

氏名(本(国)籍)	北村夕子(大阪府)		
主指導教員氏名	岐阜大学 教授 浅井鉄夫		
学位の種類	博士(獣医学)		
学位記番号	獣医博甲第600号		
学位授与年月日	令和4年3月14日		
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当		
研究科および専攻	連合獣医学研究科 獣医学専攻		
研究指導を受けた大学	岐阜大学		
学位論文題目	岐阜県南西部の養蜂場における蜂病ウイルスの感染状況と対策に関する研究		
審査委員	主査	岐阜大学 教授	高松大輔
	副査	帯広畜産大学 教授	鈴木宏志
	副査	岩手大学 教授	村上賢二
	副査	東京農工大学 教授	水谷哲也
	副査	岐阜大学 教授	浅井鉄夫

学位論文の内容の要旨

ミツバチは蜂蜜、ローヤルゼリー、蜜蝋を生産するだけでなく、花粉媒介者としても活用され、幅広い産業分野に貢献する有益な昆虫である。蜂病ウイルスは、現時点で少なくとも30種類が知られ、蜂群の減弱や生産性の低下などに関与することが懸念されている。国内の蜂病ウイルスの調査は限られており、予防薬が開発されていない蜂病ウイルスの対策は飼養管理を中心に実施されている。本研究は、岐阜県南西部の養蜂場におけるセイヨウミツバチ(以下、ミツバチ)と節足動物を対象に8種類の蜂病ウイルスをpolymerase chain reaction(PCR)法と分子疫学解析により調査・解析して、ウイルス感染の実態と疫学情報を養蜂家へ普及啓発して安定した養蜂経営に役立てることを目的に実施された。

第一章では、8種類の蜂病ウイルスを岐阜県南西部の26蜂場で飼育されているミツバチを用いてPCR法で検索した。その結果、黒色女王蜂児病ウイルス(BQCV)を約90%の養蜂場で、イスラエル急性麻痺ウイルス(IAPV)、レイクシナイウイルス(LSV)およびチデレバネウイルス(DWV)を35%以上の養蜂場で検出した。その他、サックブルードウイルス(SBV)を1養蜂場で検出したが、慢性麻痺ウイルス(CBPV)、急性麻痺ウイルス(ABPV)およびカシミール蜂ウイルス(KBV)は検出されなかった。このことから、調査地域のBQCVの汚染が高度であること、国内で初めてLSVの分布を明らかにした。次いで、検出されたBQCV、IAPV、LSVおよびDWVのPCR産物の塩基配列を分子系統解析して、BQCV、LSVおよびDWVの遺伝子配列が中国や韓国および過去の日本の遺伝子と近縁であることを明らかにした。当該地域に分布するBQCV、LSVおよびDWVは中国から輸入される養蜂資材(主に花粉)との関与を示唆し、輸入資材を滅菌するなどの衛生管理の重要性を考察した。また、LSVが国内に初めて確認されたことを明らかにしたことから、養蜂における病原体検査の重要性を示した。

第二章では、岐阜県南西部の3蜂場で、ミツバチと野生節足動物から8種類の蜂病ウイルスの検出を行った。その結果、捕獲したスズメバチ類から IAPV と DWV を高率に検出した。分子系統解析の結果、スズメバチ類から検出された IAPV 遺伝子は、養蜂場で飼育されるミツバチから検出されたものと同じクラスターを形成し、スズメバチ類のウイルスは飼育バチに由来することを示唆した。一部のスズメバチ類由来 DWV 遺伝子は他の養蜂場のミツバチに由来するものと同じクラスターを形成した。以上から、スズメバチ類は養蜂場内および養蜂場間のウイルス感染に関与する可能性を示した。養蜂場におけるウイルス感染対策において、スズメバチの駆除や死骸除去等の飼養管理の重要性を示した。

第三章では、岐阜県南西部の1養蜂場の全ての巣箱の配置図を作成し、また、全巣箱からサンプリングしたミツバチを用いて8種類のウイルスを検索した。LSV と BQCV が全65群の60%以上から検出され、IAPV が11群、SBV が1群から検出された。LSV および BQCV は養蜂場内全域に分布したが、IAPV は限局して分布していた。隣接した蜂群で巣箱間の距離と巣箱入口の向きを解析した結果から、距離が近い蜂群で相互感染する傾向が認められた。以上から、LSV や BQCV が養蜂場内全域に分布する要因として、近接した蜂群間での感染伝播によることを示唆し、巣箱は可能な限り十分離して設置する必要があることを示した。

本研究で行なった岐阜県南西部の養蜂場に分布するウイルスの調査成績から、ウイルス対策につながる飼養管理方法を提示した。提示した対策の効果は検討されていないが、蜂病ウイルスに対する予防薬は未開発で、疫学情報も限られている現在、本研究により得られた知見は養蜂場における蜂病ウイルスの対策を構築するために必要な基礎情報となり、安定した蜂群生産に役立つ可能性がある。

審査結果の要旨

本研究で行なった岐阜県南西部の養蜂場に分布するウイルスの調査成績から、ウイルス対策につながる飼養管理方法を提示した。提示した対策の効果は検討されていないが、蜂病ウイルスに対する予防薬は未開発で、疫学情報も限られている現在、本研究により得られた知見は養蜂場における蜂病ウイルスの対策を構築するために必要な基礎情報となり、安定した蜂群生産に役立つ可能性がある。

申請者の学位論文は、岐阜県南西部の養蜂場において収集したセイヨウミツバチ(以下、ミツバチ)と節足動物を対象に8種類の蜂病ウイルスを polymerase chain reaction (PCR) 法により調査・解析した成績に基づき、養蜂場における蜂病ウイルスの対策を提案している。

第一章では、8種類の蜂病ウイルスを岐阜県南西部の26蜂場で飼育されたミツバチから PCR 法で検索し、黒色女王蜂児病ウイルス (BQCV) の高率な分布、イスラエル急性麻痺ウイルス (IAPV)、レイクシナイウイルス (LSV) およびチヂレバネウイルス (DWV) の3割程度の分布を明らかにした。次いで、検出された BQCV, IAPV, LSV および DWV の PCR 産物の塩基配列を分子系統解析して、BQCV, LSV および DWV の遺伝子配列は中国や韓国と近縁であることを明らかにし、当該地域に分布するこれら3種のウイルスは中国から輸入される養蜂資材(主に花粉)などの関与を示唆した。これらから、輸入養蜂資材を滅菌するなどの衛生管理の必要性を示した。さらに、ミツバチにおける LSV の浸潤を国内に初めて明らかにしたことから、養蜂業界における飼育ミツバチの病原体検査の重要性を示した。

第二章では、岐阜県南西部の3蜂場で、ミツバチと野生節足動物から8種類の蜂病ウイ

ルスを検索した結果、捕獲したスズメバチ類から IAPV と DWV を高率に検出した。また、分子系統解析により、スズメバチ類から検出された IAPV 遺伝子が養蜂場で飼育されるミツバチから検出されたものと近縁で、スズメバチ類とミツバチ間のウイルス伝播を示唆した。一部のスズメバチ類由来 DWV 遺伝子は他の養蜂場のミツバチに由来するものと近縁であったことから、スズメバチ類が養蜂場間のウイルス伝播に関与することを示唆した。これらから、養蜂場の防疫においてスズメバチの駆除や死骸除去などの飼養管理が重要であることを示した。

第三章では、岐阜県南西部の 1 養蜂場の全ての巣箱から採集したミツバチを用いて 8 種類のウイルスを調査し、LSV と BQCV が高率に養蜂場内の全域の蜂群に分布することを明らかにした。また、隣接した蜂群で巣箱間の距離と巣箱入口の向きを解析した結果、距離が近い蜂群で相互感染する傾向を認めた。これらから、LSV や BQCV が養蜂場全体に分布する要因として、近接した蜂群間での感染伝播に起因することを示唆し、巣箱は可能な限り十分離して設置する必要があることを示した。

本研究では、提示した対策の効果は検討されていないが、蜂病ウイルスに対する予防薬が開発されていない現在、本研究により得られた知見は養蜂場における蜂病ウイルスの対策を構築するための情報を提供し、安定した養蜂経営に役立つことが期待される。

以上について、審査委員全員一致で本論文が岐阜大学大学院連合獣医学研究科の学位論文として十分価値があると認めた。

基礎となる学術論文

- 1) 題 目：岐阜県内養蜂場で捕獲された節足動物からの蜂病ウイルスの検出
著 者 名：北村夕子，浅井鉄夫
学術雑誌名：日本獣医師会雑誌
巻・号・頁・発行年：74 (7) : 427-431, 2021
- 2) 題 目：Prevalence of honeybee viruses in *Apis mellifera* in Gifu prefecture of Japan
著 者 名：Kitamura, Y., Odoi, J.O., Nagai, M. and Asai, T.
学術雑誌名：The Journal of Veterinary Medical Science
巻・号・頁・発行年：83(12):1948-1951, 2021

既発表学術論文

- 1) 題 目：Proteomic profiling of milk small extracellular vesicles from bovine leukemia virus-infected cattle
著 者 名：Rahman, M.M., Takashima, S., Kamatari, Y.O., Badr, Y., Kitamura, Y., Shimizu, K., Okada, A. and Inoshima, Y.
学術雑誌名：Scientific Reports
巻・号・頁・発行年：11(1):2951, 2021
- 2) 題 目：Prevalence of antimicrobial resistance in bacteria isolated from great cormorants (*Phalacrocorax carbo hanedae*) in Japan
著 者 名：Odoi, J.O., Sugiyama, M., Kitamura, Y., Sudo, A., Omatsu, T. and Asai, T.
学術雑誌名：The Journal of Veterinary Medical Science
巻・号・頁・発行年：83(8):1191-1195, 2021

- 3) 題 目 : Spatial distribution of anti-*Toxoplasma gondii* antibody-positive wild boars in Gifu Prefecture, Japan
著 者 名 : Saito, T., Kitamura, Y., Tanaka, E., Ishigami, I., Taniguchi, Y., Moribe, J., Kitoh, K. and Takashima, Y.
学術雑誌名 : Scientific Reports
卷・号・頁・発行年 : 11:17207, 2021
- 4) 題 目 : Complete genome sequence of bovine coronavirus in blood diarrhea from adult cattle that died from winter dysentery in Japan
著 者 名 : Nakagawa, K., Kumano, H., Kitamura, Y., Kuwata, K., Tanaka, E. and Fukushi, H.
学術雑誌名 : Microbiology Resource Announcements
卷・号・頁・発行年 : 10(42):e00807-21, 2021