



陈宝新, 胡彦召, 袁豆豆, 等. 我国3种黑色西方蜜蜂形态鉴定与遗传进化分析[J]. 江西农业大学学报, 2024, 46(6): 1590–1598.

CHEN B X, HU Y Z, YUAN D D, et al. Morphological identification and genetic evolutionary analysis of three black western bee (*Apis mellifera*) species in China[J]. Acta agriculturae universitatis Jiangxiensis, 2024, 46(6): 1590–1598.

我国3种黑色西方蜜蜂形态鉴定 与遗传进化分析

陈宝新¹, 胡彦召¹, 袁豆豆¹, 叶力波利·达吾力¹, 李延璨²

(1. 新疆维吾尔自治区蜂业技术指导站, 新疆 乌鲁木齐 830001; 2. 山东省农业科学院, 山东 济南 250100)

摘要:【目的】我国境内有3个黑蜂群体: 东北黑蜂(*Apis mellifera northeast black bee*), 新疆黑蜂(*Apis mellifera xinjiang black bee*)和西域黑蜂(*Apis mellifera sinixinyuan*)。本研究旨在通过综合形态学和分子生物学方法比较分析这3种西方黑蜂, 以深入了解其进化关系和适应性特征。【方法】以意大利蜜蜂(*Apis mellifera ligustica*)为对照, 比较东北黑蜂, 新疆黑蜂和西域黑蜂3个西方黑蜂工蜂的18个形态特征, 并分析其线粒体基因(*ND2*, *COI*和*COI-COII*基因间序列), 以研究它们的遗传结构和进化关系。【结果】(1)形态分析初步表明: 新疆黑蜂和东北黑蜂在喙长、前翅长、翅钩数、后足股长、跗节宽等多数形态特征上相似($P>0.05$), 且其翅长、背板长大于西域黑蜂($P<0.05$), 这3种黑蜂的喙长长和翅钩数上都与意大利蜜蜂有显著差异($P<0.05$), 这可能反映了地方环境的适应性; (2)遗传分析进一步揭示了3个黑蜂群体的进化模式, 基于*ND2*序列分析表明新疆黑蜂与东北黑蜂之间的系统发育关系最为密切, 与形态学结果一致, 然而对*COI*和*COI-COII*基因间序列分析表明, 除西域黑蜂外, 新疆黑蜂与东北黑蜂与意大利蜂存在不同程度的遗传重叠。在已开展的遗传分析中, 西域黑蜂始终独立聚类, 这表明它可能经历了一个独特的进化过程。【结论】新疆黑蜂和东北黑蜂均归为C谱系; 西域黑蜂属于M谱系, 其可能经历了独特的适应性进化过程, 展示出了遗传背景与形态特征上的独特性。本研究不仅加深了对我国本土蜜蜂物种遗传多样性了解, 也为蜜蜂保护和育种工作提供了重要的科学依据。研究结果凸显了保护本土蜜蜂遗传资源重要性, 也为未来蜜蜂育种策略提供了新启示。

关键词: 黑蜂; 形态特征; 遗传多样性; 进化适应; 种质资源保护

中图分类号: S893.1 文献标志码: A

开放科学(资源服务)标识码(OSID):

文章编号: 1000-2286(2024)06-1590-09



Morphological identification and genetic evolutionary analysis of three black western bee (*Apis mellifera*) species in China

CHEN Baoxin¹, HU Yanzhao¹, YUAN Doudou¹, DAWULI Yeliboli¹, Li Yancan²

(1. Apiculture Technical Guidance Station of Xinjiang Uygur Autonomous Region, Urumqi 830001, China;
2. Shandong Academy of Agricultural Sciences, Jinan 250100, China)

收稿日期: 2024-08-19 修回日期: 2024-09-09

基金项目: 国家蜂产业技术体系项目(CARS-44)

Project supported by the China Agricultural Research System(CARS-44)

作者简介: 陈宝新, 高级农艺师, 主要从事蜜蜂饲养、蜜蜂资源发掘与保护研究, orcid.org/0009-0009-7686-2364, xjcbx2000@163.com。

©《江西农业大学学报》编辑部, 开放获取CC BY-NC-ND协议

Abstract: [Objective] There are three groups of black honeybees, namely the Northeast Black Bee (*Apis mellifera-northeast black bee*), the Xinjiang Black Bee (*Apis mellifera-Xinjiang Black Bee*), and the Black western honeybee (*Apis mellifera sinisxinyuan*) in China. This study aims to conduct a comprehensive comparative analysis of these three black western honeybee species through integrated morphological and molecular biological methods to gain a deeper understanding of their evolutionary relationships and adaptive characteristics. [Method] In this study, 18 morphological traits of the three black honeybee groups were measured and compared, with the Italian bee (*Apis mellifera ligustica*) serving as a control. Concurrently, mitochondrial genes (*ND2*, *COI*, and *COI-COII* intergenic sequences) were analyzed to investigate their genetic structure and evolutionary relationships. [Result] (1) Morphological analysis revealed that the Xinjiang Black Bee and Northeast Black Bee are similar in most morphological traits and generally larger than the Black western honeybee. All three black bee species showed significant differences from the Italian bee in certain key features (such as proboscis length and number of wing hooks), reflecting possible local environmental adaptations. (2) Genetic analysis unveiled a more complex evolutionary pattern. *ND2* sequence-based analysis showed the closest phylogenetic relationship between the Xinjiang Black Bee and Northeast Black Bee, which is consistent with morphological results. However, analyses of the *COI* and *COI-COII* intergenic sequences indicated varying degrees of genetic overlap with the Italian bee, with the Black western honeybee as an exception. The Black western honeybee consistently clustered independently in all genetic analyses, suggesting it may have undergone a unique evolutionary process. [Conclusion] Both Xinjiang black bee and Northeast black bee can be classified within the C lineage; while Western black bees belong to the M lineage, which may have undergone a unique adaptive evolutionary process, thus demonstrating distinct genetic backgrounds and morphological traits. These findings not only deepen our understanding of the genetic diversity of native Chinese honeybee species but also provide important scientific basis for honeybee conservation and breeding efforts. The results highlight the importance of preserving native honeybee genetic resources while offering new insights for future breeding strategies.

Keywords: black western honeybee; morphological characteristics; genetic diversity; evolutionary adaptation; germplasm resource conservation

【研究意义】蜜蜂是一种授粉昆虫,对农业增产和生态保护有重要作用^[1]。西方蜜蜂(*Apis mellifera*)自引入我国以来,现已成为主要饲养蜂种。西方蜜蜂分布广泛,有诸多的地理亚种,形态和生活习性差异很大。在我国境内有3种黑色西方蜜蜂,即东北黑蜂(*Apis mellifera-northeast black bee*),新疆黑蜂(*Apis mellifera-xinjiang black bee*),西域黑蜂(*Apis mellifera sinisxinyuan*),它们各自适应了不同的气候和生态环境,研究它们的形态和遗传特征有助于揭示这些蜜蜂品种在适应环境变化方面的策略和潜力,为保护和利用蜜蜂资源提供科学依据。东北黑蜂是19世纪由俄国远东地区引入我国东北地区,经过长期适应性进化逐渐衍变而来的西蜂的一个亚种。东北黑蜂具有很强的抗病抗逆性,抗寒能力强,能够适应东北恶劣的气候条件。这些黑色西方蜜蜂在生态保护和经济应用上具有重要意义,其适应性特征和种群动态对生物多样性保护和农业生产具有直接影响^[2]。新疆黑蜂,又被称为伊犁黑蜂,是新疆地区特有的、长期环境适应进化形成的、具有欧洲黑蜂和高加索蜂血统的西方蜜蜂品系^[3-4]。具有耐高寒、采集力强、抗逆性强、越冬性能好、繁殖快速、种群庞大等优点,极其适应新疆北部等地气候^[5]。近期在中国西北部的新疆维吾尔自治区新源县,发现了一个新的西方蜜蜂亚种:西域黑蜂。西域黑蜂产卵力强,早春开产温度低,虫龄整齐,育虫节律调节能力强,表现出对温带气候的良好适应性^[6]。【前人研究进展】西方蜜蜂(*Apis mellifera*)是全球最广泛开发的蜜蜂物种之一,分布范围广泛,并经历了多个亚种和几个谱系的分化。迄今为止,最全面的西方蜜蜂分类情况由Ruttner提出^[7],他基于形态特征引入了谱系(分支)的概念,将不同亚种按地理起源进行分类。随着分子遗传技术的进步,Ruttner最初提出的4个谱系得到了验证,即非洲的A谱系、东欧的C谱系、西欧和北欧的M谱系以及西亚的O谱系^[7-11]。

【本研究切入点】关于我国的3种黑色西方蜜蜂已有一些研究进展,主要集中于单一品种的生物学特性和适应性方面^[3-5,12]。然而,仍缺乏3种蜜蜂的形态和遗传特征的系统性研究。【拟解决的关键问题】研究以意大利蜜蜂(*Apis mellifera ligustica*)为对照,对我国境内3种黑色西方蜜蜂(东北黑蜂、新疆黑蜂和西域黑蜂)的形态和遗传特征进行系统分析。通过测定18项形态特征和分析线粒体基因组,综合评估东北黑蜂、新疆黑蜂和西域黑蜂的形态变异和遗传关系。本研究不仅揭示了这些蜜蜂品种之间的差异,还探讨了它们在适应环境过程中发生的形态变化。

1 材料与方法

1.1 试验蜜蜂

东北黑蜂(*Apis mellifera-northeast black bee*)的工蜂取自黑龙江饶河东北黑蜂保护区(46°48'8.500" N, 134°1'36.728" E);新疆黑蜂(*Apis mellifera-xinjiang black bee*)的工蜂取自新疆尼勒克县种蜂繁殖场(43°43'38.788" N, 83°30'20.740" E);西域黑蜂(*Apis mellifera sinixinyuan*)的工蜂取自新疆新源县则克台镇西域黑蜂核心蜂场(43°32'12.444" N, E 83°16'50.592" E);意大利蜜蜂(*Apis mellifera ligustica*)的工蜂取自江西农业大学蜜蜂研究所实验蜂场(28°45'9.490" N, 115°51'9.313" E)每个蜂种取3群,每群取刚羽化工蜂60~70只,放入100%酒精(无水乙醇)中浸泡保存。供测定工蜂形态测定和提取DNA使用。

1.2 主要试验试剂及仪器设备

伊红染色剂;无水乙醇;StarSpin 柱式动物DNA提取试剂盒(D111, GenStar), 2×Taq PCR StarMix with Loading Dye (A012-10, GenStar), 核酸染料(E111-01, GenStar), DL1000 DNA Marker (Takara), DNA凝胶快速纯化试剂盒(EG101-02, TransGen), 琼脂糖(100 g, Biowest Agarose), 50×TAE缓冲液, 异丙醇等。

显微镜;微小物体形态测量与数据分析系统软件;高速组织研磨器(OSE-Y30, 天根生化), 涡旋振荡器(MX-S, SCILOGEX), 迷你离心机(S1010E, SCILOGEX), 微型离心机(LX-300, KYLIN-BELL), 微量紫外分光光度计(NanoDrop One, 赛默飞世尔科技有限公司), 高压灭菌锅(Zealway, G154DWS), 台式冷冻高速离心机(Eppendorf, Centrifuge 5430R), 梯度PCR仪(T100™ Thermal Cycler, BIO-RAD), 数显恒温水浴锅(HHS4, 金坛区水北科普实验仪器厂), 电子分析天平(ME204, Mettler Toledo, 测量精度为0.1 mg), 电泳仪电源(PowerPac™ Basic, BIO-RAD), 水平电泳槽(北京六一生物科技有限公司, DYCP-31DN), 凝胶成像系统(GelDoc Go, BIO-RAD), 蓝光切胶仪(G500312 EQU312, 上海生工), 微波炉, Eppendorf移液器等。

1.3 西方蜜蜂工蜂形态测定

试验蜜蜂每个蜂种每群随机15只工蜂样品,即每个蜂种测定45只工蜂样品形态。工蜂样品的解剖和测定方法参照Ruttner^[7]和金梦杰等^[13]方法,并加以改进,从无水乙醇中取出伸喙完全的工蜂,放在蜡盘上,依次将每只工蜂的喙、头、胸部、前翅、后翅、后足、第2背板、第3背板、第4背板、第5背板、第3腹板和第6腹板解剖下来,放入装有无水乙醇的24孔板中,其中第3腹板和第6腹板的孔中加有伊红染色剂进行染色,再将各个部位放在载玻片上,盖上盖玻片,放在显微镜下,用微小物体形态测量与数据分析系统软件进行图像拍摄及测量。其中,选定喙长(snout length)、前翅长(forewing length)、前翅宽(forewing width)、肘脉指数(cubital index)、后翅勾数(No. of hindwing hook)、后足胫节长(length of hind leg tibia)、后足股节长(length of hind leg femur)、后足跗节长(length of hind leg metatarsusL)、后足基跗节宽(width of hind leg metatarsus)、第3背板长(length of third tergite)、第4背板长(length of 4th tergite)、第5背板绒毛长(length of 5th tergite hair)、第3腹板长(Length of 3rd sternite)、第3腹板蜡镜长(Length of 3rd sternite wax mirror)、第3腹板蜡镜宽(Width of 3rd sternite wax mirror)、第3腹板蜡镜间距(Distance of 3rd sternite wax mirror)、第6腹板长(length of 6th sternite)、第6腹板宽(width of 6th sternite)等18项形态特征指标。

1.4 DNA提取

参考李震等^[14]试验方法,分别从4个试验蜂种随机取5只工蜂放入液氮,取出后用镊子剖取工蜂胸部,并放入1.5 mL灭菌离心管中。随后,在液氮中用高速组织研磨器将工蜂胸部研磨成粉末,接着按照StarSpin 柱式动物DNA提取试剂盒的说明和步骤提取总DNA。

1.5 引物选择和PCR扩增

利用特定引物对所有样品线粒体 DNA 上的 *ND2* 基因、*COI* 基因、*COI-COII* 基因间区序列等进行扩增,引物信息见表 1。PCR 反应体系为 20 μL , DNA templates 1 μL , $2\times\text{Taq}$ PCR StarMix 10 μL , Forward primer 1 μL , Reverse primer 1 μL , ddH_2O 7 μL 。引物 ILE 和 LI 使用 PCR 扩增程序①:94 $^{\circ}\text{C}$ 预变性 3 min; 94 $^{\circ}\text{C}$ 变性 1 min, 50 $^{\circ}\text{C}$ 退火 2 min, 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 3 min, 共进行 35 个循环;72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 10 min, 终止反应^[15]。其余 3 对引物使用 PCR 扩增程序②:94 $^{\circ}\text{C}$ 预变性 3 min; 94 $^{\circ}\text{C}$ 变性 30 s, 55 $^{\circ}\text{C}$ 退火 30 s, 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 45 s, 共进行 34 个循环;72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 10 min, 终止反应。

表 1 mtDNA 引物序列
Tab.1 mtDNA Sequences

引物名称 Name of primers	序列 Sequences	参考文献 Reference
<i>ILE</i>	5'-TGA TAA AAG AAA TAT TTT GA-3'	Arias 等 ^[16]
<i>LI</i>	5'-GAA TCT AAT TAA TAA AAA A-3'	
<i>CO-I F</i>	5'-TTA AGA TCC CCA GGA TCA TG-3'	
<i>CO-I R</i>	5'-TGC AAA TAC TGC ACC TAT TG-3'	Kandemir 等 ^[17]
<i>E2</i>	5'-GGC AGA ATA AGT GCA TTG-3'	Garnery 等 ^[18]
<i>H2</i>	5'-CAA TAT CAT TGA TGA CC-3'	
<i>COI-CO II F</i>	5'-TCT ATA CCA CGA CGT TAT TC-3'	Kandemir 等 ^[17]
<i>COI-CO II R</i>	5'-GAT CAA TAT CAT TGA TGA CC-3'	

引物 ILE 和 LI 对 mtDNA ND2 序列进行扩增^[16];引物 CO-I F 和 CO-I R 对 CO I 基因进行扩增^[17];引物 E2 和 H2^[18]通过 PCR 增 COI-COII 基因间区及部分 CO II 基因;引物 CO I -CO II F 和 CO I -CO II R 对 CO I -CO II 基因间区的完整序列进行扩增,同时扩增部分 CO I 和 CO II 基因。

Primers ILE and LI were used to amplify mtDNA ND2 sequences^[16];Primers CO - I F and CO - I R were used to amplify the CO I gene^[17];Primers E2 and H2^[18] were used to amplify the COI-COII intergenic region and some COII genes by PCR;Primers CO I - CO II F and CO I - CO II R were used to amplify the complete sequence of the CO I - CO II intergenic region, while partially amplifying the CO I and CO II genes.

1.6 DNA 样品纯化及测序

上述 4 对引物的 PCR 产物经 1% 琼脂糖凝胶电泳检测(1 g 琼脂糖、100 mL 1 $\times$ TAE 缓冲液、10 μL 核酸染料),确认目的条带扩增成功后经 2% 琼脂糖凝胶电泳(2 g 琼脂糖、100 mL 1 $\times$ TAE 缓冲液、10 μL 核酸染料)后,按照 DNA 凝胶快速纯化试剂盒的说明和步骤进行回收纯化,将纯化后的 DNA 送到擎科生物进行双向测序并拼接。

1.7 系统发育进化树构建

所有测序样本拼接后,先通过 BioEdit 软件对部分序列进行反向互补,再由 MEGA11 软件进行 ClustalW 比对,然后用 Neighbor-Joining 方法构建系统发育树^[19]。使用 Maximum Composite Likelihood 法计算遗传距离,并以每个位点的碱基替换数为单位。

1.8 数据统计分析

试验形态数据采用 SPSS 25.0 软件检验正态分布,并采用 Statview 软件中的“ANOVA”进行统计分析,表格数据采用平均数 $\pm$ 标准误(mean $\pm$ SE)表示。

2 结果与分析

2.1 我国 3 种黑色西方蜜蜂形态测定结果

本研究对我国 3 种黑色西方蜜蜂(东北黑蜂、新疆黑蜂和西域黑蜂)的 18 项形态特征进行了测定和比较,并以意大利蜜蜂作为对照。结果如表 2 所示:新疆黑蜂和东北黑蜂的喙长显著长于西域黑蜂($P<0.05$),但均短于意大利蜜蜂($P<0.05$)。新疆黑蜂,东北黑蜂和意大利蜜蜂前翅长度差异不明显($P>0.05$),均显著长于西域黑蜂($P<0.05$)。新疆黑蜂的前翅宽度显著高于西域黑蜂($P<0.05$),介于意大利蜜蜂、东北黑蜂二者之间。新疆黑蜂、西域黑蜂、东北黑蜂和意大利蜜蜂 4 种西方蜜蜂的肘脉指数差异不显

著($P>0.05$)。新疆黑蜂和东北黑蜂的翅钩数均显著多于西域黑蜂和意大利蜜蜂($P<0.05$)。新疆黑蜂和东北黑蜂的后足股长显著大于西域黑蜂和意大利蜜蜂($P<0.05$)。后足胫节长和跗节长,4种西方蜜蜂间均有显著差异($P<0.05$)。跗节宽方面,新疆黑蜂和东北黑蜂显著宽于西域黑蜂($P<0.05$)。第3背板长方面,新疆黑蜂和意大利蜜蜂显著短于西域黑蜂($P<0.05$),且三者均显著长于东北黑蜂($P<0.05$)。东北黑蜂的第4背板长显著小于其他3种($P<0.05$),西域黑蜂拥有明显的第5背板覆毛($P<0.05$)。新疆黑蜂的第3腹板长显著短于西域黑蜂和意大利蜜蜂($P<0.05$),东北黑蜂介于二者之间($P<0.05$)。西域黑蜂的蜡镜长度和宽度均显著大于新疆黑蜂和东北黑蜂($P<0.05$),略长于意大利蜜蜂($P>0.05$),而蜡镜间的距差异不显著。4种蜜蜂的第6腹板长度差异不显著($P>0.05$),但新疆黑蜂的第6腹板宽度最大,西域黑蜂和东北黑蜂次之均显著高于意大利蜜蜂($P<0.05$)。

表 2 我国 3 种黑色西方蜜蜂工蜂形态特征

Tab.2 Morphological characteristics of worker bees three black western honeybee species in China

形态指标 Morphological index	新疆黑蜂 <i>Apis mellifera-xinjiang black bee</i>	西域黑蜂 <i>Apis mellifera-sinixinyuan</i>	东北黑蜂 <i>Apis mellifera-northeast black bee</i>	意大利蜜蜂 <i>Apis mellifera-ligustica</i>
喙长/mm Snout length	5.733±0.136 ^a	4.756±0.117 ^b	5.541±0.179 ^a	6.275±0.052 ^c
前翅长/mm Forewing length	9.713±0.079 ^a	9.306±0.036 ^b	9.727±0.050 ^a	9.765±0.075 ^a
前翅宽/mm Forewing width	3.252±0.039 ^a	3.156±0.021 ^b	3.194±0.025 ^{ab}	3.124±0.015 ^b
肘脉指数 Cubital index	2.507±0.126 ^a	2.362±0.094 ^a	2.375±0.050 ^a	2.460±0.042 ^a
后翅钩数 No.of hindwing hook	22.267±0.330 ^a	20.533±0.336 ^b	22.000±0.378 ^a	20.333±0.398 ^b
后足股长/mm Length of hind leg femur	2.715±0.020 ^a	2.513±0.009 ^b	2.671±0.037 ^a	2.567±0.032 ^b
后足胫节长/mm Length of hind leg tibia	3.181±0.027 ^a	3.061±0.021 ^{bc}	3.108±0.023 ^{ac}	3.013±0.034 ^b
后足跗节长/mm Length of hind leg metatarsus	2.333±0.016 ^a	2.133±0.022 ^b	2.225±0.032 ^c	2.292±0.022 ^a
后足跗节宽/mm Width of hind leg metatarsus	1.167±0.012 ^a	1.094±0.023 ^b	1.159±0.016 ^a	1.166±0.013 ^a
第3背板长/mm Length of third tergite	2.258±0.011 ^a	2.418±0.004 ^b	2.195±0.017 ^c	2.283±0.013 ^a
第4背板长/mm Length of 4th tergite	2.196±0.008 ^a	2.208±0.011 ^a	2.129±0.015 ^b	2.200±0.024 ^a
第5背板覆毛长/mm Length of 5th tergite	0.271±0.005 ^a	0.369±0.011 ^b	0.291±0.009 ^a	0.270±0.009 ^a
第3腹板长/mm Length of third sternite	2.555±0.018 ^a	2.945±0.009 ^b	2.772±0.012 ^c	2.939±0.023 ^{bd}
第3腹板蜡镜长/mm Length of third sternite wax mirror	1.430±0.015 ^a	1.499±0.011 ^b	1.462±0.013 ^{ac}	1.476±0.011 ^{bc}
第3腹板蜡镜宽/mm Width of third sternite wax mirror	2.271±0.017 ^a	2.403±0.019 ^b	2.327±0.020 ^a	2.392±0.028 ^b
第3腹板蜡镜间距/mm Distance of third sternite wax mirror	0.245±0.013 ^a	0.239±0.005 ^a	0.255±0.006 ^a	0.253±0.008 ^a
第6腹板长/mm Length of 6th sternite	2.601±0.013 ^a	2.655±0.024 ^a	2.634±0.026 ^a	2.640±0.026 ^a
第6腹板宽/mm Width of 6th sternite	3.297±0.042 ^a	3.204±0.040 ^{ab}	3.123±0.026 ^{bc}	3.089±0.030 ^c

同行小写字母相同表示差异不显著($P>0.05$),不同小写字母表示差异显著($P<0.05$)。
The same lowercase letter in the same line indicated no significant difference ($P>0.05$), different lowercase indicated no significant difference ($P<0.05$).

2.2 我国 3 种黑色西方蜜蜂遗传进化分析结果

为综合反映我国 3 种黑蜂与意大利蜜蜂种群的遗传关系和进化过程,选择 *ND2*、*COI* 和 *COI-COII* 基因作为研究目标,*COI* 基因作为 DNA 条形码(DNA barcoding)常被用于物种鉴定,其变异率适中,适合揭示种群间的遗传差异。*ND2* 基因则参与线粒体呼吸链复合体的功能,是研究蜜蜂线粒体进化的关键基

因。*COI-COII* 基因间序列拥有较高的遗传变异性,也常用于蜜蜂种群的谱系分析。它们在蜜蜂种群遗传学研究中的广泛应用,能够较好地地区分不同蜂种群的遗传结构和进化关系。当使用 *ND2* 序列进行分类时(图 1),每个西方蜂种的 5 个测序工蜂样品都能聚类在一起,新疆黑蜂与东北黑蜂亲缘关系最近,与西域黑蜂和意大利蜜蜂亲缘关系较远。同样观察了 *COI* 基因序列(图 2)以及不同引物的 *COI-COII* 间序列(图 3 和图 4)的遗传分歧状态发现:只有西域黑蜂始终 5 个体聚类在一起,其余 3 个群体在一定程度上表现出与意大利蜜蜂个体有交集的现象。比如,基于线粒体基因 *COI* 序列的系统发育树将东北黑蜂与意大利蜜蜂的部分个体聚为一组,2 个基于线粒体基因 *COI-COII* 间序列的系统发育树显示了新疆黑蜂和意大利蜜蜂的混合趋势。

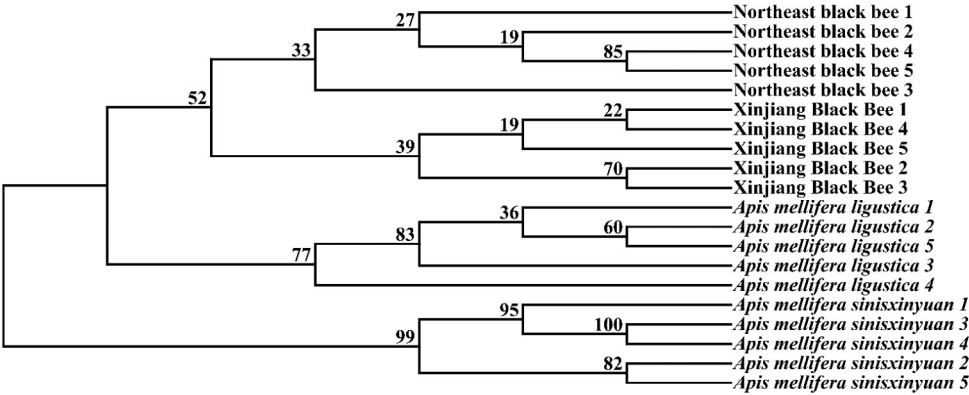


图 1 我国 3 种黑色西方蜜蜂基于线粒体基因 *ND2*(引物 *ILE-LI*)的系统发育树

Fig.1 Phylogenetic tree of three black western honeybee species in China based on mitochondrial gene *ND2* sequences(primer *ILE-LI*)

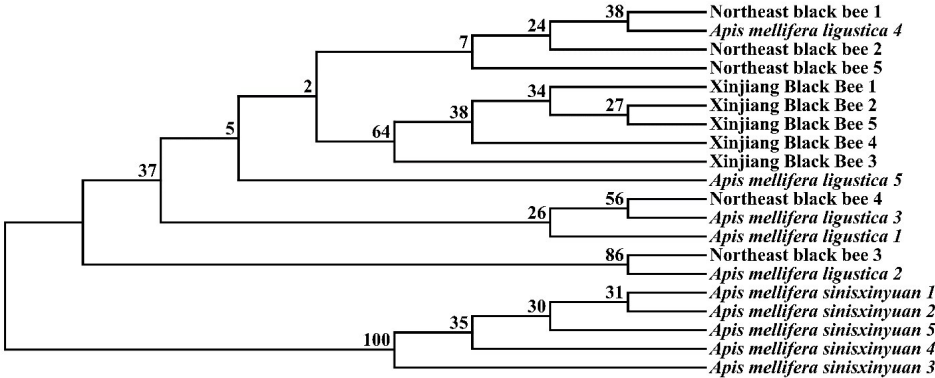


图 2 我国 3 种黑色西方蜜蜂基于线粒体基因 *COI* 序列(引物 *COI*)系统发育树

Fig.2 Phylogenetic tree of three black western honeybee species in China based on mitochondrial gene *COI* sequences(primer *COI*)



图 3 我国 3 种黑色西方蜜蜂基于线粒体基因 *COI-COII* 间序列(引物 *E2-H2*)的系统发育树

Fig.3 Phylogenetic tree of three black western honeybee species in China based on mitochondrial gene *COI-COII* sequences(primer *E2-H2*)

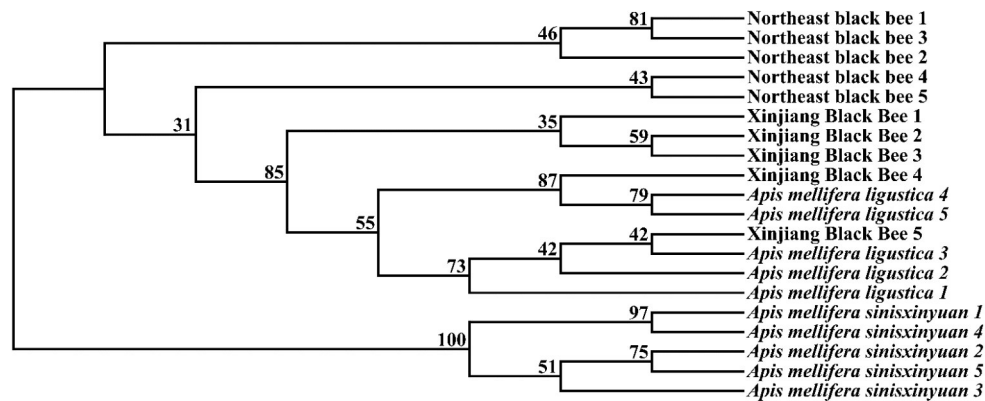


图4 我国3种黑色西方蜜蜂基于线粒体基因 *COI-COII* 间序列(引物 *COI-COII*)的系统发育树

Fig.4 Phylogenetic tree of three black western honeybee species in China based on mitochondrial gene *COI-COII* sequences(primer *COI-COII*)

3 讨论与结论

生物对不同气候因子适应性变异是进化生物学一个重要研究方向。气候因素能够影响生物群体的表型和基因型变异,这种现象已在多种生物中得到证实^[20-21]。蜜蜂是一种具有重要经济价值的昆虫,在蜂蜜生产和农业授粉中发挥着重要作用^[22]。西方蜜蜂是蜜蜂中分布最广泛物种,广泛分布于非洲、亚洲西部和欧洲,包含至少24个亚种,是研究气候驱动的适应性进化的理想模型生物。本研究对我国3种黑色西方蜜蜂(东北黑蜂、新疆黑蜂和西域黑蜂)的18项形态特征进行了测定和比较,并以意大利蜜蜂作为对照。结果显示,这些蜜蜂品种在多个形态特征上存在显著差异。在体型相关的特征中,新疆黑蜂和东北黑蜂表现相似,且整体上大于西域黑蜂。前翅长和前翅宽的差异显示了这些品种在体型和飞行能力上的不同,新疆黑蜂和东北黑蜂在这些方面显著大于西域黑蜂,后足特征(如股长、胫节长和跗节宽)亦如此,这些特征的差异可能与它们在寒冷气候下的适应性有关^[4-5]。作为一种相对温顺和高产的膜翅目物种,西方蜜蜂主要用于收获蜂巢产品和进行作物授粉^[23-24]。在与蜜蜂生理功能密切相关的特征上,3种黑蜂的差异同样明显。新疆黑蜂和东北黑蜂的喙长显著长于西域黑蜂,但均短于意大利蜜蜂,这一特征可能影响它们的蜜源采集能力。此外,新疆黑蜂和东北黑蜂的后翅翅钩数显著多于西域黑蜂,这可能与它们在蜂巢内外的飞行稳定性有关。西域黑蜂在第5背板覆毛长和第3腹板长上的表现尤为突出,这些特异性特征可能是其在特定生态环境下进化形成的结果。基于这些形态特征的比较,新疆黑蜂和东北黑蜂在多数形态特征上较为相似,暗示它们可能有较近的遗传关系或经历了相似的环境适应过程。西域黑蜂在多项指标上与其他两种黑蜂存在显著差异,表明它可能经历了独特的进化历程或适应了特定的生态环境。3种黑蜂在某些特征上(如喙长)均显著区别于意大利蜜蜂,反映了它们可能共同经历了适应本地环境的进化过程。这些形态测定结果为进一步的遗传进化分析提供了重要的形态学依据,并为蜜蜂品种的鉴定和保护提供了科学数据支持。

遗传进化分析进一步揭示了这些形态学特征背后的遗传关系,同时也揭示了一些有趣的遗传复杂性。基于 *ND2* 序列的系统发育树分析显示,新疆黑蜂与东北黑蜂的亲缘关系最近,这与它们在多数形态特征上的相似性相一致,2个品种可能在进化过程中经历了相似的选择压力。然而基于 *COI* 和 *COI-COII* 间序列的分析结果揭示了一个更为复杂的遗传格局。这些分析显示,除西域黑蜂外,其他3个群体(新疆黑蜂、东北黑蜂和意大利蜜蜂)在不同程度上表现出遗传交叉的现象。这一发现暗示了这些蜜蜂品种之间可能存在基因流动或历史上的杂交事件。特别是,东北黑蜂与意大利蜜蜂在 *COI* 序列上表现出部分聚类,而新疆黑蜂与意大利蜜蜂在 *COI-COII* 间序列分析中显示出混合趋势,这些现象可能反映了人为引入或自然迁徙导致的基因交流。过往研究^[6-7,25]认为,东北黑蜂(*Apis mellifera*-Northeast black bee)属于单独谱系,但和C谱系的关系较近,意大利蜜蜂(*Apis mellifera ligustica*)属于C谱系,西域黑蜂(*Apis mel-*

lifera sinisxinyuan)属于M谱系。本研究根据4种线粒体序列的聚类结果发现,新疆黑蜂(*Apis mellifera-Xinjiang Black Bee*)和东北黑蜂均和意大利蜜蜂(C谱系)亲缘关系较接近,故笔者认为若根据Ruttner提出的分类法,可将新疆黑蜂和东北黑蜂均归为C谱系。西域黑蜂在所有遗传分析中始终表现出独立的聚类,这与其在形态特征上的独特性相呼应。这一结果强烈暗示西域黑蜂可能长期处于相对隔离的环境中,经历了独特的适应性进化过程。这种遗传和形态上的独特性使西域黑蜂成为重要的遗传资源,值得特别关注和保护。

综合以上结果,本研究不仅揭示了我国3种黑色西方蜜蜂的形态和遗传特征,还为理解这些蜜蜂在不同环境中的适应性差异提供了新的视角。未来的研究可以深入探讨这些蜜蜂在生态位中的适应机制,以及在全球环境变化下的生存策略和适应能力。此外,这项研究结果也为蜜蜂育种工作提供了新思路。新疆黑蜂和东北黑蜂在形态和部分遗传特征上相似性,以及它们与意大利蜜蜂的某些遗传联系,可能为培育结合多种优良特性的新品种提供了可能性。然而,在进行任何育种尝试时,必须谨慎考虑保持本土品种的遗传完整性,特别是像西域黑蜂这样表现出明显遗传独特性的西方亚种。这些发现对于蜜蜂品种的鉴定和保护具有重要意义,也为蜜蜂育种和生物多样性保护提供了科学依据。

参考文献 References:

- [1] 曾志将.养蜂学[M].4版.北京:中国农业出版社,2023.
ZENG Z J. Apiculture[M]. 4th ed. Beijing: China Agricultural Press, 2023.
- [2] 国家畜禽遗传资源委员会.中国畜禽遗传资源志:蜜蜂志[M].中国农业出版社,2011.
National Commission on Livestock and Poultry Genetic Resources. Animal genetic resources in China bees[M]. Beijing: China Agriculture Press, 2011.
- [3] 陈宝新.由“黑蜂蜂蜜”看优质蜂产品的市场前景[J].中国蜂业,2010,61(6):48.
CHEN B X. From the "black bee honey" to see the market prospects of high-quality bee products[J]. Apiculture of China, 2010, 61(6): 48.
- [4] 师丰丰.伊犁尼勒克新疆黑蜂蜂蜜品质特性研究[D].北京:中国农业科学院,2022.
SHI F F. Study on the quality characteristics of honey from Xinjiang black bees in Yili Nilek[D]. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2022.
- [5] 寇海峰.伊犁黑蜂早期在尼勒克县饲养[J].中国蜂业,2015,66(2):31.
KOU H F. Early rearing of Ili black bees in Nilek County[J]. Apiculture of China, 2015, 66(2): 31.
- [6] CHEN C, LIU Z, PAN Q, et al. Genomic analyses reveal demographic history and temperate adaptation of the newly discovered honey bee subspecies *Apis mellifera sinisxinyuan* n. ssp[J]. Molecular biology and evolution, 2016, 33(5): 1337-1348.
- [7] RUTTNER F. Biogeography and taxonomy of honeybees[M]. Berlin: Springer Science & Business Media, 2013.
- [8] GARNERY L, CORNUET J M, SOLIGNAC M. Evolutionary history of the honey bee *Apis mellifera* inferred from mitochondrial DNA analysis[J]. Molecular ecology, 1992, 1(3): 145-154.
- [9] FRANCK P, GARNERY L, SOLIGNAC M, et al. Molecular confirmation of a fourth lineage in honeybees from the Near East [J]. Apidologie, 2000, 31(2): 167-180.
- [10] WHITFIELD C W, BEHURA S K, BERLOCHER S H, et al. Thrice out of Africa: ancient and recent expansions of the honey bee, *Apis mellifera* [J]. Science, 2006, 314(5799): 642-645.
- [11] WALLBERG A, HAN F, WELLHAGEN G, et al. A worldwide survey of genome sequence variation provides insight into the evolutionary history of the honeybee *Apis mellifera* [J]. Nature genetics, 2014, 46(10): 1081-1088.
- [12] 庞倩.东北黑蜂系统起源及对低温环境的适应性机制研究[D].扬州:扬州大学,2018.
PANG Q. The origin of Northeast Black bee and its adaptive mechanism to low temperature environment [D]. Yangzhou: Yangzhou University, 2018.
- [13] 金梦杰,李震,刘建辉,等.西方蜜蜂羽化出房蜂王与工蜂形态及生理生化指标比较[J].江西农业大学学报,2023,45(5):1220-1229.
JIN M J, LI Z, LIU J H, et al. Comparative of morphology and physiological biochemical indexes between newly emerged

- queen and worker of *Apis mellifera*[J].Acta agriculturae universitatis Jiangxiensis,2023,45(5):1220-1229.
- [14] 李震,易瑶,何旭江,等.全基因组DNA甲基化揭示西方蜜蜂表观遗传印迹[J].江西农业大学学报,2022,44(4):968-975.
- LI Z, YI Y, HE X J, et al.Genome-wide DNA methylation revealing epigenetic inheritance marks in honeybee (*Apis mellifera*)[J].Acta agriculturae universitatis Jiangxiensis,2022,44(4):968-975.
- [15] 李泽霖,徐子航,徐露卉,等.聚乙烯高效降解复合菌系的构建及其降解特性研究[J].江西农业大学学报,2024,46(2):481-489.
- LI Z L, XU Z H, XU L H, et al.Construction and degradation characteristics of high-efficiency polyethylene degrading composite microbial community[J].Acta agriculturae universitatis Jiangxiensis,2024,46(2):481-489.
- [16] ARIAS M C, SHEPPARD W S.Molecular phylogenetics of honey bee subspecies (*Apis mellifera* L.) inferred from mitochondrial DNA sequence[J].Molecular phylogenetics and evolution,1996,5(3):557-566.
- [17] KANDEMIR I, KENCE M, SHEPPARD W S, et al.Mitochondrial DNA variation in honey bee (*Apis mellifera* L.) populations from Turkey[J].Journal of apicultural research,2006,45(1):33-38.
- [18] GARNERY L, SOLIGNAC M, CELEBRANO G, et al.A simple test using restricted PCR-amplified mitochondrial DNA to study the genetic structure of *Apis mellifera* L.[J].Experientia,1993,49:1016-1021.
- [19] CORNUET J M, GARNERY L, SOLIGNAC M.Putative origin and function of the intergenic region between COI and COII of *Apis mellifera* L. mitochondrial DNA[J].Genetics,1991,128(2):393-403.
- [20] GONZÁLEZ J, KARASOV T L, MESSER P W, et al.Genome-wide patterns of adaptation to temperate environments associated with transposable elements in *Drosophila*[J].PLoS genetics 2010,6(4):e1000905.
- [21] HANCOCK A M, WITONSKY D B, ALKORTA-ARANBURU G, et al.Adaptations to climate-mediated selective pressures in humans[J].PLoS genetics,2011,7(4):e1001375.
- [22] HUNG K L J, KINGSTON J M, ALBRECHT M, et al.The worldwide importance of honey bees as pollinators in natural habitats[J].Proceedings of the royal society B:biological sciences,2018,285(1870):20172140.
- [23] MORITZ R F A, HÄRTEL S, NEUMANN P.Global invasions of the western honeybee (*Apis mellifera*) and the consequences for biodiversity[J].Ecoscience,2005,12(3):289-301.
- [24] CAO L, ZHAO X, CHEN Y, et al.Chromosome-scale genome assembly of the high royal jelly-producing honeybees[J].Scientific data,2021,8(1):302.
- [25] LIN Z, ZHU Z, ZHUANG M, et al.Effects of local domestication warrant attention in honey bee population genetics[J].Science advances,2023,9(18):eade7917.