# 平成 21 年度環境研究·技術開発推進費

# クマ類の個体数推定法の開発に関する研究 平成 21 年度報告書

2010年(平成22年)3月

クマ類の個体数推定法の開発に関する研究グループ

研究代表機関 (財)自然環境研究センター

# 平成 21 年度環境研究・技術開発推進費 クマ類の個体数推定法の開発に関する研究 平成 21 年度(2009 年度)報告書

# 目 次

	要約	1
研	究の背景と目的	
	日本のクマ類の保護管理と個体数調査	3
1.	ヘア・トラップ法による個体数推定法の確立	
	1.1 クマ類の個体数推定法のレビュー	7
	1.2 手法の標準化に注目したヘア・トラップ法のレビューと課題	22
	1.3 ヒグマにおけるヘア・トラップ法のレビューと課題	34
	1.4 北上山地へア・トラップ調査地の環境構造とツキノワグマの捕獲状況	39
	1.5 北上山地へア・トラップ調査地の設定	49
	1.6 ヘア・トラップ設置に要する作業量	58
2.		
	2.1 個体数推定に関わる DNA 分析法の確立	68
	2.2 クマ類体毛サンプルからの DNA 抽出と分析効率の季節性	82
	2.3 ヒグマの DNA 個体識別手法の標準化(予報)	94
	2.4 有害駆除個体を利用した有効集団サイズの推定方法の検討	107
3.	補完法・代替法の開発	
٦.	3.1 斑紋パターンに注目したツキノワグマ個体識別法の開発	110
	3.2 代替法・補完法一痕跡からの DNA 抽出による個体識別法の	110
	開発の現状について	116
	別しの多いで	110
4.	個体群モデルによる生息数及び生息動向分析法の確立	
	4.1 空間明示モデルによるヘア・トラップ配置の検討および従来の	
	個体識別ミス対策の有用性の検討	121

## 環境研究·技術開発推進費

# クマ類の個体数推定法の開発に関する研究 2009 年度(平成 21 年度)研究グループ

# (1) ヘア・トラップ法による個体数推定法の確立(ヘア・トラップ研究班)

米田 政明(自然環境研究センター、研究代表者)

常田 邦彦(自然環境研究センター)

間野 勉(北海道環境科学研究センター)

佐藤 喜和(日本大学)

# (2) 個体数推定に関わる DNA 分析法の確立(DNA 研究班)

玉手 英利(山形大学; DNA分析研究班代表者)

**釣賀** 一二三 (北海道環境科学研究センター)

山内 貴義(岩手県環境保健研究センター)

湯浅 卓 (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(補完法・代替法研究班)

三浦 慎悟(早稲田大学;補完法・代替法研究班代表者) 青井 俊樹(岩手大学)

# (4) 個体群モデルによる生息数及び生息動向分析法の確立(個体群モデル研究班)

松田 裕之 (横浜国立大学;個体群モデル研究班代表者)

堀野 眞一(森林総合研究所)

# ポスドクフェロー・院生研究員

鵜野 レイナ (慶応大学先端生命科学研究所)

近藤 麻実(岐阜大学大学院)

東出 大志 (新潟大学大学院)

# 研究代表機関

財団法人 自然環境研究センター

〒110-8676 東京都台東区下谷 3-10-10

Tel.03-5824-0960(代表)、Fax.03-5824-0961(事務局)

# 平成 21 年度環境研究・技術開発推進費 クマ類の個体数推定法の開発に関する研究

# 平成 21 年度研究成果要約

# 1. 研究の背景と目的

クマ類は日本の野生動物の中でも、その生物学的特性および社会的要請から、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トレンドは不可欠な情報である。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いる。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しかも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。自治体等が主体となって実施するクマ類の生息数・生息状況調査への適用を想定した、クマ類の個体数推定法の開発を目的として本研究を開始した。平成 21 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を主な目的として、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。

- (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
- (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
- (iii) 補完法・代替法の開発に関する研究
- (iv) 個体群モデルによるモニタリング手法及び生息推定法の確立に関する研究

# 2. ヘア・トラップ法の確立に関する研究

クマ類の個体数推定法に関する調査・研究事例のレビューを行った。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あたりの識別個体数の精度が高いと考えられる。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、有刺鉄線により一辺 4m 程度の囲いを地上 40cm 程度に設置し、さらに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、ヒグマにはエゾシカ肉等を用いることが有効である。試料(体毛)採取率と DNA 分析効率は 6 月から 7 月が最も高い。ツキノワグマの場合、行動圏を考慮するとトラップは、1 基/4-km² より高い密度で設置する必要がある。個体数推定法の開発段階では、移動個体の影響が少ない半閉鎖系個体群を調査対象とすることが有利である。周辺を非生息地に囲まれた北上山地を、本研究におけるツキノワグマ調査対象地とした。北上山地青松葉山周辺の約 600-km² の地域をヘア・トラップ法研究地とし、2009 年度は予備調査としてトラップ位置の現地選定とその環境調査を行った。トラップ設定では、高密度(1 基/km²)と低密度(1 基/4-km²)を組み合わせ、262 カ所を候補地として選定した。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、2010 年度の本格調査に向け、標準トラップ構造を確定するとともに実施作業計画を作成した。

# 3. DNA 分析法の確立に関する研究

ヘア・トラップ法によるクマ類の個体数推定では、毛根に残された微量 DNA からの高精度の個体識別法の確立が最重要の技術的課題である。遺伝子分析の効率および精度向上を目的として、2009 年度研究では、先行研究から特に分析遺伝子座に注目したレビューを行った。また、酵素の

種類別に PCR による増幅成功率を求め、精度検証の方法を検討した上で、ヘア・トラップ法における DNA の標準的な分析手順(プロトコール)を定めた。さらに、DNA 抽出と分析効率の季節差に注目して、岩手大学御明神演習林においてヘア・トラップにより 2009 年 5 月から 12 月にまでに採取した体毛の季節別分析効率を比較した。これに加え、集団サイズと遺伝子プールとしての有効集団サイズ (Ne) の関連に注目して、山形県のツキノグマ試料を分析した。

ヘア・トラップ法における DNA 分析では、分析遺伝子座を 6~9 種類とし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法として提示した。酵素別の PCR 増幅成功率試験では、PrimeSTAR がよい成績であった。性判別ではアメロゲニン遺伝子を用いた方法を標準プロトコールとして提示した。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 分析効率の季節差調査では、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。北海道内の 3 地域のヒグマの遺伝子座分析から、高い多型性を示す遺伝子座は共通していたが、地域より多型性の程度には違いが見られた。また、4 塩基くり返しマイクロサテライト領域の予備的分析から、その個体識別の有効性が示唆された。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 の推定から、時系列での継続的なサンプル収集の重要性が指摘された。

# 4. 代替法・補完法に関する研究

ヘア・トラップで採取されたクマ類の体毛 DNA 分析による個体識別は、個体数推定の有効な方向である。しかし、トラップの設置・試料採取、DNA 分析と作業量は多く、コストも高い。ヘア・トラップ法と並行して、費用対効果の高い代替法・補完法として、カメラトラップによる個体識別法および痕跡法の開発をあわせて進めた。

カメラトラップ法の 2009 年度調査では、画像による個体識別の可能性がある部位として、頭部 形状、鼻紋、胸部斑紋(月の輪紋)および下顎紋の有効性を検討した。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識別の有効性は低いと考えられた。胸部斑紋、および 下顎紋を有する個体の下顎紋は、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。 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や個体数推定に有効である。

# 5. 個体群モデルに関する研究

ヘア・トラップ法によるクマ類の個体数推定では、トラップの設置・試料採取、DNA 分析に加え統計解析が欠かせない。統計解析は、ヘア・トラップの空間配置および DNA 分析におけるジェノタイピングエラー率などの検討にも重要である。個体群モデルの 2009 年度研究では、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、ダミーデータを使った空間明示モデルによる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。

北上山地青松葉山へア・トラップ試験地を対象とした、空間明示型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ても、空間明示モデルではその影響を緩和することが可能であった。また、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、不適切と判断した。

# 研究の背景と目的

# 日本のクマ類の保護管理と個体数調査 一個体数推定法開発の背景と目的一

米田 政明(自然環境研究センター)

# 1. クマ類の保護管理の背景と経緯

クマ類(ツキノワグマ、ヒグマ)は、市民によく知られた動物であるが、人身被害や農林産物 被害を引き起こすこともある狩猟獣である。しかし、個体数が相対的に少ないため、有害捕獲を 含めた捕獲数管理に特に注意が必要な動物として、日本の野生動物保護管理の中で特別な位置を しめている。保護管理の判断と評価のためには、その生息状況を知る必要がある。日本国内で自 然環境保全の重要性が認識され始めた 1970 年代の最初の年に、春グマ猟が行われていた石川県白 山地域をモデル地域とした、繁殖数と捕獲数均衡仮説に基づくツキノワグマの個体数推定法が開 発された(森下・水野、1970)。自然環境保全基礎調査が1973年から開始され、第2回基礎調査 において、ツキノワグマとヒグマの全国分布図が作成された(環境庁、1979)。また、捕獲個体の 年齢構成や繁殖状況の分析も 1970 年代から開始された (米田、1976)。一方、1960 年代後半から 1970年代には、植林木に対するツキノワグマによる樹皮剥ぎ害が、人工林の多い四国、紀伊半島、 静岡県南部などで顕在化してきた。被害防除のため、箱ワナ(田中式オリ)によるツキノワグマ の有害捕獲が増加した。四国では、生息数が元々少ないところに 1960 年代からの有害捕獲圧の高 まりにより、個体群がさらに縮小したと考えられている。1970年代は、狩猟者登録数の最も多い 時代でもあり、狩猟関係統計のある過去約90年間の中でツキノワグマ捕獲数が最も多い時期でも あった。ヒグマの捕獲数は、第二次大戦後の北海道開拓や十勝岳噴火による生息地攪乱の影響に より里地への出没・大量捕獲があった1960年代に捕獲のピークがあった。

このような背景を受けて、環境庁(当時)によるクマ類を含む大型獣の保護管理のための調査研究が、1980年代から開始された。「森林環境の変化と大型野生動物の生息動態に関する基礎的研究」(1980-84年度)(環境庁自然保護局、1985)では、石川県白山、日光、静岡県で、ラジオトラッキングによるツキノワグマの生息地利用、食性、繁殖の季節性など、現在の知見に結びつく研究が開始された。「人間活動との共存を目指した野生鳥獣の保護管理に関する研究」(1985-89年度)(環境庁自然保護局・日本野生生物研究センター、1990)においては、ツキノワグマでは秋田県における多数個体の生態調査と西日本の生息状況調査、ヒグマではラジオトラッキング調査が開始された。この研究で、堅果類の豊凶と行動圏および繁殖の関連が明らかにされるとともに、西日本のツキノワグマの生息状況悪化が報告された。「野生鳥獣による農林産物被害防止等を目的した個体群管理手法及び防止技術に関する研究」(1990-94年度)(自然環境研究センター、1995)では、特に西中国地域のツキノワグマの行動生態と被害防除対策に焦点を当てた研究が行われた。この研究では、電気柵による防除及び捕獲個体の移動放獣などその後のクマ類の非捕殺管理に結びつく調査研究が行われた。

# 2. 保護管理施策

クマ類の保護管理施策面では、ワナ猟禁止が1970年代から実施された。箱ワナは子供が誤って

入ることや過剰捕獲になるおそれがあるため、1975年に環境庁通達として大型獣捕獲における危険なワナの使用が禁止され、1983年からは猟期のオリによるクマ類捕獲も禁止された。1980年代後半には、生息数が少なく絶滅のおそれのある、高知県(1986年)、徳島県(1987年)、九州3県(1989年)でツキノワグマの狩猟禁止措置が取られた。ワシントン条約におけるツキノワグマのI類指定(ヒグマは一部個体群を除きII類指定)、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(種の保存法)の制定(1992年)、日本のレッドデータブックの公表(環境庁編、1994)を受けて、1990年代前半には絶滅のおそれのあるクマ類地域個体群の保護に焦点が当てられた。西日本の17県では1994年から、狩猟によるツキノワグマの狩猟禁止措置が行われている。北海道では、生息数減少が懸念された渡島半島地域における春季のヒグマの予察防除事業を1990年に中止した。大日本猟友会も1990年代から、ツキノワグマの狩猟自粛を開始した。これらの保護管理施策により、1990年代前半にはクマ類の捕獲数は減少した。また、広島県(1994年)、長野県(1994年)、北海道(1995年)など生息状況に基づき、県別にクマ類保護管理計画を策定する都道府県が増えだした。クマ類の保護と被害防止に重点を置いた活動は、2000年代に入って、兵庫県や長野県における移動放獣(学習放獣)個体数の増加、イヌを使ったツキノワグマの防除(軽井沢)、電気柵導入の拡大など、非捕殺的防除対策に結びついている。

保護管理施策が行われる一方、過疎化の進行など社会環境の変化もあり 1990 年代は、シカやイノシシの生息数増加による農林業被害が増加した時期でもある。1990 年代前半に減少したクマ類捕獲数も、1990 年代後半から 2000 年代にかけて再び増加した。このため、絶滅危惧個体群の保護や急激に個体数が増加している種・地域個体群の管理を目的した、「特定鳥獣保護管理計画制度」が 1999 年に設立された。さらに、2007 年には、農林水産大臣が策定する基本指針に基づき市町村が策定する被害防止計画により、野生鳥獣の被害防除が可能となる「鳥獣による農林水産業等に係る被害の防止のための特別措置」(特措法)が成立した。また、2004 年には北陸から中国地方で(自然環境研究センター、2005)、2006 年には全国的にツキノワグマの人里への大量出没、それに伴う大量捕獲がおき(環境省自然保護局、2007)、ツキノワグマの保護、被害防止および捕獲管理が大きな論議となった。このような背景を受けて、2009 年度現在、16 府県がツキノワグマを対象とした特定鳥獣保護管理計画を策定している。北海道を含め多くの道県が、クマ類保護管理と被害防除のための任意計画あるいは保護管理指針等を策定している(間野ら、2008)。また、「ツキノワグマの出没メカニズムの解明と出没予測手法の開発に関する研究」(2006-10 年度)が森林総合研究所で実施されている。

## 3. 個体数調査

環境庁による 1980 年から 3 期、1994 年度までの 15 年間のクマ類の生態、被害防除に関する基礎研究は、日本のクマ類の生態と保護管理の基礎データ入手及び研究者育成で重要な役割を果たした。しかし、個体数調査法の開発を直接目的としたものではなかった。クマ類の個体数調査は、鳥獣保護管理計画において生息数に基づく捕獲数管理の必要性に迫られた、都道府県が先行して行ってきた。秋田県では、秋田県林務部(1983)で開発した直接観察(追い出し)法による春季のツキノワグマの生息数調査を 1985 年から開始し、その後継続して実施している。秋田方式の調査は、その後、青森県、山形県、新潟県など、多雪地帯で春グマ猟(有害捕獲)が行われている地域にも導入され 1980 年代に県内の個体数調査が行われた。富山県や石川県では、残雪期の定点観察によるツキノワグマの個体数推定が開始された。これら県別調査による生息密度データは、

捕獲数動向や分布面積資料とあわせ、レッドデータブックにおける絶滅のおそれのある地域個体群の個体数推定などに応用された。さらに、特定鳥獣保護管理計画技術マニュアル(第 1 版;自然環境研究センター、2000 年)における保護管理ユニット区分と、ユニット別の個体数水準設定の背景資料ともされた。また、1990 年代後半に実用化された DNA による個体判別技術を応用したヘア・トラップ法による個体数調査法が、1990 年代後半に北米で開発され、2000 年代に入って国内にも適用されるようになった。

日本のクマ類の生態、生息数調査と保護管理は、過去 40 年間このような進展を見せてきた。しかし、旧薪炭林の高林齢化、森林隣接域の耕作放棄地の増加、山村の過疎の進行などによりクマ類の分布域は、西日本の一部を除き拡大傾向にある(環境省自然保護局・生物多様性センター、2004)。人身被害も、2000 年代に入って増加している(環境省自然保護局、2007)。一方、四国や紀伊半島あるいは北海道の一部地域では、依然としてクマ類の地域個体群の絶滅が危惧されている(環境省自然環境局野生生物課、2002;2007 (レッドリスト見直し))。被害防除対策としての、有害捕殺に対して批判的な意見も多い。従来の個体数推定とそれに基づく捕獲数管理に関しては、2006 年のツキノワグマの大量出没と大量捕獲を受けて、見直しが求められている県も多い(岸元・佐藤、2008)。クマ類の保護管理では、これまで以上に信頼性の高い個体数推定あるいはその動向把握と、その結果に基づく保護管理計画の策定および実施が求められている(間野ら、2008)。本研究は、このような背景を受けて、現在適用可能な方法の中では、最も高精度な方法と考えられるヘア・トラップ法による個体数推定法の確立を第一の目的とし、個体群モデルからのアプローチを含めその手法の標準化と効率化を行うとともに、費用対効果の観点から代替法・補完法としてのカメラトラップあるいは痕跡調査法による個体数推定法の開発を目指すものである。

# 引用文献

秋田県林務部. 1983 (昭和58年). 秋田のツキノワグマ.

広島県ツキノワグマ対策協議会. 1994 (平成6年). 広島県ツキノワグマ保護管理計画.

環境庁. 1979. 第2回自然環境保全基礎調查 動物分布調查報告書(哺乳類)全国版.

環境庁自然保護局. 1985. 森林環境の変化と大型野生動物の生息動態に関する基礎的研究.

環境庁自然保護局・日本野生生物研究センター. 1990. 人間活動との共存を目指した野生鳥獣の保護管理に関する研究.

環境庁編. 1994. 日本の絶滅のおそれのある野生生物 (レッドデータブック)、哺乳類.

環境省自然環境局野生生物課. 2002. 改訂・日本の絶滅のおそれのある野生生物 (レッドデータブック) 哺乳類. 自然環境研究センター (発行).

環境省自然保護局・生物多様性センター. 2004. 第 6 回自然環境保全基礎調査 種の多様性調査 哺乳類分布調査報告書.

環境省自然環境局野生生物課. 2007. レッドリストの見直し.

環境省自然保護局. 2007. クマ類出没対応マニュアル.

岸元 良輔・佐藤 繁. 2008. 長野県ツキノワグマ保護管理計画における生息数のモニタリングと その課題. 哺乳類科学 48(1): 73-81.

間野 勉・大井 徹・横山 真弓・高柳 敦. 2008. 日本におけるクマ類の個体群管理の現状と課題. 哺乳類科学 48(1): 43-55.

#### 研究の背景と目的

- 森下 正明・水野 昭憲. 1970. ニホンツキノワグマの習性と個体数推定. 白山の自然(白山学術調査団編),石川県: 322-329.
- 自然環境研究センター. 1995. 野生鳥獣による農林産物被害防止等を目的した個体群管理手法及 び防止技術に関する研究. 環境庁委託調査報告書 (平成2年度-6年度まとめ).
- 自然環境研究センター. 2005. ツキノワグマの大量出没に関する調査報告書(平成 16 年度ツキノワグマ個体群動態等調査事業). 環境省請負調査.

米田 政明. 1976. エゾヒグマの年齢査定と齢構成. 哺乳動物学雑誌 7:1-8.

\_\_\_\_\_

米田 政明(自然環境研究センター)・間野 勉(北海道環境科学研究センター)

# 1. はじめに

野生動物の保護管理には、生息状況指標の一つとして個体数とそのトレンド把握が欠かせない。 希少種に関しては、個体数とその空間分布に関するより高い精度の情報が求められる。個体数が 増加し植生改変など生態系への影響が大きくまた社会的許容範囲を越えている、あるいは少なす ぎて地域個体群の存続が危ぶまれる狩猟鳥獣の科学的・計画的な保護管理のため、日本の「鳥獣 の保護及び狩猟の適正化に関する法律」(鳥獣保護法)では、捕獲数管理強化のための「特定鳥獣 保護管理制度」を設定している。特定鳥獣保護管理計画の策定では、捕獲数管理のため個体数調 査とそのモニタリングを求めている。国内では、2010年1月現在16府県(岩手県、秋田県、山 形県、福島県、栃木県、石川県、長野県、岐阜県、滋賀県、京都府、兵庫県、鳥取県、島根県、 岡山県、広島県、山口県)が、ツキノワグマを対象とした特定鳥獣保護管理計画を策定している。 狩猟と有害捕獲をあわせたクマ類の全国年間捕獲数は、ツキノワグマが 2,225 頭、ヒグマが 404 頭(いずれも2000-2006年平均)であり、偶蹄類狩猟獣であるイノシシ(同期間平均、208,613頭 /年) やシカ(同期間平均、163,478頭/年)に比べると捕獲数は2桁少ない。クマ類の捕獲数が少 ないのは、大型狩猟獣の中でも密度が低く生息数が少ないこと及び個体群増加率が低いことを反 映している。一方、1980年から2007年までの28年間に、狩猟中の事故を含め記録されているだ けでヒグマでは 6 名、ツキノワグマでは 23 名の死亡事故が報告されている (環境省自然環境局 (2007) に 2007 年度データを追加)。集落周辺にクマ類が出没すると人身被害防止を主な目的と した捕獲が実施されることが多いことから、過去10年間、クマ類では被害防止を目的とした許可 による捕獲数が総捕獲数の70%以上を占めている。

クマ類の特定鳥獣保護管理計画技術マニュアル (自然環境研究センター、2000) では、全国 18 の保護管理ユニット別に個体数調査に基づく有害捕獲を含めた個体数総捕獲数管理を求めている。アメリカクロクマは、アメリカ合衆国の一部の州とメキシコの個体群を除いて狩猟獣とされ、年間約4万頭が捕獲されている (Pelton et al. 1999)。また、ヒグマは、北米では合衆国本土を除き狩猟の対象となっており、1990年代の前半には年間1600頭程度が捕獲されている (Miller and Schoen 1999, McLellan and Banci 1999)。ヨーロッパでも、ヒグマが絶滅あるいは絶滅危惧状態にある西欧地域の国を除き、狩猟獣としている国が多い (Servheen et al. 1999)。これらの国・州でも、クマ類個体群の適切な保全のため、さまざまな生物学的調査に加え個体群動向のモニタリングと個体数調査を行っている。クマ類の個体数推定法の開発を目的とする今回の研究計画の背景材料とするため、ヘア・トラップを用いた標識再捕獲法をはじめとするクマ類の個体数推定に関するこれまでの研究報告のレビューを行った。

# 2. レビューの範囲と方法

個体数調査法に関するレビュー対象は、クマ類の中でもクマ属(Ursus)の3種、ツキノワグマ ( $U.\ thibetanus$ )、ヒグマ ( $U.\ arctos$ )、アメリカクロクマ ( $U.\ americanus$ ) に限った。熱帯域のクマ類は報告数も少ないため除外した。地域は、日本、北米、ヨーロッパ地域、年代は主に 1970 年

代以降の調査報告とした。北米では、ヒグマ、アメリカクロクマ、ホッキョクグマ (*U. maritimus*) の個体群生態学に関する調査研究が多く行われているが、今回は個体数調査に関するものに焦点をあてた。野生動物の個体数調査は、保護管理のための行政調査として行われることが多いため、都道府県報告書および特定鳥獣保護管理計画書なども参照した。ヘア・トラップ法によるクマ類の個体数調査方法に関しては、すでに、佐藤・湯浅 (2008)、湯浅・佐藤 (2008) によりその開発過程と課題が、また国内各地での適応事例として森光 (2008) によるレビューがあるが、ここでは個体数調査法の一つとして特に調査精度に注目してレビューした。個体数調査とあわせ、日本の自然環境保全基礎調査を例として、生息分布域調査に関する調査法も取り上げた。

# 3. クマ類の個体数調査方法

# 3-1. 個体数調査方法

クマ類の個体数調査あるいは個体群動向調査は、その手法とデータ入手方法から次の 8 つの方 法に区分することができる。

- (i) 地域住民やハンターへの聞き取り調査法
- (ii) 捕獲数と繁殖に基づく方法
- (iii) 個体群指標分析法
- (iv) 直接観察法
- (v) 標識再捕獲法
- (vi) 痕跡調査法
- (vii) ヘア・トラップ法
- (viii) 複数方法の組み合わせ法

# 3-2. 地域住民やハンターへの聞き取り調査法

北海道は、市町村猟友会などを対象として、居住市町村内のヒグマ生息数に関するアンケート調査を1992年から1997年かけて行い、その集計から全道のヒグマ個体数を1,771頭から3,628頭と推定した(北海道環境科学研究センター、2000)。米国のアメリカクロクマの州別個体数調査でも、野生動物保護管理の専門家やハンター意見を取り入れた方法が採用されている(Hristienko and McDonald Jr. 2007)。ハンターの出猟日数当たりのクマ類捕獲数などを指標とした、単位努力当たりの捕獲数(CPUE)は、個体数トレンド指標として使われている。タッグを購入し捕獲個体にそのタッグを付ける必要がある米国ミシガン州におけるアメリカクロクマ狩猟では、狩猟適正化のためのチェックポイントにおけるハンターからの情報収集や試料回収による個体群動向推定が行われている(Etter et al. 2003)。

# 3-3. 捕獲数と繁殖に基づく手法

閉鎖個体群においては、出生数として繁殖に関わる性比、初産齢、一腹出産数及び年齢構成、 死亡数して捕獲数あるいは死亡率がわかれば、毎年の個体数の増減数が推定できる。森下・水野 (1970) は、ツキノワグマの出産個体数と死亡数の均衡仮説に基づき、繁殖指標と捕獲数による 個体数推定式を示した。ツキノワグマの初産齢を3歳、3年間隔で1産2子出産、性比は成獣、 新生児とも1:1と仮定した森下・水野の式では、移出入による個体数変化がないと仮定した地域 個体群の捕獲数の4.85倍が個体数となる。朝日(1980)も、捕獲数と出生数均衡仮説に基づく野

生動物の個体数推定式を提唱した。福井県自然保護センターでは、ツキノワグマの初産齢を3歳、メス1頭あたりの年産子数を0.7と仮定し、年捕獲数の6.59倍を県内の個体数と推定した。

## 3-4. 個体群指標分析法

個体群指標分析法は、捕獲個体の年齢構成や繁殖歴分析あるいはラジオトラッキング調査によ る死亡率や繁殖率の直接測定から、個体数や個体数密度を推定する方法である。アメリカクロク マあるいはヒグマを対象に多数個体のラジオトラッキング調査が広く行われている北米では、本 調査法による個体数推定が多く行われている。Rogers(1983)は米国ミシガン州におけるアメリ カクロクマのメス捕獲個体の胎盤痕と年齢査定から出産率と初産齢を求め、さらにラジオトラッ キング調査から死亡要因を調査し、エサ供給が主要な繁殖と生息密度規定要因と報告した。Knick and Kasworm (1989) は発信器を装着した個体の狩猟死亡率からグリズリー (ハイイログマ) の 小さな 2 つの個体群の個体数を推定した。ラジオトラッキングと年齢査定から、アラスカのヒグ マの個体群の年成長率は調査時期の前半と後半で異なったが、0.963 から 1.047 の範囲にあること を Kovach et al. (2006) は報告した。Schwartz et al. (2006) は、米国イエロストーン国立公園に おけるヒグマのラジオトラッキングや死亡追跡など多くの個体群データから、公園内の1983年か ら 2002 年までの個体群成長率は>1.0 で、1980 年の 400 頭から 2000 年には 520 頭程度まで増加し たと推定した。北海道渡島半島では、ラジオトラッキング調査よるヒグマの推定死亡率(オス 0.26、 メス 0.05) と年平均捕獲数から、個体数を 522 頭(下限値 190 頭)と推定した(北海道環境科学 研究センター. 2000)。クマ類の個体群指標分析法は、個体群動向の予測とそれを受けた保護管理 計画策定のため重要な手段となっている。

## 3-5. 直接観察法

直接観察によるクマ類の個体数調査は、米国イエローストーン国立公園においてゴミ集積場に集まるグリズリーの観察調査として開始された(Craighead and Craighead, 1967)。イエローストーンでは、標識法やラジオトラッキングによる個体群指標調査も併用した個体数モニタリングが継続して行われており、世界で最も研究されているクマ個体群で200以上の論文が発表されている。イエローストーンのグリズリー個体数は、1930年代から60年代は200頭から300頭前後と推定されていたが(Cole, 1981)、近年は年に4%から7%の割合で個体数が増加し、2000年代には550頭まで増加し、その結果2007年に米国の希少種リストから除外された(Miller, 2007)。アラスカでは捕獲一標識個体の航空機を使った再発見率(capture-mark-resight; CMR)法により、1,000km²あたりの生息密度として、ヒグマが10頭から551頭、アメリカクロクマが89頭から289頭と推定された(Miller et al. 1997)。アラスカでは、クマ類のエサとなるサケ類資源量が内陸に比べ沿岸に多いため、沿岸で高い生息密度が観察されている。エサ場(bait station)を設置しそこに集まるクマ類(アメリカクロクマ)の捕獲が認められている米国では、エサ場利用個体の直接観察も個体数推定に利用されている(Brongo et al. 2005)。

直接観察法による個体数推定は、国内では個体発見が容易な北陸から東北地方の多雪地帯におけるツキノワグマ生息数推定に用いられている。秋田県では、統計数理研究所の協力を得て、1981年から、春季残雪期のツキノワグマ直接観察法による生息数調査を開始し(秋田県林務部、1983)、1984年から継続調査を行っている(秋田県、2007)。調査では、県全域を 3×3 km 区画に区分し(全県で1,415区画)、そのうちツキノワグマの生息する区画(2007年は603区画)から150区画

を調査区画としてランダムに抽出する。各区画に、ツキノワグマの予防捕殺を兼ねた調査員(ハンター)が 20 名程度入り、追い出しにより区画内に出没した個体数を観察しその結果を集計する(追い出し直接観察法)。生息区画に対する調査区画数割合から全県生息数を求める。調査結果として、1984 年から 2006 年までの毎年の全県のツキノワグマ推定個体数は、最小が 805 頭(2006年)、最大が 2,640 頭(1986年)、平均が 1,392 頭と報告されている(秋田県、2007)。山形県および新潟県でも、追い出し直接観察法による春季残雪期のツキノワグマ生息数調査が行われている。山形県では県内を山塊別に 10 調査区に区分し、1977 年から 2002 年までは猟友会の協力を得て、秋田県と同様ツキノワグマの予察防除を兼ねた調査を行ったが、2005 年からの第 2 期調査ではボランティア調査員による捕殺をともなわない個体数調査に切り替えた。山形県調査では、春季調査では、冬眠穴から出てくる時期が遅れる子連れのメスグマ発見率が低いとの仮定から、発見個体数を 2.75 倍したものを推定個体数としている(山形県環境保健部自然保護課、1987)。第 2 期の個体数調査結果として、山形県内のツキノワグマ生息数を 1,507 頭と推定した(山形県みどり自然課、2008)。新潟県では、ツキノワグマ生息地を 1 調査区 600 ha 程度の 601 区画に区分し、1984-86 年の 3 年間でそのうち 184 区画で追い出し法調査を行い、全県で 608 頭との推定個体数を得ている(新潟県野生動物生態研究会、1987)。

富山県では、定点観察法による春季のツキノワグマ個体数調査が 1989 年と 1990 年に実施された。これは、落葉期で積雪があり個体の見落とし率が低い春季に、山の対岸斜面など広い範囲(調査地)が見渡せる位置から連続して数日観察し、出没するツキノワグマ個体をカウントするものである。調査結果から生息密度を求め、調査地環境による密度の層別化作業を行い、全県の生息数を推定する。ただし、富山県における 1989-90 年調査では、生息密度 (0.18 頭/km²) のみを求めている。定点観察法によるツキノワグマ個体数調査は、保護管理計画策定のための基礎資料として、群馬県(自然環境研究センター、1999)、長野県(2002)、石川県環境安全部(2002)における調査にも適用された。

知床半島のヒグマなど海上から直接観察できる条件がある生息地では、環境教育を兼ねた直接観察が行われている(中川ら、1987)。樹木カバーが少ないアラスカやカナダ北部では、標識個体の発見率調査と組み合わせたクマ類(ヒグマ、アメリカクロクマ、ホッキョクグマ)の航空機センサスが行われている。しかし、森林の多い日本やヨーロッパでは発見率が低いため、航空機センサスは一般的な方法とはなってない(日本野生生物研究センター 1991、北海道環境科学研究センター 1995)。また、北海道の大雪山系において、見通しのきく森林限界から上のおよそ4,000haの地域を対象として、10箇所前後から一斉に観察する手法によるヒグマの個体数動向把握の試みがなされた(日本野生生物研究センター 1991)が、観察対象面積が十分でないこと、さらに、気象条件や個体の入れ替わりが頻繁に生ずることで、その地域内で十分な観察努力量を確保することが困難とされている(北海道環境科学研究センター 1995)。

# 3-6. 標識再捕獲法

標識再捕獲法(Capture-Mark-Recapture: CMR法)は、クマ類を捕獲し標識をつけて放逐し、再捕獲あるいは再発見率から全体の個体数を推定する方法である。直接観察の困難な森林や非積雪期でも調査が可能なため、世界的に広く適用されている。捕獲作業に際し、外部形態の計測、遺伝的分析や化学物質汚染などのためのサンプル採集もあわせて可能である。また、ラジオトラッキングのための無線標識を装着することもできる。福井県自然保護センター(1997)では、ラジ

オトラッキングによる行動圏調査を兼ねた標識再捕獲法によるツキノワグマ調査を 1994-95 年に 実施し、のべ捕獲個体は 4 頭と少なかったが、Chapman の修正式を適用し県内分布域に占める調査個体の行動圏を求めることで、全県の推定個体数を 596±208 頭と求めた。西中国地方では 2004-05 年のツキノワグマの標識再捕獲調査において、のべ 51 頭を捕獲し、生息環境による密度の層別化も行い西中国地域全体の個体数を 280 頭から 674 頭と推定した(自然環境研究センター、2006)。

米国ペンシルバニア州では、標識個体の狩猟による捕獲回収率にLincoln-Petersen 法を適用して、アメリカクロクマの個体数を推定している(Diefenbach et al. 2004)。ミシガン州では、ハンターからの捕獲報告と CPUE 分析に加え、エサ場での調査、標識再捕獲法および個体群モデル法を組み合わせ、アメリカクロクマの狩猟管理のための個体数推定を行っている(Etter et al. 2003)。ミネソタ州では、テトラサイクリンをマーカとして仕込んだ寄せ餌をアメリカクロクマの分布域に広域に仕掛けてクマを標識し、狩猟で捕獲された個体の硬組織の検索から標識率を割り出し、全州規模での個体数推定を実施した(Garshelis and Visser、1997;Garshelis and Noyce、2006)。アラスカでは、上記のように再捕獲の代わりに航空機などを使った再発見法を組み合わせた CMR 法によるヒグマとアメリカクロクマの個体数推定が実施されている。

## 3-7. 痕跡調査法

痕跡調査法は、足跡、食跡、フンなどクマ類のフィルドサインの観察に基づき個体数を推定する方法である。北海道では、沢沿いの泥の上に残された足跡サイズの違いに注目した個体識別に(Klein 1959)よるヒグマの個体数推定が行われた(北大ヒグマ研究グループ、1982;青井、1990)。長野県では、ブナ科の堅果類を採食した際に樹上に形成されるクマ棚に注目し、センサスルート両側の一定幅に出現するクマ棚数を生息密度の相対指標とし、直接観察法などから求めた生息密度と組み合わせて県内のツキノワグマ個体数を推定した(長野県、2002)。岩手県遠野におけるヘア・トラップ調査(環境省自然保護局・生物多様性センター、2005)、岩手県(2007)、宮城県(環境省自然保護局・生物多様性センター、2009b)では、フンなどの痕跡数とヘア・トラップ法で求めた生息密度を組み合わせ、モンテカルロシミュレーションを行い、さらに調査対象生息域に拡大して県内の個体数推定を行っている。

# 3-8. ヘア・トラップ法

ヘア・トラップ法は、標識再捕獲法を応用した、DNA マーカによる個体識別から個体数を推定する方法である。DNA サンプル採集のための有刺鉄線の囲い(トラップ)などの設置、体毛の採取、そして毛根からの DNA 抽出、個体識別及び個体数推定の一連の作業を指す。DNA マーカとしては、個体レベルの多様性が高いマイクロサテライトの塩基長の違いが使われる。識別を確実にするため、6 から 10 マイクロサテライト遺伝子座を分析する。この方法は、Woods et al. (1999)が最初に報告し、その後、北米ではヒグマとアメリカクロクマの大面積調査に適用され(例えばMowat and Strobeck, 2000)、ヨーロッパのヒグマ(Gervasi et al. 2008)やメガネグマ調査(Viteri and Waits, 2009)にも応用されるようになった。国内では、岩手県で Miura and Oka(2003)がヘア・トラップによるツキノワグマの体毛採取の可能性を報告し、それ以後、岩手県(環境省自然保護局・生物多様性センター、2005;山内・工藤、2005)、長野県(野生動物保護管理事務所、2005)などで実施された。さらに、環境省の平成 20 年度(2008 年度)自然環境保全基礎調査における

種の多様性調査においても、山形県、宮城県、山梨県、奈良県がヘア・トラップ法を取り入れた ツキノワグマ調査を行った(環境省自然保護局・生物多様性センター、2008a, 2008b, 2008c, 2008d)。 また、後述のように、ツキノワグマを対象とした特定鳥獣保護管理計画を策定している 16 府県の うち5 県がヘア・トラップ法による個体数調査を取り入れている。

ヘア・トラップ法は、(1) 直接観察法などに比べ個体識別の精度が高いこと、(2) DNA が個体の永久標識となること、(3) 非侵襲方法で個体識別サンプルが採取できること、(4) バレル・トラップによる CMR 法比べ低いコストで多くのトラップを広域に設置可能なこと、などからクマ類の個体数調査において世界的に広く取り入れられている。近年は、より大面積の個体数推定にも適用され、米国モンタナ州では、グリズリーとアメリカクロクマの個体数調査のため、7×7kmセルの641 グリッドに2,558 基のヘア・トラップを設置した大規模調査が行われている(Kendall et al. 2008)。日本でも、青森県におけるツキノワグマのヘア・トラップ調査では、県内の分布域の大部分をカバーするようにヘア・トラップを設置し、主な2調査地域を合わせた県内の個体数を約600頭から1,400頭と推定した(青森県、2009)。

ヘア・トラップ法では多くのサンプル採集が可能で個体識別精度も高いことから、標識再捕獲法や直接観察法による個体数推定より、推定個体数が多くなる傾向がある。岩手県のツキノワグマ推定個体数は、標識再捕獲法などから推定された 2002 年の 1,100 頭(中央値)に比べ、ヘア・トラップ法と痕跡調査法の組み合わせから推定された 2007 年の個体数は 1,715 頭(中央値)に増加した。長野県のツキノワグマ推定個体数も、ヘア・トラップ調査成果を取り入れた 2007 年の推定個体数は 2,771 頭(中央値)と、2002 年の推定値 1,913 頭(平均値)よりも多くなっている(長野県、2002、2007)。ジャイアントパンダの個体数推定においても、従来の生息環境と生息密度による推定値 1,600 頭前後に比べ、食跡の DNA 個体識別法を採用した個体数推定値は倍の 3,000 頭前後になったと報告されている(Garshelis et al., 2008)。

# 3-9. 複数の方法の組み合わせ

クマ類の個体数調査で、複数の方法を組み合わせることは広く行われている。特に、北米の国立公園や野生動物保護区など、限られた地域の集中的なクマ類個体群研究では、繁殖や死亡率の個体群指標追跡とそれらのデータに基づく高精度の個体数推定が行われている。米国イエローストーン国立公園では、航空機センサス、子連れクマの観察、標識個体の追跡などから、個体数と個体群動向調査を1983年以降継続して行っている(Harris et al. 2007)。カナダ北部のホッキョクグマの個体数も、標識再捕獲(CMR)、子グマのカウント、生存率の計算などを組み合わせ個体群成長率と狩猟影響をモニタリングしている(Taylor et al., 2006)。 カナダのブリティッシュコロンビア州では、環境条件を考慮した複数の調査地域においてヘア・トラップ調査による生息密度推定値を求め、環境要因を説明変数とする外挿モデルを作成して州全域のハイイログマ生息数推定を実施している(Hamilton and Austin、2004)。

国内でもいくつかの方法を組み合わせたクマ類の個体数推定が行われている。長野県(2007)は、ヘア・トラップ法による生息密度調査と地域別の生息密度指標を組み合わせ、全県のツキノワグマ生息数を求めている。岩手県(岩手県、2007)および宮城県(環境省自然保護局・生物多様性センター、2009b)のツキノワグマ個体数調査では、上記のようにヘア・トラップ法による調査と、ライントランセクトによる生活痕跡頻度分布にさらにモンテカルロ法シミュレーションを行って、全県個体数を推定している。奈良県(環境省自然保護局・生物多様性センター、2009d)

では、ヘア・トラップ法とカメラトラップ法を組み合わせ、県南部のツキノワグマの個体数推定を行った。この際、ヘア・トラップ法ではトラップの有効範囲として3段階の半径を仮定しさらにその半径内の植生自然度6-10の範囲を個体数密度算定の生息地とみなした。また、ヘア・トラップの近くに設置したカメラトラップで確認されたが、ヘア・トラップでは体毛が採集されなかったトラップシャイ個体が5個体中1頭いたことから、ヘア・トラップによる確認個体数を1.25倍する補正を行った。複数の調査法の組み合わせは、調査精度の補正と限られた調査範囲の結果を広域に適用する場合の両方に適用されている。

## 3-10. 生息分布調査

個体数調査とあわせ、生息分布域調査も行われている。自然環境保全基礎調査の種の分布調査(環境省自然保護局・生物多様性センター、2004)では、鳥獣保護員、地域住民、ハンター(猟友会)、山林作業者などへのアンケート調査を分布図作成の基本情報とした。アンケート調査に際しては、地図を同封し、地図上に対象種の生息情報を記入し返送する方法が採用されている。アンケート法による分布調査は容易だが、山奥など人の活動の少ないところでは生息しても情報が得られないこと、アンケート回答情報量が少ないと実際よりは狭い分布域となることが奈良県調査では課題として報告されている(環境省自然保護局・生物多様性センター、2009d)。一方、多くの都道府県では、人身被害予防のため、クマ類の出没・目撃情報を収集し、ウェブサイトなどで提供している(環境省自然環境局、2007)。また、野生鳥獣情報システム(WIS)を含め、狩猟者の報告に基づく捕獲位置情報も、生息分布域調査の情報源として活用されている。

## 4. 調査法と個体数推定幅の比較

個体数推定法では、推定精度も重要である。捕獲数と繁殖に基づく方法では、捕獲数を主変数とするため、捕獲数の年変動が推定値のばらつき要因となる。直接観察法(追い出し法と定点観察法)、標識再捕獲法およびヘア・トラップ法では、調査における発見率や捕獲率が推定値のばらつき要因となる。鳥獣関係より、統計数値の信頼性が高いと考えられる 1970 年以降 2006 年までの 37 年間と、ツキノワグマの大量捕獲があった年を含む近年 10 年間(1997 年-2006 年)の捕獲数の変動幅を表 1 に示した。直接観察法、標識再捕獲およびヘア・トラップ法に関しては、既存の報告資料から推定値のばらつきを比較した。ここで示した標識再捕獲およびヘア・トラップ法における個体数推定は、Lincoln-Petersen 法あるいは Chapman 法を採用している。個体数推定で主に MARK 法(White et al. 2006)を採用している、海外のヘア・トラップ調査事例はここでは除いた。

捕獲数変動では、大量捕獲年もあった近年 10 年間のツキノワグマ捕獲数の変動係数 (CV) が 0.51 と高い値を示した。捕獲数変動は、年毎の実際の個体数変動と、堅果類不作などによる人里への大量出没による大量捕獲と政策的な捕獲数管理など人為的バイアスの両方が作用している。 直接観察法追い出し法を採用している秋田県の 1984-2006 年の変動係数は 0.32 と高いが、近年 10 年間に限ると推定個体数の変動係数は 0.22 と比較的小さい。秋田県のデータも、年毎の実際の個体数変動と発見率の差など人為的バイアスの両方が作用していると考えられる。一方、直接観察定点観察法とヘア・トラップ法による個体数推定値の幅は、ある時点の実際の個体数の信頼幅を示している。直接観察定点観察法を採用した長野県 (2000 年) と群馬県 (1998 年) の推定数幅を見ると、発見個体数ゼロの地点を除いても変動係数は>1 と大きく、推定値のばらつきは大きい。

ヘア・トラップ法において、比較的大面積で多数個体が識別されている、岩手県(2004-2005 年)、 富山県(2005-2006 年)および青森県(2005-2008 年)では、変動係数が 0.2 から 0.3 程度を示している。

この結果からは、直接観察定点観察法に基づく捕獲数推定ではばらつきが多いこと、ヘア・トラップ法を含むその他の方法ではおよそ変動係数は 0.3 前後(すなわち 95%信頼限界の推定幅は平均値の 0.4 から 1.6 倍)にあることを示唆している。既存のヘア・トラップで推定幅が他の方法と同様に広いのは、これまでの調査では再捕獲個体が少ないことも影響している。

方法・対象種	地域	対象年	平均 1)	$SD^{1)}$	CV	備考(文献)
年捕獲数(ヒグマ)	北海道	1970-2006年	366	120	0.33	鳥獣関係統計
年捕獲数 (ヒグマ)	北海道	1997-2006年	368	104	0.28	近年 10 年間のみ
年捕獲数(ツキノワグマ)	全国	1970-2006年	1,984	462	0.23	鳥獣関係統計
年捕獲数(ツキノワグマ)	全国	1997-2006年	1,996	1,008	0.51	近年 10 年間のみ
直接観察(追い出し法)	秋田	1984-2006年	1,392	452	0.32	秋田県(2007)
直接観察(追い出し法)	秋田	1997-2006年	1,023	224	0.22	秋田県、近年10年間のみ
直接観察(追い出し法)	新潟	1984-1986年	497	46	0.09	推定数は発見率補正前の値
直接観察(定点観察)	群馬	1998年	0.16	0.39	2.46	自然研(1999)、全25地点
直接観察(定点観察)	群馬	1998年	0.57	0.59	1.03	発見数ゼロ地点を除く7地点
直接観察(定点観察)	長野	2000年	1.16	1.88	1.62	自然研(2001)、全12地点
直接観察 (定点観察)	長野	2000年	1.99	2.13	1.07	発見数ゼロ地点を除く7地点
標識再捕獲法	西中国	2004-2005 年	154	64	0.41	再捕獲は52頭中3頭
ヘア・トラップ法	岩手	2004年	294	84	0.29	環境省(2005)
ヘア・トラップ法	岩手	2005年	197	53	0.27	環境省(2006)
ヘア・トラップ法	富山	2005-2006年	44	13.5	0.31	WMO (2007)
ヘア・トラップ法	下北	2005-2006年	195	38	0.19	青森県(2009)
ヘア・トラップ法	津軽	2007-2008 年	824	175	0.21	青森県(2009)

表1個体数推定方法と推定値の標準偏差および変動係数

# 5. 特定鳥獣保護管理計画に適用されている調査方法

国内では、2009 年 12 月現在で 16 府県がツキノワグマを対象とした特定鳥獣保護管理計画を策定している。特定計画では個体数推定を含む生息状況の把握を踏まえた保護管理目標の策定を求めている。表 2 に、特定計画策定のための個体数調査の方法と推定個体数を示した。地域の環境条件に応じた、さまざまな調査方法が適用されている。日本海側の多雪地帯の 3 県(秋田県、山形県、石川県)では直接観察法が適用されている。一方、雪の少ない西日本の 4 県(京都府、西中国 3 県)では標識再捕獲法が採用されている。ヘア・トラップ法は上記のように 5 県(岩手県、栃木県、長野県、岐阜県、滋賀県)で適用されている。残りの 4 県(福島県、兵庫県、鳥取県、岡山県)は、福島県を除き生息数が少ない地域であり、既存資料や分布面積に基づく複数の方法が適用されている。特定鳥獣保護管理計画における個体数モニタリングにおいて、直接観察法の適用が難しい府県では、今後ヘア・トラップ法による個体数調査が増加することが予想される。

# 6. 調査方法とコスト

個体数調査では、費用対効果の観点からの調査方法の比較検討も重要である。アラスカでの航空機センサスにおける、クマ類 (ヒグマとアメリカクロクマ)の1時間あたりの発見率は $0.2\sim15.5$ 頭、費用は調査面積 $1-km^2$ あたり3ドルから175ドルと報告されている (Miller et al. 1997)。ヘア・

<sup>1)</sup> 頭 (捕獲数、直接観察追い出し法、標識再捕獲法、ヘア・トラップ法)、頭/km² (直接観察定点観察、標識再捕獲法)

トラップ法による経費は、分析費だけで1試料あたり約50ドルと報告されている(Tredick, et al., 2007)。秋田県における直接観察法(追い出し法)によるツキノワグマ個体数調査のため、1980-1981年調査では、のべ4,156名で470回(区画数×調査日数)調査を行った(秋田県林務部、1983)。しかし、論文あるいは調査報告書に正確な調査費用が示されていることは一般に少ない。表3は、概算による調査面積当たりあるいは推定個体数当たりの調査方法別経費を示したものである。調査人日算定が困難な捕獲数と繁殖指標に基づく手法及び個体群指標分析法は含めてない。また、相対的な生息密度を求める痕跡調査法も除外した。ここで示した方法ではいずれも、クマ類1頭当たりの観察あるいは識別に220千円から411千円必要と算定された。

表 2 特定鳥獣保護管理計画(ツキノワグマ)で採用されている個体数調査方法と推定個体数

府県	作成年 <sup>1)</sup>	個体数調査方法(調査実施年)	県内推定個体数
岩手県	2007	ヘア・トラップ法と痕跡調査(2004 年と 2006 年)	1,343 頭~2,097 頭
秋田県	2007	直接観察法(追い出し法)(1985年より継続実施)	805 頭~1,481 頭 <sup>2)</sup>
山形県	2009	直接観察法(追い出し法)(2005年から第2期調査実施)	1,500 頭
福島県	2009	統計的方法(森下法と朝日法;1988年~2003年の捕獲数)	1,392±208 頭(森下法)
栃木県	2006	ヘア・トラップ法(2003 年~2004 年)	180 頭~495 頭
石川県	2007	定点観察法(天然林面積補正)(2002年~2003年)	700 頭
長野県	2007	ヘア・トラップ法と密度区分補正(2003 年~2004 年)	1,867 頭~3,666 頭
岐阜県	2009	ヘア・トラップ法と密度区分補正	1,228 頭と 1,430 頭
滋賀県	2008	ヘア・トラップ法(2005-07 年)	173 頭~324 頭
京都府	2007	標識再捕獲法(2004年)	200 頭~500 頭
兵庫県	2007	複数方法組み合わせ(標識再捕獲、目撃数推移など)	推定個体数は示してない
鳥取県	2007	分布面積と周辺地域生息状況資料(1990 年代)	100 頭前後
岡山県	2007	捕獲数などに基づく推定 (2000 年代)	10 頭程度
西中国3県3)	2007	標識再捕獲法(密度区分補正)(2004年~2005年)	279 頭~674 頭

<sup>1)</sup> 複数回作成されている場合は最新の計画の公表年を示した

表 3 クマ類の個体数推定における調査手法別コスト概算 1), 2)

方法 (対象種)	必要な調査人日	調査面積(km²)	観察数/捕獲数	費用(千円/クマ1頭)
直接観察(春季地上)	2 人×3 日×10 地点	10 地点×2-km <sup>2</sup> = 20 km <sup>2</sup>	10 頭/20km <sup>2</sup>	2,400 千円/10 頭 =
(ツキノワグマ) <sup>3)</sup>	= 60 人日			240 千円/頭
直接観察(航空機)	3 人×3 目 = 9 人目	80-km/時×0.2-km 幅×6	$0.06$ 頭/km $^2$ $ imes$	5,760 千円/14 頭 =
(ヒグマ) <sup>4)</sup>		時間 $\times$ 3 日 = 288 km <sup>2</sup>	$288 \text{ km}^2 = 14 頭$	411 千円/頭
標識再捕獲法	150 人日/年×2 年×	$525 \text{ km}^2$	49 頭	10,800 千円/49 頭 =
(ツキノワグマ) <sup>5)</sup>	1.5 人 = 450 人目			220 千円/頭
ヘア・トラップ法	4 人×60 目 = 240 人	100 km <sup>2</sup> 、300 検体(100	40 頭(DNA 判	11,100 千円/40 頭 =
(ツキノワグマ) <sup>6)</sup>	日(100 トラップ)	トラップ×3 セッション)	別個体数)	278 千円/頭

<sup>1)</sup> 観察数/捕獲数は、推定個体数を含めない、実際の観察数あるいは捕獲数を示す。

# 7. 個体数調査の課題と生息動向調査

Harris (1988) は、ヘア・トラップ法導入前の米国モンタナ州におけるグリズリー個体数調査法

<sup>2)</sup> 最近 10 年間 (1997 年~2006 年) の個体数推定値の最小値 (2005 年) と最大値 (2000 年)

<sup>3)</sup> 島根県、広島県、山口県

<sup>2)</sup> 人件費は、現地調査の直接経費および間接費を含め、40千円/人日とした。

<sup>3)</sup> 直接観察(地上)は、長野県(2002)における調査事例を参照した。

<sup>4)</sup> 航空機センサスの発見率は、ヒグマの平均生息密度 (0.093 頭/km²) (北海道環境科学研究センター、2000)の 2/3 と仮定した。

<sup>5)</sup> 標識再捕獲法の調査面積と費用は西中国の事例(自然環境研究センター、2006)

<sup>6)</sup> ヘア・トラップ法では、100 トラップを1単位とし、1組2人、2組4人体制で、トラップ設定地予備調査に15日、設置に10日、1セッション10日で3セッション(30日)、撤収に5日、計4人×60日とした。試料採取効率は、1検体/トラップ・セッション、DNA分析費用を1検体あたり5,000円とした。判別個体数40頭は、山内・工藤(2005)を参照した。

のレビューを行い、(1) 狩猟分析法は多くの誤差要因があること、(2) 航空機センサスでは発見数は生息個体数よりずっと低いこと、(3) 標識再捕獲は年による変動が大きいこと、など個体数調査では多くの課題はあるが、調査の積み重ねで推定誤差を減らしていくことが重要とした。費用対効果を含め複数の方法を比較しながら、より高精度でより低コストのクマ類の個体数推定法を開発する必要がある。精度の観点からは現在のところへア・トラップ法が、(1) 個体識別精度が高いこと、(2) 比較的容易に広域をカバーできること、(3) バレル・トラップに比べ設置と管理簡便でかつ個体捕捉率が高いこと、から高精度の個体数推定を行うには現在のところ最も適した方法と考えられる。しかし、ヘア・トラップ法では、トラップの設置と試料採取のための見回りに加え DNA 試料分析コストがかかるため、他の方法に比べコスト面での優位性は低い。精度は少し下がっても、妥当な経費で個体数推定が可能な、カメラトラップ法や痕跡調査など、代替法・簡便法との組み合わせも必要である。

クマ類に限らず野生動物の個体数を高精度で求めるには、多くの経費とマンパワーの投入が必要である。このため、絶対数を求めるよりも生息動向を知ることに重点を置くべきとする意見も多い。長野県では、ツキノワグマの個体数推定値の信頼性が低いことから、推定個体数に対する一定の割合で設定していたツキノワグマの捕獲数上限を、2007年に策定した長野県特定鳥獣保護管理計画(第2次、ツキノワグマ)では示してない。岸元・佐藤(2008)はこの理由として、様々な仮定に基づく個体数推定結果の信頼性は疑わしいこと、個体数を求めることに固執すれば県全体の生息数の相対的な増減すら把握できなくなることを挙げている。そして、これまでの生息数調査をベースに、相対的な増減を知ることが重要であるとした。生息動向を把握する方法としては、単位捕獲努力当たりの捕獲成績(CPUE: Catch per Unit Effort)を用いることが多い。これを痕跡調査における単位努力当たりの痕跡発見数などに置き換える方法も可能である。地方自治体レベルで継続可能なクマ類の保護管理のための調査として、ヘア・トラップ法による高精度の個体数調査などと組み合わせた、代替法・補完法としての生息動向調査も重要である。

# 引用文献

秋田県林務部. 1983. 秋田のツキノワグマ、ツキノワグマ総合調査報告書(昭和 55-56 年度). 秋田県. 2007. 第2次秋田県ツキノワグマ保護管理計画. 秋田県.

青井俊樹. 1990. 北海道北部地方における狩猟と森林環境の変遷がヒグマの生息動態に与える影響. 北海道大学農学部演習林研究報告, 47(2): 249-298.

青森県(調査機関)・(財)日本森林林業振興会青森支部(実施機関). 2009. 平成 20 年度 ツキノワグマ生息状況調査委託業務(生息数推定調査分析)報告書.青森県.

Brongo, L.L., M. S. Mitchell and J. B. Grand, 2005. Effects of trapping with bait on bait-station indices to black bear abundance. Wildlife Scoiety Bulletin 33 (4): 1357-1361.

Ciucci, P. and L. Boitani, 2008. The Apennine Brown Bear: A Critical Review of Its Status and Conservation Problems. Ursus 19 (2) :130-145.

Cole, G. F. 1981. Preservation and Management of Grizzly Bears in Yellowstone National Park. Ursus 2: 274-288.

Craighead, J. J. and F. C. Craighead Jr. 1967. Management of grizzly bears in Yellowstone National Park. Environmental Research Institute and Montana Cooporation Wildlife Research Unit Report.

Diefenbach, D. R., J. L. Laake and G. L. Alt. 2004. Spatio-temporal and demographic variation in the

- harvest of black bears: implications for population estimation. Journal of Wildlife Management 68 (4):947-959.
- Etter, D. R., T. F. Reis, and L. G. Visser, 2003. Michigan Status Report. 17th Eastern Black Bear Workshop Mount Olive, New Jersey, March 2-5, 2003.
- Garshelis, D. L., and L. G. Visser. 1997. Enumerating megapopulations of wild bears with an ingested biomarker. Journal of Wildlife Management, 61: 466-480.
- Garshelis, D. L., and K. V. Noyce. 2006. Discerning biases in a large scale marj-recapture population estimation for black bears. Journal of Wildlife Management, 70: 1634-1943.
- 福井県自然保護センター. 1997. 大型野生動物生息動態調査報告書ツキノワグマ. 福井県.
- 福井県野生動物の会. 2007. ツキノワグマ生息数調査報告書(ヘア・トラップ調査). 特定鳥獣保護管理計画モニタリング手法調査.
- Garshelis, D. L., Wang Hao, Wang Dajun, Zhu Xiaojian, Li Sheng, and W. J. McShea. 2008. Do Revised Giant Panda Population Estimates Aid in Their Conservation? Ursus 19 (2):168-176. 2008.
- Gervasi, V., P. Ciucci, J. Boulanger, M. Posillico, C. Sulli, S. Focardi, E. Randi, and L. Boitan, 2008. A preliminary estimate of the Apennine brown bear population size based on hair-snag sampling and multiple data source mark-recapture Huggins models. Ursus 19 (2):105-121
- Hamilton, A. N., M. A. Austin. 2004. Estimating grizzly bear (*Ursus arctos*) population size in British Columbia using an expert-based approach. British Columbia Ministry of Water, Land and Air Protection, Victoria, BC. 9pp.
- Harris, R. B. 1986. Grizzly Bear Population Monitoring, Current Options and Considerations. Miscellaneous Publication No. 45: 1-80 + index, Montana Forest and Conservation Experiment Station.
- Harris, R. B., G. C. White, C. C. Schwartz and M. A. Haroldson. 2007. Population growth of Yellowstone grizzly bears: uncertainty and future monitoring. Ursus 18 (2): 168-178.
- 北大ヒグマ研究グループ. 1982. エゾヒグマ. 汐文社.
- 北海道環境科学研究センター.. 1995. ヒグマ・エゾシカ生息実態調査報告書 I. 北海道.
- 北海道環境科学研究センター. 2000. ヒグマ・エゾシカ生息実態調査報告書 IV. 北海道.
- 北海道環境科学研究センター. 2004. 渡島半島地域ヒグマ対策推進事業調査研究報告書 (1999-2003 年度). 北海道環境科学研究センター.
- Hristienko H. and J. E. McDonald Jr. 2007. Going into the 21st century: a perspective on trends and controversies in the management of the American black bear. Ursus 18 (1): 72-88.
- 石川県環境安全部. 2002 (平成 14 年). 石川県特定鳥獣保護管理計画書 (ツキノワグマ、ニホンザル). 石川県.
- 岩手県. 2007. 第2次ツキノワグマ保護管理計画(巻末参考資料;ツキノワグマの生息数の推定について). 岩手県.
- 環境省自然環境局. 2007. クマ類出没対応マニュアル. 環境省.
- 環境省自然保護局・生物多様性センター. 2004. 第 6 回自然環境保全基礎調査、種の多様性調査、 哺乳類分布調査報告書. 環境省自然環境局生物多様性センター.
- 環境省自然保護局・生物多様性センター. 2005. 第 6 回自然環境保全基礎調査、種の多様性調査 (岩手県)報告書. 環境省自然環境局生物多様性センター.
- 環境省自然保護局・生物多様性センター. 2006. 第 7 回自然環境保全基礎調査、種の多様性調査 (岩手県)報告書. 環境省自然環境局生物多様性センター.
- 環境省自然保護局・生物多様性センター. 2007. 第7回自然環境保全基礎調査、種の多様性調査

- (新潟県)報告書.環境省自然環境局生物多様性センター.
- 環境省自然保護局・生物多様性センター. 2009a. 平成 20 年度自然環境保全基礎調査、種の多様 性調査(山形県)報告書. 環境省自然環境局生物多様性センター.
- 環境省自然保護局・生物多様性センター. 2009b. 平成 20 年度自然環境保全基礎調査、種の多様 性調査(宮城県)報告書. 環境省自然環境局生物多様性センター.
- 環境省自然保護局・生物多様性センター. 2009c. 平成 20 年度自然環境保全基礎調査、種の多様性調査(山梨県)報告書. 環境省自然環境局生物多様性センター.
- 環境省自然保護局・生物多様性センター. 2009d. 平成 20 年度自然環境保全基礎調査、種の多様性調査(奈良県)報告書. 環境省自然環境局生物多様性センター.
- Kendall, K., J. Stetz and A. Macleod. 2008. Northern Divide Grizzly Bear Project Release Results. International Bear News 17 (4):19-21.
- 岸元 良輔・佐藤 繁、2008. 長野県ツキノワグマ保護管理計画における生息数のモニタリングと その課題. 哺乳類科学 48 (1):73-81.
- Klein, D. R. 1959. Track differentiation for censusing bear populations. Journal of Wildlife Management, 23: 361-363.
- Knick, S. and W. Kasworm. 1989. Shooting mortality in small populations of grizzly bears. Wildlife Society Bulletin 17: 11-15.
- Kovach, S. D., G. H. Collins, Michael T. Hinkes and Jeffrey W. Denton. 2006. Reproduction and survival of brown bears in southwest Alaska, USA. Ursus 17 (1):16-29.
- McLellan, B., and V. Vanci. 1999. Status and management of the brown bears in Canada. Pages 46-50. In Servheen, C., S. Herrero, and B. Peyton. compilers. Bears. Status survey and conservation action plan. IUCN/SSC Bear and Polar Bear Specialist Groups. IUCN, Grand, Switzerland and Cambridge, UK. X+309pp.
- Miller, S. D., G. C. White, R. A. Sellers, H. V. Rehynolds, J. W. Schoen, K. Titus, V. G. Branes, Jr., R. B. Smith, R. R. Nelson, W. B. Ballar and C. C. Schwartz. 1997. Brown and black bear density estimation in Alaska using radiotelemtry and replicated mark-resight techniques. Wildlife Monographs, 133:1-55.
- Miller, S., and J. Schoen. 1999. Status and management of the brown bear in Alaska. Pages 40-46. In Servheen, C., S. Herrero, and B. Peyton. compilers. Bears. Status survey and conservation action plan. IUCN/SSC Bear and Polar Bear Specialist Groups. IUCN, Grand, Switzerland and Cambridge, UK. X+309pp.
- Miller, S. 2007. Yellowston's Brown Bears Delisted. International Bear News, 16 (3): 10-11.
- Miura, S. and T. Oka, 2003. Evaluation of apple bait hair-traps for genetic tagging of Asiatic black bears in the Kitakami Highland, northern Honshu, Japan. Mammal Study, 28: 149-152.
- 森光 由樹. 2008. 各都道府県のヘア・トラップ調査の実施状況と長野県における実施例. 哺乳類 科学 48(1):133-138.
- 森下 正明・水野 昭憲. 1970. ニホンツキノワグマの習性と個体数推定. 白山の自然(白山学術調査団編),石川県:322-329.
- Mowat, G. and C. Strobeck, 2000. Estimating population size of grizzly bears using hair capture, DNA profiling, and mark-recapture analysis. J. Wildlife Management 64 (1):183-193.
- 長野県. 2002 (平成14年). 特定鳥獣保護管理計画 (ツキノワグマ). 長野県.
- 長野県. 2007 (平成19年). 第2期特定鳥獣保護管理計画 (ツキノワグマ).
- 中川 元・山中正実・森 信也・成清美智代・田沢道広. 1987. 知床半島で実施したヒグマの観察

- 会について. 知床博物館研究報告 第8集:49-54.
- 日本野生生物研究センター. 1991. 野生動物分布等実態調査報告書-ヒグマ・エゾシカ個体数調査 -. 財団法人日本野生生物研究センター. 東京.
- 新潟県野生動物生態研究会. 1987. クマ生態調査報告書. 新潟県委託調査報告書.
- 佐藤 喜和・湯浅 卓. 2008. ヘア・トラップを用いたクマ類の個体数推定法: 概要と注意点. 哺乳類科学 48(1):101-107.
- Pelton, M. R., A. B. Coley, T. H. Eason, D. L. Doan Martinez, J. A. Pederson, F. T. van Mane, and K. M. Weaver. 1999. American black bear conservation action plan. Pages 144-156. In Servheen, C., S. Herrero, and B. Peyton. compilers. Bears. Status survey and conservation action plan. IUCN/SSC Bear and Polar Bear Specialist Groups. IUCN, Grand, Switzerland and Cambridge, UK. X+309pp.
- Rogers, L. L. 1983. Effects of food supply, predations, cannibalism, parasites, and other health problems on black bear populations. in Bunnell et al eds. Symposium on natural regulation of wildlife populations: 194-211.
- Schwartz, C. C., Mark A. Haroldson, Gary C. White, Richard B. Harris, Steve Cherry, Kim A. Keating, Dave Moody, and Christopher Servheen. 2006. Temporal, Spatial, and Environmental Influences on the Demographics of Grizzly Bears in the Greater Yellowstone Ecosystem. Wildlife Monographs, 161:1-68.
- Servheen, C., S. Herrero, and B. Peyton.(compilers). 1999. Bears. Status survey and conservation action plan. IUCN/SSC Bear and Polar Bear Specialist Groups. IUCN, Grand, Switzerland and Cambridge, UK. X+309pp.
- 自然環境研究センター(自然研). 1999. 平成 10 年度群馬県ツキノワグマ生息状況調査報告書. 群馬県環境生活部自然環境課委託.
- 自然環境研究センター(自然研). 2000. 特定鳥獣保護管理計画マニュアル(クマ類編). 環境省 委託業務報告書.
- 自然環境研究センター(自然研). 2001. 特定鳥獣保護管理計画策定調査報告書ツキノワグマ調査. 長野県委託調査報告書.
- 自然環境研究センター(自然研). 2006. 西中国山地ツキノワグマ生息調査事業. 島根県・広島県・山口県委託事業.
- Taylor, M. K., J. Laake, P. D. McLoughlin, H. D. Cluff and F. Messier. 2006. Demographic parameters and harvest-explicit population viability analysis for polar bears in M'Clintock channel, Nunavut, Canada. J. Wildlife Management 70 (6): 1667-1673.
- Tredick, C. A. et al., 2007. Sub-sampling genetic data to estimate black bear population size: a case study. Ursus 18 (2): 179-188.
- 釣賀 一二三. 2008. 北海道渡島半島地域におけるヘア・トラップ調査の実施例. 哺乳類科学 48 (1):119-123.
- Viteri, M. P. and L. P. Waits. 2009. Identifying polymorphic microsatellite loci for Andean bear research. Ursus 20 (2): 101-108.
- White, G. C., W. L. Kendall, and R. J. Barker. 2006. Multistate Survival Models and Their Extensions in Program MARK. The Journal of Wildlife Management 70(6):1521-1529.
- Woods, J. G., D. Paetkau, D. Lewis, B. N. McLellan, M. Proctor, and C. Strobeck, 1999. Genetic tagging of free-ranging black and brown bears. Wildlife Society Bulletin 27 (3):616-627.
- 山形県環境保健部自然保護課. 1987. ニホンツキノワグマ生息状況調査報告書、昭和 57 年度~昭和 61 年度. 山形県.

- 山形県みどり自然課. 2008. 平成 19 年度山形県ツキノワグマ生息数推定(試算) について. 山形県文化環境部みどり自然課(県資料).
- 野生動物保護管理事務所(WMO). 2005. 緊急地域雇用創出特別基金事業(狩猟規制基礎調査)業務委託報告書(長野県).
- 野生動物保護管理事務所 (WMO). 2007. 平成 18 年度ツキノワグマ個体数調査報告書 (富山県).
- 山内貴義・工藤雅志. 2005. ツキノワグマを中心とした大型野生哺乳類の生態に関する研究. 岩手県環境保健研究センター報告.
- 山内 貴義・齋藤 正恵. 2008. 岩手県におけるヘア・トラップの実施状況と今後の課題. 哺乳類科学 48 (1):125-131.
- 湯浅 卓・佐藤 喜和. 2008. ヘア・トラップを用いたクマ類の個体数推定法における課題、国内外の事例の比較検討. 哺乳類科学 48 (1):109-118.

参考表 1 ヘア・トラップ法その他の方法によるクマ類の個体数・生息密度推定報告(主要なもの)

少与我	1 ペプ・トラック法での他の方法によるグマ類の個体数・生力	四人证人私口〈工文·6 00/
道府県	報告書・文献	備考
北海道	北海道環境科学センター(2000年)ヒグマ・エゾシカ生息実態調	聞き取り調査。全道推定生息数
	查報告書 Ⅳ	1,771 頭~3,628 頭
	釣賀 一二三 (2008) 北海道渡島半島地域におけるヘア・トラップ	ヘア・トラップ調査(渡島半島、
	調査の実施例. 哺乳類科学 48 (1):119-123.	2003-2005 年度)
青森県	両重の天旭内: 哺乳類科子 48 (1):119-123.     青森県自然保護課 (1982) 青森県におけるツキノワグマの生息数等	追い出し法と足跡観察。県全域推
月秋乐		
	調査報告	定個体数 254 頭(1981 年度)
	自然環境研究センター (1993) 平成 4 年度クマ類の生息実態等緊急	捕獲資料などによる下北半島推定
	調査報告書.	生息数 100 頭/1,000km <sup>2</sup>
	(財)日本森林林業振興会青森支部(2009)平成 20 年度ツキノワ	<u>ヘア・トラップ調査</u> (H17-H20、
	グマ生息状況調査委託業務(生息数推定調査分析)報告書.	下北半島、白神山地(津軽))
岩手県	岩手県(2008、H19)第2次ツキノワグマ保護管理計画、参考資料、	ヘア・トラップ法と痕跡密度の組
	ツキノワグマの生息数の推定について	み合わせから全県生息数推定
	山内 貴義・斉藤 正恵 (2008) 岩手県におけるヘア・トラップの実	ヘア・トラップ調査。遠野市
	施と今後の課題. 哺乳類科学 48 (1):125-131.環境省 (2005、2006)	(2004-05年)、奥羽山地(2006年)
宮城県	環境省自然環境局生物多様性センター (2009) 平成 20 年度 自然環	ヘア・トラップ調査。仙台市とそ
古观乐	境保全基礎調査種の多様性調査(宮城県)報告書(環境省 2009a)	の近郊で実施(2008年度)
41. m /H		
秋田県	秋田県林務部林業政策課(2002). 秋田県ツキノワグマ保護管理計	追い出し調査。県内分布域から抽
1 7711	画 (H14-H19)	出した 150 区画 (900ha/区画)
山形県	山形県文化環境部みどり自然課(2008)平成19年度山形県ツキノ	山系別直接観察調査。全県推定生
	ワグマ生息数推定(試算)について	息数 1,507 頭(H19)
	環境省自然環境局生物多様性センター (2009) 平成 20 年度 自然環	<u>ヘア・トラップ調査</u> 。5 頭識別/10
	境保全基礎調査種の多様性調査(山形県)報告書(環境省 2009b)	メッシュ(約 10-km²)
栃木県	栃木県林務部自然環境課 (2006) 栃木県ツキノワグマ保護管理計画	ヘア・トラップ調査(2003-04 年)
	(平成18年) 付属資料.	推定生息密度 0.06~0.16 頭/km <sup>2</sup>
群馬県	(財) 自然環境研究センター (1999) 平成 10 年度群馬県ツキノワ	定点観察と痕跡調査。全県推定生
H173711	グマ生息状況調査報告書	息数 600 頭。
新潟県	新潟県環境生活部環境企画課 (1999) ツキノワグマ年齢構成等調査	追い出し調査、全県推定生息数
加加加	報告書(平成 8-10 年度)、環境省(2007)	583-589 頭。ヘア・トラップ(2007)
富山県	野生動物保護管理事務所 (WMO) (2007) 平成 18 年度ツキノワグ	ヘア・トラップ調査。推定個体数
<b>苗川</b> 宗		
<b>7</b> 1111	マ個体数調査報告書(富山県)	44.0±27.0 頭/100-km²(西部)
石川県	石川県自然保護課内部資料。平成15年と平成17年の春季定点勝法	定点観察調査。天然林 10 齢級以上
	によるツキノワグマ個体数推定調査.	の生息密度、0.70 頭/km <sup>2</sup> (H15)、
		0.81 頭/km² (H17)
	上馬 康生・中谷内 修 (2007) 石川県におけるツキノワグマのヘア	ヘア・トラップ調査。白山市で62
	ートラップ調査(2006 年)石川県白山自然保護センター研究報告	頭/20km <sup>2</sup> 、小松市で 6 頭/20km <sup>2</sup> を
	33: 33-40 (2006)	識別した
福井県	福井県自然保護センター (1997) 大型野生動物生息動態調査報告書	標識再捕獲法による全県推定生息
	ツキノワグマ.	数 596±208 頭
	ヘア・トラップ法調査(2008年度)(福井県野生動物の会、2007)	嶺北地域2カ所調査で30頭識別
神奈川	野生動物保護管理事務所(WMO)平成 13 年度自然再生技術調査	丹沢山地のツキノワグマの遺伝的
県	業務報告書(丹沢山地)	多様性分析
山梨県	野生動物保護管理事務所 (WMO) (2000) 山梨県ツキノワグマ生	標識再捕獲法調査。全県推定生息
四木州	息実態調査報告書(平成 11-12 年; 1999-2000 年)	数 400 頭
	環境省自然環境局生物多様性センター (2009) 平成 20 年度 自然環	<u> へア・トラップ調査</u> 。ただし、体
	境保全基礎調査種の多様性調査(山梨県)報告書(環境省 2009c)	<u>・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・</u>
11 11 11 11		
長野県	野生動物保護管理事務所(WMO)(2005)緊急地域雇用創出特別	ヘア・トラップ調査。関東山地と
	基金事業(狩猟規制基礎調査)業務委託報告書	八ヶ岳 (2003-04 年度)
	長野県森林整備課 (2007) 第2期特定鳥獣保護管理計画 (ツキノワ	ヘア・トラップ法による関東山地
	グマ) 資料編、長野県におけるツキノワグマ推定生息数の算出方法	と木曾南部推定生息密度と地域補
	(全県を8地域に区分、痕跡頻度、捕獲状況から地域生息密度補正)	正から全県生息数を推定
岐阜県	岐阜県(2009)特定計画鳥獣保護管理計画(ツキノワグマ)	<u>ヘア・トラップ調査</u> による全県推
		定個体数 851 頭(中央値)
西中国	自然環境研究センター (2006) 西中国山地ツキノワグマ生息調査事	標識再捕獲法と生息密度区分を組
	業 (平成 16-17 年度、2004-2005 年)	み合わせ個体数を推定。
四国	金澤 文吾他. 2008. 四国剣山山系におけるツキノワグマ個体数推	カメラトラップ調査とヘア・トラ
	定の課題。第 14 回野生生物保護学会大会講演要旨。2008 年 11 月	ップ調査組み合わせ。最小識別個
	7-9 日、佐世保	<u>クン調査組み合わせ</u> 。取八畝別画 体数 9 頭(2008 年時点)
	17月、圧退体	

特定計画背景資料としてくり返し調査がある場合などは調査年の新しいもののみを示した。

# 1.2 手法の標準化に注目したヘア・トラップ法のレビューと課題

米田 政明(自然環境研究センター)

# 1. はじめに

クマ類の個体数推定のため、非侵襲法的方法で採取した体毛から抽出した DNA のマイクロサテライト塩基配列変異を個体識別の遺伝子マーカとして使う方法は、Woods et al. (1999) が北米のアメリカクロクマとヒグマを対象に初めて実証した。試料の体毛採取に有刺鉄線を使ったトラップを使うため、ヘア・トラップ法と一般に言われる。遺伝子マーカによる個体識別に対しては、判別部位が少ない場合、同一個体と識別する危険性があるが、分析遺伝子座を 5 以上とすればその誤差をほぼゼロとすることができる (Mills et al. 2000)。ヘア・トラップ法はその後、対象地、対象種を変えて、世界各地に適用されてきた (湯浅・佐藤、2008)。また、調査面積規模を拡大することで、数千平方キロメートルの範囲の生息数推定にも応用されている (Boulanger et al., 2006; Kendall et al. 2008; Gervasi et al. 2008)。日本でも長野県や岩手県で 2003 年から試験的に開始され、2008 年現在、20 府県で本方法による調査が行われている (森光、2008)。しかし、ヘア・トラップ法は、体毛捕捉率を高めるためのトラップの設計と空間設置、調査セッションの設定、捕獲歴からの個体数推定においいて解決すべき問題が多くある (佐藤・湯浅、2008)。ツキノワグマを対象とした、岩手県における大面積ヘア・トラップ設置の参考とするため、これらの課題に関する先行研究のレビューを行った。

# 2. ヘア・トラップ法の課題

ヘア・トラップ法を含む、国内のクマ類の個体数調査事例は、本報告書「1.1 クマ類の個体数推定法のレビューに示した。これまでの調査報告事例から、ヘア・トラップ法によるクマ類の個体数推定において、推定精度を高めかつ費用対効果の良い調査を行うための調査手法上の主要課題として次の 6 項目があげられる。

- (i) ヘア・トラップの構造
- (ii) 誘引物質の利用と種類
- (iii) 試料採取率と採取時期
- (iv) トラップの配置・設置面積・トラップ密度
- (v) 遺伝マーカの種類と分析領域数 (マイクロサテライト・フラグメント解析)
- (vi) 個体数推定の方法(遺伝マーカによる標識・再捕獲法)

このうち、(iv) のトラップの配置・設置面積・トラップ密度に関しては、本研究の個体群モデル班において「空間明示モデルによるヘア・トラップの配置」として分析されている。また、(vi) の個体数推定の方法も、個体群モデル班で検討されている。さらに、(v) の遺伝マーカと種類と分析領域に関しては、DNA 分析班において DNA 個体識別手法の標準化分析として研究が行われている。このため、トラップ設置面積とトラップ密度のレビューを除き、これらの課題に関してはここではレビュー対象から除外した。ここでは、これ以外の項目に注目し、また国内における研究に重点をおいてレビューを行った。

# 3. ヘア・トラップの構造と誘引物質の利用

## 3-1. 構造

ヘア・トラップは、誘引物を用いてクマをトラップに誘引したクマが、トラップとして設置した有刺鉄線あるいはワイヤーブラシなどを通過する際に、有刺鉄線あるいはブラシ上などに体毛を残す仕掛けである。ヘア・トラップ法を最初に実用化した Woods et al. (1999) は、カナダのブリティシュコロンビア州における調査において、中央に誘引物(魚粉肥料)を置き、周辺を有刺鉄線で囲む囲い型のヘア・トラップと、斜めにおいた丸太に有刺鉄線とワイヤーブラシおよびイヌ用ブラシを設置する2種類のトラップを使用した。どちらのタイプのトラップでも体毛を採取した。また、有刺鉄線にかかると体毛は容易に抜けるため、有刺鉄線を利用することでクマ類を傷つけたことはないと報告している。一方、アメリカクロクマが高密度で生息しているアラスカ沿岸において、Robinson (2007)、Robinson et al. (2009) は誘引エサを用いない、ループ型(スネア型)と横断型のトラップを利用した。高密度生息地では、誘引物質がなくても、ヘア・トラップで体毛採取が可能であった。

ツキノワグマとヒグマを対象とした日本国内におけるヘア・トラップでも、さまざまなトラッ プが工夫されている(表1)(図1)。有刺鉄線囲い型が多いが、山形県では中に体毛採取のための バネを設置したドラムカンタイプのトラップも試みられた。岩手大学御明神演習林では、ヘア・ トラッパーと呼ぶ、樹上設置簡易型トラップが設置された(山内、2009)。ただし、宮城県で使用 された簡易型のトラップは、体毛の採取効率が低かった(環境省自然環境局・生物多様性センタ 一、2009b)。有刺鉄線の2段張りと1段張りを比較検討した山形県における調査では、2段張り トラップでの採取効率が高い傾向にあったが明確な差はなかった(環境省自然環境局・生物多様 性センター、2009a)。一方、2 段張りとするとクマがトラップを忌避する割合が高くなることも 示唆されている(環境省自然環境局・生物多様性センター、2009d)。有刺鉄線の段数よりも、ク マが有刺鉄線をすり抜け体毛を残さずに誘引物質に接近することがないよう、(1)囲い内の対角線 にも有刺鉄線を設置すること、(2)有刺鉄線と地面との平行性を微地形にあわせ調整すること、の 重要性が指摘されている。また、カメラトラップを併設することで、クマ類のトラップへの接近 とトラップによる体毛採取の確認することができる。奈良県におけるヘア・トラップ調査では、 カメラトラップでヘア・トラップに接近したことが確認されたが、体毛が採取できなかった個体 をトラップシャイ個体と見なし、その割合を補正して個体数推定を行っている(環境省自然環境 局・生物多様性センター、2009d)。

## 3-2. 誘引物質

国内調査ではいずれも誘引物質が使用されている。宮城県における調査において、誘引物質として、蜜蝋、リンゴ、トウモロコシの比較を行ったところ、トウモロコシでは体毛採取効率が低かった。蜜蝋とリンゴでは差は少ないが、蜜蝋が最も誘引効果が高かったと報告されている(環境省自然環境局・生物多様性センター、2009b)。ヒグマにおける誘引物質に関しては、本報告書「1.3 ヒグマにおけるヘア・トラップ法のレビューと課題」で検討されている。

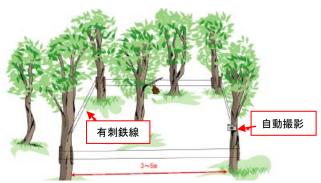
# 3-3. トラップのセル内移動

クマとトラップの出会い確率がセル内でも偶然性に左右されるとすると、トラップを移動すれば試料採取率が向上することが期待できる。Boulanger, et al. (2006) は、サンプリングのセッショ

ン間にセル内トラップ移動を行った場合、トラップ固定方式に比べ個体数推定が多くなったこと、特にメスでは15-25%多く推定されたことを報告している。一方、トラップ移動を行うと作業量が多くなる。特に、トラップ数が多い場合、全トラップを移動するには多くの労力が必要となる。トラップのセル内移動は、空間明示モデルによるヘア・トラップの配置および試料採取率の検討においても言及している。

表 1 国	]内で使用されたヘア	・トラぃ	ップの構造と	- 誘引物質の事例
-------	------------	------	--------	-----------

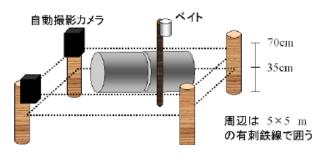
対象種	タイプ (調査地)	外周有刺鉄線の地上高あるいは構造	誘引物質	備考(出典)
	1段張り囲い型(北上)	地上 35-50cm に設置	リンゴ	Miura & Oka, 2003
ツキノ	ヘア・トラッパー(岩手県)	樹上設置簡易型	リンゴ	山内(2009)
ワグマ	2段張り囲い型(宮城県)	下段は地上 30-50cm、上段は地上		人が立ち入る可能性
		50-70cm。一辺 3-5m。カメラトラップ	蜜蝋	のあるところ避ける
		を併設		民家から 1-km 以上離
	簡易型 A(宮城県)	小型囲い型(一辺 150cm 程度)		す(環境省、2009b)。
	簡易型 B (宮城県)	幹型:大木幹にバラ線を巻き付ける		
	2段張り囲い型(山形県)	下段は地上 35cm、上段は地上 70cm		植生タイプ別に、林道
	1段張り囲い型(山形県)	地上 50cm に設置	ハチミツ	近くに設置(環境省、
	バネ式ヘア・トラップ(山	ドラムカンタイプ、中にバネ設置(試		2009a)
	形県)	料が雨に濡れない、1個体分のみ採取)		
	1段張り囲い型(富山県;	16 番有刺鉄線利用、高さ 40-50cm、周	ハチミツ	有峰地区はダム湖周
	有峰と東部地区2カ所)	囲長 8m∼16m		辺線状配置(WMO、
				2007)
	1段張り囲い型(奈良県)	カメラトラップを併置	ハチミツ	トラップシャイ個体
				補正による推定(環境
				省、2009d)
ヒグマ	1段張り囲い型(北海道)	地上 50cm、周囲長 20-30m	サケ科魚	広域設置(250km²)(釣
				賀、2008)



有刺鉄線 2 段張ヘア・トラップ (宮城県; 環境省 2009b)



簡易型 B トラップ (宮城県; 環境省 2009b)



囲い型とバネ式へア・トラップ及びカメラトラップ併設 (山形県;環境省 2009a)



ヘア・トラッパー(山内、2009)

図1 ヘア・トラップの構造事例

# 4. 試料採取率と採取時期

# 4-1. 試料採取率

ヘア・トラップ調査においては、体毛試料の採取率(体毛採取試料数/トラップ・セッション (TS)) および採取時期が重要である。体毛の採取率には、クマ類の行動と食性の季節的変化が影響する。採取時期は、採取率に加え DNA の抽出成功率 (DNA 抽出に成功した試料数/採取試料数) および DNA の分析成功率 (DNA 分析に成功した試料数/DNA 抽出に成功した試料数) も重要である。DNA 分析成功率の季節差は、「2.2 クマ類体毛サンプルからの DNA 抽出と分析効率の季節性」で詳しく述べる。

**表 2** は、日本のツキノワグマとヒグマ、それに比較のため北米のアメリカクロクマにおける試 料採取率の比較のため、試料数、DNA 抽出成功率、試料採取率、セッション数及び判別個体数を 示したものである。採集試料数は国内のツキノワグマでも、2009年の山梨県における26試料(環 境省自然環境局・生物多様性センター、2009c) から、2004年の岩手県遠野市における 957 試料 (環境省自然環境局・生物多様性センター、2005)まで幅がある。試料数の数え方は調査・報告 に従った。通常は、トラップ・セッションごとに有刺鉄線の1つの棘に残された体毛を1試料と 見なしている(富山県、平成18、19年度報告書)。これに対して、トラップ・セッションごと、1 トラップに残された試料を1試料としている例もある(Robinson, 2007)。DNA分析成功率は高い 場合で80%、低い場合は30%程度であるため、分析成功試料数は採取試料より少なくなる。試料 採取率と DNA 分析成功率の両方が作用した、トラップ・セッション (TS) あるいはトラップ・ ナイト(TN)あたりの試料数は、調査・地域による差が大きい。北米のアメリカクロクマでは、 およそ 0.1/TN から 0.3/TS と報告されている。イタリアのアペニン山地のヒグマでは、DNA 分析 に成功しヒグマと判別された試料採取率は0.027/TSとアメリカクロクマより低い。国内のツキノ ワグマのトラップあたりの分析試料採取数は、岩手県や石川県報告では 0.8/TS 前後と高いが、関 東山地では 0.13/TS、奈良県では 0.08/TS と低い。トラップ・ナイトあたりの採集数のため一概に 比較はできないが、山梨県、宮城県、山形県、奈良県の調査でも<0.1/TN と採取率は低い。一方、 北海道のヒグマのトラップあたり分析試料採取数は 1.8/TS と例外的に高い。

ヘア・トラップに接近するがトラップで体毛が採集されない事例ある。山形県における調査(環境省、2009a)では誘引物質の利用状況およびトラップに併設したカメラトラップデータから、トラップでの体毛捕捉率はトラップ訪問個体の62%にすぎないと推定している。奈良県の例(環境省、2009d)では、ヘア・トラップに併設したカメラトラップのみで確認された個体が5頭中1頭いたことから、その割合を補正して個体数推定を行っている。

# 4-2. 試料採取の季節性

国内のツキノワグマ調査事例では、ヘア・トラップにおける試料採取率に季節差と地域差が見られる。岩手県遠野市における調査(2004-05 年)では、8-9 月の採取率が高かった。一方、遺伝子解析成功率は、7 月が最も高く、8 月から 9 月にかけて減少した(山内未発表資料)(表 3)。山形県(2008 年度)調査(7 月~11 月)では、8 月の採取率が高かった。長野県における調査でも、8-9 月に採取数が多かった(WMO、2005)。一方、宮城県(2008 年度)調査(9 月下旬~11 月)では、11 月前半の採取率が最も高かった。石川県白山山麓でも、10 月に DNA 判別個体が多く出現した(上馬・中谷内、2007)。体毛の DNA は降雨、高温などにさらされると劣化し、DNA 抽出

率や分析成功率が低下する。宮城県では11月下旬以降、雪にさらされた体毛からはDNA抽出が できなかった (環境省自然環境局・生物多様性センター、2009b)。アラスカ沿岸の多湿地帯にお けるアメリカクロクマ調査では、多湿による体毛 DNA の劣化を避けるため、1 セッションは 14 日以下とするのが適当と示唆されている(Robinson et al. 2009)。

表2 ヘア・トラップ調査における試料(体毛)採取効率

ツキ 北上山地 Oka, 2003         Miura and Oka, 2003         247 未分析 51+124+126=301         0.82 3週間 未分 Oka, 2003           グマ 岩手県達 野市 2)         環 境 省 957 (2005)         218 4)         107T×3S=321         0.68 1 ヶ月 5)         45 頭 月)           関東山地 WMO (2005)         山内・工藤 no data (262 4)         100T×3S = 300         0.87 1 ヶ月 29 頭 月)           関東山地 WMO (2005)         上馬ら (2005)         124 65         20T×4S = 80         0.81 7 日 54 頁 54	対 象 種	対象地域	報告者	採取試 料数 <sup>1)</sup>	分析成功 試料数 <sup>2)</sup>	トラップ・セッシ ョン数(TS) <sup>3)</sup>	試料数/TS	セッショ ン日数	DNA 判 別個体数
# 子具遠 環境省 957 218 <sup>4)</sup> 107T×3S=321 0.68 1ヶ月 <sup>5)</sup> 45頭月)	ツ キ	北上山地		247			0.82		未分析
山内・工藤   no data   262 <sup>4)</sup>   100T×3S = 300   0.87   1ヶ月   29頭   月)   関東山地   WMO   332   188   100T×14S = 1400   0.13   6~7 日   33 頭 (2005)   石川県 <sup>6)</sup>   上馬ら   124   65   20T×4S = 80   0.81   7 日   54 頭 (2006)   18 山東部   WMO   274 <sup>7)</sup>   100 <sup>8)</sup>   100T×2S = 200   0.5 <sup>8)</sup>   7 日   5 頭 H18   (2007)   100 <sup>8)</sup>   100T×2S = 200   0.5 <sup>8)</sup>   7 日   9 頭 H18   10 形県   環境省   28 <sup>9),10)</sup>   17   20T×115N=2300TN   0.0074/TN   計 115 日   5 頭 (2009a)   10	グマ		環境省	957	218 4)	$107T \times 3S = 321$	0.68	1ヶ月 5)	45 頭(8 月)
(2005)   上馬ら			山内・工藤	no data	262 4)	$100T \times 3S = 300$	0.87	1ヶ月	29頭(8 月)
富山東部 WMO 274 <sup>7)</sup> 100 <sup>8)</sup> 100T×2S= 200 0.5 <sup>8)</sup> 7 日 5 項 田18 (2007) 富山西部 355 <sup>7)</sup> 100 <sup>8)</sup> 100T×2S= 200 0.5 <sup>8)</sup> 7 日 9 項 田18 山形県 環境省 28 <sup>9),10)</sup> 17 20T×115N=2300TN 0.0074/TN 計 115 日 5 項 (2009a) 宮城県 環境省 167 92 34T×60N=2040TN 0.045/TN 計 60 日 23 項 (2009b) 山梨県 環境省 26 4 10T×72N= 720TN 0.006/TN 計 75 日 3 項 (2009c) 奈良県 環境省 31 11 47T×3S = 141 0.078 7 日 4 項 (2009d) 福井県 野生動物 234 44 (76) 70T×18S= 1260 0.035 7-10 日 30 列 の会(2007) ビグ 北海道渡 釣賀(2008) 301 <sup>13)</sup> 157 29T×3S = 87 1.805 21 日 47 項 日本島 イタリア Gervasi et 61 24 219T×4S = 876 0.027 14 日 11 列 コート ロート ロート ロート ロート ロート ロート ロート ロート ロート ロ		関東山地		332	188	$100T \times 14S = 1400$	0.13	6~7 日	33 頭
H18		石川県6)		124	65	$20T \times 4S = 80$	0.81	7 日	54 頭
富山西部			WMO	274 7)	100 8)	$100T\times2S=200$	0.5 8)	7 日	5 頭
山形県 環境省 28 <sup>9)、10)</sup> 17 20T×115N=2300TN 0.0074/TN 計 115 目 5頭 (2009a)		富山西部	,	355 <sup>7)</sup>	100 8)	$100T\times2S=200$	0.5 8)	7 日	9頭
宮城県     環境省 (2009b)     167     92     34T×60N=2040TN (0.045/TN) (11)     計 60 日 (23 更 (2009b) (2009c)       山梨県 環境省 (2009c)     環境省 (2009c)     31 11 47T×3S = 141 0.078 7 日 4 頭 (2009d)       福井県 野生動物 (234 44 (76) 70T×18S=1260 0.035 7-10 日 30 更 (2007)       ヒグ 北海道渡 釣賀(2008) 301 13) 157 29T×3S = 87 1.805 21 日 47 更 島半島 イタリア Gervasi et al. (2008)       アメ カナダ Woods et 1,548 303 2,653TN 0.114 /TN Trial 3 55 更 31. (1999)				$28^{9),10)}$	17	20T×115N=2300TN		計 115 目	5 頭
山梨県 環境省 26 4 10T×72N=720TN 0.006/TN 計75日 3頭 (2009c)		宮城県	環境省	167	92	34T×60N=2040TN		計60日	23 頭
奈良県 環境省 31 11 47T×3S = 141 0.078 7日 4頭 (2009d) 福井県 野生動物 234 44 (76) 70T×18S=1260 0.035 7-10日 30 夏 の会(2007) 157 29T×3S = 87 1.805 21日 47 夏 島半島 イタリア Gervasi et 61 24 219T×4S = 876 0.027 14日 11 夏 11 夏 カナダ Woods et 1,548 303 2,653TN 0.114 /TN Trial 3 55 夏 カナダ Woods et 1,548 303 2,653TN 0.114 /TN Trial 3 55 夏 1 カナダ Woods et 1,548 303 2,653TN 0.114 /TN 1		山梨県	環境省	26	4	$10T \times 72N = 720TN$		計75日	3 頭
福井県 野生動物 234 44 (76) 70T×18S=1260 0.035 7-10 日 30 更の会(2007)  ヒグ 北海道渡 釣賀(2008) 301 <sup>13)</sup> 157 29T×3S = 87 1.805 21 日 47 更		奈良県	環境省	31	11	$47T \times 3S = 141$	0.078	7 日	4頭12)
ヒ グ 北海道渡     釣賀(2008)     301 <sup>13)</sup> 157     29T×3S = 87     1.805     21 日     47 更       マ 島半島     イタリア Gervasi et 61 24 219T×4S = 876 0.027     14 日 11 更       コ (2008)       ア メ カナダ Woods et 1,548 303 2,653TN 0.114 /TN Trial 3 55 更       リ カ al. (1999)		福井県	野生動物	234	44 (76)	$70T \times 18S = 1260$	0.035	7-10 日	30 頭
イタリア Gervasi et 61 24 219T×4S = 876 0.027 14 日 11 夏 al. (2008) ア メ カナダ Woods et 1,548 303 2,653TN 0.114 /TN Trial 3 55 夏 り カ al. (1999)	_ /			301 13)	157	$29T \times 3S = 87$	1.805	21 日	47 頭
ア メ カナダ Woods et 1,548 303 2,653TN 0.114/TN Trial 3 55 り カ al. (1999)				61	24	$219T \times 4S = 876$	0.027	14 日	11 頭
クロ アラスカ Robinson. 345 191 330T $\times$ 2S = 660 0.289 <sup>14)</sup> 10日 134 <sup>14</sup>		カナダ	Woods et	1,548	303	2,653TN	0.114 /TN	Trial 3	55 頭
クマ et al.(2009)		アラスカ	Robinson, et al.(2009)	345	191	$330T \times 2S = 660$	0.289 14)	10 日	134 頭

- 1) 採取した試料全数、毛根のあった試料数のみ、DNA 抽出ができた試料数が混在している。
- 2) 採集試料のうち DNA 分析に成功した試料数
- 3) トラップ数(T)×セッション(S)数、あるいはトラップ数(T)×トラップ・ナイト(N)数
- 4) 山内未発表
- 5) セッション間隔を1ヶ月と長くしても、DNA分析が可能であった。
- 6) 白山山麓調査と並行して、小松市、金沢市でも調査を行っているが、ここでは白山市の結果のみ示した
- 7) 有刺鉄線の棘1つ毎の体毛を1サンプルとした
- 8) 分析試料数は100に限定している。
- 9) トラップサイト1面あたりの試料を1サンプルとしている
- 10) カメラトラップを併設した調査から、山形県 (2008 年度) ではヘア・トラップ内に侵入したが、体毛を残さない個体があっ たことが確認されている。ヘア・トラップサイトの訪問実数に対する体毛捕捉率は61%と推定されている。 11) セッション区分が明確でないため、ここではトラップ・ナイトあたりの試料数として示した
- 12) 併設して設置したカメラトップで確認された、トラップに接近したがトラップ内に侵入せず体毛を残さないトラップ・シャ イ個体の補正を行い、トラップサイトにおける個体数は5頭と推定した。
- 13) 443 試料中毛根ありの試料数 (2003 年調査)
- 14) 試料採取率は、有刺鉄線トラップの場合で 0.58 試料/トラップ、分離式ヘア・スネアートラップで 0.41 試料/トラップ

表3 ヘア・トラップによる体毛回収率と遺伝子解析成功率の季節差(岩手県、遠野市)

年	項目	7月	8月	9月
2004年	体毛回収率(%)	87	94	74
	遺伝子解析の成功率(%)	80	67	32
2005年	体毛回収率(%)	89	92	81
	遺伝子解析の成功率(%)	72	57	19

出典:山内未発表資料(2008年4月28日自然研会議プレゼンテーション)(注:環境省自然環境局・生物多様性センター(2005)と一部異なった数値となっているが、ここでは山内未発表に従った)

# 5. トラップ設置面積とトラップ密度

どれくらいの面積に対して、どれくらいの密度でトラップを設置するかは、調査精度と調査作業量の両方に関わる課題である。トラップの配置と捕捉率に関しては、「4.1 空間明示モデルによるヘア・トラップ配置の検討および従来の個体識別ミス対策の有用性の検討」として本研究の中で別途解析が進められているので、ここではヘア・トラップ数、トラップ間隔(密度)、総調査面積に関するレビューを行った。

トラップの配置と間隔に関して、北米ではワナ間隔を広くし広域に設置するか、アラスカ沿岸部のように地形(氷河)で生息地が分断されている特定地域では、比較的狭い範囲にランダムに設置するか、どちらかの方法が採用されてきた。一方、国内では、ツキノワグマを対象にした場合、1-km グリッドに1 基程度の高密度で設置されてきた。しかし、地形及びアクセス条件でトラップ設置が困難な場合は、線状配置も行われてきた(表 4)。このため、国内のツキノワグマのヘア・トラップ調査では、青森県の事例を除き、調査面積は 200 km²以下の比較的小規模なものが多い。一方、北米のヒグマやアメリカクロクマの調査では、数万 km² に達する大規模面積調査も行われている。トラップ間隔(密度)は、調査面積に反比例する形で、国内調査では 1 トラップ/1 km²程度の高い密度で設置されてきた例が多い。これに対して、北米では、7×7-km あるいは 8×8-km セルに 1 トラップと、トラップ間隔が広く低密度で設置されてきた。

表 4 ヘア・トラップ数、トラップ間隔と調査面積

対象種	地域	報告者 <sup>1)</sup>	トラップ数	トラップ間隔(密度)	総調査面積
ヒグマ、アメ	カナダ	Woods et al. 1999	64	8×8-km セルに 1 基	64×64-km
リカクロクマ					$=4,096-km^2$
ヒグマ	カナダ	Boulanger et al. 2006	180	7×7-km セルに 1 基	$8,820-\text{km}^2$
	米国	Kendall et al., 2008	2,558	7×7-km セルに 1 基、計	約 60,000-km <sup>2</sup>
				641 セル	
アメリカクロ	米国ルイ	Boersen, et al., 2003.	122	122 トラップ/329-km <sup>2</sup> =	$329-km^2$
クマ	ジアナ州			$0.37/\text{km}^2$	
	アラスカ	Robinson, 2007		沿岸線上配置	2,400-km <sup>2</sup> (集中調
					査 KEFJ 半島) <sup>2)</sup>
ツキノワグマ	岩 手 県	工藤、2004	107	約 1-km 間隔	約 100-km <sup>2</sup>
	(遠野市)	山内・工藤、2005	100	約 1-km 間隔	約 100-km <sup>2</sup>
	関東山地	WMO、2005	100	1-km セルに 1 基	$100-km^2$
	山形県	環境省、2009a	20	2 トラップ/1-km セル	$7.53-\mathrm{km}^2$
	宮城県	環境省、2009b	34	4-~5 トラップ/2-km セル	3カ所分散配置
	富山県	WMO、2007	98(西部)	1 トラップ/1-km セル	$100\text{-km}^2$
	富山県	WMO、2007	100(東部)	0.5 トラップ/1-km セル	$200-\mathrm{km}^2$
	青森県	青森県、2008	下北と津軽	1 基/1.5~2.0-km 間隔	約 1600-km <sup>2</sup> (下
					北)
ヒグマ	北海道	釣賀、2008	39	3×3-km グリッド	250-km <sup>2</sup>

<sup>1)</sup> Gervasi et al. (2008)は、北米とヨーロッパにおけるヒグマの大面積ヘア・トラップ調査事例を多く紹介している。

<sup>2)</sup> アメリカクロクマ高生息密度地域 (125 頭/1,000km²)

# 6. 行動圏とトラップ密度および周辺効果

# 6-1. 行動圏とトラップ密度

ヘア・トラップ密度と間隔を合理的に決めるためには、クマ類の行動圏と移動距離を知る必要がある。表 5 に、国内で調査された、ツキノワグマとヒグマの行動圏面積を示した。大きな垂直移動を行う北アルプスのツキノワグマでは、例外的に  $123~\rm km^2$  との広い行動圏が報告されているが、ヒグマ、ツキノワグマとも行動圏はおよそ  $20~\rm km^2$  から  $50~\rm km^2$  の間にある。これを、円形行動圏を仮定した直径に換算すると  $5.0~\rm km$  から  $8.0~\rm km$  となる。クマ類は一般に、行動圏全体を均一に利用するのでなく中心部の利用頻度が高い。利用頻度の高いところを行動圏面積の 50% ( $10~\rm km^2$  から  $25~\rm km^2$ ) とすると、行動圏直径は  $3.6~\rm km$  から  $5.2~\rm km$  となる。ヘア・トラップの設置間隔をこの直径より小さくすれば、クマはトラップに出会うことになる。ヘア・トラップにおいて、個体の捕捉率とトラップの位置を見るためには、個体の  $1~\rm Enox$  日の移動距離も考慮する必要がある。兵庫県におけるラジオトラッキング法によるツキノワグマの  $1~\rm Enox$  目の移動距離(直線距離)調査によれば、オスの移動距離は平均  $970~\rm m$ (最大  $4,400~\rm m$ )、メスが  $670~\rm m$ (最大  $2,300~\rm m$ )と報告されている(鈴木、2002)。

環境省自然保護局・生物多様性センター(2007)は、カーネル法 (FK) による 95%利用圏と 50% 利用圏にわけて、既存資料からラジオトラッキング法によるツキノワグマ 22 頭の行動圏利用を分析している。そこでは、FK95%の場合は、行動圏は  $4.5~\rm km^2$  から  $44.8~\rm km^2$  と個体によるばらつきが大きいが、FK50%とすると、 $0.7~\rm km^2$  から  $5.1~\rm km^2$  と個体のばらつきは小さいと述べている。この FK50%の行動圏の場合、円形仮定行動圏の半径は  $0.94~\rm km$  から  $2.54~\rm km$  となり上記の推定より小さくなる

表 5	ツキノ	ワグマと	ヒヒグ	マの行動圏面槓と円形仮定行動圏半径
-----	-----	------	-----	-------------------

種	地域	報告者	調査個体数	行動圏面積(km²)	円形仮定行動半径(km)
ツキノワ	北アルプス	Izumiyama and	5	32 - 123	3.2 - 6.3
グマ		Shiraishi. 2004			
	静岡	静岡県、2005	41	18.55±21.73 (♀平均 6.86)	2.42 - 2.63
	兵庫	鈴木、2002	16	平均: ♀7.4、オス 29.8	1.5 - 3.1
ヒグマ	北海道浦幌	Sato et al. 2008	3	43.04±9.52	3.27 - 4.09
	知床半島	山中ら、1995	10	15.09±3.49	1.92 - 2.43

# 6-2. 周辺効果

トラップの周辺効果は、(1) トラップ設定地外周長、(2) トラップ周辺域生息個体の行動圏面積、(3) 周辺トラップに特異的な捕捉率、の3つの要因が作用する。トラップ外周長は、最外郭のトラップを結ぶ線(最外郭線)として求める。トラップ最外郭線上に行動圏をもつ個体の捕捉は、各個体の外郭線内と外の行動圏割合で相殺されるとして、一般に円形行動圏仮定における半径を最外郭線に加えた値とされる。利用頻度の高いところを行動圏面積の50%とした上記の仮定からは、行動圏半径の1.8kmから2.8kmを最外郭線に加えた範囲が周辺効果を取り入れたトラップ有効面積となる。周辺トラップに特異的な捕捉率は、実際の捕獲データからその存在の有無を分析し、空間明示モデルにより補正することが考えられる。

# 7. 再捕獲率

ヘア・トラップ法から個体数を推定する方法としては、(1) DNA 識別された個体数を最小確認 個体数とする、(2) カメラトラップなど別の手法からヘア・トラップの捕捉率を推定し DNA 識別 個体数の補正を行う、(3) セッション別の再捕獲データを加味して統計的手法から個体数を推定 する、3 つの方法がある。一般的には(3)の方法が使われるが、試料数・推定個体数が少ない場合には、(1) と (2) の方法も採用される。

ヘア・トラップ法による調査で、セッション別の捕獲数と再捕獲個体数が示されている報告書から求めた再捕獲情報を**表 6** に整理した。再捕獲率は、のべ再捕獲数/のべ総捕獲数として求めた。ここで取り上げた報告では、セッション数は、2 セッションから 5 セッションの幅がある。アメリカクロクマでは、再捕獲率は 0.32 と高い。ツキノワグマでも富山県の事例では、再捕獲率は  $\ge 0.24$  と比較的高い。山形県(環境省、2009a)の再捕獲率は高いが捕獲数(識別個体数)は少ない、岩手県や青森県における再捕獲率は  $\le 0.12$  と低い。

セッション別捕獲数(( ) の中は再捕獲数)										
文献 1)	— 地域	1	2	3	4	5	- のべ捕獲数	再捕率		
Woods (1999)	米国	16	11 (4)	18 (5)	9 (15)		76 (24)	0.32		
WMO (2008)	富山有峰	1	10(0)	9 (5)	13 (6)	11 (8)	63 (19)	0.30		
WMO (2008)	富山東部	4	4(1)	13 (3)	8 (3)	10 (5)	51 (12)	0.24		
環境省(2005)	岩手遠野東部	34	46 (8)				80 (8)	0.10		
環境省(2006)	岩手遠野西部	37	31 (89				68 (8)	0.12		
青森県(2009)	下北	26	28 (3)				54 (3)	0.06		
青森県(2009)	津軽	54	59 (3)				113 (3)	0.03		
環境省 (2009a)	山形	2	5 (2) 2)				5 (2)	0.4		

表 6 ヘア・トラップ法におけるクマ類の再捕獲率

# 8. ヘア・トラップ法による生息密度推定

これまでの国内におけるヘア・トラップ法による、ツキノワグマの個体数推定密度報告事例を、ツキノワグマの保護管理ユニット別(自然環境研究センター、2000)に表7に示した。最小推定密度は0.06 頭/km²(栃木県)、最大推定密度は0.928 頭/km²(長野県北部)と報告されている。ただし、長野県の事例は、関東山地における推定密度に県内の生息密度傾斜補正を行って求めた値である。これらの個体数推定は、いずれも小面積の調査地で行われたものであることに留意する必要がある。また、DNAによる識別個体数の報告にとどめ、捕捉率を考慮した個体数あるいは調査地面積を考慮した生息密度まで分析していない報告書もあり、それの報告書はここでは除いた。

<sup>--:</sup>調査なし

<sup>1)</sup> Woods et al (1999)によるアメリカクロクマとヒグマ調査を除き、対象種はツキノワグマ

<sup>2) 2008</sup> 年 8 月 5 日-16 日を第 1 セッション、8 月 19 日-10 月 10 日を第 2 セッションとした

表 7 既存のヘア・トラップ調査による保護管理ユニット別のツキノワグマ生息密度推	推定報告
--	------

管理ユニッ 生息密度推定 (頭/km²)								
F 1)	個体数推定方法	最小密度	最大密度	中央値	平均	- 報告書		
下北半島	Lincoln-Petersen 法	下北半	·島推定総生息	息数:195±	75 頭	青森県(2009)		
白神山地	Lincoln-Petersen 法	白神西	部推定総生息	!数:824±3	843 頭	青森県(2009)		
北上山地	痕跡調査法と組合せ	0.127	0.193	0.159	0.159	岩手県(2007)		
北奥羽	痕跡調査法と組合せ	0.095	0.163	0.130	0.189	岩手県(2007)		
月山朝日飯	Lincoln-Petersen 法	最小確認数	数 0.5 頭/km²、	標識再捕	獲法推定	環境省(2008a)		
豊		0.57 頭/km <sup>2</sup>						
南奥羽	痕跡調査法と組合せ	宮城県全県推定個体数:401~896頭			環境省(2009b)			
越後三国	Lincoln-Petersen 法	0.060	0.160	0.11	_	栃木県(2006)		
		0.512	0.928	0.720		長野県(2007)県北部 <sup>2)</sup>		
北中央アル	Lincoln-Petersen 法	0.360	0.740	0.550	0.508	WMO (2008) 富山ブナ域		
プス		0.110	0.330	0.220	_	WMO(2008)富山普通植生域		
		0.512	0.928	0.720	_	長野県(2007)県北部 <sup>2)</sup>		
		0.340	0.740	0.540	_	長野県(2007)木曾		
白山奥美濃	最小確認数	54 頭識	別/20km <sup>2</sup> (ト	・ラップサイ	イト)	上馬・中谷内		
関東山地	Chapman 法	0.320	0.580	0.450	0.285	WMO (2005)		
富士丹沢	Lincoln-Petersen 法	76.5 頭(御坂山地)			WMO (2002)			
南アルプス		0.102	0.222	0.162	_	長野県(2007)南アルプス <sup>3)</sup>		
東中国		_	_	_	0.133	鳥取県(2007) <sup>4)</sup>		
紀伊半島		_	_	_	_	(奈良県、2008年度調査実施)		
匹国		0.035	_		_	自然研(1996) <sup>8)</sup> 徳島		

- -:最小密度、最高密度が示されてない報告
- 1) 特定鳥獣保護監理技術マニュアル (自然環境研究センター、2000) における管理ユニット区分
- 2) 越後三国及び北中央アルプス保護管理ユニットの長野県域の密度は、ヘア・トラップ法による関東山地の基準推定生息密度値に1.6 倍した補正値として示されている(長野県、2007)。
- 3) 南アルプス (赤石山地) 保護管理ユニットの長野県域の密度は、ヘア・トラップ法による木曾南部の基準推定生息密度値に 0.3 倍した補正値として示されている (長野県、2007)。
- 4) 鳥取県の分布面積 750km2、生息数 100 頭以下 (1993-95 年調査) より生息密度を計算した。
- 5) 四国剣山系徳島県域の連続分布面積 340km2 (自然環境研究センター、1996)、最小推定生息数 9 頭 (ヘアトラップ法を含む 最小確認数) より生息密度を計算した。

# 9. まとめ

主に日本国内でツキノワグマを対象に小規模面積で実施されてきたヘア・トラップ法のレビューから、特に調査効率に注目した場合、本手法による現時点での知見では次のような方法を標準調査法とすることが提案される。

# ヘア・トラップの構造と誘引物質

- ◆ 一辺が 3m から 5m の有刺鉄線囲い型トラップで、1 段張り (地上 40-50cm) あるいは 2 段張り (地上 35cm と 70cm) とする。
- ◆ クマがすり抜けられる箇所がなくすよう地形条件に応じて補助有刺鉄線を設置する。また、囲い内を横断する斜めの有刺鉄線を設置することも有効である。
- ◆ 誘引物質としては、ハチミツ、蜜蝋あるいはリンゴが効果的である。
- トラップシャイ個体の確認のためカメラトラップを併設することが有効である。

## 試料採取率と採取時期

◆ 採取試料の区分では、トラップ・セッション毎に1試料とする、トラップの1面あたり の体毛を1試料とする、有刺鉄線の1棘あたりの体毛を1試料とする、など調査設計に よって異なるが、トラップ・セッション毎に有刺鉄線の1棘あたりの試料を1試料見な すのが適当である。

- 経験値としてツキノワグマにおける DNA 分析成功試料採取率は 0.08~0.8 試料/TS(トラップ・セッション)、ヒグマ(北海道)では 1.8 試料/TS の高い効率が報告されている。 DNA 分析成功率は通常 0.7 程度であるため、分析試料数全体としてはこの 1.5 倍程度の値となる。
- ◆ 試料(体毛)採取率は、多くの地域で6月~7月が最も高いため、この時期を調査の中 心時期とする。
- ◆ DNA 抽出率は7月が高く、抽出率が低下する降雪期は不適である。

# トラップの配置と密度のまとめ

- ◆ 既知の生息密度や行動圏からは、トラップ密度は1基/2-kmメッシュ(1基/4-km²)より 高い密度で設定する必要がある。
- 均一配置を原則とするが、アクセス条件によって適宜変更する。
- ◆ 周辺効果は、トラップ最外郭線に行動圏の半径を加えたものが一般にトラップ有効面積 となるが、実際の捕獲データから空間明示モデルによる補正を行う。

トラップ設置密度、捕獲シミュレーション及びセッション間でのトラップ移動の必要性に関しては、本報告書「4.1. 空間明示モデルによるヘア・トラップ配置の検討および従来の個体識別ミス対策の有用性の検討」を参照してほしい。

# 引用文献

- 青森県 (調査機関)・(財) 日本森林林業振興会青森支部 (実施機関). 2009. 平成 20 年度 ツキノワグマ生息状況調査委託業務 (生息数推定調査分析) 報告書.
- Boersen, M. R., J. D. Clark and T. L. King. 2003. Estimating black bear population density and genetic deiversity at Tensas River, Louisiana using microsatellite DNA markers. Wildlife Society Bulletin 2003, 31 (1): 197-207.
- Boulanger, J., M. Proctor, S. Jimmer, G. Stenhouse, D. Paetkau, and J. Cranston. 2006. An empirical test of DNA mark-recapture sampling strategies for grizzly bears. Ursus 17 (2) :149-158.
- Gervasi, V., P. Ciucci, J. Boulanger, M. Posillico, C. Sulli, S. Focardi, E. Randi, and L. Boitan, 2008. A preliminary estimate of the Apennine brown bear population size based on hair-snag sampling and multiple data source mark-recapture. Ursus 19(2):105-121.

## Huggins models

福井県野生動物の会. 2007. ツキノワグマ生息数調査報告書(ヘア・トラップ調査). 特定鳥獣保護管理計画モニタリング手法調査.

岩手県. 2007. 第2次ツキノワグマ保護管理計画.

- Izumiyama, S. and T. Shiraishi, 2004. Seasonal changes in elevation and habitat use of the Asiatic black bear (Ursus thibetanus) in the Northern Japan Alps. Mammal Study 29: 1-8.
- 上馬 康生・中谷内 修. 2007. 石川県におけるツキノワグマのヘアートラップ調査 (2006 年) 石川県白山自然保護センター研究報告 33: 33-40 (2006)

- 金澤 文吾ら. 2008. 四国剣山山系におけるツキノワグマ個体数推定の課題. 第 14 回野生生物保護学会大会講演要旨(2008 年 11 月 7-9 日、佐世保)。
- 環境省自然保護局・生物多様性センター. 2005. 第 6 回自然環境保全基礎調査、種の多様性調査 (岩手県)報告書. 環境省自然環境局生物多様性センター.
- 環境省自然保護局・生物多様性センター. 2006. 第 7 回自然環境保全基礎調査、種の多様性調査 (岩手県)報告書. 環境省自然環境局生物多様性センター.
- 環境省自然保護局・生物多様性センター. 2007. 第 7 回自然環境保全基礎調査、種の多様性調査 (新潟県)報告書. 環境省自然環境局生物多様性センター.
- 環境省自然環境局・生物多様性センター. 2009a. 平成 20 年度自然環境保全基礎調査、種の多様性調査(山形県)報告書. 環境省自然環境局生物多様性センター.
- 環境省自然環境局・生物多様性センター. 2009b. 平成 20 年度自然環境保全基礎調査、種の多様性調査(宮城県)報告書. 環境省自然環境局生物多様性センター.
- 環境省自然環境局・生物多様性センター. 2009c. 平成 20 年度自然環境保全基礎調査、種の多様性調査(山梨県)報告書. 環境省自然環境局生物多様性センター.
- 環境省自然環境局・生物多様性センター. 2009d. 平成 20 年度自然環境保全基礎調査、種の多様性調査(奈良県)報告書. 環境省自然環境局生物多様性センター.
- Kendall, K., J. Stetz and A. Macleod. 2008. Northern Divide Grizzly Bear Project Release Results. International Bear News 18 (4):19-21
- 工藤 雅志. 2004. ヘアートラップ法を用いたツキノワグマ生息数調査手法の検討. 岩手県環保研センター年報 4:97 (第7回自然系調査研究機関連絡会議発表要旨).
- Mills, L. S., J. J. Citta, K. P. Lair, M. K. Schwartz, and D. Tallmon. 2000. Estimating animal abundance using noninvasive DNA sampling: promise and pitfalls. Ecological Applications, 10 (1): 283-294.
- Miura, S. and T. Oka. 2003. Evaluation of apple bait hair-traps for genetic tagging of Asiatic black bears in the Kitakami Highland, northern Honshu, Japan. Mammal Study, 28: 149-152.
- 森光 由樹. 2008. 各都道府県のヘア・トラップ調査の実施状況と長野県における実施例. 哺乳類科学 48(1): 133-138.
- 長野県. 2007. 第2期特定鳥獣保護管理計画 (ツキノワグマ).
- Robinson, S. J. 2007. Landscape genetics of black bears (Ursus americanus) on the Kenai Peninsula, Alaska: Phylogenetic, population genetic and spatial analysis. A thesis; Degree of Master of Science, University of Idaho.
- Robinson, S. J., L. P. Waits and I. D. Martin. 2009. Estimating abundance of American black bears using DNA-based capture-mark-recapture models. Ursus 20 (1):1-11.
- Sato, Y., Kobayashi, Y., Urata, T. and Takatsuki, S. (2008) Home range and habitat use of female brown bear (Ursus arctos) in Urahoro, eastern Hokkaido, Japan. Mammal Study, 33: 99-109.
- 静岡県林業技術センター・静岡県環境森林部自然保護室・静岡県野生動物研究会. 2005. 静岡県 ツキノワグマ生息調査報告書(1998-2002年度).
- 自然環境研究センター. 1996. 徳島県特定鳥獣 (ツキノワグマ) 生息調査 (平成 5-7 年度調査). 徳島県委託調査報告書.
- 自然環境研究センター. 2000. 特定鳥獣保護管理計画マニュアル (クマ類編). 環境省委託業務報告書.

- 鈴木 健次郎. 2002. 東中国ツキノワグマ個体群の行動圏と環境利用に関する GIS 解析. 東京大学農学部生命科学研究科、2001 年度修士論文 (website 公開要旨). 鳥取県.
- 釣賀 一二三. 2008. 北海道渡島半島地域におけるヘア・トラップ調査の実施例. 哺乳類科学 48 (1):119-123.
- 野生動物保護管理事務所 (WMO). 2002. 平成 13 年度自然再生技術調査業務報告書 (山梨県御坂山地のツキノワグマ調査).
- 野生動物保護管理事務所 (WMO). 2005. 緊急地域雇用創出特別基金事業 (狩猟規制基礎調査) 業務委託報告書. (長野県におけるヘア・トラップ調査)
- 野生動物保護管理事務所 (WMO). 2008. 平成 18 年度ツキノワグマ個体数調査報告書 (富山県).
- Woods, J.G., D. Paetkau, D. Lewis, B. N. McLellan, M. Proctor, and C. Strobeck, 1999. Genetic tagging of free-ranging black and brown bears. Wildlife Society Bulletin 27 (3):616-627, 1999.
- 山内貴義・工藤雅志. 2005. ツキノワグマを中心とした大型野生哺乳類の生態に関する研究. 岩手県環境保健研究センター.
- 山内貴義. 2009. 遺伝子解析法を用いたツキノワグマのモニタリング調査手法の開発. 岩手県環境保健研究センター年報 第8号(平成20年度).
- 山中 正実ら. 1995. 知床半島におけるヒグマの生息環境とその規模に関する研究. 自然度の高い 生態系の保全を考慮した流域管理に関するランドスケープエコロジー的研究(北海道森林技術 センター、1995): 122-130.
- 湯浅 卓・佐藤 喜和. 2008. ヘア・トラップを用いたクマ類の個体数推定法における課題、国内 外の事例の比較検討. 哺乳類科学 48(1):109-118.

\_\_\_\_\_

# 1.3 ヒグマにおけるヘア・トラップ法のレビューと課題

佐藤 喜和 (日本大学生物資源科学部)・釣賀 一二三 (北海道環境科学研究センター)

#### 1. はじめに

分析技術の向上により、個体の捕獲を伴わずに野外で回収される痕跡試料から遺伝情報を取得し、そこから多型解析により個体識別を行うことで、短期間で広い地域を対象とした生息数調査の実施に道が開かれた。遺伝情報を含む痕跡試料の効率的な回収のため、ヘア・トラップ法が開発され(Woods et al. 1999)、この方法を応用した個体数推定の試みが世界各地ではじめられるようになった(1-2参照)。本節では、これまでに北海道で実施されてきたヘア・トラップ法について、公表済・未公表資料をレビューし、今後の課題を整理した。

## 2. 北海道におけるヘア・トラップ法の実施事例

#### 2-1. 浦幌地域

北海道におけるヘア・トラップの最初の実施事例は、1998年~2000年にかけて行われた白糠丘陵南部に位置する十勝森づくりセンター管内の道有林(十勝郡浦幌町、釧路市音別町、白糠郡白糠町)におけるヒグマの個体数推定のプロジェクトである。当時東京大学大学院在学中の佐藤が、博士課程の学位論文課題の一部として、地元 NGO 浦幌ヒグマ調査会との協力のもと、地球環境基金(特殊法人環境事業団、現、独立行政法人環境再生保全機構)の助成を受けて行った。

1998年の試行では、調査対象地域の一部において、様々なタイプのトラップを試行し、もっとも確実に体毛を回収できるのは、Woods (1996)により紹介されていた、現在広く用いられているスタンダード・タイプであることを確認した。同年秋に  $430 \mathrm{km}^2$ の調査地域を  $2 \times 2 \mathrm{km}$ のメッシュで区切り、各メッシュに 1 基ずつ、150 基のトラップを設置した。メッシュサイズは、当地域におけるメス成獣の年間行動圏( $40-50 \mathrm{km}^2$ )、季節別行動圏(最低  $10 \mathrm{km}^2$ )を参考に(Sato et al. 2008)、各季節に 1 個体が複数のトラップに出会うように設定した。トラップの設置は一人または二人で行い、設置に 2 ヶ月間を要した。このトラップを基本に、以後年に 4 セッションの試行を行った。トラップの設置場所は、周辺の痕跡および地形を参考にし、アクセスしやすいように林道から遠すぎず、かつ林道利用者に危害がおよばないよう、最低  $20 \mathrm{m}$ 以上離すようにした。

誘引餌は、立木に直接、高さ 3-4m の位置に吊り下げた。トラップ用の有刺鉄線は 1 段張り、地上高 50-60cm とし、 4 本以上の立木を支柱として設置した。地形により生じたギャップは、木杭の追加、または有刺鉄線の追加によりできる限り埋めた。

誘引餌の種類の検討では、蜂蜜は購入単価が高く、降雨の影響により誘引持続期間が短いことから不適と判断した。魚のアラを腐敗させた液体、有害駆除されたエゾシカの血液を発酵させたものは、ヒグマを誘引できるものの、大量生産できる設備がないため、不適と判断した。有害駆除および狩猟により発生したエゾシカの死体(肉および骨、3-5kg 程度)は、無料で入手可能であり、過度に乾燥しない限り誘因効果が持続することが明らかとなった。乾燥を防ぐため、手提げ型のプラスチックバッグに餌を入れ、雨水がたまるような形が効果的だった。エゾシカは当地域のヒグマの主要採食物でもあることから(Sato et al. 2004)、以後、当調査地域ではエゾシカの死体を誘引餌として利用することとした。

1999年には、5月~10月にかけて、1998年に設置したトラップのうち、69基(調査地面積約300km²)を用いて、4セッションの体毛回収を行った。1セッションは、約3週間かけてすべてのトラップへの誘引餌設置、その後2週間の間隔をおいて、見回り・体毛回収、および次のセッションのための誘引餌設置(約3週間)からなる。セッション間のインターバルは無いことになる。また、高密度にトラップ設置を行うことで、調査地内のすべての個体に潜在的トラップ遭遇可能性があるものと考え、セッション間のトラップ移動は行わなかった。ただし、体毛回収効率が悪い場合(近くに足跡があるのにトラップに接近した気配がないなど)、そのトラップをメッシュ内の別の場所に移動した。62カ所のトラップから113サンプルを回収した (佐藤ほか、2000)。

2000年にも、5月~10月にかけて、前年度と同様 4 セッションの体毛回収を行い、113カ所のトラップから 214 サンプルを回収した (Sato 2002)。

その後も同調査地にて、2001年にも約60トラップ(約250km²)を用いて(Satoh、2003)、また2005年には、5 kmメッシュに2個ずつの割合で430 km2の調査地全域を対象に $5 \text{ セッションの調査が行われている(嶋崎、2007)。なお嶋崎の調査は、ヒグマの生息地利用実態を明らかにすることも目的に行われた。$ 

また、スタンダードタイプではない体毛回収とラップとして、ヒグマによる背こすり木に有刺鉄線を巻き付けるタイプのトラップを、1998 年以降 2009 年まで継続的に実施している(佐藤ほか、2000; Sato、2002; 佐藤、2004; ほか)。これまで調査地内で発見された背こすり木(1999 年までに 68 カ所、2000 年には 172、以降発見次第増加中)にトラップを設置し、安定した体毛回収率を達成している(1999 年には 95 サンプル、2000 年には 85 サンプル)。1 つのトラップが 10 年以上にわたり利用されること、1 つのトラップから1年間に複数回の体毛回収が可能であることが明らかになっている。2007 年以降、白糠郡白糠町北部の根釧西部森林管理所管内の国有林においても、浦幌ヒグマ調査会および日本大学生物資源科学部森林動物学研究室により、背こすり木トラップの設置がすすめられ、体毛が回収されている。背こすりの頻度は 5-7 月にピークを持つこと、年齢や性別により背こすり行動を行う頻度に差がある可能性があるものの、誘引餌を用いる必要が無く、設置も簡単であるため、代替法として、またはスタンダードタイプのトラップの情報を補足する方法として、有効であろう。アメリカ、グレーシャー地域におけるグリズリーの個体数推定においても、背こすりトラップが利用され、その有効性が確かめられている(Kendall、2008)。

その他、エゾシカの農地侵入防止を目的に設置された防鹿柵(高さ 2m、鋼鉄製)をヒグマが越えて、または潜って農地に侵入する際にも体毛が残される。ヒグマによる農地侵入が確認された場合には、侵入箇所から体毛を回収することができる(1999年には 3 カ所から 8 サンプル、2000年には 114 カ所から 44 サンプル)。

近年浦幌地域では、背こすりトラップによる最低確認個体数のモニタリングを継続している。

#### 2-2. 渡島半島地域

渡島半島地域におけるヘア・トラップ法は、2000 年から 2002 年までの 3 年間に上ノ国町で 5 カ所のトラップを設置して行われた試行に始まった。これらのうち 3 箇所は誘因餌を入れたヒグマ捕獲ワナの周囲に有刺鉄線を張り巡らせたもので、1 箇所は立木の間に張ったロープを用いて地上約 3 m の高さにつり下げた誘因餌の周囲に、有刺鉄線を張ったものであった。また、残りの1 箇所は、ヒグマが背こすりに利用する樹木 (トドマツ) に有刺鉄線を巻きつけたものであった。

初年度の 2000 年8月中旬から 11 月初旬には5カ所のトラップから 70 サンプル (70 カ所の棘から) を回収することに成功した (釣賀、2008)。

この試行を受けて、一定調査地域における生息数を推定する目的で実施された調査は、2003 年から 2005 年にかけて、上ノ国町の約 270km²を対象に、調査地内を  $3\times3$ km²のグリッドに区切り、クマの痕跡や餌資源、地形により設置場所を検討して行われた(釣賀ら、2008; 釣賀、未発表)。利用されたトラップの構造は、サケあるいはサクラマスを誘引餌とし、地上 3m の立木間に渡したロープに吊り下げるか、あるいはヒグマ捕獲用ワナの内部におき、ヒグマに利用できないようにした。有刺鉄線は地上 50cm の高さで一段張り、直径 12cm、長さ 120cm の木杭を支柱とし、4 -6 角形に設置した。地形により生じるギャップは、枯れ枝、岩石で埋める、またはギャップ箇所に杭を追加することで処理した。1 トラップあたりの有刺鉄線周囲長は、おおむね 16-30m であった。トラップ設置は 3~4 名で行った。

2003年には、トラップ設置のための下見を 5 月 7 日から 6 月 9 日にかけて行い、6 月 17 日から 7 月 8 日にかけて 29 カ所設置した。 10 月 31 日までに、実質的にインターバルなしで 3 セッションを実施し、ヒグマの体毛を 442 サンプル回収した。このうち毛根が認められたサンプルは 304 サンプルであった。

2004年には、6月11日から16日にかけて追加設置箇所の下見を行い、7月5日から16日にかけて高密度設置区を設けるために12カ所新たに設置し、計41トラップを10月21日まで実質的にインターバルなしで3セッションを実施し、ヒグマの体毛を338サンプル回収した。このうち毛根が認められたサンプルは293サンプルであった。

2005年には、2004年までに設置した41トラップを用い、6月7日から11月11日までに、実質的にインターバルなしで4セッションを実施し、ヒグマの体毛を594サンプル回収した。このうち毛根が認められたサンプルは429サンプルであった。なお、2005年には自動撮影装置により、トラップ内にヒグマが入ったことが確認されているのに、サンプルを採取できない事例があることが確認された。

2007 年には、調査地を亀田半島に移し、約 470 $km^2$  を対象に、調査地内を  $3\times3km^2$  のグリッドに区切り、クマの痕跡や餌資源、地形により設置場所を検討してトラップを設置した。利用されたトラップの構造は、サクラマスを誘引餌とし、地上 3mの立木間に渡したロープに吊り下げた。(ヒグマは基本的に餌の利用不可能)。有刺鉄線は上ノ国町でのトラップとほぼ同様で、1 トラップあたりの有刺鉄線周囲長は、おおむね 15-35m であった。トラップ設置は  $3\sim5$  名で行った。トラップ設置視点の下見は 2006 年 8 月から 11 月、設置は 2006 年 11 月および 2007 年  $5\sim6$  月に行い、6 月 5 日から 10 月 25 日までに、実質的にインターバルなしで 4 セッションを実施し、ヒグマの体毛を 217 サンプル回収した。このうち毛根が認められたサンプルは 161 サンプルであった。

# 3. 北海道におけるヘア・トラップ法の課題

これまで主に東部の浦幌地域と、南西部の渡島半島地域にてスタンダードタイプのヘア・トラップ法が実施されてきた。シカの死体やサケを誘引餌として、有刺鉄線1段張りのみでも、十分な効率で体毛を回収できることが明らかとなった。浦幌地域では、1998-2005年までは、設置の労力と土地管理者からの許可を得る際の交渉により、誘引餌をヒグマが利用できるようにしたため、最初の個体が餌を捕ったあとは、同じ場所を利用する他個体からのサンプルが集まらなかった可能性がある。誘引餌に関しては、誘引力が持続し、安価で持ち運びの容易な餌の開発が期待され

る。アメリカ・グレーシャー地域では、餌ではなく匂いのみで誘引を行っている(Kendall、2008)。 魚のアラやウシの血液を発酵させたもので、専用の施設で製造されている。匂いのみで食べることができないため、複数の個体を誘引することが可能であるという。また小型のボトルに入っているため、持ち運びも簡易である。北海道においてもこのような誘引餌が利用可能となれば、トラップ設置に要する労力が削減でき、セッション間隔の短縮や体毛回収効率の向上に結びつくだろう。グリッドサイズに関しては、検討された種類が少ないものの、渡島半島地域では個体数推定モデルを用いた検討により比較的安定した推定値が算出されていることから(釣賀ほか、2008;2009)、ツキノワグマで行われているような1×1kmのような高密度の設定は必要ないと思われる。ヘア・トラップ法の運用上の課題としては、セッション間隔(餌の設置から見回りまで)、セッション数、実施季節などがあげられる。セッション間隔は、調査地面積(またはトラップ数)、ヒグマの生息密度、トラップ設置に投入できる人員(パーティ数)などが影響してくる。試行事例が少ないが、調査に適した季節に集中的に実施できるような設定を検討する必要がある。ツキノワグマで指摘されているような季節による体毛採取効率や DNA 抽出成功率については今後検討が必要だろう。

スタンダードタイプのヘア・トラップ法を実施するには労力とコストがかかるため、北海道内の生息密度や環境の異なる地域で実施するのは難しい、または時間がかかるだろう。背こすり木トラップなど、痕跡試料からの遺伝情報を用いた個体識別を基本としながら、トラップ設置と見回りの労力・コストを低減できるようなトラップの評価も、今後の課題となるだろう。

# 引用文献

- Kendall, K.C., Stetz, J.B., Roon, D.A., Waits, L.P., Boulanger, J.B. and Paetkau, D. 2008. Grizzly Bear Density in Glacier National Park, Montana. Journal of Wildlife Management,72(8): 1693-1705.
- Sato, Y. 2002. An ecological study on human-bear conflicts in Urahoro, Hokkaido. Ph.D thesis. The University of Tokyo. 91pp.
- 佐藤喜和. 2004. ヒグマの背擦り. 浦幌町立博物館紀要 4:11-16.
- Sato, Y., T. Aoi, K. Kaji, and S. Takatsuki. 2004. Temporal changes in the population density and diet of brown bears in eastern Hokkaido, Japan. Mammal Study 29: 47-53.
- Sato, Y., Y. Kobayashi, T. Urata and S. Takatsuki. 2008. Home range and habitat use of female brown bear (Ursus arctos) in Urahoro, eastern Hokkaido, Japan. Mammal Study, 33: 99-109.
- 佐藤喜和・松橋珠子・高槻成紀(2000) 野生のヒグマの体毛回収,DNA 個体識別にもとづく個体数と行動圏の推定. 日本哺乳類学会 2000 年度大会講演要旨集:74.
- Satoh, Y. 2003. Estimation of movement and dispersal based on the geographic distribution of mtDNA types in the Hokkaido brown bear (Ursus arctos yezoensis) population. MS thesis, Graduate School of Veterinary Medicine, Hokkaido University, Sappro. 37pp.
- 嶋崎暁啓. 2007. 北海道東部浦幌周辺地域におけるヒグマの生息地利用解析および生息地評価モデル構築に関する研究. 修士論文. 日本大学大学院生物資源科学研究科,藤沢,145pp.
- 釣賀一二三. 2008. 北海道渡島半島地域におけるヘア・トラップ調査の実施例. 哺乳類科学 48: 119-123.

- 釣賀一二三, 山村光司, 富沢昌章. 北海道渡島半島地域におけるヘア・トラップ法を用いたヒグマ 個体数推定の試み. 2008. 哺乳類学会 2008 年度大会発表要旨.
- 釣賀一二三, 山村光司, 富沢昌章. 北海道渡島半島地域におけるヘア・トラップ法を用いたヒグマ 個体数推定の試み 2-亀田半島における試行-. 2009. 哺乳類学会 2009 年度大会発表要旨.
- Woods, J. G., B. McLellan, D. Paetkau, and C. Strobeck. 1996. DNA fingerprinting applied to mark-recapture bear studies. International Bear News 5:9-10.
- Woods, J. G., D. Paetkau, D. Lewis, B. N. McLellan, M. Proctor, and C. Strorobeck. 1999. Genetic tagging of free-ranging black and brown bears. Wildlife Society Bulletin 27:616-627.

-----

# 1.4 北上山地へア・トラップ調査地の環境構造と ツキノワグマの捕獲状況

米田 政明・根本 唯・藤田 昌弘(自然環境研究センター)

## 1. はじめに

北上山地は、東側を太平洋、南側を仙台湾から仙台平野、西側を北上盆地、そして北側を三本木原台地の低地および海域で囲まれた孤立山地となっている。北緯 39°から 40°30′、東経 141°10′から 142°に間にあり、南北約 200 km、東西は中央部で約 80 km の広がりをもつ。年雨量は 1,000 mm から 1,400 mm 程度であり、年雨量 2,000 mm に達する奥羽山地と比べる雨量は少ない。 吉良の温量指数は、北上山地中央部の遠野(標高 270 m)で 77.5、盛岡市東部の藪川(標高 730 m)で 59.4、沿岸の釜石で 88.7 である(石塚、1981)。隆起準平原地形で、標高 800 m から 1,000 m の山地が連なる。最高標高は早池峰山(1,917 m)である。山地上部のなだらかな地形のところは、古くから放牧地として利用されてきたが、斜面下部や谷部は森林が広く残されている。ただし、森林も薪炭生産林として使われてきたため、早池峰山周辺などを除き原生植生地域は少ない。第二次大戦後は、低地にはスギが、標高 200 m から 800 m あたりまではカラマツが広い範囲に植栽された。薪炭林としての利用は 1960 年代以降急速に減少しており、コナラやミズナラの二次林が広範囲に見られる。ツキノワグマの生息地であり、近年、従来は生息報告の少なかった北上山地南部に分布拡大が見られる(岩手県、2007)。孤立山地でありツキノワグマの生息地としても閉鎖個体群と見なせること、ツキノワグマが比較的高密度に生息すること(岩手県、2007)、地形が比較的なだらかで調査に適していること、から北上山地を本研究の大面積へア・トラップ調査地とした。

#### 2. 調査地の概況

本研究で大規模へア・トラップ調査地として選定した北上山地青松葉山地域は、盛岡市の東部、北上山地のほぼ中央部に位置する。行政区域としては、岩手県下閉伊郡岩泉町、盛岡市、宮古市川井(旧川井村)、宮古市新里地区にまたがる。調査地の外周は、河川や道路など明確な境界で区切れるよう、南縁を閉伊川、東縁を刈屋川、北縁を小本川と三田貝川及び西縁を軽松沢川と県道171号線に囲まれた地域に設定した(図1)。調査地外周を結ぶ面積は607km²、調査地中央部の位置は北緯39°46′、東経141°33′である。標高は、調査地南東部の宮古市茂市地区の標高約60mから、青松葉山1,366mの範囲にある。調査地域は部分的に外山高原と早坂高原の延長にあるため、青松葉山から堺の神山(1,315m)、御大堂山(1,196m)周囲を含む、標高1,000m以上の高標高地の稜線は、平坦部や緩斜面の高原地帯が多い。しかし、高原地帯の周辺地域の斜面中腹部から河川沿いは起伏にとんだ急峻な地形を呈するところもある。

北上高地地域の植生は山地帯にブナ林が成立する地域であり、ヘア・トラップ設定予定範囲にもブナ林、ミズナラ林、コナラ・クリ林、アカマツ二次林が認められる。調査地域内、標高 200 m程度まではスギ植林が認められ、カラマツ植林は 800mを超える地域まで広範囲に分布する。さらに高標高地、1,000m前後の地域からはブナ林ならびにシラカンバ林が優占する。北上山地地域の高原地帯は、放牧場や萱場として利用されてきたため、ススキ草原やシバ草原地が多いが、ヘア・トラップ調査地域には、下層植生がササ草原に転換した植生環境が認められた。

ヘア・トラップ調査地域にかかる、岩泉町、旧川井村および宮古市の概要、人工林と天然林別

面積および森林所有形態別面積を表 1 から表 3 に示した。調査地西部には盛岡市が含まれるが、 盛岡市は奥羽山地まで含む広い市域をもち、また土地利用、人口で他の市町村と大きく異なるた め市町村別概要には含めてない。林野面積率を見ると、3 市町村とも 90%近い高い割合となって いる (表 1)。人工林の割合は、3 市町村とも 40%以下で、岩手県平均の 45.3%より低い (表 2)。 森林所有形態別では、岩泉町と川井村では国有林の占める割合が高い (表 3)。



図1 調査地の位置

表 1 ヘア・トラップ調査地域にかかる市町村の概要(ha)

市町村	総土地面積	林野面積	林野面積率(%)	耕地面積	総人口(人)
岩泉町	99,290	91,420	92.1	2,290	12,846
川井村	56,307	51,672	91.8	1,050	3,761
宮古市	33,945	29,298	86.3	1,080	54,638

2000 年世界農林業センサス

表 2 ヘア・トラップ調査地域にかかる市町村の人工林と天然林別面積(ha)

市町村	人工林	(%)	天然林	(%)	計
岩泉町	33,335	38.4	53,413	61.6	86,748
川井村	19,050	38.2	30,827	61.8	49,877
宮古市	11,079	38.9	17,373	61.1	28,452
岩手県合計	504,747	45.3	608,461	54.7	1,113,208

2000 年世界農林業センサス

表3 ヘア・トラップ調査地域にかかる市町村の所有形態別森林面積(ha)

市町村	国有林	緑資源公団	公有林	私有林	計
岩泉町	29,039	4,437	12,984	43,813	90,273
川井村	23,415	2,157	5,818	19,937	51,327
宮古市	6,807	23	2,002	20,197	29,029

2000 年世界農林業センサス

# 3. 調査地の環境構造

岩手県全体および北上高地と比較した、調査地の環境構造の特性を見るため、地形(標高)、植生、社会環境(人口)、道路密度に注目して、地理情報システム(GIS)による分析を行った。

# 3-1. 標高

調査地の地形と標高の詳細を、国土地理院数値地図 50m メッシュ(標高)から分析した。岩手県と調査地の標高分布を**図2** に示した。

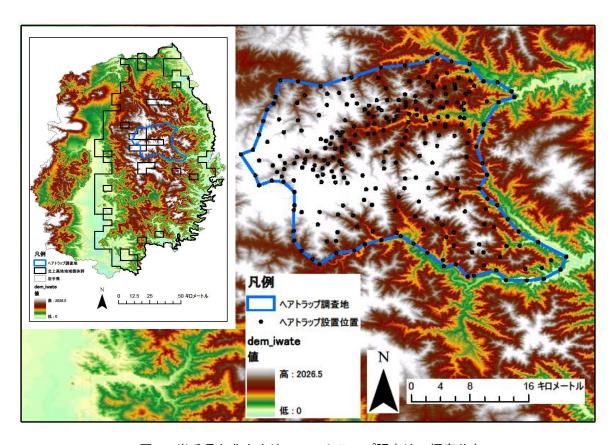


図2 岩手県と北上山地へア・トラップ調査地の標高分布

表4に、岩手県全体、北上山地ツキノワグマ地域個体群の分布域、ヘア・トラップ(HT)調査地、およびヘア・トラップ(HT)設置地点(「1.4 ヘア・トラップ設置位置の設定」参照)の、最低標高、最高標高、平均標高を示した。図3に、4つの地域区分における300m毎の各標高帯の割合を示した。標高帯別の割合を示した図3では、岩手県、ヘア・トラップ調査地では、各範囲内における各標高帯の面積を各範囲の総面積で除した値を、ヘア・トラップ設置位置では各標高帯

にプロットされたヘア・トラップ設置数を総ヘア・トラップ設置数で除した値を使用した。

調査地域は、標高 61m から 1,363m、平均標高は 779m にある。岩手県や北上高地地域個体群の平均標高に比べ、調査地とヘア・トラップ設置位置の平均標高は 200m ほど高い。標高帯の割合分布をみると、岩手県と北上山地ツキノワグマ地域個体群の分布範囲に比べ、調査地は 600-899m と 900-1,199m の標高帯が多くの割合を占めていた。本調査地は岩手県および北上山地ツキノワグマ地域個体群の分布範囲の中でも比較的標高が高い場所が多くを占める地域である。

			<u> </u>	
項目	岩手	北上山地地域個体群 1)	調査地	設置位置
最高標高	0	0	61	90
最低標高	2,027	1,617	1,363	1,177
平均標高	428	434	779	667

表 4 地域区分別の最低標高、最高標高、平均標高(単位:m)

<sup>1)</sup> 北上山地のうちツキノワグマ分布域を示す

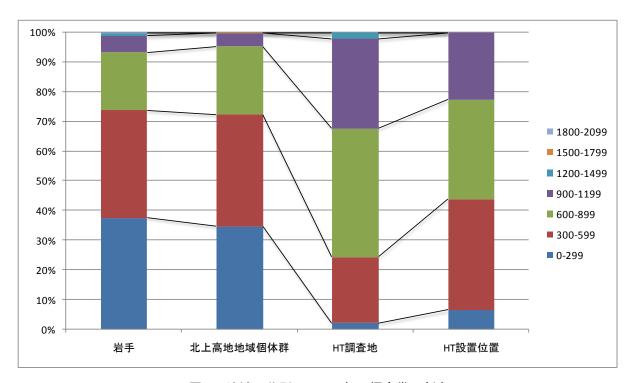


図3 地域区分別の300m毎の標高帯の割合

#### 3-2. 植生

調査地の植生の特徴を見るため、以下のデータを使用した。

- 植生図:第2-5回環境省自然環境保全基礎調査植生図
- 岩手県:国土地理院の数値地図 25000 (空間基盤データ)
- 北上高地地域個体群:環境省第6回動植物分布調査ツキノワグマ・ヒグマ分布図
- ヘア・トラップ調査地:ヘア・トラップ設置位置の外殻
- ヘア・トラップ設置位置:ヘア・トラップ設置位置のポイントデータ

図4に岩手県全域(以下、岩手県)、北上山地ツキノワグマ地域個体群の分布域、本調査のヘア・トラップ(HT)調査地、ヘア・トラップ(HT)設置位置における植生割合を示した。各植生割合は、岩手県、北上高地地域個体群およびヘア・トラップ調査地では、各範囲内における各植生の面積を各範囲の総面積で除した値を使用した。ヘア・トラップ設置位置に関しては、各植生にプロットされたヘア・トラップ設置数を総ヘア・トラップ設置数で除した値を植生割合として使用した。その際、全ての範囲で植生割合が5%未満であった植生は、すべて「その他」に統合した。

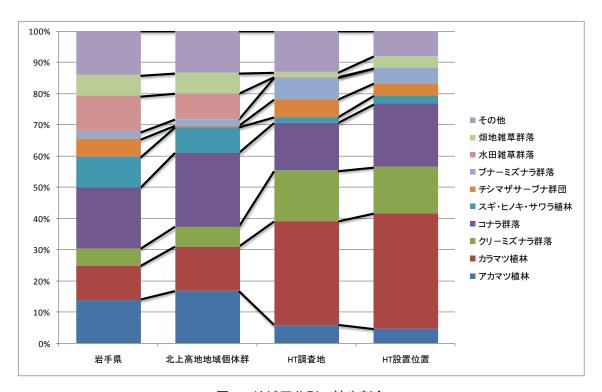


図 4 地域区分別の植生割合

植生割合を見てみると、本調査地が位置する北上山地ツキノワグマ地域個体群の分布域は、岩手県に比べコナラ群落、カラマツ植林、アカマツ植林の割合が高く、チシマザサ-ブナ群団の割合が少ない。ヘア・トラップ調査地とヘア・トラップ設置位置は、北上高地地域個体群分布域と比較して水田雑草群落およびコナラ群落が占める割合が低い。一方、カラマツ植林地、クリ・ミズナラ群落およびチチマザサ-ブナ群団の割合が高い。ヘア・トラップ設置位置では、ヘア・トラップ調査地に比べコナラ群落の比率がやや高いが、植生割合の構成に大きな違いは見られない。実際のトラップ設置場所選定では、「1.4 ヘア・トラップ位置の設定」で詳しく述べるように、植生図上は植林地であっても植林地を避けて設定した。

#### 3-3. 社会環境(人口)

調査地域の社会環境として人口と人口密度分布を、総務省平成 13 年度及び平成 17 年度国勢調査 (1km メッシュ) から分析した。図 5 に、岩手県における 1×1km メッシュごとの人口の 2000年と 2003年の平均値の分布を示した。表 5 に、岩手県、北上山地ツキノワグマ地域個体群の分布域、ヘア・トラップ調査地内の総人口及び人口密度を示した。ヘア・トラップ調査地内の人口は2000年と 2003年の平均で 6,000人ほどであり、2000年に比べ 2003年には、700人ほど人口は減

少している。人口密度を見ると、岩手県と北上高地地域個体群分布域の間では人口密度は大きく変わらないが、ヘア・トラップ調査地の人口密度は岩手県と北上高地地域個体群分布域に比べその十分の一ほどの低い値であった。本調査地は、北上高地地域個体群の中でも人口密度が低い地域である。

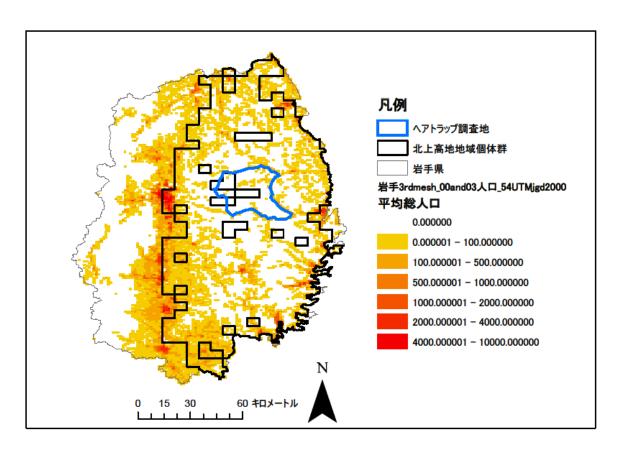


図 5 岩手県における 1×1km メッシュごとの総人口の分布。総人口の値には、2000 年と 2003 年の各メッシュの総人口の平均を使用した。

表 5 地域区分別の面積、2000 年と 2003 年の総人口、総人口の両年の平均および人口密度

地域区分	面積 (k m²)	2000 年の総人 口(千人)	2003 年の総人 口(千人)	総人口の平均 (千人)	人口密度の平 均(人/k ㎡)
岩手県	15,263	1,420	1,389	1,405	92.0
北上高地地域個体群	8,686	723	697	710	81.8
ヘア・トラップ調査地	607	6.1	5.4	5.8	9.5

# 3-4. 道路密度

調査地域の人為活動の指標として道路密度を、国土地理院の数値地図 25000 (空間基盤データ)より、岩手県、北上山地ツキノワグマ地域個体群の分布域、ヘア・トラップ調査地内について比較した (表6)。ヘア・トラップ調査地内の道路総延長は約 705km、道路密度は 1.16km/km² であった。岩手県や北上高地地域個体群に比べ、道路密度は 1/2 以下の値となったことから、本調査地は岩手県および北上高地地域個体群分布域の中でも道路密度が少ない地域であるといえる。

表 6 地域区分別の道路総延長と道路密度

地域区分	面積 (k m²)	道路総延長(km)	道路密度(km/k m²)
岩手県	15,263	42,774	2.80
北上高地地域個体群	8,686	21,784	2.51
ヘア・トラップ調査地	607	705	1.16

高速道路、国道、地方道の合計

# 4. 岩手県のツキノワグマ生息状況と捕獲状況

#### 4-1. ツキノワグマの推定個体数と生息密度

岩手県のツキノワグマの生息地に、北上盆地を挟んで東側の北上山地と西側の奥羽山地に区分される。岩手県(2007)に基づき、それぞれの地域におけるツキノワグマの推定個体数と生息密度を表7に示した。ヘア・トラップ調査地の北上山地におけるツキノワグマの平均生息密度は約0.2 頭/km²と推定されている。環境省自然環境局・生物多様性センター(2006)は、北上山地中央部の遠野市において2004年と2005年に実施した、ツキノワグマのヘア・トラップ調査から、2004年調査による推定個体数を293.5±165.5 頭、2005年調査によるそれを197.3±104.1 頭と報告している。調査面積(トラップ設置外周面積)は両年とも300km²程度と見積もられることから、2004年の遠野市東部調査地の生息密度は約1頭/km2、2005年の遠野市西部調査地の生息密度は約0.66頭/km2と極めて高い値となる。ただし、ここではヘア・トラップの有効面積は考慮してない。

表 7 岩手県奥羽山地と北上山地のツキノワグマ推定個体数と生息密度

地域区分	最小推定(頭)	最大推定 (頭)	平均 (頭)	生息域(区画数)	生息密度(頭/km²) <sup>1)</sup>
奥羽山地	325	562	448	436	0.159
北上山地	1,018	1,535	1,267	1,081	0.195
合計	1,343	2,097	1,720	1,517	0.189

岩手県 (2007) より

#### 4-2. 捕獲動向

鳥獣関係統計および岩手県資料から、岩手県における 1923 年から 2007 年までのツキノワグマの捕獲数動向を図 6 に示した。岩手県では、1960 年代以前のツキノワグマ年間捕獲数は 50 頭以下で推移していたが、1960 年代後半から増加し、それ以降は 1990 年代前半を除き 150 頭から 200 頭前後で推移している。堅果類の豊凶とそれに伴うツキノワグマの人里近くへの出没状況の変動を受けて、捕獲数の年変動は大きい。過去最大の年捕獲数は 2006 年度の 257 頭である。表 8 に、1970 年以降の年代別のツキノワグマの狩猟と有害捕獲別の年平均捕獲数を示した(2000 年代は2000 年-2007 年の平均)。年平均捕獲数は、1990 年代を除き、160 頭前後で安定している。

表 8 岩手県におけるツキノワグマの年代別年平均捕獲数の推移

区分	1970 年代	1980 年代	1990 年代	2000 年代
狩猟	88.1	100.9	81.6	68.3
有害	72.8	64.6	46.1	101.0
計	160.9	165.5	127.7	169.3

鳥獣関係統計および岩手県自然保護課資料から作成

<sup>1)</sup> 平均生息数を分布面積(生息区画数×600ha)で除した値として求めた。

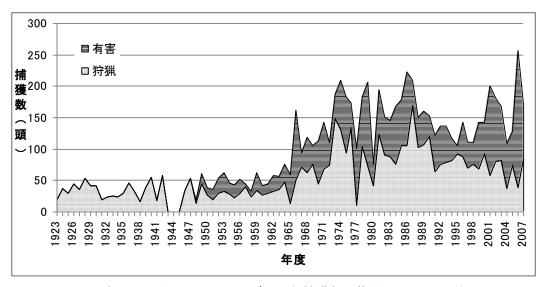


図 6 岩手県におけるツキノワグマの年捕獲数の推移(1923-2007年)

北上山地と奥羽山地別のツキノワグマの近年の捕獲数推移を**表9**に示した。2004年度から2008年度までの5年間では、2006年度を除き北上山地における捕獲数が奥羽山地よりも多い。Oi(2009)は、奥羽山地に比べ、北上山地におけるツキノワグマの有害捕獲は1.3倍、狩猟は4.7倍多いこと、その要因として地形要素と人の居住状況の差があることを報告した。

表 9 奥羽山地と北上山地別のツキノワグマ捕獲数 (2004-2008年)

年度	2004	2005	2006	2007	2008	計
奥羽山地	40	33	143	49	57	322
北上山地	68	91	135	121	97	512
計	108	124	278	170	154	834

岩手県自然保護課資料より作成

#### 4-3. 捕獲地点

岩手県ではツキノワグマの捕獲地点を 5-km グリッド単位で記録している。図7は、岩手県資料から作成した、2004 年から 2008 年までの 5 年間のツキノワグマの 5-km グリッド毎ののベ捕獲数を示したものである。北上山地では、遠野市や川井村南東部に 5 年間のベ捕獲数が 5 頭/5-km グリッドを越える高い捕獲密度のところがある。しかし、ヘア・トラップ調査地の岩泉町南西部、宮古市北西部、川井村北部、盛岡市東部は、川井村北部を除き捕獲がないグリッドも多く、ツキノワグマ捕獲数が少ない地域であることがわかる。

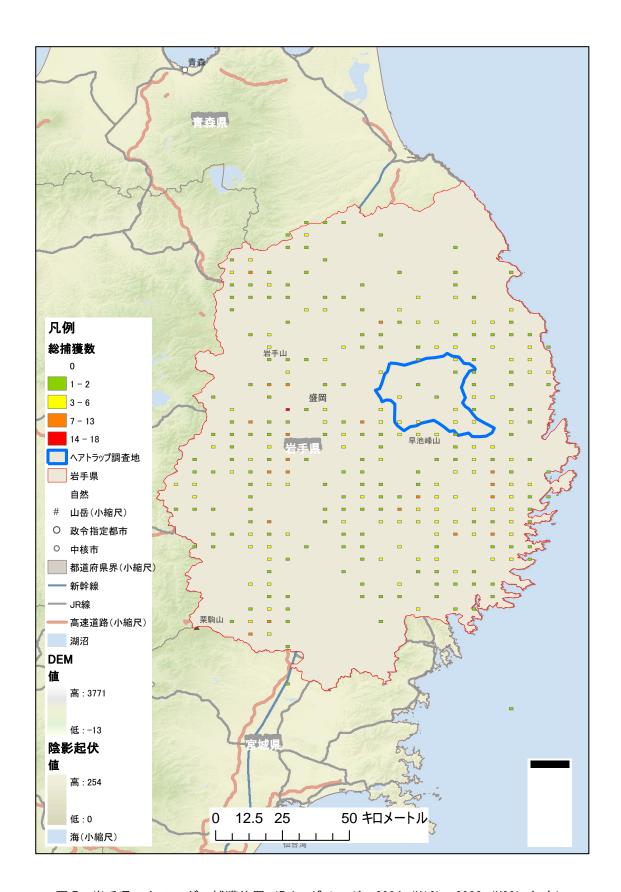


図 7 岩手県ツキノワグマ捕獲位置 (5-km グリッド、2004 (H16) -2008 (H20) 年度)

# 5. まとめ

北上山地は、孤立山地でありツキノワグマの生息地としても閉鎖個体群と見なせる。本研究では、北上山地の中央部の青松葉山地域に 607km²の大面積へア・トラップ調査地を設定した。調査地域にかかる市町村の林野面積率は 90%近くと高く、人工林率は 40%以下で岩手県の平均より低い。調査地域の標高は、北上高地のツキノワグマ地域個体群分布域の中でも比較的標高が高い。植生では、畑地雑草地群落や水田雑草群落といった人間活動が行われる地域の割合は少ないが、クリ・ミズナラ群落、ブナ・ミズナラ群落、チシマザサ・ブナ群団およびカラマツ植林地の割合が高い。ヘア・トラップ調査地内の人口は 6,000 人程度であり、人口密度は北上高地地域個体群分布域全体に比べ十分の一ほどと低い。また、道路密度も低い地域である。岩手県におけるツキノグマ捕獲数は年平均 160 頭前後で推移しているが、2006 年には 257 頭の捕獲があった。北上山地の捕獲数は、2006 年を除き奥羽山地より多い。ヘア・トラップ調査地域は、北上山地の中では捕獲(2004-2008 年)が少ない地域に位置している。

# 引用文献

石塚 和雄. 1981. 北上山地・三陸沿岸地域の森林植生の分布と気候. 石塚 和雄(編). 1981. 北上山地森林植生の生態学的研究. 1-7. 文部省科学研究費一般研究 (1978-1980) 報告集.

岩手県. 2007. 第2次ツキノワグマ保護管理計画. 岩手県

環境省自然環境局・生物多様性センター. 2006. 第 7 回自然環境保全基礎調査、種の多様性調査 (岩手県)報告書.

Oi, T. 2009. Anthropogenic mortality of Asiatic black bears in two populations in northern Honshu, Japan. Ursus 20(1):22-29.

\_\_\_\_\_

# 1.5 北上山地へア・トラップ位置の設定

米田政明・根本唯・高橋 聖生・藤田昌弘(自然環境研究センター)

#### 1. はじめに

北上山地中央部の青松葉山地域を、本研究におけるツキノワグマを対象とした広域へア・トラップ調査地とした。「1.3 北上山地へア・トラップ調査地の環境構造」で述べたように、調査地の最外周のトラップを結ぶ面積は 607km²であり、標高は約 60m から 1,366m の範囲にある。落葉広葉樹二次林が優占するが、高標高地にはシラカンバ林、低地にはアカマツ林とスギ植林、そして標高 200m から 800m あたりまではカラマツ植林地も多い。人家は、調査地北西部の岩洞湖岸、北東部の小本川沿い、東側の刈屋川沿い、南側の閉伊川沿い、および中央部の大川周辺に点在する。人家近くには畑作地があり、調査地北部の早坂高原、南部の堺の神山周辺には放牧地がある。ヘア・トラップ法による 2 年次目(2010 年度)からの本格調査に向けて、1 年次(2009 年度)にはヘア・トラップ設置の全体設計、トラップ・サイトの選定および予備調査を行った。予備調査では、トラップ設定手順の確認およびトラップ設置に必要な労力の算定に重点をおいた。

## 2. ヘア・トラップ設置場所の選定

#### 2-1. 設置設計

北上山地におけるヘア・トラップ調査では、既存調査事例およびツキノワグマの行動圏面積から、1×1km 区画にトラップ1基(高密度トラップ設置)および2×2km 区画にトラップ1基(低密度トラップ設置)の2つのトラップ密度による設置を計画した。ヘア・トラップ設置予定地を選定する際、設置予定地の現地確認に先立ち、調査地域全体の把握のために図上で地形、河川の流入状況およびアクセス条件として道路や林道の配置を確認した。

#### 2-2. ヘア・トラップ設置予定地選定予備作業(図上選別での選定基準)

トラップ設置位置の選定には、「統計に用いる標準地域メッシュ及び標準地域メッシュコード」 (昭和48年行政管理庁告示143号)に基づく岩手県メッシュマップ (1kmメッシュ (3次メッシュ)マップ)を利用した。このメッシュマッップから、以下のようなツキノワグマが利用しやすい環境と考えられる条件の地域を図上で最初に選定した。

- (i) 基本的には平坦地であるが、30度程度の傾斜地でも獣道は形成される事がある。
- (ii) 等高線に沿った獣道が作られる事がある。
- (iii) 平坦地と急傾斜地の境目など地形が急激に変化するところに沿って獣道が作られる事がある。
- (iv) 2 つの沢、渓流の合流地点に平坦地が形成される事があるが、そのようなところにけもの 道が集合したり、そこに生育する植物に食痕が認められることがある。
- (v) 湿地帯境界付近に森林が発達するような場合、獣道の出入り口が形成される事がある。
- (vi) 人工的な作業道などがけもの道として利用される事がある。

この条件にあてはまる地域として、1km メッシュレベルで約 460 か所の地点をトラップ設置候補地として選定した。

#### 2-3. ヘア・トラップ設置予定地現地選定作業

トラップ設置候補地に対して、2009 年 9 月 15 日から 10 月 30 日までに設置可能性現地調査を 実施した。先述のとおりあらかじめ図上で目安を付けていた設置候補地まで行き、現地の植生や 実際の地質など環境を考慮しながら下記の条件に基づき候補地の選定を行った。トラップ設置候 補地が下記の条件に適合しない場合は、代替地の可能性も調査した。また、特にアクセスの難易 性を考慮して実際の設置位置を微調整した。

- (i) 落葉広葉樹林であること。原則として針葉樹の植林地は選定対象外とした。
- (ii) 1×1 k m (高密度トラップ設置) あるいは 2×2 k m (低密度トラップ設置) 内の大部分が大 規模に植林され適当な落葉広葉樹林がない場合、沢筋、尾根筋などに保安帯として残され る落葉広葉樹林帯、雑木林から適地を探索した。
- (iii) ヘア・トラップの平面寸法として 4×4mが確保できる環境であることが望ましいため、有刺鉄線の敷設に適し、誘因物を設置しやすい立木が選択可能であるかどうかも考慮した。
- (iv) 原則として平坦地であるが、作業に危険性がなければ 30 度程度の傾斜地でも可とした。 ただし、落葉広葉樹林帯であること、可能であれば周囲に、ツキノワグマの痕跡の他けも の道など何らかの動物の痕跡が認められることも一つの指標とした。
- (v) 自然立木が利用できない条件では補助支柱(径 12mm、長 1,500mm)が埋設できる土質の ところを選択した。
- (vi) 車両通行可能な林道・道路などから 10 分以内に到達できる範囲内であること。
- (vii) 民家、集落、田畑など圃場、人工的な利用施設などからは、原則として 100m程度離すことを原則とした。
- (viii) 各へア・トラップ間隔はなるべく一定になるように心掛けたが、上記条件に合わない場合、 アクセスに膨大な労力がかかる場合はこの限りとしなかった。

選定したすべての設置予定地点は、標準地域メッシュコードで 2 次メッシュコードの 5941--区 画(ハイフン以下を含めた 6 ケタ)に含まれるので、ハイフン以下 2 桁と 3 次メッシュコードを 組み合わせた 4 桁の数字をヘア・トラップの固有番号として用いた(例: 2 次メッシュコード 5941 - 44 の 53 であれば 4453)。

#### 3. 予定地選定結果

ヘア・トラップ設置予定地点へのアクセス状況確認ならびに設置予定地の選定作業の結果、 $1 \times 1 \text{km}$ の高密度設置予定地と  $2 \times 2 \text{km}$ の低密度設置予定地で合計 262 か所を選定した。ピンク色で示した区画が高密度トラップ設置( $1 \times 2 \text{km}$  を行うメッシュで、それ以外の区画が低密度トラップ設置( $1 \times 2 \text{km}$  としたメッシュである( $2 \times 2 \text{km}$  を自部分は、先述した選定条件に合致しない、あるいは当該メッシュに到達するためには徒歩で  $2 \times 2 \text{km}$  時間以上必要とするためへア・トラップの設置を行わない地域である。選定したヘア・トラップ設置予定地の詳細位置を  $2 \times 2 \text{km}$  の設置を行わない地域である。選定したヘア・トラップ設置予定地の詳細位置を  $2 \times 2 \text{km}$  の  $2 \times 2 \text{$ 

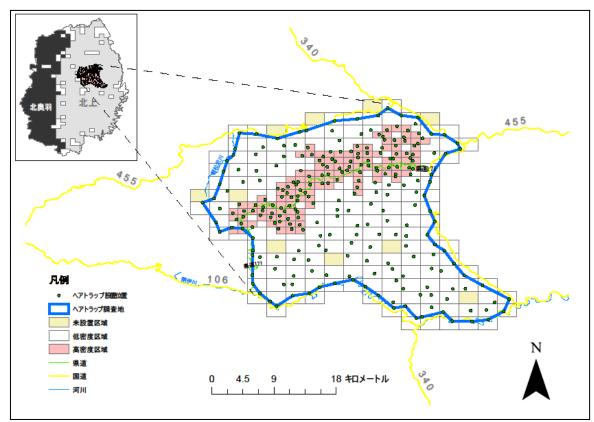


図 1 北上山地における調査地の位置および高密度と低密ず度トラップの配置



図2 トラップ設置位置

表 1 ヘア・トラップ設置地点選定数

トラップ密度区分	潜在メッシュ数	設置可能メッシュ数	達成率 (%) <sup>1)</sup>
低密度地域(1 基/4km²)	189	171	90
高密度地域(1 基/1km²)	123 - 135	111	90 - 82
	312 - 324	262	

<sup>1)</sup> 図上で選定した候補地数に対する現地調査による実際の選定数の割合を示す

調査地域は標高 60m から 1,366m の範囲にあるが、1,000m 以上の高標高地の面積割合は少ない。 選定したトラップ設置選定地において、GPS 受信機および 25,000 分の 1 地形図から標高を読み取りその頻度分布を求めた(図 3)。トラップ設定選定地の標高は、最低標高 100m、最高標高 1,180m、平均標高 661m であった。全へア・トラップ設定選定地の約 73%は標高 401m から 1,000m のレンジに分布した。

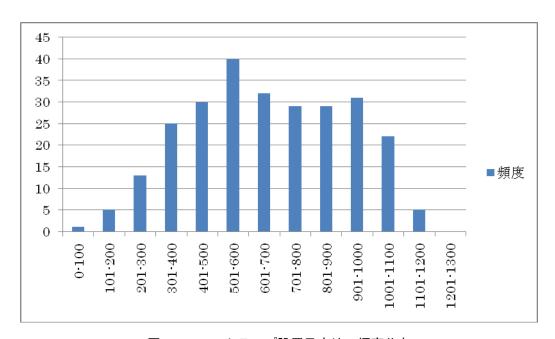


図2 ヘア・トラップ設置予定地の標高分布

**付表 1** に北上山地青松葉山地区へア・トラップ設定予定地の位置、植生、標高、土地所有区分一覧を示した。

付表1 トラップ設定予定地一覧

付表 1 ト	ノツノ政	定予定地一覧	,			
コード 番号	緯度	経度	市町村	森林所有者	植生上層	標高 (m)
4316	39.41000	141.27097	岩泉町	民有林	落葉広葉樹林	1050
4326	39.41212	141.27120	岩泉町	民有林	落葉広葉樹林	1035
4346	39.42197	141.27111	岩泉町	国有林	落葉広葉樹林	912
4353	39.42496	141.24357	岩泉町	国有林	落葉広葉樹林	950
4354	39.43097	141.25320	岩泉町	国有林	落葉広葉樹林	976
4355	39.43046	141.26230	岩泉町	国有林	落葉広葉樹林	877
4359	39.43034	141.29129	岩泉町	国有林	落葉広葉樹林	984
4362	39.43329	141.24186	岩泉町	国有林	落葉広葉樹林	991
4364	39.43475	141.25556	岩泉町	国有林	落葉広葉樹林	850
4365	39.43284	141.26162	岩泉町	国有林	落葉広葉樹林	825
4366	39.43113	141.27093	岩泉町	国有林	落葉広葉樹林	980
4368	39.43310	141.28536	岩泉町	国有林	落葉広葉樹林	1022
4369	39.43371	141.29176	岩泉町	国有林	落葉広葉樹林	867
4374	39.44172	141.25370	岩泉町	国有林	落葉広葉樹林	910
4375	39.44009	141.26264	岩泉町	国有林	落葉広葉樹林	811
4377	39.44078	141.27470	岩泉町	国有林	落葉針葉樹林	947
4378	39.43578	141.28342	岩泉町	国有林	落葉広葉樹林	1048
4379	39.44048	141.29167	岩泉町	国有林	落葉針葉樹林	814
4383	39.44386	141.24359	岩泉町	国有林	落葉広葉樹林	1020
4385	39.44273	141.26293	岩泉町	国有林	落葉広葉樹林	907
4386	39.44281	141.27116	岩泉町	国有林	落葉広葉樹林	803
4387	39.44292	141.27569	岩泉町	国有林	落葉広葉樹林	854
4388	39.44171	141.28416	岩泉町	国有林	落葉広葉樹林	1074
4389	39.44250	141.29403	岩泉町	国有林	落葉広葉樹林	692
4395	39.44591	141.26076	岩泉町	国有林	落葉広葉樹林	1016
4396	39.44547	141.27232	岩泉町	国有林	落葉広葉樹林	787
4397	39.44449	141.27232	岩泉町	国有林	落葉広葉樹林	801
4397	39.44554	141.28440	岩泉町	国有林	落葉広葉樹林	721
4398			岩泉町	国有林		+
	39.44409	141.29241 141.32283	岩泉町		落葉広葉樹林	726
4443	39.42313		岩泉町	国有林	落葉広葉樹林	1180
	39.42360	141.33113 141.30137	岩泉町	国有林 国有林	落葉広葉樹林 落葉広葉樹林	1100
4450	39.43024		岩泉町			1152
4451	39.42596	141.31064		国有林	落葉広葉樹林	774
	39.43260	141.30061	岩泉町	国有林	落葉針葉樹林	1005
4461	39.43227	141.30514	岩泉町	国有林	落葉広葉樹林	845
4463	39.43332	141.32125	岩泉町	国有林	落葉広葉樹林	1150
4467	39.43193	141.35213	岩泉町	国有林	落葉針葉樹林	884
4468	39.43242	141.36088	岩泉町	国有林	落葉広葉樹林	1027
4470	39.43509	141.29568	岩泉町	国有林	落葉広葉樹林	885
4471	39.43562	141.30432	岩泉町	国有林	落葉広葉樹林	780
4475	39.44034	141.33476	岩泉町	国有林	落葉広葉樹林	821
4480	39.44365	141.30307	岩泉町	国有林	落葉広葉樹林	704
4481	39.44228	141.30404	岩泉町	国有林	落葉針葉樹林	690
4485	39.44337	141.33469	岩泉町	国有林	落葉針葉樹林	735
4486	39.44291	141.34398	岩泉町	国有林	落葉広葉樹林	692
4490	39.44528	141.30028	岩泉町	民有林	落葉広葉樹林	662
4491	39.45167	141.30402	岩泉町	国有林	落葉針葉樹林	644
4492	39.45040	141.31542	岩泉町	民有林	落葉広葉樹林	783
4498	39.45003	141.36249	岩泉町	国有林	落葉広葉樹林	860
4580	39.44287	141.37217	岩泉町	国有林	落葉広葉樹林	1129

5309	39.45343	141.29277	岩泉町	国有林	落葉広葉樹林	803
5319	39.46060	141.29320	岩泉町	国有林	落葉広葉樹林	854
5329	39.46135	141.29087	岩泉町	国有林	落葉広葉樹林	921
5400	39.45319	141.30122	岩泉町	国有林	落葉広葉樹林	655
5401	39.45377	141.30420	岩泉町	国有林	落葉広葉樹林	588
5402	39.45351	141.31331	岩泉町	民有林	落葉広葉樹林	673
5405	39.45169	141.33545	岩泉町	国有林	落葉広葉樹林	700
5410	39.45521	141.29512	岩泉町	国有林	落葉広葉樹林	844
5411	39.46047	141.30545	岩泉町	民有林	落葉広葉樹林	605
5412	39.45533	141.31174	岩泉町	民有林	落葉広葉樹林	574
5417	39.45500	141.35072	岩泉町	民有林	落葉広葉樹林	561
5419	39.45561	141.36495	岩泉町	国有林	落葉広葉樹林	821
5420	39.46302	141.30302	岩泉町	国有林	常緑針葉樹林	718
5422	39.46310	141.31400	岩泉町	民有林	落葉広葉樹林	596
5423	39.46367	141.32368	岩泉町	民有林	落葉広葉樹林	573
5424	39.46384	141.33040	岩泉町	民有林	落葉広葉樹林	609
5427	39.46189	141.35202	岩泉町	民有林	落葉広葉樹林	545
5430	39.46216	141.29568	岩泉町	国有林	落葉広葉樹林	998
5431	39.46448	141.30438	岩泉町	民有林	落葉広葉樹林	847
5432	39.47101	141.31348	岩泉町	民有林	落葉広葉樹林	598
5433	39.47151	141.32356	岩泉町	民有林	落葉広葉樹林	528
5435	39.46534	141.33461	岩泉町	民有林	落葉広葉樹林	477
5437	39.46495	141.35280	岩泉町	民有林	落葉広葉樹林	525
5439	39.46404	141.36446	岩泉町	国有林	落葉広葉樹林	600
5440	39.46426	141.30211	岩泉町	国有林	落葉広葉樹林	728
5441	39.47372	141.30560	岩泉町	民有林	落葉針葉樹林	818
5444	39.47203	141.33046	岩泉町	民有林	常緑針葉樹林	511
5445	39.47297	141.34092	岩泉町	民有林	落葉広葉樹林	544
5446	39.47378	141.34333	岩泉町	民有林	落葉広葉樹林	685
5447	39.47289	141.35348	岩泉町	民有林	落葉広葉樹林	497
5453	39.48061	141.32393	岩泉町	民有林	落葉広葉樹林	666
5454	39.47542	141.33002	岩泉町	民有林	落葉広葉樹林	595
5455	39.47475	141.33584	岩泉町	民有林	常緑針葉樹林	606
5456	39.47552	141.34436	岩泉町	民有林	落葉広葉樹林	782
5457	39.48046	141.35393	岩泉町	民有林	落葉広葉樹林	480
5458	39.48014	141.36130	岩泉町	民有林	落葉広葉樹林	391
5459	39.47500	141.36496	岩泉町	民有林	落葉広葉樹林	380
5463	39.48251	141.32236	岩泉町	民有林	落葉広葉樹林	724
5464	39.48312	141.33231	岩泉町	国有林	落葉広葉樹林	939
5465	39.48212	141.33373	岩泉町	民有林	落葉広葉樹林	954
5466	39.48214	141.34501	岩泉町	民有林	落葉広葉樹林	517
5467	39.48382	141.35243	岩泉町	民有林	落葉広葉樹林	506
5468	39.48253	141.36117	岩泉町	民有林	落葉広葉樹林	462
5472	39.48518	141.31478	岩泉町	公有林	落葉広葉樹林	1013
5473	39.48429	141.32412	岩泉町	国有林	落葉広葉樹林	922
5474	39.49058	141.33156	岩泉町	民有林	落葉広葉樹林	950
5475	39.49062	141.34022	岩泉町	民有林	落葉広葉樹林	800
5476	39.49075	141.34520	岩泉町	民有林	落葉広葉樹林	848
5477	39.48572	141.35244	岩泉町	民有林	落葉広葉樹林	901
5478	39.48597	141.36073	岩泉町	民有林	落葉広葉樹林	706
5481	39.49254	141.31283	岩泉町	公有林	落葉広葉樹林	980
5487	39.49313	141.35206	岩泉町	民有林	落葉広葉樹林	871
5488	39.49238	141.36057	岩泉町	民有林	落葉広葉樹林	708
5489	39.50015	141.37283	岩泉町	民有林	落葉広葉樹林	528
2 107	27.00010	1.0 / 200	· III > 1 ~ 1	- 4 13 LL.	1 H 2 L 2 L 2 L 2 L 2 L 1 L 1 L 1 L 1 L 1 L	

5495	39.49588	141.33566	岩泉町	民有林	落葉針葉樹林	603
5504	39.45407	141.40345	岩泉町	民有林	落葉広葉樹林	442
5510	39.45443	141.37424	岩泉町	国有林	落葉広葉樹林	997
5513	39.45558	141.39580	岩泉町	国有林	落葉広葉樹林	535
5522	39.46285	141.38591	岩泉町	国有林	落葉広葉樹林	1009
5530	39.46298	141.37494	岩泉町	民有林	落葉広葉樹林	736
5531	39.47089	141.38195	岩泉町	民有林	落葉広葉樹林	523
5533	39.46503	141.40050	岩泉町	民有林	落葉広葉樹林	430
5534	39.46448	141.41018	岩泉町	民有林	落葉広葉樹林	328
5540	39.47214	141.37317	岩泉町	民有林	落葉広葉樹林	510
5541	39.47195	141.38199	岩泉町	民有林	落葉広葉樹林	479
5542	39.47191	141.39303	岩泉町	民有林	落葉広葉樹林	557
5545	39.47178	141.41087	岩泉町	民有林	落葉広葉樹林	310
5549	39.47369	141.36548	岩泉町	民有林	落葉広葉樹林	409
5550	39.47507	141.37482	岩泉町	民有林	落葉広葉樹林	362
5551	39.47540	141.38281	岩泉町	民有林	落葉広葉樹林	369
5552	39.47503	141.39237	岩泉町	民有林	落葉広葉樹林	367
5553	39.47458	141.39417	岩泉町	民有林	常緑針葉樹林	404
5560	39.48338	141.37553	岩泉町	民有林	落葉広葉樹林	498
5561	39,48330	141.38095	岩泉町	民有林	落葉広葉樹林	490
5562	39.48361	141.39298	岩泉町	民有林	落葉広葉樹林	443
5563	39.48236	141.39402	岩泉町	民有林	落葉広葉樹林	291
5570	39.49003	141.37099	岩泉町	民有林	落葉広葉樹林	664
5571	39.48567	141.38241	岩泉町	民有林	落葉広葉樹林	603
5572	39.48580	141.39129	岩泉町	民有林	落葉広葉樹林	508
5573	39.48530	141.39408	岩泉町	民有林	落葉広葉樹林	436
5575	39.48593	141.41115	岩泉町	民有林	落葉広葉樹林	381
5576	39.48576	141.42143	岩泉町	民有林	落葉広葉樹林	255
5580	39.49240	141.37174	岩泉町	民有林	落葉広葉樹林	590
5581	39.49344	141.38209	岩泉町	民有林	落葉広葉樹林	644
5583	39.49333	141.39487	岩泉町	民有林	落葉広葉樹林	687
5588	39.49195	141.43234	岩泉町	民有林	落葉広葉樹林	275
5591	39.50005	141.38154	岩泉町	民有林	落葉広葉樹林	554
5592	39.49572	141.39043	岩泉町	民有林	落葉針葉樹林	741
5593	39.49436	141.40050	岩泉町	民有林	落葉広葉樹林	503
	39.50091	141.40267	岩泉町	民有林	落葉広葉樹林	405
5596	39.50250	141.42093	岩泉町	民有林	落葉広葉樹林	237
5597	39.49453	141.43104	岩泉町	民有林	常緑針葉樹林	250
6401	39.50397	141.30510	岩泉町	公有林	落葉広葉樹林	902
6402	39.50468	141.31288	岩泉町	民有林	落葉広葉樹林	637
6407	39.50289	141.35396	岩泉町	民有林	落葉広葉樹林	607
6414	39.50446	141.33231	岩泉町	民有林	落葉広葉樹林	550
6418	39.50473	141.36236	岩泉町	民有林	落葉広葉樹林	602
6425	39.51311	141.33344	岩泉町	民有林	落葉広葉樹林	513
6427	39.51404	141.35203	岩泉町	民有林	落葉広葉樹林	599
6429	39.51570	141.36586	岩泉町	民有林	落葉広葉樹林	377
6499	39.50277	141.37027	岩泉町	民有林	落葉広葉樹林	654
6500	39.50175	141.37213	岩泉町	民有林	落葉広葉樹林	579
6501	39.50143	141.38591	岩泉町	民有林	落葉広葉樹林	740
6503	39.50315	141.40090	岩泉町	民有林	落葉広葉樹林	429
6504	39.50289	141.41082	岩泉町	民有林	落葉針葉樹林	270
6510	39.50478	141.37402	岩泉町	民有林	落葉広葉樹林	502
6511	39.51058	141.38264	岩泉町	民有林	落葉広葉樹林	432
6512	39.50459	141.39178	岩泉町	民有林	落葉広葉樹林	474

6513   39.51	141.39534	岩泉町	民有林	落葉広葉樹林	315
6523 39.514	163 141.40054	岩泉町	民有林	落葉広葉樹林	317
6531 39.51:	568 141.38460	岩泉町	民有林	落葉広葉樹林	435
6540 39.523	313 141.37436	岩泉町	民有林	落葉広葉樹林	349
3529 39.363	389 141.44128	宮古市新里	民有林	落葉広葉樹林	400
3546 39.37		宮古市新里	民有林	落葉広葉樹林	435
3555 39.375		宮古市新里	民有林	落葉広葉樹林	801
3564 39.382	+	宮古市新里	民有林	落葉針葉樹林	925
3568 39.382		宮古市新里	民有林	落葉広葉樹林	284
3569 39.382		宮古市新里	民有林	常緑針葉樹林	274
3588 39.392		宮古市新里	民有林	落葉広葉樹林	337
3596 39.393	+	宮古市新里	民有林	落葉広葉樹林	585
3597 39.394		宮古市新里	民有林	落葉広葉樹林	492
3610 39.35	+	宮古市新里	民有林	落葉広葉樹林	150
3622 39.363	+	宮古市新里	民有林	常緑針葉樹林	100
3630 39.364		宮古市新里	民有林	落葉広葉樹林	200
3641 39.37	+	宮古市新里	民有林	落葉広葉樹林	270
3643 39.373	+	宮古市新里	民有林	落葉広葉樹林	110
3660 39.383	+	宮古市新里	民有林	常緑針葉樹林	143
4449 39.423	+	宮古市新里	民有林	落葉広葉樹林	890
4502 39.403		宮古市新里	民有林	落葉針葉樹林	969
4507 39.40	197 141.42544	宮古市新里	民有林	落葉広葉樹林	272
4515 39.410		宮古市新里	民有林	落葉広葉樹林	450
4526 39.412		宮古市新里	民有林	落葉広葉樹林	244
4532 39.414	132 141.39087	宮古市新里	民有林	常緑針葉樹林	463
4535 39.414	+	宮古市新里	民有林	落葉広葉樹林	295
4541 39.423	373 141.38214	宮古市新里	民有林	落葉広葉樹林	470
4542 39.423	301 141.39105	宮古市新里	民有林	落葉広葉樹林	400
4554 39.423	356 141.40486	宮古市新里	民有林	落葉広葉樹林	650
4560 39.434	120 141.37414	宮古市新里	民有林	落葉広葉樹林	1050
4562 39.432	200 141.39134	宮古市新里	民有林	落葉広葉樹林	846
4565 39.433	365 141.41238	宮古市新里	民有林	落葉広葉樹林	360
4585 39.442	261 141.41027	宮古市新里	民有林	落葉広葉樹林	540
4593 39.445	554 141.39520	宮古市新里	民有林	落葉広葉樹林	355
3338 39.365	599 141.29027	宮古市川井	国有林	落葉広葉樹林	673
3348 39.372	+	宮古市川井	国有林	落葉広葉樹林	606
3357 39.380		宮古市川井	国有林	落葉広葉樹林	523
3359 39.384		宮古市川井	国有林	落葉広葉樹林	723
3366 39.384		宮古市川井	国有林	落葉広葉樹林	665
3386 39.392	271 141.27089	宮古市川井	国有林	落葉広葉樹林	722
3398 39.39		宮古市川井	国有林	落葉広葉樹林	1073
3450 39.374		宮古市川井	国有林	落葉広葉樹林	543
3452 39.380		宮古市川井	国有林	落葉広葉樹林	515
3459 39.37:	508 141.36591	宮古市川井	民有林	落葉広葉樹林	313
3460 39.384	128 141.30162	宮古市川井	国有林	落葉広葉樹林	905
3463 39.382	290 141.32232	宮古市川井	民有林	落葉広葉樹林	433
3468 39.383		宮古市川井	民有林	常緑針葉樹林	350
3470 39.392		宮古市川井	国有林	落葉広葉樹林	916
3475 39.384		宮古市川井	民有林	落葉広葉樹林	410
3476 39.390	048 141.35012	宮古市川井	民有林	落葉広葉樹林	442
3484 39.392	261 141.32571	宮古市川井	民有林	落葉広葉樹林	480
3486 39.39	193 141.34440	宮古市川井	民有林	落葉広葉樹林	536
3489 39.393	332 141.36421	宮古市川井	民有林	落葉広葉樹林	470
1					

3513	39.36042	141.39570	宮古市川井	民有林	落葉広葉樹林	609
3514	39.36093	141.40246	宮古市川井	民有林	落葉広葉樹林	350
3517	39.35500	141.42460	宮古市川井	民有林	落葉広葉樹林	230
3519	39.35478	141.44178	宮古市川井	民有林	落葉広葉樹林	180
3531	39.36510	141.38119	宮古市川井	民有林	落葉広葉樹林	368
3532	39.37001	141.39058	宮古市川井	民有林	落葉広葉樹林	340
3535	39.36543	141.41094	宮古市川井	民有林	落葉広葉樹林	337
3541	39.37188	141.38093	宮古市川井	民有林	落葉広葉樹林	321
3554	39.37533	141.40159	宮古市川井	民有林	落葉広葉樹林	763
3562	39.38220	141.38574	宮古市川井	民有林	落葉広葉樹林	475
3571	39.39005	141.38234	宮古市川井	民有林	落葉広葉樹林	434
3582	39.39214	141.38556	宮古市川井	民有林	落葉広葉樹林	524
3590	39.40217	141.37448	宮古市川井	民有林	落葉広葉樹林	676
3591	39.39551	141.38059	宮古市川井	民有林	常緑針葉樹林	529
3626	39.36323	141.42032	宮古市川井	民有林	落葉広葉樹林	331
4317	39.40507	141.27442	宮古市川井	国有林	落葉広葉樹林	1140
4318	39.40519	141.29036	宮古市川井	国有林	落葉広葉樹林	908
4400	39.40400	141.30242	宮古市川井	国有林	落葉広葉樹林	749
4402	39.40366	141.31313	宮古市川井	国有林	落葉広葉樹林	676
4408	39.40329	141.36056	宮古市川井	民有林	落葉広葉樹林	570
4416	39.40571	141.34353	宮古市川井	民有林	落葉広葉樹林	580
4421	39.41207	141.30464	宮古市川井	国有林	落葉針葉樹林	950
4424	39.41228	141.32542	宮古市川井	国有林	落葉広葉樹林	940
4428	39.41373	141.36216	宮古市川井	民有林	落葉広葉樹林	1030
4433	39.41444	141.32204	宮古市川井	国有林	落葉広葉樹林	1062
4436	39.41578	141.34534	宮古市川井	民有林	落葉広葉樹林	670
4447	39.42367	141.35177	宮古市川井	国有林	落葉広葉樹林	1020
4392	39.44403	141.24034	盛岡市	国有林	落葉広葉樹林	1079
5302	39.45266	141.24089	盛岡市	国有林	落葉広葉樹林	1082
5312	39.45498	141.23564	盛岡市	国有林	落葉広葉樹林	1012
5313	39.46016	141.25124	盛岡市	国有林	落葉広葉樹林	1053
5323	39.46331	141.24355	盛岡市	国有林	落葉広葉樹林	997
5325	39.46442	141.26253	盛岡市	国有林	落葉広葉樹林	925
5327	39.46516	141.27431	盛岡市	国有林	落葉広葉樹林	905
5335	39.47310	141.26162	盛岡市	国有林	落葉広葉樹林	987
5343	39.44331	141.24537	盛岡市	国有林	落葉広葉樹林	820
5357	39.47366	141.27276	盛岡市	国有林	落葉針葉樹林	810
5358	39.48001	141.29008	盛岡市	国有林	落葉広葉樹林	897
5364	39.48237	141.25106	盛岡市	国有林	落葉広葉樹林	793
5374	39.48506	141.25398	盛岡市	国有林	落葉広葉樹林	732
5376	39.48542	141.27250	盛岡市	国有林	落葉広葉樹林	763
5379	39.48445	141.29361	盛岡市	国有林	落葉広葉樹林	1071
5384	39.49195	141.25480	盛岡市	民有林	落葉広葉樹林	707
5387	39.49275	141.27585	盛岡市	国有林	落葉広葉樹林	752
5389	39.49342	141.29370	盛岡市	国有林	落葉広葉樹林	864
5399	39.50083	141.29075	盛岡市	国有林	落葉広葉樹林	758
5471	39.48475	141.31030	盛岡市	国有林	落葉広葉樹林	966
5490	39.49384	141.30295	盛岡市	国有林	落葉広葉樹林	564
6305	39.50340	141.26087	盛岡市	民有林	落葉広葉樹林	710
6306	39.50285	141.27272	盛岡市	民有林	落葉広葉樹林	671

-----

# 1.6 ヘア・トラップの設置に要する作業量

常田 邦彦・高橋 聖生・藤田 昌弘・黒崎 敏文(自然環境研究センター)

## 1. はじめに

クマ類(ヒグマとツキノワグマ)を対象とした日本国内におけるヘア・トラップ調査は、地方自治体が専門の研究機関や民間に委託し、実施していることが多い。そのため、調査に対する様々な制約(予算、期間、地形条件、規模等)があり、既存の調査対象地域は概ね 100~200 km²である。本研究は、北上高地の青松葉山周辺約 607km²を研究対象地域として設定し、2010 年度に大規模ヘア・トラップ調査の実施を予定している。大規模ヘア・トラップ調査を円滑に進めるため、2009 年度は調査対象地域内にモデル地域を設定しヘア・トラップの設置試験と予備調査を行った。予備調査では、(1)ヘア・トラップの構造の有効性の確認、(2) 設置作業手順の確認、(3)ヘア・トラップ調査を行うための作業量(トラップ設置要する作業時間及び見回り時間等)、および(4)トラップ単価を算出すること、を主な目的とした。

## 2. モデル地域の選定とトラップ資材

#### 2-1. モデル地域の概要

大規模へア・トラップ調査を 2010 年度に予定する地域(北上高地地域の岩手県南部、下閉伊郡岩泉町、盛岡市、宮古市川井(旧川井村)、宮古市新里地区にまたがり、南縁は閉伊川、東縁は刈屋川、北縁を小本川、三田貝川ならびに西縁を軽松沢川と県道 171 号線に囲まれる範囲)内で、以下の点を考慮して予備調査のためのモデル地域を選定した。

- (i) 次年度調査と同様に高密度地域と低密度地域を選定する
- (ii) ヘア・トラップを設置する森林環境を異にする(落葉広葉樹、針葉樹、人間活動域等)
- (iii) 国有地と民有地を組み合わせる

その結果、民有地の田山地域(7ヶ所)、国有地では三陸北部森林管理署所管内の釜津田地域(20ヶ所)、盛岡森林管理署所管内の外山地域(8ヶ所)の3地域をモデル地域とした。また、これら3地域に合計35ヶ所に予備的試験のためへア・トラップを設置した(表1、図1)(詳細は付表1参照)。

	= 7 7 7 D - 3/1 = 00 1	., 0 , , ,	7	
トラップ密度	外山地域	田山地域	釜津田地域	計
低密度地域(1 基/4km²)	8	7	0	15
高密度地域(1 基/1km²)	0	0	20	20

表 1 モデル地域におけるヘア・トラップ設置状況

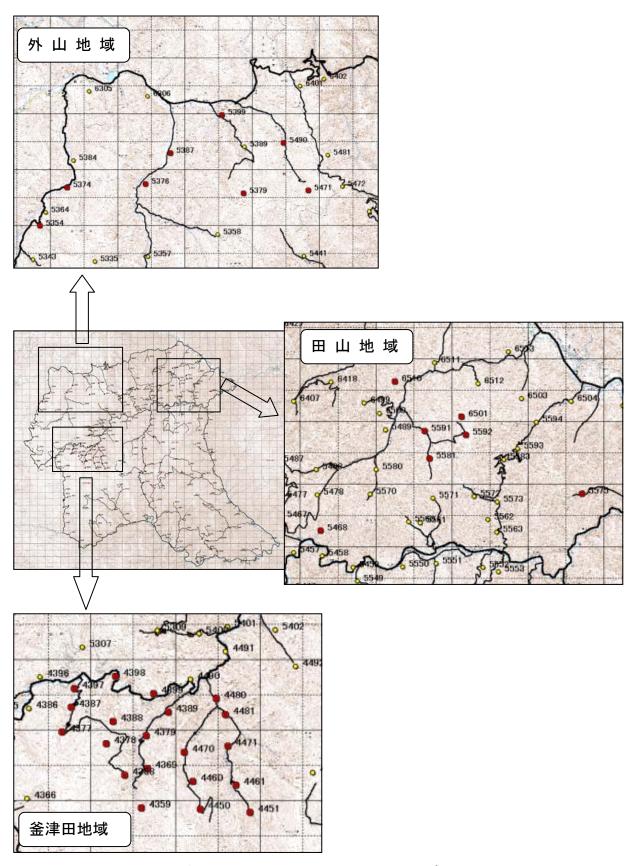


図 1 モデル地域における 2009 年度ヘア・トラップ設置場所 赤点が試験的に設置した地点、黄色点は次年度設置予定地点

### 2-2. ヘア・トラップの構造と資材

#### 2-2-1. 構造

トラップの基本構造を図 2 に示した(写真 5-1)。ヘア・トラップは、有刺鉄線を立木や支柱を利用して、一辺の長さが約 4m(最小約 2.5m、最大約 4.5m)の四角形の囲いとなるよう設置した。有刺鉄線は 1 段張りとし、地表から約 40cm(35cm 以上 50cm 未満)の高さを基本とした。また、35 ヶ所中 3 ヶ所(トラップ番号;4377、5379、6501)については、体毛の採取率を上げるため、四角形の対角線にも有刺鉄線を敷設した(写真 5-2)。ヘア・トラップの設置に際し立木を利用する場合は、有刺鉄線による樹木への傷防止のため、幅約 5cm の麻布テープ(養生テープ)を幹に巻きつけた(写真 5-3)。また、立木を利用できない場合や地面の凹凸にあわせて、16mm 径、1,500mm 長さの園芸用ポールを用い調整した(写真 5-4)。ヘア・トラップ設定地の選定では植林地を避けたが、予備調査地にたまたま植林木があった場合も、有刺鉄線による損傷を避けるため植林木は利用していない。

誘引物としてハチミツを入れたペットボトルを使用した。ペットボトルは、ヘア・トラップ中央部の地上 2m以上の高さに来るよう、対角に当たる立木などに紐を張り配置した(写真 5-5)。 容量 500ml のペットボトルの上部周囲に 5mm 径の穴を 10 か所ほどに穴をあけ、蜂蜜ニオイの通気を確保した(写真 5-6)。一つの誘因用ペットボトルに使用した蜂蜜は約 200ml であった。

人への安全対策として、有刺鉄線を用いたヘア・トラップが設置してある旨の注意看板をヘア・トラップの対角上2か所以上に張り付け(写真5-7)、さらに敷設した有刺鉄線に黄色の標識テープで注意喚起をした(写真5-8)。

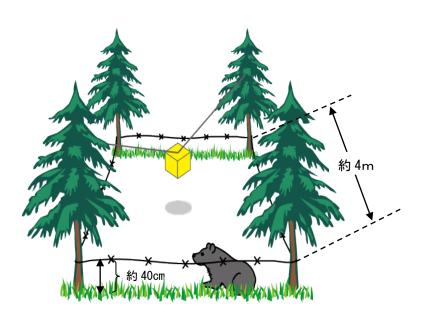


図2 ヘア・トラップの基本構造

#### 2-2-2. 資材

今回の試験的設置に用いたヘア・トラップ 1 ヶ所を設置するために必要な資材は、以下のとおりである。

- (i) ヘア・トラップ本体:有刺鉄線、必要に応じて園芸用ポールや養生テープ
- (ii) 誘引物質関係:蜂蜜と容器のペットボトル及び吊りひも

- (iii) 安全対策:注意看板と目印テープ
- (iv) その他:カマ、ハンマー、ペンチ、革手袋、標識テープ、脚立、針金など

表2に予備調査で使用したヘア・トラップ1基あたりの資材、規格、標準的な数量と単価を示した。記載した資材で1ヶ所のヘア・トラップを設置する場合、合計金額は約1,300円であった。ただし、この金額はひとつの参考値であり、特に地形と植生条件による補助ポールの使用量で金額は変動する。また、ヘア・トラップの資材ではないが、設置するためにハンディーGPS、クマよけ鈴、クマスプレー等の準備が必要である。

表 2 ヘア・トラップ 1 基あたりに必要な資材

項目	品 名	数量	規格	単 価*
トラップ本体	有刺鉄線	13m~25m(対角線)	20m (#16)	800 円
	園芸用ポール	0~5 本(地形条件で異なる)	1,200cm (\phi16)	135 円
	養生テープ	1 m	15cm×20m	580 円
誘引関係	ビニールロープ	8m	5mm×300m	680 円
	誘引物 (蜂蜜)	200g	24kg	15,000 円
	ペットボトル	1本	500ml	(リサイクル)
安全対策	看板	2枚	-	_
	ビニールテープ	50cm	19mm×10m	50 円

<sup>\*:</sup>ホームセンターやメーカーカタログによる単価

# 3. モデル地域のおけるヘア・トラップ設置試験

#### 3-1. ヘア・トラップ設置の手順

ヘア・トラップ設置の現場作業に係る標準手順を以下に示した。

- (i) 地形、立地条件、利用する立木の配置等から設置場所(約4m×4m)を決める。
- (ii) 設置場所に下草がある場合は鎌、鋸を使って刈る(地権者の了承をとる)。
- (iii) 有刺鉄線を巻く立木に養生テープを巻き、樹木に傷がつかないようにする(写真 5-3)。
- (iv) 有刺鉄線を張る。
- (v) 対角線上にある立木にビニールロープを張り、誘因物を吊るす。誘因物は 500ml のペットボトルに直径 4mm の穴を 16 か所開けたものに蜂蜜を入れたものを用いる (写真 5~6)。
- (vi) 有刺鉄線が視認しやすいようにテープで目印をつける(写真 5-7)。
- (vii) 周辺にトラップが設置してある旨の注意制札を近くに張る(写真 5-8)。

#### 3-2. ヘア・トラップの設置・見回り・試料採取・撤収

2009 年 10 月 26 日から 11 月 5 日にかけて、予備調査地の計 35 カ所にヘア・トラップを設置した (表 3)。調査地は地権者の許可のとれた民有林 7 か所、国有林 28 か所で行った。各ヘア・トラップともに 1 セッション 7 夜とした。試験終了後直ちに有刺鉄線などを撤去し、現状を回復した。ヘア・トラップの見回りは以下の手順で行った。

- (i) 有刺鉄線にかかっている体毛(写真 5-9)をピンセットで取り、封筒に入れる。この際、ひとつの棘にかかっている体毛は同じ封筒にいれ、別の棘にかかっている体毛は別の封筒に入れた(写真 5-10)。
- (ii) ガスバーナーで有刺鉄線に残っている体毛を焼いた(写真 5-11)。

(iii) 誘引物が取られている、またはペットボトルに雨水や昆虫の侵入等がある場合は、誘引物を交換した。

予備調査では、外山地区での1カ所でツキノワグマの体毛を採取することができた。採集した 検体は、紙封筒にいれ必要事項を確認したのち、市販の乾燥材を入れた密封ビニール袋に収納し た。今回の採集検体は岩手県環境保健センターに送られ冷凍保存された。設置試験が晩秋であっ たこともあり、ほかのヘア・トラップではツキノワグマの来訪を示す痕跡は検出できなかった。 また、併設した4カ所の自動撮影装置にもツキノワグマの映像は撮影されていなかった。

表 3 試験的ヘア・トラップ設置状況等(2009年、北上山地青松葉山調査地)

地域名	設置数	設置日	回収日	設置期間	体毛の回収状況
田山地域	7ヶ所	10月26日	11月2日	7夜	なし
釜津田地域	20ヶ所	10月28日	11月4日	7夜	なし
外山地域	8ヶ所	10月29日	11月5日	7夜	1ヶ所から6刺に体毛

#### 3-3. トラップ設置および見回り作業に要する時間

#### 3-3-1. トラップの設置に要する時間

ヘア・トラップの設置作業に要する時間として、(1)トラップ設置場所までの車での移動時間、(2)林道から徒歩によるトラップサイトまでのアクセス時間、(3)設置作業時間、(4)トラップ間の車での移動時間等、があげられる。また、設置場所の環境要因(急峻な地形、ササが繁茂、ガレ場等)によって所要時間は異なる。予備調査から求めた、2人1組で作業した場合のヘア・トラップ設置に要する作業項目別の平均時間を表4に示した。比較的作業環境が良い場合、林道から徒歩でのトラップへのアクセス時間(往復)は平均で13分であった。トラップの設置に要する平均時間は20分であった。トラップ間の自動車での移動時間は10分から20分であった。合計時間は1カ所あたり43分から53分であった。作業環境が悪く、ササ刈り、急傾斜地での作業をした場合、作業時間がそれぞれ約10分および5分ずつ延長された。トラップの構造を二段張りにした場合、作業時間が5分延長された。対角線にも有刺鉄線を設置した場合、作業時間が5分延長された。予備調査におけるトラップ設置では、2人1組で作業した場合、平均で1日あたり7基のヘア・トラップを設置することができた。

#### 3-3-2. トラップ見回りに要する時間

ヘア・トラップの見回りに要する時間としては、(1)トラップ設置場所までの車での移動時間、(2)林道からトラップサイトへのアクセス時間、(3)体毛の有無の確認、(4)体毛があった場合は採取と残った体毛の処理時間、(5)トラップ間の車での移動時間、があげられる。2人1組で作業した場合のヘア・トラップの見回りに要する作業項目別の時間を表5に示した。比較的、作業環境が良い場合、林道から徒歩でのトラップへのアクセス時間(往復)は平均で13分であった。トラップの毛の回収に要する平均時間は10分であった。トラップ間の自動車での移動時間は10分から20分であった。合計時間はトラップ1カ所当たり33分から43分であった。作業環境が悪く、急傾斜地での作業をした場合、作業時間が約5分延長された。サンプルの数が多い場合は、作業時間がさらに10分から30分延長されると予想された。2人1組で作業した場合、平均で1日あたり8ヶ所のヘア・トラップの見回りが可能であった。

### 3-3-3. トラップ撤収に要する時間

調査地終了後、ヘア・トラップは撤収する必要がある。予備調査における、ヘア・トラップの撤収に要した時間を**表**6に示した。林道から徒歩でのトラップサイトへのアクセス時間(往復)は、設置や見回りと同様、平均で13分であった。トラップの撤収に要する平均時間は20分であった。トラップ間の自動車での移動時間は10分から20分であった。合計時間はトラップ設置と同様、43分から53分であった。作業環境が悪く、急傾斜地では、作業時間が5分延長された。トラップの構造が二段張りの場合は作業時間が5分延長された。さらに、対角線にも有刺鉄線を設置している場合、作業時間がさらに5分延長された。2人1組で作業した場合、平均で1日あたり8ヶ所のヘア・トラップを撤収することができた。

表 4 ヘア・トラップ設置に要する作業時間

作業項目		作業に要する時間 (平均)
基本作業項目		
林道からトラップへのアクセス(往復)		13分
トラップ設置に要する時間		20 分
トラップ間の車での移動		10分~20分
	計	43 分~53 分
作業環境によって追加される作業項目		
調査地への車での移動		10 分~2 時間 30 分
ササ刈り		10 分
二段張り		5分
対角線張り		5分
急傾斜地での作業		5分

表 5 ヘア・トラップの見回りに要する時間

作業項目		作業に要する時間(平均)
基本作業項目		
林道からトラップへのアクセス(往	E復)	13 分
毛の回収に要する時間		10分
トラップ間の車での移動		10 分~20 分
	計	33 分から 43 分
作業環境によって追加される作業項目		
調査地への車での移動		10 分~2 時間 30 分
サンプルが多い		10~30 分
急傾斜地での作業		5 分

表 5-6 ヘア・トラップの撤収に要する時間

作業項目		作業に要する時間(平均)
基本作業項目		
林道からトラップへのアクセス(往復)		13 分
トラップ回収に要する時間		20 分
トラップ間の車での移動		10 分~20 分
	計	43 分~53 分
作業環境によって追加される作業項目		
調査地への車での移動		10 分~2 時間 30 分
二段張り		5分
対角線張り		5分
急傾斜地での作業		5分

# 4. まとめ

今回のモデル地域における試験設置から作業の効率及び安全性を考慮し、2人1組を1チームを基本単位とて作業量を算出した。ヘア・トラップの設置は1チーム1日当たり7ヶ所、見回り及び撤収は1チーム1日当たり8ヶ所であった。ただし、今回試験的設置を実施したのが、晩秋の落葉期であり、ササ以外の下草などは枯れていた。そのため、ヘア・トラップの設置場所までのアクセス時間や設置時間は、1つの目安と考えた方が無難であろう。

北上山地のツキノワグマを対象とした、面積 607km<sup>2</sup>、262 基のトラップ予定地を対象とした大面積へア・トラップ調査を 2010 年度に実施する場合の現地作業を、2009 年度の予備調査データから次のように計画した。

- (i) 2人1組で4チームのヘア・トラップ設置と見回りチームを編成する。
- (ii) トラップは、一辺 4m の四角形、地上 40cm の有刺鉄線 1 段張りを標準形とする。
- (iii) 体毛の採取確率を高めるため、有刺鉄線を対角線に張る。
- (iv) 誘因物質とする蜂蜜を入れたペットボトルを地上約2mに吊す。
- (v) ヘア・トラップの設置は5ヶ所/日・チームの作業効率を見積もる。
- (vi) 見回りと撤収の作業効率は10ヶ所/日・チームとする。

以上の作業項目と作業効率の見積もりから、北上山地の大規模へア・トラッップ調査地の約260ヶ所にヘア・トラップを設置するには最小限13日間、1セッションの見回りは7日間、撤収も7日間が必要と試算された。

付表 1 予備調査における北上山地へア・トラップ設置の概要

地 域	トラップ No.	北 緯	東 経	市町村	地区・沢	所有	植生概況
	6510	39.50477	141.37400	岩泉町	田山	民	落葉広葉樹林、ササ
田	6501	39.50143	141.38590	岩泉町	田山	民	落葉広葉樹林、草本
山	5591	39.50005	141.38150	岩泉町	田山	民	落葉広葉樹林、ササ
地	5592	39.49572	141.39040	岩泉町	田山	民	カラマツ林、ササ
域	5581	39.49344	141.38210	岩泉町	田山	民	落葉広葉樹林、シダ
	5468	39.48253	141.36120	岩泉町	種倉	民	落葉広葉樹林、ササ
	5575	39.49006	141.41220	岩泉町	川代	民	スギ林
	4397	39.44490	141.28000	岩泉町	南沢	玉	落葉広葉樹林、ササ
	4387	39.44292	141.27569	岩泉町	南沢	玉	落葉広葉樹林、ササ
	4377	39.44078	141.27470	岩泉町	南沢	玉	カラマツ林、ササ
	4388	39.44171	141.28416	岩泉町	南沢	玉	落葉広葉樹林、ササ
	4378	39.43578	141.28342	岩泉町	南沢	玉	落葉広葉樹林、ササ
釜	4368	39.43310	141.28536	岩泉町	南沢	玉	落葉広葉樹林、ササ
津	4389	39.44250	141.29403	岩泉町	オンドコ沢	玉	落葉広葉樹林、シダ
田	4379	39.44048	141.29167	岩泉町	オンドコ沢	玉	落葉広葉樹林、ササ
地	4369	39.43371	141.29176	岩泉町	オンドコ沢	玉	落葉広葉樹林、ササ
域	4359	39.43026	141.29124	岩泉町	オンドコ沢	玉	落葉広葉樹林、ササ
	4398	39.44554	141.28440	岩泉町	釜津田	玉	落葉広葉樹林、ササ
	4399	39.44409	141.29241	岩泉町	釜津田	玉	落葉広葉樹林、ササ
	4480	39.44345	141.30261	岩泉町	上医者待沢	玉	落葉広葉樹林、ササ
	4481	39.44228	141.30404	岩泉町	上医者待沢	玉	カラマツ林、シダ
	4471	39.43562	141.30432	岩泉町	下医者待沢	玉	落葉広葉樹林、ササ
	4461	39.43227	141.30514	岩泉町	下医者待沢	玉	落葉広葉樹林、ササ
	4451	39.42548	141.31100	岩泉町	下医者待沢	玉	落葉広葉樹林、ササ
	4470	39.43511	141.29532	岩泉町	小医者待沢	玉	落葉広葉樹林、ササ
	4460	39.43260	141.30061	岩泉町	小医者待沢	玉	落葉広葉樹林、ササ
	4450	39.43042	141.30137	岩泉町	小医者待沢	玉	落葉広葉樹林、ササ
	5490	39.49384	141.30295	盛岡市	猫足又沢	玉	落葉広葉樹林、ササ
	5471	39.48475	141.31030	盛岡市	猫足又沢	玉	落葉広葉樹林、ササ
外	5399	39.50083	141.29075	盛岡市	猫足又沢	玉	落葉広葉樹林、ササ
山	5379	39.48445	141.29361	盛岡市	猫足又沢	玉	落葉広葉樹林、ササ
地	5387	39.49275	141.27585	盛岡市	向井沢	玉	落葉広葉樹林、ササ
域	5376	39.48542	141.27250	盛岡市	向井沢	玉	落葉広葉樹林、ササ
	5374	39.48506	141.25398	盛岡市	軽松沢川	玉	落葉広葉樹林、ササ
	5354	39.48058	141.25064	盛岡市	軽松沢川	玉	落葉広葉樹林、シダ

座標の値 39.48506 は 39 度 48 分 50.6 秒 WGS84 準拠



写真 5-1 基本型



写真 5-2 基本形+対角線型



写真 5-3 単木保護 (養生テープ)



写真 5-4 園芸用ポール (補助)



写真 5-6 誘引物(地上 2mに吊るす)



写真5-5 誘引物(蜂蜜)



写真 5-8 注意標識



写真 5-7 安全対策(目印)

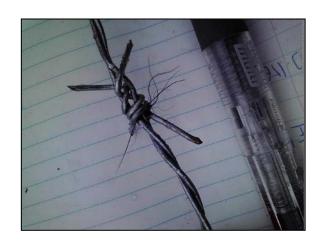


写真 5-9 採集された体毛



写真 5-10 回収状況



写真 5-11 体毛処理

# 2.1 個体数推定に関わる DNA 分析法の確立

玉手 英利 (山形大学)・釣賀 一二三 (北海道環境科学研究センター)・山内 貴義 (岩手県環境保健研究センター)・湯浅 卓 (野生動物保護管理事務所)・鵜野 レイナ (慶応大学)・近藤麻実 (岐阜大学)

#### 1. はじめに

21年度の本研究では、ヘア・トラップ法で用いる遺伝子分析の効率及び精度の向上を目的として、分析に関する諸条件を検討し、標準的な分析手順(プロトコール)を定めた。

ヘア・トラップ法で用いる遺伝子分析については、これまで実験手法やデータ管理に関して様々な検討がなされており(森光, 2008; 佐藤・湯浅, 2008; 釣賀, 2008; 佐藤・湯浅, 2008; 山内・斎藤, 2008; 湯浅・佐藤, 2008; Itoh et al., 2009)、環境省や自治体等が実施する生息調査において活用されてきた。これらの先行研究によって、遺伝子分析の基本的方法論はほぼ確立されたが、日本のクマ類の生息調査方法として実用化するためには、以下のような問題が残されている。

- (i) 各試験研究機関で用いる遺伝マーカーの種類等の分析条件が異なるので、各道府県の調査 で得られた遺伝子データの互換性が乏しい。そのため、異なる調査で得られたデータを統 合したメタ解析による広域的な個体数推定ができない。
- (ii) サンプリング時期や遺伝子増幅反応の条件の違いにより、遺伝子分析の成功率が大きく左右されることが経験的に知られているが、最適な分析条件が定まっていない。
- (iii) 大規模調査で得られる多数のサンプルを効率的に処理し精度管理を行うために必要となる、 国内の試験研究機関の連携体制が整備されていない。

上記の課題を解決するために、本研究では、先ず、国内の各試験研究機関で現在用いられているヘアサンプルの分析条件を整理した(**付表 1**)。その中から、各機関で分析条件が大きく異なる、サンプリング時期、DNA 抽出方法、遺伝子増幅反応の条件、遺伝マーカーの種類、精度管理方法について効率を検討し、標準的な分析条件を定めた。以下にその結果を述べる。

# 2. ツキノワグマの DNA 個体識別手法の標準化

# 2-1. 遺伝マーカーの検討

国内でヘア・トラップ調査が始められた 90 年代は、利用できる遺伝マーカーが、Paetkau et al. (1995)の G series; Kitahara et al. (2000)の MSUT series; Taberlet et al. (1997)の UarMU series などに限られていた。そのため、現在でも多くの自治体では、これらの 90 年代に開発されたマーカーが主に用いられている。しかし、これらの遺伝子座の変異は 2 塩基反復配列多型であるため、対立遺伝子の判別を注意深く行う必要がある。それに対し、対立遺伝子の読み取りがより容易な 4 塩基反復配列多型の UT series (Shih et al., 2009)、UA series (Sanderlin et al., 2009)、Uam series (Meredith et al., 2009)が、新たなクマ類のマイクロサテライトマーカーとして開発された。そこで、本研究では、新たに開発された UT、UA、Uamの各マーカーから、原報で多型性が高いことが記載されている遺伝子座で対立遺伝子サイズが 250bp より小さいものを選び、従来用いられてきた G、UarMU、MSUT マーカーと合わせて、個体識別効率を比較する基準となる対立遺伝子数および Pid (Probability of Identity)と Pid(sib)を測定した。Pid は調査対象集団が大集団で任意交配している

場合に、サンプルされた異なる 2 個体が同一の遺伝子型を持つ確率を表す指標である。一方、Pid(sib)は血縁個体の存在を考慮した Pid であり、小集団では Pid に比べてより実用的な指標とされる(Waits et al., 2001)。サンプルとして、岩手県で 2003 年から 2008 年までに捕獲されたツキノワグマ 42 個体の筋肉から抽出した DNA を用いた。PCR 等の条件は、それぞれのマーカーを記載した原著論文に従って設定した。その結果を表1に示す。

表 1 マイクロサテライトマーカーの Probability of identity (Pid) 、対立遺伝子数、対立遺伝子座サイズ およびアニーリング温度

道	員伝子座	Pid	Pid(sib)*	対立遺伝子数	対立遺伝子サ イズ(bp)	アニーリング 温度(℃)	備考	reference
	G1A	0.137842956	0.431711306	7	199-227	65		
	G1D	0.910270798	0.954325069	2	192-196	58		
	G10B	0.277196664	0.566748146	5	147-165	65		
	G10C	0.170501031	0.457166074	5	112-124	50-55		
G series	G10J	0.224537158	0.510641092	5	81-97	50-55		Paetkau et al. (1995)
G 301103	G10H -	-						U. americanus
	G10L	0.531422213	0.734187753	3	134-150	58		
	G10M	0.134873635	0.432244486	5	199-209	54		
	G10P	0.121540914	0.414030353	4	168-188			
	G10X	0.210771995	0.487075085	4	186-202	54		
	MSUT-1	0.272804927	0.543257921	3	175-179	58		
	MSUT-2	0.212084142	0.506110605	5	86-98	50		
ASUT series	MSUT-4	0.569887932	0.764920963	4	93-99	44		Kitahara et al. (2000)
	MSUT-5	1	1	1	126	50		U. thibetanus
	MSUT-6	0.206899796	0.483313289	3	184-190	49		
	MSUT-7	0.48430932	0.700300686	3	110-121	43		
	UarMu05	0.182006653	0.4625935	4	146-156	50-55		
	UarMu09	0.360590615	0.587171463	3	118-126	50-55		
	UarMu10	0.372848239	0.609510246	3	137-141	50-55		
	UarMu15	0.363772481	0.617161941	4	128-138	50-55		
UarMU	UarMu23	0.071593875	0.370647902	6	118-134	50-55		Taberlet et al. (1997)
series	UarMu26	0.441867514	0.66162901	2	186-188	50-55		U. arctos
301103	UarMu50	0.173847558	0.465230597	7	216-232	50-55		o. arotos
	UarMu51	0.179030463	0.459298432	4	117-125	50-55		
	UarMu59	0.210682012	0.498673904	4	249-257	50-55		
	UarMu61	0.95377806	0.976681477	2	208-212	50-55		
	UarMu64	0.259060654	0.527350197	3	185-191	50-55		
	UamA107	0.316692489	0.563300106	5	156-174	57, 55 2step		
	UamD2	0.187814619	0.480060231	5	212-228	57, 55 2step		
	UamD102	0.149610815	0.447691819	5	190-206	57, 55 2step		
	UamB2	0.319375029	0.566238315	4	173-197	57, 55 2step		
	UamB5	0.261870175	0.530745321	3	148-164	57, 55 2step		
	UamB103	0.334062317	0.595562064	3	115-123	57, 55 2step		Meredith et al. (2009)
Uam series	UamC11	0.729456019	0.855975116	2	160-168	57, 55 2step		U. americanus
	UamD1a	0.282801003	0.566165103	6	123-144	60-49.5 down		U. americanus
	UamD3	0.664980568	0.81944809	3	229-237	57, 55 2step		
	UamD103	0.091388989	0.387926612	7	214-238	57, 55 2step		
	UamD112	0.114224445	0.410925726	6	141-160	57, 55 2step		
	UamD113	0.340746453	0.6057365	3	151-159	57, 55 2step		
	UamD118	0.205099847	0.486790835	4	190-202	57, 55 2step		
	UA-BM3-P1B05U	0.096830394	0.404593086	9	224-250	60-49.5 down		
	UA-BM4-P1H10U	0.202771535	0.480256376	3	258-266	60-49.5 down		
UA series	UA-BM4-P2A03U	0.249919256	0.542071651	6	250-270	60-49.6 down		Sanderlin et al. (2009)
2.1 001103	UA-BM4-P2E11U	0.289664463	0.547756252	6	236-256	60-49.5 down		U. americanus
	UA-RM3-P2H03U	0.201498395	0.495385937	6	108-179	49		
	UT1	1	1	1	170	64		
	UT4	0.087652642	0.386850802	6	145-162	56		
I le acidas	UT29	0.300675243	0.562081363	6	170-214	64		Shih et al. (2009)
Ut series	0120	0.000070240			1/0 217			U. thibetanus
Ot series	UT35	0.123571318	0.419923442	6	198-218	64		O. UIIDELATIUS

<sup>\*</sup> Pid (sib)は血縁個体の存在を考慮した Pid

調査した 50 種類のマーカーのうち、Pid が 0.25 以下となるマーカーが 23 種類見られた。これまでのヘア・トラップ調査で用いられてきた G、MSUT、UarMU の各マーカーの中には、比較的に高い Pid 値を示す遺伝子座が見られた一方、4 塩基反復配列の Uam series では、Pid 値が 0.1 以下と特に低いマーカーが 3 種類、確認された。

個体数推定のために遺伝子分析を行う場合、どれくらいの数の遺伝子座を用いるべきかについては、データの正確性と費用対効果の両面から論議されている(Creel et al., 2003; McKelvey and Schwartz, 2004, Paetkau, 2004)。使用する遺伝子座の数が少ない場合には異なる個体を同一個体と

誤判定する可能性が増える。一方、遺伝子座の数が多い場合には、遺伝子型の読み取り間違いに よって同一個体を異なる個体と誤判定する可能性が増え、分析コストも増加する。本研究では、 上述の先行研究を参考にして、国内のヘア・トラップ調査で使用されている遺伝子座が 6~9 種類 であること(**付表 1**)、一調査当たり数百以上のサンプルを処理することを考慮して、使用する遺 伝子座数を6と定めた。さらに、調査対象地域の遺伝的多様性が低く6遺伝子座では個体識別が 困難な場合には、必要に応じて 3 種類の遺伝子型を追加で分析することとした。最初に分析する 6 遺伝子座は、地域集団において Pid が低い遺伝子座から順に選び、3 遺伝子座を 1 set とする multiplex PCR により遺伝子型を判定する手順とした。Multiplex の組み合わせとして可能なマーカ ーセット(multiplex A, B, C sets)を表2に示し、multiplex PCR の標準的な手順(標準プロトコール) を章末に記載した (M-1)。Multiplex A set と B set では、これまでの各試験研究機関の調査におい てデータが蓄積されてきた G, MSUT, UarMU series の中から、比較的に Pid が低いマーカーを選択 した。これらのセットは、従来の調査で得られたデータとの継続性を考慮したものである。 Multiplex C set は、より検出感度(Pid)の良いマーカーを組み合わせた新たなセットで、使用で きる遺伝子座が費用面で限られている場合や、対象集団の遺伝的多様性が低下している場合に効 果的であるように考慮している。なお、実地適用にあたっては、本研究の結果を参考にして、対 象集団の遺伝的多様性のレベルに応じて、用いるマーカーの組み合わせを選択することが望まし

表 2	Multiplex l	PCR のマ	<b>?</b> ーカーも	2ツト	(組み合わせ例)
-----	-------------	--------	---------------	-----	----------

遺伝子座	対立遺伝子サイズ	蛍光ラベル (G5 set)	蛍光ラベル (C set)	multiplex set	アニーリング 温度
A C MSUT6		FAM PET NED VIC	FAM TET HEX	А	49∼59°C
X P M		FAM PET NED VIC	FAM TET HEX	В	55°C
UamD103 UT35 UT38		FAM PET NED VIC	FAM TET HEX	С	56°C

#### 2-2. PCR 反応条件の検討

体毛から得られる DNA は微量であり、回収状況によっては劣化している場合もある。そのため、PCR で用いる耐熱性 DNA polymerase の種類によって、遺伝子型判別の成功率が大きく左右される可能性がある。現在、国内のヘア・トラップ調査で用いられている耐熱性 DNA polymerase は、Ex Taq (TaKaRa)、Ex Taq HS (TaKaRa)、PrimeSTAR GXL (TaKaRa)、KOD FX (TOYOBO)、Ampli Taq Gold (Applied Biosystem Inc)などであるが(付表 1)、それらの酵素の性能に関する網羅的な比較は行われていなかった。そのため、本研究では、上述の6種類の酵素に加えて、Blend Taq-Plus-(TOYOBO)、AccuPrime GC-Rich (Invitrogen)の酵素と、マイクロサテライト分析用試薬キットとして市販されているQIAGEN Multiplex PCR Kit (QIAGEN)の合計8種類の酵素を用いて、微量 DNA をサンプルにした場合の、PCR 成効率を比較した。PCR 効率を調べるための標準 DNA サンプルとして、山形

県で捕獲されたツキノワグマ 4 個体の筋肉から抽出した DNA を用いた。ヘア・トラップでは、PCR に用いるサンプル DNA の量が数 pg のオーダーになることを考慮して、標準 DNA を 1 反応 あたり 10ng、1ng、100pg の 3 段階に希釈したものを用いた。

まず、最初に single PCR での比較を行った。マイクロサテライトマーカーG1A を増幅し、反応後は全サンプルを 2% Ultra low range agarose gel (BioRad 社)を用いた電気泳動により分析して、PCR 反応産物の有無を確認して増幅成功率を求めた(表 3-1、表 3-2)。TaKaRa Ex Taq、Qiagen microsatellite kit が最も成績がよく、PrimeSTAR、TaKaRa Ex Taq HS、Blend Taq-Plus-がそれに次ぐ結果となった。

酵素の種類	1反応あたりのサンプルDNA量				
田永の性知	10ng	1ng	100pg		
PrimeSTAR	100	100	75		
TaKaRa EX HS	100	100	75		
TaKaRa EX	100	100	100		
QIAGEN microsatellite Kit	100	100	100		
KOD FX	100	100	0		
Blend Taq -Plus-	100	100	75		
AccuPrime GC-rich	100	75	0		
AmpliTag Gold	100	100	75		

表 3-1 Single PCR における PCR 用酵素の増幅成功率

表 3-2 Single PCR における PCR 用酵素の増幅成功率

	1反応あたりのサンプルDNA量				
日本の性類	10ng	1ng	100pg		
PrimeSTAR	100	100	75		
TaKaRa EX HS	100	100	0		
TaKaRa EX	100	100	25		
QIAGEN microsatellite Kit	100	100	0		
KOD FX	100	100	25		
Blend Taq <i>-</i> Plus-	100	100	50		
AccuPrime GC-rich	100	50	0		
AmpliTaq Gold	100	100	25		

同様に、Multiplex B set で PCR を行い、増幅成功率を求めた。PrimeSTAR がもっとも成績が良く、TaKaRa Ex Taq、KOD FX、Blend Taq-Plus-の成績が良かった。TaKaRa Ex Taq の増幅成功率は高いが、非特異的増幅(スメア)が確認されることから、必ずしもマイクロサテライト分析に適するとは結論づけられなかった。一方、PCR 開始時に 94%5 分以上の熱変性を行うことで抗体が非活性化して反応が開始される TaKaRa EX Taq HS では、PCR 産物にスメアは確認されないが、Taq と比較した場合、増幅成功率は低かった。

本研究の結果では、ヘア・トラップ調査で得られるクマ類の微量 DNA の増幅には、Single PCR と Multiplex PCR のいずれでも、PrimeStar、Blend Taq-Plus-が安定した結果を与えることが明らかになった。また、TaKaRa Ex Taq については、増幅効率は優れているが、非特異的増幅が生じる場合があるため、マイクロサテライト分析では必ずしも推奨されない。

#### 2-3. 性判別方法の検討

ヘア・トラップで捕捉された個体の性が判れば、個体情報として個体数推定に役立つと考えられる。しかし、毛サンプルから得られる DNA は微量であることと、性判別のためのコストが増えるため、ヘア・トラップ調査では、性判別は副次的に行われるにとどまっている(**付表 1**)。しかし、性判別はサンプルの個体識別にも役立つことから、本研究では性判別をヘア・トラップで必ず実施すべき調査項目と位置付けて、サンプルの消費やコストを考慮した効率的な性判別の作業手順を定めることを検討した。

遺伝マーカーを用いたクマ類の性判別では、SRY 遺伝子、ZF 遺伝子、アメロゲニン遺伝子を用いる方法がある(Yamamoto et al., 2002; Pages et al., 2009, for review)。本研究では、PCR 産物のサイズがマイクロサテライトマーカーとほぼ同じ範囲にありフラグメント長の違いで雌雄が区別できるアメロゲニン遺伝子を用いた性判別法を標準法として採用した。性判別のためにサンプルを分割する手順と、アメロゲニン遺伝子を増幅する手順を、標準プロトコールとして取りまとめた(別添 M-2)。

## 2-4. 精度検証方法の検討

ヘア・トラップ法では遺伝子型の誤判定が個体数推定の精度に大きく影響を与える。エラーデータを生じる主な原因としては、遺伝子型の読み取り間違いや allelic dropout や null allele による対立遺伝子の未検出があげられる。そのため、本研究では、遺伝子型の読み取り間違いを防ぐために、標準サンプルを用いたサイズによるデータ較正の手順(2-4-1)を定めた。また、ヘア・トラップ調査で得られた遺伝子型データから、エラーデータを検出して、再解析する手順(2-4-2)を定めた。

#### 2-4-1. 対立遺伝子サイズを較正する方法の検討

ヘア・トラップサンプルの遺伝子分析に複数の試験研究機関が関わる場合、分析機関によって 読み取られる対立遺伝子サイズが異なる場合がある。この違いを生じる原因としては、ジェネティックアナライザの使用環境の違いや、サイズスタンダードの違いなどが考えられる。同じ対立 遺伝子を複数の分析機関で異なるサイズとして読み取った場合にはエラーデータを生じるため、 その防止策として、本研究では標準サンプルによるサイズ較正方法を定めた。

そのために、まず、ツキノワグマ 8 個体(2006 年から 2009 年に山形県鶴岡市及び酒田市で捕獲されたオス 3 個体、メス 5 個体)の筋肉からフェノール・クロロホルム法を用いて、純度の高い DNA を大量に抽出し、小分けしてサイズ較正用の標準サンプルとした。この標準サンプルを山形大学、(株)野生動物保護管理事務所、岩手県環境保健研究センター、北海道環境科学研究センターの 4 機関で同時に分析して、対立遺伝子サイズの同一性を検証したところ、遺伝子座によっては機関により読み取りサイズが異なる例が見られた。この結果を参考にして、ヘア・トラップ調査に関わる試験研究機関に対する標準サンプルの配布体制を整備するとともに、以下のように対立遺伝子サイズを較正する手順を定めた。

- (i) 対立遺伝子サイズのデータ較正を希望する試験研究機関は、自然環境研究センターを通じて山形大学から標準サンプルを入手する。
- (ii) 各機関の分析環境で、標準サンプルの対立遺伝子サイズを決定する。
- (iii) 分析結果を、事前に測定されている標準サンプルの遺伝子型データと比較することにより、

読み取りサイズを較正する。サイズの補正については COMBI.PI (Täubert et al., 2008)を使用する。

次年度から、標準サンプルの配布に関する情報を、自然環境研究センターが開設する HP 上で公開する予定で、配布用として 100 回分の標準サンプルを山形大学で保管している。

#### 2-4-2. エラーデータの検出方法と再解析手順の検討

遺伝子型の誤判定率(エラーレート)が事前に分かっていれば、エラーデータを考慮した個体数推定ができる(Dreher et al., 2007)。しかし、実際にはヘア・トラップ調査の真の誤判別率を知ることは困難であることが多い。したがって、本研究では、Peatkau (2003)に基づき、ヘア・トラップ調査で得られた遺伝子型データからエラーデータを検出して、修正または除外する方法を選んで、その手順を以下のように定めた。

- (i) GENECAP (Wilberg and Dreher, 2004)を用いて、サンプル中から1または2遺伝子座のみ遺伝子型が異なっているサンプルを検出する。
- (ii) 遺伝子型の読み取りミスが無いか、元データを確認する。
- (iii) 読み取りミスが無い場合には、不一致の遺伝子座について、single PCR で再解析を行い、 データを修正する。
- (iv) 分析エラーが含まれているか、Ezamining-Biomodality Test と Difference-in-Capture History Test (Mckelvey and Schwartz, 2004) で確認する。この解析には DROPOUT (Mckelvey and Schwartz, 2005) を使用する。null allele の有無を Micro-checker (van Oosterhout et al., 2003) で確認する。
- (v) 分析エラーが含まれていると判定された遺伝子座については、さらに再解析を行うか、 個体数推定にもちいるデータから除外する。
- (vi) 再解析用サンプルが残っている場合には、新たな multiplex PCR set により、新たな遺伝 子座を分析する。

#### 2-5. 標準的な分析手順(プロトコール)の検討

標準的な分析手順を次のように定めた(図1)。

(i) DNA サンプルの分割・保存

ヘア・トラップで得られる DNA は微量であるため、サンプルを消費・汚染する可能性がある分光光学的定量は行わずに、サンプルを分析用と予備用に分割し、予備用は-20 度で保存する。

(ii) 遺伝子増幅

マイクロサテライト遺伝子座 6 種類を 2 sets の multiplex PCR で増幅する。前節 2-2-4-2 の 手順でデータチェックを行い、再解析または新たなマイクロサテライト遺伝子座の PCR を行う。標準プロトコール(M-1)

(iii) 性判別

アメロゲニン遺伝子による性判別を行う。標準プロトコール (M-2)

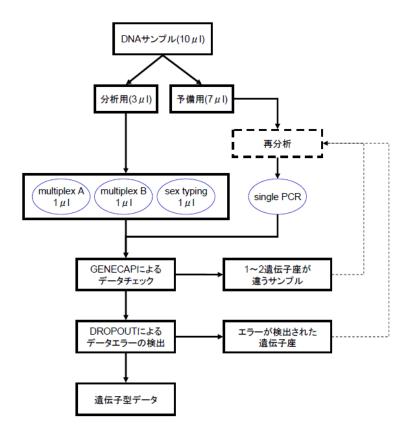


図 1 ヘア・トラップで得られたサンプル DNA の分析手順 (サンプル量 10ul あたりの例を示す)

### 引用文献

- Creel, S., Spong, G., Sands, J. L., Rotella, J., Zeigle, J., Joe, L., Murphy, K. M. and Smith, D. 2003. Population size estimation in Yellowstone wolves with error-porne noninvasive microsatellite genotypes. Molecular Ecology 12: 2003-2009.
- Dreher, B. P., Winterstein, S. C., Scribner, K. T., Lukacs, P. M., Etter, D. R., Rosa, G. J. M., Lopez, V. A., Libants, S. and Filcek, K. B. 2007. Noninvasive estimation of black bear abundance incorporating genotyping errors and harvested bear. Journal of Wildlife Management 71: 2684-2693.
- Itoh, T., Sato, Y., Mano, T. and Iwata, R. 2009. Estimating a suitable microsatellite marker set for individual identification and parentage tests of brown bear (*Ursus arctos*) in the Akan-Shiranuka region, eastern Hokkaido, Japan. Journal of Forest Research 14: 117-122.
- Kitahara, E., Isagi, Y., Ishibashi, Y. and Saitoh, T. 2000. Polymorphic microsatellite DNA markers in the Asiatic black bear *Ursus thibetanus*. Molecular Ecology 9: 1661-1662.
- McKelvey, K. S. and Schwartz, M. K. 2004. Genetic errors associated with population estimation using non-invasive molecular tagging: problems and new solutions. Journal of Wildlife Management 68: 439-448.
- McKelvey, K. S. and Schwartz, M. K. 2005. DROPOUT: a program to identify problem loci and samples

- for noninvasive genetic samples in a capture-mark-recapture framework. Molecular Ecology Notes 5:716-718.
- Meredith, E. P., Rodzen, J.A., Banks, J. D. and Jones, K. C. 2009. Characterization of 20 tetranucleotide microsatellite loci in black bear (*Ursus americanus*) for used in forensic and population applications. Conservation Genetics 10: 693-696.
- 森光由樹 2008 各都道府県のヘア・トラップ調査の実施状況と長野県における実施例 哺乳類 科学 48:133-138.
- Paetkau, D., Calvert, W., Stirling, I. and Strobeck, C. 1995. Microsatellite analysis of population structure in Canadian polar bears. Molecular Ecology 4: 347-354.
- Peatkau, D. 2003. An empirical exploration of data quality in DNA-based population inventories. Molecular Ecology 12: 1375-1387.
- Paetkau, D. 2004. The optimal number of markers in genetic capture-mark-recapture studies. Journal of Wildlife Management 68: 449-452.
- Pages, M., Maudet, C., Bellemain, E., Taberlet, P., Hughes, S. and Hanni, C. 2009. A system for sex determination from degraded DNA: a useful tool for palaeogenetics and conservation genetics of ursids. Conservation Genetics 10: 897-907.
- Sanderlin, J. S., Faircloth, B. C., Shamblin, B. and Conroy, M. J. 2009. Tetranucleotide microsatellite loci from the black bear (*Ursus americanus*). Molecular Ecology Resources 9: 288-291.
- 佐藤喜和、湯浅卓 2008. ヘア・トラップを用いたクマ類の個体数推定法: 概要と注意点 哺乳 類科学 48:101-107
- Shih, C. C., Huang, C. C., Li, S. H., Hwang, M. H. and Lee, L. L. 2009. Ten novel tetranucleotide microsatellite DNA markers from Asiatic black bear, Ursus thibetanus. Conservation Genetics (on line)
- Taberlet, P., Camarra, J. J., Griffin, S., Uhres, E., Hanotte, O., Waits, L. P., Dubois-Paganon, C., Burke, T. and Bouvet, J. 1997. Noninvasive genetic tracking of endangered Pyrenean brown bear population. Molecular Ecology 6: 869-876.
- Taubert, H. and Bradley, D. G. 2008. COMBI.PL: a computer program to combine data sets with inconsistent microsatellite marker allele size information. Molecular Ecology Resources 8, 572–574.
- 釣賀一二三、間野勉 2008. 北海道渡島半島におけるヒグマ保護管理計画とモニタリング 哺乳 類科学 48:91-100
- 湯浅卓、佐藤喜和 2008. ヘア・トラップを用いたクマ類の個体数推定法における課題—国内外 の事例の比較検討— 哺乳類科学 48:109-118.
- van Oosterhout, C., Hutchinson, W. F., Wills, D. P. M. and Shipley, P. 2004. MICRO=CHECKER: software for identifying and correcting genotyping errors in microsatellite data. Molecular Ecology Notes 4: 535-538.
- Waits, L. P., Luikart, G. and Taberlet, P. 2001. Estimating the probability of identity among genotypes in natural populations: cautions and guidelines. Molecular Ecology 10: 249-256.
- Wilberg, M. J. and Dreher, B. P. 2004. GENECAP: a program for analysis of nuclear data for capture-recapture population estimation. Molecular Ecology Notes 4: 783-785.
- Yamamoto, K., Tsubota, T., Komatsu, T., Katayama, A., Murase, T., Kita, I. and Kudo, T. 2002. Sex identification of Japanese black bear, Ursus thibetanus japonicas, by PCR based on amelogenin gene.

#### 2.1 DNA 分析法の確立

Journal of Veterinary Medical Sciences 64: 505-508.

- 山内貴義、斎藤正恵 2008. 岩手県におけるヘア・トラップの実施状況と今後の課題. 哺乳類科学 48:125-131.
- 山内貴義、佐藤宗孝、辻本恒徳、青井俊樹 2008. 岩手県のツキノワグマ保護管理に関わるモニタリング調査とその課題 哺乳類科学 48:83-89

# クマ類の体毛 DNA 分析標準プロトコール

## M1. Multiplex PCR によるマイクロサテライト遺伝子の増幅

## M1-1 反応溶液の組成

template DNA	1.0 μL	
10x PCR buffer	1.5 μL	
dNTP mix	$1.2\mu L$	
1.5mM MgCl <sub>2</sub>	0.9 μL	
0.1% BSA	$0.75~\mu L$	
Primer A-forward	$0.075 \mu L$	(注1、2)
Primer A-reverse	$0.075 \mu L$	
Primer B-forward	$0.05 \mu L$	
Primer B-reverse	$0.05 \mu L$	
Primer C-forward	$0.075 \mu L$	
Primer C-reverse	$0.075 \mu L$	
Taq polymerase	$0.15~\mu L$	(注3)
$H_2O$	9.1 μL	
Total volume	15 μL	

- 注 1. primer の原液濃度は 100μM
- 注 2. primer A、B、Cの組合せを表 2-2 から選択する
- 注 3. 使用する DNA polymerase を表 2-4 から選択する

#### 2.1 DNA 分析法の確立

### M1-2 PCR の反応条件

変性
 2. 変性
 97℃, 3分
 97℃, 30秒

3. アニーリング 53~63℃, 90 秒 (注 1) 4. 伸長 72℃, 30 秒

72℃,30秒

(2から4のステップを15サイクル繰り返す)

5.変性 97℃,30秒

6. アニーリング 55~65℃, 90 秒 (注 2)

72℃,30秒 7. 伸長

(5から7のステップを15サイクル繰り返す)

8. 伸長 72℃,30分

9. 反応停止 4℃

注1. 使用するプライマーセットのアニーリング温度(表2-2,第1サイクル用)を使用する

注2. 使用するプライマーセットのアニーリング温度(表2-2, 第2サイクル用)を使用する

# M2. Amelogenin 遺伝子の増幅

## M2-1 反応溶液の組成

		-
template DNA	$1.0~\mu L$	
10x PCR buffer	$1.5~\mu L$	
dNTP mix	$1.2~\mu L$	
1.5mM MgCl <sub>2</sub>	$0.9~\mu L$	
SE47	$0.075 \mu L$	(注1)
SE48	$0.075 \mu L$	
Taq polymerase	$0.15~\mu L$	(注2)
$H_2O$	$4.65~\mu L$	
		-
Total volume	15 μL	

注 1. GeneScan を用いて波形解析を行う場合は、SE47の蛍光プライマーを用いる。

注 2. 使用する DNA polymerase を表 2-4 から選択する

### M2-2 PCR の反応条件

-----

1.	変性	97℃,	3分
2.	変性	97℃,	30秒
3.	アニーリング	60℃,	90秒
4.	伸長	72°C,	30秒

(2から4のステップを30サイクル繰り返す)

5. 伸長72℃, 30分6. 反応停止4℃

## M2-3 読み取り

アメロゲニン遺伝子は歯のエナメル質を形成するタンパク質として X 染色体、および Y 染色体の両方に存在している。X 染色体上と Y 染色体上のアメロゲニン遺伝子の塩基長が異なるため、PCR 産物を電気泳動した際に、オスの場合は 2 つのバンド、メスの場合は一本のバンドが検出される。

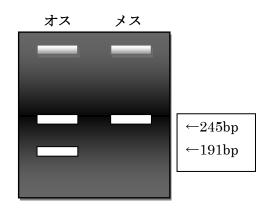


図 M2-1 アガロースゲル電気泳動を用いたアメロゲニン遺伝子の雌雄判別

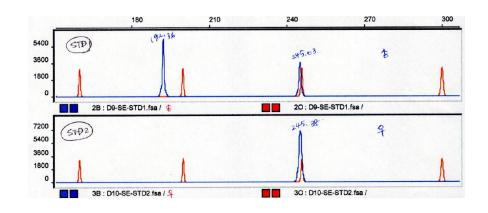


図 M2-2 フラグメント解析によるアメロゲニン遺伝子の雌雄判別

付表 道府県におけるヘア・トラップ調査で用いられた遺伝子分析の条件

# 付表1 道府県におけるヘアトラップ調査で用いられた遺伝子分析の条件

N 衣! 坦州乐I-のI)の^// Fフツノ調!	丘で川のでからた恩内									
<u>作業工程</u>										
北海道(2005年)	富山県(2008年)	群馬県(2008年)	神奈川県(2008年)	山梨県(2008年)	奈良県(2008年)	京都府(2008年)	滋賀県(2007年)	岐阜県(2008年)	山形県(2008年)	宮城県(2008年)
毛の回収・保存										
クマ毛同定の方法光学顕微鏡で観察	実体顕微鏡で観察	実体顕微鏡で観察	実体顕微鏡で観察	実体顕微鏡で観察	実体顕微鏡で観察	実体顕微鏡で観察	実体顕微鏡で観察	肉眼・実体顕微鏡で観察	実体顕微鏡で観察	実体顕微鏡で観察
保存方法 紙封筒にいれ冷凍	紙封筒にいれ室温乾燥の 後、冷蔵	紙封筒にいれ室温乾燥の 後、冷蔵	紙封筒にいれ室温乾燥の 後、冷蔵	紙封筒にいれ室温乾燥の 後、冷蔵	紙封筒にいれ室温乾燥の 後、冷凍		紙封筒にいれ室温乾燥の 後、冷凍	紙封筒に入れ乾燥後、冷凍 (マイナス30℃)	紙封筒にいれ冷蔵	紙封筒にいれ冷凍
DNA抽出										
団用する毛の本数/サンプ 1~3本	1本以上 10本以下	1本以上 10本以下	1本以上 10本以下	1本以上 10本以下	1本以上 10本以下	1本以上 10本以下	1本以上 10本以下	3本以上10本以下	4本以内	4本以内
使用する部位 基部からおよそ5mm	基部から1~2ミリ	基部から1~2ミリ	基部から1~2ミリ	基部から1~2ミリ	基部から1~2ミリ	基部から1~2ミリ	基部から1~2ミリ	毛根部のみ(実体顕微鏡下 で切断)	基部から1センチ	基部から1センチ
毛の状態 使用	白い紡錘形の毛根部、もしく は黒い鉤状・ヒゲ状の毛根部	白い紡錘形の毛根部、もしくは黒い鉤状・ヒゲ状の毛根部	白い紡錘形の毛根部、もしく は黒い鉤状・ヒゲ状の毛根部	白い紡錘形の毛根部、もしく は黒い鉤状・ヒゲ状の毛根部	白い紡錘形の毛根部、もしくは黒い鉤状・ヒゲ状の毛根部	白い紡錘形の毛根部、もしく は黒い鉤状・ヒゲ状の毛根部	白い紡錘形の毛根部、もしく は黒い鉤状・ヒゲ状の毛根部	毛根のついているもののみ 使用	毛根の有無にかかわらず使 用	毛根の有無にかかわらず位 用
毛のタイプ guard hairとunder hairの種 類に関わらず使用	guard hairとunder hairの種 類に関わらず使用	guard hairとunder hairの種 類に関わらず使用	guard hairとunder hairの種 類に関わらず使用	guard hairとunder hairの種 類に関わらず使用	guard hairとunder hairの種 類に関わらず使用		guard hairとunder hairの種 類に関わらず使用		guard hairとunder hairの種 類に関わらず使用	guard hairとunder hairの種 類に関わらず使用
抽出方法 phenol/chloroform	DNA Extractor FM Kit (Wako)	DNA Extractor FM Kit (Wako)	DNA Extractor FM Kit (Wako)	DNA Extractor FM Kit (Wako)	DNA Extractor FM Kit (Wako)	DNA Extractor FM Kit (Wako)	DNA Extractor FM Kit (Wako)	DNA Extractor FM Kit (Wako)	ISOHAIR	ISOHAIR
DNA定量 行わず	行わず	行わず	行わず	行わず	行わず	行わず	行わず	分光高度計で定量	行わず	行わず
保存方法 冷蔵	冷凍	冷凍	冷凍	冷凍	冷凍	冷凍	冷凍	冷蔵	冷凍	冷凍
3 遺伝マーカー										
G1A, G10P, G10X, UarMU05, 必ず使うlocus UarMU23, UarMU50, UarMU51	G1A, G10B, G10M, G10X, MSUT2, MSUT6, UarMu05, UarMU23	G1A, G10B, G10X, MSUT2, MSUT6, UarMu05, UarMU23	G1A, G10B, G10C, G1D, G10L, G10X, MSUT2, MSUT6, UarMu05, UarMU23	G1A, G10B, G10C, G1D, G10L, G10X, MSUT2, MSUT6, UarMu05, UarMU23	G1A, G10B, G10C, G1D, G10L, G10X, MSUT2, MSUT6, UarMu05, UarMU23	G1A, G10B, G10X, MSUT2, MSUT6, UarMu05, UarMU23	G1A, G10B, G10X, MSUT2, MSUT6, UarMu05, UarMU23		G1A, G10B, G10L, G10X, MSUT1	G1A, G10B, G10L, G10X, MSUT1
上記以外で使うlocus (Amelogenin)	なし	UarMU50	MSUT4, UarMU50	なし	なし	G10C, G1D, G10L	なし	なし	G10P, MSUT6	G10P, MSUT6
読み取りが容易なlocus	G1A, G10B, G10M, G10X, MSUT2, MSUT6, UarMu05, UarMU23	G1A, G10B, G10X, MSUT6, UarMu05, UarMU23	G1A, G10B, G10C, G1D, G10L, G10X, MSUT2, MSUT6, UarMu05, UarMU23	G1A, G10B, G10C, G1D, G10L, G10X, MSUT2, MSUT6, UarMu05, UarMU23	G1A, G10B, G10C, G1D, G10L, G10X, MSUT2, MSUT6, UarMu05, UarMU23	G1A, G10B, G10C, G1D, G10L, G10X, MSUT2, MSUT6, UarMu05, UarMU23	G1A, G10B, G10X, MSUT2, MSUT6, UarMu05, UarMU23	G10L	G1A	G1A
読み取りが困難なlocus	G10P, MSUT4	G10M, G10P, MSUT4	G10M, G10P	なし	なし	G10P, MSUT4	G10P, MSUT4	G10X, G10M	G10P	G10P
塩基配列の改変の有無 原報どおり	原報どおり	原報どおり	原報どおり	原報どおり	原報どおり	原報どおり	原報どおり	原報どおり	原報どおり	原報どおり
PCRの条件										
酵素(キット)の種類 AmpliTaq Gold	TaKaRa PrimeSTAR HS DNA polymerase, KOD FX (TOYOBO)	KOD FX (TOYOBO)	KOD FX (TOYOBO)	KOD FX (TOYOBO)	KOD FX (TOYOBO)	KOD FX (TOYOBO)	KOD FX (TOYOBO)	TaKaRa Ex Taq	TaKaRa Taq EX	TaKaRa Taq EX
反応液量 25ul	25ul	25ul	25ul	25ul	25ul	25ul	25ul	15ul	10ul	10ul
鋳型DNA/反応 の5%(1ul)	得られたDNAサンプル(30ul) のうち1ul~3ul	得られたDNAサンプル(30ul) のうち1ul~3ul	得られたDNAサンプル(30ul) のうち1ul~3ul	得られたDNAサンプル(30ul) のうち1ul~3ul	得られたDNAサンプル(30ul) のうち1ul~3ul		得られたDNAサンプル(30ul) のうち1ul~3ul	10ng以上	得られたDNAサンプル(10ul) の1割(1ul)	得られたDNAサンプル(10ul の1割(1ul)
特別な反応条件 hot start(single)	基本はhot start(single), 一部はhot start(multiplex)	hot start(multiplex)	hot start(multiplex)	hot start(multiplex)	hot start(multiplex)	hot start(multiplex)	hot start(multiplex)	なし	なし	なし
5 対立遺伝子サイズの測定										
サイズスタンダードの種類 GeneScanROX350	GeneScan500LIZ	GeneScan500LIZ	GeneScan500LIZ	GeneScan500LIZ	GeneScan500LIZ	GeneScan500LIZ	GeneScan500LIZ	GeneScan 600 LIZ Size	Promega Internal	Promega Internal
GeneMapper/Genotyper 使用せず	GeneMapper	GeneMapper	GeneMapper	GeneMapper	GeneMapper	GeneMapper	GeneMapper	GeneMapper	使用せず	使用せず
アリルドロップアウト検定しない	検定しない	検定しない	検定しない	検定しない	検定しない	検定しない	検定しない	検定しない	検定しない	検定しない
3 個体識別 										
1遺伝子座のミスマッチを許個体識別の判断基準 容(アリルドロップアウトの場合のみ)	全ての遺伝子座が一致すること	全ての遺伝子座が一致すること	全ての遺伝子座が一致すること	全ての遺伝子座が一致すること	全ての遺伝子座が一致すること	全ての遺伝子座が一致すること	全ての遺伝子座が一致すること	1遺伝子座のミスマッチを許容+自動撮影カメラの結果も 考慮	全ての遺伝子座が一致すること	全ての遺伝子座が一致すること
7 再分析										
まず3遺伝子座の分析を実施し、2遺伝子座について増幅が確認されたものについてそれ以降の分析を実施。だめなものは再抽出を行う。決定できなかった遺伝子座、読み取りにくい遺伝子座のみシングルPCR。だめなら結果から除去。ミスマッチについてもシングルPCRで再確認。	はシングルPCR。2遺伝子座 以下でミスマッチのサンプル についてもシングルPCR。	はシングルPCR。2遺伝子座	決定できなかった遺伝子座 はシングルPCR。2遺伝子座 以下でミスマッチのサンプル についてもシングルPCR。	はシングルPCR。2遺伝子座	はシングルPCR。2遺伝子座		はシングルPCR。2遺伝子座		のみシングルPCR。2回マル チPCRをしてだめならば、あ	決定できなかった遺伝子座 のみシングルPCR。2回マル チPCRをしてだめならば、あ きらめる。

## 2.2 クマ類体毛サンプルからの DNA 抽出と分析効率の季節性

山内 貴義 (岩手県環境保健研究センター)・近藤 麻実 (岐阜大学)

#### 1. はじめに

これまで、ツキノワグマのヘア・トラップ調査は複数の都府県で実施されてきた。その結果、ヘア・トラップの利用率や遺伝子分析の成功率は調査時期・季節によって異なることが示唆されている(Sato 2002; 上馬・中谷内 2006; 山内・齊藤 2008)。ヘア・トラップ法による個体数推定は標識再捕獲法(Bookhout, 1996)の原理を応用しており、トラップ利用率および分析成功率は原則として一定であることが前提となる。そのため、両者ともに調査期間中に大きく変動することは避けなくてはならない。さらに、より精度の高い推定のためには当然多くのサンプルを確保することが不可欠であり、そのためにはヘア・トラップ利用率および遺伝子分析成功率ともに高い値であることが望ましい。これまでの日本でのヘア・トラップ調査の報告では、トラップ利用率や遺伝子分析の成功率、クマの体毛タイプの季節変化による分析精度の変動などについての基礎的検討はほとんど行われていない。そこで、我々は調査時期と遺伝子分析成功率との関係に着目し、ヘア・トラップ調査を行う上で最適な時期を探ることを目的としてモデル地域にヘア・トラップを設置し、高頻度・長期間にわたる調査を実施した。

#### 2. 調査地・調査方法

#### 2-1. 調査地

岩手県雫石町の岩手大学御明神演習林 (N39°40′, E140°55′) を調査地とした。演習林の総面積は 1.024ha である。図1に示すように、演習林内の3地点にヘア・トラップを5基ずつ設置した(合 計 15 基)。それぞれのトラップ間の距離は 100m 以内である。調査期間は、2009 年 5 月 22 日にへ ア・トラップの設置を開始し同年 12 月 3 日に撤去するまでの約 7 ヵ月間であった。 $1\sim2$  週間を 1セッションとして体毛の回収と誘引餌の交換を行い、全体として 23 セッションを実施した。へ ア・トラップは有刺鉄線を上下 2 段に張る構造を基本形とし、誘引餌にはりんごとハチミツを同 時に用いた(図2)。有刺鉄線は立木を利用して設置したが、周囲に適当な立木が無い地点では立 木の代わりに園芸用プラスチックポールを地面に挿して利用した。有刺鉄線は下段が地面から約  $30\sim40$ cm、上段がその上約  $20\sim30$ cm の高さになるよう設置した。地表面の凹凸の状態によって、 クマが容易に通り抜けられる部分があると予想されたトラップに関しては、クマの体毛を確実に 採取するため有刺鉄線の一部を3段にして高さを調節した。このとき最上段の有刺鉄線は2段目 の上 20~30cm になるよう設置した。トラップの 1 辺の長さは立木の位置によってトラップごと に異なるが、それぞれ約 2~4m であった。体毛は有刺鉄線の刺ごとに別々の封筒に回収し、近接 した刺から回収された体毛に関してはその封筒に互いに目印をつけた。この目印は、後の遺伝子 分析においてサンプルを選択する場合に利用した。サンプルを選択する必要がある場合とは、1 つの刺からでは分析に十分な体毛本数を確保できない場合であり、そうした場合には近接した刺 から回収した体毛どうしを併せて1サンプルとする。このとき、どの体毛どうしを併せるかとい う組み合わせを選択するために封筒の目印を利用した。このように選択的に体毛を利用したのは、 近接した刺から回収された体毛どうしは同一個体に由来する体毛である可能性が高いと考えられ、

#### 2.2 分析効率の季節性

併せて 1 サンプルとしても複数個体の遺伝子によるコンタミネーションが起こりにくいと予想されたからである。また、体毛の回収時にクマとその他の動物との区別がつかない体毛についても同様に回収した。回収した体毛は研究室まで室温で移送し、研究室に到着後すぐに封筒ごと乾燥機に入れて完全に乾燥させた。その後、遺伝子分析を行うまで−20℃で保存した。

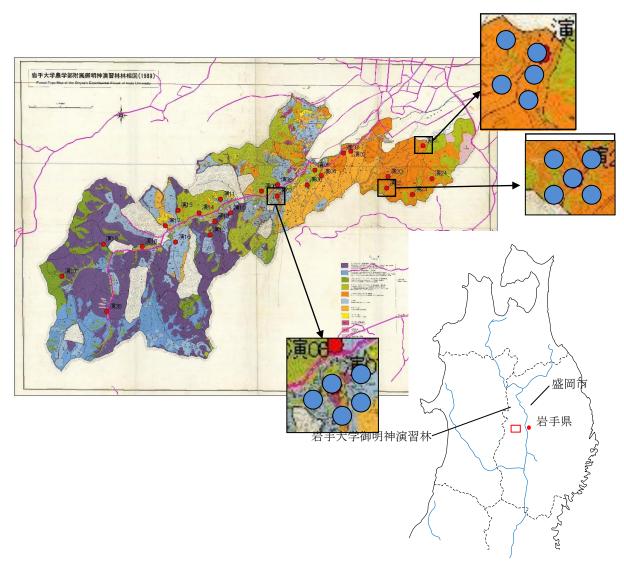


図1 岩手大学御明神演習林およびヘア・トラップ設置位置図 右下図の青線は自動車道. を示す。ヘア・トラップは演習林内3ヵ所に5基ずつ合計15基を設置した(左上図青丸)。

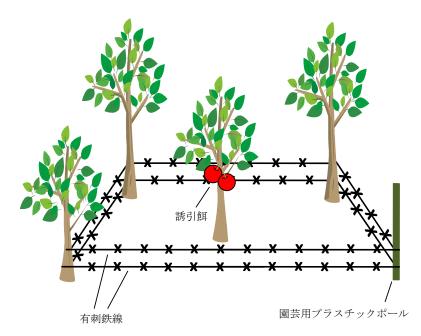


図2 ヘア・トラップ模式図

#### 2-2. 遺伝子分析方法

まずは回収した体毛を目視によって観察し、色・形態・キューティクルの形状などからクマの 体毛かその他の動物の体毛かを判断した。実体顕微鏡を用いて観察してもクマか他の動物か判別 困難な体毛については原則サンプルとしなかった。

図3に示すようにクマ体毛を体毛タイプによって分類した。太くて長く、色素が濃くしなやかな ものを剛毛(guard hair; 以下 G)、細くて短く、色素の薄い柔らかいものを下毛(underfur; 以下 U)、 それ以外の太さや長さが中間的な体毛を中間毛(Intermediate hair; 以下 I)とした(Ryder, M. L., 1973)。封筒ごとにそれぞれの体毛タイプの本数をカウントし、同時に毛根の有無も記録した。体 毛タイプごとに最大 10 本を 1 サンプルとし、実体顕微鏡下で毛根を切り取った。1 つの封筒だけ では体毛本数が 10 本に満たない場合は、近接した刺から回収された体毛と併せて 10 本とした。 複数の刺から回収された体毛を併せても10本に満たない場合は、本数を記録して他のサンプルと 同様の分析を行った。これらのサンプルは DNA Extractor FM kit (和光純薬工業株式会社) を用 いて DNA を抽出した後、マイクロサテライト 6座位(G10C, G10L, G10B, G10P, G10X, G10M: Paetkau and Strobeck, 1995; Paetkau and Strobeck, 1998) を増幅するプライマーペアを用いて polymerase chain reaction (PCR) を行った (表 1)。PCR は複数のプライマーを添加するマルチプ レックス PCR とし、6座位を i)G10C・G10L・G10B および ii)G10 P・G10X・G10M の 2 つのマル チプレックス系に分けて行った。それぞれのマルチプレックス系について、template DNA 10ng<、 dNTP 0.5μM, MgCl2 1.5mM, BSA 1.0mg/mL, Ex Taq (TaKaRa) 0.05unit/μL, プライマー0.5μM (G10C, G10L, G10M) および 1.0 μM (G10B, G10P, G10X) を合計 15μL になるよう調整し、表 2 の温度条 件で PCR を実施した。増幅後、マルチプレックス系 i)を 100 倍に、ii)を 150 倍に希釈し、この希 釈溶液各 1μL にホルムアミド 7.75μL および 8 倍希釈した GeneScan 500LIZ Size Standard (Applied Biosystems) 0.25 μL を加えた。ABI PRISM® 3130 Genetic Analyzer (Applied Biosystems) にてサン プルを泳動し、GeneMapper V. 4.0 software package (Applied Biosystems)を用いてフラグメント解

## 析を行った。

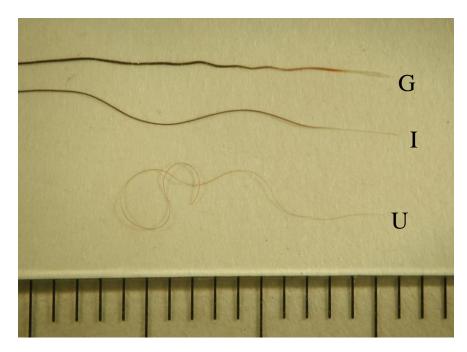


図3 体毛タイプ

G: 剛毛 (guard hair) , I: 中間毛 (intermediate hair) , U: 下毛 (underfur)

表1 プライマー配列

Locus	5' primer	3' primer
G10C	F-AAAGCAGAAGGCCTTGATTTCCTGG	GGGGACATAAACACCGAGACAGC
G10L	V-GTACTGATTTAATTCACATTTCCC	GAAGATACAGAAACCTACCCATGC
G10B	F-GCCTTTTAATGTTCTGTTGAATTTG	GACAAATCACAGAAACCTCCATCC
G10P	V-ATCATAGTTTTACATAGGAGGAAGAAA	TCATGTGGGGAAATACTCTGAA
G10X	F-CCACCTTCTTCCAATTCTC	TCAGTTATCTGTGAAATCAAAA
G10M	V-TTCCCCTCATCGTAGGTTGTA	AATAATTTAAGTGCATCCCAGG

<sup>5&#</sup>x27;側の各プライマーには蛍光標識をつけた。表中では FAM を F, VIC を V と表記した。

表 2 PCR プロトコル

	温度	加熱時間	(分)	
最初の熱変性	97℃	3:00		
増幅反応(1回目)				
熱変性	97℃	0:30 —	٦	
アニーリング	55℃	1:30		$\times 15$
伸長反応	72°C	0:30		
增幅反応(2回目)				
熱変性	90℃	0:30	7	
アニーリング	55℃	1:30		$\times 30$
伸長反応	72℃	0:30 _		
最終的な伸長反応	60°C	30:00		

#### 2-3. 解析方法

誘引餌がクマによって食べられた、もしくは有刺鉄線にクマの体毛がついていたトラップを「利 用トラップ」とした。全15トラップ中の利用トラップの割合を「ヘア・トラップ利用率」として 調査日ごとに算出した。遺伝子分析の結果については、すべての座位でピークが読み取れたもの を「分析成功」、同じ座位に3本以上のピークが検出されたもの(複数個体のコンタミネーション)、 もしくは1座位でもピークが検出されなかったものを「分析失敗」とした。このフラグメント解 析の一例は図4に示した。そして、分析に用いたすべてのサンプル数のうち、分析に成功したサ ンプル数の割合を分析成功率として調査日ごとに算出した。分析成功率と各条件(封筒のカテゴ リ (詳細は後述)・体毛本数・調査日・体毛タイプ) との関係を解析するため、統計ソフト R (http://www.r-project.org/) を用いて、分析成功率を目的変数、各条件を説明変数とした二項分布 のロジスティックモデルで解析を行った。説明変数とした封筒のカテゴリとは、分析した体毛が 1つの封筒から抽出されたものか複数の封筒から抽出されたものかということを表す。1つの封筒 から抽出されたサンプルについては mono、複数のサンプルから抽出されたサンプルについては multi と入力し、mono を基準として変数を評価した。その他の変数については分析成功率の良か ったものを基準とし、調査日は6月10日、体毛タイプはGを基準として各変数の評価を行った。 また、分析した座位によって遺伝子の増幅のしやすさに違いが見られるため、その結果が分析成 功率に影響を及ぼしていると考えられた。そこで、分析成功率と分析座位との関係についても統 計ソフトRを用いて解析を行った。解析は分析成功率を目的変数、分析座位を説明変数とした二 項分布のロジスティックモデルで行い、分析成功率の高い G10L を基準として変数を評価した。

### 3. 結果

現在のところ、遺伝子分析成功率の解析については 2009 年 8 月末まで終了しており、本報告ではこの時期までの結果のみを示す。一方、ヘア・トラップ利用率については全調査期間の解析結果を報告する。

ヘア・トラップ利用率の推移を**図5**に示す。ヘア・トラップ利用率は調査開始の6月上旬で約80%と比較的高い値であったが、7月にかけてさらに上昇した。7月および8月は全調査期間中もっとも高い値を示し、ほぼ100%で推移した。9月になると利用率は急激に低下し、12月初旬の調査期間終了時まで低下し続けた。

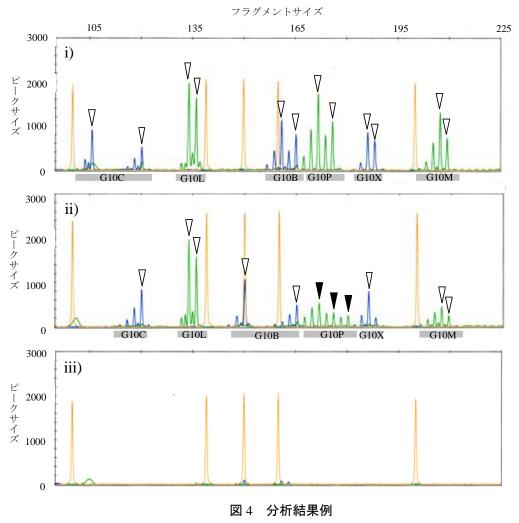
体毛タイプ別のサンプル数の推移を図6に示す。7月頃から野外調査で回収できた体毛の数は増加したが、7月後半から毛根の無い体毛の割合も徐々に増加したため、回収した体毛の数と遺伝子分析に供したサンプル数は必ずしも比例関係にはならなかった。また、Gは6月に少なく8月に多いなど、体毛タイプによってはほとんど回収されない時期があった。これらの結果として、サンプル数は時期によって大きく変動した。GはI・Uと比較して本数が少なく、サンプル数も全体に少なかった。7月にGのサンプル数は増加したが、その後毛根の無い体毛も増加したため、8月のサンプル数は減少に転じた。I・Uについても7月後半から毛根の無い体毛が増えたが、回収できた総数が多かったため、8月に入っても安定して一定のサンプル数が確保できた。

体毛タイプ別の分析成功率の推移を**図 7** に示す。すべての体毛タイプにおいて、6 月および 7 月前半の遺伝子分析成功率は  $80\sim100\%$  と高い値で推移した。しかし、7 月後半から分析成功率は ゆるやかに低下し始め、8 月にはさらに低下した。これらの分析成功率の変動に対する要因を解

#### 2.2 分析効率の季節性

析するため、各変数(封筒のカテゴリ・体毛本数・調査日・体毛タイプ)を用いて二項分布のロジスティックモデルで解析を行った。その結果は $\mathbf{z}$  に示した。解析の結果、体毛の本数が多いほど分析成功率は有意に改善された。調査時期に関しては、6月10日と比較して7月29日以降の成功率は有意に低い値となった(7月29日・8月5日:  $\mathbf{z}$   $\mathbf{z$ 

今回分析したマイクロサテライト座位について二項分布のロジスティックモデルで解析し、座位ごとに分析成功率を比較した。その結果は**表 5** に示した。分析成功率は G10L でもっとも高い結果となった。G10L と比較して、G10P, G10X および G10M の 3 座位は有意に分析成功率が低かった(G10P: p<0.001, G10X・G10M: p<0.01)。



それぞれの座位を灰色のバーで示した。座位ごとに検出された対立遺伝子を矢頭 ( √ )▼で指し示した。 i) 分析成功, ii) 分析失敗 (複数ピーク; 黒矢頭 ▼ ), iii)分析失敗 (ピーク無し)



図 5 ヘア・トラップ利用率の推移

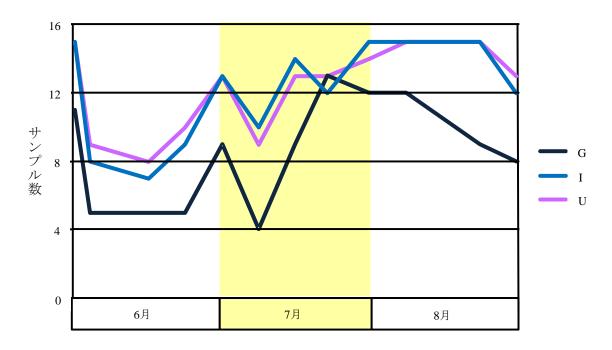


図 6 体毛タイプ別サンプル数の推移

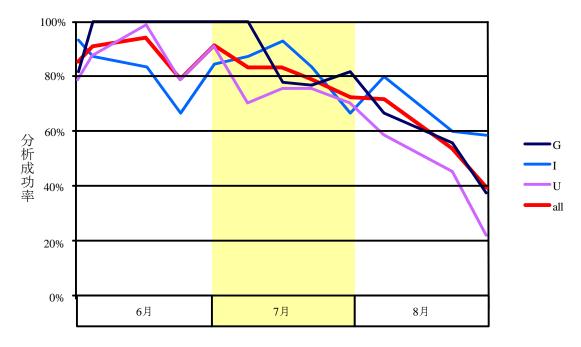


図7 体毛タイプ別分析成功率の推移

表 3 各変数と分析成功率との検定結果 (全調査期間)

	推定値	標準誤差	z値	p値
切片	1.92367	0.81996	2.346	0.018974 *
封筒のカテゴリ (multi)	-0.41454	0.28669	-1.446	0.148199
体毛本数	0.23934	0.04456	5.371	7.82E-08 ***
6/3	-1.08517	0.91099	-1.191	0.233573
6/17	-0.05842	1.30062	-0.045	0.964175
6/24	-0.97936	0.93983	-1.042	0.297382
7/1	-0.27653	1.00421	-0.275	0.78303
7/8	-0.86016	1.02998	-0.835	0.403651
7/15	-1.13021	0.91469	-1.236	0.2166
7/22	-1.21542	0.88803	-1.369	0.171103
7/29	-1.87852	0.87182	-2.155	0.031186 *
8/5	-1.72242	0.85989	-2.003	0.045171 *
8/19	-2.34637	0.8502	-2.76	0.005784 **
8/26	-2.52548	0.86197	-2.93	0.003391 **
中間毛(I)	-0.83069	0.39037	-2.128	0.033339 *
下毛 (U)	-1.48795	0.39945	-3.725	0.000195 ***

p<0.001: \*\*\*, p<0.01: \*\*, p<0.05: \*

それぞれの有意差は、封筒のカテゴリは mono, 調査日は 6/10, 体毛タイプは 剛毛 (G) を基準にしたものである。

表 4 各変数と分析成功率との検定結果(8月のみ)

	推定値	標準誤差	z値	p値
切片	0.71599	0.61402	1.166	0.2436
封筒のカテゴリ (multi)	-0.20948	0.4265	-0.491	0.6233
体毛本数	0.07165	0.07314	0.98	0.3273
8/19	-0.75571	0.48579	-1.556	0.1198
8/26	-1.21532	0.54147	-2.244	0.0248 *
中間毛(I)	0.24374	0.61756	0.395	0.6931
下毛(U)	-0.7902	0.60775	-1.3	0.1935

p<0.05: \*

それぞれの有意差は、封筒のカテゴリは mono, 調査日は 8/5, 体毛タイプは 剛毛 (G) を基準にしたものである。

表 5 マイクロサテライト座位と分析成功率の検定結果

	推定値	標準誤差	z値	p値
切片	2.615	0.1994	13.116	< 2e-16 ***
G10C	-0.3342	0.2637	-1.267	0.20498
G10B	-0.2497	0.2682	-0.931	0.35185
G10P	-1.2192	0.2357	-5.173	2.30E-07 ***
G10X	-0.7417	0.248	-2.991	0.00278 **
G10M	-0.6975	0.2495	-2.796	0.00518 **

p<0.001: \*\*\*, p<0.01: \*\*, p<0.05: \*

有意差は G10L を基準にしたものである。

## 4. 考察

今回の結果から、ヘア・トラップ利用率は6月から8月にかけて高く、9月以降低下すること が示された。クマの行動域は広大であり、時期によって広範囲に移動するなど生息状況が異なる ことが知られている(Izumiyama, 2004; 上馬・山田, 2008 など)。そのため、9 月以降のトラップ 利用率の低下はクマが調査地を利用しなかったことに起因する可能性も考えられた。しかし、9 月以降も本調査地内ではクマの目撃例があり、糞などの痕跡も多く見つかった。自動撮影カメラ でもクマが確認されていることから、クマが調査地を利用していたことに相違なかった。図8は 10月に自動撮影カメラで確認されたクマの写真であり、トラップ内に侵入したクマが数分間にわ たって撮影された。しかし、このクマはトラップ内に侵入・滞在したにも関わらず誘引餌を食べ なかった。これらのことから、9月以降はクマがトラップに誘引されにくくなることが示された。 同時期に周囲で確認された糞の内容物から、この時期のクマはおそらく堅果類を選択的に摂取し ているものと推察された。また、堅果類を多く利用できる年には行動域が狭くなることも示唆さ れている(岐阜大学応用生物科学部獣医学講座野生動物医学研究室内 21 世紀 COE プログラムプ ログラム事務局, 2004)。したがってクマがトラップを発見する確率が低下した結果、秋季のトラ ップ利用率が低下した可能性も考えられた。堅果類の少ない凶作年には秋季のトラップ利用率が 高くなるかもしれないが、安定したサンプル数を確実に確保するためにも秋以降の調査設計は不 適であると考える。

#### 2.2 分析効率の季節性

二項分布のロジスティックモデルによる解析の結果から、分析に供した体毛の本数が多いほど 遺伝子分析成功率が有意に高くなることが示された。つまり、体毛サンプルに含まれる DNA 量が 分析成功率に強く影響を与えていることが示唆された。これまでの研究報告の中には、複数個体 のコンタミネーションを回避するために少ない体毛から DNA を抽出しているものがある(株式会 社野生動物保護管理事務所, 2007; 森光, 2008; 釣賀, 2008 など)。しかし、最近では30本以上の体 毛を DNA 抽出に用いている例もあり、高い分析成功率を示している (Mowat, et al., 2002; 山内私 信)。Paetkau (2003) が提唱するように複数本を DNA 抽出に用い、複数個体のコンタミネーショ ンが見られた場合にはそのサンプルを破棄する、という手法の方が最終的には分析成功率の向上 に貢献できると考えられた。体毛タイプ別の分析成功率は、G, I, U の順に有意に低下した。体毛 の太さ(毛根の大きさ)が体毛タイプによって大きく異なることから、これもサンプルの DNA 含 量が分析成功率に影響をおよぼした結果と考えられた。しかし、表 4 や図 7 のように 8 月の体毛 タイプ別の分析成功率は I が G より高くなっており、8 月に入ると図 6 のように G のサンプル数 が急減した。我々は採取した体毛の毛根の有無も記録しているが、途中で切れて毛根が無い状態 の体毛の割合が 8 月の G で急増したことを確認している (データ未掲載)。 図 9 は自動撮影カメ ラによる 8 月の写真であるが、有刺鉄線がクマの背中に当たっていたにも関わらず、このとき体 毛はまったく回収できなかった。これらのことから、8月頃から体毛の状態が変化する可能性が 考えられた。また、6・7 月は体毛サンプル数が少ないにも関わらず(図 6)、高い分析成功率を維 持した(図7)。反対に、8月以降のサンプル数は多いが分析成功率は低下した。この現象もクマ の体毛の状態が 8 月頃から変化することを示唆しており、この時期がサンプル数と分析成功率の 推移が大きく変化する分岐点である可能性が示された。これらのことを勘案すると、分析成功率 を可能な限り一定に保つためには、7月末頃までに調査が終了する計画を立てる必要があると推 測された。我々は本研究内容とは別に、有害捕獲されたクマから体毛サンプルを皮膚ごと採取し ている。このサンプルから皮膚組織切片を作成し、体毛の状態や毛根と皮膚との接続関係などを 検証する準備を現在進めており、今後はこのような組織学的知見も加味しながら考察を進めてい きたい。

マイクロサテライト座位と分析成功率との関係について二項分布のロジスティックモデルによる解析を行った結果、G10P、G10X および G10M の3 座位は分析成功率が低いことが示された。この3 座位は G10C、G10L および G10B よりもフラグメントサイズが大きい。つまり、フラグメントサイズが大きくなるほど分析成功率は低くなるということが示唆された。法科学分野において、陳旧血痕試料を用いたマルチプレックス PCR 系では、増幅断片長の長いものの増幅効率は悪くなることが明らかになっている(吉田ら、2002)。ヘア・トラップで扱う体毛サンプルは DNA 含量が少なく、さらに回収されるまで野外で長期間放置されていることから DNA の劣化が進行しているため、DNA 増幅断片長が大きい座位については検出されにくいことが推察される。近年、クマのマイクロサテライト解析に関して新しくプライマーがいくつか発表されているが(Meredith et al、2009;Sanderlin et al、2009 など)、それらのプライマーを導入する際には対立遺伝子の多様性だけでなく、分析のしやすさも十分考慮に入れてフラグメントサイズの小さいものを優先的に選択した方が良いと考えられた。

以上のように、本研究によってヘア・トラップの調査時期は6・7月が適期であることが示された。今後は9月以降の解析を進め、年間を通じた解析によって調査適期をより詳しく検証する予定である。



図8 トラップ内に入ったクマ (2010年10月18日撮影) このクマはトラップ内にしばらく滞在したが誘引餌はどれも食べなかった。



図9 トラップ内に入ったクマ (2010年8月6日撮影)

クマの背中が有刺鉄線に押しつけられるようにあたっているが、このとき体毛は1本もとれなかった。

## 引用文献

- Bookhout, T. A. 1996. Research and management techniques for wildlife and habitats. The wildlife Society, Bethesda. 邦訳: Bookhout, T. A. 編(日本野生動物医学会・野生生物保護学会監訳, 鈴木正嗣編訳, 2001)野生動物の研究と管理技術, 文永堂出版, 東京, pp. 505-511.
- 岐阜大学応用生物科学部獣医学講座野生動物医学研究室内 21 世紀 COE プログラム事務局. 2004. 岐阜県本巣郡根尾村ツキノワグマ生息実態調査報告書 平成 14 年度. 岐阜県におけるツキノワグマの生態と保護管理に関する資料.
- Izumiyama, S. and Shiraishi, T. 2004. Seasonal changes in elevation and habitat use of the Asiatic black bear (Ursus thibetanus) in the Northern Japan Alps. Mammal Study 29: pp. 1-8.
- 株式会社野生動物保護管理事務所. 2007. 平成 18 年度希少動物モニタリング委託業務報告書, pp. 27-44.
- Meredith, E. P., Rodzen, J. A., Banks, J. D. and Jones, K. C. 2009. Characterization of 29 tetranucleotide microsatellite loci in black bear (*Ursus americanus*) for use in forensic and population applications. Conservation Genetics 10: pp. 693-696.
- Ryder, M. L. 1973. The Institute of Biology's Studies in Biology No. 41: Hair. Esward Arnold, London. 邦訳: M. L. ライダー著(加藤淑裕・木村資亜利訳, 1980)毛の生物学, 朝倉書店, pp. 46-47.
- 森光由樹. 2008. 各都道府県のヘア・トラップ調査の実施状況と長野県における実施例. 哺乳類科学 48: pp. 133-138.
- Mowat, G, Poole, K. G., Seip, D. R., Heard, D. C., Smith, R. and Paetkau, D. 2002. Grizzly and black bear densities in interior British Columbia. Auroa Wildlife Research.
- Paerkau, D. and Strobeck, C. 1995. The molecular basis and evolutionary history of a microsatellite null allele in bears. Molecular Ecology 4: pp. 519-520.
- Paetkau, D. and Strobeck, C. 1998. Ecological genetics studies of bears using microsatellite analysis. Ursus 10: pp. 299-306.
- Paetkau, D. 2003. An empirical exploration of data quality in DNA-based population inventories. Molecular Ecology 12: pp. 1375-1387.
- Sanderlin, J. S., Faircloth, B., C., Shamblin, B. and Michael, J. C. 2009. Terranucleotide microsatellite loci from the black bear (*Ursus americanus*). Molecular Ecology 9: 288-291.
- Sato, Y. 2002. An ecological study on human-bear conflicts in Urahoro, Hokkaido. Ph. D thesis. The University of Tokyo, 91.
- 釣賀一二三. 2008. 北海道渡島半島におけるヘア・トラップ調査の実施例. 哺乳類科学 48: 119-123. 上馬康生・中谷内修. 2006. 石川県におけるツキノワグマのヘアートラップ調査 (2006 年). 石川県白山自然保護センター研究報告 33: 33-40.
- 上馬康生・山田孝樹. 2008. 白山地域のツキノワグマの行動圏と冬眠場所の年変化. 石川県白山自然保護センター研究報告 35: 23-34.
- 山内貴義・齊藤正恵. 2008. 岩手県におけるヘア・トラップの実施状況と今後の課題. 哺乳類科 学 48: 125-131.
- 吉田日南子, 千住弘明, 藤井宏治, 笠井賢太郎, 佐藤元. 2002. 市販の多座位 STR 検出キットを用いた法科学的試料からの DNA 型検出. DNA 多型 9: 335-338.

## 2.3 ヒグマの DNA 個体識別手法の標準化 (予報)

釣賀 一二三(北海道環境科学研究センター)

#### 1. はじめに

体毛から抽出した遺伝子の分析による個体識別を応用したヘア・トラップ法は、限られた労力で、広域に多くの個体に関する情報を扱うことが可能であり、北海道のヒグマ生息動向の把握あるいは生息密度の推定へ応用すべく、様々な試みが行われてきた。北海道では2000年以降6年間に亘ってこの手法をヒグマに応用するための検討が実施されており、本報告では、これまでに得られた知見のうち、特にDNA分析に関して紹介すると共に、今回新たに取り組んだ内容について述べる。

## 2. これまでの取り組み

ヘア・トラップ法を北海道のヒグマに応用するに当たって、最初に選択されたマイクロサテライト領域は Paetkau and Strobeck (1994)や Paetkau et al. (1995)で報告された 8 つの遺伝子座(G1A、G1D、G10B、G10C、G10L、G10M、G10P、G10X)であった。これらの遺伝子座が用いられたことは、既にヒグマ捕獲個体を用いた遺伝的多様性の評価に応用されつつあり、増幅や対立遺伝子に関する情報が蓄積されていたことがその理由と考えられる。実際に、ヘア・トラップ法の試行が行われていた渡島半島地域の電波標識個体 30 頭の DNA を分析したところ、これらの遺伝子座における分析結果からは、個体識別に十分な遺伝的多様性が検出されており( $P_{(ID)}=3.04\times10^{-7}$ 、 $P_{(ID)sib}=1.70\times10^{-3}$ )( $\mathbf{表}\mathbf{1}$ )、渡島半島地域のヒグマに対してヘア・トラップ法が実用可能であることが示唆されている(釣賀、 $\mathbf{2008}$ )。

表 1 渡島半島地域における電波標識個体のマイクロサテライト分析から得られた、各遺伝子座における対立遺伝子数、ヘテロ接合度の期待値、 $P_{\text{(ID)}}*$ および  $P_{\text{(ID)sib}**}$ (釣賀、2008 より改変)

U/1	4 1 W		1 (ID)SID*** \DJAC\ 1	2000 <b>0. 7 %</b> % /
遺伝子座	対立遺伝子数	ヘテロ接合度の期待値	$P_{ m (ID)}$	$P_{ m (ID)sib}$
G1A	6	0.802	0.078	0.375
G1D	2	0.381	0.461	0.678
G10B	5	0.650	0.183	0.476
G10C	4	0.619	0.231	0.503
G10L	6	0.680	0.139	0.450
G10M	4	0.543	0.303	0.558
G10P	7	0.825	0.062	0.360
G10X	4	0.684	0.169	0.456

<sup>\*</sup> P(ID) probability of identity: 2 個体の遺伝子型が偶然一致する確率

一方、Paetkau et al. (1995)以降、クマ類を対象としたマイクロサテライト領域が数多く報告されており、渡島半島地域を対象にヘア・トラップ調査を実施するに当たって、より個体識別精度の高い遺伝子座の組み合わせが検討された。前述の 8 遺伝子座を含めた 25 遺伝子座 (Paetkau and Strobeck 1994; Paetkau et al. 1995; Taberlet et al. 1997; Paetkau et al. 1998) を用いて 30 頭の電波標識個体を分析したところ、多様性の高い7 遺伝子座(G1A、G10P、UarMU05、UarMU23、UarMU26、

<sup>\*\*</sup> P<sub>(ID)sib</sub> probability of identity among sibs: 血縁関係のある 2 個体の遺伝子型が偶然一致する確率

UarMU50、 UarMU51)を組み合わせることによって、これまでの 8 遺伝子座を用いた場合より も高い識別能 ( $P_{\text{(ID)}}$ =5.29×10<sup>-9</sup>、  $P_{\text{(ID)sib}}$ =5.72×10<sup>-4</sup>)を示すことが明らかになった(釣賀、2008、表 2)。

表 2 25 遺伝子座のマイクロサテライト領域から選択された 7 遺伝子座について、渡島半島地域の電波標識個体で得られた各遺伝子座における対立遺伝子数、ヘテロ接合度の期待値、P(ID)\*および P(ID)sib\*\*(釣賀、2008より改変)

	1,51,51,			
遺伝子座	対立遺伝子数	ヘテロ接合度の期待値	$P_{ m (ID)}$	$P_{ m (ID)sib}$
G1A	6	0.802	0.078	0.375
G10P	7	0.825	0.062	0.360
UarMU05	4	0.725	0.133	0.427
UarMU23	8	0.780	0.086	0.388
UarMU26	4	0.724	0.135	0.428
UarMU50	7	0.761	0.095	0.399
UarMU51	4	0.742	0.123	0.416

同様の検討は他の地域においても実施されている。 Itoh et al., (2009) は、個体識別と血縁関係の解析を目的に、道東地域の浦幌地区で捕殺されたヒグマ 38 個体について 24 遺伝子座のマイクロサテライト領域を分析し、**表 3** に示した 7 遺伝子座(G1A、G10B、G10L、UarMU05、UarMU23、UarMU50、UarMU51)の組み合わせが高い個体識別能を示し( $P_{\text{(ID)}}$ =3.17×10<sup>-7</sup>、 $P_{\text{(ID)}}$ =2.23×10<sup>-3</sup>)、個体識別に有効であることを報告している。

さらに、間野ら(2009)は、積丹・恵庭地域で捕殺された 45 個体を対象として 12 遺伝子座の分析を行い、表 4 に示した 7 遺伝子座(G1A、G10B、G10P、UarMU23、UarMU50、UarMU51、UarMU59)を用いることによって十分に個体識別が可能であること( $P_{\text{(ID)}}$ =1.41×10<sup>-7</sup>、 $P_{\text{(ID)}}$ =1.87×10<sup>-3</sup>)を報告している。

表 2~4 を見比べてわかるとおり、渡島半島、積丹・恵庭と道東地域といった異なる 3 地域個体群を対象とした分析において、高い多型性を示す遺伝子座には共通のものが多く見られた (G1A、UarMU23、 UarMU50、 UarMU51)。また、Itoh et al. (2008) では、G10P が選択された 7 遺伝子座に次いで高い多型を示していることが報告されており、この遺伝子座は他の 2 地域では有効な組み合わせの中に選択されている。このことは、北海道の多くの地域でこれらの遺伝子座を用いた個体識別が有効である可能性があることを示しているが、その一方で、それぞれの遺伝子座が示す多型性の程度には地域によって差があることも事実である。渡島半島地域や浦幌地域で高い多型性を示した UarMU05 は、積丹・恵庭地域ではそれ程多型を示さなかった。このことは、より精度の高い結果を得るために、調査対象地域で捕獲個体などを用いた基礎的な分析が重要であることを示唆している。

表 3 24 遺伝子座のマイクロサテライト領域から選択された 7 遺伝子座について、浦幌地区の捕殺個体で得られた各遺伝子座における対立遺伝子数、ヘテロ接合度の期待値、P(ID)\*およびP(ID)sib\*\*(Itoh et al., 2009より改変)

遺伝子座	対立遺伝子数	ヘテロ接合度の期待値	$P_{ m (ID)}$	$P_{ m (ID)sib}$
G1A	7	0.727	0.117	0.421
G10B	6	0.773	0.091	0.391
G10L	6	0.691	0.133	0.442
UarMU05	4	0.701	0.156	0.430
UarMU23	6	0.764	0.102	0.399
UarMU50	5	0.766	0.098	0.397
UarMU51	4	0.709	0.144	0.436

表 4.12 遺伝子座のマイクロサテライト領域から選択された 7 遺伝子座について、積丹・恵庭地域の捕殺個体で得られた各遺伝子座における対立遺伝子数、ヘテロ接合度の期待値、P(ID)\*および P(ID)sib\*\* (間野ら 2009 より改変)

遺信	云子座	対立遺伝子数	ヘテロ接合度の期待値	$P_{ m (ID)}$	$P_{ m (ID)sib}$
	G1A	6	0.783	0.086	0.384
G	310B	6	0.809	0.069	0.367
C	310P	7	0.799	0.073	0.373
Uar	·MU23	8	0.714	0.123	0.428
Uar	·MU50	9	0.761	0.099	0.399
Uar	·MU51	5	0.696	0.154	0.444
Uar	·MU59	5	0.658	0.175	0.468

## 3. 4 塩基繰り返しのマイクロサテライト領域に関する検討

近年、これまで主流であった 2 塩基繰り返しのマイクロサテライト領域とは異なり、4 塩基(例えば、AAAGや TAGAなど)繰り返しの遺伝子座が報告されるようになった (Meredith et al., 2009; Sanderlin et al., 2009; Shin et al., 2009)。これらは従来の 2 塩基繰り返しと比較して対立遺伝子間の断片長の差が大きく、対立遺伝子を判別する際の間違いを軽減するのに有効であると考えられる。多数の試料とデータセットを扱うヘア・トラップ法では、DNA分析データの判読におけるエラーを極力押さえることが重要であり、新たに報告された 4 塩基繰り返しの遺伝子座が高い多型を示すかどうかを検証することは大きな意味を持つ。

北海道のヒグマにおいて4塩基繰り返しの遺伝子座が示す多型性を検討するのに先立って、PCR による増幅や DNA 断片の検出に関する検討を行った。

分析対象のマイクロサテライト領域は、2009年に報告のあったものから、増幅断片長が概ね 250 塩基対以下の 23 遺伝子座を選択した。材料には積丹・恵庭地域で捕殺された 6 個体を用い、これまでに用いた 2 塩基繰り返しの遺伝子座と同様の増幅条件 (95℃10分に続いて、94℃30秒、50℃20秒、72℃20秒を 30サイクル、72℃10分の後 4℃)で PCR を行った。結果として、23のうち UamA107を除く 22の遺伝子座で対立遺伝子が検出された (ABI PRISM 310、Applied Biosystems、 USA を用いて検出された波形データは、資料参照)。 表 5 には、6 個体から検出された対立遺伝子の一覧を示したが、対立遺伝子が検出できなかった UamA107 と多型の確認できなかった UamC11を除いて、ほとんどの遺伝子座において複数の対立遺伝子が確認された。 わずか 6 個体の分析によって複数の対立遺伝子が確認できたことは、これらの遺伝子座が個体識別に有用である可能性を示唆している。 今後より多くの個体を分析することによって、多型の程度を明らかにする必要がある。

双3 0個体を用いて検出された22度以下座の対立度似于(UalifA10/ は場間を確認しさり)					
遺伝子座	対立遺伝子数	検出された断片長	備考		
UamA107	-	-	増幅確認できず		
UamB2	2	165, 169			
UamB5	3	152, 156, 160			
UamB103	3	111, 115, 119			
UamC11	1	148			
UamD1a	4	112, 116, 120, 121	1 塩基違いの対立遺伝子		
UamD2	4	195, 199, 203, 207			
UamD3	2	225, 229			
UamD102	6	179, 180, 183, 184, 187, 188	1 塩基違いの対立遺伝子		
UamD103	4	165, 167, 171, 176	1、 2 塩基違いの対立遺伝子		
UamD112	4	123, 127, 131, 135			
UamD113	3	147, 151, 156			
UamD118	3	182, 186, 190			
BM3-P1B05U	3	215, 219, 223			
BM4-P1H10U	3	287, 288, 291	1 塩基違いの対立遺伝子		
BM4-P2A03U	3	244, 248, 260			
BM4-P2E11U	4	248, 252, 256, 260			
RM3-P2H03U	7	162, 163, 167, 174, 175, 179, 180	1、 2 塩基違いの対立遺伝子		
UT1	3	198, 200, 202	2 塩基違いの対立遺伝子		
UT4	4	136, 140, 144, 148			
UT29	3	169, 173, 177			
UT35	3	185, 193, 197			
UT38	3	177, 181, 185			

表 5 6 個体を用いて検出された 22 遺伝子座の対立遺伝子(HamA107 は増幅を確認できず)

多型性を示す遺伝子座が多く存在することが期待される一方で、1 塩基あるいは 2 塩基異なる 対立遺伝子が検出された遺伝子座もいくつか存在し、マイクロサテライト領域内に不規則な変異 が存在したり、マイクロサテライト領域外に変異が存在したりすることが推測された。これらの 対立遺伝子の存在は、結果の判読を困難にする可能性があることから、今後より多くの個体を用 いて分析を実施し、その結果によってヘア・トラップ法への応用について検討すべきと思われる。 また、UamD103、UamD112、UT1 および UT29 については、対立遺伝子の分析像において波形が 割れており、特に UT1 と UT29 には多くのピークの存在が確認された(付図参照)。これらに関し ては、多型性の評価と共に増幅条件の検討を行う必要がある。

#### 4. 今後の課題

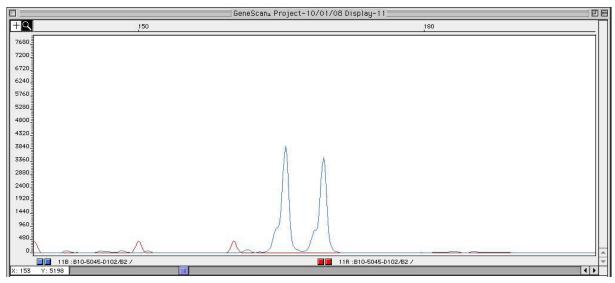
来年度以降は、これまで実施されたヘア・トラップ法の試行で用いられた遺伝子座と今回新た に分析を試みた遺伝子座から、多型性や対立遺伝子の判読のしやすさ、あるいは増幅のしやすさ などを評価し、ヒグマのヘア・トラップ法に最適な遺伝子座の選択を進める必要がある。また、 候補として選択した遺伝子座については、いくつかの地域個体群を対象に十分な個体識別能があ るかどうかの検証を実施しなければならない。さらに分析の効率化にむけて、マルチプレックス PCR の条件検討をする必要がある。

## 引用文献

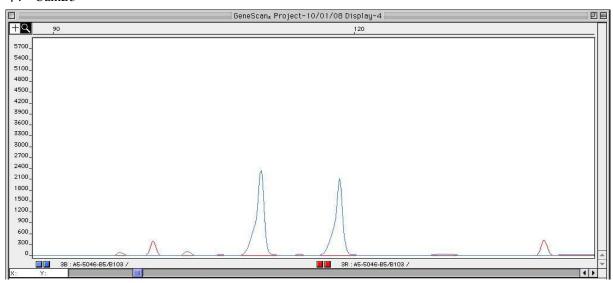
- Itoh, T., Sato, Y., Mano, T. and Iwata, R. 2009. Estimating a suitable microsatellite marker set for individual identification and parentage tests of brown bear (*Ursus arctos*) in the Akan-Shiranuka Region, eastern Hokkaido, Japan
- 間野勉・釣賀一二三・石田千晶・高田雅之. 2009. ビグマの遺伝的多様性と生息地の連続性の評価. (北海道生物多様性保全モニタリングに関する研究,平成 20 年度 (2008 年度) 研究報告書) pp. 49-54. 北海道環境科学研究センター・北海道立林業試験場・北海道中央農業試験場・札幌市立大学.
- Meredith, E. P., Rodzen, J. A., Banks, J. D. and Jones, K. C. 2009. Characterization of 29 tetranucleotide microsatellite loci in black bear (*Ursus americanus*) for use in forensic and population applications. Conservation Genetics 10: 693-696.
- Paetkau, D., Calvert, W., Stirling, I. and Strobeck, C. 1995. Microsatellite analysis of population structure in Canadian polar bears. Molecular Ecology 4: 347-354.
- Paetkau, D. and Strobeck, C. 1994. Microsatellite analysis of genetic variation in black bear populations. Molecular Ecology 3: 489-495.
- Sanderlin, J. S., Faircloth, B. C., Shamblin, B. and Conroy, M.J. 2009. Tetranucleotide microsatellite loci from the black bear (*Ursus americanus*). Molecular Ecology Resources 9: 288-291.
- Shih, Chih-Chin, Huang, Chuan-Chin, Li, Shou-Hsien, Hwang, Mei-Hsiu and Lee, Ling-Ling. 2009. Ten novel tetranucleotide microsatellite DNA markers from Asiatic black bear, Ursus thibetanus. Conservation Genetics 10: 1845-1847.
- Taberlet, P., Camarra, J.-J., Griffin, S., Uhres, E., Hanotte, O., Waits, L. P., Dubois-Paganon, C., Burke, T. and Bouvet, J. 1997. Noninvasive genetic tracking of endangered Pyrenean brown bear population. Molecular Ecology 6: 869-876.
- 釣賀一二三. 2008. 北海道渡島半島地域におけるヘア・トラップ調査の実施例. 哺乳類科学 48: 119-123.
- Waits, L. P., Luikart, G. and Taberlet, P. 2001. Estimating the probability of identify among genotypes in natural populations: cautions and guidelines. Molecular Ecology 10: 249-256.

## ヒグマの DNA 個体識別法の標準化:付図(アーウ)1/8

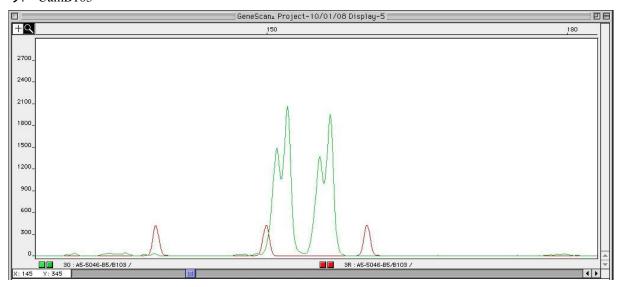
### ア. UamB2



#### イ. UamB5

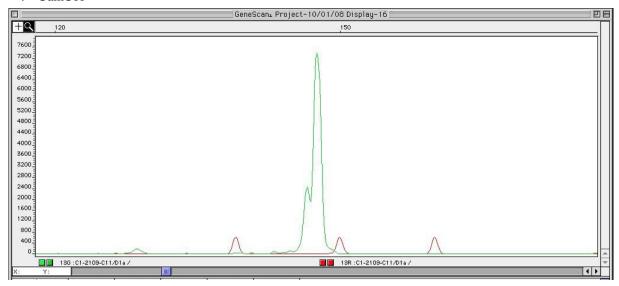


### ウ. UamB103

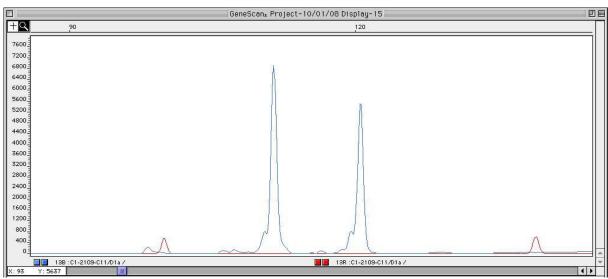


## ヒグマの DNA 個体識別法の標準化:付図(エーカ) 2/8

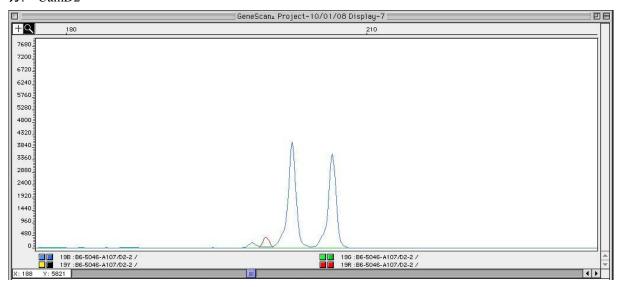
### **⊥**. UamC11



#### オ. UamD1a

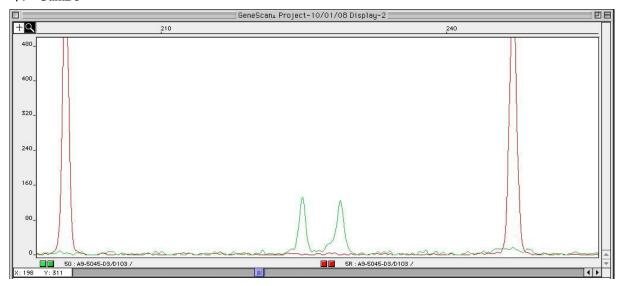


#### カ. UamD2

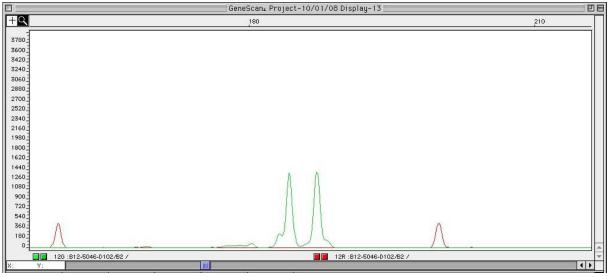


## ヒグマの DNA 個体識別法の標準化:付図(キーケ)3/8

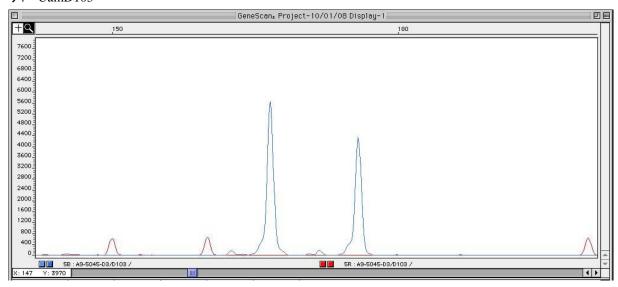
### +. UamD3



### ク. UamD102

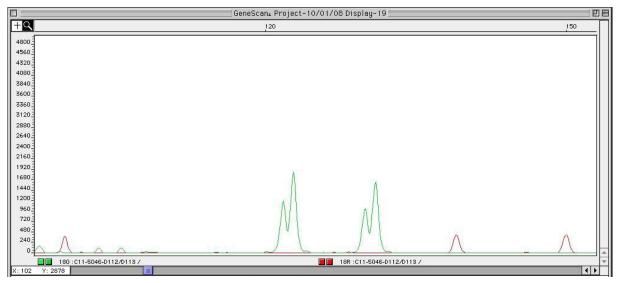


#### ケ. UamD103

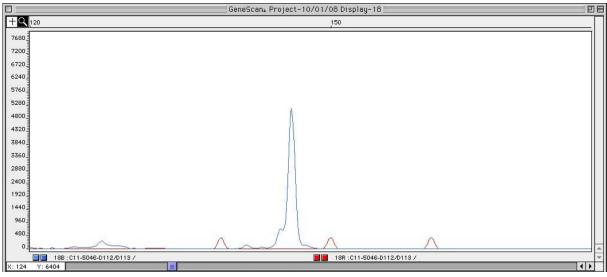


## ヒグマの DNA 個体識別法の標準化:付図 (コーシ) 4/8

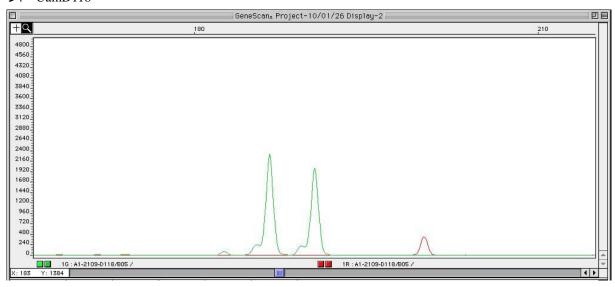
### □. UamD112



#### サ. UamD113

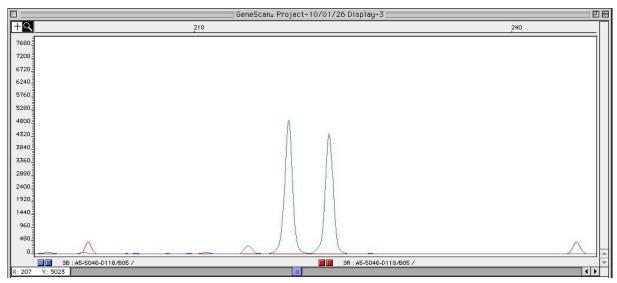


#### シ. UamD118

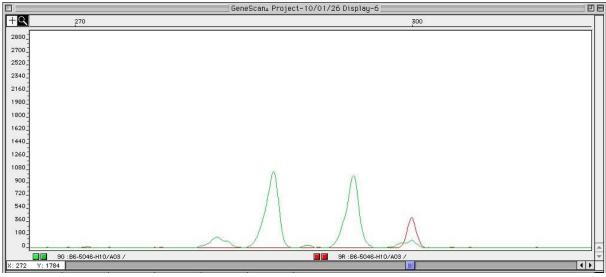


## ヒグマの DNA 個体識別法の標準化:付図(スーソ)5/8

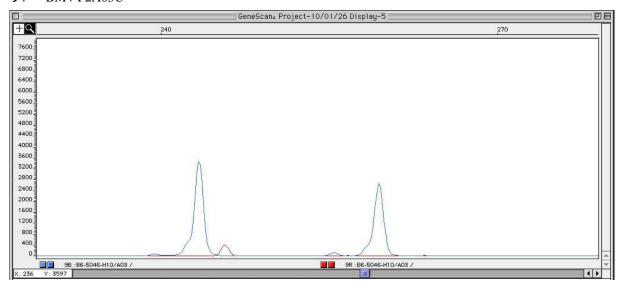
### ス. BM3-P1B05U



### セ. BM4-P1H10U

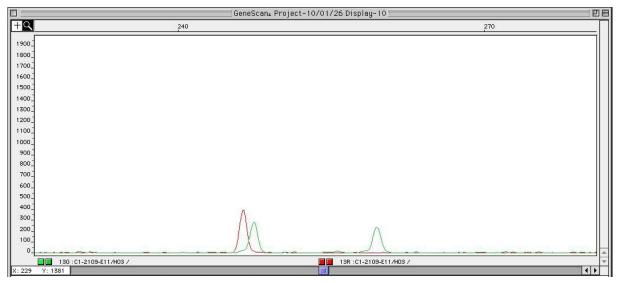


#### ソ. BM4-P2A03U

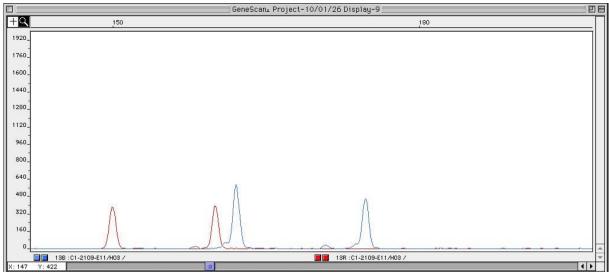


### ヒグマの DNA 個体識別法の標準化:付図 (ターツ) 6/8

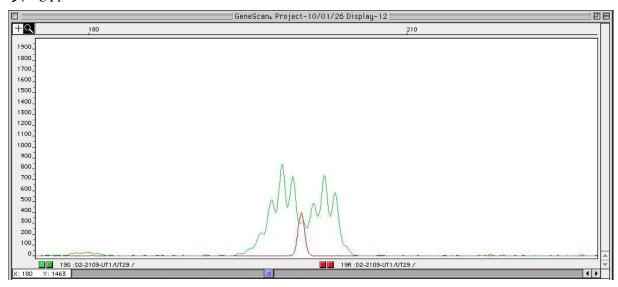
### タ. BM4-P2E11U



#### チ. RM3-P2H03U

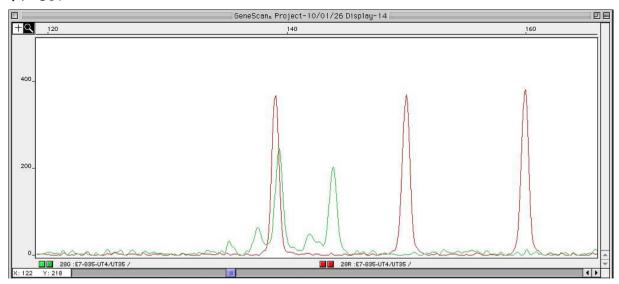


#### ツ. UT1

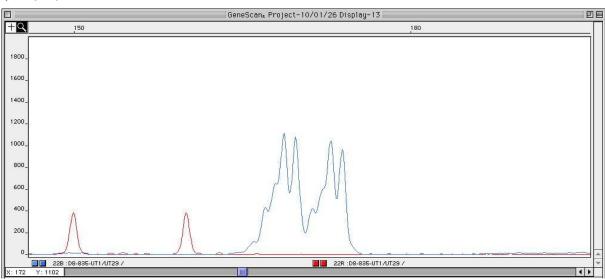


### ヒグマの DNA 個体識別法の標準化:付図(テーナ)7/8

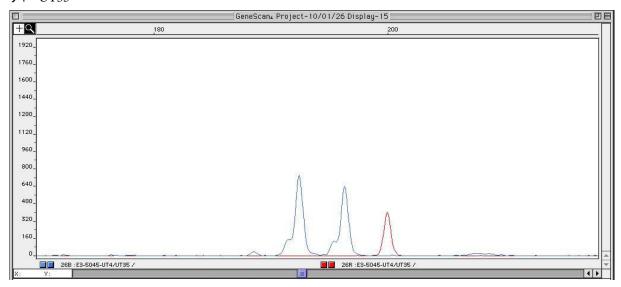
### テ. UT4



### ト. UT29

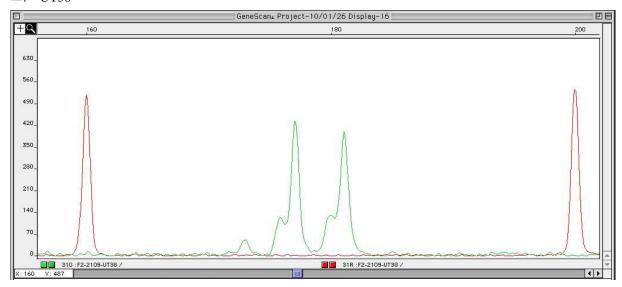


### ナ. UT35



# ヒグマの DNA 個体識別法の標準化:付図(二)8/8

# **=**. UT38



# 2.4 有害駆除個体を利用した有効集団サイズの推定方法の検討

玉手 英利 (山形大学)・鵜野 レイナ (慶応大学)

### 1. はじめに

クマ類の有害駆除サンプルから個体数変動に関する情報を得るための試みとして、本研究では有効集団サイズ (effective population size, Ne) の利用可能性を検討した。有効集団サイズは、次世代に受け継がれる遺伝子プール (gene pool) の大きさを示す数値で、繁殖集団の大きさを比較する指標として用いることができる。Ne から人口学的な集団サイズを推定することは通常は困難だが、個体数が大きく変動する場合には、その増減傾向(トレンド)を Ne の変動によって把握できる可能性が考えられる。例えば、2006 年の山形では、県推定生息数の約 46%に相当する 692 頭が捕獲された。このように集団サイズが大きく変動する場合には、Ne も変化する可能性が考えられる。そこで、本研究では、Ne を個体数変動の指標として利用する可能性について検討した。

有効集団サイズの推定に関しては、遺伝子頻度の時間的変動から推定する方法(Temporal method; Anderson et al., 2000; Waples, 1989; Waples and Yokota, 2007)(TM 法)、連鎖不平衡から推定する方法(Linkage disequilibrium method; Waples, 2006)(LD 法)、観察された遺伝的多様度が得られる集団サイズをベイズ法で推定する方法(Summary statistics method; Tallmon et al., 2007)など様々な方法が提案されている。本年度はこれらのうち、TM 法と LD 法を有害駆除サンプルに適用するための基本的条件を検討した。

### 2. 有効集団サイズの推定

### 2-1. 有害駆除個体サンプルと遺伝子マーカー

サンプルとして、山形県で 2004 年から 2008 年までに有害駆除で捕獲されたツキノワグマ 117 個体の筋肉から抽出した DNA を用いた。年ごとの個体数は、それぞれ 11 (2004 年)、22 (2005 年)、56 (2006 年)、61 (2007 年)、27 (2008 年) である。2004 年~2006 年のサンプルについては、G1A、G10B、G10L、G10M、G10X、MSUT1、MSUT6 のマイクロサテライト 6 遺伝子座の遺伝子型を決定した。2007 年のサンプルについては、G1A、G10L、G10M、MSUT1、MSUT6 の 5 遺伝子座、2008 年のサンプルについては G1A、G10L、G10M、MSUT1 の 4 遺伝子座について、それぞれ遺伝子型を決定した。PCR 等の条件は、それぞれのマーカーを記載した原著論文に従って設定した。全サンプルについて遺伝子型が決定されたので、欠測値を含まないデータセットを Neの推定に用いた。

### 2-2. Ne の推定

### 2-2-1.Temporal method (TM)による推定

TM (Waples, 1989; Waples and Yokota, 2007)は、Ne が小さいほど遺伝子頻度の時間的変動が大きくなる関係に基づいて Ne を推定する方法で、1 世代以上の間隔をおいて複数回、遺伝子頻度を測定する必要がある。本研究で用いたサンプルは 2004 年から 2008 年までの捕獲個体に限られていたので、仮に 2005 年を第 1 世代、2008 年を第 2 世代として Ne 推定を行った。マイクロサテライト 4 遺伝子座(G1A、G10L、G10M、MSUT1)のデータセットをもとに、Anderson et al.(2000)の

方法により、Ne=30 から Ne=600 まで 10 の増分で、それぞれの Ne の尤度を計算した。その結果、Ne=90 が最尤値となった( $log\ likelihood=-149.341$ )。TM 法による推定値は、各世代の Ne の平均値(調和平均)と考えられる。

### 2-2-2.Linkage disequilibrium method (LD)による推定

LD (Hills, 1981) は、小集団ではより連鎖不平衡が生じることを利用した推定方法で、TM よりも精度が低いとされるが (Wang, 2009)、TM とは異なり 1 回のサンプリングで推定値が得られる。各年度で分析された遺伝子座数が異なるので、それぞれ別に Ne を推定した(表1)。

表 1 LD による Ne 推定値

Year	2004 (n=11)	2005	2006	2007	2008
		(n=22)	(n=56)	(n=61)	(n=27)
7 loci data	20.7 (9.9-171.8)	32.0 (19.1-74.4)	33.1 (24.1-48.4)	ND	ND
5 loci data	24.2 (8.0-infinity)	58.3	26.2 (17.8-41.4)	26.3 (18.6-38.8)	ND
		(20.5-infinity)			
4 loci data	12.42	59.7	35.2 (19.4-81.9)	22.6 (14.9-36.3)	95.3
	(9.2-infinity)	(16.7-infinity)			(22.6-infinity)

n, number of samples; numbers in parentheses are the 95% confidence intervals for Ne estimates; ND, not determined.

#### 2-3. Ne 推定に関する問題点

TM は不連続世代からのサンプリングを前提としているが、連続世代でも齢査定が可能な場合やサンプリング間隔が長い場合には適用可能とされている(Waples and Yokota, 2007)。したがって、TM により中長期の Ne 変動を記録するためには、有害駆除個体の齢査定を必ず行い、数年間隔でサンプリングを行うことが望ましいと考えられる。LD については、サンプル数が少ない場合に精度が大きく低下することが指摘されている(England et al., 2006)。本研究においてもサンプル数や遺伝子座が少ない場合に信頼区間の上限が定まらなかった。また、TM と LD のいずれもランダムサンプリングを前提としているが、有害駆除個体は比較的狭い地域で集中的に捕獲されることがあるので(鵜野ら、2009)、この前提条件が満たされない可能性もある。これらの問題に対しては、駆除個体の齢査定や有害駆除個体の組織サンプルの提出を義務づけるなどの対処が必要と考えられる。

### 引用文献

- Anderson, E. C., Williamson, E. G. and Thompson, E. A. 2000. Monte Carlo evaluation of the likelihood for Ne from temporally-spaced samples. Genetics 156: 2109-2118.
- England, P. R., Cornuet, J-M., Berthier, P., Tallmon, D. A. and Luikart, G. 2006. Estimating effective population size from linkage disequilibrium: severe bias in small samples. Conservation Genetics 7: 303–308.
- Hill, W. G. 1981. Estimation of effective population size from data on linkage disequilibrium. Genet. Res. 38: 209–216.
- Tallmon, D. A., Koyuk, A., Luikart, G. and Beaumont, M. A. 2007. ONeSAMP: a program to estimate effective population size using approximate Bayesian computation. Molecular Ecology Resources 8:

#### 2.4 有効集団サイズの推定

299-301.

- 親野レイナ, 東英生, 玉手英利. 2009. 親子判定で明らかになったツキノワグマ幼獣の単独行動. 哺乳類科学 49: 217-223.
- Wang, J. 2009. A new method for estimating effective population sizes from a single sample of multilocus genotypes. Molecular Ecology 18: 2148–2164.
- Waples, R. S. 1989. A generalized approach for estimating effective population size from temporal changes in allele frequency. Genetics 121: 379–391.
- Waples, R. S. 2006. A bias correction for estimates of effective population size based on linkage disequilibrium at unlinked gene loci. Conservation Genetics 7: 167–184.
- Waples, R. S. and Yokota, M. 2007. Temporal estimates of effective population size in species with overlapping generations. Genetics 175: 219-233.

# 3.1 斑紋パターンに注目したツキノワグマの個体識別法の開発

三浦 慎悟 (早稲田大学)・青井 俊樹 (岩手大学)・東出 大志 (新潟大学)

### 1. はじめに

一般的に、正確な個体数推定においては、対象とする動物の個体を識別する必要があるとされており、近年、ツキノワグマにおいてはヘア・トラップ法を用いた遺伝解析による非侵襲的な個体識別手法が広く用いられている(Miura and Oka, 2003; Woods et al., 1999)。またこのような非侵襲的手法は、捕獲の必要や、標識の欠落がなく、タグやペイントなど従来の物理的標識法と比べて高精度・低コストであるとされている(Foran et al., 1997; Woods et al., 1999; Zielinski et al., 2006)。このヘア・トラップ法と同様に個体数推定における非侵襲的な調査手法として、カメラトラップを用いた生態的特徴(natural-marking)による個体識別手法があり、数多くの哺乳類種の調査において利用されている。natural-marking を用いた研究事例として、例えば、トラの縞模様(Karanth, 1995; O'Brien et al., 2003)やチーターの毛皮模様(Kelly, 2001)、キツネの足先模様を含む形態的特徴(Sarmento et al., 2009)、アザラシの頭部模様(Vincent et al., 2001)などがあり、体表の模様パターンに代表されるような、各哺乳類種が有する生態的特徴によって個体識別が行われている。特に毛皮に特徴的な模様を有するネコ科哺乳類における事例が多いものの、natural-marking は陸棲から海棲の様々な哺乳類に対して適用されている。

そこで本研究では、ツキノワグマの個体数推定において、生態的特徴を用いたカメラトラップによる個体識別手法を確立することを目的とした。今年度はまず、個体識別に利用可能なツキノワグマの生態的特徴を把握するため、頭部形状、鼻紋、月の輪紋、下顎紋の4項目について、有効性の検証を行った。

### 2. 頭部形状の有効性

#### 2-1. 方法

頭部形状の有効性については、頭骨の計測値を用いて検証を行うこととし、森林総合研究所東北支所所蔵のツキノワグマの頭骨から、様々な齢階級、性別の82個体のサンプルを選択して計測を行った (表1)。計測に際しては、生体でも特徴が確認できることを前提に、目・鼻・口の3ヶ所を対象とし、両目間・目鼻間・鼻幅・鼻口間・目口間の5項目について長さを測定した。しかし、各項目の測定値自体は齢や性の影響を受けるため、続いて測定した5項目の長さのうち、両目間の距離を1とした場合の相対値を他の4項目において算出し、その値を比較することとした。

表 1 頭骨サンプルの内訳

	齢階級					
	1-3 齢	4-6 齢	7-9 齢	10-12 齢	13-15 齢	計
Male	10	10	10	10	10	50
Female	10	5	10	7	0	32
計	20	15	20	17	10	82

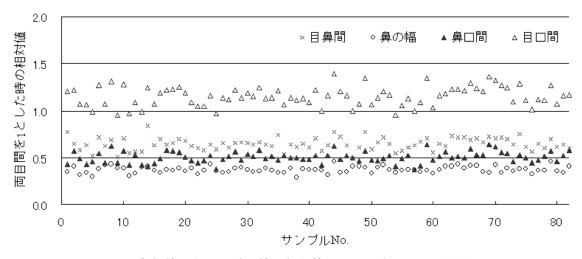


図1 各個体における計測値の相対値(両目間を1とした場合)

### 2-2. 結果と考察

両目間の距離を1とした時の各項目の相対値は、個体毎に異なる値を示した(**図1**)。特に目口間で変異が大きいが、鼻の幅では変異が小さい事がわかる。これは、基準とした両目間の距離が横方向の変化であるのに対し、目口間は縦方向、鼻の幅は横方向の変化であることによると考えられ、この結果は方向性の異なる測定値の比率を用いることで、より大きな変異が抽出されることを示唆している。このように各項目で変異が認められたものの、今回用いた特徴だけでは個体識別を行うには不十分であった。しかし、これ以上の特徴を生体の頭部から抽出することは難しいため、個体識別における頭部形状の有効性は低いと考えられる。

### 3. 鼻紋の有効性

## 3-1. 方法

秋田県の阿仁熊牧場にて撮影した飼育個体の写真から、ブレがなく比較的明瞭に鼻部が確認できた数個体の撮影画像を用いて、比較を行った。

### 3-2. 結果と考察

いずれの個体においてもほとんど鼻紋は確認されなかった(写真 1-1~1-3)。唯一明瞭な特徴としては、鼻の中心部に見られる筋と、それと交差するように左右の鼻の穴にかけて見られる筋の2つだけであるが、この特徴は複数個体で共通して確認された。それ以外に鼻紋らしき特徴は撮影画像からは確認できなかったため、個体識別における鼻紋の有効性は低いと考えられる。



写真 1-1 個体 I



写真 1-2 個体Ⅱ



写真 1-3 個体Ⅲ

### 4. 月の輪紋の有効性

### 4-1. 方法

秋田県の阿仁熊牧場と岐阜県の奥飛騨クマ牧場において飼育個体の写真を撮影し、その撮影画像を用いた。対象とする月の輪紋を正確に記録するため、個体が餌に誘引されて直立姿勢をとった瞬間になるべく正面から撮影を行うことを原則とし、直立姿勢をとらない個体についても、着座および仰向けの状態など月の輪紋が正確に確認できる時点において撮影を行った。各牧場において採取されたサンプルは全70個体、計431枚である(表2)。なお比較に際しては、各個体における最も鮮明な撮影画像を1枚選択して用いた。

#### 4-2. 結果と考察

まず全70個体のうち、胸部に月の輪紋が確認されたのは68個体であり、全体の97%であった (表 2)。この68個体はいずれも異なる斑紋パターンを有しており、特にその大きさ、位置、分裂の有無および極端な凹凸形状などによって容易に識別が可能であった。

例えば個体 A と B の斑紋は大きく、極端な凹凸が複数確認され、幾何学的な形状をしている (写真 2-1,2-2)。個体 C は整った月の輪状の斑紋であるが、中心下部や両端には凹凸が見られる (写真 2-3)。個体 D の斑紋も整った月の輪状を示すが、その形状はかなり細長く、位置によって太さも微妙に異なっている (写真 2-4)。個体 E は斑紋がかなり小さいのが特徴である (写真 2-5)。斑紋が小さい個体は多くないため、小さいこと自体が識別のポイントとなるが、似たような個体の識別においては、斑紋の位置や微量な凹凸の変化も識別に用いるべきである。個体 F,G,H はいずれも斑紋が分裂している (写真 2-6,2-7,2-8)。このように斑紋が分裂した個体の識別が最も容易であり、他の特徴を用いずとも分裂の位置関係だけで識別は可能である。

以上のことから、月の輪紋は個体間でその形状に大きな変異があり、サイズに関する項目としては特に長さと太さが、形状に関しては月の輪紋の分裂や特徴的な凹凸形状などが識別に際して有効な指標であると考えられる。なお、一部個体では月の輪紋が認められなかったが(写真 2-9)、97%と大多数の個体で月の輪紋が確認されたため、識別に際し、十分に指標として利用可能であると判断した。

表 2 撮影枚数と撮影個体および月の輪紋の有無

-			月の輪紋	
	撮影枚数	撮影個体	あり	なし
阿仁熊牧場	308	50	49 (98%)	1 (2%)
奥飛騨クマ牧場	123	20	19 (95%)	1 (5%)
計	431	70	68 (97%)	2 (3%)



### 5. 下顎紋の有効性

### 5-1. 方法

月の輪紋と同様に、秋田県の阿仁熊牧場と岐阜県の奥飛騨クマ牧場において飼育個体の写真を撮影し、その撮影画像を用いた。各牧場において採取されたサンプルは全 70 個体である。なお、下顎紋はツキノワグマが上を向いた状態でなければ全体像を把握できないが、今回の検討においては正面から撮影されたものも含み、その位置関係について比較を行った。

#### 5-2. 結果と考察

全70個体のうち28個体、40%と比較的多くの個体で下顎紋が確認された(表3)。形状は把握が難しい上に、斑紋のサイズの影響もあって、月の輪紋ほど形状に変異が見られないが、位置的な情報は容易に得る事が可能である。例えば個体アでは、下顎紋が左側に寄っていることがわかる(写真3-1)。同様に個体イは中央、個体ウは右側と、位置情報によって大きく3パターンに分類が可能であった(写真3-2,3-3)。

比較的多くの個体で確認でき、数パターンの判別は容易であることから、下顎紋を有する個体 においては有効な指標となり得ると考えられる。

#### 表 3 下顎紋の確認個体と位置情報の内訳

			下顎紋の位置		
	撮影個体	下顎紋確認個体	左側	中央	右側
阿仁熊牧場	50	22	5	13	4
奥飛騨クマ牧場	20	6	0	5	1
計	70	28 (40%)	5 (18%)	18 (64%)	5 (18%)



写真 3-1 個体ア



写真 3-2 個体イ



写真 3-3 個体ウ

### 6. まとめ

4 項目の生態的特徴について検討を行った結果、ツキノワグマの個体識別に際しては、月の輪紋や下顎紋など、その斑紋パターンの有効性が示唆される結果となった。特に月の輪紋は、サイズに関する項目としては長さと太さが、形状に関しては月の輪紋の分裂や特徴的な凹凸形状などが識別に際して有効であり、これらの特徴から目視で個体識別を行うことは容易であった。加えて、下顎紋を有する個体については、その有無や位置情報を相補的に利用することで、より高精

度で容易な個体識別が可能になると考えられる。したがって、今後これらの斑紋パターンに注目 し個体識別法の開発を進めることとした。

### 引用文献

- Foran, D. R., Minta, S. C., Heinemeyer, K. S. 1997. DNA-based analysis of hair to identify species and individuals for population research and monitoring. *Wildlife Society Bulletin* 25(4):840-847.
- Karanth, K. U. 1995. Estimating tiger *panthera tigris* populations from camera-trap data using capture -recapture models. *Biological Conservation* 71:333-338.
- Kelly, M. J. 2001. Computer-aided photograph matching in studies using individual identification: an example from Serengeti cheetahs. *Journal of Mammalogy* 82(2):440-449.
- Miura, S., and Oka, T. 2003. Evaluation of apple bait hair-traps for genetic tagging of Asiatic black bears in the Kitakami Highland, northern Honshu, Japan. *Mammal Study* 28:149-152.
- O'Brien, T. G., Kinnaird, M. F. and Wibisono, H. T. 2003. Crouching tigers, hidden prey: Sumatran tiger and prey populations in a tropical forest landscape. *Animal Conservation* 6:131-139.
- Sarmento, P., Cruz, J., Eira, C. and Fonseca, C. 2009. Evaluation of Camera Trapping for Estimating Red Fox Abundance. *Journal of Wildlife Management* 73(7):1207-1212.
- Vincent, C., Meynier, L. and Ridoux, V. 2001. Photo-identification in grey seals: Legibility and stability of natural markings. *Mammalia* 65(3):363-372.
- Woods, J. G., Paetkau, D., Lewis, D., McLellan, B. N., Proctor, M. and Strobeck, C. 1999. Genetic tagging of free-ranging black and brown bears. *Wildlife Society Bulletin* 27(3):616-627.
- Zielinski, W. J., Schlexer, F. V., Pilgrim, K. L., Schwartz, M. K. 2006. The Efficacy of Wire and Glue Hair Snares in Identifying Mesocarnivores. *Wildlife Society Bulletin* 34(4):1152-1161.

-----

# 3.2 代替法・補完法一痕跡からの DNA 抽出による個体識別法の 開発の現状について

青井 俊樹(岩手大学)

### 1. はじめに

日本におけるクマ類(Ursidae)の保護管理において、人間との軋轢を軽減することはクマ個体群 の維持管理にとって重要な意味を持つ。特にクマ類では、農林業被害だけでなく人身被害の危険 が伴うため、こうした軋轢への対処として多くの地方自治体では有害駆除を実施している。その 際、クマ個体群の絶滅を回避するため、多くの保護管理計画では捕殺数の上限を設けている。こ うした数値目標を決める科学的根拠として、各地でヘア・トラップ法による個体数の推定や変動 を調査する試みがなされている (間野ら 2008, 森光 2008)。近年における全国のツキノワグマ (Ursus thibetanus)有害捕獲数は 1,000~2,500 頭/年で推移している (Hazumi 2006)。しかし、有害駆 除の現場では、クマが捕獲されしだい捕殺されており、オリによって捕獲された個体が実際に農 作物を食害したのかについて検証されていないのが現状である。そのためこれまで数多くの個体 が捕殺されてきたにもかかわらずクマによる農業被害は毎年繰り返し発生しており、捕獲個体を 機械的に殺処分する現行の有害鳥獣駆除では被害水準は減少しないことが指摘されている (Huygens and Hayashi 1999)。また、2003年における全国のツキノワグマの生息分布域は1978年 に比べて拡大しており (環境省 2004)、農地や市街地に出没する個体が各地で増加していること から、今後、有害捕獲数が増加することが懸念されている(Hazumi 2006)。そのためクマ類の保 護管理を行なうにあたっては、個体数管理だけではなく加害個体を特定したうえでの管理(個体 管理) が重要であると考えられている (Oi and Yamazaki 2006)。しかしながら、これまで加害個体 を特定できる有効な手法がなく、このような状況を打開できる新たな手法の開発が求められてき た。

### 2. どうして食痕か?

近年の遺伝子解析技術の飛躍的な進歩によって、微量な DNA の増幅が可能となったことから(Higuchi et al. 1988, Walsh et al. 1991)、この技術が体毛(Taberlet and Bouvet 1992, Woods et al. 1999, Mowat and Strobeck 2000, Sloane et al. 2000, Boulanger et al. 2006)、糞(Reed et al. 1997, Taberlet et al. 1997, Wasser et al. 1997, Kohn et al. 1999, Frantz et al. 2003)のほか、羽毛(Mundy et al. 1997)や卵殻(Arnold et al. 2003)など様々な非侵襲的な材料に応用されるようになった。クマ類においては、ヘア・トラップ法により回収した体毛を材料とした遺伝解析が盛んに行われている(Waits and Paetkau 2005,湯浅・佐藤 2008 に詳しい)。またヒグマ(Ursus arctos)では、生息密度が極端に低い地域や、高原などヘア・トラップの設置が困難な環境において、糞が遺伝子源として利用されている(Taberlet et al. 1997,Bellemain et al. 2007)。食肉目の糞からのサンプリング方法については増田ら(2009)に詳しいが、糞には落とし主の遺伝子のほか食物由来の遺伝子や寄生虫あるいはウイルスの遺伝子が混入していること、糞による遺伝子の分析には糞が落とされてから採取までの時間や天候などの環境が影響しがちである。クマ類ではこれまで、Murphy et al. (2000, 2003)によって糞の保存方法や糞の内容物による遺伝子分析成功率の違いなどの分析手法が検討されている。このように非侵襲的な材料を活用することで、クマによる被害農地においても、加害個体の特定

ができるものと期待される。被害農地におけるクマ類の痕跡として考えられるものとして、糞および食害された農作物(食痕)がある。このうち前者については被害農地で必ずしも採取できるとは限らず、また採取できても糞を落とした個体が加害個体とは断定できない。そこで、確実に被害農地に残されている食痕試料に着目した。これまで食痕試料を使った遺伝解析には、飼育下のチンパンジー(Pan troglodytes)から採取したサトウキビの食痕(シガミカス;Takasaki and Takenaka 1991)や、野生チンパンジーの子供がくわえた小枝に付着しただ液(Inoue et al. 2007)を材料にDNA を抽出した報告がある。食痕試料からツキノワグマの DNA が抽出できれば、科学的根拠に基づいて加害個体が特定できるだけでなく、地域のツキノワグマ保護管理に反映し得る加害個体数の実態や加害個体の性比に関する基礎的な情報を明らかにできると考えられる。その観点から、Saito et al. 2008 は、岩手県において被害農地に残されたツキノワグマによる農作物の食痕試料を材料とした実用的な遺伝子分析手法を開発し、モデル地域における最少加害個体数を算出している。この研究は、クマ類の生息数を推定する一つの新しい方法として期待されるため、以下にその概略を述べる。

### 3. 食痕 DNA による個体識別手法とその野外応用

非侵襲的な材料から回収される DNA は一般に、量が少なく低質であるため、遺伝子分析にエラーが生じて個体識別を見誤りやすい(Taberlet et al. 1996)。こうしたエラーの原因は、大きく DNA の劣化と PCR 阻害物質の混入の 2 つに分けられる。そのため、食痕試料から回収した少量の DNA からいかに正確に分析するかが重要となる。食痕試料の表面には、クマの口腔内剥離細胞が付着しており、この細胞が核を有している(Sweet et al. 1997)。この細胞のサンプリングは、食痕試料の表面を滅菌した綿棒で拭い、綿棒の先を DNA の安定剤(EDTA)を添加した DNA 抽出バッファーの中に折り入れた。DNA の抽出は、綿棒を入れたまま行なった。まず、フェノール・クロロフォルム抽出(Sambrook and Russel 2001)を行い、続いて植物由来のポリフェノールや多糖類を除去するために CTAB 処理(Murray and Thompson 1980)を行った。回収した DNA は水で溶解し分析に供した。すなわち、個体識別用のマイクロサテライト配列(Paetkau and Strobeck 1994, Paetkau et al. 1995)のうち6座位と、性判別用のアメロゲニン遺伝子(Ennis and Gallagher 1994)を増幅した。これら手法詳細は齊藤(2009)にまとめた。

次に、モデル地域内における最少加害個体数とその性別を調査した(Saito et al. 投稿準備中)。 2005 年から 2007 年のいずれも 8~10 月にかけて、モデル地域とした岩手県遠野市の東部一帯の 圃場をみまわった。 3年間で、デントコーン、スイートコーンおよびプラムを作付けた 22 圃場から、新鮮な食痕試料を計 143 試料採取し、Saito et al.(2008)に従い分析を行った。分析成功率は 47.6%(68/143)であり、モデル地域全体で少なくとも 42 個体が食害していた。同地域で、同期間中に有害捕獲された個体数は計 17 頭であったが、実際には少なくとも 2.5 倍のクマが食害を与えていたことが判明した。加害個体の性比(オス/メス)は 5.0 であり、性別が判定できなかった 6 個体をメスと仮定しても同 2.5 となり、これは有害捕獲個体(同 2.0)と比べても更にオスに偏っていた(二項検定, P<0.05)。

以上のことから、食痕からの DNA 抽出による個体識別手法は、これまで明らかになっていなかった加害個体数やその性比など被害状況を把握する手法として有効であることが示された。また本調査地の結果は、捕獲のみに頼った対策は被害の軽減に効果がみられない可能性が考えられた。今後は、ヘア・トラップ法を実施する地域で同時に加害個体の特定を行い、生息数に占める加害

個体の割合や、ワナの誘引効果および加害個体を確実に駆除できているのかなど、クマ類の保護 管理に欠かせない基礎的な情報を収集していくことが重要である。

# 引用文献

- Arnold K. E., K.J. Orr and R. Griffiths(2003) Primary sex ratios in birds: problems with molecular sex identification of undeveloped eggs. Molecular Ecology, 12:3451-3458.
- Bellemain E., M.A. Nawaz, A. Velentini, J.E. Swenson and P. Taberlet (2007) Genetic tracking of the brown bear in northern Pakistan and implications for conservation. Biological Conservation, 134:537-547.
- Boulanger J., M. Proctor, S. Himmer, G. Stenhouse, D. Paetkau and J. Cranston(2006) An empirical test of DNA mark-recapture sampling strategies for grizzly bears. Ursus,17:149-158.
- Ennis S. and T.F. Gallagher (1994) A PCR-based sex-determination assay in cattle based on the bovine amelogenin locus. Animal Genetics, 25:425-427.
- Frantz A.C., L.C. Pope, P.J. Carpenter, T.J. Roper, G.J. Wilson, R.J. Delahay and T. Burke(2003) Reliable microsatellite genotyping of the European badger using faecal DNA. Molecular Ecology,12:1649-1661.
- Hazumi T.(2006) Number captured and nationwide population. In: The status of Asiatic black bears in Japan.pp125-126. Understanding Asian bears to secure their future. Edited by Japan Bear Network. Ibaraki,145pp.
- Higuchi R., C.H. von Beroldingen, G.F. Sensabaugh and H.A Erlich(1988) DNA typing from single hairs. Nature,332:543-546.
- Huygens O.C. and H. Hayashi(1999) Using electric fence to reduce Asiatic black bear depredation in Nagano Prefecture, central Japan. Wildlife Society Bulletin, 27(4):959-964.
- Inoue E., M. I. Murayama, O. Takenaka and T. Nishida(2007) Wild chimpanzee infant urine and saliva sampled noninvasively usable for DNA analysis. Primates, 48:156-159.
- 環境省(2004) 種の多様性調査「哺乳類分布調査報告書」. 環境省自然環境局生物多様性センター. 山梨, 213pp.
- Kohn M.H., E.C. York, D.A. Kamradt, G.Haught, R.M. Sauvajot and R.K. Wayne(1999) Estimating population size by genotyping faeces. Proceedings of Loyal Society, Biological Sciences, 266:657-663.
- 増田隆一・嶋谷ゆかり・大石琢也・合田直樹・田島沙羅・佐藤丈寛(2009)食肉目の遺伝子分析を目的としたサンプリング法,遺伝子分析技術,遺伝情報の解析法および研究事例.哺乳類科学,49(2):283-302.
- 間野勉・大井徹・横山真弓・高柳敦(2008)日本におけるクマ類の個体群管理の現状と課題.哺乳類科学,48(1):43-55.
- 森光由樹(2008) 各都道府県のヘア・トラップ調査の実施状況と長野県における実施例.哺乳類科学, 48(1):133-138.
- Mowat G. and C. Strobeck (2000) Estimating population size of grizzly bears using hair capture, DNA profiling, and mark-recapture analysis. Journal of wildlife management,64(1):183-193.

- Mundy N.I, C.S. Winchell, T. Burr and D.S. Woodruff(1997) Microsatellite variation and microevolution in the critically endamgered San Clemente Island loggerhead shrike (*Lanius Indovicianus mearnsi*). Proceedings of the royal society B,264: 869-875.
- Murphy M.A, L.P. Waits and K.C. Kendall(2000) Quantitative Evaluation of Fecal Drying Methods for Brown Bear DNA Analysis. Wildlife Society Bulletin, 28(4):951-957.
- Murphy M.A., L.P. Waits and K.C. Kendall(2003) The influence of diet on faecal DNA amplification and sex identification in brown bears. Molecular Ecology,12:2261-2265.
- Murray M.G. and W.F. Thompson(1980) Rapid isolation of high molecular weight plant DNA. Nucleic Acids Research,8(19):4321-4326.
- Oi T. and K. Yamazaki(2006) The status of Asiatic black bears in Japan. pp.122-133. Understanding Asian Bears to Secure Their Future. Edited by Japan Bear Network. Ibaraki,145pp.
- Paetkau D. and C. Strobeck(1994) Microsatellite analysis of genetic variation in black bear population. Molecular Ecology,3:489-495.
- Paetkau D., W. Calvert, I. Stirling and C. Strobeck(1995) Microsatellite analysis of population structure in Canadian polar bears. Molecular Ecology,4:347-354.
- Reed J.Z., D.J. Tollit, P.M. Thompson and W. Amos(1997) Molecular scatology:

  The use of molecular genetic analysis to assign species, sex and individual identify to seal faeces.

  Molecular Ecology, 6: 225-234.
- Saito M., K. Yamauchi, and T. Aoi.(2008) Individual identification of Asiatic black bears using extracted DNA from damaged crops. Ursus,19(2):162-167.
- 齊藤正恵(2009) 新たな遺伝子分析手法を用いたツキノワグマの農作物加害個体の特定方法に関する研究-食痕からの DNA 採取と野生動物管理への応用-.岩手大学大学院連合農学研究科.学位論文,139pp.
- Sambrook J. and D.W. Russel(2001) Molecular Cloning vol.2. A laboratory manual. Third edition. Cold Spring Harbor Laboratory Press,New York.999pp.
- Sloane M.A., P. Sunnucks, D. Alpers, L.B. Beheregaray and A.C. Taylor (2000) Highly reliable genetic identification of individual northern hairy-nosed wombats from single remotely collected hairs: a feasible censusing method. Molecular Ecology,9:1233-1240.
- Sweet D., M. Lorente, J.A. Lorente, A. Valenzuela, and E. Villanueva. (1997) An improved method to recover saliva from human skin: the double swab technique. Journal of Forensic Sciences, 42:320-322.
- Taberlet P., S. Griffin, B. Goossens, S. Questiau, V. Manceau, N. Escaravage, L.P. Waits and J. Bouvet(1996) Reliable genotyping of samples with very low DNA quantities using PCR. Nucleic Acids Research,24:3189-3194.
- Taberlet P., J.J. Camarra, S. Griffin, E. Uhres, O. Hanotte, L.P. Waits, C. Dubois-Paganon, T. Burke and J. Bouvet(1997) Nonninvasive genetic tracking of the endangered Pyrenean brown bear population. Molecular Ecology, 6:869-876.
- Taberlet P. and J.Bouvet(1992) Bear conservation genetics. Nature, 358:197.
- Takasaki H. and O. Takenaka(1991) Paternity testing in chimpanzees with DNA amplification from hairs and buccal cells in wadges: a preliminary note. pp612-616. Primatology Today. Edited by Ehara A., T. Kimura, O. Takenaka and M. Iwamoto. Elsevier. Amsterdam,732pp.

- Waits L.P. and D. Paetkau(2005) Noninvasive genetic sampling tools for wildlife biologists:a review of applications and recommendations for accurate data collection. Journal of Wildlife Management, 69:1419-1433.
- Walsh P.S., D.A. Metzger and R. Higuchi(1991) Chelex <sup>®</sup> 100 as a medium for simple extraction of DNA for PCR-based typing from forensic material. Bio Techniques, 506-513.
- Wasser S.K., C.S. Houston, G.M. Koehler, G.C. Cadd and S.R. Fain(1997) Techniques for application of fecal DNA methods to field studies of Ursids. Molecular Ecology, 6: 1091-1097.
- Woods J.G., D. Paetkau, D. Lewis, B.N. McLellan, M. Proctor and C. Strobeck (1999) Genetic tagging of free-ranging black and brown bears. Wildlife Society Bulletin,27(3):616-627.
- 湯浅卓・佐藤喜和(2008) ヘア・トラップを用いたクマ類の個体数推定法における課題〜国内外の 事例の比較検討〜. 哺乳類科学,48(1):109-118.

-----

# 4.1 空間明示モデルによるヘア・トラップ配置の検討および 従来の個体識別ミス対策の有用性の検討

松田 裕之 (横浜国立大学)・堀野 眞一 (森林総合研究所)・太田 海香 (横浜国立大学)・ 深澤 圭太 (自然環境研究センター)

### 1. はじめに

DNAによる個体識別の技術の発展とコストダウンにより、ヘア・トラップによる生息密度推定はクマ類の保護管理の現場においても一般的なモニタリングツールとなりつつある。ヘア・トラップによる生息密度推定は、現地調査、DNAの分析、統計解析という3つの段階から成る。すでにヘア・トラップを用いた個体群のモニタリングが各地で行われているにもかかわらず、いずれの段階においても方法論にはさまざまなバリエーションがあり、最適な選択肢に関するコンセンサスは得られていない。

現地調査においてしばしば問題となるのはトラップの空間的な配置である。一般的には、調査対象地域を格子状に区切り、各格子に含まれるトラップの数を一定にするという基準が採用されることが多い(Woods et al. 1999)。しかし、アクセスの困難さなどからそれが困難な場合も多い。トラップの空間分布の偏りが推定結果にどのような影響を与えるかについてはあまりよく知られていない。

また、DNAによる個体識別の際には、ジェノタイピングエラーによって同一個体に由来するサンプルを別個体としてみなしてしまう恐れがある。ジェノタイピングエラーを考慮せずに推定された生息数は過大評価となることが知られている(Knapp et al. 2009)。ジェノタイピングエラーの対策として、DNA標本の分析精度の向上を図る方法(Paetkau 2003)、Bimodality test などの信頼性診断(McKelvey & Schwartz 2004)、統計モデルにジェノタイピングエラーの発生を組み込む方法(Lukacs et al. 2005; Knapp et al. 2009)の3通りがある。解析に用いた遺伝子座の多様性が十分である場合、日本においては、1回出現個体をすべてデータから除いて解析するという方法が試験的に用いられた事例(環境省自然環境局生物多様性センター 2009)もあるが、この方法に関する統計学的な裏付けはなされていない。

へア・トラップに基づく生息密度の推定においては、従来はLincoln-Petersen法(Chao & Huggins 2005)やOtis et al. (1978)のM<sub>0</sub>モデルなど、サンプルの採取率が一定という仮定に基づく方法が用いられてきた。しかしながら、クマは調査地にあるトラップに等しくアクセスできるとは限らず、クマの行動圏とトラップの距離が近いほどサンプルの採取率は大きくなると考えられる。したがって、毛が採取されるトラップは空間的に凝集し、行動圏内に利用可能なトラップが少ない個体は低い採取率となるのが現実的である。このような状況下で従来のモデルを用いて生息密度推定を行う場合には、何らかのバイアスが発生することが予想される。近年、採取率がクマの行動圏とトラップの位置関係によって変化するというより現実的な仮定に基づいた空間明示型標識再捕獲モデルが開発されており、それによりバイアスを除くことができる可能性が示唆されている(Gardner et al. 2009)。実際にどのようなモデルを用いるべきか判断するには、これらのモデルの推定精度を比較する必要がある。

しかしながら、フィールドにおける操作実験によってこれらの課題を検証することは非常に困難である。まず、個体群は時間的にも空間的にも不均一であるため再現性に乏しく、ヘア・トラップ調査の方法だけを変えた操作実験は不可能である。また、推定の正しさを検証するには、われわれが直接知ることのできない真の生息密度と推定された生息密度を比較することが必要とな

る。そこで、本研究においては事前に設定した生息数の個体がそれぞれ固有の行動圏をもつ空間 明示的な個体群をコンピュータ上で再現し、その仮想個体群を対象としたヘア・トラップによる データ収集をシミュレーションによって再現した。当然ながら、この妥当性の評価はダミーデー タは実際に得られるデータと同様の分布特性をもつことが前提となるが、生成されたダミーデー タから推定された生息密度が事前に想定した値に近い値を得ることがわかれば、それに用いた手 法の妥当性がわかるだろう。

本プロジェクトにおいては、平成22年度に岩手県青松葉山周辺を対象として、大規模へア・トラップ試験を行うことを予定している。トラップの設置の際には、2km×2kmのメッシュに最低1つのトラップが設置されるように可能な限り配慮している。しかしながら、この地域の一部には密な植生の存在によりアクセスが困難な地域が存在しているため、実際のトラップ設置候補地(図1b)は空間的に均一でない分布となっている。このような条件のもとでも高い精度で生息密度を把握できるかを事前に検討することが必要であると考えられる。

本研究においては、ダミーデータを用いた解析によって①トラップの空間的な配置、②1回出現個体の除去、および③推定に用いる統計モデルの選択が生息密度の推定精度に与える影響を明らかにし、今後のヘア・トラップによる個体群モニタリングの手法選択の参考となる情報を提供することを目的とする。また、得られた知見は、来年度に実施される予定の大規模ヘア・トラップ試験のための指針となることが期待される。

### 2. 方法

### 2-1. ダミーデータの生成

本研究においては、青松葉山における大規模へア・トラップ試験のトラップ設置候補地(図 1a)、および同じ範囲に均等に配置した同数のトラップ(図 1b)という 2 通りの空間配置のもとでダミーデータを生成した。トラップ数は 262 個、試験地の面積は 674.74km²である。セッション数は 6 とした。この地域におけるツキノワグマの生息密度は知られていないため、過去のヘア・トラップ調査(岩手県 2007)に基づく北上山地の推定生息密度 0.195 個体/km²を真の値と仮定した。ダミーデータから推定された生息密度がこの値に近いほど望ましい結果であるということになる。

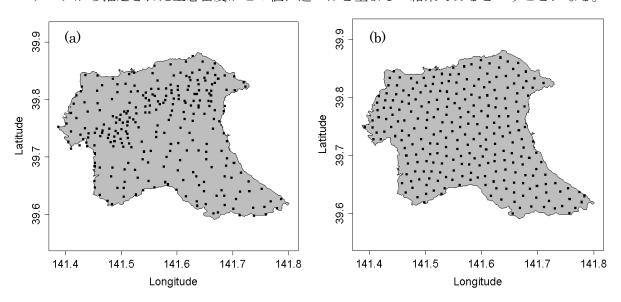
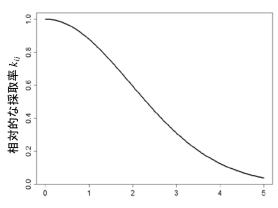


図 1 (a)青松葉山における大規模へア・トラップ試験のトラップ設置候補地、および(b)均等に配置した仮想的なトラップ位置図。黒い点がトラップの位置、灰色は調査地の範囲(674.74km²)を示す。

解析に用いるダミーデータの生成においては、Gardner et al. (2009)の空間明示型標識再捕獲モデル (Boxを参照)を用いた。このモデルはクマの各個体が 円形の行動圏を持つことを仮定しており、生成される ダミーデータは毛が採取されるトラップが行動圏の中心の周りで空間的に凝集するパターンをもつ。採取率と行動圏中心・トラップ間距離の関係を決めるパラメータ $\sigma$ 、トラップ接触強度(Boxを参照)が $+\infty$ のときの採取率 $p_0$ 、各個体の行動圏の中心座標 $\mathbf{s}_i = (s_{1i}, s_{2i})$ を与えれば、乱数によりダミーデータを生成することができる。

σは Gardner et al.(2009)がアメリカ・ニューヨーク州のアメリカクロクマのヘア・トラップデータから推定した 2.77 とした(図 2)。距離による相対的な採取率の変化はクマの利用頻度に相当する。テレメトリー調査による既存の日本におけるツキノワグマの最外殻行動圏の報告は、円形行動圏を仮定した半径に換算すると 1.27-6.26km (米田 1990; Izumiyama & Shiraishi 2004、季節移動が明らかな例は除いた)の範囲であり、図 2のパターンはその範囲に含まれる。

また、 $p_0 = 0.165$  とした(図 3)。これは、(サンプルが採取されたトラップ・セッション・個体数 / 全トラップ・セッション数)がおよそ 0.1 になるように調整した値である。実際にはこの値は数倍大きい場合が多い(例えば、Miura & Oka (2003)の北上山地における調査では 0.289)。採取率が低い条件下においても正しく個体密度が把握できるならばより採取率が高い状況においてもよい推定が得られると考えられるため、ここではあえて悲観的なシナリオを想定した。各個体の行動圏の中心座標は一様乱数により決定した。各個体の行動圏の中心座標がとりうる範囲は、ヘア・トラップ位置座標の上限と下限を囲む長方形の上下左右 10kmの内部とした。



行動圏の中心とトラップ間の距離  $D_{ii}(km)$ 

図 2 ダミーデータ生成の際に用いた、相対的な採取率  $k_{ij}$  と行動圏の中心からトラップまでの距離  $D_{ij}$  の関係。Gardner et al. (2009)がアメリカ・ニューヨーク州のアメリカクロクマのデータから推定した値 $(\sigma=2.77)$ に基づく。

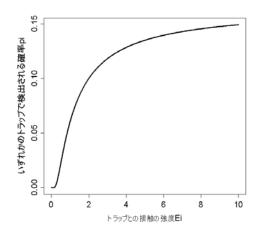


図 3 ダミーデータ生成の際に用いた、いずれかのトラップで検出される確率 pi とトラップ接触の強度 Ei の関係(p0=0.165)。

得られるダミーデータの構造は、どの個体が、どのトラップで、どのセッションに捕獲されたかを示す3列の行列となる。

### Box 1. Gardner et al. (2009) の空間明示型標識再捕獲モデル

このモデルは、各個体は同じサイズの円形の行動圏を持ち、行動圏の中心座標が定義できることを仮定している。また、セッション間で採取率は変化せず、1 セッションの中で 1 個体の毛が複数のトラップで採取されることはないと仮定されている。

調査対象とする個体群中には I 個体のクマが存在するとし、その中には調査中に 1 回以上毛が採取された個体と、1 回も採取されなかった個体がいる。後者については、採取されていないため何個体存在するのか我々は直接知ることができない。このモデルを含め、標識再捕獲法のモデルの第一の目的は、捕獲されなかった個体がどの程度存在するかを推定することである。そのためには、おのおのの個体が 1 セッションでどれくらいの確率でサンプルが採取されるのかを明らかにする必要がある。このモデルでは、個体ごとの捕獲率が、行動圏の中心とトラップ間の距離によって決まるとしている。

i (1~I)番目のクマがj (1~J)番目トラップで採取される確率は、行動圏の中心座標 $\mathbf{s}_i = (s_{1i}, s_{2i})$ とトラップの座標 $\mathbf{x}_j = (x_{1j}, x_{2j})$ の距離が大きくなるほど減少すると考えられる。行動圏の中心にトラップがあるときの採取率を 1 としたときの相対値(相対的な採取率) $k_{ij}$ は図 2 のような $\mathbf{S}$ 字型曲線に従って減少すると仮定する。このような関係は、次の式で表現できる。

$$k_{ij} = \exp\left(\frac{-D_{ij}^2}{\sigma^2}\right), D_{ij} = \sqrt{(s_{1i} - x_{1j})^2 + (s_{2i} - x_{2j})^2}$$

ただし $D_{ij}$ は行動圏の中心とトラップの座標の距離である。パラメータ $\sigma$ は距離に対する $k_{ij}$ の減少の程度を決めるパラメータであり、S字型曲線の変曲点における距離に相当する。よって、 $\sigma$ の値はクマ個体の行動圏半径に比例し、大きな $\sigma$ は遠くのトラップにアクセス可能であることを意味する。そして、行動圏中心の近くにトラップが多いほど、その個体はトラップと接触する機会が多くなり、毛が採取されやすくなるはずである。各個体についてすべてのトラップの $k_{ij}$ の値を足した値は、トラップとの接触の機会の多さを示す値となる。これをトラップ接触強度 $E_i$ とする。いずれかのトラップで毛が採取される確率 $p_i$ は、トラップと接触する機会が多いほど増加すると考えられ、トラップ接触強度 $E_i$ と $p_i$ は図 3 のような単調増加の関係を仮定している。これは次のような式となる。

$$p_i = p_0 \times \exp(-1/E_i)$$

パラメータ $p_0$ は $E_{i}$ =+ $\infty$ のときの毛の採取率であり、個体群全体の平均的な採取率に比例する値である。

次に考えるのは、個体iがもしいずれかのトラップで採取されたときに、それがトラップjにおける採取である確率である。この確率は、「いずれかのトラップで採取された」条件のもとでの確率なので、条件付き確率と呼ばれる。やはりここでも、行動圏の中心に近いトラップほど毛が採取されやすいと考えられる。距離で説明される採取率の相対値 $k_{ij}$ をそれらの和である $E_i$ で割れば個体iがそれぞれのトラップjで採取される条件付き確率を計算することができ、これを $\gamma_{ij}$ とする。1セッション当たりのトラップjにおける個体iの採取確率 $\pi_{ij}$ は、条件付き確率の公式から下記のように表される。

#### 空間明示モデル

 $\pi_{ij}$  = いずれかのトラップで毛が採取された条件のもとでトラップjで毛が採取される確率 ×いずれかのトラップで毛が採取される確率

 $= \gamma_{ii} p_i$ 

1 セッション中に 1 個体が複数のトラップで採取されることはないと仮定しているため、各個体が取りうる状態は「どのトラップにおいても毛が採取されない」か、「j番目のトラップで採取される」というJ+1 通りである。それらの状態が発生する確率ベクトルは(1- $p_i$ ,  $\pi_{i1}$ ,  $\pi_{i2}$ , ...,  $\pi_{ij}$ )となる。捕獲履歴のデータは、セッションの回数だけこの確率にしたがっていずれかの状態がランダムに発生したものであるとみなすことができ、これは多項分布という確率分布としてあらわすことができる。

個体数の推定においては、この確率ベクトルがデータとして得られているすべての個体の状態 に最も近づくように(採取されなかった個体については 1-p;が大きくなるように、j番目のトラップ で採取された個体については $\pi_{ii}$ が大きくなるように)、パラメータ $\sigma$ 、 $p_0$ 、 $\mathbf{s}_i$ を決定している。こ こで注目すべきは、各個体の行動圏の中心が未知のパラメータとなっている点である。このよう に推定すべき未知数が多数となる場合、パラメータの推定にはギブスサンプリングという方法を 用いる。この手法は、データに対して当てはまりがよい範囲でパラメータをランダムに動かして、 その頻度分布(事後分布と呼ばれる)から区間推定値や点推定値を計算する方法である。ギブスサン プリングにおいては、サンプルが採取された個体の行動圏の中心は採取されたトラップの周囲を うろつくことになり、1 度も採取されなかった個体については、行動圏の中心を決めることはで きないので、調査地全体を自由に動き回ることになる。個体群中に1度も採取されなかった個体 がどの程度存在するかは、Data Augmentation(データ付加)という手法により、これらのパラメータ から逆算することができる(詳細はGardner et al.(2009)を参照)。なお、推定に際しては、すべての トラップを含む長方形の範囲を個体数推定の範囲としてユーザが指定する必要がある。これは、 計算上は行動圏の中心座標siがとりうる範囲の制約に相当する。生息密度の計算は、推定された個 体数 / 長方形の面積として簡単に計算可能である。また、事前に $\sigma$ 、  $p_0$ 、 $s_i$ の値を与えれば、上 記の確率ベクトルを計算して多項分布に従う乱数を発生させることでダミーデータを生成するこ とができる。

このモデルは、行動圏の中心座標がとりうる範囲の制約(事前分布またはパラメータモデルと呼ばれる)、行動圏の中心とトラップの位置関係により採取率が決まるプロセス(プロセスモデルと呼ばれる)、確率ベクトルと実際に得られるデータの関係(データモデル)、という3段階の階層によって成り立っている。このようなモデル化の枠組みはベイズの定理と深いかかわりをもつことから、一般に「階層ベイズモデル」と呼ばれる。標識再捕獲モデルに限らず、近年の生態学においては、階層ベイズモデルに基づく新たなデータ解析手法の開発が急速に進んでいる。

#### 2-2. 空間明示モデルと捕獲率均一モデルの比較

大規模へア・トラップ試験のトラップ設置候補地と均一トラップ配置の下で生成された 2 種類のダミーデータを用いて、Gardner et al.(2009)の空間明示モデル(Box 1 を参照)と従来の空間非明示捕獲率均一モデルによる生息密度の推定精度を比較した。空間非明示モデルはOtis et al.(1978)の $M_0$ モデルを使用した。このモデルは初回の捕獲と再捕獲が同じプロセスによって行われた標識再捕獲データの解析に適した方法であり、へア・トラップによる標識再捕獲データはそれに合致していると考えられる。

これらのモデルは階層ベイズモデルとして実装し、パラメータの推定にはフリーソフト WinBUGS 1.4 によるギブスサンプリング(Box を参照)を用いた。ギブスサンプリングによって、データが与えられた下ですべてのパラメータがとりうるパラメータの値の分布(事後分布)を得ることができる。

いずれのモデルにおいても、パラメータ値の収束は良好であった。得られた事後分布の中央値はパラメータの点推定値として解釈することができる。また、事後分布の95%が含まれるパラメータの範囲(95%信用区間)を調べることで、パラメータの値がとりうる範囲を評価することができる。2つのトラップ配置、2つのモデルの計4通りで生息密度の事後分布中央値と95%信用区間を計算し、真の値である0.195/km²と比較した。

空間明示モデルを用いると任意の長方形の範囲における生息数が算出されるため、生息密度は自然に導出される。一方、 $M_0$ をはじめとする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なのかは自明ではない。これまでの生息密度の母数には、トラップ設置位置の凸包の面積やトラップ設置位置から経験的に決めた距離のバッファに含まれる面積など、さまざまなバリエーションがある。ここでは、便宜的に調査地面積  $674.74 \mathrm{km}^2$ を個体密度計算の際の分母とした。

### 2-3. 一回出現個体の除外が生息密度推定に与える影響の評価

1 回出現個体を解析から除外するという従来のジェノタイピングエラー対策の有効性を検証するため、生成したダミーデータから 1 回しか出現しなかった個体を除いたデータを用いた解析を行った。推定は、2 種類のトラップ設置位置、空間明示モデルと空間非明示モデルの組み合わせ計 4 通りで行った。

#### 3. 結果

ダミーデータは乱数によって生成されるため、得られるデータは毎回異なるものとなる。識別された個体数は平均 100 個体を超えていた。生成されたダミーデータのうち、例として 9 個体のサンプル採取位置を**図 4** に示した。複数回採取された個体については、採取されたトラップが空間的に凝集しているパターンが観察された。複数のダミーデータで統計解析を行ったところ、生息密度の推定結果のばらつきは大きくなかったため、以降の議論は 1 回の解析結果をもとに進めていく。

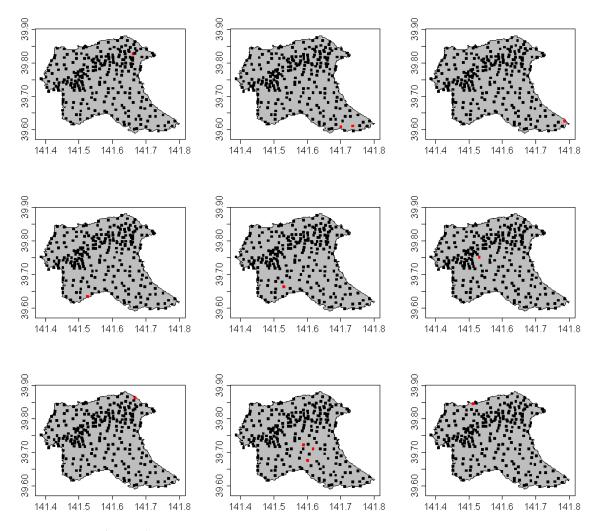


図 4 生成されたダミーデータの一例。1 枚の図は識別された 1 個体を示しており、6 セッションの間に毛が採取されたトラップを赤い四角形で表している。黒い四角形はサンプルが採取されなかったトラップを示している。実際には、ダミーデータ生成により平均 100 個体以上の識別個体が得られたが、ここでは 9 個体のみを示した。

2 種類のトラップの配置・空間明示モデルと空間非明示モデルの推定結果を**図 5** に示した。トラップの配置によらず、空間非明示モデルは実際よりも高い生息密度が推定された一方、空間明示モデルの推定値は真の値に近い推定が得られた。また、空間非明示モデルを用いた場合、均一トラップ配置ではトラップ設置予定地よりも大きな生息密度が推定された。

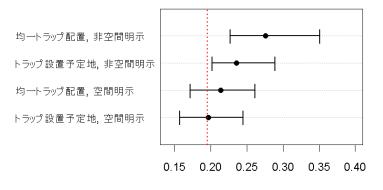


図5 トラップ設置予定地、均一トラップ 配置における、空間明示モデルと空 間非明示モデルの生息密度推定値。 黒点は事後分布中央値、エラーバー は95%信用区間を示す。赤破線は 真の個体密度(0.195/km²)を示す。

一回出現個体を除外した推定結果を図 6 に示した。いずれのトラップの配置やモデルにおいて も、推定された生息密度は真の値の 1/4 程度であり、大幅な過小評価となった。

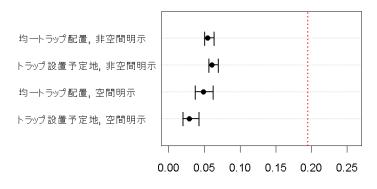


図 6 1回出現個体をすべて解析から除外 したデータによる生息密度推定値。 黒点は事後分布中央値、エラーバー は 95%信用区間を示す。赤破線は 真の個体密度(0.195/km2)を示す。

## 4. 考察

空間明示の標識再捕獲のモデルは、サンプルの採取がクマの行動圏とトラップの空間的な位置 関係に影響を受ける状況においても真の生息密度に近い値を推定することができた。また、トラップ配置が推定に与える影響に対しては頑強であった。このことは、クマの行動圏とトラップの位置を明示的に組み込んでいることによって得られたものと考えられる。また、任意の範囲における個体数を計算可能であることは、生息密度の計算における面積の客観性を確保する上で非常に重要な特性である。

空間非明示モデルにおける生息密度推定のバイアスの原因は、大きく分けて 2 通りあると考えられる。1 つ目は、トラップの近くにいる個体ほどサンプルを得やすいという点を考慮せず、採取率を一定としてしまうことによるバイアスである。これまでの研究で、採取率が不均一であるときにそれを一定と仮定して推定された生息数は過小評価となることが指摘されている(Royle 2006)。2 つ目は、生息密度を計算する際の面積を過小または過大に見積もることによるバイアスである。本研究では、空間非明示モデルで推定された生息数は真の値よりも過大評価であったことから、生息密度を計算する際に用いた調査地面積(674.74km²)は過小であった可能性が高い。得られた推定値は調査地面積に由来すると考えられる過大評価の傾向が顕著であったため、採取率一定とすることによる生息数過小評価の程度を結果から読み取ることは困難であった。しかしながら、均一なトラップ配置と不均一なトラップ設置予定地の推定を比較すると、不均一なトラップ配置においてより小さい生息密度が推定されたことから、そのバイアスはトラップ配置が不均一であるときにより大きいと考えられる。このことは、過小評価の原因となる個体ごとの採取率のばらつきが、トラップ配置が不均一である条件下でより大きくなることによるものと考えられる。これらの2つのバイアス要因によって生息密度は過大評価にも過小評価にもなることから、一般性の高い補正方法を考えることはおそらく困難である。

ただし、実際のヘア・トラップのデータ解析においては、常に空間明示モデルの推定が良い結果を与えるとは限らない。行動圏の制約以外にも、実際の調査においては地形的な要因や季節変化などのさまざまな要因が採取率に影響を与えると考えられる。それらの影響については、現実を単純化したダミーデータによる検証は不可能である。そのような場合、空間明示モデルを用いても間違った推定が導かれる可能性があるため、注意が必要である。

1回出現個体をすべて解析から除外した生息密度の推定値は実際の値よりも大幅に過小評価され、この方法はジェノタイピングエラー対策としては不適切であることが分かった。この操作が

過小評価を招く理由は 2 つのものが考えられる。1 つ目は、サンプルの除外によって識別される 個体が大幅に減少することである。識別された個体数が少なければ、個体群全体のサイズも小さく評価されるのは当然のことである。2 つ目は、1 回出現個体を除外することで、セッション当たりの採取率が過大に見積もられてしまうことである。2 回以上出現した個体のみの情報からは、当然ながら採取率は実際よりも高く見積もられる。推定においては、採取率が高いことは識別された個体は個体群全体をほぼ網羅していることを意味し、1 度もサンプルが採取されなかった個体は少ないとみなされてしまう。このように、1 回出現個体の除外は 2 重に生息数を過小評価する方向にバイアスを与えるだろう。

# 5. 本プロジェクトにおける次年度の大規模へア・トラップ試験について

来年度に実施を予定している大規模へア・トラップ試験においては、トラップの空間的に均一な配置が困難であると考えられており、それが生息密度推定に与える影響が懸念されていた。しかしながら、今回のダミーデータによる解析により、少なくともクマの行動圏とトラップの空間的な配置による影響は、空間明示モデルを用いて緩和することが可能であると分かった。

## 6. 今後のヘア・トラップによる生息密度推定への提言

従来の手法における生息密度の算出においては、母数となる調査地面積の決め方によって誤った生息密度を導いてしまう可能性が高いことが明らかとなった。また、従来の手法はトラップの配置の不均一さに対して頑強でなく、不均一な配置のもとでは個体数が過小評価されてしまう可能性が示唆された。これらのことから、空間非明示のモデルは生息密度の推定手法としては不十分である。空間明示モデルはこれらの問題を解決しうる手法であり、今後の生息密度推定の有力な選択肢であると言える。

1 回出現個体をすべて解析から除外することは、ジェノタイピングエラー対策としては不適切である。この方法以外にも、使用するサンプルの選別や遺伝子型のピークの解釈、統計解析など、分析のさまざまな段階におけるジェノタイピングエラー対策が提案されている。これらの方法については、湯浅・佐藤(2008)の総説を参照するとよい。

ヘア・トラップにより得られるデータは、本研究で示した行動圏による空間構造以外にも、クマの環境選択や行動の季節変化などのさまざまな要因によって影響を受けている可能性がある。現在、これらすべてを適切に考慮した統計モデルは確立されておらず、今なお発展を続けている段階である。統計解析の方法が変われば推定される個体数は大きく異なるため、推定された生息密度を開示する際には、使用した統計手法や密度を計算する際の調査地面積の定義などの情報も併せて示し、再現性を確保する必要があると考えられる。また、より適切な統計手法を用いて再解析ができるよう、元のデータを将来利用可能な形で保存する体制を作ることが望ましい。特に、空間明示モデルを用いる際には、トラップの位置情報はサンプル採取履歴と併せて必須の情報である。また、トラップの位置情報があれば、GIS データからトラップごとの環境要因を抽出することも可能となり、クマ個体の環境選択を推定する上でも重要である。

### 引用文献

- Chao, A.; Huggins, R., M. (2005) Classical closed-population capture-recapture models. In *Handbook of capture-recapture analysis* (eds. Amstrup, S. C.; McDonald, T. L.; Manly, F. J.). Princeton University Press, Princeton.
- Gardner, B.; Royle, J. A.; Wegan, M. T. (2009) Hierarchical models for estimating density from DNA mark-recapture studies. Ecology 90(4):1106-1115.
- Izumiyama, S.; Shiraishi, T. (2004) Seasonal changes in elevation and habitat use of the Asiatic black bear (Ursus thibetanus) in the Northern Japan Alps. Mammal Study 29(1):1-8.
- 環境省自然環境局生物多様性センター (2009) 平成 20 年度自然環境保全基礎調査種の多様性調査 (山形県)報告書.
- Knapp, S. M.; Craig, B. A.; Waits, L. P. (2009) Incorporating Genotyping Error Into Non-Invasive DNA-Based Mark-Recapture Population Estimates. Journal of Wildlife Management 73(4):598-604
- Lukacs, P. M.; Burnham, K. P. (2005) Estimating population size from DNA-based closed capture-recapture data incorporating genotyping error. The Journal of Wildlife Management 69(1):396-403.
- McKelvey, K. S.; Schwartz, M. K. (2004) DROPOUT: a program to identify problem loci and samples for noninvasive genetic samples in a capture-mark-recapture framework. Molecular Ecology 5(3):716-718
- Miura, S.; Oka, T. (2003) Evaluation of apple bait hair-traps for genetic tagging of Asiatic black bears in the Kitakami Highland, northern Honshu, Japan. Mammal Study 28(2):149-152.
- Otis, D. L.; Burnham, K. P.; White, G. C.; Anderson, D. R. (1978) Statistical inference from capture data on closed animal populations. Wildlife Monographs 62:1-135.
- Paetkau, D. (2003) An empirical exploration of data quality in DNA-based population inventories. Molecular Ecology 12(6):1375-1387
- Royle, J. A. (2006) Site occupancy models with heterogeneous detection probabilities. Biometrics 62(1):97-102.
- Woods, J. G.; Paetkau, D.; Lewis, D.; McLellan, B. N.; Proctor, M.; Strobeck, C. (1999) Genetic tagging of free-ranging black and brown bears. Wildlife Society Bulletin 27(3):616-627.
- 米田一彦 (1990) 秋田県太平山地域におけるツキノワグマの生態・テレメトリー調査.In 人間活動 との共存を目指した野生鳥獣の保護管理に関する研究 (eds. 財団法人日本野生生物研究セン ター). 環境庁自然保護局, 東京.
- 湯浅卓・佐藤喜和 (2008) ヘア・トラップを用いたクマ類の個体数推定法における課題~ 国内外の事例の比較検討~. 哺乳類科学 48(1):109-118.

-----