊）させる要因と、その過程を明らかにする研究はほとんど行われてこなかった。本研究では、オオバギ属のアリ植物とその共生アリとの種特異的な関係に注目し、複数のオオバギ-アリ共生系において種特異性がどのように維持されるのかを、植物とアリの2者間の関係にとどまらず、植食者による食害や、植物の生息場所の変異性や、植物の被食防衛戦略の種間変異に着目して解析した。

本研究の結果、様々な機構が、同所的に生息するオオバギ3種とそれぞれの共生アリの間の高い種特異性を維持していることが示唆された。まず、オオバギ種ごとに異なる実生表面の化学物質を各アリ種の新女王が認識することにより、本来の共生相手の実生を定着場所（植物）として選択することが、高い特異性の維持に寄与していることが示された。次に、各アリ種の新女王が本来の共生相手ではないオオバギ種の実生に定着した場合には、本来の共生相手の実生に定着した場合に比べて、茎内の閉鎖空間でおこなうワーカーの生産に失敗しやすいことが高い種特異性の維持に貢献していることが示された。さらに、たとえ新女王がワーカー生産に成功しても、共生相手ではないオオバギ種の実生上では、その後のコロニー成長が著しく低くなってしまうことが示唆された。また、それぞれのアリ種は、本来の共生相手が生産する栄養体に強い選好性を示す一方共生相手ではないオオバギ種が生産する栄養体を餌として使用しない傾向が明らかとなった。こういった過程も、高い種特異性の維持に大きく寄与していると考えられる。さらに、低い確率ではあるが上手く栄養体を利用するなどして、ある程度コロニー成長を実現させた場合でも、本来の共生相手ではない組み合わせの共生系では、自然条件下の被食圧に耐えることができずに系の存続がはかれないことが示唆された。このように、本来の組み合わせではない共生系にはたらく複数の選択過程によって、オオバギ-アリ共生系における高い種特異性が維持されていることが本研究で示された。

この結果において注目すべきことは、種特異的な関係を維持するための機構のどれもが、100%有効に働いているわけではないという点であろう。種特異性の維持機構が完全に働かないことが、新たな共生系を生み出す（あるいはアリ共生をやめる）といった方向にも進化しうることを示している。例えば、新女王入れ替え実験で作成した、成木ではみられない共生系であっても、被食圧を与えなければコロニーの維持が可能な共生系が複数あった。これは、植食者相という生物的環境が変われば、新たな共生系が生まれる可能性を示唆している。また、*M. bancana* においては、光などの非生物的環境が異なれば、同種内でも共生アリ層が異なっていた。これは、非生物的環境が異なれば、新たな共生系が生まれる（あるいはアリ共生をやめる）方向にも進化しうる可能性を示唆している。

本研究の結果において、もうひとつ注目すべきことは、種特異的な関係を維持する機構の強度が、共生系間で異

なっていたという点であろう。アリ防衛への依存度が最も高い *M. winkleri* - *C. sp.* 共生系では、種特異的な関係を維持する機構のほとんどすべてにおいて、その強度（ふるいの正確さ）が最も高かった。*M. winkleri* - *C. sp.* 共生系は、アリへの投資量が最も高いため、本来の共生相手以外のアリ種を排除するふるいが、より正確にはたらくように進化したのかもしれない。

中南米に生息するセクロピアのアリ植物の研究によれば、共生アリの新女王の多くは、セクロピアの種にはなく、セクロピアの生息場所に対して選好性を示すことが分かっている (Yu and Davidson 1997)。これは、共生アリの新女王がオオバギの種に対して特殊化しているという、本研究の結果とは異なる。また、セクロピアのアリ植物では、光、土壌といった非生物的環境の異質性が、アリ防衛と非アリ防衛への配分比の種内変異および種間変異を決定しているという (Folgarit and Davidson 1994, 1995)。この結果は、光などの非生物的環境の異質性が非アリ防衛の強度や共生アリ種に影響を与えてる可能性を示唆した、*M. bancana* の研究結果と基本的に矛盾がない。ところが、同所的に生息する3種のオオバギでは、非生物的環境の異質性ではなく、実生表面の化学物質や栄養体といった植物が持つ特性が、共生するアリ種を決定していた。セクロピアとオオバギ間で、また、オオバギ近縁種間で、なぜこのような違いが生まれたのかは今後の課題である。

多様に進化したオオバギ-アリ共生系は、多様な共生アリ種の存在や、オオバギ種毎に特殊化した多様な植食者の存在を維持・促進するという意味で、東南アジア熱帯域における生物多様性に貢献している。今後は、アリとルーズな関係をもつオオバギ種も含めて栄養体の分析を行い、両種間の特殊化を促したり、阻害したりする成分の特定を行い、それらが、新たなオオバギ-アリ共生系の促進や生物多様性の創出に与える影響について明らかにしていきたい。

謝 辞

本研究の遂行にあって、調査地でのきめ細かな御指導から論文作成に至るまで、始終貴重な御教示と励ましをいただいた名古屋大学大学院生命農学研究科の市岡孝朗博士に厚くお礼申し上げます。鹿児島大学理学部の山根正気教授には、アリ類の分類方法をご教授いただくと同時に、共生アリの分類、同定をして頂きました。心からお礼申し上げます。また、信州大学理学部の市野隆雄助教授にはオオバギの共生アリのDNAを使った分子系統樹を作成して頂き、Harvard UniversityのStuart J. Davies博士にはオオバギの同定をして頂きました。深く感謝致します。また、マレーシアでの研究機会を与えてくださったForest Department of SarawakのHua Seng Lee博士、Abang A. Hamid 研究員、Lucy chang氏、京都大学生態学研究センターの故井上民二教授、中静透教授、大串隆之教授に心から感謝致します。また、本研究をまとめていくにあたっては、名古屋大学大学院生命農学研究科の宮田正教授、田中利治助教授からは貴重な御助言をいただき、柴田徹式教授、肘井直樹助教授、梶村恒博士には、有益な御助言をいただくとともに終始あたたかな励ましを頂きました。ここに、改めてお礼申し上げます。調査地においては、京都大学生態学センターに在籍され

た、畑田彩氏、乾陽子氏、野村昌弘博士、市榮智明博士、田中健太博士、中川弥智子氏、竹内弥生氏と日頃から有益な議論を交わすことができ、本研究を進める上で大変役立ちました。また、名古屋大学大学院生命農学研究科環境昆虫学教室の関係者の皆様には、日頃から様々な助力を頂きました。特に、伊藤嘉昭名誉教授、斎藤哲夫名誉教授、琉球大学農学部の上和希助教授、森林総合研究所の浜口京子博士、東北農業研究センターの桜井民人博士、九州大学農学部の田頭栄子博士、山田圭子氏、米山千温氏、田中洋氏には大変お世話になりました。また、Het Kailiang 研究員をはじめとするマレーシア国のForest Department of Sarawakの皆様には、調査地を提供していただくと同時に、数多くのご支援をいただきました。また、三谷三恵子事務官には事務や備品等の面で多くの便宜を図って頂きました。また、東京大学教養学部の松本忠夫教授、三浦徹博士をはじめとする社会性昆虫勉強会の皆様には、学部時代からおしめない励ましを頂きました。名古屋大学大学院生命農学研究科の大学院生諸氏および卒業された先輩方とは、学問分野を越えた様々な議論を交わすことができました。ランビルヒルズ国立公園のスタッフおよびリサーチアシスタントの皆様には、調査地での日々の生活を支えていただきました。以上の方々に、ここに厚くお礼申し上げます。最後に、本論文を完成させるまでの間、長きにわたり支援してくれた家族に深く感謝致します。

引用文献

- Agrawal A.A. and Rutter M.T. (1998) Dynamic anti-herbivore defense in ant-plants: the role of induced responses. *Oikos* 83: 227-236.
- Beattie A.J. (1985) *The Evolutionary Ecology of Ant-plant Mutualisms*. Cambridge University Press, Cambridge.
- Begon M., Harper J.L. and Townsend C.R. (1996) *Ecology* (3rd ed.). Blackwell Science, Oxford.
- Buckley R.C. (ed.) (1982) *Ant-plant Interactions in Australia*. Dr. W. Junk, The Hague.
- Chazdon R.L. (1986) Light variation and carbon gain in rain forest understorey palms. *J. Ecology* 74: 995-1012.
- Coley P.D., Bryant J.P. and Chapin F.S. (1985) Resource availability and plant antiherbivore defense. *Science* 230: 895-899.
- Davidson D.W. and Fisher B.L. (1991) Symbiosis of ants with *Cecropia* as a function of light regime. In *Ant-plant Interactions* (Huxley C.R. and Cutler D.F. eds.), pp. 289-309. Oxford University Press, Oxford.
- Davidson D.W. and McKey D. (1993) The evolutionary ecology of symbiotic ant-plant relationship. *J. Hymenoptera Res.* 2: 13-83.
- Davies S.J., Palmiotto P.A., Ashton P.S., Lee H.S. and LaFrankie J.V. (1998) Comparative ecology of 11 sympatric species of *Macaranga* in Borneo: Tree distribution in relation to horizontal and vertical resource heterogeneity. *J. Ecology* 86: 662-673.
- Eck G., Fiala B., Linsenmair K.E., Hashim R.B. and Proksch P. (2001) Trade-off between chemical and biotic antiherbivore defense in the South East Asian plant genus *Macaranga*. *J. Chem. Ecol.* 27: 1979-1996.
- Fiala B., Grunsky H., Maschwitz U. and Linsenmair K.E. (1994) Diversity of ant-plant interactions: protective efficacy in *Macaranga* species with different degrees of ant association. *Oecologia* 97: 186-192.
- Fiala B., Jakob A., Maschwitz U. and Linsenmair K.E. (1999) Diversity, evolutionary specialization and geographic distribution of a mutualistic ant-plant complex: *Macaranga* and *Crematogaster* in South East Asia. *Botanical J.*

- the Linnean Society* 66 : 305-331.
- Fiala B. and Linsenmair K.E. (1995) Distribution and abundance of plants with extrafloral nectaries in the woody flora of a lowland primary forest in Malaysia. *Biodiversity and Conservation* 4 : 165-182.
- Fiala B. and Maschwitz U. (1990) Studies on the South East Asian ant-plant association *Crematogaster borneensis*/ *Macaranga*: Adaptation of the ant partner. *Insectes Sociaux* 37 : 212-231.
- Fiala B. and Maschwitz U. (1991) Extrafloral nectaries in the genus *Macaranga* (Euphorbiaceae) in Malaysia: comparative studies of their possible significance as predispositions for myrmecophytism. *Biol. J. the Linnean Society* 44 : 287-306.
- Fiala B. and Maschwitz U. (1992a) Domatia as most important adaptations in the evolution of myrmecophytes in the paleotropical tree genus *Macaranga* (Euphorbiaceae). *Plant System Evolution* 180 : 53-64.
- Fiala B. and Maschwitz U. (1992b) Food bodies and their significance for obligate ant-association in the tree genus *Macaranga* (Euphorbiaceae). *Botanical J. the Linnean Society* 110 : 61-75.
- Fiala B., Maschwitz U., Pong T.Y. and Helbig A.J. (1989) Studies of a South East Asian ant-plant association: protection of *Macaranga* trees by *Crematogaster borneensis*. *Oecologia* 79 : 463-470.
- Folgarait P.J. and Davidson D.W. (1994) Antiherbivore defenses of myrmecophytic *Cecropia* under different light regimes. *Oikos* 71 : 305-320.
- Folgarait P.J. and Davidson D.W. (1995) Myrmecophytic *Cecropia*: antiherbivore defense under different treatments. *Oecologia* 104 : 189-206.
- Hatada A., Itioka T., Yamaoka R. and Itino T. (2002) Carbon and nitrogen contents of food bodies in three myrmecophytic species of *Macaranga*: Implications for antiherbivore defense mechanisms. *J. Plant Res.* 115 : 119-184.
- Hermes D.A. and Mattson W.J. (1992) The dilemma of plants: to grow or defend. *The Quarterly Review of Biology* 67 : 283-335.
- Huxley C.R. and Cutler D.F. (eds.) (1991) Ant-plant Interactions. Oxford University Press, Oxford.
- Itino T., Davies S.J., Tada H., Hied Y., Inoguchi M., Itioka T., Yamane Sk. and Inoue T. (2001) Cospeciation of ants and plants. *Ecol. Res.* 16 : 787-793.
- Itino T. and Itioka T. (2001) Interspecific variation and ontogenetic change in antiherbivore defense in myrmecophytic *Macaranga* species. *Ecol. Res.* 16 : 765-774.
- Itioka T., Nomura M., Inui Y., Itino T. and Inoue T. (2000) Difference in intensity of ant defense among three species of *Macaranga* myrmecophytes in a Southeast Asian dipterocarp forest. *Biotropica* 32 : 318-326.
- Janzen D.H. (1966) Coevolution of mutualism between ants and acacias in Central America. *Evolution* 20 : 249-275.
- Kato M., Inoue T., Hamid A.A., Nagamitsu T., Merdek M. B., Nona A.R., Itino T., Yamane Sk. and Yumoto T. (1995) Seasonality and vertical structure of light-attracted insect communities in a dipterocarp forest in Sarawak. *Res. Popul. Ecol.* 37 : 59-79.
- Koricheva J., Larsson S., Haukioja E. and Keinänen M. (1998) Regulation of woody plant secondary metabolism by resource availability: hypothesis testing by means of meta-analysis. *Oikos* 83 : 212-226.
- Larsson S., Wiren A., Lundgren L. and Ericsson T. (1986) Effects of light and nutrient stress on leaf phenolic chemistry in *Salix dasyclados* and susceptibility to *Galerucella lineola* (Coleoptera). *Oikos* 47 : 205-210.
- Longino J.T. (1989) Geographic variation and community structure in an ant-plant mutualism *Azteca* and *Cecropia* in Costa Rica. *Biotropica* 21 : 126-132.
- Maschwitz U., Fiala B., Davies S.J. and Linsenmair K.E. (1996) A South-East Asian myrmecophyte with two alternative inhabitants: *Camponotus* or *Crematogaster* as partners of *Macaranga lamellata*. *Ecotropica* 2 : 29-40.
- McKey D. (1974) Adaptive patterns in alkaloid physiology. *Am. Nat.* 108 : 305-320.
- McKey D. (1984) Interaction of the ant-plant *Leonardoxa africana* (Caesalpiniaceae) with its obligate inhabitants in a rainforest in Cameroon. *Biotropica* 16 : 81-99.
- McKey D., Davidson D.W. and Gay H. (1993) Ant-plant symbioses in Africa and the neotropics: history, biogeography, and diversity. In *Biological Relationships between Africa and South America* (P. Goldblatt ed.), pp. 567-606. Yale University Press, New Haven, Connecticut.
- Nakagawa M., Kenta T., Nakashizuka T., Ohkubo T., Kato T., Maeda T., Sato K., Miguchi H., Nagamasu H., Ogino K., Teo S., Hamid A.A. and Seng L.H. (2000) Impact of severe drought associated with the 1997-1998 El Niño in a tropical in Sarawak. *J. Tropical Ecology* 16 : 355-367.
- Nichols-Orians C.M. (1991a) Environmentally induced differences in plant traits: consequences for susceptibility to a leaf-cutter ant. *Ecology* 72 : 1609-1623.
- Nichols-Orians C.M. (1991b) The effects of light on foliar chemistry, growth and susceptibility of seedlings of a canopy tree to an attine ant. *Oecologia* 86 : 552-560.
- Nicotra A.B., Chazdon R.L. and Iriarte S.V.B. (1999) Spatial heterogeneity of light and woody seedling regeneration in tropical wet forests. *Ecology* 80 : 1908-1926.
- Nomura M., Itioka T. and Itino T. (2000) Variations in abiotic defense among myrmecophytic and non-myrmecophytic species of *Macaranga* in a Bornean dipterocarp forest. *Ecol. Res.* 15 : 1-11.
- Okamoto D. and Okada S. (1968) Studies on the tobacco cutworm, *Spodoptera litura* Fabricius, as an insect pest of the forage crop. *Bull. the Chugoku National Agricultural Experiment Station Ser. 2* : 111-144. (in Japanese)
- Rehr S.S., Feeny P.P. and Janzen D.H. (1973) Chemical defence in Central American non-ant-acacia. *J. Anim. Ecol.* 42 : 405-416.
- Seemann J.R., Sharkey T.D., Wang J. and Osmond C.B. (1987) Environmental effects on photosynthesis, nitrogen-use efficiency, and metabolite pools in leaves of sun and shade plants. *Plant Physiol.* 84 : 796-802.
- Siemens D.H., Garner S.H., Mitchell-Olds T. and Callaway R.M. (2002) Cost of defense in the context of plant competition: *Brassica rapa* may grow and defend. *Ecology* 83 : 505-517.
- Simms E.L. (1992) Costs of plant resistance to herbivory. In *Plant Resistance to Herbivores and Pathogens: Ecology, Evolution, and Genetics*. (Fritz R.S. and Simms E.L. eds.), pp.392-425. The University of Chicago Press, Chicago.
- Whitmore T.C. (1969) First thoughts on species evolution in Malayan *Macaranga* (Studies in *Macaranga* III). *Biol. J. the Linnean Society* 1 : 223-231.

- Whitmore T.C. (1975) *Macaranga*. In *The Euphorbiaceae of Borneo. Kew Bulletin Additional Series 4* (Shaw H.K.A. ed.). pp. 140-159. London.
- Yu D.W. and Davidson D.W. (1997) Experimental studies of species-specificity in *Cecropia*-ant relationships. *Ecol. Monogr.* 67: 273-294.
- Zangerl A.R. and Bazzaz F.A. (1992) Theory and pattern in plant defense allocation. In *Plant Resistance to Herbivores and Pathogens: Ecology, Evolution, and Genetics* (Fritz R.S. and Simms E.L. eds.). pp.363-391. The University of Chicago Press, Chicago.

摘 要

特定のアリ種に巣場所と栄養体を提供する代わりに植食者からの防衛をその共生アリに委ねている、東南アジア熱帯に分布するオオバギ属のアリ植物の4種、*M. winkleri*, *M. trachyphylla*, *M. beccariana*, *M. bancana*を対象に、どのような生態学的要因がアリ植物-共生アリ間の種の組み合わせの特異性を高めているのかということについて実証的に明らかにするために本研究は行われた。これら4種が分布している、マレーシア国サラワク州ランビルヒルズ国立公園とその近隣の二次林において、すべての観察・実験が行われた。

- (1) オオバギ属のアリ植物とその共生アリの共生関係は、アリの新女王がオオバギ実生に定着することから始まる。そこで、新女王の定着過程が、オオバギ-アリ共生系に見られる高い種特異性の維持にどのように貢献しているのかについて、野外において新女王の定着過程の定期的な観察をおこなうこと、室内で新女王が本来の共生相手とは異なるオオバギ種に対してどのような選好性を示すのかを実験的に定量することによって検討した。その結果、それぞれのオオバギ種の本来の共生相手のアリ種の新女王は、その共生相手となる種の実生を識別して選択的に定着していることが野外においても、また、選好実験においても示され、共生アリ各種の新女王による定着過程が両者の共生系における高い種特異性の維持に貢献していることが明らかとなった。
- (2) しかしながら、野外において、1-30%ほどの実生には、本来の共生相手ではないアリ種が定着していた。これまでの研究では、実生が成長して2mほどに達するころには、3種のオオバギと共生しているアリ種は、それぞれの種に特有の1種あるいは2種であることがわかっている。そこで、本来の共生相手ではないオオバギ種の実生に新女王が定着した場合に、共生系の存続がどのように変化するかを明らかにするために、これら3種の組み合わせを新女王定着の段階で人為的に入れ替えた共生系をつくり、それを植食圧のかからない条件下で栽培してアリのコロニーの成長を追跡した。その結果、本来の共生相手ではない組み合わせでは、本来の共生相手との組

み合わせに比べて、新女王単独によるワーカーの生産成功率と、その後のアリコロニーの6ヶ月以上の生残（存続）率のいずれも低くなることが分かった。また、6ヶ月以上生存した株を野外に移植すると、1年後に生存していた株は、本来の共生アリ種を移植した株のみで、本来の共生相手以外のアリ種の新女王を移植したものはすべて激しい食害を受けて死滅してた。これらの結果より、新女王定着後のアリコロニー成長の段階および植食者にさらされる段階で、本来の共生相手との組み合わせをもった共生系だけが生存するような選択過程がはたつき、オオバギ-アリ共生系の種特異性を高めていることが明らかになった。

また、各種オオバギの栄養体には、本来の共生相手以外のアリ種から栄養体を守る機構が備わっている可能性も考えられる。そこで、共生アリ種のワーカーに、各種オオバギの栄養体を与えて、ワーカーの行動を観察する“ワーカーによる栄養体選好性実験”を行った。この結果、どのアリ種のワーカーにおいても、本来の共生相手でないオオバギ種より、本来の共生相手のオオバギ種の栄養体を巣に持ち運ぶ頻度が有意に高かった。したがって、栄養体の種間変異が、種特異性を維持する機構の一つであることが示唆された。

- (3) 光などの環境要因の変異性がオオバギとアリの種間関係の種特異性に及ぼす影響を明らかにするために、光条件が異なる、広範囲の生息地に分布する *M. bancana* の幼木を用いて、光の弱い原生林と光の強い二次林の間で、共生するアリの種類相・非アリ防衛の強度などを比較した。これまで、*M. bancana* は、特殊な2種のアリのみと共生する、絶対共生型のアリ植物であると考えられてきたが、本調査の結果、そのような種特異的な関係は原生林のみで確認されるにとどまり、二次林では約半数の株が本来の共生相手ではないアリ種と共生していることが確認された。また、ハスモンヨトウの幼虫に *M. bancana* の葉を与えてその成長に与える効果をみることにより、それぞれの森林に生息する *M. bancana* の非アリ防衛の強度を推定した結果、非アリ防衛の強度が、原生林よりも二次林において高いことが示唆された。オオバギ属の植物とその共生アリの結びつきは、固定化した変異に乏しいものではなく、生息場所の環境要因の変異性に反応し、種内においても、その結びつきの強固さには大きな変異がみられることが示唆された。このことから、オオバギ-アリ共生系の種特異性に、環境条件の空間的異質性が大きく影響する可能性が示された。

キーワード：オオバギ，アリ防衛，共生，栄養体，ワーカー

Summary

Mechanism for maintenance of the species-specificity in *Macaranga-Crematogaster* mutualism

Kaori MURASE

In the tropics, many species of plants have mutualistic symbiosis with ants. The myrmecophytism is a typical mutualism between plants (myrmecophytes) and ants. *Macaranga* (Euphorbiaceae) is a tree genus of approximately 280 species, and includes many obligate myrmecophytic species. *Macaranga* myrmecophytes provide nest sites and food (food bodies) for their symbiont ants; in turn, the plant-ants protect their host plants from herbivores and clinging vines. One species of *Macaranga* myrmecophyte has a symbiotic relationship exclusively with only one or two ant species that are specialized to colonize the myrmecophyte or a few *Macaranga* species, including it. In some localities, multiple *Macaranga* myrmecophytic species coexist in the same microhabitat; the spatial distributions of mature trees of such sympatric *Macaranga* species are highly overlapped at a microhabitat scale. However, the species-specificity in the partnership of the *Macaranga-Crematogaster* myrmecophytism has been highly maintained there.

In this study, first, we examined the mechanisms that maintained such high species-specificity in *Macaranga-Crematogaster* myrmecophytism. As a key process that is involved in the mechanisms, we focused on settling-plant selection of the partner *Macaranga* seedlings by single foundress *Crematogaster*. The field observation showed that foundress queens are able to select correctly their specific partner plant species, and thus that species-specificity is consequently generated through the

settling-plant selection.

However, a number of *Macaranga* myrmecophytes were observed to be settled by foundress queens of non-partner ants, which settled into stem internodes of *Macaranga* seedlings of sympatric *Macaranga* myrmecophytes species in the field. This means that settling-plant selection by foundress queens is insufficient to maintain the high species-specificity. Therefore, we hypothesized that the higher mortality in ant colonies and plants that are colonized by the ant species that are not specific to the plants might complementarily maintain the species-specificity. Second, to test the hypothesis, we experimentally swapped the partner species of symbiont ants between the three *Macaranga* myrmecophyte species and monitored the survival rates of the plants and ant colonies. The results support the hypothesis. When queens of a ant species that is non-specific to a plant species were forced to colonize the seedlings of the plant, the mortality rates were significantly higher than those when they colonized seedlings of the other plant species to which the ant species is specialized.

Third, to examine the intraspecific variation in the status of the ant-plant symbiosis among microhabitats of different light conditions, we investigated the species composition of nesting ants and the herbivory damage on *M. bancana* saplings by field observations and sampling in the primary and secondary forests in Sarawak. In addition, the effectiveness of non-ant (physical and chemical) defenses were estimated by feeding the larvae of a polyphagous lepidopteran with *M. bancana* leaves from saplings in the two types of forests. The results suggest that the symbiosis between ants and *M. bancana* is looser and the non-ant-defenses are stronger in secondary forests, where light is more intense, than in primary forests.

Keywords: *Macaranga*, *Crematogaster*, ant-plant symbiosis, myrmecophytism, food body