

一种新型蜜蜂巢内行为观察记录系统的研制与应用^{*}

葛雅婷^{**} 刘骐伟 万云星 支丹丹 周丹银 董 坤 赵文正^{***}

(云南农业大学动物科学技术学院蜂学系, 昆明 650201)

摘 要 【目的】基于蜜蜂生物学及蜜蜂巢内行为研究的特点, 本实验旨在研制一款新型蜜蜂巢内行为观察记录系统。【方法】在传统观察蜂箱的基础上, 利用红光光源和摄像设备可对实验蜂群进行长时间、无干扰观察记录; 通过在观察箱内增添滑轨、滑块、滑轮等装置, 实现对具有 3-5 框巢脾的实验蜂群中间巢脾的观察记录。在前人设计制作的蜜蜂个体背标基础上, 通过增加字母-数字-图形的排列组合, 在满足肉眼易辨识的同时实现了标记样本量足够大的研究需求。【结果】成功研制了一套新型蜜蜂巢内行为学观察记录系统, 将其应用于西方蜜蜂巢内行为观察实验发现: 平均 63.08% 的被标记工蜂能够被准确识别; 行为观察持续 3 d 后, 平均 43% 的被标记工蜂能够被捕捉回收。【结论】实践应用表明, 该系统能够较好地满足蜜蜂巢内行为学实验的各项要求, 可为此类研究提供科学准确的数据。

关键词 蜜蜂; 巢内行为; 个体背标; 观察记录

Development and application of a new observation and recording system for the in-hive behavioral study of honeybees

GE Ya-Ting^{**} LIU Qi-Wei WAN Yun-Xing ZHI Dan-Dan
ZHOU Dan-Yin DONG Kun ZHAO Wen-Zheng^{***}

(Department of Apiology in Faculty of Animal Science and Technology, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, China)

Abstract 【Objectives】To develop a new observation and recording system for studying their in-hive behavior of honeybees. 【Methods】Inspired by traditional observation hives, an infrared light and camera were installed to facilitate the long-term, inobtrusive observation and recording of honeybee behavior in the hive. In addition, we added slide rails, sliders and pulleys to the hive, enabling observation and recording of the middle comb in colonies with 3-5 combs. Inspired by the individual bee markers used in previous studies, we designed a new set of markers with enlarged combinations of letters, numbers and symbols. These new, improved markers not only made it easier to identify individual bees, but also allowed us to obtain a large sample size. 【Results】We successfully developed a new honeybee in-hive behavioral observation and recording system and used this to conduct in-hive behavioral observation experiments on the western honeybee, *Apis mellifera*. We found that an average of 63.08% of tagged workers could be accurately identified, and that an average of 43% could be recaptured after 3 days of behavioral observations. 【Conclusion】Results of a pilot study indicate that our new in-hive observation and recording system was an improvement on previous systems for observing in-hive honeybee behavior and data collection during behavioral experiments.

Key words honeybee; in-hive behavior; individual bee markers; observation and recording

^{*}资助项目 Supported projects: 蜜蜂巢内行为观察蜂箱及新型个体标记的研制 (2022J0289); 国家现代农业 (蜂) 产业技术体系 (CARS-44-KXJ13); 国家自然科学基金项目 (32060241)

^{**}第一作者 First author, E-mail: 13030605380@163.com

^{***}通讯作者 Corresponding author, E-mail: rurosezww@163.com

收稿日期 Received: 2022-08-29; 接受日期 Accepted: 2022-11-03

蜜蜂是一类重要的经济昆虫,其所产的蜂蜜、蜂王浆、蜂花粉、蜂胶等蜜蜂产品具有极高营养保健价值。同时蜜蜂也是种植业生产中发挥关键作用的授粉昆虫,全球约 35% 的粮食作物主要依赖蜜蜂进行授粉 (Winfrey *et al.*, 2011)。此外,蜜蜂属代表性物种西方蜜蜂 *Apis mellifera* 还是一种重要的科学研究模式生物,作为典型的真社会性昆虫,它的一些独特生物学特点,如:一雌多雄交配方式 (Polyandry)、单倍体雄性二倍体雌性性别决定机制 (Haplodiploidy)、劳动分工 (Labor division)、级型分化 (Caste differentiation) 等,为社群生物学、进化生物学、发育生物学等领域提供了绝佳的研究素材,一直以来都是这些研究方向上的热点。近年来蜜蜂的各类行为及其规律、机制引起了生物学领域越来越多学者的研究兴趣 (Palmer and Oldroyd, 2000; Tarpy and Page, 2002; Hughes *et al.*, 2008, 2010)。

蜜蜂的大多数行为发生在蜂巢内,称为巢内行为,如:哺育幼虫、建造巢房、酿造蜂粮、清理卫生、舞蹈交流等。此类行为是人类理解蜜蜂社群组织结构和构建蜜蜂社群生物学理论体系的基础。早期对蜜蜂巢内行为的研究是通过将巢脾提出蜂箱,利用肉眼直接观察,这严重影响巢内环境条件且干扰蜂群正常秩序。为了提升观察实验的便利度和研究结果的准确性,研究者开始设计使用观察蜂箱 (Kirchner and Arnold, 2001; Arnold *et al.*, 2002; Zhang *et al.*, 2020)。Koyama 等 (2007) 在关于西方蜜蜂的育王实验中曾使用过一款玻璃观察蜂箱 (Koyama *et al.*, 2007), 这款观察箱需打开箱门将巢脾暴露于可见光下,依赖肉眼直接观察,对正常的蜂巢环境和蜂群秩序存在影响且观察时间有限。Huang 和 Otis (1991) 曾在工蜂哺育行为研究中使用过一款可容纳四框巢脾的玻璃观察蜂箱,并将观察箱置于黑暗环境中。但在观察期间需要打开荧光灯,观察时间稍长就会对蜂群的正常生活秩序造成干扰。Sagili 等 (2018) 在自己的实验中升级了观察方式,将数码相机应用到观察蜂箱中,实现了针对目标巢脾区域内蜜蜂个体行为的长时间观察记录,但依旧需要可见光辅助,给蜂群带来一定强

度的可见光刺激。Fernando 等 (2015) 和 Franziska 等 (2018) 曾在研究中使用过一种蜜蜂巢内行为观察装置,利用蜜蜂对红光不敏感的生物学特点,用红光照明配合相机拍摄观察区域,能够实现对蜜蜂巢内行为的长时间、无干扰观察记录。该装置只能容纳 1 张巢脾,尽管有利于对巢脾两面整体情况的观察,却不利于蜂群保温,也难以反映具有一般群势、多框巢脾的蜂群内蜜蜂个体行为状态 (Fernando *et al.*, 2015; Franziska *et al.*, 2018)。

蜜蜂个体较小且数量众多,对于具有一般群势的蜂群而言,在蜂巢内,如果不进行标记,很难对两个个体进行区分,要跟踪、观察、记录其行为是十分困难的。因此蜜蜂巢内行为学研究的关键是:对蜜蜂个体进行可识别且唯一的标记。传统标记手段主要是利用油漆标记笔进行不同颜色标记 (Arnold *et al.*, 2000; Martin *et al.*, 2004; Naeger *et al.*, 2013; Yagound *et al.*, 2017)。这种方法虽然简便,但颜色种类有限而蜜蜂个体数量却成千上万,难以实现大量标记,且在红光条件下即使不同颜色也不易辨识。现有的蜂王背部标记主要是通过阿拉伯数字区别个体 (Perez *et al.*, 2009; Mattila *et al.*, 2012), 并利用胶水粘黏在蜜蜂背板上。在直径约 3 mm 的标记面上仅可容纳 2 位数字,经过排列组合也只能产生数量有限的不同标记。Chen 等 (2012) 在研究蜜蜂进出活动时利用 26 个英文字母两两排列组合设计并制作了一款蜜蜂个体背标 (Chen *et al.*, 2012), 利用 CCD 相机采集图像并基于支持向量机 (SVM) 算法进行辨识。由于担心机器识别过程中易混淆字母 (如: O、Q) 组合造成的错误,实际应用时的字母组合标记并不多,存在标记样本量有限的问题。Franziska 等 (2018) 在其研究中曾设计出一款圆形码标记,能够产生 2^{12} (4 096) 个不同排列组合,大大提升了标记个体的数量。配合高速数码相机和相应的计算机软件,能够实现自动记录、自动识别蜜蜂个体运动轨迹的研究目的。然而这套标记严重依赖于相应的计算机软件,肉眼很难观察和辨识。

鉴于蜜蜂巢内行为研究的特点及上述前人

研究基础,本实验中我们将主要针对以下两个问题开展研究工作:(1)传统多巢脾观察蜂箱不能对中间巢脾实施观察记录;(2)目前蜜蜂的个体标记难以满足样本量过大的要求,同时难以肉眼识别。我们沿用了前人利用红光光源照射巢脾,利用摄像设备录像记录等设计。在此基础上,首先本实验中设计的蜜蜂巢内行为观察蜂箱可容纳 3-5 框巢脾,能满足一般群势蜂群对空间的要求;其次边框能够在观察箱内实现升降,以便于对中间巢脾实施观察记录;第三,在前人的研究基础上设计了一套包含英文大小写字母、阿拉伯数字及其它可区别符号的双位制圆形标记,经排列组合共可产生 2 700 多个不同标记,标记样本量足够大的同时也满足肉眼易识别的研究需求。经实践应用,该系统能够较好地满足蜜蜂巢内行为学实验的各项要求。

1 材料与方法

1.1 实验材料

摄像设备(海康威视网络摄像机,具备夜视

和变焦功能,像素 2 560×1 440)、红光光源(2 W/个)、厚度 18 mm 的木板、直径 30 mm 的小滑轮、透明塑化塑料平板、图钉、锁扣、合页、钉子、螺丝、滑轨、轴承、铁丝、钢丝绳、开口轴承滑块、木工工具、人工气候箱(宁波江南仪器厂 RXZ 智能型)、镊子、CorelDRAW 软件,130 g 彩喷铜版纸,3 mm 打孔器。

1.2 蜜蜂巢内行为观察蜂箱设计组装

如图 1 所示:观察箱的主箱体尺寸长、宽、高分别为 550、265、580 mm。下半部分用于放置巢脾,足够容纳 3-5 张朗氏标准巢框;上半部分空间供巢脾提升,上下两部分以活动隔板割开。两个箱门分别设置于箱体两侧,门的下半部分都配置一个长 460 mm、宽 230 mm、高 240 mm 的封闭中空暗室,由相应尺寸的金属支架外包防雨黑布构成,暗室内置具备夜视功能的数码拍摄设备和红光光源。由于蜜蜂对红色光不敏感(Riley, 1994),因此不会干扰蜂群正常的秩序。箱门与箱体之间安装一扇观察窗,窗口上覆以透明玻璃或塑料板。在观察蜂箱正面前板距底板

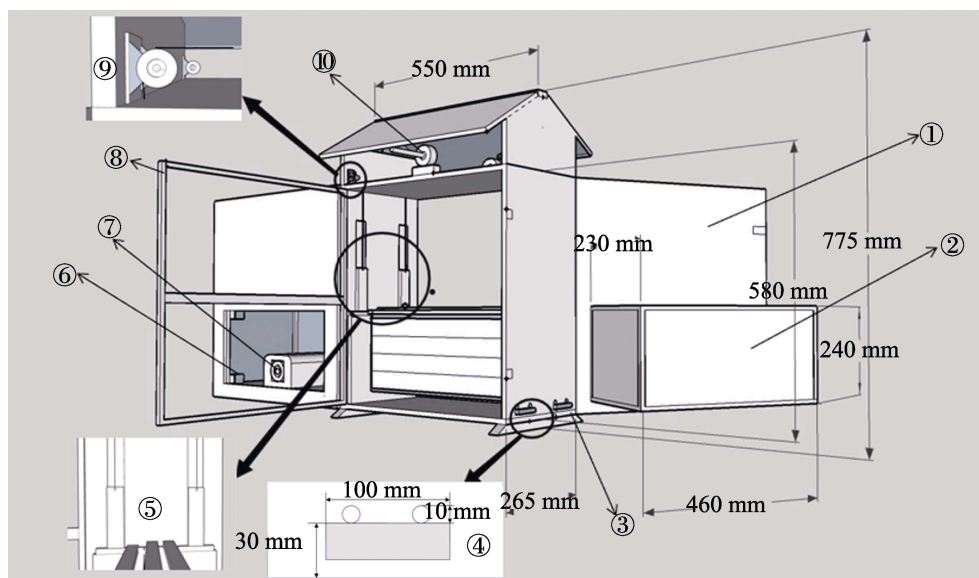


图 1 观察箱整体示意图

Fig. 1 Overall schematic diagram of observation hive

- ①箱门; ②中空暗室; ③蜂箱底托; ④巢门; ⑤滑轨; ⑥红色光源; ⑦红外摄像设备;
⑧透明观察窗; ⑨升降滑轮; ⑩手动摇柄。
- ① Door; ② Hollow darkroom; ③ Entrance of hive; ④ Nest gate; ⑤ Slide rail; ⑥ Red light source;
⑦ Infrared camera equipment; ⑧ Transparent observation window; ⑨ Lifting pulley; ⑩ Manual handle.

30 mm 处开 4 个直径 10 mm 的孔作为巢门供蜜蜂进出蜂巢,其下方钉两根木条供蜜蜂起飞、降落。

如图 2 所示:箱体两侧边脾对应位置各装有 1 对滑轨,共两对。滑轨上的滑块能够上下滑动,滑块用于承载巢框框耳,从而带动相应边脾上升或下降。

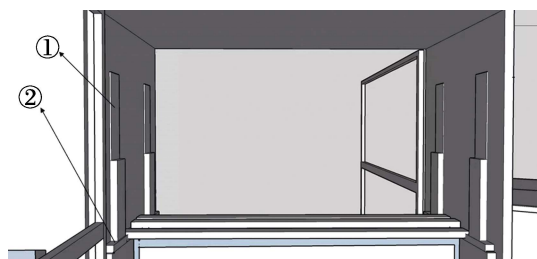


图 2 箱内滑轨示意图

Fig. 2 Schematic diagram of sliding rail in the hive

①滑轨; ②滑块。

① Slide rail; ② Slider.

1.3 蜜蜂个体背标设计制作

蜜蜂个体背标印制于直径 3 mm 的圆形纸片上,如图 3 所示:使用 CorelDRAW 软件绘制,由两位字母/数字/符号排列组合而成。去掉其中容易引起辨识错误的组合,如:大、小写字母写法一样的 C 与 c, K 与 k, O 与 o 等;去掉易混淆的字母与数字及数字与数字组合,如: O 与 0, 1 与 l, 69 与 96 等,最终生成的背标数量为 $52 \times 52 = 2\,704$ 个。背标顶部的黑色月牙用于指示辨识背标时的方向方位。

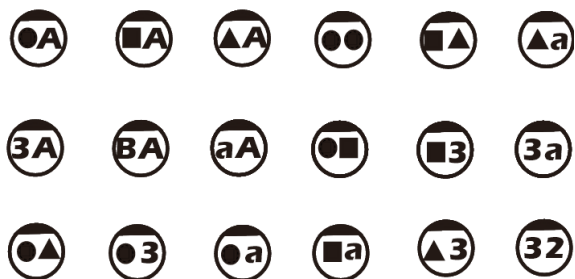


图 3 部分蜜蜂个体背标

Fig. 3 Part of the individual markers

1.4 应用于巢内行为观察实验中

实验于 2021 年 3-5 月间在云南农业大学蜂

学系实习蜂场开展,以 2 群西方蜜蜂 (*Apis mellifera*) 为实验对象。从实验蜂群中提出 1 框封盖子脾置于人工气候箱中[温度 $(33.5 \pm 0.5)^\circ\text{C}$, 湿度 $60\% \pm 10\%$],在工蜂出房 24 h 内对其进行背标粘贴并继续在人工气候箱中喂养 3 d,每群标记 600 只出房的工蜂。3 d 后从实验蜂群中提 2 脾有幼虫且蜜粉充足的巢脾置于观察蜂箱内,将人工气候箱中已标记的工蜂引入观察箱,同时将一只囚禁在王笼中的产卵蜂王也放入观察蜂箱内,组成观察实验群。待蜂群稳定 8-12 h 后打开红光光源同时开启摄像设备。记录并统计了开始录像之后的 72 h 内在视频中出现的标记工蜂的数量,并在录像结束后采集所有标记工蜂的样本。

2 结果与分析

2.1 蜜蜂巢内行为观察蜂箱

试制完成的蜜蜂巢内行为观察蜂箱如图 4 所示:在具备交、直流电源的条件下即可正常使用,可在不打开箱体的情况下,对蜜蜂的巢内行为实施长时间观察记录。通过摇动手柄即可带动滑块沿滑轨上升,将承载于滑块上的边脾升起,从而对中脾进行观察记录。实际应用表明,实验蜂群不会对红光光源及摄像设备表现出聚团或趋避行为,其生活秩序与在一般朗氏蜂箱中并无差别。

2.2 蜜蜂个体背标

设计好的蜜蜂个体背标使用 130 g 铜版纸打印,利用 3 mm 打孔器抠取下来并以专用的蜜蜂背标胶水(购买自上海索胜生物科技有限公司)粘贴到蜜蜂背板上,效果如图 5 所示。背标重约 1 mg,不会影响蜜蜂个体的飞行、爬行及身体探入巢房等正常活动。

2.3 蜜蜂巢内行为观察记录系统的应用效果

2021 年 3-5 月间开展的蜜蜂巢内行为观察记录实验,共视频录制 3 d,较完整地记录了目标巢脾区域内被标记蜜蜂个体的行为。实验视频截图见图 6,统计结果显示:1 号实验群中观察

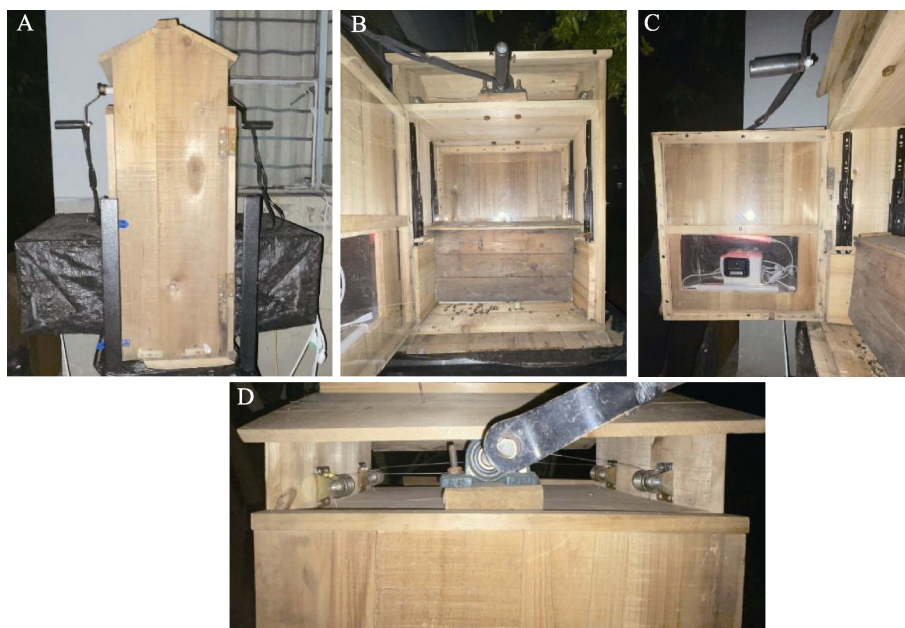


图 4 蜜蜂巢内行为观察蜂箱

Fig. 4 Observation hive of honeybee in-hive behavior

- A. 正面图; B. 打开箱门的侧面图; C. 箱门上的中空暗室、摄像设备和红光光源; D. 滑轮和手动摇柄。
A. Front view; B. Side view of opening the door; C. Hollow darkroom, camera and red light on the hive door; D. Pulley and manual handle.



图 5 蜜蜂个体背标粘贴效果

Fig. 5 Actual image of bee individual marked with back label

- A. 一只贴着背标的蜜蜂; B. 自然光下拍摄的巢脾中标记蜜蜂; C. 自然光下拍摄的中间巢脾的标记蜜蜂。
A. A bee with a marker; B. Marked bees on the comb photographed under natural light;
C. Marked bees on the middle comb photographed under natural light.

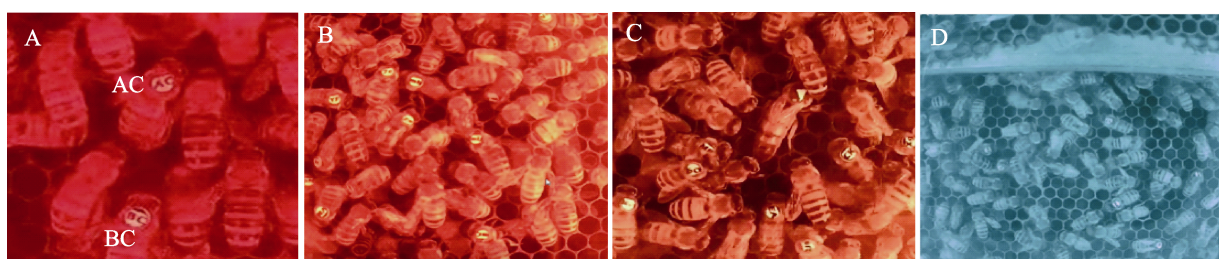


图 6 蜜蜂巢内行为观察记录系统录制视频的部分截图

Fig. 6 Screenshots of the video recorded by the observation and recording system for honeybee in-hive behavior

- A, B, C. 未经处理的视频截图; D. 调整过色调的中间巢脾观察视频截图。
A, B, C. Unprocessed video screenshots; D. Video screenshots of the middle comb with adjusted tone.

到 275 只清晰可识别的标记工蜂, 占全部被标记工蜂的 45.83%; 2 号实验群中观察到 482 只清晰可识别的标记工蜂, 占全部被标记工蜂的 80.33%。平均识别率 63.08%。观察期 (72 h)

结束后, 从 1 号实验群会回收被标记工蜂 139 只, 占全部被标记工蜂 23.17%; 从 2 号实验群回收到 377 只, 占全部被标记工蜂 62.83%。平均回收率 43%。识别率和回收率统计值见表 1。

表 1 被标记工蜂样本的识别率和回收率
Table 1 Rates of identification and recapture of the marked workerbee samples

蜂群 Colony	标记工蜂数量 (只) Number of marked worker (ind.)	可清晰识别的标记 工蜂数量 (只) Clearly identifiable number of marked worker (ind.)	回收到的标记 工蜂数量 (只) Number of marked workers recovered (ind.)	可识别率 (%) Recognizability (%)	回收率 (%) Recovery rate (%)
1 群 Colony 1	600	275	139	45.83	23.17
2 群 Colony 2	600	482	377	80.33	62.83

3 讨论

本研究设计并成功组建了一套蜜蜂巢内行为观察记录系统, 主要组成部分包括观察蜂箱、蜜蜂个体背标及显示红外摄像头监测画面的电脑。该系统成本较低、组装方便、操作简单、无需网络, 在具备交、直流电源条件的室内或室外均可使用, 能够较好地满足蜜蜂巢内行为研究的各项要求。

其中观察蜂箱能够容纳多框 (≤ 5) 巢脾, 并且沿用了 Fernando 等 (2015) 和 Franziska 等 (2018) 配置红光光源和摄像设备的设计, 藉此实现对蜂巢内蜜蜂活动的长时间、无干扰观察记录。在此基础上, 我们进一步对观察蜂箱实施改造, 添加了滑轨、滑块、滑轮等部件, 能够在不打开箱门的前提下, 提升边脾、露出中脾, 从而实现对蜂群中间巢脾的观察记录。目前在蜜蜂科学及相关研究领域普遍使用的蜂种是西方蜜蜂和东方蜜蜂 *Apis cerana*, 与一些营造单脾的野生蜜蜂种类 (如: 大蜜蜂 *Apis dorsata*, 小蜜蜂 *Apis florea*) 不同, 西方蜜蜂和东方蜜蜂都属于营造复脾的蜂种, 其许多重要活动 (如: 蜂王产卵、工蜂哺育、改造王台等) 主要甚至全部在中间巢脾进行。因此对实验蜂群的中脾实施观察记录对于相关研究数据的客观、准确程度十分重要。

蜜蜂个体背标在蜜蜂科学研究领域是一种常用的标记方法。最先开始应用于标记蜂王, 以便于在生产及育种过程中的辨识管理。在应用于

蜜蜂巢内行为研究时, 有两个方面的问题需要妥善解决: 一方面是标记样本量的问题; 另一方面是辨识准确度的问题。蜜蜂巢内行为研究的对象主要涉及到数量众多的工蜂, 要观察、记录如此大量工蜂的个体行为, 就需要赋予不同个体以不同标记。传统的颜色标记受限于可区别的颜色种类, 数字标记受限于标记面积小造成的可容纳数字位较少。鉴于此, 前人在针对蚂蚁、蜜蜂等社群生物的行为学研究中设计应用了原理与二维码类似的方形 (Mersch *et al.*, 2013) 及圆形 (Franziska *et al.*, 2018) 背标。这类标记在较小的面积上能容纳 N 个 ($N > 12$) 信息码点, 每个码点上可取 (黑或白) 2 进制信息, 从而产生 2^N 种不同标记, 极大地扩充了标记样本量。但此类标记却存在另一方面, 即辨识准确度的问题。二维码类似标记通过肉眼几乎无法区别, 需要依赖于计算机软件才能辨识并形成研究数据, 而计算机软件在辨识背标过程中的错读率和漏读率在前人的研究中 (Franziska *et al.*, 2018; Gernat *et al.*, 2018) 已有报道, 是有待进一步修正和完善的环节。本实验中所设计的蜜蜂个体背标选取了字母-数字-符号排列组合式标记, 结果显示: 肉眼准确识别率平均可达 63.08%, 背标准确识别率的高低主要受摄像设备的像素和帧数影响, 后期可以通过优化摄像设备的功能参数来进一步提升研究数据的准确性。此外, 该背部标记还可以通过图形辨识技术实现计算机自动识别与记录, 从而大大提升研究效率。

这套蜂巢内行为观察记录系统尚存在一些有待改进的不足之处: 第一, 尽管本实验中对观察蜂箱进行了改进, 能够在不打开箱门的情况下提升边脾、露出中脾, 从而实现对蜂群中脾的观察记录。然而对于边脾内侧及中脾与边脾之间的巢脾(当实验蜂群包含 4 或 5 框巢脾时), 仍然无法实施观察和研究。我们期待在将来的研究中就此问题继续进行改进。第二, 在实际应用过程中发现现有的背标粘黏技术效率较低。其大致步骤包括: 先将蜜蜂个体进行无伤害固定, 再刮除蜜蜂背板绒毛后点胶水, 最后将背标轻轻按压在蜜蜂背部 7-8 s, 整个流程平均花费 30 s 左右。当实验要求同一时段粘贴较大数量(如: 1 000 个)背标时, 2-3 个人往往很难在 2 h 内顺利完成。这也限制了该系统在蜂巢内行为研究领域内的应用范围, 我们将在今后的工作中就此问题开展进一步实验研究。

参考文献 (References)

- Arnold G, Quenet B, Masson C, 2000. Influence of social environment on genetically based subfamily signature in the honeybee. *Journal of Chemical Ecology*, 26(10): 2321–2333.
- Arnold G, Quenet B, Papin C, Masson C, Kirchner WH, 2002. Intra-colonial variability in the dance communication in honeybees (*Apis mellifera*). *Ethology*, 108(9): 751–761.
- Chen C, Yang EC, Jiang JA, Lin TT, 2012. An imaging system for monitoring the in-and-out activity of honey bees. *Computers and Electronics in Agriculture*, 89: 100–109.
- Fernando W, Benjamin W, Couvillon MJ, Raúl R, Tim L, 2015. Automatic methods for long-term tracking and the detection and decoding of communication dances in honeybees. *Frontiers in Ecology and Evolution*, 3: 103.
- Franziska B, Benjamin R, Benjamin W, David D, Fernando W, Tim L, 2018. Tracking all members of a honey bee colony over their lifetime. *Frontiers in Robotics & AI*, 5: 35.
- Gernat T, Rao VD, Middendorff M, Dankowicz H, Goldenfeld N, Robinson GE, 2018. Automated monitoring of behavior reveals bursty interaction patterns and rapid spreading dynamics in honeybee social networks. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 115(7): 1433–1438.
- Huang ZY, Otis GW, 1991. Inspection and feeding of larvae by worker honey bees (Hymenoptera: Apidae): Effect of starvation and food quantity. *Journal of Insect Behavior*, 4(3): 305–317.
- Hughes W, Oldroyd BP, Beekman M, Ratnieks F, 2008. Ancestral monogamy shows kin selection is key to the evolution of eusociality. *Science*, 320(5880): 1213–1216.
- Hughes W, Ratnieks F, Oldroyd BP, 2010. Multiple paternity or multiple queens: Two routes to greater intracolony genetic diversity in the eusocial Hymenoptera. *J. Evol. Biol.*, 21(4): 1090–1095.
- Perez S, Chaline N, Martin SJ, Hughes W, Ratnieks FLW, 2009. Multi-level selection for hygienic behaviour in honeybees. *Heredity*, 102(6): 609–615.
- Kirchner WH, Arnold G, 2001. Intracolony kin discrimination in honeybees: Do bees dance with their supersisters? *Animal Behaviour*, 61(3): 597–600.
- Koyama S, Harano KI, Hirota T, Satoh T, Obara Y, 2007. Rearing of candidate queens by honeybee, *Apis mellifera*, workers (Hymenoptera: Apidae) is independent of genetic relatedness. *Applied Entomology & Zoology*, 42(4): 541–547.
- Martin C, Oldroyd B, Beekman M, 2004. Differential reproductive success among subfamilies in queenless honeybee (*Apis mellifera* L.) colonies. *Behavioral Ecology & Sociobiology*, 56(1): 42–49.
- Mattila H, Reeve H, Smith M, 2012. Promiscuous honey bee queens increase colony productivity by suppressing worker selfishness. *Current Biology*, 22(21): 2027–2031.
- Mersch DP, Crespi A, Keller L, 2013. Tracking individuals shows spatial fidelity is a key regulator of ant social organization. *Science*, 340(6136): 1090–1093.
- Naeger NL, Peso M, Even N, Barron A, Robinson GE, 2013. Altruistic behavior by egg-laying worker honeybees. *Current Biology*, 23(16): 1574–1578.
- Palmer KA, Oldroyd BP, 2000. Evolution of multiple mating in the genus *Apis*. *Apidologie*, 31(2): 235–248.
- Riley JR, 1994. Flying insects in the field // Wratten SD(ed.). *Video Techniques in Animal Ecology and Behaviour*. Dordrecht: Springer Netherlands. 1–15.
- Sagili R, Metz BN, Lucas HM, Chakrabarti P, Breece CR, 2018. Honey bees consider larval nutritional status rather than genetic relatedness when selecting larvae for emergency queen rearing. *Scientific Reports*, 8(1): 7679.
- Tarpy DR, Page RE, 2002. Sex determination and the evolution of polyandry in honey bees (*Apis mellifera*). *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 52(2): 143–150.
- Winfrey R, Gross B, Kremen C, 2011. Valuing pollination services to agriculture. *Ecological Economics*, 71: 80–88.
- Yagound B, Duncan M, Chapman NC, Oldroyd BP, 2017. Subfamily-dependent alternative reproductive strategies in worker honeybees. *Molecular Ecology*, 26(24): 6938–6947.
- Zhang ZY, Li Z, Huang Q, Jiang WJ, Zeng ZJ, 2020. Absence of nepotism in waggle communication of honeybees (*Apis mellifera*). *Journal of Apicultural Science*, 64(2): 301–307.