

2024年5月9日

一般社団法人 全国浄化槽団体連合会

会長 上田勝朗 殿

### 水環境保全助成事業実施報告書（総括表）

団体名称	学校法人大阪学園 大阪高等学校 科学探究部
代表者	科学探究部顧問 谷脇 鉄平 
所在地	〒533-0007 大阪市東淀川区相川2-18-51 電話番号 06-6340-3031 FAX 06-6349-3719
事業内容 (概要、成果等)	事業内容は別紙のとおり。
事業実施期間(日時)	令和5年8月1日～令和6年3月31日の期間
事業実施場所	石川県立大学 ひみラボ(富山大学理学部・氷見市連携研究室) 他
参加人数	<ul style="list-style-type: none"><li>・環境DNAに関する北陸3県高校生研究交流会 大阪高校：教員2名、科学探究部部員4名、七尾高校：教員1名、生徒5名 富山中部高校：教員1名、生徒6名、藤島高校：教員1名、生徒3名 金川錦丘高校：教員2名、生徒5名</li><li>・ひみラボ合宿 大阪高校：教員2名、科学探究部部員7名、七尾高校：教員1名、生徒2名 富山大学：山崎裕治准教授、山崎研究室の学生3名(TA)</li></ul>
経過	<p>2020年3月から富山県氷見市を舞台に始めた、富山大学学術研究部理学系山崎裕治准教授との共同研究(高大接続活動)は、本来生息しないはずのニッポンバラタナゴとタイリクバラタナゴのDNAの検出を通じて、北陸3県の高校生と環境DNAに関する研究交流会を実施するに至った。</p> <p>その後、ニッポンバラタナゴとタイリクバラタナゴに着目し、現地で3回目の研究合宿を行った結果、ある池から移入ルートが判明したため、ニッポンバラタナゴとタイリクバラタナゴ等が仏生寺川・万尾川水系に広く分布したのか解明するために、今後も継続調査していきたい。</p> <p>また、今年度は七尾高校と共同で高校生向けの環境DNA実験マニュアルの作成に着手する動きもあるので、学校教育現場に広く普及するよう努めていきたい。</p>

説明資料、参考資料、成果物を添付してください。

## 会計報告

費　目	内　容	金　額
2023年		
8月19日～21日	阪急相川駅～JR淡路駅～JR新大阪駅 340円×6名(生徒4名、教員2名)×往路 JR新大阪駅～JR野々市市駅 6,290円×4名(生徒)×往路 JR新大阪駅～JR野々市市駅 4,840円×2名(教員)×往路 JR野々市駅～JR新大阪駅 5,880円×1名(教員)×復路 JR新大阪駅～JR淡路駅～阪急相川駅 340円×1名(教員)×復路 JR金沢駅～JR新大阪駅 6,820円×4名(生徒)×復路 JR金沢駅～JR新大阪駅 7,790円×1名(教員)×復路 JR新大阪駅～JR淡路駅～阪急相川駅 340円×5名(生徒4名、教員1名)×復路 民宿獅子吼荘 7,000円×4名(生徒)×2泊 民宿獅子吼荘 7,000円×2名(教員)×1泊 7,500円×1名(教員)×1泊	2,040円 25,160円 9,680円 5,880円 340円 27,280円 7,790円 1,700円 56,000円 14,000円 7,500円
9月1日	PCR用試薬	24,750円
12月1日～2日	阪急相川駅～JR淡路駅～JR新大阪駅 340円×1名(教員)×往路 JR新大阪駅～JR新高岡駅 4,840円×1名(教員)×往路 JR新高岡駅～惣領 410円×1名(教員)×往路 惣領～JR新高岡駅 410円×1名(教員)×復路 JR新高岡駅～JR新大阪駅 4,840円×1名(教員)×復路 JR新大阪駅～JR淡路駅～阪急相川駅 340円×1名(教員)×復路	340円 4,840円 410円 410円 4,840円 340円
小　計		193,300円

領収書、明細を添付してください。

## 会計報告

費　目	内　容	金　額
2024年 2月17日～18日	阪急相川駅～JR淡路駅～JR新大阪駅 340円×2名(教員)×往路 JR新大阪駅～JR新高岡駅 4,840円×2名(教員)×往路 JR新高岡駅～JR新大阪駅 5,100円×2名(教員)×復路 JR新大阪駅～JR淡路駅～阪急相川駅 340円×2名(教員)×復路 東横イン 7,665円×1名(教員)×1泊 6,665円×1名(教員)×1泊 レンタカー	680円 9,680円 10,200円 680円 7,665円 6,665円 8,294円
3月27日～29日	阪急相川駅～JR淡路駅～JR新大阪駅 340円×9名(生徒7名、教員2名)×往路 JR新大阪駅～JR氷見駅、JR新高岡駅～JR新大阪駅 7名(生徒)×往復 JR新大阪駅～JR新高岡駅、JR新高岡駅～JR新大阪駅 2名(教員)×往復 JR新高岡駅～JR氷見駅 1名(教員)×復路 JR新大阪駅～JR淡路駅～阪急相川駅 340円×9名(生徒7名、教員2名)×復路 寝具 1,100円×7名(生徒) 1,100円×2名(教員) レンタカー ガソリン	3,060円 129,570円 30,080円 340円 3,060円 7,700円 2,200円 26,795円 3,611円
小　計		250,280円
合　計		443,580円

領収書、明細を添付してください。

## ○ 事業概要

本校科学探究部は、2017年から環境DNA<sup>1)</sup>を利用した研究活動をしており、2020年3月から「環境DNAを利用した仏生寺川・万尾川水系(仏生寺川及び万尾川:2020年3月、5月、6月、9月及び10月)の魚類相の網羅的環境DNA手法<sup>2)</sup>」を富山大学学術研究部理学系山崎裕治准教授と共同研究(高大接続活動)を行ってきた。富山県氷見市内における環境DNA分析を利用した魚類相の調査は当時行われておらず、環境DNA分析で検出されたDNAの解析結果から、各河川に多様な魚種が生息していることが判明した。特に万尾川では、タナゴ類(ニッポンバラタナゴ、タイリクバラタナゴ等)やゲンゴロウブナのDNAを検出できた。ところが、ニッポンバラタナゴは富山県氷見市内では、これまで生息確認がされておらず、この理由については環境DNA分析だけでは確かな説明ができない。

そこで2021年は、万尾川の環境DNA分析で検出されたニッポンバラタナゴ(環境省絶滅危惧IA類)<sup>3)</sup>及びタイリクバラタナゴ(外来種)<sup>4)5)</sup>をはじめとするタナゴ類とゲンゴロウブナ(外来種)<sup>5)</sup>に着目し、万尾川の河川水から得られた環境DNA、各個体から直接採取したDNA及び各個体の識別プライマー<sup>6)</sup>等を用いて、種特異的環境DNA手法(PCR法及び電気泳動法)によりニッポンバラタナゴの生息有無の判定を、新型コロナの影響で現地に出向くことはできなかったが遠隔で行ってきた。

そのような中、新型コロナの感染状況の収束の兆しが見えた2022年3月16日～18日の期間で、富山大学理学部・氷見市連携研究室(ひみラボ)を拠点に、仏生寺川及び万尾川に生息するタナゴ類等の捕獲による魚類相調査、並びに調査域の河川水から種特異的環境DNA手法を利用したニッポンバラタナゴ及びタイリクバラタナゴの生息有無の判定を目的とした初めての研究合宿は、種特異的環境DNA手法の難しさが露呈され失敗に終わった。しかしながら、科学探究部として初合宿は、ようやくできたフィールドワーク活動の充実感を得ただけでなく、富山県地方新聞3社に大きく取り上げていただき、予想外の成果が得られた。

その後、再び2022年5月～7月に万尾川で網羅的及び種特異的環境DNA手法<sup>7)</sup>を用いて、ニッポンバラタナゴ及びタイリクバラタナゴの在・不在の判定を行いながら、富山大学理学部・氷見市連携研究室(ひみラボ)を拠点に、2023年3月29日～31日の期間に行った2回目の研究合宿では、大浦池及び万尾川を調査した結果、以下の成果を得ることができた。

1. 大浦池でヘラブナ(ゲンゴロウブナ)が放流されていることが確認できた。
2. 大浦池と万尾川で種特異的調査を行った結果、タイリクバラタナゴとニッポンバラタナゴの種特異的増幅産物を確認できた。
3. ヘラブナを放流した際に、『ニッポンバラタナゴの遺伝子を持つ個体が混在した可能性が考えられる。』と結論付けた。
4. しかしながら、大浦池から仏生寺川に直接合流するか調査できることができず、また仏生寺川と万尾川は地図上では直接合流していないため、大浦池から万尾川への移入経路はさらに調査が必要である。

## ○ 事業内容

2023年3月29日～31日の研究合宿に、石川県立七尾高校の中村晃規教諭が、SSH校ではない本校科学探究部の取り組みに興味関心を持たれ見学された。

これをきっかけに、石川県立七尾高校の中村教諭から環境DNAに関する高校間の研究交流会の提案をいただいた。

本計画では、SSH校である石川県立七尾高校、富山県富山中部高校及び福井県立藤島高校等と本校の研究交流会を通じて、SSHの垣根だけでなく県境を越えた同世代の高校生が熱く環境DNAの研究に没頭する場を設けることで、本校科学探究部の生徒たちの自尊心の育成とこれまでの研究内容を同世代に向けて発表し、これまでとは違う「学びの実体験」から本校科学探究部の生徒たちのより一層の育成を図る事を目的とする。

また、これまで富山県氷見市を舞台に継続してきた富山大学山崎准教授との共同研究(高大接続活動)がこれまで報告事例がない面白い可能性を秘めているため、研究交流会で学び得た経験値を糧に、継続研究がより躍進することも目的とする。

○ 事業結果

● 環境 DNA に関する北陸 3 県高校間研究交流会(2023 年 8 月 19 日～21 日)

七尾高校が幹事校となり、実施された。

1 日目:施設見学・研修及びフィールドワーク

正午に野々市市を訪れ、各校(七尾高校、富山中部高校、金沢錦丘高校及び本校)と合流し、石川県ふれあい昆虫館、いしかわ動物園にて施設見学と研修会を行っていただいた。

いしかわ動物園に関しては、2022 年に本校科学探究部がサンショウウオの研究をする際に大変お世話になつたため、お礼も兼ねて施設見学することができた。

その後、七尾高校と共同研究されている株式会社環境公害研究センターからトミヨ(はりんこ)保護区に案内していただき、トミヨの保護活動に関して研修会を行っていただいた。



いしかわ動物園での研修会の様子



トミヨ保護区での研修会の様子

2 日目:石川県立大学

午前は、環境 DNA に関する研究活動と題して、各校(七尾高校、藤島高校、富山中部高校及び本校)の取り組みに関する発表会を行った。

午後は、七尾高校と共同研究されている石川県立大学中谷内講師による環境 DNA 分析の種特異的調査で利用されるリアルタイム PCR の体験講習会を行つていただいた。



石川県立大学での発表会の様子

**参加校**

・大阪高校

1 日目及び 2 日目:教員 2 名、生徒 4 名(1 年生 2 名、2 年生 2 名)

・石川県立七尾高校

1 日目及び 2 日目:教員 1 名、生徒 5 名(1 年生 5 名)

・富山県立富山中部高校

1 日目及び 2 日目:教員 1 名、生徒 6 名(1 年生 2 名、2 年生 2 名)

・福井県藤島高校

2 日目:教員 1 名、生徒 3 名(2 年生 3 名)

・石川県立金沢錦丘高校

1 日目:教員 2 名、生徒 5 名(1 年生 3 名、2 年生 2 名)

2 日目:教員 2 名、生徒 5 名(1 年生 2 名、2 年生 3 名)

### ● 令和5年度河川基金研究成果発表会(2023年8月25日)

2022年度中に行った研究活動について、公益財団法人河川財団が主催する河川基金研究成果発表会でポスター発表し、研究者・研究機関部門(86作品)で優秀成果表彰をいただいた。



ポスター発表の様子



表彰式の様子

### ● 3回目の研究合宿に向けた現地視察(2023年12月1日～2日)

翌年3月に3回目の研究合宿をするために、富山大学山崎准教授と共に現地視察を行った。

今回の研究テーマは、念願であったひみラボに宿泊し、前回の合宿に引き続き大浦池でのタイリクバラタナゴやニッポンバラタナゴの生息状況を環境DNA分析だけでなく、もんどり等を用いて直接捕獲することを計画した。

また、大浦池から仏生寺川や万尾川に繋がる河川域においてもそれらの魚種の分布状況を調査するために、調査カ所を5カ所(大浦池、矢田部川、万尾川、十二町潟、堀田川)に広げて調査することにした。それに併行して、タイリクバラタナゴについては捕獲した後、単に殺処分するのではなく、食用等の活用を模索することにした。

他にも、現在の万尾川と仏生寺川が直接合流していないが、過去は合流していた事が分かったので、氷見市立博物館の学芸員廣瀬さんから、氷見の歴史について講話いただくことにした。

### ● 地震の影響に関する現地視察(2024年2月17日～18日)

3月に研究合宿の実施に向けて準備を進めた中、2024年1月1日に石川県能登半島を襲った地震は、甚大な被害をもたらし、その影響は合宿先の氷見市にもあった。

当時、氷見市の北部は被害が大きかったが、1月25日時点で氷見市のホームページ上では、市内の交通網や避難所は全て解除し、電気・ガス・水道も復旧されおり、氷見市観光協会のホームページ上では、一部の観光業は前週から営業を再開されていることが報じられた。

また、今回の合宿の宿泊施設となるひみラボを管理する氷見市教育委員会からは、施設利用に関して問題ないと返答をいただいたので、それらの現状確認や安全に研究合宿が実施できるかどうか現地視察を行い、本合宿で使用する施設(ひみラボ、氷見市立博物館等)や調査域(万尾川・仏生寺川水系、大浦池等)の安全性を確認することができた。

### ● 募金活動及び募金活動報告(2024年1月下旬～2月中旬、3月13日)

石川県能登半島地震が発生して以降、科学探究部の生徒たちはこれまで関わりのあった氷見市をはじめ富山県や七尾高校のみなさんをはじめ石川県に何かできることはできないかと考えた結果、生徒会とタイアップして募金活動をすることにし、集まった募金については、ほっと石川なにわ館(石川県大阪事務所)を通じて被災地に届けていただくことになった。



募金活動のチラシ



募金活動報告の様子

● 富山大学理学部・氷見市連携研究室(ひみラボ)を拠点とした第3回研究合宿(2024年3月27日～29日)

1目目

正午に氷見市を訪れ、富山大学山崎准教授及び山崎研究室の学生さん、七尾高校と合流し、氷見市立博物館にて施設見学と講習会を行っていただいた。

夕方、翌日の活動の準備をしながら、どのような活動内容か講習会を行った。

2目目



調査域<sup>8)</sup>

午前は、以下の調査を行った。

- ・調査域5ヵ所周辺の目視調査を行い、各調査域で採水(1L×2本)を行った。
- ・1L分は本校での種特異的環境DNA分析用として、その日中に本校に発送した。
- ・もう1L分はステリベクスでろ過し、本校内での実験結果だけでなく、外部委託で得られた実験結果も比較検証材料にするために、株式会社生物技研で網羅的及び種特異的環境DNA分析用とした。
- ・網もんどりを設置(大浦池は除く)した。

★午前の結果



大浦池の様子



大浦池の様子



十二町潟での採水の様子



堀田川での実地調査の様子

大浦池で、以下のような事が判明した。

- ・当日、大浦池は1月1日の地震の影響で、大浦池の堤体の一部が崩壊し、決壊の可能性があるため、池の水のかなりの量を抜き、大規模な改修工事が行われていた。そのため、昨年訪れた時と比べて、だいぶ水位が低くなつたため、捕獲調査はできず、採水と周辺散策のみの活動になった。
- ・採水時に、何かしらの魚が水面から顔を出す様子は見受けられた。

- ・昨年、大浦池から万尾川へ移入する可能性のあると考えた経路とは別の経路で、大浦池の水が堀田川(仏生寺川水系)に排水されていることや、排水する際の排水口の直径が10cm程度であるため、ニッポンバラタナゴやタイリクバラタナゴの個体ならサイズ的に通過できることが分かった。

午後は、以下の調査を行った。

- ・網もんどりの回収を行い、捕獲した生物を確認した。
- ・ひみラボで3カ所分のDNA抽出を行った。

### ★午後の結果



万尾川での捕獲の様子



ひみラボでのDNA抽出の様子

- ・網もんどりを回収した結果、以下のようになった。

大浦池:なし

矢田部川:なし

万尾川:ウシガエルのオタマジャクシ3匹

十二町潟:なし

堀田川:なし

- ・ひみラボでのDNA抽出に時間がかかり、3カ所分しかできなかつた。

### 3日目

- ・ひみラボで残り2カ所分のDNA抽出を行い、5サンプル分を生物技研に発送した後、帰阪した。

### その後

- ・帰阪後、本校に発送した採水サンプルが届いたので、本校化学実験室にてDNA抽出を行つた。
- ・また、調査5カ所(大浦池、矢田部川、万尾川、十二町潟、堀田川)における環境DNA分析の結果については、現在、解析中である。

### 参加校

- ・大阪高校  
教員2名、生徒7名(1年生3名、2年生4名)
- ・石川県立七尾高校  
教員1名、生徒2名(2年生2名)

### ○ 展望

ニッポンバラタナゴとタイリクバラタナゴに着目し、現地で3回目の研究合宿を行つたものの、大浦池で目当てのタナゴ類の捕獲は、地震の影響による大規模改修工事のため大浦池の水がほぼ抜かれていたため出来なかつたことは残念だったが、堀田川(仏生寺川水系)に繋がる移入経路が判明した。

なお、移入経路は今後の調査や発表にも影響があるため、ここで詳細は控える。

今後はニッポンバラタナゴとタイリクバラタナゴ等が仏生寺川・万尾川水系に広く分布したのか解明するために、継続調査(2024年5月、7月を予定)していきたい。

また、今年度は七尾高校と共同で高校生向けの環境DNA実験マニュアルの作成に着手する動きもあるので、学校教育現場に広く普及するように努めていきたい。

○ 参考文献

- 1) 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  
[https://doi.org/10.20714/jjsia.18.2\\_20](https://doi.org/10.20714/jjsia.18.2_20)
- 2) 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  
<https://www.shimonaka.or.jp/wp/wp-content/uploads/2021/07/2019-environmental-dna2.pdf>
- 3) 環境省(2020)レッドリスト  
<http://www.env.go.jp/press/107905.html>
- 4) 環境省(2015)生態系被害防止外来種リスト  
<https://www.env.go.jp/nature/intro/2outline/iaslist.html>
- 5) ひみラボ水族館(2016)氷見の淡水魚類リスト  
<https://sites.google.com/site/himilab/>
- 6) Umemura, K., Kurita, Y., Onikura, N. Novel genotyping system for distinguishing among native, non-native and admixed individuals of rosy bitterling *Rhodeus ocellatus* subspecies. *J. Fish. Biol.*(2020), 96:1516–1522.
- 7) 河川基金助成事業研究レポート、種特異的環境DNA手法を利用した万尾川水系におけるタイリクバラタナゴ(外来種)の生息状況調査  
<https://www.kasen.or.jp/wp-content/uploads/2024/03/2b7d025c1a09cee477c867d879d37891.pdf>
- 8) 調査域(google map)  
<https://www.google.co.jp/maps>