

饲粮蛋白水平对中华蜜蜂春繁性能 及幼虫抗氧化性能的影响

刘俊峰, 吴小波*, 颜伟玉, 田柳青

(江西农业大学 蜜蜂研究所, 江西 南昌 330045)

摘要: 以中华蜜蜂(*Apis cerana cerana*)为试验材料, 饲喂不同蛋白水平的人工饲粮, 检测其对中华蜜蜂春繁群势、封盖子数、蜜蜂初生体质量、幼虫蛋白含量、总超氧化物歧化酶(T-SOD)活性及丙二醛(MDA)含量的影响, 并以蜜蜂天然蛋白饲料—花粉为对照组。结果表明: 25%~30%的蛋白水平对蜂群群势和封盖子影响相对较小; 在初生重、幼虫蛋白和T-SOD方面, 20%~35%的蛋白质水平试验组与对照组差异不显著($P > 0.05$), 15%的蛋白水平试验组显著低于对照组($P < 0.05$); 在幼虫MDA含量方面, 各试验组之间及与对照组差异不显著($P > 0.05$)。中华蜜蜂春繁阶段的最佳蛋白水平应在25%~30%。

关键词: 中华蜜蜂; 春繁; 蛋白水平; 抗氧化性能

中图分类号: S893.2 文献标志码: A 文章编号: 1000-2286(2011)05-0960-05

The Effect of Dietary Protein Levels on Spring Multiplication and Larva Oxidative Stability of *Apis cerana cerana*

LIU Jun-feng, WU Xiao-bo*, YAN Wei-yu, TIAN Liu-qing

(Honeybee Research Institute, Jiangxi Agricultural University, Nanchang 330045, China)

Abstract: In this experiment, the effect of dietary protein levels on spring multiplication and larva oxidative stability of *Apis cerana cerana* was studied. The results showed that 1) the effect of 25%~30% of protein on the amount of sealed brood and population was smaller than that of others; 2) there was no significant effect on birth weight, protein content and T-SOD activity of larva between those fed with 20%, 25%, 30%, 35% of protein and the control group ($P > 0.05$), yet the T-SOD activity of the control group was significantly higher than that of the test group fed with 15% of dietary protein level ($P < 0.05$). 3) With the increasing level of dietary protein, there was no significantly effect on the MDA content of larva ($P > 0.05$). In conclusion, the optimal dietary protein level for *Apis cerana cerana* in spring could be 25% to 30%.

Key words: *Apis cerana cerana*; spring multiplication; dietary protein levels; oxidative stability

蜜蜂是一种社会性昆虫, 蜜蜂的健康生长、发育都需要合理的营养供给^[1]。在自然条件下, 蜜蜂可以从外界获取所有的营养物质, 花粉则主要为蜜蜂提供了生存所需的蛋白质。春繁是蜜蜂蜂群发展的重要阶段, 通常需要对蜂群额外补饲蛋白饲料, 加快蜂群群势的增长。章加宝等^[2]研究报道, 春天繁殖阶段, 蜂群内蜂花粉短缺, 营养供不上, 会出现幼虫被拖或发育不良, 成年蜂生长受阻, 泌蜡、泌浆能力降低等情况, 蜂王产卵能力也会受到影响而下降。Mattila^[3]研究表明, 在春天饲喂蜂花粉或代用花粉组蜂

收稿日期: 2011-05-18 修回日期: 2011-06-29

基金项目: 国家公益性行业(农业)科研专项(200903006)

作者简介: 刘俊峰(1986—), 男, 硕士生, 主要从事蜜蜂营养研究, E-mail: mm1860mm@126.com; * 通讯作者: 吴小波。

群工蜂的数量在五月初要远远多于其它没有饲喂的蜂群。Herbert^[4]报道意蜂培育幼虫的最佳蛋白水平在23%~30%。肖培新等^[5]研究表明含有添加剂的各代用花粉组与纯花粉组的蜂群的蜂子数量差异均不显著,但均显著高于纯豆粕组。而对中华蜜蜂春繁阶段蛋白营养需要量缺乏系统的研究。鉴于此,我们开展了本研究,现将报道如下。

1 材料与方 法

1.1 试验蜂群

江西省铜鼓县古桥冯则眉养蜂场饲养的健康中华蜜蜂蜂群30群,时间2011年2月28日至4月11日。

1.2 试验材料

白砂糖(广西博庆食品有限公司,一级);超纯水(沃特浦超纯水机,型号:WP-UP-11-20);50%水溶性维生素E(北京福乐维生物技术有限公 司,维生素添加剂,下同)51.5%维生素K₃92%维生素B₁76%维生素B₂82%维生素B₆90%泛酸钙99.5%烟酸胺96%叶酸2%生物素98.5%维生素C;氯化钾(汕头市西陇化工厂,分析纯,下同)碳酸氢钾,硫酸二氢钾,氯化钠,硫酸锰,硫酸铁,硫酸锌,硫酸镁;电子秤;氨基酸(上海生工);总超氧化物歧化酶(SOD)活性测定试剂盒(南京建成,以下同);丙二醛(MDA)含量测定试剂盒,考马斯亮蓝蛋白测定试剂盒;紫外分光光度计(北京普析)。

1.3 试验设计与分组

试验设计了6个处理组,对照组A饲喂茶花粉(蛋白水平为26%);试验组B组、C组、D组、E组和F组,分别饲喂5种不同蛋白水平的人工饲粮(蛋白水平分别为15%、20%、25%、30%和35%)。蜜蜂试验日粮配制中除蛋白以外,预混料成分均参照文献[6]。人工饲料试验日粮成分表1。饲喂时再加糖水等混匀,制成粉饼,放于框梁上饲喂。

表1 人工饲料试验日粮成分

Tab.1 Composition of experimental diets

原料 Ingredients	处理/% Treatments					
	A	B	C	D	E	F
花粉 Pollen	90	0	0	0	0	0
大豆粉 Soybean meal	0	32	44	55	61	72
酵母粉 yeast	0	8	10	12	19	21
预混料 Premix	0	3.09	3.09	3.09	3.09	3.09
蔗糖 Sucrose	10	56.91	42.91	29.91	16.91	3.91
合计 Total	100	100	100	100	100	100
粗蛋白 CP	26.28	15.07	20.34	25.24	30.16	35.05

1.4 数据记录

1.4.1 群势和封盖子数 试验前将蜂群群势调整一致,所有试验组蜂群巢门均选用孔径较小的脱粉器控制外勤蜂采集花粉,在框梁上饲喂饼状试验日粮,确保蜂群长期处于食物充足状态。春繁开始后每11天对蜂群群势及封盖子数(4.4 cm×4.4 cm为100只封盖子)测定。

1.4.2 工蜂初生体质量 实验结束前,随机采集每群蜂中刚出房的蜜蜂10只,使用分析天平测量其体质量。

1.4.3 蜜蜂幼虫体蛋白含量的测定 准确称取4日龄幼虫0.5g左右,玻璃棒充分搅匀,按质量体积比加入生理盐水制备成20%的组织匀浆,再用生理盐水稀释为1%组织匀浆,采用考马斯亮蓝蛋白测定试剂盒,可见光分光光度计测定吸光度。

1.4.4 蜜蜂幼虫抗氧化酶活性的测定 准确称取4日龄幼虫0.5g左右,玻璃棒充分搅匀,按质量体积比加入生理盐水制备成20%的组织匀浆待用,再按测定需要稀释为相应浓度的组织匀浆,分别选用黄嘌呤氧化法和硫代巴比妥酸法测定总超氧化物歧化酶(T-SOD)活性和丙二醛(MDA)含量。

1.5 数据分析

试验数据采用SPSS 17.0软件中的One-way ANOVA方差分析,多重比较采用邓肯氏(Duncan)法,显著性水平 $P < 0.05$ 。

2 结果与分析

2.1 不同蛋白水平对中华蜜蜂春繁性能的影响

2.1.1 不同蛋白水平对中华蜜蜂春繁群势及封盖子数的影响 从表2可以看出,春繁试验期间,各处理组蜂群群势整体呈上升趋势。第11天蜂群群势增长不明显,试验组间及与对照组之间蜂群群势差异不显著($P > 0.05$),第22天蜂群群势以花粉对照组最大,蛋白水平25%和30%的试验组与对照组差异不显著($P > 0.05$),其它几组试验组均显著低于花粉对照组($P < 0.05$);第33天,饲料蛋白水平25%、30%和35%的试验组的蜂群群势与对照组之间差异显著($P < 0.05$),其他两组试验组极显著低于对照组($P < 0.01$)。

从表3可以看出,在试验后第11天,饲料蛋白水平20%、25%、30%的试验组的封盖子与对照组差异不显著,但均显著高于蛋白水平15%和35%的试验组;在第22天,试验组之间以及与对照组差异不显著($P > 0.05$);在第33天,试验组与对照组差异不显著($P > 0.05$),但30%的蛋白水平试验组显著高于15%和20%蛋白水平的试验组。

表2 不同蛋白水平对中华蜜蜂春繁群势的影响

Tab.2 The effect of different protein levels on population of spring multiplication of *Apis cerana cerana*

组别 Group	春繁蜂群群势/g Population of spring multiplication			
	起始日 The begin day	第11天 The 11th day	第22天 The 22th day	第33天 The 33th day
A	446.67 ± 129.07 ^a	610.00 ± 254.69 ^a	798.33 ± 130.42 ^a	1 126.67 ± 353.85 ^{Aa}
B	476.00 ± 37.65 ^a	476.00 ± 37.65 ^a	486.00 ± 33.62 ^c	562.00 ± 51.55 ^{Bb}
C	491.25 ± 62.10 ^a	442.00 ± 170.93 ^a	622.50 ± 108.82 ^{bc}	677.50 ± 133.76 ^{Bb}
D	487.50 ± 140.98 ^a	541.00 ± 170.93 ^a	680.00 ± 187.13 ^{ab}	758.75 ± 180.11 ^{ABb}
E	532.50 ± 22.17 ^a	551.00 ± 45.61 ^a	677.00 ± 33.47 ^{ab}	807.00 ± 155.35 ^{ABb}
F	461.67 ± 75.72 ^a	647.00 ± 205.81 ^a	605.00 ± 105.83 ^{bc}	727.50 ± 60.10 ^{ABb}

同列数据肩标不同小写字母表示差异显著($P < 0.05$),不同大写字母表示差异极显著($P < 0.01$)。

In the same column, values with different small letters mean significant difference ($P < 0.05$), and with different capital letters mean very significant difference ($P < 0.01$).

表3 不同蛋白水平对中华蜜蜂春繁封盖子数的影响

Tab.3 The effect of different protein levels on amount of sealed brood of spring multiplication %

组别 Group	春繁封盖子数/10 ² Amount of sealed brood of spring multiplication			
	起始日 The begin day	第11天 The 11th day	第22天 The 22th day	第33天 The 33th day
A	37.33 ± 4.62 ^a	55.67 ± 11.06 ^a	44.33 ± 14.01 ^a	87.67 ± 9.71 ^{ab}
B	29.60 ± 6.02 ^a	36.20 ± 10.21 ^b	40.80 ± 11.63 ^a	74.80 ± 7.95 ^a
C	39.25 ± 12.63 ^a	51.50 ± 13.80 ^{ab}	46.75 ± 14.31 ^a	73.75 ± 13.77 ^a
D	32.50 ± 7.19 ^a	41.25 ± 3.86 ^{ab}	48.50 ± 15.09 ^a	81.50 ± 12.45 ^{ab}
E	39.00 ± 14.16 ^a	45.60 ± 7.80 ^{ab}	50.40 ± 13.45 ^a	94.40 ± 6.11 ^b
F	29.33 ± 10.02 ^a	39.67 ± 6.35 ^b	52.00 ± 14.18 ^a	91.00 ± 12.73 ^{ab}

同列数据肩标不同小写字母表示差异显著($P < 0.05$),不同大写字母表示差异极显著($P < 0.01$)。

In the same column, values with different small letters mean significant difference ($P < 0.05$), and with different capital letters mean very significant difference ($P < 0.01$).

2.1.2 不同蛋白水平对中华蜜蜂春繁蜜蜂初生体质量的影响 从表4可以看出,随着饲料蛋白水平升高,春繁阶段蜜蜂初生体质量先增后降,并以蛋白水平30%试验组E的蜜蜂初生体质量最大,20%~35%蛋白水平的试验组与花粉对照组差异不显著($P > 0.05$)。15%蛋白水平的试验组与对照组差异显著($P < 0.05$)。

2.2 不同蛋白水平对中华蜜蜂幼虫体蛋白含量、总超氧化物歧化酶(T-SOD)活性及丙二醛(MDA)含量的影响

从表 5 可知,随着饲料蛋白水平增加,幼虫体蛋白含量先升高后降低,以蛋白水平 25% 试验组的幼虫蛋白水平最高,20%~35% 蛋白水平的试验组与对照组差异不显著($P > 0.05$);幼虫总超氧化物歧化酶(T-SOD)活性随着饲料蛋白水平增长而升高,20%~35% 蛋白水平的试验组差异不显著($P > 0.05$),但 15% 蛋白水平的试验组与对照组差异显著($P < 0.05$);试验组之间及与对照组在幼虫丙二醛(MDA)含量方面差异不显著($P > 0.05$)。

3 讨论与结论

3.1 不同蛋白水平对中华蜜蜂春繁性能的影响

3.1.1 不同蛋白水平对中华蜜蜂春繁群势及封盖子数的影响 蜜蜂春繁是指蜂群从越冬后期进入早春繁殖,并逐渐发展成强群,为产品丰收奠定基础的一个重要阶段^[6]。产育力又称繁殖力,是蜂王产卵力和工蜂哺育力的综合,通常用有效产卵量—封盖子数表示^[7]。本试验发现,前期群势增长不明显,可能是春繁初期蜂群新老蜂更替数量比较一致,但饲喂 20%、25%、30% 的蛋白水平试验组的封盖子与对照组差异不显著,15% 和 35% 的蛋白水平饲料组却与对照组差异显著。在第 22 天,25% 和 30% 的蛋白水平的蜂群群势与对照组差异显著,而封盖数差异不显著,这是因为第 11 天封盖子出房后是蜂群群势变强;在第 22 天和第 33 天中,25%、30% 和 35% 的蛋白水平的封盖子数与对照组差异不显著,这也说明蛋白水平在 25%~35% 可以满足蜂群繁育的需要,且在第 33 天,蛋白水平在 25%~35% 的试验组与对照组差异显著,这可能是因为在春繁阶段仅额外补充蛋白饲料还是满足不了蜂群快速繁育的需要,因为对照组花粉除含有丰富的蛋白和维生素外,还含有人工饲料中尚未添加的其他活性成分。

表 5 不同蛋白水平对中华蜜蜂幼虫体蛋白含量, T-SOD 活性及 MDA 含量的影响

Tab.5 The effect of different protein levels on protein content, T-SOD activities and MDA content of larva of *Apis cerana cerana*

组别 Group	幼虫蛋白含量/(g·L ⁻¹) Protein content of larva	总超氧化物歧化酶活性 /(U·mL ⁻¹) T-SOD	丙二醛含量 /(nmol·mg ⁻¹ prot) MDA
A	0.85 ± 0.10 ^a	43.90 ± 5.08 ^a	0.34 ± 0.04 ^a
B	0.62 ± 0.14 ^b	35.28 ± 1.02 ^b	0.40 ± 0.05 ^a
C	0.89 ± 0.16 ^a	36.16 ± 3.24 ^{ab}	0.37 ± 0.09 ^a
D	0.98 ± 0.07 ^a	37.23 ± 3.56 ^{ab}	0.36 ± 0.08 ^a
E	0.97 ± 0.13 ^a	37.30 ± 3.10 ^{ab}	0.34 ± 0.07 ^a
F	0.94 ± 0.06 ^a	38.00 ± 2.36 ^{ab}	0.37 ± 0.06 ^a

同列数据肩标不同小写字母表示差异显著($P < 0.05$),不同大写字母表示差异极显著($P < 0.01$)。

In the same column, values with different small letters mean significant difference ($P < 0.05$), and with different capital letters mean very significant difference ($P < 0.01$).

3.1.2 不同蛋白水平对中华蜜蜂春繁蜜蜂初生体质量的影响 蜜蜂初生体质量指的是出房后的蜜蜂体质量,无论是工蜂、雄蜂还是蜂王,受蜂群营养状况的影响很大。曾志将等^[8]试验证明,蜜蜂的初生体质量还与幼虫期营养状况有关,越接近天然花粉营养需求的代用品,对蜜蜂的生长发育就越有利。本

表 4 不同蛋白水平对中华蜜蜂春繁蜜蜂初生体质量的影响

Tab.4 The effect of different protein levels on emergent weight of workers spring multiplication of *Apis cerana cerana*

组别 Group	蜜蜂初生体质量/g Emergent weight of workers
A	0.085 ± 0.004 ^a
B	0.078 ± 0.002 ^b
C	0.083 ± 0.005 ^{ab}
D	0.084 ± 0.004 ^{ab}
E	0.085 ± 0.003 ^a
F	0.083 ± 0.004 ^{ab}

同列数据肩标不同小写字母表示差异显著($P < 0.05$),不同大写字母表示差异极显著($P < 0.01$)。

In the same column, values with different small letters mean significant difference ($P < 0.05$), and with different capital letters mean very significant difference ($P < 0.01$).

试验发现 20% ~ 35% 的蛋白水平与对照组差异不显著,以 30% 的试验组 E 蜜蜂初生体质量最大。王志等^[9]分别利用不同花粉饲料制作的粉脾饲喂蜂群,结果表明,饲喂花粉与饲喂花粉 + 20% 豆粉的蜂群所育工蜂初生体质量差异不显著。程艳华等^[10]研究表明:饲喂饲料 2(75% 茶花粉 + 25% 黄豆粉)与饲喂 100% 的蜂花粉对意蜂工蜂初生体质量和咽下腺发育效果一致。这说明在春繁缺少天然饲料花粉时可以补助饲喂蛋白饲料来满足工蜂个体发育。

3.2 不同蛋白水平对中华蜜蜂幼虫体蛋白含量、总超氧化物歧化酶(T-SOD)活性及丙二醛(MDA)含量的影响

幼虫体蛋白含量可以间接反映外界花粉或补饲食物的营养价值高低。本试验发现 20% ~ 35% 蛋白水平培育的幼虫的蛋白含量与对照组差异不显著,但均高于 15% 的试验组,并以蛋白水平 25% 试验组的幼虫体蛋白含量最高。这说明低蛋白水平食物不能满足蜜蜂幼虫生长发育的蛋白需要,食物中蛋白含量不足将直接影响哺育蜂咽下腺的发育,从而影响分泌王浆的质量。Moritz 和 Crailsheim^[11]研究发现,只有哺育蜂摄取足量的蛋白供咽下腺的发育和酶类的合成,才能将花粉转化成高质量的幼虫食物,以便满足幼虫迅速生长发育的营养需要。汪礼国等^[13]研究发现不同的饲料营养必然会直接影响工蜂王浆腺的发育^[12]。James^[13]研究发现,高蛋白的食物对王浆腺有促进作用,适量添加豆粕,可提高蛋白的含量有利于促进王浆腺的发育,但过高的蛋白对王浆腺造成一定的抑制作用。

SOD 是催化氧自由基链中第一个自由基 O_2^- 生成 H_2O_2 的一种重要的抗氧化酶类,从而阻止 O_2^- 启动的自由基链锁反应。MDA 是脂质过氧化反应链式终止阶段产生的小分子产物,脂质过氧化物形成环状内过氧化物后断裂形成烯醛、丙二醛^[14]。SOD 活性的高低间接反应了机体清除氧自由基的能力,而 MDA 的高低又间接反应了机体细胞受自由基攻击的严重程度^[15]。本试验发现 20% ~ 35% 蛋白水平试验组的 T-SOD 和 MDA 与对照组差异,但 15% 蛋白水平的试验组的 T-SOD 显著低于对照组,这可能是低蛋白水平饲料直接导致幼虫发育不良,抗氧化体系功能不足。郭小权等^[16]研究报道,机体长时间的采食高能低蛋白饲料导致合成抗氧化物酶的蛋白质氨基酸得不到足够的补充,超过了机体的生理补偿能力。

综上所述,不同蛋白水平对中华蜜蜂春群阶段中封盖子数、蜜蜂初生体质量、T-SOD 活性及 MDA 含量的结果中发现,中华蜜蜂春繁阶段的最佳蛋白水平应在 25% ~ 30%。但是在春繁蜂群群势的结果中发现,仅额外补充蛋白饲料还是满足不了蜂群快速繁殖的需要,其他营养因素的需要量急需进一步研究。

致谢:感谢江西省铜鼓县山花合作社冯则眉老师和阳英同学对本试验的支持和帮助!

参考文献:

- [1] Robert Brodschneider, Karl Crailsheim. Nutrition and health in honey bees [J]. Special Issue of Apidologie, 2010, 41(3): 1-17.
- [2] 章加宝, 谢丰国, 许丽容. 蜜蜂饲料对蜂王浆产量之影响 [J]. 中华昆虫, 1993, 13(2): 151-159.
- [3] Mattila R, Otis G W. Influence of pollen diet in spring on development of honey bee (Hymenoptera: Apidae) colonies [J]. Journal of Economic Entomology, 2006, 99(3): 604-613.
- [4] Herbert E W, Shimanuki H, Caron D M. Optimum protein levels required by honeybees (Hymenoptera, Apidae) to initiate and maintain brood rearing [J]. Apidologie, 1977, 8(2): 141-146.
- [5] 肖培新, 胥保华. 不同人工代花粉对蜂群群势和生产性能的影响 [J]. 昆虫知识, 2010, 47(5): 900-903.
- [6] 刘俊峰, 颜伟玉, 吴小波, 等. 三种人工饲料对中华蜜蜂春繁的影响 [J]. 江西农业大学学报, 2011, 33(1): 137-140.
- [7] 陈盛禄. 中国蜜蜂学 [M]. 北京: 中国农业出版社, 2001: 73.
- [8] 曾志将, 谢宪兵, 颜伟玉. 营养杂交对工蜂初生重的影响 [J]. 经济动物学报, 2005, 9(3): 149-151.
- [9] 王志, 李杰奎, 丁艳波, 等. 不同营养对蜜蜂初生重的影响 [J]. 吉林畜牧兽医, 2005, 4(9): 5-7.
- [10] 程艳华, 刘亚男, 胡福良, 等. 蛋白质营养水平对工蜂初生重和咽下腺发育的影响 [J]. 中国蜂业, 2008, 59(12): 11-13.
- [11] Moritz B, Crailsheim K. Physiology of protein digestion in the midgut of the honeybee (*Apis mellifera* L.) [J]. Insect Physiology, 1987, 33(12): 923-931.
- [12] 汪礼国. 不同营养素对蜂王浆增产效果的研究 [J]. 中国养蜂, 1992, 43(6): 6-9.
- [13] Tai H R, James H C. The effect of pollen protein concentration on body size in the sweat bee *Lasioglossum zephyrum* (Hymenoptera: Apiformes) [J]. Evolutionary Ecology, 2002, 16(1): 49-65.
- [14] 李彦, 杨在宾, 杨维仁, 等. 日粮维生素 A 和维生素 E 水平对肉鸡抗氧化和免疫性能的影响 [J]. 动物营养学报, 2008, 20(4): 417-422.
- [15] 孙存普. 自由基生物学导论 [M]. 北京: 中国科学技术大学出版社, 1999: 67-72.
- [16] 郭小权, 胡国良, 曹华斌, 等. 高能低蛋白日粮致脂肪肝出血综合征鸡抗氧化能力和肝损伤的研究 [J]. 中国兽医学报, 2010, 30(6): 829-832.