

令和元年6月16日現在

機関番号：15501

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2016～2018

課題番号：16K14331

研究課題名（和文）ニホンミツバチの忌避行動および反射行動を利用した環境大気の有害性評価

研究課題名（英文）Toxicity assessment of ambient air using avoidance and reflex behaviors of bee
(*Apis cerana japonica*)

研究代表者

樋口 隆哉 (HIGUCHI, Takaya)

山口大学・大学院創成科学研究科・教授

研究者番号：40300628

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,300,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では、ニホンミツバチを用いて環境大気（ガス状汚染物質）を対象とした有害性評価を行うことが可能であるかどうかについて検討した。アンモニアおよびアセトアルデヒドを曝露したときのミツバチの上昇時間を測定したところ、水の場合と比較して長くなる傾向にあることが分かった。このことから、ミツバチの上昇時間を測定することでガス状汚染物質に対する忌避性を把握し、有害性評価に結びつけることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、ニホンミツバチの生体への影響に先立つ忌避行動を観察することで、環境大気（ガス状汚染物質）の有害性評価が可能となりうることを示された。本研究の進展によって、さらに短時間での判定が可能となれば、装置の簡便化と作業の軽減、観察結果の分かりやすさにもつながる。また、身近な生物を利用することで、一般住民や子供を対象とした住民対応や環境教育にも生かすことができると考えられる。

研究成果の概要（英文）：This study investigated the possibility of toxicity assessment of ambient air including gaseous pollutants using bee (*Apis cerana japonica*). Time necessary for bee to ascend in ammonia and acetaldehyde vapor was measured and it showed the tendency to be longer compared to water. These results imply that time necessary for bee to ascend may represent avoidance level, which could be used for toxicity assessment of gaseous pollutants.

研究分野：土木環境システム

キーワード：ニホンミツバチ 忌避行動 環境大気 有害性評価

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

高度に発展した都市部においては、新規化学物質が様々な産業活動の中で使用され、また大気中に排出されている。一方、都市で生活する住民の方々からは、様々な産業活動からの新たな環境汚染を不安視する声が聞かれ、環境大気質を総合的に評価する指標の開発が望まれている。このような中で、住民の要望に応え、不安を軽減するためには科学的なデータの提供が不可欠であり、できるだけ簡便かつ住民に分かりやすい有害性評価方法の開発が必要である。そこで本研究では、環境大気に対する身近な生物の行動観察を利用することに注目した。世界的に養蜂農家で多く用いられているセイヨウミツバチは、環境指標生物として従来から研究対象とされており、セイヨウミツバチが集めた蜜や花粉が分析・評価されている。本研究では、日本の在来種であるニホンミツバチ (*Apis cerana japonica*) に注目した。スズメバチに対する防御策を持たないために日本では野生化しないセイヨウミツバチに対して、ニホンミツバチは日本の環境で長く生息してきた種であり、性格が穏やかであるために取り扱いやすいという利点を有している。

2. 研究の目的

本研究では、高い学習能力と鋭敏な化学感覚を持つニホンミツバチ (以下、単に「ミツバチ」と表記する。)を用いて、組成が複雑で低濃度である環境大気を対象とした有害性評価方法を確立することを目指した。ガス状物質は取り扱いが不便であることから、有害性評価を行う際は厳密に制御された系内で試験生物の生体観察を行うことが多い。本研究では、生体への影響に先立つ忌避行動や反射行動を利用することで短時間で判定を目指しており、それが装置の簡便化と作業の軽減、観察結果の分かりやすさにもつながる。また、身近な生物を利用することで手軽に実施することが可能となり、一般住民や子供を対象とした住民対応や環境教育にも生かすことができると考えられる。

3. 研究の方法

(1) ミツバチの捕獲

実験には、花粉や蜜を運ぶために活発に活動し、個体数も確保しやすいミツバチの働き蜂を用いた。実験時は、午前中から花粉や蜜を採取しに巣箱から飛び立つ働き蜂を狙い、小型の網を使用して捕獲した。

(2) ミツバチの上昇行動の利用

有害性評価に用いることのできる可能性のあるミツバチの性質として、本研究では上昇する習性に着目した。上昇する習性とは、ある空間の中で上部に広い空間があるときにミツバチは上昇行動を取るというものである。ミツバチがこの上昇行動を取ることによって方向づけを行うことが可能となり、その上昇行動の回避に着目することで、ガス状汚染物質の有害性を評価することができるのではないかと考えた。実験では、ミツバチが装置内において上部へと移動することを確認したうえで、移動経路の途中に局所的にガス状汚染物質を曝露させ、上昇行動の回避を観察した。具体的には、装置内にミツバチを入れ、上昇が確認されたらそのままミツバチを回収し、また同じスタート地点へミツバチを入れるという実験を1個体につき5回上昇が観察されるまで繰り返し行い、上昇に要する時間を記録した。

(3) 装置条件の検討

実験に用いる装置の各条件について検討を行った。まず、ミツバチが上昇したかどうかを判断するために必要な装置内中央部の入口の大きさを検討した。実験装置として円柱型ポリプロピレン製容器2個の底を接続し、それぞれの容器の底に入口となる穴を開けた。入口の大きさを直径20mmとした場合には、ミツバチが入口を通る際に羽が接触の様子が観察された。そこで、直径25mmの大きさで再度実験を行ったところ、接触がほとんど観察されなくなり、上昇行動が容易に行われたため、入口の大きさは直径25mmとした。さらに、入口の大きさを検討する中で、入口付近に黒色のビニールテープを巻き、上昇行動の補助とすることを目指した。黒色のビニールテープを巻くことで、明るいところへ集まる習性を利用するためである。その際に入口の周り(底部を接続した上側の容器の底)にも黒色のビニールテープを巻くことで入口を強調させようと試みたが、側面に巻いた場合と比べて上昇時間がより短くなるなどの効果が認められなかったため、下側容器の側面の上部にのみ黒色のビニールテープを巻いた。以上の検討を経て作製した実験装置を図1に示す。穴の直径は上部が25mm、下部が35mmであり、間に直径25mmの穴を空けたる紙を設置することで下部にのみ紙が5mm幅で露出するようになっている。容器は、高さ125mm、直径125mm、容量1350mLのものを用いた。ろ紙は直径55mmのガラス繊維製で、中心に直径25mmの穴を開けて実験対象物質を添加し、使用した。

(4) 実験に用いた物質

実験には、環境大気中の有害物質としてアンモニアとアセトアルデヒドの2物質を用いた。アンモニアは健康または生活環境に関わる被害が生ずるおそれがある物質であり、アセトアルデヒドは低濃度であっても長期的な摂取により健康影響が生ずるおそれがある物質である。

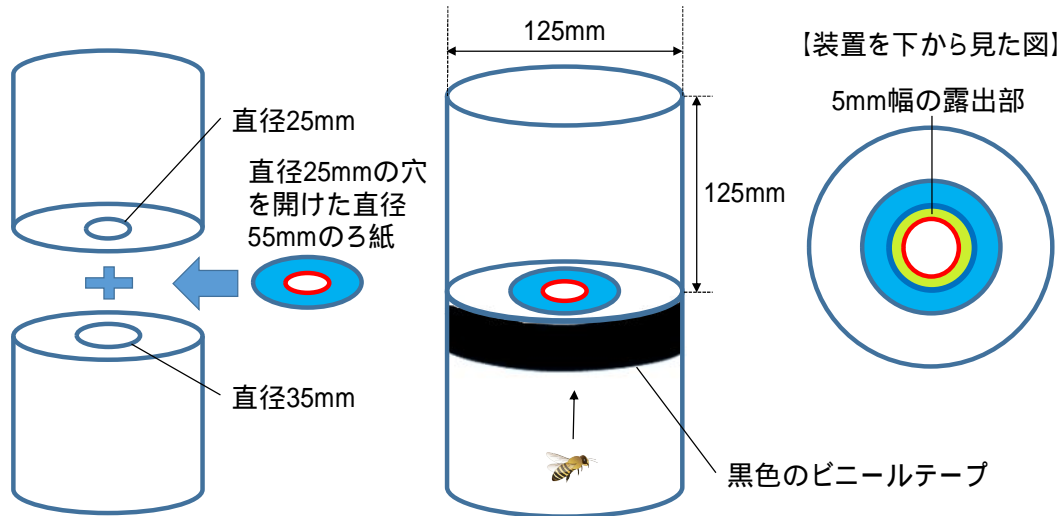


図1 実験装置

(5) 実験項目

水を用いた実験

対照として、ろ紙に水（水道水）を添加して実験を行った。実験個体数は10個体で、1個体につき5回分の上昇時間を記録した。

アンモニアを用いた実験

ろ紙に25%アンモニア水を添加し、ミツバチの上昇観察実験を行った。実験個体数は10個体で、1個体につき5回分の上昇時間を記録した。

アセトアルデヒドを用いた実験

ろ紙にアセトアルデヒドの原液または1%水溶液を添加し、ミツバチの上昇観察実験を行った。実験個体数は各8個体で、1個体につき5回分の上昇時間を記録した。

4. 研究成果

(1) 水を用いた実験

水をろ紙に添加したときのミツバチ各個体の上昇時間の平均値を図2に示す。水の場合、上昇時間の平均値は最大でも約20秒であった。本実験結果と以下の各実験の結果との間で有意な差があるかどうかをMann-WhitneyのU検定によって調べた。

(2) アンモニアを用いた実験

25%アンモニア水をろ紙に添加したときのミツバチ各個体の上昇時間の平均値を図3に示す。水と比べてアンモニアを用いた場合は、全体的に上昇時間がやや長い結果となったが、対象物質の違いによる有意差の有無を確認するためにMann-WhitneyのU検定を行った結果、5%の有意水準で有意差は認められなかった。

(3) アセトアルデヒドを用いた実験

アセトアルデヒドの原液および1%水溶液をろ紙に添加したときのミツバチ各個体の上昇時間の平均値を図4および図5に示す。図4を見ると、水やアンモニアと比べて明らかに上昇時間が長くかかっていることが分かる。これは、アセトアルデヒドの強い臭気によってミツバチの上昇が難しくなったためであると考えられる。水を用いた場合の結果と比較して、対象物質の違いによる有意差の有無を確認するために、Mann-WhitneyのU検定を行った結果、5%の有意水準で有意差が認められた。一方、図5を見ると、上昇に30秒以上を要している場合があるものの、図4と比べると上昇時間は短い結果となった。したがって、ミツバチにとっては原液と比較して上昇行動に対する影響は小さかったと考えられる。水を用いた場合の結果とアセトアルデヒドの1%水溶液を用いた場合の結果でMann-WhitneyのU検定を行った結果、5%の有意水準で有意差は認められなかった。

(4) 考察

本研究では、アンモニアおよびアセトアルデヒドを曝露したときのミツバチ上昇観察実験を行い、ミツバチの上昇回避行動を利用したガス状汚染物質の有害性評価の可能性について検討した。その結果、水の場合と比較してアンモニアおよびアセトアルデヒドを用いた場合に、ミツバチの上昇時間がより長くかかる傾向があることが分かった。しかし、有意水準5%で統計的有意差が認められたのは1条件のみであった。この点に関しては、現地（外環境）で行った実験であることやミツバチが日光を生活の中で活用していることなどから日射の違いも結果に影響したと考えられる。外環境である場合、日射量をはじめとして、風速や温度、湿度も必ずし

も一定の条件ではない。条件を揃えるためには、実験室内で明暗を適切に使い分けながら一定の照度の条件下で実験を行うことが望ましいと考えられる。さらに、有害性評価を行っていく上では、ある物質に対して一定数の濃度段階ごとのデータを採取することや、結果に影響を与える要素をなるべく減らすことが重要であると考えられる。今回着目したミツバチの上昇する習性は、単に方向づけをすることが可能なだけでなく、光の明暗と組み合わせることで、より強い方向づけができるという可能性を秘めている。ミツバチの行動を有害性評価に利用することのメリットとしては、1回の実験においてかかる時間が短いこと、コストが低いこと、ミツバチそのものの学習能力の高さや嗅覚が特に発達していることなどが挙げられる。デメリットとしては、供試個体の供給源として飼育などが必要であること、取り扱いに慣れを要することなどが挙げられるが、学習能力や誘引剤を用いた方向づけなど検討項目は様々あり、今後発展の可能性は十分にあると考えられる。

5. 主な発表論文等
〔雑誌論文〕(計0件)

〔学会発表〕(計1件)
T. Higuchi, M. Sekine, T. Imai: Comparison of sensory odour intensity scales for inexperienced assessors, 16th International Conference on Environmental Science and Technology, 2019.

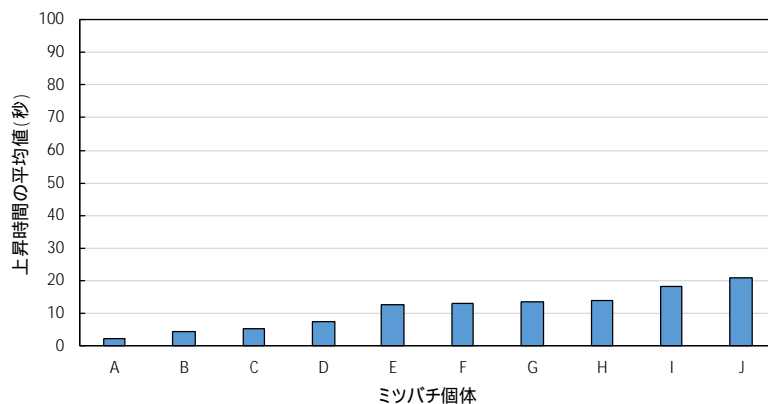


図2 ミツバチの上昇時間の平均値(水)

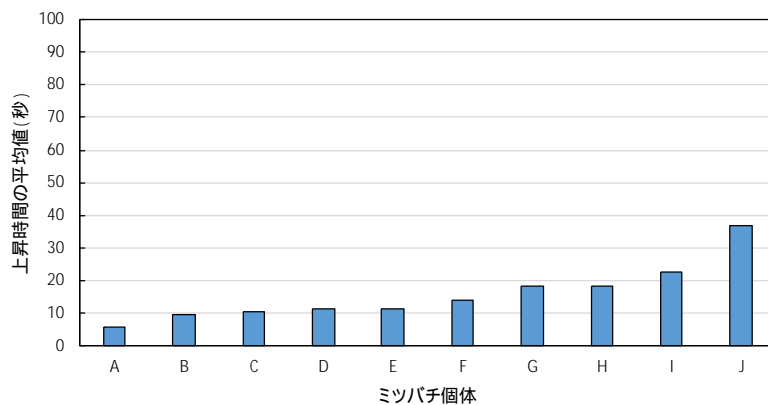


図3 ミツバチの上昇時間の平均値(アンモニア水)

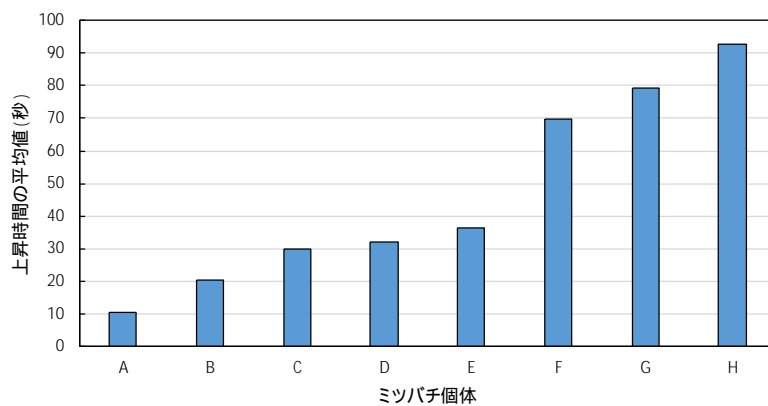


図4 ミツバチの上昇時間の平均値(アセトアルデヒド原液)

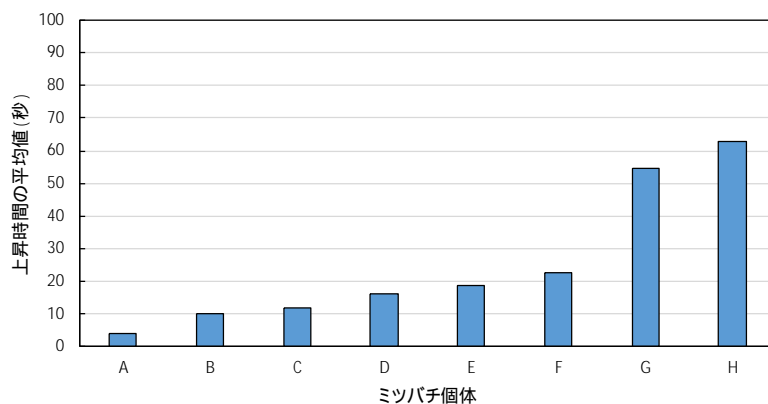


図5 ミツバチの上昇時間の平均値(アセトアルデヒド1%水溶液)

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。