

蜂群衰竭失調症

王重雄^{1,2*}、羅竹芳²、乃育昕¹、王智源¹、陳韻如¹、黃偉峰¹、簡慈盈²、吳治宇²

¹ 國立台灣大學昆蟲學系 10617 台北市羅斯福路四段 1 號

² 國立台灣大學動物研究所 10617 台北市羅斯福路四段 1 號

摘要

蜂群衰竭失調症 (colony collapse disorder, 簡稱 CCD) 的特徵是造成西洋蜂羣之外勤工蜂大量的消失, 巢內只殘留蜂王、卵、剛羽化之工蜂和一些儲存的食物, 且在蜂巢內及養蜂場附近未見有大量死亡之屍體。此症嚴重地衝擊養蜂事業, 亦對賴以蜜蜂授粉之農作物的生產及對野生植物永續發展產生嚴重地威脅。直至今日為止, 引發 CCD 的因子可歸納為寄生蟲 (蜂蟹蟎)、病原體 (未發現或新的病原體: 以色列急性麻痺病毒和東方蜂微粒子)、農藥 (類尼古丁殺蟲劑: 益達胺; 花蜜及花粉內之系統性殺蟲劑)、環境化學毒素 (污染物)、營養、蜂王源 (所培育的蜂王呈現遺傳瓶頸)、基改作物 (GMO)、手機電波干擾以及蜂農管理方法等。許多學者相信 CCD 並非唯一因素所造成, 因此真正原因還是撲朔迷離中。雖然已證實所有 CCD 蜂巢皆有一共同的病原病毒: 以色列急性麻痺病毒 (Israeli acute paralysis virus, IAPV) 之感染, 但也不能排除各種因素之協力作用所致。理論上, 病原體 (病毒及微粒子) 感染中腸, 造成工蜂營養缺失, 蜂體虛弱, 再加上蜂蟹蟎為害或其他因素, 引發免疫力下降, 而促使外勤工蜂無法迴航所致。此乃是目前研究重點, 本文僅就 CCD 有關的蜜蜂病毒病及微粒子病作一綜論。

關鍵詞: 蜂群衰竭失調症、蜜蜂、病毒、微粒子。

前言

蜂群衰竭失調症 (colony collapse disorder, 簡稱 CCD) 在 1994 年肇始於法國及義大利, 於 2006 年冬季致隔年春季沿著美

國東海岸大爆發後, 接續西海岸亦有蜂群空前的損失的報導。同時於歐洲、中國亦大爆發, 造成蜂農巨大的損失。此病的特徵是造成西洋蜂群之外勤工蜂大量的消失, 巢內只剩下蜂王、卵、和內勤工蜂, 且在蜂巢附近未見大量

*論文聯繫人

Corresponding email: wangch@ntu.edu.tw

死亡之屍體。目前此病已蔓延致美國 22 州，2006/2007 與 2007/2008 年越冬時分別有 31.8 和 35.8 % 管理的蜂群損失，今年約有 28.6%，雖然略有下降是值得慶幸，但損失率並非絕對的穩定下降。尤其對於超過 90% 作物需仰賴義大利蜂 (*Apis mellifera*) 傳粉之美國農業，所涉及的美國農業產值每年超過 140 億美元，因此造成了極度的恐慌。CCD 影響層面之更深一層意義是未來糧食供應的問題，因蜜蜂除了提供許多蜂產品外，果樹及糧食作物授粉亦需仰賴蜜蜂的傳粉。CCD 事件將會使可傳粉的蜜蜂量不足外，傳粉的成本不斷攀升，授粉率下降，農產品不足。若此症不遏止，依估計至 2035 年美國可能已無蜜蜂可用，嚴重的後果將會是發生世界性的糧食恐慌 (Anderson and East, 2008)。

CCD 屢次發生之時空與所在地的背景不竟相同，因此其發生因素撲朔迷離，從基地台及手機電磁波、農藥、基改植物、營養失衡、寄生蟲 (蜂蟹蟎)、真菌 (微粒子蟲)、細菌以致於病毒感染等皆為可疑的因素：基地台及手機電磁波干擾的問題已被排除外；真菌 (不包括微粒子蟲病) 和細菌多數感染的是幼蟲及蛹，常會被清潔蜂從巢室消除出，且有許多商業化藥劑 (抗生素和抗毒素) 可供應用防治，亦被排除於 CCD 因素之外。其他因素如：蜂蟹蟎 (*Varroa mites*) 在 CCD 蜂巢有異常增生，蜂蟹蟎吸食蜜蜂之血液並傳播病毒，造成蜂群的弱勢；微粒子蟲 (*Nosema apis* or *N. ceranae*) 之感染是潛伏性、慢性感染，它會造成中腸細胞大量死亡，罹微粒子病多數是外勤蜂，影響外勤蜂的營養份吸收及其導航行為，尤其 *N. ceranae* 的感染有逐漸取代 *N. apis* 之趨勢，前者的病原性相對於後者為高；病毒的潛伏性感染亦被認為因素之一。目前已有 19 株病毒從蜜蜂分離出，近年賓州大學研究團隊大

量採集發生 CCD 蜂巢之殘餘蜜蜂，經 CCD 樣本之微生物的泛基因組研究 (metagenomic survey of microbes, Cox-Foster *et al.*, 2007)，發現發生 CCD 的樣本中，皆受到同一種病原病毒的感染，此病毒即是以色列急性麻痺病毒 (Israeli acute paralysis virus, IAPV)。因此 IAPV 被認為可當作 CCD 的一項指標，其他還有克什米爾蜜蜂病毒 (Kashmir bee virus, KBV) 及畸翅病毒 (deformed wing virus, DWV) 以及兩種微粒子：蜜蜂微粒子 (*Nosema apis*) 及東方蜂微粒子 (*N. ceranae*) 等之病原體的檢出。今年 (2009 年) 美國另一團隊利用蜜蜂完整基因組晶片 (whole genome microarrays) 加上及時定量 PCR，以比較美國東、西海岸發生 CCD 蜂巢與正常蜂巢之蜜蜂腸細胞內的基因表現狀況，雖然有地理上的差異，但發現其中有 65 個轉錄子 (transcripts) 被認為可做為 CCD 狀況下之有潛力的分子標誌。總體而言，與農藥相關基因的轉錄子在檢測中，發現於 CCD 巢內之蜜蜂的中腸內，並未有往上調升的現象。儘管病毒或其他病原感染量之增減下，參與蜜蜂免疫反應的基因之轉錄子亦未有隨之改變的趨勢。微晶片的分析結果，說明了 CCD 蜜蜂之中腸含有大量獨特的核糖體 RNA 片段 (ribosomal RNA fragments)。這些片段可能是類小 RNA 病毒 (Picorna-like viruses) 的感染所導致的現象，相關的病毒有畸翅病毒 (DWV) 和以色列急性麻痺病毒 (IAPV)，病毒感染造成了轉譯上的遏止。高量的核糖體片段和病毒的出現，或許可提供一個蜂群承受 CCD 折磨之一些有用的診斷標誌 (Johnson *et al.*, 2009)。

CCD 之起因爭議未決，蜂蟹蟎的寄生是因素之一，其寄生影響是間接的，目前已證實確會有免疫抑制作用 (immunosuppression)

而導致病毒（克什米爾蜜蜂病毒，KBV 與畸翅病毒，DWV 以及以色列急性麻痺病毒，IAPV）增生（Shen *et al.*, 2003; Gregory *et al.*, 2005; Yang and Cox-Forster, 2005），並引發其他病原體的入侵及感染，所呈現的是蜜蜂症候群症（syndrome），因此被喻為蜜蜂之愛滋病。為何以色列及澳大利亞的蜂群未見如此嚴重的 CCD？前者的蜂群之基因組內已有 IAPV 之基因銜入，具抗性；而後者之蜂群未有蜂蟹蟎的危害（Stokstad, 2007），未能使 IAPV 活化且 IAPV 可能已融入當地蜂群之生態體系內。有些死亡的 CCD 蜜蜂，發現體外有各種疤痕外，經解剖其腸道仍存有完整的花粉粒，表示它們仍可進食但已失去消化能力。疤痕是體外寄生蟲（尤其蜂蟹蟎）所造成，消化不良極有可能微粒子蟲感染所造成。蜂蟹蟎是病毒媒介者而微粒子蟲病亦是可能病原之一，防除蜂蟹蟎及治療微粒子蟲病則是遏止 CCD 發生的方法之一。至於是否已證實 IAPV 是 CCD 的元凶？答案是否定的，只能作為 CCD 的標誌之一，其與 CCD 之關係確實需要釐清。雖然如此，IAPV 如同其他可疑的因素，皆未有直接證據證明它們與大量蜜蜂迷航或消失有關。因此亦未能排除其他病毒或病原體的感染及所造成的協力作用，所以 CCD 仍然是世界性待解的重要且急迫的問題。

蜜蜂之疾病

兩種自遠古即為人類所利用、飼養的有用昆蟲：蜜蜂和家蠶，事實上自古迄今此二有用昆蟲的利用，皆是屬於相當龐大的事業，其相關的產品已融入人類生活，在人類歷史中，扮演著不可或缺或分割的角色。因此它們的盛衰或消長，已關係至人類的福祉甚至全球生態系

的穩定。飼養的生物，由於集約式密集飼養、且繼代式的飼養或選育，難免會發生嚴重的疫病，疫病的肇因除內在遺傳因子、外在環境因子（氣候：溫度、濕度和光照）和物化因子外，病原體的感染及寄生蟲的寄生亦是不可忽略的因素。家蠶之飼養除桑葉供應外，幾乎全在桑、蠶農管理中。然而蜜蜂之飼養是屬於半放牧式，多數食物需要自行採集，且行社會性生活，幼蟲由護士蜂餵食。因此蜜蜂受病原體的感染及寄生蟲的寄生的機率及其複雜性更甚於家蠶。蜜蜂的病原體如同其他生物體，所引發的疾病常見報導的是真菌病（白堊病）、細菌病（美洲幼蟲病及歐洲幼蟲病）、病毒病，以及寄生蟲病（微粒子蟲病、蜂蟹蟎和氣管蟎）等（An and Ho, 1997）。罹真菌病和細菌病的幼蟲，由於蜜蜂有清巢的行為，並不被認為（甚至已被排除）是 CCD 症候群的因素。病毒病以及寄生蟲病（微粒子蟲病和蜂蟹蟎）被認為是引發 CCD 症候群的可疑因素。因此本文就蜜蜂病毒病和微粒子蟲病，亦加入蜂蟹蟎傳播病原體的角色，分別就其研究背景敘述之。

一、蜜蜂病毒病

從昆蟲病毒分類史即可了解蜜蜂類小 RNA 病毒之重要性。西元 1948 年 Holmes 首次企圖建立昆蟲病毒分類的體系，當時他將昆蟲病毒分類為病毒目（Order Virales），動噬亞目（Suborder Zoophagineae），包埋體病毒科（Family Borrelinaceae），包埋體病毒屬（*Borrelina*）和非包埋體病毒屬（*Morator*）（Steinhaus, 1947）。前一屬是會引起昆蟲多角體病（polyhedrosis），凋萎（wilt）病，和其他鱗翅目種類之病毒病。而後一屬則只含有一種病毒即是蜜蜂囊雛病毒（sacbrood bee virus, SBV）（Tanada and Kaya, 1993），可見囊雛病毒是早已受到重視之昆蟲病毒。義大利

蜜蜂 (*Apis mellifera*) 有相當多的疾病是因 RNA 病毒感染所引起的，至 1991 年有 19 種已被鑑定為此類病毒中，至少有 17 種病毒被描述為蜜蜂類小 RNA 病毒。除了蜜蜂囊雛病毒外，其他如急性蜜蜂麻痺病毒 (acute bee-paralysis virus, ABPV)，蜜蜂黑王台病毒 (black queen-cell virus, BQCV)，克什米爾蜜蜂病毒 (KBV)，慢性蜜蜂麻痺病毒 (chronic bee-paralysis virus, CBPV)，慢性蜜蜂麻痺病毒之近緣病毒 (chronic bee-paralysis virus associate)，美阿肯色州蜜蜂病毒 (Arkansas bee virus)，X 型蜜蜂病毒 (bee virus X)，Y 型蜜蜂病毒 (bee virus Y)，緩性蜜蜂麻痺病毒 (slow bee-paralysis virus)，翅霧病毒 (cloudy-wing virus)，和埃及蜜蜂病毒 (Egypt bee virus) (Bailey and Woods, 1974, 1977, Bailey and Ball, 1991) 等亦是常見於當時相關雜誌或刊物的蜜蜂病毒。這些蜜蜂類小 RNA 病毒形成一異質群，然而利用現代科技 (DNA 序列) 發現多數的蜜蜂病毒是可歸納於果蠅 C 病毒 (*Drosophila C virus*) 之未命名的科內 (Evans and Hung, 2000)。蜜蜂病毒多數呈現潛伏性感染，並常有重覆感染的現象，亦即同一隻病蜂遭受到一至三種病毒感染。此現象造成科學研究上的困擾，因此只要能獲得單一的主要病毒 (key viruses)，即可進行分子遺傳上鑑定以及流行病學的研究分析，如此便可提供蜜蜂族群內病毒發生之較準確的估算，所得的資料可以用來評估病毒之致死或亞致死效應 (lethal and sublethal effects) 的發生頻率與嚴重性。其次的困擾是重要蜜蜂病毒之鑑定的挑戰，早已是蜜蜂病理學者所面對與遭遇的一大難題，利用血清檢定、以鑑別蜜蜂病毒，是先前為克服形態鑑別上之瓶頸所採用的嘗試。困難的是要在這一大群的蜜蜂病毒中，

需要各別發展出具有鑑識力的抗體，並持續地發展出已知蜜蜂病毒及其突變株和猛暴性蜜蜂病毒病所需的抗體 (單株抗體)，這些對於蜜蜂病毒病的鑑定與防治在經濟與時機上皆不太適合。蜜蜂病毒病中以蜜蜂囊雛病毒 (SBV) 的發現與研究雖然已有相當的歷史，但相對於其他昆蟲的 DNA 病毒之研究顯然落後很多，主要因素是因其基因組為 RNA，不易操作外，其又為低病原性之昆蟲病毒且受限於生物防治之應用而未能受到科學界的重視。蜜蜂病毒病之病原體以類小 RNA 病毒 (picorna-like virus) 為主，至 1995 年已有 18 分離株以此為名的報導 (Murphy *et al.*, 1995)，但亦處在相同狀況下，雖然有完整序列的發表，但其病原性、致病力以及傳播方式，多數並未釐清。再則蜜蜂病毒如人之病原體常也會因交互感染與交互作用而導致誤判。總而言之，分子遺傳技術為可提供一精確，靈敏之有力鑑識病毒的工具，如 RNA-dependent RNA polymerase (RdRp) 和解螺旋酶 (Helicase) 之非構造基因序列的比較，是可供分析及建構近緣蜜蜂病毒間的關係的好分子標誌 (Evan and Hung, 2000)。無論如何，直到 2002 年後，才逐漸可見昆蟲類小 RNA 病毒的基本生物學和分類地位的雛型或輪廓 (Wu and Wang, 2001; Wu *et al.*, 2002)；國際病毒命名委員會 (ICVT, International Committee of Viral Taxonomy) 於 2005 年才正式將昆蟲類小 RNA 病毒可分成兩科：單順反子科 (Monocistronidae) 和雙順反子科 (Dicistronidae)，前者以家蠶傳染性軟化症病毒 (infectious flacherie virus, IFV) 而後者以蟋蟀麻痺症病毒 (Cricket paralysis-like viruses, CrPV) 為模式種 (Fauquet *et al.*, 2005)。目前已有九種蜜蜂小 RNA 病毒完成定

表一 基因組已完全定序之蜜蜂病毒

Table 1. The honeybee viruses which genome sequences have been completed

Name	Host	Family name	ORF & genome	Length	GenBank NO. & Location	Paper
Sacbrood virus (SBV)	<i>Apis mellifera</i> (larvae)	Monocistroviridae Iflavirus	Single; (+) ssRNA	8,832 bp	AF092924 United Kingdom, UK	Ghosh <i>et al.</i> , 1999
Kakugo virus (KV)	<i>Apis mellifera</i> <i>L. Italian race</i>) and Hornets, <i>V. mandarinia japonica</i>	Monocistroviridae	Single; (+) ssRNA	10,152 bp	AB070959 Chiba, Japan and Tamagawa University	Fujiyuki <i>et al.</i> , 2004
deformed wing virus (DWV)	<i>Apis mellifera</i>	Monocistroviridae	Single; (+) ssRNA	10,140 bp	AJ489744 Italy	Lanzi <i>et al.</i> , 2006
Varroa destructor virus (VDV-1)	Varroa destructor mites	Monocistroviridae	Single; (+) ssRNA	10,112 bp	AY251269 Netherlands: Wageningen	Ongus <i>et al.</i> , 2004
Acute bee paralysis virus (ABPV)	<i>Apis mellifera</i>	Dicistroviridae	Double; (+) ssRNA	9,491 bp	AF150629 IACR-Rothamsted, UK	Govan <i>et al.</i> , 2000
Kashmir bee virus (KBV)	<i>Apis mellifera</i>	Dicistroviridae	Double; (+) ssRNA	9,524 bp	AY275710 USA: Pennsylvania	Miranda <i>et al.</i> , 2004
Black queen cell virus (BQCV)	<i>Apis mellifera</i>	Dicistroviridae	Double; (+) ssRNA	8,550 bp	AF183905 South African	Leat <i>et al.</i> , 2000
Israel acute paralysis virus (IAPV)	<i>Apis mellifera</i>	Dicistroviridae	Double; (+) ssRNA	9,487	EF219380 Israel	Maori <i>et al.</i> , 2007
Chronic bee paralysis virus (CBPV) RNA 1 & RNA 2	<i>Apis mellifera</i>	unclassified viruses	RNA; linear	3,674 bp & 2,305 bp	EU122229 & EU122230 France	Olivier <i>et al.</i> , 2008

序，從基因組內基因的排列，單順反子科和雙順反子科各有 4 種，另一暫屬於未定種 (表一)。然而仍有許多其他蜜蜂類小 RNA 病毒的完全基因組尚未被解序，是否為新病毒亦或變異株，則有待證實。因蜜蜂類小 RNA 病毒在外形及浮力密度上雷同，不易分離。蜜蜂受單一病毒感染的蜂巢，並不易獲得，此多重感染的現象亦造成研究的困難和困擾。尤其目前

尚未有蜜蜂細胞株的建立，以供蜜蜂病毒體外增殖 (*in vitro propagation*)、選殖及分離之用。蜜蜂細胞株的建立可以株化病毒和研究變異株的基因突變，因此蜜蜂病毒體外增殖亦是未來需克服的標的之一。在此之前，吾人可用具有代表性的特定基因序列 (RdRp 及 Helicase) 之 RT-PCR 擴增與序列比較進行病毒間的分析與研究，相信必可釐清它們的相關

性、台灣蜜蜂病毒相，甚至從病毒相中發現新的蜜蜂病毒。

台灣養蜂事業已有相當長的歷史（約 400 年），但對蜜蜂類小 RNA 病毒的報導則罕見於雜誌和刊物上，原因甚多，主要因素還是不外於其為低病原性之昆蟲病毒。台灣蜜蜂小 RNA 病毒之研究報導，幾乎闕如，事實上蜜蜂小 RNA 病毒病在養蜂場皆有零星的發生。近年來國外養蜂界因 CCD 之爆發所引起的衝擊，使蜜蜂病毒病因而受到相當重視。雖然蜜蜂囊雛幼蟲病毒感染幼蟲，但成蜂則是帶原者，對成蜂而言亦是傳播者，因此蜜蜂囊雛病毒是否會與其他蜜蜂類小 RNA 病毒，亦或其他因素產生協力作用，而導致 CCD 之可能性亦不可忽視。

目前被認為與 CCD 關係密切的病原體是病毒病及微粒子病，茲先將九種已定序之蜜蜂病毒簡介如下：

(一) 單順反子蜜蜂病毒：

(1) 蜜蜂囊雛幼蟲病毒 (SBV)

蜜蜂囊雛幼蟲病毒是最早發現的昆蟲病毒之一，此病毒所引起的幼蜂疾病稱之為囊雛幼蟲病 (sacbrood disease, SBV)，早在西元 1857 年甚至可能更早，即人類開始飼育蜜蜂前即知此病的存在 (Steinhaus, 1947)。SBV 的病毒粒子是不具被膜之 20 面體，直徑約 28~30 nm 的病毒，其基因組含有一單鏈正意股 RNA (positive ssRNA) (Lee and Furgala, 1965; Ghosh *et al.*, 1999)。SBV 是第一個基因組被完全定序的蜜蜂病毒，其 RNA 基因組含有 8,832 個核苷酸 (nucleotides, nt)，較典型的哺乳類小 RNA 病毒（約 7,500 nt）為長，只含有一個大的單一譯讀區（從基因組第 175 到 8,752 nt）。從譯讀區內基因之排列序，蜜蜂囊雛幼蟲病毒與其他小 RNA 病毒成員類似，如構造型蛋白基

因皆位在 5' 端，而非構造型蛋白基因皆位在 3' 端 (Ghosh *et al.*, 1999)。但從基因的相似度而言，蜜蜂囊雛幼蟲病毒還是與另二已知的昆蟲小 RNA 病毒，家蠶與透翅毒蛾軟化症病毒 (IFV 和 PnV)，親緣關係較密切。吾人認為此三種昆蟲小 RNA 病毒應該另成立一個新屬 (Wu *et al.*, 2002)。此病毒在世界各地的分離株是否在遺傳性狀上有差異？不同種類之蜂群所發現的分離株之差異為何？此等問題皆應從基因組結構上著手，才能迎刃而解。根據蜜蜂囊雛幼蟲病毒之完整序列，設計的引子對以 RT-PCR 方法增幅來自不同地理區（歐洲：德國和奧地利，大英聯合王國，印度，尼伯爾，和南非）的蜜蜂囊雛幼蟲病毒發現可區分成三基因群：歐洲群，遠東群，和南非群。歐洲群含中歐和英國亞群，遠東群以泰國株為代表包括印度和尼泊爾品系。來自南非有一株具高歧異度，而認為必有另外一群存在，而西方蜜蜂 (*A. mellifera*) 顯然對泰國病毒株有抗性 (Grabensteiner *et al.*, 2001)，台灣蜜蜂囊雛幼蟲病毒理應屬於遠東群，但目前尚未有分子證據，此點將會在未來研究中釐清。

病毒在細胞質小泡內進行合成，組合並增殖，成熟的病毒在小泡內呈隨機分佈或呈結晶狀排列。罹患此病之幼蜂，因無法化蛹，於蛹體之體壁下的蛻皮液中累積且充斥著病毒粒子，於是死亡的蟲體會形成一堅韌的小囊袋 (White, 1917)，偶而亦可見病毒於核內，極可能是病毒蛋白累積而非病毒形成處，罹病幼蟲體色由乳白色轉淡黃色，死後乾燥成暗棕船形疤屍 (Dall, 1987)。雖然成蜂亦會被感染，但未見明顯的症狀，成為帶原者。病毒主要分佈在成蜂體內之脂肪體細胞外，工蜂之下咽喉腺 (hypopharyngeal gland) 以及雄蜂之腦內亦可見病毒的分佈。

SBV 在美國發現後，現已在加拿大、澳大

利亞、丹麥、英國、瑞典、法國、原蘇聯、埃及、新西藏、新幾內亞和中國等地皆有病例報導，可以說幾乎全世界的養蜂國家皆有此病毒的發現。中國大陸於 1971 年，廣東省首先發生中國蜂囊雛幼蟲病後，即迅速蔓延到中國各地。此病危害性很大，可造成 30~90% 的蜂群損失。台灣本省極少發現蜜蜂囊雛病，但在本省北部飼養的中國蜂群中曾發生此病 (An and Ho, 1997)。蜜蜂囊雛幼蟲病通常不會造成嚴重的損失，多數罹病幼蜂在封蓋後死亡，這些含有死亡幼蜂的巢蓋較黑，成蜂也許會將死亡幼蜂移除或只在巢蓋上穿孔 1~2 孔的現象，其為成蜂欲將病死幼蜂移除所致。雖然病症不明顯，但可從行為上的改變窺出，如很快停止取食花粉，停止哺育工作，停止清巢工作，以及提前出巢從事採集活動，並且只採蜜不採粉（極少數例外）等。伴隨著這些行為而導致營養的缺失和失衡（缺乏蛋白質與其他重要物質的饋補），因此被感染的工蜂之新陳代謝速率降低，壽命減短，抵抗力降低易發生次級感染（secondary infection）及越冬能力下降等。但也有少數倖存者，在早春即成為疾病傳播者，而造成下一輪季節性病害的流行。在晚夏病毒常會自然地消失和在冬天時不見罹病幼蟲的事實 (Bailey, 1975; Bailey and Woods, 1977)。這也可能是內勤蜂能在幼蜂罹病初期很快地發現，並立即將其清除。

(2) Kakugo virus (KV)

KV 分離自能對抗大黃蜂之勇猛工蜂 (aggressive worker) 之大腦，此病毒在其他階級蜂並不能偵測到，具有 10,152 nt 正意股 RNA，基因排列如同 SBV、PnV 和 IFV，轉譯出的胺基酸序列相似度與 SBV 最高，但也只有 37% 以下。此病毒係以游離 RNA 存在於蜜蜂腦內，而認為其應為一新穎類小 RNA 病毒 (Fujiyuki *et al.*, 2004, 2005)。此

病毒與 VDV-1 和 DWV 親緣關係緊密，以基因組和聚蛋白 (polyprotein) 而言相似度分別為 95% 和 98%；以聚合酶 (RdRp) 而言，分別只有 15% 和 6% 的差異。KV 後來發現，攻擊型的工蜂未必受 KV 的感染，再者 KV 之組織分佈亦不只限於腦組織，KV 亦如同 DWV 可經蜂蟹蟻傳播，但亦可垂直傳播 (Fujiyuki *et al.*, 2006)。

(3) 畸翅病毒 (DWV)

DWV 之基因組 RNA 含有 10,140 nt，可轉譯出一個 328-kDa 之聚蛋白，其 5' 端有 1,144 nt 是非轉譯區 (UTR)，3' 端則有 317 nt UTR，而後則是聚腺嘌呤端。基因排列與模式種 IFV 相同 (Lanzi *et al.*, 2006)。DWV 與 KV 和 VDV-1 之基因組序列相似度很高，但攻擊型的工蜂從未見是畸翅蜂，組織分佈亦不同，在健康工蜂的頭部未偵測到 DWV，DWV 與 KV 之 RdRp 序列有 6% 的差異，導致兩個胺基酸之別，此差別是足以影響其致病力，也許二者是不同的地理株，在歐洲是 DWV，於日本則有是 KV 的可能性 (Fujiyuki *et al.*, 2006)。此病毒與蜜蜂之畸翅、腹鼓脹、麻痺、和羽化成蜂快速死亡有關，是經由蜂蟹蟻傳播，最早是在 1980 年代在日本被分離出，目前全世界凡有蜂蟹蟻的地方就有 DWV，如前所述 DMV 在 CCD 巢之蜜蜂中腸細胞可以檢出 (Johnson *et al.*, 2009)。

(4) 蜂蟹蟻病毒-1 (VDV-1)

具 27 nm 大小，在胞質內結晶排列，基因組含有 10,112 nt 不具聚腺嘌呤端 (poly (A) tail)，與 DWV 和 KV 之 RNA 基因組有 84% 相似，可轉譯出一具 2,893 胺基酸之聚蛋白，胺基酸序列則與 DWV 和 KV 有 95% 相似，但此三種病毒之病原性不盡相同，是否為同種之變異株，有待更進一步證

實。此病毒在蜜蜂疾病上所扮演的角色並未明確 (Ongus *et al.*, 2004)。

(二) 雙順反子蜜蜂病毒

雙順反子科之病毒以蟋蟀麻痺病毒 (CrPV) 為模式種，目前已有四種蜜蜂雙順反子病毒被定序，其與 CrPV 基因組結構類似，如表一所示。類蟋蟀麻痺病毒屬的病毒特性是直徑約 30 nm、20 面體構造，氯化鈾 (CsCl) 之浮力在 1.34~1.37 之間，沉降系數 (sedimentation coefficients) 在 153~167S 之間，病毒粒子在 pH 3.0 穩定。基因組為單鏈正意股 RNA (positive single strand RNA, ssRNA) 含 9~10 kb。其 3' 端是聚腺嘌呤 (polyadenylation)，5' 端具一小病毒醣蛋白 (VPg)。與蜜蜂囊雛病毒不同的是基因組內具有兩個開放譯讀區 (轉譯區架構；ORFs)，構造性蛋白基因位在 3' 端而非構造性蛋白基因位在 5' 端。

已定序之蜜蜂雙順反子病毒包括：急性蜜蜂麻痺病 (ABPV, Govan *et al.*, 2000)；克什米爾蜜蜂病毒 (KBV, de Miranda *et al.*, 2004)；蜜蜂黑王台病毒 (BQCV, Leat *et al.*, 2000)；及以色列急性蜜蜂麻痺病毒 (IAPV, Maori *et al.*, 2007)。

(1) 急性蜜蜂麻痺病毒 (ABPV)

首次於 1963 年在英國的無明顯症狀的感染蜜蜂被發現，雖然 Bailey *et al.* (1963) 指出會引起蜜蜂麻痺症狀有幾種不同病毒，但此病毒是他們鑑定和命名的第一個會引起成蜂麻痺症狀的類小 RNA 病毒，以與慢性蜜蜂麻痺病毒 (chronic bee-paralysis virus, CBPV) 區分。ABPV 是不具被膜，正二十面體對稱、無突起，病毒粒子直徑為 30 nm，具單鏈正意股基因組含 9,470 nt 及聚腺嘌呤 RNA [a single-stranded RNA genome with

a poly(A) tail] (Govan *et al.*, 2000)。當時並未將此病毒與蜜蜂任何疾病或死亡相關聯 (Bailey *et al.*, 1963; Bailey, 1965; Anderson and Gibbs, 1988)，但 ABPV 能引起自然界中蜜蜂的死亡 (Ball, 1985)。以人工接種 (注射) 的方式使之感染，接種蜜蜂在感染 2~4 天後才可見急性麻痺之初級症狀 (不能飛翔)，逐後 1 天內死亡，死亡前蜂體有震顫，腹部膨大的病徵。與感染慢性蜜蜂麻痺病毒者不同的是在病發後幾天內才死亡。被寄生之蜂巢，則成蜂及幼蜂皆會受感染並易發病而死。目前此病毒被認為是由蜂蟹蝨 (*V. jacobsoni*) 媒介而感染。急性蜜蜂麻痺病毒亦在熊蜂 (bumble bees) 發現，是唯一能在自然狀況下改變宿主的蜜蜂病毒。

目前已報導有發現急性麻痺病的國家不多，只有：澳大利亞、法國、墨西哥、比利時、英國、原蘇聯、德國、和中國有病例報導，台灣尚無此方面的資料，但是蜂蟹蝨的為害則時有所聞，因此相信台灣必有蜜蜂急性麻痺病，只是尚無人參與此方面的研究而已。麻痺症狀發生在成蜂，養蜂業者是因罹病蜂呈現發抖，腳及翅懶散等的症狀而命名。有時會有局部脫毛，有時會有閃黑光現象。此病感染是溫和的，但一發病則死亡率高且短暫。在加拿大和義大利之外表正常之蜂群被證實是受到 ABPV 病毒的亞致死量的感染，只是無明顯的病徵 (Bailey, 1965)，相同地，在英國，澳洲，和法國地區的急性麻痺病病毒感染的蜜蜂之症狀亦不明顯 (Bailey and Woods, 1977; Ball and Bailey, 1991)。一般在春季因氣溫回升，病毒粒子迅速增殖，會引起蜜蜂死亡，但越冬期蜂群則不易檢查出，可能氣溫太低，病毒粒子增殖慢，不易引起死亡，到夏季溫度上升 (35 °C) 後，則不見感染現象，因此病毒病病毒粒子的增殖及症狀的產生與飼育溫度有密

切的相關性。病毒可於成蜂的許多組織中增殖，如脂肪體、腦部及咽下腺細胞的細胞質內增殖，但並不引起明顯的傷害，倘若病毒粒子被釋出而進入血體腔，才會引發全身系統性感染而導致死亡。在自然界中，急性麻痺並病毒可透過以下途徑傳播：(1) 成蜂的咽下腺分泌物餵食；(2) 被污染的花粉；(3) 通過媒介之高效率的傳播。但前二者很難令蜜蜂獲得致死的劑量，現已發現蜂蟹蟻是該病毒的傳播媒介，急性麻痺病毒可在雌性蜂蟹蟻體內存活 (Allen *et al.*, 1986)，當蜂蟹蟻吸食成蜂的血液時，會直接將病毒注入蜜蜂的血體腔，於是病毒可隨著血液的流動傳播至體內各組織和器官，再則幼蟲受帶病毒蜂蟹蟻寄生後，病毒也可在幼蟲體內增殖 (Ball, 1985)。因此防治上以治蜂蟹蟻為主，特別是在春季蜂群繁殖期，嚴格控制蜂蟹蟻危害蜂群，為預防急性蜜蜂急性麻痺病之良策。

(2) 克什米爾蜜蜂病毒 (KBV)

KBV 首次在東方蜂 (Asian honey bee, *A. cerana*) 被發現，被認為是源自亞洲的病毒 (Bailey and Woods, 1977)。KBV 之基因組含有 9,524 nt，其他特性如類蟋蟀麻痺病毒屬的成員，在整段基因組之比較，KBV 與 ABPV 有約 70% 的相似度 (Miranda *et al.*, 2004)。利用 RdRp (*RNA-dependent RNA polymerase*) 及鞘蛋白 (coat protein) 之序列分析親緣關係，美洲 KBV 為獨立一群，但近於俄國和澳洲 KBV 而遠於匈牙利 KBV。無論如何，對其他近緣病毒而言，KBV 近於 ABPV 而遠於 CrPV 與其他類蟋蟀麻痺病毒屬的成員 (Miranda *et al.*, 2004)。來自澳洲與美洲之克什米爾蜜蜂病毒間只有 5% 的差異，與克什米爾蜜蜂病毒最近的類蟋蟀麻痺病毒是果蠅 C 病毒，但也只有 50% 相似度，而蜜蜂黑王台病毒則落在與棕翅綠椿

象腸病毒 (RSIV) 和斑飛蝨 P 病毒 (HiPV) 同群，此結果在解螺旋酶基因 (Helicase) 序列分析上亦獲證實。雖然 KBV 與 ABPV 關係密切，但不是同一種病毒，ABPV 常與蜜蜂麻痺有關，但 KBV 則否，二者在 VP4 蛋白上血清反應不同。無論如何，KBV 對蜜蜂健康的影響並未明確 (Evan and Hung, 2000)。經進一步調查其變種在世界各地之義大利蜂族群的分佈，發現亦存在於加拿大、印度、西班牙、澳洲、紐西蘭、斐濟和美國等地 (Anderson and Gibbs, 1988; Anderson, 1990; Allen and Ball, 1995; Hung *et al.*, 1995)。在紐西蘭之熊蜂與澳洲黃蜂 (*Vespa germanica*) 亦受此病毒的感染。

(3) 蜜蜂黑王台病毒 (BQCV)

BQCV 首次由 Bailey 等人於 1963 年自王台內死亡的前蛹和蛹分離而得 (Bailey and Woods, 1977)，病變後的王台變成黑色而得名。蜜蜂黑王台病毒 (BQCV) 與克什米爾蜜蜂病毒 (KBV)，二者之物化及基因組特性與蜜蜂急性麻痺病毒相似，不再累述，簡述之：此病毒約 30 nm 直徑大小，其基因組的完整序列已解出，含有聚腺嘌呤的 8,550 nt，具二大開放譯讀區，5' 端之 4,968 核苷酸與 3' 端之 2,562 核苷酸的中間夾有一 208 核苷酸的基因間區 (intergenic region)，5' 端的 UTR 有 657 核苷酸而 3' 端則有 155 核苷酸。相同地，5' 端轉譯出非構造型蛋白而 3' 端轉譯出構造型蛋白 (Leat *et al.*, 2000)。

蜜蜂黑王台病毒 (BQCV) 專一性感染王台內的幼蟲，病蟲於前蛹其或蛹期死亡，形成一個類似於囊狀幼蟲病的堅韌的囊鞘，在育王群中發病率高 (Laidlaw, 1979)，與囊狀幼蟲病病毒相比，BQCV 在成蜂和雄蜂體內不易增殖。BQCV 於澳洲是蜂王幼蟲死亡之主要病原體，在成蜂體內之增殖則與蜜蜂微粒子蟲

(*Nosema apis*) 有著密切關係，病毒需經由微粒子蟲在蜜蜂中腸產生的傷口而入侵，微粒子蟲破壞了蜜蜂中腸上皮細胞，突破上皮細胞障壁的防禦作用，病毒得而從中腸上皮細胞入侵體內而增殖之。BQCV 注入蛹體確可增殖，但注入成蜂則否，但若同時注入 *N. apis* 的孢子，則會增殖。此現象在英國之田間死蜂亦已獲證實，二病原體感染蜜蜂之高峰期皆在春季和早夏 (Bailey *et al.*, 1983)。

在西班牙 (Spain) 之 Toledo 省 80 個蜂巢大發生，死亡症狀有下痢、腹部脹大、中腸水腫、和充斥透明液體之膨脹直腸。*N. apis* 曾被報導與 BQCV 大發生有關，這一急性臨床現象 (下痢及成蜂大量死亡) 顯然與 *N. apis* 和 BQCV 的感染有關。但 *N. apis* 存在西班牙已有十年，皆以慢性感染，少有臨床現象。另則巢四周並無下痢及大量死亡的 *N. ceranae* 之臨床現象，可能是 *N. apis* 和 BQCV 的感染之協力作用有關 (Higes *et al.*, 2007)。

(4) 以色列急性麻痺病毒 (IAPV)

IAPV 在 2004 年於以色列首次被描述，此病毒約 27 nm 直徑大小，其基因組的完整序列已解出，含有聚腺嘌呤的 9,487 nt，具二大開放譯讀區，5' 端之 5,700 核苷酸 (1,900 aa) 與 3' 端之 2,724 核苷酸 (908 aa) 的中間夾有一 184 核苷酸的基因間區 (intergenic region)。相同地，5' 端轉譯出非構造性蛋白而 3' 端轉譯出構造性蛋白。根據 RdRp 胺基酸序列之親緣關係分析，IAPV 與 KBV 同群，遠於 ABPV，更遠於 BQCV，但以 PCR 和抗血清足以區分出 (Maori *et al.*, 2007)。

罹 IAPV 病之蜜蜂其翅顫抖，逐漸麻痺而後死在巢外。以色列蜜蜂群中、有些蜜蜂被發現有 IAPV 片段的銜入，而對接續的感染具有

抗性，並且於罹病蜂有類缺失干擾 RNA [defective-interfering (DI)-like RNA] 存在。在美國、加拿大、澳洲和以色列等地之 IAPV 株之親緣關係分析，呈三種不同的親系，其中兩種可在美國發現，此二株含不同的轉錄序列，也許意味具不同的病原性 (Palacios *et al.*, 2008)。IAPV 在澳洲輸入美國的蜂群和中國輸入的蜂王漿中可檢出 (Cos-Foster *et al.*, 2007)，事實上早在 2002 年已發現澳洲輸入的蜂群有 IAPV 的感染 (Chen and Siede, 2007)。2006 年後美國發生 CCD，經偵測發現 CCD 巢皆具有一共同的病原體是 IAPV，而認為 IAPV 與 CCD 有很強的相關性 (Cox-Foster *et al.*, 2007)。

(三) 慢性麻痺蜜蜂病毒 (CBPV)

Bailey 等人於 1963 年自罹病蜂體中首次分離出 CBPV，純化的 CBPV 病毒具不等大小的體積，多數呈橢圓形粒子，30~65 nm 長、約 20 nm 寬 (Bailey *et al.*, 1968)，但病毒大小、形狀不規則，有環形、啞鈴形，分叉桿狀，長可致 640 nm (Ball and Bailey, 1991)。採病蜂的樣品中，有 70% 可分離出 CBPV，許多外表健康的蜜蜂體內也有 CBPV 的存在。原描述其基因組是含有五單鏈 RNA 片段：二主要 RNAs (RNA 1 和 2 各具 4,200 和 2,800 nt)，而其他為 RNA 3a、3b 和 3c，每段具約 1,100 nt (Overton *et al.*, 1982)。另則此病毒具衛星病毒 (Chronic bee paralysis satellite virus, CBPSV) 是第一個有紀錄的蟲生衛星病毒 (Fauquet *et al.*, 2005)。CBPV 之分類地位未解，目前有二主要 RNA 被定序完成：RNA 1 (3,674 nt) 和 RNA 2 (2,305 nt)，二者皆正意單股 RNA，具冠端 (cap) 不具多聚腺嘌呤 (polyadenylation) (Olivier *et al.*, 2008)。

罹 CBPV 蜜蜂呈現出的病症很明顯，如翅不正常抖動，病蜂無力飛翔常在蜂箱前或巢脾上緣爬行，有些個體幾乎無絨毛而外觀較黑，受到同巢健康個體的攻擊，罹病蜂在幾天內死亡，許多擠於蜂箱角落處及周圍。此 CBPV 能以無症狀持續感染，但可增殖致高量而引發蜂巢之明顯損失 (Blanchard *et al.*, 2007)。這一病毒是目前已擴散致世界各地，CBPV 感染似有神經趨性，從慢性感染蜂純化出的病毒中，半數是來自頭部，病毒顆粒可見於腦、下咽喉和大顎神經節和胸部神經節，亦見於後腸上皮細胞層 (Giauffret *et al.*, 1970)。致於此病如何傳播，如何使蜜蜂致死的真正原因，目前研究尚無結果，在罹病蜂群的飲水中可發現 CBPV，因之推斷病毒可能由唾液腺或下咽頭腺的分泌物，藉以傳播。蜜蜂採集的花粉團可攜帶 CBPV，使蜂蛹感病，以致於剛羽化的成蜂即有病徵出現。

(四) 展望

蜂群衰竭失調症之主要病原體，在美國研究團隊的研究有指向病毒病的趨向，於 2007 年認為 IAPV 為可能元凶 (Cox-Foster DL *et al.*, 2007)，而 2009 年則認為 DWV 和 IAPV。DWV 普遍存在於美國蜂群中，無論健康或 CCD 蜂群之中腸皆有高檢出率 (29~64%)，IAPV 與 KBV 之健康蜂群 (皆為 7~14%) 相對於 CCD 蜂群 (分別 21~25% 與 21~44%) 之中腸皆有檢出率為低，致於 SBV 則呈不穩定狀態，因此認為 IAPV 和 KBV 與 CCD 有關，但與干擾中腸細胞轉錄的病毒則認為是 IAPV 和 DWV (Johnson *et al.*, 2009)。事實上、於 2007 年才知 IAPV 存在於美國蜂群中，亦即在微生物的泛基因組研究前，美國未有 IAPV 入侵的報導。之後、從 2006 年蜜蜂基因組解序的序列中，發現

IAPV 早已存在於美國蜂群。IAPV 在美國蜂群蔓延之因素，據推測 IAPV 的入侵源有二：澳洲蜂王的輸入及帶有 IAPV 之蜂王漿由中國的輸入。IAPV 入侵之後，由於蜂巢因授粉作物而遷移，而使 IAPV 蔓延致全美。然而澳洲並未有 CCD 事件發生，其因素是澳洲蜂群未有蜂蟹蟻的為害，因蜂蟹蟻的為害會降低蜜蜂的免疫力，而使潛伏或慢性病轉化成急症。再則以色列亦未有 CCD 事件發生，是因其蜜蜂群之個體的基因組 (染色體) 內已有 IAPV 的基因片段，以及有 IAPV 缺失性干擾 RNA (a viral defective-interfering-like RNA, DI-like RNA) 而具抗性 (Maori *et al.*, 2007)。根據最近三年 (2006~2009) 對台灣蜜蜂群之病毒檢測，發現台灣蜜蜂群也不外於美國蜜蜂群，有 IAPV、BQCV、DWV、KBV 及 KV 等病毒的檢出，而且普遍存在重覆感染現象 (同一隻蜜蜂檢出一種以上的病毒)，顯然台灣蜜蜂群早已有病毒的潛伏或慢性感染。

蜜蜂病毒病多數呈潛伏或慢性感染，症狀不明顯，易為蜂農所忽略，以致於目前無帶病毒原的蜂群難尋 (甚至幾乎找不到)，其因素不外乎下列幾點：(1) 蜜蜂養殖以半開放式的方法，工蜂採蜜或花粉，易接觸帶有病毒的食物；(2) 養蜂場之蜂巢間因蜜蜂間之互動而傳播；(3) 蜂產品間的交易；(4) 蜂農養蜂行為等皆是病毒病蔓延的因素。如何培育出無特定病毒帶原蜜蜂 (special viral pathogen free honeybee, SPF honeybee)！如何改進養蜂行為！以及對進口蜂王及蜂產品的病毒檢測等皆是當務之急。

二、蜜蜂微孢子病 (又稱微粒子蟲病, nosema disease)

蜜蜂微粒子病 (nosema disease, nosemosis) 過去常稱為微粒子蟲病或微孢子

蟲病，由於病原體分類上的沿革，現將該類病原體歸類為真菌界，故改稱為微粒子病。蜜蜂微粒子病 (nosema disease) 是重要且常見之蜜蜂疾病，對於蜜蜂產業而言有許多負面影響，罹病成蜂在感染初期或輕微感染時雖無明顯病徵，但明顯影響到蜂群的授粉與蜂產品產量 (Fries *et al.*, 1984)。微粒子病在溫帶地區的影響尤其嚴重，危害嚴重時，容易使蜂群在春季時數量大為減少或整巢滅亡 (Fries and Ekbohm 1984)，而時值是採蜜季節的開端，因此造成蜂農嚴重損失。過去一般認為西方蜂只受蜜蜂微粒子 (*N. apis*) 而東方蜂只受東方蜂微粒子 (*N. ceranae*) 感染，且沒有在西方蜂族群中發現東方蜂微粒子之記錄，雖然在實驗室環境下東方蜂微粒子蟲確實具有感染西方蜂的能力 (Fries, 1997)。

台灣飼養的西方蜂族群中，自西元 1972 年代即發現有微粒子病之發生 (Kao and Yen, 1972)，由於微粒子不耐熱，台灣地處於亞熱帶與熱帶交界，蜜蜂微粒子病並不被視為嚴重的問題，然而全台各地每年都能夠觀察到罹病成蜂，其症狀與典型 *N. apis* 所造成的蜜蜂微孢子病相仿，皆好發於春末夏初與秋季兩期之成蜂，此病亦是台灣飼養的西方蜂族群中之常見的流行病，蜜蜂微粒子病與蜂蟹蟎為害皆是養蜂人員常需注意的病害 (An and Ho, 1980)。然而我們在近期的研究中，於研究室外飼養的蜂群中採得的罹微粒子病個體，其病原體經 16S rDNA 序列比對後發現與另一造成蜜蜂微孢子病之病原體 *N. ceranae* 較為相近，同時以 TEM 進行了超微構造之觀察，證實台灣地區的西方蜂族群中確有東方蜂微粒子存在 (Huang *et al.*, 2007)，此一發現我們早已於 2005 年無脊椎病理學會 (Society of Invertebrate Pathology, SIP) 論文宣讀中發表 (Huang *et al.*, 2005)，當時即引發全世

界養蜂界重新確認各地微粒子的種類，東方蜂微粒子有逐漸取代西方蜂微粒子的趨勢。

東方蜂微粒子最早由瑞典學者在北京近郊的東方蜂族群中發現 (Fries *et al.*, 1996)，雖然在實驗室實驗中證明東方蜂微粒子有感染西方蜂的能力，但在 2005 年之前並無任何實際案例，而過去中國養蜂研究學者亦多認為在東方蜂上發現之微粒子即為東方蜂微粒子，而在西方蜂上即為蜜蜂微粒子。兩者在顯微鏡下外觀相似，不易區分。歐洲的研究學者亦在 2006 年發現東方蜂微粒子存在於歐洲的西方蜂族群中 (事實地，在 2005 年我們在 SIP 會議中，已證實歐洲的西方蜂族群感染的微粒子，多數為東方蜂微粒子)，並在西班牙地區佔有極高的比例 (Higes *et al.*, 2006)，而該研究學者更推測東方蜂微粒子可能為近年西班牙地區蜂群大量死亡的主因，目前研究更追溯到 2003 年間所採集的樣本，並且發現東方蜂微粒子已散布致世界各地 (Huang *et al.*, 2007b; Klee *et al.*, 2007)。東方蜂微粒子的起源仍有爭議，雖然最早於東方蜂上發現 (Fries, *et al.*, 1996)，但至今尚未證實其確實起源於東方蜂，但顯而易見的，由於過去多依賴顯微鏡檢查，使得東方蜂微粒子在不被察覺的狀況下，已經悄悄蔓延致全球養蜂業，在部分地理區甚至有取代蜜蜂微粒子之跡象。雖然兩種微粒子所呈現的病理症狀很像，但有些臨床病徵只在東方蜂微粒子出現而未見於蜜蜂微粒子，如爬行蜂，下痢。下痢的證據是糞斑出現在巢內或蜂王替代室。在田間收集的外勤蜂內平均含有百萬顆東方蜂微粒子孢子，表示了有嚴重感染的外勤蜂無法回巢。內勤蜂轉換成外勤蜂的感染工蜂之日齡有延遲現象，也造成外勤蜂數目缺乏。東方蜂微粒子的感染所引發的死亡可能是突發或一種逐漸衰弱的過程，而導致回不了巢，勞力逐漸需

提前數日由內勤蜂來替代，一旦蜂王無法補充所損失的蜂，則族群弱化，甚致整巢死亡。

西班牙學者證實自然東方蜂微粒子感染下，於引起突發性蜂群衰竭，症狀並不明顯，直到蜂王沒有能力補充損失的感染蜜蜂 (Higes *et al.*, 2006)。這一種無症狀培養期 (asymptomatic incubation period) 也可詮釋蜂群衰竭前無徵兆的現象 (Higes *et al.*, 2008)。東方蜂微粒子感染西班牙蜂群可分成四期：I. 無症狀期 (asymptomatic phase, 5~9 月)，低於 65% 外勤蜂受感染，低於 40% 內勤蜂受感染，低於 10^6 孢子 ($n = 30$)；II. 取代期 (replacement phase, 10~2 月)，高或等於 65% 外勤蜂受感染，低於 40% 內勤蜂受感染，外勤蜂孢子高於 10^6 ($n = 30$)；III. 假復原期 (false recovery phase, 3~8 月)，低於 65% 外勤蜂受感染，低於 40% 內勤蜂受感染，孢子低於 10^6 ($n = 30$)，強族群；IV. 弱族群 (depopulation, 9~12 月)，高或等於 65% 外勤蜂受感染，高或等於 40% 內勤蜂受感染，孢子高於 10^6 ($n = 30$)。冷季節衰竭 (cold season collapse)：巢內死蜂感染高或等於 50%，孢子約 10^7 ($n = 30$)，蜂王感染；溫季節衰竭 (warm season collapse)：巢內死蜂感染低於 50%，孢子約 3×10^6 ($n = 30$)，蜂王未感染 (Higes *et al.*, 2008)。隔年接繼的報導中，他們檢測病外勤蜂中腸，中腸細胞會因 *N. ceranae* 感染而水腫且易脆，有些則有 DWV 的共感染，但並無病徵，呈潛伏感染，也只在高折蜂巢 (80%) 才有 DWV 的檢出。被認作 CCD 標誌的 IAPV 則檢出率很低，對歐洲蜂群之 CCD 而言，應是無關係。並且肯定並無類尼古丁殺蟲劑的存在，後來利用 fumagillin 防治微粒子，所有處理的蜂群皆存活並正常發育，因此直接地指出 CCD 是因東方微粒子感染所引起 (Higes *et al.*,

2009)。

在農委會防檢局計畫支持下，本實驗室已進行兩年期的相關研究，除建立鑑定方法外，也初步對臺灣地區蜂群進行調查，於春天所收集的樣本，包括宜蘭、台北、桃園、台中、南投、花蓮、嘉義及屏東等地，結果僅發現東方蜂微粒子，並未發現任何蜜蜂微粒子存在。目前對於東方蜂微粒子所造成的危害及病理現象尚未完全瞭解，但整體而言與蜜蜂微粒子是相似的，一般而言罹病成蜂無明顯外部症狀，只有中腸容易見到明顯病變，中腸是微粒子主要感染部位，雖在感染初期亦不易觀察，但在感染數日後即可在中腸研磨液中觀察到微粒子，隨著感染程度增長，中腸被感染的細胞數增多，便可由肉眼明顯觀察其病徵。簡易檢查方式可由成蜂腹部最末節將消化腸道拉出，嚴重感染的中腸呈白色，在死亡個體中因細菌增生常為灰色，中腸膨大，易斷，放大觀察可見白點，該白點是為被嚴重感染之細胞群。即將死亡個體無法飛行，常見於地上爬行。然而臺灣地區蜜蜂疾病多，許多疾病皆能造成爬地蜂的病徵，根據目前初步調查，即使在微粒子病流行的春季，臺灣地區所採集之爬地蜂罹患微粒子之比例約三~四成，但外勤蜂罹病比率可達七~八成，因此，檢查微粒子病應以外勤蜂為主。一般而言，罹病末期之成蜂體內可帶有三千萬顆以上之微粒子，而此數量已經足夠感染整巢成蜂，這也是微粒子在流行高峰時能達到七、八成感染率的主因之一。

展 望

微粒子病的傳播源及傳染途徑，一直是個謎，相當多的問題需要去釐清及解決。最大的問題是，為何只有工蜂受感染，其他發育期則未見此病發生。再則，台灣此病發生時有聞，

雖然此病的影響不若溫帶地區嚴重，*fumagillin* 類的藥物可供防治微粒子病，然而在藥物殘留考量上，建議由蜂群管理上來達成防治目的。如在冬季適時的蛋白質補充及足夠營養的維持，皆有助於來年春季蜂群的發展。蜂箱內、微粒子的殘留是蜂群微粒子病的病源，嚴重感染的蜂群應隔離或銷毀，不要嘗試營救，以阻斷感染源。以目前研究觀點，此種管理方法必有一定的成效。

結 論

今年 (2009 年) 有兩篇與 CCD 相關的重要論文發表，一是西班牙學者認為東方蜂微粒子 (*N. ceranae*) 是引發 CCD 的主因，即非農藥又非其他病原體 (Higes *et al.*, 2009)；另一是美國學者從中腸基因表現，而下的結論是類小 RNA 病毒 (IAPV 和 DWV) 是主因，且未見與農藥及免疫相關的基因被調升的現象 (Johnson *et al.*, 2009)。無論如何，此二篇論文共同點是「CCD 非農藥所致而是因 CCD 蜜蜂之中腸受到感染」。中腸受到感染應意指 CCD 蜜蜂之食物代謝和營養吸收受到阻礙，造成營養缺失或營養不良之後果，是體弱、飛翔能力差、迴航能力下降，甚至不能回巢。再者美國學者所指出的 CCD 蜜蜂之免疫相關的基因未被調升，也表示了 CCD 蜜蜂之免疫機制被抑制，當然此現象與農藥相關的基因未被調升，也有可能是營養不良造成的。總而言之、CCD 之發生，目前有指向營養缺失或不良的趨勢，但吾人也不能忽略或排除其他協力因子的影響，尤其具有神經毒性之農藥累積的影響等。CCD 造成養蜂事業的衝擊，在美國可說已達到恐慌的地步。台灣蜜蜂雖未有 CCD 的報導，但不能說是沒有發生，此可能是蜂農照顧蜂群的方法與態度及

其應用的目的 (生產蜂產品或授粉) 有所別與美國蜂農之故。無論如何、美國農部幾乎傾國家之力，面對此問題，反觀國內相關農業單位，對此問題相當不重視。有鑑於此，國立臺灣大學李校長嗣涔，應用「邁向頂尖大學計畫-校長機動經費」組成不同領域四人研究團隊，鼓勵面對世紀問題，挑戰此項重要研究。李校長長期研究成果有助於解開此世紀之謎外，也對國內、外養蜂業有所貢獻。

誌 謝

首先感謝中華民國行政院國家科學委員會及農業委員會動植物防疫檢疫局多年來經費補助，以建立台灣蜜蜂病原體的基本資料及檢測方法外，也感謝國立臺灣大學李校長嗣涔以「邁向頂尖大學計畫-校長機動經費」大力支持三年計畫 (2008/11/1~2011/10/31)，組成研究團隊參與此項世紀蜂群疾病的研究，雖然經費及動員的科研人材，不能與美國相比，但對李校長的遠見及關懷自然的意念極為敬佩與感謝。

引用文獻

一、蜜蜂病毒病

- Allen, M. F., and B. V. Ball. 1995. Characterisation and serological relationships of strains of Kashmir bee virus. *Ann. Appl. Biol.* 126: 471-484.
- Allen, M. F., B. V. Ball, R. F. White, and J. F. Antoniw. 1986. The detection of acute paralysis virus in *Varroa jacobsoni* by the use of a simple indirect ELISA. *J. Apic. Res.* 25:

- 100-105.
- An, K., and K. K. Ho.** 1997. *Apidologie*. Hua-Shiang-Yuen Publishing Company, Taipei. (in Chinese)
- Anderson, D. L.** 1990. Pests and pathogens of the honeybee (*Apis mellifera*) in Fiji. *J. Apicult. Res.* 29: 53-59.
- Anderson, D., and I. J. East.** 2008. The latest buzz about colony collapse disorder. *Science Letters* 319: 724-725.
- Anderson, D. L., and A. J. Gibbs.** 1988. Inapparent virus infections and their interactions in pupae of the honey bee (*Apis mellifera Linnaeus*) in Australia. *J. Gen. Virol.* 69: 1617-1625.
- Bailey, L.** 1965. The occurrence of chronic and acute bee paralysis viruses in bees outside Britain. *J. Invertebr. Pathol.* 7: 167-169.
- Bailey, L.** 1975. Recent research on honey bee viruses. *Bee World* 56: 55-64.
- Bailey, L., and B. V. Ball.** 1991. *Honey Bee Pathology*. 2nd ed. Academic Press, London.
- Bailey, L., and R. D. Woods.** 1974. Three previously undescribed viruses from the honey bee. *J. Gen. Virol.* 25: 175-186.
- Bailey, L., and R. D. Woods.** 1977. Two more small RNA viruses from honey bees and further observations on sacbrood and acute bee-paralysis viruses. *J. Gen. Virol.* 37: 175-182.
- Bailey, L., B. V. Ball, and J. N. Perry.** 1983. Association of viruses with two protozoal pathogens of the honey bee. *Ann. Appl. Biol.* 103: 13-20.
- Bailey, L., A. J. Gibbs, and R. D. Woods.** 1963. Two viruses from adult honey bees (*Apis mellifera L.*). *Virology* 21: 390-395.
- Bailey, L., A. J. Gibbs, and R. D. Woods.** 1968. The purification and properties of chronic bee-paralysis virus. *J. Gen. Virol.* 2: 251-260.
- Ball, B. V.** 1985. Acute paralysis virus solutions from honeybee colonies infested with *Varroa jacobsoni*. *J. Apicult. Res.* 24: 115-119.
- Ball, B., and L. Bailey.** 1991. Viruses of honey bees. pp. 525-551. *In: J. R. Adams, and J. R. Bonami, eds. Atlas of Invertebrate Viruses*. CRC Press, Boca Raton.
- Blanchard, P., M. Ribière, O. Celle, P. Lallemand, F. Schurr, V. Olivier, A. L. Iscache, and J. P. Faucon.** 2007. Evaluation of a real-time two step RT-PCR assay for quantitation of chronic bee paralysis virus (CBPV) genome in experimentally-infected bee tissues and in life stages of a symptomatic colony. *J. Virol. Methods*, 141:7-13
- Wu, C. Y., and C. H. Wang.** 2001. Recent advances in research on insect picorna-like viruses (in Chinese). *Progress in entomological research in Taiwan century Seminar special issue*. 131-141.
- Chen, Y. P., and R. Siede.** 2007. Honey bee

- virus. *Adv. Virus Res.* 70: 33-80.
- Cox-Forster, D.L., C. Conlan, E. C. Holmes, G. Palacios, J. D. Evans, N. A. Moran, P. L. Quan, E. Briese, M. Horning, D. M. Geiser, V. Martinson, D. vanEngelsdorp, A. L. Kalkstein, A. Drysdale, J. Hui, J. Zhai, L. Cui, S.K. Hutchison, J. F. Simons, M, Egholm, J. S. Pettis, and W. L. Liphin.** 2007. A metagenomic survey of microbes in honey bee colony collapse disorder. *Science* 318: 283-287.
- Dall, D. J.** 1987. Multiplication of Kashmir bee virus in pupae of the honey bee, *Apis mellifera*. *J. Invertebr. Pathol.* 49: 279-290.
- de Miranda, J. R., M. Drebot, S. Tyler, M. Shen, C. E. Cameron, D. B. Stoltz, and S. M. Camazine.** 2004. Complete nucleotide sequence of Kashmir bee virus and comparison with acute bee paralysis virus. *J. Gen. Virol.* 85: 2263-2270.
- Evans, J. D., and A. C. Hung.** 2000. Molecular phylogenetics and the classification of honey bee viruses. *Arch. Virol.* 145: 2015-2026.
- Fauquet, C. M., M. A. Mayo, U. Desselberger, and L. A. Ball.** 2005. Virus taxonomy, classification and nomenclature of viruses. pp. 779-788. *In: C. M. Fauquet, M. A. Mayo, U. Desselberger, and L. A. Ball, eds. Eighth Report of the International Committee on Taxonomy of Virus, Elsevier Academic Press.*
- Fujiyuki, T., S. Ohka, H. Takeuechi, M. Ono, A. Nomoto, and T. Kubo.** 2006. Prevalence and phylogeny of Kakugo virus, a novel insect picorna-like virus that infects the honeybee (*Apis mellifera* L.) under various colony condition. *J. Virol.* 80: 11528-11538.
- Fujiyuki, T., H. Takeuechi, M. Ono, S. Ohka, T. Sasaki, A. Nomoto, and T. Kubo.** 2004. Novel insect picorna-like virus identified in the brains of aggressive worker honeybees. *J. Virol.* 78: 1093-1100.
- Fujiyuki, T., H. Takeuechi, M. Ono, S. Ohka, T. Sasaki, A. Nomoto, and T. Kubo.** 2005. Kakugo virus from brains of aggressive worker honeybees. *Adv. Virus Res.* 65: 1-27.
- Ghosh, R. C., B. V. Ball, M. M. Willcocks, and M. J. Carter.** 1999. The complete nucleotide sequence of honeybee sacbrood virus. *J. Gen. Virol.* 80: 1541-1549.
- Giauffret, A., J. L. Duthoit, and M. J. Tostain-Caucat.** 1970. Ultrastructure des cellules d'abeilles infectees par le virus dela paralysie-maladie noire. Etude des inclusions cellulaires. *Bull. Apic.* XIII: 115-126.
- Govan, V. A., N. Leat, M. Allsopp, and S. Davison.** 2000. Analysis of the complete genome sequence of acute bee paralysis virus shows that it belongs to the novel group of insect-infecting RNA viruses. *Virology* 277: 457-463.

- Grabensteiner, E., W. Ritter, M. J. Carter, S. Davison, H. Pechhacker, J. Kolodziejek, O. Boecking, I. Derakhshifar, R. Moosbeckhofer, E. Licek, and N. Nowotny.** 2001. Sacbrood virus of the honeybee (*Apis mellifera*): rapid identification and phylogenetic analysis using reverse transcription-PCR. *Clin. Diagn. Lab. Immu.* 8: 93-104.
- Gregory, P. G., J. D. Evans, T. Rinderer, and L. de Guzman.** 2005. Conditional immune-gene suppression of honeybees parasitized by *Varroa* mites. *J. Insect Sci.* 5: 1-5.
- Higes, M., F. Esperón, and J. M. Sánchez-Vizcaíno.** 2007. First report of black queen-cell virus detection in honey bees (*Apis mellifera*) in Spain. *Spa. J. Agric. Res.* 5: 322-325
- Hung, A. C. F., J. R. Adams, and H. Shimanuki.** 1995. Bee parasitic mite syndrome (II): the role of *Varroa* mite and viruses. *Am. Bee J.* 135: 702-704.
- Johnson, R. M., J. D. Evans, G. E. Robinson, and M. R. Berenbaum.** 2009. Changes in transcript abundance relating to colony collapse disorder in honey bees (*Apis mellifera*). *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 106: 14790-14795.
- Laidlaw, H. H.** 1979. *Contemporary Queen Rearing.* Dadant and Sons, Hamilton, Illinois.
- Lanzi, G., J. R. de Miranda, M. B. Boniotti, C. E. Cameron, A. Lavazza, L. Capucci, S. M. Camazine, and C. Rossi.** 2006. Molecular and biological characterization of deformed wing virus honeybees (*Apis mellifera* L.). *J. Virol.* 80: 4998-5009.
- Leat, N., B. Ball, V. Govan, and S. Davison.** 2000. Analysis of the complete genome sequence of black queen-cell virus, a picorna-like virus of honey bees. *J. Gen. Virol.* 81: 2111-2119.
- Lee, P. E., and B. Furgala.** 1965. Sacbrood virus: some morphological features and nucleic acid type. *J. Invertebr. Pathol.* 7: 502-505.
- Liljas, L., J. Tate, T. Lin, P. Christian, and J. E. Johnson.** 2002. Evolutionary and taxonomic implications of conserved structural motifs between picornaviruses and insect picor-like viruses. *Arch. Virol.* 147(1): 59-84.
- Maori, E., S. Lavi, R. Mozes-Koch, Y. Gantman, Y. Peretz, O. Edelbaum, E. Tanne, and I. Sela.** 2007. Isolation and characterization of Israeli acute paralysis virus, a dicistrovirus affecting honeybees in Israel: evidence for diversity due to intra- and inter-species recombination. *J. Gen. Virol.* 88: 3428-3438.
- Murphy, F. A., C. M. Fauquet, D. H. L. Bishop, S. A. Ghabrial, A. W. Jarvis, G. P. Martelli, M. A. Mayo, and M. D. Summers.** 1995. Virus taxonomy, classification and nomenclature of viruses. pp. 526-527. *In:* F. A. Murphy, C. M. Fauquet, D. H. L. Bishop, S. A. Ghabrial, A. W. Jarvis, G. P. Martelli,

- M. A. Mayo, and M. D. Summers, eds. Sixth Report of the International Committee on Taxonomy of Virus, Arch. Virol. Suppl. 10. Springer-Verlag Wien, New York.
- Olivier, V., P. Blanchard, S. Chaouch, P. Lallemand, F. Schurr, O. Celle, E. Dubois, N. Tordo, R. Thiery, R. Houlgatte, and M. Ribiere.** 2008. Molecular characterization and phylogenetic analysis of chronic bee paralysis virus, a honey bee virus. *Virus Res.* 132: 57-68.
- Ongus, J. R., D. Peters, J. M. Bonmatin, E. Bengsch, J. M. Vlak, and M. M. van Oers.** 2004. Complete sequence of a picorna-like virus of the genus *Iflavirus* replicating in the mite *Varroa destructor*. *J. Gen. Virol.* 85: 3747-3755.
- Overton, H. A., K. W. Buck, L. Bailey, and B. V. Ball.** 1982. Relationships between the RNA components of chronic bee-paralysis virus and those of chronic bee-paralysis virus associate. *J. Gen. Virol.* 63: 171-179.
- Palacios, G., J. Hui, P. L. Quan, A. Kalkstein, K. S. Honkavuori, A. V. Bussetti, S. Conlan, J. Evan, Y. P. Chen, D. vanEngelsdorp, D. H. Efrat, J. Pettis, D. Cox-Foster, E. C. Holmes, E. Briese, and W. I. Lipkin.** 2008. Genetic analysis of Israel acute paralysis virus: distinct clusters are circulating in the United States. *J. Virol.* 82: 6209-6217.
- Shen, M., X. L. Yang, D. Cox-Foster, and L. Cui.** 2003. The role of *varroa* mites in infections of Kashmir bee virus (KBV) and deformed wing virus (DWV) in honey bees. *Virology*, 342: 141-149.
- Steinhaus, E. A.** 1947. *Insect Microbiology.* Comstock Publishing Company Inc. Press, Ithaca, New York.
- Stokstad, E.** 2007. Puzzling decline of U.S. bees linked to virus from Australia. *News, Science* 317: 1304-1305.
- Tanada, Y., and H. K. Kaya.** 1993. Other RNA-viral infections. pp. 296-310. *In:* Y. Tanada, and H. K. Kaya, eds. *Insect pathology.* Academic Press, San Diego.
- Yang, X. L., and D. L. Cox-Forster.** 2005. Impact of an ectoparasite on the immunity and pathology of an invertebrate: Evidence for host immunosuppression and viral amplification. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 102: 7470-7475.
- Wu, C. Y., C. F. Lo, C. J. Huang, H. T. Yu, and C. H. Wang.** 2002. The complete genome sequence of *Perina nuda* picorna-like virus, an insect-infecting RNA virus with a genome organization similar to that of the mammalian picornaviruses. *Virology* 294: 312-323.
- 二、蜜蜂微粒子病
- An, J. K., and K. K. Ho.** 1980. Studies on Nosema disease of honey bee (*Apis mellifera*)-the seasonal variation of *Nosema apis* Zander in Taiwan.

- Honeybee Science (Japan) 1 (4): 157-158.
- Fries, I., G. Ekbohm, and E. Villumstad.** 1984. *Nosema apis*, sampling techniques and honey yield. J. Apicult. Res. 23: 102-105.
- Fries, I., F. Feng, A. da Silva, S. B. Slemenda, and N. J. Pieniazek.** 1996. *Nosema ceranae* n. sp. (Microspora, Nosematidae), morphological and molecular characterization of a microsporidian parasite of the Asian honey bee *Apis cerana* (Hymenoptera, Apidae). Eur. J. Protistol. 32: 356-365.
- Higes, M., R. Martín-Hernandez, and A. Meana.** 2006. *Nosema ceranae*, a new microsporidian parasite in honeybees in Europe. J. Invertebr. Pathol. 92, 93-95.
- Higes, M., R. Martín-Hernandez, E. Garrido-Bailon, A. V. Gonzalez-Porto, P. Garcia-Palencia, A. Meana, M. J. del Nozal, R. Mayo, and J. L. Bernal.** 2009. Honeybee colony collapse due to *Nosema ceranae* in professional apiaries. Environ. Microbiol. 1: 110-113.
- Higes, M., R. Martín-Hernandez, C. Botias, E. Garrido-Bailon, A. V. Gonzalez-Porto, L. Barrios, M. J. del Nozal, J. L. Bernal, J. J. Jimenez, P. G. Palencia, and A. Meana.** 2008. How natural infection by *Nosema ceranae* causes honeybee colony collapse. Environ. Microbiol. 10: 2659-2669.
- Huang, W. F., J. H. Jiang, Y. W. Chen, and C. H. Wang.** 2007a. A *Nosema ceranae* isolate from the honeybee *Apis mellifera*. Apidologie 38, 30-37.
- Huang, W. F., M. Bocquet, K. C. Lee, I. H. Sung, J. H. Jiang, Y. W. Chen, and C. H. Wang.** 2007b. The unique rDNA organization of *Nosema ceranae* and comparison of the isolates from different. J. Invertebr. Pathol. 97: 9-13.
- Klee, J., A. M. Besana, E. Genersch, S. Gisder, A. Nanetti, D. Q. Tam, T. X. Chinh, F. Puerta, J. M. Ruz, P. Kryger, D. Message, F. Hatjina, S. Korpela, I. Fries, and R. J. Paxton.** 2007. Widespread dispersal of the microsporidian *Nosema ceranae*, an emergent pathogen of the western honey bee, *Apis mellifera*. J. Invertebr. Pathol. 96: 1-10.
- Kao, H. W., and F. Y. Yen.** 1972. Bee *Nosema* disease and its pathology. Plant Prot. Bull. 14: 53-57.

收件日期：2009年10月6日

接受日期：2009年10月9日

Honey Bee Colony Collapse Disorder

Chung-Hsiung Wang^{1,2*}, Chu-Fang Lo², Yu-Shin Nai¹, Chih-Yuan, Wang¹, Yun-Ru Chen¹, Wei-Fone Huang¹, Tsz-Ying Chien², and Chih-Yu Wu²

¹ Entomology Department, National Taiwan University, Taipei City 10617, Taiwan

² Institute of Zoology, National Taiwan University, Taipei City 10617, Taiwan

ABSTRACT

Honeybee colony collapse disorder (CCD) is characterized by the mass loss of honeybee workers. Only the queen, her brood, a small number of newly emerged workers and the food stores are left behind in the hive, with only a few dead bees in the affected hive or apiary. This syndrome impacts seriously not only on the apiary industry, but also on crop production and on native plants that rely on honeybees for pollination. The suspects for causing CCD are pests (varroa mites) and pathogens (especially undiscovered/new diseases: IAPV and *Nosema ceranae*); pesticides (neonicotinoids: imidacloprid; systemic insecticides in the plants' nectar and pollen) and chemical toxins in the environment (pollutants); nutrition; queen source (the occurrence of a genetic bottle neck in breeder queens); genetically modified crops; radiation from mobile phones; and the management style of the beekeeper. Many scientists believe that CCD is caused by a combination of several of the above factors, and the cause of CCD has not yet been determined and remains under investigation. Recently a common pathogen, Israeli Acute Paralysis Virus (IAPV), from CCD honeybees was discussed in the literature, although a synergistic effect with other factors can not be excluded as a potential cause of CCD. In theory, the infection of midgut cells with viral pathogens or microsporidia leads to malnutrition of the honeybee, and the parasitism of the varroa mites weakens or suppresses the immunity system of the honeybee, and this could be the reason why CCD honeybees lose their navigation ability. So far, this subject is the main research focus in CCD studies. This report reviewed the important research works to date on CCD-associated viruses and microsporidia.

Key words: colony collapse disorder, honeybee, virus, *Nosema* spp.