

安徽省七种蜜蜂病毒的发生与流行研究*

汪天澍^{1**} 施腾飞² 刘芳² 余林生^{2***} 齐磊² 孟祥金³

(1. 安徽农业大学植物保护学院, 合肥 230036; 2. 安徽农业大学动物科技学院, 合肥 230036;

3. 安徽省农委畜牧技术推广站, 合肥 230031)

摘要 【目的】调查安徽省内 7 种常见蜜蜂病毒：蜜蜂畸形翅病毒 (Deformed wing virus, DWV)、以色列急性麻痹病毒 (Israeli acute paralysis virus, IAPV)、急性蜜蜂麻痹病毒 (Acute bee paralysis virus, ABPV)、慢性麻痹病毒 (Chronic bee paralysis virus, CBPV)、黑蜂王台病毒 (Black queen cell virus, BQCV)、囊状幼虫病病毒 (Sacbrood virus, SBV)、克什米尔病毒 (Kashmir bee virus, KBV) 的感染发生情况, 为安徽养蜂业可持续健康发展提供理论依据。【方法】运用反转录 RT-PCR 和序列分析比对的方法对安徽省内 21 个乡镇中的 38 个蜂场蜜蜂样品进行研究分析, 以获得以上 7 种蜜蜂病毒的特异性发生情况。

【结果】意大利蜜蜂 *Apis mellifera* 蜂场感染率: DWV (64%), IAPV (43%), CBPV (32%), ABPV (14%), BQCV (11%); 中华蜜蜂 *Apis cerana* 蜂场感染率: DWV (80%), IAPV (40%), CBPV (30%), ABPV (10%), BQCV (0)。SBV 和 KBV 在所有的蜜蜂样品中均未检测到。【结论】DWV, IAPV, CBPV, ABPV, BQCV 在安徽省内大范围都存在发生流行现象, SBV 和 KBV 对安徽蜜蜂的潜在危害可能性小。

关键词 意大利蜜蜂, 中华蜜蜂, 蜜蜂病毒, RT-PCR

Occurrence and distribution of seven bee viruses in *Apis mellifera* and *Apis cerana* in Anhui Province, China

WANG Tian-Shu^{1**} SHI Teng-Fei² LIU Fang² YU Lin-Sheng^{2***} QI Lei² MENG Xiang-Jin³

(1. College of Plant protection, Anhui Agriculture University, Hefei 230036, China; 2. Apiculture Research Institute, Anhui Agriculture University, Hefei 230036, China; 3. Animal Husbandry and Technology Extending Stations of Anhui, Hefei 230001, China)

Abstract [Objectives] To conduct the first detailed survey of seven bee viruses; deformed wing virus (DWV), sacbrood virus (SBV), chronic bee paralysis virus (CBPV), acute bee paralysis virus (ABPV), black queen cell virus (BQCV), Kashmir bee virus (KBV), and Israeli acute paralysis virus (IAPV), in *Apis mellifera* and *A. cerana* in Anhui. We hope this work will help bee researchers and related institutions monitor honey bee health in Anhui, and warn them of the potential threat from bee viruses to the sustainable development of apiculture in that province. [Methods] We used reverse transcriptase PCR and sequence analysis to survey the above seven honey bee viruses in most of Anhui. Samples of worker bees were collected from apiaries in 21 towns, including 28 samples of *A. mellifera* and 10 of *A. cerana*. [Results] Virus frequencies in *A. mellifera* samples were as follows; 64% of apiaries were infected with DWV, 43% with IAPV, 32% with CBPV, 14% with ABPV, 11% with BQCV, and none with SBV or KBV. Only four viruses were detected in *A. cerana* samples; DWV (80% of apiaries), IAPV (40%), CBPV (30%), and ABPV (10%). Simultaneous multiple viral infections were common in both species. [Conclusion] The DWV, IAPV, CBPV, ABPV and BQCV viruses are now widespread in apiaries in Anhui.

Key words *Apis mellifera*, *Apis cerana*, honey bee virus, RT-PCR

* 资助项目 Supported projects: 国家蜂产业建设技术体系专项(CARS-45-KXJ9); 国家自然科学基金(31272511, 31302039); 安徽省自然科学基金(1408085QC66); 高校省级优秀青年人才基金重点项目 (2013SQRL018ZD)

**第一作者 First author, E-mail: shull900627@gmail.com

***通讯作者 Corresponding author, E-mail: yulinsheng@ahau.edu.cn

收稿日期 Received: 2014-10-24, 接受日期 Accepted: 2015-02-06

蜜蜂属昆虫纲膜翅目, 是一种真社会性昆虫, 作为世界种群数量最大的一类授粉昆虫, 其生态价值远远超出蜂蜜, 花粉, 蜂王浆, 蜂蜡, 蜂胶等这些主要的蜂产品为人类生活创造了巨大的利益, 全球 1/3 的食物产量源于蜜蜂的授粉增收效益 (Morse, 2001 和绍禹和林尊诚, 2004)。蜜蜂在给人类带来益处的同时, 其生长发育过程中各个阶段均能遭受到蜂螨、真菌、细菌、病毒以及天敌等其他动物侵害。近年来, 蜂群数量大幅减少, 研究表明蜂群丢失是多种因素共同作用的结果, 而蜂螨与各种 RNA 病毒病的协同侵害是导致蜜蜂健康问题高发的主要诱因之一

(Rosenkranz *et al.*, 2010; van Engelsdorp and Meixner, 2010)。蜜蜂病毒普遍存在于蜂巢、食物 (花粉、王浆、蜂蜜) 内, 可在蜂群中三型蜂的不同发育阶段 (卵、幼虫、蛹和成虫) 内检出

(胡福良和李英华, 2000)。通常情况下, 蜜蜂病毒以一种或多种与寄主蜜蜂共生的方式感染存在, 不会对蜂群造成可重视的危害; 但在外界或内在环境因素变化的情况下, 如: 气候骤变, 蜜源缺乏、群势衰弱等有可能会引发病毒病的发生与危害, 严重时, 可导致蜂群大规模消亡, 造成无法估量的损失 (Bakonyi and Farkas, 2002)。迄今为止, 至少已报道侵害蜜蜂的病毒有 18 种

(Chen and Siede, 2007), 其中最常见有 7 种病毒, 分别为蜜蜂畸翅病毒 (Deformed wing virus, DWV)、以色列急性麻痹病毒 (Israeli acute paralysis virus, IAPV)、急性蜜蜂麻痹病毒 (Acute bee paralysis virus, ABPV)、慢性麻痹病毒 (Chronic bee paralysis virus, CBPV)、黑蜂王台病毒 (Black queen cell virus, BQCV)、囊状幼虫病病毒 (Sacbrood virus, SBV)、克什米尔病毒 (Kashmir bee virus, KBV)。安徽是中国七大养蜂大省之一, 养蜂生产的组织化程度和规模化水平较高 (中国蜂蜜产业现状与发展 (白皮书), 2013)。随着蜜蜂病毒学成为研究的热点领域, 近年我国已有一些关于蜜蜂病毒病调查研究的初步报道 (Ai *et al.*, 2012; 贾慧茹等, 2014; 吴孟洁等, 2014), 但关于安徽省的蜜蜂健康情况调查却尚未见系统调查, 本研究运用反转录

RT-PCR 和序列分析比对的方法对安徽省内 21 个乡镇中的 38 个蜂场蜜蜂样品进行快速病原学检测, 以获得上述 7 种蜜蜂病毒在安徽省的发生流行情况。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 样品来源 于 2013 年 11 月至 12 月先后联系了安徽省各县市的大型养蜂场或养蜂合作社, 使用快递方式集中寄送采集工具 (采集说明、采集试管、RNA 保存液), 采集者在蜂场随机采集 30 支活的成年蜂, 置入装有 RNA 保存液的去酶试管中, 并在第一时间寄回, 于实验室内 -80℃超低温冰箱中保存备用。采样点分布图如图 1。

1.1.2 主要试剂 RNAiso Plus 试剂 (TaKaRa)、异丙醇、氯仿、75%乙醇、DEPC 处理水、PrimeScript® RT reagent Kit (TaKaRa)、Goldview、1.5%琼脂糖凝胶、5×PrimeScript RT Master Mix、RNase free dH₂O、10×PCR Buffer、dNTP Mixture、引物、6×Loading buffer、DL 1000 DNA Marker、Goldview 染料、TBE 液。

1.1.3 引物设计 7 种病毒的引物设计参照 Diana 等 (2004) 设计的序列 (表 1), 由生工生物工程 (上海) 股份有限公司合成。

1.1.4 主要仪器设备 高速冷冻离心机 (Eppendorf 5424R), 移液枪 (Pipetman 公司产品), 电泳仪 (北京六一仪器厂产品), PCR 仪 (Eppendorf), 凝胶成像系统, 微波炉等。

1.2 方法

1.2.1 总 RNA 提取 每个地区样品中随机取 10 只蜜蜂放入研钵, 在液氮中研磨成粉末状, 加入 10 mL RNAiso Plus 试剂入 50 mL 离心管充分匀浆, 室温静置 5 min, 离心机设置 4℃, 12 000 g, 5 min 并运行, 后取上清液 8 mL 转移至新的离心管中, 加入 2 mL 氯仿, 振荡混匀后, 静置 5 min, 使蛋白质与核酸分层, 离心机中设置条件为 12 000 g, 4℃离心 15 min; 将上清液分

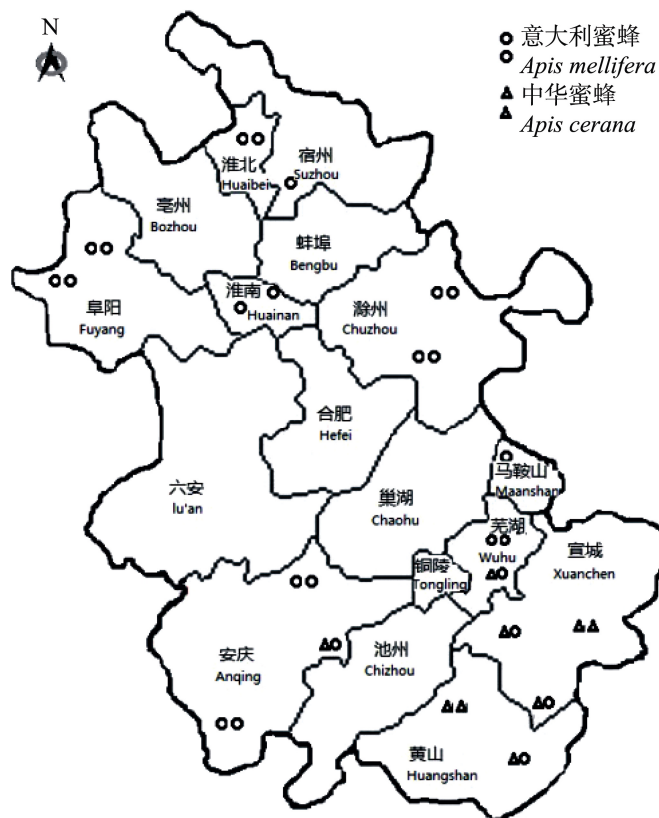


图 1 安徽地区采样点分布图

Fig. 1 Twenty-one sampling sites in Anhui Province

装转移到新的离心管中,加入与上清液等体积的异丙醇,室温静置 10 min 后,离心机设置条件为 12 000 g, 4℃离心 10 min,向沉淀中加入 10 mL 75%乙醇使 RNA 沉淀;再放入离心机中设置条件为 12 000 g, 4℃离心 5 min;弃上清液保留沉淀;向沉淀中加入适量的 DEPC 处理水,并用移液枪反复吹打至完全溶解;测量其 OD 值并记录浓度,存入 -80℃冰箱备用。

1.2.2 cDNA 合成 RT 反应液在冰上配制:将 RNA 稀释至 500 ng/μL 以下,移取 1 μL 总 RNA,加入 5×PrimeScript® RT Master mix 2 μL 和 7 μL RNase Free dH₂O。反应条件为:37℃, 15 min; 85℃, 5 s; 4℃, 5 min。

1.2.3 目的基因扩增 按照宝生物 (Takara 公司, 大连, 中国) 要求配制 PCR 反应液体系: TaKaRa Taq 0.25 μL, 10×PCR Buffer 5 μL, dNTP Mixture 4 μL, 模板 DNA 1 μL, 上、下游引物各 1 μL, 灭菌蒸馏水 37.75 μL。

PCR 反应操作步骤按表 1 所列温度、时间

条件进行。分别对单一病毒种类进行所有样品检测,确保了 PCR 反应过程的统一步骤。PCR 反应结束后,用 1.5%琼脂糖凝胶电泳检测扩增产物。

1.2.4 基因序列测定及分析 将检测到亮带的 PCR 扩增产物直接寄送至生工生物工程 (上海) 股份有限公司进行测序;利用 NCBI 中 Blast 软件将各种病毒的测序结果同 GenBank 中已发表序列进行同源性比对。

2 结果与分析

2.1 测序结果分析

本研究通过 RT-PCR 方法对来自安徽省内 21 个乡镇中的 38 个蜂场蜜蜂样品进行快速病原学检测。最终检测出 5 种病毒 (表 2)。通过序列分析比对,所测序列分别与如下登记号匹配: IAPV (EU224279), CBPV (KJ437447), BQCV (GU825962), ABPV (HQ897161), DWV (JX878304),同源性均超过 95%,符合预期结果。

表 1 7 种病毒引物设计的序列与 RT-PCR 反应条件
Table 1 Specific primer sequences designed for virus diagnosed

病毒 Virus	引物 Primer	长度 (bp) Length (bp)	预变性 Pre-PCR denaturation	循环数 Cycles	变性 Denaturation	退火 Annealing	延伸 Extension	引用 References
DWV	TTTGCAAGATGCTGTATGTGG	395	94℃	30	94℃	56℃	72℃	Nordstrom, 2003
	GTCGTGCAGCTCGATAGGAT		30 s		30 s	30 s	60 s	
SBV	GGATGAAAGGAAATTACCAG	426	95℃	35	95℃	56℃	72℃	Diana <i>et al.</i> , 2004
	CCACTAGGTGATCCACACT		30 s		30 s	30 s	60 s	
CBPV	AGTTGTCATGGTTAACAGGATACGAG	455	94℃	30	94℃	56℃	72℃	Rivière <i>et al.</i> , 2000
	TCTAATCTTAGCACGAAAGCCGAG		30 s		30 s	30 s	60 s	
ABPV	TGAGAACACCTGTAATGTGG	452	95℃	35	95℃	56℃	72℃	Diana <i>et al.</i> , 2004
	ACCAGAGGGTTGACTGTGTG		30 s		30 s	30 s	60 s	
BQCV	GGACGAAAGGAAAGCCTAAAC	424	95℃	35	95℃	56℃	72℃	Diana <i>et al.</i> , 2004
	ACTAGGAAGAGACTTGCACC		30 s		30 s	30 s	60 s	
KBV	GATGAACGTCGACCTATTGA	393	94℃	30	94℃	56℃	72℃	Stoltz <i>et al.</i> , 1995
	TGTGGGTTGGCTATGAGTCA		30 s		30 s	30 s	60 s	
IAPV	AGACACCAATCACGGACCTCAC	135	95℃	35	92℃	62℃	72℃	Maori <i>et al.</i> , 2007
	GAGATTGTTTGAGAGGGGTGG		30 s		30 s	30 s	30 s	

表 2 安徽意大利蜜蜂与中华蜜蜂 DWV, SBV, CBPV, ABPV, BQCV, KBV, IAPV 7 种病毒的 RT-PCR 检测结果
Table 2 Survey results for RT-PCR analysis on DWV, SBV, CBPV, ABPV, BQCV, KBV and IAPV in *Apis mellifera* and *Apis cerana* in Anhui Province

采样点 ^a Sampling site ^a	DWV	SBV	CBPV	ABPV	BQCV	KBV	IAPV
意大利蜜蜂 <i>Apis mellifera</i>							
CZ-1	+ ^b	—	—	—	—	—	—
ZY-1	+	—	+	—	—	—	—
FC-1	—	—	—	—	—	—	—
FC-2	+	—	—	—	—	—	—
PJ-1	+	—	+	—	—	—	—
PJ-2	—	—	—	—	—	—	—
FT-1	—	—	—	—	—	—	—
TC-1	+	—	—	—	—	—	—
TC-2	+	—	—	—	—	—	—
SS-1	—	—	—	—	+	—	+
SS-2	+	—	—	+	—	—	+
MG-1	+	—	—	—	—	—	—
MG-2	+	—	—	—	+	—	—
NQ-1	+	—	+	—	—	—	—
NQ-2	—	—	+	+	—	—	+
TH-1	+	—	+	+	—	—	+
TH-2	+	—	+	—	—	—	—
LQ-1	+	—	—	—	—	—	+
LQ-2	—	—	—	—	—	—	+
SX-1	+	—	+	—	—	—	+
SX-2	—	—	+	—	—	—	+
HZ-1	—	—	—	—	—	—	—
HS-1	+	—	—	—	+	—	+
WH-1	+	—	—	—	—	—	—
YQ-1	+	—	—	+	—	—	+
JX-1	+	—	—	—	—	—	+
J-1	—	—	+	—	—	—	+
CH-1	—	—	—	—	—	—	—
阳性感染率(%) ^c	18	0	9	4	3	0	12
Number of positive(%) ^c	(64)	(0)	(32)	(14)	(11)	(0)	(43)
中华蜜蜂 <i>Apis cerana</i>							
WH-1	+	—	—	—	—	—	—
ZY-1	—	—	—	—	—	—	—
HSQ-1	+	—	—	+	—	—	+
HSQ-2	+	—	+	—	—	—	—
HZ-1	+	—	+	—	—	—	—
CZ-1	+	—	—	—	—	—	—
NG-1	+	—	—	—	—	—	+
NG-2	+	—	—	—	—	—	+
J-1	—	—	—	—	—	—	—
JX-1	+	—	+	—	—	—	+
阳性感染率(%) ^c	8	0	3	1	0	0	4
Number of positive (%) ^c	(80)	(0)	(30)	(10)	(0)	(0)	(40)

采样点简写: CZ, 池州; ZY, 枞阳; FC, 繁昌; TC, 桐城; SS, 宿松; MG, 明光; NQ, 南谯区; TH, 太和; PJ, 潘集区; FT, 凤台; LQ, 临泉; SX, 濉溪; HSQ, 黄山区; HZ, 徽州区; HS, 含山; WH, 芜湖县; YQ, 埇桥; JX, 绩溪; J, 泾县; NG, 宁国; CH, 巢湖。下表同。

—, 阴性; +, 阳性。发生流行情况用阳性感染率表示。

Abbreviations of sample areas: CZ, Chizhou; ZY, Zongyang; FC, Fanchang; TC, Tongcheng; SS, Susong; MG, Mingguang; NQ, Nanqiaoqu; TH, Taihe; PJ, Panjiu; FT, Fengtai; LQ, Linquan; SX, Suixi; HSQ, Huangshanqu; HZ, Huizhouqu; HS, Hanshan; WH, Wuhu county; YQ, Yongqiao; JX, Jixi; J, Jingxian; NG, Ningguo; CH, Chaohu. The same below.

—, Negative; +, Positive. The prevalence is identified by the percent of the positive apiaries.

2.2 样品检测结果

在所有的意大利蜜蜂与中华蜜蜂样品中均未检测到 SBV 和 KBV。在意大利蜜蜂的 28 个样品中, 感染率最高的是 DWV, 检出蜂场数占有所有蜂场数的比率达到 64%, IAPV 为 32%, CBPV 为 32%, ABPV 为 14%, BQCV 为 11%; 中华蜜蜂的 10 个样品中, DWV 感染率同样最高, 为 80%, CBPV 为 30%, IAPV 为 40%, ABPV 为 10%。中华蜜蜂样品中未检测到 BQCV。试验结果显示此次病毒检测并未显示出有明显的地理性差异。在意大利蜜蜂与中华蜜蜂结果中按感染率高低排名发现, 前 4 名的病毒感染种类是一致的, 对应为: DWV, IAPV, CBPV 和 ABPV。之前, 在中国尚未有类似报道。

3 讨论

3.1 混合感染

在所有被检测的地区蜂场中, 混合感染的情

况普遍, 占比数达到 73%。所检测蜂场存在 2 种 (34%)、3 种 (占 20%) 甚至 4 种 (占 19%) 的混合感染情况 (表 3)。此外, 调查结果还得出: DWV 在安徽感染情况十分普遍, 并易与其他病毒混合感染蜂群, 其中以与 IAPV 混合感染最为严重, 共有 10 个蜂场感染这 2 种病。

3.2 DWV

1991 年在日本, 蜜蜂畸翅病毒第一次成功分离 (Bailey and Ball, 1991), 之后此种病毒在世界范围内迅速传播开来, 不论是在中华蜜蜂 (Bailey and Ball, 1991; Ai *et al.*, 2012), 还是在欧洲蜜蜂中 (Ber é nyi *et al.*, 2006; Tentcheva *et al.*, 2006; Baker and Schroeder, 2008)。本研究, 我们发现 DWV 是流行最广泛的一种病毒, 达到 73%。分析 DWV 的传染途径, 我们发现它不仅可以通过瓦螨 *Varroa destructor* 传播 (Bailey and Ball, 1991; Bowen-Walker *et al.*, 1999), 还可以在卵中检测到, 通过垂直传播至下一代 (Chen *et al.*, 2005),

表 3 安徽地区蜜蜂样品多种蜜蜂病毒混合感染情况
Table 3 Frequency of simultaneous virus infections in Anhui bee samples

感染类型 Type of infection	检测到的病毒 Detected viruses	来源地 Origins	≈ 蜂群的感染率(N=21) ≈ Percentage of colonies with infection(s) (N=21)
单一感染 Single-infection	DWV	WH; FC; TC; GC	19%
	DWV+CBPV	PJ; ZY; HZ	14%
2 种混合感染 Dual-infection	DWV+BQCV	MG	5%
	DWV+IAPV	LQ; NG	10%
	CBPV+IAPV	J	5%
			总: 34%
			Total: 34%
3 种混合感染 Triple-infection	DWV+BQCV+IAPV	HS	5%
	DWV+ABPV+IAPV	YQ	5%
	DWV+CBPV+IAPV	JX; SX	10%
			总: 20%
			Total: 20%
4 种混合感染 Tetra-infection	DWV+ABPV+BQCV+IAPV	SS	5%
	DWV+CBPV+ABPV+IAPV	HSQ; NQ; TH	14%
			总: 19%
			Total: 19%

Yue and Genersch (2005) 在幼虫食物中也检测到 DWV, 说明也能通过食物横向传播。因此, 各种不同的传播方式是导致 DWV 在世界范围内广泛传播的重要原因。

3.3 IAPV

2006—2007 年期间, 蜜蜂崩溃失调症 (CCD) 在美国流行反生并被首次报道, 近些年蜂群消亡报道在世界其他地方也有发生 (van Engelsdorp *et al.*, 2007; Neumann and Carreck, 2010), 其对养蜂业和农业造成了不可忽视的威胁。在 CCD 群落中, 有研究发现其与 IAPV 有很强的相关性。Li 等 (2013) 研究发现孵化染有 IAPV 的蜜蜂, 在其归巢和采集能力都明显受到弱化影响。本研究结果显示, IAPV 在安徽地区是第二高的感染率, 并易与其他病毒多重感染存在。

3.4 CBPV

慢性麻痹病毒在安徽地区之前尚未见到报道, 本研究发现在中华蜜蜂和意大利蜜蜂中发生率分别为 30% 和 32%。调查结果比其他地区 10% (Berényi *et al.*, 2006), 9% (Ai *et al.*, 2012) 和 2.2% (吴孟洁等, 2014) 感染该病毒的发生率要高。法国和泰国地区的调查在有该病毒的群中检测瓦螨内是否含有 CBPV, 结果显示瓦螨呈阴性, 因此, 瓦螨很可能并不是 CBPV 的传播方式。

3.5 ABPV

急性麻痹病毒在中华蜜蜂和意大利蜜蜂样品中都检测到, 但感染率较低, 分别为 10% 和 14%。Bailey 等 (1963) 研究发现该病毒在成年蜂中隐性感染, 但与蜂群后期蜂螨引起的大面积死亡可能有直接关系。本研究的较低感染率与国外丹麦 (Nielson *et al.*, 2008) 和法国的 (Diana *et al.*, 2004) 调查的结果差距较大, 它们在其所调查蜂场都达到 58%。Allen 和 Ball (1996) 曾指出, 该病毒在欧洲广泛传播, 然而, 国内的一些调查显示在中国其感染率并不高, 如吴孟洁等 (2014) 调查的 1.9% 和 Ai 等 (2012) 调查

的 6%。

3.6 BQCV

Bailey 等 (1983) 曾报道 BQCV 与小孢子虫 (寄生虫) 有密切关系, 通过入口感染的情况完全依赖于小孢子虫的存在。1996 年 Allen 和 Ball 第一次报道在亚洲也出现此种病毒感染, 至今, BQCV 已在四川、浙江、湖南存在 (Ai *et al.*, 2012; 吴孟洁等, 2014)。韩国的调查甚至高达 70.96% (Se *et al.*, 2012)。本研究中, BQCV 在意大利蜜蜂样品地区的零星分布以及在中华蜜蜂样品地区未检测到的结果说明, 该病毒在安徽蜂群中处于比较低的感染水平。

3.7 其他病毒

KBV 和 SBV 在本次调查中均未检测到。此结果出乎预料, 但与唯一的一篇曾报道过安徽蜂群病毒调查情况的结果是一致的 (Ai *et al.*, 2012), 在 Ai 等 (2012) 的调查样品中, 成年蜂, 蛹, 幼虫样品均未检测到安徽地区感染有 KBV 和 SBV。因此, 这两种病毒属于在安徽处于威胁水平较低的种类。

4 结论

研究结果说明这 5 种病毒可能在安徽省广泛分布, 虽然采集时并未有报告有蜂场有明显的蜜蜂病害问题, 但此次检测结果说明这 5 种病毒可能在安徽省广泛分布。虽然蜜蜂病毒通常寄生在蜜蜂体内并不会引发疾病症状, 甚至单个蜜蜂体内经常存在不止一种蜜蜂病毒 (Anderson and Gibbs, 1988; Chen *et al.*, 2004), 但还是能潜在影响到蜜蜂的健康与寿命, 尤其在不确定的自然环境下 (Ball and Allen, 1988; Martin, 2001), 因此, 应引起蜂企和蜂农的重视, 采取一定的预防措施。由于目前检测地区样品数量有限, 还不能确切说明安徽全省蜜蜂健康情况, 仍需进一步进行临床样品的收集与检测。不同种类的蜜蜂病毒在蜜蜂体内的相互影响的动态变化与它们与蜜蜂个体之间的潜在作用等关系仍值得深入研究。

参考文献 (References)

- Ai H, Yan X, Han R, 2012. Occurrence and prevalence of seven bee viruses in *Apis mellifera* and *Apis cerana* apiaries in China. *Journal of Invertebrate Pathology*, 109(1): 160–164.
- Allen M, Ball B, 1996. The incidence and world distribution of honey bee viruses. *Bee World*, 77(1): 141–162.
- Anderson D, Gibbs A, 1988. In apparent virus-infections and their interactions in pupae of the honey bee (*Apis mellifera* Linnaeus) in Australia. *Journal of General Virology*, 69(7): 1617–1625.
- Bailey L, Ball B, Perry J, 1983. Association of viruses with two protozoal pathogens of the honey bee. *Annals of Applied Biology*, 103(1): 13–20.
- Bailey L, Gibbs A, Woods R, 1963. Two viruses from adult honey bees (*Apis mellifera* Linnaeus). *Virology*, 21(3): 390–395.
- Bailey L, Ball B, 1991. Honey Bee Pathology (2nd edition). Academic Press. 62–74.
- Baker A, Schroeder D, 2008. The use of RNA-dependent RNA polymerase for the taxonomic assignment of Picorna-like viruses (order Picornavirales) infecting *Apis mellifera* L. populations. *Virology Journal*, 5: 10.
- Bakonyi T, Farkas R, 2002. Detection of acute bee paralysis virus by RT-PCR in honey bee and *Varroa destructor* field samples: rapid screening of representative Hungarian apiaries. *Apidologie*, 33(1): 63–74.
- Ball B, Allen M, 1988. The prevalence of pathogens in honey bee *Apis mellifera* colonies infested with the parasitic mite *Varroa jacobsoni*. *Annals of Applied Biology*, 113(2): 237–244.
- Ber ényi O, Bakonyi T, Derakhshifar I, Koglbner H, Nowotny N, 2006. Occurrence of six honey bee viruses in diseased Austrian Apiaries. *Applied and Environmental Microbiology*, 72(4): 2414–2420.
- Bowen-Walker P, Martin S, Gunn A, 1999. The transmission of deformed wing virus between honeybees (*Apis mellifera* L.) by the ectoparasitic mite *Varroa jacobsoni* Oud. *Journal of Invertebrate Pathology*, 73 (1): 101–106.
- Chen Y, Higgins J, Feldlaufer M, 2005. Quantitative real-time reverse transcription-PCR analysis of deformed wing virus infection in the honeybee (*Apis mellifera* L.). *Applied and Environmental Microbiology*, 71(1): 436–441.
- Chen Y, Siede R, 2007. Honey bee viruses. *Advance in Virus Research*, 70: 33–80.
- Chen Y, Zhao Y, Hammond J, Hsu H, Evans J, Feldlaufer M, 2004. Multiple virus infections in the honey bee and genome divergence of honey bee viruses. *Journal of Invertebrate Pathology*, 87(2/3): 84–93.
- Diana T, Laurent G, Nathalie Z, Benjamin D, Francois C, Marc E, Max B, 2004. Prevalence and seasonal variations of six bee viruses in *Apis mellifera* L. and *Varroa destructor* mite populations in France. *Applied and Environmental Microbiology*, 70(12): 7185–7191.
- He ZY, Lin ZC, 2004. Honey bee industry in Yunnan. *Journal of Bee*, (7): 27–28. [和绍禹, 林尊诚, 2004. 云南的东方蜜蜂业. 蜜蜂杂志, (7): 27–28.]
- Honey industry present situation and the development of China (white paper), 2013. URL: <http://www.china-bee.com/News/ShowInfo.aspx?ID=2482>. [中国蜂蜜产业现状与发展(白皮书), 2013. URL: <http://www.china-bee.com/News/ShowInfo.aspx?ID=2482>.]
- Hu FL, Li YH, 2000. Antiviral agents of bee diseases. *Apiculture of China*, 52(1): 35. [胡福良, 李英华, 2000. 抗蜜蜂病毒病药剂. 中国养蜂, 52(1): 35.]
- Jia HR, Liu JZ, Wang X, Wu YY, Zhou T, 2014. Occurrence and prevalence of six bee virus in Beijing. *Chinese Journal of Applied Entomology*, 51(3): 772–780. [贾慧茹, 刘进祖, 王星, 吴艳艳, 周婷, 2014. 北京地区六种蜜蜂病毒病的流行病学研究. 应用昆虫学报, 51(3): 772–780.]
- Li Z, Chen Y, Zhang S, Chen S, Li W, Yan L, Shi L, Lyman W, Alex S, Su S, 2013. Viral infection affects sucrose responsiveness and homing ability of forager honey bees, *Apis mellifera* L. *PLoS ONE*, 8(10): e77354.
- Maori E, Lavi S, Mozes-Koch R, Gantman Y, Peretz Y, Edelbaum O, Tanne E, Sela I, 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. *Journal of General Virology*, 88(12): 3428–3438.
- Martin S, 2001. The role of Varroa and viral pathogens in the collapse of honey bee colonies: A modeling approach. *Journal of Applied Ecology*, 38(5): 1082–1093.
- Morse R, Calderone N, 2001. The value of honeybees as pollinators of U. S. crops in 2000. *Bee Culture*, 128(3): 1–15.
- Neumann P, Carreck N, 2010. Honey bee colony losses. *Journal of Apiculture Research*, 49(1): 1–6.
- Nielson S, Mogens N, Per K, 2008. Incidence of acute bee paralysis virus, black queen cell virus, chronic bee paralysis virus, deformed wing virus, Kashmir bee virus and sacbrood virus in honey bees (*Apis mellifera*) in Denmark. *Apidologie*, 39(3): 310–314.
- Nordstrom S, 2003. Distribution of deformed wing virus within

- honey bee (*Apis mellifera*) brood cells infested with the ectoparasitic mite *Varroa destructor*. *Experimental and Applied Acarology*, 29(3/4): 293–302.
- Ribi re M, Faucon J, Pe pin M, 2000. Detection of chronic honey bee (*Apis mellifera* L.) paralysis virus infection: application to a field survey. *Apidologie*, 31(5): 567–577.
- Rosenkranz P, Aumeier P, Ziegelmann B, 2010. Biology and control of *Varroa destructor*. *Journal of Invertebrate Pathology*, 103(1001): S96–S119.
- Se E, Lien T, Jin H, Hong B, Young H, Chang H, Seung W, 2012. Prevalence and distribution of six bee viruses in Korean *Apis cerana* populations. *Journal of Invertebrate Pathology*, 109(3): 330–333.
- Stoltz D, Shen X R, Boggis C, Sisson G, 1995. Molecular diagnostic of Kashmir bee virus infection. *Journal of Apiculture Research*, 34(3): 153–165.
- Tentcheva D, Gauthier L, Bagny L, Fievet J, Dainat B, Cousserans F, Bergoin M, 2006. Comparative analysis of deformed wing virus (DWV) RNA in *Apis mellifera* and *Varroa destructor*. *Apidologie*, 37(1): 41.
- van Engelsdorp D, Meixner M, 2010. A historical review of managed honey bee populations in Europe and the United States and the factors that may affect them. *Journal of Invertebrate Pathology*, 103(1): 80–95.
- van Engelsdorp D, Underwood R, Caron D, Hayes J, 2007. An estimate of managed colony losses in the winter of 2006–2007: A report commissioned by the apiary inspectors of America. *American Bee Journal*, 147(7): 599–603.
- Wu MJ, Zhou DD, Ma XT, Zhao WZ, Wang SH, He ZY, 2014. Study on prevalence of viral disease in *Apis cerana* in Sichuan province. *Journal of Bee*, 34(2): 3–6. [吴孟洁, 周丹银, 马啸天, 赵文正, 王顺海, 和绍禹, 2014. 四川省东方蜜蜂病毒病感染状况调查. 蜜蜂杂志, 2: 3–5.]
- Yue C, Genersch E, 2005. RT-PCR analysis of deformed wing virus in honeybees (*Apis mellifera*) and mites (*Varroa destructor*). *Journal of General Virology*, 86(12): 3419–3424.