

令和 6 年 5 月 24 日現在

機関番号：82105

研究種目：若手研究

研究期間：2021～2023

課題番号：21K14868

研究課題名（和文）大量開花植物と社会性ハナバチはハナバチ感染症拡大のハブとなるか？

研究課題名（英文）Do mass flowering crops and eusocial bees contribute to the spread of pathogens among bees?

研究代表者

中村 祥子（Nakamura, Shoko）

国立研究開発法人森林研究・整備機構・森林総合研究所・主任研究員 等

研究者番号：60896546

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,500,000円

研究成果の概要（和文）：食糧生産に不可欠な送粉サービスを提供する野生ハナバチ等の訪花昆虫の病原微生物の中には、花上で水平伝播するものがあることが知られている。本研究は、訪花昆虫の訪花に伴う花の微生物群集組成の変化や、訪花昆虫類の体表面と花に付着する微生物の類似性解明と、野生ハナバチにも感染するミツバチの病原性微胞子虫が巣仲間間で感染拡大するメカニズムの一部の解明により、訪花昆虫群集内における感染症の拡大に関連した知見を得た。

研究成果の学術的意義や社会的意義

野生の訪花昆虫類は、食糧生産等に不可欠な送粉サービスを提供している。本研究は、これらの訪花昆虫類の感染症の伝播メカニズム解明に貢献し、感染の拡大防止に資する。

研究成果の概要（英文）：Some pathogens of flower-visiting insects such as wild bees, which provide essential pollination services for food production and other purposes, are known to be horizontally transmitted on flowers. This study provides insight into the mechanisms of the spread of pathogenic microorganisms within communities of flower-visiting insects by revealing the change in the community composition of microbes on flowers followed by visitations by large insects, the resemblance of microbes on the body surfaces of flower-visitors and on flowers, as well as elucidating some of the mechanisms in which pathogenic microsporidia of honeybees spread among nest mates.

研究分野：送粉生態学

キーワード：ハナバチ 感染症 ミツバチ 花上微生物 微胞子虫 訪花昆虫 アンプリコンシーケンス

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、研究者個人に帰属します。

1. 研究開始当初の背景

野生ハナバチ類による送粉は、食糧生産と野生植物の繁殖に不可欠な生態系機能である。しかし近年、野生ハナバチ群集内で種を超えた感染症蔓延が懸念されている。それらの一部病原体は、ハナバチ個体間の花共有により花上で間接伝播するとされる。ハナバチ類は花の特性に応じ訪花行動を変える。一度に沢山の花が咲く大量開花植物は、多くのハナバチ類が集中することで感染拡大に寄与するかもしれない。また、社会性ハナバチは、巣での密な個体間接触により、単独性ハナバチに比べ個体群内の感染拡大リスクが高い。農作物送粉に導入される社会性ハナバチのミツバチは、同じ花に訪れる単独性野生ハナバチ類へ感染拡大を招く可能性がある。

2. 研究の目的

野生ハナバチ類の多様性保全に向け、野生ハナバチの感染症が訪花昆虫群集内で拡大する機序解明に資することを目的に、(1)訪花昆虫-大量開花植物の相互作用ネットワークにおける微生物類の共有や移行、(2)ミツバチ巣内における感染症拡大メカニズムの一部を解明する。

3. 研究の方法

(1) 訪花昆虫-大量開花植物の相互作用ネットワークにおける微生物類の共有や移行

花と訪花昆虫の間、訪花昆虫分類群の間における微生物の共有や移行を検証するため、大量開花するセイタカアワダチソウの花を用い、①花上真菌群集組成に対する訪花昆虫の影響解明、②訪花昆虫-昆虫体表真菌のネットワーク構造の解明、③訪花昆虫類の体表と花に共通する微生物の抽出をおこなった。①では、セイタカアワダチソウ群落にて、0.6mm メッシュ処理（微小動物や風雨による微生物移入が可能）、3.5mm メッシュ処理（ミツバチより小さい小型昆虫と風雨による微生物移入が可能）、オープン処理（すべての昆虫、風雨による微生物移入が可能）を設置する野外試験を実施した。試験は、11月上旬と中旬の2度行い、訪花観察を実施するとともに、各処理の花のDNA抽出物について、真菌ITS領域のアンプリコンシーケンス解析を実施した。そして、アンプリコンシーケンスデータを用い、nMDSとPERMANOVAにより処理の効果を調べることで、花の真菌群集組成に対する訪花昆虫の影響を検証した。②では、①と同時期に、同一サイトで捕獲したセイタカアワダチソウの訪花昆虫類を用い、体表のDNA抽出物から真菌ITS領域のアンプリコンシーケンス解析を行った。この解析結果を用い、訪花昆虫類-体表真菌類のネットワーク解析を実施し、ハブやconnector (Guimerà et al. 2005) となる訪花昆虫分類群と微生物OTUの検出を行った。③では、②のネットワークにおいてモジュール間をつなぐconnectorとされた真菌OTUについて、それらが花上で伝搬・共有された可能性を調べるため、connectorのOTUが花上微生物として検出された割合や頻度を調べた。

(2) ミツバチ巣内における感染症拡大メカニズム

ノゼマ症は、世界各地のセイヨウミツバチ群から検出され、採蜜量の低下や蜂群崩壊への関与が指摘されている。その原因微生物の一種である微胞子虫 *Vairimorpha(Nosema) ceranae* は、野生のハナバチ類への感染も確認されており (Martín-Hernández et al. 2018)、感染拡大機序の解明が必要である。本微胞子虫は、糞とともに排泄された胞子の摂食により経口感染する。そこで、野外における他種ハナバチ類への感染拡大の前に生じると考えられるミツバチ巣内における感染拡大機序の一部解明を目的に、ミツバチ感染個体の生存日数と排泄パターンに対し、ミツ

バチ巣群の栄養状態がどのように影響するかを調べた。セイヨウミツバチの羽化 2 日未満の成虫合計 120 頭を、砂糖水摂食群、砂糖水+花粉摂食群、砂糖水+代用花粉摂食群に分け、各群の半数に *Vairimorpha* 胞子を経口接種し、14 日間飼育して、排泄回数、排泄量、死亡率、死亡時（又は生存 14 日目）の腸内の微胞子虫胞子数の違いを調べた。試験は 2023 年の 7 月と 10 月の異なる季節に、異なるセイヨウミツバチ群を用いて 2 回実施した。なお、本試験は家畜伝染病予防法施行規則に則り実施した。

4. 研究成果

(1) 訪花昆虫-大量開花植物の相互作用ネットワークにおける微生物類の共有と移行

大量開花するセイタカアワダチソウを用い、訪花昆虫類による花上の真菌群集組成の変化と、訪花昆虫の分類群間、訪花昆虫-花間の真菌の共有を確認した。これらから、訪花昆虫類の病原微生物を含む微生物類が、花上にて、訪花昆虫の分類群間で伝搬する可能性が十分あることが示唆された。セイヨウミツバチがそのハブとなる可能性については、今後さらなる研究が必要である。

① 花上真菌群集組成に対する訪花昆虫の影響

合計 1584 分間の訪花観察の結果、オープン処理区では合計 950 訪花が観察された。このうち、上位 3 分類群は、ツマグロキンバエ (400 訪花)、大型ハナアブ類 (234 訪花)、ミツバチ (175 訪花) であった。3.5 メッシュ処理区では合計 129 訪花が観察され、上位 3 分類群は、ツマグロキンバエ (108 訪花)、小型カメムシ類 (14 訪花)、レピ幼虫 (5 訪花) であった。0.6 メッシュ処理区では、中型クモが 2 訪花の未確認された。

花の真菌群集の PERMANOVA の結果、3.5 メッシュ処理は 0.6 メッシュ処理と比較して真菌群集が異なった (図 1)。つまり、ミツバチ以上の大きさの昆虫の訪花により、花の微生物相が変化した。しかし、訪花昆虫よりも開花時期のほうが真菌群集組成に大きく影響し、11 月中旬の花では、訪花昆虫の影響は見られなかった。ハナバチ類の病原微生物となる真菌類である微胞子虫は検出されなかった。

② 訪花昆虫-昆虫体表真菌群集のネットワーク構造

セイタカアワダチソウの訪花昆虫の 19 分類群は、合計 1272 の体表真菌 OTU とネットワークを形成していた (図 2)。ネットワーク解析の結果、訪花昆虫類の中で、微生物の共有に関し、明らかにハブとなる昆虫種群は検出されなかったが、c-z プロット

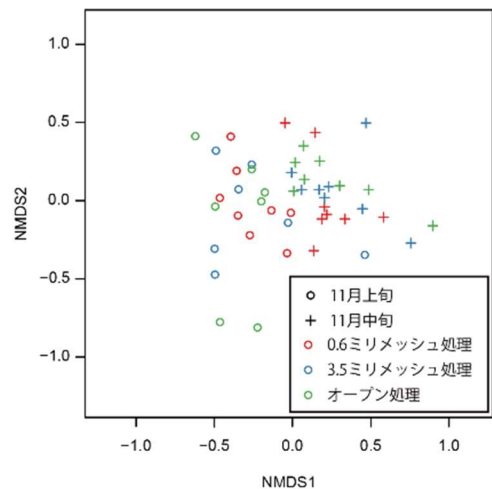


図 1 セイタカアワダチソウの花の真菌群集組成の nMDS 結果。PERMANOVA の結果、開花時期と処理による群集の違いがみられた

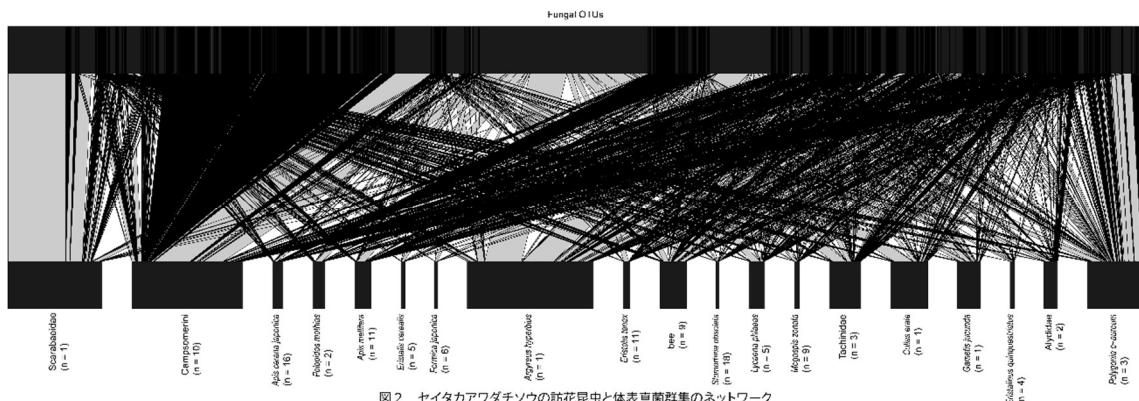


図 2 セイタカアワダチソウの訪花昆虫と体表真菌群集のネットワーク

(Guimerà et al. 2005) から、社会性のセイヨウミツバチは他分類群と比較して、相対的に、ネットワークのハブとしての機能に近い性質を持つ可能性があることが示唆された(図3)。真菌類の中では、178のOTUが、モジュール間をつなぐ connector ($c > 0.625$)としての性質を持ち、そのうち1 OTU がネットワークのハブ微生物 ($c > 0.625$ かつ $z > 2.5$)として抽出された。このハブ微生物は、Pezizomycotina (チャワンタケ亜門)であったが、種の特定はできなかった。チャワンタケ亜門の中にも、昆虫の病原性真菌が知られている(Boomsma et al. 2014)。

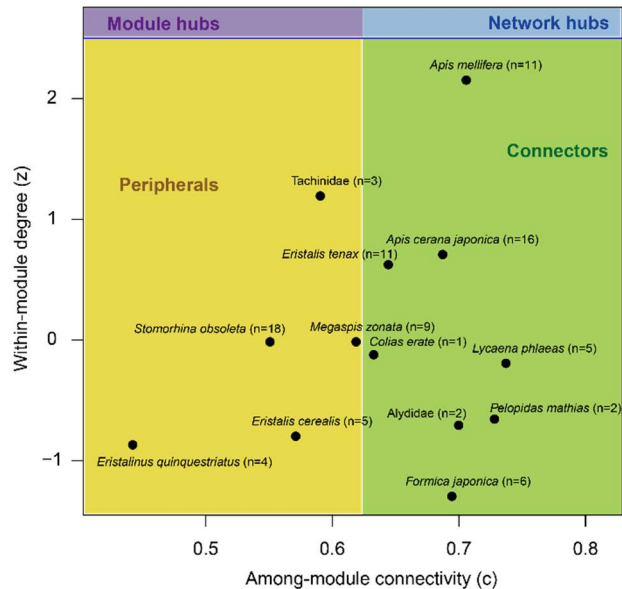


図3 セイタカアワダチソウの訪花昆虫類の、体表真菌ネットワークにおける役割

③ 訪花昆虫類の体表と花上に共通する微生物の抽出

セイタカアワダチソウの訪花昆虫類の体表真菌のうち、connectorとして抽出された178OTUについて、ローカル Blast にてセイタカアワダチソウの花上の真菌 OTU (サンプルベースのレアファクション後、314OTU) との配列の合致を検索した。その結果、77 (43.3%) の体表真菌 OTU が、花上真菌 OTU の配列と 100% 合致し、花と訪花昆虫類の間の微生物共有あるいは移行が示唆された。体表真菌のハブと定義された Pezizomycotina は、セイタカアワダチソウの花上の OTU のなかで、検出頻度が最も高い (全体のリード数の 19.8%) OTU であった。ほかの connector OTU の多くも花上で検出頻度が高い微生物であったことから (図4)、花上の主要な微生物は、訪花昆虫の中で広く共有される傾向が大きそうであった。

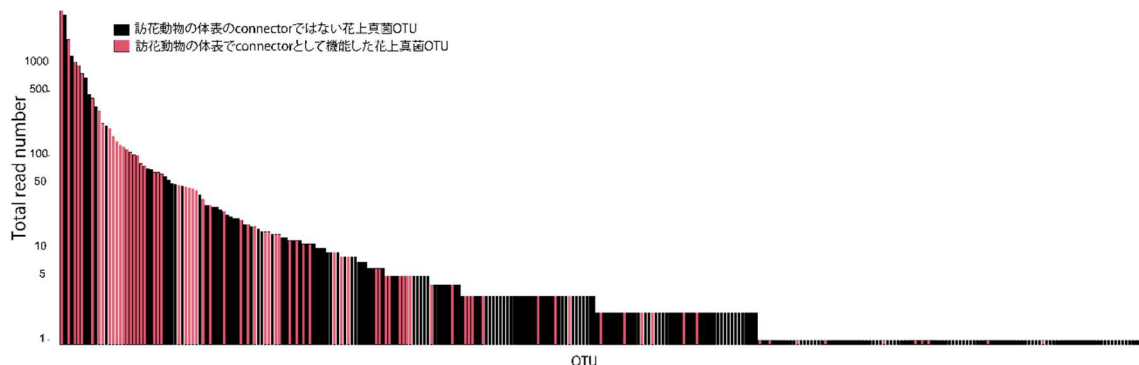


図4 セイタカアワダチソウの花上真菌OTUごとの総リード数。相リード数はレアファクション後の合計値
赤色で表したOTUは、訪花昆虫の体表でconnectorと機能していたOTUを示す

(2) ミツバチ巣内における感染症伝搬メカニズム

微胞子虫の接種は、感染ミツバチの生存や排泄パターンに大きな影響を与えなかった (図5, 6)。しかし、花粉や代用花粉摂食による栄養摂取は、個体の生存日数を延ばすとともに、排泄物中の微胞子虫の孢子数を増やした (図7)。良好な栄養条件により延命した感染個体の体内では微胞子虫がより増殖し、それらの個体が長期排泄することで、巣内の感染が拡大し、巣外の訪花昆虫群集への感染拡大に寄与する可能性が示唆された。また、餌の種類が生存や排泄パターンに与える影響の一部は、7月と10月で異なり、セイヨウミツバチの群間差や季節差が考えられた。

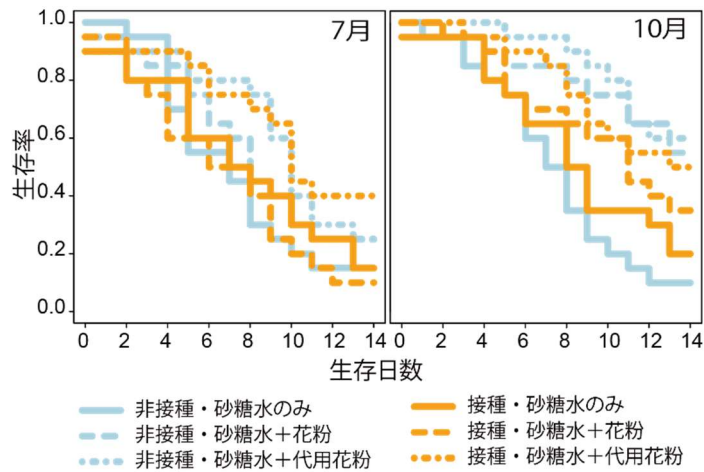


図5 Kaplan-Meier推定による各処理ミツバチの生存期間解析の結果

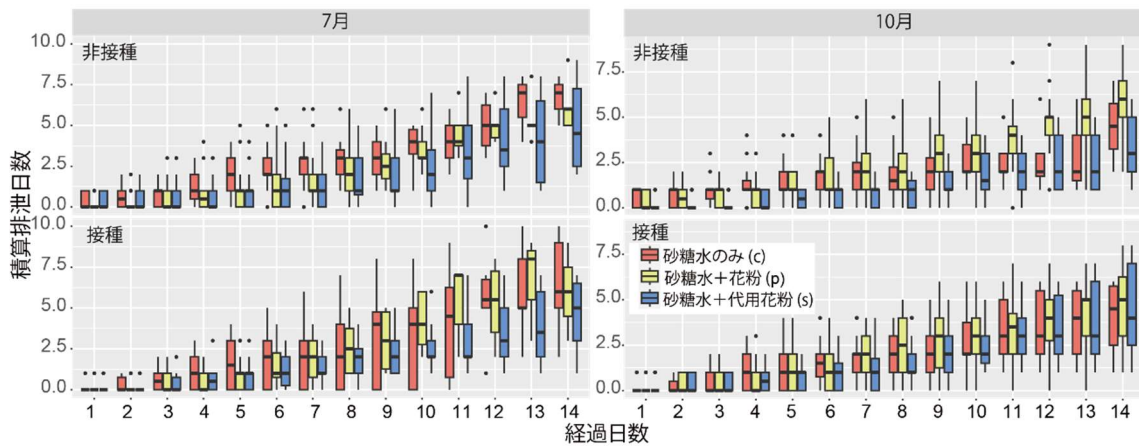


図6 接種・非接種ミツバチの積算排泄日数

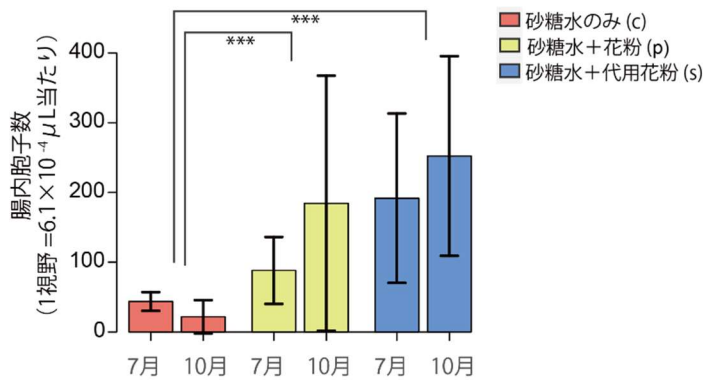


図7 微孢子虫接種後14日生存個体の腸内孢子数

【引用文献】

Boomsma, J. J., Jensen, A. B., Meyling, N. V., & Eilenberg, J. (2014). Evolutionary interaction networks of insect pathogenic fungi. *Annual Review of Entomology*, 59, 467–485.

Guimerà, R. & Amaral, L.A.N. (2005) Functional cartography of complex metabolic networks. *Nature* 433, 895–900.

Martín-Hernández, R., Bartolomé, C., Chejanovsky, N., Le Conte, Y., Dalmon, A., Dussaubat, C., García-Palencia, P., Meana, A., Pinto, M.A., Soroker, V. & Higes, M. (2018), *Nosema ceranae* in *Apis mellifera*: a 12 years postdetection perspective. *Environmental Microbiology*, 20: 1302–1329.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1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 中村祥子	4. 巻 74
2. 論文標題 訪花動物と花の微生物	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 日本生態学会誌	6. 最初と最後の頁 0
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4件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 中村祥子、井上真紀、牧野夏椰
2. 発表標題 Vairimorpha (Nosema) ceranaeが羽化ミツパチの生存と排泄パターンに与える影響
3. 学会等名 第67回 日本応用動物昆虫学会大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 NAKAMURA Shoko, IKEMOTO Mito, HIRAIWA Masayoshi, TAKI Hisatomo, USHIO Masayuki
2. 発表標題 Temporal and visitor derived changes in the fungal community assemblages in bitter melon flowers
3. 学会等名 Plant Microbiota Research Network 第一回オンラインシンポジウム
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 中村祥子、池本美都、平岩将良、滝久智、潮 雅之
2. 発表標題 開花と昆虫の訪問に関連したゴーヤの花の真菌群集の変化
3. 学会等名 第69回日本生態学会大会（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 池本 美都, 平岩 将良, 中村祥子, 滝 久智, 潮 雅之
2. 発表標題 環境DNAで検出される見えない訪花者相
3. 学会等名 第69回日本生態学会大会
4. 発表年 2022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
---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------