

## 第66回日本学生科学賞 最終審査進出研究作品概要

HB042CE	高校	生物	大阪府
学校名	大阪府立高津高等学校		
研究作品タイトル	ニッポンバラタナゴの保護に向けた環境DNA検出系の開発		
研究者氏名 (共同の場合はグループ)	津田 歩風、福井 達也		
指導教諭氏名	唐谷 ゆふ		

### 【動機】

今回の対象種であるニッポンバラタナゴは、絶滅危惧種IA類に指定されている。個体数減少は外来亜種であるタイリクバラタナゴの侵入と交雑が主な要因である。現在、ニッポンバラタナゴは一部保護団体によって保護され、個体数を維持している状況であるが、二種の形態は酷似しており、外見での種判別は極めて難しく、保護池へのタイリクバラタナゴの侵入検知が難しい。そこで、環境DNA分析を用いた保護池へのタイリクバラタナゴ侵入検出やニッポンバラタナゴ残存生息地の探索のための検出系を開発したいと考えた。

### 【方法】

環境DNA法を用いることで簡便にかつ生態系を破壊することなく二種を判別できる。よって、二種判別のためのライマーを設計した。設計の際は二種それぞれに特異的になるように、二種およびその他の近縁種のミトコンドリアDNAのND1領域を利用した。設計したプライマーの特異性を、各種の組織試料から抽出したDNAを鋳型としたPCRにより確認した。また、ニッポンバラタナゴの保護池と非生息地、ニッポンバラタナゴの水槽から抽出した環境DNAを鋳型として同様の方法でプライマーの野外適応性を確認した。

### 【結果】

組織試料を鋳型としたPCRにより、作成したニッポンバラタナゴ用のプライマーはニッポンバラタナゴに特異的であることが確認できた。タイリクバラタナゴ用のプライマーも鋳型DNA量を半量にすることで特異性が確認できた。ニッポンバラタナゴの保護池と非生息地およびニッポンバラタナゴの水槽から抽出した環境DNAを鋳型としたときは、ニッポンバラタナゴ用のプライマーを用いて、かつ、ニッポンバラタナゴの保護池、水槽の環境DNAを鋳型とした時のみDNAの増幅が確認できた。

### 【まとめ】

ニッポンバラタナゴとタイリクバラタナゴの両種に特異的なプライマー・プローブセットが開発できた。また、開発したプライマー・プローブは野外適応性があることも確認することができた。

## 【展望】

今回、開発したプライマー・プローブを用いて、定期的な保護池のタイリクバラタナゴ侵入検出や純粋なニッポンバラタナゴの残存生息地を探索したいと思う。