



令和 6 年 1 月 2 9 日

ツキノワグマの生息検出とマッピング、その出没予測システムを作製

【本研究成果のポイント】

- 空気（大気）中の環境 DNA（eDNA_{Air}）を回収する装置を作製し、空気中からツキノワグマ DNA を安定して回収できるシステムを完成しました。
- 広島市安佐動物公園のツキノワグマ飼育舎、飼育舎から 75m、150m および 300m 離れた地点で eDNA_{Air} を回収し、ツキノワグマから離れるにつれてツキノワグマ DNA 検出量が少なくなることを実証しました。
- ツキノワグマの生息の信頼性を高めるために、ツキノワグマの痕跡（主にツキノワグマの糞痕とカキなどを食べたあとの食痕）からツキノワグマ DNA を抽出し、DNA により性判別、個体識別および親子鑑定を行い、ツキノワグマの行動テリトリーおよび生態を調べることができました。
- eDNA_{Air} のみならず、DNA よりも空気中に残る時間が短い環境 RNA（eRNA_{Air}）検出システムも作製し、滞在した場所や時間を絞り込むことが可能になりました。
- 環境 DNA は、気温、湿度、風速、風向などの環境要因の影響を受けやすいという課題があり、今後、これらの課題を解決し、ツキノワグマ出没予測マップの作成につなげていきたい。

【概要】

広島大学大学院統合生命科学研究科（大学院スマートソサイエティ実践科学研究院）の西堀正英教授と大学院博士課程前期 1 年の増田和志らの研究グループとつくば遺伝子研究所（茨城県土浦市）の安江博博士の研究グループでは、空気（大気）中の環境 DNA（eDNA_{Air}）を回収する装置を 3D プリンターで市販のパイプとポンプ、流量計を組み合わせて作製し、空気（大気）中からツキノワグマ DNA を安定して回収できるシステムを完成しました（図 1）。

広島市安佐動物公園（広島市安佐北区）で飼育されている西中国山地由来のツキノワグマ 3 頭に対して、本研究で作製して DNA 回収装置を使って、ツキノワグマ飼育舎内、飼育舎から 75m、150m および 300m 離れた地点で eDNA_{Air} を回収し、既知のツキノワグマ DNA 量を基に作成した検量線によりツキノワグマ DNA 量を定量することによって、ツキノワグマから離れるにつれてツキノワグマ DNA 検出量が少なくなることを実証しました（図 1）。

広島大学生命科学研究科



広島市安佐動物公園における
eDNA_{Air} 回収シミュレーション実験

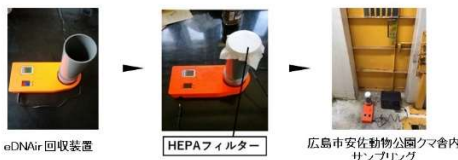


図 1. HEPA フィルターを装着した eDNA_{Air} 回収装置

大気 1800 L を捕集し（約 180 分）
eDNA_{Air} をフィルターに吸着

さらに森林や里山などのフィールドにおけるツキノワグマの生息の信頼性を高めるために、広島市安佐北区および安佐南区農林課、廿日市市吉和支所環境産業建設系の協力を得、ツキノワグマの痕跡（主にツキノワグマの糞痕とカキなどを食べたあとの食痕）約 100 試料を採取し、採取した試料から DNA を抽出し、まずツキノワグマのものであることを PCR を用いて分子動物種判別法によりツキノワグマであることを同定しました。同定したツキノワグマ DNA により分子性判別、個体識別および親子鑑定を行い、これらのこと基にツキノワグマの行動テリトリーおよびその生態を明らかにすることができました。

本システムでは空気中の環境 DNA (eDNAir) のみならず、DNA よりも空気中に残る時間が短いことを実験的に明らかにした RNA について、空気中の環境 RNA (eRNAir) 検出システムも作製しました。eDNAir と eRNAir の同時検出によりツキノワグマが生息あるいは滞在した場所や時間を絞り込むことが初めて可能になりました。

ただし空気中の環境 DNA は、気温、湿度、風速、風向などの環境要因の影響を受けやすいという課題があり、今後はこれらの課題を解決し、ツキノワグマ出没予測マップの作成と実用につなげていき、ツキノワグマ出没予測情報の提供に貢献していきたい。

なお、本研究の成果と概要は、2023 年 11 月 16 日に日本 DNA 多型学会第 32 回学術集会下関大会で公開し、11 月 7 日の中国新聞朝刊、12 月 13 日の RCC 中国放送イマナマ！で紹介、放送されました。

【背景】

近年、広島県を初めとする中国地方ではツキノワグマの生息数の増加が報告されており、とくに 2023 年は堅果類の結実度の低下による凶作の影響もあり、人の生活圏や市街地にツキノワグマが出没し、その目撃数が増加（大量出没）しました。そのため不意にツキノワグマに会ってしまい、人身被害や人身事故に繋がることもあり、繰り返し社会問題になってきました。

そこで広島大学、つくば遺伝子研究所および広島市安佐動物公園では、ツキノワグマの大量出没に伴う人身被害や事故を未然に防ぐことを目標にして、環境 DNA を使ったツキノワグマの生息場所を検出し、その情報をマッピングすることで、ツキノワグマの出没を予測するシステムの作製を試みました。ツキノワグマの生息を検出する対象は、空気中に存在するツキノワグマ DNA とし、これを検出し活用します。このように空気、水や土壌中などの環境中に存在する DNA を一般に環境 DNA (eDNA) と称され、特に水中の生物調査ではよく知られており、川などの水の中にある糞や皮膚片、体液などの分泌物に含まれる DNA の量を調べ、どのくらいの密度で生物が生息しているのかいるのかを推定します。ツキノワグマの大量出没の年や地域を予測する技術は、国立研究開発法人 森林研究・整備機構 森林総合研究所を中心に、大量出没に伴う被害を未然に防ぐことを目的として、大量出没のメカニズムを解明した上で開発が進められていますが、環境 DNA を指標にしたツキノワグマ生息推定ならびに出没予測について研究およびその実用は全くおこなわれていません。そこで私たちの研究グループでは、空気中の環境 DNA (eDNAir) を指標としたツキノワグマの生息を検出するシステムの開発とその成果を地図上にマッピングし、それを基にツキノワグマの出没を予測システムの作製に着手しました。

【研究成果の内容】

空気（大気）中の環境 DNA (eDNAir) を回収する装置を 3D プリンターで市販のパイプとポンプ、流量計を組み合わせて作製し、空気（大気）中から約数百から数千リットルの空気を DNA が吸着するフィルターを使って回収し、その eDNAir の中からツキノワグマ DNA を安定して回収でき、その量を定量できるシステムを完成しました。

広島市安佐動物公園（広島市安佐北区）で飼育されている西中国山地由来のツキノワグマ3頭に対して、本研究で作製してDNA回収装置を使って、ツキノワグマ飼育舎内、飼育舎から75m、150mおよび300m離れた地点でeDNAAirをフィルターを使って回収し、既知のツキノワグマDNA量を基に作成した検量線により回収したeDNAAir中のツキノワグマDNA量を定量することに成功しました。ツキノワグマから離れるにつれてツキノワグマDNA検出量が少なくなることを実証しました。

さらに森林や里山などのフィールドにおけるツキノワグマの生息の信頼性を高めるために、ツキノワグマの痕跡（主にツキノワグマの糞痕とカキなどを食べたあとの食痕）約100試料を採取し、採取した試料からDNAを抽出しました。これを基にしてまずツキノワグマのものであることをPCRを用いて、分子動物種判別法によりツキノワグマであることを同定しました。同定したツキノワグマDNAにより分子性判別、個体識別および親子鑑定を行い、これらのこと基にツキノワグマの行動テリトリーおよびその生態を明らかにすることができました。

本システムでは空気中の環境DNA（eDNAAir）のみならず、DNAよりも空気中に残る時間が短いことを実験的に明らかにしたRNAについて、空気中の環境RNA（eRNAAir）検出システムも作製しました。これらのことから、eDNAAirとeRNAAirの同時検出によりツキノワグマが生息あるいは滞在した場所や時間を絞り込むことが初めて可能になりました。

【今後の展開】

本出没予測システムでは、ツキノワグマeDNAAir（環境DNA）を対象とすることで、気温、湿度、風速、風向などの環境要因の影響を受けやすいという課題があり、今後はこれらの課題を解決し、ツキノワグマ出没予測マップの作成とその実用に繋げていき、ツキノワグマ出没予測情報の提供に貢献していきます。あわせて、西中国山地のツキノワグマの生態を広く知ることによって、その出没予測の精度を高めていきます。さらに、本システムの空気中の環境DNA検出システムを使えば、すでに目撃情報のない絶滅危惧種と探索あるいは犯人捜査への応用が考えられ、今後、それらを研究する研究グループとの共同研究等を推進していきたい。すでに広島県における絶滅危惧Ⅰ類に指定されているニホンリスの生息を本システムを応用して突き止め、自動撮影カメラにてニホンリスの生息活動動画の撮影に成功した。

【参考資料】

- 空気中の環境DNAを用いた野生動物生息モニタリングシステムの構築. 西原幹朗・西堀正英・野田亜矢子・畑瀬淳・安江博. DNA多型. 31(1): 34-38. 2022.
- 中国新聞 2023年11月7日朝刊
(<https://www.chugoku-np.co.jp/articles/-/382120>)
- RCC 中国放送イマナマ!
(https://m.youtube.com/watch?v=fT6EbDOxk4g&list=PLHrCoVBA_kkpZwlrOQeYWS2TUK7e_POQ2&index=3)

【2023年度学会における公表：7件】注：広島大学所属は太字

- ① The eDNA Society International Meeting
Kazushi Masuda, Mikio Nishihara, Fumika Ito, Masahide Nishibori, Jun Hatase, Ayako Noda, Hiroshi Yasue. Development and practice application of Asian Black Bear (*Ursus thibetanus*) monitoring methods using airborne eDNA (eDNAAir). The eDNA Society International Meeting. 2023年5月17日. Otsu, Japan.
- ② ICAFT2023
Kazushi Masuda, Mikio Nishihara, Masahide Nishibori, Ayako Noda, Jun

Hatase, Hiroshi Yasue. Establishment of a DNA individual identification method for Asian Black Bears (*Ursus thibetanus japonicus*) based on non-invasive sampling. International Conference on Agriculture, Animal Sciences & Food Technology (ICAFT2023). 2023年8月27日. Universiti sultan Zainal abidin, Malaysia.

③ 日本哺乳類学会 2023 年度大会

増田和志・伊藤文香・西堀正英・安江 博・野田亜矢子・畑瀬 淳. 西中国山地におけるツキノワグマ糞を用いた個体識別から行動生態を明らかにする. 日本哺乳類学会 2023 年度大会. 2023 年 9 月 8 日. 琉球大学、沖縄.

④ 日本 DNA 多型学会第 32 回学術集会

増田和志・廣瀬雅恵・西堀正英・安江 博. 空气中環境 DNA (eDNAir) の DNA 多型から野生動物の生息および野生動物相をモニタリングする. 2023 年 11 月 16 日 17 日. 下関市、山口.

【日本 DNA 多型学会優秀研究賞受賞】

⑤ 日本動物遺伝育種学会第 24 回年次大会

増田和志・西堀正英・畑瀬 淳・野田亜矢子・安江 博. 非侵襲的サンプルを用いたツキノワグマ個体識別モニタリングの実践. 2023 年 11 月 18 日. 東海大学、熊本.

⑥ 第 6 回環境 DNA 学会九州大会

Kazushi Masuda, Masahide Nishibori, Hiroshi Yasue. Development of a wildlife population analysis method in the field using airborne nucleic acids (eNAirs). 2023 年 12 月 2 - 5 日. Fukuoka, Japan.

⑦ Plant and Animal Genome (PAG) Conference 2024 (PAG31)

⑧ Kazushi Masuda, Masahide Nishibori, Fumika Ito, Ayako Noda, Jun Hatase, Hiroshi Yasue. Molecular Monitoring of Urban Bear Distribution Using Environmental DNAs. Plant and Animal Genome (PAG) Conference 2024 (PAG31). 2024 年 1 月 12 - 17 日. SanDiego, USA.

【お問い合わせ先】

大学院統合生命科学研究科 西堀正英

Tel : 082-424-7992

E-mail : nishibo@hiroshima-u.ac.jp

