環境DNA分析を用いた富山県氷見市万尾川水系におけるタナゴ類の生息状況調査
～本来いないはずのニッポンバラタナゴの謎を追う～

学校法人大阪学園　大阪高等学校　科学探究部

1. 研究背景

富山県氷見市
富山大学理学部・氷見市
連携研究室（ひみラボ）を拠点

当時、富山県氷見市で環境DNA分析を利用した生物相の網羅的調査は未実施

2020年3月
富山大学
山崎裕治准教授との
共同研究（高大接続活動）

2020年 3月、5月、6月、9月、10月
仏生寺川・万尾川水系で
環境DNA分析を利用した魚類
（絶滅危惧種等）の網羅的調査を実施

万尾川からDNA塩基配列一致率100%
タイリクバラタナゴ（環境省：重点対策外来種）
ゲンゴロウブナ（国内外来種、環境省レッドリスト：絶滅危惧ⅠB類）、
本来いないはずのニッポンバラタナゴ（環境省レッドリスト：絶滅危惧ⅠA類）を検出
＊以下、ニッポンバラタナゴをニチバラ、タイリクバラタナゴをタイバラと表記

1

ニチバラの分布は、近畿地方以西で確認されている
地元大阪府内でも以前は淀川に生息していたようだ

しかし
ほぼ絶滅したと言われている

現在は大阪府八尾市のため池に生息している

なぜ富山県氷見市万尾川で、ニチバラが検出されたのか、次の❶～❸の仮説を立てた

2

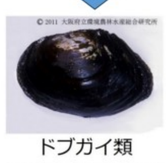
仮説❶
『二枚貝類の移動によるニチバラの移動説』

田んぼと繋がる用水路から
河川に流れたという可能性がある。

田んぼの中に移入

用水路や
田んぼ用の泥

ドブガイ類等の淡水産
の二枚貝に産卵



ドブガイ類

出典：大阪府立環境農林水産総合研究所

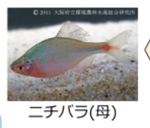
3

仮説❷
『ニチバラとタイバラの交雑説』

ニチバラ(母)とタイバラ(父)の子の
mDNAは、母系由来のDNAを引き継ぐ

環境DNA分析（例えば、魚類を網羅的に分析する
MiFishプライマー[対象領域12SrRNA]）では、
交雑した場合、母系由来の12SrRNA領域を子が引き継ぐ

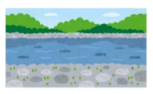
外見がタイバラでもニチバラのDNAだと
検出される可能性（誤同定）がある



ニチバラ(母)

交雑

タイバラ(父)



出典：大阪府立環境農林水産総合研究所

事実、西尾ら（2020）によると、タイバラとヤリタナゴの交雑個体群が万尾川水系で捕獲したことを報告。
また、MiFishプライマーの誤同定について、種によっては判定に注意をする必要があると注意喚起されている。

4

仮説❸
『釣りを目的とした放流による交雑個体群の移動説』

石川県小松市の報告書より
本来いないはずのニチバラが環境DNA分析で検出

「釣りを目的としたゲンゴロウブナ（ヘラブナ）が放流されていたが、ゲンゴロウブナは琵琶湖・淀川水系では固有の種であるため、ゲンゴロウブナとともにニチバラが放流された可能性は否定できず、そのためニチバラ、又はニチバラとタイバラの交雑個体群が生息している可能性がある。」

5

・ゲンゴロウブナを個人で放流した可能性もある
・富山県南砺市の赤祖父ため池ではヘラブナが釣り目的で放流されている

富山県氷見市内の河川でも
ゲンゴロウブナ(ヘラブナ)を
放流した場合

石川県小松市と同様
ニチバラ、又はニチバラとタイバラの交雑個体群
混在し放流された可能性
何らかの形で万尾川に移入された可能性がある。

2021年7月～2022年2月の間 → 実験環境（種特異的調査）を整備 → 2022年3月16日～18日 → ひみラボを拠点に、第一次タナゴ類生息状況調査（初合宿）

タイバラの捕獲は成功！！種特異的調査は失敗！！

個々の実験姿勢や意識の差が課題

6

2. 研究目的

本研究では、これまでの先行研究に引続き、富山大学
山崎准教授との共同研究（高大接続活動）を通じて、

万尾川水系で生息確認されている希少なタナゴ類
（イタセンパラ、ヤリタナゴ）を守るために、種特異的環境DNA手法
を利用してタイバラの生息状況を把握し、希少在来種の保全に貢献

＋ この２つを目的とする

本来いないはずのニチバラの検証

図1　調査域

富山県氷見市内の万尾川に生息するタナゴ類等の
魚類の多くは、春頃（3月～5月）から産卵・孵化し始める。

その時期に合わせて、富山大学山崎 准教授にタナゴ類が
生息する河川水の採水やタナゴ類等の捕獲を依頼しながら、

環境DNA分析にかかる河川水のろ過やDNA抽出については本校で行い、これまでと同様に、
一般社団法人環境DNA学会が公開する標準版「環境DNA調査・実験マニュアル（ver. 2.2）」に基づいて行った。

7

3. 実験方法及び実験結果

種特異的調査（PCR法及び電気泳動法）

ニチバラの識別プライマー　塩基対　348 bp　　Cytb領域
　プライマーF：5'-ACC CTA TAT AGG AGA CAC CC-3'
　プライマーR：5'-CTT AAT GTG TGG CGG GGT A-3'
タイバラの識別プライマー　塩基対　193 bp
　プライマーF：5'-GGT TTA TTT CTG GCT ATG CAC-3'
　プライマーR：5'-GTT TCC TTA TAT AAA TAG GAC CCA-3 '

ニチバラ及びタイバラの識別プライマー
フォワード（以下、Fと表記）及びリバース
（以下、Rと表記）に必要な種特異的なDNA配列情報は、Umemura et al.（2020）を参考にし、DNA合成（合成スケール：OLIGO KIDS、精製方法：簡易カラム精製）を北海道システム・サイエンス（株）に委託。

＊以下、ポジティブコントロールをポジコン、ネガティブコントロールをネガコンと表記

8

＜第一検証＞

図3
ニチバラ及びタイバラの体表及び鰭の電気泳動結果

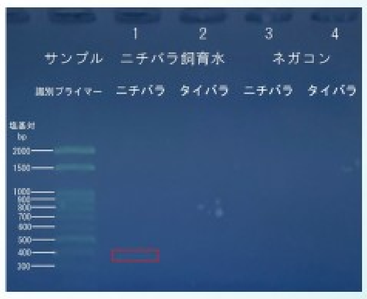


図4
ニチバラの飼育水の電気泳動結果

ニチバラ及びタイバラの識別プライマーが正常に機能することを確認！

9

＜第二検証＞

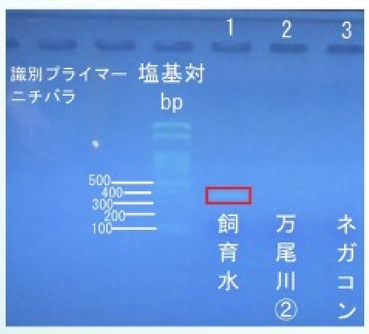


図6　万尾川②の電気泳動法結果

万尾川②からニチバラ及びタイバラの種特異的増幅産物は、未確認！

10

網羅的調査

万尾川（2022年5月～7月）から抽出したDNAサンプルを（株）生物技研に発送 → 環境DNA網羅的解析を委託 → 我々もDNA分析から得られたDNA塩基配列を、公共DNAデータベース（NCBI等）を用いて魚種の同定

万尾川①	ウキゴリ属の一種	オイカワ	カワムツ	メダカ属の一種	ギンブナ	クロヨシノボリ
	コイ	タイリクバラタナゴ	タモロコ	モツゴ		

万尾川②	イタセンパラ	ウキゴリ	ウキゴリ属の一種	オイカワ	カワムツ	メダカ属の一種
	ギンブナ	クロヨシノボリ	ゲンゴロウブナ	コイ	ジュズカケハゼ	タイリクバラタナゴ
	タモロコ	ドジョウ	ナマズ	ニゴロブナ	ミナミメダカ	モツゴ

図7　環境DNA分析により検出されたDNA塩基配列一致率100%の魚種（2022年5月、6月及び7月）

2020年網羅的調査と同様に、万尾川①及び②からタイバラ、万尾川②からゲンゴロウブナを検出！

11

富山大学理学部・氷見市連携研究室（ひみラボ）での第二次タナゴ類生息状況調査

事前に図書やインターネットによる調べ学習で、万尾川にタイバラが移入された経路を調べると、、、

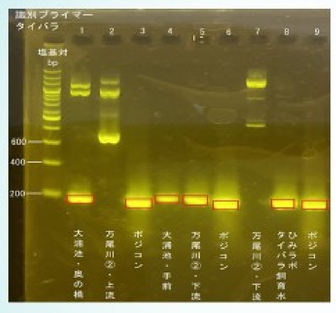
氷見市内の大浦池で
ヘラブナが放流されている
ネット記事を発見！！

2023年3月29日～31日の期間

図8　フィールドワークマップ

再度、氷見市へ出向き、
大浦池及び万尾川②をフィールドワーク
（採水及び捕獲）しながらタイバラの
生息状況調査、種特異的調査を行った

12



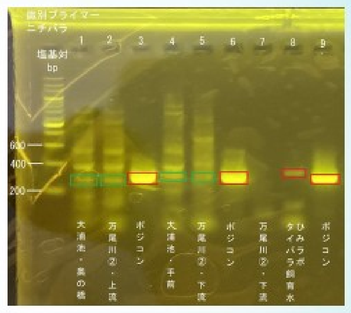


図10　大浦池（手前、奥の橋）、万尾川②（上流、下流）及びひみラボタイバラ飼育水の電気泳動の結果

・大浦池（手前、奥の橋）・万尾川②（下流）
・ひみラボのタイバラ・飼育水・ポジコン → タイバラの種特異的増幅産物を確認！

・ひみラボのタイバラ飼育水・ポジコン → ニチバラの種特異的増幅産物を確認！

薄っすらではあるが、
・大浦池（手前、奥の橋）・万尾川②（上流、下流） → ニチバラの種特異的増幅産物を確認！

従って

13

4. 考察・展望

実験結果から、、、

『大浦池でヘラブナを放流した際に、ニチバラ、又はニチバラの遺伝子を持つ個体が混在したものが仏生寺川に移入その後、万尾川②に移入された』

石川県小松市と同様の事象が起きているのではないだろうかと考えた。

仏生寺川から万尾川への移入ルートは、本研究では調査できなかった

引き続き検証していきたい

ひみラボでの種特異的調査
ニチバラ及びタイバラの
　種特異的増幅産物は確認
本校での種特異的調査
ニチバラ及びタイバラの
　種特異的増幅産物は未確認

実験精度の向上が課題

図11　大浦池から万尾川へ移入される
可能性のあるルート

14

5. 引用・参考文献

distinguishing among native, non-native and admixed individuals of rosy bitterling Rhodeus ocellatus subspecies. J. Fish. Biol(2020)., 96:1516-1522. ●北海道システム・サイエンス株式会社 ●株式会社ニッポン・ジーン（PCRプロトコル） ●国土地理院地図●山崎裕治・西尾正輝（2019）簡易的な環境DNA分析方法を用いた絶滅危惧種イタセンパラの検出、日本魚類学会魚類学雑誌、66巻2号、p.171-179 ●谷脇鉄平（2020）環境DNAを利用した仏生寺川・万尾川水系河川の生物相調査及び生物保全の実践活動、公益財団法人下中記念財団2020年報、p.28-37 ●環境省（2015）生態系被害防止外来種リスト ●環境省（2020）レッドリスト ●NPO法人ニッポンバラタナゴ高安研究会 ●宮正樹（2020）バケツ一杯の水で棲んでいる魚が丸ごとわかる技術：MiFishプライマーを用いた環境DNAメタバーコーディング法の最新情報、環境アセスメント学会誌、18巻2号、p.20-24 ●西尾正輝・川上僚介・川本朋慶・倉澤央（2020）富山県で初確認されたタイリクバラタナゴとヤリタナゴの交雑個体、富山県生物学会誌富山の生物、59巻、p.68-73 ●環境省自然環境局生物多様性センター（2020）MiFish法に係る誤同定チェックシート ●石川県小松市（2020）本場潟周辺自然環境調査報告書、本場潟自然環境調査検討委員会 ●ひみラボ水族館（2016）氷見の淡水魚類リスト ●富山県南砺市（2003）富山県南砺市赤祖父ため池、富山県農林水産部農村振興課 ●環境DNA調査・実験マニュアル（ver.2.2） ●環境DNA分析技術を用いた淡水魚類調査手法の手引き（二次的自然環境においてはじめて環境DNA分析を利用するみなさまへ第2版） ●採水地点（Yahoo地図） ●Yamanaka, H., Minamoto, T., Matsuura, J., Sakurai, S., Tsuji, S., Motozawa, H., Hongo, M., Sogo, Y., Kakimi, N., Teramura, I., Sugita, M., Baba, M., Kondo, A. A simple method for preserving environmental DNA in water samples at ambient temperature by addition of cationic surfactant. Limnology(2017)., 18:233-241. ●株式会社生物技研 ●NCBI(National Center for Biotechnology Information、国立生物工学情報センター） ●MitoFish(Mitochondrial Genome Database of Fish) ●富山県レッドリスト(2012) ●Umemura, K., Kurita, Y.,Onikura, N. Novel genotyping system for

6. 謝辞

本研究を遂行するにあたり、ご指導ご支援をいただいた富山大学学術研究部理学系の山崎裕治准教授、富山大学山崎研究室の学生さん、氷見市教育委員会の西尾正輝氏、NPO法人Bioクラブの川上僚介氏、八尾市きんたい廃校博物館、研究助成をいただいた（公財）下中記念財団、（公財）中谷医工計測技術振興財団、（公財）武田科学振興財団、（公財）日本環境教育機構、（公財）藤原ナチュラルヒストリー振興財団、（公財）河川財団、（一社）全国浄化槽団体連合会、並びに関係の方々に深く敬意と感謝の意を表する。