

平成 21 年 6 月 10 日現在

研究種目：基盤研究（B）
 研究期間：2007～2008
 課題番号：19380091
 研究課題名（和文） 被食防御物質タンニンに対する耐性から見た森林性齧歯類の生態学的特性の解明
 研究課題名（英文） Ecological properties of forest-dwelling rodents in view of the tolerance against tannins, a plant defense chemical.
 研究代表者
 島田 卓哉（SHIMADA TAKUYA）
 独立行政法人森林総合研究所・東北支所・主任研究員
 研究者番号 10353723

研究成果の概要：タンニンは様々な植物に含まれる苦みを伴う物質であり、動物による採食からの防御効果を持つ。本研究では、森林に生息する齧歯類の「タンニンに対する耐性」をタンニン結合性唾液タンパク質とタンナーゼ産生細菌を測定することによって解明した。その結果、タンニン耐性の齧歯類種間あるいは種内での違いが、彼らの採餌行動に影響すること、さらに個体数変動に影響することを明らかにした。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007 年度	6,800,000	2,040,000	8,840,000
2008 年度	3,400,000	1,020,000	4,420,000
年度			
年度			
年度			
総計	10,200,000	3,060,000	13,260,000

研究分野：森林生態学

科研費の分科・細目：林学，林学・森林工学

キーワード：動物-植物相互作用，種子散布，化学的防御，被食防御物質，タンニン，個体数変動，タンニン結合性唾液タンパク質，タンナーゼ産生細菌

1. 研究開始当初の背景

コナラ属樹木は日本の森林の主要な構成種である。その種子である堅果は、森林に生息する動物にとって貴重な餌資源であるが、一部の堅果は約 10%という非常に高いタンニン含有率を示すことが知られている。タンニンは植物体に広く存在する被食防御物質であり、消化管の損傷や臓器不全といった毒性を持つ。

このようなタンニンに対する耐性は、動物種間で異なるものと考えられる。タンニン耐性の違いは森林性齧歯類の採餌行動や個体群動態，種子散布行動，そしてそれを通じて樹木の更新過程にも影響を及ぼすと予測されるが、タンニン耐性を定量的に評価し、比

較を行った研究は国内外において未だ存在しない。

そこで、本研究では、タンニン結合性唾液タンパク質とタンナーゼ産生細菌をタンニン耐性の指標として、日本産森林性齧歯類におけるタンニン耐性の種間及び種内変異を解明する。そして、その違いが対象種の生態（個体群動態及び採餌行動）にどのような影響を及ぼすかについて明らかにする。さらに、これらの知見に基づいて対象種の種子散布者・捕食者としての特性の評価を行う。

2. 研究の目的

(1) 野外における森林性齧歯類のタンニン摂取量推定手法の開発

タンニン耐性の種間、種内あるいは季節間での違いが食性に対応したものを検証するためには、野外におけるタンニン摂取量を推定する必要がある。そのため、糞中のどのような物質がタンニン摂取量と関連するのかを検討し、推定手法の開発を行う。

(2) 森林性齧歯類におけるタンニン耐性の解明と種間及び種内比較

岩手県及び北海道の2地点において森林性齧歯類5種（アカネズミ、ヒメネズミ、ハタネズミ、エゾヤチネズミ、ニホンリス）の唾液タンパク質とタンナーゼ産生細菌を測定することによって、タンニン耐性を評価する。また、両者はタンニンに対する馴化程度に応じて変化することが予想されるため、その季節変化を解明する。

(3) タンニン耐性の違いが森林性齧歯類の個体数変動に及ぼす影響の解明

北海道大学雨竜研究林では、野ネズミ3種（アカネズミ、ヒメネズミ、エゾヤチネズミ）の個体数とミズナラ堅果の生産量を長期にわたってモニターしている。野ネズミ3種の個体数変動を(2)で得られたタンニン耐性の観点から解析し、タンニン耐性が森林性齧歯類の個体数変動に及ぼす影響を明らかにする。

(4) タンニン耐性の違いが森林性齧歯類の採餌行動に及ぼす影響の解明

ニホンリスの2個体群を対象として、飼育下でコナラ堅果を供餌し、堅果の利用効率及び堅果中のタンニンに対する耐性を明らかにする。さらに、それぞれの生息地において種子選好性を調査し、タンニン耐性との関連を解明する。

3. 研究の方法

本研究における野生動物の捕獲及び実験は、すべて関連法律・規則（「鳥獣の保護及び狩猟の適正化に関する法律」及び「森林総合研究所における動物実験等の実施に関する指針」）に則って適正に行った。

(1) 野外における森林性齧歯類のタンニン摂取量推定手法の開発

飼育下でアカネズミ及びヒメネズミにタンニン含有率の異なる飼料を供餌し、その糞中のタンニン含有率、フェノール含有率そしてプロリン含有率を測定し、摂取タンニン量を最もよく説明する指標について検討した。

(2) 森林性齧歯類におけるタンニン耐性の解明と種間及び種内比較

① 本州産齧歯類を対象とした調査

岩手県滝沢村（岩手大学滝沢演習林）及び

岩手県岩泉町（旧中居村国有林）の森林において、調査対象とする齧歯類を堅果落果時期（10-11月）に捕獲した。滝沢村ではアカネズミ、ヒメネズミ、ハタネズミ、ニホンリスの4種を、岩泉町ではアカネズミ、ヒメネズミの2種を対象として、種間及び種内比較を行った。

各個体から新鮮な糞便及び唾液を採取し、唾液タンパク質及びタンナーゼ産生細菌の測定に用いた。唾液の採取は、カルバコール投与法によって行った。

タンナーゼ産生細菌に関しては、新鮮糞便の懸濁液を塗布したタンニン酸処理ブレンハートインフュージョン培地上で検出されるタンナーゼ産生細菌のコロニー数（Colony forming unit: CFU / 新鮮糞便 1g）を測定した。

唾液タンパク質に関しては、精製の後、単位時間当たり単位体重当たりの唾液タンパク質分泌量を算出した。また、唾液のタンニンに対する結合能力を、Competitive binding assay (Asquith & Butler 1985)によって測定した。

② 北海道産齧歯類を対象とした調査

北海道幌加内町（北海道大学雨竜研究林）の森林において、調査対象とする森林性齧歯類3種（アカネズミ、ヒメネズミ、エゾヤチネズミ）を季節毎に捕獲し、タンナーゼ産生細菌保有量及びタンナーゼ活性について種間比較を行った。合わせて、糞便中のプロリン含有率を測定し、タンニン摂取量の季節変化を明らかにした。

本州での調査と同様、新鮮糞便を用いタンナーゼ産生細菌保有量（CFU）を測定した。さらに、齧歯類個体毎に単離培養したタンナーゼ産生細菌のタンナーゼ活性を、西谷法（Nishitani & Osawa, 2003）によって測定した。

(3) タンニン耐性の違いが森林性齧歯類の個体数変動に及ぼす影響の解明

北海道大学雨竜研究林で1992年より蓄積されている野ネズミ3種（アカネズミ、ヒメネズミ、エゾヤチネズミ）の個体数とミズナラ堅果生産量に関するデータを用い、齧歯類の個体数変動にミズナラ堅果の生産量が与える影響を解析し、タンニン耐性の観点から野ネズミ3種の反応の違いを解明する。

(4) タンニン耐性の違いが森林性齧歯類の採餌行動に及ぼす影響の解明

2個体群（高尾個体群、東京都八王子市、堅果類は少ない；富士山個体群、山梨県河口湖、ミズナラなどの堅果類が多く分布する）から捕獲されたニホンリス各5頭に、飼育下でコナラ堅果のみを5日間供餌し、体重変化、消化率等を測定した。

また、タンニン含有率の異なる様々な貯食散布型種子（ナラ・カシ類，クリ，ブナ，クルミ類など）を生息地において一定量供餌し，ニホンリスによる利用頻度を明らかにした。

4. 研究成果

(1) 野外における森林性齧歯類のタンニン摂取量推定手法の開発

アカネズミ及びヒメネズミのいずれにおいても、タンニン摂取量は糞中プロリン含有率と高い相関を持つことが明らかになった。回帰分析による決定係数は、アカネズミで0.79、ヒメネズミでは0.89であった。一方、糞中のタンニン含有率及びフェノール含有率は、摂取タンニン量と弱い相関を示したが、予測性においてはプロリン含有率に著しく劣っていた。

糞中のプロリンは唾液タンパク質に由来するものと考えられ、唾液タンパク質がタンニンと強く結合し、複合体として排泄されるために、摂取タンニン量と高い相関を持つのだと考えられた。

以上のことから、糞中プロリン含有率は、野生下の齧歯類のタンニン摂取量の指標となるばかりでなく、唾液タンパク質がどれだけ効果的にタンニンをブロックしているかの指標ともなることが判明した。

(2) 森林性齧歯類におけるタンニン耐性の解明と種間及び種内比較

① 本州産齧歯類を対象とした調査

岩手県滝沢村及び岩泉町において捕獲された齧歯類4種（アカネズミ，ヒメネズミ，ハタネズミ，ニホンリス）を対象として、タンニン耐性の評価を行った。

その結果、タンナーゼ産生細菌保有量は、ハタネズミが他の3種よりも著しく低いことが判明したが、その他の3種間では違いが認められなかった。加水分解性タンニンに対する唾液タンパク質の結合能力は、アカネズミ＝ヒメネズミ＞ニホンリス＞ハタネズミであったが、縮合型タンニンに対してはヒメネズミ＞アカネズミ＝ニホンリス＞ハタネズミであることが判明した。これらの結果は、対象種の食性から予測される結果とは必ずしも一致しなかった。また、アカネズミ，ヒメネズミに関しては、タンニン耐性に著しい地域変異が認められた。

② 北海道産齧歯類を対象とした調査

タンナーゼ産生細菌保有量及びタンナーゼ活性には、明瞭な種間差及び季節変化は認められなかった。しかし、アカネズミ及びヒメネズミに関しては、糞中プロリン含有率が堅果落果時期に増加することが判明した。一方、エゾヤチネズミではこのような変化は認められなかった。糞中プロリン含有率は、タンニン摂取量を反映すると同時に、唾液タン

パク質がどれだけ効果的にタンニンをブロックしているかの指標となることが判明している。したがって、アカネズミ，ヒメネズミにおいては、堅果の摂食によってタンニン摂取量が増加していること、そしてタンナーゼ産生細菌よりはむしろ唾液タンパク質の働きによってタンニンが無害化されていることが示された。

(3) タンニン耐性の違いが森林性齧歯類の個体数変動に及ぼす影響の解明

北海道大学雨竜研究林における野ネズミ3種（アカネズミ，ヒメネズミ，エゾヤチネズミ）の個体数とミズナラ堅果生産量に関する長期データを解析したところ、ミズナラ堅果の生産量と翌年のアカネズミの個体数と間には正の相関が認められることが判明した。即ち、ミズナラが豊作の翌年には、アカネズミは個体数を増やす傾向があった。ヒメネズミに関しても同様の傾向が認められたが、有意な結果とはならなかった。一方、エゾヤチネズミについては、このような傾向は全く検出されなかった。

(2)で明らかになったように、アカネズミ，ヒメネズミは、エゾヤチネズミに比べて、高いタンニン耐性（唾液タンパク質の働きによる）を有しており、実際に堅果を多く利用している。本成果は、この野ネズミ間の生理的形質の違いが、個体数変動に強く影響することを示すものである。

(4) タンニン耐性の違いが森林性齧歯類の採餌行動に及ぼす影響の解明

ニホンリスに飼育下でコナラ堅果のみを5日間供餌したところ、生存率に著しい違いが認められた（死亡率、富士山個体群0/5、高尾個体群4/5）。両個体群において、12-15%の体重減少が認められたが、体重減少率に地域差はなかった。

野外での種子の持ち去り試験では、富士山個体群は堅果を高い割合で利用したが、高尾個体群は堅果をほとんど利用しなかった。

以上の結果は、比較的近距离に位置するニホンリス2個体群の間に、生息環境の違いによってタンニン耐性に明瞭な分化が生じていること、そして、そのタンニン耐性の違いが採餌行動に影響することを示している。

(5) まとめ

本研究によって、以下の点が明らかになった。

- 糞中プロリン含有率を利用することによって、齧歯類の野生化でのタンニン摂取量を推定することが出来る。
- 森林性齧歯類のタンニン耐性には、種間変異が存在し、その変異が採餌行動を介し、個体数変動パターンにまで影響する可能

性がある。

- ・タンニン耐性には種内変異が認められ、生息環境（餌環境）を反映していることが示唆された。

このように、従来全く考慮されてこなかった「タンニンに対する耐性」という生理的形質が、野生動物の採餌行動や個体数変動に大きな影響を持つことを示した点において、本研究の森林生態学上の意義は大きいと考える。森林性齧歯類の種子散布者・捕食者としての特性をさらに広汎に明らかにし、採餌行動を介した樹木の更新過程への影響を評価することが今後の課題である。

5. 主な発表論文等

（研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線）

〔雑誌論文〕（計8件）

- ① A. Takahashi, Y. Ichihara, Y. Isagi, T. Shimada (in press (掲載確定)) Effects of acorn tannin content on infection by the fungus *Ciboria batschiana*. *Forest Pathology*. (査読有)
- ② A. Takahashi, T. Shimada (2008) Selective consumption of acorns by the Japanese wood mouse according to tannin content: a behavioral countermeasure against plant secondary metabolites. *Ecological Research* 23: 1033-1038. (査読有)
- ③ K. Iwamoto, H. Tsuruta, Y. Nishitani, R. Osawa (2008) Identification and cloning of a gene encoding tannase (tanninacylhydrolase) from *Lactobacillus plantarum* ATCC 14917T. *Systematic and Applied Microbiology* 31: 269-277. (査読有)
- ④ T. Saitoh, J. O. Vik, N. C. Stenseth 他7名 (2008) Effects of acorn abundance on density dependence in a Japanese wood mouse (*Apodemus speciosus*) population. *Population Ecology* 50:159-167. (査読有)
- ⑤ 島田卓哉 (2008) 堅果とアカネズミとの関係 -タンニンに富む堅果をアカネズミが利用できるわけ-. *哺乳類科学*, 48:155-158. (査読無)
- ⑥ N. Tamura, F. Hayashi (2008) Geographic variation in walnut seed size correlates with hoarding behaviour of two rodent species. *Ecological Research* 23:607-614. (査読有)
- ⑦ T. Saitoh, J. Osawa, T. Takanishi 他7名 (2007) Effects of acorn masting on population dynamics of three forest-dwelling rodent species in Hokkaido, Japan. *Population Ecology*

49:249-256. (査読有)

- ⑧ 島田卓哉 (2007) アカネズミが有するタンニン無害化メカニズムを解明. *ブレインテックノニュース* 121:18-22. (査読無)

〔学会発表〕（計8件）

- ① 島田卓哉, 高橋明子. 種子捕食者の選択的資源利用と森林の種多様性. 第56回日本生態学会大会. 2009/3/19. 滝沢, 岩手.
- ② 西井絵里子, 島田卓哉, 齊藤隆. 野生下での野ネズミのタンニン馴化機構 -タンニン摂取量の季節変動と糞中タンナーゼ活性の関係-. 2009/3/18. 滝沢, 岩手.
- ③ T. Shimada (2008) The role of salivary proteins in countermeasuring against dietary tannins in the Japanese wood mouse *Apodemus speciosus*. 11th International Conference on Rodent Biology. 2008/7/31. Myshkin, Russia.
- ④ 島田卓哉, 田村典子. 森林性齧歯類におけるタンニン耐性の種間比較. 第55回日本生態学会大会. 2008/3/17. 福岡.
- ⑤ 西井絵里子, 島田卓哉, 齊藤隆. ミズナラ堅果に含まれる被食防御物質(タンニン)に対するアカネズミの馴化機構 -タンナーゼ産生腸内細菌活性度の季節変動-. 第55回日本生態学会大会. 2008/3/17. 福岡.
- ⑥ 中島亜美, 小池伸介, 正木隆, 島田卓哉, 梶光一. 標高によるミズナラ堅果成熟のフェノロジーの違い. 第55回日本生態学会大会. 2008/3/15. 福岡.
- ⑦ 島田卓哉. 堅果とアカネズミとの関係. 日本哺乳類学会 2007 年度大会. 2007/9/16. 府中, 東京.
- ⑧ T. Shimada, A. Takahashi, T. Saitoh, R. Osawa. Physiological and behavioral countermeasures against acorn tannins in the Japanese wood mouse *Apodemus speciosus*. 4th Asia-Pacific Conference on Chemical Ecology. 2007/9/12. つくば.

〔図書〕（計3件）

- ① T. Shimada (2009) Acorns as a resource for forest-dwelling mammals in Japan. "The wild mammals in Japan", Shokado, in press.
- ② 島田卓哉 (2008) 野ネズミと堅果との関係 -アカネズミのタンニン防御メカニズム. 「日本の哺乳類学1 小型哺乳類」, 東京大学出版. Pp. 273-297.
- ③ 島田卓哉 (2007) 野ネズミとドングリとの不思議な関係 -ドングリは本当によい餌か?. 「エコロジー講座 森の不思議を解き明かす」, 文一総合出版. Pp. 54-63.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

島田 卓哉 (SHIMADA TAKUYA)
独立行政法人森林総合研究所・東北支所・
主任研究員
研究者番号 10353723

(2) 研究分担者

田村 典子 (TAMURA NORIKO)
独立行政法人森林総合研究所・多摩森林科
学園・主任研究員
研究者番号 20222127

齋藤 隆 (SAITOH TAKASHI)
北海道大学・北方生物圏フィールド科学セ
ンター・教授
研究者番号 00183814

(2007 年度)

大澤 朗 (OSAWA RO)
神戸大学・自然科学研究科・教授
研究者番号 10253189

(2007 年度)

(3) 連携研究者

齋藤 隆 (SAITOH TAKASHI)
北海道大学・北方生物圏フィールド科学セ
ンター・教授
研究者番号 00183814

(2008 年度)

大澤 朗 (OSAWA RO)
神戸大学・自然科学研究科・教授
研究者番号 10253189

(2008 年度)