应用昆虫学报 *Chinese Journal of Applied Entomology* 2014, 51(6): 1597–1603. DOI: 10.7679/j.issn.2095–1353.2014.187

短舌熊蜂耐热性研究*

徐希莲[1**] 程 尚[1,2] 王凤贺[1] 吴 杰[3]

（1. 北京农林科学院农业科技信息研究所，北京 100097；2. 云南农业大学，东方蜜蜂研究所，昆明 650201；
3. 中国农业科学院蜜蜂研究所，北京 100093）

摘 要 **【目的】** 测定高温对短舌熊蜂 *Bombus terrestris* L.个体存活率和体内总蛋白含量的影响，为熊蜂授粉应用提供理论依据。**【方法】** 以高温暴露致死率为耐热性的评价指标，对短舌熊蜂的工蜂幼虫，成年工蜂，成年雄蜂进行检测并对成年工蜂进行亚致死高温驯化。同时考察不同处理温度下熊蜂体内蛋白质含量变化。**【结果】** 结果显示，短舌熊蜂的耐热性能从高到低依次是成年工蜂、成年雄蜂、工蜂幼虫，亚致死高温驯化可显著提高成年工蜂的耐热性能。熊蜂体内蛋白质含量随着温度的升高，呈先增加后减少的趋势，熊蜂体重与体内蛋白质含量无显著相关性。**【结论】** 熊蜂不同虫态对高温的耐受性不同，可通过亚致死高温驯化措施来提高熊蜂的耐热性能和授粉效率。

关键词 短舌熊蜂，耐热性，蛋白质，高温驯化

Measurement of the thermal resistance of *Bombus terrestris* L.

XU Xi-Lian[1**] CHENG Shang[1,2] WANG Feng-He[1] WU Jie[3]

(1. Institute of Information on Science and Technology of Agriculture, Beijing Academy of Agriculture and Forestry Sciences, Beijing, 100097, China; 2. Eastern Bee Research Institute of Yunnan Agricultural University, Kunming, 650201, China;
3. Institute of Apiculture, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100093, China)

Abstract **[Objectives]** To measure individual survival rates and the influence of protein content in *Bombus* spp. under different high temperature gradients, and to provide a theoretical basis for pollination by bumblebees. **[Methods]** Survival rates were measured to confirm the thermal resistance of *B. terrestris* L. larvae, adult drones, and adult workers under five high temperature gradients. The survival rate of adult workers after domestication under sub-lethal heating was also tested. **[Results]** The results indicate that larvae had the least thermal resistance, and adult workers the greatest. Within the range of temperatures tested, the thermal resistance of adult workers can be increased after domestication by sub-lethal heating. Different high temperature gradients had different effects on the protein content of larvae, workers and drones of *B. terrestris*, but the overall trend was downward. The relationship between body weight and protein content of *Bombus* spp. under different high temperature gradients was not significant. **[Conclusion]** Larvae, workers, drones of *B. terrestris* have different levels of thermal resistance. Domestication and exposure to sub-lethal heating before pollination can improve thermal resistance and pollination efficiency.

Key words *Bombus terrestris,* thermo resistance, protein, high temperature acclimation

熊蜂 *Bombus* spp.属蜜蜂总科蜜蜂科熊蜂属，是一类优良的授粉昆虫，熊蜂耐潮湿阴暗环境，具有不容易撞棚和飞逃等优点，在为设施作物授粉时优于蜜蜂。熊蜂的研究与应用始于欧洲，从 20 世纪 80 年代发现短舌熊蜂 *Bombus terrestris* L.为番茄授粉的巨大价值以后，熊蜂开

* 资助项目：国家自然科学基金项目（30600453）；北京市自然科学基金项目（6072008）

**通讯作者，E-mail: xuxilian@aliyun.com

收稿日期：2013-06-20，接受日期：2014-02-12

始广泛应用于设施或陆地栽培植物的授粉。至2004 年，全世界熊蜂蜂群用量已达 100 万群/年，其中设施栽培番茄应用面积超过 4 万 hm^2，产值达 120 亿欧元（Velthuis and Doorn，2006）。我国的熊蜂研究与应用起步较晚，始于 20 世纪 90 年代末期，目前，短舌熊蜂，小峰熊蜂 *B.hypocrita* Pérez，红光熊蜂 *B.ignitus* Smith 及明亮熊蜂 *B. lucorum* L.是我国主要研究与应用的熊蜂蜂种（彭文君等，2009；廖思米等，2008；徐希莲等，2013）。

昆虫是变温动物，保持和调节体内温度的能力不强，环境温度影响其生命活动中全部化学反应的速率，并决定蛋白质的空间构象，因此，温度是影响昆虫的生长、发育、生殖及存活等生命活动最重要的因素（Hoffmann，1985）。当外界环境温度超过一定限度时，昆虫的生命活动即会受到严重的影响（Du *et al.*，2007）。高温对昆虫的影响包括两种，第一，长期生活于一定的高温中，其受到的伤害是间接伤害，包括对昆虫繁育能力、寿命以及后代的形态等造成不可逆的影响（Tan *et al.*，2005）；第二，短时间暴露于高温中，其受到的主要是直接伤害，死亡率是最直接的表现。在为设施栽培植物授粉过程中，熊蜂不可避免会遇到极端温度的影响，其中，设施内高温最为常见。高温会影响熊蜂个体与蜂群的发育，进而影响其授粉效能。本研究测定了短期的高温暴露对熊蜂工蜂幼虫、成年工蜂、成年雄蜂存活率的影响以及对其体内总蛋白含量变化的影响，并对成年工蜂进行了亚致死高温驯化来提高其耐热性能，以期为熊蜂在设施高温环境下的授粉应用提供技术支撑和理论依据。

1 材料与方法

1.1 虫源和饲养方法

短舌熊蜂取自北京市农林科学院农业科技信息研究所授粉蜂科研中试基地。将繁育用的蜂王置于小盒（6.5 cm×10 cm×7 cm） 中，每个小盒中加入 4～5 只意大利蜜蜂 *Apis mellifera ligustica* 的工蜂刺激蜂王产卵（Roseler，1985；Sladen，2000），于 29℃，RH 60%的黑暗环境下，以足量 60%糖液（W/W）及其与新鲜花粉配制成的花粉团饲喂。繁育用的短舌熊蜂蜂王，为实验室繁育的第 3 代。一般情况下短舌熊蜂工蜂卵期约 4~5 d，幼虫期 10~19 d，蛹期 10~18 d（Duchateau and Velthuis，1988；Ribeiro *et al.*，1996；Cnaani *et al.*，1997；Bloch and Hefetz，1999；Goulson， 2003）。随着熊蜂发育全过程，在蜂群发育的不同阶段，分别获取 15~18 日龄工蜂幼虫、成年工蜂、成年雄蜂。

1.2 熊蜂致死高温的测定

随机取出饲养的短舌熊蜂工蜂幼虫、成年工蜂、成年雄蜂，装在三角瓶中，以棉球封住瓶口，在 37~45℃（梯度为 2℃）水浴中处理，熊蜂活动空间完全浸没在水浴中，1 h 后，取出三角瓶置于 29℃中，恢复 3 h，记录熊蜂死亡率。每组熊蜂 30 头，每个梯度处理重复 3 次。工蜂幼虫死亡判断标准：身体僵硬弯曲，颜色变暗，在解剖镜下用镊子触动身体无反应；成年工蜂、成年雄蜂死亡判断标准：身体僵硬，肢体蜷缩，用镊子触动身体无反应。

1.3 亚致死高温预处理

随机取出饲养的短舌熊蜂成年工蜂，分别在 37℃水浴中处理 30，60，90，120，150 min，在常规饲喂温度下恢复 3 h，再置于致死高温水浴中处理 1 h，记录死亡率。每个处理取工蜂 30 头，每个处理重复 3 次。

1.4 可溶性蛋白质含量（Protein content，PC）测定

考马斯亮蓝储备液，4℃冷藏。标准牛血清蛋白（0.536 g/L），－20℃冷冻保存。准确称取熊蜂体重，按照重量体积比加生理盐水制成 10%的组织匀浆，1 000~3 000 r/min，离心 10 min，然后取组织匀浆上清液再用生理盐水按照 1∶9 稀释成 1%组织匀浆，待测。用紫外-可见分光光度计（595 nm，1 cm 光径，蒸馏水调零），分别测定空白管（0.05 mL 蒸馏水+3.0 mL 考马斯亮蓝显色剂），标准管（0.05 mL 牛血清蛋白＋3.0

mL 考马斯亮蓝显色剂)，测定管（已制备的 1% 组织匀浆＋3.0 mL 考马斯亮蓝显色剂)的光密度值（Optical density，OD)。蛋白质含量的计算公式如下：

$$PC = \frac{(OD_{\mathrm{t}} - OD_{\mathrm{o}}) \times 0.563}{OD_{\mathrm{m}} - OD_{\mathrm{o}}}$$

式中 PC 代表蛋白质含量（单位 g/L)，OD_{o} 为空白管光密度值，OD_{t} 为测定管光密度值，OD_{m} 为标准管光密度值。

1.5　数据的统计分析

差异显著性经 ANOVA 分析之后用 LSD 方法确定；相关性采用 Bivariate Correlation 方法检验。所采用统计软件为 SPSS13.0。确定差异显著水平为 $P<0.05$。

2　结果与分析

2.1　温度对死亡率的影响

温度对死亡率的影响见表 1，从表 1 可以看出，在 37~45℃范围内，除成年工蜂外，工蜂幼虫，成年雄蜂的死亡率都是随着温度的升高而升高。成年工蜂在 41℃时的死亡率低于 39℃，且差异显著。在 29，37，39℃ 3 种处理温度下，工蜂幼虫、成年工蜂、成年雄蜂的死亡率无显著差异。在 41℃，43℃时，成年工蜂的死亡率最低，其次是成年雄蜂，死亡率最高的是工蜂幼虫，三者的致死温度均为 45℃。同时发现，41℃后工蜂幼虫的死亡率大幅提高，而成年工蜂和成年雄蜂的死亡率则在 43℃后才有较明显的提高。

2.2　高温驯化对熊蜂存活率的影响

在经过亚致死高温处理后，成年工蜂在致死温度（45℃）下的存活率提高（表 2)。在 37℃下处理 30，60，90 min 后，致死率差异性不显著，处理 120 min，150 min 后成年工蜂死亡率有所降低。处理 150 min 后，成年工蜂死亡率最低，综合表 1 和表 2 的结果，相对于没有经过亚致死温度处理的成年工蜂，在亚致死温度下处理 120 min，150 min 后，成年工蜂耐热性有所提升，致死温度有所提高。

2.3　温度对熊蜂体内蛋白质含量的影响

试验结果（表 3）显示，工蜂幼虫体内蛋白质含量在超出对照温度后有显著升高，在 37℃时含量最高，之后随着温度的进一步升高，其体内蛋白质含量呈下降趋势。到致死温度后，其体内蛋白质含量最低，但是与对照温度下蛋白质含量无显著差异。成年工蜂体内蛋白质含量随着外界温度的升高呈先下降后上升，再下降的趋势。对照温度时蛋白质含量最高，39℃时最低。成年雄蜂体内蛋白质含量随着温度的升高，先增加后下降，在 41℃时含量最高。

2.4　体重对不同处理温度下熊蜂体内蛋白质含量变化的影响

在提取蛋白的同时，记录了熊蜂的体重，通过表 4 数据显示，37℃时工蜂幼虫，41℃时成年工蜂，45℃时成年雄蜂的体内蛋白质含量与其体重呈显著相关性，其中 37℃时工蜂幼虫蛋白质含量与体重呈负相关。通过对照组数据显示，昆虫体重与体内蛋白质含量无显著相关性。随着处理温度的提高，工蜂幼虫、成年工蜂、成年雄蜂体内的蛋白质含量变化与其体重无显著相关性，体重对热激处理下熊蜂体内蛋白质的变化不起主导作用。

3　讨论

从实验结果来看，高温是导致熊蜂死亡的直接原因，但是，熊蜂死亡率并不是随着温度提高而逐渐增加的，而是到一定的高温后，死亡率迅速增加。说明熊蜂对高温有一定的耐受性，在一定的温度范围内，熊蜂有一定的应激反应，使自己避免受到高温的损害，一旦超出这个范围，将会导致死亡。若以死亡率迅速提升前的温度为最高耐受温度，熊蜂成虫相对于熊蜂幼虫有更强的耐受性，成年工蜂要高于成年雄蜂。

同时还发现，成年工蜂的死亡率从 39℃时的 4.4%到 41℃时的 2.2%，随着温度的提升，死亡率有了小幅的下降，结合蛋白质含量来看，在

表 1　短舌熊蜂在各温度下的死亡率（%）

Table 1　The death rate of *Bombus terrestris* in different temperature gradients (%)

	29℃		37℃		39℃		41℃		43℃		45℃	
	*N**	死亡率 Death rate	*N**	死亡率 Death rate	*N**	死亡率 Death rate	*N**	死亡率 Death rate	*N**	死亡率 Death rate	*N**	死亡率 Death rate
工蜂幼虫 Worker larvae	3	0(c)A	3	1.6±1.6(c)A	3	3.3±3.3(c)A	3	23.3±8.3(b)A	3	71.7±4.4(a)A	3	100.0±0.0 (d)A
成年工蜂 Adult worker	3	0(a)A	3	0(a)A	3	4.4±2.2(a)A	3	2.2±2.2(a)C	3	6.7±3.8(a)C	3	100.0 ±0.0(c)A
成年雄蜂 Adult drone	3	0(b)A	3	0(b)A	3	4.4±2.2(b)A	3	11.1±2.2(b)B	3	22.2±4.4(a)B	3	100.0 ±0.0(d)A

表中数据为平均值±标准误。同行数据后带有相同字母（小写，括号内）表示经检验差异不显著($P > 0.05$)，同列数据后带有相同字母（大写，括号外）表示经检验差异不显著($P > 0.05$)。*表示 3 个重复，每个重复取熊蜂 30 头。表 2，表 3 同。

The data in the table are mean±SE, and followed by the same lowercase letters in parentheses indicate no significant difference in the same raw by LSD test ($P > 0.05$), the same capital letter outside the parenthesis indicate no significant difference in the same column by LSD test ($P > 0.05$). * shows three replicates, 30 bumblebees per replicate. The same with Fig.2, Fig.3.

表 2　不同时间高温驯化后短舌熊蜂致死率（%）

Table 2　The death rate of adult workers of *Bombus terrestris* after different time domestication in high temperature (%)

	30 min		60 min		90 min		120 min		150 min	
	*N**	死亡率 Death rate	*N**	死亡率 Death rate	*N**	死亡率 Death rate	*N**	死亡率 Death rate	*N**	死亡率 Death rate
成年工蜂 Adult worker	3	100±0.00(a)	3	97.78±0.02(a)	3	87.78±0.09(a)	3	52.22±0.06(b)	3	23.33±0.05(c)

表 3　热激对短舌熊蜂体内蛋白质含量的影响（g.L^{-1}）

Table 3　The influence of heat shock on protein content of *Bombus terrestris* (g.L^{-1})

	29℃		37℃		39℃		41℃		43℃		45℃	
	*N**	蛋白质含量 Protein content	*N**	蛋白质含量 Protein content	*N**	蛋白质含量 Protein content	*N**	蛋白质含量 Protein content	*N**	蛋白质含量 Protein content	*N**	蛋白质含量 Protein content
工蜂幼虫 Worker larvae	6	0.43±0.04(b)B	6	0.57±0.02(a)B	6	0.56±0.01(a)A	6	0.54±0.02(a)B	6	0.52±0.01(a)A	6	0.42±0.05(b)B
成年工蜂 Adult worker	6	0.71±0.10(a)A	6	0.62±0.06(a)A	6	0.41±0.02(b)B	6	0.62±0.05(a)A	6	0.58±0.07(a)A	6	0.51±0.02(a)A
成年雄蜂 Adult drone	6	0.37±0.04(a)C	6	0.38±0.04(a)C	6	0.43±0.05(a)B	6	0.45±0.04(a)C	6	0.41±0.02(a)B	6	0.37±0.04(a)B

*表示 6 个重复。*shows six replicates.

表 4　短舌熊蜂体重与体内蛋白质含量之间的相关系数

Table 4　The correlation between body weight and protein content of *Bombus terrestris*

	29℃	37℃	39℃	41℃	43℃	45℃
	r	*r*	*r*	*r*	*r*	*r*
工蜂幼虫 Worker larvae	-0.189	-0.755*	-0.723	0.292	0.245	0.015
工蜂成虫 Adult worker	0.495	-0.258	-0.106	0.836*	0.274	0.558
雄峰成虫 Adult drone	0.544	-0.383	0.660	0.417	-0.156	0.784*

当 $r > 0$ 时，表示两变量存在正相关，反之则存在负相关。表中*表示在 0.05 水平上相关性显著。

$r>0$ means positive correlation between two variables, and negative correlation when $r<0$. * shows significant correlation at 0.05 level.

39℃时工蜂体内蛋白质总含量为 0.41 g/L，41℃时含量达到 0.62 g/L，为何在 41℃时的成年工蜂死亡率减少，而蛋白质含量不减反增，39℃对于成年工蜂来讲意味着什么，有待于进一步的研究。

在对成年工蜂进行亚致死高温预处理后，原来的致死温度已经不能造成成年工蜂 100%死亡，并且随着亚致死温度下预处理时间的不断增加，原致死温度下成年工蜂的存活率不断提高，亚致死高温驯化提高了成年工蜂的耐热性。研究表明，预处理有一个最佳温度和时间，但并不是亚致死温度越高或者处理时间越长越好（程树兰等，2007）。亚致死高温预处理可以提高昆虫在更高温度下的存活率（Yocun and Denlinger，1992；Neargarder *et al.*，2003），驯化过程促使熊蜂在能够耐受的高温环境下，通过改变自身新陈代谢，如体内水分含量，蛋白质合成，酶活等，来适应较高的温度，避免高温对机体带来进一步伤害。高温驯化与低温驯化都是生命体被动接受外在环境的变化，通过自身的主动调整来适应恶劣条件的一个过程。不同虫态以及不同种间的调节能力会有所差异，可以通过亚致死高温驯化试验，来观察熊蜂虫态与种间对较高温度的适应能力以及存活率提高的比率，判断熊蜂耐热性以及选育较耐热熊蜂蜂种。

不同热激温度处理下，熊蜂体内蛋白质含量有明显变化，高温导致的直接后果是细胞内大分子的数量和种类组成均发生变化，最显著的是蛋白质合成形式的变化（杜尧，2007）。昆虫对温度突然提高的反应是终止蛋白质的正常合成，而且表达一种与昆虫耐热性有关的新蛋白——热激蛋白（Broadbent and Hollings，1951；Bradford，1976；Boina and Subramanyam，2004），一般来说，昆虫体内热激蛋白的表达量越高，其耐热性越强（Bursell，1970；Bulman and Nelson，2005）。在高温下，大多数蛋白质合成系统关闭，因而高温下产生热激蛋白的主要功能可能是保持细胞内现有蛋白质的完整性（杜尧，2007）。在一定高温范围之内，熊蜂体内蛋白质含量随着温度的提高而增加，高出范围之后呈递减趋势。因此，在该范围之内，增加的蛋白质是否含有热激蛋白，有待于进一步研究。蛋白质是基因表达的产物，细胞发生应激反应时，细胞内基因表达改变的程度与热激的程度和持续时间有关（程树兰等，2007），因此热激过程中酶活变化以及耐热基因的表达机制，需要进一步研究。由于环境因子的复杂性，在研究昆虫耐热性时也要考虑其他因素对耐热性的影响，如产地、饲养环境以及环境湿度等，这样才能全面了解高温热激对于昆虫耐热性获得的机制。

参考文献 (References)

Bloch G, Hefetz A, 1999. Regulation of reproduction by dominant workers in bumblebee (*Bombus terrestris*) queenright colonies. *Behav. Ecol. Sociobiol.*, 45(2): 125–135.

Boina D, Subramanyam B, 2004. Relative susceptibility of *Tribolium confusum* life stages exposed to elevated temperatures. *Journal of Entomology*, 97(6): 2147–2168.

Bradford MM, 1976. A rapid and sensitive method for quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye-binging. *Anal. Biochem.*, (72): 248–254.

Broadbent L, Hollings M, 1951. The influence of heat on some aphids. *Annal Applied of Biology*, (38): 577–581.

Bulman AL, Nelson HC, 2005. Role of trehalose and heat in the structure of the C-terminal activation domain of the heat shock transcription factor. *Proteins: Structure, Function and Genetics*, 58(4): 826–835.

Bursell E, 1970. An Introduction to Insect Physiology. London: Academic Press. 135.

Cnaani J, Borst DW, Hung ZY, 1997. Caste determination in *Bombus terrestris* difference in development and rates of JH biosynthesis between queen and worker Larvae. *Insect Physiol.*, 43(4): 373–381.

Du Y, Ma CS, Zhao QH, Ma G, Yang HP, 2007. Effects of heat stress on physiological and biochemical mechanisms of insects: a literature review. *Acta Ecologica Sinica*, 27(4): 1565–1570.

Duchateau MJ, Velthuis HHW, 1988. Development and reproductive strategies in *Bombus terrestris*. *Colonies Behaviour*, 107(3/4): 186–227.

Goulson D, 2003. Bumblebees: Their Behaviour and Ecology. New York, Oxford: Oxford University Press.11–17.

Hoffmann KH, 1985. Metabolic and Enzyme Adaptation to Temperature. Berlin, Heidelberg, New York and Tokyo: Springer-Verlag. 1–2.

Neargarder G, Dahlhoff EP, Rank NE, 2003. Variation in thermal tolerance is linked to phosphoglucose isomerase genotype in a montane leaf beetle. *Functional Ecology*, 17(2): 213–221.

Ribeiro MF, Duchateau MJ, Velthuis HHW, 1996. Comparison of the effects of two kinds of commercially available pollen on colony development and queen production in the bumble bee *Bombus terrestris* L. (Hymenoptera, Apidae). *Apidologie*, 27(3): 133–144.

Roseler PF, 1985. A technique for year-round rearing of bumblebees *Bombus terrestris* (Apidae, Bombini) colonies in captivity. *Apidologie*, 16(2): 165–170.

Sladen FWL, 2000. The Bumblebee: Its Life History and How to Domesticate It. London, UK: Logaston Press. 273.

Tan K, Fiola B, Stefan F, Sebastian S, Axel B, Juergen T, 2005. Effects of brood temperature on honey bee *Apis mellifera* wing morphology. *Acta Zoologica Sinica*, 51(4): 768–771.

Velthuis HHW, Doorn AV, 2006. A century of advances in bumblebee domestication and the economic and environmental aspects of its commercialization for pollination. *Apidologie*, 37(4): 421–451.

Yocun GD, Denlinger DL, 1992. Prolonged thermotolerance in the flesh fly, sarcophaga crassipalpis, does not require continuous expression or persistence of the 72 kDa heat-shock protein. *Insect Physiol.*, 38(8): 603–609.

程树兰, 张帆, 庞红, 2007. 龟纹瓢虫广东种群和北京种群耐热性比较研究. 昆虫学报, 50(4): 376–382. [Cheng SL, Zhang F, Pang H, 2007. Comparative study on heat tolerance of Guangdong and Beijing populations of propylea japonica (Thunberg) (Coleoptera: Coccinellidae). *Acta Entomologica Sinica*, 50(4): 376-382.]

杜尧, 2007. 高温模式对麦蚜试验种群影响的生态机制研究. 硕士学位论文. 北京: 中国农业科学院. [Du R, 2007. Ecological mechanism of effects of high temperature patterns on laboratory population of cereal aphid. Master Thesis. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences]

廖思米, 周祖基, 耿金虎, 徐希莲, 王凤鹤, 2008. 微生态制剂 EM 原露对熊蜂蜂王产卵前期卵巢发育及卵子发生的影响. 昆虫知识, 45 (5): 785–790. [Liao SM, Zhou ZJ, Geng JH, Xu XL, Wang FH, 2008. The effect of effective microorganisms on the ovarian development and oogenesis of bumblebee queens in preoviposition period. *Chinese Bulletin of Entomology*, 45 (5): 785-790.]

彭文君, 黄家兴, 吴杰, 安建东, 2009. 华北地区六种熊蜂的地理分布及生态习性. 昆虫知识, 46(1): 115–119. [Peng WJ, Huang JX, Wu J, An JD, 2009. Geographic distribution and bionomics of six bumblebee species in north China. *Chinese Bulletin of Entomology*, 46(1): 115-119.]

徐希莲, 王凤贺, 杨甫, 2013. 两种液体饲料对小峰熊蜂蜂群发育的影响. 黑龙江畜牧兽医, (23): 158–160. [Xu XL, Wang FH, Yang P, 2013. Effects of 2 artificial diets on development of drumbledrone. Heilongjiang Animal Science and Veterinary Medicine, (23): 158–160]