

奄美大島、加計呂麻島、請島、与路島における ニホンミツバチの分布と遺伝的変異

高橋純一¹・松尾裕弥¹・鈴木あすか¹・奥山 永¹・清 拓哉²・吉田忠晴³

¹ 〒 603-8047 京都府京都市北区上賀茂本山 京都産業大学生命科学部

² 〒 305-0005 茨城県つくば市天久保 4-1-1 国立科学博物館動物研究部・陸生無脊椎動物研究グループ

³ 〒 194-8610 東京都町田市玉川学園 6-1-1 玉川大学ミツバチ科学研究センター

Abstract

The Amami Islands are located in a subtropical region and serve as a habitat for numerous endemic and rare species. The Japanese honeybee, *Apis cerana japonica*, is a native species widely distributed across the Japanese archipelago, with its presence also confirmed on the Amami Islands. However, the distribution and genetic characteristics of this species on some of these islands remain unclear. The aim of this study was to investigate the distribution and genetic variation of the Japanese honeybee on Amami-Oshima, Kikaijima, Kakeromajima, Ukejima and Yorojima Islands.

We conducted a survey on the distribution of *A. c. japonica* across these islands. The results confirmed the presence of Japanese honeybees on Amami-Oshima, Kakeromajima, Ukejima, and Yorojima Islands, with the Japanese honeybee being confirmed for the first time on Yorojima. However, no evidence of the species was found on Kikaijima, where only the European honeybee, *A. mellifera*, was observed. Furthermore, mitochondrial DNA from the *COXI* gene was analyzed, comparing individuals from the Amami Islands with those from other regions. Genetic analysis revealed that individuals from Amami-Oshima, Kakeromajima, Ukejima and Yorojima Islands exhibited a distinctive haplotype, C1, which differed from those found in other regions. Molecular phylogenetic analysis confirmed that individuals from the four islands belong to the *A. c. japonica* cluster.

This research has demonstrated that the Japanese honeybee populations on these four islands are genetically distinct from those in other regions.

緒言

奄美群島は、北緯 28 度、東経 129 度付近に位置し、奄美大島、喜界島、加計呂麻島、請島、与路島、徳之島、沖永良部島、与論島からなる。8 つの島の総面積は約 1,200 km² である。気候は海洋性亜熱帯気候で、年間平均気温は約 20°C、年間降水量は約 2,000–3,000 mm に達する多雨地域である。このような気候条件により亜熱帯多雨林のバイオームが形成されている。奄美群島には多くの固有種や希少種が生息しており（鹿児島県、2016）、2021 年には一部の地域が世界自然遺産に登録された（小野寺、2022）。

奄美大島は奄美群島の中で最も大きく、面積は 712.4 km² である。南部の山岳地帯には森林が広がり、多くの固有生物が生息している。喜界島は面積 56.9 km² で、奄美大島の北東約 20 km に位置しており、石灰岩で構成され森林はほとんど見られない。加計呂麻島は面積 77.4 km² で、大島海峡を挟んで奄美大島に隣接する。請島は面積 13.3 km² で、加計呂麻島の南東に位置している。与路島は面積 9.4 km² で、加計呂麻島の南西に位置し、これら 3 島は奄美大島と類似した生物相で

Takahashi, J., Y. Matsuo, A. Suzuki, H. Okuyama, T. Kiyoshi and T. Yoshida. 2024. The distribution and genetic variation of the Japanese honeybee *Apis cerana japonica* in Amami-Oshima, Kakeromajima, Ukejima and Yorojima Islands. *Nature of Kagoshima* 51: 157–162.

✉ JT: Faculty of Life Sciences, Kyoto Sangyo University, Kitaku, Kamigamo, Motoyama, Kyoto, 603-8047, Japan (e-mail: jit@cc.kyoto-su.ac.jp).

Received: 30 October 2024; published online: 4 November 2024; https://journal.kagoshima-nature.org/archives/NK_051/051-033.pdf

ある。徳之島は面積 247.8 km² で、島全体に森林が広がり、多くの希少な動植物が生息している。沖永良部島は面積 93.7 km² で、カルスト地形と亜熱帯性のバイオームが特徴である。与論島は面積 20.8 km² で、陸地は石灰岩で形成されており、森林はない。奄美群島の中では最南端に位置している。

ニホンミツバチ *Apis cerana japonica* は、日本列島に生息する在来種で、トウヨウミツバチ *A. cerana* の亜種である。ニホンミツバチは、国内の低地から亜高山帯にかけて広く分布している（高橋, 2003）。本種の働きバチは、多種の植物を訪れるジェネラリストであり、野生植物にとって重要なポリネーターと考えられている（佐々木, 2010）。また、ニホンミツバチの養蜂は、600 年頃から現在まで伝統的な様式で行われており（岡田, 1997；佐々木, 1999；吉田, 2000）、そのハチミツは平安時代から食用資源として利用されてきた記録がある（高橋, 2023）。

ニホンミツバチの分布調査によると、北海道および徳之島以南には生息していない（佐々木, 1999；吉田, 2000；高橋, 2003）。自然分布の北限は下北半島の東通村（岡田, 1997）、南限は奄美大島であった（常木, 1962; Sakagami and Fukuda, 1971）。その後、請島で本種の働きバチが捕獲され、南限は同島とされた（高橋, 2023）。奄美群島のうち、喜界島、加計呂麻島、与路島ではニホンミツバチの分布状況に関する学術調査が行われておらず、詳細は不明である。奄美大島に生息するニホンミツバチの遺伝的変異に関する先行研究では、ニホンミツバチの個体群が形態的（高橋・吉田, 2002；藤原ら, 2015）および遺伝的（高橋・吉田, 2003; Takahashi et al., 2007; Okuyama et al., 2017）に変異を持つことが報告されている。奄美大島のニホンミツバチは、個体群を保全単位として扱う可能性が示唆されている（藤原ら, 2015；鹿児島県, 2016）。

そこで本研究では、奄美大島、喜界島、加計呂麻島、請島、与路島におけるニホンミツバチの生息状況を調査し、これらの地域に生息するニホンミツバチの遺伝的変異について調査結果を報告する。

材料と方法

奄美群島（奄美大島、喜界島、加計呂麻島、請島、与路島）におけるニホンミツバチの生息状況の調査は、1999 年から 2024 年に行った。生息の有無は各島で 50 時間以上の観察を行った。奄美大島は 15 地点、喜界島と加計呂麻島は 5 地点、請島および与路島は 2 地点を調査した。観察地点は 0.5 km 以上離して設定した。ニホンミツバチの分布の有無は、働きバチが草本類に訪花するところを目視で観察するか、捕虫網で生け捕りにし、形態形質を確認することにより種を同定した。観察地点は地図上にプロットし、ニホンミツバチが確認された地点を●で、ニホンミツバチとセイヨウミツバチが確認された地点を○で、セイヨウミツバチが確認された地点を■で示した。DNA 解析用の個体は 99% エタノールに保管した。ニホンミツバチのミトコンドリア DNA の *COXI* 遺伝子配列の解析には、奄美大島、加計呂麻島、請島、与路島で採集された個体を使用した。DNA 抽出には DNeasy Blood & Tissue kit (QIAGEN) を使用し、添付のマニュアルに従った。PCR 増幅には TaKaRa *LA Taq* (TaKaRa) を使用し、反応濃度および温度条件は添付のマニュアルに従った。PCR プライマーは AcmtDNA4227intF: 5'-ACC AAT CAT AGT AGA ATC TAC ATC-3' と AcmtDNA2122intR: 5'-CCA AAA CCT CCA ATT A-3', AcmtDNA2932intF: 5'-CAA TTG GAG GAT TAA CAG G-3' と AcmtDNA842intR: 5'-AAT CTT GGG ATC TTA TTT GGA G-3' (Shimura et al., 2017) を使用した。サイクルシーケンス反応は BigDye™ Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems™) を使用した。反応濃度および温度条件は添付のマニュアルに従って行った。塩基配列の解読には、オートシーケンサー Applied Biosystems 3500xL (Applied Biosystems™) を使用した。得られた塩基配列は、GENETYX Ver.13 (ゼネティックス) を使用してアライメントを行った。リファレンス配列にはニホンミツバチの配列 (Accession no. LC541727, Takahashi et al., 2017) を使用した。解読した塩基配列は、DNA バーコーディング法で種同定を行い、DNA

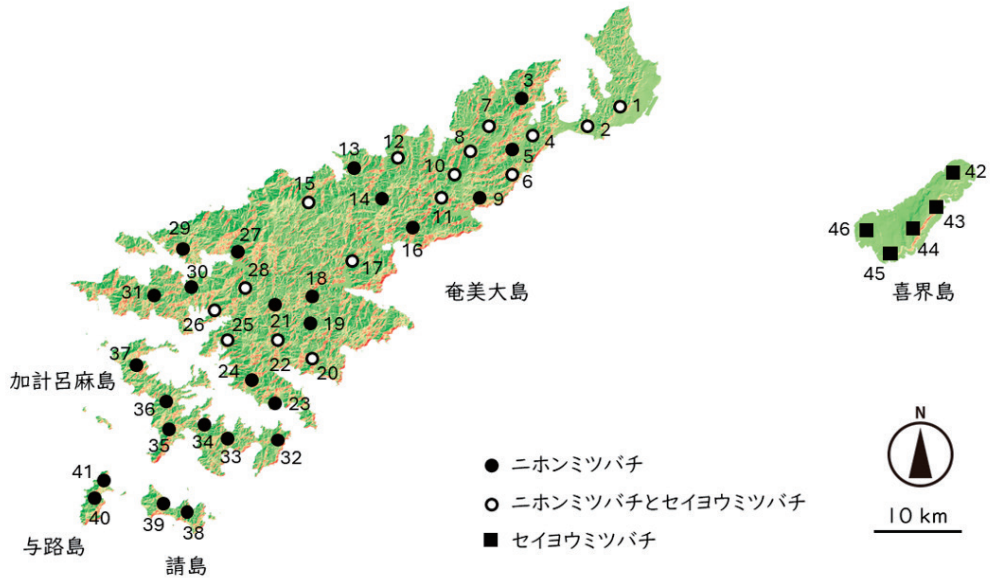


図1. 奄美大島, 喜界島, 加計呂麻島, 請島, 与路島におけるミツバチの分布状況。●はニホンミツバチ, ○はニホンミツバチとセイヨウミツバチ, ■はセイヨウミツバチが確認された地点を示す。点の数値は以下の地名を指す。1. 笠利町大字里, 2. 笠利町用安, 3. 龍郷町嘉渡, 4. 龍郷町浦, 5. 龍郷町大勝, 6. 龍郷町戸口, 7. 名瀬大字大熊, 8. 名瀬仲勝町, 9. 名瀬大字名瀬勝, 10. 名瀬大字平田町, 11. 名瀬大字朝戸, 12. 名瀬大字知名瀬, 13. 大和村国直, 14. 大和村湯釜, 15. 大和村名音, 16. 住用町大字城, 17. 住用町大字石原, 18. 住用町大字役勝, 19. 瀬戸内町嘉徳, 20. 瀬戸内町節子, 21. 瀬戸内町阿室釜, 22. 瀬戸内町阿木名, 23. 瀬戸内町嘉鉄, 24. 瀬戸内町久根津, 25. 瀬戸内町小瀬名, 26. 瀬戸内町古見, 27. 宇検村湯湾, 28. 宇検村須古, 29. 宇検村生勝, 30. 宇検村部連, 31. 宇検村名柄, 32. 瀬戸内町渡津, 33. 瀬戸内町野見山, 34. 瀬戸内町勝能, 35. 瀬戸内町花富, 36. 瀬戸内町俵, 37. 瀬戸内町薩川, 38. 瀬戸内町請阿室, 39. 瀬戸内町池地, 40. 瀬戸内町与路, 41. 瀬戸内町与路高原, 42. 喜界町小野津, 43. 喜界町百之台, 44. 喜界町阿伝, 45. 喜界町浦原, 46. 喜界町中里。

Data Bank of Japan に登録した (Accession nos. LC844675-LC844678)。分子系統解析は, *COXI* 遺伝子の 1566 bp を用いて MEGA XI (Tamura et al., 2021) で最尤法による解析をした。比較のために, ニホンミツバチは, 種子島, 鹿児島市, 対馬島, 京都市, 田辺市で採集された個体のデータと比較した。さらに奄美群島と地理的に近いトウヨウミツバチは, データベースに登録されている韓国 (京畿道水原市), 中国 (江蘇省蘇州市), ロシア (沿海地方), 台湾 (台北市) を使用した。外群は, マレーシアの *A. koschevnikovi* (Wakamiya et al., 2017) と *A. nuluensis* (Takahashi et al., 2017), インドネシアの *A. nigrocincta* (Takahashi et al., 2018) を用いた。最適置換モデルは, 補正赤池情報量基準に基づいて置換モデル GTR + G + I model を選択し, ブートストラップ解析 (1,000 回) を行った。

結果および考察

ニホンミツバチの働きバチは, 奄美大島, 加

計呂麻島, 請島, 与路島で確認された (図1)。奄美大島では, ニホンミツバチは平地帯から山地帯まで全島域わたり分布していることが確認された。一方, セイヨウミツバチは低地帯に多く観察された。加計呂麻島では, 1999年, 2010年, 2016年, 2024年の調査でニホンミツバチの働きバチの生息が確認され, 奄美大島と同様に島内の全域に分布していることがわかった。請島は, 1999年, 2020年, 2024年に2地点で調査を行った結果, すべての年でニホンミツバチの生息が確認された。請島では集落付近の草地でのみ観察が行われ, 山地帯での調査は行っていない。与路島は, 2024年に調査が行われ, ニホンミツバチの働きバチの生息が初めて確認された (図2a, b, c)。分布は与路島集落から北部で確認された。セイヨウミツバチは, 加計呂麻島, 請島, 与路島では確認されなかった。これらの調査で採集した一部の個体は, 国立科学博物館収蔵に標本として収蔵され, 標本番号が付与された (表1)。奄美大島では,

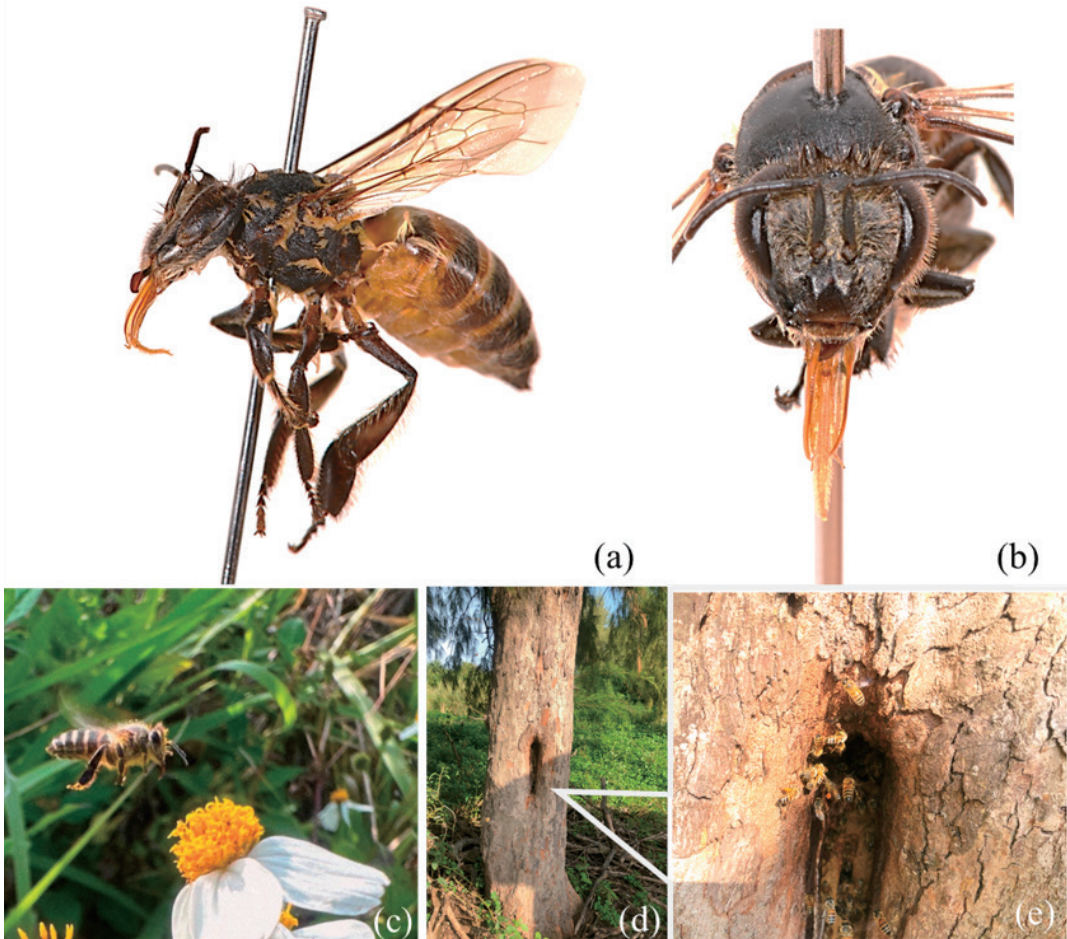


図2. 与路島のニホンミツバチの働きバチの側面 (a), 頭部 (b), タチアワユキセンダングサへの訪花 (c), 喜界島でモクマオウの樹洞に営巣しているセイヨウミツバチの自然巣 (d, e).

ニホンミツバチの自然巣が発見されている（藤原ら, 2015）が、加計呂麻島、請島、与路島ではまだ自然巣の記録はない。奄美大島では、オキナワウラジロガシ、スダジイ、ガジュマルの樹洞や民家の屋根裏、墓石、石塔の空洞で営巣が確認されている（藤原ら, 2015）。この閉鎖空間の営巣習性は、ニホンミツバチに一般的に見られる性質である（佐々木, 1999；吉田, 2000）。加計呂麻島、

請島、与路島でも、奄美大島と同様に樹洞内や人工物の空洞でニホンミツバチは営巣していると思われる。

奄美大島、加計呂麻島、請島、与路島、種子島、鹿児島市、田辺市のニホンミツバチのミトコンドリア DNA の *COXI* 遺伝子の塩基配列は、1,566 bp を解読することができた。これらの DNA の塩基配列は DDBJ に登録された（表 1）。ミトコン

表 1. ニホンミツバチの働きバチの採集情報とその個体の標本番号およびアクセッション番号。

地域	採集情報	標本番号	アクセッション番号
奄美大島	18.I.2024	NSMT-I-Hym 77865	LC844675
加計呂麻島	29.III.2024	NSMT-I-Hym 77866	LC844676
与路島	27.III.2024	NSMT-I-Hym 77867	LC844677
請島	1.XI.2020	NSMT-I-Hym 77868	LC844678

表 2. ニホンミツバチのミトコンドリア DNA の *COXI* 遺伝子 1566 bp の 3 つのハプロタイプ間の塩基置換数（右上）と塩基置換率（左下）。

ハプロタイプ	C1	C2	C3
C1		4	1
C2	0.002554		3
C3	0.000639	0.001916	

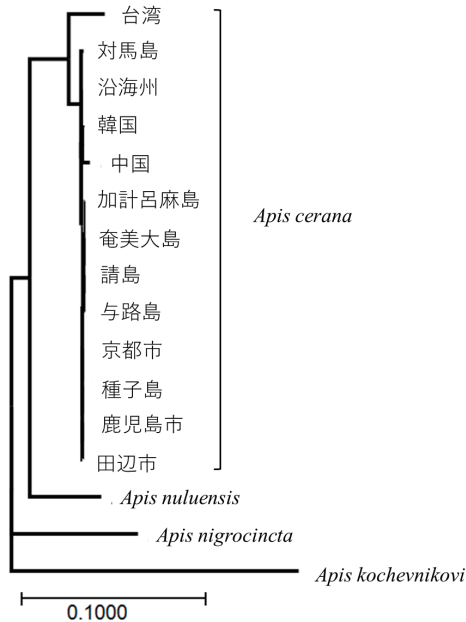


図3. ミトコンドリア DNA の *COXI* 遺伝子を用いた 13 個体の *Apis cerana* における最尤法による分子系統樹。外群は *A. koschevnikovi*, *A. nuluensis*, *A. nigrocincta* を使用した。枝長は遺伝距離を示す。

ドリア DNA の *COXI* 遺伝子の塩基配列は、奄美大島、加計呂麻島、請島、与路島の個体間での変異は確認されなかった。この 4 島で見つかった固有のハプロタイプは C1 とした。このハプロタイプ C1 は、種子島、鹿児島市、対馬島、京都市、田辺市の個体と異なるハプロタイプを示した。対馬島のハプロタイプは C2、種子島、鹿児島市、京都市、田辺市のハプロタイプは C3 とした。C1 と C2 の間には 4 塩基、C1 と C3 の間には 1 塩基、C2 と C3 の間には 3 塩基の置換が確認された (表 2)。ニホンミツバチの個体群間で見られた遺伝的距離は、地史的な隔離期間を反映している可能性が確認された (表 2)。分子系統解析では、韓国、中国、ロシア、台湾のトウヨウミツバチを含めて行った結果、C1 と C3 のハプロタイプは同一のクラスターに属していることがわかった (図 3)。奄美大島、加計呂麻島、請島、与路島の個体は、本州と九州の個体と単系統性を示し、ニホンミツバチ亜種のクラスターに含まれていることが確認された。請島および与路島のニホンミツバチは、過去の DNA 解析の結果 (高橋・吉田, 2003;

Takahashi et al., 2007; Okuyama et al., 2017) や、本種の伝統的な養蜂に関する記録が存在しないことを踏まえ、今回の DNA 解析からも自然分布であると結論づけた。

喜界島は、2002 年、2014 年、2022 年、2024 年に 5 地点で合計約 130 時間の観察が行われたが、ニホンミツバチは確認されなかった。しかし、同島でセイヨウミツバチ *A. mellifera* の自然巣および訪花個体が確認された (図 2d, e)。セイヨウミツバチは、養蜂場から分蜂時に逃去した群が帰化したと推測される。今回の調査から、奄美大島、加計呂麻島、請島、与路島のニホンミツバチの個体群は、固有の遺伝資源を有していた。さらにこれらの島で分布は偏りがなく、安定した生息状態にある。奄美群島には、ミツバチの天敵であるオオスズメバチ *Vespa mandarinia* は生息していない (山根, 1988)。オオスズメバチの生息していない地域では、セイヨウミツバチの帰化のリスクがある (佐々木, 1999; 吉田, 2005)。例えば西表島では養蜂目的で持ち込まれたセイヨウミツバチが逃げ出して定着している (高橋・片田, 2002)。セイヨウミツバチとニホンミツバチは生殖隔離機構が存在するため交雑個体は存在しないが (吉田, 2000, 2005; 高橋, 2023)、セイヨウミツバチの病原微生物がニホンミツバチに水平伝播する可能性 (高橋, 2014) や、在来ハナバチ類との資源競争が懸念されている (高橋, 2015)。請島と与路島のニホンミツバチの自然個体群の保全を考えると、対馬島のようにセイヨウミツバチの導入を制限することが望ましい。

謝辞

本調査は、JSPS 科研費 23K05925 の支援を受けて行われた。また、島民の方たちからは多くのニホンミツバチに関する情報の提供を受けた。この場を借りてお礼を申し上げる。

引用文献

藤原愛弓・和田翔子・鷲谷いづみ. 2015. 奄美大島のニホンミツバチの保全に向けた生態特性の把握: 体サイズ、営巣場所、天敵、繁殖期のコロニーの活動と分封. 保全生態学研究. 20: 131-145.

- Ilyasov, R. A., Park, J., Takahashi, J. and Kwon, H. W. 2018. Phylogenetic uniqueness of honeybee *Apis cerana* from the Korean peninsula inferred from the mitochondrial DNA. *Journal of Apicultural Science*. 62: 189–214.
- Ilyasov, R. A., Youn, H. G., Lee, M.-L., Kim, K. W., Proshchalykin, M. Y., Lelej, A. S., Takahashi, J. and Kwon, H. W. 2019. Phylogenetic Relationships of Russian Far-East *Apis cerana* with Other North Asian Populations. *Journal of Apicultural Science*. 63: 289–314.
- 鹿児島県. 2016. 改訂・鹿児島県の絶滅のおそれのある野生動植物レッドデータブック 2016 動物編. 401 pp. 鹿児島県環境技術協会. 鹿児島市.
- 岡田一次. 1997. ニホンミツバチ誌. 87 pp. 玉川大学出版部. 東京.
- Okuyama, H., Wakamiya, T., Fujiwara, A., Washitani, I. and Takahashi, J. 2017. Complete mitochondrial genome of the honeybee *Apis cerana* native to two remote islands in Japan. *Conservation Genetics Resources*. 9: 557–560.
- 小野寺浩. 2022. 世界遺産奄美. 233 pp. 南方新社. 鹿児島市.
- Sakagami, S. F. and Fukuda, H. 1971. Notes on vernal bees of Amami-Oshima. *Kontyû*. 39: 14–19.
- 佐々木正己. 1999. ニホンミツバチ - 北限の *Apis cerana*. 191 pp. 海游舎. 東京.
- 佐々木正己. 2010. 蜂からみた花の世界：四季の蜜源植物とミツバチからの贈り物. 413 pp. 海游舎. 東京.
- Shimura, Y., Okuyama, H., Kiyoshi, T., Lin, C. P., Kadowaki, T. and Takahashi, J. 2018. The complete mitochondrial genome and genetic distinction of the Taiwanese honeybee, *Apis cerana* (Hymenoptera: Apidae). 10: 621–626.
- 高橋純一. 2003. ニホンミツバチの起源と分布. *昆虫と自然*. 30: 265–280.
- 高橋純一. 2014. 日本におけるミツバチの減少原因について—本当にミツバチたちは消えたのか—. *環境と健康*. 27: 12–22.
- 高橋純一. 2015. ポリネーターの役割と環境変化について. *GREEN AGE*. 7: 18–21.
- 高橋純一. 2023. ミツバチの秘密. 352 pp. 緑書房. 東京.
- Takahashi, J., Hadisoelilo, S., Okuyama, H. and Hepburn, R. H. 2018. Analysis of the complete mitochondrial genome of *Apis nigrocincta* (Insecta: Hymenoptera: Apidae) on Sangihe Island in Indonesia. *Conservation Genetics Resources*. 10: 755–760.
- Takahashi, J., Tingek, S. and Okuyama, H. 2017. The complete mitochondrial DNA sequence of endemic honeybee *Apis nuluensis* (Insecta: Hymenoptera: Apidae) inhabiting Mount Kinabalu in Sabah Province, Borneo Island. *Mitochondrial DNA Part B*. 2: 585–586.
- 高橋純一・片田真一. 2002. 西表島の養蜂とセイヨウミツバチの帰化状況. *ミツバチ科学*. 23: 71–74.
- 高橋純一・若宮 健・奥山 永. 2017. 在来種ニホンミツバチ *Apis cerana japonica* のミトコンドリア全ゲノム配列の比較. *京都産業大学先端科学技術研究所所報*. 16: 21–29.
- 高橋純一・吉田忠晴. 2002. 対馬のトウヨウミツバチの系統的位置—働きバチの翅形態形質による多変量解析—. *ミツバチ科学*. 23: 115–120.
- 高橋純一・吉田忠晴. 2003. ミトコンドリア DNA からみたニホンミツバチの起源. *ミツバチ科学*. 24: 71–76.
- Takahashi, J., Yoshida, T., Takagi, T., Akimoto, S., Woo, K. S., Deowanish, S., Hepburn, R., Nakamura, J. and Matsuka, M. 2007. Geographic variation in the Japanese islands of *Apis cerana japonica* and in *A. cerana* populations bordering its geographic range. *Apidologie* 38: 335–340.
- Tamura, K., Stecher, G. and Kumar, S. 2021. MEGA11: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 11. *Molecular Biology and Evolution*. 38: 3022–3027.
- 常木勝次. 1962. 奄美大島の有刺膜翅目. *生物研究* (福井). 6: 1–9.
- Wakamiya, T., Tingek, S., Okuyama, H., Kiyoshi, T. and Takahashi, J. 2017. The complete mitochondrial genome of the cavity nesting honeybee, *Apis koschevnikovi* (Insecta: Hymenoptera: Apidae). *Mitochondrial DNA Part B*. 2: 24–25.
- 若宮 健・吉岡優奈・奥山 永・高橋純一. 2016. 対馬に生息するニホンミツバチ (*Apis cerana japonica* Radoszkowski) のミトコンドリアゲノムに見られた遺伝的変異. *長崎県生物学会誌*. 78: 7–14.
- 山根正気. 1988. 琉球列島のスズメバチ. *SATSUMA*. 37: 161–174.
- 吉田忠晴. 2000. ニホンミツバチの飼育法と生態. 136 pp. 玉川大学出版部. 東京.
- 吉田忠晴. 2005. ニホンミツバチの社会をさぐる. 148 pp. 玉川大学出版部. 東京.