

颜伟玉,张丽珍,胡景华,等.中华蜜蜂工蜂监督及卵表面超微结构研究[J].江西农业大学学报,2018,40(1):157-162.

中华蜜蜂工蜂监督及卵表面超微结构研究

颜伟玉¹,张丽珍¹,胡景华¹,袁芳²

(1.江西农业大学 蜜蜂研究所,江西 南昌 330045;2.江西省养蜂研究所,江西 南昌 330052)

摘要:为研究中华蜜蜂(*Apis cerana cerana*)的工蜂监督机制,采用人工移取中华蜜蜂蜂王产的受精卵(QDG)、未受精卵(QHG)和工蜂产的未受精卵(WHG)至同一张巢脾的工蜂巢房和雄蜂巢房中,置于中华蜜蜂的有王群中,在2,5,12和24 h分别观察3种类型卵的清除率。同时利用电子扫描显微镜观察中华蜜蜂QDG、QHG和WHG三种类型卵在2,5,12和24 h的表面超微结构。结果表明:在2,5,12和24 h WHG的清除率都显著比QDG和QHG高($P<0.05$),QDG和QHG之间均差异不显著($P>0.05$),中华蜜蜂蜂群中存在工蜂监督现象;在2,5,12和24 h QDG、QHG和WHG 3种类型卵表面超微结构无显著差异。

关键词:中华蜜蜂;工蜂监督;卵;超微结构

中图分类号:S893.2 文献标志码:A 文章编号:1000-2286(2018)01-0157-06

Worker Policing and Ultrastructure of Egg Surface in *Apis cerana cerana*

YAN Wei-yu¹, ZHANG Li-zhen¹, HU Jing-hua¹, YUAN Fang²

(1.Honeybee Research Institute, Jiangxi Agricultural University, Nanchang 330045, China; 2. Apiculture Research Institute of Jiangxi Province, Nanchang 330052, China)

Abstract: To study the worker policing mechanism in *Apis cerana cerana*, queen-laid diploid eggs(QDG) and haploid eggs(QHG) and worker-laid haploid eggs(WHG) were introduced to worker and drone cells on the same comb in queen-right colony. In 2, 5, 12 and 24 h, the elimination rate of eggs were observed and calculated. The surface ultrastructure of queen-laid diploid and haploid eggs of *Apis cerana cerana* was compared with that of worker-laid eggs by SEM. The results showed that the elimination rate in 2, 5, 12 and 24 h was higher in worker-laid eggs than that in queen-laid diploid and haploid eggs($P<0.05$), supporting the worker-policing hypothesis in *Apis cerana cerana*. In 2, 5, 12 and 24 h, no significant difference was found in the ultrastructure of the egg surface among QDG, QHG and WHG.

Keywords: *Apis cerana cerana*; worker policing; eggs; ultrastructure

在营造社会性生活的膜翅目昆虫群体中,未交配的工职也能产卵,这些卵通过孤雌生殖孵化成雄性。然而,在有蜂王的西方蜜蜂自然蜂群中,工蜂产的卵正常发育数量较少。蜂群中有4%的工蜂具有

收稿日期:2017-07-23 修回日期:2017-09-20

基金项目:江西省普通本科高校中青年教师发展计划访问学者专项资金项目、江西省青年科学家(井冈之星)培养对象项目(20133BCB23012)和国家自然科学基金资助项目(31460641)

Project supported by the Young Teacher Development Plan Visiting Scholar Special Funds of Jiangxi Ordinary Undergraduate Course College and University, the Object of Young Scientists of Jiangxi Province(20133BCB23012), the National Natural Science Foundation of China(31460641)

作者简介:颜伟玉(1978—),女,教授,博士,主要从事蜜蜂生物学研究,ywygood-0216@163.com。

生殖功能的卵巢并且产出蜂群中7%的雄性卵^[1],但生物学研究表明,只有0.1%的雄蜂是工蜂后代^[2]。出现这种现象的一个重要的原因可能就是工蜂监督机制,即蜂群内工蜂将其它工蜂产的卵进行清理。在东方蜜蜂蜂群中也存在相似的情况。Oldroyd等^[3]研究了泰国的东方蜜蜂发现,在自然蜂群中有5.25%的工蜂卵巢发育,有0.25%的工蜂卵巢有成熟的卵;在蜂群失王的当天就有1.35%的工蜂卵巢发育,5 d后有40%~50%的工蜂卵巢发育并有成熟卵。Bednarek^[4]在东方蜜蜂带子脾的有王群中发现少量工蜂卵巢发育,无子脾的无王群中有72%的工蜂卵巢发育。东方蜜蜂蜂群一般在失王后2~3 d开始产卵^[5],远比西方蜜蜂无王群中工蜂产卵早(一般6~30 d)^[6]。而且,东方蜜蜂无王群中工蜂产卵会一直持续到新蜂王介绍成功为止^[7]。因此,东方蜜蜂蜂群中工蜂产的雄性卵比例很可能比西方蜜蜂蜂群中的7%^[1]更高。Oldroyd^[8]研究确实发现东方蜜蜂也存在高度的工蜂监督。

中华蜜蜂(*Apis cerana cerana*,简称中蜂)作为东方蜜蜂最重要的一个亚种,也是原产中国的优良品种,具有耐寒、抗螨能力强和善于采集零星分散蜜源等特性^[9]。谢宪兵等^[10]采用单雄授精、双雄授精和自然交尾蜂群对中华蜜蜂工蜂监督进行了研究,发现中华蜜蜂群内同样存在工蜂监督现象。工蜂监督现象的存在说明工蜂能识别不同类型的卵,那么不同类型卵的表面结构是否存在差异?本研究从中华蜜蜂工蜂监督现象和卵表面超微结构着手,探讨中华蜜蜂群内的工蜂监督机制。

1 材料和方法

1.1 试验材料

试验蜂群为江西农业大学动物科学技术学院实验蜂场饲养的中华蜜蜂(*Apis cerana cerana* F.);日立IB-3型离子溅射仪(日本日立公司);日立S-570扫描电镜(日本日立公司)。

1.2 工蜂监督

在2016年3月份期间选取3群群势在5脾左右的中华蜜蜂作为试验群。从蜂群中提取无子脾的两张巢脾组成无王群,待工蜂产卵时即可进行试验。

往试验有王蜂群中加入1张经工蜂清理过的含有一半以上雄蜂巢房的空巢脾(用框式隔王板限制蜂王在上面产卵),同时对应的无王群中加入1张清理好的空工蜂巢脾,每隔4 h观察新加入巢脾的巢房中是否有卵。当新加入的巢脾中有卵时(每种卵至少要有50个),用移卵器在解剖镜下把蜂王产的受精卵(QDG)、未受精卵(QHG)和工蜂产的未受精卵(WHG)快速从以上有王群和无王群中分别移到1张经清理的既有工蜂巢房,又有雄蜂巢房的巢脾中(QDG移入工蜂巢房、QHG和WHG移入雄蜂巢房),成排摆列,每排30个,作好标记。然后将移好卵的巢脾放入相应的监督群中央位置,2,5,12和24 h定期检查巢房中实验蜂卵剩余的数量。每群监督蜂群连续试验3次。根据以上结果,计算蜜蜂卵的清除率。

1.3 蜜蜂卵表面超微结构分析

在3月至5月份期间选取群势在4~5脾的几群蜂,用中蜂隔王板将蜂王固定在一块已经工蜂清理的空工蜂巢脾或雄蜂巢脾上产卵,每隔2 h后观察蜂王是否在空工蜂巢脾或雄蜂巢脾上产卵。若蜂王已在空工蜂巢脾或雄蜂巢脾上产卵(0 h),抖落巢脾上的蜜蜂,用不锈钢移卵器分别移取蜂王产的10只受精卵或未受精卵分别放入装有4%戊二醛固定液中。

当取完0 h卵后,马上把产了卵的工蜂巢脾或雄蜂巢脾放入35℃培养箱,5,12和24 h时按以上同样的方法取研究需要蜂王产的受精卵或未受精卵样品。

当取完所需的蜂王产的受精卵和未受精卵样品后,从蜂群中取出2~3脾工蜂组成无王群,每天除去蜂群中出现的急造王台,直至蜂群内开始工蜂产卵。同样按以上方法取研究需要的0,5,12和24 h工蜂产的未受精卵样品。

把以上经4%戊二醛固定液中固定的卵,经磷酸缓冲液冲洗,1%钨酸固定液中固定2 h,经磷酸缓冲液冲洗,逐级丙酮脱水,醋酸戊酯置换,日立IB-3型离子溅射仪喷金,日立S-570扫描电镜观察照相。

1.4 统计分析

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

2 结果与分析

2.1 工蜂监督

中华蜜蜂蜂群工蜂监督研究结果见表1。在移卵后的2 h内工蜂就对移入的卵进行了清理,被清理的工蜂卵数量与蜂王产的卵数量比较差异显著。在2,5,12和24 h工蜂卵被清理的数量都显著比蜂王产的受精卵和未受精卵高($P<0.05$)。在12 h时工蜂卵的清除率达到了85.56%,24 h达到了92.59%。而蜂王产的受精卵和未受精卵在24 h清除率仅为22.96%和24.45%。

表1 三种类型卵清除率比较

Tab.1 Comparison of egg elimination rate of 3 type eggs

卵类型 Egg type	卵清除率 Egg removal rate			
	2 h	5 h	12 h	24 h
QDG	3.70±1.11 ^a	10.00±5.00 ^a	15.56±5.27 ^a	22.96±3.89 ^a
QHG	4.87±2.42 ^a	14.44±2.36 ^a	18.46±2.48 ^a	24.45±4.71 ^a
WHG	35.93±4.94 ^b	74.82±9.87 ^b	85.56±6.67 ^b	92.59±3.64 ^b

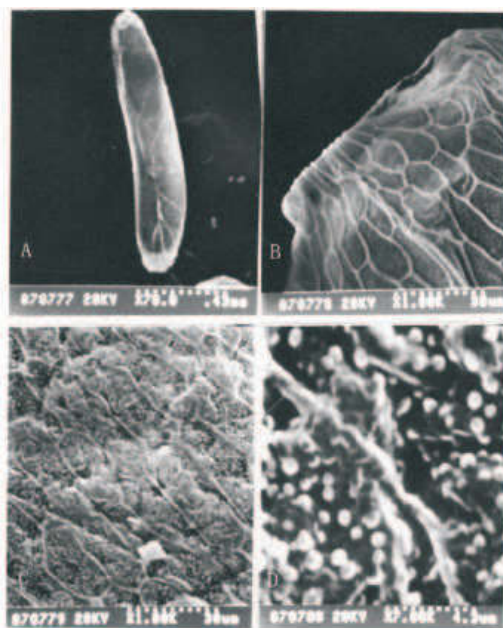
表中同列有相同字母表示差异不显著($P>0.05$),不同字母表示差异显著($P<0.05$)。

The same rowletter indicated no significant differences ($P>0.05$), the different letter indicated significant differences ($P<0.05$).

2.2 蜜蜂卵表面超微结构分析

蜜蜂的卵白色,细长,两端钝圆,前端稍粗。卵体表面一侧略凸起,另一侧略凹进,凸起一侧为胚胎发育的腹侧。产卵时,卵稍细一端的表面附有粘液,粘立于巢房底部,大的一端朝向巢房口。卵较大一端的顶部,有一个微孔,称为卵孔。

卵的超微结构显示蜂王产受精卵(图1-4)、未受精卵(图5-8)和工蜂产的未受精卵(图9-10)的表观结构非常相似,均为圆柱状。卵表面均覆有六边形结构,六边形内布满直径为0.5~1 μm的小突起。蜂王和工蜂产的0,5,12和24 h卵的表面形态并无显著差异。



(A:×70;B:×1 000;C:×1 000;D:×7 000)

图1 蜂王产的0 h受精卵表面超微结构

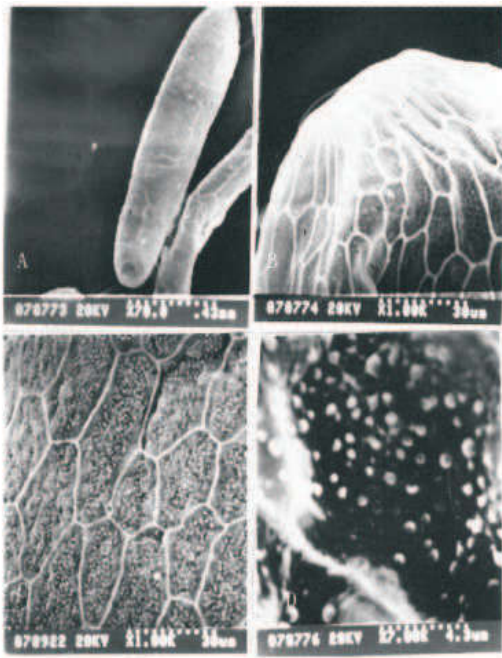
Fig.1 Ultrastructure of 0 h queen-laid diploid egg



(A:×70;B:×1 000;C:×1 000;D:×7 000)

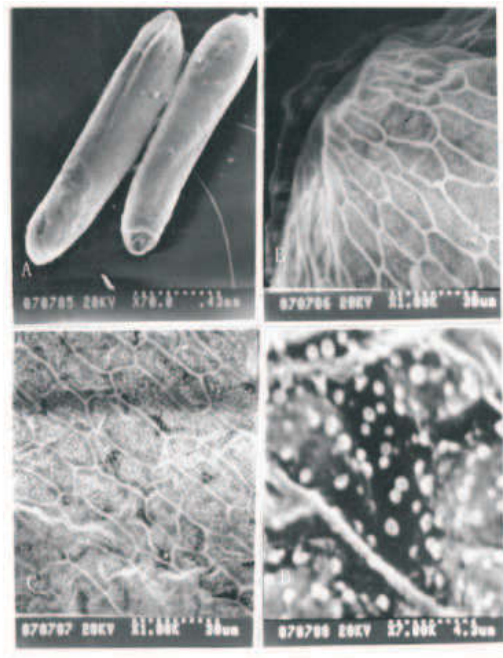
图2 蜂王产的5 h受精卵表面超微结构

Fig.2 Ultrastructure of 5 h queen-laid diploid egg



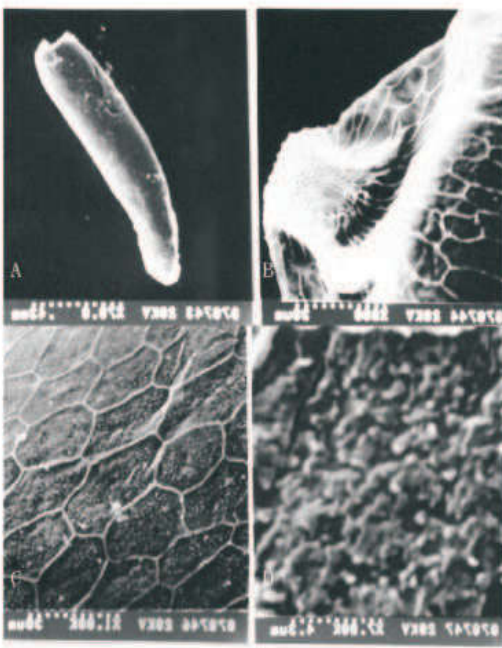
(A:×70;B:×1 000;C:×1 000;D:×7 000)
图 3 蜂王产的 12 h 受精卵表面超微结构

Fig.3 Ultrastructure of queen-laid 12 h diploid egg



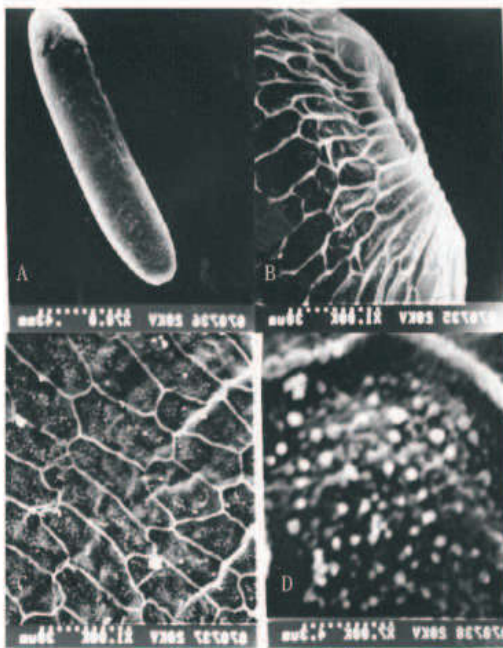
(A:×70;B:×1 000;C:×1 000;D:×7 000)
图 4 蜂王产的 24 h 受精卵表面超微结构

Fig.4 Ultrastructure of queen-laid 24 h diploid egg



(A:×70;B:×1 000;C:×1 000;D:×7 000)
图 5 蜂王产的 0 h 未受精卵表面超微结构

Fig.5 Ultrastructure of 0 h queen-laid haploid egg



(A:×70;B:×1 000;C:×1 000;D:×7 000)
图 6 蜂王产的 5 h 未受精卵表面超微结构

Fig.6 Ultrastructure of 5 h queen-laid haploid egg

3 结论与讨论

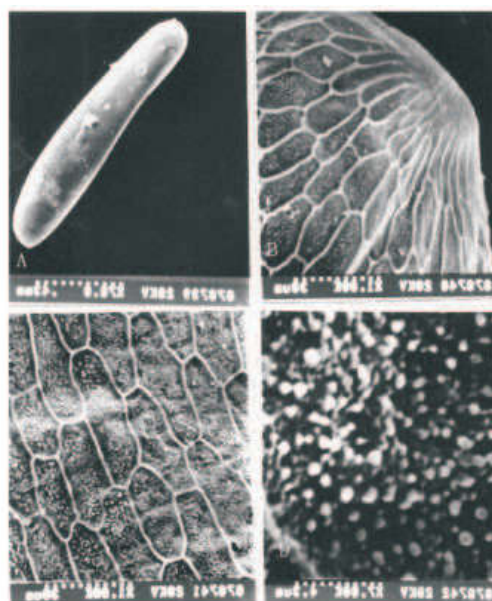
中华蜜蜂有王的自然蜂群中存在着工蜂监督现象,工蜂可以辨认蜂王和工蜂产的卵并对工蜂产的卵进行清除。蜂群中来自无王群中工蜂产的卵大部分在 5 h 内被清除,这与相关研究报道一致^[10]。蜂王产的卵也有部分被清除,这可能是移卵过程中有部分损伤或是工蜂会选择性地清除一些生活力不强的卵。



(A:×70;B:×1 000;C:×1 000;D:×7 000)

图 7 蜂王产的 12 h 未受精卵表面超微结构

Fig.7 Ultrastructure of 12 h queen-laid haploid egg



(A:×70;B:×1 000;C:×1 000;D:×7 000)

图 8 蜂王产的 24 h 未受精卵表面超微结构

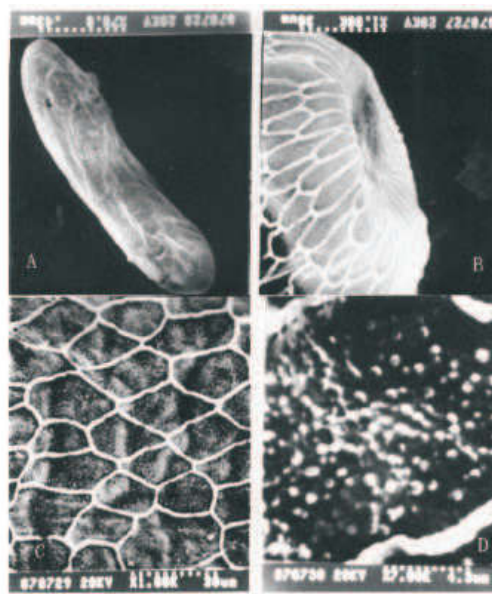
Fig.8 Ultrastructure of 24 h queen-laid haploid egg



(A:×70;B:×1 000;C:×1 000;D:×7 000)

图 9 工蜂产的 0 h 未受精卵表面超微结构

Fig.9 Ultrastructure of 0 h worker-laid haploid egg



(A:×70;B:×1 000;C:×1 000;D:×7 000)

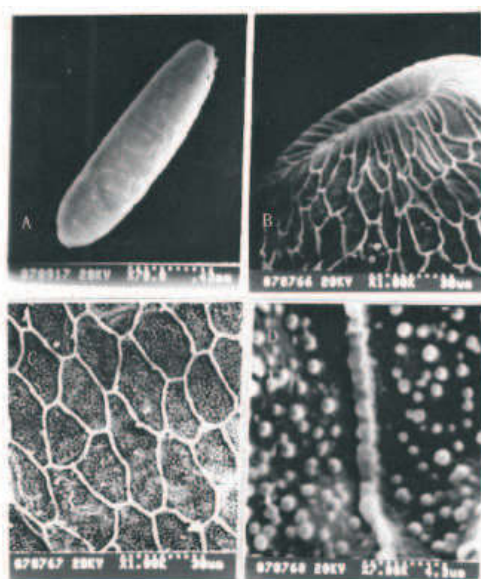
图 10 工蜂产的 5 h 未受精卵表面超微结构

Fig.10 Ultrastructure of 5 h worker-laid haploid egg

前期的研究表明,工蜂产的未受精卵大部分在 4 h 内被清除^[10],因此如果工蜂是依据卵表面的结构差异来识别卵的类型,那么 2 h 和 5 h 这两个时间段卵的结构应该会有明显的差异。本研究发现蜂王产的受精卵、未受精卵和工蜂产的未受精卵的表观结构非常相似,均为圆柱状。卵表面均覆有六边形结构,六边形内布满直径为 0.5~1 μm 的小突起。这与西方蜜蜂卵的表面超微结构相同^[11]。同一时间段 3 种类型的卵及同一类型的卵在不同的时间段均并无明显差异。因此,工蜂不可能利用不同类型卵表面的结构差异进行辨认与清理。

有效的工蜂监督机制就是降低单个工蜂从产卵获得的利益,从而提高蜂群的整体适合度。根据亲属选择理论,工蜂个体应该更愿意培育自己的后代,而不培育蜂王的后代以及半姐妹的后代^[12]。然而工蜂也不愿意其他工蜂繁殖,个体繁殖与群体繁殖也就出现冲突。这种冲突能通过把繁殖雄蜂的专利交给蜂王而得到解决,但是个体繁殖比不育对个体有更好的适应性,这种本性是天生具有的。因此,工蜂监督也

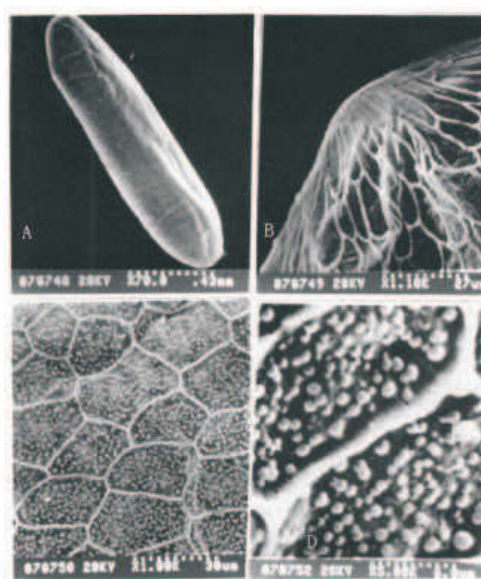
就被认为是阻止工蜂繁殖的一种行为^[13]。蜂王产的卵与工蜂产的卵表面结构无显著差异,提示工蜂不能通过卵表面结构来辨别卵,有可能通过其它方式来区分工蜂卵和蜂王产的卵,以达到监督目的。



(A:×70;B:×1 000;C:×1 000;D:×7 000)

图 11 工蜂产的 12 h 未受精卵表面超微结构

Fig.11 Ultrastructure of 12 h worker-laid haploid egg



(A:×70;B:×1 000;C:×1 000;D:×7 000)

图 12 工蜂产的 24 h 未受精卵表面超微结构

Fig.12 Ultrastructure of 24 h worker-laid haploid egg

参考文献:

[1] Visscher P K.Reproductive conflict in honey bees;a stalemate of worker egg-laying and policing[J].Behav Ecol Sociobiol, 1996,39(4):237-244.

[2] Ratnieks F L W.Reproductive harmony via mutual policing by workers in eusocial Hymenoptera[J].American Naturalist, 1988,132(2):217-236.

[3] Oldroyd B P,Halling L A,Good G,et al.Worker policing and worker reproduction in *Apis cerana* [J].Behav Ecol Sociobiol, 2001,50(4):371-377.

[4] Bednarek A R.Ovary development and egg laying in *Apis cerana indica* workers[J].J Apicult Res,2015,14(3/4):149-152.

[5] Blanford E J.Chinese bees as we find them[J].Bee world,1923,5(7):104-106.

[6] Page R E,Erickson E H.Reproduction by worker honey bees(*Apis mellifera* L.)[J].Behav Ecol Sociobiol,1988,23(2):117-126.

[7] Sakagami S F.The false-queen;fourth adjustive response in dequeened honeybee colonies[J].Behaviour,1958,13(3/4):280-296.

[8] Oldroyd B P,Rantieks F L W.Evolution of worker sterility in honeybee(*Apis mellifera*):how anarchistic worker evade policing by laying eggs that have low remove rates[J].Behav Ecol Sociobiol,2000,47(4):268-273.

[9] 杨冠煌.中华蜜蜂[M].北京:中国农业出版社,2001.
Yang G H.Chinese bee[M].Beijing:China Agriculture Press,2001.

[10] 谢宪兵,薛运波,吴小波,等.中华蜜蜂群内工蜂监督研究[J].江西农业大学学报,2007,29(5):818-820.
Xie X B,Xue Y B,Wu X B,et al.A study on the worker policing in *Apis cerana cerana*[J].Acta Agricultural University Jiangxiensis,2007,29(5):818-820.

[11] Katzav-Gozansky T,Soroker V,Kamer J,et al.Ultrastructural and chemical characterization of egg surface of honeybee worker and queen-laid eggs[J].Chemoecology,2003,13(3):129-134.

[12] 黄智勇.蜜蜂生态学进展[M].北京:中国科学技术出版社,1992.
Huang Z Y.Progress in honeybee biology[M].Beijing:Chinese Science and Technology Press,1992.

[13] 曾志将,颜伟玉,谢宪兵.蜜蜂的辨认与监督研究进展[J].经济动物学报,2006,10(1):53-55.
Zeng Z J,Yan W Y,Xie X B.Advances on the recognizaion and policing of honeybee[J].Journal of Economic Animal, 2006,10(1):53-55.