

蜜蜂蜂王浆主蛋白(MRJPs)的研究进展*

赵亚周 田文礼 胡熠凡 彭文君**

(中国农业科学院蜜蜂研究所 农业部授粉昆虫生物学重点开放实验室 国家蜂产品加工技术研发分中心 北京 100093)

摘 要 蜜蜂的蜂王浆主蛋白具有为蜂王和幼虫提供营养、影响蜂群社会行为及调节个体生理机能等作用,作为蜂王浆的主要成分对其他机体也可产生多方面的生物学功能。因此,近年来蜂王浆主蛋白的相关研究备受关注。本文针对蜂王浆主蛋白的发现、种类、功能、系统进化及其基因表达情况进行了系统综述。

关键词 蜜蜂, 蜂王浆主蛋白(MRJPs), 研究进展

Research advances in major royal jelly proteins of honeybee

ZHAO Ya-Zhou TIAN Wen-Li HU Yi-Fan PENG Wen-Jun**

(Key Laboratory for Insect-Pollinator Biology, Ministry of Agriculture; Institute of Apiculture,
Chinese Academy of Agricultural Sciences; National R&D Center for Bee Product Processing, Beijing 100093, China)

Abstract Major royal jelly proteins of honeybee provide nutrition to queens and larvae, affect the behavior of swarms and regulate the physiological functions of individual bees. In addition, as the major component of royal jelly, the proteins also perform amazing biological functions for other organisms. Recently, more and more studies have focused on major royal jelly proteins. Here, we highlight recent advances in research on the major royal jelly proteins of honeybee including their discovery, categorization, function, evolution and gene expression analysis.

Key words honeybee, major royal jelly proteins, research advances

蜂王浆是由蜂群中青年工蜂头部咽下腺分泌,用于饲喂蜂王及幼虫的一种特殊乳浆状物质(Šimúth, 2001; Srisuparbh *et al.*, 2003)。蜂王浆作为一种混合物,包含多种蛋白质、氨基酸、脂肪酸、糖、维生素、乙酰胆碱、胰岛素等有机成分和无机成分(Howe *et al.*, 1985; Chen and Chen, 1995)。其中蛋白质是蜂王浆中含量最丰富的有机成分,占蜂王浆总量的 11% ~ 14%。蜂王浆中的蛋白质分为水溶性蛋白和非水溶性蛋白,水溶性蛋白占总蛋白含量的 46% ~ 89%,为蜂王浆中蛋白质的主要成分,称为蜂王浆主蛋白(major royal jelly proteins, MRJPs)(Schmitzová *et al.*, 1998; 陈盛禄, 2001; Qu *et al.*, 2008; 陶挺等, 2008)。蜂王浆具有重要的生物学功能和医疗保健作用,这可能与其中的 MRJPs 密切相关,例如在生物学功能方面,MRJPs 参与决定蜂群中雌性蜂

的级型分化(Drapeau *et al.*, 2006),为幼虫发育提供必要的可利用氮元素以及可能在蜜蜂行为调控中起作用等(Albertová *et al.*, 2005; Robinson *et al.*, 2005)。另外,MRJPs 对其他动物机体具有重要的医疗保健作用,主要表现为高效的抗菌活性,较强的免疫活性和促进特殊细胞增殖等(Shen *et al.*, 2007)。

MRJPs 是一个蛋白质家族,包含多个同源性较高(氨基酸序列的一致性达到了 60% ~ 70% 以上)的蛋白质或者肽段成员,分子量多在 49 ~ 87 ku(Drapeau *et al.*, 2006; Shen *et al.*, 2007)。MRJPs 蛋白家族中各个成员的含量和作用不尽相同,甚至同一成员因在不同组织中表达而导致其所参与生理机能的改变。所以,针对 MRJPs 中单个成员的深入研究亟待进行,尤其是分子细胞水平的研究,此方面的成果有助于探明蜜蜂社会行

* 资助项目:国家现代蜜蜂产业技术体系项目(NYCYTI-43-KXJ17)、农业科技成果转化资金项目(2010GB23260588)、科研院所技术开发专项(2009EG134274)。

**通讯作者, E-mail: pengwenjun@vip.sina.com

收稿日期:2011-03-03, 接受日期:2011-03-25

为学的发生和调控机制,以及扩大蜂王浆制品应用的广度与深度。

1 MRJPs 的发现

蜂王浆在 17 世纪以前就已被开发和利用,人们将其视为强身延年之珍宝。1852 年 Wetherill 首次对蜂王浆的化学组分进行分析,发现蜂王浆是一种成分十分复杂的天然物质(Wetherill, 1852)。Albert 等(1999b)发现蜂王浆干物质成分中约 50% 是蛋白质, Schmitzová 等(1998)年发现蜂王浆中 82% ~ 90% 的水溶性蛋白质属于一个同源性很高的蛋白质家族,即 MRJPs, 成员间高度的同源性主要表现在 N 末端序列和其 cDNA 序列上。目前为止, MRJPs 家族已有 10 个成员(MRJPs1 ~ 9 和 MRJP- ψ) 在蛋白质或 cDNA 水平上得到了验证,其中稍早被发现的 MRJPs1 ~ 5 研究较为充分。值得注意的是,未对这些蛋白的功能结构进行充分研究之前,人们就已将其命名为 MRJPs。之后的研究中发现该蛋白家族成员具有类似于卵白蛋白(ovalbumin)的生物化学功能,因此有人提出 MRJPs 蛋白应当命名为 apalbumins, 即 apalbumin1 代表 MRJP1, apalbumin2 代表 MRJP2 等(Xia *et al.*, 2006)。Šimúth 等(2004)认为这种命名方式更切合实际,因为这些蛋白不仅在蜂王浆中存在,工蜂和雄蜂的食物中也或多或少含有某些该系列蛋白质。但是,这种命名方式没有被大多数研究人员所认可,为了避免专业术语上的混乱,多数研究文章一直以来还是沿用传统的命名方式。

MRJPs 主要是由蜂群中哺育蜂的咽下腺分泌,咽下腺属于外分泌腺,位于工蜂头部,是一对葡萄状的泡状腺(Li *et al.*, 2008)。通过构建西方蜜蜂咽下腺的表达序列标签(EST)文库可以鉴定出 *mrjps* 基因的存在。MRJPs 在西方蜜蜂中研究最为充分,最早可追溯到 Klaudiny 等(1994a)对西方蜜蜂蜂王浆中 2 种蛋白(MRJP3 和 MRJP4)的 cDNA 进行克隆及序列分析,接下来 1998 和 1999 年 MRJP1 和 MRJP2 的 cDNA 全长也被相继测定出来(Jádová *et al.*, 1998; Schmitzová *et al.*, 1998; Biliková *et al.*, 1999)。尤其是西方蜜蜂的全基因组测序工作完成之后,利用生物信息学手段验证了 MRJPs 蛋白家族由 9 个基因编码,并且这 9 个基因排列在一个 60 kb 的串联序列上,一致性达到了 60% 以上(Drapeau *et al.*, 2006)。

蜂王浆主蛋白部分成员具有高度的多态性,例如 MRJP3 有 5 个不同的异构体成员(Drapeau *et al.*, 2006),加之翻译后修饰(糖基化和磷酸化)导致其蛋白质结构更加复杂,给分离纯化带来较大阻力。因此,需要进一步提高分离纯化各 MRJPs 成员的技术水平,以实现检测和鉴定这些蛋白质的目的。目前常见的有双向电泳(2D-PAGE)和多维色谱分析(multidimensional chromatography),但是由于具体方法的局限性,这些技术也仅仅能检测整个蛋白质组中的部分成员。综合而全面的蜂王浆蛋白质组学分析技术亟待完善,以提供更加丰富的信息,为探明蜜蜂级型分化机制和鉴定蜂王浆中高营养价值的功能性因子提供技术支持。

2 MRJPs 的分类

目前为止,科学家已经通过多种分子生物学途径鉴定了 MRJPs 中的 10 个成员,分别为 MRJPs1 ~ 9 和 MRJP- ψ 。其中, MRJPs1 ~ 5 是研究相对比较全面的蛋白成员,约占蜂王浆总蛋白的 82% (Santos *et al.*, 2005)。

2.1 MRJPs1 ~ 5 的研究概况

MRJP1 是一个分子量约为 49 ~ 60 ku 的弱酸性糖蛋白,等电点 pI 为 4.0 ~ 6.3,编码该蛋白的基因序列全长为 3 038 bp, 包含有 6 个外显子和 5 个内含子(Biliková *et al.*, 2002; Malecova *et al.*, 2003; Peixoto *et al.*, 2009; Tamura *et al.*, 2009b)。MRJP1 蛋白具有高度的保守性,如 Malecova 等(2003)研究发现在 *mrjp1* 基因的复制过程中出现了 7 次错配,但是并没有导致其氨基酸序列发生变异。MRJP1 在蜂王浆主蛋白中含量最丰富,所占比例达到了 31%,占蜂王浆中水溶性蛋白的 48% (Šimúth, 2001; Srisuparbh *et al.*, 2003)。MRJP1 的 mRNA 在哺育蜂和外勤蜂的咽下腺中均大量表达,并且花粉和蜂蜜中都发现了 MRJP1 的存在(Šimúth, 2001; Won *et al.*, 2008)。同时在排除交叉污染的情况下, Tamura 等(2009b)利用 MRJP1 的多克隆抗体在西方蜜蜂大脑的蕈形体、视神经叶和触角叶神经纤维中均检测到了 MRJP1 的存在。Šimúth(2001)年报道西方蜜蜂蜂王浆中的 MRJP1 具有不同的存在形式,包括单体形式(55 ku)、低聚物形式(有 290、350 和

420 ku 等)和与脂肪酸的聚合物形式(非水溶性)。其中低聚物形式包含 54 个氨基酸残基,由 5 个 MRJP1 单体和 1 个 apisimin 肽段在水溶液中依靠结构上的特性完成自我组装(Biliková *et al.*, 2002),但是其详细的亚基结构还需进一步的 X 射线衍射分析其蛋白晶体结构而得到。MRJP1 低聚物是一个热稳定性蛋白,其高级结构在 56℃ 下不会被破坏,而用尿素处理时会发生变性,说明亚基之间是由非共价键连接(Tamura *et al.*, 2009a)。MRJP1 低聚物的含量随条件变化(例如蜂王浆产地不同)而改变(Tamura *et al.*, 2009b),也有研究报道 57 ku 蛋白(作者认为该蛋白为 MRJP1)含量随着储存温度和时间的变化而下降(Kamakura *et al.*, 2001a; Kamakura and Fukushima, 2002),说明 MRJP1 在蜂王浆中大量存在不仅仅在于其稳定性高的原因。

MRJP2 分子量为 49 ~ 51 ku, pI 为 6.2 ~ 7.9, 是一种弱碱性的糖蛋白,其在蜂王浆主蛋白中含量中等,为 16% 左右(Srisuparbh *et al.*, 2003; Tamura *et al.*, 2009a)。MRJP2 主要是在哺育蜂的咽下腺中合成分泌,但是有报道称 MRJP2 在工蜂的大脑中也有表达(Thompson *et al.*, 2006)。有趣的是,MRJP2 在西方蜜蜂中未表现出多态性现象,而其在中华蜜蜂 *Apis cerana cerana* 上存在一定的多态性水平(Su *et al.*, 2005),说明 MRJPs 在种水平上的遗传差异较为明显。

MRJP3 是分子量为 60 ~ 70 ku 的弱碱性糖蛋白,占蜂王浆主蛋白总量的 26% (Schmitzová *et al.*, 1998; Srisuparbh *et al.*, 2003)。MRJP3 是 MRJPs 中最早(1994 年)通过 cDNA 克隆测序而确定的蛋白质,其 cDNA 长度为 380 ~ 550 bp (Klaudiny *et al.*, 1994a)。MRJP3 是一种具有高度多态性的蛋白质,存在 5 种异构体,它们均具有相似的 N 末端序列,在 SDS-PAGE 电泳上表现出长度多态性。通过对 MRJP3 的 cDNA 进行序列分析,认为 MRJP3 的长度多态性源自其 C 末端的开放阅读框(ORF)中存在一个可变的重复区域(VNTR) (Albert *et al.*, 1999b)。另外,Albert 和 Klaudiny (2004)也在 *mrjp3* 基因中检测到了单核苷酸多态性(SNPs)。MRJP3 具有高度多态性的原因主要有:1) 基因片段的复制滑动和基因突变,这种突变几率不会因为雄性蜂是单倍体而降低;2) *mrjp3* 基因在单倍体雄蜂个体中不表达;3) *mrjp3*

可变的重复区域可能是中性基因(Wolff *et al.*, 1991; Albert *et al.*, 1999b)。因此,基于以上原因,*mrjp3* 基因的高度多态性可用以研究蜜蜂群体的遗传结构,通过普通的 PCR 便可鉴定,简单高效。但是应当注意的是利用 7% ~ 8% SDS-PAGE 检测到的 MRJP3 多态性信号较弱,而利用 MRJP3 重复区域的抗血清进行免疫学研究,可以得到清晰的多态性结果(Albert *et al.*, 1999b)。MRJP3 属于 MRJPs 家族中表达量较高的成员之一,通过 Northern blot 发现在 8 日龄工蜂体内 MRJP3 的 mRNA 含量占总 mRNA 的 8% (Klaudiny *et al.*, 1994a)。*mrjp3* 基因较高的多态性水平与蜂群蜂王浆产量存在一定的相关性,因此该多态性位点已被开发为蜜蜂遗传多态性和不同蜂种蜂王浆生产情况的检测标记(Baitala *et al.*, 2010)。

MRJP4 为 60 ku 的弱碱性糖蛋白,包含大量重要的氨基酸成分(Schmitzová *et al.*, 1998; Li *et al.*, 2007)。相对于 MRJP1 ~ 3 和 MRJP5, MRJP4 在工蜂咽下腺中的表达量较少,所以对 MRJP4 的鉴定比较困难(Klaudiny *et al.*, 1994b; Ohashi *et al.*, 1997, 1999)。例如 Schmitzová 等(1998)报道 SDS-PAGE 电泳和色谱技术均不能在蛋白水平上检测到 MRJP4 的存在,只能利用 cDNA 克隆测序的方法揭示其存在,Sano 等(2004)首次通过 2D-PAGE 在蛋白质水平上鉴定了 MRJP4。

MRJP5 占蜂王浆蛋白总量的 9% 左右,为弱碱性糖蛋白,含有较多的重要氨基酸成分(Srisuparbh *et al.*, 2003; Li *et al.*, 2008)。MRJP5 多态性水平也较高,含有大量的 3 肽重复片段,SDS-PAGE 上表现出长度多态性,其异构体主要集中在 77 ~ 87 ku 之间,这种高度多态性的信息位点也可用于蜜蜂蜂群的遗传学研究(Srisuparbh *et al.*, 2003)。

2.2 MRJPs 家族其他成员研究概况

MRJPs6 ~ 9 中,只有 MRJP7 是酸性蛋白,其余均为弱碱性蛋白(Tamura *et al.*, 2009a)。与 MRJPs 家族中其他成员不同,MRJP8 和 MRJP9 在蜂毒腺中有表达,不具备营养功能。例如研究人员通过克隆 MRJP9 的 cDNA,并进行系统发生学研究,认为 MRJP9 的出现早于该蛋白家族中富含营养的重复区域(如 MRJP3 和 MRJP5 的重复区域),是 MRJPs 成员中比较古老的成员(Albert and

Klaudiny, 2007; Peiren *et al.*, 2008)。MRJP8 不在工蜂咽下腺中表达分泌, Alberte 和 Klaudiny (2004) 只能通过工蜂头部的 EST 文库发现其存在。MRJP8 和 MRJP9 具有很多相似之处: 1) 系统发生学分析将它们共同聚类到了 MRJPs 进化树的基部, 说明它们是 MRJPs 家族中最古老的蛋白; 2) MRJP8 和 MRJP9 都缺乏后期进化出的重复区域, 这些重复区域被认为是蜂王浆主要的营养价值所在 (Albert and Klaudiny, 2007)。marjp- ψ 可能是一个假基因, 即无效等位基因, 研究人员预测其可能编码一个不完整多肽, 但是并未发现其转录本 (Drapeau *et al.*, 2006)。

3 MRJPs 的功能

3.1 MRJPs 的生物学功能

依据蜜蜂全基因组序列信息和 EST 数据发现, MRJPs 家族中 10 个基因成员在蜜蜂大脑、蜂毒腺、幼虫、蛹和成虫组织中均有表达, 说明这些蛋白在蜂群中可能具有多重功能。

首先是营养功能方面, 一般认为, MRJPs 是蜜蜂幼虫生长所必需的氨基酸和氮素的主要来源。MRJP3 中的五肽重复单元储存着丰富的可利用氮元素 (Albertová *et al.*, 2005), 氮是生物大分子的重要组成部分, 比如核酸和蛋白质, 对蜜蜂幼虫的快速生长和蜂王的高繁殖能力至关重要。MRJP5 的三肽重复单元中含有蛋氨酸残基, 是储存硫的重要区域 (Drapeau *et al.*, 2006), 硫元素也是蜜蜂营养中的一种重要组分。

第二方面是 MRJPs 对蜜蜂社会行为方面的影响, 蜜蜂蜂群社会的一个显著特点就是非遗传性的级型分化现象, 而这种多型性现象可能正是受到了 MRJPs 中部分成员的调控作用。如当不能生育的低日龄工蜂经过处理后开始产卵时, 利用微阵列方法发现 MRJP2 和 MRJP7 在其大脑中高水平表达 (Thompson *et al.*, 2006); 由于中华蜜蜂和西方蜜蜂的蜂王浆成分存在一定的差异, 当利用中华蜜蜂的蜂王浆饲喂西方蜜蜂的幼虫时, 是不能使其发育成蜂王的, 反之亦然 (Takenaka and Takenaka, 1996)。所以, 蜂王浆中的重要活性成分 MRJPs 可能是蜂群发展的控制因子之一。另外, 研究证明蛋白质 N 末端的糖基化位点对于细胞之间或者组织之间的交流通讯至关重要, 因此,

蜜蜂大脑蕈形体中具有 N 末端糖基化位点的 MRJP1 对蜜蜂的交流能力起着重要的作用。蕈形体是蜜蜂视觉、运动和嗅觉中枢, 其中的神经网络构成了大脑的信息加工和记忆中心, 如果 MRJP1 在蕈形体中的表达量减少, 会直接影响工蜂的后天学习能力 (Kucharski *et al.*, 1998; Peiren *et al.*, 2008)。

第三方面是 MRJPs 对蜜蜂生理机能的影响, 蜜蜂在外界采集花粉和花蜜的过程中, 很容易感染植物上的微生物。一般情况下, 为了避免感染, 蜜蜂固有的细胞免疫反应被一系列组织、血细胞和血淋巴中的抗菌多肽或肽段所介导产生。然而 MRJPs 中的抗菌蛋白 (如 MRJP1) 与生俱来, 不需要蜜蜂受到任何免疫刺激就能在咽下腺中产生 (Fontana *et al.*, 2004)。与 MRJPs 亲缘关系很近的 YELLOW 家族成员主要作用在于促进不同性别个体的性成熟与发育 (Gilliland *et al.*, 2005), 而 MRJPs 作为蜂王浆的主要营养成分决定着蜜蜂的级型分化, 所以 MRJPs 也可能具有促进特殊性别个体性成熟的作用, 例如蜂王。

3.2 MRJPs 的营养保健功效

MRJPs 具有很多重要的营养保健功效, 如 MRJP1 可以刺激原始培养的小鼠肝细胞 DNA 合成, 而促进细胞的增殖及保持肝细胞活性 (Kamakura *et al.*, 2001c); 从蜂王浆中分离的具有与 MRJP1 相同 N 末端序列的 350 ku 蛋白质能够刺激人体的单核细胞增殖 (Kimura *et al.*, 2003); MRJP1 可以刺激血清培养基中的淋巴细胞生长, 并对小鼠具有抗疲劳功能 (Kamakura *et al.*, 2001b); 经胃肠蛋白酶分解 MRJP1 得到的肽类物质可以有效地抑制人体血管紧张素 I 型转化酶的活性 (Matsui *et al.*, 2002); Roslins 和 Jelleines 是蜂王浆中的抗菌肽, Fontana 等 (2004) 推测 MRJP1 是 Jelleines 的前体, 并称 MRJP2 也具有一定的抗菌活性。分子量为 70 ku 的糖蛋白 (推测可能是 MRJP3) 具有很强的抗过敏能力, 且其在体内表现出有效的免疫调节能力 (Okamoto *et al.*, 2003); MRJPs 蛋白经过 N 末端水解酶水解后具有较强的抗氧化活性, 如抑制亚油酸的过氧化反应 (Guo *et al.*, 2009)。MRJPs 家族影响机体的免疫系统, 据报道, MRJP1 和 MRJP2 是引起蜂王浆食物过敏反应的过敏原, 它们可以刺激小鼠的巨噬细胞释

放 TND- α , 而 MRJP3 具有较强的抗应变性, 能够抑制白细胞介素 4 (IL-4)、IL-2 和 INF- γ 的水平 (Tamura *et al.*, 2009b)。这些研究均揭示 MRJPs 蛋白具有多种生理功能, 但是由于家族成员从蜂王浆分离的过程中易失活或发生功能改变, 大大限制了其应用范围。因此, 关于 MRJPs 的某些成员具有哪些功能, 这些功能的产生机制如何, 受试对象如何摆脱以往的整体研究水平而达到分子细胞水平等是目前的研究重点。

不同蜂王浆产品 (包括不同植物、不同储存时间、不同蜂种和不同地域等) 的 MRJPs 含量是不同的, 加之其中蛋白质成分的复杂性以及缺乏相关基因表达的连续性数据, 使得这些蛋白质的生理和生物性状难以预测, 阻碍了蜂王浆中相关蛋白质功能的研究 (Santos *et al.*, 2005)。另外, 工蜂咽下腺合成蛋白质的生物化学方面的研究数据也相对欠缺。因此, 虽然目前针对 MRJPs 蛋白或者蜂王浆粗蛋白的生理机能研究很多, 但是部分研究结果不一致。为了增加研究结果的可信度及系统性, 我们在研究蜂王浆中成分的生理机能时应首先对蜂王浆蛋白成分进行有效的分离纯化, 并需注明蜂王浆的来源及特征等。

4 MRJPs 的系统进化

4.1 MRJPs 的起源

MRJPs 是从一个古老的蛋白家族 (YELLOW) 进化而来, 二者同源性很高, 经常被归为 MRJP/YELLOW 家族, 该家族中的成员发挥着不同的生理功能, 并表现出高度的保守性 (Albert and Klaudiny, 2004)。yellow 基因家族分布很广泛, 比如所有的节肢动物 (Millipede) 和一些海生细菌等, 其中果蝇中的 yellow 基因研究最充分。但是相对于其前体, *mrjps* 基因仅仅在蜜蜂属 *Apis* 昆虫

中存在, 因此, 可以推断 *mrjps* 基因的起源较晚 (Maleszka and Kucharski, 2000; Drapeau *et al.*, 2006)。Albert 和 Schmitz (2002) 利用从西方蜜蜂中设计的 PCR 引物在大蜜蜂 *Apis dorsata* 中检测到了和蜜蜂同源性很高的 *mrjp3* 和 *mrjp5* 基因序列, 并推测其所表达的蛋白具有相似的功能。因此, 它们 MRJPs 蛋白家族的进化史可以追溯到 22 亿年前西方蜜蜂和大蜜蜂的共同祖先。

YELLOW/MRJP 蛋白是一个多功能蛋白体系, 成员之间的作用方式是相互关联的, 其中许多成员在昆虫的生殖成熟过程中起作用, 同时 MRJPs 蛋白家族的进化过程被认为与蜜蜂社会习性的形成相一致 (Drapeau *et al.*, 2006)。YELLOW 蛋白的功能在其进化过程中表现出高度的保守性, 而蜜蜂 MRJPs 在其进化过程中出现了一定水平的遗传分化和功能分歧, 即使同源性较高的 MRJPs 蛋白之间, 其生理功能也是不大相同的 (Albert and Klaudiny, 2004)。

4.2 MRJPs 的进化

MRJPs1~9 中每个成员的基因编码区都含有 5 个内含子, 结构非常相似, 并且不同成员之间具有相同的翻译阶段, 说明这个基因家族可能是由共同的前体进化而来 (Drapeau *et al.*, 2006)。所以, 有假说认为 *mrjps* 基因是通过几乎同时发生的多重复制而产生, 因为多重复制机制经常会产生这种同位点上的基因簇 (Albert *et al.*, 1999a; Wagner *et al.*, 2003)。还有一种说法认为 *mrjps* 基因是通过一个原始基因位点的基因变异累积所形成。但是通过基于 DNA 序列构建的进化树显示, *mrjps* 基因与 *yellow-e3* 的关系更加紧密, 而否定了后一种说法。原因有三: 首先 *yellow-e3* 作为启动子位于 10 个 *mrjps* 基因成员的一侧 (图 1); 第二, 蜜蜂所有的类 yellow 基因中, 只有 *yellow-e3* 的

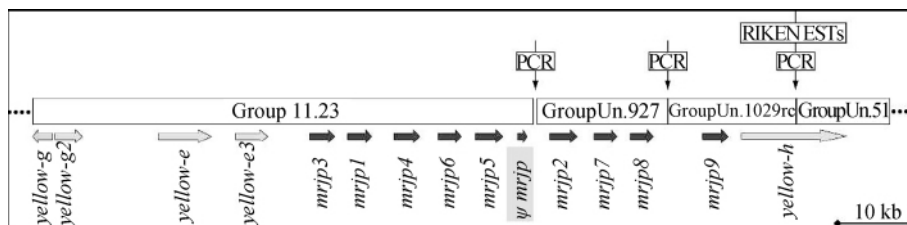


图 1 编码 MRJPs 蛋白的基因组信息示意图 (Drapeau *et al.*, 2006)

Fig. 1 Genomic landscape of genes encoding MRJPs (Drapeau *et al.*, 2006)

内含子/外显子结构和蛋白质氨基酸序列与 MRJPs 最相似;第三,也是最重要的一点,微阵列数据显示, Yellow-e3 与 MRJPs 的功能相似度甚至超过了 Yellow-e3 与其他 Yellow 成员之间的功能相似度 (Drapeau *et al.*, 2006)。

mrjps 的重复区域很早便出现在了其基因家族的进化过程中,而且 *mrjp3* 基因中的这种重复片段尤其被拉长了。MRJPs 中的含氮量与其重复区域的长度呈正比关系,因此 Albertová 等 (2005) 认为基于为蜂王和幼虫提供更有效的营养物质,通过长期的自然选择机制,工蜂咽下腺所分泌的 MRJPs 进化出了富含营养的重复区域。MRJPs 仅在 *Apis* 属有发现,且蜜蜂幼虫的级型分化现象明显依赖于蜂王浆的饲喂时间,增加了 *mrjps* 基因通过营养功能调节蜂群社会行为的可能性,而非其他的基因遗传功能。因此,可以认为自然遗传和营养调控社会行为的观点在此得到了趋同。

5 *mrjps* 基因的表达情况

西方蜜蜂全基因组序列信息包含了基因之间的空间结构情况,如 5 个编码 YELLOW 家族成员基因位于 MRJPs 家族基因的侧翼上 (图 1),另据 *mrjps* 基因中的内含子/外显子结构及其所表达的蛋白质序列信息,发现 *mrjps* 基因的复制是通过 *yellow-e3* 作为启动子而开始的 (Drapeau *et al.*, 2006)。

西方蜜蜂的 MRJPs 在不同级型、发育阶段、性别和组织中的表达情况各不相同,MRJP1 和 MRJP3 不仅在工蜂中表达,在蜂王和雄蜂中也有所表达。*mrjps* 家族基因在蜜蜂的整个发育阶段均有表达,比如胚胎、幼虫和蛹,但是其表达量较成蜂低 (Drapeau *et al.*, 2006)。*mrjps* 基因表达在时间上也有差异,MRJPs 在 1 日龄的工蜂咽下腺中就被发现,而在 3 日龄工蜂咽下腺中才合成了典型的蜂王浆。MRJP5 在 5 日龄之内的幼虫表达量最高,而后逐渐减少,26 日龄之后便检测不到 MRJP5 的表达,这种情况与 MRJP1 截然不同 (Kucharski *et al.*, 1998)。MRJPs 在蜜蜂不同组织中的表达差异也较为明显,如 MRJP1 在成熟工蜂的大脑中有表达,说明了其决定蜜蜂个体行为的作用,MRJP8 和 MRJP9 可在成蜂的蜂毒腺中表达等,但是其作用尚不清楚 (Drapeau *et al.*, 2006)。MRJPs 成员的这些表达差异情况说明基

因成员虽然在基因组中比较接近,但是其表达调控情况并不一致。总体来说,*mrjps* 的 9 个基因成员并不是仅仅在工蜂的咽下腺中作为营养成分大量表达,其各自所进化出的特殊表达方式,恰恰证明了该蛋白家族成员具有其独立而统一的功能价值。

蜜蜂蜂群中工蜂存在一种日龄多型性 (age-dependent roles) 现象,分工情况的改变伴随着咽下腺分泌功能的变化。哺育蜂的咽下腺主要分泌包含 MRJPs 的蜂王浆,用以饲喂蜂王和幼虫。而随着工蜂日龄的增大 (从哺育蜂转变成外勤蜂),其咽下腺终止了分泌蜂王浆,转而分泌酶解碳水化合物的代谢酶 (包括 α -葡萄糖苷酶,淀粉酶和葡萄糖氧化酶),用以将花蜜转化成蜂蜜 (Feng *et al.*, 2009)。原则上我们是可以在此转变过程中或者之后检测到目的基因表达水平的下降,而且这种转变也是可以逆转的。另外,工蜂咽下腺会根据日龄多型性而合成不同的 MRJPs 成员,例如 MRJP1 ~ 4、MRJP7 在哺育蜂中的表达量明显高于外勤蜂,而二者的 MRJP6 表达量均较低,这种结果出现的原因,需要进一步研究 (Liu *et al.*, 2010)。可以看出,*mrjps* 基因的表达量和表达时间是受到精确调控的,Bozic and Woodring (2000) 认为保幼激素参与了咽下腺分泌功能改变的调控。以上关于 *mrjps* 基因表达调控的研究有助于我们更好地了解同源性基因间的差异性以及其在社会性昆虫个体发生学方面的作用,*mrjps* 基因也是研究蜜蜂日龄多型性现象的分子机制的重要途径。

6 结语

通过总结分析国内外蜜蜂蜂王浆主蛋白的相关研究进展,我们认为目前主要有以下 4 个方面的研究值得特别关注:

1、蜜蜂蜂群的行为特点主要有完全社会性、世代重叠和亲本抚育等,这些社会行为多受到了蜂王浆中 MRJPs 家族成员的控制和调节,其中的调控机理已成为目前的研究热点,同时也是难点。

2、蜂王浆中蛋白成分具有重要的营养价值,已成为人们益寿延年的食补佳品,所以目的蛋白成分的批量生产模式亟待建立,而分离纯化蜂王浆中的功能蛋白或将蜂王浆主蛋白基因进行克隆并有效提高其表达量,不失为一种有效途径。Júdová 等 (2004) 已成功地将 *mrjp1* 基因转录到烟

草植株上实现表达,说明了蜜蜂中特有的蛋白质具有作为功能性食品的生理活性成分进行批量生产的可能性。但是,这种利用转基因植物的模式需要进一步提高目标蛋白质在受体细胞中的表达水平。

3、MRJPs 在种内水平上具有一定的保守性,而种间水平上表现出较大的差异。目前针对西方蜜蜂的 MRJPs 研究比较全面而深入,而限于研究技术的问题,我国特有的宝贵蜂种——中华蜜蜂 *Apis cerana cerana* 的 MRJPs 研究水平有限。所以,很有必要对中华蜜蜂的 MRJPs 进行系统研究,以探索中华蜜蜂 MRJPs 的生物和生理特性,为我国蜜蜂种质资源的合理利用与保护提供理论基础。

4、针对 MRJPs 的特异性制备相应的多克隆抗体,在不同蜜蜂个体的咽下腺、大脑和蜂毒腺等组织中进行免疫印记检测,以揭示 MRJPs 在不同组织、不同级型或亚级型中的表达差异,有助于研究该蛋白家族的生物功能。并且,同样的研究策略还可应用于蜂王浆品质、产地和掺假情况等的鉴定。

总之,相信随着基因工程、蛋白质组学及现代分离技术的发展,MRJPs 家族中成员的功能和结构必将被逐一明确,这对进一步阐明蜂王浆蛋白质组分的生理和生物活性,扩大其应用范围,无疑具有重要意义。

致谢:感谢中国农业大学陈忠周教授和匿名评审专家对本文的修改提出宝贵意见。

参考文献(References)

- Albert S, Bhattacharya D, Klaudiny J, Schmitzová J, Šimúth J, 1999a. The family of major royal jelly proteins and its evolution. *J. Mol. Evol.*, 49(2):290—297.
- Albert S, Klaudiny J, 2004. The MRJP/YELLOW protein family of *Apis mellifera*: identification of new members in the EST library. *J. Insect Physiol.*, 50(1):51—59.
- Albert S, Klaudiny J, 2007. MRJP9, an ancient protein of the honeybee MRJP family with non-nutritional function. *J. Apicult. Res.*, 46(2):99—104.
- Albert S, Klaudiny J, Šimúth J, 1999b. Molecular characterization of MRJP3, highly polymorphic protein of honeybee (*Apis mellifera*) royal jelly. *Insect Biochem. Mol. Biol.*, 29(5):427—434.
- Albert S, Schmitz J, 2002. Characterization of major royal jelly protein-like DNA sequences in *Apis dorsata*. *J. Apicult. Res.*, 41(3/4):75—82.
- Albertová V, Su S, Brockmann A, Gadau J, Albert S, 2005. Organization and potential function of the *mrjp3* locus in four honeybee species. *J. Agric. Food Chem.*, 53(20):8075—8081.
- Baitala TV, Faquinello P, de Toledo VAA, Mangolin A, Martins EN, Ruvolo-Takasusuki MCC, 2010. Potential use of major royal jelly proteins (MRJPs) as molecular markers for royal jelly production in Africanized honeybee colonies. *Apidologie*, 41(2):160—168.
- Biliková K, Hanes J, Nordhoff E, Saenger W, Klaudiny J, Šimúth J, 2002. Apisimin, a new serine-valine-rich peptide from honeybee (*Apis mellifera* L.) royal jelly: Purification and molecular characterization. *FEBS Letters*, 528(1/3):125—129.
- Biliková K, Klaudiny J, Šimúth J, 1999. Characterization of the basic major royal jelly protein MRJP2 of honeybee (*Apis mellifera*) and its preparation by heterologous expression in *E. coli*. *Biologia Bratislava*, 54(6):733—739.
- Božič J, Woodring J, 2000. Variation in JH synthesis rate in mature honeybees and its possible role in reprogramming of hypopharyngeal gland function. *Pflugers Arch.*, 439(7):R163—R164.
- Chen C, Chen SY, 1995. Changes in protein-components and storage stability of royal jelly under various conditions. *Food Chem.*, 54(2):195—200.
- Drapeau MD, Albert S, Kucharski R, Prusko C, Maleszka R, 2006. Evolution of the yellow/major royal jelly protein family and the emergence of social behavior in honey bees. *Genome Res.*, 16(11):1385—1394.
- Feng M, Fang Y, Li J, 2009. Proteomic analysis of honeybee worker (*Apis mellifera*) hypopharyngeal gland development. *BMC Genomics*, 10(1):645—646.
- Fontana R, Mendes MA, de Souza MB, Konno K, César LMM, Malaspina O, Palma MS, 2004. Jelleines: a family of antimicrobial peptides from the Royal Jelly of honeybees (*Apis mellifera*). *Pptides*, 25(6):919—928.
- Gilliland WD, Wayson SM, Hawley RS, 2005. The meiotic defects of mutants in the *Drosophila mps1* gene reveal a critical role of Mps1 in the segregation of achiasmate homologs. *Curr. Biol.*, 15(7):672—677.
- Guo H, Kouzuma Y, Yonekura M, 2009. Structures and properties of antioxidative peptides derived from royal jelly protein. *Food Chem.*, 113(1):238—245.
- Howe SR, Dimick PS, Benton AW, 1985. Composition of

- freshly harvested and commercial royal jelly. *J. Apicult. Res.*, 24 (1) :52—61.
- Júrová J, Klaudiny J, Šimúth J, 1998. Preparation of recombinant most abundant MRJP1 of royal jelly. *Biologia*, 53 (6) :777—784.
- Júrová J, Šutka R, Klaudiny J, Lisková D, Ow DW, Šimúth, 2004. Transformation of tobacco plants with cDNA encoding honeybee royal jelly MRJP1. *Biol. Plantarum*, 48 (2) :185—191.
- Kamakura M, Fukuda T, Fukushima M, Yonekura M, 2001a. Storage-dependent degradation of 57-ku protein in royal jelly: a possible marker for freshness. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 65 (2) :277—284.
- Kamakura M, Fukushima M, 2002. Inhibition of specific degradation of 57-ku protein in royal jelly during storage by ethylenediaminetetraacetic acid. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 66 (1) :175—178.
- Kamakura M, Mitani N, Fukuda T, Fukushima M, 2001b. Antifatigue effect of fresh royal jelly in mice. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, 47 (6) :394—401.
- Kamakura M, Suenobu N, Fukushima M, 2001c. Fifty-seven ku protein in royal jelly enhances proliferation of primary cultured rat hepatocytes and increases albumin production in the absence of serum. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 282 (4) :865—874.
- Kimura M, Kimura Y, Tsumura K, Okihara K, Sugimoto H, Yamada H, Yonkura M, 2003. 350-ku royal jelly glycoprotein (*apisin*), which stimulates proliferation of human monocytes, bears the beta1-3galactosylated N-glycan: analysis of the N-glycosylation site. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 67 (9) :2055—2058.
- Klaudiny J, Hanes J, Kulifajova J, Albert S, Šimúth J, 1994a. Molecular cloning of two cDNAs from the head of the nurse honey bee (*Apis mellifera* L.) for coding related proteins of royal jelly. *J. Apicult. Res.*, 33 (2) :105—111.
- Klaudiny J, Kulifajova J, Crailsheim K, Šimúth J, 1994b. New approach to the study of division of labour in the honeybee colony (*Apis mellifera* L.). *Apidologie*, 25 (6) :596—600.
- Kucharski R, Maleska R, Hayward DC, Ball EE, 1998. A royal jelly protein is expressed in a subset of Kenyon cells in the mushroom bodies of the honey bee brain. *Naturwissenschaften*, 85 (7) :343—346.
- Li JK, Feng M, Zhang ZH, Pan YH, 2008. Identification of the proteome complement of hypopharyngeal glands from two strains of honeybees (*Apis mellifera*). *Apidologie*, 39 (2) :199—214.
- Li JK, Wang T, Zhang ZH, Pan Y, 2007. Proteomic analysis of royal jelly from three strains of western honeybees (*Apis mellifera*). *J. Agric. Food Chem.*, 55 (21) :8411—8422.
- Liu F, Li W, Li Z, Zhang S, Chen S, Su S, 2010. High-abundance mRNAs in *Apis mellifera*: Comparison between nurses and foragers. *J. Insect Physiol.*, 57 (2) :274—279.
- Malecova B, Ramser J, O' Brien JK, Janitz M, Júrová J, Lehrach H, Šimúth J, 2003. Honeybee (*Apis mellifera* L.) *mrjp* gene family: computational analysis of putative promoters and genomic structure of *mrjp1*, the gene coding for the most abundant protein of larval food. *Gene*, 303 (16) :165—175.
- Maleszka R, Kucharski R, 2000. Analysis of Drosophilayellow-B cDNA reveals a new family of proteins related to the Royal Jelly proteins in the honeybee and to an orphan protein in an unusual bacterium *Deinococcus radiodurans*. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 270 (3) :773—776.
- Matsui T, Yuki Yoshi A, Doi S, Sugimoto H, Yamada H, Matsumoto K, 2002. Gastrointestinal enzyme production of bioactive peptides from royal jelly protein and their antihypertensive ability in SHR. *J. Nutr. Biochem.*, 13 (2) :80—86.
- Ohashi K, Natori S, Kubo T, 1997. Change in the mode of gene expression of the hypopharyngeal gland cells with an age-dependent role change of the worker honeybee *Apis mellifera* L. *Eur. J. Biochem.*, 249 (3) :797—802.
- Ohashi K, Natori S, Kubo T, 1999. Expression of amylase and glucose oxidase in the hypopharyngeal gland with an agedependent role change of the worker honeybee (*Apis mellifera* L.). *Eur. J. Biochem.*, 265 (1) :127—133.
- Okamoto I, Taniguchi Y, Kunikata T, Kohno K, Lwaki K, Ikeda M, Kurimoto M, 2003. Major royal jelly protein 3 modulates immune responses in vitro and in vivo. *Life Sci.*, 73 (16) :2029—2045.
- Peiren N, de Graaf DC, Vanrobaeys F, Danneels EL, Devreese B, Beeumen JV, Jacobs FJ, 2008. Proteomic analysis of the honey bee worker venom gland focusing on the mechanisms of protection against tissue damage. *Toxicon*, 52 (1) :72—83.
- Peixoto LG, Calábria LK, Garcia L, Capparelli FE, Goulart LR, de Sousa MV, Espindola FS, 2009. Identification of major royal jelly proteins in the brain of honeybee *Apis mellifera*. *J. Insect Physiol.*, 55 (8) :671—677.
- Qu N, Jiang J, Sun L, Lai C, Sun L, Wu X, 2008. Proteomic characterization of royal jelly proteins in Chinese (*Apis cerana cerana*) and European (*Apis mellifera*)

- honeybees. *Biochemistry*, 73(6):676—680.
- Robinson GE, Grozinger CM, Whitfield CW, 2005. Sociogenomics: Social life in molecular terms. *Nat. Rev. Genet.*, 6:257—260.
- Sano O, Kunikata T, Kohno K, Lwaki K, Ikeda M, Kurimoto M, 2004. Characterization of royal jelly proteins in both Africanized and European honeybees (*Apis mellifera*) by two-dimensional gel electrophoresis. *J. Agric. Food Chem.*, 52(1):15—20.
- Santos KS, Santos LD, Mendes MA, de Souza BM, Malaspina O, Palma MS, 2005. Profiling the proteome complement of the secretion from hypopharyngeal gland of Africanized nurse-honeybees (*Apis mellifera* L.). *Insect Biochem. Mol. Biol.*, 35(1):85—91.
- Schmitzová J, Klaudiny J, Albert S, Schroder W, Schreckengost W, Hanes J, Jůdová, Šimůth J, 1998. A family of major royal jelly proteins of the honeybee *Apis mellifera* L. *Cell Mol. Life Sci.*, 54(9):1020—1030.
- Shen L, Xing L, Yang Y, Gao Q, 2007. Sequence analysis of functional *Apisimin-2* cDNA from royal jelly of Chinese honeybee and its expression in *Escherichia coli*. *Asia Pac. J. Clin. Nutr.*, 16(1):222—226.
- Šimůth J, 2001. Some properties of the main protein of honeybee (*Apis mellifera*) royal jelly. *Apidologie*, 32(1), 69—80.
- Šimůth J, Biliková K, Kováčová E, Kuzmova Z, Schroder W, 2004. Immunochemical approach to detection of adulteration in honey: physiologically active royal jelly protein stimulating TNF- α release is a regular component of honey. *J. Agric. Food Chem.*, 52(8):2154—2158.
- Srisuparbh D, Klinbunga S, Wongsiri S, Sittipraneed S, 2003. Isolation and characterization of major royal jelly cDNAs and proteins of the honey bee (*Apis cerana*). *J. Biochem. Mol. Biol.*, 36(6):572—579.
- Su S, Albert S, Chen S, Zhong B, 2005. Molecular cloning and analysis of four cDNAs from the heads of *Apis cerana cerana* nurse honeybees coding for major royal jelly proteins. *Apidologie*, 36(3):389—401.
- Takenaka T, Takenaka Y, 1996. Royal jelly from *Apis cerana japonica* and *Apis mellifera*. *Biosci. Biotech. Biochem.*, 60(3):518—520.
- Tamura S, Amano S, Kono T, Kondoh J, Yamaguchi K, Kobayashi S, Ayabe T, Moriyama T, 2009a. Molecular characteristics and physiological functions of major royal jelly 1 oligomer. *Proteomics*, 9(24):5534—5543.
- Tamura S, Kono T, Harada C, Yamaguchi K, Moriyama T, 2009b. Estimation and characterization of major royal jelly proteins obtained from the honeybee *Apis mellifera*. *Food Chem.*, 114(4):1491—1497.
- Thompson GJ, Kucharski R, Maleszka R, Oldroyd BP, 2006. Towards a molecular definition of worker sterility: differential gene expression and reproductive plasticity in honey bees. *Insect Mol. Biol.*, 15(5):637—644.
- Wagner GP, Amemiya C, Ruddle F, 2003. Hox cluster duplications and the opportunity for evolutionary novelties. *PNAS*, 100(25):14603—14606.
- Wetherill CM, 1852. Chemical examination of the food of the queen bee. *Rep. Acad. Natl. Sci. Philadelphia*, 6: 119—121.
- Wolff R, Nakamura Y, Odelberg S, Shiang R, White R, 1991. Generation of variability at VNTR loci in human DNA. *EXS*, 58:20—38.
- Won SR, Lee DC, Ko SH, Kim JW, Rhee HI, 2008. Honey major protein characterization and its application to adulteration detection. *Food Research International*, 41(10):952—956.
- Xia AH, Zhou QX, Yu LL, Li WG, Yi YZ, Zhang YZ, Zhang ZF, 2006. Identification and analysis of YELLOW protein family genes in the silkworm, *Bombyx mori*. *BMC Genomics*, 7:195—204.
- 陈盛禄, 2001. 中国蜜蜂学. 北京: 中国农业出版社. 1—728.
- 陶挺, 苏松坤, 陈盛禄, 杜宏沪, 2008. 蜂王浆蛋白生物学功能的研究. 昆虫知识, 45(1):33—37.

蜜蜂采集及其信息传递的行为机制研究进展^{*}

李 莉 刘 芳 李文峰 苏松坤^{**}

(浙江大学动物科学学院 杭州 310058)

摘 要 蜜蜂的采集行为是蜜蜂众多社会行为中一种较复杂的行为, 涉及信息评估、信息传递、学习记忆及能量代谢等不同的行为过程。研究蜜蜂采集及信息交流系统的分子机制, 不仅利于蜜蜂的理论研究和蜂产业的发展, 还为人类语言及信息交流系统的研究提供借鉴。本文从行为、感觉基础及分子机制等不同研究层面, 综述了近年来对蜜蜂采集及信息传递行为的研究进展, 并提出了研究设想, 以期为深入研究蜜蜂的采集行为及其信息传递行为的分子机制提供参考。

关键词 蜜蜂, 采集行为, 感觉基础, 分子机制

Characterization and mechanism of honeybee foraging behavior

LI Li LIU Fang LI Wen-Feng SU Song-Kun^{**}

(College of Animal Sciences, Zhejiang University, Hangzhou 310058, China)

Abstract Foraging is one of the most complicated behaviors of honeybees. It includes information evaluation, information transfer, learning and memory, energy metabolism and different foraging processes. Research on the molecular mechanism underlying bee foraging and communication will not only be conducive to theoretical study and the development of the bee industry, but may also provide insights into human language and information exchange systems. This article reviews progress in research on honey bee foraging behavior at the behavioral, sensory and molecular levels, and proposes ideas for new research that could provide a sound basis for the in-depth study of foraging and communicative behavior.

Key words honeybee, foraging behavior, sensory basis, molecular mechanisms

蜜蜂作为一种真社会性昆虫, 其诸如信息交流, 劳动分工及学习记忆等社会行为受到广泛关注, 而其采集及舞蹈行为更成为研究重点。蜜蜂的采集过程是一个复杂的劳动过程, 包括对蜜源价值的评估、对路线的学习记忆、信息的传递(舞蹈语言)、招募等行为活动, 这些复杂的行为过程需要多种感觉器官的共同参与, 需要从基因到小分子调控因子的系统调控。本文从行为、感觉、分子等不同水平综述了近年来蜜蜂采集行为(以信息传递行为为主)的研究情况, 为深入研究蜜蜂的采集行为及信息传递过程提供较完整的基础认识, 并为各种研究手段的选取及创新应用提供借鉴。

1 通过行为手段对蜜蜂采集行为的研究

行为研究是一种较直观、易行的研究手段, 被广泛用于蜜蜂社会行为的研究中。蜜蜂采集行为中最重要的一环是蜜源信息的传递。根据采集距离的不同, 蜜蜂采取 3 种不同的舞蹈形式——圆舞, 镰刀舞和摆尾舞, 并招募潜在的采集蜂, 而其中最复杂的是摆尾舞。跳舞蜂摆尾的方向和单次摆尾的时间可以指示蜜源的方向和距离, 而气味在这个信息传递过程中也有重要作用(von Frisch, 1967), 但从信息的优势及可靠性衡量, 空间信息更为重要(Michelsen *et al.*, 1992)。而 Gruter 和 Farina (2009) 认为蜜蜂舞蹈语言不是最有效的信息传递方式, 伴随蜂不需要感知舞蹈

^{*} 资助项目: 现代农业产业技术体系建设专项资金(CARS-45-KXJ3)、浙江省自然科学基金(R3080306)。

^{**} 通讯作者, E-mail: susongkun@zju.edu.cn

收稿日期: 2011-08-10, 接受日期: 2011-09-20

蜂所传递的空间信息,通过个体的信息积累就能做出适宜的采集行为。由于他们不能提出一种对采集有效性进行计量的方法,这种说法很快受到了质疑。此外,许多实验已经证明,伴随蜂至少跟随跳舞蜂 5 ~ 10 圈后才能准确找到蜜源地 (Biesmeijer and Seeley, 2005)。当蜜源不足且又难以寻找时,蜜蜂舞蹈所传递的空间信息对蜂群是非常重要的 (Dornhaus and Chittka, 2004; Beekman and Lewa, 2008)。蜜蜂舞蹈除可以传递蜜源的方向和距离外,还可以传递蜜源的价值信息 (Thom *et al.*, 2007)。同时,蜜蜂舞蹈在传递信息时存在不精确性,新招募的采集蜂所选择的方向范围比舞蹈蜂所传递的方向范围窄,多圈方向的平均值比单圈所示方向的值更接近实际的采集方向 (Tanner and Visscher, 2008),这些复杂特性对蜂群的生存是非常有益的。通过行为学研究手段,研究者还发现,多雄受精蜂群比单雄受精蜂群采集效率更高 (Girard *et al.*, 2011)。

研究者除了探究蜜蜂采集行为的信息传递外,还一直致力于此信息传递的本质问题的研究。Seeley (1995) 认为蜜蜂能够通过评估采集线路的相对收益性决定回巢后是否跳舞以及跳什么舞。Esch 等 (2001) 研究发现蜜蜂通过光流判断其采集距离,而蜜蜂跳舞的积极性受蜜源质量的影响 (Afik *et al.*, 2008; Seefeldt and Marco, 2008),且蜜蜂舞蹈传递的信息包含对蜜源危险性的评估,在有危险的蜜源处进行采集的蜜蜂回巢后不跳舞或跳舞不积极 (Abbott and Dukas, 2009)。然而,这些研究都是通过分析外界因素对蜜蜂跳舞的影响,并没有涉及蜜蜂自身的生理基础及分子机制。而任何行为的发生最终都是由基因或某种小分子调控的,蜜蜂也不例外,蜜蜂这种行为的分子机制必将受到更多的关注。

2 蜜蜂采集行为的感觉基础研究

蜜蜂在采集过程中,利用了视觉、嗅觉、听觉及触觉等不同的感觉器官,只有在这些感觉器官的配合下,采集蜂才能准确地释放及接收信息。蜜蜂的复眼是感光器官,由约 4 500 个小眼组成,小眼可以将光线聚集到光感受器。复眼除了感受普通光线外还能感受偏振光。光感受细胞可分成 3 类,分别为紫外敏感细胞、蓝光敏感细胞和绿光敏感细胞 (Srinivasan, 2010)。蜜蜂触角及体表的

毛形感受器,钟形感受器是蜜蜂的触觉器官,而触角上的板形感受器是蜜蜂最主要的嗅觉感受器。蜜蜂的听觉感受器是位于触角梗节外侧节间膜内的 Johnston 器 (Kirchner *et al.*, 1991; 曾志将等, 2007)。

研究者对蜜蜂的视觉研究较多,测定出了蜜蜂可视光波长的范围,利用显微分光光度测定法测定出了视觉感受器中 3 种不同的感光色素。Srinivasan (2010) 结合行为实验,发现蜜蜂可以对颜色及形状进行选择,并将颜色及形状信息与糖水奖励相结合,进行联系学习。Michelsen 等 (1992) 利用机器蜂研究蜜蜂的舞蹈行为,发现蜜蜂身体摆动是信息传递的主要成分,而声音在这个过程中也是必须的。蜜蜂的触觉及嗅觉的研究主要是利用糖水奖励与某种刺激 (糖水接触触角或释放某种气味) 相结合,训练蜜蜂的伸吻反应 (proboscis extension response, PER),并通过这种模型探究蜜蜂的学习记忆行为 (Scheiner *et al.*, 2001; Gronenberg and Couvillon, 2010)。

在这些感觉器官的研究基础上,Brockmann 和 Robinson (2007) 通过神经元示踪法鉴定了蜜蜂 4 个感觉系统的中心投射。复眼背侧的边缘区域 (dorsal rim area) 可以感受基于太阳罗盘获得的信息,将此信息投射到 medulla 背侧的大部分区域。颈部的毛形感受器负责将基于太阳罗盘获得的信息转成基于重力的信息,投射到食管下神经节背部的下唇菱脑节区域 (labial neuromere)。触角节上的毛形感受器和 Johnston 器上的感觉神经元可以由腹部摆动和翅膀振动产生的机械刺激感知方向和距离,分别投射到次脑的背侧小叶 (deutocerebral dorsal lobe),食管下神经节 (subesophageal ganglion) 和后方前脑 (posterior protocerebrum)。Szyszka 等 (2008) 利用钙成像技术记录了蜜蜂在非联想性学习和联想性学习过程中蘑菇体中 Kenyon 细胞的反应,并通过重复的气味刺激检测非联想性学习的可塑性,通过对渴望气味的学习检测联想性学习的可塑性。结果显示,嗅觉、味觉以及对触角的触觉刺激开启 Kenyon 细胞中的钙瞬变。用气味进行反复的刺激会减弱 Kenyon 细胞的反应强度。在非条件反射中,糖水可以导致 Kenyon 细胞反应的延长,而条件刺激后, Kenyon 细胞对气味的应答性反应程度降低。蜜蜂的感知系统不仅在采集过程中起重要作用,

在其他行为活动中也非常重要,随着研究的不断深入及各项技术的不断成熟,蜜蜂感觉基础的研究也将得到不断发展。

3 蜜蜂采集行为的分子机制研究

3.1 生物胺对蜜蜂采集行为的影响

Schulz 和 Robinson (1999) 检测了蜜蜂脑部不同分区的多巴胺、5-羟色胺和章鱼胺的含量,结果显示,不考虑年龄因素,采集蜂触角神经叶中 3 种生物胺的含量高于哺育蜂,章鱼胺的差异要大于多巴胺和 5-羟色胺;不考虑行为状态,年老的蜜蜂蘑菇体中 3 种生物胺的含量高于年幼的蜜蜂。进一步的研究发现,饲喂章鱼胺的蜂群,年轻工蜂会提早出去采集,触角神经叶中章鱼胺浓度的升高与采集行为相关。蜜蜂第 1 次采集回巢后,章鱼胺含量显著升高,此后浓度一直保持在较高的水平,由此可见,章鱼胺可以启动和维持蜜蜂的采集行为 (Schulz *et al.*, 2002)。

Barron 等 (2007) 通过采集蜂饲喂和局部注射章鱼胺实验,发现蜜蜂对蜜源收益性的评估与章鱼胺的使用剂量相关。采粉蜂和采蜜蜂经章鱼胺处理后的反应是相似的,且章鱼胺对蜜蜂行为的影响可以通过施用章鱼胺的受体拮抗剂米安色林 (manserine) 而消除。他们认为,章鱼胺可以改变蜜蜂脑部对奖励信息的处理过程而调节蜜蜂对蜜源奖励的反应。Giray 等 (2007) 通过饲喂章鱼胺、章鱼胺前体物质酪氨酸和糖水 (对照组) 观察蜜蜂的采集变化,发现饲喂章鱼胺的采集蜂可以转换采集的食物类型 (花蜜或花粉),而饲喂酪氨酸和糖水的采集蜂没有这种现象。同时发现,饲喂章鱼胺可提高采集蜂对糖水的敏感度。

与章鱼胺研究方法类似,研究多巴胺对蜜蜂行为的影响主要通过比较采集蜂与哺育蜂脑部的多巴胺水平及注射多巴胺、多巴胺受体拮抗剂,观察蜜蜂的行为变化等方法进行,发现多巴胺在蜜蜂的采集、学习记忆、运动等行为中起着重要作用 (Nomura *et al.*, 2009; Mustard *et al.*, 2010)。Mustard 等 (2010) 还利用 RNA 干涉技术检测多巴胺信号通路是否通过特定的受体起作用,从而引起某些行为的变化。Barron 等 (2009) 将蜜蜂的舞蹈行为作为指标,研究了可卡因对蜜蜂行为的影响,发现给予低剂量的可卡因能使蜜蜂跳舞更加

兴奋,即可卡因可以使采集蜂对蜜源的质量做出过高的评估。如果停止长期的可卡因的使用,蜜蜂将表现出成瘾后慵懒的状态。分析原因为生物胺可以作为调节因子调节蜜蜂的奖励和运动系统的活动,而可卡因可以通过阻断生物胺的再摄取过程,破坏生物胺的信号传递系统。

Wright 等 (2010) 的研究则发现,蜜蜂对厌恶的食物进行联想学习的过程需要 2 种完全不同的单胺能通道。在其他昆虫中的研究发现,当用盐水或者是电刺激进行强化学习时,躲避与毒素相关的气味是需要多巴胺参与的,而他们首先发现蜜蜂对厌恶气味的学习需要 5-羟色胺通路的参与。

3.2 神经肽对蜜蜂采集行为的影响

随着蜜蜂基因组测序的完成及生物技术的不断发展,研究者开始在基因组、转录组及蛋白质组学等方面研究蜜蜂的行为。神经肽可以通过调节神经环路来影响动物的行为,Hummon 等 (2006) 通过分析蜜蜂的基因组推测了蜜蜂脑部的多肽,鉴定出 200 多条神经肽并测定出 100 条神经肽的基因序列。Brockmann 等 (2009) 比较哺育蜂和采集蜂,花蜜采集蜂和花粉采集蜂脑部神经肽及采集前和采集后脑部的神经肽,发现 8 种神经肽在蜜蜂的采集过程中有较大的变化。花蜜采集蜂和花粉采集蜂之间的差异大于哺育蜂与采集蜂之间的差异,表明神经肽在行为变化中经历了短时间内的变化。同时发现,Tachykinin, PBAN 和 sNPF 是与采集花蜜和采集花粉相关的变化最大的神经肽。

3.3 microRNA 对蜜蜂采集行为的影响

随着对小 RNA 研究的不断深入,研究、分析技术的不断发展,越来越多的功能小 RNA 被发现,而蜜蜂小 RNA 的研究近几年才发展起来,主要集中在对发育及级型分化的研究上,如 Chen 等 (2010) 利用 SOLiD 测序鉴定了蜜蜂体内的 miRNAs,测定了不同发育阶段的蜜蜂混合样本中的小 RNA 并预测出 267 个新的 miRNAs,他们的研究结果为构建蜜蜂发育及诸如级型分化等问题的 miRNA 调控网络奠定了基础。而在蜜蜂采集等社会行为上的 microRNA 研究较少。

在蜜蜂采集行为的研究中,Tadano 等 (2009) 发现一种新的非编码基因 *Nb-I* 在蜜蜂工蜂头部

的表达量与年龄相关的职能转变有关。Behura 和 Whitfield (2010) 利用实时定量 PCR 技术鉴定了 20 种 miRNA 基因在幼年的 (9 日龄) 哺育蜂和年老的采集蜂 (38 日龄) 的脑部的表达情况。通过对比分析发现, 在年幼的哺育蜂中, miRNA-124, miRNA-14, miRNA-276, miRNA-13b, let-7 和 miRNA-13a 是上调的, 在年老的采集蜂中, miRNA-12, miRNA-9, miRNA-219, miRNA-210, miRNA-263, miRNA-92 和 miRNA-283 是上调的, 这种变化表明 miRNAs 可能参与蜜蜂与年龄相关的职能转变。进一步的基因定位研究, 发现其中有些 miRNA 基因在位置上是很接近的, 且表达模式上也很相像, 如 miRNA-13a 和 miRNA-13b, 而有些 miRNA 基因在位置上很接近, 但表达方式是不同的, 如 let-7 和 miRNA-125。实验结果表明, miRNA 基因在位置上的集聚对具有相似的表达不是必须的, 不同位置上的 miRNA 基因可能存在协同调节作用, 以保证具有相近的表达量。他们比较了内含子中的 miRNAs (miRNA-7 和 miRNA-9b) 和它们的宿主基因在蜜蜂不同身体部位的表达情况, 发现内含子中的 miRNA 基因与其宿主基因的表达变化是相同的。Hori 等 (2011) 鉴定了成年蜜蜂头部不同区域中参与表达后调控的 miRNAs, 一共分离出 8 种 miRNAs, 发现 ame-mir-1000 和 ame-mir-276 在工蜂和雄蜂脑部可进行选择性和优先性表达, ame-mir-276 在哺育蜂、采集蜂、蜂王及雄蜂的脑部视叶区和蘑菇体中的小型 Kenyon 细胞中高度表达。而 ame-mir-1000 和 ame-mir-276 的预测基因都是与神经相关的基因, 表明这 2 种 miRNAs 参与蜜蜂的神经功能的调节。

3.4 在基因组水平上对蜜蜂采集行为的研究

蜜蜂基因组的测序完成为在基因组水平上研究蜜蜂行为提供了可能。Sarma 等 (2009) 利用基因芯片技术对 3 种蜜蜂采集蜂的中枢神经系统不同分区的基因表达进行了分析, 研究发现不同种群蜜蜂的基因表达有很大的差异, 与其他区相比, 蘑菇体有明显的不同, 蘑菇体中上调的基因与信号传递有关, 如基因 *Pka-R2* 和 *Pka-c* 编码依赖环腺苷酸 (cAMP) 蛋白激酶的调节和催化亚基。3 个物种在脑部中枢系统和第 2 胸节神经节处存在表达很相像的基因, 这些基因与新陈代谢和能量的产生有关。同时发现, 西方蜜蜂脑部基因的表达

与大蜜蜂和小蜜蜂的基因表达存在更大的差异, 大蜜蜂与小蜜蜂更相似。Wang 等 (2010) 研究了采集过程中蜜蜂的外周胰岛素受体底物 (IRS) 的作用, 发现 IRS 基因的下调会使蜜蜂偏爱于取食蛋白质丰富的食物。

蜜蜂具有特殊的时空记忆, 可以在不同时间、不同蜜源间进行采集。Nicholas 等 (2010) 通过行为实验, 研究蜜蜂对蜜源植物的空间记忆是否与脑部的不同基因表达方式有关。他们训练同一群蜜蜂在一天内的不同时间到饲喂器处采集, 一组设在早上, 一组设在下午。在 2 组内分别抓取进行采集和没有进行采集的采集蜂, 通过基因组的微点阵分析显示, 不同采集时间和不同采集状态的蜜蜂脑部的大量基因表达是不同的, 并发现不同的时空采集记忆都有其独特的基因表达方式。同时还发现, 与生活节律相关的基因的表达与活动状态有关, 与时间无关; 不同的时空采集记忆与不同的与神经相关的基因有关, 这些基因包括调节暂时性活动的基因和与食物采集相关的基因。

4 展望

对蜜蜂采集行为的研究, 可以解决信息传递的奥秘, 具有重要的社会价值。不管是单一地利用行为学研究手段, 还是将行为学与分子生物学等手段相结合, 许多研究让我们越来越深入地了解蜜蜂的采集行为。我们清楚了蜜蜂采集行为所传递的信息, 明白了蜜蜂采集及信息传递过程中所需的感官联系, 寻找到了几种与采集行为相关的小分子物质, 但这些远远不能完好解释蜜蜂采集行为的分子机制, 还需要将行为学与各种生物技术相结合, 以发现更多的相关物质, 建立相关物质之间的联系, 并确定各种物质相互作用关系及途径, 以明确蜜蜂采集行为的分子机制。前期对采集行为的研究主要侧重于采集蜂与哺育蜂、采粉蜂与采蜜蜂等的对比, 或者只通过行为手段研究蜜蜂的采集及信息传递过程, 并没有涉及整个采集过程 (如采集前, 采集时, 采集后) 中蜜蜂生理及体内调节物质的变化, 但这些复杂的变化必定能帮助我们更好地理解蜜蜂采集及信息传递的机制, 所以我们仍需大量的研究、创新的思维及巧妙的实验设计, 以不断深入地认识理解蜜蜂采集及信息传递过程的机制。

参考文献 (References)

- Abbott KR, Dukas R, 2009. Honeybees consider flower danger in their waggle dance. *Anim. Behav.*, 78:633—635.
- Afik O, Dag A, Shafir S, 2008. Honeybee, *Apis mellifera*, round dance is influenced by trace components of floral nectar. *Anim. Behav.*, 75:371—377.
- Barron AB, Maleszka R, Helliwell PG, Robinson GE, 2009. Effects of cocaine on honey bee dance behavior. *J. Exp. Biol.*, 212:163—168.
- Barron AB, Maleszka R, Vander Meer RK, Robinson GE, 2007. Octopamine modulates honey bee dance behavior. *PNAS*, 104:1703—1707.
- Beekman M, Lewa JB, 2008. Foraging in honeybees—when does it pay to dance? *Behav. Ecol.*, 19:255—262.
- Behura SK, Whitfield CW, 2010. Correlated expression patterns of microRNA genes with age-dependent behavioural changes in honeybee. *Insect Mol. Biol.*, 19 (4):431—439.
- Biesmeijer JC, Seeley TD, 2005. The use of waggle dance information by honey bees throughout their foraging careers. *Behav. Ecol. Sociobiol.*, 59:133—142.
- Brockmann A, Annangudi SP, Richmond TA, 2009. Quantitative peptidomics reveal brain peptide signatures of behavior. *PNAS*, 106 (7):2383—2388.
- Brockmann A, Robinson GE, 2007. Central projections of sensory systems involved in honey bee dance language communication. *Brain Behav. Evol.*, 70:125—136.
- Chen X, Yu X, Cai Y, Zheng H, Yu D, Liu G, Zhou Q, Hu S, Hu F, 2010. Next-generation small RNA sequencing for microRNAs profiling in the honey bee *Apis mellifera*. *Insect Mol. Biol.*, 19 (6):799—805.
- Dornhaus A, Chittka L, 2004. Why do honey bees dance? *Behav. Ecol. Sociobiol.*, 55:395—401.
- Esch HE, Zhang SW, Srinivasan MV, Tautz J, 2001. Honeybee dances communicate distances measured by optic flow. *Nature*, 411:581—583.
- Girard MB, Mattila HR, Seeley TD, 2011. Recruitment-dance signals draw larger audiences when honey bee colonies have multiple patrines. *Insect Soc.*, 58:77—86.
- Giray T, Galindo-Cardona A, Oskay D, 2007. Octopamine influences honey bee foraging preference. *J. Insect Physiol.*, 53:691—698.
- Gronenberg W, Couvillon MJ, 2010. Brain composition and olfactory learning in honey bees. *Neurobiol. Learn. Mem.*, 93:435—443.
- Gruter C, Farina WM, 2009. The honeybee waggle dance: can we follow the steps? *Trends Ecol. Evol.*, 24 (5):242—247.
- Hori S, Kaneko K, Saito TH, Takeuchi H, Kubo T, 2011. Expression of two microRNAs, ame-mir-276 and -1000, in the adult honeybee (*Apis mellifera*) brain. *Apidologie*, 42:89—102.
- Hummon AB, Richmond TA, Verleyen P, Baggerman G, Huybrechts J, Ewing MA, Vierstraete E, 2006. From the genome to the proteome: uncovering peptides in the *Apis* brain. *Science*, 314:647—649.
- Kirchner WH, Dreller C, Towne WF, 1991. Hearing in honeybees: operant conditioning and spontaneous reactions to airborne sound. *J. Comp. Physiol. A-Neuroethol. Sens. Neural Behav. Physiol.*, 168:85—89.
- Michelsen A, Andersen BB, Storm J, Kirchner WH, Lindauer M, 1992. How honeybees perceive communication dances, studied by means of a mechanical model. *Behav. Ecol. Sociobiol.*, 30:143—150.
- Mustard JA, Pham PM, Smith BH, 2010. Modulation of motor behavior by dopamine and the D1-like dopamine receptor AmDOP2 in the honey bee. *J. Insect Physiol.*, 56:422—430.
- Nicholas LN, 2010. Spatiotemporal memories in honey bees: Microarray analysis of time-trained foragers. M. S. thesis. Urbana, Illinois: University of Illinois. 69. http://www.ideals.illinois.edu/bitstream/handle/2142/16789/2_Naeger%20Nicholas.pdf?sequence=4, visited Oct 13, 2011.
- Nomura S, Takahashi J, Sasaki T, Yoshida T, Sasaki M, 2009. Expression of the dopamine transporter in the brain of the honeybee, *Apis mellifera* L. *Appl. Entomol. Zoolog.*, 44 (3):403—411.
- Sarma MS, Rodriguez-Zas SL, Hong F, 2009. Transcriptomic profiling of central nervous system regions in three species of honey bee during dance communication behavior. *PLoS ONE*, 4 (7):e6408.
- Scheiner R, Page RE, Erber J, 2001. Responsiveness to sucrose affects tactile and olfactory learning in preforaging honey bees of two genetic strains. *Behav. Brain Res.*, 120:67—73.
- Schulz DJ, Barron AB, Robinson GE, 2002. A role for octopamine in honey bee division of labor. *Brain Behav. Evol.*, 60:350—359.
- Schulz DJ, Robinson GE, 1999. Biogenic amines and division of labor in honey bee colonies: behaviorally related changes in the antennal lobes and age-related changes in the

- mushroom bodies. *J. Comp. Physiol. A-Neuroethol. Sens. Neural Behav. Physiol.*, 184:481—488.
- Seefeldt S, De Marco RJ, 2008. The response of the honeybee dance to uncertain rewards. *J. Exp. Biol.*, 211:3392—3400.
- Seeley TD, 1995. *The Wisdom of the Hive: The Social Physiology of Honey Bee Colonies*. Cambridge: Harvard University Press. 295.
- Srinivasan MV, 2010. Honey bees as a model for vision, perception, and cognition. *Annu. Rev. Entomol.*, 55: 267—284.
- Szyszkka P, Galkin A, Menzel R, 2008. Associative and non-associative plasticity in Kenyon cells of the honeybee mushroom body. *Front. Syst. Neurosci.*, 2: 3. doi: 10.3389/neuro.06.003.2008.
- Tadano H, Yamazaki Y, Takeuchi H, Kubo T, 2009. Age- and division-of-labour-dependent differential expression of a novel non-coding RNA, *Nb-I*, in the brain of worker honeybees, *Apis mellifera* L. *Insect Mol. Biol.*, 8 (6): 715—726.
- Tanner DA, Visscher PK, 2008. Do honey bees average directions in the waggle dance to determine a flight direction. *Behav. Ecol. Sociobiol.*, 62:1891—1898.
- Thom C, Gilley DC, Hooper J, Esch HE, 2007. The scent of the waggle dance. *PLoS. Biol.*, 5:1862—1867.
- von Frisch K, 1967. *The Dance Language and Orientation of Bees*. Cambridge (Massachusetts): Harvard University Press. 161.
- Wang Y, Mutti NS, Ihle KE, Siegel A, Dolezal AG, Kaftanoglu O, Amdam GV, 2010. Down-regulation of honey bee IRS gene biases behavior toward food rich in protein. *PLoS Genet.*, 6 (4): e1000896.
- Wright GA, Mustard JA, Simcock NK, 2010. Parallel reinforcement pathways for conditioned food aversions in the honeybee. *Curr. Biol.*, 20 (24): 1—7.
- 曾志将, 谭垦, 苏松坤, 周丹银, 侯建华, 郭冬生, 黄少康, 颜伟玉, 2007. 蜜蜂生物学. 北京: 中国农业出版社. 16.

蜜蜂抗狄斯瓦螨机制的研究进展^{*}

潘 娇¹ 李志国¹ 吴俪楠² 苏松坤^{1**}

(1. 浙江大学动物科学学院 杭州 310058; 2. 浙江省畜牧兽医局 杭州 310020)

摘 要 狄斯瓦螨 *Varroa destructor* 已蔓延至世界各地, 给养蜂生产带来巨大挑战, 被认为是世界养蜂业的主要威胁。因此, 抗螨机制的研究和抗螨蜂种的培育显得尤为重要, 而掌握蜜蜂的抗螨机制则是成功培育抗螨蜂种的前提条件。本文从行为、生理及分子机制等多个不同角度对国内外蜜蜂抗狄斯瓦螨机制研究的最新进展进行了详细的阐述。尤其是从分子水平研究蜜蜂的抗螨机制对选育抗螨蜂种具有重要意义, 将为利用分子遗传辅助标记筛选方法和先进的生物工程技术并结合传统的育种手段成功培育出具有抗螨性能的优良蜜蜂品系奠定基础。

关键词 蜜蜂, 狄斯瓦螨, 抗螨机制, 选育

Research progress of anti-mite (*Varroa destructor*) in honeybee

PAN Jiao¹ LI Zhi-Guo¹ WU Li-Nan² SU Song-Kun^{1**}

(1. College of Animal Sciences, Zhejiang University, Hangzhou 310058, China

2. Animal Husbandry and Veterinary Bureau, Zhejiang Province, Hangzhou 310020, China)

Abstract The global spread of *Varroa destructor*, one of the most destructive apicultural pests, has brought huge challenges to beekeeping. Consequently, research on the tolerance mechanisms and breeding of *Varroa* tolerant honey bees has become particularly important. Mastering tolerance mechanisms has become a prerequisite for the successful cultivation of honey bees. This review summarizes major advances in research on behavioral, physiological and molecular tolerance mechanisms to *Varroa destructor*. It is particularly important to study tolerance mechanisms at the molecular level as this can provide a genetic basis for cultivating tolerant breeds bees with the help of marker-assisted selection and advanced modern bio-engineering technologies, in combination with conventional breeding methods.

Key words honey bee, *Varroa destructor*, tolerance character, selective breeding

狄斯瓦螨 (*Varroa destructor*, 大蜂螨) 是蜜蜂的一种体外寄生螨。原本只寄生于东方蜜蜂体上, 但随着东方蜜蜂和西方蜜蜂在世界范围内的相互引进, 狄斯瓦螨已成为西方蜜蜂的主要病虫害之一。狄斯瓦螨靠吸食蜜蜂的血淋巴生存, 受螨危害的幼虫濒于死亡, 羽化的幼蜂体质衰弱、畸形、寿命缩短, 整个蜂群失去生产能力。此外, 狄斯瓦螨还可作为病原携带者, 传播细菌病和病毒病等, 它能够激活蜜蜂体内的病毒增殖、抑制蜜蜂自身的免疫系统, 使蜂群内一些原本无害的病毒对蜂群也造成极大杀伤力, 加快蜂群的灭亡 (Genersch and Aubert, 2010)。在与东方蜜蜂长期协同进化过程中, 狄斯瓦螨对东方蜜蜂的危害性逐渐降低

至不明显, 而对世界各地西方蜜蜂的危害性却越来越显著, 被认为是世界养蜂业的主要威胁。目前, 大多数的养蜂者都是依赖各种杀螨剂以达到控制螨害的目的, 但这些化学药物的频繁使用不但使蜂螨对杀螨剂产生耐药性, 还增加了螨害防治的成本以及引发了蜂产品中药物残留超标问题。尝试过各种化学或生物方法后发现培育抗螨蜂种才是防治及解决螨害问题的最理想方案, 而培育抗螨蜂种的首要前提是掌握蜜蜂的抗螨机制, 为此, 国内外的相关学者进行了大量的抗螨机制研究。有些蜂群在感染螨害后仍能存活, 表现出良好的抗螨性状, 在对这些具有抗螨性状的蜂群进行深入研究后, 发现其存在一种或多种的行

^{*} 资助项目: 现代农业产业技术体系建设专项资金资助 (nycytx-43-kxj4)、浙江省自然科学基金 (R3080306)。

^{**} 通讯作者, E-mail: susongkun@zju.edu.cn

收稿日期: 2011-03-21, 接受日期: 2011-04-28