

ミツバチ飼育に有用な機能性代用花粉の開発

－ミツバチ腸管内より分離した有用乳酸菌を添加した花粉代用品の製造－

大阪府立園芸高等学校 フラワーファクトリ科 3年 岩本大河

1 背景

2009年に、農業界では**ミツバチの不足**によるパニック状態となった。原因は複雑な要素がからみ合っているが、ミツバチが思うように増やせない事である。**強群のミツバチを育成**することで、ミツバチ不足の解消に役立つと考えた。ミツバチの餌は、花蜜(ネクター)と花粉(ポーレン)です。次世代のミツバチとなる幼虫を健全に育成することで、強群のミツバチを育てる事が可能になると考えた。2009年より、ミツバチ幼虫の餌となる花粉の代用品(『**代用花粉**』)の開発に着手し、**2019年にプロトタイプオリジナル代用花粉**を作り上げた。このオリジナル代用花粉の改善点(研究課題)として、

- ② 花粉荷の香気成分を分析し、ミツバチの好む香り成分添加する。
- ② 代用花粉の給餌方法を簡易化(レトルト加工処理)する。
- ③ **免疫力を高めた機能性代用花粉の開発**する。

2 目的

ミツバチ体内より、ミツバチの生育に有効な微生物(乳酸菌)を単離し・培養する。この乳酸菌をオリジナル代用花粉に添加して、ミツバチの生育に有用な**機能性(プロバイオテックス)**を持つ代用花粉を製造する。

3 実験方法(計画)

- ① ミツバチサンプルより、ミツバチ用プロバイオテックスに適した**乳酸菌**を**単離・同定**する。
- ② ①の菌種の中より、ミツバチ飼育に有用な乳酸菌を**選別**する。
 - ③ 選抜した乳酸菌を用いて、
 - オリジナル代用花粉を用いた**増殖試験**
 - **悪玉菌の抑制効果試験**
 - **培養利用試験** を行う。
- ④ 選抜した乳酸菌を、オリジナル代用花粉に加えて有用性を調べる。

4 結果

- ① 乳酸菌を単離、同定する

サンプル19検体(働きバチ・雄バチ・女王バチ)から、34種類の菌株を採取できた。

Lactobacillus panisapium	12株
Bifidobacterium asteroids	8株
Lactobacillus helsingborgensis	6株
Lactobacillus apis	4株
Lactobacillus melliventris	2株
Lacrimispora sphenoides	1株
Clostridium sartagoforme	1株

通番	分離地	約番名	Blast解析結果
3	MRSCaC03	2A-c	Lactobacillus panisapium
4	MRSCaC03	2A-d	Bifidobacterium asteroides
5	MRSCaC03	2B-a	Lactobacillus panisapium
11	MRSCaC03	2C-c	Clostridium sartagoforme
15	TOS	2A-a	Bifidobacterium asteroides
16	TOS	2A-b	Bifidobacterium asteroides
17	TOS	2A-c	Bifidobacterium asteroides
19	TOS	2B-a	Bifidobacterium asteroides
20	TOS	2B-b	Bifidobacterium asteroides
22	TOS	2B-d	Bifidobacterium asteroides
24	TOS	2C-a	Bifidobacterium asteroides
25	TOS	2C-b	Lacrimispora sphenoides
32	GYP	2A-a	Lactobacillus panisapium
33	GYP	2A-b	Lactobacillus panisapium
34	GYP	2A-c	Lactobacillus panisapium
35	GYP	2A-d	Lactobacillus apis
48	SYP	2B-b	Lactobacillus panisapium
49	SYP	2B-c	Lactobacillus panisapium
53	MRSCaC03	EC2B-a	Lactobacillus helsingborgensis
56	GYP	EC2A-a	Lactobacillus panisapium
57	GYP	EC2B-a	Lactobacillus panisapium
70	GYP	3A-b	Lactobacillus apis
73	GYP	3A-b	Lactobacillus melliventris
83	GYP	5A-a	Lactobacillus panisapium
88	SYP	4B-a	Lactobacillus panisapium
90	GYP	5B-a	Lactobacillus apis
91	GYP	6A-a	Lactobacillus melliventris
95	GYP	8A-a	Lactobacillus apis
97	MRS	5B-a	Lactobacillus helsingborgensis
99	MRS	6A-b	Lactobacillus helsingborgensis
100	MRS	7A-a	Lactobacillus panisapium
102	MRS	8A-a	Lactobacillus helsingborgensis
103	MRS	8A-b	Lactobacillus helsingborgensis
104	SYP	5B-a	Lactobacillus helsingborgensis

L. Apis

基質を加えず代用花粉などのみで培養をおこなったときも、**代用花粉**(海苔粉末でも実験)で**菌数の維持**が見られた。

L. Panisapium

基質を加えず代用花粉などのみで培養をおこなったとき、1日目に増加が見られたが2日目には減少し、3日目には全ての処理区で検出されなかった。

実験の結果、**L. apis**はL. panisapiumと比べ**代用花粉と相性がいい**と考えられる。

- ③-2 ミツバチ腸管内の悪玉菌(腐蝕病)の生育抑制効果

L. apis、L. panisapiumを用いた培養液に、大腸菌(E. coli)の抑制効果がみられるか試験を行った。

試験方法 各乳酸菌液を原液区、1/2、1/4、1/8、1/16になるように1/2MRS培地で希釈した処理区を作成して実験を行った。

L. apisの原液~1/4区、L. panisapiumの原液~1/2区において**E. coliの生育は阻害**された

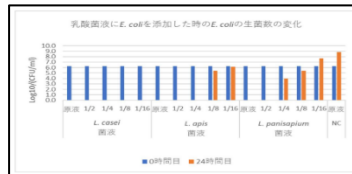


表6 腸管内によるE. coliの抑制効果試験E. coliの生菌数

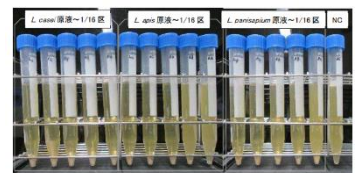


図2試験の様子。左からL. casei、L. apis、L. panisapium、NC

- ③-3 選抜した乳酸菌を共培養し、代用花粉への添加の可能性を調べる。

菌数の推移

1日目 他処理区と同等になっており大きな影響は見られない。7日目 L. panisapiumはL. apis区に比べ減少しているが、その後菌数の推移は全ての処理区で同じような減衰となった。

20日目 検出されなくなった

5 考察

L. apisはL. panisapiumと比較して基質を含まない代用花粉(海苔粉末)のみの培養液でも菌数を維持することができており、オリジナル代用花粉と相性が良いと推察された。L. apisやL. panisapiumを代用花粉バテ活用するには、**混合後嫌気を保ち7日以内に給餌**する方法を考える必要がある。

6 今後の課題

今後は、**ケストース**等のミツバチ腸内細菌の生育に有用な材料を、代用花粉に加えて**オリジナル代用花粉の改良**を加えると共に、代用花粉に有用乳酸菌を加えて、実際の養蜂現場で飼育実験を行い、ミツバチの飼育に有効であるということを実証したい

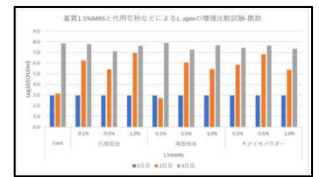


表3 基質 0.5%グルコースと代用花粉などによる

L. apisの増殖効果試験

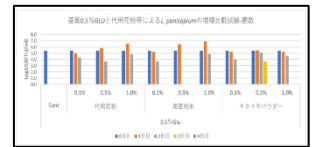


表4 基質 0.5%グルコースと代用花粉などによる

L. panisapiumの増殖効果試験

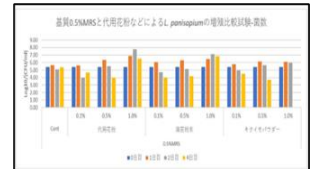


表5 基質を含まない代用花粉などによるL. apisと

L. panisapiumの増殖効果試験

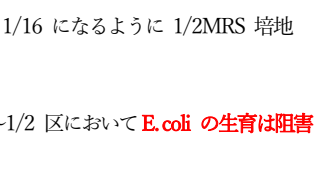


表7 L. apisとL. panisapium 3種類の菌数の推移

- ② 菌の選抜 同定した菌種の中から先行研究(論文)^{*1}を参考に乳酸菌を選抜し特徴を調査し、**Lactobacillus apis**と、**Lactobacillus panisapium**の2株を候補とした。
- ③-1 オリジナル代用花粉等によるミツバチ由来乳酸菌(L. apisとL. panisapium)の増殖効果試験