

# ラムサール条約登録湿地に生息する野生メダカの生態調査

## Ecological survey of wild medaka living in a Ramsar Convention-registered wetland

(日本動物学会推薦)

|       |          |       |                                      |                    |
|-------|----------|-------|--------------------------------------|--------------------|
| 代表研究者 | 日本女子大学   | 深町 昌司 | Japan Women's University             | Shoji FUKAMACHI    |
| 協同研究者 | 宇都宮大学    | 山本 裕紹 | Utsunomiya University                | Hirotsugu YAMAMOTO |
|       | 基礎生物学研究所 | 成瀬 清  | National Institute for Basic Biology | Kiyoshi NARUSE     |
|       | 徳島大学     | 三輪 昌史 | Tokushima University                 | Masafumi MIWA      |

Medaka (*Oryzias latipes/sakaizumii*) is an experimental model animal native to the Far East. It has provided an excellent platform for studying various fields in biology including genetics, physiology, and developmental biology. However, its ecology largely remains unknown. Medaka has been designated as an endangered species, and wild populations are on the brink of extinction due to the release of pet breeds. The purpose of this study is to conduct thorough overwater observations of wild medaka living in the Nakaikemi Wetland and to elucidate the ecology of medaka throughout the year. We selected two locations where medaka appeared in relatively large numbers and recorded 15-second videos every 10 minutes using fixed-point cameras. The number of medaka in each video was counted by an AI trained using the You Look Only Once (YOLO) algorithm. These analyses revealed some interesting phenomena, including the facts that medaka only appear at night in early spring and that they migrate approximately two hours before or after sunrise, presumably to breed. These newly discovered behaviors can be analyzed at the molecular level, taking advantage of the fact that medaka is a model animal, which will lead to a deeper understanding of wild animals.

### 研究目的

メダカ (*Oryzias latipes/sakaizumii*) は日本発のモデル生物であり、さまざまな研究目的で使用されている。国内における研究の歴史も長く、1921年に最初の英語論文が公表されたほか<sup>1</sup>、1953年には人為的性転換(性の可塑性)が発見され<sup>2</sup>、1992年までには約100系統もの自然突然変異体が単離された<sup>3</sup>。残念ながら、1980年代にモデル生物として急速に台頭したゼブラフィッシュ (*Danio rerio*) と比べると研究者人口も論文数も及ばないが、国内外のメダカ研究者によって、遺伝・発生・生理・行動・進化・水産・毒性学など、様々な分野において興味深い知見が報告されてきた。モデル生物としてのメダカの実用性(例:飼育の容易さ、世代時間、産卵数、ゲノム配列や遺伝子操作技術などの研究基盤)はゼブラフィッシュに劣るものではなく、互いに進化的に遠縁であ

ることなどからも、メダカのモデル生物としての重要性は広く認知されるに至っている。

誰もが知る童謡に歌われ、義務教育(小学校)の理科の教材に用いられるなど、メダカは日本人にとって馴染み深い動物である。1999年に絶滅危惧II類に指定される以前は、田んぼや小川にごく普通に見られる(普通すぎて子供たちの捕獲対象にもならない)野生動物であった。飼育の歴史も長く、江戸時代に描かれた浮世絵にしばしば登場し、色彩変異品種(ヒメダカ/シロメダカ)が飼育されていた記録も残っている。近年では交配によって体色やヒレの形などが改変された愛玩品種(改良メダカ)が人気で、ヒメダカが1匹10円程度で流通するのに対し、1匹100万円以上で売買されることもあるらしい。

これほどまでに日本人に身近なメダカであるが、メダカ本来の姿、すなわち「野生メダカの生態」に

関する知見は、実は驚くほど少ない。ベテランのメダカ研究者ですら、(1) 春から秋にかけてチョロチョロと群れで泳いでいる、(2) 早朝に産卵し、メスは産んだ卵を水草などにくっつける、(3) 天敵(サギ、ナマズ、ヤゴなど)が多い、(4) 冬は目につかない場所で越冬している、以上の知見は無いに等しい。人が見ていない時も群れで泳ぎ続けているか、夜間はどこで眠るか、卵から孵化した稚魚はどこで育つか(成魚による被食(共食い)をどのように避けているか)、越冬場所やその期間など、明確に答えられる人は存在しない。

水棲動物の生態調査は、陸棲動物のそれに比べてはるかに困難であり、方法論も確立されているとは言い難い。地上を二次元的に移動する陸棲動物(鳥類・昆虫類を除く)とは異なり、水中を三次元的に遊泳する魚類は追跡が難しい上に、電波の使用も制限される。水上からの観察には、水面という明確な光学的障壁が存在し、反射や風雨や濁度によって容易に視界が遮られる。

本研究では、メダカをモデルとした水棲動物の生態調査に挑戦する。最終的な目標は、24時間365日、どの季節のどの時間帯にはどこで何のために誰と何をしているか、の解明である。メダカは浅い水深を好むため(冬季以外)、水棲動物の生態調査の対象としては、比較的容易と言えるかもしれない。

モデル生物の生態調査には、非モデル生物のそれには無い特別な意義がある。単なる現象(行動や特性)の発見にとどまらず、それらについて実験室内で検証・分析し、分子レベルのメカニズムの解明にまで持ち込める点である。これまで研究対象とされてきた「飼育下で起こる現象」がメダカの全てであるはずはなく、むしろ本来とは異なる姿(野生ではほとんど観察されない行動や特性)を研究してメダカを理解したつもりになっている可能性も考えられる。「自然界における生態」をモデル生物研究の出発点とすることで、真の動物の理解につながる新しい研究テーマを創設できると考えている。

## 研究経過

本研究の調査地は、2012年にラムサール条約に登録された中池見湿地(福井県敦賀市)とした。この四方を山で囲まれた小さな内陸低湿地(約25ha)は、約4,000種もの動植物が生息する生物多様性の宝庫であると共に、メダカ(キタノメダカ;*O. sakaizumii*)

の模式産地としても知られる。夏季には膨大な数のメダカが泳いでいるが、愛玩品種の放流は確認されていない。いわゆる「メダカ保護区」からは、ほぼ100%の確率でヒメダカ由来の対立遺伝子<sup>4</sup>が検出されることを踏まえれば、中池見湿地は真の野生メダカが棲息する今となっては稀有な場所であり、調査地として最適である。

小型汎用ドローン(Mavic Air 2 [DJI])を用いた予備調査は2021年6月から実施しており、メダカが特に出没しやすい水域(水深約30cm)を2ヶ所特定した。2022年7月には、福井県の許可を得て、これらの水域(水上)に定点カメラ(SP2/SP3 [Hyke])を設置し、水面反射を低減するための偏光フィルタをレンズに貼り付け、10分ごとに15秒の動画の撮影を開始した。夜間については、メダカや多くの魚類にとって不可視の赤外線(波長940nm)<sup>5</sup>を照射しながら赤外線モードで撮影した。赤外線は水に吸収されるため、夜間の映像には水底が映らないが、水面付近のメダカは赤外線をよく反射するため検出が可能である。

静止画ではなく動画を撮影した理由は、メダカは小さく、動きが無いと検出が極めて困難だからである。また、メダカ以外の動物(アメンボ、ユスリカなど)や水面上の浮遊物、あるいは降ってくる雪や雨粒などがメダカ様の形状になることも多く、これらと見分ける際にも、動きは不可欠な手がかりとなる。

撮影開始当初は、機材トラブル(風雨による機材の破損、バッテリーやメモリーの不足など)への対処や、撮影条件(赤外線の出力、画角など)の最適化が必要であり、安定して撮影できるようになったのは、2023年1月以降である。その後、夜間映像よりも日中映像におけるメダカを検出するのが難しいことがわかったため、2023年5月以降は、昼夜を舍かず赤外線撮影をすることとした。また、より強力な赤外線投光器を外付けして、メダカの検出範囲/深度を拡大することも試みたが、バッテリーの確保が困難で断念した。

したがって、動画データが欠落する時期はあるものの、2023年1月から12月までの1年間、2地点における10分毎の15秒動画を揃えることができた。動画の総数は、6本/時 × 24時間 × 365日 × 2地点 = 105,120本に達し(これらに加えてモーションセンサーでカメラが起動・撮影した動画も多数ある)、各動画に映るメダカの数に0匹から1,000匹程度まで

で様々である。仮に1動画あたり平均1分間でメダカの数を実測するとしても、全動画を解析し終わるのに105,120分、不眠不休で73日かかる計算となり、とても人の手に負えるものではない。

そこで、メダカを自動的に検出・計測するAIを開発した。人力で作成した教師データ（約1万5千匹のメダカ画像）をもとに、You Look Only Once (YOLO)を用いて機械学習を進めたところ、夜間映像についてはほぼ完璧に（教師と同様に）メダカを検出できるAIが完成した。

しかし、このAIでは日中映像におけるメダカ検出の精度/感度が低下する（Fig. 1）。用いた教師データの大半が夜間に撮影した画像であったことが原因と考えられ、今後は日中の教師データの作成と機械学習を行った上で、日中の動画を解析し直す予定である。なお、調査地での撮影は現在も継続中であり、年ごとの変化や再現性を調べたい。

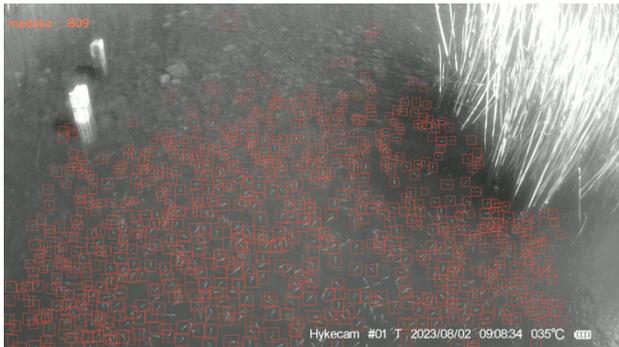


Figure 1. Medaka in wild detected by AI. The detected medaka are surrounded by red squares, and the total number is displayed in the upper left.

上述の通り再解析は必要と思われるものの、これまでの解析から幾つかの興味深い生態が見えてきた。例えば、「春先のメダカは夜間のみ現れる」という予想すらしなかった生態である（Fig. 2）。撮影範囲は比較的開けた水域であるため（Fig. 1）、おそらく日中はヨシやガマの生い茂る周辺にいて、夜間だけそこから這い出てくるものと思われる。なぜ気温/水温の下がる夜間に開けた水域に移動してくるのか、現時点では理由を推察することすら難しいが、暗くなって自分の位置情報がわからずに迷い出てきたか、あるいは夜行性とされるヤゴ（ヨシやガマの根元にいる？）による被食を回避するための重要な生態なのかもしれない。

他にも、「夏季、日の出前後の約2時間だけ撮影範囲からいなくなる」という生態も、再現性良く捉えることができている。メダカは毎朝産卵するため、

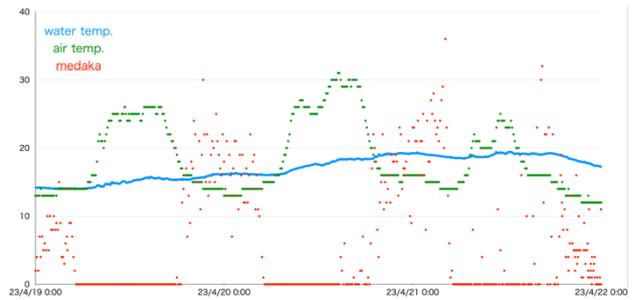


Figure 2. The number of medaka appeared in the video-recording area in 19th–21st April 2023. Note that medaka (red) appeared while air temperature (green) was low (i.e., at night). Blue: water temperature at the bottom.

この行動と生殖との関連を想像するのは容易である。しかし、夜間寝ていた場所から毎朝こぞって移動（して生殖）する理由と、具体的な移動先は推測の域を出ない。現時点では、孵化した稚魚を自ら捕食するリスクを避けるために、普段の居場所（餌場）と生殖/産卵場所（稚魚が育つ場所）を分けている可能性を考えており、今後、現地での追跡調査などを行って移動場所と移動理由を解明したい。

本研究では、ドローンによる広域調査も並行して行った。Real-time kinematic (RTK) 高精度測位システムを用いた誤差数 cm の自動操縦、および撮影対象の温度情報（サーモグラフィー）の取得ができる機体（Mavic 3T [DJI]）を用いて、3/5, 22, 23, 4/13, 14, 5/11, 13, 6/8, 9, 7/15, 16, 8/1, 8, 10, 9/12, 13, 14, 10/20, 11/3, 4, 12/2, 3 の計 22 日間、日の出から日の入りまで1時間おきに、定点カメラの撮影範囲を含む地域を飛行し、動画を撮影した。ドローンは風雨に弱いいため、やむなく調査を中止した時間帯もある。

この機種は、あらかじめプログラムした位置・高度・向きでホバリングし、指定の画角・拡大倍率で動画を撮影することができる。レンズには偏光フィルタを貼り付け、常に北向きかつ Brewster angle (P 偏光の反射率がゼロとなる入射角) で撮影することで水面反射を低減させた。サーモグラフィーについては、動画とは別に鉛直方向で静止画を撮影した。

2023年度は定点カメラ映像の解析に注力したため、ドローン映像の多くは未解析である。しかし、撮影中にリアルタイムで映像を見た感触からは、ドローン調査は定点カメラ調査を補完する位置付けと認識すべきと考えている。上述の通り、ドローン調査の頻度は「1ヶ月に1度2日間連続」を基本としたが、メダカの分布変化は2日間で同一ではなかった。同様に、定点カメラ映像においても、連続する日の同

じ時間帯でメダカの出現数が大きく異なることがある。その原因はわからないが（現時点では日照量との関連を疑っている）、いずれにせよ、調査日におけるメダカの分布がその月を代表するデータと見做すことはできない。もっと調査頻度を上げ、分布変化を細かく捉えない限り、ドローンのデータだけでメダカの生態を語ることは困難と考えられた。

幾つかの技術的な問題も浮き彫りとなった。例えば、RTK 技術により数 cm の誤差でドローンを定位させることはできても、約 5 m の高さ（ヨシなどの障害物やプロペラによる波紋の形成を避けるため）から俯角 37 度で見下ろしながら 7 倍のズーム（メダカが確認できる倍率）で撮影しているため、機体のわずかな位置や向きの変動が撮影範囲に大きく影響し、必ずしも同一の画角を再現できない。また冬季に決めた撮影ポイントが、夏では植物の影になって見えなくなることもあり、一年を通じて観察できない水域もあった。撮影範囲全域におけるサーモグラフィとメダカが居る場所は把握できたため、今後はそれらの関連性を調べたいと考えている。

## 考察

本研究では、モデル生物であるメダカの生態の理解を目標として、徹底的な水上観測を行うためのシステムを構築・稼働した。水棲動物の水上観測自体、過去に例の無い先鋭的な試みであったが、撮影条件を最適化することで、夜間を含む様々な光条件下で安定した映像を得ることができるようになった。映像中のメダカは小さく特徴も少ないが、十分な学習の結果、精度良く AI に検出させることに成功した。

膨大な映像データの解析により、幾つかの興味深い生態を明らかにすることができ、これまで誰も知らなかった「野生メダカの新たな一面」を明らかにすることができた。これらの行動・特性を実験室で再現し、分子メカニズムの解明につなげることが次の目標となるが、まずは本研究で構築した観測シス

テムを引き続き運用し、経年変化を調べることで生態の再現性・確実性を検証すべきと考えている。最後に、貴重な研究の機会を与えてくださった山田科学振興財団に心からの感謝を申し述べて、報告を終わらせていただきたい。

## 参考文献

1. Aida T (1921) On the inheritance of color in a freshwater fish, *Aplocheilus latipes* Temmick and Schlegel, with special reference to sex-linked inheritance. *Genetics* 6: 554–573.
2. Yamamoto T (1953) Artificially induced sex-reversal in genotypic males of the medaka (*Oryzias latipes*). *J Exp Zool* 123: 571–594.
3. Tomita H (1992) The lists of the mutants and strains of the medaka, common gambusia, silver crucian carp, goldfish and golden venus fish maintained in the Laboratory of Freshwater Fish Stocks, Nagoya University. *Fish Biol J MEDAKA* 4: 45–47.
4. Fukamachi et al. (2008) Rescue from oculocutaneous albinism type 4 using medaka *slc45a2* cDNA driven by its own promoter. *Genetics* 178: 761–769.
5. Matsuo M, et al. (2021) Behavioral red-light sensitivity in fish according to the optomotor response. *R Soc Open Sci* 8: 210415.

## 研究の発表

### 口頭発表

1. 深町昌司：野生メダカの生態調査. みんなで報告会（NPO 法人 中池見ねっと）、福井県敦賀市、2023 年 3 月.
2. 深町昌司：ドローンと水上定点カメラを用いた野生メダカの生態調査. みんなで報告会（NPO 法人 中池見ねっと）、福井県敦賀市、2024 年 3 月.