

蜜蜂属的分类方法研究进展*

彭青春, 童金凤, 马振刚, 许金山

(重庆师范大学 重庆市媒介昆虫重点实验室 重庆市动物生物学重点实验室, 重庆 401331)

摘要:【目的】梳理应用较为广泛的蜜蜂分类方法,为今后蜜蜂属(*Apis*)的分类学研究工作提供参考。【方法】在 Pubmed 和 CNKI 中检索注蜜蜂分类方法相关文献,对检索到的文献进行归纳与总结,获得蜜蜂属主要的分类学方法及分类法研究进展。【结果】蜜蜂属的分类方法主要包括蜜蜂形态测定分类法、同工酶多态性分析法、分子遗传标记法和蜜蜂数量分类法。蜜蜂形态学分类法仍然是蜜蜂分类研究最基础的方法,新发展的分类方法能够对形态学分析进行补充,从而得到更准确的分类结果。但逐渐流行的分子鉴定分类法仍存在一定不足,如:RFLP 法难以获得显示基因组 DNA 多态性的探针;多拷贝的微卫星 DNA 不能跟踪分离群体中个体基因组的同源区域;显性的 RAPD 标记不能区分动物的纯合体与杂合体等。【结论】蜜蜂属分类研究方法随着分子生物学技术的发展而逐渐丰富。通过建立多方法组合、筛选单独或多种分子标记技术、构建自动化分子标记法等增加分类准确性和简化实验操作,将是今后蜜蜂属分类工作的研究重点。

关键词:蜜蜂属;分类;形态学方法;分子鉴定分类法

中图分类号:Q969.557.7;S891⁺.7

文献标志码:A

文章编号:1672-6693(2018)03-0052-06

蜜蜂属(*Apis*)为膜翅目(Hymenoptera)细腰亚目(Apocrita)蜜蜂科(Apidae)昆虫,主要特征包括:体被密毛、臀脉和后翅轭脉间具有凹浅、腹末有螫针、工蜂后足携有花粉篮、群居性生活、泌蜡筑造六角形巢房并垂直于地平面的巢脾以及贮蜜等^[1-2]。蜜蜂是重要的经济类昆虫,早在 1758 年林奈所著的《自然系统》定义了蜜蜂属并把西方蜜蜂(*Apis mellifera* Linnaeus)作为模式种。随着科学技术的发展,国内外对蜜蜂的研究已从简单的形态观察深入到细胞学、遗传学及分子生物学等方面的研究,学者们也对蜜蜂属的分类从各方面进行了深入探讨。本文对目前应用较为广泛的蜜蜂分类方法进行了总结,为今后的蜜蜂属的分类学研究工作提供参考。

1 形态测定法

蜜蜂的形态测定是蜜蜂分类最常用的一种方法,国内外很多学者都采用蜜蜂的形态指标对蜜蜂进行分类。例如,在确定黑小蜜蜂(*Apis andreniformis* Smith)、小蜜蜂(*Apis florea* Fabricius)、黑大蜜蜂(*Apis laboriosa* Smith)、沙巴蜂(*Apis koschevnikovi* Buttel-Reepen)和绿努蜂(*Apis nulunsis* Tingek. Koeniger and Koeniger)的分类地位时均采用了这一方法^[3-6]。值得一提的是,Damus 等人^[7]为了确定苏拉威西蜂(*Apis nigrocincta* Smith)是一个独立的种,也运用了形态测定法。该方法首先对蜜蜂的形态特征进行测定,测定的标准主要参考 Ruttner 等人^[8]提出测定蜜蜂的 38 个形态指标。形态测定法的第 1 步是采集样品,将采集到的蜜蜂放入溶质体积分数为 75%的乙醇溶液中杀死并浸泡保存;第 2 步是制作蜜蜂翅膀、腿、背板和腹板的标本;第 3 步是镜测,主要包括:测量第 4 背板绒毛带、第 6 背板覆毛的长度,胸部小盾片、头部喙及背板的颜色以及后翅的翅钩数;第 4 步是将做好的标本在一体化数码显微镜下拍摄后足、前翅、第 3 和第 6 腹板、第 3 和第 4 背板、肘脉等的图像并存储。随后,对测定所得数据用 SPSS 软件进行区变分析、聚类分析和因素分析^[9]。最后将结果与周边地区和国家的相关数据进行分析比较,以确定所测定地区蜜蜂的分类地位。目前,常用的蜜蜂形态学分类的具体指标见表 1,其中的主要指标测定内容如图 1 所示。

* 收稿日期:2017-06-28 修回日期:2018-04-04 网络出版时间:2018-05-22 10:02

资助项目:重庆市教育委员会科学技术研究项目(No. KJ1500325)

第一作者简介:彭青春,男,研究方向为昆虫病原微生物学,E-mail:921835160@qq.com;通信作者:马振刚,男,副教授,博士,E-mail:mzgc-qnu@126.com

网络出版地址: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1165.N.20180522.1001.024.html>

表 1 蜜蜂形态测定分类方法的常用指标汇总

Tab. 1 Summary of commonly used indexes for classification and determination of bee morphology

部位	测量指标	英文缩写	部位	测量指标	英文缩写	部位	测量指标	英文缩写
绒毛	第 5 背板上的覆毛长度	HAIR1	蜡镜	第 3 腹板上的蜡镜长	LWM	翅	翅脉角 A4	A4
	第 4 背板上的绒毛长度 1	TOM 2		第 3 腹板上的蜡镜宽	WWM		翅脉角 B4	B4
	第 4 背板上的绒毛长度 2	TOM 1		第 3 腹板上的一对蜡镜间距	DWM		翅脉角 D7	D7
后足	股长	FEM	腹板	第 6 腹板长	LST6		翅脉角 E9	E9
	胫节长	TIB		第 6 腹板宽	WST6		翅脉角 G18	G18
	跗节长	LTAR		小盾片颜色 1	SCUT1		翅脉角 J10	J10
	跗节宽	WTAR	盾片颜色	小盾片颜色 2	SCUT2		翅脉角 J16	J16
背板颜色	第 2 背板颜色	PT2		第 3 腹板上的蜡镜长	LWM		翅脉角 K19	K19
	第 3 背板颜色	PT3	肘脉	肘脉 a	CUB1		翅脉角 L13	L13
	第 4 背板颜色	PT4		肘脉 b	CUB2		翅脉角 N23	N23
	第 3 背板长	LT3	喙	喙的颜色 1	LAB1		翅脉角 O26	O26
背腹板	第 4 背板长	LT4		喙的颜色 2	LAB2		翅钩数	HOOKS
	第 3 腹板长	LST3	翅	前翅长	LFW			

注:本表内容来源于文献[8-10]。

2 同工酶多态性分析法

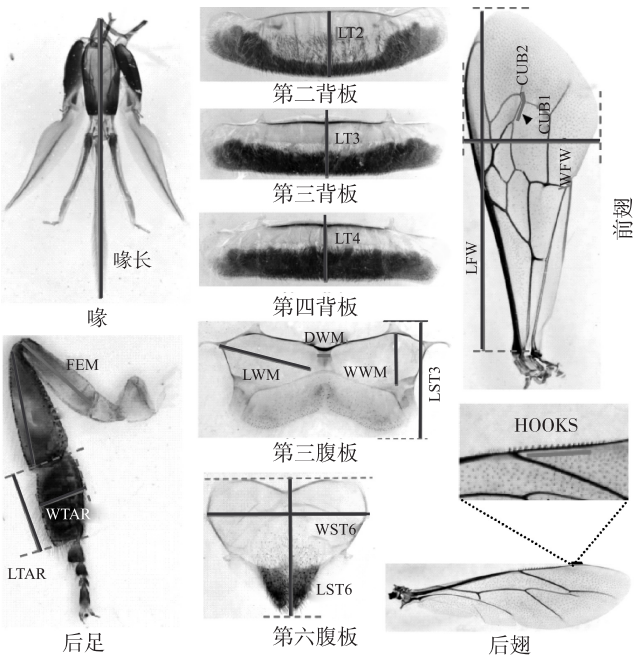
同工酶是指催化的化学反应相同但酶的理化性质与分子结构不同的一组酶,现已被广泛应用于昆虫的遗传变异和种属鉴定。同工酶多态性分析主要方法为:提取特定的同工酶,利用同工酶在电泳时的迁移率不同而制作同工酶电泳谱;然后分析同工酶电泳谱带的多样性来找出物种间或物种内酶基因的多样性,通过相关性或聚类分析获得蜜蜂的遗传变异信息和相互间的亲缘关系,进而对蜜蜂属进行分类^[11]。同工酶多态性分析法的应用一方面可以校正传统形态学对蜜蜂的分类,例如欧阳燕等人^[12]利用该方法对中华蜜蜂(*Apis cerana cerana* Fabricius)进行分类研究,得出了与传统形态分类不一样的结果,对蜜蜂属的分类具有更深远的意义。再者,它能够作为种间鉴别的一个重要指标;如何士敏等人^[13]通过分析蜜蜂总科(Apoidea)中酯酶的多态性,确定了蜜蜂总科中种属的分类地位。

3 分子遗传标记法

分子遗传标记是以物种突变造成 DNA 片段长度多态性或位点多态性为基础的,突破了表型标记的局限性,具有遗传稳定、无表型、多态性高、受环境条件的干扰较小、适用于不同类群之间比对等优点^[14]。用于蜜蜂遗传多样性及蜜蜂遗传分化研究的常用分子标记有蜜蜂线粒体 DNA(mtDNA)标记、微卫星 DNA 标记、AFLP、RFLP、RAPD 等技术^[15]。

3.1 mtDNA 标记

mtDNA 是线粒体内的环状遗传物质,因具有缺乏重组、母系遗传、进化快等特点,已经被作为一种有效的分子遗传标记应用于蜜蜂分类研究中^[16]。例如,Maria 等人^[17]用两种不同的基因组区域(线粒体 ND2 基因和



注:图中英文缩写的中文含义参见表 1。

图 1 蜜蜂形态测定分类方法主要的指标

Fig. 1 Common indexes for classification and determination of bee morphology

EF 1- α 内含子)进行 DNA 序列的亲缘关系分析,系统发育分析强烈支持基本拓扑结构,可分为 3 个大集群:巨型蜜蜂、小型蜜蜂和洞巢蜜蜂。Smith 等人^[18]利用线粒体 DNA 中 COI 与 COII 基因间的一段非编码区域 tRNA^{leu}~COII,证实了苏拉威西蜂是蜜蜂属的一个新种。与形态学分类法相比,mtDNA 分类法更能有效地减少外界的干扰因素,从而减少对结果的误判^[11]。由于 mtDNA 分子量较小,因而目前的研究方法主要有直接测序法和限制性片段长度多态性分析法(RFLP)^[19],后者主要采用限制性内切酶对线粒体的特定位置点进行酶切形成不同大小的 DNA 片段并电泳分析^[20]。

3.2 微卫星标记

微卫星 DNA 是比小卫星 DNA 具有更小的重复单元的碱基序列,具有核心序列与两端的侧翼序列两部分。微卫星的核心序列具有多态性,而侧翼序列通常为保守的单拷贝。微卫星标记具有分布广、实验程序简单、多态性丰富、重复性好等特点^[21-22]。微卫星标记技术已被应用于蜜蜂的种群进化分析中,例如殷玲等人^[23]用微卫星标记分析云南 6 个东方蜜蜂(*Apis cerana* Fabricius)群体,研究结果表明云南 6 个东方蜜蜂群体间的遗传分化与地理距离没有明显的相关性。Franck 等人^[24]使用微卫星标记证实了意大利分布的两个西方蜜蜂亚种应该属于东南欧洲系。同时,微卫星标记技术在蜜蜂遗传多样性分析中也有广泛的应用;例如,徐新建等人^[25]利用 10 个微卫星 DNA 标记对海南岛蜜蜂群进行多样性分析,结果表明海南岛中华蜜蜂遗传多样性较高。

3.3 RAPD

RAPD 是随机扩增多态性 DNA 标记技术的英文简称,它是一项应用广泛的分子遗传标记技术。随着分子生物学技术的发展,RAPD 技术在蜜蜂分类中得到了广泛的应用。RAPD 的原理是以随机合成的脱氧核糖核苷酸引物扩增出基因组 DNA 片段并电泳得到指纹图谱,通过分析不同图谱间的差异研究不同蜂群之间的关系^[26]。目前,该技术已在分析不同地区蜜蜂类群聚类、同一地区蜜蜂类群区分和蜂群亚家族分类中得以应用。

3.4 AFLP

AFLP 即扩增片段长度多态性标记技术,由荷兰科学家 Pieter Vos 发明的一项被广泛应用的 DNA 标记技术。AFLP 的基本原理是用限制性内切酶把基因组切割成限制性片段,将限制性片段与特定的人工接头连接,根据连接产物设计的引物进行选择性的扩增,扩增产物经电泳分离,最后根据凝胶上的 DNA 指纹图谱进行长度多态性分析^[27]。AFLP 技术在鉴定蜜蜂新亚种、独特生态型等方面得以应用。例如,Smith 等人^[18]采用 AFLP 技术对印度尼西亚苏拉威西蜂和东方蜜蜂进行了分析,结果表明印度尼西亚苏拉威西岛的苏拉威西蜂和东方蜜蜂之间没有基因交流,苏拉威西蜂是一个新的蜂种。姜玉锁等人^[28]则利用该技术研究发现海南东方蜜蜂由于地理隔离已经成为一个新的亚种。

3.5 核酸序列分析技术的综合应用

核酸序列分析技术主要包括对 DNA 和 RNA 的序列进行分析。通过测序技术分析特定 DNA 或 RNA 片段的序列,利用系统发育分析法推断蜜蜂类群间的演化关系,是蜜蜂系统发育方面的发展方向。直接测序法是非常有效的遗传多样性检测手段。目前,为了提高分子遗传标记法如 RAPD, AFLP, RFLP 等的准确性,将核酸序列分析法、PCR 和分子遗传标记法相结合,可用于分析昆虫的进化关系及遗传多样性分析。例如,刘楠楠等人^[29]建立了稳定的 RAPD-PCR 反应体系,以探索蜜蜂遗传多样性。而且,核酸测序技术与 PCR, RAPD 和 RFLP 技术的联合使用,在昆虫分类学、昆虫遗传育种等研究中已成为趋势。

4 蜜蜂数量分类法

数量分类学(Numerical taxonomy)在生物学的分类中被广泛地应用,它综合了数学、统计学、生物学和电子计算机技术,因此能够有效地处理大量、多元的各类数据,从而可应用到生物分类中,给生物分类学的发展带来重大影响。曾志将和俞小明^[30]选取匡邦郁等人^[31-32]测定的实验数据为基础,对匡邦郁等人测定的实验数据进行数量分类,结果表明,这种数量分类结果与匡邦郁等人用形态、同工酶等的分类结果一致——这表明了数量分类法在蜜蜂分类中的运用的精确性。该方法的主要操作步骤为:首先将待测蜜蜂的种类作为分类单位,将蜜蜂的形态特征数据如吻长、右前翅长、肘脉指数等作为分类性状;然后对有关数据进行聚类分析,并将分析后的数据在计算机上运行,作出蜜蜂分类树状聚类图。蜜蜂分类树状聚类图可以反映各个分类单位的亲缘远近^[30]。

5 展望

蜜蜂的分类一直是国内外蜜蜂生物学的研究重点之一,许多研究者已运用不同方法对蜜蜂的分类进行了研究。这些方法各具优势,但依然存在一些不足之处:1) 形态学分析法作为蜜蜂分类最基本的方法,要求研究者具备较丰富的蜜蜂学知识,且分类指标多样较为复杂;对于不同类群需清晰地区分主成分指标;对于多指标的形态数据的分析,还应采用多元统计分析方法,如主成分分析、判别分析、聚类分析等,以完成形态多样性分析。2) 分子遗传标记法在应用过程中也面临一定的困难,例如在应用 RFLP 技术时难以获得显示基因组 DNA 多态性的探针;多拷贝的微卫星 DNA 不能跟踪分离群体中个体基因组的同源区域;RAPD 技术重复性较差,需要优化实验程序和反应条件;显性的 RAPD 标记并不能区分动物的纯合体与杂合体,在研究过程中容易出现非特异性。虽然分子遗传标记法中的 RFLP、RAPD 逐渐被新方法取代,但如果将它们与核酸序列分析技术结合起来,仍可以在蜜蜂分类学研究中得以应用。未来可着眼于以下几点来优化蜜蜂分类研究:1) 运用数量分类学方法结合形态分类学方法,增加蜜蜂分类结论的可靠程度。2) 筛选单独或多种分子标记技术,在区分蜜蜂种、亚种、不同地理型与生态型的工作中加以运用;同时实现自动化的分子标记方法,也能大大简化实验操作和降低研究成本。此外,随着科学技术的进步,电泳技术、行为学方法、遗传学方法、生化分类方法、计算机及信息技术等都已经应用到昆虫的分类学研究中^[33],可考虑将这些方法引入到蜜蜂分类学的研究中去,这将会使蜜蜂分类学研究工作更加准确和完善。

参考文献:

- [1] 吴燕如. 中国动物志(昆虫纲,第二十卷,膜翅目,准蜂科,蜜蜂科)[M]. 北京:科学出版社,2000.
WU Y R. Fauna Sinica (Insecta, Hymenoptera, Melittidae, Apidae)[M]. Beijing: Science Press, 2000.
- [2] 龚一飞,张其康. 蜜蜂分类与进化[M]. 福州:福建科学技术出版社,2000.
GONG Y F, ZHANG Q K. Classification and evolution of honeybees[M]. Fuzhou: Fujian Science and Technology Press, 2000.
- [3] SAKAGAMI S F, MATSUMURA T, ITO K. *Apis laboriosa* in Himalaya, the little known world largest honeybee (Hymenoptera, Apidae) [J]. Insecta Matsumurana, 1980, 19: 47-77.
- [4] TINGEK S, MARDAN M, RINDERER T E, et al. Rediscovery of *Apis vechti* (MAA, 1953): the Saban honey bee [J]. Apidologie, 1988, 19(1): 97-102.
- [5] WONGSIRI S, LIMBIPICHAI K, TANGKANASING P, et al. Evidence of reproductive isolation confirms that *Apis andreniformis* (Smith, 1858) is a separate species from sympatric *Apis florea* (Fabricius, 1787) [J]. Apidologie, 1990, 21(1): 47-52.
- [6] YANRU W, BANGYU K. Two species of small honeybee: a study of the genus *Micrapis* [J]. Bee World, 2015, 68(3): 153-155.
- [7] DAMUS M S, OTIS G W. A morphometric analysis of *Apis cerana* F and *Apis nigrocincta* Smith populations from Southeast Asia [J]. Apidologie, 1997, 28(5): 309-323.
- [8] RUTTNER F, ELM I M P, FUCHS S. Ecoclines in the Near East along 36°N latitude in *Apis mellifera* L [J]. Apidologie, 2000, 31(2): 157-165.
- [9] 罗凌娟,朱立蕃,张祖芸,等. 蜜蜂形态测定方法研究[J]. 中国蜂业, 2014, 65(z2): 18-20.
LUO L J, ZHU L P F, ZHANG Z Y, et al. Method for determination of bees form [J]. Apiculture of China, 2014, 65 (z2): 18-20.
- [10] 霍炜. 蜜蜂的翅脉、绒毛及吻长鉴定[J]. 中国蜂业, 2010 (10): 25-26.
HUO W. Identification of bee's wing veins, fluff and kiss length [J]. Apiculture of China, 2010(10): 25-26.
- [11] 张辉. 甜菜航天诱变 SP3 代育种材料几种同工酶及 SRAP 多态性分析[D]. 北京:中国农业科学院, 2011.
ZHANG H. The polymorphism analysis of space-flight mutation SP3 breeding bees by the methods of isoenzyme and SRAP [D]. Beijing Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2011.
- [12] 欧阳燕,岳作军,吴黎明,等. 应用生物化学技术进行中华蜜蜂分类的研究[J]. 云南大学学报(自然科学版), 1999 (S3): 231-232.
OU Y Y, YUE Z J, WU L M, et al. Application of biochemical technology to the classification of Chinese bee [J]. Journal of Yunnan University (Natural Sciences), 1999(S3): 231-232.
- [13] 何士敏,肖静,白士博. 蜜蜂酯酶同工酶的比较研究[J]. 生物技术, 2005, 15(1): 22-24.
HE S M, XIAO J, BAI S B. Comparative studies on Apoidea esterase isozymes [J]. Biotechnology, 2005, 15(1): 22-24.
- [14] 龚鹏,杨效文,谭声江,等. 分子遗传标记技术及其在昆虫科学中的应用[J]. 应用昆虫学报, 2001, 38(2): 86-91.

- GONG P, YANG X W, TAN S J, et al. Molecular genetic markers and their application in entomology[J]. Chinese Journal of Applied Entomology, 2001, 38(2): 86-91.
- [15] 朱翔杰. 福建及邻近地区中华蜜蜂种群遗传分析[D]. 福州: 福建农林大学, 2009.
- ZHU X J. Study on population genetics of *Apis cerana cerana* in Fujian province and adjacent regions[D]. Fuzhou: Fujian Agriculture and Forestry University, 2009.
- [16] SHEPPARD W S, RINDERER T E, MEIXNER M D, et al. HinfI variation in mitochondrial DNA of old world honey bee subspecies[J]. Journal of Heredity, 1996, 87(1): 35-40.
- [17] MARIA C A, WALTER S S. Phylogenetic relationships of honey bees (Hymenoptera: Apinae: Apini) inferred from nuclear and mitochondrial DNA sequence data[J]. Molecular Phylogenetics and Evolution, 2005, 1(37): 25-35.
- [18] SMITH D R, OTIS G, DAMUS M, et al. Mitochondrial DNA and AFLP markers support species status of *Apis nigrocincta*[J]. Insectes Sociaux, 2003, 50(2): 185-190.
- [19] 赵群. 分子亲缘地理学及遗传标记技术的应用[J]. 生物技术世界, 2016(3): 297-298.
- ZHAO Q. Application of molecular genetic geography and the technique of genetic markers[J]. Biotech World, 2016(3): 297-298.
- [20] 田嵩浩. 中国境内东方蜜蜂群体亚分化研究[D]. 山西太谷: 山西农业大学, 2014.
- TIAN S H. Study of the population structure of *Apis cerana* in china[D]. Taigu Shanxi: Shanxi Agricultural University, 2014.
- [21] 李建科. 蜜蜂微卫星的研究进展[J]. 郑州牧业工程高等专科学校学报, 2002, 22(2): 85-89.
- LI J K. Advances in the research on micro-satellites in bees[J]. Journal of Zhengzhou College of Animal Husbandry Engineering, 2002, 22(2): 85-89.
- [22] 张艳, 张树义. 微卫星方法简介[J]. 动物学杂志, 1999, 34(2): 42-45.
- ZHANG Y, ZHANG S Y. Brief introduction of the microsatellite [J]. Chinese Journal of Zoology, 1999, 34(2): 42-45.
- [23] 殷玲, 吉挺, 陈国宏. 利用微卫星标记分析云南省 6 个东方蜜蜂(*Apis cerana*)群体遗传多样性及遗传分化[J]. 西南农业学报, 2011, 24(2): 772-778.
- YIN L, JI T, CHEN G H. Study on genetic diversity and genetic differentiation of six geographic populations of *Apis cerana* (Hymenoptera: Apidae) in Yunnan by microsatellite makers[J]. Southwest China Journal of Agricultural Sciences, 2011, 24(2): 772-778.
- [24] FRANCK P, GARNERY L, CELEBRANO G, et al. Hybrid origins of honeybees from Italy (*Apis mellifera ligustica*) and sicily (*A. m. sicula*) [J]. Molecular Ecology, 2000, 9(7): 907-907.
- [25] 徐新建, 周妹婧, 朱翔杰, 等. 海南岛中华蜜蜂遗传多样性的微卫星 DNA 分析[J]. 昆虫学报, 2013, 56(5): 554-560.
- XU X J, ZHOU S J, ZHU X J, et al. Microsatellite DNA analysis of genetic diversity of *Apis cerana cerana* in Hainan island, Southern China[J]. Acta Entomologica Sinica, 2013, 56(5): 554-560.
- [26] WILLIAMS J G K, KUBELIK A R, LIVAK K J, et al. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers[J]. Nucleic Acids Research, 1990, 18(22): 6531-6535.
- [27] VOS P, ZABEAU M. Selective restriction fragment amplification: a general method for DNA fingerprinting, Europe 92402629. 7[P/OL]. [2017-06-28]. <http://www.freepatentsonline.com/EP0534858B2.html>
- [28] 姜玉锁, 刘文忠, 张春香, 等. 中国境内不同地理型东方蜜蜂遗传多样性的 AFLP 分析[J]. 昆虫学报, 2007, 50(2): 144-152.
- JIANG S Y, LIU W Z, ZHANG C X, et al. AFLP analysis of genetic diversity of *Apis cerana* Fabricius distributed in different geographic areas in China[J]. Acta Entomologica Sinica, 2007, 50(2): 144-152.
- [29] 刘楠楠, 薛运波, 王志, 等. 蜜蜂遗传多样性研究的 RAPD-PCR 反应体系的正交优化[J]. 吉林畜牧兽医, 2011, 32(9): 4-7.
- LIU N N, XUE Y B, WANG Z, et al. Optimization of RAPD-PCR reaction system for the of genetic diversity study of honeybee[J]. Jilin Animal Husbandry and Veterinary Medicine, 2011, 32(9): 4-7.
- [30] 曾志将, 俞小明. 蜜蜂的数量分类研究[J]. 蜜蜂杂志, 2000(2): 3-4.
- ZENG Z J, YU X M. Study on numerical taxonomy of honeybees[J]. Journal of Bee, 2000(2): 3-4.
- [31] 匡邦郁, 李有泉. 六种蜜蜂的形态比较研究[J]. 养蜂科技, 1988(2): 2-4.
- KUANG B Y, LI Y Q. A comparative study on the morphology of six bees[J]. Apicultural Science and Technology, 1988(2): 2-4.
- [32] 匡邦郁, 李有泉. 蜜蜂族 Apini 的研究[J]. 中国农业科学, 1988, 21(2): 85-90.
- KUANG B Y, LI Y Q. Studies on Apini[J]. Scientia Agricultura Sinica, 1988, 21(2): 85-90.
- [33] 李志勤, 闫洪波, 李成德. 昆虫分类的主要技术手段[J]. 河北林果研究, 2006, 21(4): 398-403.
- LI Z Q, YAN H B, LI C D. The main techniques of insect taxonomy[J]. Hebei Journal of Forestry and Orchard Research, 2006, 21(4): 398-403.

Animal Sciences

Progress of the Method of Species Taxonomy for the Genus *Apis*

PENG Qingchun, TONG Jinfeng, MA Zhengang, XU Jinshan

(Chongqing key Laboratory of Vector Insects, Chongqing key Laboratory of Animal Biology, Chongqing Normal University, Chongqing 401331, China)

Abstract: [Purposes] In order to provide references for the taxonomic work of the genus *Apis*, the methods used for classification of the genus *Apis* were reviewed. [Methods] Research papers were obtained from Pubmed website or CNKI database and the present research situation and the research progress of the main classification methods *Apis* were analyzed by summarizing and refining the retrieved literatures. [Findings] Four aspects, including determination of bees form, analysis on polymorphism of isoenzyme, molecular genetic markers and numerical taxonomy, were detailed summarized and found that determination of bees form is still the most basic method of bee classification research. The new development of the classification methods can be added to the morphological analysis, resulting in more accurate classification results. However, several shortcomings were also found in the new molecular classification method. For example, RFLP, which was difficult to obtain the probe for showing the polymorphism of genomic DNA. Multiple copies of microsatellite DNA could not track homologous regions of individual genomes in segregating populations. The homozygote and heterozygote could not be distinguished by dominant RAPD markers. [Conclusions] With the development of molecular biology techniques, the taxonomy research methods of *Apis* are becoming more and more abundant. The classification accuracy could be improved by establishing a combination of multiple methods and screening individual or multiple molecular markers. Simplifying the experimental operations could be realized using automated molecular marker analysis method. All the above would become the emphases for honeybee taxonomy research.

Keywords: *Apis*; classification; determination of bees form; molecular classification method

(责任编辑 方 兴)