

# 蜜蜂雄蜂研究进展

燕乐乐<sup>1</sup> 陈恒<sup>1</sup> 刘佳霖<sup>1</sup> 向光伟<sup>2</sup> 任勤<sup>1</sup> 罗文华<sup>1</sup>

(1 重庆市畜牧科学院, 荣昌 402460; 2 重庆市石柱土家族自治县农业农村委, 石柱 409100)

**摘要:** 雄蜂作为蜂群中唯一的父系种姓, 最主要的职能是为处女蜂王提供高质量的精子。而雄蜂作为体外储存精子的重要研究对象, 为了了解其有效的长期精子储存的机制, 首先必须了解雄蜂的基本发育过程及相关方面, 目前人们关于雄蜂的研究主要集中在形态学及生殖发育方面, 本综述主要详细介绍了目前雄蜂的相关研究, 以期对蜜蜂种质资源的保存与遗传提供见解。

**关键词:** 蜜蜂; 雄蜂; 生殖发育; 研究进展

## Research advances in honeybee drones

Yan Lele<sup>1</sup>, Chen Heng<sup>1</sup>, Liu Jialin<sup>1</sup>, Xiang Guangwei<sup>2</sup>, Ren Qin<sup>1</sup>, Luo Wenhua<sup>1</sup>

(1 Chongqing Academy of Animal Science, Rongchang 402460, China;

2 Chongqing Shizhu Tujia Autonomous County Agricultural and Rural Committee, Shizhu 409100, China)

**Abstract:** The most important function of drones is to provide high-quality sperm for the virgin queen bee, because they are the only paternal species in the bee colony. In order to understand the mechanism of effective long-term sperm storage in drones, which are important research subjects for in vitro sperm storage, it is necessary to first understand the basic developmental processes and related aspects of drones. The research on drones has mainly focused on morphology and reproductive development, and this review focuses on detailing the current research related to drones, with a view to providing insights into the conservation and genetics of honeybee germplasm resources.

**Key words:** honey bees; drones; reproductive development; research progress

蜜蜂是一种具有严格等级分化的群居类昆虫, 一直以来人们研究膜翅目的典型模式昆虫<sup>[1,2]</sup>。在全球蜜蜂的分布范围较广, 它主要是各类农作物的传花授粉昆虫, 在维持生态系统的平衡方面起到了至关重要的作用<sup>[3]</sup>。蜜蜂除了其自身独特的生态价值外, 在蜂产品方面还发挥着一定的经济价值, 纵观整个人类史, 驯化并饲养蜜蜂已经有几千年的历史了。蜂蜜、蜂王浆以及蜂胶等在医疗和保健品领域无处不在<sup>[4,5]</sup>。而蜜蜂在农作物传花授粉方面发挥的作用远远要大于这些。

### 1 雄蜂的重要性

在蜂群中存在三个等级分化: 雌性不育工蜂、雄蜂、雌性可育蜂王<sup>[6,7]</sup>, 其中两种雌性蜂都是由二倍体的受精卵发育而来, 而雄蜂是由单倍体的未受精卵

发育而来, 因此它们被作为探究单倍体和二倍体特征的典型模式昆虫<sup>[8]</sup>。处女蜂王通常只有一次婚飞交配的行为, 在这次婚飞过程中它会与多只雄蜂进行交配, 然后将这些从不同优质雄蜂获取的精液储存在受精囊中, 并在接下来的几天内产卵时让卵子受精<sup>[9,10]</sup>。一般来说, 一个蜂王寿命的长短通常取决于它的产卵能力, 当蜂群中的工蜂察觉现有蜂王的质量已经满足不了蜂群的健康发展时, 便会主动搭造自然王台, 直至孵育出房, 而年老的蜂王会带一部分工蜂进行外出飞逃, 也就是我们所说的“分蜂”中的一种。有研究报道, 在人为管理和自然环境下, 处女蜂王会与大约 12~20 只性成熟雄蜂进行交配<sup>[11-13]</sup>, 而且与少量雄蜂进行交配所繁殖的蜂群要比与多只雄蜂交配所繁殖的蜂群对恶劣环境以及病虫害的抵抗能力弱很多<sup>[14-16]</sup>。因此,

基金项目: 高产卵力中蜂良种选育及饲养管理技术研究(22539C-23); 优良中蜂新品系选育及关键技术研究(21229)

作者简介: 燕乐乐(1998-), 男, 研究实习员, 硕士, 主要从事蜜蜂遗传育种与肠道微生物研究, E-mail: yll19990605@163.com

通讯作者: 罗文华(1966-), 男, 研究员, 主要从事蜜蜂科学研究, E-mail: 270918628@qq.com

蜂群的没落一方面取决于蜂王的生殖健康力，但更大程度上取决于雄蜂。

## 2 雄蜂的生殖发育概况

雄蜂作为蜂群中的唯一雄性个体，它的一生主要经历这三个阶段：首先经过卵期、幼虫期以及蛹期的发育，最终羽化出房；然后羽化成虫后经过为期10~20天的发育成熟，在婚飞过程中通过不断竞争，与处女蜂王进行交配，提供优质精液；最终交配后死亡<sup>[17]</sup>。而雄蜂最主要的作用体现在交配过程中，交配能力以及授精能力成为衡量雄蜂生殖潜能高低的重要指标<sup>[18]</sup>。由于雄蜂的主要职责是与交配、繁殖相关的，在关于雄蜂生殖发育方面主要是围绕生殖质量和能力开展的，因此目前人们研究重点主要体现在两个方面：雄蜂生殖发育以及影响雄蜂发育的因素。首先在西方蜜蜂中，研究人员发现体型大小成为婚飞过程能否成功交配的决定性因素，而且交配蜂王所产雄蜂在各方面都要比工蜂所产小雄蜂占优势，小雄蜂可能是作为蜂群中备用的父系种姓<sup>[19]</sup>。Lago D C等人提出了一个关于雄蜂胚胎后睾丸发育和精子发生的组织学图谱<sup>[20, 21]</sup>。在1d幼虫中我们可以发现，组成睾丸的细胞就明显被区分出来。通过精原细胞的有丝分裂，睾丸沿着顶端-基部轴生长，最终形成生殖细胞簇。减数分裂在所有的雄蜂幼虫都已完成封盖成蛹时出现，并在雄蜂红眼蛹时期出现精子细胞时结束。经历幼虫期和蛹期的不断发育，在雄蜂羽化成虫前，所有的精子细胞都已经形成。最终在羽化成虫后的3~8d从睾丸转移至精囊中，并最终在精囊中发育成熟。研究者还首次鉴定了雄蜂幼虫中激素水平，为未来研究雄蜂的性腺组织发育提供了参考。雄蜂的粘液腺是一种特殊的雄性附属腺，共分为三个部分<sup>[22]</sup>：腔体、腺体上皮以及肌肉层。随着雄蜂日龄的不断增长，粘液腺的端部和基部都在不停的变化，端部变得越来越膨大，管腔直径变大，上皮细胞的分泌细胞在雄蜂性成熟过程中活性不断地提高，大约在6d左右管腔内充满白色内容物，并且粘液腺不同于其他腺体，它是由中胚层分化发育而来的。

在Metz, B. N.等人的研究中，首次对西方蜜蜂雄蜂的整个发育历程进行了探究；在整个发育历程中各项形态以及生殖指标呈现动态变化：体重逐渐下降，胸部宽度、粘液腺长度、头部宽度等指标在经历前期快速发育后会维持在一个稳定变化水平。除了自身生殖发育特点，不同的环境条件也会影响到雄蜂的个体发育。不同的巢房大小以及母本的不同都会导致雄蜂

个体间的生殖差异：2005年Gençer H V等人首先对蜂王和工蜂在雄蜂巢脾上产的雄蜂的生殖发育进行了比较<sup>[23]</sup>，在体重、粘液腺重量、头部宽度、精子数量以及其他指标上蜂王产的雄蜂都要占据优势，具有显著性差异；而随后又将工蜂在工蜂巢脾和雄蜂巢脾上产的雄蜂进行了对比，雄蜂巢脾出房的雄蜂在各项指标上远比工蜂巢脾上高出许多。研究人员也第一次将蜂群中这三种雄蜂个体根据体型的不同定义为“大中小”三种雄蜂。同样Liu Y B等人2021年对雄蜂在不同发育环境下的生殖发育差异进行了比较<sup>[24]</sup>，结果显示传统培育蜂王的王台以及工蜂巢房都会延缓雄蜂发育，所羽化的雄蜂都比正常雄蜂房羽化出房的雄蜂要小很多，而且在各种生殖系统方面都有所欠缺。研究表明雌性发育环境（比如营养和细胞巢房的大小）会对雄性个体发育有着重大影响，这为人们理解环境因素对社会昆虫性别分化的调节提供一个值得参考的模型。

燕乐乐等人也对中华蜜蜂蜂群中的三种雄蜂进行了研究<sup>[25]</sup>，这些雄蜂来自不同的母体，包括交配的蜂王、处女蜂王和工蜂，并在体外探讨了精囊代谢物的生物学功能。结果表明中华蜜蜂三种雄蜂在生殖发育阶段存在显著差异，其中交配蜂王所产雄蜂相较于其他两种雄蜂在形态学以及生殖腺相关指标上占据优势。

## 3 雄蜂精子活力概况

雄蜂一生中最重要的职能是在交配过程为处女蜂王提供优质的精液，通常蜂王受精囊中精液是多只雄蜂的混合精液<sup>[26]</sup>，这些雄蜂通过不断竞争才与处女蜂王进行交配，精液中含有它们各自优良的遗传基因，通过在蜂王受精囊中混合，基因的多样性得到了丰富，提高了蜂王的生殖健康，也增强了蜂群抵抗外界恶劣环境和病虫害的能力<sup>[27, 28]</sup>。因此雄蜂精液的质量对蜂王的生殖健康，以及蜂群的稳定发展显得十分重要。雄蜂精子活力受到多方面的影响，随着雄蜂日龄的增加，精液的颜色加深，也变得更加粘稠<sup>[29-32]</sup>。不同蜂群结构中的精子数量及活力存在差异，Gençer H V等人在2005年对西方蜜蜂中蜂王所产的雄蜂和工蜂所产的小雄蜂的精囊中的精子数量进行了探究<sup>[33]</sup>，结果发现蜂王所产雄蜂精囊中的精子数量远远大于小雄蜂，具有显著性差异；在2009年有研究对有无蜂王存在的蜂群中雄蜂个体进行了探究<sup>[34]</sup>，发现两者在体型、精子数量以及个体缺陷率存在显著差异，再一次证实了工蜂小雄蜂的生殖劣势，这也使得人们对不同

雄蜂间的生殖差异有了深刻的认识。紧接着在2019年,研究通过对西方蜜蜂蜂王所产雄蜂生殖发育过程中精子活力变化的测定,精子数量和活力在整个发育过程中呈现动态变化过程,并且存在峰值,大约在20d左右,在14d和21d测得的精子活力远比35d的高。此外,衰老会影响雄蜂精子的活力,14d的雄蜂精子活力下降到86%,20d的降低到81%<sup>[35]</sup>。而针对中华蜜蜂雄蜂精子活力的研究也表明雄蜂4d后出现精子,18d左右达到峰值,此后逐渐衰减<sup>[25]</sup>。这些研究更加清晰的介绍了雄蜂精子活力的变化周期,为人们在遗传育种工作中中性成熟雄蜂的选用以及培育提供了参考价值。

#### 4 精液储存现状

随着人工育种技术的日趋完善,一些问题也伴随出现:种用雄蜂受季节限制性较大,通常只有在早春或者秋季才能大量获得,这无形中增加了育种的难度;雄蜂活体运输成本高,在某些偏远地区进行育种必须将雄蜂进行长距离运输,而运输过程中雄蜂个体往往因为外界环境变化以及自身的不适应性而导致高的死亡率,再加上运输过程中各种病毒、细菌的感染,使得雄蜂的精液质量普遍不高,甚至影响授精后蜂王的生殖健康<sup>[35]</sup>。

在这些困难叠加下,人们开始摸索体外储存精液的有效途径,随着精液保存技术的不断发展,目前人们对精液的保存主要分为两个方面:保存条件和保存方法<sup>[36]</sup>。保存条件根据时间长短又分为短期和长期,短期内保存只涉及到常温、4℃等非冷冻保存;长期保存主要集中在-20℃、-80℃以及液氮等低温冷冻保存。保存方法是在保存的时间长短基础上,在体外进行精液保存时添加稀释缓冲液和其他生物活性物质,目前常用的稀释缓冲液有改良基辅溶液、林格氏溶液、杰格氏溶液、洛克溶液以及改良生理盐水等,这些缓冲液的目的都是在体外提供一个相对温和的生存环境,尽可能的模拟体内的生理环境和pH值。人们在低温冷冻保存时还会加入二甲亚砜(DMSO),这是一种细胞培养及保存常用冷冻保护剂<sup>[37]</sup>,但在精液保存过程中会对精子活力产生一定的损害,甚至在人工授精时对蜂王健康产生影响。目前在精液保存中常见的主要保护剂有乙二醇、甘油以及1,2丙二醇等<sup>[38,39]</sup>。

而在人工授精时,这些物质必须进行离心去除,使整个精液保存以及后续的人工授精过程变得更加繁琐,对精子活力还会造成一定的损伤。因此在精液体

外保存过程中寻找生物保护效果较好且对精子活力损伤较小的物质显得尤为重要。2023年燕乐乐等人通过对雄蜂精囊的代谢组学分析表明代谢物的种类大致分为酯类、酸类、烃类、醇类、酚类以及其他共六大类,其中酯类占比最高,代谢物贯穿存在于四个不同的发育阶段,分别为:丙烯酸十二烷基酯、棕榈酸、2,2'-亚甲基双-(4-甲基-6-叔丁基苯酚)和角鲨烯。角鲨烯在这四种物质中在不同发育阶段含量变化最为明显,并且在体外也验证了其对精子活力的保护效果。这项研究结果有利于我们对精囊代谢物对精子活力保护功能的进一步了解,也对人工授精过程中精液保存提供了参考价值,有助于蜜蜂种质资源的遗传和保存,也是对蜜蜂种质资源的保存和遗传的一个巨大推力,具有十分重要的实践经济价值。

#### 5 小结

雄蜂的生殖发育关系着蜂王的生殖健康,乃至整个蜂群的稳定。从雄蜂形态学、生殖腺到精子活力的相关研究,为体外精液储存、冷冻保护剂的研发以及人工授精工作带来了巨大的推动力,具有广阔的研究前景和产业价值。今后雄蜂相关研究将朝着多元化方向发展,促进整个养蜂业的可持续发展。

#### 参考文献

- [1] Kohno H, Kubo T. Genetics in the honey bee: Achievements and prospects toward the functional analysis of molecular and neural mechanisms underlying social behaviors [J]. *Insects*, 2019, 10(10): 348.
- [2] Malka Osnat, Niño E L, Grozinger C M, et al. Genomic analysis of the interactions between social environment and social communication systems in honey bees (*Apis mellifera*) [J]. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 2014, 47: 36-45.
- [3] Klein A-M, Vaissière B E, Cane J H, et al. Importance of pollinators in changing landscapes for world crops [J]. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 2007, 274(1608): 303-313.
- [4] 郑火青, 胡福良. 蜜蜂——新兴的模式生物 [J]. *昆虫学报*, 2009, 52(2): 210-215.
- [5] 张中印. 高效养蜂 [M]. 机械工业出版社, 2014.
- [6] Palmer K A, Oldroyd B P. Evolution of multiple mating in the genus *Apis* [J]. *Apidologie*, 2000, 31(2): 235-248.
- [7] Woyke J. Multiple mating of the honeybee queen (*Apis mellifera* L.) in one nuptial flight [J]. *Bull Acad Polon Sci Cl*, 1955, 3: 175-180.
- [8] Woyke J. Anatomico-physiological changes in queen-bees returning from mating flights, and the process of multiple mating [J]. *Bull Acad Polon Sci*, 1956, 4: 81-87.
- [9] Tarpy D R, Keller J J, Caren J R, et al. Assessing the mating 'health' of commercial honey bee queens [J]. *Journal of Economic*

Entomology, 2012, 105(1): 20-25.

- [10] Tarpy D, Nielsen R, Nielsen D. A scientific note on the revised estimates of effective paternity frequency in *Apis* [J]. *Insectes Sociaux*, 2004, 51: 203-204.
- [11] Tarpy D R, Delaney D A, Seeley T D. Mating frequencies of honey bee queens (*Apis mellifera* L.) in a population of feral colonies in the northeastern United States [J]. *PLoS One*, 2015, 10(3): e0118734.
- [12] Mattila H R, Seeley T D. Genetic diversity in honey bee colonies enhances productivity and fitness [J]. *Science*, 2007, 317(5836): 362-364.
- [13] Simone-Finstrom M, Walz M, Tarpy D R. Genetic diversity confers colony-level benefits due to individual immunity [J]. *Biology Letters*, 2016, 12(3): 20151007.
- [14] Kairo G, Provost B, Tchamitchian S, et al. Drone exposure to the systemic insecticide Fipronil indirectly impairs queen reproductive potential [J]. *Scientific Reports*, 2016, 6(1): 1-12.
- [15] Stürup M, Baer-Imhoof B, Nash D R, et al. When every sperm counts: factors affecting male fertility in the honeybee *Apis mellifera* [J]. *Behavioral Ecology*, 2013, 24(5): 1192-1198.
- [16] Plate M, Bernstein R, Hoppe A, et al. The importance of controlled mating in honeybee breeding [J]. *Genetics Selection Evolution*, 2019, 51(1): 1-14.
- [17] Berg S, Koeniger N, Koeniger G, et al. Body size and reproductive success of drones (*Apis mellifera* L.) [J]. *Apidologie*, 1997, 28(6): 449-460.
- [18] Lago D C, Martins J R, Dallacqua R P, et al. Testis development and spermatogenesis in drones of the honey bee, *Apis mellifera* L. [J]. *Apidologie*, 2020, 51: 935-955.
- [19] Klein C D, Kozii I V, Wood S C, et al. Testicular changes of honey bee drones, *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae), during sexual maturation [J]. *Journal of Insect Science*, 2021, 21(6): 3.
- [20] Moors L, Spaas O, Koeniger G, et al. Morphological and ultrastructural changes in the mucus glands of *Apis mellifera* drones during pupal development and sexual maturation [J]. *Apidologie*, 2005, 36(2): 245-254.
- [21] Gençer H V, Firatlı Ç. Reproductive and morphological comparisons of drones reared in queenright and laying worker colonies [J]. *Journal of Apicultural Research*, 2005, 44(4): 163-167.
- [22] Liu Y B, Yi Y, Abdelmawla A, et al. Female developmental environment delays development of male honeybee (*Apis mellifera*) [J]. *BMC genomics*, 2021, 22(1): 1-12.
- [23] Metz B N, Tarpy D R. Reproductive senescence in drones of the honey bee (*Apis mellifera*) [J]. *Insects*, 2019, 10(1): 11.
- [24] Tarpy D R, Page J, Robert E. No behavioral control over mating frequency in queen honey bees (*Apis mellifera* L.): implications for the evolution of extreme polyandry [J]. *The American Naturalist*, 2000, 155(6): 820-827.
- [25] Yan L, Song H, Tang X, et al. Spermatophore development in drones indicates the metabolite support for sperm storage in honey bees (*Apis cerana*) [J]. *Frontiers in Physiology*, 2023, 14: 1107660.
- [26] Rangel J, Fisher A. Factors affecting the reproductive health of honey bee (*Apis mellifera*) drones-A review [J]. *Apidologie*, 2019, 50(6): 759-778.
- [27] Rousseau A, Giovenazzo P. Optimizing drone fertility with spring nutritional supplements to honey bee (Hymenoptera: Apidae) colonies [J]. *Journal of Economic Entomology*, 2016, 109(3): 1009-1014.
- [28] Woyke J, Jasinski Z. Influence of age of drones on the results of instrumental insemination of honeybee queens [J]. *Apidologie*, 1978, 9(3): 203-212.
- [29] Cobey S W. Comparison studies of instrumentally inseminated and naturally mated honey bee queens and factors affecting their performance [J]. *Apidologie*, 2007, 38(4): 390-410.
- [30] Czekońska K, Chuda-Mickiewicz B, Chorbiński P. The influence of honey bee (*Apis mellifera*) drone age on volume of semen and viability of spermatozoa [J]. *Journal of Apicultural Science*, 2013, 57(1): 61-66.
- [31] Zaitoun S, AL-MAJEED AL-GHZAWI A, Kridli R. Monthly changes in various drone characteristics of *Apis mellifera ligustica* and *Apis mellifera syriaca* [J]. *Entomological Science*, 2009, 12(2): 208-214.
- [32] Paillard M, Rousseau A, Giovenazzo P, et al. Preservation of domesticated honey bee (Hymenoptera: Apidae) drone semen [J]. *Journal of Economic Entomology*, 2017, 110(4): 1412-1418.
- [33] 庄明亮, 李剑飞, 李志勇, 等. 一种超低温冷冻蜜蜂精液方法的研究 [J]. *特产研究*, 2021, 43(06): 129-131, 140.
- [34] Bailey J, Morrier A, Cormier N. Semen cryopreservation: Successes and persistent problems in farm species [J]. *Canadian Journal of Animal Science*, 2003, 83(3): 393-401.
- [35] Champion C, Rajamohan A, Rinehart J P. Cryopreservation of seminal vesicle derived spermatozoa from *Bombus impatiens* and *Apis mellifera*—Implications for artificial insemination of bumble bees [J]. *Cryobiology*, 2021, 102: 136-139.
- [36] 马政禹. 稀释液中添加蜂王浆对绵羊精液低温保存效果的影响 [D]. 山西: 山西农业大学, 2020: 51-70.
- [37] Sieme H, Oldenhof H, Wolkers W F. Mode of action of cryoprotectants for sperm preservation [J]. *Animal Reproduction Science*, 2016, 169: 2-5.
- [38] Prado A, Brunet J-L, Peruzzi M, et al. Warmer winters are associated with lower levels of the cryoprotectant glycerol, a slower decrease in vitellogenin expression and reduced virus infections in winter honeybees [J]. *Journal of Insect Physiology*, 2022, 136: 104348.
- [39] Jie T, Rahman M, Pitchayapipatkul J, et al. Viability of bovine opu-derived oocytes to honeybee as cryoprotectant; proceedings of the IOP Conference Series: Earth and Environmental Science, F, 2021 [C]. IOP Publishing