

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年5月15日現在

機関番号：12102

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2009～2011

課題番号：21570015

研究課題名（和文） 里山景観を利用するアカネ属ノシメトンボの生活史戦略

研究課題名（英文） Life history strategy of *Sympetrum infuscatum* inhabiting Satoyama landscape

## 研究代表者

渡辺 守 (WATANABE MAMORU)

筑波大学・生命環境系・教授

研究者番号：80167171

研究成果の概要（和文）：冷温帯の里山に生息するノシメトンボは、水田で羽化した後、周囲のスギ林のギャップへ移動し、生涯を過ごしている。ギャップでは、繁殖行動を示さず、休息と採餌を行っていた。繁殖期に入ると、採餌活動は活発となり、雌の採餌量は雄よりも多かった。室内飼育実験により、雌は約1週間で500個の卵を成熟させ、そのすべてを1回の水田訪問で生みきり、それを生涯に数回繰り返すことを明らかにした。また、ミトコンドリアDNAの解析から、プライマーを特定した。

研究成果の概要（英文）：Although the larval habitats of the dragonfly, *Sympetrum infuscatum*, are paddy fields, all adults leave the paddy fields for forest gaps after emergence, and remain there during their sexually immature stages. When they have matured, some visit paddy fields in tandem flight for oviposition. However, many females remain perching in the forest gaps, where no mating behaviour is observed. Daily food intake was estimated using the quantity of faeces produced in the laboratory. The quantity of food intake indicated that about 8 days were needed to accumulate enough mature eggs in the ovaries to lay in rice paddy fields (500 eggs), and the number of visits to rice paddy fields was about 6 throughout the life span. Oviposition behaviour was observed in relation to vapour pressure above the rice plants. In addition, the primer at the mitochondria DNA was identified.

## 交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,500,000	450,000	1,950,000
2010年度	1,500,000	450,000	1,950,000
2011年度	600,000	180,000	780,000
年度			
年度			
総計	3,600,000	1,080,000	4,680,000

研究分野：生物学

科研費の分科・細目：生態・環境

キーワード：ギャップ, 静止場所, 採餌, 連結打空産卵, 卵生産, 水田, 水蒸気圧, ミトコンドリアDNA

## 1. 研究開始当初の背景

(1) 蜻蛉目昆虫は水中と陸上の両方を生活場所とするため生活史が複雑であるという

理由に加えて、愛好家の絶対数が少ないため情報が少なく、比較的研究が進んでい

ると言われる成虫時代でも、水辺における繁殖行動に焦点が当てられているにすぎず、蜻蛉目の生活に樹林が重要であるという認識は育っていなかった。

(2) 我が国の水田で幼虫時代を過ごすアカネ属は、多様な処女飛翔 (maiden flight) を示す分類群であるが、多くのアカネ属の処女飛翔先は水田の近くの里山林である。その中でも、ノシメトンボは、成虫時代を里山林内に生じたギャップで過ごし、特に雌は、産卵時の短期間しか水田を訪問せず、生涯を里山林で過ごすという際だった生活史をもっていた。

(3) 生息場所全体にわたって行なわれた標識再捕獲調査により、水田—里山林の典型的な往復飛翔が明らかにされた。里山林内のギャップの温度環境とノシメトンボの体温調節の関係から、林内ギャップが好適な環境であることと共に、水田の高温環境では、静止するよりも飛翔する方が体温調節をしやすいことと、連結 (タンデム) 飛翔では雄の体温が雌よりも 2℃ 高くなることなどにより、水田を訪れるノシメトンボが他の種と比べて常に飛翔せざるを得ないことが示されてきた。なお、里山林内では、雌雄共に、待ち伏せ型の採餌行動を示すので、水田では flyer、里山林内では percher という異なる飛翔活動性に切り替えられる唯一のアカネ属である。

## 2. 研究の目的

### (1) 野外調査

① 里山林内ギャップにおける生活史を解明する。特に、摂食量と卵生産過程の関係を明らかにするため、捕食活動の観察と飼育実験を連動させる。また、当たり摂食量の推定とギャップ内の餌動物 (小昆虫) の推定量との関係も明らかにする。

② 水田を訪れて、連結打空産卵を行なって

いる連結態を観察し、雌の林内ギャップにおける摂食活動の意義を解明する。また、生涯産下卵数を推定し、雌が林内ギャップにとどまる理由を産卵過程の視点から考察したい。

### (2) 室内実験

① 飼育方法・技術と共に、排泄量から前日の日当たり摂食量推定の方法を確立し、野外における成虫の日当たり摂食量などを解明する。

② 野外雌に対する蔵卵数の推定方法を室内飼育成虫に応用する技術を確立し、日当たり摂食量と卵生産量との関係を明らかにしたい。これらの結果から、本種が里山林内ギャップで生活する意味を考察する。

③ 一見すると水田では汎生殖個体群であり、里山林内では遺伝的に閉鎖個体群と見える本種の地域個体群の近縁関係を明らかにし、地域個体群間の移動・交流を遺伝子レベルで特定し、我が国における本種の分布の成因と将来を考察するため、遺伝子解析を行なって、プライマーの同定を行なう。

## 3. 研究の方法

### (1) 野外調査

① 里山林内のギャップにおけるノシメトンボ成虫の行動観察は、原則として、標識再捕獲法を援用する。ギャップ内で成虫を捕獲し、左後翅裏面にフェルトペンで個体識別番号を書いて放逐するが、成虫はギャップ内では静止するので、その後は再捕獲せずに、番号を読み取ることが可能となる。したがって、個体の行動を攪乱するのは捕獲—標識—放逐時のみとなり、その後の成虫の滞在率が比較的安定することになる。なお、野外の個体のエイジ判定には、体色と体の固さ、翅の汚損状態などにより T, I, II, P を性的に未熟な段階、M, MM,

MMM, XM を性的に成熟した段階とみなして用いる。

②ギャップ内の小昆虫 (= 餌動物) の採集を試み、実体顕微鏡下で同定し、大きさを測定する。ノシメトンボの摂食行動や静止場所を巡る闘争行動を観察しながら、ギャップ内の餌動物の量を推定する。

③水田に飛来した連結態の産卵行動を観察し、産卵場所選択を解明する。この時、光や温度、風環境も測定する。

#### (2) 室内実験

①採集した雌を、直ちに固定して室内へ持ち帰り、解剖して保有している卵数を調べる。未熟卵についても計数できる方法を考案したので、加齢に伴う卵成熟過程や産卵数の変動と生涯の総産下卵数を推定する。

②水田で、産卵しきった雌 (したがって体内に成熟卵のない雌) を捕獲し、乾燥重量のわかっているヒツジキンバエを与えて飼育し、排出する糞を乾燥させて重さを測定する。この結果は、次の2種類の推定を行なうのに用いることになる。即ち、ギャップ内で捕獲した個体を同様の飼育条件下 (原則として 24 時間水のみを与えて静置する) におき、排出した糞の乾燥重量から前日の日当たり摂食量を推定する。もう一つは、糞量から推定した摂食量と成熟卵の生産量や生産速度を推定するのである。

③ギャップと水田で採集した個体の血縁関係を AFLP 法による DNA 解析で明らかにし、本個体群の遺伝的構造と分散過程を評価する。

#### 4. 研究成果

(1) 里山林内のギャップで生活する成虫の採餌活動

ノシメトンボ成虫は、生涯の大部分を水田の周囲の里山林に生じたギャップで過ごし、産卵

を行なうときだけ水田を短時間訪れている。林内ギャップにおいて、彼らは木本の枝先や草本の茎先に静止しており、視界に入った飛翔性小昆虫に対して飛びかかって捕獲するという「待ち伏せ型」の採餌行動を示している。林内ギャップにおけるノシメトンボの成虫の採餌活動について調査を行なったところ、静止場所の高さは、朝夕が高く、昼に低くなっており、飛翔性小昆虫の豊富さの日周変化と対応していた。日あたり採餌飛翔回数は雌で 251 回、雄で 182 回であり、捕獲成功率から実際に捕獲に成功している小昆虫の頭数を求めると、それぞれ 109 頭と 89 頭であった。標識債捕獲調査による日当たり個体数の推定結果から、本調査地に設定した里山林に存在するギャップでは、1 日に合計 2,935,300 頭の飛翔性小昆虫がノシメトンボによって捕食されると推定された。

(2) 里山林内のギャップにおける成虫の採餌飛翔

冷温帯の里山に生息するノシメトンボは、水田で羽化した後、周囲のスギ林のギャップへ移動し、生涯を過ごしている。水田へは、産卵のために短時間飛来するに過ぎない。ギャップでは、繁殖行動を示さず、休息と採餌行動を行なっている。採餌は待ち伏せ型で、ハエやハチなどの小昆虫を餌としている。繁殖期に入ったノシメトンボの採餌行動を、8 月下旬から9月初めにかけて観察したところ、地上から約 2 m の高さで静止し、正午にピークをもつ一山型の採餌行動を示した。ピーク時の採餌飛翔は、雌で約 36 回/時間、雄は約 24 回/時間であった。採餌飛翔の成功率は雌で 34%、雄で 33% と、雌雄で有意な差はなかった。その結果、1 日当たりの採餌成功回数は、雌で 102 回、雄で 64 回となった。林内ギャ

ップにおける餌となる小昆虫の平均乾燥重量は 0.17mg/個体であったので、ノシメトンボの1日当たりの摂食量は雌で 17mg、雄で 10mg となり、これらの値は室内実験の結果と一致した。上記(1)と共に、野外におけるトンボの採餌量推定と餌の昆虫数の推定は、初めての定量化といえ、里山の生物多様性の議論に一石を投じたと考えている。

#### (3) 林内ギャップにおける摂食量と卵生産の関係

排出する糞の量を指標にして、ノシメトンボ成虫の日当たり摂食量を推定した。野外で捕獲した成虫が、その後 24 時間で排出した糞の乾燥重量を成熟段階別・雌雄別に測定した。糞の中には、たくさんの餌昆虫のクチクラが発見された。室内実験において、排出した糞量と摂食量の間に関連関係が認められた。性的に未熟な雌雄の間では、排出糞量に違いが認められなかったが、成熟した雌の排出糞量は成熟した雄よりも遙かに多かった。成熟した雌は摂食活動が盛んだったことが示唆され、推定された日当たり摂食量の乾燥重量は約 17.7 mg となった。日当たり摂食量と日当たり卵成熟量の関係は、水田へ産卵に行くまでの成熟卵の数(約 500 卵)を作るためには、約 8 日の林内滞在が必要であることを示している。成熟した雌の産卵期間は約 1 ヶ月半あるので、雌の生涯の水田訪問回数は 6 回といえ、本種にとって、林内ギャップの生活が重要であることを明らかにした。野外の成虫の日当たり摂食量の推定方法の開発は、他の蜻蛉目の研究に影響を与え、すでに、これを参考にした研究が発表され始めている。

#### (4) 誤った産卵行動を解発する乾燥した水田環境

我が国における水田耕作では、ノシメト

ンボ成虫が産卵する季節に水がない。成虫の産卵場所選択は、原則として、視覚に依存しており、乾田化した水田に引き寄せられる産卵ペアの行動が無機的環境要因と共に調査された。水田に飛来した連結態は、稲の上でホヴァリングしながら連結打空産卵を行っており、飛翔高度が測定された。なお、産卵終了後、連結態は分離する。外気温や相対湿度、照度などの垂直分布を、水田の中から上空に向かって測定したところ、産卵高度は、水蒸気圧の変化と関係していることがわかった。すなわち、均一に生長し、均一の高さになった稲の存在する水田の表面は、水の表面と同様に平坦で、水蒸気圧により同様の偏光が生じていた可能性が考えられたのである。産卵時に乾田であったとしても、翌年には水が張られるので、ノシメトンボにとっては、都合のよい産卵場所であるといえるが、水田耕作が変化すれば、直ちに影響を受ける種であることが明らかになった。里山に生息する昆虫が、思いの外、人間活動に依存していることが明らかにされ、今後、世界の保全生態学に大きな影響を与えることになる。ただし、この研究成果は英文国際誌に発表されているため、我が国の里山保全の研究者からは、注意を引かない可能性がある。

#### (5) ノシメトンボの DNA マイクロサテライト領域の単離

成虫個体群の遺伝構成および個体群間の遺伝的關係を調べることを目的とし、DNA マイクロサテライト領域の単離を行い、DNA マイクロサテライト領域解析のためのプライマーを設計した。方法は以下の通り。すなわち、DNeasy Blood & Tissue Kit (Qiagen) を用いて、ノシメトンボ 1 頭からゲノム DNA を抽出した。抽出した DNA を SauIII A1 (Takara) を用いて切断し、切断面にカセ

ットプライマーをライゲーションした後、PCR法を用いて増幅を行った。増幅したDNAにはマイクロサテライト領域を含まないものも多く含まれるため、5' ビオチン (CA)<sub>10</sub> とビーズ法を用いてスクリーニングを行った。スクリーニング後のサンプルを再度PCR法で増幅し、pGEM-T Vector(Promega) とDH5α株コンピテントセルを用いてTAクローニングを行った。クローニングにより得られたコロニーを用いて、コロニーダイレクトPCRを行った後、シーケンスの解読を行った。解読したシーケンスにマイクロサテライト領域が含まれている場合は、ソフトウェア “ Primer3 ” (<http://frodo.wi.mit.edu/>) を用いて、当該領域を含むプライマーを作成した。その結果、クローニングにより得られた 112 コロニーを用いてインサートのシーケンスを解読したところ、8 つのマイクロサテライト領域が単離された。それぞれの領域についてフォワードおよびリバースプライマーを作成したところ、Tm値は 59.1±3.8°C (平均±SD, 範囲は 45.0~60.9°C)、フラグメントサイズは 188.8±43.5bp (平均±SD, 範囲は 116.0~250.0°C) であった。現在、さらなる解析中である。

#### 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 4 件)

- ① Watanabe, M. & K. Kato (2012) Oviposition behaviour of the dragonfly, *Sympetrum infuscatum* (Selys), mistaking dried-up rice paddy fields as suitable oviposition sites (Anisoptera: Libellulidae). *Odonatologica*, 41:159-168. (査読有)
- ② 加藤賢太・渡辺 守 (2011) 里山のスギ林内に生じたギャップで生活するノシメトンボの採餌飛翔. *昆虫*, 14:177-186. (査読有)
- ③ Watanabe, M., D. Suda & H. Iwasaki (2011) The number of eggs developed in

the ovaries of the dragonfly *Sympetrum infuscatum* (Selys) in relation to daily food intake in forest gaps (Anisoptera: Libellulidae). *Odonatologica*, 40:317-325. (査読有)

- ④ 岩崎洋樹・須田大祐・渡辺 守 (2009) 里山林内のギャップで生活するノシメトンボ *Sympetrum infuscatum* (Selys) (トンボ目; トンボ科) の採餌活動. *応動昆*, 53:165-171. (査読有)

[学会発表] (計 10 件)

- ① Watanabe, M. 2011.12.07. Oviposition behaviour of the dragonfly, *Sympetrum infuscatum*, mistaking dried up rice paddy fields as suitable oviposition sites. 25th International Congress for Conservation Biology, Auckland, New Zealand.
- ② 加藤賢太・渡辺 守 2011. 3. 10. 乾田に適応したノシメトンボの連結打空産卵. 第 58 回日本生態学会大会, 札幌.
- ③ Kato, K. & M. Watanabe 2010.10.01. Foraging behavior of the adult dragonfly, *Sympetrum infuscatum*, inhabiting forest gaps. 13th International Behavioral Ecology Congress. Perth, Australia.
- ④ Watanabe, M. 2010.09.30. Daily food intake in relation to the number of egg development in ovaries in the dragonfly, *Sympetrum infuscatum* (Selys) in the forest gaps. 13th International Behavioral Ecology Congress. Perth, Australia. (招待講演)
- ⑤ 加藤賢太・渡辺 守 2010. 3. 18. 里山林のギャップ内を主たる生活の場とするノシメトンボの採餌活性と餌獲得量. 第 57 回日本生態学会大会. 東京
- ⑥ 加藤賢太・渡辺 守 2009. 11. 28. 林内のギャップにおいて示されるノシメトンボの採餌活動. 日本動物行動学会第 28 回大会. 筑波.
- ⑦ 須田大祐・渡辺 守 2009. 11. 28. 水田で行なわれるノシメトンボの連結打空産卵と非接触警護産卵. 日本動物行動学会第 28 回大会. 筑波.
- ⑧ Watanabe, M. 2009.10.20. Thermoregulation and flying habits of the dragonfly, *Sympetrum infuscatum* (Odonata: Libellulidae), inhabiting the forest-paddy field complex. The 6th Asia-Pacific Congress of Entomology (APCE2009), Beijing, China.
- ⑨ Suda, D. & M. Watanabe 2009.10.20. Daily food intake and egg development in the dragonfly, *Sympetrum infuscatum* (Selys). The 6th Asia-Pacific Congress of Entomology (APCE2009), Beijing, China.

- ⑩ 須田大祐・渡辺 守 2009.10.11. 里山景観に生息するノシメトンボの摂食量と繁殖戦略. 日本昆虫学会第69回大会. 津.

[図書] (計1件)

- ① 渡辺 守 (2010) 立地環境を棲み分けるトンボ. 「身近な自然の保全生態学」(根本正之編), 103-129. 培風館.

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

渡辺 守 (WATANABE MAMORU)  
筑波大学・生命環境系・教授  
研究者番号：80167171