

機関番号：34304

研究種目：若手研究 (B)

研究期間：2009～2010

課題番号：21770021

研究課題名 (和文) 外来種ミツバチとその随伴性寄生種がニホンミツバチに与える影響に関する研究

研究課題名 (英文) Impact of non-native honeybee and the parasite species on native honeybee *Apis cerana*.

研究代表者

高橋 純一 (TAKAHASHI JUNICHI)

京都産業大学・総合生命科学部・准教授

研究者番号：40530027

研究成果の概要 (和文)：

セイヨウミツバチの帰化による在来種ニホンミツバチの影響を調査した。野外での観察実験と人工授精法による種間交雑実験を行ったところ、交雑女王蜂は繁殖様式を雌性単為生殖へと変化していた。両種が生息している地域では、ニホンミツバチの遺伝的多様度は低かった。これらの結果から、ニホンミツバチは種間交雑により単為生殖を行うようになり、遺伝的多様性の低下の原因となっている可能性が示唆された。

研究成果の概要 (英文)：

The naturalization of the exotic honeybee *Apis mellifera* may have great detrimental effects on closely related native Japanese honeybee *A. cerana*. In order to assess its population genetics and reproduction, we estimated the genetic structure of *A. cerana* in wild queens and cross fertilization queens by analyzing microsatellite DNA markers. Thelytoky is common in the cross fertilization queens, but it occurs with completely sexual production in wild queens. DNA microsatellite markers provided confirmation of the low levels of genetic variation in *A. cerana* detected by mtDNA analysis. As a result the low genetic variation was suggested with influence by a exotic honeybee.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,200,000	360,000	1,560,000
2010年度	1,000,000	300,000	1,300,000
年度			
年度			
年度			
総計	2,200,000	660,000	2,860,000

研究分野：基礎生物学

科研費の分科・細目：基礎生物学・生態・環境

キーワード：ミツバチ、外来種、交雑、単為生殖

1. 研究開始当初の背景

セイヨウミツバチはもともとヨーロッパ・アフリカを原産とするミツバチで、19世紀ごろから養蜂種として全世界的に導入が

試みられているが、東南アジア一帯では定着することができていない。過去に外来ミツバチが問題となった例としては、アフリカとヨーロッパ産のセイヨウミツバチを南米に同

時に持ちこんだ際に偶然亜種間交雑コロニーが生まれ、雑種個体の攻撃性が非常に高くなり殺人ミツバチ（キラー・ビー）となったことが知られている。ミツバチ属は世界に9種が現生しているがその中の8種がアジアに分布している。現在のところセイヨウミツバチと在来ミツバチの分布が重なっている地域は日本を含めた極東アジア地域のみである。したがって外来性のミツバチやそれらに随伴する外来寄生種が、近縁関係にある在来のミツバチに与える生態的・遺伝的影響に関する研究例はこれまで全く存在しない。近縁種のマルハナバチの例では、特定外来種にも指定されたセイヨウオオマルハナバチで逃げだした一部の個体が帰化し、在来マルハナバチの巣の乗っ取り、送粉共生関係にある植物に対しての盗蜜、外来性ダニ類の伝播などにより在来種や生態系に影響を与えることが推測されている。

2. 研究の目的

人間活動の拡大は、多くの物資の行き来とともに外来性の生物が意図的あるいは非意図的に本来の地理的境界を越えて世界各地に運ばれるようになり、今後もその規模や数は増加すると考えられている。日本にもこれまでに多数の外来性の生物が持ちこまれ定着しているが、その中には当初の予想と異なるような生態的变化を示し、生態系、人の生命・身体、農林水産業に被害を及ぼした、または及ぼすおそれのある種類が少なくない。そのため特に影響のある一部の種に関しては外来生物法による規制が行われている。しかしながら、日本に定着した外来種の中には在来種や生態系にどのような影響があるのかさえ特定されないまま経過観察扱いとされている場合も多く、それらの種の調査は保全生物学における今後の課題である。そのよ

うな種類の1つに、養蜂のため明治時代に日本へ持ち込まれ、その後定着したセイヨウミツバチがいる。もともと日本には固有亜種であるニホンミツバチが生息しているが、両者の間での生殖隔離の有無や遺伝的多様性への影響についてはこれまで未知のままである。本研究計画では、ニホンミツバチとセイヨウミツバチの間での生殖隔離や種間交雑個体の有無、外来種の定着による繁殖行動や生態の変化、集団やコロニーレベルの遺伝的多様性に及ぼす影響に加えて、セイヨウミツバチに付随して侵入してきた随伴性外来寄生種の寄生・感染の有無やコロニーの発達に関する影響を調べることによって外来種セイヨウミツバチが近縁在来種に与えるリスク評価を明らかにすることである。

3. 研究の方法

本研究計画では在来種ニホンミツバチの日本各地における個体群ごとに外来種セイヨウミツバチとその随伴性外来寄生種の帰化による種間競争、種間交雑による遺伝子汚染、外来随伴性の寄生感染症の伝播などによりニホンミツバチの行動生態、繁殖構造、遺伝的多様性、個体群密度に対してどのような影響を与えているのか明らかにする。これまで応募者らがミツバチを対象に開発した野外交尾実験法、異種間人工授精法、累代室内飼育法、マイクロサテライトDNAマーカーによる雑種判定法や遺伝子型解析法などを駆使してニホンミツバチの保全生態学的研究を行う予定である。日本各地（北海道、新潟、神奈川、滋賀、熊本、対馬、奄美大島など）の個体群において、ニホンミツバチの生息密度や営巣生態などの基本的な生活史情報に関して2年間に渡る調査を継続的に行い、これまで未知であったニホンミツバチの基礎的生態情報について明らかにする。そして生

息地域環境についてメッシュ状に区分けをする区画法を用いて、生息密度と国土地理院の地形情報や気候情報を利用して生息可能な諸条件を明らかにし、どのような地域がニホンミツバチの生息に適しているのかあるいは保全に必要なのか、またセイヨウミツバチや外来寄生種がどの程度野外で定着しているのかを明らかにする。種間における生殖隔離の有無については、両種の交尾場所とされている地点で誘引トラップ実験を行い、異種間交尾の有無や異種オス蜂の誘引頻度について調査をする。さらに雑種個体の発生を確認するために人工授精法により異種精子で受精させた受精卵をマイクロサテライト DNA による遺伝子型解析を行う。また自然交配をした女王蜂の受精嚢内精子や受精卵をマイクロサテライト DNA を使って解析し、種間交雑頻度、遺伝子汚染を明らかにする。さらに同様に遺伝マーカーを用いて個体群ごとの交尾や近親交配の頻度推定や遺伝的多様性の程度を明らかにする。外来寄生種の感染頻度は PCR 法および解剖手法を用いて明らかにし、コロニーの成長や生存率との関連性を明らかにする。そしてこれらの結果をまとめて地域ごとのニホンミツバチの生息状態や遺伝的多様性を明らかにしてセイヨウミツバチのリスク評価をもとに地域ごとに保全方法のあり方について最終的に提案する。

4. 研究成果

ニホンミツバチ集団のミトコンドリア DNA 解析結果から本州集団は対馬などの離島集団と比較して遺伝的多様度が低いことを明らかにした。離島ではセイヨウミツバチの導入がおこなわれなかったため、本州・九州のニホンミツバチ集団のように外来種セイヨウミツバチとの競争によるボトルネックが起きなかったためであると予測された。また

野外および室内実験でセイヨウミツバチとニホンミツバチの間で種間交雑が起きていることを一部明らかにした。PCR を応用して受精嚢内に存在する父系頻度の解析手法を開発し、セイヨウミツバチの精子が存在していることを示した。種間の人工授精による実験では、雑種個体は胚発生初期段階で死亡するか、未受精卵のオスが生まれることを明らかにした。一部のコロニーでは、異種の精子が混入すると女王蜂による単為生殖によるワーカー生産が誘発される可能性を人工授精と遺伝マーカーによる解析から明らかにした。これらの結果からニホンミツバチの本州・四国・九州集団の多様性が低い原因は、セイヨウミツバチの大規模な導入による影響であるという仮説を立てた。おそらく明治時代に導入された時にかなりの頻度で種間交雑が起こった結果、交雑によりコロニー数が減少し、その時にコロニー数の減少が起きた結果ボトルネックが起これニホンミツバチの遺伝子多様度は極端に低下してしまった。それに対して対馬などのセイヨウミツバチ未導入地域では、種間交雑による影響がなかったため離島であっても現在も高い遺伝子多様性が維持されている。またニホンミツバチの本州・九州集団は、対馬集団と比較して女王蜂の交尾回数が少ないが、これは現在でも一部で種間交雑によりセイヨウミツバチの精子が混入しているため、その分受精に使用できるニホンミツバチの精子の多様性が低いためであると推測することで説明が可能である。ニホンミツバチの単為生殖は、そのような中で一部の女王蜂から単為生殖系統が 100 年足らずに間に選択されてきたのかもしれない。このような要因により、現在の本州では同所的な場所では交尾飛行時刻が大まかに分かれていることから一時期にニホンミツバチの生息数が低下した要因

としてセイヨウミツバチによる影響の可能性が強いのではないかという結果が得られた。

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)

[雑誌論文] (計 6 件)

- ① 高橋純一、山崎和久、光畑雅宏、Martin SJ.、小野正人、椿宜高、根室半島のマルハナバチ相：特に北海道の希少種ノサップマルハナバチに対する外来種セイヨウオオマルハナバチの影響について、保全生態学研究、査読有、15 巻、2010、101-110
- ② Takahashi J.、Martin SJ.、Ono M.、Shimizu I.、Male production by non-natal workers in the bumblebee, *Bombus deuteronymus* (Hymenoptera: Apidae)、Journal of Ethology、査読有 Vol. 34、2010、43-49
- ③ 山崎和久、高橋純一、岡部貴美子、牧野俊一、土田浩治、コアシナガバチに便乗するドロバチヤドリコナダニ類の一種 *Sphexicozela* sp. の初記録、昆虫、査読有、Vol. 13、2010、126-128
- ④ Nomura T.、Takahashi J.、Sasaki T.、Yoshida T.、Sasaki M.、Expression of the dopamine transporter in the brain of the honeybee, *Apis mellifera* L. (Hymenoptera: Apidae)、Applied Zoology and Entomology、査読有、Vol. 44、2009、403-411
- ⑤ Takahashi J.、Shimizu S.、Koyama S.、Kimura K.、Shimizu I.、Yoshida T.、Variable microsatellite loci isolated from the Asian honeybee, *Apis cerana* (Hymenoptera; Apidae)、Molecular Ecology Resources、査読有、Vol. 9、2009、819-821
- ⑥ Koyama S.、Takagi T.、Martin SJ.、Takahashi J.、Absence of reproductive conflict during queen rearing in *Apis cerana*、Insectes sociaux、査読有、Vol. 56、2009、171-175

[学会発表] (計 1 件)

- ① 高橋純一 (2009)「ミツバチ及びマルハナバチの帰化が近縁在来種の繁殖構造に与える影響について」第 69 回日本昆虫学会。シンポジウム講演。2009 年 10 月 11 日、津市

6. 研究組織

(1) 研究代表者

高橋 純一 (TAKAHASHI JUICHI)
京都産業大学・総合生命科学部・准教授
研究者番号：40530027

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし