# 科研費

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 13 日現在

機関番号: 8 2 1 0 5 研究種目: 若手研究(B) 研究期間: 2013~2014

課題番号: 25740051

研究課題名(和文)景観要素と外来種が在来ミツバチの寄生状況に与える影響

研究課題名(英文)Effects of landscape context and non-native species on parasitism in native honey

bees

研究代表者

滝 久智 (Taki, Hisatomo)

独立行政法人森林総合研究所・森林昆虫研究領域・主任研究員

研究者番号:80598730

交付決定額(研究期間全体):(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文):本研究では、日本在来種であるニホンミツバチを対象として、被寄生状況を全国規模で把握することを目的とした。国内各地からの採集によって得られた野生ニホンミツバチサンプルを利用し、寄生者由来の遺伝子を抽出する方法を確立した。寄生者に特異的な遺伝子情報を用いて、一部の寄生者については遺伝子診断が可能であることを確認した。

研究成果の概要(英文): The purpose was to comprehend the presence and distribution of parasites of wild native honey bee Apis cerana japonica all over japan. Methods to extract DNA and RNA from parasites were confirmed, using collected honey bee populations. The results indicated that molecular genetic approaches to parasite identification were possible for some of the parasite species.

研究分野: 農学

キーワード: 土地被覆 土地利用 ニホンミツバチ セイヨウミツバチ 分布 寄生 感染症

#### 1.研究開始当初の背景

全世界における被子植物類のうち8割以上、農作物のうち7割以上は動物である送粉者による花粉媒介を必要とする。これらの被子植物や農作物の花粉媒介の多くは、自然生態系に生息する野生の送粉者によってもたらされる。しかし、課題遂行者がこれまで携わってきた研究報告をはじめとして、人為的要因による急速な野生送粉者の減少が懸念されている。

一方、野生の送粉者だけでなく、人為的な管理環境下に置かれているセイヨウミツバチ Apis mellifera などの送粉者においても、欧米各国におけるミツバチ蜂群崩壊症(CCD)の発生や、日本国内での受粉用セイヨウミツバチの消失といった問題が生じている。その原因として、寄生者や農薬の影響が示唆されている。また、これら2つの要因のみを取り出してみても、その関係は相反するのではなく、農薬によって抵抗力の下がった個体が寄生者に感染されやすくなるという相補的な関係がある可能性も存在するかもしれない。

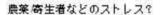




図 1. セイヨウミツバチ(Apis mellifera)

セイヨウミツバチにみられるミツバチ蜂 群崩壊症のような減少という状況が、セイヨ ウミツバチの近縁種でありトウヨウミツバ チの亜種でもある日本在来種のニホンミツ バチ Apis cerana japonica でも起こっている 可能性がある。しかし、ニホンミツバチは野 生種であるため、科学的検証が難しく、国土 スケールなどの広域での調査はこれまでほ とんどされてこなかった。

#### 2.研究の目的

本研究では、日本在来種であるニホンミツバチを対象として、ダニ、ノゼマ微胞子虫、ウィルスなどによる寄生状況を全国規模で把握し、可能であれば、要因を特定した後、保全対策への指針を示すことを目的とした。

### 3.研究の方法

ニホンミツバチの自然分布が確認されていない北海道や沖縄を除く、東北、関東、中部、近畿、中国、四国、九州地方の各都府県から得られたサンプルを対象に、野生ニホンミツバチ個体群を用いた。

ニホンミツバチと寄生者の特異的な遺伝子領域の既存情報を用いて遺伝子診断を行うことにより、採集個体内部に寄生者が存在するかを確認できるかを試みた。

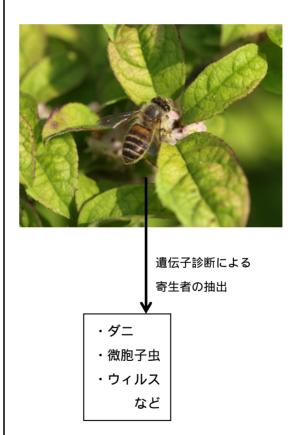


図 2. 本研究におけるニホンミツバチ (Apis cerana)を用いた遺伝子診断の概念図

なお、研究開始当初において、セイヨウミッパチに甚大な被害を及ぼすことがある主要な内部寄生者を対象とした。具体的にはダニ、ノゼマ微胞子虫、ウィルスの複数種を候補とした。

ダニについてはアカリンダニ *Acarapis* spp.を対象にした。ノゼマ微胞子虫について

は Nosema caranae と Nosema apis の 2 種を対象とした。

ウイルスについては、急性麻痺病(ABPV: Acute bee paralysis virus) 黒色女王蜂児ウイルス(BQCV: Black queen cell virus) 慢性麻痺病ウイルス(CBPV: Chronic bee paralysis virus)、翅形成不全ウイルス(DWV: Deformed wing virus)、イスラエル急性麻痺病ウイルス(IAPV: Israeli acute paralysis virus)カシミアウイルス(KBV: Kashmir bee virus)サックブルード病ウイルス(Sacbrood virus: SBV)の7つを対象とした。

各寄生者の遺伝子については、アカリンダニとノゼマ胞子虫についてはニホンミツバチ検体をホモジナイズした後、DNAを抽出した。ウイルスについては同様にニホンミツバチをホモジナイズしてRNAを抽出した後cDNAを合成した。それらを用いPCR法による遺伝子診断を試みた。

#### 4.研究成果

ニホンミツバチは北海道や沖縄を除く全国各地に分布していることが知られている。今回、東北、関東、中部、近畿、中国、四国、九州地方の各都府県において、自然条件下で発見される巣もしくは花を訪れていた個体群から採集されたニホンミツバチサンプルは当初予定していた数以上の地点から得られた。各地点では約20個体のニホンミツバチの働き蜂が採集されたが、採集地の環境変数を確認したところ、土地利用状況などの景観要因にも変異があることが明らかとなった。



図 3. ニホンミツバチサンプルが集められた 地点の一部

予備試験を行った後、採集ニホンミツバチ 個体を用いた本試験で寄生者由来の DNA もし くは RNA を抽出する方法を確立した。寄生者 に特異的な遺伝子領域の情報を用いて遺伝 子診断を行い、一部の寄生者について診断が 可能であることを確認した。

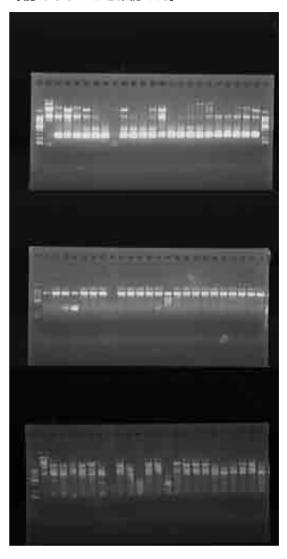


図 4. PCR による寄生者 (アカリンダニとノ ゼマ微胞子虫 2 種 ) の DNA 診断結果

また、検出結果を踏まえ、当初研究計画の 段階で予定としていた寄生者については再 考し、対象を変更することにした。予定して いたアカリンダニ Acarapis spp.、ノゼマ微 胞子虫 Nosema caranae と Nosema apis、急性 麻痺病(ABPV: Acute bee paralysis virus) 黒色女王蜂児ウイルス(BQCV: Black queen cell virus )、慢性麻痺病ウイルス (CBPV: Chronic bee paralysis virus ) 翅形成不全 ウイルス (DWV: Deformed wing virus) イ スラエル急性麻痺病ウイルス(IAPV:Israeli acute paralysis virus) カシミアウイルス (KBV: Kashmir bee virus) サックブルー ド病ウイルス (Sacbrood virus:SBV)のウ ィルスに加え、セイヨウミツバチに甚大な被 害を及ぼす可能性のあるヨーロッパ腐蛆病 菌(Melissococcus plutonius)、アメリカ腐 蛆病菌 (Paenibacillus larvae)、 チョー ク病の原因となるハチノスカビ (Ascosphaera apis) を対象種として考慮す

る必要性を明らかにした。

# 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)

# [学会発表](計1件)

<u>滝久智</u>,安田美香,永光輝義,2015年3月18日-22日, ネオニコチノイド系農薬等のハナバチ類への影響.日本生態学会第62回大会.鹿児島.

# 6.研究組織

## (1)研究代表者

淹 久智 (Taki, Hisatomo) 森林総合研究所 森林昆虫研究領域 主任研究員

研究者番号:80598730