

令和 6 年 9 月 17 日現在

機関番号：82101

研究種目：基盤研究(A)（一般）

研究期間：2020～2022

課題番号：20H00425

研究課題名（和文）ハナバチ保全のための新興疾病の統合的リスク評価

研究課題名（英文）Emerging infectious diseases of bees in Japan: integrated risk assessment for conservation

研究代表者

坂本 佳子（Sakamoto, Yoshiko）

国立研究開発法人国立環境研究所・生物多様性領域・主任研究員

研究者番号：80714196

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 28,100,000円

研究成果の概要（和文）：どのような環境でハナバチが農薬にばく露するのか、また農薬ばく露が病原体の寄生/感染状況に及ぼす影響、および両者がハナバチの健康およびその後の生存に及ぼす影響の一連を評価するために、ニホンミツバチ飼養群を用いた大規模調査を実施した。また、様々なハナバチ種における病原体の保有状況を明らかにした。さらに、免疫にかかわるとされる腸内細菌に農薬が及ぼす影響を評価するために、ミツバチ2種を用いて投与実験を行った。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は、さまざまな面からハナバチの疾病発症リスクを評価したものである。なかでも、ニホンミツバチ飼養群を用いた大規模調査は、環境や他の要因を絡めて、病原体がハナバチの健康と生存に及ぼす影響を、操作実験ではなく、野外で観測したデータに基づいて検証するという世界でもはじめての試みとなった。本成果の一部はNature communicationsに掲載予定となり、行政に対し、ハナバチの保全に向けた具体的な提案の根拠として活用する所存である。

研究成果の概要（英文）：We conducted a large-scale survey using Japanese honey bee colonies across Japan to evaluate under which land uses bees are exposed to pesticides, the impact of pesticide exposure on pathogen infection and infestation, and the effects of pesticide and pathogen on honey bee health and subsequent survival. Additionally, we clarified the pathogen status in various bee species. Furthermore, we performed administration experiments using two honey bee species to assess the effects of pesticides on gut microbiota involved in immunity.

研究分野：保全生態学

キーワード：農薬 病原体 ミツバチ 市民科学

様式 C-19、F-19-1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

生物多様性及び生態系サービスに関する政府間科学-政策プラットフォーム (IPBES) の送粉者へのアセスメントレポートでは、ハナバチを絶滅させる重大な脅威として「病原生物」を取り上げ、農業資材として利用されているセイヨウミツバチの大規模な移動が、病原生物の宿主拡大をもたらし、飼養ハナバチおよび野生ハナバチの両方において疾病リスクを上昇させていることに言及している (IPBES 2016)。

疾病リスクを増大させる要因として注目されるのが「農薬の使用」である。ミツバチをはじめとする様々な生物群で疾病の流行と農薬使用量の間に関連があることや (Mason et al. 2012)、農薬曝露により病原生物の感染率が上がることなどが報告されており (Pettis et al. 2012)、死亡に至らない比較的低濃度の農薬曝露であっても、免疫機能の低下を誘導し、疾病の発症リスクを増大させている可能性が示されている。殊にハナバチは花粉や花蜜をエネルギー源とするため、低濃度の残留農薬を慢性的に曝露するリスクが高い。

2. 研究の目的

本研究では、ハナバチ減少の脅威となる新興疾病の発生と拡大を未然に防ぐことを目的とする。そのためにハナバチ全体に潜在する病原生物の分布を網羅的に把握するとともに、どのような環境において、発症・重症化に寄与する農薬にばく露されているかを明らかにする。

3. 研究の方法

3-1. 野生ハナバチにおけるウイルス保有実態

国内の野生ハナバチ類の病原ウイルス保有実態を明らかにするため、1都8県にて採取された13属22種のハナバチ類計155検体を用いて Acute bee paralysis virus (ABPV), *Apis mellifera* filamentous virus (AmFV), Black queen cell virus (BQCV), Chronic bee paralysis virus (CBPV), Deformed wing virus (DWV), Israeli acute paralysis virus (IAPV), Kashmir bee virus (KBV), Lake Sinai virus (LSV) group 1-5, Sacbrood virus (SBV), *Varroa destructor* virus (VDV) -1 の計10ウイルスのコピー数を、蛍光プローブを用いた定量的逆転写PCR (RNAウイルス) および定量的PCR (DNAウイルス) により定量した。なお、抽出した核酸量が少なかつたため、図1Aに示すように各ウイルスについてすべての検体を調査することはできなかった。

3-2. 周辺環境がミツバチの農薬ばく露に与える包括的影響評価

ハナバチの農薬ばく露は、採餌する周囲の環境に依存すると考えられる。本研究では、トウヨウミツバチの日本固有亜種であるニホンミツバチ (*Apis cerana japonica*) を対象に、様々な土地利用区分における農薬ばく露を評価した。市民参加型のプロジェクトを通じて、日本全国の175のミツバチコロニーから採取した蜂蜜と巣板に残留する農薬濃度を測定し、各コロニー周辺の土地利用との関係を定量的に分析した。

4. 研究成果

4-1. 野生ハナバチにおけるウイルス保有実態

ABPV と KBV を除く 8 ウイルス種が検出された (図 1B). 中でも, DWV (46.5%), BQCV (41.9%), AmFV (23.9%), CBPV (19.1%), LSV1-5 (15.8%) の検出率が高く, 次いで SBV (4.5%), VDV-1 (3.9%), IAPV (3.1%) の順であった (図 1B). これは国内のセイヨウミツバチとニホンミツバチの病原ウイルス保有実態を調査した先行研究 (Kojima et al. 2011; Kitamura et al. 2021) と類似しているが, 本研究により国内野生ハナバチ類が AmFV, CBPV, LSV1-5 を高頻度に保有していることが明らかとなった. 各ウイルスごとに定量されたコピー数の平均値を見てみると, 全体としてのコピー数の平均値には大きな差は見られなかったが (図 2A), 検出されたサンプルだけで比較すると LSV1-5, AmFV, SBV, BQCV, DWV, CBPV, IAPV, VDV-1 の順で高いことが分かった (図 2B). つまり, ウイルス種ごとに感染率が低くても感染しているコピー数は多い, またはその逆もあることが分かった. これは各ウイルスの生態的な差異や, ウイルス間同士の相互作用が関係している可能性がある.

また, ハナバチ属ごとに見てみると (図 3), *Bombus* 属からは 8 種類と最も多くのウイルスが検出され, 次いで *Apis* 属および *Eucera* 属からは 6 種, *Megachile* 属および *Nomada* 属から 4 種, *Andrena* 属から 3 種, *Osmia* 属から 2 種, *Nomia* 属から 1 種のウイルスが検出された. 一方で, コピー数に関しては, 同一ウイルス種でもハナバチ種により多少の差が見られ, 宿主種により保有しやすいウイルス種が異なる可能性がある.

各ウイルス同士の感染が互いに関連しているか否かを探るため, 本研究で対象にした計 10 種のウイルスすべてに関して定量 PCR を行うことができた 76 検体 (*Andrena* 属 1 種, *Apis* 属 1 種, *Bombus* 属 2 種, *Eucera* 属 2 種, *Lasioglossum* 属 1 種, *Megachile* 属 1 種, *Nomada* 属 1 種, *Osmia* 属 1 種, および *Xylocopa* 属 1 種) における各ウイルスの在 (検出)・不在 (非検出) データを用いて共起パターンを調査した. その結果, 計 10 個のウイルス間で有意な正の関連性が見られた. 特に, SBV は AmFV, BQCV, CBPV および LSV1-5 の 4 種と有意な共起パターンが見られた. 本結果は各ウイルス同士が互いの感染を実際に促進しているか否かを示唆できるものではないが, 今後, 感染の相乗効果の可能性を明らかにするために特に注視すべきウイルス種のパターンを明らかにできた.

本研究により, これまで注視されていたセイヨウミツバチだけでなく, 国内に生息する多くのハナバチ類が多く病原ウイルスを保有することが明らかとなった. 様々な植物の花粉や花蜜を採取するハナバチ類において, これまで考えられていた以上に訪花行動によるウイルス伝播が生じている可能性がある. しかし, 各ハナバチ類において, 病原ウイルスを体内で増幅させる生物学的ベクターなのか, それともウイルスの活発な複製を行わずに感染を促進する機械的ベクターなのかの検証が必要であると考えている.

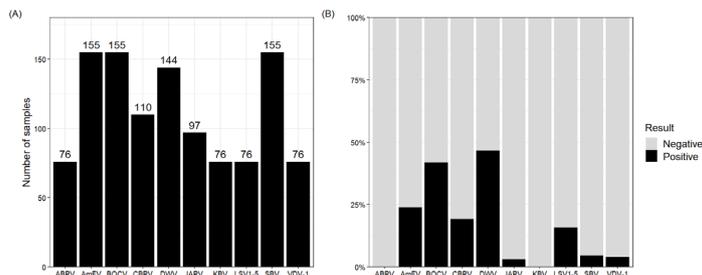


図 1. 各ミツバチ病原ウイルスに関して, 全 155 ハナバチ検体の中で qPCR を実施した検体数を示す棒グラフ (A) および検出率を示す棒グラフ (B)

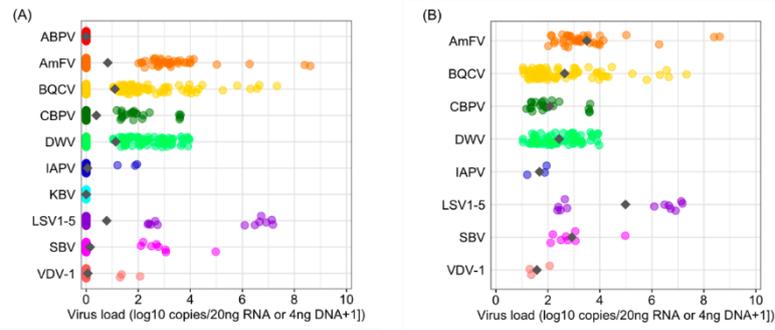


図 2. 全検体 (A) および各ウイルスが検出されたサンプルのみにおける (B) ウイルスの検出コピー数のプロット図. 図中の黒色ひし形プロットは平均値を示す

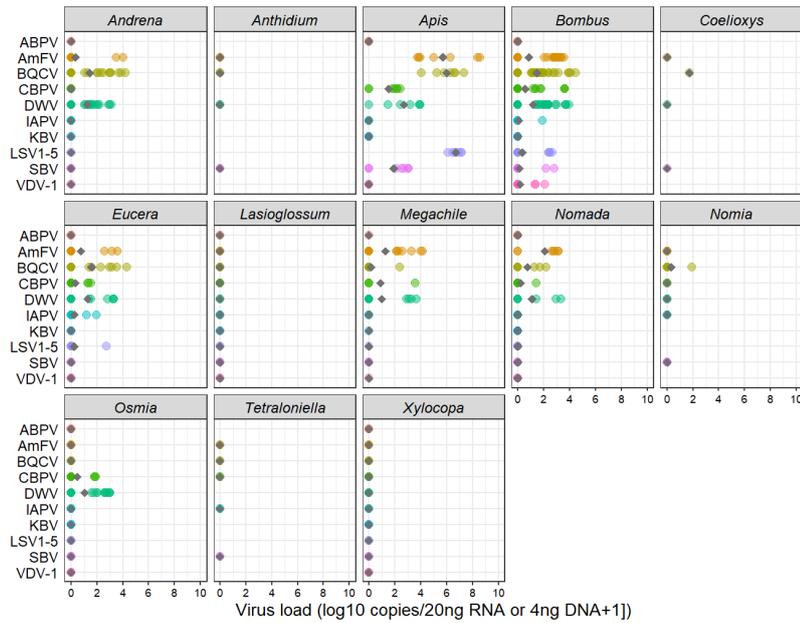


図 3. ハナバチ種ごとの病原ウイルスのコピー数のプロット図. 図中の黒色ひし形プロットは平均値を示す.

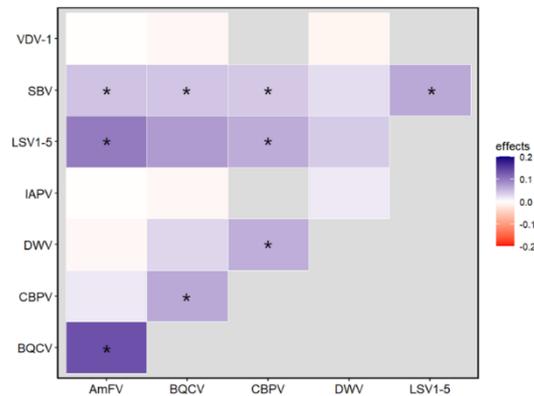


図 4. 10 ウイルス種すべてについて定量 PCR を行った 76 検体のウイルスの在・不在データをもとにした共起マトリックス. 共起確率モデルにより, いくつかの病原体のペアが偶然に予想される頻度よりも高い頻度, あるいは偶然に予想される頻度よりも低い頻度で共起することが観察された (黒色アスタリスクは p 値が 0.05 未満であることを示す). ヒートマップの色は関連性の強さを示しており, 正の関連性が強いほど青色が濃くなり, 負の関連性が強いほど赤色が濃くなる.

4-2. 周辺環境がミツバチの農薬ばく露に与える包括的影響評価

農薬が浸透移行性か否かにかかわらず、特定の土地利用区分と、ミツバチ巢内の農薬残留には、明確な傾向が見られた（図 5）。特に水田や果樹園、都市域では農薬ばく露リスクが高く、森林ではばく露リスクが低かった。ミツバチの農薬ばく露レベルを効果的に管理するためには、農地だけでなく非農地における農薬使用パターンを理解し、適切な規制システムを構築することが不可欠であると結論づけられた。（本研究は、2024 年 10 月以降に *Nature Communications* より出版予定）

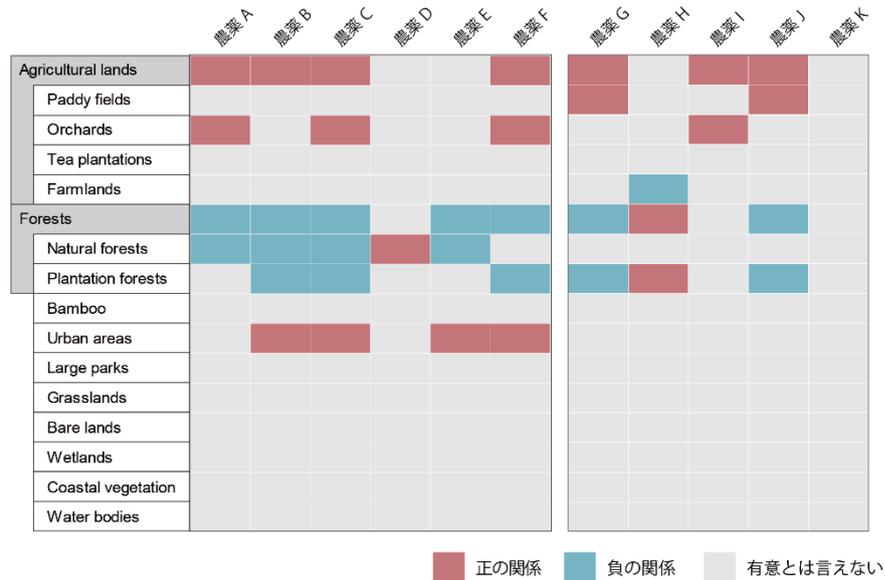


図 5 ニホンミツバチ巢内より採取した蜂蜜および巣板における農薬の出現と、周辺の各土地利用区分との関係。農薬 A ~F は蜂蜜より、農薬 G ~K は巣板より分析した。農薬の在／不在を応答変数、各土地利用区分の面積を説明変数とし、誤差構造に二項分布、リンク関数にロジット変換を用いた一般化線形モデル（Generalized linear models, GLM）を実施した。オッズ比が 1 以上かつ p 値が 0.05 以下を「正の関係」、オッズ比が 1 以下かつ p 値が 0.05 以下を「負の関係」、その他を「有意とは言いえない」と評価した。

【補足】

発症・重症化に寄与する農薬を特定するために、以下の研究を実施した。

ミツバチ病原体 14 種のリアルタイム PCR 検出システムを用いて、全国のニホンミツバチコロニーにおける病原体調査を行ったところ、9 種が検出された。特に 10%以上のサンプルから検出された 6 種の病原体について量的評価を行い、翌年の生存に影響を及ぼす病原体密度を算出した。また、同サンプルについて、農薬についても同様の量的評価を行い、翌年の生存に影響を及ぼす農薬濃度を算出した。これらの算出結果を、我々が新たに構築したシミュレーション・モデルに照らし合わせてパターン化し、実際の環境中で生じている現象を推定した。

解析方法に高いオリジナリティがあり、他者の模倣を防ぐため、詳細は非公開とする。

（原著論文の出版をもって公開とする。）

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計10件（うち査読付論文 8件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 7件）

1. 著者名 Morii K., Sakamoto Y.	4. 巻 -
2. 論文標題 The origin of materials deposited by Japanese honey bees at their hive entrances as a defense against giant hornets	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Journal of Apicultural Research	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1080/00218839.2024.2343977	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Morii K., Sakamoto Y.	4. 巻 111
2. 論文標題 Japanese honey bees (<i>Apis cerana japonica</i>) have swarmed more often over the last two decades	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 The Science of Nature	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s00114-024-01902-y	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Suzuki A., Sakamoto Y.	4. 巻 27
2. 論文標題 Molecular detection of <i>Lotmaria passim</i> in intestine of Japanese honeybees (<i>Apis cerana japonica</i>)	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Entomological Science	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/ens.12571	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 Suzuki A., Kamakura M., Shiramata T., Nakaoka S., Sakamoto Y.	4. 巻 16
2. 論文標題 Comparison of RNA-Seq analysis data between tracheal mite-infested and uninfested Japanese honey bees (<i>Apis cerana japonica</i>)	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 BMC Research Notes	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1186/s13104-023-06381-4	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Suzuki A., Nakajima N., Sakamoto Y.	4. 巻 12
2. 論文標題 Draft genome sequences of <i>Pantoea</i> sp. strains QMID1-QMID4 isolated from the midgut of Japanese honey bee (<i>Apis cerana japonica</i>)	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Microbiology Resource Announcements	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1128/MRA.00010-23	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Sakamoto Y., Yoshiyama M., Maeda T., Goka K.	4. 巻 31
2. 論文標題 Effects of neonicotinoids on honey bee autogrooming behavior against the tracheal mite <i>Acarapis woodi</i>	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Ecotoxicology	6. 最初と最後の頁 251-258
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s10646-021-02503-5	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 坂本佳子	4. 巻 65
2. 論文標題 ミツバチヘギイタダニ (トゲダニ目:ヘギイタダニ科) の生態およびミツバチ (ハチ目:ミツバチ科) のダニ抵抗性に関する最新の知見	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 日本応用動物昆虫学会誌	6. 最初と最後の頁 71-85
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1303/jjaez.2021.	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Hisamoto S., Ikegami M., Goka K., Sakamoto Y.	4. 巻 -
2. 論文標題 The impact of landscape structure on pesticide exposure to honey bees	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Nature Communications	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Seko Y., Morii K., Sakamoto Y.	4. 巻 105
2. 論文標題 Wing-slapping: A defensive behavior by honey bees against ants	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Ecology	6. 最初と最後の頁 e4372
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/ecy.4372	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Morii K., Sakamoto Y.	4. 巻 68
2. 論文標題 Off-Season Swarming in the Japanese Honey Bee (<i>Apis Cerana Japonica</i>)	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Journal of Apicultural Science	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2478/JAS-2024-0005	査読の有無 無
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11件(うち招待講演 0件/うち国際学会 0件)

1. 発表者名 瀬古祐吾, 森井清仁, 坂本佳子
2. 発表標題 二ホンミツバチは翅でアリを弾き飛ばす
3. 学会等名 日本生態学会第71回全国大会
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 鈴木亮彦, 坂本佳子
2. 発表標題 越冬期における二ホンミツバチの後腸細菌叢の特徴
3. 学会等名 日本昆虫学会第84回大会・第68回日本応用動物昆虫学会大会 合同大会
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 森井清仁, 坂本佳子
2. 発表標題 長期記録から見えたニホンミツバチの分蜂回数の変化
3. 学会等名 第70回日本生態学会大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 森井清仁, 坂本佳子
2. 発表標題 ニホンミツバチにおける分蜂の自然史
3. 学会等名 日本昆虫学会第83回大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 森井清仁, 坂本佳子
2. 発表標題 ニホンミツバチの分蜂回数は増えている？
3. 学会等名 第34回日本環境動物昆虫学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 竹前等, 布村由香, 横田智子, 大場真己, 水谷哲也, 坂本佳子
2. 発表標題 キムネクマバチ <i>Xylocopa appendiculata circumvolans</i> から検出された2つのイフラウイルス様新規ウイルス
3. 学会等名 第165回日本獣医学会学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 鈴木亮彦, 池上真木彦, 久本峻平, 前田太郎, 布村由香, 横田智子, 大場真己, 水谷哲也, 竹前等, 坂本佳子
2. 発表標題 ニホンミツバチにおける病原ウイルス・微孢子虫・ダニの分布状況
3. 学会等名 第70回日本生態学会大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 森井清仁, 坂本佳子
2. 発表標題 長期記録から見えたニホンミツバチの分蜂回数の変化
3. 学会等名 第70回日本生態学会大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 久本峻平, 池上真木彦, 五箇公一, 前田太郎, 布村由香, 竹前等, 横田智子, 水谷哲也, ○坂本佳子
2. 発表標題 病原体と農薬ばく露がミツバチの健康に与える影響評価 - プロジェクト導入編 -
3. 学会等名 日本生態学会第69回全国大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 坂本佳子
2. 発表標題 ミツバチ2種の自己グルーミング行動に関わる胸部体毛の形態比較
3. 学会等名 日本昆虫学会第81回大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 竹前等, 布村由香, 横田智子, 大場真己, 水谷哲也, 坂本佳子
2. 発表標題 ツツハナバチOsmia taurusから検出されたScaldis River beevirus様新規chuvirus
3. 学会等名 第164回日本獣医学会学術集会
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔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
研究分担者	水谷 哲也 (Mizutani Tetsuya) (70281681)	東京農工大学・農学部・教授 (12605)	
研究分担者	宮崎 亮 (Miyazaki Ryo) (80712489)	国立研究開発法人産業技術総合研究所・生命工学領域・主任 研究員 (82626)	
研究分担者	芳山 三喜雄 (Yoshiyama Mikio) (10510258)	国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構・畜産研 究部門・上級研究員 (82111)	
研究分担者	池上 真木彦 (Ikegami Makihiko) (60791366)	国立研究開発法人国立環境研究所・生物多様性領域・主任研 究員 (82101)	
研究分担者	久本 峻平 (Hisamoto Shumpei) (00754748)	明治大学・研究・知財戦略機構(中野)・研究推進員(ポス ト・ドクター) (32682)	

6. 研究組織（つづき）

	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
研究分担者	鎌倉 昌樹 (Kamakura Masaki) (60363876)	富山県立大学・工学部・講師 (23201)	
研究分担者	中岡 慎治 (Nakaoka Shinzi) (30512040)	北海道大学・先端生命科学研究院・准教授 (10101)	

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