



啮氧菌酯对意大利蜜蜂幼虫生长发育及免疫应答的影响

段辛乐* 王如意 熊曼琼 王梨竹 覃淦 黄少康 李江红

(福建农林大学蜂学与生物医药学院, 农业农村部福建蜜蜂生物学科学观测站, 福州 350002)

摘要: 为探究啮氧菌酯对意大利蜜蜂 *Apis mellifera ligustica* 幼虫生长发育和免疫应答的影响, 使用田间推荐浓度(113、150、225 和 281 mg/L)的啮氧菌酯连续饲喂意大利蜜蜂工蜂幼虫, 记录处理后工蜂幼虫的存活率、化蛹率、蛹重、羽化率和羽化初生重, 并测量幼虫体内发育相关基因、营养相关基因及免疫相关基因表达情况。结果显示, 不同浓度啮氧菌酯对意大利蜜蜂工蜂幼虫存活率、蛹重和羽化初生重均有显著影响, 且具有显著的浓度效应; 150、225 和 281 mg/L 啮氧菌酯处理后意大利蜜蜂工蜂幼虫的化蛹率和蛹的羽化率均较对照显著下降。不同浓度啮氧菌酯均可诱导幼虫体内蜕皮激素受体(*ecdysone receptor, Ecr*)基因、卵黄原蛋白(*vitellogenin, Vg*)基因、蜜蜂防卫素(*defensin 1, Defl*)基因和膜翅抗菌肽(*hymenoptaecin, Hym*)基因的表达量上调, 且大部分与对照差异显著; 不同浓度啮氧菌酯均可显著抑制幼虫体内胰岛素样肽(*insulin-like peptide 1, ILP1*)基因的表达量; 281 mg/L 啮氧菌酯分别显著抑制和显著增加幼虫体内蜜蜂抗菌肽(*apidaecin, Api*)基因和蜂蛾抗菌肽(*abacacin, Aba*)基因的表达量, 225 mg/L 和 281 mg/L 啮氧菌酯可诱导幼虫体内 *ILP2* 的表达量显著上调, 显著抑制幼虫体内储存蛋白(*hexamerin, Hex*)基因 *Hex70b* 的表达量, 其他浓度处理对幼虫体内 *Api*、*Aba*、*ILP2* 和 *Hex70b* 无显著影响。表明啮氧菌酯对意大利蜜蜂工蜂幼虫有慢性毒性, 长时间暴露会扰乱幼虫的生长发育和免疫应答。在生产实践中应当考虑啮氧菌酯对意大利蜜蜂的潜在风险。

关键词: 啮氧菌酯; 意大利蜜蜂; 幼虫; 生长发育; 免疫

Effects of picoxystrobin on the development and immune response of Italian honey bee *Apis mellifera ligustica* larvae

Duan Xinle* Wang Ruyi Xiong Manqiong Wang Lizhu Qin Gan Huang Shaokang Li Jianghong

(Fujian Biological Observation Station of Honeybee, Ministry of Agriculture and Rural Affairs; College of Bee Science and Biomedicine, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002, Fujian Province, China)

Abstract: To investigate the effects of picoxystrobin on the development and immune response of Italian honey bee *Apis mellifera ligustica* larvae, we subjected the larvae to continuous exposure to field-recommended concentrations of picoxystrobin (113, 150, 225 and 281 mg/L). The survival rate, pupation rate, pupa weight, eclosion rate, and newly-emergence weight were recorded, and the expression levels of development-related genes, nutrient-related genes, and immune-related genes in the larvae following fungicide exposure were assessed. The results showed that picoxystrobin exerted a significantly adverse effect on the survival rate, pupa weight, and newly-emergence birth weight of larvae in a

基金项目: 福建省自然科学基金面上项目(2022J01585), 科技部基础资源调查专项传粉昆虫资源调查监测网建设(2018FY100402), 福建省大学生创新创业项目(X202210389074)

* 通信作者 (Author for correspondence), E-mail: xinleduan@fafu.edu.cn

收稿日期: 2023-05-05

concentration-dependent effect. Pupation rate and eclosion rate were also significantly decreased after exposed to picoxystrobin (150, 225, and 281 mg/L). Moreover, picoxystrobin induced the expression of *ecdysone receptor (Ecr)*, *vitellogenin (Vg)*, *defensin 1 (Def1)*, and *hymenoptaecin (Hym)* in larvae, with most showing significant differences compared to control group. However, the expression of *insulin-like peptide 1 (ILP1)* decreased in all concentration treatment groups of picoxystrobin. In the 281 mg/L picoxystrobin treatment group, the expression of *Api* was significantly inhibited, while that of *Aba* was significantly increased. Additionally, the expression of *ILP2* was significantly upregulated in the 225 mg/L and 281 mg/L treatment groups, while as that of *hexamerin 70b (Hex70b)* was significantly downregulated. Moreover, there was no significant effect of picoxystrobin at other concentrations on *apidaecin (Api)*, *abaecin (Aba)* and *ILP2* in larvae. This study confirmed the chronic toxicity of picoxystrobin to *A. mellifera ligustica* larvae, indicating that prolonged exposure can disrupt larval growth, development, and immune response. Therefore, the potential risk of picoxystrobin to *A. mellifera ligustica* should be carefully considered to ensure the safety of bees in pollination practices.

Key words: picoxystrobin; *Apis mellifera ligustica*; larva; growth and development; immune

苜蓿 *Medicago sativa* 具有营养丰富、适口性好和易消化等特点,是优质的植物性蛋白饲料(石凤善等,2009;武文卿等,2019;段辛乐等,2020);同时还是重要的蜜粉源植物,具有花期长、泌蜜量大且蜜质优良等特点(武敏等,2020)。苜蓿是典型的虫媒植物,通常需要蜜蜂及野生蜂等传粉昆虫授粉,自花授粉不仅授粉率低,而且自花授粉种子的发芽率低,发芽势弱,品种固有的优良遗传特性难以体现(武敏等,2020;毛培胜等,2023)。目前,我国已驯化多种蜜蜂帮助紫花苜蓿 *M. sativa* 授粉,但与黑地蜂 *Andrena carbonaria* 和苜蓿切叶蜂 *Megachile rotundata* 等野生授粉昆虫相比,意大利蜜蜂 *Apis mellifera ligustica* 具有饲养技术成熟、种群基数大和成本低等特点,因此它是苜蓿等牧草制种的理想授粉昆虫(王文慧,2019;段辛乐等,2020;陈志敏,2022)。如郭媛等(2017)研究发现意大利蜜蜂授粉显著增加苜蓿的结荚率和每荚种子数,同时提高苜蓿种子产量、千粒重、发芽势和发芽率等(张骞,2017)。

在苜蓿的种植过程中,白粉病、霜霉病、锈病和褐斑病等病害是影响其产量和品质的关键因素(王瑜等,2016)。杀菌剂作为重要的防治措施,已被广泛用于苜蓿上各种病害防治且防效显著(李法喜等,2021)。根据国家标准《化学农药环境安全评价试验准则第10部分:蜜蜂急性毒性试验》(GB/T 31270.10—2014)中农药对蜜蜂毒性等级标准,赵帅等(2011)研究发现多数杀菌剂对意大利蜜蜂的急性经口毒性均为低毒($LD_{50} > 11.0 \mu\text{g}/\text{蜂}$)。在田间推荐使用浓度下,大多数杀菌剂不会导致蜜蜂急性死亡,但被杀菌剂污染的花粉和花蜜会被蜜蜂带回蜂群,

并不断富集,进而威胁整个蜂群的健康(熊曼琼等,2022)。越来越多的研究表明,长期的低浓度杀菌剂暴露会对蜜蜂的生长发育、生理和行为产生不良影响(徐环李等,2009;闫晓静等,2021),如在田间推荐使用浓度下菌核净、咪鲜胺和异菌脉可引起意大利蜜蜂工蜂体内保护酶(超氧化物歧化酶、过氧化物酶、过氧化氢酶)和解毒酶(羧酸酯酶、谷胱甘肽S-转移酶和细胞色素P450)发生应激反应(段辛乐等,2020)。部分杀菌剂还影响蜜蜂的消化系统,导致蜜蜂对营养物质的消化能力和吸收能力下降,如异菌脉可导致意大利蜜蜂中肠消化细胞内质网退化,顶端细胞异常突起,细胞核碎裂和染色质凝聚(Carneiro et al., 2020);而腈菌唑和百菌清可增加意大利蜜蜂唾液腺细胞的凋亡率(Gregorc & Ellis, 2011)。苯菌灵、多菌灵和百菌清等杀菌剂可诱导蜜蜂体内与免疫、解毒、生物代谢和调控功能相关的多个基因显著上调(Wang et al., 2018; Dai et al., 2021),同时这些杀菌剂还扰乱蜜蜂肠道微生物的结构和多样性,如百菌清和苯菌灵处理后意大利蜜蜂肠道菌群失衡,生理功能紊乱,肠道微生物的种类和数量均显著下降,成蜂糖代谢异常(Kakumanu et al., 2016; Dai et al., 2021)。

啮氧菌酯是一种内吸性甲氧基丙烯酸酯类杀菌剂,具有广谱、高效和低毒等特点,被广泛用于苜蓿、燕麦 *Avena sativa* 和紫云英 *Astragalus sinicus* 等牧草上白粉病、锈病和霜霉病的防治(余海涛等,2022)。谭丽超等(2021)研究发现22.5%啮氧菌酯悬浮剂对意大利蜜蜂成蜂具有低的急性经口毒性和接触毒性($LD_{50} > 100 \mu\text{g}/\text{蜂}$)。但随着使用次数和用量不断增

加,已在多种植物的花蜜、花粉以及蜂蜜和蜂蜡中检测到啉氧菌酯残留,这使得啉氧菌酯对蜜蜂等非靶标昆虫的潜在风险日益提高(Erban et al., 2017; Böhme et al., 2018)。蜜蜂幼虫是蜂群健康发展的基础,蜂群中幼虫和蛹的数量越多,蜂群群势越强,蜂群应对外界胁迫的能力就越强(黄少康, 2011)。为探究啉氧菌酯对意大利蜜蜂工蜂幼虫的毒性效应,本研究利用田间推荐使用浓度的啉氧菌酯处理意大利蜜蜂工蜂幼虫,分析啉氧菌酯胁迫对其生长发育及营养和免疫相关基因的影响,以期为蜜蜂的保护和农药的安全使用提供理论参考。

1 材料与方法

1.1 材料

供试昆虫:于2021年4月自福建农林大学蜂学与生物医药学院教学实习蜂场采集意大利蜜蜂蜂群,共10群,在试验过程中蜂群健康无疾病且群势相当。

农药、试剂和仪器:22.5%啉氧菌酯(picoxystrobin)悬浮剂,美国DuPont公司。Trizol试剂,北京全式金生物技术股份有限公司;PrimeScript™ RT reagent Kit with gDNA Eraser cDNA反转录试剂盒和TB Green® Premix Ex Taq™ II荧光定量PCR试剂盒,日本TaKaRa公司;其他试剂均为国产或者进口分析纯。Centrifuge 5430R高速冷冻离心机,德国Eppendorf公司;Q5000型超微量分光光度计,美国Quawell公司;Applied Biosystems QuantStudio™ 6 Flex实时荧光定量PCR仪,美国Thermo Fisher Scientific公司;HPX-25085-III恒温恒湿箱,上海新苗医疗器械制造有限公司;6、24和48孔的细胞培养板,生工生物工程(上海)股份有限公司。

1.2 方法

1.2.1 意大利蜜蜂幼虫人工饲料的配制

意大利蜜蜂幼虫人工饲料由新鲜蜂王浆、葡萄糖、果糖、酵母提取物和无菌水按照一定比例混合而成,具体配比和配制方法参照《化学农药意大利蜜蜂幼虫毒性试验准则》(NY/T 3085—2017)。根据啉氧菌酯的推荐浓度范围及预试验结果,采用113、150、225和281 mg/L四个浓度对意大利蜜蜂幼虫进行暴露处理。将22.5%啉氧菌酯悬浮剂与蜜蜂幼虫人工饲料分别按照1:800、1:1 000、1:1 500和1:2 000体积比混合,得到含啉氧菌酯浓度分别为281、225、150和113 mg/L的幼虫人工饲料,幼虫人工饲料现配现用。

1.2.2 啉氧菌酯对意大利蜜蜂工蜂幼虫的处理

向供试蜂群中加入标记的空巢脾供蜂王产卵,待蜂卵孵化为1日龄幼虫时,从蜂群中取出巢脾,置于温度(34.5±0.5)℃、相对湿度(95±5)%、全黑暗的培养箱中保存,备用。啉氧菌酯对意大利蜜蜂工蜂幼虫的暴露处理方法参照《化学农药意大利蜜蜂幼虫毒性试验准则》(NY/T 3085—2017),试验第1天,用移虫针将刚孵化的1日龄工蜂幼虫转至6孔细胞培养板中,每孔50头,用人工饲料饲养至3日龄;将健康的3日龄幼虫转移至48孔细胞培养板中,每孔1头,分别饲喂20 μL含不同浓度杀菌剂的幼虫人工饲料;4、5和6日龄幼虫每孔分别饲喂50、70和100 μL含不同浓度杀菌剂的幼虫人工饲料,以饲喂不含啉氧菌酯的幼虫人工饲料为对照。每个浓度处理设4个重复,每个重复处理48头幼虫。每隔12 h检查幼虫的存活情况和饲料消耗情况,清除死亡的试虫,并统计存活的试虫数量,计算存活率,同时补充饲料。意大利蜜蜂6日龄幼虫取食结束即将化蛹,虽然啉氧菌酯对蜜蜂低毒,但此时幼虫体内杀菌剂的累积最多,因此选择6日龄幼虫进行后续试验。每个重复随机选取6头幼虫,用液氮冷冻后置于-80℃保存备用。

1.2.3 啉氧菌酯对工蜂幼虫生长发育的影响

幼虫的暴露处理方法同1.2.2,试验第7天时,停止饲喂幼虫,第8天时,将幼虫转至无菌的24孔细胞培养板中,每孔1头,将培养板置于温度(34.5±0.5)℃、相对湿度(85±5)%、全黑暗的培养箱中培养,待其化蛹,每隔12 h检查幼虫的化蛹情况并记录,计算化蛹率,每个重复随机选取15头白眼蛹称重;待蛹即将羽化时,将蛹置于温度(34.5±0.5)℃、相对湿度60%、全黑暗的培养箱中,每隔12 h检查蛹的羽化情况并记录,计算羽化率,每个重复随机选取15头刚羽化且未取食的工蜂称重,即羽化初生重。

1.2.4 啉氧菌酯对工蜂幼虫相关基因的影响

采用Trizol法提取1.2.2样品的总RNA,检测合格的RNA样本按照PrimeScript™ RT reagent Kit with gDNA Eraser cDNA反转录试剂盒说明书合成cDNA,并于-20℃保存备用。以Actin基因为内参基因、以合成的cDNA为模板,利用发育相关基因——蜕皮激素受体(*ecdysone receptor, Ecr*)基因和超气门蛋白(*ultraspiracle protein, Usp*)基因、营养相关基因——胰岛素样肽(*insulin-like peptide, ILP*)基因ILP1和ILP2、储存蛋白(*hexamerin, Hex*)基因Hex110、Hex70b和卵黄原蛋白(*vitellogenin, Vg*)基

因及免疫相关基因——编码蜜蜂抗菌肽(*apidaecin*, *Api*)基因、蜂蛾抗菌肽(*abaecin*, *Aba*)基因、蜜蜂防卫素(*defensin1*, *Def1*)基因和膜翅抗菌肽(*hymenoptaecin*, *Hym*)基因的引物(表1),采用实时荧光定量PCR(real-time fluorescence quantification, qPCR)技术对不同浓度啮氧菌酯处理后意大利蜜蜂工蜂幼虫进行检测,所有引物均由福州白鲸生物科技有限公司合成。10 μ L反应体系:2 \times TB Green[®] Premix Ex

Taq[™] II 5 μ L、50 \times ROX Reference Dye II 0.2 μ L、10 μ mol/L上下游引物各0.4 μ L、cDNA模板1 μ L、ddH₂O补足10 μ L。扩增条件:95 $^{\circ}$ C预变性30 s;95 $^{\circ}$ C变性5 s,60 $^{\circ}$ C延伸30 s,共40个循环;熔解曲线95 $^{\circ}$ C 15 s,60 $^{\circ}$ C 60 s,95 $^{\circ}$ C 15 s。以无菌水为阴性对照,每个样本至少3个技术重复。通过熔解曲线判断特异性后采用2^{- $\Delta\Delta$ CT}法(Livak & Schmittgen, 2011)计算各目的基因的相对表达量。

表1 本研究实时荧光定量PCR所用引物序列信息

Table 1 Primer sequences used for real-time fluorescence quantification PCR in this study

基因类型 Gene type	基因名称 Gene name	引物序列(5'-3') Primer sequence (5'-3')	参考文献 Reference	
内参基因 Reference gene	<i>Actin</i>	F: TTGTATGCCAACACTGTCCTTT R: TGGCGCGATGATCTTAATTT	Simone et al., 2009	
	生长发育相关基因 Development-related gene	<i>Ecr</i>	F: GTTTGCGTTTGGAAAGTCACG R: GGGGGACCTTTTATGCGTGT	刘川冬等, 2018 Liu et al., 2018
		<i>Usp</i>	F: GGCACGAGGTAAAAGTGACGA R: TTAGCCAAGTGTGTCACGG	
营养相关基因 Nutrient-related gene	<i>ILP1</i>	F: TGGCAAGGTGTCTATCACCG R: ACGTCAGCAGCATATCACCA	de Azevedo & Hartfelder, 2008	
	<i>ILP2</i>	F: TTCCAGAAATGGAGATGGATG R: TAGGAGCGCAACTCCTCTGT		
	<i>Hex110</i>	F: ACAACAAGCAGGACAACAGGA R: ACCAAGTCCGTTAGAAAGACGA	郑彬悦等, 2019 Zheng et al., 2019	
	<i>Hex70b</i>	F: CCTTGACCGAAATACGACGA R: GTGTGCTTCCGCTTTTCAGG		
	<i>Vg</i>	F: AGTTCGACCGACGACGA R: TTCCCTCCCACGGAGTCC	Evans et al., 2006	
	免疫相关基因 Immune-related gene	<i>Api</i>	F: TTTTGCCTTAGCAATTCTTGTTG R: GTAGGTCGAGTAGGCGGATCT	Evans et al., 2006
<i>Aba</i>		F: CAGCATTCGCATACGTACCA R: GACCAGGAAACGTTGGAAAC	Simone et al., 2009	
<i>Def1</i>		F: TGGCTGCTAACTGTCTCAG R: AATGGCACTTAACCGAAACG		
<i>Hym</i>		F: CTCTTCTGTGCCGTTGCATA R: GCGTCTCCTGTCATTCCATT		

1.3 数据分析

利用SPSS 17.0进行单因素方差分析,采用Tukey's HSD检验法进行多重比较分析。

2 结果与分析

2.1 啮氧菌酯对意大利蜜蜂生长发育的影响

啮氧菌酯处理可显著影响意大利蜜蜂工蜂幼虫的生长发育,且浓度越高影响越显著(表2)。与对照相比,不同浓度啮氧菌酯处理后意大利蜜蜂工蜂幼虫的存活率、蛹重和羽化初生重均显著下降($P < 0.05$);浓度150、225和281 mg/L啮氧菌酯处理后意大利蜜蜂工蜂幼虫的化蛹率和蛹的羽化率也均显著低于对照($P < 0.05$),分别较对照下降了38.6%、52.9%、52.5%和14.8%、45.26%、64.9%(表2)。

2.2 啮氧菌酯对意大利蜜蜂发育相关基因的影响

啮氧菌酯处理可诱导意大利蜜蜂工蜂幼虫体内*Ecr*基因表达,且浓度越高诱导效应越显著($P < 0.05$),不同浓度啮氧菌酯处理后其体内*Ecr*基因的相对表达量分别上调3.36倍、3.15倍、2.69倍和2.29倍;啮氧菌酯处理虽可诱导意大利蜜蜂工蜂幼虫体内*Usp*基因的相对表达量上调,但均与对照差异不显著(图1)。

2.3 啮氧菌酯对意大利蜜蜂营养相关基因的影响

啮氧菌酯处理可显著下调意大利蜜蜂工蜂幼虫体内*ILP1*基因的相对表达量($P < 0.05$),但啮氧菌酯不同浓度处理之间差异不显著;而啮氧菌酯处理可显著上调幼虫体内*Vg*基因的相对表达量($P < 0.05$),且基因的相对表达量与啮氧菌酯浓度正相关($P <$

0.05); 281 mg/L 和 225 mg/L 浓度啉氧菌酯处理后幼虫体内 *ILP2* 基因的相对表达量显著上调 ($P < 0.05$), 分别为对照的 1.40 倍和 1.88 倍, 而 *Hex70b* 基因的对表达量却显著下调 ($P < 0.05$), 分别为对照的

62.8% 和 61.7%; 仅 281 mg/L 浓度啉氧菌酯处理后幼虫体内 *Hex110* 基因的相对表达量显著下调 ($P < 0.05$), 而其他浓度处理后均与对照无显著变化(图2)。

表2 啉氧菌酯对意大利蜜蜂工蜂幼虫生长发育的影响

Table 2 Effects of picoxystrobin on the growth and development of worker bee larvae of *Apis mellifera ligustica*

浓度 Concentration/(mg/L)	存活率 Survival rate/%	化蛹率 Pupation rate/%	蛹重 Pupa weight/mg	羽化率 Eclosion rate/%	羽化初生重 Newly-emergence weight/mg
对照 CK	90.79±6.08 a	82.66±7.15 a	191.58±7.54 a	94.98±3.21 a	138.03±7.33 a
113	70.36±1.43 b	72.02±0.69 ab	154.58±1.98 b	94.15±1.52 a	99.85±4.15 b
150	40.86±9.49 c	50.79±9.91 bc	142.40±7.85 b	80.88±2.15 b	91.35±10.69 b
225	13.99±5.73 d	38.95±17.51 c	95.55±12.80 c	52.08±9.55 c	84.00±19.49 b
281	10.14±4.53 d	39.29±12.88 c	80.85±15.26 c	33.33±0.97 d	71.25±0.07 b

表中数据为平均数±标准差。同列不同小写字母表示经 Tukey's HSD 检验法检验差异显著 ($P < 0.05$)。Data are mean±SD. Different lowercase letters in the same column indicate significant difference by Tukey's HSD test ($P < 0.05$).

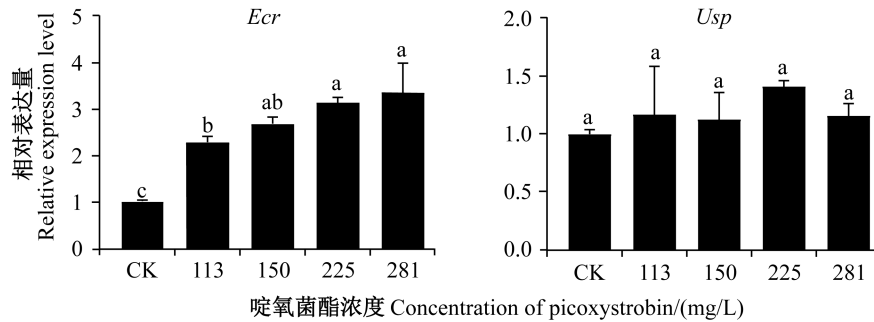


图1 啉氧菌酯对意大利蜜蜂幼虫体内发育相关基因相对表达量的影响

Fig. 1 Effects of picoxystrobin on relative expression levels of development-related genes in larvae of *Apis mellifera ligustica*

图中数据为平均数±标准差。不同小写字母表示经 Tukey's HSD 检验法检验差异显著 ($P < 0.05$)。Data are mean±SD. Different lowercase letters indicate significant difference by Tukey's HSD test ($P < 0.05$).

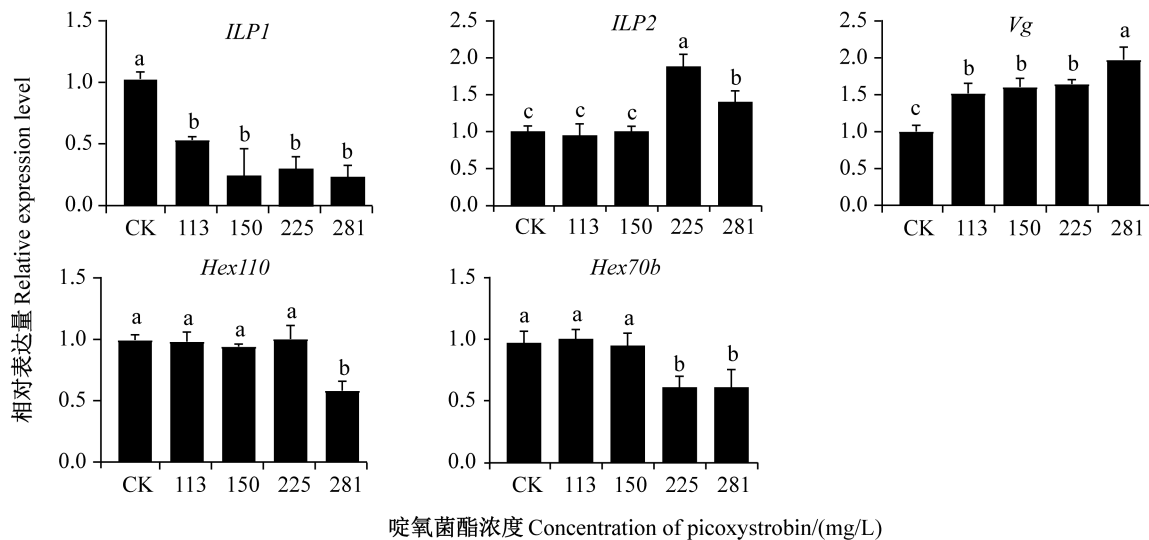


图2 啉氧菌酯对意大利蜜蜂幼虫体内营养相关基因相对表达量的影响

Fig. 2 Effects of picoxystrobin on relative expression levels of nutrition-related genes in larvae of *Apis mellifera ligustica*

图中数据为平均数±标准差。不同小写字母表示经 Tukey's HSD 检验法检验差异显著 ($P < 0.05$)。Data are mean±SD. Different lowercase letters indicate significant difference by Tukey's HSD test ($P < 0.05$).

2.4 啮氧菌酯对意大利蜜蜂免疫相关基因的影响

啮氧菌酯处理可显著诱导意大利蜜蜂工蜂幼虫体内 *Defl* 和 *Hym* 基因的相对表达量 ($P < 0.05$), 其中 225 mg/L 浓度处理后 *Defl* 基因的相对表达量最大, 为对照的 4.75 倍, 113 mg/L 浓度处理后 *Hym* 基因的相对表达量最大, 为对照的 8.18 倍; 不同浓度啮氧菌酯处理后幼虫体内 *Api* 基因的相对表达量均呈下降

趋势, 且与处理浓度呈负相关, 281 mg/L 浓度处理后 *Api* 基因的相对表达量最小, 仅为对照的 55.6%; 281 mg/L 和 225 mg/L 浓度处理后 *Aba* 基因的相对表达量上调, 且 281 mg/L 浓度处理后显著上调 ($P < 0.05$), 113 mg/L 和 150 mg/L 浓度下 *Aba* 基因的相对表达量均下调, 但与对照差异不显著 (图 3)。

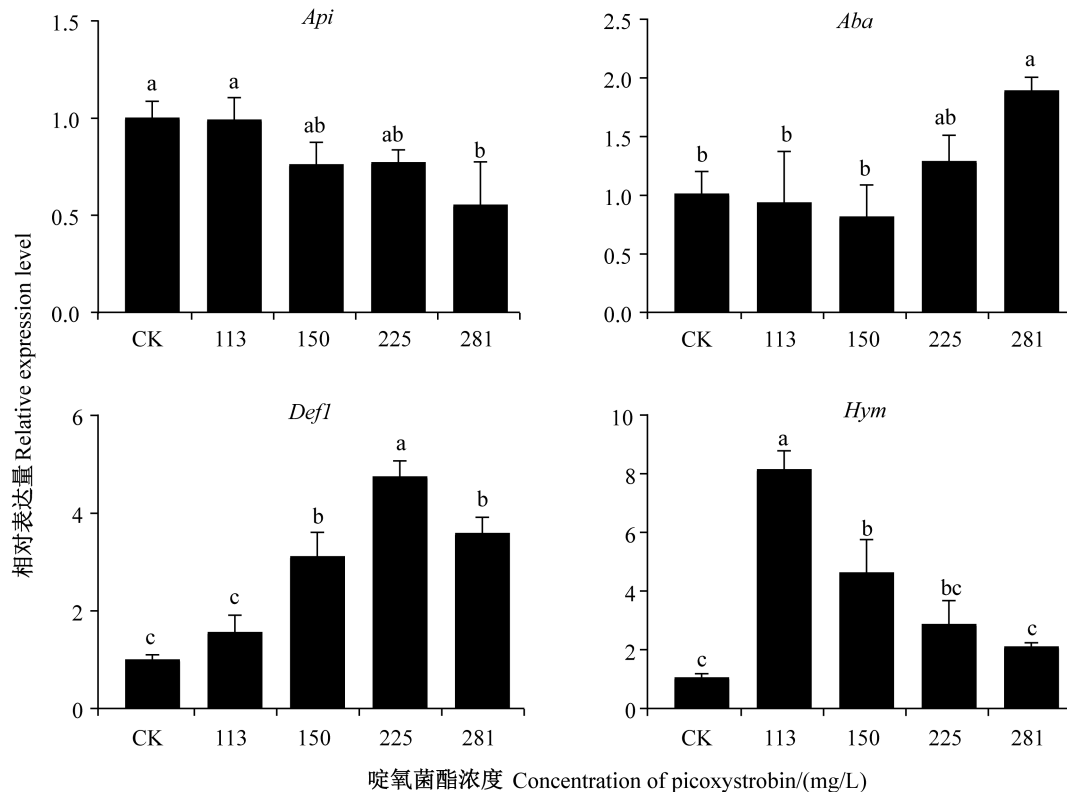


图 3 啮氧菌酯对意大利蜜蜂幼虫体内免疫相关基因相对表达量的影响

Fig. 3 Effects of picoxystrobin on the relative expression levels of immune-related genes in larvae of *Apis mellifera ligustica*

图中数据为平均数±标准差。不同小写字母表示经 Tukey's HSD 检验法检验差异显著 ($P < 0.05$)。Data are mean±SD. Different lowercase letters indicate significant difference by Tukey's HSD test ($P < 0.05$).

3 讨论

啮氧菌酯属于甲氧基丙烯酸酯类杀菌剂, 通过阻断病原菌线粒体细胞色素 b 和细胞色素 c1 间的电子传递影响病原菌体内腺苷三磷酸 (adenosine triphosphate, ATP) 的合成, 从而导致病原菌生长异常 (FRAC, 2024)。谭丽超等 (2021) 室内评价结果显示啮氧菌酯对意大利蜜蜂有较低的急性毒性。本研究结果显示, 经田间推荐使用浓度的啮氧菌酯处理后, 意大利蜜蜂幼虫的存活率、蛹重和羽化初生重均显著下降, 且与啮氧菌酯处理浓度呈正相关关系, 表明啮氧菌酯对意大利蜜蜂工蜂幼虫有慢性毒性, 长期暴露处理会对幼虫的存活、生长发育和免疫等有

毒性效应。Nicodemo et al. (2020) 研究发现啮氧菌酯能降低意大利蜜蜂工蜂 ATP 合成速率, 为了满足正常的能量需求, 工蜂需要增强自身的营养代谢, 这势必会引起 *ILP*、*Hex* 及 *Vg* 等营养相关基因变化 (Xiong et al., 2023)。此外, 啮氧菌酯可诱导意大利蜜蜂肠道细胞形态异常, 细胞凋亡信号增加, 同时还引起脂肪体损伤, 影响幼虫对营养物质的吸收、代谢以及抗菌肽的合成 (Batista et al., 2020; Conceição de Assis et al., 2022)。

蜜蜂幼虫需要经历 4 次蜕皮, 整个蜕皮过程主要受体内蜕皮激素和保幼激素的调节 (黄少康, 2011)。蜕皮激素受体基因 *Ecr* 与超气门蛋白基因 *Usp* 是传递蜕皮激素信号的关键环节, 两者结合为

二聚体作用于蜕皮激素,激活下游基因,引发蜕皮变态的级联反应(Hu et al., 2003)。刘川冬等(2018)研究结果显示意大利蜜蜂幼虫 *Ecr* 和 *Usp* 的表达量与其日龄正相关。本研究发现啶氧菌酯处理后蜜蜂工蜂幼虫体内 *Ecr* 和 *Usp* 基因表达水平均上调,其中 *Ecr* 基因的表达水平显著提高,这可能导致幼虫提前蜕皮,进而导致幼虫存活率和化蛹率下降。在工蜂幼虫向蛹转变的过程中,Hex 由脂肪体合成并释放到血淋巴中,用于蛹的结构和组织重构(黄少康, 2011; Xiong et al., 2023),所以 *Hex110* 和 *Hex70b* 在末龄幼虫的脂肪体内高表达(Martins et al., 2010)。但本研究结果显示 281 mg/L 啶氧菌酯处理后意大利蜜蜂 6 日龄幼虫体内 *Hex110* 和 *Hex70b* 的表达量均显著低于对照,究其原因可能是,啶氧菌酯处理后幼虫需要额外消耗更多的糖和蛋白质等营养物质以应对啶氧菌酯的胁迫,这导致可用于合成储存蛋白的营养物质减少;同时 Hex 还是保幼激素的转运蛋白,调节昆虫体内保幼激素的滴度(Martins et al., 2010),所以其表达量下降不仅导致即将化蛹的 6 日龄幼虫体内 Hex 含量下降,还导致幼虫化蛹率和蛹重显著下降,与本研究结果一致。

在蜜蜂幼虫生长发育过程中,胰岛素样肽基因 *ILP1* 和 *ILP2* 可调控其对营养物质的代谢和积累,其中 *ILP1* 主要是在蜜蜂脂质代谢中发挥作用,而 *ILP2* 则是蜜蜂营养状况指标,且二者的表达均受蜜蜂日龄、级型和食物变化的影响(Wheeler et al., 2006; Ihle et al., 2014; 张龙辉和王国栋, 2014)。Nilsen et al. (2011) 研究发现 *ILP1* 仅在脂肪体的绛色细胞中表达,且调控脂类的合成,因此推测本研究中啶氧菌酯处理通过显著抑制工蜂幼虫体内 *ILP1* 的表达来影响幼虫体内脂类物质的正常代谢。同时 Wang et al. (2018) 研究发现蜜蜂体内 *ILP1* 可调控保幼激素的合成, RNA 干扰 *ILP1* 后幼虫体内保幼激素滴度降低,幼虫发育异常,这与本研究中啶氧菌酯处理后幼虫化蛹率显著下降的结果一致。*ILP2* 基因可在蜜蜂脂肪体的绛色细胞和营养细胞中表达,并调控脂类、蛋白质和糖类等营养物质的合成与代谢(Nilsen et al., 2011)。Domingues et al. (2017) 发现啶氧菌酯可引起蜜蜂成年工蜂脂肪体营养细胞中糖原的代谢增加。本研究结果显示啶氧菌酯高浓度处理(281 mg/L 和 225 mg/L)后幼虫体内 *ILP1* 基因的表达量下降,但幼虫体内 *ILP2* 基因的表达量显著增加,表明工蜂幼虫与成蜂一样,当脂类物质代谢受阻时,通过增加蛋白质、糖类等营养物质代谢来降低杀菌剂对机体

的毒性效应,但这会额外消耗蜜蜂体内储存的营养物质,导致其营养不良,体重下降。

蜜蜂 Vg 与生长发育、寿命、行为调控和免疫能力等方面密切相关,同时还可与胰岛素/胰岛素样信号传导途径有相互协调作用,调控蜜蜂的营养状况(Amdam et al., 2005; Zheng et al., 2017)。啶氧菌酯处理可显著诱导幼虫体内 Vg 的表达水平,且与处理浓度呈正相关,这表明当蜜蜂胰岛素/胰岛素样 *ILP1* 和 *ILP2* 的表达受到啶氧菌酯胁迫后,幼虫还可协调 Vg 使其保持正常的营养状况;同时,啶氧菌酯还可导致生物体的活性氧产生和累积(Li et al., 2018),而高表达的 Vg 可协助幼虫清除体内多余的自由基,减轻氧化应激反应,起到延长寿命的作用(Seehuus et al., 2006; 严盈等, 2010; 黄少康, 2011)。陈恒(2021)研究也发现工蜂可通过提高 Vg 的表达量来降低多菌灵的胁迫效应。

抗菌肽是蜜蜂在外界因素诱导下产生的具有抗菌活性的小分子肽,如 *Api*、*Aba*、*Def1* 和 *Hym* 等,是蜜蜂体液免疫的重要组成,可帮助蜜蜂应对外界不良因素的胁迫(黄少康, 2011; 曾令瑜等, 2019; Xiong et al., 2023)。杀菌剂可影响蜜蜂抗菌肽的表达,如咪鲜胺和多菌灵可诱导蜜蜂成虫和幼虫体内 *Aba* 和 *Def1* 的表达,而吡唑醚菌酯可抑制幼虫体内 *Api* 和 *Aba* 基因表达量(Wang et al., 2018; Glavinic et al., 2019; Xiong et al., 2023)。本研究结果显示啶氧菌酯处理可影响工蜂幼虫体内 *Api*、*Aba*、*Def1* 和 *Hym* 四种抗菌肽基因的表达量,尽管这 4 种抗菌肽基因的表达量变化各不相同,但这均将影响工蜂幼虫的体液免疫。*Api* 是蜜蜂受到病原物侵染后最早应答的抗菌肽(叶良等, 2022), Xiong et al. (2023) 发现吡唑醚菌酯能抑制意大利蜜蜂蛹内 *Api* 基因表达,从而增加工蜂蛹对病原物的敏感性,进而导致蛹的存活率和羽化率下降。本研究也发现,各浓度啶氧菌酯处理后工蜂幼虫体内 *Api* 基因的表达量下调,且幼虫的存活率显著下降。昆虫通过协调不同的免疫途径来抵抗病原菌的侵染,如抗菌肽 *Api* 和 *Aba* 可提高蜜蜂对革兰氏阴性菌的抵抗力(Casteels et al., 1993; Cardoso et al., 2019)。本研究结果显示 281 mg/L 啶氧菌酯处理后工蜂幼虫体内 *Api* 基因的表达量下降,但 *Aba* 基因的表达量显著增加以维持幼虫对革兰氏阴性菌的抵抗力;同时啶氧菌酯处理后幼虫体内 *Def1* 基因的表达量上调,表明 *Def1* 可能参与幼虫对啶氧菌酯的代谢(Glavinic et al., 2019; Gashout et al., 2020)。

综上,田间推荐使用浓度的啉氧菌酯处理可显著影响意大利蜜蜂幼虫的生长发育和免疫应答,对意大利蜜蜂幼虫有慢性毒性。因此,在蜜蜂授粉过程中,应充分考虑啉氧菌酯等杀菌剂对蜜蜂等非靶标昆虫的潜在风险;但蜜蜂对农药的敏感性受龄期、级型、营养条件和生理状态等因素的影响,后续将探讨啉氧菌酯对不同日龄意大利蜜蜂工蜂成虫的影响,以期为保护蜜蜂等授粉昆虫的安全和我国蜂业健康发展提供理论参考和技术支持。

参 考 文 献 (References)

- Amdam GV, Aase ALTO, Seehuus SC, Kim Fondrk M, Norberg K, Hartfelder K. 2005. Social reversal of immunosenescence in honey bee workers. *Experimental Gerontology*, 40(12): 939–947
- Batista AC, da Costa Domingues CE, Costa MJ, Silva-Zacarin ECM. 2020. Is a strobilurin fungicide capable of inducing histopathological effects on the midgut and Malpighian tubules of honey bees? *Journal of Apicultural Research*, 59(5): 834–843
- Böhme F, Bischoff G, Zebitz CPW, Rosenkranz P, Wallner K. 2018. Pesticide residue survey of pollen loads collected by honeybees (*Apis mellifera*) in daily intervals at three agricultural sites in South Germany. *PLoS ONE*, 13(7): e0199995
- Cardoso MH, Meneguetti BT, Costa BO, Buccini DF, Oshiro KGN, Preza SLE, Carvalho CME, Migliolo L, Franco OL. 2019. Non-lytic antibacterial peptides that translocate through bacterial membranes to act on intracellular targets. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(19): 4877
- Carneiro LS, Martínez LC, Gonçalves WG, Santana LM, Serrão JE. 2020. The fungicide iprodione affects midgut cells of non-target honey bee *Apis mellifera* workers. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 189: 109991
- Casteels P, Ampe C, Jacobs F, Tempst P. 1993. Functional and chemical characterization of hymenoptaecin, an antibacterial polypeptide that is infection-inducible in the honeybee (*Apis mellifera*). *The Journal of Biological Chemistry*, 268(10): 7044–7054
- Chen H. 2021. Effects of interactions between carbendazim and *Nosema ceranae* on the development of worker bees. Master thesis. Yangzhou: Yangzhou University (in Chinese) [陈恒. 2021. 多菌灵和东方蜜蜂微孢子虫共同胁迫对工蜂发育的影响. 硕士学位论文. 扬州: 扬州大学]
- Chen ZM. 2022. Effects of *Apis cerana cerana* Fabricius pollination on seed bearing and quality of *Sophora davidii* and *Trifolium repens*. Master thesis. Guiyang: Guizhou University (in Chinese) [陈志敏. 2022. 中华蜜蜂授粉对白刺花与白三叶种子结实及产量的影响. 硕士学位论文. 贵阳: 贵州大学]
- Conceição de Assis J, da Costa Domingues CE, Tadei R, Inês da Silva C, Soares Lima HM, Decio P, Silva-Zacarin ECM. 2022. Sublethal doses of imidacloprid and pyraclostrobin impair fat body of solitary bee *Tetrapedia diversipes* (Klug, 1810). *Environmental Pollution*, 304: 119140
- Dai JJ, Shu R, Liu J, Xia JF, Jiang XS, Zhao P. 2021. Transcriptome analysis of *Apis mellifera* under benomyl stress to discriminate the gene expression in response to development and immune systems. *Journal of Environmental Science and Health, Part B: Pesticides, Food Contaminants, and Agricultural Wastes*, 56(6): 594–605
- de Azevedo SV, Hartfelder K. 2008. The insulin signaling pathway in honey bee (*Apis mellifera*) caste development: differential expression of insulin-like peptides and insulin receptors in queen and worker larvae. *Journal of Insect Physiology*, 54(6): 1064–1071
- Domingues CEC, Abdalla FC, Balsamo PJ, Pereira BVR, Hausen MA, Costa MJ, Silva-Zacarin ECM. 2017. Thiamethoxam and picoxystrobin reduce the survival and overload the hepatonephrotoxic system of the Africanized honeybee. *Chemosphere*, 186: 994–1005
- Duan XL, Xiong MQ, Liu WB, Zhao BA, Huang SK, Li JH. 2020. Effects of three fungicides on the activities of protective enzymes and detoxifying enzymes in *Apis mellifera*. *Acta Prataculturae Sinica*, 29(11): 74–82 (in Chinese) [段辛乐, 熊曼琼, 刘文斌, 赵必安, 黄少康, 李江红. 2020. 苜蓿花期三种杀菌剂对意大利蜜蜂保护酶和解毒酶的影响. 草业学报, 29(11): 74–82]
- Erban T, Trojakova L, Kamler M, Titera D. 2017. Detection of the desiccant and plant growth regulator chlormequat in honeybees and comb pollen. *Veterinárni Medicína*, 62(11): 596–603
- Evans JD, Aronstein K, Chen YP, Hetru C, Imler JL, Jiang H, Kanost M, Thompson GJ, Zou Z, Hultmark D. 2006. Immune pathways and defence mechanisms in honey bees *Apis mellifera*. *Insect Molecular Biology*, 15(5): 645–656
- Fungicide Resistance Action Committee (FRAC). 2024. FRAC classification of fungicides. <https://www.frac.info/docs/default-source/publications/frac-mode-of-action-poster/frac-moa-poster-2024.pdf>, 2024-4-8
- Gashout HA, Guzman-Novoa E, Goodwin PH, Correa-Benítez A. 2020. Impact of sublethal exposure to synthetic and natural acaricides on honey bee (*Apis mellifera*) memory and expression of genes related to memory. *Journal of Insect Physiology*, 121: 104014
- Glavinic U, Tesovnik T, Stevanovic J, Zorc M, Cizelj I, Stanimirovic Z, Narat M. 2019. Response of adult honey bees treated in larval stage with prochloraz to infection with *Nosema ceranae*. *PeerJ*, 7: e6325
- Gregorc A, Ellis JD. 2011. Cell death localization *in situ* in laboratory reared honey bee (*Apis mellifera* L.) larvae treated with pesticides. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 99(2): 200–207
- Guo Y, Song ZQ, Zhang XF, Song HL, Wu WQ, Shao YQ. 2017. Comparison of pollinating effects for the alfalfa between *Apis mellifera* L. and *Bombus terrestris* L. *Chinese Journal of Applied Entomology*, 54(6): 1008–1014 (in Chinese) [郭媛, 宋卓琴, 张旭凤, 宋怀磊, 武文卿, 邵有全. 2017. 西方蜜蜂和地熊蜂为紫花苜蓿授粉效果比较. 应用昆虫学报, 54(6): 1008–1014]
- Hu X, Cherbas L, Cherbas P. 2003. Transcription activation by the ec-

- dysone receptor (EcR/USP): identification of activation functions. *Molecular Endocrinology*, 17(4): 716–731
- Huang SK. 2011. Bee physiology. Beijing: China Agriculture Press (in Chinese) [黄少康. 2011. 蜜蜂生理学. 北京: 中国农业出版社]
- Ihle KE, Baker NA, Amdam GV. 2014. Insulin-like peptide response to nutritional input in honey bee workers. *Journal of Insect Physiology*, 69: 49–55
- Kakumanu ML, Reeves AM, Anderson TD, Rodrigues RR, Williams MA. 2016. Honey bee gut microbiome is altered by in-hive pesticide exposures. *Frontiers in Microbiology*, 7: 1255
- Li FX, Wang Q, Duan TY, Nie B, Feng CZ. 2021. Control efficacy of different fungicides and compound formulations on common vetch anthracnose. *Acta Prataculturae Sinica*, 30(12): 172–183 (in Chinese) [李法喜, 王琼, 段廷玉, 聂斌, 封成智. 2021. 不同杀菌剂及其复配对箭筈豌豆炭疽病的防治研究. 草业学报, 30(12): 172–183]
- Li H, Cao FJ, Zhao F, Yang Y, Teng MM, Wang CJ, Qiu LH. 2018. Developmental toxicity, oxidative stress and immunotoxicity induced by three strobilurins (pyraclostrobin, trifloxystrobin and picoxystrobin) in zebrafish embryos. *Chemosphere*, 207: 781–790
- Liu CD, Wang Q, Yu H, Zhang ZB, Zheng BY, Li JH. 2018. Expression and functional analysis of early-response factors *ecr* and *usp* of ecdysteroid in different castes of *Apis mellifera*. *Genomics and Applied Biology*, 37(2): 686–692 (in Chinese) [刘川冬, 王琦, 于鹤, 张智博, 郑彬悦, 李江红. 2018. 西方蜜蜂(*Apis mellifera*)不同级型蜕皮激素早期应答因子 *ecr* 和 *usp* 的表达及功能分析. 基因组学与应用生物学, 37(2): 686–692]
- Livak KJ, Schmittgen TD. 2001. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta CT}$ method. *Methods*, 25(4): 402–408
- Mao PS, Ou CM, Jia ZC, Hong L, Ma W. 2023. Research progress for seed production technology of herbage and turfgrass in China. *Chinese Journal of Grassland*, 45(1): 1–11 (in Chinese) [毛培胜, 欧成明, 贾志程, 洪流, 马馼. 2023. 我国牧草与草坪草种子生产技术的研究进展. 中国草地学报, 45(1): 1–11]
- Martins JR, Nunes FMF, Cristino AS, Simões ZLP, Bitondi MMG. 2010. The four hexamerin genes in the honey bee: structure, molecular evolution and function deduced from expression patterns in queens, workers and drones. *BMC Molecular Biology*, 11: 23
- Nicodemo D, Mingatto FE, De Jong D, Bizerra PFV, Tavares MA, Bellini WC, Vicente EF, de Carvalho A. 2020. Mitochondrial respiratory inhibition promoted by pyraclostrobin in fungi is also observed in honey bees. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 39(6): 1267–1272
- Nilsen KA, Ihle KE, Frederick K, Fondrk MK, Smedal B, Hartfelder K, Amdam GV. 2011. Insulin-like peptide genes in honey bee fat body respond differently to manipulation of social behavioral physiology. *The Journal of Experimental Biology*, 214(Pt9): 1488–1497
- Seehuus SC, Norberg K, Gimsa U, Krekling T, Amdam GV. 2006. Reproductive protein protects functionally sterile honey bee workers from oxidative stress. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 103(4): 962–967
- Shi FS, Liu XW, Yu WQ, Gao FC, Zhang CF, Chen DX, Wang QS. 2009. Effect of *Apis mellifera* on pollinizing effectiveness of Russian alfalfa. *Pratacultural Science*, 26(8): 147–151 (in Chinese) [石风善, 刘祥伟, 于文全, 高夫超, 张春峰, 陈德祥, 王庆胜. 2009. 高加索蜜蜂对俄罗斯紫花苜蓿授粉的效果. 草业科学, 26(8): 147–151]
- Simone M, Evans JD, Spivak M. 2009. Resin collection and social immunity in honey bees. *Evolution*, 63(11): 3016–3022
- Tan LC, Ge F, Cheng Y, Shan ZJ. 2021. Acute toxicity of four commonly used strobilurin fungicides. *Pesticide Science and Administration*, 42(1): 33–38 (in Chinese) [谭丽超, 葛峰, 程燕, 单正军. 2021. 4种常用甲氧基丙烯酸酯类杀菌剂的急性毒性评价. 农药科学与管理, 42(1): 33–38]
- Wang K, Fan RL, Ji WN, Zhang WW, Chen XM, Wang S, Yin L, Gao FC, Chen GH, Ji T. 2018. Transcriptome analysis of newly emerged honeybees exposure to sublethal carbendazim during larval stage. *Frontiers in Genetics*, 9: 426
- Wang WH. 2019. Research on the effects of three bee species on the reproduction of *Medicago sativa*. Master thesis. Changchun: Northeast Normal University (in Chinese) [王文慧. 2019. 三种蜂对紫花苜蓿(*Medicago sativa*)繁殖影响研究. 硕士学位论文. 长春: 东北师范大学]
- Wang Y, Yuan QH, Miao LH, Zhang L, Pan LQ. 2016. The major types and epidemic trends of alfalfa diseases in Northeast and North China. *Acta Prataculturae Sinica*, 25(3): 52–59 (in Chinese) [王瑜, 袁庆华, 苗丽宏, 张丽, 潘龙其. 2016. 东北与华北地区紫花苜蓿病害调查与主要病害流行规律研究. 草业学报, 25(3): 52–59]
- Wheeler DE, Buck N, Evans JD. 2006. Expression of insulin pathway genes during the period of caste determination in the honey bee, *Apis mellifera*. *Insect Molecular Biology*, 15(5): 597–602
- Wu M, Zhang XF, Zhang YY, Song HL, Wu WQ, Song JQ, Guo Y. 2020. Comparison of visiting behavior for the alfalfa between *Apis mellifera* L. and *Megachile rotundata* F. *Apiculture of China*, 71(12): 72–74 (in Chinese) [武敏, 张旭凤, 张云毅, 宋怀磊, 武文卿, 宋佳奇, 郭媛. 2020. 意大利蜜蜂和苜蓿切叶蜂为紫花苜蓿授粉访花行为比较. 中国蜂业, 71(12): 72–74]
- Wu WQ, Guo Y, Qi WZ, Li C. 2019. Investigation on pollination status of alfalfa in Gansu Province. *Apiculture of China*, 70(12): 23–25 (in Chinese) [武文卿, 郭媛, 祁文忠, 李川. 2019. 甘肃紫花苜蓿授粉现状调查. 中国蜂业, 70(12): 23–25]
- Xiong MQ, Qin G, Wang LZ, Huang SK, Li JH, Duan XL. 2022. Toxic effects of fungicides on physiology and behavior of honeybee. *Asian Journal of Ecotoxicology*, 17(6): 163–175 (in Chinese) [熊曼琼, 覃淦, 王梨竹, 黄少康, 李江红, 段辛乐. 2022. 杀菌剂对蜜蜂生理和行为的毒性效应研究. 生态毒理学报, 17(6): 163–175]
- Xiong MQ, Qin G, Wang LZ, Wang RY, Zhou RQ, Luo XT, Lou Q, Huang SK, Li JH, Duan XL. 2023. Field recommended concentrations of pyraclostrobin exposure disturb the development and

- immune response of worker bees (*Apis mellifera* L.) larvae and pupae. *Frontiers in Physiology*, 14: 1137264
- Xu HL, Yang JW, Sun JR. 2009. Current status on the study of wild bee-pollinators and conservation strategies in China. *Journal of Plant Protection*, 36(4): 371-376 (in Chinese) [徐环李, 杨俊伟, 孙洁茹. 2009. 我国野生传粉蜂的研究现状与保护策略. *植物保护学报*, 36(4): 371-376]
- Yan XJ, Shi X, Liu XH, Du YH, Yang DB, Yuan HZ. 2021. The spray drift risk of plant protection unmanned aerial vehicle (UAV) spraying neonicotinoid pesticides to honey bees. *Journal of Plant Protection*, 48(3): 477-482 (in Chinese) [闫晓静, 石鑫, 刘晓慧, 杜亚辉, 杨代斌, 袁会珠. 2021. 多旋翼植保无人机喷施新烟碱类杀虫剂对蜜蜂的飘移风险. *植物保护学报*, 48(3): 477-482]
- Yan Y, Peng L, Wan FH. 2010. Pleiotropic functions of insect vitellogenin: with honey bee *Apis mellifera* as an example. *Acta Entomologica Sinica*, 53(3): 335-348 (in Chinese) [严盈, 彭露, 万方浩. 2010. 昆虫卵黄原蛋白功能多效性: 以蜜蜂为例. *昆虫学报*, 53(3): 335-348]
- Ye L, Shi TF, Liu P, Zhu YJ, Li L, Yu LS. 2022. Research and application progress of bee antimicrobial peptides. *Journal of Environmental Entomology*, 44(3): 556-568 (in Chinese) [叶良, 施腾飞, 刘鹏, 朱玉洁, 李来, 余林生. 2022. 蜜蜂抗菌肽研究及其应用进展. *环境昆虫学报*, 44(3): 556-568]
- Yu HT, Chang YM, Fu HM, Yang J, Zhao F, Niu SJ, Hu GF, Guo ZJ. 2022. Research progress on the environmental fate and ecological risk of picoxystrobin. *Gansu Agricultural Science and Technology*, 53(4): 11-15 (in Chinese) [余海涛, 常一明, 付慧敏, 杨瑾, 赵峰, 牛树君, 胡冠芳, 郭致杰. 2022. 啞氧菌酯环境归趋与生态风险研究进展. *甘肃农业科技*, 53(4): 11-15]
- Zeng LY, Li ZH, Liu LJ. 2019. Research progress in the immunity of insects and the immune mechanisms of five important invasive insects. *Journal of Plant Protection*, 46(1): 6-16 (in Chinese) [曾令瑜, 李志红, 柳丽君. 2019. 昆虫免疫及五种重要入侵昆虫免疫机制研究进展. *植物保护学报*, 46(1): 6-16]
- Zhang LH, Wang GD. 2014. Insulin-like peptides in invertebrates and their signaling pathways: take insects, for example. *Biotechnology Bulletin*, (10): 33-42 (in Chinese) [张龙辉, 王国栋. 2014. 无脊椎动物胰岛素样蛋白(insulin-like/related peptides)研究进展: 以昆虫为例. *生物技术通报*, (10): 33-42]
- Zhang Q. 2017. Study on pollination of alfalfa seeds by *Apis mellifera* in Hexi Area. *Gansu Animal Husbandry and Veterinary*, 47(5): 98-99 (in Chinese) [张骞. 2017. 意大利蜜蜂为河西地区紫花苜蓿种子生产授粉研究. *甘肃畜牧兽医*, 47(5): 98-99]
- Zhao S, Yuan SK, Cai B, Jiang H, Wang XJ, Lin RH, Qu WG, Zhang ZR. 2011. The acute oral toxicity of 300 formulated pesticides to *Apis mellifera*. *Agrochemicals*, 50(4): 278-280 (in Chinese) [赵帅, 袁善奎, 才冰, 姜辉, 王晓军, 林荣华, 瞿唯钢, 张招荣. 2011. 300个农药制剂对蜜蜂的急性经口毒性. *农药*, 50(4): 278-280]
- Zheng BY, Zhao BA, Jin X, Duan XL, Huang SK, Li JH. 2019. Effect of sacbrood virus infection on nutritional and immune responses of *Apis cerana cerana* (Hymenoptera: Apidae). *Acta Entomologica Sinica*, 62(9): 1054-1064 (in Chinese) [郑彬悦, 赵必安, 金鑫, 段辛乐, 黄少康, 李江红. 2019. 囊状幼虫病毒侵染对中华蜜蜂营养和免疫反应的影响. *昆虫学报*, 62(9): 1054-1064]
- Zheng H, Powell JE, Steele MI, Dietrich C, Moran NA. 2017. Honeybee gut microbiota promotes host weight gain via bacterial metabolism and hormonal signaling. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 114(18): 4775-4780

(责任编辑:张俊芳)