

カイコガの変態後の記憶の残留について

松下 天嶺 池澤 宏樹 高橋 優太 高林 優花 古野 花実 若林 遼真
兵庫県立神戸高等学校 総合理学科 2 年

カイコガなどの完全変態を行う昆虫の中には、蛹化時に脳などの神経系の一部を残してアポトーシスするにもかかわらず、幼虫時の記憶が羽化後にも残留するものも存在する。そのため今回、私たちの実験ではカイコガなどの昆虫の完全変態と記憶の関係性についてのさらなる解明と、学習で得た記憶が、その個体のみに記憶されるものなのか、または遺伝子的に記憶されるものなのかを、生得的行動の習得を通して研究を行い調査した。

1. 序論

1.1. はじめに

カイコガなどの完全変態を行う昆虫は幼虫から成虫の間、蛹の時期に組織の再編成を含む大きな変化が起き、神経系の一部を残してアポトーシスすることが分かっている。完全変態を行う昆虫では、変態の前後で体の構造が大きく変化することから、化学物質などの外部刺激を受容する器官や受容体が大きく変化し、その刺激に対する反応の仕方も大きく変化すると予想される。キイロスズメガにおいて幼虫期に獲得した記憶が、羽化後にも残留するということが報告されている (Martha R. Weiss 2008) が、完全変態をおこなうカイコガを含む他の鱗翅目 (チョウ目) の昆虫ではその研究例がない。また、個体が学習で得た記憶が、次の世代に受け継がれるかどうか確認した研究は行われていない。そこで、我々は、産業的にも有用な鱗翅目の昆虫であるカイコガ (*Bombyx mori*) (図 1) を対象に実験を行った。

我々の研究では、キイロスズメガでの実験方法を元に酢酸エチルを受容させながら電流を与えて学習をさせる。本実験で学習として忌避性の反応を選んだ理由は、カイコガが成体と幼体で誘引される物質が異なる

ため、嗜好性の反応での条件付けが不可能であると判断したためである。この研究では記憶が羽化後の成体にも引き継がれるのかをカイコガでも再現できるか実験の条件を確認した後、カイコガの幼体時の記憶が成体にどれほどの割合で引き継がれるのか、また、学習をさせた個体同士の交雑で生まれた F 1



図 1

個体に生得的行動として引き継がれるのか実験観察した。

1.2. 実験の目的

この実験を行うことによって、キイロスズメガ以外の鱗翅目に分類される昆虫でも先行研究の実験の再現が可能だとわかり、鱗翅目の昆虫を対象とした学習実験を行う際の適正電圧・酢酸エチルの適正量の決定をすることができる。また、完全変態を行う昆虫が蛹化時に神経系の一部を残してアポトーシスする際に、学習記憶は神経系のどの部分に、どの程度の割合を残留するのかなどの事実を解明することが出来る。さらに、幼虫時の電流を用いた学習によって得た記憶が実験個体のみに記憶されるものなのか、または、生得的行動として遺伝子に記憶されるものであるか明らかにすることができる。今回の実験で上記の事実を確認することで、完全変態を行う幼虫の蛹化時のアポトーシスや、生得的行動の引き継ぎなどの仕組みの解明の足掛かりとなるだろう。私たちの実験ではカイコガという昆虫を使ったが、記憶の仕組みを解明していくことにより、ほかの生物を使った記憶や脳についての実験にも応用できる可能性もある。

1.3. カイコガの飼育方法

カイコガの卵をキッチンペーパーの上に並べ、温度を 25℃程度、湿度を 80~90%に保ち、直射日光の当たらない明るい場所に置き放置する。しばらくして、卵が孵化したら、新聞紙をひいたペットボトルに移しかえる。温度と湿度を一定にするためにビニールハウスの中に半分に切った下ペットボトルをいれ、温度は 25~26℃、湿度はできるだけ高く保つようにした。また、毎日新しいエサに交換した。蛹化時にはカイコガの成体が人工飼料や糞などで汚れることを

防ぐために繭をはさみで切り、蛹を取り出してキッチンペーパーをトレーの底に敷いて、そこで羽化まで静置して飼育を行った。羽化後、交尾やメスのフェロモンでオスが興奮することによる体力の消耗を防ぐためオスとメスを隔離した。カイコガは成体になると摂食しなくなるため、エサは不要である。その後、羽化後から数えて約1週間の間生きる。カイコガにそれぞれナンバリングを行い、生育状況を毎日当番に分けて報告した。カイコガは1サイクルにつき約25匹飼育を行った。1サイクルは約30日ごとである。死亡した個体はペットボトルから取り出し、そのペットボトルは洗浄し飼育装置内にいるカイコガに影響が出ないようにした。飼育装置は下の写真のとおりである。(図2)



図 2

2. 本論

本実験では先行研究と実験生物が異なるため、以下の予備実験を行った。

2.1. 予備実験Ⅰ 幼体と成体における酢酸エチルの受容器の存在の確認

実験方法

- ①、酢酸エチル 100 μl を含ませた脱脂綿とカイコガ(成体 or 幼体)をシャーレ内に入れる。
 - ②酢酸エチルの作用により、ニュートラルな状態なものと比べてカイコガの行動にどのような違いが出るのかを観察する。
- この実験は幼体(5令)7匹、成体3匹を用いて行った。

結果

麻酔に十分であると考えた酢酸エチル 100 μl を与え

たカイコガは麻酔がかかり、ニュートラルな状態のものと比べて動きも鈍くなった。よってカイコガの幼体と成体には酢酸エチルの受容器があることが確認された。

2.2. 予備実験Ⅱ 学習実験におけるカイコガに与える酢酸エチルの適正量の測定

過剰に麻酔の効果が現れてしまい、与えた電気刺激が正常に受容されなくなることを防ぐためこの実験を行った。

実験方法

- ①、予備実験Ⅰでの酢酸エチルの量を 10 μl ずつ減らしていき、強い麻酔がかからない量を確認する。
- この実験は飼育中で平均的な大きさの幼体(5令)5匹を用いて、麻酔の効果が残ったまま次の測定に至らないよう十分な間隔をあけて行った。

結果

幼体、成体とも 50 μl では、シャーレ内で強い麻酔がかかったため 10 μl まで減らしたところ動きが鈍った様子が確認されなくなったため、10 μl を学習実験におけるカイコガへの酢酸エチルの適正量とする。

2.3. 予備実験Ⅲ 幼体の酢酸エチルに対する嗜好性、忌避性の確認

実験方法

- ①人工飼料と酢酸エチルを入れたシャーレと人工飼料だけを入れたシャーレを用意する。
 - ②それぞれにカイコガを入れて、酢酸エチルが人工飼料への誘引にどのような影響を与えるのかを観察する。
- この実験は幼体(5令)7匹を用いて行った。

結果

幼体は酢酸エチルに影響されることなく人工飼料に誘引されたため、カイコガは酢酸エチルに対して嗜好性も忌避性もないと結論付ける。

2.4. 予備実験Ⅳ 幼体の学習における適正電圧の測定

実験方法

- ①(銅板も回路に入れた状態で)回路(図3)を組む。
- ②電源装置を 0.5A、5.0V に設定する。

③銅板で4令のカイコガを上下に挟んで、反応する電圧まで0.5Vずつ上げる。

この実験は幼体（4～5令）6匹を用いて行った。

銅板は実験で使ったビーカーの底面に合うように丸く切り取り体に均等に電流が流れるようにした。

結果

6.0Vにしたときにカイコガの幼体が反応を示したため、6.0Vをカイコガの幼体の学習における適正電圧とする。

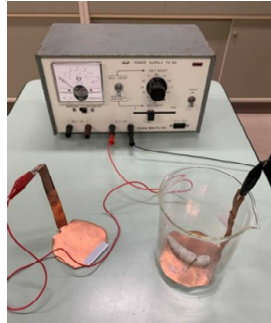


図3

以下の実験においては眼前に滴下された酢酸エチルに対して負の走性や、激しく羽ばたき頭部をそむけるなどの学習させていない通常のカイコガでは見られない行動を忌避反応とみなした。

2.5. 実験Ⅰ 4令の幼体に学習が定着するかの確認

実験方法

①4令の幼体を、酢酸エチル10 μ lを含ませた脱脂綿とともに回路内のビーカーに入れて一分間酢酸エチルを受容させた後、予備実験Ⅲで設定した電圧で、電流を与えていく。

②電流を与える時間は8秒とし、これを蛹化する前まで毎日続けていく。

③学習させた幼体と学習させていない幼体にそれぞれ酢酸エチルを眼前に滴下し、その行動を比較する。

結果

学習させた幼体のみ酢酸エチルに対して忌避反応がみられた。

2.6. 実験Ⅱ 蛹化後に幼虫時の記憶が引き継がれるかの確認

実験方法

実験Ⅰで学習の定着が確認できて、羽化した成体に実験Ⅰと同様に酢酸エチルを与えて、幼体時に学習させていない成体と比較する。

結果

幼体時に学習させた成体のみ酢酸エチルに対して忌避反応が見られた。

2.7. 実験Ⅲ P個体の学習記憶がF1個体に生得的行動として引き継がれるのかの確認

実験方法

実験Ⅱで学習の引継ぎが確認できた個体間で交雑を行い、生まれたF1に酢酸エチルを与えて、学習させていない親から生まれた個体と比較する。

3. 考察

酢酸エチルの麻酔という特性上、個体の体重によって麻酔の程度が異なるため、過剰に麻酔の効果が現れることにより学習が成立しない事態が発生する可能性がある。

そのため、個体ごとに滴下量を変更することにより事態の発生を防ぐことができ、さらには本実験ではできなかった学習の程度の正確な数値化が可能になると考えられる。

予備実験Ⅰ、Ⅱ、Ⅲの結果から酢酸エチルが本実験の学習のために必要なカイコガの幼体、成体共に受容するが嗜好性も忌避性もない物質であると推定できる。

また予備実験Ⅳでは反応する電圧に焦点を当てたため、本実験で記憶の定着はできたものの、苦痛を受けての反応と、電気刺激による筋肉の収縮を混同した可能性があるため、本来の目的である忌避性に結び付けられる苦痛となる電流の強度の特定にはなっていない。

本実験では一回の実験あたりの使用した個体数が10前後と少なかったが、条件付けを行ったすべての個体で忌避性の反応が見られたことから幼体時の生得的行動は蛹を経ても残ると考えられる。また、成体の酢酸エチルに対する反応の強さは個体ごとに多少の差があり、学習の定着度の違いと考えられる。それは幼体時の成長速度が個々に異なることに起因する実験回数の違いによるものだと考えられる。

4. 今後の展望

本実験では、飼育面などの問題により多数のカイコガを飼育することができなかったため、今後はサンプル数を増やすためにも、より簡易的に多数のカイコガを飼育できる方法を開発していきたい。また、飼育面で均一に育てることで、考察にある通り学習の定着度のみを数値化し、比較することができる。さらに、実験Ⅲの交雑をさらに続けていくことによ

り、得られる結果に違いが出る事が考えられる。
今回の実験では、カイコガへの影響を最小限にする
ためカイコガへの酢酸エチルの滴下量や電圧をできる
限り低く設定したため、それぞれの数値を上げる
ことでカイコガの学習の定着度に変化が出ることも
考えられる。また、現段階において実験Ⅲを実施で
きていないので、行うと共に、実験Ⅲのような生得
的行動についての実験結果をカイコガより高等な生
物でも応用していきたいと考えている。

5. 参考文献

Douglas J. Blackiston, Elena Silva Casey, Martha
R. Weiss 「retention of memory through
metamorphosis」
<https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0001736> 2019年6月3日ア
セス

6. 謝辞

本研究を進めるにあたり、終始熱心なご指導を頂い
た本校の総合理学科教諭、繁戸克彦先生、矢頭卓児
先生、本校 SA の方々に深く感謝の意を表します。今
回の実験で使用したカイコガは株式会社高原社の販
売サイト「カイコ買う」(<http://kaikokau.jp/>)で購
入させていただきました。