

饲喂硬脂酸和癸酸对工蜂合成 10-HDA 的影响

刘 丽,杨晓慧,王瑞明

(齐鲁工业大学 生物工程学院,济南 250353)

摘 要 为探讨硬脂酸和癸酸对工蜂合成 10-HDA 及其生物合成相关酶基因表达的影响,在工蜂基础日粮中添加不同质量分数的硬脂酸和癸酸,采用高效液相色谱法和半定量 RT-PCR 技术测定不同日龄段工蜂上颚腺 10-HDA 的合成量和相关酶基因的表达量。结果显示,工蜂日粮中添加不同质量分数的硬脂酸和癸酸可在一定程度上提高工蜂上颚腺 10-HDA 的产量,在工蜂 5、10、15 日龄时, $\omega=5\%$ 硬脂酸组和 $\omega=1\%$ 癸酸组 10-HDA 的合成量均显著高于空白组($P<0.05$),且全期 10-HDA 产量的平均值分别较空白组提高 11.82%和 13.37%。另外, $\omega=5\%$ 硬脂酸组和 $\omega=1\%$ 癸酸组能使工蜂上颚腺 10-HDA 的分泌高峰提前,由原来的 20 日龄分别提前至 15 日龄和 10 日龄。同时,添加硬脂酸和癸酸后,工蜂在 15 日龄前的 *ETF- β* 和 *KAT* 基因表达量均增加。表明,硬脂酸和癸酸可影响工蜂 10-HDA 生物合成相关酶基因的表达,促进工蜂上颚腺合成 10-HDA,在短时间内提高 10-HDA 的产量。

关键词 硬脂酸;癸酸;10-HDA;*ETF- β* ; *KAT*;高效液相色谱

中图分类号 S896.3

文献标志码 A

文章编号 1004-1389(2016)07-0973-06

10-羟基-2-癸烯酸(10-Hydroxy-2-Decenoic acid, 10-HDA)是由工蜂上颚腺分泌的一种不饱和脂肪酸,是蜂王浆的高效生物活性物质^[1]。研究表明,10-HDA 具有增强免疫力^[2]、抗氧化^[3]、抗衰老^[4]等多种生理功能。

目前,国内主要采用物理提取法、化学合成法及选育高产 10-HDA 的蜜蜂品种来提高 10-HDA 的产量。但这 3 种途径均存在一定的缺陷,前 2 种方法工艺繁琐,收率低,第 3 种方法选育周期较长。Plettner 等^[5-7]采用稳定同位素氘(D)标记的方法发现,10-HDA 生物合成的起始物质是硬脂酸,随后硬脂酸在 ω 端发生羟基化,生成 ω -羟基硬脂酸,再通过脂肪酸 β 氧化,碳链缩短形成 10 碳的碳链,这一发现为研究 10-HDA 合成途径开辟了道路。另有报道^[5]指出,工蜂上颚腺可以利用简单脂肪酸合成硬脂酸。因此,本研究拟从 10-HDA 合成途径^[8]入手,在工蜂基础日粮中添加 10-HDA 合成前体,促进工蜂上颚腺 10-HDA 的合成,提高 10-HDA 产量。在 10-HDA 生物合成体系中存在多种酶的催化作用,前期已有研究

通过蛋白质组学的方法鉴定出与 10-HDA 生物合成相关的酶—电子转移黄素蛋白 β (Electron transfer flavoprotein subunit beta-like, *ETF- β* , 又称辅酶 Q 氧化还原酶)和 3-酮酯酰 CoA 硫解酶(3-Ketoacyl-CoA Thioase, *KAT*),发现 *ETF- β* 为脱氢酶的电子受体,通过 *ETF* 脱氢酶可将电子转移给主要的呼吸链,参与脂肪酸 β 氧化过程^[9]。而 *KAT* 催化脂肪酸 β -氧化循环中的硫解反应,与脂质的合成、降解及能量产生有关^[10-11]。因此,*ETF- β* 与 *KAT* 在 10-HDA 生物合成中起重要作用。

本研究以当地驯化的意大利工蜂为材料,在工蜂基础日粮中添加不同质量分数的硬脂酸和癸酸,检测添加外源物质对工蜂合成 10-HDA 及 10-HDA 生物合成相关酶基因表达的影响,以期为进一步完善 10-HDA 生物合成途径,提高 10-HDA 产量奠定基础。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

1.1.1 蜂群 刚出房(时间不超过 6 h)的意大

收稿日期:2015-12-21 修回日期:2016-01-22

基金项目:国家自然科学基金(31201281,31171727);山东省优秀中青年科学家科研奖励基金计划(BS2013SW029)。

第一作者:刘 丽,女,硕士研究生,研究方向为微生物酶技术。E-mail:liuli890216@163.com

通信作者:王瑞明,男,博士生导师,研究方向为微生物酶技术。E-mail:ruiming3k@163.com

利蜜蜂 (*Apis mellifera ligustica*) 蜂群, 由山东师范大学西门蜂场提供, 蜂群活动正常。引物由生工生物工程(上海)股份有限公司合成。

1.1.2 试剂 硬脂酸($w \geq 99\%$, 天津市凯通化学试剂有限公司), 癸酸($w \geq 98.5\%$, 国药集团化学试剂有限公司), 无水乙醇(色谱纯, 天津市富宇精细化工有限公司); 盐酸(色谱纯, 天津市大茂化学试剂厂); 甲醇(色谱纯, 天津市大茂化学试剂厂); 10-HDA 标准品($w \geq 98\%$, Adamas Reagent), $2 \times Taq$ PCR MasterMix(北京艾德莱生物科技有限公司), UNIQ 柱式 Trizol 总 RNA 抽提试剂盒[生工生物工程(上海)股份有限公司]。

1.1.3 主要仪器 2720 Thermal 型 PCR 仪(美国应用生物系统公司), 5804R 型高速冷冻离心机(Eppendorf 艾本德中国有限公司), FA124S 型电子天平(杭州汇尔仪器设备有限公司), 岛津高效液相色谱仪(色谱柱: $4.6 \text{ mm} \times 250 \text{ mm}$ 的不锈钢柱, 填充物不定形硅胶 C18 键合相, 孔径 $10 \mu\text{m}$), ChampGel5500 凝胶成像系统(北京赛智创业科技有限公司)。

1.2 方法

1.2.1 花粉饲料的配制 于9月中旬进行, 该时期无外界蜜粉源, 意大利蜜蜂主要以人工饲喂基础日粮为食。基础日粮由 25 g 蔗糖、25 g 花粉、20 g 脱脂豆粉和 20 mL 水组成^[12]。在基础日粮中分别添加 $w = 1\%$ 、 5% 、 10% 的硬脂酸和 $w = 1\%$ 、 2.5% 、 5% 的癸酸, 饲喂蜜蜂。

1.2.2 工蜂的标记与采集 挑选 7 组蜂群势力相当的蜂箱, 每箱随机挑选 500 只刚出房的幼蜂, 在其背部用记号笔作标记, 记为 0 日龄, 放回原蜂箱。随机选择 1 箱饲喂基础日粮, 作为空白组, 另外 6 箱分别饲喂含不同质量分数硬脂酸和癸酸的饲料, 连续饲喂蜜蜂, 并于标记后每隔 5 d 采集相应日龄的标记蜂。

1.2.3 标记蜂的处理 将采集到的标记蜂分为

两部分, 一部分分成 5 组, 每组 5 只, 即 5 个平行, 剪下其头部, 置于盛放少量甲醇的匀浆器中充分研磨, 将研磨液转移至 10 mL 容量瓶, 定容至刻度并摇匀, 经 $0.22 \mu\text{m}$ 纤维素酯微孔滤膜过滤, 即获得工蜂头部 10-HDA 样品溶液。另一部分标记蜂每 9 只 1 组, 对其头部进行解剖, 获取上颚腺, 提取总 RNA 并反转录合成 cDNA, 作为半定量 RT-PCR 的模板。

1.2.4 工蜂上颚腺 10-HDA 的测定 分别吸取 0.02、0.05、0.125、0.313、0.781、1.953 mL 质量浓度为 1 g/L 的 10-HDA 标准母液移至 25 mL 容量瓶(即获得 0.8、2.5、12.5、31.25、78.125 mg/L 10-HDA), 甲醇定容并摇匀, $0.22 \mu\text{m}$ 纤维素酯微孔滤膜过滤, 即得标准品溶液。采用高效液相色谱法^[13]测定标准品的质量浓度, 绘制标准曲线。根据标准曲线, 计算样品溶液中 10-HDA 质量浓度。色谱检测条件: 波长 212 nm; 流动相由 $V(\text{甲醇}) : V(0.01 \text{ mol/L 盐酸}) : V(\text{超纯水}) = 55 : 10 : 35$ 组成; 流速 1.0 mL/min ; 进样量 $10 \mu\text{L}$; 柱温 $25 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 。

1.2.5 半定量 RT-PCR 检测 *ETF-β* 和 *KAT* 基因的表达量 半定量 RT-PCR 主要用于确定目的基因的 mRNA 表达量。通常以管家基因为参照, 以等量的 cDNA 为模板, 通过特异性引物进行 PCR 扩增获得目的基因和管家基因片段。由于不同目的基因或不同组织来源的同一基因的表达量不同, 在同一 PCR 体系条件下扩增得到的产物也不同, 而管家基因的表达量相同。采用灰度扫描软件确定灰度值, 计算目的基因与管家基因 PCR 产物灰度值的比值, 比较目的基因的表达水平。

根据 NCBI 发表的 *ETF-β* (登录号: 571558662)、*KAT* (登录号: 571554458)、*βactin* (登录号: 297591984) 基因序列, 采用 Premier 5 软件分别设计引物, 扩增目的片段大小分别为 505、506、182 bp。所用引物序列见表 1。

表 1 半定量 RT-PCR 引物序列

Table 1 Gene-specific primers used in semiquantitative RT-PCR

基因名称 Gene name	正向引物(5'→3') Forward primer(5'→3')	反向引物(5'→3') Reverse primer(5'→3')
<i>ETF-β</i>	GACCTCCACAATGTCAAGATG	GCTTGTCTAACTGGTGGTTCT
<i>KAT</i>	AGGAGGAGTAGAAAACATGAG	CAACACTATATCCCAACAAAC
<i>βactin</i>	CACTCCTGCTATGTATGTCGC	GGTAGTCAGTCAAATCACGGC

管家基因 *βactin* 反应条件: $94 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 5 min; $94 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 30 s, $56 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 30 s, $72 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 60 s, 扩增 27 个循

环; $72 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 延伸 10 min。 *ETF-β*、*KAT* 基因 PCR 扩增的退火温度均为 $60 \text{ }^{\circ}\text{C}$, 28 个循环, 其他条件

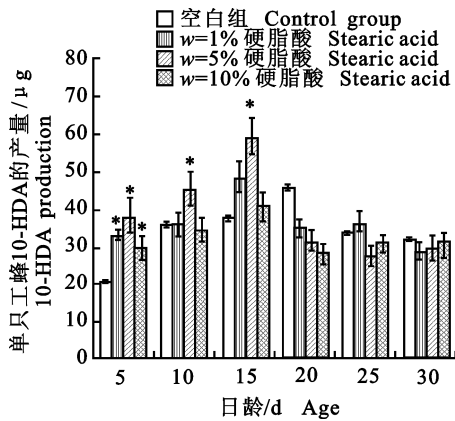
与 $\beta actin$ 基因相同。

通过 10 g/L 琼脂糖凝胶电泳检测 PCR 产物,并通过凝胶成像系统观察拍照,采用 Quantity One 软件进行灰度值分析,根据目的基因与管家基因 PCR 产物灰度值的比值,判断靶基因的表达情况。

2 结果与分析

2.1 饲喂硬脂酸对工蜂合成 10-HDA 的影响

硬脂酸是蜜蜂上颚腺 10-HDA 合成的起始物质,可作为外源性物质直接被蜜蜂上颚腺利用。由图 1 可知,与空白组相比,花粉饲料中添加 $w=1\%$ 、 5% 、 10% 的硬脂酸可提高 15 日龄前工蜂上颚腺 10-HDA 的分泌量,且 $w=5\%$ 硬脂酸作用效果显著($P<0.05$),在 5、10、15 日龄 10-HDA 分泌量分别提高 84.65%、26.65%和 56.66%,全期 10-HDA 的产量平均值比基础日粮组提高 11.82%,说明 $w=5\%$ 硬脂酸更有利于工蜂 10-HDA 的合成。并且添加硬脂酸后,10-HDA 的分泌高峰提前,由原来的 20 日龄提前至 15 日龄,表明,在花粉饲料中添加相应质量分数的硬脂酸,能促进 10-HDA 合成,在短时间内提高蜂王浆中 10-HDA 的产量。



图中数据为“平均数±标准差”;单星号表示差异显著($P<0.05$)。图 2 同。

Data are “mean ± SD”, and single asterisks indicate statistical significance at $P<0.05$. The same in Fig. 2.

图 1 饲喂硬脂酸后工蜂合成 10-HDA 的产量
Fig. 1 Effect of stearic acid on 10-HDA synthesis in worker bees

2.2 饲喂癸酸对工蜂合成 10-HDA 的影响

由图 2 可知,与空白组比较, $w=1\%$ 、 2.5% 、 5% 的癸酸组均能提高 15 日龄前工蜂上颚腺 10-HDA 的分泌量。其中,在 10 日龄时, $w=1\%$ 癸

酸组的工蜂头部 10-HDA 合成量达到最大值,为每只 54.31 μg ;在 15 日龄时, $w=2.5\%$ 、 5% 癸酸组的工蜂头部 10-HDA 合成量达到最大值。由图 2 还可以看出,添加 $w=1\%$ 癸酸的作用效果更显著,该组在 5、10、15 日龄工蜂头部 10-HDA 的合成量均显著高于空白组($P<0.05$),10-HDA 分泌高峰提前至 10 日龄,且全期 10-HDA 产量的平均值较空白组提高 13.37%。15 日龄后,与相应日龄段空白组相比,除 $w=1\%$ 硬脂酸组在 30 日龄时,工蜂 10-HDA 的合成量增加 5.58%外,其他各组的 10-HDA 合成量均降低,其中, $w=1\%$ 癸酸组工蜂在 20、25 日龄时 10-HDA 的合成量分别下降 29.24%、10.54%, $w=2.5\%$ 癸酸组工蜂在 20、25、30 日龄时的合成量分别下降 21.69%、18.56%、8.5%, $w=5\%$ 癸酸组则分别下降 40.76%、4.97%、8.84%,表明,后期癸酸无法促进工蜂高效合成 10-HDA。

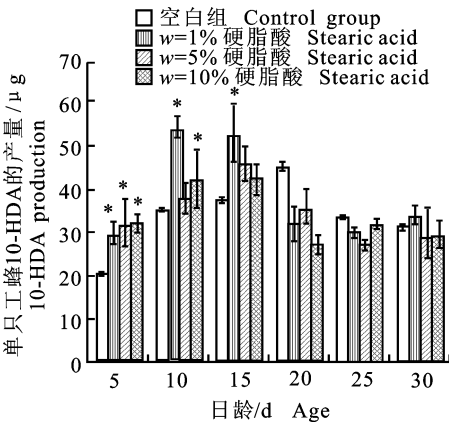
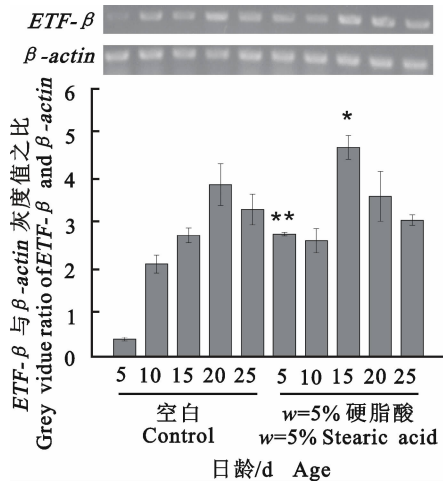


图 2 饲喂癸酸后工蜂合成 10-HDA 的产量
Fig. 2 Effect of decanoic acid on 10-HDA synthesis in worker bees

2.3 饲喂硬脂酸对 $ETF-\beta$ 和 KAT 基因表达的影响

为研究饲喂硬脂酸对 10-HDA 合成相关酶基因表达的影响,采用半定量 RT-PCR 技术检测工蜂上颚腺 $ETF-\beta$ 和 KAT 基因表达水平的变化。由图 3 和图 4 可知,空白组 $ETF-\beta$ 和 KAT 基因的表达量均随日龄的增加而增加,且在 20 日龄时表达量最高。而在基础日粮中添加 $w=5\%$ 硬脂酸后,5、10、15 日龄工蜂 $ETF-\beta$ 和 KAT 基因的表达量均高于空白组,且这 2 个基因的表达高峰由原来的 20 日龄分别提前至 15 日龄与 10 日龄。表明,添加硬脂酸能增加 10-HDA 生物合成相关酶基因的表达,从而提高 10-HDA 的产量。



单星号表示差异显著 ($P < 0.05$), 双星号表示差异极显著 ($P < 0.01$)。图 4、图 5、图 6 同。

Single asterisks indicate statistical significance at $P < 0.05$ and double asterisks indicate statistical significance at $P < 0.01$. The same for Fig. 4, Fig. 5, Fig. 6.

图 3 $w=5\%$ 硬脂酸对 $ETF-\beta$ 基因表达的影响

Fig. 3 Effect of $w=5\%$ stearic acid on the expression of $ETF-\beta$ gene

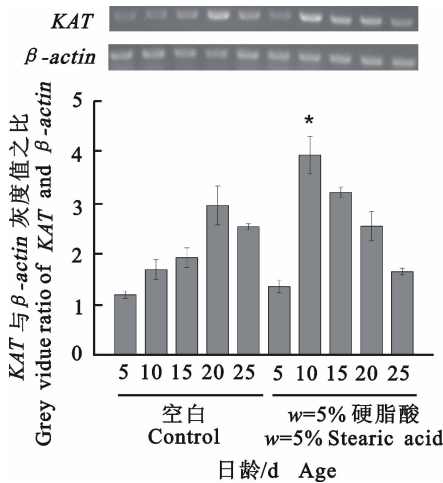


图 4 $w=5\%$ 硬脂酸对 KAT 基因表达的影响

Fig. 4 Effect of $w=5\%$ stearic acid on the expression of KAT gene

2.4 饲喂癩酸对 $ETF-\beta$ 和 KAT 基因表达的影响

由图 2 可知, $w=1\%$ 的癩酸饲料比 $w=2.5\%$ 、 5% 的癩酸饲料更利于促进工蜂腺体 10-HDA 的合成。因此, 选择 $w=1\%$ 癩酸, 分析其对 10-HDA 合成相关酶基因 $ETF-\beta$ 及 KAT 表达水平的影响。由图 5 和图 6 可知, 空白组中 $ETF-\beta$ 和 KAT 基因表达量均随日龄的增加而增加, 在 20 日龄时, 表达量达到最高。在饲料中添加

加 $w=1\%$ 癩酸后, 10、15 日龄工蜂 $ETF-\beta$ 和 KAT 基因的表达量均显著高于空白组 ($P < 0.05$), 且这 2 个基因的表达高峰由原来的 20 日龄分别提前至 15 日龄与 10 日龄。表明, 在花粉饲料中添加 $w=1\%$ 癩酸后, 能增加 10-HDA 生物合成相关酶基因 $ETF-\beta$ 及 KAT 的表达, 进而提高 10-HDA 的产量。

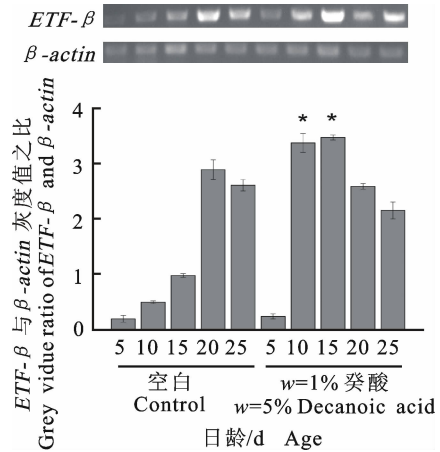


图 5 $w=1\%$ 癩酸对 $ETF-\beta$ 基因表达的影响

Fig. 5 Effect of $w=1\%$ decanoic acid on the expression of $ETF-\beta$ gene

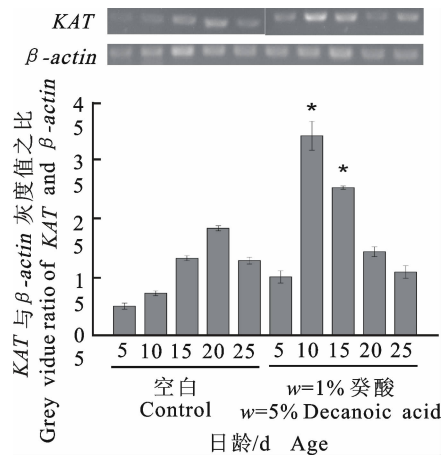


图 6 $w=1\%$ 癩酸对 KAT 基因表达的影响

Fig. 6 Effect of $w=1\%$ decanoic acid on the expression of KAT gene

3 结论与讨论

本研究主要在工蜂基础日粮中添加不同质量分数的硬脂酸和癩酸, 采用高效液相色谱法测定不同日龄段工蜂上颚腺中 10-HDA 的产量, 以分析外源添加物质对工蜂合成 10-HDA 的影响。同时, 采用半定量 RT-PCR 技术分析硬脂酸和癩

酸对 10-HDA 生物合成相关酶基因表达的影响,结果显示,与空白组相比,15 日龄前,在花粉饲料中添加 $w=5\%$ 硬脂酸、 $w=1\%$ 癸酸均能有效提高工蜂上颚腺 10-HDA 的产量($P<0.05$),且能使 10-HDA 分泌高峰提前,由原来的 20 日龄分别提前至 15 日龄和 10 日龄。另外,添加硬脂酸和癸酸均可使工蜂在 15 日龄前 *ETF- β* 和 *KAT* 基因的表达量增加,其增加趋势与 10-HDA 在工蜂体内合成量的增加趋势基本一致。说明,外源硬脂酸和癸酸通过影响 10-HDA 生物合成相关酶 *ETF- β* 和 *KAT* 的基因表达来影响 10-HDA 的合成。

本研究显示,硬脂酸及癸酸均可作为外源物质被工蜂利用,提高 10-HDA 生物合成相关酶基因的表达,促进工蜂上颚腺 10-HDA 的合成。根据已有报道^[10],硬脂酸作为 10-HDA 合成的起始物质,经羟基化修饰及 β 氧化后最终生成 10-HDA。因此,添加硬脂酸后,工蜂上颚腺 10-HDA 的合成量提高且参与脂肪酸 β 氧化的相关酶表达量也相应增加。另外,添加癸酸后,10-HDA 的合成量提高,脂肪酸 β 氧化酶的表达量也增加。因此,推测癸酸可能通过增加碳链先合成硬脂酸,再进一步转化生成 10-HDA,但具体的分子调控过程还需进一步研究。

参考文献 Reference:

- [1] 贺春玲,嵇保中,刘曙文,等. 10-羟基-2-癸烯酸研究进展及展望[J]. 中国农学通报,2007,23(6):227-231.
HE CH L,JI B ZH,LIU SH W, *et al.* Prpgress and prospects in research of 10-Hydroxy- α -Decenoic acid[J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2007, 23(6): 227-231 (in Chinese with English abstract).
- [2] 石 晶,凌树森,孙维林. 10-羟基癸烯酸对小鼠免疫功能的影响[J]. 中国药理学通报,1990,6(3):175-178.
SHI J,LING SH S,SUN W L. The effect of 10-HDA on immune function of mice[J]. *Chinese Pharmacological Bulletin*, 1990, 6(3): 175-178 (in Chinese with English abstract).
- [3] NAGAI T,SAKAI M,INOUE R, *et al.* Antioxidative activities of some commercially honeys, royal jelly, and propolis [J]. *Food Chemistry*, 2001, 75(2): 237-240.
- [4] 侯春生,刘顺春,陈崇羔. 蜂王浆中活性小分子物质 BHT 对小白鼠抗衰老作用的影响[J]. 中国蜂业,2007,58(12):12-13.
HOU CH SH,LIU SH CH,CHEN CH G. Effects of the small molecule material BHT in royal jelly on anti-aging of the mouse[J]. *Apiculture Of China*, 2007, 58(12): 12-13 (in Chinese with English abstract).
- [5] PLETTNER E,SUTHERLAND G R J,SLESSOR K N, *et al.* Why not be a queen Regioselectivity in mandibular secretions of honeybee castes[J]. *Journal of Chemical Ecology*, 1995, 21(7): 1017-1029.
- [6] PLETTNER E,SLESSOR K N,WINSTON M L, *et al.* Caste-selective pheromone biosynthesis in honeybees [J]. *Science*, 1996, 271(5257): 1851-1853.
- [7] PLETTNER E,SLESSOR K N,WINSTON M L. Biosynthesis of mandibular acids in honeybees (*Apis mellifera*): De novo synthesis, route of fatty acid hydroxylation and caste selective β -oxidation[J]. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 1998, 28(1): 31-42.
- [8] 肖 瀛,徐 焰. 生物合成 10-HDA 的代谢途径[J]. 食品科学,2005,26(9):555-557.
XIAO Y,XU Y. Biosynthetic pathway of 10-HDA[J]. *Food Science*, 2005, 26(9): 555-557 (in Chinese with English abstract).
- [9] 王镜岩,朱圣庚,徐长法. 生物化学 [M]. 第 3 版,下册. 北京:高等教育出版社,2002:236-237.
WANG J Y,ZHU SH G,XU CH F. Biochemistry [M]. 3rd ed, Volume II. Beijing: Higher Education Press, 2002: 236-237 (in Chinese).
- [10] 周延清,张永华,张 喻,等. 怀地黄 3-酮脂酰 CoA-硫解酶基因的克隆、序列特征和时空表达分析[J]. 中草药,2013,44(1):76-84.
ZHOU Y Q,ZHANG Y H,ZHANG Y, *et al.* Gene cloning, features of sequence, and analysis on temporal and spatial expression of *Rehmannia glutinosa* f. *hueichingen* 3-ketoacyl CoA-thiolase [J]. *Chinese Traditional and Herbal Drugs*, 2013, 44(1): 76-84 (in Chinese with English abstract).
- [11] FIDALEO M,ARNAULD S,CLEMENCET M C, *et al.* A role for the peroxisomal 3-ketoacyl-CoA thiolase B enzyme in the control of PPAR α -mediated upregulation of SREBP-2 target genes in the liver[J]. *Biochimie*, 2011, 93(5): 876-891.
- [12] 方文富,郭海坤,胡发明,等. 不同配比花粉与黄豆粉饲料对意蜂王浆的影响[J]. 中国蜂业,2013,64(Z3):12-16.
FANG W F,GUO H K,HU F M, *et al.* The effect of different ratio of pollen and soybean powder on royal jelly of *Apis mellifera ligustica* [J]. *Apiculture of China*, 2013, 64(Z3): 12-16 (in Chinese with English abstract).
- [13] 杨 威,罗源源,王晓燕,等. 高效液相色谱法测定合成 10-HDA 的含量分析[J]. 化学与黏合,2009,31(2):64-66.
YANG W,LUO Y Y,WANG X Y, *et al.* Determination of synthetic 10-HDA with HPLC method[J]. *Chemistry and Adhesion*, 2009, 31(2): 64-66 (in Chinese with English abstract).

Effects of Feeding Stearic Acids and Decanoic Acids on 10-HDA Synthesis in Worker Honeybee

LIU Li, YANG Xiaohui and WANG Ruiming

(School of Bioengineering, Qilu University of Technology, Jinan 250353, China)

Abstract To investigate the influence of stearic acids and decanoic acids on the synthesis of 10-HDA and the expression of genes related to the biosynthesis in worker honeybee, 10-HDA production and the related gene mRNA levels were detected by adding different mass fraction of stearic acids and decanoic acids into the pollen feed from the feeding point of view. HPLC and semi-quantitative RT-PCR were used separately in the experiment. The results showed that adding different mass fraction of stearic acids and decanoic acids in the pollen feed could improve the synthesis of 10-HDA to a certain extent, in which the groups of $w=5\%$ stearic acids and $w=1\%$ decanoic acids had significant effect on the synthesis of 10-HDA ($P<0.05$) relative to the control groups for the bees in 5, 10, 15 day old. And compared with the blank group, the average productions of 10-HDA were increased by 11.82%, 13.37% respectively in the whole period. In addition, with addition of $w=5\%$ stearic acids and $w=1\%$ decanoic acids in the pollen feed, the 10-HDA secretion peak of worker bees was changed respectively from the original 20 days to 15 days and 10 days of age in advance. Meanwhile, *ETF- β* and *KAT* mRNA levels were up-regulated by feeding the pollen with exogenous substances before 15 days of worker honeybee. In conclusion, stearic acids and decanoic acids could up-regulate the expressions of *ETF- β* and *KAT* by which promote the synthesis 10-HDA synthesis and increase the yield of 10-HDA in a short time.

Key words Stearic acid; Decanoic acid; 10-HDA; *ETF- β* ; *KAT*; HPLC

Received 2015-12-21

Returned 2016-01-22

Foundation item The National Natural Science Foundation of China (No. 31201281 and 31171727); Shandong Province Young Scientist Research Award Fund Scheme (No. BS2013SW029).

First author LIU Li, female, master student. Research area: microbial enzyme technology. E-mail: liuli890216@163.com

Corresponding author WANG Ruiming, male, doctoral supervisor. Research area: microbial enzyme technology. E-mail: ruiming3k@163.com

(责任编辑: 郭柏寿 Responsible editor: GUO Baishou)