



李茫, 赵方媛, 曾志将, 王子龙. 蜜蜂级型分化机理 [J]. 环境昆虫学报, 2019, 41 (1): 83-89.

蜜蜂级型分化机理

李 茫, 赵方媛, 曾志将, 王子龙*

(江西农业大学蜜蜂研究所, 南昌 330045)

摘要: 蜜蜂是整个大自然生态系统中不可或缺的一部分, 能有效地为多种植物和农作物授粉。蜜蜂是典型的社会性昆虫, 其生殖劳动分工现象有重要进化意义。而级型分化是导致劳动分工的一个重要因素, 蜜蜂级型分化现象的机理研究已成为目前重要的研究热点之一。本文对近年来蜜蜂级型分化机理方面的研究进展进行了综述。国内外很多学者从营养、激素、基因表达、蛋白质和表观遗传等方面对蜜蜂级型分化机理进行了研究。蜂王浆中富含的 57 kDa、蜂王幼虫期充足的食物量以及蜂王幼虫期高滴度的保幼激素 (JH) 和蜕皮激素 (MA) 等都可促进蜂王卵巢的发育以及诱导蜂王表型产生; 而工蜂浆中富含的双香豆酸可诱使工蜂表型的产生。近年研究表明, 表皮生长因子受体 (*Egfr*)、胰岛素受体底物基因 (*Irs*)、雷帕霉素基因 (*Tor*) 和甲基转移酶 3 (*Dnmt3*) 等基因均可影响蜂王和工蜂的分化; 蛋白质表达谱分析表明, 不同时间点的蜂王幼虫和工蜂幼虫表达的差异蛋白质很多; 表观遗传分析表明, DNA 甲基化、microRNAs 以及组蛋白乙酰化均是导致蜂王和工蜂级型分化的因素。此外, 发育空间和蜂王浆均可通过调控基因的 DNA 甲基化水平影响蜜蜂幼虫的级型分化。

关键词: 级型分化; 营养; 激素; 基因表达; 蛋白质; 表观遗传

中图分类号: Q964; S899

文献标识码: A

文章编号: 1674-0858 (2019) 01-0083-07

Mechanisms of caste differentiation in honeybees

LI Mang, ZHAO Fang-Yuan, ZENG Zhi-Jiang, WANG Zi-Long* (Honeybee Research Institute, Jiangxi Agricultural University, Nanchang 330045, China)

Abstract: Honeybees are an important part in the natural ecosystem and they can pollinating for many natural plants and crops effectively. As typical highly social insects, the reproductive division of labor in honeybees is of great significance in evolution. Caste differentiation is a significant factor for labor division, and research on its mechanism is one of the most important hotspots. In this article, we reviewed the research progress on the mechanism of honeybee caste differentiation in recent years. There are a lot of researches on the mechanism of honey bees caste differentiation from the aspects of nutrition, hormone, gene expression, protein and epigenetics. The 57 kDa protein enriched in royal jelly, sufficient amount of food in the queen larvae, and high titer of juvenile hormone (JH) and ecdysone (MA) in the queen larvae all can promote the development of the queens' ovary and induce the development of queen phenotype. On the other hand, the dicoumaric acid which is enriched in the worker jelly can induce the development of worker phenotype. Recent studies showed that epidermal growth factor receptor (*Egfr*), insulin receptor substrate gene (*Irs*), rapamycin gene (*Tor*) and methyltransferase 3 (*Dnmt3*) all have an effect on the queen-worker differentiation. Protein expression profile analysis found that many proteins

基金项目: 国家自然科学基金项目 (31402147)

作者简介: 李茫, 女, 1992 年生, 江西人, 硕士研究生, 主要从事蜜蜂生物学研究, E-mail: 2510199267@qq.com

* 通讯作者 Author for correspondence, 王子龙, 博士, 副研究员, E-mail: wzlcqbb@126.com

收稿日期 Received: 2018-06-24; 接受日期 Accepted: 2018-10-09

are differentially expressed between the queen larvae and the worker larvae at different developmental time points. Epigenetics research indicated that DNA methylation, microRNAs and histone acetylation are the factors leading to queen-worker differentiation. In addition, both the developmental space and royal jelly can regulate caste differentiation of honeybee larvae through regulating DNA methylation level of genes.

Key words: Caste differentiation; nutrition; hormones; gene expression; proteins; epigenetics

1 引言

自然界中的蜜蜂、胡蜂、蚂蚁、白蚁等多种社会性昆虫均有级型分化现象,它是形成生殖劳动分工的基础 (Wilson, 1985; Hartfelder and Engels, 1998)。蜜蜂级型分化属于非遗传性多型现象,即在环境因素的诱导下二倍体的雌性蜂王和工蜂个体间出现差异性变化。在正常的蜂群中,通常有一只蜂王,数百至上千只雄蜂(有季节性出现)和数千至数万只工蜂(曾志将, 2009)。蜂王和工蜂都是雌性蜂,由遗传物质完全相同的受精卵发育而来,但是二者在生理、行为方面差异很大。相对于工蜂,蜂王口器退化、体型更大、腹部更长、腿部没有花粉筐、螫针更短、无咽下腺、下颌腺更发达,发育周期比工蜂提前 5 d (Weaver, 1955)。蜂王有 120–190 根卵巢管,工蜂有 2–6 根卵巢管 (Kucharski *et al.*, 2008)。蜂王的自然寿命可达 5–6 年。工蜂的寿命,在采集季节只有 35 d; 秋后所培育的越冬蜂可达 3–6 个月 (曾志将, 2009)。在自然蜂群中,婚飞并与雄蜂交尾之后的蜂王就专职产卵并通过蜂王信息素调控蜂群成员的行为和生理变化 (苏松坤和陈盛禄, 2000)。出房工蜂其行为呈多样性,例如保温孵育,清理产卵房,调剂花粉与蜂蜜,喂饲大幼虫,分泌王浆,喂饲小幼虫及蜂王,蜜蜡造脾,清理蜂箱,采集花蜜、水、花粉、蜂胶及巢门防卫等 (曾志将, 2009)。但根据蜂群内的具体情况,工蜂所担任的工作可在一定日龄内进行调整。近年来,众多学者从激素调节、基因调控、蛋白质组学分析以及表观遗传等多方面深入研究了蜜蜂级型分化现象,使得蜜蜂级型分化机理更加透彻。

2 级型分化关键点

在自然蜂群中蜂王王台底是圆的、台口垂直朝下,工蜂巢房为六角形、底为三棱形、巢口水

平向上翘 13°,且蜂王巢房的容积比工蜂大很多 (Wilde and Beetsma, 1982)。将西方蜜蜂 *Apis mellifera* 王台和工蜂巢房中的卵或幼虫交换培育,发现只有 4 日龄内的工蜂幼虫移至王台可发育成蜂王,大于 4 日龄的工蜂幼虫在王台中培育只可发育成工蜂,并且蜂王幼虫和工蜂幼虫在 4 日龄中期卵巢原基相同,在 4 日龄之后卵巢原基才出现差异 (Wilde and Beetsma, 1982; Hardie *et al.*, 1985)。卵巢原基对蜂王卵巢的发育有很大促进作用。Hartfelder and Engels (1998) 对蜂王幼虫和工蜂幼虫各发育时间点的保幼激素 (JH) 阈值进行检测,发现在幼虫期 4 日龄的时候蜂王幼虫和工蜂幼虫的 JH 滴度阈值相差最大,并且 JH 可以诱导蜂王级型的产生。这些均可说明 4 日龄是级型分化的关键时间点。但是,也有研究表明级型分化的差异在幼虫期 60 h 已经开始 (Evans and Wheeler, 2000)。此外, Cameron 等 (2013) 通过对蜂王和工蜂 6 h 幼虫的转录组分析,发现在幼虫期 6 h 时蜂王和工蜂中差异表达的基因有 998 个,其中在蜂王体内表达上调的有 442 个,在工蜂体内表达上调的有 556 个,这表明蜜蜂级型分化的差异可能早在幼虫期 6 h 时就已经产生。

3 蜜蜂级型分化形成原因

3.1 营养差异

在蜜蜂幼虫的发育过程中,哺育蜂可以区分蜂王和工蜂幼虫进行差异喂饲。蜂王整个幼虫期被饲喂充足的蜂王浆,而饲喂给工蜂幼虫的是与蜂王浆有差异的工蜂浆。工蜂幼虫只在前 3 日龄得到充足的工蜂浆,而之后食用经修饰过的工蜂浆、花粉及蜂蜜的混合物。蜂王浆由 5–15 日龄青年工蜂咽下腺和上颚腺分泌,化学成分非常复杂,包含水溶性蛋白 (46%–89%) 和非水溶性蛋白,在蜜蜂的营养中起着重要作用 (陶挺等, 2008)。Kamakura (2011) 将蜂王浆透析部分进行分析,发现了蜂王差异因子——王浆主蛋白 1 (57 kDa),该蛋白可以诱导蜜蜂幼虫往蜂王发育。在果蝇食

物中添加 57 kDa 蛋白, 同样使得果蝇的发育加速、寿命延长以及繁殖能力提高 (Kamakuram, 2011)。蜂王整个幼虫期食用蜂王浆诱使其发育成蜂王。但工蜂的食物也是导致级型分化的一个重要因素。张刻等 (2009) 分离茶花粉得到一种类激素的水溶性物质, 该物质可以使蜜蜂卵巢发育不良, 卵巢管数偏少。Mao 等 (2015) 研究表明蜂蜜和蜂粮中富含双香豆酸可调节蜜蜂级型分化。在蜂王浆中添加双香豆酸培育蜂王幼虫, 可抑制蜂王卵巢的发育。除了二者营养成分差异外, 食物量也是有差异的。哺育蜂对蜂王幼虫的哺育次数远大于工蜂幼虫, 故相对于工蜂幼虫, 蜂王幼虫的食物量是很充足的 (Haydak, 1970)。综上所述可知, 雌性蜜蜂的食物量以及食物的成分均是导致级型分化的因素。

3.2 激素差异

营养差异导致的蜜蜂级型分化现象与 JH 和蜕皮激素 (MH) 水平有密切关系。JH 是由咽侧体分泌然后释放至血淋巴中的一类重要昆虫激素, 具有调控昆虫生长、发育、变态和生殖的功能。蜂王幼虫的咽侧体体积大, 血淋巴中 JH 的浓度更高, 使得蜂王体内卵黄原蛋白的含量提高, 进而使蜂王卵巢管数丰富 (Wirtz and Beetsma, 1972)。Hardie 等 (1985) 将 3-4 日龄蜂王幼虫的咽侧体移植至工蜂幼虫中, 则发育得到的成蜂卵巢管数目显著增加。这也可说明 JH 对蜜蜂卵巢的发育有促进作用。Mutti 等 (2011) 对 *Irs*、*Tor* 和 *Irs/Tor* 进行 RNA 干扰之后的个体不仅其表型发育成工蜂, 同时 JH 的峰值也降低了。用 JH 处理 5 日龄的 *Irs*、*Tor*、*Irs/Tor* 干扰组幼虫, 最后使得干扰的个体发育成蜂王 (Mutti *et al.*, 2011)。综上所述可知, 对 *Irs* 或者 *Tor* 基因的 RNA 干扰最终导致 JH 的水平发生改变。JH 可以不依靠营养敏感基因而直接诱导蜜蜂的发育, 在蜜蜂发育过程中只要幼虫的保幼激素滴度不变, 则该幼虫仍保持发育可塑性 (Mutti *et al.*, 2011)。

MH 是由前胸腺分泌的一种甾体激素, 在蜜蜂级型分化过程中有重要作用。在蜂王和工蜂的预蛹期, MH 有一单峰, 但蜂王的峰比工蜂出现的早, 这为蜂王提前化蛹作准备 (Rachinsky *et al.*, 1990)。罗汉松甾酮 A (MA) 是蜜蜂预蛹期 MH 的主要成分之一, 用 MA 处理预蛹期工蜂卵巢, 同样使得工蜂化蛹提前 (Page and Peng, 2001)。

3.3 基因表达差异

蜜蜂级型分化现象与基因差异表达有很大的关联性。Shilo (2005) 对蜜蜂 *Egfr* 基因进行 RNA 干扰, 发现干扰之后蜜蜂表型接近工蜂。Yamanaka and O'Connor (2011) 研究表明 57 kDa 的王浆主蛋白 1 某种程度上激活了脂肪体的表皮生长因子和下游的信号级联等多个全身反应, 直接或者间接激活 *Pi3k/Tor/S6k* 下游的 *Egfr* 信号通路, 其中包括使细胞个体体积变大、增加分泌蜕皮激素加速发育时间、以及刺激咽侧体释放保幼激素促进卵黄蛋白的形成。

Cameron (2013) 对蜂王和工蜂的 60 h 幼虫进行高通量测序和微阵列分析发现该时间点蜂王幼虫和工蜂幼虫有相对相等的差异表达基因。Barchuk 等 (2007) 通过使用 cDNA 微阵列分析了 6 000 多个西方蜜蜂的 ESTs, 在工蜂和蜂王体内发现了 240 个差异表达的基因。蜂王上调了和代谢相关的基因, 包括编码代谢酶的基因, 还有和调节物质转化速率以及一般组织生长相关的基因。许多差异基因会参与级型差异相关组织的发育, 例如脑、腿和卵巢等 (Barchuk *et al.*, 2007)。

Evans (1999) 等研究表明, 胰岛素受体底物-1 (*Amlp-1*) 基因在工蜂体内的表达量很低, 而在蜂王体内的表达量很高, 并且随着蜂王日龄的增大, 表达量持续增加。胰岛素受体底物-2 (*Amlp-2*) 的表达水平在工蜂体内更高, 在蜂王体内更低。将工蜂幼虫移至王台时, 则 *Amlp-2* 表达水平降低。相反, 将蜂王幼虫移至工蜂巢房时, 其表达量升高 (Evans and Wheeler, 1999; Wheeler *et al.*, 2006; Ament *et al.*, 2008; De Azevedo and Hartfelder, 2008)。Wang 等 (2013) 应用 RNAi 技术发现 *Amlp-1* 可以调节蜜蜂大脑 JH 的合成以及卵巢的发育。由 *Amlp-1* 和 *Amlp-2* 在蜂王和工蜂的表达差异以及 *Amlp-1* 对 JH 和卵巢调节作用, 可知 *Amlp-1* 和 *Amlp-2* 与蜜蜂的级型分化有关。

Shao 等 (2014) 对意大利蜜蜂幼虫 3 个重要基因 *Tor*、*Dnmt3*、*S6k* mRNA 的表达情况进行分析, 发现 *Tor* 基因在蜂王中的表达量显著高于工蜂。Patel 等 (2007) 对蜜蜂幼虫进行人工饲喂针对 *Tor* 基因的 dsRNA, 使其体内 *Tor* 基因表达下调, 实验结果显示干扰组发育为工蜂, 对照组发育成蜂王。Zhu 等 (2017) 的研究表明花粉中的 miR162a 的直接靶基因是 *Tor* 基因。由此可知, *Tor* 基因在雌性蜜蜂级型分化过程中起到了关键

作用。

在级型分化发展过程中,参与级型分化的差异表达基因是共同调控的。这种相互作用的网络是由早期幼虫阶段的营养驱动刺激激活的 (Barchuk *et al.*, 2007)。Mutti 等 (2011) 通过在蜂王幼虫食物中添加 dsRNA 对营养传感胰岛素受体底物基因 *Irs* 和 *Tor* 基因进行 RNAi。发现 *Irs*、*Tor* 和 *Irs/Tor* 干扰组均发育成工蜂,而对照组发育成蜂王。先前的研究表明, *Ilp-1* 在工蜂幼虫中的表达量很低,而 *Ilp-2* 的表达量很高。干扰之后发育成工蜂表型的个体 *Ilp-1* 的表达量降低了。这说明蜜蜂的级型分化现象与 *Irs* 和 *Tor* 基因的表达有关。

3.4 蛋白质差异

级型分化与蛋白质差异有关。吴静等 (2010) 由蛋白质表达图谱分析表明 3、5、11 日龄蜂王和同日龄工蜂蛋白质差异很大。不同日龄两种级型间共有蛋白的表达模式也存在很大差异。蜂王幼虫 3 日龄时,其体内与能量代谢有关的酶、成虫盘生长因子 4 (imaginal disc growth factor 4)、长链脂肪酸辅酶 A 连接酶 (long-chain-fatty-acid CoA ligase) 蛋白酶体亚基 $\alpha 5$ (proteasome subunit alpha type 5)、以及与脂肪和氨基酸代谢相关的蛋白均超表达 (Randolt *et al.*, 2008)。然而,ATP 合成酶 β 亚基 (ATP synthase beta subunit)、醛脱氢酶 (aldehyde dehydrogenase)、硫氧还原蛋白过氧化物酶 1 (thioredoxinperoxidase 1)、过氧化物氧化还原酶 2540 (peroxiredoxin 2540)、致死因子 (2) 37 (lethal (2) 37)、14-3-3 蛋白 ϵ (14-3-3 protein epsilon)、脂肪酸结合蛋白 (fatty acid binding protein)、翻译控制肿瘤蛋白 (translational controlled tumor protein) 在工蜂幼虫体内超表达 (Randolt *et al.*, 2008)。李建科等 (2011) 发现 67、69 和 97 位点的线粒体蛋白在 3、4、5 日龄的蜂王和工蜂幼虫间存在显著差异。Evans 等 (2000) 研究得出蜂王上调了一些与代谢相关的酶,工蜂过表达了 P450 家族相关的酶、六聚体储存蛋白的酶、二氢二醇脱氢酶、两个假定的 70 kDa 和 90 kDa 热休克蛋白和一些与 RNA 加工和翻译有关的蛋白质。Mutti 等 (2011) 分析了 *Irs*、*Tor* 和 *Irs/Tor* RNA 干扰蜜蜂的蛋白质组,发现:相对于实验组,干扰组中的钙网蛋白和乙醛脱氢酶均下降,而表皮蛋白 4 和磷脂酰乙醇胺结合蛋白的表达量均升高。这个结果与先前关于 *Irs* 的研究

结果一致 (Wolschin *et al.*, 2011)。这些均可说明,级型分化与蛋白质的表达是紧密联系的。

3.5 表观遗传差异

3.5.1 DNA 甲基化

表观遗传学是指在不改变个体的核酸序列的情况下研究其个体的表型。表观遗传和非编码 RNA 调控、DNA 甲基化和组蛋白乙酰化等相关 (董玉玮等, 2005)。其中 DNA 甲基化 (DNA methylation) 是一种很广泛的表观遗传学调节机制,普遍存在于真核生物当中。西方蜜蜂体内拥有一套完整的 DNA 甲基化系统,拥有 3 种 5-甲基胞嘧啶 DNA 转移酶基因,分别是 *Dnmt1*、*Dnmt2* 和 *Dnmt3*。DNA 甲基化是调节蜜蜂级型分化的一个重要因素, Kucharski 等 (2008) 用显微注射对西方蜜蜂的工蜂幼虫 *Dnmt3* 基因进行 RNAi, 结果表明:降低 *Dnmt3* 基因的表达可诱导西方蜜蜂幼虫发育成蜂王,且蜂王 *Dynactin p62* 基因的甲基化程度降低。石元元等 (2011) 对蜜蜂幼虫 *Dnmt3* 基因进行 RNA 干扰,结果也表明:RNAi 之后,蜜蜂幼虫头部 *Dnmt3* 的酶活性和 *Dynactin p62* 基因的甲基化程度降低,并且表型更接近蜂王。Kucharski 和石元元的研究都表明:蜜蜂 *Dnmt3* 通过调节蜜蜂的甲基化程度进而调控蜜蜂的发育。刘亭亭等 (2012) 对中华蜜蜂 *Dnmt3* 基因进行研究发现:在工蜂和蜂王不同发育时期均有 *Dnmt3* 的表达,工蜂日龄越大其 *Dnmt3* 表达量越高,且蜂王蛹中的表达量显著高于工蜂蛹。Foret 等 (2012) 发现蜂王幼虫和工蜂幼虫之间有甲基化差异的基因高达 2 399 个,而蜂王脑部和工蜂脑部之间有甲基化差异的基因只有 560 个,这与幼虫期是雌性蜜蜂级型分化的关键时期一致。Shi 等 (2017) 对 4 日龄蜂王幼虫和工蜂幼虫基因 DNA 甲基化水平进行比较发现蜂王幼虫中与生物调节、免疫系统和代谢调节相关的基因甲基化水平更低。通常,基因启动子区的甲基化水平越低,其表达量越高 (Barchuk *et al.*, 2007)。说明在蜂王幼虫中与生物调节、免疫系统和代谢调节相关的基因的表达量可能更高,这些差异基因可能参与级型分化信号通路的调节 (Shi *et al.*, 2017)。研究者对 *Irs* 和 *Tor* 进行 RNAi 之后个体表型发育成工蜂,并且干扰之后发育成的工蜂体内甲基化的位点个数增加,这与工蜂幼虫体内的 DNA 甲基化水平更高的结果一致 (Kucharski *et al.*, 2008; Mutti *et al.*, 2011)。Shi 等 (2011) 研究发现,雌性蜜

蜂幼虫食用的食物以及幼虫发育的空间均可影响蜜蜂体内基因的甲基化程度。蜂王浆和更大的发育空间, 均可使得蜜蜂体内 *Dnmt3* 基因和 *Dynactin p62* 基因的甲基化程度偏低, 并且 *Dnmt3* 的表达量更低相应 *Dnmt3* 的酶活性更低。这与在王台中食用蜂王浆的幼虫发育成蜂王表型的结果一致。Kamakura (2011) 的研究表明 *Egfr* 基因在蜂王幼虫和工蜂幼虫体内的甲基化水平是有差异的, 工蜂幼虫体内的 *Egfr* 基因的甲基化水平显著高于蜂王幼虫。这种差异与高表达的 *Egfr* 基因介导王浆主蛋白 1 诱导蜂王表型的产生一致 (Kamakura, 2011)。

级型分化基因的甲基化程度也受营养调控。雌性蜜蜂幼虫头部甲基化差异的基因中大于 80% 的基因在工蜂幼虫头部中甲基化程度更高, 且工蜂幼虫头部中大部分高度保守且与代谢和信号通路有关的基因是高度甲基化的 (Foret *et al.*, 2012)。营养调控是表观遗传调控的中心, 在工蜂幼虫发育的过程中一些基因通路当中具有重要功能的基因均是高度甲基化的, 例如三羧酸循环、泛素-蛋白酶体途径、肌醇磷酸/雷帕霉素途径、细胞分裂和细胞骨架网络等途径中的 *mTor*、*Gβ1*、*Raptor* 和 *Tsc2* 等重要基因均呈现高度甲基化的水平 (Foret *et al.*, 2009; Lyko and Maleszka, 2011)。以上研究均可说明, 营养可以通过基因的甲基化水平调控蜜蜂的级型分化。

3.5.2 组蛋白乙酰化

细胞学研究证实, 10-羟基-癸烯酸 (10-HDA) 具有组蛋白去乙酰化酶抑制剂活性, 且相对于工蜂浆, 蜂王浆中富含 10-HDA, 所以蜂王发育的表观遗传调控可能是由蜂王浆中的 10-HDA 引起的 (Barker *et al.*, 1959; Spannhoff *et al.*, 2011)。幼虫体内营养调控的柠檬酸裂解酶, 可以将柠檬酸从线粒体释放到细胞质与乙酰辅酶 a 发生组蛋白乙酰化作用进而进行表观遗传调控, 该研究表明柠檬酸裂解酶可以将生长因子诱导的营养代谢与组蛋白乙酰化和基因表达的调节联系起来 (Wellen *et al.*, 2009)。这些研究说明, 组蛋白乙酰化从多方面调控蜜蜂级型分化。

3.5.3 MicroRNAs

MicroRNAs 是 20-24 个核苷酸的单链非编码内源性 RNA 分子, 可调节真核生物转录后基因表达和不同的细胞通路 (Bartel, 2004; Moran *et al.*, 2014)。Shi 等 (2015) 比较了 4 日龄蜂王幼虫和

工蜂幼虫 miRNA 的表达差异, 共鉴定出 61 个已知的 miRNAs, 其中有 21 个 miRNAs 在蜂王幼虫体内高表达, 20 个 miRNAs 在工蜂幼虫体内高表达, 在蜂王和工蜂幼虫体内表达差异不大的有 24 个 miRNAs。这些差异表达的 miRNAs 参与调节蜜蜂级型分化信号通路 (Shi *et al.*, 2015)。Zhu 等 (2017) 研究表明花粉中含有大量植物 RNAs, 这些 RNAs 可以延迟蜜蜂幼虫的发育并且使蜜蜂的体型和卵巢变小, 从而使蜜蜂幼虫往工蜂方向发育。Guo 等 (2013) 研究表明工蜂浆中 miRNAs 的含量是蜂王浆中 7-215 倍, 并且 4 到 6 日龄的蜂王幼虫和工蜂幼虫得到的蜂王浆和工蜂浆中的 miRNAs 均呈动态变化。在蜂王浆中添加筛选出的差异表达 miRNAs 饲喂幼虫, 结果使得幼虫体内 mRNA 的表达和出房蜜蜂的形态均发生了改变 (Guo *et al.*, 2013)。

4 小结与展望

雌性蜜蜂的级型分化是一个众多因素共同调控作用的结果。营养、基因表达、激素、蛋白质以及表观遗传等因素均可引起蜜蜂级型分化现象。但是各因素不是单独起作用, 而是相互关联的。从最初哺育蜂对幼虫的哺育次数差异和食物差异, 致使蜜蜂体内基因表达、内分泌系统、蛋白质组和表观遗传均发生差异, 进而导致级型分化现象的产生。对 *Egfr*、*Irs*、*Tor* 等基因 RNAi 之后, 蜂王幼虫发育成工蜂表型, 且干扰得到的工蜂体内 JH 滴度降低。这些均可说明级型分化相关基因并不是单独起作用的, 而是多个分子传感器汇聚到一个中央信号集成器——JH, 确保对级型分化有强效的决定作用 (Mutti *et al.*, 2011)。基因表达、激素、蛋白质可能形成一个调控网络影响蜜蜂的级型分化。那么基因表达、激素、蛋白质以及表观遗传之间的调控网络是怎样的? 除了这些因素外, 其他还有哪些因素参与了蜜蜂级型分化? 到目前为止, 虽然很多研究人员对蜜蜂级型分化机理进行了大量研究, 但是还有待更多的研究去充实这一领域。

参考文献 (References)

- Ament SA, Corona M, Pollock HS, *et al.* Insulin signaling is involved in the regulation of worker division of labor in honey bee colonies [J]. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 2008, 105 (11): 4226-4231.

- Barchuk AR, Cristino AS, Kucharski R, *et al.* Molecular determinants of caste differentiation in the highly eusocial honeybee *Apis mellifera* [J]. *BMC Developmental Biology*, 2007, 7 (1): 1–19.
- Barker SA, Foster AB, Lamb DC, *et al.* Biological origin and configuration of 10-Hydroxy- Δ 2-decenoic Acid [J]. *Nature*, 1959, 184 (4686): 634–634.
- Bartel DP. MicroRNAs: Genomics, biogenesis, mechanism, and function [J]. *Cell*, 2004, 116 (2): 281–297.
- Cameron RC, Duncan EJ, Dearden PK. Biased gene expression in early honeybee larval development [J]. *BMC Genomics*, 2013, 14 (1): 903
- De Azevedo SV, Hartfelder K. The insulin signaling pathway in honey bee (*Apis mellifera*) caste development – differential expression of insulin-like peptides and insulin receptors in queen and worker larvae [J]. *Journal of Insect Physiology*, 2008, 54 (6): 1064–1071.
- Dong YW, Hou JH, Zhu BC, *et al.* Concepts related to epigenetics and their advances [J]. *Journal of Biology*, 2005, 22 (1): 1–3. [董玉玮, 侯进慧, 朱必才, 等. 表观遗传学的相关概念和研究进展 [J]. 生物学杂志, 2005, 22 (1): 1–3]
- Evans JD, Wheeler DE. Differential gene expression between developing queens and workers in the honey bee, *Apis mellifera* [J]. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 1999, 96 (10): 5575.
- Evans JD, Wheeler DE. Expression profiles during honeybee caste determination [J]. *Genome Biology*, 2000, 2 (1): 1–6.
- Foret S, Kucharski R, Pellegrini M, *et al.* DNA methylation dynamics, metabolic fluxes, gene splicing, and alternative phenotypes in honey bees [J]. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 2012, 109 (13): 4968–4973.
- Foret S, Kucharski R, Pittelkow Y, *et al.* Epigenetic regulation of the honey bee transcriptome: Unravelling the nature of methylated genes [J]. *BMC Genomics*, 2009, 10 (1): 472.
- Guo X, Su S, Skogerboe G, *et al.* Recipe for a busy bee: MicroRNAs in honey bee caste determination [J]. *PLoS ONE*, 2013, 8 (12): e81661.
- Hardie J, Lees AD. Comprehensive Insect Physiology, Biochemistry and Pharmacology [M]. England: Pergamon Press, 1985: 473–480.
- Hartfelder K, Engels W. Social insect polymorphism: Hormonal regulation of plasticity in development and reproduction in the honeybee [J]. *Curr. Top. Dev. Biol.*, 1998, 40 (45): 45.
- Huang SK, Chen SL. Research progress on the queen – worker caste differentiation in the honey bee (*Apis mellifera*) [J]. *Chinese Journal of Applied Entomology*, 2002, 39 (3): 176–181. [黄少康, 陈盛祿. 蜜蜂蜂王与工蜂级型分化研究进展 [J]. 应用昆虫学报, 2002, 39 (3): 176–181]
- Haydak M. Honey bee nutrition [J]. *Annual Reviews of Entomology*, 1970, 15 (6907): 143–156.
- Kamakuram. Royalactin induces queen differentiation in honeybees [J]. *Nature*, 2011, 473 (7348): 478–483.
- Kucharski R, Maleszka J, Foret S, *et al.* Nutritional control of reproductive status in honeybees via DNA methylation [J]. *Science*, 2008, 319 (5871): 1827–1830.
- Li JK, Feng M, Zhen AJ. Advanced research on honeybee proteome [J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2011, 44 (17): 3649–3657. [李建科, 冯毛, 郑爱娟. 蜜蜂蛋白质组研究进展 [J]. 中国农业科学, 2011, 44 (17): 3649–3657]
- Li WF, Zhong BX, Su SK. Mechanisms of caste differentiation in honey bees [J]. *Acta Entomologica Sinica*, 2014, 57 (2): 248–256. [李文峰, 钟伯雄, 苏松坤. 蜜蜂级型分化机理 [J]. 昆虫学报, 2014, 57 (2): 248–256]
- Liu TT, Liu JF, Wang WX, *et al.* Cloning and expression profiling of the DNA methyltransferase *Dnmt3* gene in the Chinese honeybee, *Apis cerana cerana* (Hymenoptera: Apidae) [J]. *Acta Entomologica Sinica*, 2012, 55 (3): 284–290. [刘亭亭, 刘俊峰, 王文祥, 等. 中华蜜蜂 DNA 甲基化转移酶 *Dnmt3* 基因克隆及表达谱分析 [J]. 昆虫学报, 2012, 55 (3): 284–290]
- Lyko F, Maleszka R. Insects as innovative models for functional studies of DNA methylation [J]. *Trends in Genetics*, 2011, 27 (4): 127–131.
- Mao W, Schuler MA, Berenbaum MR. A dietary phytochemical alters caste-associated gene expression in honey bees [J]. *Science Advances*, 2015, 1 (7): e1500795.
- Moran Y, Fredman D, Praher D, *et al.* Cnidarian microRNAs frequently regulate targets by cleavage [J]. *Genome Research*, 2014, 24 (4): 651–663.
- Mutti NS, Dolezal AG, Wolschin F, *et al.* IRS and TOR nutrient – signaling pathways act via juvenile hormone to influence honey bee caste fate [J]. *Journal of Experimental Biology*, 2011, 214 (23): 3977–3984.
- Page RE Jr, Peng CY. Aging and development in social insects with emphasis on the honey bee, *Apis mellifera* L. [J]. *Experimental Gerontology*, 2001, 36 (4): 695–711.
- Patel A, Fondrk MK, Kaftanoglu O, *et al.* The making of a queen: TOR pathway is a key player in diphenic caste development [J]. *PLoS ONE*, 2007, 2 (6): e509.
- Rachinsky A, Strambi C, Strambi A, *et al.* Caste and metamorphosis: Hemolymph titers of juvenile hormone and ecdysteroids in last instar honeybee larvae [J]. *General & Comparative Endocrinology*, 1990, 79 (1): 31–38.
- Randolt K, Gimple O, Geissendörfer J, *et al.* Immune – related proteins induced in the hemolymph after aseptic and septic injury differ in honey bee worker larvae and adults [J]. *Archives of Insect Biochemistry & Physiology*, 2008, 69 (4): 155–167.
- Shao XL, He SY, Zhuang XY, *et al.* mRNA expression and DNA methylation in three key genes involved in caste differentiation in female honeybees (*Apis mellifera*) [J]. *Zoological Research*, 2014, 35 (2): 92–98.
- Shi YY, Liu H, Qiu YF, *et al.* DNA methylation comparison between 4 – day – old queen and worker larvae of honeybee [J]. *Journal of Asia – Pacific Entomology*, 2017, 20 (1): 299–303.
- Shi YY, Zheng HJ, Pan QZ, *et al.* Differentially expressed microRNAs between queen and worker larvae of the honey bee (*Apis mellifera*) [J]. *Apidologie*, 2015, 46 (1): 35–45.
- Shi YY, Zeng ZJ, Wu XB, *et al.* Influence of injecting *Dnmt3* siRNA

- on the development of females of the Italian honeybee, *Apis mellifera ligustica* [J]. *Acta Entomologica Sinica*, 2011, 54 (3): 272 – 278. [石元元, 曾志将, 吴小波, 等. 人工注射 *Dnmt3* siRNA 对意大利蜜蜂雌蜂发育的影响 [J]. *昆虫学报*, 2011, 54 (3): 272 – 278]
- Shi YY, Huang ZY, Zeng ZJ, et al. Diet and cell size both affect queen-worker differentiation through DNA methylation in honey bees (*Apis mellifera*, Apidae) [J]. *PLoS ONE*, 2011, 6 (4): e18808.
- Shilo BZ. Regulating the dynamics of EGF receptor signaling in space and time [J]. *Development*, 2005, 132 (18): 4017 – 4027.
- Spannhoff A, Kim YK, Raynal NJ, et al. Histone deacetylase inhibitor activity in royal jelly might facilitate caste switching in bees [J]. *Embo Reports*, 2011, 12 (3): 238.
- Su SK, Chen SL. Research progress of honeybee pheromone and chemical communication in colony [J]. *Apicultural Science and Technology*, 2000, 4: 5 – 11. [苏松坤, 陈盛禄. 蜜蜂信息素与蜂群内化学通讯的研究进展 [J]. *养蜂科技*, 2000, 4: 5 – 11]
- Tao T, Su SK, Chen SL, et al. Biological functions of the royal jelly proteins [J]. *Chinese Journal of Applied Entomology*, 2008, 45 (1): 33 – 37. [陶挺, 苏松坤, 陈盛禄, 等. 蜂王浆蛋白生物学功能的研究 [J]. *昆虫知识*, 2008, 45 (1): 33 – 37]
- Wang Y, Azevedo SV, Hartfelder K, et al. Insulin-like peptides (AmILP1 and AmILP2) differentially affect female caste development in the honey bee (*Apis mellifera* L.) [J]. *Journal of Experimental Biology*, 2013, 216 (23): 4347 – 4357.
- Weaver N. Rearing of honeybee larvae on royal jelly in the laboratory [J]. *Bee World*, 1955, 36 (9): 157 – 159.
- Wellen KE, Hatzivassiliou G, Sachdeva UM, et al. ATP-citrate lyase links cellular metabolism to histone acetylation [J]. *Science*, 2009, 324 (5930): 1076 – 1080.
- Wheeler DE, Buck N, Evans JD. Expression of insulin pathway genes during the period of caste determination in the honey bee, *Apis mellifera* [J]. *Insect Molecular Biology*, 2006, 15 (5): 597 – 602.
- Wilde JD, Beetsma J. The physiology of caste development in social insects [J]. *Advances in Insect Physiology*, 1982, 16 (3): 167 – 246.
- Wilson EO. The sociogenesis of insect colonies [J]. *Science*, 1985, 228 (4707): 1489 – 1495.
- WirtzP, Beetsma J. Induction of caste differentiation in the honeybee (*Apis mellifera*) by juvenile hormone [J]. *Entomologia Experimentalis Et Applicata*, 1972, 15 (4): 517 – 520.
- Wolschin F, Mutti NS, Amdam GV. Insulin receptor substrate influences female caste development in honeybees [J]. *Biology Letters*, 2011, 7 (1): 112.
- Wu J, Li JK. Proteomic analysis of the honeybee (*Apis mellifera* L.) caste differentiation between worker and queens bees larvae [J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2010, 43 (1): 176 – 184. [吴静, 李建科. 蜜蜂 (*Apis mellifera* L.) 幼虫级型分化差异蛋白质组分析 [J]. *中国农业科学*, 2010, 43 (1): 176 – 184]
- Yamanaka N, O'Connor AMB. Apiology: royal secrets in the queen's fat body [J]. *Current Biology*, 2011, 21 (13): R510.
- Zeng ZJ. Apiculture [M]. Beijing: China Agriculture Press, 2009: 35 – 56. [曾志将. 养蜂学 [M]. 北京: 中国农业出版社, 2009: 35 – 56]
- Zhang K, Pan XQ, Zhou B, et al. The influence of the matter distill from tea pollen on the weight and the ovary development of Italy honeybee's larva [J]. *Apiculture of China*, 2009, 60 (1): 10 – 12. [张刻, 潘孝青, 周斌, 等. 茶花粉水提物对意大利蜂幼虫体重和卵巢发育的影响 [J]. *中国蜂业*, 2009, 60 (1): 10 – 12]
- Zhu K, Liu M, Fu Z, et al. Plant microRNAs in larval food regulate honeybee caste development [J]. *PLoS Genetics*, 2017, 13 (8): e1006946.