

課題名	S2-10 クマ類の個体数推定法の開発に関する研究		
課題代表者名	米田 政明（財団法人 自然環境研究センター、研究事業部）		
研究期間	平成21－23年度	21年度までの累計予算額	21年度 33,987千円 ※予算額は、間接経費を含む。
研究体制			
(1) ヘア・トラップ法による個体数推定法の確立に関する研究（財団法人自然環境研究センター、北海道環境科学研究所、日本大学） (2) 個体数推定に關わる効果的なDNA分析法の確立に関する研究（山形大学、北海道環境科学研究所センター、岩手県環境保健研究センター、株式会社野生動物保護管理事務所） (3) 補完法・代替法の開発に関する研究（早稲田大学、岩手大学） (4) 個体群モデルによるモニタリング手法及び生息数推定法の確立に関する研究（横浜国立大学、独立行政法人森林総合研究所）			
研究概要			
<b>1. はじめに</b> <p>クマ類（ツキノワグマとヒグマ）は、日本の野生動物の中でも、その生物学的特性、被害防除のための社会的要請及び地域個体群保全の観点から、保護管理に特に注意が必要な狩猟獣である。野生動物の保護管理計画を作成し実施する上で、対象種あるいは対象個体群の個体数およびそのトレンドは不可欠な情報である。日本の鳥獣保護及び狩猟の適正化に関する法律は、捕獲数管理強化のため特定鳥獣保護管理制度を制定している。ツキノワグマを対象とした特定鳥獣保護管理計画を、2010年3月現在で16府県が策定している。特定鳥獣保護管理計画では、個体数調査に基づく捕獲数設定を含む計画的な保護管理を求めている。特定鳥獣保護管理計画を策定していない都道府県においても、特にレッドリストに掲載されている絶滅のおそれのある地域個体群が生息している地域においては、生息数を含むクマ類の生息状況の把握が重要である。クマ類の個体数推定のため、いくつかの調査法が試みられてきた。しかし、クマ類の個体数あるいはそのトレンドを高精度にかつ費用対効果の高い方法で推定する方法は確立されてない。確度の高い個体数推定に基づく、クマ類の適切な保護管理に対する社会的要請は大きい。</p>			
<b>2. 研究目的</b> <p>クマ類は狩猟獣であるため、特定鳥獣保護管理計画の策定を含め、都道府県が管理主体となる。地方自治体等が実施する生息数・生息状況調査への適用を想定した、クマ類の個体数推定標準法の開発を本研究の目標とした。クマ類の個体数調査において、近年、ヘア・トラップ法として、体毛を採取し抽出したDNAマーカによる個体識別に基づく個体数推定法が試みられている（図1）。この方法は非侵襲的方法による試料採取が可能で、またDNAを個体識別の永久マーカとして利用できる。しかし、トラップの設置方法、DNA分析、捕獲歴からの個体数推定など手法の標準化において多くの課題が残されている。また、費用対効果の観点から、ヘア・トラップ法に代わる個体数推定法の開発も課題である。このため、本研究ではヘア・トラップ法の確立を主な目的として、4つのサブ・テーマを設定し研究を開始した。サブ・テーマ(1)のヘア・トラップ班は、DNAマーカ・再捕獲法を応用したヘア・トラップ法の確立を目的とし、平成21年度本研究では、方法論のレビューと平成22年度以降の本格調査のための大面積調査地の設定及びトラップの試験的設置による課題分析を目的とした。サブ・テーマ(2)のDNA班は、ヘア・トラップで採取された体毛から抽出した微量DNAの分析成功率及び精度向上を目的とし、平成21年度研究では分析遺伝子座の絞り込みと標準分析手順の確立を目指した。また、有効集団サイズ (<math>N_e</math>) による特定地域個体群の個体数増減傾向の把握も目的の一つとした。サブ・テーマ(3)の補完法・代替法では、ヘア・トラップ法以外の個体数推定方法の開発を目的として、平成21年度研究ではカメラトラップによるツキノワグマの個体識別法の開発及び痕跡から採取したDNA個体識別のレビューを行った。これら3つのサブ・テーマから得たデータに基づくクマ類の個体数推定法確立のため、サブ・テーマ(4)のモデル班では、ヘア・トラップの配置を含む空間明示モデルの開発を目的とした。</p>			

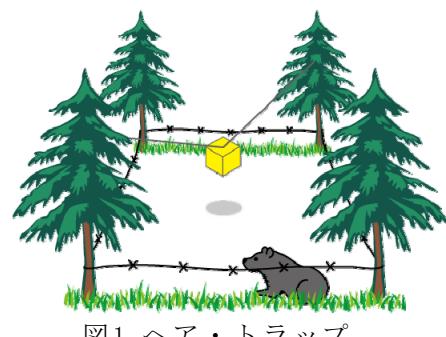


図1 ヘア・トラップ

### 3. 研究の方法

#### (1) ヘア・トラップ法による個体数推定法の確立に関する研究

クマ類の個体数推定法の先行研究・報告書をレビューし、個体数推定値の変動係数に注目して、ヘア・トラップ法を含む調査法による個体数推定値のばらつきを比較した。また、手法の標準化に注目して、保護管理のための調査を含むヘア・トラップ法論文・報告書をレビューし、これまで採用されたトラップの構造、誘引餌、トラップ設置密度及び設置面積を比較検討した。岩手県北上山地の環境、社会条件を分析し、大面積ヘア・トラップ調査地を選定した（図2）。調査地設定では、トラップ最外周内面積が、ツキノワグマの行動圏を加味したトラップ周辺効果面積の2倍以上となるよう設計した。トラップ設置位置の決定のため、現地踏査を行った。さらに、平成22年度以降の本格調査に向けて、トラップの試験的設置と試料回収および設置・見回りに係る作業時間を測定した。

#### (2) 個体数推定に関する効果的なDNA分析法の確立に関する研究

ツキノワグマにおける個体識別率の高いDNAマーク探査のため、岩手県産42個体の保存試料を材料として、先行研究から4塩基繰り返しを含む50種類のマイクロサテライト・マーカーを選び、個体識別率の指標としてPid（血縁がないと考えられる個体間の遺伝子型の一致率）のマーカーによる違いを分析した。また、分析標準プロトコール確立のため、山形県産のツキノワグマ保存試料を用いて、PCRの最適反応条件を求めた。さらに、複数機関における分担分析を行う場合の精度検証のため、標準サンプルによる対立遺伝子サイズの較正方法を検討した。ヒグマでは北海道渡島半島で捕獲された30個体の試料を材料に、2塩基繰り返しの25マイクロサテライト・マーカーの個体識別能の比較、および6個体を材料に、4塩基繰り返しの23マイクロサテライト・マーカーの多型分析を行った。岩手大学御明神演習林において、2009年5月から12月まで15基のヘア・トラップを設置し、DNA分析成功率の季節的变化を調査した。これに加え、有効集団サイズ（Ne）を個体数変動の指標とするため、2005年から2008年にかけて山形県で捕獲されたツキノワグマ117個体を材料に、TM法（Temporal Method）およびLD法（Linkage disequilibrium method）の2つの方法でNeの時間的变化を分析した。

#### (3) 補完法・代替法の開発に関する研究

カメラトラップによる撮影画像から個体識別を行うため、ツキノワグマの頭骨、鼻紋、胸部斑紋及び下顎紋の識別能の有効性を検討した。頭骨は森林総合研究所東北支所の82試料を計測した。鼻紋は阿仁熊牧場で撮影した個体の写真を比較した。胸部斑紋と下顎紋に関しては、阿仁及び奥飛騨熊牧場で撮影した70個体の画像を分析した。食跡試料から採取したDNAによる個体識別及び性判別のため、岩手県遠野市で2005年から2007年に採取された143試料の分析データのレビューを行った。

#### (4) 個体群モデルによるモニタリング手法及び生息数推定法の確立に関する研究

ヘア・トラップ法による個体数推定では、トラップの空間的配置とトラップ毎の試料（体毛）捕捉率が課題である。このため、Gardner et al. (2009)を参照し、既存資料による日本のクマ類の行動特性と生息密度を加味した空間明示モデルを開発し、トラップの配置と捕捉率の分析、およびトラップ配置の違いによる生息密度推定値の違いを検討した。モデルに基づくダミー・データを、サブ・テーマ(1)で設定した北上山地へア・トラップ調査地に適用し、トラップの空間配置、1回出現個体の除去および個体数推定に用いる統計モデルの比較検討を行った。

### 4. 結果及び考察

#### (1) ヘア・トラップ法による個体数推定法の確立に関する研究

クマ類の個体数推定では、捕獲記録の分析、直接観察法、標識再捕獲法などいくつかの方法が試みられてきた。ヘア・トラップ法は、現状ではコスト面での優位性は高いとは言えないが、他の方法に比べ調査面積及びトラップ努力量あたりの識別個

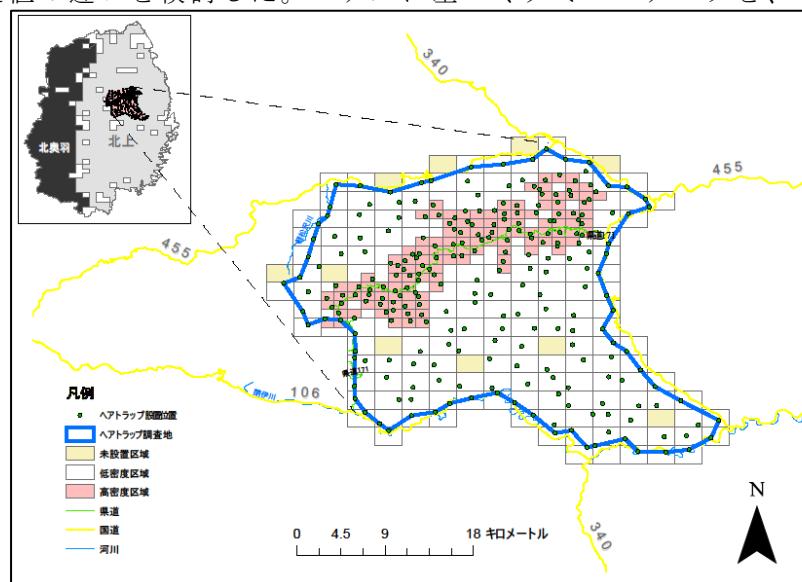


図2 岩手県北上山地におけるヘア・トラップ位置の設定

体数の精度が高いと考えられる。ツキノワグマの特定鳥獣保護管理計画を策定している16府県中、5県が個体数推定にヘア・トラップ法を採用している。これまで適用されてきたヘア・トラップ調査からは、標準トラップ構造として、有刺鉄線による一辺4m程度の囲いを地上40cm程度に設置し、さらに囲い内部対角線にも有刺鉄線を張り、誘引物質としてツキノワグマに対してはハチミツ等を、ヒグマにはサケ科魚類あるいはエゾシカ肉等を用いることが効果的であることが示された。試料(体毛)採取率とDNA分析効率は、初夏(6月から8月)が高く秋以降は低下する。半閉鎖系個体群として北上山地を、ツキノワグマの大面積ヘア・トラップ法調査対象地とした。地形、植生条件および土地利用から北上山地青松葉山周辺に607km<sup>2</sup>の調査地を設定した。トラップ設定では、高密度(1基/km<sup>2</sup>)と低密度(1基/4-km<sup>2</sup>)を組み合わせ、262カ所を候補地として選定した(図2)。さらに、標準トラップ構造に基づくトラップ設置手順、作業量および必要資機材を確認するため試験的設置を行った。これらの予備調査から、平成22年度の本格調査に向け、標準トラップ構造を確定とともに、大面積ヘア・トラップ実施作業計画を作成した。

### (2) 個体数推定に関わる効果的なDNA分析法の確立に関する研究

ヘア・トラップ調査で報告がある50種類の遺伝マーカについて、岩手県産ツキノワグマ試料を分析したところ、Pidが0.25以下となるマークが23種類見られた。4塩基反復マーカは個体識別能が高く、13種類中、Pidが0.1以下のマークが3種類あった。ヒグマでも、4塩基反復マーカの多型性が高いことが確認された。分析コスト及び大量の試料処理の観点から、地域集団においてPidが低い分析遺伝子座を6~9種類選び、3遺伝子座を1セットとしたmultiplex PCRによる遺伝子型判定を標準プロトコールとして提示した(図3)。性判別には、アメログニン遺伝子を用いるのが適当と判断した。精度検証の方法として、標準サンプルによる較正およびエラーデータの検出方法と再解析手順を示した。DNA分析効率の季節性調査では、6月から7月にかけては効率が良いが、9月以降低下することが明らかになった。TM法とLD法による、2004年から2008年にかけて山形県で捕獲されたツキノワグマのNeの推定では、サンプル数や遺伝子座が少ない場合はNeの上限が定まらなかった。時系列でNe変化を把握するため、捕獲個体の年齢査定および継続的なサンプル収集の重要性を指摘した。

### (3) 補完法・代替法の開発に関する研究

頭骨計測および鼻紋撮影調査から、頭部形状および鼻紋による個体(顔)識別の有効性は低いと判断した。一方、胸部斑紋(月輪紋)および下頸紋は、カメラトラップにおける個体識別の有効な指標と判断された。胸部斑紋は調査個体の97% (N=70)、下頸紋は40%で確認された。胸部斑紋は、形状、大きさ、左右分裂の有無などにより容易に識別が可能であった(図4)。下頸紋は、その位置情報により個体識別ができた。ツキノワグマによる食害発生地等において食痕から採取した試料のDNA分析より、性別および個体識別が可能である。この方法は、特定地域における加害個体の性比判別や個体数推定に有効である。

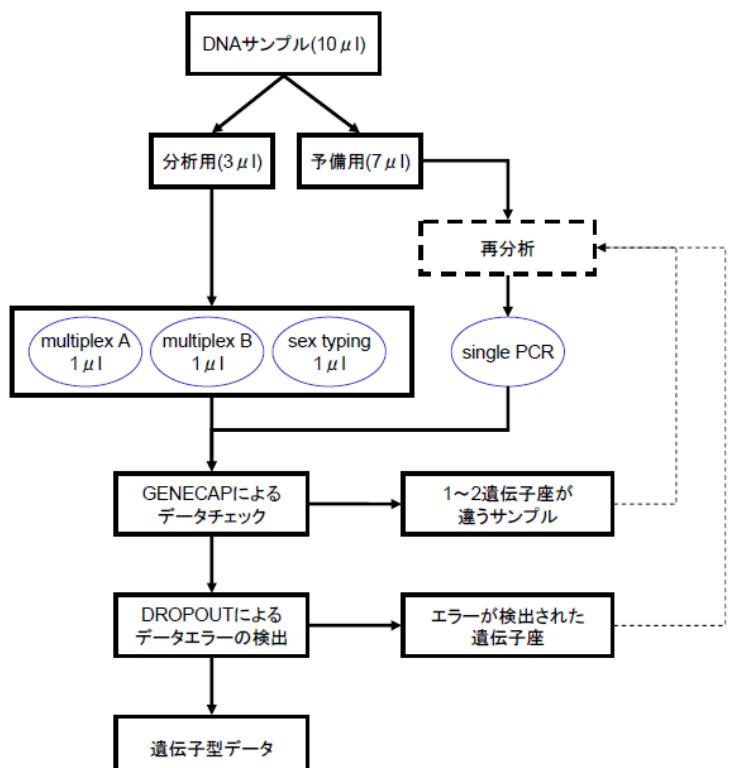


図3 ヘア・トラップから得たDNAの分析手順



図4 ツキノワグマ胸部斑紋の個体差例

#### (4) 個体群モデルによるモニタリング手法及び生息数推定法の確立に関する研究

北上山地青松葉山ヘア・トラップ試験地を対象とした、空間明示標識再捕獲モデルによる試料採取のダミー・データの分析から、トラップを均一間隔で配置しなくとも、空間明示モデルでは個体数推定におけるその影響を緩和することが可能であった。空間非明示モデルでは、推定された個体数がどの範囲に生息する個体群を対象としたものは自明ではないため、トラップ設置位置に一定のバッファを設定するなどの操作が必要となる。一方、本研究で開発した空間明示モデルでは任意の長方形の範囲の生息数が算出されるため、生息密度も同時に求めることができた。また、ダミー・データと既存報告による推定生息密度を使った解析において非空間明示モデルと比較すると、空間明示モデルはより真の値に近い推定値を示した。ジェノタイピングエラー対策として1回出現個体を解析から除外することは、個体数を過小推定するため不適切と判断した。

### 5. 本研究により得られた成果

#### (1) 科学的意義

ヘア・トラップ調査における標準トラップ構造および誘引餌を提示した。北上山地に大面積ヘア・トラップ調査地を設置したことにより、小面積調査における周辺効果などのバイアスを少なくすることが期待でき、平成22年度以降の本格調査においてより精度の高いクマ類の個体数推定法の開発が可能となった。遺伝子一致率の低いツキノワグマのマイクロサテライト遺伝子座を特定し、さらに3遺伝子座を組みあわせたmultiplex PCRによる遺伝子型判定を開発したことにより、DNAマーカ分析処理能力を向上しコストを下げることが可能となった。体毛の採取率及びDNA分析成功率に明確な季節性があることから、ヘア・トラップ調査を効果的に実施するには初夏が適していることが明らかになった。補完法・代替法としてのカメラトラップによるツキノワグマ個体数調査では、胸部斑紋および下顎紋が個体識別標識として有効であることが示された。空間明示モデルを開発したことにより、トラップを均一配置しない場合でも、個体数推定精度を高めることが可能となった。

#### (2) 環境政策への貢献

地方自治体等が実施するクマ類の個体数調査・モニタリングおよび調査結果を受けた保護管理計画策定等において、以下の平成21年度研究成果の利用が考えられる。

- ヘア・トラップ法調査における、捕捉効率の高い標準トラップ構造および誘引餌設計
- 調査地およびヘア・トラップ設置位置選定手順
- ヘア・トラップ調査実施時期の設定（試料採取効率のよい時期の特定）
- 個体識別のための分析遺伝子座、分析手順および精度管理
- 時系列サンプリングからの有効集団サイズ ( $N_e$ ) 推定による集団サイズ変化の推定
- カメラトラップによる個体数調査の際の個体識別部位（胸部及び下顎紋）
- ヘア・トラップ調査から個体数推定を行う際の空間明示モデルの利用

### 6. 研究者略歴

課題代表者（兼サブテーマ1、ヘア・トラップ班代表）：米田 政明

1950年生まれ、北海道大学農学部卒業、農学博士、現在財団法人自然環境研究センター研究主幹  
主要参画研究者

#### (1) 玉手 英利（サブ・テーマ2、DNA分析研究班代表）

1954年生まれ、東北大学理学部卒業、理学博士、現在山形大学理学部教授

#### (2) 三浦 慎悟（サブ・テーマ3、補完法・代替法研究班代表）

1948年生まれ、東京農工大学卒業、理学博士、現在早稲田大学人間科学部教授

#### (3) 松田 裕之（サブ・テーマ4、個体群モデル班代表）

1957年生まれ、京都大学理学部卒業、理学博士、現在国立横浜大学環境情報研究院教授

### 7. 成果発表状況

#### (1) 査読付き論文

該当なし

#### (2) 査読付論文に準ずる成果発表

該当なし