



日本中央競馬会  
特別振興資金助成事業

# 蜜蜂のダニ寄生とウイルス感染率の 実態調査報告書

令和3年3月

一般社団法人 日本養蜂協会



## 目 次

1. はじめに .....	2
2. 専門委員等芳名 .....	4
3. 蜜蜂のダニ寄生とウイルス感染率の実態調査事業推進委員会等開催 及び現地調査実施記録 .....	6
4. 蜜蜂のダニ寄生とウイルス感染率の実態調査事業の概要 .....	8
5. ウイルス病について .....	10
6. 蜜蜂のダニ寄生とウイルス感染率の実態調査報告 .....	16
7. 現地調査（粉糖によるダニの寄生状況調査方法） .....	34
8. 添付資料 .....	36

## 1. はじめに

2020年は新型コロナウイルス感染症に始まり、新型コロナウイルス感染症で終わったといっても過言ではない。新型コロナウイルス感染症（COVID-19: coronavirus disease 2019）の病原は、ニドウイルス目コロナウイルス科ベータコロナウイルス属のプラス1本鎖RNAのコロナウイルスで、SARS-Co-V2（severe acute respiratory syndrome coronavirus 2）と命名された。SARS-Co-V2の自然宿主はコウモリであると考えられており、ヒトにはコウモリあるいはコウモリから感染した他の動物を介して感染したと考えられている。

2019年12月に中華人民共和国湖北省武漢市で発生したCOVID-19は、短期間で世界中に広がり、2020年3月11日には世界保健機関（WHO）によりパンデミック状態にあると発表された。わが国では、2020年1月に第一例目のCOVID-19の患者が発見されて以来、感染者数は増大の一途をたどり、2021年3月18日現在、451,186人に達し、死者数も8,717人に及んでいる（厚生労働省）。世界の状況はさらに悪化しており、感染者数は120,915,219人、死者数2,674,078人となっている（WHO）。ウイルス感染症の恐ろしさを体現した1年であったが、その感染拡大は今も続いている。

人間にCOVID-19をはじめ様々なウイルス病が存在するように、昆虫にも多様なウイルス病が認められている。時にはこれらウイルス病が大流行し、有益昆虫であるカイコやミツバチに多大な被害をもたらすことが報告されている。わが国での昆虫のウイルス病は、カイコでより詳細な研究が展開されてきたが、セイヨウミツバチ（以下ミツバチ）でのウイルス病の全国的な発生状況については不明な点が多かった。平成30年度日本中央競馬会畜産振興事業に「蜜蜂に対するウイルス感染等実態調査事業」が採択され、全国規模でミツバチのウイルス感染実態調査が初めて行われ、ミツバチは、チヂレバネウイルス等7種類のウイルスに感染していることが明らかとなった。これらウイルスは、ミツバチヘギイタダニ（以下ヘギイタダニ）によって媒介されることが欧米で報告されているが、前回の調査ではその詳細を調査することができなかった。

今回は前回の調査結果を受けて、日本国内のミツバチおよびヘギイタダニが保有するウイルス種を特定する目的で実態調査が行われ、チヂレバネウイルスがヘギイタダニによってミツバチに伝播されていることが明らかとなった。得られた調査結果は、今後のミツバチのウイルス病の防除戦略を構築する上で貴重な情報となると考えられる。今後は、ヘギイタダニによるウイルス媒介とミツバチでの発病との関連についても調査していく必要がある。

最後になりましたが、本事業において蜂サンプルを採取いただきました各都道府県の養蜂農家の皆様、並びにウイルス病の診断とデータの解析を行っていただきました国立研究開発法人 農業・食品産業技術総合研究機構 畜産部門 家畜育種繁殖研究領域 有用遺伝子ユニットの芳山三喜雄博士、荻原麻理博士および木村澄博士に厚くお礼を申し上げます。

蜜蜂のダニ寄生とウイルス感染率の実態調査推進委員長  
国立大学法人 東京農工大学 名誉教授 国見裕久

なお、

① ミツバチのウイルス保有について

本調査事業は、ミツバチのウイルス保有について調査した事業です。  
従って、ウイルスの保有と発病との関わりは不明です。

② ミツバチのウイルスに関する人への影響について

ウイルスには、微生物、植物、無脊椎動物（節足動物のミツバチなど）、脊椎動物に感染するものなど、多くの種類が存在します。

本事業において調査した 7 種類のミツバチのウイルスについては、いずれも節足動物と系統上離れているヒトには影響はありません。

## 2. 専門委員等芳名（敬称略、順不動）

蜜蜂のダニ寄生とウイルス感染率の実態調査事業推進委員会

《委員長》

国見 裕久【国立大学法人東京農工大学 名誉教授】

《委員》

村上理都子【国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構中央  
農業研究センター虫・鳥獣害研究領域生物的防除グループ  
上級研究員】

浅田 研一【福岡県中央家畜保健衛生所 技術主査】

中村 純【玉川大学 農学部先端食農学科 教授】

松山 茂【国立大学法人筑波大学生命環境系 講師】

羽佐田康幸【愛知県養蜂協会 会長】

《オブザーバー・試験委託》

国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構畜産研究部門

家畜育種繁殖研究領域有用遺伝子ユニット

- ・ 芳山三喜雄【上級研究員】
- ・ 荻原 麻理【研究員】
- ・ 木村 澄【再雇用研究員】

《事業実施主体・事務局》

一般社団法人日本養蜂協会

- ・ 山時 文昌【常務理事】
- ・ 谷口 貴春【主任】
- ・ 岩橋 康太【職員】

### 3. 蜜蜂のダニ寄生とウイルス感染率の実態調査事業推進委員会開催 及び現地調査実施記録

(1) 第1回事業推進委員会（新型コロナウイルス感染防止のため書面開催）

開 催：令和2年8～9月

書類配布：（委 員）国見委員長、村上委員、浅田委員、中村委員、  
松山委員、羽佐田委員

（オブザーバー）芳山上級研究員、荻原研究員、木村再雇用研究員

（事務局）山時常務、谷口主任、岩橋職員

議 題：（1）蜜蜂のダニ寄生とウイルス感染率の実態調査事業について

【全体計画】

（2）蜜蜂のダニ寄生とウイルス感染率の実態調査事業について

【達成目標】

（3）蜜蜂のダニ寄生とウイルス感染率の実態調査方法等について

（4）その他

(2) 現地調査

日 時：令和2年9月28日（月）

場 所：茨城県内養蜂場（つくば市、石岡市、桜川市）

参 加 者：（調査員）荻原調査員、木村調査員

（協力者）茨城県養蜂協会会員（大畑 孝氏、（有）山田養蜂場、  
山田広司氏）

（事務局）谷口主任

調査内容：（1）養蜂家への聞き取り調査

（2）粉糖によるダニ寄生状況調査



(3) 第2回事業推進委員会（新型コロナウイルス感染防止のため書面開催）

開 催：令和3年3月

書類配布：(委 員) 国見委員長、村上委員、浅田委員、中村委員、  
松山委員、羽佐田委員

(オブザーバー) 芳山上級研究員、荻原研究員、木村再雇用研究員

(事 務 局) 山時常務、谷口主任、岩橋職員

議 題：(1) 蜜蜂に対するウイルス感染等実態調査報告について

(国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構より)

(2) 蜜蜂のダニ寄生とウイルス感染率の実態調査報告書について

(3) 事業の自己評価結果報告書について

(4) その他

#### 4. 蜜蜂のダニ寄生とウイルス感染率の実態調査事業の概要

##### (1) 事業の目的

我が国の養蜂業において蜜蜂のウイルス感染は蜂群を弱体化させる大きな要因であり、ミツバチヘギイタダニの寄生によるウイルス感染によって蜜蜂が重篤化するとみられている。

本事業において、ミツバチヘギイタダニ及びダニ寄生による蜜蜂のウイルス感染についての実態調査を行い、その調査結果を養蜂家及び行政機関等が利用することで、蜂蜜などの畜産物の安定生産並びに花粉交配用蜜蜂の安定供給を図る。

##### (2) 事業の内容

###### ① 蜜蜂のダニ寄生とウイルス感染率の実態調査推進委員会開催等事業

学識経験者等から成る蜜蜂のダニ寄生とウイルス感染率の実態調査推進委員会を開催し、事業の効率的かつ円滑な推進に関する検討及び当該事業の達成目標等の自己評価結果の検証等を行う。

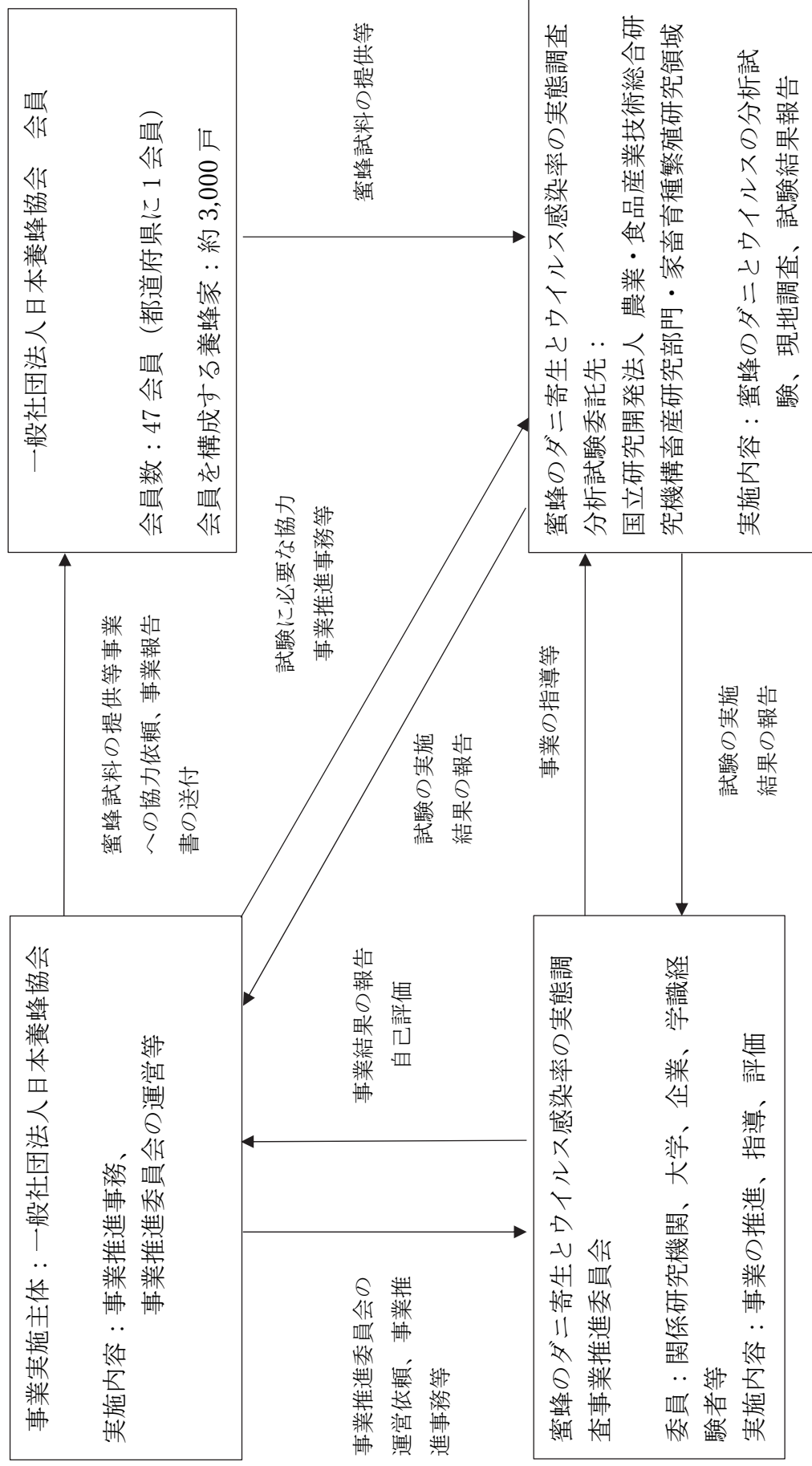
###### ② 蜜蜂のダニ寄生とウイルス感染率の実態調査事業

国内の蜜蜂に関するミツバチヘギイタダニの寄生率とウイルス保有率の調査、ミツバチヘギイタダニの媒介するウイルスの解析等を行う。

##### (3) 分析試験委託先

国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構畜産研究部門  
家畜育種繁殖研究領域有用遺伝子ユニット

(4) 蜜蜂のダニ寄生とウイルス感染率の実態調査事業実施概要図



## 5. ウイルス病について（「養蜂家向け！養蜂マニュアル（日蜂協）」より抜粋）

### （1）サックブルード（Sac brood）病

サックブルードウイルスは、感染蜂児の脂肪や筋肉組織に存在しています。感染した蜂児は前蛹期に袋（サック）状になり、頭部側に水がたまった透明状態になることからサックブルードと言われています。

サックブルードウイルスは成虫にも感染しますが、発症はしないため、キャリアとして蜂児に感染を広げる原因となっているようです。本ウイルスは健常群の蜂児やサナギでも比較的高頻度で検出されます。トウヨウミツバチでは重篤な被害をもたらすことはしばしば報告されていますが、セイヨウミツバチでは重症例は知られていません。日本でも時々発生する程度です。



サックブルード病に感染した幼虫。

写真提供：玉川大学ミツバチ科学研究センター

中村純教授

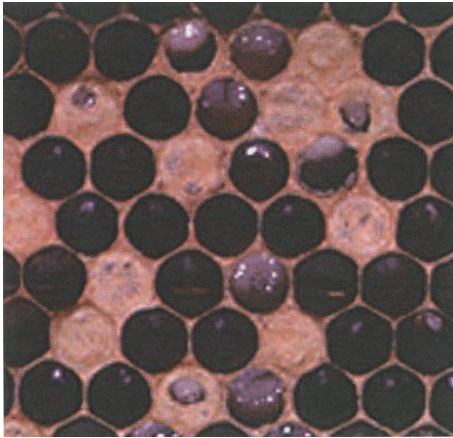
### 【感染症状】

サックブルード病の最初の症状として、蜂児の表皮に形成された固い液体を含んだ袋（サック）が観察出来ます。色は灰色、褐色、黒色。蜂児の頭部が角状に巻き上がり、より透明な色を示しますが、有蓋蜂児では暗色となります。肉眼で観察出来る時は、働き蜂により蓋が除去されている状態です。死亡した蜂児の古くなった死骸は、乾燥ミイラ状になっていて簡単につまみ出すことが出来ます。



サックブルード病により有蓋蜂児で死亡した個体。暗色に変化した状態。

写真提供：アメリカ農務省



サックブルード病の巣板。

写真提供：玉川大学ミツバチ科学研究センター

中村純教授

## (2) 麻痺病ウイルス (Paralysis virus)

麻痺病ウイルスによる病気は、春から夏によく発症します。しかし、一部の個体にしか症状が現れないため、知らない間に収まることが多いようです。

発症すると、胸部背面と腹部の体毛が脱落し、体の色が黒っぽくなるため、腹部のバンド模様が不鮮明になります。やがて飛ぶことも正常に動くことも出来なくなり、体やハネを痙攣させながら巣門付近を歩くようになります。門番の蜂からしつように体をチェックされ、巣内に入ることが出来なくなり、数日のうちに巣門付近で死亡するミツバチも現れます。このような状況は、一過性で収まることが多いようですが、ひどい場合は、巣門前に数百の死体が見られることもあります。死んだミツバチは黒褐色になるため、他の死亡状況とはっきり区別出来ます。

麻痺ウイルスには、これまで急性麻痺ウイルス (Acute bee paralysis virus (ABPV))、イスラエル急性麻痺ウイルス (Israel acute paralysis virus (IAPV))、カシミール蜂ウイルス (Kashmir bee virus (KBV))、遅発性麻痺ウイルス (Slow paralysis virus (SPV))、慢性麻痺ウイルス (Chronic paralysis virus (CPV)) が見つかっています。現在ミツバチのウイルス病に効果のある薬剤はないので、予防には、媒介者であるミツバチヘギイタダニの抑制と感染した個体の除去を行ってください。



麻痺病に感染している働き蜂（中央と右上）。健常の個体に比べて胸部・腹部の毛がなく、体色が濡れたように濃くなっています。



門番の蜂に体をチェックされている麻痺病感染個体。

① 急性麻痺ウイルスとカシミール蜂ウイルス (Acute bee paralysis virus and Kashmir bee virus)

急性麻痺ウイルスとカシミール蜂ウイルスは、同種のウイルスであると考えられています。ミツバチヘギイタダニが寄生している群で発症しやすく、成虫や蜂児に死をもたらします。蜂児での症状は、アメリカ腐蛆病やヨーロッパ腐蛆病に似ていますが、腐蛆病特有のニオイがしないので、それらとは区別が付きまます。このウイルスは、ミツバチヘギイタダニが媒介するので、予防にはミツバチヘギイタダニの駆除が有効だと思われまます。

② イスラエル急性麻痺ウイルス (Israel acute paralysis virus)

イスラエル急性麻痺ウイルスは、2000年にはじめてイスラエルの養蜂場で見つかりました。当初、CCD (Colony Collapse Disorder) との関連性が疑われていましたが、日本を含めた世界各地で感染が確認されている常在性のウイルスであることがわかりました。他の麻痺病と同様に、全滅するような重い被害を蜂群に与えることは稀のようです。このウイルスは、ミツバチヘギイタダニが媒介すると考えられているので、予防にはミツバチヘギイタダニの駆除が有効だと思われまます。

③ 遅発性麻痺ウイルス (Slow paralysis virus)

イギリスのミツバチヘギイタダニに寄生していた群で、死亡した働き蜂と蜂児から見つかっています。死亡前に脚先が麻痺するようですが、あまり詳しいことはわかっていません。ミツバチヘギイタダニが媒介すると考えられていますが、このウイルスはイギリス以外では今のところ確認されていません。

#### ④ 慢性麻痺ウイルス (Chronic paralysis virus)

慢性麻痺ウイルスに感染したミツバチは、腹部やハネが痙攣します。飛ぶことが出来なくなった働き蜂は、地面をのろのろと歩いたり植物の茎を登ったりするようになり、やがて死亡します。発症数が1,000匹を越えることもあるようです。最初は巣板の上部に感染個体が集まる傾向にあるため、小形で体の色が黒く、体毛が消失して老齢蜂のような個体を見つけたら、早めに取り除きましょう。このウイルスはミツバチヘギイタダニが媒介すると考えられているので、予防にはミツバチヘギイタダニの駆除が有効だと思われます。

#### (3) その他のウイルス

以下、3タイプのウイルスは、ノゼマ症を引き起こすノゼマ微胞子虫 (*Nosema apis*) から見つかっている。

#### ① 黒色女王蜂児病 (Black queen cell virus , Filamentous virus and Y virus)

黒色女王蜂児病ウイルスは、女王蜂の有蓋蜂児 (幼虫やサナギ) の段階で発症します。王台の色が、茶色から黒色に変わり、王台の中で蜂児は死亡します。死んだ蜂児は、淡黄色で皮膚は堅くなり、袋状になっていて、サックブルード病に似ています。感染実験では、働き蜂やオス蜂児では発症しないようですが、このウイルスを持っているノゼマ微胞子虫に感染した働き蜂を通じて、女王蜂の蜂児に感染すると考えられています。日本での発生状況など詳しいことはわかっていません。

#### ② チデレバネウイルスとエジプト蜂ウイルス (Deformed wing virus and Egypt bee virus)

チデレバネウイルスとエジプト蜂ウイルスは、日本で飼養されていたセイヨウミツバチ群の成虫からはじめて見つかりました。ニホンミツバチからミツバチヘギイタダニを通じてセイヨウミツバチに感染が広がったと考えられています。症状は、羽化した蜂のハネが縮んでいるのが特徴で、簡単に識別できます。エジプト蜂ウイルスも同様の症状が発症するため、同系統のウイルスとされています。蜂児で発症すると、死に到ります。このウイルスの予防には、媒介するミツバチヘギイタダニの駆除が有効だと思われます。





翅が縮れて、体色も黒ずんでいる DWV 感染個体（右）。

### ③ クモリバネウイルス (Cloudy Wing Virus 、 CWV)

クモリバネウイルスが発症すると、働き蜂のハネが不透明になります。働き蜂の活動性は低下して、寿命も短くなるようです。イギリスでは 15%以上の群でこのウイルスに感染した個体が見つかりますが、日本ではまだ確認されていません。ミツバチヘギイタダニが媒介するので、予防には、ミツバチヘギイタダニの駆除が有効だと思われます。



★本事業で調査をしたセイヨウミツバチにおけるウイルス一覧

名称	解説
<b>サックブルードウイルス</b> Sac brood Virus (SBV)	サックブルード病の原因。
<b>急性麻痺ウイルス</b> Acute bee paralysis virus (ABPV)	急性麻痺病の原因。ミツバチヘギイタダニが媒介する。
<b>カシミール蜂ウイルス</b> Kashmir bee virus (KBV)	急性麻痺病の原因。ミツバチヘギイタダニが媒介する。
<b>イスラエル急性麻痺ウイルス</b> Israel acute paralysis virus (IAPV)	イスラエル急性麻痺病の原因。ミツバチヘギイタダニが媒介する。
<b>慢性麻痺ウイルス</b> Chronic paralysis virus (CBPV)	慢性麻痺ウイルス症の原因。寄生性ダニ類からも単離されている。
<b>黒色女王蜂児病ウイルス</b> Black queen cell virus (BQCV)	黒色女王蜂児病の原因。
<b>チヂレバネウイルス</b> Deformed wing virus (DWV)	ミツバチヘギイタダニが媒介する。チヂレバネ症の原因。

## 6. 蜜蜂のダニ寄生とウイルス感染率の実態調査報告

調査実施機関：国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構  
畜産研究部門家畜育種繁殖研究領域有用遺伝子ユニット

### 【要旨】

本調査は、国内のセイヨウミツバチ群における蜂病の原因ウイルスの保有率を明らかにするとともに、ウイルスの保有とミツバチヘギイタダニ寄生の関係を明らかにすることを目的とした。

ミツバチの病気にはウイルスを原因とするものが知られており、一部のウイルスの媒介に、ミツバチの外部寄生性ダニであるミツバチヘギイタダニ（以下ヘギイタダニ）が関与するとされている。しかし、日本国内において蜂病ウイルスに対するヘギイタダニ寄生の影響は評価されていない。そこで、本試験では、セイヨウミツバチの主要なウイルス病の原因となる、チズレバネウイルス（Deformed wing virus、DWV）、黒色女王蜂児病ウイルス（BQCV）、複数の麻痺病ウイルスについて、ミツバチ及びミツバチから採取したヘギイタダニにおける保有率を調査した。また、保有するウイルスをミツバチ・ヘギイタダニ間で比較し、ウイルスの保有とミツバチヘギイタダニ寄生の関係を調査した。

本事業において調査した国内養蜂場の 8 割超でヘギイタダニの寄生を確認した（50 蜂場中 43 蜂場）。これらの蜂場から得たミツバチ検体（50 蜂場）のウイルス保有を調査したところ、DWV の検出率が最も高く、調査群の 7 割から検出された。ヘギイタダニ寄生コロニーでは 7 割超、ヘギイタダニ非寄生コロニーでも 4 割のミツバチ群で DWV ウイルスが検出された。DWV は全てのヘギイタダニ（25 蜂場由来）から検出された。DWV が検出されたミツバチ及びヘギイタダニ検体は全て DWV-A 型のウイルス断片を保有しており、DWV-A の感染にヘギイタダニ寄生が寄与すると考えられる。一方、近年海外で蔓延が報告され、ミツバチ体内で DWV-A と同等以上の増殖率及びミツバチ致死率を示すとされる DWV-B 型は検出されなかった。

DWV 以外では、BQCV が 4 割のミツバチ検体から検出された。一方でヘギイタダニからの BQCV の検出は 2 検体にとどまり、国内ではヘギイタダニ寄生が BQCV 感染に与える影響は低いと考えられる。また、ミツバチ検体からはサックブルードウイルス、4 種の麻痺病ウイルスが、ヘギイタダニからは急性麻痺病ウイルスを除くすべてのウイルスが検出されたが、何れも数検体からの検出にとどまった。またこれらのウイルス種では、同じコロニーから採取したミツバチ、ヘギイタダニの間で明確な一致は見られなかった。よって、国内ではヘギイタダニの寄生は DWV の媒介に寄与するものの、その他のウイルスについての寄与は低いと

考えられる。

養蜂家へのアンケート調査の結果、翅変形症（または、DWVによって惹起される翅のチヂレや這蜂の症状）は6割以上の養蜂家が認知しており、認知率の高さは麻痺病、サックブルード病と続いた。BQCVは4割のコロニーから検出されているものの、養蜂家の黒色女王蜂児病の認知度は4割以下と低く、発生を見過ごしている可能性があるため、今後症状等についての知見の共有が必要と考えられる。

## 【背景】

ミツバチヘギイタダニ（以下ヘギイタダニ）はミツバチなどに外部寄生するトゲダニ亜目ヘギイタダニ科のダニであり、養蜂管理上で重要な生物である。ヘギイタダニはミツバチの終齢幼虫、蛹及び成虫に寄生し、ミツバチの組織（脂肪体）や血液を摂食する<sup>1</sup>。ダニは採餌の際にミツバチの表皮を穿孔し、この際にウイルスを媒介する。ミツバチのウイルスはこれまでに20種ほど知られており、ヘギイタダニはその主なものを媒介可能である。特に、チヂレバネウイルス（Deformed wing virus、DWV）、黒色女王蜂児病（Black queen cell virus、BQCV）、および数種の麻痺病ウイルスを媒介すると考えられている<sup>2</sup>。DWVは蛹の致死、羽化成虫の翅の変形（チヂレ）、成虫寿命の短縮などを起こすことが知られており、冬季のミツバチ群（コロニー）崩壊の一因とも考えられている。BQCVは春期に産生される新女王の蜂児が王台内で黒く変色して死に至る。BQCVは女王以外の働き蜂及び雄蜂では不顕性である。麻痺病ウイルスは複数種が知られており、主なものとして、カシミール麻痺ウイルス（KPV）、急性麻痺ウイルス（APV）、イスラエル急性麻痺ウイルス（IPV）、慢性麻痺ウイルス（CPV）が知られている。

蜂病ウイルスの中でもDWVはヘギイタダニ寄生との関連性が高いウイルスと考えられている<sup>3</sup>。DWVウイルスの伝播経路にはグルーミングや給餌などの中腸を介した感染と、ヘギイタダニの寄生により体腔へと直接侵入する経路があり、特にヘギイタダニ寄生による経路を経由することでミツバチ体内のDWV量が増加し、症状の重篤化が起こることが示唆されている<sup>4</sup>。また、ヘギイタダニが侵入していないオーストラリアではミツバチからDWVが検出されていない<sup>5</sup>。このことから、現在ではDWVの蔓延にヘギイタダニの存在が寄与すると結論付けられている<sup>6</sup>。

DWVには大きく分けてDWV-A、DWV-B及びDWV-Cの3タイプが存在する<sup>2</sup>。DWV-A及びDWV-Bはミツバチに感染し、DWV-Cについてはハリナシバチ等での感染が主流である。従来報告ではセイヨウミツバチから検出されたのはDWV-Aであり、日本国内でもDWV-A及びDWV-Aに帰属するKakugoウイルスが検出されている<sup>7,8</sup>。近年になり、世界各国でセイヨウミツバチへのDWV-Bの蔓延が報告されるようになった。アメリカなどでは多くの地域でDWV-Bの蔓延が報告されている<sup>9</sup>。実験的にミツバチを感染させた研究において、ミツバチ体内ではDWV-AよりもDWV-Bの方がやや増殖力が高く、致死率も高いと報告されている<sup>10</sup>。

日本国内では、日本養蜂協会の調査により、コロニーのウイルス蔓延率の報告が行われている<sup>11</sup>。DWVは多くの群から検出されているものの、ヘギイタダニ寄生との直接的な関連性やウイルス型についての調査は行われていない。そのため本調査では、日本国内のミツバチ及びヘギイタダニのウイルス保有種を特定

するとともに、ウイルスの保有とヘギイタダニ寄生の関係を明らかにすることを目的とする。

## 【目的】

本調査は、国内のセイヨウミツバチ及びヘギイタダニの保有するウイルス種及び保有率を明らかにし、ウイルス感染とダニ寄生の関連性を解析する。

## 【調査方法】

### 1) 供試動物

2020年秋季に42都道府県の養蜂場（各県1-2戸、計48蜂場）に、健康な5群からそれぞれミツバチ成虫をカップ2杯（200 ml）の成蜂（約200頭）をサンプリングしてもらうよう依頼した。サンプルは農研機構畜産研究部門へ冷凍輸送し、到着後速やかに $-80^{\circ}\text{C}$ にて冷凍保存した。

また、現地調査を行った養蜂場で得たミツバチ及びヘギイタダニについても、実地調査終了後速やかに冷凍保存した。現地調査は3蜂場を対象としたが、うち1戸は全国調査と重複するため、現地調査で採取したサンプルは本解析には含めていない。

### 2) 研究方法

#### (1) ヘギイタダニ寄生率調査

解凍した各コロニーのサンプルよりランダムに20頭の働き蜂を選び、体重を測るとともにヘギイタダニがないことを確認し、速やかに冷凍保存した（ウイルス調査用サンプル）。残りのミツバチの全体重を測定後、十分量のエタノール（50-70%）内でミツバチを浸透し、ミツバチからヘギイタダニを分離した。ヘギイタダニの分離は2回連続でヘギイタダニが得られなくなるまで行い、コロニーごとにダニの数を計測した。得られたヘギイタダニは速やかに冷凍保存した（ウイルス調査用サンプル）。

#### (2) ミツバチ及びヘギイタダニからのRNA抽出及びcDNA合成

蜂場ごとに最もヘギイタダニ寄生率の高いコロニーのミツバチを用いてRNA抽出を行った。ヘギイタダニが検出されなかった蜂場においては、無作為に1群選んで検体とした。ミツバチ及びヘギイタダニからのRNA抽出はRNeasy Plus Kit (QIAGEN) を用いた。上記のミツバチ20頭を液体窒素で破碎後、10 ml の4M Guanidinium thiocyanate (GITC)/ Triton X-100 Lysis buffer と混合してホモジネートとし、この内0.7 ml を抽出に用いた。抽出後のTotal RNA 1  $\mu\text{g}$  をテンプレートにcDNA合成を行った。cDNA合成は、反応バッファー中にOligo dT とRandom primer を含むReverTra<sup>®</sup> Ace qPCR RT Master Mix (TOYOBO) を用いた。

ヘギイタダニは個体が小さいため、上記のコロニー由来で10頭以上とれた場

合のみ RNA 抽出を行った。10 頭以上得られたケースは 27 件あったものの、2 件は十分量の RNA が取れなかったため、25 検体のみ cDNA 合成を行った。抽出は上記同様 RNeasy Plus Kit (QIAGEN) を用いたが、ヘギイタダニはキット付属の RLT buffer 内でペッスルを用いて破碎した。cDNA 合成は 100 ng の Total RNA をテンプレートとして用いた。

### (3) ミツバチ及びヘギイタダニのウイルス保有調査

得られた cDNA を用い GO *Taq* Green master mix (Promega) を用いて RT-PCR を行い、DWV、黒色女王蜂児病ウイルス (BQCV)、サックブルードウイルス (SBV)、麻痺病ウイルス (慢性麻痺病ウイルス (CPV)、急性麻痺ウイルス (APV)、イスラエル麻痺病ウイルス (IPV)、カシミール麻痺病ウイルス (KPV)) を検出した。PCR 条件は 95°C 2 min の後、95°C 30 s, 50°C 30 s, 72°C 30 s (ミツバチは 40 サイクル、ヘギイタダニは 45 サイクル) とした。BQCV、SBV、KPV については、過去に国内で行われた調査を参考に 2 種のプライマーによる増幅を確認し、検出率の高いプライマーを用いた (表 1、\*の付いたプライマーセット)。DWV については、DWV-A、DWV-B を特異的に検出するプライマーを用いて検出した。KPV、ABVP、IPV は近縁のウイルスであり、これらウイルスの複合体として扱われることもあるが<sup>3</sup>、本調査ではそれぞれを検査対象として調査を行った。ミツバチ、ヘギイタダニ検体のウイルス保有は、それぞれ 2 回以上独立して PCR を行い、1 回でもバンドが得られたサンプルを陽性とした。

### (4) ウイルス配列の解析

DWV については、RT-PCR で得られたウイルス断片をダイレクトシーケンスし、配列を決定した。シーケンス反応には、Big Dye™ Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems™) を用いた。シーケンスの解析は、3500xL Genetic Analyzer (Applied Biosystems™) を用いた。

### (5) リアルタイム PCR

表 1 のプライマーを用いて PCR を行った。PCR 反応には TB Green Premix Ex TaqII (Tli RNaseH Plus) (タカラバイオ) を用いた。PCR 条件は 95°C 30 s の後、95°C 5 s, 60°C 30 s (40 サイクル) とした。PCR の解析は StepOnePlus™ リアルタイム PCR システム (Applied Biosystems™) を用いた。絶対定量法にて PCR を行い、単位 RNA 当たりの DWV-A コピー数として算出した。

#### (6) 実地調査及びアンケート調査

実地調査は茨城県内の3養蜂場にて2020年10月に行った。各蜂場において、ヘギイタダニの有無、ウイルス病の認知等の聞き取り調査を行うとともに、シュガーロール法を用いてヘギイタダニの調査を行った。現地で得たミツバチ及びヘギイタダニは研究所に持ち帰り後、速やかに冷凍した。上記2.(1)と同様に20頭の働き蜂の体重を測定するとともに、ヘギイタダニの有無を確認し、RNA抽出用のサンプルとした。また、残りのミツバチ全体の体重を測定し、ヘギイタダニ寄生率を算出した。

全国調査及び実地調査を行った養蜂家にアンケート調査を依頼し、9割から回答を得た。



表 1 本調査で使用したプライマー

使用実験	ウイルス名	プライマー名	配列	文献
RT-PCR	DWV-A	DWV-f	TTGCTCCCTTACGGATGAGT	本調査時に作成
		DWV-r	TCCACAAATGGATCAGCATC	本調査時に作成
	DWV-B	DWV-ABC-F	TACTAGTGCTGGTTTTCCCTTT	12
		DWV-ABC-B-R	CTCATTAAGTGTGTTGTC	12
	SBV	SBV-f1*	CGTAATTGCGGAGTGGAAAGATT	13
		SBV-r1*	AGATTCCCTTCGAGGGTACCTCATC	13
		SBV-f2	ACCAACCGATTCTCAGTAG	14
		SBV-r2	CCTTGGAACCTCTGCTGTGTA	14
	BQCV	BQCV-f1	CTTTATCGAGGAGGAGTTTCGAGT	13
		BQCV-r1	GCAATAGATAAAGTGAGCCCTCC	13
		BQCV-f2*	TGGTCAGCTCCCCTACTACCTTAAAC	15
		BQCV-r2*	GCAACAAGAAGAAACGTAACCAC	15
	ABPV	ABPV-f	GGTGCCCTATTTAGGGTGAGGA	13
		ABPV-r	ACTACAGAAGGCAATGTCCAAGA	13
	CPV	CPV-f	AACCTGCCTCAACACAGGCAAC	13
		CPV-r	ACATCTCTTCTTCGGTGTGAGCC	13
	IPV	IPV-f	GGTGCCCTATTTAGGGTGAGGA	13
		IPV-r	GGGAGTATTGCTTTCTTGTTGTG	13
	KPV	KPV-f1	ATGACGATGATGAGTTCAAG	16
		KPV-r1	AATTGCAAGACCTGCATC	16
KPV-f2*		GATGAACGTCGACCTATTGA	17	
KPV-r2*		TGTGGGTTGGCTATGAGTCA	17	
リアルタイムPCR	DWV	DWV-ABC-F	TACTAGTGCTGGTTTTCCCTTT	12
		DWV-ABC-A-R	CTCATTAAGTGTGTCGTTGAT	12

\*RT-PCR において、ウイルス確認用に使用したプライマー

## 【実験結果】

### 1) ヘギイタダニ寄生率の比較

本研究において調査した国内養蜂場の 8 割超でヘギイタダニの寄生を確認した（全国調査、現地調査合わせて 50 蜂場中 43 蜂場）。働き蜂に対するヘギイタダニの寄生率は 1%までが許容できるとされている<sup>18</sup>。この基準を超えたコロニーは全体の 28%以上であった（全 243 コロニー中 69 コロニー）。以下、ヘギイタダニ寄生率についての評価はミツバチ 5 コロニーが得られた 44 蜂場について評価した。また、本調査におけるヘギイタダニ寄生率は働き蜂に対するヘギイタダニ寄生率を示す。

蜂場ごとのヘギイタダニ検出コロニー数を比較すると、5 群全てでダニが検出された蜂場が全体の 36%、4 群から検出された蜂場が 14%で、全体の 5 割を占めていた（図 1）。蜂場内のヘギイタダニ検出コロニー数が高くなるほどコロニーのヘギイタダニ寄生率が高く、5 群中 4 群以上でヘギイタダニが検出された蜂場では、ヘギイタダニ寄生率 1%を超えたコロニーが全体で 5 割を超えた（図 2）。一方、蜂場内でヘギイタダニ検出コロニー数が 3 群以下の場合は寄生率 1%を超えるコロニーは 1 割程度に収まった。

以上から蜂場内でのヘギイタダニ検出コロニー率が 8 割以上（5 群中 4 群以上検出）検出された蜂場では、ヘギイタダニ防除の緊急性が高いと考えられる。

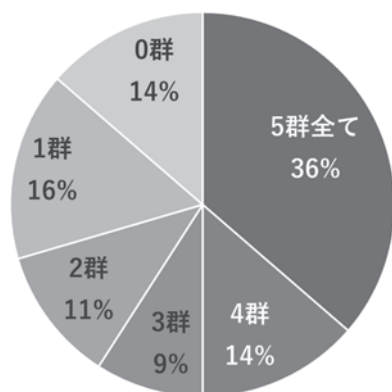


図 1 蜂場ごとのヘギイタダニ検出コロニー数の割合（5 群調査蜂場のみ抽出）

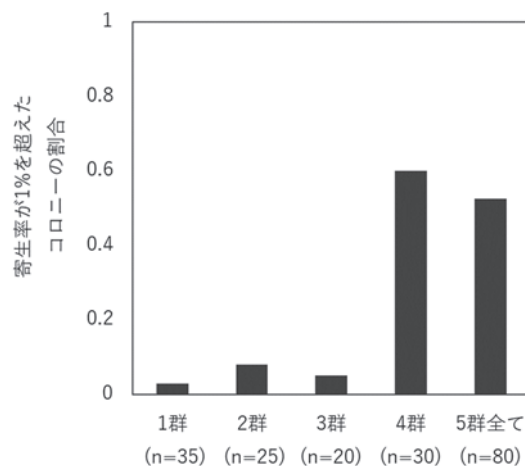


図 2 ヘギイタダニ検出コロニー数ごとのコロニー寄生率の比較（5 群調査蜂場のみ抽出）

## 2) ミツバチからの蜂病ウイルスの検出

ミツバチからのウイルス検出は全国調査及び現地調査を合わせた 50 蜂場より各 1 コロニーを選別し、50 検体について調査した。ヘギイタダニが検出された蜂場においては、コロニー寄生率が最も高いコロニーについて調査した。蜂病の原因ウイルスのうち、チヂレバネウイルス (DWV)、黒色女王蜂児病ウイルス (BQCV)、サックブルードウイルス (SBV)、慢性麻痺病ウイルス (CPV)、急性麻痺ウイルス (APV)、イスラエル麻痺病ウイルス (IPV)、カシミール麻痺病ウイルス (KPV)) の 7 種について調査した。

RT-PCR 法にてウイルス断片を検出したところ、最も感染率が高いウイルスは DWV であった (表 2)。DWV の感染は調査コロニー全体の 7 割で見られた。次に検出率が高いウイルスは BQCV で、4 割の蜂場から検出された。一方、サックブルード病の検出率は 1 割に満たず、麻痺病は 1 割程度の蜂場からの検出にとどまった。秋季の国内の養蜂場では DWV と BQCV の感染率が高いと考えられる。

DWV 検出蜂場の地域的な偏りは見られず、全国的に検出が認められた (図 3)。BQCV の検出は九州沖縄を除くミツバチ群から検出された (図 4)。その他のウイルスは検出数が少なく、検出地域に偏りは見られなかったが、IPV についてはウイルスを検出した 5 蜂場のうち 4 蜂場が中部地方に集中していた。

DWV はウイルス型についても調査を行った。国内のミツバチコロニーから検出されたウイルスは全て DWV-A 型であった。DWV-B は RT-PCR 及び配列解析による解析の結果、どのコロニーからも検出されなかった。よって日本国内では DWV-A が主要なウイルス型と考えられる。

表 2 ミツバチコロニーのウイルス検出率 (50 蜂場)

ウイルス	検出コロニー数	検出割合
DWV	35	0.7
BQCV	20	0.4
SBV	4	0.08
CPV	1	0.02
IPV	6	0.12
APV	5	0.1
KPV	7	0.14

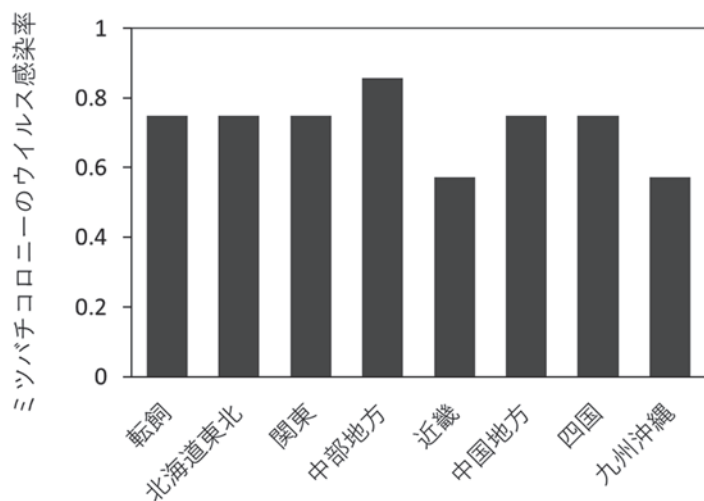


図 3. DWV が検出されたミツバチコロニーの採取地域

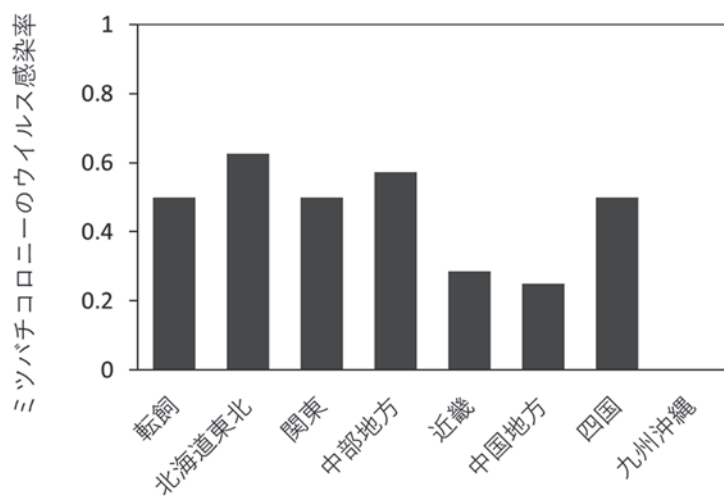


図 4. BQCV が検出されたミツバチコロニーの採取地域

### 3) ヘギイタダニからのウイルス検出及びミツバチのウイルス検出との関連性

ヘギイタダニについては、十分量の RNA が抽出できた 25 群についてウイルス調査を行った。蜂病ウイルスのうち、DWV は全てのヘギイタダニ検体から検出された (表 3)。一方、BQCV、SBV、麻痺病ウイルス (CPV、IPV、及び KPV) は数検体からの検出にとどまり、APV は検出されなかった。

ヘギイタダニのウイルス調査を行った 25 蜂場について、ヘギイタダニ - ミツバチ間でウイルスの検出が一致するか否かを検証した (表 4)。ヘギイタダニ及びそれに由来する蜂場のミツバチコロニーがともに DWV-A を持っているケースは 9 割弱に上った (表 4)。ウイルス検出数は少ないが、BQCV 及び KPV についてもヘギイタダニ、ミツバチ間で高い一致性が見られた。その他のウイルスについての関連性は認められなかった。

ヘギイタダニの寄生率別に DWV 検出割合を解析したところ、RT-PCR 法による調査では、寄生率 5%以下のコロニーから得たミツバチからは DWV の検出が 5 割程度だった (図 5)。その一方、寄生率が 5%以上のコロニーになると検出率が高くなり、これらのコロニーでは全ての検体から DWV が検出された。また、リアルタイム PCR 法による調査も同様で、単位 RNA 当たりのウイルス量はヘギイタダニ寄生率 5%以上で 10 倍以上高くなった (図 6)。よって、コロニー内の DWV ウイルス量はヘギイタダニ寄生率が 5%を超えると高くなると考えられる。

また、DWV については RT-PCR 後、得られた部分配列をシーケンス法により同定し、コロニー間、また、ミツバチ - ヘギイタダニ間で比較を行った。調査した 5 蜂場においては、ミツバチ - ヘギイタダニ間で保有するウイルス断片の相同性は高く、96%以上の同一性を示した (表 5)。DWV-A は quasi-species (多種性、配列の一部が異なるウイルスが集団として存在する) であり、ミツバチ - ヘギイタダニ間でウイルスの配列が異なるのは、この多種性に起因すると考えられる。しかし、1 蜂場については 99%の相同性を示しており、ミツバチ - ヘギイタダニ間で特定の配列を持つウイルスが共有されている例も確認されたため、ヘギイタダニが DWV の媒介に寄与すると考えられる。

表 3 ヘギイタダニのウイルス検出率 (25 蜂場由来)

ウイルス	検出検体数	検出割合
DWV	25	1
BQCV	4	0.16
SBV	1	0.04
CPV	3	0.12
IPV	4	0.16
APV	0	0
KPV	2	0.08

表 4 ヘギイタダニ - ミツバチ間でのウイルス検出一致性

ウイルス	ダニ検出数	ダニ-ミツバチ一致蜂場数	ダニ-ミツバチ一致蜂場の割合
DWV	25	22	0.88
BQCV	4	3	0.75
SBV	1	0	0
CPV	3	0	0
IPV	4	0	0
APV	0	0	-
KPV	2	2	1

表 5 ヘギイタダニ・ミツバチ間での DWV-A 部分配列相同性

蜂場	相同性 (identity %)
No. 3	99
No. 4	96
No. 20	97
No. 21	98
No. 29	97

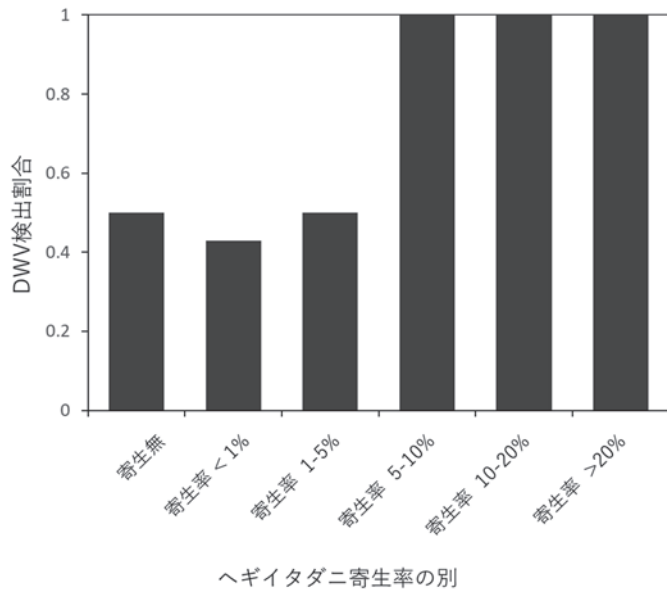


図 5 ヘギイタダニ寄生率別の DWV 検出割合 (RT-PCR)

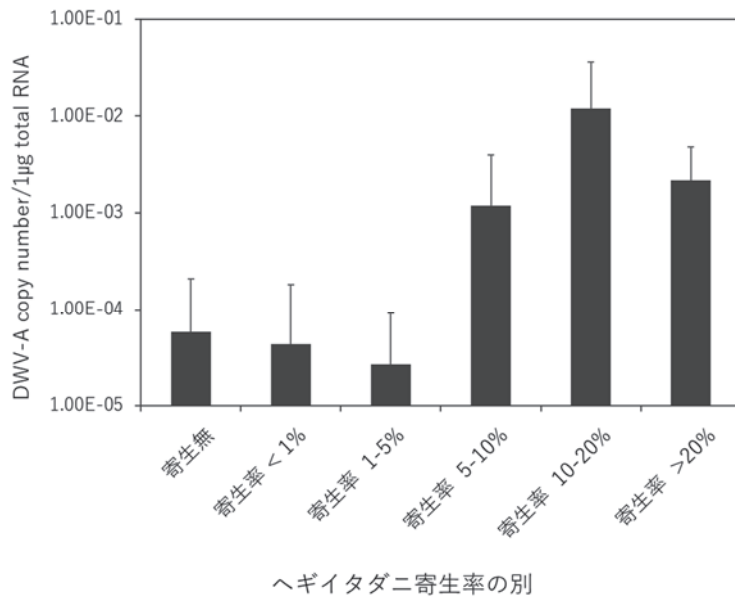


図 6 ヘギイタダニ寄生率別の DWV-A 検出 (リアルタイム PCR)

#### 4) 養蜂家へのウイルスについてのアンケート調査

本調査においては、サンプル提供を受けた養蜂家にアンケートも送付し、ウイルス病の知識等について尋ねた（有効回答 72%、44/50 件）。DWV、BQCV、SBV、麻痺病の認知率（知っているか否か）を調査した結果では、麻痺病、DWV、SBV は半数以上が知っていると感じたものの、BQCV は 40%程にとどまった（図 7A）。各ウイルス病を知っていると答えた養蜂家のうち、コロニーの健康状態に影響があると感じるウイルスに DWV を上げる養蜂家が多く、麻痺病、SBV と続いた（図 7B）。一方、BQCV については重要視する度合いが低いことが明らかになった。この傾向は聞き取り調査でも同様で、DWV の起こすチヂレバネ、這蜂については全ての養蜂家が知っていると感じている。一方で、BQCV もしくは、その症状である女王蜂児の黒色化については遭遇する頻度が低いようで、BQCV の感染を疑わせる症状があったとしても、春期の栄養不足等によるものとの認識であった。

今期に発生したと感じるウイルス病としては、DWV を上げる養蜂家が最も多かった。一方で、上記調査（RT-PCR）で DWV が検出されなかった養蜂場では、DWV による症状が発生したと答えた養蜂家は 4 件にとどまり（15 件中 4 件）、ウイルス調査による結果と養蜂家による病気発生の実感はおおむね一致していることも明らかになった。

ウイルス発生時の対処法としては、ヘギイタダニの駆除剤を与えると答えた養蜂家が多く、次に給餌がつづいた。

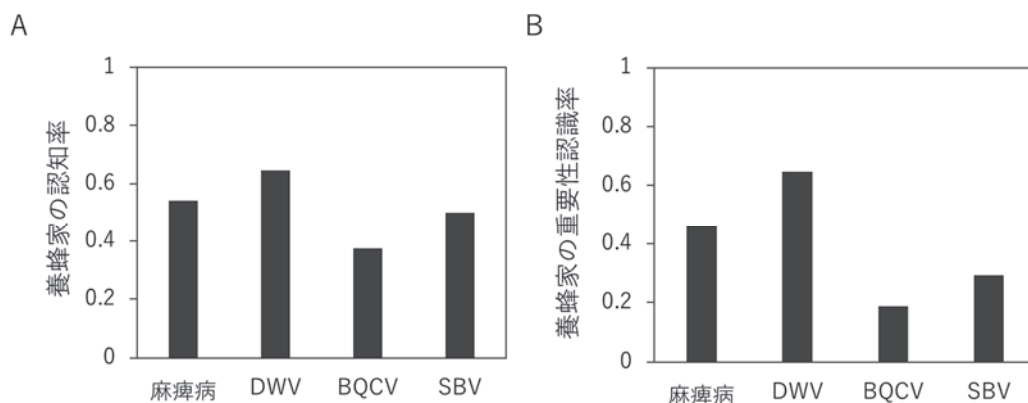


図 7 養蜂家の重要視する蜂病ウイルス

(A) 養蜂家が認知している蜂病ウイルス種、(B) 養蜂家が重要性を認識しているウイルス種



## 【総合考察】

本研究は、国内のセイヨウミツバチ及び寄生ダニ（ミツバチヘギイタダニ）の保有するウイルス種及び保有率を明らかにし、ウイルス感染とダニ寄生の関連性を解析することを目的とした。なお、本研究はミツバチ及びヘギイタダニから特定のウイルス断片について検出したものであり、発病については調査を行っていない。

調査蜂場から得られたミツバチ・ヘギイタダニともに最も検出数が多かったウイルスは DWV で、ヘギイタダニ寄生率が高いほど DWV 検出率 (RT-PCR) 及び DWV 量 (リアルタイム PCR) が高いことが明らかになった。ヘギイタダニ寄生のないコロニーでは、RT-PCR での DWV 検出率が低く (図 5)、また、検出された場合でも、検出ウイルス量は低かった (図 6)。ヘギイタダニが寄生しているコロニーでも寄生率が 5%未満であれば、DWV 検出率 (RT-PCR)、DWV 量 (リアルタイム PCR) は低くとどまった。一方、寄生率が 5%以上のコロニーではウイルス量が多く、全ての群から DWV が検出された。以上のことから、ヘギイタダニ寄生率が 5%以上の場合にコロニー内で DWV 量が高くなることが明らかになった。

ヘギイタダニは小さいため、本調査では 1 コロニーからヘギイタダニが 10 頭以上採取できた場合に限りウイルス調査を行った。そのため、ヘギイタダニからのウイルスの検出は 50 蜂場のうち 25 蜂場の調査にとどまったものの、全てのダニが DWV を保有していた。また、これらのヘギイタダニを採取したコロニーでは、9 割弱で DWV が検出された (表 4)。本調査においては、同じコロニー由来のミツバチ・ヘギイタダニ間では、保有するウイルスの DNA 配列の相同性が 96%以上であった。DWV が多種性 (配列の一部が異なるウイルスが集団として存在する) を持つこと、また、本調査はコロニー内の一部のミツバチ及びヘギイタダニを用いた標本調査の手法を取ったことで、ミツバチ-ヘギイタダニ間で DWV 配列が一致しなかった可能性がある。しかし、1 群においてはミツバチ-ヘギイタダニ間で 99%の相同性を示し、ミツバチ-ダニ間でウイルスが移動していると考えられることから、ヘギイタダニ防除が DWV の蔓延防止に有効と考えられる。DWV にはいくつかのウイルス型が存在するが、今回調査した蜂場から得られたミツバチ・ヘギイタダニが保有するウイルス型は DWV-A のみで、DWV-B はいずれのサンプルからも検出されなかった。セイヨウミツバチに感染する DWV は DWV-A 型 (Kakugo virus を含む) 及び DWV-B 型が知られており、近年欧米において DWV-B の拡大が報告されている。DWV-B も DWV-A と同等以上の病原性を持つと考えられており、国内に DWV-B が侵入した場合はミツバチの健全性に影響を及ぼすと考えられる。DWV-A 及び DWV-B は同時に感染する事例も報告されていることから、今後も警戒が必要である。

ミツバチ、ヘギイタダニからはDWV以外のウイルスも検出され、DWVに次いで検出数が多かったウイルスはBQCVであった。養蜂家へのアンケート調査の結果、DWVによるチヂレバネ症については6割以上の養蜂家が認知している一方で、黒色女王蜂児病の認知度は4割以下と最も低かった。聞き取り調査においてBQCVが原因と思われる症状についての言及があること、また、BQCVが検出された蜂場の多さから、実際にはBQCVによる女王の致死が発生している可能性が高い。養蜂家が発生を見過ごしている可能性があるため、今後症状等についての知見の共有が必要と考えられる。

養蜂家のアンケートからは、ウイルス病の発症を防ぐためにヘギイタダニ防除の必要性を認識していることが伺われた。本調査において、ヘギイタダニ寄生率（働き蜂に対するヘギイタダニ寄生率）1%を即時防除の指標とした場合、蜂場内のダニ検出率が高い蜂場ほど寄生率1%を超えるコロニーの割合が高いことが明らかになっている。特に、5群中4群以上でヘギイタダニを検出した蜂場では半数以上がヘギイタダニ寄生率1%を超えていた。蜂場内の衛生状態を保つためには、蜂場内のヘギイタダニの寄生コロニー率及び各コロニーのヘギイタダニ寄生率を目安に衛生管理を行っていくことが重要と考えられる。

#### 参考文献

1. Ramsey SD, Ochoa R, Bauchan G, et al (2019) *Varroa destructor* feeds primarily on honey bee fat body tissue and not hemolymph. P Natl Acad Sci USA 116:1792-1801
2. Dietemann V, Nazzi F, Martin SJ, et al (2015) Standard methods for *Varroa* research. J Apic Res 52:1-54
3. Norton AM, Remnant EJ, Buchmann G, Beekman (2020) Accumulation and competition amongst deformed wing virus genotypes in naïve Australian honeybees provides insight into the increasing global prevalence of genotype B. Front Microbiol 11:620
4. Gisder S, Aumeier P, Genersch E (2009) Deformed wing virus: replication and viral load in mites (*Varroa destructor*). J Gen Virol 90:463-467
5. Roberts JM, Anderson DL, Durr PA (2017) Absence of deformed wing virus and *Varroa destructor* in Australia provides unique perspectives on honeybee viral landscape. Sci Rep 7:6925
6. Wilfert L, Long G, Leggett HC, et al (2016) Deformed wing virus is a recent global epidemic in honeybees driven by *Varroa* mites. Science 351:594-597

7. Fujiyuki T, Ohka S, Takeuchi H, Ono M, et al (2006) Prevalence and phylogeny of Kakugo virus, a novel insect Picorna-like virus that infects the honeybee (*Apis mellifera* L.), under various colony conditions. *J Virol* 80:11528-11538
8. Kojima Y, Toki T, Morimoto T, et al (2011) Infestation of Japanese Native Honey Bees by Tracheal Mite and Virus from Non-native European Honey Bees in Japan. *Microb Ecol* 62:895-906
9. McMahon D, Natsopoulou M, Doublet V, et al (2016) Elevated virulence of an emerging viral genotype as a driver of honeybee loss. *Proc R Soc B* 283:20160811
10. Ryabov E, Childers A, Chen Y, Madella S, et al (2017) A Virulent Strain of Deformed Wing Virus (DWV) of Honeybees (*Apis mellifera*) Recent spread of *Varroa destructor* virus-1, a honey bee pathogen, in the United States. *Sci Rep* 7:1-10
11. 一般社団法人 日本養蜂協会 (2019) ミツバチに対するウイルス感染等実態調査事業報告書
12. Kevill JL, Highfield A, Mordecai GJ, et al. (2017) ABC assay: Method development and application to quantify the role of three DWV master variants in overwinter colony losses of European honey bees. *Viruses* 9:1-14
13. Sguazza GH, Reynaldi FJ, Galosi CM, Pecoraro MR (2013) Simultaneous detection of bee viruses by multiplex PCR *J Virol Methods* 194:102-106
14. Benjeddou M, Leat N, Allsopp M, Davison S (2001) Detection of acute bee paralysis virus and black queen cell virus from honeybees by reverse transcriptase PCR. *Appl Environ Microbiol* 67:2384-2387
15. Bakonyi T, Grabensteiner E, Kolodziejek J, et al (2002) Phylogenetic analysis of acute bee paralysis virus strains. *Appl Environ Microbiol* 68:6446-6450
16. Ribiere M, Triboulot C, Mathieu L, et al (2002) Molecular diagnosis of chronic bee paralysis virus infection. *Apidologie* 33:339-351
17. Stoltz DB, Shen X-R, Boggis C, Sisson G (1995) Molecular diagnosis of Kashmir bee virus infection. *J Apicult Res* 34:153-160
18. Honey bee health coalition (2018) Tools for Varroa management. <https://honeybeehealthcoalition.org/varroa/>

## 7. 現地調査（粉糖によるダニの寄生状況調査方法）

- ①巣枠が入る大きさのビニール袋を用意し、底の角を切ってミツバチ回収用の穴を作成後、穴の部分を結んで塞ぐ。
- ②健康な蜂群を選び、女王が巣枠にいないことを確認した後、巣枠から働き蜂を袋に振るい落とし、入口を閉じる。
- ③袋の底の結び目をほどもき、約500匹（200ml 計量カップ1杯）のミツバチを取り出す。
- ④計量カップのミツバチを筒状の容器（フタが網状）へ移す。
- ⑤粉糖（約100g）を入れてフタを閉め、蜂の入った容器を1分ほど振る。
- ⑥ミツバチに粉糖が十分絡んだら、フタの網の部分から容器中の粉糖を目の細かいふるいに出し、目視でダニの有無を確認する。



大きなビニール袋にミツバチを入れる





計量カップにミツバチを  
入れる

ミツバチと粉糖を入れた  
容器からダニを分別する



分別されたダニ（黒い点に  
見えるのがダニ）

## 8. 添付資料

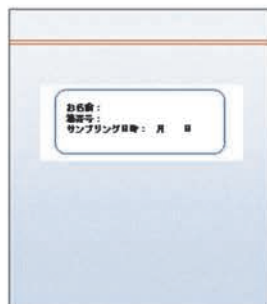
### 蜜蜂のダニ寄生とウイルス感染率調査マニュアル

#### お送りするもの

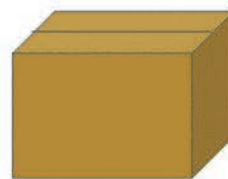
- ・ スコップ型軽量カップ1個
- ・ チャック付き袋7枚（5枚+予備2枚）ラベルシール付き
- ・ 発送用段ボール1箱（このマニュアルが入っていた段ボール。再利用して、発送の際にご利用ください）
- ・ 2020年度蜜蜂のダニ寄生とウイルス感染率調査記録用紙7枚（5枚+予備2枚）
- ・ 宅配便着払伝票（ヤマト運輸）1枚
- ・ 鉛筆1本
- ・ 2020年度ダニ媒介ウイルス病被害実態調査アンケート1枚



スコップ型計量カップ  
\* 蜂をはかり取る用です



チャック付き袋（5枚+予備2枚）  
\* 蜂を入れます。  
ラベルをはがさないでください。  
鉛筆で記入してください。



発送用段ボール（このマニュアルが入っていた段ボールを再利用）  
\* チャック付き袋に入った蜂等を入れて郵送してください。

**2020年度  
蜜蜂のダニ寄生とウイルス  
感染率調査記録用紙**

お名前：  
番号：  
果枠数（実際の数でお書き下さい）：  
蜂児枠数（おおよそ果枠半分程度が有虫になっているものを蜂児枠とします）：  
ダニ寄生の有無（○をつけて下さい）：  
使用した場合の薬剤（○をつけて下さい）：  
アピスターン アピバール その他（ ）  
投与した時期：\_\_月\_\_日

2020年度蜜蜂のダニ寄生とウイルス感染率調査記録用紙（5枚+予備2枚）  
\* 蜂をとった巣箱の状態を記録します。  
鉛筆で記入してください。  
\* 返送の際は、チャック付き袋には入れないでください。

**2020年度  
ダニ媒介ウイルス病  
被害実態調査アンケート**

※こちらのアンケートは、サンプルの養蜂についてだけでなく、飼育している全ての養蜂についてのアンケートです。

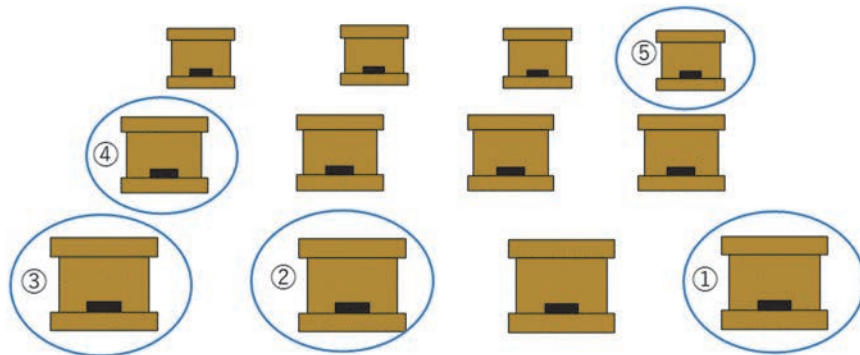

養蜂の状態についてお聞かせ下さい  
1. 今年のミツバチ（セイヨウミツバチ）の被害は加齢とともに増えますか  
.....

2020年度ダニ媒介ウイルス病被害実態調査アンケート（1枚）  
\* サンプルの蜜蜂についてだけでなく、飼育している全ての蜜蜂についてのアンケートです。  
\* 左記の記録用紙と一緒に段ボールに入れて返送してください。



## 蜂をとる際にやっていただくこと

- ① お持ちの蜂群から健全な群を5箱選んで下さい。  
※昨年度以前から飼養する蜂群について調査を行ってください。  
難しい場合は、2020年新規導入群である旨を「2020年度蜜蜂のダニ寄生とウイルス感染率調査記録用紙」に明記してください。
- ② 巣箱に1番から5番まで番号をつけてください。



- ③ それらの蜂群の記録を同封の「2020年度蜜蜂のダニ寄生とウイルス感染率調査記録用紙」(5箱分)にご記入下さい。

2020年度  
蜜蜂のダニ寄生とウイルス  
感染率調査記録用紙

お名前：  
飼養年：  
養蜂場（支店の数でお書き下さい）：  
養蜂場名：  
養蜂場所在地（おおよそ支店や分会館が所在になっているものを  
お書き下さい）：  
養蜂場所在地の緯度（○をつけて下さい）：  
経度（○をつけて下さい）：  
アピスター、アピスター、その他：  
採り出し時期：\_\_月\_\_日

記入には鉛筆をお使い下さい。  
(油性ペン・水性ペンだと後の作業の際  
アルコールで消えてしまうかもしれま  
せんので鉛筆をお使いください)

- ④ 同様に袋（5袋）にも必要事項を鉛筆で記入下さい。

お名前：  
養蜂年：  
サンプリング日時： 月 日

記入には鉛筆をお使い下さい。  
(油性ペン・水性ペンだと後の作業の際  
アルコールで消えてしまうかもしれま  
せんので鉛筆をお使いください)

## 蜂のとり方

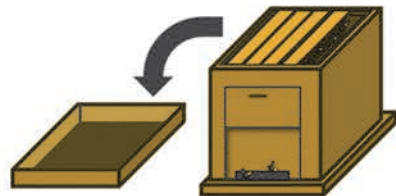
1つの巣箱から働きバチ（雄バチが混ざっても構いません）を200匹集めます。

（だいたい200匹くらいということで正確である必要はありません。）

巣箱ごとに別々に蜂を集めてください。

蜂をとるのは5箱です。

1. 巣箱を開け、フタを逆さまにして巣箱の脇に置きます。

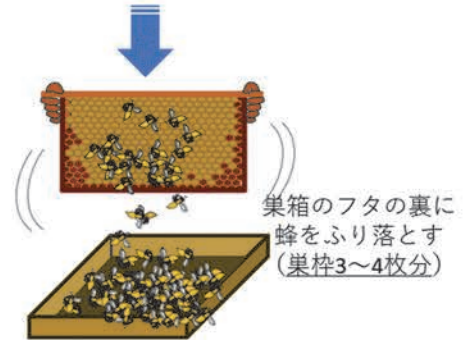


2. 巣枠を働きバチごと一枚取り出し、女王がいない事を確認します。



女王無し  
確認！

3. 巣枠を振って働きバチをフタの裏にふり落とします。  
4. 巣枠を巣に戻します。  
5. 2～4を繰り返して、3～4枚分の蜂をフタの裏に集めます。



巣箱のフタの裏に  
蜂をふり落とす  
(巣枠3～4枚分)

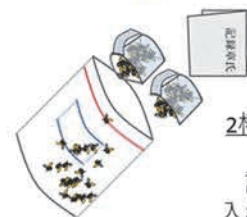
6. フタを傾けてフタの角に働きバチを集めます。  
7. 同封したスコップ型の計量カップで働きバチをすくい取り  
チャックつき袋に働きバチ2杯入れます（2杯分で蜂が約200匹）。  
8. この作業を5箱分繰り返します。  
9. 「2020年度蜜蜂のダニ寄生とウイルス感染率調査記録用紙」は  
チャックつき袋に入れずに、段ボール箱に入れてください。



蜂を角に集めて  
計量カップですくう

### \*その他注意

1. フタではなく、大きなビニール袋に働き蜂をふり落として、そこから蜂をすくっても構いません。その際も3～4枚の巣枠から働きバチを集めて下さい。
2. 直接チャック付きの袋にたたき入れると、一つの巣箱からランダムに働きバチを集めることができません。  
ご面倒でも一度、フタやビニール袋に巣枠数枚分の働きバチを集め、そこからすくってチャック付き袋に入れて下さい。



2杯分の蜂を入れて  
袋を閉じる。  
記録用紙は袋に  
入れないで下さい。



## 保存と輸送方法

1. チャック付き袋に入れた働きバチは、なるべく早く冷凍庫に入れてください。
2. このマニュアルが入っていた段ボール箱を再利用して、伝票を同梱していた着払伝票（ヤマト運輸）に張り替えて梱包し、**冷凍で令和2年10月9日（金）までに**、農研機構畜産研究部門にご送付下さい。  
また、発送の際は、**土日祝日の到着にならないよう**お願いいたします（農研機構畜産研究部門での受け取りができないため）。  
なお、「2020年度蜜蜂のダニ寄生とウイルス感染率調査記録用紙」も忘れずに一緒にご送付ください。

送付先  
〒305-0901  
茨城県つくば市池の台2  
農研機構 畜産研究部門  
TEL:0298-36-8600  
荻原 麻理 宛て

3. 「2020年度 ダニ媒介ウイルス病 被害実態調査 アンケート」もご記入の上、忘れずに一緒にご送付ください。

<b>2020年度 ダニ媒介ウイルス病 被害実態調査アンケート</b>	
<small>※こちらのアンケートは、サンプルの集約についてだけでなく、飼育している全ての集約についてのアンケートです。</small>	
<small>集約の収集についてお聞かせ下さい</small>	
<small>1. 今年のエコロジカル・ベネフィット（エコアズ）の収集はどのくらいですか</small>	
...	

この度はご協力的ことにありがとうございました。  
ご不明な点等ございましたら、一般社団法人日本養蜂協会事務局（TEL:03-3297-5645）までお問い合わせください。

## 2020年度 ダニ媒介ウイルス病 被害実態調査 アンケート

※こちらのアンケートは、サンプルの蜜蜂についてだけでなく、飼育している全ての蜜蜂についてお答えください。

氏名		養蜂経験	年
サンプルの養蜂場住所	(サンプルを採取した全ての養蜂場の住所を記載。住所の番地がわからない場合は、わかるところまで記載)		
飼育届群数	セイヨウミツバチ 群	ニホンミツバチ	群
養蜂目的	主として 採蜜・交配群・種蜂・その他 (当てはまるものに○を)		
県外への蜂群の移動	する・しない	移動目的	採蜜・越冬・その他
おおよその養蜂歴	越冬： 月 ～ 月 採蜜： 月 ～ 月		
主な養蜂場	越冬： 都道府県 採蜜： 都道府県		

蜂群の状態についてお聞きします

1. 今年のミツバチヘギイタダニ（バロア病）の影響は深刻だと思いますか  
 ①非常に深刻 ②やや深刻 ③どちらでもない  
 ④それほど深刻ではない ⑤まったく深刻ではない ⑥わからない
  
2. ヘギイタダニの影響はいつ出ると感じますか（複数回答可）  
 ①春 ②夏 ③秋 ④冬 ⑤その他
  
3. ヘギイタダニの影響をどのような場面で感じますか（複数回答可）  
 ①建勢の悪さ ②採蜜成績の悪化 ③越夏の難しさ ④越冬の難しさ ⑤病気の発生  
 ⑥その他（ ）
  
4. 蜂群を育てる際、ヘギイタダニの駆除は  
 ①絶対に必要 ②状況によっては必要 ③ほぼ必要ない ④全く必要ない
  
5. ヘギイタダニの防除法についてお聞きします  
 1) ダニの防除はどのように行っていますか  
 ①殺ダニ剤による防除 ②雄蜂トラップ  
 ③その他（ ）

2) 殺ダニ剤を使用した方にお聞きします。使用した殺ダニ剤と使用時期はいつですか

1 回目 \_\_\_\_\_月ごろ 使用殺ダニ剤 ( )

2 回目 \_\_\_\_\_月ごろ 使用殺ダニ剤 ( )

3 回目 \_\_\_\_\_月ごろ 使用殺ダニ剤 ( )

3) 雄蜂トラップを使用した方にお聞きします

設置時期はいつですか

\_\_\_\_\_月 ~ \_\_\_\_\_月

6. 昨年冬から今年の春にかけて、喪失した蜂群（セイヨウミツバチ）はありましたか

はい いいえ

何群を失いましたか

冬越し開始時の群数 \_\_\_\_\_群 春までに失った群 \_\_\_\_\_群

8. 冬越し失敗の原因として考えられることを挙げてください

9. ご存知のミツバチウイルス病に○をつけてください

①麻痺病 ②チヂレバネ症 ③黒色女王蜂児病 ④サックブルード病

⑤その他 ( )

10. ウイルス病のうち、蜂群の健康状態に影響すると考えるものはありますか(複数回答可)

①麻痺病 ②チヂレバネ症 ③黒色女王蜂児病 ④サックブルード病

⑤その他 ( )

11. 今年症状があったウイルス病はありますか、またその時期はいつですか

①麻痺病 ②チヂレバネ症 ③黒色女王蜂児病 ④サックブルード病

⑤その他 ( )

感染時期 \_\_\_\_\_月ごろ

12. 病気を判断する指標にはどういったものがありますか

例： 翅の変形、這蜂、王台の黒化、有蓋巣房の量 等

( )

13. ウイルス病が発症した際に行う対策はありますか

例： ヘギイタダニ駆除、微酸性水の利用、蜂群の隔離、蜂群の合同、栄養給餌 等

( )

★ご回答ありがとうございました。

本文書は、記録用紙等と一緒に段ボールの中に入れてご返送ください。

2020 年度

蜜蜂のダニ寄生とウイルス感染率調査記録用紙

お名前： \_\_\_\_\_

箱番号： \_\_\_\_\_

巣枠数（実際の数でお書き下さい）：

\_\_\_\_\_ 枚

蜂児枠数（おおよそ巣枠半分程度が有蓋になっているものを蜂児枠とします）：

\_\_\_\_\_ 枚

殺ダニ剤使用の有無（○をつけて下さい）：

有 無

使用した場合の薬剤（○をつけて下さい）：

アピスタン アピバール その他（ \_\_\_\_\_ ）

投与した時期： \_\_\_\_\_ 月 \_\_\_\_\_ 旬

## チャック付き袋にはるラベルシール

お名前：

箱番号：

サンプリング日時：            月            日

**蜜蜂のダニ寄生とウイルス感染率の実態調査報告書**

2021年3月発行

発行者 一般社団法人 日本養蜂協会  
〒104-0033 東京都中央区新川二丁目 6-16  
TEL 03-3297-5645  
—著作権所有、禁転載複製—

印刷所 株式会社サンワ  
〒102-0072 東京都千代田区飯田橋 2-11-8  
(非売品)