研究论文

基于代谢组学的中华蜜蜂群势强弱相关机制研究*

邓晓银[1**] 武 敏[2] 徐 凯[3] 牛庆生[3] 郭丽娜[1***] 郭 媛[2***]

（1. 山西农业大学动物科学学院，太谷 030801；2. 山西农业大学园艺学院，太谷 030801；
3. 吉林省养蜂科学研究所，吉林省蜜蜂遗传育种重点实验室，吉林 132108）

摘 要 【目的】旨在探究中华蜜蜂 *Apis cerana cerana* 强群和弱群的相关代谢差异及潜在分子调控机制。【方法】通过液相色谱-质谱联用（Liquid chromatography-mass spectrometry，LC-MS）联用的非靶向代谢组学筛选中华蜜蜂强群和弱群之间的差异代谢物，并进行 KEGG 富集分析。利用生化方法测定谷胱甘肽 *S*-转移酶（GST）、超氧化物歧化酶（SOD）和细胞色素 P450（CYP450）活性。【结果】中华蜜蜂强群和弱群的工蜂在代谢组学检测到的正、负离子模式下分别有 616 和 212 个差异代谢物，注释后筛选到甜菜碱、黄酮类化合物、赖氨酸磷脂酸等与蜜蜂抗氧化、抗炎、抗菌、防止细胞凋亡相关的代谢物。中华蜜蜂强弱群间的差异代谢物显著富集于 CYP450、AMPK 信号通路、谷胱甘肽代谢、精氨酸生物合成、生热作用、叶酸生物合成等代谢通路。此外，工蜂强群体内 CYP450 浓度，SOD 及 GST 活性均高于弱群。【结论】中华蜜蜂强群与弱群在代谢物组成上存在显著差异，强群中工蜂的抗氧化应激、能量代谢、抵御外界环境温度和有害物质侵害、抗炎抗菌的能力更强。

关键词 中华蜜蜂；强群；弱群；非靶向代谢组；差异代谢物

Using metabolomics to identify factors correlated with colony strength in *Apis cerana ceran*

DENG Xiao-Yin[1**] WU Min[2] XU Kai[3] NIU Qing-Sheng[3] GUO Li-Na[1***] GUO Yuan[2***]

(1. College of Animal Science, Shanxi Agricultural University, Taigu 030801, China; 2. College of Horticulture, Shanxi Agricultural University, Taigu 030801, China; 3. Jilin Provincial Key Laboratory of Bee Genetics and Breeding, Apiculture Science Institute of Jilin Province, Jilin 132108, China)

Abstract **[Aim]** To investigate metabolic differences and potential regulatory mechanisms related to colony strength in *Apis cerana cerana*. **[Methods]** Metabolites in strong and weak colonies were screened using non-targeted metabolomics and liquid chromatography-mass spectrometry (LC-MS), after which KEGG enrichment analysis was performed. Glutathione *S*-transferase (GST), superoxide dismutase (SOD) and cytochrome P450 (CYP450), activity were determined using biochemical methods. **[Results]** In positive and negative ion modes, 616 and 212 distinct metabolites were identified in workers from strong and weak colonies. After annotation, betaine, flavonoids, lysoPA (0:0/18:2(9*Z*,12*Z*)), and other metabolites related to antioxidant, anti-inflammatory, antibacterial and anti-apoptosis, were identified. Differential metabolites were significantly enriched in six metabolic pathways, including the metabolism of xenobiotics by cytochrome P450, the AMPK signaling pathway, the glutathione metabolism, arginine biosynthesis, thermogenesis and folate biosynthesis. In addition, CYP450, SOD and GST

*资助项目 Supported projects：国家重点研发计划（2022YFD1600201-3）；国家现代农业产业技术体系项目（CARS-44-KXJ2）；山西省应用基础研究计划（青年）项目（20210302124508）；山西农业大学校地合作项目 (XDHZGXY2024-02）

**第一作者 First author，E-mail：1063681471@qq.com

***共同通讯作者 Co-corresponding authors，E-mail：linaguo@126.com；yysgy3@163.com

收稿日期 Received：2024-10-10；接受日期 Accepted：2025-03-12

activity was higher in strong colonies than in weak ones. **[Conclusion]** There were significant differences in the metabolites of strong and weak *A. c. cerana* colonies. Worker bees in strong colonies had a stronger energy metabolism, and were better able to resist oxidative stress, extreme temperatures, exposure to harmful substances, inflammation and bacterial infection.

Key words *Apis cerana cerana*; strong group; weak group; non-targeted metabolome; differential metabolites

中华蜜蜂 *Apis cerana cerana* 嗅觉敏锐，抗寒耐热及采集能力强，在维护生态平衡及农业增产促收等方面发挥重要作用（Hemanth *et al.*，2020）。相较于西方蜜蜂 *Apis mellifera*，中华蜜蜂群势发展能力相差较大，同一蜂场中不同蜂群的群势存在极大的差异（Fang *et al.*，2022）。在养蜂生产中，强群是蜂群在恶劣环境下生存的基础，直接关系到蜂群的繁殖力和生产力。群势大的蜂群产育能力强，在生产期能采集到足量的蜂蜜和蜂花粉，适应性和抗逆性强；群势小的蜂群采集力弱、越冬困难、易感染疾病且易受到天敌的危害，严重时导致可导致整个蜂群死亡（薛运波，2017）。维持强群已成为提高蜜蜂抗病力、生存能力及生产力的必要条件，因此中华蜜蜂养殖中多将提高群势作为饲养管理的首要条件（Walker，2020；Chabert *et al.*，2021）。

影响中华蜜蜂群势的因素有很多，如地域差异、环境因素、温度变化、蜂群内部因素、遗传多样性及蜜源条件等均能导致蜜蜂群势的显著变化（张锦艳，2010；汪天澍等，2015）。研究认为，工蜂的抗寒、抗病能力是导致同一蜂场内蜜蜂群势明显差异的一个主要因素（Khan *et al.*，2022）。如蜜蜂强群中的工蜂在不同越冬时期的过冷却点与冰点均低于弱群，表明强群具有更强抗寒能力，拥有更强的物质代谢和能量储备能力，能够有效维持巢内温度，以保证次年春季蜂群的快速繁殖和夏季生产期采集效率（宋昌云等，2015；Qin *et al.*，2019）；中华蜜蜂囊状幼虫病会感染 1-3 日龄幼虫，使其不能化蛹，造成蜂群的成虫数量减少，最终导致群势快速下降（Feng *et al.*, 2022）；蜜蜂在采集红枣后易出现蜜蜂枣花病，严重时蜜蜂采集蜂数量减少 30%-50%，直接导致群势剧烈下降（Du *et al.*，2024）。截止目前，暂无中华蜜蜂群势差异相关分子调控机制的研究报道。

吕梁山区是中国北方中华蜜蜂遗传资源最丰富的地区之一，拥有枣树、向日葵、荆条、刺槐和六道木等多种蜜粉源，为中华蜜蜂提供了良好的生存环境。蜜蜂养殖一直是吕梁山区的特色养殖产业，在提高当地农民收入、促进乡村振兴中发挥重要作用（李烨，2018）。本研究选取吕梁山区饲养的中华蜜蜂为研究对象，利用液相色谱-质谱联用的非靶向代谢组学技术筛选差异代谢物，探究中华蜜蜂强群与弱群相关的调控机制，为增强蜂群生存能力和适应性，优化该地区中华蜜蜂饲养管理水平提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 供试昆虫

试验蜂群选自吕梁山区子洲县（37°61′06″ N，110°03′52″ E）蜂农饲养的中华蜜蜂。于 2023 年 5 月进行样本采集，根据吕梁山区中华蜜蜂群的发展规律，将脾数 > 8 的中华蜜蜂群定为强群（S 组），将脾数 < 5 的中华蜜蜂群定为弱群（W 组），每组各取 6 群，每群随机采集 30 头工蜂，作为一个生物学重复。将样本迅速放入液氮，并于 - 80 ℃保存，取整头中华蜜蜂工蜂用于测序，每组各 6 个生物学重复。

1.2 主要试剂与仪器

超氧化物歧化酶（Superoxide dismutase，SOD）试剂盒（TW30284）、昆虫细胞色素 P450（Cytochrome P450，CYP450）酶联免疫检测试剂盒（TW60093H）、谷胱甘肽 *S*-转移酶（Glutathione *S*-transferase，GST）试剂盒（TW30240）（购自苏州科铭生物技术有限公司）、超纯水、PBS 溶液、高速离心机（5417R）及 BioTek-SynergyTMH1 全自动酶标仪。

1.3 代谢组检测

试验过程包括代谢物提取、液相色谱及质谱采集条件，试验方法与贺冰心等（2023）试验过

程一致。

1.4　酶活测定

参照试剂盒说明书方法对中华蜜蜂强弱群工蜂的 CYP450 酶活及 SOD 和 GST 生化指标测定，每个样本设置 3 个生物学重复。

1.5　数据分析

使用 MassLynx V4.2 采集原始数据，Progenesis QI 软件做峰提取、峰对齐等数据操作。利用 prcomp（R base function）3.6.1 软件进行主成分分析（Principal component analysis，PCA）、ropls1.6.2 软件进行偏最小二乘法判别分析（Partial least squares discriminant analysis，OPLS-DA）模型分析及变量重要性投影（Variable importance in project，VIP）值。根据 *t* 检验计算得到两组间不同代谢物的 *P* 值，再结合两组间代谢物的差异倍数（Fold change，FC），将同时满足 FC > 2.0、VIP > 1.0 和 $P < 0.05$ 条件的视为差异代谢物。利用代谢通路数据库 KEGG pathways（https://www.genome.jp/kegg/）进行差异代谢物分类注释。使用 SPSS 21.0 对强群和弱群酶活及生化指标 OD 值进行 *t* 检验，Graphpad prism 10.1.2 作图。

2　结果与分析

2.1　主成分分析

基于 LC-QTOF 平台对中华蜜蜂 6 个强群和 6 个弱群共 12 个样本进行代谢组定性和定量分析，正离子模式下共检测到 15 683 个峰，注释到 4 059 个代谢物；负离子模式下共检测到 4 655 个峰，注释到 1 763 个代谢物。主成分分析结果显示，正离子模式下第一和第二主成分的得分为 22.28%和 20.9%（图 1：A）；负离子模式下第一和第二主成分的得分为 31.27%和 19.84%（图 1：B）。通过主成分分析发现，强群和弱群能被明显区分，说明中华蜜蜂强群和弱群中工蜂体内代谢物含量存在显著差异。

2.2　数据质量控制与分析方法验证

构建强群和弱群的 OPLS-DA 模型，经 7 次循环交互验证，正、负离子模式下 W2Y 分别为 0.993 和 0.905，均接近于 1；正、负离子模式下 S2Y 分别为 0.645 和 0.619，均大于 0.5，说明 OPLS-DA 得到的模型有效。使用 200 次置换检验验证模型（图 2：A，B），图中 W2Y 和 S2Y 越接近于 1，表明构建的 2 个模型质量较好，结果稳定可靠即可以用此模型筛选差异代谢物。

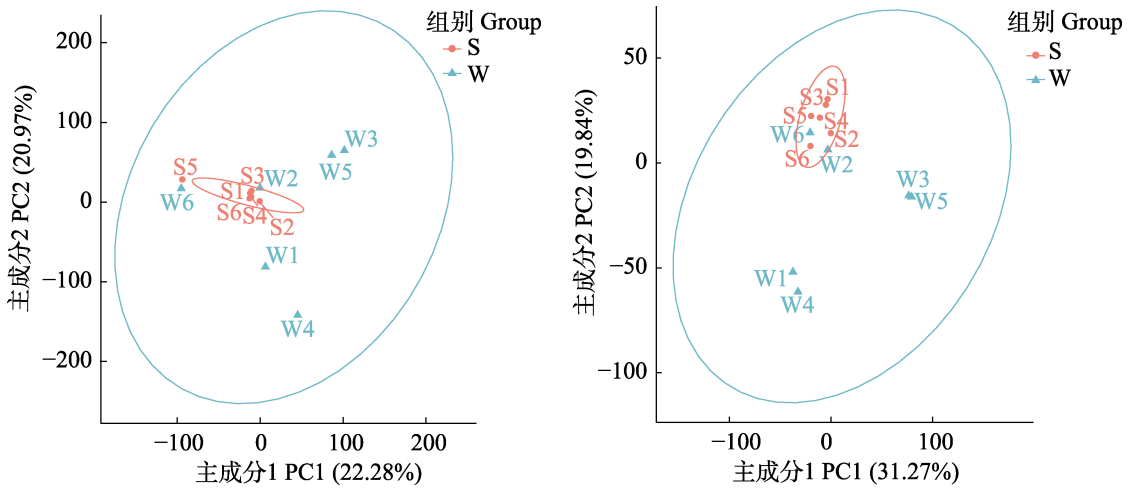

图 1　正（A）、负（B）离子模式下强弱群差异表达代谢物 PCA 得分图

Fig. 1　PCA score plots of differentially expressed metabolites in strong and weak groups of each sample under positive (A) and negative (B) modes

S 表示强群，W 表示弱群。下图同。

S represents the strong group, and W represents the weak group. The same below.

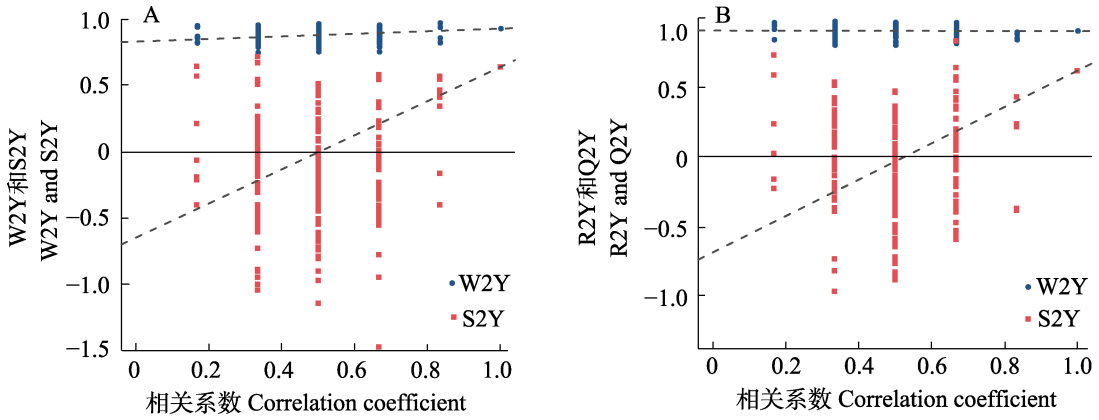

图 2　正（A）、负（B）离子模式下强弱群代谢谱的置换检验结果

Fig. 2　Replacement test results of metabolic profile of each sample under positive (A) and negative (B) modes

S2Y 和 W2Y 分别为强群和弱群权重 Y 的方差解释率。

S2Y and W2Y are the variance interpretation rates of strong group and weak group weight Y, respectively.

2.3　差异代谢物分析

对中华蜜蜂强弱群之间代谢物的相对表达量进行分析，正离子模式下筛选到 616 个差异代谢物，其中相对于弱群组，强群组上调的有 420 种，下调的有 196 种（图 3：A）；负离子模式下筛选获得 212 个差异代谢物，上调的有 81 种，下调的有 131 种（图 3：B）。

对正、负离子模式下差异最显著的 15 个代谢物进行分析（表 1）。发现正离子模式下，最显著的 15 个代谢物均为显著上调；负离子模式下，两组间差异代谢物上调的有 5 种，下调的有 10 种。对正、负离子模式下差异最显著的 15 个代谢物进行注释分析后，筛选到异鼠李素、异鼠李素-7-葡萄糖苷、4,7-二羟基异黄酮、去甲红镰霉素-6-β-龙胆二糖、赖氨酸磷脂酸及羟基茜草素等抗氧化、抗炎、抗菌、防止细胞凋亡的代谢物。

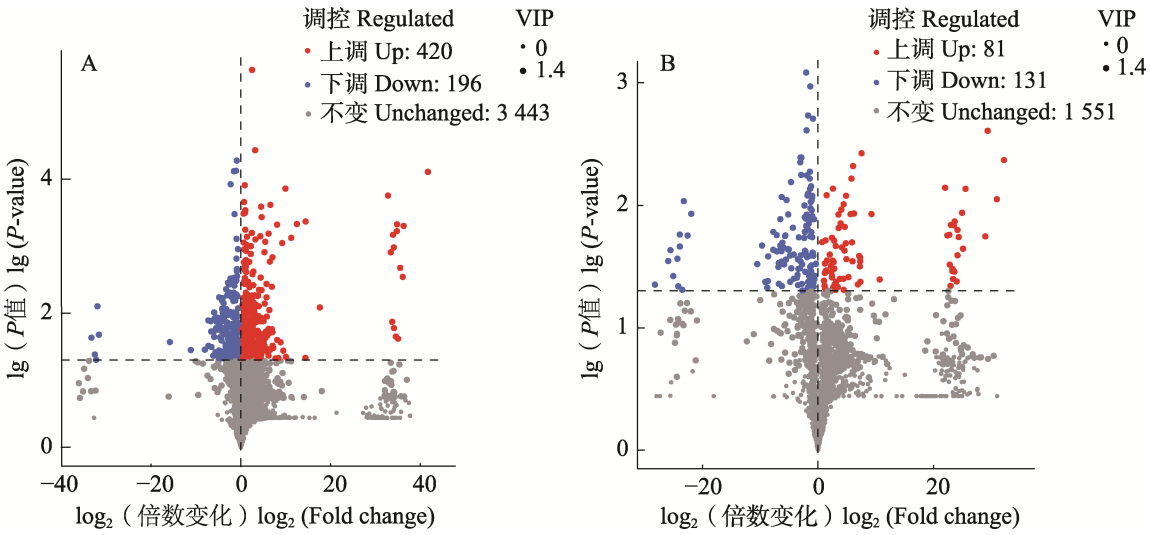

图 3　正（A）、负（B）离子模式下强弱群差异代谢物火山图

Fig. 3　Volcanic maps of differential metabolites between the two groups under positive (A) and negative (B) modes

红色的点代表上调差异累积代谢物；蓝色的点代表下调差异表达代谢物；

灰色的点代表检测到但差异累积不显著的代谢物。

The red dots represent up-regulated differentially expressed metabolites; The blue dots represent down-regulated differentially expressed metabolites; The gray dots represent metabolites that are detected but not significantly different.

表 1　正负离子模式下差异最显著的 15 种差异代谢物

Table 1　The 15 different metabolites with the most significant difference under positive and negative modes

正离子模式 Positive modes				负离子模式 Negative modes			
代谢物 Metabolites	$\log_2$（倍数变化）$\log_2$ (Fold change)	*P* 值 *P*-value	趋势 Trend	代谢物 Metabolites	$\log_2$（倍数变化）$\log_2$ (Fold change)	*P* 值 *P*-value	趋势 Trend
甜菜碱 Betaine	2.51	2.35×10^{-6}	上调 Up	N-乙酰基-DL-色氨酸 O-N-Acetyl-DL-tryptophan	7.54	3.76×10^{-3}	上调 Up
山柰酚-3-O-β-D-葡萄糖基(1-2)-A-L-鼠李糖苷 Kaempferol 3-xylosyl-(1->6)-glucosyl-(1->2)-rhamnoside	41.73	7.79×10^{-5}	上调 Up	5′-羟基吲哚乙酸 5′-Hydroxycastavinol	-4.66	6.47×10^{-3}	下调 Down
4,7-二羟基异黄酮 2′-Hydroxydaidzein 7,4′-di-O-glucoside	9.94	1.38×10^{-4}	上调 Up	甲基谷硫磷 Azinphosmethyl oxon	-6.28	8.57×10^{-3}	下调 Down
3′,5′-二羟基苯基-γ-戊内酯-O-硫酸酯-O-甲基酯 5-(3′,5′-Dihydroxyphenyl)-gamma-valerolactone-O-sulphate-O-methyl	32.82	1.76×10^{-4}	上调 Up	赖氨酸磷脂酸 LysoPA(0:0/18:2(9*Z*,12*Z*))	-2.87	1.96×10^{-3}	下调 Down
抗荚膜菌素 L-Anticapsin	3.18	3.70×10^{-5}	上调 Up	7-磷酸 2-表异酶 8-2-epi-5-epi-Valiolone 7-phosphate	-5.43	9.08×10^{-3}	下调 Down
异鼠李素-7-葡萄糖苷 Isorhamnetin 7-glucoside	6.58	2.42×10^{-4}	上调 Up	邻去甲基奎尼丁 O-Desmethylquinidine	29.3	2.46×10^{-3}	上调 Up
异鼠李素 Isorhamnetin	4.52	2.57×10^{-4}	上调 Up	异牡荆素-2″-O-葡萄糖苷 Isovitexin 2″-O-glucoside	32.18	4.28×10^{-3}	上调 Up
BR-氧杂蒽酮 BR-Xanthone B	34.83	4.72×10^{-4}	上调 Up	磷脂酰丝氨酸 PA(P-16:0/20:4(6*Z*,8*E*,10*E*,14*Z*)-2OH(5*S*,12*R*))	21.99	7.21×10-3	上调 Up
N-乙酰-L-酪氨酸 N-Acetyl-L-tyrosine	2.87	1.23×10^{-4}	上调 Up	丙烯基丙基二硫醚 1-(1-Propenylthio)propyl propyl disulfide	-21.94	1.17×10^{-2}	下调 Down
果芸香碱 Lathycarpin	4.34	7.10×10^{-4}	上调 Up	大果桉醛 IMacrocarpal I	-2.70	1.85×10^{-3}	下调 Down
(3*S*,7*R*)-16-羟基-11-甲氧基-6,8,19-三氧杂五环 (3*S*,7*R*)-16-Hydroxy-11-methoxy-6,8,19-trioxapentacyclo	36.30	4.98×10^{-4}	上调 Up	羟基茜草素 Purpurin	-3.02	4.08×10^{-3}	下调 Down
异牡荆素 Isovitexin	11.23	7.52×10^{-4}	上调 Up	吡唑二苯 Bisazobiphenyl	-3.05	4.46×10^{-3}	下调 Down
5-甲氧基色胺 5-Methoxyindoleacetate	3.24	7.93×10^{-4}	上调 Up	大分霉素 B Macromomycin B	-2.87	4.07×10^{-3}	下调 Down
dTDP-4-氨基-2,3,4,6-四脱氧-D-葡萄糖 dTDP-4-amino-2,3,4,6-tetradeoxy-D-glucose	6.17	6.50×10^{-4}	上调 Up	异鼠李素-3-O-葡萄糖苷 Isorhamnetin 3-glucoside	5.79	6.06×10^{-3}	上调 Up
去甲红镰霉素-6-β 龙胆二糖苷 Norrubrofusarin 6-beta-gentiobioside	12.49	4.67×10^{-4}	上调 Up	3-氧代丙酸 (1R,2R)-3-[(1,2-Dihydro-2-hydroxy-1-naphthalenyl)thio]-2-oxopropanoic acid	-6.52	1.30×10^{-2}	下调 Down

2.4 差异代谢通路富集分析

正离子模式下，差异代谢物主要富集在细胞色素 P450 对外源性物质的代谢、AMPK 信号通路、谷胱甘肽代谢、精氨酸生物合成、生热作用等代谢通路（表 2）。负离子模式下，差异代谢物主要富集在谷胱甘肽代谢、精氨酸和脯氨酸代谢、细胞色素 450 对外源性药物的代谢、细胞色素 P450 代谢、叶酸生物合成等代谢通路（表 2）。

2.5 酶活及生化指标试验结果

对中华蜜蜂强弱群工蜂体内 CYP450、GST 及 SOD 活性进行测定，发现相对于弱群组，强群组工蜂体内 CYP450 酶活（t = 4.392, P = 0.012）（图 4：A）、GST 活性（t = 4.667, P = 0.010）（图 4：B）均显著增加，SOD 活性（t = 7.888, P = 0.001）（图 4：C）极显著增加。

3 讨论

代谢组学作为一种研究生物体内所有代谢物及其变化规律的技术，可对生物体内所有代谢物进行定量分析，并探索这些代谢物与生理病理变化的相对关系，被广泛应用于动物生长发育、繁殖、环境适应性、抗逆性的分子代谢机制研究（Zhang *et al*., 2021; Zhao *et al*.，2024）。Li 等（2024）利用液相色谱-质谱联用的非靶向代谢组学技术发现葡萄糖代谢，脂肪消化吸收影响意大利蜜蜂 *Apis mellifera ligustica* 前蛹期代谢途径，蛹期的代谢物参与调节几丁质和脂多糖前体的形成，以及苯丙氨酸、酪氨酸和色氨酸的生物合成。Li 等（2022）利用靶向代谢组学发现阿维菌素对中华蜜蜂在氨基酸代谢、脂质代谢和碳水化合物等代谢通路上的影响大于意大利蜜蜂。本研究利用液相色谱-质谱联用非靶向代谢组学技术对吕梁山区繁育期中华蜜蜂强群与弱群代谢物水平进行分析，于正离子模式和负离子模式下分别获得 616 和 212 个差异代谢物，通过差异代谢物功能富集获得多个与中华蜜蜂群势强弱紧密相关的显著富集的 KEGG 代谢通路。本研究证明利用代谢组学筛选差异代谢物是进一步探究影响蜜蜂群势发展分子机制的有效技术方法，与诸多研究结果相一致。

本研究对正、负离子模式筛选到的差异最显著的 15 个代谢物进行注释后发现多个与中华蜜蜂抗氧化、抗炎、抗菌、信息传导、防止细胞凋亡、疾病预防功能相关的代谢物，如甜菜碱、黄酮类化合物（异鼠李素、异鼠李素-7-葡萄糖苷、山柰酚-3-O-β-D-葡萄糖基(1-2)-A-L-鼠李糖苷、4,7-二羟基异黄酮、异牡荆素、去甲红镰霉素-6-β-龙胆二糖）、赖氨酸磷脂酸等。甜菜碱是广泛存在于动物、植物和微生物中的季铵碱类物质。研究发现，蜂花粉中的甜菜碱浓度与蜜蜂的生存能力有关，具有恢复细胞中的蛋氨酸稳态，减轻氧化应激、抗氧化、抗菌及抗真菌的功能（Gosselin *et al*.，2013；Arumugam *et al*.，2021；Ares *et al*.，2022）。Suarez 等（2021）发现无刺蜂 *Tetragonula biroi* 的蜂蜜提取物中存在类黄酮糖苷，如异鼠李素及异鼠李素-7-葡萄糖苷，均具有抗菌、抗氧化活性。N-乙酰基-DL-色氨酸广泛存在于昆虫血淋巴中，其浓度随热应激反应增加，能够显著提高应激耐受性（Matsumura *et al*.，2020）。蜜蜂中相关研究证实，黄酮类物质在蜜蜂咽下腺发育过程中发挥清除自由基、抗炎、抗菌、抗病毒和抗过敏活性等作用，可在食物短缺时维持蜂群群势（Nijveldt *et al*.，2001；de Souza Bovi *et al*.，2020）。赖氨酸磷脂酸在脊椎动物免疫系统和果蝇的光感受器功能中起调节作用（Mérida *et al*.，2008），参与诸多信号传导过程，包括通过 mTOR 激酶靶点的营养信号传导，以及由酪氨酸激酶和 Ras 受体介导的生长因子信号传导（Foster，2013）。以上代谢物差异表达表明中华蜜蜂强群中的工蜂在抗氧化、抗炎、抗菌、防止细胞凋亡、疾病预防方面显著强于弱群，这也可能是影响中华蜜蜂群势发展能力的关键因素。

为了进一步从营养物质代谢的角度阐释蜜蜂群势强弱的发展机制，本研究对差异代谢物质进行 KEGG 功能富集。研究表明蜜蜂强弱群差异代谢物与细胞色素 P450 代谢、AMPK 信号通路、谷胱甘肽代谢、精氨酸生物合成、生热作用、精氨酸和脯氨酸代谢、叶酸生物合成等代谢通路

表 2　正负离子模式下差异表达代谢通路富集分析

Table 2　Enrichment analysis of differential expressed metabolic pathways under positive and negative modes

	代谢通路 Metabolism pathway	一级分类 Primary classification	二级分类 Secondary classification	代谢物 Metabolite ID	趋势 Trend
正离子模式 Positive modes	细胞色素 P450 代谢 Metabolism of xenobiotics by cytochrome P450	代谢 Metabolism	异种生物降解和代谢 Xenobiotics biodegradation and metabolism	1-硝基-5-谷胱甘肽基-6-羟基-5,6-二氢萘 Nitro-5-glutathionyl-6-hydroxy-5,6-dihydronaphthalene	下调 Down
				7,8-二氢-7-羟基-8-*S*-谷胱甘肽基苯并[a]芘 7,8-Dihydro-7-hydroxy-8-*S*-glutathionyl-benzo[a]pyrene	下调 Down
				1-萘胺 1-Naphthylamine	上调 Up
	谷胱甘肽代谢 Glutathione metabolism	代谢 Metabolism	其他氨基酸的代谢 Metabolism of other amino acids	谷胱甘肽 Glutathione	上调 Up
				L 鸟氨酸 L-Ornithine	上调 Up
				高色虫草酮二硫化物 Homotrypanothione disulfide	上调 Up
	AMPK 信号通路 AMPK signaling pathway	代谢 Metabolism	信号转导 Signal transduction	槲皮素 Quercetin	上调 Up
				1 磷酸核糖-5-氨基-4-咪唑甲酰胺 1(5′-Phosphoribosyl)-5-amino-4-imidazolecarboxamide	下调 Down
				5-氨基咪唑-4-甲酰胺-1-β-D-呋喃核苷 AICAR	下调 Down
	精氨酸生物合成 Arginine biosynthesis	代谢 Metabolism	氨基酸代谢 Amino acid metabolism	N 精氨酸琥珀酸 N-(L-Arginino)succinate	上调 Up
				L-鸟氨酸 L-Ornithine	上调 Up
	生热作用 Thermogenesis	有机系统 Organismal systems	环境适应 Environmental adaptation	黄素腺嘌呤二核苷酸 FADH2	下调 Down
				左旋肉碱 L-Carnitine	上调 Up
负离子模式 Negative modes	谷胱甘肽代谢 Glutathione metabolism	代谢 Metabolism	其他氨基酸的代谢 Metabolism of other amino acids	氧化型谷胱甘肽 Oxidized glutathione	下调 Down
				谷胱甘肽 Glutathionylspermine	下调 Down
				谷氨酸 L-Glutamate	下调 Down
	精氨酸和脯氨酸代谢 Arginine and proline metabolism	代谢 Metabolism	氨基酸代谢 Amino acid metabolism	对香豆酰腐胺 p-Coumaroylputrescine	下调 Down
				谷氨酸 L-Glutamate	下调 Down
	细胞色素 P450 代谢 Metabolism of xenobiotics by cytochrome P450	代谢 Metabolism	异生素生物降解和代谢 Xenobiotics biodegradation and metabolism	卡马西平-o-醌 Carbamazepine-o-quinone	下调 Down
				西酞普兰丙酸 Citalopram propionic acid	上调 Up
	叶酸合成 Folate biosynthesis	代谢 Metabolism	辅助因子和维生素代谢 Metabolism of cofactors and vitamins	羟乙醛 Glycolaldehyde	上调 Up
				新蝶呤 Neopterin	下调 Down

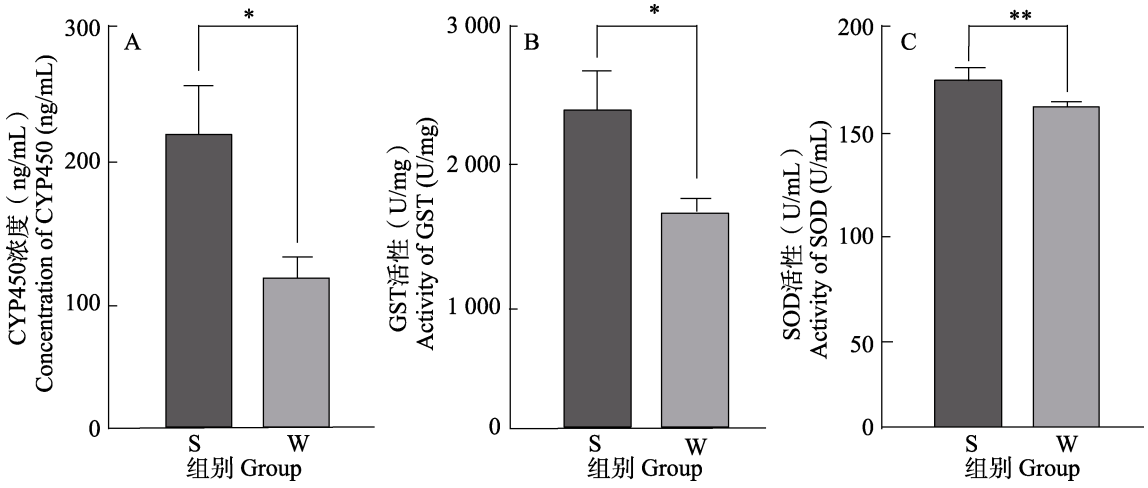

图 4　CYP450（A）浓度及 GST（B）和 SOD（C）活性测定结果

Fig. 4　Results of concentration of CYP450 (A) and the activity of GST (B) and SOD (C) were determined

图中数据为平均值±标准差，星号表示两组间存在显著差异（* $P < 0.05$，** $P < 0.01$，t 检验)。

Data in the figure are mean±SD, asterisk above bars indicates significant difference between the two groups (* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, t-test).

呈显著相关。细胞色素 P450 酶是血红蛋白类酶，在外源性物质的解毒、细胞代谢和体内平衡中起关键作用（Manikandan and Nagini，2018）。蜜蜂不同生命周期会面对不同环境压力，如温度、杀虫剂等均会产生活性氧（Reactive oxygen species，ROS），高 ROS 水平可导致碱基缺失、降解、单链断裂和重排形式的 DNA 损伤，从而引起突变，导致酶活性丧失（Imlay and Linn，1988）。CYP450 具有过氧化物酶活性，参与保护生物体免受 ROS 侵害（Zhu *et al.*，2016）。生物体通过多种抗氧化酶保护自身，Shi 等（2013）发现中华蜜蜂 CYP 基因参与氧化应激反应，在蜜蜂免受氧化损伤中发挥重要作用。谷胱甘肽是一种普遍存在的含 γ 酰胺键和巯基的三肽，调控细胞对与活性氧相关的氧化还原反应、解毒药物的代谢、基因表达和细胞凋亡并参与有机溶质的跨膜转运（Jefferies *et al.*，2003）。谷胱甘肽-*S*-转移酶通过催化谷胱甘肽与有害物质的结合，进一步增强机体的解毒能力，保护细胞免受有害物质的侵害，在外源性物质的解毒中起着重要作用（Liu *et al.*，2016）。Moural 等（2024）对工蜂的结构和生化指标揭示了 GST 在农药解毒、表达调控及抗氧化应激反应中发挥作用。线粒体氧化呼吸是产热的主要方式，响应产热刺激，依赖于 UCP1 的生热作用，涉及脂肪酸 β-氧化和琥珀酸氧化诱导的 ROS 生成 SOD 是生物体内特异清除 O^{2-}自由基的酶，以 SOD 为中心的生物 ROS 代谢形成了生物氧毒害的超氧化物学说（刘井兰等，2006；Morigny *et al.*，2021）。蜜蜂生热作用与蜜蜂能量代谢密切相关，高温条件下，蜜蜂的线粒体耗氧量显著增加，比果蝇抵御高温能力更强（Menail *et al.*，2022）。基于本研究筛选到的细胞色素 P450、谷胱甘肽代谢、生热作用代谢通路，以及强群中工蜂体内 CYP450 浓度、GST 及 SOD 活性显著高于弱群的测定结果，推测中华蜜蜂群势强弱的差异与工蜂体内抗氧化应激、能量代谢、抵御外界环境温度和有害物质侵害、抗炎抗菌、维持体内平衡、防止细胞凋亡等生理活动显著相关。

参考文献 (References)

Ares AM, Martín MT, Tapia JA, González-Porto AV, Higes M, Martín-Hernández R, Bernal J, 2022. Differentiation of bee pollen samples according to the betaines and other quaternary ammonium related compounds content by using a canonical discriminant analysis. *Food Research International*, 160: 111698.

Arumugam MK, Paal MC, Donohue TM Jr, Ganesan M, Osna NA, Kharbanda KK, 2021. Beneficial effects of betaine: A

comprehensive review. *Biology*, 10(6): 456.

Chabert S, Requier F, Chadoeuf J, Guilbaud L, Morison N, Vaissière BE, 2021. Rapid measurement of the adult worker population size in honey bees. *Ecological Indicators*, 122: 107313.

de Souza Bovi T, Caeiro A, dos Santos SAA, Zaluski R, Shinohara AJ, Lima GPP, da Graça Ribeiro Campos M, Junior LAJ, de Oliveira Orsi R, 2020. Seasonal variation of flavonoid content in bee bread: Potential impact on hypopharyngeal gland development in *Apis mellifera* honey bees. *Journal of Apicultural Research*, 59(2): 170–177.

Du YL, Xu K, Zhao HT, Wu Y, Jiang HB, He JM, Jiang YS, 2024. Preliminary study on the pathogenic mechanism of jujube flower disease in honeybees (*Apis mellifera ligustica*) based on midgut transcriptomics. *Genes*, 15(5): 533.

Fang F, Chen XS, Lü J, Shi XY, Feng XJ, Wang Z, Li X, 2022. Population structure and genetic diversity of Chinese honeybee (*Apis cerana cerana*) in Central China. *Genes*, 13(6): 1007.

Feng SY, Li AF, Wang BY, Hu LN, Li SX, Li YL, Yu YF, Zhang HZ, Yuan J, 2022. Enhancement of antiviral activity of egg yolk antibodies against Chinese sacbrood virus. *Virus Research*, 319: 198878.

Foster DA, 2013. Phosphatidic acid and lipid-sensing by mTOR. *Trends in Endocrinology and Metabolism*, 24(6): 272–278.

Gosselin M, Michez D, Vanderplanck M, Roelants D, Glauser G, Rasmont P, 2013. Does *Aconitum septentrionale* chemically protect floral rewards to the advantage of specialist bumblebees? *Ecological Entomology*, 38(4): 400–407.

He BX, Zheng MX, Huang H, Zhang X, Zhang JJ, 2023. Metabonomic analysis of diapausing and non-diapausing *Trichogramma* dendrolimus prepupae. *Chinese Journal of Applied Entomology*, 60(5): 1336–1347. [贺冰心, 郑美鑫, 黄海, 张雪, 张俊杰, 2023. 松毛虫赤眼蜂滞育预蛹与非滞育预蛹代谢组学分析. 应用昆虫学报, 60(5): 1336–1347.]

Hemanth KR, Km SR, Shishira D, Eswarappa G, 2020. Role of *Apis cerana* Fabricius. in sunflower pollination. *AkiNik Publications*, 2020(5): 648–654.

Imlay JA, Linn S, 1988. DNA damage and oxygen radical toxicity. *Science*, 240(4857): 1302–1309.

Jefferies H, Coster J, Khalil A, Bot J, McCauley RD, Hall JC, 2003. Glutathione. *ANZ Journal of Surgery*, 73(7): 517–522.

Khan KA, Ghramh HA, Ahmad Z, 2022. Honey bee (*Apis mellifera jemenitica*) colony performance and queen fecundity in response to different nutritional practices. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 29(5): 3151–3156.

Li GL, Zhao H, Guo DZ, Liu ZG, Wang HF, Sun QH, Liu QX, Xu BH, Guo XQ, 2022. Distinct molecular impact patterns of abamectin on *Apis mellifera ligustica* and *Apis cerana cerana*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 232: 113242.

Li Y, 2018. Ecological resources analysis of *Apis cerana cerana* in central China. *Apiculture of China*, 69(4): 45, 47. [李烨, 2018. 晋中地区中华蜜蜂生态资源分析. 中国蜂业, 69(4): 45, 47.]

Li ZY, Guo DZ, Wang C, Chi XP, Liu ZG, Wang Y, Wang HF, Guo XQ, Wang NX, Xu BH, Gao Z, 2024. Toxic effects of the heavy metal Cd on *Apis cerana cerana* (Hymenoptera: Apidae): Oxidative stress, immune disorders and disturbance of gut microbiota. *Science of the Total Environment*, 912: 169318.

Liu JL, Yu JF Wu JC, Yin JL, Wu DH, 2006. Insect reactive oxygen metabolization. *Chinese Bulletin of Entomology*, 43(6): 752–756. [刘井兰, 于建飞, 吴进才, 印建莉, 吴东浩, 2006. 昆虫活性氧代谢. 昆虫知识, 43(6): 752–756.]

Liu SC, Liu F, Jia HH, Yan Y, Wang HF, Guo XQ, Xu BH, 2016. A glutathione *S*-transferase gene associated with antioxidant properties isolated from *Apis cerana cerana*. *Naturwissenschaften*, 103(5/6): 43.

Manikandan P, Nagini S, 2018. Cytochrome P450 structure, function and clinical significance: A review. *Current Drug Targets*, 19(1): 38–54.

Matsumura T, Uryu O, Matsuhisa F, Tajiri K, Matsumoto H, Hayakawa Y, 2020. N‐acetyl‐l‐tyrosine is an intrinsic triggering factor of mitohormesis in stressed animals. *EMBO Reports*, 21(5): e49211.

Menail HA, Cormier SB, Ben Youssef M, Jorgensen LB, Vickruck JL, Morin Jr P, L. Boudreau H, Pichaud N, 2022. Flexible thermal sensitivity of mitochondrial oxygen consumption and substrate oxidation in flying insect species. *Frontiers in Physiology*, 13: 897174.

Mérida I, Avila-Flores A, Merino E, 2008. Diacylglycerol kinases: At the hub of cell signalling. *Biochemical Journal*, 409(1): 1–18.

Morigny P, Boucher J, Arner P, Langin D, 2021. Lipid and glucose metabolism in white adipocytes: Pathways, dysfunction and therapeutics. *Nature Reviews Endocrinology*, 17(5): 276–295.

Moural TW, Sonu Koirala BK, Bhattarai G, He ZM, Guo HY, Phan NT, Rajotte EG, Biddinger DJ, Hoover K, Zhu F, 2024. Architecture and potential roles of a delta-class glutathione *S*-transferase in protecting honey bee from agrochemicals. *Chemosphere*, 350: 141089.

Nijveldt RJ, van Nood E, van Hoorn DE, Boelens PG, van Norren K, van Leeuwen PA, 2001. Flavonoids: A review of probable mechanisms of action and potential applications. *American Journal of Clinical Nutrition*, 74(4): 418–425.

Qin M, Wang HF, Liu ZG, Wang Y, Zhang WX, Xu BH, 2019. Changes in cold tolerance during the overwintering period in *Apis mellifera ligustica*. *Journal of Apicultural Research*, 58(5): 702–709.

Shi WN, Sun J, Xu BH, Li H, 2013. Molecular characterization and oxidative stress response of a cytochrome P450 gene (*CYP4G11*) from *Apis cerana cerana*. *Zeisschrift fur Naturforschung Section C-A Journal of Biosciences*, 68(11/12): 509–521.

Song CY, Xiao TG, Tan JZ, 2015. Research of cold resistance of *Apis cerana cerana* in Changsha Region. *Crop Research*, 29(3): 290–292. [宋昌云, 肖铁光, 谭九洲, 2015. 长沙地区中华蜜蜂抗寒性研究. 作物研究, 29(3): 290–292.]

Suarez AFL, Tirador ADG, Villorente ZM, Bagarinao CF, Sollesta JVN, Dumancas GG, Sun Z, Zhan ZQ, Saludes JP, Dalisay DS, 2021. The isorhamnetin-containing fraction of philippine honey produced by the stingless bee *Tetragonula biroi* is an antibiotic against multidrug-resistant *Staphylococcus aureus*. *Molecules*, 26(6): 1688.

Walker MS, 2020. Colony size drives honey bees' overwinter survival. *Bee Culture*, 148(8): 64–65.

Wang TS, Liu F, Yu LS, Pan W, Jiang ZH, Fu YS, 2015. A review of researches on the regulation mechanisms of temperature and humidity in honey bee hives. *Acta Ecologica Sinica*, 35(10): 3172–3179. [汪天澍, 刘芳, 余林生, 潘炜, 江朝晖, 付月生, 2015. 蜜蜂蜂群温湿度调节研究进展. 生态学报, 35(10): 3172–3179.]

Xue YB, 2017. Conservation, development and utilization of genetic resources of black bee in Xinjiang. *Apiculture of China*, 68(12): 26–31. [薛运波, 2017. 新疆黑蜂遗传资源的保护和开发利用. 中国蜂业, 68(12): 26–31.]

Zhang JY, 2010. The study of on the dynamics of *Apis cerana cerana* individual expermental population. Master dissertation. Fujian: Fujian Agricultural and Foresty University. [张锦艳, 2010. 中华蜜蜂(*Apis cerana cerana*)个体实验种群动态研究. 硕士学位论文. 福建: 福建农林大学.]

Zhang ZQ, Zhou C, Fan KP, Zhang L, Liu Y, Liu PF, 2021. Metabolomics analysis of the effects of temperature on the growth and development of juvenile European seabass (*Dicentrarchus labrax*). *Science of the Total Environment*, 769: 145155.

Zhao H, Zhao ZM, Liu C, Zhou J, Huang ZP, Duan YL, Zhang L, Ke HY, Du J, Mou CY, Li Q, 2024. An integrated analysis of transcriptome and metabolome to reveal the effects of temperature stress on energy metabolism and physiological responses in *Schizothorax wangchiachii* muscles. *Aquaculture*, 591: 741103.

Zhu M, Zhang WX, Liu F, Chen XB, Li H, Xu BH, 2016. Characterization of an *Apis cerana cerana* cytochrome P450 gene (*AccCYP336A1*) and its roles in oxidative stresses responses. *Gene*, 584(2): 120–128.