

# 小笠原諸島で樹上性外来トカゲの痕跡を探る —葉面環境 DNA のふき取りで高感度に侵入検知—

## 概要

外来生物の早期発見や侵入モニタリングは、定着を防ぎ、生態系への影響を軽減するために重要です。しかし、特に樹上性の爬虫類などは捕獲や目視による生息確認が困難であり、簡便かつ効率的な検知手法の開発が喫緊の課題とされていました。小笠原諸島などで深刻な生態系被害をもたらしている特定外来生物<sup>(※1)</sup>のグリーンアノールは樹上性の小型トカゲ類であり、まさにこうした確認が困難な種の典型例と言えます。

京都大学大学院情報学研究科 辻冨月助教、(一財)自然環境研究センター 村上勇樹 主任研究員、戸田光彦 同研究主幹、八神遙介 同研究員、芦澤航 同上席研究員、西脇拓朗 同研究員、環境省 山本捺由他 氏らの研究グループは、葉の表面に残されたグリーンアノール由来の DNA (環境 DNA<sup>※2</sup>) をふき取ることで、本種の存在を高感度に検知する手法を開発しました。特に従来の粘着トラップではほとんど捕獲実績のない超低密度生息地からも、低濃度ながら本種由来の環境 DNA を検出することに成功し、グリーンアノールの分布拡大を早期に検知する手段としての有用性が示唆されました。また、葉上にはそこを生息場所とするほかの生き物の環境 DNA も残されているため、今後、本手法は樹上で生活する幅広い分類群の検出にも応用が期待されます。

本研究成果は、2026 年 3 月 21 日に国際学術誌「*Biological Invasions*」にオンライン掲載されました。



研究成果の概要。特定外来生物であるグリーンアノールの生息を、葉上に残された環境 DNA を分析することで検知する手法の開発に成功した。(©辻冨月)

## 1. 背景

北米原産のグリーンアノール (*Anolis carolinensis*) は、木の上で生活し、主に昆虫を食べる小型のトカゲで、日本では特定外来生物に指定されています。小笠原諸島や沖縄諸島に侵入・定着しており、捕食や競合による在来の昆虫類やトカゲ類への影響が問題となっています。とくに固有種の多い小笠原諸島では、生態系保全の観点から、侵入の早期検知と分布拡大の抑制が求められます。しかし、グリーンアノールは樹上で生活し、すばやく移動して物陰に隠れるため、個体数が少ない場所では発見が難しいという課題があります。現在は主に目視調査や粘着トラップによる生息確認が行われていますが、調査の手間が大きいことに加え、低密度域では検出効率が下がることや、在来種が誤って捕獲されるリスクもあります。

そこで本研究では、生物が環境中に残した微量な DNA を手がかりに対象種の存在や生物量を調べる環境 DNA 分析に着目しました。環境 DNA 分析は、これまで魚類をはじめとする水生生物の検出を中心に発展してきましたが、近年では陸上生物にも応用され始めています。ただし、その多くは昆虫類や哺乳類、鳥類などを対象としたもので、爬虫類への適用例は非常に限られています。また、2024 年未までに報告された爬虫類の環境 DNA 研究も、多くは水生のカメ類や湿地に生息するヘビ類を対象に水試料を用いて行われたもので、陸生のトカゲ類を対象とした研究はごく少数でした (図 1)。そこで本研究では、葉の表面に残った DNA を利用することで、樹上性の外来トカゲ類を簡便に検出する新しい方法の開発を目指しました。

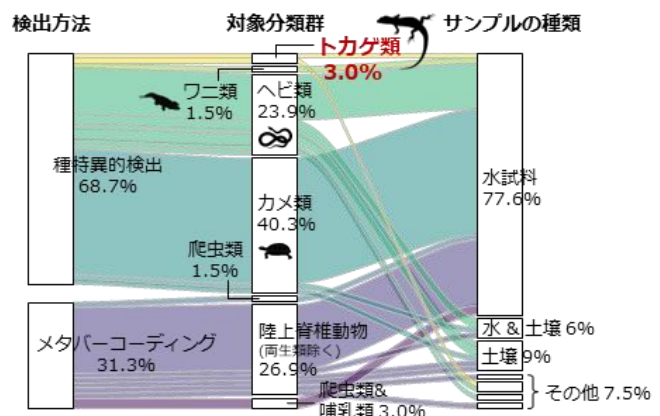


図1. 2024年未までに出版された環境DNAを用いた爬虫類の検出に関する論文の内容内訳 (n=67)

## 2. 研究手法・成果

本研究では、グリーンアノールがよく利用するタコノキ (*Pandanus boninensis*) と呼ばれる常緑小高木に着目し、(1) 葉を濡らした滅菌ガーゼでふく「ふき取り法」と (2) 水を吹きかけて流れ落ちた水を回収する「噴霧法」の二つを用いて、葉の表面に残った微量の環境 DNA を収集し、検出することを試みました (図 2)。

(1) ふき取り法



(2) 噴霧法



図2. 各手法による環境DNAサンプリングの様子

調査はグリーンアノールが高密度で生息する小笠原諸島父島で行いました (図 5, St.1 および St.2)。ふき取り法では、ふき取り後の滅菌ガーゼを 1 L の蒸留水ですすぎ、ガーゼに付着した環境 DNA を水に懸濁させることによって試料水を得ました。また、噴霧法では 1~1.4 L の蒸留水を葉に直接吹きかけ、ビニール袋に溜まった水を試料水としました。各手法で得られた試料水をフィルターカートリッジに通して濾過し、フィルタ

ー上に集められた環境 DNA を抽出しました。

本研究内で開発したグリーンアノールの DNA のみを種特異的に増幅・検出可能なプライマープロブセット<sup>(※3)</sup>を用いたリアルタイム PCR 解析<sup>(※4)</sup>によって、得られた各環境 DNA 試料に含まれる本種の DNA 検出の有無、およびその濃度を調べました。さらに、どちらの方法が現場で使いやすいかを評価するため、検出のしやすさだけでなく、調査にかかる時間についても比較しました。

その結果、二つの方法はいずれも 10 試料中 8 試料でグリーンアノールの DNA を検出することができ、検出された DNA 濃度にも統計的に有意な差は認められませんでした (図 3)。一方、環境 DNA サンプルに要する時間は、噴霧法よりもふき取り法のほうが短いことがわかりました (図 4)。さらに、時間だけでなく準備する備品の量やコンタミネーションへの配慮の手間なども、ふき取り法のほうがより少なく済むため、以降の実験ではふき取り法をより手軽なグリーンアノール環境 DNA 検出手法として採用することにしました。

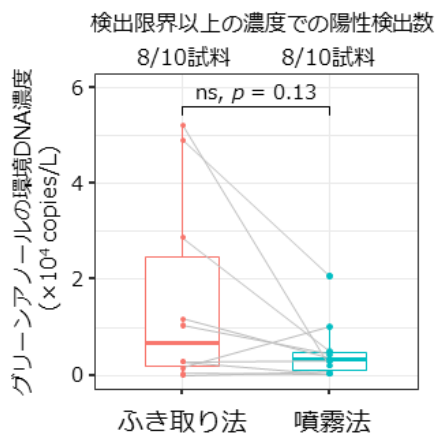


図3. 各手法におけるグリーンアノールの陽性検出回数および濃度

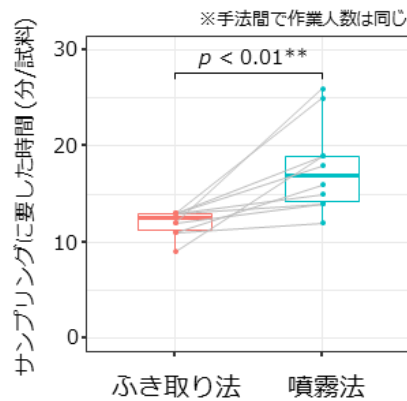


図4. 環境DNAサンプリングに要した時間の手法間比較

次に、グリーンアノールの生息密度が異なる父島および兄島の計 5 地点 (図 5, St. 2~6) において、本種の環境 DNA 検出濃度と生息密度の関係を調べました。生息密度の指標として、環境省が実施している粘着トラップを用いたグリーンアノール駆除プロジェクトにおける単位努力量あたりの捕獲数 CPUE (捕獲個体数/100 個のトラップを 1 日設置) を用いました。各地点において 4 本のタコノキからふき取り法によって環境 DNA 試料をそれぞれ採取し、種特異的リアルタイム PCR 法によるグリーンアノールの環境 DNA の定量解析を行いました。

その結果、CPUE と環境 DNA 濃度の間には非常に弱いながらも有意な正の関係が認められ、グリーンアノールの生息密度が高いほど検出される環境 DNA 濃度も高くなる傾向が示唆されました (図 6)。また、生息密度が極めて低い地点 (図 5, St. 4~6) においても、いくつかの試料から本種の DNA を検出することに成功しました。特に、St. 6 はこれまで粘着トラップによる捕獲実績はなく、目撃報告のみにとどまっていたが、本研究では低濃度ながら本種の環境 DNA が検出されるなど、ふき取り法による環境 DNA の検出感度の高さおよびグリーンアノール検知における有用性が示唆されました。

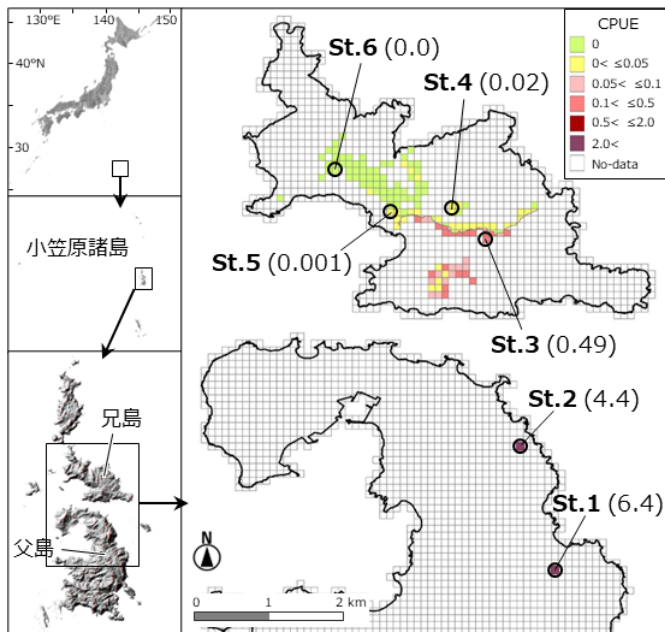


図5. グリーンアノールの生息密度が異なる調査地点地図  
括弧内の数字とマスの色は  
CPUE (捕獲個体数/100個の粘着トラップを1日設置) を示す

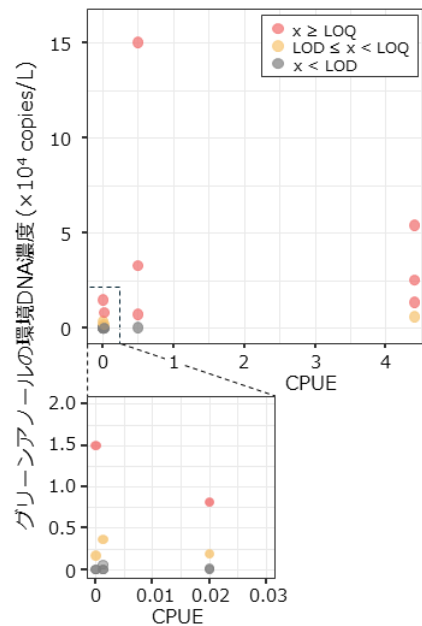


図6. 各調査地点のCPUEと  
グリーンアノール環境DNA濃度の関係

### 3. 波及効果、今後の予定

今回開発した手法は、見つけにくい樹上性の外来爬虫類を、捕まえたり観察したりせずに高感度で調べることができる新しい選択肢として期待されます。特に、侵入の初期段階のように個体数が少ない状況でも対象種を検知できる可能性があり、侵入の早期確認や防除の効率向上に役立つと考えられます。また、葉の表面をふき取ることで生物の環境DNAを集めるという考え方は、トカゲ類だけでなく、樹上で生活するほかの生き物の調査にも応用できます。一方で、本研究はサンプル数が限られており、気温、紫外線、降雨などの環境条件によるDNAの残りやすさや検出のしやすさへの影響は検証できていません。今後は、より多くの地点や時期で検証を重ねるとともに、天候条件の影響を詳しく調べ、さらに安定して検出できる方法へと改良していく予定です。

### 4. 研究プロジェクトについて

本研究は、環境省請負業務「令和6年度小笠原国立公園グリーンアノール防除技術開発業務」の一環で実施されました。

#### <用語解説>

##### ※1 特定外来生物

海外由来の生物のうち、日本の生態系や人の生命・身体、農林水産業に大きな被害を及ぼすおそれがあるとして、外来生物法にもとづいて指定された生物を指します。飼育、栽培、保管、運搬、販売、野外への放出などが原則として禁止されています。

##### ※2 環境DNA

生物が皮膚片やフン、粘液などを通じて環境中に残したDNAを含む物質全般を指します。水や土壌、葉の

表面などから回収して分析することで、その生き物がその場所にいたかどうかを調べることができます。

### ※3 (種特異的) プライマープローブセット

特定の生物の DNA にだけ結合するように設計された、短い人工合成 DNA 断片のセットです。プライマーは PCR での DNA 増幅時の起点となります。プローブは蛍光色素で装飾されており、DNA 増幅時に蛍光を発します。

### ※4 リアルタイム PCR 解析

PCR での DNA 増幅時に、上述のプローブが発する蛍光の強さを測定することで、DNA 量の経時的増幅をリアルタイムで測定することができる解析法です。蛍光の検出されたタイミングから、試料中に含まれる対象種の DNA 濃度を推定することもできます。

### <研究者のコメント>

環境 DNA を用いた樹上性トカゲ類の検出には前例がほとんどなく、研究を始めた当初は、本当に葉の表面から検出できるのか半信半疑でした。サンプリング方法には試行錯誤を重ねましたが、現場のみなさんの協力のおかげで、予想以上に高感度でグリーンアノールを検出できたことに大きな驚きがありました。今後は、この手法をさらに簡便で高感度なものへと発展させ、外来種の早期発見だけでなく、希少種の生態調査などにも役立てていきたいと考えています。

### <論文タイトルと著者>

タイトル：Developing terrestrial environmental DNA sampling methods for detecting arboreal invasive reptiles: a case study of the green anole in the Ogasawara Island, Japan

(樹上性の外来爬虫類を検出するための陸上環境 DNA サンプリング手法の開発：小笠原諸島のグリーンアノールにおける事例研究)

著者：Satsuki Tsuji, Yuki Murakami, Mitsuhiko Toda, Yosuke Yagami, Kou Ashizawa, Takuro Nishiwaki, Nayuta Yamamoto

掲載誌：Biological Invasions

DOI：https://doi.org/10.1007/s10530-026-03797-4