

蜜蜂人工授精技術概論

陳本翰（助理研究員）

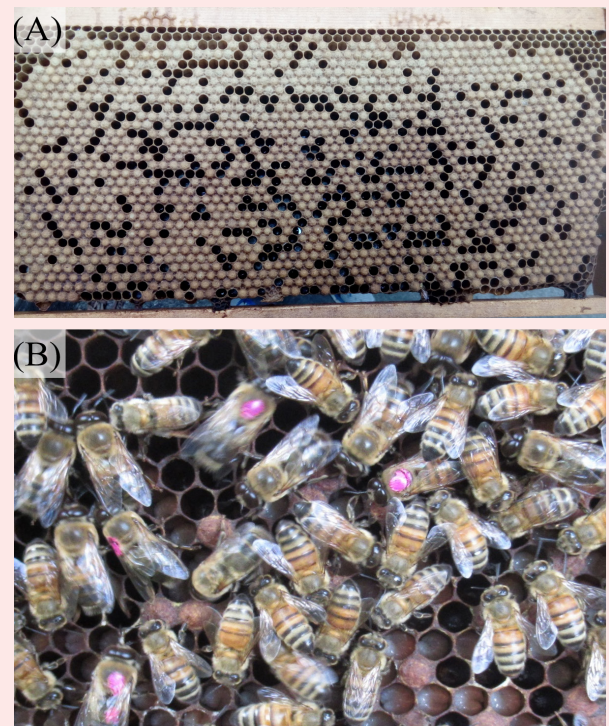
前言

西方蜜蜂繁殖是由蜂后與多隻雄蜂婚飛交尾，具有增加蜂群內遺傳多樣性，維持蜂群調適能力的優點，然而不能建立父本譜系，使得養蜂人難以利用雜交組合提升育種效率，往往要花上多年時間進行田間選拔才能達到育種目標。人工授精技術廣泛應用在畜禽產業，藉由控制親本來源與配對，達到遺傳研究與育種目標，具有提升產量、育種效率、保護品種等優點。臺灣蜂農慣行挑選蜂蜜、蜂王漿豐產等優良蜂群為繁殖種群，固然有維持生產力的優點，但如此長期操作，蜂群之遺傳背景恐有逐漸窄化的疑慮，一旦蜂群遺傳背景窄化發生，將影響蜂群對環境變化之調適能力，面臨氣候變遷、病蟲害與蜜粉源面積減少等逆境時，即可能延伸出易感病、蜂勢不佳、生產力下降等問題。為增進臺灣西方蜜蜂蜂群調適能力，本場進行蜜蜂育種研究，除了蒐集優良地方蜂群進行品系選拔，更引進蜜蜂人工授精技術，用以提升蜜蜂遺傳資源利用效率。蜜蜂人工授精技術是利用特製的設備進行蜂后保定與麻醉，再將人工採取之雄蜂精子注入蜂后生殖道，蜂后受精後將精子儲存於體內，以便後續可產下受精卵，本文將介紹精子採集與蜂后授精等操作流程。

雄蜂預備

雄蜂來源是選擇優良父本蜂群，採集雄蜂精液予處女蜂后進行授精，有目標的建立雜交組合，培育次代蜂群。西方蜜蜂雄蜂發育從卵期至羽化需 24 日，羽化 12~15 日齡開始性成熟、產生精液，若利用雄蜂脾培育大

量雄蜂，每批次成熟雄蜂周期約為 36~39 日。雄蜂性成熟期有很大的個體差異，筆者在春季利用雄蜂脾培育雄蜂（圖一 A），同批 12 日齡雄蜂僅有 $31.1 \pm 5.6\%$ 可採集精液，性成熟比例隨日齡增加而提高，研究指出氣候、營養以及遺傳背景都可能影響雄蜂成熟期 (Rhodes, 2008)。由於雄蜂沒有群界，離巢後可進入其他蜂巢，因此標記剛羽化的雄蜂（圖一），可確保父本來源與成熟期。雄蜂羽化後會短暫離巢排泄，性成熟雄蜂會聚集飛舞，吸引處女蜂后前來婚飛交尾。雄蜂完成傳宗接代的使命後，生命即走向終點，未交尾後之雄蜂仍會返巢。因此在晴朗溫暖的季節，可於下午 1 時過後，將花粉收集盒置於巢口，捕捉具標記、成熟的返巢雄蜂。



圖一、利用雄蜂脾大量培育雄蜂。(A) 成熟封蓋雄蜂脾；(B) 標記羽化出房的雄蜂。

精液採集

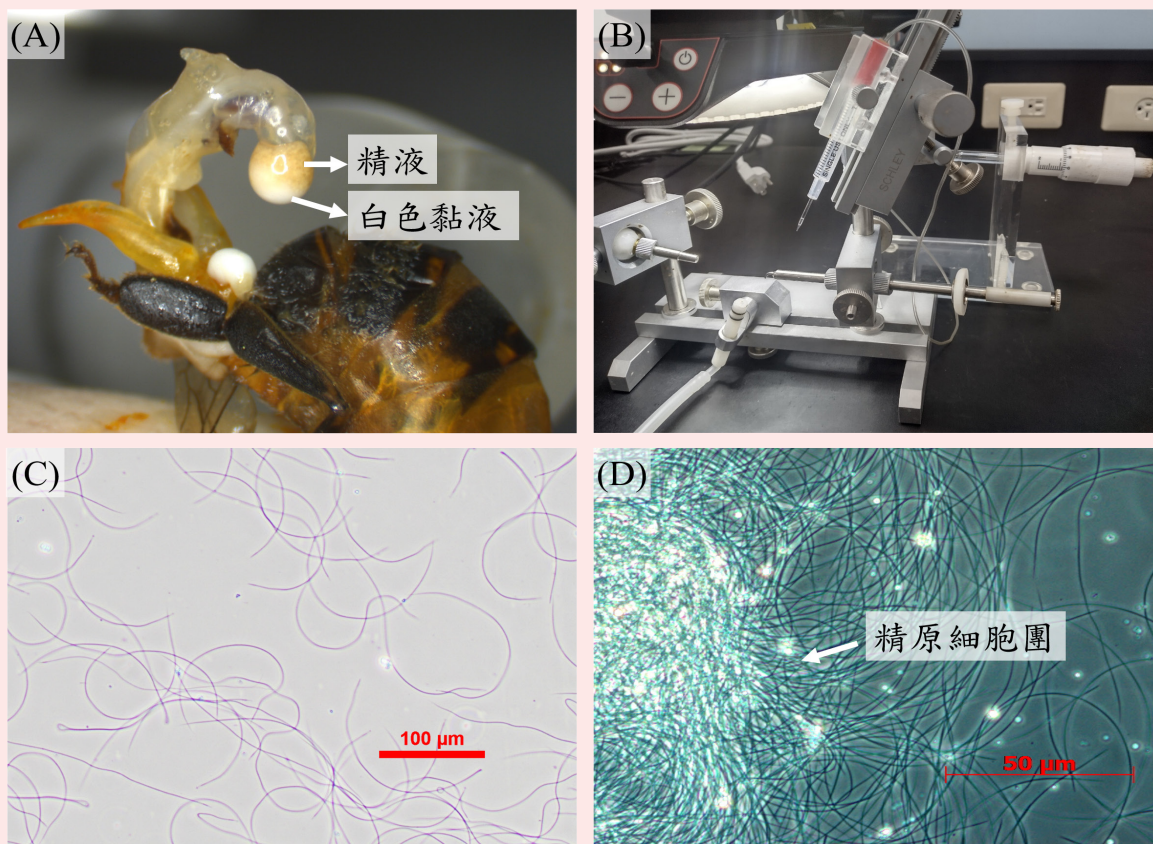
許多昆蟲受到驚擾時會有排泄行為，這是一種抵禦天敵的方式，雄蜂亦是如此，因此採集精液時要注意清潔，避免汙染。成熟雄蜂具備良好的飛行能力，胸節肌肉發達，按壓堅硬有彈性，輕壓腹部不會有乳糜狀排遺。此外，成熟雄蜂生殖器容易反射彈出，只要輕輕按壓胸節往腹部施壓，就能刺激生殖器彈出(圖二 A)。成熟雄蜂生殖器末端有黃褐色精液，可利用採集毛細管注射針(Harbo syringe)(圖二 B)或微量吸管採集，每隻約能採集 0.5~1 μL 精液。在 400 倍鏡檢視視野下，蜜蜂精子長約 200 μm (圖二 C)，新鮮精子活動力旺盛，同時有圓周運動與鞭毛運動，白色黏液為精原細胞團，可見許多未成熟精子仍未從精原細胞分離(圖二 D)。採集精液時要避免吸取到白色黏液，以防阻塞吸管尖，

此外未成熟精子無法移行進入蜂后儲精囊，不能完成授精作用。

蜜蜂精液黏稠，接觸空氣容易乾涸，導致精細胞失去活性，需要有適合的精子稀釋液維持精細胞滲透壓、營養、抑制微生物繁殖並能作為傳遞精細胞予蜂后之介質。蜜蜂精液稀釋液的研究，早在 1976 年有學者提出 Kiev solution (82.2 mM sodium citrate, 24.9 mM sodium bicarbonate, 5.3 mM potassium chloride, 16.7 mM glucose, 1.7 mM sulfanilamide)，後續又有以 Tris、TES 等緩衝劑為基礎，添加精氨酸、離胺酸等複雜配方的稀釋液，可在 10~20 $^{\circ}\text{C}$ 維持約 80% 精子活性達 72 小時(陳及黃，2021)。

預備蜂后

蜂后是選擇蜂勢強健、性狀表現優良之母本蜂群，以人工移蟲方式培育新蜂后，以



圖二、雄蜂精子採集。(A) 輕壓成熟雄蜂胸腹節，刺激生殖器翻出，生殖器末端有黃褐色精液。(B) 利用注射器(Harbo syringe)採集蜜蜂精液；(C) 黃褐色精液充滿成熟精子；(D) 白色黏液充滿精原細胞團，未成熟精子仍與精原細胞連結。

確保母本來源。傳統預備蜂后的方法是利用交尾箱或其他小型蜂箱組織小型無蜂后群，包含封蓋蛹脾及蜜粉脾，再介入成熟王台待新蜂后出台自然形成小型核心蜂群。田間飼養之核心蜂群，可在巢門口放置禁王柵，或利用長寬約 10 公分的鐵網將蜂后與工蜂群扣在蜜粉脾上，避免蜂后離巢婚飛。通常小型蜂群採集力稍弱，管理上要經常餵飼，確保有足夠的蜂糧。近年有養蜂人利用人工保溫箱大量孵育人工王台，培育新蜂后再介入蜂群，有節省空間的優點。此外，在田間建立蜂后庫 (queen bank) 亦能提升預備蜂后效率，此法是將人工移蟲培育的新蜂后單獨放置在王籠，可同時維持多隻蜂后在無蜂后蜂群 (圖三) (Andrée and Giovenazzo, 2021)。當氣候晴朗溫暖，雄蜂充足的蜂場，蜂后羽化 5~10 日齡會自然婚飛交尾，利用蜂后庫維持的新蜂后，約 7~10 日齡可進行人工授精。

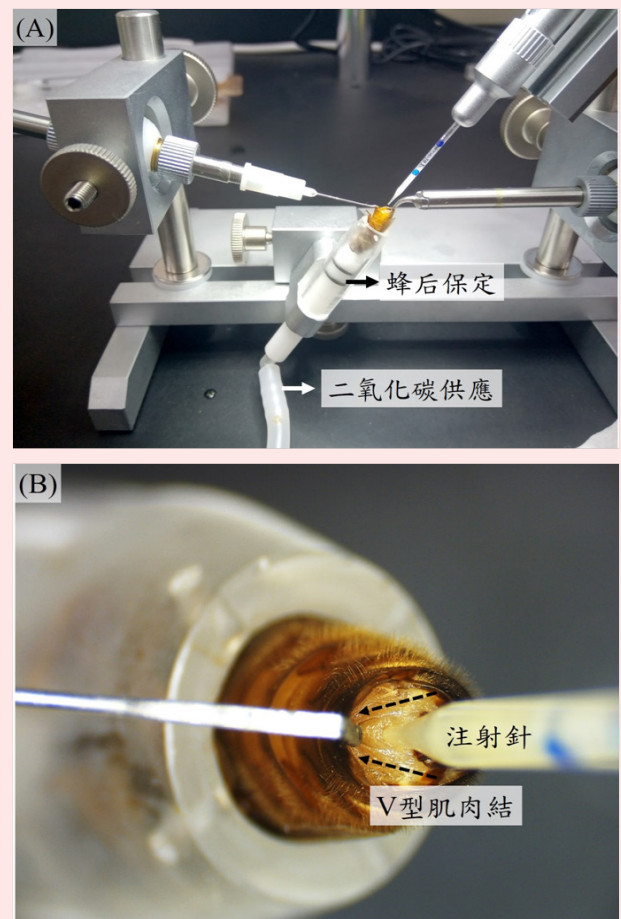


圖三、建立蜂后庫，在田間可維持多隻蜂后在相同蜂群 (Rousseau and Giovenazzo, 2021)。

人工授精操作

市面上蜜蜂人工授精儀 (圖四 A) 主要設計供西方蜜蜂使用，授精儀座台有蜂后保定裝置並連接二氧化碳麻醉。一般二氧化碳瓶內壓大，需加裝流量錶控制氣流，流速以足夠麻醉蜂后即可，防止氣壓過大傷害蜂后。準備操作前，須用酒精擦拭檯面清潔消毒，並以 75% 酒精及無菌水潤洗注射針 2~3 次避免汙染發生。

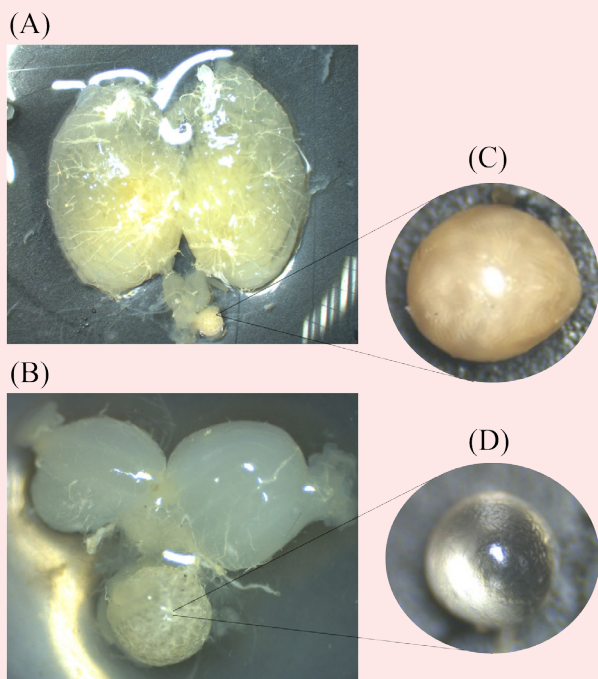
蜂后保定是指保護及固定，操作過程蜂后受到任何損傷都可能影響產卵導致前功盡棄，因此要以保護蜂后為前提進行操作。操作前將處女蜂后取出，利用保護套管固定蜂后在授精儀上，麻醉後利用授精儀 2 側夾，拉開蜂后尾節腹板及背板，在解剖顯微鏡視野下可見 V 型肌肉結構，控制調節輪使注射針沿者 V 型緩緩插入生殖孔 (圖四 B)。蜂后每次約能注入 8~10 μ L 精子液，操作過程要避免注入空氣，以免影響人工授精確效 (Cobey *et al.*, 2013)。完成授精之蜂后需剪翅防止自然婚飛，待麻醉恢復後再以王籠介回原蜂群。



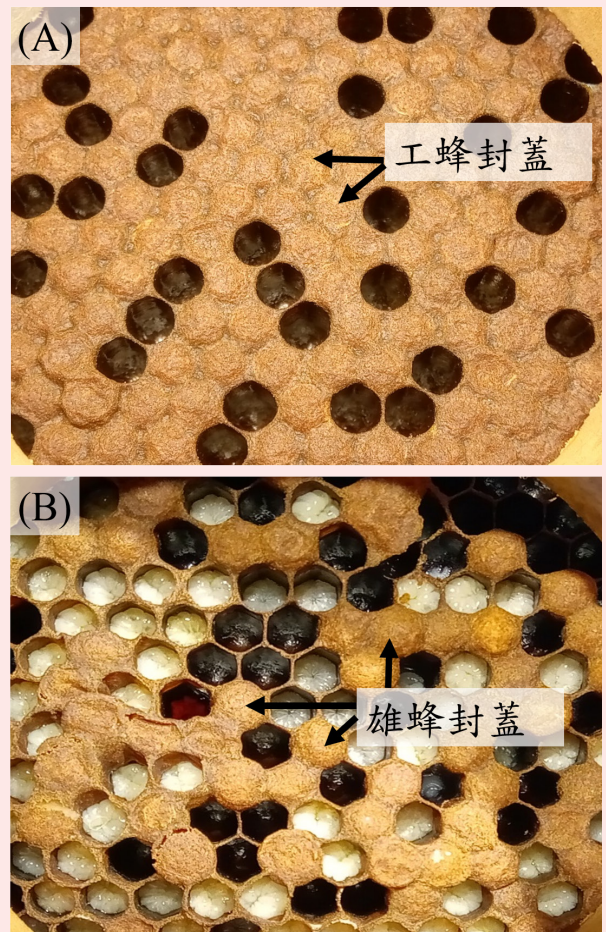
圖四、西方蜜蜂人工授精操作儀。(A) 固定蜂后以二氧化碳麻醉，再進行人工授精；(B) 注射針沿 V 型肌肉結構插入生殖孔注入預備好的精子液。

評估人工授精成效

人工授精成功之蜂后卵巢發育呈紡錘狀 (圖五 A)，下方連接輸卵管與球狀儲精囊，儲精囊體積約 0.5 μL 外覆網狀結締組織，儲有精子的儲精囊去除外覆組織呈不透明淡黃褐色。(圖五 C)；若無精子，則呈現透明狀 (圖五 D)。成功人工授精之蜂后介回蜂群後約 10~14 天卵巢發育完成，腹部明顯增長並開始產卵。蜜蜂受精卵將發育為工蜂、蜂后，未受精卵則發育為雄蜂，可藉由觀察子脾封蓋樣態評估人工授精成效，操作成功之蜂后能產下受精卵 (圖六 A)，但精子濃度不足、操作不當與蜂后培育品質不佳等因素均可能使蜂后產未受精卵 (圖六 B)。



圖五、蜂后生殖器官發育。(A) 蜂后卵巢成熟發育呈紡錘狀；(B) 儲精囊儲有精子呈不透明淡黃褐色；(C) 蜂后未發育之卵巢；(D) 儲精囊未儲有精子呈透明狀。



圖六、調查封蓋子脾以評估人工授精成效。(A) 成功人工授精之蜂后，生產受精卵發育為工蜂；(B) 人工授精操作不佳之蜂后，產下未受精卵發育為雄蜂。

未來展望

西方蜜蜂全基因體解序已完成，未來利用基因標誌挑選父母親本，可提升蜜蜂純系保種、育種改良及遺傳研究的潛力。本場投入西方蜜蜂精子保存技術研究，期能建立臺灣蜂群精子種原庫以保護遺傳多樣性，並應用人工授精技術作為未來培育產業所需蜂種之遺傳資源，促進蜂產業永續發展。