

## 意蜂多王群的生物學特性研究

胡福良<sup>1\*</sup>，鄭火青<sup>1</sup>，金水華<sup>2</sup>，R Hepburn<sup>3</sup>，C W Pirk<sup>4</sup>

<sup>1</sup>浙江大學特種經濟動物科學系，杭州 310029

<sup>2</sup>浙江省平湖市種蜂場，平湖 314200

<sup>3</sup>Department of Zoology & Entomology, Rhodes University, Grahamstown 6140, South Africa

<sup>4</sup>Department of Zoology & Entomology, University of Pretoria, Pretoria, 0002, South Africa

### 摘 要

多王群是指人工組建的擁有 3 只或 3 只以上產卵王的蜂群。我們採用生物誘導與環境誘導相結合的方法，成功組建了多隻蜂王長期在同一產卵區內自由活動、正常產卵的多王群。我們對意蜂多王群的組建初期蜂王間關係、蜂王信息素、蜂王產卵特性等生物學特性進行了觀察和研究。結果表明，組建前的生物誘導處理能顯著影響蜂王的打鬥行爲，處理後蜂王在多次相鄰的情況下都未發生打鬥行爲；多王群蜂王上顎腺和背板腺分泌物與單王群蜂王相比，沒有顯著差異；同時，根據多王在人工和自然條件下的產卵分布圖，我們對多王群多王產卵時的產卵衝突解決機制提出了假設。

**關鍵詞：**多王群、生物學特性、生物誘導、打鬥行爲、信息素、產卵衝突。

蜜蜂 (*Apis*) 是一種社會性昆蟲，它們是以蜂群的形式生存和發展的。蜂王是蜂群中唯一生殖器官發育完全的雌性蜂，其主要職能是產卵。蜂王通過其產卵力和分泌信息素直接影響蜂群的生殖力和生產力。蜂王性好妒，敵視別的蜂王，不能容忍蜂群內有其他蜂王存在，如果 2 只以上

\*論文聯繫人  
flhu@zju.edu.cn

的蜂王相遇，則互相咬殺，直到剩下一隻蜂王 (Darchen & Lensky, 1962, 1963; Lensky & Darchen, 1963)。所以，除了蜂群自然交替外，一個蜂群中只有一隻蜂王 (Ribbands, 1953)。

在養蜂生產中，爲了提高蜂群繁殖速度，培養和維持強群，需要提高王蜂指數（單位工蜂中的蜂王數量）<sup>[5]</sup>。但由於在自然狀態下，同一蜂巢內不能長期存在兩隻健壯蜂王，生產上只能通過隔板或隔王板將蜂箱分隔成蜂王不能互相通過的兩區進行飼養（雙王群飼養）。那麼，能否通過人爲的辦法將 2 只以上的蜂王飼養在同一群內呢？我們在總結前人研究成果的基礎上，經過多年反復試驗和不斷探索，採用生物誘導與環境誘導相結合的技術方法，人工組成 4 至 6 只（最多 11 只）蜂王長期在同一產卵區自由活動、正常產卵的多王群，並創下了多王同巢越冬的成功先例 (Hu *et al.*, 2005)。本文對意大利蜂 (*Apis mellifera ligustica*) 多王群的一些生物學特性進行了研究，爲探明多王群的組建機理及多王群在養蜂生產中的應用提供理論基礎。

## 1 材料與方法

### 1.1 生物誘導對蜂王打鬥行爲的影響試驗

準備經生物誘導處理的產卵正常的意大利蜂王 9 只，隨機分成 3 組，組內蜂王貼上不同顏色的標籤。同時準備未經處理的產卵正常的意大利蜂王 9 只，隨機分成 3 組，作爲對照。每組蜂王配以 2000 只左右的 1 日齡工蜂，放入置有一張空脾和一張蜜粉脾的觀察箱內，組成三王群。觀察箱兩面使用有機玻璃，並用網格綫將每面分成 7×12 格，以便觀察時給各蜂王定位。

觀察記錄方法：從蜂王放入觀察箱開始，每小時記錄 1 次，每次 10 min，每分鐘記錄 1 次各蜂王的位置（以每分鐘第一眼見到蜂王的位置爲准），每天記錄 8 h（第 1 天除外），連續記錄 5 d。一旦蜂王間發生打鬥，立即開始記錄該群蜂王的位置和各自的顏色，每分鐘記錄 1 次，直到打鬥結束。

統計分析方法：統計同組蜂王相鄰（兩隻蜂王同時處於相鄰或相同區域）的次數和各蜂王打鬥的次數。如果兩隻蜂王在未發生打鬥的情況下連續 N 分鐘處於某個相鄰或相同的區域，定義這兩隻蜂王 N 次相鄰；一旦兩隻蜂王開始打鬥，直至打鬥結束，定義這兩隻蜂王只有一次相鄰和一次打鬥。

### 1.2 多王群蜂王信息素的研究

取 3 個單王群和 3 個三王群的蜂王頭部于 200  $\mu\text{l}$  二氯甲烷中萃取。萃取液用氮氣吹幹，揮幹物用 20  $\mu\text{l}$  二氯甲烷和 2-三甲基矽三氟乙酰胺重新溶解，同時將內標物辛酸和十四烷溶解其中。

分析方法：HP5890 氣相色譜儀，分析柱：外面包被有熔融石英的甲基矽樹脂柱（25 m $\times$ 0.32 mm），載氣：He，載氣流速：1ml/min，進樣模式：不分流進樣，進樣量：1  $\mu\text{l}$ ，升溫程序：初始溫度 60 $^{\circ}\text{C}$ ，維持 1 min，然後以 5 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$  的速率加熱到 100 $^{\circ}\text{C}$ ，接著以 3 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$  的速率升到 220 $^{\circ}\text{C}$ 。最終溫度維持 10 min。將上顎腺中的混合物的保留時間和內標物的保留時間進行比較。根據積分峰面積和相對十四烷的比例計算 4 種“蜂王物質”：對-羥基苯甲酸甲酯（HOB）、反式 9-氧代-2-癸烯酸（9-ODA）、4-羥基-3-甲氧苯乙醇（HVA）、反式 9-羥基-2-癸烯酸（9-HDA）；2 種工蜂物質：反式 10-羥基-2-癸烯酸（10-HDA）、10-羥基癸酸（10-HDAA）的含量。

取背部 II-V 用 500  $\mu\text{l}$  二氯甲烷萃取，用于分析背板腺信息素相對含量。提取物用氮氣吹幹濃縮至體積為 5  $\mu\text{l}$ 。取 1  $\mu\text{l}$  用正己烷稀釋後進樣。升溫程序為：40 到 300 $^{\circ}\text{C}$  的範圍內以 6 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$  的速度升溫。

### 1.3 多王群蜂王產卵特性的研究

#### 1.3.1 觀察箱內多王群產卵分布試驗

準備產卵正常的 3 個三王群（群勢為 5 足框左右）、3 個觀察箱（同前）和 3 張空巢脾（無蜜粉）。在蜂王背部貼上顯眼的標籤。將空巢脾放入多王群蜂箱內，數分鐘後，有足夠的工蜂附上，將帶有足夠工蜂的空巢脾連同蜂王放入觀察箱內，並立即開始觀察。用 3 種相應顏色的記號筆連續 24 h 分別描出 3 個蜂王產卵的位置。

#### 1.3.2 自然狀態下多王群產卵結果分布試驗

準備單王群和三王群各 3 群（均有 5 足框蜂），標號，挑選 8 張空巢脾（無蜜粉），換出原群中的 1 張子脾，用隔板將蜂王限定于空脾上產卵；取出卵脾，分別放入 8 個繼箱群的繼箱中孵化；幼蟲完全封蓋後，取出子脾拍照，觀察子圈形狀及分布。

本實驗重複兩次，第一次在 2005 年 10 月 18 日上午 8 時放入空脾，19 日下午 5 時取出卵脾，27 日下午拍照；第二次在 21 日傍晚 5 時放入空脾，23 日上午 8 時取出卵脾，30 日下午拍照。

#### 1.3.3 自然狀態下多王群產卵初期分布試驗

實驗蜂群仍然使用 1.3.2 試驗的 3 個單王群和 3 個三王群，另準備空巢脾 12 張，與巢脾一樣大小的塑膠紙 40 張；在每個實驗群中放入一張空脾（第一批）（7:00AM），用隔板將蜂王限定于實驗脾上，2h 後取出實驗脾，將塑膠紙固定于巢脾之上，仔細觀察各巢房，用紅色水筆在產有卵的相應位置描點；描點結束後（9:30AM）將實驗脾再次放入相應的實驗群，并同前將蜂王限定于其上產卵，2h 後（11:30AM）取出，用藍色水筆在產有卵的相應位置描點；在每個試驗群中放入一張空脾（第二批）（11:30AM），產卵 4h 後，將實驗脾取出，用紅色水筆在產有卵的相應位置描點。

## 2 結果

### 2.1 生物誘導對蜂王打鬥行爲的影響

試驗組、對照組蜂王相鄰次數和蜂王打鬥次數統計結果，分別見表 1 和表 2。金色的

表 1. 試驗組蜂王相鄰次數和蜂王打鬥次數

Table 1. The times of queens were observed in the same grid square or neighbouring square and fight times in colonies with manipulated queens

Date	No. 1 colony			No. 2 colony			No. 3 colony		
	Unmarked queen vs golden queen	Unmarked queen vs blue queen	Golden queen vs blue queen	Red queen vs blue queen	Red queen vs yellow queen	Blue queen vs yellow queen	White queen vs green queen	White queen vs red queen	Green queen vs Red queen
May 7	4(0)	11(0)	5(0)	0(0)	0(0)	12(0)	9(0)	0(0)	38(0)
May 8	Golden queen killed	12(0)	Blue queen killed	36(0)	46(0)	22(0)	27(0)	30(0)	24(0)
May 9	/	19(0)	/	0(0)	0(0)	16(0)	0(0)	0(0)	65(0)
May 10	/	Unmarked queen killed	/	5(0)	4(0)	2(0)	0(0)	0(0)	36(0)
May 11	/	/	/	14(0)	17(0)	0(0)	0(0)	42(0)	0(0)
Total	4(0)	42(0)	5(0)	55(0)	67(0)	52(0)	36(0)	72(0)	163(0)

表 2. 對照組蜂王相鄰次數和蜂王打鬥次數

Table 2. The times of queens were observed in the same grid square or neighbouring square and fight times in colonies with un-manipulated queens

Date	N0.4 colony			No.5 colony			No.6 colony		
	Orange queen vs white queen	Orange queen vs red queen	White queen vs red queen	Green queen vs yellow queen	Green queen vs red queen	Yellow queen vs red queen	White queen vs green queen	White queen vs red queen	Green queen vs red queen
May 7	3(1)	0(0)	*	7(1)	1(0)	8(4)	5(1)	0	5(2)
May 8	Orange queen killed	/	White queen killed	Green queen killed	/	Yellow queen killed	White queen killed	/	Green queen killed
May 9	/	/		/	/	/	/	/	/
May 10	/	/		/	/	/	/	/	/
May 11	/	/		/	/	/	/	/	/

注：括號外數字表示兩隻蜂王處於相鄰或相同區域的次數，括號內數字表示兩隻蜂王打鬥的次數。  
 \* 4 號群的白王和紅王在任一次相遇時都要打鬥，而且在很長一段時間內都一直處於打鬥的狀態，因此未記錄數據。

## 2.2 多王群蜂王的信息素

蜂王上顎腺分泌物含量和背板腺分泌物相對含量測定結果，分別見圖 1 和圖 2。

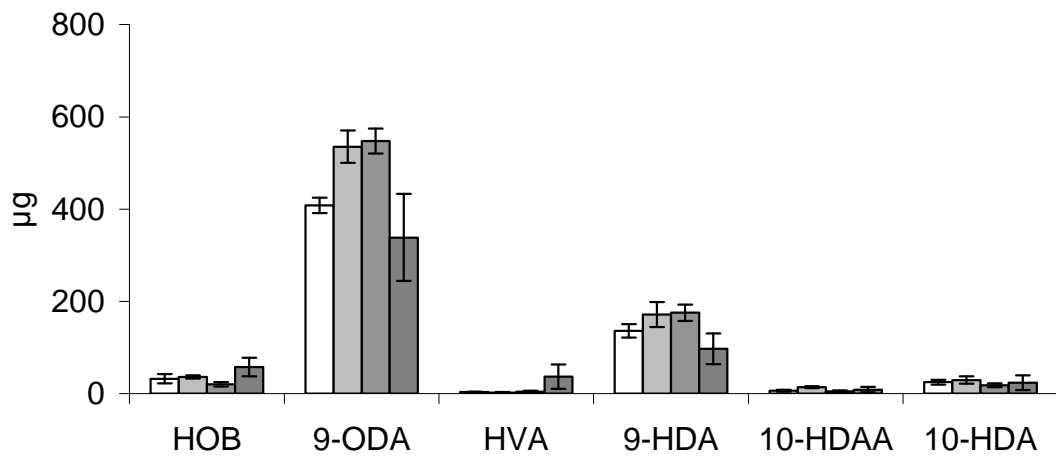


圖 1 單王（白色）和多王群蜂王（灰色）上顎腺分泌物含量（3 只蜂王的  $\bar{x} \pm SD$ ）。

Fig 1 Quantity of mandibular gland substances produced by queens in single queen (white bar) and

multiple-queen colonies (grey bars). Bars represent the mean $\pm$ SD peak areas for 3 individuals.

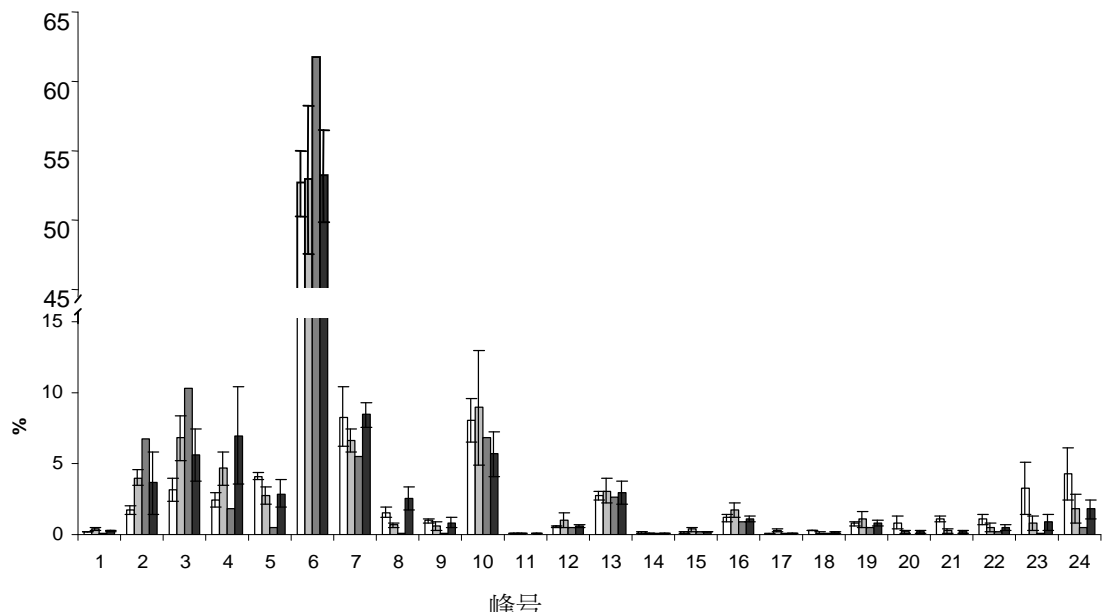


圖 2 單王 (白色) 和多王群蜂王 (灰色) 背板腺分泌物的相對含量 (3 只蜂王的  $\bar{x} \pm SD$ )。其中，多王群 2 號中只有 1 只王的數據。

Fig 2 Relative proportions of tergal gland products extracted from queens reared in single queen (white bar) and in multiple-queen colonies (grey bars). Bars represent the mean $\pm$ SD peak areas for 3 individuals, with the exception of polygynous colony 2 for which extract of only 1 queen was successfully analyzed.

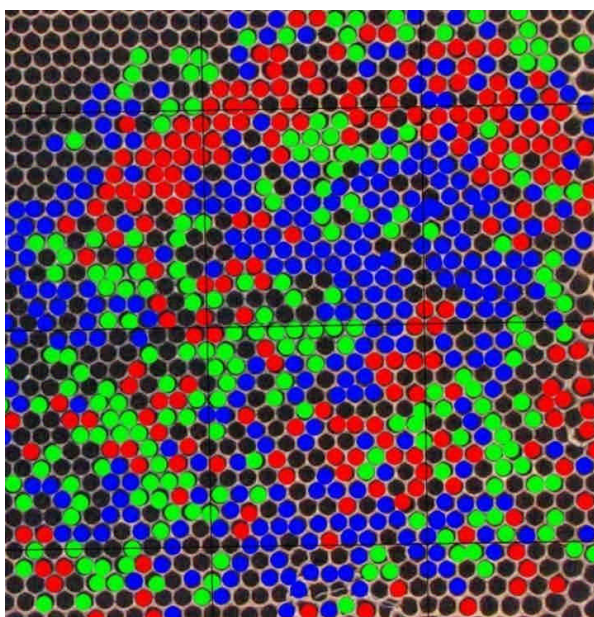
1: hexadecenoic acid (methyl ester), 2: hexadecanoic acid (methyl ester), 3: hexadecanoic acid, 4: octadecenoic acid (methyl ester), 5: octadecanoic acid (methyl ester), 6: 9-octadecenoic acid, 7: octadecanoic acid, 8: decyl decanoate, 9: tricosene, 10: tricosane, 11: decyl dodecanoate, 12: pentacosene, 13: pentacosane, 14: decyl tetradecanoate, 15: heptacosene, 16: heptacosane, 17-19: unidentified peaks, 20: nonacosene, 21: nonacosane, 22: unidentified peak, 23: hentriacontene, 24: hentriacontane.

使用 MANOVA 和 ANOVA 方法檢驗單王群和多王群間的信息素各成分含量差異。結果顯示，三王群和單王群蜂王的上顎腺產物之間無顯著性差異。(ANOVA: HOB ( $P=0.33$ ), 9-ODA ( $P=0.13$ ), HVA ( $P=0.39$ ), 9-HDA ( $P=0.26$ ), 10-HDAA ( $P=0.47$ ), 10-HAD ( $P=0.76$ ); MANOVA: Wilks' lambda=0.055,  $P=0.61$ )。單王群和多王群蜂王的背板腺產物的相對比例也沒有顯著性差異。

## 2.3 多王群蜂王產卵特性

### 2.3.1 觀察箱內多王群產卵分布

三王群觀察箱內蜂王產卵分布情況(局部)如下圖所示(巢房顏色與產卵蜂王的顏色對應)。



從產卵圖可以推測，多王群內多王產卵不存在各自明顯的區域，三王相互滲透產卵，無各自的產卵圈子。可以肯定的是，多王群多王在觀察箱內產卵時不存在明顯的各自獨立的區域。

### 2.3.2 自然狀態下多王群產卵結果分布

綜合比較多王群和單王群的封蓋子脾，除前者產卵效率高之外，兩者不存在明顯的區別，均只有一個子圈。從多王群子脾最終封蓋情況來看，基本可以肯定在自然狀態下最終的產卵分布上多王群各王不存在各自的產卵區域，子圈更有可能由多王共同產卵形成。

### 2.3.3 自然狀態下多王群產卵初期分布

(1) 通過觀察第一批產卵脾(連續兩次 2 h 產卵),可以發現多王群蜂王在產卵初期有如下特點:◎ 3 個單王群蜂王均只在巢脾一面產卵,而 3 個三王群在巢脾兩面都產有卵。單王群蜂王產卵相對集中,而三王群蜂王產卵則相對分散;◎在第二次放入巢脾後,無論是單王群還是三王群,蜂王都會延續之前的產卵軌迹,繼續產卵。但多王群內蜂王是否是延續各自之前的產卵軌迹繼續產卵,還不得而知。

(2) 觀察第二批巢脾(連續產卵 4 h),可以發現:如同第一批卵脾,單王群蜂王產卵相對集中,多王群蜂王產卵相對分散,但多王群的產卵區似乎有幾個相對集中的產卵區。

## 3 討 論

### 3.1 生物誘導處理對蜂王間打鬥行爲的影響

生物誘導和環境誘導是組建多王群時解決蜂王與蜂王的“敵對”關係和工蜂與蜂王之間的“群界”關係的兩項關鍵技術。本研究通過觀察生物誘導處理對多王群組建初期蜂王打鬥行爲的影響,能進一步瞭解多王群組建初期蜂王與蜂王、蜂王與工蜂之間的關係,有助於尋求探索多王群分子機理的合適途徑。

本實驗中使用的 1 日齡幼蜂尚無圍王能力,避免了工蜂圍王。實驗組蜂王在多次相鄰的情況下都沒有發生打鬥行爲,而對照組蜂王打鬥頻繁,3 組蜂王均在組建之後半個小時內就出現了打鬥行爲,而且在第一次打鬥中都有一隻蜂王被置于死地。相比較而言,剩餘兩隻蜂王打鬥的次數則較多,雙方均沒能在一次打鬥中就置對方于死地,特別是 4 號群中白王和紅王的打鬥行爲持續了 24h 以上。但最終對照組中均只剩下 1 只蜂王,而且之後都能得到群內工蜂正常的侍喂。

可以肯定的是,生物誘導處理能顯著影響蜂王間的打鬥行爲。但這一影響過程是如何實現的尚不得而知。

### 3.2 多王群的蜂王信息素

信息素在蜂群內個體間的相互作用上起到了關鍵的作用,是維繫蜂群社會性結構的紐帶。本試驗結果表明,單王群和多王群之間上顎腺和背板腺分泌物含量均不存在顯著性差異,說明生物誘導處理不會顯著影響蜂王上顎腺和背板腺信息素的分泌。

### 3.3 多王群蜂王的產卵分布及其產卵衝突解決機制

本試驗結果發現，多王群最終封蓋圖上只有一個子圈，進一步說明多王群中各王已經達到了非常融合的狀態。蜜蜂群體以單王的形式生存繁衍，多王群內多王之間勢必會有妒性。多王在同一群甚至是同一張巢脾產卵，也必然存在一定程度上的產卵衝突。那為何多王在產卵時沒有形成明顯的區域分布？多王如何解決這一衝突？

根據本試驗結果，我們推測，在產卵初期產卵空間較充足，多王產卵存在各自的產卵區域，而隨著產卵空間的縮小，多王產卵區域分布逐漸被打破。在產卵初期，各王會儘量避免在同一塊小區域內產卵（但並不是絕對的不接觸），而在各自選定的區域內尋找合適的巢房產卵。在後期，出現產卵空間緊張的局面，蜂王之間的妒性和選擇合適的產卵巢房的欲望就形成了一對矛盾，此時各王在選擇產卵點的時候，就有兩個選擇，一是儘量不在其它王的產卵區內產卵，而將卵產在巢脾外圍區域，如此就很有可能形成規則的多王產卵區域分布圖；二是為了其後代的繁衍，它優先選擇適合其產卵的巢房，如此就很有可能在後期將卵產在其它王的產卵區，從而完全打破之前形成的區域分布。在實驗所拍的所有子脾照片中沒有發現任何一張存在明顯的區域分布，這就基本可以排除第一種情況的可能性。但對於第二種情況的過程，在現有的子脾封蓋圖上不能得到體現，因而只限于推測層面。

### 引用文獻

- Chen, S. 2001. *The Apicultural Science in China*. Beijing: China Agriculture Press. 331-332.
- Darchen R, Lensky Y. Les sociétés polygynes de reines vierges d'Abeille (*Apis mellifica* L.). *Comp. Rend. Acad. Sc. (Paris)*, 1962, 255: 2300-2302.
- Darchen R, Lensky Y. Quelques facteurs soulevés par la création de sociétés polygynes d'Abeille. *Insectes Soc.* 1963, 10: 337-358.
- Hu, F., Jin S., Zheng H., *et al.* 2005. Technique for organizing multi-queen colony of *Apis mellifera ligustica*, with observations on the rate of egg production of queens. *Acta Entomol Sinica*, 48(3): 465-468.
- Lensky Y, Darchen R. Etude préliminaire des facteurs favorisant la création de sociétés polygynes d'*Apis mellifica*. *Ann. Abeille*, 1963, 6: 69-73.
- Ribbands, CR. *The Behaviour and Social Life of Honeybees*. Bee Research Association, London. 1953: 352.

# Study on the biological characteristics of multiple-queen colonies of *Apis mellifera ligustica*

Hu Fuliang<sup>1\*</sup>, Zheng Huoqing<sup>1</sup>, Jin Shuihua<sup>2</sup>, R Hepburn<sup>3</sup>, C W Pirk<sup>4</sup>

<sup>1</sup>*Department of Special Economic Animal Science, Zhejiang University, Hangzhou 310029*

<sup>2</sup>*Pinghu Breeding Apiary of Zhejiang Province, Pinghu, 314200*

<sup>3</sup>*Department of Zoology & Entomology, Rhodes University, Grahamstown 6140, South Africa*

<sup>4</sup>*Department of Zoology & Entomology, University of Pretoria, Pretoria, 0002, South Africa*

## Abstract

Multi-queen colony is the colony organized artificially with three or more egg-laying queens. By means of biological and environmental inductions, multi-queen colony was organized, and that queens could move around peacefully and give normal eggs-output in the same laying area. We studied the queen-queen relationship in initial stage and queen pheromones of multi-queen colonies as well as its oviposition characteristics. The results showed that queens never tussled in despite of neighboring several times reveals that biological induction performed before organizing affects queens tussle behavior significantly. The pheromone contents of the mandibular and tergal glands of queens have no significant difference between single-queen and multiple-queen colonies. We also put forward a hypothesis to explain how the multiple queens solve the oviposition conflict when they laying eggs in the same laying area based on the egg-laying maps of multi-queens in artificial and natural conditions.

**Key words:** multi-queen colony, biological characteristic, biological induction, tussle behavior, pheromone, oviposition conflict.