

令和 6 年 5 月 8 日現在

機関番号：82111

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2023

課題番号：20K15641

研究課題名（和文）食痕・廃果場DNAによるアライグマ早期発見の試み

研究課題名（英文）Early detection of raccoons by DNA from food scars and abandoned fruit stands

研究代表者

小坂井 千夏（KOZAKAI, Chinatsu）

国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構・畜産研究部門・主任研究員

研究者番号：90637670

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：環境DNA（農作物等に残った加害動物のDNA）を用いた加害種判別について、食痕から加害動物DNAを簡易採材する手法を開発し、LAMP増幅法と組み合わせて簡単・迅速に判別する手法を確立した。関連して、アライグマの利用した水から定量PCR法では最長1カ月以上検出できることや（環境中の加害動物DNAの残存期間）、加害された作物DNAは採食後1日以内の短期間しか糞から検出されない（環境DNAを用いた被害作物の判別可能期間）を明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

鳥獣害対策では加害した動物種や加害された作物種を正しく判別し、加害種に応じた効果的な対策を実施することが重要である。特にアライグマ等の特定外来生物の生息や被害を早期発見することは、生物多様性保全や人獣共通感染症リスクを下げる観点からも非常に重要である。本課題で開発に取り組んだ簡単・迅速な種判別法は分析費用が抑えられ、難しい分析技術が必要無いことから、鳥獣害や外来種の対策現場でも十分に活用できる対策手法である。

研究成果の概要（英文）：We developed a simple method to collect environmental DNA (DNA of the animal attacked left behind in feeding marks) and established a simple and rapid species identification method combined with the LAMP amplification method. In addition, we found that quantitative PCR method can detect raccoon's DNA from water used by raccoons for up to one month or longer, and that DNA of the damaged crop can only be detected in feces for a short period of about one day after foraging.

研究分野：鳥獣害対策

キーワード：環境DNA 鳥獣害 特定外来生物 アライグマ 食痕 LAMP法 メタバーコーディング 食性解析

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

1. 研究開始当初の背景

鳥獣害対策では、加害した動物種や被害された作物種を正しく判別し、加害種に応じた効果的な対策を実施する必要がある。特にアライグマ等の特定外来生物では、生息や被害の早期発見が、生物多様性保全や人獣共通感染症リスクを下げる観点からも非常に重要である。水生生物で発展してきた環境 DNA の解析技術が加害動物 DNA の検出・種判別等にも活用できると考えられたが、研究開始当初は環境 DNA 分析を鳥獣害対策に展開させた事例は限られており、検出精度等も分かっていなかった。

2. 研究の目的

そこで本研究課題において、農作物の食痕等に残った加害動物の DNA による加害種判別等、環境 DNA 解析技術の鳥獣害対策への適応可能性を検証することを目的とした。具体的には、(1) 鳥獣害対策の現場で求められる食痕等からの簡易な種判別法の開発と、(2) 水生生物等で確立された既存法を用いた鳥獣(陸上動物)での検出精度の検証を行った。

3. 研究の方法

(1) 環境 DNA (農作物の食痕等に残った加害動物の DNA) から加害種を判別する簡易法開発

環境 DNA の分析には、食痕等の農作物の加害痕や鳥獣が利用した水から動物由来の DNA の採材、採材したサンプルからの DNA ろ過・抽出、抽出した DNA の増幅、結果の解析の行程があるが、採材方法について鳥獣害の対策現場で迅速に行える簡易な手法の開発に取り組み、既存の簡易抽出・増幅法と組み合わせた場合の種判別の可否を検証した。

(2-1) 環境 DNA による加害動物種の判別可能期間

アライグマが利用した水からアライグマ DNA がどれくらいの期間検出できるか、飼育アライグマのケージ内にいた給水桶から定期的に既存法(標準化された「環境 DNA 調査・実験マニュアル」)に準じて採材・分析して検証した。

(2-2) 環境 DNA による被害作物の判別可能期間

食害された作物や希少動植物等の検出にも環境 DNA (糞や胃内容物のメタバーコーディングにより採食物の DNA を分析する) が利用できるが、アライグマの採食後、どの程度の期間、作物の DNA が検出できるかを、飼育アライグマへの給餌実験から検証した。

4. 研究成果

(1) 環境 DNA (農作物の食痕等に残った加害動物の DNA) から加害種を判別する簡易法開発

飼育アライグマに給餌した作物(リンゴ)を少量の水に浸すことで簡単・迅速にアライグマ DNA を採材する方法を開発した(図1、2)。作物に残った食痕のスワブや食ベカスを水に浸す等の複数の採材法で、簡易ろ過法と LAMP 反応による増幅法でアライグマ DNA が検出できることが分かった。水生生物を対象にした環境 DNA を使った簡易判別法(簡易ろ過や LAMP 反応を用いる)は既存研究があるが、本研究で陸上動物を対象にして食痕からの簡易採材法を開発できた。鳥獣害対策の現場(農地や出沒地点)でも迅速かつ安価に、さらに特別なノウハウは必要なく分析できるようになり、被害発生後、すぐに加害種に応じた対策が行えるようになった(図1)。

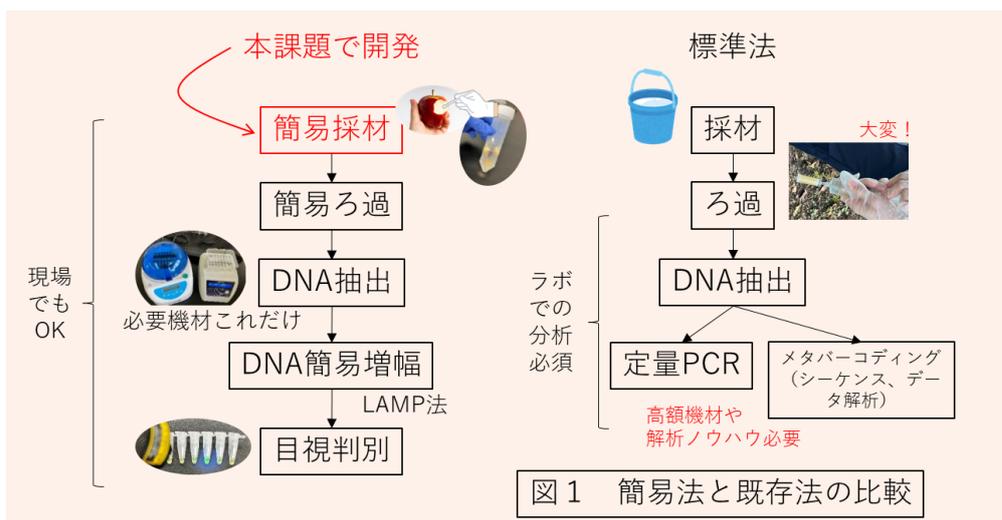


図1 簡易法と既存法の比較



図2 給餌試験の様子



図3 採水試験の様子

(2-1) 環境 DNA による加害動物種の判別可能期間

飼育アライグマが短時間のみ触れた水(図3)からであっても、アライグマの種特異プライマーを用いた定量 PCR による解析では、最長 1 カ月以上にわたりアライグマ DNA が検出できることが分かった。陸生動物については、どのようなプロセスで動物由来の DNA が環境中に排出されるのか不明な部分が多かったが、本研究の成果は陸生動物でも環境 DNA を用いた種の存在の確認の有効性や検出感度に関して基盤となる知見になる。

(2-2) 環境 DNA による被害作物の判別可能期間

飼育アライグマにブドウ 15 粒程度を給餌し、ブドウ採食からの糞の排泄時間を記録した上で、陸上植物を対象としたユニバーサルプライマーを用いてブドウ DNA の検出有無と照合すると、最長でも 1 日以内に排泄された糞からしかブドウ DNA は検出できなかった。作物種や採食(加害)量、加害する動物の体サイズによって採食物 DNA の検出期間は変化する可能性等については追加検証が必要だが、当該分析の基盤となる成果を得ることができた。

まとめ

研究開始当初は食痕から環境 DNA によって種判別ができるか、判別可能な場合は加害種と食痕形状の両者が分かっている事例を多数集めて、食痕形状から加害種判別ができるかを検証予定であった。しかし、当初の計画にはなかったものの、食痕からの簡易採材法を開発でき、さらに果樹の作物残差置き場(廃果場)や河川などの水域での動物種の利用・存在の簡易検出にも応用が可能な LAMP 法を用いた簡易・迅速な種判別法の有効性を確かめることができた。

加えて、飼育下実験を有効に活用しながら、環境 DNA を用いた複数の分析技術について、陸生の鳥獣による被害対策への高い応用可能性を確かめることができた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 2件）

1. 発表者名 Chinatsu Kozakai, Hiroyoshi Koyama, Hiroki Matsumura, Ryusuke Fujimoto, Hiroyuki Shibaïke
2. 発表標題 Water drunk by raccoons: How long can their DNA be detected?
3. 学会等名 The eDNA Society International Meeting 2023 (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Hiroyoshi Koyama, Chinatsu Kozakai, Hiroki Matsumura, Hiroyuki Shibaïke
2. 発表標題 Development of species-specific qPCR assays for detecting raccoon (<i>Procyon lotor</i>) eDNA from field water
3. 学会等名 The eDNA Society International Meeting 2023 (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 小坂井千夏・長谷川綾香・松村広貴・後藤優介
2. 発表標題 この実を食べたのは誰だ？農地でもできる、環境DNAを用いた早い・簡単な種判定の試み
3. 学会等名 日本哺乳類学会2023年度大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 小坂井千夏, 藤本竜輔, 長谷川綾香
2. 発表標題 哺乳類の食べた物のDNAはいつまで糞から検出できるか？
3. 学会等名 第6回環境DNA学会九州大会
4. 発表年 2023年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------