



庄明亮, 李剑飞, 王志, 牛庆生, 陈东海, 王进州, 葛蓬, 李志勇, 王琦. 室内纱笼条件下不同蛋白饲料对工蜂生理代谢的影响 [J]. 环境昆虫学报, 2022, 44 (3): 579–585.

## 室内纱笼条件下不同蛋白饲料对工蜂生理代谢的影响

庄明亮, 李剑飞, 王志, 牛庆生, 陈东海, 王进州,  
葛蓬, 李志勇\*, 王琦

(吉林省养蜂科学研究所, 吉林 132108)

**摘要:** 本文旨在探究不同蛋白饲料对蜜蜂生长发育代谢的影响进而指导养蜂生产实践, 试验选取刚出房的意大利蜜蜂 *Apis mellifera ligustica* 270 头, 分为 3 组, 3 个重复, 每个重复 30 头工蜂, 分别饲喂 3 种饲料。对照组饲料: 蜂蜜: 蔗糖粉 = 1:3; 试验组 A 饲料: 花粉: 蜂蜜: 蔗糖粉 = 5:1:6; 试验组 B 饲料: 蜂粮: 蜂蜜: 蔗糖粉 = 5:1:6。在纱笼内进行室内饲养, 观察记录蜜蜂 7 d 内的存活情况; 采用液相色谱-质谱联用技术 (LC-MS) 方法检测试验组 A 与 B 饲料对饲喂 5 日龄蜜蜂的代谢差异, 对数据进行模式识别分析, 筛选鉴别差异代谢物。结果表明: 饲喂试验组 B 饲料的蜜蜂比试验组 A 蜜蜂存活时间显著增长 ( $P < 0.05$ ); 代谢组数据显示试验组 A 和 B 明显分离, 共鉴定出 15 个差异代谢物, 包括氨基酸、维生素、糖类等, 其中 11 个差异代谢物下调, 4 个差异代谢物上调; 代谢物通路分析差异显著有甘氨酸、丝氨酸和苏氨酸代谢通路, 精氨酸和脯氨酸代谢通路, 赖氨酸降解通路、戊糖磷酸通路 ( $P < 0.05$ )。说明在纱笼等特殊环境中, 工蜂饲料不可直接加入花粉, 按照蜂粮: 蜂蜜: 蔗糖粉 = 5:1:6 的比例混合制成的人工饲料更适合蜜蜂生存。

**关键词:** 蜜蜂; 饲料; 蜂粮; 花粉; 寿命; 差异代谢物

中图分类号: Q968.1; S433

文献标识码: A

文章编号: 1674-0858 (2022) 03-0579-07

### Effects of different protein diets on the physiological metabolism of worker bees under indoor cage conditions

ZHUANG Ming-Liang, LI Jian-Fei, WANG Zhi, NIU Qing-Sheng, CHEN Dong-Hai, WANG Jin-Zhou, GE Peng, LI Zhi-Yong\*, WANG Qi ( Apiculture Science Institute of Jilin Province, Jilin 132108, Jilin Province, China)

**Abstract:** The purpose of this paper is to explore the effect of different protein diets on the growth, development and metabolism of bees and to guide the production practice of beekeeping. A total of 270 Italian bees (*Apis mellifera ligustica*) were selected, divided into 3 groups and three repetitions, each group of 30 workers bees. Diet for control group: Honey : Sucrose powder = 1 : 3; Diet for the experimental group A: Pollen: Honey: Sucrose powder = 5:1:6; Diet for the experimental group B: Bee bread: Honey: Sucrose powder = 5:1:6. Used these 3 diets to feed indoors in a sarong, observed and recorded the survival of bees within 7 days; Liquid chromatography-mass spectrometry (LC-MS) method was used to detect the metabolic difference between the A and the B diet on bees after 5 days of feeding, performed pattern recognition analysis on the data to screen and identify different metabolites. The results showed that the survival time of bees fed experimental group B diet was significantly longer than that of

基金项目: 吉林省科技发展计划项目 (20200402042NC); 国家蜂产业技术体系建设项目 (CARS-44-KXJ3)

作者简介: 庄明亮, 男, 1989 年生, 吉林辽源人, 硕士研究生, 研究方向为蜜蜂生物学, E-mail: mingliang89@126.com

\* 通讯作者 Author for correspondence: 李志勇, 男, 博士, 研究方向为蜜蜂生物学, E-mail: apis-li@163.com

收稿日期 Received: 2021-04-01; 接受日期 Accepted: 2021-05-27

experimental group A bees ( $P < 0.05$ ); the metabolome data showed that experimental group A and B were significantly separated. A total of 15 different metabolites were identified, including amino acids, vitamins, sugars and so on, of which 11 differential metabolites were down-regulated and 4 differential metabolites were up-regulated; significant differences in metabolite pathway analysis included glycine, serine and threonine metabolic pathways, arginine and proline metabolic pathways, lysine degradation pathways, and pentose phosphate pathways ( $P < 0.05$ ). It showed that in special environments such as sarongs, worker bee diets could not be directly added to pollen. The artificial diet made by mixing bee bread: Honey: Sucrose powder = 5:1:6 was more suitable for the survival and development of bees.

**Key words:** Honeybees; bee food; bee bread; pollen; differential metabolite

蛋白质是一切生命的物质基础, 蜜蜂的生存需要蛋白质 (薛嘉璐, 2020), 蛋白饲料为蜜蜂的组织发育、修复等提供原料 (庄明亮等, 2019)。正常条件下蜜蜂通过采集植物花粉来获得蛋白质营养, 但在一些特殊环境, 需要人工配制饲料来满足蜜蜂的生长发育和生存, 对于养蜂生产实践意义重大。蜂粮是成年蜜蜂的天然食粮, 经由工蜂采集的植物花粉, 加入花蜜和酶等, 并贮存在巢房中发酵而成的产物 (Claudia and Consuelo, 2016)。蜂粮的营养成分十分丰富, 含蛋白质、碳水化合物、维生素和类黄酮等, 对于蜜蜂蜂群的正常的生长发育至关重要 (Wolfe and Dutton, 2015; 刘玥佳等, 2020)。近些年来, 关于蜜蜂营养的研究取得了阶段性进展, 集中在蜜蜂幼虫时期的蛋白质 (李成成等, 2011; 刘俊峰等, 2011)、矿物质 (张鸽和胥保华, 2012)、维生素 (冯倩倩等, 2012; 廖春华等, 2016) 等营养需要, 缺乏对成年工蜂营养的系统研究。

本试验通过配制含有一定比例蜂粮和花粉的蛋白饲料, 在实验室纱笼条件下观察和记录蜜蜂的死亡情况, 利用液相色谱/质谱联用技术 (Liquid Chromatograph Mass Spectrometer, LC-MS) 检测其对蜜蜂生理代谢的影响, 通过分析计算筛选差异代谢物, 并结合数据库 (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes, KEGG), 探讨对代谢通路的影响, 发掘对蜜蜂寿命起关键作用的营养因素, 为特殊环境中工蜂饲料的合理配制提供理论基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

#### 1.1.1 供试蜜蜂

试验蜜蜂采自吉林省养蜂科学研究所的意大利蜜蜂 *Apis mellifera ligustica* 蜂群。

#### 1.1.2 主要试剂

蜂粮 (取自当年健康蜂群, 现取现用), 蜂蜜 (当年7月蜂场自取波美度 42°成熟椴树蜜, 保存于干燥通风环境), 杂花粉 (取自当年健康蜂群), 蔗糖 (广西大新湘桂制糖有限公司), 甲醇、甲酸、乙腈等 (天津市彪仕奇科技有限公司), L-2-氯苯丙氨酸 (生工生物工程股份有限公司)。

#### 1.1.3 主要仪器

样品快速研磨仪 (JXFSTPRP-24/32 型, 购自上海净信有限公司), 电子天平 (JD300-3-G 型, 沈阳龙腾电子有限公司), 超声波清洗机 (SB-5200DT 型, 宁波东鑫有限公司), 冷冻离心机 (TGL-16MS 型, 上海卢湘仪器有限公司), 液相色谱仪 (Nexera UPLC 型, 日本岛津公司), 高分辨质谱仪 (QE 型, 赛默飞公司)。

## 1.2 试验方法

### 1.2.1 1日龄工蜂的获取

准备产过 1~2 代蜜蜂的空巢脾, 利用蜂群清理, 然后将巢脾置于底箱中央, 并使用控产器限制蜂王产卵 12 h, 把此巢脾放入蜂群继箱中, 工蜂出房前 1 d 提取巢脾, 放到  $34.5^{\circ}\text{C} \pm 0.3^{\circ}\text{C}$  培养箱里, 待工蜂出房。

### 1.2.2 饲料的配制

依据本团队前期工作基础 (庄明亮等, 2021), 以蜂蜜、蔗糖粉、花粉和蜂粮为原料, 按照一定比例配置 3 种饲料。对照组饲料: 蜂蜜和蔗糖粉按照 1:3 比例充分揉搓, 装入铁纱笼 5 g 备用; 试验组 A 饲料: 花粉、蜂蜜、蔗糖粉按照 5:1:6 比例充分揉搓, 装入铁纱笼 5 g 备用; 试验组 B 饲料: 蜂粮、蜂蜜、蔗糖粉按照 5:1:6 比例充分揉搓, 装入铁纱笼 5 g 备用。铁纱笼为长方体结构 (长×宽×高 = 13 cm×3.5 cm×3 cm)。

### 1.2.3 蜜蜂死亡情况的观察记录

每组铁纱笼内装入 30 头 1 日龄的工蜂, 放在避光安静的室内常温环境 ( $25^{\circ}\text{C} \sim 29^{\circ}\text{C}$ ) 饲养。

每天固定时间观察和记录蜜蜂的死亡情况, 并把死蜂清除。每组样品做 3 组平行处理。

#### 1.2.4 代谢组分析测定

根据上一步关于蜜蜂死亡情况观察的试验结果, 针对试验组 A 和试验组 B 进行代谢组分析。室内饲养第 5 天, 取生命体征正常的工蜂, 2 头成年工蜂装入 1 个 2 mL 离心管中, 置于液氮中 1.5 h 后放入  $-80^{\circ}\text{C}$  冰箱冷冻保存, 每组 6 个生物学重复。

把蜜蜂样本放入研磨机 70 Hz 运行 1.5 min, 称取 30 mg, 加入 20  $\mu\text{L}$  L-2-氯苯丙氨酸、20  $\mu\text{L}$  Lyso PC20 和 400  $\mu\text{L}$  甲醇, 震荡 40 s; 冰水中超声提取 15 min;  $-18^{\circ}\text{C}$  静置 25 min;  $4^{\circ}\text{C}$  条件 13 000 rpm 离心 10 min, 取 300  $\mu\text{L}$  上清液浓缩挥发, 加入 400  $\mu\text{L}$  甲醇: 水 (1:4) 重新溶解, 震荡 40 s;  $4^{\circ}\text{C}$  条件 13 000 rpm 再次离心 10 min, 用移液器吸取 150  $\mu\text{L}$  上清液, 使用 0.22  $\mu\text{L}$  相针孔过滤, 进行 LC-MS 检测。

色谱条件: 色谱柱为 ACQUITY UPLC BEH C-18 色谱柱, 流动速度 0.35 mL/min, 柱温  $45^{\circ}\text{C}$ ; 流动相 A 0.1% 甲酸, B 甲醇, 洗脱程序见表 1。

表 1 流动相梯度洗脱程序  
Table 1 Mobile phase gradient elution

时间 (min) Time	流动相 A (%) Mobile phase A	流动相 B (%) Mobile phase B
0.01	95	5
1.5	95	5
3	70	30
7	40	60
9	10	90
11	0	100
12	0	100
15	95	5

质谱条件: 采用 ESI 离子源, 电压正离子 3 500 V 负离子 3 100 V, 辅助气体流动速度为 10 arb, 鞘气体流动速度为 35 arb, 毛细管温度  $320^{\circ}\text{C}$ 。

#### 1.2.5 统计学分析

蜜蜂存活试验数据用 SPSS 18.0 进行分析,  $t$  检验进行差异显著性分析,  $P < 0.05$  表示差异显著。代谢组数据用 Progenesis Q1 v2.3 软件 (Nonlinear Dynamics Newcastle, UK) 分析, 用变量

投影重要度 (Variable Importance in the Projection, VIP) 和  $t$  检验来分析差异代谢物。使用 KEGG、The Human Metabolome Database (the human metabolome database, HMDB) 数据库并结合文献进行定性分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 饲喂不同蛋白饲料的蜜蜂死亡情况

蜜蜂 7 d 内的死亡情况 (表 2): 各试验组工蜂在第 1 天和第 2 天均没有出现死亡; 试验组 A 在第 3 天出现死亡, 在第 6 天 30 头工蜂全部死亡; 对照组和试验组 B 前 5 天均没有出现死亡, 在第 6 天和第 7 天试验组 B 死亡数量均显著低于对照组 ( $P < 0.05$ )。7 d 内每组总死亡情况: 对照组死亡  $7.27 \pm 1.78$  头, 试验组 A 死亡 30.00 头, 试验组 B 死亡  $2.34 \pm 0.58$  头。前 7 天试验组 B 总死亡数量显著对于对照组和试验组 A ( $P < 0.05$ )。

表 2 饲喂不同蛋白饲料的蜜蜂死亡情况

Table 2 Mortality of honeybees fed different diets

时间 (d) Time	对照组 (头) Control group	试验组 A (头) Experimental group A	试验组 B (头) Experimental group B
1	0	0	0
2	0	0	0
3	0 <sup>a</sup>	$1.67 \pm 0.58$ <sup>b</sup>	0 <sup>a</sup>
4	0 <sup>a</sup>	$6.00 \pm 1.00$ <sup>b</sup>	0 <sup>a</sup>
5	0 <sup>a</sup>	$9.33 \pm 0.58$ <sup>b</sup>	0 <sup>a</sup>
6	$3.67 \pm 1.53$ <sup>b</sup>	$13.00 \pm 1.00$ <sup>c</sup>	$0.67 \pm 0.58$ <sup>a</sup>
7	$3.67 \pm 2.08$ <sup>c</sup>	0 <sup>a</sup>	$1.67 \pm 0.58$ <sup>b</sup>

注: 同行数据不同字母差异显著 ( $P < 0.05$ )。Note: In the same row, values with different superscripts meant significant difference ( $P < 0.05$ ).

### 2.2 蜜蜂代谢物主成分分析

利用 LC-MS 方法分析饲喂不同蛋白饲料工蜂的代谢物, 色谱图的峰没有漂移, 而且具有稳定的保留时间。经过  $t$  检验, 设置  $\text{VIP} > 1.0$ ,  $\text{FC} >$

2.0, 共筛选差异代谢产物 393 个, 196 个上调, 197 个下调 (图 1)。

蜜蜂代谢物主成分分析得分图 PCA 见图 2-A, 采用 PCA 方法来观测两试验组的分布趋势, 试验样本全部在 95% 置信区间, 两组可以明显区分开。

蜜蜂代谢物偏最小二乘法判别分析得分图 PLS-DA 见图 2-B, 在 PCA 模型的基础上进一步探讨加入蜂粮的饲料与加入花粉的饲料对蜜蜂代谢的差异, 找到差异代谢物, 建立 PLS-DA 模型, 放大它们的差异。使用交叉验证法验证 PLS-DA 模型, 模型预测率 ( $Q^2$ ) 均大于 0.50, 模型稳定可靠, 且具有较好的分析判别能力。

蜜蜂代谢物正交偏最小二乘法判别分析得分图 OPLS-DA 见图 3-A, OPLS-DA 可筛选与分类无关的噪音, 优化重要变量, 有利于识别差异代谢物。前 3 个有效主成分的  $R^2 X$  (cum) = 0.528,  $R^2 Y$  (cum) = 0.927,  $Q^2$  (cum) = 0.817, 表明模型质量较好。

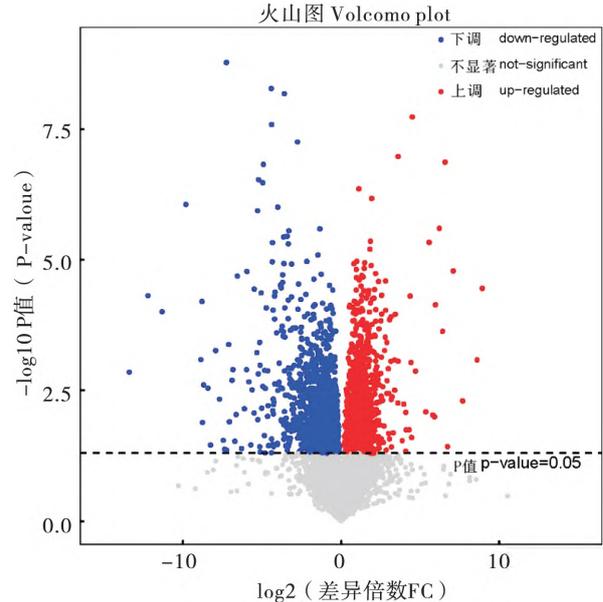
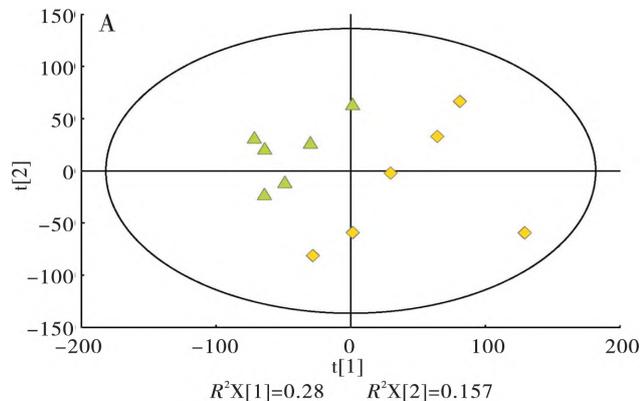


图 1 试验组 A 与试验组 B 差异代谢物的火山图  
Fig. 1 Volcano plot of differentially expressed metabolites of two groups

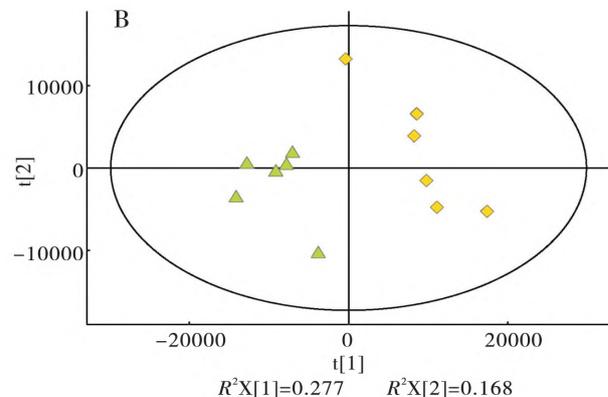


图 2 试验组 A 与试验组 B 蜜蜂代谢物 PCA 和 PLS-DA 得分图

Fig. 2 PLS-DA and PCA score scatter plots of bees metabolites in two groups

注: A, 三角形代表试验组; B, 正方形代表试验组。图 3 同。Note: A, Triangle represents test group; B, Square represents test group. The same for Fig. 3.

模型的排序验证图见图 3-B, 为了判别是否过拟合, 采用 200 次响应排序检验 (response permutation testing, RPT) 和 7 次循环交互验证 (7-fold cross validation) 来检测模型的质量。 $Q^2$  均在  $R^2$  之下, 并且  $Q^2$  小于 0, 表明模型没有过拟合, 稳定可靠, 可以进行下一步差异代谢物的鉴定与分析。

## 2.3 差异代谢物鉴定与分析

### 2.3.1 差异代谢物鉴定

试验组 A 与试验组 B 的差异代谢物情况, 通过 OPLS-DA 分析后, 在 OPLS-DA 模型中选择 VIP 值最大的前 100 个变量 (VIP 值大于 2.0), 对这 100 个变量进行内标和积分校正。在 Human、

KEGG 等数据库比对, 共指出 15 个差异代谢物, 包括氨基酸、维生素、糖类等, 试验组 A 相对于试验组 B, 上调的有 4 种代谢产物, 下调的有 11 种代谢产物 (表 3)。

### 2.3.2 差异代谢物通路分析

利用 KEGG 数据库对差异代谢物进行通路分析 (图 4)。代谢通路差异显著的有甘氨酸、丝氨酸和苏氨酸代谢通路 (Glycine, serine and threonine metabolism)、精氨酸和脯氨酸代谢通路 (Arginine and proline metabolism)、赖氨酸降解通路 (Lysine degradation)、戊糖磷酸通路 (Pentose phosphate pathway)。

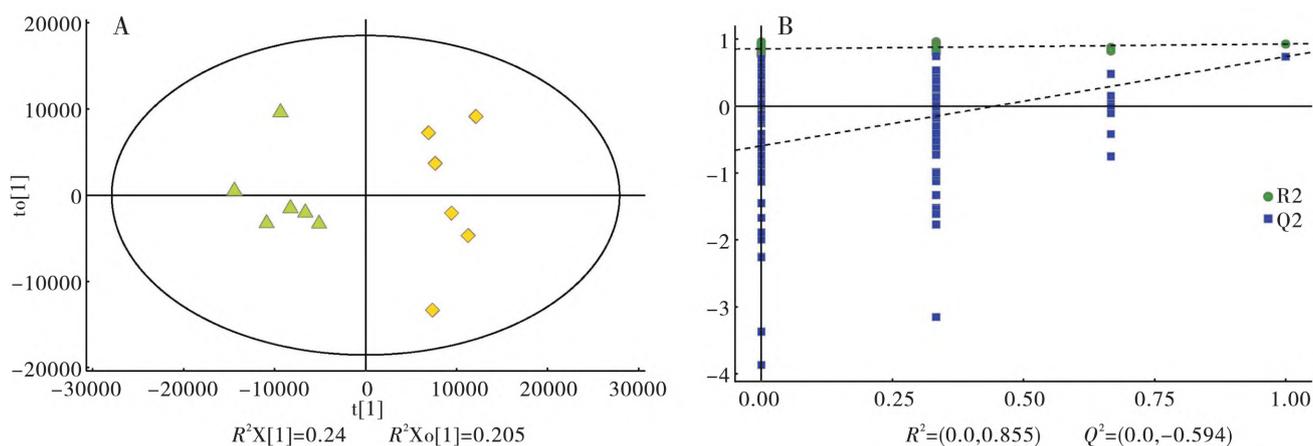


图3 试验组 A 与试验组 B 的 OPLS-DA 得分图和排序验证点图

Fig. 3 OPLS-DA score scatter plots (A) and sorting validation plots (B) between two groups

表3 试验组 A 与试验组 B 的差异代谢物

Table 3 Identification of significantly different metabolites in two groups

种类 Category	代谢物 Metabolite name	保留时间 (min) RT	变量投影 重要度 VIP	变化趋势 Variation trend	假定值 Pvalue	分子式 Molecular formula
氨基酸及其 衍生物 Amino acids and their derivatives	赖氨酸 Lysine	3.18	5.21	下降 Down	0.021	$C_6H_{14}N_2O_2$
	亮氨酸 Leucine	3.15	2.60	下降 Down	0.032	$C_6H_{13}NO_2$
	甘氨酸-L-亮氨酸 Glycylleucine	3.27	2.12	上升 Up	0.021	$C_8H_{16}N_2O_3$
	5-羟基色氨酸 L-5-Hydroxytryptophan	0.98	2.56	上升 Up	0.0069	$C_{11}H_2O_2N_2O_5$
	丝氨酸 Serine	4.15	3.43	下降 Down	0.0020	$C_3H_7NO_3$
维生素 Vitamin	精氨酸 Arginine	1.20	3.89	下降 Down	0.0056	$C_6H_{14}N_4O_2$
	维生素 B <sub>4</sub> Vitamin B <sub>4</sub>	1.01	3.82	下降 Down	0.015	$C_5H_5N_5$
	异鼠李素-3-O-槐二糖-7-O- 鼠李糖苷 Isorhamnetin 3- sophoroside-7-rhamnoside	4.83	6.03	下降 Down	0.0014	$C_{34}H_{42}O_{21}$
糖类及其衍生物 Sugars and their derivatives	肌苷 Inosine	1.47	3.27	下降 Down	0.029	$C_{10}H_{12}N_4O_5$
	核酸及其衍生物 Nucleic acids and their derivatives	7-甲基-2,6,8-三羟基嘌呤 7-Methyluric acid	1.16	4.33	下降 Down	0.040
其他 Others	犬尿喹啉酸 Kynurenic acid	3.74	9.85	上升 Up	0.0038	$C_{10}H_7NO_3$
	原阿片碱 Protopine	4.78	5.07	上升 Up	0.0032	$C_{20}H_{19}NO_5$
	卡比多巴 Carbidopa	4.04	3.53	下降 Down	0.031	$C_{10}H_{14}N_2O_4$
	4-羟基苯基丙酮酸 4-Hydroxyphenylpyruvic acid	1.31	2.78	下降 Down	0.042	$C_9H_8O_4$
	头孢呋辛 Cefuroxime	1.96	3.45	下降 Down	0.00019	$C_{16}H_{16}N_4O_8S$

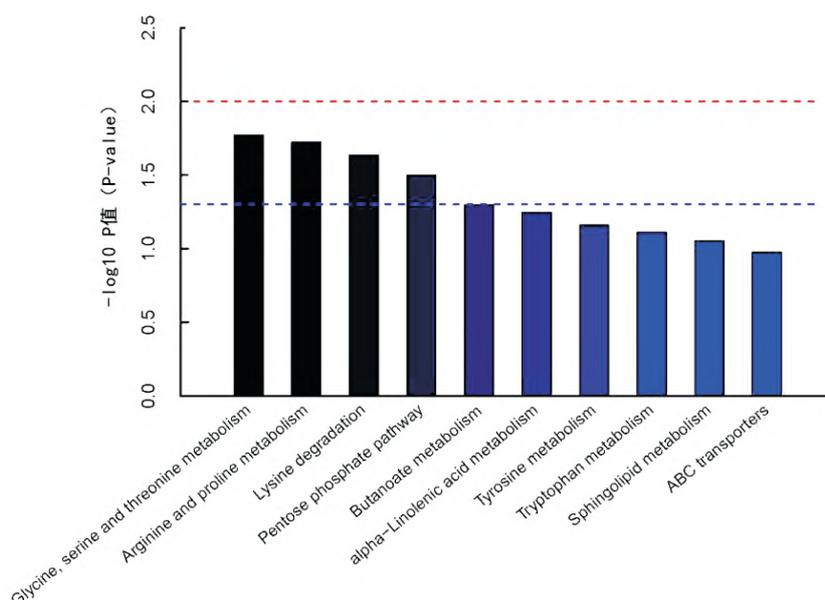


图4 差异代谢物 KEGG 代谢通路富集图

Fig. 4 Differential metabolite KEGG enrichment map

注: 蓝色虚线示意  $P$  值为 0.05, 条柱高于蓝线时, 代表的通路具有显著性差异。Note: The value of  $P$  indicated by the blue dotted line was 0.05. When the column was higher than the blue line, the pathway represented by the blue dotted line had significant difference. Glycine, serine and threonine metabolism: 甘氨酸、丝氨酸和苏氨酸代谢通路; Arginine and proline metabolism: 精氨酸和脯氨酸代谢通路; Lysine degradation: 赖氨酸降解通路; Pentose phosphate pathway: 戊糖磷酸通路; Butanoate metabolism: 丁酸代谢通路; Alpha-Linolenic acid metabolism:  $\alpha$ -亚麻酸代谢通路; Tyrosine metabolism: 酪氨酸代谢通路; Tryptophan metabolism: 色氨酸代谢通路; Sphingolipid metabolism: 鞘脂代谢通路; ABC transporters: ABC 转运蛋白代谢通路。

### 3 结论与讨论

优质的蜜蜂种质资源越来越引起人们的重视, 其中邮寄蜂王是目前引入优良蜂种的最为常用方式。长途邮寄蜂王时, 会伴有几头幼年陪嫁工蜂, 再装入炼糖饲料保证邮寄途中蜂王的安全。前期研究发现加入一定比例的蜂粮饲料, 工蜂不仅存活时间长而且又能保证王浆腺的正常发育, 邮寄蜂王的存活率高(庄明亮等, 2021)。但加入相同比例花粉的饲料, 工蜂在纱笼这种特殊环境中却不能长时间存活, 存活时间显著低于蜂粮饲料组。本试验在纱笼条件下模拟特殊环境, 通过液相色谱-质谱联用技术代谢组学研究饲喂相同比例蜂粮和花粉饲料的工蜂的代谢差异物, 找到影响工蜂寿命的关键因子。

本试验配置相同比例的花粉和蜂粮的 A、B 两组人工饲料, 与蜂蜜和蔗糖的炼糖饲料对比。结果最先出现蜜蜂死亡是 A 组, 出现在纱笼饲养的第 3 天, 而且在第 5 天 A 组蜜蜂全部死亡。而且延长纱笼饲养时间发现, B 组蜜蜂不仅存活时间

长而且蜜蜂生命体征更活跃, 说明 B 组的人工饲料更加适合蜜蜂, 能够保证蜜蜂在无法排泄的纱笼环境正常存活。蜜蜂接受不同蛋白饲料的饲喂, 它的寿命和活跃状况均不同。用镊子拉出 A、B 两组死亡蜜蜂的中肠, 发现 A 组蜜蜂中肠膨大并且有许多花粉粒, 在密闭的纱笼环境中无法消化吸收花粉, 可能是 A 组蜜蜂短时间大量死亡的原因。本试验采用代谢组学方法来评定试验组 A 和 B 饲料对蜜蜂生理代谢的影响, 通过分析判断验证并指出 15 个差异代谢物, 包括氨基酸、维生素、糖类等。

本研究发现, 试验组 A 和 B 鉴定出 6 种氨基酸及其衍生物差异显著, 其中 4 种氨基酸含量降低, 2 种氨基酸含量提高。试验组 A 赖氨酸含量比试验组 B 下降, 通过参考数据库 KEGG, 进一步对代谢通路分析发现赖氨酸降解通路出现差异。赖氨酸是蜜蜂生命活动的必需氨基酸, 赖氨酸分解后容易生成乙酰-CoA, 调控脂肪酸, 为脂质产生提供物质基础(Narkewicz *et al.*, 2000)。试验组 A 亮氨酸含量比试验组 B 下降, 亮氨酸是蜜蜂体内重要的氨基酸, 能够提高机体对蛋白质的利用效

率,戴荣国等(2016)研究表明亮氨酸能够显著提高蜂群群势和封盖数量等。试验组 A 比试验组 B 相比氨基酸含量下降数量大于上升数量,氨基酸代谢与蜜蜂生存发育、调节抗逆性等活动极其相关。添加花粉的试验组 A 比添加蜂粮的试验组 B 维生素中检测出差只有维生素 B<sub>4</sub>,其在动物体内与许多中间物质的合成有关,如 ATP 等。添加花粉的试验组 A 比添加蜂粮的试验组 B 的肌苷含量下降。肌苷参与生物体内 ATP、辅酶 A 等的合成,与生物体的能量及物质代谢相关。闫俊书等(2016)研究发现肌苷能促进三黄肉鸡体内 ATP 与蛋白质的合成,提高多种酶的活性,促进机体产生抗体。肌苷在蜜蜂机体内的应用研究还未见报道。

在室内纱笼等特殊环境中,工蜂饲料不可直接加入花粉,可以按照 6:5:1 蔗糖、蜂粮、蜂蜜比例混合制成的人工饲料,不仅可以提高蜜蜂存活率而且可以增加存活时间。采用 LC-MS 方法检测饲喂试验组 A 和 B 饲料 5 日的工蜂,共筛选鉴定 15 种差异代谢物,主要包括赖氨酸、亮氨酸、维生素 B<sub>4</sub>、肌苷等,主要涉及赖氨酸降解通路、精氨酸和脯氨酸代谢通路、能量代谢等途径。本试验结果可为蜜蜂饲养管理中人工饲料配置提供一定理论基础。

### 参考文献 (References)

Claudias SG, Consuelo DM. The nutritional and bioactive aptitude of bee pollen for a solid - state fermentation process [J]. *Journal of Apicultural Research*, 2016, 55 (2): 161 - 175.

Dai RG, Cao L, Wang RS, et al. Effects of different levels of leucine on the colony population and worker development of *Apis mellifera ligustica* in breeding season [J]. *Acta Entomologica Sinica*, 2016, 59 (5): 500 - 508. [戴荣国,曹兰,王瑞生,等. 不同水平亮氨酸对繁殖期意大利蜜蜂蜂群群势及工蜂发育的影响 [J]. 昆虫学报, 2016, 59 (5): 500 - 508]

Feng QQ, Yang WR, Xu BH, et al. Effect of different levels of vitamin A on the colony development and larvae antioxidation of *Apis mellifera ligustica* during the period of spring multiplication [J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2012, 45 (17): 3584 - 3591. [冯倩倩,杨维仁,胥保华,等. 不同水平维生素 A 对意大利蜜蜂春繁阶段群势及幼虫抗氧化性的影响 [J]. 中国农业科学, 2012, 45 (17): 3584 - 3591]

Li CC, Yang WR, Xu BH, et al. Optimal protein levels required and their effects on larval antioxidation of *Apis mellifera ligustica* Spinola [J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2011, 44 (22): 4714 - 4720. [李成成,杨维仁,胥保华,等. 意大利蜜蜂生长发育适宜蛋白供给水平及其对幼虫抗氧化活性的影响 [J]. 中国农业科学,

2011, 44 (22): 4714 - 4720]

Liao CH, Yuan A, Wu XB, et al. Effects of vitamin B<sub>2</sub> on lifespan and learning memory ability of worker bees for *Apis cerana cerana* [J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2016, 28 (10): 3346 - 3351. [廖春华,袁安,吴小波,等. 维生素 B<sub>2</sub> 对中华蜜蜂工蜂寿命及学习记忆能力的影响 [J]. 动物营养学报, 2016, 28 (10): 3346 - 3351]

Liu JF, Wu Xb, Yan WY, et al. The Effect of dietary protein levels on spring multiplication and larva oxidative stability of *Apis cerana cerana* [J]. *Acta Agriculturae Universitatis Jiangxiensis*, 2011, 33 (5): 960 - 964. [刘俊峰,吴小波,颜伟玉,等. 饲料蛋白水平对中华蜜蜂春繁性能及幼虫抗氧化性能的影响 [J]. 江西农业大学学报, 2011, 33 (5): 960 - 964]

Liu YJ, Han YJ, Peng WJ, et al. Analysis of microbial community diversity in bee bread by high - throughput sequencing [J]. *Food Science*, 2020, 41 (10): 94 - 100. [刘玥佳,韩业君,彭文君,等. 基于高通量测序技术分析蜂粮微生物多样性 [J]. 食品科学, 2020, 41 (10): 94 - 100]

Narkewicz MR, Jones G, Morales D. Serine and glycine transport in fetal ovine hepatocytes [J]. *Biochimica et Biophysica Acta - General Subjects*, 2000, 1474 (1): 41 - 46.

Wolfe BE, Dutton RJ. Fermented foods as experimentally tractable microbial ecosystems [J]. *Cell*, 2015, 161 (1): 49 - 55.

Xue JL, Wang Y, Zhang WX, et al. Effect of different protein sources on the nutritional value of bee pollen [J]. *China Feed*, 2020, 21: 124 - 129. [薛嘉璐,王颖,张卫星,等. 不同蛋白源对蜜蜂代花粉饲料营养价值的影响 [J]. 中国饲料, 2020, 21: 124 - 129]

Yan JS, Huan HL, Zhou WR, et al. Effects of exogenous inosine acid on growth performance, meat quality and serum biochemical indices of broilers [J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2016, 28 (1): 125 - 134. [闫俊书,宦海琳,周维仁,等. 外源肌苷酸对肉鸡生长性能、肉品质及血清生化指标的影响 [J]. 动物营养学报, 2016, 28 (1): 125 - 134]

Zhang G, Xu BH. Honeybee mineral nutrition [J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2012, 24 (11): 2097 - 2102. [张鸽,胥保华. 蜜蜂的矿物质营养 [J]. 动物营养学报, 2012, 24 (11): 2097 - 2102]

Zhuang ML, Li JF, Li ZY, et al. Effects of artificial diets on growth and development and physiological metabolism of young worker bees [J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2021, 33 (2): 1070 - 1080. [庄明亮,李剑飞,李志勇,等. 人工饲料对幼年工蜂生长发育及生理代谢的影响 [J]. 动物营养学报, 2021, 33 (2): 1070 - 1080]

Zhuang ML, Li ZY, Wang JZ, et al. Metabolomic analysis imidacloprid effect of honeybee worker based on liquid chromatograph mass spectrometer [J]. *Chinese Animal Husbandry and Veterinary Medicine*, 2019, 46 (8): 2220 - 2227. [庄明亮,李志勇,王进州,等. 基于 LC - MS 技术的代谢组学方法研究吡虫啉对工蜂代谢的影响 [J]. 中国畜牧兽医, 2019, 46 (8): 2220 - 2227]