

# 中蜂与意蜂营养杂交 对其后代抗农药性能的影响

汪志平<sup>1☆</sup>, 何旭江<sup>2☆</sup>, 陈利华<sup>1</sup>, 颜伟玉<sup>2\*</sup>

(1. 浙江省兰溪市鸿香蜜蜂研究所, 浙江 兰溪 321100; 2. 江西农业大学 蜜蜂研究所, 江西 南昌 330045)

**摘要:** 通过人工添加中华蜜蜂王浆来培育江山2号意蜂与法国意蜂的杂交蜂王, 并检测了敌敌畏对江山2号意蜂、高加索蜜蜂、营养杂交子一代( $F_1$ ) 和子四代( $F_4$ ) 群势的影响, 同时检测了江山2号意蜂、中华蜜蜂、 $F_1$  代和 $F_4$  代工蜂对敌百虫、啶虫脒和桃病康的抗性。结果表明: 营养杂交意蜂敌敌畏中毒后群势削减率显著低于江山2号意蜂与高加索蜜蜂; 营养杂交意蜂 $F_4$  代对敌百虫的抗性均显著强于中蜂与江山2号。营养杂交意蜂 $F_1$  代和 $F_4$  代工蜂对啶虫脒和高剂量的桃病康抗性均显著强于中蜂与江山2号, 且 $F_4$  代显著强于 $F_1$  代。中意蜂营养杂交的意蜂对敌敌畏、敌百虫、啶虫脒和桃病康等农药的抗性显著增强。

**关键词:** 中华蜜蜂; 意大利蜜蜂; 营养杂交; 抗农药性能

中图分类号: S892 文献标志码: A 文章编号: 1000-2286(2011)02-0345-05

## The Effect of Nutritional Crossbreeding between *Apis cerana cerana* and *Apis mellifera ligustica* on Anti-pesticide Performance

WANG Zhi-ping<sup>1☆</sup>, HE Xu-jiang<sup>2☆</sup>, CHEN Li-hua<sup>1</sup>, YAN Wei-yu<sup>2\*</sup>

(1. Hongxiang Honeybee Research Institute, Lanxi City, Zhejiang Province, Lanxi 321100, China; 2. Honeybee Research Institute, JAU, Nanchang 330045, China)

**Abstract:** The hybridized queens were bred with Jiangshan Honey Bee No. 2 and French *Apis mellifera ligustica* by feeding the royal jelly of *Apis cerana cerana* artificially. The effect of dichlorvos poisoning on the population of Jiangshan Honey Bee No. 2, *Apis mellifera caucasicag*, first and fourth generation of nutritional crossbred colony ( $F_1$  and  $F_4$ ) was measured. And the effects of dichlorvos, trichlorfon, acetamiprid and Tao Bing Kang poisoning on workers of Jiangshan Honey Bee No. 2, *Apis cerana cerana*,  $F_1$  and  $F_4$  were measured. The results showed that the population reduction rates of  $F_1$  and  $F_4$  were significant lower than those of Jiangshan Honey Bee No. 2 and *Apis cerana cerana* fed with dichlorvos; while by trichlorfon poisoning, the mortality rate of  $F_4$  was significant lower than those of others. The resistance of  $F_1$  and  $F_4$  was significant stronger than those of Jiangshan Honey Bee No. 2 and *Apis cerana cerana* to acetamiprid and high dose of Tao Bing Kang poisoning, and the resistance of  $F_4$  was stronger than that of  $F_1$ . The resistance of the offspring of nutritional crossbred *Apis mellifera ligustica* to pesticides—dichlorvos, trichlorfon, acetamiprid and Tao Bing Kang was enhanced significantly.

**Key words:** *Apis cerana cerana*; *Apis mellifera ligustica*; nutritional crossbreeding; anti-pesticide performance

收稿日期: 2010-11-11 修回日期: 2010-12-22

基金项目: 浙江省重大科技专项(优先主题) 农业项目(2008C12013) 和引进国际先进农业科学技术948项目(2006-G19-2)

作者简介: 汪志平(1964-), 男, 硕士, 高级工程师, 主要从事蜜蜂科学与蜂产品研究, E-mail: chinabeewang@126.com; \* 通讯作者: 颜伟玉, 副教授, 博士, ☆ 同等贡献作者。

蜜蜂是有益的社会性昆虫,是自然界传粉昆虫中种类最多、数量最大的类群。大多数作物传粉由蜜蜂类昆虫完成,甚至对于大多数种子植物而言,蜜蜂是唯一的传粉昆虫类群,极具经济价值和生态价值,对于农业生产和维护生态系统的生物多样性具有重要而深远的意义<sup>[1]</sup>。但蜜蜂对农药敏感程度极高,滥用或误用农药都将破坏蜜蜂栖息地及其食物来源,从而对蜜蜂产生严重威胁。近十几年,因农药中毒导致蜜蜂死亡、蜂群数量骤减的现象遍及世界许多国家,已成为全球普遍关注的环境污染与生物安全问题<sup>[2-3]</sup>。我国环保局、农业部也逐渐将农药对蜜蜂生物毒性与安全性评价列为农药登记管理、农药使用环境安全管理的重要内容之一<sup>[4]</sup>。

目前由于农药的广泛使用,蜜蜂在为农作物传粉的同时也受到农药的危害,花期蜜蜂中毒事件频频发生。蜜蜂农药中毒将导致蜂群群势急剧下降,严重的会使整群灭亡,这将使一些农作物授粉不充分而导致作物产量降低、品质下降、收益受损。因此,如何提高蜜蜂的抗农药性能,保护蜜蜂资源,应对未来更恶劣的生态环境是值得蜜蜂科研工作者思考的问题。

蜜蜂营养杂交又称为蜜蜂无性杂交,即在蜜蜂个体或群体的生长或繁殖期内,将甲蜂种(或品种)的新鲜蜂王浆饲喂给乙蜂种(或品种)的幼虫后,由乙种蜂(或品种)幼虫发育的蜜蜂具有甲蜂种(或品种)遗传特性<sup>[5]</sup>。周崧等<sup>[6]</sup>通过利用中华蜜蜂蜂王浆来培育西方蜜蜂的幼虫,结果发现意蜂翅膀翅脉出现中蜂特性。谢宪兵等<sup>[7-10]</sup>研究发现中意蜂营养杂交可以显著改变工蜂形态特征、初生重、抗螨性以及随机多态性 DNA 等。张莹等比较了中华蜜蜂和意大利蜜蜂头部乙酰胆碱酯酶(AChE)对有机磷和氨基甲酸酯类杀虫剂的敏感度,发现意大利蜜蜂对毒扁豆碱、灭多威、敌敌畏3种药剂的敏感度比中华蜜蜂高,而两种蜜蜂对残杀威、硫双灭多威、甲胺磷及久效磷的敏感度没有明显差异<sup>[11]</sup>。中意蜂营养杂交可以改变蜂种的一些遗传特性,是否也会改变营养杂交后代蜜蜂对农药的抗性?该方面的研究至今未见报道。鉴于此,本文通过中蜂与意蜂营养杂交培育其后代,并检测了它们的抗农药特性。

## 1 材料与方 法

### 1.1 实验材料

实验蜂群为兰溪市鸿香生物科技有限公司种蜂场江山2号意蜂、高加索意蜂、法国引进的纯种意大利蜜蜂和本地中华蜜蜂。

### 1.2 实验仪器与试剂

恒温恒湿培养箱(上海福玛生化设备有限公司),分析天平(Adventurer),小型蜜蜂饲喂器(法国农科院引进),敌敌畏(浙江邦化集团公司),啉虫脒(江苏辉丰农化股份有限公司),桃病康(山东富尔达生物科技有限公司),敌百虫(江苏托球农化有限公司)。

### 1.3 实验方法

1.3.1 亲本蜂群的组织 选择产浆性能优越且群势很强的江山2号蜜蜂3群,产蜜性能优越的法国意蜂1群,群势强的健康中华蜜蜂3群。种蜂场周围十公里内无其他意蜂蜂群。整个实验过程对蜂群进行奖励饲喂。

1.3.2 王台的制备与新鲜中蜂蜂王浆采集 人工制作蜡质中蜂与意蜂王台。用中蜂王台生产足量中蜂王浆,-20℃保存备用。

1.3.3 蜜蜂营养杂交 本实验从春繁开始,每隔7d检查割除法国意蜂雄蜂蛹,直至实验结束。制作蜡质意蜂王台放入中蜂群清理12h。移中蜂幼虫,产浆3d后,去除中蜂幼虫(不搅动王浆),移入法国意蜂一日龄幼虫。放入中蜂群继续哺育10~12h后移出,再放入江山2号强群。每天用注射器往王台中人工注射50μL新鲜中蜂王浆,直至封盖。营养杂交子一代蜂王出房,并与江山2号雄蜂自然交尾产卵后,取其一日龄幼虫按上述方法培育子二代、子三代和子四代营养杂交蜂种,并每隔7d割除子一代、子二代和子三代雄蜂蛹,直至实验结束。

1.3.4 敌敌畏原液对蜂群群势影响的检测 由于距种蜂场1.5km处蜜源喷洒了敌敌畏原液,导致蜂场蜂群受到了一次偶然的农药中毒事件。选取江山2号、高加索意蜂及营养杂交F<sub>1</sub>代与F<sub>4</sub>代各5群,在中毒过程中,利用目测方式对各实验蜂群的群势进行了估算。

1.3.5 不同蜂种工蜂对几种农药抗性的检测 本实验利用恒温恒湿培养箱按标准方法<sup>[12]</sup>羽化各实验

组的初生工蜂各 50 只,放入小型蜜蜂饲喂器饥饿 2 h。配制体积比为 1:1 的蜂蜜与蒸馏水混合溶液,选取敌百虫、啉虫脒和桃病康 3 种高、中、低毒性的粉剂农药,以 0.2 g/L 与 2 g/L 浓度分别混入蜂蜜水混合溶液中充分搅拌均匀,用海绵吸取足量后放入饲喂器让蜜蜂自由采食,再将饲喂器放入 25 ℃、湿度 70% 的恒温恒湿培养箱中。0.2 g/L 组在 20 h、22 h 和 24 h 对蜜蜂的死亡数进行记录,2 g/L 组在 1 h、1.5 h 和 2 h 对蜜蜂的死亡数进行记录。重复 3 次。由于低毒性桃病康毒性较低,高剂量组在 2 h 之内均无法使试验工蜂死亡,因此该试验组的实验时间延长至 20 h、22 h 与 24 h。

## 2 结果与分析

### 2.1 中意蜂营养杂交蜜蜂对敌敌畏的抗性

从表 1 可知,江山 2 号意蜂与高加索意蜂敌敌畏原液中毒前,群势较强,均在 10 足框以上,中毒后群势明显下降;营养杂交蜂群在中毒前后群势未受影响,反而有所增强。营养杂交意蜂中毒前后的群势削减率显著低于江山 2 号意蜂与高加索蜜蜂;且  $F_1$  代削减率显著低于  $F_4$  代,而江山 2 号与高加索蜜蜂削减率差异不显著。

表 1 敌敌畏中毒对江山 2 号、 $F_1$  和  $F_4$  代营养杂交意蜂群势的影响

Tab.1 The effect of dichlorvos poisoning on the population of Jiangshan Honey Bee No.2,  $F_1$  and  $F_4$

蜜蜂 Honeybees	中毒前群势(足框) The population before poisoning	中毒后群势(足框) The population after poisoning	削减率/% Reduction rate
营养杂交 $F_1$ 代 First hybridizing offspring	8.40 ± 0.89	10.40 ± 0.55	-25.00 ± 14.90a
营养杂交 $F_4$ 代 Fourth hybridizing offspring	5.60 ± 0.55	6.20 ± 0.45	-11.40 ± 10.50b
江山 2 号意蜂 Jiangshan Honey Bee No.2	10.50 ± 0.85	3.80 ± 1.03	64.20 ± 9.00c
高加索蜜蜂 <i>Apis mellifera caucasicag</i>	12.10 ± 1.20	3.70 ± 0.95	67.00 ± 9.80c

表中同列比较,相同指标字母相同表示差异不显著 ( $P > 0.05$ ),不同字母表示显著 ( $P < 0.05$ )。

The same letter in same longitudinal indicate no significant differences ( $P > 0.05$ ), the different letter indicated significant difference ( $P < 0.05$ ).

表 2 敌百虫对中华蜜蜂、江山 2 号、营养杂交  $F_1$  和  $F_4$  代工蜂影响

Tab.2 The mortality rate of workers of *Apis cerana cerana*, Jiangshan Honey Bee No.2,  $F_1$  and  $F_4$  by trichlorfon poisoning

蜜蜂 Honeybees	高剂量组致死率/% Mortality rate of high dose group			低剂量组致死率/% Mortality rate of low dose group		
	1 h	1.5 h	2 h	20 h	22 h	24 h
本地中蜂 <i>Apis cerana cerana</i>	100.0 ± 0.0a	100 ± 0.0a	100 ± 0.0a	87.1 ± 1.7a	98.2 ± 1.2a	100.0 ± 0.0a
江山 2 号意蜂 Jiangshan Honey Bee No.2	63.4 ± 2.9b	72.8 ± 4.7b	81.5 ± 5.0b	66.8 ± 5.1b	80.0 ± 2.8b	84.5 ± 2.0b
营养杂交 $F_1$ 代 First hybridizing offspring	52.5 ± 1.8c	60.2 ± 1.2c	80.0 ± 2.4b	59.3 ± 3.9c	76.7 ± 1.5b	85.1 ± 1.0b
营养杂交 $F_4$ 代 Fourth hybridizing offspring	55.2 ± 2.5c	60.2 ± 1.4c	65.2 ± 3.2c	0.0 ± 0.0d	14.2 ± 1.8c	34.6 ± 1.2c

表中同列比较,相同指标字母相同表示差异不显著 ( $P > 0.05$ ),不同字母表示显著 ( $P < 0.05$ )。

The same letter in same longitudinal indicate no significant differences ( $P > 0.05$ ), the different letter indicated significant difference ( $P < 0.05$ ).

## 2.2 中意蜂营养杂交蜜蜂对敌百虫的抗性

敌百虫为剧毒药物,它对蜜蜂的毒性影响较大。中蜂在敌百虫高剂量组中毒后1 h内致死率为100%,江山2号意蜂和营养杂交F<sub>1</sub>代、F<sub>4</sub>代致死率较中蜂低。在低剂量组中,中蜂的中毒致死率较高,营养杂交F<sub>4</sub>代的中毒致死率显著偏低。

## 2.3 中意蜂营养杂交蜜蜂对啶虫脒的抗性

中等毒性的农药啶虫脒对蜜蜂中毒致死率的影响见表3。在高剂量和低剂量组本地中蜂的致死率均为100%,而江山2号意蜂和营养杂交F<sub>1</sub>代、F<sub>4</sub>代中毒致死率显著偏低,在高剂量组和低剂量组的几个时间段4组蜜蜂的中毒致死率均差异显著。

表3 啶虫脒对中华蜜蜂、江山2号、营养杂交F<sub>1</sub>和F<sub>4</sub>代工蜂影响

Tab.3 The mortality rate of workers of *Apis cerana cerana*, Jiangshan Honey Bee No.2, F<sub>1</sub> and F<sub>4</sub> by acetamiprid poisoning

蜜蜂 Honeybees	高剂量组致死率/%			低剂量组致死率/%		
	Mortality rate of high dose group			Mortality rate of low dose group		
	1 h	1.5 h	2 h	20 h	22 h	24 h
本地中蜂 <i>Apis cerana cerana</i>	100.0 ± 0.0a	100.0 ± 0.0a	100.0 ± 0.0a	100.0 ± 0.0a	100.0 ± 0.0a	100.0 ± 0.0a
江山2号意蜂 Jiangshan Honey Bee No.2	29.6 ± 1.9b	38.4 ± 1.7b	53.4 ± 2.1b	33.3 ± 3.1b	42.5 ± 2.4b	57.4 ± 2.2b
营养杂交F <sub>1</sub> 代 First hybridizing offspring	21.6 ± 1.9c	27.6 ± 2.0c	35.9 ± 3.4c	8.8 ± 0.7c	14.7 ± 1.8c	26.7 ± 4.2c
营养杂交F <sub>4</sub> 代 Fourth hybridizing offspring	17.4 ± 2.2d	22.5 ± 1.8d	28.4 ± 4.2d	0.0 ± 0.0d	7.6 ± 0.8d	15.1 ± 3.5d

表中同列比较,相同指标字母相同表示差异不显著( $P > 0.05$ ),不同字母表示显著( $P < 0.05$ )。

The same letter in same longitudinal indicate no significant differences ( $P > 0.05$ ), the different letter indicated significant difference ( $P < 0.05$ ).

## 2.4 中意蜂营养杂交蜜蜂对桃病康的抗性

从表4可知,桃病康对蜜蜂的毒性较弱,低剂量组各实验蜜蜂均无死亡;高剂量组对中蜂的致死率

表4 桃病康对中华蜜蜂、江山2号、营养杂交F<sub>1</sub>和F<sub>4</sub>代工蜂影响

Tab.4 The mortality rate of workers of *Apis cerana cerana*, Jiangshan Honey Bee No.2, F<sub>1</sub> and F<sub>4</sub> by Tao Bing Kang poisoning

蜜蜂 Honeybees	高剂量组致死率/%			低剂量组致死率/%		
	Mortality rate of high dose group			Mortality rate of low dose group		
	1 h	1.5 h	2 h	20 h	22 h	24 h
本地中蜂 <i>Apis cerana cerana</i>	100.0 ± 0.0a	100.0 ± 0.0a	100.0 ± 0.0a	0.0	0.0	0.0
江山2号意蜂 Jiangshan Honey Bee No.2	38.6 ± 3.1b	42.8 ± 2.6b	55.1 ± 5.1b	0.0	0.0	0.0
营养杂交F <sub>1</sub> 代 First hybridizing offspring	4.0 ± 0.9c	5.6 ± 1.6c	10.2 ± 2.5c	0.0	0.0	0.0
营养杂交F <sub>4</sub> 代 Fourth hybridizing offspring	0.0 ± 0.0d	0.0 ± 0.0d	2.4 ± 0.4d	0.0	0.0	0.0

表中同列比较,相同指标字母相同表示差异不显著( $P > 0.05$ ),不同字母表示显著( $P < 0.05$ )。

The same letter in same longitudinal indicate no significant differences ( $P > 0.05$ ), the different letter indicated significant difference ( $P < 0.05$ ).

均为100%,且显著高于各实验意蜂组;营养杂交 $F_4$ 代意蜂对桃病康的抗性显著强于江山2号,且 $F_4$ 代显著强于 $F_1$ 代。

### 3 讨 论

有研究<sup>[6-10]</sup>表明,中蜂与意蜂营养杂交对两种蜜蜂的形态、生产性能、繁殖性能、卫生行为、苹果酸脱氢酶多态性和DNA多态性等方面均有显著的影响。本研究利用4种农药对中华蜜蜂、江山2号意蜂、高加索意蜂、营养杂交 $F_1$ 代与 $F_4$ 代抗农药性进行检测,发现中意蜂营养杂交可以显著改变其后代的抗农药性能。

蜜蜂敌敌畏中毒时,营养杂交 $F_1$ 代与 $F_4$ 代蜂群群势削减率显著低于江山2号和高加索蜜蜂,而且群势在中毒后反而得到了增强,这是否与营养杂交有关还不清楚,也可能是蜜蜂中毒时营养杂交 $F_1$ 与 $F_4$ 代蜂群群势相对较弱,采集蜂相对较少,因此受中毒的影响不大,随着蜂群发展,群势也在不断增强。

中华蜜蜂对敌百虫、啉虫咪和桃病康抗性最弱,除桃病康的低剂量组外,其余各组中毒致死率均为100%。而营养杂交 $F_1$ 代和 $F_4$ 代的初生工蜂对敌百虫、啉虫咪和桃病康抗药性显著高于亲本江山2号意蜂与中华蜜蜂。中意蜂营养杂交并没有使意蜂后代对农药的抗性向中蜂的较弱抗药性特点转移,而是抗药性得到了显著增强, $F_4$ 代也显著强于 $F_1$ 代。

蜜蜂对农药的抗性有着非常复杂的生理机理<sup>[13]</sup>。Didier等<sup>[14]</sup>发现果蝇中的乙酰胆碱酯酶(AChE)与抗农药特性有关。张莹等<sup>[11]</sup>发现中蜂与意蜂对不同农药的抗性也与AChE有关。Li Xian chun等<sup>[15]</sup>指出AChE对有机磷杀虫剂的抗性机制是AChE的结构基因上存在多位点突变。通过中意蜂营养杂交可以增强营养杂交后代对农药的抗性,这其中的机理尚不清楚。是否有可能是蜂王浆这种特殊的食物途径改变了与AChE相关的基因表达,进而改变了蜜蜂的抗农药特性。当然,这可能是一个极其复杂的过程,其作用机理与作用形式仍需进一步研究。

#### 参考文献:

- [1] 罗术东,安建东,李继莲,等. 化学农药对蜜蜂的急性毒性测定方法与危害评价[J]. 湖南农业大学学报:自然科学版, 2009,35(3): 320-324.
- [2] Esposti M D. Inhibitors of NADH—Ubiquinone Reductase: An overview[J]. Biochim and Biophys Acta, 1998,1364(2): 222-235.
- [3] 林小丽,叶纪明,单正军,等. 农药对蜜蜂的风险评价技术进展[J]. 农药学学报, 2008,10(4): 404-409.
- [4] 卜元卿,单正军,周军英,等. 农药对蜜蜂生物毒性及安全性评价研究回顾[J]. 农药, 2009,48(6): 399-402.
- [5] 张全华,孙白云. 华西养蜂大全[M]. 成都:四川科学技术出版社, 1991.
- [6] 牛春艳,申春玲,李玉海,等. 王浆核酸含量的测定和核糖核酸的提取[J]. 中国养蜂, 1979,6: 17-19.
- [7] 谢宪兵,彭文君,曾志将. 应用蜜蜂营养杂交技术培育抗螨蜂种[J]. 中国农业科学, 2008,41(5): 1530-1535.
- [8] 曾志将,谢宪兵,薛运波,等. 中蜂与意蜂营养杂交对工蜂形态指标的影响[J]. 江西农业大学学报, 2005,27(3): 454-457.
- [9] 谢宪兵,曾志将,邹阳,等. 中蜂与意蜂营养杂交对意蜂抗螨力的影响研究[J]. 江西农业大学学报, 2005,27(4): 607-610.
- [10] 何旭江,汪志平,陈利华,等. 中蜂与意蜂营养杂交对意蜂抗螨性及卫生行为能力的影响[J]. 江西农业大学学报, 2010,32(6): 1245-1247.
- [11] 张莹,黄建,高希武. 两种蜜蜂头部乙酰胆碱酯酶对杀虫剂敏感度比较[J]. 农药学学报, 2005,7(3): 221-226.
- [12] 李志勇,王志. 关于蜜蜂形态鉴定技术的探讨[J]. 中国养蜂, 2004,55(4): 13.
- [13] 张莹. 中华蜜蜂与意大利蜜蜂乙酰胆碱酯酶生物化学性质比较[D]. 福州:福建农林大学, 2005.
- [14] Didier F, Jean-marc, Frederich. Acetylcholinesterase two types of modifications confer resistance to insecticide[J]. J Biol Chem, 1992,267(20): 14270-14274.
- [15] Li X C, Wang Y C. Progress in large-insensitive mechanism of insect resistance to insecticides[J]. Acta Entomologica Sinica, 1998,41(4): 417-425.