

狄斯瓦螨对杀螨剂抗性机制的研究进展*

武江利** 孟丽峰 冯 毛*** 徐书法***

(中国农业科学院蜜蜂研究所, 农业农村部授粉昆虫生物学重点实验室, 北京 100193)

摘 要 狄斯瓦螨 *Varroa destructor* 是严重危害西方蜜蜂 *Apis mellifera* 的主要寄生螨之一, 由于杀螨剂长期大量、单一和连续使用, 狄斯瓦螨对杀螨剂的抗性发展日趋严重, 探明狄斯瓦螨抗性机制对于治理狄斯瓦螨具有重要意义。狄斯瓦螨抗性形成受遗传因素、人为操作因素及其他生态因素的影响, 其抗性机制与化学杀螨剂的种类有关, 目前研究较多的是靶标不敏感性机制和解毒代谢增强机制, 对拟除虫菊酯类杀螨剂抗性机制研究较为透彻, 而对有机磷类和甲咪类杀螨剂抗性机制研究有限。本文基于文献, 阐述了狄斯瓦螨对拟除虫菊酯类、有机磷类和甲咪类杀螨剂抗性机制的最新研究进展, 讨论了抗性治理的最新研究成果及该领域未来的研究方向, 以期对狄斯瓦螨有效治理、杀螨剂的安全有效使用及新型杀螨剂开发等研究提供参考。

关键词 狄斯瓦螨; 西方蜜蜂; 杀螨剂; 抗性

Research progress on mechanism of resistance to acaricides in *Varroa destructor*: A review

WU Jiang-Li** MENG Li-Feng FENG Mao*** XU Shu-Fa***

(Key Laboratory of Pollinating Insect Biology, Ministry of Agriculture and Rural Affairs,
Institute of Apicultural Research, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100193, China)

Abstract *Varroa destructor* is an ectoparasitic mite causing devastating damages to *Apis mellifera*. The long-term, widespread and continuous use of acaricides result in the acaricide resistance of mite, which becomes more and more serious. Overcome the resistance of *Varroa destructor* makes a great significance for mite prevention and control. The main mechanism of acaricide resistance is target insensitivity and detoxification enhancement, and is affected by genetic factors, artificial operation factors and other ecological factors, which is much clear of pyrethroids, but researches on organophosphorus and formamidines are still lacking. This paper described the research progress on the resistance mechanism of *Varroa* mite to pyrethroids, organophosphates and formamidines, discussed the latest results of resistance management and future research directions in this field, which will provide reference for the effective management of *Varroa* mite, for the suitable use of acaricide and development of new acaricides.

Key words *Varroa destructor*; *Apis mellifera*; acaricide; resistance

狄斯瓦螨 *Varroa destructor* 为世界性害螨, 尤其是对全世界主要经济蜂种——西方蜜蜂危害最为严重 (Morawetz *et al.*, 2019; Traynor *et al.*, 2020)。狄斯瓦螨主要以蜜蜂蛹和成蜂脂

肪体为食, 通过将其毒素注入蜜蜂体内, 损害蜜蜂免疫功能, 使其防御功能削弱, 寿命缩短 (Ramsey *et al.*, 2019)。狄斯瓦螨还是多种病原微生物及病毒的载体, 可引起蜂群出现细菌及病

*资助项目 Supported projects: 国家自然科学基金项目 (31902221); 国家现代农业产业技术体系 (CARS-44-KXJ6); 中国农业科学院科技创新工程 (CAAS-ASTIP-2021-IAR)

**第一作者 First author, E-mail: wujiangli@caas.cn

***共同通讯作者 Co-corresponding authors, E-mail: fengmao@caas.cn; xushufa@caas.cn

收稿日期 Received: 2021-06-16; 接受日期 Accepted: 2021-11-01

毒性疾病 (Hubert *et al.*, 2015; Wilfert *et al.*, 2016; Giacobino *et al.*, 2018), 给蜜蜂健康安全带来重大隐患。因此, 控制狄斯瓦螨的发生与危害具有重要意义。生产中, 化学防治已成为目前全球防控狄斯瓦螨的重要手段, 以合成和有机杀螨剂为主, 包括拟除虫菊酯类 (氟氯苯菊酯、氟胺氰菊酯等)、甲咪类 (双甲脒) 和有机磷类 (蝇毒磷) 等 (Evans and Cook, 2018)。据统计, 2012 年全球杀螨剂市场已近 8 亿美元, 占全球农药市场的 1.5%, 占全世界杀虫剂市场的 5.3% (张一宾, 2017)。由于狄斯瓦螨繁殖力强、发育历期短, 且长期大量、单一和连续的使用杀螨剂, 使得狄斯瓦螨的抗药性问题越来越突出, 同时也加剧了蜂产品污染 (Zhan *et al.*, 2015; Boi *et al.*, 2016; Erban *et al.*, 2017)。淘汰抗性群体和新型友好型杀螨剂的研发, 对于解决狄斯瓦螨这一世界性病害意义重大, 已成为研究者关注的重点。狄斯瓦螨抗性形成受遗传因素和人为操作因素及其他生态因素的影响, 其抗性机制与杀螨剂的种类有关, 主要有表皮抗性、代谢抗性和靶标抗

性。表皮抗性是一种被动作用方式, 通过狄斯瓦螨表皮角质层的生理特性影响杀螨剂渗透、分布、代谢和排泄。靶标抗性和代谢抗性可称为生理机制, 与杀螨剂在到达作用位点过程中引起靶标位点突变或解毒酶 (酯酶、P450 单加氧酶和谷胱甘肽-S-转移酶) 活性变化相关 (Sammataro *et al.*, 2005; Strachecka *et al.*, 2015; Balabanidou *et al.*, 2018)。目前, 国内外对于狄斯瓦螨抗性遗传、突变位点分析、抗性群体鉴定和药物的开发等方面开展了大量工作, 但仍落后于狄斯瓦螨对杀螨剂抗性的适应性发展速度。本文对国内外狄斯瓦螨抗性机制研究进行了综述和展望, 以期对狄斯瓦螨有效防控提供参考。

1 狄斯瓦螨抗性表现

近年来, 不同国家或地区关于狄斯瓦螨对杀螨剂产生抗性的报道不断 (表 1), 抗性已成为狄斯瓦螨防控的一大障碍 (Higes *et al.*, 2020)。在长期接触杀螨剂过程中, 狄斯瓦螨对杀螨剂作用的敏感性逐渐降低。研究发现, 与敏感种群相

表 1 狄斯瓦螨对常用杀螨剂产生抗性时间
Table 1 Resistance time of *Varroa destructor* after exposing to acaricides

杀螨剂名称 Acaricides	残留情况 Acaricide residues	已报道出现抗性的国家和时间 (参考文献) Reptoted country and year (references)
甲咪类 Formamidines 双甲脒 Amitraz	蜂蜡, 花粉, 蜂蜜 Beeswax, pollen and honey	克罗地亚, 1991 年 (Dujin <i>et al.</i> , 1991) 美国, 1999 年 (Elzen <i>et al.</i> , 1999) 墨西哥, 2005 年 (Roríguez-Dehaibes <i>et al.</i> , 2005) 阿根廷, 2009 年 (Maggi <i>et al.</i> , 2009)
有机磷类 Organophosphorus 蝇毒磷 Coumaphos	蜂蜡, 花粉, 蜂蜜 Beeswax, pollen and honey	意大利, 2001 年 (Spreafico <i>et al.</i> , 2001) 美国, 2002 年 (Elzen and Westervelt, 2002) 阿根廷, 2009 年 (Maggi <i>et al.</i> , 2009)
拟除虫菊酯类 Pyrethroids 氟氯苯菊酯, 氟胺氰菊酯 Flumethrin, tau-Fluvalinate	蜂蜡, 花粉, 蜂蜜 Beeswax, pollen and honey	意大利, 1992 年 (Loglio and Plebani, 1992) 阿根廷, 1997 年 (Fernandez and Omar, 1997) 法国, 1997 年 (Colin <i>et al.</i> , 1997) 美国, 1998 年 (Baxter <i>et al.</i> , 1998) 以色列, 2000 年 (Mozes-Koch <i>et al.</i> , 2000) 英国, 2002 年 (Thompson <i>et al.</i> , 2002) 西班牙, 2006 年 (Gracia-Salinas <i>et al.</i> , 2006) 韩国, 2009 年 (Kim <i>et al.</i> , 2009) 乌拉圭, 2016 年 (Mitton <i>et al.</i> , 2016)
其他杀螨剂 (甲酸, 草酸, 柠檬酸, 乳酸, 百里香酚等) Others (Formic acid, Oxalic acid, Citric acid, Lactic acid, Thymol and so on)	未知 Unknown	未知 Unknown

比, 阿根廷狄斯瓦螨抗性种群对双甲脒的抗性倍数增加了 35-39 倍 (Maggi *et al.*, 2010), 乌拉圭科洛尼亚狄斯瓦螨对氟氯苯菊酯的抗性倍数增加了 34.5 倍 (Mitton *et al.*, 2016)。在抗性的产生过程中, 狄斯瓦螨对不同杀螨剂也表现出交互抗性, 如对氟氰胺菊酯、氟氯苯菊酯和氟丙菊酯存在交互抗性, 对氨基甲酸酯类和有机磷类杀螨剂也具有交互抗性, 这可能一是由于这些化合物具有相似化学性质, 二是由于杀螨剂具有相同的作用靶标 (Dawkar *et al.*, 2013; González-Cabrera *et al.*, 2013)。不同种类杀螨剂具有不同的作用模式, 已发现狄斯瓦螨可对多种不同杀螨剂产生抗性, 即多重抗性, 如美国明尼苏达州狄斯瓦螨种群对氟胺氰菊酯和双甲脒两种杀螨剂均具有抗性 (Elzen *et al.*, 2000), 捷克 Kyvalka 蜂群中狄斯瓦螨对氟丙菊酯、氟胺氰菊酯和双甲脒等多种杀螨剂均存在抗性 (Kamler *et al.*, 2016)。在无杀螨剂选择压力的情况下, 狄斯瓦螨对氟胺氰菊酯、氯氰菊酯、蝇毒磷和马拉硫磷也出现多重抗性 (Kanga *et al.*, 2019)。研究者推测, 导致狄斯瓦螨对不同作用模式杀螨剂产生多重抗性的结果可能与其体内解毒酶的代谢作用有关。可见, 狄斯瓦螨的抗性表现形式可单一存在, 也可相互作用, 协同加速了狄斯瓦螨抗性的发展。

2 影响狄斯瓦螨抗性发展的因素

2.1 遗传因素

影响寄生虫抗性发展的遗传因素包括显性抗性基因数量、抗性基因频率、种群的遗传多样性和抗性种群的生物学适应性等 (Georghiou and Taylor, 1977)。研究发现, 在引入一种新的杀螨剂之前, 与抗性相关基因在狄斯瓦螨种群中低水平表达, 随着杀螨剂的频繁使用, 其抗性基因频率随杀螨剂选择压力的增加而增加 (González-Cabrera *et al.*, 2018)。而抗性基因的形成取决于多种因素, 如使用杀螨剂前群体中与抗性相关基因突变的频率及抗性等位基因的遗传方式 (显性、共显性或隐性) 和杀螨剂处理频率等。通常

抗性基因频率起初增长缓慢, 但随着杀螨剂持续使用, 抗性基因的频率随之增加, 最终抗性种群占据主导地位。利用微卫星遗传标记研究发现, 狄斯瓦螨体内抗性基因杂合突变几乎完全丧失, 这可能是由于狄斯瓦螨具有单倍体-二倍体的性别机制决定了其高水平的近亲繁殖, 该方式有助于狄斯瓦螨种群中抗性纯合子的快速产生 (Beaurepaire *et al.*, 2017)。研究人员对氟胺氰菊酯处理后的狄斯瓦螨种群中抗性纯合子的分布进行研究, 结果发现, 抗性纯合子比例随着对氟胺氰菊酯抗性程度的增强而增加, 而停用氟胺氰菊酯后, 狄斯瓦螨种群中抗性纯合子和杂合子均消失, 推测狄斯瓦螨抗性可能为隐性遗传 (González-Cabrera *et al.*, 2016, 2018)。综上所述, 抗性的遗传进化是蜂螨适应杀螨剂选择压力的过程, 这种适应性的变化可通过抗性基因频率的高低来反映, 最终可导致抗性个体的适合度显著降低 (Kliot and Ghanim, 2012)。

2.2 人为操作因素

人为操作因素包括人们选择杀螨剂的化学性质、操作方式、处理频率和处理时间等, 其中长期频繁使用同一种杀螨剂影响最为显著。研究发现, 长期使用拟除虫菊酯类杀螨剂 (氟胺氰菊酯和氟氯苯菊酯), 以色列和美国狄斯瓦螨种群中抗性螨的抗性倍数分别增加了 2 倍 (Mozes Koch *et al.*, 2000) 和 11 倍 (Thompson *et al.*, 2002), 而意大利狄斯瓦螨抗性群体抗性倍数从 36 倍增加到 440 倍 (Martin, 2004), 证实了持续接触杀螨剂加速了狄斯瓦螨抗性发展。由于不同国家对杀螨剂使用频率不同, 对不同种类杀螨剂的抗性程度也存在很大差异。利用小瓶试验对捷克地区狄斯瓦螨抗性进行测定, 结果发现, 狄斯瓦螨抗性群体对氟胺氰菊酯、氟氯苯菊酯和双甲脒的抗性分别是敏感群体的 85.4 倍、91.7 倍和 31.3 倍 (Kamler *et al.*, 2016), 而波兰地区狄斯瓦螨对氟胺氰菊酯抗性倍数较低 (Bak *et al.*, 2012), 这可能与波兰未大量使用拟除虫菊酯类杀螨剂有关。可见, 人为操作因素可能是引发狄斯瓦螨抗性产生的最主要原因。与遗传因素不

同,操作因素可由操作人员制定科学的防控管理策略加以人为控制。因此,应建立严格的抗性监管机制,在进行杀螨剂操作前全面掌握蜂群中狄斯瓦螨抗性信息。

2.3 其他因素

其他因素方面,主要与宿主-寄生虫-环境的互动影响有关,如蜜蜂的活动、巢房内幼虫的数量、蜂群对疾病的感染程度及巢房形状等因素都可影响杀螨剂效用的发挥,从而间接导致狄斯瓦螨对杀螨剂抗性的产生及选择(Gracia *et al.*, 2017)。目前对于这方面还未进行系统研究,仅仅作为影响狄斯瓦螨抗性发展的预测因素。因此,未来在评价杀螨剂效用时应采用相应的技术手段对蜂群进行抗性现场调研,以证实这些潜在因素的影响。

3 狄斯瓦螨对拟除虫菊酯类杀螨剂抗性机制

3.1 靶位点抗性

长期以来,靶标抗性是昆虫对拟除虫菊酯类杀螨剂抗性研究的热点。靶位点抗性是由编码与杀螨剂相互作用的靶蛋白的基因结构修饰或靶位点基因突变而产生的(Casida and Durkin, 2013),对拟除虫菊酯类杀螨剂的抗性机制最常见的是电压门控钠离子通道(Voltage-gated sodium channel, VGSC)中某些残基的修饰, VGSC 是一种大型跨膜蛋白,在神经膜动作电位的产生和传播中起着至关重要的作用(Dong *et al.*, 2014; Vu, 2016)。合成拟除虫菊酯类杀螨剂可与钠离子通道中专一的结合位点结合而改变功能,延迟神经细胞钠离子通道的关闭,引起昆虫神经系统反复放电,从而产生去极化导致死亡(Liu, 2015; 徐鑫和钱坤, 2018)。研究发现,由于长期频繁使用拟除虫菊酯类杀螨剂,在大多节肢动物(包括二斑叶螨 *Tetranychus urticae*、伊氏叶螨 *Tetranychus evansi*、柑橘全爪螨 *Panonychus citri*、疥螨 *Sarcoptes scabiei* 和狄斯瓦螨 *Varroa destructor* 等) VGSC 蛋白序列中发现了氨基酸

突变(Casida and Durkin, 2013; Van Leeuwen and Dermauw, 2016)。研究表明,狄斯瓦螨对氟胺氰菊酯抗性与钠通道基因的 4 个新突变位点有关,包括 F1528L (IIIS6)、L1595P (IIIS6-IVS1 linker)、I1752V (IVS5) 和 M1823I (IVS6) (Wang *et al.*, 2002, 2003)。随着研究的深入,研究者发现 VGSC 第二结构域 S5 区段编码的氨基酸序列突变与狄斯瓦螨对拟除虫菊酯的抗性有关,特别是 925 位点存在 3 种不同的突变,分别为 L925V (González-Cabrera *et al.*, 2013; Hubert *et al.*, 2014; Alissandrakis *et al.*, 2017)、L925I (González-Cabrera *et al.*, 2016, 2018; Alissandrakis *et al.*, 2017; Stara *et al.*, 2019a) 和 L925M (González-Cabrera *et al.*, 2016, 2018),该片段位于疏水囊的一侧,作为拟除虫菊酯类杀螨剂在 VGSC 中的主要结合位点(Farjamfar *et al.*, 2018)。

目前,快速及准确的检测方法已成为靶标害虫抗性监测的重要部分,对于及时获取靶标害虫对杀螨剂最新的抗性信息,避免或延缓害虫抗性发展具有重要意义(马玉婷等, 2017)。随着狄斯瓦螨抗性机理分子水平上研究的不断深入,分子生物学检测技术尤其在靶标抗性检测方面进行了不断创新。2015 年,研究人员研发了一种聚合酶链反应-单链构象多态性(PCR-SSCP)方法用于狄斯瓦螨对拟除虫菊酯类杀螨剂的抗性检测(Strachecka *et al.*, 2015)。2018 年,研发了一种 TaqMan®等位基因鉴别技术用于检测单个螨虫抗性位点氨基酸突变(Farjamfar *et al.*, 2018)。随后,报道了一种新的聚合酶链式反应—限制性片段长度多态(PCR-RFLP)分析方法,该技术可快速区分狄斯瓦螨中对拟除虫菊酯类杀螨剂敏感种群和抗性种群,与基于 TaqMan®的高通量基因分型分析方法同样准确可靠,成本更低,也更易操作(Millán-Leiva *et al.*, 2018; Stara *et al.*, 2019a)。综上所述, VGSC 中氨基酸突变是拟除虫菊酯类杀螨剂靶位点抗性的主要机制,但不同氨基酸突变的发生可能与狄斯瓦螨种群的遗传背景有关,也可能与狄斯瓦螨对杀螨剂抗性适应性的不断进化有关,而如何结合现

代分子技术并将其应用到狄斯瓦螨抗性防控策略过程中, 应是研究者目前关注的重要问题。

3.2 代谢抗性

代谢抗性是通过生物体内解毒酶的代谢降解作用来降低杀螨剂的毒性。研究发现与昆虫代谢抗性相关的主要酶包括多功能氧化酶 (MFO)、羧酸酯酶 (CarE) 和谷胱甘肽-S-转移酶 (GSTs) (吴有刚等, 2019; 伍一军, 2020)。多功能氧化酶是负责各类氧化代谢的重要酶系, 其中细胞色素 P450 (CYP450, 以下简称 P450) 单加氧酶参与昆虫的生长、繁殖、发育和防御功能, 并参与各类杀虫剂及其他内源性和外源性化合物代谢, 可促进杀螨剂同源化合物及其代谢产物的环氧化、羟基化、磺化氧化、脱硫和脱烷基化 (Feyereisen, 2005)。P450 基因是一个超级家族, 在昆虫中已克隆了 4 个基因家族, 其中家族的 Cy, CYP6A2、CYP6A8、CYP6A9、CYP6B1 和 CYP6D1 等基因已被证实或推测与昆虫抗药性有关 (朱江等, 2021)。据报道, 欧洲和以色列地区狄斯瓦螨对氟胺氰菊酯的抗性与 P450 单加氧酶活性有关 (Vu, 2016), 该酶的表达水平可用于评价狄斯瓦螨对拟除虫菊酯类杀螨剂的抗性水平。羧酸酯酶是一类高度多样化的水解酶, 可水解酯键生成酸和醇, 能与进入昆虫体内的杀螨剂迅速结合, 在杀螨剂到达靶标作用位点之前降解, 使其失去原有作用, 尤其对含酯类杀螨剂 (有机磷类、氨基甲酸酯类和拟除虫菊酯类) 抗性的产生具有重要作用 (王小军等, 2017; 吴有刚等, 2019)。谷胱甘肽-S-转移酶是昆虫解毒酶系统中一类重要的多功能超基因家族酶, 通过将亲电的内源和外源有毒物质与还原型谷胱甘肽 (GSH) 结合使其排出体外, 从而引起昆虫对杀虫剂的抗性 (Qin *et al.*, 2011)。研究发现, 狄斯瓦螨在无选择压力的情况下对拟除虫菊酯类杀螨剂出现多重抗性, 可能与其解毒酶代谢作用相关 (Kamler *et al.*, 2016)。由此推测, P450 单加氧酶、酯酶和谷胱甘肽-S-转移酶等在拟除虫菊酯类杀螨剂的转化与代谢过程中发挥着关键作用。然而, 目前关于狄斯瓦螨对拟除虫菊酯

类杀螨剂代谢抗性的生化及分子机制的研究还较少, 包括对参与代谢的狄斯瓦螨解毒酶基因表达谱的差异研究、代谢路径和代谢产物的明确等研究尚处于空白, 急需进行大量深入研究, 从而全面掌握狄斯瓦螨对拟除虫菊酯类杀螨剂的代谢抗性机制。

3.3 表皮抗性

表皮抗性作为一种被动抗性机制, 主要与寄生虫或昆虫表皮的物理特性有关。角质层可影响杀螨剂穿透表皮到达靶标部位的剂量和时间, 从而降低杀螨剂在体内的渗透、分布、代谢和排泄, 导致抗性的产生 (徐鑫和钱坤, 2018)。表皮穿透速率的降低一般不易独立影响寄生虫抗性的增长, 但其与寄生虫体内代谢抗性机制相互作用, 极易导致对某一种杀螨剂产生抗性。对催命按蚊 *Anopheles funestus* Giles 对拟除虫菊酯类杀螨剂抗性的研究发现, 其抗性品系中表皮蛋白基因、几丁质合成酶基因和几丁质脱乙酰酶表达量增高, 而在敏感品系中高表达这些基因可使其表皮增厚或重构, 降低杀虫剂的穿透速率 (Dang *et al.*, 2017)。抗氟胺氰菊酯的狄斯瓦螨种群表皮中蛋白酶活性较敏感种群高 (Strachecka *et al.*, 2013), 但目前狄斯瓦螨抗性种群是否能够通过改变表皮的物理性质来减少或阻止拟除虫菊酯类杀螨剂的渗透尚未进行研究, 表皮与抗性产生的研究报道相对较少, 因此二者之间具体如何作用目前还不清楚, 需要进一步研究探讨。

3.4 其他抗性机制

研究表明, 突变率的增加并不能充分解释狄斯瓦螨对有毒环境压力的整体响应, 表观遗传修饰可通过基因组的变化有效地对环境信号作出反应 (Castonguay *et al.*, 2013)。Strachecka 等 (2015) 研究表明, 抗氟胺氰菊酯的狄斯瓦螨体内具有较低的 DNA 甲基化水平, 推测拟除虫菊酯类杀螨剂可激活狄斯瓦螨体内部分不活跃的抗性基因。曾报道, 未甲基化的 CpGs 与甲基化的 CpGs 相比具有更高的突变率 (Xia *et al.*, 2012)。研究发现, DNA 甲基化靶位点的基因突

变可降低基因组 DNA 甲基化水平, 改变螨虫发育过程中 DNA 甲基化模式, 基于此, 研究者提出狄斯瓦螨对拟除虫菊酯类杀螨剂的抗性与其 DNA 甲基化水平的下降有关 (Flores *et al.*, 2013)。此外, DNA 甲基化模式具有可遗传性 (Ledón-Rettig *et al.*, 2013), 故推测狄斯瓦螨体内对拟除虫菊酯类杀螨剂的抗性表观遗传信息也可进行遗传。由此可知, DNA 甲基化水平可作为狄斯瓦螨对拟除虫菊酯类杀螨剂产生抗性的第四种机制, 但还需利用组学方法进一步来深入研究其表观遗传方面的抗性机制, 揭示其抗性遗传模式。

4 狄斯瓦螨对有机磷类杀螨剂抗性机制

乙酰胆碱酯酶 (AChE) 对脊椎动物和无脊椎动物神经系统功能的发挥至关重要, 有机磷类杀螨剂可通过抑制乙酰胆碱酯酶活性来发挥对狄斯瓦螨毒性作用, 一般可通过测定狄斯瓦螨对乙酰胆碱酯酶的敏感性来间接揭示其抗性差异 (Vu, 2016)。蝇毒磷是生产中防控狄斯瓦螨常用的一种有机磷类杀螨剂, 同时是 P450 单加氧酶生物活性较强的代谢物, 但其作用方式与拟除虫菊酯类杀螨剂不同, 蝇毒磷可通过使乙酰胆碱酯酶失活, 从而干扰神经信号传导, 导致狄斯瓦螨死亡 (de Mattos *et al.*, 2017)。在其他节肢动物中, 有机磷类杀螨剂敏感性的降低与乙酰胆碱酯酶基因突变有关 (Jiang *et al.*, 2018)。目前普遍认同的昆虫抗药性的分子机制主要集中在基因过量表达和基因结构突变方面 (宋晓等, 2018; 张懿熙和刘泽文, 2020), 如朱砂叶螨 *Tetranychus cinnabarinus* (He *et al.*, 2009)、东方果蝇 *Bactrocera dorsalis* (Hu *et al.*, 2014)、灰飞虱 *Laodelphax striatellus* (Elzaki *et al.*, 2018) 等昆虫对杀虫剂抗性的产生主要与其解毒酶表达量或活性增加有关, 最近关于狄斯瓦螨对有机磷类杀螨剂 (蝇毒磷) 的抗性研究中发现, 狄斯瓦螨基因组中共存在 26 个 P450 基因, 其中 CYP3012A6 和 CYP4EP4 基因在抗性螨中低表

达, 而 CYP4DP24 基因高表达, 通过 RNAi 技术使 CYP4EP4 基因在易感螨中模拟抗性螨低表达, 发现蝇毒磷毒性降低, 表明下调 P450 单加氧酶的活性与狄斯瓦螨对有机磷类杀螨剂的抗性有关 (Vlogiannitis *et al.*, 2021), 这一重要发现为今后新型杀螨剂的开发提供了全新视角。

5 狄斯瓦螨对甲脒类杀螨剂抗性机制

双甲脒作为甲脒类杀螨剂的主要商品, 广泛用于动物外寄生虫的防治 (Pohorecka *et al.*, 2018)。双甲脒与拟除虫菊酯类杀螨剂的作用方式不同, 它可通过阻断章鱼胺受体来实现其毒性作用 (Casida and Durkin, 2013)。中枢神经系统中章鱼胺突触的过度刺激可导致幼年和成年节肢动物中枢神经系统的震颤和抽搐 (Prullage *et al.*, 2011; Mendes *et al.*, 2013)。除 2000 年在美国明尼苏达州的一项田间试验中发现狄斯瓦螨对双甲脒的抗性外, 其他国家几乎很少通过田间实验有对这种杀螨剂抗性的报道, 目前仍在多个国家用于对狄斯瓦螨的防治 (Rinkevich, 2020)。研究发现, 春季和秋季, 双甲脒和甲酸能有效的防控蜂群中狄斯瓦螨感染 (Vandervalk *et al.*, 2014)。2018 年, 研究人员比较了 5 种合成杀螨剂 (氟胺氰菊酯、螨蜱胺、双甲脒、氟氯苯菊酯和蝇毒磷) 对狄斯瓦螨防控效果, 结果发现, 5 种杀螨剂均能降低狄斯瓦螨对成年蜂和巢房中工蜂幼虫的感染, 其中蝇毒磷和双甲脒效果较好 (Bakar *et al.*, 2018)。对西班牙 3 个地区雌性狄斯瓦螨对杀螨剂 (蝇毒磷、双甲脒和拟除虫菊酯) 敏感性连续 2 年的监测发现, 双甲脒效果较为理想 (Hernández-Rodríguez *et al.*, 2021)。然而, 关于狄斯瓦螨对双甲脒的抗性机制目前尚未研究, 但在蜱 (*Rhipicephalus microplus*) 上研究发现, 其抗性与 β -肾上腺素章鱼胺受体基因 (*RmbAOR*) 有关, 双甲脒可增加蜱 *RmbAOR* 基因的突变频率, 从而导致抗性的产生 (Corley *et al.*, 2013)。因此, 未来对 β -肾上腺素章鱼胺受体基因的研究可能会揭示对甲脒类杀螨剂的

抗性机制。

6 防控策略

狄斯瓦螨抗性形成是蜜蜂面临的一个重大挑战。研究发现,当停止使用杀螨剂数年后,狄斯瓦螨对氟胺氰菊酯的抗性水平有所下降,在3年内,狄斯瓦螨抗性种群的比例降低了约10倍,相当于狄斯瓦螨的30多代,表明在无选择压力的情况下,抗性个体由于适应度的降低而导致其抗性群体数量的减少,从而引发抗性逆转(Farjamfar *et al.*, 2018)。另有研究也发现了类似结果,停止杀螨剂处理可导致狄斯瓦螨抗性基因的消失(González-Cabrera *et al.*, 2018)。因此,停止杀螨剂处理所导致的抗性逆转这一现象将为狄斯瓦螨抗性管理策略的制定打开新的局面。此外,抗性的早期检测也是防控狄斯瓦螨的一个重要指标,如在波兰地区蜂群中未能及早发现狄斯瓦螨对氟胺氰菊酯和氟氯苯菊酯的抗性,导致75%蜜蜂死亡(Bak *et al.*, 2012)。在这种情况下,需要进一步开发用于检测和监测狄斯瓦螨抗性的工具。研究者提出,采用PCR-RFLP方法检测狄斯瓦螨L925V/MI/I突变,在分子水平上可作为筛选狄斯瓦螨对拟除虫菊酯类杀螨剂抗性的工具,并已被证明在狄斯瓦螨的防治管理中是有效的(Millán-Leiva *et al.*, 2018; Stara *et al.*, 2019a; Vu *et al.*, 2020)。此外,电压门控氯离子通道(Voltage-gated chloride channels, VGCCs)可调控多种细胞过程,在维持节肢动物的神经和肌肉兴奋性方面具有重要作用,该通道可作为未来杀虫剂和杀螨剂作用的潜在目标和候选靶点(Vu *et al.*, 2020)。

在其他杀螨剂方面,有效的处理手段如使用有机酸(草酸和甲酸)(Papežíková *et al.*, 2017; Pietropaoli and Formato, 2018)、生物防治(剑毛帕厉螨 *Stratiolaelaps scimitus*、金龟子绿僵菌 *Metarhizium anisopliae*、球孢白僵菌 *Beauveria bassiana* 和蜂胶等)(Steenberg *et al.*, 2010; Rangel and Ward, 2018; Reinbacher *et al.*, 2018; Pusceddu *et al.*, 2019)及植物提取物(百里香酚、紫檀和茴香等)(Leza *et al.*, 2015; Lin *et al.*,

2020)可作为杀螨剂替代品,降低杀螨剂在蜂产品中残留。在操作方式上,轮换或交替使用杀螨剂可有效降低具有交互抗性狄斯瓦螨的选择压力,推荐的做法是全年轮流使用杀螨剂,至少间隔15 d定期监测狄斯瓦螨数量,在夏季(甲酸或拟除虫菊酯)和秋季(双甲脒或甲酸)使用不同种类的杀螨剂(Gregorc *et al.*, 2018; Stara *et al.*, 2019b; Sajid *et al.*, 2020)。

7 展望

近年来,随着养蜂业的不断发展,蜜蜂病虫害已成为制约蜂业发展的重要因素。由于狄斯瓦螨对杀螨剂的抗性发展是一个极其复杂的过程,在不同发育阶段其作用机制可能不同。目前关于狄斯瓦螨对杀螨剂抗性机制的研究还相对薄弱,大多研究仅限于狄斯瓦螨对杀螨剂抗性水平与其产生机制相关性的描述上,而与抗性相关的基因调控机制和调控网络并未全面阐明。因此,在当前无法全面禁止杀螨剂且未提出有效治理方法的背景下,从不同杀螨剂作用靶标入手,深入研究不同发育阶段狄斯瓦螨靶标抗性及其代谢抗性具体调控路径,对于开发安全有效、环境友好型杀螨剂及蜜蜂病虫害防控技术体系的建立具有重要意义。因此,今后的研究有以下几方面内容:

(1)在狄斯瓦螨防控方面,应建立狄斯瓦螨抗性监管工作机制,研发制定有效的抗性检测技术,严格淘汰抗性群体,减缓抗性发展速度。

(2)借助分子生物学、基因组学、细胞组学、蛋白质组学和代谢组学等组学技术,筛选分析与狄斯瓦螨抗性相关的主效基因,明确与抗性产生相关解毒酶活性变化、杀螨剂主要化合物的代谢和作用机制、靶标位点结构与功能变化和靶标—杀螨剂互作代谢产物变化等,在基因水平阐释杀螨剂作用机理以及狄斯瓦螨抗性产生的分子机理。

(3)制定安全有效的杀螨剂操作策略,筛选低残留及安全高效的杀螨剂,淘汰高毒且生物选择性差的杀螨剂,采用轮换作业方式,最大程度地发挥杀螨剂效用。

参考文献 (References)

- Alissandrakis E, Ilias A, Tsagkarakou A, 2017. Pyrethroid target site resistance in Greek populations of the honey bee parasite *Varroa destructor* (Acari: Varroidae). *J. Apic. Res.*, 56(5): 625–630.
- Bak B, Wilde J, Siuda M, 2012. Characteristics of north-eastern population of *Varroa destructor* resistant to synthetic pyrethroids. *Med. Weter.*, 68(10): 603–606.
- Bakar MA, Aqueel MA, Muhammad RAB, Arshad M, Mahmood R, Qadir ZA, 2018. Comparative efficacy of five commercial synthetic acaricides against *Varroa destructor* (Anderson and Trueman) in *Apis mellifera* L. colonies. *Pakistan J. Zool.*, 50(3): 857–861.
- Balabanidou V, Grigoraki L, Vontas J, 2018. Insect cuticle: A critical determinant of insecticide resistance. *Current Opinion in Insect Science*, 27: 68–74.
- Baxter J, Eischen FA, Pettis JS, Wilson WT, Shimanuki H, 1998. Detection of fluvalinate-resistant *Varroa* mites in US honey bees. *American Bee Journal*, 138: 291.
- Beaurepaire AL, Krieger KJ, Moritz RFA, 2017. Seasonal cycle of inbreeding and recombination of the parasitic mite *Varroa destructor* in honeybee colonies and its implications for the selection of acaricide resistance. *Infect. Genet. Evol.*, 50: 49–54.
- Boi M, Serra G, Colombo R, Lodesani M, Massi S, Costa C, 2016. A 10 year survey of acaricide residues in beeswax analysed in Italy. *Pest Manag. Sci.*, 72(7): 1366–1372.
- Casida JE, Durkin KA, 2013. Neuroactive insecticides: Targets, selectivity, resistance, and secondary effects. *Annu. Rev. Entomol.*, 58(1): 99–117.
- Castonguay E, Angers B, Richards CL, 2013. The key role of epigenetics in the persistence of asexual lineages. *Gen. Res. Int.*, 2013(2): 534289.
- Colin ME, Vandame R, Jourdam P, Di Pasquale S, 1997. Fluvalinate resistance of *Varroa jacobsoni* Oudemans (Acari: Varroidae) in Mediterranean apiaries of France. *Apidologie*, 28(6): 375–384.
- Corley SW, Jonsson NN, Piper EK, Cutulle C, Stear MJ, Seddon JM, 2013. Mutation in the *RmbAOR* gene is associated with amitraz resistance in the cattle tick *Rhipicephalus microplus*. *PNAS*, 110(42): 16772–16777.
- Dang K, Doggett SL, Veera SG, Lee CY, 2017. Insecticide resistance and resistance mechanisms in bed bugs, *Cimex* spp. (Hemiptera: Cimicidae). *Parasites and Vectors*, 10(1): 318.
- Dawkar VV, Chikate YR, Lomate PR, Dholakia BB, Gupta VS, Giri AP, 2013. Molecular insights into resistance mechanisms of lepidopteran insect pests against toxicants. *J. Proteome Res.*, 12(11): 4727–4737.
- Dong K, Du Y, Rinkevich F, Nomura Y, Xu P, Wang L, Silver K, Zhorov BS, 2014. Molecular biology of insect sodium channels and pyrethroid resistance. *Insect Biochem. Mol. Biol.*, 50(1): 1–17.
- de Mattos IM, Soares AEE, Tarpy DR, 2017. Effects of synthetic acaricides on honey bee grooming behavior against the parasitic *Varroa destructor* mite. *Apidologie*, 48(4): 483–494.
- Dujin T, Jovanic V, Šukakov D, Milkovic Z, 1991. Effects of extended utilization of amitraz-based preparations on the formation of resistant strains of *Varroa jacobsoni*. *Vet. Glas.*, 45: 851–855.
- Elzen PJ, Baxter JR, Spivak M, Wilson WT, 1999. Amitraz resistance in *Varroa*: New discovery in North America. *Am. Bee J.*, 139(5): 362.
- Elzen PJ, Baxter JR, Spivak M, Wilson WT, 2000. Control of *Varroa jacobsoni* Oud. resistant to fluvalinate and amitraz using coumaphos. *Apidologie*, 31(3): 437–441.
- Elzen PJ, Westervelt D, 2002. Detection of coumaphos resistance in *Varroa destructor* in Florida. *Am. Bee J.*, 142(4): 291–292.
- Elzaki M, Miah MA, Peng Y, Zhang HM, Jiang L, Wu M, Han ZJ, 2018. Deltamethrin is metabolized by cyp6fu1, a cytochrome p associated with pyrethroid resistance in *Laodelphax striatellus*. *Pest Management Science*, 74(6): 1265–1271.
- Erbán T, Harant K, Chalupnikova J, Kocourek F, Stara J, 2017. Beyond the survival and death of the deltamethrin-threatened pollen beetle *Meligethes aeneus*: An in-depth proteomic study employing a transcriptome database. *J. Proteomics*, 150: 281–289.
- Evans JD, Cook SC, 2018. Genetics and physiology of *Varroa* mites. *Curr. Opin. Insect Sci.*, 26: 130–135.
- Farjamfar M, Saboori A, González-Cabrera J, Rodríguez CSH, 2018. Genetic variability and pyrethroid susceptibility of the parasitic honey bee mite *Varroa destructor* (Acari: Varroidae) in Iran. *Experimental and Applied Acarology*, 76(1): 139–148.
- Fernandez N, Omar G, 1997. New indications of decrease in the efficiency of the active ingredient fluvalinate. *Boletín del Colmenar*, 4: 10–11.
- Feyereisen R, 2005. Insect cytochrome P450. *Comprehensive Molecular Insect Science*, 4: 1–77.
- Flores K, Wolschin F, Amdam G, 2013. The role of methylation of DNA in environmental adaptation. *Integr. Comp. Biol.*, 53(2): 359–372.
- Georgiou GP, Taylor CE, 1977. Genetic and biological influences in the evolution of insecticide resistance. *J. Econ. Entomol.*, 70: 319–323.
- Giacobino A, Pacini A, Molineri A, Rodríguez G, Crisanti P, Cagnolo NB, Merke J, Orellano E, Bertozzi E, Pietronave H, Signorini M, 2018. Potential associations between the mite *Varroa destructor*

- and other stressors in honeybee colonies (*Apis mellifera* L.) in temperate and subtropical climate from Argentina. *Prev. Vet. Med.*, 159(1): 143–152.
- González-Cabrera J, Davies TGE, Field LM, Kennedy PJ, Williamson MS, 2013. An amino acid substitution (L925V) associated with resistance to pyrethroids in *Varroa destructor*. *PLoS ONE*, 8: e82941.
- González-Cabrera J, Rodríguez-Vargas S, Davies TG, Field LM, Schmehl D, Ellis JD, Krieger K, Williamson MS, 2016. Novel mutations in the voltage-gated sodium channel of pyrethroidresistant *Varroa destructor* populations from the Southeastern USA. *PLoS ONE*, 11(5): e0155332.
- González-Cabrera J, Bumann H, Rodríguez-Vargas S, Kennedy PJ, Krieger K, Altreuther G, Hertel A, Hertlein G, Nauen R, Williamson MS, 2018. A single mutation is driving resistance to pyrethroids in European populations of the parasitic mite, *Varroa destructor*. *Journal of Pest Science*, 91(3): 1137–1144.
- Gracia MJ, Moreno C, Ferrer M, Sanz A, Peribáñez MÁ, Estrada R, 2017. Field efficacy of acaricides against *Varroa destructor*. *PLoS ONE*, 12(2): e0171633.
- Gracia-Salinas MJ, Ferrer-Dufol M, Latorre-Castro E, Monero-Manera C, Castillo-Hernández JA, Lucientes-Curd J, Peribáñez-López MA, 2006. Detection of fupvalinate resistance in *Varroa destructor* in Spanish apiaries. *J. Apic. Res.*, 45(3): 101–105.
- Gregorc A, Alburaki M, Sampson B, Knight PR, Adamczyk J, 2018. Toxicity of selected acaricides to honey bees (*Apis mellifera*) and *Varroa* (*Varroa destructor* Anderson and Trueman) and their use in controlling *Varroa* within honey bee colonies. *Insects*, 55(9): 1–15.
- He L, Xue CH, Wang JJ, Li M, Lu WC, Zhao ZM, 2009. Resistance selection and biochemical mechanism of resistance to two acaricides in *Tetranychus cinnabarinus* (Boiduval). *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 93(1): 47–52.
- Hernández-Rodríguez CS, Marín Ó, Calatayud F, Mahiques MJ, Mompó A, Segura I, Simó E, González-Cabrera J, 2021. Large-scale monitoring of resistance to coumaphos, amitraz, and pyrethroids in *Varroa destructor*. *Insects*, 12(1): 1–12.
- Higes M, Martín-Hernández R, Hernández-Rodríguez CS, González-Cabrera J, 2020. Assessing the resistance to acaricides in *Varroa destructor* from several Spanish locations. *Parasitology Research*, 119(11): 3595–3601.
- Hu F, Dou W, Wang JJ, Jia FX, Wang JJ, 2014. Multiple glutathione S-transferase genes: Identification and expression in oriental fruit fly, *Bactrocera dorsalis*. *Pest Manag. Sci.*, 70(2): 295–303.
- Hubert J, Nesvorna M, Kamler M, Kopecky J, Tyl J, Titera D, Stara J, 2014. Point mutations in the sodium channel gene conferring tau-fluvalinate resistance in *Varroa destructor*. *Pest Manag. Sci.*, 70(6): 889–894.
- Hubert J, Erban T, Kamler M, Kopecky J, Nesvorna M, Hejdankova S, Titera D, Tyl J, Zurek L, 2015. Bacteria detected in the honeybee parasitic mite *Varroa destructor* collected from beehive winter debris. *J. Appl. Microbiol.*, 119(3): 640–654.
- Jiang XC, Jiang XY, Liu S, 2018. Molecular characterization and expression analysis of two acetylcholinesterase genes from the Small white butterfly *Pieris rapae* (Lepidoptera: Pieridae). *Journal of Insect Science*, 18(5): 1–9.
- Kamler M, Nesvorna M, Stara J, Erban T, Hubert J, 2016. Comparison of tau-fluvalinate, acrinathrin, and amitraz effects on susceptible and resistant populations of *Varroa destructor* in a vial test. *Exp. Appl. Acarol.*, 69(1): 1–9.
- Kanga HBL, Adamczyk J, Marshall K, Cox R, 2019. Monitoring for resistance to organophosphorus and pyrethroid insecticides in *Varroa* mite populations. *Journal of Economic Entomology*, 103(5): 1797–1802.
- Kim W, Lee M, Han S, Park K, Choi J, Kim J, Choi Y, Jeong G, Koh Y, 2009. A geographical polymorphism in a voltage-gated sodium channel gene in the mite, *Varroa destructor*, from Korea. *Korean J. Apic.*, 24(3): 159–165.
- Kliot A, Ghanim M, 2012. Fitness costs associated with insecticide resistance. *Pest Manag. Sci.*, 68(11): 1431–1437.
- Ledón-Rettig CC, Richards CL, Martin LB, 2013. Epigenetics for behavioral ecologists. *Behav. Ecol.*, 24(2): 311–324.
- Leza MM, Liado G, Miranda-Chueca MA, 2015. Comparison of the efficacy of Apiguard (thymol) and Apivar (amitraz) in the control of *Varroa destructor* (Acari: Varroidae). *Spanish Journal of Agricultural Research*, 13(3): e05SC01.
- Lin Z, Su X, Wang S, Ji T, Zheng HQ, 2020. Fumigant toxicity of eleven Chinese herbal essential oils against an ectoparasitic mite (*Varroa destructor*) of the honey bee (*Apis mellifera*). *J. Apicult. Res.*, 59(2): 204–210.
- Liu NN, 2015. Insecticide resistance in mosquitoes: Impact, mechanisms, and research directions. *Annu. Rev. Entomol.*, 60: 537–559.
- Loglio G, Plebani G, 1992. Valutazione dell'efficacia dell'Apistan. *Apic. Mod.*, 83: 95–98.
- Ma YT, Wei J, Li XG, 2017. Advance on detection method of insecticide resistance. *Current Biotechnology*, 7(4): 272–278. [马玉婷, 魏娟, 李相敢, 2017. 昆虫抗药性检测方法研究进展. *生物技术进展*, 7(4): 272–278.]
- Maggi MD, Ruffinengo SR, Damiani N, Sardella NH, Eguaras MJ, 2009. First detection of *Varroa destructor* resistance to coumaphos

- in Argentina. *Exp. Appl. Acarol.*, 47(4): 317–320.
- Maggi MD, Ruffinengo SR, Negri P, Eguaras MJ, 2010. Resistance phenomena to amitraz from populations of the ectoparasitic mite *Varroa destructor* of Argentina. *Parasitol. Res.*, 107(5): 1189–1192.
- Martin SJ, 2004. Acaricide (Pyrethroid) resistance in *Varroa destructor*. *Bee World*, 85(4): 67–69.
- Mendes EC, Mendes MC, Sato ME, 2013. Diagnosis of amitraz resistance in Brazilian populations of *Rhipicephalus* (Boophilus) *microplus* (Acari: Ixodidae) with larval immersion test. *Exp. Appl. Acarol.*, 61(3): 357–369.
- Millán-Leiva A, Hernández-Rodríguez CS, González-Cabrera J, 2018. New PCR-RFLP diagnostics methodology for detecting *Varroa destructor* resistant to synthetic pyrethroids. *Journal of Pest Science*, 91(3): 937–941.
- Mitton GA, Quintana S, Martinez PG, Mendoza Y, Ramallo G, Brasesco C, Villalba A, Eguaras MJ, Maggi MD, Ruffinengo SR, 2016. First record of resistance to flumethrin in a *Varroa* population from Uruguay. *Journal of Apicultural Research*, 55(5): 422–427.
- Morawetz L, Köglberger H, Griesbacher A, Derakhshifar I, Crailsheim K, Brodschneider R, Moosbekhofer R, 2019. Health status of honey bee colonies (*Apis mellifera*) and disease-related risk factors for colony losses in Austria. *PLoS ONE*, 14(7): e0219293.
- Mozes-Koch R, Slabezki Y, Efrat H, Kalev H, Kamer Y, Yakobson B A, Dag A, 2000. First detection in Israel of fluvalinate resistance in the varroa mite using bioassay and biochemical methods. *Exp. Appl. Acarol.*, 24(1): 35–43.
- Papežíková V, Palíková M, Kremserová S, Zachová A, Peterová H, Babák V, Navrátil S, 2017. Effect of oxalic acid on the mite *Varroa destructor* and its host the honey bee *Apis mellifera*. *Journal of Apicultural Research*, 56(4): 400–408.
- Pietropaoli M, Formato G, 2018. Liquid formic acid 60% to control *Varroa* mites (*Varroa destructor*) in honey bee colonies (*Apis mellifera*): Protocol evaluation. *J. Apicult. Res.*, 57(2): 300–307.
- Pohorecka K, Tomasz K, Maja A, Piotr S, Piotr S, Andrzej P, 2018. Amitraz marker residues in honey from honeybee colonies treated with Apiwarol. *Journal of Veterinary Research*, 62(3): 297–301.
- Prullage JB, Tran HV, Timmons P, Harriman J, Chester ST, Powell K, 2011. The combined mode of action of fipronil and amitraz on the motility of *Rhipicephalus sanguineus*. *Vet. Parasitol.*, 179(4): 302–310.
- Pusceddu M, Piluzza G, Theodorou P, Buffa F, Ruii L, Bullitta S, Floris I, Satta A, 2019. Resin foraging dynamics in *Varroa destructor*-infested hives: A case of medication of kin? *Insect Sci.*, 26(2): 297–310.
- Qin GH, Jia M, Liu T, Xuan T, Zhu KY, Guo YP, Ma E, Zhang JZ, 2011. Identification and characterization of ten glutathione S-transferase genes from oriental migratory locust, *Locusta migratoria manilensis* (Meyen). *Pest Management Science*, 67(6): 697–704.
- Ramsey SD, Ochoa R, Bauchan G, Gulbranson C, Mowery JD, Cohen A, Lim D, Joklik J, Cicero JM, Ellis JD, Hawthorne D, vanEngelsdorp D, 2019. *Varroa destructor* feeds primarily on honey bee fat body tissue and not hemolymph. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 116(5): 1792–1801.
- Rangel J, Ward L, 2018. Evaluation of the predatory mite *Stratiolaelaps scimitus* for the biological control of the honey bee ectoparasitic mite *Varroa destructor*. *J. Apicult. Res.*, 57(3): 425–432.
- Reinbacher L, María FFC, Angeli S, Schausberger P, 2018. Effects of *Metarhizium anisopliae* on host choice of the bee-parasitic mite *Varroa destructor*. *Acarologia*, 58(2): 287–295.
- Rinkevich FD, 2020. Detection of amitraz resistance and reduced treatment efficacy in the *Varroa* mite, *Varroa destructor*, within commercial beekeeping operations. *PLoS ONE*, 15(1): e0227264.
- Rodríguez-Dehaibes SR, Otero-Colina G, Sedas VP, Jiménez JAV, 2005. Resistance to amitraz and flumethrin in *Varroa destructor* populations from Veracruz, Mexico. *J. Apic. Res.*, 44(3): 124–125.
- Sammataro D, Untalan P, Guerrero F, Finleya J, 2005. The resistance of *Varroa* mites (Acari: Varroidae) to acaricides and the presence of esterase. *Int. J. Acarol.*, 31(1): 67–74.
- Sajid ZN, Aziz MA, Bodlah I, Rana RM, Ghramh HA, Khan KA, 2020. Efficacy assessment of soft and hard acaricides against *Varroa destructor* mite infesting honey bee (*Apis mellifera*) colonies, through sugar roll method. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 27(1): 53–59.
- Song X, Shi QQ, Cheng P, Gong MQ, 2018. Research progress in molecular mechanisms of vector insect's resistance to insecticides. *Chin. J. Vector Biol. & Control*, 29(6): 113–117. [宋晓, 史琦琪, 程鹏, 公茂庆, 2018. 病媒昆虫的抗药性分子机制研究进展. 中国媒介生物学及控制杂志, 29(6): 113–117.]
- Spreafico M, Eordegh FR, Bernardinelli I, Colombo M, 2001. First detection of strains of *Varroa destructor* resistant to coumaphos. Results of laboratory tests and field trials. *Apidologie*, 32: 49–55.
- Stara J, Pekar S, Nesvorna M, Erban T, Vinsova H, Kopecky J, Dosekocil I, Kamler M, Hubert J, 2019a. Detection of tau-fluvalinate resistance in the mite *Varroa destructor* based on the comparison of vial test and PCR-RFLP of kdr mutation in sodium channel gene. *Experimental and Applied Acarology*, 77: 161–171.

- Stara J, Pekar S, Nesvorna M, Kamler M, Daskocil I, Hubert J, 2019b. Spatio-temporal dynamics of *Varroa destructor* resistance to tau-fluvalinate in Czechia, associated with L925V sodium channel point mutation. *Pest Manag. Sci.*, 75(5): 1287–1294.
- Steenberg T, Kryger P, Holst N, 2010. A scientific note on the fungus *Beauveria bassiana* infecting *Varroa destructor* in worker brood cells in honey bee hives. *Apidologie*, 41(1): 127–128.
- Strachecka A, Borsuk G, Olszewski K, Paleolog J, Lipiński Z, 2013. Proteolysis on the body surface of pyrethroid-sensitive and resistant. *Acta Parasitol.*, 58(1): 64–69.
- Strachecka A, Borsuk G, Olszewski K, Paleolog J, 2015. A new detection method for a newly revealed mechanism of pyrethroid resistance development in *Varroa destructor*. *Parasitol. Res.*, 114(11): 3999–4004.
- Thompson HM, Brown MA, Ball RF, Bew MH, 2002. First report of *Varroa destructor* resistance to pyrethroids in the UK. *Apidologie*, 33: 357–366.
- Traynor KS, Mondet F, de Miranda JR, Techer M, Kowallik V, Oddie MAY, Chantawannakul P, McAfee A, 2020. *Varroa destructor*: A complex parasite, crippling honey bees worldwide. *Trends in Parasitology*, 36(7): 592–606.
- Van Leeuwen T, Dermauw W, 2016. The molecular evolution of xenobiotic metabolism and resistance in chelicerate mites. *Annu. Rev. Entomol.*, 61: 475–498.
- Vandervalk LP, Nasr ME, Dossall LM, 2014. New miticides for integrated pest management of *Varroa destructor* (Acari: Varroidae) in honey bee colonies on the Canadian prairies. *J. Econ. Entomol.*, 107(6): 2030–2036.
- Vlogiannitis S, Mavridis K, Dermauw W, Snoeck S, Katsavou E, Morou E, Harizanis P, Swevers L, Hemingway J, Feyereisen R, Van Leeuwen T, Vontas J, 2021. Reduced proinsecticide activation by cytochrome P450 confers coumaphos resistance in the major bee parasite *Varroa destructor*. *PNAS*, 118(6): 1–7.
- Vu PD, 2016. Toxicological analysis of acaricides for *Varroa* mite management. Master dissertation. Blacksburg: Virginia Polytechnic Institute and State University.
- Vu PD, Rault LC, Jenson LJ, Bloomquist JR, Anderson TD, 2020. Voltage-gated chloride channel blocker DIDS as an acaricide for *Varroa* mites. *Pestic. Biochem. Physiol.*, 167(3): 104603.
- Wang XJ, Bao JH, Zhang YN, Zhu RW, Zhao YY, 2017. Selection for insecticide resistance of *Tetranychus trukestani* strains and change in the activity of detoxification enzymes. *Plant Protection*, 43(4): 70–75. [王小军, 包建红, 张燕娜, 祝儒伟, 赵伊英, 2017. 土耳其斯坦叶螨对杀螨剂的抗性选育及解毒酶活力变化. 植物保护, 43(4): 70–75.]
- Wang RW, Liu ZQ, Ke D, Elzen PJ, Huang ZY, 2002. Association of novel mutations in a sodium channel gene with fluvalinate resistance in the mite, *Varroa destructor*. *J. Apic. Res.*, 40(1/2): 17–25.
- Wang RW, Huang ZY, Dong K, 2003. Molecular characterization of an arachnid sodium channel gene from the *Varroa* mite (*Varroa destructor*). *Insect Biochem. Mol. Biol.*, 33(7): 733–739.
- Wilfert L, Long G, Leggett HC, Schmid-Hempel P, Butlin R, Martin SJM, Boots M, 2016. Deformed wing virus is a recent global epidemic in honeybees driven by *Varroa* mites. *Science*, 351(6273): 594–597.
- Wu YJ, 2020. Advances in insecticide toxicology in China in the last two decades (II): Resistance of insects to insecticides. *Chinese Journal of Applied Entomology*, 57(5): 995–1008. [伍一军, 2020. 近二十年我国杀虫剂毒理学研究进展(II)—昆虫对杀虫剂的抗性研究. 应用昆虫学报, 57(5): 995–1008.]
- Wu YG, Jin J, Yang SX, Wu P, Hu Q, Du YB, Fan JT, 2019. Insect resistance development mechanism. *Journal of Biosafety*, 28(3): 159–169. [吴有刚, 金京, 杨胜祥, 吴屏, 胡琴, 杜永斌, 樊建庭, 2019. 昆虫抗药性产生机制. 生物安全学报, 28(3): 159–169.]
- Xia JF, Han L, Zhao ZM, 2012. Investigating the relationship of DNA methylation with mutation rate and allele frequency in the human genome. *BMC Genomics*, 13(8): S7.
- Xu X, Qian K, 2018. Progress research on mosquito resistance to pyrethroid insecticides. *Capital Journal of Public Health*, 12(1): 9–12. [徐鑫, 钱坤, 2018. 蚊虫对拟除虫菊酯类杀虫剂抗性研究进展. 首都公共卫生, 12(1): 9–12.]
- Zhan Y, Fan SQ, Zhang MH, Zalom F, 2015. Modelling the effect of pyrethroid use intensity on mite population density for walnuts. *Pest Manag. Sci.*, 71(1): 159–164.
- Zhang YB, 2017. Global market and development of acaricide. *World Pesticides*, 39(1): 18–21. [张一宾, 2017. 全球杀螨剂市场的发展. 世界农药, 39(1): 18–21.]
- Zhang YX, Liu ZW, 2020. Mechanisms of insecticide resistance and selectivity. *Bulletin of National Natural Science Foundation of China*, 34(4): 511–518. [张懿熙, 刘泽文, 2020. 杀虫剂的选择性与害虫抗药性. 中国科学基金, 34(4): 511–518.]
- Zhu J, Qiu XH, 2021. Molecular mechanisms of expression regulation of insect cytochrome P450 genes involved in insecticide resistance. *Acta Entomologica Sinica*, 64(1): 109–120. [朱江, 邱星辉, 2021. 昆虫抗药性相关细胞色素 P450 基因的表达调控机制. 昆虫学报, 64(1): 109–120.]