



意大利蜜蜂哺育蜂与采集蜂行为转变相关基因的表达式差异研究*

刘芳^{1**} 宗超¹ 余林生^{1***} 苏松坤²

(1. 安徽农业大学蜂业研究所, 合肥 230036; 2. 福建农林大学蜂学院, 福州 350001)

摘要 【目的】深入了解蜜蜂哺育蜂与采集蜂行为转变机制, 寻找与之相关的调控因子。【方法】我们随机选取了 5 群意大利蜜蜂 *Apis mellifera ligustica*, 分别采集相应的哺育蜂和采集蜂。利用实时荧光定量 PCR (RT-qPCR) 对哺育蜂和采集蜂头部中的 *mrjp1*、*Ache*、*CSP3*、*Dop1* 等 22 个基因的表达进行了分析。【结果】实验结果表明: *mrjp2*、*mrjp4*、*mrjp6*、*mrjp7*、*LOC406114*、*Hbg3*、*Ef-1a-fl*、*Obp3*、*Wat*、*Oa1*、*TpnT* 在意大利蜜蜂哺育蜂和采集蜂头部表达差异极显著 ($P<0.01$), *mrjp1*、*mrjp3*、*Ache*、*LOC406142*、*Mblk-1*、*TpnCIIIa*、*Ant*、*CSP3*、*Dop1*、*Jhe*、*Per* 在意大利蜜蜂哺育蜂和采集蜂头部表达差异显著 ($0.01<P<0.05$)。【结论】*mrjp1*、*mrjp2*、*mrjp3*、*mrjp4*、*mrjp6*、*mrjp7*、*Ache*、*LOC406142*、*LOC406114*、*Hbg3*、*Mblk-1*、*Ef-1a-fl*、*TpnCIIIa*、*Wat*、*Ant*、*Obp3*、*CSP3*、*Dop1*、*Jhe*、*Oa1*、*Per*、*TpnT* 这 22 个基因可能与哺育蜂和采集蜂的行为转变有关。该实验结果为更好的认识蜜蜂行为转变的机制提供了思路, 同时为蜜蜂分子水平上的研究积累了数据。

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 mellifera ligustica*

LIU Fang^{1**} ZONG Chao¹ YU Lin-Sheng^{1***} SU Song-Kun²

(1. Apiculture Research Institute of Anhui Agricultural University, Hefei 230036, China; 2. College of Bee Science, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350001, China)

Abstract [Objectives] To examine the mechanism underlying in behavioral transition between nurses and foragers in *Apis mellifera ligustica*, and identify factors that may be associated with that transition. [Methods] We analyzed 22 genes from the heads of nurses and foragers of *A. mellifera ligustica* and extracted total RNAs from these two kinds of worker bees. The Real-time quantitative reverse transcription polymerase chain reaction (RT-qPCR) was used to detect differential gene expression between nurses and foragers. [Results] The results show that expression of the following genes; *mrjp2*, *mrjp4*, *mrjp6*, *mrjp7*, *LOC406114*, *Hbg3*, *Ef-1a-fl*, *Obp3*, *Wat*, *Oa1*, and *TpnT*, was significantly different between nurses and foragers ($P<0.01$). Other genes; *mrjp1*, *mrjp3*, *Ache*, *LOC406142*, *Mblk-1*, *TpnCIIIa*, *Ant*, *CSP3*, *Dop1*, *Jhe*, and *Per*, were also differentially expressed, but the difference in their expression was not as statistically significant as in the previous group of genes ($0.01<P<0.05$). [Conclusion] These 22 differentially expressed genes may play an important role in the behavioral transition between nurses and foragers. These results help us understand the mechanism underlying this transition and may help identify the transitional mechanism responsible for the division of labor in honeybees.

Key words nurses, foragers, Real-time quantitative reverse transcription polymerase chain, differential expression

* 资助项目 Supported projects: 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)

**第一作者 First author, E-mail: liufangbgh@163.com

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

收稿日期 Received: 2014-08-01, 接受日期 Accepted: 2015-01-29

蜜蜂是社会性昆虫,是公认的研究复杂社会行为进化和分子神经机制的模式生物。与其他社会性昆虫一样,蜜蜂有着与年龄相关的劳动分工,其中最为突出的就是采集和哺育行为。成年蜂一般在刚开始的 2~3 周从事巢内哺育工作,这一阶段的蜜蜂为哺育蜂,在接下来的 1~3 周,大多数的蜜蜂飞到巢外进行采集工作,这种蜜蜂被称为采集蜂。蜜蜂这种从哺育到采集的行为转变与蜜蜂生活的群体环境 (Schulz *et al.*, 1998)、日龄 (Huang *et al.*, 1994)、生理因素 (Pankiw *et al.*, 2001; Mustard *et al.*, 2010)、基因型等有密切的联系。

研究基因和行为有两种基本途径:“从行为到基因”和“从基因到行为”。前者主要是通过突变体或者人工筛选获得的个体间的行为差异,然后通过这些差异才寻找可能作用基因。前期采用高通量测序 Solexa 检测哺育蜂和采集蜂头部 mRNAs 表达谱;比较这两种蜜蜂的基因表达情况,发现两种蜜蜂表达量最高的 10 个基因中都包含多种王浆主蛋白基因、葡萄糖氧化酶基因和防卫素基因;通过差异分析筛选发现有 1 434 个基因的表达是差异显著的,即基因在哺育蜂和采集蜂之间的表达量之比(采集蜂/哺育蜂)大于 2,且错误发生率(False discovery rate, FDR)值小于 0.001,其中 1 337 在采集蜂中上调,97 个基因下调 (Liu *et al.*, 2011)。结合基因功能注释,我们筛选了 22 个基因,其功能可以与蜜蜂行为转变相关。以功能分类,这些基因主要包括王浆主蛋白基因,与酶调节相关的基因,与蜜蜂神经功能相关的基因及其他与蜜蜂采集行为相关的基因四大类别。本研究通过实时荧光定量 PCR (RT-qPCR) 我们分析这些基因在采集蜂和哺育蜂中的表达差异情况,从而找出可能与蜜蜂行为转变相关的基因。为我们接下来通过实验验证这些基因是否能够影响蜜蜂这种行为转变提供了基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 供试蜜蜂 试验采用的意大利蜜蜂由肥

东蜂场提供。分别随机选取 5 群比较强势的意大利蜜蜂,采集蜂的取样:在蜂箱的巢门口采集足部携带花粉准备回巢的蜜蜂;哺育蜂的取样:在蜜蜂春繁产浆期间,分别将蜂群中的幼虫移入产浆框中,将产浆框放入相应的蜂箱中,2 d 后,取出产浆框中,采集正在王浆框中正在吐浆的蜜蜂。所有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 总 RNA 的提取及 cDNA 合成

取 10 只蜜蜂,将蜜蜂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。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:5x 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°C 15 min (反转录反应), 85°C 5 s (反转录酶的失活反应)。所得的产物即为 cDNA,置于 -20°C 保存备用。

1.3 引物设计

利用引物设计软件设计 23 对引物,由生工生物工程(上海)有限公司合成,引物名称、引物序列以及退火温度见表 1。

1.4 实时荧光定量 PCR

以 β-actin 为内参基因检测目的基因表达量,反应体系: SYBR® Premix Ex Taq™ 10.0 μL; PCR Forward Primer (10 μmol/L) 0.4 μL; PCR Reverse Primer (10 μmol/L) 0.4 μL; ROX

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

基因名称 缩写	引物序列 (5'-3') Primer sequence (5'-3')	基因信息 Gene description
王浆主蛋白基因 Major royal proteins	<i>mrjp1</i> F:TATTCCATTGCTTCGTTACTCG R:TCTTGTCTTCTTTTCATCGCTACC	王浆主蛋白 1 Major royal protein 1
	<i>mrjp2</i> F:AACTGTACCTGTATGTGCTCCAAA R:TATAGCTTGAACAGCCAAAGACAC	王浆主蛋白 2 Major royal protein 2
	<i>mrjp3</i> F:CCTCTTCTTTCTCACGGTTTGT R:GTTCAATTCACGCAGGCAATAC	王浆主蛋白 3 Major royal protein 3
	<i>mrjp4</i> F:AATGGTTGCTGTTGATGGTATG R:CTTGCCCTCTTTTCGTCGTTAT	王浆主蛋白 4 Major royal protein 4
	<i>mrjp6</i> F:TACAGCCCTCTCACTTCTCACA R:CGACATTACTTTAGCAGACGATTG	王浆主蛋白 6 Major royal protein 6
	<i>mrjp7</i> F:AATGACGGTTGAAGGTGAAAGT R:TTTAGCGGTTGTTTGAGTGTTG	王浆主蛋白 7 Major royal protein 7
与酶调节相关基因 Enzyme-regulating genes	<i>Ache</i> F:GGTATCTTCCTTCCCAAGCATC R:GTTCCCTCGTTCTCGTTGTAC	乙酰胆碱酯酶 Acetylcholinesterase
	<i>Ant</i> F:CTATCGTGCTGCCTATTTTGGT R:CATTGCCACCTTCTGTCTTGTA	ADP/ATP 移位酶 ADP/ATP translocase
	<i>LOC406114</i> F:GATTACGGGAACGAGGCTATCT R:CCCAGTTTACCAACCATTTCAG	α -淀粉酶 Alpha-amylase
	<i>Hbg3</i> F:CAGTTTCTGCTGGATTTTCCTC R:CGAGTTCTTGTCCTTCTTTTCA	α -葡萄糖苷酶 Alpha-glucosidase
	<i>LOC406142</i> F:ATCGTGTTGGTTCTCTTCTGTG R:CGTCTCCTGTCAATCCATTCTT	抗菌肽 hymenoptaecin Hymenoptaecin
神经功能调节相关基因 Nerve-regulating genes	<i>Dop1</i> F:ATCGCTGTAGTGTGGTTGCTC R:GGATGTTCTTCTTTGCTATCGTC	多巴胺受体 1 Dopamine receptor 1
	<i>Wat</i> F:TTCTACTGGTTTTTCACAGTTCTGG R:CATTGCTACCGCTTGCTAATA	工蜂触角转录本 Worker-enriched antennal transcript
	<i>Jhe</i> F:TTCTTATGCGTTACCTCCAGT R:ATACAGACAATCTTCGGCACCT	保幼激素酯酶 Juvenile hormone esterase
	<i>Oa1</i> F:GCCAACTAAAATGCGAGAGC R:ATAGACAGCGAGTATCACGAGCAC	章鱼胺受体 1 Octopamine receptor1
	<i>Mblk1</i> F:AACACCAAATACGACCCAAAAC R:CAACAGAGCCTTCTCCACTTCT	神经转录因子 mblk-1 A putative transcription factor mblk-1
	<i>Ef-1a-f1</i> F:GCTCTTCGTTTACCGCTTCAG R:TAACCACGCCTCAACTCTTTC	翻译延长因子 eEF-1 α 链 Translation elongation factor eEF-1alpha chain
其他相关基因 Other genes	<i>CSP3</i> F:TGATGGATGAAGGAAGATGC R:CTTGTCTGGGTCGTATTTGTTG	触角特异性蛋白 3c 前体 Antennal-specific protein 3c precursor
	<i>Obp3</i> F:CCATCGTCATCCTACTTTTCAC R:TTATCGTTCATCAGAGCCAATC	气味结合蛋白 3 Odorant binding protein 3
	<i>TpnCIIIa</i> F:GCCCCGATTCTTAGTGAGGA R:GTTATGTAGCCGTTCCCTTCC	肌钙蛋白 C IIIa Troponin C type IIIa
	<i>TpnT</i> F:AAAGAGCAAGCGAGCAAGAAG R:CGGTCTCCAGTTTGACTATGG	肌钙蛋白 T Troponin T
	<i>Per</i> F:CGGGATACAGAACGAGACTAC R:ACACTTCCTCGCTAATGTTGGT	时钟基因 Period clock protein
	<i>β-actin</i> F:TGCCAACACTGTCCTTTCTG R:AGAATTGACCCACCAATCCA	管家基因 Reference gene

Reference Dye 0.4 μL ; DNA 模板 2.0 μL ; dH_2O (灭菌蒸馏水) 6.8 μL ; 总体积 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: 第一步: 预变性 Reps: 95 $^{\circ}\text{C}$ 30 s; 第二步: PCR 反应 Reps: 40 循环 95 $^{\circ}\text{C}$ 5 s; 退火 (不同温度引物按照其退火温度设置) 30 s; 第三步: 溶解曲线。

1.5 统计分析

本实验分别随机抽取 5 群意大利蜜蜂, 通过实时荧光定量 PCR, 电脑软件通过 CT 值法 (Arocho *et al.*, 2006) 可以计算分别得到采集蜂和哺育蜂中这 22 个基因的相对表达量, 用 SPSS 软件进行独立样本 *t*-检验, 得出 *P* 值, 从而得出表达差异性。

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。结果见图 1: *mrjp1*、*mrjp2*、*mrjp3*、*mrjp4*、*mrjp7* 在意大利蜜蜂哺育蜂中的表达量都高于采集蜂。*mrjp1* 和 *mrjp3* 在哺育蜂和采集蜂中表达差异显著, *mrjp2*、*mrjp4*、*mrjp6*、*mrjp7* 在哺育蜂和采集蜂中表达差异极显著。

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。结果显示: *Ache*、*LOC406114*、*LOC406142*、*Hbg3* 在意大利蜜蜂采集蜂中的表达量都高于哺育蜂, *LOC406114*、*Hbg3* 在哺育蜂和采集蜂中表达差异极显著, *Ache*、*Ant*、*LOC406142* 在哺育蜂和采集蜂中表达差异显著 (图 2)。

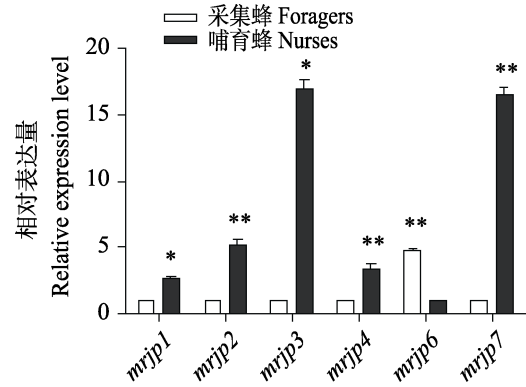


图 1 各王浆主蛋白基因的在意大利蜜蜂哺育蜂和采集蜂中的表达

Fig. 1 The relative expression level of *mrjps* in nurses and foragers of *Apis mellifera ligustica*

图中结果显示的是平均值±标准误。柱上标有“*”说明表达差异显著 ($P<0.05$), 标有“**”说明表达差异极显著 ($P<0.01$)。下图同

The values are shown as means±SE, while histograms with “*” indicate significantly different at 0.05 level ($P<0.05$); with “**” indicate significantly different at 0.01 level ($P<0.01$). The same below.

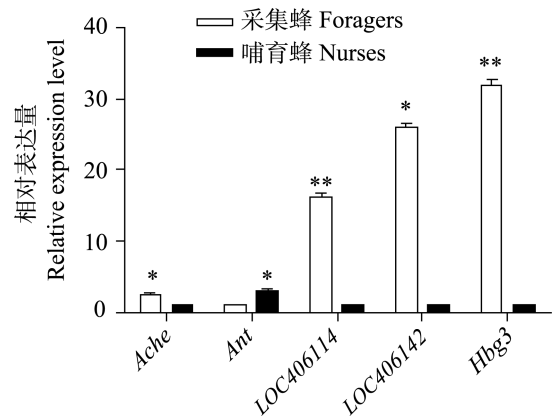


图 2 *Ache*、*Ant*、*LOC406142*、*LOC406114*、*Hbg3* 的在意大利蜜蜂哺育蜂和采集蜂中的表达

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

2.3 神经功能调节相关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。结果显示: 对于意大利蜜蜂, *Dop1*、*Oa1*、*Mblk-1*、*Ef-1a-flt* 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*、*Mblk-1* 在采集蜂和哺育蜂中表达差异显著, *Oa1*、*Ef-1a-f1*、*Wat* 在采集蜂和哺育蜂中表达差异极显著 (图 3)。

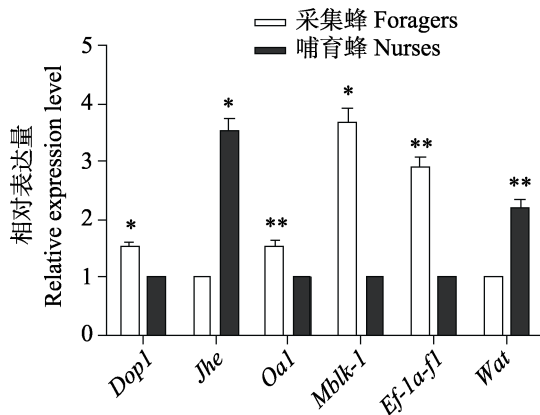


图 3 *Dop1*、*Jhe*、*Oa1*、*Mblk-1*、*Ef-1a-f1*、*Wat* 在意大利蜜蜂哺育蜂和采集蜂中的表达

Fig. 3 The relative expression level of *Dop1*, *Jhe*, *Oa1*, *Mblk-1*, *Ef-1a-f1*, *Wat* in foragers and nurses of *Apis mellifera ligustica*

2.4 *CSP3*、*Per*、*TpnCIIIa*、*TpnT*、*Obp3* 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。结果显示：对于意大利蜜蜂, *CSP3*、*Per*、*TpnCIIIa*、*TpnT* 在采集蜂中的表达量均高于哺育蜂, 而 *Obp3* 采集蜂中的表达量低于哺育蜂。*CSP3*、*Per*、*TpnCIIIa* 在采集蜂和哺育蜂中表达差异显著, *TpnT*、*Obp3* 在采集蜂和哺育蜂中表达差异极显著 (图 4)。

3 讨论

3.1 王浆主蛋白基因

mrjp1、*mrjp2*、*mrjp3*、*mrjp4*、*mrjp7* 的表达量都是哺育蜂偏高, 而 *mrjp6* 的在采集蜂中表达量偏高。

哺育蜂主要从事吐浆哺育幼虫的工作, 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)。随着年龄的增长, 蜜蜂的咽下腺不断地萎缩, 自然地王浆蛋白分泌减

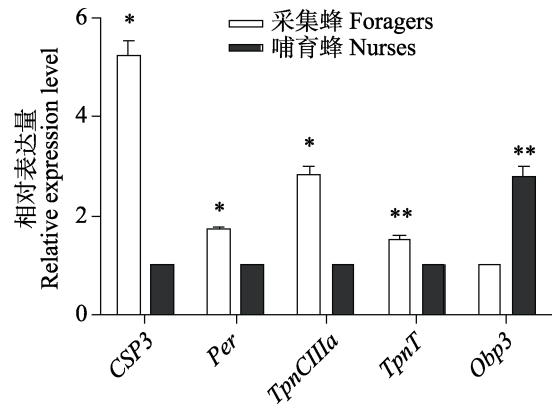


图 4 *CSP3*、*Per*、*TpnCIIIa*、*TpnT*、*Obp3* 的在意大利蜜蜂哺育蜂和采集蜂中的表达

Fig. 4 The relative expression level of *CSP3*, *Per*, *TpnCIIIa*, *TpnT*, *Obp3* in foragers and nurses of *Apis mellifera ligustica*

少。而本研究结果显示哺育蜂中 *mrjp1*、*mrjp2*、*mrjp3*、*mrjp4*、*mrjp7* 的表达量都高于在采集蜂中的表达。然而, *mrjp6* 在采集蜂和哺育蜂中的相对表达量说明了 *mrjp6* 很有可能除了编码幼虫食物蛋白之外的其他功能 (Schönleben *et al.*, 2007), 至于什么功能目前还没有相关研究。目前 *mrjp1* 的研究相对比较多 (Hayashi *et al.*, 2011), 目前还有研究表明 *mrjp1* 可能与蜜蜂的学习能力有关 (Hojo *et al.*, 2010)。现在王浆主蛋白的功能研究比较热, 有报道称在蜜蜂大脑的蘑菇体发现 MRJP1 的表达, 这表明 MRJP1 可能与蜜蜂行为调控行为 (Srisuparb *et al.*, 2003)。相信随着王浆主蛋白功能逐渐的发现, 王浆主蛋白基因与蜜蜂行为转变的关系将会慢慢被揭露。

3.2 与酶调节相关的基因

Ache、*LOC406114*、*LOC406142*、*Hbg3* 在采集蜂中的表达量都高于哺育蜂, *Ant* 基因在哺育蜂中的表达量高于采集蜂, 而且 5 个基因在采集蜂和哺育蜂中表达差异都显著。

Ant 基因主要调控 ADP/ATP 移位酶, 而该基因在哺育蜂中的表达量较高, 而最有可能与这一情况相吻合的解释就是采集蜂的王浆腺萎缩, 而哺育蜂的王浆腺分泌活动旺盛, 导致能量转换较多。当然这只是推测, 该基因的功能研究尚属于

空白。 α -淀粉酶、葡萄糖氧化酶、 α -葡萄糖苷酶这 3 种碳水化合物代谢酶在采集蜂将花蜜中的蔗糖转化为蜂蜜中的葡萄糖、果糖的过程中起着重要的作用 (Kilaso *et al.*, 2012)。这 3 种酶在采集蜂的咽下腺细胞都有表达, 而在哺育蜂中没有表达。这与 *LOC406114*、*Hbg3* 的表达情况一致, 由此可以推断出这 2 个基因很有可能在蜜蜂这种行为转换中起作用。乙酰胆碱酶的变化能够控制胆碱能神经递质的变化, 而蜜蜂脑部的乙酰胆碱的变化能够影响蜜蜂的嗅觉学习和记忆 (Galizia *et al.*, 2012)。*LOC406142* 在其他昆虫体内也有发现, 它调控 Hymenoptaecin 多肽的合成, 而 Hymenoptaecin 对细胞膜的通透性有破坏作用, 它通过影响细胞的一些重要功能, 从而表现出较强的抑菌效果, 由此推测蜜蜂的行为成熟也伴随着抑菌能力的增强 (Casteels *et al.*, 1993)。

3.3 调节神经功能相关基因

Dop1、*Oa1*、*Mblk-1*、*Ef-1a-fl* 在采集蜂中的表达量都高于哺育蜂, *Jhe*、*Wat* 在采集蜂中的表达量低于哺育蜂, 而且 6 个基因在采集蜂和哺育蜂中表达差异都显著。

生物胺 (多巴胺, 章鱼胺) 在行为调节方面的作用是公认的 (Huber, 2005)。蜜蜂头部的 DA、OA 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。本实验的研究结果与之前的报道 (Schulz and Robinson, 2001) 结果完全吻合。蜜蜂头部的章鱼胺、多巴胺和 5-羟色胺水平受到环境、日龄、蜂群资源等因素的影响 (Harris and Wooding, 1992), 所以有可能是由其他因素影响生物胺的变化从而来影响蜜蜂行为的转变。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

龄的增加而增加 (Jassim *et al.*, 2000 ;Li, 2013)。这 2 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。*Ef-1a-fl* 与调控翻译延长因子 (EF1a) 有关, EF1a 除了参与同翻译控制有关的信号传导, 还参与细胞生长、应激反应以及运动性有关的信号传导 (周冰等, 2007), 虽然在蜜蜂上的研究还属于空白, 但是极有可能与蜜蜂行为转变有关联。*Wat* 的功能尚不明确, 但是这个基因在哺育蜂和采集蜂中表达差异极其显著, 所以这个基因很有可能与蜜蜂行为转变有很大关联。而 *Wat* 基因尤其值得注意, 因为我们都知蜜蜂随着年龄的增长, 行为逐渐成熟, 一般基因的相对表达量都是采集蜂偏高, 而 *Wat* 却正好相反, 很有可能这个基因在蜜蜂行为转变地过程中扮演重要的角色。

3.4 其他检测基因

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 (Schippers *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)。*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。*Per* 是参与昼夜调节的动物基因。哺育蜂中巢内进行采集工作, 没有明显的昼夜规律, 而采集蜂则都是白天出去采集。有研究表明多巴胺的含量可能影响脑部时钟基因的表达 (Bloch and Meshi, 2007), 同时 *Per* 基因的表达对环境变化很敏感。从现有的资料来看, *Per* 很有可能影响蜜蜂这种昼夜转换的行为活动, 但是还是要通过以后对其想编码的蛋白的功能进行研究才能下

结论。CSP3 基因编码化学感应蛋白, 而化学感应蛋白在昆虫中的主要是传递化学信息来寻找食物、巢穴等 (Iovinella *et al.*, 2011)。采集蜂外出采集需要寻找蜜源以及寻找回巢的路线, 所以采集蜂中的化学感应蛋白可能比哺育蜂多, 这正好与采集蜂中的 CSP3 的表达量高于哺育蜂一致。Obp3 基因主要控制的是气味结合蛋白, 另外最近研究表明 Obp3 基因还有抗螨的作用 (陈杨, 2005), 本研究中该基因在意大利蜜蜂哺育蜂中的相对表达量高于采集蜂, 这一结果与该基因在中华蜜蜂哺育蜂和采集蜂中的表达情况相左 (宗超等, 2014), 这至少说明了一点 Obp3 这个基因至少在蜜蜂由哺育蜂转变为采集蜂的过程中起的作用比较小。

参考文献 (References)

- Arocho A, Chen B, Ladanyi M, Pan Q, 2006. Validation of the 2-DeltaDeltaCt calculation as an alternate method of data analysis for quantitative PCR of BCR-ABL P210 transcripts. *Diagnostic Molecular Pathology*, 15(1): 56–61.
- Ament SA, Corona M, Pollock HS, Robinson GE, 2008. Insulin signaling is involved in the regulation of worker division of labor in honey bee colonies. *PNAS Proceeding of National Academy of Sciences of the United States America*, 105(11): 4226–4231.
- Bloch G, Meshi A, 2007. Influences of octopamine and juvenile hormone on locomotor behavior and period gene expression in the honeybee, *Apis mellifera*. *Journal of Comparative Physiology A, Neuroethology, Sensory Neural, and Behavioral Physiology*, 193(2): 181–199.
- Casteels P, Ampe C, Jacobs F, Tempst P, 1993. Functional and chemical characterization of Hymenoptaecin, an antibacterial polypeptide that is infection-inducible in the honeybee (*Apis mellifera*). *The Journal of Biological Chemistry (USA)*, 268(10): 7044–7054.
- Chen Y, 2013. Analysis on cloning and expression pattern of obp3 of *Apis cerana* Fabricius with different mite resisting property. Master Degree Dissertation. Anhui: Anhui Agricultural University. [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. 安徽: 安徽农业大学.]
- Galizia CG, Eisenhardt D, Giurfa M, 2012. Honeybee Neurobiology and Behavior. New York: Springer-Verlag Press. 190–193.
- Harris JH, Wooding J, 1992. Effects of stress, age, season, and source colony on levels of octopamine, dopamine and serotonin in the honey bee (*Apis mellifera* L.) brain. *Journal of Insect Physiology*, 38(1): 29–35.
- Hayashi T, Takamatsu N, Nakashima T, Arita T, 2011. Immunological Characterization of Honey Proteins and Identification of *mrjp1* as an IgE-Binding Protein. *Bioscience Biotechnology and Biochemistry*, 75(3): 556–560.
- 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(3): 195–202.
- Huang ZY, Robinson GE, Brost DW, 1994. Physiological correlates of division of labor among similarly aged honey bees. *Journal of Comparative Physiology A, Neuroethology, Sensory Neural, and Behavioral Physiology*, 174(6): 731–739.
- 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.
- Iovinella I, Dani FR, Niccolini A, Sagana S, Michelucci E, Gazzano A, Turillazzi S, Felicioli A, Pelosi P, 2011. Differential expression of odorant-binding proteins in the mandibular glands of the honey bee according to caste and age. *Journal of Proteome Research*, 10(8): 3439–3449.
- 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.
- Kilaso M, Kaewmuangmoon J, Karnchanat A, Sangvanich P, Chanchao C, 2011. Expression and characterization of *Apis dorsata* α -glucosidase III. *Journal of Asia-Pacific Entomology*, 14(4): 479–488.
- Li WF, Huang ZY, Liu F, Li Z, Yan L, Zhang S, Chen S, Zhong B, 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.
- Liu F, Li WF, Li ZG, Zhang SW, Chen SL, Su SK, 2011. High-abundance mRNAs in *Apis mellifera*: comparison between nurses and foragers. *Journal of Insect Physiology*, 57(2): 274–279.
- Liu Z, 2012. Transcription analysis of *mrjp9* in honeybee *Apis mellifera*. Master Degree Dissertation. Fujian: Fujian Agriculture and Forestry University. [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. 福建: 福建农林大学.]
- Menzel R, 2001. Searching for the memory trace in a mini-brain, the honeybee. *Learning & Memory (Cold Spring Harbor, N.Y.)*, 8(2): 53–62.
- Mustard JA, Pham PM, Smith BH, 2010. Modulation of motor behavior by dopamine and the D1-like dopamine receptor AmDOP2 in the honey bee. *Journal of Insect Physiology*, 56: 422–430.
- Pankinw T, Waddington KD, Page RE, 2001. Modulation of sucrose response thresholds in honey bees (*Apis mellifera* L.): influence of genotype, feeding, and foraging experience. *Journal of Comparative Physiology A, Neuroethology, Sensory Neural, and Behavioral Physiology*, 187(4): 293–301.
- Schippers MP, Dukas R, McClelland GB, 2010. Lifetime- and caste-specific changes in flight metabolic rate and muscle biochemistry of honeybees, *Apis mellifera*. *Journal of Comparative Physiology*, 180(1): 45–55.
- Schönleben S, Sickmann A, Mueller MJ, Reinders J, 2007. Proteome analysis of *Apis mellifera* royal jelly. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 389(4): 1087–1093.
- Schulz DJ, Huang ZY, Robinson GE, 1998. Effects of colony food shortage on behavioral development in honey bees. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 42(5): 295–303.
- Schulz DJ, Robinson GE, 2001. Octopamine influences division of labor in honey bee colonies. *Journal of comparative physiology A, Neuroethology, Sensory Neural, and Behavioral Physiology*, 187(1): 53–61.
- Srisuparbh D, Klinbunga S, Wongsiri S, Sittipraneed S, 2003. Isolation and characterization of major royal jelly cDNA and proteins of the honey bee (*Apis cerana*). *Journal of Biochemistry and Molecular Biology*, 36(6): 572–579.
- Zhou B, Cao C, Liu CX, 2007. Advances in research on translation elongation factor 1A lpha. *Letters in Biotechnology*, 118(2): 281–284. [周冰, 曹诚, 刘传喧, 2007. 翻译延伸子 1A 的研究进展. *生物技术通讯*, 118(2): 281–284.]
- Zong C, Liu F, Yu LS, Wang TS, Shi TF, 2014. Analysis of differentially expressed genes associated with the behavioral transition between nurses and foragers in *Apis cerana cerana*. *Chinese Journal of Applied Entomology*, 51(2): 440–447. [宗超, 刘芳, 余林生, 汪天澍, 施腾飞, 2014. 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. *应用昆虫学报*, 51(2): 440–447.]