

蜜蜂幼虫血淋巴游离氨基酸和微量元素含量的差异对其抗螨特性的影响^{*}

王 星 王 强 代平礼 刘 锋 周 婷^{**}

(中国农业科学院蜜蜂研究所 北京 100093)

The tolerant effect of free amino acid and microelement diversity in haemolymph of honeybee larva to *Varroa destructor*. WANG Xing, WANG Qiang, DAI Ping-Li, LIU Feng, ZHOU Ting^{**} (Institute of Apiculture Research, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100093, China)

Abstract The newly reclassified ectoparasitic mite *Varroa destructor* (Anderson and Trueman 2000) is the most serious problem of *A. mellifera* worldwide. But apparently, it is rather harmless in colonies of its original host *A. cerana*. As we know, In colonies of *A. mellifera*, *Varroa destructor* reproduces both in drone and in worker cells. In colonies of its original Asian host, *Apis cerana*, the mite invade both drone and worker cells, but reproduce only in drone cells. Haemolymph of honeybee is the only food for survival and reproduction of *Varroa mites*, so it appeared that the concentration of some things in the haemolymph affect the reproduction of *Varroa destructor*. We compared the concentration of free amino acid and microelement in haemolymph of larvae (*A. cerana* and *A. mellifera*; drone and worker bee) that just sealed. And result showed that there are obvious differences in the concentration of free amino acid and microelement from different type of larvae. It suggested that the diversity of the component in haemolymph had correlation to the tolerance in *A. cerana* to *Varroa destructor*.

Key words honey bee, *Varroa destructor*, haemolymph, free amino acid, microelement

摘 要 重新界定的外寄生螨类——狄斯瓦螨 *Varroa destructor* (Anderson and Trueman), 严重危害全世界的西方蜜蜂 *Apis mellifera*。但是对其原始寄主东方蜜蜂 *Apis cerana* 不构成可见的危害。在西方蜜蜂群中, 狄斯瓦螨在雄蜂房和工蜂房都能进行繁殖。在其亚洲的原始寄主东方蜜蜂群中, 它们可以寄生于雄蜂和工蜂, 但在工蜂房中不育。蜜蜂的血淋巴是狄斯瓦螨生存和繁殖需要摄取的惟一食物来源, 推测血淋巴中的某种物质含量会影响狄斯瓦螨的繁殖。对中华蜜蜂 *Apis cerana* Fabricius 和意大利蜜蜂 *Apis mellifera* L. 工蜂和雄蜂封盖幼虫血淋巴中游离氨基酸和与营养有关的微量元素含量进行了比较, 发现其存在明显差异, 并推测这些差异与东方蜜蜂抗螨能力强有关。

关键词 蜜蜂, 狄斯瓦螨, 血淋巴, 游离氨基酸, 微量元素

大蜂螨属于节肢动物门, 蛛型纲, 蜱螨亚纲, 寄螨总目, 中气门目, 皮刺螨总科, 瓦螨科 Varroidae, 瓦螨属 *Varroa*, 靠吸取蜜蜂幼虫和成蜂的血淋巴为食, 是高度特化的外寄生螨类。主要有 2 个种: 雅氏瓦螨 *Varroa jacobsoni* Oudemans 和狄斯瓦螨 *Varroa destructor* (Anderson and Trueman)。目前我国发现的只有狄斯瓦螨的若干基因型, 而没有发现雅氏瓦螨的存在^[1]。

狄斯瓦螨对不同的蜂种的寄生能力有着明

显的差异。在西方蜜蜂 *Apis mellifera* 中狄斯瓦螨寄生造成的危害是毁灭性的, 而在其原始寄主—东方蜜蜂中, 狄斯瓦螨则基本上不构成危害。同时, 大蜂螨对不同职能蜜蜂之间的寄生能力也存在着显著的差异。寄生于东方蜜蜂的大蜂螨只能在封盖雄蜂房中繁殖, 在工蜂房中不育。而

^{*} 国家自然科学基金资助项目(30070581)。

^{**} 通讯作者: E-mail: ztapis@263.net

收稿日期: 2006-12-24, 修回日期: 2007-02-02

寄生于西方蜜蜂的大蜂螨在西方蜜蜂的雄蜂房和工蜂房都可以繁殖且繁殖率相近^[2]。

国内外对于螨寄生差异性特别是东方蜜蜂的抗螨机制做过很多研究。比如:东方蜜蜂的螨在工蜂房不育^[3];东方蜜蜂对成蜂体上寄生螨的清理行为比意蜂 *Apis cerana* 强烈而有效^[4,5];蜜蜂在感知到封盖工蜂房有多个螨寄生时,会采取埋葬的策略^[2];封盖历期不同对螨繁殖的影响^[2];东方蜜蜂对寄生于西方蜜蜂的狄斯瓦螨敏感并引发更加强烈的清理行为^[6-10];蜜蜂巢房大小与巢脾新旧程度都能影响螨的繁殖力^[2,11-13];蜜蜂幼虫和成虫体内的保幼激素含量也会对螨的繁殖能力产生影响^[10,14,15];对蜜蜂幼虫房内的各种化学信息素引起蜜蜂卫生和清理行为,等等^[16-20]。

大蜂螨是寄生性的螨类,其生命活动所需物质都源自其寄主(蜜蜂幼虫或成蜂)的血淋巴,且依赖程度非常高。比如:大蜂螨体内没有蛋白水解酶,直接利用寄主血淋巴蛋白,不需前期消化;也可以利用寄主血淋巴蛋白,使进入卵母细胞,促进卵子发育;螨若虫也直接利用寄主的蛋白^[6,7]。螨孵化时需要寄主血淋巴中的某些成分转化成一种外激素^[21]。Assegid 指出:狄斯瓦螨在繁殖发育时期对寄主幼虫血淋巴的营养成分需求相当高,但是代谢效率十分低下,蜜蜂幼虫 25% 的营养成分被螨利用,所以造成幼蜂出房时翅膀畸形或身体衰弱^[21]。但是,国内外对于蜜蜂血淋巴游离氨基酸和微量元素含量对螨繁殖能力的影响则少见报道。

正因为大蜂螨对寄主血淋巴中营养成分依赖程度相当高,所以我们推测中蜂抗螨、螨在不同蜂幼虫中繁殖能力不同可能与蜂幼虫血淋巴中营养物质含量的差异有关。2002 年张莹报道了意大利蜜蜂(属于西方蜜蜂,简称意蜂)和中华蜜蜂(属于东方蜜蜂,简称中蜂)5 日龄幼虫血淋巴中游离氨基酸和矿物质元素的差异与蜜蜂白垩病发病的关系,发现意蜂血淋巴中各物质含量普遍高于中蜂,并证实这是意蜂比中蜂更容易感染蜜蜂白垩病的原因^[21]。鉴于以上情况,我们对中蜂和意蜂的工蜂和雄蜂血淋

巴中游离氨基酸和与营养发育有关的矿物质元素进行了测定和分析,以期丰富中蜂抗螨机制研究学说并作为研究大蜂螨发育繁殖生化机理的基础。

1 材料及方法

1.1 蜜蜂幼虫血淋巴的采集

分别取中蜂(采自北京房山和安徽黄山)及意蜂(采自本研究室实验蜂场)的工蜂和雄蜂刚封盖时的幼虫血淋巴(每种幼虫约 100 头,采集血淋巴 1.2 mL),方法参考张莹^[21]。为防止氧化,血淋巴中加入少量苯基硫脲,操作在冰浴下进行,并于 -70℃ 保存。置于保温冰桶中送检。

1.2 游离氨基酸含量的测定

样品的测定由北京大学医学部医药卫生分析中心完成。

仪器:835-50 型全自动氨基酸分析仪(日本日立公司)。

游离氨基酸由磺基水杨酸法测定。

1.3 营养性微量元素含量测定

样品的测定由北京大学公共卫生学院中心仪器室完成。

样品中钾、钠、镁、铁、磷和钙元素含量较高,使用等离子体发射光谱法(AES)测定。样品中锰、铜、锌、硒元素含量较低,为保证精度,使用等离子体质谱法(ICP-MS)进行测定。

等离子体发射光谱仪:型号 SPS 8000(北京精工—科创海光有限公司)。

等离子体质谱仪:型号 ELAN DRCII(美国 Perkin Elmer 公司)。

2 结果与分析

大蜂螨进入蜜蜂幼虫巢房,在封盖 60 h 后开始产卵,刚封盖时幼虫血淋巴成分中可能含有促进卵细胞发育并刺激大蜂螨产卵的成分。所以我们挑选刚封盖 60 h 前的幼虫吸取血淋巴进行分析。

对中蜂及意蜂工蜂与雄蜂封盖幼虫血淋巴游离氨基酸的测定结果如下表 1。

结果显示,中蜂与意蜂的工蜂和雄蜂之间,

表 1 蜜蜂幼虫血淋巴游离氨基酸含量
(单位: $\mu\text{mol/mL}$)

氨基酸名称	中华蜜蜂		意大利蜂	
	工蜂	雄蜂	工蜂	雄蜂
天冬氨酸 ASP	0.688	0.010	0.210	0.077
苏氨酸 THR	13.921	8.582	9.352	7.852
丝氨酸 SER	2.998	1.188	1.597	1.123
谷氨酸 GLU	1.962	0.934	0.726	0.878
甘氨酸 GLY	10.758	5.308	6.414	4.908
丙氨酸 ALA	4.792	3.318	3.097	5.703
缬氨酸 VAL	5.431	2.252	2.868	2.181
蛋氨酸 MET	0.304	0.221	0.169	0.142
异亮氨酸 ILE	1.863	0.698	1.422	0.933
亮氨酸 LEU	2.065	0.666	1.331	0.630
酪氨酸 TYR	1.274	0.873	1.650	1.154
苯丙氨酸 PHE	1.204	0.772	0.584	0.313
赖氨酸 LYS	5.570	2.410	2.852	3.083
组氨酸 HIS	2.286	1.562	1.030	1.018
精氨酸 ARG	4.389	3.142	1.831	1.753
脯氨酸 PRO	42.283	10.485	26.104	27.06
总量	101.788	42.421	61.237	58.508

血淋巴所含氨基酸种类相同,但含量差异极大。中蜂工蜂幼虫血淋巴中各种氨基酸含量及总量远远大于其它 3 种幼虫,其它 3 种幼虫血淋巴中氨基酸的含量互有高低,总量相差不大。(如图 1)

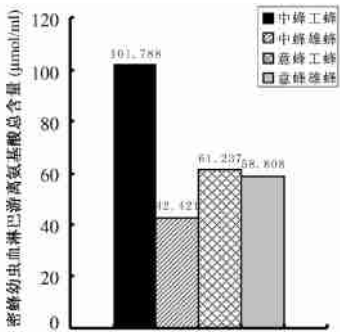


图 1 蜜蜂幼虫血淋巴游离氨基酸总量比较

对中蜂及意蜂的工蜂及雄蜂封盖幼虫血淋巴营养性矿物质元素含量测定结果如表 2:

对蜜蜂幼虫血淋巴中的 10 种营养性微量元素比较结果显示:中蜂雄蜂幼虫血淋巴中各种元素均高于工蜂幼虫血淋巴,只有钙含量比工蜂幼虫低。意蜂雄蜂的情况与中蜂相似。所以,无论是中蜂或意蜂,雄蜂幼虫元素都比同种工蜂含量丰富,特别是中蜂雄蜂幼虫,大部分元素含量都高于其它 3 种蜂幼虫。这与螨在不同

蜂幼虫寄生的偏好趋势大致相同。

表 2 蜜蜂幼虫血淋巴矿物质含量(单位: $\mu\text{g/g}$)

元素	中华蜜蜂		意大利蜂	
	工蜂	雄蜂	工蜂	雄蜂
Mn	0.094	0.127	0.114	0.048
Cu	0.846	1.500	1.164	1.226
Zn	1.874	2.578	2.396	3.031
Se	0.026	0.028	0.036	0.049
K	1062.81	1281.05	1018.85	901.14
Na	212.09	315.28	190.80	237.09
Mg	190.35	198.86	194.73	209.3
Fe	9.79	15.81	1.11	7.66
P	1057.85	1231.95	994.57	1089.77
Ca	217.01	181.31	217.74	209.3

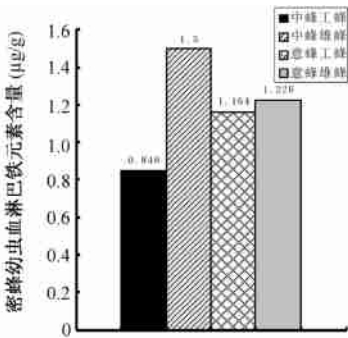


图 2 蜜蜂幼虫血淋巴铜元素含量比较

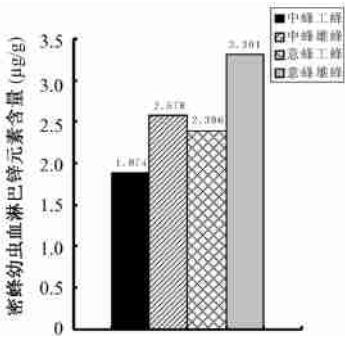


图 3 蜜蜂幼虫血淋巴锌元素含量比较

3 讨论

氨基酸是生物体合成蛋白质的基础物质,具有重要的营养价值。从蜜蜂幼虫血淋巴中游离氨基酸分析的结果来看,似乎中蜂工蜂幼虫血淋巴营养物质更为丰富,更有利于寄生螨的生长、发育和繁殖的需要。但实际情况则正好相反,中蜂的大蜂螨在中蜂工蜂房中不育。我

们推断造成这一现象的原因可能有 2 点: 第一, 有可能血淋巴中游离氨基酸的含量不是影响螨寄生繁殖的关键因子, 并不影响螨的寄生特性; 第二, 也有可能是浓度过高的游离氨基酸对螨的繁殖有直接或间接的抑制作用(比如: 影响螨的嗜口性), 所以造成不育。

关于螨生长、发育和繁殖的生化水平的研究很少, 目前还不能确定具体是哪些微量元素对螨的繁殖起到关键性的作用。在众多微量元素中, 铜在维持动物中枢神经系统功能及妊娠过程、繁殖上起着重要作用。杨冠煌等报道, 意蜂工蜂蛹中铜含量是中蜂工蜂蛹的 2 倍, 所以推测铜含量低可能是中蜂抗螨的原因之一^[9]。由于我们选取的是蜜蜂的封盖幼虫, 和蛹不同, 所以得到的矿物质元素含量与杨冠煌等的结果相差很大, 但是趋势相同, 中蜂的工蜂幼虫血淋巴中铜元素的含量确实明显低于意蜂的工蜂和雄蜂幼虫, 与中蜂的雄蜂幼虫相差更多(图 2), 实验结果倾向杨冠煌等的观点。

另外, 锌元素的含量也有相同的趋势(图 3)。锌是目前发现的功能最多的微量元素之一。动物体缺锌会引起生长受阻, 影响动物繁殖能力和机体免疫力。所以, 寄生于中蜂的狄斯瓦螨在工蜂房中不育也可能与中蜂幼虫锌含量低有关。

总之, 由于蜜蜂对螨的抗性是多因子作用的结果, 包括行为、环境、遗传、及生理生化指标的影响, 所以从结果可以看出(表 3), 大蜂螨的寄生繁殖能力与不同蜂种不同职能蜂幼虫血淋巴营养物质含量之间并没有绝对严格的对应关系, 但是仍具有一定的相关性。蜜蜂不同蜂种不同职能蜂的幼虫血淋巴组分相差极大, 而螨

的一切生命活动所需的物质和能量都来源于其寄主的血淋巴, 所以寄主本身血淋巴组分的差异多少会对螨的生命活动产生影响, 但造成影响的关键元素和造成影响的大小还有待进一步研究。

我们的研究还只是一个尝试性的实验, 希望从结果中看到一些大概的趋势, 提出推断和假设, 为进一步对螨生长发育繁殖生化和分子生物学机理的研究打下基础。要得到确切的结论, 还需要针对性更强的实验来证实。

致 谢 感谢福建农林大学张莹博士提供并亲自指导了蜜蜂幼虫血淋巴采集方法, 确保了实验的顺利完成; 感谢本所杨冠煌研究员和安徽省黄山市蜂业协会罗谦泰会长在采样过程中给予的大力支持和热情指导。

参 考 文 献

1 Zhou T., Anderson L. D., Huang Z. Y., Huang S. X., Yao J. *et al. Apidologie*, 2004, **35**(6): 645 ~ 654.

2 周婷. 北京. 中国农业大学博士学位论文, 2004

3 Willem J. B., Nguyen O. T., Pham C. D., Luong V. H., Nguyen V. D., *et al. Bull. of Entomolo. Res.*, 1997, **87**(1): 119 ~ 126

4 Ying-shin P., Yuenzhen F., Shao Y. X., Lisheng G. J. *Invertebr. Pathol.*, 1987, **49**(1): 54 ~ 60.

5 杨冠煌, 林桂莲. 中国养蜂, 2002, **53**(5): 4 ~ 5.

6 Rath W., Drescher W. *Apidologie*, 1990 **21**(4): 311 ~ 321.

7 Tewarson N. C. J. *Invertebr. Rqrad.*, 1982 **5**(4): 345 ~ 348.

8 Tewarson N. C., Engels. W. J. *Apic. Res.*, 1982 **21**(4): 222 ~ 225.

9 Boecking, W. D. *Exper. Appl. Acarol.*, 1992, **16**(4): 321 ~ 329.

10 Rothenkranz P., Tewarson N. C., Singh A., Engles W. J. *Apic. Res.*, 1993, **32**(1): 89 ~ 93.

11 Stephen J. M., Per K. *Apidologie*, 2002, **33**(1): 51 ~ 61.

12 Zhou T., Yao J., Huang S. X., Huang Z. Y. *Am. Bee J.*, 2001, **141**(12): 895 ~ 896

13 Giancarlo A. P., David D. J. *Apidologie*, 2004, **35**(4): 359 ~ 364.

14 Heinz H., Nikolaus K. J. *Insect Physiol.*, 1986, **32**(9): 791 ~ 795.

15 刘艳荷, 陈盛禄. 中国养蜂, 2001, **53**(2): 22 ~ 24.

16 Salvy M. *Parasitology*, 2001, **122**(2): 145 ~ 159.

17 Pia A., Peter R. *Apidologie*, 2001, **32**(3): 253 ~ 263

18 Francesco N., Giorgio D. V., Mauro D' A. *Apidologie*, 2004, **35**(1): 65 ~ 70

19 Norberto M., Giorgio D. V., Francesco N. *Apidologie*, 2004, **35**(3): 265 ~ 273.

20 Francesco N., Norberto M., Giorgio D. V. *Apidologie*, 2004, **35**(4): 403 ~ 410.

21 Definado-baker M., Rath W., Boecking O. *Int. J. Acarol.*, 1992 **18**(4): 315 ~ 322.

22 Assegid G., Enk S., Ingolf L. *Apidologie*, 2004, **35**(4): 419 ~ 430.

23 张莹. 福建, 农林大学硕士学位论文, 2002

表 3 蜜蜂幼虫血淋巴组分含量特征与自然感染大蜂螨繁殖能力的相关比较

	中华蜜蜂		意大利蜂	
	工蜂	雄蜂	工蜂	雄蜂
狄斯瓦螨	不繁殖	繁殖	繁殖	繁殖
蜜蜂血淋巴组分含量特征	游离氨基酸含量 高铜元素含量低 锌元素含量低			