



公開
 密件、不公開

執行機關(計畫)識別碼：040601M200

農業部苗栗區農業改良場112年度科技計畫研究報告

計畫名稱：**耐病蟲害高產蜜西洋蜂種選育** (第1年/全程2年)

(英文名稱) **Breeding of the high-yielding honey bee and resistant to pests and diseases**

計畫編號：112農科-4.6.1-苗-M2

全程計畫期間：自 112年1月1日 至 113年12月31日

本年計畫期間：自 112年1月1日 至 112年12月31日

計畫主持人：**黃子豪**

研究人員：**陳本翰、吳姿嫻**

執行機關：**行政院農業委員會苗栗區農業改良場**





一、執行成果中文摘要：

本年度於春季進行蜜蜂地方品系F1採蜜能力調查，篩選地方品系中採蜜能力較佳之5個蜂群A5-2(總採蜜量19.10 kg)、A6-2(總採蜜量15.57 kg)、F-2(總採蜜量15.74 kg)、G-3(總採蜜量18.32 kg)、K-3(總採蜜量18.55 kg)以作為培育F2處女王之移蟲母本，另於夏季進行各地方品系F1蜂群清潔能力調查，篩選出各品系清潔能力最佳者選出A3-2(清潔力89.8%)、B6-1(清潔力97.4%)、C-2(清潔力87.8%)、G-1(清潔力96.5%)、K-2(清潔力98.1%)，進行雄蜂培育，接續於秋季進行閉鎖集團雜交選育，完成5個優勢品系人工育王，每品系至少培育4隻蜂王，合計26隻，可供繁殖F2蜜蜂種群26群。另外選出地方品系中清潔能力最佳者及最差之品系各3個蜂群，分別以糖粉法及雄蜂房觀察法進行蜂蟹蟎寄生率調查，糖粉法：A5(0.73%)、B1(0.35%)、B3(0.15%)、C(0.44%)、F(0.31%)、K(0.09%)；雄蜂房觀察法：A5(26%)、B1(27%)、B3(14%)、C(29%)、F(25%)、K(8%)。後續挑選F1種群中品系平均清潔能力最佳3個品系及最差1個品系之F2種群後代，加上當地品系(對照組)，進行白垩病致病性、生產率及產卵量調查。致病性調查：僅第二次餵食後K品系其中一蜂群PCR結果檢測到白垩病；生產率調查：A5(89.2%)、C(86.7%)、F(71.4%)、K(85.3%)、CK(93.1%)；產卵量調查：A5(705)、C(905)、F(754)、K(749)、CK(1043)。

二、執行成果英文摘要：

We investigated the honey collected ability of the F1 local bee strains, and the five of them, A5-2 (whole honey harvested 19.10 kg), A6-2 (whole honey harvested 15.57 kg), F-2 (whole honey harvested 15.74 kg), G-3 (whole honey harvested 18.32 kg) and K-3 (whole honey harvested 18.55 kg) are used as the female parent for rearing the queen of F2. We also investigated the hygiene behavior in those local strains of F1 bee colonies and carried them out in the summer. The bee strains A3-2 (hygienic ability 89.8%), B6-1 (hygienic ability 97.4%), C-2 (hygienic ability 87.8%), G-1 (hygienic ability 96.5%), K-2 (hygienic ability 98.1%) were screened out had better hygiene ability. The breeding of drones was continued conducted in the autumn with closed group hybridization, and then the better 5 local strains had be bred. We succeed reared at least 4 queen bees for each strain and got a total of 26 queen bees, which can be used to develop 26 F2 colonies in 5 local strains. Furthermore, we investigated the *Varroa destructor* infestation rate from three F1 local strains with best hygiene behavior and three F1 local strains with worst hygiene behavior by two methods: 1. powdered sugar shake method, and 2. drone brood cells method. The results of powdered sugar shake method were A5 (0.73%), B1(0.35%), B3(0.15%), C(0.44%), F(0.31%), K(0.09%). The results of drone brood cells method were A5(26%)、B1(27%)、B3(14%)、C(29%)、F(25%)、K(8%).

Moreover, we investigated the Chalkbrood disease pathogenicity, capped brood rate and egg production of five F2 strains. The five F2 strains consisted of three F2 strains of the F1 local strains with best hygiene behavior, one F2 strains of the F1 local strains with worst hygiene behavior and one local strain (control group). Chalkbrood disease was detected in the PCR in one colony of K strain at the second test. However, Chalkbrood disease were not detected in the PCR in other colonies. The results of capped brood rate were A5(89.2%), C(86.7%), F(71.4%), K(85.3%), CK(93.1%). The results of egg production were A5(705), C(905), F(754), K(749), CK(1043).





三、計畫目的：

進行蜜蜂抗逆雜交育種，完成子代蜂蜜產量及抗病能力調查，建立優選雜交品系性狀資料庫一式，選出3個以上潛力品系，建立西方蜜蜂雜交性狀保留技術1式。

四、重要工作項目及實施方法：

一、進行蜜蜂雜交F1子代採蜜量調查及清潔能力調查，建立雜交品系性狀資料庫1式，並篩選出具高產及抗病能力之潛力品系。

1. 蜂群整備：將111年度所篩選之優良品系F1子代進行蜂勢調整，餵食人工蜂糧誘導蜂王產卵，將群勢擴增至8脾蜂量。
2. 採蜜能力調查：採蜜調查前一個月，以隔王板限制蜂王產卵，調整為4脾產卵區，4脾蛹脾。待採蜜前2週，調整為2脾產卵區，6脾蛹脾，待蛹脾出房成為存蜜脾。調查前一週將蜂群遷移至採蜜調查場地，遷入後3~5日進行第一次搖蜜作業，將巢片內殘糖搖出，準備進行採蜜能力調查。大流蜜開始後每隔3日進行採蜜能力調查，取每箱6脾存蜜脾，搖蜜前稱量巢脾重量，搖出蜂蜜後再稱量空脾重量，相減得出每箱採蜜單次重量，採收至少3次以上（視氣候狀況調整），加總每次採蜜量以評估各蜂群採蜜能力，並篩選出高採蜜能力之蜂群，以作為之後蜜蜂雜交之母本。
3. 清潔能力調查：採蜜能力調查後，調整群勢8脾蜂量以上後，進行清潔能力調查，將蜂王限制於兩巢脾間產卵2日後，將巢脾調整至存糧區，讓工蜂哺育之封蓋。待封蓋約一週後每個蜂群取一完整封蓋蛹脾，以200ml液態氮冷凍處理一定面積之封蓋蛹，再插回蜂箱中24小時，紀錄每群蜂24小時工蜂清除封蓋蛹比例，評估各蜂群清潔能力，並篩選出高清潔能力之蜂群，以作為之後蜜蜂雜交之父本。

二、進行蜜蜂雜交F1篩選，培育雜交F2種群。

1. 以各品系清潔能力最優者為父本，插入雄蜂片培育大量雄蜂，以雄蜂數量優勢提高與目標蜂王成功雜交機率，建立西方蜜蜂性狀保留技術。
2. 以各品系採蜜能力最優者為母本，每品系人工培育數隻蜂王，和上述培育之大量雄蜂自然交尾，以產出新的F2種群後代，

三、進行致病性調查及蜂蟹蟎調查，並建立西方蜜蜂性狀保留技術1式。

1. 致病性調查：將新的F2種群後代，調整群勢8脾蜂量以上，從蜂群中分離白堊菌株，於實驗室培養孢子後混入糖水中，將含孢子糖水餵飼於健康蜂群上，並另以未接種孢子之蜂群為對照組，進行品系間致病性調查，每週從蜂群中隨機挑取巢片內5隻幼蟲，以qPCR檢測，比對不同品系及與對照組之表現。
2. 蜂蟹蟎調查：將新的F2種群後代飼養於隔蟎蜂箱，調整群勢8脾蜂量以上，以福化利搭配甲酸處理後，同時使用糖粉法及雄蜂蛹法調查，每2週調查一次，進行品系間蜂蟹蟎寄生率調查，比對不同品系間蜂蟹蟎寄生率增長狀況
3. 對比F2種群致病性能力與蜂蟹蟎寄生率，確認F2種群保留父本高清潔能力之性狀，建立西方蜜蜂性狀保留技術1式。

五、結果與討論：

一、進行蜜蜂雜交F1子代採蜜量調查及清潔能力調查，建立雜交品系性狀資料庫1式，並篩選出具高產及抗病能力之潛力品系。

1. 蜜蜂雜交F1子代採蜜量調查，篩選F2之雜交母本。

本年度於春季完成調查蜂群整備，繁殖至每群8脾蜂量，遷移至於南投縣名間鄉進行採蜜能力調查，於4月4日、4月8日、4月12日及4月16日進行4次採蜜調查，每次調查秤量蜜片巢片總重



1121138



量及搖蜜後空巢片重量，以得出每群每次採蜜量，並總和4次調查之採蜜量。各地方品系總採蜜量平均為10.04 kg，以A5-2蜂群表現最高為19.10 kg，最低為L-1為4.27kg。各地方品系表現以K品系最佳平均可達14.35 kg（圖一）。將挑選採蜜能力較高之5個蜂群A5-2（總採蜜量19.10 kg）、K-3（總採蜜量18.55 kg）、G-3（總採蜜量18.32 kg）、F-2（總採蜜量15.74 kg）、A6-2（總採蜜量15.57 kg）作為秋季人工育王雜交之母群（圖二），完成各地方品系55群雜交F1種群之採蜜能力調查一式。

2. 蜜蜂雜交F1子代清潔能力調查，篩選F2之雜交父本

採蜜後之蜂群遷移回飼育基地，調整群勢回復8脾蜂量以上後，進行清潔能力調查，以200ml液態氮冷凍處理相同面積之封蓋蛹，再插回蜂箱中24小時，紀錄每群蜂24小時工蜂清除封蓋蛹比例(Çakmak, 2010)。本試驗清潔能力以K-2表現最佳達98.1%，最差為B3-1為16.0%（圖三），同品系不同種群間差異甚大，因蜂群之清除死亡個體之效率可能受到氣候、內勤蜂數量、死亡個體狀態、工蜂嗅覺靈敏度等多種因子影響，本方法在控制蜂勢、及封蓋蛹齡期狀態下，移除死亡個體效率應可反應工蜂嗅覺靈敏度，而此性狀為可遺傳性狀(Mcafee et al., 2017)。為達抗病高產之選育目標，採閉鎖集團雜交方法時因蜂王空中交尾父系來源無法完全確定，本試驗採以清潔能力高於74%以上蜂群作為F2雜交父本，並需汰除清潔能力不佳之種群競爭交尾之可能，另考量種群基因多樣性及避免與移蟲母本來自同一蜂群產出雙倍體雄蜂，因此取各品系清潔能力最佳者進行比較，以清潔力排序前5之品系蜂群作為培育優勢雄蜂之種群。選出K-2（清潔力98.1%）、B6-1（清潔力97.4%）、G-1（清潔力96.5%）、A3-2（清潔力89.8%）、C-2（清潔力87.8%）。本試驗種群清潔能力測試K-2、B6-1及G-1已達到Spivak 等人提出之高度衛生行為（24小時清潔能力95%）之育種目標(Spivak and Downey, 1998)，顯示持續以高清潔能力蜂群做為父本可累積高衛生行為性狀以達成育種目標(Seltzer et al., 2022)。

二、進行蜜蜂篩選F1雜交，培育雜交F2種群。

以地方品系採蜜能力平均較佳之5個品系其中最採蜜量最高者作為移蟲培育處女王之母本（A5-2、K-3、G-3、F-2、A6-2），各品系清潔能力最優者為父本（K-2、B6-1、G-1、A3-2、C-2），本年度秋季以閉鎖集團選育方式（吳等人，2011）進行人工育王工作，計完成5個優勢品系人工育王，每品系至少培育4隻蜂王，合計26隻，可供繁殖F2蜜蜂種群26群（表一），預計繁殖工蜂後進行致病性、生產率及產卵量調查。

三、進行致病性調查及蜂蟹蟎調查，並建立西方蜜蜂性狀保留技術1式。

1. 蜂蟹蟎調查

蜂群清潔能力調查後，重新調整群勢8脾蜂量以上後，於7月13日開始進行蜂蟹蟎調查，挑選品系平均清潔能力最佳及最差之品系各3名作為調查蜂群，共調查6個品系18個蜂群，最佳分別為A5（清潔力68.4%）、C（清潔力66.0%）、K（清潔力71.3%）；最差分別為B1（清潔力31.6%）、B3（清潔力27.6%）、F（清潔力44.5%）。每2週調查一次，共調查5次，每次同時使用糖粉法(Pietropaoli et al., 2021)及雄蜂房觀察法調查(Akyol et al., 2007)。糖粉法：每蜂群取一批工蜂，秤重並放入裝有糖粉之罐子中加蓋搖晃，洗下工蜂身上之蜂蟹蟎，計算蜂蟹蟎寄生率；雄蜂房觀察法：每蜂群中挑選20個雄蜂房，挑出雄蜂蛹觀察蜂蟹蟎數量及寄生率。糖粉法寄生率：A5(0.73%)、C(0.44%)、K(0.09%)、B1(0.35%)、B3(0.15%)、F(0.31%)；雄蜂房觀察法寄生率：A5(26%)、C(29%)、K(8%)、B1(27%)、B3(14%)、F(25%)（表二）。本次試驗發現K品系具有最低的蜂蟹蟎寄生率，和A5、C、B1、F有顯著差異，對應其清潔能力最佳之性狀；A5和C品系雖在清潔能力上表現佳，但雄蜂房觀察法寄生率和其他清潔能力表現差之品系如B1、F相比並無顯著差異，甚至A5在糖粉法寄生率顯著高於B1、B3、F等清潔能力表現差之品系；B3清潔能力表現差，然而其蜂蟹蟎寄生率相對較低，在雄蜂房觀察法寄生率還顯著低於A5、C等清潔能力表現佳之品系（表三）。蜂蟹蟎寄生率會受到蜂群大小、雄蜂房數量、





蜂群清潔能力、起始蜂蟹蟎族群數量等因素影響，B3清潔能力表現差，然而其蜂蟹蟎寄生率相對較低，調查期間有觀察到B3蜂勢相當旺盛，蜂群較大，且可能起始蜂蟹蟎數量少，雄蜂房數量少，因此調查期間蜂蟹蟎寄生率並無明顯增加。

2. 致病性調查

從罹病蜂群中分離出白垩病孢子，後續培養並製成孢子懸浮液，配置成50%果糖之孢子懸浮液，挑選F1種群中品系平均清潔能力最佳3個品系（A5、C、K）及最差1個品系（F）之F2種群後代遷移至苗栗，加上苗栗當地品系（對照組CK），於11月初開始每個蜂群餵食50mL，餵食3次，第一次： 1×10^4 spore /mL；第二次： 5.52×10^6 spore /mL；第三次： 2.76×10^5 spore /mL。每次餵食間隔7天，餵食後7天取蜂群幼蟲進行PCR檢測。調查結果僅蜂群K-3在第二次餵食孢子後之PCR結果檢測到白垩病，其他蜂群皆未檢測出白垩病，K品系白垩病盛行率為33%，其餘品系盛行率皆為0%。少部分蜂群有發現封蓋片有零星蜂房被工蜂咬破蜂蓋的現象，但未發現病死幼蟲。本次試驗連CK組都未發病，白垩病通常好發在營養不良蜂群及較濕冷的天氣，因孢子施放期間天氣尚暖、沒有降雨，白垩病不易發病。巢片內沒有發現白垩病病死幼蟲或蛹，應是得病幼蟲或蛹被工蜂快速清除，因此沒有檢測到白垩病。另外蜂群K-3在第二次餵食最多孢子的測試中檢測到白垩病，但在第三次餵食後蜂群K-3未檢測到，顯示選育的品系在發病後仍可恢復，應有抗病之潛力。

3. 生產率及產卵量調查

挑選F1種群中品系平均清潔能力最佳3個品系（A5、C、K）及最差1個品系（F）之F2種群後代遷移至苗栗，加上苗栗當地品系（對照組CK），調查巢內封蓋蛹片，計算巢片上25cm*15cm長方形範圍內空蜂房以外蜂房所佔比例作為生產率，生產率可視為工蜂對於下一代雛育能力的指標，生產率：A5(89.2%)、C(86.7%)、F(71.4%)、K(85.3%)、CK(93.1%)。之後在巢內插入一片空巢片，放置48小時讓蜂群適應，再經過72小時後抽出巢片，計算巢片上25cm*15cm長方形範圍內有卵或幼蟲的蜂房數作為產卵量，產卵量可視為蜂王繁殖能力的指標，產卵量：A5(705)、C(905)、F(754)、K(749)、CK(1043)。結果發現除F品系生產率較低，其餘清潔能力佳品系之F2後代生產率相近，而CK生產率相對較高；產卵量A5、C、K相近，CK較高，可發現不論生產量和產卵率都是CK較高，可能因為CK為當地適應後的品系，其餘品系是從嘉義搬遷至苗栗，因氣候改變影響生產率及產卵率。

六、結論：

本年度完成蜜蜂55群雜交F1種群之採蜜能力調查及清潔能力調查各一式，完成18群雜交F1種群蜂蟹蟎調查一式，建立雜交品系性狀資料庫一式，並依照性狀調查結果篩選高產抗病優勢種群進行F1閉鎖集團雜交選育，培育雜交F2種群共5個品系26群。完成15群雜交F2種群致病性、生產率及產卵量調查各一式，建立西方蜜蜂性狀保留技術1式，未來可提供蜜蜂育王場技術參考。

七、參考文獻：

1. 吳輝虎, 宋一鑫, 吳登楨, & 盧美君. (2011). 高產蜂蜜種群選育. 苗栗區農業專訊, 55. <https://doi.org/10.29551/ZHWHGX.201109.0009>
2. Akyol, E., Yeninar, H., Karatepe, M., Karatepe, B., & Özkök, D. (2007). Effects of queen ages on Varroa (*Varroa destructor*) infestation level in honey bee (*Apis mellifera caucasica*) colonies and colony performance. *Italian Journal of Animal Science*, 6(2), 143-149. <https://doi.org/10.4081/ijas.2007.143>





3. Çakmak, I. (2010). The over wintering survival of highly *Varroa destructor* infested honey bee colonies determined to be hygienic using the liquid nitrogen freeze killed brood assay. *Journal of Apicultural Research*, 49(2), 197-201. <https://doi.org/10.3896/IBRA.1.49.2.09>
4. Evans, J. D., & Spivak, M. (2010). Socialized medicine: Individual and communal disease barriers in honey bees. *Journal of Invertebrate Pathology*, 103, S62-S72. <https://doi.org/10.1016/j.jip.2009.06.019>
5. Gregorc, A., Knight, P., & Adamczyk, J. (2017). Powdered sugar shake to monitor and oxalic acid treatments to control varroa mites (*Varroa destructor* Anderson and Trueman) in honey bee (*Apis mellifera*) colonies. *Journal of Apicultural Research*, 56, 1-5. <https://doi.org/10.1080/00218839.2017.1278912>
6. Harris, J. (2008). Effect of Brood Type on Varroa-Sensitive Hygiene by Worker Honey Bees (Hymenoptera: Apidae). *Annals of the Entomological Society of America*, 101. <https://doi.org/10.1603/0013-8746-101.6.1137>
7. James, R. R., & Skinner, J. S. (2005). PCR diagnostic methods for *Ascospaera* infections in bees. *Journal of Invertebrate Pathology*, 90(2), 98-103. <https://doi.org/10.1016/j.jip.2005.08.004>
8. Martin, S. J., Hawkins, G. P., Brettell, L. E., Reece, N., Correia-Oliveira, M. E., & Allsopp, M. H. (2020). *Varroa destructor* reproduction and cell re-capping in mite-resistant *Apis mellifera* populations. *Apidologie*, 51(3), 369-381. <https://doi.org/10.1007/s13592-019-00721-9>
9. McAfee, A., Collins, T. F., Madilao, L. L., & Foster, L. J. (2017). Odorant cues linked to social immunity induce lateralized antenna stimulation in honey bees (*Apis mellifera* L.). *Scientific Reports*, 7(1), Article 1. <https://doi.org/10.1038/srep46171>
10. Mondet, F., Kim, S. H., de Miranda, J. R., Beslay, D., Le Conte, Y., & Mercer, A. R. (2016). Specific Cues Associated With Honey Bee Social Defence against *Varroa destructor* Infested Brood. *Scientific Reports*, 6(1), Article 1. <https://doi.org/10.1038/srep25444>
11. Parker, R., Guarna, M. M., Melathopoulos, A. P., Moon, K.-M., White, R., Huxter, E., Pernal, S. F., & Foster, L. J. (2012). Correlation of proteome-wide changes with social immunity behaviors provides insight into resistance to the parasitic mite, *Varroa destructor*, in the honey bee (*Apis mellifera*). *Genome Biology*, 13(9), R81. <https://doi.org/10.1186/gb-2012-13-9-r81>
12. Pietropaoli, M., Tlak Gajger, I., Costa, C., Gerula, D., Wilde, J., Adjlane, N., Aldea-Sánchez, P., Smodiš Škerl, M. I., Bubni, J., & Formato, G. (2021). Evaluation of Two Commonly Used Field Tests to Assess *Varroa destructor* Infestation on Honey Bee (*Apis mellifera*) Colonies. *Applied Sciences*, 11(10), Article 10. <https://doi.org/10.3390/app11104458>
13. Spivak, M., & Reuter, G. S. (2001). Resistance to American foulbrood disease by honey bee colonies *Apis mellifera* bred for hygienic behavior. *Apidologie*, 32(6), 555-565. <https://doi.org/10.1051/apido:2001103>
14. Spivak, M., & Reuter, G. S. (2001). *Varroa destructor* infestation in untreated honey bee (Hymenoptera: Apidae) colonies selected for hygienic





- behavior. *Journal of Economic Entomology*, 94(2), 326-331. <https://doi.org/10.1603/0022-0493-94.2.326>
15. Uzunov, A., Brascamp, E. W., & Büchler, R. (2017). The Basic Concept of Honey Bee Breeding Programs. *Bee World*, 94(3), 84-87. <https://doi.org/10.1080/0005772X.2017.1345427>
16. Wu, M.-C., Lu, T.-H., & Lu, K.-H. (2017). PCR-RFLP of mitochondrial DNA reveals two origins of *Apis mellifera* in Taiwan. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 24(5), 1069-1074. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2016.12.008>



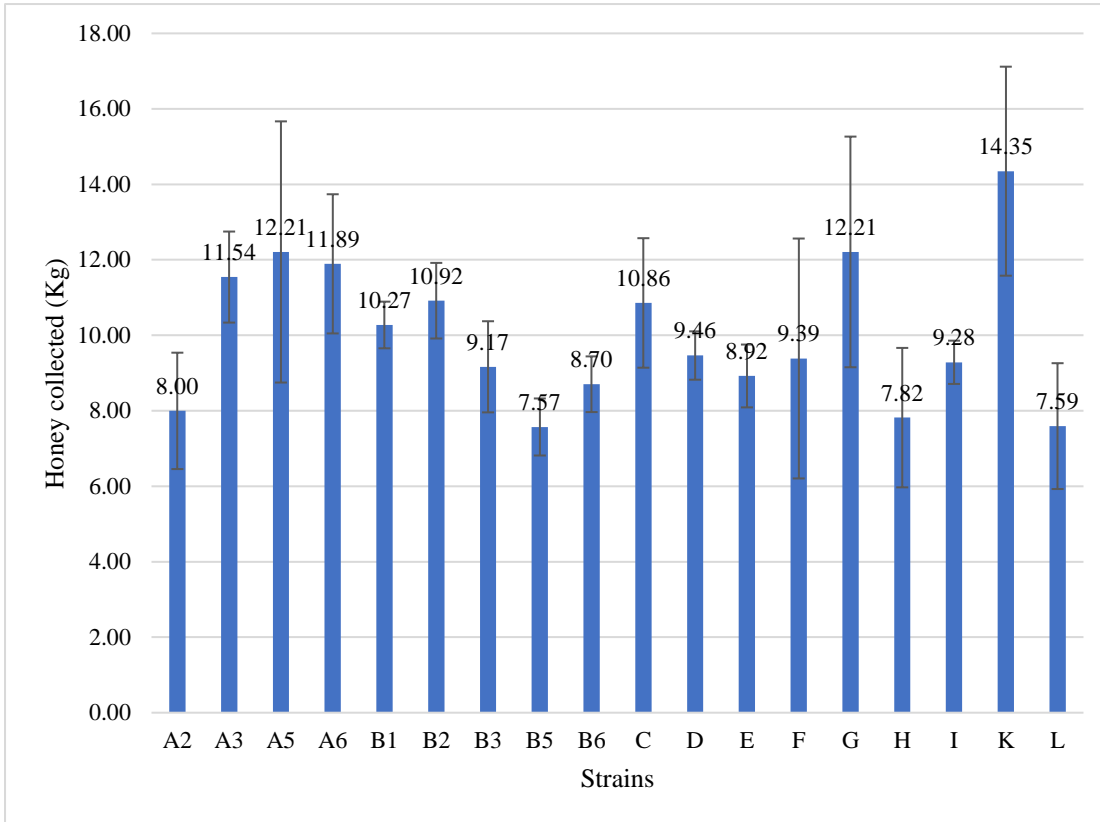


Fig. 1 The average of total honey collected by different local honey bee strains F1 colonies. There is no significant difference at the 5% level within each strain by Dunnett's T3 test.

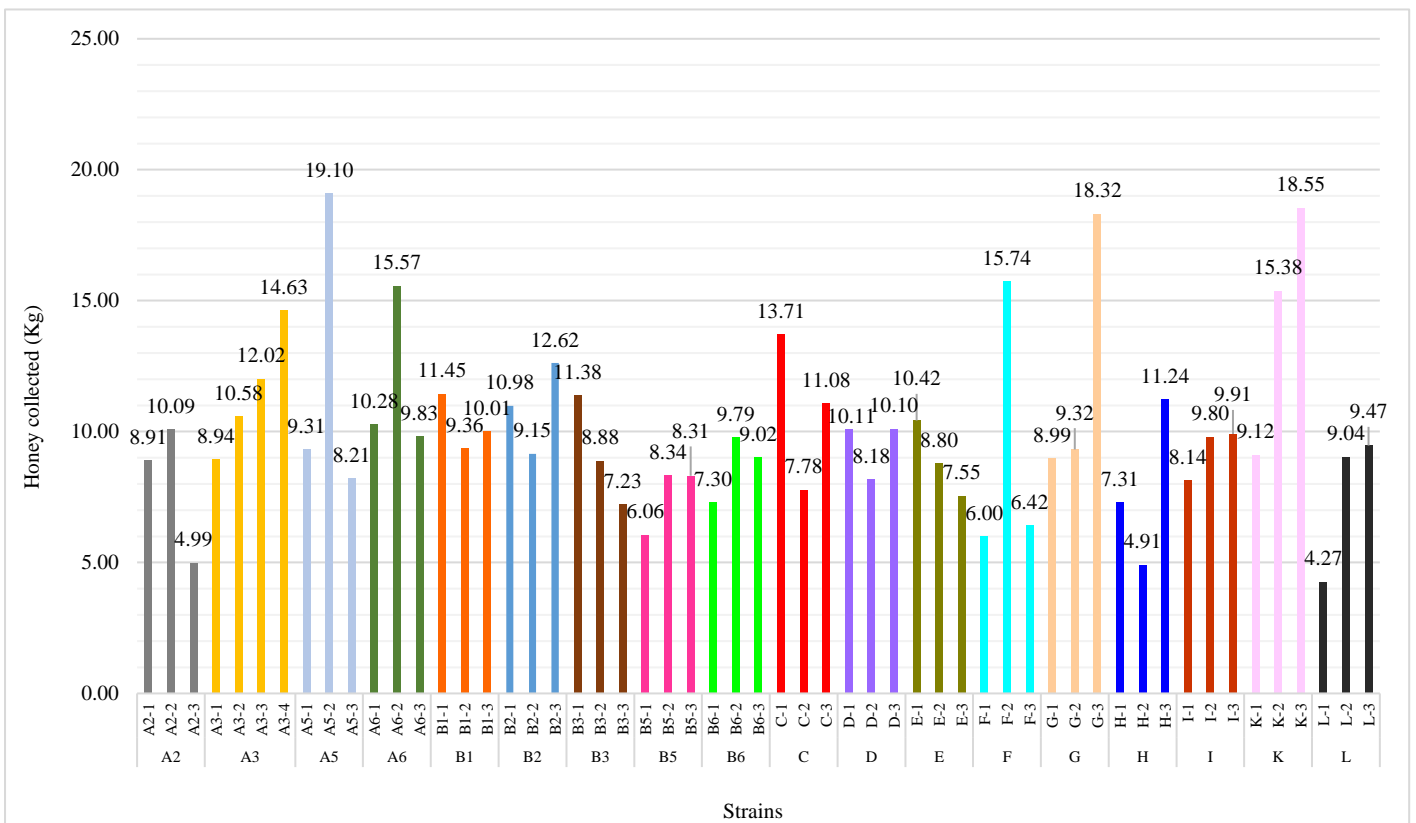


Fig. 2 The amount of total honey collected by different local honey bee strains F1 colonies.



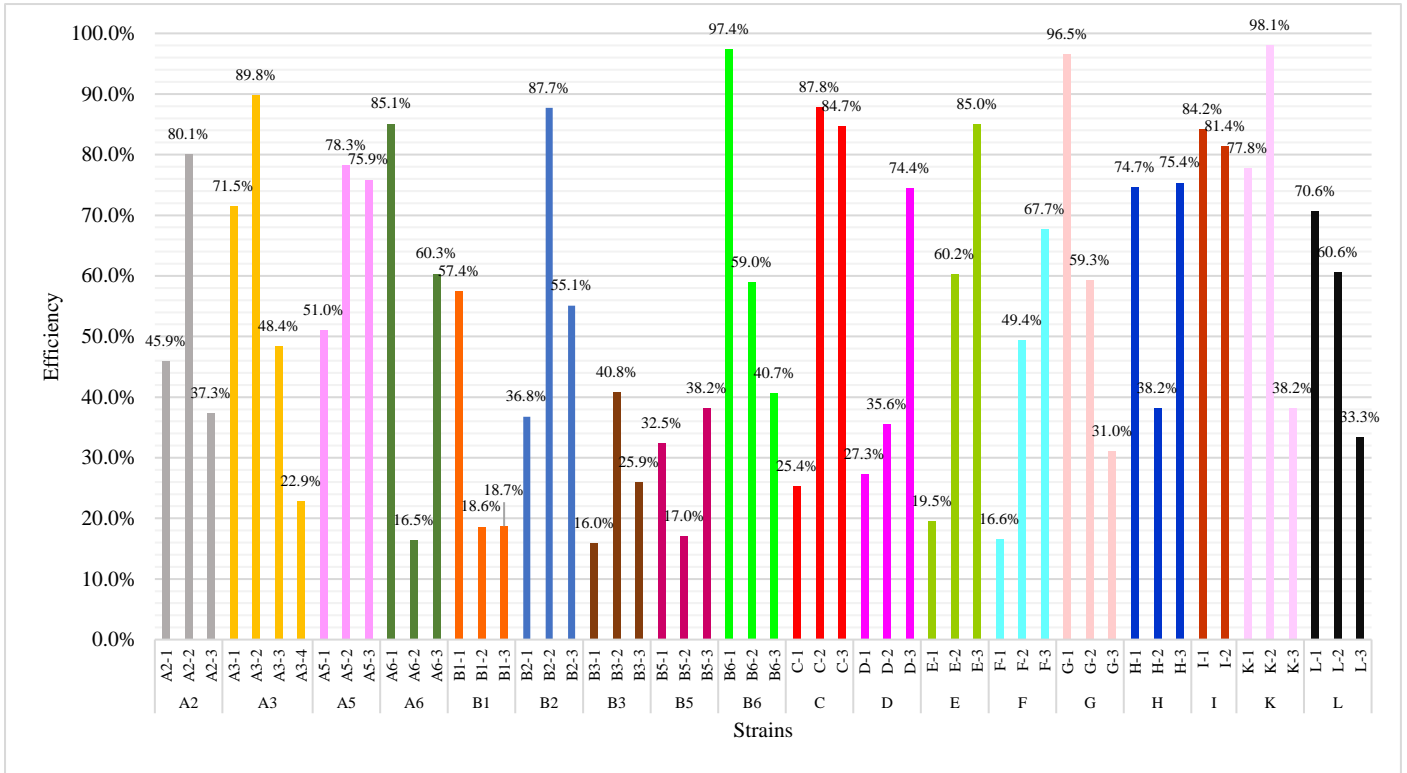


Fig. 3 The hygiene behavior test after 24 hours with freeze killed by different local honey bee strains F1 colonies.

Table 1 Number of F2 colonies in each local honey bee strains after group hybridization

Strains	A5-2	K-3	G-3	F-2	A6-2
Number of F2 colonies	6	6	4	6	4

Table 2 The average of *Varroa destructor* infestation rate by different local honey bee strains F1 colonies.

Strains	Powdered sugar shake method	Drone brood cells method
A5	0.73% a	25.94% e
C	0.44% ab	28.67% e
K	0.09% d	7.67% g
B1	0.35% bc	27.33% e
B3	0.15% cd	14.33% fg
F	0.31% bc	25.00% ef

Means within a column followed by the same letter(s) are not significantly different at $P < 0.05$ by Fisher's protected LSD test. (n = 3)





Table 3 The prevalence rate of Chalkbrood disease by F2 colonies and control group. The colonies were inoculate 50mL of spore suspension each time. The spore concentration of the spore suspension was 1st: 1×10^4 spore /mL; 2nd 5.52×10^6 spore /mL; and 3rd 2.76×10^5 spore /mL respectively.

Strains	Inoculation		
	1st	2nd	3rd
A5	0%	0%	0%
C	0%	0%	0%
K	0%	33%	0%
F	0%	0%	0%
CK	0%	0%	0%

