

令和 4 年 6 月 21 日現在

機関番号：13201

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2021

課題番号：18K06413

研究課題名(和文) タマセンチュウとマルハナバチの関係を解き明かす：行動操作から間接種間相互作用まで

研究課題名(英文) Relationships between the Sphaerularia nematodes and Bumble bees: from host manipulation to indirect interactions within communities.

研究代表者

石井 博 (Ishii, Hiroshi)

富山大学・学術研究部理学系・教授

研究者番号：90463885

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：マルハナバチタマセンチュウとマルハナバチの関係を理解するため、感染女王の行動を追跡し、マルハナバチタマセンチュウの集団遺伝構造を解析した。その結果、以下のことが明らかになった。(1) マルハナバチタマセンチュウには複数の隠蔽種が存在する。(2) 隠蔽種それぞれには、明確な寄主特異性は存在しない。(3) 宿主種間の感染は起きているが、その頻度は非常に低い。(4) 外来系統のタマセンチュウは日本に侵入していない。(5) タマセンチュウの感染によって宿主の移動分散が抑制されている。

研究成果の学術的意義や社会的意義

今回の研究から、マルハナバチタマセンチュウには隠蔽種が存在すること、その隠蔽種には寄主特異性はないこと、マルハナバチ種間での感染の頻度は低く抑えられていること、外来系統のタマセンチュウは日本に侵入していないと思われることなどが示された。また、タマセンチュウが、宿主の移動分散を抑制していることを支持する結果を、初めて提示することができた。マルハナバチという、生態系のキーストーン種と呼べるほどに重要な送粉者の寄生虫であるにも関わらず、研究例が非常に少ないマルハナバチタマセンチュウの生態に、新たな知見を加えることができたと考えている。

研究成果の概要(英文)：Sphaerularia bombi Dufour is a major parasite of bumble bee queens that manipulates its host's behavior: parasitized queens do not breed and found nests but continue to fly into the early summer months. To understand the relationships between Sphaerularia nematodes and their host, Bumble bees, we observed the behavior of the parasitized queens of bumble bees and analyzed metapopulation genetic structure of both the hosts and the parasites. Our major findings are as follows. (1) Sphaerularia nematodes contains several cryptic species. (2) Host-specificity of each cryptic species would be very low. (3) Cross-species parasite transmission between host species likely have occurred but its frequency would be very small. (4) exotic lineages of the nematodes would not have invaded in Japan. (5) Dispersal of Bumble bee queens would highly be restricted by host manipulation by Sphaerularia nematodes.

研究分野：生態学

キーワード：寄生生物 宿主操作 マルハナバチタマセンチュウ マルハナバチ 行動 群集

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

マルハナバチタマセンチュウ (*Sphaerularia bombi*) は、マルハナバチ (*Bombus* sp.) の女王バチに感染し、その行動を操作する内部寄生虫である。マルハナバチタマセンチュウが多くのマルハナバチ種に感染していること、宿主の行動を大きく改変すること、地域によっては感染率が非常に高くなること、そしてマルハナバチが冷涼な気候帯ではキーストーン種と呼べるほどに重要な送粉動物であること等を踏まえると、この寄生虫が生態系に与える影響は大きいと予想される。しかし、この寄生虫に関する生態学的な研究はほとんど行われおらず、非常に限られた知見しかないのが現状である。

2. 研究の目的

本研究の目的は、マルハナバチタマセンチュウが、宿主であるマルハナバチ女王の行動や、マルハナバチを取り巻く種間相互作用に与える影響を明らかにすることである。

3. 研究の方法

(1) 宿主であるマルハナバチと寄生者であるタマセンチュウの集団遺伝構造の解析：タマセンチュウには隠蔽種がいるのか、マルハナバチタマセンチュウによる感染はどのように空間伝播するのか、外来系統のマルハナバチタマセンチュウの侵入は起きているのか、などの諸問題に答えるため、北海道、富山県、イギリス、アイルランド、オランダの各地で捕獲されたマルハナバチとタマセンチュウの、集団遺伝構造を解析した。マルハナバチの遺伝マーカーにはマイクロサテライト領域 8 座を用い、タマセンチュウの遺伝マーカーにはミトコンドリア遺伝子のシトクロム c オキシダーゼサブユニット I (Cytochrome C Oxidase subunit: C01) 領域 (417bp) と核遺伝子 18SrRNA ~ 28SrRNA 領域 (ITS1、2 領域含む約 1600bp) を用いた。

(2) 感染女王の行動追跡：データに基づいた証拠は報告されていないが、タマセンチュウは宿主 (ここではマルハナバチ女王) の移動分散を強く抑制すると言われている。本研究では、タマセンチュウが宿主の移動分散を (どの程度) 抑制しているのか、という疑問に答えるため、感染女王の行動範囲を調査した。感染率が高い地域で女王バチを捕獲し、捕獲場所を記録した後マーキングをしてから放逐した。数日間に渡って周囲を探索し、同じ個体が再観察された場合は観察された場所を記録した。

4. 研究成果

(1) 宿主であるマルハナバチと寄生者であるタマセンチュウの集団遺伝構造の解析

図 1 はタマセンチュウのミトコンドリア遺伝子 C01 領域 (417bp) の塩基配列を元に作成したハプロタイプネットワークである。本研究では 32 種類のハプロタイプが検出された。ここでは、その類似度に基づいて 9 つのハプログループ (HapA ~ J) に分けた。このうち、HapA ~ F のハプログループは日本のタマセンチュウのみから、HapG ~ J のハプログループはヨーロッパのタマセンチュウのみから検出された。つまり、日本とヨーロッパから同じハプログループのタマセンチュウが検出されることはなかった。日本で検出されたハプログループのうち、HapB と HapF は富山のみから、HapD は北海道のみから検出された。HapA、HapC、HapE は富山と北海道、両地域から検出されたが、HapE を除き、ハプログループ内では異なるハプロタイプとして検出される傾向が見られた。ヨーロッパから検出されたハプログループに関しては、HapG と HapH は、アイルランド (Dublin)、イギリス (Windsor)、オランダ (Keukenhof、Wageningen) すべての地域から検出された。ただし、検出数が少なかった HapJ はオランダのみから検出された。

図 2 は、採取地域ごと宿主種ごとに、タマセンチュウのミトコンドリア C01 遺伝子ハプロタイプの組成を示したものである (ヨーロッパのデータは紙面の都合上割愛)。富山のトラマルハナバチ、コマルハナバチ、オオマルハナバチ、北海道のセイヨウオオマルハナバチ、オランダの *B. pascuorum*、*B. terrestris* (セイヨウオオマルハナバチ) は複数の地域で多くのタマセンチュウに感染していたが、これらを宿主種とするタマセンチュウの地域集団を比較すると、地域集団間でハプロタイプの組成が大きく異なっていることが見て取れた。ハプロタイプの組成の違いを元に、集団間の遺伝的分化度の指標である $Jost's D$ と Weir & Cockerham's F_{st} を算出したところ、多くの地域間で、集団間の遺伝的分化度が大きいことを示す、比較的大きな値が得られた。そして、それらの 95% 信頼区間がゼロを含んでいない場合が多かった。一方、富山の立山と嘉例沢、オランダの Keukenhof と Wageningen では、同地域内で複数の宿主種から多くのタマセンチュウが得られたが、これらの地域内で、宿主の異なるタマセンチュウ集団を比較すると、多くの場合、ハプロタイプの組成が大きく異なっていることが見て取れた。こうした同じ地域内の異なる宿主種のハプロタイプの組成の違いを元に $Jost's D$ と Weir & Cockerham's F_{st} を算出したところ、宿主種が異なるタマセンチュウ集団間で、これらの値が大きな値となる場合が多かった。そして、それらの 95% 信頼区間がゼロを含んでいない場合が多かった。この結果は、同じ地域内であっても、宿主種の異なるタマセンチュウ集団間の遺伝的分化度が大きいことを示

唆している。

図3は、タマセンチュウのミトコンドリア C01 遺伝子の系統樹と核遺伝子 18SrRNA ~ 28SrRNA 領域の系統樹を、それぞれの系統樹の葉 (leaf) となる遺伝子型が検出されたタマセンチュウ個体で結び付けた図である

図4は、マルハナバチのマイクロサテライト 8 遺伝子座に存在する対立遺伝子の有無を主成分分析にかけた結果である。いわば、各個体の遺伝子型類似度を視覚化したものと言える。各点の分布が地域集団間で重なっていることから、地域集団間が遺伝的に分化していないことが伺える。マイクロサテライト 8 遺伝子座の対立遺伝子頻度を元に、各地域集団間の遺伝的距離の指標である Jost ' s D と Weir & Cockerham ' s Fst を算出したところ、比較したすべての地域集団間で、どのマルハナバチ種でも、0 (ゼロ) に近い値が得られた。これは、地域集団間で遺伝的交流の程度が高く、遺伝的にほとんど分化していないことを示す結果と言える。

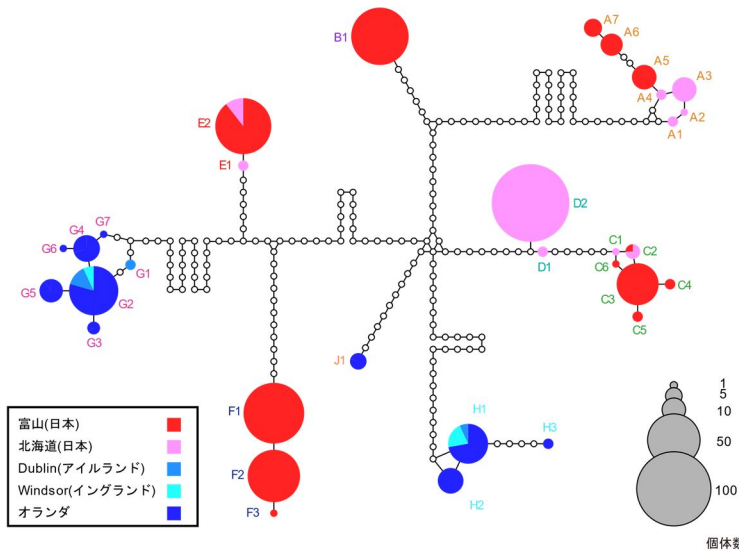


図1 タマセンチュウのミトコンドリア C01 遺伝子ハプロタイプネットワーク。色のついた円が今回検出されたハプロタイプを、色のない小さな円は今回検出されたハプロタイプ間をつなぐ架空のハプロタイプを表す。E1 と E2 のように隣接するハプロタイプはミトコンドリア C01 遺伝子領域が 1 塩基だけ異なることを意味している。従って、ネットワーク上で位置の離れたところに描かれているハプロタイプほど遺伝的に異なっていると言える。円の大きさは当該ハプロタイプの出現個体数を、色の違いは各個体が検出された大まかな採取地域を表している。

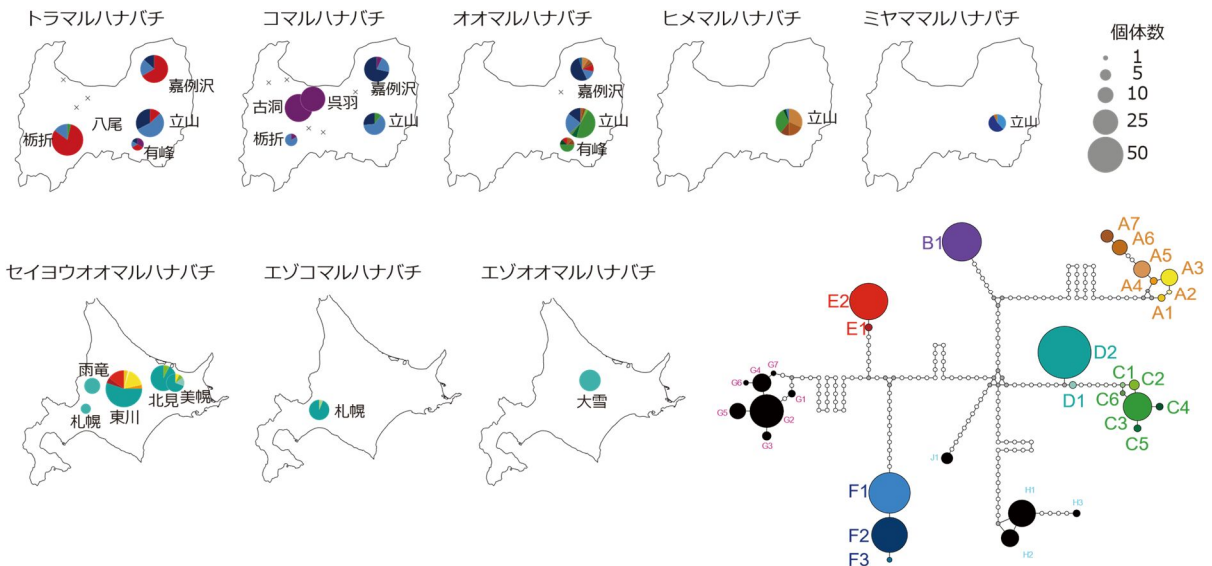


図2 日本のタマセンチュウにおける C01 遺伝子ハプロタイプの分布。得られたタマセンチュウのハプロタイプをマルハナバチ種ごとに分けて、分布を示した。色の違いはハプロタイプの種類を、円の大きさは当該ハプロタイプの出現個体数を表している。x は女王の採取をしたにも関わらず感染が確認されなかった地域を表す。

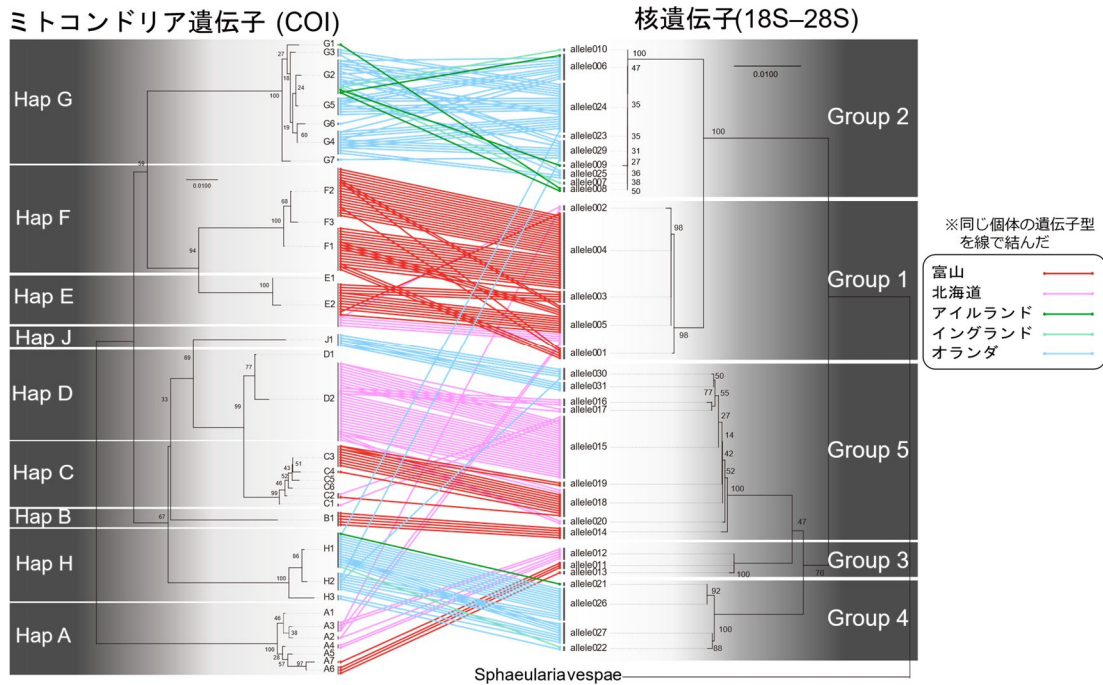


図3 タマセンチュウのミトコンドリア COI 遺伝子、および核遺伝子 18SrRNA~28SrRNA 領域の系統樹、およびその対応関係。同じタマセンチュウ個体から得られたミトコンドリア遺伝子と核遺伝子の型を線で結んだ。1本の線がタマセンチュウ1個体を、線の色はそのタマセンチュウが得られた地域を表している。ただし、核遺伝子がヘテロ接合のため、1個体から2種類の核遺伝子型が検出された場合に限り、タマセンチュウ1個体に対して2本の線を描いた。

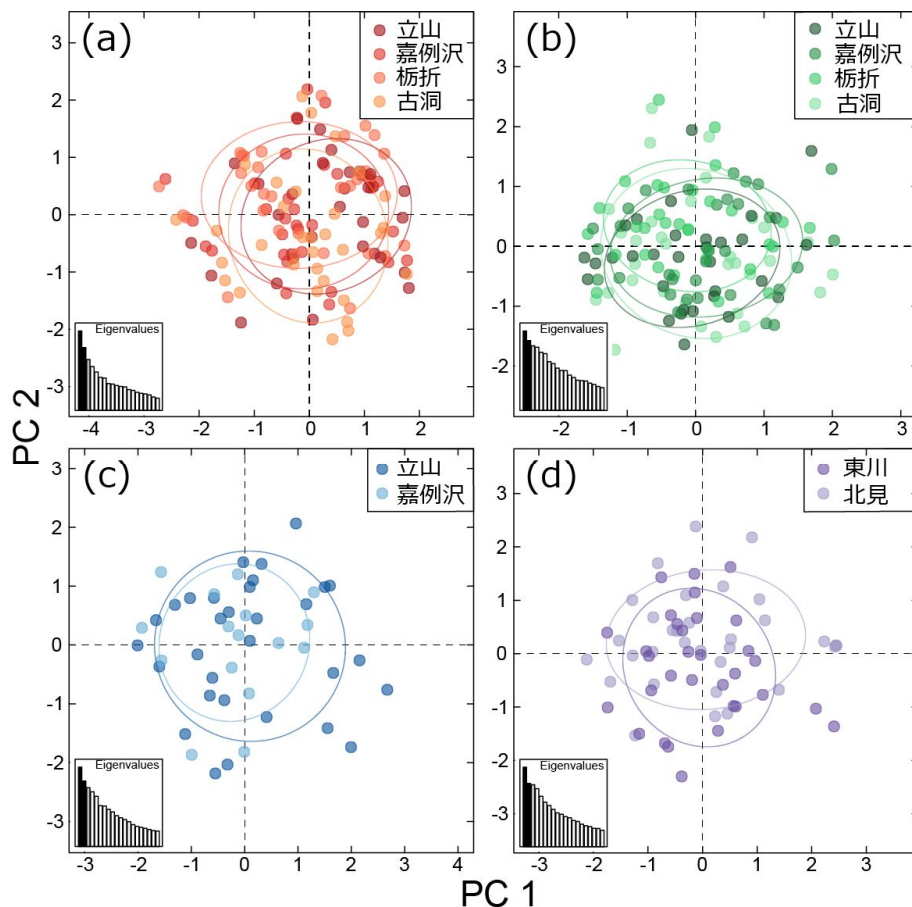


図4 マルハナバチのマイクロサテライト 8 遺伝子座の主成分分析結果。(a) トラマルハナバチ、(b) コマルハナバチ、(c) オオマルハナバチ、(d) セイヨウオオマルハナバチ。各個体の遺伝的類似度を、マイクロサテライト 8 遺伝子座に存在するそれぞれの対立遺伝子の有無をもとに、視覚化したもの。1点 that 1 個体を表す。左下のグラフは固有値を表している。各点の分布が地域集団間で重なっていることから、地域集団間が遺伝的に分化していないことがわかる。

上記、図 1-3 の結果は、異なるハプログループ間、または異なる小クレードに属するタマセンチュウの間に生殖隔離が存在することを示唆している。つまり、これらが事実上の隠蔽種とみなせることを意味している。また、図 2-3 の結果は、タマセンチュウの各隠蔽種に、明確な寄主特

異性はないことを示していると同時に、宿主種間の感染が、いくらかは起きていることを示している。ただし、同じ地域内であっても宿主種の異なるタマセンチュウ集団間の、遺伝的交流の程度は低いことも伺えたため、宿主種間の感染は起きているが、その頻度は非常に低いことが推察された。セイヨウオオマルハナバチ（日本とヨーロッパで採取）に感染していたタマセンチュウを含め、日本とヨーロッパで採取されたタマセンチュウから、同じハプログループや、同じ核遺伝子の配列が検出されることはなかったことから、北海道のセイヨウオオマルハナバチに感染していたタマセンチュウは、在来マルハナバチ種からの種間感染によるものであることを示唆している。従って、外来系統のタマセンチュウは日本に侵入していないと推察された。図4の結果は、マルハナバチ女王の移動分散が活発に行われていることを示している。それにも関わらず、図2が示すように、数十 km 離れた地域のタマセンチュウ集団間は、同じ宿主種であっても、遺伝的な交流がほとんど起きていない。このことは、タマセンチュウの感染によって宿主の移動分散が抑制されていることを示している。

(2) 感染女王の行動追跡

地表付近を飛行中（または地表を徘徊中）の感染女王を捕獲し、マーキングをして再放逐することで、感染女王がどの程度の空間スケールで移動・拡散しているのかを調査した。調査は富山県嘉例沢（トラマルハナバチ）の感染女王個体群を対象に行った。まず、捕獲エリア（約 80 × 180m の範囲）で捕獲した個体を、捕獲エリアと、そこから 200m 離れた地点で放逐した。その結果、どちらの場所で放逐した個体も同程度の割合（約 48%）で、捕獲エリア内で再確認された。また捕獲した個体は、一ヶ所に集めてから放逐されたにも関わらず、放逐の翌日以降も、各個体の捕獲場所から比較的近い場所で再確認される傾向があった。一般に、営巣前のマルハナバチ女王の移動分散能力は、非常に高いと言われる。従って、感染個体が捕獲した場所の近くで再度捕獲される傾向があるという事実は、マルハナバチタマセンチュウによって、彼らの移動分散が、数十-数百 m の空間スケールまで抑制されていることを示唆するものと言える。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Tsujiimoto SG, Ishii HS	4. 巻 in press
2. 論文標題 Alternative flowers affect model and mimic flower discrimination performance of bumble bees.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Functional Ecology	6. 最初と最後の頁 1-11
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/1365-2435.13817	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Ishii Hiroshi S, Kubota Masahiro X, Tsujimoto Shohei G, Kudo Gaku	4. 巻 123
2. 論文標題 Association between community assemblage of flower colours and pollinator fauna: a comparison between Japanese and New Zealand alpine plant communities	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Annals of Botany	6. 最初と最後の頁 533 ~ 541
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1093/aob/mcy188	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 田村誠也, 甲山哲生, 辻本翔平, 酒徳昭宏, 石井博
2. 発表標題 タマセンチュウの遺伝構造から探る、宿主<マルハナバチ女王>の移動分散抑制の証拠
3. 学会等名 日本生態学会第68回全国大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 石井博, 辻本翔平, 丑丸敦史, 工藤岳
2. 発表標題 訪花者群集の組成に応じた、植物群集の花形質組成
3. 学会等名 日本生態学会第67回全国大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 大杉嗣弘, 石井博, 丑丸敦, 辻本翔平
2. 発表標題 UVA反射がハエ目とハチ目訪花者の色選好性に与える影響: パントラップを用いた実験
3. 学会等名 日本生態学会第69回全国大会
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 石井博	4. 発行年 2020年
2. 出版社 ベレ出版	5. 総ページ数 290
3. 書名 花と昆虫のしたたかで素敵な関係 受粉にまつわる生態学	

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------