

易瑶, 葛阳晴, 曾志将. 蜂群中饲喂蜂王的工蜂亚家庭组成分析[J]. 江西农业大学学报, 2016, 38(6): 1141-1144.

# 蜂群中饲喂蜂王的工蜂亚家庭组成分析

易瑶, 葛阳晴, 曾志将\*

(江西农业大学 蜜蜂研究所, 江西 南昌 330045)

**摘要:** 蜜蜂是一种资源共享性强、社会分工精确度高且信息交流高度结构化的社会性群体。蜂群中, 蜂王的交配方式是“一雌多雄”, 因此蜂群是由多个“同母异父”的亚家庭组成。研究表明, 蜂群内这种“同母异父”的亚家庭结构, 可以显著影响蜜蜂内在的部分社会分工。本研究以西方蜜蜂 (*Apis mellifera* L.) 为实验材料, 从 3 群自然蜂群中各取样 94 只饲喂蜂王的工蜂和原蜂王, 利用 4 对微卫星引物对样本进行个体基因型分析。分析得出了亚家庭总数分别为 13、13 和 21 的 3 群蜂群。结果表明: 饲喂蜂王的工蜂的亚家庭组成并无亚家庭专属现象, 即蜂王会接受各个亚家庭的适龄工蜂的饲喂。

**关键词:** 蜜蜂; 饲喂蜂王的工蜂; 微卫星; 亚家庭

中图分类号: S892.2 文献标志码: A 文章编号: 1000-2286(2016)06-1141-04

## Genotypic Variability of the Queen Nurses in Honey Bee Colony

YI Yao, GE Yang-qing, ZENG Zhi-jiang\*

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

**Abstract:** Honeybee is a kind of social insect which has a high degree of resource sharing, a high degree of social division of labor and highly structured information exchange. The reproductive system of the honey bee queen is a system of male more than female. It is the reason for numerous ‘halfblooded’ subfamilies in honey bees. Several studies showed that the genotypical variability within the honey bee colony can affect their polyethism. Microsatellite DNA analyses reveal a total of 13, 13 and 21 subfamilies in colony A, B and C (*Apis mellifera*) respectively. It shows that the queen nurses are not represented in a significantly different proportion in honey bee colonies. That is, all age-appropriate worker bees can have chance to be queen nurses.

**Keywords:** honeybee; worker bees; microsatellite; subfamily

蜜蜂是一种资源共享性强、社会分工精确度高且信息交流高度结构化的社会性群体<sup>[1-2]</sup>。蜜蜂的社会行为学特性一直都受到广大生物学家的高度关注<sup>[3-5]</sup>, 其原因一方面是蜜蜂本身在给农作物授粉和维持生态平衡上有着巨大贡献, 另一方面是蜜蜂的社会行为学研究结果对整个社会生物学领域有着深远影响<sup>[6]</sup>。

自然交配状态下的蜂王可与多只 (7~20) 雄蜂进行交配, 于是蜂群中便出现了多个“同母异父”的亚家庭<sup>[7]</sup>。研究表明, 蜂群里“同母异父”的亚家庭现象可以显著影响其内在的社会分工与行为<sup>[8-13]</sup>。那么, 蜂王对来自不同亚家庭的哺育工蜂的饲喂是否有选择性呢? 即蜂王是否只偏向于多个亚家庭中的某几个亚家庭的哺育工蜂的饲喂呢? 本实验旨在通过对饲喂蜂王的工蜂的亚家庭组成分析, 为蜜蜂

收稿日期: 2016-04-26 修回日期: 2016-10-10

基金项目: 国家现代蜂产业技术体系资助项目 (CARS-45-kxj12)

Project supported by the National Apiculture Technology System of China (CARS-45-kxj12)

作者简介: 易瑶 (1992—), 女, 硕士生, 主要从事蜜蜂研究, 1528738818@qq.com; \* 通信作者: 曾志将, 教授, 博士生导师, bees1965@sina.com。

遗传背景和行为的关系研究提供参考资料,同时完善人们对蜜蜂的研究和认识的目的。实验主要运用微卫星分子标记技术,检测 3 个蜂群内的饲喂蜂王的工蜂的亚家庭数量。由检测出的饲喂蜂王的工蜂的亚家庭数量判断出蜂王是否接受所有亚家庭的适龄工蜂的饲喂。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

1.1.1 实验昆虫 江西农业大学蜜蜂研究所提供的西方蜜蜂(*Apis mellifera*) 3 群(蜂群 A、B、C),按标准方法活框饲养。

1.1.2 实验器材与试剂 试剂:购自大连宝生物工程有限公司的 DNA 提取试剂盒;购自北京博凯思维科技有限公司的 DNA marker DL2000,LA *Taq* DNA polymerase 和 dNTP;购自北京全式金生物技术有限公司的 GelStain 荧光核酸染色试剂;QIAxcel 试剂盒和卡夹。

仪器:普通离心机(飞鸽 KA-1000 型,上海安亭科学仪器厂公司产品),快速混匀器(SK-1 型,荣华仪器制造有限公司),玻璃观察箱,LifePro 基因 PCR 扩增仪(TC-96,杭州博日科技有限公司产品),琼脂糖凝胶电泳系统(Tanon EPS300),QIAxcel Advanced 系统由 QIAxcel Advanced 仪器、计算机以及 QIAxcel ScreenGel 软件组成(上海凯杰企业管理有限公司产品),计算机自动成像系统(Tanon GIS2009)。

### 1.2 实验方法

1.2.1 样品采集 首先将实验蜂群与其它蜂群隔离饲养 45 d。然后,在温度适宜、自然无风的环境下,将带有蜂王的巢皮放置玻璃观察箱上观察取样。用镊子抓取饲喂蜂王的工蜂,并将其装入 EP 管内迅速放入装有液氮的保温杯内速冻。每群蜂取 94 只饲喂蜂王的工蜂和蜂王。在下一步实验进行前,将样品保存在-80 °C 冰箱内。

1.2.2 工蜂 DNA 提取 本实验使用的是购自大连宝生物工程有限公司的 DNA 提取试剂盒。其中,提取的部位是单只蜜蜂的胸部组织。所有步骤按试剂盒的说明书进行。其中根据实际情况调整的有:(1) Buffer GL: 260 μL;(2) 水浴时长:两个 30 min;(3) 双蒸水:20 μL。提取出来的 DNA 在-80 °C 冰箱内保存。

1.2.3 PCR 扩增反应 实验用的微卫星引物由生工生物工程(上海)股份有限公司合成(表 1)。PCR 反应总体系为 25 μL,其中 10×Buffer: 2.5 μL,正向引物:0.1 μL,反向引物:0.1 μL,dNTP: 2 μL,*Taq* 酶: 0.3 μL,模板 DNA: 1 μL,ddH<sub>2</sub>O: 17.2。PCR 反应条件:94 °C 预变性 5 min,94 °C 变性 45 s,退火 45 s(不同微卫星位点的退火温度见表 1),72 °C 延伸 105 s,循环次数 30 次;72 °C 再延伸 10 min;最后所有样品在-80 °C 冰箱内保存。

表 1 微卫星位点及部分 PCR 反应条件

Tab.1 Core sequences in cloned alleles and part of PCR condition for 4 used microsatellites

位点 Locus	引物序列 Sequence of primers	退火温度/°C Annealing temperature	循环次数 No.of cycles	目的片段/bp Size
A113	F 5'-CTCGAATCGTGGCGTCC-3' R 5'-CCTGTATTTTGCAACCT CGC-3'	60	30	220
Ap043	F 5'-GGCGTGACAGCTTATTCC-3' R 5'-CGAAGGTGGTTTCAGGCC-3'	58	30	137
Ap226	F 5'-AACGGTGTTCCGCGAAACG-3' R 5'-AGCCAACTCGTGCCGTCA-3'	58	30	231
Ap289	F 5'-AGCTAGTCTTTCTAAGAGTGTG-3' R 5'-TTCGACCGCAATAACATTC-3'	55	30	174

1.2.4 PCR 扩增产物的检测 PCR 扩增效果直接决定了个体基因型的分析,所以在进行毛细管电泳片段分析前需要通过凝胶电泳检测 PCR 的扩增效果,以确保扩增的是目的片段。5 μL PCR 产物和 1 μL Loading Buffer 混匀后,注入含 GelStain 荧光染料的琼脂糖胶中,在 250 V 电压,250 mA 电流,80 w 功率下电泳 15 min,紫外灯下观察扩增结果,只取扩增效果好的个体,扩增效果不佳的个体需重新扩增。

1.2.5 毛细管电泳结果及片段分析 将 1 μL PCR 产物与 9 μL dilution Buffer 混合,用 QIAxcel Ad-

vanced 仪器对 PCR 产物开展片段的进行全自动分离,根据 QIAxcel Advanced 系统自带的 QIAxcel ScreenGel 软件对核酸分离的原始信号峰图和模拟胶图 分析并确定 DNA 片段分子量和浓度。最后,设定目的片段,读取个体基因型。

### 1.3 数据处理

先将 QIAxcel Advanced 仪器分析得出的 PDF 格式的数据转化为 Excel 表格,然后用 MS-tool 软件计算出各亚家庭中 等位基因的频数。最后使用 Matesoft 软件分析各工蜂个体所属亚家庭。

## 2 结果与分析

从图 1 和表 2 中可知, A、B、C 三组蜂群分别检测到 13、13、21 个亚家庭。由于各蜂群所得的亚家庭数量较大且在正常蜂王交配雄蜂个数内,饲喂蜂王的工蜂的亚家庭组成并无亚家庭专属现象,即蜂王接受所有亚家庭背景下的适龄工蜂的饲喂。

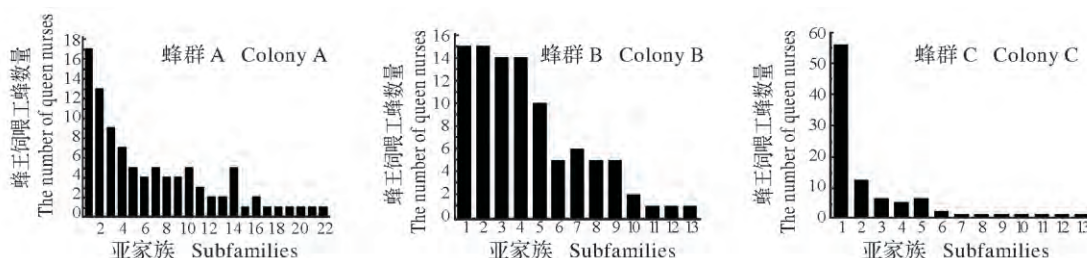


图 1 各亚家庭中的饲喂蜂王的工蜂数量  
Fig.1 The number of queen nurses of each subfamilies

表 2 蜂王随从工蜂的亚家庭分析结果

Tab.2 Analysis of subfamilies of queen nurses

亚家庭 Subfamilies	蜂群 A Colony A	蜂群 B Colony B	蜂群 C Colony C
	父系基因型 Genotypes of paternity ( A007/AP036/AP226/AP289)	父系基因型 Genotypes of paternity ( A007/AP036/AP226/AP289)	父系基因型 Genotypes of paternity ( A007/AP036/AP226/AP289)
1	224/153/241/204	225/175/244/190	243/153/243/187
2	224/153/241/187	225/141/244/190	243/169/243/187
3	242/153/241/218	225/141/244/210	243/153/259/268
4	224/169/241/204	225/155/244/190	243/153/259/187
5	242/169/241/218	225/175/290/190	243/153/243/206
6	242/153/241/187	225/141/290/210	243/179/259/187
7	224/139/241/218	225/155/290/190	193/153/259/206
8	242/139/241/218	225/141/290/190	193/153/259/268
9	224/169/241/187	290/175/244/190	243/169/259/187
10	256/169/255/187	225/175/290/210	193/153/243/187
11	224/153/241/218	225/155/290/210	243/179/259/268
12	224/139/241/204	225/175/244/210	243/169/259/268
13	256/153/255/187	269/175/290/190	243/169/243/268
14	242/139/241/187		
15	242/169/241/204		
16	256/139/255/187		
17	242/139/255/204		
18	242/153/241/204		
19	242/169/255/187		
20	256/139/241/187		
21	242/153/255/218		
22	242/153/255/187		

### 3 讨论

自然交配状态下的蜂群中,一只蜂王可与 7~20 只雄蜂进行交配<sup>[7]</sup>。在本试验所取的 3 群意蜂蜂群的 94 个样品中就获得了 13、13 和 21 个亚家庭,基本属于正常值。由此,笔者认为饲喂蜂王的工蜂的亚家庭组成并无亚家庭专属现象,即蜂王接受所有亚家庭背景下的适龄工蜂的饲喂。然而,虽然饲喂蜂王的工蜂不存在亚家庭专属现象,但这并不能说明蜂王对各个亚家庭中的适龄饲喂工蜂的选择是否随机。由图 1 中可知,饲喂蜂王的工蜂在各个亚家庭中的数量并不一致。但是,由于蜂群中各个亚家庭所占的比例本就不一致<sup>[13-14]</sup>,而本试验没有取随机样本作为整个蜂群内各个亚家庭所作参考,因此从现有数据中无法得知饲喂蜂王的工蜂在各亚家庭的分布上与蜂群中各亚家庭工蜂数量所占比例是否一致。

#### 参考文献:

- [1] Gordon D M. The organization of work in social insects colonies [J]. Nature, 1996, 380(10): 121-124.
- [2] Robinsen G E, Fernald R D, Clayton D F. Genes and social behavior [J]. Science, 2008, 322(7): 896-899.
- [3] 刘志勇, 曾志将, 吴小波, 等. 人工选育浆蜂与原种意大利蜜蜂 *csd* 基因多态性比较 [J]. 江西农业大学学报, 2015, 37(2): 323-327.  
Liu Z Y, Zeng Z J, Wu X B, et al. Comparison of *csd* gene polymorphism between artificially bred high royal jelly producing honeybee and native Italy honeybee [J]. Jiangxi Agricultural University, 2015, 37(2): 323-327.
- [4] 吴小波, 王子龙, 李淑云, 等. 中华蜜蜂与意大利蜜蜂性成熟处女蜂王蛋白质组比较分析 [J]. 江西农业大学学报, 2015, 37(6): 831-835.  
Wu X B, Wang Z L, Li S Y, et al. Proteomic comparison of sexual matured queen between *Apis cerana cerana* and *Apis mellifera ligustica* [J]. Jiangxi Agricultural University, 2015, 37(6): 831-835.
- [5] 黄晓, 江武军, 何旭江, 等. 中蜂雄蜂封盖气孔结构及功能分析 [J]. 江西农业大学学报, 2016, 38(2): 376-380.  
Huang X, Jiang W J, He X J, et al. Studies on the structure and function of the pore in the drone cell capping of *Apis cerana cerana* [J]. Jiangxi Agricultural University, 2016, 38(2): 376-380.
- [6] 田柳青, 刘浩, 何旭江, 等. 蜜蜂也会轮班工作 [J]. 蜜蜂杂志, 2012(12): 4-6.  
Tian L Q, Liu H, He X J, et al. Honeybee can also shift work [J]. Journal of Bee, 2012(12): 4-6.
- [7] Kryger P, Kryger U, Moritz R F A. Genotypical variability for the tasks of water collecting and scenting in a honey bee colony [J]. Ethology, 2000, 106(9): 769-779.
- [8] Oldroyd B P, Rinderer T E, Buco S M. Intra-colonial foraging specialism by honey bees (*Apis mellifera*) (Hymenoptera: apidae) [J]. Behav. Ecol. Sociobiol., 1992, 30(5): 291-295.
- [9] Frumhoff P C, Banker J A. Genetic component to division of labour within honey bee colonies [J]. Nature, 1988, 333(10): 358-361.
- [10] Robinson G E, Page R E. Genetic determination of guarding and undertaking in honey-bee colonies [J]. Nature, 1988, 333(10): 356-358.
- [11] 谢宪兵, 孙亮先, 黄康, 等. 中华蜜蜂急造王台的工蜂亲属优惠研究 [J]. 动物学报, 2008(4): 695-700.  
Xie X B, Sun L X, Huang K, et al. Worker nepotism during emergency queen rearing in Chinese honeybees *Apis cerana cerana* [J]. Acta Zoologica Sinica, 2008(4): 695-700.
- [12] 刘益波, 黄强, 颜伟玉, 等. 运用 ISSR 分析蜂螨对不同亚家系的选择性寄生 [J]. 蜜蜂杂志, 2009, 29(8): 6-8.  
Liu Y B, Huang Q, Yan W Y, et al. Study on the selective parasitism of the varroa mite to the different subfamilies by ISSR [J]. Journal of Bee, 2009, 29(8): 6-8.
- [13] 王欢, 张少吾, 张飞, 等. 蜂群中不同亚家庭的工蜂寿命分析 [J]. 应用昆虫学报, 2012, 49(5): 1172-1175.  
Wang H, Zhang S W, Zhang F, et al. Analysis of lifespans of workers from different subfamilies in a honeybee colony [J]. Chinese Journal of Applied Entomology, 2012, 49(5): 1172-1175.
- [14] 黄强, 黄志勇, 郑加兰, 等. 运用 RAPD 技术检测中华蜜蜂蜂群中亚家庭数量 [J]. 江西农业大学学报, 2008, 30(4): 739-742.  
Huang Q, Liu Z Y, Zheng J L, et al. Detecting of subfamilies of honeybee (*Apis cerana cerana*) with RAPD technique [J]. Jiangxi Agricultural University, 2008, 30(4): 739-742.