

〈2020年度長野大学研究助成金による研究報告〉

(準備研究)

DNA分析法を用いたツキノワグマの個体識別 および性別・親子判定のための手法開発

高橋 一 秋*

高橋 香 織**

ゼミ生12名***

Kazuaki TAKAHASHI

Kaori TAKAHASHI

1 研究実績の概要

本研究では、樹木に登り来たクマの毛や果実を食べに来たクマの毛を簡便に採取できる改良型のヘア・トラップ法を開発するとともに、最新の手法やDNA分析装置を用いて、ヘア・トラップで採取した毛やヘア・トラップの周辺で採集した糞から遺伝子を抽出、遺伝子を増幅、遺伝子マーカーの遺伝子配列を分析することで、クマの個体識別と性別・親子判定ができる生態学者向けのDNA分析法および研究体制を開発・確立することを目的とする。また、開発したDNA分析法については、生態学者向けのマニュアルを作成する。本研究で用いるクマの毛および糞のサンプルは、以下の2つの研究を実施する過程で採取する。長期的な目標としては、研究1と研究2で得られた保全生態学的な知見をニホンツキノワグマの保安全管理に役立てる予定である。

(研究1) 林冠ギャップ創出者としてのニホンツキノワグマの役割: ニホンツキノワグマはバラ科サクラ属やブナ科コナラ属・クリ属の樹木に登って樹上で枝を折りながら液果や堅果を採食する。そのため、林冠層に小規模林冠ギャップやクマ棚が形成される。筆者らの研究によって、その林冠ギャップは林内の光環境を改善することから、他の液果植物の繁殖(開花・結実)を促進させることが明らかにされた。本研究のDNA分析によって、ある一定の森林面積内に形成される林冠ギャップやクマ棚にはおおよそ何頭のクマが関与するのか?これらの行動には雄雌の偏りがあるのか?クマ棚形成に関する知識・技術は母グマから娘グマに伝播されるのか?について明らかにする。

(研究2) 高山帯の種子散布者としてのニホンツキノワグマの役割: 筆者らの研究によって、ニホンツキノワグマは夏に浅間山の高山帯に登って来て、ガンコウランの果実を大量に利用し、ガンコウランの種子散布に貢献することが明らかになってきた。本研究のDNA分析によって、ある一定面積のガンコウラン群落における果実利用と種子散布にはおおよそ何頭のクマが関与するのか?その行動には雄雌の偏りがあるのか?について明らかにする。

改良型のヘア・トラップ法の開発については、樹木に登りに来たクマの毛を採取するのに最適なヘア・トラップ法を開発するために、有刺鉄線の枠サイズ(2m×2m、3m×3m、4m×4m)が異なるヘア・トラップを対象とする樹木の幹を取り囲むように設置し、野外実験を行った。同時に、その周辺に自動撮影カメラを設定し、クマが有刺鉄線の枠をくぐり、樹木を登る行動を観察した。その結果、枠サイズが大きいと、クマ以外の動物(シカやイノシシ)が樹木の近くを通過する際に毛が引っかかってしまうことや、むしろ枠サイズが小さいほうが、樹木に登りに来たクマのみをターゲットに絞ることができるため、比較的効率良く、毛を採集できることが分かった。また、有刺鉄線の高さを地面から30cmから50cmまで変化させて、クマの行動と毛の引っかかりやすさを自動撮影カメラで観察したところ、クマが有刺鉄線をくぐったり、またいだりする際に毛が針の部分に引っかかることと、有刺鉄線の高さが低いと、仔グマや幼獣がくぐったときには毛が引っかかりやすくなるが、成獣だと有刺鉄線をまたいでしまい、毛が引っかかりにくくなるのに対し、有刺鉄線の高さが高いと、成獣

がまたいだときには毛が引っかかりやすくなるが、仔グマや幼獣だと有刺鉄線をくぐってしまい、毛が引っかかりにくくなるのが分かってきた。さらに、有刺鉄線に毛が引っかかっているにもかかわらず、樹木を登っていなかった場合や、毛が引っかかっているにもかかわらず、樹木を登っていた場合があることが、自動撮影カメラによる観察からみえてきた。

樹木に登って小規模林冠ギャップやクマ棚を作ったクマの個体識別と性別・親子判定ができるDNA分析法および研究体制を開発・確立するために、遺伝子分析に詳しい研究者にヒアリングを行い、採集した毛のサンプルの扱い方や前処理に関する手法およびDNA分析装置の操作方法を習得した。計画では「信州大学・遺伝子実験支援部門」の施設とDNA分析装置を利用する予定であったが、コロナ渦で学外者の施設

利用ができなかったため、採集した毛から遺伝子を抽出、遺伝子を増幅、遺伝子マーカーの遺伝子配列を分析する過程のプロトコルを作成し、分析に必要な道具や資材類などの取り扱い方を確認するところまで準備を進めた。また、開発した改良型のヘア・トラップで採集した毛とヘア・トラップの周辺で採集した糞からDNA分析ができるかどうかを確かめるために、毛(毛根が少ない毛、毛根が中程度の毛、毛根が多い毛:3サンプル)と糞(毛を採集したヘア・トラップの近くで採集した新鮮な糞と古い糞、そのヘア・トラップから50m程度離れた場所で採集した新鮮な糞:3サンプル)のDNA分析を秋田県立大学に委託した。その結果、毛根が少ない毛と毛根が中程度の毛「以外」のサンプルは全てDNA分析に成功し、性別と血縁関係が明らかにできた。

研究発表(令和3年度の研究成果)

(雑誌論文) 計(1)件

著 者 名		論 文 標 題			
Kazuaki Takahashi and Kaori Takahashi		Alpine ericaceous dwarf shrubs as summer food resources for Asiatic black bears in Japan			
雑 誌 名	査読の有無	巻	発行年	最初と最後の頁	
Ursus	有		2021	Accepted	