

# 高原山系におけるヘア・トラップ及びカメラトラップを用いたツキノワグマの個体数推定

米田 舜<sup>1</sup>・丸山哲也<sup>2</sup>・福井えみ子<sup>1</sup>・小金澤正昭<sup>1</sup>

(1 宇都宮大学、2 林業センター (県民の森管理事務所))

Estimating population size of Asiatic black bear using hair trap and camera trap in Mt. Takahara.

Shun Yoneda, Tetsuya Maruyama, Emiko Fukui, Masaaki Koganezawa

## 1 はじめに

ツキノワグマ (*Ursus thibetanus* 以下、クマ) は農林業等被害をもたらす一方で、ニホンジカなどと比べて生息密度、繁殖率が低いため、個体数維持に留意すべき種である。また生息状況の把握は、保護管理を実施する上で根幹をなす事項である。これまで栃木県においては、特定計画に基づき、DNA 鑑定を伴うヘア・トラップ法 (以下、HT) による生息密度のモニタリングを実施してきた。しかし、HT はコストや DNA 分析技術の面で課題が報告されていることから、近年では比較的安価で簡便な手法としてカメラトラップ法 (以下、CT) による個体識別が研究され始めてきている (Higashide et al. 2013)。そこで、CT を用いた個体数推定が可能であるか、HT と比較・検討したので報告する。

## 2 方法

### ①調査地と調査期間

調査は、県北部に位置する高原山系において実施した (図 1)。高原山系は、釈迦ヶ岳 (1,795 m)、鶏頂山 (1,765 m)、西平岳 (1,712 m) などから成る、なだらかな火山山岳地形を呈している。この地域では、ミズナラおよびクリなどの落葉広葉樹林と、スギおよびヒノキ、カラマツ、アカマツなどの植林地がほぼ同じ面積で存在する。調査方法は、調査地域を約 2 km メッシュで区切り 60 区画 (1 区画 2×2 km<sup>2</sup>; 縦 10 個 (番号 1~10)、横 6 個 (番号 A~F)) に分け、平成 23 (2011) 年の同区画における HT 調査において、クマの体毛サンプルが 2 回以上採取された 34 区画を抽出した (図 1)。

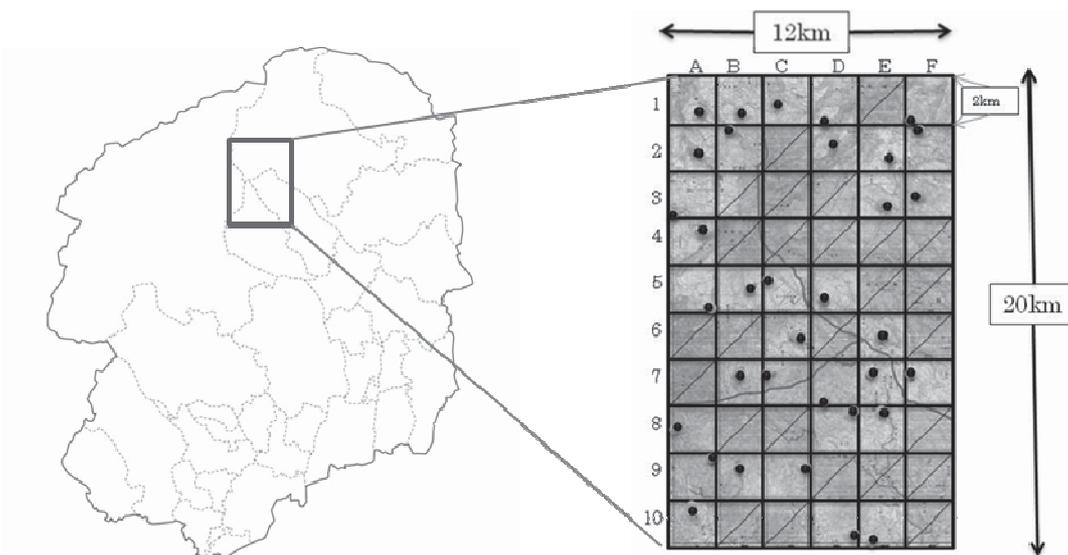


図 1 センサーカメラ設置地点 (34ヶ所に設置)

抽出した区画内には、カメラを各1台設定した。各区画内におけるカメラの設置場所は、1. クマが移動に使うと思われる主稜線や鞍部、2. クマが採食場所に選ぶと思われる植生や谷、3. 円滑な調査進行のための調査地までのアクセスの3点を考慮して選定した。

本調査は、平成24(2012)年の5月28日から8月1日にかけて実施し、5月28日から6日間で、34箇所にHTとCTを同じ場所に設置した後、6~7日おきに体毛の回収およびカメラのSDカードの交換、クマ誘引用の巣蜜の交換を行い、トラップが破損した場合は随時修復した。また、誘引物を設置してから次の誘引物を設置するまでの期間をセクションとし、全9セクション実施した。

## ②ヘア・トラップ(HT)及びカメラトラップ(CT)の構造

HTには有刺鉄線を使用し、地上40~50cmの高さに一辺2~4m四方を囲った。また、その内部に、クマを誘引するための誘引物(巣蜜)を設置した。容器(ポリスチレン製)に入れた巣蜜を2個ずつ用意して、近くにある2本の立木に紐を渡し、高さ2mの位置に設置した。さらに、誘引物に誘引されたクマの胸部斑紋を撮影するため、誘引物の真下に直立補助杭(4×4×120cm)を地上部が90cmとなるよう配置した。平成23(2011)年に同調査地で調査を実施した結果、クマが誘引物を利用する際、傾斜谷側を向く傾向があることを報告されている。そのため、カメラは誘引物の真下から谷側に4m離れた場所に設置した。カメラの角度は、餌下50cmの位置が画角の中心になるように調整した(図2、図3)。カメラは、MOULTRIE社製 Game Spy D55IRを使用した。カメラの設定は、撮影開始と同時に1枚写真を撮影し、その後続けて動画撮影を行う方法を選択した。これにより、写真にクマが写っている場合は動画にも撮影されている可能性が高く、クマが写っていない場合は動画にも撮影されていない可能性が高いため、誤写との判別が容易となり識別の効率化につながった。さらに、クマの胸部斑紋の撮影機会を増やすため、動画撮影モードで撮影時間30秒(最長)、撮影間隔15秒(最短)に設定した(夜間の撮影時間は、設定に関わらず10秒が最長)。メモリーカードは2GBのものを使用した。容量をオーバーすることはなく、また調査期間中に電池交換を必要とするカメラは無かった。

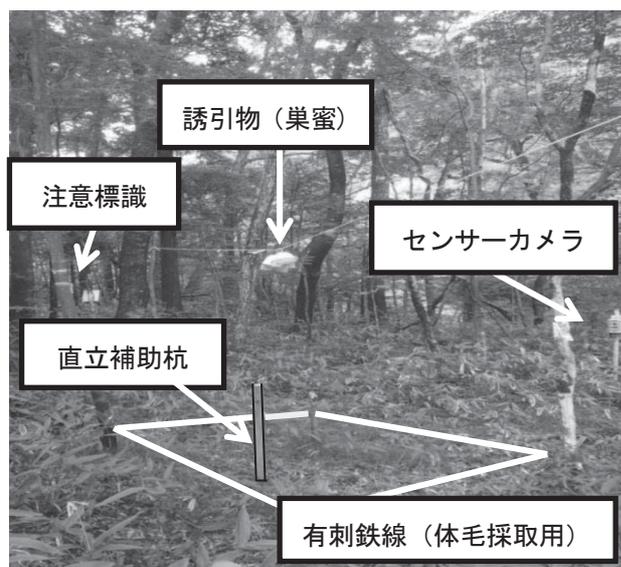


図2 ヘア・トラップとセンサーカメラの設置状況

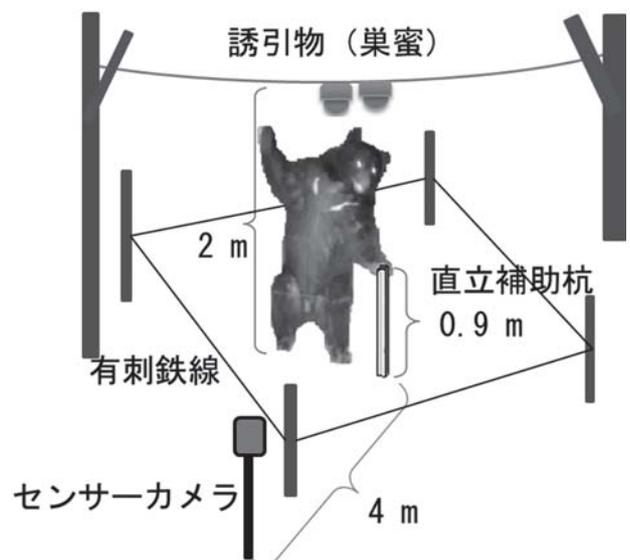


図3 HTとCTの設置詳細模式図

### ③体毛の採取と保存

有刺鉄線に付着した体毛は、ゴム手袋を装着したうえで、ピンセットを使用して回収した。また、複数個体の遺伝子が混入する可能性を低くするため、有刺鉄線の棘一つに付着した体毛を1サンプルとして(図4)、Lysis Buffer液(表1)に満たされたザルスタット社製の8 ml チューブに回収した(図5)。なお体毛を回収した際には、滅菌のためその都度ピンセットの先をガスバーナーにより焼いた。また、サンプルの混同を防ぐため、採取したメッシュごとにチューブをチャック付きポリ袋に入れ、回収メッシュ・回収日・通し番号(例、D8・7/10・5 サンプル)を記入した。サンプルを回収した後は、ガスバーナーで有刺鉄線に残った体毛を燃やし、次に来るクマの体毛と混ざらないようにした。回収したサンプルは研究室へ戻り次第、チューブに回収メッシュ・採取日・通し番号を記入して冷暗保存した(図5)。

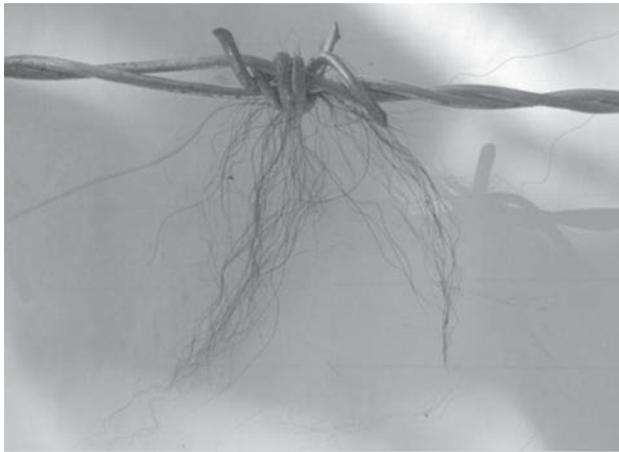


図4 有刺鉄線に付着した体毛サンプル

図の体毛は、1サンプルを示す。



図5 体毛サンプル保存方法

表1 Lysis Buffer液組成

Tris	10 mM
NaCl	10 mM
EDTA (0.5 M)	2 ml
up to	1l

### ④体毛サンプルによる個体識別

DNA 分析には、コストおよび時間を考慮してセクションおよびトラップが同じサンプルのうち、体毛の本数が最も多かった1サンプルずつ選択して用いた。また、毛根部の形態、付着する核の量によりPCRの成否が左右されるため(川野ら 2006)、目視により毛根の有無を確認し、毛根が確認された体毛を分析の対象とした。しかし、採取された体毛の本数が不足している場合は、毛根がない体毛も用いた。個体識別には2塩基反復配列多型のプライマー(表2; 以下Gシリーズと記す)および4塩基反復配列多型のプライマー(表3; 以下UTシリーズと記す)を用いた。性判別には、SE47 および SE48 を用いてアメロゲニン遺伝子領域の増幅を行った。

DNA 抽出は、QIAamp DNA Micro Kit (キアゲン) を使用して1サンプルごとに行った。体毛は、基部から3~4 mm を切断して使用した。抽出の手順はQIAamp DNA Micro Kit 付属のプロトコルに従った。DNA 増幅の際、Gシリーズ(表2) およびアメロゲニン遺伝子(表3) 領域には、Taq ポリメラーゼ (タカラバイオ) を使用して添付のマニュアルに従い増幅した。UT シリーズ(表4) は、KOD-Plus- Ver2 (東洋紡) を使用して添付のマニュアルに従い増幅した。DNA 増幅後、QIAquick PCR Purification Kit (キアゲン) を使用して付属のプロトコルに従いDNA を精製した。精製したDNA は、DNA/RNA 分析用マイクロチップ電気泳動装置 MCE-202 MultiNA (島津製作所; 以下、MultiNA

と記す) を用いてフラグメント解析した。

MultiNA によるフラグメント解析では、検出されたフラグメントサイズに誤差が生じるため、各遺伝子座のフラグメントサイズが相対的に近いものを同一個体とした。また、10 座位において PCR 増幅したが、10 座位全てが増幅に成功しなくても、増幅された座位のフラグメントサイズが既に識別された個体と違うフラグメントサイズを示した場合は、別個体と判断した。

表 2 2 塩基反復多型のプライマーの塩基配列

遺伝子座	対立遺伝子サイズ		プライマー塩基配列
G1A	190~202	F	5'-GACCCTGCATACTCTCCTCTGATG-3'
		R	5'-GCACTGTCCTTGCGTAGAAGTGAC-3'
G1B	142~158	F	5'-GCCTTTTAAATGTTCTGTTGAATTTG-3'
		R	5'-GACAAATCACAGAAACCTCCATCC-3'
G10C	101~115	F	5'-AAAGCAGAAGGCCTTGATTTCTG-3'
		R	5'-GGGGACATAAACACCGAGACAGC-3'
G10L	141~151	F	5'-GTACTGATTTAATTCACATTTCCG-3'
		R	5'-GAAGATACAGAAACCTACCCATGC-3'
G10M	200~218	F	5'-TTCCCTCATCGTAGGTTGTA-3'
		R	5'-GATCATGTGTTTCCAATAAT-3'
G10P	145~151	F	5'-GGAGGAAGAAAGATGGAAAAC-3'
		R	5'-TCATGTGGGAAATACTCTGAA-3'
G10X	133~149	F	5'-CCCTGGTAACCACAAATCTCT-3'
		R	5'-TCAGTTATCTGTGAAATCAAAA-3'

Paetkau et al. (1995)

表 3 アメロゲニン遺伝子の増幅に用いたプライマーの塩基配列

遺伝子座		プライマー塩基配列
SE47	F	5'-CAGCCAAACCTCCCTCTGC-3'
SE48	R	5'-CCCCTTGGTCTTGTCTGTTGC-3'

Yamamoto et al. (2002)

表 4 4 塩基反復多型のプライマーの塩基配列

遺伝子座	対立遺伝子サイズ		プライマー塩基配列
UT1	176~192	F	5'-CAGAGCAACTCTTCTCAGATGTTCAAAA-3'
		R	5'-CCCAGGTCAGCACTTGGCATAAC-3'
UT23	349~382	F	5'-GCTGGATACATCATCTGGCTA-3'
		R	5'-GGAATCAAGTTCGGCATCGGG-3'
UT25	314~369	F	5'-GCTCAGGGCGTGATCCAGAG-3'
		R	5'-GGCTCCCCTGCACTAGAGATTTAAC-3'
UT29	204~236	F	5'-CAGGACATTGCCTTTTACAGAGCAG-3'
		R	5'-GGGCAGATCTCAACCACATAAGC-3'
UT31	315~369	F	5'-CAGAATAAACTGATGCAGCCACTAG-3'
		R	5'-CTGCCACTGAATCTTCTGATCTTAG-3'
UT35	218~247	F	5'-CAGACTCCCTAGTAAGTAGAAAGCACAC-3'
		R	5'-CCCACAGGATGGGCTCAAGAA-3'
UT36	276~309	F	5'-CAGAGACTCAGGAAGTCTGGAGTGGGA-3'
		R	5'-CTTTCGGCTCAGGGATCGAGC-3'

Shih et al. (2009)

⑤カメラトラップによる個体識別

クマ類の個体識別では、メガネグマ、マレーグマなど胸部の白斑により個体識別が行われている (Rios-Uzeda et al. 2007 ; Ngoprasert et al. 2010)。ツキノワグマの胸部にも名前の由来である「月の輪」型の白斑が存在し (図 6)、その斑紋には個体差があり目視による個体識別が有効である (Higashide et al. 2012)。そこで撮影動画のうち、斑紋の撮影が確認されたものは画像データとして保存した。

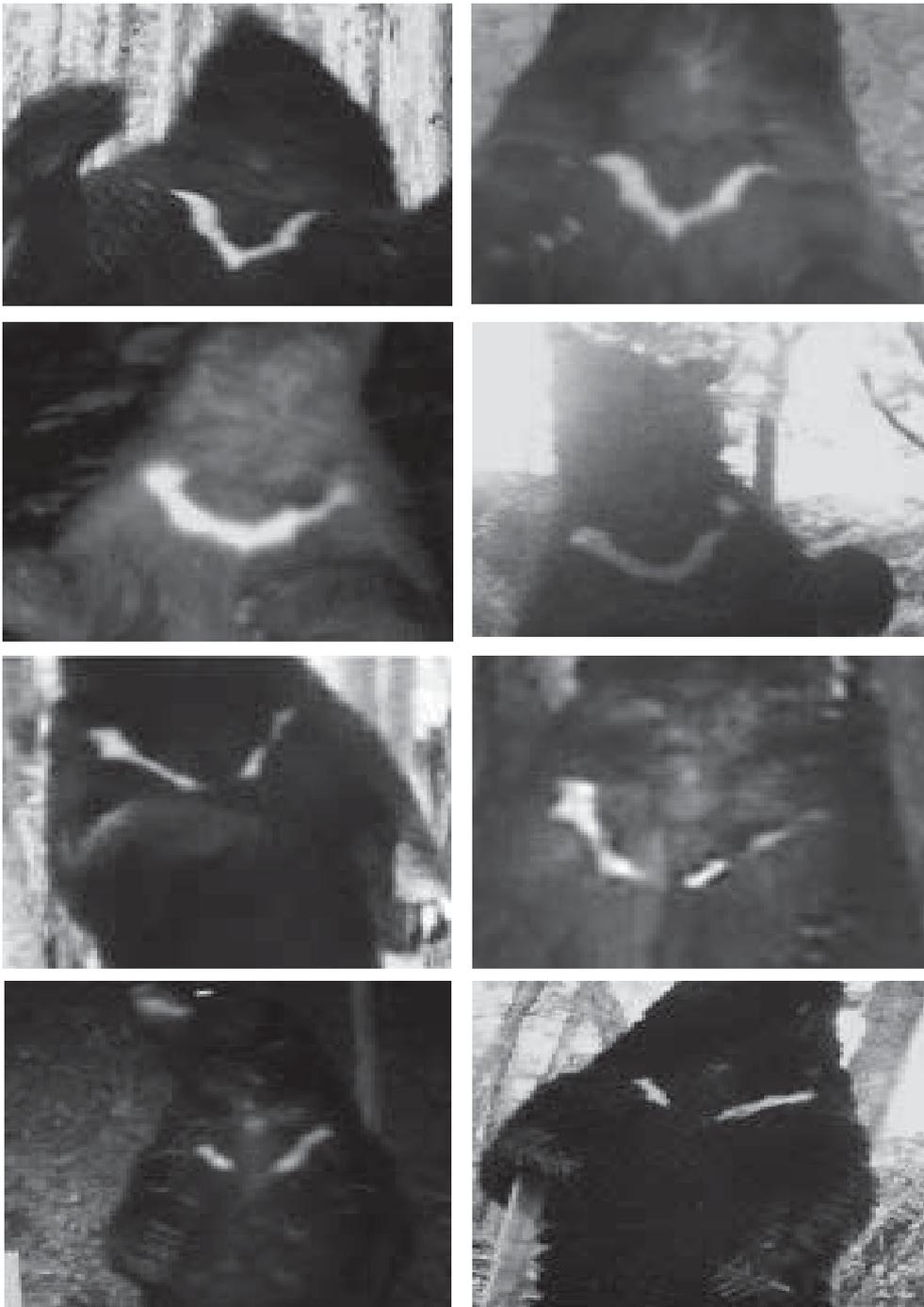


図 6 同一個体と判断されたクマの胸部斑紋

図は、上から順に左右同一個体と判断されたクマの胸部斑紋を示す。

本調査では、同一個体が連続で撮影されている可能性を考慮し、便宜的に撮影間隔が30分以内に撮影されたものについては同一個体と考え、グループ化した。このグループ化したものを以降イベントとして扱った(O'Brien et al. 2003)。ただし、胸部斑紋により識別が可能なものについては、別の撮影イベントとして取り扱った。

蓄積した画像データを基に、目視で個体識別を行った。斑紋が一部しか撮影されなかった場合でも、既に識別された個体と異なる斑紋の場合は別個体と判断した。また、栃木県で過去に有害鳥獣捕獲され、放獣された個体の耳にはタグが装着されているため、装着個体は耳タグも活用して個体識別を行った。さらに、外部生殖器の有無により、性判別の確認を行った(図7)。



図7 カメラトラップ法による性判別

写真は、外部生殖器の確認からオスと判断されたクマを示す。また、右手で補助杭を利用している様子を示す。

#### ⑥個体数推定

個体識別データによる生息数推定は、栃木県でこれまで行ってきた方法に従い、CAPTUREプログラム(Patuxent Wildlife Research Center, The U.S. Geological Survey, <http://www.mbr-pwrc.usgs.gov/software.html>)の、不均質モデル(Mh model)及び不均質・ワナ反応モデル(Mbh model)を使用して行った。また、有効ワナかけ面積は、トラップの最外周にメッシュ間隔の1/2距離を加えた面積(308 km<sup>2</sup>)として、推定生息密度を求めた(栃木県 2010)。

- ・Mh (不均質モデル) : 不均質モデルは各動物が特有の捕獲率を持っていることを仮定しており ( $p_j$ ここで個体群中の $j=1, \dots, N$ 頭)、ワナかけの期間は一定である。さらに、捕獲率は、個体群中の全ての個体がランダムに抽出されることを仮定している。このモデルでは、1、2、3、 $\dots$ 、 $k$ 回捕獲された動物の数の情報すべてが推定値 $N$ のために用いられる(Bookhout 1996)。
- ・Mbh (不均質とワナ反応モデル) : 不均質とワナ反応モデルは、各動物が特有の潜在的な一組の捕獲率、 $p_j$ と $c_j$  ( $j=1, \dots$ 、個体群中の $N$ 頭)を持つことを仮定している。ここで、 $p_j$ は初期の捕獲率であり、 $c_j$ は再捕獲の確率である。捕獲率は、全てのワナかけの間一定であると仮定されている(Bookhout 1996)。

### 3 結 果

#### ①体毛サンプルによる個体識別

体毛サンプルは 387 サンプル採取され、分析には 95 サンプル用いた。

フラグメント解析の結果（表 5、表 6）、1 座位以上 PCR 増幅できたサンプルは、分析に使用した全 95 サンプル中、83 サンプル（87 %）であった。次に、個体識別できたサンプルは 51 サンプル（54 %）確認された。また、10 座位全て増幅されたサンプルは 18 サンプル（19 %）となった。

個体識別に成功した 51 頭において、G10M は、フラグメント解析において波形の判読が困難であった。一方で、残りの全てのプライマーは、波形の判断が容易であった。

表5 オス個体・フラグメントサイズ

識別個体番号	回収日	トランプ番号*	AmeLogenin	G10L	G10X	G1A	G10C	G10M	UT1	UT31	UT35	UT29
1	6月14日	E2-2	♂	128	-	191/207	113	-	168/182	320/349	202	159/191
1	7月10日	D1-5	♂	129	131	-	113	-	168/183	321/353	204	160/193
1	7月25日	C1-1	♂	129	131	193/209	116	209	166/181	319/347	202	159/192
1	7月17日	B1-4	♂	-	131	192/209	-	-	168/183	323/352	203	160/192
1	7月17日	C1-2	♂	-	131	193/209	-	-	168/182	324/351	204	161/194
2	6月5日	A8-4	♂	128	130	191	110	214	168	288/332	206	160
2	6月20日	A8-3	♂	129	132	192	109	206	168	290/333	207	157
2	6月26日	A9-3	♂	129	133	191	110	210	168	292/333	206	157
2	7月31日	A10-1	♂	129	131	-	111	-	167	288/331	205	159
3	6月20日	D8-4	♂	128	131	-	110	-	169	289/333	214	-
3	6月20日	E8-3	♂	128	131	196	110	203	168	289/333	214	156
4	6月6日	C7-8	♂	128	130/141	190/197	110	202	168	290/333	213	178/189
4	7月5日	E7-8	♂	128	131/142	-	-	-	168	290/334	213	181/192
5	7月10日	B5-3	♂	128/141	132	-	104	-	168	324	207	164/182
6	6月8日	C9-1	♂	128	130	192/209	104/109	202	167	293/336	199/206	163
7	7月17日	A4-1	♂	-	131/140	200/209	-	-	168	330	203	157/175
8	8月1日	C9-6	♂	129	131	192	104/113	-	168	337	196	163/182
9	6月5日	D1-4	♂	128	130	192/198	110/117	201/214	167	288/337	184/205	182
10	6月5日	A9-1	♂	128	131	-	109/117	-	167	290	210	158/175

(続く)

ホモの場合は、フラグメントサイズの数値を一つだけ記入した。  
 ヘテロの場合は、フラグメントサイズの数値を両方記入した。  
 - : 増幅バンド未確認あるいは、判断が困難であったことを示す。  
 \* トランプ番号-サンプル番号の順に示す。

(続き)

表5 オス個体・フラグメントサイズ

識別個体番号	回収日	トランプ番号*	Amelogenin	G10L	G10X	G1A	G10C	G10M	UT1	UT31	UT35	UT29
11	6月27日	F7-1	♂	127	130	190	102/111	204	167	324/337	197	162/179
12	6月8日	E7-5	♂	129	132/142	-	105/114	209	168	329/340	199	165/183
13	6月12日	D7-	♂	128	-	190/205	104	201/213	-	320	199	162/181
14	7月18日	C9-6	♂	129	130	191	-	-	167	228/335	196	162/182
15	6月13日	C7-3	♂	128	-	191/198	109	-	-	288/331	-	156/160
16	7月18日	E10-4	♂	128	133	190/209	104/116	200/208	165	289/322	-	183
17	6月6日	D8-1	♂	128	130	192	104/114	-	167	325/341	199	181
18	7月25日	D1-3	♂	129	132	-	-	-	168	288/338	183/205	156/180
19	7月17日	A5-1	♂	128	130	-	109	-	168	322/347	204	164/181
20	6月14日	D1-5	♂	128	131	-	111/116	209	168	291/324	184/202	162/182
21	7月3日	A4-3	♂	126/140	130	200/207	102/115	-	166	328	201	-
22	6月19日	B5-6	♂	128	132/140	193	118	-	168	330	211	157/175
23	6月27日	E3-5	♂	128	122/132	192/209	117	203	168	289/336	200	155/181
24	7月31日	B1-1	♂	-	132	195/211	-	-	165/183	325/355	205	161/196
25	7月10日	E3-2	♂	-	131	191/202	-	-	168	336/359	203/214	-
26	7月25日	E3-2	♂	127	130	-	116	-	-	284	-	-

ホモの場合は、フラグメントサイズの数値を一つだけ記入した。  
 ヘテロの場合は、フラグメントサイズの数値を両方記入した。  
 -：増幅バンド未確認あるいは、判断が困難であったことを示す。  
 \*トランプ番号・サンプル番号の順に示す。

表6 メス個体・フラグメントサイズ

識別個体番号	回収日	トランプ番号*	Amelogenin	G10L	G10X	G1A	G10C	G10M	UT1	UT31	UT35	UT29
1	6月27日	E7-1	♀	127/140	130	193/206	108/115	204	167	335/361	200	155
1	6月27日	D8-5	♀	129/141	133	195/206	110/117	207	168	337/361	204	156
2	7月24日	C5-2	♀	128	131/143	-	111/119	-	168	326/362	210	180
2	7月31日	C5-1	♀	128	132/143	193	114/121	201	17	324/358	209	181
2	7月24日	C6-5	♀	128	131/142	-	112/119	-	167	325/362	211	181
2	6月26日	C6-3	♀	128	133/144	194	113/120	202	168	329/363	212	182
3	6月12日	E10-5	♀	127	-	191/198	104/109	-	167	329	205/213	155/159
3	6月8日	E10-1	♀	128	130	191/198	104/110	205	168	331	206/213	174/180
3	6月8日	D10-4	♀	128	130	192/198	104/110	206	168	331	206/213	174/180
4	7月3日	F7-4	♀	127	130	191/211	112/117	203	166	315/326	206	161/172
5	6月5日	A10-1	♀	129	131	199	105/111	209	169	324/364	203/213	165
6	7月25日	F1-3	♀	129/139	130	-	103/115	-	166	286/329	204	179
7	6月13日	C5-6	♀	128	-	192	111/118	-	168	325/361	-	156/181
8	7月31日	A3-1	♀	129	131	-	111	203/207	167	313/349	207	177
9	6月5日	F1-1	♀	-	132/143	201/212	-	-	168	292/337	199/206	180
10	7月10日	F3-1	♀	-	130	192/208	-	-	168	328/369	203/210	193

ホモの場合は、フラグメントサイズの数値を一つだけ記入した。  
 ヘテロの場合は、フラグメントサイズの数値を両方記入した。  
 -：増幅バンド未確認あるいは、判断が困難であったことを示す。  
 \*トランプ番号-サンプル番号の順に示す。

②ヘア・トラップ法とカメラトラップ法の比較

HT サンプルについて、MultiNA を用いたフラグメント解析後に個体識別された検体数（個体識別に成功したサンプル数あるいはイベント数）は 51 検体（成功率 54 %）であった。また、識別された個体数（検体から重複個体を除いた数）は、オスは 26 個体およびメスは 10 個体の計 36 個体であった（表 5、表 6、表 7、参考付表 1）。一方、CT におけるクマ撮影イベント数は 102 イベントあり、胸部斑紋により識別された検体数は 51 検体、耳タグにより識別された検体は 2 検体で、合計 53 検体（成功率 52 %）識別できた。性判別は、オスが 27 検体識別された。また、識別個体数は、21 個体であり、HT より 15 個体少なかった（表 7、参考付表 2）。

HT および CT の分析試料数（サンプル数またはクマ撮影イベント数）あたりの識別検体数の割合には、有意差が認められなかった（ $\chi^2=0.0099$ ,  $df=1$ ,  $p=0.9209$ ）。識別個体出現率（識別個体数／分析試料数）は HT が 0.38 (36/95)、CT が 0.21 (21/102) であり、HT の方が高かった。

表 7 高原山におけるヘア・トラップ法およびカメラトラップ法による分析結果

HT 平成24 (2012) 年		CT 平成24 (2012) 年	
トラップナイト	2068	トラップナイト	2068
サンプル数	95	クマ撮影イベント数	102
PCR増幅成功数	83	斑紋撮影イベント数	66
識別検体数	51	識別検体数	53
性判別検体数	♂ 35	性判別検体数	♂ 27
	♀ 16		♀ -
識別個体数	36	識別個体数	21

③有効ワナかけ面積内の推定生息密度・推定生息数

表 8 には、CAPTURE により求めた推定生息数を有効ワナかけ面積（308 km<sup>2</sup>）で割って求めた、推定生息密度を示した。Mbh model による推定は CT と HT がほぼ同様な値を示したが、Mh model による推定では約 3 倍の開きがあった。

表 8 有効ワナかけ面積内の推定生息密度

調査年	トラップ種類 (推定モデル)	調査地面積 (km <sup>2</sup> )	推定生息密度 (頭/km <sup>2</sup> )			推定個体数 (頭)		
			下限値	上限値	中央値	下限値	上限値	中央値
平成24(2012)年	CT(Mbh)	308	0.075	0.331	0.203	23	102	63
	CT(Mh)		0.081	0.185	0.133	25	57	41
	HT(Mbh)		0.127	0.289	0.208	39	89	64
	HT(Mh)		0.312	0.594	0.453	96	183	140

## 4 考察

### ①ヘア・トラップ法とカメラトラップ法の比較

本調査で分析した試料は、HT と CT 両方法において、95 サンプル、102 イベントとほぼ同じ値を示し、分析成功割合も有意な差が認められなかった。一方で、識別個体出現率（識別個体数／分析試料数）は CT の方が少なかった。このことは、HT は 1 個体あたりのサンプル数は少ないものの多くの個体のサンプルを集めることができるが、CT は特定の個体のサンプルを多く収集する傾向があることを示している。CT はクマが誘引物の下で立ち上がる行動を示す必要があるが、個体によっては必ずしもそのような行動を示していなかった（特に体格の小さな個体）。今後は誘引物の高さや補助杭の位置を工夫するなど、より斑紋撮影イベント数を増加させることを検討していく必要がある。ただし、生息密度の推定においては、CT も HT と同様の値を示していたことから、CT は HT に代わる調査手法として有効であると考えられる。

### ②生息密度と個体数推定

調査地内の推定生息数は、トラップの種類（推定モデル）ごとに算出した推定生息数の中央値をみた場合、最大の値を示した HT (Mh model) の個体数は、最小の値を示した CT (Mh model) の個体数のおよそ 3 倍大きい値を示した。推定手法によるばらつきがでている可能性があるため、計算に使用するモデルについては検討を要する。

栃木県に隣接して、栃木県と同じく越後・三国個体群に属する群馬県の推定密度をみると、0.39 頭/km<sup>2</sup>（越後・三国個体群の平均推定密度）と報告されていた（群馬県 2012）。今回の推定密度は 0.133～0.453 頭/km<sup>2</sup>と、群馬県と同程度の推定密度となった。推定方法が統一されている訳ではないので数値だけで比較をすることはできないが、本調査地における生息密度は群馬県（越後・三国個体群）と同程度であると判断された。

## 5 今後の課題

### ①個体識別の精度向上

本研究では、コスト面を考慮してフラグメント解析に島津製作所社製 MultiNA を用いた。しかし、MultiNA は、1～100 bp の PCR 産物では測定されたフラグメントサイズに±5 bp の誤差が生じ、100～500 bp の PCR 産物では±5 % bp の誤差が生じるため、個体識別の際に誤識別をしてしまう可能性がある。誤識別としては、同一個体を別個体と判断してしまうパターン、別個体を同一個体と判断してしまうパターンが考えられる。改善策としては、フラグメント解析の際、ABI PRISM Genetic Analyzer (Applied Biosystems 社製) などのシーケンサーを用いることが挙げられる。

個体識別に生じる問題には、本来は同一個体であるものを別個体と判断してしまうパターンと、本来は別個体であるものを同一個体と判断してしまうパターンがある。これらの問題を減らすことは、より精度の高い個体数推定へつながると考えられる。そこで、HT、CT で誤識別が生じる原因と改善策を述べる。

#### aヘア・トラップ法を用いた個体識別

原因： DNA を使用した個体識別では、1. Allelic dropout、2. False allele、3. shadow effect による誤識別が佐藤 (2004) により報告されている。1. Allelic dropout とは、DNA の濃度が薄いこと、あるいは劣化していることが原因で生じ、本来ヘテロであるものが、どちらか一方の複対立遺伝子のみが複製されてホモとして認識されてしまうことを指す。2. False allele とは、本来はホモであるものが偽遺伝子により見かけ上、ヘテロとして認識されてしまうことを指す。3. shadow effect (Mills et al. 2000) とは、個体識別に使用する遺伝子マーカーの検出力が低いため、別個体を同一個体と判断してしまうことである。

改善方法： Allelic dropout および False allele は、遺伝子座あたり PCR を 2 回以上行う方法 (Taberlet et al. 1996) や、2 種類の PCR バッファーを用いて、各バッファーにより 1 回ずつ PCR を行い両反応系で遺伝子型が一致した場合、サンプルの遺伝子型と見なすといった方法が実施されている (例えば、大西ら 2008)。しかし、本調査では、10 座位の PCR を行うために必要な DNA 量が 1 回分にしか満たなかったため 2 回以上 PCR を行うのが困難であった。

Multiplex PCR は、同じ座位数を 1 座位ずつ PCR するより少ない DNA 量で PCR を行うことができるため、Multiplex PCR を導入することで 2 回以上 PCR が可能になると考えられる。shadow effect は、PCR 増幅に使用する遺伝子マーカーの  $P_{id}$  (Probability of identity) を事前に算出することで回避し得ると報告されている (湯浅・佐藤 2008)。 $P_{id}$  とは異なる 2 個体が偶然同じ遺伝子型をもつ確率である。

#### **b カメラトラップ法を用いた個体識別**

原因： クマの胸部斑紋は、撮影された角度により形が歪むため、誤識別をする可能性がある。また、カメラの解像度が低い場合は、斑紋の凹凸、切れ目など特徴の確認が困難な場合があり、誤識別へ繋がると考えられる。

改善方法： カメラは、解像度の高いものを使用する。また、トラップは、胸部斑紋を安定して正面から撮影できるよう、地形などに配慮して設置することが考えられる。

#### **② 個体数推定**

本調査では、個体数推定の精度の向上を目的としたが、野生生物の絶対数はよくわからないと言った側面がある (松田 2004)。そこで、クマの保護管理をするにあたって、精度の高い個体数推定だけを追求するのではなく、継続して一貫した方法で長期間 (10 年以上) 調査することにより相対的なクマの増減を把握する必要がある。

#### **③ トラップの構造**

CT によるクマの画像が確認されたが、体毛サンプルが採取されない場合があった。クマの体長および肩高には個体差があるため、有刺鉄線に触れずに潜る個体、あるいは跨ぐ個体が確認された。DNA 解析後の最小確認頭数の把握や個体数推定を行う際の精度の低下を防ぐため、体毛の回収力を上げる工夫が求められる。例えば、岩手県 (山内・斉藤 2008) で実施されているように有刺鉄線を 2 段に張り、トラップに出現したクマから確実に体毛の回収をする必要がある。

クマが誘引物を採取する際、地上からではなく、付近の立木に登ってつり下げひもをたぐり寄せ

る例があった。この場合、体毛が採取されず、また正面からの撮影も不可能な場合が多かった。つり下げひもを固定する木は、誘引物の位置から少なくとも4~5m程度は離れた箇所にあるものを利用することにより、このような例は防げるものと予想される。木登りが防げない場合は、波板（ポリカーボネード製）を木へ巻きつけることでも対応できると思われる。

テン (*Martes melampus*)、ニホンザル (*Macaca fuscata*) により誘引物が破壊された例が確認された。クマ以外の動物が誘引物を利用してしまうことは、クマの誘引効果を低下させ、個体数の推定にも影響を与えるおそれがある。対策としては、Miura & Oka(2003) が実施したように、クマ以外が破壊できないよう誘引物をワイヤーネットにより保護する必要がある。

## 6 引用文献

- Bookhout, T. A. (ed) (1996). Research and management techniques for wildlife and habitats. Fifth ed., rev. The Wildlife Society, Bethesda, Md. 740pp. 鈴木正嗣編訳(2001)『野生動物の研究と管理技術』. 文英堂出版. 東京. 898pp.
- 群馬県 (2012) 群馬県ツキノワグマ適正管理計画 (特定鳥獣保護管理計画・第一期) . 32pp+5 (付属資料) . 群馬県.
- Higashide, D., Miura, S. and Miguchi, H. (2012) Are chest marks unique to Asiatic black bear individuals? : Journal of Zoology 288:199-206.
- Higashide, D., Miura, S. and Miguchi, H. (2013) Evaluation of camera-trap designs for photographing chest marks of the free-ranging Asiatic black bear, *Ursus thibetanus*: Mammal Study 38(1) : 35-39.
- 川野光一・吉田日南子・松田秀明・千住弘明・佐藤 元(2006) 毛根の形態と STR 型検出: 日本法科学技術学会誌 11 : 113-124.
- 松田裕之(2004) 哺乳類保護管理における個体数推定の精度とフィードバック管理の留意点について: 哺乳類科学 44(1) : 77-80.
- Mills, L. S., Citta, J. J., Lair, K., Schwartz, M. K. and Tallmon, D. A. (2000) Estimating animal abundance using noninvasive DNA sampling: promise and pitfalls: Ecological Applications 10:283-294.
- 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.
- Ngoprasert, D., Steinmetz, R. and Gale, G. A. (2010) The use of chest marks to distinguish Asiatic black bear and Sun bear individuals in Thailand: International Bear News 19(2) : 18-20.
- O'Brien, T. G., Kinnaird, M. F. and Wibisono, H. T. (2003) Crouching tigers, hidden prey: Sumatran tiger and prey population in a tropical forest landscape: Animal Conservation 6 : 131-139.
- 大西尚樹・金澤文吾・長久保義(2008) 四国におけるツキノワグマの個体情報の収集～体毛をもちいた遺伝学的手法による個体識別～: 保全生態学研究 13(1) : 129-135.
- Paetkau, D., Calvert, W., Sterling, I. and Strobeck, C. (1995) Microsatellite analysis of population structure in Canadian polar bears: Molecular Ecology 4 : 347-354.
- Ríos-Uzeda, B., Gómez, H. and Wallace, R. B. (2007) A preliminary density estimate for Andean bear

using camera-trapping methods : *Ursus* 18(1) : 124-128.

佐藤喜和(2004)ヘアトラップによる体毛回収と DNA 個体識別を用いたクマ類の個体数推定の現状と課題 : *哺乳類科学* 44(1) : 91-96.

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* (online).

Taberlet, P., Griffin, S., Goossens, B., Questiau, S., Manceau, V., Escaravage, N., Waits, L. P, and Bouvet, J. (1996) Reliable genotyping of samples with very low DNA quantities using PCR : *Nucleic Acids Research* 24 : 3189-3194.

栃木県(2010)栃木県ツキノワグマ保護管理計画 (二期計画) 栃木県環境森林部自然環境課 20pp+37 (付属図表・付属資料) .

Yamamoto, K., Tsubota, T., Komatsu, T., Katayama, A., Murase, T., Kita, I., and Kudo, T. (2002) Sex identification of Japanese black bear, *Ursus thibetanus japonicus*, by PCR based on amelogenin gene : *Journal of veterinary medical science* 64 : 505-508.

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.

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.

参考付表1 セクションごとの確認個体 (ヘア・トラップ法)

個体 番号	セクション番号								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
♂1		○				○	○	○	
2	○		○	○					○
3			○						
4					○				
5						○			
6	○								
7							○		
8									○
9	○								
10	○								
11				○					
12	○								
13		○							
14							○		
15		○							
16							○		
17	○								
18								○	
19							○		
20		○							
21	○				○				
22			○						
23				○					
24									○
25						○			
26								○	
♀1				○					
2				○				○	○
3	○	○							
4					○				
5	○								
6								○	
7		○							
8									○
9	○								
10						○			

参考付表2 セクションごとの確認個体 (カメラトラップ法)

個体 番号	セクション番号								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
a	○		○	○					
b	○	○	○			○			○
c	○	○				○	○	○	○
d					○				
e	○			○					○
f		○					○		
g							○		
h				○		○	○		
i								○	
k							○	○	○
l				○			○		
m								○	
n								○	○
o								○	
r					○				
s				○					
u		○							
x					○				
z			○						
い								○	
う		○		○					