

体毛抽出 DNA を用いた多摩地域のツキノワグマの個体識別

久保田将之・下沖嘉孝*・新井一司

(緑化森林科・*環境局)

【要 約】ヘアトラップ法により多摩地域のツキノワグマを 21 頭識別し、個体識別能 (PID sib) は 1.6×10^{-3} であったため、個体識別には使用したマーカーで十分である。

【目 的】

野生動物の生息密度推定には区画法、糞粒法等が用いられてきたが、近年トラップ等に残された体毛から DNA を抽出し、個体を識別することで生息密度を推定するヘアトラップ法が使用され始めている。本研究では、多摩地域に生息するツキノワグマの生息密度推定や森林被害を起こす個体の特定のため、ヘアトラップ法を行い、個体識別を試みた。

【方 法】

1. 体毛の採取：2018 年 6 月下旬～9 月中旬に多摩地域の山間部において、2 km のメッシュごとに計 40 か所のヘアトラップを設置した (図 1)。トラップの誘引物はハチミツを使用し、立木間に木材を地上から 1.5 m の高さで渡し、その中心にハチミツを入れた塩ビパイプを設置した。トラップを一辺が 4 m の正方形の有刺鉄線で囲み、トラップの設置以降、約 2 週間に 1 回見回りを行い、有刺鉄線に残された体毛を回収した。体毛の回収は、見回り 4 回とトラップ回収時の計 5 回行った。
2. DNA 抽出：回収した体毛はシリカゲルで乾燥させ、常温で保存した。体毛の毛根部分を、実体顕微鏡を用いながら 0.5 cm～1 cm 程度切り取り、DNA を抽出した。有刺鉄線の一つの針部分に残された複数の体毛は全て一つのサンプルとして扱い、毛根がない場合には毛根に近い部分を切り取って抽出を行った。また、顕微鏡観察でクマ以外の動物の体毛と思われるものと、毛根がなく、細い体毛 1 本のみのサンプルは解析から除外した。
3. 個体識別：抽出した DNA を 1 座のマイクロサテライト (SSR) 領域 (Uam22) で増幅し、増幅されたものについて、8 座の SSR 領域 (G10B, G10C, UamB5, UamD2, UarMU05, UarMU23, UarMU50, UarMU61) を増幅し、得られた断片長をもとに個体の識別を行った。

【成果の概要】

1. トラップにより合計 107 サンプルを回収し、そのうち 67 サンプルをクマ体毛として解析した。35 サンプルが UamD2 により増幅され、このうち、30 サンプルを 21 個体に識別できた (表 1)。UamD2 による増幅では、毛根を含む体毛数が多いほど増幅成功率が高く (図 2)、安定した解析には毛根を含む体毛数が 10 本以上あることが望ましいと考えられ、先行研究と一致した。一方で毛根を含まないサンプルでも、本数が 5 本以上あれば半数程度のサンプルについて増幅が可能だった。
2. 8 座の SSR マーカーによる個体識別能 (PID sib) は 1.6×10^{-3} であり、多摩地域のツキノワグマの個体識別には、今回用いた SSR マーカーで十分であると考えられた。

【残された課題・成果の活用・留意点】

今後、今回用いたマーカーを使用して多摩地域で森林被害を起こす個体の特定を行う。

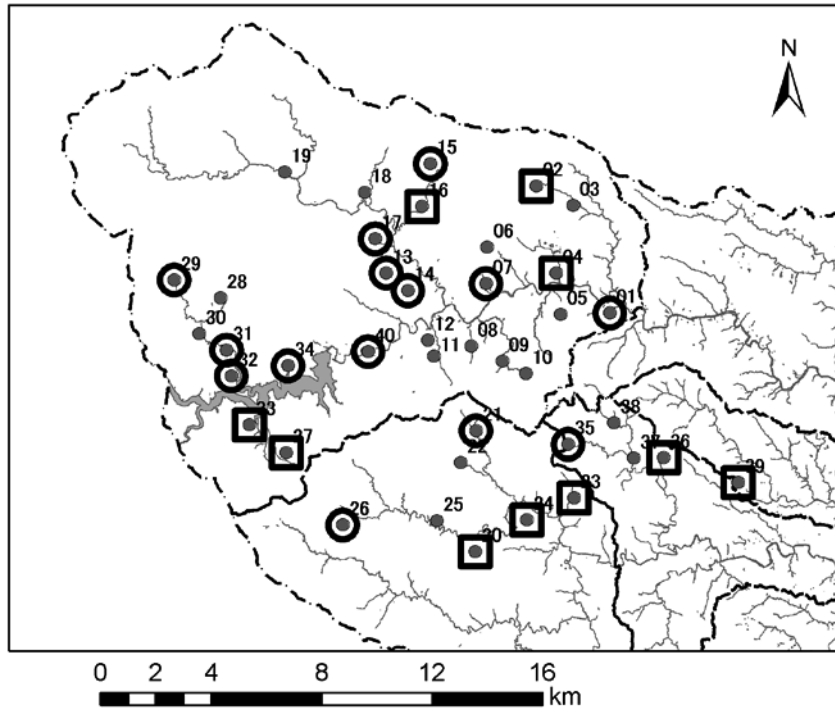


図1 トラップの位置

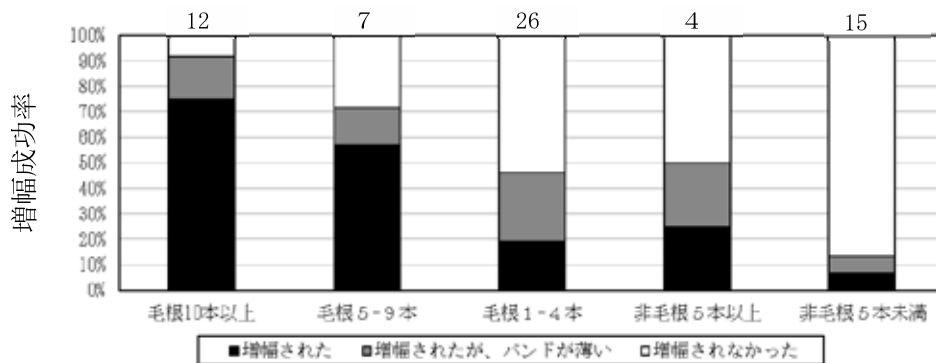
※数字はトラップ番号を示す

※○で囲んだトラップは、個体識別されたクマが確認されたトラップ

※□で囲んだトラップは、個体識別できなかった体毛が得られたトラップ

表1 識別された個体

クマ個体	確認回数	トラップ番号	クマ個体	確認回数	トラップ番号
くま1	1	40	くま12	1	34
くま2	1	17	くま13	1	32
くま3	1	1	くま14	2	7
くま4	1	14	くま15	2	29
くま5	1	17	くま16	2	31
くま6	1	29	くま17	1	35
くま7	1	21	くま18	1	17
くま8	1	13	くま19	1	15
くま9	1	7	くま20	1	26
くま10	1	17	くま21	2	14
くま11	2	15			



※「非毛根」は毛根がない体毛を示す

※棒グラフの上の数字はサンプル数を示す

図2 体毛本数ごとのUamd2増幅成功率