

意大利蜜蜂工蜂卵巢发育的研究^{*}

赵亚周^{1**} 黄家兴¹ 安建东^{1***} 杜毅²

(1. 中国农业科学院蜜蜂研究所农业部授粉昆虫生物学重点开放实验室 北京 100093;

2. 长江大学农学院 湖北 荆州 434023)

Influencing factors on workers' ovarian development of the honeybee *Apis mellifera* colonies. ZHAO Ya-Zhou^{1**}, HUANG Jia-Xing¹, AN Jian-Dong^{1***}, DU Yi² (1. Key Laboratory for Insect-Pollinator Biology of the Ministry of Agriculture, Institute of Apiculture, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100093, China; 2. College of Agriculture, Changjiang University, Jingzhou, Hubei 434023, China)

Abstract The factors inhibiting ovarian development and oviposition in worker honeybees *Apis mellifera* L. were investigated in four kinds of honeybee colonies; queen-caged colonies (tg1), queenless colonies with broods (tg2), queenless and broodless colonies (tg3) and normal queen colonies (CK). Workers' ovarian development was observed under the microscope and a developmental index of oocyte development determined. The results show that, relative to CK, the degree of ovarian development was least in tg1 workers, higher in tg2 workers and greatest in tg3 workers. Differences in the ovarian development index were significant between the four groups after 31 days ($P < 0.05$). The pre-oviposition period of tg1, tg2 and tg3 workers were 35d, 22d and 17d, respectively. The comb capping time of tg2 and tg3 were 8d and 6d respectively. However, CK or tg1 workers did not cap combs, and CK workers didn't oviposit. We conclude that the prolonged absence of a queen was more effective in triggering workers' ovarian development and oviposition than either a relatively short absence of a queen or an aging queen. The presence of a brood also inhibited worker's ovarian development in queenless colonies, so addition of brood comb to such colonies could prevent workers from ovipositing.

Key words *Apis mellifera*, worker, ovarian development, influencing factors

摘 要 蜜蜂 *Apis mellifera* L. 蜂群中的工蜂卵巢发育和工蜂产卵现象受多种因素控制,了解其影响因素对养蜂生产具有重要意义。本研究将意大利蜜蜂蜂群设置为囚王群(tg1)、无王有子群(tg2)、无王无子群(tg3)以及正常有王蜂群(CK)4个试验组,通过对工蜂卵巢管的显微观察,确定不同处理组工蜂在不同时间段内卵巢的发育情况。结果表明:随着时间的延长,与CK处理组相比,tg3处理组中的工蜂卵巢发育水平最高,tg2次之,tg1最低;在31d时,4个处理组两两之间差异均达到显著水平($P < 0.05$)。tg1、tg2和tg3处理组中工蜂产卵前期时间分别为35、22和17d,而CK蜂群在试验期内未出现工蜂产卵现象;tg2和tg3处理组的工蜂产卵的封盖前期时间分别为8和6d,而tg1和CK组在试验期内未出现子房封盖现象。蜂群失王时间过长会刺激工蜂卵巢发育,并导致其产卵;蜂群的短期失王和蜂王老化也会刺激工蜂卵巢发育,但是刺激程度较低;蜂群中的蜂子能抑制工蜂卵巢管的发育,因此在蜂群短时间失王时可以适当地补充子脾延缓工蜂卵巢发育。

关键词 意大利蜜蜂, 工蜂, 卵巢发育, 影响因素

^{*} 资助项目:国家自然科学基金项目(30901055、30800805)、公益性行业(农业)科研专项经费项目(nyhyxz 07-041)、国家蜂产业技术体系建设专项经费项目、引进国际先进农业科学技术“948”项目(2006-G19)。

^{**}E-mail: zhaoyazhou0301@hotmail.com

^{***}通讯作者, E-mail: anjiandong@yahoo.com.cn

收稿日期:2009-11-09, 修回日期:2009-12-31

蜜蜂是一种营社会性群居昆虫,通常情况下,蜂群中存在着三型蜂,即蜂王、雄蜂和工蜂。其中蜂王和工蜂都是由受精卵发育而来,蜂王的生殖器官发育完全,专门负责产卵和维持蜂群秩序。工蜂的卵巢由于受到多种因素的制约而未完全发育,它们的职责是采集食物、清理蜂巢卫生和哺育幼虫等工作。但是,当蜂群中的蜂王由于寿命、健康、死亡等原因而影响其对蜂群的控制力时,蜂巢中工蜂的卵巢便开始发育,工蜂监督作用被削弱,直至出现工蜂取代蜂王产下雄蜂卵的情况^[1~3]。并且产卵工蜂更倾向于哺育自己所产下的未受精卵,而使蜂王产下的受精卵发育受到一定程度的阻滞^[4,5]。结果必将造成蜂群中的雄蜂数量增多,工蜂的相对数量减少,最终使蜂群崩溃^[6]。

目前,有关工蜂卵巢发育影响因素的研究主要集中在蜂王信息素和蜂群中的幼虫对工蜂卵巢发育的影响。正常的蜂群中工蜂的卵巢发育水平处于原始状态,几乎不会产卵,大约万分之一的工蜂卵巢发育成熟,蜂巢中1%的雄蜂卵为工蜂所产^[7,8],这种现象比较认可的解释为工蜂卵巢发育受到蜂王上颚腺分泌的蜂王信息素(queen's mandibular gland pheromone, QMP)的抑制作用^[9,10],Brockmann等研究发现蜂王信息素的主要成分有9-ODA、9-HDA、+9-HDA、HOB、HVA,他们认为正是这些物质通过相互协同作用将蜂群控制在一定的有序状态^[11]。祁海萍等通过研究提出蜂王信息素的传播途径也会在一定程度上影响蜂群内的工蜂卵巢发育^[12]。有学者提出假说:当蜂群中存在幼虫时,这些幼虫会像蜂王一样释放一种信息素告知饲喂工蜂——巢内有幼虫需要饲喂,工蜂就会将营养价值较高的蜂王浆饲喂给幼虫,而不是自己取食,导致自身的卵巢发育受阻^[13~16],Higo等^[17],Pankiw和Rubink^[18]通过实验证明对西方蜜蜂无子蜂群施以幼虫信息素会在很大程度上抑制工蜂的卵巢发育,从而刺激工蜂专司花粉采集等工作。Kubisova和Haslbachova专门研究发现蜜蜂的幼虫信息素或者其人工合成物能够在很大程度上抑制工蜂

的卵巢发育和工蜂产卵行为^[19]。但是,究竟是幼虫信息素中的何种物质在起作用尚不清楚^[20,21]。

蜂群中工蜂卵巢发育和产卵现象可能是受到了蜂王信息素和幼虫信息素等多方面的因素影响,但是影响程度如何还不清楚。针对以上现状,本文设置了无王无子、无王有子、囚王和正常试验组,通过定期对各蜂群工蜂进行随机抽样解剖,观察其卵巢管发育状况,分析不同处理对工蜂卵巢发育的影响程度,旨在揭示蜂群中工蜂卵巢发育的影响因素及控制条件,为提高蜜蜂饲养管理水平奠定理论基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料

意大利蜜蜂12群,试验时间为2008年6至7月份,随机选取强势的自然蜂群,从中选取3个脾组成试验蜂群。试验组设置为:囚王群组(tg1)、无王有子群组(tg2)、无王无子群组(tg3)和对照群组(CK),每组设置3个重复。蜂群组织方法如下:

tg1设置:脾内的蜂子(幼虫或蛹,下同)少于50只,把蜂王放置在巢脾上蜂蜜充足的地方,然后用囚王罩将其罩住,使之不能在蜂箱内随意爬动,组成囚王群。

tg2设置:要求其蜂子数量大于1脾,且蜜脾上粉蜜量充足,组成无王有子蜂群。

tg3设置:要求巢脾上没有蜂子且粉蜜充足,组成无王无子蜂群。

CK设置:不加处理,自然对照群。

1.2 试验方法

1.2.1 工蜂卵巢发育试验

(1) 取样

每天早晨6:30,每个处理组在巢脾脾面上随机取工蜂30只,并将其放入95%的酒精内杀死,做好标记。35 d时间内共取样12次(1、3、5、7、10、13、16、19、23、27、31、35 d)。

(2) 解剖

将工蜂放置在培养皿中,用眼科剪刀将其翅膀和足剪掉,再从尾部向前沿背部中线剪开,

然后转移至蜡盘中,用昆虫针把腹部背板挑开并固定,挑去内脏,在其尾部便可观察到卵巢。

(3) 观察

在体式显微镜下,将卵巢用解剖针挑出放置在载玻片上,然后剥离卵巢管外的其他组织,就可清楚看到卵巢管。观察卵巢管的长度、形状和膨胀度,以及卵母细胞、滋养细胞的大小和卵巢管中小室的变化情况,做好记录并根据 Lin 和 Winstor 提出的标准定级(分为 I、II、III、IV、V 5 个级别)^[21],以确定卵巢发育指数^[22]。

卵巢发育指数 =

$$\frac{\sum (\text{发育个数} \times \text{级数}) \times 100}{\text{工蜂取样数} \times \text{卵巢发育最高级数}}。$$

1.2.2 工蜂产卵试验 本实验从开始试验直至试验蜂群中出现工蜂产卵的时间界定为工蜂产卵前期时间。封盖前期时间则是从每个试验蜂群中工蜂产卵到出现首个工蜂产卵子房封盖的时间。观察记录选择在每天傍晚蜂群归巢后,对每个设置组中蜂群的产卵前期时间和封盖前期时间进行详细记录,利用 SAS 软件分别对设置组中所有试验蜂群产卵前期时间和封盖前期时间的平均值进行统计分析。

2 结果与分析

2.1 意大利蜜蜂工蜂卵巢发育生物学观察

将各实验组的工蜂进行解剖后,取其单个卵巢管进行显微观察和描述,结果如下:

(1) 卵巢管基本没有变化,卵巢管短而柔软,全部半透明,内部无明显的细胞分化,卵细胞和滋养细胞尚无法分辨,卵巢管柄明显(图 1)。

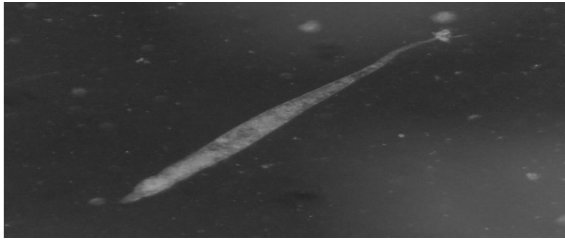


图 1 工蜂卵巢发育等级: I 级

(2) 卵巢管出现轻微地膨大,卵细胞和滋

养细胞开始分化,内部可见明显的白色卵细胞。卵巢管逐渐伸长而变粗,卵巢管柄的长度变短(图 2)。

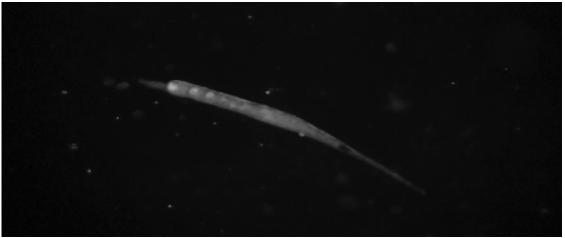


图 2 工蜂卵巢发育等级: II 级

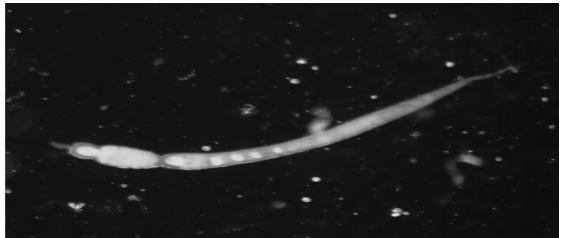


图 3 工蜂卵巢发育等级: III 级



图 4 工蜂卵巢发育等级: IV 级



图 5 工蜂卵巢发育等级: V 级

(3) 卵细胞开始成熟,卵巢管出现明显地膨胀和臃缩,卵巢管明显变长,卵巢管柄明显变短。部分卵巢管因成熟卵下移,管柄消失(图 3)。

(4) 卵巢管继续膨大和臃缩,出现香肠状的卵细胞。卵巢管继续变长,由于卵成熟下移,卵巢管柄接近或完全消失,卵巢管中有 1~2 个

成熟卵。部分卵巢管因卵成熟而久未排出,出现臃缩空段,此时工蜂的整个腹腔被成熟卵所充塞(图4)。

(5)卵细胞分化完全,呈念珠状排列。此时卵巢管变得更长,其中填充有大量成熟卵细胞,卵巢管柄已完全消失,为工蜂的产卵盛期。此阶段产卵之后,卵巢管会出现萎缩,仅残存有为数极少的成熟卵(图5)。

2.2 意大利蜜蜂工蜂卵巢发育指数分析

不同的处理组在1 d时工蜂的卵巢发育指数基本相同,即处于正常蜂群状态。随着时间的延长,每个处理组的工蜂卵巢发育情况发生了明显变化。

(1)tg3工蜂的卵巢发育情况与CK相比,在3 d时便达到差异显著水平($P < 0.05$),5 d达到差异极显著水平($P < 0.01$)。tg3处理方式对工蜂的卵巢发育影响较大,其卵巢发育指数在35 d时达到最高的88.3。

(2)tg2工蜂的卵巢发育情况与CK相比,在5 d达到差异显著水平($P < 0.05$),10 d时

达到差异极显著水平($P < 0.01$)。tg2处理方式对工蜂的卵巢发育影响稍低,卵巢发育指数在35 d时为81.1。

(3)tg1工蜂的卵巢发育情况与CK相比,在10 d达到差异显著水平($P < 0.05$),16 d差异极显著($P < 0.01$)。tg1处理方式对工蜂的卵巢发育影响最低,卵巢发育指数在35 d时为74.4。

(4)在5 d时,tg3工蜂卵巢发育指数明显高于tg1($P < 0.05$),到16 d时这种差异变得更加明显($P < 0.01$);而tg3与tg2相比,工蜂卵巢发育指数在13 d时差异显著($P < 0.05$),在27 d时差异极显著($P < 0.01$)。可见,tg3处理方式对工蜂卵巢发育的刺激作用均比tg1和tg2处理方式要大。

(5)tg1与tg2相比,工蜂卵巢发育指数在31 d时差异显著($P < 0.05$),在35 d时达到了差异极显著水平($P < 0.01$),说明tg1和tg2的处理方式对工蜂卵巢发育刺激程度相当,但tg2稍高一些。

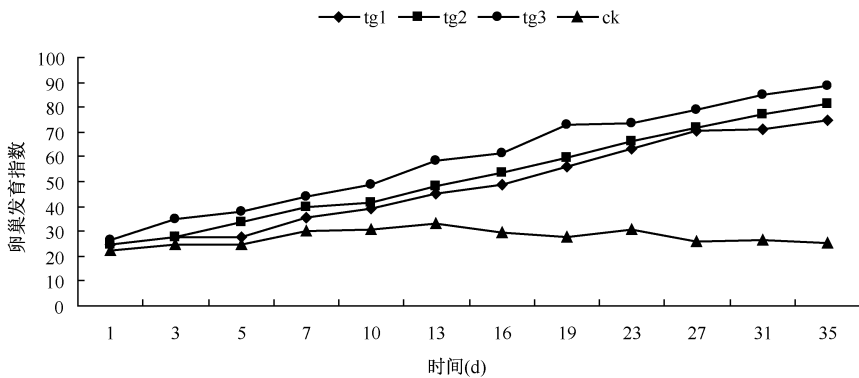


图6 不同处理时间内各处理组意大利蜜蜂工蜂卵巢发育指数

3种处理方式对实验蜂群中工蜂卵巢发育的影响较对照组强;并且随着时间的延长,三者曲线的变化趋势一致,呈明显的上升状态,说明蜂群中卵巢发育的工蜂数量越来越多,而对对照组的工蜂卵巢发育情况随着时间的延长,其变化幅度较小,说明蜂群中卵巢发育的工蜂数量基本不变。3种处理方式对工蜂卵巢发育的影响程度大小为:tg3处理的影响最为明显,tg2

处理次之,tg1处理最低;而且随着时间的延长,tg3处理的影响作用愈加明显(图6)。

2.3 意大利蜜蜂工蜂产卵前期时间和封盖前期时间差异

实验过程中,对4个处理组设置的共12个蜂群的工蜂产卵前期时间和封盖前期时间分别利用SAS软件进行显著性检验,tg3处理组中工蜂最先产卵,其产卵的前期时间平均为17 d;

tg2 产卵的前期时间平均为 22 d;tg1 产卵的前期时间平均为 35 d,三者与 CK 组相比较均达到显著差异水平($P < 0.05\%$)(表 1)。tg3 组的工蜂平均产卵前期时间短于 tg2 和 tg1,蜂群中蜂王的有无是诱导工蜂产卵的最主要因素;tg1 组的平均工蜂产卵前期时间较 tg2 稍长,蜂群中蜂子的存在对工蜂产卵也有一定的抑制作用,但是影响较小。tg1 组的工蜂最终也出现了产卵现象,但是出现时间较晚(35 d),说明囚王群工蜂卵巢发育受到很大程度的抑制,验证了蜂王信息素传播途径会在一定程度上影响工蜂产卵的说法。

表 1 不同处理组意大利蜜蜂工蜂
产卵前期时间差异性分析

处理组	产卵前期时间		
	均值	5% 显著水平 ($P < 0.05$)	1% 显著水平 ($P < 0.01$)
tg3	22.3 ± 2.1	a	A
tg2	16.7 ± 3.2	ab	A
tg1	12.0 ± 20.8	ab	A
CK	0	b	A

注:不同小写字母表示差异显著($P < 0.05$),相同大写字母表示差异不显著($P < 0.01$)。(下表同)

表 2 不同处理组意大利蜜蜂工蜂
封盖前期时间差异性分析

处理组	封盖前期时间		
	均值	5% 显著水平 ($P < 0.05$)	1% 显著水平 ($P < 0.01$)
tg3	7.7 ± 0.6	a	A
tg2	6.3 ± 0.6	b	B
tg1	0	c	C
CK	0	c	C

巢房封盖现象是蜂子发育成熟必经的一个重要阶段。从实验蜂群的平均封盖前期时间上看,tg3 组为 6 d,tg2 组为 8 d,而在 35 d 的试验期内未发现 tg1 组和 CK 组出现封盖现象,tg3 和 tg2 与 tg1 和 CK 相比达到了差异极显著水平($P < 0.01$)(表 2)。蜂群中没有蜂王或蜂子均在很大程度上刺激了工蜂新产下蜂子的封盖,甚至可能影响到蜂子的羽化出房。

3 讨论

为了更好地指导养蜂生产,本文对工蜂卵巢发育和工蜂产卵的影响因素进行了研究,旨在更清晰地展示蜜蜂工蜂卵巢发育与蜂群失王和蜂王衰老之间的关系,明确蜂王和蜂子对工蜂产卵的影响程度,以更好地为养蜂生产服务。

本文比较了不同的处理方式对工蜂卵巢发育、产卵前期时间和封盖前期时间等指标的影响,处理方式中分别模拟了养蜂生产中经常出现的长期失王、短期失王和蜂王衰老 3 种现象。发现当蜂群失去蜂王时间较长后,工蜂的卵巢发育很快,相应的工蜂产卵前期时间和封盖前期时间明显变短。其主要原因可能是长期失王的蜂群中工蜂受到的蜂王信息素的影响作用明显变小,其不需要利用自身大量营养价值较高的物质去合成蜂王浆饲喂蜂王,使得工蜂卵巢发育所必需的营养物质增加,刺激了工蜂卵巢发育^[23,24]。Hefetz 和 Gozansky 还提出正常蜂群中蜂王分泌的蜂王信息素被工蜂感知后,会引起蜂体内相应的生理效应,强烈抑制工蜂卵巢发育,但是当蜂群由于某种原因失去蜂王后,这种抑制作用会被大大地削弱^[25]。蜂巢中存在蜂子(即短期失王)时,由于工蜂忙于护理和饲喂蜂子,将自身分泌的蜂王浆喂给 3 日龄以内的幼虫,而工蜂自身卵巢发育所需的营养物质相应地减少,所以一般情况下工蜂在一生当中,其都是作为一种生殖器官未发育完全的雌性个体存在。另据 Pankiw^[26] 和 Barron 和 Oldroyd^[27] 报道,蜂巢中的蜂子也会像蜂王一样分泌一种外激素,对工蜂产生一定的滞育作用。囚王处理(模拟蜂王衰老)后发现,蜂王信息素的传播途径确实能够影响工蜂卵巢发育和工蜂的产卵时间,但是影响作用较小。Moritz 等^[28] 和 Lipiński^[29] 报道其原因可能是蜂王被扣王笼罩住后,其上颚腺所分泌的蜂王信息素不能及时充分地传播到蜂巢中的每一个角落,而使蜂王信息素对工蜂卵巢发育的抑制作用降低甚至消除,导致工蜂卵巢出现不同程度的发育,甚至产卵。

在本试验过程中, tg3 和 tg2 的实验蜂群中出现了工蜂产卵封盖现象, 而 tg1 和 CK 组均未出现封盖子房。其可能原因是只要蜂群中依然存在蜂王, 其分泌的蜂王信息素仍能有效地控制工蜂所产下的雄蜂卵发育; 或者是本实验的进行时间有限, 没有在试验的观察时间段内出现 tg1 组蜂群的工蜂产卵封盖现象。但是, 试验中所采用的 3 种处理方式均会导致蜂王信息素或幼虫信息素等物质相对或者绝对的减少, 相应地, 工蜂的卵巢发育情况、产卵前期时间和工蜂产卵的后期发育也会随着发生变化。作者认为试验有必要进一步进行后期完善, 主要应在试验时间的设定和蜂王有无对工蜂产下雄蜂卵的发育情况的影响效果等方面进行考虑, 以期对蜂群中工蜂卵巢发育影响因素进行更加深入系统的阐述。

综上所述, 蜂群长期失王会强烈刺激工蜂的卵巢发育和工蜂产卵, 蜂子会在一定程度上影响工蜂卵巢发育, 但是影响程度较小。建议在蜂群失王后, 应尽快加入少量脾抑制工蜂卵巢的发育。实际养蜂生产中, 必须加强对蜂群的管理, 精确新蜂王的更换时间和正确判断蜂王的健康状况, 最终控制蜂群中的工蜂卵巢发育和产卵情况, 以保持蜂群旺盛的繁殖力和生产力。

致 谢 本论文完成, 承蒙各位匿名专家严谨审稿, 并提出宝贵修改意见, 在此仅表谢忱! 同时感谢中国农业大学成华同学对本论文英文摘要部分修改提出宝贵意见。

参 考 文 献

- Schafer M. O., Dietemann V., Pirk C. W. W., et al. Individual versus social pathway to honeybee worker reproduction (*Apis mellifera*): pollen or jelly as protein source for oogenesis? *J. Comp. Physiol. A*, 2006, **192**(7): 761 ~ 768.
- Malka S. O., Shnieor T., Gozansky A. K., et al. Aggression reproductive competition among hopelessly queenless honeybee workers triggered by pheromone signaling. *Naturwissenschaften*, 2008, **95**(6): 553 ~ 559.
- Dor R., Gozansky T. K., Hefetz A. Dufour's gland pheromone as a reliable fertility signal among honeybee (*Apis mellifera*) workers. *Behav. Ecol. Sociobiol.*, 2005, **58**(3): 270 ~ 276.
- Barron A. B., Oldroyd B. P., Ratnieks F. L. W. Worker reproduction in honey-bees (*Apis*) and the anarchic syndrome: a review. *Behav. Ecol. Sociobiol.*, 2001, **50**(3): 199 ~ 208.
- Gustavo R. M., Robert J. P. Ovariole number-a predictor of differential reproduction success among worker subfamilies in queenless honeybee (*Apis mellifera* L.) colonies. *Behav. Ecol. Sociobiol.*, 2006, **60**(6): 815 ~ 825.
- Beekman M., Oldroyd B. P. Different policing rates of eggs laid by queenright and queenless anarchistic honey-bee workers (*Apis mellifera* L.). *Behav. Ecol. Sociobiol.*, 2003, **54**(5): 480 ~ 484.
- Ratnieks F. L. W. Egg-laying, egg-removal, and ovary development by workers in queenright honey bee colonies. *Behav. Ecol. Sociobiol.*, 1993, **32**(3): 191 ~ 198.
- Visscher P. K. A quantitative study of worker reproduction in honeybee colonies. *Behav. Ecol. Sociobiol.*, 1989, **25**(4): 247 ~ 254.
- Grozinger C. M., Robinson G. E. Endocrine modulation of a pheromone-responsive gene in the honey bee brain. *J. Comp. Physiol. A*, 2007, **193**(4): 461 ~ 470.
- Hoover S. E. R., Keeling C. I., Winston M. L., et al. The effect of queen pheromones on worker honey bee ovary development. *Naturwissenschaften*, 2003, **90**(10): 477 ~ 480.
- Brockmann A., Brückner D., Crewe R. M., The EAG response spectra of workers and drones to queen honeybee mandibular gland components: the evolution of a social signal. *Naturwissenschaften*, 1998, **85**(6): 283 ~ 285.
- 祁海萍, 邵有全, 郭媛, 等. 蜂王信息素传递方式对工蜂卵巢发育研究. *中国蜂业*, 2008, **59**(2): 11 ~ 12.
- Hoover S. E. R., Winston M. L., Oldroyd B. P. Retinue attraction and ovary activation: responses of wild type and anarchistic honey bees (*Apis mellifera*) to queen and brood pheromones. *Behav. Ecol. Sociobiol.*, 2005, **59**(2): 278 ~ 284.
- Slessor K. N., Kaminski L. A., King G. G. S., et al. Semiochemical basis of the retinue response to queen honey bees. *Nature*, 1988, **332**: 354 ~ 356.
- Dietemann V., Pflugfelder J., Härtel S., et al. Social parasitism by honeybee workers (*Apis mellifera capensis* Esch.): evidence for pheromonal resistance to host queen's signals. *Behav. Ecol. Sociobiol.*, 2006, **60**(6): 785 ~ 793.
- Pankiw T., Garza C. Africanized and European honey bee worker ovarian follicle development response to racial brood

- pheromone extracts. *Apidologie*, 2007, **38**(2):156 ~ 163.
- 17 Higo H. A. , Winston M. L. , Slessor K. N. Mechanisms by which honey bee (Hymenoptera: Apidae) queen pheromone sprays enhance pollination. *Ann. Entomol. Soc. Am.* , 1995, **88**(3):366 ~ 373.
- 18 Pankiw T. , Rubink W. L. Pollen foraging response to brood pheromone by africanized and European honeybees (*Apis mellifera* L.). *Ann. Entomol. Soc. Am.* , 2002, **95**(6):761 ~ 767.
- 19 Kubisova S. , Haslbachova H. Effects of larval extracts on the development of the ovaries in caged worker honey bees. *Acta Entomol. Bohemoslov.* , 1978, **75**:9 ~ 14.
- 20 Kubisova S. Effects of fractions of larval extracts on the development of ovaries in caged worker honey bees. *Acta Entomol. Bohemoslov.* , 1982, **79**:334 ~ 340.
- 21 Lin H. , Winston M. L. The role of nutrition and temperature in the ovarian development of the worker honey bee (*Apis mellifera*). *Can. Entomol.* 1998, **130**(6):883 ~ 891.
- 22 杨明显, 谭垦. 东方蜜蜂蜂王对西方蜜蜂工蜂卵巢发育的抑制作用研究. 中国蜂业. 2008, **59**(1):14 ~ 16.
- 23 Reginato R. D. , Cruz L. C. Ovarian growth during larval development of queen and worker of *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae): a morphometric and histological study. *Braz. J. Biol.* , 2003, **63**(1):121 ~ 127.
- 24 Hoover S. E. R. , Higo H. A. , Winston M. L. Worker honey bee ovary development: seasonal variation and the influence of larval and adult nutrition. *J. Comp. Physiol.* , 2006, **176**(1):55 ~ 63.
- 25 Hefetz A. , Gozansky T. K. Are multiple honeybee queen pheromones indicators for a queen-workers arms race? *Apiacta* , 2004, **39**:44 ~ 52.
- 26 Pankiw T. Brood pheromone modulation of pollen forager turnaround time in the honey bee (*Apis mellifera* L.). *J. Insect Behav.* , 2007, **20**(2):173 ~ 180.
- 27 Barron A. B. , Oldroyd B. P. Social regulation of ovary activation in “anarchistic” honey-bees (*Apis mellifera*). *Behav. Ecol. Sociobiol.* , 2001, **49**(2/3):214 ~ 219.
- 28 Moritz R. F. A. , Crewe R. M. , Hepburn H. R. Queen avoidance and mandibular gland secretion of honeybee workers (*Apis mellifera* L.). *Insectes Soc.* , 2002, **49**(1):86 ~ 91.
- 29 Lipiński Z. The calming nature of reproductory dominance of the queen in the honeybee colony (*Apis mellifera* L.). *J. Apicult. Sci.* , 2007, **51**(1):101 ~ 108.