

2-4. SLAM トラップ調査におけるヒアリ検出を目的とした GC-MS の利用

(1) 背景

沖縄県におけるヒアリの監視体制として、主に生殖虫の監視を目的に SLAM トラップを利用して
いる。スクリーニング作業の省労力化と迅速にヒアリの有無を確認することを目的に、GC-MS に
よるヒアリ検出を検討している。SLAM トラップ調査サンプルの分析においては、有翅女王の検出
(毒性物質 C₁₁ の検出、図 2-1_1 参照) を試みている。

これまでに行った試験の結果、県内に設置している 74 基のトラップを 1 つにまとめた検体では
多量の夾雑物により毒性物質を検出できない可能性が高いことが分かった。よって、6 基分 (ト
ラップ 1 基に着目すると 12 週間分) を 1 つにまとめた検体で確実に検出することを目的に検討を
行った。

(2) 前処理方法の検討

検討の結果、図 2-4_1 に示す前処理方法を採用することとした。

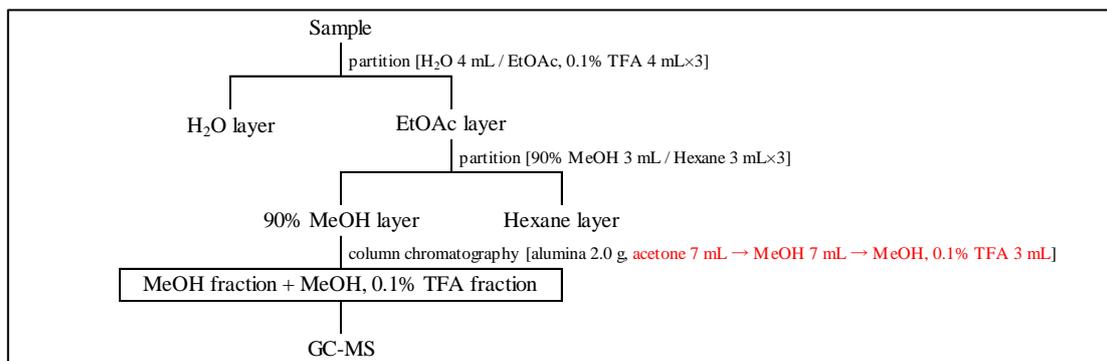


図 2-4_1 前処理方法 (赤字 : 図 2-2_2 から変更した箇所)

(3) ヒアリ有翅女王の毒性物質の含有量

ワーカーと同様に、女王 1 個体ごとの含有量を調査した (n=25)。女王に多く含まれる毒性物質
cis-C₁₁ と *trans*-C₁₁ のうち、含有割合の高い *cis*-C₁₁ について解析を行ったところ、図 2-4_2 に示
すヒストグラムが得られた。含有量が最小と最大のものでは約 80 倍の差があること、ワーカーに
比べて毒性物質を高濃度に持つ個体数が多いこと (濃度 100 ng/μL 以上が 48%、ワーカーは 13%)
が明らかになった。

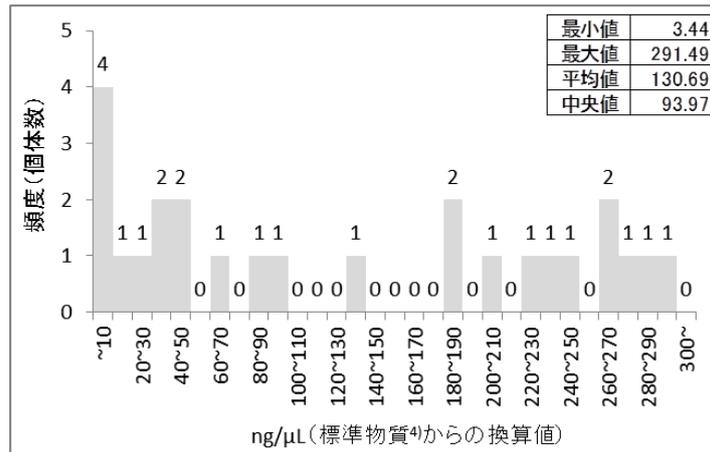


図 2-4_2 毒性物質 *cis-C*₁₁ 含有量のヒストグラム

(4) SLAM トラップ調査における検出下限

① 方法

以下に示す方法で試験を行った。毒性物質 *cis-C*₁₁ の検出について確認した。

- SLAM トラップをランダムに 6 基選定（ヒアリは捕獲されていないと仮定）し、それらのエタノール廃液を 1 つにまとめたものを分析検体とした。
- 毒性物質 *cis-C*₁₁ の濃度として 3.44 ng/μL（含有量最小の個体、図 2-4_2 参照）及び 36.1 ng/μL のヒアリ抽出液を検体に添加した（n=3）。
- 図 2-4_1 に示す前処理を行い、各検体を GC-MS で分析した（測定条件は表 2-1_2 の通り）。
- 目的ピークのリテンションタイムにおいて得られたピーク高さが S/N 比 ≥ 10 であり、マススペクトルにおいてフラグメントイオン *m/z* 98, 238, 252 が観測された場合、毒性物質 *cis-C*₁₁ が検出できたと判定した。

② 結果

分析結果を表 2-4_1、図 2-4_3 に示す。添加濃度 36.1 ng/μL では 3 検体すべてで *cis-C*₁₁ を検出できた。濃度 3.44 ng/μL では 3 検体とも得られたピークがマススペクトルから *cis-C*₁₁ であると確認できたが、S/N 比 ≥ 10 を満たさなかったため、検出不可と判定した。よって、SLAM トラップ 6 基分を 1 検体とした際の検出下限は 36.1 ng/μL と確認した。ただし、図 2-4_3 に示したクロマトグラム及び S/N 比から、濃度 10 ng/μL においても目的ピークを検出できると考えられたため、検出下限を 10 ng/μL と推定した。次項に示すブラインドテストを行い、その確認を行った。

表 2-4_1 分析結果

検体	毒性物質 <i>cis-C</i> ₁₁ の添加濃度	
	3.44 ng/μL	36.1 ng/μL
A	×*	○
B	×*	○
C	×*	○

*cis-C*₁₁ を検出できたものは「○」、できなかったものは「×」で表した。

* S/N ≥ 3 を認めると、すべて「○」になる。

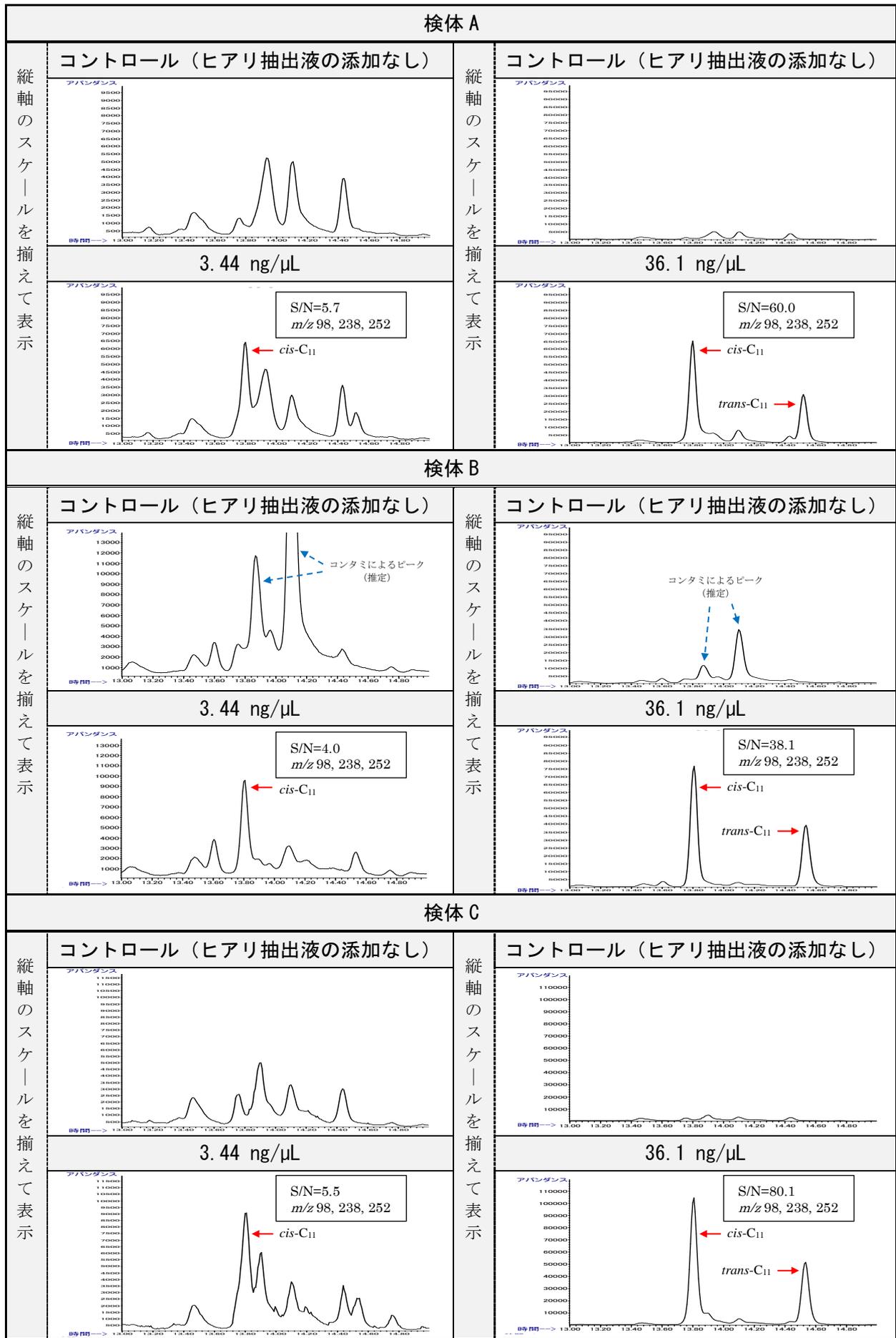


図 2-4_3 各分析検体のクロマトグラム

(5) ブラインドテスト

① 目的

推定した検出下限 (*cis*-C₁₁ の濃度 10 ng/μL) において検出可能であることを確認し、SLAM トラップ調査における GC-MS を用いたヒアリ検出技術の確立に向け、ブラインドテストによりその実用性を検証する。

② 方法

以下に示す方法で試験を行った。

- 分析検体数を 10 とし、そのうちの数検体に毒性物質 *cis*-C₁₁ の濃度として 10 ng/μL のヒアリ抽出液を添加した。
- 図 2-4_1 に示す前処理を行い、各検体を GC-MS で分析した (測定条件は表 2-1_2 の通り)。本試験は分析実施者 1 名で行った。
- 各検体に標準物質⁴⁾ を添加して分析することで、分析装置の精度、リテンションタイムのずれを確認した。
- 目的ピークのリテンションタイムにおいて得られたピーク高さが S/N 比 \geq 10 であり、マススペクトルにおいてフラグメントイオン *m/z* 98, 238, 252 が観測された場合、毒性物質 *cis*-C₁₁ が検出できたと判定した。

③ 結果

試験結果を表 2-4_2、図 2-4_4 (各クロマトグラムは目的ピークのリテンションタイム付近の拡大図を表示した) に示す。すべての検体において正答を示し、正答率 100%となった。よって、SLAM トラップ調査における分析検体 (トラップ 6 基分) での検出下限を 10 ng/μL と確認した。

表 2-4_2 ブラインドテストの結果

検体No.	<i>cis</i> -C ₁₁ の検出* ¹	抽出液の添加* ²	正誤
1			正
2			正
3	○	○	正
4	○	○	正
5	○	○	正
6	○	○	正
7			正
8			正
9	○	○	正
10	○	○	正

*¹ 検出できたものは「○」で表した。

*² ヒアリ抽出液を添加したものを「○」で表した。

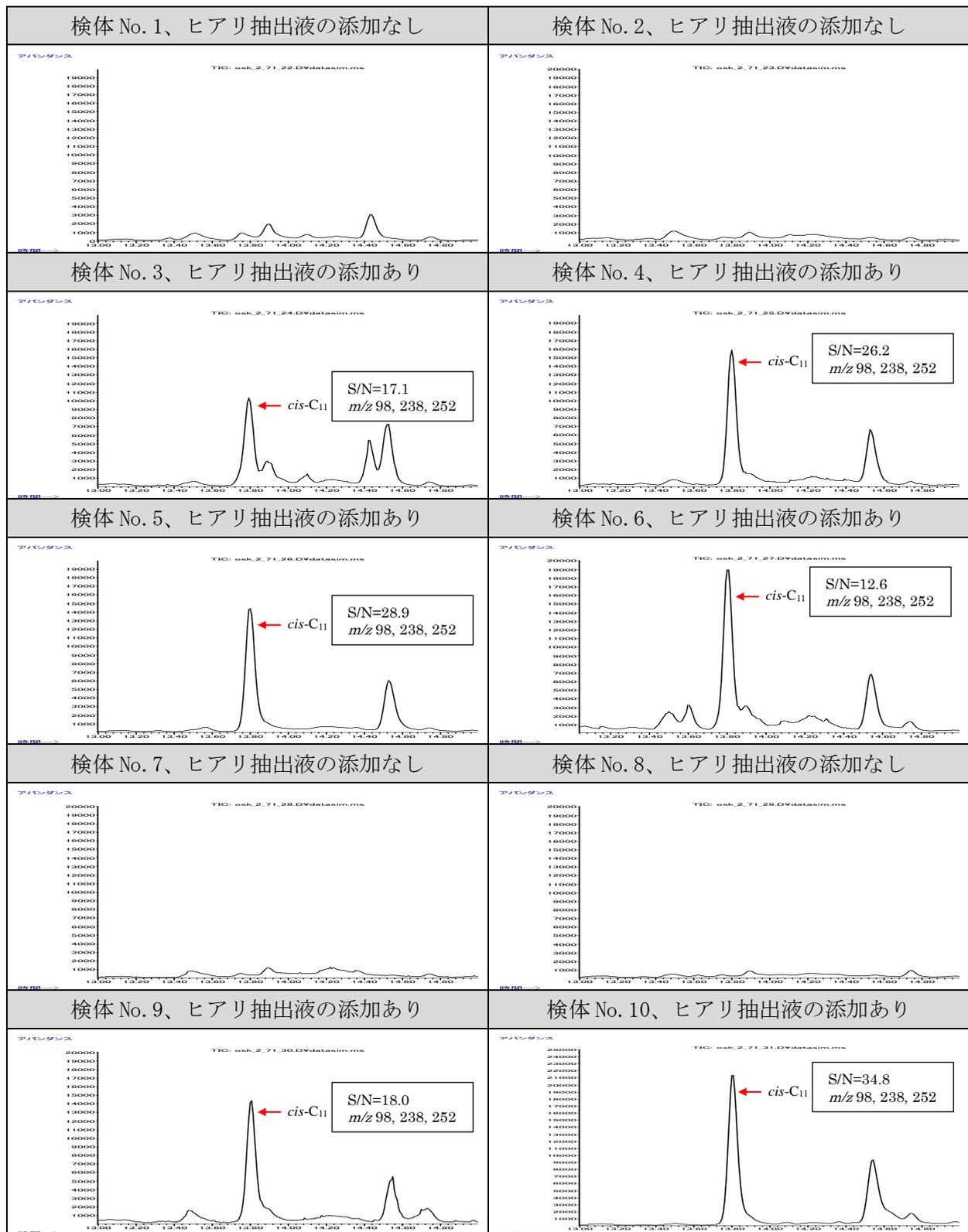


図 2-4_4 各検体のクロマトグラム

(6) 那覇港及び石垣港サンプルの分析

① 目的

重要監視エリアである那覇港周辺及び石垣港周辺に設置している SLAM トラップについて、GC-MS によるヒアリ女王の毒性物質の検出を試みる。顕微鏡によるヒアリの有無の確認結果と照合することで、GC-MS を用いた検出技術の実用性を検証する。

② 方法

以下に示す方法で試験を行った。

- 分析検体を表 2-4_3 に示す通り準備した。各検体を 2 つずつ準備し、そのうち 1 つずつに毒性物質 *cis*-C₁₁ の濃度として 10 ng/μL (検出下限値) のヒアリ抽出液を添加した。
- 図 2-4_1 に示す前処理を行い、各検体を GC-MS で分析した (測定条件は表 2-1_2 の通り)。分析実施者 1 名がブラインドテストを兼ねて試験を行った。
- 各検体に標準物質⁴⁾ を添加して分析することで、分析装置の精度、リテンションタイムのずれを確認した。
- 目的ピークのリテンションタイムにおいて得られたピーク高さが S/N 比 ≥ 10 であり、マススペクトルにおいてフラグメントイオン *m/z* 98, 238, 252 が観測された場合、毒性物質 *cis*-C₁₁ が検出できたと判定した。

表 2-4_3 分析検体

検体名	サンプルNo.					
	設置期間					
那覇港①	OK11338	OK11411	OK11484	OK11557	OK11630	OK12403
	5/8~22	5/22~6/5	6/5~19	6/19~7/3	7/3~17	7/17~31
那覇港②	OK12476	OK12549	OK12622	OK12695	OK12768	OK12841
	7/31~8/14	8/14~28	8/28~9/11	9/11~25	9/25~10/9	10/9~23
那覇港③	OK14302	OK14375	OK14448	OK14521	OK14594	OK14667
	10/23~11/6	11/6~20	11/20~12/4	12/4~18	12/18~1/1	1/1~15
那覇港④ ^{*1}	OK14740	OK14813	OK14886	-		
	1/15~29	1/29~2/12	2/12~26			
石垣港① ^{*2}	OK03628	OK03629	OK03630	OK03631	OK03632	OK03633
	5/29~6/27	6/27~7/27	7/27~8/25	8/25~9/28	10/2~26	10/26~11/27
石垣港② ^{*3}	OK03634	OK03635	OK03636	-		
	11/27~12/28	12/28~1/30	1/30~2/26			

*1 3週間分(3基分)の検体となった。

*2 26週間分(13基分)の検体となった。

*3 13週間分(6.5基分)の検体となった。

③ 結果

試験結果を表 2-4_4、図 2-4_5 (各クロマトグラムは測定時間全体図と目的ピークのリテンションタイム付近の拡大図を表示し、同じ行のクロマトグラムは縦軸のスケールを揃えて表示した) に示す。すべての検体において正答を示し、正答率 100%となった。ヒアリ抽出液を添加していない検体 (検体 No. 1, 2, 5, 6, 7, 11) については、10 ng/μL 以上の毒性物質 *cis*-C₁₁ は検出されなかったことを確認した。また、ワーカーに多く含まれる毒性物質 C_{15:1} についても検出下限値以上のピークは検出されなかったことを確認した。これらの検体においては顕微鏡観察でもヒアリ

女王及びワーカーは確認されず、GC-MS による検出と顕微鏡による確認とで一致した結果が得られた（表 2-4_5）。

表 2-4_4 試験結果

検体No.	検体名	<i>cis</i> -C ₁₁ の検出* ¹	抽出液の添加* ²	正誤
1	石垣港②			正
2	那覇港④			正
3	那覇港③	○	○	正
4	那覇港①	○	○	正
5	那覇港①			正
6	石垣港①			正
7	那覇港③			正
8	石垣港①	○	○	正
9	石垣港②	○	○	正
10	那覇港②	○	○	正
11	那覇港②			正
12	那覇港④	○	○	正

*¹ 検出できたものは「○」で表した。

*² ヒアリ抽出液を添加したものを「○」で表した。

表 2-4_5 顕微鏡による確認との照合結果

検体名	検体No.	GC-MSによる検出* ¹	顕微鏡による確認* ²
那覇港①	5	無	無
那覇港②	11	無	無
那覇港③	7	無	無
那覇港④	2	無	無
石垣港①	6	無	無
石垣港②	1	無	無

*¹ 毒性物質を検出しなかったものを「無」で表した。

*² ヒアリが確認されなかったものを「無」で表した。

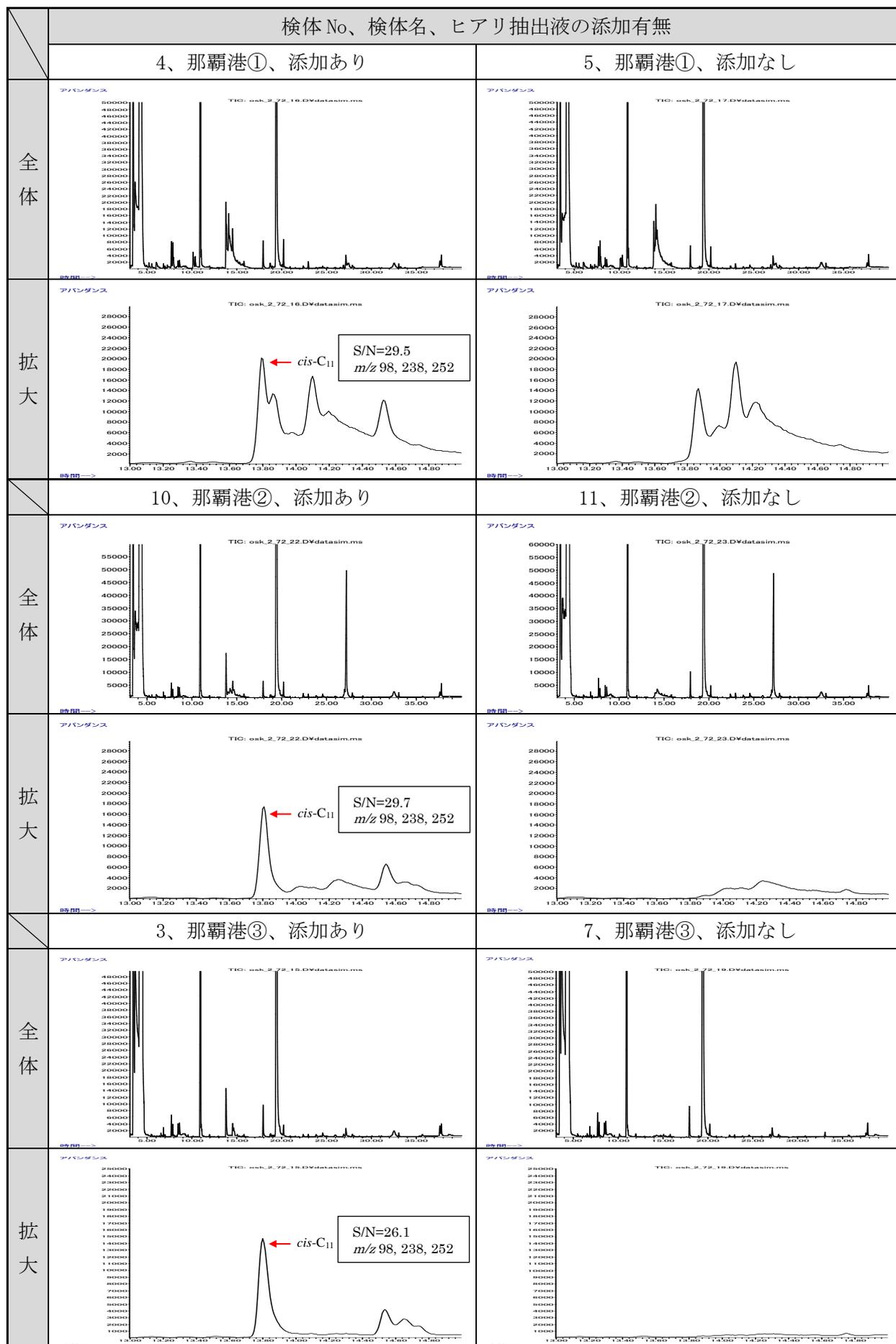


図 2-4_5 各検体のクロマトグラム

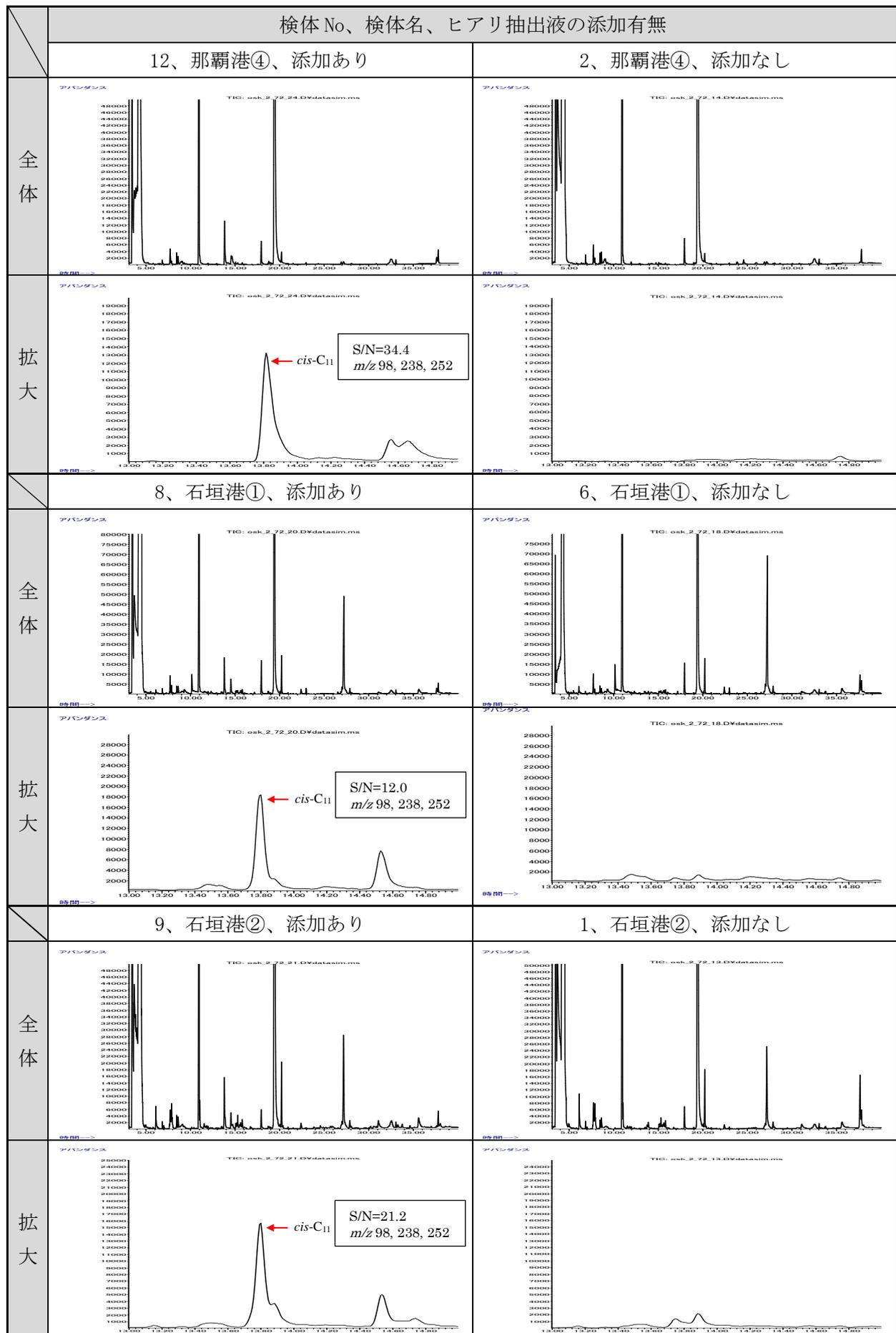


図 2-4_5 各検体のクロマトグラム (続き)

(7) SLAM トラップ調査サンプルの分析における考察

<ヒアリ有無の確認について>

実施したブラインドテストの結果から、SLAM トラップ 6 基分の分析検体での検出下限を 10 ng/μL と確認できた。また、那覇港周辺と石垣港周辺に設置のトラップからこの濃度以上の毒性物質が検出されなかったことを確認し、顕微鏡による確認と一致した結果を得た。

検証した分析検体（トラップ 6 基分）において、毒性物質 *cis*-C₁₁ の濃度 10 ng/μL を確実に検出できたことから、8 割以上（毒性物質の含有量 10 ng/μL 以上の個体が 84%存在する、図 2-4_2 参照）はヒアリ女王 1 個体を検出できることが示された。また、含有量が最小（3.44 ng/μL）の個体でも 3 個体存在すれば確実に検出可能である。

トラップ 6 基分を 1 検体とし、ヒアリ女王抽出液を添加して分析を行った 12 検体では、すべての検体で毒性物質を検出することができた。また、1 例ではあるが、13 基分の検体（石垣港①）においても検出できた。ただし、SLAM トラップは設置場所や時期によって昆虫類の捕獲量にかなりの差があり、予備的に行った試験で極端に捕獲量が多い場合は毒性物質がベースラインに埋もれてしまい検出できなかった（図 2-4_6）。毒性物質の検出はできなかったが、このような場合は「GC-MS による判定不可」と評価し、その検体については顕微鏡による確認を行うことで、検出漏れは防ぐことができる。GC-MS と顕微鏡を併用することで、検出漏れを防ぎつつ、効率的にスクリーニングを行うことができると考える。

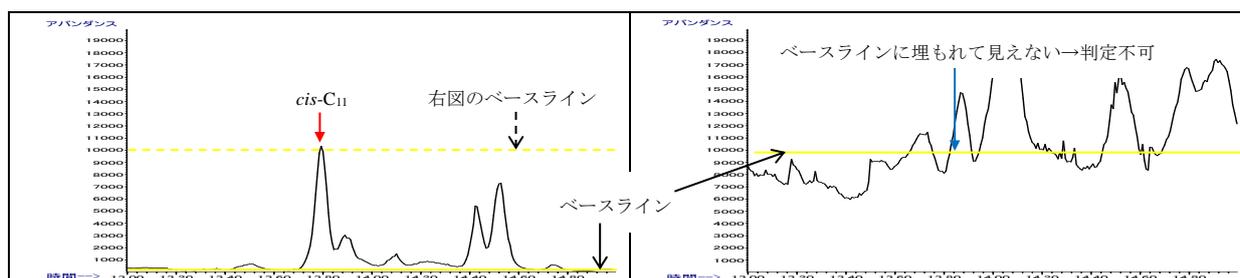


図 2-4_6 毒性物質を検出できたクロマトグラム（左）と判定不可のクロマトグラム（右）

また、より低濃度での検出方法として以下の方法が考えられる。

検出下限の確認試験では、濃度 3.44 ng/μL で S/N 比 \geq 10 は満たさなかったものの、S/N 比 \geq 3 で目的ピークを検出し、マススペクトルにおいても対象のフラグメントイオンをすべて観測できた（表 2-4_1、図 2-4_3 参照）。ピークの検出において S/N 比 \geq 3 は十分に認められるため、すべての分析検体で毒性物質 *cis*-C₁₁ の濃度 3.44 ng/μL のヒアリ抽出液を添加した検体を同時に分析し、コントロール（ヒアリ抽出液の添加なし）と比較することで、この濃度の毒性物質の検出の有無を確認することができる。図 2-4_6 に示す通り、ベースラインに埋もれる場合も出てくるのが予想されるが、その場合は GC-MS による判定不可と評価し、顕微鏡による確認を行う。ベースラインに埋もれる検体がどれくらいの割合で生じるかは分析検体数を増やし確認する必要があるが、この方法を用いることで、女王 1 個体も漏らさずに、効率的にスクリーニングを行うことができると考えられる。

<今後の課題>

誘引剤トラップ調査サンプルと同様に、他の昆虫類由来の成分とヒアリ女王の毒性物質との化学反応(分解)について検証する必要がある。SLAMトラップでは多種の昆虫類が捕獲されるため、よりリスクは高くなると考えられる。台湾に設置したトラップ(顕微鏡下で女王とワーカーが捕獲されたことを確認済み)の分析で女王(*cis*-C₁₁)及びワーカー(C_{15:1})の毒性物質を検出できているものの(図2-4_7)、ヒアリの捕獲から回収まで時間が不明であり毒性物質が分解しないかどうかの検証は十分ではない。今後、毒性物質の安定性について確認することが課題として残された。

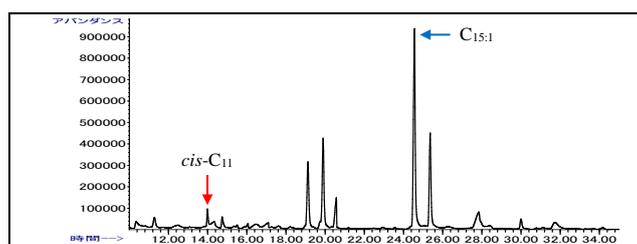


図2-4_7 台湾に設置したSLAMトラップの分析結果

(8) まとめ

SLAMトラップ調査におけるGC-MSを利用したヒアリ女王の検出について、得られた成果を以下に示す。

- トラップ6基分を1検体とした際の検出下限を10 ng/μLと確認した。
- 那覇港周辺及び石垣港周辺に設置しているSLAMトラップについて、10 ng/μL以上の毒性物質は検出されなかったことを確認した。

2-5. その他サンプルにおける GC-MS の利用

(1) 薬剤を塗布したサンプル

薬剤を塗布したヒアリについて、毒性物質を検出できるか確認した。スプレー式殺虫剤（ピレスロイド系）をヒアリワーカーに 10 秒間塗布した。その後、ワーカー1 個体ずつをエタノールに浸漬した (n=3)。それらのエタノール液を GC-MS により分析したところ、すべてのサンプルで毒性物質を検出できた (図 2-5_1)。GC-MS による分析において、ヒアリの毒性物質が薬剤の成分に影響されることなく検出できることを確認した。今後、国内での利用が多いフィプロニルを含んだ殺虫剤でも検出可能か検討したい。

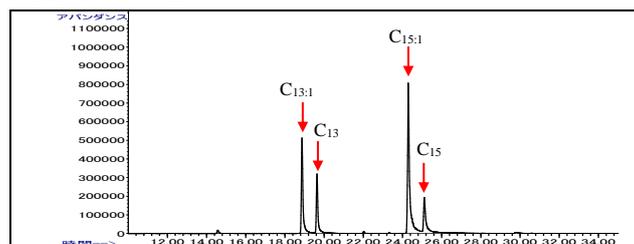


図 2-5_1 薬剤を塗布したヒアリワーカーの GC-MS による分析結果

(2) 形態による同定が困難なサンプル

形態による同定が困難なサンプルについて、GC-MS による同定が可能か検証した。野外において踏み潰され、あるいは、何らかの物体等で押し潰され、ヒアリに特徴的な形態が顕微鏡等で確認できなくなったと想定し、ワーカーをステンレス製の葉さじで潰したサンプルを準備した (n=3)。それらをエタノールで抽出し、抽出液を GC-MS により分析したところ、すべてのサンプルで毒性物質を検出できた (図 2-5_2 左)。アカカミアリワーカーについても同様の検証を行ったところ (n=3)、すべてのサンプルで毒性物質を検出できた (図 2-5_2 右)。

上記で検証したようなサンプルについては、GC-MS のような化学分析を利用することは有効な同定手法だと考えられる。また、ヒアリワーカーとアカカミアリワーカーでは毒性物質の含有比が顕著に異なるため、それらの種同定も容易に行うことができる (ただし、アカカミアリワーカーとヒアリ女王及びアカカミアリ女王は同様の含有比であるためそれらの区別はできない)。一方、GC-MS はヒアリ類の毒性物質を利用した検出法であるため、毒性物質を持たない個体 (これまでに分析を行った数百個体ではすべて検出できたため、実際にそのような個体が存在するかは不明) については検出不可となる点に留意する必要がある。

また、今後この分析を使用する際には、さらに時間的な安定性についての検討が必要となる。

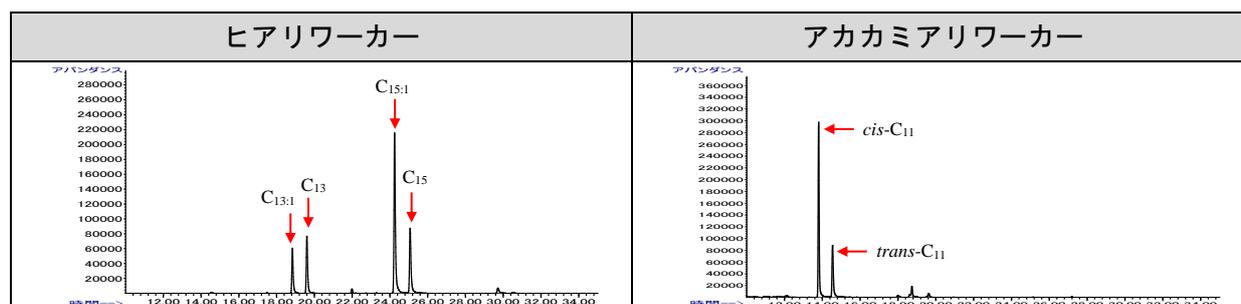


図 2-5_2 形態による同定が困難な各ワーカーの GC-MS による分析結果

3. 主要港湾におけるヒアリの侵入状況調査

3-1. 目的

ヒアリの侵入リスクの高い港湾地区周辺及び内陸部において、広範囲にヒアリ侵入の有無を把握するため、複合的に調査を実施している。本事業で実施しているヒアリ類の調査を下表に整理した。

表 3-1_1 県内で実施しているヒアリ類調査一覧

調査方法	調査場所		
SLAM トラップ 通年	沖縄島 72 ヶ所（沖縄科学技術大学院大学 OKEON 美ら森プロジェクト、以下 OIST、で稼働）、 那覇港 1 ヶ所、石垣島 1 ヶ所 →計 74 ヶ所で実施		
単位時間採集法 年 2 回（5 月、10 月）	沖縄島 8 ヶ所（那覇港 3 ヶ所、中城湾港 3 ヶ所、本部港 2 ヶ所）、石垣島 5 ヶ所、宮古島 3 ヶ所 →計 16 ヶ所で実施		
誘引剤トラップ（直置き）：1 割（顕微鏡観察）、9 割（GC-MS） 年 1 回（10～11 月）	<p>県内の主要港湾周辺、米軍基地周辺に約 10000 個設置した</p> <table style="width: 100%; border: none;"> <tr> <td style="width: 50%; vertical-align: top;"> <p>■昨年度実績</p> <ul style="list-style-type: none"> ・ 那覇港 2457 個 ・ 那覇保税地域 195 個 ・ 那覇軍港 230 個 ・ 那覇空港 202 個 ・ 本部港 218 個 ・ 金武湾港 222 個 </td> <td style="width: 50%; vertical-align: top;"> <p>■今年度実績</p> <ul style="list-style-type: none"> →約 5000 個（+2500 個追加） →約 500 個（+300 個追加） →約 250 個（0） →約 300 個（+100 個追加） →約 250 個（0） →約 500 個（+300 個追加） <li style="padding-left: 20px;">②石川石炭火力 100 個、③ 具志川火力 100 個追加 →約 1300 個（+1100 個） <li style="padding-left: 20px;">①保税地域 800 個、②保税 地域 200 個を追加 →約 200 個（0） →約 1300 個（+700 個追加） →約 1000 個（+600 個追加） </td> </tr> </table> <p>・ 中城湾港 218 個</p> <p>・ ホワイトビーチ 192 個</p> <p>・ 石垣港 613 個</p> <p>・ 平良港 433 個</p>	<p>■昨年度実績</p> <ul style="list-style-type: none"> ・ 那覇港 2457 個 ・ 那覇保税地域 195 個 ・ 那覇軍港 230 個 ・ 那覇空港 202 個 ・ 本部港 218 個 ・ 金武湾港 222 個 	<p>■今年度実績</p> <ul style="list-style-type: none"> →約 5000 個（+2500 個追加） →約 500 個（+300 個追加） →約 250 個（0） →約 300 個（+100 個追加） →約 250 個（0） →約 500 個（+300 個追加） <li style="padding-left: 20px;">②石川石炭火力 100 個、③ 具志川火力 100 個追加 →約 1300 個（+1100 個） <li style="padding-left: 20px;">①保税地域 800 個、②保税 地域 200 個を追加 →約 200 個（0） →約 1300 個（+700 個追加） →約 1000 個（+600 個追加）
<p>■昨年度実績</p> <ul style="list-style-type: none"> ・ 那覇港 2457 個 ・ 那覇保税地域 195 個 ・ 那覇軍港 230 個 ・ 那覇空港 202 個 ・ 本部港 218 個 ・ 金武湾港 222 個 	<p>■今年度実績</p> <ul style="list-style-type: none"> →約 5000 個（+2500 個追加） →約 500 個（+300 個追加） →約 250 個（0） →約 300 個（+100 個追加） →約 250 個（0） →約 500 個（+300 個追加） <li style="padding-left: 20px;">②石川石炭火力 100 個、③ 具志川火力 100 個追加 →約 1300 個（+1100 個） <li style="padding-left: 20px;">①保税地域 800 個、②保税 地域 200 個を追加 →約 200 個（0） →約 1300 個（+700 個追加） →約 1000 個（+600 個追加） 		

3-2. 各種調査方法と結果

(1) SLAM トラップ

① 調査方法

常設の SLAM トラップを使って昆虫類を採集し、ヒアリ類及びその他の特定外来アリの有無を確認した。※SLAM トラップは、飛翔性と徘徊性の小型昆虫類が自動的に 99.5%エタノール入りの捕獲ボトルに入る仕組みのトラップ

1. 各調査地に SLAM トラップを設置（調査スタート時）。
2. 捕獲ボトルは2週間ごとに回収し、新しいボトルと交換する。
3. 捕獲ボトル内容物はそれぞれ標本サンプルとエタノール液に分ける。
4. 主要港湾（那覇港と石垣港）で得られた標本サンプルは顕微鏡下でチェックし、ヒアリ類の有無を確認し、それ以外のアリは種まで同定する。
5. 74 全てのサイトから得られたエタノール液は GC-MS を利用したヒアリ検出技術開発に使用。



図 3-2_1 那覇港に設置した SLAM トラップ（国際コンテナヤードの対岸の緑地の縁に設置）



図 3-2_2 石垣港に設置した SLAM トラップ（コンテナヤードの対岸の埋立地の公園内に設置）

② 調査方法

県内 74 ヶ所に調査地を設置(図 3-2_3)。本事業の主な調査場所は主要港湾の那覇港(図 3-2_1、新港ふ頭東緑地)と石垣港(図 3-2_2、南ぬ浜町緑地公園)とし、それ以外は OIST の調査網を活用した。

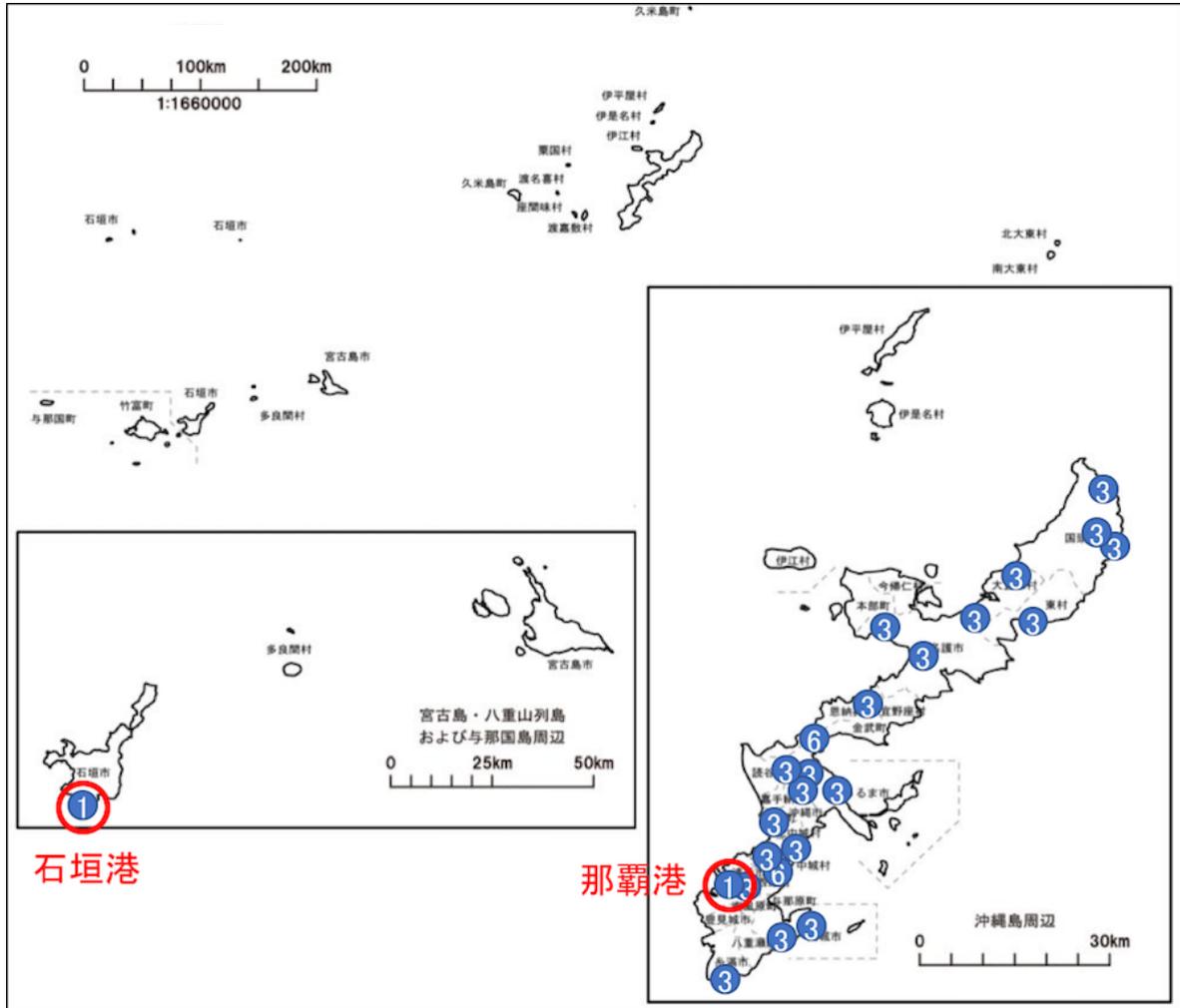


図 3-2_3 SLAM トラップの設置場所 ※丸内の数字はトラップ数

③ 調査時期

那覇港は 2017 年 7 月 6 日から 2020 年 3 月 25 日までの計 994 日、石垣港は 2017 年 3 月 28 日から 2020 年 3 月 29 日までの計 1,098 日間それぞれ設置し続けた。その間、那覇港のトラップは 2 週間に一度、石垣港のトラップは 1 ヶ月に一度、捕獲ボトルを回収した。設置期間中の気温は、那覇で 9.3℃～35.1℃、石垣で 10.4℃～35.6℃だった(気象庁ホームページ)。

④ 調査結果

那覇港、石垣港共に設置してある SLAM トラップからは、約 3 年間弱の調査期間中に働きアリと女王アリ、雄アリが採集された。種まで同定できた働きアリは、那覇港のトラップから 16 種、石垣港のトラップから 19 種であった(表 3-2_1)。回収されたサンプル中に、ヒアリ及び特定外来生物に指定されているアリ類は確認されなかった。

表 3-2_1 那覇港と石垣港に設置した SLAM トラップで採集されたアリ類

亜科名	和名	学名	個体数	
			那覇港	石垣港
カタアリ亜科	ルリアリ	<i>Ochetellus glaber</i>		3
Dolichoderinae	アワテコヌカアリ	<i>Tapinoma melanocephalum</i>	6	1737
	コヌカアリ	<i>Tapinoma saohime</i>		983
	アシジロヒラフシアリ	<i>Technomyrmex brunneus</i>	5	
ヤマアリ亜科	アシナガキアリ	<i>Anoplolepis gracilipes</i>	3	
Formicinae	ホソウメマツオオアリ	<i>Camponotus bishamon</i>	8	180
	オオアリの一種	<i>Camponotus</i> sp.		5
	アカヒラズオオアリ	<i>Colobopsis shohki</i>	153	99
	アメロアリの一種	<i>Nylanderia</i> sp.	1	2
	ヒゲナガアメロアリ	<i>Paratrechina longicornis</i>	261	1382
	ウスヒメキアリ	<i>Plagiolepis alluaudi</i>	3	
フタフシアリ亜科	ハダカアリ	<i>Cardiocondyla kagutsuchi</i>		5
Myrmicinae	ヒメハダカアリ	<i>Cardiocondyla minutior</i>	9	
	キイロハダカアリ	<i>Cardiocondyla obscurior</i>	620	176
	クボミシリアゲアリ	<i>Crematogaster vagula</i>	8	
	クロヒメアリ	<i>Monomorium chinense</i>	91	2
	フタイロヒメアリ	<i>Monomorium floricola</i>	4	663
	インドオズアリ	<i>Pheidole indica</i>		67
	ツヤオオズアリ	<i>Pheidole megacephala</i>	131	
	ナンヨウテンコクオオズアリ	<i>Pheidole parva</i>		1114
	オキナワトフシアリ	<i>Solenopsis tipuna</i>	1	1
	カドヒメアリ	<i>Sylophopsis sechellensis</i>		192
	オオシワアリ	<i>Tetramorium bicarinatum</i>	1	28970
	イカリゲシワアリ	<i>Tetramorium lanuginosum</i>		473
	カドムネシワアリ	<i>Tetramorium smithi</i>		30
		働きアリ個体数	1305	36084
	働きアリ種数	16	19	
カタアリ亜科	コヌカアリ属女王	<i>Tapinoma</i> sp. [Queen]		2
Dolichoderinae	ヒラフシアリ属女王	<i>Technomyrmex</i> sp. [Queen]	2	3
ヤマアリ亜科	オオアリ属女王	<i>Camponotus</i> sp. [Queen]	1	8
Formicinae	オオアリ属女王	<i>Colobopsis</i> sp. [Queen]	12	1
	アメロアリ属女王	<i>Nylanderia</i> sp. [Queen]	1	1
	ヒメキアリ属女王	<i>Plagiolepis</i> sp. [Queen]	2	
フタフシアリ亜科	ハダカアリ属女王	<i>Cardiocondyla</i> sp. [Queen]	33	9
Myrmicinae	カレバラアリ属女王	<i>Carebara</i> sp. [Queen]		1
	ヒメアリ属女王	<i>Monomorium</i> sp. [Queen]		1
	オオズアリ属女王	<i>Pheidole</i> sp. [Queen]		5
	ウロコアリ属女王	<i>Strumigenys</i> sp. [Queen]		5
	トフシアリ属女王	<i>Solenopsis</i> sp. [Queen]	2	
	シワアリ属女王	<i>Tetramorium</i> sp. [Queen]		152
ハリアリ亜科	フトハリアリ属女王	<i>Brachyponera</i> sp. [Queen]	2	
Ponerinae	ニセハリアリ属女王	<i>Hypoconera</i> sp. [Queen]		4
	コガタハリアリ属女王	<i>Parvaponera</i> sp. [Queen]		2
	ハリアリ属女王	<i>Ponera</i> sp. [Queen]		2
	ハナナガアリ属女王	<i>Probolomyrmex</i> sp. [Queen]		1
未同定種女王	Formicidae gen. spp. [Queen]	12	13	
	女王アリ個体数	53	210	
	雄アリ個体数	53	192	
	全アリ個体数	1411	36486	

※那覇港は 2017 年 7 月 6 日から 2020 年 3 月 25 日までのデータ、石垣港は 2017 年 3 月 28 日から 2020 年 2 月 26 日までのデータをまとめた。

(2) 単位時間採集法

① 調査方法

調査員が一定時間、調査区内のアリを採集する方法で、ヒアリ類及びその他の特定外来アリの有無を確認した。

1. 外国貨物が着く港湾の緑地に、20m×20m の調査区を設定（図 3-2_4）。
2. 調査員 2 名が 15 分間、調査区内でなるべく多くの種を得られるように見つけ採り、土をふるう、草木の上を叩くなど、様々な方法を使ってアリを採集する（図 3-2_5）。
3. 一度の調査につき、上記採集を各調査区に 1 名につき 3 回、合計 6 回繰り返す。
4. 採集したアリは現場で 99.5%のエタノールで固定。
5. 顕微鏡下で、全てのアリを種まで同定し、ヒアリの有無を確認する



図 3-2_4 那覇港の調査区



図 3-2_5 調査風景（平良港）

② 調査場所

主に外国貨物が着く港湾の緑地等で調査を実施。沖縄県内に 16 区の調査区を設置した（図 3-2_6）。

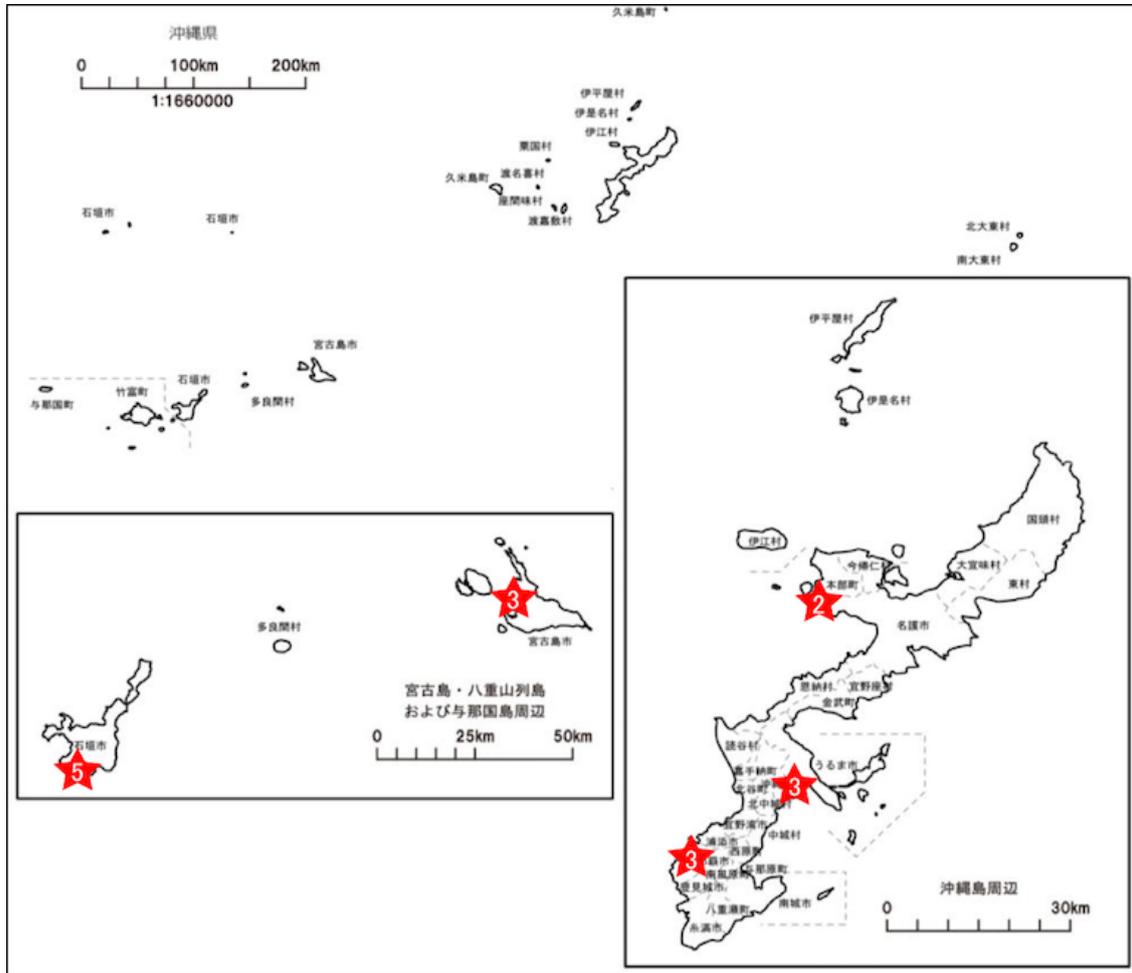


図 3-2_6 単位時間採集法の調査場所 ※数字は調査区の数

③ 調査時期

年に 2 回の調査として、上半期は 5 月に、下半期は 10 月に実施した。2019 年度の調査での調査時間帯（9：30～16：00）の気温は、上半期は 23.1～30.8℃、下半期は 24.3℃～28.2℃だった（表 3-2_2、気象庁ホームページより）。

表 3-2_2 調査実施日と気温

調査エリア	調査区数	実施日	調査時間帯の気温	実施日	調査時間帯の気温
那覇港	3	2019年5月27日	25.5-28.0℃	2019年10月11日	26.3-27.7℃
中城港湾	3	2019年5月30日	23.1-24.4℃	2019年10月24日	24.3-26.0℃
本部港	2	2019年5月31日	26.1-27.7℃	2019年10月29日	25.6-26.5℃
石垣港	5	2019年5月20日、21日	25.3-30.8℃	2019年10月15日、16日	26.0-28.2℃
平良港	3	2019年5月22日、23日	24.5-26.0℃	2019年10月18日	25.5-27.5℃

④ 調査結果

本事業期間中に実施した調査では、港湾地域の緑地から1港湾につき22~29種ほどのアリが採集された(表3-2_3)。それらの中に、ヒアリ及び特定外来生物に指定されているアリ類は確認されなかった。

表 3-2_3 単位時間採集法で採集されたアリ種一覧

亜科名	和名	学名	本部港(2)	中城港(3)	那覇港(3)	平良港(3)	石垣港(5)
カタアリ亜科	ルリアリ	<i>Ochetellus glaber</i>		●		●	●
Dolichoderinae	アワテコヌカアリ	<i>Tapinoma melanocephalum</i>	●	●	●	●	●
ヤマアリ亜科	アシナガキアリ	<i>Anoplolepis gracilipes</i>		●	●	●	
Formicinae	ホソウメマツオオアリ	<i>Camponotus bishamon</i>	●	●	●	●	●
	アカヒラズオオアリ	<i>Colobopsis shohki</i>		●	●	●	●
	ケブカアメイロアリ	<i>Nylanderia amia</i>	●	●	●	●	●
	リュウキュウアメイロアリ	<i>Nylanderia ryukyuensis</i>	●	●	●	●	
	アメイロアリの一種	<i>Nylanderia</i> sp.	●	●	●	●	
	ヒゲナガアメイロアリ	<i>Paratrechina longicornis</i>	●	●	●	●	●
	ウスヒメキアリ	<i>Plagiolepis alluadi</i>			●		
	クロトゲアリ	<i>Polyrhachis dives</i>	●	●			●
フトフシアリ亜科	ハダカアリ	<i>Cardiocondyla kagutsuchi</i>	●	●	●	●	●
Myrmicinae	ヒメハダカアリ	<i>Cardiocondyla minutior</i>	●	●	●	●	●
	キイロハダカアリ	<i>Cardiocondyla obscurior</i>	●	●		●	
	ウスキイロハダカアリ	<i>Cardiocondyla wroughtonii</i>	●	●			
	オニコツノアリ	<i>Carebara oni</i>			●		
	クボミシリアゲアリ	<i>Crematogaster vagula</i>	●	●	●	●	●
	クロヒメアリ	<i>Monomorium chinense</i>	●	●	●	●	●
	フタイロヒメアリ	<i>Monomorium floricola</i>		●	●	●	●
	ヒメアリ	<i>Monomorium intrudens</i>			●		
	カドヒメアリ	<i>Sylophopsis sechellensis</i>		●	●	●	●
	ミゾヒメアリ	<i>Trichomyrmex destructor</i>			●		
	インドオオズアリ	<i>Pheidole indica</i>	●			●	●
	ツヤオオズアリ	<i>Pheidole megacephala</i>	●	●	●	●	●
	ナンヨウテンコクオオズアリ	<i>Pheidole parva</i>	●	●	●	●	●
	オキナワフトフシアリ	<i>Solenopsis tipuna</i>	●	●	●	●	●
	ヨフシウロコアリ	<i>Strumigenys emmae</i>	●				
	ウロコアリ	<i>Strumigenys lewisi</i>				●	
	トカラウロコアリ	<i>Strumigenys membranifera</i>	●	●			
	ヒメウロコアリ	<i>Strumigenys minutula</i>				●	
	オオシワアリ	<i>Tetramorium bicarinatum</i>	●	●	●	●	●
	イカリゲシワアリ	<i>Tetramorium lanuginosum</i>	●	●	●	●	●
	サザナシワアリ	<i>Tetramorium simillimum</i>	●		●		
	カドムネシワアリ	<i>Tetramorium smithi</i>		●		●	●
ハリアリ亜科	オオハリアリ	<i>Brachyponera chinensis</i>		●			
Ponerinae	オオハリアリ属の一種	<i>Brachyponera</i> sp.		●			
	トビニセハリアリ	<i>Hypoponera punctatissima</i>	●	●	●	●	
	フシナガニセハリアリ	<i>Hypoponera ragusai</i>	●			●	●
	ニセハリアリ属の一種	<i>Hypoponera</i> sp.	●				
合計記録種数			26	29	25	28	22

※ () 内の数字は調査区の数

※2017年5月から2019年10月まで計5回の実施結果。

(3) 誘引剤トラップ

① 調査方法

過年度の方法に準じて調査を実施したが、費用を削減するために、スナックを直置きする方法とした。また、設置地点の9割分程度についてはGC-MSによる分析でヒアリの有無を確認した。

1. 外国貨物が着く港湾等の周辺に、調査ルートを設定（周辺道路、公園、緑地等）
2. 各調査ルートに10 m 間隔でスナック^{※1}を直置きで設置
3. 設置から40～50分後に回収（1割は顕微鏡観察用にシャーレ^{※2}に回収し、残りの9割はGC-MSによる分析用にバケツに回収）
4. 採集したアリの99.5%のエタノールで固定
5. シャーレに採集した（1割分）アリ類は、顕微鏡下でヒアリとアカカミアリでないかを確認し、一部は種を同定
6. バケツに採集した（9割分）アリ類は、GC-MSを用いて毒性物質を分析し、ヒアリの有無を確認

※1 スナックを変更し、作業効率向上

※2 回収容器を変更し、作業効率向上。那覇港国内コンテナヤードエリアのみ、アリが少ないため、アリがいた場合はすべてシャーレで回収



図 3-2_7 調査状況



図 3-2_8 アリの誘引状況

② 調査場所

昨年度実施した那覇港、那覇保税地域、那覇軍港、那覇空港、本部港、金武湾港、中城湾港、ホワイトビーチ、石垣港、平良港とした。

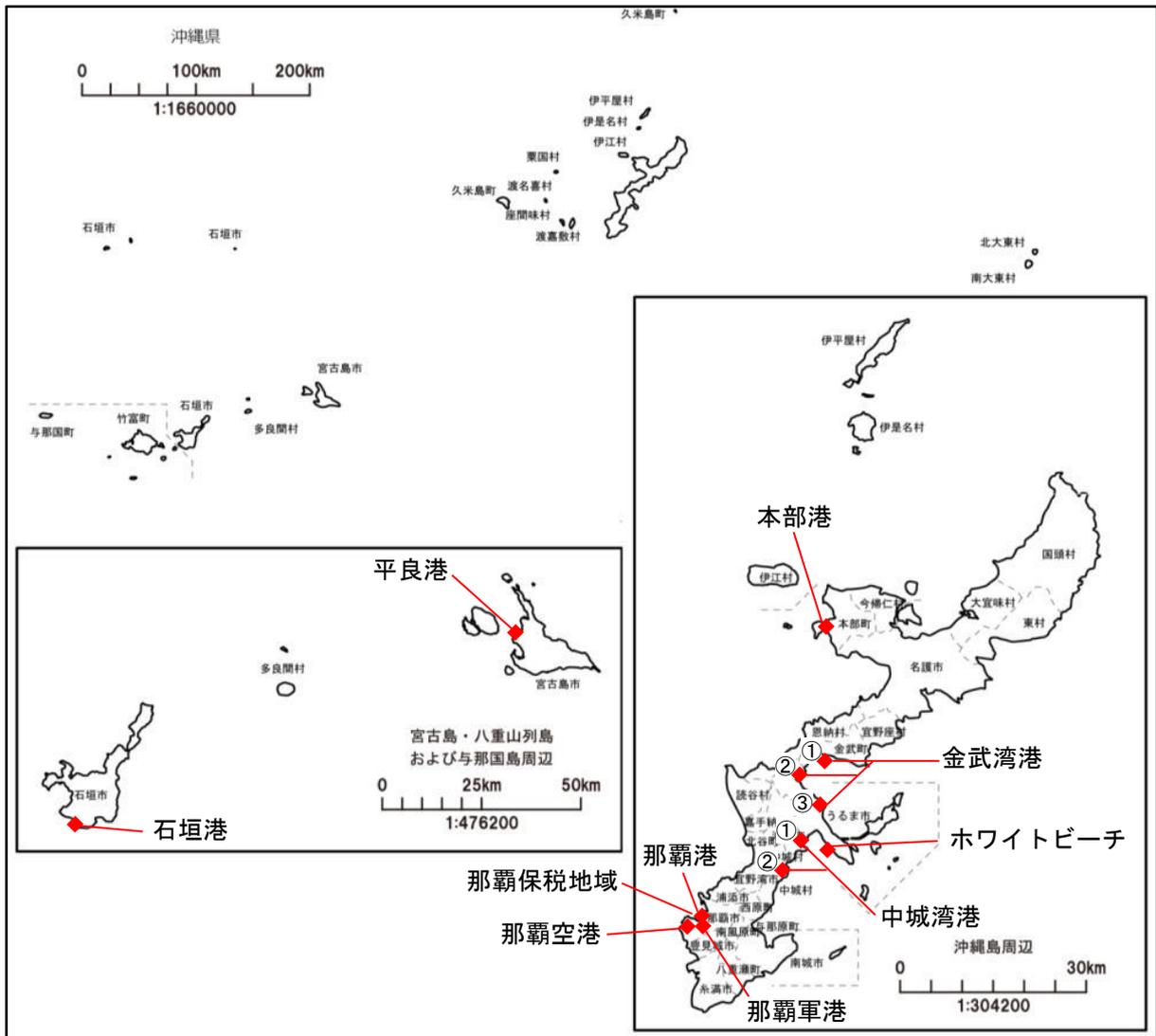


図 3-2_9 調査場所

③ 調査時期

年1回の調査として、10～11月に実施した。

調査時間帯の気温は、20.6～30.7℃であった（気象庁ホームページ）。

表 3-2_4 調査実施日と気温

調査エリア	実施日	調査時間帯の気温 ^{※1}
那覇港	2019年10月1日、2日、4日、8日、10日、11日、11月17日 ^{※2} 、19日 ^{※2} 、20日 ^{※2} 、25日 ^{※2}	20.6-30.7℃
那覇保税地域	2019年10月7日、9日、10日	25.5-28.7℃
那覇軍港	2019年10月4日	27.6-29.4℃
那覇空港	2019年10月4日、15日	25.0-29.4℃
本部港	2019年10月18日	25.8-27.1℃
金武湾港	2019年10月16、23日	27.2-28.6℃
中城湾港	2019年10月15日、16日、18日	24.7-27.4℃
ホワイトビーチ	2019年10月7日	27.4-29.4℃
石垣港(石垣島)	2019年11月9日、10日、11日	21.0-25.6℃
平良港(宮古島)	2019年11月5日、6日	23.7-25.7℃

※1: 調査エリアである本部港、金武湾港、中城湾港、ホワイトビーチ周辺では気象台の観測が行われていないためそれぞれの地点に一番近い地点として名護（本部港、金武湾港）と那覇（中城湾港、ホワイトビーチ）の気温を使用した。

※2: 国内コンテナヤードの調査日

④ 調査結果

a. 設置・回収個数

昨年度設置した4,980個を上回る10,734個を設置した。直置きは目立たず見つからないケースもあるが、昨年度使用したスナックと比べると、風等で転がるリスクが低くなり、回収率は昨年度（93.0%）よりやや高い95.2%であった。全体で10,219個のトラップを回収した。

シャーレに回収した92.6%（那覇港国内コンテナヤード含む）には1個体以上のアリが入っていた。バケツ回収分については、1つ1つのトラップについてアリの有無は記録していないが、9個ごとに「アリが多かった」、「アリがいた」、「アリがいなかった」と記録しており、その結果、ほとんどのトラップでアリが多く採集された。

表 3-2_5 調査実施場所とトラップ個数（那覇港国内コンテナヤード除く）

調査エリア	合計		トラップ(シャーレ回収分)				トラップ(バケツ回収分)	
	設置個数	回収個数	設置個数	回収個数	アリ在	アリ在割合	設置個数	回収個数
那覇港	4,138	3,901	459	459	405	88.2%	3,679	3,442
那覇保税地域	472	458	49	48	43	89.6%	423	410
那覇軍港	295	281	31	30	28	93.3%	264	251
那覇空港	369	339	38	36	31	86.1%	331	303
本部港	269	261	30	30	27	90.0%	239	231
金武湾港	473	460	48	46	45	97.8%	425	414
中城湾港	1,358	1,308	140	138	136	98.6%	1,218	1,170
ホワイトビーチ	200	184	20	19	19	100.0%	180	165
石垣港	1,342	1,289	136	130	126	96.9%	1,206	1,159
平良港	1,012	981	106	106	91	85.8%	906	875
全エリア合計	9,928	9,462	1,057	1,042	951	91.3%	8,871	8,420
トラップ回収率		95.3%				98.6%		94.9%

表 3-2_6 調査実施場所とトラップ個数(那覇港国内コンテナヤード)

調査エリア	合計		シャーレ回収分	
	設置個数	回収個数	アリ在	アリ在割合
那覇港 国内 コンテナヤード	806	757	186	24.6%
トラップ回収率				93.9%

b. ヒアリ類のスクリーニング結果

シャーレに回収した 1,228 個のうち、アリが 1 個体以上入っていたシャーレ 1,137 個について、顕微鏡を用いてヒアリ類のスクリーニングを行った。顕微鏡下でヒアリ類に見られる 3 つの特徴（①腹柄が 2 こぶ、②前伸副節刺がない、③触角の先端 2 節が膨大）を 1 個体ずつ確認し、どれか 1 つでも一致しなければヒアリ類ではないと判断した。その結果、すべてのトラップにおいてヒアリ類は確認されなかった。

また、バケツで回収した 8,420 個について、GC-MS を用いてヒアリ類の毒性物質の分析を行った結果、すべてのエリアにおいて毒性物質は検出されなかった。

上記の 2 種類の方法によるスクリーニングにおいて、ヒアリ類は確認されなかった。ただし、GC-MS による分析結果は、技術開発段階の結果であることに留意が必要である。

c. 種同定

シャーレに採集したアリについて、種の同定を行った。その結果、25 種類のアリが確認されたが、特定外来生物に指定されているアリ類は確認されなかった。

それぞれのエリアで確認されたアリ類を表 3-2_9 に示す。

d. 作業時間

今年度の調査に要した時間を次ページの表 3-2_7、参考として昨年度の方法に要した時間を表 3-2_8 に示した。

直置きの場合、特別準備は必要ない。また、トラップのスナックの形状を変更したため、スナックからアリを取る作業にかかる時間は昨年度に比べ、1 個あたり 3 分の 1 以下となった。

昨年度と違う点として、バケツで回収したスナックからアリのみを取り出し、99.5%エタノールの入った遠沈管に入れる、GC-MS 分析のための抽出作業を追加した。

表 3-2_7 今年度の主要港湾調査に要した時間
(全て直置き。1割シャーレに回収、9割バケツに回収)

平成31年度	トラップ 個数	人数	時間(分)	トラップ個数あたりのおおよその時間/人			
				1個	100個 <small>(シャーレ10:バケツ 90)</small>	1,000個 <small>(シャーレ100:バケツ 900)</small>	10,000個 <small>(シャーレ1,000:バケツ 9,000)</small>
準備	500	0	0	0分	0時間	0時間	0時間
設置・回収	100	1	120	1分	2時間	20時間	200時間
アリ取り出し ^{※1}	1	1	3	3分	0.5時間	5時間	50時間
ソーティング	1	1	15	15分	2.5時間	25時間	250時間
GC-MS	-	-	-	-	3時間 ^{※2}	14時間 ^{※2}	140時間 ^{※2}
抽出作業	90 ^{※3}	1	60	-	(1時間)	(10時間)	(100時間)
前処理、分析	-	-	-	-	(2時間)	(4時間)	(40時間)
合計時間				19分	8時間	64時間	640時間

※1: シャーレ回収分のみ対象、※2: バケツ回収分のみ対象。GC-MS分析1回につき約400-450個

※3: バケツ1個につき平均90個

表 3-2_8 昨年度の主要港湾調査に要した時間 (参考)
(1割遠沈管、9割直置きしバケツに回収)

平成30年度	トラップ 個数	人数	時間(分)	個数あたりのおおよその時間/人			
				1個	100個 <small>(遠沈管10:バケツ 90)</small>	1,000個 <small>(遠沈管100:バケツ 900)</small>	10,000個 <small>(遠沈管1,000:バケツ 9,000)</small>
準備	500	4	60	0.5分	0.8時間	8時間	80時間
設置・回収	100	1	120	1分	2時間	20時間	200時間
アリ取り出し ^{※1}	1	1	10	10分	2時間 ^{※1}	20時間 ^{※1}	170時間 ^{※1}
ソーティング ^{※1}	1	1	15	15分	3時間 ^{※1}	25時間 ^{※1}	250時間 ^{※1}
GC-MS	-	-	-	-	3時間 ^{※2}	8時間 ^{※2}	80時間 ^{※2}
合計時間				26.5分	10.3時間	81時間	780時間

※1: 遠沈管トラップ(全体の1割)のみ対象、※2: バケツ回収分のみ対象。GC-MS分析1回につき約500個

表 3-2_9 各エリアで採集されたアリ類

亜科	属	和名	学名※	那覇港 保税地域	那覇軍港	那覇空港	本部港	金武湾港	中城湾港	ホワイト ビーチ	石垣港 (石垣島)	平良港 (宮古島)	エリア数 (10エリア中)
1	カタアリ亜科	アワテコスカアリ	<i>Tapinoma melanocephalum</i>	1	-	-	-	-	1	-	5	-	3
2	カタアリ亜科	コスカアリ属の一種	<i>Tapinoma sp.</i>	-	7	3	-	6	4	3	-	-	5
3	カタアリ亜科	アシジロヒラフシアリ	<i>Technomyrmex brunneus</i>	-	-	-	-	1	-	-	-	-	1
4	ヤマアリ亜科	アシナガキアリ	<i>Anoplolepis gracillipes</i>	40	-	2	1	6	17	1	11	6	9
5	ヤマアリ亜科	ケブカアメイロアリ	<i>Nylanderia ama</i>	9	-	-	-	5	2	2	10	4	7
6	ヤマアリ亜科	リュウキウアメイロアリ	<i>Nylanderia ryukyuensis</i>	28	4	-	5	1	5	14	-	2	8
7	ヤマアリ亜科	ヒゲナガアメイロアリ属	<i>Paratrechina longicornis</i>	7	-	2	1	1	1	2	2	1	8
8	ヤマアリ亜科	トゲアリ属	<i>Polytrachis dives</i>	-	-	-	-	1	-	-	-	-	1
9	フタフシアリ亜科	ヒメハダカアリ	<i>Cardiocondyla minutior</i>	5	-	-	-	1	2	-	1	-	4
10	フタフシアリ亜科	トゲハダカアリ	<i>Cardiocondyla sp. A</i>	20	1	-	1	2	3	-	1	1	7
11	フタフシアリ亜科	クボミシリアゲアリ	<i>Crematogaster vagula</i>	1	-	-	-	-	-	-	-	-	1
12	フタフシアリ亜科	シワヒメアリ	<i>Eromyrmex latinodis</i>	1	-	-	1	-	-	-	-	-	3
13	フタフシアリ亜科	クロヒメアリ	<i>Monomorium chinense</i>	190	10	16	14	3	11	42	4	13	10
14	フタフシアリ亜科	フタイロヒメアリ	<i>Monomorium floricola</i>	22	1	1	-	-	1	7	4	1	8
15	フタフシアリ亜科	ミナミオオズアリ	<i>Pheidole fervens</i>	-	-	-	-	-	-	3	-	-	1
16	フタフシアリ亜科	インドオオズアリ	<i>Pheidole indica</i>	25	-	1	-	5	-	1	-	6	6
17	フタフシアリ亜科	ツヤオオズアリ	<i>Pheidole megalcephala</i>	268	26	3	-	8	8	55	2	35	9
18	フタフシアリ亜科	ナンヨウテンコクオオズアリ	<i>Pheidole parva</i>	110	8	8	13	11	16	34	5	29	10
19	フタフシアリ亜科	ナンヨウテンコクオオズアリ(有翅虫)	<i>Pheidole parva</i>	1	-	-	-	-	1	-	-	-	2
20	フタフシアリ亜科	クロオオズアリ	<i>Pheidole susanowo</i>	-	1	-	-	-	-	-	-	-	1
21	フタフシアリ亜科	オオシワアリ	<i>Tetramorium bicarinatum</i>	10	1	-	7	4	9	13	8	10	9
22	フタフシアリ亜科	イカリゲンシワアリ	<i>Tetramorium lanuginosum</i>	2	-	-	-	-	-	3	-	1	3
23	フタフシアリ亜科	ケブカシワアリ	<i>Tetramorium kraepelini</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	1	1
24	フタフシアリ亜科	サザナミシワアリ	<i>Tetramorium similimum</i>	4	-	-	-	-	2	-	1	1	4
25	フタフシアリ亜科	カドムネシワアリ	<i>Tetramorium smithi</i>	1	-	-	-	-	2	3	1	-	4
25	フタフシアリ亜科	ミソヒメアリ	<i>Trichomyrmex destructor</i>	8	-	2	-	-	-	-	-	4	3
種数(25種中)				19	9	8	9	9	15	18	10	14	15

※学名は「日本産アリ類図鑑(2014)」から引用した。並び順は、亜科は平成 29 年度外来種対策事業(ヒアリ等対策)報告書に準じ、属以下は学名のアルフアベット順とした。