

中华蜜蜂嗅叶胚后发育过程中的神经胶质^{*}

李兆英^{**}

(陕西教育学院生物科学与技术系 西安 710061)

摘 要 本研究通过形态解剖、免疫组织化学等技术,对中华蜜蜂 *Apis cerana cerana* Fabricius 工蜂嗅叶胚后发育中神经胶质的模式进行了比较研究。结果表明:神经胶质在蜜蜂嗅叶的发育过程中起着重要的作用,它们在嗅叶发育早期就划定了神经纤维网的边界;在嗅觉神经轴突进入嗅叶之前,对神经轴突进行“分选”,并引导它们进入嗅叶特定的区域,形成神经纤维球;它们不仅规定了神经纤维网的边界和区域,还为神经纤维网提供内部的分隔。中华蜜蜂神经胶质增殖的高峰期集中在幼虫发育末期和预蛹期。

关键词 中华蜜蜂,嗅叶,胚后发育,神经胶质

Glial patterning during the postembryonic development of the olfactory lobe of the honeybee (*Apis cerana cerana*)

LI Zhao-Ying^{**}

(Department of Biological Science and Technology, Shaanxi Institute of Education, Xi'an 710061, China)

Abstract Glial cells have several functions during the development of the nervous system. The characteristics of glial patterns during the postembryonic development of the olfactory lobes of *Apis cerana cerana* Fabricius were investigated using comparative anatomy and BrdU immunohistochemistry. The results show that a continuous layer of glial cell bodies defined the boundaries of all growing neuropiles in early larvae. Just before the olfactory receptor neuron axons entered the antennal lobe, they encountered the so-called sorting-zone glia. Here, axonal contact lead to a pause in the growth cone's advance and a subsequent change in growth cone morphology. Finally this enabled the sorting of olfactory receptor neurons axons into discrete fascicles, which terminated in specific glomeruli. Proliferation of glial cells peaked from the end of the final larval instar stage to the prepupal stage.

Key words *Apis cerana cerana*, olfactory lobe, development, glial cells

嗅叶 (olfactory lobe) 又称触角叶 (antennal lobe), 是昆虫中脑的组成部分, 是嗅觉中枢。成年蜜蜂的嗅叶是由许多致密神经纤维网构成的神经纤维球组成, 它们是触角嗅觉感觉神经元传入纤维、嗅叶中间神经元以及投射神经元之间形成突触联系的主要部位。嗅叶的传出神经纤维从神经纤维球上行投射, 进入蕈状体的蕈体冠神经纤维网以及侧前脑区域。作为嗅觉器官的重要组成部分, 嗅叶在结构上高度特化, 而且生理机能极为专一。

神经胶质细胞简称神经胶质 (glia), 广泛分布于中枢和周围神经系统, 具有支持、营养、保护、髓

鞘形成及绝缘、分裂增殖与再生修复等多种作用 (Xiong and Montell, 1995)。在烟草天蛾 *Manduca sexta* 嗅觉系统的发育过程中, 神经胶质大部分位于触角神经进入嗅叶的区域。触角神经在进入嗅叶之前, 会经过一个重新分隔组合成新神经束的过程, 而这个工作正是由位于此区域的神经胶质完成的 (Oland *et al.*, 1999)。嗅叶中神经纤维球的形成, 在早期是由嗅觉神经纤维所触发的, 但在随后的发育过程中, 神经胶质则起着关键的作用 (Baumann *et al.*, 1996), 它们为神经纤维球划定边界, 提供分隔 (Krull *et al.*, 1994; Oland and Tolbert, 2003)。

^{*} 资助项目: 陕西省教育厅科技计划项目 (11JK0618)、陕西教育学院科研基金重点项目 (2012KJ006)。

^{**} 通讯作者, E-mail: apis2002@yahoo.com.cn

收稿日期: 2011-06-16, 接受日期: 2011-08-03

Hähnlein 和 Bicker(1997)通过组织染色以及黑腹果蝇 *Drosophila melanogaster* 神经胶质特异性核蛋白 (glial-specific nuclear repo-protein of *Drosophila*) 抗体免疫组织化学的方法,对蜜蜂 *Apis mellifera carnica* 嗅叶发育过程中神经胶质的模式进行了研究发现,在最初的发育过程中神经纤维网缺乏神经胶质,到 4 龄幼虫时,嗅叶才被多层神经胶质所包绕,并且在神经纤维网内部只有极少量的神经胶质散布,它们为神经纤维网提供了内在的分隔。这些神经胶质可能是受到神经纤维的引导,从其他部分迁移而来。

Parker 和 Auld(2006)对黑腹果蝇嗅叶神经胶质发育的研究表明,在 3 龄幼虫早期,幼虫嗅叶神经纤维网的侧面和腹面常常能看到 3 倍大小的成神经细胞,它们在化蛹后就消失了;但是直到化蛹后 6 h, BrdU 阳性神经胶质细胞才开始出现。神经胶质增殖的高峰期在化蛹后的 12 ~ 18 h,这同烟草天蛾非常类似 (Oland *et al.*, 1999)。但是关于神经胶质对中华蜜蜂 *Apis cerana cerana* Fabricius 嗅叶发育的作用还未见过报道。本实验通过形态解剖和免疫组织化学等技术,对中华蜜蜂工蜂嗅叶胚后发育中神经胶质的形成模式进行了比较研究,为嗅觉系统发育过程中神经胶质功能的研究提供一定的理论依据,也为昆虫神经胶质种类和作用的研究提供参考。

1 材料与方法

1.1 实验材料

实验所用中华蜜蜂工蜂的幼虫、蛹和成虫均购自西安大峪中华蜜蜂养殖基地。幼虫 (larva, L) 共 5 龄 (L1 ~ L5), 根据戴氏定律 (Dyar's law), 每一只幼虫的龄期通过测量头壳的宽度来决定;预蛹 (prepupa, PP) 期 2 d; 蛹 (pupa, P) 期约 9 d (P1 ~ P9)。

1.2 组织化学

中华蜜蜂工蜂的幼虫、蛹和成虫用 4% 多聚甲醛 4℃ 固定过夜。梯度酒精脱水,二甲苯透明。石蜡包埋,脑部横向或纵向连续切片,切片厚度 5 ~ 7 μm ,切片裱于涂有多聚赖氨酸的载玻片上,烘干备用。切片脱蜡后复水,苏木精 - 伊红染色 (hematoxylin-eosin staining, HE 染色), Olympus (BX-51) 显微镜观察拍照。

1.3 BrdU 掺入免疫组织化学

1.3.1 BrdU 掺入处理 对于 1 ~ 4 龄幼虫,用浓度为 25 mg/mL 的 BrdU (B9002, Sigma) 混合溶液 (水和蜂王浆以 1:1 比例混合) 饲喂;对于 5 龄幼虫和蛹,从触角下方直接注射约 3 μL 浓度为 25 mg/mL 的 BrdU。BrdU 结合的时间一般为 8 h。

1.3.2 BrdU 免疫组织化学染色 将 BrdU 处理过的脑用 4% 多聚甲醛 4℃ 固定 8 h。梯度酒精脱水,石蜡包埋,横向连续切片,厚度为 7 μm 。切片裱于涂有多聚赖氨酸的载玻片上,烘干备用。

切片常规脱蜡至水;抗原修复, PBS 洗 3 次; 3% 过氧化氢封闭内源性酶 10 min, TBS 洗 3 次; 滴加正常山羊血清封闭液, 37℃ 30 min; 滴加小鼠 BrdU 单克隆抗体 (1/200) (ab8039, ABCAM), 湿盒中 4℃ 孵育过夜, PBS 洗 3 次。滴加生物素化山羊抗小鼠 IgG, 37℃ 120 min, PBS 洗 3 次; 滴加过氧化物酶 37℃ 孵育 30 min, PBS 洗 3 次; DAB 显色后镜检,中性树胶封片, Olympus (BX-51) 显微镜观察拍照。阴性对照以 PBS 代替一抗。

1.4 细胞计数

为了评价嗅叶发育过程中神经胶质细胞的情况,对切片上 BrdU 标记的增殖细胞 (8 h 掺入) 的数量进行计数。计数的范围包括幼虫和蛹发育的各个阶段。通常切片上标记的细胞核的数量同细胞的数量是成比例的,比例系数依赖于切片厚度、细胞大小、形状以及核的方位。校正公式为 $C = c [t / (t + d)]$, C 是校正数, c 为原始数, t 为切片厚度, d 是细胞的直径 (Abercrombie, 1946)。每一时间点计数 2 ~ 4 只蜜蜂的 1 ~ 5 个嗅叶, 计算其平均数, 误差值为标准误 (SE)。

2 结果与分析

在 2 龄幼虫 (larval, L), 嗅叶神经纤维网刚刚开始出现, 大型的成神经细胞聚集在神经纤维网的背外侧区。它们的下面有不对称分裂形成的神经节母细胞 (ganglion mother cells, GMC)。这时, 神经胶质细胞还看不到 (图 1: A)。

到 3、4 龄幼虫, 嗅叶区域的神经胶质变得明显, BrdU 标记的神经胶质数量开始增加, 到 L4 末期, 增殖的神经胶质达到一个小高峰 (图 2)。新形成的神经胶质包绕在整个神经纤维网的周围, 但是在嗅觉神经纤维进入的区域是开放的; 沿着

神经纤维的周围及内部,增殖的神经胶质很少(图 1: B)。在神经纤维网内部,没有神经胶质。到 5

龄幼虫末期(L5),嗅叶中神经胶质的数量开始增加(图 3)。

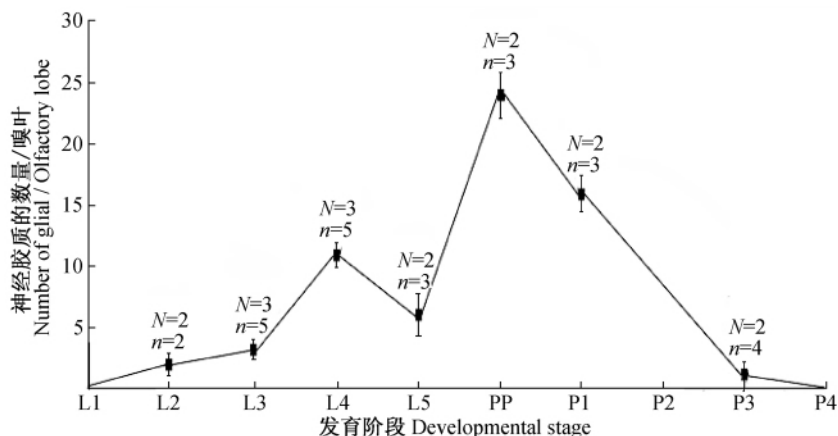


图 2 嗅叶发育过程中 BrdU 标记的神经胶质数量变化曲线

Fig. 2 Number of BrdU-labeled glial in the olfactory lobe

L1—L5: 幼虫各发育阶段 stages of larval development; PP: 预蛹 prepupa;

P1—P4: 蛹发育各阶段 days of pupal development.

N 和 n 分别表示动物数量和细胞群数量。

N and n denote the number of animals and the number of cell clusters, respectively.

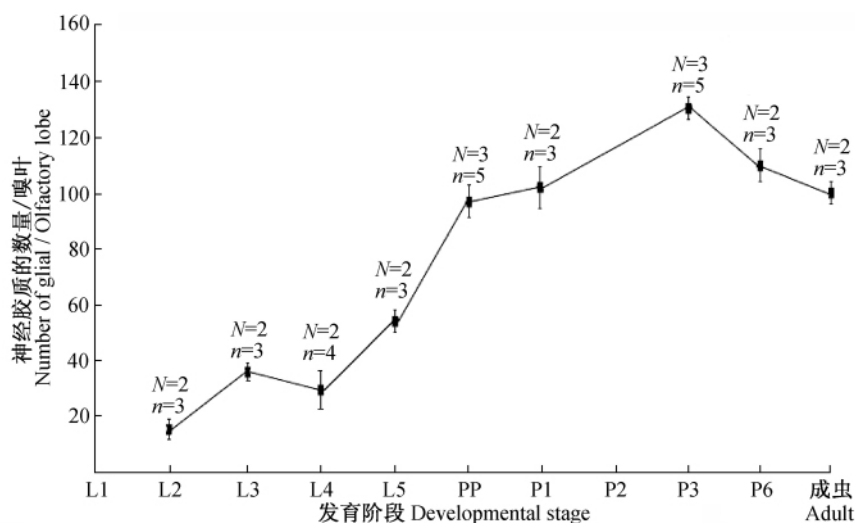


图 3 嗅叶发育过程中神经胶质数量变化曲线

Fig. 3 Number of glial in the olfactory lobe

L1—L5: 幼虫各发育阶段 stages of larval development;

PP: 预蛹 prepupa; P1—P6: 蛹发育各阶段 days of pupal development.

N 和 n 分别表示动物数量和细胞群数量。

N and n denote the number of animals and the number of cell clusters, respectively.

在预蛹 (prepupa, PP) 期,神经纤维网边缘 BrdU 标记的神经胶质数量明显增加,分裂增殖的神经胶质的数量达到一个顶峰,尤其在触角感觉

神经元轴突进入的区域聚集了大量的快速分裂增殖的神经胶质(图 1: C, D)。这些分裂的细胞大多呈球形,直径约为 $(4.18 \pm 0.5) \mu\text{m}$ 。到蛹

(pupa, P) 发育的第 1 天(P1), BrdU 标记的神经胶质数量明显减少, 但是神经胶质的总数稳步增加(图 3), 有少数的神经胶质开始向神经纤维网内部迁移, 为神经纤维球的形成作准备(图 1: E)。P2 时神经纤维网周围的神经胶质的增殖和数量同 P1 基本相同(图 1: F)。到 P3 期, 最初均一的嗅叶神经纤维网分成若干神经纤维球, 周围的神经胶质细胞层出现圆齿状结构。BrdU 标记的神经胶质已观察不到(图 1: G)(图 2), 但是整个嗅叶中的神经胶质的数量在此阶段达到顶峰(图 2)。P5 期, 随着神经纤维网体积的增加, 神经胶质之间距离逐渐增大, 一些神经胶质移至神经纤维球边界之间, 随后神经胶质逐渐包围了整个发育中的神经纤维球(图 1: H)。成虫时, 在整个嗅叶以及每一个神经纤维球的周围, 都有神经胶质细胞划定了它们的界限, 但是在神经纤维球内部没有神经胶质(图 1: I)。

3 讨论

神经胶质广泛地分布于动物的中枢和周围神经系统。具有支持、营养、保护、髓鞘形成及绝缘、分裂增殖与再生修复等多种作用。在昆虫嗅觉的发育过程中, 神经胶质在触角感觉神经元轴突以及嗅叶神经纤维球的发育过程中扮演了重要的角色, 它们为轴突的生长方向以及神经细胞的移动提供了“路标”和靶位点, 引导触角感觉神经元轴突地向内生长。

在对烟草天蛾嗅叶发育过程的研究中发现, 它具有 3 种类型的神经胶质(Oland *et al.*, 1999): (1) 周围神经胶质(peripheral glia), 它们起源于触角, 包裹嗅觉轴突; (2) 神经纤维网神经胶质(neuropil glia), 它们包围并支持嗅觉神经纤维网; (3) 分区神经胶质(sorting zone glia), 它们起源于嗅叶区的成神经细胞, 后迁移至触角神经基部, 在那里它们对轴突进行分隔, 形成独立的神经纤维球。在中华蜜蜂嗅叶的发育过程中, 同样看到了这 3 种类型的神经胶质。嗅觉系统中嗅觉感觉神经元同它们的靶位点——嗅叶神经纤维球是独立发生的, 并且在结构上相互分离。它们在嗅觉神经纤维网和神经元的发育过程中相互作用。在烟草天蛾变态早期, 感觉神经元轴突离开触角, 聚集成触角轴突束, 投射到嗅叶。它们在朝向嗅叶的移动过程中, 可能受到了多种信号的引导。这些

信号源自于神经胶质细胞丰富的区域(glia-rich target region)(Oland and Tolbert, 2003)。感觉神经元轴突越过触角和嗅叶之间的脑区, 顺利地延伸到了它们的靶位点。但是这条“通道”在烟草天蛾变态的时候还没有确定(Oland *et al.*, 1999, Rossler *et al.*, 1999)。Gibson 和 Nighorn(2000)的研究显示, 神经细胞发出 NO 信号到神经胶质细胞, 驱使它们沿着前进中的轴突移动。*atonal* 是嗅叶内的许多内源性的神经胶质都表达的一种转录因子, 对黑腹果蝇的 *atonal* 突变种的研究显示, 由于 *atonal* 的缺失, 触角盘内的许多神经胶质细胞缺失, 导致感觉神经元轴突不能正确到达嗅叶而簇生在触角的出口部位(Jhaveri *et al.*, 2000)。

在昆虫中枢神经系统中, 嗅叶由许多神经纤维球组成, 感觉神经元轴突和嗅叶中间神经元、投射神经元在其中形成突触联系。这些神经纤维球是嗅觉信息处理过程的功能单位, 每一个神经纤维球都只接受来自于单个类型的受体神经元的轴突, 而要达到这种精确的连接, 嗅叶必须具备有效的轴突分选系统。对烟草天蛾的研究显示, 嗅觉感觉神经元轴突从触角伸出, 诱导了那里的神经胶质的增殖, 并迁移到一定的区域, 在这个区域神经胶质构成了轴突“分选区”(sorting zone, SZ)(Ito *et al.*, 1995)。触角感觉神经元轴突到达嗅叶触发了对轴突的分选, 在分选区, 轴突开始迅速的改变它们移动的朝向, 原先聚集在一起的轴突束开始解束并重新排布, 同类的轴突聚集并被神经胶质细胞分选进入适当的神经纤维球内。对中华蜜蜂的研究也显示了, 在触角神经纤维进入嗅叶的区域有大量的神经胶质聚集, 它们主要是在预蛹阶段经过快速的有丝分裂形成的。

在神经细胞识别最终目的过程中, 要通过多种形式的分子的交互作用, 包括粘连(adhesive)、吸引(attractive)以及排斥(repulsive)。现在已从烟草天蛾体中鉴定了几种与感觉轴突的分选有关的分子, 如细胞支持分子 Fasciclin II、Ephrin 和 Eph 受体的神经胶质分子, 但是它们在分选过程中的分子机制现在还不清楚。感觉神经轴突被分选后, 到达嗅叶触发了神经胶质的增殖以及迁移, 使嗅叶神经纤维网区的神经胶质重新整理。在这个过程中, 神经胶质形成小的细胞群, 它们延伸迁移, 形成了嗅叶内神经纤维球的支架(Oland *et al.*, 1998)。这同中华蜜蜂嗅叶的发育模式非常

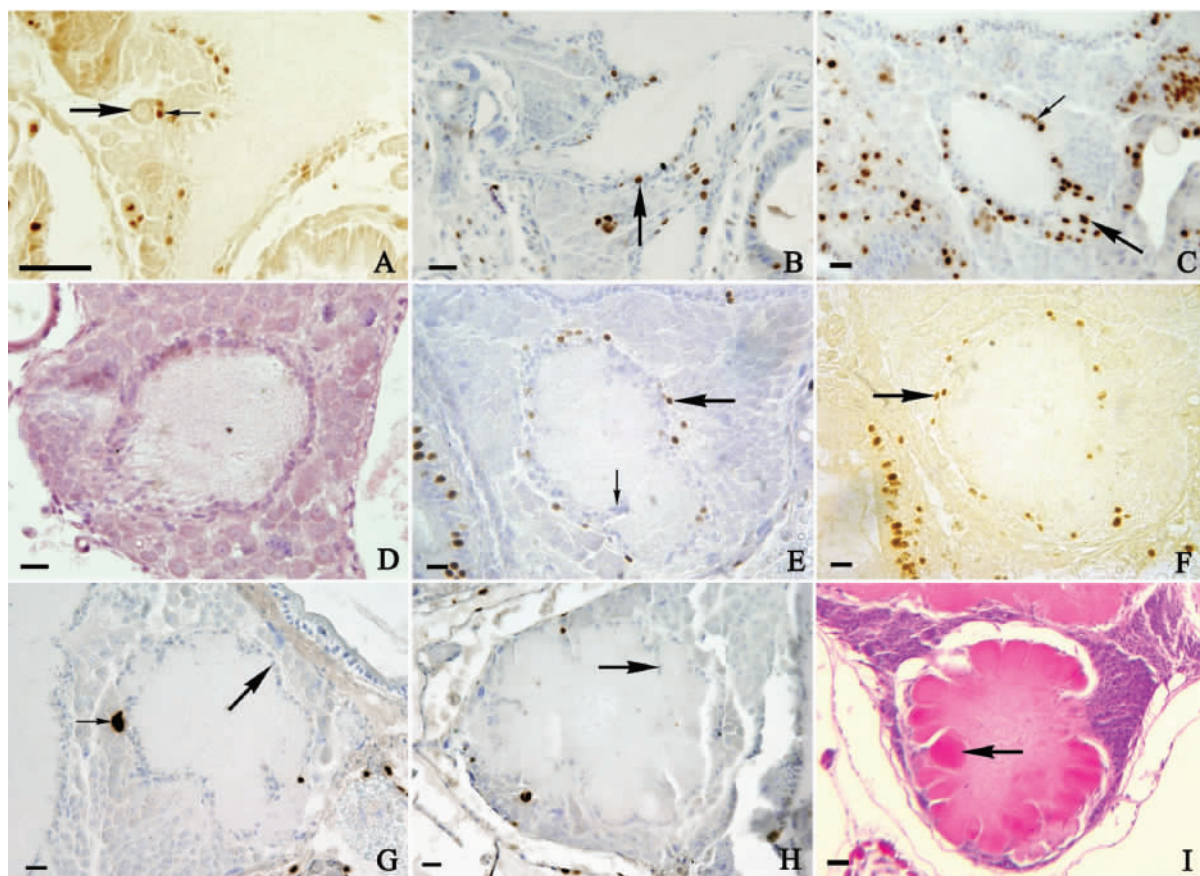


图 1 中华蜜蜂嗅叶胚后发育过程中的神经胶质

Fig. 1 Glial patterning during postembryonic development in the olfactory lobe of *Apis cerana cerana*

A. BrdU 标记工蜂 2 龄幼虫的嗅叶, 大箭头指示为成神经细胞, 小箭头指示为神经节母细胞。BrdU-labeled olfactory lobe of the 2nd instar larva. The large arrow indicates neuroblast and the small arrow indicates ganglion mother cell.

B. BrdU 标记工蜂 4 龄幼虫的嗅叶, 箭头指示为神经纤维网周围的神经胶质。BrdU-labeled olfactory lobe of the 4th instar larva. The arrow indicates glia around neuropile.

C. BrdU 标记工蜂 PP 的嗅叶, 大箭头指示为进入嗅叶的嗅觉神经纤维中的神经胶质, 小箭头指示为神经纤维网周围的神经胶质。BrdU-labeled olfactory lobe of prepupa. The large arrow indicates glia in the antennal afferents and the small arrow indicates glia around neuropile.

D. 工蜂 PP 嗅叶的组织结构。structural organization of olfactory lobe of prepupa.

E. BrdU 标记工蜂 P1 的嗅叶, 大箭头指示为神经纤维网周围的神经胶质, 小箭头指示为迁移入神经纤维网内部的神经胶质。BrdU-labeled olfactory lobe of the day 1 pupa. The large arrow indicates glia around neuropile and the small arrow indicates glia in neuropile.

F. 工蜂 P2 嗅叶的组织结构, 箭头指示为神经纤维网周围的神经胶质。structural organization of olfactory lobe of day 2 pupa. The arrow indicates glia around neuropile.

G. BrdU 标记工蜂 P3 的嗅叶, 大箭头指示为神经纤维网周围的神经胶质, 小箭头指示为背外侧细胞区内的分裂细胞。BrdU-labeled olfactory lobe of day 3 pupa. The large arrow indicates glia around neuropile and the small arrow indicates dividing cell in the dorsolateral cell region.

H. BrdU 标记工蜂 P5 的嗅叶, 箭头指示为神经纤维球周围的神经胶质。BrdU-labeled olfactory lobe of day 5 pupa. The arrow indicates glia around glomerulus.

I. 工蜂成虫嗅叶的组织结构, 箭头指示为一个神经纤维球。structural organization of olfactory lobe of adult honeybee. The arrow indicates glomerulus.

标尺 scale bars = 50 μm .

类似。当然,在神经系统的发育过程中,神经细胞和神经胶质往往相互作用。在对烟草天蛾的研究中发现,当感觉神经元轴突不能进入嗅叶时,神经胶质虽然还能增殖,但是不能形成神经纤维球的支架;同样,当神经胶质的数量很少时,神经纤维球也不能形成(Oland and Tolbert, 1989)。一旦选定了特定的目标区域,神经元就必须呆在那里,当然边界构成的任务同样由神经胶质来完成。在美洲大蠊 *Periplaneta americana* 嗅叶的发育过程中,神经胶质在细胞层和神经纤维网之间形成了有效的边界(Salecker and Boeckh, 1996)。类似的,在蜜蜂的嗅叶神经纤维网中,神经胶质将其分隔成不同的神经纤维球,避免了轴突之间的相互干扰。但是至少在胚胎发育的晚期,神经胶质还不是树突的生长和立体架构所必须的(Parker and Auld, 2006)。

昆虫嗅觉系统的发育模式同脊椎动物嗅球的形成过程非常类似(Tolbert *et al.*, 2004)。在啮齿动物的发育过程中,来自于嗅上皮的嗅觉感觉神经元轴突穿过筛板进入嗅球后,其末端与僧帽细胞、丛状细胞的主树突形成突触联系。这些汇聚性的突触结构形成了一个神经纤维球(Au and Roskams, 2003)。在嗅觉神经元轴突进入嗅球之前,受体轴突停留在神经层,随后的 2 ~ 3 d,轴突进入并开始了神经纤维球的形成过程(Valverde, 1999),嗅觉受体轴突形成致密的带,星形胶质细胞形成“胶质细胞神经纤维球”与来自于嗅觉神经元形成的“轴突神经纤维球”相对应(Puche and Shipley, 2001)。对于神经胶质在昆虫嗅叶发育过程中功能的分析,使我们更多地了解了它们在昆虫和哺乳动物嗅叶以及神经纤维球的发育过程中所起的作用。

参考文献(References)

- Abercrombie M, 1946. Estimation of nuclear population from microtome sections. *Anat. Rec.*, 94:239—247.
- Au E, Roskams AJ, 2003. Olfactory ensheathing cells of the lamina propria in vivo and in vitro. *Glia*, 41(3): 224—236.
- Baumann PM, Oland LA, Tolbert LP, 1996. Glial cells stabilize axonal protoglomeruli in the developing olfactory lobe of the moth *Manduca sexta*. *J. Comp. Neurol.*, 373: 118—128.
- Gibson NJ, Nighorn A, 2000. Expression of nitric oxide synthase and soluble guanylyl cyclase in the developing olfactory system of *Manduca sexta*. *J. Comp. Neurol.*, 422:191—205.
- Hähnel I, Bicker G, 1997. Glial patterning during postembryonic development of central neuropiles in the brain of the honeybee. *Dev. Genes Evol.*, 207(1):29—41.
- Ito K, Urban J, Technau G, 1995. Distribution, classification, and development of *Drosophila* glial cells in the late embryonic and early larval ventral nerve cord. *Roux's Arch. Dev. Biol.*, 204(5):284—307.
- Jhaveri D, Sen A, Rodrigues V, 2000. Mechanisms underlying olfactory neuronal connectivity in *Drosophila*—the atonal lineage organizes the periphery while sensory neurons and glia pattern the olfactory lobe. *Dev. Biol.*, 226(1): 73—87.
- Krull CE, Morton DB, Faissner A, Schachner M, Tolbert LP, 1994. Spatiotemporal pattern of expression of tenascin-like molecules in a developing insect olfactory system. *J. Neurobiol.*, 25(5):515—534.
- Oland LA, Tolbert LP, 1989. Patterns of glial proliferation during formation of olfactory glomeruli in an insect. *Glia*, 2(1):10—24.
- Oland LA, Pott WM, Higgins MR, Tolbert LP, 1998. Targeted ingrowth and glial relationships of olfactory receptor axons in the primary olfactory pathway of an insect. *J. Comp. Neurol.*, 398(1):119—138.
- Oland LA, Marrero HG, Burger I, 1999. Glial cells in the developing and adult olfactory lobe of the moth *Manduca sexta*. *Cell Tissue Res.*, 297(3):527—545.
- Oland LA, Tolbert LP, 2003. Key interactions between neurons and glial cells during neural development in insects. *Annu. Rev. Entomol.*, 48:89—110.
- Parker RJ, Auld VJ, 2006. Roles of glia in the *Drosophila* nervous system. *Seminars in Cell & Developmental Biology*, 17(1):66—77.
- Puche AC, Shipley MT, 2001. Radial glia development in the mouse olfactory bulb. *J. Comp. Neurol.*, 434(1):1—12.
- Rössler W, Randolph PW, Tolbert LP, Hildebrand JG, 1999. Axons of olfactory receptor cells of transsexually grafted antennae induce development of sexually dimorphic glomeruli in *Manduca sexta*. *J. Neurobiol.*, 38(4):521—541.
- Salecker I, Boeckh J, 1996. Influence of receptor axons on the formation of olfactory glomeruli in a hemimetabolous insect, the cockroach *Periplaneta americana*. *J. Comp. Neurol.*, 370(2):262—279.

- Tolbert LP, Oland LA, Tucker ES, Gibson NJ, Higgins MR, Lipscomb BW, 2004. Bidirectional influences between neurons and glial cells in the developing olfactory system. *Prog. Neurobiol.*, 73 (2) :73—105.
- Valverde F, 1999. Building an olfactory glomerulus. *J. Comp. Neurol.*, 415 :419—422.
- Xiong WC, Montell C, 1995. Defective glia induce neuronal apoptosis in the repo visual system of *Drosophila*. *Neuron*, 14 (3) :581—590.

中草药精油对蜜蜂狄斯瓦螨的熏杀效果^{*}

苏晓玲 郑火青 费中华 胡福良^{**}

(浙江大学动物科学学院 杭州 310058)

摘 要 在实验室条件下测定 10 种中草药精油对蜜蜂狄斯瓦螨 *Varroa destructor* Anderson & Trueman 的熏蒸效果,通过测定中草药精油对蜜蜂和螨的毒性,筛选出具有杀螨活性而对蜜蜂较安全的中草药精油。结果表明:中草药精油对蜜蜂都有一定的毒害;而在对蜜蜂无毒性的剂量下,48 h 时茴香油、丁香油、肉桂油分别能引起 92.5%、54% 和 12% 的螨死亡,显著高于对照组 ($P < 0.05$);根据初步筛选结果,选择茴香油和丁香油进行进一步毒力测定,结果表明 48 h 时茴香油对螨的 LD_{50} 为 0.949 μL ,蜜蜂的 LD_{50} 为 4.033 μL ;丁香油对螨的 LD_{50} 为 0.795 μL ,蜜蜂的 LD_{50} 为 1.965 μL 。茴香油在 48 h 时有着较高的选择比(蜜蜂的 LD_{50} /螨的 LD_{50} = 4.250);GC-MS 鉴定茴香油最主要成分是茴香脑(占总成分的 88.72%),丁香油的主要成分是丁香酚(68.28%)和石竹烯(20.79%)。可见,茴香油和丁香油在控制狄斯瓦螨的应用上具有很大潜力。

关键词 蜜蜂,狄斯瓦螨,中草药精油,杀螨活性

Effectiveness of herbal essential oils as fumigants to control *Varroa destructor* in laboratory assays

SU Xiao-Ling ZHENG Huo-Qing FEI Zhong-Hua HU Fu-Liang^{**}

(College of Animal Sciences, Zhejiang University, Hangzhou 310058, China)

Abstract The effects of using herbal essential oils as fumigants to control *Varroa destructor* Anderson & Trueman, and the toxicity of these compounds to honeybees, were assayed under laboratory conditions. The results showed that all the oils tested were, to some extent, toxic to honeybees but anise oil, clove oil and cinnamon oil caused 92.5%, 54% and 12% mite mortality respectively with no toxicity to bees after 48 h. There were significant differences in toxicity between the three oils and the control ($P < 0.05$). The acute toxicity of anise oil and clove oil to mites was further evaluated by estimating LD_{50} values. The LD_{50} values of anise oil for *V. destructor* and *A. mellifera* were 0.949 μL and 4.033 μL , respectively, and those of clove oil were 0.795 μL and 1.965 μL , respectively. Anise oil had a higher selective ratio after 48h (LD_{50} to honeybees / LD_{50} to mites = 4.250). The chemical composition of anise oil and clove oil were analyzed and identified by gas chromatography – mass spectrometry (GC-MS). The most abundant compound in anise oil was (E) – anethole (88.72%). The main components of clove oil were Eugenol (68.28%) and Caryophyllene (20.79%). These results show that anise oil and clove oil are promising acaricides that could be used for controlling *Varroa* mites in beehives.

Key words honeybee, *Varroa destructor*, herbal essential oils, acaricidal activity

狄斯瓦螨 *Varroa destructor* Anderson & Trueman 是对世界养蜂业威胁最大的蜜蜂病虫害之一(De Jong, 1997)。它的原始寄主是东方蜜蜂 *Apis cerana* Fabricus,在瓦螨与东方蜜蜂长期协同进化过程中,它与东方蜜蜂形成了近似共生的相

互适应关系(Rath *et al.*, 1990)。狄斯瓦螨引起人们注意是在它成为西方蜜蜂 *A. mellifera* 的寄生虫。由于地理扩散和引种不慎等原因,狄斯瓦螨由亚洲传到欧洲、美洲、非洲,除了澳大利亚没有发现瓦螨外,狄斯瓦螨危害全世界的西方蜜蜂

^{*} 资助项目:现代农业产业技术体系建设专项资金(CARS-45)。

^{**}通讯作者, E-mail: flhu@zju.edu.cn

收稿日期:2011-12-19,接受日期:2012-03-25