

表观遗传学与蜜蜂级型分化的研究进展*

石元元** 王子龙 曾志将***

(江西农业大学蜜蜂研究所, 南昌 330045)

摘要 蜜蜂是一种高度社会化的昆虫, 一个完整健康的蜂群通常是由蜂王、工蜂和雄蜂组成。尽管蜂王和工蜂的遗传物质相同, 但它们在形态特征、行为职能和寿命方面表现出显著的差异。许多研究结果表明, 营养因素是造成蜜蜂级型分化现象的主要原因, 它可以影响蜂王幼虫和工蜂幼虫体内大量基因和蛋白的差异表达。随着表观遗传学的发展, 人们对基因表达的调控机制有了新的认识, 它与 DNA 甲基化、非编码 RNA 调控和组蛋白乙酰化等密切相关。这也为蜜蜂级型分化的分子机制提供了新的理论。本文就表观遗传学和蜜蜂级型分化的研究进展做一综述。

关键词 蜜蜂, 级型分化, 表观遗传

Advances in research on epigenetics and caste differentiation in the honey bee

SHI Yuan-Yuan** WANG Zi-Long ZENG Zhi-Jiang***

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

Abstract The honey bee is a highly eusocial insect. Generally, a healthy colony is made up of a queen, workers and drones. Despite being genetically identical, the queen and workers show striking differences in morphology, behavior, and lifespan. Many studies have suggested that the main factor leading to caste differentiation is nutrition, which can cause differential expression of a large number of genes and proteins between queen and worker larvae. With the development of epigenetics, there have been new insights into the regulatory mechanisms of gene expression, that is, DNA methylation, and the correlation between noncoding RNAs regulation and histone acetylation with the regulation of gene expression. These new insights also provide a new theoretical basis for caste differentiation in the honey bee. This article reviews the progress of epigenetics and caste differentiation in honey bees.

Key words honey bee, caste differentiation, epigenetics

随着现代遗传学、分子生物学和生物信息学的深入研究, DNA、组蛋白或染色体水平的修饰都可能影响基因的表达和调控, 这种通过有丝分裂或减数分裂来遗传非核酸序列遗传信息的现象称为表观遗传(董玉玮等, 2005)。表观遗传学主要是探索从基因演绎为个体表型的过程和机制, 其研究不涉及核酸序列改变, 因此不符合

传统的基因分离定律、基因重组定律、基因连锁互换定律(石元元, 2011)。饮食、环境和其他潜在的外部因素均可以通过表观遗传影响基因组表达, 常见的表观遗传学现象有 DNA 甲基化、非编码 RNA 调控、组蛋白修饰、遗传印记和 X 染色体失活等(董玉玮等, 2005)。

蜜蜂是一种高度进化的社会性昆虫, 是研究

* 资助项目: 国家蜂产业技术体系资助项目 (No.CARS-45-kxj12) 和江西省教育厅青年基金项目 (GJJ12256)

**E-mail: shiyuanyuan7046@163.com

***通讯作者, E-mail: bees1965@sina.com

收稿日期: 2014-03-26, 接受日期: 2014-05-12

动物行为可塑性和学习记忆的理想模式生物。另外,蜜蜂授粉在提高农业产量和维持生态平衡中重起到了重要作用(曾志将, 2009)。蜂群是蜜蜂个体赖以生存的生物学单位,一个健康完整的蜂群通常是由一只具有正常生殖能力的蜂王、成千上万只工蜂和季节性出现的雄蜂组成,它们不是一个简单的组合,而是高效、有序的整体(陈盛禄, 2001; 曾志将, 2009)。以西方蜜蜂 *Apis mellifera* 为例,蜂王和工蜂都是由受精卵发育而成的二倍体雌性个体,它们拥有相同的遗传物质,但由于后天发育环境(食物和发育空间)的差异,雌性幼虫逐渐向蜂王和工蜂两个完全不同的级型方向发育(张复兴, 1998; 陈盛禄, 2001; 曾志将, 2009; Shi *et al.*, 2011; 沈芳等, 2013; 李文峰等, 2014)。蜂王和工蜂在外部形态、生殖能力、寿命和行为等方面存在显著差异(表 1)(张复兴, 1998; 陈盛禄, 2001; 曾志将, 2009)。在社会性昆虫中,这种相同性别的个体受环境因素的影响而表现出不同的外部形态、行为职能的现象称为“级型分化”,级型分化是表型可塑性的经典模型之一(West-Eberhard, 1989; Evans and Wheeler, 2001; 王文祥, 2013),是形成昆虫社会性的基础(Cristino *et al.*, 2006)。

到目前为止,有关蜜蜂级型分化的机制尚不完全清楚,但存在着蜂王决定因子、幼虫食物摄入量决定、糖含量调节食物吸收率、性激素与促性腺激素决定等假说(石元元, 2011)。由咽侧体合成的高浓度保幼激素可以调控蜂王特异基

因表达,诱使幼虫发育成蜂王(Hartfelder *et al.*, 1993; 李文峰等, 2014);蜂王幼虫和工蜂幼虫有不同的基因表达谱(Evans and Wheeler, 2000; Hepperle and Hartfelder, 2001)和蛋白质组(吴静和李建科, 2010);蜂王浆中 57 ku 单体糖蛋白 Royalactin 通过激活脂肪体表皮生长因子受体(Epidermal growth factor receptor, Egfr)进一步激活 S6K 激酶,促进蜂王体长发育;Royalactin 通过激活脂肪体 Egfr 进一步激活促分裂素原活化蛋白激酶(Mitogen-activated protein kinase, MAPK),缩短蜂王发育时间;Royalactin 通过激活脂肪体 Egfr 进而上调保幼激素分泌水平,促进蜂王卵巢发育(Kamakura, 2011; 沈芳等, 2013; 李文峰等, 2014)。本文将从 DNA 甲基化、非编码 RNA 调控和组蛋白乙酰化 3 个表观遗传学角度,分析蜜蜂级型分化的相关分子机制。

1 DNA 甲基化与级型分化

DNA 甲基化(DNA methylation)是最早被发现与抑制基因表达相关的表观遗传学机制,主要参与机体的防御机制,沉默基因组中大部分外源序列,它是指基因组 CpG 二核苷酸的胞嘧啶 5' 碳位在 DNA 甲基化转移酶的胞嘧啶 5' 碳位在 DNA 甲基化转移酶(DNA methylation transferase, Dnmt)的作用下结合甲基基团的过程,其中 CpG 表示相邻胞嘧啶和鸟嘌呤通过一个磷酸基团相连接(董玉玮等, 2005)。基因组中富含 CpG 的

表 1 蜂王与工蜂差异

Table 1 The differences between queen and worker of honey bee

	蜂王 Queen	工蜂 Worker
初生重 Mass at emergence	178-292 mg	80-120 mg
卵巢管数 Ovarioles	150-180 条	2-12 条
受精囊 Spermatheca	有	无
花粉筐和蜡腺 Pollen basket, Wax glands	无	有
螫针倒刺 Sting barbs	退化	有
寿命 Age	正常情况 3-5 年	13-38 d (夏), 140-180 d (冬)
发育周期 Development from egg to adult	16 d	21 d

片段称为 CpG 岛 (CpG island), 主要位于基因的第一外显子区和启动子区域。DNA 甲基化普遍发生在胞嘧啶的 N-4 位、腺嘌呤的 N-6 位、鸟嘌呤的 N-7 位和胞嘧啶的 C-5 位等 (Bird, 2002; Cheng and Blumenthal, 2008)。DNA 双螺旋结构的大沟内分布着大量甲基基团, 与 DNA 结合蛋白结合, 甲基通过吸引或排斥 DNA 结合蛋白发挥抑制作用 (董玉玮等, 2005)。

西方蜜蜂是第一个被证实拥有 3 种 5-甲基胞嘧啶 DNA 转移酶的社会性昆虫 (The honeybee genome sequencing consortium, 2006), 分别是 Dnmt1、Dnmt2 和 Dnmt3, 与哺乳动物特别是人类的相似, 同源性极高 (Wang *et al.*, 2006; Barchuk *et al.*, 2007; Elango *et al.*, 2009; Foret *et al.*, 2009)。研究表明西方蜜蜂体内拥有一套完整的 DNA 甲基化系统, 其体内 DNA 甲基化酶具有催化活性 (Wang *et al.*, 2006; Schaefer and Lyko, 2007)。Kucharski 等 (2008) 利用 RNA 干扰技术, 将刚孵化西方蜜蜂幼虫的 DNA 甲基化转移酶基因 (Dnmt3) 沉默, 导致这些幼虫发育成具有成熟卵巢的蜂王。Elango 等 (2009) 发现西方蜜蜂体内甲基化基因分为两类: 一类基因的 CpG 二核苷酸含量较低, 一类基因的 CpG 二核苷酸含量较高, 级型特异性基因倾向于较高 CpG 含量的基因。Lyko 等 (2010) 利用高通量测序技术分析西方蜜蜂蜂王和工蜂脑部的甲基化胞嘧啶分布情况, 实验发现几乎所有甲基化胞嘧啶都位于基因外显子区域的 CpG 二核苷酸。我们先前的实验发现营养和空间因素影响西方蜜蜂级型分化与 DNA 甲基化有密切联系, 在相同的营养条件下, 增大幼虫的发育空间, 其头部 Dnmt3 酶活性、Dnmt3 mRNA 相对表达量、*dynactin p62* 基因甲基化水平都显著降低, 幼虫发育成工蜂的比例降低; 在相同的空间里, 增加幼虫蜂王浆采食量, 其头部 Dnmt3 酶活性、Dnmt3 mRNA 相对表达量、*dynactin p62* 基因甲基化水平都显著降低, 幼虫发育成蜂王的比例显著提高 (Shi *et al.*, 2011)。本课题组利用免疫沉淀 (MeDIP-seq) 测序技术检测到意大利蜜蜂 *A. mellifera ligustica* 蜂王幼虫和工蜂幼虫的 DNA

甲基化水平均小于 20%, DNA 甲基化水平差异主要发生在幼虫发育的 4 日龄时期, 当幼虫发育到 4 日龄后, 蜂王幼虫甲基化水平下降, 工蜂幼虫甲基化水平继续上升 (Shi *et al.*, 2013)。这一结果证实了 3.5 日龄是幼虫发育的关键时期 (Weaver, 1966), 大于 4 日龄的工蜂幼虫不可能再发育成蜂王。

结合国内外相关研究的结果表明西方蜜蜂幼虫在发育的过程中有大量的基因会发生 DNA 甲基化, 其中幼虫体内有 7 245 个甲基化基因, 幼虫头部有 6 086 个甲基化基因, 成虫大脑中有 5 854 个甲基化基因。与 4 日龄幼虫头部和 2.5 周成虫大脑甲基化基因相比, 4 日龄和 6 日龄幼虫体内分别检测到 3 013 个和 5 049 个甲基化基因 (表 2)。造成这些差异的原因可能是幼虫组织和成虫大脑组织的差异, 在幼虫发育过程中, 幼虫组织与个体发育和蛋白合成有着密切关系, 而成虫大脑组织已经发育完全。另外, 整个幼虫组织要比大脑所含组织成分多。

2 mircoRNA 与级型分化

在原核生物和真核生物中, 广泛存在着参与机体基本生命活动的非编码 RNA (Noncoding RNA, ncRNA), 包括 small interfering RNA (siRNA), microRNA (miRNA) 和 piwi interacting RNA (piRNA) (Ambros, 2004)。这 3 种类型的小 RNA 分子能指导与其互补配对的 RNA 剪切合成, 其中 siRNA 和 miRNA 影响靶基因的转录翻译, siRNA 和 piRNA 调控染色体修饰 (Ambros, 2004)。

miRNA 是一类具有调控功能的非编码 RNA, 长度约为 20~24 nt, 主要参与基因转录后水平的调控 (Ambros, 2004; Bartel, 2005)。在细胞核内, 核糖核酸酶将转录生成原始 miRNA 转录本 (Primary transcripts miRNA, pri-miRNA) 剪切成 60~70 nt 发卡状 miRNA 前体 pre-miRNA, 然后 pre-miRNA 转运到细胞质中, 在核糖核酸酶 Dicer 作用下, 将其剪切成 20~24 nt 双链 miRNA 分子 (He and Hannon, 2004; Filipowicz *et al.*, 2008)。这种双链 miRNA 分子结合到 RNA 诱导

表 2 蜂王和工蜂幼虫甲基化基因比较
Table 2 Comparison of methylated genes in queen and worker of *Apis mellifera*

实验样品 Sample	基因个数 Number of genes	甲基化基因个数 Number of methylated genes		甲基化差异 基因数 Number of different methylated genes	甲基化上调基因 Up-methylated different methylated genes	
		蜂王 Queen larvae	工蜂 Worker larvae		蜂王 Queen larvae	工蜂 Worker larvae
幼虫组织 Larvae body						
2 日龄 2 day old	11 736	7 335	7 381	725	50%	50%
4 日龄 4 day old	11 736	7 355	7 537	3 013	30%	70%
6 日龄 6 day old	11 736	7 245	7 731	5 049	10%	90%
幼虫头部组织 Larvae head						
4 日龄 4 day old	—	6 086	—	2 399	18%	82%
出房蜂头部组织 Adult brain						
2.5 周龄 2.5 week old	—	5 854	—	561	44%	56%

幼虫组织的数据来自文献 Shi 等 (2013); 幼虫头部组织的数据来自文献 Foret 等 (2012); 出房蜂头部组织数据来自文献 Lyko 等 (2010)。

Data of larvae body are from Shi *et al.* (2013); Data of larvae head are from Foret *et al.* (2012); Data of adult brain are from Lyko *et al.* (2010).

沉默复合体 (RNA-induced silencing complex, RISC) 中, 一条成熟单链通过与靶基因的 3'UTR 区互补配对, 对靶基因降解或抑制翻译 (Wu and Belasco, 2008), 另一条单链被降解。miRNA 具有很强的稳定性, 在 pH 改变, 反复冻融, 核酸裂解酶的作用下, miRNA 不易降解; miRNA 没有组织特异性, 相同 miRNA 在不同细胞、组织器官和种属之间, 具有相似的序列和调控功能; miRNA 在不同组织和细胞间的表达特征不同; 特定 miRNA 在特定细胞的特定阶段出现, 决定细胞分化方向; miRNA 调控不是一一对应, 而是同时调节一组功能相似或相近的蛋白 (Ambros, 2004; He and Hannon, 2004; Bartel, 2005)。

在线虫 *Caenorhabditis elegans*、果蝇 *Drosophila melanogaster*、暗蚊、西方蜜蜂等模式生物体内已经发现大量 miRNAs (Lee *et al.*, 1993; Weaver *et*

al., 2007; Wei *et al.*, 2009; 陈璇, 2011; Greenberg *et al.*, 2012; Liu *et al.*, 2012), 其中蜜蜂脑部的 miRNAs 与其社会性分工有密切联系, Behura 和 Whitfield (2010) 及 Greenberg 等 (2012) 发现分别有 6 种和 7 种 miRNA 在内勤蜂和采集蜂脑部表达上调; 哺育蜂和采集蜂中共发现 9 种表达差异 miRNA 和 67 种预测 miRNA (Liu *et al.*, 2012)。Weaver 等 (2007) 识别了蜜蜂基因组中 65 种 miRNA, 其中 1 种 miRNA 已经证实在蜜蜂幼虫级型分化过程中表现出特异性。Chen 等 (2010) 利用高通量测序技术检测出不同发育阶段的三型蜂体内有 267 种新 miRNAs, 她们通过分析全同胞蜂王幼虫和工蜂幼虫的 miRNA 表达谱, 发现 *ame-mir-14*、*ame-mir-750*、*ame-mir-279c* 和 *ame-bantam* 在 4~5 日龄蜂王和工蜂幼虫体内均是高表达, *ame-mir-14*、*ame-mir-2796*、

ame-mir-34、*ame-mir-317* 和 *ame-mir-375* 可能参与雌性蜜蜂免疫系统活动、神经元发育分化、大脑发育分化、消化系统发育等过程(陈璇, 2012; 牛德芳等, 2012, 2013)。

大量实验证实蜂王浆与蜜蜂级型分化有着密切联系。蜂王浆含有丰富的蛋白质、碳水化合物、脂类、维生素、生物活性物质和少量核酸物质(DNA, RNA 和 miRNAs)等(Zeng *et al.*, 2006; 郭向前, 2010; 沈芳等, 2013; 李文峰等, 2014), 其中 miRNAs 对幼虫的发育起重要调节作用(郭向前, 2010; 李文峰等, 2014)。我们分别从意大利蜜蜂蜂王浆(简称意蜂浆)和中华蜜蜂蜂王浆(简称中蜂浆)中检测到 69 种和 48 种已知 miRNA, 其中意蜂浆检测 23 种特异 miRNAs, 中蜂浆检测到 2 种特异 miRNAs, 两种蜂王浆检测到 46 种相同 miRNAs(Shi *et al.*, 2012)。当使用这两种蜂王浆分别饲喂意大利蜜蜂 *A. mellifera ligustica* 幼虫时, 我们检测到出房蜂王体内有 618 个表达差异基因, 其中 144 个表达差异基因受到了蜂王浆的差异 miRNAs 调控(Shi *et al.*, 2012)。这些受到调控的基因分别参与了机体的内吞作用、新陈代谢、细胞骨架构成和 RNA 运输等生物学活动(Shi *et al.*, 2012)。

3 组蛋白乙酰化与级型分化

组蛋白修饰是常见的表观遗传现象。如果一个基因发生表达, 首先要改变组蛋白的修饰状态, 使得 DNA 与它的结合由紧凑型转变成疏松型, 靶基因才能和转录复合物相互结合进一步调控基因表达(Grunstein, 1997; Struhl, 1998; Turner, 2000)。虽然在进化过程中, 存在于染色体的组蛋白具有高度保守性, 但其结构呈动态变化。组蛋白修饰的状态决定了转录复合物的靠近程度, 影响了基因的表达活性, 调控了染色质的转录活跃和沉默状态之间的转换, 对 DNA 和其他蛋白因子的结合产生协同或拮抗效应(Grunstein, 1997; Struhl, 1998; Turner, 2000)。

组蛋白乙酰化(Histone acetylation)是组蛋白修饰研究的主要内容之一, 它是组蛋白乙酰化

酶(Histone acetyltransferase, HAT)和组蛋白去乙酰化酶(Histone deacetylase, HDAC)共同作用的结果(Grunstein, 1997; Struhl, 1998; Turner, 2000)。正常情况下, 组蛋白乙酰化有利于组蛋白八聚体和 DNA 解离, 使得核小体结构变得松弛, 各种转录因子与 DNA 结合位点特异性结合, 激活基因的转录。在细胞核内, 组蛋白乙酰化与组蛋白去乙酰化过程处于动态平衡(Grunstein, 1997; Struhl, 1998; Turner, 2000)。HATs 将乙酰辅酶 A 的乙酰基转移到组蛋白 H3、H4 的 N 端末尾的赖氨酸的残基上, HDACs 使组蛋白发生去乙酰化, 紧密结合带负电荷的 DNA, 导致染色质致密卷曲, 并抑制基因的转录。HATs 作为辅助激活因子调控基因转录, 调节细胞周期, 参与 DNA 损伤修复; HDACs 则与染色体易位、基因沉默、细胞增殖和分化、细胞凋亡相关(Grunstein, 1997; Struhl, 1998; Turner, 2000)。目前关于人体癌细胞的研究表明, 高度表达的 HDAC 通过增强去乙酰化作用, 恢复组蛋白的正电荷, 进一步增强组蛋白和 DNA 之间吸引力, 使得核小体变得十分紧密, 抑制特定基因的表达; 而组蛋白去乙酰化酶抑制剂(Histone deacetylase inhibitors, HDACi)通过提高染色质特定区域的组蛋白乙酰化, 调控与细胞分化凋亡相关的蛋白的表达, 诱使细胞分化或凋亡(Grunstein, 1997; Struhl, 1998; Turner, 2000)。

Spannhoff 等(2011)证明蜂王浆中的 10-羟基-2-癸烯酸(10-HDA)具有组蛋白去乙酰化酶抑制剂(HDACi)的活性。Wang 等(2014)通过给刚孵化的意大利蜜蜂幼虫饲喂不同剂量的 10-HDA 人工蜂粮, 发现出房蜜蜂的组蛋白去乙酰化酶 3(HDAC3)基因的表达水平显著上升, 而体重显著下降。这些研究结果表明组蛋白乙酰化在幼虫的发育过程中起重要作用。

4 结论与展望

近 10 年以来, 关于蜜蜂级型分化的研究已经取得不少成果, 利用表观遗传学的相关内容解释级型分化现象, 为幼虫发育的调控提供了

新的思路。表观遗传学完善了弗朗西斯·克里克提出的“中心法则”理论,核酸并不是遗传信息储存的唯一载体,基因的转录和翻译受到多种因素的作用。我们先前的实验检测到 6 日龄意大利蜜蜂蜂王幼虫体内一些 miRNAs (*ame-mir-184*、*ame-mir2-3*、*ame-mir-71* 和 *ame-mir-927*) 的甲基化水平发生了改变, DNA 甲基化与基因表达呈负相关,这种表达模式可能存在于 miRNAs 中,也就是说,6 日龄蜂王幼虫体内甲基化水平下调的 miRNAs,其表达量是上升的,有可能进一步激活或抑制其靶基因的表达 (Shi *et al.*, 2013)。王文祥等 (2013) 通过给刚孵化的西方蜜蜂幼虫饲喂不同剂量的 10-HDA 蜂粮,发现 DNA 甲基化酶 3 基因的表达随着 10-HDA 浓度的增加先降低后升高。这些结果表明 DNA 甲基化、非编码 RNA 调控和组蛋白修饰决定了表观遗传学的过程,但它们之间是如何共同调节染色质的结构还有待于进一步研究。

参考文献 (References)

- Ambros V, 2004. The functions of animal microRNAs. *Nature*, 431(7006): 350–355.
- Bartel DP, 2004. MicroRNAs: genomics biogenesis mechanism and function. *Cell*, 116(2): 281–297.
- Barchuk AR, Cristino AS, Kucharski R, Costa LF, Simões ZL, Maleszka R, 2007. Molecular determinants of caste differentiation in the highly eusocial honey bee *Apis mellifera*. *BMC Development Biology*, 7(6): 70.
- Behura SK, Whitfield CW, 2010. Correlated expression patterns of microRNA genes with age-dependent behavioral changes in honeybee. *Insect Molecular Biology*, 19(4): 431–439.
- Bird A, 2002. DNA and methylation patterns epigenetic memory. *Genes*, 16(1): 6–21.
- Chen X, Yu X, Cai Y, Zheng H, Yu D, Liu G, Zhou Q, Hu S, Hu F, 2010. Next-generation small RNA sequencing for microRNAs profiling in the honeybee *Apis mellifera*. *Insect Molecular Biology*, 19(6): 799–805.
- Cheng X, Blumenthal RM, 2008. Mammalian DNA methyltransferases: a structural perspective. *Structure*, 16(3):341–350.
- Cristino A, Nunes F, Lobo C, Bitondi M, Simões Z, Da Fontoura Costa L, Lattorf H, Moritz R, Evans J, Hartfelder K, 2006. Caste development and reproduction: a genome-wide analysis of hallmarks of insect eusociality. *Insect molecular biology*, 15(5): 703–714.
- Elango N, Hunt BG, Goodisman MA, Yi SV, 2009. DNA methylation is widespread and associated with differential gene expression in castes of the honeybee, *Apis mellifera*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 106(27): 11206–11211.
- Evans JD, Wheeler DE, 2000. Expression profiles during honeybee caste determination. *Genome Biology*, 2(1): 1–10.
- Evans JD, Wheeler DE, 2001. Gene expression and the evolution of insect polyphenisms. *Bioessays*, 23(1): 62–68.
- Filipowicz W, Bhattacharyya SN, Sonenberg N, 2008. Mechanisms of post-transcriptional regulation by microRNAs: are the answers in sight? *Nature Reviews Genetics*, 9(2): 102–114.
- Foret S, Kucharski R, Pittelkow Y, Lockett GA, Maleszka R, 2009. Epigenetic regulation of the honey bee transcriptome: unravelling the nature of methylated genes. *BMC Genomics*, 10(14): 472.
- Foret S, Kucharski R, Pellegrini M, Feng S, Jacobsen SE, Robinson GE, Maleszka R, 2012. DNA methylation dynamics, metabolic fluxes, gene splicing, and alternative phenotypes in honey bees. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 109(13): 4968–4973.
- Greenberg JK, Xia J, Zhou X, Thatcher SR, Gu X, Ament SA, Newman TC, Green PJ, Zhang W, Robinson GE, Ben-Shahar Y, 2012. Behavioral plasticity in honey bees is associated with differences in brain microRNA transcriptome. *Genes Brain Behavior*, 11(6): 660–670.
- Grunstein M, 1997. Histone acetylation in chromatin structure and transcription. *Nature*, 389 (6649): 349–352.
- Hartfelder K, Tozetto SO, Rachinsky A, 1993. Sex-specific developmental profiles of juvenile hormone synthesis in honeybee larvae. *Roux's Arch Development Biology*, 202(10): 176–180.
- Hepperle C, Hartfelder K, 2001. Differentially expressed regulatory genes in honeybee caste development. *Naturwissenschaften*, 88(6): 113–116.
- He L, Hannon GJ, 2004. MicroRNAs: small RNAs with a big role in gene regulation. *Nature Reviews Genetics*, 5(7): 522–531.
- Kamakura M, 2011. Royalactin induces queen differentiation in honeybees. *Nature*, 473(12): 478–483.
- Kucharski R, Maleszka J, Foret S, Maleszka R, 2008. Nutritional control of reproductive status in honeybees via DNA methylation. *Science*, 319(5871): 1827–1830.
- Lee RC, Feinbaum RL, Ambros V, 1993. The *C. elegans* heterochronic gene *lin-4* encodes small RNAs with antisense

- complementarity to lin-14. *Cell*, 75(5): 843–854.
- Liu F, Peng W, Li Z, Li W, Li L, Pan J, Zhang S, Miao Y, Chen S, Su S, 2012. Next-generation small RNA sequencing for microRNAs profiling in *Apis mellifera*: comparison between nurses and foragers. *Insect Molecular Biology*, 21(3): 297–303.
- Lyko F, Foret S, Kucharski R, Wolf S, Falckenhayn C, Maleszka R, 2010. The honeybee epigenomes: differential methylation of brain DNA in queens and workers. *PLoS Biology*, 9(11): e1000506.
- Schaefer M, Lyko F, 2007. DNA methylation with a sting: an active DNA methylation system in the honeybee. *Bioessays*, 29(3): 208–211.
- Shi YY, Huang ZY, Zeng ZJ, Wang ZL, Wu XB, Yan WY, 2011. Diet and cell size both affect queen-worker differentiation through DNA methylation in honey bees (*Apis mellifera*, Apidae). *PLoS ONE*, 6(4): e18808.
- Shi YY, Wu XB, Huang ZY, Wang ZL, Yan WY, Zeng ZJ, 2012. Epigenetic modification of gene expression in honey bees by heterospecific gland secretions. *PLoS ONE*, 7(8): e43727.
- Shi YY, Yan WY, Huang ZY, Wang ZL, Wu XB, Zeng ZJ, 2013. Genome-wide analysis indicates that queen larvae have lower methylation levels in the honey bee (*Apis mellifera*). *Naturwissenschaften*, 100(2): 193–197.
- Spannhoff A, Kim YK, Raynal NJM, Gharibyan V, Su MB, Zhou YY, Li J, Castellano S, Sbardella G, Issa JPJ, 2011. Histone deacetylase inhibitor activity in royal jelly might facilitate caste switching in bees. *EMBO Reports*, 12(3): 238–243.
- Struhl K, 1998. Histone acetylation and transcriptional regulatory mechanisms. *Genes & Development*, 12(5): 599–606.
- The honeybee genome sequencing consortium, 2006. Insights into social insects from the genome of the honeybee *Apis mellifera*. *Nature*, 443(7114): 931–949.
- Turner BM, 2000. Histone acetylation and an epigenetic code. *Bioessays*, 22(9): 836–845.
- Wang Y, Jorda M, Jones PL, Maleszka R, Ling X, Robertson HM, Mizzen CA, Peinado MA, Robinson GE, 2006. Functional CpG methylation system in a social insect. *Science*, 314 (5799): 645–647.
- Wang WX, Tian LQ, Huang Q, Wu XB, Zeng ZJ, 2014. Effects of 10-Hydroxy-2-decanoic acid on the development of honey bee (*Apis mellifera*) larvae. *Journal of Apicultural Research*, 53(1): 171–176.
- Weaver N, 1966. Physiology of caste determination. *Annals of the Entomological Society of America*, 11(3): 79–102.
- Weaver DB, Anzola JM, Evans JD, Reid JG, Reese JT, 2007. Computational and transcriptional evidence for microRNAs in the honey bee genome. *Genome Biology*, 8(6): R97.
- Wei Y, Chen S, Yang P, Ma Z, Kang L, 2009. Characterization and comparative profiling of the small RNA transcriptomes in two phases of locust. *Genome Biology*, 10(1): R6.
- West-Eberhard MJ, 1989. Phenotypic plasticity and the origins of diversity. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 20(2): 249–278.
- Wu L, Belasco JG, 2008. Let me count the ways: mechanisms of gene regulation by miRNAs and siRNAs. *Molecular Cell*, 29(1): 1–7.
- Zeng ZJ, Zou Y, Guo DS, Yan WY, 2006. Comparative studies of DNA and RNA from the royal jelly of *Apis mellifera* and *Apis cerana*. *Indian Bee Journal*, 68(5): 18–21.
- 陈盛禄主编, 2001. 中国蜜蜂学. 北京: 中国农业出版社. 1–110.
- 陈璇, 胡福良, 2011. 雌性蜜蜂级型决定的分子机制. 蜜蜂杂志, 4(4): 1–7.
- 陈璇, 2012. 蜜蜂 (*Apis mellifera*) microRNA 的全基因组挖掘及在雌性蜜蜂级型分化关键时期转录组水平调控作用. 博士学位论文. 杭州: 浙江大学.
- 董玉玮, 侯进慧, 朱必才, 2005. 表观遗传学的相关概念和研究进展. 生命的化学, 22(1): 1–3.
- 郭向前, 2010. 工蜂和蜂王发育、分化机制以及蜂王浆小 RNA 在工蜂和蜂王级型分化中的作用. 博士学位论文. 北京: 中国科学院.
- 李文峰, 钟伯雄, 苏松坤, 2014. 蜜蜂级型分化机理. 昆虫学报, 57(2): 248–256.
- 牛德芳, 陈璇, 胡福良, 2012. 蜜蜂卵巢激活研究进展. 应用昆虫学报, 49(5): 1378–1384.
- 牛德芳, 陈璇, 胡福良, 2013. MicroRNAs 在调控蜜蜂个体发育、级型分化和劳动分工中的功能研究. 环境昆虫学报, 35(6): 804–807.
- 沈芳, 殷玲, 刘振国, 沈杰, 吉挺, 2013. 蜜蜂级型分化研究的进展. 中国农学通报, 29(32): 1–5.
- 石元元, 2011. 营养和空间因素对雌性蜜蜂发育的影响. 硕士学位论文. 南昌: 江西农业大学.
- 王文祥, 2013. 10-HDA 对意蜂幼虫发育影响及中蜂 *Royalactin* mRNA 水平和原核表达分析. 硕士学位论文. 南昌: 江西农业大学.
- 吴静, 李建科, 2010. 蜜蜂 (*Apis mellifera* L) 幼虫级型分化差异蛋白质组分析. 中国农业科学, 43 (1): 176–184.
- 张复兴主编, 1998. 现代养蜂生产. 北京: 中国农业大学出版社. 1–113.
- 曾志将主编, 2009. 养蜂学 (第二版). 北京: 中国农业出版社. 1–275.