

中华蜜蜂哺育蜂与采集蜂行为转变相关 基因的表达差异研究*

宗超** 刘芳 余林生*** 汪天澍 施腾飞

(安徽农业大学动物科技学院 合肥 230036)

摘要 【目的】文章旨在寻找中华蜜蜂 *Apis cerana cerana* 哺育蜂与采集蜂行为转变相关的重要基因。【方法】选取了8群中华蜜蜂,分别采集哺育蜂和采集蜂,然后通过实时荧光定量PCR对哺育蜂和采集蜂头部中 *mrjps*、*Ache*、*CSP3* 等22个基因的表达进行了分析。【结果】实验结果表明:*mrjp3*、*mrjp7*、*Ache*、*LOC406142*、*Hbg3*、*Mblk-1*、*Ef-1a-f1*、*TpnCIIIa*、*Wat*、*Ant* 基因在哺育蜂和采集蜂中表达差异极显著 ($P<0.01$), *mrjp1*、*mrjp2*、*mrjp4*、*LOC406114*、*CSP3*、*Dop1*、*Jhe*、*Oa1*、*Per*、*TpnT* 基因在哺育蜂和采集蜂中表达差异显著 ($0.01<P<0.05$), *mrjp6*、*obp3* 基因在哺育蜂和采集蜂中表达差异不显著 ($P>0.05$)。【结论】*mrjp3*、*mrjp7*、*Ache*、*LOC406142*、*Hbg3*、*Mblk-1*、*Ef-1a-f1*、*TpnCIIIa*、*Wat*、*Ant*、*mrjp1*、*mrjp2*、*mrjp4*、*LOC406114*、*CSP3*、*Dop1*、*Jhe*、*Oa1*、*Per*、*TpnT* 这些表达差异显著的基因很可能与中华蜜蜂哺育蜂与采集蜂的行为转变有关。本研究的结果为我们更好地理解蜜蜂行为转变的机制提供思路。

关键词 哺育蜂, 采集蜂, 实时荧光定量PCR, 表达差异

Analysis of differentially expressed genes associated with the behavioral transition between nurses and foragers in *Apis cerana cerana*

ZONG Chao** LIU Fang YU Lin-Sheng*** WANG Tian-Shu SHI Teng-Fei

(College of Animal Science & Technology, Anhui Agricultural University, Hefei 230036, China)

Abstract [Objectives] To find important genes associated with the behavioral transition between nurses and foragers in the honeybee *Apis cerana cerana*. [Methods] Total RNA was extracted from nurses and foragers of eight colonies of *A. cerana cerana*. Real-time Quantitative Reverse Transcription Polymerase Chain (RT-qPCR) was used to detect differences in genes between nurses and foragers. [Results] The results revealed that the expression of the *mrjp3*、*mrjp7*、*Ache*、*LOC406142*、*Hbg3*、*Mblk-1*、*Ef-1a-f1*、*TpnCIIIa*、*Wat* and *Ant* genes were significantly different between nurses and foragers ($P<0.01$). The *mrjp1*、*mrjp2*、*mrjp4*、*LOC406114*、*CSP3*、*Dop1*、*Jhe*、*Oa1*、*Per* and *TpnT* were also differentially expressed between nurses and foragers but the difference was less significant ($P<0.05$). The *mrjp6* and *obp3* genes were not differentially expressed ($P>0.05$). [Conclusions] Differentially expressed genes may play an important role in the behavioral transition between nurses and foragers and identifying such genes may improve our understanding of the mechanism of behavioral transition in

* 资助项目: 国家自然科学基金项目 (31272511, 31302039); 现代农业产业技术体系建设专项资金 (CARS-45-KXJ9)

**E-mail: jinguwange@aliyun.com

***通讯作者, E-mail: yulinsheng@ahau.edu.cn

收稿日期: 2013-09-22, 接受日期: 2013-12-10

worker bees.

Key words nurses, foragers, Real-time Quantitative Reverse Transcription Polymerase Chain, differential expression

蜜蜂是社会性昆虫, 有着复杂的行为活动。在成年蜂早期, 即羽化出房 2~3 周内, 主要从事巢内工作, 如饲喂蜂王、幼虫等, 这一时期的蜜蜂称为哺育蜂, 接下来的 1~3 周时间, 蜜蜂行为发生转变, 即主要从事巢外的采集工作, 这个阶段的蜜蜂称为采集蜂。蜜蜂这种从哺育到采集的行为转变与群体生活需要、外界环境、工蜂生理和神经、脑部结构及脑部基因表达等因素有关 (李文峰等, 2010)。

工蜂行为随着环境的变化而逐渐成熟。采集蜂和哺育蜂的年龄很清楚地显示了这种变化。研究表明, 蜜蜂在行为成熟过程中伴随着生理和神经功能上的许多变化。这些变化包括激素水平、脑部的化学物质和结构、脑部的基因的表达等。蜜蜂体内的幼虫信息素随着年龄的变化而变化, 有相关研究表明幼虫信息素与蜜蜂头部基因的表达、行为的转变有很大的关联 (Alaux *et al.*, 2009)。在流蜜期, 保幼激素和行为状态有着紧密的联系。采集蜂保幼激素含量明显高于哺育蜂, 这说明保幼激素影响蜜蜂行为成熟的速度 (Jassim *et al.*, 2000; Elekonich *et al.*, 2001; Bloch *et al.*, 2002)。

章鱼胺是目前唯一一个被鉴定出来的影响蜜蜂劳动分工行为的神经因子。章鱼胺作为神经调控增加蜜蜂对采集相关刺激的敏感度 (Beshers *et al.*, 2001)。巢内从事幼虫哺育的蜜蜂没有明显的昼夜规律, 而与之对比的采集蜂则有明显的昼夜节律 (Bloch *et al.*, 2001), 这说明了 *per* 基因 (时钟基因) 的表达和调控可能影响了蜜蜂这种行为转变。

乙酰胆碱是一个主要的神经递质, 能够影响蜜蜂的嗅觉学习能力 (Shapira *et al.*, 2001)。在蜜蜂行为成熟过程中, 其脑部的乙酰胆碱酶的活性也在变化, 这一结果说明乙酰胆碱可能影响蜜蜂行为的成熟。另外乙酰胆碱酶能够水解乙酰胆碱, 由此推断蜜蜂采集蜂脑部乙酰胆碱活性低于哺育蜂。除此之外, 研究还表明还有其他一些酶例如 α -淀粉酶、 α -葡萄糖苷酶等在采集蜂和哺育蜂体内的活性差距都比较大, 而上述的幼虫信息素、保幼激素、章鱼胺、乙酰胆碱酶等都是由蜜蜂体内的基因控制表达, 成年蜜蜂脑部有 39% mRNA 的变化水平影响蜜蜂的这种由巢内工作转移到巢外采集的行为 (Whitefield *et al.*, 2003), 通过实时荧光定量 PCR 可以明显地对比采集蜂和哺育蜂头部这些相关基因的表达情况, 从而推断出哪些基因可能影响蜜蜂的这种行为转变, 为接下来通过 RNA 干扰技术来做功能验证, 找出影响蜜蜂行为转变的基因, 为生产实践提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 试验动物 试验采用的中华蜜蜂由安徽农业大学蜂业研究所的实验蜂场提供。随机选取 8 个群势较强蜂群, 采集蜂的取样: 在蜂箱的巢门口采集腿部携带花粉准备回巢的蜜蜂; 哺育蜂的取样: 在产浆期间, 分别将与之相对应的蜂群中的幼虫移入产浆框中, 然后将产浆框放入相对应的蜂箱中, 2 d 后, 采集正在王浆框中吐王浆的蜜蜂。采集的蜜蜂样品都立即放入液氮中保存。

1.1.2 试剂 RNAiso Plus、PrimeScript[®] RT

reagent Kit (Perfect Real Time)、SYBR[®] Premix Ex Taq[™] (TilRNaseH plus) 均购于 TaKaRa 宝生物公司。

1.2 实验方法

1.2.1 总 RNA 的提取 将蜜蜂的头部剪下放入研钵中,加入液氮,用研磨棒将头部彻底研磨成粉末,然后按照 RNAiso Plus 的操作说明分别提取各个蜂群的总 RNA。最后得到的总 RNA 用 NanoDrop2000 分光光度计测定, A260/A280 : 1.8~2.2, 符合标准,并记录其总 RNA 的浓度。

1.2.2 cDNA 的合成 根据各样品总 RNA 的浓度,对各个个体的总 RNA 进行稀释,使最终的

浓度为 400 ng/μL 左右。反转录体系为 10 μL 体系 : 5× Prime Script[®] Buffer(for Real Time) 2 μL ; Prime Script[®] RT Enzyme Mix 1 0.5 μL ; OligodT Primer(50 μmol/L) 0.5 μL ; Random 6 mers(100 μmol/L 0.5 μL ; Total RNA 1 μL ; RNase Free dH₂O 5.5 μL。反转录反应条件: 37℃ 15 min (反转录反应), 85℃ 5 s (反转录酶的失活反应)。所得的产物即为 cDNA,置于 -20℃ 保存备用。

1.2.3 引物设计 参考文献 (Liu *et al.*, 2011), 根据 NCBI 检测的 cDNA 序列进行设计引物,引物由生工生物工程有限公司合成。

表 1 实时荧光定量 PCR 引物序列
Table 1 Primer sequences used for real-time RT-PCR

引物 Primers	引物序列(5'-3') Primer sequence (5'-3')	退火温度 (°C) Annealing temperature
<i>mrjp1</i>	F:TATTCCATTGCTTCGTTACTCG R:TCTTGCTTCTTTTCATCGCTACC	54
<i>mrjp2</i>	F:AACTGTACCTGTATGTGCTCCAAA R:TATAGCTTGAACAGCCAAAGACAC	55
<i>mrjp3</i>	F:CCTCTTCTTTCTCACGGTTTGT R:GTTCAATTCACGCAGGCAATAC	55
<i>mrjp4</i>	F:AATGGTTGCTGTTGATGGTATG R:CTTGCCTCCTTTCGTCGTTAT	55
<i>mrjp6</i>	F:TACAGCCCTCTCACTTCTCACA R:CGACATTACTTTAGCAGACGATTG	55
<i>mrjp7</i>	F:AATGACGGTTGAAGGTGAAAGT R:TTTAGCGGTTGTTGAGTGTTG	53
<i>Ache</i>	F:GGTATCTTCCTTCCCAAGCATC R:GTTCCCTCGTTCTCGTTGTTAC	57
<i>Ant</i>	F:CTATCGTGCTGCCTATTTTGGT R:CATTGCCACCTTCTGTCTTGTA	55
<i>LOC406114</i>	F:GATTACGGGAACGAGGCTATCT R:CCCAGTTTACCAACCATTTCAG	55
<i>Hbg3</i>	F:CAGTTTCTGCTGGATTTTCCTC	53

	R:CGAGTTCTTGTCTTCTTTTCA	
<i>CSP3</i>	F:TGATGGATGAAGGAAGATGC	52
	R:CTTGTCTGGGTCGTATTTGTTG	
<i>Dop1</i>	F:ATCGCTGTAGTGTGGTTGCTC	55
	R:GGATGTTCTTCTTTGCTATCGTC	
<i>LOC406142</i>	F:ATCGTGTTGGTTCTCTTCTGTG	55
	R:CGTCTCCTGTCAATCCATTCTT	
<i>Jhe</i>	F:TTCCTTATGCGTTACCTCCAGT	55
	R:ATACAGACAATCTTCGGCACCT	
<i>Oa1</i>	F:GCCAACTAAAATGCGAGAGC	54
	R:ATAGACAGCGAGTATCACGAGCAC	
续表 1 (Table 1 continued)		
引物 Primers	引物序列(5'-3') Primer sequence (5'-3')	退火温度 (°C) Annealing temperature
<i>Obp3</i>	F:CCATCGTCATCCTACTTTTCAC R:TTATCGTTCATCAGAGCCAATC	53
<i>Per</i>	F:CGGGATACAGAACGGAGACTAC R:ACACTTCCTCGCTAATGTTGGT	55
<i>Mblk1</i>	F:AACACCAAATACGACCCAAAAC R:CAACAGAGCCTTCTCCACTTCT	53
<i>Ef-1a-fl</i>	F:GCTCTTCGTTTACCGCTTCAG R:TAACCACGCCTCAACTCTTTC	55
<i>TpnCH1a</i>	F:GCCCGATTCTTAGTGAGGA R:GTTATGTAGCCGTTCCCTTCC	57
<i>TpnT</i>	F:AAAGAGCAAGCGAGCAAGAAG R:CGGTCTCCAGTTTGACTATGG	55
<i>Wat</i>	F:TTCTACTGGTTTTACAGTTCTGG R:CATTGCTACCGCTTGCCTAATA	55
<i>β-actin</i>	F:TGCCAACACTGTCCTTTCTG R:AGAATTGACCCACCAATCCA	53

1.2.4 PCR PCR 反应体系 :TaKaRa Taq (5U/μL) 0.25 μL; 10×PCR Buffer (mg²⁺ Plus) 5 μL; dNTP Mixtre (各 2.5 mmol/L) 4 μL ; 模板 DNA 1 μL ; 引物 (上游) 1 μL ; 引物 (下游) 1 μL ; 灭菌蒸馏水加至 50 μL。反应条件 :94℃ 5 min (94℃ 30 s , 60℃ 30 s , 72℃ 1 min) 35 个循环。退火

温度根据不同的引物的退火温度来设定。

1.2.5 DNA 琼脂糖凝胶电泳 TBE 电泳缓冲溶液 (10×) 的配置 : 将 108 g Tris 碱、55 g 硼酸、40 mL 0.5 mol/L EDTA 加入到 1 000 mL 的容量瓶中调节 pH 至 8.0 , 定容至 1 000 mL。

将做好的琼脂糖凝胶放入装满 0.5×TBE 电

泳缓冲液的电泳槽中,在 5 μL 的 Loading Buffer 中加入 1 μL PCR 产物。然后分别加入到加样孔中,在加样孔中加入 Marker,然后设定电压 100 V,开始电泳,等到溴酚蓝至胶的 2/3 处,取出凝胶,放入凝胶成像系统中检测。

1.2.6 实时荧光定量 PCR 以 $\beta\text{-actin}$ 为内参检测目的基因表达量,反应体系:SYBR[®] Premix Ex Taq[™] 10.0 μL ; PCR Forward Primer (10 $\mu\text{mol/L}$) 0.4 μL ; PCR Reverse Primer (10 $\mu\text{mol/L}$) 0.4 μL ; ROX Reference Dye 0.4 μL ; DNA 模板 2.0 μL ; dH₂O (灭菌蒸馏水) 6.8 μL ; Total 20.0 μL 。以上步骤均在冰上操作。每个样品设置 4 个重复,相应的基因设置阴性参照。

两步法 PCR 扩增标准程序:步骤 1:预变性循环:1 95 $^{\circ}\text{C}$ 30 s;步骤 2:PCR 反应 循环:40 95 $^{\circ}\text{C}$ 5 s;60 $^{\circ}\text{C}$ 30 s;步骤 3:r 融曲线分析。

2 结果与分析

2.1 王浆主蛋白基因在哺育蜂和采集蜂中的表达分析

通过实时荧光定量 PCR 分析了 *mrjp1*、*mrjp2*、*mrjp3*、*mrjp4*、*mrjp6*、*mrjp7* 在哺育蜂和采集蜂中的表达情况。结果(图 1)表明 *mrjp1*、*mrjp2*、*mrjp3*、*mrjp4*、*mrjp7* 在哺育蜂中的表达量都高于采集蜂。*mrjp1*、*mrjp2*、*mrjp4* 在哺育蜂和采集蜂中表达差异显著,*mrjp3*、*mrjp7* 在哺育蜂中和采集蜂中表达差异极显著,*mrjp6* 在哺育蜂和采集蜂中表达差异不显著。

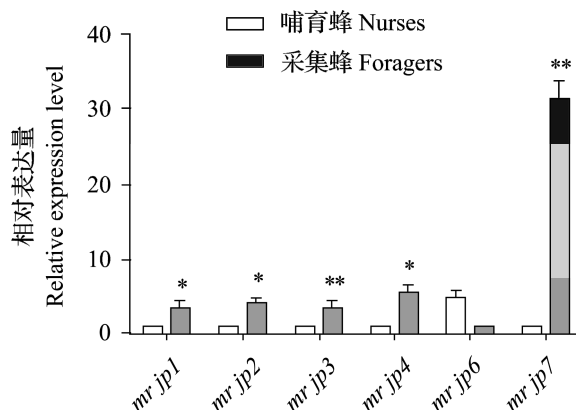


图 1 各王浆蛋白基因在哺育蜂和采集蜂中的表达
Fig. 1 The relative expression level of *mrjps* in foragers and nurses

图中结果显示的是平均值 $\pm$ 标准误。带“*”说明表达差异显著,带“**”说明表达差异极显著。下图同。

The values are shown as mean $\pm$ SE, while histograms with “*” and “**” indicate that the mean are significantly different at the 0.05 and 0.01 level, respectively.

2.2 与酶调节相关的基因在哺育蜂和采集蜂中的表达分析

通过实时荧光定量 PCR 分析了 *Ache*、*Ant*、*LOC406114*、*LOC406142*、*Hbg3* 在哺育蜂和采集蜂中的表达情况。结果(图 2)表明,*Ache*、*LOC406114*、*LOC406142*、*Hbg3* 在采集蜂中的表达量都高于哺育蜂,*Hbg3* 的表达量在采集蜂中的表达量远远高于其他基因。*Ache*、*Ant*、*LOC406142*、*Hbg3* 在哺育蜂和采集蜂中表达差异极显著,*LOC406114* 在哺育蜂和采集蜂中表达差异显著。

2.3 与编码特定蛋白相关的基因在哺育蜂和采集蜂中的表达分析

通过实时荧光定量 PCR 分析了 *CSP3*、*Per*、*TpnCIIIa*、*TpnT*、*Obp3* 在哺育蜂和采集蜂中的表达情况。结果(图 3)表明,*CSP3*、*Per*、*TpnCIIIa*、*TpnT*、*Obp3* 在采集蜂中的表达量均高于哺育蜂。*CSP3*、*Per*、*TpnT* 在采集蜂和哺育蜂中表达差

异显著, *TpnCIIIa* 在采集蜂和哺育蜂中表达差异极显著。*Obp3* 在采集蜂和哺育蜂中表达差异不显著。

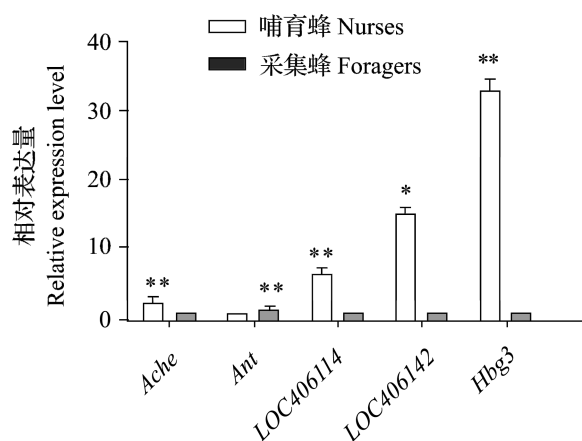


图2 *Ache*, *Ant*, *LOC406142*, *LOC406114*, *Hbg3* 在哺育蜂和采集蜂中的表达

Fig. 2 The relative expression level of *Ache*, *Ant*, *LOC406142*, *LOC406114* and *Hbg3* in foragers and nurses

2.4 与神经调节相关的基因在哺育蜂和采集蜂中的表达分析

通过实时荧光定量 PCR 分析了 *Dop1*、*Jhe*、*Oa1*、*Mblk-1*、*Ef-1a-fl*、*Wat* 在哺育蜂和在采集蜂中的表达情况。结果 (图 4) 表明, *Dop1*、*Oa1*、*Mblk-1*、*Ef-1a-fl* 在采集蜂中的表达量高于哺育蜂, *Jhe*、*Wat* 在哺育蜂中的表达量高于采集蜂。*Dop1*、*Jhe*、*Oa1* 在采集蜂和哺育蜂中表达差异显著, *Mblk-1*、*Ef-1a-fl*、*Wat* 在采集蜂和哺育蜂中表达差异极其显著。

3 讨论

3.1 王浆主蛋白基因

哺育蜂主要从事吐浆哺育幼虫, 这期间, 哺育蜂王浆腺体发达, 正是分泌王浆的最旺盛时期 (刘振, 2012)。蜜蜂在哺育阶段, 其咽下腺发育完全, 随着年龄增长, 当蜜蜂开始从事巢外采

集工作时, 其咽下腺萎缩, 由此可以很容易理解哺育蜂的王浆蛋白基因的表达量高于采集蜂。自

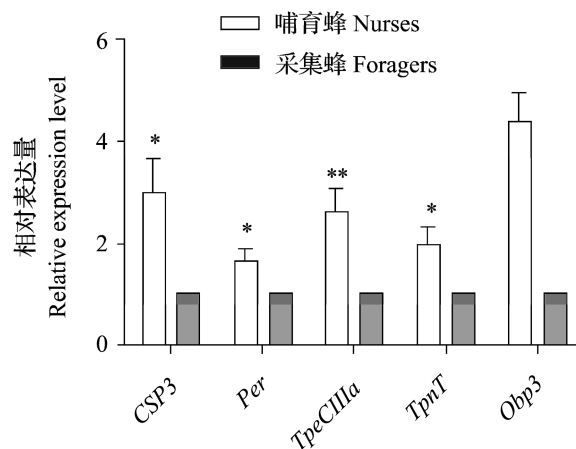


图3 *CSP3*, *Per*, *TpnCIIIa*, *TpnT*, *Obp3* 在哺育蜂和采集蜂中的表达

Fig. 3 The relative expression level of *CSP3*, *Per*, *TpnCIIIa*, *TpnT* and *Obp3* in foragers and nurses

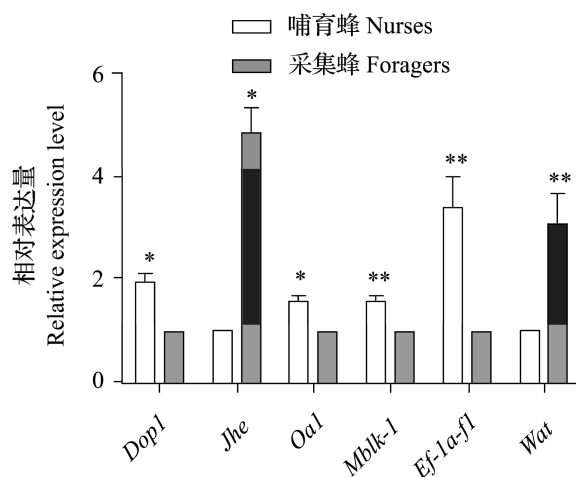


图4 *Dop1*, *Jhe*, *Oa1*, *Mblk-1*, *Ef-1a-fl*, *Wat* 在哺育蜂和采集蜂中的表达

Fig. 4 The relative expression level of *Dop1*, *Jhe*, *Oa1*, *Mblk-1*, *Ef-1a-fl* and *Wat* in foragers and nurses

从王浆蛋白被发现以来, 王浆蛋白的起源和功能一直在被研究 (Anja *et al.*, 2013)。目前只有 *mrjp1* 被研究的比较多, *mrjp1* 及其蛋白的功能研究比较详细 (Masaru *et al.*, 2010; Takeshi

et al., 2011), 但是, 有趣的是 *mrjp6* 在采集蜂中的表达量偏高。对于 *mrjp6* 功能研究到目前还是空白, 所以这一结果暂时没有办法解释, 这也将成为本研究下一步的研究重点。

3.2 神经功能相关的基因

之前有研究表明 *For* 在采集蜂脑部表达比哺育蜂高, 它以 PKG 信号通过营养通路来调节这种社会行为 (Markus and Rricarda, 2013)。*For* 基因还有可能通过神经内分泌通路来影响这种活动, 目前这种机制还不是很明确。生物胺 (多巴胺、章鱼胺) 在行为调节作用是公认的 (Huber, 2005)。蜜蜂头部的 DA (多巴胺 Dopamine)、OA (章鱼胺 Octopamine) 的含量随着日龄的增加而增加, 其中在采集蜂中检测到最高浓度的生物胺。采集蜂脑部的章鱼胺和多巴胺含量水平比哺育蜂高, 表明其可能参与蜜蜂由哺育到采集行为转变的调节过程 (Wagener-Hulme *et al.*, 1999)。本实验的研究结果与之前的报道结果完全吻合。Schulz 等 (2002) 研究证明保幼激素有可能是通过调节蜜蜂脑部章鱼胺的含量来发挥作用的。*Jhe* 调控保幼激素酯酶的合成, 保幼激素酯酶能够水解保幼激素, 从而降低血液中保幼激素的水平。之前有研究称血液中的保幼激素的含量随着蜜蜂的日龄增加而增加 (Jassim *et al.*, 2000; Li *et al.*, 2013)。这两项研究结果正好与本研究的结果 (哺育蜂脑部的 *Jhe* 的表达量比采集蜂高) 不谋而合。另外, 蜜蜂蘑菇体组织和触角上的神经细胞都与蜜蜂学习和记忆密切相关 (Menzel, 2001), 伴随着蜜蜂行为的成熟, 采集蜂中与此相关的基因 *Mblk-1* 表达量都高于哺育蜂。

3.3 与淀粉糖代谢相关的基因

α -淀粉酶、葡萄糖氧化酶和 α -葡萄糖苷酶

这 3 种碳水化合物代谢酶对于采集蜂在将花蜜转化为蜂蜜这一劳动过程中起着重要的作用 (Jantanart *et al.*, 2006)。Ohashi (1999) 研究报告, 碳水化合物代谢的这 3 种酶, 在采集蜂咽下腺细胞都有表达, 而在哺育蜂中没有表达。所以不难理解与此相关的基因 *LOC406142*、*LOC406114* 和 *Hbg3* 在采集蜂中表达量高于哺育蜂。

3.4 肌钙蛋白基因

肌钙蛋白 C 是细肌丝蛋白结构复合物的一个亚基, 和肌钙蛋白 T 都是控制肌肉收缩的重要因子。采集蜂一天飞行几个小时以及采集搬运花蜜和花粉会加重蜜蜂肌肉的负担, 同时蜜蜂体内的肌钙蛋白 T 也在随之变化 (Marie *et al.*, 2010)。*TpnCIIIa* 参与了胰岛素信号通路, 该通路与蜜蜂蜂群中劳动分工的行为有关 (Ament *et al.*, 2008)。胰岛素信号通路可以使细胞内的 Ca^{2+} 升高, 激活钙通道, 这与实验结果不谋而合。在检测结果中, *TpnCIIIa*、*TpnT* 在采集蜂中的表达量比哺育蜂高, 由此我们可以推测, 因为采集蜂主要从事外出采集工作, 其肌肉的运作收缩强度在一定程度上高于在巢内从事哺育工作的哺育蜂。

3.5 乙酰胆碱酶和 *Period* 基因

Shapira 等 (2001) 发现蜂群中, 采集蜂脑部乙酰胆碱酶活性比哺育蜂的低 20% ~ 65%, 但是同日龄成熟的采集蜂却没有这种现象, 所以推测乙酰胆碱酶活性与采集蜂的采集经验有关。但本研究显示, 采集蜂中的 *Ache* 表达量高于哺育蜂 (图 2)。之前有研究证明, 与采集相关的乙酰胆碱酶的活性伴随着 *Ache* mRNA 含量的降低而降低, 本研究的结果是采集蜂中的乙酰胆碱酶的

活性高于哺育蜂, 本研究结果与之相左。*Per* 是参与昼夜调节的动物基因。哺育蜂在巢内从事哺育工作, 没有明显的昼夜规律, 而采集蜂则都是从事采集工作, 他们推测这现象可能和蜜蜂体内的 *Per* 基因的表达有关。Bloch 等 (2001) 发现工蜂脑部的 *Per* 的日平均水平与其年龄没有特别的关系, 他们检测哺育蜂和采集蜂脑部 *Per* mRNA 含量也没有差异。本研究的结果显示, 采集蜂中的 *Per* mRNA 含量显著高于哺育蜂, 可以说明 *Per* 基因与蜜蜂昼夜节律行为相关。但是, 需要确凿的实验进一步研究。另外, 还有研究表明多巴胺的含量可能影响脑部时钟基因的表达 (Guy and Avital, 2007)。很多学者的研究结果证实, 不同社会条件下, *Per* 和 *Ache* 基因对环境的改变是敏感的, 不影响蜜蜂开始采集的年龄, 即对蜜蜂从哺育行为向采集行为这一转变没有直接的关系。

3.6 其他基因

Obp3 基因主要控制的是气味结合蛋白, 另外最新的研究表明 *Obp3* 基因还有抗螨的作用 (陈杨, 2013), 本研究结果显示哺育蜂和采集蜂表达差异不显著, 说明 *Obp3* 基因可能与蜜蜂该行为的转变关系不大。*Ant* 基因主要调节 ADP/ATP 移位酶, 而该基因在哺育蜂脑部的表达量明显高于采集蜂, 说明哺育蜂脑部能量转换比较多, 而采集蜂的王浆腺萎缩, 可能由于哺育蜂脑部的王浆腺活动频繁所造成的, 此推测还需要进一步实验证明。*CSP3* 和 *Wat* 都是控制工蜂触角感应的蛋白的基因。*CSP3* 在采集蜂中的表达量高, 而 *Wat* 在哺育蜂中的表达量高, 采集蜂的行为比哺育蜂更成熟, 触角的蛋白应该更完整, *Wat* 的具体功能尚不清楚, 哺育蜂的嗅觉等都不成熟, 我们推测可能哺育蜂是靠触角来进行

交流哺育幼虫。

本研究的结果显示王浆蛋白基因、与神经相关的基因以及糖代谢酶基因等在蜜蜂头部都存在显著的表达差异。根据之前的研究, 我们推测出 *mrjp1*、*Oa1*、*Dop1* 以及 *Hbg3* 等基因都可能与中华蜜蜂哺育蜂和采集蜂的行为转变有密切的关系。接下来, 我们可以结合之前的研究, 通过 RNA 干扰技术来做功能鉴定试验, 进一步确认与这些基因是不是影响蜜蜂的这种行为转变, 进而为生产实践提供理论依据。

参考文献 (References)

- Alaux C, Conte YL, Adarms HA, Rodriguez-Zas S, Grozinger CM, Sinha S, Robinson GE, 2009. Regulation of brain gene expression in honey bees by brood pheromone. *Genes, Brain and Behavior*, 8(3): 309–319.
- Ament SA, Corona M, Pollock H, Pollock HS, Robinson GE, 2008. Insulin signaling is involved in the regulation of worker division of worker division of labor in honey bee colonies. *Proceeding of National Academy of Sciences of the USA*, 105(11): 4226–4231.
- Anja B, Robin FAM, Silvio E, 2013. Origin and function of the major royal jelly proteins of the honeybee (*Apis mellifera*) as members of the yellow gene family. *Biological Reviews*, [doi: 10.1111/brv.12052]
- Beshers SN, Huang ZY, Oono Y, Robinson GE, 2001. Social inhibition and the regulation of temporal polyethism in honey bees. *Journal of Theoretical Biology*, 213(3): 461–479.
- Bloch G, Toma D, Robinson GE, 2001. Behavioral rhythmicity, age, division of labor and period expression in the honey bee brain. *Journal of Biological Rhythms*, 16(5): 444–256.
- Bloch G, Wheeler DL, Robinson GE, 2002. Endocrine influences on the organization of insect societies. *Hormones Brain and Behavior*, 2(30): 1027–1068.
- Elekonich MM, Schulz DJ, Bloch G, Robinson GE, 2001. Juvenile hormone levels in honey bee (*Apis mellifera* L.) foragers: foraging experience and diurnal variation. *Journal of Insect Physiology*, 47(10): 1119–1125.
- Guy B, Avital M, 2007. Influences of octopamine and juvenile hormone on locomotor behavior and period gene expression in the honeybee, *Apis mellifera*. *J. Comp. Physiol. A*, 193: 181–199.
- Huber R, 2005. Amines and motivated behaviors: a simpler systems

- approach to complex behavioral phenomena. *Journal of Comparative Physiology A: Neuroethology, Sensory, Neural, and Behavioral Physiology*, 191(3): 231–239.
- Jassim O, Huang ZY, Robinson GE, 2000. Juvenile hormone profiles of worker honey bees during normal and accelerated behavioral development. *Journal of Insect Physiology*, 46(3): 243–249.
- Jintanart W, Takeshi Y, Hiroyuki N, Young-Min K, Natsuko S, Mamoru N, Masayuki O, Haruhide M, Osamu S, Chanpen C, Siriwat W, Rudee S, Jisnusun S, Selya C, Atsuo K, 2006. Purification and characterization of α -Glucosidase I from Japanese honeybee (*Apis cerana japonica*) and molecular cloning of its cDNA. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 70(12): 2889–2898.
- Liu F, Li WF, Li ZG, Zhang SW, Chen SL, Su SK, 2011. High-abundance mRNAs in *Apis mellifera*: comparison between nurses and foragers. *J. Insect Physiol.*, 57: 274–279.
- Li WF, Huang ZY, Liu F, Li ZG, Yan LM, Zhang SW, Chen SL, Zhong BX, Su SK, 2013. Molecular cloning and characterization of juvenile hormone acid methyltransferase in the honeybee, *Apis mellifera*, and its differential expression during caste differentiation. *PLoS ONE*, 8(7): e68544.
- Marie PS, Reuven D, Grant BM, 2010. Lifetime- and caste-specific changes in flight metabolic rate and muscle biochemistry of honeybees, *Apis mellifera*. *J. Comp. Physiol. B*, 180: 45–55.
- Markus T, Rricarda S, 2013. PKG in honey bees: spatial expression, *Amfor* gene expression, sucrose responsiveness and division of labor. *The Journal of Comparative Neurology* (accepted article).
- Hojo M, Kagami T, Sasaki T, Nakamura J, Sasaki M, 2010. Reduced expression of major royal jelly protein 1 gene in the mushroom bodies of worker honeybees with reduced learning ability. *Apidologie*, 41: 195–202.
- Menzel R, 2001. Searching for the memory trace in a mini-brain, the honeybee. *Learning & Memory*, 8(2):53–62.
- Ohashi K, Natori S, Kubo T, 1999. Expression of amylase and glucose oxidase in the hypopharyngeal gland with an age-dependent role change of the worker honeybee (*Apis mellifera* L.). *European Journal of Biochemistry*, 265(1): 127–133.
- Schulz DJ, Sullivan JP, Robinson GE, 2002. Juvenile hormone and octopamine in the regulation of division of labor in honey bee colonies. *Hormones and Behavior*, 42(2): 222–231.
- Shapira M, Thompson CK, Soreq H, Robinson GE, 2001. Changes in neuronal acetylcholinesterase gene expression and division of labor in honey bee colonies. *Journal of Molecular Neuroscience*, 17(1): 1–12.
- Takeshi H, Nobue T, Takeshi N, Takashi A, 2011. Immunological characterization of honey proteins and identification of *mrjp1* as an IgE-binding protein. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 75(3): 556–560.
- Wagener-Hulme C, Kuehn JC, Schulz DJ, Robinson GE, 1999. Biogenic amines and division of labor in honey bee colonies. *Journal of Comparative Physiology*, A184(5): 471–479.
- Whitefield CW, Anne-Marie C, Robinson GE, 2003. Gene expression profiles in the brain predict behavior in individual honey bees. *Science*, 302(5643): 296–299.
- 陈杨, 2013. 不同抗螨性能东方蜜蜂 *obp3* 基因的克隆与表达变化规律的研究. 硕士学位论文. 合肥: 安徽农业大学.[Chen Y, 2013. Analysis on Cloning and Expression pattern of *obp3* of *Apis cerana* Fabricius with Different mite Resisting Property. *Journal of Anhui Agriculture University*.]
- 李文峰, 李志国, 刘芳, 苏松坤, 2010. 蜜蜂级型分化相关生理因子研究进展. 昆虫知识, 47(5): 856–861.[Li WF, Li ZG, Liu F, Su SK, 2010. Advances on the physiological factors relating to honeybee caste differentiation. *Chinese Bulletin of Entomology*, 47(5): 856–861.]
- 刘振, 2012. 意蜂体内王浆蛋白 *mrjp9* 基因的转录表达分析. 硕士学位论文. 福州: 福建农林大学. [Liu Z, 2012. Transcription analysis of *mrjp9* in the honeybee *Apis mellifera ligustica*. *Fujian Agriculture and Forestry University*.]