



中国动物传染病学报  
*Chinese Journal of Animal Infectious Diseases*  
ISSN 1674-6422, CN 31-2031/S

## 《中国动物传染病学报》网络首发论文

题目： 蜜蜂残翅病及其防制技术研究进展  
作者： 孟雅苹，颜伟玉  
收稿日期： 2021-03-29  
网络首发日期： 2021-04-30  
引用格式： 孟雅苹，颜伟玉. 蜜蜂残翅病及其防制技术研究进展. 中国动物传染病学报.  
<https://kns.cnki.net/kcms/detail/31.2031.S.20210430.1100.008.html>



**网络首发：**在编辑部工作流程中，稿件从录用到出版要经历录用定稿、排版定稿、整期汇编定稿等阶段。录用定稿指内容已经确定，且通过同行评议、主编终审同意刊用的稿件。排版定稿指录用定稿按照期刊特定版式（包括网络呈现版式）排版后的稿件，可暂不确定出版年、卷、期和页码。整期汇编定稿指出版年、卷、期、页码均已确定的印刷或数字出版的整期汇编稿件。录用定稿网络首发稿件内容必须符合《出版管理条例》和《期刊出版管理规定》的有关规定；学术研究成果具有创新性、科学性和先进性，符合编辑部对刊文的录用要求，不存在学术不端行为及其他侵权行为；稿件内容应基本符合国家有关书刊编辑、出版的技术标准，正确使用和统一规范语言文字、符号、数字、外文字母、法定计量单位及地图标注等。为确保录用定稿网络首发的严肃性，录用定稿一经发布，不得修改论文题目、作者、机构名称和学术内容，只可基于编辑规范进行少量文字的修改。

**出版确认：**纸质期刊编辑部通过与《中国学术期刊（光盘版）》电子杂志社有限公司签约，在《中国学术期刊（网络版）》出版传播平台上创办与纸质期刊内容一致的网络版，以单篇或整期出版形式，在印刷出版之前刊发论文的录用定稿、排版定稿、整期汇编定稿。因为《中国学术期刊（网络版）》是国家新闻出版广电总局批准的网络连续型出版物（ISSN 2096-4188，CN 11-6037/Z），所以签约期刊的网络版上网络首发论文视为正式出版。

# 蜜蜂残翅病及其防制技术研究进展

孟雅苹<sup>1,2</sup>, 颜伟玉<sup>1,2</sup>

(1. 江西农业大学蜜蜂研究所, 南昌 330045; 2. 江西省蜜蜂生物学与饲养重点实验室, 南昌 330045)

**摘要:** 蜜蜂残翅病病毒 (DWV) 是感染蜜蜂最常见、传播最广泛的病毒之一, 通常以隐性感染的形式存在。在蜜蜂的各个发育阶段都能检测到 DWV, 严重时会导致感染蜜蜂表现出典型的发病症状并且使蜜蜂寿命缩短。DWV 在其传播媒介狄斯瓦螨 *Varroa destructor* 的作用下传播范围更为广泛, 在 32 个国家的蜂群中 DWV 的平均感染率至少为 55%。DWV 的大肆流行是导致蜂群损失的重要原因, 给养蜂业造成了巨大损失, 严重影响了我国养蜂业的健康发展。本文将从 DWV 的流行与分布、发病特征及危害、传播途径、遗传多样性以及其防制措施等方面对蜜蜂残翅病病毒近年来的研究进展进行综述。为我国进一步开展蜜蜂病毒学研究提供参考, 为开发防治技术方法提供新思路。

**关键词:** 蜜蜂; 残翅病病毒; 防制措施; 研究进展

## Research Progress on Deformed Wing Virus of Honey Bees

MENG Yaping<sup>1,2</sup>, YAN Weiyu<sup>1,2</sup>

(1. Honeybee Research Institute, Jiangxi Agricultural University, Nanchang 330045, P. R. China; 2. Jiangxi Province Key Laboratory of Honeybee Biology and Beekeeping, Nanchang 330045, P.R. China)

**Abstract:** Deformed wing virus (DWV) is one of the most common and widespread viruses that infect honeybees, generally persists as an inapparent infection. DWV can be detected at all development stages in honeybee, the transmission of DWV by *Varroa destructor* cause obvious clinical symptoms and shorten lifespan, DWV is now the most prevalent virus in honeybees, with a minimum average of 55% of apiaries infected across 32 countries. widespread popularity of DWV causes great losses to the beekeeping industry. In this review, the historical and recent data on DWV and its relatives were summarized, covering the prevalence and distribution, pathology, transmission, genetics and control methods. It provides reference for further research on honeybee virology in China, and provides new ideas for developing control techniques and methods.

**Key words:** honeybee; deformed wing virus; prevention and control measures; research progress

蜜蜂作为自然界中最重要的授粉昆虫, 对农业的发展有着重大的意义, 它不仅能够为农作物传播花粉, 还能够大幅度提高授粉植物的品质和产量。有研究表明, 全球 35% 的食物直接来源于昆虫授粉作物<sup>[1]</sup>。世界昆虫授粉 (其中主要是蜜蜂授粉) 的经济价值每年达 1530 亿欧元, 占世界农业粮食生产总值的 9.5%<sup>[2]</sup>。随着农业生产中除草剂和杀虫剂的广泛应用, 使得授粉昆虫的生活环境恶化, 导致一些

收稿日期: 2021-03-29

基金项目: 国家自然科学基金项目(31660696); 江西省现代农业产业技术体系建设专项资金资助(JXARS-14); 江西省教育厅科技重点项目。

作者简介: 孟雅苹, 女, 硕士研究生, 主要从事蜜蜂病毒的研究

通信作者: 颜伟玉, 教授, Email: ywygood-0216@163.com

野生的授粉昆虫越来越少，因此蜜蜂授粉显得尤为重要。但是近年来国内外研究数据显示，蜜蜂种群数量正在不断减少。1947 到 2005 年这近 60 年间，北美地区的蜂群数量减少了 59%<sup>[3-4]</sup>。1985 到 2005 年这 20 年间，欧洲地区蜂群数量减少了 25%<sup>[5]</sup>。蜂群数量的减少进一步引发授粉危机，许多依靠昆虫授粉的农产品的量下降<sup>[1]</sup>。发达国家和发展中国家分别需增加约 15% 和 45% 的种植面积才能弥补因为授粉不足而导致的食物损失量<sup>[6]</sup>。因此，蜂群数量的下降是一个不容忽视的大问题。在 2006 年暴发的蜂群衰竭失调症（colony collapse disorder，简称 CCD）导致了美国 35 个州 50%-90% 的蜂群消失<sup>[7]</sup>。蜜蜂病毒是引起 CCD 的一种重要病原体<sup>[8-9]</sup>。在法国养蜂场蜜蜂病毒的检测中，无论是在蜜蜂（成年蜂、幼虫）还是在瓦螨中，蜜蜂残翅病病毒（deformed wing virus，简称 DWV）被检测到的频率最高，至少有 97% 的蜂场在成年蜜蜂中都发现了 DWV<sup>[10]</sup>。蜜蜂病毒与瓦螨（*Varroa destructor*）协同作用危害蜜蜂，并引起了寄生蜂螨综合症（bee parasitic mite syndrome），这也是导致蜂群损失的主要原因<sup>[11]</sup>。我国每年也会损失大量的饲养蜂群，其中最主要的原因就是疾病的流行和广泛传播<sup>[12]</sup>。中国目前饲养蜂群数量达 1000 多万群，其中一半以上为西方蜜蜂的意大利蜜蜂，而 DWV 在西方蜜蜂中是最常见的病毒<sup>[13]</sup>，因此本文将从 DWV 的流行与分布、发病特征及危害、传播途径、遗传多样性以及其防治措施等方面阐述。

## 1 DWV 的流行与分布

DWV 是 1991 年在日本发病蜜蜂身上分离鉴定的，许多地区的蜜蜂蜂群内均有 DWV 的分布<sup>[14]</sup>。DWV 的原始宿主为西方蜜蜂<sup>[15]</sup>，目前已传播至多种与蜂群生活或授粉行为相关的昆虫<sup>[16-17]</sup>，其在全球范围的大肆流行是蜂群损失的一个重要原因<sup>[18]</sup>。最初是在英国、南非和拉丁美洲等国家和地区发现其蜜蜂种群受到了 DWV 的危害，但随着瓦螨的传播，DWV 的流行范围不断扩大<sup>[19]</sup>，成为了目前最流行的蜜蜂病毒之一，32 个国家的蜂群中 DWV 的平均感染率至少为 55%<sup>[20]</sup>。在中国养蜂场蜜蜂病毒的调查中发现，DWV 是最为普遍的蜜蜂病毒，在 94% 的养蜂场中都能检测到<sup>[14]</sup>，在法国养蜂场中，不管是成年蜜蜂还是蛹，DWV 的检出率均在 90% 以上<sup>[10]</sup>，克罗地亚蜂场中 DWV 检出率为 95.12%<sup>[21]</sup>，澳大利亚蜂场中 DWV 的检出率为 91%<sup>[22]</sup>。DWV 几乎在所有的蜂群中都存在，无论蜂群群势强弱，或蜜蜂翅膀畸形与否，都很少发现 DWV 阴性的蜜蜂<sup>[10,22]</sup>。尽管一些研究表明 DWV 是低致病性的<sup>[23]</sup>，但在瓦螨侵染过的蜜蜂中，DWV 是持续增殖的，一旦感染就可能爆发，导致成年蜂残翅以及蜂群损失<sup>[24-25]</sup>。已经证实在蜜蜂的所有生命阶段，卵、幼虫到蛹和成虫，以及在用来饲喂幼虫和蜂王的王浆中都能发现 DWV 的存在<sup>[26-27]</sup>。

由于瓦螨在 DWV 流行病学中占主导地位，所以 DWV 的季节分布与螨虫密切相关，DWV 的流行率和滴度从春季到秋季呈上升趋势<sup>[28-29]</sup>。通过有效的螨虫控制，可使 DWV 下降到较低水平<sup>[30]</sup>。一旦螨虫被杀螨剂清除，就无法在封盖的蜜蜂中检测到 DWV，其消失的速率与螨虫从蜂群中消失的速率相同<sup>[25,31-32]</sup>。

2006 年，Genersch 等<sup>[31]</sup>在商业大黄蜂（*Bombus terrestris*）和野生大黄蜂（*Bombus pascorum*）中检测到

了 DWV, 并发现 DWV 同样能够导致其残翅。之后, 越来越多的调查显示 DWV 的宿主范围非常广泛。到目前为止, DWV 至少在 10 个目的 68 种节肢动物中被检测到, 其中 64 种节肢动物属于昆虫纲 Insecta, 包括膜翅目 Hymenoptera、半翅目 Hemiptera、鞘翅目 Coleoptera、双翅目 Diptera、鳞翅目 Lepidoptera、革翅目 Dermaptera 和蜚蠊目 Blattodea 7 个目。4 种节肢动物属于蛛形纲 Arachnida, 包括蛛螨目 Arachnoidea、蜘蛛目 Araneae 和盲蛛目 Opiliones 3 个目<sup>[32]</sup>。

## 2 DWV 的发病特征及危害

DWV 可以侵染蜜蜂的各个发育阶段, 包括卵、幼虫、蛹和成虫。DWV 是少数几种会导致寄主表现典型发病症状的蜜蜂病毒。DWV 感染蜜蜂后主要在蜜蜂大脑负责视觉和嗅觉等关键区域复制, 最终导致蜜蜂行为异常<sup>[33]</sup>。DWV 还会侵染蜜蜂体内的分泌腺和脂肪体<sup>[34]</sup>, 而脂肪体对昆虫的新陈代谢、免疫和信息素的产生起着重要的作用。发病的成年蜂翅膀卷曲变皱, 身体萎缩, 体色变暗, 失去飞行能力, 只能爬行, 1~2 日后死亡。隐性感染的蜜蜂不会表现出明显的发病症状, 但是寿命会显著缩短<sup>[35]</sup>, 最终导致蜂群崩溃<sup>[30,36]</sup>。显性感染的蜜蜂个体的病理体征或临床症状表现为: 蛹期死亡或成年蜜蜂羽化后不久死亡(< 67 h), 翅膀变形, 有时伴有腹部变短、肿胀和变色。这些伴有明显症状的个体属于急性感染, 在短时间内会产生大量病毒颗粒<sup>[26]</sup>。通常认为这种急性感染是由于病毒通过瓦螨传播到蛹引起的。

在瓦螨高密度寄生的蜂群内, 工蜂体内 DWV 浓度极高, 虽然有时并不表现出症状。进行治螨处理后, 蜂群内瓦螨密度降低的同时, 蜜蜂个体内病毒浓度也大幅度下降<sup>[37]</sup>。瓦螨是一种病毒载体, 但更为严重的是, 被瓦螨寄生的蛹会降低免疫力, 从而使 DWV 等病毒易于感染<sup>[38-39]</sup>。被瓦螨侵袭的蜂群 DWV 浓度显著增加, 并且导致新出房蜜蜂出现明显的临床症状(主要是翅膀变形), 从而致病且预期寿命低于 67 小时<sup>[36]</sup>。由这些研究结果可见, DWV 的流行与危害主要是 DWV 与瓦螨共同作用的结果。最近的研究表明, 另一种原寄主为大蜜蜂 *Apis dorsata* 的小蜂螨 (*Tropilaelaps mercedesae*) 也能将 DWV 传播到蜜蜂的蛹, 从而导致明显的感染, 其特征也是翅膀变形<sup>[40-41]</sup>。

蜜蜂体内 DWV 病毒载量还与蜂群越冬失败之间存在显著相关, 并且在无瓦螨的蜂群中也可导致蜂群越冬失败, 因此 DWV 也是造成越冬蜂群损失的主要因素<sup>[42]</sup>。冬季蜜蜂 DWV 载量增加, 参与细胞免疫的基因表达减少, 导致了蜜蜂对 DWV 的易感性, 最终会危及越冬蜜蜂群体<sup>[43]</sup>。

## 3 DWV 的传播途径

蜜蜂病毒的传播途径主要分为两大类: 水平传播和垂直传播。在水平传播中病毒是在同一代的个体间进行传播, 而在垂直传播中, 病毒通过感染蜂王和雄蜂生殖系统, 从而污染生殖配子, 从亲代传递到子代蜜蜂个体中<sup>[44-45]</sup>。不同的传播模式对病原体的毒力有着截然相反的影响<sup>[46]</sup>。水平传播会使病原体的毒性更强, 对宿主的健康产生高度负面影响, 而垂直传播依赖于宿主的生存和繁殖, 因此较弱的毒性形式更有利, 可以使病毒能够在宿主种群中长期存在<sup>[47]</sup>。垂直传播途径不会导致个体出现任何临床症



状，也不会个体和群体水平上对宿主的适应性产生可检测到的负面影响，这证实了垂直传播的病原体毒性较弱。常见的水平传播途径有：

**1. 虫媒传播** 比如通过瓦螨介导的水平传播，瓦螨的寄生在削弱蜜蜂健康的同时，还作为一个病毒载体，通过穿刺蜜蜂体壁吸食体液的方式传播蜜蜂病毒<sup>[41,48]</sup>。寄生螨从隐性感染的蜜蜂个体内获得微量病毒颗粒，然后在其体内合成高浓度的病毒。寄生螨通过取食行为直接将呈几何级数增加的病毒颗粒注射到健康蜜蜂的体内，从而使病毒表现出比其他传染途径更强的致病性。因此，瓦螨与病毒的共同作用产生的危害会导致蜂群迅速崩溃<sup>[49]</sup>。

**2. 食源性传播** 病毒食源性传播是由于蜜蜂食用受病原体污染的食物以及通过粪便排出肠道中的病毒而引起的。蜜蜂取食被病毒污染的食物（蜂蜜、花粉和蜂王浆），或内勤蜂清理巢房、发病幼虫和蜂巢内的粪便时都会接触到病毒。Chen 等<sup>[50]</sup>检测了蜂群食物资源的病毒污染情况，在花粉中检测到了急性蜜蜂麻痹病毒（ABPV）、慢性蜜蜂麻痹病毒（CBPV）、黑蜂王台病毒（BQCV）、囊状幼虫病毒（SBV）、残翅病毒（DWV）和克什米尔病毒（KBV）六种病毒，在蜂蜜中检测到了 BQCV 和 DWV 两种病毒，在蜂王粪便中同时检测到了 BQCV 和 DWV 这两种病毒，这为食源性传播提供了证据。另有一项相似的研究表明在工蜂粪便中也能检测到蜜蜂病毒<sup>[51]</sup>。这些研究结果都证实了食源性传播广泛存在的可能性。然而，在蜂群中粪便是否是一种导致粪口传播途径的接触源尚不确定，需要进一步研究。

**3. 体表接触传播** 当蜜蜂表皮破损（如体表绒毛断裂），蜜蜂病毒在蜜蜂身体接触过程中，从伤口进入健康蜜蜂体内<sup>[35,52]</sup>。蜜蜂个体之间身体接触几率增加时蜜蜂病毒传播速度会加快，比如在拥挤的蜂群内或者发生盗蜂的情况下。又如在长途运输的蜂箱中，一般都是人工幽闭活跃的蜂群，加上在运输途中的摇晃和碰撞使得蜜蜂个体身体接触率增加，进而增加了病毒的传播几率。

病毒在蜂群中垂直传播最早是由 Chen 等<sup>[25]</sup>在 2005 年提出的，其研究发现当蜂群中的蜂王检测到 BQCV、DWV、CBPV、KBV 和 SBV 阳性时，在它们的后代（包括卵、幼虫和成年工蜂）身上也能检测到同样的病毒。另外，当蜂王体内只检测到 BQCV 和 DWV 两种病毒时，在其后代中也只能检测到这两种病毒，这些证据表明了病毒从蜂王垂直传播给后代<sup>[45]</sup>。在健康雄蜂采集的精液中也发现了 DWV 的存在，这进一步为病毒垂直传播的可能性提供了证据<sup>[53]</sup>。雄蜂的精囊和精液中常含有多种高浓度的病毒颗粒<sup>[54]</sup>，这些带病毒精子通过交配行为储存在蜂王的储精囊内，供蜂王终身受精所用。与此同时，这些病毒也会感染蜂王的储精囊和卵巢<sup>[55-56]</sup>。DWV 通过精液传播是一种非常有效的途径，也首次证实了昆虫病毒的性传播途径<sup>[55]</sup>。这种性传播比其他形式的垂直传播有效的多<sup>[57]</sup>。DWV 通过垂直性传播可感染大量连续世代的蜜蜂，从而又进一步促进了瓦螨传播途径和粪口传播途径的传播。

## 4 DWV 病原学

DWV 是一个直径约为 30 纳米的二十面体颗粒，是一个单股、正链的 RNA 病毒，总长度为 10140bp

(不含 PolyA 长度时)<sup>[58]</sup>。DWV 属于仿小核糖核酸病毒目 Picornvirales 传染性软腐病毒科 Iflaviridae, 传染性软腐病毒属 Iflavirus<sup>[59]</sup>。与大多数软腐病毒科病毒一样, DWV 基因组只有一个包含有复制和翻译代码的开放阅读框 (open reading frame, ORF), 两侧各有一个 UTRs, 分别是一个 5'端的非翻译区 (5'UTR) 和一个序列较短但高度保守的 3'端的非翻译区 (3'UTR)。两个非翻译区在基因组中的作用是调节和复制, 需要宿主内许多因素相互作用才能完成<sup>[60-61]</sup>。通过对 DWV 全基因组序列分析得知其 N 端包括核糖体翻译起始位点 (internal ribosome entry site, IRES) 和先导蛋白 (Leader protein, Lp) 以及 4 个结构蛋白, VP1(44 kDa)、VP2(32 kDa)、VP3(28 kDa)和 VP4。C 端包括 RNA 解旋酶 (Helicase)、病毒基因组连接蛋白 (Viral Protein genome linked, VPg)、3C-蛋白酶 (Chymotrypsin-like 3C protease, 3C-pro) 以及 RNA 聚合酶 (RdRp), 其末端有多聚 A 尾巴 (PolyA)<sup>[62-63]</sup>。DWV 基因组结构如图 1 所示。

DWV 的 5'端与 Iflaviridae 属的其他病毒相比, 具有高度的多样性<sup>[64]</sup>。5'UTR 有一个类似四叶草形状的二级结构 IRES, 与翻译的启动有关。IRES 的存在使得许多小核糖核酸病毒目病毒可以通过阻断帽子依赖(Cap-dependent)的翻译起始, 从而抑制宿主细胞蛋白的合成, 但不影响病毒蛋白的合成, 这有利于病毒应对宿主防御机制<sup>[65]</sup>。VPg 是大多数正链 RNA 病毒常见的一种小蛋白, 共价结合在基因组的 5'端, 参与 RNA 稳定性、基因组复制、转译和运动<sup>[66]</sup>, 它也可以产生激活病毒 RNA 复制的引物<sup>[67-68]</sup>。VPg 也是一类高度异质性的蛋白质<sup>[66]</sup>。在小核糖核酸病毒中, VPg 大约有 23 个氨基酸, 位于 3C-蛋白酶结构域之前, 以早期的酪氨酸 (Y) 残基作为与 RNA 的物理连接<sup>[69]</sup>。在 DWV 中, 仅在氨基酸 2093 和 2118 之间发现了一个较弱的 VPg 基序, 该基序包含一个位于 2097 位的 Y 残基<sup>[66]</sup>。先导蛋白 Lp 和 VPg 一样有许多的功能, 共有特征是都具有蛋白酶活性<sup>[70]</sup>。Lp 在氨基酸水平上经常是高度可变的, DWV Lp 也是如此<sup>[66]</sup>。Lp 还会抑制宿主通过帽依赖机制进行的 mRNA 翻译和刺激病毒 IRES 的活性来参与疾病病理<sup>[71]</sup>。结构蛋白 VP1、VP2 和 VP3 的亚基排列成原聚体, 每 5 个原聚体在衣壳蛋白上形成一个单位, 五聚体的封闭和开放控制着病毒的释放过程<sup>[72]</sup>。当环境 pH 改变或者在高浓度的非生理性离子条件下, DWV 的衣壳三维结构会发生变化, 特别是衣壳蛋白 VP3 的 C 末端延伸在病毒表面形成的 P-结构域, 表现为突出球状延伸, 这种病毒衣壳构象的变化, 可能会产生新的催化位点, 从而影响病毒进入宿主细胞<sup>[72-73]</sup>。Picornvirales 的大多数病毒基因组编码的小蛋白 VP4 已经被证明参与了细胞膜通透性的改变, 例如吸血猎椿病毒 (Triatoma virus, TrV) 的 VP4 小蛋白插入膜中, 形成新的蛋白通道, 而当 pH 值越高时, 膜的渗透性也越高<sup>[74]</sup>。DWV 的 VP4 小蛋白可能也影响着膜的渗透性。

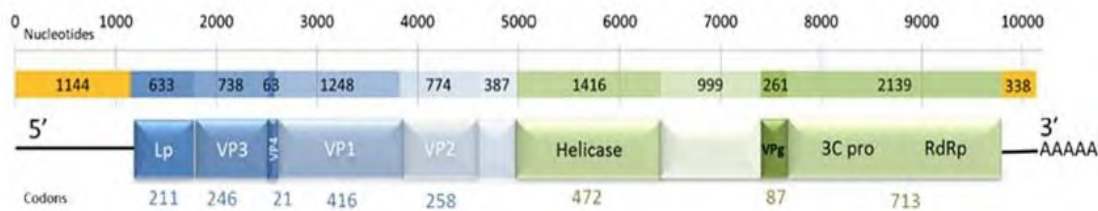


图 1 DWV 基因组的示意图

Fig.1 Schematic diagram of DWV genome

注：该图引自 Dalmon *et al.*, 2017 文献<sup>[63]</sup>。第一行数字为核苷酸标度，第二行数字为编码每个蛋白的核苷酸数目，第三行为对应蛋白的名称。第四行为从蛋白质水解位点推断出的蛋白质长度（密码子数）。蓝色为结构蛋白编码区，绿色为非结构蛋白编码区。黄色为非翻译区

Note: The figure refers to Dalmon *et al.*, 2017. First line: nucleotide scale; second line: number of nucleotides coding for each protein (regions coding for structural proteins are in blue, non-structural proteins are in green) or un-translated regions (yellow); Third line: names of the corresponding proteins (same color legend as second line); Fourth line: length of the proteins deduced from proteolysis sites (number of codons)

## 5 DWV 遗传多样性

大量的研究证实，VaDV-1 是 DWV 的一个变体，在瓦螨的合神经节中复制，但是目前还不清楚是否在瓦螨的其它组织中复制<sup>[75]</sup>。DWV 和 VaDV-1 之间的差异主要集中在基因组的 5' 端，特别是 5' UTR（在氨基酸水平上）和 Lp 区域，在基因组中其它变异程度较高的区域也有发现<sup>[76]</sup>。病毒大多数的变异是由 RNA 聚合酶产生的，主要是通过错误的合并核苷酸，其次是通过与其他病毒 RNA（甚至宿主 RNA）的重组，在复制过程中交换模板<sup>[77]</sup>。病毒基因组的变异增加或减少会导致病毒的适应性降低<sup>[78]</sup>，因此 RNA 病毒会保持一个最佳的突变率来进行正向选择<sup>[79-81]</sup>。对 DWV-VaDV 复合体中不同毒株的结构和组成的研究中，在寄生螨寄生的蛹 Lp 区域中发现了至少两个变种<sup>[32]</sup>。另 Kakugo (KGV) 和 DWV 病毒高度相似。Kakugo 病毒是在筛选蜜蜂攻击性相关基因时发现的<sup>[62]</sup>，由于其在好斗的守卫蜂大脑中表达量高，并因此得名 kakugo（“kakugo”在日语中的意思是“准备攻击”）。目前还没有发现与这种病毒有关的翅膀畸形<sup>[76]</sup>。同样的，在自然好斗的蜂群或有 DWV 症状的蜂群的保卫蜂中也没有发现 DWV 水平升高<sup>[82-84]</sup>。但是这些症状也不一定互相排斥，比如慢性蜜蜂麻痹病毒（CBPV）和囊状幼虫病毒（SBV）具有相同的行为特征和病理特征<sup>[83,85]</sup>，DWV 和 Kakugo 病毒可能就是如此。

通常对同一病毒不同毒株的核苷酸序列进行系统发育分析来描述病毒多样性、确定新出现毒株来源或监测某些基因型传播。DWV 在世界范围内分布和发生的频率很高，但到目前为止只有少数研究集中在这些病毒的遗传多样性上。通过扩增片段的测序和序列的系统发育分析有助于深入了解不同病毒株之间的遗传关系，这种方法可以预测病毒分类，推断被调查菌株之间可能的亲缘关系等<sup>[67,86]</sup>。2019 年 Fei 等<sup>[87]</sup>分别从锦州意大利蜜蜂和秦皇岛中华蜜蜂中分离到两株 DWV，测定了其全基因组序列，并对 DWV 的 ORF、VP1、3C+RdRp 三个基因区域进行系统发育及重组分析发现，基于 ORF 和 VP1 的系统发育分析较好地解释了 DWV 的地理分布，而基于 3C+RdRp 的系统发育分析解释了 DWV 的基因型多样性，

并推测来自亚洲的 DWV 毒株可能起源于从日本分离的 KGV 病毒。DWV 3C-Pro 和 RdRp 基因趋于高度保守，因此 3C-Pro 和 RdRp 基因通常被用来区分 RNA 病毒的亚型分类。根据其结果我们推测 VP1 和 3C+RdRp 基因在不同的环境中以不同的进化速率产生，这进一步导致了进化树的多样性。有相似的研究表明：DWV 毒株根据其地理来源进行了遗传聚类，通常来自同一大洲或同一国家的病毒毒株显示出更高的相似性<sup>[67-88]</sup>。另外，与 DWV 密切相关的 VaDV-1 和 KGV 病毒被一些作者认为是 DWV 在生物和地理上的变种<sup>[66]</sup>，但 2007 年的一项研究中 VaDV-1 和 KGV 在系统发育进化树中与其他世界范围内常见的 DWV 基因组分离，形成了单独的分支<sup>[67]</sup>。

自然重组是病毒适应新环境和宿主的重要策略。在从秦皇岛中华蜜蜂中分离到的 DWV 分离株中检测到了重组事件，主要涉及来自中国和韩国的菌株。由此可见，DWV 重组广泛存在于东亚的蜜蜂群体中，且所有的重组位点都位于非结构蛋白编码区<sup>[87]</sup>。Dalmon 等<sup>[63]</sup>则是在 DWV-LP 编码区发现了 DWV-VDV-1 重组事件，并且认为病毒重组与其毒力和适应性之可能存在因果关系。DWV-VDV-1 重组变异体的出现可能是 DWV 向低毒力方向适应性进化的结果，以有利于其通过瓦螨在蜜蜂群体中的传播<sup>[89]</sup>。

在我国，采蜜季节在同一地区会有大量的意大利蜜蜂和中华蜜蜂，这可能会使 DWV 通过花粉从意大利蜜蜂传给中华蜜蜂。在病毒、宿主和感染载体之间的这种相互作用中，重组菌株不断出现。未来的研究可能会发现更多的重组现象。重组事件的发生可能与 DWV 高度的遗传多样性和病毒对宿主的适应性有关，这可能会进一步增加 DWV 对养蜂业的威胁。

## 6 DWV 的防制技术研究进展

一些传统的病毒诊断方法如乌赫特朗尼氏凝胶双向扩散试验、间接荧光抗体试验由于特异性较低不能区分不同病毒，诊断效果并不理想，因此并不常用。免疫学检测是利用针对病毒衣壳蛋白高度特异性抗体作为探针，来定性和定量检测病毒，目前多采用酶联免疫技术来检测 DWV。然而这种方法只适用于检测高浓度的 DWV，当不同病毒的基因同源性较高时，免疫学检测的特异性较差，很难有效区分多病毒侵染样本，从而无法根据检测数据进行准确的蜜蜂病毒病诊断。近几年，分子生物学方法由于其高特异性和敏感性强而被大量应用，其不仅能够准确的检测出病毒的种类，还能对病毒浓度进行定量检测。

反转录聚合酶链式反应技术（RT-PCR）是目前运用最为广泛的 DWV 检测方法，是一种在聚合酶链式反应（reverse transcription-polymerase chain reaction, PCR）技术基础上针对目的产物为 RNA 核酸分子进行特异性扩增而发展起来的一种 RNA 病毒检测技术。其原理是 RNA 单链在逆转录酶的作用下合成互补 DNA (cDNA)，随后以 cDNA 为模板，在引物和 DNA 聚合酶的作用下，不断进行目的基因的循环扩增<sup>[58]</sup>。扩增结束后将扩增产物通过琼脂糖凝胶电泳，在紫外光下观察经溴化乙啶染色的 DNA 片段，与标准 DNA 梯形条带对比，可检测是否获得特定长度的 PCR 目的产物，并据此进行初步定性。



后续通过回收特异性片段并进行克隆后送至公司测序，对测序后的核酸序列在 GenBank 数据库中进行比对就可以确定病毒的种类。这项技术具有极高的灵敏度，对 DWV 含量较低的样本也有较高的分辨率<sup>[44]</sup>。

定量 PCR(Quantitative PCR)则能对 DWV 等 RNA 病毒进行定量检测，其扩增反应使得病毒拷贝数以  $2n$  倍数激增，被检测病毒的相对表达量的计算是基于 PCR 反应的扩增浓度值，即  $Ct$  值，是一个放大的初始样本浓度。不同样本在相同反应条件下进行 PCR 扩增，获得一个初始目的产物浓度，与特异性探针引物的平行 PCR 反应浓度相减 ( $\Delta Ct = Ct_{DWV} - Ct_{\beta-actin}$ ) 以消除样本间的取样误差。以最小的  $\Delta Ct$  值作为校正值，代入公式： $\Delta\Delta Ct = \Delta Ct$  (检测样本值) -  $\Delta Ct$  (校正样本值) 计算，结果代入公式  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  得到样本的一个相对浓度值<sup>[26]</sup>。此外还有多重 PCR (Multiplex PCR) 可以同时检测多重病毒<sup>[90]</sup> 提高检测的效率；巢氏 PCR(Nested PCR)通过两轮 PCR 来提高反应的特异性<sup>[91]</sup>。近几年来，这些基于 PCR 的核酸分子检测技术因其特异性强、灵敏度高、成本低等优势而被广泛应用到蜜蜂病毒的检测中。对于一些新的未知病毒的发现，目前主要是应用高通量测序技术，像 DWV 的几种变异体都是通过高通量测序发现的<sup>[92]</sup>。

对于蜜蜂特定组织器官病毒感染情况的检测，通常使用原位杂交技术。其原理是使用能和蜜蜂病毒基因序列互补的核酸片段作为探针，使其与样本中的病毒进行互补配对反应，反应复合物用化学或荧光染色法着色后，在显微镜下进行观测<sup>[93]</sup>。Shah 等<sup>[33]</sup>就应用原位杂交技术在蜜蜂大脑中检测到了 DWV。2019 年最新的一项研究中，研究者通过构建重组 DWV 基因组并在起始位置加上 eGFP 标记蛋白，就可以非常直观的在荧光显微镜下观察到 DWV 的去向以及复制增殖<sup>[94]</sup>。

DWV 在全球范围内广泛流行，对蜂群的危害显而易见，但目前还没有针对 DWV 的特效药物。尽管蜂农会使用一些药物进行治疗，比如使用抗生素、饲喂中草药等，虽然有效但药物残留对蜂产品质量以及蜜蜂的健康有一定的影响。因此，从源头出发切断 DWV 的传播途径以及应用 RNAi 技术来抑制其繁殖是未来较为合理的防控措施。

DWV 传播途径的切断主要从两方面入手，一是减少其传播机会，二是对其传播媒介瓦螨的防治。为了减少 DWV 的传播机会，首先要保证良好的蜂场内外环境，定期对蜂具和场地进行消毒，及时将撤换的蜂箱、抽出的巢脾、割下的赘脾保存好。在病害流行期间，不随意的调换蜂、子脾，染病蜂群和健康蜂群的蜂具不混用<sup>[95]</sup>。对来源复杂和规模较大的蜂群采取分散隔离方式放置，减少交叉感染机会<sup>[44]</sup>。对于 DWV 传播媒介瓦螨的防治最为有效的措施就是使用杀螨剂，蝇毒磷、联苯菊酯、拟除虫菊酯、双甲脒、精油、硫丹等是目前经济有效、易使用、不危害蜜蜂的杀螨剂<sup>[96]</sup>。但长期使用化学杀螨剂易产生抗性，造成抗性螨的产生，使狄斯瓦螨的防治效果难以预料。培育抗螨蜂种是防治及解决螨害问题的最理想方案，既不用费时费力的使用物理方法防治，又可以避免化学合成物质的残留。目前已有抗螨的

蜜蜂品种，如俄罗斯蜜蜂品种(russia honey bee, RHB)，已成功推向市场<sup>[97]</sup>。

RNAi (RNA interference) 是一种比较简单、快速、专一的方法，可以通过靶 mRNA 的降解来沉默基因功能。RNAi 最早是由 Fire 等人发现的，其研究表明引入同源的双链 RNA(double-stranded (ds) RNA, 简称 dsRNA)到内源性序列会迅速导致靶 mRNA 的破坏<sup>[98]</sup>。RNAi 已被用于许多物种中的病毒抑制，包括人类、植物、动物和昆虫<sup>[99]</sup>。最近在蜜蜂中用来抑制病毒和微孢子虫<sup>[100]</sup>。将含 dsRNA 的蔗糖溶液饲喂给蜜蜂后，在蜜蜂血淋巴中就能检测到 dsRNA 的存在。狄斯瓦螨通过取食蜜蜂的血淋巴将 dsRNA 从蜜蜂水平转移到自身，从而使得狄斯瓦螨的致死率在 60%以上，且 dsRNA 不会对蜜蜂自身造成影响<sup>[101]</sup>。dsRNA 不仅可以在不同发育阶段转移到蜜蜂的不同组织中，也可以通过蜂王转移到后代且具有生物学活性<sup>[102]</sup>。螨类经杀螨剂处理后，螨类体内的相关解毒基因的 mRNA 转录水平升高，螨类死亡率下降。通过 RNAi 处理，螨类解毒基因表达显著下降，导致螨的敏感性和死亡率显著上升<sup>[103-104]</sup>，因此 RNAi 有利于降低螨的抗药性以及减少用药成本。Desai 等<sup>[105]</sup>评估了 RNAi 是否可用于抑制或降低蜜蜂 DWV 水平，其主要通过给感染 DWV 的蜜蜂幼虫和成虫饲喂针对 DWV 的 dsRNA，评估其是否能降低 DWV 感染的致死率，研究结果表明，给幼虫喂食 dsRNA 可以降低 DWV 病毒水平，与对照组相比提前喂食了 dsRNA 的成年工蜂寿命延长并且 DWV 浓度降低，证明了 dsRNA 可以作为潜在的预防蜜蜂病原体的治疗手段。

## 7 展望

从近些年的研究来看，DWV 重组菌株不断出现，重组事件的发生可能会进一步增加 DWV 对养蜂业的威胁，因此 DWV 的遗传多样性和病毒对宿主的适应性等仍是未来的研究热点。DWV 宿主范围广泛，关于 DWV 是否影响以及如何影响其他非蜜蜂节肢动物还需要进行大量研究，确定病毒在物种间、物种内的传播机制以及潜在的致病性也尤为重要。此外，DWV 与瓦螨的协同作用对蜂群健康的影响远超过其单独作用时所造成的危害，所以对于瓦螨的防治是防控 DWV 至关重要的一步，揭示瓦螨与病毒间如何相互作用也是未来的一个挑战性工作。RNAi 技术的应用对 DWV 的防制和未来养蜂业的发展及生态环境的保护具有非常重要的意义。

### 参考文献

- [1] Klein A M, Vaissiere B E, Cane J H, *et al.* Importance of pollinators in changing landscapes for world crops [J]. Proc Bio Sci, 2007, 274(1608):303-313.
- [2] Gallai N, Salles J M, Settele J, *et al.* Economic valuation of the vulnerability of world agriculture confronted with pollinator decline[J]. Ecol Econ, 2009, 68(3):810-821.
- [3] Osowski V. Taking stock: the status of pollinators in North America [J]. Futures, 2007, 13(4):702.
- [4] Vanengelsdorp D, Hayes J, Underwood R, *et al.* A survey of honey bee colony losses in the United States, fall 2008 to spring 2009 [J]. J APICULT RES, 2010, 49(1):7-14.
- [5] Potts S, Roberts S, Dean R, *et al.* Declines of managed honey bees and beekeepers in Europe [J]. J APICULT RES, 2010, 49(1):15-22.
- [6] Aizen M A, Garibaldi L A, Cunningham S A, *et al.* Long-term global trends in crop yield and production reveal no current

- pollination shortage but increasing pollinator dependency [J]. *Curr Biol*, 2008, 18(20):1572-1575.
- [7] Vanengelsdorp D, Underwood R, Caron D, *et al.* estimate of managed colony losses in the winter of 2006-2007: A report commissioned by the Apiary Inspectors of America [J]. *AM BEE J*, 2007.
- [8] Cox-Foster D L, Conlan S, Holmes E C, *et al.* A metagenomic survey of microbes in honey bee colony collapse disorder [J]. *Science*, 2007, 318(5848):283-287.
- [9] Ratnieks F, Carreck N L. Clarity on Honey Bee Collapse [J]. *Science*, 2010, 327(jan.8):152-153.
- [10] Tentcheva D, Gauthier L, Zappulla N, *et al.* Prevalence and Seasonal Variations of Six Bee Viruses in *Apis mellifera* L. and *Varroa destructor* Mite Populations in France [J]. *Appl. Environ. Microbiol*, 2004, 70(12):7185-7191.
- [11] Tentcheva D, Gauthier L, Jouve S, *et al.* Polymerase Chain Reaction detection of deformed wing virus (DWV) in *Apis mellifera* and *Varroa destructor* [J]. *Apidologie*, 2004, 35(4).
- [12] Zhang X, He S Y, Evans J D, *et al.* New evidence that deformed wing virus and black queen cell virus are multi-host pathogens [J]. *J Invertebr Pathol*, 2012, 109(1):156-159.
- [13] Ai H, Yan X, Han R. Occurrence and prevalence of seven bee viruses in *Apis mellifera* and *Apis cerana* apiaries in China [J]. *J Invertebr Pathol*, 2012, 109(1):160-164.
- [14] Ellis J D, Munn P A. The worldwide health status of honey bees [J]. *Bee World*, 2005, 86(4):88-101.
- [15] Wilfert L, Long G, Leggett H C, *et al.* Deformed wing virus is a recent global epidemic in honeybees driven by *Varroa* mites [J]. *Science*, 2016, 351(6273):594.
- [16] Fürst M A, McMahon D P, Osborne J L, *et al.* Disease associations between honeybees and bumblebees as a threat to wild pollinators [J]. *Nature*, 2014, 506(7488): 364-366.
- [17] Villalobos E M. The mite that jumped, the bee that traveled, the disease that followed [J]. *Science*, 2016, 351(6273): 554-556.
- [18] 郑言, 杨倩, 宋战响, 等. 蜜蜂残翼病研究进展 [J]. *动物医学进展*, 2015, (3):96-101.
- [19] Ryabov E V, Wood G R, Fannon J M, *et al.* A virulent strain of deformed wing virus (DWV) of honeybees (*Apis mellifera*) prevails after *Varroa destructor*-mediated, or in vitro, transmission [J]. *PLoS Pathog*, 2014, 10(6): e1004230.
- [20] Martin S J, Brettell L E. Deformed wing virus in honeybees and other insects [J]. *Annu Rev Virol*, 2019, 6: 49-69.
- [21] Gajger I T, Kolodziejek J, Bakonyi T, *et al.* Prevalence and distribution patterns of seven different honeybee viruses in diseased colonies: a case study from Croatia [J]. *Apidologie*, 2014, 45(6): 701-706.
- [22] Berenyi O, Bakonyi T, Derakhshifar I, *et al.* Occurrence of Six Honeybee Viruses in Diseased Austrian Apiaries [J]. *Appl Environ Microbiol*, 2006, 72(4):2414-2420.
- [23] Bowen-Walker P L, Martin S J, Gunn A. The Transmission of Deformed Wing Virus between Honeybees (*Apis mellifera* L.) by the Ectoparasitic Mite *Varroa jacobsoni* Oud [J]. *J Invertebr Pathol*, 1999, 73(1): 101-106.
- [24] Schroeder D C, Martin S J. Deformed wing virus: The main suspect in unexplained honeybee deaths worldwide [J]. *Virulence*, 2012, 3(7): 589-591.
- [25] Mondet F, de Miranda J R, Kretzschmar A, *et al.* On the front line: quantitative virus dynamics in honeybee (*Apis mellifera* L.) colonies along a new expansion front of the parasite *Varroa destructor* [J]. *PLoS Pathog*, 2014, 10(8): e1004323.
- [26] Chen Y P, Higgins J A, Feldlaufer M F. Quantitative Real-Time Reverse Transcription-PCR Analysis of Deformed Wing Virus Infection in the Honeybee (*Apis mellifera* L.) [J]. *Appl Environ Microbiol*, 2005, 71(1):436-441.
- [27] Yue, C. RT-PCR analysis of Deformed wing virus in honeybees (*Apis mellifera*) and mites (*Varroa destructor*) [J]. *J Gen Virol*, 2005, 86(12):3419-3424.
- [28] Gauthier L, Tentcheva D, Tournaire M, *et al.* Viral load estimation in asymptomatic honey bee colonies using the quantitative RT-PCR technique [J]. *Apidologie*, 2007, 38(5):426-435.
- [29] Nordstrom S, Fries I, Aarhus A, *et al.* Virus infections in Nordic honey bee colonies with no, low or severe *Varroa jacobsoni* infestations [J]. *Apidologie*, 1999, 30(6).
- [30] Martin D. The dynamics of virus epidemics in *Varroa*-infested honey bee colonies [J]. *J Anim Ecol*, 2010, 73(1):51-63.
- [31] Genersch E, Yue C, Fries I, *et al.* Detection of Deformed wing virus, a honey bee viral pathogen, in bumble bees (*Bombus terrestris* and *Bombus pascuorum*) with wing deformities [J]. *J Invertebr Pathol*, 2006, 91(1):61-63.

- [32] Martin S J, Brettell L E. Deformed wing virus in honeybees and other insects [J]. *Annu Rev Virol*, 2019, 6: 49-69.
- [33] Shah K S, Evans E C, Pizzorno M C. Localization of deformed wing virus (DWV) in the brains of the honeybee, *Apis mellifera* Linnaeus [J]. *VIROL J*, 2009, 6(1): 1-7.
- [34] Fujiyuki T, Matsuzaka E, Nakaoka T, *et al.* Distribution of Kakugo virus and its effects on the gene expression profile in the brain of the worker honeybee *Apis mellifera* L. [J]. *J Virol*, 2009, 83(22):11560-11568.
- [35] Miranda J, Genersch E. Deformed wing virus [J]. *J Invertebr Pathol*, 2010, 103(supp-S):S48-S61.
- [36] Yang X, Cox-Foster D. Effects of parasitization by *Varroa destructor* on survivorship and physiological traits of *Apis mellifera* in correlation with viral incidence and microbial challenge [J]. *Parasitology*, 2007, 134(3):405-412.
- [37] Martin S J, Ball B V, Carreck N L. Prevalence and persistence of deformed wing virus (DWV) in untreated or acaricide-treated *Varroa destructor* infested honey bee (*Apis mellifera*) colonies [J]. *J Apicult Res*, 2010, 49(1): 72-79.
- [38] Shen M, Yang X, Cox-Foster D, *et al.* The role of varroa mites in infections of Kashmir bee virus (KBV) and deformed wing virus (DWV) in honey bees [J]. *Virology*, 2005, 342(1):141-149.
- [39] Yang X, Cox-Foster D L. Impact of an ectoparasite on the immunity and pathology of an invertebrate: Evidence for host immunosuppression and viral amplification [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2005, 102(21):7470-7475.
- [40] Dainat B, Ken T, Berthoud H, *et al.* The ectoparasitic mite *Tropilaelaps mercedesae* (Acari, Laelapidae) as a vector of honeybee viruses [J]. *Insect Soc*, 2009, 56(1):40-43.
- [41] Forsgren E, Miranda J, Isaksson M, *et al.* Deformed wing virus associated with *Tropilaelaps mercedesae* infesting European honey bees (*Apis mellifera*) [J]. *Exp Appl Acarol*, 2008, 47(2):87-97.
- [42] Highfield A C, Nagar A E, Mackinder L, *et al.* Deformed Wing Virus Implicated in Overwintering Honeybee Colony Losses [J]. *Appl Environ Microbiol*, 2009, 75(22):7212-7220.
- [43] Nadja S, Miguel C, Peter N, *et al.* Overwintering Is Associated with Reduced Expression of Immune Genes and Higher Susceptibility to Virus Infection in Honey Bees [J]. *PLoS ONE*, 2015, 10(6):e0129956-.
- [44] 张炫, 陈彦平, 和绍禹. 蜜蜂病毒学研究进展 [J]. *应用昆虫学报*, 2012, 49(5):1095-1116.
- [45] Chen Y, Evans J, Feldlaufer M. Horizontal and vertical transmission of viruses in the honey bee, *Apis mellifera* [J]. *J Invertebr Pathol*, 2006, 92(3):152-159.
- [46] Clayton D H, Tompkins D M. Ectoparasite Virulence is Linked to Mode of Transmission [J]. *Proc Biol Sci*, 1994, 256(1347):211.
- [47] Oldstone M. Viral persistence: Parameters, mechanisms and future predictions [J]. *Virology*, 2006, 344(1):111-118.
- [48] De Jong D, De Jong P H, Goncalves L S. Weight loss and other damage to developing worker honeybees from infestation with *Varroa jacobsoni* [J]. *J Apicult Res*, 1982, 21(3): 165-167.
- [49] Kulinčević J, Ball B, Mladjan V. Viruses in honey bee colonies infested with *Varroa jacobsoni*: first findings in Yugoslavia [J]. *Acta Vet-Beograd*, 1990, 40(1): 37-42.
- [50] Chen Y P, Pettis J S, Collins A, *et al.* Prevalence and transmission of honeybee viruses [J]. *Appl Environ Microbiol*, 2006, 72(1): 606-611.
- [51] Hung A C F. PCR detection of Kashmir bee virus in honey bee excreta [J]. *J Apicult Res*, 2000, 39(3-4): 103-106.
- [52] Bailey L, Ball B V, Perry J N. Honeybee paralysis: its natural spread and its diminished incidence in England and Wales [J]. *J Apicult Res*, 1983, 22(3): 191-195.
- [53] Yue C, Schröder M, Bienefeld K, *et al.* Detection of viral sequences in semen of honeybees (*Apis mellifera*): evidence for vertical transmission of viruses through drones [J]. *J Invertebr Pathol*, 2006, 92(2): 105-108.
- [54] Fievet J, Tentcheva D, Gauthier L, *et al.* Localization of deformed wing virus infection in queen and drone *Apis mellifera* L [J]. *Virol J*, 2006, 3(1): 1-5.
- [55] Yue C, Schröder M, Gisder S, *et al.* Vertical-transmission routes for deformed wing virus of honeybees (*Apis mellifera*) [J]. *J Gen Virol*, 2007, 88(8): 2329-2336.
- [56] De Miranda J R, Fries I. Venereal and vertical transmission of deformed wing virus in honeybees (*Apis mellifera* L.) [J]. *J Invertebr Pathol*, 2008, 98(2): 184-189.
- [57] Fries I, Camazine S. Implications of horizontal and vertical pathogen transmission for honey bee epidemiology [J].



- Apidologie, 2001, 32(3): 199-214.
- [58] Lanzi G, De Miranda J R, Boniotti M B, *et al.* Molecular and biological characterization of deformed wing virus of honeybees (*Apis mellifera* L.) [J]. J Virol, 2006, 80(10): 4998-5009.
- [59] Yan P C, Nakashima N, Christian P D, *et al.* Family -- Iflaviridae [J]. 2012.
- [60] Belsham G J. Divergent picornavirus IRES elements [J]. Virus Res, 2009, 139(2):183-192.
- [61] Nakashima N, Uchiumi T. Functional analysis of structural motifs in dicistroviruses [J]. Virus Res, 2009, 139(2):137-147.
- [62] Fujiyuki T, Takeuchi H, Ono M, *et al.* Novel Insect Picorna-Like Virus Identified in the Brains of Aggressive Worker Honeybees [J]. J Virol, 2004, 78(3):1093-1100.
- [63] Dalmon A, Desbiez C, Coulon M, *et al.* Evidence for positive selection and recombination hotspots in Deformed wing virus (DWW) [J]. Sci Rep, 2017, 7:41045.
- [64] Murakami R, Suetsugu Y, Nakashima N. Complete genome sequences of two *iflaviruses* from the brown planthopper, *Nilaparvata lugens* [J]. Arch Virol Suppl, 2014, 159(3): 585-588.
- [65] Fernández N, Buddrus L, Piñeiro D, *et al.* Evolutionary conserved motifs constrain the RNA structure organization of picornavirus IRES [J]. FEBS Lett, 2013, 587(9): 1353-1358.
- [66] Hørdard E, MBessin Y, Michon T, *et al.* Intrinsic disorder in Viral Proteins Genome-Linked: experimental and predictive analyses [J]. Virol J, 2009, 6(1):23.
- [67] Berányi O, Bakonyi T, Derakhshifar I, *et al.* Phylogenetic analysis of deformed wing virus genotypes from diverse geographic origins indicates recent global distribution of the virus [J]. Appl Environ Microbiol, 2007, 73(11): 3605-3611.
- [68] Chen Y P, Siede R. Honey Bee Viruses [J]. Advances in Virus Research, 2007, 70.
- [69] Weitz M, Baroudy B M, Maloy W L, *et al.* Detection of a genome-linked protein (VPg) of hepatitis A virus and its comparison with other picornaviral VPgs [J]. J Virol, 1986, 60(1):124.
- [70] Hinton T M, Ross-Smith N, Warner S, *et al.* Conservation of L and 3C proteinase activities across distantly related aphthoviruses [J]. J Gen Virol, 2002, 83(12):3111-3121.
- [71] Glaser W, Cencic R, Skern T. Foot-and-mouth disease virus leader proteinase: involvement of C-terminal residues in self-processing and cleavage of eIF4GI [J]. J Biol Chem, 2001, 276(38):35473-81.
- [72] Organtini L J, Shingler K L, Ashley R E, *et al.* Honey bee deformed wing virus structures reveal that conformational changes accompany genome release [J]. J Virol, 2017, 91(2).
- [73] Škubník K, Nováček J, Füzik T, *et al.* Structure of deformed wing virus, a major honey bee pathogen [J]. P Natl Acad Sci, 2017, 114(12): 3210-3215.
- [74] Sánchez-Eugenia R, Goikolea J, Gil-Cartón D, *et al.* Triatoma virus recombinant VP4 protein induces membrane permeability through dynamic pores [J]. J Virol, 2015, 89(8): 4645-4654.
- [75] Campbell, Ewan M, Budge, *et al.* Transcriptome analysis of the synganglion from the honey bee mite, *Varroa destructor* and RNAi knockdown of neural peptide targets [J]. Insect Biochem Mol Biol, 2016.
- [76] Fujiyuki T, Ohka S, Takeuchi H, *et al.* Prevalence and phylogeny of Kakugo virus, a novel insect picorna-like virus that infects the honeybee (*Apis mellifera* L.), under various colony conditions [J]. J Virol, 2006, 80(23):11528-11538.
- [77] Domingo E, Holland J J. RNA virus mutations and fitness for survival [J]. Annu Rev Microbiol, 1997, 51(1):151-178.
- [78] Biebricher C K, Eigen M. The error threshold [J]. Virus Res, 2005, 107(2):117-127.
- [79] Elena S F, R Sanjuán. Virus Evolution: Insights From an Experimental Approach [J]. Annu Rev Ecol Evol Syst, 2007, 38(1):27-52.
- [80] Roossinck M J. Plant RNA virus evolution [J]. Curr Opin Microbiol, 2003, 6(4):406-409.
- [81] Roossinck, Marilyn J. Symbiosis versus competition in plant virus evolution [J]. Nat Rev Microbiol, 2005.
- [82] Rortais A, Tentcheva D, A Papachristoforou Deformed wing virus is not related to honey bees' aggressiveness [J]. Virol J, 2006, 3(1):61.
- [83] Anderson D L, Helen G. Reduced Pollen Collection by Honey Bee (Hymenoptera: Apidae) Colonies Infected with Nosema apis and Sacbrood Virus [J]. J Econ Entomol, 1992(1):47-51(5).
- [84] Bailey L, Fernando E F W. Effects of sacbrood virus on adult honey-bees [J]. Ann Appl Biol, 1972, 72(1): 27-35.

- [85] Ribière M, Olivier V, Blanchard P. Chronic bee paralysis: a disease and a virus like no other [J]. *J Invertebr Pathol*, 2010, 103: S120-S131.
- [86] Reddy K E, Noh J H, Kim Y H, *et al.* Analysis of the nonstructural and structural polyprotein regions, and complete genome sequences of Israel acute paralysis viruses identified from honeybees (*Apis mellifera*) in Korea [J]. *Virology*, 2013, 444(1-2):211-217.
- [87] Dongliang, Fei, Yaxi, *et al.* Phylogenetic and recombination analyses of two deformed wing virus strains from different honeybee species in China [J]. *PeerJ*, 2019, 7:e7214.
- [88] Reddy K E, Noh J H, Yoo M S, *et al.* Molecular characterization and phylogenetic analysis of deformed wing viruses isolated from South Korea [J]. *Vet Microbiol*, 2013, 167(3-4):272-279.
- [89] Mordecai G J, Wilfert L, Martin S J, *et al.* Diversity in a honey bee pathogen: first report of a third master variant of the Deformed Wing Virus quasispecies [J]. *ISME J*, 2016, 10(5): 1264-1273.
- [90] Sguazza G H, Reynaldi F J, Galosi C M, *et al.* Simultaneous detection of bee viruses by multiplex PCR [J]. *J Virol Methods*, 2013, 194(1-2): 102-106.
- [91] Fannon J, Ryabov E V. *Iflavirus* (Deformed Wing Virus). In: Liu D Y, eds. *Molecular Detection of Animal Viral Pathogens* [C]. Florida: Chemical Rubber Company Press, 2016: 37-46.
- [92] Moore J, Jironkin A, Chandler D, *et al.* Recombinants between Deformed wing virus and *Varroa destructor* virus-1 may prevail in *Varroa destructor*-infested honeybee colonies [J]. *J Genl Virol*, 2011, 92(1): 156-161.
- [93] 张炫, 周丹银, 和绍禹. 蜜蜂病毒病的检测与诊断 [J]. *中国蜂业*, 2012, 63(Z4).
- [94] Ryabov E V, Christmon K, Heerman M C, *et al.* Development of a honey bee RNA virus vector based on the genome of a deformed wing virus [J]. *Viruses*, 2020, 12(4): 374.
- [95] 曾志将, 2009. 养蜂学(第二版). 北京: 中国农业出版社. 93-95.
- [96] 刘川冬, 于鹤, 李江红. 狄斯瓦螨的研究进展与防治 [J]. *中国蜂业*, 2017, 68(8):17-19.
- [97] Kirrane M J, De Guzman L I, Whelan P M, *et al.* Evaluations of the removal of *Varroa destructor* in Russian honey bee colonies that display different levels of *Varroa* sensitive hygienic activities [J]. *J Insect Behav*, 2018, 31(3): 283-297.
- [98] Fire A Z, Xu S Q, Montgomery M K, *et al.* Potent and specific genetic interference by double-stranded RNA in *Caenorhabditis elegans* [J]. *Nature*, 1998, 391(6669):806-811.
- [99] Wolters N M, Mackeigan J P. From sequence to function: using RNAi to elucidate mechanisms of human disease [J]. *Cell Death Differ*, 2008, 15(5):809.
- [100] Paldi N, Glick E, Oliva M, *et al.* Effective Gene Silencing in a Microsporidian Parasite Associated with Honeybee (*Apis mellifera*) Colony Declines [J]. *Appl Environ Microbiol*, 2010, 76(17):5960-5964.
- [101] Garbian Y, Maori E, Kalev H, *et al.* Bidirectional Transfer of RNAi between Honey Bee and *Varroa destructor*: *Varroa* Gene Silencing Reduces *Varroa* Population [J]. *PLOS Pathog*, 2012, 8(12): e1003035.
- [102] Maori E, Garbian Y, Kunik V, *et al.* A Transmissible RNA Pathway in Honey Bees [J]. *Cell Rep*, 2019, 27 ( 7 ) : 1949 — 1959.
- [103] Liao C Y, Xia W K, Feng Y C, *et al.* Characterization and functional analysis of a novel glutathione S-transferases gene potentially associated with the abamectin resistance in *Panonychus citri* (McGregor) [J]. *Pestic Biochem Physiol*, 2016, 132.
- [104] Shen X M, Liao C Y, Lu X P, *et al.* Involvement of Three Esterase Genes from *Panonychus citri* (McGregor) in Fenpropathrin Resistance [J]. *Int J Mol Sci*, 2016, 17(8):1361.
- [105] Desai S D, Eu Y J, Whyard S, *et al.* Reduction in deformed wing virus infection in larval and adult honey bees (*Apis mellifera* L.) by double-stranded RNA ingestion [J]. *Insect Mol Biol*, 2012, 21(4).