

梅氏热厉螨寄生对西方蜜蜂生存率和取食量的影响*

马世龙^{1,2**} 杨 扬² 刁青云² 付中民^{1***} 代平礼^{2***}

(1. 福建农林大学蜂学学院, 福州 350002; 2. 中国农业科学院蜜蜂研究所/农业部授粉昆虫生物学重点开放实验室, 北京 100093)

摘 要 【目的】梅氏热厉螨 *Tropilaelaps mercedesae* 是亚洲地区西方蜜蜂 *Apis mellifera* 的重要害螨, 给我国蜂产业造成巨大损失。该研究主要探究了梅氏热厉螨寄生对西方蜜蜂生存、糖水和花粉取食量及体内病毒变化的影响。【方法】从蜂群中收集被梅氏热厉螨寄生的和未被寄生的新出房蜂, 并在室内饲养 15 d, 统计蜜蜂的存活率。统计蜜蜂每天对糖水和花粉取食量及对总的糖水和花粉取食量。检测 7 日龄幼虫、新出房蜜蜂和人工饲养 15 d 的蜜蜂体内 BQCV、DWV、VDV-1、ABPV、CBPV、IAPV、SBV 和 CSBV8 种病毒的感染情况。【结果】梅氏热厉螨寄生使蜜蜂对糖水和花粉取食量显著增加, 并且寄生显著降低蜜蜂寿命。7 日龄蜜蜂幼虫体内均检出 DWV; 新出房蜂体内均检测到 DWV 和 IAPV; 人工饲养 15 d 的蜜蜂, 对照组蜜蜂体内检测到 DWV, 梅氏热厉螨寄生的蜜蜂体内检测到 BQCV、DWV、IAPV 和 VDV-1 病毒。【结论】研究发现, 梅氏热厉螨寄生的蜜蜂随着存活时间的增加病毒种类增多。即使梅氏热厉螨寄生未引起某些蜜蜂形态变化, 但寄生可能导致体内病毒增加, 病毒的复制和免疫反应使蜜蜂能量消耗增多, 从而致使蜜蜂寿命缩短。

关键词 西方蜜蜂, 梅氏热厉螨, 寿命, 食物消耗, 蜜蜂病毒

Effects of *Tropilaelaps mercedesae* on the survival and food consumption of honey bees (*Apis mellifera*)

MA Shi-Long^{1,2**} YANG Yang² DIAO Qing-Yun² FU Zhong-Min^{1***} DAI Ping-Li^{2***}

(1. Bee Academy, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002, China; 2. Key Laboratory of Pollinating Insect Biology of Agriculture, Institute of Apicultural Research, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100093, China)

Abstract [Objectives] *Tropilaelaps mercedesae* is one of the most devastating pests of the Western honey bee (*Apis mellifera*) in Asia and causes significant economic losses to the beekeeping industry in China. We evaluated the survival, viral infection status, and sugar syrup and pollen consumption, of honey bees infested by *T. mercedesae*. [Methods] Newly emerged infected and uninfected workers were collected from brood combs and reared in incubator for 15 d. Worker bee survival was measured using the Kaplan-Meier method. A surplus of syrup and pollen were fed ad libitum each day, and sugar syrup and pollen consumption was calculated daily and over the duration of the experiment. Viruses (BQCV, DWV, VDV-1, ABPV, CBPV, IAPV, SBV, CSBV) were detected in day 7 larvae, in newly emerged bees, and in adults that had been reared for 15 d. [Results] *T. mercedesae* significantly decreased the survival, and increased the sugar syrup and pollen consumption, of honey bees. We found DWV in day 7 larvae, and DWV and IAPV in newly emerged bees in both experimental groups. DWV was not found in parasitized individuals reared for 15 d, however, BQCV, DWV, IAPV and VDV-1 viruses were found in adults that had been parasitized by *T. mercedesae*. [Conclusion] The number of virus species in honey bees parasitized by *T. mercedesae* increased over time compared to the control group. Even if *T. mercedesae* does not cause morphologic change in

*资助项目 Supported projects: 北京市自然科学基金 (No. 6162026); 中国农业科学院科技创新工程 (CAAS-ASTIP-2017-IAR); 基本科研业务费 (IAR-CPSIBRF-2017-1)

**第一作者 First author, E-mail: sjzllong@163.com

***共同通讯作者 Co-corresponding authors, E-mail: 369699776@qq.com; daipingli@caas.cn

收稿日期 Received: 2018-03-12, 接受日期 Accepted: 2018-08-08

some honey bees, it may lead to an increase in the number of viruses. The replication of viruses and the resultant increased immune response of honey bees may increase the energy consumption of the latter, thereby reducing their survival.

Key words *Apis mellifera*, *Tropilaelaps mercedesae*, longevity, diet consumption, honey bee virus

全球 80% 经济作物的授粉是昆虫完成, 蜜蜂作为重要的授粉昆虫有着不可替代的地位 (Klein *et al.*, 2007)。小蜂螨 (*Tropilaelaps* spp.) 原寄生于亚洲地区本土蜜蜂, 小蜂螨从原始寄主大蜜蜂 *A. dorsata* 转主寄生在西方蜜蜂上 (Anderson and Morgan, 2007), 对亚洲地区蜜蜂养殖造成严重的危害。小蜂螨包括四个种: 亮热厉螨 *Tropilaelaps clareae*、梅氏热厉螨 *Tropilaelaps mercedesae*、柯氏热厉螨 *Tropilaelaps koenigerum* 和泰氏热厉螨 *Tropilaelaps thaii* (Anderson and Morgan, 2007)。我国饲养的蜜蜂主要是西方蜜蜂 *Apis mellifera* 和中华蜜蜂 *Apis cerana cerana*。我国西方蜜蜂群中发现的小蜂螨为梅氏热厉螨 (Luo *et al.*, 2011)。小蜂螨主要在封盖前进入工蜂或雄蜂房 (赵红霞等, 2016), 取食幼虫的血淋巴, 导致子脾中幼虫数量的减少, 导致蜂群崩溃 (Camphor *et al.*, 2005), 或致使蜂群群势减弱从而更容易被蜡螟危害, 最终引起蜂群逃逸 (de Guzman *et al.*, 2017)。

危害我国蜂业的蜜蜂病毒主要有黑蜂王台病毒 (BQCV)、瓦螨病毒 (VDV-1)、急性麻痹病毒 (ABPV)、慢性麻痹病毒 (CBPV)、以色列急性麻痹病毒 (IAPV)、蜜蜂残翅病毒 (DWV)、蜜蜂囊状幼虫病毒 (SBV) 和中蜂囊状幼虫病毒 (CSBV) (Wang *et al.*, 2013; 贾慧茹等, 2014; Clermont *et al.*, 2015)。已经证明狄斯瓦螨 *Varroa destructor* 可传播 ABPV、SBV、DWV、VDV-1、CBPV 和 IAPV (Tentcheva *et al.*, 2004; Gisder *et al.*, 2009; Moore *et al.*, 2011; Elbeaino *et al.*, 2016)。寄生于蜜蜂的梅氏热厉螨上发现存在 DWV 和 BQCV (Khongphinitbunjong *et al.*, 2015), 在宿主上检测到 DWV (Dainat *et al.*, 2009; Khongphinitbunjong *et al.*, 2015), 调查显示在蛹期被梅氏热厉螨寄生的蜜蜂相比未寄生的蜜蜂

更容易感染 DWV (Forsgren *et al.*, 2009; Khongphinitbunjong *et al.*, 2015, 2016)。

近年来梅氏热厉螨和蜜蜂病毒病在我国发生严重, 给我国养蜂业带来巨大的损失 (罗其花, 2011)。梅氏热厉螨寄生蜜蜂促进病毒 DWV 感染机率, 同时降低蜜蜂寿命和体重 (Khongphinitbunjong *et al.*, 2016)。梅氏热厉螨对蜜蜂寿命的减少和蜜蜂体内的病毒有什么关系, 对蜜蜂取食行为有什么影响都是我们所关注的问题。本研究主要探究了梅氏热厉螨寄生对西方蜜蜂生存、糖水和花粉取食量及体内病毒的变化影响。为明确梅氏热厉螨在蜜蜂病毒病发生中的作用, 探索梅氏热厉螨寄生对蜜蜂潜在的危害, 寻找梅氏热厉螨造成蜂群急剧下降的原因, 为蜜蜂病毒病防控提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 供试蜜蜂

2017 年 8-9 月在北京石景山区坛峪蜂场 (49°59'12"N, 116°9'30"E) 收集实验材料, 该蜂场四周环山, 蜜源条件好, 5 km 范围内无其他蜂场, 试验蜂群全年未采取治螨措施。

1.2 蜜蜂存活和取食量

取封盖 9 d 的子脾, 放入恒温培养箱 (34 ± 0.5) °C, RH40% $\pm$ 10%, 等待蜜蜂出房。随机选取蜜蜂刚咬破蜡盖的巢房, 无螨寄生和被梅氏热厉螨寄生目测形态正常的蜜蜂, 分别收集到蜂笼 (9 cm $\times$ 9 cm $\times$ 10 cm) 中, 各收集 5 笼, 每笼 30 只蜜蜂。饲喂糖水 (50%) 和花粉, 放入培养箱内 (30 ± 0.5) °C, RH50% $\pm$ 10%) 饲养 15 d。每天记录死亡的蜜蜂数, 并将死亡蜜蜂清理出蜂笼。每天更换糖水和花粉, 糖水和花粉在放入蜂笼前和取出后称重, 差值为每笼蜂每天的糖水和花粉消耗量, 根据每笼蜂每天存活的蜜蜂数, 计算出平均每只蜜蜂的糖水和花粉取食量。

1.3 病毒检测

1.3.1 主要试剂 反转录试剂盒 promega A5001 来自美国 Promega 公司, TransZol 来自北京全式金生物技术有限公司, 无水乙醇、异丙酮、氯仿国产分析纯, PCR 反应液 2×Es Taq MasterMix (Dye) 来自康为世纪。

1.3.2 样品收集 封盖幼虫采集。用镊子挑开封盖房取出 7 日龄工蜂幼虫, 放在无菌的 EP 中, 标记, 液氮中冷冻后在 -80 °C 保存。

新出房蜂样品的收集。取封盖 9 d 的子脾, 放入恒温培养箱 (34 ± 0.5) °C, RH40% $\pm$ 10%), 等待蜜蜂出房。随机选取蜜蜂刚咬破蜡盖的巢房, 收集无螨寄生和梅氏热厉螨寄生的发育正常的蜜蜂。样品装在为菌的 EP 管中, 标记, 液氮中冷冻后在 -80 °C 保存。

饲养 15 d 样品的收集。在蜂笼中人工饲养两种处理的蜜蜂, 饲喂 50% 糖水和花粉, 培养箱内 (30 ± 0.5) °C, RH50% $\pm$ 10%) 饲养。15 d 后收集样品, 液氮冷冻后在 -80 °C 保存。

1.3.3 总 RNA 提取 根据贾慧茹等 (2014) 方法, 提取样品的总 RNA, 作为被检病毒的 RNA。使用 eppendorf Biospectrometer kinetic 分光光度计测定浓度和纯度, 最后 RNA 在 -70 °C 冰箱保存备用。

1.3.4 引物的设计 检测 8 种病毒 IAPV、SBV、ABPV、DWV、CSBV、BQCV、CBPV、VDV-1 参照文献 (Ma *et al.*, 2013; Sguazza *et al.*, 2013; Vietra, 2015; 李贝贝, 2017) 的引物, 由北京六合华大基因科技有限公司合成引物。

1.3.5 cDNA 的合成 使用 promeg 公司 GoScript™ Reverse system (a5001) 进行反转录, Random primer 1 μ g, 样品总 RNA 1 μ L, Nucleasefree water 3.5 μ L, 在 70 °C 5 min 后冰浴 5 min, 低速离心 10 s; 加入 5×Reaction Buffer 4 μ L, MgCl₂ 3 μ L, PCR Nucleotide MIX Recombinant rNasin 1 μ L, Ribonuclease Inhibitor 1 μ L, GoScript Reverse Transcriptase 1 μ L, Nucleasefree water 4.5 μ L PCR 反应程序设置为:

表 1 蜜蜂病毒的 8 对引物序列
Table 1 The sequences of the eight primer pairs for honeybee virus

引物名称 Primer name	引物序列 (5'-3') Primer sequences	目的片段长度 (bp) Product length (bp)	参考文献 Reference
IAPV F	AGACACCAATCACGGACCTCAC	414	Vieira <i>et al.</i> , 2015
IAPV R	AGATTTGTCTGTCTCCCAGTGCAC		
SBV F	CGTAATTGCGGAGTGGAAGATT	342	Sguazza <i>et al.</i> , 2013
SBV R	AGATTCCTTCGAGGGTACCTCATC		
ABPV F	GGTGCCCTATTAGGGTGAGGA	460	Sguazza <i>et al.</i> , 2013
ABPV R	ACTACAGAAGGCAATGTCCAAGA		
DWV F	CTTACTCTGCCGTCGCCCA	190	李贝贝, 2017
DWV R	CCGTTAGGAATCATTATCGCG		
CSBV F	CCTGGGAAGTTTGCTAGTATTACG	161	Ma <i>et al.</i> , 2013
CSBV R	CCTATCACATCCATCTGGGTCAG		
BQCV F	CTTTATCGAGGAGGAGTTCGAGT	536	Sguazza <i>et al.</i> , 2013
BQCV R	GCAATAGATAAAGTGAGCCCTCC		
CBPV F	TCAGACACCGAATCTGATTATTG	570	李贝贝, 2017
CBPV R	ACTACTAGAACTCGTCGCTTCG		
VDV-1 F	TGGCTAATCGACGTAAAGCA	200	李贝贝, 2017
VDV-1 R	ACTAATCTCGAGCCAACACDT		

25 °C 5 min, 42 °C 1 h, 70 °C 15 min, 4 °C 保存。

1.3.6 PCR 扩增 以合成的 cDNA 为模板, 按照康为世纪 PCR 反应液 2×Es Taq MasterMix (Dye) 说明书, 取合成的 cDNA 1 μL, 2×Es Taq MasterMix(Dye) 13 μL, Forward Primer 10 μmol·L⁻¹ 1 μL, Reverse Primer 10 μmol·L⁻¹ 1 μL, ddH₂O Up to 25 μL, PCR 程序设置为: 94 °C, 2 min; 94 °C, 30 s; 56 °C, 45 s; 72 °C, 45 s; 35 个循环; 最后 72 °C 延伸 2 min。使用 1.5% 的琼脂糖凝胶每个样品加入 10 μL PCR 产物, 电泳检测扩增产物。

1.4 统计分析

蜜蜂对花粉和糖水的取食量用均值±标准误 (Mean±SE) 表示, 总摄入量组间差异用 *t*-检验, 每天摄入量组间差异用 *F* 检验, 生存分析采用 Kaplan-Meier 法, 均使用 SPSS22.0 软件进行统计分析。

2 结果与分析

2.1 梅氏热厉螨寄生对蜜蜂存活的影响

梅氏热厉螨寄生和未寄生蜜蜂的 Kaplan-Meier 生存曲线如图 1 显示。与未寄生蜜蜂相比,

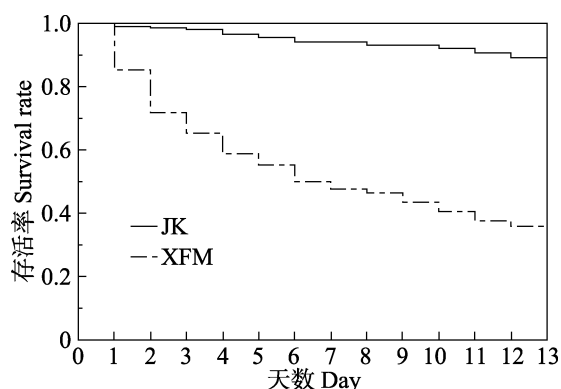


图 1 梅氏热厉螨寄生和未被寄生的蜜蜂生存曲线
Fig. 1 Survival of *Apis mellifera* workers parasitized by *Tropilaelaps mercedesae* and without mites

XFM: 梅氏热厉螨寄生的蜜蜂;

JK: 无寄生螨的蜜蜂。下图同。

JK: Brood without mite infested; XFM: Brood infested with the *Tropilaelaps mercedesae*. The same below.

梅氏热厉螨寄生蜜蜂生存率显著降低 ($\chi^2 = 130.0255$, $P < 0.0001$)。

2.2 梅氏热厉螨寄生对蜜蜂糖水取食量的影响

第 1 天和第 7 天两种不同处理的蜜蜂取食无显著差异, 其他时间梅氏热厉螨寄生蜜蜂每日糖水取食量显著高于无螨寄生蜜蜂 (图 2), 并且梅氏热厉螨寄生的蜜蜂 12 d 总的糖水取食量显著高于无螨寄生蜜蜂的取食量 (图 3)。

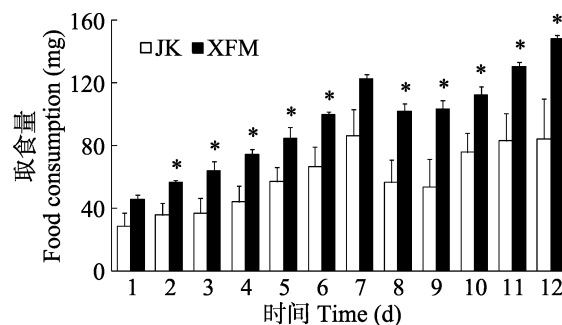


图 2 蜜蜂每天糖水取食量
Fig. 2 The sugar syrup consumption of *Apis mellifera* workers in each day

柱上标有*代表差异显著。下图同。

Histograms with * indicate significant difference. The same below.

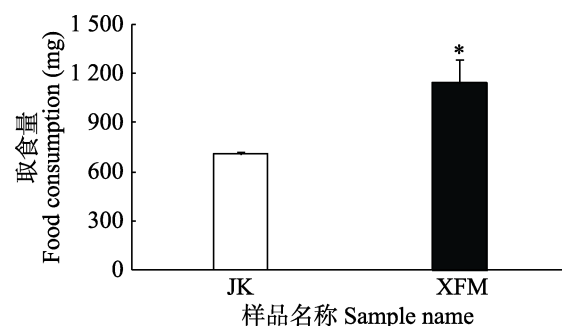


图 3 蜜蜂 12 d 糖水总取食量
Fig. 3 The total sugar syrup consumption of *Apis mellifera* workers for 12 d

2.3 梅氏热厉螨寄生对蜜蜂花粉取食量的影响

梅氏热厉螨寄生的蜜蜂在饲养的前两日蜜蜂对花粉有较大的取食量, 之后蜜蜂对花粉取食逐渐减少。蜜蜂饲养的第 1、2、8 和 11 天梅氏热厉螨寄生的蜜蜂花粉取食量显著大于无螨寄生蜜蜂的取食量, 第 3 天无螨的蜜蜂取食量显著多于梅氏热厉螨寄生的蜜蜂, 在第 4-12 天 (除

第 8 天和第 11 天外) 两种处理的蜜蜂取食量虽有差异但并不显著(图 4)。并且梅氏热厉螨寄生的蜜蜂 12 d 花粉取食总量显著多于无螨寄生蜜蜂花粉取食总量(图 5)。

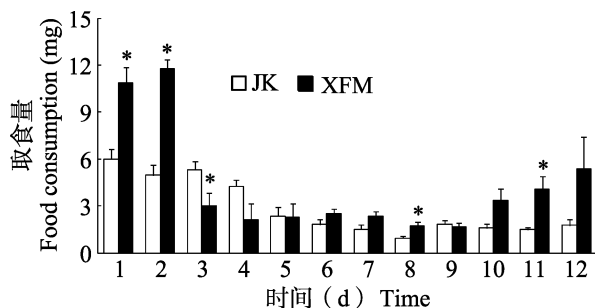


图 4 蜜蜂每天花粉取食量
Fig. 4 The pollen consumption of *Apis mellifera* workers in each day

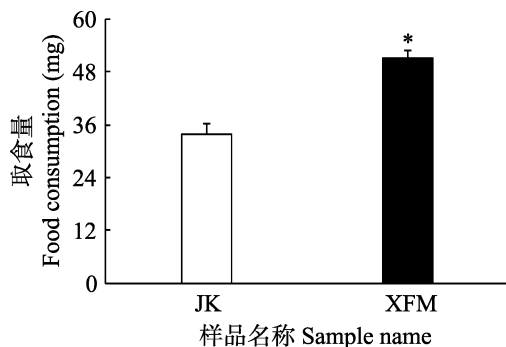


图 5 蜜蜂 12 d 花粉总取食量
Fig. 5 The total pollen consumption of *Apis mellifera* workers for 12 d

2.4 梅氏热厉螨寄生蜜蜂体内病毒检测

提取的 5 份 RNA 样品用 Eppendorf Biospectrometer kintic 测得浓度在 500-1 000 ng/ μ L 之间,测得 A260/A280 在 1.84-2.09 之间,符合 RT-PCR 反应的要求。

蜜蜂的三个时期样品检测结果如下(表 2), 7 日龄两种不同处理的蜜蜂幼虫体内存在的主要病毒为 DWV(图 6:A,B);无螨寄生和梅氏热厉螨寄生的出房蜂蜜蜂(图 6:C,D)体内检测到的病毒为 DWV 和 IAPV;人工饲养 15 d 蜜蜂,出房时无螨寄生蜜蜂只检测到 DWV 病毒,梅氏热厉螨寄生过的蜜蜂检测到 BQCV、DWV、VDV-1 和 IAPV 病毒(图 6:E,F)。

表 2 梅氏热厉螨寄生和未寄生螨蜜蜂
三个时期样品病毒检测结果

Table 2 Viruses in honey bees parasitized with and without *Tropilaelaps mercedesae* at three periods

病毒 Bee virus	梅氏热厉螨寄生的蜜蜂 <i>A. mellifera</i> infested with the <i>T. mercedesae</i>			无寄生螨的蜜蜂 Non-infested of <i>A. mellifera</i>		
	7 日龄 幼虫 7-day-old larvae	新出房 Newly emerged bees	饲养 15 d 15-day-old workers	7 日龄 幼虫 7-day-old larvae	新出房 Newly emerge d bees	饲养 15 d 15-day-old workers
IAPV	—	+	+	—	+	—
SBV	—	—	—	—	—	—
ABPV	—	—	—	—	—	—
DWV	+	+	+	+	+	+
CSBV	—	—	—	—	—	—
VDV-1	—	—	+	—	—	—
CBPV	—	—	—	—	—	—
BQCV	—	—	+	—	—	—

“—” 代表阴性;“+” 代表阳性。

“—”: Negative; “+”: Positive.

3 讨论

近几年我国蜂群中梅氏热厉螨发生严重,对蜜蜂养殖业造成严重危害(罗其花, 2011)。梅氏热厉螨寄生可以迅速地导致西方蜜蜂群势减弱,比狄斯瓦螨对西方蜜蜂的生存有更大的威胁(Forsgren *et al.*, 2009),在工蜂巢房中梅氏热厉螨寄生率显著高于狄斯瓦螨(Buawangpong *et al.*, 2015)。Rueppell 等(2017)发现早期的生活压力会缩短蜜蜂的寿命同时也影响成年蜜蜂的行为。梅氏热厉螨取食蜜蜂幼虫血淋巴,不仅造成伤口同时促进病毒病的传播(de Guzman *et al.*, 2017),致使蜜蜂的免疫力下降(Choi *et al.*, 2015)。

本研究发现蜜蜂在封盖期被梅氏热厉螨寄生,会缩短蜜蜂的寿命,使蜜蜂的取食量增加,尤其是对糖水的需求显著增多。Khongphinitbunjong 等(2016)研究表明梅氏热厉螨寄生会降低蜜蜂的体重。我们发现在封盖期被梅氏热厉螨寄生的蜜蜂,随着蜜蜂生存时间的加长病毒种类也在增多。梅氏热厉螨寄生导致取食增加而体重减少,

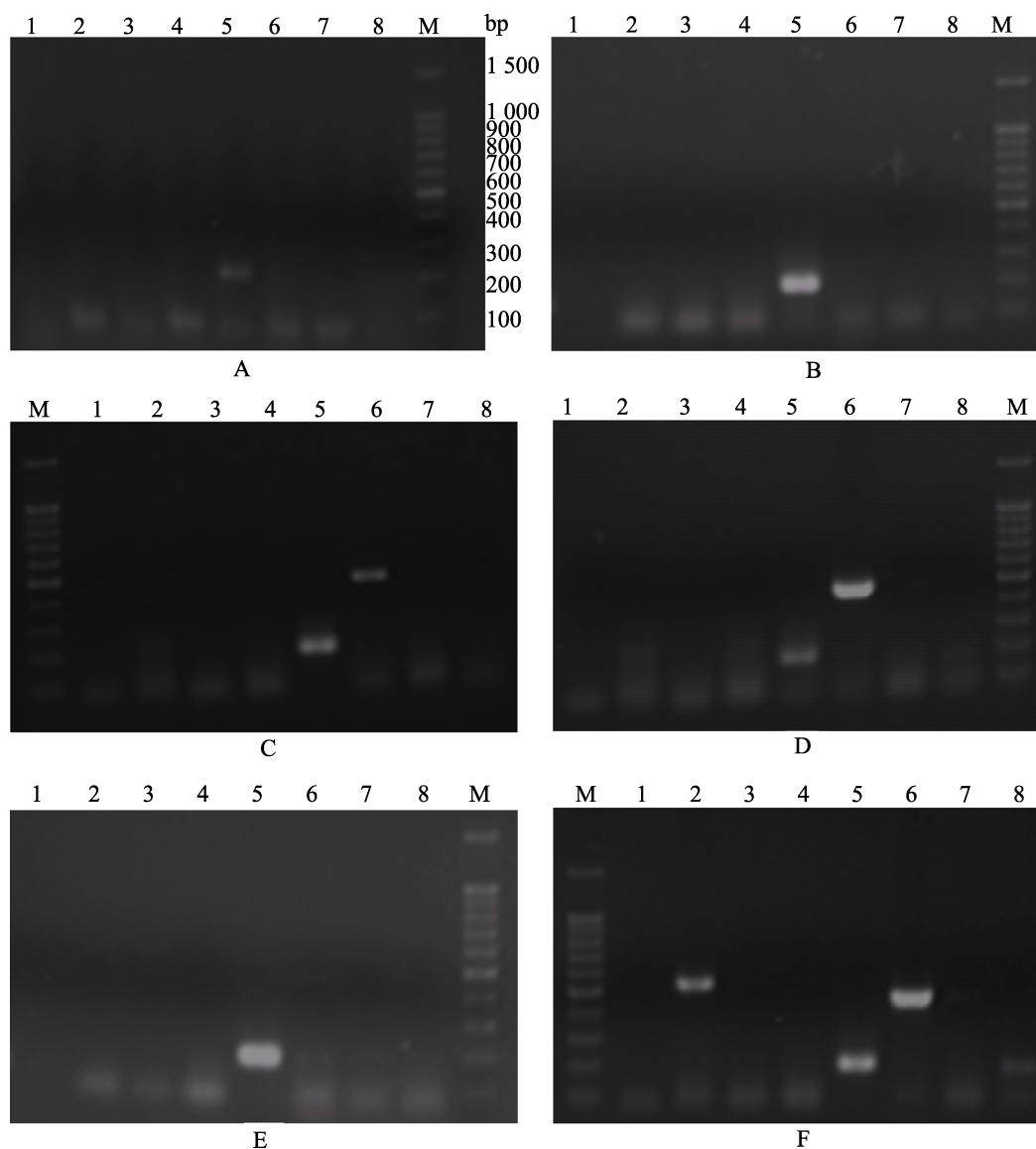


图 6 梅氏热厉螨寄生和未寄生螨蜜蜂三个时期样品病毒检测结果

Fig. 6 Viruses in honey bees parasitized with and without *Tropilaelaps mercedesae* at three periods

A. 7 日龄无寄生螨的幼虫; B. 7 日龄梅氏热厉螨寄生的蜜蜂幼虫; C. 无寄生螨的新出房蜂; D. 梅氏热厉螨寄生的新出房蜂; E. 饲养 15 d 无寄生螨的蜜蜂; F. 饲养 15 d 梅氏热厉螨寄生的蜜蜂。

A. Honey bees 7 d larvae infested with the *Tropilaelaps mercedesae*; B. Honey bees 7 d larvae without mite infested; C. Newly emerged bees infested with the *Tropilaelaps mercedesae*; D. Newly emerged bees without mite infested; E. Adults reared for 15 d infested with the *Tropilaelaps mercedesae*; F. Adults reared for 15 d without mite infested.
M: 100 bp Ladder Maker; 泳道 1: ABPV (460 bp) 病毒扩增产物; 泳道 2: BQCV (536 bp) 病毒扩增产物; 泳道 3: CBPV (570 bp) 病毒扩增产物; 泳道 4: CSBV (161 bp) 病毒扩增产物; 泳道 5: DWV (190 bp) 病毒扩增产物; 泳道 6: IAPV (414 bp) 病毒扩增产物; 泳道 7: SBV (342 bp) 病毒扩增产物; 泳道 8: VDV (200 bp) 病毒扩增产物。

Lane 1: ABPV (460 bp) bee virus; Lane 2: BQCV (536 bp) bee virus; Lane 3: CBPV (570 bp) bee virus;

Lane 4: CSBV (161 bp) bee virus; Lane 5: DWV (190 bp) bee virus; Lane 6: IAPV (414 bp) bee virus;

Lane 7: SBV (342 bp) bee virus; Lane 8: VDV (200 bp) bee virus.

这种现象我们推测由于蜜蜂病毒在蜜蜂体内的大量复制和蜂螨的取食两个方面造成的。梅氏热厉螨的取食血淋巴导致蜜蜂体弱, 免疫力下降,

同时所造成的伤口有利于病毒等病原体的侵染; 在蜜蜂体弱期, 病毒的侵入受到蜜蜂较弱的免疫反应, 加速了蜜蜂对能量的需求, 同时病毒在体

内大量增殖,需要更多的能量和蛋白质,病毒的复制再次降低了蜜蜂免疫系统,从而缩短了蜜蜂寿命。

蜜蜂感染病毒病会造成严重的爬蜂,使蜂群种群数量下降,从而导致蜂群群势衰竭(de Miranda and Genersch, 2010; Gisder and Genersch, 2017)。我国蜂群中 DWV、IAPV、BQCV、CBPV 等病毒病暴发严重(贾慧茹等, 2014; 吴孟洁等, 2014; 汪天澍等, 2015)。现代农业中,商业授粉加速了病毒(Gisder and Genersch, 2017)和寄生螨在蜜蜂蜂群的传播(de Guzman *et al.*, 2017)。梅氏热厉螨可以在西方蜜蜂、大蜜蜂、小蜜蜂等蜜蜂物种上生存,可以导致病毒病在多种蜜蜂蜂群中传播。检测野生大蜜蜂 *Apis dorsata*、小蜜蜂 *Apis florea* 和西方蜜蜂蜂群,均发现 BQCV、DWV,蜜蜂病毒可以从西方蜜蜂传播到其他野生蜜蜂物种(Zhang *et al.*, 2012)。通过控制梅氏热厉螨对防治病毒病在蜂群中的流行有重要意义。

参考文献 (References)

- Anderson DL, Morgan MJ, 2007. Genetic and morphological variation of bee-parasitic *Tropilaelaps* mites (Acari: Laelapidae): new and re-defined species. *Experimental and Applied Acarology*, 43(1): 1–24.
- Buawangpong N, Guzman LI, Khongphinitbunjong K, Amanda Me, Michael B, Panuwan C, 2015. Prevalence and reproduction of *Tropilaelaps mercedesae*, and *Varroa destructor* in concurrently infested *Apis mellifera* colonies. *Apidologie*, 46(6): 779–786.
- Camphor ESW, Hashmi AA, Ritter W, Bowen ID, 2005. Seasonal changes in mite (*Tropilaelaps clareae*) and honeybee (*Apis mellifera*) populations in apistan treated and untreated colonies. *Apiacta*, 40: 34–44.
- Clermont A, Pasquali M, Eickermann M, Beyer M, 2015. Virus status, *Varroa* levels, and survival of 20 managed honey bee colonies monitored in luxembourg between the Summer of 2011 and the Spring of 2013. *Journal of Apicultural Science*, 59(1): 59–73.
- Choi YS, Lee ML, Lee MY, Kim HK, Byun GH, Yoon MY, Kang AR, 2015. Antibacterial peptide gene expression in the honey bee (*Apis mellifera* Feb.) parasitized by *Tropilaelaps* mite. *Journal of Apiculture*, 30(3): 181–186.
- Dainat B, Ken T, Berthoud H, Neumann P, 2009. The ectoparasitic mite *Tropilaelaps mercedesae* (Acari, Laelapidae) as a vector of honeybee viruses. *Insectes Soc.*, 56(1): 40–43.
- de Guzman LI, Williams GR, Khongphinitbunjong K, Chantawannakul P, 2017. Ecology, life history, and management of *Tropilaelaps* mites. *Journal of Economic Entomology*, 110(2): 319.
- de Miranda JR, Genersch E, 2010. Deformed wing virus. *Journal of Invertebrate Pathology*, 103(1): S48–S61.
- Elbeaino T, Daher-Hjaïj N, Ismaeil F, Mando J, Khaled BS, Kubaa RA, 2016. Occurrence of deformed wing virus, chronic bee paralysis virus and mtDNA variants in haplotype k of *Varroa destructor* mites in Syrian apiaries. *Experimental & Applied Acarology*, 69(1): 11.
- Forsgren E, Miranda JRD, Isaksson M, Fries I, 2009. Deformed wing virus associated with *Tropilaelaps mercedesae* infesting European honey bees (*Apis mellifera*). *Experimental & Applied Acarology*, 47(2): 87.
- Gisder S, Aumeier P, Genersch E, 2009. Deformed wing virus (DWV): viral load and replication in mites (*Varroa destructor*). *Journal of General Virology*, 90(Pt 2): 463–467.
- Gisder S, Genersch E, 2017. Viruses of commercialized insect pollinators. *Journal of Invertebrate Pathology*, 147: 51.
- Jia HR, Liu JZ, Wang X, Wu YY, Zhou T, 2014. Occurrence and prevalence of six bee viruses 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.]
- Klein AM, Vaissière BE, Cane JH, Steffan-Dewenter I, Cunningham SA, Kremen C, Tscharntke T, 2007. Importance of pollinators in changing landscapes for world crops. *Proceedings Biological Sciences*, 274(1608): 303–313.
- Khongphinitbunjong K, de Guzman LI, Tarver MR, Rinderer TE, Chantawannakul P, 2015. Interactions of *Tropilaelaps mercedesae*, honey bee viruses and immune response in *Apis mellifera*. *J. Apic. Res.*, 54(1): 40–47.
- Khongphinitbunjong K, Neumann P, Chantawannakul P, Williams G R, 2016. The ectoparasitic mite *Tropilaelaps mercedesae* reduces western honey bee, *Apis mellifera*, longevity and emergence weight, and promotes deformed wing virus infections. *Journal of Invertebrate Pathology*, 137: 38–42.
- Li BB, 2017. Presence and distribution of CBPV in parts of regions of China and the effect of imidacloprid on the level of CBPV

- proliferation. Master dissertation. Beijing. Chinese Academy of Agricultural Sciences. [李贝贝, 2017. 蜜蜂慢性麻痹病毒在我国部分地区的发生与分布及吡虫啉对其增殖水平的影响. 硕士学位论文. 北京: 中国农业科学院.]
- Luo QH, Zhou T, Wang Q, Dai PL, Wu YY, Song HL, 2011. Identification of *Tropilaelaps* mites (Acari, Laelapidae) infesting *Apis mellifera*, in China. *Apidologie*, 42(4): 485–498.
- Luo QH, 2011. Study on natural strains, epidemiology and parasitology of *Tropilaelaps* mites (Acari: Laelapidae) in China. Doctoral dissertation. Beijing. Chinese Academy of Agricultural Sciences. [罗其花, 2011. 中国小蜂螨自然种系构成、流行病学调查及寄生生物学研究. 博士学位论文. 北京: 中国农业科学院.]
- Ma M, Liu J, Song Y, Li L, Li Y, 2013. TaqMan MGB probe fluorescence Real-Time quantitative PCR for Rapid detection of Chinese sacbrood virus. *PLoS ONE*, 8(2): e52670.
- Moore J, Jironkin A, Chandler D, Burroughs N, Evans DJ, Ryabov EV, 2011. Recombinants between Deformed wing virus and Varroa destructor virus-1 may prevail in *Varroa destructor*-infested honeybee colonies. *Journal of General Virology*, 92(1): 156–161.
- Rueppell O, Yousefi B, Collazo J, Daniel Smith, 2017. Early life stress affects mortality rate more than social behavior, gene expression or oxidative damage in honey bee workers. *Experimental Gerontology*, 90: 19–25.
- Sguazza GH, Reynaldi FJ, Galosi CM, Pecoraro MR, 2013. Simultaneous detection of bee viruses by multiplex PCR. *Journal of Virological Methods*, 194(1/2): 102.
- Tentcheva D, Gauthier L, Zappulla N, Dainat B, Cousserans F, Colin ME, Bergoin M, 2004. Prevalence and seasonal variations of six bee viruses in *Apis mellifera* L. and *Varroa destructor* mite populations in France. *Applied & Environmental Microbiology*, 70(12): 7185–7191.
- Ueira-Vieira C, Almeida LO, Almeida FCD, Bonetti AM, 2015. Scientific note on the first molecular detection of the acute bee paralysis virus in Brazilian stingless bees. *Apidologie*, 46(5): 628–630.
- Wang H, Xie J, Shreeve TG, Ma J, Pallett DW, King LA, Possee RD, 2013. Sequence recombination and conservation of Varroa destructor virus-1 and Deformed wing virus in field collected honey bees (*Apis mellifera*). *PLoS ONE*, 8(9): e74508–e74508.
- Wang TS, Shi TF, Liu F, Yu LS, Qi L, Meng XJ, 2015. Occurrence and distribution of seven bee viruses in *Apis mellifera* and *Apis cerana* in Anhui Province, China. *Chinese Journal of Applied Entomology*, 52(2): 324–332. [汪天澍, 施腾飞, 刘芳, 余林生, 齐磊, 孟祥金, 2015. 安徽省七种蜜蜂病毒的发生与流行研究. 应用昆虫学报, 52(2): 324–332.]
- Wu MJ, Zhou DY, Ma XT, Zhao WZ, Wang SH, He SY, 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, 34(2): 3–6.]
- Zhang X, He SY, Evans JD, Chen YP, 2012. New evidence that deformed wing virus and black queen cell virus are multi-host pathogens. *Journal of Invertebrate Pathology*, 109(1): 156.
- Zhao HX, Luo YX, Liang Q, Zhang XF, Chen HS, Huang WZ, 2016. Current knowledge of the *Tropilaelaps* mites. *Journal of Environmental Entomology*, 38 (4): 852–856. [赵红霞, 罗岳雄, 梁勤, 张学锋, 陈华生, 黄文忠, 2016. 小蜂螨的研究现状. 环境昆虫学报, 38(4): 852–856.]