

## ツシマウラボシシジミの孵化率向上に向けての取り組み

水落 渚

### 1. はじめに

ツシマウラボシシジミは近年個体数が激減したチョウの1種であり、2013年に野外で確認された数個体から累代したものを保全活動に使用する個体として充ててきた。

足立区生物園では2014年春から本種の生息域外保全を約8年続けている。

飼育下繁殖を継続していく中で無精卵数の増加が懸念されるようになり、2019年5月に実施した第1化の交配作業で得た無精卵の割合は全体の約9割にも及んだ(図2)。そこで、無精卵増加の要因を探るために、①オスの多回交尾の影響、②オス成虫の管理温度による影響、③給餌回数による影響、④メス成虫が交尾するまでの経過日数が与える影響について仮説を立てて調査を行った。



図1. ツシマウラボシシジミ

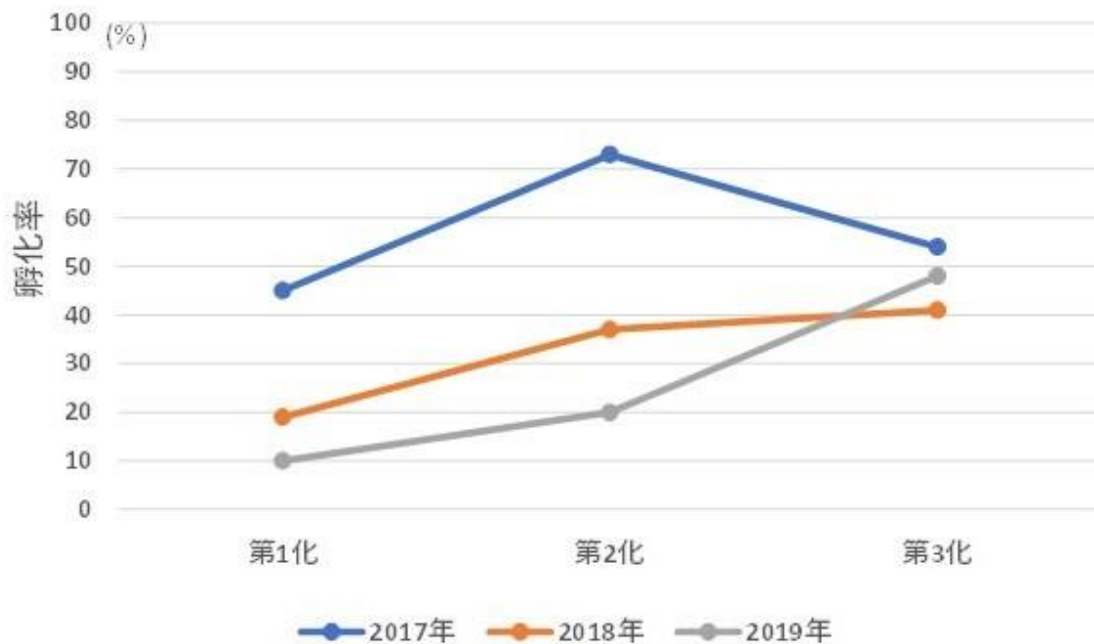


図2. 2019年までのふ化率の比較

本種の無精卵数が多いということは、野生復帰個体の提供に影響するだけでなく、生息域外保全での個体維持に影響したり、採卵数を増やす関係で作業量が増加し人的コストがかかるなど様々な問題に関わってくる。そのため、2019年度の冬期から2022年度にかけて生物多様性保全推進交付金を利用して無精卵数が増加する要因を突き止めるための調査を行なった。この生物多様性保全推進交付金は2019年にインキュベーターなどの調査用設備の購入および2020年以降の調査用アルバイトの雇用費などに当てた。

## 2. 使用生体の管理方法の統一

まず調査を行うにあたって使用生体の管理はテスト個体を除いて一定に保った。詳細は下記の通りである。

- ・オスは性成熟を促すために羽化日を除いた交配使用前 2 日間、吹き流し内にて各 4 時間ずつ常温(25 度)で管理した。

- ・夜間や、交配に使用しない時間は 20℃のインキュベーター（全暗）にて管理をした。

- ・給餌頻度については交配前 2 日間の性成熟期間にこまめにエサを吹き流しに吹きかけ、交配使用時は 30 分毎に行なった。

- ・メスは給餌以外や、交配に使用しない時間は 20℃のインキュベーター（全暗）にて管理をした。

- ・給餌頻度については交配に使用しない日に 1 回ずつ、交配使用時は 30 分毎に行なった。

また、交配方法も管理と同様一定に保った。詳細は下記の通りである。

- ・交配に使用する生体は、活動を活発化させるために 9 時～9 時半に大温室に持って行き直射日光の当たらない場所で管理した。

- ・交配開始 30 分前にオスにテリトリーを張らせるため、オスを放ちョウした。

- ・交配開始時間は 12 時とし、個体の状態を見つつ前後した。

- ・交配を開始したらメスを 20～30 cm程度の小枝の先に止まらせ、テリトリーを張っているオスに近づけ交配した。

- ・交尾が成立した個体は交尾が完全に終了するまで日陰で管理した。

## 3. 仮説① オスの多回交尾の影響

2019 年までは一度交尾したオスを再びペアリングに使用すると交尾が成立しやすかったため、ペアリングにオスを使いまわすことも多かった。2019 年第 2 化では、一度交尾したオスと交尾したメスが 2 頭いたが、どちらからも有精卵は得られなかった。このことからオスの 2 回目以降の交尾で得られた交尾メスは有精卵を産まない可能性が示唆された。そのため、1 度交尾したオスを数日後に未交尾メスと再びペアリングし、孵化率に影響を与えるか調査した。また、交尾後の経過日数によって結果が変わる可能性も考え、下記の条件で孵化率への影響を調べた。

- (1) 交尾後 1 日経過したオスを再交尾

- (2) 交尾後 3 日経過したオスを再交尾

- (3) 交尾後 8 日経過したオスを再交尾

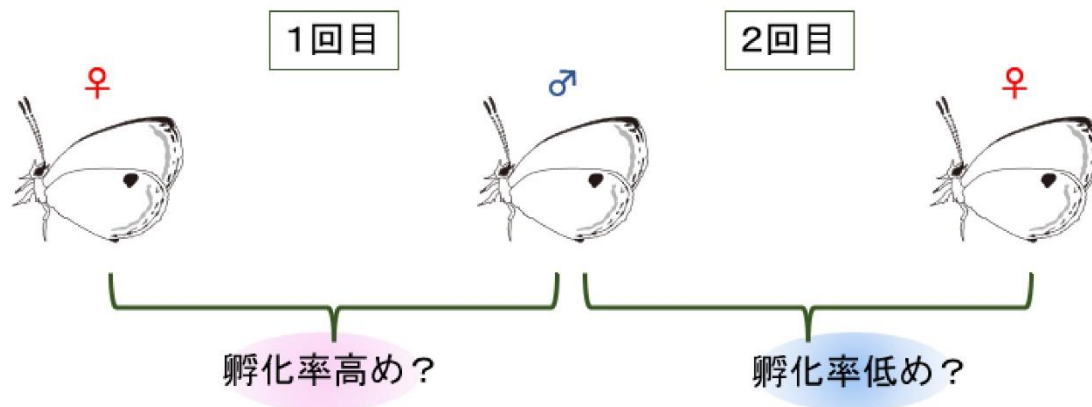


図3. オスの多回交尾の影響のイメージ

結果として、オスが多回交尾していないものと比較するとオスが多回交尾したものの孵化率は多少下がるにせよ経過日数は関係なく 75%以上の高い孵化率だった (表 1)。そのため、オスの多回交尾は孵化率に大きな影響を及ぼさないことが考えられた。しかし、体感でペアリングは多回交尾個体の方がスムーズに進んだが、次世代のペアリングにて兄弟同士の交尾の確率が増えるため、これ以降オスの多回交尾はさせないようにした。

表 1. オスの多回交尾時の経過日数におけるふ化率の比較

	合計卵数	孵化数	孵化率
コントロール(n=5)	393	367	93%
8日後 n=4	333	267	80%
3日後 n=2	166	138	83%
1日後 n=5	185	142	77%

#### 4. 仮説② オス成虫の管理温度による影響

2018年までの交配ではワインセラーを成虫の管理で使用していたが、2018年の冬に壊れ、2019年からはインキュベーター内で管理した。2019年の第1化交配では、ワインセラー管理時と同じ11℃管理を行なったところふ化率が低く、その後成虫の管理温度を徐々に16.5℃、18℃と上げていったところそれに伴いふ化率も徐々に上昇したため、成虫の管理温度による影響が示唆された。そのため、オス成虫の性成熟のための気温が足りていないと仮定し、下記の条件でオスの管理温度による影響を調べた。

- (1) 羽化後 3日間 10℃管理
- (2) 羽化後 3日間 20℃管理
- (3) 羽化後 3日間 25℃管理

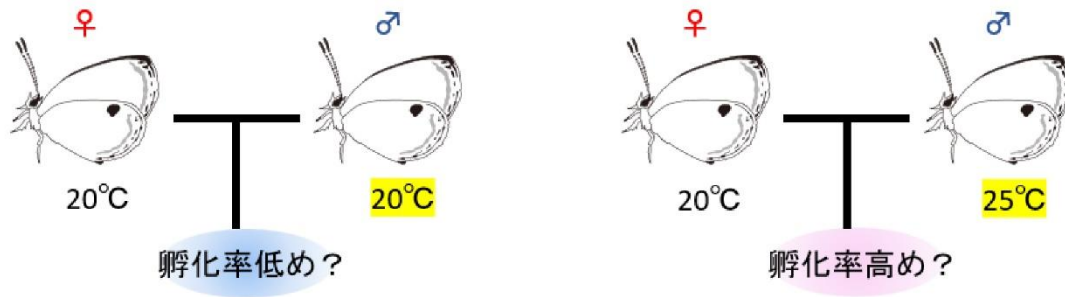


図 4. オス成虫の管理温度による影響のイメージ

実験個体はそれぞれの温度で管理するために「交配使用前 2 日間を各 4 時間ずつ常温で管理」(性成熟)を行わず、交配使用前 2 日間はそれぞれ 1 日 1 回のみ吸蜜することで統一した。交配日はすべて 30 分毎に吸蜜した。

結果として孵化率とは関係ないが、オスの管理温度が低くなるほどペアリングがしづらい傾向があり、10°C管理のオスは上手くホバリングもできずペアリングに至らなかった(表 2)。また、羽化後 25°Cで管理したオスは高温により夜間も活動していた為か、ペアリングまでに腹部がしぼんで死亡する個体が多発した。さらに、20°C、25°Cの区画のいずれにも無精卵のみを産むメスがおり、別の要因が孵化率に影響していることが考えられた。そのため、管理温度による影響の調査を終了した。

表 2. オスの管理温度の違いにおけるふ化率の比較

		合計卵数	孵化数	孵化率
2020年 第2化	10°C管理 (交尾無)	0	0	0%
	20°C管理 (n=4)	85	59	69%
2020年 第3化	20°C管理 (n=5)	200	83	42%
	25°C管理(n=5)	207	57	28%

#### 5. 仮説③ 給餌回数による影響

これまでにオスの多回交尾による孵化率への影響と、オスの温度管理によるふ化率の影響を調査したが、いずれもふ化率の低下には影響を与えないと考えられた。2019-20年の結果では多回交尾オスと交尾したメスはすべての個体が有精卵を産んだが、それ以外の条件からは有精卵を産まない個体が確認できた。そのため、オスの多回交尾による影響調査の管理方法に有精卵率を上げる要因が含まれている可能性が考えられた。可能性として、この時点で給餌回数は「こまめに行う」としており、スタッフによって吸蜜回数が変わる可能性も考えられた。そのため、オスの給餌回数を統一し、下記の条件でオスの給餌回数による孵化率への影響を調査した。

- (1) 多数回給餌→交尾前2日間の常温管理時に30分毎の計18回給餌  
(吹き流しに直接吹きかける方法)
- (2) 少数回給餌→交尾前2日間の常温管理時の開始時、終了時の計4回給餌  
(個別に給餌)

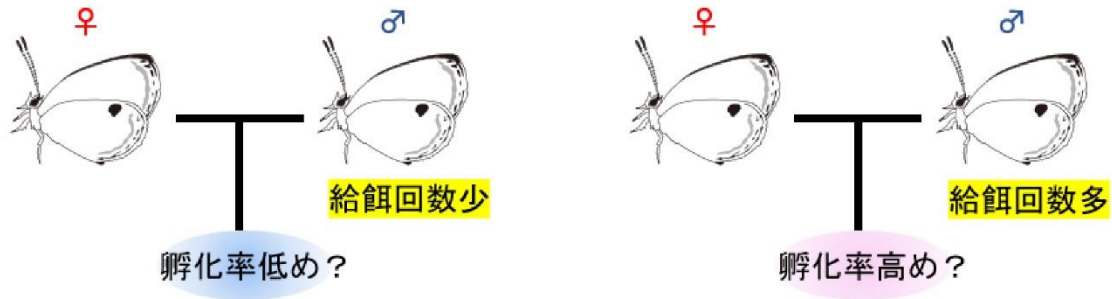


図5. 給餌回数による影響のイメージ

結果として、当初給餌回数が多ければより性成熟が進み孵化率が上がると考えていましたが、それぞれふ化率に大きな違いは見られなかった(表3)。そのため、オス成虫の給餌回数はふ化率に影響を与えないと考えられた。

表3. オスの給餌回数の違いにおけるふ化率の比較

		合計卵数	孵化数	孵化率
第3化	多数回給餌(n=5)	307	270	88%
	少数回給餌(n=5)	413	333	81%

ここまで3つの実験を行なったが、どれも孵化率に影響を与えるとは考えられず、孵化率に影響を与える要因の特定はできなかった。

#### 6. 仮説④ メス成虫が交尾するまでの経過日数が与えるふ化率への影響

実験とは別に、2021年第2化から近親交配を避けるために行なった識別で新たな傾向が見えてきた。識別は保全生体を3系統に分けたものと、羽化した日の2種行い、それぞれ翅にペンで色分けすることでマーキングした。これにより、羽化から何日後に交尾した個体かどのような孵化率であるかが追えるようになった。

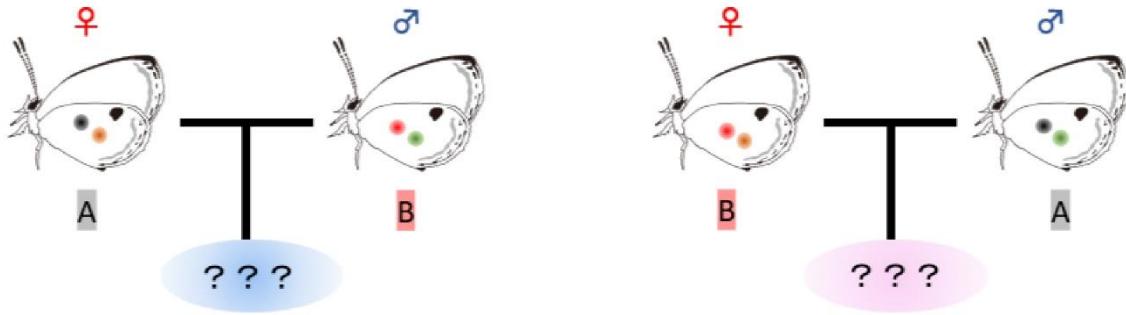


図 6. メス成虫が交尾するまでの経過日数が与えるふ化率への影響のイメージ

羽化日を含めた経過日数によるふ化率を比較したところ、オスに傾向は見つけれられませんが、メスは古いほど無精卵を多く産む個体が出る傾向が見受けられました (図 7)。

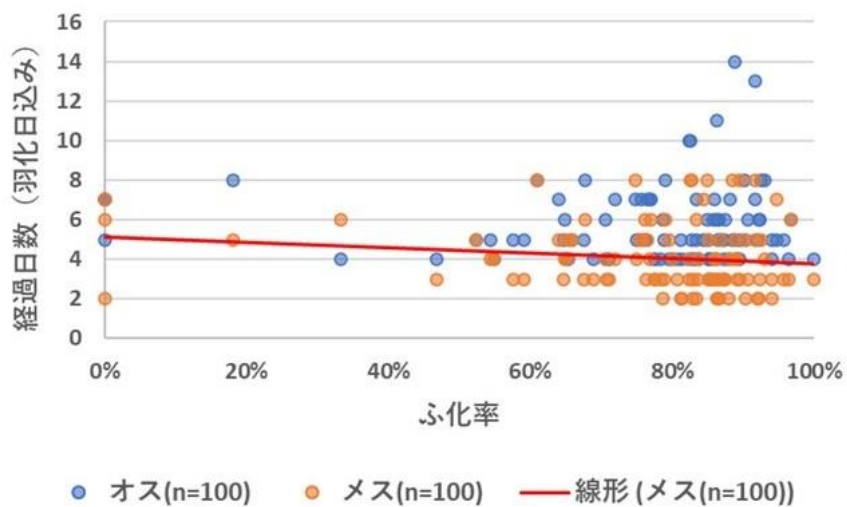


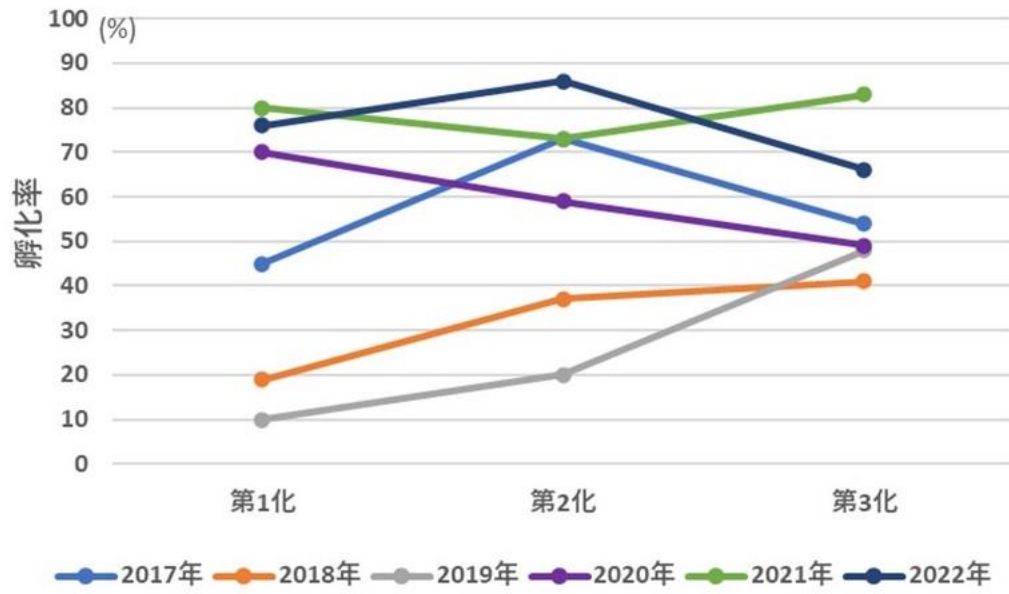
図 7. 経過日数とふ化率の関係 (2022 年第 3 化までの記録)

## 6. まとめ

2 年間生物多様性保全推進交付金を活用してふ化率に影響を与える要因を調査したが、調査をした 2 年間はどの条件においてもふ化率が 2019 年よりも向上しており問題は見られなかった (図 8)。明確な原因は出せていないものの、成虫の管理をインキュベーター内で 20℃ に変更してから改善されているため、ひとまずは設備を整え、温度を一定に保てるようになったことによって課題は達成できたと考えている。また、設備を整えたことで孵化率が向上したことから、遺伝劣化によるふ化率の低下ではなかったと考えた。

当園では生物多様性保全推進交付金が終了したため、これからの大きな調査などはなかなか出来ないが、メスの羽化からの経過日数によって孵化率に傾向が見られたため、n 数を増やしてさらに傾向を掴むためにも羽化日を追うなどの細かいデータの収集は続けていきたい。

図 8. 2022 年第 2 化までのふ化率の比較



文献

中村 康弘・永幡 嘉之・久壽米木 大五郎. ツシマウラボシシジミの現状と生息域外保全. 昆虫と自然. 2015, 50 (2), p 4-7.