

第56回 生物研究の集い 要旨集



学習院女子中・高等科
松本唯花

展示発表編 ②

発表24～48

主催	東京生物クラブ連盟
日時	2024年2月18日 9:00～
場所	東京農業大学百周年記念講堂

【展示発表】

- キノコの増殖の違い / 跡見学園中高_科学部
- Soil washing の有用性について / 城北中学校・高等学校 生物部
- ライトトラップによる昆虫採集 / 城北中学校・高等学校 生物部
- コオロギの音による行動について / 城北中学校・高等学校 生物部
- 校内の鳥 / 学習院女子中・高等科
- 県立四季の森公園における蜻蛉目の調査 / 攻玉社中学校・高等学校 生物部
- アホロートルの死因の特定 / 昭和女子大学附属昭和中学校
- ハシビロコウの観察 / 昭和女子大学附属昭和中学校
- はちみつの殺菌・抗菌効果～濃度による効果の違い～ / 香蘭女学校
- 香蘭女学校に生息する水生生物について / 香蘭女学校
- 食品廃棄物で作る肥料 / 香蘭女学校
- 赤城山の魚類調査 / 武蔵高等学校中学校 生物部
- 赤城山の鳥類相調査 / 武蔵高等学校中学校 生物部
- 100年前のヘビ標本の同定と記録の修正・加筆 / 武蔵高等学校中学校 生物部
- 武蔵越生高等学校周辺の河川の水生昆虫調査 / 武蔵越生高等学校
- 伊豆大島合宿における潜り, 釣り採集結果報告 / 芝中学校高等学校
- 井の頭公園における水質調査 / 吉祥女子中学・高等学校
- 森林生態系におけるキノコの役割と土壤動物との関係 / 浅野中学・高等学校
- バイオチャー散布がカイワレダイコンの成長に与える影響の評価 / 浅野中学・高等学校
- ハグロトンボの越冬期における各部位の計測から見た個体差 / 東京純心女子中学校・高等学校
- 人工河川での外来種調査(2) / 獨協中学高等学校 生物部
- メダカの体型の遺伝について / 獨協中学高等学校 生物部
- 池にすむプランクトンの季節変化を調べよう / 創価中学校
- 四つ葉のクローバーの作り方 / 聖心女子学院中等科
- プライドチキンから鳥の骨格を知る / 工学院大学附属中学・高等学校
- 八王子にある工学院中高における動物相 / 工学院大学附属中学・高等学校
- ブロッコリーからの DNA 抽出条件 / 工学院大学附属中学・高等学校
- 成蹊学園周辺におけるセミの種類構成 / 成蹊中学・高等学校
- セイロンベンケイソウに関する研究 / 世田谷学園
- 共生ハゼとテッポウエビの共生関係の観察 / 世田谷学園
- 世田谷公園のワカケホンセイインコについて / 世田谷学園
- 植物の葉序に関する観察と考察 / 世田谷学園
- 生物の骨格について / 晃華学園高等学校
- カエルの死因究明の試みーコンゴツメメガエルの飼育からー / 学習院中等科
- カエルの色覚 / 学習院中等科
- 和泉多摩川における 49 年間の鳥類相の変化とその要因 / 東京農業大学第一高等学校中等部 生物部鳥類班
- 金魚の新品種の鱗の成長について / 東京農業大学第一高等学校中等部 生物部 魚類班
- 三国海岸の貝類層について / 東京農業大学第一高等学校中等部
- 社会的文脈が死骸の認知過程に及ぼす影響 / 安田学園中学校高等学校 生物クラブ
- 花粉荷の「色」による花粉源植物の推定 / 安田学園中学校高等学校 生物クラブ
- 雄蜂との相互作用が働き蜂の学習障害を引き起こす / 安田学園中学校高等学校 生物クラブ
- クロマルハナバチの幼虫の *in vitro* 飼育系確立 / 安田学園中学校高等学校 生物クラブ
- クロマルハナバチの概日リズム / 安田学園中学校高等学校 生物クラブ
- DAPI 染色によるクロマルハナバチ雌雄の DNA ploidy 解析 / 安田学園中学校高等学校 生物クラブ
- ミツバチは同巢の他個体を識別できるのか? / 安田学園中学校高等学校 生物クラブ
- インセクトハウスによる校内の虫の調査 / 恵泉女学園中学・高等学校
- アメリカザリガニの餌による体色の変化 / 恵泉女学園中学・高等学校
- ホトケドジョウの生息環境 / 恵泉女学園中学・高等学校

24 四つ葉のクローバーの作り方

聖心女子学院 中等科3年

伊藤 佳那子、小熊 愛莉、近藤 真桜、丸山 結音、峯尾 杏里、安垣 葵

シロツメクサの四つ葉のクローバーは遺伝子の突然変異によってだけでなく、原基に外的損傷が与えられてもできるということが知られている。そこで私たちは、故意にシロツメクサに衝撃を与えれば四つ葉のクローバーができるのではないかと考え実験を行った。

【原基とは】

シロツメクサは、胚が分かれてからも茎頂と根端には胚的性質が残されている。これらの部位で器官が分裂組織から分化してくるものを原基という。葉原基は成長点の頂端から少し下がったところに作られる。

【実験】

ペットボトルと土を用いてシロツメクサを栽培し、実験を行った。

《仮説》

シロツメクサの葉原基を押す、あるいは葉原基に電気を流すとシロツメクサが四つ葉になる。

《実験に使ったもの》

- ・シロツメクサの種
- ・土
- ・水
- ・ペットボトル(1L)×6本
- ・メスシリンダー
- ・電流機器
- ・ダブルクリップ

《実験手順》

- ①6本のペットボトルを用意し、鉢A～Fとした。それぞれの鉢の上部3割を切り、水が通りやすいように底に針で各8個の穴をあけた。
- ②切ったペットボトルにそれぞれ500gの土をいれた。
- ③それぞれの鉢に10個の種を間隔を取り植えた。
- ④それぞれに200mlの水を与えた。
- ⑤毎日100mlずつ水を与えた。
- ⑥原基が確認できたら鉢ごとに次の表のような刺激を与えた。



鉢	刺激	詳細	時間(s)
A	なし	×	×
B	なし		
C	押す	ダブルクリップで	3
D	押す	はさむ	
E	電気	1.5A の電流を流す	3
F	電気		

《結果1》

どの鉢にも四つ葉のクローバーはできなかった。しかし、鉢Dでは変形した三つ葉(写真①)が1つ確認された。また、鉢Fでは三つ葉のうち1つの葉が小さいもの(写真②)が1つ確認された。

鉢C、Dではクリップで押したときに原基だけ押すことが難しく、茎自体折れてしまったこと、電気を3秒流すだけでは刺激が弱いと考えたことから電気を詳しく調べたいと思い、次の表の条件で鉢E、Fのみ実験を継続した。



(←写真①)



(←写真②)

鉢	刺激	詳細	時間 (s)
E	電気	乾電池で3Vの電流を流した。	60
F			

《結果2》

どちらの鉢も9割ほど葉の形が細長い三角形になった。(右図)一部のクローバーにおいて四枚目の葉の分のスペースができた。これは四つ葉になりかけている証拠ではないかと考えた。



《考察》

今回シロツメクサの原基を押す、または原基に電気を流しても四つ葉のクローバーはできなかった。しかし、原基をクリップで押すと葉の形がゆがんだものが現れたこと、電気を流すと葉の形が細長い三角形になったことから、シロツメクサの原基に押す、または電気を流すという刺激を与えると成長すると葉の形が変わると考えられる。そして、条件や方法を変えれば四つ葉のクローバーはできると考えられる。また、葉の形の変わり方や変わった数は様々であったことから、与える刺激の種類や大きさによって葉の形が変わると考えられる。

【今後の展望】

今回、四つ葉を作ることはできなかったが、葉の形が変わったという結果を得ることができた。しかし何も刺激を与えないものの実験を継続して行わず、対照実験にならなかったこと、葉の形が三角形になった理由が電流によるものか電気を流したことにより発生した熱によるものかはまだ明らかでないことから、今後も実験を続けていきたい。また、原基を正確に見定め、刺激を与え四つ葉のクローバーを作りたい。

25 フライドチキンから鳥の骨格を知る

工学院大学附属中学・高等学校

要旨は当日配布いたします。

26 八王子にある工学院中高における動物相

工学院大学附属中学・高等学校

要旨は当日配布いたします。

27 ブロッコリーからの DNA 抽出条件

工学院大学附属中学・高等学校

要旨は当日配布いたします。

28 成蹊学園周辺におけるセミの種類構成

成蹊中学校 自然科学部

辻川 千香子・佐藤 碧・水田 琴葉・新井 麗音・渋谷 諄・白石 杏子・桑田 和法
・山田 泰知・塚田 裕宇(中2)・中村 泰己・吉本 龍・上野 穰(中1)

1. はじめに

近年の気温上昇は顕著であり、それに伴う生息生物の変化が想定される。成蹊中学校自然科学部は、構内にある林苑などで自然環境の研究を行っており、2018年からは毎年夏期にセミの抜け殻を採集している。今回、私たちは過去6年間のセミの抜け殻採集の結果をもとに、クマゼミをはじめとしたセミの種の種類構成比の変遷について調べたいと思い、発表することにした。

2. 観測地

林苑は東京都武蔵野市吉祥寺北町の成蹊中学校の敷地にある6,500m²ほどの樹林である。地上高20m程の高木を有し、雑木林的な景観である。林苑以外にも小中高大学校からなる成蹊学園の27,000m²程の構内には多数の樹木があり、住宅地に囲まれた学園は都市内緑地的な環境にある。

3. セミの抜け殻を調べることのメリット

セミの幼虫は地面から抜け出ると近くの木に登り羽化する。セミの抜け殻の存在は、その種のセミがその場所で確実に世代交代していることを意味する。また、抜け殻は羽化した場所から動かない。そのため、同じ場所で毎夏、採集数を記録しておけば、その場所でのセミの個体数や、セミの種の種類構成比の変遷が分かる。1回の採取数の最大は、分類不明を除くと1657個である。

4. 結果と考察、今後の課題

図1に過去6年間の採集年月日とセミの種の種類構成比を示した。7月はニイニイゼミの種類構成比が高めだが、8月に入ると急減する傾向にある。8月はアブラゼミとミンミンゼミの種類構成比が高いが、ここ2年間はアブラゼミの種類構成比がやや減少している。クマゼミは2020年に抜け殻が見つかりはじめ、2022年以降はほぼ毎回抜け殻が見つかるようになってきた。ただその採取数は少なく、種類構成比は最大で1.7%に留まった。同様に2022年以降種類構成比が増えたのがヒグラシであり、2023年には13.8%を占めたときもあった。

上記のニイニイゼミの種類構成比の急減は、梅雨明けの時期や地温との関係が想定される。今後は成蹊気象観測所のデータなどを用い、セミの種の種類構成比と気象観測値の関係などを調べてみたい。

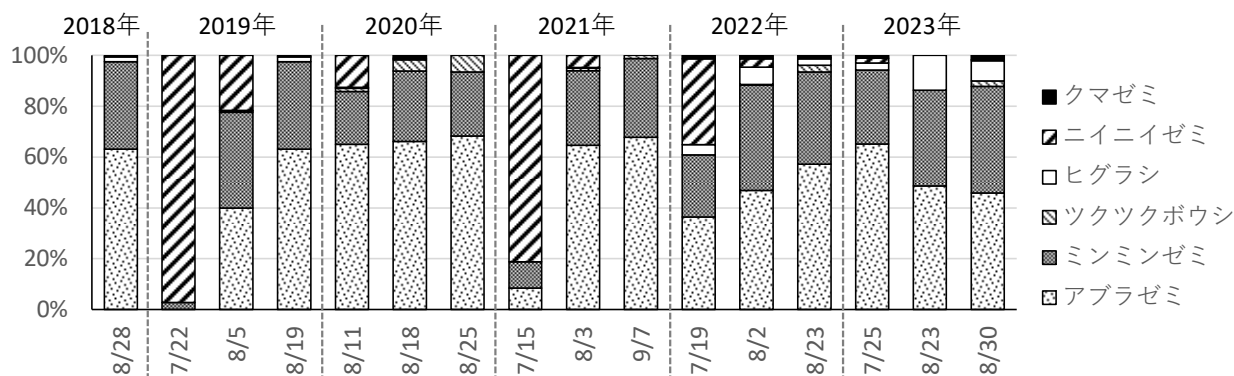


図1 成蹊学園におけるセミの種の種類構成比 (2018~2023年)

29 セイロンベンケイソウの不定芽形成に関する研究

世田谷学園 4年 永井 慧

1、セイロンベンケイソウについて

学名 *Kalanchoe pinnata* (Lam.) Pers.

分類 界：植物界

目：ユキノシタ目

科：ベンケイソウ科

属：リュウキュウベンケイ属

種：セイロンベンケイ



和名 セイロンベンケイ、トウロウソウ

原産地 マダガスカル

分布 熱帯～亜熱帯、日本では小笠原諸島や沖縄

特徴 無性生殖で増える性質を持ち、土の中に埋めたり水があるところに放置したりしておくと、葉から芽が出るために「はからめ（葉から芽）」とも言われる。またこのように茎頂や葉脈以外にできる芽のことを「不定芽」という。

2、目的

植物ホルモンが不定芽形成にどのような影響を与えるのか調べるとともに、どのような条件下において不定芽形成が見られるのか調べる。今回は葉の老化抑制、光合成の活性化、頂芽優勢の制御やイネの穀粒数の決定など植物の成長、作物の収量にとって極めて重要な働きをするサイトカイニンを用いる。

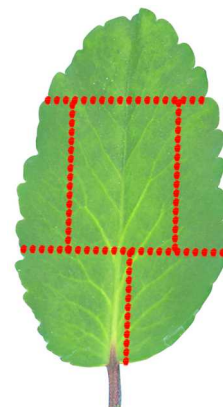
3、方法

(i) 植物ホルモン

- ① シャーレにサイトカイニン溶液を濃度を変えて入れ、切り取ったセイロンベンケイソウの葉を浸し、蓋をする。
- ② これらを定期的に観察し数日おきに蓋を開け、空気を循環させる。

(ii) 分割実験・裏返し

- ① 葉を以下のように6つに分割させ、個別に水が入ったシャーレに入れ蓋をする。また葉を裏返したのも同様に行う。
- ② これらを定期的に観察し数日おきに蓋を開け、空気を循環させる。



※結果・考察は当日に発表させていただきます。



創価中学校 笹川芽生

30 共生ハゼとテッポウエビの共生関係の観察

世田谷学園 4年 永井 慧

1、はじめに

今回は外部の企業の協力をお借りして、初の海水槽立ち上げを開始すると同時に、全く異なる種同士が助け合う「共生」に興味を持ったことから、共生ハゼとテッポウエビの共生関係について調べることにした。この共生関係には長年に及んで様々な研究機関や大学で調査が進められてきていたが、いくつか気になる点や解明されていない点を発見したため、今回は特にこれらに焦点を当て観察を行うことにした。

テッポウエビは共生ハゼに対して巣を提供し、ハゼが1~2匹で見張り役を行う。そして共生ハゼの糞はテッポウエビの餌として提供され、テッポウエビはしばしば共生ハゼのクリーニングを行うことが知られている。また共生できるテッポウエビとハゼの組み合わせは決まっており、今回はニシキテッポウエビと共生するヤマブキハゼとダテハゼを観察する。

2、方法

生体…ハゼ3匹 (ヤマブキハゼ2匹、ダテハゼ1匹)

エビ3匹 (ニシキテッポウエビ3匹)

環境…60×30×45水槽



サンゴ砂とそれより細かい砂を混ぜたものを底に敷き、その上にライブロックを数個設置する。

3、目的

- ・共生ハゼとテッポウエビの共生関係を観察し、共生していく上で見られる習性や個体ごとの役割を調べる。
- ・テッポウエビの巣の作る手順を観察する。
- ・ハゼがどのようにして巣を守るのか観察する。

4、仮説

- ・巣ごとに住みつくハゼの種類が変わる。
- ・巣の位置も最適な場所を見つけるために観察開始の数日間には頻繁に移動する。

5、結果

- ① 自然界においてはテッポウエビ1匹に対してハゼが1～2匹つくことが多いが、今回は全個体同士が同じ巣にすみついた。
- ② 巣の入り口は観察を始めてから2～3日とかなり短い期間で定期的に移動していた。
- ③ テッポウエビが巣を作る際比較的大きい砂を巣の入り口に運び、巣の構造強化を行っていた。
- ④ ハゼが見張りをを行う際にテッポウエビの触角がハゼの体に触れていることが多かった。

6、考察

- ① 同じ巣とはいえ、入り口が複数かつ離れているところもあったので、複数個体同士での共生が見られたのではないかと。または個体の相性が良かったのではないかと。
- ② 巣の入り口は固定されるのではなく、常に変わるのではないかと。
- ③ 巣の崩壊を防ぐために入り口を大きい砂で固めた後に、内部の巣作りを始めたことから、巣の作り方には順序があるのではないかと。
- ④ ハゼが危険を察知した時に触角を通じてエビに伝えているのではないかと。またこれらの他にも触角を通じたコミュニケーションをとっているのではないかと。

7、展望

- ・ 出入り口を変える理由は何故か調べる。
- ・ 巣の内部がどうなっているのか調べる。
- ・ 巣の作り方を定点カメラなどを設置し記録、観察する。
- ・ 同種のエビまたはハゼを増やして、環境がどのように変化するのか調べる。

8、参考文献

- ・ 邊見 由美 『テッポウエビ類の巣穴構造—巣穴形成と共生者による巣穴利用—』
- ・ 山田泰智, 安房田智司 - うみうし通信

31 世田谷公園のワカケホンセイインコについて

世田谷学園 3年 内藤 燈

I. はじめに

昨年度行った「2015年度冬季と2022年度冬季における世田谷公園の鳥類層の違いについて」で、世田谷公園において新たにワカケホンセイインコが確認されたことから世田谷公園に飛来するワカケホンセイインコのねぐらまでのルートを観察し考察した。

II. 調査方法

1. 昨年度の研究で世田谷公園の南側で多くワカケホンセイインコが見られたことから、世田谷公園の南側でワカケホンセイインコを待ち、そこからワカケホンセイインコが来るのを待った。また、観察した時間は昨年度の結果から日の入り1時間前～日の入り5分後までとした。



2. ワカケホンセイインコが飛来したことを確認した後、ワカケホンセイインコが見えなくなるまで観察を続け、飛来した時刻、飛来した数、飛来してきた方向と飛来していった方向を記録した。
3. 次回、ワカケホンセイインコが見えなくなった地点付近で1,2を繰り返した。
4. 1～3をねぐらに到達するまで繰り返した。

III. 結果と考察

- ※
- 黒点 : 観察ポイント
 - 黒い直線 : 実際に観察できたルート
 - 矢印 : 遠くから確認できたまたは最後えたところやこれまでの結果からしたルート

計12回ほど観察をし、真上または真上付近をした地点のみをマップに載せた



に見
予測
通過

時間と数

	日の入り時刻	一番始めに通過した時刻	一番最後に通過した時刻	観察した総数
世田谷公園	16:38	16:06	16:13	32
世田谷学園	16:53	16:17	16:39	30
円泉寺	17:08	16:38 (15:47)	16:57	25
勝光院	17:10	16:20	16:50	44
若林陸橋	17:11	16:28	17:06	43
世田谷中学校付近	17:11	16:32	17:05	43

これらの結果の他、恵泉女学園との合同調査により、芦花公園にワカケホンセイインコのねぐらがあることがわかっており、その調査では日没30分前ほどから芦花公園の南および東側からワカケホンセイインコの集団が飛来していること、世田谷公園から芦花公園までが直線で約6キロであり、ワカケホンセイインコの飛ぶ速さが約時速36キロほどだとすると最短10分ほどで到着できること、またどの地点でも西や北西の方角にすべての個体が飛来していることから世田谷公園を通過するワカケホンセイインコは芦花公園にねぐらを持っていると予測できた。

IV. 今後の展望

今後は、どのような理由から今回観察できたルートを選んで飛んでいるのか、また季節によってルートは変わるのかということや、ワカケホンセイインコが2羽以上の群れで飛行する場合と1羽のみの単独で飛行する場合には、2羽以上の場合には単独の場合に対してまっすぐと飛んでいくが、単独の場合にはルートがまっすぐではなくジグザグに飛んでいく傾向が見られたり、飛行している時に最低1羽のインコが定期的に鳴き声を上げながら飛んでいくのが見られたりしたので、それらの行動の意味などについても調べていきたい。

32 植物の葉序に関する観察と考察

世田谷学園 3年 金子 家睿

1、はじめに

葉序とは陸上植物に見られる葉のつき方の規則性のことで、例えばツツジの三輪生やナデシコの対生がある。

2、目的

葉序の違いで分けた時どのように植物が分類がされるかを調べる。

3、方法

- ①植物の写真をわかりやすく撮った
- ②植物図鑑などで科と種を特定した
- ③葉序の状態で植物を分類した

4、結果

三輪生	科	対生	科	互生	科
トベラ	トベラ	サルココッカ	ツゲ	オオベニゴウカン	マメ
ツツジ	ツツジ	クサツゲ	ツゲ	ギンネム	マメ
		オオモクセイ	モクセイ	セイヨウイワナンテン	ツツジ
		ヒイラギ	モクセイ	サツキ	ツツジ
		コリウス	シソ	イヌマキ	マキ
		オオデマリ	レンブクソウ	ノイバラ	バラ
		クワズイモ	サトイモ	クサトベラ	クサトベラ

撮影場所：世田谷公園と石垣島、竹富島

- ・ギンネムとオオベニゴウカンは同じマメ科であり、どちらも同じ葉序（互生）が見られた。
- ・ツツジとサツキまたはセイヨウイワナンテンは同じツツジ科であるのにも関わらず、異なる葉序（それぞれ三輪生、互生）が見られた。

5、考察

- ・上の事例から、同じ科であれば葉序の状態が必ず同じとは限らない。
- ・科だけでなく属や生息地などの要因があって葉序が決定していると考えられる。

6、展望

- ・科や種だけでなく、属や目、綱などの違いも詳しく調べていきたい。
- ・今回は出なかったが、擬輪生も含めた研究もしていきたい。
- ・植物における葉序の存在のメリットを調べていきたい。

< memo >

33 生物の骨格について

晃華学園高等学校

橋本美咲 江下友香 木佐瑛霞 井殿優希 秋本佳歩

私たち科学同好会はヒメダカの透明骨格標本製作とアフリカツメカエルの解剖を通して生物の骨格について調査した。昨年、私たちは鶏の骨格標本製作、マウスの解剖と骨格標本製作を行い、鳥類と哺乳類の骨格について考察した。そのため今年は魚類と両生類の骨格についての調査を行った。

【魚類の骨格】 —ヒメダカの透明骨格標本 製作手順—

※今回の製作では、富士フィルムの透明骨格標本作製キットを使用した。

- ① ドラフト内で、エタノール 50 mL をホルマリン 50 mL が入ったボトルに入れ転倒混和し、「固定液」とした。
- ② ドラフト内で 50 mL～100 mL フタ付広口ポリ容器に固定液 25 mL を入れ、そこへ氷水に漬け仮死状態になったヒメダカ 1 匹を入れてフタを締め、揺らして液に馴染ませた。
- ③ ドラフト内で 100 mL ビーカーに水酸化ナトリウム水溶液(以後、染色剤溶解液)25 mL を入れ、そこに固定液から取り出したヒメダカ 1 匹を移し、ビーカーにフタをし、液に馴染ませた。
- ④ 37℃恒温器に 30 分間静置した。(途中 15 分経過した時に液を揺らしてヒメダカを動かした。)ヒメダカを小皿に移し、ビーカー中の使用済み染色剤溶解液をヒメダカの上に全体にかかる程度かけた。
- ⑤ メダカを実体顕微鏡に置いて、ピンセットを用いて鱗を剥がし取り、ビーカー中の使用済み染色剤溶解液に戻して軽く液を揺らして剥がれた鱗をすすぎ落とした。
- ⑥ 2 本ある染色剤溶解液のうち 1 本にアリザリンレッドを 50 mg 投入し、ボトルをよく振って十分に溶解させ、「染色液」とし、③を固定液ではなく染色液 25 mL を用いて行った。
- ⑦ ⑤と同様に 37℃恒温器に 30 分～1 時間静置して染色する。ヒメダカ 4 匹を 30 分静置したものと 1 時間静置したもので 2 匹ずつ分けた。
- ⑧ グリセリンを水酸化ナトリウム水溶液のボトルに 100 mL 添加して転倒混和し十分に混ぜ、「脱色液」とし、③を 200 mL のビーカーで固定液ではなく脱色液 60 mL で行った
- ⑨ 恒温器で 30 分おきに液を揺らしながら 3 時間静置し、ビーカー内の脱色液をヒメダカにかけ、⑤のように鱗を取った後、再び恒温器で終夜脱色した。
- ⑩ 脱色後、ヒメダカを実体顕微鏡化で頭蓋骨、肋骨、背骨、各部位の鰭を観察した。観察後、鱗を剥がしとり、ビーカーですすぎ落とした。
- ⑪ 水酸化ナトリウム水溶液：グリセリン=8：2になるように混和し、「置換液」とし、置換液 25 mL を 100 mL ビーカーに入れ、フタをした。
- ⑫ 室温で 1 時間静置して置換を行い、グリセリン 5 mL を保存用ガラスビンに入れ、保存した。

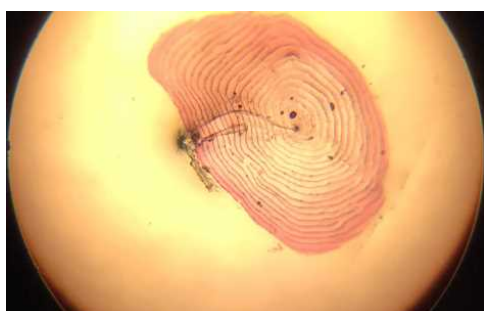


図 1 実体顕微鏡で観察した剥がした鱗

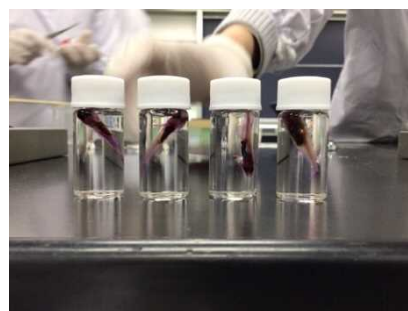


図 2 完成した骨格標本

【両生類の骨格】 アフリカツメガエルの解剖と骨格標本化 手順一

- ① 氷水で10分間氷冷麻酔をしたアフリカツメガエルに、水で5倍に希釈した朱墨を0.2 mL腹腔まで注射して、水に戻した。
- ② 再び5分間氷冷麻酔をして、解剖バサミで断頭した。
- ③ 上皮だけを摘んで切開し、毛細血管や内臓を確認した。
- ④ 肉を剥がして骨格正しく並べ、観察した。



図 4 解剖中の様子



図 3 取り出したカエルの骨格

考察

鳥類、哺乳類、魚類、両生類は共通して脊椎を確認できた。また、魚類にのみ、ヒレとエラが確認でき、その他は肺呼吸であることが確認できたことから、3億9千万年前に魚類が最初に分岐したと考察できた。今回の研究を通して脊椎動物の系統についての理解を深めることができた。これからは今回調査することが出来なかった、爬虫類の骨格の調査と哺乳類の中でも特徴的な骨格について調査していきたい。

参考文献

『生物基礎』数検出版

富士フィルム骨格標本製作キット説明書

34 カエルの死因究明の試み —コンゴツメガエルの飼育から—

菅原 進次郎 萬屋 創

学習院中等科生物部

An Attempt to Determine the Cause of Death of Frogs

—From the Breeding of Dwarf Clawed Frog—

Shinjiro Sugawara Saul Yorozuya

Society of Biology, Gakushuin Boys' High School

飼育したカエルについて

種名 コンゴツメガエル（ベドガーヒメツメガエル） *Hymenochirus boettgeri*

分布 アフリカ中部（ナイジェリア，コンゴ，カメルーン）

体長 22mm（野生下ではおよそ 35mm）

生態 完全水生で呼吸時のみ浮上

環境 湿度は標準～やや高め，水深は深め

餌料 TREBIO ザリガニ・エビのエサ（吉田飼料株式会社）

コンゴツメガエル属 *Hymenochirus*

系統関係は不明確であるも現在 4 種とされる。体は扁平で頭部は小さくとがる。前後肢ともに水かきがあり，第 1 趾～第 3 趾に爪がある。雄には前肢後方に後胸腺が存在する。体色は背側が灰褐色で腹部は白色である。2n=22 と 2n=24 の報告がある。

動機

生物部で飼育していたコンゴツメガエルが脱皮途中に死亡した。このとき表皮が黒かったことからカエルツボカビ症ではないかと考え，調べることにした。

方法

- ・死んだ個体の表皮を採取してプレパラートを作り，光学顕微鏡で観察する。
- ・解剖して臓器系に異常がないか調べる。
- ・染色する。

結果

- ・カビの胞子や菌糸は見られなかった。
- ・表皮には寄生虫は確認されなかった。
- ・心臓が 5%ほど肥大していた。
- ・肝臓が黒ずんでいた。
- ・染色をした結果は当日発表する。

参考文献

- ・平田直ら。動物系統分類学第 9 巻下 A₂ 脊椎動物 < II a₂ > < 両生類 >。
- ・国立研究法人国立環境研究所。 ” 侵入生物データベース—外来種/移入種/幾何動植物情報のポータルサイト— ” 。 <https://www.nies.go.jp/biodiversity/invasive/>。

35 カエルの色覚

—コンゴツメガエルの飼育から—

菅原 進次郎

学習院中等科生物部

Frog Color Vision

—From the Breeding of Dwarf Clawed Frog—

Shinjiro Sugawara

Society of Biology, Gakushuin Boys' High School

目的

生物部で飼育していたコンゴヒメツメガエル(ベドガーヒメツメガエル)の観察をしているとき、餌があるときとないときの行動が、おとなしい時と活発な時があることに気がついた。そして、どのような条件で活性化するのか考えたところ、光や色が関係するのではないかと仮説を立て、実験を行った。

実験準備(環境構築)

市販の水槽に水を張り、浮遊植物、水草を入れ、ろ過器を使用した。

餌は市販のザリガニ用を与えた。

ろ過器のほかに常温の汲み置き水を使用した。

実験方法

水槽の上に設置した3色を切り替えられる光源を利用して、各色での反応と餌の有無を条件として呼吸頻度を計測した。

実験結果

餌なしでは、呼吸回数の分散が見られたのは赤ライトと青ライトの場合であった。

一方、餌ありでは、ライトの色による分散は見られなかった。

餌	ライトなし	赤ライト	青ライト	緑ライト
あり	5分毎	31分毎	4分毎	17分毎
なし	25分毎	1-7分毎	0.5-1分毎	4分毎

餌の有無と光源による呼吸の間隔

考察

ライトを点灯したときに呼吸間隔が短くなることがあったことから

1. 明るさにより昼と勘違いした
 2. 突然明るくなったため、興奮した
- ということが考えられる。

今後の課題

試行回数が不十分で、十分な結果が得られず仮説を明らかにできなかった。

試行回数を増やすほか、水温条件も加えて実験してみたい。

36 和泉多摩川における49年間の鳥類相の変化とその要因

東京農業大学第一高等学校中等部 生物部鳥類班

1.目的、背景

この研究の目的は和泉多摩川の鳥類相の移り変わりとその要因を明らかにすることである。

農大一高生物部では、49年前から和泉多摩川の鳥類相の変化についての研究が継続的に行われてきた。

そのことを知り、私たちも先輩方の研究を引き継ごうと思い立った。

第1期調査 1974年度 10月から1975年度 3月 計54回

第2期調査 1992年度 4月から3月 計26回

第3期調査 2007年度 1月から2009年度 8月 計68回

第4期調査 2019年度 2月から2023年度 12月 計33回

2.方法



場所: 東京都狛江市の小田急和泉多摩川駅近くの河原

範囲: 小田急線高架から狛江五本木松まで1.5 km

時間帯: 午前9:30~午前11:00

一定時間に、一定の歩速で決められた調査範囲を移動しながら、調査ルート上に出現した鳥類の種・個体数のカウントを行う。

下流側から飛来してきた鳥は二重カウントを防ぐためカウントしない。

データ処理については、第1期から第3期は月ごとにデータの最大値をとり

1つのデータにして第4期のデータの数に合わせた。

図1 調査地 (文献を加工して作成)

3.結果

第1期から第4期調査の結果のうち今回は第3期から第4期にかけて起こった魚食性鳥類、猛禽類、カラス類の個体数の変化に着目した。

① 魚食性鳥類

図2~5では第3期と第4期に観察された魚食性鳥類のうち、コクチバスを捕食する4種(これらを以下では「大型魚食性鳥類」とする)それぞれの個体数の変化を表している。アオサギを除いた3種はどれも増加傾向にあった。一方、図6~9では第3期と第4期に観察された魚食性鳥類のうち、コクチバスを捕食しない9種のうち4種(これらを以下では「小型魚食性鳥類」とする)それぞれの個体数の変化を表している。1種以外のすべての小型魚食性鳥類の個体数は減少していた。

② 猛禽類

図10~11では第3期と第4期に観察された猛禽類2種それぞれの個体数の変化を表している。どちらも第4期に大幅に増加していることがわかった。また第3期には観察されなかったハイタカ、オオタカ、ハヤブサ、コミミズクについても第4期では観察された。

③ カラス類

図12~13はハシブトガラスとハシボソガラスそれぞれの個体数の変化を表している。どちらも第4期に大幅に減少していることがわかる。

4.考察

第3期~4期に大型魚食性鳥類が増加し小型魚食性鳥類が減少したのはコクチバスの増加が関係してい

ると考えられる。コクチバスが調査地である和泉多摩川に侵入したのは第3期以降からと推測され、サギ類は魚群の近くにいることが多いのでコクチバスの魚群を追って増えたと考えられる。今減少している小型魚食性鳥類を増加させるためには餌となる小魚を増加させなければならない。猛禽類が増加したのは調査地周辺の高い建造物が増加し河川敷以外の開けた土地が減少したためであると考えられる。猛禽類の増加は捕食対象である中小型の鳥類が減少する可能性を示唆している。しかし、猛禽類の増加と相互関係があるのか、環境の変化で中小型の鳥類が減少しているのかは推測が難しい。猛禽類の増加に伴い多摩川のカラス類の個体数は減少している。カラス類については、他にも多摩川でのバーベキューが第3期以降禁止されて食べていたゴミの量が減少したことが減少の原因として考えられる。

このように私たちの調査の記録からは和泉多摩川の鳥類相だけでなく、その他の生物相や周辺の環境の変化を知ることができる。この研究が今後続いていけば、さらに長期的に和泉多摩川の環境変化を知ることができるだろう。

図2～5 大型魚食性鳥類の個体数の変化

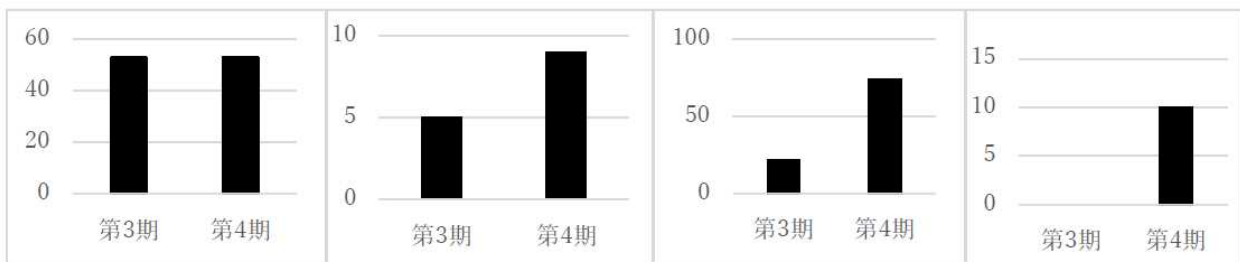


図2 アオサギの個体数 図3 カワウの個体数 図4 ダイサギの個体数 図5 ミサゴの個体数

図6～9 小型魚食性鳥類の個体数の変化

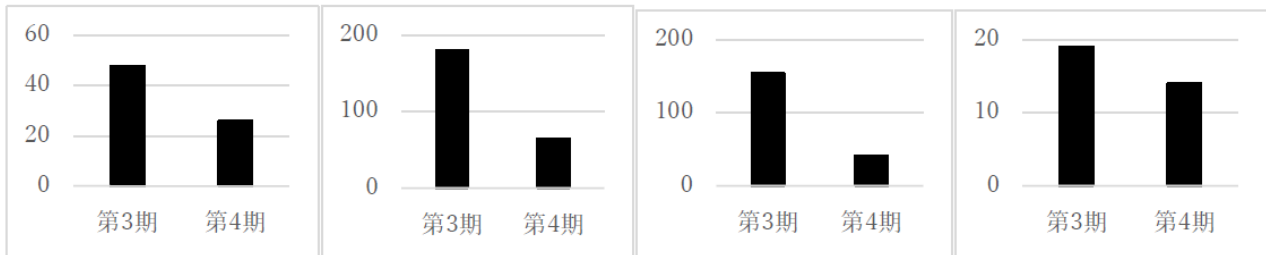


図6 カイツブリの個体数 図7 コサギの個体数 図8 ユリカモメの個体数 図9 カワセミの個体数

図10～11 猛禽類の個体数の変化

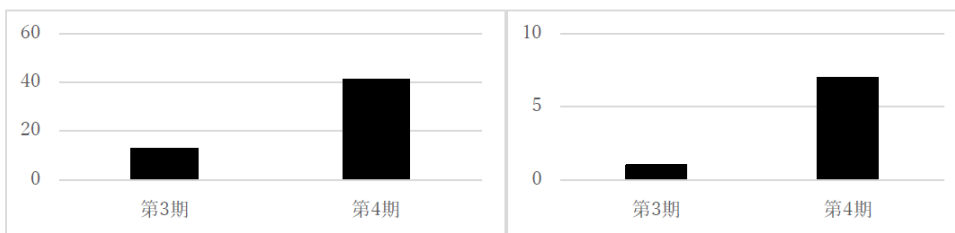


図10 トビの個体数

図11 チョウゲンボウの個体数

図12～13 カラス類の個体数の変化



図12 ハシボソガラスの個体数

図13 ハシブトガラスの個体数

37 キンギョの新品種の鱗の成長について

東京農業大学第一高等学校中等部

生物部 魚類班

背景・目的

魚類の鱗には隆起線という木の年輪のような構造がある。そこで、魚類の鱗の隆起線も木の年輪のように年齢に関係して増えているのではないかと仮説を立てた。また、一般的な錦鯉やキンギョの鱗は規則的に密接して並んでいるが、錦鯉やキンギョの品種の中にはドイツ鯉やドラゴンスケールといった鱗が変形した品種が存在する。これらの品種は鱗の形質が他品種と比べ大きく独特な形をしていて、鱗同士の間隙があるため、一般的な鱗を持つ個体と鱗の成長速度に違いがあるのではないかと考え、調査した。



図1 ドラゴンスケールのキンギョ

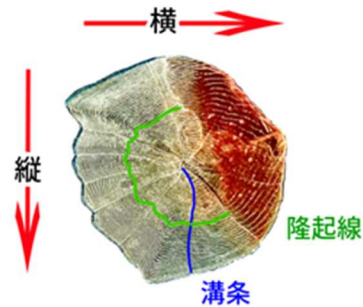


図2 魚類の鱗の構造

材料・方法

共通の親から別の年に生まれた体重の近いキンギョから鱗を抜き、鱗の隆起線の本数を計測した。また、共通の親から同じ日に生まれた体重の異なるキンギョでも同様の実験を行った。またドラゴンスケールのキンギョと体型の近い普通鱗のキンギョを用い、品種間、高水温と低水温による鱗の成長の違いを調べた。

また鱗の成長量は <http://hdl.handle.net/2115/21836> より一定期間内に増加した隆起線の本数によって評価した。隆起線の増加量はテトラサイクリン塩酸塩を腹腔内注射し鱗に標識をつけ、一定期間飼育した肥満度の変化量の近い個体同士の鱗を一部抜き、蛍光顕微鏡で観察することで計測した。なお、鱗を採取した場所は以下の通りで、腹腔内注射は獣医師の協力を得て行った。

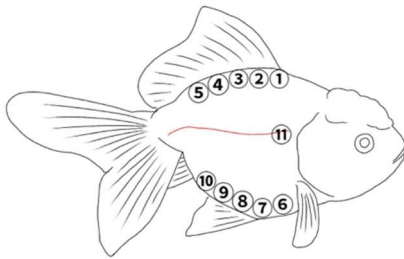
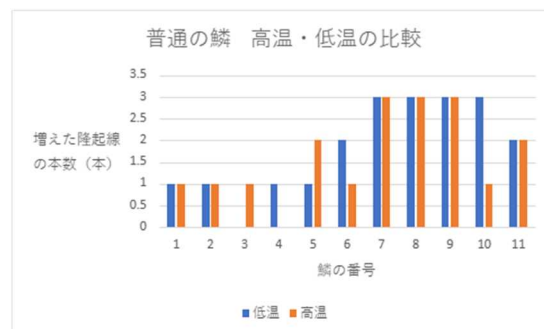
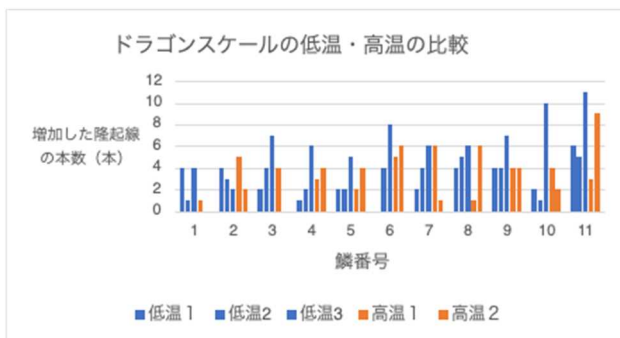
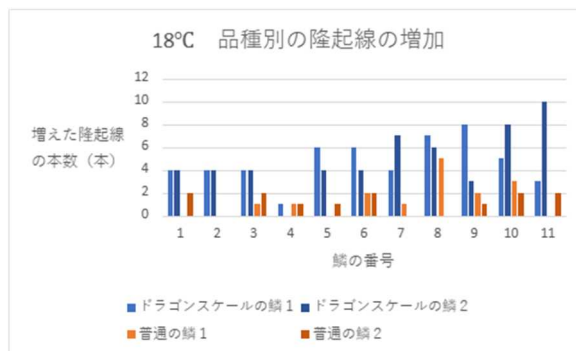
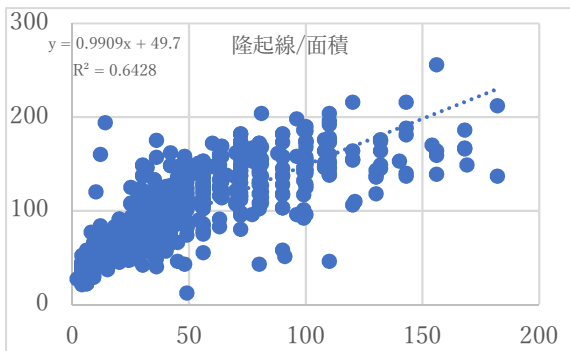


図3 鱗の採取場所

結果・考察・今後の展望



キンギョの鱗の隆起線の本数は個体の年齢に関わらず、鱗の面積によって変わるということがわかった。また、品種間では通常の形質の鱗をもつ個体よりもドラゴンスケールの個体の方が鱗の成長が大きいことがわかった。低水温、高水温では低水温の方が鱗の成長が大きいことがわかった。低水温で飼育すると鱗は隆起線の数が増え、大きくなる可能性がある。またドラゴンスケールやドイツ鯉といった品種は鱗が大きく独特の形をしていることで鑑賞価値が高いとされている品種である。そのためこの研究を生かしてこれらの品種の養殖を行うことでドイツ鯉やドラゴンスケールの鱗を大きく、より魅力的にする養殖を行うことができるのではないかと考えた。

38 三国海岸の貝類層について

東京農業大学第一高等学校・中等部

要旨は当日配布いたします。

39 社会的文脈が死骸の認知過程に及ぼす影響

安田学園高等学校 生物部 今枝空 (高3)・脇田晃納環 (高3)

1. 研究背景と目的

文脈効果 (context effect) とは、周囲の生物学的および非生物的環境 (広義の意味の文脈; context) によって対象物の認知過程が変化する現象のことである (Bruner and Minturn, 1955). 例えば、同じ料理でも紙皿で出されたものよりも高価な皿で出されたものの方が高級で美味しい料理と感じることがあり、ヒトは環境的文脈によって対象物の認知過程が変化する. 哺乳類やマルハナバチ (*Bombus* spp.) の研究でもフェロモンが生得的な固定概念ではなく、文脈に依存した柔軟な反応を示すことがわかってきており、「フェロモン」という言葉自体が見直され、文脈の重要性が指摘されている (Stowers and Marton, 2005; Kaur et al., 2014; Orlova and Amsalem, 2021). 以上の背景より我々は、文脈が動物の行動に与える影響を調査するために、クロマルハナバチ (*B. ignitus*) の死骸排除行動 (巢内の死骸を巢外へ運び出す社会行動) に注目した (Cremer et al., 2007; 横井ら. 2015; 河野・渡邊, 2021, 2022). マルハナバチ類は女王蜂が働き蜂を生産して社会を形成した後、繁殖虫である新女王蜂と雄蜂を生産する生活史を持つため、コロニーの発達段階に応じて働き蜂の個体数や雄蜂の有無といった社会的文脈が変化する. そこで、コロニーの発達段階や死骸の性を変化させた時の死骸排除行動の起こりやすさを比較する行動実験をデザインし、社会的文脈が死骸排除行動に与える影響を調査した.

2. 研究方法

(1) 雄蜂出現前と出現後のコロニーに導入した死骸に対する働き蜂の行動の記録

雄蜂出現前 (発達前期) のコロニーと雄蜂出現後 (発達後期) のコロニーに死後 24 時間後の働き蜂の死骸を導入し、死骸に対する働き蜂の行動を記録した. 暗室で飼育した発達前期のクロマルハナバチのコロニーから女王蜂 1 匹、働き蜂 10 匹、幼虫塊と繭塊 10 個程度を実験容器に入れて 30 分間静置した. この実験容器にあらかじめ冷殺した死後 24 時間後の死骸を導入し、働き蜂が死骸に対して行った接触行動、噛み付く行動、引きずる行動の回数を 10 分間記録した. 発達前期のコロニーでデータを得た後、コロニーの飼育を継続し、雄蜂の出現が確認された後に同様の方法で死骸を導入し、働き蜂が死骸に対して行った各行動の回数を記録した. 実験は発達前期と発達後期でそれぞれ死骸 10 個体、2 つのコロニーで行った.

(2) 働き蜂の死骸と雄蜂の死骸に対する働き蜂の行動の記録

巢内の死骸は感染症の蔓延を防ぐために速やかに排除されるべき対象であり、働き蜂 (雌) の死骸も雄蜂の死骸もコロニーにとって同程度の損失 (コスト) を有する. そこで、働き蜂が雌雄の死骸を同じように認知して死骸排除行動を行うのかどうか調べるために、雌雄の死骸を巢内に導入した時の働き蜂の行動を記録した. 上述した方法と同様に準備した被験コロニーに、これとは別のコロニーから得た働き蜂と雄蜂の死後 24 時間後の死骸を導入し、その死骸に対する働き蜂の行動の回数を 10 分間記録した. 働き蜂と雄蜂の死骸を導入する順序は実験ごとに交互に入れ替えて死骸を導入する順番の影響を排除した. 実験は 3 つのコロニーで実施し、雌雄の死骸の個体数はコロニー A で 8 個体、コロニー B で 12 個体、コロニー C で 8 個体とした.

(3) 死後 24 時間後の働き蜂と雄蜂の死骸の体表物質の GC/MS 分析

同じコロニーから得た死後 24 時間後の働き蜂と雄蜂の前翅 0.1 枚/ μL 等量の抽出液を SH-Rxi-1ms カラム (長さ 30 m, ID 0.25, DF 0.25; SHIMADZU) を装着したガスクロマトグラフィー質量分析装置 (GCMS-

QP2010 Plus) で分析した。検出された化合物は、保持時間とマススペクトルを SDBS データベースとセイヨウオオマルハナバチ (*B. terrestris*) の体表物質 (Hefetz, 1996; Sramkova et al., 2008), 合成標準品と比較することで同定した。

3. 結果

(1) 雄蜂出現前 (発達前期) と出現後 (発達後期) のコロニーに死骸を導入した時の働き蜂の行動

発達前期と発達後期の各行動の割合をコロニーごとに比較した結果, 2つのコロニーとも行動の割合に有意な差が認められた (Fisher's exact test, $p < 0.001$). 接触行動 1 回あたりの噛み付く行動と引きずる行動の合計回数は, 発達前期よりも発達後期の方が有意に低かった (GLMM with negative binomial distribution error and link-log, $p < 0.01$). よって, 雄蜂が出現した発達後期のコロニーでは, 死骸を排除する働き蜂のモチベーションが低下することがわかった。

(2) 働き蜂の死骸と雄蜂の死骸に対する働き蜂の行動

働き蜂の死骸と雄蜂の死骸に対する働き蜂の各行動の割合をコロニーごとに比較した結果, コロニー B と C で有意な差が認められた (Fisher's exact test, コロニー B; $p < 0.001$, コロニー C; $p < 0.01$). 接触行動 1 回あたりの噛み付く行動と引きずる行動の合計回数は, 働き蜂の死骸よりも雄蜂の死骸の方が有意に低かった (GLMM with negative binomial distribution error and link-log, $p < 0.01$). よって, 働き蜂は死骸の雌雄の違いを認知した上で雄蜂の死骸を排除するモチベーションが低いことがわかった。

(3) 死後 24 時間後の働き蜂と雄蜂の死骸の体表物質

働き蜂と雄蜂ともに Tricosane (C23), Pentacosane (C25), Heptacosane (C27) が主要な体表炭化水素として検出された。働き蜂と雄蜂の死骸体表物質の種類に大きな違いは見られなかったが, 働き蜂よりも雄蜂の方が各化合物のピーク強度が低かった。

4. 考察

本研究はクロマルハナバチの死骸排除行動がコロニーの発達段階や死骸の雌雄に応じて死骸認知の過程が変化する文脈効果を示すことを明らかにした。この発見は, 社会性昆虫の社会行動を研究する際に, フェロモンや情報化学物質の受容といった旧来の研究方法だけでなく, その生物を取り巻く「文脈」を考慮した研究を展開していくことの重要性を提示する。クロマルハナバチの働き蜂は死後経過時間に伴う Tricosane の減少を手掛かりに死骸を認知している (河野・渡邊, 2021, 2022)。しかし, 本研究では雄蜂の死骸は働き蜂の死骸に比べて Tricosane の量が少ないにも関わらず死骸として認知されにくい結果となり, 先行研究と矛盾した。おそらく, 働き蜂の死骸と雄蜂の死骸に対する Tricosane の感度が死骸の種類という文脈によって変化したのだろう。今後は, マルハナバチがコロニー内の社会的文脈をどのように検知しているのか, 働き蜂と雄蜂の死骸をどのように区別しているのか, 同じコストを持つ雌雄の死骸に対して死骸排除行動のモチベーションに違いが生じることの究極要因 (適応的意義) は何か, といった課題についても検証を試みていきたい。

5. 引用文献

- Bruner J. S. and Minturn A. L. 1955. Perceptual identification and perceptual organization. *Journal of General Psychology*. 53: 21-28.
- Cremer S., Armitage S.A.O. and Schmid-Hempel P. 2007. Social Immunity. *Current Biology* 17: R693-702.
- Hefetz A., Taghizadeh T., Francke W. 1996. The exocrinology of the queen bumble bee *Bombus terrestris* (Hymenoptera: Apidae, Bombini). *Z Naturforsch.* 51c: 409-422.
- Kaur A.W., Ackels T., Kuo T. H., Cichy A., Dey S., Hays C., Kateri M., Logan D. W., Marton T. F., Spehr M. and Stowers L. 2014. Murine pheromone proteins constitute a context-dependent combinatorial code governing multiple social behaviors. *Cell* 157: 676-688.
- 河野洋・渡邊あかり. 2022. クロマルハナバチの死骸排除行動と死骸認知のしくみ. 第 69 回日本生態学会高校生ポスター発表.
- Orlova M. and Amsalem E. 2021. Bumble bee queen pheromones are context-dependent. *Scientific Reports*. 11:16931.
- Sramkova A., Schulz C., Twele R., Francke W and Ayasse M. 2008. Fertility signals in the bumblebee *Bombus terrestris* (Hymenoptera: Apidae). *Naturwissenschaften*. 95: 515-22.
- Stowers L. and Marton T. F. 2005. What is a pheromone? Mammalian pheromones reconsidered. *Neuron* 46: 699-702.
- 横井翔・芳山三喜雄・木村澄. 2015. ミツバチの個体内免疫反応と社会性免疫. 蚕糸・昆虫バイオテック. 84: 213-220.

40 花粉荷の「色」による花粉源植物の推定

安田学園高等学校 生物部 吉田匠 (高3)

1. 研究背景

セイヨウミツバチ (*Apis mellifera*) は蜂蜜生産や農作物の花粉媒介昆虫として世界中で利用されているだけでなく、趣味の養蜂や都市でのミツバチプロジェクトなど、専門家以外の方にもその利用が拡大している。これまで、巣箱周辺の花資源の評価は花粉の光学顕微鏡観察による同定や DNA バーコーディングを用いた分子生物学的な方法が行われてきた (Dimou and Thrasyloulou 2007; 川口・吉村 2017; Kamo et al. 2018)。しかし、前者は花粉の分類に関する専門知識が必要な点やプレパレート作製に労力がかかる点、後者は分析に費用がかかる点でミツバチと関わりのある一般の方にとってはハードルの高い手法となっている。そこで本研究では、花粉荷の色から簡易的に花粉源植物を推定できるデータベースの作成を試みた。

2. 研究方法

(1) 花粉荷の収集と花粉源植物の特定方法

安田学園で飼育しているセイヨウミツバチの巣箱の入り口に花粉荷を収集できる花粉採集器を設置した。花粉荷の収集は 2022 年 4 月から 2023 年 3 月にかけて行い、花粉採集器に集まった 1 週間分の花粉荷を週末にまとめて回収した。集めた花粉荷を色ごとに目視で仕分けた。各花粉荷に含まれる花粉の表面構造を卓上走査型電子顕微鏡 (SEM; TM4000Plus, HITACHI) で観察した。花粉図鑑 (三好ら 2011; 日下石 2023) をもとに採集日 (開花時期) と花粉荷の色、花粉の表面構造と花粉の長さから植物の種類を科レベルと属レベルで同定した。

(2) 多様性指数の算出

ミツバチが複数種類の花粉源植物を利用していたのかどうか、あるいは特定の花粉源植物に依存していたのかどうか、シン普森の多様性指数を用いることで、季節に応じた花粉源植物の多様性を評価することができる。花粉源植物の多様性は次式で求めた。

$$D = 1 - \left\{ \sum (n/N)^2 \right\}$$

D = 花粉源植物の多様性指数

N = その月にサンプリングされた花粉荷の総種類数

n = サンプリングされた科または属に含まれるそれぞれの花粉荷の種類数

この数値は 0 (低い多様性) から 1 (高い多様性) の間の値をとる。

(3) 花粉荷の RGB 値の多変量解析

花粉荷の色と植物の種類や季節性との関係を明らかにするために、花粉荷の RGB 値の変量データの特徴を要約する主成分分析とクラスター分析を実施した。花粉荷の表面を写真撮影し、RGB 値の平均を画像解析ソフト imageJ で測定した。R・G・B の 3 つのデータセットを用いて主成分分析を実施し、第一主成分 (PC1) と第二主成分 (PC2) を求めた。次に花粉荷の主成分得点を用いてクラスター分析を実施し、色が似ている花粉荷をグルーピングした。得られたクラスターごとに RGB 値の平均を求めてそのクラスターの代表色を得た。その後、各クラスター内に所属する花粉荷の科と属、採集月をまとめた。これらの多変量解析とは SPSS および R (ver.4.2.3) で行った。

3. 結果

(1) フローラルカレンダーと花粉源植物の多様性

本研究で安田学園周辺には合計 44 科 77 属 230 種類の花粉源植物が特定できた。6 月の多様度指数が科レベルで 0.92, 属レベルで 0.95 と最も高かった。4 月と 10 月の科レベルの多様度指数が属レベルの多様度指数よりも低く, 4 月はバラ科やマメ科に含まれる複数の属, 10 月はキク科に含まれる複数の属から花粉を得ていた。一方で, 8 月の多様度指数が科レベルで 0.49, 属レベルで 0.50, 3 月の多様度指数が科レベルで 0.48, 属レベルで 0.56 と他の月と比較して低かった。8 月はミソハギ科サルズベリ属に, 3 月はバラ科サクラ属に花資源を依存していることがわかった。

(2) 花粉荷の色の多変量解析

花粉荷の RGB 値の主成分分析とクラスター分析の結果, 花粉荷の色の違いから 6 つのクラスターに分類できた (図 1)。各クラスターに含まれる花粉荷 (花粉源植物) の採集月と, 科の数を図 2B にまとめた。クラスター 1, クラスター 2, クラスター 3 の茶褐色系の花粉荷には 4 月から 7 月に開花するマメ科やバラ科の花粉荷が多く含まれていた。一方で, クラスター 4, クラスター 5, クラスター 6 の黄色系の花粉荷には 8 月から 11 月に開花するキク科やミソハギ科の花粉荷が多く含まれていた。よって花粉荷の色から得られた 6 つのクラスターが花粉源植物の開花時期と関連性があることがわかった。次に, クラスター内に含まれている科数を整理した結果, クラスターごとに優占する科があることがわかった。

4. 考察とまとめ

本研究から, 安田学園周辺の緑地には 230 種類の花粉源植物が潜在的な花資源として存在することが示され, 都市部の花粉源植物の多様性は高いと評価できる。花粉荷の RGB 値の多変量解析は, 花粉荷を 6 つのクラスターに分類できることを示した。さらに, クラスターごとに特定の時期に開花しやすい植物が含まれることもわかった。フローラルカレンダーおよび花粉荷が所属するクラスターを整理した花粉源植物のデータベースは, 専門性の有無に問われることなく, 花粉荷の色だけで誰でも簡単に花粉源植物を科や属レベルで推定できる手法となり得る。具体的には, 1) 花粉採集器で花粉荷を収集する, 2) 採集した日付と花粉荷の色を記録する, 3) クラスター 1 から 6 の色を試験色として花粉荷がどの色に近いか決める, 4) そのクラスターに含まれる花粉荷の中から収集時期と一致する花粉をフローラルカレンダーから検索する, の順で行うことを想定している。得られたデータベースによる検索手順には, 正確性に欠ける点や種レベルで特定できない点, フローラルカレンダーに含まれていない植物を扱えない点など, 解決すべき課題もある。しかし, 専門家だけでなく, 趣味の養蜂やミツバチプロジェクトに取り組む一般市民の方が, 顕微鏡や分子生物学的手法に頼ることなく, 低コストでかつその場で植物を推定できる点で, 本手法には大きな利点がある。今後は, なぜ花粉荷の「色」と開花季節に関連性があるのか, さらに調査を行いたい。

5. 引用文献

- Dimou M., Thrasyvoulou A. (2007) A comparison of three methods for assessing the relative abundance of pollen resources collected by honey bee colonies. *J Apic Res* 46:144–148.
- Kamo T., Kusumoto Y., Tokuoaka Y., Okubo S., Hayakawa H., Yoshiyama M., Kimura K. and Konuma A. (2018) A DNA barcoding method for identifying and quantifying the composition of pollen species collected by European honeybees, *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae). *Applied Entomology and Zoology*. 53: 353–361.
- 川口拓真・吉村翼. (2017) 都市型養蜂は新しい農業なのか? ~東京都墨田区安田学園中学校周辺の蜜源・花粉源調査~. 第 61 回日本学生科学賞中央採集審査会出品作品. http://sec-db.cf.ocha.ac.jp/pdf/61_seikagaku_JB18.pdf
- 三好教夫・藤木利之・木村裕子. (2011) 日本産花粉図鑑. 北海道大学出版会.
- 日下石碧. (2023) 花粉ハンドブック. 文一総合出版.

41 雄蜂との相互作用が働き蜂の学習障害を引き起こす

安田学園高等学校 生物部 荻原葵 (高2)

1. 研究背景

ヒトを含めた社会を形成する動物は、他者やその産出物（匂いや音など）との相互作用によって学習が促進される（社会学習, social learning). 特にセイヨウミツバチ (*Apis mellifera*) は数万匹もの蜂が共同生活を行う社会性昆虫で、8の字ダンスなどの多彩なコミュニケーションと高度な学習能力をもつ。巣内での社会経験や他個体との相互作用によって学習能力が向上することが分かっているが（市川 2003; Tsvetkov et al. 2019; 川口 2020）、他個体から受けるどのような刺激が学習に関与しているのか、不明な点が多い。高 (2022) は、触角を切断した働き蜂と正常な働き蜂を同居させると、正常な蜂の学習率が低下することを示した。どうやらミツバチの触角同士の接触（アンテナコンタクト）を介して入力される何らかの感覚刺激が学習のパフォーマンスの向上に重要なようである。

2. 研究目的・意義

触角を切断した働き蜂と同居させると学習率が低下することがわかっているが、負傷した蜂との同居が働き蜂に悪影響を与えた可能性を排除できておらず、具体的な感覚刺激も不明なままである。さらに、同居する相手の「性」が学習に及ぼす影響も調査されていない。そこで本研究では、社会経験がミツバチの学習に及ぼす影響を調査するため、1)同居する他個体の数（グループサイズ）が働き蜂の学習に及ぼす影響、2)触角の感覚毛同士の接触が働き蜂の学習に及ぼす影響、3)雄蜂との同居が働き蜂の学習に及ぼす影響の3点について調査した。

3. 研究方法

(1) 嗅覚-口吻伸展反射連合学習実験

嗅覚-口吻伸展反射連合学習実験（PER 実験）とは、匂い（条件刺激; CS）と報酬である砂糖水（無条件刺激; US）を対提示する訓練（条件付け）を繰り返すことで連合学習を成立させ、匂いの提示のみで口吻伸展反射（PER）が起こるかどうかを観察するという方法である（市川 2003; 岡田 2009）。条件刺激（CS）にはメントンの匂い、無条件刺激（US）には 40%スクロース溶液を用いた。4 秒間 CS を提示し、1 秒間重ねて 3 秒間 US を提示する条件付け操作を 5 分間隔で 5 回行い、最後の条件付けから 5 分後に短期記憶テスト、60 分後に中期記憶テストを行った。学習率は、実験に参加した蜂の個体数に対する条件刺激を提示した際に口吻を伸ばした個体の割合として算出した。また、比率の標準誤差（SEP; Standard Error of Proportion）を求め、学習率とともにグラフに示した。

(2) 同居する他個体の数が働き蜂の学習に及ぼす影響

同居する蜂の個体数（グループサイズ）が学習に関与するのかどうか調べるために、異なる個体数で飼育した働き蜂の学習率を比較した。飼育容器に、0 日齢蜂をそれぞれ 1 匹（単独群）、2 匹（ペア群）、6 匹（6 匹群）入れて、温度 28℃、湿度 40%の暗室で 6 日間飼育した。飼育後、各飼育容器から単独群、ペア群では 1 匹、6 匹群では 3 匹の働き蜂に対し、PER 実験を行った。学習率は、短期記憶テストと中期記憶テストごとに、説明変数に飼育群、応答変数に学習の有無、応答変数の誤差分布を二項分布、リンク関数を logit とした一般化線形モデル（GLM）で比較した。

(3) 触角の感覚毛同士の接触が働き蜂の学習に及ぼす影響

触角をマニキュアでコーティングした蜂と同居した蜂の学習率を調査した。羽化後 3 日間の巣内経験を与えた 3 日齢蜂を回収し、飼育容器に 2 匹入れた群（ペア群）と、被験蜂と触角をマニキュアでコーティングした蜂を 1 匹ずつ入れた群（マニキュアペア群）を用意した。触角をコーティングすると、感覚毛同士の接触が阻害される。2 つの群を暗室で 3 日間飼育した後、被験蜂に PER 実験を行った。学習率は、短期記憶テストと中期記憶テストごとに、説明変数に飼育群、応答変数に学習の有無、

応答変数の誤差分布を二項分布，リンク関数を logit とした一般化線形モデル (GLM) で比較した。

(4) 雄蜂との同居が働き蜂の学習に及ぼす影響

雄蜂との同居によって働き蜂の学習率が変化するのかどうか調査した。3 日齢の働き蜂と雄蜂を回収し，飼育シャーレに働き蜂 6 匹を入れた群（働き蜂 6 匹群）と働き蜂 4 匹，雄蜂 2 匹を入れた群（働き蜂 4 匹/雄蜂 2 匹群）を用意し，各群を暗室で 3 日間飼育した。飼育後，各飼育シャーレから 2 匹の働き蜂をランダムに選び，嗅覚-口吻伸展反射連合学習実験を行った。学習率は，短期記憶テストと中期記憶テストごとに，説明変数に飼育群，応答変数に学習の有無，応答変数の誤差分布を二項分布，リンク関数を logit とした一般化線形モデル (GLM) で比較した。

4. 結果・考察

(1) 同居する他個体の数が働き蜂の学習に及ぼす影響

異なるグループサイズで飼育した働き蜂の学習率を調べた結果，短期記憶テストの学習率はペア群と 6 匹群の学習率が単独群よりも有意に高かった (GLM, 単独群 vs ペア群; $p < 0.05$, 単独群 vs 6 匹群; $p < 0.01$, ペア群 vs 6 匹群; ns, $p = 0.066$)。中期記憶テストの学習率は 6 匹群の学習率が単独群よりも有意に高かった (GLM, 単独群 vs ペア群; ns, $p = 0.36$, 単独群 vs 6 匹群; $p < 0.05$, ペア群 vs 6 匹群; ns, $p = 0.13$)。よって，グループサイズの増加による個体間相互作用の頻度の増加によって学習率が高まることがわかった。

(2) 触角の感覚毛同士の接触が働き蜂の学習に及ぼす影響

触角の感覚毛同士の接触が学習率に影響を与えるのか調査した結果，短期記憶テストの学習率はマニキュアペア群がペア群よりも有意に低かった (GLM, $p < 0.05$)。中期記憶テストの学習率は有意な差は認められなかった (GLM, $p = 0.15$)。したがって，触角の感覚毛同士の接触が阻害されると働き蜂の学習率が低下し，触角を介した何らかの感覚刺激の伝達が働き蜂の学習に関与することがわかった。

(3) 雄蜂との同居が働き蜂の学習に及ぼす影響

雄蜂と同居させた働き蜂の学習率を調べた結果，短期記憶テストの学習率は働き蜂 4 匹/雄蜂 2 匹群の学習率が働き蜂 6 匹群に比べて有意に低かった (GLM, $p < 0.05$)。中期記憶テストの学習率は群間で有意な差は認められなかった (GLM, $p = 0.11$)。よって，雄蜂との同居が働き蜂の学習率を低下させ，個体間相互作用の相手が働き蜂ならばポジティブに，雄蜂ならばネガティブに働くことがわかった。

5. 結論及び今後の展望

本研究で，1)グループサイズの増加が学習だけでなく中期記憶にも影響を与え，個体間相互作用の減少が働き蜂の学習障害を引き起こすこと，2)働き蜂の触角感覚毛同士の接触が学習のパフォーマンスの向上を促すこと，3)雄蜂との相互作用が働き蜂に対してネガティブに作用し，学習障害を引き起こすことの 3 点が明らかとなった。特に，相互作用する相手の「性」が学習に関与する現象は，ミツバチの社会学習と社会神経科学 (social neuroscience) に新たな洞察を与える。

6. 引用文献

- 市川直子. 2003. ミツバチの記憶・学習能力の発達と維持に重要な社会的経験について. ミツバチ科学 24(3):119-128.
- 川口拓真. ミツバチの記憶・学習能力は個体間のコミュニケーションによって発達する. 第 18 回高校生・高専生科学技術チャレンジ JSEC2020 最終審査会 テレビ朝日特別奨励賞受賞作品.
- 高子越. 2022. ミツバチの記憶・学習能力の発達に関わるコミュニケーションの探索. 日本生態学会第 69 回全国大会.
- 岡田龍一. 2009. 身近な動物を使った実験 4. p16-29. 三共出版.
- Tsvetkov N, Chelsea N. C, Zayed A. 2019. Effects of group size on learning and memory in the honey bee, *Apis mellifera*. Journal of Experimental Biology. 222: jeb193888.

42 クロマルハナバチの幼虫の *in vitro* 飼育系の確立

安田学園高等学校 生物部

山下 慶乃 (高2) ・山岡 小己呂 (高2)

1. 研究背景と目的

近年、農薬や気候変動、生息地の減少によるハナバチ類の減少が世界的に問題になっている。ハナバチ類の保全と持続可能な管理送粉者の利用のためには、農薬などの環境ストレスがハナバチ類に及ぼす影響を評価する必要がある。特にマルハナバチは地下に営巣する習性を持つため、成虫だけでなく巣内の幼虫も土壤に残留した農薬に晒されるリスクがある。このため、幼虫に農薬を経口摂取させるリスク評価法が管理送粉者のセイヨウオオマルハナバチで提案された (Kato et al., 2022)。しかし、飼育条件ごとの羽化率が 17.4% から 67.4% と低く、羽化率の向上が課題と言える。さらにこの種は日本の特定外来生物に指定されているため、現在は在来種クロマルハナバチ (以降クロマル) の花粉媒介利用の拡大が進んでいる。以上の背景から私たちは、日本の作物生産に重要な役割を担うクロマル幼虫の環境リスク評価のための *in vitro* 飼育系の確立を目指した。

2. 実験方法

(1) 幼虫の *in vitro* 飼育方法

In vitro 飼育の条件はセイヨウオオマルハナバチとセイヨウミツバチで報告された方法を参考に設定した (Crailsheim et al., 2013; Kato et al., 2022)。クロマルのコロニーから 3 齢幼虫あるいは終齢幼虫 (4 齢幼虫) をランダムに取り出し、重量を測定した後、キムワイブを底に敷いた 24 ウェルプレートに 1 匹ずつ入れた (図 1)。温湿計を入れたプラスチックタッパー (185mm × 116mm × 60mm) に幼虫を入れたウェルプレートを移し、湿度 85 ± 5%、温度 35 ± 1°C のインキュベーターで飼育した。給餌の際は、幼虫の温度低下を防ぐために約 35°C の保温プレートの上で作業した。後述の餌と PBS 溶液 (pH 6.8) を毛細ピペットで幼虫が食べなくなるまで与え、1 日 4 回、1 時間から 5 時間の間隔をあけて給餌した。下に敷いたキムワイブが糞で汚れていた場合は適宜交換し、清潔に保った。1 日の最後の給餌の前に幼虫の重量を測定した。前蛹になった個体は重量を測定した後、キムワイブを底に敷いた 6 ウェルプレートに移した。プラスチックタッパーに前蛹のウェルプレートを入れ、湿度 75 ± 5%、温度 35 ± 1°C のインキュベーターで飼育した。

(2) 餌の栄養条件が幼虫の発育に与える影響

餌の栄養条件が幼虫の発育に及ぼす影響を調査するために、表 1 に示す 6 つの栄養条件の餌を与え、幼虫の発育パラメーターを比較した。調査項目は、前蛹化率と蛹化率、羽化率、幼虫の重量、前蛹の重量とした。各グループの幼虫の数は Suc20% が 12 匹、Suc30% が 24 匹、Suc40% が 12

匹、Glu/Fru20% が 18 匹、Glu/Fru30% が 12 匹、Glu/Fru40% が 18 匹とした。



図 1 *In vitro* 飼育に用いた 24 ウェルプレート。スケールバーは 10mm を示す。

表 1 *In vitro* 飼育に使用した餌の栄養条件。

餌条件	Suc 20%	Suc 30%	Suc 40%	Glu/Fru 20%	Glu/Fru 30%	Glu/Fru 40%
スクロース* (w/w)	20%	30%	40%	-	-	-
グルコース (w/v)	-	-	-	6.6%	10%	13.2%
フルクトース (w/v)	-	-	-	13.4%	20%	26.8%
花粉 (w/v)	50%	50%	50%	50%	50%	50%
発酵液** (w/v)	10%	10%	10%	-	-	-
酵母菌 (w/v)	-	-	-	1%	1%	1%

*スクロースについては花粉、発酵液を各濃度のスクロース溶液で希釈した。

**発酵液は 500mL の 5% 砂糖水に酵母菌 2g、納豆菌 0.4g、乳酸菌 25g を溶かし、37°C で 3 日発酵させた。

(3) カゼインナトリウムが幼虫の発育に与える影響

タンパク質が幼虫の発育に与える影響を調べるため、上述の実験で発育パラメーターが最も高かった Glu/Fru20% を対照群の餌とし、この餌にカゼインナトリウム 8% (w/v) を添加した餌を与えた幼虫 (カゼイン Na 群) の成長と生存率を比較した。*In vitro* 飼育開始時の幼虫の重量が 223mg 以上で羽化率が 50% になることが上述の実験で示されたため (詳細は後述)、この値を参考に 220mg 以上の終齢幼虫をコロニーからランダムに取り出した。各群の幼虫の数は、対照群を 9 匹、カゼイン Na 群を 10 匹とした。前蛹化率、蛹化率、羽化率、幼虫の重量、前蛹の重量、羽化した成虫の正常な前翅と後翅の割合を比較した。

3. 結果

(1) 餌の栄養条件が幼虫の発育に与える影響

In vitro 飼育で働き蜂と雄蜂の成虫が得られた (図 2)。餌条件ごとの前蛹化率、蛹化率、羽化率の結果を表 2 に示した。蛹化率は Glu/Fru 20% が 78%、Glu/Fru 40% が 72%、羽化率は Glu/Fru20% が 78%、Glu/Fru40% が 67% となり、他の餌条件と比較して有意に高かった。(表 2; GLMM, $p < 0.05$).

すべての飼育日の幼虫の平均重量を比較した結果、Suc20%, Glu/Fru20%, Glu/Fru40%が他の群と比較して有意に高かった (GLMM, $p < 0.05$).

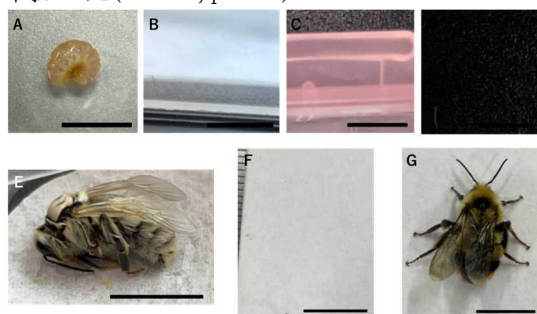


図 2 *In vitro* 飼育したクロマルハナバチ幼虫の発育ステージ。A 3 齢幼虫。B 終齢幼虫 (4 齢幼虫)。C 前蛹。D 蛹。E 羽化直前の成虫。F 成虫の働き蜂。G 成虫の雄蜂。スケールバーは 10mm を示す。

表 2 餌条件と前蛹化率, 蛹化率, 羽化率。

餌条件	N	前蛹	蛹化	羽化
Suc20%	12	83% ^a (N=10)	25% ^a (N=3)	8% ^a (N=1 F=1, M=0)
Suc30%	24	33% ^b (N=8)	8% ^a (N=2)	4% ^a (N=1 F=1, M=0)
Suc40%	12	58% ^{ab} (N=7)	0% ^{a*} (N=0)	0% ^{a*} (N=0 F=0, M=0)
Glu/Fru20%	18	94% ^a (N=17)	78% ^b (N=14)	78% ^b (N=14 F=11, M=3)
Glu/Fru30%	12	75% ^{ab} (N=9)	25% ^a (N=3)	25% ^a (N=3 F=1, M=2)
Glu/Fru40%	18	94% ^a (N=17)	72% ^b (N=13)	67% ^b (N=12 F=12, M=0)

異なるアルファベットは統計的に有意な差があることを示す (GLMM, $p < 0.05$). * Suc40%の蛹化率, 羽化率との比較は Fisher's exact test で実施した。

(2) *In vitro* 飼育開始時の幼虫の重量が前蛹化率, 蛹化率, 羽化率に及ぼす影響

In vitro 飼育開始時の幼虫の重量が前蛹化率, 蛹化率, 羽化率に及ぼす影響を分析した結果, *in vitro* 飼育開始時の幼虫の重量と前蛹化率, 蛹化率, 羽化率の間に有意な正の回帰が検出され (図 3; GLMM, 前蛹化率; $p < 0.001$, 蛹化率; $p < 0.001$, 羽化率; $p < 0.001$), *in vitro* 飼育開始時の幼虫の重量が増加すると羽化率が向上した。得られた回帰曲線から, *in vitro* 飼育開始時の幼虫の重量が 223mg の時に羽化率が 50% になることが推定された (図 3)。

(3) カゼインナトリウムが幼虫の発育に及ぼす影響

対照群 (Glu/Fru 20%, N=16) とカゼイン Na 群 (N=16) の前蛹化率と蛹化率は共に 100% となり, 羽化率は対照群が 75%, カゼイン Na 群が 88% となった。前蛹化率, 蛹化率, 羽化率ともに有意な差は検出されなかった (Fisher's exact test, 前蛹化率; $p = 1.00$, 蛹化率; $p = 1.00$, 羽化率; $p = 0.65$).

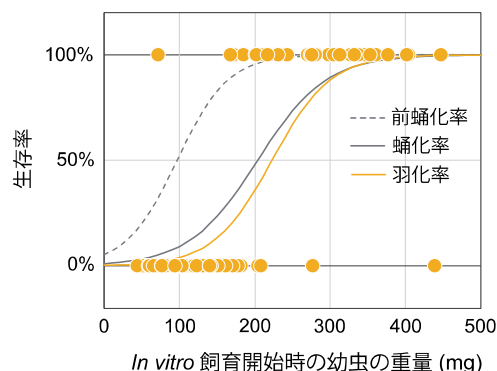


図 3 *In vitro* 飼育開始時の幼虫の重量と各ステージ化率。各プロットは各個体の羽化の有無を示す。飼育開始時の幼虫の重量と各ステージまでの生存率の間に有意な正の回帰が検出された (GLMM, 前蛹化率; $p < 0.001$, 蛹化率; $p < 0.001$, 羽化率; $p < 0.001$).

(4) 成虫の翅の形成率

対照群 (Glu/Fru 20%, N=12) の翅の形成率は, 左前翅が 75%, 右前翅で 92% となった。カゼイン Na 群 (N=14) の翅の形成率は, 左前翅が 100%, 右前翅が 86% となった。

4. まとめと今後の展開

本研究から, クロマル幼虫の *in vitro* 飼育に最適な餌条件は, Glu/Fru 20% (グルコース 6.6%, フルクトース 13.4%, 花粉 50%, 酵母菌 1%) であることがわかった。さらに, 飼育開始時の幼虫の重量を 220mg 以上に設定したことで 75% 以上の羽化率が得られた。これらの成果は, 羽化率の高い在来種クロマル幼虫の *in vitro* 飼育系を提供し, この種の幼虫に農薬を経口摂取させるリスク評価法が適用できることを示唆する。現在, 2 齢や 3 齢幼虫からの人工飼育と浸透移行性除草剤グリホサートを経口摂取させるリスク評価を進めている。クロマル幼虫の *in vitro* 飼育法は, 環境ストレスのリスク評価だけでなく, 幼虫期の環境条件や餌条件が成虫の体サイズの個体変異に及ぼす影響, マルハナバチの女王蜂化を促す仕組みの解明, 商業用コロニーの飼育技術の向上, 希少種マルハナバチの保全に向けた幼虫の人工育成プログラムといった多様な分野への応用が期待される。

5. 参考文献

- Crailsheim K., Brodschneider R., Auoinel P., Behrens D., Genersch E., Vollmann J. and Riessberger-Gallé U. 2013. Standard methods for artificial rearing of *Apis mellifera* larvae. Journal of Apicultural Research 52: 1-16.
Kato Y., Kikuta S., Baribeau S. M. and Inoue M. N. 2022. *In vitro* larval rearing method of eusocial bumblebee *Bombus terrestris* for toxicity test. Scientific Reports 12: 1-10.

43 クロマルハナバチの概日リズム

安田学園高等学校 生物部

永田悠仁（高1）・飯塚温太（高1）

クロマルハナバチは膜翅目に属する社会性ハナバチ類で、顕花植物の花粉媒介者として知られている。植物の受粉を担う重要なキーストーン種であると共に、施設園芸作物のポリネーターとして利用されている有用昆虫でもある。クロマルハナバチは相補的性決定によって性が決まることが知られ、通常受精卵からは雌（働き蜂と女王蜂）が、未受精卵からは雄蜂が生まれる。しかし、性決定遺伝子座がホモ接合になると受精卵から二倍体雄が生まれ、倍数性の増加が歩行活動量や飛翔運動量といった雄蜂の行動特性に影響を与えることが示されている。そこで私たちは、クロマルハナバチの生物時計に注目し、雄蜂の倍数化が概日リズムに及ぼす影響を明らかにしたいと考えた。現在、前段階の実験としてクロマルハナバチの単数体雄と働き蜂（二倍体の雌）の概日リズムの測定を進めている。これまでに得られた知見について発表する。

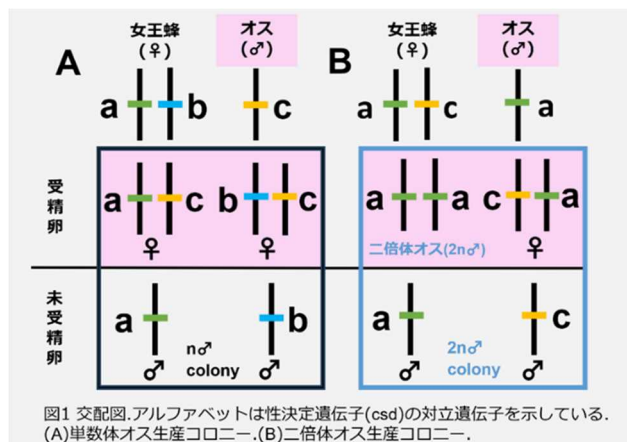
参考文献

Iori Aoyama, Naoki Kojima, Taro Fuchikawa. 2023. Effects of Polyploidization on Locomotor and Flight Activity, and Body Size of Males in Japanese Bumblebee, *Bombus ignitus*. *Journal of Student Research*. 12(3). <https://doi.org/10.47611/jsrhs.v12i3.5091>.

44 DAPI 染色によるクロマルハナバチ雌雄の DNA ploidy 解析

安田学園高等学校 生物部 角田あやめ (高1)

社会性昆虫であるマルハナバチ類では、相補的性決定 (complementary sex determination; CSD) によって性が決まり、ヘミ接合 (ゲノムセット数が1セット)だと未受精卵から雄が、ヘテロ接合 (ゲノムセット数が2セット)だと受精卵から雌が産まれる (図1)。しかし、近親交配によって受精卵の性決定遺伝子が意図せずホモ化すると、受精卵から雄が産まれる。ゲノムセット数が通常の数よりも増加する現象を倍数化といい、この倍数化した受精卵由来の雄は二倍体雄と呼ばれる (図1 A,



B)。倍数性の特定はマイクロサテライト遺伝子型解析を利用していたが、近親交配によりマイクロサテライト遺伝子座の対立遺伝子のバリエーションに偏りが生じ、マーカー遺伝子の多型が検出できなくなる問題点があった。そこで本研究では、クロマルハナバチ (*Bombus ignitus*) の細胞核 DNA を蛍光色素 DAPI 染色液で染色し、その輝度の違いから雄蜂の倍数性を特定する手法の開発を試みた。発表会ではこれまで得られた知見について報告する。

参考文献

- Aron S., de Menten L., Van Bockstaele D. R., Blank S. M., Roisin Y.. 2005. When hymenopteran males reinvented diploidy. *Current Biology* 15: 824–827.
- Ayabe T., Hoshihara H., Ono M. 2004. Cytological evidence for triploid males and females in the bumblebee, *Bombus terrestris*. *Chromosome Research* 12: 215–223. doi: 10.1023/b:chro. 0000021880.83639.4b.
- Duchateau M. J., Hoshihara H., Velthuis H. H. W. 1995. Diploid males in the bumblebee *Bombus terrestris*: Sex determination, sex alleles and viability. *Insectes Sociaux* 42: 255–266.
- Hoshihara H., Duchateau M. J., Velthuis H. H. W. 1995. Diploid males in the bumblebee *Bombus terrestris* (Hymenoptera) Karyotype analyses of diploid females, diploid males and haploid males. *Jpn. J. Ent.* 63: 203–207.
- 森凜太郎・小林達・吉田昭音. 2018. クロマルハナバチの倍数化 ～二倍体オスおよび三倍体雌雄の作出と三倍体オスの生殖能力について～. 第 62 回日本学生科学賞出品作品.
- Ugajin A., Matsuo K., Kubo R., Sasaki T., Ono M. 2016. Expression profile of the sex determination gene doublesex in a gynandromorph of bumblebee, *Bombus ignitus*. *Naturwissenschaften*. 103: 17.

45 ミツバチは同巢の他個体を識別できるのか？

安田学園中学校 生物部 西野大翔（中3）・國谷理久（中3）

1. 研究背景と目的

セイヨウミツバチ (*Apis mellifera*) は数万匹の蜂が集団生活する社会性昆虫である。姉妹関係にある働き蜂は自身の巣の仲間なのか、他の巣出身の非巣仲間なのかを識別できる巣仲間認識機構を持つ (Harano and Sasaki 2006)。そこで私たちはミツバチが同巢の他個体を識別できるのではないかと仮説を立て、その検証を試みた。

2. 実験方法

(1) セイヨウミツバチ *Apis mellifera*

安田学園南館屋上で飼育しているセイヨウミツバチ (*Apis mellifera*) を実験に使用した。実験開始前に、有蓋蜂児（中に蛹が入っている巣房）のある巣板を観察巣箱に移し、温度 28 度、湿度 40% の暗室内で飼育した。翌日に羽化した働き蜂（0 日齢蜂）の胸部背面にペイントマーカーでマーキングし、元の巣箱に戻した。5 日後にマーキングした蜂を巣箱から回収し、実験に使用する羽化後 5 日目の蜂（5 日齢蜂）を得た。

(2) 赤色、緑色、青色の染色糖液を飲んだ蜂の腹部体色の観察

赤、緑、青の 3 色の食紅を 40% 砂糖水に溶かした 0.1 g / 100mL の染色糖液を 3 種類用意した。40% 砂糖水（無色）と 3 種類の染色糖液を蜂が飲めるようにコットンで蓋をした 1.5mL のマイクロチューブの中に入れ、4 つのシャーレにそれぞれ設置した。各シャーレに 5 日齢蜂を 6 匹ずつ入れ、暗室（温度 28°C、湿度 40%）で 2 日間飼育した。飼育後、双眼実体顕微鏡（Kenis LZ; ケニス）で蜂の腹部腹面を拡大し、スマートフォンカメラ（AQUOS SH-41A）で撮影した。撮影した写真から染色糖液が透けて見える腹部第 2 節左側の 100 ピクセル四方の RGB の平均値を画像解析フリーソフト Image J で測定した。色ごとの RGB の平均値は one-way ANOVA と Tukey-Kramer の事後検定で比較した。

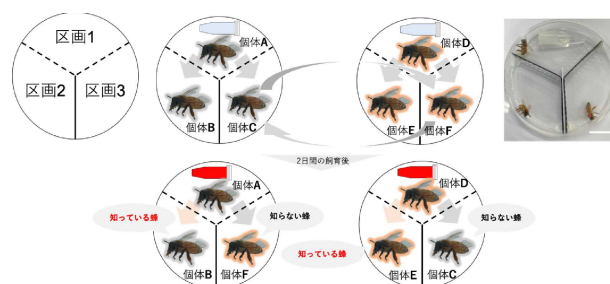
(3) 腹部体色の RGB 値から蜜胃内の赤色糖液の濃度を推定できるのか？

腹部体色の違いから蜜胃内の染色糖液の濃度を推定できるのかどうか調べた。赤色糖液（0.1g / 40% スクロース溶液 100mL）と無色の 40% スクロース溶液を 10:0, 9:1, 8:2, 7:3, 6:4, 5:5, 4:6, 3:7, 2:8, 1:9, 0:10 の比で混ぜ合わせた 11 種類の糖液を用意した。これらの赤色糖液を 11 個のシャーレに設置し、5 日齢蜂を 6 匹ずつ入れて暗室（温度 28°C、湿度 40%）で 2 日間飼育した。その後、双眼実体顕微鏡とスマートフォンカメラで蜂の腹部腹面を撮影した。撮影した写真は、第 4 節以降の蜂の体色に対する赤色糖液が透けて見える腹部第 2 節左側の割合を算出し、各蜂の R 値、G 値、B 値とした。

(4) 知っている蜂と知らない蜂を区別できているのか？ -栄養交換バイオアッセイ-

蜂が蜜胃内の糖液を口移しで交換し合う行動を栄養交換という。以前に栄養交換の経験がある「知っている蜂」と栄養交換の経験がない「知らない蜂」をミツバチが識別できているのかどうかを私たちが考案した栄養交換バイオアッセイで調査した。実験の概要を図 1 に示した。互いに栄養交換できる 2 枚の格子状の仕切りと栄養交換できない 1 枚の樹脂板で 3 区画に分けた飼育容器を用意した。糖液を設置した区画 1 にいる蜂から区画 2 と区画 3 にいる蜂へと一方向にしか栄養交換できない。区画 1 に 40% 砂糖水を置いて、各区画に同じ巣出身の 5 日齢蜂を 1 匹ずつ入れて 2 日間飼育した。2 日後、区画 3 にいる蜂を他のシャーレにいる区画 3 の蜂と入れ替え、区画 1 の糖液を赤色糖液（0.1g / 40% 砂糖水 100mL）に交換した。すべての蜂が

正常に歩き出すと同時にタイマーをスタートさせ、0分から120分まで20分おきに飼育シャーレを取り出し、区画2と区画3にいる蜂の腹部体表を双眼実体顕微鏡で撮影した。第4節以降の蜂の体色に対する赤色糖液が透けて見える腹部第2節左側の割合を算出し、各蜂のR値、G値、B値とした。これらの値を赤色糖液の濃度の推定に適した回帰式に代入し、蜜胃内の赤色糖液の濃度を算出した。知っている蜂と知らない蜂の蜜胃内の赤色糖液の濃度の違いは、説明変数に蜂の種類、応答変数に蜜胃内の赤色糖液の濃度、変量効果に測定時間、応答変数の誤差分布にガウス分布、リンク関数にidentityを組み込んだ一般化線形混合モデル (GLMM) で分析した。統計分析はフリーソフト R (ver 4.2.1) で行った。



●「知っている蜂」の方が「知らない蜂」よりも多くの赤色糖液をもらえると予想できる。

■ 1 栄養交換バイオアッセイの実験方法を示した概略図。透明な糖液を区画1に入れた状態で2日間飼育した後、個体Cと個体Fを入れ替え、個体A(個体D)にとって知っている蜂である個体B(個体E)と知らない蜂である個体F(個体C)で栄養交換によって受け渡される赤色糖液の量に違いがあるかを調べた。右上の飼育シャーレ写真のスケールバーは2cmを示す。

3. 結果

(1) 赤色、緑色、青色の染色糖液を飲んだ蜂の腹部体色

3色の糖液を飲んだ蜂の腹部のRGBの平均値を比較した結果、赤色糖液の値が、緑色糖液と青色糖液よりも有意に高かった (one-way ANOVA followed by Tukey-Kramer post-hoc test, $p < 0.001$)。よって、栄養交換バイオアッセイには赤色糖液が適していることがわかった。

(2) 濃度の異なる赤色糖液を飲んだ蜂の腹部体色のRGB値

腹部体色から蜜胃に含まれる赤色糖液の濃度を推定できるかどうか調べた。R値、G値、B値を説明変数、蜜胃内の赤色糖液の濃度を応答変数にした回帰分析の結果、G値と蜜胃内の赤色糖液の濃度との間に有意な負の回帰 (GLM, $p < 0.001$)、B値と蜜胃内の赤色糖液の濃度との間に有意な正の回帰 (GLM, $p < 0.001$) が認められた。G値の回帰式とB値の回帰式はともに腹部体色から蜜胃に含まれる赤色糖液の濃度を推定する指標として利用可能である。実測値と回帰式の誤差がより小さい腹部体色のG値についての回帰モデル式 $y = \exp(3.3049 - 1.4216x)$ を蜜胃内の赤色糖液の濃度の指標とした。

(3) 知っている蜂と知らない蜂を区別できているのか? -栄養交換バイオアッセイ-

すべての測定時間の蜜胃内の赤色糖液の濃度をまとめると、知っている蜂が 3.49 ± 0.27 (平均値 \pm 標準誤差, $n=39$)、知らない蜂が 2.88 ± 0.20 (平均値 \pm 標準誤差, $n=38$) となり、知っている蜂の方が知らない蜂よりも蜜胃内の赤色糖液の濃度が有意に高かった (GLMM, $p < 0.05$)。

4. 結論及び今後の展望

この結果は、ミツバチが「顔見知りの蜂」により多くの糖液を分け与えていることを意味する。つまり、ミツバチは同巢の他個体を識別できる能力を備えていることを示唆している。

ごく小さな脳を持つミツバチであっても、個体識別できる高度な認知能力をもつことが示された。同じ巣で生活する他個体を識別できれば、巣内の業務分担や個体間のコミュニケーションが円滑に進むと考えられる。ミツバチが何を手掛かりに個体識別しているのかその仕組みの解明を進め、社会性を持つ動物の個体認知機構の理解に繋げていきたい。

5. 引用文献

Harano K. and Sasaki M. 2006. Renewal process of nestmate recognition template in European honeybee *Apis mellifera* L. (Hymenoptera: Apidae). Applied Entomology and Zoology. 41: 325-330.

46 インセクトハウスによる校内の虫の調査

恵泉女学園中学校 3年

清水夏妃、インスンサ彩音、富田伶

1. 目的

インセクトハウスは昆虫のための巣箱で、ヨーロッパでは公園や民家の庭などに設置されている。廃材や落ち枝、竹筒などを用いて虫の巣箱を作成し、虫の繁殖や越冬するための場所を提供し、豊かな自然環境づくりを目指すために始まった。

今回の調査では、インセクトハウスを作製し校内の畑とビオトープに設置することで、校内にどのような虫、益虫がいるのか、また、場所によって集まる虫の違いはあるのかを明らかにすることを目的とする。最終的には、インセクトハウスの設置によって畑に良い影響を与える益虫を呼ぶことを目標として調べていきたいと考えている。

2. 方法

【実験1】

1. 木箱の中に、巣材となるものや身を隠すことができる素材のものを入れて二種類のインセクトハウスを製作した。

①木材と紙のストローとスポンジ、割りばしを入れた。

②紙くずと藁を入れ、暗くするために木の板で一部蓋をした。

また、中身が雨に濡れてしまわないようにレインコート素材のもので雨除けを作った。



①



②

2. ビオトープと畑にインセクトハウスを設置した

設置する高さを 80 から 100 cm でほぼ同じにし、ビオトープと畑にインセクトハウスを針金で巻き付けて固定した。



ビオトープ①



畑①

【実験2】

実験1で用いた材料に加え、竹筒、毛糸、石、小枝、などを入れた木箱を実験1と同じように、畑、ビオトープに針金で固定、設置した。



両方とも同じ材料



ビオトープ



畑

3. 実験結果

【実験 1】

	9月				10月下旬			
	畑①	畑②	ビオトープ①	ビオトープ②	畑①	畑②	ビオトープ①	ビオトープ②
ダンゴムシのなかま	○	○		○	○	○	○	○
ワラジムシのなかま	○	○		○	○	○	○	○
ヒゲジロハサミムシ				○	○ (3匹)	○	○	○
イッスンムカデ								○ (幼齢)
クロゴキブリ								○ (成虫と幼齢)
カメムシのなかま							○	
ハエトリグモの幼虫			○					
アリのなかま				○				
クモのなかま				○(2匹)				

【実験 2】

	畑	ビオトープ
ダンゴムシのなかまのものとみられる糞	○	
ゴキブリのなかまのものとみられる糞		○

4. 考察

ダンゴムシのなかま、ワラジムシのなかま、ヒゲジロカミキリムシは畑とビオトープの両方に生息していた。その他はすべてビオトープにいたことから、ビオトープは畑に比べて多様な生物が生息していると考えられる。

5. 展望

今回はビオトープと畑に生息する虫の種類を調査したが、まだ来ていない種もあるだろう。次回は更にたくさんの種類の虫が来るインセクトハウスを作り、畑の益虫を探したい。また、反省点としては実験した際に完全で正確な記録がとれていなかったため、個体数や生物の名称の同定等の正確な記録をとるようにし、今後の実験につなげていきたい。

47 アメリカザリガニの餌による体色の変化

恵泉女学園中学・高等学校

水谷奏音 山田梨央奈 松居璃桜 荒瀬音色

1 アメリカザリガニについて

本種は日本全土に分布している外来種の全長 60~90mm のザリガニである。1930 年頃にアメリカから食用ガエル(ウシガエル)とともにその餌として日本に持ち込まれた。絶滅危惧種を含む水生昆虫や 魚類を捕食したり、水草を摂食したりすることに加え、稲の根を食い荒らしたり水田の畦に穴を開けたりするので、本種が繁殖した水域では小動物や水生植物群落が攪乱を受け、農業被害も深刻になっている。今年度、条件付特定外来生物に指定された。

2 背景

東京農業大学の武田晃治教授は、本種による被害を減らすために日本における食用化、小中高生教育に注力しており、食用としての付加価値を高めるために“カラフルザリガニ”の開発に取り組んでいる。今回武田教授の後押しを受け、給餌による本種の体色の変化を研究することにした。

3 目的

- ①餌に含まれる色素を調整することによって、本種の体色がどのように変化するか検証する。
- ②体色が変わった個体を食用として茹でた際に、変わった体色のままである個体をつくる。そのための色素を見つける。

4 実験について

・本種の体色を変えるために、まず脱色しその後着色を試みた。野生の本種の体表は赤いが、それはカロテノイド色素によるものである。カロテンは、体内でビタミンAに変換される(プロビタミンA)。脱色するため、カロテノイドを含まない餌を作った。ビタミンAは動物が成長するために必要な栄養素であるため、今回は、栄養が比較的豊富な玄米を使うことによって補った。

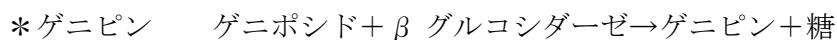
・本種が茹でた際赤くなるのは、加えた熱が殻に含まれているカロテノイド系のアスタキサンチン色素とタンパク質との結合を分解し、赤色が表面に発現するためである。そのため青くするためのアスタキサンチンに代わる色素として A. ゲニピンを含むクチナシ青色素と、比較として B. カロテノイド系のサフラン色素を用いた。

・本来含まれているアスタキサンチンが油溶性であるため、水溶性では着色できないと考え、使用した色素 A は油溶性のものを購入した。

5 着色の実験

実験Ⅰ -クチナシ青色素を用いた実験

クチナシ青色素はゲニポシドに植物酵素を加えゲニピンと糖に分解しそこにタンパク質を加えることで生成される。上述した色素を含まない餌に色素を混ぜた。



加水分解

今回は本来水溶性であるクチナシ青色素を油溶性にした市販の食用着色料を用いた。この際クチナシの元の色素であるクロシン（黄色）にはなんの影響も及ぼさないことがわかっている。このことから私たちは二つの仮説を立てた。

仮説①クチナシ青色素の反応（消す）により青くなる

仮説②クロシンの反応により黄色くなる

実験Ⅱ - サフラン色素を用いた実験 -

サフランから抽出したカロテノイド系のクロシン色素をねりこみ、上述の方法で作成した餌を与えた。今回は香辛料として市販に売られているサフランを用いた。

私たちは下記のように仮説を立てた。

仮説①クロシンの反応により黄色くなる。

仮説②本来赤くなる原因である、カロテノイド系の色素を使っている
ので赤くなる。

二つの実験の結果は当日発表させていただきます。

48 ホトケドジョウの生息環境

恵泉女学園中学・高等学校 山田梨央奈 水谷奏音

1. 研究生物

ホトケドジョウはコイ目フクドジョウ科の小型淡水魚である。一般に湧水が流れる小川を好むといわれており、春から初夏に産卵することが知られている。近年では開発による生息地の減少に伴って数が減っており、環境省の絶滅危惧種（IB類）に指定されている。

2. 目的

ホトケドジョウの個体数の遷移や生息状況の変化などを調査・記録し、貴重な在来種である本種について、減少を抑える方法を考察する。ホトケドジョウの生態を調査し、それを通して里山の環境の保全について探る。

3. 採集方法

東京都町田市小野路町の里山に調査地を設けた。調査地を環境ごとに3つの区画に分け、調査地の環境として水温、水深、流速を記録した。区画ごとに採集を行い、採集できたホトケドジョウの体長と個体数を記録した。採集は、網目の粗さが異なる2本の網を用いて各区画15分間ずつ行った。魚影を探さずに網を入れ、掬い上げた中にいたドジョウのみを観測対象とした。

調査区は上流から環境ごとに 流入・池・横との3つに分けた。

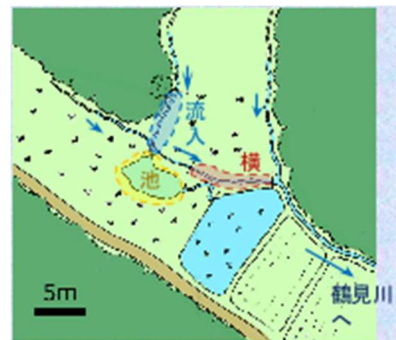
各調査区の環境は、次のとおりである。

流入：浅く広い水域で、流れがある。

日陰と日向を含む。

池：草が繁茂しているため水深に幅がある。流れが緩やか。夏に水量が増える。主に日向。冬は水量の減少により草に覆われて調査が不可能であった。

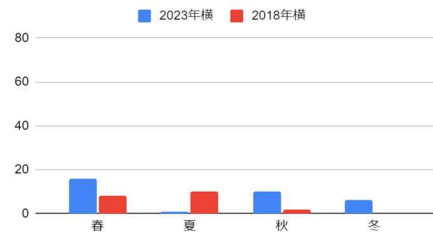
横：水深が安定しており流れがある。冬に水量が増える。主に日陰。



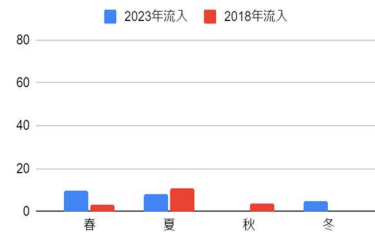
4. 調査結果

2017年より継続的に調査を行っているが、今回は2018年と2023年の調査区ごとの各季節の個体数を示した。また、2023年度の「池」の各季節の体長組成をグラフに示した。

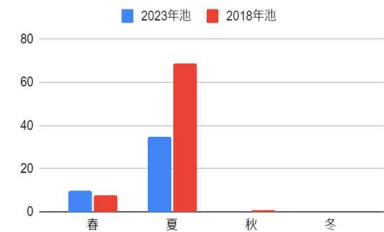
2023年横 と 2018年横



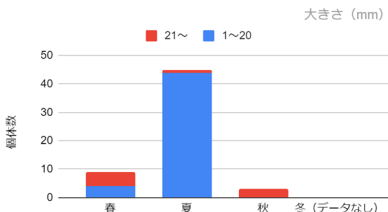
2023年流入 と 2018年流入



2023年池 と 2018年池



2023年 池の個体数と大きさ



5.考察

2018年と2023年の結果を見ると、どちらの年も夏の池に個体数が多い。2023年の体長組成のグラフから、夏の池の個体数が多いのは、体長の小さい個体が集まっていることによるものと分かる。今までの本校の研究からも、池が稚魚にとって重要な環境であることが示唆されており、今年度も同じ傾向が見られた。

池の夏の個体数が、2018年より2023年の方が少なくなっており、減少している。ここ数年、池の遷移が進んでおり、水深が浅くなり、稚魚にとっても池が生育しにくい環境になっていることが考えられる。

5. 今後の展望、反省

これまでの調査によって、春に生まれた稚魚にとって池が重要な生息場所になっているのではないかと考えたが、近年、池は遷移が進んでいて、水が減少してきている。稚魚の生息地を確保するため、池を掘り返すことが必要であると考えている。近々池を掘り、元の環境に戻し、その後の個体数の変化を調査していきたい。

<memo>

<memo>

第 56 回 生物研究の集い 要旨集（展示発表編②）

主催：東京生物クラブ連盟

会場：東京農業大学 百周年記念講堂

日時：2024 年 2 月 18 日

学校名：

氏名：
