

温室环境对蜜蜂群势、抗氧化酶系和解毒酶系的影响*

马卫华^{1**} 李新宇^{2**} 申晋山¹ 李立新¹ 姜玉锁^{2***}

(1. 山西农业大学(山西省农业科学院), 太原 030031; 2. 山西农业大学动物科技学院, 太谷 030801)

摘要 【目的】为探究蜜蜂在设施环境下的适应能力及其响应, 为设施内授粉蜜蜂的健康饲养管理提供基础数据。【方法】以温室草莓授粉蜂群为研究对象, 采用称重法和照相法对授粉时长 1、15、30 和 60 d 的蜂群群势变化进行监测, 同时采用分光光度法检测蜜蜂体内抗氧化酶系和解毒酶系的活性。【结果】随着授粉时间的延长, 蜂群群势依次为 4、2.625、2.375 和 0.6 脾, 群势显著下降 ($P<0.05$)。抗氧化酶系中, 授粉时长 15、30 和 60 d 的超氧化物歧化酶 (SOD) 酶活性都显著高于 1 d 的 ($P<0.05$)。解毒酶系中, 除乙酰胆碱酯酶 (AChE) 外, 其它 4 种酶活性随着授粉时间的延长活性增强。其中谷胱甘肽-S-转移酶 (GST) 酶活性, 30 d 和 60 d 的酶活性显著高于 1 d 的酶活性 ($P<0.05$)。【结论】温室环境明显影响授粉蜂群的生存和繁殖, 会引起蜜蜂适应环境的体内应激反应。

关键词 温室; 蜜蜂; 群势; 氧化应激; 解毒酶

The effect of the greenhouse environment on the antioxidant and detoxification enzyme systems of honeybee colonies

MA Wei-Hua^{1**} LI Xin-Yu^{2**} SHEN Jin-Shan¹ LI Li-Xin¹ JIANG Yu-Suo^{2***}

(1. Shanxi Agricultural University (Shanxi Academy of Agricultural Sciences), Taiyuan 030031, China;

2. College of Animal Science and Technology, Shanxi Agricultural University, Taigu 030801, China)

Abstract [Objectives] To investigate the adaptability of honeybees, and to provide basic data for the healthy feeding and management of honeybees in greenhouses. [Methods] Colonies in strawberry greenhouses were monitored by recording their weight and photographing combs over periods of 1, 15, 30 and 60 d. Spectrophotometry was used to detect antioxidant enzyme and detoxification enzyme activity in honeybees. [Results] Hives in greenhouses for periods of 1, 15, 30 and 60 d had an average of 4, 2.625, 2.375 and 0.6 combs, respectively. Colony size also decreased significantly as with the duration of time in the greenhouse ($P<0.05$). Of the antioxidant enzymes monitored, superoxide dismutase (SOD) activity was significantly higher at 15 d, 30 d and 60 d than at 1 d ($P<0.05$) and the activity of all detoxifying enzymes except acetylcholinesterase (AChE) increased with the number of days hives were in the greenhouse and the activity of glutathione S-transferase (GST) enzyme was significantly higher at 30 d and 60 d than at 1 d ($P<0.05$). [Conclusion] The greenhouse environment adversely affects the survival and reproduction of honeybees and activates their antioxidant and detoxification enzyme systems.

Key words greenhouse; honeybees; survival; oxidative stress; detoxification enzymes

近年, 我国设施农业得到迅猛发展, 越来越多的果蔬作物得以在温室内栽培, 大大丰富了人

们的餐桌。同时问题也随之而来, 由于温室环境相对独立, 隔绝了外界的授粉昆虫, 导致作物缺

*资助项目 Supported projects: 现代农业产业技术(蜜蜂)体系建设(CARS-44-KXJ23); 山西省农业科学院博士基金(YBSJJ1713); 山西省农科院农业科技创新研究课题(YCX2018203)

**共同第一作者 Co-first authors, E-mail: mawh1997@163.com; lixinyu0019@163.com

***通讯作者 Corresponding author, E-mail: Jiangys-001@163.com

收稿日期 Received: 2019-06-24; 接受日期 Accepted: 2020-01-05

少授粉媒介, 直接影响作物的结实率、果实品质等(国占宝, 2007)。利用蜜蜂为设施作物授粉, 不仅可以降低人工辅助授粉的费用, 而且可大幅度提高坐果率和产量(罗术东等, 2015; 施金虎等, 2016)。

温室环境相对独立, 具有昼夜温差大、湿度大, 空气质量不好, 蜜粉源不足, 空间狭小的特点, 授粉蜂群容易出现卵、虫发育不良和蛹不能正常羽化的现象, 不利于蜜蜂的生存和繁育, 蜂群损耗大(江天宝, 2004), 尤其对于长花期的作物。温度是影响昆虫生长、发育、生殖及存活等生命活动最重要的因素。温度不仅影响蜜蜂个体的活动还对蜂群的繁殖和发展有重要影响, 当外界环境温度超过一定限度时, 昆虫的生命活动即会受到严重的影响(Koo *et al.*, 2015; Simone-Finsrom *et al.*, 2016)。高温环境会影响采集蜂的采集积极性, 降低蜜蜂的授粉效率(Al-Qarni, 2006; Blazyte-Cereskiene *et al.*, 2010)。另一方面, 相对湿度对于蜂群内幼虫的孵育有重要的意义(Human *et al.*, 2006), 相对湿度 75%被认为是合适的幼虫孵育湿度(Ellic *et al.*, 2008)。因此, 温度和相对湿度的稳定对蜜蜂的活动非常重要。温室内, 作物花的数量、泌蜜量、花粉量通常不如外界环境丰富, 蜜粉源条件较差, 花粉量不能满足蜂群的需要, 长期缺少花粉, 幼虫和蛹将发育不良。蜜粉源缺乏, 对蜜蜂生存和繁殖的影响是致命的(王改英等, 2011; 余玉生等, 2018)。而且, 温室空间狭小, 制约着蜜蜂的采集活动, 还容易造成蜜蜂冲撞棚壁而死亡; 通风条件较差, 空气中混杂着肥料、药物挥发的气体, 导致温室内空气质量较差, 容易造成蜜蜂不出勤甚至死亡。

昆虫在一些恶劣的环境条件下会经历氧化应激并产生代谢废物, 导致细胞膜结构破坏和细胞死亡(杜尧等, 2007)。在漫长的进化过程中, 昆虫已经形成了一套生理机制来应对不利的环境压力(夹福先, 2012)。温度胁迫可以诱导昆虫的氧化应激, 其抗氧化反应对氧化应激起主要作用(Wu *et al.*, 2011)。蜜蜂的抗氧化酶系统, 主要由超氧化物歧化酶(SOD), 过氧化氢酶(CAT)和过氧化物酶(POD)组成。此外, 谷

胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)和谷胱甘肽还原酶(GSR)也可以去除过氧化物(Yang *et al.*, 2010; Kim *et al.*, 2011)。解毒酶在昆虫的生化防御系统中起着至关重要的作用, 蜜蜂主要的解毒酶有 DDT-脱氯化氢酶(DDTase), 谷胱甘肽-S-转移酶(GST), 羧酸酯酶(CES), 细胞色素 P450(CYP450P)和乙酰胆碱酯酶(AChE)(李周直等, 1994)。抗氧化酶系统可有效消除体内活性氧, 解毒酶系统有助于抵御外部代谢毒物和有害物质的损害。这些系统在正常条件下处于平衡状态, 然而, 特殊环境压力会破坏这种平衡, 导致细胞损伤甚至死亡(Kim *et al.*, 2011)。

外界不利环境对蜜蜂影响的研究较多, 但在相对封闭独立的温室环境下, 对于蜜蜂的生存繁殖以及体内抗氧化酶系和解毒酶系一系列生理生化变化的相关研究鲜见报道。以温室长花期作物草莓授粉蜂群为研究对象, 我们进行了 1、15、30 和 60 d 不同授粉时长的蜂群群势变化监测、蜜蜂体内抗氧化酶系和解毒酶系的活性检测, 探究温室环境对授粉蜂群健康的影响, 旨在为蜜蜂对设施环境的适应能力以及其适应机制提供理论基础, 为应用蜜蜂为设施作物授粉以及设施内蜜蜂的饲养管理提供技术资料。

1 材料与方法

1.1 试验样地

实验于 2017 年 12 月至 2018 年 3 月在位于山西省交城县宏禾园进行。温室类型为 PC 板节能日光温室, 温室顶部加盖一层复合保温被, 共选择 4 个相同的温室。

1.2 供试材料

供试作物为草莓, 采用高畦栽培方式, 生长过程中采用常规的施肥和田间管理方法。

授粉蜜蜂为意大利蜜蜂 *Apis mellifera ligustica*, 每个温室 1 箱, 每箱 5 框 4 脾足蜂, 由附近蜂场提供。

1.3 蜂群群势变化情况

我们分别在蜂群进入温室内的第 1 天(1 d)

和第 60 天 (60 d) 对蜂箱 (包括箱重、蜜蜂、蜂脾) 进行称重, 同时统计蜂群进入温室 1、15、30 和 60 d 的箱内蜜蜂数量。

1.4 抗氧化酶活性和解毒酶活性测定

1.4.1 酶液的制备 自授粉蜂群中采集 1、15、30 和 60 d 的蜜蜂, 每群 200 只。每个处理取 10 只蜜蜂, 用液氮研磨后, 向该混合物中加入 PBS (pH=7.4) 充分混合至 10 mL。然后将混合物在 2 000-3 000 r/min 下离心约 20 min, 取上清液作为酶提取液。每 10 只蜜蜂为一个重复, 3 次重复。

1.4.2 蛋白质含量测定 采用 BCA 法 (Smith *et al.*, 1985) 对上述酶液进行总蛋白含量的测定。

1.4.3 抗氧化酶活性和解毒酶活性测定 按照江莱生物提供的试剂盒说明书进行测定 4 组蜜蜂体内的 5 种抗氧化酶超氧化物歧化酶 (SOD)、过氧化氢酶 (CAT)、过氧化物酶 (POD)、谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-Px)、谷胱甘肽还原酶 (GSR) 和 5 种解毒酶 DDT 脱氯化氢酶 (DDTase)、谷胱甘肽-S-转移酶 (GST)、羧酸酯酶 (CES)、细胞色素 P450 (CYP450)、乙酰

胆碱酯酶 (AChE) 的活性。

1.5 统计分析

实验结果以平均值±标准误 (Mean±SE) 表示。数据的统计采用 SPSS 17.0 软件的 Means 和 ANOVA 中的 Duncan 氏法进行分析和显著性检验; 利用 GraphPad Prism 5 软件制作文中的图形。

2 结果与分析

2.1 温室环境下蜂群群势变化

授粉蜂群蜜蜂数量随授粉时间的变化见图 1 (A)。在蜂群刚进入温室 1 d 时, 每箱蜜蜂均有 4 脾足蜂, 随着授粉时间和天数的增加蜜蜂数量逐减减少, 刚进入温室的蜂群数量与 15、30 和 60 d 均存在极显著差异 ($P<0.05$), 15 d 和 30 d 的蜜蜂数量没有显著差异, 与 60 d 存在极显著差异 ($P<0.05$)。

蜂群进入温室 1 d 和 60 d 的蜂箱重量变化情况见图 1 (B), 结果显示 60 d 后箱重显著降低 ($P<0.05$), 表明蜂群内储存的蜂粮不足, 蜂群下降。

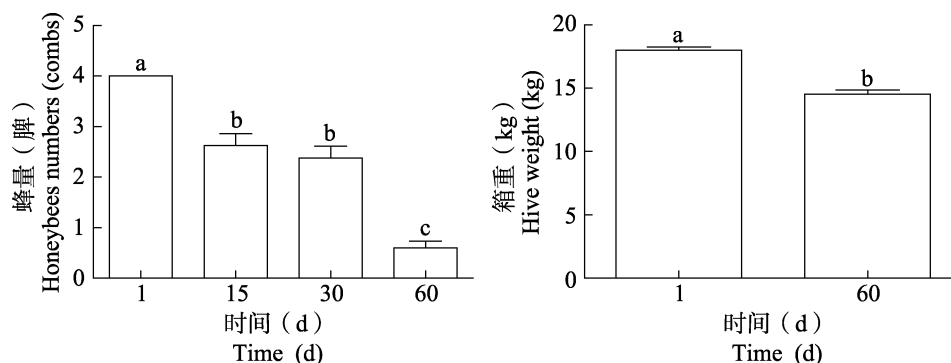


图 1 蜂群群势变化

Fig. 1 Changes in population colonies after colony enters the greenhouse

A. 蜂群群势随授粉时间的动态变化; B. 箱重随授粉时间的变化。

A. The dynamic changes of bee population with pollination time; B. The hive weight changes with pollination time. Data are mean±SE. Histograms with different lowercase letters indicate significant difference at the 0.05 level by Duncan's test. The same below.

2.2 温室环境对蜜蜂体内抗氧化酶活性的影响

结果显示, 随着授粉时间的延长蜜蜂体内多种抗氧化酶活性增强。图 2 (A, B) 显示, 其中以 SOD 最为明显, 15、30、60 d 的酶活性都显

著高于 1 d ($P<0.05$); 而 CAT 的活性也显示了相同的结果, 15、30、60 d 的酶活性都高于 1 d, 但差异不显著 ($P>0.05$)。图 2 (C-E) 显示, 对于 POD、GSH-Px、GSR, 它们的结果相似, 15 d 和 30 d 的酶活性都高于 1 d 和 60 d, 但只有 POD

差异显著 ($P < 0.05$), 而 GSH-Px 和 GSR 差异不显著 ($P > 0.05$)。

2.3 温室环境对蜜蜂体内解毒酶活性的影响

蜜蜂体内 5 种解毒酶的活性见图 3, 结果

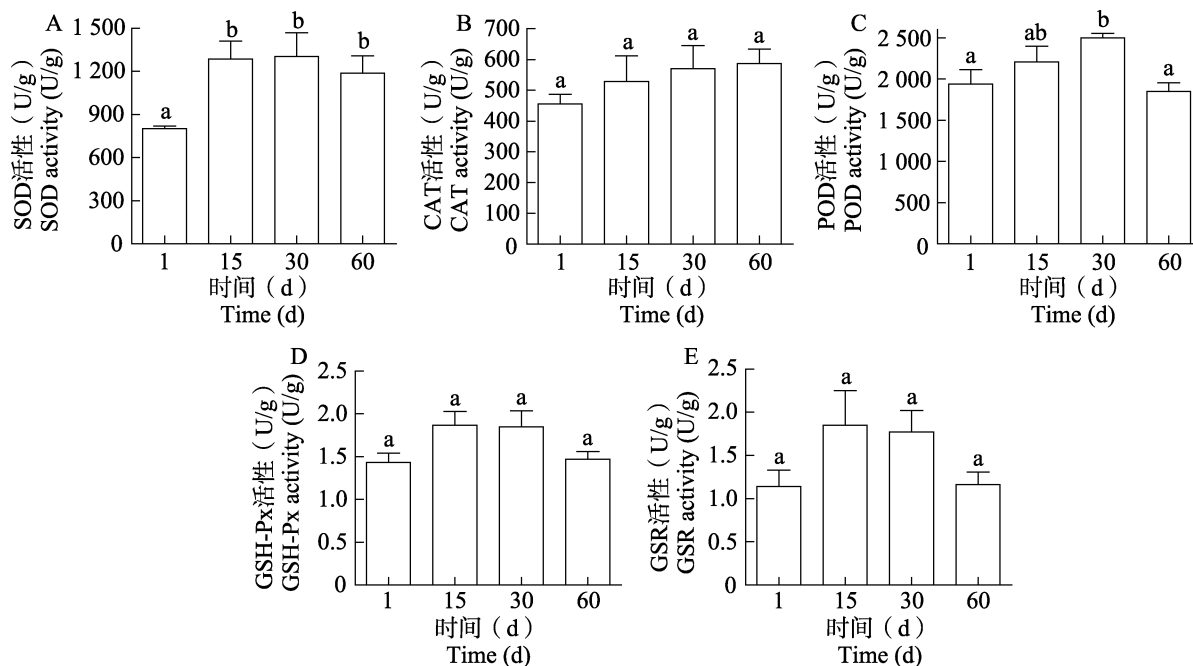


图 2 不同授粉时间蜜蜂体内抗氧化酶活性

Fig. 2 Antioxidant enzymes activity of bees at different pollinating times

A. SOD 活性; B. CAT 活性; C. POD 活性; D. GSH-Px 活性; E. GSR 活性。

A. SOD activity; B. CAT activity; C. POD activity; D. GSH-Px activity; E. GSR activity.

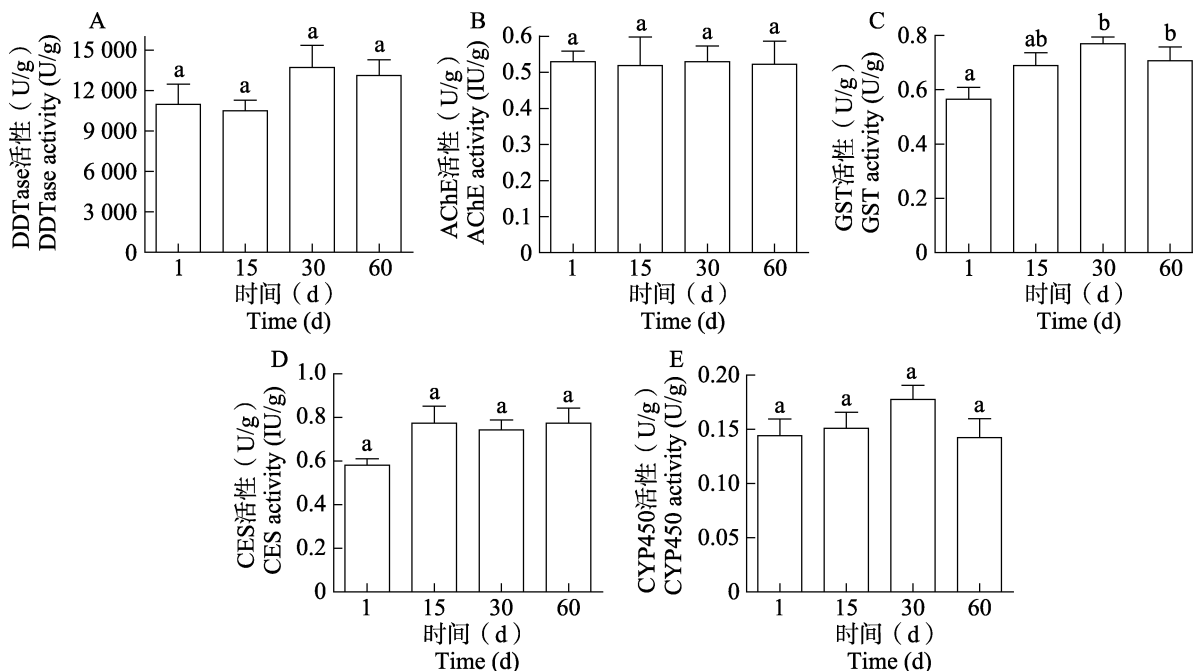


图 3 不同授粉时间蜜蜂体内解毒酶活性

Fig. 3 Detoxification enzymes activity of bees at different pollinating times

A. DDT 活性; B. AChE 活性; C. GST 活性; D. CES 活性; E. CYP450 活性。

A. DDT activity; B. AChE activity; C. GST activity; D. CES activity; E. CYP450 activity.

表明,除 AChE 外,其他 4 种酶活性随着授粉时间的延长活性增强。GST、CES 和 CYP450 3 种酶在授粉 15、30、60 d 的酶活性都高于 1 d,其中 GST 30 d、60 d 的酶活性显著高于 1 d ($P<0.05$),其他 2 种酶各组之间差异不显著 ($P>0.05$);而对于 DDTase,授粉时间 30 d 和 60 d 的酶活性高于 1 d 和 15 d,但各组之间差异不显著 ($P>0.05$)。

3 讨论

授粉蜂群在温室作物授粉过程中群势呈下降趋势,受到温室内温湿度、光照、食物、管理等多方面的环境因子的影响 (Meng and Tian, 2005; Guo, 2007; Zhang *et al.*, 2015; Liu, 2017)。在诸多影响蜜蜂生存的因素中,温度和相对湿度对蜜蜂的影响尤为重要,蜜蜂的一切活动都受这些因素的影响。尤其是温度,它对蜜蜂个体的活动和蜂群的发展有重要影响,维持一个相对合适的温度范围对于蜂群的健康至关重要 (Groh *et al.*, 2006)。极端的温湿度会影响卵的存活 (周冰峰等, 2002; 陈琳等, 2017)、幼虫孵化、发育畸形、降低成蜂的学习能力、增加蜜蜂对病菌的感染 (Doulli, 1976; Tautz *et al.*, 2003; Human *et al.*, 2006)、对采集蜂的觅食活动有很大的负面影响 (Al-Qarni, 2006; Blazyte-Cereskiene *et al.*, 2010)。此外,成蜂的食物组成主要是花蜜和花粉,花蜜提供能量,花粉则是蜜蜂蛋白质的唯一来源。蜜粉源的不足会抑制蜂王的产卵,从而限制了蜂群的发展壮大,使蜂群群势下降 (Roulston and Cane, 2002; Hoover *et al.*, 2006; Mattil and Otis, 2007; Wang *et al.*, 2016)。

蜂群群势和箱重的试验结果可以看出,蜂群在刚进入温室时群势较强,随着时间推移,群势下降明显,60 d 后的群势甚至不足原来的 1/4,而 15 d 和 30 d 群势相对稳定,60 d 下降严重。经过 30 d 老蜂大多死亡,卵不能全部孵化,老蜂和新蜂无法接替,导致蜂群群势下降严重。温室内的温湿度白天呈现高温低湿度、夜间呈现低温高湿度的情况;而且温室相对封闭的环境,把蜜蜂限制在一个较狭小的空间,加之温室

内蜜粉源较缺乏,蜜蜂长时间生活在温室内会造成蜂群饲料短缺,蜂王产卵受限,进而严重影响蜂群群势的发展。因此温室环境对蜜蜂的生存和繁殖有负面影响。这些结果与相关文献报道相吻合 (江天宝, 2004; 张瑞等, 2015; 刘守礼, 2017) 不利的外界环境会影响对蜜蜂的生存和繁育,因而蜜蜂在漫长的进化过程中,自身进化出了一系列应对机制来抵御严苛的外部环境 (Hoffmann *et al.*, 2003)。高温湿胁迫时蜜蜂通过水分的蒸发、扇风等行为使巢内的温、湿度维持在相对稳定和适宜的范围 (Abou-Shaara *et al.*, 2017)。另一方面不利的外界环境会使机体产生一系列的应激反应。在应激过程中,昆虫体内会积累大量的乳酸、含氮废物等有毒代谢物质并产生自由基,因此昆虫在长期适应环境的进化过程中形成了相应的保护酶系统 (李周直等, 1994),包括抗氧化酶系和解毒系,这些酶系统在昆虫的生化防御系统中起着至关重要的作用,从而在一定程度上消除对细胞的毒性作用 (杜尧等, 2007; 夹福先, 2012; Torson *et al.*, 2017)。同样,蜜蜂的抗氧化酶系和解毒酶系也能有效抵御氧化应激和外部代谢毒物和有害物质对蜜蜂的损害。

随着进入温室时间的延长,本研究结果显示蜜蜂体内 5 种抗氧化酶活性均增高,尤其是 SOD 有显著增高。SOD 是生物体内最重要的一种抗氧化酶,是生物体内的一种重要氧自由基清除剂 (Felton and Summers, 1995; 刘井兰等, 2006)。这表明温室环境诱导了蜜蜂体内 SOD 活性的升高,以便分解超氧自由基,保护机体免受活性氧的伤害,同样的情况在桔小实蝇的相关研究中也有发现 (夹福先, 2012)。POD 能清除昆虫体内的过氧化氢 (H_2O_2),是昆虫体内重要的保护酶,对昆虫的新陈代谢具有重要作用。本研究发现,蜜蜂体内 POD 活性在温室内 15 d、30 d 均显著高于对照组。温室环境下蜜蜂体内多种抗氧化酶活性均不同程度地升高,这可能是为了避免细胞受损而在生理上做出的适应性改变。上述结果表明,蜜蜂体内的多种抗氧化酶协同作用,共同防御新陈代谢产生的活性氧及其过氧化物对细胞造成的伤害。这说明温室内环境会引起蜜蜂的氧化应激,从而对蜜蜂机体造成损伤,甚至减少蜜

蜂寿命。而温室内较高的温湿度和蜜粉源的缺乏很可能就是造成这一现象的原因。

解毒酶活性的检测结果与抗氧化酶活性的结果相似。DDTase、GST、CES 和 CYP450 的酶活性均随授粉时间的延长活性发生变化,但各组之间差异不明显。上述结果表明,蜜蜂体内的多种解毒酶可以对温室内的不良环境做出应答,共同防御新陈代谢产生的有毒代谢物质。但从结果可以看出,温室内环境对蜜蜂的影响是相对缓和的,这样的环境可能不会造成蜜蜂短时急性死亡,但长时间生活这样的环境下也会对蜜蜂的机体造成损害。

温室内环境对授粉蜂群的生存和繁殖有较大影响,导致蜂群群势大幅下降,进而作物授粉也会受到影响。蜜蜂授粉作为设施农业的重要配套技术,因此在授粉过程中对蜂群因进行适当的保温和控湿,同时做好蜂群的管理(及时检查和饲喂)等措施减少蜂群损失,保障授粉任务完成。

参考文献 (References)

- Abou-Shaara HF, Owayss AA, Ibrahim YY, Basuny NK, 2017. A review of impacts of temperature and relative humidity on various activities of honey bees. *Insectes Sociaux*, 64(4): 455–463.
- Al-Qarni AS, 2006. Tolerance of summer temperature in imported and indigenous honeybee *Apis mellifera* L. races in central Saudi Arabia. *Saudi Journal of Biological Science*, 13(2): 123–127.
- Blazyte-Cereskiene L, Vaitkeviciene G, Venskutonyte S, Buda V, 2010. Honey bee foraging in spring oil seed rape crops under high ambient temperature conditions. *Zemdirbyste-Agriculture*, 97(1): 61–70.
- Chen L, Xu XJ, Zhou XJ, Zhou SJ, Wang Q, Hao ZB, Zhou BF, 2017. Effects of low temperature on hatching rate and developmental duration of fertilized eggs of honeybees (*Apis mellifera ligustica*). *Journal of Environmental Entomology*, 39(1): 111–117. [陈琳, 徐新建, 朱翔杰, 周妹婧, 王青, 郝振帮, 周冰峰, 2017. 低温胁迫对意大利蜜蜂受精卵的孵化率和发育历期的影响. 环境昆虫学报, 39(1): 111–117.]
- Doulli KM, 1976. The effects of different humidities on the hatching of the eggs of honeybees. *Apidologie*, 7(1): 61–66.
- Du Y, Ma CS, Zhao QH, Ma G, Yang HP, 2007. Effects of heat stress on physiological and biochemical mechanisms of insects: A literature review. *Acta Ecological Sinica*, 27(4): 1565–1572. [杜尧, 马春森, 赵清华, 马罡, 杨和平, 2007. 高温对昆虫影响的生理生化作用机理研究进展. 生态学报, 27(4): 1565–1572.]
- Ellis MB, Nicolson SW, Crewe RM, Dietemann V, 2008. Hygropreference and brood care in the honeybee (*Apis mellifera*). *Journal of Insect Physiology*, 54(12): 1516–1521.
- Felton GW, Summers CB, 1995. Antioxidant systems in insects. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*, 29(2): 187–197.
- Groh C, Ahrens D, Rossler W, 2006. Environment and age-dependent plasticity of synaptic complexes in the mushroom bodies of honeybee queens. *Brain Behavior and Evolution*, 68(1): 1–14.
- Guo ZB, 2007. A brief discussion on pollination management technology in facility agriculture. *Journal of Bee*, 28(6): 18–20. [国占宝, 2007. 浅谈设施农业蜜蜂授粉管理技术. 蜜蜂杂志, 28(6): 18–20.]
- Hoffmann AA, Sørensen JG, Loeschcke V, 2003. Adaptation of *Drosophila* to temperature extremes: Bringing together quantitative and molecular approaches. *Journal of Thermal Biology*, 28(3): 175–213.
- Hoover SER, Higo HA, Winston ML, 2006. Worker honey bee ovary development: Seasonal variation and the influence of larval and adult nutrition. *Journal of Comparative Physiology B*, 176(1): 55–63.
- Human H, Nicolson SW, Dietemann V, 2006. Do honeybees, *Apis mellifera* scutellata, regulate humidity in their nest? *Naturwissenschaften*, 93(8): 397–401.
- Jia FX, 2012. Mechanism of resistance to heat stress in *Bactrocera dorsalis*. Doctoral dissertation. Chongqing: Southwest University. [夹福先, 2012. 桔小实蝇抗热胁迫反应的机制研究. 博士学位论文. 重庆: 西南大学.]
- Jiang TB, 2004. Study on the influence of humidity on bee egg development. Master dissertation. Fuzhou: Fujian Agriculture and Forestry University. [江天宝, 2004. 湿度对蜜蜂卵发育影响的研究. 硕士学位论文. 福州: 福建农林大学.]
- Kim RO, Rhee JS, Won EJ, Lee KW, Kang CM, Lee JS, 2011. Ultraviolet B retards growth, induces oxidative stress, and modulates DNA repair-related gene and heat shock protein gene expression in the monogonont rotifer, *Brachionus* sp. *Aquatic Toxicology*, 101(3/4): 529–539.
- Koo J, Son TG, Kim SY, Lee KY, 2015. Differential responses of *Apis mellifera* heat shock protein genes to heat shock, flower-thinning formulations, and imidacloprid. *Journal of Asia-Pacific Entomology*, 18(3): 583–589.
- Li ZZ, Shen HJ, Jiang QG, Ji BZ, 1994. A study on the activity of endogenous enzymes of protective system in some insects. *Acta Entomological Sinica*, 37(4): 399–403. [李周直, 沈惠娟, 蒋巧根, 嵇保中, 1994. 几种昆虫体内保护酶系统活力的研究. 昆虫学报, 37(4): 399–403.]

- Liu JL, Yu JF, Wu JC, Yin JL, Wu DH, 2006. Insect reactive oxygen metabolism. *Chinese Bulletin of Entomology*, 43(6): 752–756. [刘井兰, 于建飞, 吴进才, 印建莉, 吴东浩, 2006. 昆虫活性氧代谢. 昆虫知识, 43(6): 752–756.]
- Liu SL, 2017. Talking about the rejuvenation technology of pollination bee. *Journal of Bee*, 37(12): 23–26. [刘守礼, 2017. 谈蜜蜂授粉群的复壮技术. 蜜蜂杂志, 37(12): 23–26.]
- Luo SD, Wang B, Zhu ZQ, Liu M, Wu J, 2015. Comparison of the pollination effects for pepper between different bees in greenhouse. *Journal of Environmental Entomology*, 37(2): 381–386. [罗术东, 王彪, 褚忠桥, 柳萌, 吴杰, 2015. 不同蜂为设施辣椒授粉的授粉效果比较. 环境昆虫学报, 37(2): 381–386.]
- Mattila HR, Otis GW, 2007. Dwindling pollen resources trigger the transition to broodless populations of long-lived honeybees each autumn. *Ecological Entomology*, 32(5): 496–505.
- Meng FH, Tian GL, 2005. Key factors harmful to bee pollinating in sheltered field and countermeasures. *Deciduous Fruits*, 37(6): 50–51. [孟凡华, 田光利, 2005. 影响设施内蜜蜂授粉的主要因素及对策. 落叶果树, 37(6): 50–51.]
- Roulston TH, Cane JH, 2002. The effect of pollen protein concentration on body size in the sweat bee *Lasioglossum zephyrum* (Hymenoptera: Apiformes). *Evolutionary Ecology*, 16(1): 49–65.
- Shi JH, Su XL, Hua QY, Zhao DX, Bie ZL, 2016. Pollination benefit analysis and technical key points of Chinese honeybee pollination for watermelon. *Apiculture of China*, 67(7): 46–47. [施金虎, 苏晓玲, 华启云, 赵东绪, 别之龙, 2016. 设施西瓜中华蜜蜂授粉效益分析与技术要点. 中国蜂业, 67(7): 46–47.]
- Simone-Finsrom M, Li-Byarlay H, Huang MH, Strand MK, Rueppell O, Tarpy DR, 2016. Migratory management and environmental conditions affect lifespan and oxidative stress in honey bees. *Scientific Reports*, 24(6): 32023.
- Smith PK, Krohn RI, Hermanson GT, Mallia AK, Gartner FH, Provenzano MD, Fujimoto EK, Goeke NM, Olson BJ, Klenk DC, 1985. Measurement of protein using bicinchoninic acid. *Analytical Biochemistry*, 150(1): 76–85.
- Tautz J, Maier S, Groh C, Rossler W, Brockmann A, 2003. Behavioral performance in adult honey bees is influenced by the temperature experienced during their pupal development. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 100(12): 7343–7347.
- Torson AS, Yocum GD, Rinehart JP, Nash SA, Kvidera KM, Bowsher JH, 2017. Physiological responses to fluctuating temperatures are characterized by distinct transcriptional profiles in a solitary bee. *The Journal of Experimental Biology*, 220(18): 3372–3380.
- Yang LH, Huang H, Wang JJ, 2010. Antioxidant responses of citrus red mite, *Panonychus citri* (McGregor) (Acari Tetranychidae), exposed to thermal stress. *Journal of Insect Physiology*, 56(12): 1871–1876.
- Yu YS, Hu ZW, Zhang ZY, Lu HX, 2018. Effects of feeding pollen on ovary development of worker bees. *Journal of Bee*, (9): 4–6. [余玉生, 胡宗文, 张祖芸, 卢焕仙, 2018. 饲喂花粉营养饲料对工蜂卵巢发育的影响. 蜜蜂杂志, (9): 4–6.]
- Wang Y, Ma LT, Zhang WX, Cui XP, Wang HF, Xu BH, 2016. Comparison of the nutrient composition of royal jelly and worker jelly of honey bees (*Apis mellifera*). *Apidologie*, 47(1): 48–56.
- Wang GY, Wu ZF, Yang WR, Xu BH, 2011. Effects of dietary protein levels on hypopharyngeal gland development and royal jelly production of *Apis mellifera* L. *Acta Zoonutrientia Sinica*, 23(7): 1147–1152. [王改英, 吴在富, 杨维仁, 胥保华, 2011. 饲粮蛋白质水平对意大利蜜蜂咽下腺发育及产浆量的影响. 动物营养学报, 23(7): 1147–1152.]
- Wu HH, Liu JY, Zhang R, Zhang JZ, Guo YP, Ma EB, 2011. Biochemical effects of acute phoxim administration on antioxidant system and acetylcholinesterase in *Oxya chinensis* (Thunberg) (Orthoptera: Acrididae). *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 100(1): 23–26.
- Zhang R, Zhu ZQ, Xie H, 2015. The problems of bee pollination for facilities crops. *Apiculture of China*, 66(10): 41–43. [张瑞, 褚忠桥, 谢鹤, 2015. 蜜蜂为设施农作物授粉应该注意的问题. 中国蜂业, 66(10): 41–43.]
- Zhou BF, Lin SH, Xue FQ, Jiang TB, 2002. Effects of temperature on the developments of honeybee oosperms and queen pupae. *Journal of Fujian Agricultural and Forestry University*, 31(4): 511–513. [周冰峰, 林世煌, 苏静, 薛奋勤, 江天宝, 2002. 温度对蜜蜂受精卵和封盖王蛹发育的影响. 福建农林大学学报 (自然科学版), 31(4): 511–513.]