

計劃名稱：室內人工飼養蜜蜂幼蟲之研究

計劃編號：NSC-87-2313-B-002-044

執行期限：86.8.1 ~ 87.7.31

主持人：何鎧光

執行機關：國立台灣大學昆蟲學系

中文摘要

本研究採用的高產、正常及低產三種生產方式之蜂王乳(royal jelly)，經化學分析發現三種產量之蜂王乳，其六種基本化學組成分並無顯著差異。水分 67.3% 69.2%；灰份 1.05% 1.10%；醣類 8.2% 13%；粗脂肪 4.2% 5.5%；粗蛋白 18.4% 20.1%；癸烯酸 1.12% 1.36%。今以蜂王乳、葡萄糖(glucose)、果糖(fructose)、酵母抽出物(yeast extract)及二次蒸餾水(double-distilled water)，調配成人工飼養幼蟲的基本食物(BLD)。將上述三種蜂王乳分別調製成 BLD，並飼養孵化 12~24 小時之雌性幼蟲，所得之成蜂羽化率皆可維持在 73.3%~80% 之間；因此，此三種生產方式之蜂王乳對幼蟲之生長並無影響。再以不同調配之 BLD 飼養孵化 12 至 24 小時之雄蜂幼蟲，其成蜂羽化率只有 18%，且有多數個體羽化不完全之情形。將 BLD 中的醣類及酵母抽出物比例修改，藉以探討食物因子對幼蟲生長分化之影響，其中發現修改後之 BLD，醣類及酵母抽出物比例過高或過低均對幼蟲生長有不利之影響。另外，雌蟲整個幼蟲期以蜂王乳餵飼，則並無成蜂羽化。今以蜂王乳餵飼雌性及雄性前三日齡之幼蟲，之後改餵飼 BLD 直至化蛹，則羽化雌性成蟲中，蜂后個體之比例顯著提高，而雄蜂羽化率可達 65%。

Summary

The royal jelly adopted in this research is high-produced, normal and low-produced. The six basic components of those royal jellies are very similar through the chemolysis: moisture content 67.3%~69.2%; ash 1.05%~1.10%; carbohydrate 8.2%~13%; crude fat 4.2% ~ 5.5%; crude protein 18.4%

~20.1%; 10-HDA (10 hydroxy- 2-decenoic acid) 1.12% ~ 1.36%. Take each royal jelly compound three different BLD with glucose, fructose, yeast extract and double distilled water. Breeding female larvae 12~24 hours with each BLD, the percent survival to adult stages could maintain between 73.3%~80%; therefore, these three BLD do not effect the growth of larvae. However, when breeding male larvae with each BLD, percent survival to adult stages is only 18%, and number of the survival adult are emerged incompletely. Change the proportion of carbohydrate and yeast extract in BLD to explore the effect of food component on the growth of larvae, high or low proportion of carbohydrate and yeast extract could make the larvae emerge incompletely. If we feed the female larvae with royal jelly all through the larva stage, no adult can survive. However, feed male and female larvae with royal jelly in the first three days, the day after feed them with only BLD until pupating, we have higher proportion of queen adult and the drone percent survival to adult stages could reach 65%.

計劃緣由及目的

蜜蜂為高度分工之真社會性昆蟲(eusocial insects)，蜂群中包括許多未封蓋之幼蟲，這些幼蟲皆由蜂群中專司飼育的育幼蜂(nurse bees)提供食物，此種行為雖然提供了蜜蜂於幼蟲時期具有良好之生長環境及條件，但對於許多蜜蜂幼蟲之相關研究上增加許多困難度；例如：受病原感染而罹病之幼蟲，成蜂會因幼蟲罹病而將其移除，造成病理學上研究的困難；防治幼蟲病害的藥劑無法直接施用於幼

蟲，須由育幼蜂傳遞予幼蟲，其防治效果受蜂群行為影響甚鉅；幼蟲食物均經由育幼蜂餵食，食物營養成分組成不易人為添加或去除，使蜜蜂之營養學研究困難；此外，蜜蜂階級分化及殺蟲劑對幼蟲的影響等研究，皆因蜂群中的照顧之行為而不易進行。若能建立一套人工飼養的標準模式，將蜂群的照顧行為排除之，則許多幼蟲方面的研究皆可得到直接且明確之結果。

蜂王所產下之授精卵所孵化之幼蟲，其階級分化與幼蟲時期所取食之食物的營養組成成分及取食量有密切的關係，RJ 中含有較高的糖類已被證實有促進幼蟲取食的作用(Brouwers *et al.*,1984; Asencot and Lensky, 1985)，幼蟲於 1-2 日齡時因糖類的刺激而取食大量的 RJ，此種食物的因子刺激了中腸的受器(receptors)，促使咽喉側腺(corpora allata)於三日齡時釋放多量的青春激素(juvenile hormone = JH)，此 JH 調控著幼蟲合成特殊的蜂后蛋白，造成蜂后與工蜂的形態差異(Winston, 1987)。

本研究室過去曾針對蜜蜂美洲幼蟲病的防治應用上，利用人工飼養蜜蜂幼蟲之技術加以深入研究探討(陳等,1997)，並且均獲得高應用價值之成果。但在實驗過程中，其羽化成蜂皆會出現蜂王及中間形之個體，因此，解決雌性個體的分化方向以及建立雄性個體之飼養技術即為本研究之主要目的。

結果與討論

(一) 蜂王乳化學成分分析

本研究以 A.O.A.C.之分析方法對三種不同生產方式之蜂王乳的水分、灰份、醣類、粗脂肪、粗蛋白及癸烯酸，進行化學組成之分析(表一)。

由結果可發現三種蜂王乳中的癸烯酸含量差異性較大，以三天四排為生產方式的高產量蜂王乳可能因蜂群每日所能

生產蜂王乳中之癸烯酸含量有一定限度，而癸烯酸含量的差異是否會對幼蟲生長及發育造成影響，將於以下實驗中討論之。

表一、不同生產方式蜂王乳之化學組成分析

	高 產	正 常	低 產
水 分(%)	68.16±0.03	69.08±0.11	69.25±0.41
灰 分(%)	1.09±0.004	1.21±0.007	1.21±0.021
醣 類(%)	10.75±1.02	11.55±1.79	9.05±1.65
粗脂肪(%)	4.82±0.56	4.42±0.81	5.02±0.31
粗蛋白(%)	19.68±0.65	18.58±0.44	19.04±0.32
癸烯酸(%)	1.12±0.50	1.25±1.00	1.30±1.20

(二) 蜂王乳生產方式對幼蟲之影響

根據 Vandenberg 及 Shimanuki (1987) 將此三種生產方式之蜂王乳以 50% 生鮮蜂王乳、6% 葡萄糖、6% 果醣、1% 酵母抽出物及 37% 無菌水，分別配製成食物 WBLD-1，飼養孵化 12~24 小時之雌性幼蟲，飼養結果如表二所示：

表二、蜂王乳生產方式對幼蟲生長發育之情形

	低 產	正 常	高 產
幼 蟲 數	120	116	118
化蛹存活數	105(87%)	101(87%)	103(87%)
排便天數	7~9	7~8	8~9
羽 化 數	89(74%)	88(75%)	94(79%)
羽化天數	16~21	16~21	17~22
成蜂乾重 (mg)	20.69±1.63	20.05±1.64	20.92±1.94

三種蜂王乳所飼養之幼蟲化蛹率皆高達 87%，成蜂羽化率也介於 74%~79%；至於成蜂之乾重，三者也並無顯著差異，因此，三種生產方式所獲得之蜂王乳其營養成分對幼蟲生長發育並無差異性存在。在確定三種生產方式所生產之蜂王乳其化學組成成分並無差異性後，再將這些蜂王乳加以混合均質化，並將混合後之蜂王乳保存於-20 之冷凍櫃中作為後續實驗之主要材料。

(三) 工蜂的飼養

由於上述實驗中所配製的食物 WBLD - 1，其所飼育的雌性個體會出現

26 % 的中間型態及蜂王階級之成蜂，因此針對工蜂的營養需求，一方面在幼蟲食物的調配上做了比例上的修正配製成 WBLD - 2 及 WBLD - 3 (表三)，另一方面將所取的幼蟲齡期由孵化 12~24 小時改為取孵化 24~36 小時。

表三、飼育工蜂之食物配方

	WBLD - 1	WBLD - 2	WBLD - 3
蜂王乳	50%	50%	45%
無菌水	37%	39.5%	38%
葡萄糖	6%	5%	8%
果糖	6%	5%	8%
酵母抽出物	1%	0.5%	1%

結果如表四所示；Ex-1 為幼蟲時期全程餵飼食物 WBLD - 1，羽化成蜂中有 30 % 的蜂后及中間形個體。而 Ex-2 為取孵化 12~24 小時之幼蟲，全程餵飼食物 WBLD - 2，而 Ex-3 為取 24~36 小時之幼蟲，於前四天供給 WBLD - 2，之後改以 WBLD - 3 餵食直至排便化蛹為止。結果顯示，實驗 Ex-2 及 Ex-3 羽化成蜂中，蜂王及中間形態個體之比例明顯下降。且實驗 Ex-3 幼蟲的排便及羽化之天數也較為集中，因此，Ex-3 之飼養方式最適用於工蜂之飼育。

表四、工蜂飼養之食物配方比較

	Ex-1	Ex-2	Ex-3
幼蟲數	90	87	85
化蛹存活數	81	77	68
排便天數	6~9	6~9	7~8
羽化數	65 (72%)	62 (71%)	67 (74%)
羽化天數	15~20	18~21	18~20
羽化階級	W : 46 Q : 13 I : 6	W : 51 Q : 7 I : 4	W : 62 Q : 3 I : 2
成蟲乾重 (mg)	30.48±2.81	32.57±2.11	29.69±1.88

W : worker , Q : queen , I : intermedia

雌性幼蟲要發育成為工蜂階級，在孵化前三天食物中醣類的比例不可過高，否則易使幼蟲因醣類刺激而發育為蜂王階級。另外，醣類及酵母抽出物之比例過高或過低也會造成幼蟲於生長發育時期發育不完全或大量死亡。因此在食物各組成

成分的比例及食物種類與幼蟲齡期的搭配上必須謹慎。

(四) 蜂王的飼養

蜂王飼育方面，欲使飼養之雌性幼蟲發育為蜂王，其食物配方及餵飼方式必定與飼養工蜂有所差異。因此將食物配製成 QBLD - 1、QBLD - 2 及 QBLD - 3 (表五)，希望能找出飼育蜂王的最適方法。

表五、飼育蜂王之食物配方

	QBLD - 1	QBLD - 2	QBLD - 3
蜂王乳	95%	55%	60%
無菌水	5%	29%	28%
葡萄糖	0%	6%	5%
果糖	0%	6%	5%
酵母抽出物	0%	4%	2%

飼養結果由表六所示，實驗 Ex-4 於幼蟲時期全程以 QBLD-1 飼育，結果顯示只有 7 % 幼蟲進入蛹期，但是均無法羽化。此表示雖蜂王乳是採自王台內幼蟲前四日齡之食物，但是此食物無法供應蜂王幼蟲完整之營養。因此，我們做了以下之修正方式。

表六、蜂王飼養之食物配方比較

	Ex-4	Ex-5	Ex-6
幼蟲數	82	83	73
化蛹存活數	6(7%)	68(82%)	62(84%)
排便天數	7~9	6~9	6~8
羽化數	0	52 (62%)	45(61%)
羽化天數	-	15~21	15~20
羽化階級	Q : 0 W : 0 I : 0	Q : 19 W : 23 I : 10	Q : 24 W : 17 I : 4
成蟲乾重 (mg)	-	32.97±5.05	35.12±4.78

W : worker , Q : queen , I : intermedia

實驗 Ex-5 中幼蟲期全程以 QBLD-2 飼養，此配方的蜂王乳及酵母抽出物之比例提高，所得成蜂中蜂王之比例可提高至 36 %，但是其成蜂羽化率則只有 62%。而實驗 Ex-6 則是取孵化 12 小時以內之幼蟲，希望藉此能將自然蜂群所造成之影響降至最低；這些幼蟲於前兩日餵飼 QBLD-1 食物，第三日起改 QBLD-3 為幼蟲食物至進入排便期。

結果由表六所示，羽化成蜂之中，蜂王所佔的比例可提高至 52%。而成蟲乾重也較實驗 Ex-2 中的成蟲重。蜂王生長發育過程中所需的營養成分與工蜂必然不同，而且蜂王於蜂群中主司繁殖其發育過程中對營養的需求也高於工蜂，因此，調整食物中蜂王乳及醣類及酵母抽出物的比例則可明顯提高蜂王階級之比例。

(五)雄蜂的飼養

根據 Haydak (1970) 所提，雄蜂幼蟲的食物與工蜂幼蟲時期的食物相類似，但是雄蜂幼蟲四日齡起食物中含有花粉。因此在人工飼養雄蜂時，最初實驗 Ex-7 以 WBLD-1 (表七) 進行雄蜂幼蟲之飼育。

表七、飼育雄蜂之食物配方

	WBLD - 1	DBLD - 2
蜂王乳	50%	50%
無菌水	37%	30%
葡萄糖	6%	9%
果醣	6%	9%
酵母抽出物	1%	1%

結果並不盡理想，成蜂羽化率只有 18% 而已，且有一半個體有羽化不完全之現象。於是便推測雄蜂幼蟲整個發育時期食物會像蜂王食物一樣隨齡期不同而改變。

表八、不同食物配方與自然蜂群間之雄蜂飼養情形

	Ex-7	Ex-8	In colony
幼蟲數	89	87	90
化蛹存活數	36	68	68
排便天數	10~13	9~13	9~10
羽化數	16 (18%)	63 (72%)	67(74%)
羽化天數	24~25	25~27	22~23
成蟲乾重 (mg)	31.38±5.56	32.97±5.05	35.12±4.78

經過幾次試驗後發現雄蜂幼蟲在前三日時餵飼 95% 蜂王乳含量的食物 QBLD-1，之後的第四、五、六日改以工蜂食物 WBLD-1，接著再改以 DBLD-2 為食物，繼續餵食至幼蟲排便。飼養結果如表八的實驗 Ex-2 所示：成蜂育化率可達

72% 與自然蜂群中雄蜂的羽化率 74% 相差無幾，而成蜂的乾重也與自然蜂群無顯著差異，表示人工飼養幼蟲的食物配方之營養成分足以供給雄蜂完成生長及發育。但是羽化天數延的後原因則可能與溫溼度的調節有密切關係。

計劃成果自評

本實驗對於最終目的在於能夠建立一套完整的人工飼養蜜蜂幼蟲之技術，目前對於工蜂階級的飼養已經相當成熟，成蜂羽化率高且穩定。在蜂王階級飼養的方面，雖然所羽化之個體中，蜂王階級比例已經提高許多，但是整體存活率並不理想，是由於病害之關係還是受食物因子所影響則有待後續之研究。計劃最重要的突破是對於雄蜂的飼養；由於前人對於雄蜂的人工飼養尚未有成功之報導，而此計劃成功建立雄蜂的幼蟲食物配方及飼養方式，對於蜜蜂育種、遺傳及各種基礎方面之研究上有相當大的助益。

參考文獻

- 陳裕文、王重雄、何鎧光。1996。利用人工飼養蜜蜂幼蟲測試 Oxytetracycline 的藥效。中華昆蟲 16:331(摘要)。
- Asencot, M., and Y. Lensky. 1984. Juvenile hormone induction of 'queenliness' of female honey bee (*Apis mellifera* L.) larvae reared on worker jelly and on stored royal jelly. *Comp. Biochem. Physiol.* 78B:109-117.
- 1985. The phagostimulatory effect of sugars on the induction of "queenliness" in female honeybee (*Apis mellifera* L.) larvae. *Comp Biochem. Physiol.* 81A:203-208.
- Brouwers, E. V. M. 1984. Glucose/fructose ratio in the food of honeybee larvae during caste differentiation. *J. Apic. Res.* 23:94 -101.
- Haydak, M. H. 1970. Honeybee nutrition. *Ann. Rev. Entomol.* 15:143-156
- Jay, S. C. 1964. Rearing honeybee brood outside the hive. *J. Apic. Res.* 3:51-60.
- Peng, C. Y. S., E. Mussen, A. fong, M. A. Montague, and T. Tyler. 1992. Effect

- of chlortetracycline of honeybee worker larvae reared *in vitro* J. Invertebr. Pathol. 60:127-133.
- Rembold, H., and B. Lackner. 1981. Rearing of honeybee larvae *in vitro* : effect of yeast extract on queen differentiation. J. Apic. Res. 20:165-171.
- Takeuchi, K., N. Watabe, and M. Matsuka. 1972. Rearing drone honeybees in an incubator. J. Apic. Res. 11:147-151.
- Vandenberg, J D., and H. Shimanuki. 1987. Technique for rearing worker honeybees in the laboratory. J. Apic. Res. 26: 90-97.
- Winston, M. 1987. The biology of the honey Bee. Harvard Univ. Press, Cambridge, Mass. 281pp.
- Yoshida, T., M. Sasaki, and T. Ohnishi. 1984. Effect of lipid content in royal jelly on the queen differentiation of the honeybee, *Apis mellifera*. Bulletin of the Faculty of Agriculture, Tamagawa University 24:43-52.