

学 位 論 文 題 名

北海道のヒグマ (*Ursus arctos yesoensis*) の
遺伝的変異に関する研究

学位論文内容の要旨

現在北海道のヒグマは生息域の縮小と分断化が進行し、生息数も減少しつつあると考えられ、生息情報のない部分に沿って5つの地域個体群に分けられると考えられている。近年、ヒグマの保護管理を前提とした基礎的研究が行われつつあるが、本研究ではヒグマの保護管理には欠かせない個体群の遺伝子構成を明らかにするため、これまで他の動物種やクマ類の個体群の遺伝的変異の解明に用いられてきた手法を応用し、ヒグマの遺伝的多様性について検討した。

第1章では、ヒグマから研究試料となる血液を採取するために必要な化学的不動化について検討した。すなわち、現在一般に使用されている不動化薬（塩酸キシラジンと塩酸ケタミンの併用）と塩酸チレタミンと塩酸ゾラゼパムの混合薬を用いた新しい方法について比較した。その結果、塩酸チレタミンと塩酸ゾラゼパムの混合薬では少ない投薬量で、キシラジン－ケタミン法と同等の不動化効果が得られ、雌雄間で投薬量および導入時間に差異のないことが明らかになった。従って、一度の投薬量が限られる一方で投薬回数を最小限にとどめなければならないヒグマの不動化には、塩酸チレタミンと塩酸ゾラゼパムの混合薬が、有用であることが示された。

第2章では、北海道の3つの地域個体群から採取した10頭のヒグマの筋組織を材料として、タンパク多型による遺伝的変異の推定を試みた。澱粉ゲルを用いた電気泳動を行い、21の遺伝子座におけるタンパク多型の検索を行った結果、検索したすべての座位において変異は認められず、他のクマ類や日本の陸生哺乳類と同じく、北海道のヒグマの遺伝的変異の低いことが推測された。

第3章では、飼育下のヒグマ47頭について、法医学分野で有用性が認められている

ミニサテライトプローブMyoを用いDNAフィンガープリントを作成し、個体識別と父子判定への応用について検討した。さらに、飼育個体のうち捕獲地域の明らかな6頭と、渡島半島南西部および知床半島で生け捕りにした13頭ずつ計26頭について地域個体群内と地域個体群間の遺伝的多様性の定量を試みた。その結果、2種類の制限酵素HinfIおよびHaeIIIを用いて作成したDNAフィンガープリント像より求めたバンド共有率は、HinfIで0.69およびHaeIIIで0.83であった。飼育集団内での偶然に同じバンドパターンを持つ個体が出現する確率を求めたところ、HinfIで 2.5×10^{-2} およびHaeIIIで 1.3×10^{-1} であった。HinfIについては家畜について報告されている値に近く、ヒグマにおいてもDNAフィンガープリント法が個体識別へ応用できることが示唆された。また、父子判定におけるDNAフィンガープリントの比較では父親由来のバンドは少なかったが、父親候補の少ない場合には判定可能であることが示唆された。さらに、DNAフィンガープリントから得られた平均遺伝子多様度は、渡島半島南西部の地域個体群で0.302、知床半島の地域個体群で0.241であった。これらの数値は、ヒトあるいはネコで報告されている数値と比べて小さく、2つの地域個体群における遺伝的変異の低いことが示唆された。また、地域個体群間の遺伝的分化の程度を示す遺伝子分化係数は、飼育下の6頭と野生の23頭から求めた場合は0.079、野生の23頭のみから求めた場合には0.195となり、地域個体群の間で遺伝的分化の程度の低いことが推察された。

第4章では、ヒグマの遺伝子構成を解析する目的で、4つの地域個体群（渡島半島、積丹・恵庭、日高・夕張および道東・宗谷）のヒグマ24頭から得られたミトコンドリアDNAについて、10種の制限酵素による切断パターンを比較した。その結果、10種の制限酵素のうち9種において多型が観察され、それぞれの制限酵素による切断パターンの組み合わせにより、検査した24頭のミトコンドリアDNAは9種のハプロタイプに分類された。道東・宗谷地域と日高・夕張地域には共通なハプロタイプが存在したが、渡島半島地域とその他の地域に共通なハプロタイプは存在しなかった。道東・宗谷地域と日高・夕張地域におけるハプロタイプ多様度は渡島半島地域に比べ低く、遺伝的多様性の低いことが明らかになった。また、最小遺伝距離は道東・宗谷地域と日高・夕張地域の間で小さくこの2つの地域個体群のヒグマは、遺伝的に近縁であることが示唆された。

本研究の結果、タンパク多型の検索とDNAフィンガープリント法により、北海道に生息するヒグマ個体群の低変異性が明らかになった。また、ミトコンドリアDNA多型の検索から道東・宗谷地域個体群と日高・夕張地域個体群が遺伝的に近縁であることが示唆された。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 金 川 弘 司
副 査 教 授 佐 藤 文 昭
副 査 教 授 佐 邊 智 正
副 査 教 授 林 正 信

学 位 論 文 題 名

北海道のヒグマ (*Ursus arctos yesoensis*) の 遺伝的変異に関する研究

野生動物の保護管理には、個体群の遺伝子構成に関する情報が不可欠である。本研究は、他の哺乳類に應用されている手法を用い、北海道のヒグマの遺伝的多様性を5つの地域個体群について検討し、以下の新所見を得た。

1. 3つの地域個体群のヒグマにタンパク多型は検出されず、ヒグマの遺伝的多様性の低いことが推測された。
2. 飼育下のヒグマのDNAフィンガープリント像より求めたバンド共有率は、家畜について報告されている値に近く、DNAフィンガープリント法がヒグマの個体識別に應用できることが示唆された。また、父子判定への應用では父親由来のバンドが少ないため、父親候補が少数の場合に判定可能であることが示された。さらに、2つの地域個体群におけるヒグマのDNAフィンガープリント像から得られた平均遺伝子多様度は小さく、これらの地域個体群における遺伝的多様性の低いことが示唆された。また、飼育個体と野生個体から得られた遺伝子分化係数の値より、北海道のヒグマの遺伝的分化の程度は低いことが推察された。
3. 4つの地域個体群のヒグマのミトコンドリアDNAは、9種のハプロタイプに分類された。道東・宗谷と日高・夕張地域個体群のハプロタイプ多様度は低く、遺伝的多様性が低いことが明らかになった。また、道東・宗谷と日高・夕張地域個体群間の最小遺伝距離は小さく、2つの地域個体群は遺伝的に近縁であることが示唆され

た。

以上のとおり、本研究により北海道のヒグマ個体群の低変異性が明らかにされ、地域個体群の遺伝子構成に関する新知見も多く得られた。これらは、ヒグマの保護管理に関する基礎的データであるとともに、クマ類における集団遺伝学的研究の発展に寄与するものと考えられた。よって、審査員一同は、釣賀一二三氏が博士（獣医学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認めた。