

様式8-1 (研究レポート表紙見本) : 「研究者・研究機関」部門 ジュニア研究者

河川基金助成事業 研究レポート

「ヒダサンショウウオの産卵行動の全容解明」 報告書

助成番号 : 2019 - 5411-001

私立鶯谷中学・高等学校 自然科学部

校長 : 横山 豊

2019年度

1. 研究の目的

ヒダサンショウウオは、環境省ならびに岐阜県のレッドデータブックで準絶滅危惧に指定されている小型のサンショウウオである。保護の必要性が指摘されているにも関わらず、生態や生活史に関する研究は少ない。特に産卵行動については、溪流の中で石の裏側に卵嚢を産むため、観察が極めて困難であることから詳細に調べた例はない。そこで、2017年に独自に産卵水槽を開発し、産卵行動をビデオカメラで撮影し解析をしたところ、メスは単独で産卵することはできずオスがメスの腹を足で押しながら卵嚢を引き出すことや、オスが卵嚢に巻きつき受精することが明らかとなった（福田、2019）。

サンショウウオの仲間では、オスのスニーカー行動（優位オスとメスとのペア産卵に劣位オスが侵入して放精する行動）が知られている（Tanaka、1989）。2017年の観察では、ヒダサンショウウオにおいてもペアのオス以外のオスを入れた際に、産卵直前にオス同士の争いがあることや、産卵時に1対の卵嚢を奪い合い別のオスが1本ずつ抱きかかえて受精することが観察された。一般に、オスではメスや卵をめぐるオス間の競争が起こるが、メスではオスによるメスや卵への接触等による負の影響を避けるような行動が起こることが知られている。

そこで、本研究では、これらの行動がヒダサンショウウオにも起こっているか、また、オスの行動がメスや卵に負の影響をもたらしているかを明らかにするため、以下の実験および観察を行った。さらには、野生集団にて産卵状況を観察し、ヒダサンショウウオの産卵行動の全容を解明することを目的とした。

2. 研究材料と研究方法

2.1 産卵行動の観察

石の裏に産む産卵の行動（以下、単独産卵）を観察するため、2018年の1月に岐阜県山県市大桑の集団（以下、大桑集団）にて、産卵間近なペアおよびオスの成体を採集した。その後、水槽で10日ほど飼育した後、産卵水槽に産卵直前のメスおよび成体のオス（ペアのオスを含む）を1匹：3匹、1匹：5匹で入れ、産卵させた。産卵行動は、2台の赤外線ビデオカメラで正面と側面の二方向から撮影した。映像を観察し、体表のまだら模様と尾の形で個体識別をした上で、各個体の行動の詳細を記録した。メスによる卵嚢の接着が始まるまでを「産卵直前」、卵嚢の接着からオスの受精行動（卵嚢にしがみつき強く抱きつく行動）が終わるま

でを「産卵時」、それ以降の時間を「産卵後」とした。卵囊の接着が始まる 30 分前から産卵後の 5 時間 30 分の計 6 時間の映像を観察し、産卵後は 30 分ごとに区切り解析した。1 匹：5 匹で産卵させたものは、個体識別が難しく解析が困難であったため、今回の解析では用いなかった。

2. オスの数と受精率の関係・マイクロサテライトマーカによる父性解析の試み

2.2.1 オスの数と受精率の関係

受精率を調べるため、メスとオスを 1 匹：3 匹、1 匹：5 匹にして産卵させた。卵囊を孵化する寸前まで（約 60 日間）水槽で飼育し、卵囊を切開して、幼生と卵の位置を記録し数を数えた。卵は、未受精卵または発生が進まなかったものとして扱った。

2.2.2 マイクロサテライトマーカによる父性解析の試み

どのオスがいくつの卵を受精させたかを調べるため、マイクロサテライトマーカを用いて父性解析を試みた。マイクロサテライトマーカはカスミサンショウウオの DNA を元に Yoshikawa ら (2013) が開発したものをを用いた。まず、ヒダサンショウウオで利用できるかどうかを調べるため、19 座位について、PCR 法で増幅がみられるかを調べた。次に増幅がみられた座位について DNA 断片の大きさを調べ、各個体の遺伝子型を決定し、親子間で比較した。

2.3 野外での産卵状況の観察

野外では、大桑集団において、2017 年の 2 月に石の裏側に産卵する単独産卵と砂利の中に 15 対の卵囊が 1 カ所にまとまって産卵するもの（以下、集団産卵、図 1）が観察された。その 2 年後の 2019 年 2 月には、岐阜県関市の寺尾の集団（以下寺尾集団）において、産卵直前の成体 35 匹が 1 カ所に凝集しているのを見つけた（図 2）。このような単独産卵と集団産卵が毎年みられるのか、またこの二つの産卵場所に環境の違いがみられるのかを明らかにするため、2020 年の 1 月から 4 月にかけて、計 10 回調査を行い、二つの集団の産卵状況を



図 1 集団産卵（多数の卵囊）



図 2 凝集していた成体

観察した。二つの集団は直線距離でおよそ 10 キロメートル離れており、単独産卵と集団産卵の有無やその様子を観察し、産卵場所の環境条件（気温、水温、溶存酸素量など）を計測した。

2.4 ヒダサンショウウオの生態を紹介する教材開発・市民向けイベント

産卵行動を子どもたちにわかりやすく伝えるため、手にとって触れるように柔らかい布製のぬいぐるみを作成した(図3)。卵囊の模型も作りメスの腹部に入れ込むなど工夫した。それらを用いて、市民向けイベントにてステージ発表をした。近隣に住む高校生4名で企画会議を何度も行い、地域の自然風景やいきものの写真やイラストを入れたスライドを用いた物語を作り、音声を効果的に入れて季節の移り変わりがわかるような工夫を重ねた。発表練習では、保育の専門家から話し方や目線の配り方などを指導いただいた。



図3 説明用のぬいぐるみ

3. 結果

3.1 産卵行動の観察

産卵直前、産卵時、産卵後に分け、行動が生じた回数を個体ごとにまとめたところ、オスとメスで顕著な違いがみられた。今回は特に違いがみられた産卵後の行動を中心に報告する。以下、個体識別したオス3匹を「オス1」、「オス2」、「オス3」と表記する。1匹：3匹の条件では、28分頃からオス1個体(オス2)がレンガの上に移動してしまったため、途中から実質的には1匹：2匹の条件となった。

3.1.1 産卵直前

卵囊の接着が始まるまでの30分を観察したところ、オス1が頭や尾でメスの体をつつき産卵を促す行動が16回みられた。メスは仰向けになる練習を何度もしていた。

3.1.2 産卵時

卵囊の接着から受精終了までは19分間で、メスは総排泄口をレンガに押し付け卵囊を接着させていた(5分20秒間)。オスは、その間、周囲を歩きまわり見守っていた。その後、オス1による卵囊の引き出しがみ

られた。まず、オス1が卵囊の接着部分とメスの間に割って入り、メスの体を足場にして卵囊にしがみつき体を大きく反らせて、1本ずつ引き出した(1分41秒間)。その後、オス1の受精行動(卵囊を強く抱く)がみられた。その途中、オス3が入り込み、オス1とオス3の奪い合いが生じた後、それぞれ1本の卵囊を抱きかかえ受精していた。受精行動は、オス1では12分17秒間、オス3では8分33秒間であった。産卵後、メスは14秒間失神していたが、その後、蘇生し、卵囊の周りをウロウロと歩きまわっていた。

3.1.3 産卵後

オスの受精行動後の5時間30分(330分)間を観察したところ、9種類の特徴的な行動がみられた(図4、図の行動の記号は表1のとおり)。

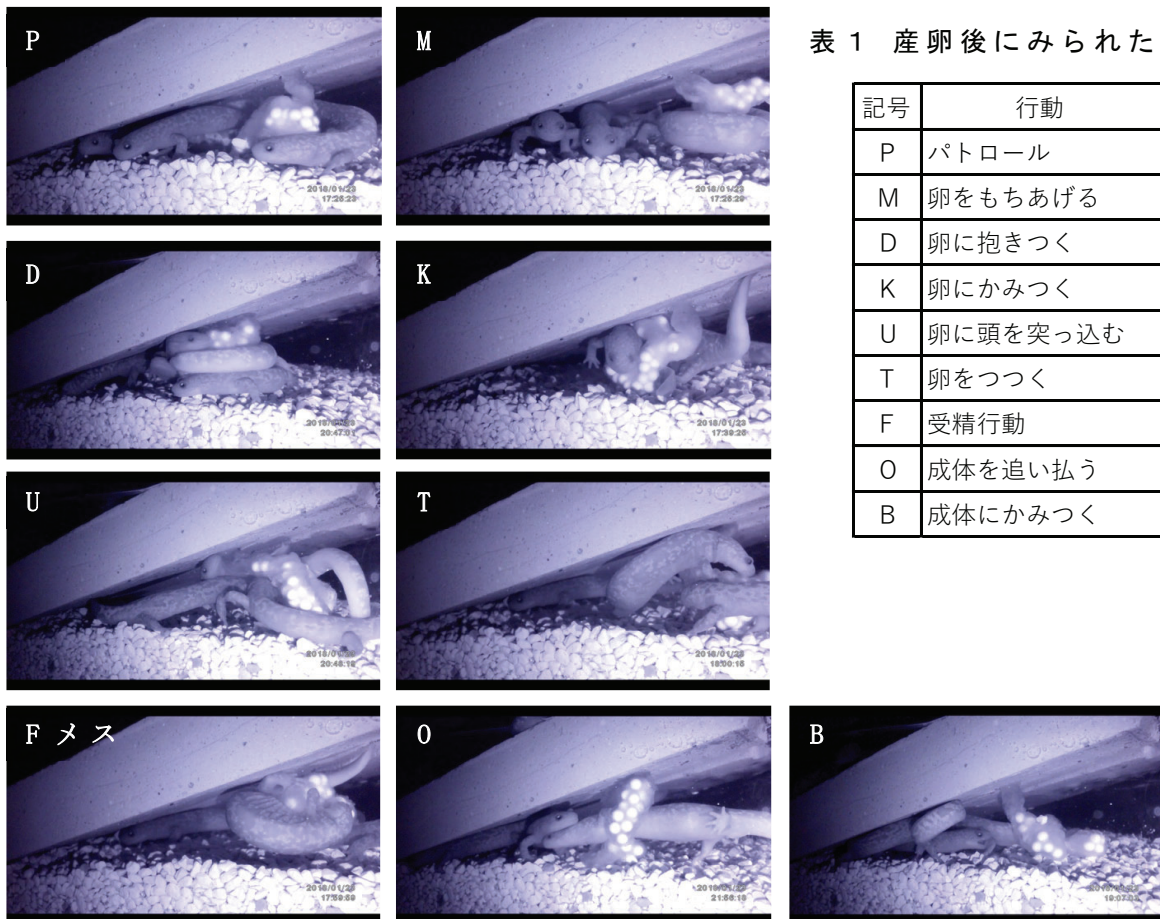


表1 産卵後にみられた行動

記号	行動
P	パトロール
M	卵をもちあげる
D	卵に抱きつく
K	卵にかみつく
U	卵に頭を突っ込む
T	卵をつつく
F	受精行動
O	成体を追い払う
B	成体にかみつく

図4 産卵後にみられた行動

観察した時間を30分ごとに区切り、それぞれの行動の頻度を示すと図5のようになった。

メスはオスに比べ、かなり活発に行動していたが、オスは、卵囊にあまり興味を示さなかった。メスは受精直後から、卵囊のまわりをぐる

ぐると周り、卵囊に注意を払うような行動がみられた。最も回数が多くみられたのは、抱きつき行動で、産卵時終了の60分以降から生じ、150分時には5回、210分時には13回も観察された。抱きつき行動は、大きく二つのケースがあり、尾を曲げて卵囊を全身でかばうように抱きつくものと卵囊を強く抱きかかえるものがあった。次に多く観察されたのは、持ち上げ行動で、産卵終了後からすぐにみられた。その回数は、徐々に増え、270分時に最大の8回となった。持ち上げ行動は、卵囊の下に入り頭をつかって持ち上げるもので、持ち上げた際にエアポンプの近くにもっていくような行動も2回ほどみられた。さらには、オスの受精の時のように強く抱きつきぐるぐる回る受精様行動が60分時に2回、300分時に1回みられ、その持続時間は、29秒、17秒、1分9秒であった。その他、卵囊に噛み付くような行動やつつく行動も複数回みられた。

オスの行動では、オス3が産卵終了後の30分時に再度受精に現れ受精を試みたものの、オス1に追い払われ失敗に終わった。210分時にはメスが卵囊を抱えているところにオス3が割り込むように現れ、卵囊を横取りして25秒ほど強く抱きついていった（受精行動）。オス1では、メスおよびオス3に噛み付く行動が複数回みられた。オスの2個体では、回数は少ないものの、メスと同様に、卵囊を持ち上げる、つつく、噛み付く、頭をうずめるなどの行動がみられた。

3.2 オスの数と受精率の関係

卵囊を切開したところ、エラがしっかりと発達した茶褐色の幼生が泳いで勢いよく飛び出してきた。湾曲した中央部に進むと、半透明のドロドロの内容物とともにクリーム色の卵が出てきた（未受精卵）。

オス3匹で産卵した卵囊の方が5匹のものよりサイズが大きく、卵数（未受精卵を含む）も多かった。卵囊1本あたりの卵数は、オス3匹で

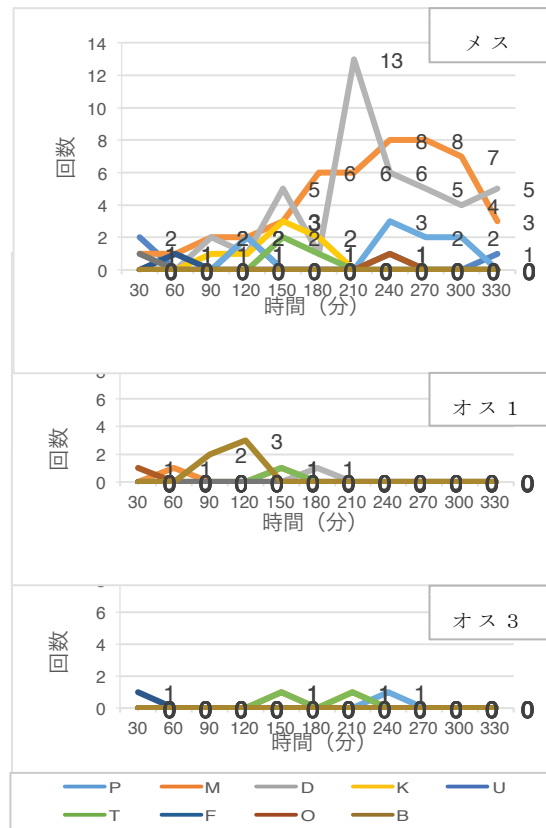


図5 産卵後の各行動の回数

は 25 個と 15 個、オス 5 匹では 12 個と 12 個、と異なり、1 対の卵囊でみると 16 個も差があった。

卵囊の 1 本ごとの受精率を求めると、41.6%から 88.0%まで異なっていた。受精率はオス 5 匹の方が、低い傾向にあった（図 6）。卵囊 1 本あたりの幼生の数は、オス 3 匹では 22 匹と 11 匹、オス 5 匹では 5 匹と 9 匹となっており、1 対の卵囊あたりでみると、オス 3 匹では 33 匹、オス 5 匹では 14 匹と異なっていた。

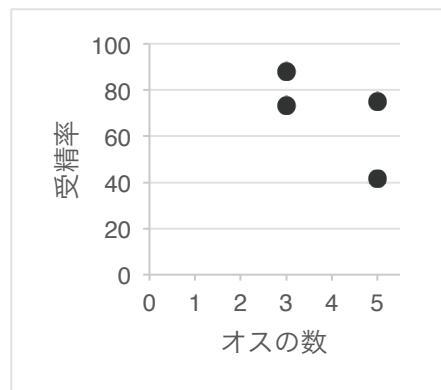


図 6 オスの数と受精率

3.2.2 マイクロサテライトマーカーによる父性解析の試み

19 の座位のうち 6 つで DNA 増幅がみられ、そのうち 4 つでは、予想されるサイズで山型のピークが観察された。各座位のアレル(対立遺伝子)数は最大で 2 つと少なかったものの、メスの持つアレルを子が持っており、親と子の遺伝子型に矛盾のあるものはなかった。

3.3 野外での産卵状況の観察

3.3.1 大桑集団

2020 年 2 月中旬に、2017 年に集団産卵があった場所よりも上流部で卵囊 3 対と成体 5 匹が、水の流れの速く木や落ち葉が集まったところで一緒に見つかった。流されてきた可能性もあり、単独産卵か集団産卵かはっきりとしなかった。3 月末には、上流部の 3 ヶ所、以前集団産卵があった場所、下流部 1 ヶ所で単独産卵がみられ、計 5 対の卵囊が観察された(図 7)。いずれも大きな石の裏に付着しており、卵の発生は進んでいた。集団産卵は、観察されなかった。2017 年、2019 年、2020 年の観察を合わせると、単独産卵が 6 例、集団産卵が 1 例観察された。

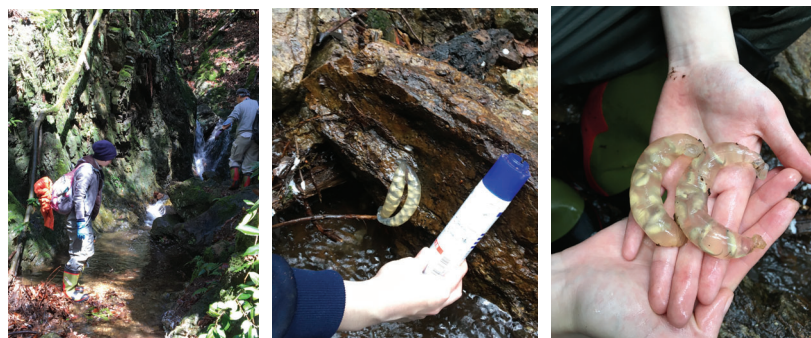


図 7 大桑集団の調査地(左)と卵囊(中央、右)

3.3.2 寺尾集団

2020年2月上旬に、2019年に産卵直前の成体が多数凝集していた場所で、砂利の中に産卵直前の成体7匹（オス5匹、メス2匹）が凝集しているのを見つけた。メスは腹に卵を持っていた（図8）。2月中旬には、さらに上流部の大きな石の下の砂利の中で、産卵直後とみられる卵嚢を3対と成体16匹（オス12匹、メス4匹）を見つけた。メスは産卵直後のものが2匹と腹に卵を持っているものが2匹であった。卵嚢のうち1対は、砂利の上の約10センチ四方の石に付着していた（図8）。成体があった場所は、いずれも砂利の深さ十数センチのところ、砂利を除けると一旦は水が濁るがわずか数十秒で濁りがなくなりきれいな水になったことから、伏流水が流れ込む環境であった。単独産卵は、観察されなかった。2019年、2020年を合わせると、単独産卵が2例、集団産卵および成体の凝集が3例観察された。



図8 寺尾集団の卵嚢（左）とメス個体（右）

3.3-3 産卵場所の環境

2月の寺尾集団では、産卵がみられた場所の水温は平均6.1℃、気温は4.4℃で、水温の方が高かった。溶存酸素量（D0）は、産卵のあった場所では平均7.76mg/L、その周辺の産卵がみられなかった場所では平均7.81mg/Lと、両者にほとんど違いはみられなかった。

集団産卵や凝集がみられたのは、砂利の中で、手で触ると簡単にくずれ、比較的間隙のあるところであった。

3.4 ヒダサンショウウオの生態を紹介する教材開発・市民向けイベント

森フェス in やまがた 2019（2019年5月12日、岐阜県山県市四国山香りの森公園）にて、小学生以下の親子を対象に「森の高校生's ステージ『ナッコルくん、四季のいきものに出会う』」スライドと生き物の鳴き声などを使って、地域に生息する四季折々のいきものを紹介した。発

表後に、いきものの形や鳴き声に関するクイズをおこなったところ、子どもたちが大きな声で答えてくれるなど、好評であった。

4. 考察と今後の課題

産卵行動の解析から、オスは産卵直前・産卵時に活動がピークになるのに対し、メスは産卵後長時間に渡り活発に動き頻繁に卵嚢と接触することがわかった。また、オスの数が多い条件下では、卵嚢の中央部に未受精卵がみられ、受精率が下がる傾向がみられた。また、野外での産卵状況の観察からは、単独産卵と集団産卵の2つの産卵様式があることが明らかになった。これらの結果をもとに、以下の3つについて考察する。

4.1 産卵後にオスとメスで行動が顕著に異なるのはなぜか？

オスは受精後の卵嚢に関心を払うよりも、すぐに次のメスを探した方が自分の受精した子の数を多くできるのではないかと考える。実際、野生集団でも繁殖期にオスが移動しているのを観察している。しかしながら、どのようにして、オスが卵嚢の受精状態を知るのか、そのメカニズムはまだわかっていない。急激に活動量が減るには、卵嚢の状態を知る手がかりとなる物質があるのではないかと考える。カエルやイモリでは性フェロモンの存在が報告されているが、ヒダサンショウウオでもメスやオスの成体から放出されるフェロモンのような物質や、卵嚢から直接放出される物質や精子の濃度などが関与している可能性がある。これらの物質が産卵直前と産卵後に急激に変化すると予想されるが、狭い産卵水槽内でもみられたことから、産卵時に放出し急速に分解される物質かもしれない。

メスは、当初、オスを警戒して卵嚢の近くにいるものと考えていたが、オスとの関わりはあまりみられず単独で卵嚢に接触する行動が頻繁にみられた。中でも、卵嚢の持ち上げ行動は、卵嚢の位置を変えたり、酸素のある方へ移動させたりといった卵嚢の環境を良好に保つ役割があるのかもしれない。一方、受精様行動や卵嚢にかみつくなど、一見すると卵嚢にとって不利益となるような行動も観察された。卵嚢の内容物は、産卵後、水を吸って膨らみ卵を保護するクッションの役割をもつことから、観察された受精様行動は、この給水を促すような役割があるのかもしれない。メスがなぜそのような行動をとるのか興味もたれる。

4.2 オスの数と受精率の関係

オスを多くした1匹：5匹の条件下では、中央部に未受精卵がみられ

たことから、十分に受精できていない可能性が考えられる。その原因が、卵嚢の形状によるのか、オスの密度が高すぎて十分な受精時間が取れないなどの要因によるのかは、今のところ定かではない。今後、産卵水槽をより自然状態を再現したものに改良し、尾の形が異なる個体を用いて個体識別を明確にするなどして、詳しく調べていきたい。今回のマイクロサテライトマーカーの解析では、座位あたりのアレル数が少なかったため、卵のオス親を同定するまでは至らなかった。今後は、例数を増やして観察するとともに、遺伝子型の異なるオスを入れた産卵ペアで産卵させることで、オスの行動が受精率に与える影響を調べていきたい。

4.3 野生集団ではどのようにして成体は集まってくるのか？また、なぜ産卵直前まで凝集しているのか？

今回、集団産卵および成体の凝集がみられた場所は、上流の水の流れが比較的ゆるやかで、常に水が砂利の間に流れ込むような場所であった。これまでの観察からも、大桑集団では27匹（2017年）、寺尾では32匹（2019年）と多数の成体が集まっており、これらが異なる時期に集まるのか、それとも同じ時期に同調して集まるのか、今回の観察では明らかにならなかったが、興味をもたれる。秋田ら（2009）は石川県宝達山のヒダサンショウウオにおいて、人工的に設けた容器内で今回と同様の産卵直前まで団子状に塊となっている様子を観察している。しかしながら、自然状態では発見しておらず、どのような環境を好み、いつ、何を手がかりに集まってくるのかなど、未だ多くの謎が残されている。

野外の二つの集団は、いずれも溪流で大きな石が多数あり、その下の砂利の間に伏流水が流れ込む複雑な地形であった。そのため、繁殖個体が出会う確率は低いものと考えられる。繁殖間近な個体が集合しているのは、繁殖機会との確保という点で有利なのかもしれない。また、生理的な観点からみると、成熟にはオスとメスが同所的にいる必要があるのかもしれない。今回、凝集していたオスとメスを単独で飼育したところ、メスの腹部の膨らみ方が緩やかになり成熟が遅れる様子が観察された。オスメスともに、成熟には何らかの性フェロモンのような物質が必要なため集団でいるのかもしれない。

今後、さらなる解明に向けて、専門家からの助言を受けながら、観察や実験および野外調査を続けていきたい。

5. まとめ

本研究により、産卵水槽内の産卵行動の解析では、オスは産卵直前から産卵時に活発になる一方、メスは産卵後長時間活発に動き、頻繁に卵嚢と接触しており、オスとメスでは産卵前後で行動が顕著に異なることが明らかになった。また、オスが多いと卵嚢中央部に未受精卵がみられ受精率が下がった。遺伝子型による父性解析では変異が少なかったが有効性を確認した。野外調査では二つの集団で石の下での単独産卵と砂利の中での集団産卵および産卵直前の多数の成体の凝集を確認した。野生集団の環境測定では、産卵場所とそうでない場所に大きな差はみられず、単独産卵と集団産卵の使い分け条件やそれに伴う産卵行動の差異は明確にできなかった。この二つの産卵様式の適応的意義は新たな課題となった。本研究で得られた知見は、溪流性の小型のサンショウウオ類の室内繁殖や保全の施策に貢献できるものと考えられる。今後は、専門家から助言や指導を受けながら、研究をさらに発展させていきたい。

6. 謝辞

本研究を進めるにあたり、前山県市立高富中学校生物部顧問の福田英治先生（研究計画への助言および産卵行動の撮影）、前岐阜高等学校の高木雅紀先生、矢追雄一先生（研究方法への助言）、岐阜大学教育学部の三宅崇先生（マイクロサテライト解析の指導）、建設環境研究所の見澤康充博士、山県高校の大野陽平さん（野外調査へ参加）、土木研究所自然共生センターの末吉正尚博士（環境測定方法への助言）、多くの方々にお世話になりました。本研究は、公益財団法人河川財団による河川基金の助成（2019年4月から2020年4月）を受けています。以上の方々に、深く感謝申し上げます。

7. 参考論文

福田英治、岩城蘭、村瀬すぐり、加藤なつき、三宅遥香（2019）ヒダサンショウウオの産卵行動、爬虫両棲類学年報、1：28-31.

Tanaka, K. (1989) Mating strategy of male *Hynobius nebulosus* (Amphibia: Hynobiidae). Current Herpetology in East Asia, 437-448.

Yoshikawa, N. and Matsui, M. (2013) Characterization of nineteen microsatellite DNA markers for Japanese clouded salamander, *Hynobius nebulosus*, using NGS. Conservation Genetics Resources 5:603-605.

秋田善憲、宮崎光二（2009）宝達山におけるヒダサンショウウオの繁殖生態、爬虫両棲類学会報、1：30-39.



ヒダサンショウウオの産卵行動の解明 part2

三宅 遥香 (私立鶯谷高等学校)



背景, 目的

- ヒダサンショウウオは環境省ならびに岐阜県のレッドデータブックで準絶滅危惧に指定されている。
- 山県市には1か所のみ、他のヒダサンショウウオと表皮の様相が異なる。また、生息する標高も140~200mと低い。さらに、溪流の約200mの範囲とその周辺に生息している「希少種」である。
- 保護の必要性→石の裏側に産卵するため観察が困難



【図1: ヒダサンショウウオの分布域】



【図2: 産卵水槽】

前年度の研究→産卵水槽の完成&産卵行動の観察
(産卵前から産卵まで&スニーカー行動)
しかし、産卵後の行動やオスの数の影響は未解明!
野外での産卵状況の観察も不十分!

目的: ヒダサンショウウオの産卵行動の全容を明らかにする!

結論, 考察

- ①オスとメスは産卵前後で行動やそのピークが異なる
オスは産卵直前および産卵時には活発に行動した
→受精後の卵囊に関心を払うよりも次のメスを探した方が有利なのではないか
卵囊の状態を知ることがりとなる物質があるのではないかと
メスは産卵後に長時間に渡り卵囊に関心を示していた
→卵囊の環境を良好に保つ役割があるのではないかと
- ②オスの数が多いと受精率は下がる
→オス間の競争やメスへの干渉が強すぎるためではないかと
- ③二つの野生集団において砂利の中で集団産卵や産卵直前の成体集団が観察された
→いずれも水の流れるある砂利の中。卵が酸素を必要とするのかもしれない。
石の裏(単独産卵)と砂利の中(集団産卵)を使い分けているのか、産卵行動はどのように異なるのかは新たな課題

- ・生態解明は、まだ一握り → さらに、調査が必要
- ・産卵行動の解析 → 種の保存や繁殖へ貢献。他の生物への応用

①産卵行動の観察

- スニーカー行動がみられる種では
- オス→メスや卵をめぐるオス間の競争が起こる
- メス→オスによるメスや卵への接触等による負の影響を避ける
- オス同士の競争やメスへの干渉は、オスの数が増えると大きくなる

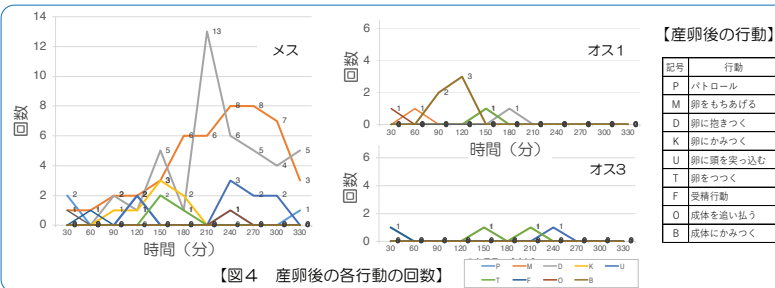
仮説: オスとメスで産卵行動のパターンやその頻度が異なる
方法: 産卵水槽でメス1匹: オス3匹で産卵させ、行動をビデオ撮影し解析した
産卵直前、産卵時、産卵後に分け、計6時間を観察した
体表のまだら模様と尾の形で個体を識別し各行動の回数や時間をカウントした

(1) 産卵後にみられた行動: 9つの行動



【図3 産卵後の各行動の回数】

(2) 産卵後の各行動の回数: オスとメスで顕著に異なる



【図4 産卵後の各行動の回数】

- ・産卵後の行動は9つに分けられた
- ・オスとメスで産卵行動のパターンやその頻度が異なっていた
- ・オスは産卵直前および産卵時には活発に行動した
受精後にはメスや卵囊に関心を示さなくなった
- ・メスは受精後、長時間に渡り卵囊に関心を示した
頻りに周囲のパトロールや卵囊の持ち上げや抱きつきなどの行動をしていた

②オスの数と受精率の関係

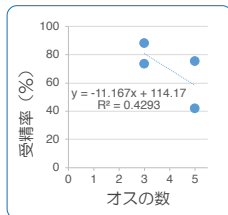
オスの数が増えるとオス同士の競争やメスへの干渉が強くなると考えられる

仮説: オスの数が増えると受精率は下がる
方法: メスとオスを1匹: 3匹, 1匹: 5匹にして産卵させ、幼生と卵の位置や数を記録した

- ・中央部に半透明の内容物とともにクリーム色の卵(未受精卵)を発見(図5)
- ・卵囊の1本の受精率は41.6%から88.0%まで異なっていた。受精率はオス5匹の方が、低い傾向にあった(図6)



【図5 卵囊の中身の様子】



【図6 オスの数と受精率の関係】

③集団産卵の発見

野外では、2017年に複数の卵囊が1箇所にまとまって見つかる産卵(集団産卵)が観察された。他の集団でも同様に見られるのか?

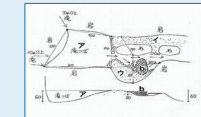
方法: 二つの集団で、2017年および2019年に産卵場所の様子を観察した

2017年2月 大桑集団

- ・砂利の中に30本の卵囊が観察された(図7)
- ・中には小石に接着していた卵囊もみられた
- ・卵囊の周りにメス7匹とオス21匹がみられた
- ・魚止の滝近くの水の流れのあるところ(図8,9)



【図8 調査地】



【図9 集団産卵の場所の地形】



【図7 卵囊の様子】

2019年2月 寺尾集団

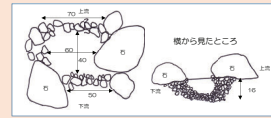
- ・砂利の中に産卵直前のメス7匹、オス25匹の成体を集団で発見
- ・メスは腹部に卵が透けて見え、オスは放精していた(図10)
- ・川上のなだらかな地形で伏流水が流れている環境(図11,12,13)



【図11 調査地】



【図12 伏流水の流れ】



【図13 成体の集合場所の地形】



【図10 産卵直前の成体: メス(左), オス(中), 集団でいた32個体】

オスの数が増えると受精率は下がる

砂利の中で集団産卵および産卵直前の多数の成体を発見。なぜ集団産卵するのか?

展望

- ・砂利の中での産卵と石の裏側への産卵の違いがどのように起こっているのか、それに伴う産卵行動の差異、集団産卵の適応的意義は新たな課題となった。
- ・今後、さらなる解明に向けて、観察や実験および野外調査を続けていく
- ・希少生物の研究であり、今後も専門の研究者の指導を受けながら進める

謝辞

本研究を進めるにあたり、前山県市立高富中学校の福田英治先生(ビデオ撮影)、岐阜高等学校の高木雅紀先生(研究方法への助言)、建設環境研究所の見澤康充博士と山県高校の大野陽平さんと名古屋大学の三宅恵子さん(野外調査へ参加協力)、多くの方々にお世話になりました。深く感謝申し上げます。

ヒダサンショウウオの産卵行動の解明 part2

私立鶯谷高等学校 自然科学部 三宅 遥香

1. はじめに

ヒダサンショウウオは、環境省および岐阜県のレッドデータブックで準絶滅危惧に指定されている小型のサンショウウオである。保護の必要性が指摘されているにも関わらず、生態や生活史に関する研究は少ない。特に産卵行動については、溪流の中で石の裏側に卵嚢を産むため（以下、単独産卵）、観察が極めて困難であり詳細に調べた例はない。そこで、著者らは、2017年に、独自に産卵水槽を開発し、産卵行動をビデオに収めることに成功し、その映像を解析した。その結果、メスは単独で産卵することはできずオスがメスの腹を足で押しながらか卵嚢を引き出すことや、オスが卵嚢に巻きつき受精することを明らかにした（福田ら、2019）。2018年度は、複数のオスがいる状況では、オス間でメスや卵をめぐる競争が起こることを想定し、複数のオスが居る状況下で産卵行動を観察した。その結果、オスは産卵直前・産卵時に活動がピークになるのに対し、メスは産卵後に長時間に渡り活発に動き頻りに卵嚢と接触するなど、オスとメスで行動パターンが顕著に異なることが明らかとなった。このように単独産卵については、産卵行動を知ることができたが、野外での産卵状況については、未だ明らかになっていない。

2. 目的

そこで、2019年度は、2017年に野外集団で見つかった集団産卵（砂利の中に多数の卵嚢が1箇所にとまって存在）に着目し、このような産卵様式が同じ場所で見られるのか、また他の集団でも見られるのかを明らかにするため、野外での産卵状況の観察を行った。

3. 方法

1) 野外での集団産卵の状況

岐阜県山県市の大桑集団および関市の寺尾集団にて、2018年12月から2019年3月にかけて、二つの集団の産卵状況を観察した。両集団は直線距離でおよそ10キロメートル離れており、大桑集団は南斜面に、寺尾集団は北斜面に面していた（図1）。ほぼ1週間に一度の頻度で調査地を訪れ、石の裏の卵嚢（単独産卵）の有無や砂利の中の産卵（集団産卵）の様子について観察を行い、繁殖に参加した成体の体サイズを比較した。比較のため、2017年の観察結果とともに報告する。



4. 結果

1) 野外での産卵状況の観察

a. 大桑集団

2017年2月中旬に、単独産卵を1カ所、集団産卵を1カ所で見つけた(図2)。単独産卵の卵嚢は大きな石の下にあった。集団産卵は、川の上流部の魚止めの滝壺から少し下流にある長径およそ40cmの砂利がたまった楕円形の場所で、深さおよそ20cmまでのところ(図3のb地点)の砂利の中に30本の卵嚢が観察された(図4)。砂利の中の卵嚢の向きはさまざまで、中には小石に接着していた卵嚢もみられた。卵嚢の周りには、メス7匹とオス21匹がみられた。



図2 集団産卵がみられた調査地

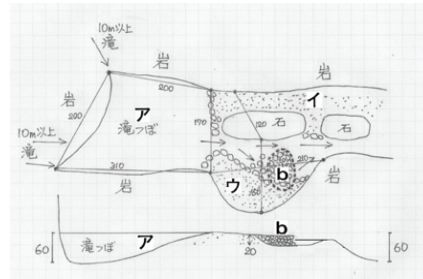


図3 集団産卵がみられた地形



図4 卵嚢の様子

2019年の調査では、1月から繁殖のために移動してきた複数の成体を目撃したが、単独産卵、集団産卵ともに観察されなかった。ただし、他の研究者から、2月中旬に砂利の中に7匹の成体が集まっている様子を観察したと聞いている。

b. 寺尾集団

2019年2月中旬に、単独産卵を2カ所、産卵直前の成体が多数凝集しているのを1カ所で見つけた(図5)。単独産卵の卵嚢は水が常に流れ込む大きな石の下にあった。産卵直前の成体は、砂利の中に凝集しており、産卵直前のメス7匹、オス25匹の計32匹の成体を発見した(図6)。メスは腹部に卵が透けて見え、オスは放精していた(図6)。発見したのは、単独産卵が見つかった場よりも川上のなだらかな地形の場所であった。砂利の深さ16センチのあたりに成体があり、砂利を除けると一旦は水が濁るがわずか数十秒で濁りがなくなりきれいな水になったことから、砂利の中に伏流水が流れて混んでいる環境であった(図7, 8)。



図5 調査地



図7 伏流水の流れ

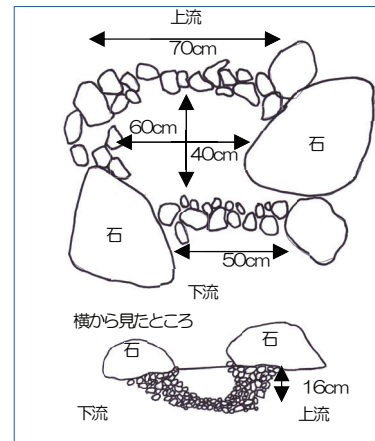


図8 成体の凝集場所の地形



図6 成熟したメス個体 (左) , 成熟したオス個体 (中) , 凝集していた32匹 (右)

c. メスとオスの体サイズの比較

大桑集団でみられた卵囊の周りにいた成体および期間中に捕獲した成体のメス7匹, オス37匹の体サイズを比較したところ, 頭幅と最大尾高を除く値において, メスの方が大きい傾向があった(表1)。同様の傾向が, 寺尾集団の凝集していた成体および期間中に捕獲した成体のメス7匹, オス26匹においてもみられた。オスとメスの個体数の差が大きいため一概には言えないが, オス個体の方が大きさにばらつきがみられた。

また, 二つの集団で比較すると, オス, メスともに, どの計測値も寺尾集団の方が大桑集団よりも大きい傾向がみられた。これは, 寺尾集団では産卵直前の個体であったのに対し, 大桑集団では産卵後の個体であったことと関係があるのかもしれない。

表1 大桑集団と寺尾集団の成体のメスとオスの体サイズ mm (平均±標準偏差)

	個体数	体長	頭長	頭幅	尾長	最大尾高
メス (大桑)	7	122.74±	16.21±0.61	12.31±0.55	53.10±2.72	7.45±0.55
オス (大桑)	37	118.05±	16.03±1.23	12.72±1.24	51.85±4.37	8.44±1.30
メス (寺尾)	7	128.54±	未測定	13.88±0.90	55.99±3.12	8.57±1.68
オス (寺尾)	26	124.17±	未測定	14.18±0.84	55.82±4.83	9.34±1.17

5. 考察と今後の課題

野外集団の産卵状況の観察から、大桑集団および寺尾集団の二つにおいて、従来の単独産卵に加え、これまで観察されていない集団産卵や繁殖直前の多数の成体の凝集が初めて見つかった。これらの結果をもとに、以下の二つについて考察する。

1) どのようにして成体は集まってくるのか？

今回、集団産卵および凝集がみられた場所は、上流の水の流れが比較的ゆるやかで、常に水が砂利の間に流れ込むような場所であった。大桑集団では27個体、寺尾では32個体とかなり多数の個体が集まっており、これらがバラバラに異なる時期に集まるのか、それとも同じ時期に同調して集まるのか、興味もたれる。秋田ら(2009)は石川県宝達山のヒダサンショウウオにおいて、人工的に設けた容器内で今回と同様の産卵直前まで団子状に塊となっている様子を観察している。しかしながら、自然状態では発見しておらず、どのような環境を好み、いつ、何を手がかりに集まってくるのかなど、未だ多くの謎が残されているとしている。砂利の中での産卵(集団産卵)と石の裏側での産卵(単独産卵)がどのように使い分けられているのか、また、産卵行動がどのように異なるのかは、新たな課題となった。今後は、引き続き、野外での産卵状況の観察を行うとともに、集団産卵と単独産卵が生じた場所の環境(地形、砂利の大きさ、流速、溶存酸素量など)を調べ、両者の環境要因を明らかにしたい。

2) なぜ産卵直前まで凝集しているのか？

野外の二つの集団は、いずれも溪流で大きな岩や砂利の間に伏流水が流れ込む複雑な地形であった。そのため、繁殖個体が出会う確率は低いものと考えられる。繁殖間近な個体が集合しているのは、繁殖機会との確保という点で有利なのかもしれない。また、生理的な観点からみると、成熟にはオスとメスが同所的にいる必要があるのかもしれない。今回、凝集していたオスとメスを単独で飼育したところ、メスの腹部の膨らみ方が緩やかになり成熟が遅れる様子が観察された。オスメスともに、成熟には何らかの性フェロモンのような物質が必要なため集団でいるのかもしれない。今後は、さらなる解明に向けて、専門家から助言や指導を受けながら、生理学的な実験も行なっていきたい。

6. おわりに

本研究により、野外集団において、砂利の中で、これまで観察されていなかった集団産卵および産卵直前の多数の成体の凝集を見つけた。砂利の中での産卵と石の裏側での産卵の2つがどのように使い分けられているのか、また、産卵行動がどのように異なるのかは新たな課題となった。これらの知見は、溪流性の小型のサンショウウオ類の室内繁殖や保全の施策に貢献できるものと考えられる。

7. 参考論文

福田英治, 岩城蘭, 村瀬すぐり, 加藤なつき, 三宅遥香 (2019) ヒダサンショウウオの産卵行動, 爬虫両棲類学年報, 1 : 28-31.

秋田善憲, 宮崎光二(2009) 宝達山におけるヒダサンショウウオの繁殖生態, 爬虫両棲類学会報, 1 : 30-39.

謝辞

本研究を進めるにあたり、研究計画への助言および産卵行動の撮影に協力いただいた前山県市立高富中学校生物部顧問の福田英治先生、研究方法に助言をいただいた高木雅紀先生(岐阜高等学校)、野外調査へ参加協力いただいた見澤康充博士(建設環境研究所)や大野陽平さん(山県高校)、多くの方々にお世話になりました。なお、本研究は、公益財団法人河川財団による河川基金の助成(2019年4月から2020年3月)を受けています。以上の方々に、深く感謝申し上げます。



ヒダサンショウウオの産卵行動の解明

part 2

三宅 遥香 (私立鶯谷高等学校)



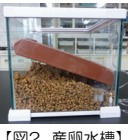
背景, 目的

- ヒダサンショウウオは環境省ならびに岐阜県のレッドデータブックで準絶滅危惧に指定されている。
- 山県市には1か所のみ、他のヒダサンショウウオと体表の模様が異なる。標高も140~200mと低い。
- 溪流の約200mの間とその周辺に生息する「希少種」
- 保護の必要性一石の裏側に産卵するため観察が困難



これまでの研究:

- 産卵水槽の完成 & 産卵行動の観察 (産卵前から産卵後の行動&スニーカー行動)
- 産卵後はメスが活発に動き卵囊に関心を示す
- オスの数が増えると受精率が下がる傾向 (2018年度報告)
- しかしながら、野外での観察は不十分



目的: ヒダサンショウウオの産卵行動の全容を明らかにする! 野外での産卵状況を明らかにする!

方法

- 山間部の溪流, 10キロ離れた二つの集団 (図3)
- 2017年および2019年に産卵場所の様子を観察
- 観察された集団産卵について, 産卵場所の地形, 見つかった成体の体サイズを測定した
- 卵囊の卵数を数えた



結論, 考察

二つの野生集団において集団産卵や産卵直前の成体の凝集が観察された。いずれも砂利の中であった。従来の単独産卵もみられた。→単独産卵と集団産卵の二つの産卵様式があることが明らかになった。

新たな疑問と今後の課題:

1) どのようにして成体は集まってくるのか? 多数の個体が異なる時期に集まるのか, それとも同じ時期に同調して集まるのか? 秋田ら (2009) は石川県宝達山において, 人工的な容器内で産卵直前まで団子状に塊となっている様子を観察しているが自然状態では発見していない。どのような環境を好み, いつ何を手がかりに集まってくるのかなど, 未だ多くが謎。→今後は, 野外観察を続けるとともに, 集団産卵と単独産卵の環境 (地形, 砂利の大きさ, 流速, 溶存酸素量など) を調べ, 両者の環境要因を明らかにしたい。

2) なぜ産卵直前まで凝集しているのか?

①繁殖機会の確保説: いずれも溪流で大きな岩や砂利の間に伏流水が流れ込む複雑な地形。そのため, 繁殖個体が出会う確率は低いと考えられ, 繁殖機会との確保という点で有利なかもしれない。

②性成熟に必要な説: 成熟にはオスとメスが同所的にいる必要があるのかもしれない。今回, 凝集していたオスとメスを個別に飼育したところ, 成熟が遅れる様子が観察された。成熟には何らかの性フェロモンのような物質が必要のためかもしれない。→今後は, さらに解明に向けて, 専門家から助言や指導を受けながら, 生理学的な実験も行なっていきたい。

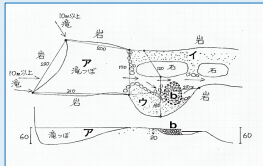
- 生態解明は, まだ一握り → さらに, 調査が必要
- 産卵行動の解析 → 種の保存や繁殖へ貢献。他の生物への応用

結果 ① 集団産卵の状況

2017年2月 大桑集団

複数の卵囊が1箇所で見つかる集団産卵を発見!

- 砂利の中に30本の卵囊が観察された (図4)
- 中には小石に接着していた卵囊もみられた
- 上流部の魚止めの少し下流の砂利の場所 (図5, 6)
- 卵囊の周りにメス7匹とオス21匹がみられた
- 1本の卵囊あたりの卵数は8個から18個 (平均13.96, 標準偏差2.49)



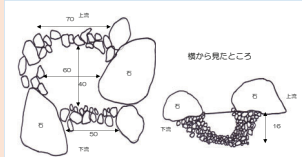
【図5 集団産卵がみられた調査地】

【図4 卵囊の様子】

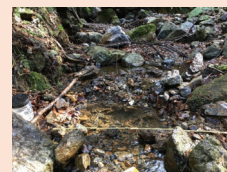
2019年2月 寺尾集団

産卵のため成体が凝集しているところを発見!

- 砂利の中に産卵直前のメス7匹, オス25匹の成体の凝集を発見 (図7)
- メスは腹部に卵が透けて見え, オスは放精していた (図7)
- 川上のなだらかな地形で伏流水が流れている環境であった (図8, 9, 10)



詳細は動画で解説します!



【図7 産卵直前の成体: メス(上), オス(下), 凝集していた32個体(右)】

単独産卵

- 2例みられた (図11)
- 常に水が流れ込む場所 (図12)

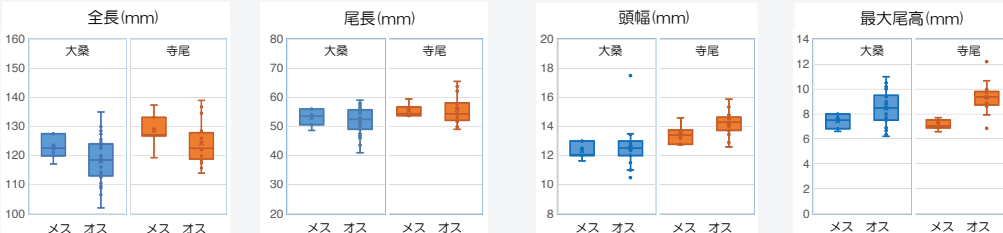


【図11 単独産卵の卵囊 (2例)】

砂利の中で集団産卵および産卵直前の多数の成体を発見。なぜ集団産卵するのか?

結果 ② 成体の体長

- 全長と尾長はメス>オス, 頭幅と最大尾高はオス>メス, オスの方がバラツキが大きかった (図13)
- オス, メスともに, 寺尾集団の方が大桑集団よりも大きい傾向がみられた
- 測定時期の違いによる可能性も (寺尾集団: 産卵直前, 大桑集団: 産卵後)



【図13 成体の体長の比較】

展望

- 砂利の中での産卵と石の裏側への産卵の使い分けがどのように起こっているのか, それに伴う産卵行動の差異, 集団産卵の適応的意義は新たな課題となった。今後, さらに解明に向けて, 観察や実験および野外調査を続けていく。
- 希少生物の研究であり, 今後も専門の研究者の指導を受けながら進める。

謝辞

本研究を進めるにあたり, 山県市立岡岡小学校の福田英治先生 (研究への助言), 前岐阜高等学校の高木雅紀先生 (方法への助言), 岐阜高等学校の矢追雄一先生, 建設環境研究所の見澤康充博士, 山県高校の大野陽平さん (野外調査へ参加協力), 多くの方々にお世話になりました。この研究は公益財団法人河川財団の河川基金による助成を受けています。深く感謝申し上げます。



ヒダサンショウウオの幼生

ヒダサンショウウオの産卵直前の成体の集合状況の観察

三宅 遥香 (私立鶯谷高等学校)



背景, 目的

- ヒダサンショウウオは環境省ならびに岐阜県のレッドデータブックで準絶滅危惧に指定されている。
- 山県市には1か所のみ、他のヒダサンショウウオと体表の様相が異なる。標高も140~200mと低い。
- 溪流の約200mの間とその周辺に生息する「希少種」
- 保護の必要性一石の裏側に産卵するため観察が困難



【図1 ヒダサンショウウオの分布域】

これまでの研究:

- 産卵水槽の完成 & 産卵行動の観察 (産卵前から産卵後の行動&スニーカー行動)
- 産卵後はメスが活発に動き卵囊に関心を示す
- オスの数が増えると受精率が下がる傾向 (2018年度報告)
- しかしながら、野外での観察は不十分



【図2 産卵水槽】

目的: ヒダサンショウウオの産卵行動の全容を明らかにする!
野外での産卵状況を明らかにする!

方法

- 山間部の溪流, 10キロ離れた二つの集団 (図3)
- 2017年および2019年に産卵場所の様子を観察
- 観察された集団産卵について, 産卵場所の地形, 見つかった成体の体サイズを測定した
- 卵囊の卵数を数えた



【図3 調査地】

結果 ① 集団産卵の状況

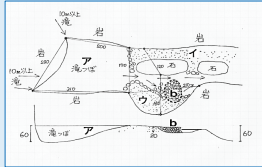
2017年2月 大桑集団

複数の卵囊が1箇所で見つかる集団産卵を発見!

- 砂利の中に30本の卵囊が観察された (図4)
- 中には小石に接着していた卵囊もみられた
- 上流部の魚止めの少し下流の砂利の場所 (図5, 6)
- 卵囊の周りにメス7匹とオス21匹がみられた
- 1本の卵囊あたりの卵数は8個から18個 (平均13.96, 標準偏差2.49)



【図5 集団産卵がみられた調査地】



【図6 集団産卵の場所の地形 (bに卵があった)】

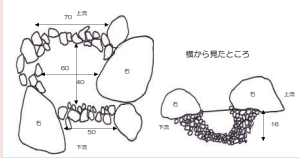


【図4 卵囊の様子】

2019年2月 寺尾集団

産卵のため成体が凝集しているところを発見!

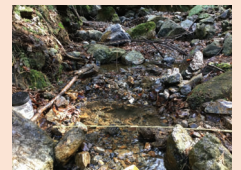
- 砂利の中に産卵直前のメス7匹, オス25匹の成体の凝集を発見 (図7)
- メスは腹部に卵が透けて見え, オスは放精していた (図7)
- 川上のなだらかな地形で伏流水が流れている環境であった (図8, 9, 10)



【図10 成体の集合場所の地形】



【図7 産卵直前の成体: メス(上), オス(下), 凝集していた32個体(右)】



【図8 成体の集合場所】



【図9 伏流水の流れ】

詳細は動画で解説します!

単独産卵

- 2例みられた (図11)
- 常に水が流れ込む場所 (図12)



【図12 単独産卵の場所】

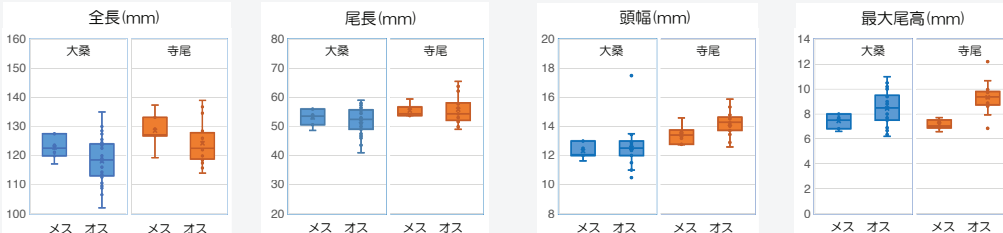


【図11 単独産卵の卵囊 (2例)】

砂利の中で集団産卵および産卵直前の多数の成体を発見。なぜ集団産卵するのか?

結果 ② 成体の体長

- 全長と尾長はメス>オス, 頭幅と最大尾高はオス>メス, オスの方がバラツキが大きかった (図13)
- オス, メスともに, 寺尾集団の方が大桑集団よりも大きい傾向がみられた
- 測定時期の違いによる可能性も (寺尾集団: 産卵直前, 大桑集団: 産卵後)



【図13 成体の体長の比較】

集団産卵と単独産卵の二つが存在

展望

- 砂利の中での産卵と石の裏側への産卵の使い分けがどのように起こっているのか, それに伴う産卵行動の差異, 集団産卵の適応的意義は新たな課題となった。今後, さらなる解明に向けて, 観察や実験および野外調査を続けていく。
- 希少生物の研究であり, 今後も専門の研究者の指導を受けながら進める。

謝辞

本研究を進めるにあたり, 山県市立岡岡小学校の福田英治先生 (研究への助言), 前岐阜高等学校の高木雅紀先生 (方法への助言), 岐阜高等学校の矢追雄一先生, 建設環境研究所の見澤康充博士, 山県高校の大野陽平さん (野外調査へ参加協力), 多くの方々にお世話になりました。この研究は公益財団法人河川財団の河川基金による助成を受けています。深く感謝申し上げます。

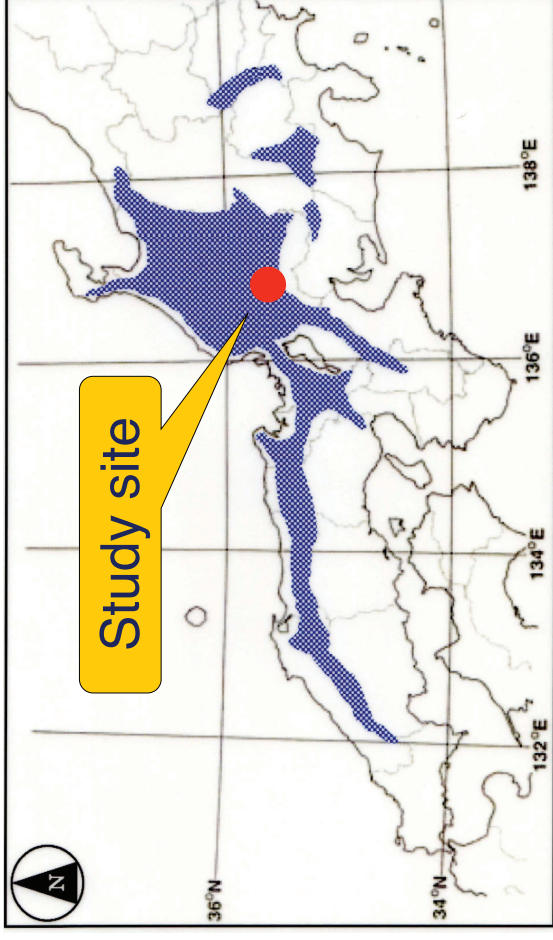
A study on the mating and oviposition behavior
of a Japanese salamander, *Hynobius kimurae*.

Uguisudani Junior and Senior High school
Haruka Miyake

2018.2.4 撮影

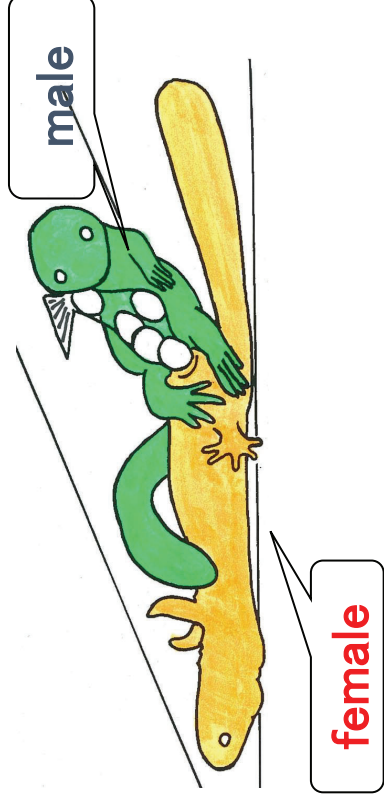


Japanese salamander, *Hynobius kimurae*



- Only found in Japan and now a near-threatened species.
- Only a few studies on its ecology, which are necessary to its conservation.

No reports on its mating and oviposition behavior.
The reason; observation is extremely difficult.
They live in mountain streams; their mating and oviposition occur under stones.



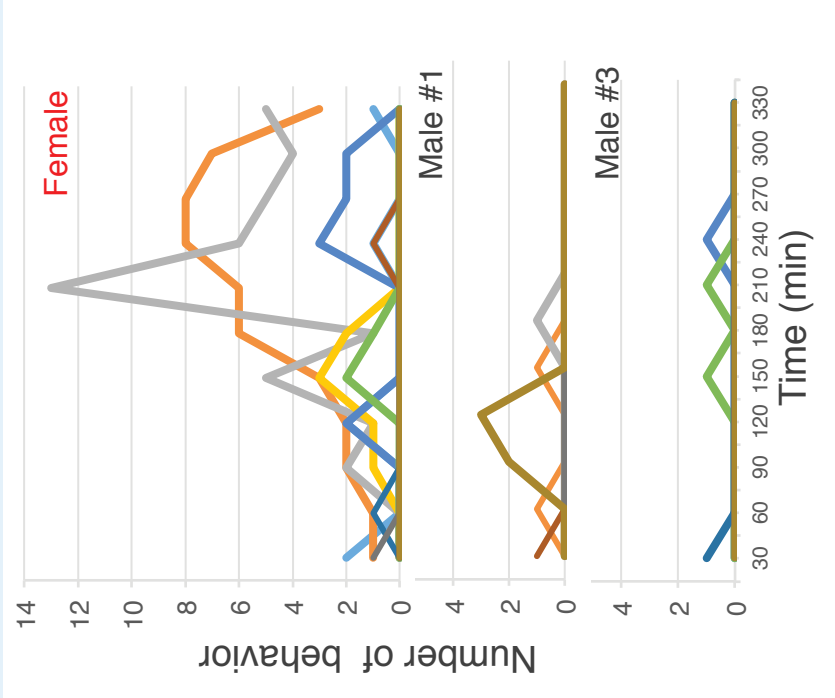
I reconstructed their mating and oviposition environment in a water tank.

My Goal: to understand their mating and oviposition behaviors in detail !

Results

① Observation of behavior

Distinct between sexes

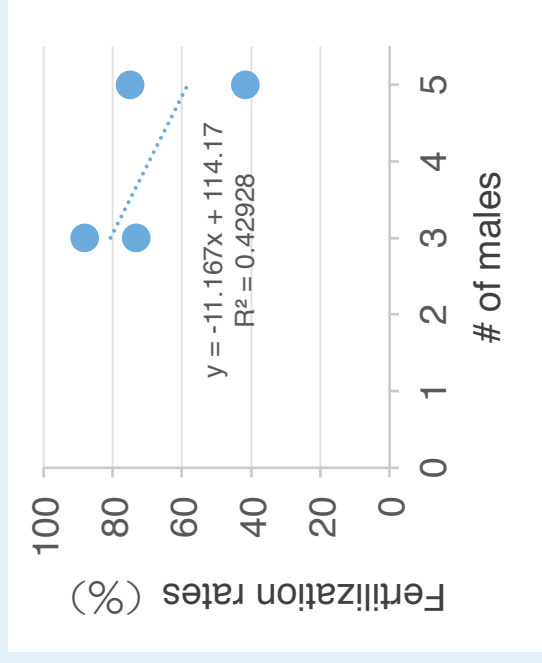


Males were most active only before and during the female's oviposition.

The female was active for a long period after oviposition.

② Relationship between fertilization ratios and numbers of males

The fertilization ratios decreased as the number of participating males increased



③ Paternity analysis

The paternity analysis using DNA markers was possible but not perfect because males did not have different alleles, which are needed for discrimination.

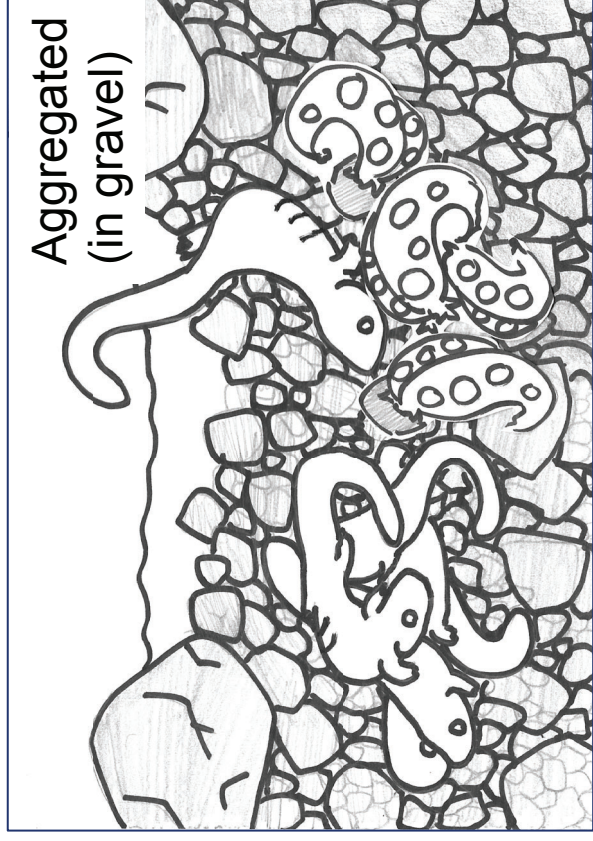
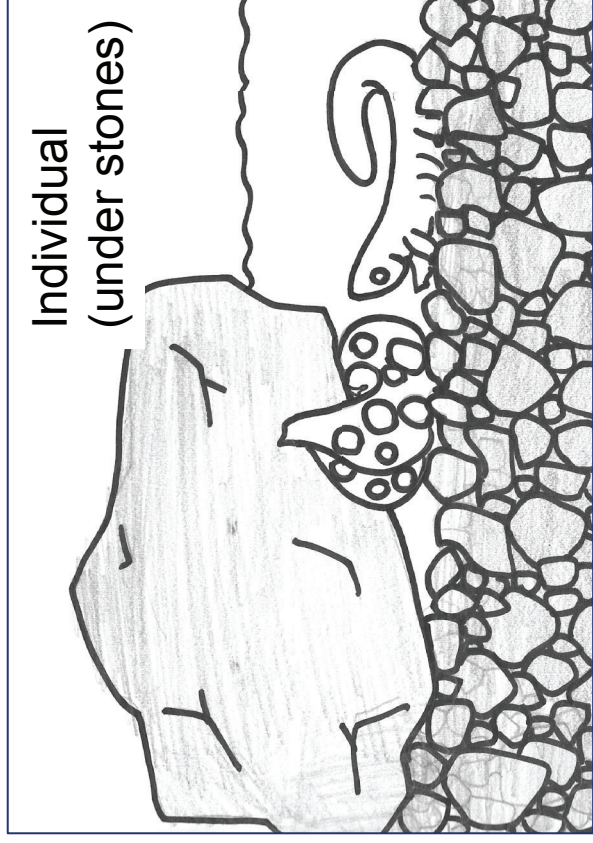
④observation in nature

The first time for anyone to discover the aggregation of egg sacs and mature adults within a gravel riverbed !



New finding

There are **two types of mating and oviposition** in this species.



My findings raises three new questions:

- 1) what surroundings cause the change between these two oviposition types?
- 2) how does the behavior differ between the two types?
- 3) what are the reasons why there are two types of mating and oviposition?

These will help the conservation and understanding of other threatened salamander species as well.



So, I will continue my research on salamanders observing them in both water tanks and in nature.

2019アントロポス



SEKIシンポジウム

鶯谷高校 岐阜高校

関高校 武義高校

高校生が語る自然とヒトの共生

アユ サンショウウオ 地産地消 プラスチックごみ 熱帯雨林

高校生による研究発表 13:00 ~ 15:25

関高校 「SEKI米粉倶楽部の活動」 岐阜高校 「アユの生態と冷水病」
武義高校・関高校 「長良川中流域及び支流のプラスチックごみ」
岐阜高校 「ヤマトサンショウウオの生態と保全」 鶯谷高校 「ヒダサンショウウオの生態と保全」
関高校 「熱帯雨林とフェアトレード」

討 論 「自然とヒトの共生 ～様々な事例から考える～」 15:35 ~ 16:00

各校代表生徒 小森志保氏（岐阜県農政部） 竹ノ下祐二氏（中部学院大学）
野田岳仁氏（法政大学） 谷口義則氏（名城大学） 水野友有氏（中部学院大学）

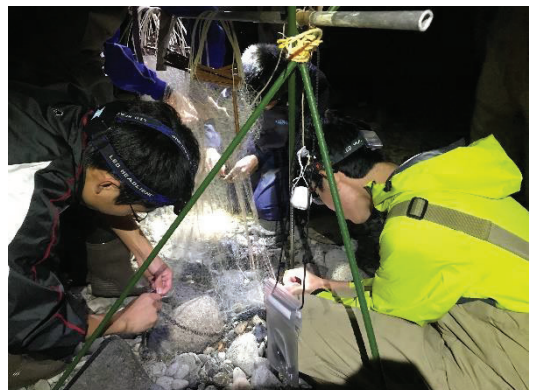
日 時： 2019年12月15日（日） 13:00 ~ 16:00

会 場： 岐阜県立関高等学校 彩雲館2F 会議室

どなたでも無料で参加できます（先着40名）。お名前・所属・連絡
先を記入の上、メールもしくはファックスでお申し込みください。

申込先 岐阜県立関高等学校研究推進部 林 直樹

電話&FAX： 0575-23-3919 Mail：p22075@gifu-net.ed.jp



参考資料 7

森フェスinやまがた2019（2019年5月12日、岐阜県山県市四国山香りの森公園）
「森の高校生'sステージ『ナッショナルくん、四季のいきものに会おう』」

森フェスIN山県2019

5月12日（日）10:00～15:00
四国山香りの森公園（山県市大桑726-1）
参加費500円（受付 香りドーム）

キッズスタジオ（家づくり体験）・木育&木工体験
森のおさんぽ・ウォークラリー・里山の食etc.

※安全管理上、1家族に最低1人以上の保護者様の来場をお願いいたします。（お子様のみでの来場はご遠慮ください。）
※雨天の場合は中止となる場合があります。

主催：森フェスIN山県実行委員会（事務局 NPO法人山県楽しいプロジェクト）
問い合わせ先
TEL：090-4862-3061（田村 未村）
MAIL：info@yamagata-tanopuro.org
FBページ：https://www.facebook.com/morifes.g.yamagata/

後援：岐阜県 山県市 岐阜県教育委員会 山県市教育委員会
岐阜新聞・岐阜放送

【緑と水の森林ファンド事業】

会場MAP

1	ウォークラリー受付（小学生以上） 里山アドベンチャークラブ	13	レーザーレールの体験 コウケン
2	環境保全 NPO法人四国山を守る会	14	お家の模型作り (株) 山口設計
3	森のおさんぽ受付（幼児親子） NPO法人山県楽しいプロジェクト	15	配線作業体験 (株) アラフカ電業
4	おが粉粘土あそび（乳幼児親子） おしろ	16	配管作業体験 三和住宅設備（株）
5	杉とんぼ作り（小学生以上） アトリエマムリン	17	壁塗り体験 園田上建設・(株) 藤田建設
6	子育て情報 山県市	18	トタン張り体験 山形建設
7	完成予想図スケッチ 四季の森工房	19	重機の体験 長野建設
8	木のコースター作り 四季の森工房	20	ポップコーン・わたし YACC
9	ブックエンド作り 松下木工	21	郷土料理 観光の森実行委員会
10	フロアタイルバズル 山口美術	22	ハヤシライス 久能
11	ミニ景製作 濃徳製菓	23	水のおもちやであそぼう NPO法人おさんぽファミリー
12	ペン画作り 基本道具製作所	24	12:15～12:45（30分）「森の高校生's」ステージ 「ナッショナルくん、四季のいきものに会おう」

受付で参加費500円を払ってスタンプカードをもらってね。体験したブースでスタンプがもらえるよ（子どものみ）

※23 水のおもちやであそぼう（異年齢対象）の会場は香り会館内の森スタジオです
※雨天の場合は中止となります

