

具有不同嗅觉学习能力的工蜂的遗传背景分析*

张丽珍** 袁 安 江武军 曾志将***

(江西农业大学蜜蜂研究所, 南昌 330045)

摘 要 【目的】蜜蜂是由不同亚家系组成的社会性群居昆虫, 为了研究具有不同嗅觉学习能力的工蜂的遗传背景差异。【方法】本试验以中华蜜蜂 *Apis cerana cerana* 为材料, 通过微卫星技术分析了两组嗅觉学习能力不同工蜂的亚家系分布情况。【结果】同一蜂群中拥有两种不同学习能力的工蜂在各亚家系的分布不存在显著差异 ($P>0.05$)。【结论】蜜蜂嗅觉学习能力可能与亚家系组成无关, 而由更精确的遗传因子调控。

关键词 蜜蜂, 嗅觉学习, 亚家系, 微卫星

Analysis of the genetic background of worker bees with different olfactory learning ability

ZHANG Li-Zhen** YUAN An JIANG Wu-Jun ZENG Zhi-Jiang***

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

Abstract [Objectives] Honeybees are a kind of social insect with distinct subfamilies. In the present study, an experiment was performed to investigate the genetic background of *Apis cerana cerana* workers with different olfactory learning abilities. [Methods] The subfamilies of two groups of worker bees with different olfactory learning abilities were identified using a microsatellite DNA technique. [Results] The results indicate that there were no significant subfamilial differences between honeybees with different learning abilities ($P>0.05$). [Conclusion] Differences in the olfactory learning ability of honeybees do not reflect subfamilial differences, but may be regulated by other genetic factors.

Key words honeybees, olfactory learning, subfamily, microsatellite

蜜蜂是一种拥有典型蜂群结构、精细分工、复杂行为以及惊人学习能力的社会性群居昆虫。其中, 蜂王则具有多雄交配特性, 使蜂群由许多“同母异父”的亚家系组成。这种复杂的父系结构影响了蜂群的社会分工, 并导致了工蜂行为的遗传多样性 (Robinson *et al.*, 2005; Zeng, 2009)。研究人员利用微卫星技术发现不同的亚家系在采集水分和跟踪外激素 (Kryger *et al.*, 2000)、扇风 (Su *et al.*, 2007)、早晚轮班觅食 (Kraus *et al.*, 2011)、监督 (Xie *et al.*, 2008) 及分蜂

(Huang *et al.*, 2009) 等行为方面都存在显著差异, 这表明工蜂行为受到遗传背景的影响。

蜜蜂的大脑非常小, 其重约 1 mg, 体积约 1 mm³, 但是它却拥有高度发达的神经系统。蜜蜂能够学会识别简单的颜色 (Menzel and Backhaus, 1991)、气味 (Guerrieri *et al.*, 2005)、图形 (Srinivasan, 1994) 以及抽提相同或不同的概念 (Giurfa *et al.*, 2001), 甚至可以利用上下文决定执行任务的时间和地点 (Pahl *et al.*, 2007)。近年来, 研究人员通过数字基因表达测

* 资助项目 Supported projects: 国家自然科学基金项目 (31260524); 国家蜂产业技术体系项目 (CARS-45-KXJ12)

**第一作者 First author, E-mail: zlzcg@126.com

***通讯作者 Corresponding author, E-mail: bees1965@sina.com

收稿日期 Received: 2015-03-17, 接受日期 Accepted: 2015-08-14

序 (DGE) 发现经过 PER 训练的蜜蜂有 30 个基因上调并且 229 个基因下调, 这表明经过嗅觉训练蜜蜂体内的基因发生了变化 (Wang *et al.*, 2013), 且移植老蜂脑体蛋白的小蜜蜂在首次放飞就能顺利返巢, 这预示着蜜蜂的嗅觉学习能力可能与遗传背景有关。鉴于此, 本研究利用吻的延伸反应 (PER) 和微卫星技术, 研究了不同嗅觉学习能力工蜂的亚家系分布是否存在差异, 现将研究结果报道如下。

1 材料与方法

1.1 实验蜂群

江西农业大学动物科学技术学院蜜蜂研究所饲养的 2 群中华蜜蜂 (I 蜂群和 II 蜂群), 按照中华蜜蜂活框饲养技术规范饲养管理。每群蜂是 4~5 张脾的强群, 而且蜂群健康无病。

1.2 样品采集

从蜂巢中取刚出房的蜜蜂, 饲养在一个矩形框中, 饲喂 1 mol/L 的蔗糖溶液和少量蜂粮, 在恒温恒湿 (相对湿度 90%, 35) 的培养箱培养 7 d。

PER 实验: 培养到第 8 天早上 6:00 时, 开始进行 PER 实验。将以上培养的蜜蜂随机分成两组, 即训练组和对照组。首先将蜜蜂放在冰上约 3~5 min, 接着将蜜蜂的身体用黑色无味布基胶带固定在小铜管上, 保证前足和头可以自由活动。固定好后, 蜜蜂被放在 35 恒温培养箱中复苏。下午, 用 2 种不同的气味 (柠檬和香草) 训练蜜蜂, 10 μ L 柠檬加在 3 mL 的蔗糖溶液

(1 mol/L) 作为奖励刺激, 10 μ L 香草加在 3 mL 饱和盐水作为惩罚刺激。训练期间, 将小抽气风扇放在蜜蜂的后边, 保持气味刺激恒定散发以及快速消除残留气味以免影响训练。训练时, 使用注射器将气味刺激呈现在离蜜蜂触角 1~2 cm 的位置, 直到蜜蜂延伸吻吸糖水。如果蜜蜂在 5 s 内不延伸吻, 则用注射器触碰一下蜜蜂的触角使其伸吻, 而且尽量在惩罚刺激时让蜜蜂尝到盐水的味道。每只蜜蜂都用两种刺激交替训练 1 次。第 8 天傍晚, 蜜蜂被测试, 按照测试结果分为 2 组。严格按照每种刺激呈现 5 s, 当呈现奖励刺激时伸吻则记录“正确”; 当呈现惩罚刺激时伸吻则记录“错误”, 反之亦然。每只蜜蜂被测试 3 次, 每次间隔 5 min。测试结束后将测试 3 次全正确的分为一组, 即嗅觉学习能力较强的; 首次错误且只要有 1 次不正确的分为一组, 即嗅觉学习能力较弱的。

1.3 基因组 DNA 的提取

首先用眼科剪剪取蜜蜂的胸部, 放在灭过菌的 EP 管中, 用眼科剪剪碎蜜蜂的胸部肌肉, 加裂解液, 再用玻璃研磨棒在冰上研磨 1~2 min, 水浴。接下来按照 DNA 提取试剂盒说明书的步骤提取蜜蜂基因组 DNA。利用微量核酸蛋白分析仪检测提取的每只蜜蜂的基因组 DNA, 其浓度在 30~50 μ g/mL, OD260/OD280 在 1.6~1.9。

1.4 PCR 扩增反应

实验所用的 4 对微卫星 (Ap049、AP226、Ac011 和 At003) 引物由上海生物工程有限公司合成 (表 1)。PCR 反应体系: 模板 DNA 1 μ L,

表 1 微卫星引物序列及部分 PCR 条件
Table 1 Sequences of microsatellite primers and some PCR conditions

引物 Primers	序列 Sequences	大小 Sizes	退火温度 () Annealing temperature ()	循环数 Cycle number
Ap049	F 5'-CCAATAGCGGCGAGTGTG 3' R 5'-GGGCTTCGTACGTCCACC-3'	142	58	30
AP226	F 5'-AACGGTGTTCGCGAAACG-3' R 5'-AGCCAACTCGTGCGGTCA-3'	231	58	30
Ac011	F 5'-CTTACGCCAATCTCTCCACG-3' R 5'-CGGTTAATTTTCGTTTCTCGC-3'	127	58	30
At003	F 5'-GATCATTTCCTTCATTCTTCTCTCTC-3' R 5'-ATGCTCGACTATTCCGCG-3'	199	55	30

10× Buffer (包括 Mg^{2+}) 2.5 μ L, 正反向引物各 1 μ L, dNTP (2.5 mmol/l) 2 μ L, *Taq* 聚合酶 0.3 μ L, 用 ddH₂O 补足到 25 μ L。PCR 扩增程序: 94℃ 预变性 5 min; 94℃ 变性 1 min, 退火 1 min (4 种微卫星位点的退火温度见表 1), 72℃ 延伸 2 min; 72℃ 再延伸 10 min; 保存 4℃。

1.5 PCR 扩增产物的检测

PCR 扩增产物必须通过严格检测才能确定是否得到特定扩增的产物, 否则会影响毛细管电泳结果和个体基因型的判定。为此, 将 PCR 产物和缓冲液混匀上样于 1.5% 的 0.5× TBE 琼脂糖胶中 (已加入 GelStain 染色剂), 于 200 V、80 mA 条件下电泳 40 min, 在凝胶成像系统下观察扩增结果, 没有得到预期的特定扩增产物或扩增效果不太好的个体, 将重新进行 PCR 扩增。

1.6 PCR 扩增产物的片段分析及等位基因的判定

取个体的 PCR 产物 1 μ L, 加 DNA 稀释液 8 μ L 稀释, 取 2 μ L Size marker, 加 DNA Dilution buffer 8 μ L 稀释。之后将 95 个样品 (47 只学习能力强的, 47 只学习能力差的以及 1 只本群蜂王的 PCR 产物稀释样品) 和 1 个 1 000 bp 的分子标记同时放在 96 孔板中。利用 QIAxcel DNA Screening 分析系统对 4 对微卫星引物的 PCR 产物进行毛细管全自动基因型分析。

QIAxcel ScreenGel 分析软件把电泳的原始信号峰图和模拟胶图等信息经过计算机处理成数据信息, 并确定 DNA 片段的分子量和浓度。根据扩增片段的不同长度判定等位基因, 并读取标记个体的基因型。

1.7 数据分析

利用 Matesoft 软件分析两组不同学习能力工蜂个体的亚家系。然后利用 SPSS 17.0 软件, 采用非参数检验中的两个独立样本 Mann-Whitney U 秩和检验同一群内不同嗅觉学习能力工蜂个体亚家系的差异性。

2 结果与分析

2.1 毛细管电泳结果

我们采用 QIAxcel DNA Screening 分析系统总共分析了 190 只蜜蜂的 3 个微卫星位点的基因型, 其中包括 94 只学习能力强的、94 只学习能力弱的以及 2 只蜂王的基因型。其部分个体的 4 对微卫星模拟电泳图谱如图 1 所示。从图 1 中我们可以根据扩增片段的长度, 判断每只蜜蜂的基因型。

2.2 亚家系分析结果

蜜蜂的亚家系分析数据如表 2 和表 3 所示。由表 2 和表 3 可知, I 号蜂群共检测到 16 个亚家系, II 号蜂群共检测到 17 个亚家系。同时 SPASS17.0 软件的分析结果表明同一蜂群中两组不同学习能力的工蜂在各亚家系的分布不存在显著差异 (蜂群 I: $Z = -0.459$, $P = 0.646$; 蜂群 II: $Z = -0.892$, $P = 0.373$), 说明蜜蜂的嗅觉学习能力与遗传背景无关 ($P > 0.05$)。

3 讨论

本实验通过微卫星技术, 检测得到 I 号和 II 号蜂群分别由 16 和 17 个亚家系组成, 并且蜜蜂的嗅觉学习能力高低与亚家系的分布无显著差异。尽管研究人员发现哺乳动物的认知能力与遗传有关, 如人类单卵或异卵双胞胎在一般认知能力方面遗传度可达到 0.8 (Plomin *et al.*, 1994), 并且大鼠的迷宫学习和空间学习能力都是可遗传的 (Yan, 1980)。但是学习行为过程是相当复杂的, 除了遗传背景外还受到环境因素的影响, 同时无脊椎动物的学习主要靠“反射”, 不同于脊椎动物 (Yan, 1980)。此外, 蜜蜂的嗅觉学习能力高低不能将蜜蜂简单划分为“聪明”或“笨”, 因为嗅觉学习能力低有可能视觉学习能力高, 反之亦然。

研究人员发现 PER 训练学习后, 气味结合蛋白 (obp3 和 obp17) 化学感受蛋白 (CSP3)

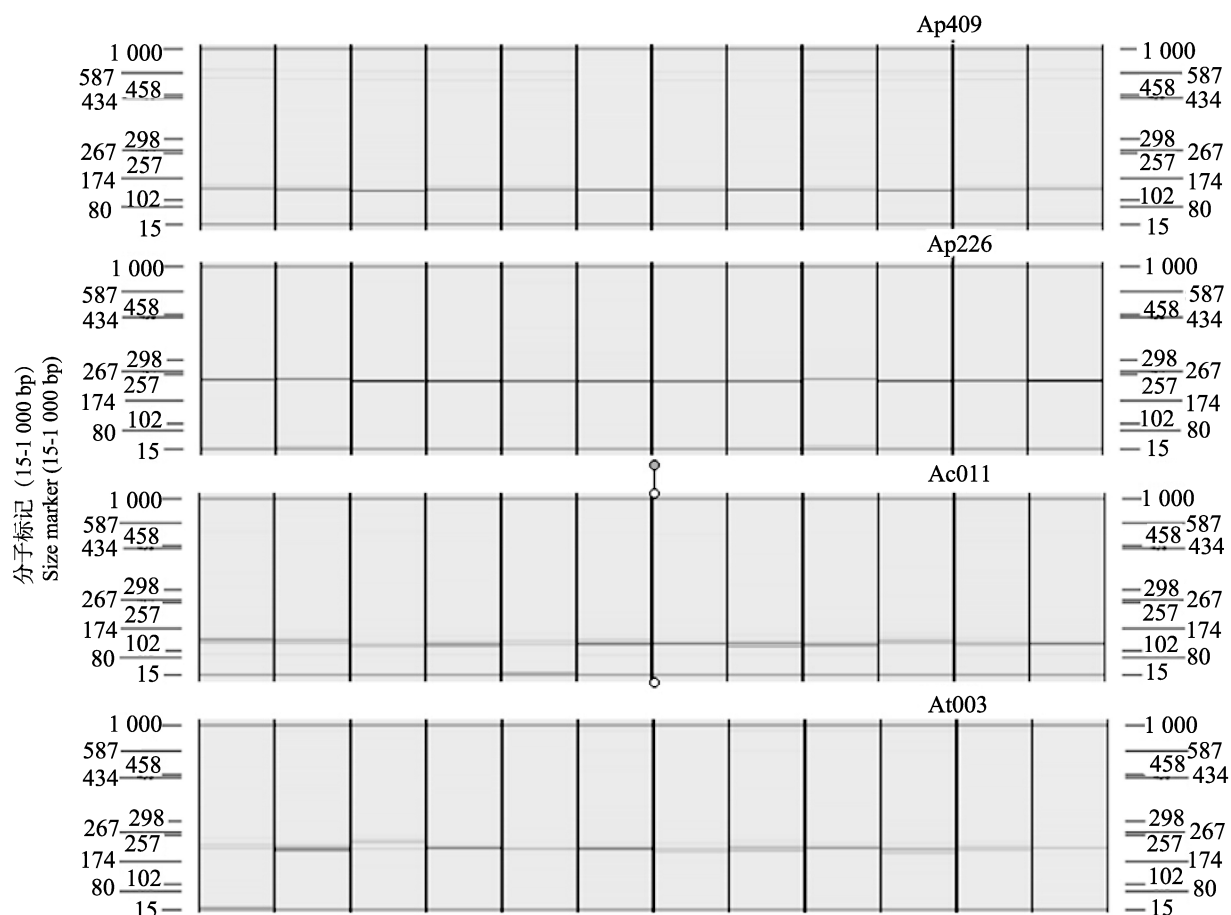


图 1 部分个体的 PCR 扩增产物的模拟胶图

Fig. 1 Simulating electrophoretogram of PCR amplification products of some individuals

表 2 蜜蜂个体基因型测定结果

Table 2 Genotype of marketed honeybees

个体编号 Individual number	微卫星位点 Microsatellites locus				个体编号 Individual number	微卫星位点 Microsatellites locus			
	Ap049	Ap226	Ac011	At003		Ap049	Ap226	Ac011	At003
Q41	136/145	250/255	122/135	210/223	Q45	135/145	236/244	121/133	216/229
4101	136/145	250/250	122/150	210/210	4501	135/145	233/236	121/121	216/229
4102	136/145	255/255	122/150	210/210	4502	135/135	236/236	121/121	216/229
4103	136/136	255/255	122/135	210/210	4503	135/154	236/236	121/121	216/216
4104	136/145	255/255	122/135	210/210	4504	135/154	236/236	121/121	216/216
4105	136/145	255/255	122/135	210/234	4505	145/145	233/236	121/121	216/229
4106	136/136	255/255	122/150	210/234	4506	135/135	233/236	121/121	216/229
4107	136/145	255/255	122/150	210/234	4507	135/145	233/236	121/121	216/229
4108	136/136	255/255	135/135	210/234	4508	135/135	236/244	121/133	229/229
4109	136/145	250/250	122/135	210/223	4509	135/135	233/236	121/121	229/229
4110	136/136	255/255	122/122	210/210	4510	135/135	236/236	121/145	216/216
4111	136/145	255/255	122/135	210/234	4511	135/145	244/244	121/145	216/229
4112	136/145	255/255	122/135	210/210	4512	135/135	236/244	121/133	229/229
4113	136/145	255/255	122/122	210/234	4513	135/145	244/244	121/145	216/229

续表 2 (Table 2 continued)

个体编号 Individual number	微卫星位点 Microsatellites locus				个体编号 Individual number	微卫星位点 Microsatellites locus			
	Ap049	Ap226	Ac011	At003		Ap049	Ap226	Ac011	At003
4114	136/145	255/255	122/122	210/234	4514	135/145	236/236	121/133	229/229
4115	136/145	245/250	122/122	210/234	4515	135/145	233/236	121/121	216/229
4116	136/136	245/255	135/150	210/234	4516	135/145	244/244	121/145	216/216
4117	136/145	255/255	122/135	210/210	4517	135/135	233/236	121/133	216/216
4118	136/136	255/255	122/135	210/234	4518	135/154	233/236	121/133	216/216
4119	136/145	255/255	122/135	210/234	4519	135/145	233/236	121/133	229/229
4120	136/145	255/255	135/150	210/210	4520	135/145	233/236	121/121	229/229
4121	136/145	255/255	122/135	210/210	4521	135/145	233/236	121/121	216/229
4122	136/145	255/255	122/135	210/210	4522	135/135	233/236	121/133	216/229
4123	136/136	250/255	135/150	210/210	4523	135/145	236/236	121/133	229/229
4124	136/136	255/255	122/135	210/223	4524	145/154	236/236	121/121	216/216
4125	136/145	255/255	122/135	210/234	4525	135/135	233/244	121/121	216/229
4126	136/136	250/255	122/135	210/223	4526	145/145	244/244	121/121	216/229
4127	136/136	250/255	122/135	210/234	4527	235/145	233/236	121/133	216/229
4128	136/145	250/255	122/122	210/210	4528	135/135	233/236	121/133	216/229
4129	136/136	255/255	135/150	210/210	4529	135/135	244/244	121/145	216/229
4130	136/136	255/255	135/150	210/210	4530	135/135	233/236	121/133	216/216
4131	136/136	255/255	135/150	210/234	4531	135/145	233/236	121/121	216/216
4132	136/145	255/255	122/135	210/234	4532	135/145	233/236	121/121	216/216
4133	136/136	250/255	122/122	210/234	4533	135/135	233/236	121/121	216/229
4134	136/136	250/255	122/150	210/234	4534	135/145	233/236	121/133	216/229
4135	136/145	250/255	122/135	210/234	4535	135/145	236/244	121/133	229/229
4136	136/145	255/255	135/150	210/210	4536	135/154	236/236	121/145	229/229
4137	136/136	250/250	122/135	210/234	4537	135/145	236/244	121/133	229/229
4138	136/136	250/255	122/135	210/210	4538	135/135	244/244	121/145	216/229
4139	136/145	250/250	135/150	210/234	4539	135/135	233/236	133/133	216/216
4140	136/145	250/255	122/135	210/210	4540	135/145	233/236	121/121	216/240
4141	136/145	250/255	135/150	210/210	4541	135/145	233/236	121/133	216/216
4142	136/136	255/255	122/150	210/234	4542	135/145	233/236	121/121	216/216
4143	136/145	255/255	122/135	210/234	4543	135/145	233/236	121/133	216/216
4144	136/136	250/255	135/135	210/234	4544	135/145	233/236	121/133	216/229
4145	136/136	250/255	135/135	210/234	4545	135/135	244/244	121/121	216/240
4146	136/136	250/250	122/122	210/210	4546	145/154	236/236	121/121	229/229
4147	136/145	250/250	122/135	210/223	4547	135/154	236/236	121/145	229/229
4148	136/145	255/255	122/135	210/234	4548	135/154	236/236	121/121	216/216
4149	136/136	250/250	122/150	210/234	4549	135/135	236/236	121/145	216/216
4150	136/136	250/250	122/122	210/234	4550	145/145	236/236	121/121	216/216
4151	136/155	250/255	135/150	210/210	4551	135/135	233/236	133/133	216/216
4152	136/145	250/255	122/135	210/210	4552	135/145	233/236	133/133	216/216
4153	136/145	250/255	122/135	210/210	4553	135/135	236/244	121/133	229/229
4154	136/145	255/255	122/135	210/210	4554	145/154	233/236	133/145	216/216
4155	136/136	250/255	122/135	210/210	4555	145/145	233/236	121/145	229/229
4156	145/155	250/250	135/150	210/210	4556	145/154	233/236	121/133	216/229

续表 2 (Table 2 continued)

个体编号 Individual number	微卫星位点 Microsatellites locus				个体编号 Individual number	微卫星位点 Microsatellites locus			
	Ap049	Ap226	Ac011	At003		Ap049	Ap226	Ac011	At003
4157	145/155	250/250	122/122	210/210	4557	135/135	236/236	121/121	229/229
4158	136/136	250/255	135/150	210/223	4558	135/154	236/236	133/145	229/229
4159	136/136	255/255	122/122	210/210	4559	135/135	236/236	121/145	216/216
4160	136/145	250/255	122/122	210/234	4560	145/145	244/244	121/133	216/216
4161	136/136	250/250	122/122	210/210	4561	135/154	236/236	121/145	229/229
4162	136/136	250/255	122/122	210/234	4562	135/135	236/236	121/145	216/216
4163	136/145	250/255	122/135	210/223	4563	145/145	233/236	121/121	216/216
4164	145/155	250/250	122/135	210/210	4564	135/145	233/236	121/121	216/240
4165	136/136	250/255	122/122	210/234	4565	135/135	244/244	121/145	216/216
4166	136/136	250/255	122/135	210/223	4566	135/145	233/236	121/121	216/216
4167	145/145	250/255	122/122	210/234	4567	145/145	233/236	121/121	216/229
4168	136/136	250/250	122/122	210/210	4568	145/154	244/244	133/145	216/216
4169	136/145	250/250	122/122	210/234	4569	145/154	236/236	121/121	216/216
4170	145/155	250/250	122/135	210/210	4570	135/145	236/236	121/121	229/229
4171	136/136	245/250	122/135	210/223	4571	135/154	236/236	133/145	229/229
4172	145/155	250/250	122/150	210/223	4572	145/154	244/244	121/145	216/229
4173	136/145	250/250	122/135	210/210	4573	145/154	236/236	121/121	216/216
4174	136/136	250/250	122/135	210/210	4574	145/154	236/236	121/121	216/216
4175	136/136	255/255	122/135	210/234	4575	135/135	244/244	121/145	216/216
4176	145/155	250/255	122/135	210/210	4576	135/135	244/244	121/145	216/216
4177	136/145	250/250	122/135	210/234	4577	135/135	244/244	121/145	216/216
4178	136/145	250/250	122/135	210/210	4578	135/145	236/244	121/133	229/229
4179	136/145	250/255	122/122	210/210	4579	135/135	233/236	121/121	216/229
4180	136/145	250/250	122/122	210/210	4580	135/135	233/236	121/121	216/229
4181	136/136	250/255	135/150	210/223	4581	135/135	244/244	121/145	216/216
4182	136/145	250/250	135/150	210/210	4582	145/154	236/236	121/121	216/216
4183	136/136	245/250	135/150	210/210	4583	135/154	236/236	121/121	216/216
4184	136/145	250/250	122/150	210/210	4584	145/154	244/244	133/145	216/216
4185	136/136	250/250	135/150	210/210	4585	135/135	244/244	133/145	216/216
4186	136/136	250/250	122/135	210/223	4586	145/154	233/236	121/133	216/229
4187	145/155	255/255	135/135	223/223	4587	145/154	233/236	121/121	216/216
4188	136/136	245/250	122/122	210/210	4588	135/135	244/244	121/145	216/216
4189	136/136	245/250	122/122	210/234	4589	145/154	233/236	121/145	216/229
4190	136/145	245/250	122/122	210/210	4590	145/154	233/236	121/121	216/216
4191	136/136	250/255	122/135	210/210	4591	145/154	233/236	121/145	216/229
4192	136/136	245/250	122/135	210/210	4592	135/135	233/236	121/133	229/240
4193	136/145	250/250	135/150	210/210	4593	145/154	233/236	121/145	216/229
4194	136/136	250/250	122/135	210/210	4594	145/154	233/236	121/133	216/229

表 3 两组不同学习能力工蜂的亚家系分析结果
Table 3 Analysis of subfamilies between two groups of different learning ability of honeybee

亚家系 Subfamilies	蜂群 Colony			蜂群 Colony		
	父系基因型 Genotypes of paternity (Ap049/Ap226/ Ac011/At003)	100%正确率的 个体数 The number of 100% accuracy	低于 100%正确 率的个体数 The number of less than 100% accuracy	父系基因型 Genotypes of paternity (Ap049/Ap226/ Ac011/At003)	100%正确率的 个体数 The number of 100% accuracy	低于 100%正确 率的个体数 The number of less than 100% accuracy
1	136/250/122/210	3	8	135/233/121/229	15	2
2	136/255/122/210	12	9	145/233/121/216	6	3
3	136/255/135/234	11	2	135/244/145/216	5	7
4	145/255/122/234	3	2	135/233/133/216	3	2
5	136/250/122/234	2	5	135/236/121/229	7	4
6	136/250/150/210	3	6	154/236/121/216	3	6
7	136/255/150/210	5	0	154/233/121/216	1	5
8	136/255/150/234	5	0	154/236/145/229	2	3
9	155/250/122/210	0	4	135/236/145/216	1	3
10	136/245/122/210	0	4	154/233/145/216	0	4
11	136/250/150/234	1	1	135/233/121/240	1	2
12	255/250/150/210	0	3	154/244/145/216	0	3
13	136/245/122/234	1	1	145/244/121/216	1	1
14	136/245/150/210	1	0	135/244/121/240	1	0
15	136/245/150/210	0	1	154/236/121/229	1	0
16	155/255/135/223	0	1	145/236/121/216	0	1
17				145/233/145/229	0	1

采用非参数检验中的两个独立样本 Mann-Whitney U 秩和检验分析了两组具有不同嗅觉学习能力工蜂的亚家系分布情况, 结果发现两组工蜂在各亚家系的分布差异不显著(蜂群 I : $Z = -0.459$, $P = 0.646$; 蜂群 II : $Z = -0.892$, $P = 0.373$)。 Each colony has no difference among the subfamilies on the number of two groups of different learning ability of worker bees according to the Mann-Whitney U (Colony I : $Z = -0.459$, $P = 0.646$; Colony II : $Z = -0.892$, $P = 0.373$).

神经递质受体 (OA1) 以及突出蛋白的表达存在差异 (Wang *et al.*, 2013), 然而这些差异蛋白在嗅觉学习能力高低之间是否存在差异仍然不太清楚, 因此嗅觉学习能力遗传分子机理还有待进一步研究。

致谢: 实验中得到了江西农业大学蜜蜂研究所李游和周林斌等同学的支持和帮助, 在此表示感谢。

参考文献 (References)

Giurfa M, Zhang S, Jenett A, Menzel R, Srinivasan MV, 2001. The concepts of “sameness” and “difference” in an insect. *Nature*,

410(6831): 930–932.
Guerrieri F, Schubert M, Sandoz JC, Giurfa M, 2005. Perceptual and neural olfactory similarity in honeybees. *PLoS Biology*, 3(4): e60.
Huang Q, Zeng ZJ, Yan WY, Huang K, 2009. Decision making plasticity of swarming honeybees (*Apis cerana cerana*). *Research Journal of BioTechnology*, 4(1): 11–14.
Menzel R, Backhaus W, 1991. Colour vision in insects//Gouras P (ed.). *Vision and Visual Dysfunction*. vol 6: The Perception of Colour. London: MacMillan Press. 262–288.
Kraus FB, Gerecke E, Moritz RF, 2011. Shift work has a genetic basis in honeybee pollen foragers (*Apis mellifera* L.). *Behavior Genetics*, 41(2): 323–328.
Kryger P, Kryger U, Moritz RFA, 2000. Genotypical variability for

- the tasks of water collecting and scenting in a honey bee. *Ethology*, 106: 769–779.
- Pahl M, Zhu H, Pix W, Tautz J, Zhang SW, 2007. Circadian timed episodic-like memory- A bee knows what to do when, and also where. *Journal of Experimental Biology*, 210(Pt 20): 3559–3567.
- Plomin R, Pedersen NL, Lichtenstein P, McClearn GE, 1994. Variability and stability in cognitive abilities are largely genetic later in life. *Behavior Genetics*, 24(3): 207–215.
- Robinson GE, Grozinger CM, Whitfield CW, 2005. Sociogenomics: social life in molecular terms. *Nature Reviews Genetics*, 6(4): 257–271.
- Srinivasan MV, 1994. Pattern recognition in the honeybee: recent progress. *Journal of Insect Physiology*, 40(3): 183–194.
- Su SK, Albert S, Zhang SW, Tautz J, Chen SL, Du HH, 2007. Non-destructive genotyping and genetic variation of fanning in a honey bee colony. *Journal of Insect Physiology*, 53(5): 411–417.
- Wang ZL, Wang H, Qin QH, Zeng ZJ, 2013. Gene expression analysis following olfactory learning in *Apis mellifera*. *Molecular Biology Reports*, 40(2): 1631–1639.
- Xie XB, Su SK, Huang K, Zeng ZJ, 2008. Queen mating frequency and maternity of drones in honeybee colonies detected with VNTR molecular markers. *Acta Entomologica Sinica*, 51(1): 20–25. [谢宪兵, 苏松坤, 黄康, 曾志将, 2008. 利用 VNTR 分子标记鉴定蜜蜂群内蜂王交配次数和雄蜂母系来源. 昆虫学报, 51(1): 20–25.]
- Yan WW, 1980. Can the learning ability be inherited? *Hereditas*, 2(1): 37–40. [颜文伟, 1980. 学习能力可以遗传吗? 遗传, 2(1): 37–40.]
- Zeng ZJ, 2009. Apiology. Beijing: China Agriculture Press. 50. [曾志将, 2009. 养蜂学. 北京: 中国农业出版社. 50.]