

3.1 斑紋パターンに注目したツキノワグマの個体識別法の開発

三浦 慎悟（早稲田大学）・青井 俊樹（岩手大学）・東出 大志（新潟大学）

1. はじめに

一般的に、正確な個体数推定においては、対象とする動物の個体を識別する必要があるとされており、近年、ツキノワグマにおいてはヘア・トラップ法を用いた遺伝解析による非侵襲的な個体識別手法が広く用いられている（Miura and Oka, 2003; Woods et al., 1999）。またこのような非侵襲的手法は、捕獲の必要や、標識の欠落がなく、タグやペイントなど従来の物理的標識法と比べて高精度・低コストであるとされている（Foran et al., 1997; Woods et al., 1999; Zielinski et al., 2006）。

このヘア・トラップ法と同様に個体数推定における非侵襲的な調査手法として、カメラトラップを用いた生態的特徴（natural-marking）による個体識別手法があり、数多くの哺乳類種の調査において利用されている。natural-marking を用いた研究事例として、例えば、トラの縞模様（Karanth, 1995; O'Brien et al., 2003）やチーターの毛皮模様（Kelly, 2001）、キツネの足先模様を含む形態的特徴（Sarmiento et al., 2009）、アザラシの頭部模様（Vincent et al., 2001）などがあり、体表の模様パターンに代表されるような、各哺乳類種が有する生態的特徴によって個体識別が行われている。特に毛皮に特徴的な模様を有するネコ科哺乳類における事例が多いものの、natural-marking は陸棲から海棲の様々な哺乳類に対して適用されている。

そこで本研究では、ツキノワグマの個体数推定において、生態的特徴を用いたカメラトラップによる個体識別手法を確立することを目的とした。今年度はまず、個体識別に利用可能なツキノワグマの生態的特徴を把握するため、頭部形状、鼻紋、月の輪紋、下顎紋の4項目について、有効性の検証を行った。

2. 頭部形状の有効性

2-1. 方法

頭部形状の有効性については、頭骨の計測値を用いて検証を行うこととし、森林総合研究所東北支所所蔵のツキノワグマの頭骨から、様々な年齢階級、性別の82個体のサンプルを選択して計測を行った（表1）。計測に際しては、生体でも特徴が確認できることを前提に、目・鼻・口の3ヶ所を対象とし、両目間・目鼻間・鼻幅・鼻口間・目口間の5項目について長さを測定した。しかし、各項目の測定値自体は年齢や性の影響を受けるため、続いて測定した5項目の長さのうち、両目間の距離を1とした場合の相対値を他の4項目において算出し、その値を比較することとした。

表1 頭骨サンプルの内訳

	年齢階級					計
	1-3 歳	4-6 歳	7-9 歳	10-12 歳	13-15 歳	
Male	10	10	10	10	10	50
Female	10	5	10	7	0	32
計	20	15	20	17	10	82

3.1 斑紋による個体識別

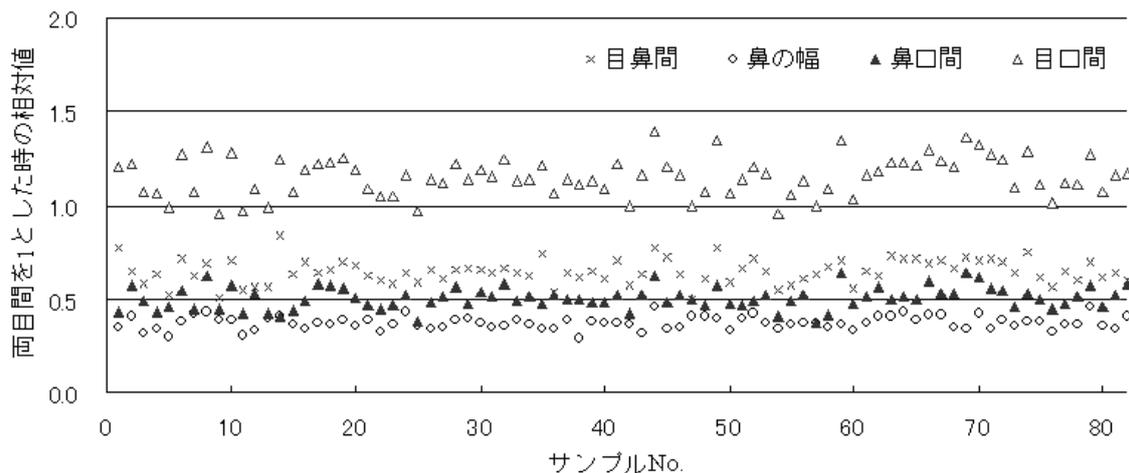


図1 各個体における計測値の相対値（両目間を1とした場合）

2-2. 結果と考察

両目間の距離を1とした時の各項目の相対値は、個体毎に異なる値を示した（図1）。特に目口間で変異が大きいのが、鼻の幅では変異が小さい事がわかる。これは、基準とした両目間の距離が横方向の変化であるのに対し、目口間は縦方向、鼻の幅は横方向の変化であることによると考えられ、この結果は方向性の異なる測定値の比率を用いることで、より大きな変異が抽出されることを示唆している。このように各項目で変異が認められたものの、今回用いた特徴だけでは個体識別を行うには不十分であった。しかし、これ以上の特徴を生体の頭部から抽出することは難しいため、個体識別における頭部形状の有効性は低いと考えられる。

3. 鼻紋の有効性

3-1. 方法

秋田県の阿仁熊牧場にて撮影した飼育個体の写真から、ブレがなく比較的明瞭に鼻部が確認できた数個体の撮影画像を用いて、比較を行った。

3-2. 結果と考察

いずれの個体においてもほとんど鼻紋は確認されなかった（写真1-1～1-3）。唯一明瞭な特徴としては、鼻の中心部に見られる筋と、それと交差するように左右の鼻の穴にかけて見られる筋の2つだけであるが、この特徴は複数個体で共通して確認された。それ以外に鼻紋らしき特徴は撮影画像からは確認できなかったため、個体識別における鼻紋の有効性は低いと考えられる。

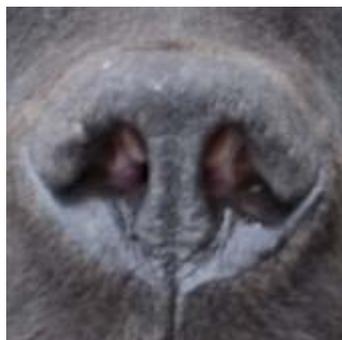


写真1-1 個体I

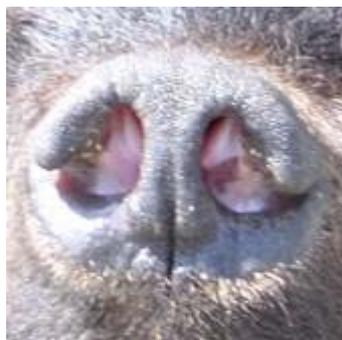


写真1-2 個体II

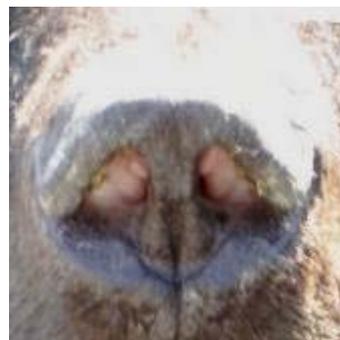


写真1-3 個体III

4. 月の輪紋の有効性

4-1. 方法

秋田県の阿仁熊牧場と岐阜県の奥飛騨クマ牧場において飼育個体の写真を撮影し、その撮影画像を用いた。対象とする月の輪紋を正確に記録するため、個体が餌に誘引されて直立姿勢をとった瞬間になるべく正面から撮影を行うことを原則とし、直立姿勢をとらない個体についても、着座および仰向けの状態など月の輪紋が正確に確認できる時点において撮影を行った。各牧場において採取されたサンプルは全 70 個体、計 431 枚である（表 2）。なお比較に際しては、各個体における最も鮮明な撮影画像を 1 枚選択して用いた。

4-2. 結果と考察

まず全 70 個体のうち、胸部に月の輪紋が確認されたのは 68 個体であり、全体の 97%であった（表 2）。この 68 個体はいずれも異なる斑紋パターンを有しており、特にその大きさ、位置、分裂の有無および極端な凹凸形状などによって容易に識別が可能であった。

例えば個体 A と B の斑紋は大きく、極端な凹凸が複数確認され、幾何学的な形状をしている（写真 2-1,2-2）。個体 C は整った月の輪状の斑紋であるが、中心下部や両端には凹凸が見られる（写真 2-3）。個体 D の斑紋も整った月の輪状を示すが、その形状はかなり細長く、位置によって太さも微妙に異なっている（写真 2-4）。個体 E は斑紋がかなり小さいのが特徴である（写真 2-5）。斑紋が小さい個体は多くないため、小さいこと自体が識別のポイントとなるが、似たような個体の識別においては、斑紋の位置や微量な凹凸の変化も識別に用いるべきである。個体 F,G,H はいずれも斑紋が分裂している（写真 2-6,2-7,2-8）。このように斑紋が分裂した個体の識別が最も容易であり、他の特徴を用いずとも分裂の位置関係だけで識別は可能である。

以上のことから、月の輪紋は個体間でその形状に大きな変異があり、サイズに関する項目としては特に長さや太さが、形状に関しては月の輪紋の分裂や特徴的な凹凸形状などが識別に際して有効な指標であると考えられる。なお、一部個体では月の輪紋が認められなかったが（写真 2-9）、97%と大多数の個体で月の輪紋が確認されたため、識別に際し、十分に指標として利用可能であると判断した。

表 2 撮影枚数と撮影個体および月の輪紋の有無

	撮影枚数	撮影個体	月の輪紋	
			あり	なし
阿仁熊牧場	308	50	49 (98%)	1 (2%)
奥飛騨クマ牧場	123	20	19 (95%)	1 (5%)
計	431	70	68 (97%)	2 (3%)

3.1 斑紋による個体識別



写真 2-1 個体 A



写真 2-2 個体 B



写真 2-3 個体 C



写真 2-4 個体 D



写真 2-5 個体 E



写真 2-6 個体 F



写真 2-7 個体 G



写真 2-8 個体 H

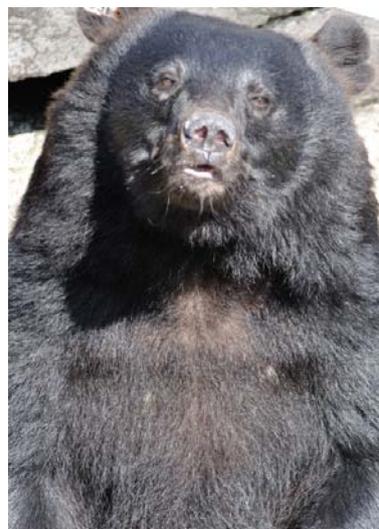


写真 2-9 個体 I

5. 下顎紋の有効性

5-1. 方法

月の輪紋と同様に、秋田県の阿仁熊牧場と岐阜県の奥飛騨クマ牧場において飼育個体の写真を撮影し、その撮影画像を用いた。各牧場において採取されたサンプルは全 70 個体である。なお、下顎紋はツキノワグマが上を向いた状態でなければ全体像を把握できないが、今回の検討においては正面から撮影されたものも含み、その位置関係について比較を行った。

5-2. 結果と考察

全 70 個体のうち 28 個体、40%と比較的多くの個体で下顎紋が確認された（表 3）。形状は把握が難しい上に、斑紋のサイズの影響もあって、月の輪紋ほど形状に変異が見られないが、位置的な情報は容易に得る事が可能である。例えば個体アでは、下顎紋が左側に寄っていることがわかる（写真 3-1）。同様に個体イは中央、個体ウは右側と、位置情報によって大きく 3 パターンに分類が可能であった（写真 3-2,3-3）。

比較的多くの個体で確認でき、数パターンの判別は容易であることから、下顎紋を有する個体においては有効な指標となり得ると考えられる。

表 3 下顎紋の確認個体と位置情報の内訳

	撮影個体	下顎紋確認個体	下顎紋の位置		
			左側	中央	右側
阿仁熊牧場	50	22	5	13	4
奥飛騨クマ牧場	20	6	0	5	1
計	70	28 (40%)	5 (18%)	18 (64%)	5 (18%)

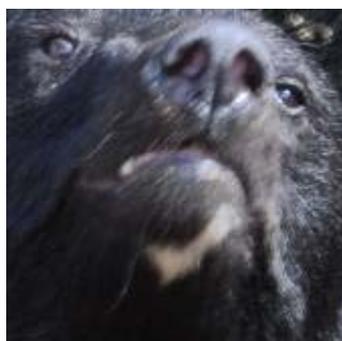


写真 3-1 個体ア

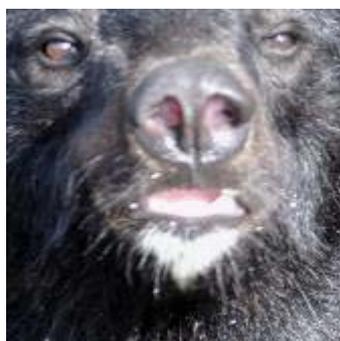


写真 3-2 個体イ

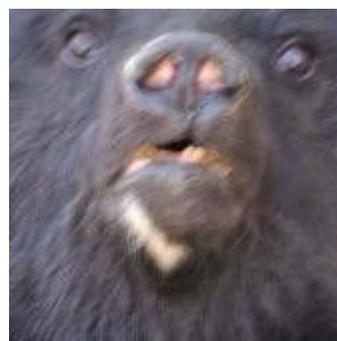


写真 3-3 個体ウ

6. まとめ

4 項目の生態的特徴について検討を行った結果、ツキノワグマの個体識別に際しては、月の輪紋や下顎紋など、その斑紋パターンの有効性が示唆される結果となった。特に月の輪紋は、サイズに関する項目としては長さや太さが、形状に関しては月の輪紋の分裂や特徴的な凹凸形状などが識別に際して有効であり、これらの特徴から目視で個体識別を行うことは容易であった。加えて、下顎紋を有する個体については、その有無や位置情報を相補的に利用することで、より高精

度で容易な個体識別が可能になると考えられる。したがって、今後これらの斑紋パターンに注目し個体識別法の開発を進めることとした。

引用文献

- Foran, D. R., Minta, S. C., Heinemeyer, K. S. 1997. DNA-based analysis of hair to identify species and individuals for population research and monitoring. *Wildlife Society Bulletin* 25(4):840-847.
- Karanth, K. U. 1995. Estimating tiger *panthera tigris* populations from camera-trap data using capture-recapture models. *Biological Conservation* 71:333-338.
- Kelly, M. J. 2001. Computer-aided photograph matching in studies using individual identification: an example from Serengeti cheetahs. *Journal of Mammalogy* 82(2):440-449.
- Miura, S., and Oka, T. 2003. Evaluation of apple bait hair-traps for genetic tagging of Asiatic black bears in the Kitakami Highland, northern Honshu, Japan. *Mammal Study* 28:149-152.
- O'Brien, T. G., Kinnaird, M. F. and Wibisono, H. T. 2003. Crouching tigers, hidden prey: Sumatran tiger and prey populations in a tropical forest landscape. *Animal Conservation* 6:131-139.
- Sarmiento, P., Cruz, J., Eira, C. and Fonseca, C. 2009. Evaluation of Camera Trapping for Estimating Red Fox Abundance. *Journal of Wildlife Management* 73(7):1207-1212.
- Vincent, C., Meynier, L. and Ridoux, V. 2001. Photo-identification in grey seals : Legibility and stability of natural markings. *Mammalia* 65(3):363-372.
- Woods, J. G., Paetkau, D., Lewis, D., McLellan, B. N., Proctor, M. and Strobeck, C. 1999. Genetic tagging of free-ranging black and brown bears. *Wildlife Society Bulletin* 27(3):616-627.
- Zielinski, W. J., Schlexer, F. V., Pilgrim, K. L., Schwartz, M. K. 2006. The Efficacy of Wire and Glue Hair Snares in Identifying Mesocarnivores. *Wildlife Society Bulletin* 34(4):1152-1161.

3.2 代替法・補完法—痕跡からの DNA 抽出による個体識別法の開発の現状について

青井 俊樹(岩手大学)

1. はじめに

日本におけるクマ類(Ursidae)の保護管理において、人間との軋轢を軽減することはクマ個体群の維持管理にとって重要な意味を持つ。特にクマ類では、農林業被害だけでなく人身被害の危険が伴うため、こうした軋轢への対処として多くの地方自治体では有害駆除を実施している。その際、クマ個体群の絶滅を回避するため、多くの保護管理計画では捕殺数の上限を設けている。こうした数値目標を決める科学的根拠として、各地でヘア・トラップ法による個体数の推定や変動を調査する試みがなされている(間野ら 2008, 森光 2008)。近年における全国のツキノワグマ(*Ursus thibetanus*)有害捕獲数は 1,000~2,500 頭/年で推移している(Hazumi 2006)。しかし、有害駆除の現場では、クマが捕獲されしだい捕殺されており、オリによって捕獲された個体が実際に農作物を食害したのかについて検証されていないのが現状である。そのためこれまで数多くの個体が捕殺されてきたにもかかわらずクマによる農業被害は毎年繰り返し発生しており、捕獲個体を機械的に殺処分する現行の有害鳥獣駆除では被害水準は減少しないことが指摘されている(Huygens and Hayashi 1999)。また、2003 年における全国のツキノワグマの生息分布域は 1978 年に比べて拡大しており(環境省 2004)、農地や市街地に出没する個体が各地で増加していることから、今後、有害捕獲数が増加することが懸念されている(Hazumi 2006)。そのためクマ類の保護管理を行なうにあたっては、個体数管理だけではなく加害個体を特定したうえでの管理(個体管理)が重要であると考えられている(Oi and Yamazaki 2006)。しかしながら、これまで加害個体を特定できる有効な手法がなく、このような状況を打開できる新たな手法の開発が求められてきた。

2. どうして食痕か?

近年の遺伝子解析技術の飛躍的な進歩によって、微量な DNA の増幅が可能となったことから(Higuchi et al. 1988, Walsh et al. 1991)、この技術が体毛(Taberlet and Bouvet 1992, Woods et al. 1999, Mowat and Strobeck 2000, Sloane et al. 2000, Boulanger et al. 2006)、糞(Reed et al. 1997, Taberlet et al. 1997, Wasser et al. 1997, Kohn et al. 1999, Frantz et al. 2003)のほか、羽毛(Mundy et al. 1997)や卵殻(Arnold et al. 2003)など様々な非侵襲的な材料に応用されるようになった。クマ類においては、ヘア・トラップ法により回収した体毛を材料とした遺伝解析が盛んに行われている(Waits and Paetkau 2005, 湯浅・佐藤 2008 に詳しい)。またヒグマ(*Ursus arctos*)では、生息密度が極端に低い地域や、高原などヘア・トラップの設置が困難な環境において、糞が遺伝子源として利用されている(Taberlet et al. 1997, Bellemain et al. 2007)。食肉目の糞からのサンプリング方法については増田ら(2009)に詳しいが、糞には落とし主の遺伝子のほか食物由来の遺伝子や寄生虫あるいはウイルスの遺伝子が混入していること、糞による遺伝子の分析には糞が落とされてから採取までの時間や天候などの環境が影響しがちである。クマ類ではこれまで、Murphy et al.(2000, 2003)によって糞の保存方法や糞の内容物による遺伝子分析成功率の違いなどの分析手法が検討されている。このように非侵襲的な材料を活用することで、クマによる被害農地においても、加害個体の特定

ができるものと期待される。被害農地におけるクマ類の痕跡として考えられるものとして、糞および食害された農作物（食痕）がある。このうち前者については被害農地で必ずしも採取できるとは限らず、また採取できても糞を落とした個体が加害個体とは断定できない。そこで、確実に被害農地に残されている食痕試料に着目した。これまで食痕試料を使った遺伝解析には、飼育下のチンパンジー(*Pan troglodytes*)から採取したサトウキビの食痕(シガミカス; Takasaki and Takenaka 1991) や、野生チンパンジーの子供がくわえた小枝に付着した唾液 (Inoue et al. 2007) を材料に DNA を抽出した報告がある。食痕試料からツキノワグマの DNA が抽出できれば、科学的根拠に基づいて加害個体が特定できるだけでなく、地域のツキノワグマ保護管理に反映し得る加害個体数の実態や加害個体の性比に関する基礎的な情報を明らかにできると考えられる。その観点から、Saito et al. 2008 は、岩手県において被害農地に残されたツキノワグマによる農作物の食痕試料を材料とした実用的な遺伝子分析手法を開発し、モデル地域における最少加害個体数を算出している。この研究は、クマ類の生息数を推定する一つの新しい方法として期待されるため、以下にその概略を述べる。

3. 食痕 DNA による個体識別手法とその野外応用

非侵襲的な材料から回収される DNA は一般に、量が少なく低質であるため、遺伝子分析にエラーが生じて個体識別を見誤りやすい (Taberlet et al. 1996)。こうしたエラーの原因は、大きく DNA の劣化と PCR 阻害物質の混入の 2 つに分けられる。そのため、食痕試料から回収した少量の DNA からいかに正確に分析するかが重要となる。食痕試料の表面には、クマの口腔内剥離細胞が付着しており、この細胞が核を有している (Sweet et al. 1997)。この細胞のサンプリングは、食痕試料の表面を滅菌した綿棒で拭い、綿棒の先を DNA の安定剤 (EDTA) を添加した DNA 抽出バッファーの中に折り入れた。DNA の抽出は、綿棒を入れたまま行なった。まず、フェノール・クロロフォルム抽出 (Sambrook and Russel 2001) を行い、続いて植物由来のポリフェノールや多糖類を除去するために CTAB 処理 (Murray and Thompson 1980) を行った。回収した DNA は水で溶解し分析に供した。すなわち、個体識別用のマイクロサテライト配列 (Paetkau and Strobeck 1994, Paetkau et al. 1995) のうち 6 座位と、性判別用のアメロゲニン遺伝子 (Ennis and Gallagher 1994) を増幅した。これら手法詳細は齊藤(2009)にまとめた。

次に、モデル地域内における最少加害個体数とその性別を調査した (Saito et al. 投稿準備中)。2005 年から 2007 年のいずれも 8~10 月にかけて、モデル地域とした岩手県遠野市の東部一帯の圃場をみまわった。3 年間で、デントコーン、スイートコーンおよびプラムを作付けた 22 圃場から、新鮮な食痕試料を計 143 試料採取し、Saito et al.(2008)に従い分析を行った。分析成功率は 47.6%(68/143)であり、モデル地域全体で少なくとも 42 個体が食害していた。同地域で、同期間中に有害捕獲された個体数は計 17 頭であったが、実際には少なくとも 2.5 倍のクマが食害を与えていたことが判明した。加害個体の性比 (オス/メス) は 5.0 であり、性別が判定できなかった 6 個体をメスと仮定しても同 2.5 となり、これは有害捕獲個体 (同 2.0) と比べても更にオスに偏っていた(二項検定, $P < 0.05$)。

以上のことから、食痕からの DNA 抽出による個体識別手法は、これまで明らかになっていなかった加害個体数やその性比など被害状況を把握する手法として有効であることが示された。また本調査地の結果は、捕獲のみに頼った対策は被害の軽減に効果がみられない可能性が考えられた。今後は、ヘア・トラップ法を実施する地域で同時に加害個体の特定を行い、生息数に占める加害

個体の割合や、ワナの誘引効果および加害個体を確実に駆除できているのかなど、クマ類の保護管理に欠かせない基礎的な情報を収集していくことが重要である。

引用文献

- Arnold K. E., K.J. Orr and R. Griffiths(2003) Primary sex ratios in birds: problems with molecular sex identification of undeveloped eggs. *Molecular Ecology*,12:3451-3458.
- Bellemain E., M.A. Nawaz, A. Velentini, J.E. Swenson and P. Taberlet(2007) Genetic tracking of the brown bear in northern Pakistan and implications for conservation. *Biological Conservation*,134:537-547.
- Boulanger J., M. Proctor, S. Himmer, G. Stenhouse, D. Paetkau and J. Cranston(2006) An empirical test of DNA mark-recapture sampling strategies for grizzly bears. *Ursus*,17:149-158.
- Ennis S. and T.F. Gallagher (1994) A PCR-based sex-determination assay in cattle based on the bovine amelogenin locus. *Animal Genetics*,25:425-427.
- Frantz A.C., L.C. Pope, P.J. Carpenter, T.J. Roper, G.J. Wilson, R.J. Delahay and T. Burke(2003) Reliable microsatellite genotyping of the European badger using faecal DNA. *Molecular Ecology*,12:1649-1661.
- Hazumi T.(2006) Number captured and nationwide population. In: The status of Asiatic black bears in Japan.pp125-126. Understanding Asian bears to secure their future. Edited by Japan Bear Network. Ibaraki,145pp.
- Higuchi R., C.H. von Beroldingen, G.F. Sensabaugh and H.A Erlich(1988) DNA typing from single hairs. *Nature*,332:543-546.
- Huygens O.C. and H. Hayashi(1999) Using electric fence to reduce Asiatic black bear depredation in Nagano Prefecture, central Japan.*Wildlife Society Bulletin*, 27(4):959-964.
- Inoue E., M. I. Murayama, O. Takenaka and T. Nishida(2007) Wild chimpanzee infant urine and saliva sampled noninvasively usable for DNA analysis. *Primates*, 48:156-159.
- 環境省(2004) 種の多様性調査「哺乳類分布調査報告書」. 環境省自然環境局生物多様性センター. 山梨, 213pp.
- Kohn M.H., E.C. York, D.A. Kamradt, G.Haught, R.M. Sauvajot and R.K. Wayne(1999) Estimating population size by genotyping faeces. *Proceedings of Loyal Society, Biological Sciences*,266:657-663.
- 増田隆一・嶋谷ゆかり・大石琢也・合田直樹・田島沙羅・佐藤丈寛 (2009) 食肉目の遺伝子分析を目的としたサンプリング法, 遺伝子分析技術, 遺伝情報の解析法および研究事例. *哺乳類科学*,49(2):283-302.
- 間野勉・大井徹・横山真弓・高柳敦 (2008) 日本におけるクマ類の個体群管理の現状と課題. *哺乳類科学*,48(1):43-55.
- 森光由樹(2008) 各都道府県のヘア・トラップ調査の実施状況と長野県における実施例.*哺乳類科学*, 48(1):133-138.
- Mowat G. and C. Strobeck (2000) Estimating population size of grizzly bears using hair capture, DNA profiling, and mark-recapture analysis. *Journal of wildlife management*,64(1):183-193.

- Mundy N.I, C.S. Winchell, T. Burr and D.S. Woodruff(1997) Microsatellite variation and microevolution in the critically endangered San Clemente Island loggerhead shrike (*Lanius Indovicianus mearnsi*).
Proceedings of the royal society B,264: 869-875.
- Murphy M.A, L.P. Waits and K.C. Kendall(2000) Quantitative Evaluation of Fecal Drying Methods for Brown Bear DNA Analysis.Wildlife Society Bulletin,28(4):951-957.
- Murphy M.A., L.P. Waits and K.C. Kendall(2003) The influence of diet on faecal DNA amplification and sex identification in brown bears. Molecular Ecology,12:2261- 2265.
- Murray M.G. and W.F. Thompson(1980) Rapid isolation of high molecular weight plant DNA. Nucleic Acids Research,8(19):4321-4326.
- Oi T. and K. Yamazaki(2006) The status of Asiatic black bears in Japan. pp.122-133. Understanding Asian Bears to Secure Their Future. Edited by Japan Bear Network. Ibaraki,145pp.
- Paetkau D. and C. Strobeck(1994) Microsatellite analysis of genetic variation in black bear population. Molecular Ecology,3:489-495.
- Paetkau D., W. Calvert, I. Stirling and C. Strobeck(1995) Microsatellite analysis of population structure in Canadian polar bears. Molecular Ecology,4:347-354.
- Reed J.Z.,D.J. Tollit, P.M. Thompson and W. Amos(1997) Molecular scatology:
The use of molecular genetic analysis to assign species, sex and individual identify to seal faeces. Molecular Ecology,6 : 225-234.
- Saito M., K. Yamauchi, and T. Aoi.(2008) Individual identification of Asiatic black bears using extracted DNA from damaged crops. Ursus,19(2):162-167.
- 齊藤正恵(2009) 新たな遺伝子分析手法を用いたツキノワグマの農作物加害個体の特定方法に関する研究－食痕からの DNA 採取と野生動物管理への応用－.岩手大学大学院連合農学研究科.学位論文,139pp.
- Sambrook J. and D.W. Russel(2001) Molecular Cloning vol.2. A laboratory manual. Third edition. Cold Spring Harbor Laboratory Press,New York.999pp.
- Sloane M.A., P. Sunnucks, D. Alpers, L.B. Beheregaray and A.C. Taylor (2000) Highly reliable genetic identification of individual northern hairy-nosed wombats from single remotely collected hairs: a feasible censusing method. Molecular Ecology,9:1233-1240.
- Sweet D., M. Lorente, J.A. Lorente, A. Valenzuela, and E. Villanueva. (1997) An improved method to recover saliva from human skin: the double swab technique.Journal of Forensic Sciences,42:320-322.
- Taberlet P., S. Griffin, B. Goossens, S. Questiau, V. Manceau, N. Escaravage, L.P. Waits and J. Bouvet(1996) Reliable genotyping of samples with very low DNA quantities using PCR. Nucleic Acids Research,24:3189-3194.
- Taberlet P., J.J. Camarra, S. Griffin, E. Uhres, O. Hanotte, L.P. Waits,C. Dubois-Paganon, T. Burke and J. Bouvet(1997) Noninvasive genetic tracking of the endangered Pyrenean brown bear population. Molecular Ecology,6:869-876.
- Taberlet P. and J.Bouvet(1992) Bear conservation genetics.Nature,358:197.
- Takasaki H. and O. Takenaka(1991) Paternity testing in chimpanzees with DNA amplification from hairs and buccal cells in wadges: a preliminary note. pp612-616. Primatology Today. Edited by Ehara A., T. Kimura, O. Takenaka and M. Iwamoto. Elsevier. Amsterdam,732pp.

Waits L.P. and D. Paetkau(2005) Noninvasive genetic sampling tools for wildlife biologists:a review of applications and recommendations for accurate data collection. *Journal of Wildlife Management*,69:1419-1433.

Walsh P.S., D.A. Metzger and R. Higuchi(1991) Chelex[®] 100 as a medium for simple extraction of DNA for PCR-based typing from forensic material. *Bio Techniques*, 506-513.

Wasser S.K., C.S. Houston, G.M. Koehler,G.C. Cadd and S.R. Fain(1997) Techniques for application of fecal DNA methods to field studies of Ursids. *Molecular Ecology*,6: 1091-1097.

Woods J.G., D. Paetkau, D. Lewis, B.N. McLellan, M. Proctor and C. Strobeck (1999) Genetic tagging of free-ranging black and brown bears. *Wildlife Society Bulletin*,27(3):616-627.

湯浅卓・佐藤喜和(2008) ヘア・トラップを用いたクマ類の個体数推定法における課題～国内外の事例の比較検討～. *哺乳類科学*,48(1):109-118.
