

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 7 月 31 日現在

機関番号：35302

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26450485

研究課題名(和文) 景観の空間構造と環境異質性がトンボ群集の遺伝的な多様性および連結性に与える影響

研究課題名(英文) The effects of spatial structures and habitat heterogeneity on genetic diversity and connectivity in dragonfly community

研究代表者

武山 智博 (Takeyama, Tomohiro)

岡山理科大学・生物地球学部・准教授

研究者番号：70452266

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：統計モデルの構築によって、水田内の局所環境および水田周辺の景観の異質性が、3種のトンボ(ハラビロトンボ、シオヤトンボ、アキアカネ)の出現個体数に与える効果を検討した結果、個体数を説明する環境要因とそのスケールは種間で異なっていた。全般的な傾向としては、種間の飛翔能力の高低に対応したスケールにおける複数の環境要因が出現個体数に影響を与えており、これらのトンボの分布にとって水田と森林が入り混じるモザイク状の景観構造が重要であることが示唆された。

研究成果の概要(英文)：The effect of habitat heterogeneity within and around paddy fields on abundance of three dragonfly species were evaluated by the construction of statistical models based on field surveys in Sado-Island. The results indicated that significant environmental factors and special scales on the observed number of individuals in paddy fields were different among species. On the whole, species-specific differences in flying abilities tended to correspond to the differences in spatial scales that involve effective environmental factors on the abundance. Those suggest that the mosaic landscape structure of paddy-forest complex could determine the distribution of these three dragonfly species.

研究分野：動物生態学

キーワード：景観生態学 景観遺伝学 集団遺伝学 水田生態系 トンボ群集

1. 研究開始当初の背景

近年、農地を中心とした里地や里山の環境が高い生物多様性を有する保全対象として見直されている。農地管理では耕作地だけでなくその周辺の草地や森林の資源利用を伴うため、農地周辺には複数の生態系が入り混じるモザイク状の景観が維持され、そのような景観は複数の生態系を繋ぐネットワークとしての機能も担うようになった。我が国の農地の多くを占める水田は、季節的な湛水状態が人為的に維持される、言わば人工的に創出された湿地環境であり、多くの水生生物のみならずそれらを餌として利用する鳥類などを含む、多様な生物の生息環境としての生態系機能を併せもつ。一方、乾田化を伴う近代的な稲作方法が進むにつれ水田が湿地として機能する期間は限られ、加えて農薬などの使用は水田の生物多様性の低下をもたらした。さらに、減反政策や耕作地の放棄による水田面積の減少に伴い里地の管理が維持されなくなった結果、水田を含む里山生態系の生物多様性の減少が危惧されている。

里地や里山といった二次的な自然再生には、農地の生物多様性の復元や保全が不可欠であるが、従来の生物多様性保全では、ファウナやフロラといった種数の重視に偏っていた。しかし、生物多様性は、様々な生物種群の相互作用によって成立しており、群集や生態系の構造や機能を理解した上で、再生適地を生態学的評価に基づいて抽出し、そこへ適切な自然再生の手法を導入することが不可欠である。

自然環境の代替地としての農地生態系の復元を目的として、近年では環境保全型農業が普及し、生物の生息場所としての機能向上を図る農法の検討や農地管理が実施されている。我が国では、コウノトリやトキといった里地に生息する上位捕食者を象徴種とし、生息環境整備や餌資源の回復を目指した環境保全型農法の導入が行われている。2007

年にはじまったトキの再導入（野生復帰）に関連し、新潟県佐渡市では全国に先駆け、市内全域の水田を対象に環境保全型農法の導入に踏み切った。この農法の特徴は、農薬・化学肥料の使用の減少に留まらず、水田魚道を設置するなど、水田を利用する生物に配慮した「生きものを育む農法」にあり、さらに栽培米を行政が認証する制度も発足した。佐渡市ではトキの放鳥以降、この農法を取り入れた水田の作付面積が認証米制度の後押しも受け年々増加し、稲作とトキとの共存・共生の取組みが全島的な広がりを見せている。このように環境保全型農法が拡大する一方で、水田の生物多様性の回復に対するこの農法の効果に関し、生態学的検証は十分行われていない。

2. 研究の目的

生物多様性を保全する環境として農地の重要性が高まる中、環境に配慮した栽培や管理方法の導入の試みが全国的に行われているが、再生する農地の選定は個体数や種数の出現予測にのみ基づくものが多い。本研究では、水田の生物多様性並びに生物量が、環境保全型農法の導入によって効果的に増加する保全・再生の候補地を抽出するため、水田を中心とした農地に分布するトンボ類を指標として、景観生態学・景観遺伝学的な評価に基づくメタ個体群の遺伝的多様性と景観の異質性との関係から、メタ個体群間の遺伝的なネットワーク構造と遺伝的交流の障壁となる環境要因を明らかにする。

3. 研究の方法

(1) 野外での個体数調査と環境要因の計測
佐渡島内の調査は、佐渡島中央部の国仲平野と、水田と里山林がモザイク状に入り組んだ平野周辺の丘陵地域を対象とした。調査地の選定は以下の手順による。1) GIS上で土地被覆図に対して500x500mグリッドを作成、グリッド内に占める水田面積の割合(%)を算出。

2) 得られた水田面積の割合に基づいて4グループに分類(5~15%、25~35%、45~55%、60%以上)。3) 各群から10グリッド(60%以上は20グリッド)を無作為に抽出。4) 計50個のグリッドに対し2015年5月の現地踏査により各グリッド内から水田2か所を選定。5) 選定された各水田の畔上に50mのトランセクトを設定した。

トランセクトにおけるトンボの個体数の調査は、2015年5月から7月にかけて毎月1回(計3回)実施した。併せて、調査対象水田の局所環境要因(畦の草丈、水田内の水深、稲丈)をトランセクトの5箇所において記録した。なお休耕田の場合には稲丈の代わりに水生植物の丈を記録した。また、トンボ類の生息状況は、水田内の局所的な環境の特徴に加え、隣接する環境要因の影響を受けると予測されるため、調査トランセクトに隣接した環境が休耕田であるかおよび森林であるかを記録した。加えて、トランセクトに水路が隣接していた場合には、その構造がコンクリート水路であるか、あるいは土水路であるかを記録した。また、佐渡市が推進する「生きものを育む農法」の認証要件から、トランセクトに隣接する水田における、江(土水路)の設置の有無、魚道設置の有無、ピオトープの設置の有無についても記録した。トランセクトに隣接する水田が「ふゆみずたんぼ」(冬期の湛水管理)を行っているかどうかは、佐渡市が管理する「生物多様性支援システム」を用いて2014年の実施状況から確認した。

調査対象の水田(トランセクト)周辺の景観環境要因は、調査トランセクトを起点とする半径50m~1,000mにかけての7サイズ(50、100、200、300、400、500、1000m)の円形バッファを設定し、各バッファ内における次の8項目をGIS上で算出した。ここで算出された景観要因は、1)解放水面(河川、ため池、湖沼)面積、2)水田面積、3)畑地面積、4)耕作放棄地(休耕田)面積、5)森林面積、6)住宅

地面積、6)林縁総延長、7)最近接森林距離、8)最近接休耕田距離である。

(2) 統計解析

上述の記録又は算出された環境要因を説明変数とし、調査地点ごとの各トンボ種の個体数を応答変数とした統計モデルの構築を行った。なお、応答変数とした個体数には、最も捕獲個体数が多い月のデータを種ごとに用いた。まず、変数間の多重共線性の問題を回避するため、各変数間で単相関により相関係数が高い($r > 0.7$)場合には、片方の変数を解析に使用した。加えて、負の二項分布のGLMで単回帰を行い、AICが低いあるいはp値が低い変数から優先し説明変数が7個になるよう絞り込んだ。次に、これらの7つを説明変数とし、各トンボ種の個体数を応答変数とした128の一般化線形混合モデル(GLMM)を構築した。なお、応答変数に二項分布を、またランダム変数として説明変数に調査日を使用した。これらのモデルのうち、AIC 2となった全てのモデルを対象として、種ごとの応答変数と説明変数の関係を分析することで、トンボ類の生息数に影響を与える環境要因の検討を行った。

(3) マイクロサテライトマーカーの開発と種内多型の解析

個体群内の遺伝的多型を検討するためのマイクロサテライトマーカー(プライマー)の開発には、国立環境研究所に設置されている次世代シーケンサーを使用した。使用したサンプルは、現地での個体数調査の際に捕獲した個体と、それとは別に佐渡島内で捕獲したサンプルを用いた。開発の手順としては、まず、DNeasy Blood & Tissue Kits ; QIAGENを用いて、各個体の背筋よりDNAを抽出した。続いて得られたDNAに基づき次世代シーケンサーにより全塩基配列を解析した(ハラビロトンボ・キイトンボはMiseq ; Illumina、シオヤトンボはIonPGM ; Thermo Fisher Scientificを使用)。得られた配列から、マ

マイクロサテライトとして有効な2~3塩基の繰り返し配列の候補をプログラム (Tandem Repeats Finder) を用いて複数抽出し、その両端にPCRプライマー設計ツールであるPrimer3を用いてプライマーを設計した。得られた候補配列のプライマーに基づき、各種20から30個体程度を用いてフラグメント解析を行い、種内多型の有無を検討した。ただし、アキアカネに関しては、まず先行研究で発表されている23のプライマー (Koizumi et al. 2012) の有効性を、佐渡島で採集された個体において検討した。

4. 研究成果

(1) 水田内の局所要因および水田周辺の景觀要因の異質性がトンボ群集の個体数に与える影響

今回対象とした4種のトンボは出現個体数に種間で違いがあった。5、6、7月に出現した個体数はそれぞれ、ハラビロトンボが182、113、38個体、シオヤトンボが256、23、0個体、アキアカネが0、126、36個体、キイトトンボが0、5、23個体であった。このうち、キイトトンボのサンプルサイズが十分でなく以降の解析対象からは除いた。ハラビロトンボ、シオヤトンボ、アキアカネそれぞれにおいて、各地点における出現個体数を説明する、AICに基づく一般化線形混合モデル (GLMM) を構築した。

ハラビロトンボの個体数を説明するモデルでは、草丈、最近接休耕田距離、隣接する休耕田の質、1000mバッファ内の水田面積、隣接する水路の質、最近接休耕田距離、600mバッファ内の放棄地面積の7変数が選択された。うちAIC 2であった6モデルの全てにおいて草丈が有意な効果を示し、草丈が高いほど個体数が増加する傾向があった。ハラビロトンボの個体数は5月のデータであり羽化時期にあたる。本種の羽化直後の未成熟個体は羽化水域からあまり離

れずに、隣接する草地で過ごす (杉村ほか 1999) ことが関係していると考えられた。また、5モデルにおいて土水路の有無が有意な効果を示し、土水路が隣接していると個体数が増加する傾向があった。4モデルでは休耕田の有無が有意な効果を示し、休耕田が隣接していると個体数が増加する傾向があった。一方、3つのモデルでは半径1000m内の水田面積が多いほど個体数が減少する傾向を示し、2つのモデルでは最近接森林距離が有意な効果を示した。これらの結果より本種は水田の周辺にある程度の森林が存在する環境を選好していると考えられた。水田と森林が複雑に入り組む地域では圃場整備が進みにくく、また耕作放棄地が増加しやすい傾向があり、本種にとって好適な環境が残存している可能性がある。

シオヤトンボの個体数を説明するモデルでは、400mバッファ内の水田面積、最近接森林距離、最近接休耕田距離、隣接する休耕田の有無、隣接する水路の質、隣接する森林の有無、隣接する江の有無の7変数が選ばれた。AIC 2のモデルは6モデルあり、全てのモデルにおいて最近接森林距離、隣接休耕田の有無が有意な効果を示した。森林からの距離が近いほど、また隣接する水田が休耕田であれば個体数が増加する傾向があった。また、5つのモデルにおいて、半径400m内の水田面積が有意な効果を与えており、水田面積が広いほど個体数が減少する傾向があった。本種は微生物環境として丈の低い抽水植物が繁茂する湿地や水田 (休耕田) を利用するため (杉村ほか 1999)、休耕田が要因として関係していたと考えられる。本種の羽化直後の個体は、水域を離れて林縁部へ移動し、そこで採餌と休息を繰り返しながら成熟まで過ごす。成熟後、オスは繁殖場所である水域に戻って縄張りを持ち、メスは水田を含む水域と林縁部との間を往復する (Watanabe and Higashi 1989; 東 2010)。こ

これらのことから、産卵場所としての水田と採餌・休息場所としての森林の両方を含む複合的な環境が、本種にとって好適な生息場所であることが示唆された。

アキアカネの個体数に対する説明変数には、800m バッファ内の解放水域面積、最近接休耕地距離、水深、600m バッファ内の放棄地面積、最近接森林距離、100m バッファ内の住宅地面積、稲丈の7変数が選ばれた。AIC 2のモデルは10つあり、うち9つのモデルにおいて半径800m内の解放水域の面積が有意な効果を示し、水域面積が広いほど個体数が増加する傾向があった。他のトンボでは見られない本種の特徴の一つは、季節的な移動を示すことである。羽化後しばらくは低地の水田地帯で過ごす、気温が上昇する夏期には高地へ移動し、秋期に再び低地の水田地帯へ産卵のため移動する(上田 1988)。長距離移動を行うトンボ類にとって、河川や湖沼などの安定した開放水域は、産卵場所となる水田などの水域と関連が深い(渡辺 2015)、この要因が出現個体数に効果を与えたと推察される。

今回対象とした4種のトンボのうち、解析を進めた3種の飛翔能力の違いを検討すると、飛翔能力の低い順にハラビロトンボ、シオヤトンボ、アキアカネであり(杉村ほか 1999; 渡辺 2015)、基本的に飛翔能力が低い種ほど個体数に寄与する環境変数が多い傾向がみられた。また、飛翔能力が小さい場合には比較的局所の要因が個体数と関連するのに対し、広範囲を移動すると考えられるアキアカネでは比較的広範囲の環境要因が個体数に効果を及ぼしていたことは、トンボ群集の種多様性を考える上で、保全対象となるスケールを種ごとに検討する必要性を示唆している。

(2) マイクロサテライトマーカーの開発と種内多型の解析

個体群内の遺伝的多型を検討するための

マイクロサテライトマーカー(プライマー)の開発によって得られた、候補配列のプライマーに基づき、種内多型の有無を検討した。その結果、ハラビロトンボでは9のプライマーが、キイトトンボでは13のプライマーの有効性が認められた。アキアカネに関しては、まず先行研究の23のプライマーについて検討したが、本研究の対象個体群では、10のプライマーの有効性が高いと判断された。シオヤトンボのプライマーについては、次世代シーケンサーによる塩基配列の決定と、候補となるプライマーの選定まで実施された。なお、プライマーの開発は2年目に実施する予定であったが、プライマーの開発および本調査地での個体群における有効性の確認に時間を要したため、3年目にも実施された。

(3) トンボ群集のメタ個体群間の遺伝的なネットワーク構造の解析

各種の集団間の遺伝的構造の比較およびネットワーク構造の解析に関しては、上記のマイクロサテライトマーカーの開発が当初の予定より大幅にずれ込んだため、研究期間内での実施が困難となった。

< 引用文献 >

- Koizumi, N., Quinn, T.W., Jinguji, H. (2012) Development and characterization of 23 polymorphic microsatellite markers for *Sympetrum frequens*. Conservation Genet. Resour. 4, 67-70
- 東敬義 (2010) 樹林 水田複合生態系に生息するシオヤトンボの個体群動態 昆虫と自然 第45巻7号 16-19
- 杉村光俊 石田昇三 小島圭三 石田勝義 青木典司著 (1999) 原色日本トンボ幼虫・成虫大図鑑 北海道大学出版会
- 上田哲行 (1988) アキアカネの生活史の多様性 石川県農業短期大学研究報告 第18巻 98-110
- Watanabe, M., Higashi, T. (1989) Sexual

difference of lifetime movement in adults of the Japanese skimmer, *Orthetrum japonicum* (Odonata: Libellulidae), in a forest-paddy field complex Ecol. Res. 4, 85-97

渡辺守 (2015) トンボの生態学 東京大学出版会

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 0件)

[学会発表](計 1件)

1. 坂本大地(新潟大学農学部)、武山智博(岡山理科大学生物地球学部)、関島恒夫(新潟大学大学院自然科学研究科)佐渡で推進される”生きものを育む農法”は水田に生息するトンボ類にやさしいか?

日本生態学会大会

2016年3月仙台国際センター宮城

[図書](計 0件)

[産業財産権]

出願状況(計 0件)

取得状況(計 0件)

[その他]

ホームページ等

http://www.big.ous.ac.jp/~takeyama/www.big.ous.ac.jp_%7Etakeyama_index.html/Takeyama_Lab_top.html

6. 研究組織

(1)研究代表者

武山智博 (Takeyama, Tomohiro)

岡山理科大学・生物地球学部・准教授

研究者番号： 70452266

(2)研究分担者

宮下直 (Miyashita, Tadashi)

東京大学・大学院農学生命科学研究科・教授

研究者番号： 50182019

関島恒夫 (Sekijima, Tsuneo)

新潟大学・大学院自然科学研究科・教授

研究者番号： 10300964

石庭寛子 (Ishiniwa, Hiroko)

国立研究開発法人・環境研究所・生物・生態系環境研究センター・特別研究員

研究者番号： 00624967

(3)連携研究者

なし

(4)研究協力者

坂本大地 (Sakamoto, Daichi)

新潟大学・農学部

大石麻美 (Ohishi, Mami)

佐渡生きもの語り研究所