

農薬や抗生物質を用いない安全な養蜂生産物の生産と  
環境保全型養蜂様式の確立に関する研究

京都大学生態学研究センター・機関研究員 高橋 純一

■ 目 的

養蜂では病原性微生物の防除に抗生物質や農薬を使用しているが、養蜂生産物中にこれらの薬剤が残留する問題が生じている。近年確立された RNA interference (RNAi、RNA 干渉) 法によるウイルス感染症への防除方法は、低農薬による新しい養蜂様式となる可能性があるため注目されている。今回この原理を利用し、ミツバチ感染性 RNA ウイルスに対して RNAi による防除手法の効果について検討を行った。

■ 方 法

全国の養蜂場から高い頻度でチヂレバネウイルス (deformed wing virus, DWV) に感染していたセイヨウミツバチ群を京都大学生態学研究センターの養蜂場で飼養し、今回の実験に用いた。dsRNA を合成するために、DWV の ssRNA ゲノム中の 3722-4076nt 間の断片を RT-PCR 法により増幅し使用した。DWV の抑制効果を確認するために 1～2 齢幼虫に投与し、蛹期に DWV 感染の有無を RT-PCR 法により解析した。DWV の感染経路と日本のセイヨウミツバチとミツバチヘギイタダニの DWV 保有率を明らかにするために RT-PCR により推定した。

■ 結果および考察

今回の調査は日本で初めて DWV を分子生物学的手法により検出することができた。DWV の 3722-4076nt 間の配列を決定したところ、欧州で見つかった DWV 配列 (accession no. NC004830) と一致していた。日本の DWV 感染は極地的な現象ではなく、5 調査地点 (東京、岡山、滋賀、熊本、新潟) のうち新潟を除く 4 つで DWV の感染を確認した。ミツバチヘギイタダニが寄生している群では、DWV がセイヨウミツバチ働き蜂に高い感染率を示していることも明らかにした。DWV の感染率はミツバチヘギイタダニで 67%、ミツバチヘギイタダニに寄生されていたセイヨウミツバチは 32% であった。ミツバチヘギイタダニ防除用の薬剤を投与したミツバチヘギイタダニ・フリー区のセイヨウミツバチは 0% であった。これらのことから、ミツバチヘギイタダニが DWV 媒介者として作用している可能性が示唆された。

DWV に感染しているミツバチ幼虫に対して feeding RNAi 法による DWV の抑制効果の検証を行った。DWV の部分配列情報をもとに dsRNA を合成し、幼虫の餌に投与したところ蛹の段階での DWV の RT-PCR による検出率は、12.5% で水を投与したコントロール区は 59.4% であり、有意差が検出された ( $\chi^2=15.2$ ,  $df=1$ ,  $p<.01$ )。RT-PCR の結果から DWV の抑制効果を示すことができた。dsRNA の feeding RNAi 法は、ミツバチの病原体防除方法の新しい手法となることが期待された。dsRNA 自体はオフターゲット効果以外の毒性は特に報告されていないことや残存期間が少ないため化学農薬に変わる防除方法として低薬剤利用を目指す新しい養蜂様式の確立にとって重要な手法となることが期待された。

■ 結 語

ミツバチ病原性 RNA ウイルスである DWV を今回日本からはじめて確認した。DWV 感染幼虫に dsRNA を投与することにより DWV の抑制効果があることを示した。dsRNA 自体は、残存期間が少ないため農薬や抗生物質に変わる手段として可能性が示された。RNAi 法は今後の環境保全型養蜂を目指す新しい養蜂様式にとって重要な防除手法となることが期待された。