

絶滅危惧種タガメの生息予測モデルの開発と保全への活用

高原 輝彦

鳥取県・島根県

1. 研究背景

ため池は魚類・両生類・水生昆虫などの多くの種が、生活や繁殖の場所として活用しており、高い生物多様性をもつことが知られている。大型水生昆虫のタガメ *Kirkaldyia deyrolli* は、ため池の上位捕食者であり、様々な生き物を大量に捕食するため、ため池生態系の維持機構に大きな影響を及ぼしていると考えられている。しかし近年では、全国的にタガメの個体数が激減しており、環境省のレッドデータブックには絶滅危惧 II 類（VU）に指定されている。また、「絶滅のおそれのある野生動植物の種の保存に関する法律」で特定第二種国内希少野生動植物種にも指定され、販売目的の捕獲・売買の禁止など、種の保全に対する取り組みがなされている。したがって、本種の分布などの現在の生息状況を把握し、その生息場所の解明や保全に向けた迅速な対応が必要である。



（図 1）大型水生昆虫タガメ（撮影：尾形茂紀氏）

これまで、タガメが減少した要因については、水田の近代農法の変化、餌生物の減少、ため池の護岸や水生植物の減少、侵略的外来種の侵入などのいくつかの要因が指摘されている。とくにウシガエル *Lithobates catesbeianus* とアメリカザリガニ *Procambarus clarkii* は、日本の侵略的外来種ワースト 100 にも指定されており、近年ではこれら外来種 2 種による影響がタガメの減少に拍車をかけている可能性が考えられる。実際、いくつかの先行研究において、アメリカザリガニの侵入によってため池の外観が変わるほど水生植物が減少して生物多様性が低下したり、飼育下でタガメにアメリカザリガニを給餌するとタガメが衰弱・死亡したりすることが報告されている。また、野外におけるアメリカザリガニの侵入によって実際にタガメが減少した事例や、ウシガエルに関するタガメの捕食事例も確認されている。

報告者らはこれまでに、野外では水 1L ほどを採取して、その水サンプルに含まれる DNA (環境 DNA) を解析することで対象種の在・不在や生物量を簡便に推定できる“環境 DNA 分析”に精力的に取り組んできた。それらの成果のうち、タガメを対象にした環境 DNA 手法を開発し、主に島根県東部のため池 89 面におけるタガメの生息実態を調べた結果、本種の新規生息場所を発見することに成功している (Ogata et al. 2023)。さらに、タガメ生息の有無と侵略的外来種の侵入や周辺環境 (水田や水生植物の有無) との関係性の一端を明らかにして、ニューラルネットワークを用いたモデリングによってタガメの生息予測モデルの基盤を構築した (Ogata et al. unpublished data)。しかしながら、本モデルでは十分な予測精度を満たしていなかったため、サンプル数や新たな特徴量の追加が必要であり、加えて、別のモデルアルゴリズムの利用によって更なる精度向上が見込めると考えられた。

そこで本研究ではまず、島根・鳥取方面のため池を対象にして広範囲な環境 DNA 調査を行い、タガメの生息状況に関する情報の追加・収集を試みた。加えて、侵略的外来種ウシガエル・アメリカザリガニの生息の有無についても環境 DNA 分析を用いて評価した。つぎに、Ogata et al. (2023) における 2017・2018 年のデータを利用して学習させた機械学習モデルの実用性について検討した。その際に、2022 年・2023 年の野外調査で採集したため池 67 面のサンプルのうち、現在までに環境 DNA 分析までを実施済みの 24 サンプル (ため池 24 面分) を用いて、作成した予測モデルの正確性を予備的に評価した。そして、構築したモデルを実運用した結果から、モデルの精度について考察した。これらによって、絶滅危惧種タガメをモデルケースにして、環境 DNA 分析と予測モデルの構築により、希少種の効率的で効果的な保全に向けた取り組みの一助になることが期待される。

2. 研究方法

2-1. 野外調査

島根県と鳥取県においてため池 67 面を対象にして環境 DNA 分析用の採水調査を実施した。野外調査は 2022 年・2023 年のタガメの活動が活発になる時期で実施した。各調査日には、DNA フリーの採水用ポリ瓶 1L を必要数用意した。なお、そのうちの 1 本はあらかじめ蒸留水 1L を入れてクーラーボックスで保管した。これは採取した水サンプルへの運搬中における汚染（コンタミネーション）の有無を評価するために用いた（クーラーブランク）。採取した水サンプルには、環境 DNA の分解を抑制する試薬として効果が実証済みの塩化ベンザルコニウム（Benzalkonium chloride、BAC）（Yamanaka et al. 2016, Takahara et al. 2020）を 1mL ずつ現場で添加した後、保冷剤を入れたクーラーバッグで低温状態を維持して大学の実験室に持ち帰った。

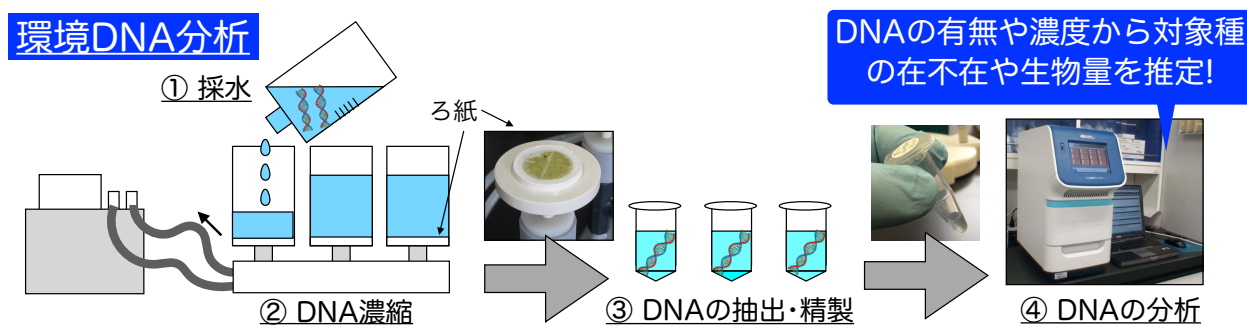
採水後、各池の環境情報として、水温と溶存酸素（LAQUA act; HORIBA）、電気伝導度（LAQUA twin B-771）、pH（LAQUA twin B-711; HORIBA）、硝酸イオン濃度（NO₃⁻）（LAQUA twin B-743）、塩分（LAQUA twin B-721）を記録した。

2-2. 室内実験

実験室に持ち帰った水サンプルは、採水ボトルの表面を水道水ですすぎ、濾過器とガラス繊維濾紙（GF/F、サイティバ社）を使用して吸引濾過を実施した。1 サンプルごとに最大の濾過量 1 L になるように実施した。濾過済みの濾紙はアルミホイルに包み、つぎの作業まで -30°C で保存した。濾過作業後、使用した各器具等は希釈済みのキッチンハイター（花王株式会社）に 5 分間以上浸してから、水道水と蒸留水で十分にすすいで DNA を除去した。

市販の DNA 抽出キット（DNeasy Blood & Tissue Kit、キアゲン社）を用いて、冷凍保管していた濾過済み濾紙からの DNA の抽出・精製処理を以下のとおり実施した（高原ほか 2021）。まず、各水サンプルを濾過した濾紙（1 枚または 2 枚）は、DNA フリーのピンセットを使用してサリベット（ザルスタット社）に入れた。つぎに、Buffer AL 400 μ L/濾紙数とプロテナーゼ K 40 μ L/濾紙数の混合溶液をサリベット内の濾紙に添加した。56°C に設定した定温乾燥機に濾紙の入ったサリベットを 30 分間入れ、インキュベートした。定温乾燥機から取り出したサリベットを 5,000 g で 5 分間遠心した。つぎに、サリベット内の濾紙に TE (pH 8.0) 220 μ L/濾紙数を添加してから室温で 1 分間静置し、再度、5,000 g で 5 分間遠心した。回収された濾液に Buffer AL 200 μ L/濾紙数と 99.9%エタノール 600 μ L/濾紙数を添加し、溶液を十分にピペティングしてから、キットに付属のカラムにアプライした。そのカラムを 6,000 g で 1 分間遠心した後、コレクションチューブの濾液を捨て、濾液がなくなるまで同様の作業を繰り返した。

た。濾液がなくなった遠心後のカラムは新しいコレクションチューブに移し、Buffer AW1 500 μ L を添加し、6,000 g で1分間遠心した。遠心後のカラムは新しいコレクションチューブに移し、Buffer AW2 500 μ L を添加し、15,000 g で3分間遠心をした。遠心後のカラムは新しい1.5 mL エッペンチューブに移してから Buffer AE 100 μ L を添加した。そのカラムを室温で1分間静置した後、6,000 g で3分間遠心した。カラムから回収された環境 DNA サンプルは、リアルタイム定量 PCR 実験まで-30 $^{\circ}$ C で保存した(図 2)。



(図 2) 濾過処理から DNA の抽出・測定作業のフローチャート

2-3. リアルタイム定量 PCR 実験

水サンプルから濃縮・精製した環境 DNA サンプルに含まれる DNA 情報を分析するため、リアルタイム定量 PCR 実験を実施した。なお、タガメ、および、ウシガエル・アメリカザリガニの環境 DNA 分析に必要なプライマー・プローブはすでに開発済みである(Ogata et al. 2022, 2023) (表 1)。

(表 1) 本研究で使用した対象種 3 種のプライマー・プローブ情報

種名	プライマー・プローブ名	シーケンス情報
タガメ <i>Kirkaldyia deyrolli</i>	Kdey-COI-F	5'-CACCTGGCAGGAGTGTCTTCA-3'
	Kdey-COI-R	5'-AAAGTAGTAGAAGGGCAGTGATTGCT-3'
	Kdey-COI-Pr	5'-[FAM]-ACATACGAACTACTGGAATAT-[NFQ]-[MGB]-3'
ウシガエル <i>Lithobates catesbeiana</i>	Lcat-Jpn-12S-F	5'-TTACACCGAGAAAATGTCCGTTT-3'
	Lcat-Jpn-12S-R	5'-GAAATTTTTTCGATCGCCTGTACTATA-3'
	Lcat-Jpn-12S-Pr	5'-[FAM]-CTACACACATTCGCATGACCCCTTACC-[TAMRA]-3'
アメリカザリガニ <i>Procambarus clarkii</i>	Pcla-Jpn-COI-F	5'-AATATTAGGTGCTCCAGATATGGCTT-3'
	Pcla-Jpn-COI-R	5'-ACTCCTCTCTCAACTATACCCCTA-3'
	Pcla-Jpn-COI-Pr	5'-[FAM]-TGATTACTTCCTTTTTCTTTGAC-[NFQ]-[MGB]-3'

環境 DNA 分析では、TaqMan プローブ法を用いた。1 ウェルあたり総量 20 μL になるように、蒸留水 7.0 μL 、マスターミックス (Environmental Master Mix 2.0、サーモ・フィッシャー社) 10 μL 、プライマー・プローブの混合液 (フォワードプライマー終濃度: 900 nM、リバープライマー終濃度: 900 nM、プローブ終濃度: 125 nM) 1 μL 、環境 DNA サンプル 2 μL を添加した。リアルタイム定量 PCR 実験は、Ogata et al. (2022)、および、Ogata et al. (2023) に従い、1 サンプルにつきタガメの場合は 8 ウェル (8 回繰り返し)、ウシガエルとアメリカザリガニの場合は 1 サンプルにつき 3 ウェル (3 回繰り返し) で実施した。ポジティブ・コントロールとして、既知量の人工合成 DNA を、20000、2000、200、20 copies / 2 μL を 2 ウェルずつ、または、3 ウェルずつ添加した。PCR の温度条件は 50°C で 2 分、95°C で 10 分の後、95°C で 15 秒、60°C で 1 分のサイクルを 55 回の繰り返しで実施した。リアルタイム定量 PCR 実験において、55 回のサイクル以内で、各サンプルで 8 ウェル、あるいは、3 ウェルのうち 1 つでも増幅曲線の立ち上がりを確認されたものを陽性とした。

2-4. タガメ・ウシガエル・アメリカザリガニの生息予測モデルの構築

機械学習を応用して、対象種 3 種の生息予測モデルの構築を試みた。また、構築したモデルの重要度から生息に関わる環境要因などの評価を実施した。その際、適宜、構築したモデルの正確性についても検証した。

(表 2) 2017 年・2018 年のため池 89 面における環境 DNA 調査の結果

	DNA が検出された池の数
タガメ	11
ウシガエル	51
アメリカザリガニ	47

Ogata et al. (2023) で収集済みのため池 89 面分のデータを用いて、機械学習のモデル作成のための学習用データとテスト用データとして活用した (表 2)。機械学習モデルは、タガメ、アメリカザリガニ、ウシガエルごとに作成した。その際、目的変数は各対象種の「環境 DNA 分析結果 (検出・非検出)」を用いて在・不在とした。説明変数 (特徴量) は、「採取した水サンプルの濾過量 (L)」、「着目した池の場所の高度 (海拔) (m)」、「着目した池の護岸の割合」、「着目した池における抽水植物の有無」、「着目した池における浮葉植物の有無」、「着目した池の周囲 1km 内の池の数 (面)」、「着目した池から最短の池までの距離 (m)」、「着目した池のすぐ近くにおける舗装道路の有無」、「着目した池の周囲における森・水田・住宅の有無」、「着目した池の外周 (m)」、「着目した池の面積 (m^2)」、「着目した池が島にあるかどうか」など

を用いた。

予測モデルの構築には各生物の在・不在の二値データを用い、TP（真陽性）、TN（真陰性）、FP（偽陽性）、FN（偽陰性）を評価した（表 3）。また、予測モデルは統計学手法である一般化線形モデルから K 近傍法、ナイーブベイズ法、決定木などの機械学習モデル 14 種で検証して、もっとも予測精度が優れたモデルを採用した。その際、「正解率」、「F 値」、「適合率」、「再現率」をモデルの予測精度の指標として算出した（表 4）。これらの指標は 1 に近いほどよい精度を示しており、基本的にはバランスよく精度が高いのが望ましい。ただし、不均衡データや着目したい問題によって重視する指標が異なる場合がある。各モデルの構築方法としてホールドアウト検証を行い、全データの 8 割は学習データ、残り 2 割をテストデータとして利用した。

（表 3）モデルの構築に用いたデータ

True Positive (真陽性:TP)	在予測をして、実際に在
True Negative (真陰性:TN)	不在予測をして、実際に不在
False Positive (偽陽性:FP)	在予測をして、実際は不在
False Negative (偽陰性:FN)	不在予測をして、実際は在

（表 4）機械学習モデルの評価指標 4 つ

正解率 (Accuracy)	予測値と真値がどれだけ正解しているかの指標
適合率 (Precision)	モデルの在予測が正確かどうかの指標
再現率 (Recall)	在データのうちモデルの在予測で取りこぼしがあるかの指標
F 値 (F-measure)	再現率と適合率の予測バランスの指標

また、機械学習モデルが重視した説明変数を示す PFI (Permutation Feature Importance) も算出した。これによって、各対象種の生息場所で重要な環境要因などを明らかにできると考えられた。

つぎに、モデル検証用として、2022 年・2023 年に収集したため池 67 面のうち、環境 DNA 分析まで実施済みのため池 24 面分 (24 サンプル) のデータを用いて構築したモデルの精度を評価した。

3. 研究結果

2022・2023 年において、島根県と鳥取県のため池 67 面を対象にして環境 DNA 分析用の採水調査を実施した（図 3）。



（図 3）2022・2023 年において島根県・鳥取県の環境 DNA 調査を実施した池 67 面（青丸が各ため池の場所。位置情報の詳細は示していない。）



（図 4）調査対象のため池の 1 つ（撮影：尾形茂紀氏）

3-1. タガメの生息予測モデル

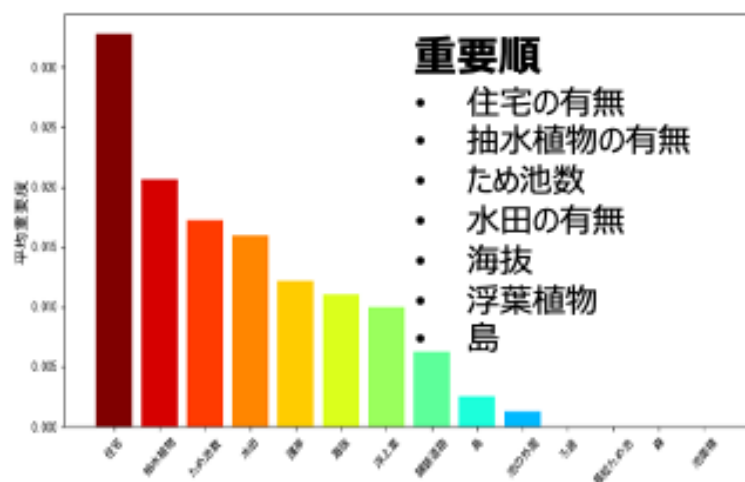
Ogata et al. (2023) で収集済みのため池 89 面分のデータを用いて、機械学習のモデル作成のための学習用データとテスト用データとした。

タガメの生息予測モデルを構築した結果、「K 近傍法」を用いた場合において、適合率が最も高くなった（表 5）。しかしながら、在判定を示す「適合率」が 3 割程度しか示さず、モデルの精度が十分ではないこともわかった。

（表 5）タガメの生息予測モデルの結果（K 近傍法による）

正解率 (Accuracy)	予測値と真値がどれだけ正解しているかの指標	0.89
適合率 (Precision)	モデルの在予測が正確かどうかの指標	0.33
再現率 (Recall)	在データのうちモデルの在予測で取りこぼしがあるかの指標	1
F 値 (F-measure)	再現率と適合率の予測バランスの指標	0.5

構築したモデルにおけるタガメの生息予測において、PFI (Permutation Feature Importance) によるタガメの各特徴量の重要度は、高い順から「住宅の有無」、「抽水植物の有無」、「周辺のため池の数」、「水田の有無」、「海拔」、「浮葉植物の有無」、「島」となった（図 5）。



（図 5）タガメにおける PFI による各特徴量の重要度

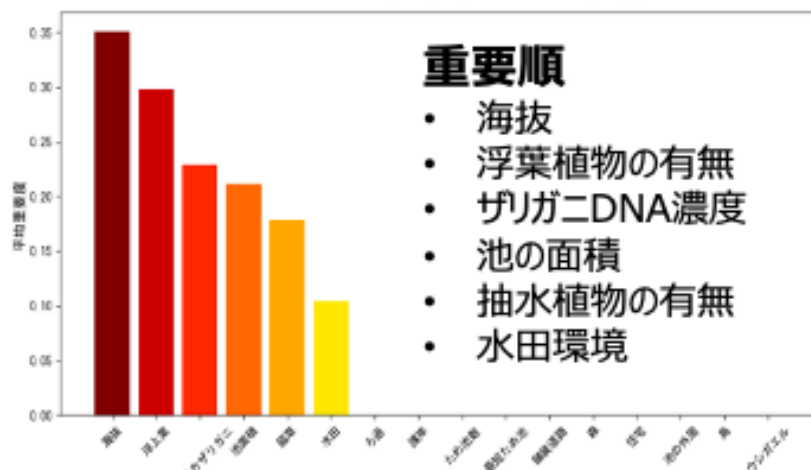
3-2. 再構築したタガメの生息予測モデル

タガメの生息に影響を及ぼすと考えられるウシガエルとアメリカザリガニの存在を考慮するため、説明変数としてこれら外来種 2 種の環境 DNA 分析結果を新たに追加して、タガメの生息予測モデルを再構築した。その結果、「決定木」を用いた場合において、適合率が **0.33** から **0.67** に改善された（表 6）。なお、学習データは TP=8、TN=63、FP=0、FN=0、テストデータは TP=2、TN=13、FP=1、FN=2 とした。

（表 6） 改変したタガメの生息予測モデルの結果（決定木による）

正解率 (Accuracy)	予測値と真値がどれだけ正解しているかの指標	0.83
適合率 (Precision)	モデルの在予測が正確かどうかの指標	0.67
再現率 (Recall)	在データのうちモデルの在予測で取りこぼしがあるかの指標	0.5
F 値 (F-measure)	再現率と適合率の予測バランスの指標	0.57

再構築したタガメの生息予測モデルにおいて、PFI(Permutation Feature Importance) によるタガメの各特徴量の重要度は、高い順から「海拔」、「浮葉植物の有無」、「アメリカザリガニの eDNA 濃度（≒生息量）」、「池の面積」、「抽水植物の有無」、「水田の有無」となった（図 6）。



（図 6） 再構築したタガメにおける PFI による各特徴量の重要度

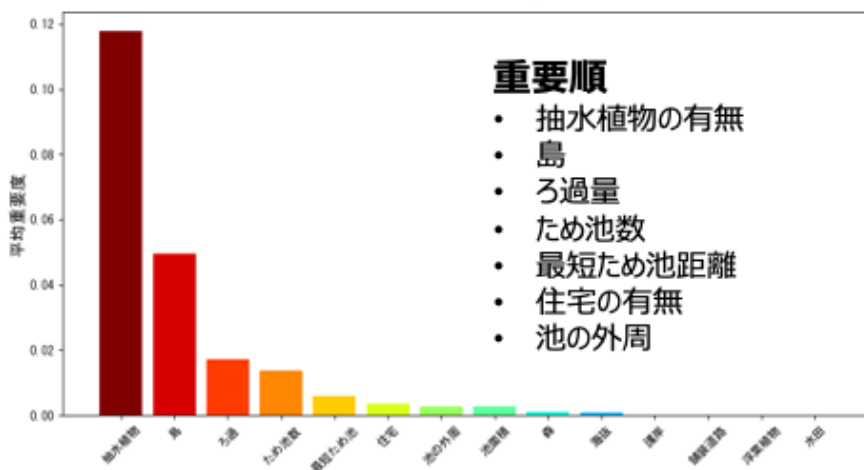
3-3. ウシガエルの生息予測モデル

Ogata et al. (2023) で収集済みのため池 89 面分のデータを用いて、ウシガエルの生息予測モデルを構築した結果、「ナイーブベイズ法」を用いた場合において、モデルの精度が最も高くなり、4つの指標すべてで 0.9 付近の高い値を示した（表 7）。なお、学習データは TP=32、TN=20、FP=7、FN=12、テストデータは TP=11、TN=5、FP=1、FN=1 を用いた。

（表 7）ウシガエルの生息予測モデルの結果（ナイーブベイズ法による）

正解率 (Accuracy)	予測値と真値がどれだけ正解しているかの指標	0.89
適合率 (Precision)	モデルの在予測が正確かどうかの指標	0.92
再現率 (Recall)	在データのうちモデルの在予測で取りこぼしがあるかの指標	0.92
F 値 (F-measure)	再現率と適合率の予測バランスの指標	0.92

構築したモデルにおける PFI (Permutation Feature Importance) によるウシガエルの各特徴量の重要度は、高い順から「抽水植物の有無」、「島」、「濾過量」、「周辺のため池の数」、「最短のため池までの距離」、「住宅の有無」、「池の外周」となった（図 7）。



（図 7）ウシガエルにおける PFI による各特徴量の重要度

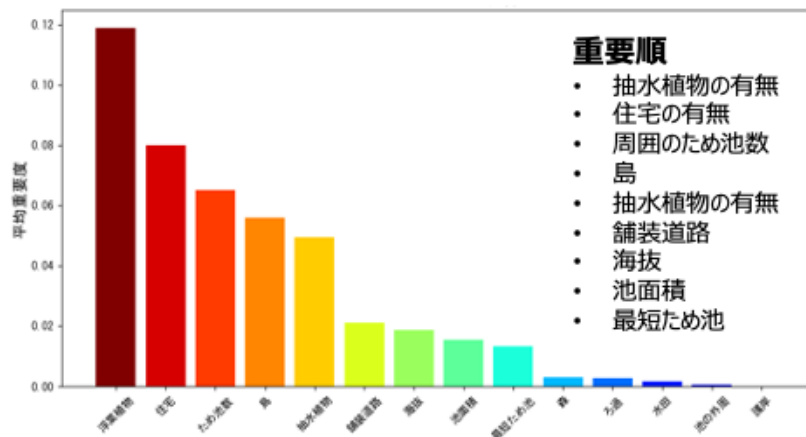
3-4. アメリカザリガニの生息予測モデル

Ogata et al. (2023) で収集済みのため池 89 面分のデータを用いて、アメリカザリガニの生息予測モデルを構築した結果、「ニューラルネットワーク法」を用いた場合において、モデルの精度が最も高くなり、4つの指標すべてで 0.8 以上の高い値を示した（表 8）。なお、学習データは TP=34、TN=27、FP=3、FN=7、テストデータは TP=9、TN=6、FP=1、FN=2 を用いた。

(表 8) アメリカザリガニの生息予測モデルの結果
(ニューラルネットワーク法による)

正解率 (Accuracy)	予測値と真値がどれだけ正解しているかの指標	0.83
適合率 (Precision)	モデルの在予測が正確かどうかの指標	0.90
再現率 (Recall)	在データのうちモデルの在予測で取りこぼしがあるかの指標	0.82
F 値 (F-measure)	再現率と適合率の予測バランスの指標	0.86

構築したモデルにおける PFI (Permutation Feature Importance) によるアメリカザリガニの各特徴量の重要度は、高い順から「浮葉植物の有無」、「住宅の有無」、「周辺のため池の数」、「島」、「抽水植物の有無」、「舗装道路の有無」、「海拔」、「最短のため池までの距離」となった（図 8）。



(図 8) アメリカザリガニにおける PFI による各特徴量の重要度

3-5. タガメ・ウシガエル・アメリカザリガニの生息予測モデルの精度検証

2017年・2018年のデータを利用して機械学習モデルによって構築したタガメ・ウシガエル・アメリカザリガニの生息予測モデルの精度を検証した。その際、2022年・2023年に採取したため池67面のサンプルのうち、環境DNA分析済みの24面分（24サンプル）の結果を用いた（表9）。

（表9）2022年・2023年のため池24面の環境DNA調査の結果

	環境DNAが検出された ため池の数
タガメ	1
ウシガエル	4
アメリカザリガニ	6

（表10）対象種3種の生息予測モデルの検証データの結果

		タガメ	ウシガエル	アメリカザリガニ
True Positive (真陽性:TP)	在予測をして 実際に在	0	2	16
True Negative (真陰性:TN)	不在予測をして 実際に不在	9	9	3
False Positive (偽陽性:FP)	在予測をして 実際は不在	14	11	2
False Negative (偽陰性:FN)	不在予測をして 実際は在	1	2	3

表10は対象種3種の生息予測モデルの検証データの結果を示す。つぎに、対象種3種の生息予測モデルの精度は、 F 値に着目してみると、アメリカザリガニで**0.55**を示した以外では、ウシガエルでは**0.24**、タガメでは**0**と非常に低い値となった（表11）。

(表 11) 対象種 3 種の生息予測モデルの精度

		タガメ	ウシ ガエル	アメリカ ザリガニ
正解率 (Accuracy)	予測値と真値がどれだけ正解しているかの指標	0.75	0.46	0.79
適合率 (Precision)	モデルの在予測が正確かどうかの指標	0	0.15	0.60
再現率 (Recall)	在データのうちモデルの在予測で取りこぼしがあるかの指標	0	0.50	0.50
<i>F</i> 値 (<i>F</i> -measure)	再現率と適合率の予測バランスの指標	0	0.24	0.55

4. 考察

本研究では、絶滅危惧種タガメの迅速な生息地の把握、侵略的外来種ウシガエル・アメリカザリガニの侵入察知のために、環境 DNA 分析と機械学習による生息予測モデルの構築を試みた。その結果、とくにタガメの生息予測モデルに関しては現段階では精度を高くすることが難しいことが明らかになった。本種は希少種であり、野外の在データが不均衡になる可能性が高かった。そのため、さまざまな機械学習法や外れ値検出手法などを試したが、期待していた結果を得ることができなかった。現在も生息予測モデルの精度向上のため、継続してタガメの環境 DNA 調査を実施しており、在・不在データの蓄積を進めている。加えて、山陰では過去の報告書などにおけるタガメの発見記録が多数あるので、その有効活用も検討している。これらによって、生息予測モデルの精度向上に向けた取り組みを進める予定である。また、タガメの生息場所の特徴も明らかになりつつあるので、今後、優先して保全すべき場所の特定も可能になると考えている。

一方で、侵略的外来種のウシガエルとアメリカザリガニは 2017 年・2018 年に収集したデータを用いた場合、高い精度の生息予測モデルの構築ができたと考えている。これは、タガメに比べて、これら 2 種の在データが充実していたことが関係しているのかもしれない。しかしながら、2022 年・2023 年のデータで検証した場合にその精度が低くなってしまった。現在、その原因について検討を進めている。

以上、今後も継続してため池調査を行い、機械学習によって構築する生息予測モデルにどの程度の実用性があるかについての答え合わせやモデルの精度向上に資する取り組みを展開する。

5. 今後の展望

環境 DNA 分析は野外では水を採取するだけなので、まずはスクリーニング的に広範な野外調査を簡便に行うことができる。そして、タガメの環境 DNA が確認された場所においてのみ捕獲調査を行い、実際の生息確認を行うことが可能になる、より効率的な調査が実施できる。また、直接捕獲は必要最少限におさえることができるため、希少種や環境への負荷を限りなく軽減できる極めて非侵襲的な方法である。このように、絶滅危惧種タガメの生息場所を簡便に評価できる環境 DNA 分析に、機械学習モデルを組み込むことで、重点保全地域特定の方法論を確立できれば、誰でも水を汲み取ってくるだけで実施できるシンプルな調査が可能になるため、その実用性と汎用性は極めて高いと考えられる。これらのことから、とくにタガメのような絶滅危惧種には最適な方法になるのは間違いない。加えて、タガメの生息予測モデルを確立することができれば、低コストで汎用的な方法論として全国各地で活用されることが期待でき、その有益性は計り知れない。今後は、採集済みのサンプルの処理とデータ解析を引き続き進めることで、より精度の高いモデル構築を目指す。

6. 研究協力者

- 尾形 茂紀（島根大学大学院自然科学研究科）：野外調査、および、モデル構築
- 山岸 聖（島根大学大学院自然科学研究科）：野外調査

7. 謝辞

野外調査にご協力をいただいた島根大学の笹木快斗氏、坂本光織氏、永田晃弘氏、下田莉奈氏に、この場を借りてお礼を申し上げます。

8. 学会発表

- 尾形茂紀・山岸聖・高原輝彦「環境 DNA と AI を用いた絶滅危惧種タガメと外来種 2 種の分布比較検討」2023 年水生昆虫談話会・日本陸水学会 共催シンポジウム、口頭発表、松本市（信州大学）、2023 年 1 月 21 日-22 日

9. 参考文献

- Shigeki Ogata, Hideyuki Doi, Takeshi Igawa, Shohei Komaki, Teruhiko Takahara* (2022) Environmental DNA methods for detecting two invasive alien species (American bullfrog and red swamp crayfish) in Japanese ponds. *Ecological Research*, 37 卷 6 号, 701-710 頁
- Shigeki Ogata, Atsuhiro Nishiwaki, Kanji Yamazoe, Kyoko Sugai, Teruhiko Takahara* (2023) Discovery of unknown new ponds occupied by the endangered giant water bug *Kirkaldyia deyrolli* (Hemiptera: Heteroptera: Belostomatidae) by combining environmental DNA and capture surveys. *Entomological Science*, 26 卷 1 号, e12540 頁