

张含, 刘一博, 孔令华, 等. 中蜂多层活框蜂箱繁殖力与抗巢虫性研究[J]. 江西农业大学学报, 2020, 42(1): 157-163.



中蜂多层活框蜂箱繁殖力与抗巢虫性研究

张 含^{1,2}, 刘一博¹, 孔令华², 付贤德², 徐欢成², 何旭江^{1*}

(1. 江西农业大学 蜜蜂研究所, 江西 南昌 330045; 2. 江西省上饶县农业局, 江西 上饶 334100)

摘要:【目的】中华蜜蜂(简称中蜂)是我国饲养的重要经济昆虫和授粉昆虫。相较于西方蜜蜂较为统一的朗氏标准蜂箱,中蜂的蜂箱种类繁多,仍未形成较为合适的标准蜂箱。本研究评估了一种中蜂多层活框蜂箱对中蜂繁殖性能和抗巢虫性能的影响。【方法】利用温湿度计比较分析了多层活框蜂箱和朗氏标准蜂箱的保温保湿效果,同时比较了两种蜂箱对蜂群繁殖力和抗巢虫性能的影响;最后利用实时荧光定量PCR比较了两种蜂箱饲养的初生工蜂两个抗氧化相关基因的表达。【结果】多层活框蜂箱饲养的蜂群繁殖能力优于朗氏标准箱饲养蜂群,保温和保湿效果均优于朗氏标准箱;多层活框蜂箱的白头蛹数和含巢虫卵的巢房数均显著低于朗氏标准箱,且未测得巢虫成虫。荧光定量PCR结果表明多层活框蜂箱饲养的蜜蜂铜锌超氧化物歧化酶(Cu-Zn SOD)基因表达量显著高于朗氏标准箱饲养的蜜蜂。另一个抗氧化相关基因谷胱甘肽硫转移酶4(GST4)则表达差异不显著。【结论】本研究表明多层活框蜂箱比朗氏标准箱更利于中蜂生存与繁殖,并可提高蜂群的抗氧化能力和抗巢虫性能。

关键词: 中华蜜蜂; 多层活框蜂箱; 繁殖力; 温湿度; 抗巢虫性能; 抗氧化

中图分类号:S893.2; S894.4 文献标志码:A 文章编号:1000-2286(2020)01-0157-07

A Study on Reproductive and Wax-Moth Defense Abilities of Honeybees (*Apis cerana cerana*) in Multiple-layer Hives

ZHANG Han^{1,2}, LIU Yi-bo¹, KONG Ling-hua², FU Xian-de²,
XU Huan-cheng², HE Xu-jiang^{1*}

(1. Honeybee Research Institute, Jiangxi Agricultural University, Nanchang 330045, China; 2. Shangrao Country Agricultural Bureau of Jiangxi Province, Shangrao, Jiangxi 334100, China)

Abstract: [Objective] Chinese honeybees *Apis cerana cerana* is an important economic and pollination insect species in China. The Langstroth standard beehives are widely used for western honeybees *Apis mellifera*. However, Chinese honeybees have many hive types and there are no standard hives specifically for them. In this study a multiple-layer hive was used, and the reproductive and wax-moth defense abilities of Chinese honeybees reared in this type of hives were measured. [Method] The temperature and humidity inside the multiple-layer

收稿日期: 2019-06-27 修回日期: 2019-08-23

基金项目: 国家自然科学基金项目(31702193)、江西省重点研发计划项目(2018BBF60019)和江西省上饶市科技支撑计划项目(18C012)

Project supported by the National Natural Science Foundation of China (31702193), Key Research and Development Project of Jiangxi Province (2018BBF60019) and Science and Technology Support Program of Shangrao City (18C012)

作者简介: 张含, orcid.org/0000-0002-9884-3756, 313527328@qq.com; *通信作者: 何旭江, 助理研究员, 博士, 主要从事蜜蜂生物学研究, orcid.org/0000-0002-7234-3630, hexujiang3@163.com。

hive and Langstroth standard beehive were measured and compared with a hygrothermograph; and the reproductive and wax-moth defense abilities of Chinese honeybees reared in these two types of hives were measured and compared. Eventually, the gene expression of two antioxidative genes in newly emerged workers from these two types of hives were compared. [Result] The results showed that Chinese honeybees kept in this new hive had a better reproductive ability than those reared in Langstroth standard beehives. The multiple-layer hive had a better effect on in-hive temperature and moisture maintaining. Furthermore, multiple-layer-hive colonies had significantly less bold pupae and cells with wax-moth eggs compared to those in Langstroth standard beehives, and no wax moth larvae were detected in the multiple-layer hives. qPCR results revealed that newly emerged worker bees from the multiple-layer hives had significantly higher expression of Cu-Zn SOD gene than that of Langstroth standard beehive group, while another gene GST4 was not significantly differentially expressed between the two groups. [Conclusion] This study indicates that the multiple-layer hive is better for China honeybee survival and reproduction, and can increase China honeybees' oxidation resistance and wax-moth defense ability, compared to the Langstroth standard beehive.

Keywords: *Apis cerana cerana*; multiple-layer hive; reproductive ability; temperature and humidity; wax-moth defense ability; oxidation resistance

【研究意义】中华蜜蜂是我国宝贵的蜂种资源,不仅可提供优质的蜂产品,也对我国的生态系统起着重要作用。我国自汉代开始,采用树筒(如棒棒巢)、圆桶和草编蜂箱等方式饲养中蜂^[1-2]。这类蜂箱十分适合中蜂的生长与繁衍,许多传统蜂箱沿用至今。但其缺点也十分明显,即巢脾不能移动,取蜜时需切下巢脾,也无法进行人工育王和日常生产管理^[2]。自朗氏蜂箱发明以来,西方蜜蜂一直沿用朗氏活框蜂箱进行饲养,形成了标准蜂箱。活框蜂箱利于蜂群管理和检查,取蜜后巢脾可重复利用,还可进行人工育王、蜂群并群与分群等工作^[2-3]。因此,利用活框蜂箱来饲养中蜂是促进中蜂发展的重要举措。**【前人研究进展】**我国自引入朗氏活框蜂箱后,也开始采用朗氏标准蜂箱饲养中蜂。然而,相较于西方蜜蜂,中蜂的群势较小,很难利用朗氏蜂箱内部的全部空间,难以形成繁殖区和生产区的分区管理。同时,中蜂野性较强,在朗氏标准蜂箱中并不能很好的生长与繁育,往往出现滋生巢虫和飞逃等现象。我国也设计了各类中蜂活框蜂箱。方文富^[4]在1991年研发了FWF型中蜂蜂箱,该类蜂箱尺寸小,分为平箱与继箱两层浅箱(箱高21 cm);秦裕本^[5]根据中蜂习性设计了Q-82型中蜂蜂箱,蜂箱为单个高箱(箱高45 cm);龚鳩羌与宁守容设计了GN中蜂蜂箱,蜂箱内径为37 cm×33 cm×18 cm,含有继箱,其高度为16 cm;杜海明等^[6]发明了中蜂多层叠式蜂箱;胡军军等^[7]调查了广西地区各种地域型活框蜂箱,箱长从35~43 cm,高度从20~25 cm不等。如此多样的中蜂蜂箱类型,但仍未形成如朗氏蜂箱般可广泛应用的中蜂蜂箱。与此同时,蜂箱的结构和尺寸可直接影响蜂群的生产力、蜂蜜品质和繁殖力等。方文富^[4]在1991年研发了FWF型中蜂蜂箱,该蜂箱保温效果好,可形成满子脾,且可进行中蜂产浆。徐祖荫等^[8]研究发现,中蜂短框箱(12框箱)比朗氏蜂箱蜂蜜产量高,保温保湿效果好,繁蜂快。刘曼等^[9]调查发现,中蜂蜂箱的类型可显著影响蜂蜜的淀粉酶活性、氨基酸和蛋白质含量等蜂蜜品质指标。**【本研究切入点】**本研究团队前期研究^[10]发现中蜂多层活框蜂箱更有利于蜂群的群势增长,其蜂蜜产量与品质也优于朗氏标准蜂箱的蜂群。此外,巢虫是中蜂的重要敌害之一,可侵蚀巢脾,造成大量白头蛹,甚至逼迫整群蜂飞逃^[11-12]。蜂箱类型是否会影响中蜂抗巢虫性能未见报道。**【拟解决的关键问题】**本研究对中蜂多层活框蜂箱的温湿度维持能力和繁殖性能进行测定,并对其抗巢虫性能及两个抗氧化相关基因表达量进行测定,以评估该蜂箱的生产特性,为我国中蜂标准蜂箱的研究提供科学借鉴。

1 材料与方法

1.1 试验蜂群

本试验选取了10群健康的中华蜜蜂*Apis cerana cerana*蜂群,饲养于江西省上饶县华坛山镇叶家村。

将5群蜂放入中蜂多层活框蜂箱饲养,蜂箱长宽均为37 cm、内径33 cm,高度20 cm,配隔王栅和继箱(高度20 cm),详细结构可参见本团队已发表论文^[13]。另外5群放入朗氏标准蜂箱饲养。试验前,调整群势,使所有蜂群群势相近。

1.2 仪器与试剂

主要仪器设备:指针式温湿度仪(天津美达时仪器仪表有限公司)、荧光定量PCR(美国ABI,7500)冷冻离心机(湖南湘立),移液器(德国Eppendorf),制冰机(北京长流),三洋超低温冰箱等(日本三洋),全套RNase-free的枪头和EP管(AXYGEN),超净工作台(苏州净化),微量核酸蛋白分析测定仪(德国IMPLEN)。

主要试剂:TransZol(北京全式金)、酶抑制剂(Ribonuclease Inhibitor,北京全式金)、dNTP Mixture(Takara,2.5 mmol),oligo(dT)(上海英杰合成,5.97 nmol/OD)、反转录酶M-MLV(Takara,200 U/ μ L)、荧光染料SYBR® *Premix Ex Taq™ II* (Takara)、无水乙醇(天津市大茂化学试剂厂)。

1.3 试验方法

1.3.1 蜂群封盖子数测定 试验蜂群首先进行调整群势,每群3足脾(意蜂标准脾)。因多层活框蜂箱巢脾大小约为标准脾的一半,因此起始蜂群群势为6足脾。将两组蜂箱的蜂群交叉排列于蜂场。自2018年8月7日起对每群蜂进行封盖子数测定,每隔12 d测定1次,总计测定5次。测定时,将一张意蜂标准脾大小的透明塑料片画成4.5 cm×4.5 cm的方格,每格含100个封盖子。取脾,抖去成年蜂,将塑料片覆于巢脾上,数封盖子格数。不足格的封盖子,可多个方格组合,记为一格,并记录数据。

1.3.2 蜂箱温湿度测定 在上述蜂群的蜂箱底部放入指针式温湿度计,盖好蜂箱盖。于8月7日、9月19日和9月26日07:00、11:00、13:00和17:00对每个蜂群的箱内温湿度进行采集,并记录数据。

1.3.3 蜂群抗巢虫性能测定 取一张蜂群中蜜脾,取出所有蜂蜜后放入蜂群隔板外侧,放置6 d。其中,意蜂标准箱取1张脾,多层活框蜂箱取2脾。第7天,检查并记录该脾上巢虫数及含有巢虫卵的巢房数。同时,对蜂群其他封盖子脾上的白头蛹进行计数,并计算每意蜂标准脾含白头蛹数(每脾白头蛹数=总白头蛹数/巢脾数)。

1.3.4 GST4与SOD抗氧化基因表达分析 从上述两种蜂箱的10蜂群中,随机选取6群,每种蜂箱3群。从每群中采集5只刚出房工蜂幼蜂,立即液氮冷冻处死。取工蜂头部,参照张丽珍^[14]的方法,通过Trizol法进行提取RNA,并反转录成cDNA。引物设计参照东方蜜蜂GST4与Cu-Zn SOD基因序列,用Primer 5.0软件设计引物序列(表3),由上海生工合成。以东方蜜蜂β-actin作为内参基因,进行荧光定量PCR分析。每个生物学重复进行3个技术重复。荧光定量PCR反应体系(10 μ L):cDNA 1 μ L, SYBR® *Premix Ex Taq™ II* 5 μ L, 上、下游引物(10 μ mol/L)各0.4 μ L, ddH₂O 3.2 μ L。反应程序:94 °C预热2 min,40个循环(94 °C,15 s; 60 °C,30 s; 72 °C,30 s)。每个样品进行5个技术重复。最后,利用2- $\Delta\Delta Ct$ 公式计算各个基因的相对表达量^[15]。

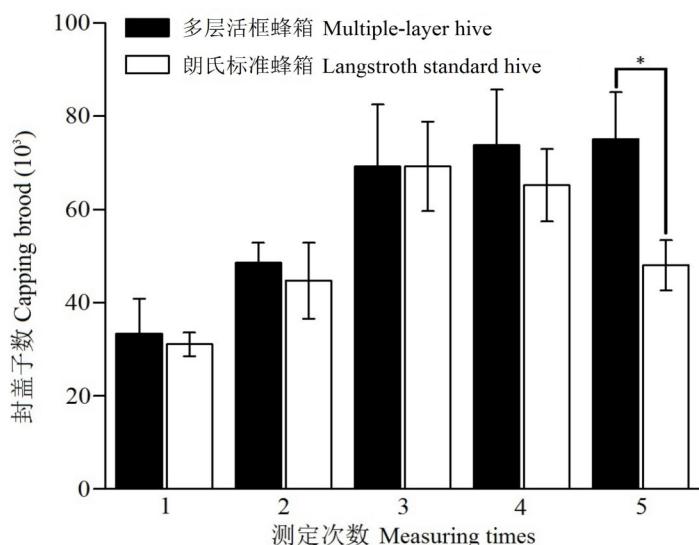
1.4 数据统计与分析

蜂群封盖子数和荧光定量PCR实验数据采用Stat view 5.01统计软件进行单因素方差分析, $P<0.05$ 为差异显著。温湿度、巢虫数、巢虫卵的巢房数和白头蛹数据采用非参数分析中的Kruskal-Wallis(SPSS Statistics Base 17.0)进行分析。

2 结果与分析

2.1 两种蜂箱蜂群封盖子数比较

通过5次封盖子数测定,多层活框蜂箱蜂群封盖子数成递增趋势,而朗氏标准蜂箱蜂群封盖子数在后期出现下降趋势,且第5次测定的封盖子数显著低于多层活框蜂箱组(图1, $P<0.05$),表明多层活框蜂箱更利于蜂群繁殖。



每个柱代表5个生物学重复的平均值±标准误,*表示差异显著($P<0.05$)

Each bar represents five replicate of mean±SE,* means significant difference ($P<0.05$)

图1 两种蜂箱蜂群封盖子数测定

Fig.1 Comparison of capping brood amounts between two hive types

2.2 两种蜂箱内温湿度比较

对两种蜂箱保温保湿效果进行测定,结果表明:两种蜂箱在11:00与14:00时箱内温湿度均无差异,而07:00与19:00时,多层活框蜂箱的保温和保湿效果均明显优于朗氏标准蜂箱(表1)。

表1 两种蜂箱箱内温湿度比较

Tab.1 Comparison of in-hive temperature and humidity between two hive types

| 指标 Indexes | | 时间 Date | | | | | | | | | | | |
|------------------|----------|-----------------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|----------------------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|----------------------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|
| | | 8月7日 7 th August | | | | 9月19日 19 th September | | | | 9月26日 26 th September | | | |
| | | 07:00 | 11:00 | 14:00 | 19:00 | 07:00 | 11:00 | 14:00 | 19:00 | 07:00 | 11:00 | 14:00 | 19:00 |
| 温度/℃ Temperature | 朗氏标准 LSH | 33.7±0.6 ^a | 34.3±0.8 ^a | 22.9±1.6 ^a | 24.4±0.9 ^a | 26.2±1.3 ^a | 25.3±1.6 ^a | 25.2±0.9 ^a | 25.2±1.3 ^a | 30.0±0.6 ^a | 31.8±0.2 ^a | 30.4±0.3 ^a | 27.8±0.7 ^a |
| | 多层活框 MLH | 34.1±0.8 ^a | 34.1±0.7 ^a | 24.9±1.2 ^a | 29.7±1.7 ^b | 32.2±0.2 ^b | 30.1±1.5 ^a | 26.1±0.6 ^a | 27.4±1.3 ^a | 29.8±0.5 ^a | 30.7±0.5 ^a | 31.0±0.6 ^a | 29.9±1.1 ^a |
| 湿度/% Humidity | 朗氏标准 LSH | 67.4±3.5 ^a | 67.6±3.0 ^a | 78.4±5.6 ^a | 62.0±7.1 ^a | 59.0±9.0 ^a | 59.2±7.9 ^a | 61.6±8.6 ^a | 74.4±3.5 ^a | 60.0±5.6 ^a | 57.2±8.2 ^a | 59.2±7.9 ^a | 61.6±8.6 ^a |
| | 多层活框 MLH | 82.0±4.3 ^b | 77.4±3.7 ^a | 85.0±1.9 ^a | 80.2±2.7 ^b | 82.6±2.1 ^b | 77.8±2.5 ^a | 74.2±2.5 ^a | 73.6±0.6 ^a | 78.4±1.9 ^b | 75.2±1.1 ^a | 76.6±1.7 ^a | 80.4±3.3 ^a |

相同字母表示差异不显著($P>0.05$),不同字母表示差异显著($P<0.05$)。每个值代表5个生物学重复的平均值±标准误

Same letters indicate no significant difference ($P>0.05$), whereas different letters indicate significant difference ($P<0.05$)。

LSH:Langstroth standard hive,MLH:multiple-layer hive.Each value indicates the mean±SE of five replicates

2.3 两种蜂箱蜂群抗巢虫性能比较

蜂群抗巢虫实验结果表明,朗氏标准蜂箱的各巢虫感染指标均高于多层活框蜂箱,且巢虫卵巢房的数量和每脾白头蛹数量显著高于多层活框蜂箱(表2)。

2.4 两种蜂箱工蜂GST4和SOD基因表达分析

引物序列设计见表3,多层活框蜂箱饲养的初生工蜂SOD基因表达显著高于朗氏标准蜂箱初生工蜂,而GST4基因表达差异不显著(图2)。

表2 两种蜂箱蜂群抗巢虫性能比较
Tab.2 Comparison of wax moth defense ability between two hive-type colonies

| 分组 Groups | 巢虫卵巢房数 Wax-moth-egg cells | 巢虫成虫数 No. of wax-moth larvae | 白头蛹数 No. of bold pupae |
|---------------|------------------------------|---------------------------------|---------------------------|
| 多层活框蜂箱 MLH | 0.40±0.89 ^a | 0.00±0.00 ^a | 0.67±0.21 ^a |
| 朗氏标准蜂箱 LSH | 33.40±29.89 ^b | 1.40±1.95 ^a | 3.50±4.77 ^b |

相同字母表示差异不显著($P>0.05$),不同字母表示差异显著($P<0.05$)。每个值代表5个生物学重复的平均值±标准差
Same letters indicate no significant difference ($P>0.05$), whereas different letters indicate significant difference ($P<0.05$).
LSH:Langstroth standard hive, MLH:multiple-layer hive. Each value indicates the mean±SD of five replicates

表3 荧光定量引物序列
Tab.3 Gene-specific primers used in real time quantitative PCR

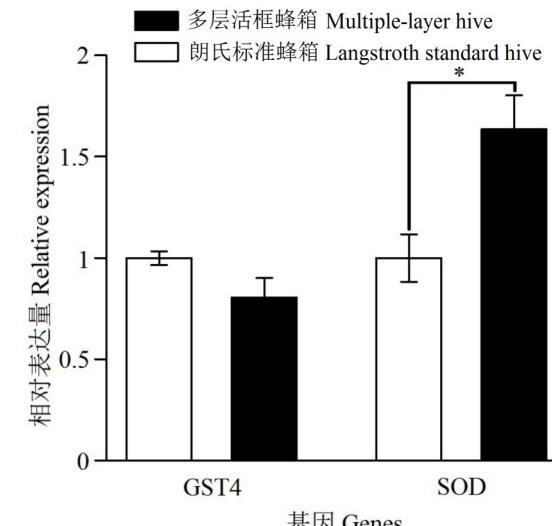
| 基因名称 Gene names | 正向引物 Forward primer | 反向引物 Reverse primer |
|--------------------|------------------------|------------------------|
| GST4 | CTTCTTAGTTATGGAGGTGTTG | GCCATCTGAAATCGTAAAGAG |
| SOD | AAACTATTCAACTCAAGGACCC | CACAAGCAAGACGAGCACC |
| β-actin | GGCTCCCGAAGAACATCC | TGCGAAACACCGTCACCC |

3 结论与讨论

蜂箱不仅是主要蜂机具,其结构和设计可显著影响蜂群的生产性能和繁殖性能等。本研究系统评估了一种中蜂多层活框蜂箱,实验结果表明这种蜂箱可有效提高中蜂的繁殖力,其抗巢虫和保温保湿性能均明显高于朗氏标准箱。

蜂箱对中蜂的繁殖性能的影响已有诸多报道。FWF型中蜂蜂箱繁蜂效果好^[4];中蜂短框箱保温保湿效果好,繁蜂速度也优于其他传统蜂箱^[8]。这些中蜂蜂箱均具有巢脾尺寸小,蜂箱小于朗氏标准蜂箱的特点。本研究的多层活框蜂箱也为小尺寸蜂箱,其繁蜂性能也优于朗氏标准蜂箱。因此,小尺寸巢脾更适合中蜂蜂王产卵和繁殖,可形成满子脾现象,更利于工蜂对幼虫和封盖子的哺育和照顾。此外,本研究发现,多层活框蜂箱的保温保湿效果也明显优于朗氏标准蜂箱。前人研究^[16~19]表明,蜂箱内温度和湿度可直接影响蜂群中幼虫的发育、存活率以及蜂群食物的消耗水平。而这些因素对蜂群内哺育幼虫的数量和存活率有着重要影响^[17,19~20]。因此,多层活框蜂箱提高中蜂繁殖性能的主要原因很可能是其良好的保温保湿效果为幼虫的生长发育提供了良好稳定的环境基础及可形成满子脾使得繁殖区与食物贮藏区得以分开利于哺育蜂对幼虫的照料,提高幼虫和蛹的成活率。

本研究发现多层活框蜂箱可提高中蜂蜂群的抗巢虫性能。当蜂群受到巢虫侵害时,中蜂工蜂常通



每个柱代表3个生物学重复的平均值±标准误,*表示差异显著($P<0.05$)

Each bar represents three replicate of mean±SE,

* means significant difference ($P<0.05$)

图2 两种蜂箱蜂群两个基因表达比较

Fig.2 Comparison of GST4 and SOD gene expression between two hive types

过去除巢虫和撕咬巢脾以抵御巢虫危害^[2]。蔡呈贵等^[21]报道饲养中蜂强群可提高蜂群的抗巢虫能力。多层活框蜂箱的抗巢虫性能可能与其较强的群势及较小的巢脾尺寸有关。此外,多层活框蜂箱底板为可活动底板,在饲养管理中方便清理底板木屑和蜡屑等物质,不利于巢虫滋生,也可降低蜂群受巢虫危害的风险。多层蜂箱饲养的初生工蜂SOD基因表达量显著高于饲养于朗氏标准蜂箱中的工蜂,表明饲养于多层活框蜂箱中的工蜂其抗氧化性能较高。多数研究^[22-24]发现饲料的营养水平会影响蜜蜂体内SOD基因的表达。本研究发现多层活框蜂箱可维持较强的群势和较好的保温保湿效果,提高的蜂群的内环境水平,也可以提高蜜蜂的SOD基因表达量,提高其抗氧化能力,但其机理仍待进一步研究。

参考文献:

- [1] 张瑞红,张永红,申如明,等.传统蜂桶与活框蜂箱的特点与优势[J].中国蜂业,2017,68(4):43-44.
Zhang R H, Zhang Y H, Shen R M, et al. Characteristics and advantages of traditional bee cask and live frame beehive [J]. Apiculture of China, 2017, 68(4):43-44.
- [2] 陈盛禄.中国蜜蜂学[M].北京:中国农业出版社,2001.
Chen S L. The apicultural science in China [M]. Beijing: China Agricultural Press, 2001.
- [3] 曾志将.养蜂学[M].北京:中国农业出版社,2009.
Zeng Z J. Apidology [M]. Beijing: China Agricultural Press, 2009.
- [4] 方文富.FWF型中华蜜蜂蜂箱的研制[J].养蜂科技,1996(6):2-5.
Fang W F. Development of FWF type Chinese bee hive [J]. Apicultural Science and Technology, 1996(6):2-5.
- [5] 秦裕本.仿生高效节能中蜂蜂箱设计[J].中国蜂业,2018,69(8):46-47.
Qin Y B. Design of bionic *Apis cerana cerana* hives with high efficiency and energy saving [J]. Apiculture of China, 2018, 69 (8):46-47.
- [6] 杜海明,杜傲雪.中蜂多层叠式蜂箱的制作技术[J].基层农技推广,2017,5(11):108-109.
Du H M, Du A X. Production technology of multi-layer beehive of *Apis cerana cerana* [J]. Primary Agricultural and Technology Extension, 2017, 5(11):108-109
- [7] 胡军军,欧海珠.广西中华蜜蜂蜂箱规格调查与分析[J].蜜蜂杂志,2015,35(8):18-19.
Hu J J, OU H Z. Investigation and analysis of *Apis cerana cerana* hives sizes in Guangxi [J]. Journal of Bee, 2015, 35(8) : 18-19.
- [8] 徐祖荫,韦小平,林黎,等.不同类型蜂箱饲养中蜂比较试验(下)[J].蜜蜂杂志,2018,38(12):20-23.
Xu Z Y, Wei X P, Lin L, et al. A comparative study of raising *Apis cerana cerana* in different types of hives (sequel) [J]. Journal of Bee, 2018, 38(12):20-23.
- [9] 刘曼,黄振兴,秦华军,等.不同蜂箱类型对中蜂蜂蜜品质的影响[J].西南农业学报,2018,31(9):1989-1992.
Liu M, Huang Z X, Qin H J, et al. Effect of different beehive types on honey quality of *Apis cerana cerana* [J]. Southwest China Journal of Agricultural Sciences, 2018, 31(9):1989-1992.
- [10] 刘一博,张含,蔡凌凯,等.中蜂多层小蜂箱与意蜂标准箱生产性能比较[J].蜜蜂杂志,2019,39(5):16-17.
Liu Y B, Zhang H, Cai L K, et al. Comparison of production performance between *Apis cerana cerana* hive multiple-storey and movable-frame hive [J]. Journal of Bee, 2019, 39(5):16-17.
- [11] 朱有炎,王春燕,何佐明,等.防治中蜂白头病和巢虫初报[J].蜜蜂杂志,1994(11):6-7.
Zhu Y Y, Wang C Y, He Z M, et al. Preliminary report on prevention and treatment of bleached head and nestworm in *Apis cerana cerana* [J]. Journal of Bee, 1994(11):6-7.
- [12] 张河勇.巧妙清理被巢虫侵害的中蜂脾[J].蜜蜂杂志,2017,37(11):26-27.
Zhang H Y. Skillfully clean up the spleen of the bee invaded by nestlings [J]. Journal of Bee, 2017, 37(11):26-27.
- [13] 张含,蔡凌凯,刘一博,等.中蜂新式蜂箱与精细化饲养管理技术初探[J].蜜蜂杂志,2019,39(1):5-7.
Zhang H, Cai L K, Liu Y B, et al. A preliminary study on the new beehive and fine breeding and management technology of *Apis cerana cerana* [J]. Journal of Bee, 2017, 37(11):26-27.
- [14] 张丽珍.东方蜜蜂学习记忆行为及相关分子机理研究[D].南昌:江西农业大学,2015.
Zhang L Z. Study on learning and memory behavior of *Apis cerana* and related molecular mechanism [D]. Nanchang: Jiangxi Agricultural University, 2015.

- [15] Liu W, Saint D A. A new quantitative method of real time reverse transcription polymerase chain reaction assay based on simulation of polymerase chain reaction kinetics[J]. Analytical Biochemistry, 2002, 302(1):52-59.
- [16] 郝振帮.温度胁迫下意大利蜜蜂封盖子期能量消耗和发育损伤[D].福州:福建农林大学,2018.
Hao Z B. Energy consumption and developmental damage during capping period of Italian honeybee under temperature stress [D]. Fuzhou: Fujian Agriculture and Forestry University, 2018.
- [17] 施金虎,李月,周宇,等.温度对蜜蜂封盖子发育的影响研究进展[C]//中国养蜂学会蜜蜂饲养管理专业委员会第十三次学术研讨会,中国江苏扬州,2007.
Shi J H, Li Y, Zhou Y, et al. Research progress on the effect of temperature on capping development of honeybee [C]//The 13th symposium of bee breeding and management committee of China beekeeping association, Yangzhou, Jiangsu, China, 2007.
- [18] 李月,周冰峰,朱翔杰,等.温度对蜜蜂工蜂封盖子发育的影响[C]//中国养蜂学会蜜蜂饲养管理专业委员会第十三次学术研讨会,中国江苏扬州,2007.
Li Y, Zhou B F, Zhu X J, et al. Effect of temperature on capping development of honeybee workers [C]//The 13th symposium of bee breeding and management committee of China beekeeping association, Yangzhou, Jiangsu, China, 2007.
- [19] 胡保文.中华蜜蜂巢温变化规律研究[D].福州:福建农林大学,2001.
Hu B W. Study on nest temperature of *Apis cerana cerana* Fabricius [D]. Fuzhou: Fujian Agriculture and Forestry University, 2001.
- [20] 曹义锋,余林生,毕守东,等.温度对蜜蜂影响的研究进展[J].蜜蜂杂志,2007,27(4):13-15.
Cao Y F, Yu L S, Bi S D, et al. Research progress on the effect of temperature on bees [J]. Journal of Bee, 2007, 27(4): 13-15.
- [21] 蔡呈贵,何田华.巢虫要以“防”为主[J].蜜蜂杂志,2015,35(8):30.
Cai C G, He T H. “Prevention” as the main method to deal with wax-moth larvae [J]. Journal of Bee, 2015, 35(8):30.
- [22] 刘俊峰.中华蜜蜂春繁蛋白需要及铜锌超氧化物歧化酶基因表达研究[D].南昌:江西农业大学,2012.
Liu H F. Studies on the requirement of protein dietary in spring multiplication and expression analysis of copper/zinc superoxide dismutase gene of *Apis cerana cerana* [D]. Nanchang: Jiangxi Agricultural University, 2012.
- [23] 肖培新.代用花粉对蜂群群势和生产性能的影响及蜜蜂抗氧化酶基因表达的研究[D].泰安:山东农业大学,2010.
Xiao P X. The study on the effect of pollen substitutes on the colony performance and the expression of antioxidant genes of *Apis mellifera* [D]. Taian: Shandong Agricultural University, 2010.
- [24] 刘春蕾,胥保华,刘振国,等.不同越冬饲料对蜜蜂中肠消化酶活性、组织发育状态以及抗氧化酶基因表达的影响[J].动物营养学报,2017,29(4):1183-1190.
Liu C L, Xu B H, Liu Z G, et al. Effects of different overwintering feeds on midgut digestive enzyme activities, tissue development status and antioxidant enzyme gene expression of honeybee [J]. Acta Zootntrimenta Sinica, 2017, 29(4):1183-1190.