

氏名	STOIC Marko		
学位の種類	博 士 (農 学)		
学位記番号	博 甲 第 8323 号		
学位授与年月日	平成 29年 6月 30日		
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当		
審査研究科	生命環境科学研究科		
学位論文題目	Sympatric and Longitudinal Comparison of Midgut/Pyloric Bacterial Population in European Honey Bee (<i>Apis mellifera</i>) and Japanese Honey Bee (<i>Apis cerana japonica</i>) (セイヨウミツバチとニホンミツバチの中腸腸内細菌叢の同所的縦断的比較)		
主査	筑波大学教授 (連携大学院)	Ph. D.	木村 澄
副査	筑波大学教授	農学博士	戒能 洋一
副査	筑波大学教授	Ph. D.	テイラー デマー
副査	筑波大学教授 (連係大学院)	博士 (獣医学)	三森 眞琴
副査	(国) 農業・食品産業技術総合研究機構 畜産研究部門 上席研究員	博士 (農学)	芳山 三喜雄

論 文 の 要 旨

ミツバチは、果物や作物の最も重要な花粉媒介昆虫で、世界の農業に多大な貢献をし、その需要は近年急激に増加している。その一方、ミツバチは蜂病によって、弱体化し、一部の国では、蜂群数が減少している。ミツバチは蜂病に抵抗するために、機械的、生理的、および免疫防御を進化させてきている。また、養蜂業では、蜂病をコントロールするために抗生物質も使用されている。しかし、抗生物質に抵抗性を持つ病原菌出現の問題もあり、新たな蜂病の防除方法が求められている。

第1章では、著者は、蜂病にまつわる現在の状況を概説し、これらの背景に基づいた本研究の目的が述べられている。新たな蜂病対策として、蜂蜜が抗菌性を持つことから、ミツバチが食べる餌（花蜜）を、病原体に対する防御手段として利用することの可能性を言及した。また、別の方法として、ミツバチの腸内細菌から病原体に対して抗菌性を持つものが単離されることから、蜂病防除へのプロバイオティックなアプローチについて論じている。その中で、著者は、ミツバチの腸内細菌の知見が十分でないことを指摘し、より詳細な解析の必要性を提起した。

第2章では、蜂病のコントロールのために有用な餌資源を探索すると言う点から、著者はクリの蜂蜜のアメリカ腐蛆病 (AFB) の原因菌 *Paenibacillus larvae* に対する抗菌性を明らかにした。著者は、日本およびクロアチア産のクリの蜂蜜を用い、抗菌活性を調べたところ、*P. larvae* に対して高い抗菌性を示すことを見出した。クリ蜜の *P. larvae* に対する抗菌性はクリ蜜の純度(クリの花粉の含有率)に有意に正の相関があった。また pH が高いほど抗菌活性が高いことを示した。

第3章では、著者は、プロバイオティックの観点から、ミツバチの腸内細菌叢を、種間、季節間、飼育地域間で比較し、詳細な細菌叢の変動を調べた。著者は、同所的に管理されているセイヨウミツバチとニホンミツバチを4月と9月、4カ所の蜂場から、サンプリングした。そして、働き蜂の中腸および幽門部(消化管の中で細菌叢が最も動的な変化を示す部位)の共生細菌を 16S-rRNA 遺伝子のメタゲノム解析を行った。どの細菌

種も両種とも4月と9月の間で有意な増減の傾向を示さなかった。細菌種の両ミツバチ種とも、その最も多く存在していた細菌は、Pasteurelanceae科に属する細菌(34%)で、その中で *Gilliamella apicola* (49%) が最も豊富な種であった。しかし、その種の多さは地域によって統計的に異なっていた。三番目に最も多かった Neisseriaceae科に属する *Snodgrassella aliovi* は、第三の最も豊富な細菌種であった(4%)。一方、今までの研究からミツバチのコアな細菌叢を形成する細菌種の割合は中腸では低かった。Flavobacteriaceae科の細菌は、全体を通じて二番目に多かったが、この科に属す *Apibacter adventoris* はニホンミツバチでは非常に多かった(31%)が、セイヨウミツバチにはほとんど分布していなかった。しかし逆に Pasteurelanceae科に属する *Frischella perrara* (12%) は、セイヨウミツバチにのみ分布していた。Lactobacillus科の細菌の分布は3.5%未満と地域依存的であった。

これらの結果をふまえ、著者は第4章では、ミツバチの食料供給と細菌叢に及ぼす影響について、環境の重要性を論議した。ミツバチが採餌する食料源が蜂病原菌を抑制する効果を持つ可能性がある。また、腸内細菌叢は地域によって大きく変動することも環境の影響を受けていることの証左である。

第5章では、著者は一連の研究結果から、蜂蜜の効能や、細菌叢の変異の多さは地域に依存していると結論づけた。このことは、養蜂において、飼養環境が非常に重要であることを示唆する。さらに、今後の研究により、飼養場所の特定が、どのようなルートで、またどのように餌資源や共生細菌の多様性の向上に貢献できる可能性を示した。

審 査 の 要 旨

本研究では、ミツバチの蜂病管理の問題を解決する糸口として、ミツバチの消費する花蜜利用の可能性を検討した。さらに、プロバイオティック利用の考えからミツバチ腸内細菌に関して検討した。まず、クリ蜜が、重要な蜂病であるアメリカ腐蛆病の原因菌 *P. larvae* に対して高い抗菌性を示すことを明らかにした。特定の蜂蜜が、蜂病の原因菌に対して抑制効果を示した世界で初めての例である。次にセイヨウミツバチとニホンミツバチの各所から採集したサンプルの腸内細菌のメタゲノム解析から、それぞれの種の細菌叢の特徴を明らかにし、飼育されている地域に最も影響を受けていることを示した。これらの結果は今後、蜂病管理ひいてはミツバチの健全性を考える上で非常に重要な知見であり、研究成果として評価される。

平成29年4月26日、学位論文審査委員会において、審査委員全員出席のもとに論文の審査及び最終試験を行い、本論文について著者に説明を求め、関連事項について質疑応答を行った。その結果、審査委員全員によって合格と判定された。

よって、著者は博士(農学)の学位を受けるのに十分な資格を有するものとして認める。