

|          |  |
|----------|--|
| 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部）   |
| 研究実施期間   | 平成21～22年度  |
| 累計予算額    | 64,016千円（うち22年度 30,029千円）<br>予算額は、間接経費を含む。   |
| 研究体制     | <p>研究体制</p> <p>(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<br/>財団法人自然環境研究センター<br/>北海道立総合研究機構</p> <p>(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<br/>山形大学<br/>北海道立総合研究機構<br/>岩手県環境保健研究センター<br/>株式会社野生動物保護管理事務所</p> <p>(3) 補完法・代替法の開発に関する研究<br/>早稲田大学<br/>岩手大学</p> <p>(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<br/>横浜国立大学<br/>独立行政法人森林総合研究所</p>  |
| 1. はじめに  | <p>クマ類は日本の野生動物の中でも、国際希少野生動植物種である一方、人身被害や農林産物被害を最小化するという社会的要請から、保護管理に特に注意が必要な狩猟獣である。保護管理では、個体数あるいはその動向に関する情報が不可欠である。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、合理的な個体数推定方法は確立していない。クマ類の科学的・計画的保護管理のため、個体数あるいはその動向を高精度にしかも費用対効果の高い方法で推定する手法の開発が求められている。</p>   |
| 2. 研究目的  | <p>日本のランドスケープに適した、地方自治体等で実施可能なクマ類の個体数推定及びモニタリング手法の開発を目的として、平成21年度より本研究を開始した。平成22年度本研究では、DNA標識・再捕獲法を応用したヘア・トラップ法による個体数推定法の確立及び補完法・代替法の開発を主な目的として、平成21年度研究成果を踏まえた大規模ヘア・トラップ調査に重点をおき、相互に関連する次の4つのサブ・テーマに関する研究を行った。</p> <p>(i) 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<br/>(ii) 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<br/>(iii) 補完法・代替法の開発に関する研究<br/>(iv) 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</p>   |
| 3. 研究の方法 | <p>(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</p> <p>手法の標準化に向けたデータ収集とDNA個体識別試料採取を目的として、ツキノワグマを対象とした大規模ヘア・トラップ調査を北上山地モデル調査地において実施した。地権者同意を得た245カ所に2010年6月上旬にヘア・トラップを設置し、6月20日から8月20日にかけて、各トラップの試料採取間隔として10日を1セッションとする6セッションの調査を行った。トラップは、1基/1-km<sup>2</sup>の高密度設置を105基、1基/4-km<sup>2</sup>の低密度設置を140基配置した（図1）。ヘア・トラップの構造は、有刺鉄線で地上45cmに一辺が3～4 mの方形をつくり、その中の対角線にも有刺鉄線を設置する対角線有り1段張りとした（図2）。誘引物として、ペットボトルに入れたハチミツを容易には取れない地上2mに吊した。採取試料の記録とその後のDNA分析のため、バーコードシステムを採用した。</p> |

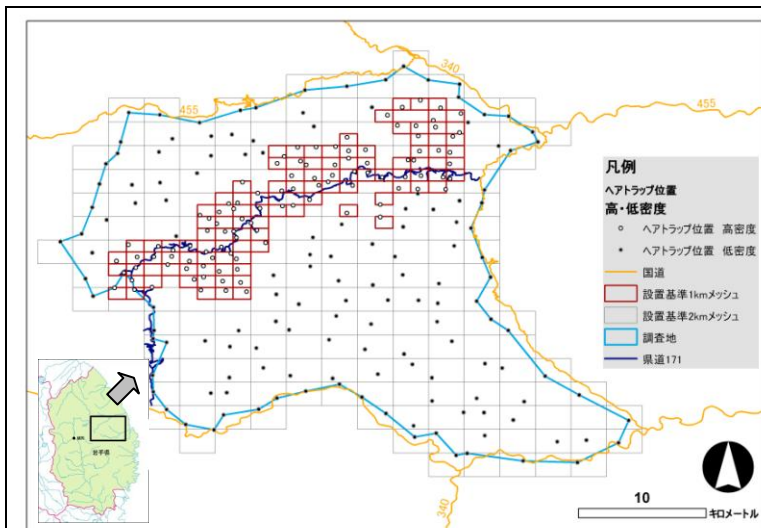


図1 北上山地調査地とヘア・トラップの設置位置

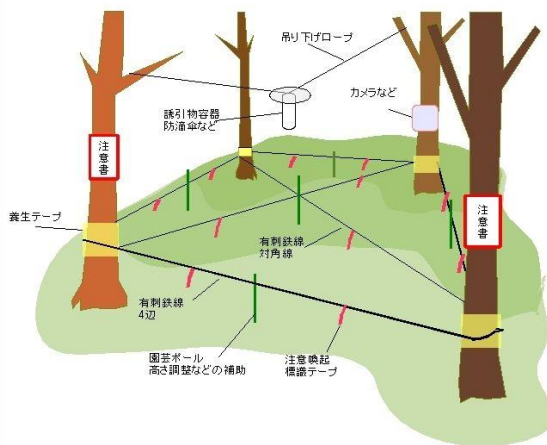


図2 平成22年度研究で採用したヘア・トラップの構造

(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

北上山地モデル調査地におけるツキノワグマの大規模ヘア・トラップ調査から得た体毛試料のDNA分析を行った。個体識別のためのマイクロサテライト遺伝マーカーとして、平成21年度研究成果を踏まえ、Multiplex PCRで問題なく増幅され、Pid (異なる2個体が同一の遺伝子型を持つ確率を示す指標) が低く、かつ波形が読みやすい遺伝子座として6種類の遺伝子座 (G10C、UarMU05、UarMU23、UamD118、UamD2、UamD103) を選び、さらに性別別のためのアメロゲニン遺伝子を用いた。分析では4機関が分担して行うため、対立遺伝子サイズが分析機関で異なる場合には補正し各機関のデータを統合した。この際、1カ所あるいは2カ所の対立遺伝子のみがミスマッチ (MM) で判定困難な試料については、識別誤差を避けるため再分析を繰り返し行った (図3)。ヒグマに関して、ヘア・トラップ班と共同で体毛の回収率及び遺伝子分析成功率の季節差に焦点を当てた研究を札幌市南部の定山溪地区で2010年7月から10月に行った。遺伝子分析成功率の指標として、マイクロサテライト8遺伝子とアメロゲニン遺伝子をあわせた9遺伝子全てで結果が得られた場合を分析成功とした。

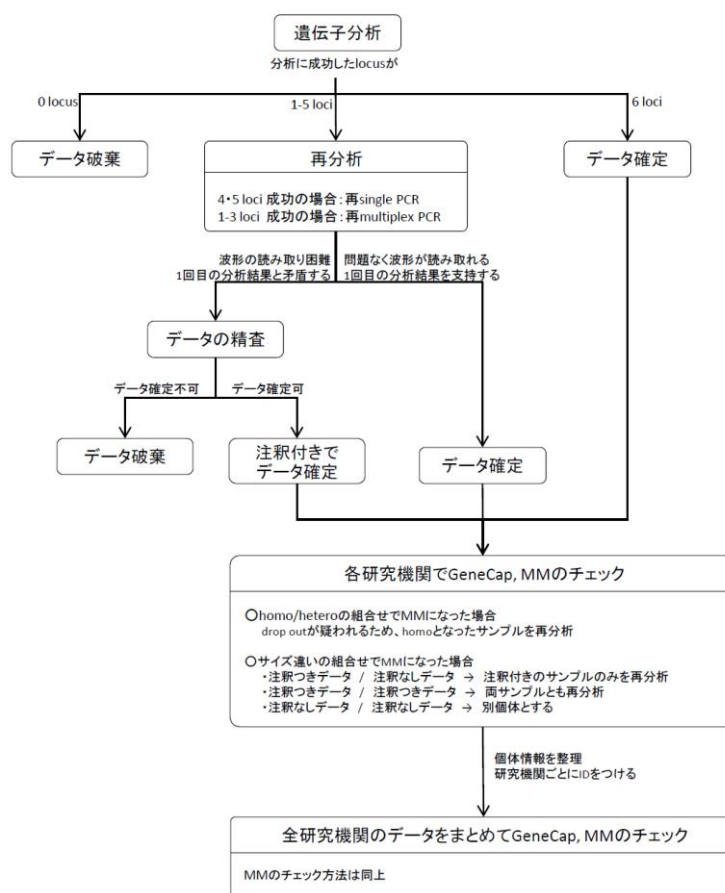


図3 判定困難な試料に関する再分析の手順

(3) 補完法・代替法の開発に関する研究

クマ牧場飼育個体を材料に、ツキノワグマの生体標識 (natural marking) としての胸部斑紋画像解析のための正規化手法を開発し、その普遍性、唯一性、永続性、汎用性を分析した。北上山地モデル調査地では、ヘア・トラップ調査と並行して、2010年6月から8月に、生体標識となる胸部斑紋のカメラトラップによる効率的な撮影ため、2つの手法による撮影方法の開発を進めた。さらに、撮影された画像解析による識別個体数とセッション間での再確認個体数から、MMDM (Mean Maximum Distance Moved) 法によるモデル調査地におけるツキノワグマの生息密度を推定した。

#### (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

北上山地モデル調査地におけるツキノワグマを対象とした大規模ヘア・トラップ調査及びその採取試料のDNA分析結果を標識再捕獲データと見なし、3つの生息密度推定法、(i) 平均最大移動距離法、(ii) Inverse prediction法、(iii) ベイズ空間明示型標識再捕獲モデル、によりその精度比較に注目して推定生息数を解析した。推定精度を検証するためのダミーデータとして、行動圏分布の95%確率円の面積が4.85-km<sup>2</sup>となる2変量正規分布を仮定し、検出率の確率論的行動シミュレーションモデルとヘア・トラップによる捕捉に注目して解析した。北上山地モデル調査地におけるヘア・トラップデータとしては、245基6セッションの調査結果における2010年12月末のDNA暫定分析結果を用いた。

#### 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

北上山地モデル調査地における、2010年6月から8月にかけて実施したのべ1,470トラップ・セッション(245基×6セッション)調査において、339トラップから、有刺鉄線上における1棘1試料区分として計2,017のツキノワグマ体毛試料を採取した(表1)。試料採取数は、調査後半の7月20日から8月20日のセッションで多い傾向が見られた。試料採取トラップの空間配置にも差があり、調査地西部でトラップ当たりの試料採取数が多かった。ただし、植生、標高あるいはトラップ設置密度とトラップあたり採取試料数の間に明確な関連は見られなかった。採取した試料は、DNA個体識別のためDNA班に送付した。DNA班によるDNA個体識別データから求めた識別個体数は173頭(暫定値)、再捕獲個体のトラップ間移動距離は最大で10.1 km、平均2.75 kmであった。これらの研究成果から、平成22年度に北上山地モデル調査地で採用したヘア・トラップの構造と配置、試料の採取・保管、およびデータ記録を標準法として今後採用していくことに大きな問題はないことを確認した。

表1 北上山地モデル調査地におけるヘア・トラップによるツキノワグマ体毛試料採取

| 区分              | セッション |     |     |     |     |     | 計    |
|-----------------|-------|-----|-----|-----|-----|-----|------|
|                 | 1     | 2   | 3   | 4   | 5   | 6   |      |
| 試料採取トラップ数(基)    | 47    | 45  | 39  | 65  | 61  | 82  | 339  |
| 採取試料総数(1棘1サンプル) | 259   | 185 | 212 | 449 | 322 | 644 | 2071 |

##### (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

北上モデル調査地において採取されたツキノワグマ体毛試料のうち、全セッションを通じて体毛採取があったトラップ(n=339)から有刺鉄線上の1棘1試料区分において体毛本数が多い1試料を最初に分析し、次ぎに第1セッションについてのみ全試料分析(n=259)を行い、さらに第2セッション以降で10本以上の体毛があった全試料(n=741)について分析した。全セッションを通じて体毛採取があったトラップからのDNA認識個体数は270(成功率79.6%)、再捕獲個体を除いた識別個体数は176個体、ミスマッチ(MM)補正後の識別個体数は173個体となった。1MMの多くは対立遺伝子のアリドロップアウトによる不一致を疑わせるものであったのに対して、2MMの96組については、23組が2カ所でドロップアウトによる不一致を疑わせる組合せであったが、残る73組は異なるヘテロを持つ組合せであった。第1セッションの全試料分析による識別個体数は暫定値で68個体であり、これは1トラップから1試料のみ分析した場合の39個体の1.7倍に相当した。ただし、本分析では1MMと2MMの再分析が一部未了であり、アリドロップアウトなどにより識別個体数を多く見積もっている可能性がある。また、分析に供した体毛の本数が10本以上の試料では分析成功率が96%と高いのに対して、9本以下では66%、5本以下では61%と低下した(図4)。全セッションを通じて10本以上の体毛があった試料の分析からは、MMの再確認・再分析を行う前の暫定値として認識個体数が280頭、識別個体数が215頭との結果を得た。ヒグマの

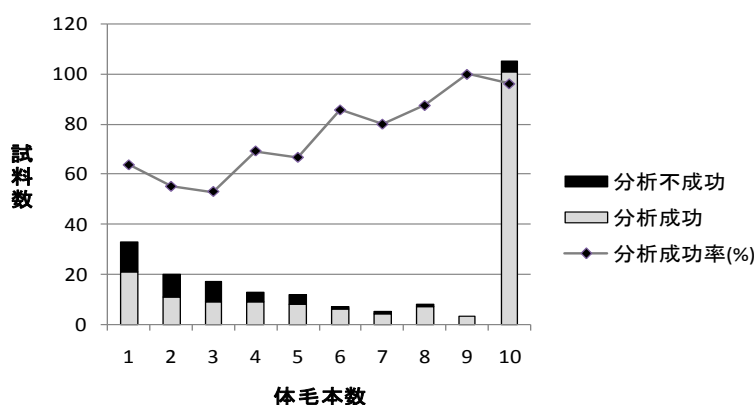


図4 体毛本数と分析成功・不成功試料数(第1セッション)

体毛の回収率及び遺伝子分析成功率の季節差に関する北海道定山溪地域における2010年調査から

は、トラップ利用に明確な季節差が見られないこと、一方、8月以降の後半のセッションになるほど分析成功率が低下するというツキノワグマと同様の結果が得られた。

### (3) 補完法・代替法の開発に関する研究

クマ牧場飼育ツキノワグマ個体の胸部斑紋画像解析から、その斑紋パターンに年変化が見られた個体があることから持続性に課題は残るものの、96%の個体が胸部斑紋を有するなど、胸部斑紋は普遍性、唯一性、汎用性を満たすよい生体標識であることを確認した。北上山地モデル調査地において、2010年6月から8月に行った40台のカメラトラップの同時設置（各地点に2台設置したため設置地点数は20）調査から、動画を361回、そのうち179で胸部斑紋撮影に成功した（図5）。後半の第5、第6セッションに限ると272の動画撮影において胸部斑紋撮影が132あり、これから10個体の撮影・識別に成功した。第6セッションでは第5セッション識別個体4個体のうち3個体の再確認を行った。複数回撮影個体の撮影場所を基にした、1/2MMDM法による推定生息密度は0.08頭/km<sup>2</sup>から0.15頭/km<sup>2</sup>となった。これらの調査結果から、動画も撮影できるカメラトラップは個体識別率が高いため、ヘア・トラップ法の補完法・代替法として有効であることを確かめた。



図5 カメラトラップによる生体標識撮影例

### (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

北上山地モデル調査地を対象としたダミーデータを用いた3つの方法による個体数推定結果では、平均最大移動距離法では過小推定、Inverse prediction法では推定値の25%が真の値を上回る過大推定、そしてベイズ空間明示型標識再捕獲モデルが3つのモデルの中で最も相対的バイアスが小さい、精度の高い推定手法であることが示された（図6）。平成22年度の北上山地モデル調査地におけるヘア・トラップ調査とDNA分析（暫定値）データを用いた解析では、調査地のツキノワグマの生息密度は、平均最大移動距離法では0.225頭/km<sup>2</sup>（95% CI: 0.220-0.230）、Inverse prediction法では0.434頭/km<sup>2</sup>（0.357-0.527）、ベイズ空間明示型標識再捕獲モデルでは0.436頭/km<sup>2</sup>（0.359-0.518）とそれぞれ推定された。捕獲位置（体毛試料採取位置）に関する情報を最大限に活用しているベイズ空間明示型標識再捕獲モデルは、個体数推定においてより優れたモデルと考えられる。ただし、大規模な調査データを用いる場合、平均移動距離として集約されるInverse prediction法とベイズ空間明示型標識再捕獲モデルによる推定値の差は少なくなる。ベイズ空間明示型標識再捕獲モデルに比べ、Inverse prediction法は計算時間が短いとの利点がある。個体数密度推定に際してさまざまな試行錯誤を行う必要があるときには、計算時間の面でベイズ空間明示型標識再捕獲モデルではなく、Inverse prediction法を適用することも可能であると考えられる。

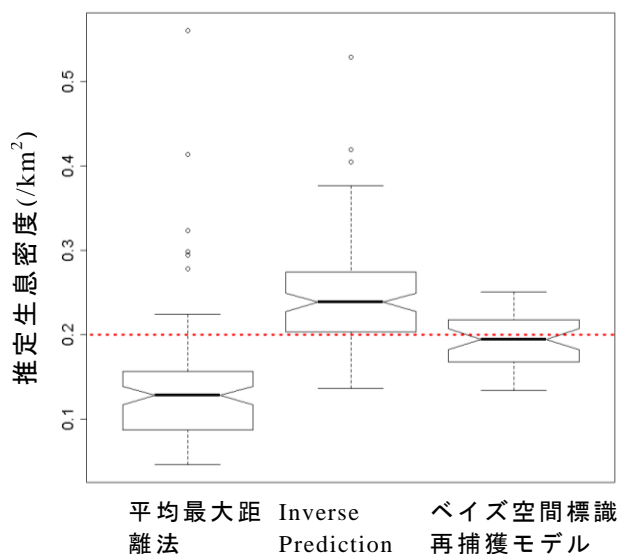


図6 ダミーデータによる生息密度推定モデルの推定結果。箱ひげ図は、内側から中央値、四分位点、四分位点×1.5の範囲の最大値を示し、○はそれより外側の値を示している。赤破線は真の生息密度0.2頭/km<sup>2</sup>を示す。

## 5. 本研究により得られた成果

### (1) 科学的意義

これまで試行錯誤的に進められていたクマ類ヘア・トラップ調査に対して、北上山地モデル調査地における本研究を通じて、ヘア・トラップの設置手順、標準構造、試料採取及び採取記録の標準



手法を提示することができた。クマ類DNA分析において、Pidが低くかつマイクロサテライトの波形が読みやすい遺伝マーカー6種類を特定した。遺伝子分析における個体識別エラーを最小化するため、判定困難な場合の再分析手順を定めた。北上山地モデル調査地における2010年度調査において採取されたツキノワグマの体毛DNA分析から、最小数として173頭を識別した。ヒグマのヘア・トラップ調査では、7月から8月後半にかけてDNA分析成功率が低下することを確かめた。飼育個体の画像解析から、ツキノワグマの胸部斑紋は、普遍性、唯一性、汎用性の面ですぐれた生体標識であることを確認した。クマ類の個体数推定法の一つとして、生体標識を野外で撮影するための手法開発を進めた。北上山地モデル調査におけるヘア・トラップ調査およびDNA個体識別データに基づく個体数推定法の開発を進め、ベイズ空間明示型標識再捕獲モデルが最も精度が高い優れた方法だが、大規模調査では代替法として計算時間が短くて済むInverse prediction法も適用可能なことを確かめた。

## (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、個体群動向モニタリング及び調査結果を受けた保護管理計画策定等において、以下のような平成22年度研究成果の利用が考えられる。

- 北上山地モデル調査地で開発した、ヘア・トラップ調査設計および手順の適用
- DNA分析手順を通じて開発した、クマ類体毛試料から抽出した微量DNAの分析手順、Pidの低い分析遺伝子座及び個体識別のためのデータ照合手法の適用
- 補完法・代替法としてのカメラトラップによる生体標識の撮影および個体識別方法の利用
- ヘア・トラップ調査から個体数推定を行う際のベイズ空間明示型標識再捕獲モデルの適用

## 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（本研究課題に係る論文発表状況。）

（その他誌上発表）

- 1) Yoneda, M. and Mano, T. 2010. Estimating population size of bears in Japan. International Bear News, 19(4):17