

# 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

佐々木剛\*・和久井諒\*・和久大介\*\*・米澤隆弘\*\*\*・姉崎智子\*\*\*\*

(平成 24 年 11 月 22 日受付/平成 25 年 4 月 19 日受理)

**要約**：日本国内でツキノワグマ (*Ursus thibetanus*) は本州、四国に生息し、現在 5 地域の個体群が絶滅の恐れのある地域集団とされている。群馬県でもツキノワグマが生息しているが、その捕獲頭数を定めた群馬県ツキノワグマ適正管理計画は、地域集団の構成を考慮しないまま実施されており、このままでは絶滅を招く危険性をはらんでいる。このことから、ツキノワグマの適切な保全を考慮した農林業被害等の防止対策を実施することが、希少野生動物とともに暮らす地域にとって重要な課題といえる。そこで本研究は群馬県ツキノワグマの遺伝的多様性を明らかにするため、群馬県で捕獲されたツキノワグマ 30 個体のミトコンドリア DNA D-loop 領域 706 bp の配列を決定し、ハプロタイプ分析を行った。その結果、群馬県のツキノワグマから 6 つのハプロタイプを同定した。これらは先行研究により東日本に生息するツキノワグマで同定された 38 ハプロタイプのうち、E01, E06, E10, E11, E31, E34 に該当した。ハプロタイプの地理的分布および集団構造解析から、群馬県では南西部集団、中之条集団、北東部集団の 3 集団が存在する可能性が示唆された。群馬県中央部から南東部にかけては平野が広がっており、ツキノワグマの生息は確認されていない。よって群馬県のツキノワグマ 3 集団は群馬県の西から東へ南西部集団、中之条集団、北東部集団の順に並んで存在していると思われる。つまり、中之条集団の西側で南西部集団と分かれる境界線があり、東側で北東部集団と分かれる境界線が本研究によって想定された。これらは適正管理計画のもとで人為的に設定された地域個体群（越後・三国地域個体群と関東山地個体群）とは異なる境界分布を示しており、今後ツキノワグマの自然集団を繁栄した適切な保全計画を実施するためにも現在の分布境界線を見直していく必要があることを本研究は提唱する。

**キーワード**：ツキノワグマ、遺伝的多様性、有害捕獲、野生動物、地域集団

## 1. 緒 言

ツキノワグマ (*Ursus thibetanus*) は、アジア東部に分布する森林性の大型哺乳類で、日本では本州、四国に分布している。しかし、現在、下北半島、紀伊半島、四国山地、西中国地域、東中国地域の 5 地域の個体群が現在、絶滅の恐れのある地域個体群とされている。加えて、2012 年に改訂された環境省第 4 次レッドリスト<sup>1)</sup>において九州地方の個体群の絶滅が宣言され、社会の注目を浴びている。その一方で、近年では人里でのツキノワグマの目撃例が増えている。ツキノワグマが人里近くに出現する要因としては、①70 年代の広葉樹林から針葉樹林への増林によるツキノワグマの生息地と餌資源の減少、②シカの食害で下草がなくなったことによる餌の減少などの要因があげられる。このように餌資源の不足が主な要因となっており、数年から

10 年おきに生じる堅果類の凶作年には、人里へ多くのツキノワグマが出没し人的・農業的被害の増加と有害捕獲数の増加が顕著に見られる<sup>2,3)</sup>。

群馬県では、県内にツキノワグマが 1,082 頭生息していると推定され、越後・三国個体群と関東山地個体群の 2 つに区分されている<sup>4)</sup>(図 1)。しかし、この区分は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<sup>4)</sup>（以後、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た区分であり、ツキノワグマの自然分布に従った区分けでないことは本計画にも記されている。この計画のもとで群馬県は年間に越後・三国個体群から推定生息頭数の 12% 以内とする 95 頭を、関東山地個体群から推定生息頭数の 8% 以内とする 22 頭の狩猟、有害捕獲を認めている。しかし、現状では設定された捕獲上限頭数を遥かに上回る捕獲が記録さ

\* 東京農業大学農学部バイオセラピー学科

\*\* 東京農業大学農学研究科バイオセラピー学専攻

\*\*\* 復旦大学生命科学学院

\*\*\*\* 群馬県立自然史博物館

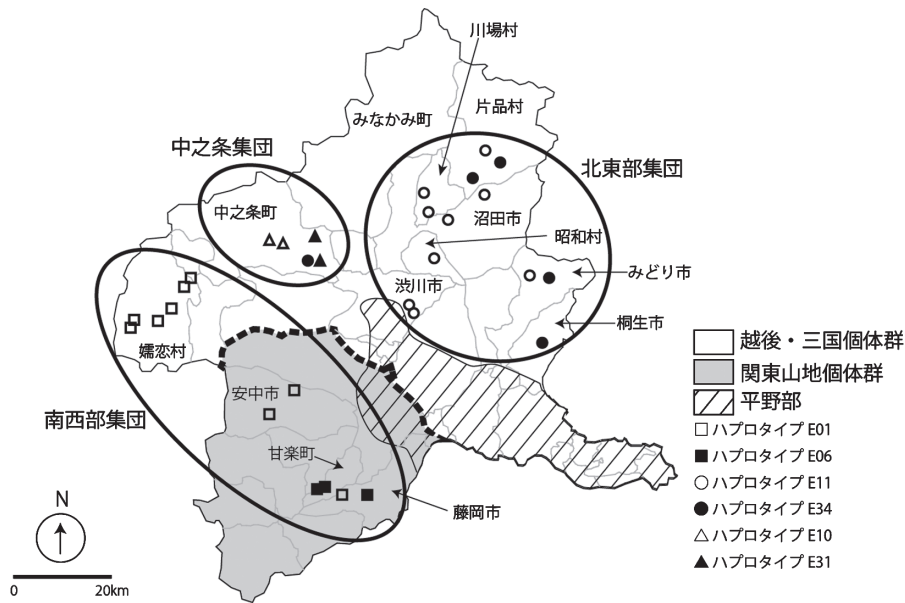


図1 群馬県におけるハプロタイプの分布. 適正管理計画の基準となっている越後・三国個体群および関東山地個体群の境界線を点線で示す. ツキノワグマの生息が確認されていない平野部を斜線で示す. 本研究で用いた標本の採集地およびみなかみ町を図中に示す. 本研究で見いだされた集団を円で囲み集団名をその隣りに示した. 図左下に方位および距離スケールを示す.

れており、同県内のツキノワグマの適切な維持管理が求められている<sup>4)</sup>。前述したようにこの適正管理計画は群馬県のツキノワグマの生態、メンデル集団（集団）の構成など捕獲駆除において基礎となる情報を精査しきれていない。ツキノワグマの適切な保全対策を行うためにも、その集団の現状を理解しておくことは重要と考えられる。以上のように、科学的根拠の整っていない管理計画ではあるが、群馬県では県内に生息するツキノワグマの保全と人身事故・農林業被害等の防止対策が現在進行形の重要な課題となっているため、やむを得ないという現状も伺える。

地域集団の特性を調査する研究においてミトコンドリアDNA (mtDNA) を用いた集団遺伝学的分析が頻繁に用いられている<sup>5,6)</sup>。mtDNA は核DNA と比べて進化速度が速く、個体変異が検出しやすいため、個体群内に生じた遺伝的差異が比較しやすい<sup>7)</sup>。また、mtDNA は母系遺伝するため、塩基配列を調べることで、母方の系統を解明することができる<sup>8)</sup>。そのため、mtDNA 多型の解析を行うことで、各地に生息する集団の遺伝構造や生息分布域の違いが解明され、個体群の増減や生息域の拡大等を知る指標となる<sup>9)</sup>。

OHNISHI ら<sup>5)</sup> は本州、四国に生息するツキノワグマ 697 個体の mtDNA の D-loop 領域の配列を解析し、琵琶湖以西のツキノワグマで 38 種類のハプロタイプを同定した。彼らの研究によると群馬県北部周辺の長野県、新潟県、福島県にまたがる地域には 2 つの集団 (E と F) が存在するとされている (図 2)。この E と F の集団は群馬県の北西部において近接する形を取っている (図 2)。しかしながら、彼らの調査では群馬県の広範囲なツキノワグマ標本 (特に、県南西部と東部) は用いられていないため、この地域のツキノワグマの集団構造については未だ明らかにされていない。

そこで、本研究では群馬県で蒐集されたツキノワグマの mtDNA ハプロタイプ分析を行い、その遺伝的多様性を調べる。これにより群馬県ツキノワグマの集団構造を明らかにし、今後の獣害対策、保護対策等の基礎データとすることを目的とする。

## 2. 材料と方法

### (1) DNA 標本

本研究では 2010 年に群馬県で有害捕獲、駆除された 30 頭のツキノワグマを標本として用い、その地域個体群、管理担当事務所、市町村、個体番号を表 1 に示す。DNA 抽出は筋肉組織のアルコール液浸標本より行った。組織をメスで 5mm 角程度に切り、その後メスでさらに細切りし、フェノール・クロロホルム法<sup>10)</sup> でトータル DNA を抽出した。抽出した DNA を 50 $\mu$ l の TE 緩衝液 (10mM Tris-HCl, 1mM EDTA) に溶解し、 $-20^{\circ}\text{C}$  で冷凍保存した。

### (2) D-loop 領域の増幅と塩基配列決定

mtDNA の D-loop 領域の増幅には MATSUHASHI ら<sup>11)</sup> によって示されたプライマー Cb-z (5'-ATG AAT GGA GGA CAA CCA GT-3') と D4 (5'-AGG CAT TTT CAG TGC CTT GCT TTG-3') を用いた。PCR 反応液の組成は、トータル DNA 100 ng, 1mM 各プライマー, 1 $\times$ Ex Taq Buffer (TaKaRa Inc., Japan), 0.2mM dNTP, 0.5U Ex Taq polymerase (TaKaRa Inc., Japan) である。PCR の温度条件は  $94^{\circ}\text{C}$  で 45 秒,  $60^{\circ}\text{C}$  で 30 秒,  $72^{\circ}\text{C}$  で 2 分を 1 サイクルとして 35 サイクルで行った。PCR 反応後、増幅断片を電気泳動し、目的の約 1,600 bp が増幅されていることを確認した。D-loop 領域の塩基配列決定にはプライマー Cb-z を用い、ABI 3730xl Analyzer (96 capillary type) でダイデオキシ

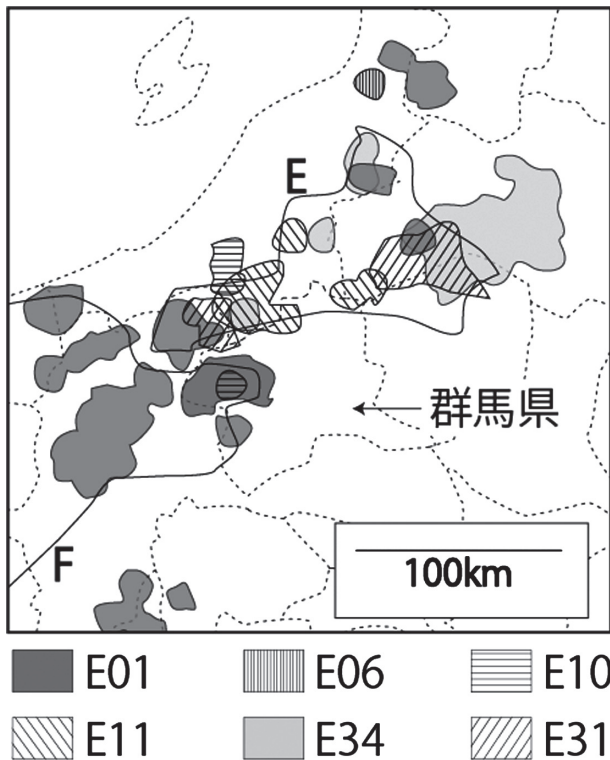


図 2 関東甲信越地方におけるツキノワグマハプロタイプの分布 (OHNISHI ら<sup>5)</sup> の図 1 より改変). 各県の境界線を点線で示す. ハプロタイプの分布域を実線で囲まれた色または斜線の違いで示す. OHNISHI ら<sup>5)</sup> によって示された集団 E と F の範囲を実線で示す.

法により配列決定を行った。得られた塩基配列の波形を目で注意深く確認し、最終的な決定配列を得た。

### (3) D-loop 配列解析およびハプロタイプ分析

本研究で決定した 30 個体の D-loop 領域塩基配列を OHNISHI ら<sup>5)</sup> による 38 ハプロタイプ (AB441772-AB441809) の配列とともに多重アライメントし、ハプロタイプを同定した。群馬県におけるハプロタイプの構成とその分布から 5 集団を仮定し Arlequin ver.3.5.1.2 を用いて遺伝的分化の程度 (Fst) を評価した。仮定した集団は北東部集団 (片品村, 川場村, 沼田市, 昭和村, 渋川市, みどり市, 桐生市), 中之条集団 (中之条町), 嬭恋集団 (嬭恋村), 関東山地個体群 (安中市, 甘楽町, 藤岡市), 南西部集団 (嬭恋村, 安中市, 甘楽町, 藤岡市) の 5 つである。Fst 解析では OHNISHI ら<sup>5)</sup> によって見いだされた近隣の 2 集団も解析に加えた。Fst 解析によって遺伝的分化が有意な値として示された 3 集団 (北東部集団, 中之条集団, 南西部集団) と適正管理計画で区分された越後・三国個体群, 関東山地個体群の集団間の変異量を評価するため Arlequin ver.3.5.1.2 を用いて AMOVA 解析を行った。

## 3. 結 果

### (1) ハプロタイプ分析

30 頭のツキノワグマ (表 1) から mtDNA の D-loop 領域 706 bp の配列を決定した。得られた配列を多重アライ

メントした結果, 706 bp 中 5 つの塩基サイト (サイト番号: 49, 242, 253, 277, 630) で変異を検出し, 6 つのハプロタイプが同定された (表 1)。次に, 本研究で得られた 6 ハプロタイプを東日本に生息するツキノワグマ D-loop 領域 38 ハプロタイプ<sup>5)</sup> (GenBank アクセッション番号: AB441772-AB441809) と比較した。その結果, 本研究で同定された 6 ハプロタイプは UtCR-E01, E06, E10, E11, E31 と E34 に該当し, E01 が 9 個体, E06 が 3 個体, E10 が 2 個体, E11 が 9 個体, E31 が 2 個体, E34 が 5 個体であった (表 1)。東日本ツキノワグマ集団 38 ハプロタイプの類縁関係を示した統計的最節約ネットワークによると, 群馬県のツキノワグマ 6 ハプロタイプは E01 を中心に 1 塩基の置換で結ばれる (OHNISHI ら<sup>5)</sup>, 図 3)。このハプロタイプネットワークでは, E01 から放射状に 12 個 (E06, E10, E11, E31, E34 を含む) のハプロタイプが派生しており, E01 が東日本ツキノワグマ集団の祖先系統である可能性を示している<sup>5)</sup>。現在, 群馬県に生息するツキノワグマ集団は E01 から 5 つの系統が派生することによって形成されたと考えられる。

### (2) 群馬県ツキノワグマのハプロタイプ分布

本研究で用いたツキノワグマが捕獲・駆除された地点とハプロタイプの分布を群馬県の地図に示した (図 1)。その結果, E01 が嬭恋村, 安中市, 藤岡市, E06 タイプは甘楽町と藤岡市の個体で確認され, 両タイプとも県南西部の捕獲個体であった (図 1)。一方, E11 タイプは渋川市, 昭和村, 沼田市, 川場村, みどり市, 片品村と県中央部から北東部にかけて分布していた (図 1)。E34 ハプロタイプの 5 個体中 4 個体 (残り 1 個体は中之条町) は片品村, みどり市, 桐生市で確認され, E11 ハプロタイプと同所的に生息しているようであるが, 比較的県の東端または北東端に分布した (図 1)。県の北西部に位置する中之条町で捕獲された 5 個体のハプロタイプは E10, E31, E34 であった (図 1)。この地域から E01 ハプロタイプ, E11 ハプロタイプを示す個体は確認されず, その一方で県の東端または北東端に顕著であった E34 ハプロタイプが確認された。

### (3) 東日本ツキノワグマ集団との比較

群馬県の近隣において OHNISHI ら<sup>5)</sup> が示唆した東日本ツキノワグマ集団と群馬県ツキノワグマ集団で認められたハプロタイプの分布を比較した (図 2)。図 2 は関東甲信越地方におけるツキノワグマの 6 ハプロタイプの分布と 2 つの集団 (E と F) を示した図である。

E01 ハプロタイプは, 東北地方 (青森県を除く) から中部地方と非常に広く連続して分布しているハプロタイプであり, 群馬県西部の嬭恋村付近にも F 集団の一部としてその分布が示されている。本研究で確認された嬭恋村の E01 ハプロタイプ 6 個体も OHNISHI ら<sup>5)</sup> のそれと同一の集団であると考えられる。

E06 ハプロタイプも東日本に広く分布するハプロタイプであるが E01 ハプロタイプほど連続した分布は見られない。F 集団にもこのハプロタイプは分布するが, 主に西部 (石川県西部沿岸) に確認されるハプロタイプである。本



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

集団構造	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	変異サイト*						
							49	242	253	277	630		
南西部 集団	E01	越後・三国	吾妻	嬭恋村	VM10-205	オス	C	C	T	G	G		
					VM10-235	メス	.	.	.	.	.		
					VM10-239	オス	.	.	.	.	.		
					VM10-243	オス	.	.	.	.	.		
					VM10-246	メス	.	.	.	.	.		
	E06	関東山地	西部	安中市	VM10-174	メス	.	.	.	.	.		
					VM10-216	メス	.	.	.	.	.		
					藤岡	藤岡市	VM10-207	オス	.	.	.	.	.
					藤岡	藤岡市	VM10-253	オス	.	.	.	.	A
					富岡	甘楽町	VM10-261	メス	.	.	.	.	A
北東部 集団	E11	越後・三国	利根	みどり市	VM10-135	オス	T	.	.	.	.		
					VM10-177	オス	T	.	.	.	.		
					川場村	VM10-152	オス	T	.	.	.	.	
					沼田市	VM10-214	オス	T	.	.	.	.	
					沼田市	VM10-262	オス	T	.	.	.	.	
	E34	越後・三国	利根	みどり市	VM10-271	メス	T	.	.	.	.		
					昭和村	VM10-242	オス	T	.	.	.	.	
					片品村	VM10-209	オス	T	.	.	.	.	
					桐生	みどり市	VM10-166	オス	T	.	.	.	.
					利根	片品村	VM10-313	オス	.	T	.	.	.
中之条 集団	E10	越後・三国	吾妻	中之条町	VM10-316	オス	.	T	.	.	.		
					みどり市	VM10-148	オス	.	T	.	.	.	
					桐生市	VM10-164	メス	.	T	.	.	.	
					吾妻	中之条町	VM10-202	オス	.	T	.	.	.
					中之条町	VM10-252	オス	.	.	.	A	.	
E31	越後・三国	吾妻	中之条町	VM10-178	オス	.	.	.	A	.			
				VM10-140	メス	.	.	C	.	.			
				VM10-175	メス	.	.	C	.	.			

\*D-loop 領域で塩基置換が認められたサイト番号と各サイトの塩基組成を示す。2 段目以降の個体の塩基組成が最上段 (VM10-205) の個体の塩基と同じである場合、“.” (ピリオド) で示し、異なる場合だけその塩基組成を示す。

研究の群馬県藤岡市と甘楽町で見いだされた E06 ハプロタイプは関東地域からの初記録であり、今後群馬県南部の個体を解析していくことでその分布域が広がる可能性がある。

E10 ハプロタイプは新潟県南部 (E 集団) および群馬県嬭恋村付近 (F 集団) といった局所的分布として確認されていた。本研究ではこの 2 地域の間にある中之条町で 2 個体確認された。今後この地域の個体をさらに解析することで E10 の分布が明らかになると思われる。

E11 ハプロタイプは E 集団の一部として新潟県, 群馬県, 福島県の 3 県境付近に局所的に確認されている。本研究の結果は、これまでの分布よりもさらに南側, つまり群馬県中央部から東部にその分布が広がることを示している (図 1 と図 2)。

E31 ハプロタイプは E 集団の一部として福島県南西部から栃木県北部境界付近と新潟県, 群馬県と境界を接する長野県の北東部に分布が確認されていた。これらのうち本研究では長野県北東部の集団と関連すると思われる個体が中之条町で 2 個体確認された。

E34 ハプロタイプは E 集団の一部として福島県中央部, 新潟県西部, 同南部に点在して確認されていた。このハプロタイプは日本国内でも上記の地域にのみ発見される<sup>5,6)</sup> (図 2)。本研究では群馬県東部と中之条町で確認された。

以上のように、群馬県近隣の 2 集団とハプロタイプの構成を比較すると E01 と E06 が見つかった嬭恋村, 安中市, 甘楽町, 藤岡市の南西部個体は F 集団とハプロタイプ構成で共通点が見られ, E11, E34 が見つかった片品村, 川場村, 沼田市, 昭和村, 渋川市, みどり市, 桐生市の北東部個体, および E10, E31 が見つかった中之条町の個体は E 集団との共通点が見られた。

#### (4) 群馬県ツキノワグマの集団構造

群馬県内で見いだされたハプロタイプの地理的分布と構成に基づき 5 つの集団を仮定した。仮定した集団は i) E10 と E31 といった特有のハプロタイプが分布した中之条集団, ii) E11 と E34 で構成される北東部集団, iii) E01 で構成される嬭恋集団, iv) 群馬県南部に生息し E01 と E06 で構成される関東山地個体群, v) 長野県を中心に存在する

表 2 群馬県ツキノワグマ捕獲地点および近隣集団間の遺伝的分化.

	中之条	北東部	嬭恋	関東山地	南西部	E 集団
中之条 (5)	0.000					
北東部 (13)	0.319*	0.000				
嬭恋 (6)	0.344*	0.360*	0.000			
関東山地 (6)	0.089	0.381*	0.400	0.000		
南西部 (12)	0.169*	0.313*	-	-	0.000	
E 集団 (69)	0.036	0.198*	0.107	0.073	0.078*	0.000
F 集団 (127)	0.204	0.284*	0.026	0.055	-0.023	0.112*

嬭恋と関東山地の集団は南西部集団に含まれるため値は示さない。括弧内は個体数。\* $p < 0.01$

F 集団の一部と推測され嬭恋集団と関東山地個体群を合わせた南西部集団の 5 つである。これら 5 集団の遺伝的分化の程度を評価する目的で Fst 値を算出し、その結果を表 2 に示す。解析の結果、中之条、北東部、南西部の 3 集団間で有意に遺伝的に分化していることが示された ( $p < 0.01$ )。中之条と北東部 (Fst 値 = 0.319)、北東部と南西部 (Fst 値 = 0.313) の間では遺伝的分化の程度が比較的高い値を示し、一方で中之条と南西部では 0.169 と比較的低い値を示した。前述の近隣地域におけるハプロタイプの地理的分布から中之条集団は南西部集団とは異なり、北東部集団とともに E 集団と交流している可能性が考えられたが、群馬県内での集団間の遺伝的分化の程度はそれと異なった傾向を示した。南西部集団を 2 つに分けた嬭恋集団と関東山地個体群の間では 0.400 と比較的高い値を示したものの有意な値ではなかった。そのため本研究ではこれら 2 集団を南西部集団として以後の解析に適用した。群馬県近隣の集団との遺伝的分化の程度は北東部集団で E 集団と 0.198 ( $p < 0.01$ )、F 集団と 0.284 ( $p < 0.01$ ) となり、F 集団との間で比較的大きい値を示した。一方、南西部集団は E 集団との間で有意な遺伝的分化が示されず、その値は北東部集団と E 集団で見られた値よりも低かった (Fst = 0.078)。中之条集団では E と F どちらの集団とも遺伝的分化に有意な値は得られなかった。

Fst 解析によって群馬県に生息するツキノワグマは 3 つ集団 (中之条、北東部、南西部) に分化している可能性が示唆された。一方で、適正管理計画では同県に生息するツキノワグマを 2 つ集団 (越後・三国個体群、関東山地個体群) として扱っている。これら 2 つの集団構造の妥当性を評価する目的で AMOVA 解析を行った。解析の結果、仮定された集団間での変異量は中之条集団、北東部集団、南西部集団の場合で 8.92% となり、越後・三国個体群、関東山地個体群の 2.79% より高い変異量を示した (表 3)。この結果は、適正管理計画による 2 集団構造よりも本研究の 3 集団構造の方が確からしいことを示唆している。

#### 4. 考 察

##### (1) 群馬県ツキノワグマの集団構造

本研究によるハプロタイプの地理的分布とそれに基づく集団構造解析から群馬県のツキノワグマは中之条集団 (中

表 3 群馬県ツキノワグマ集団の AMOVA 解析結果.

	自由度	変異量 (%)
1. 越後三国 vs 関東山地		
集団間	1	2.79
集団内小集団間	2	30.73
小集団内	26	66.48
2. 中之条 vs 東部 vs 南西部		
集団間	2	8.92
集団内小集団間	1	24.26
小集団内	26	66.82

小集団は Fst 解析に用いた中之条、東部、嬭恋、関東山地の区分を指す。

之条町)、北東部集団 (渋川市、昭和村、川場村、沼田市、みどり市、片品村)、南西部集団 (嬭恋村、安中市、甘楽町、藤岡市) の 3 つの集団で構成されている可能性が示唆された。群馬県は図 1 に斜線部で示した中央部 (渋川市南部、吉岡町、高崎市東部、前橋市南部) から南東部 (伊勢崎市、太田市、館林市など) にかけて平野が広がっており、この地域でのツキノワグマの生息は確認されていない<sup>2)</sup>。よって 3 集団の地理的分布は群馬県北西部に生息する中之条集団、その西側に南西部集団、東側に北東部集団が生息する構図となる (図 1)。しかしながら、本研究の Fst 解析でこれら 3 集団の遺伝的分化はある程度示されたが、AMOVA による解析では集団間の変異量は有意でなかった。今後より多くの個体を解析に用いて集団構造を解析する必要がある。

##### (2) 群馬県南西部集団と F 集団

南西部集団は適正管理計画で関東山地個体群と嬭恋村集団 (越後・三国個体群の一部) で構成される集団であるが、これら 2 地域の集団間に有意な遺伝的分化は認められなかった (表 2)。また、これら 2 地域で多く見られた E01 ハプロタイプは近隣に存在する F 集団の長野県東部付近で多く分布し (図 2)、嬭恋集団、関東山地個体群、南西部集団、いずれとの比較においても F 集団との間に有意な遺伝的分化は認められなかった (表 2)。以上の結果から本研究で解析したこれら 2 地域の集団は群馬県内で南西部集

団として存在し、隣接する F 集団と遺伝的交流があると考えられる。

ハプロタイプの分布として本研究では新たに南部の藤岡市からも E01 ハプロタイプを確認した。そのため、F 集団で認識されていた E01 ハプロタイプの分布域はこれまでもよりもさらに南に広がる可能性が示唆される。また、群馬県における E06 ハプロタイプは本研究で初めて確認された。このハプロタイプは本州に広範囲に分布するが、非常に局在的であり、東北地方の岩手県と中部地方の石川県でこれまでに確認されている<sup>5)</sup>。本研究では甘楽町と藤岡市の計 4 個体のうち 3 個体が E06 ハプロタイプを示した (図 1)。このことは群馬県の南西部付近に新たな E06 ハプロタイプの局所的分布が存在する可能性を示唆している。

### (3) 群馬県北東部集団と E 集団

北東部集団はこれまで越後・三国個体群として扱われてきた集団の一部であるが、本研究で解析に用いた全ての分集団 (中之条、南西部、E 集団、F 集団) と有意な遺伝的分化が認められた (表 2)。この結果で E 集団との間に見られた有意な遺伝的分化が意外なものと言える。図 2 に示すように、近隣の E 集団では群馬県と北東部に接する地域に E11 ハプロタイプの集中的分布も確認され、この地域と北東部集団との遺伝的交流の可能性を考えずにはいられない。北東部集団と E 集団に有意な遺伝的分化が認められた理由として、OHNISHI ら<sup>5)</sup> によって見いだされた E 集団が実際はいくつかの分集団で構成されていることによると考えられる。E 集団には 14 種類のハプロタイプが存在し、図 2 に示すように東西に長い分布域である。今後、北東部集団と遺伝的に交流のある E 集団の分集団が見いだされることで群馬県と近隣の当該集団の分布域が明らかにされる可能性もある。本研究では少なくとも群馬県内に北東部集団という遺伝的に分化した集団が存在する可能性を示唆した。しかしながら、本研究では中之条集団と北東部集団の間に存在するみなかみ町の個体が解析に用いられていない (図 1)。よって、今後みなかみ町の個体を解析に加えて群馬県内での北東部集団の存在を検証して必要があると思われる。

### (4) 群馬県中之条集団と E 集団

中之条集団は群馬県内でも局所的な集団であることがハプロタイプ分布から想定され、その分布状況から 3 集団の中でも一番規模が小さいと集団と思われる (図 1)。しかしながら、この集団は本研究で見いだされた E10、E31 ハプロタイプを唯一有しており、群馬県内でも遺伝的に特異な集団であることが予想される。Fst 解析では中之条集団と近隣の E 集団の間に有為な遺伝的分化は認められなかった (表 2)。E 集団のハプロタイプ分布を見ると中之条の北部に E10、E31 など類似したハプロタイプが点在しており、Fst 解析の結果と合わせると中之条集団は E 集団と遺伝的交流があると思われる。しかしながら、前述の北東部集団で示唆されたように E 集団の集団構造はまだ検証の余地があると思われること、中之条町の東側で未解析な

みなかみ町の個体が存在すること、以上の 2 つを考慮すると中之条集団の分布域はまだ明らかにされていないと思われる。今後、みなかみ町の個体および近隣県を含めた研究展開によって中之条集団が明らかになると期待される。

### (5) 群馬県ツキノワグマの保全に向けて

適正管理計画<sup>4)</sup>によると、群馬県ではツキノワグマの個体群を越後・三国個体群と関東山地個体群の 2 つに区分しており、環境森林事務所の管轄区域で設定した境界線がある (図 1 点線)。ツキノワグマの生息状況を調査した結果、推定生息数を 1,082 頭とし、この内、越後・三国個体群を 795 頭、関東山地個体群を 287 頭としている<sup>4)</sup>。これに基づいて、群馬県での捕獲上限頭数を越後・三国個体群 95 頭、関東山地個体数 22 頭と定めており、この捕獲の分けをする境界が図 1 の境界線となっている。しかし、本研究のハプロタイプ地理的分布および集団構造解析によって見いだされた南西部集団は、この境界線を越えて嬭恋村にも分布していた (図 1)。つまり、適正管理計画による関東山地個体群と近隣の越後・三国個体群の嬭恋村のツキノワグマは遺伝的交流をもつ同一の集団である可能性が本研究によって示された。また、残りの越後・三国個体群とされる地域でもさらに 2 つの集団、すなわち中之条集団と北東部集団に分かれる可能性が示唆された。以上の結果から、適正管理計画による 2 集団とその生息頭数に基づいた捕獲上限頭数は、実際の繁殖集団を繁栄していないと考えられる。特に中之条集団は比較的小規模であると推測され、この集団が越後・三国個体群の一部として扱われ集中的に捕獲上限頭数を基準とした捕獲圧を受けると集団を維持することができなくなり地域集団の絶滅につながるものが懸念される。以上の理由により、本研究は群馬県に生息するツキノワグマの保全という観点から適正管理計画で定めた 2 集団の境界に見直しが必要であることを提唱する。本研究の結果を考慮すると南西部集団と中之条集団および中之条集団と北東部集団の間に新たな境界を設定する事が好ましいと考えられる。しかしながら、本研究である程度の集団の分化は認められたものの解析個体数、解析遺伝子座、捕獲地点はまだ限定的であり、今後さらに多くの情報を集め詳細に調べていくことでその集団構造は明らかになると期待される。

**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、安藤元一教授をはじめ同室員の方々に感謝いたします。また、群馬県ツキノワグマの標本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

- 1) 環境省編 (2012) 第 4 次レッドリスト：別添資料
- 2) 坂庭浩之・長尾由美・姉崎智子 (2007) 群馬県内におけるツキノワグマの捕獲状況と課題。群馬県立自然史博物館研

- 究報告 11 : 97-101.
- 3) 大井 徹・山崎晃司 (編) (2007) 日本のツキノワグマの生息状況. アジアのクマたち—その現状と未来— 120-130. 日本クマネットワーク
  - 4) 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).
  - 5) OHNISHI N, UNO R, ISHIBASHI Y, TAMATE HB 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.
  - 6) ISHIBASHI Y and SAITOH T (2004) Phylogenetic relationships among fragmented Asian black bear (*Ursus thibetanus*) populations in western Japan. *Conserv. Genet.* **5** : 311-323.
  - 7) BROWN WM, GEORGE M and WILSON AC (1979) Rapid evolution of animal mitochondrial DNA. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **76** : 1967-1971.
  - 8) ASAKI T, NIKAIDO M, HAMILTON H, GOTO M, KATO H, KANDA N, PASTENE L A, CAO Y, FORDYCE RE, HASEGAWA M and OKADA N. (2005) Mitochondrial phylogenetics and evolution of Mysticete whales. *Syst. Biol.* **54** : 77-90.
  - 9) 高橋遼平・石黒直隆・姉崎智子・本郷一美 (2011) 群馬県に生息するニホンイノシシの DNA 解析. 群馬県立自然史博物館研究報告書. **15** : 129-136.
  - 10) SAMBROOK J, FRITSCH, EF and MANIATIS T (1989) Molecular cloning : Laboratory manual. 2<sup>nd</sup> edition. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NewYork.
  - 11) MATSUHASHI T, MASUDA R, MANO T and YOSHIDA MC (1999) Microevolution of the mitochondrial DNA control region in the Japanese brown bear (*Ursus arctos*) population. *Mol. Biol. Evol.* **16** : 676-684.



# Genetic Diversity of the Asiatic Black Bear (*Ursus thibetanus*) in Gunma Prefecture based on Mitochondrial DNA Analysis

By

Takeshi SASAKI\*, Ryo WAKUI\*, Daisuke WAKU\*\*, Takahiro YONEZAWA\*\*\*  
and Tomoko ANEZAKI\*\*\*\*

(Received November 22, 2012/Accepted April 19, 2013)

**Summary** : Asiatic black bears living in Gunma Prefecture, Japan, have been divided into two populations (Echigo-Mikuni and Kanto mountain populations) based on the Asiatic Black Bear Population Management Plan. This management plan puts a ceiling on the number of bears captured in each population. However, for convenience, division of the two populations is based on an administrative boundary, and does not represent the natural population structure of this species in Gunma. Accordingly, to clarify the population structure of the species in Gunma, we performed mitochondrial haplotype analysis using 30 individuals captured in the prefecture. We identified six haplotypes, which corresponded to the haplotypes previously discovered in this species in eastern Japan. On the basis of the geographical distribution of the haplotypes and population structure analyses, we suggest that three populations of Asiatic black bear exist in Gunma Prefecture : the Southwestern, Nakanojo, and Northeastern populations. The Nakanojo population appears to be relatively small and genetically unique in Gunma. We identified two borders among these populations. One is situated between the Southwestern and Nakanojo populations, and the second is situated between the Nakanojo and Northeastern populations. These borders clearly differ from the single border drawn between the Echigo-Mikuni and Kanto mountain populations. We conclude that the current management plan does not reflect the natural population structure of these bears and suggest a revision of the plan based on the existence of three discrete populations.

**Key words** : Asiatic black bear, conservation, wild animal, population structure

---

\* Department of Human and Animal-Plant Relationships, Faculty of Agriculture, Tokyo University of Agriculture

\*\* Department of Human and Animal-Plant Relationships, Graduate School of Agriculture, Tokyo University of Agriculture

\*\*\* Schlllo of Life Sciences, Fudan University

\*\*\*\* Gunma Museum of Natural History