

中华蜜蜂幼虫信息素鉴定

颜伟玉¹, Yves LE CONTE², Dominique BESLAY², 曾志将¹

(¹江西农业大学蜜蜂研究所, 中国南昌 330045; ²Laboratoire de Biologie de l'Abeille, INRA, 84194 Avignon Cedex 9, France)

摘要:【目的】分析鉴定中华蜜蜂 (*Apis cerana cerana*) 幼虫是否含有与西方蜜蜂 (*Apis mellifera*) 幼虫相同的幼虫利它素和信息素及其在不同日龄阶段幼虫的分布情况。【方法】以中华蜜蜂为试验材料, 取 2 日龄、6 日龄 (即将封盖) 和 7 日龄 (封盖后) 的工蜂幼虫及 2 日龄、7 日龄 (即将封盖) 和 8 日龄 (封盖后) 的雄蜂幼虫, 经过正己烷浸泡碾碎, 取上清液并进行层析过柱分离, 应用气相色谱来研究中华蜜蜂幼虫利它素和信息素。

【结果】本研究首次发现中华蜜蜂幼虫信息素含有甲基棕榈酸酯 (MP)、甲基油酸酯 (MO)、甲基硬脂酸酯 (MS)、甲基亚油酸酯 (ML)、甲基亚麻酸酯 (MN)、乙基棕榈酸酯 (EP)、乙基油酸酯 (EO)、乙基硬脂酸酯 (ES)、乙基亚油酸酯 (EL) 和乙基亚麻酸酯 (EN)。【结论】中华蜜蜂幼虫含有与西方蜜蜂幼虫相同的幼虫利它素和 10 种脂肪类信息素, 但这两种蜜蜂信息素的含量及在不同日龄幼虫分布规律不同。

关键词: 中华蜜蜂; 幼虫信息素; 气相色谱

Identification of Brood Pheromone in Chinese Honeybee [*Apis cerana cerana* (Hymenoptera: Apidae)]

YAN Wei-yu¹, Yves LE CONTE², Dominique BESLAY², ZENG Zhi-jiang¹

(¹Honeybee Research Institute, Jiangxi Agricultural University, Nanchang 330045, China; ²Laboratoire de Biologie de l'Abeille, INRA, 84194 Avignon Cedex 9, France)

Abstract: 【Objective】 To analyze the brood kairmone and pheromone of different stage brood in *Apis cerana cerana* and compare it with *Apis mellifera*. 【Method】 Worker larvae (2-day old, 6-day old and 7-day old) and drone larvae (2-day old, 7-day old and 8-day old) of *Apis cerana cerana* were extracted with hexane by crushing, the supernatant were then fractioned by chromatography on a column of silica gel and tested by gas chromatogram. 【Result】 It is the first time to identify the components of brood kairmone and pheromone from *Apis cerana cerana* are methyl palmitate, methyl oleate, methyl stearate, methyl linoleate, methyl linolenate, ethyl palmitate, ethyl oleate, ethyl stearate, ethyl linoleate and ethyl linolenate. 【Conclusion】 The kairmone and 10 aliphatic esters in brood have been found in both *Apis mellifera* and *Apis cerana cerana*, while the content and distribution of the two pheromone are different at different brood stages.

Key words: *Apis cerana cerana*; brood pheromone; gas chromatogram

0 引言

【研究意义】中华蜜蜂 (*Apis cerana cerana*, 简称中蜂) 是原产中国的优良品种, 也是东方蜜蜂最重要的一个亚种, 具有抗螨能力强、嗅觉灵敏和善于采集零散蜜源等特性^[1]。近 20 年来, 中国有不少学者对中蜂生物学行为进行了卓有成效的研究^[2-8], 但至今还

未见中蜂幼虫信息素成分鉴定研究报道。开展中蜂幼虫信息素成分鉴定研究, 不仅能填补国内外有关该方面的空白, 而且为保护、开发和利用中国中蜂这一宝贵资源具有重要意义。【前人研究进展】1989 年法国 LE CONTE Y 以西方蜜蜂 (*Apis mellifera*) 为试验材料, 首次从蜜蜂幼虫中分离出蜜蜂幼虫信息素, 发现西方蜜蜂幼虫信息素是由甲基棕榈酸酯、甲基油酸酯、

收稿日期: 2008-12-09; 接受日期: 2009-02-27

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (30760035)、国家现代蜜蜂产业技术体系资助项目 (nycytx-43-kxj15)

作者简介: 颜伟玉 (1978—), 女, 江西玉山人, 讲师, 博士研究生, 研究方向为蜜蜂分子生物学。E-mail: yanbees@mail.jxau.edu.cn。通信作者曾志将 (1965—), 男, 江西吉水人, 教授, 研究方向为蜜蜂生物学与饲养学。E-mail: bees1965@sina.com

甲基硬脂酸酯、甲基亚油酸酯、甲基亚麻酸酯、乙基棕榈酸酯、乙基油酸酯、乙基硬脂酸酯、乙基亚油酸酯和乙基亚麻酸酯组成, 并发现蜜蜂幼虫利它素(甲基棕榈酸酯、甲基亚麻酸酯和乙基棕榈酸酯)对大蜂螨有引诱作用, 研究成果在世界著名学术刊物“Science”发表后^[9], 在学术界产生了很大反响, 对蜜蜂信息素深入研究起了很好的推进作用。近 20 年来, 一些科学家系统研究了西方蜜蜂幼虫信息素对西方蜜蜂工蜂行为、个体发育、蜂群发展以及蜂螨行为的影响^[10-15]。已经证实, 西方蜜蜂幼虫信息素引发工蜂对巢房的封盖行为^[10]; 有利于工蜂识别幼虫, 调控工蜂的哺育行为^[16-17]; 促进有王群工蜂王浆腺的发育^[18]; 抑制无王群工蜂卵巢发育^[19]; 降低工蜂对糖浓度反应阈值^[20-21]; 促进工蜂对花粉的采集^[22-23]; 雄蜂幼虫信息素对大蜂螨有吸引作用^[24-26]等。西方蜜蜂幼虫信息素来源于幼虫唾液腺^[27]。并且已经发现了西方蜜蜂运输幼虫信息素的化学感受蛋白 ASP3c^[28]。【本研究切入点】国内至今尚无中华蜜蜂幼虫信息素的鉴定研究报道。开展中华蜜蜂幼虫信息素鉴定可为蜜蜂生物学和社会行为学的研究奠定基础, 对于更为有效地保护与利用中华蜜蜂资源有重要的价值。【拟解决的关键问题】验证中华蜜蜂幼虫是否含有与西方蜜蜂幼虫相同的 10 种酯类信息素。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验蜂群是江西农业大学蜜蜂研究所按活框饲养技术进行饲养的中华蜜蜂 (*Apis cerana cerana*)。材料选取 2 日龄、6 日龄(即将封盖)和 7 日龄(封盖后)的工蜂幼虫以及 2 日龄、7 日龄(即将封盖)和 8 日龄(封盖后)的雄蜂幼虫。2008 年 2 月至 3 月在江西农业大学蜜蜂研究所取试验需要的中华蜜蜂幼虫样品, 2008 年 4 月至 9 月在法国农业科学研究院蜜蜂生物学实验室对样品进行分析测试。

1.2 标准化合物的准备

已鉴定的西方蜜蜂幼虫信息素成分甲基棕榈酸酯(MP)、甲基硬脂酸酯(MS)、甲基油酸酯(MO)、甲基亚油酸酯(ML)、甲基亚麻酸酯(MN)、乙基棕榈酸酯(EP)、乙基硬脂酸酯(ES)、乙基油酸酯(EO)、乙基亚油酸酯(EL)、乙基亚麻酸酯(EN)和内标物银杏酸(C15:1)、十七烷酸(C17:0)、花生酸(C20:0)标准品均购自 Sigma-aldrich 公司。将这 10 种酯类溶解在异己烷中, 配成每种酯类浓度为

10 ng·μl⁻¹ 的溶液。在相同的分析条件下, 通过比较幼虫信息素提取物成分与标样在毛细管柱上的色谱保留时间来确定中华蜜蜂幼虫是否含有这 10 种酯类, 并与内标的色谱峰面积相比较进行定量。

1.3 幼虫信息素成分的提取与分离

取试验所需的 10 只幼虫, 放入同一样品瓶中, 加入 1 ml 的异己烷, 用玻棒搅动碾碎, 离心机离心 20 min (4 000×g, 4℃), 静置 10 min, 取上清液提取物。将提取物置于充满 0.71 g 硅胶(粒径 40~63 μm)的巴斯德吸管中过柱分离。先用 98.5% 异己烷和 1.5% 二乙醚混和液冲洗硅胶, 再用 94% 异己烷和 6% 二乙醚洗脱 3 ml。取洗脱液 250 μl 用氮气吹干至 2~5 μl, 用于 GC 分析。每种样品取 5 个平行样。

1.4 化学分析

信息素提取物和标准酯类均在 SHIMADU GC-2014 气相色谱仪上分析。色谱柱为 supelcowax (14.5 m×0.10 mm×0.10 μm), 载气为 H₂, 载气流量 1.04 ml·min⁻¹, 分流比 50:1, 进样器温度 250℃, 检测器温度 270℃。升温程序: 柱初温 60℃ (5 min) 条件下保持 0.5 min, 以 30℃/min 的速率升至 180℃, 再以 10℃/min 的速率升至 210℃, 然后以 40℃/min 的速率升到 260℃, 保持 2 min, 最高柱温 280℃。

1.5 数据统计分析

采用 StatView 软件“ANOVA and t-test”中的“ANOVA or ANCOVA”进行统计分析。

2 结果与分析

用气相色谱分析中华蜜蜂幼虫信息素提取物及西方蜜蜂幼虫信息素的 10 种酯类成分标样, 发现中华蜜蜂工蜂和雄蜂幼虫均含有与西方蜜蜂幼虫相同的这 10 种酯类成分(图 1 和图 2, 表 1)。从表 1 可知, 工蜂 2 日龄、6 日龄和 7 日龄幼虫之间比较, 6 日龄幼虫的甲基亚油酸酯(ML)含量显著比 2 日龄幼虫高, 7 日龄幼虫乙基油酸酯(EO)和乙基亚油酸酯(EL)含量比 2 日龄幼虫显著偏高。在 2 日龄的雄蜂幼虫只检测到甲基硬脂酸酯(MS)、甲基油酸酯(MO)、乙基棕榈酸酯(EP)和乙基硬脂酸酯(ES)这 4 种酯类成分; 8 日龄的雄蜂幼虫所含的这 10 种酯类成分含量均比 7 日龄雄蜂幼虫高, 其中甲基棕榈酸酯(MP)、甲基油酸酯(MO)、甲基亚油酸酯(ML)、甲基亚麻酸酯(MN)、乙基棕榈酸酯(EP)和乙基亚麻酸酯(EN)含量差异极显著。中华蜜蜂工蜂和雄蜂幼虫所含的这 10 种酯类总量及利它素含量均为刚封盖后

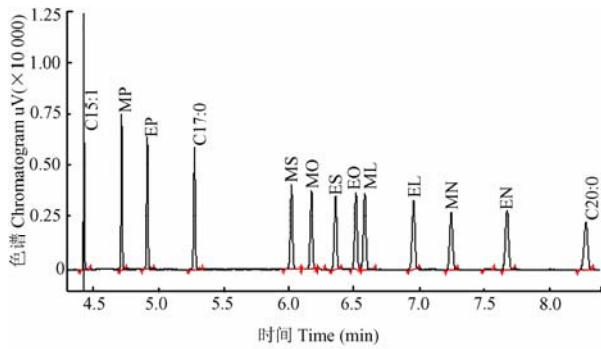


图1 西方蜜蜂信息素 10 种酯类成分标样色谱图

Fig. 1 Gas chromatograms of standard components of 10 esters from *Apis mellifera*

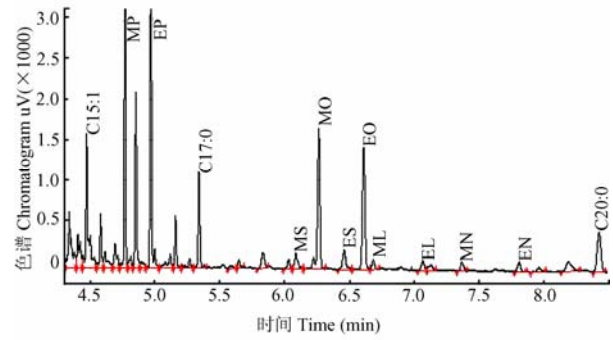


图2 中华蜜蜂 8 日龄雄蜂幼虫信息素提取物成份色谱图

Fig. 2 Gas chromatograms of extracts from 8-day drone brood of *Apis cerana cerana*

表1 中华蜜蜂幼虫 10 种酯类含量 (\pm SD)Table 1 The content of 10 esters in larvae of *Apis cerana cerana*

脂肪酯类 Aliphatic esters	工蜂幼虫(ng/只) Worker larvae (ng per larva)			雄蜂幼虫(ng/只) Drone larvae (ng per larva)		
	2 日龄 2 days old	6 日龄 6 days old	7 日龄 7 days old	2 日龄 2 days old	7 日龄 7 days old	8 日龄 8 days old
甲基棕榈酸酯 MP	63.27 \pm 38.24a	70.13 \pm 14.86a	50.30 \pm 18.58a	0	29.63 \pm 15.05a	267.22 \pm 56.50b
甲基硬脂酸酯 MS	19.51 \pm 19.51	18.65 \pm 2.11	13.78 \pm 7.12	7.53 \pm 2.55	5.49 \pm 3.18	17.21 \pm 5.18
甲基油酸酯 MO	14.29 \pm 14.07a	62.51 \pm 14.58a	52.04 \pm 10.38a	4.85 \pm 2.31a	43.79 \pm 6.10a	209.50 \pm 47.70b
甲基亚油酸酯 ML	2.43 \pm 2.43a	9.58 \pm 3.05bd	4.38 \pm 2.74ab	0	0.86 \pm 0.86ac	15.59 \pm 2.84d
甲基亚麻酸酯 MN	1.86 \pm 1.15a	8.78 \pm 2.23b	3.81 \pm 2.33ab	0	0.64 \pm 0.64ab	15.57 \pm 3.02c
乙基棕榈酸酯 EP	64.74 \pm 38.25ab	100.57 \pm 50.29ab	155.56 \pm 51.63a	4.23 \pm 2.68b	109.01 \pm 63.97ab	316.34 \pm 43.69c
乙基硬脂酸酯 ES	50.12 \pm 26.63a	24.09 \pm 10.59ab	24.24 \pm 9.64ab	9.01 \pm 2.92b	19.52 \pm 7.39ab	31.77 \pm 6.48ab
乙基油酸酯 EO	6.18 \pm 1.90a	67.70 \pm 32.50ab	113.41 \pm 35.78b	0	68.51 \pm 41.67a	203.76 \pm 27.40c
乙基亚油酸酯 EL	4.07 \pm 3.07a	10.52 \pm 2.74ab	21.13 \pm 7.68b	0	8.90 \pm 3.54a	17.95 \pm 2.31b
乙基亚麻酸酯 EN	0	11.78 \pm 3.38ab	21.18 \pm 9.70a	0	6.03 \pm 6.03b	23.31 \pm 3.03a
利它素酯类含量	129.87	179.48	209.67	4.23	139.28	599.13
Kairnone content						
总含量 Total content	226.47	384.31	459.83	13.24	292.38	1118.22

同行数值不同小写字母表示统计学差异达 0.05 显著水平

Different small letters within the same line show significantly different at 0.05 level

时期最高，其次是即将封盖幼虫，2 日龄幼虫含量最少。

3 讨论

西方蜜蜂 8 日龄幼虫所含的 10 种酯类信息素含量见表 2^[9,11-12]。比较表 1 和表 2 可知：虽然中华蜜蜂幼虫含有与西方蜜蜂幼虫相同的幼虫利它素和 10 种脂肪类信息素，但含量在不同日龄幼虫分布规律不同。西方蜜蜂幼虫利它素和信息素总量均为小幼虫时含量

较低，即将封盖前达到最高值，封盖后含量又有所下降。中华蜜蜂幼虫所含的单一脂肪酯与西方蜜蜂幼虫相比有所差别，但无显著性规律；中华蜜蜂工蜂幼虫和雄蜂幼虫的利它素含量及信息素总含量都是小幼虫含量最低，其次是即将封盖幼虫，封盖后的幼虫含量最高，这种规律与西方蜜蜂有明显差异。这些差异是否最终体现在不同蜂种的生物学特性上，目前还不清楚。西方蜜蜂雄蜂封盖前幼虫利它素和信息素总量均为中华蜜蜂雄蜂封盖前幼虫的 6 倍多，这可能与西方

表 2 西方蜜蜂幼虫信息素含量

Table 2 The content of brood pheromone in larvae of *Apis mellifera*

脂肪酯类	工蜂幼虫(ng/只) Worker larvae (ng per larva)			雄蜂幼虫(ng/只) Drone larvae (ng per larva)		
	3 日龄 3 days old	5.5 日龄 5.5 days old	6.5 日龄 6.5 days old	4 日龄 4 days old	7.3 日龄 7.3 days old	8.5 日龄 8.5 days old
Aliphatic esters						
甲基棕榈酸酯 MP	0.55	17.3	9.75	0.5	318	198
甲基硬脂酸酯 MS	0	93.4	62.3	1	53.8	36.2
甲基油酸酯 MO	0.7	103	54.8	1.8	187	124
甲基亚油酸酯 ML	0.55	11.8	6.2	0.5	34.5	24.9
甲基亚麻酸酯 MN	0	132	54.9	2.3	303	218
乙基棕榈酸酯 EP	1.2	14.7	14.5	0.5	332	148
乙基硬脂酸酯 ES	1.25	46.3	33.1	0.8	35.1	17.7
乙基油酸酯 EO	4.45	36.9	27.5	1	160	73.6
乙基亚油酸酯 EL	0.15	5.72	2.9	0.3	33.9	17.7
乙基亚麻酸酯 EN	0.4	104	58.3	0.2	381	194
利它素含量	1.75	163	79.2	3.3	953	564
Kairmone content						
总含量 Total content	9.25	564	324	8.9	1839	1052

蜜蜂易患蜂螨病有关。大量的利它素和信息素存在能吸引蜂螨进入即将封盖的雄蜂幼虫巢房进行繁殖, 有利于蜂螨的繁衍^[9]。

从中华蜜蜂幼虫信息素提取物成份色谱图中还发现, 除了已在西方蜜蜂幼虫发现的这 10 种脂肪酯的波峰, 还有其他一些波峰存在, 因此需要进一步将这些物质进行分离鉴定并进行生物测定实验, 以判断中华蜜蜂幼虫信息素是否还含其它酯类成分。

4 结论

本研究首次发现中华蜜蜂幼虫信息素含有甲基棕榈酸酯、甲基油酸酯、甲基硬脂酸酯、甲基亚油酸酯、甲基亚麻酸酯、乙基棕榈酸酯、乙基油酸酯、乙基硬脂酸酯、乙基亚油酸酯和乙基亚麻酸酯, 与西方蜜蜂幼虫中 10 种脂肪类信息素种类相同, 但这两种蜜蜂的信息素含量在不同日龄幼虫的分布规律不同。

References

[1] 杨冠煌. 中华蜜蜂. 北京: 中国农业科技出版社, 2001.
Yang G H. *Chinese Honeybee*. Beijing: China Agriculture Science and Technology Press, 2001. (in Chinese)

[2] 杨冠煌. 引入西方蜜蜂对中蜂的危害及生态影响. 昆虫学报, 2005, 48(3): 401-406.
Yang G H. Harm of introducing the western honeybee *Apis mellifera* L. to the Chinese honeybee *Apis cerana* F. and its ecological impact.

Acta Entomologica Sinica, 2005, 48(3): 401-406. (in Chinese)

[3] 薛运波, 李兴安, 葛凤晨, 蒋 滢, 历延芳, 李志勇, 王 志. 长白山中华蜜蜂基因组 DNA 多态性的研究. 中国农业科学, 2007, 40(2): 426-432.
Xue Y B, Li X A, Ge F C, Jiang Y, Li Y F, Li Z Y, Wang Z. The study on genomic polymorphism among different groups of local changbaishan *Apis cerana cerana*. *Scientia Agricultura Sinica*, 2007, 40(2): 426-432. (in Chinese)

[4] 姜玉锁, 赵慧婷, 姜俊兵, 曹果清, 张桂贤, 朱文进, 郭传甲. 中国境内不同地理型东方蜜蜂线粒体 DNA tRNA^{Leu}-COII 基因多态性研究. 中国农业科学, 2007, 40(7): 1535-1542.
Jiang Y S, Zhao H T, Jiang J B, Cao G Q, Zhang G X, Zhu W J, Guo C J. Studies on mtDNA tRNA^{Leu}-COII gene holymorphisms of *Apis cerana* distributed in different geographic areas in China. *Scientia Agricultura Sinica*, 2007, 40(7): 1535-1542. (in Chinese)

[5] 谢宪兵, 薛运波, 吴小波, 黄 康, 曾志将. 中华蜜蜂群内工蜂监督研究. 江西农业大学学报, 2007, 29(5): 818-820.
Xie X B, Xue Y B, Wu X B, Huang K, Zeng Z J. Study on the worker policing in *Apis cerana cerana*. *Journal of Jiangxi Agricultural University*, 2007, 29(5): 818-820. (in Chinese)

[6] 谢宪兵, 苏松坤, 郑云林, 吴小波, 曾志将. 应用微卫星 DNA 技术研究中华蜜蜂群内工蜂监督效果. 中国农业科学, 2008, 41(6): 1816-1821.
Xie X B, Su S K, Zheng Y L, Wu X B, Zeng Z J. Study on the worker policing in *Apis cerana cerana* based on microsatellite DNA.

- Scientia Agricultura Sinica*, 2008, 41(6): 1816-1821. (in Chinese)
- [7] Guo D S, Sun L X, Zeng Z J, Xie X B. Sperm-mediated gene transfer in the Chinese honeybee, *Apis cerana cerana* (Hymenoptera: Apidae). *Journal of Asia-Pacific Entomology*, 2007, 4: 339-344.
- [8] 谢宪兵, 孙亮先, 黄 康, 曾志将. 中华蜜蜂急造王台的工蜂亲属优惠研究. *动物学报*, 2008, (4): 695-700.
- Xie X B, Sun L X, Huang K, Zeng Z J. Worker nepotism during emergency queen-cells building in Chinese honeybee (*Apis cerana cerana*). *Acta Zoologica Sinica*, 2008, (4): 695-700. (in Chinese)
- [9] Le Conte Y, Arnold G, Trouiller J, Masson C, Chappe B, Ourisson. Attraction of the parasitic mite *Varroa* to the drone larvae of honey bees by simple aliphatic esters. *Science*, 1989, 245: 638-639.
- [10] Le Conte Y, Arnold G, Trouiller J, Masson C. Identification of a brood pheromone in honeybees. *Naturwissenschaften*, 1990, 77: 334-336.
- [11] Trouiller J, Arnold G, Le Conte Y, Masson C, Chappe B. Temporal pheromonal and kairomonal secretion in the brood of honeybees. *Naturwissenschaften*, 1991, 78(8): 368-370.
- [12] Trouiller J, Arnold G, Chappe B, Le Conte Y, Masson C. Semiochemical Basis of Infestation of Honeybee Brood by *Varroa jacobsoni*. *Journal of Chemical Ecology*, 1992, 18(11): 2041-2053.
- [13] Le Conte Y, Mohammedi A, Robinson G E. Primer effects of a brood pheromone on worker honeybee behavioral development. *Proceedings of the Royal Society(B)*, 2001, 268: 163-168.
- [14] Leoncini I, Le Conte Y, Costagliola G, Plettner E, Toth A L, Wang M, Huang Z, Becard J M, Crauser D, Slessor K N, Robinson G E. Regulation of behavioral maturation in honey bees by a new primer pheromone. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2004, 50: 17559-17564.
- [15] Pankiw T, Roman R, Sagili R R, Zhu-Salzman K. Pheromone-modulated behavioral suites influence colony growth in the honey bee (*Apis mellifera*). *Naturwissenschaften*, 2004, 91: 575-578.
- [16] Le Conte Y, Sreng, Sacher N, Trouiller J, Dasticier G, Poitout H S. Chemical recognition of the queen cells by honey bee workers *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae). *Chemoecology*, 1995, (1): 6-12.
- [17] Le Conte Y. The recognition of larvae by worker honeybees. *Naturwissenschaften*, 1994, 81: 462-465.
- [18] Le Conte Y, Sreng L, Poitout H S. Brood pheromone can modulate the feeding behavior of the honey bee *Apis mellifera* workers (Hymenoptera: Apidae). *Journal of Economic Entomology*, 1995, 88(4): 798-804.
- [19] Mohammedi A, Crauser D, Paris A, Le Conte Y. Effect of a brood pheromone on honeybee hypopharyngeal glands. *Sciences de la Vie*, 1996, 319: 769-772.
- [20] Arnold G, Le Conte Y, Trouiller J, Hervet H, Chappe B, Masson C. Inhibition of worker honeybee ovaries development by a mixture of fatty acid esters from larvae. *Sciences de la Vie*, 1994, 317: 511-515.
- [21] Mohammedi A, Paris A, Crauser Y, Le Conte Y. Effect of aliphatic esters on ovary development of queenless bees (*Apis mellifera* L.). *Naturwissenschaften*, 1998, 85: 455-458.
- [22] Pankiw T, Page R E. Brood pheromone modulates honeybees (*Apis mellifera* L.) sucrose response thresholds. *European Journal of Biochemistry*, 2001, 49: 206-213.
- [23] Pankiw T, Page R E. Effect of pheromones, hormones, and handling on sucrose response thresholds of honey bees (*Apis mellifera* L.). *Journal of Comparative Physiology A*, 2003, 189: 675-684.
- [24] Pankiw T, Page R E, Fondrk M K. Brood pheromone stimulates pollen foraging in honey bees (*Apis mellifera* L.). *European Journal of Biochemistry*, 1998, (44): 193-198.
- [25] Pankiw T, Rubink W. Pollen foraging response to brood pheromone by Africanized and European Honey Bees (*Apis mellifera* L.). *Entomological Society of America*, 2002, 97(3): 761-767.
- [26] Pankiw T. Brood Pheromone Regulates Foraging Activity of Honey Bees (Hymenoptera: Apidae). *Entomological Society of America*, 2004, 97(3): 748-751.
- [27] Le Conte Y, Bécard J, Costagliola G, Vaublanc G, Maàtaoui M E, Crauser D, Plettner E, Slessor K N. Larva salivary glands are a source of primer and releaser pheromone in honey bee (*Apis mellifera* L.). *Naturwissenschaften*, 2006, 93: 237-241.
- [28] Briand L, Swasdipan N, Nespoulous C, Bézirard V, Boln F, Huet J, Ebert P, Pernollet J. Characterization of a chemosensory protein (ASP3C) from honeybee (*Apis mellifera* L.) as a brood pheromone carrier. *European Journal of Biochemistry*, 2002, 269: 4586-4596.