

# 长白山中华蜜蜂基因组 DNA 多态性的研究

薛运波<sup>1</sup>, 李兴安<sup>1</sup>, 葛凤晨<sup>1</sup>, 蒋滢<sup>2</sup>, 历延芳<sup>1</sup>, 李志勇<sup>1</sup>, 王志<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>吉林省养蜂科学研究所, 吉林 132108; <sup>2</sup>苏州大学医学院, 苏州 215006)

**摘要:** 【目的】比较和揭示 12 个长白山中蜂(长白山地方采样点中华蜜蜂)基因组多态性的分布规律。【方法】采用 RAPD-PCR 技术选择性扩增基因组 RAPD 位点分子, 以 NTsys-PC 方法建立基因组分子标记系统树状结构和计算基因组分子标记相似系数。【结果】1104 号等 6 个蜂基因组分子标记多态性图谱同时具有 240、400、700、和 1 500 bp 等 4 个条带, 其系统树状结构在相似系数值为 0.568 时呈现相对独立的一个分支; 1083 号等 6 个蜂基因组分子标记多态性图谱同时具有 240、400、600 和 1 200 bp 等 4 个条带, 其系统树状结构在相似系数值为 0.586 时呈现相对独立的另一个分支; 相似系数值二维矩阵与系统树状结构之间的相关系数值  $r$  为 0.7874 ( $P < 0.01$ )。同时, 700 bp 条带在 12 个蜂基因组分子标记多态性图谱中有 10 个蜂同时出现, 即 10 : 12。【结论】在相似度至少为 56.8% 和 PCA 占总变异度 69.3897% 或 PCA1 为 30.5101% 时, 长白山中蜂基因组多态性按照 RAPD 分子标记特征拟初步聚集为 2 个地方类群, 700 bp 条带可能是长白山中蜂基因组所特有的 DNA 序列片段。

**关键词:** 长白山中华蜜蜂; RAPD; 分子标记; 多态性

## The Study on Genomic Polymorphism Among Different Groups of Local Changbaishan *Apis Cerana ceranas*

XUE Yun-bo<sup>1</sup>, LI Xing-an<sup>1</sup>, GE Feng-chen<sup>1</sup>, JIANG Ying<sup>2</sup>, LI Yan-fang<sup>1</sup>, LI Zhi-yong<sup>1</sup>, WANG Zhi<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>Institute of Scientific Apiculture of Jilin Province, Jilin 132108; <sup>2</sup>Medical School of Suzhou University, Suzhou 215006)

**Abstract:** 【Objective】The article exposes comparing or demonstrating polymorphism of genome DNA of local Changbaishan *Apis cerana ceranas*. 【Method】The experiment was conducted using the RAPD-PCR method for selectively amplifying molecular markers of polymorphism from genomes of 12 local groups by 12 pairs of random primers. Scientists then applied NTsys, as a kind statistics software, for figuring out similar coefficient values of these amplified moleculars in the matrix. It also aided in constructin tree structures among these molecules in dendrogerm. 【Results】Results revealed that the 6 local groups (represented especially as No.1104) showed in common 4 DNA bands of 240bp, 400bp, 700bp and 1 500bp in their amplified mapping of genome. They furthermore showed on their own a trend of independent branch system in dendrogerm (or similarity relationship) when their similar coefficient value is 0.568. As opposed to the 6 groups, the others (represented especially as No.1083) showed the same 4 DNA bands of 240bp, 400bp, 600bp and 1 200bp in the mapping. They also showed an independent in dendrogerm trend when they had a similar coefficient value of 0.586 in the matrix; The relative value between matrix and dendrogerm on similar coefficient is 0.7874 ( $P < 0.01$ ). 【Conclusion】Results indicated that, based on different characteristics of mapping of genome, at more than 56.8% of similar coefficient and 69.3897% of PCA in total variation or 30.5101 % of PCA1, local Changbaishan *Apis cerana ceranas* in districts of preliminarily were classified into 2 local groups.

**Key words:** Changbaishan *Apis cerana cerana*; RAPD; Molecular marker; Polymorphism

收稿日期: 2006-01-12; 接受日期: 2006-09-06

基金项目: 吉林省科技发展计划项目 (20030561)

作者简介: 薛运波 (1961-), 男, 吉林敦化人, 研究员, 研究方向为蜜蜂遗传育种。Tel: 0432-4690471; Fax: 0432-4690471; E-mail: asijl@sina.com。  
通讯作者李兴安 (1965-), 男, 满族, 内蒙古呼和浩特人, 副研究员, 研究方向为生物化学与分子生物学和细胞生物。Tel: 0432-4690953; E-mail: asijl@sina.com

## 0 引言

【研究意义】不同长白山中蜂 (*Apis cerana cerana*) 多样性由于漫长的生态隔离和选择进化, 最终表现为基因组DNA多态性(不同的单体型)<sup>[1,2]</sup>。基因组多态性的核心含义, 即真核基因组内不同序列长度的等位DNA同源序列片段和与之连锁的一些不同重复频率的短串联重复DNA序列片段 (short intersperse nuclear elements, SINEs), 这些序列片段既不编码功能性DNA片段, 也不行使调控功能, 只是充当保守的多态性分子标记以揭示物种内的系统规律<sup>[3]</sup>。由于这些序列片段包含有与 10 个寡聚脱氧核苷酸随机引物互补配对的一组可扩增位点序列, 应用 RAPD-PCR (random amplification polymorphism DNA-polymerase chain reaction) 技术扩增长白山中蜂基因组DNA可以获得一组RAPD位点分子, 其中就包括反映遗传多样性的同源等位序列: RAPD分子标记。因此, 本研究的实际意义是通过分析这些RAPD分子标记自身携带同源等位序列的遗传学含义, 提供体现不同长白山中蜂在遗传多态性或遗传分化或选择进化过程中出现的农艺性状等的分子证据。【前人研究进展】Suazo<sup>[4]</sup>等通过RAPD分子标记区别出非洲蜜蜂和欧洲蜜蜂, 蒋滢等<sup>[5-12]</sup>通过RAPD分子标记不仅进行了中蜂与西方蜜蜂纯种之间和西方蜜蜂不同品系之间多态性分析, 而且通过基因组多态性分析意外地发现与高产王浆性状相关的w-316 (bp) DNA序列片段为高产王浆西方蜜蜂所特有, 董霞<sup>[13]</sup>等通过RAPD分子标记对东方蜜蜂进行了遗传分化的研究; 谭垦<sup>[14]</sup>等通过RAPD分子标记研究了云南中蜂及其周边地区东方蜜蜂不同品系之间的多态性; 孙亮先<sup>[15]</sup>等通过RAPD分子标记筛选出意大利蜜蜂重要农艺性状; 吴黎明<sup>[16]</sup>等通过RAPD分子标记区别出 3 个蜜蜂品种; 苏松坤<sup>[17]</sup>综述了熊蜂属系统分子进化(包括RAPD分子标记)和蜜蜂遗传育种分子标记等方面的研究进展。【本研究切入点】然而, 鉴于目前国内外还没有在结构基因组学水平系统研究体现长白山中蜂基因组多态性规律的研究报道, 对野生在长白山植物生态环境之中的长白山中蜂类别及其基本分布不是十分清楚。【拟解决的关键问题】本研究以尚处于传统饲养格局和近乎天然分布轮廓的长白山中蜂为研究对象, 以快速、简捷、高灵敏度、低成本的RAPD-PCR为主要研究技术<sup>[18]</sup>, 以基因组分子标记多态性图谱(或电泳图谱)、基因组分子标记相似系数(或 1-遗传距离)矩阵和基因组

分子标记分系统树状结构(或聚类分析)为主要研究指标, 以Mental 检测法进行相似性矩阵与系统树状结构的相关性和以PCA主成分分析进一步检验系统树状结构的变异度为主要检验手段, 以分析长白山中蜂基因组分子标记多态性的遗传学含义为主要研究内容, 其目的为首次系统性地揭示不同长白山中蜂之间基因组水平的遗传多样性, 即基因组多态性; 通过比较不同长白山中蜂基因组多态性的分布规律, 区别和归纳长白山中蜂品种资源的类别和基本分布轮廓, 同时提供体现长白山中蜂种质资源基因库的分子证据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验时间、地点

本研究野外试验于 2003~2004 年在位于长白山植物生态保护区境内的吉林省蜜蜂育种场进行, 室内试验于 2004~2005 年在吉林省养蜂科学研究所分子与细胞遗传育种研究室和苏州大学医学院生物化学与分子生物学实验室进行。

### 1.2 试验材料

通过选择取样的方法, 从长白山植物生态保护区 12 个不同采样点取长白山中蜂样品 (50 只/采集点), 从长白山 1081 号蜂采样点取不同的 5 群长白山中蜂样品 (50 只/蜂群), 另外从与长白山植物生态环境完全不同的华东南、中南及华南地区 7 个不同采样点取中蜂样品 (50 只/采集点), 全部实验样品量 1 150 只, 平均实际用样品量 48 个/采集点, 中蜂样品均浸泡在 70%乙醇溶液中, 名单列于表 1。

### 1.3 试验方法

1.3.1 基因组分离和纯化 50 只由 70%乙醇浸泡过的蜜蜂的头和胸, 并且计数为 1 个采样点实验样本。脱去其中的乙醇浸泡液, 液氮贮存, 研磨匀浆, 蛋白酶 K 消化, 核糖核酸酶 A 消化, 标准酚抽提法纯化基因组 DNA。

1.3.2 RAPD-PCR 扩增前质量控制 虽然 RAPD 技术以其操作简单、分析量大和节省成本等特点被广泛应用, 但是正如任何一项应用技术所存在的不足一样, 它的最大缺点是重演性差。为此, 本文对 RAPD 技术进行了实验条件、引物筛选和实际操作等方面的质量控制: 所有样品基因组纯度为 OD260/OD280 值大于 1.8, 不同样品基因组浓度在 PCR 之前要做适当调整以保持反应浓度基本接近, PCR 所有反应组分必须购自一个试剂公司; 引物的退火温度低于 T<sub>m</sub> 值的

表 1 12 个采样点长白山中蜂样品序号和编码(实验组样品)与长白山 1081 号蜂采样点内不同 5 群和其它地区 7 个不同采样点中蜂样品序号和编码(内对照组和外对照组样品)

Table 1 No. and code of the 12 Changbaishan *Apis cerana ceranes* (studied) and No. and code of 5 different colonies from the local No. 1081 and 7 different *Apis cerana ceranes* from other districts (control)

样品序号	样品编码	采样地点	
No. of the sample	Code of the sample	Sampling site	
1	1005	柳河	Liuhe
2	1083	桦甸-1	Huadian-1
3	1033	桦甸-2	Huadian-2
4	1104	西丰	Xifeng
5	1081	辉南	Huinan
6	1068	浑江	Hunjiang
7	1086	集安	Ji'an
8	1123	宽甸-1	Kuandian-1
9	1129	宽甸-2	Kuandian-2
10	1065	临江	Linjiang
11	1024	珲春	Huichun
12	1097	敦化	Dunhua
13	A1081	辉南	Huinan
14	B1081	辉南	Huinan
15	C1081	辉南	Huinan
16	D1181	辉南	Huinan
17	E1081	辉南	Huinan
18	N1	海南 1	Hainan1
19	N2	海南 2	Hainan2
20	G1	广东 1	Guangdong1
21	G2	广东 2	Guangdong2
22	J	江西 1	Jiangxi1
23	H1	湖北 1	Hubei1
24	AH	安徽	Anhui

3~5℃, 引物是否与最适 RAPD 位点互补需要进行预扩增, 参照标准 PCR 反应条件建立实际 PCR 反应体系, 建立 PCR 反应体系全过程保证无菌、低温和微量操作, 同时进行反复试验, 结果表明: 在保证引物可扩增基因组多态性丰富度高的基础之上, RAPD 数据保持其稳定性有 2 个前提, 第 1 个前提是所提取的基因组的纯度要足够的高, 第 2 个前提是每次 PCR 试验要采用统一的试验流程, 在此条件之下不同实验室之间可以进行交流和参考。

1.3.3 PCR 扩增 RAPD 位点分子 建立 50 μl 反应体系, 连续 35 个热循环单位(94℃变性 1 min, 36℃退火 1min, 72℃延伸 2 min)。

1.3.4 琼脂糖凝胶电泳 制备基因组分子标记电泳图谱(多态性图谱, 1.2%凝胶), 凝胶分析系统(Lab works)记录图谱。

1.3.5 精密仪器和药品规格

主要室内仪器: PCR 仪(2700, 美国 Applied Biosystem 公司)等, 12 条 RAPD 引物:

W:5'-CGGCCCCGGT-3', K:5'-CGGCCCTGT-3'm, P1:5'-GGGACGATGG-3', P9:5'-GAACACTGGG-3', L:5'-CAGCGGTACC-3', OPA-07:5'-GAAACGGGTG-3', OPF-01:5'-ACGGATCCTG-3', T:5'-CCCACCCTTG-3', OPI:5'-TGTTCCACGG-3', X:5'-GTAGTCACAC-3', OPR:5'-CCCTACGGAC-3', OPK-18:5'-CCTAGTCGAG-3'等<sup>[5-16]</sup>由上海生工生物工程有限公司提供。

1.3.6 统计分析 每个试验用样品平均重复 4 次 AP-PCR 或 RAPD-PCR, 在每个 RAPD 位点扩增出条带计数为 1, 未扩增出条带计数为 0, 产生“0, 1”二维矩阵; 采用 Jaccard 相似性系数法(Jaccard similarity coefficient, JSC)<sup>[19]</sup>进行二维矩阵分析产生相似性矩阵, 采用 UPGMA 算法<sup>[20]</sup>进行聚类分析产生系统树状结构; 采用 Mental 检测法<sup>[21]</sup>对相似性矩阵和系统树状结构进行相关分析, 为了进一步证实相似性系数的系统树状结构采用了主成分分析(PCA<sup>[22]</sup>, principal coordinate analysis), 这些分析来自 NTsys-PC 统计软件包<sup>[23]</sup>。

## 2 结果与分析

本研究结果显示 1081 号蜂采样点内不同的 5 群长白山中蜂基因组分子标记多态性图谱完全相同, 见图 1; 其它地区 7 个不同采样点中蜂基因组分子标记多态性图谱基本相同, 见图 2。12 个采样点不同长白山中蜂基因组分子标记多态性图谱不完全相同, 见图 3; 基因组分子标记相似系数不完全一致, 见表 2; 基因组分子标记系统树状结构不完全平行, 见图 4; 基因组分子标记主成分分析趋向于不同的主成分变量值, 见图 5, 具体结果与分析如下。

### 2.1 长白山地区同一个采样点不同中蜂基因组 RAPD 分子标记多态性图谱(内对照)

1005 号蜂采样点内 5 群不同长白山中蜂基因组多态性图谱丰富度高, 图谱类型相同, 见图 1。

### 2.2 其他地区不同采样点中蜂基因组 RAPD 分子标记多态性图谱(外对照)

N1、N2、G1、G2、J、H1 和 AH 号蜂基因组多态性图谱丰富度低, 图谱类型相似, 见图 2。

### 2.3 长白山地区不同采样点中蜂基因组 RAPD 分子标记多态性图谱

1104 号蜂、1005 号蜂、1081 号蜂、1065 号蜂、1086 号蜂和 1068 号蜂基因组多态性图谱类型相似,

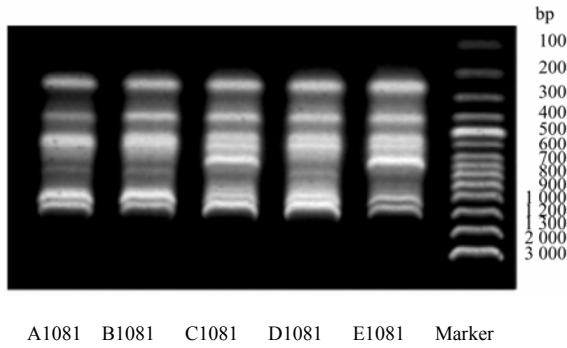


图 1 一个采样点(1081 号蜂)内不同 5 群长白山中蜂基因组 RAPD 分子标记多态性图谱

Fig. 1 Mapping on RAPD molecular markers polymorphism of genome from 5 colonies of a kind of local groups of Changbaishan *Apis cerana cerana*

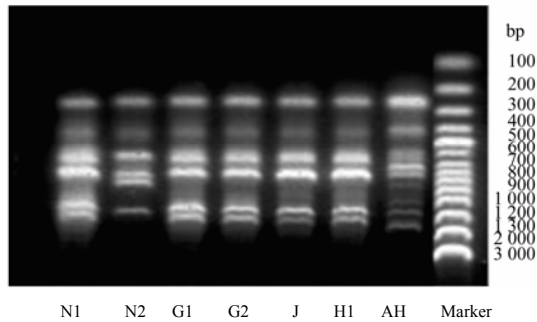


图 2 其它地区 7 个不同采样点中蜂基因组 RAPD 分子标记多态性图谱

Fig.2 Mapping on RAPD molecular markers polymorphism of genome from 7 different local groups of *Apis cerana cerana* in other districts

共享 240、400、700 和 1 500 bp 条带；1083 号蜂、1097 号蜂、1033 号蜂、1024 号蜂、1123 号蜂、1129 号蜂基因组多态性图谱类型相似，共享 240、400、600 和 1 200 bp 条带；同时，700 bp 条带在 1005 号等 10 个蜂基因组分子标记多态性图谱中同时出现，而在 1083 号等 2 个蜂基因组分子标记多态性图谱中未出现，即 10:12，见图 3。

#### 2.4 不同采样点长白山中蜂基因组 RAPD 分子标记相似系数数值矩阵

1005 号蜂与 1104 号蜂之间，1081 号蜂与 1065 号蜂之间，1068 号蜂与 1086 号蜂之间，1083 号蜂与 1097 号蜂之间，1033 号蜂与 1024 号蜂之间，1123 号蜂与 1129 号蜂之间的基因组相似系数数值分别为

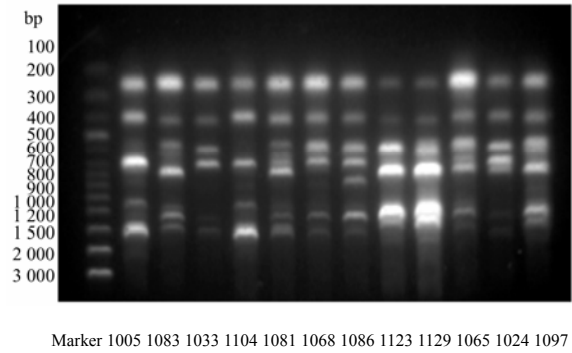


图 3 12 个采样点长白山中蜂基因组 RAPD 分子标记多态性图谱

Fig. 3 Mapping on RAPD molecular markers polymorphism of genome in 12 local groups of Changbaishan *Apis cerana cerana*

0.875, 0.800, 1.000, 0.875, 0.857, 0.750，见表 2。

#### 2.5 不同采样点长白山中蜂基因组 RAPD 分子标记系统树状结构（聚类分析）

基于 Jaccard 相似性系数的 UPGMA 方法对 0.875, 0.800, 1.000, 0.875, 0.857 和 0.750 相似性系数数值进行聚类分析，结果在相似度至少为 56.8%时将 12 个采样点长白山中蜂分为 2 组，第 1 组(Group1)包括 1005 号等 6 个蜂，第 2 组 (Group2) 包括 1083 号等 6 个蜂，见图 4；Mantel 相关性检测结果发现 JSC 二维矩阵与系统树状结构的相关系数值  $r$  为 0.7874 ( $P < 0.01$ )。

#### 2.6 不同采样点长白山中蜂基因组分子标记相似性系数主成分分析

基于 RAPD 数据的 PCA 分析法对上述相似性系数数值之间聚类关系进行检验，结果发现 PCA 占总变异度值为 69.3897%，其中 PCA1 为 30.5101%，PCA2 为 22.9546%，PCA3 为 15.9250（图 5 中 PCA3 未能在二维结构图中显示）。PCA1 为 30.5101%时明显将 1005 号等 6 个蜂与 1083 号等 6 个蜂区分为 2 组。

### 3 讨论

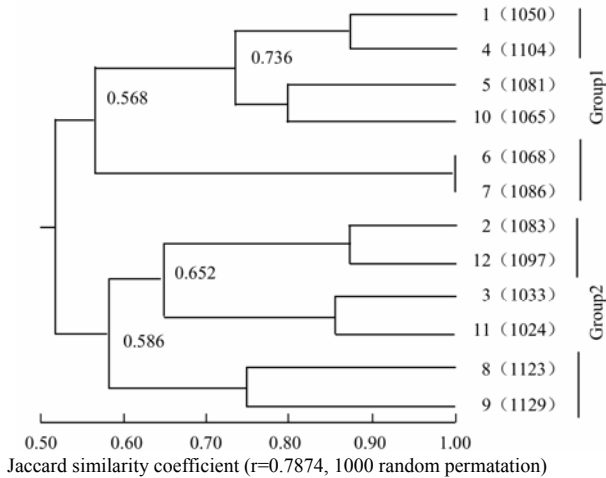
本研究在结构基因组学水平从多态性图谱、相似系数值和系统树状结构 3 个层面系统地分析了体现基因组多态性的变异规律。即在每个试验用样品平均重复 4 次 RAPDC-PCR 的基础之上，采用 Jaccard 相似性系数法进行二维矩阵分析产生相似性矩阵，采用 UPGMA 算法进行聚类分析产生系统树状结构；采用

表 2 12 个采样点长白山中蜂基因组分子标记相似系数矩阵

Table 2 Matrix on similar coefficient value of molecular marks of genome between 12 differenn local groups of Changbaishan *Apis cerana cerana*

	1(1005)	2(1083)	3(1033)	4(1104)	5(1081)	6(1068)	7(1086)	8(1123)	9(1129)	10(1065)	11(1024)	12(1097)
1(1005)	1.000											
2(1083)	0.600	1.000										
3(1033)	0.400	0.556	1.000									
4(1104)	<u>0.875</u>	0.500	0.444	1.000								
5(1081)	0.800	0.636	0.455	0.700	1.000							
6(1068)	0.667	0.500	0.625	0.556	0.545	1.000						
7(1086)	0.667	0.500	0.625	0.556	0.545	<u>1.000</u>	1.000					
8(1123)	0.364	0.500	0.625	0.400	0.545	0.400	0.400	1.000				
9(1129)	0.364	0.500	0.625	0.273	0.545	0.556	0.556	<u>0.750</u>	1.000			
10(1065)	0.778	0.778	0.556	0.667	<u>0.800</u>	0.500	0.500	0.500	0.500	1.000		
11(1024)	0.500	0.667	<u>0.857</u>	0.556	0.545	0.556	0.556	0.750	0.556	0.667	1.000	
12(1097)	0.500	<u>0.875</u>	0.625	0.400	0.545	0.556	0.556	0.556	0.556	0.667	0.750	1.000

矩阵中的横标和纵标数字为长白山中蜂样品序号和代码，中间数据为相似系数数值，其中有下划线数据为可进行系统数状结构分析的相似系数值  
Numbers or codes in the matrix representing the *Apis*, items of the content representing similar coefficient values between two kinds of *Apis*, the items underlined representing similar coefficient values between two kinds of *Apis* analyzed and showed in the dendrogerm

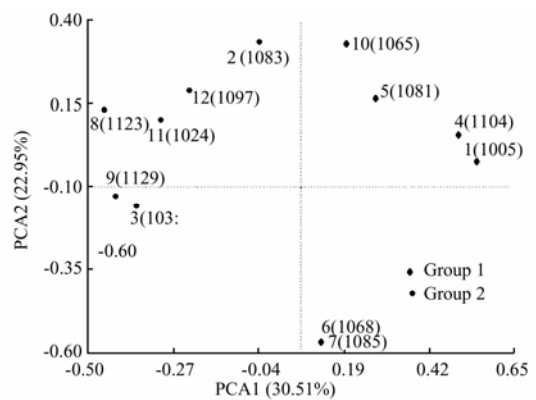


系统树状结构中左边数据为相似系数值，右边数字为长白山中蜂样品代码  
Left items in the dendrogerm representing similar coefficient values between groups of the *Apis*, right codes in the dendrogerm representing the *Apis*

图 4 12 个采样点长白山中蜂基因组分子标记系统树状结构  
Fig. 4 Dendrogerm on similar coefficient of molecular marks of genome among 12 different local groups of Changbaishan *Apis cerana cerana*

Mental 检测法对相似性矩阵和系统树状结构进行相关性分析，采用 PCA 主成分分析法对相似性系数进行了进一步的检验性证实，这种系统性地对蜜蜂多态性进行的研究在国内外相关领域未见报道。

在本研究中，一个采样点（1081 号蜂）内不同 5 群长白山中蜂基因组完全相同的多态性图谱表明：12



横轴为 PCA1 变异度，纵轴为 PCA2 变异度，未显示 PCA3 变异度  
x-axis representing PCA1,y-axis representing PCA2,not showing PCA3

图 5 RAPD 数据的 12 个采样点长白山中蜂分子标记的主成分分析  
Fig. 5 Principal coordinate analysis (PCA) of 12 local groups of Changbaishan *Apis cerana cerana* based on RAPD data

个采样点长白山中蜂样品各自具有相对稳定的基因组，可以代表各自采样点的所有中蜂；同时由 50 只中蜂组成的一个试验样本保证了各个采样点中蜂基因组池的稳定性（pool of 50 individuals<sup>[24]</sup>），这实际上就相当于在每个采样点周围采集了 50 个试验样本，因此各个采样点中蜂具有一致的遗传背景，可以作为内参比，见图 1。其它地区 7 个不同采样点中蜂基因组之间具有相似的多态性图谱和截然不同于 12 个采样点

长白山中蜂基因组的多样性图谱, 这表明: 这些采样点中蜂具有不同于长白山中蜂的基因组, 可以代表其采样点的中蜂, 具有不同于长白山中蜂的遗传背景, 可以作为外参比, 见图 2 和图 3。

12 个采样点长白山中蜂基因组分子标记相似系数值及其系统树状结构 (聚类分析) 提示: 这些长白山中蜂基因组之间存在多态性的同时聚集于不同的类群 (表 2, 图 4)。相似性系数值与系统树状结构之间的相关系数  $r$  (0.7874,  $P < 0.01$ , Mental 检测后的  $t$  检验) 以及主成分分析 PCA1 值为 30.5101% 时 12 个采样点中蜂明显聚集为 2 个类群, 这提示系统树状结构的可能和可信 (图 4, 图 5)。

总之, 不同长白山中蜂基因组内含有不同的 RAPD 位点, 这些等位的不同 RAPD 位点构成了基因组内不同的同源序列<sup>[25]</sup>, 这些保守的同源序列占据基因组不同长度的序列座位<sup>[26,27]</sup>, 即不同的亲缘关系<sup>[28]</sup>。因此, 这些不同长白山中蜂基因组 RAPD 分子多态性可以反映各地方样点之间的多态性规律<sup>[29,30]</sup>。

此外, 700 (bp) 条带在 10 个蜂基因组分子标记多态性图谱中同时出现, 这可能为长白山中蜂基因组所特有的 DNA 序列提供了线索, 本文对此不进行详细讨论。

## 4 结论

1104 号蜂、1005 号蜂、1081 号蜂、1065 号蜂、1086 号蜂和 1068 号蜂基因组多态性图谱同时具有 240、400、700 和 1 500 bp 条带, 相似系数值为 0.568, 可以聚集为一个地方类群 (Group1); 1083 号蜂、1097 号蜂、1033 号蜂、1024 号蜂、1123 号蜂、1129 号蜂基因组多态性图谱同时具有 240、400、600 和 1 200 bp 条带, 相似系数值为 0.586, 可以聚集为另一个地方类群 (Group2) 见图 4。因此, 长白山中蜂按照 RAPD 分子标记多态性规律可能分为两个地方类群。

**致谢:** 参加本研究部分实验工作的人员还有闫德斌, 牛庆生, 柏建民和常志光等。东北师范大学高巍博士和郭万里博士对数据分析给予了指导, 在此表示感谢。

## References

- [1] Proceedings of The American Bee Research Conference. *American Bee Journal*, 2004, 144: 407-408.
- [2] Waits L P, Luikart G, Taberlet P. Estimating the probability of identity among genotypes in natural populations: caution and guidelines. *Molecular Ecology*, 2001, 10: 249-256.
- [3] Jamieson A, Taylor C. Comparisons of three probability formulae for parentage testing. *Animal Genetics*, 1997, 28: 397-400.
- [4] Suazo A, Mctiernan R, Hall H G. Differences between African and European honey bees (*Apis mellifera*) in random amplified polymorphic DNA (RAPD). *Journal of Heredity*, 1998, 89: 32-36.
- [5] 蒋 滢, 沈伟华, 汪成富, 黄超群, 葛凤晨, 张大隆. 三品系西方蜜蜂基因组 DNA 多态性分析研究. *中国养蜂*, 2000, 51(1): 6-8. Jiang Y, Shen W H, Wang C F, Huang C Q, Ge F C, Zhang D L. Genomic DNA polymorphic analysis in 3 strains of western bee. *Apiculture of China*, 2000, 51 (1): 6-8. (in Chinese)
- [6] 蒋 滢, 沈伟华, 汪成富, 黄超群, 张大隆, 薛运波. 制备 K-700bp 探针与美意和平湖两品系西蜂 RAPD-PCR 扩增产物及它们基因组 DNA 分子杂交的研究. *中国养蜂*, 2000, 51(2):6-7. Jiang Y, Shen W H, Wang C F, Huang C Q, Zhang D L, Xue Y B. Study on probe K700 to hybridize with RCR product and genomic DNA in western bee of different honey production. *Apiculture of China*, 2001, 51 (2): 6-7. (in Chinese)
- [7] 张亚娟, 蒋 滢, 王蔚平, 葛凤晨, 汪成富, 张大隆. W-316bp 探针鉴定高、低产王浆西蜂 DNA 分子特异标记的研究. *中国养蜂*, 2001, 52(2): 6-8. Zhang Y J, Jiang Y, Wang W P, Ge F C, Wang C F, Zhang D L. Study on identifying the special marker of DNA in *Apis mellifera* of high or low royal jelly products with probe DIG-w361bp. *Apiculture of China*, 2001, 52 (2): 6-8. (in Chinese)
- [8] 张亚娟, 蒋 滢, 王蔚平, 汪成富, 葛凤晨, 张大隆. 高产王浆西蜂的 DNA 特异标记: W-316bp 片段的研究. *中国养蜂*, 2001, 52(3): 7-9. Zhang Y J, Jiang Y, Wang W P, Wang C F, Ge F C, Zhang D L. Study on a special marker-W316bp in *A.m.Lindauer* of high royal jelly products. *Apiculture of China*, 2001, 52 (3): 7-9. (in Chinese)
- [9] 张亚娟, 蒋 滢, 王蔚平, 葛凤晨, 汪成富, 张大隆. 地高辛标记 DNA 分子中 W-316bp 特异片段成探针的研究. *中国养蜂*, 2001, 52(4): 10-12. Zhang Y J, Jing Y, Wang W P, Wang C F, Ge C F, Zhang D L. Study on preparation of DNA probes (W316bp) marked with DIGOXIGENIN. *Apiculture of China*, 2001, 52 (4): 10-12. (in Chinese)
- [10] 王蔚平, 张亚娟, 蒋 滢, 张大隆, 葛凤晨. 长白山熊蜂与中西蜂的遗传学研究. *中国养蜂*, 2001, 52(5): 6-7. Wang W P, Zhang Y J, Jing Y, Wang C F, Zhang D L, Ge F C. Study on genetics of Changbaishan bumble-bee and Chinese-Western bees. *Apiculture of China*, 2001, 52 (5): 6-7. (in Chinese)
- [11] 王蔚平, 张亚娟, 蒋 滢, 张大隆, 葛凤晨. 中、西蜂纯种及其不同品系的基因组 DNA 多态性分析. *中国养蜂*, 2001, 52(4): 12-13. Wang W P, Zhang Y J, Jing Y, Zhang D L, Ge F C. Analysis of the

- genomic DNA polymorphism of different races in pure kind of Chinese bees and western bees. *Apiculture of China*, 2001, 52 (4): 12-13. (in Chinese)
- [12] 黄超群, 蒋 滢, 沈伟华, 葛凤晨. 不同品系西方蜜蜂基因组 DNA 多态性图谱构建及杂交分析. *中国养蜂*, 2002, 53(2): 6-8.  
Huang C Q, Jiang Y, Shen W H, Lan M Y, Ge F C, Construct polymorphic map of genomic DNA of different strains of west bee. *Apiculture of China*, 2002, 53 (2): 6-8. (in Chinese)
- [13] 董 霞, 张 炫, 史宪伟, 王建国, 陈永久, 张亚平. 东方蜜蜂 DNA 随机扩增多态性及其遗传分化研究. *中国养蜂*, 2002, 52(2): 9-10.  
Dong X, Zhang X, Shi X W, Wang J M, Chen Y J, Zhang Y P. Genetic divergences of *Apis cerana* from Yunnan of China and Malaysia were estimated by rapid analysis. *Apiculture of China*, 2002, 53 (2): 9-10. (in Chinese)
- [14] 谭 垦, 张 炫, 和绍禹, 周丹银. 云南东方蜜蜂形态特征数值分类的研究. *中国养蜂*, 2003, 54(3): 4-6.  
Tan K, Zhang X, He S Y, Zhou D Y. Morphometric and biogeography of Yunnan *Apis cerana*. *Apiculture of China*, 2003, 54 (3): 4-6. (in Chinese)
- [15] 孙亮先, 吉 挺, 周 斌. 以随机扩增多态性 DNA 技术筛选意大利蜜蜂重要农艺性状遗传标记. *中国养蜂*, 2003, 54(6): 6-8.  
Sun L X, Ji T, Zhou B. Screening Genetic markers of important agricultural traits of *Apis mellifera ligustica* by using random amplification of polymorphic DNA (RAPD). *Apiculture of China*, 2003, 54 (6): 6-8. (in Chinese)
- [16] 吴黎明, 彭文君, 吉 挺. 三个蜂种的 RAPD 标记比较研究. *中国养蜂*, 2005, 56(4): 8-9.  
Wu L M, Wu J, Peng W J. Study on comparing random amplification of polymorphic DNA(RAPD) markers among three strains of *Apis mellifera*. *Apiculture of China*, 2005, 56 (4): 8-9. (in Chinese)
- [17] 苏松坤, 陈盛禄. 蜜蜂遗传标记种类. *中国养蜂*, 2004, 55(2): 8-10.  
Su S K, Chen S L. A variety of different genetics markers in honey bee. *Apiculture of China*, 2004, 55 (2): 5-10. (in Chinese)
- [18] Greg J, Hunt and Robert E, Page J. Linkage map of the honey bee, *Apis mellifera*, based on RAPD markers. *Genetics*, 1995, 139: 1371-1382.
- [19] Jaccard P. Nouvelles recherches sur la distribution florale. *Bull Soc Vaud Sci Nat*, 1908, 44:223-270.
- [20] Rohlf F J. NTSYS-pc: Numerical taxonomy and multivariate analysis system, version 1.80. *Owner's manual*, Exter Software, New York, 1993.
- [21] Mantel N A. The detection of disease clustering and a generalized regression approach. *Cancer Res*, 1967, 27:209-220
- [22] Lanter S, Saba E, Cadium M, Mallica G M, Baghino L, Portis E. Amplified fragment length polymorphism for genetic diversity assessment in globe artichoke. *Theor Appl Genet*, 2004, 108:1534-1544.
- [23] Rohlf F J. NTSYS-pc, Numerical taxonomy and multivariate analysis system. Version 2.0. *Exeter Publications*, Setauket, New York, 1998.
- [24] Cervra M T, Ruiz-Garcia L, Martinez-Zapater J M. Analysis of DNA methylation in *Arabidopsis thaliana* based on methylation-sensitive AFLP markers. *Mol Genet Genomics*, 2002, 268: 543-552.
- [25] Ross K G , Dewayne D, Krieger M J B, Deheer C J, Keller L. Assessing genetic structure with multiple classes of molecular markers: a case study involving the introduced fire ant *Solenopsis invicta*. *Molecular Biology and Evolution*, 1999, 16: 525-543.
- [26] Negamine Y, Higuchi M. Genetic distance and classification of domestic animals using genetic markers. *Journal Animal Breed Genet*, 2001, 118:101-109.
- [27] Vos P, Hogers R, Bleeker M, Van de Lee T, Hornes M, Frijters A, Pot J, Peleman J, Kuiper M, Zabeau M. AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. *Nucleic Acids Research*, 1995, 23: 4407-4414.
- [28] Schwartz M, Tallmon D, Luikart G. Review of DNA based census and effective population size estimators. *Animal Conservation*, 1998, 1: 293-299.
- [29] Sergei V, Bahtiyor Y, Irina S, David W, Varda Z and Samuel M. Tests for adaptive RAPD variation in population genetic structure of wild barley, *Hordeum spontaneum* Koch. *Biological Journal of the Linnean Society*, 2001, 74: 289-303.
- [30] Robinson G E, Page R E. Genetic determination of guarding and undertaking in honey-bee colonies. *Nature*, 1998, 333: 356-358.

(责任编辑 王红艳)