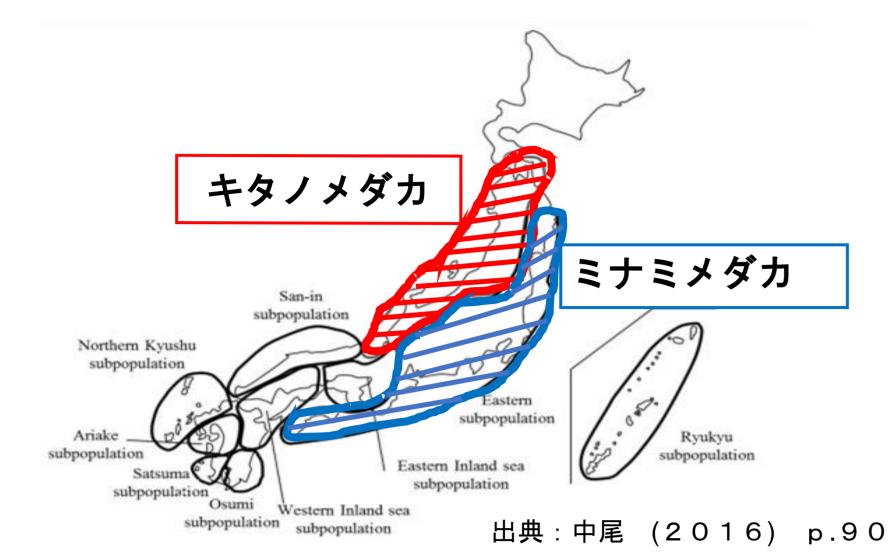


山形県南部におけるキタノメダカ (Oryzias sakaizumii) と ミナミメダカ(Oryzias latipes)の生息域調査および分布マップ作成

山形県立米沢興譲館高等学校 2年 安齋穂乃花 硯里陽介

2020年に作成された環境省レッドリストには3716種が登録され ており、1991年に初めて発表された際の224種と比べると約30年 でおよそ3500種増加している。キタノメダカもその一種であり、絶滅 危惧Ⅱ類に指定されている。我々は2005年に作成された山形県のキタ ノメダカの生息域マップをアップデートすること、作成されていない山形 県南部のマップを作成することを目的に研究を始めた。また、キタノメダ カは近縁種であるミナミメダカとの交雑が原因で純系が失われつつある。 それらを踏まえ、ミナミメダカの生息域も同様に調査を行うこととした。

現状



現在、人による生態系の破壊が問題となっている。メダカに関しては、 ペットのメダカの放流が大きな問題となっており、もともとの種の分布が 変化する要因となっている可能性がある。2016年の研究では山形県にはミ ナミメダカは生息していないが南陽市で遺伝的攪乱の起きているヒメダカ が発見された。ペットとして飼育されているメダカの多くはミナミメダカ 系であり、ヒメダカのその一種である。私達はこのような現状から山形県 のメダカの分布が変化していると考えた。

本校の先行研究

- キタノメダカ・ミナミメダカのプライマーの有用性を確認
- 山形県南陽市を中心に調査
- 4地点でキタノメダカ、2地点でミナミメダカの生息を確認



仮説

人との距離が近い市街地を流れる川ではミナミメダカの生息が確認さ れ、比較的人の手が入りにくい川の上流などではキタノメダカの生息が 確認されるのではないかと考えた。

実験方法

また、我々が研究対象とするキタノメダカは個体数が非常に少ない。 そのため、個体を採取することは極めて困難である。また、生体の直接 の捕獲は環境への影響が懸念される。そこで、我々は環境DNAを用いて 生息域調査を行った。実験方法は以下の通りである。

河川からの 採水

ろ過

核酸の 抽出

PCR

電気泳動

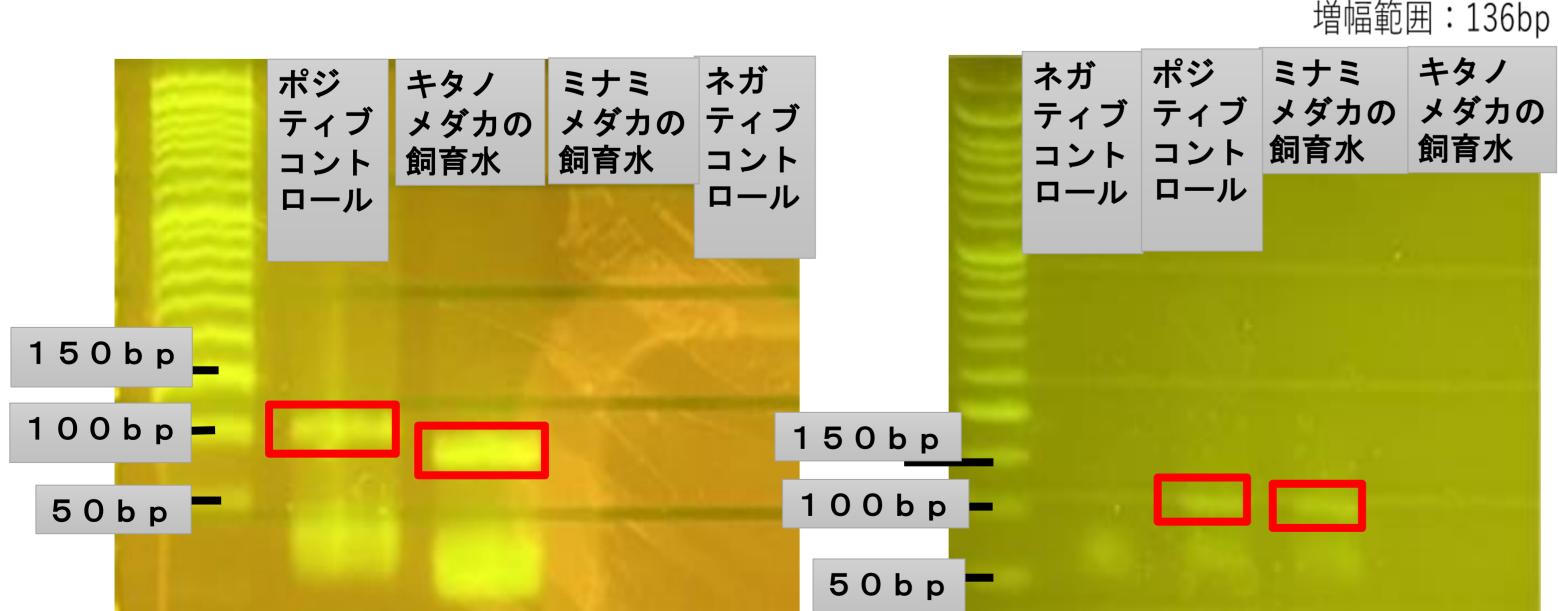
プライマーの有用性の確認 予備実験

プライマーの有用性を確認 するために、右記のプライマ

ミナミメダカーF TCTTTACTATAATCCTGGCAGTCCTTATC ミナミメダカーR CTGCTGCTAACTCTTTTTGTTGTTC

增幅範囲:108bp

一を用いて予備実験を行った。 キタノメダカーF ATCTTCAAGTAGAGGTGACAGACCA キタノメダカーR AACTCTCTTGATTTCTAGTCATTTGTGTC



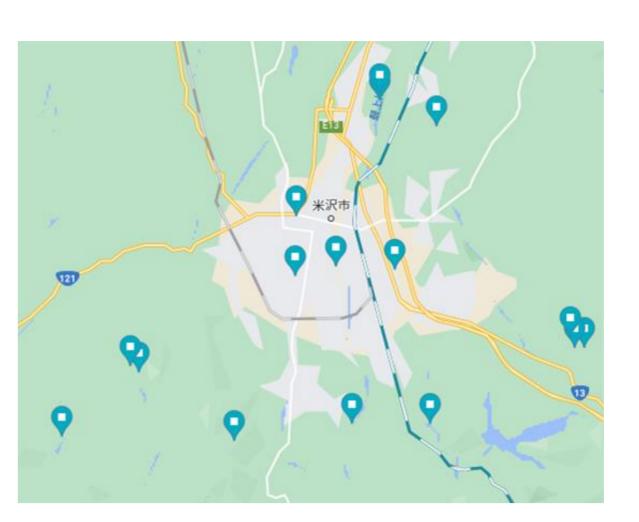
キタノメダカのプライマー

ミナミメダカのプライマー

キタノメダカについては、ポジティブコントロールと試料1にのみ 100bp付近にバンドが確認された。ミナミメダカについて同様に100bp 付近にバンドが確認された。

実験生息域の調査

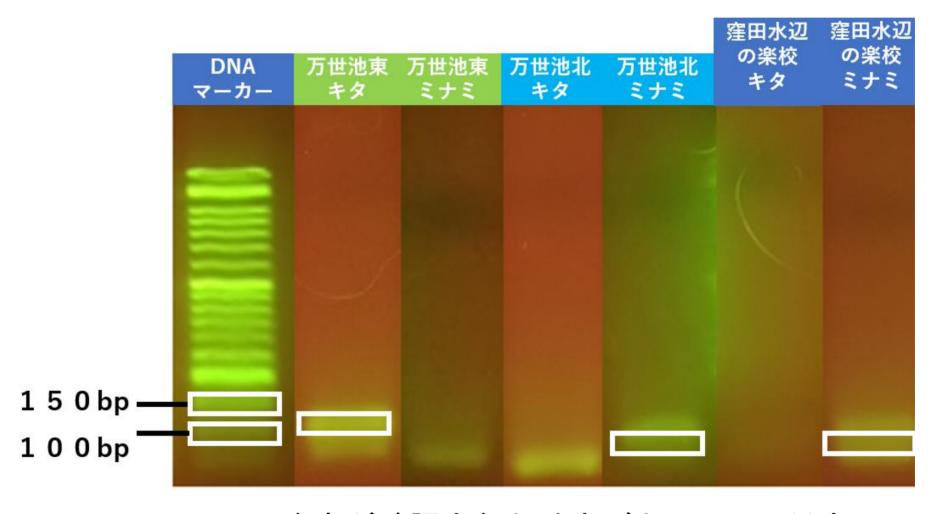
先行研究で両メダカの生息域が調査されておらず、本校所在地で身近な都 市である米沢市で採水を行った。



米沢周辺の採水場所 仮説を基に16地点で採水を行った



赤、青以外の色のピンの地点はどちらのメダカの バンドも確認されなかった。



生息が確認された地点ごとの DNA 断片

<u>結果</u>

- 米沢で両メダカの生息を確認することができた。
- 最上川でミナミメダカの生息を確認(窪田水辺の楽校)
- 500m程度しか離れていない2地点で両メダカの生息を確認(万世池北 万世池東)

<u>考察</u>

・ 窪田水辺の楽校

• 市街地付近の最上川でミナミメダカを確認



仮説通りの結果が出ている

- 最上川の下流である
- 人の手が入りやすい立地

その場でメダカが放流され定着した可能性 上流から環境DNAが流れてきた可能性

• 万世池北 • 万世池東

- 2地点が500m程度しか離れておらず環境が類似している
- 2地点ではそれぞれ違う種のメダカの生息を確認
- 互いに接続はない

外部の影響でメダカの生息域が変化した可能性

両方の池で同じ

種のメダカが生息

万世池北にミナミメダカ 系のメダカを放流



2地点で異なる種 のメダカが生息

<u>展望</u>

- 米沢市で初めて両メダカの生息域調査を行うことができた
- 米沢市で両メダカの生息域マップを新規作成することができた



- 生息域をより詳しく調査する(最上川等)
- この研究を通してキタノメダカの現状を把握し、現状に沿った対策で キタノメダカの保全につなげていきたい
- 例)・メダカの生息している池や川にその旨を伝える看板を立てる
 - 地図などの視覚的情報を用いてメダカの保全や環境問題を伝える
 - 体験的にキタノメダカの保全を呼びかける

山形県内水面水産研究所 荒木康夫様 鈴木悠斗様 アクアマリンいなわしろカワセミ水族館 平澤様 永山様 石井様 南陽市教育委員会社会教育課 研究へのご協力、情報提供をいただきました。この場を借りて御礼申し上げます。

・環境DNA学会(2020)環境DNA調査・実験マニュアルVer2.2. ・山形県内水面水産研究所,09白竜湖調査報告書(第6章) 荒俣宏 (1989). 世界大博物図鑑 魚類 平凡社 ・長塚進吉 (1994). 動物たちの地球 魚類 朝日新聞社・河府和義・青柳一彦 (2010)。目的別に選べるPCR実験プロトコール:失敗しないための実験操作と条件設定のコツ 羊土社 - Satsuki Tsuji&Yuka Iguchi&Naoki Shibata&Iori Teramura&Tadao Kitagawa&Hiroki Yamanaka (2018). Real-time multiplex PCR for simultaneous detection of multiple species from environmental DNA: an application on two Japanese medaka species, Scientific Reports, 8 ・中尾遼平 (2016)全国のメダカ種群におけるヒメダカによる遺伝的撹乱に関する研究 近畿大学