

武庫川のカラーリングされたユリカモメ

兵庫県立川西明峰高等学校 理科部
 (3年)・菖蒲大輝
 (2年)・黒田英資・村山湧輝

1. はじめに

川西明峰高校理科部は昆陽池公園で2003年から野鳥の観察を行ってきました。観察するなかでユリカモメの行動が他の水鳥と違うことから、2012年から武庫川でユリカモメの調査を行いました。龍谷大学の須川先生よりユリカモメのカラーリングについて教えて頂き、ユリカモメに給餌をして長年ユリカモメのカラーリング個体を撮影してこられたTKさん(西宮市在住)の撮影された写真ファイルを頂き、写真内容の分析をしました。撮影された期間は2013年1月13日から2016年1月21日までの269日です。

写真1 TKさんが餌を与えると多数のユリカモメが集まっています



写真2 金属足輪(右足)とカラーリング(左足)が付いたユリカモメ



ユリカモメの足に黄色や青色などの色でアルファベットや数字が刻印されています。足輪番号を読み取る事で、いつどこでカラーリングをつけたかがわかります。この事から、どこから飛んで来て少なくとも何年生きているかがわかります(幼鳥につけた場合は年齢がわかります)。

2. 観察場所 武庫川では国道2号線の武庫川大橋付近で観察しました。

図1 武庫川の観察場所



表1 写真に見られたカラーリングされた個体のカラーリングされた年度、場所、個体数

年	S	B	K3	K4	K7	M1	M2	Y1	総計
91~92			1						1
92~93			2						2
93~94			1	1					2
95~96			4						4
00~01			2		4	5	8	1	20
01~02			1		5	2			8
02~03							8		8
03~04					1	7			8
04~05			1		4				5
05~06			1		12	10			23
06~07						1			1
07~08					1		3		4
08~09						4			4
09~10			4						4
10~11	2	1				2			5
11~12	1								1
12~13	3								3
13~14	1								1
15~16	1					2			3
総計	8	5	13	1	27	41	11	1	107

表の一番上に表示されているアルファベットはカラーリングされた場所を示す。Bは琵琶湖草津市、K3・K4・K7は京都の鴨川、M1は武庫川・M2は昆陽池、Y1は奈良の大和川、Sは関東の隅田川です。

総計107羽の確認個体のうち、武庫川地点の総計は41羽です。半数以上の個体が、武庫川以外の場所でカラーリングされていることがわかります。

京都鴨川を合計すると41羽となります。このことから武庫川と同じ数が鴨川でカラーリングされたことがわかります。

東京の隅田川でカラーリングされた個体も2010~2011年以降少ないながらも来ていることがわかります。

表2 武庫川で出現回数が多かった個体

	標識番号	標識日	標識場所	出現回数
1	YMS	06' 01 / 06	M1武庫川	51
2	YLC	04' 01 / 05	M1武庫川	38
3	YCP	00' 12 / 23	M1武庫川	32
4	YNB	07' 02 / 02	M1武庫川	31
5	YEF	01' 01 / 22	M2昆陽池	28
5	YFY	01' 02 / 20	K7鴨川	28
7	YEB	01' 01 / 22	M2昆陽池	25
7	YEM	01' 01 / 22	M2昆陽池	25
7	YLF	04' 01 / 05	M1武庫川	25
7	YMP	06' 01 / 06	M1武庫川	25
7	YSH	05' 01 / 27	K7鴨川	25

出現回数が多かった個体のほとんどは武庫川や近隣の昆陽池でカラーリングされた個体だとわかります。しかし少ないながらも鴨川でカラーリングされた個体に来て、何度も確認されていることがわかります。

写真3 武庫川で最も確認された個体「YMS」
2015年2月16日撮影



2006年1月6日にM1にてカラーリング2013年～2015年の間に51回撮影された。

表3 確認された最も長生きな個体のTOP5

	標識番号	標識日	標識場所	撮影日	年数
1位	3A00606	92 3/7	K3鴨川	15 12/26	23年
2位	MA00631	94 1/12	K3鴨川	15 11/19	21年
3位	MA00674	94 2/23	K4鴨川	15 2/20	21年
4位	MA00677	96 1/16	K3鴨川	15 2/10	19年
5位	YBB	96 2/1	K3鴨川	15 1/27	19年

長生きしている個体のすべてが鴨川でカラーリングされていることがわかります。カラーリングがはずれている個体も右足についている金属足環の番号が撮影されていて、その番号からいつどこで標識されたかがわかりました。

写真4 東京都隅田川でカラーリングされた個体「B8E」2015年10月27日撮影



東京都隅田川でカラーリングされた個体には青い足輪が付いています。

表4 関東でカラーリングされた個体の武庫川で撮影された日

標識番号	標識日	標識場所	撮影日
BN4	12 12/03	S隅田川	13 02/08
BT3	12 11/20	S隅田川	13 01/10
BX4	12 12/10	S隅田川	13 02/05
BL4	12 12/03	S隅田川	13 03/05
BB0	13 10/31	S隅田川	14 02/03
B8E	15 02/01	S隅田川	15 10/17
BB1	11 01/17	S隅田川	14 02/03
BF6	13 01/11	S隅田川	14 03/01

隅田川では澤祐介さんが標識しています。

隅田川でカラーリングされた日と武庫川で撮影された日を比べた結果、ロシアから日本に帰ってきている途中の個体が隅田川でカラーリングされた可能性が出てきました。

標識番号BN4・BT3・BX4・BL4・BB0のカラーリングされた年と撮影された年を見ると、前の年の11月～12月に隅田川でカラーリングされ、次の年の1月～3月に武庫川で撮影されています。武庫川では1月はユリカモメの個体数が最大となる月なのでここで越冬している可能性があります。

3. この研究でわかった事

TKさんの写真を分析してわかった事の中で、驚いた事は、ユリカモメが23年以上も生きるという事です。元々鳥は生きても10年くらいだろうなと思っていました。しかしその倍以上生きているとは思わなかったので、驚きました。

ユリカモメの越冬場所が武庫川近辺の可能性が強いことがわかりました。

4. 今後の課題

今後の課題はカラーリング装着調査をこれからもして頂きユリカモメの行動を解明することです。

関東でカラーリングされた個体が武庫川で確認されました。越冬地はさらに南にあるかもしれないので、実際に確認したいと思います。

5. 謝辞

TKさんには多数の写真ファイルを提供していただきました。須川恒先生（龍谷大学深草学舎非常勤講師）には助言と過去の標識情報の提供を頂き、澤祐介さん（鳥類標識員）には隅田川の標識情報を提供していただきました。

6. 参考文献

大阪自然史博物館ホームページより和田の鳥小屋「カラーリングを付けたユリカモメ観察記録1998年度～2006年度」

「ひと目でわかる野鳥」成美堂

近畿地方のシマドジョウ種群の分布と系統

関西学院高等部 理科部
3年 田中康就 大西義之 1年 原井里奈

1. 動機及び目的

シマドジョウ種群は、体に丸い斑紋が並ぶドジョウの仲間であり、河川の砂底に生息している。シマドジョウ種群は日本に4種分布しており、近畿地方には4倍体のオオシマドジョウと2倍体のニシシマドジョウの2種が分布する (Fig. 1)。オオシマドジョウはニシシマドジョウが倍数化して誕生した種といわれており、2種の見た目は酷似し形態からの正確な同定は困難である¹⁾。この2種の分布は基本的に重複しないが^{2,3)}、その境界付近の分布の詳細は不明である。また、日本産シマドジョウ種群の系統地理学的研究として Kitagawa ら⁴⁾ が挙げられるが、近畿地方における詳細な集団構造は明らかでない。これらの知見は、シマドジョウ種群の分布域形成と進化の歴史解明に重要である。

そこで本研究では、近畿地方におけるオオシマドジョウとニシシマドジョウの分布の境界を探り、遺伝的集団構造を明らかにすることを目的とした。



Fig. 1 a オオシマドジョウ b ニシシマドジョウ

2. 方法

2.1. 標本

琵琶湖淀川水系、近畿地方の日本海流入河川を中心にタモ網を用いて採集し、26地点98個体の標本を得た (Table 1)。

2.2. 倍数性判定

26地点68個体からギムザ染色液で血液塗抹標本を作成して、顕微鏡下にて赤血球の写真を撮影し、計測ソフト!0_0! Excel 「長さ・面積測定」を用いて、1個体につき20個の赤血球の長径を計測した。赤血球長径の平均値を算出し、Sezaki and Kobayasi⁵⁾を参考に、14 μ m以上を4倍体 (オオシマドジョウ)、13 μ m未満を2倍体 (ニシシマド

ジョウ)、13 μ m以上14 μ m未満の個体を中間型とした。

2.3. 系統解析

24地点、各地点1個体の鱗からDNAを抽出し、ミトコンドリアDNAのシトクロム*b*領域をPCRにより増幅して、部分配列 (725bp) を決定した。得られた配列データとKitagawa ら⁴⁾のデータから、系統解析ソフトMEGA7を用い、近隣結合法によって系統樹を作成した。

3. 結果

Table 1 サンプルの採集河川と倍数性。河川番号はFig. 2に対応。

河川番号	採集河川	倍数性
1	岸田川	2倍体
2	矢田川	2倍体
3	円山川	2倍体 (※)
4	川上谷川	2倍体
5	佐濃谷川	2倍体
6	福田川	4倍体
7	竹野川	4倍体
8	宇川	4倍体
9	野田川	4倍体
10	大手川	4倍体, 中間型
11	伊佐津川水系池内川	4倍体
12	佐分利川	4倍体
13	三方湖水系別所川	4倍体
14	三方湖水系ハス川	4倍体
15	由良川水系宮川	4倍体
16	加古川	4倍体 (※)
17	武庫川水系羽束川	4倍体
18	洲本川水系猪鼻川	4倍体
19	鴨川支流高野川	4倍体
20	大戸川支流天神川	中間型
21	瀬田川水系信楽川	4倍体
22	瀬田川水系大石川	4倍体
23	宇治川水系田原川	4倍体
24	木津川支流和東川	2倍体, 中間型
25	琵琶湖水系安曇川	2倍体
26	琵琶湖水系野洲川	2倍体 (※)
27	瀬田川水系大戸川	2倍体
28	木津川支流曾爾川	2倍体
29	雲出川	2倍体
30	宮川水系横輪川	2倍体 (※)
31	土岐川	2倍体 (※)

※Kitagawa ら⁴⁾からの引用データ

3.1. 分布パターン (Table 1, Fig. 2)

近畿地方日本海側では、佐濃谷川以西にニシシマドジョウが、福田川以東にオオシマドジョウが分布した。太平洋側の2種の分布境界は琵琶湖淀川水系であり、以西にオオシマドジョウ、以東にニシシマドジョウが分布した。琵琶湖淀川水系には両種が分布し、大戸川・木津川の上流と琵琶湖流入河川にニシシマドジョウが、それ以外の地点にはオオシマドジョウが分布した。

日本海側・太平洋側ともに一部の地点から中間型が出現した。

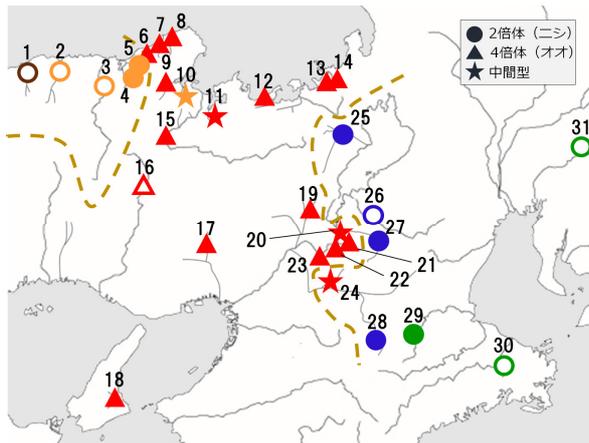


Fig. 2 近畿地方におけるシマドジョウ種群の分布。記号の色はミトコンドリア DNA グループ (Fig. 3 参照), 白抜きの記号は Kitagawa ら⁴⁾からの引用データ, 点線はオオシマドジョウとニシシマドジョウの分布境界を示す。

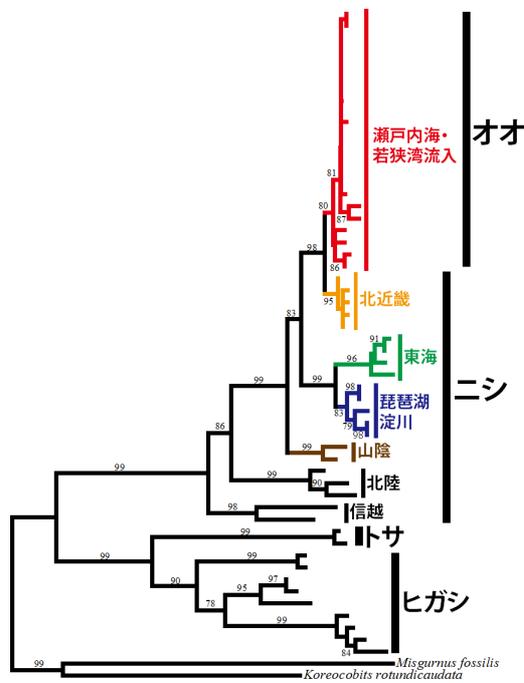


Fig. 3 ミトコンドリア DNA シトクロム *b* 領域部分配列 (725bp) に基づく系統樹 (近隣結合法)。枝の数値はブートストラップ値 (繰り返し 1000 回, 値が 70 以上のみ) を示す。「トサ」はトサシマドジョウ, 「ヒガシ」はヒガシシマドジョウを指す。

3.2. 遺伝的集団構造 (Fig. 2, 3)

オオシマドジョウとニシシマドジョウは, ミトコンドリア DNA から 7 系統 (瀬戸内・若狭湾流入河川, 北近畿, 東海, 琵琶湖淀川, 山陰, 北陸, 信越の各地域グループ) に分けられた。このうち, 瀬戸内・若狭湾流入河川グループは基本的にオオシマドジョウで構成され, ニシシマドジョウはその他 6 地域グループに分化していた。ただし, 木

津川支流和東川から得られた瀬戸内海・若狭湾流入河川グループのニシシマドジョウのように, 倍数性と遺伝子型が一致しない個体も出現した。

4. 考察

オオシマドジョウが属する瀬戸内海・若狭湾流入河川グループとニシシマドジョウの北近畿グループは姉妹群となり (Fig. 3), これらは共通の祖先から分化したことが示唆される。また, 琵琶湖淀川水系においてニシシマドジョウは支流上流部に, オオシマドジョウは下流部に分布していた (Fig. 2)。これは, ニシシマドジョウが分布していた淀川水系にオオシマドジョウが侵入, 分布を拡大したことを示唆している。これらのことから, オオシマドジョウが瀬戸内地域で誕生し, ニシシマドジョウを駆逐しながら分布域を拡大しているという Kimizuka and Kobayasi³⁾, 北川⁶⁾の説がより強く支持された。

オオシマドジョウとニシシマドジョウの中間的な赤血球長径を示した中間型の分布は, 2 種の分布境界付近に集中し, 倍数性と遺伝子型の一致しない個体も現れた (Fig. 2)。これは分布境界付近での両種の交雑に伴う, 3 倍体の発生やミトコンドリア DNA の浸透の可能性を示唆している。

今後, これらを検証するために, 核 DNA の解析, 染色体の観察を行いたい。

5. 参考文献

- 1) 中島淳・洲澤譲・清水孝昭・斉藤憲治 (2012) 日本産シマドジョウ属魚類の標準和名の提唱。魚類学雑誌, 59:86-95
- 2) 上野紘一・岩井修一・小島吉雄 (1980) シマドジョウ属に見られた染色体多型と倍数性, ならびにそれらの染色体型の地理的分布。日本水産学会誌, 46:9-19
- 3) Kimizuka Y and Kobayasi H (1983) Geographic Distributions of Karyological Races of *Cobitis biwae* (Cobitidae). Jpn. J. Ichthyol., 30:308-310
- 4) Kitagawa T, Watanabe M, Kitagawa E, Yoshioka M, Kashiwagi M and Ozaki T (2003) Phylogeography and the maternal origin of the tetraploid form of the Japanese spined loach, *Cobitis biwae*, revealed by mitochondrial DNA analysis. Ichthyol. Res., 50:318-325
- 5) Sezaki K and Kobayashi H (1978) Comparison of Erythrocytic Size between Diploid and Tetraploid in Spinous Loach, *Cobitis biwae*. Scientific Fisheries, 44:851-854
- 6) 北川忠生 (2009) 温帯性淡水魚の成立: シマドジョウ類を中心として。渡辺勝敏・高橋洋 (編), 「淡水魚類地理の自然史」, pp87-103, 北海道大学出版会

篠山地域いきものラボラトリーの取り組み

兵庫県立篠山鳳鳴高等学校 生物部
2年 河南里那, 大岩遥, 島廻臯央, 讃岐菜々子
1年 本田凌大

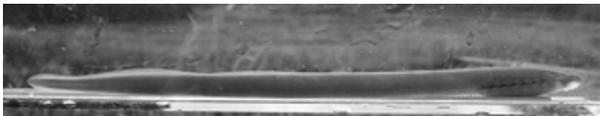
1. 動機及び目的

私達の地元である篠山市は、県内でも自然が豊かな地域であるが、開発や外来種の侵入などによって生物相は大きく変化している。そこで篠山市の自然環境の基礎調査と保全を目的として、平成26年、行政・大学・市内各高等学校生物部・自然科学部などで調査チーム（地域いきものラボラトリー）を結成し、地域環境を守る活動を継続している。この組織で私たち高校生が活動する目的は次の3点である。

- ① 生物調査を通して地元の自然をよく知ること。
 - ② 専門家や地域住民と交流し知見を広めること。
 - ③ 専門家と地域住民を繋ぐ存在となること。
- そして以下の活動を展開してきた。
- ① 篠山市内の河川で、捕獲調査および環境DNAを用いた調査によって生息する生物を確認。
 - ② 捕獲調査において市民の方々とともに河川の生物を観察。
 - ③ 篠山城南堀での外来種駆除活動に参加。
 - ④ 環境保全・生物多様性に関するワークショップ・学習会に参加。また活動成果を篠山生物多様性フォーラムなどで発表。

本稿では、これらの活動のうち、①の活動について、アカザ・スナヤツメ・ドジョウ・メダカ・オヤニラミの5種の生息調査の結果について述べる。これら5種のプロフィールは次の通りで、自然環境の目安となる環境指標生物として、調査対象に設定した。

・スナヤツメ



水の澄んだ流れの緩やかな浅い清流の砂地に生息してデトリタスを食する。環境省レッドリストでは「絶滅危惧II類」。

・アカザ



水温の低い河川の上流域下部～中流域の清澄な瀬の浮き石の下、岩の隙間などに生息し、水生昆虫を捕食。環境省レッドリストでは「絶滅危惧II類」 - 絶滅の危険が増大している種。

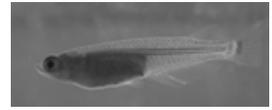
・ドジョウ

流れの緩い用水路や水田などに生息し、ユスリカの幼虫などを捕食。環境省レッドリストでは「情報不足」。



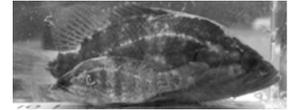
・メダカ

流れの緩い用水路や水田などに生息し、プランクトンやボウフラを捕食。環境省レッドリストでは「絶滅危惧II類」。



・オヤニラミ

流れの緩い用水路や支流に生息し昆虫やエビを捕食。環境省レッドリストでは「絶滅危惧IB類」 - 近い将来絶滅の危険が高いもの。



2. 方法

①捕獲調査

市内6カ所（武庫川I・真南条川I・田松川I・宮田川I・篠山川I・II）で捕獲調査を行い、捕獲した生物の種類や個体数を記録した。なお本稿では詳細な捕獲調査地点は、生息地保護の観点から表示しない。

②環境DNAによる調査

捕獲による調査は天候などや実施する人の技量によって結果が異なり、また効率が悪いので、より効率的と思われる環境DNAを用いた調査を取り入れた。この方法は対象生物から糞や粘液に含まれる形で水中に放出されたDNAを、リアルタイムPCR法で検出するものである。平成26年12月と平成27年4月にそれぞれ市内30調査地点（図1の地図○）で試料となる河川の水を採取し、分析は神戸大学大学院人間発達環境学研究所 源利文先生に依頼した。



図1 環境DNA採水調査地点

3. 結果

①捕獲調査

・スナヤツメ: 篠山川I IIの2カ所で捕獲。生息環境は右図のような淵の堆積した



砂の中。

・アカザ: 宮田川 I・篠山川 I の 2カ所で捕獲。生息環境は右図のような瀬の石の下。



・ドジョウ: 真南条川 I・田松川 I・宮田川 I・篠山川 II の 4カ所で捕獲。そのほかにも各地の用水路などで普通に生息している。

・メダカ: 真南条川 I・田松川 I の 2カ所で捕獲。その他、限定された地区の用水路でも生息を確認。

・オヤニラミ: 篠山川 II の本流および支流で捕獲。

②環境 DNA による調査

30カ所の調査地点のうち、右表 1の地点でそれぞれの種の環境 DNA が検出された。ただしオヤニラミの環境 DNA 調査は未実施で、今後実施する予定である。

表1.各調査地点の環境DNA調査結果(陽性反応が出た地点)

採水地点	スナヤツメ	アカザ	ドジョウ	メダカ
東条川01			●	
武庫川01	●	●		
武庫川02	●	●		
武庫川03	●	●		●
田松川01			●	●
田松川02				●
宮田川01		●		
黒岡川01			●	
篠山川03		●		
篠山川06			●	
羽束川01		●		

(●は平成26年12月・平成27年4月いずれかの調査でその生物のDNAが検出されたことを示す。)

4. 考察

捕獲調査で捕獲できた地点と、近傍の環境 DNA 採水地点を並べて示すと、下表 2 のようになる。(DNA 採水地点と捕獲調査の地点は同一ではない。最も近い地点を示す。)

表2.各調査地点における環境DNAと捕獲による生息の確認

調査地点		スナヤツメ		アカザ		ドジョウ		メダカ		オヤニラミ	
DNA採水地	捕獲調査地	DNA	捕獲	DNA	捕獲	DNA	捕獲	DNA	捕獲	DNA	捕獲
武庫川03	武庫川 I	●		●						●	
真南条川01	真南条川 I							★			★
田松川01	田松川 I					●	★	●	★		
宮田川01	宮田川 I			●	★		★				
篠山川03	篠山川 I		★	●	★						
篠山川06	篠山川 II		★			●	★				★

●は平成26年12月・平成27年4月の2回の環境DNA調査のいずれかでDNA検出、★は捕獲を示す。DNA採水地点で捕獲調査を行ってはおらず、両者は最も近い地点を並べて示している。オヤニラミの環境DNAの調査は未実施。

捕獲調査と環境 DNA による調査は一致するのが理想であるが、実際には一致しない調査地点が多数ある。その理由として捕獲調査で捕獲できない場合、個体密度が少ない、その生態が捕獲しにくい特性である、調査者の技量不足などが考えられる。たとえばスナヤツメは砂の中に生息しているため、捕獲は網を砂の中に入れて砂ごとすくい上げなければならない、経験がないと捕獲は困難である。

また、環境 DNA が検出されない場合、その理由として、個体密度が極端に少ない、環境 DNA をあまり出さないような生態である、河川の水質・水量、水温の影響などが考えられる。たとえばため池で環境 DNA を用いた先行研究では、個体数が少

ないと検出されない場合があることが報告されている。我々が取り組んでいるのは河川であり、ため池より DNA 濃度が低下すると思われるので、条件は非常に厳しくなる。このように捕獲調査・環境 DNA による調査は互いに一長一短があるので、どちらか一方の調査に頼るのではなく、その特性を熟知した上で、2つを組み合わせる用いることが、正確な生息調査のためには必要である。

5. 反省と課題

この活動を通して今回報告した5種以外の種についても捕獲調査で生息状況を確認している。そして篠山には多くの絶滅危惧種が生息していることを知り、生物多様性が豊かであることを改めて感じた。一方、これらの生息環境が危機に瀕していることも調査を通して知ることができた。たとえば河川のコンクリート三面張りでの生物の生息環境が壊滅的な打撃を受けることを調査から体感することができた。一度破壊した環境を元に戻すのは容易ではない。そこで私たちは、なるべく自然に配慮した開発、たとえば河川改修では、自然石をうまく配置して、生態系の多様性を増やすような配慮を提言したい。生物が絶滅し多様性が減少したときの影響の大きさは予想できない。地域の方々とも現状を理解してもらい、人間と生物とが共存できる社会を構築したい。

6. 参考文献

- (1)ひょうごの川・自然環境調査 <http://web.pref.hyogo.jp/ks13/kankyochosa.html>
- (2)環境 DNA 手法を用いた希少種調査方法の確立 (兵庫県立農業高等学校生物部) 共生のひろば 410号, 18-21, 2015年3月

7. 謝辞

本研究の共同実施者は次の通りです。篠山市・神戸大学(農学部・発達科学部・篠山フィールドステーション)・篠山産業高校丹南校生物部・篠山東雲高校自然科学部・篠山鳳鳴高校生物部。特に神戸大学発達科学部の清野美恵子先生には全般にわたっての直接のご指導いただき、環境 DNA の分析では神戸大学大学院人間発達環境学研究科の源利文先生にお世話になりました。また京都学園大学バイオ環境学部の丹羽英之先生、篠山東雲高校の田井彰人先生には捕獲方法ならびに種の同定でのご指導いただきました。また本事業は、中谷財団平成26年度科学教育振興プログラム助成を受けました。以上の諸機関の方々よりご指導ご支援を賜り、厚く御礼申し上げます。

プラナリアの行動と感覚などに関する研究

県立小野高等学校 生物部
2年 森本拓朗

1. 動機および目的

学校の近くにある池に外来種のアメリカナミウズムシが生息していることを発見した。この種が在来種のナミウズムシとどこが違うか調べてみたいと思った。また、毎日プラナリアの世話をしているうちに、プラナリアが光を嫌うこと、昼間は外から刺激を与えない限りじっとしていることが多いこと、餌であるレバー片を与えると、すぐに反応してレバー片に寄ってくることなど、いくつかの特徴的な行動があることに気がついた。これらの疑問を自分で実験計画を立てて実験し、解明したいと思い、研究に取り組んだ。

2. 仮説と実験テーマの設定

[実験① 染色体の観察と核型分析]

在来種であるナミウズムシ(HI系統)と外来種であるアメリカナミウズムシの染色体数は $2n=16$ であることが分かっている。詳細な核型の違いを調べてみたいと思い、核型分析を行った。両種ともナミウズムシ属であるので、次のような仮説を設定した。

仮説① 両種の核型には大きな違いがない。

実験① 両種の染色体数と核型を調べる。

[実験② 光に対する反応]

プラナリアには負の光走性(光を避け暗所に向かう性質)があることが知られている。昼間のプラナリアは水流や接触などの刺激を与えない限りじっとしている印象がある。また、プラナリアは分裂でふえる(自切)が、それは夜間におこることが多いとの記載が文献にある。これらのことから、プラナリアが活発に動き回るのは主に夜間ではないかと考え、仮説を立てた。

仮説② プラナリアは夜間に活発に動き回る。

実験② プラナリアが夜間に活発に動き回るかどうかを調べる。

[実験③ 化学物質の受容に関する反応性]

プラナリアは頭部にある耳葉を中心に頭部全体で化学物質を受容している。餌であるレバー片を入れると直ちに動く方向を変え、餌に向かってくる様子を見かけたことから、次のような仮説を立てた。

仮説③ プラナリアの嗅覚は非常に敏感である。

実験③ プラナリアが受容するレバー片の匂い物質について、知覚の限界濃度を調べる。

3. 方法と結果

実験①

●方法

プラナリアを切断し4日間再生させた虫体をコルヒチン処理して染色体を凝縮させたのち、キムザ染色してプレパラートを作成した。良好な染色体像が得られれば写真撮影して核型分析した。

●結果

ナミウズムシとアメリカナミウズムシ共に $2n=16$ の染色体が観察できた。また、中期染色体の核型分析をした結果、最大の染色体は、両種とも動原体がほぼ中央にある中部動原体型であった。しかし、染色体の長さは、最大、最小、平均値のいずれもアメリカナミウズムシの方が大きかった。また、ナミウズムシは正中部に動原体が存在するものが2組、他はすべて中部動原体型であったが、アメリカナミウズムシには、動原体がやや端に片寄った位置にある次中部動原体型の染色体が1組みられた。

●考察

ナミウズムシ、アメリカナミウズムシはどちらも染色体数が同じであり、また、動原体の位置に着目した染色体構成もよく似ていた。これは、両種が同じナミウズムシ属であることとよく対応している。一方、アメリカナミウズムシにのみ見られた次中部動原体型の染色体の存在は、アメリカナミウズムシの核型を特徴づけるものだと考えられる。

実験②

●②-1 方法

ナミウズムシ、有性生殖を始めたナミウズムシ、アメリカナミウズムシをそれぞれ異なるシャーレに1匹ずつ入れる。シャーレに上と左右から影ができないように強い光を当て(照度は約7900ルクス)、光がプラナリアに与える影響を調べた。シャーレは恒温器に入れた(約14°C、実測)。

●②-2 方法

5匹のナミウズムシを入れたシャーレを白色の画用紙の上に置き、光を上から当てる(照度は約550ルクス)。シャーレの下半分が黒色になるように画用紙をマジックで塗る。夜間の行動をインターバル撮影(16時~4時の12時間、同じ個体で2回撮影)し、行動を解析する。撮影した動画をもとに、10分毎に黒領域と白領域のそれぞれにいた個体数と動き回っていた個体の数を記録する。

●結果

②-1 3つのシャーレに入れていたプラナリアは翌日には3匹とも死んでいた。

②-2 黒領域にいる時間、個体数とも、白領域に比べて多かった(表1)。また、一晩中、活発に活動しているわけではなかった(図1)。

	領域	平均(匹)	活動期(匹)	休止期(匹)
1回目	白領域	1.5	1.6	1.4
	黒領域	3.5	3.4	3.6
2回目	白領域	1.7	2.2	1.6
	黒領域	3.3	2.8	3.4

表1 夜間におけるナムウズムシの行動(白黒)

	1回目	2回目
16:10	黒塗り	黒塗り
17:00	黒塗り	黒塗り
18:00	黒塗り	黒塗り
19:00	黒塗り	黒塗り
20:00	黒塗り	黒塗り
21:00	黒塗り	黒塗り
22:00	黒塗り	黒塗り
23:00	黒塗り	黒塗り
0:00	黒塗り	黒塗り
1:00	黒塗り	黒塗り
2:00	黒塗り	黒塗り
3:00	黒塗り	黒塗り

図1 夜間におけるナムウズムシの行動(活動期) 黒で塗りつぶしている時間帯が活動期(3匹以上の個体が動いている状態)、黒丸が休止期(全ての個体が止まっている状態)を示す。

●考察

②-1について 恒温器内の気温は通常の飼育環境と同じであり、低温が原因で死んだわけではない。連続照射した光の強さは、②-2の実験の白領域の光の約14倍と強い。強い光を当て続けたことが原因で死んだと推測できる。強い光を受け続けると正常な生命活動が維持できなくなり死んでしまうということかもしれない。

②-2について プラナリアには負の光走行があり、暗い所に行く傾向がある。プラナリアの目は背側にある。もし背側からの光のみを受容しているならば、下にひいた紙の色は関係がないだろうから、プラナリアはガラス面に反射して腹側からあたる光も感じられるのではないだろうか。

また、個体差があるが、プラナリアは夜間も大して動いていなかった。動きがあっても、少しの時間動いては長い間止まることを繰り返していた。しかし、2回目の実験結果をみると、体内に周期的に変動する何かに基づいて活動する可能性も否定できない。実験条件を変えてみることも必要かもしれない。

実験③

●方法 ミキサーを用いて作成した鶏レバー粉砕液を元に何段階かの希釈シリーズを調整し、それらに寒天を加えて寒天ブロックを作成する。飼育水が入ったシャーレに5匹のナムウズムシ(HI系統)を入

れ、中央に寒天ブロック(6mm立方)を1個入れ、プラナリアがどの濃度まで反応するかを15分間観察する。30秒以上寒天ブロックにとりついた場合、反応したと判断した。すべて同じ5個体を使った。また、別の濃度の寒天ブロックを投与する際は飼育水を入れ替え、濃度は薄いほうから反応を調べた。

●結果

50%と10%の寒天ブロックにはすべてのプラナリアが反応し、咽頭伸長反応も5匹すべてに確認できた。1%と0.1%の寒天ブロックにはどの個体も反応しなかった。50%では、6分経過でプラナリアが一斉に寒天ブロックに取りつき、咽頭を出した。1%の寒天ブロックでは数匹のプラナリアが寒天ブロックに近づいたが、取りつくことなく通り過ぎていき、咽頭も出さなかった(図2)。

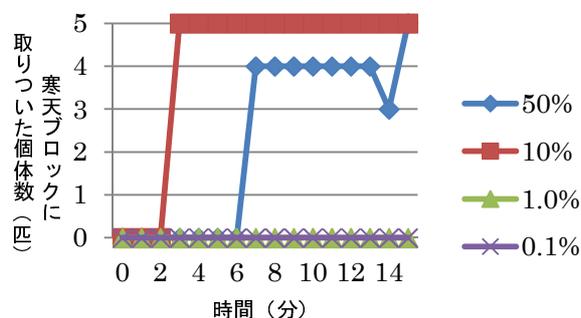


図2 各濃度の寒天ブロックに対する取りつき反応

●考察

1%には反応せず、10%には反応したことから、レバー片に含まれる物質ではプラナリアが反応できる限界の濃度は10%から1%の間にあると思われる。

実験に用いた個体は飢餓状態にしていたので、0.1%では満腹のために反応しなかったのではない。また、1%では数匹のプラナリアが寒天ブロックに近寄ったにも関わらず、取りつかなかった。近寄ったということは、何らかの物質を受容したためであり、分子の拡散が遅くてプラナリアまで分子が届いていないという可能性は低い。1%では受容はしたが餌としては認識しなかったということではないだろうか。10%の方が50%よりも短時間で取りついたのは、同じ個体で実験したため、10%のときにある程度食欲が満たされていたからではないかと考えられる。

プラナリアが寒天ブロックに取りつく場合、1匹が取りつくると他の個体も一斉に取りついた。プラナリアどうしは密集していることが多いので、互いの居場所や餌の場所の情報を共有するための化学物質を出している可能性がある。

4. 主な参考文献

- ・宮崎武史 プラナリア実験観察図鑑(2016)
- ・手代木渉ら プラナリアの形態分化(1998)
- ・森田倫雄 プラナリアのからだ(2009)

クロゴキブリの脚の褥盤の役割の解明

兵庫県立西脇高等学校 生物部

2年：越前太智・篠田睦生・畑中拓・奥田真奈

1年：橋本眞子・棚倉有紀・岩田真菜佳・寶谷舞・藤井陽菜子

1. はじめに（研究の動機と目的）

ゴキブリは一年中身近に見ることのできる昆虫である。退治しようと新聞紙を丸めて追いかけると、壁を自由に走り回って逃げてしまう。ゴキブリはどのように平滑で垂直な壁を自由に歩くことができるのか疑問に思い、脚の構造に興味をもった。

今回はクロゴキブリ (*Periplaneta fuliginosa*) を研究の対象にした。成虫になった日や体重などの個体差をなくす必要があること、研究のためにはクローンである必要があること、無害なゴキブリであること、の条件を満たすため、住化テクノサービス株式会社の昆虫チームの協力を得て、試料を40匹入手して実験をおこなった。

クロゴキブリの脚には、先端の爪の間に爪間盤（そうかんばん）とよばれる板が1枚（図1のX）と、そのあとに4枚の褥盤（じょくばん）とよばれる板（図1のI～IV）がある。先端の爪と爪間盤は、床面にひっかけて歩くためのものとして知られており¹⁾、褥盤は粘着物質で吸着能を高めて歩行に効果的にはたらいっている^{2) 3)}。

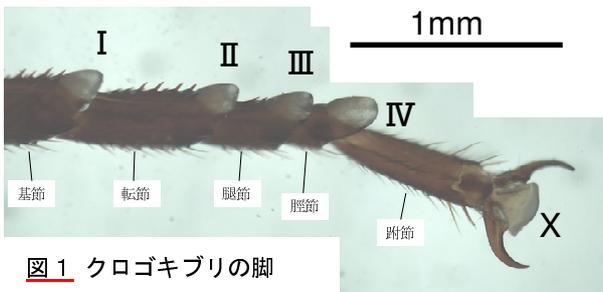


図1 クロゴキブリの脚

卵から孵化したばかりのクロゴキブリでは、4枚の褥盤や爪間盤は不明瞭であり、これらは成長とともに形成されていくことがわかる（図2）。

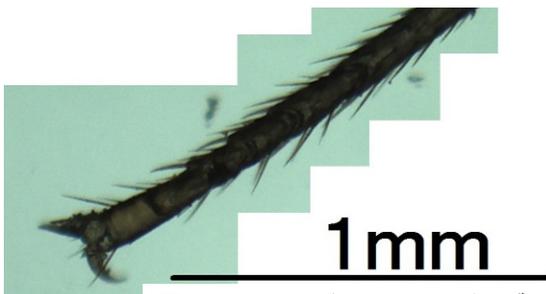


図2 孵化したばかりのクロゴキブリの脚

クロゴキブリの4枚の褥盤のそれぞれの役割を明らかにすることが、本研究の目的である。

2. 研究の方法と結果

ゴキブリの歩行には粘着力が重要であることが知られているので、まず、前脚、中脚、後脚のそれぞれ全体に微粉末を塗布して粘着力を奪い、水平方向と垂直方向に歩行させる実験をおこなった。さらに、それらの脚の褥盤1枚ずつに微粉末を塗布して粘着力を奪って歩行させ、塗布前後で歩行の速度がどのように変化するかを測定することで、それぞれの脚に4枚ずつある褥盤1枚1枚の役割を明らかにすることにした。研究方法を確立するまでに、ほぼ3か月かかった。

実験は、気温26～28℃、湿度65～70%の条件下で、クロゴキブリの活動時間帯内の18時から22時までにおこなった。クロゴキブリが動かなかったり、反対方向に走ったり逃げ出したりすることも少なくなく苦勞したため、方法を確立してから測定を終えるまでに約3か月を要した。

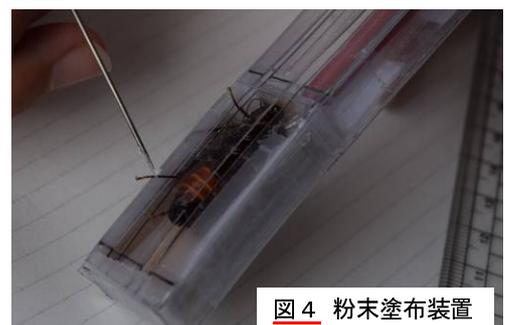
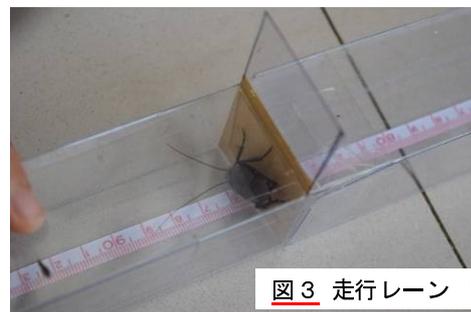
（実験1）すべての脚の4枚の褥盤が接地しているかどうかを確認した。その結果、じっとしているときには、すべての脚の4枚の褥盤が接地している。ただし、歩行の際にはすべての褥盤が接地しているわけではない。

（実験2）歩行に重要な脚を特定する

ゴキブリを走らせるレーンは、アクリル板を用いて自作した（図3）。また、特定の脚や褥盤に微粉末を塗布するための装置も自作した（図4）。ゴキブリの脚に塗布する微粉末として、生物に害を与えず、粒度が小さい（直径10μm以下）コーンスターチ（トウモロコシ澱粉）を用いた。

実験方法

① クロゴキブリを1匹ずつ水平に置いたレーン内を走らせる。そのようすをデジタルカメラで撮影し、走った距離とかかった時間から走行速



度 (cm/s) を計算によって求める。

- ② クロゴキブリの各脚の全面に小筆を用いてコーンスターチを塗布し(図4)、測定をおこなう。
- ③ 同様の測定を、垂直のレーンでおこなう。

測定は、すべて同じ1個体でそれぞれ5回ずつおこなった。実験に用いた個体は5個体である。測定結果

水平方向に置いたレーン内の走行実験では、コーンスターチをどの脚に塗布したかによる系統的な違いはみられない。一方、垂直に設置したレーン内の走行実験では、特に前脚と後脚にコーンスターチを塗布したときに、減速率が最大で33.5%となり大きく速度を下げる。

(実験3) 垂直なレーンを用いて前脚および後脚の褥盤1枚ずつの役割を確認する

実験方法

- ① 前脚にコーンスターチを塗布する前のクロゴキブリにレーンを走らせ、歩行速度を測定する。
- ② 前脚にある4枚の褥盤の1枚ずつコーンスターチを塗布して走行速度を測定する。
- ③ 後脚にある4枚の褥盤の1枚ずつコーンスターチを塗布して走行速度を測定する。

測定はすべて同じ1個体でそれぞれ5回ずつおこなった。実験に用いた個体は5個体である結果を表1にまとめた。速度の変化率(%)は、コーンスターチを塗布する褥盤が1枚少ない実験結果との差の割合を示している。粉末を塗布したことで速度の減速変化率が大きければ、その褥盤に大きい力がかかっていることを示している。

前脚の褥盤は、爪側から1枚目(脛節)と4枚目(基節)、および2枚目(腿節)と4枚目(基節)の褥盤の組み合わせでコーンスターチを塗布したときに減速率が大きくなる。後脚は、爪側(外側)から1枚目(脛節)と3枚目(転節)、および1枚目(脛節)と4枚目(基節)の褥盤の組み合わせで減速率が大きい。

3. 考察

クロゴキブリの脚は、垂直方向の移動において分担があると考えられ、前脚と後脚が重要な役割を担っている。じっとしているときにはすべての褥盤が接地しているが、歩行の際には脚を立てて褥盤を使い分けている。垂直方向の移動における前脚と後脚の褥盤の役割についておこなった実験では、主に前脚の脛節と基節、および腿節と基節、後脚の脛節と転節、および脛節と基節の褥盤の組み合わせで力がはたらいて垂直の壁面を上ることが推測される。クロゴキブリは4枚の褥盤をすべて歩行に使っているわけではない。

表1 1枚ずつ褥盤に塗布した走行実験の結果

後脚の褥盤にコーンスターチを塗布した垂直方向の走行実験結果	前脚の褥盤にコーンスターチを塗布した垂直方向の走行実験結果				
	個体C1	個体C2	個体C3	個体C4	個体C5
何枚塗布したV(cm/s)	24.9	41.3	50.7	72.0	40.6
外側から1枚目まで塗布(cm/s)	8.4	39.3	43.5	63.3	27.8
外側から2枚目まで塗布(cm/s)	0.0	-10.0	47.6	+9.4	59.3
外側から3枚目まで塗布(cm/s)	0.0	-10.0	49.8	+4.6	54.7
外側からすべての褥盤まで塗布(cm/s)	0.0	-10.0	43.3	-13.1	53.3
何枚塗布したV(cm/s)	42.0	50.0	37.4	35.5	35.6
内側から1枚目まで塗布(cm/s)	-4.0	43.1	30.7	-17.9	23.3
内側から2枚目まで塗布(cm/s)	33.5	40.1	28.6	-6.8	17.8
内側から3枚目まで塗布(cm/s)	30.1	37.8	26.3	-8.0	15.5
内側からすべての褥盤まで塗布(cm/s)	25.6	35.1	12.7	-51.7	0.0
速度の変化率(%)	-18.0	-14.8	-12.7	-51.7	-100.0
何枚塗布したV(cm/s)	38.5	50.1	27.1	42.6	48.7
外側から1枚目まで塗布(cm/s)	34.3	44.5	7.9	-70.8	23.8
外側から2枚目まで塗布(cm/s)	29.0	41.7	-6.3	-100.0	19.4
外側から3枚目まで塗布(cm/s)	30.4	30.5	-26.9	-100.0	18.7
外側からすべての褥盤まで塗布(cm/s)	14.5	26.1	-14.4	-100.0	6.2
何枚塗布したV(cm/s)	40.0	42.4	34.6	32.7	34.8
内側から1枚目まで塗布(cm/s)	34.0	32.9	-22.4	-100.0	20.2
内側から2枚目まで塗布(cm/s)	6.0	7.3	-77.8	-100.0	7.2
内側から3枚目まで塗布(cm/s)	0.0	0.0	-100.0	-100.0	0.0
内側からすべての褥盤まで塗布(cm/s)	0.0	-10.0	-100.0	-100.0	0.0
速度の変化率(%)	-10.0	-10.0	-100.0	-100.0	-100.0
何枚塗布したV(cm/s)	39.5	50.1	27.1	42.6	48.7
外側から1枚目まで塗布(cm/s)	34.3	44.5	7.9	-70.8	23.8
外側から2枚目まで塗布(cm/s)	29.0	41.7	-6.3	-100.0	19.4
外側から3枚目まで塗布(cm/s)	30.4	30.5	-26.9	-100.0	18.7
外側からすべての褥盤まで塗布(cm/s)	14.5	26.1	-14.4	-100.0	6.2
何枚塗布したV(cm/s)	40.0	42.4	34.6	32.7	34.8
内側から1枚目まで塗布(cm/s)	34.0	32.9	-22.4	-100.0	20.2
内側から2枚目まで塗布(cm/s)	6.0	7.3	-77.8	-100.0	7.2
内側から3枚目まで塗布(cm/s)	0.0	0.0	-100.0	-100.0	0.0
内側からすべての褥盤まで塗布(cm/s)	0.0	-10.0	-100.0	-100.0	0.0
速度の変化率(%)	-10.0	-10.0	-100.0	-100.0	-100.0

4. 今後の課題

現在も日々異なる個体で走行実験を繰り返し、さらにデータの精度を高めている。今後は爪間盤についても考察する必要がある。ゴキブリの仲間には褥盤が4枚でないものもある。またゴキブリと近縁関係にある昆虫でも褥盤の枚数はさまざまである。種の近縁関係と褥盤の枚数には何らかの関係があるのかもしれない。あまりはたらいていない褥盤は、予備としての機能が退化し、現在では見られなくなった種もいるのかもしれない。

引用文献

- 1) BSI 生物科学研究所 (2013) 衛生昆虫の微細構造～第1章ゴキブリ (研究冊子, 16-19)
- 2) Beutel, R. G. and Gorb, S. N. (2000) Ultrastructure of attachment specializations of hexapods (Arthropoda): evolutionary patterns inferred from a revised ordinal phylogeny (J. Zool. Syst. Evol. Research 39, 177-207)
- 3) 西村満 (1993) ゴキブリの跗節じょく盤に連結される唾液腺の役割について (衛生動物 44, 142)

カワバタモロコの調査方法に関する研究

兵庫県立農業高等学校 生物部

2年 井上実優 垣内柊人 木村聡太 酒井敦史
境田稜 下大迫卓矢 竹内勇貴 脇エリカ

1. はじめに

私たち生物部は2008年にカワバタモロコが生息しているため池で池干しによる外来種の駆除を行い、その後、標識再捕法による生息数の変化を8年間調べてきた。また、2014年より環境DNAを用いたカワバタモロコの調査を大学と共同で行ってきた。

2. 標識再捕法を用いた生息数調査

(1) 2008年～2016年の結果・考察

これまでの結果、2009年に2,619匹、2010年に940匹、2011年に4,931匹、2012年に2,505匹のように、1年ごとに増減を繰り返しながら個体数を維持していることが分かった。しかし、2013年に986匹に減少したが、2014年は増加して4,515匹、2015年には減少して2,852匹と再び増減した。このことから2016年は増加すると予想していたが、結果は1,625匹となり減少した。(図1) これまでは1年ごとに増減を繰り返して個体数を維持していると考えていたが、2013年、2016年の調査で推定生息数が減少したため、2年で数を減らして3年目に大きく数を増加させるといふ、3年周期の生態なのではないかと考察した。新たな仮説についての証明は、さらに3年の調査が必要になる。

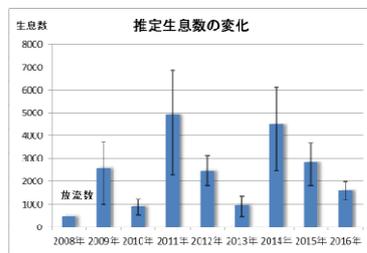


図1 推定生息数の変化

(2) BB弾での検証実験

標識再捕法の結果は本当に信頼できるのかを調べるために、BB弾を使って標識再捕法の検証実験を行った。実験方法は、BB弾の白色1,000個と黄色を2,000個用意する。白色のBB弾は標識付きのカワバタモロコ、黄色のBB弾は標識無しのカワバタモロコとした。生息数を2,000匹とし、黄色を1,900個、白色を100個かごに入れ、まんべんなく混ぜる。そこから無作為に300個取り出してその中にある白色のBB弾の数を数え、数式に代入し生息数を求めた。この実験を合計10回行い10回の平均を求めたあと、白と黄色のBB弾を100個ずつ入れ替え、同じように測定を行う。最終的には黄色、白色ともに1,000個なるまで繰り返した。

実験の結果から標識数が多くなるほど誤差が小

さくなくなることが分かった(表1)。しかし、標識数が300を超えたあたりからほとんど変化がなかった。ため池での標識再捕法では標識数が200~300匹なので、標識数を300匹にした時の実験結果をグラフにした。(図2) 3回目と6回目以外は約1,700~1,900匹となりあまり誤差が出ないこと

がわかった。そして6回目以外は推定生息数が全体の生息数より少ない値が算出されている。このことから標識再捕法は実際の生息数より少ない値が算出されやすい手法ではないかと思った。実際の生息数より少ない値が算出されている可能性があると考えられる。

標識数	結果	誤差	最大	最少
100	2240.9	240.9	3750	1428.6
200	1832.6	-167.4	2307.7	1428.6
300	1813.5	-186.5	2195.1	1428.6
400	1936.4	-63.6	2142.9	1690.1
500	1944.8	-55.2	2343.8	1744.2
600	2076.2	76.2	2278.5	1894.7
700	1940	-60	2142.8	1810.3
800	1900.8	-99.2	2181.8	1739.1
900	1993.7	-6.3	2177.4	1812.1
1000	1903.6	-96.4	1986.7	1796.4

表1 標識数による推定生息数

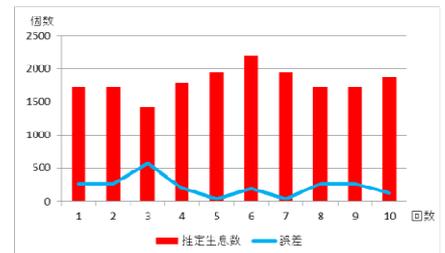


図2 標識数300の時の誤差

(3) 標識再捕法とBB弾実験の比較

BB弾を2,000個用いて標識数を300とした時の生息数と最大値、最小値を、標識再捕法による数値に換算して比較した。実際の数よりも少なく見積もられたため各年度においても標識再捕法の値より小さくなったが、最大値、最小値の範囲内に標識再捕法の値が入っているので、標識再捕法の値は信用できると言える。

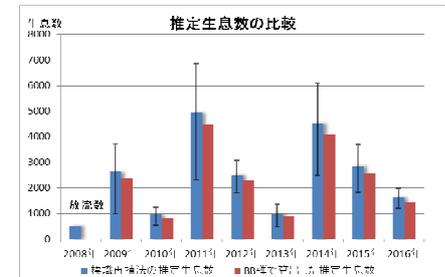


図3 推定生息数の比較

3. 環境DNA手法を用いた生息数調査

(1) 環境中のカワバタモロコDNAの検出実験

環境DNAの精度を確かめるためカワバタモロコが生息しているため池7箇所と生息していないため池4箇所の計11箇所ですべて採水を行い、環境DNAの検出率を求める実験を行った。実験の結果、カワバタモロコの生息が確認されている全てのため池でDNAが検出でき、生息が確認されていないため池では検出されなかった。

(2) 新たな生息地の発見

次にカワバタモロコの新たな生息地の発見を試みる実験を行った。83箇所のため池でDNAを検出

したところ7箇所のカワバタモロコのDNAが検出された。それらのため池でカワバタモロコを捕獲したところ、7箇所のうち6箇所で捕獲確認することができた。1箇所生息が確認できなかったため池については、2回捕獲を試みたが確認はできなかった。原因としては生息数が非常に少なかったのではないかと考えられる。

(3) 個体数と環境によるDNA量の違いを調べる

カワバタモロコの生息数を求めるために、個体数や環境によってDNA量にどのような違いが生じるかを調べるために丸型容器、ビオトープ、噴水池で実験を行った。

①丸型容器(水量78L)

実験前にカワバタモロコの各個体重量を測定し、個体数を1匹、10匹、50匹、0匹とし、水道水を入れた丸型容器で一週間飼育した。1週間後採水を行い、これを3週間にわたって3回行った。

②ビオトープ(水量2,000L)

1匹放流し、それぞれ1週間後に2箇所採水、ろ過を行った。その後、9匹を追加して10匹、40匹を追加して50匹として、それぞれ1週間後に採水を行った。

③噴水池(水量31,400L)

噴水池の中央にかごを設置し、重量を測定したカワバタモロコをかごの中に入れ1週間後に噴水池の中央から1m、3m、5mの3点、3方向の計9箇所から採水を行い、その後ビオトープの実験と同様に個体数を追加して実験を行った。

④結果

生体重とDNA量の相関より丸型容器では回帰式、 $y=0.003x$ 、ビオトープでは回帰式 $y=0.0006x$ 、噴水池では $y=0.0003x$ と検出限界水量 963,352L/匹を得ることができた。その後、ため池の水と水道水を用いて分解実験を行った結果、自然環境に近いビオトープの結果が最も信頼できるデータであると考

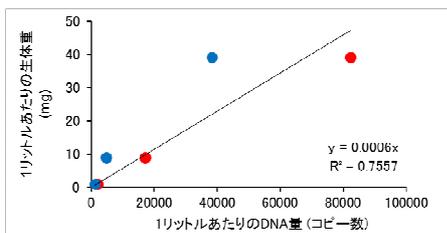


図4 ビオトープ実験の相関図

表2 推定生息数の比較

2015						2016					
採水場所	池の水1LあたりのDNA量	池の水1Lあたりの推定生体重(mg)	池全体の推定生体重(mg)	池全体の推定生息数(匹)	推定生息数の平均	採水場所	池の水1LあたりのDNA量	池の水1Lあたりの推定生体重(mg)	池全体の推定生体重(mg)	池全体の推定生息数(匹)	推定生息数の平均
ため池A	①	297	0.178	312.027	294	855	①	20	0.012	21.401	21
	②	266	0.160	279.679	264		②	57	0.034	60.316	58
	③	2,499	1.500	2,629.190	2,480		③	95	0.057	100.005	96
	④	385	0.231	405.441	382		④	14	0.009	14.936	14
標識再捕法による推定生息数					2,852	標識再捕法による推定生息数					1,625
標識再捕法との誤差(2,852-855)					1,997	標識再捕法との誤差(1,625-47)					1,578
2015						2016					
ため池B	①	36.830	22	497.199	469	824	①	47.517	29	641.483	605
	②	66.920	40	903.426	852		②	20.950	13	282.825	267
	③	90.330	54	1,219.458	1,150		③	12.764	8	172.312	163
	標識再捕法による推定生息数						1,258	標識再捕法による推定生息数			
標識再捕法との誤差(2,852-824)					434	標識再捕法との誤差(3,000-345)					2,655

(4) 推定生息数の比較 (2015, 2016)

大きなため池Aと小さなため池Bの2箇所で比較した(表2)。

①A池(水量1750,000L)での推定生息数

A池の4箇所採水した水から検出したDNA量をビオトープの回帰式 $y=0.0006x$ にあてはめた。昨年2015年の結果は4箇所の推定生息数の平均が855匹で標識再捕法による推定生息数は2,852匹となり、誤差が1,997匹となった。2016年の結果は4箇所の推定生息数の平均が47匹で標識再捕法による推定生息数が1,625匹となり、誤差が1,578匹となった。

②B池(水量22,500L)での推定生息数

B池で採水した水から検出したDNA量をA池と同様、ビオトープの回帰式にあてはめた。2015年の結果は3箇所の推定生息数の平均が824匹で標識再捕法による推定生息数は1,258匹となり、誤差が434匹となった。こちらのため池はDNA量が多く、標識再捕法の結果と近い結果となった。2016年の結果は3箇所の推定生息数の平均が345匹で標識再捕法による推定生息数は3,000匹となり、誤差が2,655匹となった。

(5) 環境DNA手法のまとめ

2015年は大きなため池では誤差が大きく、小さなため池では誤差が小さいことから、小さな池の方が正確に生息数を求められると考察したが、今年の結果は昨年と逆になり、池の大きさは関係がないという考察になった。このことから現時点では環境DNA手法はカワバタモロコの生息確認には有効だが、生息密度を調査する手法としては難しいと言える。

4. まとめ

今回の実験では標識再捕法の精度を検証し、あらためて標識再捕法が信頼できることが分かった。また標識再捕法と環境DNA手法を比べて推定生息数を算出してみたが、環境DNA手法は数値がばらつき誤差が大きいため、今後もさらに実験方法を検討するべきだと思った。

5. 参考文献

兵庫県立農業高等学校生物部(2016)環境DNA手法を用いた希少種調査方法の確立第2報, 共生の広場, 11号, 179-183

2つの小河川に住む生物相の違いとその要因に関する研究

-水生生物を減少させる最大の要因は
取水関による止水域の増加である-

兵庫県立香寺高等学校 自然科学部

3年黒田有梨 2年藤原紅葉 松本篤哉

1. はじめに

過去の先輩方の調査で香寺高校の近くに流れる恒屋川の底生生物は非常に少ないことが指摘されていた。しかし昨年、2005年に出版の香寺町史を紐解いて、かつて恒屋川は自然豊かな川であったとする記述を見つけた。なぜ恒屋川の生物は減少したのか。底生動物が多い須加院川と比較研究することで環境悪化の要因を突き止めることが出来れば、河川の自然環境を改善する方策を提言できると考え調査を行った。

2. 調査地点

調査を行った須加院川と恒屋川は兵庫県南西部を流れる市川の支流で、南流して市川下流部に合流している(図1)。

両河川にそれぞれ5カ所の調査定点を設けて研究を行った(図2)。



図1 両河川の位置

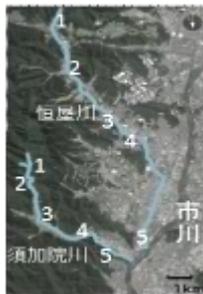


図2 調査地点

3. 仮説

先行研究を学習して、河川の生物にとって水温の上昇は非常にダメージが大きいことと、それを防ぐために日陰を作る川岸の植生の存在が重要であることを知った。そして、地元の人への聞き取り調査において、かつて恒屋川の両岸は竹林であったことを突き止めた。以上の予備知識に基づいて以下の仮説を立てた。

- (1) 恒屋川は、須加院川に比べて河川の勾配が緩く、かつ水の流量が少ない。
- (2) (1)から、夏季に川の水温が上昇し、溶存酸素が減少する。

この要因が恒屋川の水生生物を減少させた。

4. 調査方法と結果

河川勾配図の作成 表1、表2のデータに基づいて河川勾配図を作成した(図3、図4)。データおよび勾配図から恒屋川の勾配が須加院川よりも緩いことが判明した。この結果は仮説を支持するものとなった。

表1 須加院川の河川勾配

須加院川	上流域	中流域	下流域
調査地点	①~②	②~③	③~⑤
標高(m)	129.9/92.8	92.8/62.7	62.7/42.1
高低差(m)	37.1	30.1	20.6
直線距離(m)	1043	1607	1987
河川勾配(度)	2.037	1.073	0.594

表2 恒屋川の河川勾配

恒屋川	上流域	中流域	下流域
調査地点	①~②	②~④	④~⑤
標高(m)	147.1/89.2	89.2/60	60/38.8
高低差(m)	57.9	29.2	21.2
直線距離(m)	2268	2769	3362
河川勾配(度)	1.4624	0.6041	0.3613

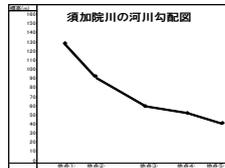


図3 須加院川の勾配

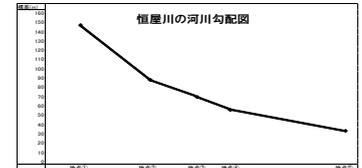


図4 恒屋川の勾配

水流量の比較 両河川に設定した5つの調査地点の取水関において、コンクリート貼り河床が平坦な部分を利用して水流量を測定した。測定箇所にはメジャーを張り渡して、一定区間ごとに流速と水深を測定し、各区間の断面積に流速を乗じて測定区間を流れる水流量を求めた。水流量の測定中に、降雨などによる水位の大きい変化はなかった。

図5から、中流域から下流域にかけては、須加院川の水量が恒屋川よりも2~3倍多いことがわかる。恒屋川の河川勾配が緩いこととあわせて、恒屋川では夏季水温が須加院川よりも高くなる可能性があることが分かった。自然の状態では、河川の水量は下流側に移行する過程で次第に増加するだろう。しかし、須加院川では調査地点3で急激に増加した後再び減少し、恒屋川では調査地点5で大きく減少している。両河川ともに、水利による不自然な減水と増水があることがわかる。

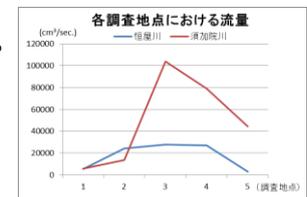


図5 両河川の流量

水温の比較 図6に示すように最高最低温度計を孔をあけたプラスチック容器に入れて各調査地点の河床礫の間隙に埋設し、2016年の1月か



図6 温度計と収容ケースから1カ月ごとに取り上げて各月の最高最低水温を記録した。1月の最高水温を図7に、最低水温を図8に示す。8月の最高水温を図9に、最低水温を図10に示す。1月の最高気温は両河川に大きな違いはないが、最低水温は3地点で恒屋川が低かった。8月は最高最低水温ともに3地点で恒屋川が高かった。恒屋川は須加院川と比較して冬季には低温で夏季には高温になる流域が多いという結果である。この結果は、恒屋川の水が、寒暖の差が大きい気温の影響を強く受けているためと考えられ、仮説を裏付けるものとなった。水量の少ない両河川の水系には、多くの農業用ため池があり、それらからの水の流入など人為的な攪乱による水

温の変動もあると考えている。

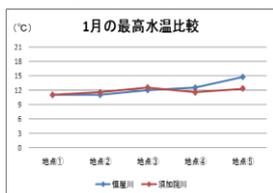


図7 1月の最高水温

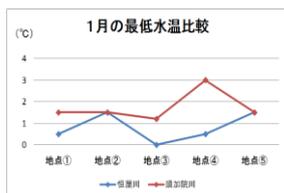


図8 1月の最低水温

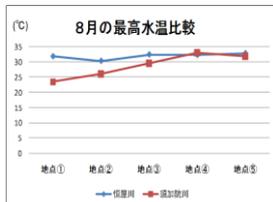


図9 8月の最高水温

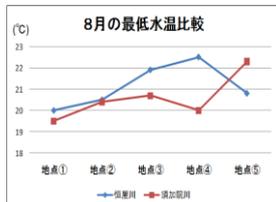


図10 8月の最低水温

溶存酸素の比較 2016年8月23日に各調査地点において水中の溶存酸素と水温を測定した。図11と図12を比較すると、この日の両河川の水温、溶存酸素ともに大きい違いがなかった。調査地点2と4においては、水温は変わらないけれど、溶存酸素は恒屋川が多い。この結果は私たちの立てた仮説を否定するものであった。



図11 両河川の溶存酸素

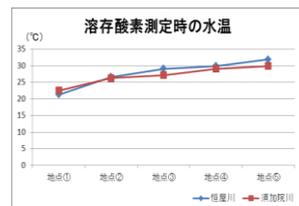


図12 両河川の水温

化学的酸素要求量 (COD) の比較

2016年3月5日に各調査地点においてパックテストを用いてCODを測定した。地点No3とNo5では、恒屋川の値が高いが、No1とNo2では低く、この結果から有機汚濁が恒屋川の生物相に影響しているとは考えられない。また、須加院川のNo1とNo2は清冽な水が流れているにもかかわらずCODが高いことに疑問が残った。

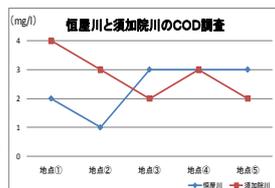


図13 両河川のCOD

電気伝導度 (CD) の比較 2016年2月23日に

各調査地点において電気伝導度を測定した。地点No2 No3 No4で恒屋川の値が高かった。図11に示したCODの測定結果から、これらの地点で恒屋川の電気伝導度が高かったことが有機汚濁に起因するとは考えられない。

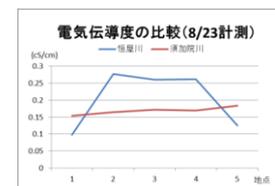


図12 両河川のCD

水素イオン濃度 (pH) の比較 2016年3月5日か8月2日にかけて、月ごとに1回、各調査地点で水素イオン濃度を測定した。5月27日測

定以降は全ての調査地点において6.8~7.2の範囲内で、中性に近い状態だった。一方、春季には3月5日と3月31日の測定では両河川の複数の地点で7.4または7.4以上を記録した。その地点の周囲に水田があることから、塩基性となった原因は、水田に入れた石灰の流入にあると考えている。須加院川も塩基性になっていることから、これが恒屋川の生物を減少させた要因とは考えにくい。

5. 新しい発見と仮説

2016年4月30日、恒屋川の調査地点No2において平瀬であった調査地点が濁流のたまるプールになっていた(図13)(図14)。この時、田植えの時期に井関に板がはめ込まれ、止水のプールが出現する事に気づいた。そして新たな3つ目の仮説をたてた。

(3) 須加院川に比べて恒屋川では、取水関の湛水によって止水域となる範囲が広いため、流水に住む水生生物が減少した。



図13 12月の恒屋川No2



図14 4月の恒屋川No2

6. 調査方法と結果

取水関による止水域の比較 2016年7月9日から8月5日にかけて、須加院川と恒屋川の全域を視察し、両河川の止水域を地図上に赤線で記した。

恒屋川では水域の半分近くが止水域で、連続している区間が長く、須加院川では止水域が短く分断されていることがわかった(図15)。さらに、恒屋川は濁りが強く止水域の河床には泥が堆積しているが、須加院川の止水域は泥の堆積が少なく礫が目詰まりを起こしていないことがわかった(図16)(図17)。



図15 両河川の止水域



図16 恒屋川の河床



図17 須加院川の河床

7. まとめ

以上の調査結果から、過度の利水による止水域の増加と水田から入った泥の堆積が恒屋川の水生生物を減少させたと判断する。

流れ・翔んで・食われる？ アサザの種子散布 種子の翼の機能を探る

兵庫立大学附属高等学校 自然科学部生物班
2年 岡田遼太郎, 山田愛子, 奥藤珠希, 久野透子
木谷亮太 1年 市原農太郎, 山本楓, 前田笙

1. 目的

絶滅危惧種アサザの種子は、長さ4.5mm、幅3.5mmの扁平な卵形をしており、周辺は、長さ1mm、幅0.1mmの毛が、鳥の翼のように並んでいる。この形はアサザが効果的に種子散布する機能があると考えた。



図1 アサザの種子

そこで次の仮説をたて

て、実験により種子の翼の働きを検証した。

- 仮説1 翼により浮力を高める
- 仮説2 カモなどの水鳥に付着する
- 仮説3 陸に漂着した種子が、再び水中に流されないようにする。
- 仮説4 虫に擬態し、捕食されやすくする。

2. 方法

実験1 翼により浮力は高まるのか

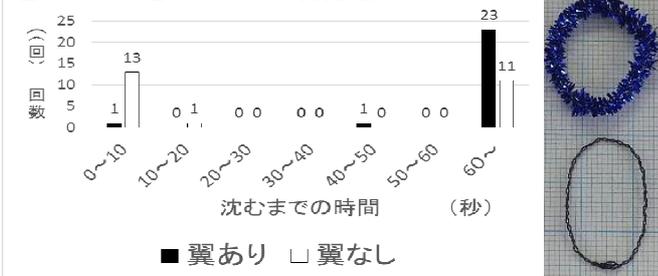
- 1-a ラッピングモールで種子のモデルを作り、水槽で浮かべ、振動を与えて浮力を比較した。
- 1-b 紙皿の周辺に切れ込みをいれることで種子モデルをつくり、浮力を比較した。翼の数で、浮力にどのような差が生じるか確認した。

- 実験2 タオル、フェルト、カモの羽根をつかい、翼の有無による付着力を比較した。
- 実験3 樋にフェルトを貼り、置いた種子が水で流されるか比較した。
- 実験4 アサザの種子で魚が釣れるか試みた。

3. 結果

実験1-a モールのモデル実験では、翼があると、あきらかに沈みにくかった。

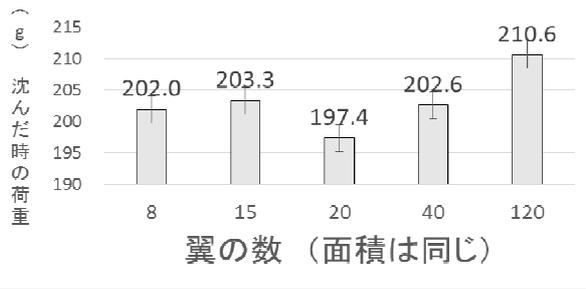
図1 モールの種子モデルの浮力実験結果



実験1-b 紙皿モデル実験では、結果をF検定で分散を調べたのち、t検定を行ったが、有意差はなかった。

(例) 最も結果の差が大きかった翼の数20と120の場合のt検定の結果は $P=0.45>0.05$

図2 紙皿で翼の数を調べて浮力を測定



考察1 翼により浮力は高まるのか

モールのモデル実験では翼の存在が浮力を高めっていると判断できる。しかし、紙皿のモデル実験では有意差は認めることができなかった。これは皿に切れ込みをいれるときに、精密な加工ができなかったことも原因のひとつと考えられる。また、荷重実験により、少しずつ形が歪むのも正確なデータを得ることができない原因と思われる。

実験2 種子の翼は、付着能力を高めるか。

実験2-a タオル(絹・麻・綿)やフェルトを種子に押し付け、翼の有無による付着力を調べた。結果2-a

図4 種子の付着率(タオル)

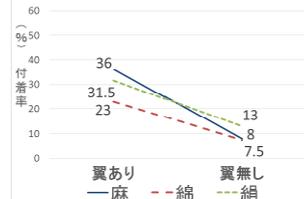
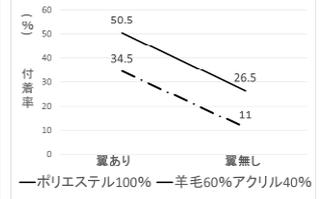


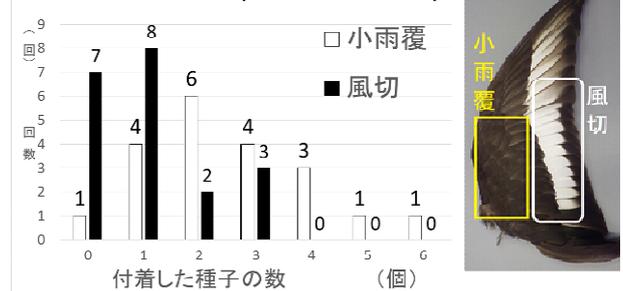
図5 種子の付着率(フェルト)



翼を取り除いた種子は、材質に関わらず付着力が半減した。

実験2-b カモ(キンクロハジロ)の翼をつかって、20個のアサザ種子を机に並べて、カモの翼を上から押さえつけて、翼(小雨覆・風切)に付着した種子の数を数えた。実験回数は各20回実施した。結果2-b

図6 付着種子の数(キンクロハジロの翼)

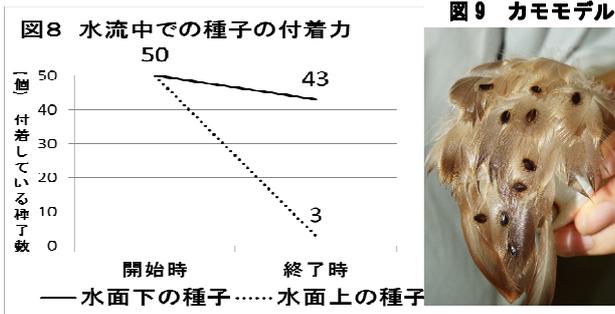


付着率は小雨覆 12.8%、風切 5.3%であった。羽毛の部位によって付着率が異なることがわかった。風切は羽が緻密で付着しにくかった。

実験2-c 流水中でも、羽毛に種子が付着できるか、家庭用の流し素麺機をもちいて実験した。

発砲スチロール球に、カルガモの体の羽毛を移植して、水面上に5個、水面下に5個種子を付着させたのち、10周(約30秒)流水を移動させた。測定は10回行った。

結果 2-c



水中では付着していた50個の種子のうち30秒後には3個しか残っておらず、95%が脱落した。

実験 2-d

アイガモの羽毛に種子を3個付着させて、1分間泳がせたのち、付着している種子の数を調べた。雌雄2羽を各5回実験した。



結果 2-d

計30個の種子のうち28個が1分以内に脱落した。残った種子2個は雌で実験したものであった。

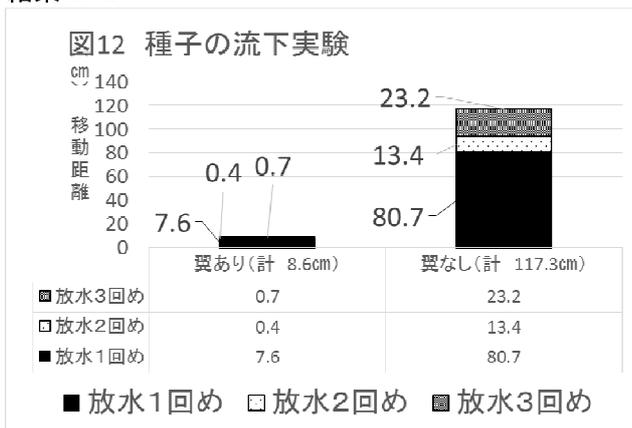
考察 2

繊維の構造によって付着率は異なるが、種子に翼があると無い場合より付着率は高まった。しかし、カモが水浴びや羽づくろいをする時ほとんどの種子は脱落した。このことから、現実的に種子がカモに付着し、脱落せずに移動することは困難と考えられる。

実験 3 翼は漂着種子のアンカーとなるか

実験 3-a フェルトを張った樋に、種子を3個置いて水を100mlずつ3回流し、翼の有無による移動距離について調べた。これを各7回繰り返し、各回の移動距離を測定した。

結果 3-a



考察 3

アサザは陸上でなければ発芽しない。陸上に漂着した種子の翼が、再び水中に流されないように効果的にアンカーとなり種子を陸上に止めていることがわかった。

実験 4 虫の擬態で、他の動物に食べられることで、移動する。

実験 4-a

種子をエサに魚が釣れるかどうか確認した。延べ竿4本を使い80分間釣りをした。

結果 4-a ブルーギル26匹(翼あり9匹、翼なし17匹) ブラックバス1匹(翼あり1匹のみ)が80分間でつれた。エサを投入後4秒~6分でつれた。

考察 4 翼のない種子でも十分に釣れた。しかし、種子を魚が飲み込み、発芽力のある種子を排泄するかは不明である。

アイガモの糞を観察すると、コメなど穀物も消化している。種皮の柔らかなアサザも消化されると考えられる。糞による種子散布も困難と考えた。

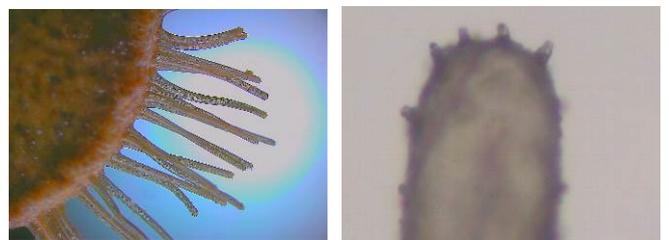
4. まとめ

アサザの種子は浮遊して移動するだけでなく、鳥に付着して運ばれると考えられてきた。しかし実験の結果、アサザの種子が、水辺で鳥の羽毛に付着することは困難である。「ひつつきむし」タイプの種子や果実には、付着するための「鉤」や「かえし」が存在する。しかし顕微鏡による観察でも、アサザの種子には、翼先端に微小な突起は存在するが、羽毛に付着するための「鉤」や「かえし」のような構造は確認できなかった。

種子の翼状の突起は、鳥に付着できないが、陸に漂着した種子が水に流されないしくみとしては極めて有効であることが分かった。

アサザの種子の翼のもっとも大切な機能は、陸上でしか発芽できない種子を流されることなく陸に止めることである。

図13 翼(左)と先端部分の突起(右)



先端の突起は、浮力を高めることなど考えられたが、実験はできていない。今後の課題としたい。

5. 参考文献

- 1) 鷲谷いずみ. タネはどこからきたか?. 山と溪谷社(2002)
- 2) 田中法生. 水草を科学する. ベレ出版(2012)
- 3) 北川尚史・伊藤ふくお・丸山健一郎. フィールド版ひつつきむしの図鑑. トンポ出版(2009)
- 4) 小林正明. 種子散布を科学する花からたねへ. 全国農村教育協会(2007)

イボニシの雌雄に関する研究

神戸市立六甲アイランド高校 自然科学研究部
2年 福田昂輝, 森口由伸, 西住虎ノ介

1. 動機及び目的

海洋生物の生態について興味を持ち、イボニシ *Thais clavigera* (巻貝) の実態を調べることにした。本研究では、学校周辺の海域で採集したイボニシのメスがオスの生殖器を持つのかを調べた。

先行研究

貝類を付着させないようにする船底塗料に混ぜるトリブチルスズ (TBT) など有機スズ化合物が、沿岸にいる巻貝のメスをオス化させることが1990年代に報告された。TBTはテストステロン (男性ホルモン) からエストラジオール (雌の生殖器の発育に関係するホルモンの一種) をつくる反応を進める酵素 (アロマターゼ) にとりついて、その働きを邪魔する。そのため、エストラジオールができにくくなり、テストステロンの働きが目立つ。

TBTは1990年に製造・輸入・使用が国内で規制された。それ以降、海水や貝類のTBT濃度は減少した。2003年には、有機スズは全世界で使用禁止になった (AFS条約)。その後のイボニシの変化についてはあまり報告がない。そこで、イボニシのメスがオス化する現象が現在もあるのかを調べた。

※AFS条約は、海洋環境及び人の健康を保護するため、船体に貝などの海洋生物が付着するのを防止するために用いられるTBTなどの有機スズ化合物を含む船底防汚塗料の使用を規制することを目的に、2001年10月に国際海事機関 (IMO: 国連の専門機関) において採択された。

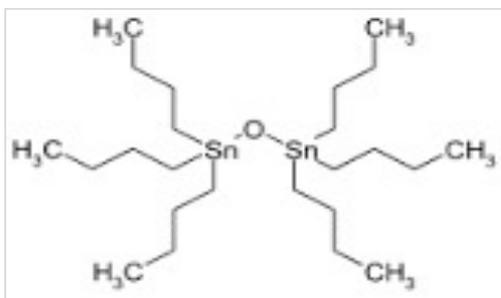


図1 トリブチルスズ (TBB) の一種、酸化TBT

イボニシとは、日本各地に生息する殻の高さ約3cmのホッキガイ科の生物である。6~8月頃に交尾し、集団で産卵する。肉食性で、カキやフジツボなど、他の貝の殻に穴をあけて肉を食べるため、体内に貝殻をとかず強い酸性の液を出す管を持っている。

2. 方法

- 1) イボニシの採取：神戸市東灘区向洋町マリパークの岸壁・淡路市大磯海岸に行き、岩についているイボニシをヘラなどで採取した。
- 2) イボニシの解剖：ペンチや金槌を使って貝殻を割った。
- 3) 観察：殻の高さ、殻の幅を測った。解剖顕微鏡を使って、イボニシの生殖器の様子を観察した。
- 4) データの集計：イボニシを雄と雌に分けた。



図2 六甲アイランド



図3 イボニシ



図4 淡路市大磯海岸での採取

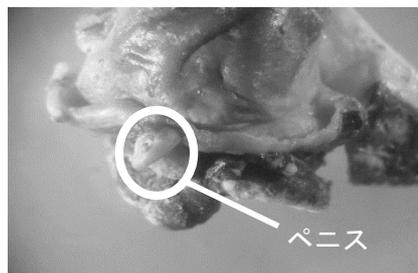


図5 イボニシのオス

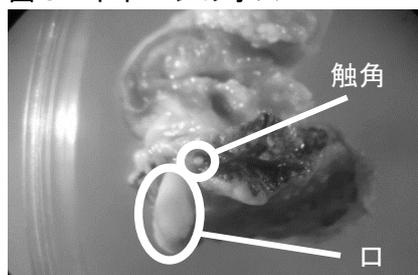


図6 イボニシのメス

3. 結果と考察

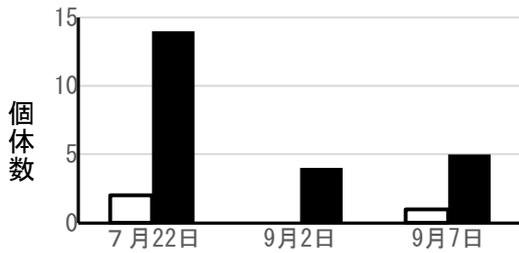


図7 観察した雄と雌の数 (六甲アイランド)

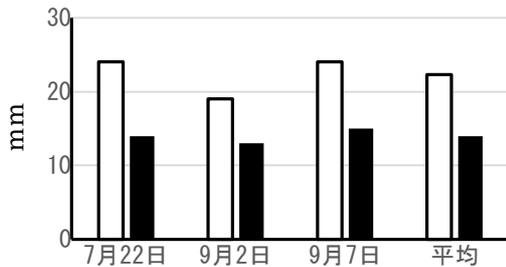


図8 イボニシの殻の高さ、殻の幅 (六甲アイランド)

観察日	高さ(mm)	幅(mm)
7月22日	24	14
9月2日	19	13
9月7日	24	15
平均値	22	14

オス化したメスの発症率

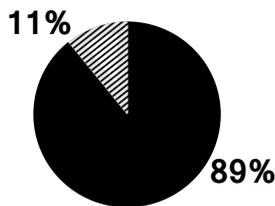


図9 イボニシのメスのオス化の発症率 (六甲アイランドのメス 23 匹中の割合)



図10 オス化したメス オレンジ色の卵を持つが、ペニスもはえている。

六甲アイランドのイボニシは、26 個体中オスは 3 匹 (12%) メスは 23 匹 (88%) であり、性比が極端に異なっていた。メスの鑑別は、卵巣は精巣と比べてオレンジ色をしているため、明るいオレンジ色の個体はメスと判断した。(図 7)

7 月下旬からの 1 ヶ月間では、イボニシの殻の高さ、殻の幅は大きくは変化しなかった。(図 8)

卵巣を持ってはいるが、オスの生殖器に似た構造をもつオス化したメスは、メスのうちの 11% 見つかった。(図 9・10)

今回の観察では、オス化したメスの発症率は低くなっていた。六甲アイランド周辺の海域では有機スズ化合物の濃度が低下し、メスがオス化してしまう変化が減少しているためと考えられる。(図 9・10)

次にイボニシを採取し解剖した結果、図 7 のようにメスが多くオスが少なかったという結果になった。また、精巣を持つがペニスの生えていないオスの奇形の個体があった。これらのことは、現在使用されている船底塗料に含まれる物質も何か影響を与えているのではないかと考えている。

現在使用されている船底塗料は海域中で分解し残留しにくい物質が使われているようだ。共通に含まれている物質はエチルベンゼン、キシレン、酸化チタンであるため、それらの影響の有無についても今後は調べていきたいと思う。

4. 反省と課題

本研究は 2016 年 7 月より開始したばかりである。データ量を増やすことと、学校周辺の複数の海域で採集を行い、現在のイボニシの雌雄の状況について明らかにしたい。

参考文献

環境ホルモン 西川洋三 日本評論社 2003 年
環境生殖学入門 堤 治 朝日出版社 2005 年

兵庫県神戸市北区藍那産カスミサンショウウオ
Hynobius nebulosus TEMMINCK et SCHLEGEL に関する研究

兵庫県立尼崎小田高等学校 科学研究部生物
 2年入江祐樹, 田中健太, 今村拓未,
 大塚輝人, 的井風花

1. はじめに

私たちは兵庫県神戸市北区の溜池で 2013 年にカスミサンショウウオ *Hynobius nebulosus* 卵のうを採集し、その孵化個体を現在飼育している。カスミサンショウウオは低地型と高地型に分かれ、低地型は水田・池沼・湿地などで産卵し、非繁殖期でも産卵場所の周囲から遠く離れず、様々な開発行為を受けやすい(中村・上野 1963, 高田・大谷 2011)。今回は飼育個体の形態観察による種の確認と、遺伝的な特性を解明するための遺伝子解析を行った。

2. 方法

2013 年 3 月 17 日兵庫県神戸市北区山田町藍那の溜池で、カスミサンショウウオと思われる 5 個体を捕獲した。尾部の先端を 3mm 切り取り、エタノールに保存し、持ち帰った。また学校に卵嚢を

1 対持ち帰り、孵化させ飼育した。飼育個体については脱皮によって脱落した皮膚片を用いて解析に使用した。

INSD よりカスミサンショウウオのミトコンドリア DNA データをダウンロードし、Primer3 によりミトコンドリア DNA のチトクロム b 後半領域に対しプライマーセットを設計し、北海道システムサイエンス社に DNA 合成を委託した。

PCR 産物は北海道システムサイエンス社に委託して上流と下流から塩基配列を解読した。解読データは MEGA6 でアラインメントし、上流と下流から解読したデータが完全に一致する部分を解析に用いた。NCBI の BLAST を用いて相同性の高いデータを検索し、MEGA6 を用いて系統樹の作成を行った。得られた塩基配列は DDBJ から国際塩基配列データベースに登録した (LC125132~LC125137)。

3. 結果と考察

カスミサンショウウオを採集した溜め池は南向きの斜面に東西につくられた林道の下ったところにあり、全長約 10m, 3 点で測定した平均水面幅 5.9.7 cm, 平均水深 15.8 cm, 午前 10 時 20 分時点で平均水温 7.6°C であった。COD は 17ppm であった。採集個体は体色が暗褐色で、すべての個体の尾の上下の縁に黄色の条線が見られた。体長は物差し

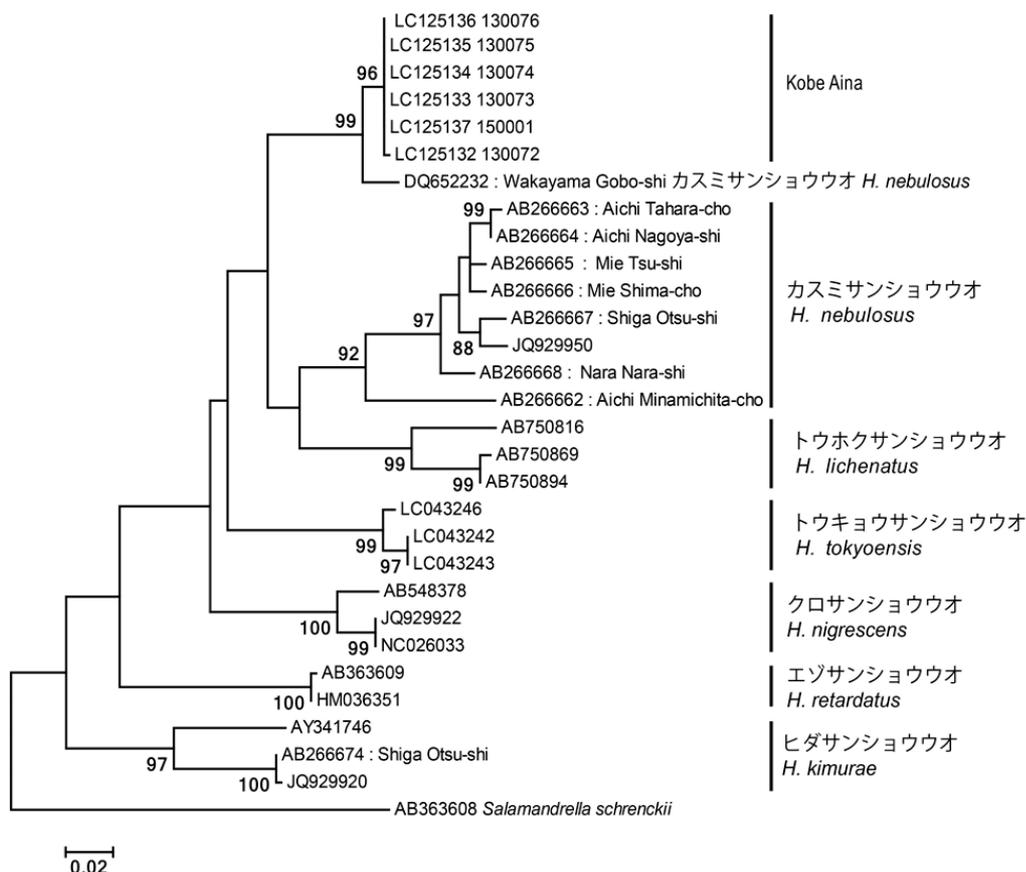


図1 チトクロム b 後半の ML 法による系統樹

キタサンショウウオ属の 1 種 *Salamandrella schrenckii* を外群として用いた。枝の値は 1000 回繰り返したブートストラップ値 (%)。85%未満のブートストラップ値は表示していない。解析した塩基長は 461bp。

を軽く当てて測定し、平均体長は 9.9 cm (標準偏差 0.742cm) 平均尾長は 4.6 cm (標準偏差 0.652 cm) であった。性別は尾の付け根の生殖器の盛り上がりで判断し、♂2 個体、♀2 個体、不明 1 個体であった。

2016 年 2 月現在、3 個体を飼育している。現在飼育している個体にも、採集個体と同様に、尾の上下の縁に黄色の条線が見られる。肋条は 13 本である。これらの特徴はカスミサンショウウオの特徴と同じである (高田・大谷 2011)。

チトクロム b 後半の解析結果をもとに分子系統樹を作製した (図 1)。日本産サンショウウオ属 6 種 (カスミサンショウウオ、トウホクサンショウウオ、クロサンショウウオ、トウキョウサンショウウオ、エゾサンショウウオ、ヒダサンショウウオ) と Kobe Aina の 7 つのグループに分れた (分岐率 92% 以上)。DQ652232 は 99% の分岐率で Kobe Aina のグループに入った。DQ652232 は和歌山県御坊市で採集された個体から解析されたデータである (LAI & LUE 2008, 図 2)。この Kobe Aina を含むグループは DQ652232 以外のカスミサンショウウオと別グループを形成した。

4. 考察

Kobe Aina は形態的にはカスミサンショウウオと推定できた。しかし遺伝子解析によるの結果、新たな知見が示された。DQ652232 を含む Kobe Aina グループ、DQ652232 を除くカスミサンショウウオ、他の日本産サンショウウオ属 6 種 (トウホクサンショウウオ、クロサンショウウオ、トウキョウサンショウウオ、エゾサンショウウオ、ヒダサンショウウオ、オオイタサンショウウオ) は分岐率 92% 以上で、それぞれグループを形成した (図 5)。松井 (2005) は、カスミサンショウウオは形態だけでなく遺伝的にも変異に富み、九州から中国西部にかけての一群と、それ以外 (分布境界は島根県内) は遺伝的分化が進んでおり、後者内部でも中国山地産の特異な体色を持つ集団がほかと区別され、複数の独立種を含むものと考えられる、と述べている。今回私たちが解析した DQ652232 を含む Kobe Aina グループは、このような、現在はカスミサンショウウオと分類されている集団内に存在する複数の独立種のひとつ (隠蔽種) である可能性が強く示された。

DQ652232 を含む Kobe Aina グループと、データベース上のその他のカスミサンショウウオのグループの、地理的分布を矛盾なく説明することができる境界線を図 2 に示した。この境界線は NISHIOKA *et al.* (1993) が日本産ツチガエルを、近畿地方中央部を境に、東西の 2 群に分けた境界線と一致する。

今後は核 DNA の解析も合わせて進める必要があると思われる。また、兵庫県下の中高校生と連

携を広げ、より広範囲な地域の調査を実施し、小型サンショウウオ類の分布および集団構造を解明したい。さらに開発などの環境の変化に弱い、貴重な、小型サンショウウオ類の保全、ひいては生物全体の多様性の保全に貢献したい。

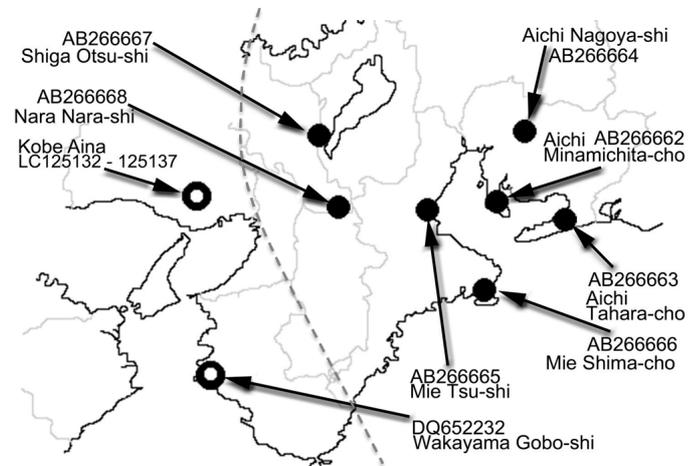


図 2 Kobe Aina の採集場所と先行研究におけるカスミサンショウウオの採集場所 ●は、チトクロム b 後半領域の塩基配列 AB266662-AB266668 が解析された個体の採集場所を示す。○は DQ652232 が解析された個体および Kobe Aina の採集場所を示す。二つのグループの分布を矛盾なく分ける境界線を破線で示した。

参考文献

LAI J. S. & K. Y. LUE. 2008. Two new Hynobius (Caudata: Hynobiidae) salamanders from Taiwan. *Herpetologica*, 64 : 63-80.

松井正文. 2005. 両生類の地理的変異. 種分化と動物地理. in 増田隆一・阿部永編. 動物地理の自然史-分布と多様性の進化学-, 63~77. 北海道大学図書刊行会, 札幌.

中村健児・上野俊一. 1963. 原色日本両生爬虫類図鑑. 保育社の原色図鑑 30. 214pp. 保育社, 大阪.

NISHIOKA M., Y. KODAMA, M. SUMIDA & M. RYUZAKI. 1993. Systematic Evolution of 40 Populations of *Rana rugosa* Distributed in Japan Elucidated by Electrophoresis. *Sci. Rep. Lab. Amphibian Biol.*, Hiroshima Univ, 12 : 83-131.

高田榮一・大谷勉. 2011. 原色爬虫類・両生類検索図鑑. 292pp. 北隆館, 東京.

中村健児・上野俊一. 1963. 原色日本両生爬虫類図鑑. 保育社の原色図鑑 30. 214pp. 保育社, 大阪.

高校生物実験におけるブライダルベールの利用

兵庫県立西宮高等学校 自然科学部
1年 谷田清楓 石井美樹 岩下歌武輝
細田ひかる 芝山高翔 平櫛歌菜

1. 背景および目的

高校生物の教科書には各単元において、様々な実験が紹介されている。本校自然科学部1年生はそれらの実験を順次行ってみた。教科書においては入手しやすい身近な植物が実験に用いられているが(表1)、それでも私たちにとっては購入のための費用や手間、校内に生育していない、実験の時期と植物の生育時期のずれなど実験材料をそろえるのに多少の不便があった。そこで、常に本校実験室で水耕栽培され、いつでも採取できるブライダルベールに注目し、それをを用いて教科書に載っている代表的な実験に使用し、利用可能かどうか検証するのが本実験の目的である。

ブライダルベール *Gibasis pellucida* はメキシコ原産ツユクサ科の多年草で園芸植物としてホームセンター等で販売されている。葉の裏側が紫色え花期は5月~10月の約半年で非常に長く、挿し木で簡単に栄養生殖できる。

		分野	東京書籍
(1)	細胞の観察	基礎	タマネギ・オオカナダモ
(2)	原形質流動の観察	生物	オオカナダモ
(3)	体細胞分裂の観察	基礎	タマネギ
(4)	光合成色素の抽出	生物	ホウレンソウ
(5)	減数分裂の観察	生物	ヌムラサキツユクサ
(6)	花粉管の観察	生物	ホウセンカ・ツバキ

表1 教科書(東京書籍・第一学習社)で使用されている植物例

2. 方法

本校で用いられている教科書(第一学習社・東京書籍)で紹介されている実験のうち代表的な植物実験を選び、それらとブライダルベールとを用いて実験を行い、その結果を比較した。詳細な実験方法については各教科書に掲載されているため、ここでは簡略に示すことにした。

(1) 細胞の観察

材料：タマネギの鱗茎、ブライダルベールの葉
染色液：酢酸オルセイン

タマネギはカミソリを用いて、ブライダルベールは手でちぎり、表皮切片をスライドグラスにのせて染色し、それぞれ顕微鏡で観察した。

(2) 原形質流動の観察

材料：オオカナダモの葉、ブライダルベールの雄ずい
染色液：なし

オオカナダモの葉とブライダルベールの雄ずいの毛をとり、スライドグラスにのせ、水で封じてそれぞれ顕微鏡で観察した。

(3) 体細胞分裂の観察

材料：タマネギの根、ブライダルベールの根
試薬：45%酢酸(固定)、3%塩酸(解離)
染色液：酢酸オルセイン

タマネギ種子は湿らせた脱脂綿上で発根させ、数cmに成長したものを使用する。ブライダルベールは3~4枚の葉を付けた枝をビーカーに入れ水耕栽培し、数cmに成長した根を使用する。両種の根を45%酢酸で固定、3%塩酸で解離し、根端を染色後、それぞれ顕微鏡で観察した。

(4) 光合成色素の抽出(薄層クロマトグラフィー)

材料：ホウレン草の葉、ブライダルベールの葉
抽出用試薬：エタノール、ジエチルエーテル、
展開液：キシレン、石油エーテル、

石油エーテル：アセトン=7:3混合
TLCシート：TLC Silica gel60 F254(MERCK社)
2種類の葉とシリカゲルをそれぞれ乳鉢に入れ、すりつぶし、抽出用試薬を加えて抽出液をつくった。その抽出液を遠心分離し、上澄み液をガラス細管を用いてTLCシートに付け、十分乾燥させた後展開液に浸けた。

今回は展開液、抽出液を3種類ずつ用意し、どの組み合わせが光合成色素の分離にもっとも適合するのか試行した。

(5) 減数分裂の観察

材料：ブライダルベールの花のつぼみ
染色液：酢酸オルセイン

花のつぼみを採取し、中から葯をとりだし染色液をかけて顕微鏡で観察した。教科書ではヌムラサキツユクサが用いられていたが、実験を行った8月後半~9月にはすでにつぼみがなく、実験できなかった。

(6) 花粉管の観察

材料：ブライダルベールの花
培地：寒天+スクロース

スライドグラス上に寒天培地をのせ、その上に花粉を付着させ、カバーガラスをかけて顕微鏡で観察を行った。教科書ではホウセンカ・ツバキ・ユリ類が用いられていたが、いずれも実験時期と花期がずれていた、身近に生育していなかったため、実験できなかった。

3. 結果および考察

(1) 細胞の観察

タマネギでは核、細胞壁が観察できた。ブライ

ダールでは核・細胞壁のほか、孔辺細胞内の葉緑体、液胞内にある色素アントシアニンを観察できた。また、気孔（孔辺細胞）や維管束など植物組織も同時に観察できた（表2）。

	細胞小器官			組織	
	核	細胞壁	葉緑体	気孔	維管束
タマネギ	+	+	-	-	-
ブライダルベル	+	+	+	+	+

表2 タマネギおよびブライダルベルの細胞観察結果

(2) 原形質流動の観察

オオカナダモ、ブライダルベル共に観察できた。

(3) 体細胞分裂の観察

ブライダルベルは600倍の高倍率であっても1視野内に体細胞分裂の各段階をすべて観察することができた(図1)。染色体数は $2n=16$ でタマネギと同数で、体細胞分裂における染色体の移動が観察しやすい。また、枝を切り水に浸して4~5日で発根するため、実験準備に手間がかからず、実験材料として非常に適しているといえる。

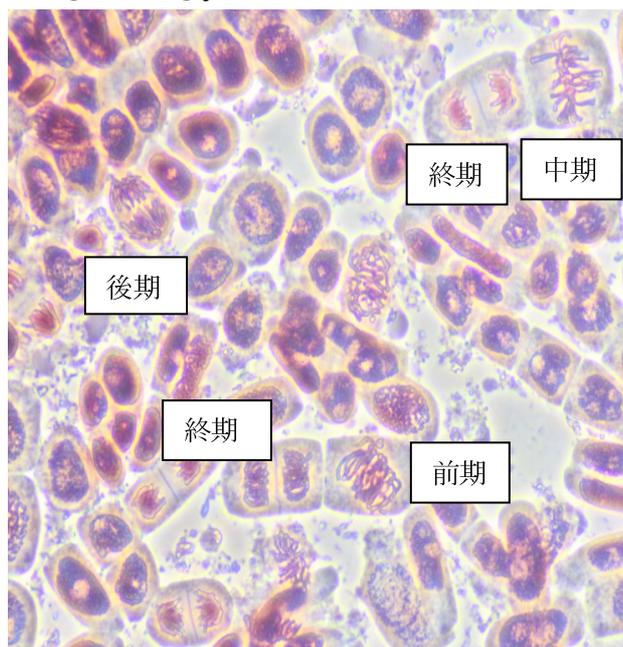


図1 ブライダルベル根端細胞の体細胞分裂

(4) 光合成色素の抽出（薄層クロマトグラフィー）

ハウレンソウと同様にジエチルエーテルで色素を抽出し、石油エーテル：アセトン=7:3の展開液を用いたときにカロテン、クロロフィルa、同b、キサントフィル類の7本の色素バンドを得た（表3）。色の違いや各色素の分離状態も良好で、難なく色素を区別できた。また、エタノールやアセトンでは光合成色素ではないアントシアニンが原点に残ることも理解できた。

材料：ブライダルベル

抽出液	展開液		
	石油エーテル	キシレン	混合 7:3
エタノール	1	1	5
アセトン	1	2	5
ジエチルエーテル	1	2	7

表3 抽出液と展開液の組み合わせによる光合成色素バンド数(混合：石油エーテル：アセトン=7:3)

(5) 減数分裂の観察

減数分裂途中の細胞を確認できた。9月になっても花芽が付き、蕾を採取できるので長年にわたって実験材料が入手できる点で、良好な実験材料であるといえる。

(6) 花粉管の観察

寒天培地に花粉をのせてから約15分でブライダルベルの花粉管が伸長していく様子を観察することができた。

4 考察および今後の課題

教科書に記載されている代表的な植物実験に使用することができた。しかも簡単に栽培できるため常に手元で管理し、必要な量だけ採取できる。また、多人数の実験にも対応できる。以上の結果からブライダルベルは非常に優れた実験材料といえる。今後はさらに水質の浄化や植物ホルモンに関する実験も行い、実験生物として利用できる可能性を探っていきたい。

5. 謝辞

光合成色素抽出実験において兵庫県立大学理学部研究員の池谷仁里氏からその方法を丁寧に指導していただいた。深く感謝申し上げます。

6. 参考文献

- 1) 浅島誠ほか, 生物・生物基礎, 東京書籍(2015)
- 2) 吉里勝利ほか, 生物・生物基礎, 第一学習社, (2016)
- 3) 岩波洋造ほか, 絵を見てできる生物実験, 講談社(2004)
- 4) 高林成年, 観葉植物, 山と溪谷社(1991)
- 5) 高野隆広, ブライダルベルを用いた植物体の観察, 北海道立教育研究所附属理科教育センター研究紀要(2011)
- 6) 御子柴佳子, 植物の減数分裂と花粉四分子の配列の観察, 長野県 H22 年度研究調査(2010)
http://www.eductr.pref.nagano.jp/kenkyu_chousa/jissen/2010/05.pdf