

令和元年5月30日現在

機関番号：13901

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2016～2018

課題番号：16K14940

研究課題名(和文) 齧歯類による虫害種子の選好性機構の実証：CTスキャンと揮発性成分分析を駆使して

研究課題名(英文) Experimental evidence of mechanism of rodent's preference for insect-infested seeds: by utilizing CT scanning observation and volatiles analysis of the seeds

研究代表者

梶村 恒 (KAJIMURA, Hisashi)

名古屋大学・生命農学研究科・准教授

研究者番号：10283425

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,800,000円

研究成果の概要(和文)：愛知県、鹿児島県(屋久島)で、野ネズミの生息状況や種子食昆虫(ゾウムシ類、ガ類)の加害様式を調査した。アカネズミ、ヒメネズミ等の密度、体重、繁殖時期などを、各調査地の環境特性(樹種構成、下層植生、標高等)から考察した。屋久島においては、標高と体重との関連性(高い標高ほど軽くなる)が見出された。また、内部状態を透視して定量化し、匂いも分析した種子を様々に組み合わせて野ネズミに供試し、どのカテゴリーの種子を好むのか(持ち去り率、持ち去り順位)、嫌うのか(拒否回数)を判定した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

発芽しないと思われ、無視されていた虫害種子に着目し、野ネズミに供試する実験によって、内部状態や匂いに反応した選好性の違いを見出した。野ネズミによる持ち去りのメカニズムを理解することに寄与し、森林更新の生物学的背景を問い直した。また、世界自然遺産に登録されている屋久島において、野ネズミの生息状況を標高別に初めて把握し、社会的にも興味を惹く、貴重な学術情報を得た。

研究成果の概要(英文)：In Aichi Prefecture and Kagoshima Prefecture (Yakushima Island), we investigated species composition and ecology of rodents (field mice) as well as infestation pattern of insects (weevils and moths) to seeds of broad-leaved trees.

We discussed population density, body weight and reproductive period of the mice such as *Apodemus speciosus* and *A. argenteus* based on environmental characteristics (tree flora, understory vegetation, elevation, etc.) of each study site. A specific correlation between body weight and elevation (elevation is higher, body weight is lighter) was found in Yakushima Island.

We put seeds, which were classified into some categories according to CT scanning observation and volatiles analysis, on a food station to be exposed to the mice, and recorded their behaviors of handling and transportation of the seeds. A series of food-choice tests revealed which category of the seeds the mice prefer (rate and ranking of seeds transported) and dislike (reject frequency of them).

研究分野：森林保護学

キーワード：野ネズミ 種子食昆虫 選好性 CTスキャン 揮発性成分分析

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

(1)森林が更新していくためには、種子の生産と散布がまず必要である。その過程で、様々な昆虫が種子を加害する。また、動物も捕食者になるが、野ネズミなどの齧歯類は貯食を通じて散布者としても機能する。

これまでの研究では、種子を加害する昆虫は調べても、その後、動物にどのように利用されるのかは不明であった。森林更新の真実に迫るためには、種子をめぐる昆虫と齧歯類の総合的な研究が必要であるが、国内外を問わず、稀有であった。

(2)成熟種子の加害昆虫は国内外で調べられてきたが、研究代表者らは、様々な種子生長過程で、昆虫相とその加害パターンを明らかにした。さらに、加害の程度を定量した播種実験により、発芽可能であることを実証した。一方、齧歯類による種子の捕食あるいは散布に関する研究も多いが、取り扱った種子は健全なもののみであった。つまり、虫害種子が発芽能力を有することには着目されなかった。

(3)健全種子とされているものの中に、虫害種子が含まれている可能性を、誰も指摘してこなかった。具体的には、ゾウムシ類の産卵痕は非常に小さく、卵や弱齢幼虫の段階では、見落とされている恐れがある。

さらに、産卵痕に気が付いても、内部の状態は切開して確認するしかなかった。例えば、幼虫の有無、その数やサイズ、摂食量(種子の残量)がわからないまま、動物に供試して選好性を類推するしかなかった。

このような内部状態の定量化の問題に加えて、動物の反応に重要な匂いのデータも、虫害種子については皆無であった。

(4)研究代表者らは、虫害種子を用いた独自の供試実験を考案し、事前に内部状態を正確に把握する手法(マイクロフォーカスX線CT装置を用いたスキャン)の確立にも世界で初めて取り組み始めた。

### 2. 研究の目的

(1)昆虫に加害された種子には、健全種子と区別が付きにくいものがある。虫害種子と認識できる場合も、その程度によっては発芽できることが明らかになっており、実は森林の更新を考える上で無視できない存在である。最近、虫害種子を入念にチェックし、野ネズミ等の齧歯類による捕食あるいは散布の真相を解明する試みが始まっている。その際にブラックボックスとなっているのは、種子の内部状態と匂いである。

(2)本研究では、CTスキャンによる非破壊的解析とガスクロマトグラフ質量分析計(GC/MS)による揮発性成分分析を虫害種子に初めて採用し、その実態を踏まえた供試実験を行い、持ち去り様式を解明する。本研究は、これまでの経験と技術を融合・深化させようとして着想したものであり、森林更新に関与する生物間相互作用の新たなフロンティアを開拓する。

### 3. 研究の方法

(1)調査地の環境特性 愛知県ではミズナラやクリなど、鹿児島県(屋久島)ではマテバシイやスタジイなどを対象とする。対象樹種を含む林分を固定プロットとし、樹種構成や樹冠開放(ギャップ)の程度などを確認する。ササ等の下層植生についても被度等を算出する。また、標高、傾斜や水系分布の情報も収集する。

(2)野ネズミの生息状況 各プロットに一定間隔で金属製箱ワナ(シャーマントラップ)を仕掛ける。野ネズミが捕獲できた場合、種、性別、体重、繁殖サイン等を記録する。指切り法によって個体識別して放逐し、野ネズミの密度や行動圏を推定する。これらの生活史形質を、各プロットの環境特性を考慮して吟味する。

(3)種子食昆虫の加害様式・CTスキャン解析 調査地内で各樹種の対象木を選定し、種子トラップをそれぞれの樹冠下に設置する。定期的に巡回し、落下時期に種子を回収する。まず外観から、とくにゾウムシ類の微小な産卵痕の有無に注意して類別する。重さやサイズも計測する。そして、マイクロフォーカスX線CT装置でスキャンし、撮影する。撮影後、3D画像展示ソフトで立体視し、幼虫の数やサイズ(体長、体幅)、摂食部(空隙)の体積を定量化する。

(4)種子の揮発成分分析 (3)の種子の揮発成分を検出するために、それぞれの種子をバイアル瓶に入れて一晩室温に放置後、固相マイクロ抽出でヘッドスペースガスを30分ずつサンプリングし、ガスクロマトグラフ質量分析計(GC/MS)で測定する。

(5)種子の供試実験 (3)と(4)の情報に基づき、種子を「真の健全」、「ゾウムシ類の加害」、「ガ類の加害」に分類し、虫害種子については内部状態と揮発性成分も考慮して細分する。すべての種子に識別番号を付す。これらの種子を様々な組み合わせで餌台に並べ、林床に静置す

る。(2)の結果を参考にして、野ネズミの生息密度が高い場所で実験する。なお、大型動物を侵入させないように、野ネズミが通れる程度の金属製カゴを餌台に装着する。自動撮影カメラ・ビデオを餌台の近くに配備する。

一晩後に持ち去り状況を確認し、野ネズミがどのカテゴリーの種子を好むのか(持ち去り率、持ち去り順位)を判定する。また、各種子について、ネズミに持ち去られるまでに他の種子と嗅ぎ比べられて拒否(reject)された回数も記録する。この reject 回数は、餌台上の種子の配置の影響をなるべく小さくして、ネズミの選好性を逆説的に評価するために用いる。すなわち、reject 回数が少ない種子ほど選好性が高いと定義できる。

#### 4. 研究成果

(1)愛知県ではアカネズミ、ヒメネズミ、スミスネズミ等が捕獲された。生息状況を、林地と草地で比較した。また、下層植生については、ササ類の一斉開花・結実・枯死現象に着目し、野ネズミの個体群動態や生活様式に与える影響を検討した。鹿児島県(屋久島)ではアカネズミ、ヒメネズミが生息していた。とくに、標高について、体重との関連性(高い標高ほど軽くなる)が見出された。

(2)虫害種子についてはク리를中心に扱い、切開して内部状態を確認するとともに、幼虫の飼育を試み、羽化成虫を同定した。同様の調査を、林外の孤立木でも実施し、種子の落下消長・生産パターンや種子食昆虫の種構成・加害頻度の季節的変遷などについて、林内木の結果と比較考察した。

(3)種子の供試実験もク리를を用いて行い、野ネズミは(1)で捕獲個体数が多く、餌台にも頻繁に現れたアカネズミとヒメネズミをデータ解析の対象とした。

「健全」と「幼虫入り」(ゾウムシ類もしくはガ類の産卵孔の有無で分類した。昆虫種の違いを考慮していない)を組み合わせた場合、持ち去り率に有意差は無かったが、持ち去り順序は「幼虫入り」が遅い傾向にあった。「幼虫入り」と「脱出済み」(同様に、ゾウムシ類もしくはガ類の脱出孔の有無で分類した。)の組み合わせでも、持ち去り率に有意差は無かった。一方で、持ち去り順序は「幼虫入り」が逆に早い傾向にあった。したがって、選好性は、「健全」>「幼虫入り」>「脱出済み」と考えられた。

(4)供試するクリ種子を、幼虫の有無(「幼虫入り」・「脱出済み」)×昆虫種(ゾウムシ類・ガ類)の4つのカテゴリーに分別した。また、CT スキャンすることによって、虫害パラメーター(幼虫の個体数・バイオマス、幼虫による子葉の摂食率)を供試前に定量化した。さらに、「交互配置」(どの方向からネズミが餌台に来て、全カテゴリーの種子を選択できる)によって、幼虫の有無と昆虫種に対する選好性を、「グループ配置」によって、「幼虫入り」の中の虫害パラメーターに対する選好性を検証した。

どちらの配置でも、種子までの距離と持ち去り順序に高い正の相関があり、近くの種子ほど先に持ち去ることが示唆された。「交互配置」では、幼虫の有無は選好性に影響を与えなかったが、昆虫種が reject 回数に有意に影響し、選好性はゾウムシ類>ガ類であった。「グループ配置」では、幼虫の個体数・バイオマスは選好性に影響を与えなかったが、幼虫による子葉の摂食率が reject 回数に有意に影響し、摂食率が低い種子が選好された。

(5)虫害クリ種子の揮発性物質を分析した結果、セスキテルペン類のいくつかが多く検出された種子(T)、Bonerol が検出された種子(B)、セスキテルペン類・Bonerol とともに検出されない(健全とほぼ同じ)種子(S)の3種類が存在した。

これらの虫害種子に対するネズミの reject 回数は、種子(T)>種子(S)・種子(B)の傾向だった。また、種子(S)、種子(B)、種子(T)の3種類を嗅ぎ比べた4回の供試のうち、種子(B)を1回、種子(S)を3回、持ち去った。種子(S)がすべて持ち去られて種子(T)と種子(B)のみが残っていた場合は、種子(B)を持ち去った。つまり、種子(T)は、種子(S)や種子(B)と嗅ぎ比べられた後、一度も持ち去られなかった。本実験の結果から、虫害種子の揮発性物質(匂い)はネズミの種子選択の cue であり、ネズミはセスキテルペン類が多く出ている(健全度が低く、摂食率が高い)種子を避けているものと推察された。

#### 5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計0件)

[学会発表](計9件)

鈴木華実, 梶村 恒, スズタケ一斉結実・枯死地における林床植生の更新と哺乳類・地上性節足動物の生息状況、第66回日本生態学会大会、2019年

福永宏紀, 柏木晴香, 肥後悠馬, 梶村 恒, 野ネズミの長期動態と生態への影響、公開シンポジウム「120年ぶりの森の一大イベント 笹の一斉開花で森はどうなる?」(招待講演) 2018年

肥後悠馬, 三浦 光, 梶村 恒, 屋久島の亜熱帯から森林限界における野ネズミの垂直分布

と生態適応、第 65 回日本生態学会大会、2018 年  
鶴岡建汰, 神保宇嗣, 梶村 恒、森林の断片化がクワリの堅果生産とその利用昆虫相に与える影響、2017 年度生態学会中部地区大会、2017 年  
鶴岡建汰, 梶村 恒、クワリ堅果における内部状態と利用昆虫類の変遷 -孤立木と林内木での比較-、第 128 回日本森林学会大会、2017 年  
肥後悠馬, 三浦 光, 梶村 恒、森林性野ネズミの生態と生息地の標高は関係しているのか? -屋久島原生林における検証-、第 64 回日本生態学会大会、2017 年  
清水 奎, 柏木晴香, 梶村 恒、林地と草地の境界部における野ネズミのハビタット利用、第 64 回日本生態学会大会、2017 年  
柏木晴香, 市原 優, 木下峻一, 佐々木理, 梶村 恒、森林性ネズミの虫害堅果選択メカニズムを検証する -GC/MS と CT スキャンを駆使した供試実験-、第 64 回日本生態学会大会、2017 年  
柏木晴香, 梶村 恒、森林性ネズミの虫害堅果選好性 -堅果の内部状態に対する反応を探る-、日本哺乳類学会 2016 年度大会 (招待講演)、2016 年

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

取得状況 (計 0 件)

〔その他〕

ホームページ等

該当なし

## 6. 研究組織

(1) 研究分担者

該当なし

(2) 研究協力者

研究協力者氏名：柏木 晴香

□ーマ字氏名：(KASHIWAGI, haruka)

研究協力者氏名：木下 峻一

□ーマ字氏名：(KINOSHITA, shun ' ichi)

研究協力者氏名：佐々木 理

□ーマ字氏名：(SASAKI, osamu)

研究協力者氏名：市原 優

□ーマ字氏名：(ICHIHARA, yu)

研究協力者氏名：神保 宇嗣

□ーマ字氏名：(JINBO, utsugi)

研究協力者氏名：肥後 悠馬

□ーマ字氏名：(HIGO, yu ' uma)

研究協力者氏名：鶴岡 建汰

□ーマ字氏名：(TSURUOKA, kenta)

研究協力者氏名：清水 奎

□ーマ字氏名：(SHIMIZU, kei)

研究協力者氏名：福永 宏紀

□ーマ字氏名：(FUKUNAGA, hiroki)

研究協力者氏名：鈴木 華実

□ーマ字氏名：(SUZUKI, hanami)

研究協力者氏名：三浦 光

□ーマ字氏名：(MIURA, hikaru)

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。