浙江省中华蜜蜂病原现状调查研究*

周珍珍[1, 2**] 董 捷[1] 王德前[1] 谭晓冬[1] 黄敏婕[1***]

（1. 浙江省农业科学院畜牧兽医研究所，杭州 310021；2. 浙江师范大学生命科学学院，金华 321004）

摘 要 **【目的】** 探究浙江省内中华蜜蜂 *Apis cerana cerana*（简称中蜂）的常见疾病流行情况，为蜂农和学者实施疾病预防并改进蜜蜂健康管理提供帮助。**【方法】** 于 2023 年 7-12 月采集浙江省内 11 个饲养点的 74 个中华蜜蜂工蜂蜂群，采用 PCR 及 RT-PCR 方法检测 10 种蜜蜂常见疾病病原在蜂群内的发病比例，分别是 7 种病毒病原：急性麻痹病毒（Acute bee paralysis virus，ABPV）、黑蜂王台病毒（Black queen cell virus，BQCV）、慢性麻痹病毒（Chronic bee paralysis virus，CBPV）、残翅病毒（Deformed wing virus，DWV）、以色列急性麻痹病毒（Israeli acute paralysis virus，IAPV）、克什米尔病毒（Kashmir bee virus，KBV）、中蜂囊状幼虫病毒（Chinese Sacbrood virus，CSBV）；2 种细菌病原：欧洲幼虫腐臭病（European foulbrood，EFB）的病原蜂房球菌 *Melissococcus plutonius*、美洲幼虫腐臭病（American foulbrood，AFB）的病原幼虫芽孢杆菌 *Paenibacillus larvae* 以及 1 种寄生虫病原：微孢子虫（*Nosema* spp.，NOS）。**【结果】** 在中蜂样品中有 DWV、IAPV、KBV、CSBV、NOS 和 EFB 这 6 种病原存在，其中 EFB、NOS、CSBV 和 DWV 的病原检出率较高，EFB 的病原在 11 个市（县）中蜂中检出，且有 8 个市（县）的检出率超过 50%，甚至有 3 个市（县）检出率达 100%，说明其感染能力很强。NOS 在 8 个市（县）中蜂中均有检出，且有 6 个市（县）的检出率超过 50%；CSBV 在 3 个市（县）中蜂中检出，且有 2 个市（县）的感染率超过 60%；有 3 个市（县）中蜂检测出 DWV 阳性，且有 1 个市（县）感染率达 100%；IAPV 和 KBV 偶有检出。并且出现多种混合感染模式（52.71%），其中双重感染模式 EFB 与 NOS 的混合感染最多，达到 35.14%，其次是 CSBV 与 EFB 的混合感染（5.41%），此外还检测出三重感染的情况（5.41%）。**【结论】** 浙江省中华蜜蜂感染 EFB 与 NOS 疾病的比例较高，同时存在一个蜂群感染 2-3 种病原的情况，说明浙江省中蜂蜂群存在一定的生存压力。调查结果对合理定制浙江省中蜂病害防治工作具有重要意义。

关键词 中华蜜蜂；聚合酶链式反应；病原调查；现状

Pathogen status of *Apis cerana cerana* in Zhejiang Province

ZHOU Zhen-Zhen[1, 2**] DONG Jie[1] WANG De-Qian[1] TAN Xiao-Dong[1] HUANG Min-Jie[1***]

(1. Institute of Animal Husbandry and Veterinary Science, Zhejiang Academy of Agricultural Sciences, Hangzhou 310021, China;
2. College of Life Sciences, Zhejiang Normal University, Jinhua 321004, China)

Abstract **[Aim]** To explore the prevalence of common diseases in *Apis cerana cerana* in Zhejiang Province, and thereby provide important information for honey bee health management. **[Methods]** Samples were collected from 74 *A. cerana cerana* worker bee colonies from 11 apiary sites in Zhejiang from July to December 2023 and PCR and RT-PCR used to determine the prevalence of 10 honeybee pathogens. These included seven viral pathogens: Acute bee paralysis virus (ABPV), Black queen cell virus (BQCV), Chronic bee paralysis virus (CBPV), Deformed wing virus (DWV), Israeli acute paralysis virus (IAPV), Kashmir bee virus (KBV), Chinese Sacbrood virus (CSBV). We also screened for two bacterial pathogens: *Melissococcus plutonius*, which causes European foulbrood (EFB) and *Paenibacillus larvae*, which causes American foulbrood (AFB), plus one parasite *Nosema* spp. (NOS). **[Results]** DWV, IAPV, KBV, CSBV, NOS and EFB were detected, of which EFB, NOS, CSBV and DWV were particularly prevalent. EFB was detected in all 11 cities and counties, eight of which had

*资助项目 Supported projects：浙江省农业科学院国际合作项目（2023）；浙江省重点研发项目（2022C02072）；杭州市重点研发项（2020ZDSJ0909）

**第一作者 First author，E-mail：zzhen0729@163.com

***通讯作者 Corresponding author，E-mail：huangmj@zaas.ac.cn

收稿日期 Received：2024-12-20；接受日期 Accepted：2025-04-16

more than 50% infection rates, including three with 100% positive samples. *Nosema* spp. was detected in 8 counties, 6 of which had more than 50% prevalence. CSBV was identified in three counties, two with more than 60% infection rates. DWV positivity was observed in three counties, one of which had a 100% infection rate. IAPV and KBV were sporadically detected, while ABPV, CBPV, BQCV and AFB were absent. Mixed infections were prevalent (52.71%), with EFB-NOS co-infection being most common (35.14%), followed by CSBV-EFB (5.41%). Triple infections accounted for 5.41% of cases. **[Conclusion]** The high prevalence of EFB and NOS infections in *A. cerana cerana* colonies from Zhejiang Province indicates a significant pathogen load on local bee populations. The co-existence of dual or triple pathogen infections further underscores this finding. These results provide essential information for formulating region-specific disease management strategies.

Key words *Apis cerana cerana*; polymerase chain reaction; investigation of pathogens; current situation

蜜蜂是植物传粉的重要媒介，对维持生物多样性和提高农业生产力有至关重要的作用（Siopa *et al.*，2023）。中华蜜蜂 *Apis cerana cerana*（简称中蜂），是我国分布最广的本土蜜蜂品种，除新疆和内蒙古北部外的其余各省（直辖市、自治区）均有分布，具有飞行敏捷、嗅觉灵敏、采蜜期长的特点，善于利用零星蜜源，非常适合中国山区定点饲养（陈兵和骆家宇，2023）。且中华蜜蜂具有十分良好的抗病能力，较西方蜜蜂 *Apis mellifera* 有更强的抗螨、抗病和耐寒特性（Diao *et al.*，2018）。目前我国中华蜜蜂饲养量有 200 多万群，约占全国蜂群总数的 1/3 左右（李斌，2023）。中华蜜蜂作为我国特有的蜜蜂种质资源，对我国农作物授粉产业和农业经济发展有着巨大的促进作用（黄园园，2023）。

然而，自 2006 年蜂群衰竭失调症（Colony collapse disorder，CCD）在美国发现以来，至今已经从北美洲发展到世界各地。当前我国多地野生中华蜜蜂资源已明显下降，在一些地区甚至完全消失（郭新军等，2023）。目前关于引发 CCD 的原因仍在调查中，普遍研究认为是由多种因素协同作用引起的。影响蜜蜂健康的因素主要有生物因素与非生物因素，生物因素包括细菌病、真菌病、病毒病以及寄生虫疾病等，非生物因素则主要有环境因素如农药暴露、气候变化以及人为饲养管理不当等，这些因素可共同导致蜜蜂营养不良、遗传多样性丧失（Evans and Chen，2021）。此外，生物因素中多种病害的协同侵染也会加速蜂群的消亡。

在众多病原体中，蜜蜂病毒尤为突出，通常以隐性感染的形式持续存在，被认为是导致蜂群数量大幅下降的主要原因之一（Chen and Siede，2007）。蜜蜂病毒多为 RNA 病毒，具有种类多、易变异、多因素联合致病以及多寄主寄生能力强等特点，可在同生境条件下通过工蜂的饲喂活动传染给健康的幼虫，进而传播至整个蜂群（王红坤等，2023）。常见的病毒有急性蜜蜂麻痹病毒（Acute bee paralysis virus，ABPV）、黑蜂王台病毒（Black queen cell virus，BQCV）、慢性蜜蜂麻痹病毒（Chronic bee paralysis virus，CBPV）、残翅病毒（Deformed wing virus，DWV）、以色列急性麻痹病毒（Israeli acute paralysis virus，IAPV）、克什米尔蜜蜂病毒（Kashmir bee virus，KBV）和中蜂囊状幼虫病毒（Chinese Sacbrood virus，CSBV）。

此外，细菌性疾病也是蜜蜂常见的传染性病害，如欧洲幼虫腐臭病（European foulbrood，EFB）和美洲幼虫腐臭病（American foulbrood，AFB）。尽管中华蜜蜂的抗蜂螨能力强，但仍经常受到寄生虫疾病微孢子虫病（*Nosema* spp.，NOS）的威胁，其病原包括西方蜜蜂微孢子虫 *Nosema apis* 和东方蜜蜂微孢子虫 *Nosema ceranae*，两者均可侵染东方蜜蜂 *Apis cerana* 和西方蜜蜂（Guerrero-Molina *et al.*，2016），这种疾病会破坏蜜蜂的中肠组织，影响其营养吸收和免疫功能。

浙江省作为全国的养蜂大省，蜂蜜产量位居全国前三，占全国的 10%以上，拥有大量冬季转地回省饲养的意大利蜜蜂 *Apis mellifera ligustica* 和常年定地饲养的中华蜜蜂。2021 年全省蜜蜂养殖量达到 155.5 万箱，其中西方蜜蜂 91.5 万箱，中华蜜蜂 64.0 万箱，是我国蜂产品生产的主力军（毛小报等，2023）。然而，目前浙江省中蜂主要病原流行情况不明，具体现状亟待调查。本

文拟通过调查浙江省中华蜜蜂的主要病害情况，评估中蜂 CCD 发生的潜在风险，为制定合理的中蜂蜂群健康保护方案提供科学依据，进而提升浙江省蜜蜂生产的生物安全水平。

1　材料与方法

1.1　试验材料

1.1.1　样品采集　于 2023 年 7-12 月在浙江省内 11 个县市的蜜蜂养殖区采集蜜蜂样本，每群蜂取工蜂 20-50 头，一共采集了 74 个蜂群，采集信息见表 1，将采集完的蜜蜂用液氮迅速冷冻后，放置于 - 80 ℃冰箱中短期保存或直接进行下一步操作。

1.1.2　主要试剂　总 RNA 提取试剂盒（YR201-G10）和核酸提取试剂（Y202-G10）购自济凡生物科技（常州）有限公司；反转录试剂盒（PrimeScript™ 1st Strand cDNA Synthesis Kit 6110A）和 T 载体克隆试剂盒（pMD™ 19-T Vector Cloning Kit）均为宝生物工程（大连）有限公司产品；2×Hieff ® PCR Master Mix 和 DNA marker 等 PCR 反应试剂均购自翌圣生物科技（上海）股份有限公司；琼脂糖凝胶 DNA 回收试剂盒（D1200-50）购自北京索莱宝科技有限公司。

1.1.3　引物检测　本试验所用引物均由上海生工生物股份有限公司合成。并用 RNase-free H_2O 溶解至浓度为 10 μmol/L，- 20 ℃保存备用，具体引物信息见表 2。

表 1　浙江省 11 个县市采集中华蜜蜂信息

Table 1　Information of *Apis cerana cerana* collected from 11 counties and cities in Zhejiang Province

地点及缩写 Location and abbreviations	经纬度 Longitude and latitude	蜂群数量 Number of colonies
温州永嘉（YJ）Yongjia, Wenzhou (YJ)	28°07′73″ N，120°64′01″ E	11
杭州富阳（FY）Fuyang, Hangzhou (FY)	29° 98′01″ N，119°68′50″ E	9
湖州长兴（CX）Changxing, Huzhou (CX)	30° 85′65″ N，119°76′85″ E	13
温州瑞安（FZ）Rui'an, Wenzhou (FZ)	27° 94′68″ N，120°35′26″ E	6
金华金东（JH）Jindong, Jinhua (JH)	29° 27′24″ N，119°87′46″ E	5
金华义乌（YW）Yiwu, Jinhua (YW)	29° 29′20″ N，120°11′50″ E	5
金华武义（WY）Wuyi, Jinhua (WY)	28° 75′89″ N，119°76′36″ E	5
衢州开化（KH）Kaihua, Quzhou (KH)	29°18′51″ N，118°40′78″ E	5
衢州常山（CS）Changshan, Quzhou (CS)	28°94′85″ N，118°40′36″ E	5
衢州江山（JS）Jiangshan, Quzhou (JS)	28°65′00″ N，118°69′09″ E	5
台州天台（TZ）Tiantai,Taizhou (TZ)	29°19′08″ N，120°94′27″ E	5

表 2　10 种蜜蜂疾病原检测的引物信息

Table 2　Primer information for the detection of ten bee pathogens

引物名称 Primer name	引物序列（5′-3′）Primer sequence (5′-3′)	用途 Usage	大小（bp）Size (bp)	退火温度（℃）Annealing temperature (℃)	文献 Reference
ABPV-F	TTATGTGTCCAGAGACTGTATCCA	RT-PCR	900	60	Benjeddou *et al.*, 2001
ABPV-R	GCTCCTATTGCTCGGTTTTTCGGT				
BQCV-F	TGGTCAGCTCCCACTACCTTAAAC	RT-PCR	700	60	Benjeddou *et al.*, 2001
BQCV-R	GCAACAAGAAGAAACGTAAACCAC				
CBPV-F	AGTTGTCATGGTTAACAGGATACGAG	RT-PCR	455	55	Ribière *et al.*, 2002
CBPV-R	TCTAATCTTAGCACGAAAGCCGAG				
DWV-F	ATCAGCGCTTAGTGGAGGAA	RT-PCR	702	55	Chen *et al.*, 2004
DWV-R	TCGACAATTTTCGGACATCA				
IAPV-F	GGTCCAAACCTCGAAATCAA	RT-PCR	840	55	Palacios *et al.*, 2008
IAPV-R	TTGGTCCGGATGTTAATGGT				

续表 2 (Table 2 continued)

引物名称 Primer name	引物序列（5′-3′） Primer sequence (5′-3′)	用途 Usage	大小（bp） Size (bp)	退火温度（℃） Annealing temperature (℃)	文献 Reference
KBV-F	GATGAACGTCGACCTATTGA	RT-PCR	417	57	Stoltz *et al.*，2015
KBV-R	TGTGGGTTGGCTATGAGTCA				
CSBV-F	ACAAGAACGTCCACTACACCG	RT-PCR	500	56	王德前等，2021
CSBV-R	GGCGCACACTTAGCGTGAGTT				
NOS-F	GGCAGTGTGGGAAGTAACA	PCR	208	55	Chen *et al.*，2008
NOS-R	GGTCGTCACATTTCATCTCT				
EFB-F	GAAGAGGAGTTAAAAGGCGC	PCR	812	55	Govan *et al.*，1998
EFB-R	TTATCTCTAAGGCGTTCAAAGG				
AFB-F	CTAATACATGCAAGTCGAGCGGA	PCR	130	56	何晓杰等，2015
AFB-R	GGTATTAGCTCACGTTTCCGCA				

NOS 的引物是在西方蜜蜂微孢子虫 *Nosema apis* 和东方蜜蜂微孢子虫 *Nosema ceranae* 的保守区域设计的一组通用引物。
The NOS primers were designed as a set of universal primers in the conserved regions of *Nosema apis* and *Nosema ceranae*.

1.2 试验方法

1.2.1 样品 RNA 和 DNA 提取 选取采集的蜂群样本，每群蜂随机选取 20 头，将其用液氮研磨成粉末，分别称取 10 mg 用于提取 RNA 和 DNA。按照总 RNA 提取试剂盒（YR201-G10）说明方法，使用济凡 32 通道全自动核酸提取纯化仪（Purifier 32）从 400 μL 混合液中自动提取 50 μL 总 RNA；按照核酸提取试剂（Y202-G10）说明方法，使用 32 通道自动核酸提取仪从 500 μL 混合液中自动提取 90 μL 总 DNA。使用 Cytiva 分光光度计（NanoVue）检测每个样品的 DNA 和 RNA 浓度，并保留 A260/A280 比值在 1.9-2.1 的纯度较高的样品数据，随后保存在 - 80 ℃冰箱中备用。

1.2.2 RNA 逆转录 按照反转录试剂盒说明书，将提取的总 RNA 反转录成第一链 cDNA，体系如下：RNA 模板 1 μL，Random 6 mers 1 μL，dNTP Mix 1 μL，RNase Free dH_2O 补足至 10 μL，65 ℃，5 min 后，将上述变性后反应液 10 μL 与 5×PrimeScript Buffer 4 μL，RNase Inhibitor 0.5 μL，PrimeScript RTase1 μL，RNase Free dH_2O 补足至 20 μL 后缓慢混匀，30 ℃ 10 min，42 ℃，60 min，4 个循环后 95 ℃，5 min，5 个循环，得到 20 μL cDNA。

1.2.3 病原检测 将反转录后的 cDNA 和提取的 DNA 进行 RT-PCR 和 PCR 反应，以测定蜜蜂样品中每种病原体的丰度。cDNA 用于分析 7 种病毒病，DNA 用于分析微孢子虫病和 2 种细菌病。根据 10 种不同的病原引物（表 2），采用不同的扩增体系进行扩增反应：

ABPV、BQCV、CBPV、DWV、IAPV、KBV 和 CSBV：25 μL RT-PCR 反应体系：第一链 cDNA 模板 1 μL，上、下游引物各 1 μL，2×Hieff® PCR Master Mix 12.5 μL。反应条件：94 ℃，预变性 5 min；94 ℃，变性 30 s；按表 2 不同的退火温度退火 30 s；72 ℃，延伸 60 s；共 35 个循环；最后 72 ℃延伸 10 min。

NOS、EFB 和 AFB：25 μL PCR 反应体系：DNA 模板 1 μL，上、下游引物各 1 μL，2×Hieff® PCR Master Mix 12.5 μL。反应条件：94 ℃，预变性 5 min；94 ℃，变性 30 s；按表 2 不同的退火温度退火 30 s；72 ℃，延伸 60 s；共 35 个循环；最后 72℃延伸 10 min。

1.2.4 电泳检测及测序 扩增结束后，使用 1.5%的琼脂糖凝胶电泳对产物进行检测，电泳结束后，根据琼脂糖凝胶 DNA 回收试剂盒（D1200-50）对目标条带进行切胶回收，再根据 T 载体克隆试剂盒将 RT-PCR 回收产物与 pMD19-T 载体进行连接转化。将其送至上海生工生物股份有限公司进行测序，测序结果通过 NCBI 的 Blast 程序与参考基因组进行比对，确认蜂群内疾病检出情况。

1.3　数据分析

利用 Excel 2021 软件统计 74 份样品的病原检出率，并按照疾病类型统计分析在不同县市中的病原检出率。

2　结果与分析

2.1　中华蜜蜂病原调查电泳结果

对提取的样品总 RNA 和 DNA 的质量进行定性和定量评定，从而判断提取的 RNA 和 DNA 是否符合进一步试验的要求。检测结果显示样品中出现 DWV、IAPV、KBV、CSBV、NOS 和 EFB 这 6 种蜜蜂病原阳性，其特异性引物对在目标位置附近出现且仅出现 1 个条带，且条带大小与表 2 中目的片段大小一致，图 1（A-F）为 11 个饲养点蜂群中检出病毒病原阳性的电泳图，图 2（A-H）为 11 个饲养点蜂群中检出寄生虫疾病和细菌性疾病病原阳性的电泳图。

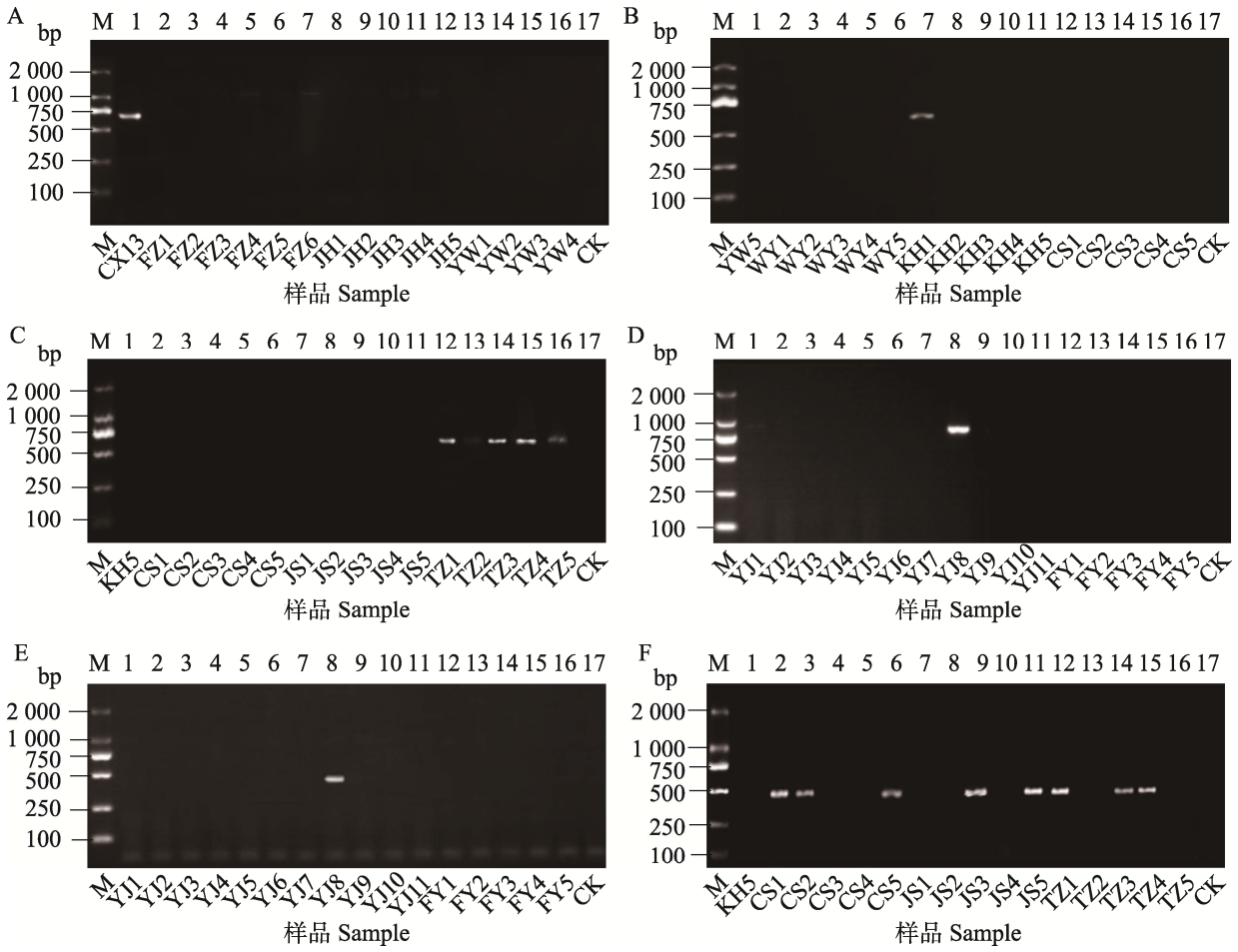

图 1　中华蜜蜂蜂群中病毒病原的 RT-PCR 检测

Fig. 1　RT-PCR detection of viral pathogens in *Apis cerana cerana* colonies

A-C. 残翅病毒的 RT-PCR 扩增结果；D. 以色列急性麻痹病毒的 RT-PCR 扩增结果；E. 克什米尔病毒的 RT-PCR 扩增结果；F. 中蜂囊状幼虫病毒的 RT-PCR 扩增结果。M：DL 2000 DNA marker；1-16：代表不同饲养点蜂群；CK：阴性对照；采样点名称缩写见表 1，图 2 同。

A-C. Results of RT-PCR amplification of deformed wing virus; D. Results of RT-PCR amplification of Israeli acute paralysis virus; E. Results of RT-PCR amplification of Kashmir bee virus; F. Results of RT-PCR amplification of chronic bee paralysis virus. M: DL 2000 DNA marker; 1-16: Representation of colonies from different apiary sites in *A. cerana cerana*; Sampling site name abbreviations are shown in Table 1, the same for Fig. 2.

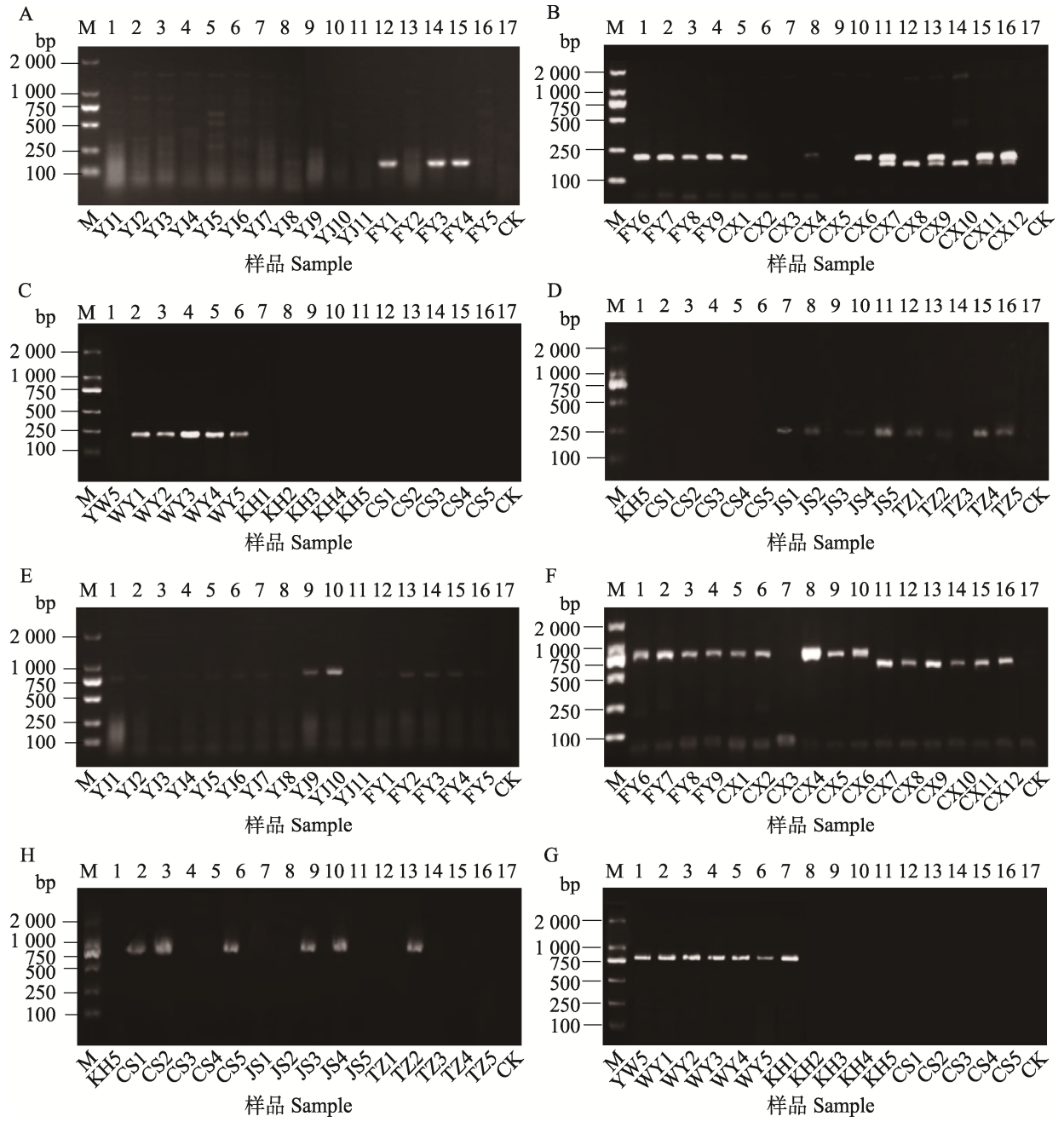

图 2　中华蜜蜂蜂群中寄生虫疾病和细菌性疾病病原的 PCR 检测

Fig. 2　PCR detection of parasitic and bacterial pathogens in *Apis cerana cerana* colonies

A-D. 微孢子虫的 PCR 扩增结果；E-H. 欧洲幼虫腐臭病原的 PCR 扩增结果。

A-D. Results of RT-PCR amplification of *Nosema* spp.; E-H. Results of PCR amplification of European foulbrood pathogens.

2.2　浙江省取样点中华蜜蜂病原现状分析

本次试验结果显示，在浙江省调查了 11 个饲养点的 74 个蜜蜂工蜂蜂群。10 种蜜蜂常见疾病中有 6 种病原被检测出，而 ABPV、CBPV、BQCV 和 AFB 均未被检测出。在 11 个饲养点中 EFB 的病原检出率最高（77.03%），其次为 NOS（54.05%）、CSBV（10.81%）和 DWV（9.46%）。只有 1 个蜂群感染了 IAPV 和 KBV（图 3）。在

所有调查的蜂群中，有 11 个（14.86%）蜂群未检测到病原。单一感染的样本大多数为 EFB（32.43%）和 NOS（5.41%）。共有 35 个蜂群出现双感染，占 47.30%，其中 NOS 和 EFB 双重感染的比例占 35.14%，其次是 CSBV+EFB（5.41%）和 DWV+NOS（4.05%），DWV+CSBV 和 CSBV+NOS 均占 1.35%。此外，74 个蜂群中有 4 个发现三重感染，其中 DWV+CSBV+NOS 感染率为 2.70%，IBPV+KBV+EFB 和 DWV+NOS+EFB 的感染率均为 1.35%（图 4）。

2.3　浙江省取样点中华蜜蜂病毒病病原现状分析

浙江省采样点中华蜜蜂的病毒病原有 DWV、CSBV、IAPV 和 KBV，暂未发现 ABPV、BQCV 和 CBPV。DWV 在 3 个市（县）中检出，且在天台台州 DWV 检出率达到 100%，衢州开化（20.00%）和湖州长兴（7.69%）均有少量检出；CSBV 在 3 个市（县）中的检出率为衢州常山 60.00%、台州天台 60.00%和衢州江山 40.00%；IAPV 和 KBV 在温州永嘉同一个蜂群检出，且其他地区蜂群均未检出（图 5）。

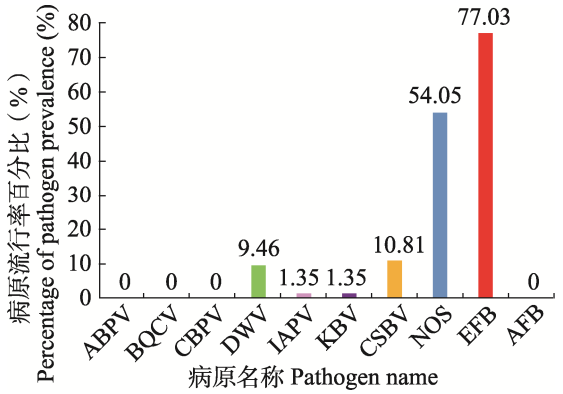

图 3　浙江省采样点中华蜜蜂蜂群中 10 种蜜蜂疾病的总体流行率

Fig. 3　Overall prevalence of ten honey bee epidemics in *Apis cerana cerana* from Zhejiang Province sample sites

ABPV：急性麻痹病毒；BQCV：黑蜂王台病毒；CBPV：慢性麻痹病毒；DWV：残翅病毒；IAPV：以色列急性麻痹病毒；KBV：克什米尔病毒；CSBV：中蜂囊状幼虫病毒；NOS：微孢子虫；EFB：欧洲幼虫腐臭病；AFB：美洲幼虫腐臭病。图 4 同。

ABPV: Acute bee paralysis virus; BQCV: Black queen cell virus; CBPV: Chronic bee paralysis virus; DWV: Deformed wing virus; IAPV: Israeli acute paralysis virus; KBV: Kashmir bee virus; CSBV: Chinese sacbrood virus; NOS: *Nosema* spp.; EFB: European foulbrood; AFB: American foulbrood. The same for Fig. 4.

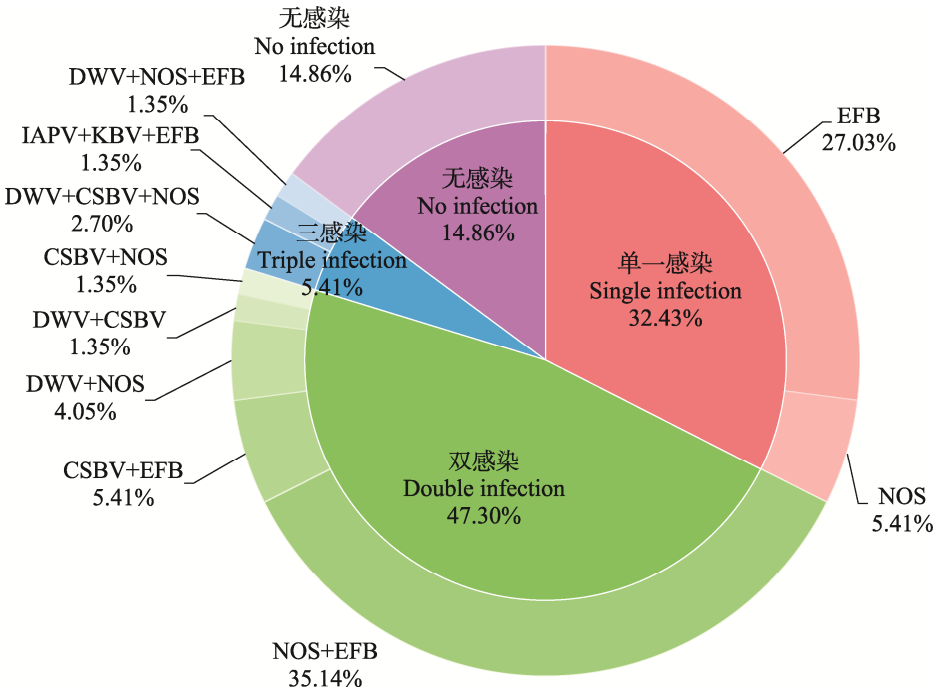

图 4　浙江省采样点中华蜜蜂蜂群中 6 种蜜蜂病原感染及混合感染模式

Fig. 4　Infection and co-infection patterns of the six honey bee pathogens in *Apis cerana cerana* from Zhejiang Province sample sites

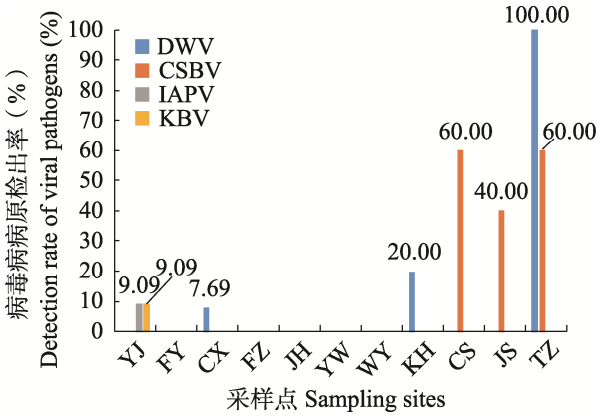

图 5　浙江省采样点中华蜜蜂蜂群中病毒病病原的检出率

Fig. 5　The detection rate of viral pathogens in *Apis cerana cerana* from Zhejiang Province sample sites

YJ：温州永嘉；FY：杭州富阳；CX：湖州长兴；FZ：温州瑞安；JH：金华金东；YW：金华义乌；WY：金华武义；KH：衢州开化；CS：衢州常山；JS：衢州江山；TZ：台州天台。图 6 和图 7 同。

YJ: Yongjia, Wenzhou; FY: Fuyang, Hangzhou; CX: Changxing, Huzhou; FZ: Rui'an, Wenzhou; JH: Jindong, Jinhua; YW: Yiwu, Jinhua; WY: Wuyi, Jinhua; KH: Kaihua, Quzhou; CS: Changshan, Quzhou; JS: Jiangshan, Quzhou; TZ: Tiantai, Taizhou. The same for Fig. 6 and Fig.7.

2.4　浙江省取样点中华蜜蜂细菌病病原现状分析

2023 年 7-12 月期间，浙江省采样点中华蜜蜂的细菌病原只有 EFB——*Melissococcus plutonius*，暂未发现 AFB 病原存在，EFB 在 11 个市（县）中华蜜蜂中均有检出，且有 8 个市（县）病原检出率超过 50%。其中检出率最高的是杭州富阳、温州瑞安和金华武义，高达 100%，其次是湖州长兴（84.62%）、温州永嘉（81.82%）、金华金东（60.00%）、金华义乌（60.00%）、衢州常山（60.00%），在衢州江山占比 40.00%，衢州开化和台州天台占比仅 20%（图 6）。

2.5　浙江省取样点中华蜜蜂微孢子虫病病原现状分析

2023 年 7 月-12 月期间，浙江省采样点中华蜜蜂的微孢子虫病在 8 个市（县）中均有检出，且有 6 个市（县）微孢子虫病检出率超过 50%，分别是金华武义（100%）、台州天台（80.00%）、衢州江山（80.00%）、杭州富阳（77.78%）、湖州长兴（76.92%）、金华金东（60.00%）。此外，金华义乌发病率占比 40.00%，温州瑞安占比 16.67%，温州永嘉、衢州开化、衢州常山都未检测出 NOS（图 7）。

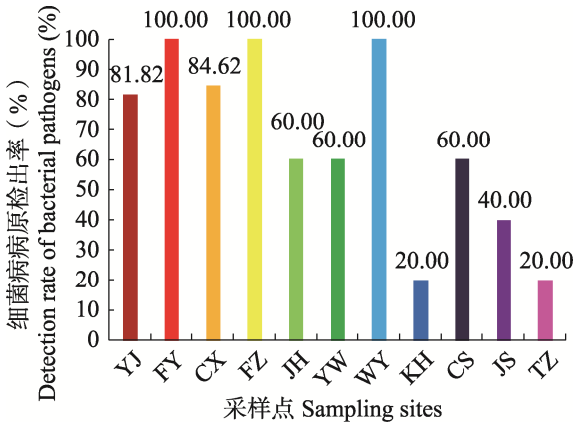

图 6　浙江省采样点中华蜜蜂蜂群中细菌病病原的检出率

Fig. 6　The detection rate of bacterial pathogens in *Apis cerana cerana* from Zhejiang Province sample sites

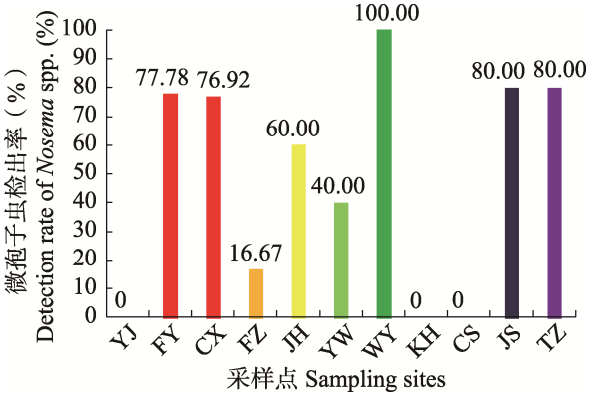

图 7　浙江省采样点中华蜜蜂蜂群中微孢子虫病病原的检出率

Fig. 7　The detection rate of *Nosema* spp. pathogens in *Apis cerana cerana* from Zhejiang Province sample sites

3　讨论

蜜蜂病虫害的发生是导致蜂群数量下降的重要原因，这使得病原调查成为近年蜜蜂保护研究的热点话题。病虫害的发生与温度、蜂群强度、蜂巢面积、降雨量和相对湿度密切相关（Devi *et al.*，2021）。由于蜜蜂是通过在限定环境中觅食花蜜和花粉来满足其全部营养需求，所以降

雨、低温和大风会限制蜜蜂的觅食活动。在恶劣天气期间，蜜蜂减少外出会导致蜂巢拥堵，从而加速疾病传播（Rowland *et al.*，2021）。Devi 等（2021）在对东方蜜蜂的流行病情况调查时发现，EFB 的发病率在气温、相对湿度和降雨量较高的 7 月份最高（17.50%），在气温、相对湿度较低的 3 月份最低（0.80%），说明 EFB 的流行与温度、蜂群强度和降雨有关。Gisder 等（2010）对德国不同地区的西方蜜蜂进行了为期 5 年的 NOS 感染队列研究，其中南部省份的感染率相对高于北部省份，表明 NOS 在低温下的抵抗力较差，其传播和毒力可能受到寒冷气候的负面影响。同时，气候变化可以直接影响蜜蜂的行为和生理，改变花粉环境的质量，削弱蜂群的发育进程与授粉效能，还可能驱动蜜蜂活动范围的重构，这些变化会导致各个蜂群之间以及它们当中存在的寄生虫或病原体之间产生新的竞争关系（Nand Rai and Ravuiwasa，2019）。

除了气候关系外，蜜蜂感染病虫害与各个蜂场管理情况密切相关，由于我国中蜂、意大利蜜蜂混杂饲养，蜂病交叉感染可能导致中蜂的患病率提高（刘正忠，2017），并且我国中蜂蜂群数量占比已从 1949 年的 90.0%下降到 1991 年的 26.6%，这表明病原体可能从西方蜜蜂转移至东方蜜蜂（Forsgren *et al.*，2015）。同时，中蜂常见疾病大部分是由成年工蜂传播，内勤蜂在清除巢房病虫和粪便时，口器可能被病菌污染，进而在哺育幼虫过程中将病菌传给健康幼虫（Ansari *et al.*，2017）。所以，若养蜂人员日常蜂群管理操作不规范，蜂群之间随意调换巢脾，蜂具消毒不彻底，会将病毒从患病蜂群传播至健康蜂群（Ribière *et al.*，2010）。

近年来国内学者也对许多蜜蜂常见疾病的流行情况进行了报道，但多数研究只探讨了单一类型病原在蜜蜂中的流行情况，缺乏多种不同病原的联合检测情况数据。本研究报告了浙江省地区中蜂的主要病虫害流行情况，病原调查结果表明在浙江省中华蜜蜂成年工蜂样品中有 DWV、IAPV、KBV 和 CSBV 这 4 种病毒病和 1 种寄生虫疾病 NOS 以及 1 种细菌性疾病 EFB 存在。

在对浙江地区中华蜜蜂样本的病毒病原调查中，本研究选取了 7 种常见蜜蜂病毒进行检测。结果显示，仅在样本中检出 DWV、IAPV、KBV 和 CSBV 4 种病毒，未检测出 ABPV、BQCV 和 CBPV。在检出的病毒中，CSBV 的检出率最高，达 10.81%。囊状幼虫病病毒（SBV）于 1913 年首次在美国西方蜜蜂中发现，其后的研究在中国发现了变株 CSBV（Ma，2014）。值得注意的是，西方蜜蜂感染 SBV 后症状较轻，而中华蜜蜂感染 CSBV 则可能导致蜂群死亡（Blanchard *et al.*，2014）。本调查在浙江省 3 个不同地区中发现了 CSBV，且有 2 个地区感染率超过 50%，与中国其他地区中华蜜蜂 CSBV 感染率结果相似（Chen *et al.*，2021）。此外，DWV 的检出率为 9.46%，由于 DWV 通过瓦螨 *Varroa* spp.传播，而中华蜜蜂具有很强的抵抗瓦螨侵扰的能力（Gisder *et al.*，2009），故 DWV 在中华蜜蜂中的检出率远低于西方蜜蜂，Li 等（2012）在中国对各省中西方蜜蜂的 DWV 疾病调查结果也证明了这点。但本次调查显示 DWV 在台州天台中华蜜蜂中的检出率达到了 100%，这预示着此地可能存在瓦螨侵染的威胁，其余两地存在少量 DWV 也代表具有瓦螨侵染的潜在风险。

目前已知 IAPV 的宿主是西方蜜蜂（de Miranda *et al.*，2010），KBV 的最初宿主则是来自克什米尔的东方蜜蜂蜂群（Bailey and Woods，1977），而本次调查在温州永嘉的中华蜜蜂蜂群中同时发现了 IAPV 和 KBV，这一结果表明 IAPV 病毒宿主可能已从西方蜜蜂扩展到东方蜜蜂。Ai 等（2012）对蜜蜂病毒的调查研究也印证了这个可能，其研究在福建、浙江、黑龙江、广东和四川 5 省蜜蜂标本中检出 IAPV，且比例达到 18%。KBV 的传播途径与 DWV 类似，都是由瓦螨传播，该养蜂场出现 1 例表明可能存在瓦螨侵扰，这与 Wang 等（2019）在调查浙江省感染瓦螨的中华蜜蜂中检测出 KBV 的结果类似。且两种病毒病原共同存在，它们之间是否存在某些关联值得进一步分析探讨。

常见细菌性疾病有 EFB 和 AFB，其中 EFB 主要通过工蜂携带的病原进而感染蜂王、工蜂和

雄蜂的幼虫，所以其具有传染性强、发病速度快、容易导致蜂群大规模衰弱的特点（邓萍和唐相友，2023）。而 AFB 对东方蜜蜂具有感染性，但检出率却很低，原因可能是感染 AFB 的幼虫在被封顶之前就已经被工蜂清理取出（Chen *et al.*，2000）。所以本次对浙江省中华蜜蜂样本的病原调查只检测出了 EFB，并没有检测出 AFB 的结果在合理预期范围内。同时 EFB 在各个蜂场中均有检出，这提示着 EFB 已经成为浙江地区中华蜜蜂的最大疾病威胁，且具有逐渐发展为严重病害的潜在风险。

大量研究表明寄生虫微孢子虫与蜂群崩溃之间存在着间接联系，并且长期的无症状潜伏期似乎可以解释蜂群崩溃之前没有明显症状的原因（陈恒等，2022）。此次调查显示，浙江地区中华蜜蜂蜂群中微孢子虫的检出率达到 54.05%，由于微孢子虫引发的是感染性消化道疾病，患微孢子虫病的蜜蜂中肠受到破坏，导致其他病原体更容易侵染蜜蜂，进而诱发多种病原混合感染的并发症（Valizadeh *et al.*，2020），这表明在感染了此病的宿主蜜蜂内部可能存在多重感染。

由于不同病原之间对宿主的相互作用可以影响疾病的严重程度和流行病学，因此除了探究单一感染外，联合感染在蜜蜂中的感染情况也值得注意。本文中 EFB 和 NOS 联合感染中华蜜蜂比例最高，原因可能是样本中 EFB 的感染率较高，导致两种疾病的重合率也随之变高。也可能是由于 EFB 和 NOS 的传播途径高度重叠，都是通过工蜂哺育幼蜂以及清理粪便时被摄入。同时，Valizadeh 等（2020）研究指出感染 NOS 的蜜蜂会出现卫生行为损伤，从而导致蜜蜂防御幼虫疾病和寄生虫能力下降，可能也是两种病原重叠度高的原因之一。中华蜜蜂混合感染中 CSBV 和 EFB 的比例占 5.41%，这与王德前等（2021）在浙江省淳安县的调查结果相同，且这 2 种病原共同存在会引起蜂群内 CSBV 载量显著升高。NOS 和 DWV 在中华蜜蜂中混合感染占比 4.05%，研究发现在 DWV 感染的早期阶段，NOS 可以以剂量依赖的方式加速受感染蜜蜂的 DWV 复制（陈恒等，2022）。Ai 等（2012）的研究表明 DWV 和 CSBV 是中华蜜蜂联合疾病发生率最高的混合情况。在所有混合感染的情况中，NOS 和其他病毒病的混合感染情况最多，原因可能是 NOS 寄生在蜜蜂中肠上皮细胞内，导致正常消化机能遭到破坏（Panek *et al.*，2018），从而导致蜜蜂对其他疾病的抵抗力降低。同时，本研究中有 1 例中华蜜蜂 IAPV、KBV 和 EFB 混合感染值得注意，这一感染模式与 Wang 等（2019）在感染瓦螨的蜂群中观察到的病毒感染情况相似，说明此蜂房的蜜蜂可能感染了瓦螨，为宿主-寄生虫-病毒之间的相互作用提供新的思路。同时，还要注意到工蜂个体差异性和病原的易感性，例如黑蜂王台病毒常在蜂王中被检出，因此本研究在检测时并未检测出该疾病。此外，除了本研究使用的 PCR 和 RT-PCR 方法外，半套式 RT-PCR、依赖病毒解旋酶扩增检测方法及荧光定量 TaqMan 探针法也被广泛运用于蜜蜂病原检测（张明华等，2021），而 PCR 检测技术的灵敏性、特异性和稳定性对于病原的检测结果也有影响。

目前，各种蜜蜂疾病已经成为养蜂业发展的重要障碍，蜂场的防治工作需要根据不同季节、不同地区的状况科学定制因地制宜的方法。针对此次调查结果，浙江地区中华蜜蜂中 EFB 与 NOS 的感染率较高，对此建议饲养人员需要保持饲养环境干净卫生，及时清除旧巢脾，培养抗病性较强的健壮蜂王，坚持饲养强群，保持饲料的安全质量（银少华等，2024），并且可通过本研究的调查结果合理定制浙江省中蜂病害防治工作。

参考文献 (References)

Ai HX, Yan X, Han RC, 2012. Occurrence and prevalence of seven bee viruses in *Apis mellifera* and *Apis cerana* apiaries in China. *Journal of Invertebrate Pathology*, 109(1): 160–164.

Ansari MJ, Al-Ghamdi A, Nuru A, Ahmed AM, Ayaad TH, Al-Qarni A, Alattal Y, Al-Waili N, 2017. Survey and molecular detection of *Melissococcus plutonius*, the causative agent of European foulbrood in honeybees in Saudi Arabia. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 24(6): 1327–1335.

Bailey L, Woods RD, 1977. Two more small RNA viruses from honey bees and further observations on sacbrood and acute bee-paralysis viruses. *Journal of General Virology*, 37(1): 175–182.

Benjeddou M, Leat N, Allsopp M, Davison S, 2001. Detection of acute bee paralysis virus and black queen cell virus from honeybees by reverse transcriptase pcr. *Applied and Environmental Microbiology*, 67(5): 2384–2387.

Blanchard P, Guillot S, Antùnez K, Köglberger H, Kryger P, de Miranda JR, Franco S, Chauzat MP, Thiéry R, Ribière M, 2014. Development and validation of a real-time two-step RT-qPCR TaqMan® assay for quantitation of Sacbrood virus (SBV) and its application to a field survey of symptomatic honey bee colonies. *Journal of Virological Methods*, 197: 7–13.

Chen B, Luo JY, 2023. Research progress of the population genetic differentiation and environmental adaptation mechanisms in *Apis cerana cerana* (Hymenoptera: Apidae). *Acta Entomologica Sinica*, 66(9): 1258–1270. [陈兵, 骆家宇, 2023. 中华蜜蜂种群遗传分化与环境适应机制研究进展. 昆虫学报, 66(9): 1258–1270.]

Chen GW, Wu YQ, Deng J, Wen ZS, Wang S, Chen YP, Hu FL, Zheng HQ, 2021. Seasonal variation of viral infections between the eastern honey bee (*Apis cerana*) and the western honey bee (*Apis mellifera*). *Microbiologyopen*, 10(1): e1162.

Chen H, Liu YB, Xu H, Lin ZG, Ji T, 2022. Effects of *Nosema ceranae* on honeybee health. *Chinese Journal of Veterinary Parasitology*, 30(1): 226–234. [陈恒, 刘一冰, 徐浩, 蔺哲广, 吉挺, 2022. 东方蜜蜂微孢子虫对蜜蜂健康的影响. 中国动物传染病学报, 30(1): 226–234.]

Chen YP, Evans JD, Bart Smith I, Pettis JS, 2008. *Nosema ceranae* is a long-present and wide-spread microsporidian infection of the European honey bee (*Apis mellifera*) in the United States. *Journal of Invertebrate Pathology*, 97(2): 186–188.

Chen Y, Smith IB, Collins AM, Pettis JS, Feldlaufer MF, 2004. Detection of deformed wing virus infection in honey bees, *Apis mellifera* L., in the United States. *American Bee Journal*, 144(7): 557–559.

Chen YW, Wang CH, An J, Kai-Kuang H, 2000. Susceptibility of the Asian honey bee, *Apis cerana*, to American foulbrood, *Paenibacillus larvae larvae*. *Journal of Apicultural Research*, 39(3/4): 169–175.

Chen YP, Siede R, 2007. Honey Bee Viruses//Advances in Virus Research. New York: Academic Press. 33–80.

de Miranda JR, Cordoni G, Budge G, 2010. The acute bee paralysis virus-Kashmir bee virus-Israeli acute paralysis virus complex. *Journal of Invertebrate Pathology*, 103(Suppl. 1): S30–S47.

Deng P, Tang XY, 2023.Summary of the control methods of Chinese bee European foulbrood. *Journal of Bee*, 43(2): 1–6. [邓萍, 唐相友, 2023. 中华蜜蜂欧洲幼虫腐臭病防治方法综述. 蜜蜂杂志, 43(2): 1–6.]

Devi S, Rana K, Negi N, Kumar H, Thakur M, Parmar YS, 2021. Seasonal incidence of brood diseases in hives of Asian honey bee (*Apis cerana* F.) correlates with colony and weather parameters. *The Pharma Innovation Journal*, 10: 1945–1951.

Diao QY, Sun LX, Zheng HJ, Zeng ZJ, Wang SY, Xu SF, Zheng HQ, Chen YP, Shi YY, Wang YZ, Meng F, Sang QL, Cao LF, Liu F, Zhu YQ, Li WF, Li ZG, Dai CJ, Yang MJ, Chen SL, Chen RS, Zhang SW, Evans JD, Huang Q, Liu J, Hu FL, Su SK, Wu J, 2018. Genomic and transcriptomic analysis of the Asian honeybee *Apis cerana* provides novel insights into honeybee biology. *Scientific Reports*, 8(1): 822.

Evans JD, Chen Y, 2021. Colony collapse disorder and honey bee health//Terry RK, Cynthia MF (eds.). Honey Bee Medicine for the Veterinary Practitioner. New Jersey: John Wiley & Sons Inc. 229–234.

Forsgren E, Shi W, Ding GL, Liu ZG, Van Tran T, Tang PT, Truong TA, Dinh TQ, Fries I, 2015. Preliminary observations on possible pathogen spill-over from *Apis mellifera* to *Apis cerana*. *Apidologie*, 46(3): 265–275.

Gisder S, Aumeier P, Genersch E, 2009. Deformed wing virus: Replication and viral load in mites (*Varroa destructor*). *Journal of General Virology*, 90(Pt 2): 463–467.

Gisder S, Hedtke K, Möckel N, Frielitz MC, Linde A, Genersch E, 2010. Five-year cohort study of *Nosema* spp. in Germany: Does climate shape virulence and assertiveness of *Nosema ceranae*? *Applied and Environmental Microbiology*, 76(9): 3032–3038.

Govan VA, Brözel V, Allsopp MH, Davison S, 1998. A PCR detection method for rapid identification of *Melissococcus pluton* in honeybee larvae. *Applied and Environmental Microbiology*, 64(5): 1983–1985.

Guerrero-Molina C, Correa-Benítez A, Hamiduzzaman MM, Guzman-Novoa E, 2016. *Nosema ceranae* is an old resident of honey bee (*Apis mellifera*) colonies in Mexico, causing infection levels of one million spores per bee or higher during summer and fall. *Journal of Invertebrate Pathology*, 141: 38–40.

Guo XJ, Meng ZJ, Feng J, 2023. Diversity of plants foraged by *Apis cerana* based on pollen composition in honey samples in several mountainous areas. *Acta Ecologica Sinica*, 43(23): 9721–9732. [郭新军, 孟长军, 封婧, 2023. 基于山地蜂蜜花粉组成的中华蜜蜂传粉多样性研究. 生态学报, 43(23): 9721–9732.]

He XJ, Amantuer·Aheihati, Yeerbaole, Shi XL, Qi X, Pi ZY, Wang ZB, 2015. Establishment of a two-temperature PCR assay for detection of American foulbrood. *Xinjiang Agricultural Sciences*, 52(2): 288–291. [何晓杰, 阿曼吐尔·阿黑哈提, 叶尔保勒, 史秀丽, 齐鑫, 皮志媛, 王振宝, 2015. 美洲幼虫腐臭病二温式 PCR 诊断方法的建立及应用. 新疆农业科学, 52(2): 288–291.]

Huang YY, 2023. Role of AccsHSP21.7 in resistance to glyphosate stress in *Apis cerana cerana*. Master dissertation. Tai'an: Shandong Agricultural University. [黄园园, 2023. AccsHSP21.7 在中华蜜蜂抗草甘膦胁迫中的作用. 硕士学

位论文. 泰安: 山东农业大学.]

Li B, 2023. Culture technology of Chinese honeybee. *Chinese Journal of Animal Husbandry and Veterinary Medicine*, 2023(12): 204–206. [李斌, 2023. 中华蜜蜂养殖技术. 畜牧兽医科技信息, 2023(12): 204–206.]

Li J, Qin H, Wu J, Sadd BM, Wang X, Evans JD, Peng W, Chen Y, 2012. The prevalence of parasites and pathogens in Asian honeybees *Apis cerana* in China. *PLoS ONE*, 7(11): e47955.

Liu ZZ, 2017. Diagnosis and prevention of European foulbrood in *Apis cerana cerana*. *Apiculture of China*, 68(1): 38. [刘正忠, 2017. 中蜂欧洲幼虫腐臭病的诊断与防治. 中国蜂业, 68(1): 38.]

Ma MX, 2014. New insights of Sacbrood virus. *Virologica Sinica*, 29(6): 410–413.

Mao XB, Wang Y, Wang J, Cai RX, 2023. The practice to bee industry's digitization in Zhejiang Province and relevant thinking. *Apiculture of China*, 74(11): 58–61. [毛小报, 王煜, 王瑾, 蔡日旋, 2023. 浙江省蜂业数字化发展的实践与思考. 中国蜂业, 74(11): 58–61.]

Palacios G, Hui J, Quan PL, Kalkstein A, Honkavuori KS, Bussetti AV, Conlan S, Evans J, Chen YP, VanEngelsdorp D, Efrat H, Pettis J, Cox-Foster D, Holmes EC, Briese T, Lipkin WI, 2008. Genetic analysis of Israel acute paralysis virus: Distinct clusters are circulating in the United States. *Journal of Virology*, 82(13): 6209–6217.

Panek J, Paris L, Roriz D, Mone A, Dubuffet A, Delbac F, Diogon M, El Alaoui H, 2018. Impact of the microsporidian *Nosema ceranae* on the gut epithelium renewal of the honeybee, *Apis mellifera*. *Journal of Invertebrate Pathology*, 159: 121–128.

Nand Rai S, Ravuiwasa K, 2019. Impact of climate change on honey bee population and diseases with special reference to Fiji Islands. *Haya*: *The Saudi Journal Life Sciences*, 4(10): 335–339.

Ribière M, Olivier V, Blanchard P, 2010. Chronic bee paralysis: A disease and a virus like no other? *Journal of Invertebrate Pathology*, 103(Suppl. 1): S120–S131.

Ribière M, Triboulot C, Mathieu L, Aurières C, Faucon J, Pépin M, 2002. Molecular diagnosis of chronic bee paralysis virus infection. *Apidologie*, 33(3): 339–351.

Rowland BW, Rushton SP, Shirley MDF, Brown MA, Budge GE, 2021. Identifying the climatic drivers of honey bee disease in England and Wales. *Scientific Reports*, 11(1): 21953.

Siopa C, Castro H, Loureiro J, Castro S, 2023. PolLimCrop, a global dataset of pollen limitation in crops. *Scientific Data*, 10(1): 905.

Stoltz D, Shen XR, Boggis C, Sisson G, 2015. Molecular diagnosis of Kashmir bee virus infection. *Journal of Apicultural Research*, 34(3): 153–160.

Valizadeh P, Guzman-Novoa E, Goodwin PH, 2020. Effect of immune inducers on *Nosema ceranae* multiplication and their impact on honey bee (*Apis mellifera* L.) survivorship and behaviors. *Insects*, 11(9): 572.

Wang DQ, Huang MJ, Guo HK, Fang MG, Li JZ, Dong J, 2021. Investigation on the infection of Chinese sacbrood virus and *Melissococcus pluton* in Chinese honeybee (*Apis cerana cerana*) of Chun'an County of Zhejiang Province. *Journal of Zhejiang University* (*Agriculture and Life Sciences*), 47(3): 389–394. [王德前, 黄敏婕, 郭海坤, 方勐鸽, 李君竹, 董捷, 2021. 浙江省淳安县中华蜜蜂囊状幼虫病毒与蜂房球菌感染情况调查. 浙江大学学报(农业与生命科学版), 47(3): 389–394.]

Wang HK, Zhang X, Li YS, Zong DQ, Liang C, Zhang YY, Zhao HM, 2023. Epidemiological investigation of seven viral diseases of honeybee. *Journal of Bee*, 43(7): 8–14. [王红坤, 张炫, 李雨时, 宗德琴, 梁铖, 张洋逸, 赵洪木, 2023. 七种蜜蜂病毒病的流行病学调查. 蜜蜂杂志, 43(7): 8–14.]

Wang S, Chen GW, Lin ZG, Wu YQ, Hu FL, Zheng HQ, 2019. Occurrence of multiple honeybee viruses in the ectoparasitic mites *Varroa* spp. in *Apis cerana* colonies. *Journal of Invertebrate Pathology*, 166: 107225.

Yin SH, Ou SH, Yang XT, Li HJ, Wei YF, Tan XH, Wei WS, Huang L, 2024. Technical points of healthy culture and high quality mature honey production of Chinese honeybee. *Animals Breeding and Feed*, 23(6): 68–71. [银少华, 欧盛绘, 杨晓天, 黎宏嘉, 韦勇飞, 谭筱弘, 韦文社, 黄莉, 2024. 中蜂健康养殖及优质成熟蜜生产技术要点. 养殖与饲料, 3(6): 68–71.]

Zhang MH, Wei XP, Zhou BJ, Wen M, Cheng ZT, Tian Q, Wang KG, 2021. Establishment and application of RT-PCR for detection of Chinese sacbrood virus. *Chinese Veterinary Science*, 51(3): 275–280. [张明华, 韦小平, 周碧君, 文明, 程振涛, 田琴, 王开功, 2021. 中蜂囊状幼虫病毒 RT-PCR 检测方法的建立与应用. 中国兽医科学, 51(3): 275–280.]