Environment Research and Technology Development Fund

環境研究総合推進費　終了研究成果報告書

4-1904　外来アリ類をモデルとした侵略的外来生物管理体系の構築
（ＪＰＭＥＥＲＦ２０１９４００４）

令和元年度～令和３年度

Development of technologies for invasive species countermeasures, using ants as a model

〈研究代表機関〉
国立大学法人　琉球大学

〈研究分担機関〉
九州大学（令和3年7月-)
国立環境研究所
沖縄科学技術大学院大学
京都大学（令和元年5月-令和2年7月）

〈研究協力機関〉

○図表番号の付番方法について
「Ⅰ．成果の概要」の図表番号は「０．通し番号」としております。なお、「Ⅱ．成果の詳細」にて使用した図表を転用する場合には、転用元と同じ番号を付番しております。
「Ⅱ．成果の詳細」の図表番号は「サブテーマ番号．通し番号」としております。なお、異なるサブテーマから図表を転用する場合は、転用元と同じ図表番号としております。

令和４年５月

目次

Ⅰ．成果の概要 ・・・・・・・・ 1
１．はじめに（研究背景等）
２．研究開発目的
３．研究目標
４．研究開発内容
５．研究成果
５－１．成果の概要
５－２．環境政策等への貢献
５－３．研究目標の達成状況
６．研究成果の発表状況
６－１．査読付き論文
６－２．知的財産権
６－３．その他発表件数
７．国際共同研究等の状況
８．研究者略歴

Ⅱ．成果の詳細
Ⅱ－１　外来アリ類の生態的特性に基づく効率的防除法の開発 ・・・・・・・・ 11
（琉球大学、九州大学）
要旨
１．研究開発目的
２．研究目標
３．研究開発内容
４．結果及び考察
５．研究目標の達成状況
６．引用文献

Ⅱ－２　外来アリ類の寄生生物および生態的変異の調査 ・・・・・・ 20
（琉球大学、京都大学）
要旨
１．研究開発目的
２．研究目標
３．研究開発内容
４．結果及び考察
５．研究目標の達成状況
６．引用文献

Ⅱ－３　外来アリ類の早期発見技術および化学的防除技術の開発 ・・・・・・・ 28
（国立環境研究所）
要旨
１．研究開発目的
２．研究目標
３．研究開発内容
４．結果及び考察

５．研究目標の達成状況
６．引用文献

Ⅱ－４　外来アリ類の防除体制構築と社会実装に関する研究　・・・・・・・・　35
（沖縄科学技術大学院大学）
要旨
１．研究開発目的
２．研究目標
３．研究開発内容
４．結果及び考察
５．研究目標の達成状況
６．引用文献

Ⅲ．研究成果の発表状況の詳細　・・・・・・・・　48

Ⅳ．英文Abstract　・・・・・・・・　59

Ⅰ．成果の概要

課題名　　4-1904　外来アリ類をモデルとした侵略的外来生物管理体系の構築
課題代表者名　辻　瑞樹　（国立大学法人琉球大学　農学部教授）

重点課題　　主：【重点課題12】生物多様性の保全とそれに資する科学的知見の充実に向けた研究・技術開発

行政要請研究テーマ（行政ニーズ）　（4－8）新たに侵入する外来種に対する早期発見・早期防除技術の開発

研究実施期間　令和元年度～令和３年度

研究経費
94,770千円（合計額）
（各年度の内訳：令和元年度：31,590千円、令和２年度：31,590千円、令和３年度：31,590千円）

研究体制
（サブテーマ１）外来アリ類の生態的特性に基づく効率的防除法の開発（琉球大学、九州大学）
（サブテーマ２）外来アリ類の寄生生物および生態的変異の調査（琉球大学、京都大学）
（サブテーマ３）外来アリ類の早期発見技術および化学的防除技術の開発（国立環境研究所）
（サブテーマ４）外来アリ類の防除体制構築と社会実装に関する研究（沖縄科学技術大学院大学）

研究協力機関はない。

本研究のキーワード　外来生物、侵略、アリ、初期防除、社会実装、殺虫剤　※5～10個程度

１．はじめに（研究背景等）

経済のグローバル化は新たな外来生物の侵略リスクを世界規模で高めている。ヒアリや新型コロナウイルスという最近の顕著な事例により、我が国がこのリスクの当事者であることを思い知らされた。このような背景から、日本でも特定外来生物による生態系等に係る被害の防止に関する法律（外来生物法）が2005年に施行され、侵略的あるいはその蓋然性の高い外来生物の輸入・運搬・飼養や譲渡等の野生化や侵略につながる意図的行為に厳しい制限をかけている。しかし本法律の制定当初から貿易物資などに紛れ非意図的に持ち込まれる外来生物への対策の脆弱性が指摘されてきた。このような非意図的新規侵入外来生物の侵略を食い止めるには、侵入防止、早期の発見と確実な根絶が理想であるが、残念ながら我が国ではそのために必要な科学技術の組織的開発がこれまでほとんど行われてこなかった。

２．研究開発目的

本研究では国民の関心事となっているヒアリなどの外来アリ類をモデルに、新規非意図的侵入外来種の早期発見技術と効率的な防除技術を開発し、これらの外来アリ類の定着リスクが特に高く、同時に野生生物の固有性と多様性が高い沖縄県をモデル地域として、地域連携の防除体制を構築して防除技術の実装を図る。アルゼンチンアリやヒアリなどの侵略的外来アリが一般に示す多巣性(ひとつのコロニーが連結した複数の巣を持つ)はコロニーの巨大化を可能にするため侵略性の重要要因と考えられる。サブテーマ１では多巣性アリをコロニー単位で駆除するためベイト(毒餌)の効果的設置法の開発を目指す。アリをコロニー単位で駆除するための現在唯一の実効的方法であるベイト剤施用では、野外では想

定通りに効果が発揮されないという問題にしばしば直面する。この背景に多巣性が関係すると考えられる。これは、空間的に広がったコロニーは毒の効果がコロニー全体に十分に行き渡ることを妨げるためと考えられる。また、侵略的外来アリは食性が広く同種や同じコロニー内でもしばしば嗜好が変化することも特徴である。本サブテーマではベイト剤の効果が芳しくないのは、アリが餌資源に関してコロニー内巣間分業しており、巣によってはアリの平均的嗜好性を想定して作られたベイトへの嗜好性が低いからではと考えた。そこで巣間分業と巣間の資源再配分の存否を実際の多巣性侵略アリで確認し、この性質を逆利用したベイトの効率的配置法を検討する。サブテーマ２では近年ヒアリで明らかになったウイルス感染がアリの採餌嗜好性に与える影響が外来アリ類で一般的かを調べ、ウイルス感染によるベイト剤の効率低下を低減するための技術を開発する。サブテーマ３では外来アリ類防除に有効な化合物の探索を行い、港湾・空港エリアにおける緊急防除用薬剤および営巣発見時のコロニー防除用薬剤の選定を行う。並行してヒアリの簡易検出手法として国立環境研究所がDNA技術を活用した検出キットを開発しているが、本技術をさらに高精度化・簡易化し、ヒアリ以外の様々な外来アリ類に拡大適用し、汎用性を高める。サブテーマ４では、生物学的環境条件からもこれら外来アリ類の侵入・定着リスクが最も高く、生物多様性リスクが深刻とされる沖縄県をモデル地域に、上記研究で得られた早期発見技術および防除手法を地方自治体やNPO、市民と協働・共有し社会実装させるための実践的データ収集を行う。

３．研究目標

全体目標	本研究では、経済のグローバル化により深刻化し続ける外来生物侵入リスクに対する現実的かつ最善の対策である「侵入初期における早期発見と迅速かつ確実な駆除」が我が国で実施できるよう、アリを材料に鍵となる技術を研究開発し、これらを組み合わせ組織的に動かすための実践的施行を行う。一般市民による監視から、発見と確実な同定、殺虫剤を使った防除に至るまでの技術の底上げを行う。

サブテーマ１	外来アリ類の生態的特性に基づく効率的防除法の開発
サブテーマリーダー/所属機関	辻　瑞樹／琉球大学
目標	巣間分業をしていると想像される多巣性アリの性質を逆手にとって効果的ベイト剤設置法を提案するのが本サブテーマの目標である。

サブテーマ２	外来アリ類の寄生生物および生態的変異の調査
サブテーマリーダー/所属機関	辻　瑞樹／琉球大学
目標	港湾で発見されるすべてのヒアリサンプルについて、一般にアクセス可能な病原性微生物データベース(ウイルス、細菌、菌類を含む)を構築する。侵略的外来アリ類がウイルスに感染した際にどのような行動反応が出るかを解明する。特に採餌行動と餌嗜好性に焦点を当てる。ヒアリを餌で誘引する方法の改良を行い、野外においてその効率を試験する。

サブテーマ3	外来アリ類の早期発見技術および化学的防除技術の開発
サブテーマリーダー/所属機関	五箇　公一／国立環境研究所
目標	外来アリ類の侵入後防除に際し、適切な緊急防除用殺虫剤を選定し、施用法を確定する。外来アリ類の定着後防除に際し、適切なコロニー防除用薬剤を選定

	し、施用法を確立し、マニュアル化する。各種外来アリについて、LAMPキットのマニュアルを確定し、試験機関および教育機関等への試験配布を行い、実装する。

サブテーマ4	外来アリ類の防除体制構築と社会実装に関する研究
サブテーマリーダー/所属機関	吉村　正志／沖縄科学技術大学院大学
目標	地域の行政横断型協働体制の検討では、体制への参加機関の増加と、離島への拡張、そしてこれらを利用した、開発新技術の沖縄社会への実装を目標とする。外来アリ類調査手法の検討については、現行調査データを活用して、さらに県内監視と防除に有用な知見の創出を進める。また、収集した200種のDNAライブラリ構築、メタバーコディングのプロトコルの整備を目標とする。市民協働型監視体制構築については、今後新型肺炎により厳しくなるが、レクチャーの実施データを蓄積(累積参加人数300名目標)して解析するのと同時に、市民からの情報集約方法についての検討と開発を進める。

４．研究開発内容

本課題では、侵略的外来生物の科学的な管理システムの構築を目指した。これまで抜本的な防除が困難であった非意図的に侵入する侵略種の代表であるアリ類にとくに注目し、これらをモデルに早期発見と駆除のための技術開発をした。サブテーマ１では、防除現場でアリがしばしばベイト剤を設計通りに摂食しないのは、侵略的外来アリに共通する多巣性が原因と考えた。多巣性アリには巣間分業という性質があると想定し、それを逆手にとった効果的ベイト剤設置法の開発を行った。サブテーマ２の研究項目は３つあった。1)港湾で発見されるヒアリサンプルにおいてウイルス感染を精査し、一般にアクセス可能な病原性微生物データベースを構築すること。2)侵略的外来アリ類がウイルスに感染した際の行動反応を解明する。特に採餌行動と餌嗜好性に焦点を当てること。3)ヒアリを餌で誘引する方法の改良を行い、野外においてその効率を試験すること（この項目はコロナ禍で実施不可能となり、国内定着種で実施した）。サブテーマ３の研究項目は３つあり、1)外来アリ類の侵入後防除に際し、適切な緊急防除用殺虫剤を選定し、施用法を確定すること。2)外来アリ類の定着後防除に際し、適切なコロニー防除用薬剤を選定し、施用法を確立し、マニュアル化すること。3)各種外来アリについて、LAMPキットのマニュアルを確定し、試験機関および教育機関等への試験配布を行い、実装すること。サブテーマ４の研究項目は、1)地域の行政横断型協働体制の開発新と沖縄社会への実装、2) DNAライブラリ構築、メタバーコディングのプロトコルの整備などの外来アリ類調査手法の新技術の検討、3) 外来アリの市民協働型監視体制構築のためのレクチャープログラムの開発と実施の３つである。

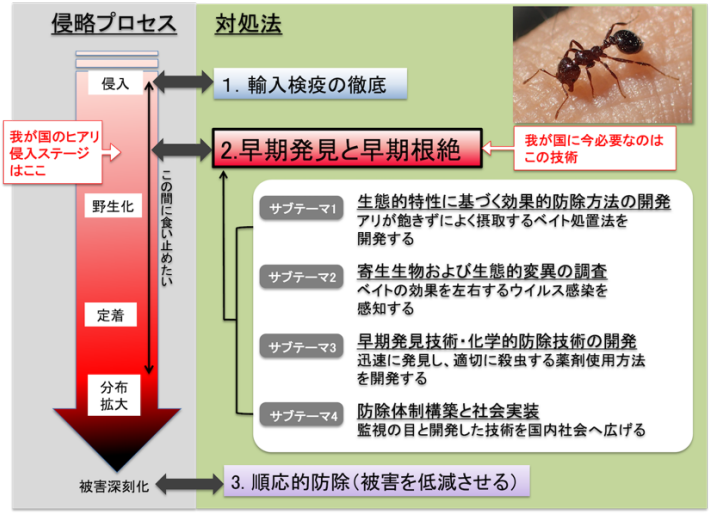

図0.1 研究開発内容

５．研究成果

５－１．成果の概要

これまで抜本的な防除が困難であった非意図的に侵入する侵略種の代表であるアリをモデル生物として注目し、早期発見と駆除のための技術開発を目指した。理解しやすいようサブテーマ４から逆順に説明する。

サブテーマ４では、侵入最初期時に対応する技術開発を担当した。沖縄をモデル地域とし、侵入初期の密度が低い段階における監視の目を一般市民に広げるための講義パッケージを作り普及に努めた。コロナ禍のため講義回数は想定を下回ったものの、参加者アンケートからは有用性が示された。また沖縄県内の既侵入外来種のDNAライブラリ等を作成し確実な同定を可能にした。並行し侵入発見時の行政横断型協働体制を社会実装したが、これは研究期間中に沖縄県に侵入が発覚したアルゼンチンアリとハヤトゲフシアリの防除に実用された(図4.10)。

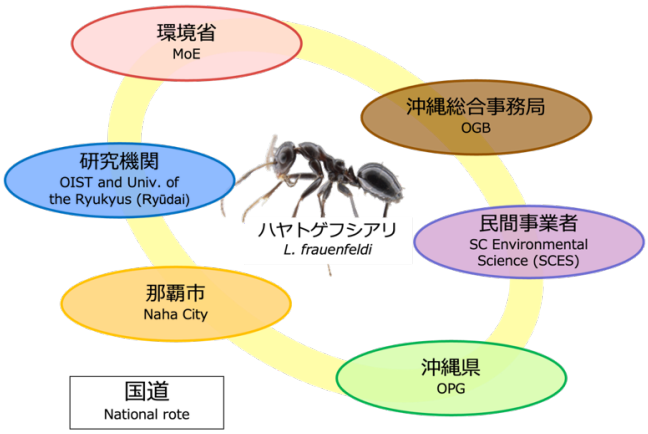

図4.10 国道沿いでハヤトゲフシアリが発見された際の行政横断型協力体制の例

サブテーマ３では、侵入最初期の次の段階で必要な技術開発を担当した。採集された外来種と疑われる標本を素人でも確実に同定できるよう簡易DNA増幅（LAMP）キットを特定外来生物に指定された外来アリ5種全てについて試作品を開発した。ヒアリ用LAMPキットは全国配布し、害虫駆除会社と共同で全国規模の実運用試験で改良し社会実装を実現した。次に、外来アリが発見されたコンテナごと検疫防除する手法としてピレスロイド・エアロゾル剤の有効性を確認し環境省モデル試験事業へと結びつけた。最後に、野生化後の化学的防除に用いる薬剤選択のために、急性経皮毒性試験法およびコロニーレベルのベイト式毒性試験を行い、フィプロニルおよびピリプロキシフェンの有効性を確認し、環境省の実際のヒアリ防除現場でもこれら薬剤が選択使用された(図3.4，図3.5)。

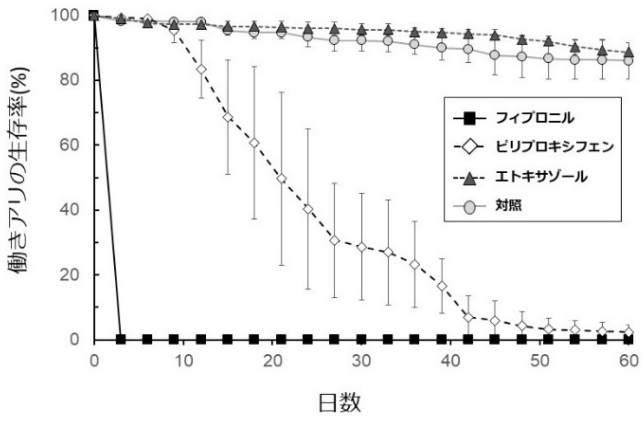

図3.4 ベイト剤候補薬剤を投与したコロニーでの働きアリの生存率

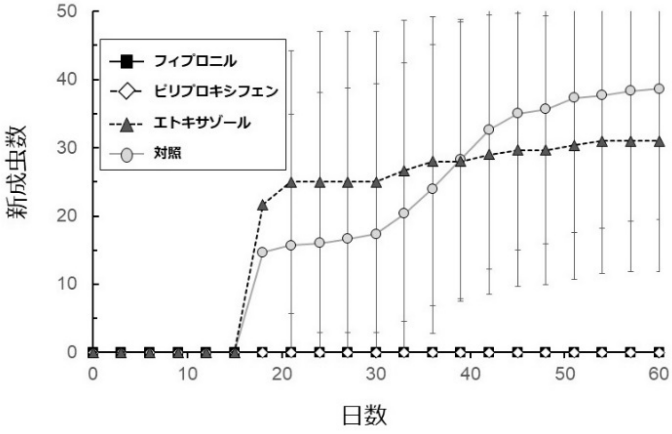

図3.5 IGR剤候補薬剤を投与したコロニーでの新成虫数

サブテーマ２では、野生コロニーの示す餌嗜好性の種内変異とウイルス感染の関連を研究した。世界的な侵略的外来アリであるヒアリ、アシナガキアリ、ツヤオオズアリのいずれにおいてもミツバチ病原性種を含む多種のウイルス感染が確認され（表2.2）、アシナガキアリに関してはヒアリ同様にある種のウイルス感染が餌嗜好性を変化（摂食量低下とタンパク分忌避傾向）させることを確認した。ヒアリを用いた国外での野外実験はコロナ禍のため実現できなかったが、国内定着しているアシナガキアリとツヤオオズアリでは野外でも巣ごとに大きな嗜好性変異の存在が確認され、サブテーマ１の開発するベイト設置法が有効であることが確認された。

表2.2 外来アリ集団のウイルス感染状況

	ヒアリ	**Taxonomy placement**	**感染率、採集場所等**
	SINV-1	*Dicistroviridae*	*2019年6月17日品川埠頭採集サンプル*
	Kakugo virus	*Iflaviridae*	*2019年9月13日 本牧埠頭採集サンプル*
	Chronic bee paralysis virus	unclassified	*2017年6月13日尼崎採集サンプル*
	アカカミアリ		
	SINV-2	*Polycipiviridae*	*2019年10月9日品川埠頭採集サンプル*
	Acute bee paralysis virus	*Dicistroviridae*	*2019年6月17日品川埠頭採集サンプル*
	ツヤオオズアリ (沖縄 *N*=6)		
	Pheidole megacephala virus 1	unclassified	17%
	Pheidole megacephala virus 2	*Iflaviridae*	*67%*
	Pheidole megacephala virus 3	*Iflaviridae*	*50%*
	Pheidole megacephala virus 4	*Iflaviridae*	*100%*
	Pheidole megacephala virus 5	*Polycipiviridae*	17%
	Pheidole megacephala virus 6	*Polycipiviridae*	17%
	Pheidole megacephala virus 7	*Polycipiviridae*	*33%*
	Pheidole megacephala virus 8	*Picorna-like virus*	*33%*
	Pheidole megacephala virus 9	*Picorna-like virus*	*17%*
	アシナガキアリ(沖縄/マレーシア/台湾)		
	Anoplolepis gracilipes virus 1	*Dicistroviridae*	0% @沖縄; 7% @ 台湾 18% @ マレーシア*
	Anoplolepis gracilipes virus 2	*Dicistroviridae*	0% @ 沖縄; 7% @ 台湾; 15% @ マレーシア *
	Anoplolepis gracilipes virus 3	*Polycipiviridae*	0% @沖縄 7% @ 台湾; 15% @ マレーシア
	Anoplolepis gracilipes virus 4	*Dicistroviridae*	40% @沖縄; 44% @ 台湾; 88% @ マレーシア
	Anoplolepis gracilipes virus 5	*Dicistroviridae*	
	Anoplolepis gracilipes virus 6	*Iflaviridae*	
	Anoplolepis gracilipes virus 7	*Iflaviridae*	
	Anoplolepis gracilipes virus 8	*Riboviria*	
	TR44839 (Genome not fully characterized yet)	*Dicistroviridae*	31-100% @マレーシア**
	Deformed wing virus	*Iflaviridae*	3.4% @沖縄; 0% @ 台湾 0% @ マレーシア ***
以下の印付きの情報は既発表でデータは公開されている。			
*	Lee CC, Lin CY, Hsu HW, Yang CCS. 2020. Archives of Virology, 165, 2715-2719		
**	Hsu HW, Chiu MC, Lee CC, Lee CY, Yang CCS. 2019. Insects, 10, 436		
***	Lin CY, Lee CC, Nai YS, Hsu HW, Lee CY, Tsuji K, Yang CCS. 2020. Viruses, 12,1309.		

サブテーマ１では、野生コロニーを根絶できる現在唯一の資材であるベイト剤の効果的な使用戦略を検討した。侵略的外来アリに共通する多巣性においては、メンバー個体間の栄養交換によりコロニー全体が生理的に統合されており、それぞれの巣は近傍に存在する相対的に良質な餌資源採集に特異化する傾向（巣間分業）があることを厳密に証明した。このことに加えサブテーマ２が証明したウイルス感染が、ベイトの有効性を下げる嗜好性の種内変異の原因となると考えられた。嗜好性変異は糖分嗜好傾向とタンパク分嗜好傾向に２分されるようなのでこの性質を逆利用し、タンパク分と糖分を別々のベイトの形でアリのコロニーに同時に与えることで、コロニー全体の摂食量を

継続的に増加させられることを室内と野外で確認した（図1.9）。このベイト設置戦略は研究期間中に沖縄に侵入が発覚した特定外来種ハヤトゲフシアリの防除に試験的に社会実装され、サブテーマ４との共同作業でほぼ根絶を達成している。

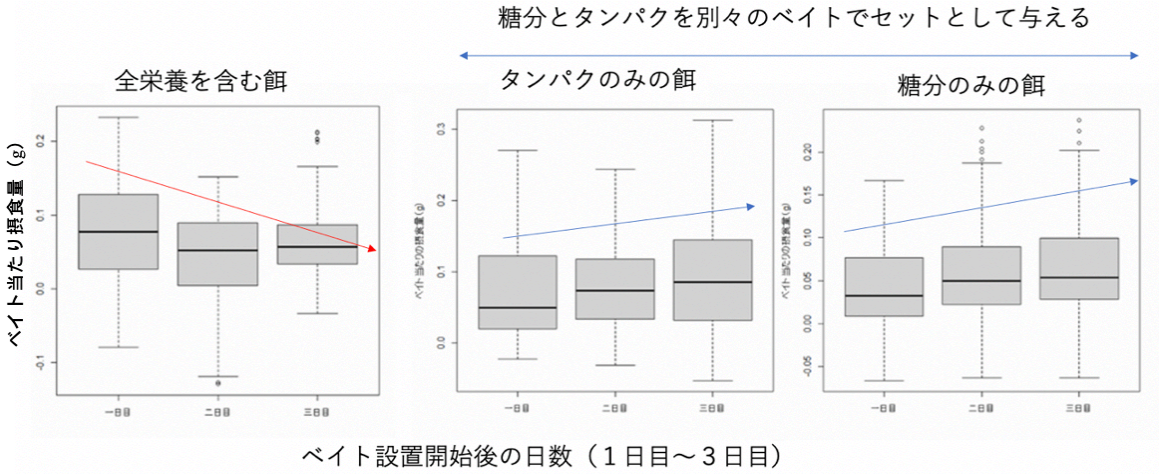

図1.9 野外でのベイト当たりの累計摂食個体数（左）と摂食量（右）
配置パタンごとの結果を箱ひげ図で示す。ボックス内の横線は中央値を表す。

５－２．環境政策等への貢献

＜行政等が既に活用した成果＞

サブテーマ1が開発中であったベイト設置法を環境省沖縄奄美自然環境事務所の事業として実施しているハヤトゲフシアリの防除に2020年度より適用し、本報告書に記載したように一定の成果をあげている。

2019年以降、国内の主要港湾（東京港、名古屋港、大阪港）で発見されたヒアリの大型野外巣防除において、サブテーマ３の成果に基づき、フィプロニル液剤・ベイト剤およびピリプロキシフェンベイト剤を用いた防除計画を立案、提示した。その結果、それぞれの野外巣について根絶が完了したと判断された。

2022年より、環境省のモデル事業として、海外から輸送される実用コンテナを対象としたピレスロイド・エアロゾル剤によるコンテナ内検疫防除の実地試験が開始される。

那覇市でハヤトゲフシアリの定着が確認された際に、これまでの組織横断型の協働体制を基盤に柔軟で迅速な防除体制を構築し、実際の防除や拡散防止を実施、防除対象種の低密度化に成功した。

環境省沖縄奄美自然環境事務所の事業として実施しているハヤトゲフシアリの防除に、各サブテーマの開発技術を反映させた外来アリ防除方法を活用し（サブテーマ１のベイトの設置方法、サブテーマ３のIGRの使用など）、沖縄県内における当該種防除マニュアルに反映した。

＜行政等が活用することが見込まれる成果＞

サブテーマ1,3で開発したものをベースにした環境負荷が少ない液状ベイト資材を現在害虫防除企業と共同開発している。開発されたベイト剤は、毒物を面的に散布できない自然保護地域、たとえばツヤオオズアリの侵略が深刻である小笠原諸島での外来アリ防除事業などへの適用が今後期待される。サブテーマ2では外来アリがミツバチの病原ウイルスの媒介者となる可能性が示唆された。本研究が開発した外来アリの防除技術は養蜂関連事業を介した普及も期待される。

５－３．研究目標の達成状況

侵入初期における侵略的外来生物を早期発見と迅速かつ確実な駆除が我が国で実施できるよう、1)アリをモデルに鍵となる技術を研究開発し、2)これらを組み合わせ組織的に動かすための実践的施行を行い、3)一般市民による監視から、発見と確実な同定、殺虫剤を使った防除に至るまでの技術の底上げを行う。この３つを全体目標としたが、以下に記したように概ね当初の目標以上の成果が得られたと判断できる。

1)アリをモデルに鍵となる技術を研究開発するという目標に関しては、ヒアリをはじめとする外来アリが餌に対する反応を変化させる多種の病原性ウイルス罹患していること（サブテーマ２）、多巣性の外来アリが巣間分業しており巣ごとに炭水化物と糖分への嗜好性が大きく異なることを明らかにできた（サブテーマ１）。これらに起因すると考えられる既製のベイト剤の誘引力低下は、サブテーマ１が開発したタンパク分と糖分を別々の液状ベイトとして同時に与える方法により回避され、摂食量を継続的に増加させられることが室内でも野外でも確かめられた。外来アリを迅速同定するためのLAMPキットを特定外来生物に指定された外来アリ5種全てについて試作し、さらにプライマーを混合して一括検出可能なマルチプレックスLAMPキットへの高度化に成功した。さらにヒアリ用のキットについては全国規模の実運用試験で大改良された（サブテーマ３）。検疫防除手法としてのコンテナ内に侵入したアリに対するピレスロイド・エアロゾル剤の開発では、効果的な薬剤選択を完了した。侵入後防除用に適した殺虫剤を選択するため、急性経皮毒性試験法およびベイト式毒性試験法を確立し、フィプロニルおよびピリプロキシフェンの有効性を証明した（サブテーマ３）。外来アリ類をもれなく検出する調査手法については、監視調査やネットワークを通じたデータ蓄積に並行し、ライブラリを活用したメタバーコーディングのプロトコルも構築された（サブテーマ４）。これらはどれも、外来種の侵入初期において根絶防除を達成するには鍵となる技術である。とくにアリのコロニー単位での駆逐に至らしめる現状唯一の資材であるベイト剤の有効性を向上させる研究成果が得たことにより目標は達成されたと判断する。

2)新技術を組み合わせ組織的に動かすための実践的施行を行うという目標に関しては、サブテーマ３がヒアリ用LAMPキットのユーティリティ確認を、国立環境研究所のウェブサイトからの配布ならび各地の講演会、雑誌記事などでの募集を通じて進め、更には害虫駆除会社と共同で全国規模の実運用試験を行い、問題点の抽出および改良へと至っている。コンテナ内の外来生物のピレスロイド・エアロゾル剤による防除法については、これを社会実装するため環境省モデル試験事業へと結びつけた。毒性試験でヒアリへの有効性を確認したフィプロニルおよびピリプロキシフェンは、実際のヒアリ防除の現場でも上記結果に基づき選択され、駆除にも成功している。サブテーマ４は、本事業期間内に沖縄本島内で新規定着が確認された特定外来生物ハヤトゲフシアリの脅威に対し迅速に対応し、沖縄島のハヤゲフシアリは２年がかりで根絶にほぼ成功したが、これはサブテーマ１、２、３、４の研究技術を統合（糖、タンパク併置ピリプロキシフェン入りベイト）した成果である。とくにサブテーマ４が沖縄県内のステイクホルダーの共同体制を本研究で構築していたことが迅速な防除に結びついた。以上からこの目標に関しては当初想定以上の成果達成がなされたと考える。

最後に、3)一般市民による監視から、発見と確実な同定、殺虫剤を使った防除に至るまでの技術の底上げを行うという目標に関しては、サブテー４が主に担当したが、沖縄県内で行政横断型協力体制の構築を試み、沖縄島においては実際の新規定着種（特定外来生物ハヤトゲフシアリ）に対し迅速な対応につなげた。これは想定以上の成果である。外来アリ類調査手法の検討については、監視調査やネットワークを通じたデータ蓄積が進行中であり、ライブラリを活用したメタバーコーディングのプロトコルも構築された。また、市民協働型監視体制構築に関しては、地元高校との連携による一般向けのワークショップ開催や、博物館との共同企画展としての情報発信などを積極的に実施することができた。誤算は、新型コロナ禍による対面イベント等の開催が困難になったことである。これにより行政横断型協力体制の構築を沖縄本島以外の離島への拡張が困難になり、市民協働型監視体制構築に関してもイベント開催が困難になった。しかし、代替に各種メディアでの情報発信に努めた。さらに、対面講習会についても困難のなか本研究全期間を通した外来アリ同定WS累

積参加者数が目標300人に対して1251名となったことから、目標は概ね達成できたと判断する。

６．研究成果の発表状況

６－１．査読付き論文

＜件数＞

19件

＜主な査読付き論文＞

1) Wylie, R., Yang C.C.S., & Tsuji, K. (2020) Invader at the gate: The status of red imported fire ant in Australia and Asia. Ecological Research, 35:6-16. (IF: 1.546) https://doi.org/10.1111/1440-1703.12076.
2) Xu,Y., Vargo, E. L. Tsuji, K. & Wylie, R. (2022) Exotic ants of the Asia-Pacific: invasion, national response, and ongoing needs. Annual Review of Entomology 67, 27-42. (IF: 19.686)
3) Hsu,H.W., Chiu, M.C., Lee, C.C., Lee, C.Y.& Yang,C.C.S. (2019) The association between virus prevalence and intercolonial aggression levels in the yellow crazy ant *Anoplolepis gracilipes* (Jerdon). Insects, 10:436.(IF：2.139)
4) Lin,C.Y., Lee, C.C.,Nai,Y.S., Hsu,H.W., Lee,C.Y., Tsuji,K., Yang C.C.S.(2020) Deformed wing virus in two widespread invasive ants: geographical distribution, prevalence, and phylogeny. Viruses 2020, 12(11), 1309; https://doi.org/10.3390/v12111309.
5) 佐々木智基・雨貝真実・石角陽平・五箇公一（2019）コンテナ内に配置したアルゼンチンアリに対する ワンプッシュ法の駆除試験結果．ペストロジー 34:15-18.
6) Sakamoto, Y., Hayashi, T., Inoue, M.N., Ohnishi, H., Kishimoto, T., Goka, K. (2019) Effects of fipronil on non-target ants and other invertebrates in program of eradication of the Argentine ant, *Linepithema humile*. Sociobiology 66(2): 227-238
7) Sakamoto, H., Goka, K. (2021) Acute toxicity of typical ant control agents to the red imported fire ant, *Solenopsis invicta* (Hymenoptera: Formicidae). Applied Entomology and Zoology 56(2): 217-224
8) 吉村正志， 諏訪部真友子， 池田貴子， 小笠原昌子， エコノモ・エヴァン(2020)小学生向け外来種＆ヒアリ学習ワークショップの開発と実践．科学技術コミュニケーション,26:39-56.
9) Rosas-Mejia, M., Guénard, B., Aguilar-Méndez, M.J., Ghilardi, A., Vásquez-Bolaños, M., Economo, E.P., Janda, M. (2021) Introduced ants (Formicidae: Hymenoptera) in Mexico – the first database of records. *Biological Invasions*, 23: 1669–1680.
10) Frédérique La Richelière, Muñoz, G., Guénard, B., Dunn, R.R., Economo, E.P., Powell, S., Sanders, N.J., Weiser, M.D., Abouheif, E., Lessard, J.-P. (2022) Warm and arid regions of the world are hotspots of superorganism complexity. *Proceedings of the Royal Society* B 289.

６－２．知的財産権

特に記載すべき事項はない。

６－３．その他発表件数

査読付き論文に準ずる成果発表	0件

その他誌上発表（査読なし）	11件
口頭発表（学会等）	35件
「国民との科学・技術対話」の実施	90件
マスコミ等への公表・報道等	34件
本研究に関連する受賞	0件

７．国際共同研究等の状況

［米国］

・CC Yang（Virginia Polytechnic and State University *サブテーマ２の当初の代表者、推進費期間中に同大学に異動）：『外来アリとミツバチの伝染病の関連』に関する共同研究（サブテーマ1、辻）

・Rosemary Gillespie and George Roderick（UC-Berkeley), Henrik Krehenwinkel（U. Trier), Haldre Rogers（Iowa State U.), Andrea Lucky（U. Florida), Phil Ward（UC-Davis), Eli Sarnat（UC-Davis), Benoit Guenard（Hong Kong U.）：『外来アリ類DNAライブラリおよびメタバーコーディングシステム構築プロジェクト』のための共同研究ネットワーク構築（サブテーマ4、エコノモ）。

［台湾］

・Monster’s Agrotech社：『ヒアリを用いた実験系確立における共同調査並びに防除に関する情報共有』のための国際共同研究に関する覚書（MoU）の取り交わし（サブテーマ3、五箇・坂本）、『台湾と沖縄におけるヒアリ監視および防除に関して共同研究と情報共有』のための共同研究および情報共有（サブテーマ4、吉村）

・国立台湾大学：『台湾と沖縄におけるヒアリ監視および防除に関して共同研究と情報共有』のための共同研究計画を含むMTA締結（サブテーマ4、吉村）

８．研究者略歴

研究代表者：

辻　瑞樹

名古屋大学農学部卒業、農学博士、現在琉球大学農学部教授

研究分担者：

1）立田　晴記

北海道大学農学部卒業、博士(農学)、本課題開始時は琉球大学農学部教授、現在、九州大学理学部教授

2）旧分担者　ヤン　チン　チェン（課題開始時から2020年7月まで）

国立台湾大学生物資源及び農学部卒業、農学博士、2020年7月まで京都大学生存圏研究所講師

新分担者　辻　瑞樹（研究代表者、2020年8月から課題終了時まで）

3）五箇　公一

京都大学大学院農学研究科修了、宇部興産(株)農薬研究部研究員、現在、国立環境研究所室長

4）坂本　洋典

東京大学農学生命科学研究科修了、東京大学農学部研究員、(独)農業環境技術研究所研究員、北海道大学大学院地球環境科学研究院研究員、玉川大学脳科学研究所研究員、茨城大学農学部研究員、早稲田大学理工学術院研究員、早稲田大学重点領域研究機構研究員、現在、国立環境研究所研究員

5) 吉村　正志

利尻富士町立鴛泊中学校教諭、岩手大学大学院連合農学研究科(配属：帯広畜産大学) 修了、博士(農学) 、日本学術振興会特別研究員、カリフォルニア科学アカデミーポスドク、沖縄科学技術大学院大学(OIST)生物多様性・複雑性研究ユニット スタッフサイエンティスト、現在、OIST 環境科学セクション リサーチサポートリーダー(課長)

4) エコノモ　エヴァン

テキサス大学オースティン校 Ph.D.取得(生態学、進化学、および行動学)、ミシガン大学ポスドク、現在、沖縄科学技術大学院大学(OIST)生物多様性・複雑性研究ユニットPI(Professor)

Ⅱ．成果の詳細

Ⅱ－１　外来アリ類の生態的特性に基づく効率的防除法の開発

琉球大学　農学部　亜熱帯農林環境科学科　　辻　瑞樹
九州大学　理学部　生物学科　　立田　晴記

［要旨］
外来アリの防除現場でしばしば生じるアリがベイト剤を摂食しなくなる問題を解決するための研究を行なった。問題の核心はベイトの成分の不適切性ではなく、ベイト設置法が不適切であるためアリがベイトに「飽きる」ことにあるとの仮説を立て研究を行なった。代表的な多女王多巣性の侵略的外来アリであるツヤオオズアリとアシナガキアリにおいて、メンバー個体間の栄養交換によりコロニー全体が生理的に統合されていること、そしてそれぞれの巣は近傍に存在する良質な餌資源採集に特異化する傾向（巣間分業）があることが厳密に証明された。すなわち糖分採集に特化した巣はタンパク主成分のベイトを嫌うのである。この性質を逆利用し、タンパク分と糖分を別々のベイトの形でアリのコロニーに与えることで、いわゆるアリが「ベイトに飽きる」ことを防止し、摂食量を継続的に増加させられることが室内で確かめられた。そして、MIG-seq分析で厳密に遺伝的に均一なスーパーコロニーであることを確認したツヤオオズアリの野外巨大コロニーで、同様の液体ベイト実験を実施し、全栄養を含むベイトよりもタンパクのみ、糖分のみを含む水溶液をベイトとして用いることで摂食低下を防止でき、さらに摂食活動が亢進することを証明した。

１．研究開発目的

サブテーマ１では多巣性アリをコロニー単位で駆除するためベイト(毒餌)の効果的設置法の開発を目指す。アリをコロニー単位で駆除するための現在唯一の実効的方法であるベイト剤（毒入り餌）施用では、野外では想定通りに効果が発揮されないという問題としばしば直面する。この背景に多巣性が関係すると考えられる。空間的に広がったコロニーは毒の効果がコロニー全体に十分行き渡ることを妨げる。また、侵略的外来アリは食性が広く同じコロニーでもしばしば嗜好が変化することも特徴である。本サブテーマではベイト剤の効果が芳しくないのは、アリが餌資源に関してコロニー内巣間分業しており、巣によってはアリの平均的嗜好性を想定したベイトへの嗜好性が低いからではと考えた。そこで巣間分業と巣間の資源再配分の存否を実際の多巣性侵略アリで確認し、この性質を逆手に利用したベイトの効率的配置法を検討する。

２．研究目標

巣間分業をしていると想像される多巣性アリの性質を逆手にとって効果的ベイト剤設置法を提案するのが本サブテーマの目標である。

３．研究開発内容

多巣性のツヤオオズアリとアシナガキアリにおける液体ベイトに対する巣間栄養交換と巣間分業反応に関する予備室内実験

アリ類の防除の際、既存の固形ベイトでは誘引に失敗することがしばしばある。また生息地全体へ面的に散布する顆粒ベイトの多用は環境リスクの懸念もある。そこでこの予備実験では、アリ種の多くに広く好まれることが確認された液体ベイト（糖水溶液、人工タンパク水溶液）を用い、ベイトステーションによるスポット給餌の効果を評価した。液体餌であれば栄養交換でコロニー内に速やかに伝播されると考えられ、採餌圏全体をカバーする散布が必要ないと想像される。室内で２つの巣を管で繋いだ多巣性コロニー(図1.1)を再現し、片方にタンパク餌（7%トリプトン水溶液）、他方に糖分（13%ショ糖水溶液）を30日間与える実験（相補栄養給餌）を行なった。ミネラル（食塩）とビタミンと脂質はDusstor & Simpson(2008)に従い両溶液に等量含ませた。結果、ワーカーの生存率の面でも、ブルード

の生産の面でも相補栄養給餌区のパフォーマンスが最も高かった。これは両巣に全栄養素を含んだ餌を与えたものにブルード生産面では匹敵し、ワーカーの生存率の面ではそれを上回った（図1.2）。これは１巣に与えた液体餌がコロニー全体に再分配されることを単に示唆するだけでなく（染色液で餌が栄養交換され別の巣に伝達されることは確認済）、タンパク分と糖分は別々のベイトとして与えた方がアリがよく摂食し、結果パフォーマンスが上がったことを示唆する。

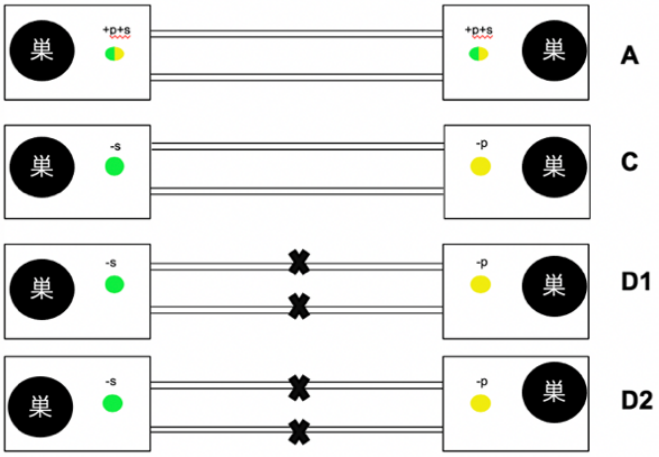

図1.1 資源再配分実験のデザインと処理方法の模式図

処理A（すべての栄養を含む餌を提供する対照区）と処理C（巣連結処理：一方にタンパク質なしの餌、もう一方に炭水化物なしの餌）では、チューブをクリップした給餌時間を除き、2巣は2本のチューブでつながれている。D1（負の対照区1:女王/ワーカーの比率がAとCに等しい）及びD2(負の対照区2:各側面のワーカーの数がA全体とC全体に等しい)では、餌はCと全く同じように供給したが、2巣は常に交流が遮断された状態においた。巣箱は23×16.5×9cmのプラケース、巣は湿度保持した55mmプラシャーレ、チューブは長さ1mでワーカーは通過可能だが女王は不可。A,C,D1には1巣に200マイナーワーカーと1女王、D2には1巣に400マイナーワーカーと1女王を収容。毎日3h給餌し30日間飼育した。

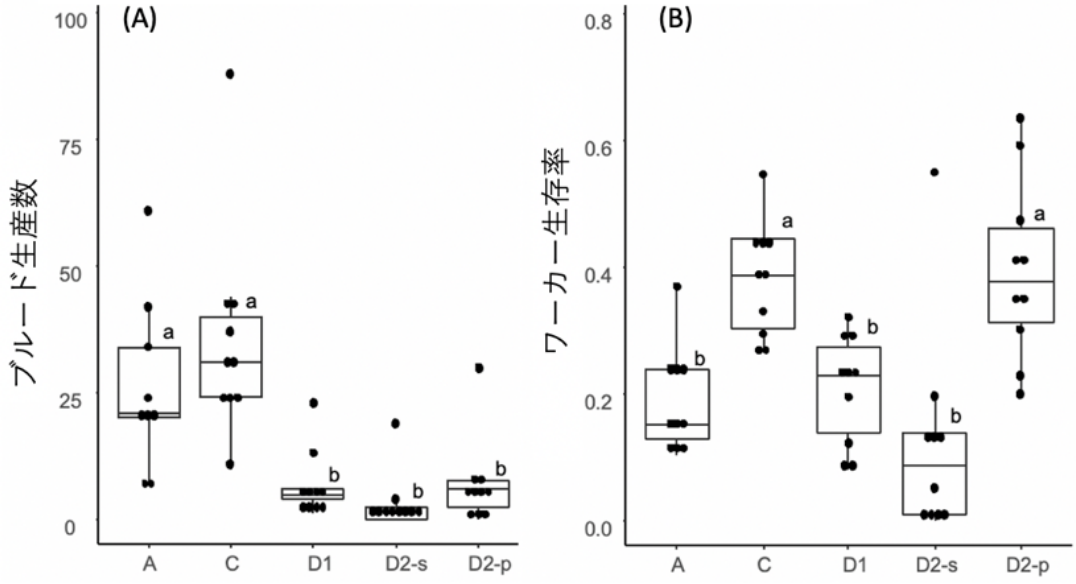

図1.2 資源再配分実験の結果

箱の上辺と下辺は四分位範囲、暗線は中央値を表す。箱から伸びる棒は外れ値を除いた最高値と最低値。A（すべての栄養を与えた正の対照区）、C（巣連結処理）、D1（女王/ワーカー比が等しい負の対照区）、D2-s（ワーカー数が等しい負の対照区の炭水化物なし側巣）、D2-p（ワーカー数が等しい負の

対照区のタンパク質なし側巣）。(A)ブルード生産数：異なる記号（a,b）間で事後比較（ボンフェローニ補正したWilcoxon 符号順位検定）で有意差（P<0.05）あり。(B)ワーカー生存率：異なる記号(a,b)間で事後比較（完全ランダム化ブロック配置ANOVA後のTukey HSD検定 α=0.05）で有意差あり。

そこで、栄養分に偏りのある餌を空間的に離れた場所に設置すると、アリはそれを学習しより効率的に摂取するのではと考えた。つまり多巣性のアリ種では、各巣はそれぞれが得やすい餌資源の採集に学習し特化することで、より効率的に採餌をするのではとする仮説を検証した。アシナガキアリとツヤオオズアリのコロニーを管で繋いだ２つの巣を持つ人工巣に収納する（図1.3）。巣はそれぞれ２の採餌アリーナと管でつながっている。各アリーナには１種類のベイトだけを提示した。それぞれの巣には、タンパク分が得やすい環境（高濃度タンパク溶液と低濃度ショ糖の組み合わせ）と糖分が得やすい環境（低濃度タンパク溶液と高濃度ショ糖の組み合わせ）を提示した。この状態で７日間、毎日３時間だけ餌を提示し、その間に各ベイトを摂食したワーカー数を記録した。

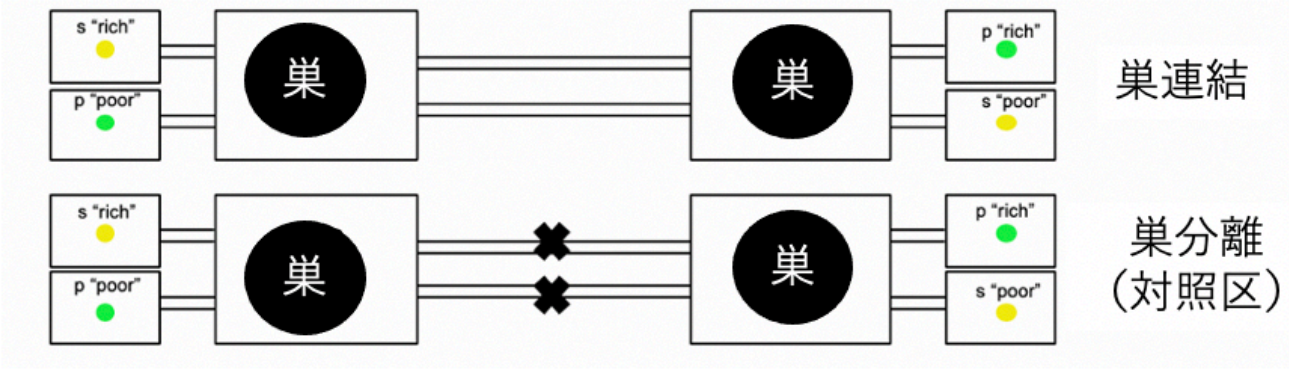

図1.3 ツヤオオズアリの巣レベル分業実験のデザイン概略図
2つの巣の片側には、異なるレベルのタンパク質（緑色）と糖分（黄色）を供給する2つの採餌場が接続されている。資源再分配実験と同様の実験デザインの巣の片側に、200匹のマイナーワーカーと20匹の幼虫を配置。各巣箱は2つの採餌場（17×10×12.5cm）と10cmのプラスチックチューブでつながっている。巣連結処理では、給餌時間以外はチューブが常に開いていた。対照区では常に2巣間のワーカーの交流はない。コロニーを設置した翌日から給餌実験を開始した。一方の巣(Nest1)には、採餌場に「糖分の多い」餌を、もう一方の給餌場には「タンパク質の少ない」餌を与えた。同様に、もう一つの巣(Nest2)には、採餌場に「貧糖質」の餌を、もう一つの採餌場に「富タンパク質」の餌を与えた。各餌は直径40mmの小さなプラ皿に置き与えた。6日間、毎日、3時間、これらの餌を与えた。各採餌場に餌を配置してから1時間後、10分ごとに各餌を摂取するワーカーの数を3時間カウントした。アシナガキアリの実験デザインも基本これに準じた。

実験の結果、２種とも、多巣状態では巣間の繋がりをなくした対照区と比べ、２日目以降は高濃度の餌により多く誘引され摂食することがわかった。すなわち高濃度タンパク溶液と低濃度ショ糖の組み合わせの巣では前者により多くの採餌個体が動員され、低濃度タンパク溶液と高濃度ショ糖の組み合わせの巣では後者により多くの採餌個体が動員されたのである（図1.4, 図1.5）。これはアリが１日目に餌資源情報を学習し２日目以降の行動に反映させることを示唆する。また、多巣状態では採餌に動員されたワーカー数が両種とも増加していた。これらの結果は相補的な栄養素を含んだ液体ベイトを別々に空間的に離れた場所に設置することで、アリの摂食効率が高まる可能性を示唆する。次にこの室内実験結果を野外で詳細に検討する。

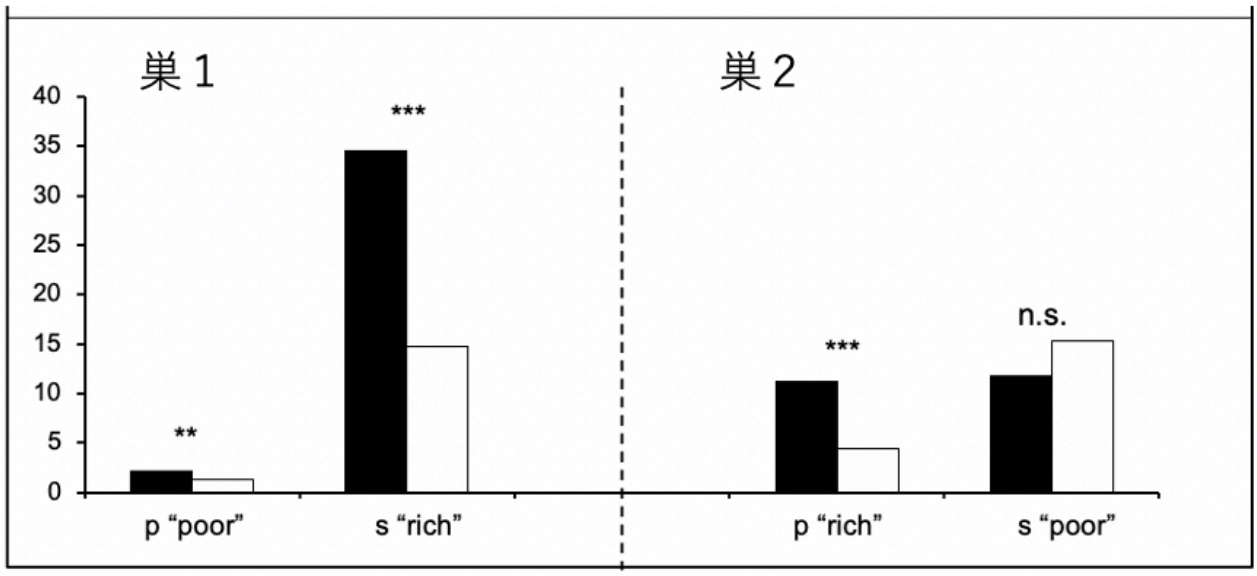

図1.4 ツヤオオズアリの巣レベルの分業実験結果

連結処理（黒）と非連結対照区（白）。巣1には「低タンパク(0.3%トリプトン)」「高糖質(9%ショ糖)」を、巣2には「高タンパク(6%トリプトン)」「低糖質(3%ショ糖)」を与えた。連結処理と対照処理の間の統計的有意性(ns:p>0.05, *:0.05>p>0.01, **:0.01>p>0.001, ***:p<0.001)は尤度比検定によって評価。

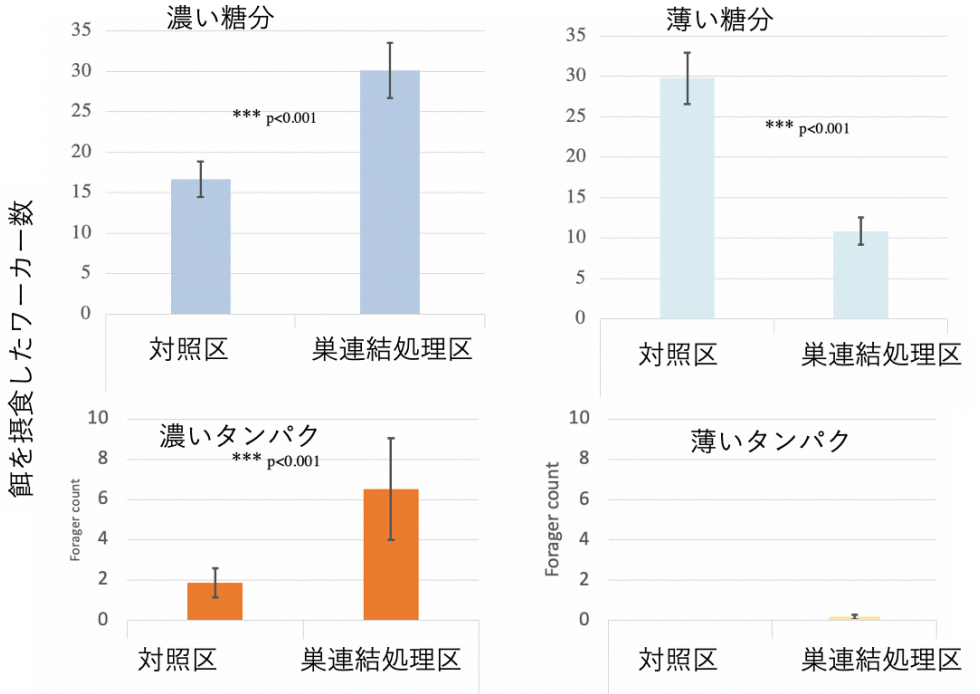

図1.5 アシナガキアリの巣レベルの分業実験結果

濃い糖分（ショ糖20%）、薄い糖分（ショ糖20%）、濃いタンパク（ミートペプトン5%）、薄いタンパク（ミートペプトン1%）水溶液である。統計的検定法については図1.4と同じ。

ツヤオオズアリの集団遺伝構造解析とベイトトラップ実験地の選定

ツヤオオズアリの多巣コロニーを対象に後述のベイトトラップ実験を実施するため、野外個体群の背景遺伝構造を調査した。2019年７月から2020年7月に、沖縄島中南部の吉の浦公園に生息するツヤオオズアリの女王個体を採集した。採集個体を99%エタノール水溶液で保存し、DNeasy Blood and

Tissue Kit（Qiagen, Hilden, Germany）を用いて、すべての脚（6本）からDNAを抽出した。核ゲノムからsingle nucleotide polymorphism（SNP）のジェノタイピングデータを得るためにMIG-seq法を適用した（Suyama & Matsuki 2015）。Inter-simple sequence repeatを標的にしたPCRプライマーを用いてゲノムを増幅し、得られたシーケンスデータは、関連ソフトウェア/スクリプトを用いて品質フィルタリングをしたのち、ソフトウェアパッケージStacks version 1.45を用いたde novo SNP callingでSNPジェノタイプを出力するために使用された。

Arlequin version 3.5.2.2を用いて、Hardy-Weinberg平衡（p <0.05）からの著しい逸脱を示すSNP座を取り除くためにカイ2乗検定を実施した。残りのSNPとプログラムStructure ver. 2.3.4を使用して集団遺伝構造を推定した。

吉の浦公園のツヤオオズアリは主にガジュマル*Ficus malacocarpa*の成木、朽木、土中に営巣している。園内の歩道にはアリの生息地となる雑木林が隣接しており、液状ベイトを設置できる（安定した平地である）ことから、歩道沿いを実験エリアとすることにした。2021年５月に園内歩道沿い１ｍごとに蜂蜜5gを塗布し、30分後にツヤオオズアリが20カ所以上連続的に蜂蜜を占有したエリア（すなわち、19ｍ以上のラインエリア）を3カ所確認した。これらのエリアは最低でも88m離れている（図1.6）。また、ツヤオオズアリは１ｍ離れたところに分巣をつくることから、ワーカーの活動範囲も広くないことが予想される。これらのことから、園内のツヤオオズアリは、ベイトトラップ実験期間中に実験エリアをまたいで干渉しあうことはないと仮定し、それぞれの実験エリア1,2,3のツヤオオズアリを各独立した集団とみなした。

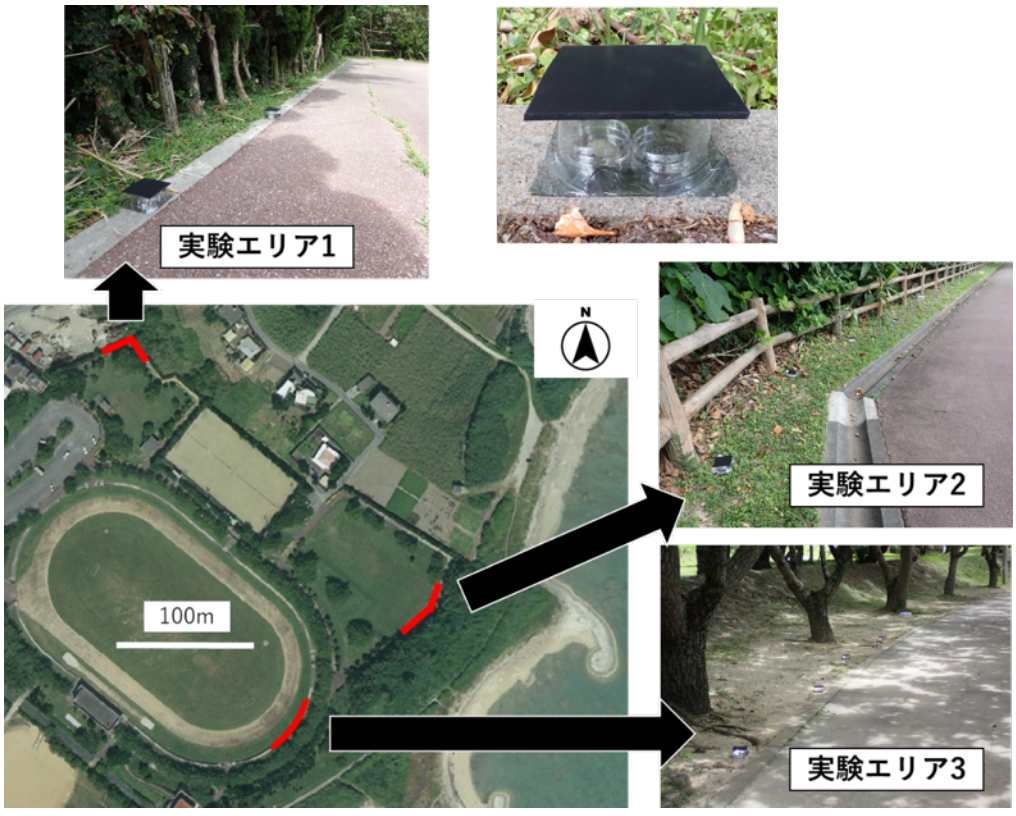

図1.6 吉の浦公園と各実験エリアのマップ
白色ラインは距離スケール、赤色ラインは実験エリアを示す。右上は併設した糖ベイトとタンパクベイト。空中写真は国土地理院より引用。

ベイトトラップ試験による効果的なベイト配置方法の開発

吉の浦公園の各実験エリアに、以下の3通りの配置パターン（餌の種類×並べ方）でベイトを設置した（図1.7）。

交互：糖とタンパクベイトを一つずつ１ｍごとに交互に設置（20カ所に計20コ）
併設：糖とタンパクベイトを一つずつ1ｍごとに併設（20カ所に計40コ）
ミックス：糖とタンパクをミックスしたベイトを1ｍごとに設置（20カ所に計20コ）

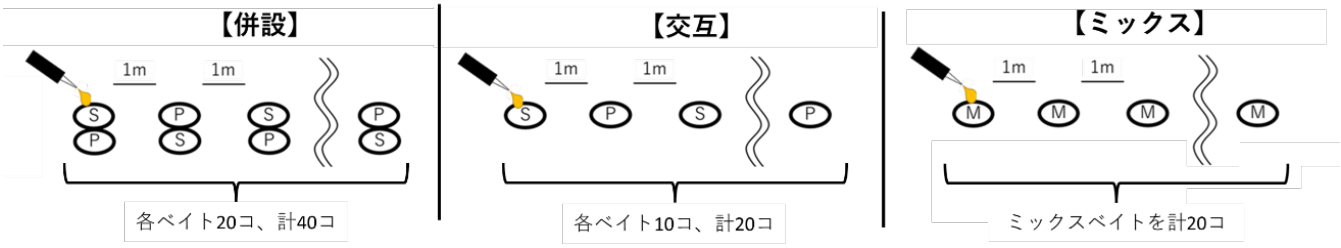

図1.7 ベイト配置パターンの概略図
図中のSは糖ベイト、Pはタンパクベイト、Mはミックスベイト。

糖ベイトは水20mlにフルクトース6ｇを、タンパクベイトは水20mlにミートペプトン3ｇを、ミックスベイトには水20mlにフルクトース6ｇとミートペプトン3ｇを溶かし、それぞれ500µlずつ、直径37mmのペトリ皿に分注した。分注した液体の形状の変化を少なくするため、全てのベイト水溶液にキサンタンガムを1ｇ添加した。さらに、コンタミと水分蒸発を防ぐため、実験の最中を除き、ペトリ皿は常に蓋で密封した。各エリアにセットする際は、アルミホイルの上においたベイトを、アリが出入りできるように加工したカップで覆い、その上にゴム板をおいて固定・遮光した（図1.6）。実験中の自然蒸発量を同時に測定するため、セットしたベイトと同じ種類のベイト（糖とタンパクはそれぞれ3つ、ミックスは5つ）を、遮光メッシュシートで蓋をしたケースに入れて同エリア内に設置した。実験の前後2時間以内にペトリ皿ごとベイトの重量を測定した。各ベイトの減少量から自然蒸発量（平均値）を引いた値を摂食量と定義した。15分おきにベイトに口をつけていた個体の数を目視でカウントした。ベイトをセットしてから2時間カウントをおこない、各ベイトの累計摂食個体数を計算した。ベイトは連続する3日間、11時から2時の間に設置した。その後、4日以上あけてから、ベイトの設置パターンを変更して上記一連の実験をさらに2回繰り返した。ベイトの設置パターンと実験エリアの組み合わせはオールペア法で無作為に決定した。上記の繰り返し工程（計９日間の実験）を、2021年の６月から７月、９月及び11月にそれぞれ１回ずつ行った。摂食個体数及び摂食量と配置パターンの関連性を調査することに加えて、実験開始からの経過日数との関連性も調査するため、全期間のデータをまとめた「プール・データ」と、実験日（一日目、二日目、三日目）別にまとめた「プール・データ」をそれぞれ解析した。

４．結果及び考察

ツヤオオズアリの集団遺伝構造解析とベイトトラップ試験地の選定

吉の浦公園の10巣から計16個体の女王が採集された（図1.8a）。対数尤度Ln P（D）の値からDelta Kが最大値をとるときのクラスター数（*K*）を採用した（図1.8b）。これらのツヤオオズアリの女王らには、明確に分化したクラスター構造は一切見られなかった（図1.8c）。実験エリア近傍で採集された女王個体（サンプルID23, 24）は欠損値が大きかったため解析から除外したが、園内の西端（サンプルID21）から東端（サンプルID30, 31）までほぼ一様のパターンのラン結果が示されたことから、園内広範に生息する集団が、遺伝的境界が不透明な単一の‘スーパーコロニー’である可能性は高いと考えられる。遺伝的背景を同じくするコロニーは、それによる性質（餌の選好性、生活サイクルの違いなど）の影響を排除できると考えられるため、この結果はベイトトラップ実験をおこなう対象として吉の浦公園の集団が相応しいことを意味している。また、アシナガキアリやアルゼンチンアリなど、日本にも定着している侵略的外来アリ類は巨大な‘スーパーコロニー’を形成することで知られている。同じく侵略的外来アリに指定されているツヤオオズアリにも、上記の性質がみられることが本調査で確認された。これらの外来アリ類は定着初期の段階から比較的大規模なコロニーを形成することが予想されるため、これらの防除には複数の/大量のベイト剤の使用が見込まれる。本調査の目的であるベイトトラッ

プ実験による効果的なベイト剤の配置パターンの開発は、侵略的外来アリ類の多くに応用できる可能性があり、開発の重要性を改めて確認することができた。

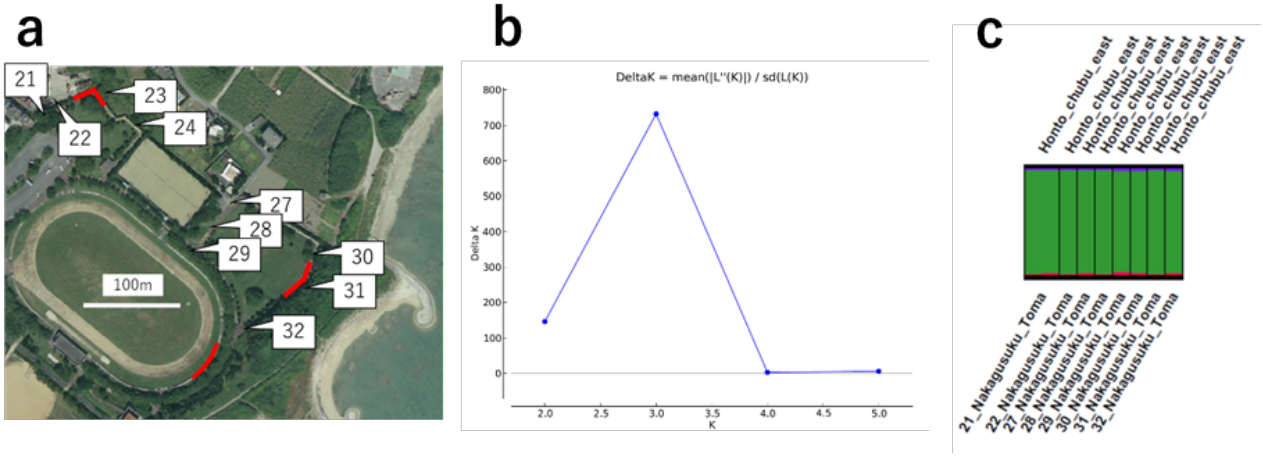

図1.8 吉の浦公園のツヤオオズアリの遺伝構造

a ツヤオオズアリ女王個体の採集地点とサンプルID。b 最適クラスター数（*K*）。c 各女王個体のクラスター配分（*K*=3）。

ベイトトラップ試験による効果的なベイト配置方法の開発

全期間のデータをまとめた結果を図1.9に示す。累計摂食個体数は、ミックスベイト、併設・交互に設置したタンパクベイト及び糖ベイトのすべて対象群間で統計学的に有意な違いがみられた（いずれの組み合わせも$p<0.05$，統計解析ソフトRのglmmTMBパッケージを用いたgeneralized linear mixed models（GLMMs）とmultcompパッケージを使用した事後多重比較検定）。平均累計摂食個体数が最も多かったのは配置パターンがミックス（115.8匹）のときであり、併設のタンパクベイト（62.23匹）、交互のタンパクベイト（49.46匹）、併設の糖ベイト（35.62匹）、交互の糖ベイト（15.55匹）が続いた。摂食量に関しては、併設のタンパクベイトが併設・交互の糖ベイト及びミックスベイトよりも有意に多く（いずれの組み合わせも$p<0.001$，lme4パッケージを用いたGLMMsと事後多重比較検定）、交互のタンパクベイトは交互の糖ベイト及びミックスベイトよりも有意に多かったが（どちらも$p<0.05$）、併設のタンパクベイトと交互のタンパクベイト間では有意差がみられなかった（$p=0.4$）。さらに、併設・交互の糖ベイトとミックスベイトの三者間にも有意差がみられなかった（いずれの組み合わせも$p>0.2$）。平均摂食量が最大になったのは、タンパクベイトを併設（0.081g）したときで、交互のタンパクベイト（0.072g）、ミックスベイト（0.062g）、交互の糖ベイト（0.057g）、併設の糖ベイト（0.055g）の順で多かった。本ベイトトップ実験では、配置パターンの違いが餌種類ごとの摂食量に及ぼす影響が不鮮明であったが、糖ベイトやミックスベイトよりもタンパクベイトをアリが好む（摂食量が多い）ことが一貫して示唆された。アルゼンチンアリを含む多くの害虫は、固形タンパクよりも液状糖類を主に摂食するという（Klotz et al. 2002）。本実験のタンパクベイトに対する嗜好性の高さに、餌の状態（液状or固形）や構成化合物の種類といった要素がどれだけ寄与したのかは検討の余地がある。特に、Klotz et al. （2002）が用いたヒドラメチルノンは「アリの巣コロリ」にも使用されるタンパク構成化合物であり、本実験で使用したミートペプトンとアリ類の摂食効果の違いを比較することが極めて重要であると考えられる。

ミックスベイトは最も多くのアリを誘引していたが、ベイトをとり込んで巣に持ち帰った分量はタンパクベイトよりも少ない。言い換えると、摂食個体数とベイト摂食量は必ずしも比例しない。ベイトトラップを用いた研究のなかには、摂食量の測定まではせずに誘引個体数を基準に評価を行う報告もあるが、本結果が示すように、そのアプローチではベイトの防除効果を過大評価することにつながりかねない。そこで、摂食量に焦点を当てて、実験初日から3日目までの推移をまとめた（図1.10）。実験初

日と二日目および三日目の摂食量をそれぞれ比較したところ、併設のタンパクベイトは初日（0.072g）と比べ二日目（0.081g）と三日目（0.092g）に増加し（それぞれp<0.05, <.01, lme4パッケージを用いたGLMMsと事後多重比較検定）、併設の糖ベイトは初日（0.045g）と比べ三日目（0.063g）に増加した（p<0.05）。一方で、交互の糖ベイトとタンパクベイトには変化が見られなかった。ミックスベイトの摂食量は、初日（0.078g）と比較して、二日目（0.041g）に顕著に減少し（p<0.001）、三日目（0.065g）にはマージナルに有意に減少した（p=0.07）。外来アリ類は甘露排出者昆虫の情報を共有・学習する。上記の傾向は、学習の副産物的効果である可能性があり、餌の獲得経験を積むことでより価値の高い餌場を学習して頻繁に訪れるようになるが、価値が低ければ訪れる個体が減ることを説明するかもしれない。実験初日の摂食量はミックスベイトが最も多く、併設のタンパクベイトと交互のタンパクベイト（0.066g）がこれに続いたが、これらに統計学的有意差はみられなかった（いずれの組み合わせもp>0.3）。二日目の摂食量は併設のタンパクベイトと交互のタンパクベイト（0.081g）が同程度であり、併設・交互の糖ベイト及びミックスベイトよりも多かった（ただし交互の糖ベイトと交互のタンパクベイトはp=0.06，その他はいずれの組み合わせもp<0.05）。また、ミックスベイトは併設・交互の糖ベイトよりも少なくなった（どちらもp<0.05）。三日目の摂食量は併設のタンパクベイトが最大であり、交互のタンパクベイト（0.074g）を除くその他すべてのベイトよりも多かった（いずれの組み合わせもp<0.001）。併設のタンパクベイト以外の組み合わせからは有意差がみられなかった。

以上の結果を総括する。ミックスベイトはベイト設置の初日のみ、併設・交互のタンパクベイトと同程度以上に摂食される。しかし、二日目には最も不人気になる。一方で、併設のタンパクベイトは二日目以降に摂食量が増え、三日目には配置パターン内で顕著に最大摂食量を示すようになる。併設の糖ベイトには、比較的軽度であるが、併設のタンパクベイトにみられた上記の増加傾向が同様にみられることから、単発（単日）でベイト剤を設置する場合にはミックスベイトも効果的であるかもしれないが、継続的に設置する場合には、糖ベイトとタンパクベイトを併設することで、より大きな防除効果を見込める可能性が高いと考えられる。アリにおいて、一般に糖成分は働きアリなどの活動エネルギーとなり、タンパク成分は幼虫や蛹の栄養になる。ミックスベイトは、糖成分とタンパク成分の分離ができず、‘使い分け’に不向きであるか、あるいは、粘性の高さから吸汁することが物理的に困難になっている可能性があげられる（先述の通り、ミックスベイトは混合物濃度が最大）。これらの要因を明らかにすることで、ベイト剤の改良に貢献する洞察を得られることが期待される。

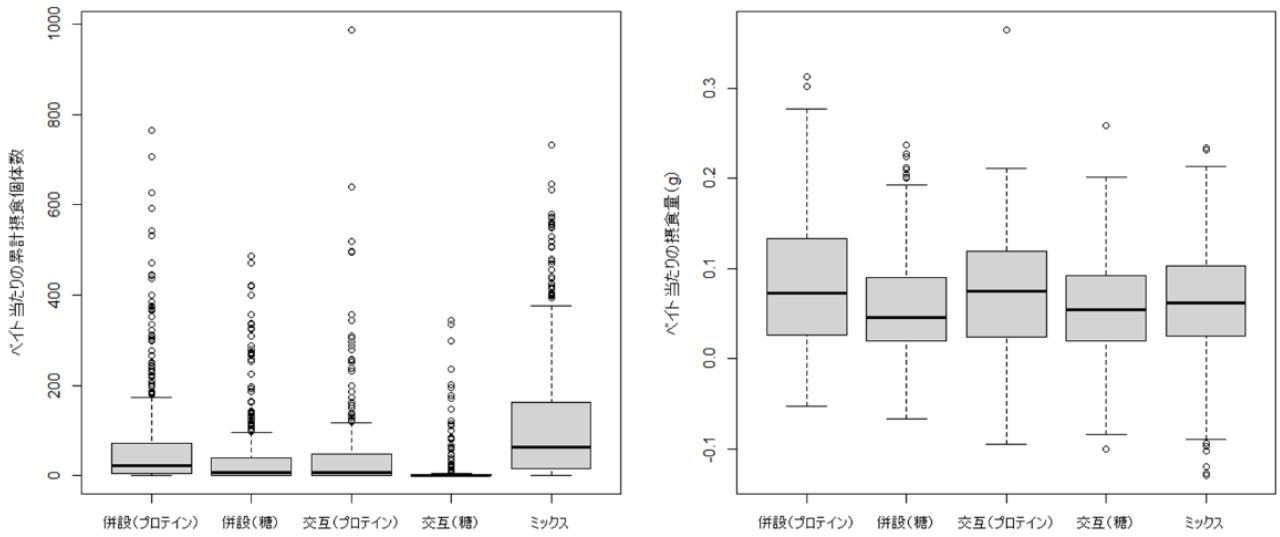

図1.9 ベイト当たりの累計摂食個体数（左）と摂食量（右）
配置パタンごとの結果を箱ひげ図で示す。ボックス内の横線は中央値を表す。

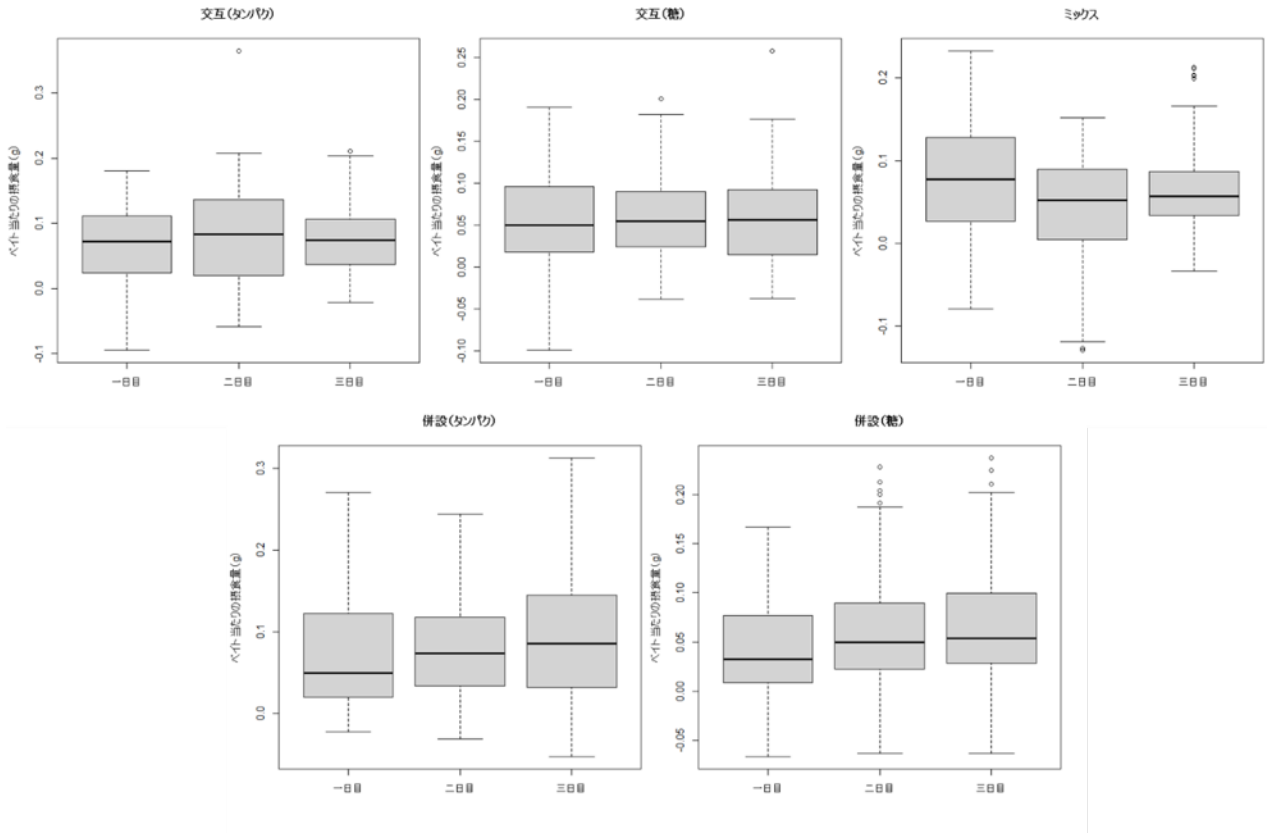

図1.10 実験日別のベイト摂食量の推移

配置パタン別の推移を箱ひげ図で示す。ボックス内の横線は中央値を表す.。* $p<0.05$, ** $p<0.01$, n.s.はnot significant.

５．研究目標の達成状況

巣間分業をしていると想像される多巣性アリの性質を逆手にとって効果的ベイト剤設置法を提案するのが本サブテーマの目標であったが、室内実験で巣間分業が実証され、さらに嗜好性を低下させない液体ベイトとその設置法を開発し野外で実証した（図1.9、10）ので目標をほぼ完全に達成できたと考える。

６．引用文献

1) Suyama Y. & Matsuki Y. 2015. MIG-seq: an effective PCR-based method for genome-wide single-nucleotide polymorphism genotyping using the next-generation sequencing platform. *Scientific Reports* **5**. 16963.

2) Klotz J.H. et al. 2002. Strategies for controlling *Argentine ants* (Hymenoptera: Formicidae) with sprays and baits. *Journal of Agricultural and Urban Entomology* **19(2)**. 85-94.

Ⅱ－２　外来アリ類の寄生生物および生態的変異の調査

新）琉球大学　農学部　亜熱帯農林環境科学科　　辻　瑞樹（令和２年８月～）
旧）京都大学　生存圏研究所　　ヤン　チン　チェン（令和元年５月～令和２年７月）

［要旨］
日本の港湾で捕獲されたヒアリに２種のウイルス感染が確認された。ツヤオオズアリとアシナガキアリでも多種のウイルス感染が確認され、後者ではヒアリ同様に感染による採餌活動の変化が確認された。にもかかわらず、糖分とタンパク分を別個にベイトとして与えることで、摂食量低下を防止できる可能性が確認された。ヒアリを用いたヒアリウイルスの検出には、標準的RT-PCR法でも、網羅的RNA-シーケンス法のどちらも同等な検出力だったが、低濃度感染時や新規ウイルスの検出にはRNA-シーケンス法がはるかに優れていることが確認された。これにより、外来アリが多数のミツバチ病原性ウイルス類に感染していることを発見したが、これは想定外の成果である。

１．研究開発目的
サブテーマ２では近年ヒアリで明らかになったウイルス感染がアリの採餌嗜好性に与える影響が外来アリ類で一般的かを調べ、ウイルス感染によるベイト剤の効率低下を低減するための技術を開発する。

２．研究目標
港湾で発見されるすべてのヒアリサンプルについて、一般にアクセス可能な病原性微生物データベース(ウイルス、細菌、菌類を含む)を構築する。侵略的外来アリ類がウイルスに感染した際にどのような行動反応が出るかを解明する。特に採餌行動と餌嗜好性に焦点を当てる。ヒアリを餌で誘引する方法の改良を行い、野外においてその効率を試験する。

３．研究開発内容
サブテーマ３の研究機関である国立環境研究所に日本の港湾部で2020年までに採集されたヒアリ検体４コロニーを供与されウイルスなどの病原微生物感染の検査をした。既知のSolenopsis invicta virus（SINV）がRNAウイルスであることから、標準的なRT-PCR と網羅的RNA-sequencingを用い検出精度を比較した。

ウイルス感染の行動への影響
これに続き感染が上記で確認されたウイルスのヒアリ行動への影響を研究する予定であったが、COVID-19流行によるヒアリ（日本では野生定着していない）生体を用いた研究が困難になり、かわりに沖縄や小笠原で国内定着している２種の世界的な侵略的外来アリであるアシナガキアリとツヤオオズアリに材料をシフトした。これらで各種ウイルス感染状況を調査し、アシナガキアリでは感染が確認されたTR-44839 virusへの感染の採餌行動と餌嗜好性への影響を精査する実験を行なった。

行動変容への対策
多種ウイルスへの感染が確認された上記２種でタンパク水溶液および糖水溶液に対する嗜好性の巣ごとコロニーごとの変異を以下に詳述する野外調査した。沖縄島の5地点で餌嗜好性調査・サンプリングを行なった。北部の調査地は今帰仁村の「今帰仁城址」と名護市の「がじゅまる緑地」の２地点、中部の調査地は、西原町の「琉球大学千原キャンパス」と中城村の「吉の浦公園」の２地点、南部の調査地は南城市の「大里城址」の１地点とした（図2.1）。調査範囲は直径100～700m円内とした。調査およびサンプリングは2021年9月9日～11月2日の10:00～15:30の晴れている時に行なった（表2.1）。調査時に

は温度と湿度も同時に記録した。雨上がりでの調査となった今帰仁城址では、雨が上がってから30分程度経過しアリが十分に活動していることを確認後、調査を実施した。アリの調査と採集は同日に行なった。セイヨウミツバチの採集も基本的にはアリと同時に実施したが、琉球大学千原キャンパスではアリの調査と採集が9月9日、セイヨウミツバチの採集が10月14日となった。これは、9月は酷暑によりセイヨウミツバチの訪花活動が鈍化していたためである。

図2.1 調査地と調査を行ったアリ種

表2.1 調査及び採集を実施した日

調査地名	市町村	アリ種名	餌嗜好性調査	アリ採集	ミツバチ採集
琉球大学千原キャンパス	西原町	アシナガキアリ	2021.9.9	2021.9.9	2021.10.14
	西原町	アシジロヒラフシアリ	2021.9.9	2021.9.9	
今帰仁城址	今帰仁村	アシナガキアリ	2021.10.13	2021.10.13	2021.10.13
	今帰仁村	アシジロヒラフシアリ	2021.10.13	2021.10.13	
がじゅまる緑地	名護市	ツヤオオズアリ	2021.10.14	2021.10.14	2021.10.13
	名護市	アシナガキアリ	2021.10.14	2021.10.14	
	名護市	ヒゲナガアメイロアリ	2021.10.14	2021.10.14	
吉の浦公園	中城村	ツヤオオズアリ	2021.10.20	2021.10.20	2021.10.20
	中城村	アシナガキアリ	2021.11.1	2021.11.1	
大里城址	南城市	アシジロヒラフシアリ	2021.10.20	2021.10.20	2021.10.20
	南城市	アシナガキアリ	2021.11.2	2021.11.2	

採餌嗜好性調査

人工餌を巣穴または行列の近くに設置し、そこに来訪したアリの数を記録・比較することでアリの採餌嗜好性を評価した。人工餌はタンパク質性のものとして37.5%ミートペプトン水溶液、糖質性のものとしてフルクトース37.5%水溶液の2種類を用いた。各餌水溶液は直径90mmのFILTER PAPER（ADVANTEC）の中央に1mL滴下し、染みこませた（図2.2）。ろ紙は風で吹き飛ばされないよう、両端を2か所クリップで挟んで重石とした。餌は2種類を対にして1～10cm程度の間隔で隣接して設置し、各地点の各アリ種に対し5対ずつ設置した。対をなす2種類の餌の配置（左右/上下）はランダマイズした。夏季はアリが日向で採餌しないことから、各餌対の設置場所としてできるだけ日陰を選択した。また、アリが餌と遭遇しやすいよう、各餌対はアリの巣穴や行列の付近に設置した。これらの理由から、餌対間の設置間隔は均等にはならず、約20cm～数m間隔となった（図2.3）。餌を設置してから30分後に、コンパクトデジタルカメラを用い、餌に来訪しているアリの画像を撮影した。研究室にて画像中のアリの

数をカウント・集計した。

図2.2 餌対（糖質餌とタンパク餌）

図2.3 餌嗜好性調査の様子

ウイルス感染調査用サンプル採集と保管

ウイルス感染調査用のアリおよびセイヨウミツバチの採集は、アリの餌嗜好性調査の直後または後日に行なった（表2.１）。採集したアリおよびミツバチは保冷剤を入れたクーラーボックスに入れ、生きたまま研究室に持ち帰った。持ち帰ったサンプルは種ごとに分け、冷蔵庫低温麻酔をかけた後、生きた状態で2mLスクリューキャップチューブに入れたRNAlater（Thermo Fisher Scientific）に浸漬した。アリの場合は複数個体をまとめて１つのスクリューキャップチューブに入れたが、その際、アリの体積がRNAlater量の1/5を超えないよう、適宜チューブを分けた。アリはそのまま-80℃で冷凍保管した。

統計解析

アリ種による餌嗜好性の違いはGLMMを用いて解析した。従属変数を餌嗜好性（cbind（タンパク質餌来訪数，糖質餌来訪数））、独立変数をアリ種、ランダム効果を調査ID、リンク関数をlogit、誤差構造を二項分布としたモデルを用いた。独立変数の有意性は、フルモデルとランダム効果のみを含むモデルについて尤度比検定を行なうことで検定した。

5地点で調査を行なったアシナガキアリに注目し、調査地間で餌嗜好性が異なるかを調べるため、従属変数を餌嗜好性（cbind（タンパク質餌来訪数，糖質餌来訪数））、独立変数を調査地、リンク関数をlogit、誤差構造を二項分布としたGLMを用いた解析を行なった。従属変数の有意性は、フルモデルと切片のみを含むモデルについて尤度比検定を行なうことで検定した。

４．結果及び考察

外来アリ集団のウイルス感染状況

PCRベースのスクリーニング法でもRNAシーケンスのデータから検出されたのは2つのヒアリウイルスだけで（Solenopsis invicta ウイルス-1とSolenopsis invicta ウイルス-2）結果は一致した。検出方法は侵入したヒアリ類サンプルからこれらヒアリに感染することが既知のウイルスを検出するという点においては、どれも一貫して信頼性が高いことを示唆している。（表2.2）

しかし、驚くべきことに、3つのサンプルのRNAシーケンスの結果から複数のミツバチウイルスに類似した配列が検出された。より多くのゲノムをカバーしたイルミナプラットフォームを介した再シーケンスにより、カクゴウイルス（KV）、慢性蜂麻痺ウイルス（CBPV）、および急性蜂麻痺ウイルス（ABPV）の感染が1つ以上のヒアリ類サンプルから確認された。興味深いことに、RT-PCR法では、何度試してもこれらミツバチウイルス類のシグナルは検出されず、このような検出結果の不一致は、既存のプライマーによるアリゲノムの非特異的な増幅、および（もしくは）これらミツバチウイルス類の低ウイルス濃度に起因する可能性が考えられる。ヒアリ類サンプルからミツバチウイルスが検出されたことは、ヒアリ侵入に伴うウイルス流入により日本国内のミツバチ群集（および他の花粉媒介生物）の健康が脅威に晒されている可能性を示している。国外ではミツバチウイルスによる経済的損失が報告されており、こ

れらのウイルスが国内へ侵入しているかどうかの監視は応用上極めて重要である。これらのデータを合わせ見ると、ヒアリサンプルからヒアリ病原性微生物とミツバチ病原性微生物の両方を検出するためには、RNAシーケンス法が好ましい手段であると言える（表2.2）。

マレーシア、台湾、沖縄の3つの地域集団から収集したアシナガキアリのサンプルに対してRNA-seqを実施し、3つのウイルスファミリーに属する合計8つの新規RNAウイルスを同定することに成功した。マレーシアではすべてのウイルスが存在する一方、沖縄では2つのウイルスしか発見されなかった。このうち、Anoplolepis gracilipes virus 1とAnoplolepis gracilipes virus 2については、ゲノム解析が完了し、Archives of Virology誌に発表したので配列は検索可能である。この2つのウイルスは台湾とマレーシアに生息し（野外での有病率は7〜15%）、沖縄には生息していないことが確認された。現在、他のウイルスのゲノム解析が進行中であり、今後の論文発表が期待される。日本の港湾地域で捕獲されたヒアリからミツバチウイルスが検出されたことから、沖縄のYCAにも同様の調査の手を広げ、4種類のミツバチウイルス（黒色女王細胞ウイルス（BQCV）、慢性蜂麻痺ウイルス（CBPV）、変形翼ウイルス（DWV）、カシミール蜂ウイルス（KBV））の存在を突き止めた。しかし、これらのウイルスの感染率は低かった（3-7%程度）（表2.2）。

表2.2 外来アリ集団のウイルス感染状況

	ヒアリ	**Taxonomy placement**	**感染率、採集場所等**
	SINV-1	*Dicistroviridae*	*2019年6月17日品川埠頭採集サンプル*
	Kakugo virus	*Iflaviridae*	*2019年9月13日 本牧埠頭採集サンプル*
	Chronic bee paralysis virus	unclassified	*2017年6月13日尼崎採集サンプル*
	アカカミアリ		
	SINV-2	*Polycipiviridae*	*2019年10月9日品川埠頭採集サンプル*
	Acute bee paralysis virus	*Dicistroviridae*	*2019年6月17日品川埠頭採集サンプル*
	ツヤオオズアリ (沖縄 *N*=6)		
	Pheidole megacephala virus 1	unclassified	17%
	Pheidole megacephala virus 2	*Iflaviridae*	*67%*
	Pheidole megacephala virus 3	*Iflaviridae*	*50%*
	Pheidole megacephala virus 4	*Iflaviridae*	*100%*
	Pheidole megacephala virus 5	*Polycipiviridae*	17%
	Pheidole megacephala virus 6	*Polycipiviridae*	17%
	Pheidole megacephala virus 7	*Polycipiviridae*	*33%*
	Pheidole megacephala virus 8	*Picorna-like virus*	*33%*
	Pheidole megacephala virus 9	*Picorna-like virus*	*17%*
	アシナガキアリ(沖縄/マレーシア/台湾)		
	Anoplolepis gracilipes virus 1	*Dicistroviridae*	0% @沖縄; 7% @ 台湾 18% @ マレーシア*
	Anoplolepis gracilipes virus 2	*Dicistroviridae*	0% @ 沖縄; 7% @ 台湾; 15% @ マレーシア *
	Anoplolepis gracilipes virus 3	*Polycipiviridae*	0% @沖縄 7% @ 台湾; 15% @ マレーシア
	Anoplolepis gracilipes virus 4	*Dicistroviridae*	40% @沖縄; 44% @ 台湾; 88% @ マレーシア
	Anoplolepis gracilipes virus 5	*Dicistroviridae*	
	Anoplolepis gracilipes virus 6	*Iflaviridae*	
	Anoplolepis gracilipes virus 7	*Iflaviridae*	
	Anoplolepis gracilipes virus 8	*Riboviria*	
	TR44839 (Genome not fully characterized yet)	*Dicistroviridae*	31-100% @マレーシア**
	Deformed wing virus	*Iflaviridae*	3.4% @沖縄; 0% @ 台湾 0% @ マレーシア ***
以下の印付きの情報は既発表でデータは公開されている。			
*	Lee CC, Lin CY, Hsu HW, Yang CCS. 2020. Archives of Virology, 165, 2715-2719		
**	Hsu HW, Chiu MC, Lee CC, Lee CY, Yang CCS. 2019. Insects, 10, 436		
***	Lin CY, Lee CC, Nai YS, Hsu HW, Lee CY, Tsuji K, Yang CCS. 2020. Viruses, 12,1309.		

ウイルス感染の行動への影響

室内飼育の半分のコロニーにTR-44839 virusに感染したアシナガキアリをホモゲナイズしたものを混ぜたショ糖溶液を摂食させウイルスに感染させた。感染したコロニーに糖分のみを含んだ餌とタンパク分を含んだ餌を与え10分ごとに２時間それぞれの餌を摂食中のアリをカウントした。感染したコロニーが一貫して採餌活動が低いのがわかる（図2.4）。

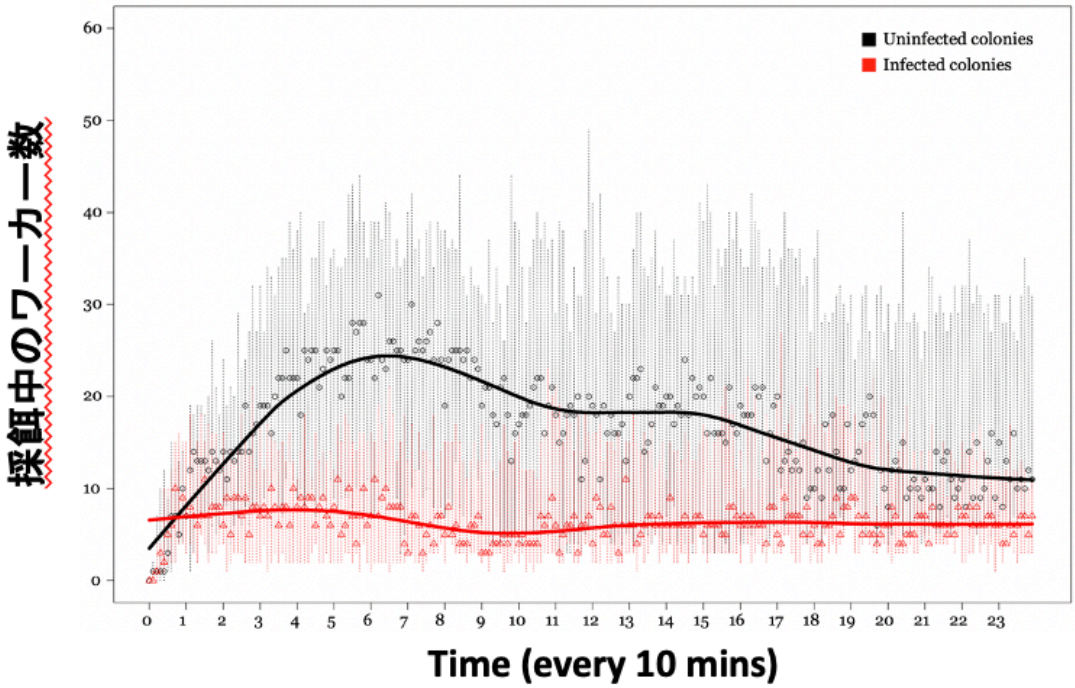

図2.4 アシナガキアリのコロニーにおける採餌したワーカー数の平均とSD
赤がウイルス感染コロニー、黒が非感染コロニー

また、台湾では乾期と雨季共に感染したコロニーの方が一貫して糖分餌への嗜好性が高いのがわかった（図2.5）。

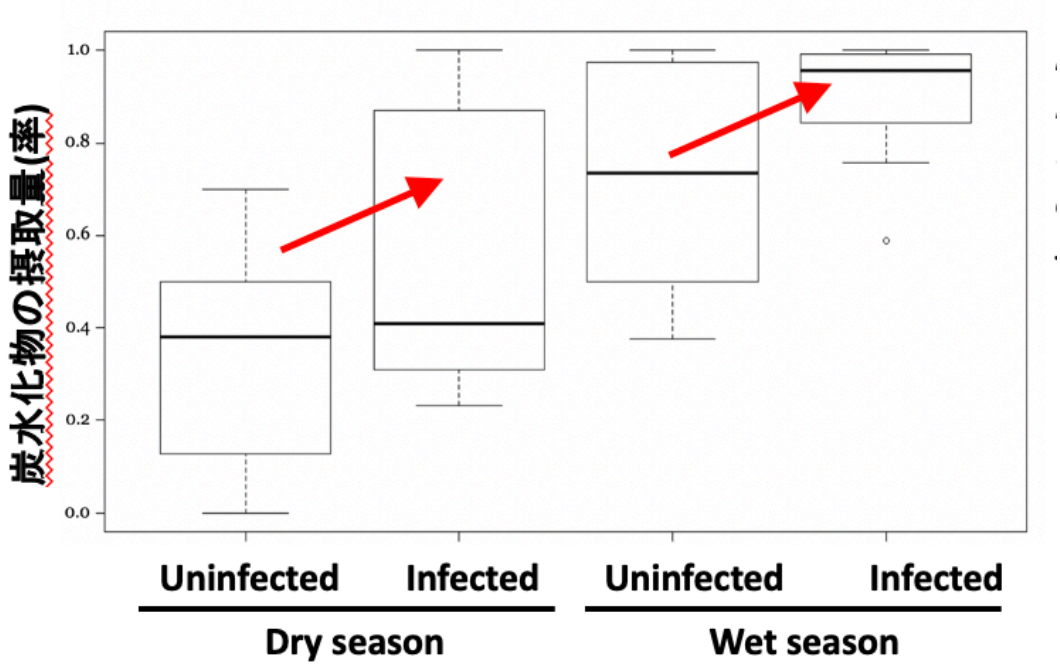

図2.5 ショ糖水溶液とミートペプトン水溶液をそれぞれ等量与えた時のコロニーの摂取量

野外での外来アリの餌嗜好性

5地点で4種のアリ（外来種：アシナガキアリ*Anoplolepis gracilipes* ・ツヤオオズアリ*Pheidole megacephala* ・ヒゲナガアメイロアリ*Paratrechina longicornis* 、在来種：アシジロヒラフシアリ*Technomyrmex brunneus*（外来種との見方もあり議論が分かれる））の嗜好性調査結果を得た（表2.3）。餌嗜好性はアリ種間で有意に異なった（$p=0.039$, 図2.6）。また、アシナガキアリ（5地点）は、調査地により餌嗜好性が有意に異なった（$p<0.001$, 図2.6a-e）。名護市、中城村、西原町ではタンパク質を好む傾向が強かったが、今帰仁村と南城市ではより糖質を好む傾向が強かった。一方、アシジロヒラフシアリ（3地点）では、調査地間で目立った餌嗜好性の違いは無かったが、同一地点内の５つの餌対間で異なる餌嗜好性が示される傾向があり、特に西原町の調査地において顕著であった（図2.6f-h）。ツヤオオズアリ（2地点）においても、名護市の調査地において、同一地点内の５つの餌対間で異なる餌嗜好性が示される結果となった（図2.6i, j）。ヒゲナガアメイロアリ（1地点）は、概ね糖質餌への嗜好性を示した（図2.6k）。

表2.3 餌嗜好性調査を実施した調査地とアリ種

Common name	学名	今帰仁村	名護市	西原町	中城村	南城市
ヒゲナガアメイロアリ	*Paratrechina longicornis*		○			
アシナガキアリ	*Anoplolepis gracilipes*	○	○	○	○	○
ツヤオオズアリ	*Pheidole megacephala*		○		○	
アシジロヒラフシアリ	*Technomyrmex brunneus*	○		○		○

野外における餌嗜好性調査の結果、アシナガキアリでは調査地によって餌嗜好性が異なることが分かった。アシナガキアリの餌嗜好性に影響した要因については本報告段階では未解明であるが、DWVウイルス感染が関連しているか否か、今後のウイルス感染調査の結果が待たれる。その他の可能性として、アシナガキアリの餌嗜好性は生息環境の自然度と何らかの関連性があるかもしれない。アシナガキアリが糖質をより好んだ今帰仁村（北部）と南城市（南部）での調査地はいずれも山間部の公園であった一方、タンパク質をより好んだ名護市（北部）、中城村（中部）、西原町（中部）での調査地はいずれも住宅街の緑地であった。生息環境の違いが利用可能な餌の状況の違い（タンパク餌と糖質餌のいずれがより豊富/不足なのか）を介して餌嗜好性に影響した可能性があるが、この点の解明は今後の課題として残された。

また、野外における餌嗜好性調査により、ツヤオオズアリにおいて、同一地点内で異なる餌嗜好性が示される結果が得られた。調査時に設置した５対の餌対は、いずれも互いに行列で繋がっている巣穴または行列そのものの付近に設置した。アリのコロニーには複数の巣穴が行列で繋がって形成されているものがある。行列でつながったそれぞれの巣はサブコロニーと呼ばれる。サブコロニーは互いに不足した栄養分を交換し合ったり、集める餌の種類を分業（タンパク質性餌集めに特化する、糖質性餌集めに特化する等）してコロニー全体における採餌効率を高めるなど、有機的に繋がってコロニー全体を支えていると考えられている（コロニーの生理的統合仮説）。今回のツヤオオズアリの結果は、サブコロニー間で餌の嗜好性が異なる可能性を示唆しており、生理的統合仮説と合致している点が興味深い。

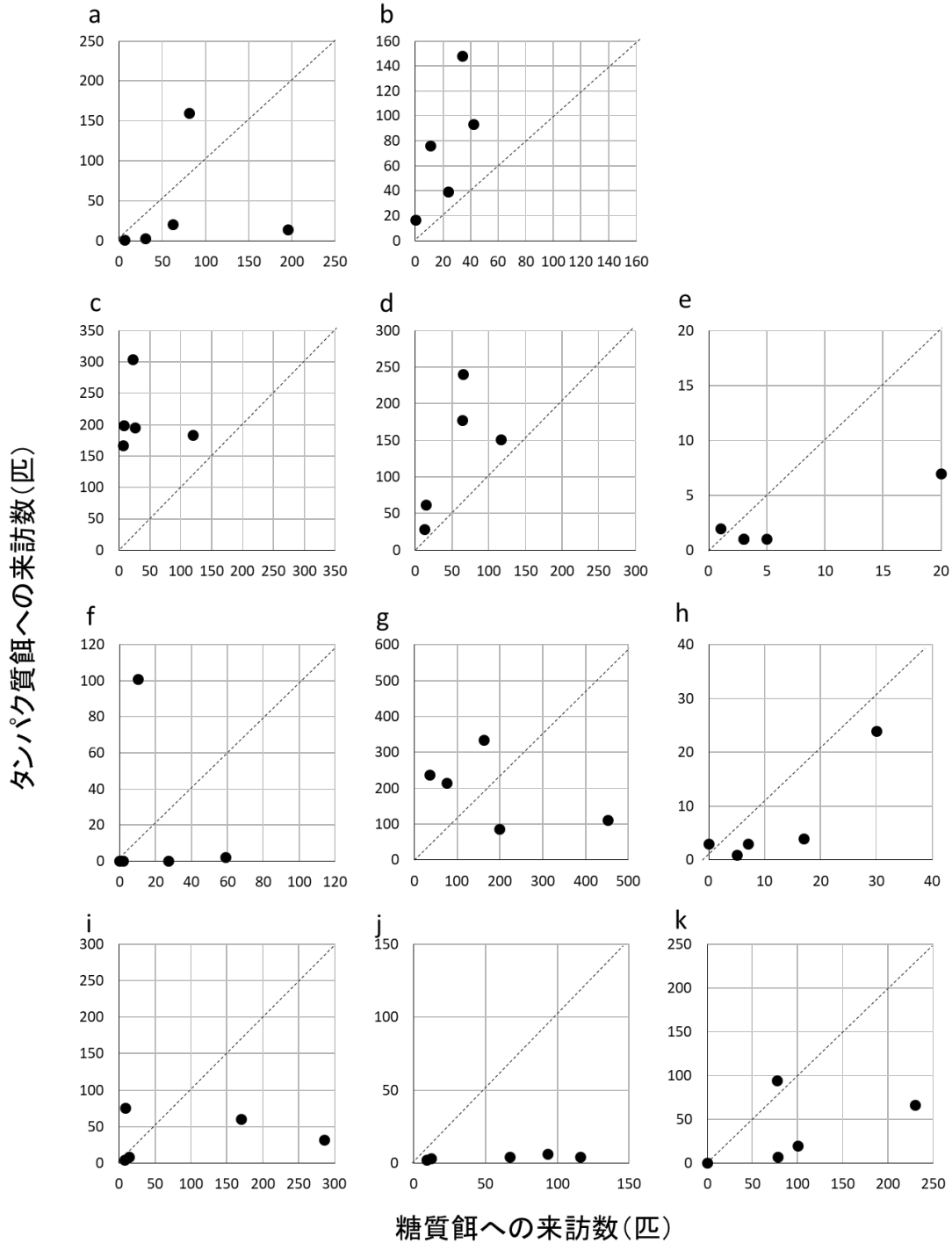

図2.6 アリの餌嗜好性

アシナガキアリ　a. 今帰仁村　b. 名護市　c. 西原町　d. 中城村　e. 南城市

アシジロヒラフシアリ　f.今帰仁村　g.西原町　h.南城市
ツヤオオズアリ　i.名護市　j.中城村
ヒゲナガアメイロアリ　k.名護市
点線はy=x.

５．研究目標の達成状況

「港湾で発見されるすべてのヒアリサンプルについて、一般にアクセス可能な病原性微生物データベース(ウイルス、細菌、菌類を含む)を構築する」という目標に関しては、日本の港湾で捕獲されたヒアリで２種のウイルス感染を、ツヤオオズアリとアシナガキアリでも多種のウイルス感染が確認し、公開データベースで一部登録され残りも登録を進めている（表２．２）。この目標は達成されつつある。「侵略的外来アリ類がウイルスに感染した際にどのような行動反応が出るかを解明する。特に採餌行動と餌嗜好性に焦点を当てる」という目標に対しては、ツヤオオズアリとアシナガキアリでも多種のウイルス感染が確認され、後者ではヒアリ同様に感染による採餌活動の変化が確認されたゆえ、目標は達成されたと考える。「ヒアリを餌で誘引する方法の改良を行い、野外においてその効率を試験する」という目標に関しては、コロナ禍で台湾でのヒアリを用いた研究が不可能になったため、ヒアリでは目標を達成できなかったが、日本で定着している多巣性の外来アリ類を用いた結果、ほぼ例外なく同種であっても糖分を好む巣とタンパクを好む巣に野外で別れることが明らかにされた。これはサブテーマ１の開発した糖分とタンパク分を別々のベイトにして与える方法が、外来アリ一般をよく誘引する有効な方法であること裏付ける成果で目標はほぼ達成できたと考える。サブテーマ４ではこの方法が実際の防除に社会実装された。また、外来アリが多数のミツバチ病原性ウイルス類に感染していることを発見したが、これは想定外の成果である。全体として目標は概ね達成されたと考える。

６．引用文献

1) Hsu,H.W., Chiu, M.C., Shih, C.J., Matsuura, K.& Yang,C.C.S.(2019) Apoptosis as a primary defense mechanism in response to viral infection in invasive fire ant *Solenopsis invicta*. Virology, 531:255-259. (IF: 2.657)
2) Hsu,H.W., Chiu, M.C., Lee, C.C., Lee, C.Y.& Yang,C.C.S. (2019) The association between virus prevalence and intercolonial aggression levels in the yellow crazy ant *Anoplolepis gracilipes* (Jerdon). Insects, 10:436.(IF：2.139)
3) Lin,C.Y., Lee, C.C.,Nai,Y.S., Hsu,H.W., Lee,C.Y., Tsuji,K., Yang C.C.S.(2020) Deformed wing virus in two widespread invasive ants: geographical distribution, prevalence, and phylogeny. Viruses 2020, 12(11), 1309;

Ⅱ－３　外来アリ類の早期発見技術および化学的防除技術の開発

国立研究開発法人国立環境研究所
生物多様性領域　　生態リスク評価・対策研究室　　五箇　公一
坂本　洋典

［要旨］
外来アリの早期発見技術の開発のため、ヒアリについて、簡易な遺伝子増幅手法であるLAMP法を用いた検出キット（LAMPキット）を設計し、民間企業による実運用テストおよびそれらの結果に基づく課題抽出・改良を実施した。また、他の特定外来生物に指定された外来アリについてもLAMPキットを設計した。さらに、特定外来生物一次スクリーニング用として、複数の外来アリのプライマーを試薬に加え、外来アリを一括検出可能なマルチプレックスLAMPキットを開発した。
化学的防除法の開発のため、ヒアリ働きアリを用いた急性経皮毒性試験法、またトビイロシワアリ人工コロニーを用いたコロニーレベルのベイト式毒性試験法を確立した。これらの試験に基づき、現行剤であるフィプロニルがヒアリに対してもっとも防除効果が高いと結論された。また、コロニー抑制にはIGR剤であるピリプロキシフェンも実用性が高いと評価された。
検疫防除手法として、実物コンテナを用いたピレスロイド・エアロゾル剤によるコンテナ内殺アリ試験を実施した。その結果、有効なピレスロイド剤有効成分組成、含量、および散布量が絞り込まれた。

１．　研究開発目的

近年、世界的に外来生物の侵入による生態系への被害が深刻さを増しているとされる。なかでも、昆虫のアリ類は、1）体サイズが微小かつ形態的特徴を用いた識別が困難なために検疫での検出が難しい、さらに、2）地下に巨大な巣を構築し、食性の幅も広いことから、目に見えない形で分散が進行し、防除困難となることから、最も警戒すべき外来生物の種類のひとつとされる。事実、世界では、ヒアリをはじめ、アカカミアリやアルゼンチンアリなどの外来アリ類が侵入初期段階での検出および防除に失敗したために、膨大な被害と防除コストが生じている。とりわけ、2002年以降、我が国の輸入額第一位の国である中国においては、2021年時点でヒアリの侵入面積が約40万haにまで広がっており、年間で約1,000億円もの経済被害が生じる事態に至っている。その中国を主要な貿易相手国とする我が国では、ヒアリの侵入事例が2017年以降、現在までに18都道府県84事例まで増加を続け、さらには東京港・名古屋港・大阪港といった主要な国際港湾で大型野生巣が発見されるなど、定着寸前もしくは定着が進行中と言える深刻な局面を迎えている。よって、ヒアリに代表される外来アリ類に対する早期発見および有効な防除手法の確立は喫緊の課題とされる。
以上の背景を踏まえ、本サブテーマでは、これら外来アリ類を非専門家でも検出できる技術を開発するとともに、侵入前のステージ、すなわち輸送されてきたコンテナ内にいる外来アリを確実に駆除する手法、および侵入後のステージ、すなわち野外において外来アリの集団あるいは巣が確認された場合の緊急防除技術を確立することを目的として、以下の研究を実施した。

1）外来アリを対象としたLAMPキット開発
2）ヒアリ用LAMPキットのユーティリティ確認
3）コンテナ内に侵入したアリに対するピレスロイド・エアロゾル剤の効力測定
4）アリを対象とした薬剤による急性経皮毒性試験法の確立
5）アリのコロニーレベルのベイト式毒性試験評価法の確立

２．研究目標

外来アリ類の侵入後防除に際し、適切な緊急防除用殺虫剤を選定し、施用法を確定する。外来アリ類の

定着後防除に際し、適切なコロニー防除用薬剤を選定し、施用法を確立し、マニュアル化する。各種外来アリについて、LAMPキットのマニュアルを確定し、試験機関および教育機関などへの試験配布を行い、実装する。

３．研究開発内容

外来アリを対象としたLAMPキット開発：

特定外来生物に指定されているヒアリ、アカカミアリ、アルゼンチンアリ、コカミアリ、そしてハヤトゲフシアリの5種につき、個別検出用のLAMPキットを作成した。ミトコンドリア*cytochrome c oxidase subunit I*（COI）遺伝子の種特異的な塩基配列をターゲットにプライマーセットを設計した。特異的な塩基配列の増幅は、反応副産物であるピロリン酸マグネシウムの増加による反応液の濁りを光学濃度として測定することにより確認した。これら5種を一括検出するために、各種を対象としたプライマーセットを混合したマルチプレックスLAMPキットを作成した。

ヒアリ用LAMPキットのユーティリティ確認：

LAMPキットの社会実装化に向けて、課題を抽出し、実用性を向上させるためにヒアリ用LAMPキットを全国の試験研究機関に配布して試験を依頼し、再現性を確認した。また講習会での実技指導を積極的に行い、LAMPキットの改善すべき点について聞き取り調査を行った。さらに、全国に加盟店をもつ害虫駆除会社と連携し、実際にアリの収集および試験を依頼し、再現性の確認および改善点の抽出を実施した。

コンテナ内に侵入したアリに対するピレスロイド・エアロゾル剤の効力測定：

外来アリの侵入前防除において、コンテナ内の外来アリを含む外来昆虫類を駆除する上で、簡易かつ安全性の高い即効的殺虫処理が有効と考えられる。我々は市販されている家庭用殺虫剤に着目し、その殺虫成分によるコンテナ内の殺アリ効果を確認することを目的とした。

40 ft^3 コンテナ(幅 2.3 m×高さ 2.4 m× 長さ 12 m)コンテナ内に貨物を模した構造物(幅2.05m×高さ1.9m×長さ11.9m)を作製した。アルゼンチンアリのワーカー5匹を入れたポリカップを搬入口から奥行き方向に 1, 3, 6, 9, 12 m の 床面と最奥の12mの位置には床面から1m, 2mの高さにも同様に設置した。また, コンテナ中央(位置 C)と5cmの間隔を設けた左側面の壁際(位置 L)と20cmの間隔を設けた右側面の壁際(位置 R)にも設置した(図3.1)。

以下の2種類の配合のエタノール溶液を準備した：①トランスフルトリン2%+プラレトリン0.3%含有、②トランスフルトリン2%含有。コンテナ内に①もしくは②をそれぞれ1mL1回噴射、もしくは①もそくは②を0.2mL5回噴射するという4パタンの散布試験を行った。散布後2時間放置し、プラケースを回収して、中のアリの死亡数を計測した。それぞれの試験は3回繰り返しを行った。

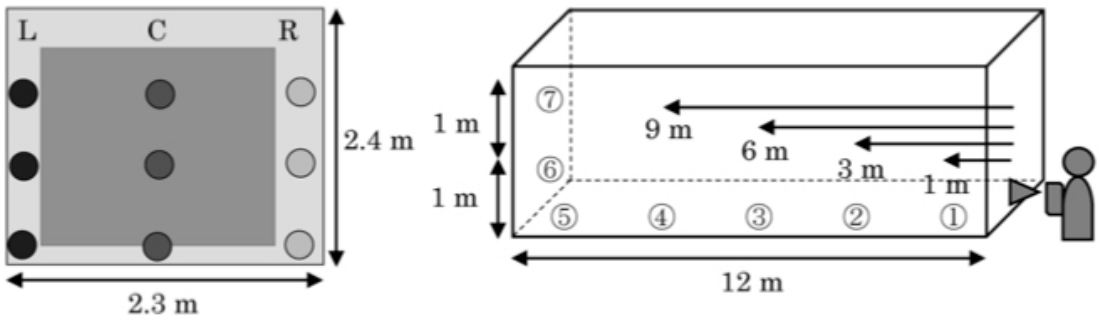

図 3.1 殺虫試験用 40 ft3 コンテナとアルゼンチンアリの配置

左図はコンテナ正面から見た,供試虫の位置関係. L 左側,C 中央,R 右側.右図の1～7も供試虫の配置場所を示す.

アリを対象とした薬剤による急性経皮毒性試験法の確立：

殺虫剤のヒアリに対する殺虫効果を定量比較するために、個体レベルの急性経皮毒性試験の試験法開発を行った。侵入地である台湾・新北市において、ヒアリの巣の近辺に設置した誘引ベイト（ポテトチップス）により、ヒアリ働きアリを約2,000個体誘引採集し、飼育用アルミ容器（16 cm × 11 cm × 4 cm）に生きたまま保管した。飼育用アルミ容器内には、アリの給水容器として、水道水で満たして綿栓をした15ml遠沈管を入れると共に、餌として昆虫ゼリーを入れた。昆虫ゼリーは毎日交換した。

試験に際して、正確な量の薬剤を滴下するため、ヒアリ働きアリを麻酔する必要がある。そこで、効率的な麻酔法を確立することを目指して、二酸化炭素麻酔法および冷蔵麻酔法の間で効率比較を行った。二酸化炭素麻酔法では、飼育用アルミ容器内の餌に群がるヒアリ働きアリを、ふたに直径6 mmの穴を開けた50ml遠沈管に餌ごと移した。その後、熱帯魚用二酸化炭素ボンベの噴出口をふたの穴に押し当て、ヒアリ働きアリの動きが止まるまで遠沈管内に二酸化炭素を噴射して麻酔を行った。冷蔵麻酔法では、飼育用アルミ容器ごと、氷を入れた一回り大きなアルミ容器（20 cm X 16 cm X 8 cm）にいれ、氷冷により麻酔した。麻酔に要する時間および生存率を比較した結果（結果後述）、冷蔵麻酔法の方が優れていたため、薬剤試験においては供試するヒアリ働きアリを実験に供する20分前に冷蔵麻酔して用いた。

麻酔されたヒアリ働きアリは、実験ごとに約100個体を氷の入った容器に設置したアルミホイル製の皿型容器（直径 8 cm x 深さ 3 cm）に移し、毒性試験を行うまで皿型容器内で管理した。

薬剤は緊急防除用の候補剤である合成ピレスロイド剤6種（トランスフルトリン、プラレトリン、フェノトリン、ペルメトリン、メソフルトリン、ピレトリン）および野生巣防除用液剤・ベイト剤の候補剤5種（フィプロニル、チアメトキサム、インドキサカルブ、イミダクロプリド、ヒドラメチルノン）の合計11種を用いた。各々の薬剤について、10,000ppmアセトン溶液を原液として、アセトン希釈により、100ppm、10ppm、1ppm、0.5ppm、および0.1ppmの溶液を調製し、さらにコントロール区としてアセトンのみ（薬剤0ppm）を設定し、試験に供した。各濃度について、10個体のヒアリ働きアリを試験に用いた。

ろ紙を敷いた120ccのプラスチックカップに、ヒアリ働きアリを入れ、その胸部背面に1μlの薬液をマイクロシリンジにより滴下した。薬液を滴下したヒアリ働きアリの入った飼育容器には、水分補給用に、湿らせたメラミンスポンジ（1cm x 1cm x 1cm）を入れ、試験終了まで蓋を閉じ、観察を行なった。合成ピレスロイド剤6種については投与後24時間まで、その他5種の薬剤については72時間後まで、それぞれ12時間ごとに死亡率を測定し、PROBIT法により半数致死薬量（LD_{50}）を測定した。同時に、冷蔵麻酔法のコントロール区として、麻酔をかけたのみのヒアリ働きアリについても、実験ごとに10個体を対照として死亡率を測定した。

アリのコロニーレベルのベイト式毒性試験評価法の確立：

これまで、アリ類に対する防除剤として、有効成分を含ませた餌を働きアリに巣に持ち帰らせて、巣内において餌を成虫―成虫、あるいは成虫―幼虫間でシェアさせることで、有効成分の薬効を働かせて巣を駆除するベイト式防除剤（ベイト剤）が汎用されてきているが、その薬効に関する定量的評価法は確立されてこなかった為、一般的な殺虫剤が流用されるケースがほとんどであった。そのため、アリの種ごとに適切なベイト剤を選定することができず、防除に失敗する原因にもなっていると考えられた。

そこで、本研究では、室内レベルでアリ・コロニーを再現して、ベイト剤の定量的薬効評価が可能な試験システムを開発することとした。本来ならばヒアリの人工コロニーを用いて試験を実施すべきところだが、コロナ禍により、海外渡航でのヒアリを用いた実験の実施が困難になったことを踏まえ、ヒアリの代用となりうる在来アリとして、同じフタフシアリ亜科で、ヒアリの小型働きアリとほぼ同じサイズのトビイロシワアリを用いたベイト式毒性試験評価法を開発した。急性経皮毒性試験により、フィプロニルに対する感受性は、ヒアリよりトビイロシワアリの方が若干ではあるが低く、すなわちトビイロシワアリに有効な薬剤はヒアリに対しても効果的であることが示唆された。トビイロシワアリのコロニーに対して、薬剤を餌に含ませて経口的に投与した効果を定量比較するために、人工コロニーを用い

たベイト式薬剤毒性試験の試験法開発を実施した。トビイロシワアリは、国立研究所のある茨城県つくば市から採集し、最低2週間の間、実験室内の環境に馴らしたあと、石膏を敷いたポリスチレン製製人工巣（10cm x 7cm x 3cm）内に、冷蔵麻酔した成虫100個体、幼虫100個体を移して人工コロニーとした。人工巣には、採餌用空間としてポリスチレン容器（9cm x 5cm x 10cm）を直径6mmのポリエチレンチューブ2本で連結し、アリがチューブを通って人工巣と採餌用空間を自由に移動できるようにした。採餌用ポリスチレン容器の上部8cmには、アリの逃走防止用にフルオンを塗布した。採餌用ポリスチレン容器にはアリの給水容器として、水道水で満たして綿栓をした5mlチューブを入れると共に、餌13mgを詰めた直径2cmのエサ皿を設置した。

薬剤は、先駆けて実施した急性経皮毒性試験において最も効果を示したフィプロニルおよび、2種類の昆虫成長制御剤（IGR剤）を用いた。IGR剤としては、ピリプロキシフェンおよびエトキサゾールの2種類を用いた。これらの薬剤は、タンパク質系餌基材（魚および昆虫由来の動物性タンパク質と糖の混合物）と混合して、毒餌として投与した。毒餌中の薬剤濃度は、市販のアリ用ベイト剤の濃度に準じ、フィプロニルが0.05%、ピリプロキシフェンおよびエトキサゾールは0.5%になるよう調整した。コントロールとしては、薬剤無添加の餌基材を使用した。

給水容器とエサ皿は3日ごとに新しいものに交換した。その際同時に、ステージ（幼虫、前蛹、蛹、新成虫、成虫）ごとにそれぞれの生存個体数を確認した。新成虫と成虫は、クチクラの色で区別した（新成虫は茶色だが、1週間以上時間を経ると黒くなる）。働きアリ数の増加による試験結果への影響を避けるため、新成虫については数を確認した後すぐに取り除いた。実験中、人工コロニーは25℃;70%RHに保持された実験室内に置かれた。観察は60日間継続して行い、各薬剤について３反復した。ただし、60日経過した後でも幼虫がいるコロニーについては、全ての幼虫が成虫になるか、コロニーの働きアリの個体数が0になるまでの間、観察を継続した。

４．結果及び考察

外来アリを対象としたLAMPキット開発：

対象種5種につき、設計したプライマーによる特異的な塩基配列の増幅に成功した。さらに、試薬類を1本のチューブにまとめることで作業が簡便化するとともに再現性を向上させ、反応時間の短縮にも成功した。これらのプライマー全てを、試薬類の入ったチューブにまとめることにより、特定外来生物に指定されたアリのいずれか1種でも存在する場合、早期に検出可能な一次スクリーニング系の構築に成功した。

ヒアリ用LAMPキットのユーティリティ確認：

国立環境研究所のHPより国内の10機関に配布、並びに実務者対象の講習会および小学生対象の実験教室を行い、それぞれ30名および20名の参加を得た。また、環境省主催のヒアリ講習会等において、LAMPキットのビデオないしオンラインによる紹介を行った。実施したすべての例で、LAMPキットによるヒアリ特異的な塩基配列の増幅に成功した。主な問題点・改善例として次の2点が挙げられた。1）ピペットマンの操作が煩雑であるとのことから、定量の簡易なピペットマンを選定して配布することにした。2）試薬の濁りを長期的に保存したいとの要望から、反応後の試薬を80℃で5分処理することで、白濁を固定するための操作を追加した。害虫駆除会社と連携した実運用試験では、全国94カ所から159サンプルが収集された。全てのサンプルは、ヒアリでないことを形態的な特徴から確認した。害虫駆除会社が実施したLAMPキットによる同定では、88%にあたる140サンプルが正確に同定されたが、19サンプルは偽陽性を示した。増幅に供したサンプルから問題点を調べたところ、偽陽性を示したサンプルではDNA量が既定の10倍から100倍超のオーバーロードとなっていることが判明した。課題解決のため、LAMPキットのマニュアルには「足一本で十分量のDNAが得られる」旨を注意点として加えた。また、増幅されたヒアリ特異的なDNAによる実験空間の汚染を避けるため、在来アリであるクロオオアリを対象としたクロオオアリLAMPキットを設計した。同キットはヒアリLAMPキットにおけるポジティブコントロール目的での使用のみならず、教育目的での使用においても好適に利用可能だと考えられる。

コンテナ内に侵入したアリに対するピレスロイド・エアロゾル剤の効力測定：

合成ピレスロイド（トランスフルトリンおよびプラレトリン）・エアロゾル剤の単剤および混合剤の効力試験を行った結果、トランスフルトリン2%およびプラレトリン0.3%の混合溶液1mlの噴霧により、コンテナ内のアルゼンチンアリの死亡率が24時間後に0.999となることを示した（表3.1）。また、死亡していない個体も痙攣状態にあり、24時間後にコンテナのドアが解放されたとしても、全ての個体は活動不能であると判定された。以上の結果から、コンテナ内の検疫防除剤として合成ピレスロイド・エアロゾル剤が有効であることが明らかとなり、その有効成分、含量および最低散布量が絞り込まれた。現在、この有効成分組成を含む商品がリストアップされ、2022年度より、環境省主導のモデル事業として、国際運輸に係る企業と連携して、実際に貨物輸送で実用されているコンテナでの防除試用を行うことが計画されている。

表3.1 合成ピレスロイド・エアロゾル剤の噴霧によるアルゼンチンアリの死亡率

薬剤の濃度		噴霧条件		死亡率（24h）
トランスフルトリン	プラレトリン	噴霧量	噴霧回数	
2%	0.3%	1ml	1回	0.999
2%	-	1ml	1回	0.750
2%	0.3%	0.2ml	5回	0.950
2%	-	0.2ml	5回	0.840

アリを対象とした薬剤による急性経皮毒性試験法の確立：

ヒアリ働きアリの麻酔法について、二酸化炭素麻酔法では、約10秒程度でヒアリ働きアリの活動停止が確認されたが、容器から取り出した後に回復せず死亡する個体が10%程度観察された。冷蔵麻酔法では、アルミニウム容器内のヒアリ働きアリは数秒内に活動を停止し、容器から取り出した後の個体は全て活動が回復した。以上の結果から、冷蔵麻酔法が急性経皮毒性試験前の麻酔工程として有効であることが明らかとなった。さらに冷蔵麻酔後の働きアリを、氷上に設置したアルミニウム製の皿型容器内で保持することにより、1時間程度、麻酔状態の維持が可能であった。この長時間麻酔後の働きアリは、室温に戻した後、約10分間活動が停止したままであったが、全ての個体が活動を回復させた。これらの結果より、冷蔵麻酔法を用いたアリの急性経皮毒性試験が可能となった。

本麻酔法を用いて急性経皮毒性試験を行った。試験中、コントロール無処理区（冷蔵麻酔処理のみ）において、死亡した個体は見られなかった（N=110）。同じく、各試験におけるコントロール処理区（アセトンのみ）の働きアリについても、死亡個体は観察されなかった（N=110）。緊急防除用の候補剤6種（トランスフルトリン、プラレトリン、フェノトリン、ペルメトリン、メソフルトリン、ピレトリン）および野生巣防除用液剤・ベイト剤の候補剤5種（フィプロニル、チアメトキサム、インドキサカルブ、イミダクロプリド、ヒドラメチルノン）についてLD_{50}値を測定した結果を図3.2、および図3.3に示す。

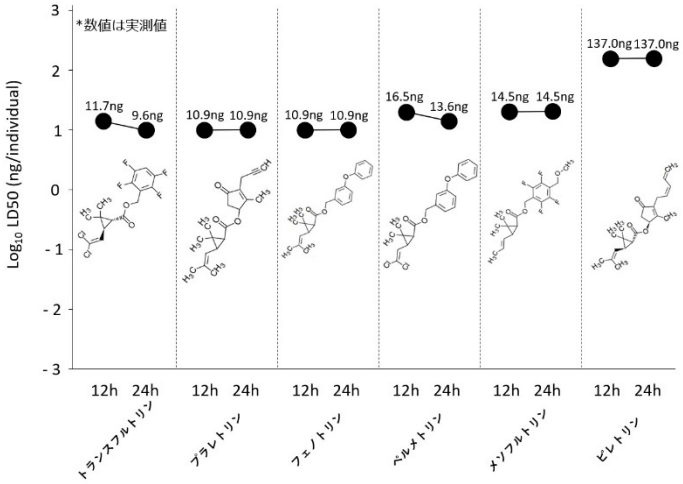

図3.2 緊急防除用薬剤候補のヒアリに対するLD$_{50}$値

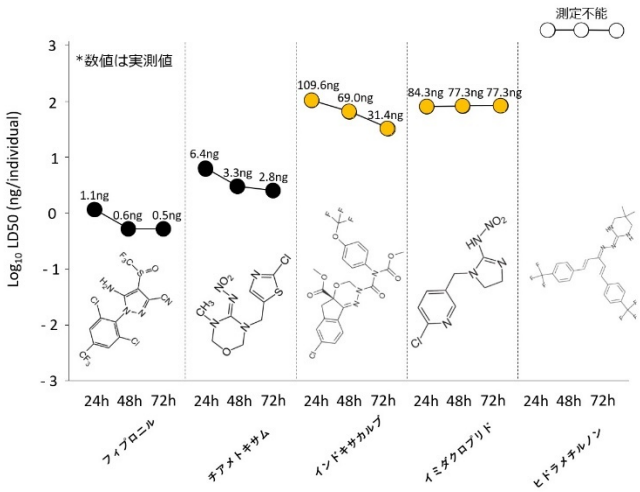

図3.3 液剤・ベイト剤候補のヒアリに対するLD$_{50}$値

緊急防除用薬剤候補に関しては、ピレトリン以外は合成ピレスロイド剤間に有意な差は見られず、いずれも高い殺虫効果を示した。一方、液剤・ベイト剤候補の薬剤においては、フィプロニル、チアメトキサムおよびインドキサカルブで遅効的で、高い活性を示すこと、特に、フィプロニルのLD$_{50}$値が他剤と比較してワンオーダーからツーオーダー小さいことが示された。これらの結果から、ヒアリ防除用の液剤・ベイト剤としてフィプロニルがもっとも高い効果を示すと期待される。

アリのコロニーレベルのベイト式毒性試験評価法の確立：

トビイロシワアリの薬剤感受性について、急性経皮毒性試験法により求められたフィプロニルでのLD$_{50}$値は、投与後24時間、48時間、72時間それぞれで、5.2ng/個体、1.3ng/個体、0.7ng/個体であり、ヒアリにおけるそれぞれの値（1.1ng/個体、0.6ng/個体、0.5ng/個体）と比較して、それぞれ僅かながら高い値をとり、ヒアリよりも薬剤耐性がやや強いことが示された。トビイロシワアリ働きアリ100個体および幼虫100個体による人工コロニーは、薬剤を含まない餌基質のみを与えた条件下での飼育において、60日間の働きアリの平均生存率は0.86と非常に高く、コロニーを対象とした長期的な試験に適していることが示された。これらの結果は、ヒアリの代用として在来のトビイロシワアリが適切に利用可能であることを示すものである。

上記の結果を踏まえ、トビイロシワアリの人工コロニーを用いてベイト式毒性試験を実施した。フィプロニルを投与した供試コロニーの全てにおいて、働きアリは3日以内に全滅し、それに伴い幼虫も死亡した。また、IGR剤による成長抑制効果の確認において、対照巣では60日間の観察期間において、平均39個体の新成虫が確認された。また、エトキサゾールを投与した供試コロニーは60日間の観察期間において、平均31個体の新成虫が確認された。その一方で、ピリプロキシフェンを投与した供試コロニーの全てにおいて、新成虫の姿は観察されず、108日まで追加の観察を行っても結果は変わらなかった。死亡率および新成虫の個体数に関する結果を図3.4、および図3.5に示す。これらの結果から、コロニーレベルでのヒアリ防除用のベイト剤としてフィプロニルおよびピリプロキシフェンが強い防除効果を示すと判断される。

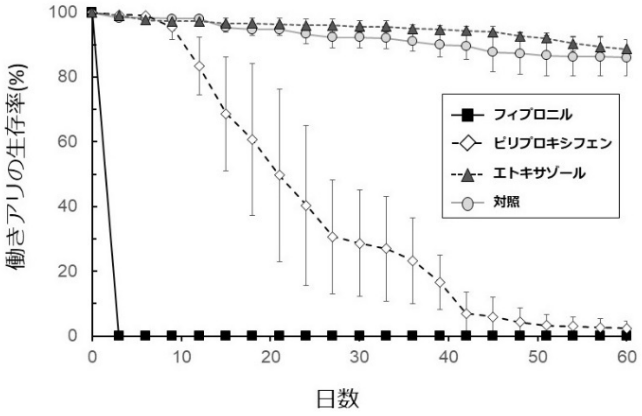

図3.4 ベイト剤候補薬剤を投与したコロニーでの働きアリの生存率

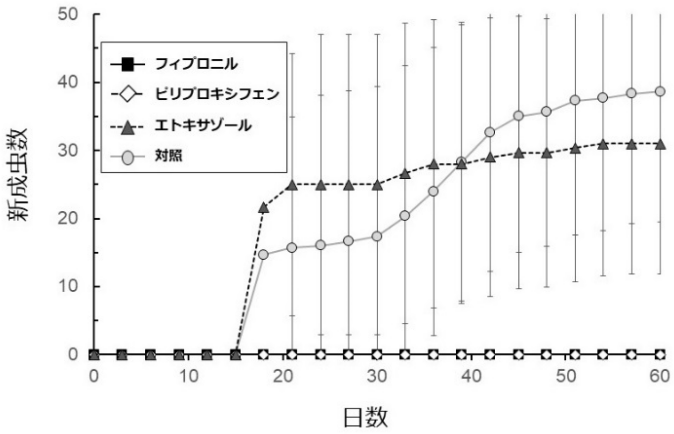

図3.5 IGR剤候補薬剤を投与したコロニーでの新成虫数

５．研究目標の達成状況

当初定めた研究目標を越えて達成した。研究目標における「各種外来アリについて、LAMPキットのマニュアルを確定し、試験機関および教育機関などへの試験配布を行い、実装する」を達成するための外来アリのLAMPキット開発は、特定外来生物に指定された外来アリ5種全てについてDNA断片が増幅されることを確認し、さらにプライマーを混合して一括検出可能なマルチプレックスLAMPキットへの高度化に成功した。ヒアリ用LAMPキットのユーティリティ確認は、国立環境研究所のウェブサイトからの配布ならび各地の講演会、雑誌記事などでの募集を通じて予定通り進め、更には害虫駆除会社と共同で全国規模の実運用試験を行い、問題点の抽出および改良したマニュアルを確定した。以上の成果から研究目標を達成し、さらに高度化に成功したと判断する。目標「外来アリ類の侵入後防除に際し、適切な緊急防除用殺虫剤を選定し、使用法を確定する」に関して、検疫防除手法としての、コンテナ内に侵入したアリに対するピレスロイド・エアロゾル剤の効力測定は、効果的な薬剤選択に至っており、社会実装のための環境省モデル試験事業へと結びつけたことにより、目標を達成し、実装を具体化した。目標「外来アリ類の定着後防除に際し、適切なコロニー防除用薬剤を選定し、施用法を確立し、マニュアル化する」に関して、侵入後のコロニーに対する化学的防除用薬剤選択のために、急性経皮毒性試験法およびコロニーレベルのベイト式毒性試験法を確立して、フィプロニルおよびピリプロキシフェンの有効性を定量的に確認し、実際のヒアリ防除の現場でもこれら二剤を防除に用いることで駆除に成功したことから、目標を達成したと評価する。

６．引用文献

特に記載すべき事項はない。

Ⅱ－４　外来アリ類の防除体制構築と社会実装に関する研究

沖縄科学技術大学院大学
環境科学セクション　吉村　正志
生物多様性・複雑性研究ユニット　エコノモ　エヴァン

［要旨］

外来アリ類の広域監視システムの構築を進めるとともに、他のサブテーマで得られた早期発見技術・防除手法を地方自治体や関係機関へ社会実装し、沖縄地域をモデルとして防除システム構築することを目的とした。DNAバーコーディングライブラリの構築のための整備を行うとともに、これまでに沖縄県内で実施されてきた様々な調査データを収集し、関係機関向けの外来アリ類に関する研修会やコンテナヤード周辺におけるアリ類の分布域の考察に活用した。また、新たに沖縄県で定着が確認された特定外来生物ハヤトゲフシアリを防除するにあたっては、サブテーマ１と３の技術を応用し、IGR剤を混ぜたベイトをタンパク質と糖質を別々に置くという方法を採用し、本種の低密度化に成功した。沖縄県事業で作られた行政横断型協力体制をハヤトゲフシアリやアルゼンチンアリの発見事例へ応用し、発見場所に直接関わる組織がコンパクトに協力体制を作ることが効果的であることが示された。市民向けのワークショップの実践を通して、外来種問題の普及啓発には、危機管理的な視点と環境教育的な視点の二つのバランスが重要であることがわかった。

１．研究開発目的

本サブテーマでは、外来アリ類の侵入・定着リスクが最も高く、生物多様性リスクが深刻とされる沖縄県をステージとして、外来アリ類の広域監視システムを実現するとともに他のサブテーマで得られた早期発見技術および防除手法を地方自治体や関係機関、市民との協働を通して社会実装し、緊密な地域連携による防除システムの構築事例を作り上げることを目的とした。

２．研究目標

地域の行政横断型協働体制の検討では、体制への参加機関の増加と、離島への拡張、そしてこれらを利用した、開発新技術の沖縄社会への実装を目標とする。外来アリ類調査手法の検討については、現行調査データを活用して、さらに県内監視と防除に有用な知見の創出を進める。また、収集した 200 種の DNA ライブラリ構築、メタバーコディングのプロトコルの整備を目標とする。市民協働型監視体制構築については、今後新型肺炎により厳しくなるが、レクチャーの実施データを蓄積(累積参加人数 300 名目標)して解析するのと同時に、市民からの情報集約方法についての検討と開発を進める。

３．研究開発内容

1. 外来アリ類の広域監視システムの構築

1-1. DNAバーコーディングライブラリの構築

国内の在来アリ類と外来アリ類の双方についてDNAバーコーディングライブラリを構築するための試料を、国内外から収集するネットワークを構築した。得られた試料は、非破壊でDNAを抽出し、4つのミトコンドリア(COI、チトクロームB、16Sおよび12S)と5つの核マーカー(ヒストンH3、ITS-2、28S、および18Sの2つのフラグメント)の配列を決定し、それによる系統樹を再構築した。同時に、実際の外来アリモニタリング調査試料を用いて、大量試料バーコーディングのための実験プロトコルを構築した。

1-2. 調査データの活用

これまで沖縄県内の港湾地域では、沖縄県をはじめ、港湾管理者、環境省、OISTといった異なる機関が主体となり、SLAMトラップや誘引剤、単位時間採集、粘着トラップ、見つけ採りなどの多様な手

法を用いて外来アリ類の監視調査を実施してきた。これらの調査データを収集・活用し、外来アリ監視や防除対策に有用な知見の創出を試みた。まずは沖縄県事業やOIST-地元高校の共同研究として実施され、蓄積された１５分間単位時間採集調査のデータをもとに、県内港湾地域において地域ごとに採集される可能性の高いアリ類(各地域で採集頻度が高いアリ類)を明らかにした。次に、2019年に那覇港管理組合らによるアルゼンチンアリの発見を受けて実施された一連の緊急調査の結果をもとに、異なる主体や調査方法による結果を比較し、多くのアリ類が那覇港のヤードを経由するコンテナによって移動していることを推定した。

2. 各サブテーマの開発技術を反映させた外来アリ防除の実践

2020年2月に那覇市内で、特定外来生物のハヤトゲフシアリの沖縄県における初定着が確認された。これを受けて、本プロジェクトで開発した知見を導入しつつ、拡散を防ぎながら根絶を目標として2020年7月より早急に防除を開始する必要が生じ、これを主導した。まずサブテーマ１で開発された効果的な餌配置法（タンパク質餌と糖質餌を別々に置くほうが採餌効率が高くなる）を活用し、さらにサブテーマ３で高い成長抑制効果が認められたIGR剤（昆虫成長抑制剤）ピリプロキシフェンを住化エンバイロメンタルの協力のもと採用した。また、本サブテーマの研究を通した協働ネットワークで体制を整え、関連機関の連携のもとに防除と拡散防止を実施した。それらに加え、沖縄定着のハヤトゲフシアリ防除の課題として、隣接する立ち入り制限区域へのコロニーの拡散や、あるいはそこからの再侵入を最小限にすることが必要であった。そこで、隣接地からの再侵入と再定着を防ぐ目的で、IGR剤はハヤトゲフシアリの巣口に設置して薬剤を対象種だけに届け、他種のアリ類への影響を最小にして温存する方法を試みた。また、餌への嗜好性が安定しないハヤトゲフシアリに対しては、ヒアリで一般に利用される誘引剤を利用した効果測定が有効ではない。これに対しては、防除対象区域を５０m単位で区切った調査区を設定し、単位時間採集法を応用した１０分間の見つけ採り調査による評価を試みた。また、その検証データとして同区間での粘着トラップによる調査を併用した。これら調査により、ハヤトゲフシアリだけでなく他種のアリ類の動態をモニタリングし、薬剤の効果と影響を評価した。

3. 沖縄県内組織横断的な防除体制・情報共有体制の検討

沖縄県におけるヒアリ対策やアルゼンチンアリ県内初確認、そしてハヤトゲフシアリ定着確認とその防除や拡散防止対策を通して、沖縄島における行政横断型協働体制を構築する上での利点、およびその成功要因や課題について整理した。また、沖縄県ヒアリ防除マニュアルに引き続き、本研究プロジェクトにおいてハヤトゲフシアリに関して新たに得られた知見や、現場の防除に実装した技術を、ハヤトゲフシアリ初期防除業務（環境省沖縄奄美自然環境事務所）の一環として作成された防除マニュアルに反映した。

こうした組織横断的な協働体制は、沖縄県内でのアルゼンチンアリ初確認時やハヤトゲフシアリ初定着確認時には機能し、県内組織横断的な役割の分担体制が実現した。

4. 市民協働での長期監視体制構築の検討

港湾や空港のようなハイリスクな施設を監視することや、発見された侵略的外来種を迅速かつ効果的に防除するための技術開発や人材育成を行うことは、行政や事業者が外来種対策に参画する上で重要である。その一方で、それ以外のエリアを長期的かつ持続的に監視するには、市民協働とそのための知識や技術の共有が欠かせない。そこで　本研究では、効果的かつ持続的な市民協働システムを構築するために必要な人材育成の方法を検討した。研究者や行政から市民への普及啓発は、他の社会的課題と同様に外来種問題でも容易ではない。そのため、より効果を上げるための要素を整理する必要がある。ここ数年の報道の少なさからみても、外来種問題に対する危機感は、たとえそれが社会的に影響が大きいヒアリであっても、震災や新型コロナウィルス感染症などと比べるとはるかに低い。一般市民にとっての危機感は、港湾事業者や行政担当者など、対策の最前線で実際にヒアリに遭遇する確率が高い人たち

と比べるとさらに低くなるはずである。外来種問題に対する市民の学習動機づけには、危機管理やリスクコミュニケーションの視点だけではなく、市民らのニーズに沿った環境学習や娯楽の要素を盛り込むことが必要であり、それにより発信機会や対象範囲の拡大につながる。地域的な取組みモデルとして、学校教育と社会教育を大枠として設定し、前者の対象となる小学生と、後者の対象となる高校生以上一般向けに、ワークショップ(WS)およびレクチャーを設計して実施した(表4.1)。また、そこから得られたアンケート結果によりその効果を検討した。

表4.1 市民とのヒアリや外来種に関する知識の普及を目指した二つの企画（吉村ら，2020より）

	小学生向け	大人向け
タイトル	あなたも今日からアリ博士？	足もとの生き物の多様性と外来生物
時間	45分	60分
最大参加人数	50名	50名
実施形態	ワークショップ	レクチャー
野外観察	なし	なし
同定学習法	3D模型＋検索表	動画＋画像＋標本＋検索表
実施者（目標含）	指導主事、教員、学芸員など	研究者
2019年度までの実施回数	19回	6回

４．結果及び考察

1. 外来アリ類の効果的調査方法の検討

1-1. DNAバーコーディングライブラリの構築

DNAバーコーディングライブラリ構築については、香港、アメリカフロリダ州、カリフォルニア州の研究者らを始め、アメリカおよびオーストラリアの税関職員らとのネットワークが構築できた。日本国内では、OISTのコレクションやいくつかの個人コレクションの提供を受けて、大量の沖縄産アリ種を入手した。200種1000標本を参照標本として収集し、全種について9つの配列(COI, Cyt B, 16S, 12S, H3, ITS-2, 28S, 18S)を決定した（図4.1）。収集した種の系統樹は外来種や在来種の進化的な関係性を示し(図4.4.2)、どの種がすでに国内に定着しているかを示す。標本は、OISTにて参照コレクション用乾燥標本として整備され、データベース化されている。同時に、イルミナMiSeqプラットフォームを利用したメタバーコディングのプロトコルを整備した。

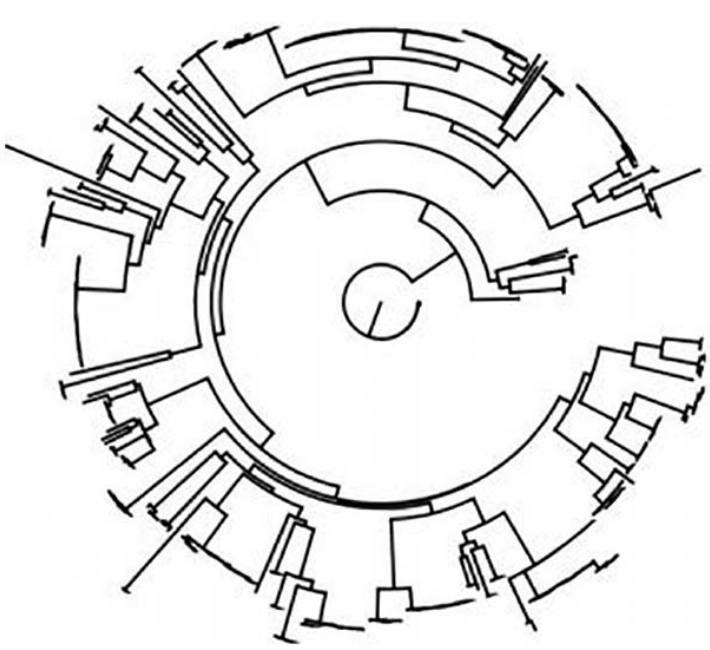

図4.1　アリ類標本400検体から作成された最尤系統樹
日本で発見された在来・外来種双方を含む。4つのミトコンドリア遺伝子座と5つの核遺伝子座のデータから作成された。これらデータをメタバーコーディングと組み合わせることで日本への新規外来種の検知や国内調査で得られた種の在来/外来判別が可能となる。

1-2. 調査データの活用

港湾地域においてこれまで実施された375回に及ぶ１５分間単位時間採集調査において、出現頻度が高かった上位8種のアリのリストを表4.2に示す。外来種であるツヤオオズアリについては、沖縄島でのみ上位８種に入ったにもかかわらず当該地域では他の種を抑えて優占しているという結果が得られた。本種の今後の動向については引き続き注意を要する。さらに、当リストは港湾地域調査実施の際の最頻出普通種リストとなるため、この情報をもとにして、各種とヒアリとの見分け方の資料を島ごとに作成した(図4.2)。これらはすでに沖縄県内で実施されているヒアリ同定研修でも活用されている。次に、2019年のコンテナヤード内でのアルゼンチンアリ緊急調査の結果を解析した結果、異なる調査法であっても同日調査のデータ間で類似度が高く（表4.3：調査２と３）、異なる調査日のデータ間での類似度は低いことがわかった（表4.3：調査１と２および３）。コンテナヤードには生息が難しい種が検出されていることともあわせると、那覇国際コンテナヤードを経由して多くのアリ類がコンテナに載って沖縄島に出入りしていることが推測された。

表4.2 単位時間採集調査により採集されたアリ類のうち出現頻度が高かった種の一覧

順位	沖縄島	石垣島	宮古島
1	ツヤオオズアリ	ヒゲナガアメイロアリ	クロヒメアリ
2	クロヒメアリ	クロヒメアリ	ナンヨウテンコクオオズアリ
3	ナンヨウテンコクオオズアリ	ナンヨウテンコクオオズアリ	ヒメハダカアリ
4	ヒゲナガアメイロアリ	アワテコヌカアリ	アシナガキアリ
5	アシナガキアリ	オオシワアリ	ケブカアメイロアリ
6	アワテコヌカアリ	イカリゲシワアリ	オオシワアリ
7	ケブカアメイロアリ	フタイロヒメアリ	アワテコヌカアリ
8	オオシワアリ	インドオオズアリ	カドムネシワアリ

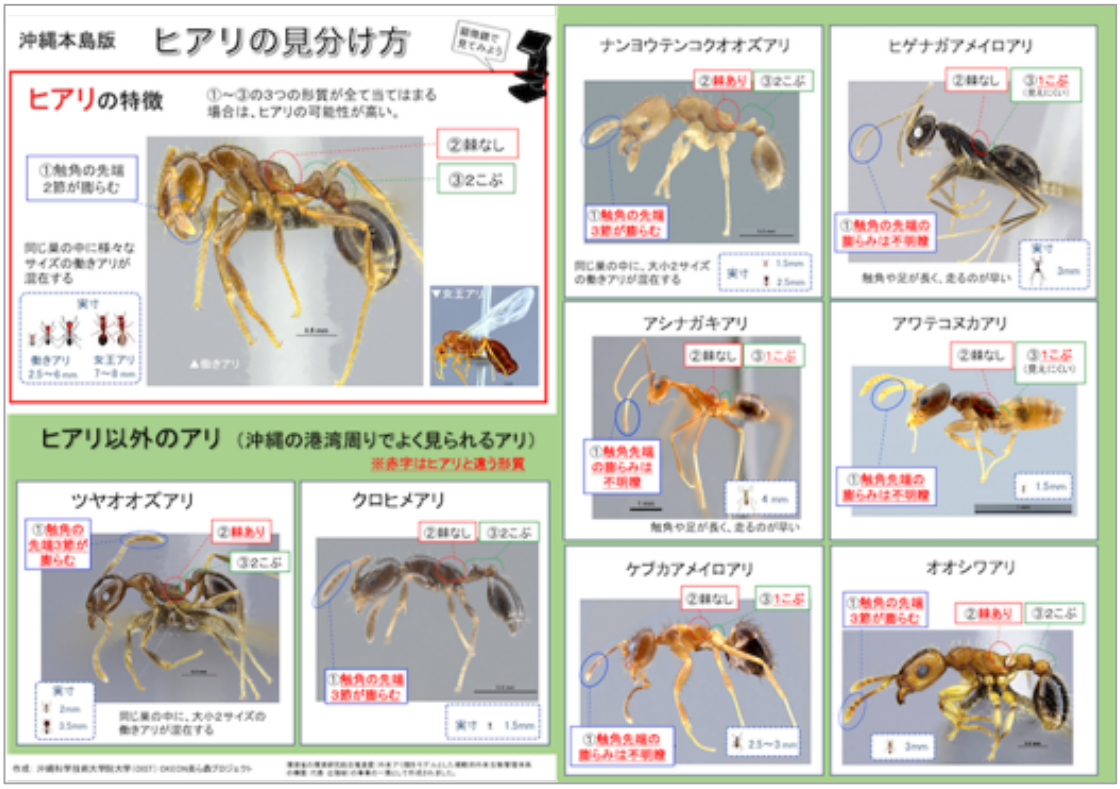

図4.2　最普通種とヒアリとの見分け方表（沖縄本島版）

表4.2の出現頻度の高いアリ類を元に石垣島版と宮古島版も作成した

表4.3 各調査間での採集されたアリ類の類似度（吉村ら，2021より）

調査2	0.21			調査2	0.10		
調査3	0.23	0.74		調査3	0.14	0.73	
調査4	0.07	0.00	0.00	調査4	0.00	0.00	0.00
	調査1	調査2	調査3		調査1	調査2	調査3
A. 全調査範囲				B. 30 m 範囲			

Aは全調査範囲のデータを用いての比較、Bは調査１から3について30m範囲のデータを抽出しての比較

2. 新たな外来アリ防除の実践例

2020年に那覇市の国道に沖縄県内初定着が確認された、ハヤトゲフシアリのモニタリングを2020年7

月から開始し、薬剤の設置を翌８月より開始した。定着確認以降の予備実験で予想された通り、ベイトに対する嗜好性は安定しておらず、防除開始時に強く誘引されたタンパク質ベイトには冬季には誘引されず、糖質ベイトのみに誘引される様子がみられた（図4.3）。サブテーマ１で得られた知見に基づいて、タンパク質ベイトと糖質ベイトを別々に置く方法によって、ハヤトゲフシアリの野外における季節的な嗜好性の変化に対応して薬剤を運ばせることに成功したといえる。効果測定のための１０分間の単位時間採集によるモニタリング結果を見ると、薬剤設置を開始した翌月からハヤトゲフシアリの出現頻度が落ち、春先に一旦増えたものの、再び密度が低下した（図4.4）。粘着トラップによる調査においても類似の傾向がみられており（図4.5）、IGR剤と偏栄養型のベイトの組み合わせが、同地域のハヤトゲフシアリの低密度化に効果を発揮したといえる。さらに、薬剤設置の前後でのアリ類各種の増減を見ると、ハヤトゲフシアリの他では優占種の1種であるアワテコヌカアリが減少しているのを除けば、現場のアリ類に有意な増減は見られなかった（図4.6）。防除対象区からターゲットであるハヤトゲフシアリを狙い撃ちして、他のアリ類を温存する戦略も成功したと言える。これによって、近接立ち入り制限区域からのハヤトゲフシアリの再侵入と再定着がしにくい環境を維持できたことが、春先の個体数増加のピークを抑制した可能性がある。

本研究において試行した方法により、これまで港湾敷地内でのヒアリ緊急防除時のような、薬剤大量投入による迅速かつ徹底した防除とは異なる第二の外来アリ類防除法のオプションを示すことができた。このオプションは、IGRの特性から防除効果が現れるまでに時間を要する反面、薬剤の環境負荷を考慮すべき区域や、今回のように定着域全域の面的把握や防除が困難な場合に有効な方法となり得る。発見場所や防除の緊急性などの状況に応じた防除オプションを整備し、効果的に選択実施できることが望まれる。

これらの防除実践例をもとに、2021年度末に環境省沖縄奄美自然環境事務所のハヤトゲフシアリ防除マニュアルが作成され、薬剤設置方法の変更などサブテーマ１の研究成果をもとに更新された(図4.7)。

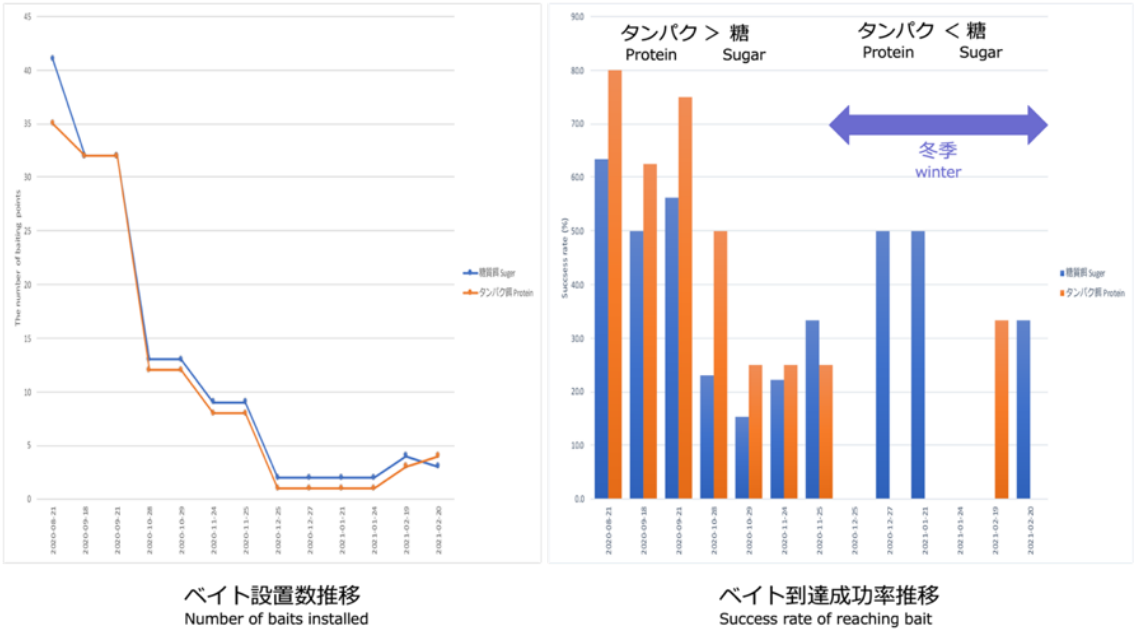

図4.3 各種ベイトへの到達成功率の推移（青が糖質、オレンジがタンパク質）

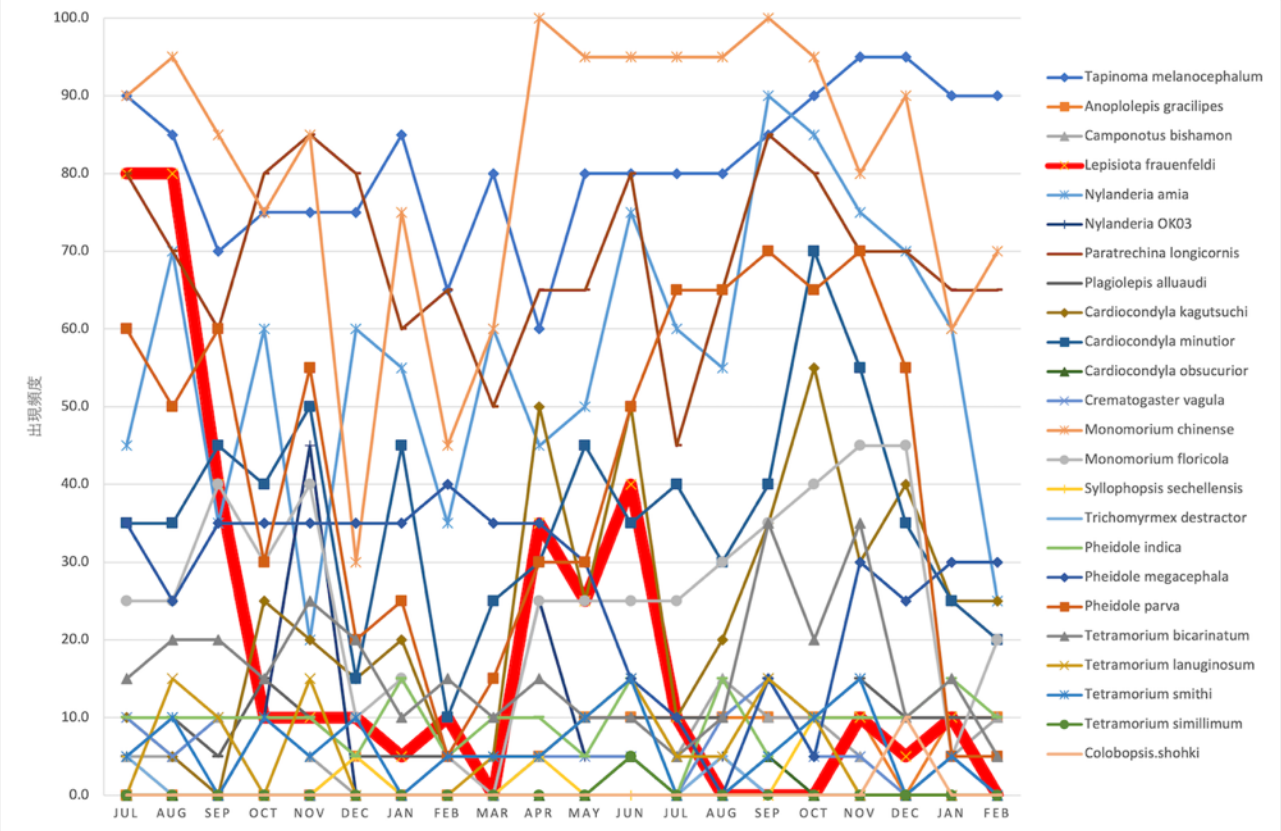

図4.4 各アリ種の採集頻度の推移　10分間単位時間採集法による調査結果

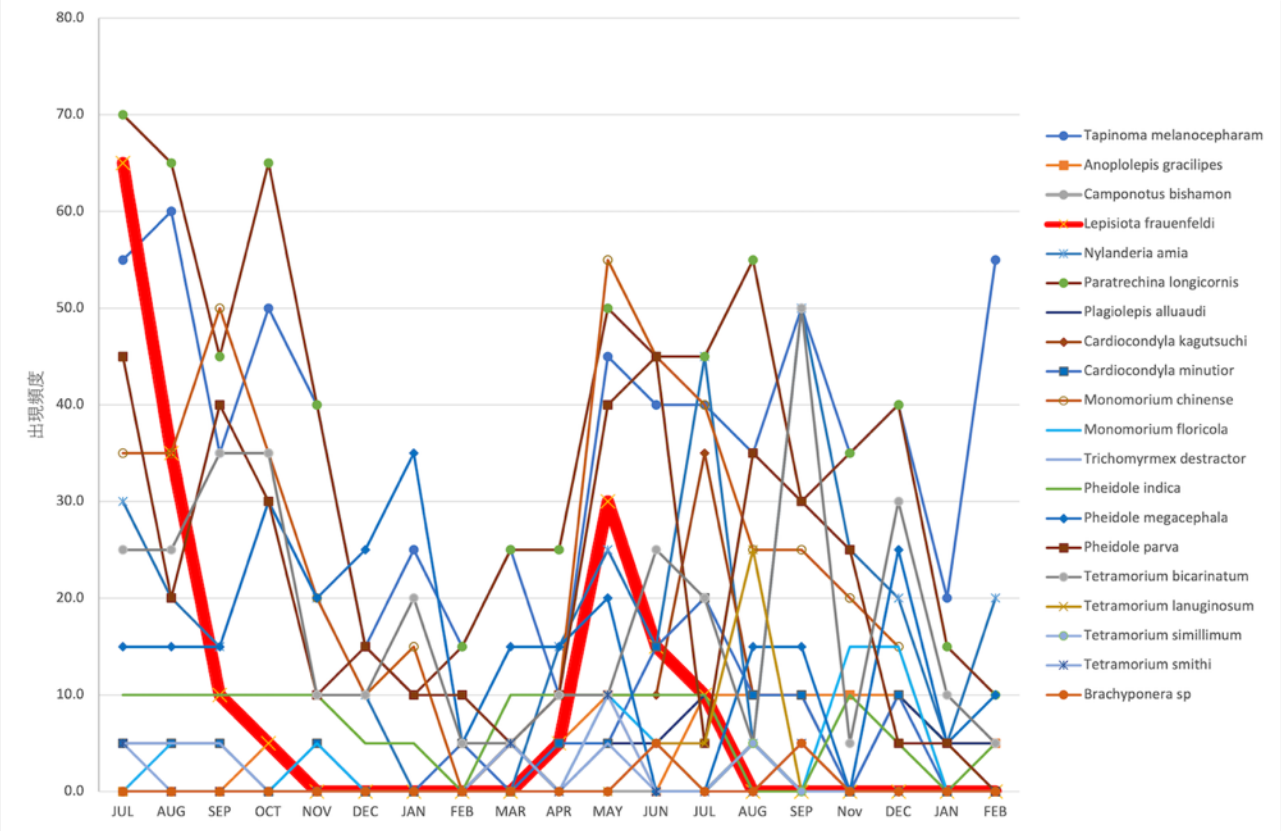

図4.5 各アリ種の採集頻度の推移　粘着トラップによる調査結果

図4.6　IGR処理前後の各種の増減

毒餌の設置前（2020年7月）と後（2020年8月以降）とでは、ハヤトゲフシアリとアワテコヌカアリにおいてのみ有意な減少がみられた。

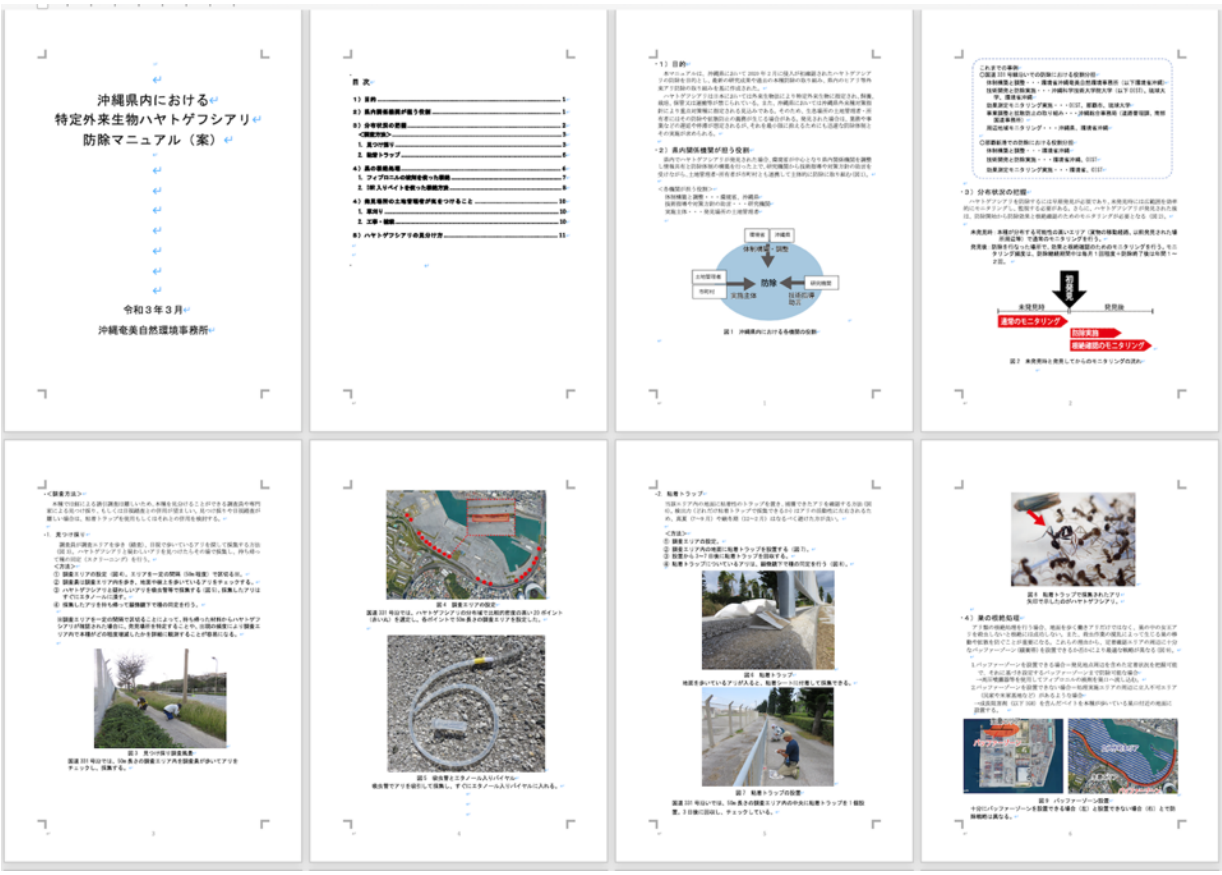

図4.7　環境省沖縄奄美自然環境事務所のハヤトゲフシアリ防除マニュアル

3. 沖縄県内行政間での情報共有体制の検討

2020年に沖縄県ヒアリ対策総合マニュアルが作成された（https://www.pref.okinawa.jp/site/kankyo/shizen/hogo/gairaisyu_hiari.html よりPDFダウンロード可能）。県事業成果として策定されたマニュアルだが、その策定過程において、環境省とOISTが先導し、県庁の枠をこえた行政横断型の協力体制が作られた(図4.8)。ヒアリ発見時の情報共有フローと初期対応フローは、まず関係機関で共通の大筋を作り、そこからそれを基本に各機関の組織内や業界内のフローを作成していった。このことにより、タスク量の概要と組織間の役割分担がより明確になった。前年に作成された那覇港管理組合による港湾事業者向けマニュアル（https://nahaport.jp/userfiles/files/info/2019/nahaport_hiari_manual_v1_1.pdf より）にも、この協力体制を基本とした情報共有や初期対応が反映されている。また、年2回程度の定期的な作戦会議が継続されているが、これは、担当者の交代や予算の削減による連携や取り組みの断絶を防止する上での重要な役割を果たしている。この会議では、各機関からの最新情報や研究者による現状分析に基づき、機関ごとの役割分担を確認しており、その結果、各機関での事業予算の獲得や、早期の対応、取り組みの効率化につながっている。管轄エリアの管理権限や組織内で裁量権がある代表者が会議に出席していることも、実効性が保たれている秘訣である。実際に、2019年度に新たに沖縄島内で確認された侵略的外来アリ類であるアルゼンチンアリ *Linepithema humile*(特定外来生物)やハヤトゲフシアリ *Lepisiota frauenfeldi*（特定外来生物）の確認情報や対策方針も、この作戦会議を通して速やかに共有され、その後の対応が取られた。

これら組織横断的協力体制を効率的に運用維持するためには、環境省などいくつか核となる組織を中心に、発生事例毎に「発生場所」に直接的に関わる組織がコンパクトに協働体制を構築することが効果的であった。ヒアリ対応に限らず、侵入外来種等への対応はいつ、どこで発生するかの予測が容易ではなく、関係機関を大きく広げた体制の維持は各組織の参画や責任を曖昧にするためである。つまり、発見後の調査や防除に必要な組織コーディネート、技術指導や開発、実際の監視や防除の実施といったタ

スクや機能を予め整理しておき、その対象生物や発生場所を管轄する組織にタスクや機能を振り分けることが効率的である。例としては、県内主要港湾を中心としたヒアリ監視や防除体制には環境省、沖縄県、港湾管理組合、OIST、民間事業者、市町村が中心となった体制を構築したが、2019年に那覇港国際コンテナヤードでアルゼンチンアリが確認された際には、環境省、港湾管理組合、OIST、民間環境調査機関が協力して対応にあたった(図4.9)。2020年に那覇市国道にて沖縄県初定着が確認されたハヤトゲフシアリへの対応には、環境省、OIST、琉球大学、那覇市、薬剤会社が防除を、周辺調査や拡散防止には調査会社などの民間事業者、沖縄県、沖縄総合事務局、那覇市などが参画している(図4.10)。ハヤトゲフシアリの防除や対応に関連する研究知見やそれに基づく技術は、環境省沖縄奄美自然環境事務所がまとめる沖縄県版防除マニュアルに提供され反映されている。

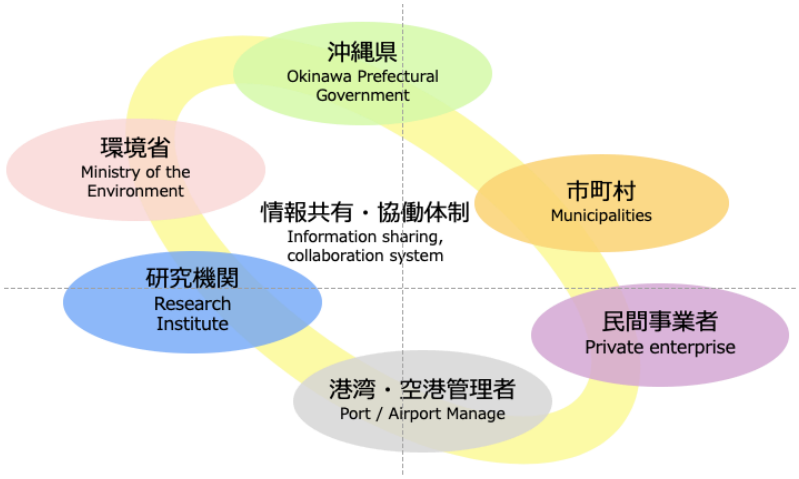

図4.8 沖縄島内で機能する行政横断型協力体制

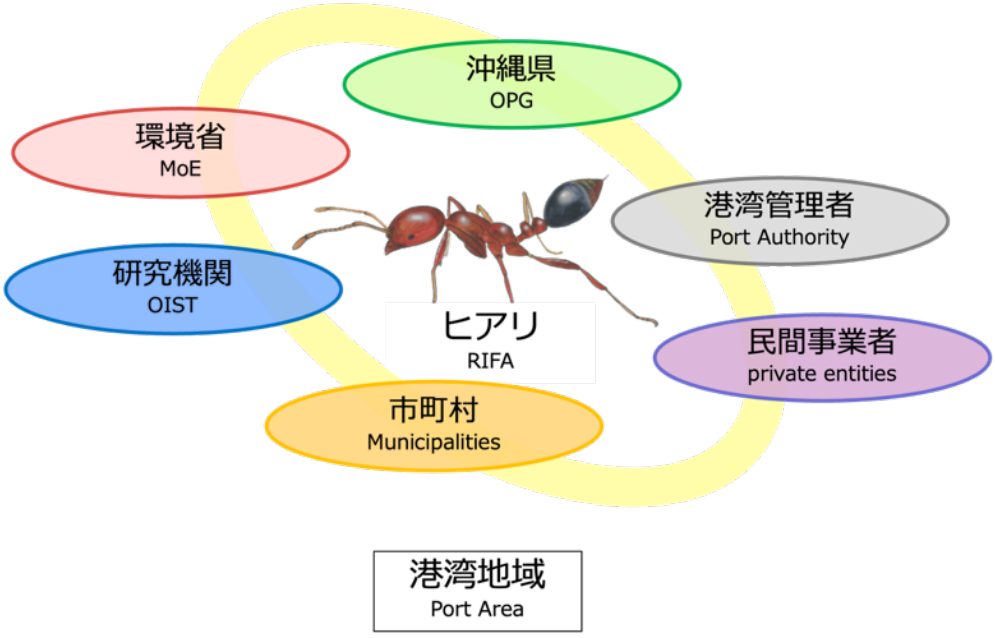

図4.9 港湾地域でヒアリが発見された場合の行政横断型協力体制の例

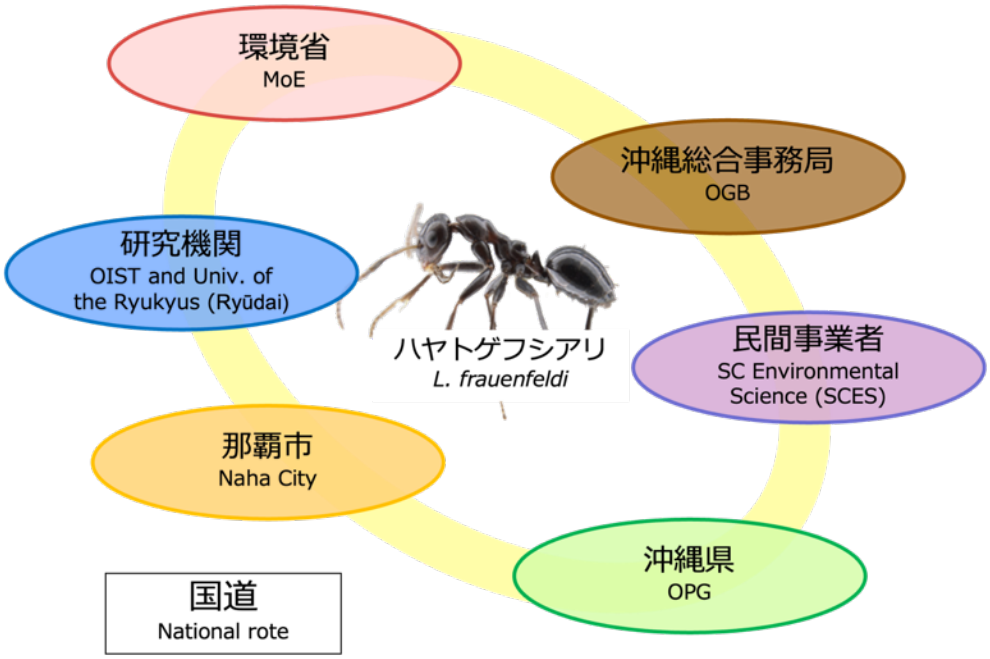

図4.10 国道沿いでハヤトゲフシアリが発見された際の行政横断型協力体制の例

4. 市民協働での長期監視体制構築の検討

小学生向けワークショップ（以下WS）の前後にとったアンケート結果から、メディアに頻出していた「ヒアリ」というキーワードの認識率はWS前から高い水準にあること、WS受講により「ヒアリ」および「外来種」双方のワードの認識度が改善すること、本WSに最適な対象学年は小学校中学年であること、そして今後やりたいこと(複数回答)として「外でアリを探す」を全参加者の56%が選択したことが示された(吉村ら2020)。本WSは改良を重ねながら2019年までに19回を実施してきたが、そのうちの七割以上は外部からの依頼で開催されたことからも実践ニーズは高いことがうかがえる。高校生以上一般向けのWSでは、トーク前後にアンケートによりヒアリとその蟻塚の見分け技術、外来種問題への参加意識の向上と、その維持効果がみられた（図4.11）。新型コロナウィルス感染拡大により、対面イベント等の開催が難しくなるなか、小学生向けのイベントは、距離を取ることが難しいため一時停滞している一方、高校生以上一般向けWSは、高校における特別授業や当事業をテーマとした博物館共催企画展での講演会としての活用等により、実施回数が伸びている。

一般に科学的な視点からの危機管理WSは、平時であっても「実践ニーズ」、「情報の正確性」、「実施しやすさ」、の3要素を両立させるのが難しいとされる。本研究では、特に小学生向けWSについて、1)関心の高さや地域需要に基づき実施ターゲットを明確に絞り込んだ上で、2)正確性を担保しつつも発達段階にあわせたコンテンツを開発し(図4.12)、3)専門家以外でも実践できることを前提に開発した。その結果、前述の３要素を両立について改善できたと考える。本研究は単なる地域事例というだけでなく、外来種対策を普及啓発する上では教育学的な視点やメディア戦略が重要となることを示すひとつのモデルとなるだろう。

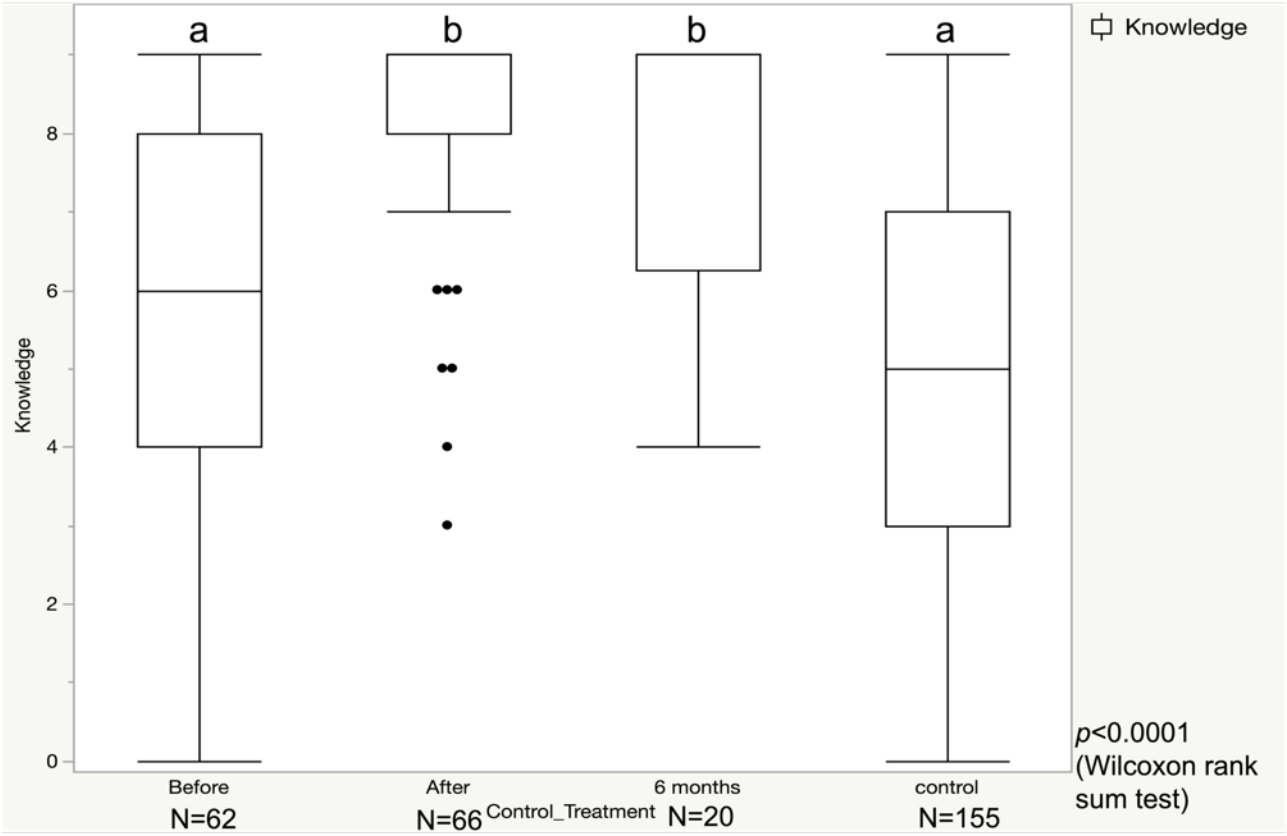

図4.11 高校生以上一般向けのWSにおけるトーク前後でのヒアリに対する意識変化
（帯広畜産大学との共同研究）

図4.12 開発したコンテンツ（吉村ら，2020より）
1. ３D模型；2. シール；3. 簡易検索表；4. 標本観察ツール；5. 外来種啓発ボード。

５．研究目標の達成状況

本研究の目標として掲げた事項については、新型コロナ感染拡大で社会活動が大きく制限される中でも概ね達成されており、さらに当初想定されていなかった緊急対応事案に対しても柔軟かつ迅速に対応し、目標以上の成果を上げることができた。

「地域の行政横断型協力体制の参加機関の増加と離島への拡張」という目標については、コロナ感染拡大の影響で離島での活動が大幅に制限されたために拡張することが難しかった反面、沖縄島では体制の拡張と充実に成功し、実際の新規定着種に対しての体制構築とそれによる防除が現実となったことから目標を達成できたと考える。「これらを利用した開発新技術の沖縄社会への実装」という目標に対しては、テーマ１やテーマ３で開発された防除技術を活用し、さらにテーマ４独自に開発した技術を用いて、官民を巻き込んだ横断体制のもとで実際の拡散防止や防除を実施し、那覇市内に定着

した特定外来生物指定のハヤトゲフシアリの低密度化に成功したことは特筆すべき成果であり、目標以上の成果をあげられたと言える。これらの知見をとり入れたマニュアルも、今後の活用が期待される。

「外来アリ類調査手法の検討」に関する目標については、実際の監視調査やネットワークを通じた収集が継続し、引き続きデータが蓄積されるなか、知見を創出する目標を達成できた。県内の主要港湾エリアの調査データの比較においては、沖縄島におけるツヤオオズアリの急速な優占化が疑われ、国際コンテナヤードの調査データの解析に基づいて、多くのアリ類が那覇新港から出入りしている可能性を示唆した。DNAライブラリは目標通りに構築され、またそれを活用したメタバーコーディングのプロトコルも実装を待つ段階にまで構築された。また、同定表の作成と研修での活用など、蓄積されたデータの監視や防除へフィードバックもできている。

「市民協働型監視体制構築のためのデータ蓄積と解析、情報集約方法についての検討と開発」という目標に関しては、新型コロナウィルス感染拡大により、後半の対面イベント等の開催が困難な状況下にあったものの、地元小学校や高校との連携による小学生向けや一般向けのワークショップ（以下、WS）開催や、行政および事業者向けのWS開催、そして博物館との共同企画展としての情報発信、などを積極的に実施することができ、本研究全期間を通した外来アリ同定WS累積参加者数は目標300人に対して1251名となり、その学習内容の定着度の解析も進んでいる。行政横断的な監視体制とWSによる同定技術をもった人材の増加に従い、沖縄県内の情報集約窓口も強化されていることから、目標は達成されたと言える。

６．引用文献

1） 吉村正志， 諏訪部真友子， 池田貴子， 小笠原昌子， エコノモ・エヴァン(2020)小学生向け外来種＆ヒアリ学習ワークショップの開発と実践．科学技術コミュニケーション,26:39-56.

2） 吉村正志， 小笠原敬， 諏訪部真友子， 田賀麻美， 名嘉猛留， 小笠原昌子， 嵩原安樹， 玉城裕一(2021)アルゼンチンアリの沖縄県からの初記録．沖縄生物学会誌,59:1-9

Ⅲ．研究成果の発表状況の詳細

＜査読付き論文＞

【サブテーマ１】

11) Uematsu,J., Hayashi,M., Shimoji, H., Laurent, Salazar M.-O., Tsuji, K.(2019) Context-dependent aggression toward non-nestmates in the ant *Diacamma* sp. from Japan. Journal of Ethology 37(3):259-264

12) Wylie, R., Yang C.C.S., & Tsuji, K. (2020) Invader at the gate: The status of red imported fire ant in Australia and Asia. Ecological Research, 35:6-16. (IF: 1.546) https://doi.org/10.1111/1440-1703.12076.

13) Yamamichi, Y., Kyogoku, D., Iritani, R., Kobayashi, K., Noriyuki, S., Takahashi, Y., Tsurui-Sato, K., Yamawo A., Dobata, S., Tsuji, K., Kondoh, M.(2020) Intraspecific Adaptation Load: A Mechanism for Species Coexistance. Trends in Ecology and Evolution 35: 897-907

14) Idogawa, N.,Sasaki, T., Tsuji, K., Dobata, S. (2021) Comprehensive analysis of male-free reproduction in *Monomorium triviale* (Formicidae: Myrmicinae). PLoS ONE https://doi.org/10.1371/journal.pone.記事番号 0246710

15) Xu,Y., Vargo, E. L. Tsuji, K. & Wylie, R. (2022) Exotic ants of the Asia-Pacific: invasion, national response, and ongoing needs. Annual Review of Entomology 67, 27-42. (IF: 19.686)

【サブテーマ２】

1) Hsu,H.W., Chiu, M.C., Shih, C.J., Matsuura, K.& Yang,C.C.S.(2019) Apoptosis as a primary defense mechanism in response to viral infection in invasive fire ant *Solenopsis invicta*. Virology, 531:255-259. (IF: 2.657)

2) Hsu,H.W., Chiu, M.C., Lee, C.C., Lee, C.Y.& Yang,C.C.S. (2019) The association between virus prevalence and intercolonial aggression levels in the yellow crazy ant *Anoplolepis gracilipes* (Jerdon). Insects, 10:436.(IF：2.139)

3) Lin,C.Y., Lee, C.C.,Nai,Y.S., Hsu,H.W., Lee,C.Y., Tsuji,K., Yang C.C.S.(2020) Deformed wing virus in two widespread invasive ants: geographical distribution, prevalence, and phylogeny. Viruses 2020, 12(11), 1309; https://doi.org/10.3390/v12111309.

【サブテーマ3】

1) 佐々木智基・雨貝真実・石角陽平・五箇公一（2019）コンテナ内に配置したアルゼンチンアリに対する ワンプッシュ法の駆除試験結果. ペストロジー 34:15-18.

2) Sakamoto, Y., Hayashi, T., Inoue, M.N., Ohnishi, H., Kishimoto, T., Goka, K. (2019) Effects of fipronil on non-target ants and other invertebrates in program of eradication of the Argentine ant, *Linepithema humile*. Sociobiology 66(2): 227-238

3) Hashimoto, Y., Sakamoto, H., Asai, H., Yasoshima, M., Lin, H.M., Goka, K. (2020) The effect of fumigation with micrencapsulated allyl isothiocyanate in a gas-barrier bag against *Solenopsis invicta* (Hymenoptera: Formicidae). Applied Entomology and Zoology 55(3): 345-350

4) Sakamoto, H., Goka, K. (2021) Acute toxicity of typical ant control agents to the red imported fire ant, *Solenopsis invicta* (Hymenoptera: Formicidae). Applied Entomology and Zoology 56(2): 217-224

5) Hashimoto, Y., Sakamoto, H., Asai, H., Yasoshima, M., Lin, H.M., Goka, K. (2022)

Effectiveness of allyl isothiocyanate microencapsulated in polyethylene as a repellent against *Solenopsis invicta* (Hymenoptera: Formicidae) infestation of corrugated cardboard boxes in field experiment. Applied Entomology and Zoology (in press)

【サブテーマ４】

1) 吉村正志, 諏訪部真友子, 池田貴子, 小笠原昌子, エコノモ・エヴァン(2020)小学生向け外来種&ヒアリ学習ワークショップの開発と実践. 科学技術コミュニケーション, 26:39-56.
2) Liu, C., Fischer, G., Hita Garcia, F., Yamane, S., Liu, Q., Peng, Y.Q., Economo, E.P., Guénard, B., Pierce, N. E. (2020) Ants of the Hengduan mountains: a new altitudinal survey and updated checklist for Yunnan Province highlight an understudied insect biodiversity hotspot. *ZooKeys* 978: 1-171.
3) Liu, C., Friedman, N.R., Hita Garcia, F., Darwell, C., Booher, D., Mikheyev, A., Economo, E.P.. (2020) Colonize, radiate, decline: unraveling the dynamics of island community assembly with Fijian trap-jaw ants. *Evolution* 74: 1082-1097.
4) Rosas-Mejia, M., Guénard, B., Aguilar-Méndez, M.J., Ghilardi, A., Vásquez-Bolaños, M., Economo, E.P., Janda, M. (2021) Introduced ants (Formicidae: Hymenoptera) in Mexico – the first database of records. *Biological Invasions*, 23: 1669–1680.
5) 吉村正志, 小笠原敬, 諏訪部真友子, 田賀麻美, 名嘉猛留, 小笠原昌子, 嵩原安樹, 玉城裕一(2021)アルゼンチンアリの沖縄県からの初記録. 沖縄生物学会誌, 59:1-9
6) Frédérique La Richelière, Muñoz, G., Guénard, B., Dunn, R.R., Economo, E.P., Powell, S., Sanders, N.J., Weiser, M.D., Abouheif, E., Lessard, J.-P. (2022) Warm and arid regions of the world are hotspots of superorganism complexity. *Proceedings of the Royal Society* B 289.

＜査読付論文に準ずる成果発表＞

特になし

＜その他誌上発表（査読なし）＞

【サブテーマ１】

1) 辻 和希 (2020) 5. 外来アリの社会生物学. 外来アリのはなし.

【サブテーマ２】

1) Yang, C.C.S. (2019) The role of viruses in fire ant management. FAOPMA Magazine, July:30-31.
2) Yang, C.C.S. (2019) Joint force to battle red imported fire ants in Japan: a multi-institution collaborative framework supported by the Ministry of the Environment. Sustainable Humanosphere, 15:13.
3) Yang Chin-Cheng (2020) 9. アシナガキアリ. 外来アリのはなし

【サブテーマ3】

1) 坂本洋典・東正剛 (2019) ヒアリの襲来. じっきょう理科資料 87:6-13
2) 五箇 公一, 坂本 佳子 (2020) 14. 外来アリ防除の手法と課題. 外来アリのはなし.
3) 坂本 洋典 (2020) 7. ヒアリとアカカミアリ. 外来アリのはなし.
4) 五箇公一 (2020) 日本が抱える外来生物問題. 港湾. 2020 年 5 月号. 22-25
5) 坂本洋典・久本峻平・橋本佳明・五箇公一 (2022) ヒアリ対策最前線 (前編) . 昆虫と自然

57(2):24-28

6) 五箇公一（2021）外来生物は悪者なのか．保健の科学６３巻１２号．66-74

【サブテーマ4】

4) 吉村 正志（2020）4. 外来アリの分類学．外来アリのはなし．

（２）口頭発表（学会等）

【サブテーマ１】

1) Tsuji,K., Thanda Win, A., Dobata, S.,: The 3rd International Symposium on Swarm Behavior and Bio-Inspired Robotics (2019) Division of labor at the group level in ant societies.
2) Uematsu, J., & Tsuji, K.,: The 3rd International Symposium on Swarm Behavior and Bio-Inspired Robotics (2019)
3) Tsuji, K., Thanda Win, A., & Dobata, S.,: The 2nd Multi-Institutional Invasive Ant Management Intervention (MIAMI) Consortium Meeting (2019) Open and closed economy in ants.
4) 辻　和希，Thanda Win,A.，土畑重人: 第64回日本応用昆虫学会大会(2020) 多巣性アリにおける巣間分業(予報).
5) 東濃青児，鈴井伸郎，尹永根，三好悠太，山口充孝，河地有木，諏訪竜一，辻和希: 第64回日本生態学会大会(2020)Individual variation in the amount of food shared via trophallaxis.
6) 植松 潤平，辻 和希: 第67回日本生態学会大会(2020)種内競争と種間競争の野外厳密定量でアリ群集の多種共存メカニズムに迫る.
7) 立田晴記(2020)「道具としての「形態測定学」：生物学と美学の交差点」、第67回日本生態学会大会名古屋大会にて自由集会を企画(日程：2020年3月7日(みなし開催)、会場：名城大学、愛知県)
8) 辻　和希(2020)「ロトカボルテラモデルと適応荷重」ラウンドテーブル Ethology 5.0 行動の適応進化と個体群動態､そして生態系の理解へ.第39回日本動物行動学会オンライン大会.2020年11月20日（参加者約150名）
9) 辻　和希(2021)「血縁選択から群集へ包括適応度がドライブする種内と種間の間接相互作用」第68回日本生態学会岡山大会（オンライン）、自由集会「間接効果を通して見る世界：(3) 種内の関係が生物群集を変える」2021年3月20日（参加者約150名）
10) Tsuji, K.(2022) Group-level immunity to maintain cooperation in social insects. International Conference in Insect Systematics and Evolutionary Biology (India, Online)2022. 02.18（参加者約100名）
11) 東濃青児、Win,Aye-thanada,辻　和希(2020)「外来アリのタンパク水溶液嗜好性」日本応用動物昆虫学会第66回オンライン大会2022年3月20日口頭発表

【サブテーマ２】

1) Yang,C.C.S.: The 12th ANeT Meeting & World Ant Forum, Bangkok, Thailand (2019) Global pest ants and their management: current status and future challenges.
2) Yang,C.C.S.: Humanosphere Science Forum, Kyoto, Japan (2019) Little yet devastating: threats of invasive ants to our ecosystem.
3) Yang,C.C.S.: Singapore Urban Pest Management Forum, Singapore (2019) Viral infection in ants: exploiting the science into management of pest ants.

【サブテーマ3】

1) 五箇公一、坂本佳子、坂本洋典：日本昆虫学会第79回大会（2019）国立環境研究所におけるヒアリ等の外来アリ類防除手法の開発および社会実装
2) 坂本洋典：日本衛生動物学会東日本支部大会第71回大会（2019）人を刺す侵略的外来生物～ヒアリとツマアカスズメバチのはなし～
3) 坂本洋典、坂本佳子、鈴木嵩彬、神宮周作、中嶋信美、五箇公一：日本生態学会第67回大会（2020）国立環境研究所における外来社会性昆虫防除システム開発
4) 坂本洋典、坂本佳子、鈴木嵩彬、神宮周作、中嶋信美、五箇公一：日本応用動物昆虫学会第64回大会（2020）国立環境研究所における外来社会性昆虫の防除対策
5) 五箇公一：日本生態学会第68回大会（2021）国立環境研究所における外来生物・農薬・感染症リスク研究最前線
6) 五箇公一：日本応用動物昆虫学会第65回大会公開シンポジウム（2021）特定外来生物防除の生態学的アプローチ
7) 五箇公一：日本昆虫学会第81回大会（2021）国立環境研究所における外来生物・農薬・感染症リスク研究最前線
8) 坂本洋典：信州昆虫学会・信州大学理学部 2021年度公開シンポジウム「信州における外来昆虫の侵入状況と今後の対策」（2021）侵略的外来アリの生態とその防除：特定外来生物ヒアリ類を中心に
9) 坂本洋典、五箇公一：日本昆虫学会第81回大会（2021）特定外来生物ヒアリ*Solenopsis invicta*に対する化学的防除用薬剤の効力比較
10) 坂本洋典：日本蜘蛛学会第53回大会（2021）侵略的外来アリとはどんなアリ？―その特徴と脅威
11) 坂本洋典、坂本佳子、久本峻平、神宮周作、蒲地智寛、中嶋信美、五箇公一：日本応用動物昆虫学会第66回大会（2022）コロナ禍の中での外来社会性昆虫防除システム構築と強化
12) 坂本洋典、五箇公一：日本生態学会第69回大会（2022）忘却のヒアリ、またしても子供たちから安心・安全が奪われるのか

<ポスター発表>

1) 坂本洋典、坂本佳子、鈴木嵩彬、神宮周作、大倉健一、中嶋信美、五箇公一：日本生態学会第68回大会（2021）コロナ禍の中での国立環境研究所における外来社会性昆虫リモート防除システム構築
2) 坂本洋典、坂本佳子、久本峻平、神宮周作、蒲地智寛、中嶋信美、五箇公一：日本生態学会第69回大会（2022）継続するコロナ禍の中での外来昆虫対策強化

【サブテーマ４】

1) 吉村正志：日本土壌動物学会第 42 回大会公開シンポジウム(2019)蓄積こそが力なり-ヒアリ対策の土台を支えるものたち-
2) 吉村正志、諏訪部真友子、小笠原昌子、エコノモ・エヴァン: 第 25 回野生生物と社会学会大会(2019)社会協働ネットワークが生む外来アリ情報拡散の持続可能性
3) M. Yoshimura: Workshop on RIFA Prevention and Strategy, Taipei, Taiwan (2020) The RIFA countermeasure system driven in Okinawa.
4) 諏訪部真友子、吉村正志、小笠原昌子、エコノモ・エヴァン：第 64 回日本応用動物昆虫学会大会(2020)外来種研究を活かす外来アリの群集生態学とヒアリ対策の社会実装.
5) 吉村正志, 諏訪部真友子, 辻和希, 馬場庸介, 賀数弘, 小笠原昌子, 植松潤平, エコノモ エヴァン, 小野宏治: 第 68 回日本生態学会大会(2021) 外来種防除、研究から実装へ～沖縄新規定着外来種ハヤトゲフシアリを例に～.

6) 吉村正志：2021 年度九州・沖縄昆虫研究会・日本鱗翅学会九州支部合同大会会（2021）特別講演/OKEON 美ら森プロジェクト-沖縄における生物多様性モニタリングプロジェクト７年の歩み-

7) J.M. Kass, 芳田琢磨, 小笠原昌子, 諏訪部真友子, 吉村正志, Hita Garcia F., Fischer Georg., Dudley K., Donohue I. & Economo E.P. ：第 69 回日本生態学会大会（2022）沖縄アリ群集と個体の森林と障害の勾配を通る季節性減少.

（３）「国民との科学・技術対話」の実施

【サブテーマ１】

1) 辻　和希（2019)「社会の免疫と社会の癌　アリの社会の不思議」、公開講演会「昆虫に学ぶ多様な生き方　～ダイバーシティとは何かを考える～」にて講演(主催：日本医科大学、日本獣医生命科学大学、アンフィアー株式会社、日程：2019 年 11 月 2 日、会場：日本医科大学武蔵境キャンパス、参加者：約 100 名)

2) Tsuji, K. (2019), 国際シンポジウムを主催(辻は実行委員長)、SWARM 2019: The 3rd International Symposium on Swarm Behavior and Bio-Inspired Robotics, (日程：2019 年 11 月 20 日-22 日、会場：沖縄科学技術大学院大学、沖縄県)

3) Tsuji, K. (2019), “Social cancers and socio-immunity.”, Commemorative Symposium for the 35th International Prize for Biology “Biological sciences related to insect sociality and symbiosis”, Plenary session, (主催：国立科学博物館、日本学術振興会, 日程：2019 年 11 月 30 日、 会場：国立科学博物館上野本館、東京都、参加者：約 250 名)

4) 立田晴記(2020)「道具としての「形態測定学」：生物学と美学の交差点」、第 67 回日本生態学会大会名古屋大会にて自由集会を企画(日程：2020 年 3 月 7 日(みなし開催)、会場：名城大学、愛知県)

5) 辻　和希(2020)「ロトカボルテラモデルと適応荷重」ラウンドテーブル Ethology 5.0 行動の適応進化と個体群動態､そして生態系の理解へ.第 39 回日本動物行動学会オンライン大会.2020 年 11 月 20 日（参加者約 150 名）

6) 辻　和希(2021)「血縁選択から群集へ包括適応度がドライブする種内と種間の間接相互作用」第68回日本生態学会岡山大会（オンライン）、自由集会2021年3月20日（参加者約150名）

7) 辻　和希（2021）「日本におけるヒアリ侵入の現状」、環境省港湾関係者向けヒアリ講習会、オンライン、2021年8月27日、参加者約200名、ヒアリの侵入後防除、定着後防除技術を解説

8) 辻　和希（2021）「日本におけるヒアリ侵入の現状」、環境省港湾関係者向けヒアリ講習会、オンライン、2021年8月31日、参加者約200名、ヒアリの侵入後防除、定着後防除技術を解説

9) Tsuji, K.(2022) Group-level immunity to maintain cooperation in social insects. International Conference in Insect Systematics and Evolutionary Biology (India, Online)2022. 02.18（参加者約 100 名）

10) 東濃青児、Win,Aye-thanada,辻　和希(2020)「外来アリのタンパク水溶液嗜好性」日本応用動物昆虫学会第 66 回オンライン大会 2022 年 3 月 20 日口頭発表

【サブテーマ2】

1) ヤン チン チェン(2019) 「外来アリ被害予防：統合的アプローチ」、京都大学アカデミックデイにて成果紹介(日程：2019 年 9 月 15 日、会場：京都大学吉田キャンパス百周年時計台記念館、京都府、参加者：約 700 名)

2) 辻　和希（2021）「日本におけるヒアリ侵入の現状」、環境省港湾関係者向けヒアリ講習会、オンライン、2021年8月27日、参加者約200名、ヒアリの侵入後防除、定着後防除技術を解説

3) 辻　和希（2021）「日本におけるヒアリ侵入の現状」、環境省港湾関係者向けヒアリ講習会、オンライン、2021年8月31日、参加者約200名、ヒアリの侵入後防除、定着後防除技術を解説

4) Tsuji, K.(2022) Group-level immunity to maintain cooperation in social insects.

International Conference in Insect Systematics and Evolutionary Biology (India, Online)2022. 02.18（参加者約 100 名）

5) 東濃青児、Win,Aye-thanada,辻　和希(2020)「外来アリのタンパク水溶液嗜好性」日本応用動物昆虫学会第 66 回オンライン大会 2022 年 3 月 20 日口頭発表

【サブテーマ3】

1) 五箇公一（2019）「外来生物は悪者？-外来生物問題から学ぶ自然との向き合い方」、岡山県保険医協会第 48 回総会記念講演、岡山プラザホテル、岡山市、2019年5月26日、参加者約100名、外来アリ類の化学的防除技術を解説
2) 五箇公一（2019）「グローバル化によって増大する外来生物の生態リスク・社会リスク」、ダスキン 外来生物・害虫対策セミナー、TKP東京駅八重洲カンファレンスセンター、東京都、2019年5月29日、参加者約100名、外来アリ類の化学的防除技術を解説
3) 五箇公一（2019）「ヒアリ、マダニ・・・身近に迫る危険生物とその化学的防除」、SADI天草大会パネルディスカッション、上天草看護専門学校、天草市、2019年5月31日、参加者約100名、外来アリ類の化学的防除技術を解説
4) 五箇公一（2019）「終わりなき侵略者との闘い～増え続ける外来生物～」、佐賀大学環境フォーラム、佐賀大学、佐賀市、2019年6月13日、参加者約100名、外来アリ類の化学的防除技術を解説
5) 五箇公一（2019）「外来生物および人獣共通感染症がもたらす健康リスクとその管理－ヒアリとマダニを例に－」、国立環境研究所公開シンポジウム、北九州市立男女共同参画センター、北九州市、2019年6月14日、参加者約500名、外来アリ類の化学的防除技術を解説
6) 五箇公一（2019）「外来生物および人獣共通感染症がもたらす健康リスクとその管理－ヒアリとマダニを例に－」、国立環境研究所公開シンポジウム、メルパルクホール東京、東京都、2019年6月21日、参加者約1000名、外来アリ類の化学的防除技術を解説
7) 五箇公一（2019）「生物多様性異変～我々は生き残れるのか?」、トヨタ自動車第11回環境講演会、トヨタ自動車（株）本社事務本館ホール、愛知県豊田市、2019年6月27日、参加者約5000名、外来アリ類の化学的防除技術を解説
8) 五箇公一（2019）「希少種を外来種から守る~島嶼生態系における外来生物対策~」、シンポジウム徳之島の外来種と希少種、奄美市、天城町役場、2019年6月29日、参加者約100名、外来アリ類の化学的防除技術を解説
9) 五箇公一（2019）「外来生物の生態影響」、トヨフジ講演会、トヨフジ海運（株）本社ホール、2019年7月5日、参加者約100名、外来アリ類の化学的防除技術を解説
10) 国立環境研究所（2019）「夏の大公開」、国立環境研究所、2019年7月20日、参加者約5000名、外来アリ類の現状と化学的防除技術を解説、LAMP法検出キットの子供向け技術講習
11) 坂本洋典（2019）「侵略的外来アリの生態と防除～ヒアリ類を中心として～」、講演会「特定外来生物について学ぼう！」、アスティとくしま、2019年7月27日、参加者約100名、外来アリ類の化学的防除技術およびLAMP法による簡易同定技術を解説
12) 坂本洋典（2019）「外来アリの生態及び生態系への影響について」、愛知県外来種対策研修会、愛知県庁、2019年11月28日、参加者約100名、外来アリ類の化学的防除技術およびLAMP法による簡易同定技術を解説
13) 坂本洋典（2019）「人を刺す外来生物、ヒアリとツマアカスズメバチの日本侵入」、上天草け～な健康フェア2019、松島総合センターあろま、2019年11月30日、参加者約200名、外来アリ類の化学的防除技術およびLAMP法による簡易同定技術を解説
14) 坂本洋典（2020）「特定外来生物ヒアリ類の生態とその防除」、環境省主催令和元年度ヒアリ講習会、全日通労働組合全日通霞が関ビル、2020年2月5日、参加者約100名（午前・午後の総計）、外来アリ類の化学的防除技術およびLAMP法による簡易同定技術を解説
15) 坂本洋典・五箇公一（2020）「LAMP法による、非専門家でも容易にできるヒアリの迅速診断実

習」、外来生物対策の実習講座、兵庫県立ひとと自然の博物館、2020年2月14日、参加者約100名、LAMP法検出キットの実務者向け技術講習

16) 坂本洋典（2020）「侵略的外来アリの生態と防除」、東北ブロック外来種対策連絡会議、TKPガーデンシティ仙台、2020年2月20日、参加者約30名、外来アリ類の化学的防除技術を解説

17) 坂本洋典（2020）「特定外来生物ヒアリ類の生態とその防除」、環境省主催令和元年度ヒアリ講習会、仙台市民会館、2020年2月21日、参加者約60名（午前・午後の総計）、外来アリ類の化学的防除技術およびLAMP法による簡易同定技術を解説

18) 坂本洋典（2020）「特定外来生物ヒアリ類の生態とその防除」、環境省主催令和元年度ヒアリ講習会、北海道大学学術交流会館、2020年2月28日、参加者約50名（午前・午後の総計）、外来アリ類の化学的防除技術およびLAMP法による簡易同定技術を解説

19) 五箇公一、公益財団法人ひょうご環境創造協会令和２年度外来生物対策セミナー、人と自然の博物館ほか兵庫県内7会場、三田市他（リモート開催）（2020）「外来生物リスクとwithコロナ時代の暮らし方について」

20) 五箇公一、東京都江東区古石場文化センター（リモート開催）（2020）「外来生物はなぜ恐い？」

21) 五箇公一、ユニバーサル・スタジオ・ジャパン（リモート開催）（2020）「生物多様性がたいへん」

22) 坂本洋典（2020）「外来生物対策の現状と課題」、公益財団法人ひょうご環境創造協会令和２年度外来生物対策セミナー、人と自然の博物館ほか兵庫県内7会場、三田市他（リモート開催）、2020年10月2日、参加者約300名、外来アリ類の化学的防除技術およびLAMP法を解説

23) 坂本洋典（2020）「人を刺す侵略的外来生物～ヒアリとツマアカスズメバチの話～」、公益社団法人日本ペストコントール協会令和２年度防除技術研修会・感染症対策講習会、リモート開催、2020年12月3日～13日、参加者約300名、外来アリ類の化学的防除技術を解説

24) 坂本洋典（2021）「ヒアリの脅威と対策の必要性」、環境省令和2年度ヒアリ講習会、リモート開催、2021年2月24日、26日、3月5日～19日、参加者約500名、外来アリ類の化学的防除技術およびLAMP法を解説

25) 五箇公一（2021）「グローバル化によって加速する生態系異変」、アース虫ケアセミナー、オンライン、2021年5月30日、参加者約1000名、外来アリ類の化学的防除技術を解説

26) 五箇公一（2021）「日本および南西諸島の生物多様性保全を目指した外来種対策、その現状と課題」、第576回土曜教養講座『琉球列島の自然を考える　世界自然遺産登録に向けた現状と課題』、オンライン、2021年6月12日、参加者約100名、外来アリ類の化学的防除技術を解説

27) 五箇公一（2021）「終わりなき外来生物の侵入～生態系・ヒト健康を守るための対策と課題」、中央区環境情報センター講演会、オンライン、2021年9月22日、参加者約100名、外来アリ類の化学的防除技術を解説

28) 五箇公一（2021）「生物多様性、外来種、感染症SFTS」、対馬グローカル大学、オンライン、2021年12月17日、参加者約100名、外来アリ類の化学的防除技術を解説

29) 五箇公一（2022）「生物多様性保全と外来生物防除」、佐賀県アライグマ防除セミナー、オンライン、2022年2月26日、参加者約200名、外来アリ類の化学的防除技術を解説

30) 坂本洋典（2021）「ヒアリの脅威と対策の必要性、最新の対策技術の紹介」、環境省港湾関係者向けヒアリ講習会、オンライン、2021年8月27日、参加者約200名、ヒアリの侵入後防除、定着後防除技術を解説

31) 坂本洋典（2021）「ヒアリの脅威と対策の必要性、最新の対策技術の紹介」、環境省港湾関係者向けヒアリ講習会、オンライン、2021年8月31日、参加者約200名、ヒアリの侵入後防除、定着後防除技術を解説

32) 坂本洋典（2021）「外来アリの生態及び生態系への影響について」、愛知県外来種講習会、オンライン、2021年12月1日、参加者約80名、外来アリ類による被害とその防除技術を解説

33) 坂本洋典（2022）ヒアリの脅威と対策の必要性、最新の対策技術の紹介」、環境省ヒアリ講習会、

オンライン、2022年2月25日、参加者約200名、ヒアリの侵入後防除、定着後防除技術を解説

【サブテーマ4】

1) 吉村正志ら(2019)「小学生向けワークショップ-あなたも今日からアリ博士？-」、東南植物楽園主催のゴールデンウィークイベントにてヒアリ同定体験プログラムを実施(日程：2019 年 4 月 27 日、会場：東南植物楽園、沖縄県、参加者：約 30 名)
2) 吉村正志ら(2019)企画展「おきなわのアリから見る生物の多様性」にてヒアリ等外来種についての紹介を展示(主催：環境省那覇自然環境事務所やんばる自然保護官事務所、日程 2019 年 7 月 15 日から 2019 年 8 月 31 日、会場：環境省やんばる野生生物保護センターウフギー自然館、沖縄県)
3) 吉村正志ら(2019) 「小学生向けワークショップ-あなたも今日からアリ博士？-」、企画展「おきなわのアリから見る生物の多様性」のスピンオフ企画にてヒアリ同定体験プログラムを実施(主催：環境省那覇自然環境事務所やんばる自然保護官事務所、日程：2019 年 7 月 17 日、会場：沖縄県立国頭村奥小学校、沖縄県、参加者：約 30 名)
4) 吉村正志(2019)一般公開講演会「生物多様性を脅かすもの-おきなわで注意すべき外来アリ類といま、わたしたちにできること-」、企画展「おきなわのアリから見る生物の多様性」のスピンオフ企画にて外来アリ防除等について講演(主催：環境省那覇自然環境事務所やんばる自然保護官事務所、日程：2019 年 7 月 21 日、会場：環境省やんばる野生生物保護センターウフギー自然館、沖縄県、参加者：約 40 名)
5) 吉村正志ら(2019) 「小学生向けワークショップ-あなたも今日からアリ博士？-」、小学校理科基礎講座「生命と地球」にてヒアリ同定体験プログラムを実践事例として発表(主催：沖縄県立総合教育センター理科研修班、日程：2019 年 7 月 24 日、会場：沖縄県立総合教育センター、沖縄県、参加者：約 20 名)
6) 吉村正志ら(2019) 「小学生向けワークショップ-あなたも今日からアリ博士？-」、沖縄県立中ノ町小学校の特別授業にてヒアリ同定体験プログラムを実施(日程：2019 年 8 月 27 日、会場：同小学校、沖縄県、参加者：約 75 名)
7) 吉村正志(2019)港湾関係者向けワークショップにてヒアリ防除等についての解説と同定体験を実施(主催：那覇港管理組合、日程：2019 年 9 月 3 日、会場：沖縄県男女共同参画センターてぃるる、沖縄県、参加者：約 30 名)
8) 吉村正志(2019)「一般向けワークショップ-足もとの生き物の多様性と外来生物-」、にてヒアリ防除の解説と同定体験を実施(日程：2019 年 9 月 22 日、会場：沖縄県立図書館、沖縄県、参加者 25 名)
9) 吉村正志(2019)「OKEON 美ら森プロジェクト-沖縄地域協働で進める自然環境研究プロジェクト-」、琉大カガク院のカリキュラムにて来アリ防除等について講演(主催：琉球大学、日程：2019 年 10 月 5 日、会場：琉球大学、沖縄県、受講者：約 40 名)
10) 吉村正志(2019) 「沖縄県における外来性アリ類の対策体制と、それを支える OKEON 美ら森プロジェクト」沖縄県町村議会研修会 (主催：沖縄県町村議会議長会、日程：2019 年 10 月 11 日、会場：サムシング・フォー西崎、沖縄県、受講者：約 420 名)にて講演
11) 吉村正志(2019) 保健所等関係者向けワークショップにてヒアリ防除等についての解説と同定体験を実施(主催：沖縄県自然保護課、日程：2019 年 10 月 28 日、会場：沖縄産業支援センター、沖縄県、参加者：約 14 名)
12) 吉村正志(2019) 保健所等関係者向けワークショップにてヒアリ防除等についての解説と同定体験を実施(主催：沖縄県自然保護課、日程：2019 年 10 月 30 日、会場：宮古保健所、沖縄県、参加者：約 10 名)
13) 吉村正志(2019) 「一般向けワークショップ-足もとの生き物の多様性と外来生物-」、オイストサイエンスフェスティバル 2019 にてヒアリ防除の解説と同定体験を実施(日程：2019 年 11 月 15 日、会場：沖縄科学技術大学院大学(OIST)、沖縄県、参加者：約 100 名)

14) 吉村正志ら「小学生向けワークショップ-あなたも今日からアリ博士？-」、オイストサイエンスフェスティバル 2019 にてヒアリ同定体験プログラムを実施(日程：2019 年 11 月 15 日、会場：沖縄科学技術大学院大学(OIST)、沖縄県、参加者：約 300 名)
15) 吉村正志(2019)保健所等関係者向けワークショップにてヒアリ防除等についての解説と同定体験を実施(主催：沖縄県自然保護課、日程：2019 年 11 月 26 日、会場：沖縄県衛生環境研究所、沖縄県、参加者：約 12 名)
16) 吉村正志(2019) 保健所等関係者向けワークショップにてヒアリ防除等についての解説と同定体験を実施(主催：沖縄県自然保護課、日程：2019 年 11 月 27 日、会場：八重山保健所、沖縄県、参加者：約 5 名)
17) 吉村正志(2020)港湾関係者向けワークショップにてヒアリ防除等についての解説と同定体験を実施(主催：那覇港管理組合、日程：2020 年 2 月 12 日、会場：沖縄県トラック協会、沖縄県、参加者：約 50 名)
18) 吉村正志(2020) 保健所等関係者向けワークショップにてヒアリ防除等についての解説と同定体験を実施(主催：沖縄県自然保護課、日程：2020 年 10 月 27 日、会場：宮古保健所、沖縄県、参加者：約 10 名)
19) 吉村正志(2020) 保健所等関係者向けワークショップにてヒアリ防除等についての解説と同定体験を実施(主催：沖縄県自然保護課、日程：2020 年 11 月 4 日、会場：八重山合同庁舎、沖縄県、参加者：約 10 名)
20) 吉村正志(2020)港湾関係者向けワークショップにてヒアリ防除等についての解説と同定体験を実施(主催：那覇港管理組合、日程：2020 年 11 月 13 日、会場：那覇港湾事務所、沖縄県、参加者：約 100 名)
21) 吉村正志 (2020) 「OKEON 美ら森プロジェクト-地域連携型環境モニタリングプロジェクト-」琉大カガク院にて外来アリ防除等について講演（主催：琉球大学、日程：2020 年 11 月 29 日、会場：琉球大学、沖縄県、参加者：約 5 名）
22) 吉村正志(2020)ワークショップにてヒアリ防除等についての解説と同定体験を実施(主催：沖縄県自然保護課、日程：2020 年 12 月 11 日、会場：沖縄産業支援センター、沖縄県、参加者：約 20 名)
23) 吉村正志(2020) 「高校生向けワークショップ-足もとの生き物の多様性と外来生物-」、沖縄県内の高校にてヒアリ防除の解説と同定体験を実施(日程：2020 年 12 月 17 日、会場：沖縄県立向陽高等学校、沖縄県、参加者：約 120 名)
24) 村正志(2021) 「高校生向けワークショップ-足もとの生き物の多様性と外来生物-」、沖縄県内の高校にてヒアリ防除の解説と同定体験を実施(日程：2021 年 1 月 19 日、会場：沖縄県立辺土名高等学校、沖縄県、参加者：約 40 名)
25) 吉村正志(2021) 「外来種が沖縄にやってきた!?アリ博士の奮闘日記」、オイストオンラインサイエンスフェスタにて外来アリ防除の解説を実施(日程：2021 年 1 月 30 日、会場：オンライン)
26) 吉村正志(2021)「OKEON 美ら森プロジェクト-地域協働型陸域環境モニタリングプロジェクト-と、それを通した地域課題解決への挑戦」、Okinawa SDGs プロジェクトのトークイベントで外来アリ防除等について講演（日程：2021 年 2 月 5 日、会場：琉球新報ホール、沖縄県、参加者：約 100 名）
27) 吉村正志 (2021) 琉球大学農学部の昆虫学実習にて外来アリ防除について解説（日程：2021 年 6 月 28 日、会場：琉球大学、沖縄県、参加者：約 5 名）
28) 吉村正志ら (2021) 「小さなエイリアン展～沖縄に潜む小さな侵略者～」、沖縄県立博物館主催の特別展「みんなの進化展-命はつながっている-」のプレイベントの中で外来アリ防除について展示（日程：2021 年 7 月 21 日から 2021 年 9 月 20 日、会場：沖縄県立博物館・美術館）
29) 吉村正志 (2021) Happy Earth Festa 世界自然遺産の対談にて外来アリ防除について解説（日程：2021 年 9 月 21 日、会場：オンライン）
30) 吉村正志 (2021 年) 「OKEON 美ら森プロジェクト-地域連携型環境モニタリングプロジェクト-」、琉球大学サイエンスキャンパスにて外来アリ防除について講演（日程：2021 年 11 月 7 日、会場：

琉球大学、沖縄県、参加者：20 名）

31) 吉村正志(2021) 保健所等関係者向けワークショップにてヒアリ防除等についての解説と同定体験を実施(主催：沖縄県自然保護課、日程：2021 年 11 月 11 日、会場：石垣市民会館、沖縄県、参加者：約 10 名）

32) 吉村正志(2021) 保健所等関係者向けワークショップにてヒアリ防除等についての解説と同定体験を実施(主催：沖縄県自然保護課、日程：2021 年 11 月 12 日、会場：宮古保健所、沖縄県、参加者：約 10 名）

33) 吉村正志(2021)保健所等関係者向けワークショップにてヒアリ防除等についての解説と同定体験を実施(主催：沖縄県自然保護課、日程：2021 年 11 月 15 日、会場：八汐荘、沖縄県、参加者：約 30 名）

34) 吉村正志（2021 年）「足元に目を向けよう」、OIST サイエンストーク・科学者と考える沖縄の未来にて外来アリの防除等について講演（2021 年 11 月 27 日、会場：ジュンク堂書店那覇店、沖縄県、参加者：約 15 名）

35) 吉村正志(2021)「高校生向けワークショップ-足もとの生き物の多様性と外来生物-」、沖縄県内の高校にてヒアリ防除の解説と同定体験を実施(日程：2021 年 12 月 20 日、会場：沖縄県立与勝高等学校、沖縄県、参加者：約 80 名）

36) 吉村正志(2022)「アリ研究の世界へようこそ～沖縄の在来生物と外来生物～」、沖縄こどもの国が主催する「キッズサイエンスカレッジ 2022」にて外来アリ防除の解説と同定体験を実施(日程：2022 年 1 月 27 日、29 日、会場：オンライン、参加者：約 20 名）

37) 吉村正志ら（2022）「小さなエイリアン展～沖縄に潜む小さな侵略者～」、移動展の中で外来アリ防除について展示（日程：2022 年 1 月 14 日から 2022 年 2 月 18 日、会場：沖縄市郷土博物館）

38) 吉村正志ら（2022）「小さなエイリアン展～沖縄に潜む小さな侵略者～」、移動展の中で外来アリ防除について展示（日程：2022 年 1 月 28 日から 2022 年 2 月 22 日、会場：沖縄市図書館）

39) 吉村正志（2022）「OKEON 美ら森プロジェクト～沖縄における生物多様性モニタリングプロジェクト 7 年の歩み～」、トークイベントの中で外来アリ防除について解説（2022 年 2 月 20 日、会場：沖縄市郷土博物館、沖縄県、参加者：約 30 名）

40) 吉村正志ら（2022 年）沖縄県自然保護課が主催する「企画展/おきなわの生物多様性を守ろう・希少種保全と外来種対策」で共催として外来アリ防除について展示(日程:2022 年 2 月 22 日から 2022 年 3 月 13 日、会場：沖縄県立博物館・美術館）

41) 吉村正志ら（2022 年）企画展「沖縄地域協働で、自然を調べて守る OIST 研究『OKEON 美ら森プロジェクト』」にて外来アリ防除について展示（日程：2022 年 3 月 1 日から 4 月 3 日、会場：恩納村博物館）

42) 吉村正志（2022 年）「一般向けワークショップ-足もとの生き物の多様性と外来生物-」、恩納博物館にて外来アリ等侵略的外来生物の管理についての解説と同定体験を実施（日程：2022 年 3 月 26 日、会場：恩納博物館、参加者：約 20 名）

（4）マスコミ等への公表・報道等＞

【サブテーマ１】

1) RBC ラジオ(2019 年 11 月 14 日、シャキッと！に生出演、ヒアリなどについて解説)
2) テレビ朝日(2020 年 1 月 10 日「超人女子戦士ガリベンガーV」に出演。ヒアリなどを解説。）
3) 東洋経済オンライン（2020年12月8日).「あふれる独自性ニッポンのすごい研究者」で特集。外来アリの巣間分業について解説。

【サブテーマ３】

1) 読売新聞（2019年5月12日、全国版、シリーズ”天職ですか“「高まるリスクに備える」）
2) 毎日新聞（2019年8月28日、全国版、「ヒアリの存在忘れるな」）

3) 朝日新聞（2019年8月6日、全国版、「ヒアリ発見2年　水際でヒヤヒヤの攻防」）
4) 朝日新聞（2019年10月17日、全国版、「東京港ヒアリ定着か」）
5) ＮＨＫくらし解説（2019年10月29日、ヒアリの侵入実態と化学的防除技術の成果について10分ほど紹介）
6) ＮＨＫシブ5時（2019年10月29日、ヒアリの侵入実態と化学的防除技術の成果について5分ほど紹介）
7) 朝日新聞デジタル（2020年2月5日、有料記事、「猛毒ヒアリ対策に探知犬　環境省の専門家会合が導入検討」）
8) 毎日新聞（2021年8月26日、全国版、コラム“いきものと生きる”「続くヒアリの侵入」）

【サブテーマ4】

1) 日刊工業新聞・ウェブ版(2019 年 5 月 9 日、「琉大など、外来アリ防除・根絶へ　沖縄で管理システム構築」）
2) NHK ウェブ版(2019 年 5 月 15 日、「ヒアリ対策プロジェクト立ち上げ」）
3) 琉球新報(2019 年 5 月 16 日、「ヒアリ対策 共同研究　琉大など 4 機 関沖縄を全国モデルに」）
4) 琉球新報(2019 年 5 月 17 日、「ヒアリ防除 鍵は「県民の目」」）
5) 沖縄タイムス(2019 年 5 月 18 日「ヒアリ防げ 4 機関始動 琉球大・OIST・京都大・国立環研」）
6) OTV 河川環境シリーズ(2019 年 5 月 23 日、7 分間、「-終わらない脅威-ヒアリ根絶に向け始動」）
7) 世界日報(2019 年 5 月 28 日、「ヒアリ、「早期発見・根絶が重要」外来アリ対策で 4 研究機関がタッグ」
8) 朝日小学生新聞(2019 年 6 月 9 日、「早期発見、対応で定着防げ ヒアリ国内初確認から 2 年」）
9) 琉球新報(2019 年 7 月 30 日、「アリ博士になれた」）。
10) 朝日新聞(2019 年 8 月 6 日、「ヒアリ発見 2 年　水際でヒヤヒヤの攻防」）。
11) 沖縄タイムス(2019 年 9 月 5 日、「22 日那覇で OIST ワークショップ」）。
12) FM 那覇(2019 年 9 月 12 日、当事業の紹介と 22 日のワークショップの告知について 30 分ほど紹介)。
13) 日刊工業新聞（2020 年 6 月 5 日、「ヒアリ沖縄定着、年 438 億円損失」）。
14) 琉球新報（2020 年 7 月 19 日、「強い毒性あるヒアリ防除で県が手引書　殺虫処理や連絡法を明記」）。
15) 沖縄タイムス（2020 年 8 月 22 日、「外来アリ駆除始まる　那覇　OIST や琉大など」）。
16) RBC NEWS（2020 年 8 月 26 日、ハヤトゲフシアリの防除等について特集として紹介された）。
17) 八重山日報（2020 年 11 月 5 日、「ヒアリの正しい知識を　吉村氏が対策説明」）。
18) 宮古新報（2020 年 11 月 13 日、「継続的監視で侵入防止を　特定外来生物　ヒアリの識別で研修」）
19) OTV ニュース（2020 年 12 月 12 日、ニュースの中でヒアリ対策についての研修を紹介された）。
20) 八重山日報（2021 年 9 月 7 日、「OIST がオンライン授業　古見小『研究者と話せた』」）。
21) 宮古新報（2021 年 11 月 13 日、「ヒアリ見分け方研修　市職員・海運関係者ら参加」）。
22) 琉球新報（2022 年 2 月 9 日、「『小さなエイリアン』外来アリの生態知ってる？OIST ロビーで企画展、研究者の講座も」）。
23) 琉球新報（2022 年 2 月 27 日、「身近なアリ　生態学ぶ　OIST・吉村氏、研究報告」）。

（5）本研究費の研究成果による受賞

特になし。

Ⅳ. 英文Abstract

Development of technologies for invasive species countermeasures, using ants as a model

Principal Investigator: Mizuki TSUJI
Institution: Senbaru 1,Nishihara,Okinawa 903-0213, JAPAN
Tel: +819-8895-8797/ Fax: +819-8895-8797
E-mail: tsujik@agr.u-ryukyu.ac.jp
Cooperated by: Kyusyu University, National Institute for Environmental Studies, Japan, Okinawa Institute of Science and Technology Graduate University and Kyoto University

[Abstract]

Key Words: Alien species, Invasion, Ant, Initial Control, Implementation

This project aimed to develop a scientific management system for invasive species using alien ants as a model. First, as a part of the development of control technology in the initial stage of biological invasions, workshop packages were created and disseminated to the general public in Okinawa as a model area. In addition, the DNA library of invasive alien species that have already established populations in Okinawa Prefecture was created in preparation for the detection of new invasive ants. Furthermore, we established a cross-governmental cooperative system for the detection of new invasions, and applied it to the initial response and control of Argentine ants and Browsing ants that were newly found in Okinawa Prefecture during this project period. Next, as a technique required in the second stage of biological invasion, we expanded the target species of simple diagnostics using the DNA amplification (LAMP) kit, which allows anyone to reliably identify collected alien ants. We also improved its use in collaboration with a pest control company. Furthermore, we confirmed the effectiveness of pyrethroid aerosol agents as a method to control entire containers of alien ants after discovery. Finally, as techniques necessary for control after establishment, we confirmed the effectiveness of fipronil and pyriproxyfen as agents used to control established populations of alien ants, and these agents were used in actual fire ant control conducted by the Ministry of the Environment. We also studied strategies for the effective use of baiting to eradicate established wild colonies. We demonstrated that in polydomous colonies, a common characteristic of invasive alien ants, the entire colony is physiologically integrated through nutrient exchange among member individuals, and each nest tends to specialize in foraging for better quality food resources nearby (the nest-level division of labor). A variety of viral infections, including honeybee pathogenic species, were observed in three exotic ant species collected in Japan: *Solenopsis invicta*, *Anoplolepis gracilipes* and *Pheidole megacephala*. In *S. invicta* and *A. gracilipes,* certain viral infections were found to cause reduced feeding and a tendency to avoid protein content. Considering these factors, we confirmed that simultaneously feeding protein and sugar as separate baits increases the feeding rate of the colony, both in the laboratory and in the field. This baiting strategy was implemented on a trial for the control of *Lepisiota frauenferdi,* which was discovered to have invaded Okinawa during the study period, and has been almost eradicated.