

原著論文

群馬県に生息するツキノワグマの遺伝的集団構造

佐々木剛^{1*}・和久井諒¹・小澤咲久美¹・渡部千晶¹・大井章豊²・米澤隆弘³・姉崎智子⁴

¹東京農業大学農学部バイオセラピー学科 : 〒243-0034 神奈川県厚木市船子1737

²東京農業大学農学研究科バイオセラピー学専攻 : 〒243-0034 神奈川県厚木市船子1737

³復旦大学生命科学学院 : 上海市邯鄲路220

⁴群馬県立自然史博物館 : 〒370-2345 群馬県富岡市上黒岩1674-1

*corresponding author: Takeshi Sasaki, Tokyo University of Agriculture
(t4sasaki@nodai.ac.jp)

要旨: 本研究は群馬県ツキノワグマの遺伝的集団構造をより詳細に明らかにする目的で、33個体の群馬県産ツキノワグマのミトコンドリアDNA D-loop領域配列を決定し、先行研究(佐々木ほか, 2013)の30個体とともにハプロタイプ分析を行った。その結果、南西部集団の存在が改めて確認され、嬭恋村と中之条町間に分布の境界線が存在する可能性が示唆された。北東部集団は本研究の解析によりみなかみ町まで分布することが明らかとなった。中之条集団は群馬県内で唯一ハプロタイプE10とE31を有する集団であることが改めて確認された。本研究の成果は将来の人為的分布境界線(関東山地個体群と越後・三国個体群)の見直しに向けて重要な知見をもたらすといえる。

キーワード: ツキノワグマ, *Ursus thibetanus*, 群馬県, ミトコンドリアDNA, 遺伝子型分析, 地理的分布

Genetic population structure of Japanese black bear living in Gunma Prefecture

SASAKI Takeshi^{1*}, WAKUI Ryo¹, OZAWA Sakumi¹, WATANABE Chiaki¹, OOI Akito²,
YONEZAWA Takahiro³ and ANEZAKI Tomoko⁴

¹Department of Human and Animal-Plant relationships, Faculty of Agriculture, Tokyo University of Agriculture:
1737 Funako, Atsugi, Kanagawa 243-0034, Japan.

²Department of Human and Animal-Plant relationships, Graduate school of Agriculture, Tokyo University of Agriculture:
1737 Funako, Atsugi, Kanagawa 243-0034, Japan.

³School of Life Sciences, Fudan University: 220, Handan Rd. 200433, Shanghai, China.

⁴Gunma Museum of Natural History: 1674-1 Kamikuroiwa, Tomioka, Gunma 370-2345, Japan

*corresponding author: Takeshi Sasaki, Tokyo University of Agriculture
(t4sasaki@nodai.ac.jp)

Abstract: Although the Japanese black bear, which lives in Gunma Prefecture, is divided into two populations, namely Kanto-Sanchi population and Echigo-Mikuni population, genotype analysis of mitochondrial DNA suggested that the genetic population of Gunma's black bear properly belonged with the Southwestern population, which was composed of Kanto-Sanchi population and Tsumagoi individuals, Northeastern population and Nakanojo population (Sasaki *et al.*, 2013). In this study, to elucidate details of the genetic population structure of Gunma's black bear, we analyzed haplotypes of mitochondrial D-loop sequence from 33 individuals. As a result, we confirmed the existence of a Southwestern population, and suggested that the Northeastern population has widely ranged from Minakami to the eastward more than it was thought.

Key Words : Japanese black bear, *Ursus thibetanus*, Gunma Prefecture, mtDNA, haplotype, geographical distribution

はじめに

ツキノワグマ (*Ursus thibetanus*) は極東地域、中国南部、東南アジア、ブータンからアフガニスタンにかけてのヒマラヤ山脈一帯に生息する森林性の大型哺乳類である (Ohdachi *et al.*, 2009). 日本国内では本州、四国に生息するが、そのうち下北半島、紀伊半島、四国、中国の地域個体群が現在絶滅の危機にあるとされ、その保護が課題となっている。その一方で近年ツキノワグマが人里へ出没し、人的および農林業的被害を与える事例が増加傾向にあり人との共生関係に軋轢が生じている (群馬県環境・森林局自然環境課, 2011).

本研究が調査対象とする群馬県は県土の67%を森林が占め、そこにおよそ1,000頭のツキノワグマが生息すると推定されている (群馬県環境・森林局自然環境課, 2011). 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) (以後、適正管理計画) は、県内に生息するツキノワグマ個体群を越後・三国個体群と関東山地個体群の2つに区

分している (群馬県環境・森林局自然環境課, 2011: 図1). しかし、この区分けは適正管理計画を円滑に推進するための便宜的なものであり、森林事務所の管轄区域を単位としている。この基準のもとで群馬県は年間に越後・三国個体群から95頭 (推定生息頭数の12%以内)、関東山地個体群から22頭 (推定生息頭数の8%以内) の狩猟、有害捕獲を認めている。しかしながら、2001年から2010年の10年間の有害捕獲と狩猟を合わせた平均捕獲頭数は県内全体で181頭であり、設定値を上回る捕獲が記録されている (群馬県環境・森林局自然環境課, 2011). それゆえ、県内のツキノワグマ個体群の維持管理対策の構築が喫緊の課題となっている。

ミトコンドリアDNA (mtDNA) は地域集団の遺伝的特性を調査する集団遺伝学的研究において有用な分子である (Ishibashi and Saitoh, 2004; Ohnishi *et al.*, 2009). その理由は、mtDNAは核DNAに比べて進化速度が早く、集団の個体間に生じた遺伝的差異が比較しやすいためである (Brown *et al.*, 1979; Olivio *et al.*, 1983). このような特性により、mtDNAの塩基配列多型を解析することで同種内の繁殖集

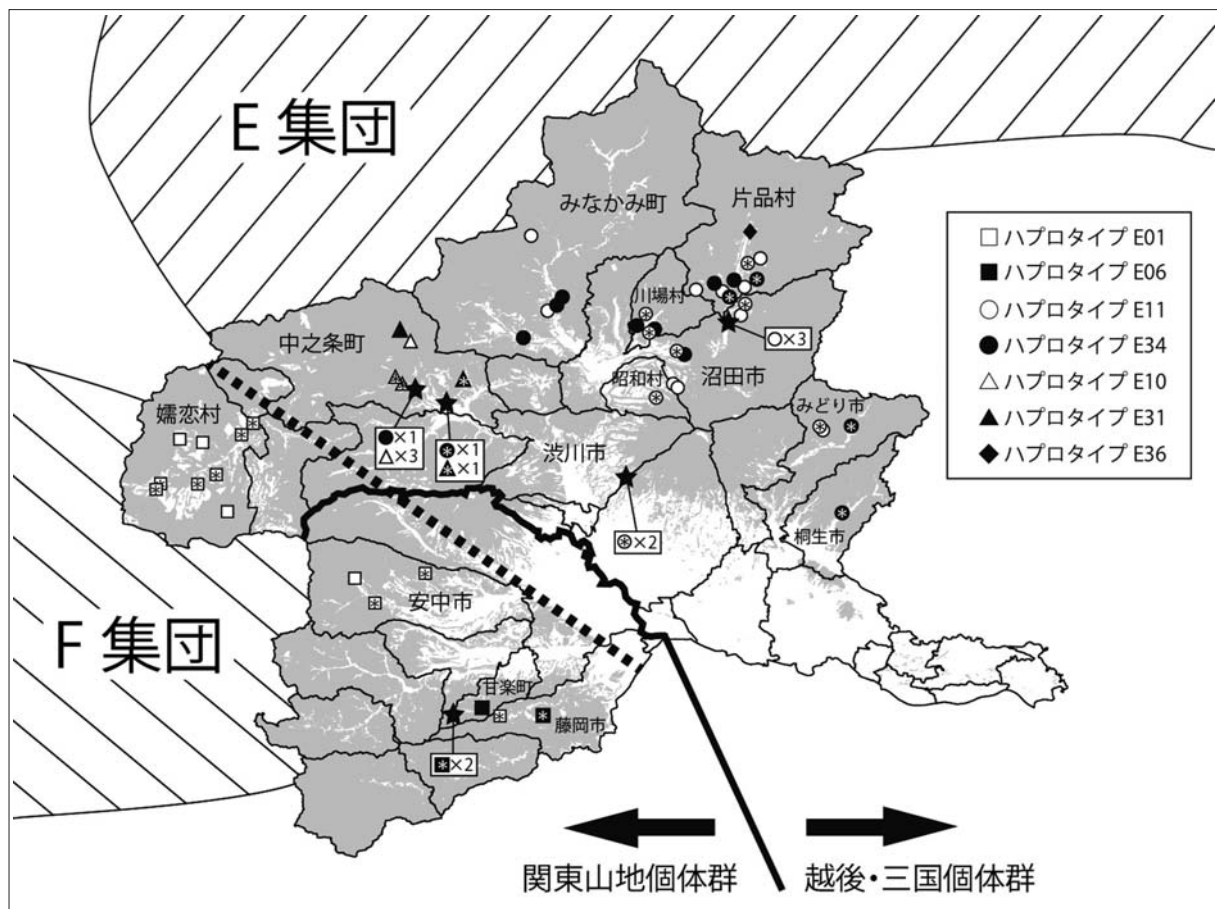


図1. 群馬県におけるハプロタイプの分布. 適正管理計画の基準となっている越後・三国個体群および関東山地個体群の地理的境界線を太線で示す (群馬県環境・森林局自然環境課, 2011). 佐々木ほか (2013) によって示されたハプロタイプは“*”で示す. 2個体以上捕獲された地点は“★”印で示し、その内訳を線で結んだ囲いの中に示す. Ohnishi *et al.* (2009) によって示された集団 (E集団とF集団) の分布を斜線で示す. 地図上の灰色部分は森林を表す. E集団とF集団の推定分布境界を点線で示す.

団の構成や地理的分布を明らかにすることが可能となる。

佐々木ほか (2013) は2010年に群馬県内で有害捕獲された30個体を用いてmtDNA D-loop領域配列に基づくハプロタイプ分析を行った。その結果、群馬県内のツキノワグマは既存の関東山地個体群に孀恋村の個体群を加えた“南西部集団” (孀恋村, 安中市, 藤岡市, 甘楽町), 県北東部に生息する“北東部集団” (渋川市, 川場村, 沼田市, 昭和村, 片品村, みどり市, 桐生市), およびその2地域間に生息する“中之条集団” (中之条町) の3地域集団に大別される可能性が示唆された。この結果は適正管理計画で分けられていた群馬県内の越後・三国個体群と関東山地個体群の境界線がツキノワグマの繁殖集団の分布を反映していないことを示唆している (図1)。しかしながら、佐々木ほか (2013) の解析で用いられた中之条集団の個体数が5個体と少ないこと、中之条集団と北東部集団の間に位置するみなかみ町の個体が用いられていなかったことから3地域集団の存在については未だ検証の余地を残している。このような課題を解決するため本研究は先行研究に加えさらに多くの個体を解析することで、群馬県ツキノワグマのより詳細な集団構造の解明を試みる。

試 料

2009年および2010年に群馬県で有害駆除された33個体のツキノワグマを標本として用いた。さらに、先行研究 (佐々木ほか, 2013) の解析で用いた30個体を解析に加えることで合計63個体のツキノワグマで解析を行った。本研究の解析に用いた試料の詳細を表1に示す。本研究で用いた試料は群馬県立自然史博物館に所蔵されているものを用いた。

方 法

DNA抽出

アルコール液浸標本として常温保存された筋肉組織からメスで約100mgを切り出しフェノール・クロロホルム法 (Sambrook *et al.*, 1989) によりトータルDNAを抽出した。抽出したDNAは50 μ lのTE緩衝液 (10 mM Tris-HCl, 1 mM EDTA) に溶解し、-20°C で冷凍保存した。

遺伝子増幅と塩基配列決定

ミトコンドリアDNAのD-loop領域の増幅にはMatsushashi *et al.* (1999) によって示されたプライマー Cb-z (5'-ATG AAT GGA GGA CAA CGA GT-3') とD4 (5'-AGG CAT TTT CAG TGC CTT GCT TTG-3') を用い、PCR法により目的領域を増幅した。PCR反応液の組成は、トータルDNA 100 ng, 1 μ M 各プライマー, 1×Ex *Taq* Buffer (TaKaRa), 0.2 mM dNTP, 0.5 U Ex *Taq* polymeraseである。反応条件は94°C, 45秒, 60°C, 30秒, 72°C, 2分を1サイクルとして35サイクル

で行った。PCR反応産物の一部を1×TAE緩衝液で作成した1%アガロースゲルで電気泳動 (100v, 30分) し、エチジウムブロマイド溶液で染色後、紫外線照射して目的領域 (約1,600 bp) の増幅を確認した。D-loop領域の塩基配列決定にはプライマー Cb-zを用い、外部委託 (DNA受託解析サービス: (株)マクロジェンジャパン, 東京) し、配列を決定した。

塩基配列解析

DNAシーケンサーによって決定された塩基配列は、Sequence Scanner Software v1.0 (アプライドバイオシステムズ, (株)ライフテクノロジーズ・ジャパン, 東京) を用いて波形を目で注意深く観察することで確認した。本研究で決定した33個体のD-loop領域塩基配列を先行研究 (Ohnishi *et al.*, 2009) によって東日本ツキノワグマで見いだされた38ハプロタイプ (AB441772-AB441809) の配列とともに複合アライメントし、ハプロタイプを同定した。

ツキノワグマ集団間の系統解析

日本国内に生息するツキノワグマで定義された集団の成立を探る目的で集団間の系統関係を解析した。解析に用いたAからPの遺伝的集団はOhnishi *et al.* (2009) によって定義された集団を用いた。Ohnishi *et al.* (2009) に示されている集団ごとのハプロタイプ構成および各ハプロタイプの個体数をもとに全ての個体のデータをFasta形式で作成した。群馬県ツキノワグマ集団は南西部, 北東部, 中之条の3集団に分かれる可能性が示唆されている (佐々木ほか, 2013)。しかし, 図1に示すようにOhnishi *et al.* (2009) の示すE集団は北東部と中之条の両集団を包含していると判断し, 本解析では南西部集団のハプロタイプをF集団, 北東部および中之条集団のハプロタイプをE集団に加えて解析を行った。集団間の遺伝的距離はNet値 (Nei, 1987) を用いた。塩基配列間の遺伝距離はKimuraの2変数モデル (Kimura, 1980) およびMaximum Composite Likelihood 法 (Tamuraほか, 2004) を用いて推定した。近隣結合法 (Saitou and Nei, 1985) を用いて系統樹推定を行った。これらの解析はMEGA ver. 5 (Tamura *et al.*, 2011) を用いた。

結 果

ハプロタイプ分析

本研究は先行研究 (佐々木ほか, 2013) に従い, D-loop領域の706bpの塩基配列を解析に用いた。佐々木ほか (2013) では30個体から5つの塩基サイト (サイト番号:49, 242, 253, 277, 630) で変異を見だし, 群馬県のツキノワグマが6つのハプロタイプ (E01, E06, E10, E11, E31, E34) に分かれることを明らかにした (表1)。

本研究で群馬県から新たなハプロタイプE36を片品村の捕獲個体 (VM10-317) から見いだした。その他, E01タイ

プが嬭恋村から3個体、安中市から1個体、E06タイプが甘楽町から1個体、E11タイプが沼田市から5個体、昭和村から1個体、片品村から4個体、みなかみ町から2個体、E34タイプが片品村から2個体、川場村から2個体、沼田市から1個体、みなかみ町から3個体、中之条町から1個体、E10タイプが中之条町から3個体、E31タイプが中之条町から1個体見いだされる結果となった(表1)。本研究と先行研究の結果を合わせて図1に各ハプロタイプの地理的分布を示す。

ツキノワグマ集団の系統類縁関係

群馬県ツキノワグマが属するE集団とF集団の進化的由来を探る目的で、Ohnishi *et al.* (2009) が日本国内に生息するツキノワグマで見いだした16集団の系統類縁関係を評価した。Kimuraの2変数モデルを用いて推定したNet値に基づく近隣結合系統樹を図2に示す。Maximum Composite Likelihood法を用いて推定した、Net値に基づく近隣結合系統樹も同一の樹形であった。Ohnishi *et al.* (2009) は日本各地のツキノワグマから見いだされた57ハプロタイプを用いて分子系統解析を行い、東日本、西日本、南日本の大きく3つの系統群に分かれることを示した。本研究による集団間の系統解析においても彼らの結果を支持した。東日本クラスターで最初に分岐した集団はD(東北南部)集団であり、なおかつ分岐後D集団へ続く枝の長さがゼロであった。

つづいてG集団とH集団のクレイドが分岐し、残りの単系統群の中で最初にF集団が分岐している(図2)。このF集団へ続く枝の長さもゼロであった。E集団は東北中央・北部の単系統群と姉妹群関係を示した(図2)。

考 察

群馬県ツキノワグマの遺伝的集団構造

先行研究(佐々木ほか, 2013)と同様に本研究でも南西部集団が生息する地域からE01タイプと、E06タイプが確認された(表1, 図1)。Ohnishi *et al.* (2009) は、群馬県より西側の長野県を中心とした地域にツキノワグマの非常に大きな集団F(主要なハプロタイプはE01タイプとE06タイプ)が生息し、群馬県嬭恋村もその一部である可能性を示した(図1)。これは本研究による群馬県南西部集団のハプロタイプ構成と一致しており、南西部集団がF集団の一部である可能性がより強く示された。その一方、Ohnishi *et al.* (2009) の結果ではF集団の嬭恋村付近からE10タイプの生息が報告されているが、本研究と佐々木ほか(2013)による嬭恋村産9個体の解析では未だ発見されていない(表1)。今後さらに解析を進め南西部集団の遺伝的多様性を明らかにしていく必要がある。

北東部集団のハプロタイプ構成はE11タイプとE34タイプ

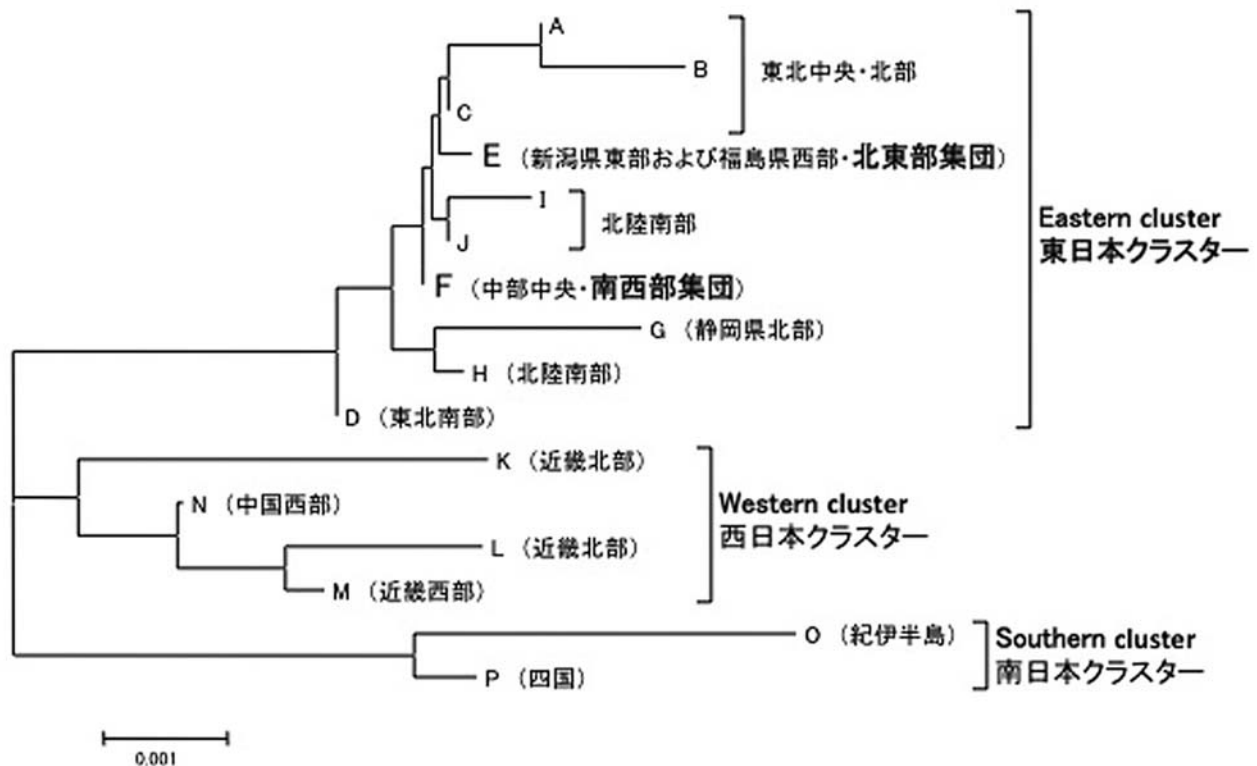


図2. 日本国内におけるツキノワグマ遺伝的集団間の無根系統樹。AからPの集団はOhnishi *et al.* (2009) によって定義された集団に基づく。群馬県の南西部集団はF集団、北東部集団はE集団として扱った。各集団のおおよその分布域を括弧内に示す。スケールは遺伝的距離を表す。

プであることが先行研究で示されていた(佐々木ほか, 2013)。本研究では、沼田市, 昭和村, 片品村, みどり市に加え、みなかみ町の標本を新たに解析に加えたことでE11タイプがさらに西側へ広がり、このタイプが北東部集団で広範囲に分布するハプロタイプであることを確認した(図1)。

本研究ではさらに、新たなハプロタイプE36を片品村において記録した(表1, 図1)。Ohnishi *et al.* (2009)によるとE36タイプは福島県と栃木県の県境付近でのみ確認されたハプロタイプである。片品村は、Ohnishi *et al.* (2009)がE36を確認した地域と隣接するため、このハプロタイプは群馬県, 福島県, 栃木県の3県をまたいで分布していると考えられる。

先行研究(佐々木ほか, 2013)で未解析であったみなかみ町からE34タイプが確認され、これによりE34タイプは中之条町から桐生市に至る広範囲な分布を示すハプロタイプであることが明らかとなった(図1)。先行研究では中之条町集団が隣接する北東部集団とは異なる集団である可能性を示唆したが、E34タイプの広範囲な分布はこれら2集団間に遺伝的交流が起きる可能性を示唆している。一方で、ハプロタイプを検討する上で、堅果類の不作年のツキノワグマの広範囲な移動性を考慮する必要がある(Kozakai *et al.*, 2011)。Ohnishi *et al.* (2011)によると、ツキノワグマ大量出没年の秋には、個体の移動が食物を求めて広範囲になり、10km程度は移動するとされている。また、Kozakai *et al.* (2011)によると、この移動は8月下旬にも見られると言うことである。本研究で解析に用いたE34タイプのうち群馬県でのツキノワグマ大量出没年である2010年に捕獲された個体(個体番号“VM10-”に該当する個体)は11個体であった。そのうちみなかみ町(VM10-167), みどり市(VM10-148), 桐生市(VM10-164)の3個体を除き、残りの8個体は移動個体の可能性が考えられる8月から10月に捕獲された個体であった。中之条町の2個体とも8月に捕獲された個体であり、本来この地域に生息していない個体が他所から侵入してきた際に捕獲された可能性も考えられる。今後は移動の起こりにくい年の標本を増やして解析することで中之条町と北東部集団の関係性に何らかの見解が得られると期待される。

Ohnishi *et al.* (2009)は、群馬県と県境を接する新潟県南部, 福島県西部および栃木県北西部一帯にツキノワグマのE集団が生息することを示した。本研究で見いだされた北東部集団および中之条集団は、このE集団の南側境界と接しており、本研究のハプロタイプ構成(E10, E11, E31, E34, E36)も、E集団で見いだされたハプロタイプにすべて含まれている。特に、中之条町と県境で接する新潟県南部には、E10タイプとE31タイプを持った個体群がOhnishi *et al.* (2009)によって確認されている。したがって、中之条町で確認されたE10タイプとE31タイプは、隣接する新潟県南部の個体群との遺伝的な繋がりを示していると考えられる。

このことから北東部集団および中之条集団はE集団の一部を構成していると考えられる。

群馬県ツキノワグマ集団の系統関係

日本国内に生息するツキノワグマ集団の系統解析を行ったところ、東日本クラスターではD集団が最初に分岐した(図2)。これは東日本ツキノワグマの祖先集団のハプロタイプの構成や遺伝子頻度がD集団とほぼ同じであった可能性を示唆する。D集団から分岐した残りの各集団の系統関係を見るとA+B集団, I集団, G集団を除いて分岐後の枝は短かった。これは東日本の集団の遺伝的な分化が比較的最近、急速に起きた可能性を示唆している。AとB集団の長い枝は過去の集団サイズの縮小とそれに伴う遺伝的浮動によって遺伝子頻度が変化したことを表しているのかもしれない。Ohnishi *et al.* (2009)は東北地方のA, B, C集団の極めて低い遺伝的多様性は最終氷期にレフュージアで生き残った個体群の縮小と遺伝的浮動による影響を示唆しており、本研究の集団間の系統関係もそれを支持する結果と言える。一方、I集団とG集団においても長い枝が得られている。これら2集団はA, B集団と異なり集団の塩基多様度(π)が大きく(Ohnishi *et al.*, 2009のtable 1参照)、歴史的に集団サイズが大きかったと思われる。地理的な隔離などによって東日本では比較的長い歴史を持った集団であることを示しているのかもしれない。

群馬県のツキノワグマが含まれるE集団とF集団は、どちらも最近になって急速に分化した集団である可能性が示唆された。Ohnishi *et al.* (2009)はF集団の拡大が最終氷期の終わりに起きたことを述べており、群馬県の南西部集団もその拡大によって最近形成された集団であると考えられる。また、E集団とF集団は嬭恋村と中之条町付近で非常に接近している集団同士であるが、単系統を形成せず、E集団はむしろ東北に生息する集団に近縁である可能性が示唆された。このように両集団の成立は異なることが系統解析によって示唆された。このE集団とF集団を隔てる地理的な要因は未だ明らかにされていないが、本研究の結果からこれら2集団境界線がある程度明確になってきたといえる(図1)。今後、これら地域の調査標本を増やし、集団を分ける地理的要因を精査することで分布の境界線が明らかになると期待される。

適正管理計画と自然集団の関係

適正管理計画では、関東山地個体群および越後・三国個体群の区分けは、地理的および気候的な要因から安中市を東西に走る国道18号線を境界とし、さらに各個体群で管理計画を円滑に推進するため森林事務所の管轄区域を単位として関東山地個体群は3区域、越後・三国個体群は4区域に分割されている(群馬県環境・森林局自然環境課, 2011)。しかしながら、本研究の結果は、その大小どちらの区分け

表1. 群馬県ツキノワグマの集団, 適正管理計画区分および標本に関する詳細.

集団	ハプロタイプ	地域個体群	環境森林事務所	市町村	個体番号	性別	典拠		
南西部 集団	E01	越後・三国	吾妻	嬭恋村	VM10-205	オス	*		
					VM10-206	メス	本研究		
					VM10-235	メス	*		
					VM10-236	オス	本研究		
					VM10-239	オス	*		
					VM10-243	オス	*		
					VM10-246	メス	*		
					VM10-249	オス	*		
	E06	関東山地	西部	安中市	VM10-424	オス	本研究		
					VM10-174	メス	*		
					VM10-180	メス	本研究		
					VM10-216	オス	*		
					藤岡	藤岡市	VM10-207	オス	*
					藤岡	藤岡市	VM10-253	オス	*
					富岡	甘楽町	VM10-254	メス	本研究
							VM10-261	メス	*
北東部 集団	E11	越後・三国	利根	渋川	渋川市	VM10-285	オス	*	
						VM10-135	オス	*	
						VM10-177	オス	*	
						川場村	VM10-152	オス	*
							VM10-214	オス	*
						沼田市	VM10-262	オス	*
							VM10-267	オス	本研究
						VM10-269	オス	本研究	
	VM10-270	メス	本研究						
	VM10-271	メス	*						
	VM10-380	オス	本研究						
	VM10-384	メス	本研究						
	E36	越後・三国	利根	桐生	みどり市	VM10-242	オス	*	
						VM10-333	オス	本研究	
						VM09-308	オス	本研究	
						VM10-209	オス	*	
片品村						VM10-210	オス	本研究	
						VM10-212	オス	本研究	
みなかみ町						VM10-314	オス	本研究	
						VM10-258	オス	本研究	
VM10-363	メス	本研究							
VM10-137	オス	本研究							
VM10-166	オス	*							
中之条 集団	E34	越後・三国	利根	川場村	VM10-317	オス	本研究		
					VM10-211	メス	本研究		
					片品村	VM10-313	オス	*	
						VM10-315	オス	本研究	
					沼田市	VM10-316	オス	*	
						VM09-309	オス	本研究	
					VM09-411	オス	本研究		
					VM09-310	メス	本研究		
	VM10-167	オス	本研究						
	みなかみ町	VM10-331	メス	本研究					
	VM10-332	オス	本研究						
	E10	越後・三国	吾妻	中之条町	桐生	みどり市	VM10-148	オス	*
					桐生市	VM10-164	メス	*	
					吾妻	中之条町	VM10-202	オス	*
					VM10-203	オス	本研究		
					VM10-176	オス	本研究		
VM10-178					オス	*			
VM10-244					メス	本研究			
VM10-252					オス	*			
VM10-259	メス	本研究							
VM10-260	オス	本研究							
E31	越後・三国	吾妻	中之条町	VM10-140	メス	*			
				VM10-175	メス	*			
				VM10-245	メス	本研究			

*: 佐々木ほか (2013) による解析データ。個体番号に用いた“VMxx-xxx”は群馬県立自然史博物館の受け入れ番号に従った。VMに続く2桁の数字はその個体が捕獲された年(西暦)の下2桁を表し、ハイフン“-”に続く3桁の数字はその年に博物館へ受け入れられた哺乳類標本の順番を意味する。例えば“VM10-205”の個体は2010年に捕獲され、その年で205番目に受け入れられた哺乳類標本であることを表している。

にも合致しないものであった。特に吾妻環境森林事務所が管轄する区域（以後、吾妻管轄区域）（嬭恋村、中之条町、草津、長野原町）は南西部集団と中之条集団の境界を管轄する事務所であり、個体群の管理に注意が必要である。中之条集団は他の2集団に比べて生息範囲が狭いため、個体数も少ないと考えられる。適正管理計画の統計によると、この管轄区域では2001年から2010年の10年間に413頭の有害・狩猟捕獲が行われ、これは利根沼田管轄区域の900頭に次ぐ県内第2位の捕獲数である。このように県内でも捕獲が集中する地域で集団の違いを認識しない捕獲が続けば、比較的小規模な中之条集団の個体数減少につながる恐れもある。加えて、中之条集団は県内でも固有のハプロタイプ（E10タイプとE31タイプ）を有する集団であり、この集団が群馬県内から絶滅または減少すれば、県内のツキノワグマの遺伝的多様性を減少させることになる。

一方で、嬭恋村に生息する個体（南西部集団）を越後・三国個体群として管理している現状にも注意が必要である。過去10年間（2001年から2010年）の越後・三国個体群における有害・狩猟捕獲総数のうち、吾妻管轄区域で捕獲された個体の割合はおよそ3割を占める。この捕獲数の割合が越後・三国個体群各地域の推定生息頭数（795頭）に比例していると仮定すると、およそ240頭が吾妻管轄区域となる。近隣の県を含めた越後・三国個体群全体の推定生息頭数（3111頭）から別集団である吾妻管轄区域の240頭を除るとおよそ2900頭となる。この値は環境省が示す「特定鳥獣保護管理計画作成のためのガイドライン（クマ類編）（2010.3月）」（以後、ガイドライン）の安定存続地域個体群の水準（個体数水準4の800頭以上）を優に越えており、越後・三国個体群の管理計画に影響を及ぼさないように思われる。しかしながら、本研究と同様に今後他県の越後・三国個体群においても新たな集団分化が見つかれば、分断によって個々の集団を構成する推定生息頭数も減少し、管理計画に見直しが必要と迫られる可能性も十分にある。

関東山地個体群は近隣の県に生息する個体を含めて606頭以上とされ、ガイドラインの危急地域個体群（個体数水準3の400から800頭）とされている。本研究の結果はこの関東山地個体群に新たに嬭恋村の個体が含まれることになり、推定生息頭数は増加すると考えられる。近隣県（特に生息頭数が不明とされる神奈川県）を含めた今後の調査によっては関東山地個体群が800頭を越え、ガイドラインの個体数水準3から4への変更も考えられる。

本研究は将来のツキノワグマ管理境界線の改訂に向けて重要な示唆を得た。特に関東山地個体群に嬭恋村のツキノワグマが加わる南西部集団の存在は、より確からしいものになったと思われる。また、嬭恋村と中之条町の間F集団（南西部集団）とE集団（中之条集団と北東部集団）の境界線が存在することが強く示唆された（図1）。しかしながら、中之条集団と北東部集団の遺伝的分化についてはまだ

検証の余地を残している。この課題を解決するためには大量出没年以外の個体を解析すること、中之条町から桐生市にかけての広範囲な標本を調査することが必要である。それに加え、核遺伝子のマイクロサテライト解析といった多角的な遺伝的解析から群馬県ツキノワグマ集団の構造が明確にされ、その時に人為的分布境界線に関する再検討が必要になると考えられる。

謝 辞

本研究の遂行において助言をくださいました東京農業大学農学部バイオセラピー学科野生動物学研究室の小川博教授、安藤元一教授に感謝いたします。また、研究試料蒐集にご協力を賜りました群馬県猟友会、群馬県市町村担当者、群馬県環境森林事務所・森林事務所担当者の方々に深く感謝いたします。

引用文献

- Brown, W.M., George, M. and Wilson, A.C. (1979): Rapid evolution of animal mitochondrial DNA. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 76: 1967-1971.
- 群馬県環境・森林局自然環境課 (2011): 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)
- Ishibashi, Y. and Saitoh, T. (2004): Phylogenetic relationships among fragmented Asian black bear (*Ursus thibetanus*) populations in western Japan. *Conservation Genetics*, 5: 311-323.
- Kimura, M. (1980): A simple method for estimating evolutionary rate of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. *Journal of Molecular Evolution*, 16: 111-120.
- Kozakai, C., Yamazaki, Y., Nakajima, A., Koike, S., Abe, S., Masaki, T. and Kaji, K. (2011): Effect of mast production on home range use of Japanese black bears. *Journal of Wildlife Management*, 75: 867-875.
- Matsushashi, T., Masuda, R., Mano, T. and Yoshida, M.C. (1999): Microevolution of the mitochondrial DNA control region in the Japanese brown bear (*Ursus arctos*) population. *Molecular Biology and Evolution*, 16: 676-684.
- Nei, M. (1987): *Molecular Evolutionary Genetics*. Columbia University Press, New York, 512pp.
- Ohdachi, S., Ishibashi, Y., Iwasa, M.A. and Saitoh, T. (2009): The wild mammals of Japan. Shoukadoh, Kyoto, 544pp.
- Ohnishi, N., Uno, R., Ishibashi, Y., Tamate, H.B. and Oi, T. (2009): The influence of climatic oscillations during the Quaternary Era on the genetic structure of Asian black bears in Japan. *Heredity*, 102: 579-589.
- Ohnishi, N., Yuasa, T., Morimitsu, Y. and Oi T. (2011): Mass-intrusion-induced temporary shift in the genetic structure of an Asian black bear population. *Mammal Study*, 36: 67-21.
- Olivio, P.D., Van De Walle, M.J., Laipis, P.J. and Hauswirth, W.W. (1983): Nucleotide sequence evidence for rapid genotypic shifts in the bovine mitochondrial DNA D-loop. *Nature*, 306: 400-402.
- Saitou, N. and Nei, M. (1987): The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molecular Biology and Evolution*,

4:406-425.

佐々木剛・和久井諒・和久大介・米澤隆弘・姉崎智子(2013): ミトコンドリアDNAハプロタイプ分析による群馬県ツキノワグマ集団の遺伝的多様性. 東京農業大学農学集報, 58: 49-56.

Sambrook, J., Fritsch, E.F. and Maniatis, T. (1989): *Molecular cloning: Laboratory manual*, 2nd edition. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York.

Tamura, K., Nei, M. and Kumar, S. (2004): Prospects for inferring very large phylogenies by using the neighbor-joining method. *Proceedings of the National Academy of Sciences (USA)*, 101:11030-11035.

Tamura K., Peterson D., Peterson N., Stecher G., Nei M. and Kumar S. (2011): MEGA5: molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. *Molecular Biology and Evolution*, 28: 2731-2739.