

会津メダカから見る遺伝的攪乱

－ ご当地メダカを守れ －



実施担当者 福島県立葵高等学校
教諭 矢澤 敦

1 研究背景

今日「生態系の保全」は世界全体における僅々の課題である。学校の現場でも中学3年の理科、高等学校の生物基礎の最終章に多くのページを充てて、この内容を取り上げている。その中心に存在するのが「生物多様性」と「持続可能性（サステナビリティ）」である。

我々人間のグローバル化した社会活動は、攪乱の大きな要因となっている。そしてそれは生物多様性を損なう原因となり、貴重な遺伝子資源が失われる状況が大きな問題となっているのである。そこで我々は、地元である福島県会津地域に生息するメダカ（会津メダカ）を対象として、野生生物の遺伝的攪乱の実態を調査することを考えた。

メダカは、水田や溜め池を棲み処として日本・朝鮮半島・中国と東南アジア諸島に分布する淡水魚である。日本に生息するメダカは、会津を含む東北から北陸の日本海側に生息するキタノメダカ(学名：*Oryzias sakaizumii*)と太平洋側と中国地方の日本海側以西に広く生息するミナミメダカ(学名：*Oryzias latipes*)の2種が存在し、形態的な分類が可能である。これらはかつて日本中いたるところに生息する生物だった。しかし、1950年代以降の農業近代化に伴い多量の農薬散布や用水路整備などによる里山環境の崩壊によって生息環境を失い、1999年には環境省のレッドリストにおいて絶滅危惧Ⅱ類に指定されるほど数を減らしている。

さらに近年は、「遺伝的攪乱の進行」が新たな問題となっている。これは本来自然状態では交雑し得ない遠隔地の固有種や亜種が、人為的な要因で交雑して固有の遺伝的純系が失われる現象のことである。(Fig.1)

我々は野生メダカが地域ごとに遺伝的な差異を持つことから、会津地域固有の野生メダカである「会津メダカ」を通して、野生動物における遺伝的攪乱の現状を調査した。この検証の大きな根拠となるものが、PCR-RFLP解析法に基づく系統分類である。これは形態のみでは困難な亜種同定に関して、遺伝子解析によりキタノメダカ20タイプ、ミナミメダカ44タイプの合計64タイプを同定する手法である。

(Takehanaら,2003) ただし、これは日本各地の主な地点をピンポイントで調査して、野生種の亜種を分子系統分類したものであり、各々の地域について詳しく調べ上げたものではない。既に確立した信頼性のある手法を使用して、形態による識別では判別のつかない攪乱を遺伝子レベルで調査する点がこの研究における新規性である。この調査が日本全域に広がり、皆で環境問題を共有する機会にしたいと考えた。



Fig.1 遺伝的攪乱

2 仮説及び検証

2-1 仮説

メダカの放流は、絶滅危惧Ⅱ類に指定された1999年以降、環境の回復を目的として全国的に実施された。しかし、当時は遺伝的攪乱を考慮すること無く実施した可能性が高い。会津地域でも同様の事例があることから、他地域のメダカとの交雑が懸念される。また、流通量の増加している改良メダカが河川や池に放流される可能性も高まると考え、「会津メダカは他地域のメダカとの交雑により遺伝的攪乱が進行している」と仮説を立てその検証を実施した。

2-2 検証

検証方法

(1)メダカの採取：野生メダカは、会津地域全域を探索して採取した。対象が絶滅危惧種であることを考慮して、採取数は7個体とした。また、改良メダカをペットショップで購入して、参考として使用した。



Fig.2 DNA の抽出・精製

(2)解析手順：①メダカの総 DNA 抽出には、コンタミネーションの可能性が低いメダカの尾びれを使用した。組織を採取した後、液体窒素で凍結粉碎し、試薬により抽出と精製を行った。(Fig.2)

② PCR 法による遺伝子の増幅により、抽出した DNA からメダカの亜種同定に必要となるミトコンドリア DNA のシトクロム b 遺伝子領域(cytb)を増幅して調査に使用した。

③ RFLP 解析法により得られたバンドパターンから個体差を検出した。先の操作で得た PCR 産物を、4 種類の制限酵素(HaeIII・MboI・MspI・RsaI)で各々切断しその泳動パターンにより種・亜種の同定を行なった。

結果

(1) 採取結果：調査対象が絶滅危惧Ⅱ類であることから、採取は各自治体もしくは土地所有者からの許可を得て実施した。さらに自然保護の観点から、各調査地からの採取数は7個体とした。会津地域全域を対象に41カ所を探索して、17カ所から、合計112個体を採取した。(Fig.3)採取できなかった探索地を赤点、採取できた探索地については数字で示す。



Fig.3 メダカの採取地

(2) 解析結果 a.解析の全容：各採取地において5個体を解析した。4種の制限酵素で切断した試料からは、それぞれ特異なバンドパターンを確認することができた。解析結果として、試料は4グループに分類できた。(Table1)表中のタイプにおけるAはキタノメダカ Bはミナミメダカを示す記号である。

(2)-b 採取地ごとの解析結果：採取地17カ所中15カ所において、同一のバンドパターンが確認できた。その中で13カ所がA1タイプであった。このタイプはキタノメダカの生息域中で最も広範囲に分布する亜種である。しかし、行動範囲が大きくはないメダカにおいて、同定の基準がシトクロム b 遺伝子領域のみであることから、今回確認したA1タイプ個体は全て会津メダカとした。

これに対し会津若松市7では、会津地域でのみ生息が確認される個体群(A19 タイプ)のみの生息が確認できた。また、会津若松市4では、静岡県在来のミナミメダカ亜種の個体群(B18 タイプ)が確認でき、会津に外来メダカが侵入している事実が判明した。

残りの2カ所では亜種の混在が確認できた。会津若松市6ではA1とA8、会津坂下町ではA1とA19の2種類が混在している事実が確認できた。尚このA8タイプは会津地域でのみ生息が確認できる亜種2タイプのもう一方である。

3 考察及び結論

3-1 考察

(1)メダカの採取活動について：4年前に会津若松市内を対象に実施した予備調査と比較して、今回の調査では捕獲の効率が高まった。これは、各市町村の環境課の皆様や小学校の先生からの情報提供による部分と捕獲技術の向上の相乗効果によるものである。

(2)メダカ分布の概要について：今回の調査における採取地17カ所中15カ所において、個体群は単一の亜種で構成されていた。これに対し、2カ所では複数の亜種が確認され、遺伝的攪乱が懸念される。早急な保護が必要である。

(3)他地域のメダカの侵入について：会津若松市4の個体群は、B18タイプのミナミメダカであり、これは静岡県在来の亜種である。この地には漁業協同組合が管理するアユやイワナの大きな生簀が複数存在する。毎年阿賀川に放流するために持ち込まれたこれらの魚と共に、人為的な要因により侵入したものと考えられる。(Fig.3) また、試料全てが同一のバンドパターンであることから、B18タイプの個体群として生息しており、近隣の調査地では確認できないため現時点でこの地域で遺伝的攪乱は進行していないと考えられる。

(4)会津地域南部のメダカ分布について：会津南部は山間地域である。ここでは17カ所探索を実施して、昭和村および南会津町の2カ所でのみメダカの生息を確認した。(Fig.3) しかし、採取と同時に現地で行った聞き取り調査で、これらが移殖によるものであることが判明した。本来メダカは流れの速い環境での生息や移動が困難であるため、これらの地域には野生メダカが進出できなかったと考える。

(5) 会津メダカの亜種分布について：多くの調査地でA1タイプが確認できた。これに対し、会津若松市6でA8タイプ、会津若松市7および会津坂下町でA19タイプが確認できた。(Fig.3) (Table1) これらは全国でも会津地域にのみ生息が確認される系統である。考察(2)で述べた通り、今回A8タイプ個体群が単独の生息地は発見できなかった。より強い保護と保全の取り組みが必要と考える。

(6) 遺伝的攪乱の進行について：他地域由来のメダカに関しては、今回確認された会津若松市4の個体群以外に、4年前に市内の一部で実施した予備調査において、会津若松市8からB11タイプの個体が複数発見されている。(Fig.4) これは岩手県から和歌山県の太平洋側に広く分布する亜種個体群である。今回の調査では確認できなかったが、現在も生息していれば、近接する個体群への攪乱が懸念される。また、近年改良メダカの流通量が飛躍的に増大しており、その拡散が懸念される。参考に解析した改良メダカは、B31タイプのミナミメダカだった。ペットショップなどで購入が容易であるため、放流に対する注意喚起は重要と考える。

Table1 採取地ごとの遺伝子タイプ

| 採取地 | 制限酵素処理パターン | | | | タイプ | |
|----------------|------------|-------|-------|-------|-----|--------|
| | HaeIII | Mbo I | Msp I | Rsa I | | |
| 会津若松市 ①②③⑤⑥ | | | | | A1 | 会津メダカ① |
| 磐梯町①② | | | | | | |
| 北塩原村 | | | | | | |
| 会津坂下町 | A | A | A | A | | |
| 喜多方市①② | | | | | | |
| 西会津町 | | | | | | |
| 会津美里町 | | | | | | |
| 昭和村南会津町 | | | | | | |
| 会津若松市⑥ | B | A | B | A | A8 | 会津メダカ② |
| 会津若松市⑦ | H | A | A | A | A19 | 会津メダカ③ |
| 会津坂下町 | | | | | | |
| 会津若松市④ | M | F | E | E | B18 | 外来種 |
| 改良メダカ (PS.) | P | F | D | B | B31 | |



Fig.4 遺伝的攪乱の進行

3-2 結論

以上の事から、我々は「福島県会津地域において、現時点で他地域メダカとの遺伝的攪乱の状況は確認できない。しかし、その危険性は確実に増大している。」と結論づけた。

3-3 今後の展望

- ・環境DNAによる調査を実施して、今回の調査地である41か所について生息の有無を確認する
- ・メダカの亜種情報を各市町村の関係機関に提供し、固有の遺伝子保全に活用していただく
- ・定期的に調査を実施して、会津地域における遺伝的攪乱の動向を確認する

4 まとめ

先の国連会議でも話題になった通り、人間活動に伴う環境変動への対応は喫緊の課題である。「生物多様性」や「持続可能性」等、我々はかけがいのない自然とのつきあいかたを改めて考える必要がある。絶滅危惧種の分布調査として始めた今回の調査を通して、会津におけるメダカ亜種の分布状況が初めて明らかになった。この活動は私にとって生態系保全の重要性を強く考えるきっかけとなった。巷では、未曾有のメダカブーム（改良メダカ）が起きている。今後さらに遺伝的攪乱の懸念がさらに増大する可能性が高い。したがって今後も調査を定期的実施して、会津における遺伝的攪乱の動向を確認することが重要である。今回の活動成果は、様々な学会や発表会・論文で公開した。これらを通して自ら継続するとともにこの研究活動を全国に広めていきたい。

学習指導要領の改訂により、遺伝子をはじめとする分子生物学の内容が新たに加わった。しかし、実際に実験を行いながら理解を深める機会は、設備・予算などの都合からなかなか実現しないのが現状である。まずは設備を有する学校が核となり、部活動などの単位で地域共同で調査することを通して、より多くの生徒が触れることができると考えている。その意味で、今回フィールドとラボの両方を備えるこの研究を行う機会を与えていただき、財団には大変感謝している。

日本は「科学技術立国」である。そして、これを支える次世代の子供たちが育つことが大変重要である。貴財団の助成によって研究の機会を得た生徒たちが、今後も福島県会津の地で「挑戦する勇気」と「探究心」を高め、将来の日本を支えてくれるよう願っている。

謝 辞

本研究を実施するにあたり以下の方々にご指導、ご協力を受け賜りました。

- ・メダカの同定法に関して：元新潟大学理学部自然環境科学科環境生物学教授 酒泉満様
 - ・メダカの情報提供に関して：各市町村の環境課の皆様及び小学校の先生方
 - ・本研究の研究費助成に関して：公益財団法人中谷医工計測技術振興財団様
- この場をお借りして御礼申し上げます。

参考文献

- ・Takehana, Y., Nagai, N., Matsuda, M., Tsuchiya, K. and Sakaizumi, M. (2003) Geographic variation and diversity of the cytochrome *b* gene in Japanese wild populations of medaka, *Oryzias latipes*. *Zoolog Sci* 20 : 1279-1291.
- ・高山_渡部絵里子,辻徹,佐藤正則,土井寅治,八鍬拓司,佐々木隆行,渡部明彦,鬼武和夫(2006)山形県内に生息する野生メダカにおける種内分化の分子遺伝学的解析 *Bull of Yamagata Univ., Nat. Sci* 16 : 55-69.
- ・竹花佑介, 北川忠雄(2010) メダカ：人為的な放流による遺伝子攪乱, *魚類学雑誌* 57:76-79