

環境 DNA による大阪府の環境調査

－ 夜間定時制高校科学部の活動と環境 DNA 技術の教材化の試み －



実施担当者 大阪府立桜塚高等学校
定時制の過程
教諭 根岩 直希

1 はじめに

大阪府立桜塚高等学校は全日制の課程と定時制の課程が併置された学校である。本研究は、桜塚高等学校の夜間定時制課程の科学部に在籍する生徒が行ったものである。夜間定時制高校であるため、部活動はあまり盛んではなく、科学研究を行う部活動は長らく存在しなかった。しかし、科学に興味をもった数名の生徒が本校に入学し、平成 29 年度に科学部が創設された。発足したばかりの部活ではあるが、意欲的な部員達のおかげで、様々な活動に挑戦し、成果を出してきた。その一つが鳥類の有精卵を用いた発生過程観察方法の新規開発である。そして、今年度は新たな実験テーマとして環境 DNA を用いた地域の生物調査に挑戦した。

生物が生息する水中や土壌中には、その生物由来の DNA が存在している。そのような DNA は環境 DNA とよばれており、環境 DNA を採取・分析することで、特定の生物がそこに生息するかどうかを調査することができる。現在、日本では外来種の増加が大きな問題になっている。外来種の生息域を調査し、対策することは、生態系を守るうえで重要である。大阪府では、これまでに高校生が自宅周辺にどのような生物が生息しているのかを調査してきた。外来種であるアメリカザリガニもその 1 種である。今回の研究では、これまでの大阪府内におけるアメリカザリガニの生息域の調査結果をもとにして、環境 DNA を活用することで、より詳細なアメリカザリガニの生息域を調査することをめざした。

また、生徒が環境 DNA による調査を行うことで、身近な地域における外来生物の分布を明らかにすることは、生態系に対する理解を深めるとともに、生態系保全について考える契機になると考えられる。そのため、高等学校で環境 DNA を検出できる環境を整えた後、授業で環境 DNA による生物調査の実験を行い、環境 DNA による身近な生物調査が生徒の意識にどのような影響を与えるのかについても調査を行った。

2 実験について

2-1 調査対象生物

アメリカザリガニは、稲の苗を摂食・切断をして、農業に被害を与える外来生物である。生徒にとって身近な生物でもあるため、調査に適しており、本研究では、アメリカザリガニを調査対象生物とした（図1）。

大阪府では、大阪府高等学校生物教育研究会が「高校生による身の回りの生物を調査」を行っており、この30年間の大阪府内における様々な生物の分布を調査してきた。アメリカザリガニもその1種である。図2は2018年の大阪府内におけるアメリカザリガニの発見率分布図である。この分布図から、豊中市ではアメリカザリガニの発見率が比較的低いことがわかる。ただし、この分布図は発見率を示したものであるため、実際のアメリカザリガニの生息域とは異なる可能性がある。そのため、今回の研究では環境DNAを用いて、より正確なアメリカザリガニの生息域を調査することをめざした。



図1. 飼育中のアメリカザリガニ

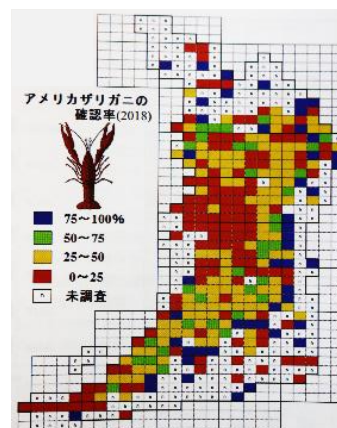


図2. アメリカザリガニの分布図

2-2 科学部による実験

環境DNAを検出する実験系を構築するため、アメリカザリガニの飼育水を用いて、実験を行った。アメリカザリガニの飼育水1ℓを用意し、ろ過した。そのろ紙から環境DNAを抽出した。環境DNAの抽出には、「DNeasy Blood & Tissue Kit」を用いた。抽出したDNAを用いてPCRを行った。使用したプライマーはCOI遺伝子領域（約100塩基対）を増幅するものであり、プライマーデータは、兵庫県立大学の土居秀幸准教授から譲渡していただいた。PCR試薬には、「TaqMan™ Environmental Master Mix 2.0」を利用し、サーマルサイクラーは「miniPCR」を用いた。PCR産物をアガロースゲル電気泳動にかけて、環境DNAを検出できたことを確認した。豊中市におけるアメリカザリガニの生息域を調査するために、市内の池から1ℓの水を採取し（図3）、環境DNAの検出実験を行った（図4）。



図3. 採水の様子

アメリカザリガニの飼育水をポジティブコントロール、水道水をネガティブコントロールとして実験を行った。電気泳動の結果をみると、ポジティブコントロールと池の水のサンプルで DNA のバンドを確認することができた。その結果から、今回採水した豊中市の池にはアメリカザリガニが生息することがわかった。



図4. 実験の様子

2-3 授業実践

2019年の12月に、生物基礎受講者を対象として授業実践を行った。第1回目の授業で実験の概要と意義を説明し、第2回目の授業までの間に、各班の代表生徒1名が自宅付近の池から1ℓの水を採取してきた。第2回目の授業でPCRを行い、第3回目の授業で電気泳動、第4回目の授業で結果の観察を行った。また、この実験により生徒の意識がどのように変容したのかを調査するため、実験前と実験後にアンケート調査を実施した。アンケートでは、「生態系を守ることは大切だと思いますか?」という質問を実験の前後に行い、「生態系について考える機会になりましたか?」という質問を実験後に行った。

実験の結果、調査した3地点のうち、2地点でアメリカザリガニが生息するという結果が得られた。アンケート調査の結果、「生態系を守ることは大切であるか?」という質問に対して、実験前は15%の生徒が否定的な回答を示したが、実験後は100%の生徒が肯定的な回答を示した。「生態系について考えるきっかけになりましたか?」という質問に対しては90%以上の生徒が肯定的に回答した(図5)。この結果は、生徒達が、自分たちの身近な地域に外来生物が定着しているという事実を実験によって再認識したことによる意識の変容であると考えられる。

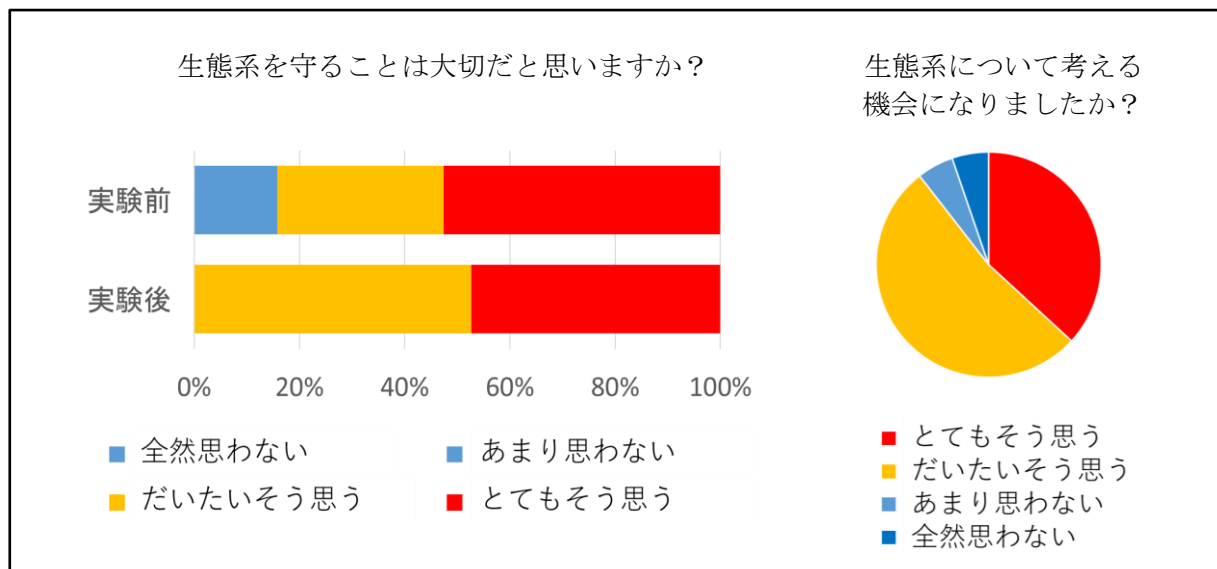


図5. アンケート調査の結果

3 まとめ

今回、調査した3地点のうち、2地点でアメリカザリガニが生息しているという結果が得られた。大阪府高等学校生物教育研究会の「高校生による身近な生物調査」では、豊中市でアメリカザリガニの発見率は低いという結果であったが、今回の調査では、調査地点の60%以上でアメリカザリガニが生息しているという結果であった。これまでの生物調査では、目視による観察調査等が主流であったが、この方法では生息しているはずの生物を見落とすという可能性が存在した。しかし、本研究で用いた環境DNAによる調査は、そのような生物を見落とす可能性が低い。本研究においても、これまで見落とされてきたアメリカザリガニの生息地を発見できたと考えられる。

また、授業実践の結果から、生徒達が環境DNAを分析することで、身近な外来生物の分布状況を調べることは、生徒の生態系に対する理解や興味関心を高めることができるとわかった。

謝 辞

中谷財団様のご支援を頂くことで本実践を行うにあたって必要となる実験器具を揃えることができました。大阪府の高等学校定時制の課程では生徒数が減少傾向にあり、それに伴い予算も縮小している状況にあります。しかし、在籍する生徒は非常に多様であるため、生徒達がもつ可能性を引き出すために様々な工夫が必要となります。また、私は高等学校定時制の課程の理科教諭として、より多くの生徒が理解を深め、興味関心を高めることができるような授業を行いたいと考えておりました。そのような中で、中谷財団様の科学教育振興助成を受けて、今回の成果を出すことができ大変嬉しく思っています。心より感謝申し上げます。

また、本実践を行うにあたってご助言と試料を提供して頂いた、神戸大学の源利文准教授と兵庫県立大学の土居秀幸准教授に厚くお礼申し上げます。

参考文献

大阪府高等学校生物教育研究会 (2019) 『生物からみた大阪7 –高校生による環境調査–』.