

狄斯瓦螨和蜜蜂残翅病毒对蜜蜂健康的协同影响

蔺哲广, 秦 瑶, 李 利, 王 帅, 郑火青*, 胡福良

(浙江大学动物科学学院, 杭州 310058)

摘要: 世界各地大范围的西方蜜蜂 *Apis mellifera* 蜂群损失现象已引起科学界和公众的持续关注。狄斯瓦螨 *Varroa destructor* 和蜜蜂残翅病毒(*Deformed wing virus*, DWV) 是西方蜜蜂群中最主要的两大生物威胁。尽管二者侵害蜜蜂均已较长历史,但直至近十年来的研究才发现两者间的协同效应对蜂群健康的影响远超过其单独作用时所造成的危害:(1) 蜜蜂残翅病毒可在狄斯瓦螨体内大量复制,继而进一步传播;(2) 狄斯瓦螨的刺吸行为使病毒粒子跨越寄主的生理屏障而直接进入蜜蜂血淋巴;(3) 狄斯瓦螨的寄生促使蜜蜂残翅病毒的高毒力毒株在蜂群中优势扩增和盛行;(4) 狄斯瓦螨影响蜜蜂个体发育与免疫系统等生理机能,以致降低了蜂群对病毒的抵抗力;(5) 蜜蜂残翅病毒对宿主造成的免疫抑制有利于狄斯瓦螨的寄生与繁殖。狄斯瓦螨-蜜蜂残翅病毒和西方蜜蜂间的关系已经成为昆虫外寄生物、病原体与寄主相互作用研究的一个典型模型。本文对近十年该领域的相关研究进行综述,以期对蜂群损失的原因调查以及昆虫寄生虫、病原微生物与寄主间关系的研究提供参考和借鉴。

关键词: 西方蜜蜂; 狄斯瓦螨; 蜜蜂残翅病毒; 协同效应; 蜂群健康; 寄生虫-病原-寄主相互作用
中图分类号: Q966 **文献标识码:** A **文章编号:** 0454-6296(2016)07-0775-10

Synergistic effects of *Varroa destructor* and *Deformed wing virus* on honey bee health

LIN Zhe-Guang, QIN Yao, LI Li, WANG Shuai, ZHENG Huo-Qing*, HU Fu-Liang (College of Animal Sciences, Zhejiang University, Hangzhou 310058, China)

Abstract: The elevated global colony losses of the Western honey bee, *Apis mellifera*, have drawn much attention in beekeeping and scientific communities. The ectoparasite *Varroa destructor* and *Deformed wing virus* (DWV) are regarded as the two key biotic threats to colony health. Irrespective of the long-time existence in colonies, their synergistic impacts on honey bee health, which are far more severe than the harms caused by separate individuals, were not intensively studied until the recent decade. These synergistic effects include: (1) DWV replicates on *V. destructor* and transmits with the mites; (2) DWV can be directly transmitted into host hemolymph through mite feeding; (3) Highly virulent strains of DWV bias proliferation in *A. mellifera* populations with the co-occurrence of *Varroa* infestation; (4) *V. destructor* affects honey bee's immunity and development, resulting in the impairment of host defence to viruses; (5) DWV-induced immunosuppression in hosts favors mite feeding and reproduction. The complex relationships among *V. destructor*, DWV and *A. mellifera* have become a typical model in the study of parasite-pathogen-host interactions. By summarizing the relevant researches in this field over the last decade, we aim to provide insights for further studies on colony losses and parasite-pathogen-host interactions.

Key words: *Apis mellifera*; *Varroa destructor*; *Deformed wing virus*; synergistic effect; colony health; parasite-pathogen-host interactions

基金项目: 国家蜂产业技术体系专项(CARS-45); 浙江省重大科技专项(2012C12906-49)

作者简介: 蔺哲广,男,1989年11月生,河北邯郸人,博士研究生,研究方向为蜜蜂科学, E-mail: zheguanglin@163.com

* 通讯作者 Corresponding author, E-mail: hqzheng@zju.edu.cn

收稿日期 Received: 2016-04-01; 接受日期 Accepted: 2016-06-19

蜜蜂作为最主要的授粉昆虫,对于经济、可持续农业和食品安全至关重要(郑火青和胡福良,2009; Potts *et al.*, 2010; Breeze *et al.*, 2014)。自美国 2007 年报道蜂群崩溃综合症(colony collapse disorder, CCD)以来(Cox-Foster *et al.*, 2007),世界各地西方蜜蜂 *Apis mellifera* 大范围的蜂群损失(colony losses)现象愈演愈烈(Neumann and Carreck, 2010)。野生授粉昆虫数量同样呈逐步衰减趋势(Fürst *et al.*, 2014; Garibaldi *et al.*, 2016),引起了科学界和公众的广泛关注(Oldroyd, 2007; Ratnieks and Carreck, 2010; Schroeder and Martin, 2012)。研究显示,蜂群的崩溃与病原体和其他应激因素的相互作用紧密相关(Evans and Schwarz, 2011; Cornman *et al.*, 2012; Dainat *et al.*, 2012b; Vanbergen and Initiative, 2013),其中狄斯瓦螨 *Varroa destructor* 和蜜蜂残翅病毒(Deformed wing virus, DWV)作为两大主要威胁因子(Wilfert *et al.*, 2016),备受瞩目。近年来的研究把关于狄斯瓦螨和 DWV 协同作用关系的认识推向了一个新的高度,2012 - 2015 年间,仅《Science》《The ISME Journal》和《PLoS Pathogens》3 大高水平学术期刊便有 6 篇针对性的研究报道。2016 年 2 月 5 日,《Science》发表关于不同物种来源的 DWV 进化关系的文章,确认了正是由于瓦螨的入侵而导致 DWV 在西方蜜蜂群中的再流行(Wilfert *et al.*, 2016),且同期还另刊有评论文章(Villalobos, 2016)。可见其二者对蜂群健康的影响以及作为理想的昆虫寄生虫、病原与寄主间的互作关系模型已成为一研究热点,引起诸多研究者的兴趣。

狄斯瓦螨是蜜蜂的一种体外寄生虫,原始寄主为东方蜜蜂 *Apis cerana*,自 20 世纪中叶成功实现寄主扩张而寄生于西方蜜蜂后,迅速蔓延至世界各地(Oldroyd, 1999)。随着新西兰于 2000 年(Todd *et al.*, 2007; Mondet *et al.*, 2014)、夏威夷于 2007 年(Martin *et al.*, 2012)相继发现瓦螨之后,目前全世界仅有澳大利亚的蜂群尚未有瓦螨侵染的相关报道(Genersch, 2010)。狄斯瓦螨作为当前西方蜜蜂饲养中所面临的最大威胁,不仅对蜜蜂个体的行为和健康有直接影响(Rosenkranz *et al.*, 2010),还通过携播病毒等方式间接作用于蜂群,并可抑制蜜蜂的免疫系统从而引发内源性病毒的激活(Yang and Cox-Foster, 2005; Nazzi *et al.*, 2012),严重扰乱蜂群的组织结构和群内个体的连续性(Sumpter and Martin, 2004),导致野生蜂群数量的下降以及人工

饲养蜂群健康问题的大量出现(Sammataro *et al.*, 2000; Oldroyd, 2007)。就单个蜂群而言,当瓦螨载量超过 2 500 头,即意味着该蜂群已面临崩溃的危险(Martin *et al.*, 1998; Delaplane and Hood 1999; Boecking and Genersch, 2008);若不及时治螨,一个西方蜜蜂群通常会在 6 个月至 2 年间死亡(Kraus and Page, 1995; Le Conte *et al.*, 2010)。因此,将蜂螨侵染水平控制在经济阈值(economic threshold)以下,以降低其对蜂群的危害,早已成为养蜂生产管理中的一个不可或缺的部分(Delaplane and Hood, 1999)。已有研究证实,至少有 8 种蜜蜂病毒可通过狄斯瓦螨进行传播(Camazzone and Liu, 1998; Chen *et al.*, 2004; Tentcheva *et al.*, 2004; Berényi *et al.*, 2006; Lanzi *et al.*, 2006; Todd *et al.*, 2007; Gisder *et al.*, 2009; Carreck *et al.*, 2010),但却仅有 DWV 的感染水平与瓦螨的侵染水平密切相关(Martin *et al.*, 2012; Locke *et al.*, 2012)。

蜜蜂残翅病毒是一种类小核糖核酸(picorna-like)正义单链 RNA 病毒(Lanzi *et al.*, 2006),属于传染性软腐病毒科(Iflaviridae),为直径约 30 nm 无被膜、不稳定的二十面体(de Miranda and Genersch, 2010)。DWV 在蜂群中可通过雄蜂、蜂王的繁殖行为进行垂直传播和工蜂的饲喂、交哺及通过寄生虫进行水平传播(Chen *et al.*, 2006; Yue *et al.*, 2006; Yue *et al.*, 2007; de Miranda and Fries, 2008),能侵染蜜蜂的各发育阶段(Chen *et al.*, 2005)。DWV 对成年宿主通常是一种隐性的、无症状的感染(Hails and Timms-Wilson, 2007; Martin *et al.*, 2012),而在未成熟发育期间被 DWV 严重侵染的个体,很有可能成年后表现出翅膀残缺、腹部缩短、体色异常等显性残翅病症状(Ball and Allen, 1988; Bowen-Walker *et al.*, 1999; Yue and Genersch, 2005),且将在出房后 67 h 内死亡(Yang and Cox-Foster, 2007)。DWV 的原始宿主为西方蜜蜂(Wilfert *et al.*, 2016),目前已传播至多种与蜂群生活或授粉行为相关的昆虫(Fürst *et al.*, 2014; Villalobos, 2016),其在全球范围的大肆流行是蜂群损失的一个重要原因(郑言等, 2015)。认识外寄生物、病原体与寄主间的相互作用,对于基础和应用科学而言都十分重要。在狄斯瓦螨、DWV 和西方蜜蜂这三方面的关系中,瓦螨充当着 DWV 传播的纽带角色:DWV 在蜜蜂和瓦螨体内均可增殖,而瓦螨作为蜜蜂的体外寄生虫可协助 DWV 的传播。这三者间的互作关系成为了探究外寄生物、病原体与寄主间相互作用关系的理想模

型。本文从狄斯瓦螨促进 DWV 在蜂群中的流行、瓦螨与 DWV 对蜜蜂的免疫系统的作用及其二者的协同危害对越冬蜂的影响等方面对当前已有研究进行综述, 以期为蜂群损失的原因调查以及昆虫寄生虫、病原微生物与寄主三者间关系的探究提供参考, 并为我国相关领域开展后续研究提供借鉴。

1 狄斯瓦螨促进 DWV 在蜂群中的流行

1.1 狄斯瓦螨携带并传播 DWV

病原体对寄主的作用大体可分为隐性感染 (silent/covert infections) (即机体无病理症状) 和显性感染 (apparent/overt infection) (即表现出疾病体征) (Sorrell *et al.*, 2009)。隐性感染或显性感染的存在方式由多因素决定, 包括病原与寄主协同进化的时间、寄主的生理机能、抗病原反应、传播途径和环境因素等 (Rigaud *et al.*, 2010)。隐性感染中, 一般由于病原体的增殖受限, 从而降低了病原在寄主间水平传播的几率; 然而, 染病寄主的长期生存增加了病原体垂直传播的可能 (Lambrechts and Scott, 2009; Ezenwa and Jolles, 2015)。与此相反, 显性感染通常表现为病原大量在寄主体内复制, 从而增强毒性, 最大程度进行水平传播 (Boots *et al.*, 2003; Sorrell *et al.*, 2009; Ryabov *et al.*, 2014)。并且, 当一种多寄主病原体 (如 DWV) 在种间传播时, 该病原的毒力可随着第 2 种寄主的引入而增大 (Woolhouse *et al.*, 2001)。

就蜜蜂、狄斯瓦螨和 DWV 三者的关系而言, 在无螨地区, DWV 一般只以隐性感染存在于蜂群, 且病毒量较低, 对蜜蜂并无显见危害 (Martin *et al.*, 2012; Mondet *et al.*, 2014)。DWV 相对其他病毒较弱的致病力有利于其在蜂群中持久性存在 (McMenamin and Genersch, 2015; Kang *et al.*, 2016), 并在蜂群被瓦螨侵染后借机扩张并产生影响。当瓦螨寄生于被病毒隐性感染的寄主后, 会吸取病毒颗粒, 继而传播给其他蜜蜂 (Nordström, 2003)。瓦螨寄生时的刺吸行为可使得病毒粒子跨越寄主的几丁质外壳或围食膜等生理屏障 (Evans and Spivak, 2010), 直接进入蜜蜂的血淋巴 (de Miranda and Genersch, 2010; Ryabov *et al.*, 2014), 从而帮助病毒在蜜蜂个体间水平传播。在瓦螨侵染的蜂群中 DWV 的检出率几乎可达 100% (Tentcheva *et al.*, 2004; Yang and Cox-Foster, 2005; Yue and Genersch, 2005; Martin *et al.*, 2012), 瓦螨不仅帮助

病毒在蜂群中长期地存在 (Kang *et al.*, 2016), 并致使新出房幼蜂发育受损和成年蜂的隐性感染, 导致蜜蜂愈发增高的死亡率 (Dainat *et al.*, 2012a, 2012b; Martin *et al.*, 2013; Emsen *et al.*, 2015)。

一般认为, 瓦螨所携带的 DWV 病毒量与其在蜂群中的侵染水平有关。DWV 在螨中复制且达到足够高的滴度, 继而随着螨的寄生而导致病毒迅速扩增, 大大增强了传播的有效性 (Bowen-Walker and Gunn, 1998; Yue and Genersch, 2005; Gisder *et al.*, 2009)。蜂群中传播病毒的瓦螨越多, 病毒传播前在螨体内的复制越旺盛, 发育期的蛹被显性感染的可能性便越大。因而, DWV 已被认为是与瓦螨相关的蜜蜂最为严重的次生病原 (secondary pathogen) (Yue and Genersch, 2005), 并有观点提出, 全球大规模的蜂群损失主要是由于瓦螨与 DWV 在蜜蜂个体水平上的长期互作而导致的结果 (Ryabov *et al.*, 2014)。

1.2 狄斯瓦螨促进蜂体 DWV 滴度的增加

瓦螨寄生不仅促进了 DWV 的流行, 并且使得蜜蜂个体的 DWV 滴度成百万倍的增加 (Martin *et al.*, 2012)。Nazzi 等 (2012) 对被瓦螨不同程度侵染的蜂群在相同环境条件下进行的比较分析得出, 螨使 DWV 滴度达到了致死水平, 即 DWV 病毒病在蜂群中的暴发与瓦螨的侵染密切相关 (Ball and Allen, 1988; Martin *et al.*, 1998; Martin, 2001)。染螨率较低的蜂群中蜂体的病毒量通常也较低 (Emsen *et al.*, 2015; Khongphinitbunjong *et al.*, 2015), 而一旦蜂群达到较高的瓦螨载量, 即使通过人为治螨等手段降低感染率, DWV 滴度依旧会持续上升 (Francis *et al.*, 2013; Mondet *et al.*, 2014)。

通常情况下, DWV 在蜂群中不同个体的感染量从高到低依次是蛹、残翅成年蜂、幼虫、正常成年工蜂和正常成年雄蜂 (Chen *et al.*, 2005)。蜜蜂残翅症状的出现不仅取决于是否有瓦螨的侵染, 还涉及 DWV 在螨体内的滴度和传播至寄主的病毒量 (Bowen-Walker and Gunn, 1999)。Yang 和 Cox-Foster (2005) 的研究表明, 所检测蜜蜂均可检出 DWV, 残翅蜂体内 DWV 滴度约为被螨侵染但无症状蜜蜂的 10^6 倍。残翅蜂头、胸、腹部都可检测到病毒, 而无症状蜜蜂的头部从未发现 DWV 的存在 (Yue and Genersch, 2005), 表明病原扩散入头部或许是残翅病暴发的关键。

此外, 通过模拟瓦螨的摄食行为对蜜蜂体表所造成的机械性损伤研究表明, 该行为本身即可导致

DWV 在蜂体内的激增,但尚未达到被瓦螨寄生后的病毒量(Kuster *et al.*, 2014; Ryabov *et al.*, 2014),这表明瓦螨口器的刺吸行为及其唾液分泌物中病毒粒子的传播共同导致了 DWV 在蜂体内的增殖。Shimanuki 等(1994)将瓦螨和病毒共同侵害蜜蜂后表现出的特殊病症称为蜜蜂寄生螨综合症(bee parasitic mite syndrome),症状显著与否不仅取决于蜂群被瓦螨侵染的程度和螨传播给蜜蜂个体的病毒量(Genersch, 2010),还在于蜂群中 DWV 不同毒株的毒力差异。

1.3 狄斯瓦螨影响蜂群中 DWV 毒株多样性

有些病毒易发生变异,在宿主体内可形成一个以优势毒株为主的相关突变株病毒群,即准种,有利于病毒在不良环境下的生存(Mordecai *et al.*, 2016b)。当一种病毒以很多变种或准种存在时,虽然发展史和祖先也许相类似,但这些变种的宿主范围、致病性和流行病学的差异可能大有不同(Domingo *et al.*, 2012)。DWV 包括一大类快速进化中的变体(de Miranda and Genersch, 2010),其中有一些具有代表性的优势变体,不同变体基因组间存在重组现象。随着认识的深入,DWV 的分类也产生了变化。国际病毒分类委员会(ICTV)将最初报道的 DWV(Lanzi *et al.*, 2006)和 Kakugo 病毒(Ongus *et al.*, 2004)归类为 A 型 DWV,将首次发现于瓦螨体上的病毒 *Varroa destructor virus-1* 归类为 B 型 DWV(Mordecai *et al.*, 2016a)。Mordecai 等(2016b)通过二代测序的方法发现了第 3 种优势变体——C 型 DWV。DWV 变体在蜂群中的流行性受狄斯瓦螨的影响,不同变体对蜜蜂的致病性不同,一些重组毒株的存在及其多样性的适应能力使得它们能够在蜂群中维持长久感染(Mordecai *et al.*, 2016b)。

Martin 等(2012)在夏威夷刚出现瓦螨后对蜂群病毒感染情况展开研究,发现瓦螨不会直接造成蜂群崩溃,而是有 1~3 年的时间滞差(time lag),此结果与先前英国(Martin *et al.*, 1998)、新西兰(Todd *et al.*, 2007)的报道相类似。同时,该研究发现,1~3 年是 DWV 迅速扩增的时间,更是其由多样化毒株走向单一毒株的时间,即瓦螨的出现导致蜂群中 DWV 多样性的逐步下降和某种优势毒株的显现。该项研究是关于瓦螨对 DWV 毒株多样性影响的首次报道。这一发现很可能与蜂群在瓦螨出现后表现出对其忍受能力逐渐下降——即造成蜂群崩溃的瓦螨载量逐年降低——这一现象(Neumann *et al.*, 2012)密切相关。

在针对一些被瓦螨和较高水平 DWV 共感染的蜂群的研究表明,之所以这些蜂群能够存活,主要是因为 DWV 的 B 型毒株占据主导地位,其与瓦螨的共感染所形成的一种新平衡——超感染免疫性(superinfection immunity),使蜂群得以免遭高毒力 A 型毒株的侵扰(Mordecai *et al.*, 2016a)。Ryabov 等(2014)在蜜蜂个体水平对此问题进行探究,他们通过从无螨地区引进蜂群和花粉(供饲喂),探究未曾遭受过狄斯瓦螨危害的蜂群中的幼虫/蛹在面对瓦螨和 DWV 的双重威胁时 DWV 多样性在宿主体内所发生的变化,结果显示发育中的蜂蛹体内 DWV 水平呈双模态分布:未被瓦螨侵染时病毒量较低,且 DWV 毒株呈现多样性;随着瓦螨的出现,蜂蛹病毒水平普遍升高,且伴随着一种 DWV 重组毒株的大量扩增,同时寄生的瓦螨体内病毒多样性并无改变。该项研究进一步通过对蜂蛹体外注射 DWV 多毒株混合提取液证实,某一种优势重组毒株在蜂体的大量增殖,只是得益于传播途径(瓦螨的刺吸行为),而非携播前在螨体内的偏性扩增。

2 狄斯瓦螨和 DWV 对蜜蜂免疫系统的影响

昆虫由于缺乏脊椎动物所具有的获得性免疫系统,只能依靠体内由细胞免疫和体液免疫组成的(Hoffmann, 2003; Osta *et al.*, 2004)、受诸多相关基因调控的先天免疫系统来抵抗外来威胁(Christophides *et al.*, 2002; 张明明等, 2012)。当前关于蜜蜂免疫系统功能的全面性认识较为缺乏,相关研究多由果蝇属 *Drosophila* 同源基因的报道推断而来,缺乏直接的实验证明。而且,果蝇的一些免疫基因在西方蜜蜂中缺失(Evans, 2006),说明免疫系统的某些方面或许在这两个物种间不能同等比较。

2.1 狄斯瓦螨对蜜蜂免疫系统的影响

早先关于脊椎动物的研究表明,体外寄生虫会抑制其寄主的免疫反应,从而有利于自身的摄食与繁殖,并导致免疫功能受限的个体对病原更为敏感(Titus and Ribeiro, 1988)。当前已有的关于瓦螨对蜜蜂免疫反应的研究得到了并不一致的结论,但又大多发表在影响力较高的期刊上,如《PNAS》《PLoS Pathogens》等。

Yang 和 Cox-Foster(2005)报道,寄生虫感染会显著抑制寄主免疫基因的表达,DWV 病毒滴度与免

疫相关酶的表达水平呈现显著的负相关,说明瓦螨可通过抑制蜜蜂的免疫系统而使 DWV 大量扩增,从而导致蜂群崩溃。此外,另有一些研究根据瓦螨寄生后蜂体病毒滴度大幅增加的现象,推测是由于螨的寄生活动抑制了蜜蜂的免疫反应,引发内源性病毒(尤其是 DWV)和其他病原体的激活,从而导致多种蜂群疾病的暴发(Gregory *et al.*, 2005; Shen *et al.*, 2005; Di Prisco *et al.*, 2011)。与之相对,Navajas 等(2008)通过分析被瓦螨侵染的蜂蛹的免疫基因表达发现,瓦螨对蜜蜂的免疫反应影响很小,并提出蜂群抗螨的基础是蜜蜂行为而非免疫系统上的差异。Kuster 等(2014)分析发育中的蜜蜂被瓦螨侵染和模拟瓦螨针刺后的 5 个时间点的免疫相关基因的表达,发现瓦螨对蜂蛹无免疫抑制效应,并且认为是其刺吸活动本身有助于瓦螨和 DWV 协同侵害蜜蜂。有研究同样显示,瓦螨的存在与寄主免疫反应的变化无明显的相关关系(Johnson *et al.*, 2009; Aronstein *et al.*, 2012; Gregorc *et al.*, 2012)。

这些迥异的研究结果或许与寄主被侵染的蜂螨数量、成蜂/蛹的日龄、DWV 及其他病毒的协同效应所带来的影响相关。Gregory 等(2005)报道,受瓦螨侵染的蜂蛹体内抗菌肽 defensin 和 abaecin 的转录丰度(transcript abundance)较低,但这一影响只有在封盖巢房中的瓦螨数目较少时才会出现,即免疫因子存在差异性调节。而且,编码抗菌肽的基因在被螨侵染后如何变化与蛹的发育阶段有关(Aronstein *et al.*, 2012)。体外研究表明,瓦螨寄生加之 DWV 感染,导致蜜蜂体液免疫被强烈激活(Gregorc *et al.*, 2012),而免疫基因表达的上调会抑制瓦螨的繁殖(Kuster *et al.*, 2014),但此免疫反应是否与抗病相关还需要考虑寄主的日龄这一因素(Bull *et al.*, 2012)。Nazzi 等(2012)发现,螨害较严重的蜂群的成年工蜂体内免疫系统调节因子 *dorsal* 的表达水平相对较低,进一步的人工接种实验发现单独的蜂螨寄生(无 DWV)并不会引起 *dorsal* 的表达水平的降低,而不管在有螨还是无螨的条件下,DWV 的感染都会降低 *dorsal* 的表达水平,这些结果说明瓦螨与病毒间的互作关系很可能决定了瓦螨寄生对蜜蜂免疫力的影响。此外,不同研究所采用的蜜蜂种系和螨源群的状态同样可能影响寄主的发育、免疫等生理机能反应。

这几项不同研究显示,狄斯瓦螨的寄生对蜜蜂的免疫系统功能确有影响,并且很可能是通过影响蜜蜂对其他病原的敏感性来发挥作用。但是,我们

依然无法明确瓦螨与蜜蜂免疫反应间的直接相关关系,因此,蜜蜂免疫系统被瓦螨侵染所带来的影响需要进一步探究,尤其应注意定量蜂螨的影响、幼虫发育的不同阶段以及 DWV 的滴度。

2.2 DWV 对蜜蜂免疫系统的影响

在植物体已有研究证实,黄瓜花叶病毒(*Cucumber mosaic virus*)编码一种蛋白来阻碍宿主抗病毒反应的同时,会干扰植物体抵抗蚜虫的防御机制(Lewsey *et al.*, 2010)。就狄斯瓦螨而言,寄生于成年蜜蜂体表、处于过渡期(phoretic phase)的瓦螨在蜜蜂幼虫巢房封盖前数小时进入巢房内,转入繁殖期(reproductive phase)(Martin, 1994),并于巢房封盖后不久在寄主体表穿一个孔作为刺吸位点且与其后代共享此取食点(Ifantidis, 1983; Donzé and Guerin, 1997)。而蜜蜂被刺伤后,与 Rel/NF- κ B 信号通路有关的体液免疫两个重要防御机制——凝血反应和黑化反应(Lemaitre and Hoffmann, 2007)会促使伤口愈合,从而影响瓦螨及其后代的摄食行为。那么,鉴于 DWV 与瓦螨的紧密关系,我们有理由推测 DWV 是否会帮助瓦螨实现更为便利的寄生?

Nazzi 等(2012)通过 RNAi 技术确定西方蜜蜂 *dorsal-1A* 基因在抗 DWV 免疫反应中发挥重要作用。*Dorsal* 是原癌基因 Rel 家族的成员之一,参与昆虫的先天性免疫,是 Toll 信号通路的下游靶基因(魏慧敏等, 2012)。有研究同样表明,蜜蜂的病毒感染会造成参与 Toll 信号通路的相关基因的表达下调(Flenniken and Andino, 2011; Ryabov *et al.*, 2014)。Toll 通路隶属于 Rel/NF- κ B 信号转导通路(卢新民和叶恭银, 2006),这说明 DWV 对宿主免疫系统的影响协助增强了瓦螨的刺吸行为及其唾液分泌物(Richards *et al.*, 2011)对寄主 Rel/NF- κ B 信号通路相关的免疫反应的损伤,因而很可能有利于瓦螨的寄生。

Di Prisco 等(2016)通过实验证实了 DWV 对宿主体液免疫和细胞免疫的抑制有利于瓦螨的取食和繁殖,瓦螨与 DWV 这种互惠的关系协同对蜜蜂的免疫系统及其健康造成持续的负面影响。该研究同样表明,在黑化作用中发挥重要作用的 *Amel/102* 基因与蜜蜂个体 DWV 的侵染水平显著负相关,即 DWV 确实阻碍了被瓦螨口器刺伤的寄主的伤口愈合。

此外,作为社会性昆虫,在蜂群水平上蜜蜂并不完全依靠传统意义上的免疫基因来抵抗外来侵害,它们还可运用其他基因或机制,如群体的社会性免

疫力和遗传多样性等 (Grozinger and Robinson, 2015)。

3 狄斯瓦螨与 DWV 的协同作用对越冬蜂群的影响

越冬蜂的大量损失现象在全球温带地区呈现愈发严重的趋势。蜂群在越冬阶段的特定生理状态导致了其免疫功能降低,更易受到病原体的侵袭 (Steinmann *et al.*, 2015)。通过对德国蜂群损失现象连续 4 年的追踪,已确认瓦螨和 DWV 对越冬蜂健康有显著的负面效应 (Genersch *et al.*, 2010)。Dainat 等 (2012a) 在瑞士的研究发现,在蜜蜂的主要病敌害中,仅狄斯瓦螨和 DWV 的感染与越冬蜂寿命缩减具有强烈的相关性。

DWV 在夏末随着瓦螨携播而在蜂群中迅速扩增,导致即将进入越冬阶段的健康青年蜂数目下降,越冬蜂年龄结构失衡,造成越冬蜂群的崩溃 (Martin, 2001);若夏末秋初 (10 月份以前) 不对蜂群及时采取杀螨措施,即使越冬蜂群中未发现瓦螨, DWV 在整个冬天依旧均可检出 (Martin *et al.*, 2010),由之导致来年春天蜂群的繁殖受阻。Francis 等 (2013) 在丹麦的研究表明,蜂群中的病毒滴度在 4–10 月间呈稳步增长,未使用杀螨剂的蜂群中病毒增殖更为迅速,病毒的复制与螨的数目相关且大部分越冬时崩溃的蜂群在 10 月份的 DWV 滴度显著增高。在瑞典对抗螨蜂群和普通蜂群进行的对照研究发现,从夏季到秋季, DWV 增速相似,但抗螨群由于对病毒侵染有更高的抗性和耐受性,全部顺利越冬,而普通群均死亡 (Locke *et al.*, 2014)。van Dooremalen 等 (2012) 认为 8–11 月是蜂群中孕育越冬蜂的转型期,在此期间蜜蜂能够健康发育是蜂群成功越冬的保障。因此,在培育越冬蜂前治理瓦螨是蜂群能够顺利度过寒冬的关键。

4 小结与展望

蜂群健康作为当今国际上普遍关注的话题之一,已受到越来越多的关注。狄斯瓦螨和蜜蜂残翅病毒对蜜蜂健康的影响举足轻重。狄斯瓦螨侵染西方蜜蜂后,通过携播 DWV、刺吸行为、影响蜜蜂免疫等途径,促进西方蜜蜂群中 DWV 的流行和病毒滴度的增加,同时引发高毒力 DWV 毒株的出现和流行。反过来, DWV 的感染通过影响蜜蜂的体液免疫

和细胞免疫而有利于瓦螨的寄生。

西方蜜蜂和狄斯瓦螨间缺乏协同进化 (Thompson and Burdon, 1992) 被认为是西方蜜蜂健康状况不佳的关键因素,在蜂群中群体与个体的防御相结合以应对外界威胁的免疫机制具有可塑性 (Mondet *et al.*, 2016),而选育抗螨蜂种是通过人为干预来帮助蜂群加速进化从而实现这一抗性机制的重要手段,但有关研究近年来却进展有限。究其原因,当前对于瓦螨与其原始寄主间的相互关系认识不足占主要方面 (Dietemann *et al.*, 2010)。Sumpter 和 Martin (2004) 曾建立一个数学模型来分析蜂体瓦螨载量与病毒传播间的关系,模型表明瓦螨、病毒和蜜蜂三者间在东方蜜蜂群中有一个共存平衡,西方蜜蜂群中的螨量超出了流行阈值 (epidemic threshold)。Page 等 (2016) 最近研究发现,东方蜜蜂发育中的个体对瓦螨的侵染更为敏感,它们通过牺牲部分个体而保全蜂群的整体健康,研究者进而提出了一种社会性昆虫跨世代群体免疫的新机制——类细胞凋亡免疫 (a social analogue of apoptosis)。东方蜜蜂是狄斯瓦螨的原始寄主,我国可充分利用中华蜜蜂 *A. c. cerana* 的资源优势开展研究,并进而探究昆虫原始寄主与寄生虫间的相互联系。

虽然瓦螨在蜂群损失中发挥的作用已有大量数据支撑,其主动传播蜜蜂病毒的作用也已被证实,但是这种互作关系的具体细节、分子机理仍不甚清楚,导致寄主发育过程中产生残翅现象的机制尚不明确。同时, DWV 病毒亦可能对瓦螨的健康造成影响 (Nazzi and Le Conte, 2016),但这仍待研究探明。明确以上问题对解决这一复杂的外寄生虫、病原微生物与昆虫寄主间的相互关联十分必要。在当前欧美诸国面临日益严峻的蜂群损失问题的同时,我国江浙地区近年来越冬期间亦出现大面积蜂群损失的现象 (郑火青等, 2016a, 2016b),须引起政府、行业和社会的关注,更需要各国科学家的同心戮力。

参考文献 (References)

- Aronstein KA, Saldivar E, Vega R, Westmiller S, Douglas AE, 2012. How *Varroa* parasitism affects the immunological and nutritional status of the honey bee, *Apis mellifera*. *Insects*, 3(3): 601–615.
- Ball BV, Allen MF, 1988. The prevalence of pathogens in honey bee (*Apis mellifera*) colonies infested with the parasitic mite *Varroa jacobsoni*. *Ann. Appl. Biol.*, 113(2): 237–244.
- Berényi O, Bakonyi T, Derakhshifar I, Köglberger H, Nowotny N, 2006. Occurrence of six honeybee viruses in diseased Austrian apiaries. *Appl. Environ. Microb.*, 72(4): 2414–2420.

- Boecking O , Genersch E , 2008. Varroosis – the ongoing crisis in bee keeping. *Journal für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit* , 3 (2) : 221 – 228.
- Boots M , Greenman J , Ross D , Norman R , Hails R , Sait S , 2003. The population dynamical implications of covert infections in host–microparasite interactions. *J. Anim. Ecol.* , 72(6) : 1064 – 1072.
- Bowen-Walker PL , Gunn A , 1998. Inter-host transfer and survival of *Varroa jacobsoni* under simulated and natural winter conditions. *J. Apic. Res.* , 37(3) : 199 – 204.
- Bowen-Walker PL , Martin SJ , Gunn A , 1999. The transmission of deformed wing virus between honeybees (*Apis mellifera* L.) by the ectoparasitic mite *Varroa jacobsoni* Oud. *J. Invertebr. Pathol.* , 73 (1) : 101 – 106.
- Breeze TD , Vaissière BE , Bommarco R , Petanidou T , Seraphides N , Kozák L , Scheper J , Biesmeijer JC , Kleijn D , Gyldenkerne S , Moretti M , Holzschuh A , Steffan-Dewenter I , Stout JC , Pärtel M , Zobel M , Potts SG , 2014. Agricultural policies exacerbate honeybee pollination service supply-demand mismatches across Europe. *PLoS ONE* , 9(2) : e82996.
- Bull JC , Ryabov EV , Prince G , Mead A , Zhang C , Baxter LA , Pell JK , Osborne JL , Chandler D , 2012. A strong immune response in young adult honeybees masks their increased susceptibility to infection compared to older bees. *PLoS Pathog.* , 8(12) : e1003083.
- Camazine S , Liu TP , 1998. A putative iridovirus from the honey bee mite , *Varroa jacobsoni* Oudemans. *J. Invertebr. Pathol.* , 71(2) : 177 – 178.
- Carreck NL , Ball BV , Martin SJ , 2010. Honey bee colony collapse and changes in viral prevalence associated with *Varroa destructor*. *J. Apic. Res.* , 49(1) : 93 – 94.
- Chen Y , Zhao Y , Hammond J , Hsu H , Evans J , Feldlaufer M , 2004. Multiple virus infections in the honey bee and genome divergence of honey bee viruses. *J. Invertebr. Pathol.* , 87(2) : 84 – 93.
- Chen YP , Higgins JA , Feldlaufer MF , 2005. Quantitative real-time reverse transcription-PCR analysis of deformed wing virus infection in the honeybee (*Apis mellifera* L.) . *Appl. Environ. Microbiol.* , 71 (1) : 436 – 441.
- Christophides GK , Zdobnov E , Barillas-Mury C , Birney E , Blandin S , Blass C , Brey PT , Collins FH , Danielli A , Dimopoulos G , 2002. Immunity-related genes and gene families in *Anopheles gambiae*. *Science* , 298(5591) : 159 – 165.
- Cornman RS , Tarpy DR , Chen Y , Jeffreys L , Lopez D , Pettis JS , Evans JD , 2012. Pathogen webs in collapsing honey bee colonies. *PLoS ONE* , 7(8) : e43562.
- Cox-Foster DL , Conlan S , Holmes EC , Palacios G , Evans JD , Moran NA , Quan P , Briese T , Hornig M , Geiser DM , 2007. A metagenomic survey of microbes in honey bee colony collapse disorder. *Science* , 318(5848) : 283 – 287.
- Dainat B , Evans JD , Chen YP , Gauthier L , Neumann P , 2012a. Dead or alive: deformed wing virus and *Varroa destructor* reduce the life span of winter honeybees. *Appl. Environ. Microb.* , 78 (4) : 981 – 987.
- Dainat B , vanEngelsdorp D , Neumann P , 2012b. Colony collapse disorder in Europe. *Environ. Microbiol. Rep.* , 4(1) : 123 – 125.
- de Miranda JR , Fries I , 2008. Venereal and vertical transmission of deformed wing virus in honeybees (*Apis mellifera* L.) . *J. Invertebr. Pathol.* , 98(2) : 184 – 189.
- de Miranda JR , Genersch E , 2010. Deformed wing virus. *J. Invertebr. Pathol.* , 103: S48 – S61.
- Delaplane KS , Hood WM , 1999. Economic threshold for *Varroa jacobsoni* Oud. in the southeastern USA. *Apidologie* , 30(5) : 383 – 395.
- Di Prisco G , Annoscia D , Margiotta M , Ferrara R , Varricchio P , Zanni V , Caprio E , Nazzi F , Pennacchio F , 2016. A mutualistic symbiosis between a parasitic mite and a pathogenic virus undermines honey bee immunity and health. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* , 113(12) : 3203 – 3208.
- Di Prisco G , Pennacchio F , Caprio E , Boncristiani HF , Evans JD , Chen Y , 2011. *Varroa destructor* is an effective vector of Israeli acute paralysis virus in the honeybee , *Apis mellifera*. *J. Gen. Virol.* , 92 (1) : 151 – 155.
- Dietemann V , Pflugfelder J , Anderson D , Charrière J , Chejanovsky N , Dainat B , de Miranda J , Delaplane K , Dillier FX , Fuch S , Gallmann P , Gauthier L , Imdorf A , Koeniger N , Kralj J , Meikle W , Pettis J , Rosenkranz P , Sammartaro D , Smith D , Yañez O , Neumann P , 2012. *Varroa destructor*: research avenues towards sustainable control. *J. Apic. Res.* , 51(1) : 125 – 132.
- Domingo E , Sheldon J , Perales C , 2012. Viral quasiespecies evolution. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* , 76: 159 – 216.
- Donzé G , Guerin PM , 1997. Time-activity budgets and space structuring by the different life stages of *Varroa jacobsoni* in capped brood of the honey bee , *Apis mellifera*. *J. Insect Behav.* , 10(3) : 371 – 393.
- Emsen B , Hamiduzzaman MM , Goodwin PH , Guzman-Novoa E , 2015. Lower virus infections in *Varroa destructor*-infested and uninfested brood and adult honey bees (*Apis mellifera*) of a low mite population growth colony compared to a high mite population growth colony. *PLoS ONE* , 10(2) : e0118885.
- Evans JD , 2006. Beepath: an ordered quantitative-PCR array for exploring honey bee immunity and disease. *J. Invertebr. Pathol.* , 93 (2) : 135 – 139.
- Evans JD , Schwarz RS , 2011. Bees brought to their knees: microbes affecting honey bee health. *Trends Microbiol.* , 19(12) : 614 – 620.
- Evans JD , Spivak M , 2010. Socialized medicine: individual and communal disease barriers in honey bees. *J. Invertebr. Pathol.* , 103: S62 – S72.
- Ezenwa VO , Jolles AE , 2015. Opposite effects of anthelmintic treatment on microbial infection at individual versus population scales. *Science* , 347(6218) : 175 – 177.
- Flenniken ML , Andino R , 2013. Non-specific dsRNA-mediated antiviral response in the honey bee. *PLoS ONE* , 8(10) : e77263.
- Francis RM , Nielsen SL , Kryger P , 2013. *Varroa*-virus interaction in collapsing honey bee colonies. *PLoS ONE* , 8(3) : e57540.
- Fürst MA , McMahon DP , Osborne JL , Paxton RJ , Brown M , 2014. Disease associations between honeybees and bumblebees as a threat to wild pollinators. *Nature* , 506(7488) : 364 – 366.

- Garibaldi LA, Carvalho LG, Vaissière BE, Gemmill-Herren B, Hipólito J, Freitas BM, Ngo HT, Azzu N, Sáez A, Åström J, An J, Blochtein B, Buchori D, Chamorro García FJ, Oliveira da Silva F, Devkota K, Ribeiro Mde F, Freitas L, Gaglianone MC, Goss M, Irshad M, Kasina M, Pacheco Filho AJ, Kiill LH, Kwapong P, Parra GN, Pires C, Pires V, Rawal RS, Rizali A, Saraiva AM, Veldtman R, Viana BF, Witter S, Zhang H, 2016. Mutually beneficial pollinator diversity and crop yield outcomes in small and large farms. *Science*, 351(6271): 388–391.
- Genersch E, 2010. Honey bee pathology: current threats to honey bees and beekeeping. *Appl. Microbiol. Biot.*, 87(1): 87–97.
- Genersch E, von der Ohe W, Kaatz H, Schroeder A, Otten C, Büchler R, Berg S, Ritter W, Mühlen W, Gisder S, 2010. The German bee monitoring project: a long term study to understand periodically high winter losses of honey bee colonies. *Apidologie*, 41(3): 332–352.
- Gisder S, Aumeier P, Genersch E, 2009. Deformed wing virus: replication and viral load in mites (*Varroa destructor*). *J. Gen. Virol.*, 90(2): 463–467.
- Gregorc A, Evans JD, Scharf M, Ellis JD, 2012. Gene expression in honey bee (*Apis mellifera*) larvae exposed to pesticides and *Varroa* mites (*Varroa destructor*). *J. Insect Physiol.*, 58(8): 1042–1049.
- Gregory PG, Evans JD, Rinderer T, de Guzman L, 2005. Conditional immune-gene suppression of honeybees parasitized by *Varroa* mites. *J. Insect Sci.*, 5: 7.
- Grozier CM, Robinson GE, 2015. The power and promise of applying genomics to honey bee health. *Curr. Opin. Insect Sci.*, 10: 124–132.
- Hails R, Timms-Wilson T, 2007. Genetically modified organisms as invasive species? In: Nentwig W ed. *Ecological Studies* 193. Springer, Berlin. 293–310.
- Hoffmann JA, 2003. The immune response of *Drosophila*. *Nature*, 426(6962): 33–38.
- Ifantidis MD, 1983. Ontogenesis of the mite *Varroa jacobsoni* in worker and drone honeybee brood cells. *J. Apic. Res.*, 22(3): 200–206.
- Johnson RM, Evans JD, Robinson GE, Berenbaum MR, 2009. Changes in transcript abundance relating to colony collapse disorder in honey bees (*Apis mellifera*). *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 106(35): 14790–14795.
- Kang Y, Blanco K, Davies T, Wang Y, DeGrandi-Hoffman G, 2016. Disease dynamics of honeybees with *Varroa destructor* as parasite and virus vector. *Math. Biosci.*, 275: 71–92.
- Khongphinitbunjong K, de Guzman LI, Tarver MR, Rinderer TE, Chen Y, Chantawannakul P, 2015. Differential viral levels and immune gene expression in three stocks of *Apis mellifera* induced by different numbers of *Varroa destructor*. *J. Insect Physiol.*, 72: 28–34.
- Kraus B, Page RE, 1995. Effect of *Varroa jacobsoni* (Mesostigmata: Varroidae) on Feral *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) in California. *Environ. Entomol.*, 24(6): 1473–1480.
- Kuster RD, Boncristiani HF, Rueppell O, 2014. Immunogene and viral transcript dynamics during parasitic *Varroa destructor* mite infection of developing honey bee (*Apis mellifera*) pupae. *J. Exp. Biol.*, 217(10): 1710–1718.
- Lambrechts L, Scott TW, 2009. Mode of transmission and the evolution of arbovirus virulence in mosquito vectors. *Proc. Roy. Soc. B Biol. Sci.*, 276(1660): 1369–1378.
- Lanzi G, de Miranda JR, Boniotti MB, Cameron CE, Lavazza A, Capucci L, Camazine SM, Rossi C, 2006. Molecular and biological characterization of deformed wing virus of honeybees (*Apis mellifera* L.). *J. Virol.*, 80(10): 4998–5009.
- Le Conte Y, Ellis M, Ritter W, 2010. *Varroa* mites and honey bee health: can *Varroa* explain part of the colony losses? *Apidologie*, 41(3): 353–363.
- Lemaitre B, Hoffmann J, 2007. The host defense of *Drosophila melanogaster*. *Annu. Rev. Immunol.*, 25: 697–743.
- Lewsey MG, Murphy AM, MacLean D, Dalchau N, Westwood JH, Macaulay K, Bennett MH, Moulin M, Hanke DE, Powell G, Smith AG, Carr JP, 2010. Disruption of two defensive signaling pathways by a viral RNA silencing suppressor. *Mol. Plant-Microbe Interact.*, 23(7): 835–845.
- Locke B, Forsgren E, de Miranda JR, 2014. Increased tolerance and resistance to virus infections: a possible factor in the survival of *Varroa destructor*-resistant honey bees (*Apis mellifera*). *PLoS ONE*, 9(6): e99998.
- Locke B, Forsgren E, Fries I, de Miranda JR, 2012. Acaricide treatment affects viral dynamics in *Varroa destructor*-infested honey bee colonies via both host physiology and mite control. *Appl. Environ. Microb.*, 78(1): 227–235.
- Lu XM, Ye GY, 2006. The NF- κ B signal pathway of insects. *Chinese Journal of Cell Biology*, 28(4): 561–565. [卢新民, 叶恭银, 2006. 昆虫的 NF- κ B 信号通路. *中国细胞生物学学报*, 28(4): 561–565]
- Martin S, Hogarth A, van Breda J, Perrett J, 1998. A scientific note on *Varroa jacobsoni* Oudemans and the collapse of *Apis mellifera* L. colonies in the United Kingdom. *Apidologie*, 29(4): 369–370.
- Martin SJ, 1994. Ontogeny of the mite *Varroa jacobsoni* Oud in worker brood of the honeybee *Apis mellifera* L. under natural conditions. *Exp. Appl. Acarol.*, 18(2): 87–100.
- Martin SJ, 2001. The role of *Varroa* and viral pathogens in the collapse of honeybee colonies: a modelling approach. *J. Appl. Ecol.*, 38(5): 1082–1093.
- Martin SJ, Ball BV, Carreck NL, 2010. Prevalence and persistence of deformed wing virus (DWV) in untreated or acaricide-treated *Varroa destructor* infested honey bee (*Apis mellifera*) colonies. *J. Apic. Res.*, 49(1): 72–79.
- Martin SJ, Ball BV, Carreck NL, 2013. The role of deformed wing virus in the initial collapse of *Varroa* infested honey bee colonies in the UK. *J. Apic. Res.*, 52(5): 251–258.
- Martin SJ, Highfield AC, Brettell L, Villalobos EM, Budge GE, Powell M, Nikaïdo S, Schroeder DC, 2012. Global honey bee viral landscape altered by a parasitic mite. *Science*, 336(6086): 1304–1306.
- McMenamin AJ, Genersch E, 2015. Honey bee colony losses and associated viruses. *Curr. Opin. Insect Sci.*, 8: 121–129.
- Mondet F, de Miranda JR, Kretzschmar A, Le Conte Y, Mercer AR, 2014. On the front line: quantitative virus dynamics in honeybee

- (*Apis mellifera* L.) colonies along a new expansion front of the parasite *Varroa destructor*. *PLoS Pathog.*, 10(8): e1004323.
- Mondet F, Kim SH, de Miranda JR, Beslay D, Le Conte Y, Mercer AR, 2016. Specific cues associated with honey bee social defence against *Varroa destructor* infested brood. *Sci. Rep.*, 6: 25444.
- Mordecai GJ, Brettell LE, Martin SJ, Dixon D, Jones IM, Schroeder DC, 2016a. Superinfection exclusion and the long-term survival of honey bees in *Varroa*-infested colonies. *ISME J.*, 10(5): 1182–1191.
- Mordecai GJ, Wilfert L, Martin SJ, Jones IM, Schroeder DC, 2016b. Diversity in a honey bee pathogen: first report of a third master variant of the Deformed Wing Virus quasispecies. *ISME J.*, 10(5): 1264–1273.
- Navajas M, Migeon A, Alaux C, Martin-Magniette M, Robinson GE, Evans JD, Cros-Arteil S, Crauser D, Le Conte Y, 2008. Differential gene expression of the honey bee *Apis mellifera* associated with *Varroa destructor* infection. *BMC Genomics*, 9(1): 301.
- Nazzi F, Brown SP, Annoscia D, Del Piccolo F, Di Prisco G, Varricchio P, Della Vedova G, Cattonaro F, Caprio E, Pennacchio F, 2012. Synergistic parasite-pathogen interactions mediated by host immunity can drive the collapse of honeybee colonies. *PLoS Pathog.*, 8(6): e1002735.
- Nazzi F, Le Conte Y, 2016. Ecology of *Varroa destructor*, the major ectoparasite of the Western honey bee, *Apis mellifera*. *Annu. Rev. Entomol.*, 61: 417–432.
- Neumann P, Carreck NL, 2010. Honey bee colony losses. *J. Apic. Res.*, 49(1): 1–6.
- Neumann P, Yañez O, Fries I, de Miranda JR, 2012. *Varroa* invasion and virus adaptation. *Trends Parasitol.*, 28(9): 353–354.
- Nordström S, 2003. Distribution of deformed wing virus within honey bee (*Apis mellifera*) brood cells infested with the ectoparasitic mite *Varroa destructor*. *Exp. Appl. Acarol.*, 29(3–4): 293–302.
- Oldroyd BP, 1999. Coevolution while you wait: *Varroa jacobsoni*, a new parasite of western honeybees. *Trends Ecol. Evol.*, 14(8): 312–315.
- Oldroyd BP, 2007. What's killing American honey bees? *PLoS Biol.*, 5(6): e168.
- Ongus JR, Peters D, Bonmatin JM, Bengsch E, Vlak JM, van Oers MM, 2004. Complete sequence of a picorna-like virus of the genus *Iflavirus* replicating in the mite *Varroa destructor*. *J. Gen. Virol.*, 85(Pt 12): 3747–3755.
- Osta MA, Christophides GK, Vlachou D, Kafatos FC, 2004. Innate immunity in the malaria vector *Anopheles gambiae*: comparative and functional genomics. *J. Exp. Biol.*, 207(15): 2551–2563.
- Page P, Lin Z, Buawangpong N, Zheng H, Hu F, Neumann P, Chantawannakul P, Dietemann V, 2016. Social apoptosis in honey bee superorganisms. *Sci. Rep.*, 6: 27210.
- Potts SG, Biesmeijer JC, Kremen C, Neumann P, Schweiger O, Kunin WE, 2010. Global pollinator declines: trends, impacts and drivers. *Trends Ecol. Evol.*, 25(6): 345–353.
- Ratnieks FL, Carreck NL, 2010. Clarity on honey bee collapse? *Science*, 327(5962): 152–153.
- Richards EH, Jones B, Bowman A, 2011. Salivary secretions from the honeybee mite, *Varroa destructor*: effects on insect haemocytes and preliminary biochemical characterization. *Parasitology*, 138(5): 602–608.
- Rigaud T, Perrot-Minnot M, Brown MJ, 2010. Parasite and host assemblages: embracing the reality will improve our knowledge of parasite transmission and virulence. *Proc. Roy. Soc. B Biol. Sci.*, 277(1701): 3693–3702.
- Rosenkranz P, Aumeier P, Ziegelmann B, 2010. Biology and control of *Varroa destructor*. *J. Invertebr. Pathol.*, 103: S96–S119.
- Ryabov EV, Wood GR, Fannon JM, Moore JD, Bull JC, Chandler D, Mead A, Burroughs N, Evans DJ, 2014. A virulent strain of deformed wing virus (DWV) of honeybees (*Apis mellifera*) prevails after *Varroa destructor*-mediated, or *in vitro*, transmission. *PLoS Pathog.*, 10(6): e1004230.
- Sammataro D, Gerson U, Needham G, 2000. Parasitic mites of honey bees: life history, implications, and impact. *Annu. Rev. Entomol.*, 45(1): 519–548.
- Schroeder DC, Martin SJ, 2012. Deformed wing virus: the main suspect in unexplained honeybee deaths worldwide. *Virulence*, 3(7): 589–591.
- Shen MQ, Yang XL, Cox-Foster D, Cui LW, 2005. The role of varroa mites in infections of Kashmir bee virus (KBV) and deformed wing virus (DWV) in honey bees. *Virol.*, 342(1): 141–149.
- Shimanuki H, Calderone NW, Knox DA, 1994. Parasitic mite syndrome: the symptoms. *Am. Bee J.*, 134(12): 827–828.
- Sorrell I, White A, Pedersen AB, Hails RS, Boots M, 2009. The evolution of covert, silent infection as a parasite strategy. *Proc. Roy. Soc. B Biol. Sci.*, 276(1665): 2217–2226.
- Steinmann N, Corona M, Neumann P, Dainat B, 2015. Overwintering is associated with reduced expression of immune genes and higher susceptibility to virus infection in honey bees. *PLoS ONE*, 10(6): e0129956.
- Sumpter DJ, Martin SJ, 2004. The dynamics of virus epidemics in *Varroa*-infested honey bee colonies. *J. Anim. Ecol.*, 73(1): 51–63.
- Tentcheva D, Gauthier L, Zappulla N, Dainat B, Cousserans F, Colin ME, Bergoin M, 2004. Prevalence and seasonal variations of six bee viruses in *Apis mellifera* L. and *Varroa destructor* mite populations in France. *Appl. Environ. Microb.*, 70(12): 7185–7191.
- Thompson JN, Burdon JJ, 1992. Gene-for-gene coevolution between plants and parasites. *Nature*, 360: 121–125.
- Titus RG, Ribeiro JM, 1988. Salivary gland lysates from the sand fly *Lutzomyia longipalpis* enhance *Leishmania* infectivity. *Science*, 239(4845): 1306–1308.
- Todd JH, de Miranda JR, Ball BV, 2007. Incidence and molecular characterization of viruses found in dying New Zealand honey bee (*Apis mellifera*) colonies infested with *Varroa destructor*. *Apidologie*, 38(4): 354–367.
- van Dooremalen C, Gerritsen L, Cornelissen B, van der Steen JJM, van Langevelde F, Blacquiere T, 2012. Winter survival of individual honey bees and honey bee colonies depends on level of *Varroa destructor* infestation. *PLoS ONE*, 7(4): e36285.
- Vanbergen AJ, Initiative IP, 2013. Threats to an ecosystem service:

- pressures on pollinators. *Front. Ecol. Environ.*, 11(5): 251–259.
- Villalobos EM, 2016. The mite that jumped, the bee that traveled, the disease that followed. *Science*, 351(6273): 554–556.
- Wei HM, Chen B, Ren S, 2012. Cloning, expression and bioinformatic analysis of *Dorsal* gene in *Delia antiqua*. *J. Anhui Agric. Sci.*, 40(17): 9332–9335. [魏慧敏, 陈斌, 任爽, 2012. 葱蝇 *Dorsal* 基因的克隆·表达及生物信息学分析. 安徽农业科学, 40(17): 9332–9335]
- Wilfert L, Long G, Leggett HC, Schmid-Hempel P, Butlin R, Martin SJM, Boots M, 2016. Deformed wing virus is a recent global epidemic in honeybees driven by *Varroa* mites. *Science*, 351(6273): 594–597.
- Woolhouse ME, Taylor LH, Haydon DT, 2001. Population biology of multihost pathogens. *Science*, 292(5519): 1109–1112.
- Yang X, Cox-Foster DL, 2005. Impact of an ectoparasite on the immunity and pathology of an invertebrate: evidence for host immunosuppression and viral amplification. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 102(21): 7470–7475.
- Yang XL, Cox-Foster D, 2007. Effects of parasitization by *Varroa destructor* on survivorship and physiological traits of *Apis mellifera* in correlation with viral incidence and microbial challenge. *Parasitology*, 134(03): 405–412.
- Yue C, Genersch E, 2005. RT-PCR analysis of deformed wing virus in honeybees (*Apis mellifera*) and mites (*Varroa destructor*). *J. Gen. Virol.*, 86(12): 3419–3424.
- Yue C, Schröder M, Bienefeld K, Genersch E, 2006. Detection of viral sequences in semen of honeybees (*Apis mellifera*): evidence for vertical transmission of viruses through drones. *J. Invertebr. Pathol.*, 92(2): 105–108.
- Yue C, Schröder M, Gisder S, Genersch E, 2007. Vertical-transmission routes for deformed wing virus of honeybees (*Apis mellifera*). *J. Gen. Virol.*, 88(8): 2329–2336.
- Zhang MM, Chu Y, Zhao ZW, An CJ, 2012. Progress in the molecular mechanisms of the innate immune responses in insects. *Acta Entomol. Sin.*, 55(10): 1221–1229. [张明明, 初源, 赵章武, 安春菊, 2012. 昆虫天然免疫反应分子机制研究进展. 昆虫学报, 55(10): 1221–1229]
- Zheng HQ, Gong HR, Su XL, Chen XX, Hua QY, Zhao DX, Hu FL, 2016a. Investigation and analysis of large scale colony losses of *Apis mellifera* in Jinhua, Zhejiang. *Apiculture of China*, 67(4): 20–24. [郑火青, 贡红日, 苏晓玲, 陈秀贤, 华启云, 赵东绪, 胡福良, 2016a. 浙江金华地区越冬意蜂群大量死亡原因调查与分析. 中国蜂业, 67(4): 20–24]
- Zheng HQ, Hu FL, 2009. Honeybee: a newly emerged model organism. *Acta Entomol. Sin.*, 52(2): 210–215. [郑火青, 胡福良, 2009. 蜜蜂——新兴的模式生物. 昆虫学报, 52(2): 210–215]
- Zheng HQ, Su XL, Ji T, Hua QY, Hu FL, 2016b. How to keep colony health: from the respect of wintering honeybee death. *Journal of Bee*, 36(4): 12–15. [郑火青, 苏晓玲, 吉挺, 华启云, 胡福良, 2016b. 从越冬期蜜蜂死亡谈蜜蜂健康养殖. 蜜蜂杂志, 36(4): 12–15]
- Zheng Y, Yang Q, Song ZY, Wang ZG, Li MS, 2015. Progress on deformed wing disease in honey bees. *Prog. Veteri. Med.*, 36(3): 96–101. [郑言, 杨倩, 宋战昀, 王振国, 李敏思, 2015. 蜜蜂残翼病研究进展. 动物医学进展, 36(3): 96–101]

(责任编辑: 赵利辉)