



GENETIK,
SELEKTION
UND
REPRODUKTION
BEI DER HONIGBIENE

BIENENBIOLOGIE — SYMPOSIUM, MOSKAU (UdSSR), AUGUST 1976

APIMONDIA — VERLAG
BUKAREST

KÜNSTLICHE BESAMUNG HAPLOIDER EIER DER BIENENKÖNIGIN

P. J. CHMARA
UdSSR

Der Gedanke der künstlichen Besamung haploider Eier der Bienenkönigin ist keineswegs neu. Mit seiner Realisierung befaßte sich BARRETT, 1919. Er bepinselte die Mikropyle des Eis, das die Königin in eine Drohnenzelle abgelegt hatte, mit Drohnensperma. Das Wabenstück mit so besamten Eiern wurde in ein weiselloses Volk eingeführt. Die Bienen bauten Weiselzellen um diese Eier und pflegten die Larven, aus denen Königinnen schlüpften.

1960 tauchte REINHARDT haploide Königinneneier in mit Ringerlösung verdünntes Sperma, transportierte sie in Vaselineöl und führte sie bei 35°C in den Brutschrank ein. 11 Stunden nach der künstlichen Besamung beobachtete er das Verschmelzen des Eikerns mit dem Spermatozoon. Im Laufe seiner Versuche beobachtete er, daß bei Verwendung von Sperma aus den Samenbläschen des Drohns diese Verschmelzung nicht stattfand: Das Ei blieb männlich. Positive Ergebnisse wurden hingegen erzielt, wurde das Ei in Sperma aus der Spermatheka der Königin getaucht.

Nach den Anweisungen von BARRETT erzielten wir keine positiven Ergebnisse durch künstliche Besamung haploider Eier. Als Hindernis erwies sich das Häutchen, das sich durch Trocknen auf der Oberfläche des Spermias bildet. Bekanntlich wiegt ein Drohnenejakulat 0,43 mg. Eine solche Menge trocknet in kurzer Zeit ein.

Bei unseren Versuchen holten wir das Sperma von erwachsenen Drohnen im Alter von 10—12 Tagen. Wir gingen dabei nach der von TRYASKO (1969) beschriebenen Methode vor. Wenn die Drohnen durch Reizung nicht veranlaßt werden können, das Geschlechtsorgan auszustülpen, wird das Abdomen gepreßt.

Nicht von allen Drohnen kann Sperma erzielt werden: in der Regel von 1 von 5—7. Das Sperma wird mit Ringerlösung verdünnt.

Das Ejakulat wird in einem Tropfen Ringerlösung auf einen sauberen, trockenen Objekträger gegeben. Dann wird eine „Kammer zur künstlichen Besamung der Eier“ genommen. Diese Kammer besteht aus 2 Glasröhren, wobei die dünnere eine Kapillarröhre mit 2 mm Innendurchmesser ist. Die Kammer ist etwa 60 mm lang. Sie besitzt einen

Kolben (2) mit einem zwischen zwei Drähten befestigten Wattetampon (3). Der Tampon wird vor Beginn der Arbeit in Ringerlösung getaucht. Die andere Röhre (4) erfüllt die Aufgabe einer Muffe: ihr Durchmesser ist so groß, daß die Kapillarröhre (1) hineinpaßt. Die Muffe ist 30 mm lang. Die beiden Röhren werden mithilfe eines Gummiringes (5) miteinander verbunden.

Um das Sperma in diese Vorrichtung zu übertragen, wird die Kapillarröhre in die Muffe eingeführt, so daß ihre beiden Enden aus der Muffe herausragen. Das freie Ende der Kapillarröhre wird mit der Oberfläche des verdünnten Spermas in Kontakt gebracht und dieses durch Betätigen des Kolbens in die Kapillarröhre aufgesogen. Das in das Sperma getauchte Ende der Kapillarröhre (6) wird sodann bis zur Hälfte der Muffe gebracht. Durch Rückzug des Kolbens wird das Sperma erneut an das Ende der Kapillarröhre gebracht. Das freie Ende der Muffe wird mit einem Wachspfropfen abgedichtet und die ganze Vorrichtung in den Brutschrank gegeben.

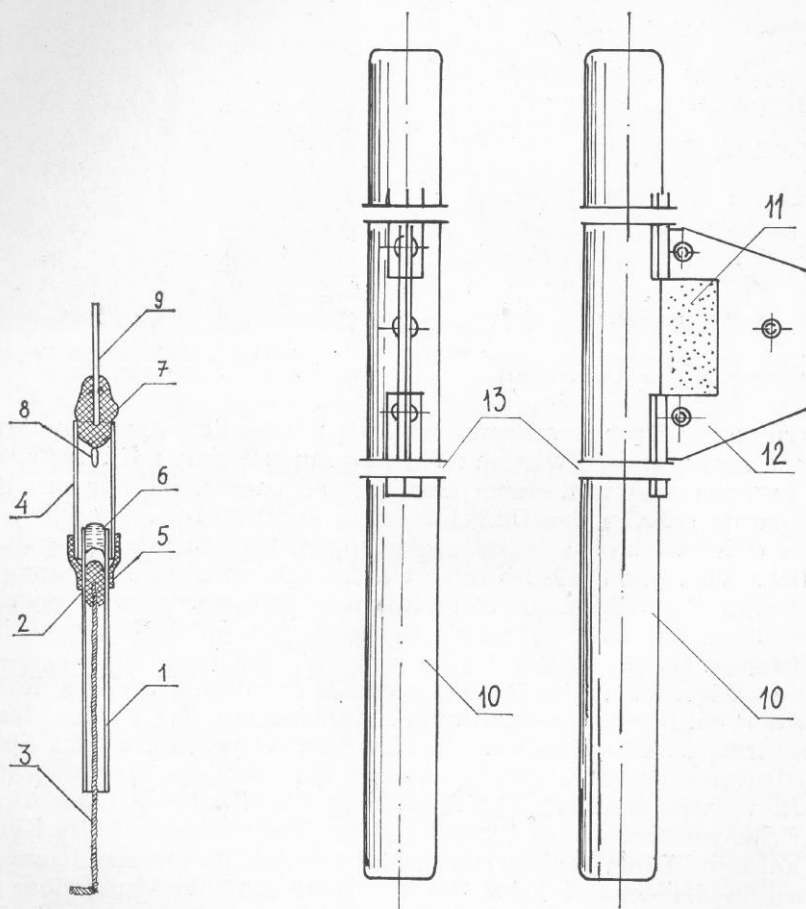
Die Königin wird dem Volk entnommen und in einem Käfig in den Brutschrank gestellt. Sie wird aus dem Käfig befreit und gelangt auf eine Unterlage (10), auf der sie mittels Porolonpölsterchen festgehalten wird. Das Pölsterchen ist zwischen zwei Aluminiumplättchen (12) befestigt, und diese ihrerseits mit 3 Klammern. 3 Bolzen halten diese 3 Klammern mit 3 Gummiringen (13). Der Thorax der fixierten Königin wird so mit dem Pölsterchen gepreßt, daß sich die Königin in Querstellung zur Unterlage befindet. Der Kopf der Königin befindet sich auf der einen Seite, das Abdomen auf der anderen Seite des Pölsterchens. Die Vorrichtung wird mit der Königin in einen Brutschrank gebracht.

Die Königin legt nicht sofort Eier ab, sondern erst 15—60 Minuten nach ihrer Entnahme aus dem Volk. Wird die Königin genau beobachtet, kann man feststellen, wie sich die Stachelkammer vor der Eilage öffnet. Dann tritt das Ei durch Impulse getrieben aus der Vagina aus.

Das Ei wird mithilfe einer aus einem Streichholz und etwas Wachs folgendermaßen improvisierten Vorrichtung entfernt: Ein Streichholz ohne Schwefelkopf wird wiederholt in geschmolzenes Wachs getaucht, wobei nach jedem Eintauchen gewartet wird, bis das Wachs erkaltet. Berührt der Wachskopf des Streichholzes das aus der Vagina austretende Ei, bleibt dieses in senkrechter Stellung daran haften. Nimmt das Ei eine andere Stellung zur Wachsfläche ein, muß es mithilfe eines anderen Streichholzes mit Wachskopf in die gewünschte senkrechte Position gebracht werden. Auch die Eier, die die Königin auf die Unterlage ablegt, können so verwendet werden. Das Ei wird sodann in das freie Ende der Muffe eingeführt, derart, daß ein Stückchen des Wachskopfes als Propfen (7) darin steckenbleibt.

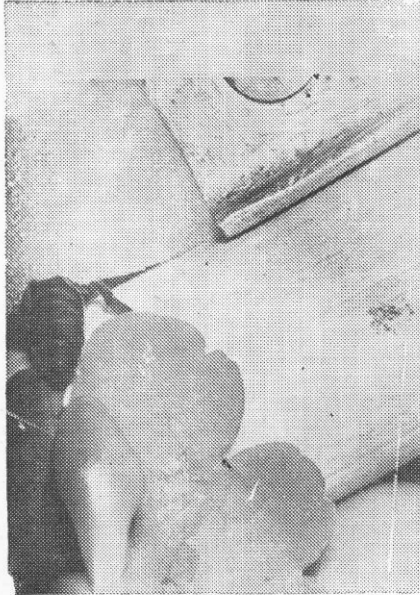
In der Mitte des Pfropfens befindet sich das Ei (8) in Längsaxialrichtung zur Kammer. Nach außen hin steckt das Streichholz (9) im Pfropfen. Das Kapillarröhrchen wird dem Ei (8) genähert, bis dessen Mikropyle zu einem Drittel mit Sperma benetzt ist. Dieser Kontakt des

Eis mit dem Sperma dauert 1—3 Sekunden. Das Kapillarröhrchen wird zurückgezogen. Dieses wird nach 40—60 Sekunden wiederholt. Das Ei, das immer noch am Wachskopf des Streichholzes klebt, wird sodann aus der Kammer entfernt. Das freie Ende des Steichholzes wird durch den Stöpsel eines Penicillinflakons gestoßen, so daß sich das Wachskopfe mit dem Ei im Flakon befindet. Ein Wachspfropfen schließt das Flakon, in dem sich 0,5—1,0 ml Schwefelsäurelösung mit dem spezifischen Gewicht 1,2 befindet, hermetisch ab. Diese Lösung schafft im Fläschchen nach der WOYKE-Methode eine relative Feuchtigkeit von 80%.

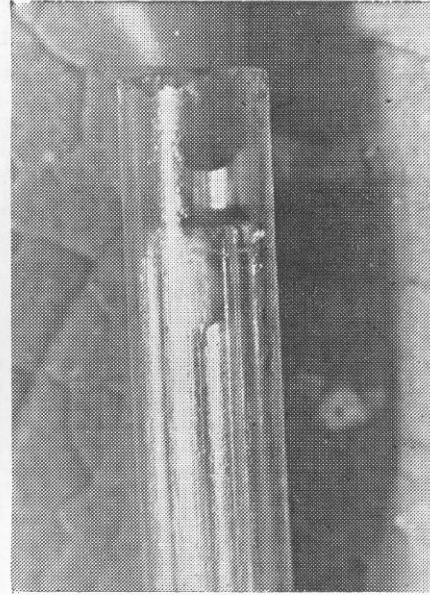


Nach 72—76 Stunden erscheinen die Larven. Sie werden in mit Weiselfuttersaft versehene künstliche Weiselzellen eingeführt, die nach 20-24 Stunden in ein Pflegevolk kommen. Zwölf Tage später schlüpfen die Königinnen.

Im Laufe der Versuche hat es sich erwiesen, daß sich Drohnensperma grundlegend von Säugetiersperma unterscheidet. Das Sperma der Säugetiere ist aktiv, gleich ob es von Luft umgeben ist oder nicht. Zur



Königin auf der Unterlage (zu sehen sind Abdomen und ausgetretenes Ei)



Kammer zur künstlichen Besamung Drohnen, 1970

Aktivierung des Drohnenspermas ist Luft unerlässlich. Das kann folgendermaßen nachgewiesen werden: Wird Drohnensperma auf einen Objektträger gegeben und mit einem Deckglas abgedeckt, ist nur am Rande des Präparats oder in der Umgebung von Luftbläschen Motilität zu beobachten. Und wird das Deckglas abgehoben, werden alle Spermatozoen beweglich. Wird das Deckglas erneut aufgelegt, wird die Bewegung wieder unterbrochen. Das kann beliebig wiederholt werden. Die Spermatozoen reagieren auf Luft, indem sie sich bewegen, auf Luftmangel, indem sie stillstehen.

Diese Eigenschaft des Drohnenspermas spielt eine wichtige Rolle im Prozeß der natürlichen Befruchtung: Auf das aus der Vagina der Königin austretende Ei gelangt durch den *Ductus spermaticus* das Sperma. Beim Austreten des Eies aus der Vagina gelangen die Spermatozoen an die Luft, werden aktiviert und dringen in die Eizelle ein. Das Eindringen der Spermatozoen in die Eizelle erfolgt somit außerhalb des Königinnenorganismus. Diese Eigenart konditioniert den Ruhezustand der Spermatozoen in der Spermatheka, der für seine Aufbewahrung über lange Zeiträume notwendig ist und einen unmittelbaren Beweis für die Realisierbarkeit künstlicher Besamung haploider Eier darstellt.

Bei der Handhabung der Eier muß in Betracht gezogen werden, daß sie sehr empfindlich sind: Wird das Flakon, in dem sich ein Ei befindet, auch nur ganz leicht angestoßen, wird das Ei zerstört.

An dem Tag der Besamung der Eier wird auch das Pflegevolk gebildet. Die Königin wird entfernt und die Arbeiterinnen beginnen den Bau von Weiselzellen. Die im Brutschrank geschlüpften Larven werden

in natürliche Weiselzellen des Pflegevolkes eingeführt, aus der die bereits vorhandenen Zellen zuvor entfernt wurden. Die Weiselzellen mit den aus künstlich besamten Eiern gezogenen Larven werden in das Pflegevolk zurückgegeben.

Wenn die Larve auf den Weiselfuttersaft gelegt wird, muß darauf geachtet werden, daß die Larve vollkommen gehäutet ist. Bei kleinsten Resten von Membranen geht die Larve im Kontakt mit dem Weiselfuttersaft ein.

Diese Methode gestattet die Fixierung gewünschter ökonomischer Charakteristika bei den Nachkommen der Königin durch Besamung ihrer Eier mit dem Sperma eines ihrer Söhne. Diese Methode gestattet die Besamung unbefruchteter Eier mehrerer Königinnen mit dem Sperma eines einzigen Drohns.

Die künstliche Besamung haploider Königinneneier gestattet es den Genetikern, mit Gameten genau bekannter Herkunft zu arbeiten. Diese Methode kann zur Schaffung komplexer Hybriden angewendet werden.

Mit gleichem Erfolg kann diese Methode neben der instrumentellen Besamung der Bienenkönigin angewendet werden.

Bei künstlicher Besamung haploider Königinneneier muß auf folgendes geachtet werden :

1. Den Aktivitätsgrad des Spermas : Zu wenig aktives Sperma ist nicht zu empfehlen,
2. Im Brutschrank muß eine hohe relative Feuchtigkeit (90% und mehr) herrschen und das Sperma muß nach Entnahme sofort präpariert werden, um nicht einzutrocknen.
3. Bildet sich ein Häutchen am Sperma, muß es sofort entfernt werden.
4. Nach Möglichkeit sollten junge Eier besamt werden.
5. Schutz der Eier vor Stößen und Vibrationen.

VERHALTEN DER KÖNIGINNEN UND DROHNEN IM FLUGKÄFIG

I. N. MADEBEIKIN
UDSSR

Bekanntlich paaren sich die Königinnen mit den Drohnen hoch oben in den Lüften, eine Tatsache, die die Kontrolle dieses Vorgangs erheblich erschwert. Belegstellen können unter den gegenwärtigen Gegebenheiten nicht überall organisiert werden. Auch instrumentelle Besamung kann sich nicht jedermann leisten : Sie erfordert einen Spezialapparat und eine gewisse Geschicklichkeit. Viele Imker versuchten aus diesen Gründen die Paarung von Königinnen und Drohnen in einem geschlossenen Raum — angefangen von einem Glasbehälter bis zu großdimensionierten Glashäusern. Diese Versuche waren jedoch nicht von Erfolg gekrönt. Erst 1971 schien es, als sei bei einem Versuch von J. NOWAKOWSKI und R. A. MORSE eine Königin auf dem Flug in einem Flugkäfig aus Maschendraht von 6,0×3,0×3,0 m begattet worden. Leider ging diese Königin 20 Minu-

