Kobe University Repository : Kernel

PDF issue: 2025-07-18

日本の旧翅類の翅の撥水性と表面における突起構造及び化学物質に関する研究 ： トンボ目とカゲロウ目を比較対象として

長坂, 圭悟

(Citation)
課題研究優秀論文集,2024:66-94

(Issue Date)
2025-01

(Resource Type)
departmental bulletin paper

(Version)
Version of Record

(JaLCDOI)
https://doi.org/10.24546/0100492580

(URL)
https://hdl.handle.net/20.500.14094/0100492580

2024 年度　卒業研究最終論文

日本の旧翅類の翅の撥水性と表面における突起構造及び化学物質に関する研究
－トンボ目とカゲロウ目を比較対象として－

神戸大学附属中等教育学校 11 回生

6 年 3 組 21 番

長坂　圭悟

（指導教員　中垣　篤志）

2024年度　卒業研究最終論文

日本の旧翅類の翅の撥水性と表面における突起構造及び化学物質に関する研究
－トンボ目とカゲロウ目を比較対象として－

神戸大学附属中等教育学校11回生　6年3組21番　長坂　圭悟
（指導教員　中垣　篤志）

要旨

本研究は、日本在来のトンボ（ハグロトンボ：*Atrocalopteryx atrata*）及びカゲロウ（ヒメヒラタカゲロウ：*Rhithrogena japonica*）の翅の撥水性と表面構造及び表面物質について詳細に調査したものである。トンボ目の翅には、パルミチン酸などの脂肪酸や脂肪族炭化水素で構成されるナノレベルの突起構造（ナノ突起構造、ナノピラー）が存在し、これによって翅に物理的・化学的性質によって撥水性を与えていることが明らかになっているが、トンボ目と同じ祖先種を持つカゲロウ目についての比較研究は報告されず、また、これらの優れた撥水性を持つ構造を、有翅昆虫の中で系統的にどの時代に獲得したかを明らかにしている研究は見当たらない。そこで本研究では、カゲロウ目の翅の撥水性を測定し、電界放出型電子顕微鏡（FE-SEM）を用いて翅表面の微細構造を観察し、薄層クロマトグラフィー（TLC）及びエレクトロスプレーイオン化質量分析装置（ESI-MS）LC/MS分析により翅の表面物質を明らかにし、トンボ目との比較を行った。ハグロトンボとヒメヒラタカゲロウの翅に蒸留水を滴下し、その水滴について、滑落角と接触角を測定した。ハグロトンボとヒメヒラタカゲロウ共に、滑落角は数～十数°、接触角は150°程度となり、どちらも高い撥水性（超撥水性）を持っていた。翅にクロロホルム処理を施すと、トンボの翅の撥水性の減少に比べ、カゲロウの翅では撥水性の減少が著しく大きかった。FE-SEMで翅の表面を観察したところ、トンボの翅の表面では、クロロホルム処理後、突起の密度が減り、突起の長さも半分程度となっていたが、カゲロウの翅の表面ではその変化が確認できなかった。さらに、カゲロウの翅の表面物質について、TLC、ESI-MSを用いたLC/MS分析を行った結果、ステアリン酸（$C_{18}H_{36}O_2$）、やパルミチン酸（$C_{16}H_{32}O_2$）が検出された。このことにより、カゲロウ目の翅の撥水性は、トンボ目のようなナノ突起構造によるものではなく、ステアリン酸やパルミチン酸といった物質の化学的な作用によるものであることが明らかになった。またこれらの物質はトンボ目のナノ突起構造を構成する物質と共通することから、トンボ目とカゲロウ目の祖先種の翅には、これらの長鎖飽和脂肪酸が表面に薄く存在することで撥水性を持っていたと考えられる。そしてトンボはその祖先種からトンボ目として分化した後のデボン紀末期から石炭紀後期の間（約3.6～3.3億年前の間）において、独自に翅のナノ突起構造を手に入れた可能性が示唆された。

日本の旧翅類の翅の撥水性と表面における突起構造及び化学物質に関する研究

ートンボ目とカゲロウ目を比較対象としてー

Study on the Water Repellency of the Wings of Japanese *Paleoptera* and the Structure and Chemical Substances of Protrusions on the Surfaces :A Comparative Study of the Dragonflies and Mayflies

長坂　圭悟
Keigo Nagasaka

Abstract

This paper explores the water repellency and chemical composition of the wing surfaces of Japanese dragonflies and mayflies (*Atrocalopteryx atrata*, *Rhithrogena japonica*). Previous research has shown that dragonflies' wings possess nanostructures, specifically nanopillars, contributing to their effective water repellency. This study aims to examine the water repellency and surface characteristics of mayfly wings while delving into the evolutionary correlation between dragonflies and mayflies. The sliding and contact angles of both insects' wings were measured, and significant hydrophobicity in mayflies' wings was revealed. However, unlike dragonflies' wings, the hydrophobicity of mayflies' wings decreased upon exposure to chloroform. Furthermore, an analysis using Electrospray Ionization Mass Spectrometry (ESI-MS) detected the presence of palmitic acid and stearic acid on the surface of the wings of the mayflies. These empirical insights prompt the author to postulate that the wings of the common ancestor of dragonflies and mayflies harbored saturated fatty acids. Subsequent to the speciation event between *Odonata* and *Ephemeroptera*, dragonflies underwent a unique evolutionary adaptation, developing nanopillars on their wings.

Keywords: Nanostructure, Water Repellency, *Ephemeroptera*, *Odonata*, *Palaeoptera*

目次

第 1 章　序論 1
　第 1 節　ナノ突起構造と撥水性 1
　第 2 節　トンボ目とカゲロウ目の系統関係及び生態 1
　第 3 節　トンボ目及びカゲロウ目の翅の撥水性についての研究 3
　第 4 節　撥水性の評価方法 5
　第 5 節　本研究の目的 6
　第 6 節　本論文の構成 6
第 2 章　翅の撥水性についての実験と結果 7
　第 1 節　翅の撥水性の実験 7
　第 2 節　クロロホルム処理後の翅の撥水性の実験 10
第 3 章　カゲロウ目の翅の撥水性のメカニズムに関する実験と結果 12
　第 1 節　電界放出型走査電子顕微鏡（FE-SEM）での観察 12
　第 2 節　薄層クロマトグラフィー（TLC）によるカゲロウの翅の表面物質の分析 ... 15
　第 3 節　エレクトロスプレーイオン化質量分析装置（ESI-MS）を用いたカゲロウの翅の表面物質の分析 17
第 4 章　結論 22
　第 1 節　トンボがナノ突起構造を得た時期に関する考察 22
　第 2 節　結論 24
　第 3 節　今後の展望 24
謝辞 25
参考文献 25

第 1 章 序論

第 1 節　ナノ突起構造と撥水性

近年、蓮の葉のロータス効果（撥水性能）を筆頭に、マイクロ及びナノレベルの物理的凹凸構造による撥水が様々な製品に活用されている。蓮の葉の表面にあるような突起構造による撥水効果は、植物のみならず、トンボやセミなどの昆虫にもあることがここ数年の研究で明らかになっている。海外では、オーストラリアやヨーロッパのトンボ数種類（不均翅亜目トンボ科、ヤンマ科、サナエトンボ科）の翅の表面にナノレベルの突起構造（ナノ突起構造、ナノピラー）があることが、報告されている[1,2]。また、日本においては、クマゼミの翅の表面にナノ突起構造があることが報告されている[3]。さらに、これら昆虫のナノ突起構造を模倣し、ブラックシリコンで人工的に作成したものも撥水性を有していたことが報告されており[1]、トンボの翅のナノ突起構造が撥水性を持つ構造であることが明らかになっている。

一方で、トンボの翅のナノ突起構造は、パルミチン酸などの脂肪酸や脂肪族炭化水素などで構成されていることも明らかになっており[2]、これらの物質の化学的性質が翅の撥水性に関与している可能性も示唆されている[2]。翅の撥水性が、ナノ突起構造が物理的に作用することによって発生しているのか、または、突起を構成している化学物質の作用によるものなのかについて、Samuel らの研究では、どちらか一方の作用であることが明確にはされておらず、これら物理的作用及び化学的作用によって、翅が超撥水性（及び自浄性）を得ていると論じられている[2]。

第 2 節　トンボ目とカゲロウ目の系統関係及び生態

翅を持つ昆虫を有翅昆虫といい、この有翅昆虫は旧翅類（*Palaeoptera*）と新翅類（*Neoptera*）に大きく 2 つに分類することができる。翅の形質に注目した場合、新翅類は腹部背面で翅を密着させ折りたためるのに対し、旧翅類に属する昆虫は翅を折りたたむことができないという形質上の違いが見られる[4]。現生の有翅昆虫において旧翅類に属するのは、トンボ目（*Odonata*）及びカゲロウ目（*Ephemeroptera*）のみであり、現生の有翅昆虫の大多数は新翅類に属する。旧翅類については様々な考え方があり、旧翅下綱、旧翅節などと様々に表記、分類されているが、本研究ではこれらを *Palaeoptera*（旧翅類）と定義し、研究を進めることとした。

トンボ目とカゲロウ目は 1 つの旧翅目に分類されるだけでなく、Misof らの研究により、この 2 群は同じ祖先（祖先種）を持つ姉妹群であることが明らかになっている[5]。具体的に、昆虫（最古の旧翅類）が最初に翅を得た年代については、シルル紀後期からデボン紀前期（約 4 億 1600 年前頃）であること、カゲロウ目とトンボ目の祖先種から、カゲロウ目及びトンボ目へとそれぞれ分化したのはデボン紀後期から石炭紀前期（3 億 6000 万年頃）であることが明らかになっている[5]。

トンボ目の分類には、均翅亜目と不均翅亜目という 2 大群があり、この 2 大群は古い段階で分化していることが明らかになっている。Kohli らの研究によると、均翅亜目と不均翅亜目は、石炭紀後期からペルム紀年間（約 3 億 2300 万年前～約 2 億 5100 万年前）の間に分化したことが明らかになっている[6]（図 1）。また、この研究により、現生の均翅亜目及び不均翅亜目はそれぞれ 1 つの系統にまとまる単系統であることが明らかになっている[6]。また、均翅亜目と不均翅亜目の 2 群は系統的に差があるのみならず、生態的な形質差がある。例えば、均翅亜目は植物組織内産卵、つまり、産卵管を植物の茎などに突き刺して産卵を行うのに対し、不均翅亜目のほとんどのグループは卵を水面にばらまいて産卵する。また、翅に関しても、均翅亜目は静止時に翅を背方に閉じるのに対し、不均翅亜目は静止時に翅を開いたままである（図 2）。

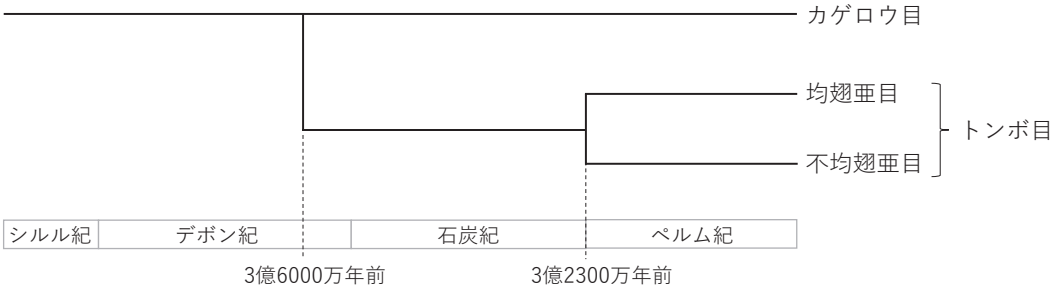


図 1　旧翅類の系統関係と、トンボの 2 大群に関する表（[5, 6]を基に筆者作成）

均翅亜目
（ハグロトンボ, *Atrocalopteryx atrata*）

不均翅亜目
（シオカラトンボ, *Orthetrum albistylum speciosum*）

図 2 トンボの均翅亜目及び不均翅亜目の例

トンボ目とカゲロウ目のどちらが原始的な形質を残しているかについても未だ議論の途中であり、明確な結論が出ないでいるが、George, W. P. McCafferty らの研究では、化石証拠などを理由に、現生のカゲロウ目は特に原始的な形質を残した昆虫であるとしている[7]。

また、同研究により、カゲロウの翅に撥水性がある可能性が示唆されているものの[7]、定量的に撥水性を評価・報告している文献は見当たらない。そして、そのメカニズムに関して報告している文献も見当たらない。一方、トンボの翅の撥水性については、翅の表面にナノ突起構造が存在することによる物理的要因と、突起自体がパルミチン酸やステアリン酸といった脂肪酸や脂肪族炭化水素で構成されていることによる化学的要因により翅に撥水性を持たせていることが明らかになっている[2]。

第 3 節　トンボ目及びカゲロウ目の翅の撥水性についての研究

Samuel らの研究により、海外のトンボ目の翅において撥水性があることが明らかになっている[2]。この研究では、オーストラリア及びスペイン産のトンボ 7 種類（不均翅亜目：トンボ科、ヤンマ科、サナエトンボ科）を対象とした研究を行っており、いずれも強い撥水性（接触角が 150°以上）を持ち、また全てのトンボで長さ約 200～300 nm のナノ突起構造を観察したことが報告されている[2]。

また、日本におけるトンボの翅の撥水性については、筆者が昨年度研究し、国内 6 種類（均翅亜目 2 種類：ハグロトンボ、ミヤマカワトンボ　不均翅亜目 4 種類：ギンヤンマ、アオサナエ、ウスバキトンボ、シオカラトンボ）について、撥水性の強弱の程度の違いはあるものの、接触角の測定による評価では、全種のトンボの翅で撥水性があり（表 1)、表面構造についても先行研究と同様の約 200～400 nm のナノ突起構造を全種のトンボの翅で確認している（図 3)。（滑落角、接触角は次節（第 4 節）の説明を参照。）

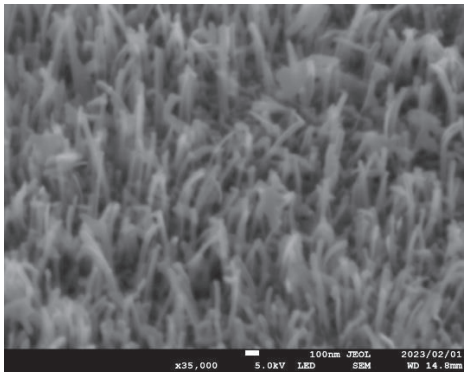
表 1　国内のトンボの翅の撥水性

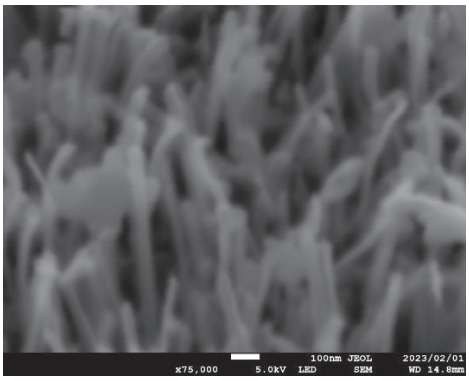
分類	和名	滑落角	接触角（評価）	突起の真の長さ
均翅亜目	ハグロトンボ	14°	超撥水	387 nm
	ミヤマカワトンボ	17°	超撥水	316 nm
不均翅亜目	ギンヤンマ	90°（滑落せず）	撥水	198 nm
	アオサナエ	90°（滑落せず）	撥水	230 nm
	ウスバキトンボ	90°（滑落せず）	撥水	239 nm
	シオカラトンボ	54°	超撥水	208 nm

●均翅亜目

・ハグロトンボ（*Atrocalopteryx atrata*）

35000 倍　　75000 倍

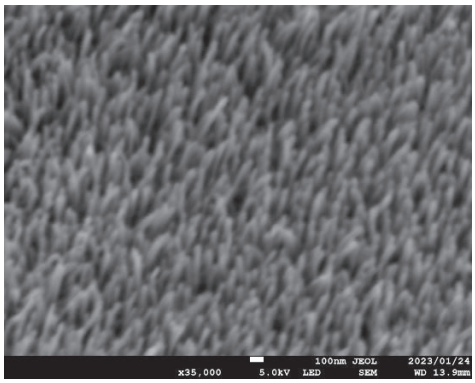


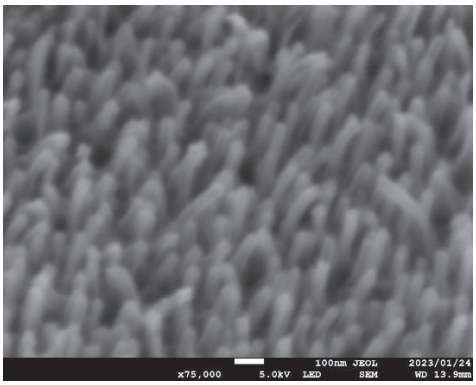


●不均翅亜目

・ギンヤンマ（*Anax pathenope julius*）

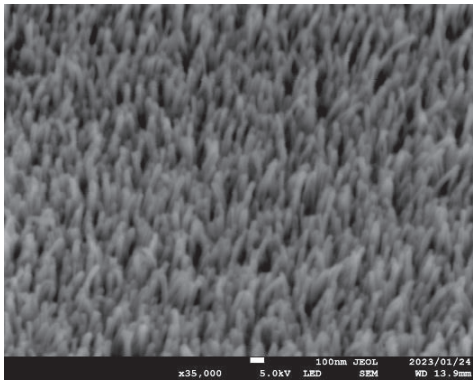
35000 倍　　75000 倍





・シオカラトンボ（*Orthetrum albistylum speciosum*）

35000 倍　　75000 倍



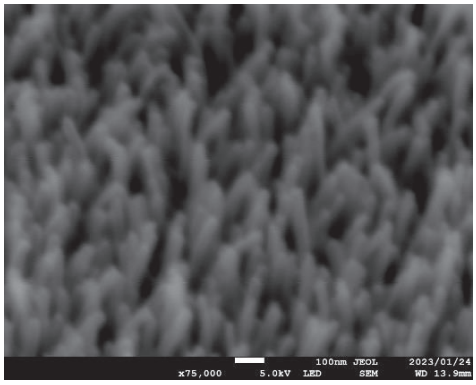


図 3　トンボ目の翅の表面の電界放出型電子顕微鏡（FE-SEM）写真

第 4 節　撥水性の評価方法

特に材料科学の分野においては、固体表面の撥水性は、接触角を算出することによって評価している。一方で、単に水滴をはじくということのみならず、固体表面からの水滴の除去のされやすさは、滑落角が評価指標として用いられている[8]。これらのことと、本研究での対象が昆虫の翅という常に動き続ける素材であることも踏まえ、本研究では、接触角の測定による静的かつ定量的な撥水性の評価と、滑落角という動的な指標により翅の撥水性を測定した。

1)　滑落角（Sliding angle）

滑落角（図 4）とは、固体表面に液滴を滴下させた後、固体表面を傾斜させていき、その液滴が滑り始めた（滑落し始めた）瞬間の傾斜角のことである。また、昆虫の翅の撥水性を評価することにも用いられている[9]。

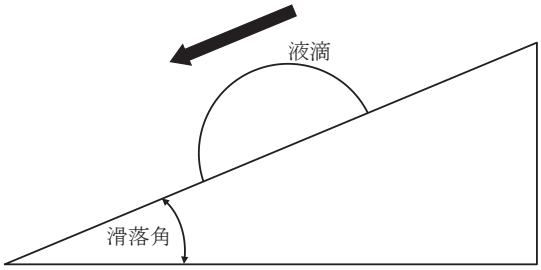


図 4　滑落角

2)　接触角（Contact angle）

接触角は「静止液体の自由表面が固体壁に接する場所で、液面と個体面のなす角（液の内部にある角）」と定義されている（図 5）。ここで、液滴の輪郭曲線と固体表面との交点を端点とすると、接触角は、「端点において、液滴輪郭曲線の接線と固体表面とのなす角」と表現することができる[8]。

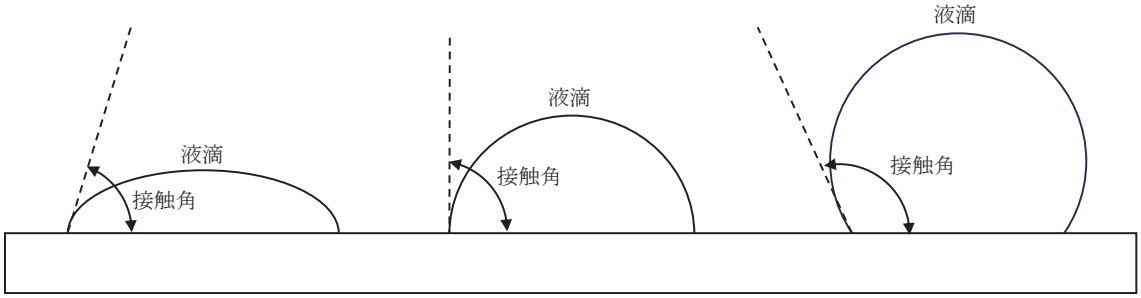


図 5　接触角の概略図

接触角の測定方法には様々な計測方法及び計算方法があるが、本研究では、実験に際して必要な測定値の計測が容易な $\theta/2$ 法（half angle method）を採用した。$\theta/2$ 法は、（水滴の）輪郭形状を真円と仮定すれば、接触角 θ（ラジアン）と、接触半径 r と高さ h との間に下記の式が成り立つことを利用し、接触角（rad）を求める方法である（図 6）。

$$\tan\left(\frac{\theta}{2}\right) = \frac{h}{r}$$

これを変形して、$\theta = 2\mathrm{Arctan}\left(\frac{h}{r}\right)$（rad）となる。

よって、接触角 θ（°）は、以下の式で求めることができる。

$$\theta = 2\mathrm{Arctan}\left(\frac{h}{r}\right) \times 180 \div \pi$$

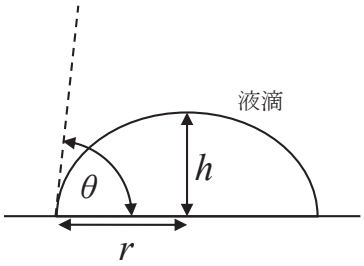


図 6　接触角

また、一般に、接触角が 90°以上であることを撥水性、特に 150°以上を超撥水性と評価でき、これを用いて撥水性を定量的に評価することができる[10]。

第 5 節　本研究の目的

先行研究では、日本在来のセミや蝶の翅の撥水性についての報告や、海外のトンボの翅の突起構造及びその撥水性についての報告はあるが、日本在来の旧翅類（トンボ目及びカゲロウ目）の翅の撥水性を研究したものは見当たらない。また、トンボの翅表面の撥水性の機構及びそのメカニズムと、系統との関連についての報告もされていない。そのため、それらを調査・報告し、トンボ目の翅の表面構造による撥水性と、カゲロウ目の翅の撥水性のメカニズム及び 2 者の系統的関連について体系的に明らかにすることを本研究の目的とする。

本研究によって比較形態学的、系統学な観点での新たな発見や、撥水性が起こる可能性のある新機構を報告することで、バイオミメティクス応用の発展にも繋がると考えている。

以上のことより、「トンボ目とカゲロウ目の翅の撥水性に係る構造には系統的関係があり、カゲロウ目の翅表面にもトンボ目の翅表面と同様の構造（ナノ突起構造）が存在することにより撥水性を有する」との仮説を立てて、本研究を進めることとした。

第 6 節　本論文の構成

第 2 章では、カゲロウ目の翅の撥水性に関する実験の方法と結果を、第 3 章ではカゲロウ目の翅の撥水性のメカニズムに関する実験の方法と結果を、そして第 4 章で結論を示す。

第 2 章 翅の撥水性についての実験と結果

第 1 節　翅の撥水性の実験

第 1 項　目的

先行研究で報告されていない、カゲロウ目（ヒメヒラタカゲロウ：*Rhithrogena japonica*）の翅の撥水性について明らかにし、翅に撥水性を有しているトンボ目（ハグロトンボ：*Atrocalopteryx atrata*）と撥水性の程度を比較する。

ハグロトンボ（*Atrocalopteryx atrata*）

ヒメヒラタカゲロウ（*Rhithrogena japonica*）

図 7 対象とした旧翅類

第 2 項　実験手順

① ハグロトンボ及びヒメヒラタカゲロウの体を上（飛行姿勢時の上側）から見て左前翅を体から切り離し、飛行姿勢時上面となる翅の面が表面になるように、スライドガラスにテープで固定した。なお、実験に使用したハグロトンボ及びヒメヒラタカゲロウは、2023 年 7 月 23 日（ハグロトンボ）及び 2023 年 11 月 11 日（ヒメヒラタカゲロウ）に、神戸市北区で採集したものである。

② 翅を固定したスライドガラスを、水準器としたスマートフォンにテープで取り付けた。なお、本実験ではスマートフォンにアプリ（水準器/MixGame 製）をダウンロードして使用した。

③ 蒸留水 3.0 μL をマイクロピペットで量りとり、その蒸留水を翅脈等のない翅の平らな部分に滴下した。

④ 滴下後、スマートフォン（水準器）を少しずつ傾け、水滴が動き出した角度（滑落角）を測定して記録した。なお、垂直まで滑落しなかったものについては 90°とした。傾ける方向は、翅の付け根から先端に向かって水滴が動くように統一した。

⑤ ハグロトンボ及びヒメヒラタカゲロウで①～④のこの操作をそれぞれ 16 回行い、机の傾きを補正して換算した値（換算値）の平均をそれぞれ算出した。

⑥ 接触角を測定するため、翅の平らな部分に、蒸留水 3.0 μL 滴下し、その水滴をなるべく地面と水平になるようにカメラで撮影した。この操作を 5 回行った。（水滴の

写真を 5 枚撮影した）

⑦ ⑥で撮影した写真データをパワーポイント（Microsoft PowerPoint）のスライドに貼り付け、図のサイズ調整機能を用い、水滴の接触幅（$2r$）と水滴の高さ（h）を測定し（図 8）、以下の式（第 1 節第 4 章参照）から接触角（°）を算出した。

$$\theta = 2\mathrm{Arctan}\left(\frac{h}{r}\right) \times 180 \div \pi$$

⑧ 算出した接触角 θ が 10° 以下のときを超親水性、30° 以下のときを親水性、90° 以上のときを撥水性、150° 以上のときを超撥水性として評価した。

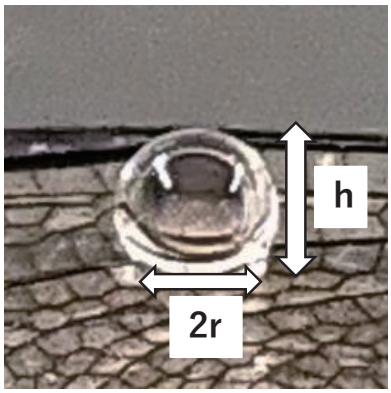


図 8　翅の表面上の水滴の写真

第 3 項　結果

滑落角（換算値）について、ハグロトンボの平均値は 6.0° で最小値 3.2° 、最大値 11.0° であり、ヒメヒラタカゲロウでは、平均値は 15.0° で最小値 3.7° 、最大値 40.5° であった（図 9）。

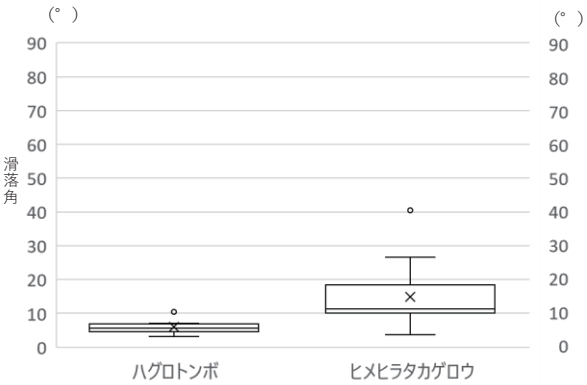


図 9　滑落角

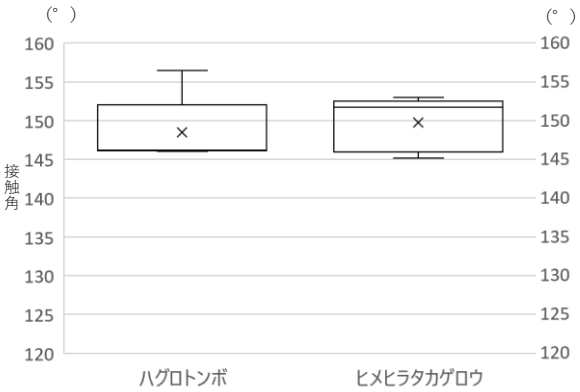


図 10　接触角

また、接触角について、ハグロトンボの平均値は148°で最小値146°、最大値156°で、ヒメヒラタカゲロウでは、平均値は150°で、最小値145°、最大値153°であった（図10）。

接触角については、150°以上を超撥水性と評価したため、今回については、ヒメヒラタカゲロウが超撥水性、ハグロトンボが撥水性という評価となるが、ハグロトンボについては、図10の結果及び、表2に示す2022年度に行った実験結果と比較しても同様の結果を得たと考えられる。

以上の滑落角、接触角の結果から、ヒメヒラタカゲロウの翅は、ハグロトンボと同程度の強い撥水性を有していることが分かった。

表2　2022年度実験でのハグロトンボの翅の撥水性の結果（滑落角、接触角）

滑落角の平均（°）	接触角の平均（°）と評価
14°	157°（超撥水性）

第4項　考察

結果より、ヒメヒラタカゲロウの翅は、滑落角の平均値が15.0°、接触角の平均値が150°と超撥水性と評価でき、極めて強い撥水性を有していることが分かった。また対照実験として行った今回のハグロトンボの翅での撥水性実験及び2022年度の実験結果と比較して、滑落角について15°以下程度、接触角150°程度とハグロトンボの翅の撥水性と同程度の撥水性を有しているため、ヒメヒラタカゲロウの翅にも、ハグロトンボの翅と同様に、撥水性を生み出すような構造や化学的作用（何らかの撥水性物質による撥水）があると考えられる。特に、カゲロウ目とトンボ目は目間では最近縁であることから、ハグロトンボ（トンボ目）が持つような、長さ300 nm程度のナノ突起構造をヒメヒラタカゲロウも持つ可能性がある。

第5項　結論

カゲロウ目のヒメヒラタカゲロウ（*Rhithrogena japonica*）の翅には、トンボ目のハグロトンボ（*Atrocalopteryx atrata*）の翅の撥水性と同程度の強い撥水性（接触角での評価において、超撥水性と評価される程度）を有しており、カゲロウ目にも、トンボ目と同程度の撥水性を持たせるような何らかの表面構造がある可能性が示唆された。

第 2 節 クロロホルム処理後の翅の撥水性の実験

第 1 項　目的

先述の先行研究[2]では、トンボの翅における脂肪酸及び脂肪族炭化水素について示されている。ここでは、同様の実験をカゲロウでも行うことにより、カゲロウの翅の撥水性が、突起などの物理的作用によるものなのか、あるいは表面の化学物質（脂肪族炭化水素や脂肪酸など）による化学的作用によるものかを明らかにする。

第 2 項　実験方法

① ハグロトンボとヒメヒラタカゲロウの翅に、翅の表面が、薄く完全に覆われるように、クロロホルムを、ハグロトンボの翅には 1.0 mL を、ヒメヒラタカゲロウの翅には 0.50 mL をそれぞれ滴下した。なお、この実験で使用した 2 つの翅は、実験 1 で使用した翅と同じ翅である。

② クロロホルムを、ドラフトチャンバー内で完全に揮発させ、乾燥させた。なお、揮発に要した時間はおよそ 10 秒～20 秒であった。

③ ①、②の処理を施したそれぞれの翅で、滑落角と接触角を計測した。計測の条件及び方法は、実験 1 と同じである。

第 3 項　結果

滑落角（換算値）について、ハグロトンボの平均値は 16.1°で最小値 2.1°、最大値 61.5°であり、ヒメヒラタカゲロウの平均値は 81.3°で最小値 21.0°、最大値 90°であった（図 11）。なお、90°（水滴が滑落しなかった）のは、ハグロトンボでは 16 回中 1 回であり、ヒメヒラタカゲロウでは 16 回中 13 回であった。また、接触角について、ハグロトンボの平均値は 147°で最小値 142°、最大値 152°であり、ヒメヒラタカゲロウの平均値は 133°で最小値 127°、最大値 141°であった（図 12）。

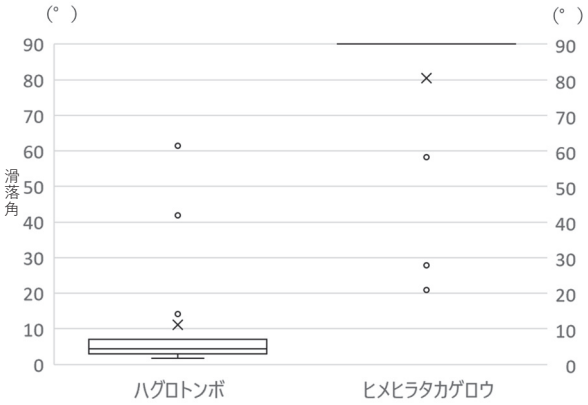


図 11　滑落角（クロロホルム処理後）

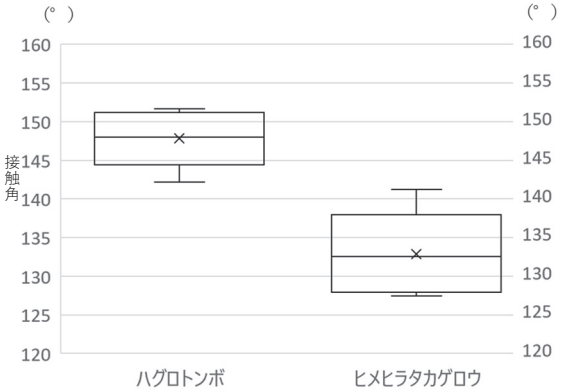


図 12　接触角（クロロホルム処理後）

第 4 項　考察

表 3 は、実験 1 と実験 2 の結果を総括したものである。ハグロトンボでは、滑落角の平均値が処理後では 10°程度増加した（撥水性が失われた）ものの、水滴が滑落しなかった回数が少なく、また接触角の値が大きく変動していないことからも、クロロホルム処理によって撥水性が変化しない表面構造があり、それによって翅に撥水性という機能を与えている可能性が高いと考えられる。ナノ突起構造（ナノピラー）の物理的凹凸による撥水性や、疎水性を示す物質が表層に厚く存在する構造であり、短時間のクロロホルム処理では撥水性を失わなかった可能性やクロロホルムには不溶であるような物質によって撥水性を保持している可能性がある。ヒメヒラタカゲロウでは、クロロホルム処理後に、水滴の滑落実験において滑落しなかった回数が大幅に増え（試行回数の約 8 割で水滴が滑落しなかった）、それによって滑落角の平均値が大幅に増加していることや、接触角についても値が減少し、クロロホルム処理によって翅の撥水性が失われた。このことから、ヒメヒラタカゲロウの翅の撥水性は、クロロホルムに可溶性である何らかの物質（ワックス）、あるいは短時間のクロロホルム処理により立体構造を変性させられてしまう物質、または表面構造によるものである可能性が高いと考えられる。

表 3　実験 1 と実験 2 の結果の総括

		クロロホルム	
		処理前	処理後
ハグロトンボ	滑落角の平均値（°）	6.0°	16.1°
	滑落しなかった回数（回）	0 回/16 回	1 回/16 回
	接触角の平均値（°）	148°	147°
ヒメヒラタカゲロウ	滑落角の平均値（°）	15.0°	81.3°
	滑落しなかった回数（回）	0 回/16 回	13 回/16 回
	接触角の平均値（°）	150°	133°

第 3 章 カゲロウ目の翅の撥水性のメカニズムに関する実験と結果

第 1 節　電界放出型走査電子顕微鏡（FE-SEM）での観察

第 1 項　目的

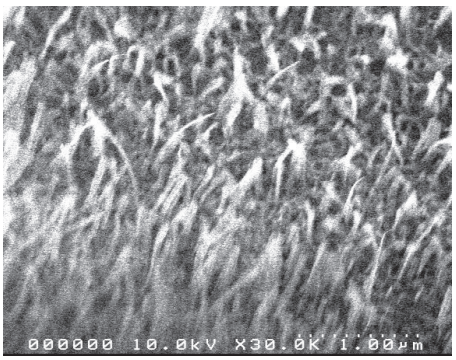
実験 1、実験 2 で使用したヒメヒラタカゲロウ及びハグロトンボの翅の表面を観察し、カゲロウの翅の表面構造及びトンボ、カゲロウの翅をクロロホルム処理した際に、翅の表面構造にどのような変化があるかを明らかにする。

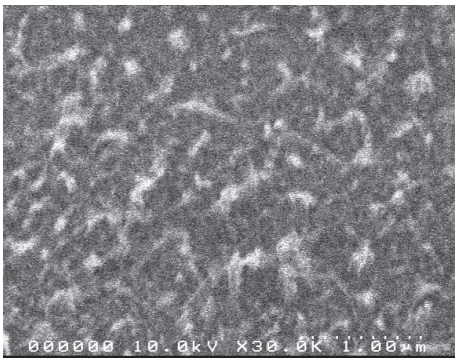
第 2 項　実験方法

ハグロトンボとヒメヒラタカゲロウの翅のそれぞれについて、クロロホルム処理前後の翅のサンプル （合計 4 種） は前章で用いたものを使用した。翅の観察については、オスミウムコーター （Neoc HSM51、メイワフォーシス株式会社）を用い、圧力 8.5~9.5 Pa、電流値 3.3~6.0 mA の間で、放電時間は 10.0 秒でコーティングを行った。各個体の翅を 一辺 5 mm の正方形に切り取り、試料台にカーボンテープを貼ったものに貼りつけ、さらに翅の両側にカーボンテープを貼って固定した。それぞれの翅の表面を電界放出型走査電子顕微鏡（FE-SEM S-5000、日立ハイテク）で観察した。このとき、電子加速電圧は 10.0 kV に固定し、倍率は 500 倍~30,000 倍の間で、傾斜角は 0°~20° の間で調整しながら観察した。

第 3 項　結果

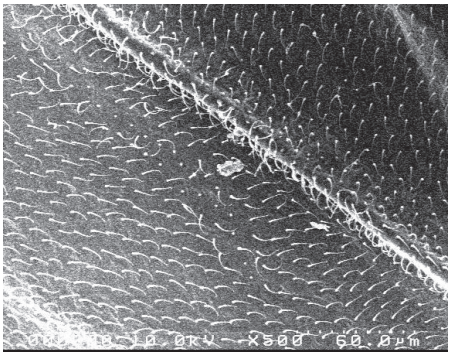
実験で撮影した画像を図 13-15 に示す。それぞれ、左側がクロロホルム処理前、右側がクロロホルム処理後の画像である。

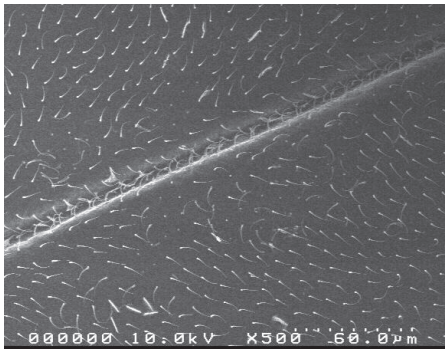




（クロロホルム処理前）　　（クロロホルム処理後）

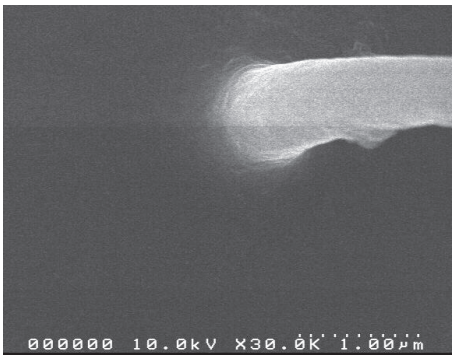
図 13　ハグロトンボ：倍率 30,000 倍、傾斜角 20°

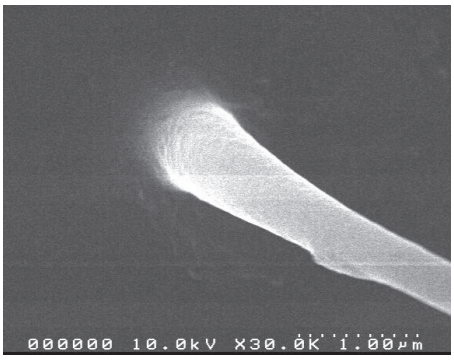




（クロロホルム処理前）　　（クロロホルム処理後）

図 14　ヒメヒラタカゲロウ：倍率 500 倍、傾斜角 0°





（クロロホルム処理前、突起部）　　（クロロホルム処理後、突起部）

図 15　ヒメヒラタカゲロウ：倍率 30,000 倍、傾斜角 0°

ハグロトンボの翅の表面について、クロロホルム処理前のものでは、長さ 300～400 nm 程度のナノ突起構造を確認することができた。しかし、クロロホルム処理後のものでは、突起の密度が減り、突起の長さも半分程度となっていた（図 13）。

ヒメヒラタカゲロウの翅の表面については、長さ約 12 μm 程度のマイクロレベルの突起構造が規則的に並んでいることが確認でき、また、これらの突起はクロロホルム処理の前後で、その長さや密度、形などが変化することはなかった（図 14）。また、この観察は

傾斜角 0°で観察したものの、全ての突起が横長に（平たく）見えるため、全ての突起が横倒しになっていたことが分かった。さらに、ヒメヒラタカゲロウの翅の突起部の根元に FE-SEM の焦点を合わせて高倍率（30,000 倍）で観察したが、根元で突起のない部分（翅の基部）にはナノレベルの表面構造（突起構造）を観察することはできず、平坦であった（図 15）。

第 4 項　考察

ハグロトンボの翅の表面にあるナノ突起構造は、クロロホルムの処理をすることによって長さ、本数共に減少した。これは、先行研究[11]で示されているように翅をクロロホルムで短時間処理（10 秒間）を行った場合と同様の結果となっている。また、トンボのナノ突起構造はパルミチン酸やステアリン酸といった脂肪酸や、脂肪族炭化水素でできていることが明らかになっている[2]ことからも、ハグロトンボの翅のナノ突起構造についても、先行研究と同様、クロロホルムに容易に溶ける飽和脂肪酸（具体的にはパルミチン酸やステアリン酸）及び脂肪族炭化水素である可能性が高いと考えられる。

また、ヒメヒラタカゲロウの翅の表面には、トンボの翅の表面に存在するようなナノ突起構造が見られず、その代わり、クロロホルムの処理によって長さや本数が変わらない（クロロホルムの影響を受けない）マイクロレベルの突起構造が見られた。カゲロウの翅の撥水性は、クロロホルムでの処理前後で大幅に変化しているにもかかわらず、このマイクロレベルの突起構造には変化が見られないため、この突起構造は翅の撥水性に関して関係がないと考えられる。これらより、ヒメヒラタカゲロウの翅にあるマイクロレベルの表面構造は、翅の撥水性に関与しておらず、クロロホルムに可溶であるパルミチン酸やステアリン酸といった飽和脂肪酸や脂肪族炭化水素が翅の表面に薄く存在することにより翅に撥水性を生じさせている可能性がある。

第 5 項　結論

トンボ目（ハグロトンボ）とカゲロウ目（ヒメヒラタカゲロウ）の翅の表面構造を電界放出型電子顕微鏡（FE-SEM）で観察したところ、トンボについては突起の長さが短くなり、密度も減少するという先行研究と同様の結果を得た。また、カゲロウについては予想していたような、トンボと同様のナノ突起構造は観察されず、クロロホルム処理前後で変化しないマイクロレベルの突起を確認した。これらから、ハグロトンボの翅のナノ突起構造については、先行研究と同様に、クロロホルムに可溶性の飽和脂肪酸及び脂肪族炭化水素である可能性が高く、ヒメヒラタカゲロウの翅のマイクロレベルの突起構造は撥水性に関与せず、クロロホルムに可溶性の何らかの物質（パルミチン酸やステアリン酸等の飽和脂肪酸や脂肪族炭化水素）が翅の表面に存在することにより、撥水性を生じさせている可能性がある。

第 2 節　薄層クロマトグラフィー（TLC）によるカゲロウの翅の表面物質の分析

第 1 項　目的

第 1 節の実験を通して、カゲロウの翅の表面には撥水性に関わるナノ突起構造は存在せず、またクロロホルム処理前後で翅の表面構造に変化が確認できなかったため、カゲロウの翅に撥水性を与えているのは、その表面にある飽和脂肪酸や脂肪族炭化水素といった物質であり、特にパルミチン酸がその主成分であるという仮説を立て、この検証を行うための実験を行った。

第 2 項　方法

① パルミチン酸試薬（ナカライテスク株式会社製、特級試薬）の白金耳一杯分を、マイクロチップ内でクロロホルム 750 μL に完全に溶解させ、パルミチン酸溶液とした。

② ヒメヒラタカゲロウの冷凍標本（3 個体分）※をクロロホルム 250 μL が入ったマイクロチップ内に入れ、2 時間程度放置した。

　※ 2023 年 12 月 9 日に神戸市北区にて採集後、速やかに冷凍庫にて保存。

③ 展開溶媒としてクロロホルム：メタノール=10：1 となる溶液 5.50 mL（クロロホルム 5.0 mL、メタノール 0.500 mL）を駒込ピペット及びマイクロピペットで準備した。

④ 薄層クロマトグラフィー（TLC）シート上の同一直線上に 3 点の印（原点）をつけ、上から順に、パルミチン酸溶液、カゲロウの翅の抽出液、パルミチン酸溶液とカゲロウの翅の抽出液の混合液をガラス細管で各印に滴下した。なお、パルミチン酸溶液は 1 回、翅の抽出液は 6 回滴下した。

⑤ ③の展開溶媒を少量入れた容器の中に、④の TLC シートを入れ、展開溶媒が TLC シートで十分に上がるまで放置した。

⑥ 展開溶媒が十分に上がった TLC シートを引き上げ、溶媒前線に鉛筆で線を記入し、展開溶媒を揮発させた。

⑦ TLC シートを塩基性過マンガン酸カリウム水溶液※に十分に浸し、ヒートガンで TLC シートを加熱した。

　※ 過マンガン酸カリウム 1.5 g、炭酸カリウム 10 g、水酸化ナトリウム 0.125 g、200 mL の蒸留水を混合した溶液。

⑧ TLC シートをカメラで撮影・記録し、浮かび上がってきたそれぞれのスポットと、原点からの直線距離をそれぞれ計測した。

第 3 項　結果

結果を図 16 及び表 4 に示す。図 16 において、上から、パルミチン酸溶液、カゲロウの翅の抽出液、パルミチン酸溶液とカゲロウの翅の抽出液の混合液を滴下した結果である。それぞれのスポットの原点からの距離は、1.60 cm、1.43 cm、1.60 cm であった。それぞれの溶液の Rf 値を算出し、比較したが、パルミチン酸のスポットとカゲロウの翅の抽出液内の物質のスポットの Rf 値は一致しなかった。パルミチン酸溶液とカゲロウの翅の抽出液の混合液では、パルミチン酸のスポットが横に長く伸びていることからも、パルミチン酸のスポットの中にカゲロウの翅の抽出液の試料スポットが埋もれてまったと考えられる。（パルミチン酸の性質により、TLC でシリカゲルの残留する性質があったと考えられる。）

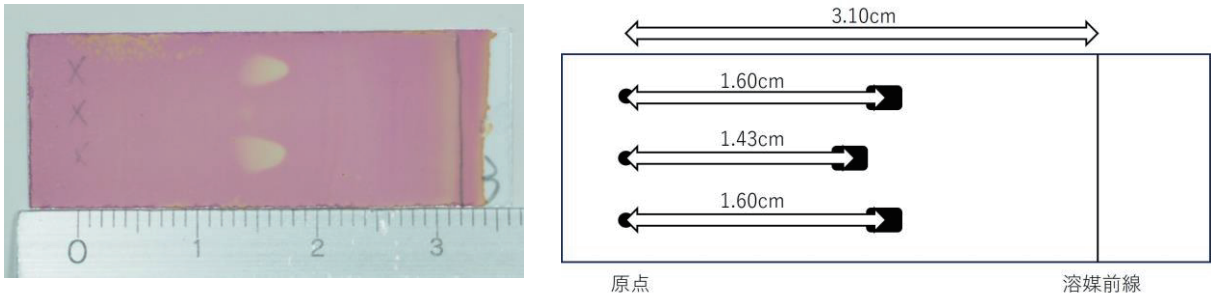


図 16　実験結果（左：実験写真、右：原点からの距離）

表 4　溶液と Rf 値

溶液	Rf 値
パルミチン酸溶液	0.516
カゲロウの翅の抽出液	0.461
パルミチン酸溶液とカゲロウの翅の抽出液の混合液	0.516

第 4 項　考察

パルミチン酸のスポットとカゲロウの翅の抽出液内の物質のスポットの Rf 値には差があったため、カゲロウの翅にはクロロホルムに可溶であり塩基性過マンガン酸カリウムで染まらない物質があるものの、パルミチン酸が主成分として存在する可能性は低いと考えられる。

第 5 項　結論

実験結果及び考察から、カゲロウの翅の表面にある主な物質は、パルミチン酸ではなく、別の物質であると考えられる。

第 3 節 エレクトロスプレーイオン化質量分析装置（ESI-MS）を用いたカゲロウの翅の表面物質の分析

第 1 項　経緯

第 2 節での薄層クロマトグラフィー（TLC）の実験結果より、カゲロウの翅の表面物質の主成分がパルミチン酸ではない可能性が示唆された。このことについて、トンボの翅の表面物質に関する Ivanova らの研究[11]に基づき、カゲロウの翅の抽出液には、パルミチン酸、ステアリン酸、直鎖アルカン（ヘキサデカン）が含まれているとの仮説を新たに立てて、更なる実験を行った。

第 2 項　方法

① ヒメヒラタカゲロウの翅をクロロホルムで浸して抽出液を作成した。
ヒメヒラタカゲロウの乾燥標本 1 個体分の、前翅 2 枚をクロロホルム 500 μL が入ったマイクロチップ内に入れ 30 分程度経過させた試料（試料⑴）と、ヒメヒラタカゲロウの冷凍標本（3 個体分）をクロロホルム 250 μL が入ったマイクロチップ内に入れ 2 時間程度経過させた試料（試料⑵）を作成した。

② 試料⑴及び試料⑵を、エレクトロスプレーイオン化質量分析装置（ESI-MS）を用いて LC/MS 分析をそれぞれ行った。LC（液体クロマトグラフィー、HPLC）は UltiMate 3000（Thermo Scientific Dionex 社）、分析カラムは Hypersil Gold（4.6×150 mm : Thermo Scientific 社）を使用し、移動相に 0.1%酢酸メタノール溶液を用いた。MS（質量分析装置）は、Exactive Orbitrap mass spectrometer（Thermo Fisher Scientific 社）を用いた。

③ 設定は、試料をイオン化して分析する際に、水素原子 1 原子を外して分析する設定であるネガティブモードとし、ヘキサデカン（分子量226）、パルミチン酸（分子量256）、ステアリン酸（分子量 284）の有無を明らかにするために、分子量 226、256、284 の周辺をそれぞれ分析した。

第 3 項　結果

試料(1)での、分子量 226 及び 256 周辺での分析では、ヘキサデカン（n-hexadecane）やパルミチン酸を検出することができなかったが、分子量 284 周辺での分析では、実測値（分子量）283.26491 の分子が検出され、理論値（構造式）がステアリン酸（$C_{18}H_{36}O_2$）である分子が検出された（図 17）。また、理論値（分子量）との誤差 Delta(ppm)が 2.30 と 5.00 より小さいため、この実験結果は採用することができ、試料(1)からはステアリン酸が検出された。

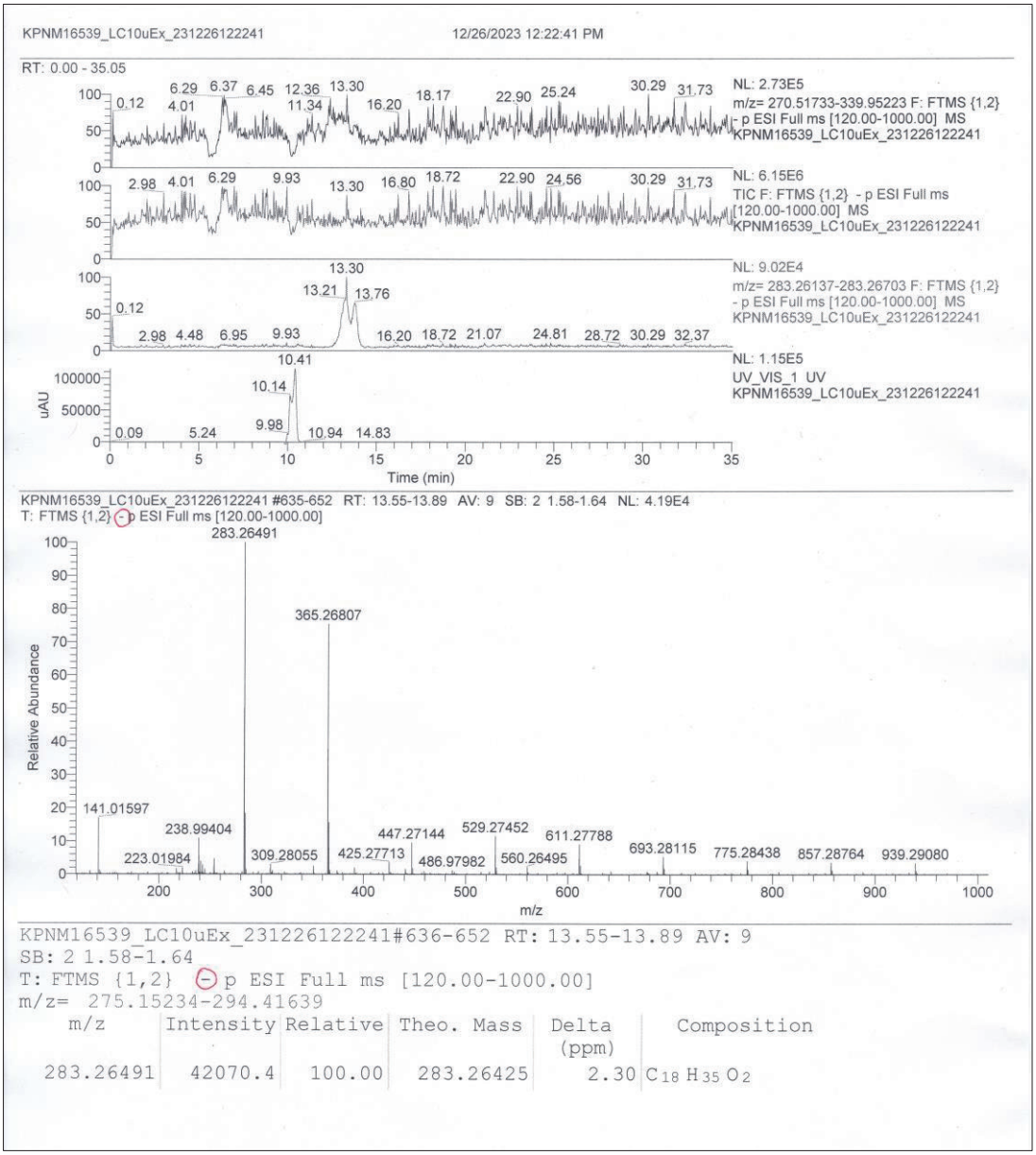


図 17　試料(1)：分子量 284 周辺での分析結果

試料⑵についても、１回目には、分子量 226 及び 256 周辺での分析では、ヘキサデカンやパルミチン酸を検出することができず、分子量 284 周辺での分析では、実測値（分子量）283.26500 の分子で、理論値（構造式）がステアリン酸（$C_{18}H_{36}O_2$）である分子が検出された（図 18）。こちらについても、誤差 Delta(ppm)が 2.63 と 5.00 より小さいため、この実験結果は採用することができ、試料⑵からもステアリン酸が検出された。

さらに、試料⑵を改めて分析をしたところ（２回目）、ステアリン酸（実測値（分子量）283.26490、Delta(ppm)2.28）及び $C_{18}H_{34}O_2$（実測値（分子量）281.24923、Delta(ppm)2.21）、パルミチン酸 $C_{16}H_{32}O_2$（実測値（分子量）255.23329、Delta(ppm)1.32）が検出され、いずれも誤差 Delta(ppm)が 5.00 より小さいため、この実験結果は採用することができ、試料⑵からは、ステアリン酸（$C_{18}H_{36}O_2$）、$C_{18}H_{34}O_2$ の物質、及びパルミチン酸（$C_{16}H_{32}O_2$）が検出された（図 19）。

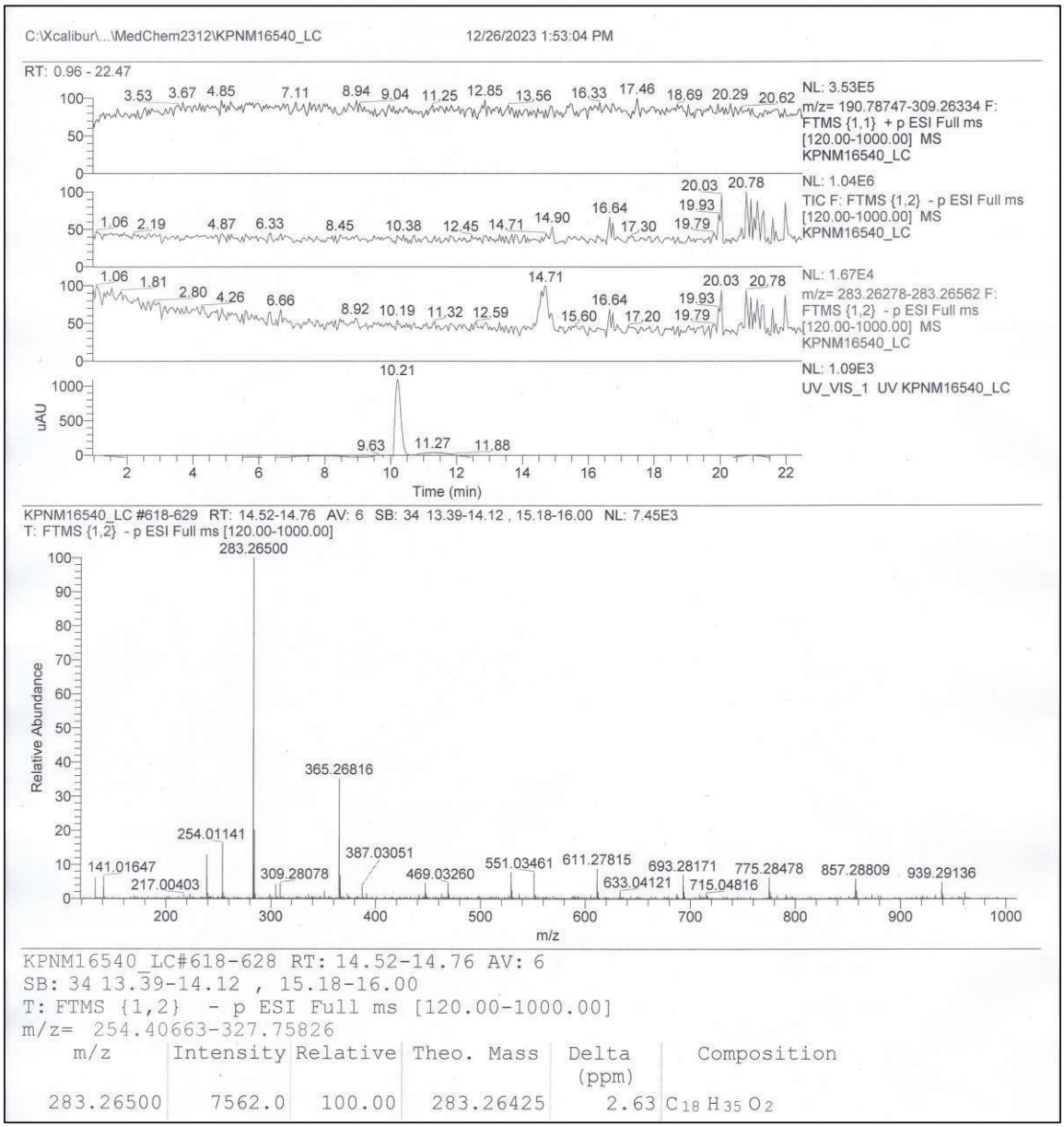
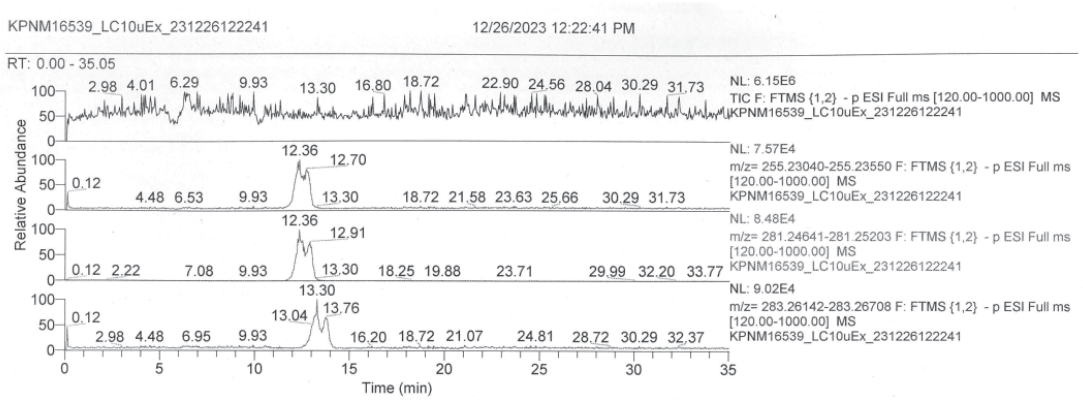
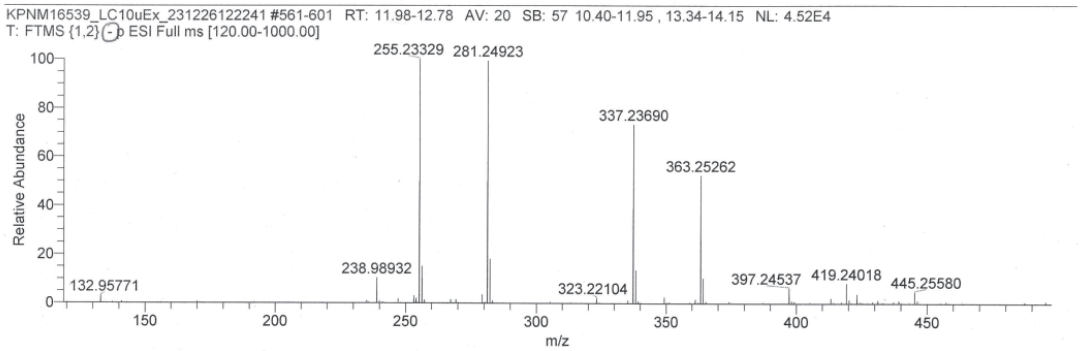


図 18　試料⑵：分子量 284 周辺での分析結果（１回目）





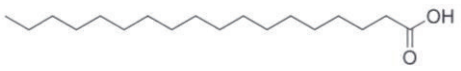
KPNM16539_LC10uEx_231226122241#562-600 RT: 11.98-12.78 AV: 20
SB: 57 10.40-11.95 , 13.34-14.15
T: FTMS {1,2} ⊖ p ESI Full ms [120.00-1000.00]
m/z= 240.32877-299.60273

m/z	Intensity	Relative	Theo. Mass	Delta (ppm)	Composition
255.23329	45229.3	97.64	255.23295	1.32	$C_{16}H_{31}O_2$
281.24923	46321.7	100.00	281.24860	2.21	$C_{18}H_{33}O_2$

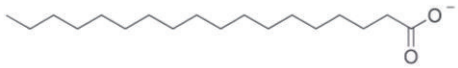
KPNM16539_LC10uEx_231226122241#626-640 RT: 13.34-13.64 AV: 8
SB: 57 10.40-11.95 , 13.34-14.15
T: FTMS {1,2} ⊖ p ESI Full ms [120.00-1000.00]
m/z= 240.32877-299.60273

m/z	Intensity	Relative	Theo. Mass	Delta (ppm)	Composition
283.26490	25060.0	100.00	283.26425	2.28	$C_{18}H_{35}O_2$

図 19　試料(2)：分子量 256 及び 284 周辺での分析結果（２回目）

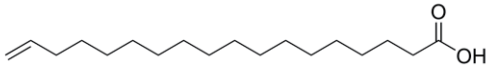


Chemical Formula: $C_{18}H_{36}O_2$
Exact Mass: 284.2715

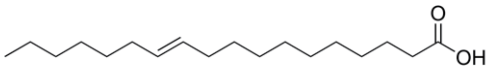


Chemical Formula: $C_{18}H_{35}O_2^-$
Exact Mass: 283.2643

図 20　ステアリン酸の分子量の理論値及び構造式



Chemical Formula: $C_{18}H_{34}O_2$
Exact Mass: 282.2559



Chemical Formula: $C_{18}H_{34}O_2$
Exact Mass: 282.2559

図 21　$C_{18}H_{34}O_2$ の分子量の理論値及び構造式の一例

第 4 項　考察

ESI-MS での LC/MS 分析において、パルミチン酸が試料⑵（抽出時間が長く、濃度の高い試料）を複数回分析した結果に検出されたことと、第 2 節での TLC 実験ではパルミチン酸試薬と同様の Rf 値をとる物質がヒメヒラタカゲロウの翅の抽出液からは検出されなかったことから、ヒメヒラタカゲロウの翅の表面にはパルミチン酸が存在するものの、ステアリン酸に比べて微量であると考えられる。一方、ステアリン酸については、抽出時間が短く、濃度の低い試料⑴でも検出されたことから、程度は分からないものの、パルミチン酸に比べて十分な量が存在すると考えられる。また、試料⑵の分析において $C_{18}H_{34}O_2$ で表される物質が検出されたことについては、物質（構造）の同定が現時点ではできていないため更なる調査が必要であるが、オレイン酸のような、カルボキシ基を持ち、炭素鎖に 1 つの 2 重結合を持つ不飽和脂肪酸が考えられ、また、この物質がカゲロウの翅の撥水性に寄与している可能性が考えられる。トンボの翅のナノ突起構造の根元部（基部のキチン質との根元部）にステアリン酸の存在が示唆されている[11]ことからも、トンボ目とカゲロウ目の祖先種の翅にはステアリン酸とパルミチン酸のどちらも存在しており、トンボ目は独自のナノ突起構造へと進化していった可能性がある。また、2 回の分析で、分子量 226 のヘキサデカン（n-hexadecane）が検出されなかったことについては、ESI-MS の実験機器の特性上、ヘキサデカンのような極性の小さい化合物の検出が困難であったことが理

由であると考えられる[12]。これらの炭化水素（アルカン）が翅表面に存在するかどうかを検証し、さらに結果の精度を高めるためには、ガスクロマトグラフィー質量分析法（GC/MS）での分析を行う必要がある。なお、GC/MS で今回のサンプルを分析する場合、実験機器の特性上、カルボキシ基を含んだパルミチン酸やステアリン酸などの脂肪酸の検出が困難となるため、脂肪酸メチル化キットなどを用いて、脂肪酸をメチル化した上で、分析を行う必要がある[12]。

第 5 項　結論

ESI-MS を用いた LC/MS 分析により、カゲロウ目（ヒメヒラタカゲロウ）の翅の表面物質にはパルミチン酸及びステアリン酸が存在することが明らかになった。また、TLC 実験での結果も踏まえると、パルミチン酸はステアリン酸よりも微量であり、ステアリン酸は TLC 実験でも検出できる程度の十分な量が翅に存在する可能性が高い。また、カゲロウの翅の表面物質には、$C_{18}H_{34}O_2$ で表される何らかの物質（不飽和脂肪酸）が存在することも明らかになり、この物質も翅の撥水性に寄与している可能性が示唆された。先行研究[11]では、トンボの翅の表面にあるナノ突起構造の最表層はパルミチン酸であり、根元部は脂肪族炭化水素及びステアリン酸であると報告されていることからも、トンボ目とカゲロウ目の共通の祖先種はステアリン酸及びパルミチン酸を持ち合わせており、それぞれ撥水性については別の進化を辿り、トンボ目はナノレベルの突起構造を、カゲロウ目は単分子膜状の構造を持つことで撥水性を保持していると考えられる。

第 4 章 結論

第 1 節　トンボがナノ突起構造を得た時期に関する考察

トンボ目の姉妹群であり、共通祖先を持つカゲロウ目には、トンボ目が持つようなナノ突起構造がないことが本研究で明らかになった。また、電界放出型電子顕微鏡（FE-SEM）での翅表面の観察により、カゲロウの翅の撥水性は、翅の凹凸構造による物理的作用によるのではなく、何らかの物質による化学的作用によるものであると結論付けた。薄層クロマトグラフィー（TLC）実験及びエレクトロスプレーイオン化質量分析装置（ESI-MS）での LC/MS 分析によりカゲロウの翅の表面物質の分析を行った結果、パルミチン酸（$C_{16}H_{32}O_2$）やステアリン酸（$C_{18}H_{36}O_2$）といった飽和脂肪酸が検出され、割合は分からないものの、カゲロウの翅の表面において、ステアリン酸はパルミチン酸よりも多く含まれていることが明らかになった。Ivanova らの研究[11]により、トンボ目の翅表面においても、パルミチン酸やステアリン酸といった飽和脂肪酸が全体の約 40%程度存在することが明らかになっており、トンボ及びカゲロウの翅の表面物質は共通することから、翅の突起構造に注目した場合、トンボ目とカゲロウ目の姉妹群では、パルミチン酸やステアリン酸といった長鎖飽和脂肪酸及びそれをクチクラ層に分泌する器官を、トンボ目及びカゲロウ目が分化する前の祖先種でも有してしていたのではないかと考えられ、ま

た、具体的な時期については、Misof らの研究[5]なども踏まえると、シルル紀後期からデボン紀後期の、およそ 4 億 2000 万年前から 3 億 6000 万年前の間ではないかと考えられる。

また、トンボ目がナノ突起構造を獲得した時期については、本研究及び筆者による昨年度の研究により、①カゲロウ目の翅には、トンボ目の翅が持つナノ突起構造（及びそれに相当する構造）がないこと、②トンボ目の翅については、均翅亜目及び不均翅亜目共に長さ 200～300 nm 程度で同様のナノ突起構造を持つことを明らかにしたことも踏まえると、トンボが祖先種からトンボ目として分化した後で、且つ、トンボ目内で均翅亜目及び不均翅亜目が分化する前、すなわち石炭紀後期までの間であり、Misof らの研究[5]や Kohli らの研究[6]を踏まえると、その時期は、デボン紀末期から石炭紀後期の間で、約 3 億 6000 万年前～3 億 2300 万年前の間ではないかと考えられる。なお、トンボ目及びカゲロウ目の祖先種の段階から、その翅の表面に、現生のトンボ目のようなナノ突起構造を持っており、2 目が分化した後に、カゲロウ目が時間が経つにつれてナノ突起構造の形質を退化させた可能性も否定できないが、現生のカゲロウ目のほうがより古い形質を残した昆虫であること[7]や、トンボ目の表面構造のほうが撥水性の耐久性が高い（撥水性を担う飽和脂肪酸や脂肪族炭化水素の層が厚く、有機溶媒で簡単に撥水性を失わない）こと、さらに自然選択の原理を踏まえると、水辺に棲む両者の昆虫にとって、この可能性は低いと考えている。

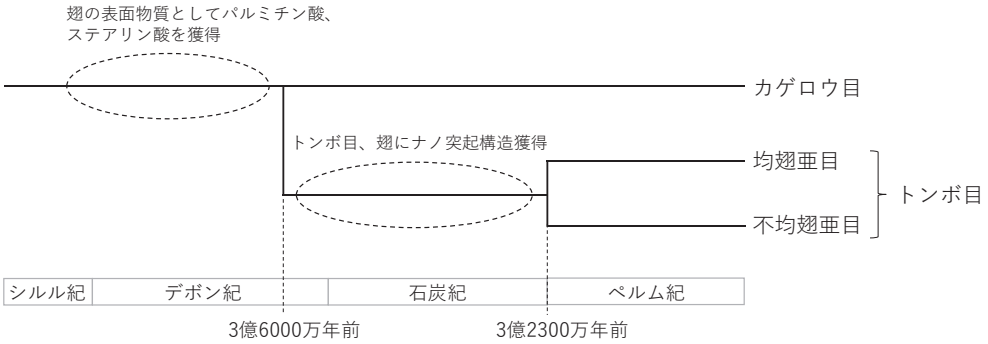


図 22　旧翅類の分化時期と翅の形質を得た時期の関係（予想図）

このことを踏まえて、旧翅類におけるカゲロウ目及びトンボ目の分化時期と翅の形質を得た時期の関係（予想図）を図 22 に示す。なお、この図は、昆虫の翅においてパルミチン酸及びステアリン酸の表面構造を得た年代を推定しているため、翅を持っていない昆虫（無翅昆虫）として、これらの飽和脂肪酸による表面構造及び分泌器官を持っていたかどうかについて、及びどの時代にこのような形質を得たかについてはさらに研究を進める必要があり、旧翅類（有翅昆虫）と分化したシミ目などの体表の表面構造などを研究し、比較することにより明確になる可能性がある。

第 2 節　結論

ハグロトンボとヒメヒラタカゲロウの翅には共に、滑落角において数～十数°、接触角において 150°程度の高い撥水性を持っていたが、これらの翅にクロロホルム処理を施すとヒメヒラタカゲロウの翅は撥水性を大きく失った。この原因について電界放出型電子顕微鏡（FE-SEM）で翅の表面の観察を行ったが、ヒメヒラタカゲロウの翅にはトンボ目と同じようなナノ突起構造は存在せず、マイクロレベルの突起構造が見られたものの、これらの突起がクロロホルム処理前後で変化しなかったことから、カゲロウの翅の撥水性は、翅の凹凸構造によって生じる物理的作用によるものではないと結論付けた。薄層クロマトグラフィー（TLC）、エレクトロスプレーイオン化質量分析装置（ESI-MS）での LC/MS 分析によるヒメヒラタカゲロウの翅の表面物質の分析を行った結果、カゲロウ目の翅の撥水性は、トンボのようなナノ突起構造によるものではなく、パルミチン酸（$C_{16}H_{32}O_2$）やステアリン酸（$C_{18}H_{36}O_2$）、といった脂肪酸で覆われており、その化学的作用によるものであると考えられる。またこれらの脂肪酸はトンボ目のナノ突起構造を構成する物質と共通することから、トンボ目とカゲロウ目の祖先種の翅には、これらの長鎖飽和脂肪酸が表面に薄く存在することで撥水性を持っていたと考えられる。そして、その祖先種から、トンボはトンボ目として分化した後の、デボン紀末期から石炭紀後期の間（約 3.6～3.3 億年前の間）において、独自にナノ突起構造を手に入れた可能性が示唆された。

第 3 節　今後の展望

本研究においては、現生の旧翅類に焦点を当てて研究を進めたため、既に絶滅した旧翅類を含めた考察を行うことはできていない。また、絶滅した旧翅類が祖先種からどのように分化したかということについても未だ明確な結論は出ていないため、これらの研究が進むことにより、より正確な予想を行うことができる可能性がある。また、現生の旧翅類については、パルミチン酸及びステアリン酸という共通した脂肪酸によって翅の撥水性が得られていることが明らかになったが、本研究は有翅昆虫のカゲロウ目及びトンボ目の翅に焦点を当てた研究の為、無翅昆虫も含めた古代の昆虫に、パルミチン酸やステアリン酸を含めた飽和脂肪酸による表面構造や分泌機構があるかについては、現生のシミ目の体表の表面等を対象として研究を進める必要がある。

また、カゲロウの翅において、パルミチン酸及びステアリン酸が存在することが明らかになったが、それらが層構造になっているか等、具体的な構造についてまで明らかにはできていないため、さらに分析を進める必要がある。また、本研究では、トンボ目の翅表面に存在する物質と共通する 2 つの物質がカゲロウ目の翅に存在することが明らかになったが、他に共通する物質が存在するのかどうか、また、トンボ目とは違った物質が存在するのかなどについて調べることによって、より正確な予想を行うことができると考えられる。さらに、新翅類なども比較対象として研究することによって、姉妹群内（トンボ目、カゲロウ目）での比較のみならず、新翅類なども含めた旧翅類の系統関係を明らかできる可能性がある。

謝辞

本研究に長期間に渡ってご指導頂きました本校教員の中垣篤志先生、研究の進め方等へのご助言や情報提供を頂きました神戸大学大学院教授の高見泰興先生、カゲロウの生態に関する情報やご助言をいただきました兵庫県立香寺高等学校の久後地平先生、電子顕微鏡観察（FE-SEM）についての技術提供とご指導を頂きました神戸大学研究基盤センター機器分析部門長・教授の北村雅季先生と特命技術員の日高興士様、物質分析（LC/MS）についての技術提供とご指導を頂きました神戸薬科大学教授の上田昌史先生、特任教授の安岡久志先生、施設課係長の佐野志帆子様に厚く御礼申し上げます。

参考文献

[1] Elena P. Ivanova et al, “Bactericidal activity of black silicon”, nature communications,1-7,2013.11.26
[2] Samuel Cheeseman et al., Pillars of life: is there a relationship between lifestyle factors and the surface characteristics of dragonfly wings?. ACS omega, 3(6), 6039-6046 (2018).
[3] 伊藤健ら, セミの翅が持つ機能性ナノ構造の模倣と抗菌性評価, 応用物理学会学術講演会講演予稿集 第 64 回応用物理学会春季学術講演会, 2740-2740, 公益社団法人 応用物理学会 (2017)
[4] 大原昌宏 & 澤田義弘, パラタクソノミスト養成講座: 昆虫 (初級) 目までの分類後同定編. パラタクソノミスト養成講座･ガイドブックシリーズ, 11, 1-63 (2012).
[5] Bernhard Misof et al., Phylogenomics resolves the timing and pattern of insect evolution, Science, 346(6210), 763-767 (2014).
[6] Manpreet Kohli et al., Evolutionary history and divergence times of Odonata (dragonflies and damselflies) revealed through transcriptomics. Iscience, 24(11), 103324 (2021).
[7] George F. Edmunds Jr & W. P. McCafferty, The mayfly subimago. Annual review of entomology, 33(1), 509-527 (1988)
[8] 福山紅陽, 撥水性の評価法, 表面技術, 60(1), 21-26 (2009).
[9] 中山和奏,チョウの翅の撥水能力とその要因に関する分析:水接触角、滑落角の観点から,課題研究優秀論文集,92-95 (2020).
[10] 菅将宏ら, 撥水性固体表面の水濡れ性評価, 中国四国支部総会･講演会 講演論文集 2017.55, K0506, 一般社団法人 日本機械学会 (2017).
[11] Elena P. Ivanova et al., Molecular organization of the nanoscale surface structures of the dragonfly Hemianax papuensis wing epicuticle. PLoS One, 8(7), e67893 (2013).
[12] 森脇洋,LC/MS による環境汚染物質の分析,環境省 化学物質環境実態調査における LC/MS を用いた化学物質の分析法とその解説:第 1 部 LC/MS の化学物質調査,2006.3, https://www.env.go.jp/chemi/anzen/lcms_method/index.html (2024.6.9 閲覧)