

研究種目：若手研究（スタートアップ）  
研究期間：2008～2009  
課題番号：20880011  
研究課題名（和文） DNA マーカーを用いた胃内容分析による環境保全型水田における土着天敵の役割の評価  
研究課題名（英文） Predation rates of spiders on a mirid bug in organic rice paddies: an approach using molecular gut-content analysis  
研究代表者  
高田 まゆら（TAKADA MAYURA）  
国立大学法人帯広畜産大学・畜産学部・助教  
研究者番号：10466807

## 研究成果の概要（和文）：

本研究は、害虫 DNA マーカーを用いた土着天敵の胃内容分析を行うことで、環境保全型水田に生息するイネ害虫アカスジカスミカメ(以下アカスジ)が土着天敵であるクモ類に捕食されているかを確認、その捕食数を定量化することを目的とした。環境保全型水田におけるクモ類によるアカスジ捕食数を推定するため、多数の水田から採集したクモ類の胃内容分析と、アカスジ1匹を捕食した後の DNA 検出時間推定のための室内実験を行った。

水田内で優占している3グループのクモを対象に、クモ1個体あたり・1日あたりのアカスジ捕食数を推定したところ、その値は水田間で大きく異なったものの、最大でコモリグモ類で0.04、アシナガグモ類で0.03、アゴブトグモで0.07となり、各クモグループによるアカスジ捕食数は極めて低かった。そのため現状では、クモ類のみによるアカスジ密度の抑制効果を期待するのは難しいだろう。こうしたクモ類の害虫抑制効果を高めるには、水田生態系における天敵の多様性を増加させる管理を行うことが必要であると考えられた。

## 研究成果の概要（英文）：

The predation rates of three groups of spiders (*Lycosidae*, *Tetragnatha* spp. and *Pachygnatha clercki*) on the mirid bug *Stenotus rubrovittatus* (Hemiptera: Miridae) in organic rice paddies were evaluated using DNA-based gut-content analysis. The bug predation rates per day per individual spider in the field can be estimated using the detection period of prey's DNA obtained from the laboratory feeding trials, and the rate of spiders that is positive for a bug's DNA at a given time in the field obtained in the DNA analysis of the field samples.

In total, 1,199 field spiders were assayed among three groups that differ in preferred microhabitats as well as predation habits, revealing that predation rates significantly increased with the density of prey irrespective of group. Our estimates revealed that a maximum of 0.03-0.07 of spiders feed on the mirid bug, which corresponds to one adult per day. This low frequency of predation may indicate the difficulty in suppressing mirid bug density by spider predation alone in organic paddy fields. To enhance the role of spiders as biocontrol agents, some additional management strategies must be implemented, such as increasing the diversity of spiders in paddy ecosystems.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	980,000円	294,000円	1,274,000円
2009年度	1,160,000円	348,000円	1,508,000円
年度			
年度			
年度			
総計	2,140,000円	642,000円	2,782,000円

研究分野：農学

科研費の分科・細目：環境農学

キーワード：クモ類、斑点米カメムシ、捕食被食関係、有機農業、害虫

1. 研究開始当初の背景

近年、農薬や化学肥料をなるべく使用しない環境保全型水田が全国的に普及しつつある。こうした水田では様々な生物の多様性が増加するが、それと同時にイネ害虫による被害の深刻化が問題となることが多い。こうした被害による収量減少は農家個人の負担となることから、今後環境保全型稲作を普及・持続させるためには、なるべく農薬に頼らない害虫被害の防除法が必要である。その方法の1つとして、害虫に有効な土着天敵類を特定し、それらを活かす技術を確認することがあげられる。

ラムサール条約登録湿地の一部である宮城県大崎市伸萌地区の水田では、水鳥や両生類、節足動物など水田に生息する生物の多様性保全のため、136haのうち約20ha(約100枚)の水田において、無農薬、無化学肥料、冬期湛水などの環境保全型農法が施されている。環境保全型水田では慣行農法水田に比べ、生物の多様性が増すことが明らかになっており、特にクモ類の多様性増加が著しい。こうした環境保全型水田における土着天敵の増加は、イネ害虫の密度やその被害を抑制する効果をもたらすことが期待されるが、その有効性を科学的に検証した例は非常に少ない。

このような背景を受け、著者は伸萌地区水田農家の全面的な協力のもと、環境保全型水田におけるクモ類のイネ害虫被害抑制効果の評価に取り組んできた。1枚約20aの環境保全型水田多数を対象に、クモ類やイネ害虫類などの密度調査を行っている(以下、野外密度調査)。これまでの調査から、クモ類密度が著しく高くなる水田では、本調査地で最も問題視されている斑点米カメムシ(主にアカスジカスミカメ)の密度及び斑点米被害率が低くなることが示された。さらにアカスジカスミカメの密度と負の関係にあるのは、コモリ

グモ類、アシナガグモ類、アゴブトグモという大型のクモ類3グループであることがわかった。しかしこの結果は、回帰分析からクモ類とアカスジカスミカメとの関係を類推したものであり、必ずしもこれらの間の捕食被食関係を証明するものではない。

節足動物を対象とした捕食被食関係を直接評価する新たな手法として、最近DNAマーカーを用いた捕食者の胃内容分析が注目されている。この方法は、注目する捕食性節足動物種を野外から多数採集し、胃内容物から害虫種のDNAが検出された個体の割合を算出することで、その害虫の捕食頻度を評価するものである。

2. 研究の目的

本研究では、環境保全型水田に生息する大型クモ類のアカスジカスミカメ(以下、アカスジ)に対する土着天敵としての重要性を評価するため、アカスジのDNAマーカーを用いたクモ類の胃内容分析を行うことで、水田内に生息するアカスジのクモ類による捕食数を定量化した。まず環境保全型水田における各クモグループのアカスジ捕食率を調べ、次に室内実験によりアカスジ1匹を捕食後のDNA検出可能時間を推定し、それらの結果を合わせることでクモ類によるアカスジ捕食数を定量化する。またクモ類によるアカスジ捕食数に影響を与える要因を特定するため、多数の水田においてクモ類のアカスジ捕食数を推定し、アカスジ密度や同グループのクモ密度、クモの重要な代替餌であるユスリカ量との関係性を検証した。

3. 研究の方法

(1) 調査地

宮城県大崎市田尻大貫・蕪栗地域は約20km<sup>2</sup>の水田地帯であり、ラムサール条約登

録湿地である蕪栗沼での生物多様性保全活動を中心に、多くの農家が無農薬・減農薬などの環境保全型稲作に取り組んでおり、こうした水田で生物多様性の調査が活発に行われている。そのため環境保全型水田では農家の調査協力を得やすく、研究遂行上適切なデザインで調査対象水田を多数選定することができる。本研究では、無農薬・無化学肥料水田のうちなるべく局所環境や栽培履歴が等しい水田を20圃場(面積:611-14,300m<sup>2</sup>)選定し、調査対象水田とした。

## (2) 主な研究対象生物

### ①アカスジカスミカメ *Stenotus rubrovittatus*

本調査地において最も深刻な問題となっているイネ害虫である。これまでの調査からアカスジは主に水田周辺の牧草地や休耕田で繁殖し、8月にのみ水田内に侵入・生息することがわかっている。水田内でのアカスジ密度は捕虫網を用いたすくい取り法により推定した。

### ②クモ類

多数の環境保全型水田を対象とした生物密度調査により、アカスジ密度と負の関係があったクモ類は、コモリグモ類 *Lycosidae*、アシナガグモ類 *Tetragnatha* spp.、アゴブトグモ *Pachygnatha clercki* の3グループであることが示されていることから、本研究ではこれらのクモ類のアカスジ捕食数を推定した。

## (3) 室内実験及び野外調査

アカスジ1匹を捕食後のDNA検出可能時間を推定するため、以下の室内実験を行った。まず野外からコモリグモ科、アシナガグモ科のクモを多数採集し、2週間水だけ与えて胃を空にした後、それぞれの個体にアカスジを1匹捕食させた。その後25°C(調査地の平均気温)の条件下で飼育し、捕食直後、4h, 12h, 24h, 48h, 96h, 144h, 192, 240, 288h後それぞれ約10匹ずつ80%アルコールで固定した。各個体の腹部からDNAを抽出しPCRを行い、アカスジのCOI遺伝子の断片が増幅しているか確認した。

2008年8月、各調査水田においてクモ1グループあたり約30匹を採集し、室内実験と同様の方法で各クモ個体のアカスジ捕食の有無を確認した。また、すくい取り法や見とり法などによる斑点米カメムシ類やクモ類、ユスリカ類などの生物量調査も同時に行った。

## (4) クモ類によるアカスジ捕食数の推定

あるクモグループの1匹・1日あたりのアカスジ捕食数( $n$ )は、以下の式で表わされる(Dempster 1960)。

$$n = r / D$$

ここで $r$ はアカスジDNAを検出した野外のクモの割合を、 $D$ はアカスジ1匹を捕食した後のDNA検出時間をそれぞれ表す。 $r$ はアカスジDNAを検出したクモ個体数/採集した総クモ個体数で算出した。 $D$ はある捕食後経過時間におけるアカスジDNAの検出率( $p(t)$ )を捕食後経過時間( $t$ )で説明するロジスティック回帰式

$$p(t) = \frac{1}{1 + \exp(-a_0 + a_1 t)}$$

を積分することで求めた。

## (5) 統計解析

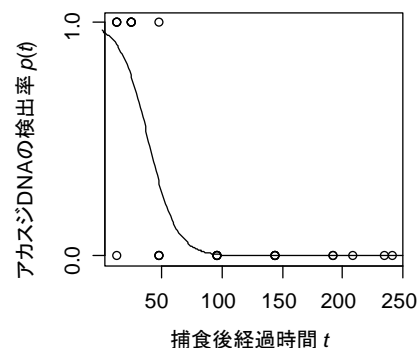
クモ類によるアカスジ捕食数に影響を与える要因を特定するため、重回帰モデルを用いたモデル選択を行った。目的変数がある水田における各クモグループによるアカスジ捕食数、独立変数を水田内のアカスジ密度、同グループクモ密度、ユスリカ量とし、すべての組み合わせからなるモデル群に対してそれぞれAICcを算出した。なおアカスジ密度との関係性は単調増加型( $y = ax + b$ )と飽和型( $y = ax / (1 + bx)$ )が考えられたため、候補となるモデルは12通りとなった。これらモデル群のうち最もAICcが低いモデルをベストモデルと考えた。これらの統計解析にはR for Windows 2.8.0を用いた。

## 4. 研究成果

### (1) 結果

室内実験の結果、アシナガグモ科、コモリグモ科ともにアカスジDNAの検出率 $p(t)$ は捕食後経過時間 $t$ と強い負の関係をもっていることが明らかになった(アシナガグモ科: 係数 = -0.086, deviance = 19.37,  $P < 0.0001$ ; コモリグモ科: 係数 = -0.026, deviance = 27.436,  $P < 0.0001$ ; 図1)。

アシナガグモ科



コモリグモ科

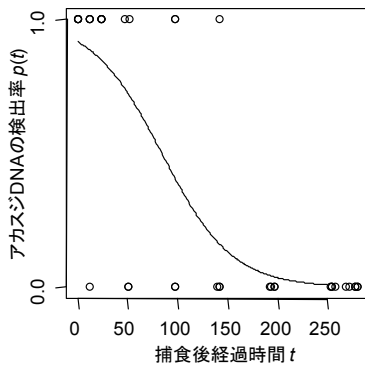


図1. 各クモグループにおけるアカスジDNAの検出率と捕食後経過時間との関係

得られたロジスティック回帰式を積分しアカスジ1匹を捕食した後のDNA検出時間(D)を算出したところ、アシナガグモ科では1.6日、コモリグモ科では3.6日であることがわかった。

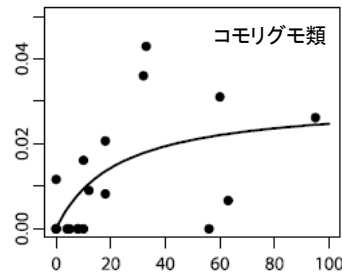
上記のDと野外における各クモグループのアカスジ捕食率(r)を用いて(総分析クモ1,199匹)、ある水田内におけるあるクモグループの1匹・1日あたりのアカスジ捕食数(n)を算出したところ、水田間で大きく異なることがわかった。なおアゴブトグモはアシナガグモ科に属することから、アゴブトグモのnはアシナガグモ科のDを用いて算出した。n

表1. 各クモグループによるアカスジ捕食数を説明する上位3つのモデル及び情報理論統計量AICc

Rank	Model	AICc	ΔAICc
<b>コモリグモ類</b>			
1	non-linear bug density	65.06	0.00
2	linear bug density	67.92	2.86
3	null (intercept)	70.40	5.34
<b>アシナガグモ類</b>			
1	non-linear bug density	22.42	0.00
2	null (intercept)	31.22	8.80
3	linear bug density	37.74	15.32
<b>アゴブトグモ</b>			
1	linear bug density	41.85	0.00
2	non-linear bug density	42.35	0.50
3	linear bug density and alternative prey bi	48.97	7.12

に影響を与える要因を特定するためのモデル選択を行った結果、アシナガグモ類、コモリグモ類、アゴブトグモ3グループすべてでアカスジ密度のみを説明変数としたモデルがベストモデルであった(表1)。

アシナガグモ類とコモリグモ類では飽和型のモデルが、アゴブトグモでは単調増加型のモデルがそれぞれベストモデルであった。クモ1個体あたり・1日あたりの最大捕食数はそれぞれ、コモリグモで0.04、アシナガグモ類で0.03、アゴブトグモで0.07だった(図2)。



捕食数/1日あたり・クモ個体あたり

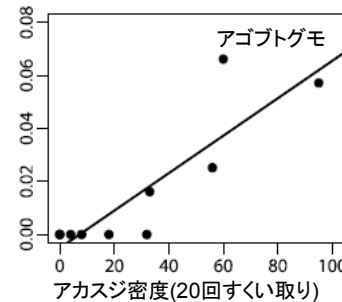
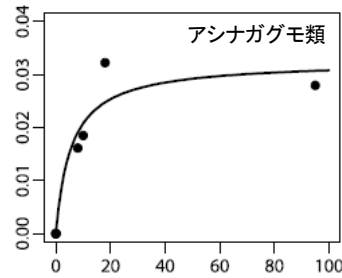


図2. 各クモグループにおけるアカスジ捕食数とアカスジ密度との関係

(2) 考察

アカスジのDNAマーカーを用いたクモ類の胃内容分析により、調査対象とした3グループのクモ類すべてが野外の環境保全型水田においてアカスジを捕食していることが示された。さらに野外におけるアカスジ捕食率と室内実験により推定されたアカスジ1匹を捕食後のDNA検出可能時間とを合わせて考えることで、各クモグループ1匹・1日あたりのアカスジ捕食数を算出することができた。こうしたクモ類のアカスジ捕食数と各クモグループやアカスジの絶対密度とを比較することで、クモ類のトップダウン効果の強さを定量的に評価することができるだろう。

しかし推定されたクモ類によるアカスジ捕食数は極めて低かった。そのため、現状ではクモ類のみによるアカスジ密度の抑制効果を期待するのは難しいだろう。こうしたクモ類の抑制効果をより促進させるためには、クモ類の密度を増加させるような水田生態系の管理が必要となるだろう。具体的には、クモ類の代替餌となるユスリカ類を増やし

たり、クモ類の生息地・越冬地となるような非農地を適切に管理することなどが考えられる。本研究で提示したようなアプローチにより水田に生息する捕食者のうち天敵の役割をもつグループを特定することに加え、水田生態系における天敵の多様性を増加させる管理を行うことで、より効果的に天敵を活かした害虫管理を行うことができると考えられる。

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計1件)

小林徹也、高田まゆら、高木俊、吉岡明良、鷺谷いつみ、Predation rates of spiders on a mirid bug in rice fields and the associated functional response: An approach using molecular gut-content analysis. *Oecologia* 投稿中

〔学会発表〕(計6件)

① 小林徹也、高木俊、吉岡明良、鷺谷いつみ、高田まゆら、DNA マーカーを用いた水田のクモ類による害虫の捕食量の推定. 第54回日本応用動物昆虫学会大会. 2010. 3. 26. 千葉

② 高田まゆら、小林徹也、高木俊、吉岡明良、鷺谷いつみ. 造網性クモ類と徘徊性クモ類との相乗効果がイネ害虫防除に果たす役割. 第54回日本応用動物昆虫学会大会. 2010. 3. 26. 千葉

③ 高田まゆら. 環境保全型水田における天敵類の役割の評価法. 第57回日本生態学会大会. 2010. 3. 20. 東京

④ 高田まゆら、高木俊、吉岡明良、岩渕成紀、小林徹也、鷺谷いつみ. アカスジカスミカメによる斑点米被害の程度に影響を与える水田内要因と水田周辺のランドスケープ要素の解明. 第53回日本応用動物昆虫学会大会 小集会「ランドスケープ(景観)構造を考慮した害虫管理と益虫利用」2009. 3. 30. 札幌

⑤ 高田まゆら、高木俊、吉岡明良、岩渕成紀、小林徹也、鷺谷いつみ. 宮城におけるマガン越冬地・蕪栗沼周辺水田における稲作技術の開発研究. 第56回日本生態学会 自由集会「大型水鳥を支える里地生態系の構造、機能、再生技術」2009. 3. 20. 盛岡

⑥ 高田まゆら、高木俊、吉岡明良、岩渕成紀、小林徹也、鷺谷いつみ. 環境保全型水田における土着天敵を利用した害虫被害防除のための空間生態学的研究. 第56回日本生態学会 企画集会「アグロエコロジー研究会 11 ”冬期湛水”は水田生物多様性の再生に貢献しうるか」2009. 3. 19. 盛岡

〔図書〕(計1件)

高田まゆら(分担執筆). 東京大学出版会. 保全生態学の技法. 2010. 324pp.

#### 6. 研究組織

##### (1)研究代表者

高田まゆら (TAKADA MAYURA)

国立大学法人帯広畜産大学・畜産学部

・助教

研究者番号：10466807