

学 位 論 文 要 旨

養蚕地域におけるカイコ核多角体病ウイルスの疫学調査と その防除に関する研究

Epizootiological survey of *Bombyx mori* nucleopolyhedrovirus (BmNPV) in sericultural farms and development of new control methods for the BmNPV

野澤 瑞佳

Mitsuyoshi Nozawa

核多角体病ウイルス(BmNPV)は、内部汚染繭の発生原因となるウイルスで、現在、養蚕現場で多発して繭の生産に深刻な被害を及ぼしている。本研究は、茨城県南地域の養蚕現場で発生している核多角体病を原因とした内部汚染繭の発生傾向と収繭量に及ぼす影響を解析し、その防除に役立つ知見を得るために、養蚕現場における BmNPV の拡散範囲と主要な汚染箇所を特定した上で、ホルムアルデヒドに替わる蚕病防除剤を開発し、実用化を検討したものである。

2002年の各蚕期に、茨城県南地域の養蚕現場から繭を採集し、内部汚染繭に占める核多角体病の割合を調べた結果、晩秋蚕期に核多角体病による内部汚染繭が多発することが判明した。さらに、調査対象地域における内部汚染繭の発生率と収繭量の関係を解析した結果、晩秋蚕期に両者の間で負の相関が成立し、この時期発生する内部汚染繭が収繭量に悪影響を及ぼすことが判明した。

養蚕現場における BmNPV の防除法を検討するために、先の養蚕現場を対象に、BmNPV の分布状況を調査した。春蚕期の消毒直前および各蚕期の収繭直後に、塵埃添食試験法により養蚕関連施設とその周辺のウイルス分布状況を調べた結果、上簇室が BmNPV に汚染されやすいことが判明した。次に上簇室内に置かれている蚕具の中で、未消毒のまま放置されている収繭機の汚染状況を確認するために、BmNPV の Bp39 遺伝子の塩基配列から既知のプライマーよりも特異性の高いプライマーを設計し、収繭機表面の塵埃から分離した DNA を鋳型として PCR と nested-PCR の併用により BmNPV の汚染状況を調べた結果、収繭機も BmNPV に汚染されていることが判明した。

BmNPV と細胞質多角体病ウイルス(BmCPV)により壊滅的な違作をした一

養蚕現場において、両ウイルスの分布状況を防疫対策導入前後に塵埃添食試験法で調べた結果、BmNPVは主に上蔭室から検出される傾向にあり先の調査結果と一致した。一方BmCPVは、養蚕関連施設全域から検出され、BmNPVに比べて汚染の範囲が広がった。この養蚕現場の作柄を改善するために、上蔭室を中心とした防疫対策とBmNPVに消毒効果のある0.5%消石灰水溶液を導入した結果、収繭量は次第に回復し、核多角体病による内部汚染繭の発生も無くなった。

ホルムアルデヒドに替わるBmNPV不活化剤を開発するために、次亜塩素酸ナトリウム(NaClO)の活用法を検討した。0.3%(w/v)炭酸ナトリウム(Na₂CO₃)を添加したNaClO水溶液(有効遊離塩素FAC 100 ppm)で多角体を5分間浸漬処理した結果、BmNPVは不活化された。一方、NaClO水溶液(FAC 500 ppm)あるいは0.3%Na₂CO₃水溶液で多角体を浸漬処理した場合、BmNPVは不活化されなかった。この結果から、2種薬剤の併用により不活化作用に相乗効果が認められ、低濃度のFACでBmNPVが不活化されることが判明した。

次に2種薬剤混合液にテトラポリリン酸ナトリウム(Na₆P₄O₁₃)を添加したところ、鉄が腐食しない現象を発見した。この作用を検証し、添加に必要なNa₆P₄O₁₃の至適濃度を検討した結果、NaClO(FAC 337.2 ppm)と0.3%Na₂CO₃水溶液の組合せで必要なNa₆P₄O₁₃の添加量は0.2%(w/v)であることが判明した。また、本研究からNa₆P₄O₁₃に特異な防錆作用の存在が認められた。すなわち、Na₆P₄O₁₃は、NaClOとの共存下で防錆効果を示す特徴があり、NaClOのFACが337.2 ppmの条件下では、1.2%の薬剤濃度で鉄の腐食を抑制した。一方、NaClOを含まない1.2%Na₆P₄O₁₃水溶液の単独処理では鉄が腐食した。これらの結果から、NaClO、Na₂CO₃およびNa₆P₄O₁₃が相互に作用して防錆効果が得られるものと考えられた。この3種薬剤混合液でBmNPVの多角体を浸漬処理した結果、10分以上の処理で不活化が認められた。この3種薬剤混合液を「養蚕用除菌洗浄剤」と命名し、用いる薬剤を全て食品添加物のグレードに変更後、水質の影響を考慮して実用的な組成をNaClO(FAC 240 ppm) + 0.5%Na₂CO₃ + 0.2%Na₆P₄O₁₃とした。この組成で主要蚕病原に対する消毒効果を検証した結果、供試した病原体(BmNPV、BmCPV、コウジカビ病菌、緑きょう病菌、白きょう病菌、黒きょう病菌、セラチアおよび微粒子病原虫)は、いずれも5~15分間の浸漬処理で不活化あるいは殺菌された。次に、「養蚕用除菌洗浄剤」の各種金属への防錆効果を検証した結果、鉄、銅および真鍮では腐食が抑制された。さらに散布に伴う塩素ガスの発生状況を確認するために、「実用養蚕用除菌洗浄剤」を、30℃に加温した気密性の高い人工飼料育専用蚕室内へ散布(59L, 1L/m²)した結果、散布直後から24時間経過後も塩素ガスの発生量は、国の定める管理濃度の基準値(0.5 ppm)以下であった。「実用養蚕用除菌洗浄剤」の調製費用も試算した結果、100Lあたりの調製費用は473円であり、ホルムアルデヒド水溶液調製費用の約1/2~1/3程度であった。

以上、茨城県下の養蚕地域を対象に核多角体病による内部汚染繭の発生傾向を解析し、その原因となるBmNPVの防除に必要な現場の視点を解明後、ホルムアルデヒドに替わる新たな手段として「養蚕用除菌洗浄剤」を開発した。