



# 发育温度对蜜蜂归巢能力及记忆 相关基因表达的影响<sup>\*</sup>

袁 安<sup>\*\*</sup> 郭亚惠 黄 晓 廖春华 吴小波<sup>\*\*\*</sup>

(江西农业大学蜜蜂研究所, 南昌 330045)

**摘 要** 【目的】 本试验旨在研究不同发育温度对意大利蜜蜂 *Apis mellifera ligustica* 工蜂归巢能力及学习记忆相关基因表达的影响。【方法】 选择 3 群群势一致的意大利蜜蜂, 控制蜂王在一张经工蜂清理的工蜂巢脾中产卵 48 h, 之后移至孵化区。子脾即将封盖时, 平均分成 3 块, 分别放入 33℃ ( 组 ) 35℃ ( 组 ) 37℃ ( 组 ) 的恒温恒湿箱中继续发育 ( 相对湿度为 75%±5% ), 每群为 1 个重复。工蜂羽化出房时, 用不同颜色标记不同发育温度下羽化的工蜂, 并放回原蜂王产卵群, 测定其采集时期在 1 000 m、2 000 m 的回归率及不同日龄 ( 刚出房, 10 日龄, 20 日龄 ) 工蜂 3 个记忆相关基因 [ 谷氨酸受体 A 型基因 ( *GluRA* ) N-甲基-D-天冬氨酸受体 1 型基因 ( *Nmdar1* ) 酪氨酸受体 1 型基因 ( *tyr1* ) ] 的表达情况。【结果】 结果表明: 试验 组和试验 组发育的采集蜂在 1 000 m 和 2 000 m 处的回归率均显著高于 组, 但试验 组与试验 组之间差异不显著; 试验 组和 组刚出房工蜂、10 日龄工蜂和 20 日龄工蜂的 *GluRA* 和 *Nmdar1* 基因相对表达量显著高于试验 组, 但试验 组与 组之间差异不显著; 试验 组刚出房工蜂的 *Tyr1* 基因相对表达量显著高于试验 组与 组, 但试验 组与试验 组之间差异不显著, 另外, 各试验组 10 日龄和 20 日龄工蜂 *Tyr1* 基因相对表达量差异均不显著。【结论】 过低发育温度会影响蜜蜂的归巢能力和记忆相关基因的表达。

**关键词** 意大利蜜蜂, 发育温度, 回归率, 记忆基因

## Effect of brood developmental temperature on the homing capability and memory related gene expression of worker bees *Apis mellifera* L.

YUAN An<sup>\*\*</sup> GUO Ya-Hui HUANG Xiao LIAO Chun-Hua WU Xiao-Bo<sup>\*\*\*</sup>

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

**Abstract** 【Objectives】 The objective of this experiment was to explore the effects of developmental temperature on the homing capability and memory related gene expression levels of worker bees *Apis mellifera* L. 【Methods】 Three honeybee colonies of equal population size were used in experiments. Each queen was confined within an empty frame to lay eggs for 48 hours. Each frame was then separated into three equal sections after larval cells had been capped and the three sections were placed in different incubators and incubated at either 33, 35, or 37℃, until hatching took place. Relative humidity in each incubator was 75%±5%. New born worker bees from each incubator were marked with different colors and returned into their natal colonies. The homing rates of foragers over distances of 1 km and 2 km, and the expression levels of three memory related genes [the glutamate receptor type A gene (*GluRA*), the N-methyl-D-aspartic acid receptor 1 gene (*Nmdar1*) and the tyramine receptor type 1 gene (*Tyr1*)], in day-old (newly emerged), 10-day-old, and 20-day-old worker bees, were measured

\*资助项目 Supported projects: 国家自然科学基金项目 (31360587)

\*\*第一作者 First author, E-mail: 1248215336@qq.com

\*\*\*通讯作者 Corresponding author, E-mail: wuxiaobo21@163.com

收稿日期 Received: 2016-02-24, 接受日期 Accepted: 2016-07-31

and compared. [Results] Homing rates in Groups and were significantly higher than in Group ( $P < 0.05$ ), but there was no significant difference between Groups II and III ( $P > 0.05$ ). *GluRA* and *Nmdar1* were more highly expressed in newly emerged bees, 10-day-old bees and 20-day-old bees in Groups and compared to Group ( $P < 0.05$ ), but there was no significant difference between Groups and ( $P > 0.05$ ). *Tyr1* was more highly expressed in newly emerged bees in Group than in Groups and ( $P < 0.05$ ), but there was no significant difference between Groups and ( $P > 0.05$ ). There was also no significant difference in *Tyr1* expression in 10-day-old bees and 20-day-old bees among all three groups ( $P > 0.05$ ). [Conclusion] Lower developmental temperatures may affect the homing ability and expression of memory related genes in *Apis mellifera ligustica* workers.

**Key words** *Apis mellifera ligustica*, developmental temperature, homing rate, memory genes

蜜蜂是一种典型的社会性经济昆虫,属于节肢动物门(Arthropoda)昆虫纲(Insecta)膜翅目(Hymenoptera)蜜蜂总科(Apoidea)蜜蜂科(Apidae)蜜蜂属(*Apis*) (曾志将, 2009)。蜜蜂以其独有的自然生态位参与生态平衡,为促进生物多样性发挥着重要作用。然而,蜜蜂的发育情况以及行为能力受到不同因素的影响(石元元等, 2014; 吴小波等, 2014; 张丽珍等, 2015)。温度作为一种生存环境因子,对蜜蜂各时期的发育影响较大,尤其在蜜蜂子脾发育阶段(卵、幼虫和蛹)其中,卵可以孵化的温度介于 $31\sim 38^{\circ}\text{C}$ ,随着温度升高,卵的孵化时间相对较少,但温度过低或过高会导致卵孵化失败(江天宝, 2004; 陈琳等, 2016)。卵孵化成幼虫后,温度对幼虫的发育历期具有一定的影响(余林生和孟祥金, 2001)。然而,当幼虫进入封盖时,其发育受温度影响最大,主要原因在于蜜蜂内外部器官在该时期进行发育及形成,并影响着成虫后期的生存能力。封盖子对温度变化极其敏感,温度过低或过高均会引起发育历期延长,并出现畸形蜜蜂。在 $29\sim 38^{\circ}\text{C}$ 之间,意大利蜜蜂封盖子发育时间随温度的降低显著延长(朱翔杰等, 2006);封盖子发育温度对羽化出房后工蜂的生理及行为也具有明显的影响, $29\sim 37^{\circ}\text{C}$ 对封盖子发育出房后的工蜂初生重差异不显著,但温度达到 $38^{\circ}\text{C}$ 时,工蜂初生重显著降低(李月, 2008)。温度过低或过高也将导致蜜蜂翅膀发育不良,影响其飞行、采集以及归巢等能力(Tautz *et al.*, 2003; Tan *et al.*, 2005; Becher *et al.*, 2009)。Jones等(2005)研究发现发育温度会影响工蜂的短时记忆但不影响工蜂的长期记忆能力,工蜂出生第7

天测试结果发现:发育温度为 $35^{\circ}\text{C}$ 时,工蜂短时记忆能力最强。

RFID技术是20世纪90年代开始兴起的一种自动识别新技术,是一项利用射频信号通过空间耦合实现无接触信息传递达到识别目标的技术。澳大利亚国立大学Pahl等(2011)人利用蜜蜂RFID技术研究了意大利蜜蜂不同距离及方向的回归行为。田柳青等(2014)人利用RFID技术研究了西方蜜蜂采集行为。目前,蜜蜂RFID技术在蜜蜂生物学研究方面发挥着越来越重要的作用。本试验利用蜜蜂RFID技术研究发育温度对意大利蜜蜂归巢能力及记忆相关基因的影响,为丰富蜜蜂生态学和科学饲养提供理论基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验动物

试验动物为江西农业大学蜜蜂研究所饲养的意大利蜜蜂*Apis mellifera ligustica*。

### 1.2 主要试剂及器材

标记颜料(日本田宫),蜜蜂RFID记录系统(广州市远望谷信息技术有限公司),GPS全球定位仪(eTrex Vista HCX),Trizol总RNA提取试剂盒和RNA酶抑制剂(北京全式金公司),dNTP Mixture和oligo(dT)由上海英杰公司合成,M-MLV反转录酶和荧光染料SYBR<sup>®</sup> Premix Ex Taq<sup>™</sup> II购自Takara公司,自制小木箱(25 cm + 25 cm + 20 cm),定量PCR(iQTM2型, Bio-Rad公司),核酸蛋白测定仪(NanoPhotometer<sup>™</sup> P300, IMPLN)。

### 1.3 试验设计

**1.3.1 蜂群的选择与饲养管理** 选取群势相当的本地意大利蜜蜂 3 群, 每群放入一块经工蜂清理的空巢脾, 隔王产卵 48 h, 并转移至孵化区。子脾即将封盖时, 平均分成 3 块, 分别放入 33、35、37℃ 恒温恒湿箱中继续孵化, 每群为 1 个重复。待蜜蜂出房后, 用不同颜色标记不同温度下羽化出房的工蜂, 并放回原蜂王产卵。

**1.3.2 发育温度对采集蜂归巢能力的影响** 用吸蜂机在巢门口抓取带花粉且标有颜色的采集蜂, 参照何旭江 (2011) 的试验方法对采集蜂进行电子标记, 利用 GPS 全球定位系统在距离蜂巢 1 000 m, 2 000 m 处进行精确定位, 将带标签且采食足量糖水的蜜蜂带至目的地点进行放飞, 利用蜜蜂 RFID 系统对其回巢情况进行记录, 重复 6 次。

**1.3.3 发育温度对工蜂记忆相关基因相对表达量的影响**

**1.3.3.1 样品采集** 采取不同颜色的刚出房蜂、10 日龄和 20 日龄各 20 只, 分别装入 1.5 mL RNase-free 的 EP 管迅速放入液氮中, 用于后续检测。

**1.3.3.2 RNA 的提取与 cDNA 的合成** 取 3 只同一颜色的意大利蜜蜂头部混合为一个样品, 放入含液氮的研钵内, 研磨至粉末状后移置加有 1 mL Trizol 的 1.5 mL EP 管中。参考秦秋红

(2011) 实验方法对样本 RNA 进行提取。最后所得总 RNA 通过琼脂糖凝胶电泳评估 RNA 完整性。用核酸蛋白测定仪测定 OD<sub>260/280</sub> 值 (1.9~2.1 之间符合标准) 和 RNA 浓度值。

用反转录试剂盒对总 RNA 进行反转录, 反应体系为 50 μL : 8 μL 总 RNA, 10 μL Buffer, 8 μL dNTP, 1.5 μL M-MLV, 3 μL Oligo dT, 1 μL RNA 酶 Inhibitor, 18.5 μL DEPC 水。反转录反应条件如下: 体系混匀后, 42℃ 反应 60 min, 75℃ 灭活 5 min。反转录产物保存于 -80℃。

**1.3.3.3 荧光定量 PCR 引物的设计及荧光定量 PCR** 根据 NCBI 网站上所示西方蜜蜂基因组序列, 用 Primer 5.0 软件设计引物序列 (表 1)。因 *GAPDH* 基因在蜜蜂发育过程中表达较稳定 (Huang *et al.*, 2012), 所以本实验以 *GAPDH* 作为内参基因。

荧光定量 PCR 反应体系 (10 μL): cDNA 1 μL, SYBR@Premix ExTaq™ II 5 μL, 上游和下游引物各 0.4 μL, 超纯灭菌水 3.2 μL 混匀, 离心放入 q-PCR 仪中进行扩增。Q-PCR 反应条件: 95℃ 预变性 30 s; 40 个 PCR 循环 (95℃ 10 s; 60℃, 1 min)。扩增反应结束后从 55℃ 缓慢加热至 95℃ (每 10 s 升高 0.5℃), 建立熔解曲线。每个 cDNA 重复三孔, 并参考 Huang (2012) 的方法计算各个基因的相对表达量。

表 1 荧光定量引物序列

Table 1 Gene-specific primers used in real time quantitative PCR

基因名称 Gene name	上游引物 Forward primer (5'-3')	下游引物 Reverse primer (5'-3')
<i>GluRA</i> 谷氨酸受体基因	ACTCTGTTCGTCTGTGGGGTG	TTCGTTAGAAGGGCAGCGTA
<i>Nmdar1N</i> -甲基-D 天冬氨酸受体基因	GTATTTCCGTCGCCAAGTC	TGTAAACCAATCCCATAGCCA
<i>Tyr1</i> 酪胺受体基因	CGTCGGGCGAGCGAGATA	GCCAAACCAACCAGCAAAT
<i>GAPDH</i> 甘油醛-3-磷酸脱氢酶基因	GCTGTTTCATCGATGGTTT	ACGATTTTCGACCACCGTAAC

### 1.4 数据处理

采用 StatView 软件 ANOVA and *t*-test 中的 ANOVA or ANCOVA 对实验数据进行统计分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 发育温度对采集蜂归巢能力的影响

试验结果如表 2 所示。由表 2 可知, 试验

组和试验 组蜜蜂在 1 000 m 和 2 000 m 处的回归率均显著高于 组, 但试验 组与试验 组之间差异不显著。

### 2.2 发育温度对意大利蜜蜂 *GluRA* 基因相对表达量的影响

试验结果如图 1 所示。试验 组和 组刚出房工蜂、10 日龄工蜂和 20 日龄工蜂的 *GluRA* 基因表达量均显著高于试验 组, 但试验 组与试

验 组差异不显著。

表 2 发育温度对意大利蜜蜂归巢能力的影响

Table 2 Effects of developmental temperature on homing rates of worker bees *Apis mellifera ligustica*

距离 Distance (m)	回归率 Homing rates (%)		
	组	组	组
1 000	54.17±4.58 a	73.67±4.08 b	69.00±3.09 b
2 000	39.20±3.49 a	54.6±3.78 b	51.80±5.02 b

表中数据为 Mean±SE。同行数据后标有不同字母表示差异显著 ( $P<0.05$ )。

Data are mean±SE, and followed by different letters in the same row indicate significant difference ( $P<0.05$ ).

### 2.3 发育温度对意大利蜜蜂 *Nmdar1* 基因相对表达量的影响

试验结果如图 2 所示。试验 组和试验 组刚出房工蜂、10 日龄工蜂和 20 日龄工蜂 *Nmdar1* 基因的表达量均显著高于试验 组，但

试验 组与试验 组差异不显著。

### 2.4 发育温度对意大利蜜蜂 *Tyr1* 基因相对表达量的影响

试验结果如图 3 所示。试验 组刚出房工蜂的 *Tyr1* 基因表达量显著高于试验 组与 组，但试验 组与试验 组之间差异不显著。另外，各试验组 10 日龄和 20 日龄工蜂 *Tyr1* 基因表达量差异均不显著。

## 3 讨论

蜜蜂是一种全变态昆虫，个体发育要经过卵、幼虫、蛹和成虫 4 个阶段。在蛹期，幼虫完成向成虫的形态转变，包括翅、足、口器等众多器官的形成，其发育状况受温度影响较大，温度偏低或偏高将导致蜜蜂翅脉发生变异 (Tan *et al.*,

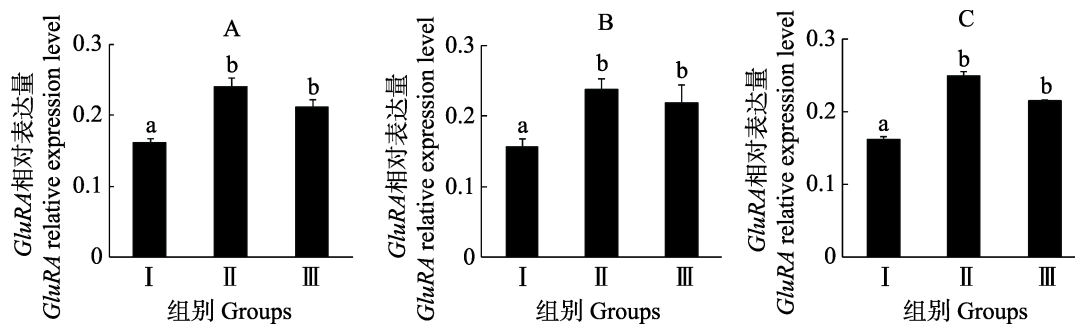


图 1 发育温度对意大利蜜蜂 *GluRA* 基因相对表达量的影响

Fig. 1 Effects of developmental temperature on the relative expression levels of the *GluRA* genes of worker bees *Apis mellifera ligustica*

A. 刚出房工蜂 ;B. 10 日龄工蜂 ;C. 20 日龄工蜂。图中数据为 Mean±SE。柱上标有相同字母表示差异不显著 ( $P>0.05$ )，不同字母表示差异显著 ( $P<0.05$ )。下图同。

A. Newly emerged bee; B. 10 days bee; C. 20 days bee. Data are mean±SE. Histograms with the same letters indicate no significant difference ( $P>0.05$ ), while with different letters indicate significant difference ( $P<0.05$ ). The same below.

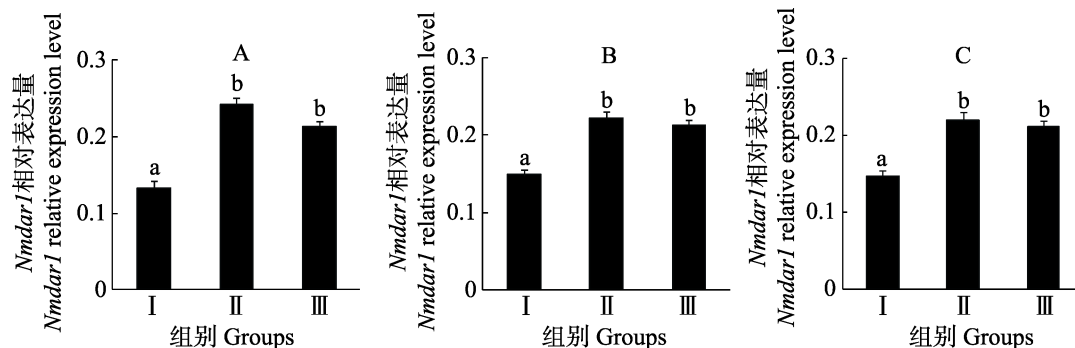
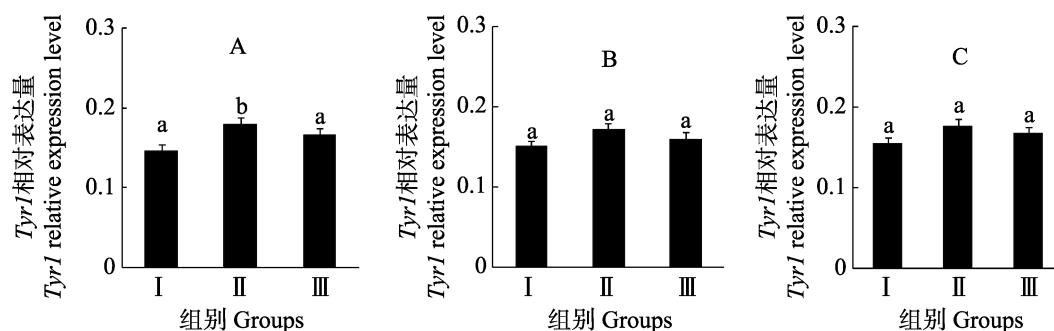


图 2 发育温度对意大利蜜蜂 *Nmdar1* 基因相对表达量的影响

Fig. 2 Effects of developmental temperature on the relative expression levels of the *Nmdar1* genes of worker bees *Apis mellifera ligustica*

图3 发育温度对意大利蜜蜂 *Tyr1* 基因相对表达量的影响Fig. 3 Effects of developmental temperature on the relative expression levels of the *Tyr1* genes of worker bees *Apis mellifera ligustica*

2005; 周冰峰等, 2007, 2011), 影响蜜蜂正常的生理机能。本实验研究发现, 33℃发育的工蜂在 1 000 m, 2 000 m 处回归率明显低于 35℃和 37℃, 可能是发育温度偏低使蜜蜂翅膀的发育不良, 影响其飞行能力, 从而导致蜜蜂归巢率降低。

*GluRA* 和 *Nmdar1* 基因是参与西方蜜蜂学习记忆的重要基因( Kucharski *et al.*, 2007; Zachepilo *et al.*, 2008), 本试验发现: 35℃和 37℃发育的蜜蜂在刚出房、10 日龄、20 日龄时, 其大脑中 *GluRA*、*Nmdar1* 表达量均显著高于 33℃培养的工蜂。这也说明温度偏低会影响工蜂的记忆能力, 这与 Tautz 等( 2003) 研究结果一致。主要原因在于温度偏低影响着蜜蜂蕈形体冠的突触复合体数量, 影响着蜜蜂的记忆能力( Claudia *et al.*, 2004), 从而导致蜜蜂归巢能力较差, 这与蜜蜂放飞归巢结果相符。

*Tyr1* 基因是昆虫体内重要的神经递质, 调控昆虫飞行以及学习与记忆等生理行为( Roeder, 1999, 2005), 同时也是参与西方蜜蜂学习记忆的重要基因( Blenau *et al.*, 2000)。本试验结果显示: 35℃培养的刚出房工蜂 *Tyr1* 基因表达量显著高于 33℃和 37℃, 但另外两个时期 3 个发育温度之间, *Tyr1* 基因表达量差异不显著。*Tyr1* 基因可能与短时记忆有关( 袁安等, 2016), 蜜蜂在最佳发育温度 35℃发育并羽化出房, 使该基因表达水平最高, 如同蜜蜂的形态指标, 以 35℃下发育的蜜蜂形态指标最优( 李月, 2008)。到 10 日龄和 20 日龄时, 三个发育温度之间 *Tyr1* 基因表达量差异不显著, 可能是该基因受到成虫

期进一步发育的影响, 如后期食物的影响等, 具体原因还需进一步研究。

### 参考文献 (References)

- Becher MA, Scharpenberg H, Moritz RFA, 2009. Pupal developmental temperature and behavioral specialization of honeybee workers (*Apis mellifera* L.). *Journal of Comparative Physiology A*, 195(7): 673–679.
- Blenau W, Balfanz S, Baumann A, 2000. Am $\gamma$ 1: characterization of a gene from honeybee (*Apis mellifera*) brain encoding a functional tyramine receptor. *Journal of Neurochemistry*, 74(3): 900–908.
- Chen L, Xu XJ, Wang Q, Zhu XJ, Hao ZB, Zhou SJ, Zhou BF, 2016. Effects of low temperature on unfertilized honeybee (*Apis mellifera ligustica*) eggs. *Chinese Journal of Applied Entomology*, 53(3): 574–580. [陈琳, 徐新建, 王青, 朱翔杰, 郝振邦, 周姝婧, 周冰峰, 2016. 低温 20℃对意大利蜜蜂未受精卵发育的影响. 应用昆虫学报, 53(3): 574–580.]
- Claudia G, Tautz J, Wolfgang RS, 2004. Synaptic organization in the adult honey bee brain is influenced by brood-temperature control during pupal development. *PNAS*, 101(12): 4268–4273.
- Huang Q, Kryger P, Le Conte Y, Moritz RFA, 2012. Survival and immune response of drones of a *Nosemosis tolerant* honey bee strain towards *N. ceranae* infections. *Journal of Invertebrate Pathology*, 109(3): 297–302.
- Huang Q, 2012. Survival and immune response of drones of a *Nosemosis tolerant* honey bee strain towards *N. ceranae* infections. *Journal of Invertebrate Pathology*, 109(3): 297–302.
- He XJ, 2011. The application of RFID technique in honeybees and contradistinction of learning and memoy between *Apis cerana cerana* and *Apis mellifera ligustica*. Master thesis. Nanchang: Jiangxi Agricultural University. [何旭江, 2011. 蜜蜂 RFID 技术及中蜂与意蜂学习记忆比较. 硕士学位论文. 南昌: 江西农

- 业大学.]
- Jones JC, Helliwell P, Beekman M, Maleszka R, Oldroyd BP, 2005. The effects of rearing temperature on developmental stability and learning and memory in the honey bee, *Apis mellifera*. *Journal of Comparative Physiology A*, 191(12): 1121–1129.
- Jiang TB, 2004. Studies on effect of temperature on development of honeybee eggs. Master thesis. Fuzhou: Fujian Agriculture and Forestry University. [江天宝, 2004. 温度对蜜蜂卵发育影响的研究. 硕士学位论文. 福州: 福建农林大学.]
- Kucharski R, Mitri C, Grau Y, Maleszka R, 2007. Characterization of a metabotropic glutamate receptor in the honeybee (*Apis mellifera*): implications for memory formation. *Invert. Neurosci.*, 7 (2): 99–108.
- Li Y, 2008. The effect of temperature on the development of honeybees' sealed brood. Master thesis. Fuzhou: Fujian Agriculture and Forestry University. [李月, 2008. 温度对蜜蜂封盖子发育的影响. 硕士学位论文. 福州: 福建农林大学.]
- Pahl M, Zhu H, Tautz J, Zhang SW, 2011. Large scale homing in honeybees. *PLoS ONE*, 6(5): e19669.
- Qin QH, 2013. Comparison of learning and memory of *Apis cerana* and *Apis mellifera* and analysis of related molecular mechanism of learning and memory in honeybee. Master thesis. Nanchang: Jiangxi Agricultural University. [秦秋红, 2013. 东方蜜蜂与西方蜜蜂学习记忆比较及蜜蜂学习记忆相关分子机理分析. 硕士学位论文. 南昌: 江西农业大学.]
- Roeder T, 1999. Octopamine in invertebrates. *Progress in Neurobiology*, 59(5): 533–561.
- Roeder T, 2005. Tyramine and octopamine: ruling behavior and metabolism. *Annual Review of Entomology*, 50: 447–477.
- Shi YY, Wang ZL, Zeng ZJ, 2014. Advances in research on epigenetics and caste differentiation in the honeybee. *Chinese Journal of Applied Entomology*, 51(6): 1406–1412. [石元元, 王子龙, 曾志将, 2014. 表观遗传学与蜜蜂级型分化的研究进展. 应用昆虫学报, 51(6): 1406–1412.]
- Tan K, Bock F, Fuchs S, Streit S, Brockmann A, Tautz J, 2005. Effects of brood temperature on honey bee *Apis mellifera* wing morphology. *Acta Zoologica Sinica*, 51(4): 768–771.
- Tian LQ, He XJ, Wu XB, Gan HY, Han X, Liu H, Zeng ZJ, 2014. Study on foraging behaviors of honeybee *Apis mellifera* based on RFID technology. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 25(3): 831–835. [田柳青, 何旭江, 吴小波, 甘海燕, 韩旭, 刘浩, 曾志将, 2014. 基于 RFID 技术的西方蜜蜂采集行为研究. 应用生态学报, 25(3): 831–835.]
- Tautz J, Maier S, Groh C, Rossler W, Brockmann A, 2003. Behavioral performance in adult honey bees is influenced by the temperature experienced during their pupal development. *PNAS*, 100(12): 7343–7347.
- Wu XB, Tian LQ, Pan QZ, Zeng ZJ, 2014. Comparison of pheromone content on the body surfaces of *Apis cerana cerana* and *Apis mellifera ligustica* queens. *Chinese Journal of Applied Entomology*, 51(6): 1561–1566. [吴小波, 田柳青, 潘其忠, 曾志将, 2014. 中华蜜蜂与意大利蜜蜂蜂王体表信息素含量比较. 应用昆虫学报, 51(6): 1561–1566.]
- Yuan A, Guo YH, Wu XB, Huang X, Liao CH, 2016. Effects of dietary protein level on homing capability and memory related gene expression of *Apis mellifera ligustica*. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 28(1): 296–302. [袁安, 郭亚惠, 吴小波, 黄晓, 廖春华, 2016. 饲粮蛋白质水平对意大利蜜蜂归巢能力及记忆相关基因表达的影响. 动物营养学报, 28(1): 296–302.]
- Yu LS, Meng XJ, 2001. Investigation on postembryonic growth of *Apis mellifera* L. *Journal of Anhui Agricultural University*, 28(2): 156–160. [余林生, 孟祥金, 2001. 意大利蜜蜂蜂后发育的观察与研究. 安徽农业大学学报, 28(2): 156–160]
- Zhang LZ, Yuan A, Jiang WJ, Zeng ZJ, 2015. Analysis of the genetic background of worker bees with different olfactory learning ability. *Chinese Journal of Applied Entomology*, 52(6): 1421–1428. [张丽珍, 袁安, 江武军, 曾志将, 2015. 具有不同嗅觉学习能力的工蜂遗传背景分析. 应用昆虫学报, 52(6): 1421–1428.]
- Zhou BF, Li Y, Zhu XJ, Chen WF, Zhou Y, Zhang X, 2007. The effect of temperature during sealed brood period on the vein of the honeybee forewing. *Apiculture of China*, 58(5): 5–8. [周冰峰, 李月, 朱翔杰, 陈文锋, 周宇, 张星, 2007. 封盖期发育温度对蜜蜂前翅翅脉增加的影响. 中国蜂业, 58(5): 5–8.]
- Zachepilo TG, Yu FI, Lopatina NG, Molotkov DA, Popov AV, Savvateeva-Popova EV, 2008. Comparative analysis of the locations of the nr1 and nr2 mmda receptor subunits in honeybee (*Apis mellifera*) and fruit fly (*Drosophila melanogaster*, canton-s wild-type) cerebral ganglia. *Neuroscience & Behavioral Physiology*, 38(4): 369–372.
- Zhou BF, Zhu XJ, Li Y, 2011. New mutations in hind wing vein of *Apis cerana cerana* (Hymenoptera: Apidae) induced by lower developmental temperature. *Acta Ecologica Sinica*, 31(5): 1387–1392. [周冰峰, 朱翔杰, 李月, 2011. 低温导致中华蜜蜂后翅翅脉的新变异. 生态学报, 31(5): 1387–1392.]
- Zeng ZJ, 2009. *Apiology*. Beijing: China Agriculture Press. 50. [曾志将, 2009. 养蜂学. 北京: 中国农业出版社. 50.]
- Zhu XJ, Zhou BF, Luo QH, Luo F, Zhong XG, Shi ML, 2006. The effect of temperature on the development of worker's sealed brood. *New Agricultural Technology*, (Sppl.): 57–60. [朱翔杰, 周冰峰, 罗其花, 罗芳, 钟喜贵, 史明亮, 2006. 温度对蜜蜂工蜂封盖期发育的影响. 农业新技术, (增刊): 57–60.]