

**ARBEITSGEMEINSCHAFT DER INSTITUTE  
FÜR BIENENFORSCHUNG  
BERICHT ÜBER DIE TAGUNG  
IN BONN VOM 12.-14.3.1985**

Die Jahresversammlung der Arbeitsgemeinschaft, organisiert von ihrem Vorsitzenden W. DRESCHER an der Deutschen Landjugendakademie in Bonn, wurde von rund 80 Teilnehmern besucht. Es wurden 40 wissenschaftliche Arbeiten vorgetragen, die in dem nachstehenden Verzeichnis vollständig aufgeführt und anschließend z.T. in Zusammenfassungen wiedergegeben werden.

**WORKING GROUP OF THE APICULTURAL INSTITUTES  
IN WESTERN GERMANY  
REPORT ON THE MEETING AT BONN, 12.-14.3.1985**

The annual meeting, attended by about 80 persons, was organized by W. DRESCHER in the Deutsche Landjugendakademie, Bonn. A total of 40 reports were presented as listed below.

**GROUPE DE TRAVAIL DES INSTITUTS DE RECHERCHE APICOLE  
DE LA RÉPUBLIQUE FÉDÉRALE ALLEMANDE  
RÉUNION DE BONN DU 12 AU 14 MARS 1985**

La réunion annuelle, à laquelle 80 personnes ont assisté, a été organisée par son président W. DRESCHER dans la Deutsche Landjugendakademie, à Bonn. Quarante communications, énumérées ci-dessous, ont été présentées.

## VERZEICHNIS DER REFERATE

Ein (\*) bedeutet, daß zu diesem Titel im Anschluß eine Zusammenfassung veröffentlicht wird.

### I. Biene als Bioindikator

1. W. DRESCHER : Eignet sich die Honigbiene als Bioindikator ?
2. I. HÖFFEL : Schwermetalle in Bienen und Bienenprodukten (\*).
3. G. ALTMANN : Belastung von Blütenhonig mit Schwermetallen und ihre Herkunft (\*).
4. L. REXILIUS : Rückstände von Pflanzenbehandlungsmitteln in schleswig-holsteinischem Rapshonig der Ernte 1984. — Eine Statusuntersuchung (\*).
5. R. KUHN : Toxizitäts-Test mit einzeln und kombiniert applizierten Insektiziden und Fungiziden an Larven und Imagines der Honigbiene (\*).
6. H. GEUSEN-PFISTER : Toxikologischer Vergleich der akuten und chronischen Letaldosen von Acephat und Methomyl bei *Apis mellifera* und der Syrphide *Epistrophe balteata*.

### II. Verhalten der Biene

7. B. MÜLLER : Versuche zum Einfluß der Futterqualität auf die Futterwahl der Biene.
8. U. EYRICH : Versuche zum Einfluß verschiedener Faktoren auf die Verteilung von Futter in Bienengruppen.
9. Ch. BRANDES : Lernunterschiede von verschiedenen Bienen eines Volkes bei der Suche nach Futterplätzen (\*).
10. B. FRISCH : Circadiane Aktivität von verwandten und unverwandten Bienenvölkern (\*).

### III. Bienenpathologie

#### a) *Varroa*

11. K. SCHATTON : Veränderungen im Blutbild *Varroa*-parasitierter Bienen-Arbeiterinnen (*Apis mellifera*).
12. K. WEINBERG, G. MADEL : Der Einfluss der Milbe *Varroa jacobsoni* Oud. auf die Proteinkonzentrationen und das Haemolymphvolumen von Arbeiterinnen- und Drohnenpuppen der Honigbiene *Apis mellifera* L.
13. A. DE RUIJTER : Fortpflanzung der *Varroa*-Milbe im Zusammenhang mit der Biologie der Honigbiene (\*).
14. P. SCHNEIDER : Befall von Sammlerinnen, Stockbienen, Flugdrohnen und Stockdrohnen mit *Varroa* (\*).
15. B. KRAUS : Verteilung von *Varroa* auf Bienen unterschiedlicher Altersklassen.
16. W. FREMUTH : Einfluss der Temperatur auf die Wirts-Parasit-Beziehung Biene-*Varroa* Milbe (\*).
17. P. ROSENKRANZ : Temperaturpräferenz von *Varroa jacobsoni* und Verteilung des Parasiten im Brutnest von *Apis mellifera* (\*).
18. E. RADEMACHER : Untersuchungen zu einem Prognosemodellversuch anhand des natürlichen Totenfalles von *Varroa jacobsoni* (\*).
19. S. FUCHS : Bienen- und Brutproben für eine quantitative Diagnose der Varroatose.
20. W. KOCH : Untersuchung der Brut varroabefallener Völker auf die Anzahl vermehrungsfähiger Keime.
21. A. KLEPSCH : Prüfung der Nebenwirkung des Bannwabenverfahrens auf Volksentwicklung und Ertrag.

22. W.G. STOYA : Methansäurerückstände im Bienenhonig nach Behandlung der Bienenvölker mit dieser Säure im Rahmen der Varroatosebekämpfung (\*).
23. G. LIEBIG : Über Spätwirkung der Ameisensäure-Behandlung.
24. N. KOENIGER : Erste Erfahrungen mit imprägnierten Mittelwänden zur Therapie der Varroatose.
23. G. LIEBIG : Über Spätwirkungen der Ameisensäure-Behandlung.
26. W. RITTER : Bekämpfung der Varroatose mit Perizin® (Liquid), einem neuen systemischen Medikament (\*).

#### b) Andere Bienenkrankheiten

27. W. STECHE : Die Morphologie der Nosema Entwicklungsstadien bis zur Sporenbildung dokumentiert durch transmissionselektronenmikroskopische Aufnahmen.
28. W. RATH : Vorversuche zur unterschiedlichen Kalkbrutresistenz bei züchterisch bearbeitetem Bienenmaterial (\*).

#### IV. Genetik und Züchtung

29. R.F.A. MORITZ und C.F. HAWKINS : Darstellung der mitochondrialen DNA der Honigbiene (*Apis mellifera* L.) (\*).
30. V. MAUL : Panzerzeichen im Merkmalsbild von *Carnica*-Drohnen.
31. M.J. DUCHATEAU : Analyse einiger Methoden der Hummelzüchtung (\*).

#### V. Bienenbotanik

32. M. BAUER : Zwischenfrüchte im Ackerbau als Trachtquelle für Bienenvölker.
33. U. HEIMBACH : Untersuchungen zur Populationsdynamik und Honigtauausscheidung zweier Zierlausarten (Callaphididae : *Eucallipterus tiliae* und *Tuberculoides annulatus*).

#### VI. Bienenprodukte

34. B. KÖNIG und J.H. DUSTMANN : Fortschritte der Celler Untersuchungen zur antivirotischen Aktivität von Propolis (\*).
35. E. SCHAPER : Tiefkühlung von Honig.

#### VII. Entwicklung und Physiologie

36. R. FLEIG : Analyse embryonaler Gestaltungsbewegungen bei der Honigbiene mit Hilfe des Rasterelektronenmikroskops (\*).
37. G. KOENIGER : Durchtrennung des Baumarks vor dem letzten Abdominalganglion bei unbegatteten Königinnen (*Apis mellifera* L.) (\*).
38. H.H.W. VELTHUIS : Was ist die Königinnensubstanz der Honigbiene ? (\*).
39. A. ZILLIKENS : Alters- und JH-Abhängigkeit der Vitellogenin-Synthese bei imaginalen Drohnen (*Apis mellifera* L.) (\*).
40. H.H. KAATZ : Entwicklung und Steuerung von Fettkörper-Funktionen : Hämolympheprotein-Synthese bei Bienenköniginnen (\*).

### LIST OF REPORTS

An asterisk (\*) after a title indicates that a summary is published.

#### I. *Honey bees as bioindicator*

1. W. DRESCHER : Are honey bees suited as bioindicators?
2. I. HÖFFEL : Heavy metals in bees and bee products (\*).
3. G. ALTMANN : The presence of heavy metals in floral honey and their origin (\*).
4. L. REXILIUS : Pesticide residues in oil-seed rape honey from Schleswig-Holstein (FRG) of the year 1984. A check-up of the actual state (\*).
5. R. KUHN : Toxicity of insecticides and fungicides to larval and adult honey bees in separate and combined application (\*).
6. H. GEUSEN-PFISTER : Toxicological comparison of acute and chronic lethal doses of acephate and methomyl with *Apis mellifera* and *Epistrophe balteata* (Syrphidae).

#### II. *Behaviour*

7. B. MÜLLER : Experiments for determination of the influence of food quality on the food preference of honey bees.
8. U. EYRICH : Influence of various factors on the food distribution among groups of bees.
9. Ch. BRANDES : Differences in learning behaviour of honey bees collecting sugar water at artificial food sources (\*).
10. B. FRISCH : Circadian activity rhythms of related and unrelated honey bee colonies (\*).

#### III. *Bee pathology*

##### A. *Varroa*

11. K. SCHATTON : Changes in the blood cell count of honey bee workers infested with *Varroa*.
12. K. WEINBERG, G. MADEL : Influence of the mite *Varroa jacobsoni* on the protein concentration and hemolymph volume of honey bee worker and drone pupae.
13. A. DE RUIJTER : Reproduction of *V. jacobsoni* in relation to the biology of the honey bee (\*).
14. P. SCHNEIDER : Infestation of foragers, nurse bees, and drones (inside and outside the hive) with the mite *V. jacobsoni* (\*).
15. B. KRAUS : Distribution of *Varroa* mites on bees of different ages.
16. W. FREMUTH : Influence of temperature on the host-parasite relationship between honey bees and *Varroa* (\*).
17. P. ROSENKRANZ : Temperature preference of *Varroa jacobsoni* and distribution of the parasite within the brood nest of *Apis mellifera* (\*).
18. E. RADEMACHER : A predictive model based on investigations into the natural mortality rate of *V. jacobsoni* (\*).
19. S. FUCHS : Bee and brood samples used for quantitative diagnosis of varroosis.
20. W. KOCH : Examination of brood of *varroa*-infested colonies in regard to the number of microorganisms capable of propagation.
21. A. KLEPSCH : Testing the side effects of the method of « ban comb » on colony development and honey production.
22. W. STOYA : Residues in honey following treatment with formic acid in the course of controlling varroosis (\*).

23. G. LIEBIG : Late effects of formic acid treatment for control of *Varroa*.
24. N. KOENIGER : First experiences with impregnated comb foundations for therapeutic use against varroatosis.
25. H. NEUHAUSER : Information about the active ingredient Perizin® (\*).
26. W. RITTER : Control of varroatosis with Perizin® (liquid), a new systemic medication (\*).

#### B. Other bee diseases

27. W. STETCHE : Morphology of *Nosema* development stages documented by transmission electron microscopy.
28. W. RATH : Preliminary tests on resistance to chalkbrood in bee colonies of selected lines (\*).

#### IV. Genetics and breeding

29. R.F.A. MORITZ, Ch.F. HAWKINS : Isolation of mitochondrial DNA of the honey bee (*Apis mellifera* L.) (\*).
30. V. MAUL : Significance of yellow spots on the abdominal tergites of drones of *Apis mellifera carnica*.
31. M.J. DUCHATEAU : Analysis of some methods for rearing bumblebee colonies (\*).

#### V. Bee botany

32. M. BAUER : The role of intermediate crops as nectar source for bee colonies.
33. U. HEIMBACH : Observation on population dynamics and honeydew excretion of two Callaphididae (*Eucallipterus tiliae* and *Tuberculoides annulatus*).

#### VI. Bee products

34. B. KÖNIG, J.H. DUSTMANN : Antiviral activity of propolis. Recent progress of the studies at the Institute of Apicultural Research at Celle (\*).
35. E. SCHAPER : Deep-freezing of honey.

#### VII. Development and physiology

36. R. FLEIG : SEM analysis of morphogenetic movements during embryogenesis of the honey bee (\*).
37. G. KOENIGER : Disconnection of the cranial nerve cord of the last abdominal ganglion in virgin queens (*Apis mellifera*) (\*).
38. H.H.W. VELTHUIS : What is the honey bee's queen substance ? (\*).
39. A. ZILLIKENS : Age and juvenile hormone dependent vitellogenin synthesis in imaginal honey bee drones (\*).
40. H.H. KAATZ : Development and regulation of fat body functions : Synthesis of hemolymph proteins in honey bee queens (\*).

## LISTE DES COMMUNICATIONS

Un astérisque (\*) à la suite du titre signifie que le résumé est publié.

### I. *Les abeilles comme indicateurs biologiques*

1. W. DRESCHER : Les abeilles conviennent-elles comme indicateurs biologiques ?
2. I. HÖFFEL : Les métaux lourds dans les abeilles et les produits de la ruche (\*).
3. G. ALTMANN : La présence de métaux lourds dans le miel de nectar et leur origine (\*).
4. L. REXILIUS : Les résidus de pesticide dans le miel de colza du Schleswig-Holstein (R.F.A.) en 1984. Le point de la situation (\*).
5. R. KUHN : Toxicité des insecticides et des fongicides vis-à-vis des abeilles (larves et adultes) lors de traitements séparés et combinés (\*).
6. H. GEUSEN-PFISTER : Comparaison toxicologique des doses léthales aiguës et chroniques d'acéphate et de méthomyl chez *Apis mellifica* et *Epistrophe balteata* (Syrphidae).

### II. *Comportement*

7. B. MÜLLER : Expériences pour déterminer l'influence de la qualité de la nourriture sur le choix de la nourriture par les abeilles.
8. U. EYRICH : Influence de divers facteurs sur la distribution de la nourriture entre groupes d'abeilles.
9. Ch. BRANDES : Différences dans le comportement d'apprentissage des abeilles lors de la récolte de sirop à une source artificielle de nourriture (\*).
10. B. FRISCH : Rythmes circadiens d'activité de colonies d'abeilles parentes et de colonies non parentes (\*).

### III. *Pathologie apicole*

#### a) *Varroa*

11. K. SCHATTON : Changements dans la formule sanguine d'ouvrières d'abeilles (*Apis mellifica* L.) parasitées par *Varroa*.
12. K. WEINBERG, G. MADEL : Influence de l'acarien *Varroa jacobsoni* sur la concentration en protéines et le volume de l'hémolymphe de nymphes d'abeilles ouvrières et mâles (*Apis mellifica* L.).
13. A. DE RUIJTER : Reproduction de *Varroa jacobsoni* en rapport avec la biologie de l'abeille (\*).
14. P. SCHNEIDER : Infestation par *Varroa jacobsoni* de butineuses, de nourrices et de mâles d'abeilles (à l'intérieur et à l'extérieur de la ruche) (\*).
15. B. KRAUS : Répartition des acariens *Varroa* sur des abeilles d'âge varié.
16. W. FREMUTH : Influence de la température sur la relation hôte-parasite entre l'abeille domestique et *Varroa* (\*).
17. P. ROSENKRANZ : Préférence de température de *Varroa jacobsoni* et répartition du parasite au sein du nid à couvain d'*Apis mellifica* (\*).
18. E. RADEMACHER : Recherche d'un modèle de prognose basé sur le taux de mortalité naturelle de *Varroa jacobsoni* (\*).
19. S. FUCHS : Echantillons d'abeilles et de couvain pour un diagnostic quantitatif de la varroose.
20. W. KOCH : Examen du couvain de colonies infestées par *Varroa jacobsoni* pour déterminer le nombre de germes capables de se multiplier.

21. A. KLEPSCH : Etude des effets secondaires provoqués par la méthode du « rayon banni » sur le développement de la colonie et la production de miel.
22. W.G. STOYA : Résidus d'acide formique dans le miel après le traitement des colonies avec cet acide dans le cadre de la lutte contre la varroose (\*).
23. G. LIEBIG : Effets tardifs du traitement à l'acide formique contre la varroose.
24. N. KOENIGER : Résultats préliminaires de l'utilisation de cire gaufrée imprégnée pour traiter la varroose.
25. H. NEUHAUSER : Informations concernant la matière active Perizin® (\*).
26. W. RITTER : Traitement de la varroose avec Perizin® (liquide), nouveau produit systémique (\*).

#### b) *Autres maladies*

27. W. STECHE : Etude en microscopie électronique à transmission de la morphologie des stades de développement de *Nosema*.
28. W. RATH : Essais préliminaires sur la résistance au couvain plâtré chez des colonies d'abeilles provenant de lignées sélectionnées (\*).

#### IV. *Génétiq ue et sélection*

29. R. MORITZ et C.F. HAWKINS : Isolement de l'ADN mitochondrial chez l'abeille (*Apis mellifica* L.) (\*).
30. V. MAUL : Signification des taches jaunes sur les tergites abdominaux des mâles d'*Apis mellifica carnica*.
31. M.J. DUCHATEAU : Analyse de quelques méthodes d'élevage des bourdons (*Bombus* sp.) (\*).

#### V. *Botanique apicole*

32. M. BAUER : Les cultures intercalaires comme sources de nectar pour les colonies d'abeilles.
33. U. HEIMBACH : Recherches sur la dynamique des populations et l'excrétion de miellat par 2 espèces de Callaphididae (*Eucallipterus tiliae* et *Tuberculoïdes annulatus*).

#### VI. *Produits de la ruche*

34. B. KÖNIG, J.H. DUSTMANN : Activité antivirale de la propolis. Résultats récents obtenus à l'Institut de recherche apicole de Celle (\*).
35. E. SCHAPER : Congélation du miel.

#### VII. *Développement et physiologie*

36. R. FLEIG : Analyse en microscopie électronique à balayage des mouvements morphogénétiques au cours de l'embryogenèse chez l'abeille (\*).
37. G. KOENIGER : Disconnection de la chaîne nerveuse cranienne au niveau du dernier ganglion abdominal chez les reines vierges (*Apis mellifica* L.) (\*).
38. H.H.W. VELTHUIS : Qu'est-ce que la substance royale de l'abeille ? (\*).
39. A. ZILLIKENS : Synthèse de la vitellogénine chez les mâles d'abeille adultes en fonction de l'âge et de l'hormone juvénile (\*).
40. H. KAATZ : Développement et régulation des fonctions du corps gras : synthèse des protéines de l'hémolymphe chez les reines d'abeille (\*).

## 2. SCHWERMETALLE IN BIENEN UND BIENENPRODUKTEN

Ingrid HÖFFEL

*Institut für Biogeographie, Universität des Saarlandes, D-6600 Saarbrücken*

Am Beispiel des Stadtverbandes Saarbrücken wurde die Eignung von Honigbienen (*Apis mellifica carnica*) als Bioindikatoren für die Überwachung von Ökosystemen untersucht.

Die Bleikonzentrationen in Flugbienen schwanken zwischen 1,5 und 80,1 mg/kg TS, während sie bei Cadmium zwischen 0,3 und 3,8 mg/kg TS liegen. Im Industrieraum Völklingen, seinen Randzonen und in der Stadt Saarbrücken wurden die höchsten Schwermetallgehalte gemessen. In ländlichen Gebieten lagen die Blei- und Cadmiumgehalte um die Hälfte, im Extremfall sogar um das 8 bis 10fache, niedriger.

Eine deutliche Korrelation konnte zwischen dem Alter der Bienen und der Akkumulation von Schwermetallen nachgewiesen werden. In den Larvenstadien ist die Kontamination sehr gering, erst ab der Entwicklungsstufe « Stockbiene » nimmt der Schwermetallgehalt rapide zu. Drohnen akkumulieren um den Faktor 10 bis 20 weniger Blei und Cadmium als Flugbienen. Geringe Unterschiede im Anreicherungsverhalten treten bei Völkern des gleichen Standortes auf.

Zusätzlich analysierte Honigproben enthielten zwischen 0,001 und 0,289 mg Pb/kg FS und zwischen 0,001 und 0,007 mg Cd/kg FS. Wachsproben wiesen deutlich höhere Schwermetallkonzentrationen auf. Sie schwankten zwischen 0,555 und 2,137 mg/kg FS bei Blei und zwischen 0,09 und 0,074 mg/kg FS bei Cadmium.

Auf der Grundlage der Blei- und Cadmiumkonzentrationen wurde die mittlere Belastung für jeden Standort berechnet. Eine Einteilung in Klassen ergab vier Belastungsstufen. Zur gering und wenig belasteten Stufe gehören der ländliche Raum und die Randzonen des städtischen Ballungsgebietes. Die Randzonen des Industriegebietes Völklingen und die Innenstadtbereiche von Saarbrücken wurden als mäßig belastet eingestuft. Standorte im industriellen Ballungsraum Völklingen hingegen erreichten eine kritische Belastung.

Die Untersuchungen zeigen, daß Bienen als Bioindikatoren für die Blei- und Cadmiumbelastung eines Gebietes eingesetzt werden können.

## SUMMARY

*Heavy metals in bees and bee products*

The content of heavy metals (Cd, Pb) in honey bees and bee products shows a similarity to contamination of the environment. At the Stadtverband Saarbrücken high concentrations were found in industrialized and urban areas. Low concentrations are typical of the countryside. Honey bees can be used quite well as indicators of environmental quality.

## RÉSUMÉ

*Les métaux lourds dans les abeilles et les produits de la ruche*

La teneur en métaux lourds (Cd, Pb) des abeilles et des produits de la ruche présente une similitude avec la contamination du milieu. Au Stadtverband de Sarrebrück, on a trouvé de fortes concentrations dans les zones industrialisées et urbanisées. Des concentrations peu élevées sont caractéristiques de la campagne. Les abeilles domestiques peuvent très bien être utilisées comme indicateurs de la qualité de l'environnement.

### 3. BELASTUNG VON BLÜTENHONIG MIT SCHWERMETALLEN UND IHRE HERKUNFT

Geza ALTMANN

*Institut für Biogeographie der Universität des Saarlandes,  
D-6600 Saarbrücken, Im Stadtwald*

Untersucht wurden Blütenhonige des Jahres 1982 aus dem Raum Stolberg/Rheinland, einem stark Blei- und Cadmium belasteten Gebiet. Die Bestimmung der Blei- und Cadmiumgehalte des Honigs erfolgte nach Naßveraschung mit  $\text{HNO}_3/\text{H}_2\text{O}_2$  in einer Graphitküvette im Atomabsorptionsspektrometer. Zur Untersuchung gelangten 31 Honigproben von 18 Standorten und je eine Wachs- und Pollenprobe sowie 2 Propolisproben. Zur Untersuchung der Zusammenhänge der Schwermetallgehalte im Honig und Boden/Immissionen standen Bodenanalysen und Analysen des Niederschlages zur Verfügung. Es enthielten: Blütenhonig 0,016 bis 0,8 mg Pb/kg (Mittelwert: 0,277 mg Pb/kg) und 0,009 bis 0,125 mg Cd/kg (Mittelwert: 0,045 mg Cd/kg). Propolis durchschnittlich 41 mg Pb/kg und 0,327 mg Cd/kg. Die untersuchte Wachsprobe 6,2 mg Pb/kg und 0,103 mg Cd/kg. Die Pollenprobe 2,1 mg Pb/kg und 0,322 mg Cd/kg. Bei Blei ist mit einem Korrelationskoeffizient von 0,04 kein Zusammenhang zwischen Blei im Boden und im Honig erkennbar. Bei Cadmium besteht mit einem Korrelationskoeffizient von 0,22 ein sehr schwacher Trend zu einem solchen Zusammenhang. Dies ist durch die schlechte Löslichkeit der meisten Blei-Ver-

bindungen und die relativ gute Löslichkeit der meisten Cadmium-Verbindungen zu erklären.

Bei Blei zeigt sich mit einem Korrelationskoeffizient von 0,76 ein deutlicher Zusammenhang zwischen Bleigehalten im Honig und im Staubbiederschlag. Auch bei Cadmium ist mit einem Korrelationskoeffizient von 0,50 ein Zusammenhang erkennbar. Dieser Zusammenhang ist erwartungsgemäß niedriger als bei Blei, da bei Cadmium eine Korrelation von 0,22 zu den Bodenwerten besteht.

#### SUMMARY

##### *The presence of heavy metals in floral honey and their origin*

Floral honey gathered in 1982 near Stolberg/Rheinland, a region where the air is heavily charged with cadmium and lead, was tested. The lead and cadmium content of the honey was determined after combustion with  $\text{HNO}_3$  and  $\text{H}_2\text{O}_2$  in a graphite cuvette placed in an atomic absorption spectrometer. Thirty-one samples (from 18 locations), one beeswax, one pollen and two propolis samples were tested. Soil and rainfall analysis were available for correlation tests.

The following levels were found : floral honey 0.016-0.8 mg Pb/kg (average 0.277 mg Pb/kg) and 0.009-0.125 mg Cd/kg (average 0.045 mg Cd/kg); propolis 41 mg Pb/kg and 0.327 mg Cd/kg; beeswax 6.2 mg Pb/kg and 0.103 mg Cd/kg; pollen 2.1 mg Pb/kg and 0.322 mg Cd/kg. In the case of lead no correlation was found between the content in the soil and in honey. In the case of cadmium a very weak trend existed ( $r = 0.22$ ). Between the lead and cadmium content in honey and in dust a clear relation was found ( $r = 0.76$ , resp. 0.50).

#### RÉSUMÉ

##### *La présence de métaux lourds dans le miel de nectar et leur origine*

On a analysé du miel de nectar récolté en 1982 près de Stolberg en Rhénanie, région où l'air est fortement chargé en cadmium et en plomb. Les teneurs en plomb et en cadmium ont été déterminées après combustion en présence de  $\text{HNO}_3$  et  $\text{H}_2\text{O}_2$  dans une cuvette de graphite dans un spectromètre à absorption atomique. Trente et un échantillons de miel (provenant de 18 endroits), un échantillon de cire, un de pollen et deux de propolis ont été analysés. Les analyses de sol et des précipitations atmosphériques étaient disponibles pour les tests de corrélation.

Les teneurs suivantes ont été trouvées : miel de nectar 0,016-0,8 mg Pb/kg (moyenne 0,277 mg Pb/kg) et 0,009-0,125 mg Cd/kg (moyenne 0,045 mg Cd/kg); propolis 41 mg Pb/kg et 0,327 mg Cd/kg; cire 6,2 mg Pb/kg et 0,103 mg Cd/kg; pollen 2,1 mg Pb/kg et 0,322 mg Cd/kg. Dans le cas du plomb on n'a pas trouvé de corrélation entre la teneur du sol et celle du miel. Dans le cas du cadmium une très faible tendance existait ( $r = 0,22$ ). Une relation très nette ( $r = 0,76$  et 0,50 respectivement) a été trouvée entre la teneur en plomb et en cadmium du miel et celle des poussières atmosphériques.

#### 4. RÜCKSTÄNDE VON PFLANZENBEHANDLUNGSMITTELN IN SCHLESWIG-HOLSTEINISCHEM RAPSHONIG DER ERNTE 1984 - EINE STATUSUNTERSUCHUNG

Lutz REXILIUS

*Pflanzenschutzamt des Landes Schleswig-Holstein, D-2300 Kiel*

Die Anbaudichte von Winterraps in Schleswig-Holstein bietet für die Honiggewinnung eine hervorragende Basis. Während der Blütezeit des Rapses besteht jedoch auch die Notwendigkeit, Schadinsekten und Schadpilze zwecks Vermeidung wirtschaftlich bedeutsamer Verluste mit chemischen Mitteln zu bekämpfen. Dafür kommen nur zugelassene und als nicht bienengefährlich eingestufte Pflanzenbehandlungsmittel zur Anwendung.

Im Rahmen einer landesweiten Statusuntersuchung wurden 56 Rapshonigmuster der Ernte 1984 auf Rückstände von Pflanzenbehandlungsmitteln untersucht. Mittels Gaschromatographie (Glaskapillar-Trennsäule,  $^{63}\text{Ni}$ -ECD) konnten die Insektizide Dialifos, alpha- und beta-Endosulfan, deren gemeinsames Oxidationsprodukt Endosulfan-sulfat, Methoxychlor, Phosalon, die Fungizide Procymidon und Vinclozolin sowie das Akarizid Brompropylat und dessen Pyrolyseprodukt 4,4'-Dibrombenzophenon erfaßt werden. Die gleichzeitige Bestimmung des fungiziden Wirkstoffs Iprodion war unter den vorliegenden chromatographischen Betriebsbedingungen nicht möglich; auf seine getrennte Erfassung wurde daher verzichtet.

Die Ergebnisse: In 4 Honigproben wurden keine Rückstände ermittelt. In 10 Proben konnte ein Wirkstoff nachgewiesen werden, während in 32 Proben zwei, in 9 Proben drei und in einer Probe vier Wirkstoffe bestimmt wurden. Fünf Verbindungen konnten in keiner Probe detektiert werden.

Folgende Wirkstoffe wurden in den 52 Honigmustern nachgewiesen (Probenzahl in Klammern): Vinclozolin (50), Dialifos (41), Methoxychlor (6), Gesamt-Endosulfan (4) und Procymidon (4).

Die Verbindungen Brompropylat, 4,4'-Dibrombenzophenon, Phosalon und Endosulfan-sulfat konnten unter Zugrundelegung ihrer experimentell ermittelten Nachweisgrenzen (0,5; 0,5; 5 bzw. 0,5  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) in keiner Probe nachgewiesen werden.

Folgende Rückstandskonzentrationen wurden ermittelt (arithmetische Mittel-, Minimal- und Maximalwerte in  $\mu\text{g}/\text{kg}$  in Klammern): Dialifos (9,5; < 0,5 - 92), Gesamt-Endosulfan (0,3; < 0,1 - 7), Methoxychlor (1,8; < 0,5 - 40), Procymidon (< 5; < 5 - 23) und Vinclozolin (9,9; < 0,3 - 62). Die Minimalwerte stellen zugleich die Nachweisgrenzen dar.

Aus rückstandstoxikologischer Sicht können die nachgewiesenen Wirkstoff-

rückstände als für die menschliche Gesundheit völlig unbedenklich angesehen werden.

Wegen Fehlens entsprechender Richtwerte bzw. rechtsverbindlicher Grenzwerte für Rückstände von Pflanzenbehandlungsmitteln in Honig kann eine lebensmittelrechtliche Bewertung der Befunde z. Z. nicht vorgenommen werden.

#### SUMMARY

*Pesticide residues in oil-seed rape honey from Schleswig-Holstein (FRG) of the year 1984.  
A check-up of the actual state*

The intensive cultivation of oil-seed rape (*Brassica napus*) in Schleswig-Holstein is an extraordinarily rich source for the production of honey. In order to avoid crop losses of economic magnitude due to pests, it is necessary to make use of insecticides and fungicides, which must be officially registered and proven to be non-toxic to honey bees. In 1984, 56 samples of fresh rape honey were collected from the main sites of oil-seed rape cultivation. These samples were analyzed by gas-liquid chromatography (glass capillary column,  $^{63}\text{Ni}$ -ECD) for the insecticides dialifos, alpha- and beta-endosulfan, endosulfan-sulfate, methoxychlor, and phosphalone, the fungicides procymidone and vinclozoline, and the acaricide bromopropylate and its pyrolysis product 4,4'-dibromobenzophenone. The simultaneous determination of the fungicide iprodione could not be achieved under the applied chromatographic conditions.

Results : Four of the 56 samples were free of detectable residues ; 10 samples contained traces of one of the above-mentioned compounds, while two and three substances were determined in 32 and 9 samples, respectively. In one sample four pesticides could be detected. The following pesticides were analyzed in 52 samples (number of samples in brackets) : vinclozoline (50), dialifos (41), Methoxychlor (6), endosulfan (4), and procymidone (4). The other compounds mentioned could not be detected in any sample (detection limits : 0.5  $\mu\text{g}/\text{kg}$  honey, phosphalone 5.0  $\mu\text{g}/\text{kg}$  honey).

The quantitative results (arithmetic mean in  $\mu\text{g}/\text{kg}$  honey ; minimum and maximum values) are : dialifos (9.5 ; < 0.5 - 92), endosulfan (0.3 < 0.1 - 7), methoxychlor (1.8 ; < 0.5 - 40), procymidone (< 5 ; < 5 - 23), and vinclozoline (9.9 ; < 0.3 - 62). The minimum values are the detection limits. These results show that pest control measures in flowering oil-seed rape with plant protectants inevitably lead to very small but detectable residues of the applied compounds in the honey and that the quantities found can be regarded as harmless to human health.

#### RÉSUMÉ

*Les résidus de pesticides dans le miel de colza du Schleswig-Holstein (R.F.A.) en 1984.  
Le point de la situation*

La culture intensive du colza (*Brassica napus*) dans le Schleswig-Holstein est une source de miel extraordinairement riche. Afin d'éviter des dégâts d'importance économique dus aux déprédateurs, il est nécessaire d'utiliser des insecticides et des fongicides qui doivent être homologués et classés comme non toxiques pour les abeilles domestiques. En 1984, 56 échantillons de miel de colza fraîchement récolté ont été prélevés dans les principaux sites de culture du colza. Ils ont été analysés par chromatographie gaz-liquide (colonne capillaire en verre,  $^{63}\text{Ni}$ -ECD) ; on a recherché les insecticides dialiphos, alpha- et bêta-endosulfan, sulfate d'endosulfan, méthoxychlore et phosalone, les fongicides procymidone et vinchozoline, l'acaricide bromopropylate et son produit de pyrolyse 4,4'-dibromobenzophenone. Dans les conditions de chromatographie utilisées on n'est pas parvenu à déterminer simultanément le fongicide iprodione.

Résultats : Quatre des 56 échantillons étaient exempts de résidus détectables ; 10 échantillons contenaient des traces de l'un des composés mentionnés ci-dessus, tandis que 2 autres substances ont été déterminées dans 32 échantillons et 3 autres dans 9 échantillons. On a analysé les pesticides suivants dans 52 échantillons (nombre d'échantillons entre parenthèses) : vinchlozoline (50), dialiphos (41), méthoxychlore (6), endosulfan (4) et procymidone (4). Les autres composés mentionnés n'ont pu être détectés dans aucun des échantillons (limite de détection : 0,5 µg/kg miel, phosalone 5,0 µg/kg miel).

Les résultats quantitatifs (moyenne arithmétique dans 1 µg/kg miel ; valeurs minimales et maximales) sont les suivantes : dialiphos (9,5 ; < 0,5 - 92), endosulfan (0,3 ; < 0,1 - 7), méthoxychlore (1,8 ; < 0,5 - 40), procymidone (< 5 ; < 5 - 23) et vinchlozoline (9,9 ; < 0,3 - 62). Les valeurs minimales sont les seuils de détection. Ces résultats montrent que les mesures de lutte contre les déprédateurs sur le colza en fleurs avec des produits phytosanitaires conduisent inévitablement à des résidus très faibles, mais détectables, de pesticides dans le miel et que ces quantités peuvent être considérées comme non dangereuses pour la santé humaine.

## **5. TOXIZITÄTS-TEST MIT EINZELN UND KOMBINIERT APPLIZIERTENT INSEKTIZIDEN UND FUNGIZIDEN AN LARVEN UND IMAGINES DER HONIGBIENE**

Reinhilde KUHN

*Institut für Biologie III (Zoologie), Lehrstuhl Entwicklungsphysiologie der Universität,  
Auf den Morgenstelle 28, D-7400 Tübingen*

In der BRD ist die Anwendung von Pflanzenbehandlungsmitteln in der Landwirtschaft durch die Verordnung zum Schutz der Bienen gesetzlich geregelt. Trotz dieser Regelung kommt es in der Praxis immer wieder zu Bienenschäden, deren Ursachen oft ungeklärt bleiben, insbesondere dann, wenn Dosierung und Anwendung vorschriftsmäßig erfolgten.

Bei der Untersuchung von eingesandten Proben vergifteter Bienen auf Rückstände können oft mehrere Wirkstoffe nebeneinander nachgewiesen werden. Es müssen in diesen Fällen die Bienen entweder kurz hintereinander mit mehreren Präparaten in Berührung gekommen sein oder diese wurden gleichzeitig in einer Tankmischung ausgebracht. Letzteres findet wegen der damit verbundenen Arbeits- und Zeitersparnis in der Praxis heute überwiegend statt.

Es lag daher der Verdacht nahe, daß Vergiftungen bei der gleichzeitigen Anwendung mehrerer Mittel mit unterschiedlichem Wirkungsspektrum zustandekommen, z.B. von Insektizid-Fungizid-Mischungen. Um dies zu prüfen, wurden Laborversuche angesetzt, in denen Präparate, die im Obst- und Weinbau in der BRD häufig verwendet werden, einzeln und in Kombination hinsichtlich ihrer Toxizität für Bienen getestet wurden.

Als Testverfahren wurden der *Apis-Larven-Test* nach WITTMANN (1981) und eine perorale Applikation von Präparate-Lösungen in Honigwasser an adulte Honigbienen-Arbeiterinnen verwendet, wobei einzeln oder in Gruppen gefüttert

wurde. Getestet wurden 3 Insektizide und 5 Fungizide in unterschiedlichen Kombinationen und verschiedener Dosierung. Hierbei wurde von den empfohlenen Anwendungskonzentrationen ausgegangen. Die Wirkungsänderung der Präparate-Kombinationen gegenüber den Einzelpräparaten wurde als erhöhte Mortalitätsrate quantifiziert. Bei allen untersuchten Insektizid-Fungizid-Kombinationen wurde eine gegenüber den Einzelpräparaten erheblich gesteigerte Toxizität festgestellt. Bei subletalen Konzentrationen bzw. Dosierungen von Insektiziden traten bei gleichzeitiger Verabreichung eines Fungizids, das in den getesteten Einsatzmengen allein appliziert keine oder nur sehr schwach toxische Wirkung auf Bienen hat, hohe Ausfälle auf. Es muß als wahrscheinlich angesehen werden, daß in der Pflanzenschutzpraxis der Einsatz von Tankmischungen zu erhöhten Bienenverlusten führt. Die Ergebnisse lassen es sinnvoll und notwendig erscheinen, bei der amtlichen Mittelprüfung künftig nicht nur die Einzelpräparate, sondern auch gängige Insektizid-Fungizid-Mischungen auf ihre Bienengefährlichkeit hin zu untersuchen.

#### SUMMARY

##### *Toxicity of insecticides and fungicides to larval and adult honey bees in separate and combined application*

In the Federal Republic of Germany the use of pesticides in agriculture is controlled by a law for the protection of honey bees (Bienenschutzverordnung, 19.12.1972). However, heavy bee losses have been reported especially in orchards and vineyards, although the farmers confirm the application of correct doses.

The analysis of the poisoned bees showed several active ingredients in one single trial. The pesticides had been applied either sequentially or simultaneously (in a mixture). The application of a mixture seems more probable to me since it requires less time and labor for the farmer to apply two pesticides at a time.

I investigated the effects of several fungicides on the acute toxicity of some commonly used insecticides. Larval and adult honey bees were exposed to fungicides and insecticides alone or in combination. The insecticides were used at dosages that resulted in low bee mortality while the fungicides themselves were almost non-toxic to bees. I used two test methods: the Apis larvae-test and the feeding test with adult honey bees in small holding-cages.

The toxicity of all insecticides tested was significantly increased by the fungicides although the latter had little effect on honey bees by themselves. From these results it appears necessary to consider the commonly used insecticide-fungicide mixtures in addition to testing the toxicity of single pesticides to honey bees. This report also illustrates the need for further investigations of the interactions of pesticide mixtures in biological systems.

#### RÉSUMÉ

##### *Toxicité des insecticides et des fongicides vis-à-vis des abeilles (larves et adultes) lors de traitements séparés et combinés*

En R.F.A. l'utilisation des pesticides en agriculture est réglementée par une loi pour protéger les abeilles domestiques (Bienenschutz verordnung, 19.12.1972). Néanmoins des hécatombes d'abeilles

ont été enregistrées, particulièrement dans les régions fruitières et viticoles, bien que les agriculteurs affirment appliquer les doses correctes.

L'analyse des abeilles empoisonnées a montré la présence de plusieurs matières actives au cours d'un seul essai. Les traitements pesticides ont eu lieu soit l'un après l'autre, soit simultanément en mélange. Le traitement simultané en mélange me semble plus probable car il représente un gain de travail et de temps pour l'agriculteur.

J'ai étudié les effets de divers fongicides sur la toxicité aiguë de certains pesticides communément employés. Des abeilles adultes et des larves ont été exposées aux fongicides et aux insecticides, soit séparément soit en mélange. Les insecticides ont été utilisés à des doses n'entraînant qu'une faible mortalité d'abeilles, tandis que les fongicides étaient pratiquement non toxiques pour les abeilles. J'ai utilisé 2 méthodes : le test-Apis-larves (WITTMANN, 1981) et un test de nourrissage sur des abeilles adultes en cagettes.

La toxicité de tous les insecticides testés a été accrue de façon significative par les fongicides, bien qu'eux-mêmes n'aient eu que peu d'effet sur les abeilles. Il semble donc nécessaire de prendre en compte les mélanges insecticide-fongicide les plus courants lorsque l'on teste la toxicité des pesticides seuls vis-à-vis des abeilles.

## 9. LERNUNTERSCHIEDE VON VERSCHIEDENEN BIENEN EINES VOLKES BEI DER SUCHE NACH FUTTERPLÄTZEN

Ch. BRANDES

*Institut für Bienenkunde (Polytechn. Gesellschaft), Fachbereich Biologie der Universität Frankfurt, Karl von Frisch Weg 2, D-6370 Oberursel*

Mit klassischen Konditionierungen (Rüsselreflexdressuren ; siehe MENZEL and BITTERMAN, 1983) wurden Linien selektiert, die in kumulativen Lerntests unterschiedliche Fähigkeit zeigen, einen Zuckerwasserreiz mit einem bedingten Reiz zu assoziieren. Aufgrund der Reaktion in den Tests konnten gut und schlecht lernende Linien unterschieden werden.

Es wurde untersucht, ob sich unterschiedliche Lernleistungen, die mit den Konditionierungstests gemessen werden, auf Futterplatzanflüge auswirken. Einzelne Völker der gut und schlecht lernende Linien wurden in Flugräumen an einen 10 m entfernten Futterplatz dressiert.

Unterschiedliche Gruppen innerhalb der Völker wurden hinsichtlich ihrer Konditionierbarkeit mit Rüsselreflexdressuren verglichen.

a) Bienen, die am Futterplatz sammelten wurden abgefangen. Das Lernverhalten dieser Sammlerinnen wurde mit Rüsselreflexdressuren getestet.

b) Außerdem wurden 14tätige Bienen getestet, die ohne Berücksichtigung der Sammeltätigkeit aus den Völkern genommen wurden.

Es zeigte sich, daß die Bienen, die am Futterplatz sammelten, besser lernen als die 14tägigen Bienen. Dieser Unterschied ( $\Delta L$ ) ist sowohl bei den Völkern

der gut lernenden Linien wie auch bei den Völkern der schlecht lernenden Linien vorhanden. Bei den Linien mit der hohen Lernrate ist  $\Delta L$  jedoch geringer als bei den Linien mit der niedrigen Lernrate. Weitere Versuchsarrangements zeigen, daß  $\Delta L$  nicht durch einen Alterseffekt bedingt ist.

Die Ergebnisse zeigen, daß es innerhalb von Völkern Unterschiede gibt, die sich sowohl auf Rüsselreflexdressuren wie auch auf die Futterplatzsuche auswirken. Die Verhaltenskomponenten, die bei der Futterplatzsuche und den Lerntests eine Rolle spielen, sind sehr verschieden. Eine bestimmte Suchstrategie oder andere Motivation, die unter Umständen ein besseres Auffinden des Futterplatzes bewirkt, wirkt sich nicht auf die Konditionierbarkeit während der Rüsselreflextests aus. Deshalb wird angenommen, daß die Ergebnisse auf Lernunterschiede innerhalb von Völkern hinweisen, und bei der Futterplatzsuche nur Bienen zum Futterplatz finden, die eine hohe Lernleistung haben.

#### SUMMARY

*Differences in learning behaviour of honey bees collecting sugar water at artificial food sources*

Honey bees were conditioned with the proboscis extension reflex and different lines with high and low learning scores were selected. The behaviour of these lines was examined in flight rooms during training at a food source.

The learning behaviour of worker bees which visited the food source were tested with conditioning of the proboscis extension reflex. Also bees of known age (14 days) were tested regardless whether they foraged or not. The bees collected at the feeding site showed higher learning scores than 14-day old bees. The differences were found in high and dull lines. However, the differences in the dull lines were greater. With other tests it was determined that the age of the bees did not cause the difference.

Differences in conditioning of proboscis extension reflex as well as differences in the behaviour at a feeding source seemed to be correlated to division of labour within the honey bee colony. The influence of search strategy or other test specific components are very different in the situations during collection of food and conditioning of the proboscis extension reflex. Therefore it is assumed that division of labour is influenced by learning differences within a bee colony.

#### RÉSUMÉ

*Différences d'apprentissage de diverses abeilles d'une colonie au cours de la recherche d'une source artificielle de nourriture*

On a conditionné des abeilles au réflexe d'extension du proboscis et sélectionné certaines lignées présentant des scores d'apprentissage élevés (« bonnes » lignées) et d'autres des scores d'apprentissage faibles (« mauvaises » lignées). On a observé le comportement de ces lignées dans des chambres de vol au cours du dressage à la source de nourriture.

On a utilisé le conditionnement au réflexe d'extension du proboscis pour étudier le comportement d'apprentissage des ouvrières qui visitaient la source de nourriture ainsi que celui d'abeilles d'âge connu (14 jours) en train de butiner ou non. Les abeilles prélevées sur le lieu de nourris-

sement ont présenté un score d'apprentissage plus élevé que les abeilles de 14 jours. Les différences ont été trouvées aussi bien chez les « bonnes » lignées que chez les « mauvaises ». D'autres tests ont montré que l'âge des abeilles n'est pas à l'origine de cette différence.

Les différences dans le conditionnement au réflexe d'extension du proboscis et dans le comportement à la source de nourriture semblent être corrélées avec la division du travail au sein de la colonie d'abeilles. Les composantes du comportement sont très différentes selon la situation considérée, recherche de la source de nourriture ou test d'apprentissage. On peut donc supposer que la division du travail est influencée par les différences d'apprentissage au sein de la colonie.

#### LITERATUR

MENZEL R. and BITTERMAN M.E., 1983. — Learning by honeybees in an unnatural situation. In : *Neuroethology and Behavioural Physiology*, eds. HUBER F. and MARKL H. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, 206-215.

### 10. CIRCADIANE AKTIVITÄT VON VERWANDTEN UND UNVERWANDTEN BIENENVÖLKERN

Brigitte FRISCH

*F.B. Biologie der Universität Frankfurt, Institut für Bienenkunde, Karl von Frisch Weg 2, D-6370 Oberursel*

Unter konstanten Bedingungen entwickeln Bienenvölker freilaufende circadiane Aktivitätsrhythmen (FRISCH, 1984). Bei den Messungen findet man Unterschiede in der Periodenlänge ( $\tau$ ) der einzelnen Völker. Es wurde untersucht, ob genetische Faktoren die Periodenlänge beeinflussen.

Für die Versuche wurden Völker der Rasse *Apis mellifera capensis* verwendet. Die südafrikanischen Kapbienen sind zu thelytoker Parthenogenese fähig. In weisellosen Völkern legen Arbeiterinnen Eier, die durch postmeiotische Verschmelzung der Eizelle mit dem zentralen Polkörper diploid sind (VERMA und RUTTNER, 1983). Durch die thelytoke Parthenogenese ist es möglich genetisch gleiche Völker zu züchten, da — von cross-over Vorgängen abgesehen — die Nachkommen einer legenden Arbeiterin genetisch gleich sind. Genetisch gleiche Völker können aufgebaut werden, indem man die Königinnen, die von einer Arbeiterin abstammen mit vielen Drohnen einer Mutter besamt. Von 5 verschiedenen Kaparbeiterinnen wurden jeweils 2 bis 3 Königinnen gezogen, die mit ca. 20 verwandten Drohnen besamt wurden. Die Königinnen bauten anschließend kleine Völker in Kirzhainer Begattungskästchen auf, deren freilaufender Aktivitätsrhythmus verglichen wurde.

Die Kapbienen wurden unter konstanten Bedingungen ( $25^\circ \pm 1^\circ$ , rel. Luftfeuchtigkeit :  $65\% \pm 3\%$ , Dauerlicht) im Flugraum gehalten. Am Stockeingang

wurden die aus- und einlaufenden Bienen mit Lichtschranken registriert. Die Signale wurden auf einem Zeitmarkenschreiber aufgezeichnet.

Die Periodenlänge wurde durch Bestimmung des Medians der Aktivität ( $DZ_5$ ), des Aktivitätsanfangs ( $DZ_2$ ) und des Aktivitätendes ( $DZ_9$ ) berechnet. Aus den Steigungen der Regressionsgeraden über mindestens 10 Perioden wurde die Periodenlänge bestimmt.

Bei Vergleich genetisch gleicher und genetisch unterschiedlicher Völker mit dem H-Test nach Kruskal und Wallis ergaben sich Unterschiede zwischen den genetisch verschiedenen Völkern. Genetische Faktoren beeinflussen demnach die Periodenlänge des circadianen Aktivitätsrhythmus von Völkern.

#### SUMMARY

##### *Circadian activity rhythms of related and unrelated honey bee colonies*

Under constant conditions honey bee colonies show free-running circadian activity rhythms (FRISCH, 1984). The period ( $\tau$ ) of the tested colonies differed to a certain degree. The influence of genetic factors on the period was examined.

Colonies of the South African honey bee race *Apis mellifica capensis* were tested. Workers of the Cape honey bee are capable of thelytokous parthenogenesis. In queenless colonies workers start to lay eggs. The offspring is diploid because of fusion of the egg pronucleus and the central descendant of the first polar body (VERMA and RUTNER, 1983). It is possible to rear colonies which are genetically identical because the offspring from one laying worker are — except in cases of crossing over — identical.

Methods : Queens being derived from one laying worker were inseminated instrumentally with the drones from one mother. Colonies produced by such queens are genetically identical. Out of five Cape worker bees, two or three queens each were reared. They were inseminated instrumentally by about 20 related drones. The activity rhythm of the nucs produced by these queens was examined.

Cape bees were kept in a flight room under constant conditions ( $25^\circ \pm 1^\circ\text{C}$ , rel. humidity  $65\% \pm 3\%$ , continuous illumination). Bees walking in and out of the hive were recorded by a photoelectric beam at the hive entrance. The signals thus elicited were fed into an event recorder.

The period of the free-running rhythm was determined by computing regression lines through the median of the activity ( $DZ_5$ ), the beginning of the activity ( $DZ_2$ ) and the end of the activity ( $DZ_9$ ) over at least 10 cycles. The data of genetically different and genetically identical colonies were compared with the H-test of Kruskal and Wallis. Differences in the period of genetically different colonies were found. Genetic factors therefore influence the period of the circadian activity rhythm of Cape honey bee colonies.

#### RÉSUMÉ

##### *Rythmes circadiens d'activité de colonies d'abeilles parentes et de colonies non parentes*

En conditions constantes les colonies d'abeilles présentent des rythmes d'activité en libre cours circadiens (FRISCH, 1984). La période ( $\tau$ ) des colonies testées variait dans une certaine mesure. On a examiné l'influence des facteurs génétiques sur la période.

On a utilisé des colonies d'abeilles du Cap (*Apis mellifica capensis*). Les ouvrières de l'abeille du Cap présentent une parthénogenèse thélytoque : dans les colonies orphelines les ouvrières pondent des œufs ; la descendance est diploïde par fusion du pronucleus de l'œuf et du descendant central du premier globule polaire (VERMA et RUTTNER, 1983). Il est possible d'élever des colonies qui sont génétiquement identiques, puisque les descendants d'une ouvrière pondreuse sont identiques — sauf dans le cas de crossing over.

Méthodes : Des reines provenant d'une ouvrière pondreuse ont été inséminées artificiellement avec des mâles d'une seule mère. Les colonies produites par de telles reines sont génétiquement identiques. On a pris 5 ouvrières du Cap et élevé à partir de chacune d'elles 2 à 3 reines. Celles-ci ont été inséminées par environ 20 mâles apparentés. On a étudié le rythme d'activité des nucleus produits par ces reines.

Les abeilles ont été placées en chambre de vol avec des conditions contrôlées constantes ( $25^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$ , HR  $65\% \pm 3\%$ , éclairage continu). Les abeilles sortant de la ruche et y entrant ont été enregistrées par un rayon photoélectrique à l'entrée de la ruche. Les signaux ainsi obtenus ont été transmis à un enregistreur.

La période de rythme en libre cours a été déterminée en calculant les droites de régression qui passent par la médiane de l'activité ( $DZ_{50}$ ), le début de l'activité ( $DZ_{10}$ ) et la fin de l'activité ( $DZ_{90}$ ) sur au moins 10 cycles. On a comparé les données des colonies génétiquement identiques et génétiquement différentes avec le test-H de Kruskal et Wallis. On a trouvé des différences dans la période des colonies génétiquement différentes. Des facteurs génétiques exercent donc une influence sur la période du rythme d'activité circadien des colonies d'abeilles du Cap.

#### LITERATUR

- FRISCH B., 1984. — Circadiane Aktivitätsrhythmik bei der Honigbiene. *Apidologie*, **15** (3), 278-280.  
 VERMA S. and RUTTNER F., 1983. — Cytological analysis of the thelytokous parthenogenesis in the Cape honeybee (*Apis mellifera capensis* Escholtz). *Apidologie*, **14** (1), 41-57.

### 13. FORTPFLANZUNG DER *VARROA*-MILBE IM ZUSAMMENHANG MIT DER BIOLOGIE DER HONIGBIENE

A. de RUIJTER

*Ambrosiushoeve, Tilburgseweg 32, 5081 NG Hilvarenbeek, Nederland*

Es wurde schon früher gezeigt, daß die Milbe *Varroa jacobsoni* für die Fortpflanzung Drohnenbrut gegenüber Arbeiterbrut bevorzugt. Neue Ergebnisse weisen darauf hin, daß die *Varroa*-Milben über die Wabenfläche hervorragende Zellen häufiger aufsuchen als normale Arbeiterzellen, obwohl sie alle Arbeiterbrut enthielten. Offenbar ist chemische Anlockung nicht der einzige Faktor, der die Verteilung der Milben über die verfügbaren Zellen bestimmt. Auch der Zelltyp ist von Bedeutung. Der Mechanismus, mit dessen Hilfe die Milben zwischen verschiedenen Zelltypen unterscheiden, ist nicht klar. Wahrscheinlich ist das

Verhalten der Bienen, welche die Milben tragen, gegenüber den Brutzellen je nach Zelltyp verschieden. Möglicherweise steht die Invasion der Brutzellen mit der Bautätigkeit der Bienen in Zusammenhang.

Für das Ergebnis der Reproduktion sind die beiden ersten Tage innerhalb der verdeckelten Brutzelle sehr wichtig. In unseren Versuchen nahmen wir *Varroa*-Milben 1-2 Tage nach der Verdeckung aus den Zellen. Ein zusätzlicher Tag führte zu beschleunigter Eiablage. Zwei zusätzliche Tage führten zu beschleunigter Eiablage und zu einer Störung des Prozesses der Geschlechtsbestimmung : Es wurden keine Männchen erzeugt.

#### SUMMARY

##### *Reproduction of Varroa jacobsoni Oudemans in relation to the biology of the honey bee*

It has been demonstrated previously that the mite *Varroa jacobsoni* prefers drone brood over worker brood for reproduction. Recent data indicate that *V. jacobsoni* prefers protruding cells over normal worker cells, though all cells contain worker brood. Apparently chemical attraction is not the only factor that determines the distribution of the mites over the available cells. Cell type is also important. The mechanism by which mites discriminate between different cell types is not clear. Probably the behaviour of the bees carrying mites towards the brood cells differs, depending on cell type. Perhaps invasion of brood cells is related to the building behaviour of the honey bee.

The first two days inside the capped brood cell are very important for reproduction. In our experiments we took the mites from the cells one or two days after capping and put them into newly capped cells. One extra day resulted in faster oviposition. Two extra days resulted in faster oviposition and disturbance of the sex determination ; no males were produced.

#### RÉSUMÉ

##### *Reproduction de Varroa jacobsoni en rapport avec la biologie de l'abeille*

Il a déjà été montré que l'acarien *Varroa jacobsoni* préfère le couvain de mâles à celui d'ouvrières pour se reproduire. Des données récentes indiquent que *Varroa jacobsoni* préfère les cellules protubérantes aux cellules normales d'ouvrières, bien qu'elles renferment toutes du couvain d'ouvrières. L'attraction chimique n'est apparemment pas le seul facteur qui détermine la répartition des acariens sur les cellules disponibles. Le type de cellule est également important. Le mécanisme, qui permet aux acariens de faire la discrimination entre les divers types de cellules, n'est pas clair. Le comportement des abeilles transportant les acariens vers les cellules de couvain diffère probablement selon le type de cellule. L'envahissement des cellules de couvain est peut-être lié au comportement de construction de l'abeille.

Les deux premiers jours passés à l'intérieur d'une cellule de couvain operculée sont très importants pour la reproduction. Dans nos expériences nous avons prélevé les acariens un ou deux jours après l'operculation de la cellule et les avons placés dans des cellules récemment operculées. Un jour supplémentaire aboutit à une ponte plus rapide. Deux jours supplémentaires aboutissent à une ponte plus rapide et à une perturbation dans le déterminisme du sexe : aucun mâle n'a été produit.

#### 14. BEFALL VON SAMMLERINNEN, STOCKBIENEN, FLUGDROHNEN UND STOCKDROHNEN MIT *VARROA JACOBSONI*

Petra SCHNEIDER

Institut für landwirtschaftl. Zoologie und Bienenkunde der Universität Bonn,  
Melbweg 42, D-5300 Bonn 1

In der Zeit vom 18.6. bis 16.10.1984 wurde bei 10 Völkern der Befall von Stockbienen, Sammlerinnen, Stockdrohnen und Flugdrohnen mit der *Varroa*-Milbe regelmäßig kontrolliert. Die Versuchsvölker konnten zu Beginn der Probenahme in zwei Gruppen eingeteilt werden, in solche mit schwächerem und stärkerem Befall. Die durchschnittliche Befallsstärke der Bienengruppen während des Untersuchungszeitraumes ist in Tabelle 1 dargestellt.

TAB. 1. — Durchschnittlicher Befall der Bienengruppen mit *Varroa jacobsoni*

	Befall in %	
	geringer Anfangsbefall	hoher Anfangsbefall
Stockbienen	7,8	16,4
Sammlerinnen	2,3	5,9
Stockdrohnen	11,7	18,8
Flugdrohnen	3,4	11,4

Unabhängig von der Befallsstärke gibt es einen signifikanten Unterschied zwischen dem Befall der Sammlerinnen und Stockbienen. Sammlerinnen und Flugdrohnen sowie Stockbienen und Stockdrohnen sind gleich stark befallen. Bei schwachem Befall läßt sich der Unterschied zwischen Flugdrohnen und Stockdrohnen statistisch absichern, bei stärkerem nicht mehr.

Der Befallsverlauf der Arbeiterinnen im Stock zeigte während des Jahres bei schwachem Befallsgrad einen Anstieg, der ab Ende August besonders stark wurde. Bei hohem Befall sank er im Juli, August unter das Niveau von Juni, stieg jedoch Ende August erneut stark an. Der Kurvenverlauf war bei Sammlerinnen und Stockbienen annähernd parallel, das Befallsmaximum lag im Herbst.

Um die Verteilung der Milben auf einzelne Altersgruppen zu klären, wurden verschieden alte Bienen während des Winters im Flugraum auf ihren Befall untersucht. Den stärksten Befall zeigten einen Tag alte Bienen, weitere Befallshöhepunkte lagen im Alter von 5, 15 - 20, 28 - 30 und 42 - 44 Tagen.

## SUMMARY

*Infestation of foragers, nurse bees and drones (inside and outside the hive) with Varroa jacobsoni*

From 6/18 to 10/16 1984 the *Varroa* infestation of foragers, nurse bees and drones inside and outside the hive in 10 colonies was analysed. The colonies could be subdivided into two groups, one with lower and one with higher infestation. The rate of infestation is shown in Table 1. The differences between the subdivisions are, except for the drones inside the hive, statistically significant.

TABL. 1. — *Infestation of the bee groups with V. jacobsoni*

	Infestation (%)	
	Low level in June	High level in June
Nurse bees	7.8	16.4
Foragers	2.3	5.9
Drones inside the hive	11.7	18.8
Drones outside the hive	3.4	11.4

Independent of the infestation level there is a significant difference between the infestation in foragers and nurse bees. Foragers and drones outside the hive as well nurse bees and drones in the hive have the same infestation rate. The difference between drones outside and inside is significant only if the number of mites in the colony is low.

If the level is low, the trend of infestation of nurse bees shows a rise especially in August. When the level was high in June the infestation rate went down in July and August and rose again towards the end of August. This trend was continued for both foragers and nurse bees and the maximum infestation rate was reached in autumn.

To determine the distribution of *Varroa* on bees of different ages, an investigation was started during the winter in the flight room. The highest infestation rate was found on bees which were 1-day old, further peaks were at ages of 5, 15-20, 20-30 and 42-44 days.

## RÉSUMÉ

*Infestation par Varroa jacobsoni de butineuses, de nourrices et de mâles d'abeilles (à l'intérieur et à l'extérieur de la ruche)*

Du 18 juin au 16 octobre 1984 on a analysé dans 10 colonies l'infestation par *Varroa* des butineuses, des nourrices et des mâles à l'intérieur et à l'extérieur de la ruche. On a pu diviser les colonies en 2 groupes, l'un à faible infestation, l'autre à forte infestation. Le taux d'infestation est indiqué dans le tableau 1. Les différences entre les groupes sont statistiquement significatives, excepté pour les mâles à l'intérieur de la ruche.

TABL. 1. — *Infestation des groupes d'abeilles par Varroa jacobsoni*

	Infestation (%)	
	Niveau bas en juin	Niveau élevé en juin
Nourrices	7,8	16,4
Butineuses	2,3	5,9
Mâles à l'intérieur de la ruche	11,7	18,8
Mâles à l'extérieur de la ruche	3,4	11,4

Indépendamment du niveau d'infestation, il existe une différence significative entre l'infestation des butineuses et des nourrices. Les butineuses et les mâles à l'extérieur de la ruche, ainsi que les nourrices et les mâles à l'intérieur de la ruche, ont le même taux d'infestation. La différence entre les mâles à l'intérieur et à l'extérieur n'est significative que si le nombre d'acariens dans la colonie est faible.

Si le niveau est bas, la tendance à l'infestation des nourrices présente une augmentation, particulièrement forte en août. Lorsque le niveau est élevé en juin, le taux d'infestation baisse en juillet et août et s'élève à nouveau fin août. Cette tendance se poursuit pour les butineuses et les nourrices et le taux maximum d'infestation est atteint à l'automne.

Afin de déterminer la distribution de *Varroa* sur des abeilles d'âge varié, on a démarré une expérimentation durant l'hiver en chambre de vol. Le taux d'infestation le plus élevé a été trouvé sur des abeilles âgées d'un jour ; les autres maximums se situent à 5, 15-20, 20-30 et 42-44 jours.

## **16. EINFLUSS DER TEMPERATUR AUF DIE WIRTS - PARASIT BEZIEHUNG BIENE - VARROA MILBE**

Wolfgang FREMUTH

*Landesanst. f. Bienenk. Uni. Hohenheim, August v. Hartmannstr. 13, D-7000 Stuttgart 70*

Ausgehend von Beobachtungsergebnissen aus den Jahren 1983-1984 über die Temperaturschwankungen im Brutnestbereich von Bienenvölkern stellte sich die Frage, ob diese saisonal bedingten Variationen der Brutnesttemperatur einen Einfluß auf die Entwicklungszeit, insbesondere die Verdecklungszeit, der Biene und auf das Reproduktionsverhalten der Milbe haben könnte.

In Kirchhainer Begattungskästchen wurden frischbestiftete Zellen markiert, sofort nach der Verdeckelung entnommen und im Brutschrank über die gesamte Verdecklungsphase inkubiert. Es wurden drei Temperaturbereiche untersucht : 30 °C, 32,5 °C und 36 °C. Als Kontrolle wurde die Verdecklungsdauer von Zellen in den Begattungskästchen mitbeobachtet. Der jeweilige Schlupftermin der Biene wurde durch Kontrolle der Zellen in bestimmten Intervallen registriert.

Bei 30 °C ergab sich eine mittlere Verdecklungsdauer von 12,7 Tagen  $\pm$  2,05, für den Bereich von 32,5 °C 12,22  $\pm$  1,22 und für die Temperatur von 36 °C wurde eine mittlere Verdecklungsdauer von 10,56  $\pm$  1,17 Tagen gefunden. Die Kontrollzellen wiesen eine Verdecklungsdauer von 10,7  $\pm$  2,31 Tagen auf.

Statistisch abgesichert sind die Unterschiede zwischen den Verdecklungszeiten bei 36 und 32,5, sowie zwischen 36 und 30 °C.

Das Reproduktionsverhalten der Milben zeigt ebenfalls eine Abhängigkeit von der Inkubationstemperatur.

Die Reproduktion wird bei 36 °C gemindert, nur 29,4 % der Milben erzeugen Nachkommen, bei 32,5 °C wurden 81,8 % der Milben mit Nachkommen gefunden und bei 30 °C ergab sich eine Reproduktionsrate von 50 %. Der Reproduktive Wert (Anzahl Tochtermilben im Protonymphenstadium pro Muttertier bezogen auf das Rotaugenstadium der Bienenpupalentwicklung) stützt diesen Befund. Bei 36 °C liegt er bei 0,833, bei 32,5 °C beträgt er 1,56 und bei 30 °C nimmt er der Wert 1,0 an.

Man kann, bedingt durch eine abgesenkte Brutnesttemperatur, einen Kombinationseffekt postulieren, der durch eine verlängerte Verdecklungsphase und eine optimalere Reproduktionstemperatur für die Milbe eine bessere Vermehrungschance bietet.

Es bleibt zu prüfen, ob sich dieser Effekt im Bienenvolk im saisonalen Aspekt ebenso darstellt.

#### SUMMARY

##### *Influence of temperature on the host-parasite relationship between honey bees and Varroa*

Measurements of the brood nest temperature of bee colonies in 1983-1984 showed seasonal variation. In several experiments the influence of temperature variation on the development of bees, especially on the capping period and the reproductive behaviour of *V. jacobsoni* was studied. Three temperature ranges were examined: 30°, 32.5° and 36 °C.

There was a significant prolongation of the pupal stage of the bees at lower temperatures and the optimum reproduction of the mite occurred at 32.5 °C. A combined effect of the extended capped period and optimal reproduction conditions at lower brood nest temperatures could be postulated.

#### RÉSUMÉ

##### *Influence de la température sur la relation hôte-parasite entre l'abeille domestique et Varroa*

Les mesures de la température du nid à couvain dans des colonies d'abeilles réalisées en 1983-1984 montrent une variation saisonnière. Au cours de plusieurs expériences, on a étudié l'influence de la variation de la température sur le développement des abeilles, particulièrement sur la période d'operculation et sur le comportement reproducteur de *Varroa jacobsoni*. Trois domaines de températures ont été étudiées : 30°, 32,5° et 36 °C.

Il existe une prolongation significative du stade nymphal des abeilles aux températures inférieures et la reproduction optimale de l'acararien se situe à 32,5 °C. On peut envisager aux températures inférieures du nid à couvain un effet combiné (phase prolongée d'operculation et température optimale de reproduction) qui offre à l'acararien une meilleure chance de multiplication.

## 17. TEMPERATURPRÄFERENZ VON *VARROA JACOBSONI* UND VERTEILUNG DES PARASITEN IM BRUTNEST VON *APIS MELLIFERA*

Peter ROSENKRANZ

LS Entwicklungsphysiologie, Institut für Biologie III der Universität, Auf der Morgenstelle 28, D-7400 Tübingen

Zur Temperaturpräferenz von *Varroa jacobsoni* wurden folgende Versuche durchgeführt :

In einer ringförmigen Temperaturorgel mit einem stabilen Temperaturgradienten von 10 °C bis 40 °C wurden 14 Versuche mit jeweils 12-20 adulten *Varroa*-Weibchen aus frisch verdeckelten Brutzellen durchgeführt. Diese Milben wurden im wärmsten Bereich der Laufschiene eingesetzt ; nach einer kurzen Eingewöhnungszeit wurde mehrmals in kurzen Abständen die Anzahl der Milben in den verschiedenen Temperaturbereichen registriert.

Unter diesen Versuchsbedingungen konnte zwar keine Präferenz der *Varroa*-Weibchen für einen bestimmten Temperaturbereich festgestellt werden, doch hielten sich 90 % der eingesetzten Milben in Bereichen unterhalb 34 °C auf. Da im wärmsten Temperaturbereich (38 °C - 40 °C) fast keine Milben mehr gefunden wurden, scheint 38 °C die obere Temperaturgrenze zu sein, die von *Varroa*-Weibchen unter Laborbedingungen noch freiwillig überschritten wird.

Der Einfluß unterschiedlich hoher Brutnesttemperaturen auf die Invasionsrate der *Varroa*-Weibchen wurde bei 5 *Apis mellifera carnica*-Völkern untersucht. Dazu wurden in allen Völkern auf verschiedenen Waben Brutflächen mit Arbeiterinnen-Larven im 3. Stadium (+ 12 h) mit Stecknadeln markiert. Ein oder zwei dieser markierten Waben wurden jeweils an den äußersten Rand der Zarge gehängt und durch Leer- oder Futterwaben vom zentralen Brutnest isoliert. Die restlichen markierten Brutwaben verblieben im Brutnestzentrum. In einem der 5 Testvölker wurde exemplarisch auf allen markierten Brutflächen mehrmals während der Dauer des Versuchs die Temperatur gemessen. Bei sämtlichen Messungen lagen dabei die Bruttemperaturen der äußeren Waben unter denen der zentralen Waben. Der Unterschied betrug im Durchschnitt 2 °C. Kurz nach der Zellverdeckelung wurde bei sämtlichen markierten Testarealen der *Varroa*-Befallsgrad der Brut bestimmt. Dabei waren in allen Fällen die äußeren kälteren Brutflächen im Vergleich zu den zentralen Brutarealen deutlich schwächer befallen. Die Ursache für diesen schwächeren Befall könnte eine geringere Dichte der wärmenden Bienen auf den kälteren Testwaben sein.

Somit scheint unter normalen Bedingungen im Bienenvolk eine Präferenz der Milben für niedrigere Temperaturbereiche eine untergeordnete Rolle für die Verteilung der *Varroa*-Weibchen im Brutnest zu spielen.

## SUMMARY

*Temperature preference of Varroa jacobsoni and distribution of the parasite within the brood nest of Apis mellifera*

Temperature preference of *V. jacobsoni* was tested by the following experiments: A ring-shaped device was used to set up a stable temperature gradient from 10 °C to 40 °C. Ten to twelve *Varroa* females collected from freshly capped brood cells were put into the warmer part of this device. After a short time of habituation the distribution of mites along the temperature ranges was evaluated several times. This test was repeated 14 times. Under these laboratory conditions the mites did not distinctly prefer special temperatures but more than 90 % of the tested mites congregated below 34 °C. Because almost no mites were observed within the highest temperature range (38-40 °C), there seems to be an upper temperature limit which is avoided by the *Varroa* females.

The influence of different brood nest temperatures on the invasion rate of *Varroa* females was tested in 5 *A.m. carnica* colonies. For that purpose brood areas on different combs containing worker larvae on the 3rd instar ( $\pm 12$  h) were marked with pins. One or two of these combs were placed at the exterior border of the colony; they were separated from the central part of the brood nest by pollen or honey combs. The other marked combs remained in the center of the brood nest. In one of the 5 test colonies the temperatures on every marked section were measured. The brood combs which were separated from the brood nest had evidently lower temperatures than brood combs in the center. Shortly after capping, the brood cells in the isolated combs with lower brood temperatures were also evidently less infested. A minor density of the warming bees may possibly explain the lower infestation rates on the colder brood combs. Therefore one could conclude that under normal conditions within the hive a preference of the mites for lower temperature ranges has no obvious influence on the distribution of *Varroa* females within the brood nest.

## RÉSUMÉ

*Préférence de température de Varroa jacobsoni et répartition du parasite au sein du nid à couvain d'Apis mellifica*

On a étudié la préférence thermique de *Varroa jacobsoni* par les expériences suivantes: un dispositif en forme d'anneau a été utilisé pour établir un gradient stable de température de 10° à 4 °C. Dix à douze femelles de *Varroa*, prélevées dans des cellules à couvain récemment operculées, ont été placées dans la partie la plus chaude de ce dispositif. Après une courte période d'adaptation, on a évalué à plusieurs reprises, la distribution des acariens le long du gradient de température. Ce test a été répété 14 fois. Dans ces conditions de laboratoire les acariens n'ont pas de préférence nette pour une température donnée, mais plus de 90 % d'entre eux se rassemblent en dessous de 34 °C. Puisqu'on n'a observé presque aucun acarien dans le domaine le plus élevé de température (38-40 °C), il semble qu'il y ait une limite supérieure de température que les femelles de *Varroa* évitent.

L'influence de diverses températures du nid à couvain sur le taux d'infestation par les femelles *Varroa* a été étudiée sur 5 colonies d'*Apis mellifica carnica*. Pour cela on a marqué avec des épingles des surfaces de couvain de différents rayons renfermant des larves d'ouvrières au 3<sup>e</sup> stade (12 h). Un ou deux de ces rayons ont été placés sur le bord externe de la colonie; ils étaient séparés de la partie centrale du nid à couvain par des rayons de pollen et de miel. Les autres rayons marqués sont restés au centre du nid à couvain. Dans l'une des 5 colonies testées on a mesuré les températures sur chacune des sections marquées. Les rayons de couvain qui étaient séparés du nid à couvain avaient évidemment des températures inférieures à ceux qui étaient au centre. Peu de temps après l'operculation, les cellules de couvain dans les rayons isolés, avec des températures de couvain basses, étaient manifestement moins infestées. Une densité moindre d'abeilles chauffeuses peut-être expliquer les taux plus faibles d'infestation des rayons à couvain plus froids. On peut donc conclure que, dans des conditions normales à l'intérieur de la ruche, une préférence des acariens pour des températures basses n'a pas d'influence nette sur la distribution des femelles de *Varroa* au sein du nid à couvain.

## 18. UNTERSUCHUNGEN ZU EINEM PROGNOSE-MODELLVERSUCH ANHAND DES NATÜRLICHEN TOTENFALLES VON *VARROA JACOBSONI*

E. RADEMACHER

*Freie Universität Berlin, Fachbereich Biologie, Institut für Allgemeine Zoologie, AG Bienenkunde, Königin-Luise Str. 1-3, 1000 Berlin 33*

Die Anzahl der Varroamilben im Bienenvolk sowie der natürliche Milbentotenfall ändern sich im Jahresverlauf. Eine Vorhersage des maximalen Befallsgrades eines Bienenvolkes über einfach und frühzeitig zu ermittelnde Daten wäre in der imkerlichen Praxis nützlich. Eine Prognose des Milbentotenfalles im August/September (Zeitraum der varroatosebedingten Volkszusammenbrüche) ist regional begrenzt aus dem Milbentotenfall im Juli möglich. Die Verknüpfung Milbentotenfall-Befall eines Bienenvolkes ist nach unseren Befunden weder über die Milbenabtötungsdaten der Folbex VA Neu-Herbstbehandlung noch über Populationsmodelle zu erreichen. Die Milbenpopulation unterliegt einer starken Dynamik, die Summe der Einflußfaktoren ist so groß, daß Populationsmodelle und Prognosen über den natürlichen Milbentotenfall keine Allgemeingültigkeit haben können.

### SUMMARY

*A predictive trial model based on investigations on the natural mortality rate of V. jacobsoni*

In the course of a year both the number of mites and their natural mortality rate change. A prediction of the maximum infestation rate based on data from observations would be very helpful. Using the mortality rate during the month of July a prognosis for August/September (i.e. period of colony collapse due to varroatosis) is possible only on a regional basis. From our findings a connection between mortality rate of mites and the infestation rate of a colony cannot be seen either by the results of Folbex treatment or by any models of population development and dynamics, even under general aspects.

### RÉSUMÉ

*Recherche d'un modèle de prognose basé sur le taux de mortalité naturelle de Varroa jacobsoni*

Au cours d'une année le nombre d'acariens et leur taux naturel de mortalité changent tous deux. Il serait très utile d'être capable de prévoir le taux maximum d'infestation d'après des données d'observations. En utilisant le taux de mortalité au cours du mois de juillet il n'est possible d'établir que sur un plan régional une prognose pour août-Septembre (c'est-à-dire la période d'effondrement des colonies par la varroose). D'après nos résultats, ni les données de mortalité due à un traitement au Folbex VA Neu, ni aucuns modèles de dynamique et de développement des populations (même dans leurs aspects généraux) ne peuvent établir de relation entre le taux de mortalité des acariens et le taux d'infestation d'une colonie.

## 22. METHANSÄURERÜCKSTÄNDE IM BIENENHONIG NACH BEHANDLUNG DER BIENENVÖLKER MIT DIESER SÄURE IM RAHMEN DER VARROATOSE-BEKÄMPFUNG

Werner-G. STOYA

*Deutschordenstrasse 48, D-6000 Frankfurt/Main*

Bei der Behandlung der Varroatose, welche die Bienenvölker zu vernichten droht, hat sich Methansäure (= Ameisensäure) als sehr wirksam erwiesen.

Die Säure wird nach zwei Methoden eingesetzt. Zum einen als « Stoßtherapie », wobei jedes Bienenvolk dreimal je vier Tage mit jeweils 23 ml einer 65 %igen Methansäure bedampft wird ; zum anderen einer « Landzeittherapie », wobei eine 98 %ige Methansäure langsam und allmählich über einen Zeitraum von 21 Tagen (Brutzeit der Biene) in dem Bienenstock verdampft wird.

In mehreren Feldversuchen wurde sowohl eine Sommer-, als auch eine Winterbehandlung nach beiden Methoden durchgeführt.

Die Honige bzw. das Winterfutter — letzteres ist den Honigen gleichzusetzen — wurden vor Beginn der Therapie, unmittelbar nach der Behandlung, sowie in weiteren bestimmten zeitlichen Abständen, bis zu 31 bzw. 40 Wochen nach der Behandlung auf Methansäurerückstände und Gesamtsäuregehalte überprüft.

Die Bestimmung der Methansäure geschah mittels Formiatdehydrogenase. Alle Honige wurden zudem sensorisch auf Konsistenz, Geruch und Geschmack getestet. Erst innerhalb des genannten Zeitraumes reduzierten sich die Ameisensäuregehalte im Honig in etwa auf den natürlichen Anteil (100 mg/Kg).

Die Ergebnisse wurden mitgeteilt. Ferner wurde versucht, eine lebensmittelrechtliche Wertung zu geben.

Bezüglich der Wartezeit wird die Auffassung vertreten, daß eine solche entfallen kann, sofern die Herbstbehandlung nach Einbringung der letzten Honigernte, spätestens im Oktober, beginnt.

Während der Trachtzeit können die beiden Methoden wegen der Belastung des Honigs durch die Ameisensäure jedoch nicht empfohlen werden.

### SUMMARY

*Residues in honey following treatment with formic acid  
in the course of controlling varroatosis*

The acid is applied in two ways :

1. Shock therapy : exposure of the colony to rapid evaporation of 23 ml formic acid (65 %) repeated three times in intervals of four days.

2. Long-term therapy : continuous slow evaporation of formic acid (98 %) for 21 days. These procedures were carried out in several field trials in summer and late fall.

Honey and sugar syrup fed for wintering were checked for residues of formic acid contents before and immediately after treatment, and at regular intervals up to 31 and 40 weeks after treatment. Formic acid was determined by using formate dehydrogenase. In addition, all honeys were sensorially examined with regard to the criteria of consistency, appearance, aroma and flavour.

Within the period mentioned, a reduction of the initially elevated levels of formic acid in honey to naturally occurring values (100 mg/kg) were observed. An attempt was made to give an evaluation for food regulation purposes.

Provided the colonies were treated during late fall, no latency period has to be observed. During the honey flow both methods cannot be recommended because of the potential contamination of honey by formic acid.

### RÉSUMÉ

*Résidus d'acide formique dans le miel après traitement des colonies avec cet acide dans le cadre de la lutte contre la varroose*

L'acide formique est appliqué selon 2 modes :

1. Thérapie de choc : exposition de la colonie à l'évaporation rapide de 23 ml d'acide formique (65 %), répétée 3 fois à 4 jours d'intervalle.
2. Thérapie à long terme : évaporation lente et continue d'acide formique (98 %) pendant 21 jours.

Plusieurs essais en champ ont été faits selon ces méthodes, en été et en hiver.

On a recherché, dans le miel et le sirop de sucre donnés en nourrissage pendant l'hivernage, les résidus d'acide formique avant et juste après le traitement et à intervalles réguliers jusqu'à 31 et 40 semaines après le traitement. On a utilisé la formate déhydrogénase pour déterminer l'acide formique. De plus tous les miels ont subi une analyse sensorielle qui a pris en compte la consistance, l'apparence, l'arôme et le goût.

Durant la période mentionnée, on a observé une réduction des teneurs en acide formique du miel, initialement élevées, jusqu'aux teneurs présentes naturellement (100 mg/kg). On a essayé de donner une évaluation valable pour la réglementation en matière alimentaire.

A condition que les colonies soient traitées en hiver, il n'est pas nécessaire d'observer de période de latence ; pendant la miellée, on ne peut recommander aucune des deux méthodes en raison de la contamination potentielle du miel par l'acide formique.

## 25. INFORMATION ÜBER DEN WIRKSTOFF DES PERIZIN®

Hubert NEUHAUSER

*Vet.-Bereich der Bayer AG, D-5090 Leverkusen*

Der Wirkstoff des Perizin gehört zur Substanzklasse der Organophosphate, mit der Versuchs-Nr. Bay 21/199 und der chemischen Bezeichnung = 3-chloro-

® = Registriertes Warenzeichen der Bayer AG, Leverkusen.

4-methylumbelliferone.O.O.-diethylthiophosphate. Bisher war der Wirkstoff hauptsächlich zur Zeckenkontrolle beim Rind und Schaf eingesetzt. SCHABANOV (Bulgarien) und RITTER (Freiburg) fanden unabhängig voneinander eine varroazide Wirksamkeit der Substanz, die zur Entwicklung zweier Formulierungen, die für die Anwendung bei Bienen geeignet sind, einem Granulat zur Futtermedikation und einer Lösung zur topikal Anwendung führte. Der Wirkstoff ist toxikologisch intensiv untersucht. Es wurden keine Hinweise auf mutagene, cancerogene oder teratogene Wirkungen gefunden. Sicherheitspharmakologische Studien haben ergeben, daß keine Beeinflussungen der Haemodynamik, der Blutgerinnung, der Nierentätigkeit (Diurese) oder der Funktion des zentralen Nervensystems durch den Wirkstoff erfolgen.

Erste Rückstandsuntersuchungen im Honig behandelter Völker wurden dargestellt. 42 Tage nach der topikal Behandlung wurde durch Zuckerfütterung eine Frühjahrstracht simuliert, und 70-74 Tage nach der Behandlung wurden von diesem Honig Proben mit HPLC-Methode auf Rückstände des Wirkstoffes und der Metaboliten chemisch-analytisch untersucht. In der erwarteten Dosierungsstufe wurden im Durchschnitt 5-16 ppb des Wirkstoffes gefunden. Metaboliten wurden nicht nachgewiesen. Der ADI-Wert beträgt 0,035 mg pro Person und Tag. Damit könnten pro Person und Tag bedeutend mehr als 1 kg Honig verzehrt werden ohne daß der ADI-Wert erreicht würde.

Die Sicherheit für den Anwender ist gewährleistet und wird durch ein weitgehend geschlossenes Behandlungssystem für den Imker zusätzlich erhöht.

Die Nutzen-Risiko-Analyse spricht eindeutig für den Einsatz dieses wirksamen Produktes in der *Varroa*-Bekämpfung der Bienen.

Die Zulassung beim Bundesgesundheitsamt Berlin wurde im Februar 1985 beantragt.

#### SUMMARY

##### *Information about the active ingredient Perizin®*

The substance belongs to the group of organophosphorus compounds with the code number Bay 21/199 and the chemical name 3-chloro-4-umbelliferone 0,0-diethylthiophosphate. So far the chemical has mainly been used as an acaricide for ticks on cattle and sheep. The varroacidal effect was found independently by SCHABANOV (Bulgaria) and RITTER (W. Germany).

The toxicology of this material has been evaluated intensively and there were no mutagenic, carcinogenic or teratogenic potencies found. Pharmacological safety tests excluded other side effects. First tests carried out under extreme conditions revealed that honey, after 70-74 days, contained a residue of 5-16 ppb following a topical treatment using the expected application rate. No metabolites were found in the honey. The ADI-value is 0.0355 mg/person per day. This means that more than 1 000 g honey could be consumed daily before the ADI value is reached. The safety for the user has been proven and enhanced by a nearly closed application system. The benefit-risk analysis favours this efficient product to control varroatosis in honey bees.

## RÉSUMÉ

*Informations concernant la matière active Perizin®*

La substance appartient au groupe des organophosphorés avec le nom de code Bay 21/199 ; son nom chimique est 3-chloro-4-umbelliférol 0,0-diéthylthiophosphate. Jusqu'à présent la substance a été principalement utilisée comme acaricide contre les tiques des bovins et des ovins. L'effet varroacide a été trouvé séparément par SCHABANOV (Bulgarie) et W. RITTER (R.F.A.).

La toxicologie de cette substance a été évaluée de façon approfondie et aucune activité mutagène, carcinogène ni tératogène n'a été trouvée. Les études de pharmacovigilance ont exclu tout autre effet secondaire. Les premiers essais, réalisés dans des conditions très sévères, ont montré que le miel, après 70-74 jours, renfermait un résidu de 5-16 ppb suite à un traitement topique utilisant le taux d'application recommandé. On n'a trouvé aucun métabolite dans le miel. La valeur de la DJA est de 0,0355 mg/personne et par jour. Cela signifie qu'il faut consommer quotidiennement plus de 1 000 g de miel pour atteindre la DJA. La sécurité pour le consommateur a été prouvée et améliorée par un système de traitement presque fermé. L'analyse bénéfice-risque parle en faveur de l'utilisation de ce produit efficace dans la lutte contre la varroose des abeilles.

## **26. BEKÄMPFUNG DER VARROATOSE MIT PERIZIN (LIQUID), EINEM NEUEN SYSTEMISCHEN MEDIKAMENT**

Wolfgang RITTER

*Tierhygienisches Institut Freiburg, D-7800 Freiburg i. Br.*

Ein neues systemisch wirkendes Medikament wurde von der Bayer AG, in Zusammenarbeit mit dem Tierhygienischen Institut Freiburg, entwickelt. Das Medikament heißt Perizin (Liquid) und enthält den Wirkstoff Bay 21/199 in einer speziellen Formulierung. Der systemische Effekt des Medikaments basiert auf dem sozialen Futterrausch im Bienenvolk. Das Medikament wird vom Parasiten über die Hämolymphe der Bienen aufgenommen.

In mehreren Feldversuchen wurden bei insgesamt 100 Völkern verschiedene Dosierungen des Präparates geprüft. In allen Versuchsgruppen kam es unabhängig von der Dosierung zu einer geringen akuten Bienentoxizität. Meist starben nur die Bienen ab, die das Medikament als erste und damit in einer Überdosierung aufgenommen hatten. Die Behandlung mit Perizin hatte keine negative Auswirkung auf die Frühjahrsentwicklung der Völker. Die Milbenmortalität war im Kurzzeitversuch stets größer als 90 %. Im Langzeitversuch hatte jedoch nur die höchste Dosierung eine ausreichend hohe Wirkung. Da die Völker im März bereits Brut aufgezogen hatten, konnten sich die nach der Behandlung im Volk verbliebenen Milben erneut vermehren. In den Monaten nach der Behandlung müssen daher weitere Milben abgestorben sein. Perizin (Liquid) hat somit nicht nur eine ausgezeichnete akute sondern auch persistente akarizide Wirkung.

Aufgrund der vorliegenden Versuche kann folgende Dosierempfehlung abgeleitet werden. Die Bekämpfung der Varroatose mit Perizin (Liquid) erfolgt im Herbst bzw. Winter, wenn die Völker möglichst brutfrei sind. Es werden 2 mal im Abstand von 7 Tagen je Volk eine Emulsion aus 1 ml des Perizin (Liquid) und 50 ml Wasser auf die Bienen geträufelt. Für die Diagnose ist eine einmalige Anwendung bei gleicher Dosierung ausreichend, da hiermit bereits über 80 % der Milben erfaßt werden.

#### SUMMARY

##### *Control of varroosis with Perizin (liquid), a new systemic medication*

A new systemic medication for the control of varroosis has been developed at the Tierhygienisches Institut Freiburg in collaboration with Bayer AG. The medication, Perizin (liquid) contains Bay 21/199 in a special liquid formulation. Two applications of Perizin (1 ml/50 ml water) during hibernation proved to be well tolerated by the bees and also had an excellent varroacidal effect.

#### RÉSUMÉ

##### *Traitement de la varroose avec Perizin® (liquide), nouveau produit systémique*

Un nouveau médicament systémique pour combattre la varroose a été mis au point au Tierhygienisches Institut de Freiburg en collaboration avec la société Bayer. Le médicament contient du Bay 21/199 en formulation liquide particulière. Deux traitements au Perizin® (1 ml/50 ml d'eau) durant l'hivernage ont été très bien tolérés par les abeilles et ont eu un excellent effet varroacide.

## **28. VORVERSUCHE ZUR UNTERSCHIEDLICHEN KALKBRUTRESISTENZ BEI ZÜCHTERISCH BEARBEITETEM BIENENMATERIAL**

W. RATH

*Institut für landwirtschaftliche Zoologie und Bienenkunde, Melbweg 42, D-5300 Bonn 1*

In Vorversuchen wurde die Wirksamkeit von Verhaltensweisen der Honigbiene gegenüber künstlich herbeigeführten Kalkbrutinfektionen bei unterschiedlichen Zuchtlinien überprüft.

1. *Bienenmaterial* : Anhand von Vorjahres- und Frühjahresbeobachtungen wurden zwei Bienenvölker aus Zuchtlinien mit auffällig hohem kalkbrutbefall ausgewählt, Königinnen von diesem Material nachgezüchtet und zur Verstärkung eventuell vorhandener genetischer Dispositionen mit Sperma von Geschwisterdrohnen instrumentell besamt. Als Kontrollgruppe dienten Geschwisterköniginnen aus einer kalkbrutunauffälligen Zuchtlinie.

2. *Infektionsmaterial* : Ascosporen konnten aus Laborkulturen von *Ascosphaera apis* (M. ex Cl.) Spiltoir et Olive gewonnen werden.

### 3. *Überprüfung der Hygieneverhaltensweisen und der Kalkbrutanfälligkeit.*

3.1. «*uncapping-*» und «*removing-*» *Tendenz* : Dazu wurde verdeckelte Brut durch Tiefgefrieren schonend abgetötet, den Versuchsvölkchen in Kirchhainer Kästchen zurückgegeben und in 24 h Abständen die entdeckelten Zellen sowie die entfernten Larven ausgezählt. Die anfälligeren Linien zeigten eine deutlich geringere «*uncapping-*» und «*removing-*» *Tendenz*. Das rasche Erkennen und Entfernen abgestorbener, verdeckelter Brut trägt wahrscheinlich zu einer Verringerung des infektiösen Materials im Bienenstock bei.

3.2. *Proventriculusaktivität*. Sie bewirkt bei adulten Bienen die Entfernung infektiöser Ascosporen aus dem Honigblaseninhalt. Kontaminiertes Larvenfutter und Vorräte werden dadurch entseucht. Zur Überprüfung der Proventriculusaktivität wurden Bienen der verschiedenen Zuchtlinien mit Zuckerwasser gefüttert, in dem  $2 \times 10^8$  Sporen/ml suspendiert waren. Bienenstichproben wurden in 5 min Abständen tiefgefroren und die Ascosporenkonzentration in der Honigblase ermittelt. Es zeigte sich eine drastische Reduktion der Ascosporen um 50 % nach 15 min und um 90 % nach 45 min. Die anfälligen Linien erreichten die gleichen Werte bis zu 15 min später als die abwehrstarken.

3.3. *Anfälligkeit der Larven* : Sie kann aufgrund physiologischer Unterschiede verschieden stark ausgeprägt sein. Larven konnten in Laboraufzuchten ohne den Einfluß der Pflegebienen mit unterschiedlichen Ascosporenkonzentrationen infiziert werden. Die anfälligen Linien zeigten bis zu 20 % mehr Ausfälle durch Kalkbrut.

3.4. *Infektionen im Volk* : Viertägige Larven im Volk wurden in den Brutzellen mit verschiedenen Sporenkonzentrationen infiziert, und Brutauffälle in 48 h Abständen registriert. Unter dem Einfluß der Pflegebienen ergaben sich bis zu 40 % höhere Brutverluste bei den anfälligen Linien gegenüber den abwehrstarken.

## SUMMARY

### *Preliminary tests on resistance to chalkbrood in bee colonies of selected lines*

The effectiveness of honey bee behaviour in relation to artificial infection with *Ascosphaera apis* spores was tested in different breeding lines.

1. Test colonies. Two colonies showing extraordinarily high chalkbrood infection were selected. Queens were reared from these colonies and inseminated with semen from drones of the same mothers. Queens from a breeding line without any record of chalkbrood disease served as the control group.

2. Infectious material. Ascospores of *A. apis* were obtained from laboratory cultures.

3. Tests for hygienic behaviour and chalkbrood susceptibility.

3.1. Uncapping and removing tendency. Capped brood was killed by quick freezing. The combs were returned to the test colonies (small nuclei) and checked daily for the number of uncapped cells and larvae that were removed. The susceptible lines showed distinctly less uncapping and removing behaviour. The fast recognition and removal of the dead, capped brood are probably two factors for reduction of infectious material in honey bee colonies.

3.2. Action of the proventriculus. Ascospores suspended in the contents of the honey stomach are removed by the activity of the proventriculus. For testing the efficiency of proventriculus activity, worker honey bees from the test colonies were fed a predetermined volume of nectar containing  $2 \times 10^8$  spores/ml. Specimens of the feed bees were quick frozen at 5 min intervals and the concentration of the spores in the liquid of the honey stomach was determined. The ascospores were reduced by 50 % after 15 min and by 90 % after 45 min. The susceptible lines lagged about 15 min behind in their filtering activity.

3.3. Susceptibility of larvae. Larvae reared in the laboratory on semi-artificial diet without the influence of nurse bees were infected with different doses of ascospores. Losses to chalkbrood disease were up to 20 % higher in the susceptibles lines.

3.4. Infections in the colonies. Four-day old larvae were infected with different doses of spores and brood losses were determined every 48 h. The susceptible lines had up to 40 % higher mortality than the controls.

## RÉSUMÉ

### *Essais préliminaires sur la résistance au couvain plâtré chez les colonies d'abeilles provenant de lignées sélectionnées*

On a testé sur différentes lignées sélectionnées l'efficacité du comportement de l'abeille domestique par rapport à une infection artificielle par *Ascospaera apis*.

1. Colonies testées. On a sélectionné 2 colonies qui étaient fortement infectées par du couvain plâtré. Des reines ont été élevées à partir de ces colonies et inséminées avec du sperme de mâles provenant des mêmes mères. Des reines d'une lignée indemne de couvain plâtré ont servi de témoins.

2. Matériel d'infection. On a utilisé des ascospores d'*Ascospaera apis* provenant de cultures de laboratoire.

3. Tests de comportement hygiénique et de sensibilité au couvain plâtré.

3.1. Tendance à la désoperculation et à l'élimination. On a tué du couvain operculé par congélation rapide. Les rayons ont été replacés dans les colonies testées (petits nuclei) et vérifiés chaque jour pour dénombrer les cellules désoperculées et les larves éliminées. La reconnaissance et l'élimination rapides du couvain operculé mort sont certainement 2 facteurs qui contribuent à diminuer le matériel infectieux dans les colonies.

3.2. Action du proventricule. Les ascospores en suspension dans le contenu du jabot sont éliminées par l'activité du proventricule. Pour tester l'efficacité de cette activité, on a donné à des ouvrières d'abeilles prises dans les colonies testées un volume connu de nectar renfermant  $2 \times 10^8$  spores/ml. On a congelé quelques-unes de ces abeilles à 5 min d'intervalle et déterminé la concentration en spores du liquide du jabot. Les ascospores ont diminué de 50 % au bout de 15 min et de 90 % après 45 min. Les lignées sensibles ont marqué un retard d'environ 15 min dans leur activité filtrante.

3.3. Sensibilité des larves. On a inoculé diverses doses d'ascospores à des larves élevées en laboratoire sur un régime semi-artificiel sans l'influence de nourrices. Les pertes causées par le couvain plâtré ont été jusqu'à 20 % supérieures chez les lignées sensibles.

3.4. Infections dans les colonies. On a inoculé diverses doses d'ascospores à des larves de 4 jours et les pertes en couvain ont été mesurées toutes les 48 h. Les lignées sensibles ont eu une mortalité jusqu'à 40 % supérieure à celle des témoins.

## 29. DARSTELLUNG DER MITOCHONDRIALEN DNA DER HONIGBIENE (*APIS MELLIFERA* L.)

Robin F.A. MORITZ\* und Christopher F. HAWKINS\*\*

\* Institut für Bienenkunde (Polytechn. Ges.), FB-Biologie, Universität Frankfurt/Main, Karl-von-Frisch Weg 2, D-6370 Oberursel

\*\* School of Biochemistry/Zoology, University of New South Wales, Kensington 2033

Honigbienen zeigen wie andere soziale Hymenopteren eine reduzierte genetische Varianz in Isoenzymstudien gegenüber diploiden Populationen. Das Fehlen von Isoenzym polymorphismen wird dabei auch der haplo-diploiden Populationsstruktur zugeschrieben. PAMILO *et al.* (1978) konnten zeigen, daß die Haplo-diploidie zu einer Reduktion der genetischen Variabilität führt. In neuerer Zeit werden Arten und Populationen auch an Hand der mitochondrialen DNA (mtDNA) charakterisiert. Mit Hilfe der Restriktionsenzymanalyse können Unterschiede in der mtDNA dargestellt werden. Auch bei der Honigbiene sollte diese Methode erfolgreich angewandt werden können, sofern die mtDNA ausreichend sauber biochemisch isolierbar ist. Aus 20 g Larven oder unpigmentierten Puppen kann durch differenzielle Zentrifugation in 0,25 M Saccharose nach MORITZ (1983) zunächst ein erstes Mitochondrienpellet gewonnen werden. Eine anschließende Stufen-Gradientenzentrifugation (1,0 M / 1,7 M Saccharose, 100 000 xg) reinigte das Mitochondrienpellet. Proteine wurden in drei Phenol-extraktionen aus der Probe entfernt. Das Phenol wurde mit Äther extrahiert und die mtDNA nach Zugabe von Natriumacetat (0,3 M in Endkonzentration) in Äthanol bei  $-70^{\circ}\text{C}$  präzipitiert. Schließlich wurde die Probe bei 12 000 xg zentrifugiert, das Äthanol abgehoben, die Probe 5 min unter Vakuum getrocknet und in TE-Puffer (0,01 M Tris, 0,01 M EDTA, pH 8) gelöst. In einem 1 % igem Agarosegel und einer Ethidium-Bromid Färbung wurde die Reinheit der Präparation mit einer Analysenlampe bei 265 nm überprüft.

Es zeigt sich, daß mtDNA-Präparationen aus Flugmuskeln adulter Honigbienen nicht zu befriedigenden Ergebnissen führen. Zum einen stört die harte Kutikula bei der Homogenisierung, zum anderen scheint die Mitochondrienfraktion in der differentiellen Zentrifugation nicht sauber von Zellkernen getrennt zu werden. Dies führt zu starken Verunreinigungen durch nukleare DNA und die mtDNA-Bande kann nicht eindeutig bestimmt werden. Die Larven- und Puppenpräparationen lassen auf eine Größe der mtDNA von  $17\,128 \pm 100$  Basenpaare schließen. Die Länge der mtDNA der Honigbiene liegt somit im Bereich bereits gefundener Werte für andere Organismen (z.B. SOLIGNAC *et al.*, 1984).

Wie die Ergebnisse zeigen, ist die mtDNA der Honigbiene mit einer einfachen Präparation sauber darstellbar. Eine Restriktionsenzymanalyse der mtDNA sollte extrachromosomale Polymorphismen in natürlichen Populationen von sozialen

Hymenopteren darstellen können. Dies sollte mehr Aufschluß über die Ursachen der reduzierten genetischen Varianz bei sozialen Hymenopteren geben.

#### DANKSAGUNG

Diese Arbeit entstand in Zusammenarbeit mit Profs. R.H. CROZIER und A.G. MACKINLAY. Das Projekt wurde von der DFG und dem Aust. Res. Grant Com. gefördert.

#### SUMMARY

##### *Isolation of mitochondrial DNA of the honey bee (Apis mellifera L.)*

Honey bees, like other social Hymenoptera, reveal small genetic variation in isozyme studies. One reason for the lack of polymorphism seems to be the male-haploid population structure. Recently populations and species have also been characterized by extra-chromosomal mitochondrial DNA (mtDNA) variability. Restriction enzyme analysis frequently reveals polymorphisms within and between populations. This technique might be useful to document extra-chromosomal variability in Hymenoptera, which should not be reduced due to male-haploidy as mtDNA is mainly inherited maternally. However a suitable mtDNA-isolation technique is required prior to performing successful restriction enzyme digestions. Samples of 20 g brood or thoraces of workers were homogenized and differentially centrifuged in 0.25 M sucrose by the method of Moritz (1983) to obtain a mitochondrial pellet. The pellet was purified in a sucrose gradient (1.0 M/1.7 M; 100,000 xg) and the proteins in the sample were extracted using three phenol extractions. The phenol was extracted finally with ether and the mtDNA was precipitated at  $-70^{\circ}\text{C}$  in ethanol after adding sodium acetate (0.3 M final concentration). The sample was centrifuged at 12,000 xg, ethanol was removed and the precipitate was vacuum dried for 5 min. The sample was then dissolved in TE-buffer (0.01 M Tris, 0.01 M EDTA, pH 8.0) and electrophoresed in 1% agarose gel. The purity of the DNA was determined with an ethidium bromide stain under 265 nm UV-light.

We found that the preparation from adult flight muscle tissue showed a high contamination of nuclear DNA. The mtDNA-band, with a size of  $17,128 \pm 100$  base pairs, was covered by a large smear of nuclear DNA. This might result from problems during the homogenization of the thoraces or may be due to the large size of the sarcomeres which probably were not separated from the nuclei in the differential centrifugation step. Larvae, however, revealed a concise mtDNA band of about 17k base pairs. This agrees well with the data from other organisms (e.g. SOLIGNAC et al., 1984). Our results show that the mtDNA of honey bees can be isolated by a simple technique. In the next step, restriction enzyme analysis should be able to reveal extra-chromosomal variation in *A. mellifera* which should give more evidence concerning the origins of the reduced genetic variability in social Hymenoptera.

#### RÉSUMÉ

##### *Isolement de l'ADN mitochondrial chez l'abeille (Apis mellifica L.)*

Les abeilles domestiques, comme d'autres Hyménoptères sociaux, montrent une faible variation génétique dans les études d'isozymes. L'une des raisons de l'absence de polymorphisme semble être la structure de la population avec des mâles haploïdes. On a récemment caractérisé des populations et des espèces par la variabilité de l'ADN mitochondrial extra-chromosomal (ADNmt). L'analyse enzymatique restrictive révèle fréquemment des polymorphismes à l'intérieur et entre les populations.

Cette technique pourrait être utile pour établir la variabilité extra-chromosomale chez les Hyménoptères, qui ne devrait pas être réduite du fait de l'haploïdie des mâles, puisque l'ADNmt provient principalement du côté maternel. Néanmoins une technique convenable d'isolement de l'ADNmt est nécessaire avant de réussir des digestions enzymatiques restrictives. Des échantillons de 20 g de couvain et de thorax d'ouvrières ont été homogénéisés et centrifugés différenciellement dans une solution 0,25 M de saccharose par la méthode de MORITZ (1983) pour obtenir une boulette mitochondriale. La boulette a été purifiée dans un gradient de saccharose (1,0 M/1,7 M ; 100 000 xg) et les protéines de l'échantillon ont été extraites par 3 extractions au phénol. Le phénol a finalement été extrait à l'éther et l'ADNmt précipité à  $-70^{\circ}\text{C}$  dans l'éthanol, après addition d'acétate de sodium (concentration finale 0,3 M). L'échantillon a été centrifugé à 12 000 xg, l'éthanol éliminé et le précipité séché par le vide pendant 5 min. L'échantillon a ensuite été dissout dans un tampon TE (0,01 T Tris, 0,01 MEDA, pH 8,0) et passé en électrophorèse sur gel à 1 % d'agarose. La pureté de l'ADN a été déterminée par une coloration au bromure d'éthidium en lumière UV 265 nm.

Nous avons trouvé que la préparation à partir de tissu du muscle du vol de l'adulte montrait une forte contamination de l'ADN nucléaire. La bande d'ADNmt, avec une taille de paires de base de  $17\,128 \pm 100$ , était couverte par une grande tache d'ADN nucléaire. Cela peut venir de problèmes lors de l'homogénéisation des thorax ou peut être dû à la grande taille des sarcomères, qui n'ont probablement pas été séparés des nuclei lors de la phase de centrifugation différentielle. Les larves pourtant ont montré une bande d'ADNmt concise (paires de base d'environ 17 k). Ceci concorde bien avec les données concernant d'autres organismes (par ex. SOLIGNAC *et al.*, 1984).

Nos résultats montrent que l'ADNmt des abeilles peut être isolé par une technique simple. Dans une prochaine étape, l'analyse enzymatique restrictive devrait pouvoir révéler la variation extra-chromosomale chez *Apis mellifica*, ce qui fournirait plus de preuves sur les origines de la variabilité génétique réduite chez les Hyménoptères sociaux.

### 31. ANALYSE EINIGER METHODEN DES HUMMELZÜCHTUNG

M.J. DUCHATEAU

*Laboratorium f. vergleichende Physiologie, Jan van Galenstr. 40, Utrecht, Niederlande*

Für den Einsatz von Hummeln bei der Bestäubung sind die Erfolgsraten bei der Aufzucht und die Verlagerung des natürlichen Zyklus zur Koordinierung mit den zu bestäubenden Pflanzen immer noch ein Problem. Während unserer mehrjährigen Züchtung von *Bombus terrestris* haben wir bekannte Methoden allmählich verfeinert. Das betrifft :

*Koloniegründung.* Wir haben gute Erfolge mit der Zwei-Königinnenmethode erzielt unter der Voraussetzung, daß die Königinnen genügend lang geflogen sind. In bis zu 70 % der Kästchen entwickelten sich Kolonien mit über 10 Arbeiterinnen. Beim Einsatz von zwei Königinnen spielt wahrscheinlich Konkurrenz eine wichtige Rolle, wie sie auch in der Natur beim Suchen nach Nistplätzen auftritt. Dies stimuliert die Aktivität der Königinnen und damit auch Stoffwechsel und Ovar-entwicklung.

*Paarung.* Hohe Prozentsätze besamter Königinnen in einem Flugkäfig bekommt man, wenn 1. Die Königinnen ein Alter von 6 Tagen haben. Männchen zeigen ihre höchste Paarungsbereitschaft in einem Alter von 4-20 Tagen. 2. Die Männchen und Königinnen getrennt gehalten und dann gleichzeitig in das Kopularium gebracht werden. Die Bereitschaft zu kopulieren nimmt im Laufe der Zeit rasch ab. Der schnelle Rückgang der Paarungsbereitschaft liegt möglicherweise daran, dass sich die Königin an das von den Drohnen produzierte Pheromon adaptiert. Man kann die Schlussfolgerung ziehen, dass diese Duftstoffe nicht nur den Zweck haben, Königinnen anzulocken, sondern auch den, sie paarungsbereit zu machen. 3. Die Tageszeit beachtet wird. Es gibt offenbar zwei Aktivitätsperioden mit beiderseitiger Paarungsbereitschaft, nämlich eine hohe Aktivität am Morgen und eine geringere Aktivität am Nachmittag. Dazwischen gibt es kaum Aktivität. Über 80 % der Königinnen wurde inseminiert.

*Einwinterung.* Innerhalb einer Woche suchen die Königinnen ihre Überwinterungsstellen auf. Dies trifft auch für unbegattete Königinnen zu. Für eine gute und wenig arbeitsintensive Einwinterung kann man die Königinnen in Kästen mit feuchtem Torfstreu kriechen lassen und später in einem Kühlschrank bei + 5 °C setzen. Ungefähr 70 % der begatteten Königinnen gräbt sich ein.

*Auswinterung.* Zur Beendigung der Winterruhe werden die Kästen mit Torfstreu einer Temperatur von + 20 °C ausgesetzt. Innerhalb eines Tages kommen die Königinnen aus dem Torfstreu. Nachdem sie 1-2 Wochen geflogen sind, können sie in Nistkästen gebracht werden, wo sie mit der Nestgründung anfangen. Dauert die Überwinterung 4 Monate, dann kommen verhältnismässig wenig Königinnen zum Vorschein, nach 8 Monaten dagegen laufen sie schon im Kühlschrank auf der Oberfläche der Torfstreu herum. Offenbar spielt nicht nur die Temperatur eine Rolle, sondern auch gewisse physiologische Prozesse. Über 70 % der eingegrabenen Königinnen kamen lebend aus der Torfstreu heraus.

## SUMMARY

### *Analysis of some methods for rearing bumblebee colonies*

Rearing bumblebee colonies for pollination purposes including the shift of the natural colony cycle still presents various problems. For several years we have reared colonies of *Bombus terrestris* and have gradually refined certain methods. These are described here.

*Colony initiation.* We applied with success the 2-queen method, with the restriction that queens could fly. About 70 % of these boxes produced colonies with more than 10 workers. Starting with 2 queens, competition is probably an important factor, like encounters in nature when searching for nesting places. Such forms of competition may stimulate the activity of the queens and consequently their metabolic and ovarian development.

*Mating.* High percentages of mated queens in a flight cage were obtained thus : 1. The queens should be 6 days old. Males show their high willingness to mate at an age of 4-20 days. 2. Males and queens are kept apart and introduced at the same time in the copularium (flight cage). The willingness for mating decreases quickly. This decrease is possibly due to the fact that

the queen adapts to pheromones produced by the drone. Apparently the pheromones are not only of importance for attracting the queen but also for enhancing her receptivity. 3. The time of day is important. There are apparently two periods of pronounced mating activity, namely: a period with high activity in the morning, and a period with less pronounced activity in the afternoon. In between there is very little activity.

*Hibernation.* Within a week the queens start their hibernation. This is the same for non-inseminated queens. An efficient method to obtain hibernating queens is to offer at this stage boxes with peat dust in which they can burrow. The boxes are kept later at 5 °C. About 70 % of our inseminated queens went into hibernation.

*Emergence from hibernation.* For terminating hibernation the boxes are incubated at 20 °C. Within a day the queens emerge from the peat dust. After 1-2 weeks of flight they can be introduced into nesting boxes for colony initiation. A hibernation period of 4 months results in the emergence of few queens. However, when they are kept for 8 months at 5 °C, queens will walk on the surface of the peat dust inside the refrigerator. This indicates that in addition to temperature, certain physiological processes are of importance for the regulation of hibernation. More than 70 % of the hibernating queens emerge alive from the peat dust.

## RÉSUMÉ

### *Analyse de quelques méthodes d'élevage des bourdons (Bombus sp.)*

L'élevage de colonies de bourdons et le décalage du cycle naturel de la colonie pour les besoins de la pollinisation posent toujours des problèmes. Depuis plusieurs années nous élevons des colonies de *Bombus terrestris* et avons affiné progressivement certaines méthodes, que nous décrivons ci-dessous.

*Fondation de la colonie.* Nous avons utilisé avec succès la méthode à 2 reines, à condition que les reines puissent voler. Environ 70 % des boîtes ont donné des colonies comportant plus de 10 ouvrières. Dans un démarrage à 2 reines, la compétition est certainement un facteur important, de même que les rencontres dans la nature lors de la recherche d'un site de nidification. Certaines formes de compétition peuvent stimuler l'activité des reines, et par conséquent leur métabolisme et leur développement ovarien.

*Accouplement.* On a obtenu des pourcentages élevés d'accouplement de reines en cage de vol de la façon suivante : 1. Les reines doivent être âgées de 6 jours. Les mâles sont le plus disposés à s'accoupler entre 4 et 20 jours. 2. Les mâles et les reines sont maintenus séparément et introduits ensemble dans le copularium (cage de vol). La disposition à s'accoupler décroît rapidement. Cette baisse est peut-être due au fait que la reine s'adapte aux phéromones produites par le mâle. Les phéromones sont apparemment importantes non seulement pour attirer la reine, mais aussi pour améliorer sa réceptivité. 3. Le moment de la journée est important. Il semble qu'il y ait 2 périodes d'activité copulatoire prononcée : une période de forte activité le matin et une période d'activité moins prononcée l'après-midi. Entre les deux l'activité est très faible.

*Hibernation.* En l'espace d'une semaine les reines commencent leur hibernation. Il en est de même pour les femelles non fécondées. Une méthode efficace pour obtenir l'hibernation des reines consiste à leur fournir à ce stade des boîtes avec une litière de tourbe, dans laquelle elles peuvent creuser. Les boîtes sont conservées par la suite à 5 °C. 70 % de nos reines fécondées sont entrées en hibernation.

*Sortie de l'hibernation.* Pour mettre fin à l'hibernation, les boîtes sont mises à incuber à 20 °C. En l'espace d'une journée les reines émergent de leur litière de tourbe. Au bout d'une à deux semaines de vol, on peut les introduire dans les boîtes de nidification pour la fondation de la colonie. Peu de reines ont émergé d'une hibernation de 4 mois. Pourtant lorsqu'elles sont conservées 8 mois à 5 °C, les reines marchent à la surface de la litière à l'intérieur du réfrigérateur. Ceci indique qu'outre la température certains processus physiologiques sont importants pour la régulation de l'hibernation. Plus de 70 % des reines en hibernation sortent vivantes de la litière de tourbe.

### 34. FORTSCHRITTE DER CELLER UNTERSUCHUNGEN ZUR ANTIVIROTISCHEN AKTIVITÄT VON PROPOLIS

Bernd KÖNIG und Jost H. DUSTMANN

*Niedersächsisches Landesinstitut für Bienenforschung, Wehlstr. 4 a, D-3100 Celle*

In unserem ersten Bericht über das Celler Projekt « Propolis und Viren » auf der Tagung vor zwei Jahren in Hohenheim standen Fragen der Standardisierung und Analytik im Vordergrund, wozu zu ergänzen wäre, dass die HPLC sich inzwischen als die am besten geeignete Methode erwies, jedoch auch nur die Identifizierung weniger Hauptkomponenten erlaubt, ohne dass der Aufwand zu gross und die Analytik zur Hauptsache wird.

Das jedoch war ja bei unserem Vorhaben die Untersuchung der antivirotschen Effekte, wozu wir ein zweistufiges Testverfahren anwandten : In der ersten Stufe wurden Hemmtests in kleinen Petrischalen durchgeführt, die in der zweiten Stufe in Mikrotiterplatten quantitativ ausgewertet wurden. Zur Virusvermehrung dienten Hühnerembryofibroblasten (CEF) in BME-Medium. Dabei ergaben sich innerhalb des Konzentrationsbereiches von 10 bis 200 µg Propolis pro ml Medium (in der ersten Teststufe) bei allen Proben (Herkunft : Europa, U.S.A., Hawaii) deutliche Hemmeffekte, nämlich Virustiterreduktionen um bis zu vier Zehnerpotenzen pro 0,05 ml Testsuspension (aus Stufe I) gegen das Uhu-Herpesvirus KS 631/80. Allerdings folgten darauf auch in allen Fällen ausser einem (Kreta-Propolis) noch innerhalb der genannten Konzentrationsspanne cytotoxische Effekte. Das war jedoch nicht der Fall mit Reinstoffen aus den Gruppen der Flavonoide und der Zimtsäurederivate, die entweder von uns selbst oder von anderen Autoren in der Propolis nachgewiesen worden waren und daher mit in das Testprogramm einbezogen wurden. Dabei erwiesen sich u.a. Ferulasäure, Chrysin, Galangin, Apigenin, Kämpferid und Kämpferol als antivirotsch inaktiv, während Kaffeesäure, Luteolin und Quercetin deutliche antivirotsche Aktivität bewiesen. Die beiden Flavonoide Luteolin und Quercetin besitzen dabei eine Molekülstruktur, die auch den Hauptteil des Kaffeesäuremoleküls in sich trägt. Weitere Tests bestätigten dann, dass verschiedenartige Naturstoffe verschiedener Verbindungsklassen (nicht nur aus der Propolis), die den Kaffeeoylrest als Molekülbestandteil enthalten, gleichermassen antivirotsche Aktivität besitzen, und das gegen Herpesviren von Vögeln der verschiedensten Ordnungen. Zusammen mit einer achtzehn Jahre alten, dann aber nicht mehr weiterverfolgten Beobachtung der Aktivität von Kaffeesäure selbst gegen ein menschliches Herpesvirus (HERRMANN und KUCERA, 1967) spricht das dafür, dass mit den « Caffeeoylen » — wie diese Naturstoffgruppe vielleicht genannt werden sollte — eine ganze Familie von Chemotherapeutika gegen Herpesviren generell aufgefunden wurde. Da es gerade gegen Herpesviruskrankheiten heute zumeist noch keinerlei Therapie gibt, ist diese Entdeckung von weitreichender Bedeutung.

Die hier mitgeteilten Forschungsergebnisse wurden durch die Gastfreundschaft der Kollegen der Geflügelklinik der Tierärztl. Hochschule Hannover ermöglicht und sind Bestandteil der Dissertation von B.K. zum Dr. rer. nat. an der Universität Hannover, die sich z. Zt. in Vorbereitung befindet.

## SUMMARY

### *Antiviral activity of propolis.*

#### *Recent progress of the studies at the Institute of Apicultural Research at Celle*

Beside some analytical work on propolis composition, we were also predominantly interested in evaluating its antiviral properties and therefore developed a biphasic test method: In the first phase, virus inactivation tests were carried out in small petri dishes with chicken embryo fibroblast (CEF) cultures, which were quantitatively assayed in microwell-plate assays in the second phase. Within the concentration range of 10 to 200 µg propolis per ml cell culture medium (BME, concentration refers to first test phase) we observed with all our propolis samples (from Europe, USA, Hawaii) indisputable inactivation effects upon the owl herpes virus KS 631/80, up to a virus titer reduction of about  $10^4$  per 0.05 ml (= microwell volume) test suspension of phase 1.

However, immediately above these antiviral concentrations (and well below the 200 µg/ml) we also observed in all samples except one (propolis from Crete, Greece) cytotoxic activity. From our results and the reports in literature, such cytoxic effects were not observed when testing pure flavonoids and cinnamic acid derivatives. Whereas pure compounds, e.g. ferulic acid, chrysin, galangin, apigenin, kaempferide and kaempferol showed no antiviral activity, caffeic acid, luteolin and quercetin all did. Common to these three compounds is the caffeoylic molecular moiety of caffeic acid. Further tests showed that many natural compounds of otherwise very different structure possess obvious antiviral properties provided they contain this caffeoylic molecular moiety. This has been proven with some herpes viruses from hosts of different orders of birds. Further some 18 years ago HERMANN and KUCERA reported on antiviral activity of caffeic acid against a human herpes strain.

This former finding together with our recent results indicate that the compounds of the caffeoylic family are very promising chemotherapeutics against a wide variety of viruses at least of the herpes group. The significance of these results is evident, since currently no effective therapy exists for most of the diseases caused by herpes viruses.

## RÉSUMÉ

### *Activité antivirale de la propolis.*

#### *Résultats récents obtenus à l'Institut de recherche apicole de Celle*

Outre un travail analytique sur la composition de la propolis, nous nous sommes surtout intéressés à l'évaluation des propriétés antivirales et avons donc développé un test en 2 parties : dans la première phase les tests d'inhibition du virus ont été faits sur boîtes de Pétri avec des cultures de fibroblastes d'embryons de poulets (FEP) puis, dans une deuxième phase, été analysés quantitativement dans un plateau de micropuits. Dans les limites de 10 à 200 µg de propolis/ml de milieu de culture (dans la première phase de tests), nous avons observé, avec tous nos échantillons de propolis (d'Europe, USA, Hawaii), une nette inhibition du virus de l'herpès de hibou KS 631/80, jusqu'à une réduction du titre du virus d'environ  $10^4$  pour 0,05 ml (volume du micropuits) de la suspension testée en phase 1.

Pourtant, juste au-dessus de ces concentrations antivirales (et bien en-dessous des 200 µg/ml), nous avons aussi observé, dans tous les échantillons sauf un (propolis de Crète), une activité cytotoxique. D'après nos résultats et la littérature, on n'observe pas de tels effets cytotoxiques

lorsque l'on teste des flavonoïdes purs et des dérivés de l'acide cinnamique. Les composés purs (acide férulique, chrysin, galangine, apigénine, kaempféride et kaempférol) ne présentent pas d'activité antivirale, contrairement à l'acide caféique, la lutéoline et la quercétine, qui tous trois en présentent. La fraction caféoylique de l'acide caféique est présente chez ces trois composés. D'autres tests ont montré que de nombreux composés naturels de structure totalement différente possèdent des propriétés antivirales marquées, à condition qu'ils contiennent cette fraction caféoylique. Cela a été prouvé avec certains virus d'herpès provenant de divers ordres d'oiseaux. Il y a 18 ans HERMANN et KUCERA ont eux aussi rapporté l'activité antivirale de l'acide caféique contre une souche d'herpès humain.

Ce résultat et les nôtres indiquent que les composés de la famille caféoylique sont très prometteurs pour la chimiothérapie d'une grande variété de virus, au moins ceux du groupe de l'herpès. L'importance de ces résultats est évidente, puisqu'à l'heure actuelle aucun traitement efficace n'existe pour la plupart des maladies causées par les virus de l'herpès.

### **36. ANALYSE EMBRYONALER GESTALTUNGSBEWEGUNGEN BEI DER HONIGBIENE MIT HILFE DES RASTERELEKTRONENMIKROSKOPS**

Richard FLEIG

*Biologisches Institut I (Zool.), Albertstr. 21 a, D-7800 Freiburg*

Die Embryonalentwicklung der Biene wird fast bis zum Schlüpfen in hohem Maße von Gestaltbewegungen geprägt. Die Gastrulation ist dabei eine der entscheidendsten. Etwa 33 Stunden nach der Eiablage entstehen am Ende des Blastodermstadiums im vorderen Bereich der Embryonalanlage ventral zwei Rinnen, die sich parallel verlaufend rasch bis fast zum Hinterpol verlängern. Sie grenzen das ventrale Mesoderm gegen die lateralen Ektodermteile ab; vor und später auch hinter dem Mesoderm entwickelt sich das Entoderm. Anschließend lösen sich die Keimblätter an diesen Rinnen voneinander und die beiden Ektodermhälften beginnen sich von beiden Seiten über Mesoderm und Entoderm auszudehnen, bis sie sich median treffen und miteinander verwachsen. Dieser Prozeß beginnt wie die Rinnenbildung im vorderen Bereich und pflanzt sich bis um den Hinterpol fort. Dabei wird bereits die Segmentierung in Mesoderm und Ektoderm sichtbar.

Gleichzeitig entsteht dorsal ein nicht segmental gegliedertes flaches Epithel. Dieses beginnt sich ca. 40 Stunden nach der Eiablage zunächst um den Vorderpol herum und dann auf beiden Seiten nach hinten fortschreitend vom Keimstreif zu lösen. Gleichzeitig beginnen seine inneren Zellen sich auszudehnen, und der entstandene Rand gerät um den Vorderpol herum nach ventral und immer weiter über den Keimstreif. Im Randbereich sind dabei kugelige Lobopodien zu beobachten. Nach Fertigstellung hüllt diese Serosa den Embryo bis zum Beginn des Schlüpfens rundum ein.

Unter der so entstehenden Serosa beginnen sich indessen die randlichen Zellen des Keimstreifs abzufachen und nach dorsal über das Dottersyncytium auszubreiten. Am Ausbreitungsrand sind dabei zeitweise lange Filopodien festzustellen. Diese Zellen bilden dorsal das Amnion als vorläufigen Rückenschluß.

Gleichzeitig entsteht auch der Mitteldarm. Die Zellen der vorderen und hinteren Mitteldarmanlage beginnen über die Oberfläche des Dottersyncytiums zu kriechen. Sie bilden dabei zahlreiche Pseudopodien aus und halten nicht immer engen Kontakt zueinander. Erst am Ende der Ausbreitungsphase entsteht das lückenlose Mitteldarmepithel.

Bei diesen Gestaltungsbewegungen lösen sich bis dahin zusammenhängende Teile und sie dehnen sich dann solange aus, bis die entstandenen Ränder sich treffen und die entsprechenden Epithelien in sich geschlossen sind. Dabei scheint aber der entstandene Rand entweder durch die Ausdehnung der Zellen im Innern des betreffenden Epithels vorwärts geschoben (Serosa), oder durch randliche Filopodien vorwärts gezogen (Amnion), oder alle Zellen der betreffenden Organanlage bewegen sich einzeln voran (Entoderm).

Diese Arbeit wurde von der DFG unterstützt (Sa 84/11-1).

#### SUMMARY

##### *SEM analysis of morphogenetic movements during embryogenesis of the honey bee*

The embryonic development of the honey bee is characterized by various morphogenetic movements until shortly before hatching. Among these, gastrulation is one of the most important. About 33 h after egg deposition at the end of the blastoderm stage, two furrows appear at the ventral side of the anterior part of the embryo. They lengthen quickly towards the posterior pole and define the ventrally situated mesoderm from the lateral ectoderm. To the front and rear of the mesoderm, endoderm parts can be found. Along these furrows the germ layers separate and both ectoderm parts start expanding over mesoderm and endoderm until they fuse medially. This process again starts in the anterior region and runs towards the posterior pole and even around it. Thereby segment furrows appear in both mesoderm and ectoderm.

Simultaneously a non-segmental flat epithelium develops dorsally. About 40 h after egg deposition it starts separating from the germ band, first around the anterior pole and then successively towards the posterior pole. The inner cells of this epithelium start flattening and its margin moves over the anterior pole towards the ventral side and over the germ band. The leading cells protrude from the globular lobopodia. At the end of this expansion this serosa envelops the embryo until the hatching process starts. Underneath the developing serosa the marginal cells of the germ band start flattening and expanding over the dorsal surface of the yolk syncytium. In front of the expanding margins numerous long filopodia can be seen. These cells form the amnion as a transient dorsal closure.

At the same time the mid-gut is forming, the cells of the anterior and posterior mid-gut start moving over the surface of the yolk syncytium. Thereby they form numerous pseudopodia and keep loose contact with each other. It is only after populating the whole yolk surface that they show the aspect of a tight epithelium.

In all these cases pieces of a previously continuous epithelium separate from each other and then each expands until the margins fuse and a separate continuum is established again. Probably

the epithelium is either pushed forward by the expansion of most of its cells (serosa), or filopodia pull it forward (amnion), or all cells move individually (endoderm).

#### RÉSUMÉ

*Analyse en microscopie électronique à balayage des mouvements morphogénétiques au cours de l'embryogenèse chez l'abeille*

Le développement embryonnaire de l'abeille se caractérise par divers mouvements morphogénétiques presque jusqu'à l'éclosion. Parmi ceux-ci la gastrulation est l'un des plus importants. Environ 33 h après la ponte à la fin du stade blastoderme, deux sillons apparaissent sur la face ventrale de la partie antérieure de l'embryon. Ils s'allongent rapidement vers le pôle antérieur et séparent le mésoderme, situé ventralement, de l'ectoderme, situé latéralement. On trouve des portions d'endoderme à l'avant et à l'arrière du mésoderme. Le long de ces sillons les couches germinales se séparent et les deux parties de l'ectoderme commencent à s'étendre par dessus le mésoderme et l'endoderme, jusqu'à ce qu'elles fusionnent au milieu. Ce processus débute dans la région antérieure et se poursuit jusqu'au pôle postérieur et autour de celui-ci. La segmentation est ainsi visible à la fois dans le mésoderme et l'ectoderme.

Simultanément un épithélium plat non segmentaire se développe dorsalement. Environ 40 h après la ponte il commence à se séparer de la bande germinale, d'abord autour du pôle antérieur, puis en direction du pôle postérieur. Simultanément les cellules internes commencent à s'étendre et la bordure se déplace ventralement en englobant le pôle antérieur et aussi la bande germinale. En bordure on peut observer des lobopodes globulaires. A la fin de cette expansion, cette séreuse enveloppe l'embryon jusqu'au début de l'éclosion. Sous la séreuse qui se développe les cellules marginales de la bande germinale commencent à s'aplatir et à s'étendre à la surface dorsale du syncytium vitellin. Sur la bordure d'extension on peut voir de longs filipodes en quantité. Ces cellules constituent l'amnios, fermeture dorsale provisoire.

En même temps se forme l'intestion moyen; les cellules de l'intestion moyen antérieur et postérieur commencent à se déplacer à la surface du syncytium vitellin. De ce fait elles forment de nombreux pseudopodes et ne restent pas en contact étroit les unes avec les autres. Ce n'est qu'après avoir peuplé toute la surface du vitellus qu'elles présentent l'aspect d'un épithélium continu.

Dans tous les cas des portions de l'épithélium, auparavant continu, se séparent les unes des autres et chacune d'entre elles s'étend jusqu'à ce que les bords fusionnent et que les épithéliums correspondants ne fassent plus qu'un. L'épithélium est probablement soit poussé en avant par l'expansion de la plupart de ses cellules (séreuses), soit tiré en avant par les filipodes (amnios), à moins que toutes les cellules se déplacent.

### 37. DURCHTRENUNG DES BAUCHMARKS VOR DEM LETZTEN ABDOMINAL-GANGLION BEI UNBEGATTETEN KÖNIGINNEN (*APIS MELLIFERA* L.)

Gudrun KOENIGER

*Institut für Bienenkunde an der Universität Frankfurt (Polytechnische Gesellschaft)  
Karl-von-Frisch Weg 2, D-6370 Oberursel*

Das Bauchmark von unbegatteten Königinnen wurde durch einen Schnitt im vorletzten Sternit freigelegt und durchtrennt (FYG, 1943). Die Auswirkung der

Trennung des Ganglions vom ZNS wurde im Hinblick auf die Füllung der Spermatheka mit Spermien und die Ovarentwicklung untersucht.

#### A. Füllung der Spermatheka nach künstlicher Besamung

Eine Gruppe von 5 ♀♀ wurde in Käfigen mit 50 ♂♂ gehalten, eine 2. Gruppe in Begattungskästchen. Einen Tag nach der Durchtrennung des Bauchmarks wurden sie mit 4  $\mu$ l bzw. 8  $\mu$ l besamt und später die Spermien in der Spermatheka gezählt (Tab. 1).

Tab. 1. — Füllung der Spermatheka nach Durchtrennung des Bauchmarks  
 TABL. 1. — Filling of spermatheca after disconnection of the cranial nerve cord

n ♀♀	Injizierte Spermamenge Volume of injected sperm	Abstand zw. Insem. u. Zählung Range between insem. and count.	Anzahl Sperm. in Spermatheka No of spermat. in spermatheca
5	4 $\mu$ l	1 - 2 Tg (days)	1,7 Mill.
5	8 $\mu$ l	6 Tg (days)	2,5 Mill.

Die Anzahl der Spermien liegt nur geringfügig unter den Vergleichswerten von normalen ♀♀ nach Insemination (RUTTNER, 1976). Der Transport der Spermien aus den Ovidukten in die Spermatheka wird offenbar autonom vom letzten Ganglion gesteuert. (Die aktive Wanderung der Spermien spielt nur eine untergeordnete Rolle (RUTTNER und KOENIGER, 1971)).

#### B. Ovarentwicklung

Alle ♀♀ wurden in Begattungskästen gehalten. Im Alter zwischen 1-8 Tagen wurde das Bauchmark durchtrennt. Danach wurden sie unterschiedlich behandelt, wie aus Tabelle 2 hervorgeht. Ovargewichte von über 20 mg zeigen an, daß der Reifungsprozess begonnen hat (KOENIGER, 1976).

Die Versuchsköniginnen, die nach mehr als 15 min. Flug zurückkehrten, hatten weder ein Begattungszeichen noch Spermien in der Spermatheka.

Von 37 ♀♀ mit durchtrenntem Bauchmark hatten 34 stark gefüllte Kotblasen, dagegen nur 2 Königinnen von der Kontrollen A und B.

Auf Grund dieser Ergebnisse kann zusammengefaßt werden :

1. Durch die Abtrennung des Abdominalganglions vom ZNS wird die Füllung der Spermatheka nur geringfügig beeinflusst. 2. Die Ovarentwicklung wird nicht

verhindert, sofern ausreichende Reize für den Beginn der Eilage gegeben werden.  
3. Die Entleerung der Kotblase benötigt intakte Konnektivverbindungen.

ТАБЛ. 2. — Оварgewicht (frisch)  
TABL. 2. — Fresh weight of ovaries

Art der Behandlung (Treatment)	Alter d. ♀♀ bei Messung (Age of ♀♀)	n♀♀ mit Ovargew. (n ♀♀ with ovaries) > 20 mg / < 20 mg	⊖ Ovargew. (⊖ ovaries) > 20 mg / < 20 mg
2x CO <sub>2</sub> + Insem. « Hochz. flug » (« Mating flight »)	14 Tg (days)	5 / 0	26 mg / —
Kein Flug (No flight)	21 Tg (days)	5 / 5	28 mg / 13 mg
	21 Tg (days)	5 / 17	33 mg / 11 mg
Kontr. (Control) A	21 Tg (days)	2 / 9	27 mg / 12 mg
Kontr. (Control) B	21 Tg (days)	4 / 0	29 mg / —
Kontr. (Control) C	21 Tg (days)	0 / 23	— / 12 mg

Kontrolle A : 1 Konnektiv durchtrennt/kein Flug/keine Insemination.  
(Control A : 1 connective cut/no flight/no insemination.)

Kontrolle B : 1 Konnektiv durchtrennt/Flug + Begattung.  
(Control B : 1 connective cut/flight + mating.)

Kontrolle C : unbehandelte ♀♀/kein Flug.  
(Control C : normal ♀♀/no flight.)

## SUMMARY

### *Disconnection of the cranial nerve cord of the last abdominal ganglion in virgin queens (Apis mellifera L.)*

The nerve cord was cut using a method described by FyG (1943). The effect of the isolation of the last ganglion from the central nervous system was tested on the filling of the spermatheca with spermatozoa and on ovary development.

#### *A. Filling of the spermatheca after artificial insemination*

A group of 5 ♀♀ was kept in cages with 50 ♂♂ and another group in nucleus colonies. One day after cutting the nerve cord, the ♀♀ were inseminated with 4 µl and 8 µl of semen respectively and later the spermatozoa in the spermatheca were counted (Table 1).

The number of the spermatozoa were slightly less than in normally inseminated queens (RUTTNER, 1976). The filling of the spermatheca seems to be regulated by the abdominal ganglion. According to RUTTNER and KOENIGER (1971), this process is mainly dependent on the activity of the queen.

#### *B. Maturing of the ovaries*

All ♀♀ were kept in nucleus colonies. At the age of 1-8 days the nerve cord was cut. Afterwards they were kept under different conditions as shown in Table 2. Fresh weight of ovaries over 20 mg indicates the start of ovary maturation (KOENIGER, 1976).

All test queens returning after flights longer than 15 min had neither mating signs nor sperm

in the spermatheca (Mating Flight, Table 2). Thirty-four out of 37 queens with severed nerve cords showed highly filled recta, whereas only 2 queens from controls A and B had highly filled recta.

According to these results it can be summarized: 1. The isolation of the last abdominal ganglion from the central nervous system has only a slight influence on the filling of the spermatheca. 2. The maturation of ovaries is not prevented as long as there are sufficient releasers for the induction of oviposition. 3. For defecation the intact connectives are necessary.

## RÉSUMÉ

### *Disconnection de la chaîne nerveuse crânienne au niveau du dernier ganglion abdominal chez les reines vierges (Apis mellifera L.)*

La chaîne nerveuse a été sectionnée selon la méthode décrite par FYG (1943). On a étudié l'action du dernier ganglion isolé du système nerveux central sur le remplissage de la spermatheque par les spermatozoïdes et sur le développement ovarien.

#### *A. Remplissage de la spermathèque après insémination artificielle*

On a maintenu un groupe de 5 reines en cages avec 50 ouvrières et un autre groupe dans des nuclei. Un jour après avoir sectionné la chaîne nerveuse, on a inséminé les reines avec 4  $\mu$ l et 8  $\mu$ l de sperme respectivement, puis plus tard dénombré les spermatozoïdes présents dans la spermathèque (Tabl. 1).

Le nombre de spermatozoïdes a été légèrement inférieur à celui des reines inséminées normalement (RUTTNER, 1976). Le remplissage de la spermathèque semble être réglé par le ganglion abdominal. Selon RUTTNER et KOENIGER (1971), ce processus dépend en grande partie de l'activité de la reine.

#### *B. Développement ovarien*

On a maintenu toutes les reines dans des nuclei et sectionné la chaîne nerveuse lorsqu'elles avaient de 1 à 8 jours. Elles ont subi ensuite divers traitements (Tabl. 1). Un poids frais des ovaires supérieur à 20 mg indique le début du processus de maturation (KOENIGER, 1976).

Toutes les reines testées ayant effectué un vol de plus de 15 min n'ont présenté ni signe d'accouplement, ni sperme dans la spermathèque (cf. « mating flight », Tabl. 2). Trente-quatre reines sur 37 ayant une chaîne nerveuse rompue avaient un rectum bien rempli, contre 2 reines seulement chez les témoins A et B.

On peut résumer ces résultats ainsi : 1) L'isolement du dernier ganglion abdominal du système nerveux central n'a qu'une faible influence sur le remplissage de la spermathèque. 2) La maturation des ovaires n'est pas inhibée tant qu'il y a suffisamment de stimuli pour induire la ponte. 3) Des connexions nerveuses intactes sont nécessaires à la défécation.

## 38. WAS IST DIE KÖNIGINNENSUBSTANZ DER HONIGBIENE ?

H.H.W. VELTHUIS

*Institut f. vergleichende Physiologie, Jan van Galenstr. 40, Utrecht, Nederland*

Manchmal wird die Königinnensubstanz der Honigbiene diskutiert als sei sie identisch mit der 9-Oxo-decensäure (9-OD) aus der Mandibeldrüse der Königin. Jetzt sind aber etwa 20 Verbindungen aus der Mandibeldrüse bekannt. Daneben

gibt es die Tergittaschendrüsen und die Tarsaldrüsen, womit die Königin ihren spezifischen und weitgehenden Einfluss auf das Bienenvolk ausübt. Obwohl die 9-OD die einzige Komponente des Mandibeldrüsensekrets ist, die, isoliert von den andern, zu Reaktionen führt, ist diese Substanz bei weitem nicht so effektiv wie ein Extrakt der Königin. Offenbar wird ihre Wirksamkeit von andere Komponente sehr erhöht.

Wenn aber mehrere Substanzen zusammenwirken, haben sie unterschiedliche physikalische Eigenschaften, u.a. Verdunstungsraten, und wenn eine Königin ihre Sekretion unregelmässig abgibt, muss sich ihre Geruch wohl ändern.

Ein Extrakt von vielen legenden Königinnen wurde toten Arbeitsbienen aufgetropft. Solche Arbeitsbienen wurden auf ihre Attraktivität getestet, entweder in kleinen Käfigen mit 50 frischgeschlüpfte Arbeiterinnen, oder in Völkchen auf 4-6 Waben. Im erste Typ von Experiment wurde eine langfristige Wirksamkeit gefunden ; nach 14 Tage Kontakt mit Bienen hat die tote Arbeitsbiene immer noch 30 % ihrer ursprüngliche Wirksamkeit behalten, wenn das Objekt einem neuen Käfig zugesetzt wurde. Im 2. Typ von Experiment konnte gezeigt werden, dass der Extrakt auch gekennzeichnet ist durch eine rasche Abnahme der anfänglichen hohen Wirksamkeit. Auch an der Luft verliert eine imprägnierte Biene rasch einen Teil ihrer Wirksamkeit.

Diese schnelle und die langsame Abnahme wurden gedeutet als Effekte von zwei verschiedenen Substanzen mit unterschiedlichen physikalischen Eigenschaften.

Es wurde vorgeschlagen, die Bezeichnung « Königinnensubstanz » nur für den ganzen Komplex der chemischen Beeinflussung von Arbeiterinnen durch die Königin zu verwenden und bestimmte, chemisch bekannte Stoffe nur mit ihrer chemischen Bezeichnung zu benennen.

#### SUMMARY

##### *What is the honey bee's queen substance ?*

Often the queen substance of the honey bee has been treated as if it is synonymous with the 9-oxo-decenoic acid (9-OD), produced in the queen's mandibular glands. However, at present about 20 distinct substances from the mandibular gland are known. In addition, the queen uses both her tergal and her tarsal glands to exert her specific and profound influence on the colony.

Although the 9-OD constitutes the only component of the mandibular secretion that, on its own, evokes responses in worker bees, it does produce only limited effects if compared to an extract of queens. Probably, this considerably increased effectiveness of the extract is due to other components. However, if different substances act together, they may differ in their physical properties such as evaporation rates, and if queens produce their secretion irregularly, their odour should fluctuate accordingly.

Dead worker bees were impregnated with parts of an extract of many laying queens. The attractiveness of these worker bees was tested by two types of experiment, either in small cages containing 50 young workers, emerged in a incubator, or in small colonies occupying 4-6 frames.

In the first type of experiment the long-term attractiveness was recorded during 2 weeks. After 2 weeks, 30 % of the original effectiveness still remained if the objects were tested in a new cage. In the second type of experiment, a rather quick reduction in the initial high attractiveness of the object could be shown. The impregnated bee also loses a considerable part of its attractiveness if in contact with air.

These rapid and slow reductions of the attractiveness are interpreted as related to two substances having different physical properties.

It is recommended that the term queen substance be used only for the complex mixture produced by the queen and influencing the workers. Single substances should be indicated by their chemical names.

## RÉSUMÉ

### *Qu'est-ce que la substance royale ?*

On a souvent considéré la substance royale comme synonyme de l'acide céto-9 décène-2 oïque, sécrété par les glandes mandibulaires des reines. On connaît pourtant à l'heure actuelle 20 substances produites par ces glandes. De plus, les reines utilisent également leurs glandes tergaies et tarsales pour exercer leur profonde influence spécifique sur la colonie.

Bien que l'acide céto-9 décène-2 oïque constitue l'unique composé de la sécrétion mandibulaire qui déclenche à lui seul des réactions chez l'ouvrière, il est loin d'être aussi efficace que l'extrait de reines. L'efficacité considérablement accrue de cet extrait est probablement dû à d'autres composés. Néanmoins si diverses substances agissent conjointement, elles peuvent différer dans leurs caractéristiques chimiques, telles que le taux d'évaporation, et si les reines les sécrètent irrégulièrement, leur odeur doit varier de même.

On a imprégné des ouvrières mortes d'un extrait de nombreuses reines pondueuses. L'attractivité de ces ouvrières a été étudiée selon 2 types d'expériences, soit dans des cagettes contenant 50 jeunes ouvrières écloses en étuve, soit dans des petites colonies sur 4 à 6 cadres. Dans le premier type d'expériences on a enregistré l'attraction à long terme durant 2 semaines. Au bout de 2 semaines les ouvrières mortes conservaient encore 30 % de leur efficacité si l'objet était testé dans une cage neuve. Dans le second type d'expérience on a pu montrer que l'extrait se caractérisait aussi par une baisse rapide de son attractivité initialement élevée. L'abeille imprégnée perd aussi une partie importante de son attractivité au contact de l'air. On explique ces baisses rapide et lente de l'attractivité en les reliant à deux substances ayant des propriétés physiques différentes.

Il est recommandé de n'utiliser le terme de substance royale que pour désigner le mélange complexe sécrété par la reine et qui agit sur les ouvrières. Les substances individuelles doivent être désignées par leur nom chimique.

## **39. ALTERS- UND JH-ABHÄNGIGKEIT DER VITELLOGENIN-SYNTHESE BEI IMAGINALEN DROHNEN**

Anne ZILLIKENS

*Institut f. Biologie III (Zoologie), Lehrstuhl Entwicklungsphysiologie der Universität,  
Auf den Morgenstelle 28, D-7400 Tübingen*

Die Synthese der Dotterprotein-Vorstufe Vitellogenin wurde durch radioaktive Markierung *in vivo* bestimmt. Die Messung erfolgte durch quantitative Auswertung des Schwärzungsgrades der Vitellogeninbande auf Fluorographien

von SDS-Polyacrylamidgel-Elektrophoresen der Hämolympheproteine. Die Synthese erreicht ihren höchsten Wert von 13 % am 3. Tag. Mit dem Anstieg der Flugaktivität der Drohnen sinkt die Syntheserate auf 3 % am 10. Tag ab und ist bei 16 Tage alten, geschlechtsreifen Männchen nicht mehr nachweisbar. Dies ist ein Hinweis darauf, daß der Syntheseaktivität des Fettkörpers ein altersabhängiges Entwicklungsprogramm zu Grunde liegt, wie es auch für das Verhalten imaginaler Bienen zu beobachten ist.

Durch Injektionen von 5 µg Juvenilhormon III, in Olivenöl gelöst, konnte die Gesamtprotein- oder die Vitellogenin-Synthese nicht beeinflusst werden. Die Regulation der Vitellogenin-Synthese scheint demnach von JH unabhängig zu sein.

Bei allen Drohnen wurde 6 Stunden bis 3 Tage nach der Injektion die Synthese eines neuen Hämolympheproteins nachgewiesen. Möglicherweise handelt es sich hierbei um eine Reaktion auf die Verwundung oder eine dabei erfolgte Infektion.

#### SUMMARY

##### *Age and juvenile hormone dependent vitellogenin synthesis in imaginal honey bee drones*

The synthesis of the yolk protein precursor vitellogenin was determined by *in vivo* labelling. It reached the highest value of 13 % on day 3. With increasing flight activity the rate of synthesis decreased to 3 % on day 10. In 16-day old mature drones, vitellogenin synthesis was no longer detectable. Synthesis activity of the fat body seemed to follow an age-dependent developmental program comparable to the behavioural changes during adult life.

Injections of 5 µg juvenile hormone III dissolved in olive oil did not influence the synthesis of total hemolymph proteins or vitellogenin. The regulation of vitellogenin synthesis is independent of JH III.

The synthesis of a new hemolymph protein was detected in all drones 6 h to 3 days after the injection. This may have been a reaction to injury or infection.

#### RÉSUMÉ

##### *Synthèse de la vitellogénine chez les mâles d'abeille adultes en fonction de l'âge et de l'hormone juvénile*

On a étudié la synthèse de la vitellogénine, précurseur de la protéine du vitellus, par marquage *in vivo*. Elle atteint sa valeur maximale (13 %) le 3<sup>e</sup> jour, puis décroît avec l'augmentation de l'activité de vol jusqu'à 3 % le 10<sup>e</sup> jour et n'est plus détectable chez les mâles matures âgés de 16 jours. Ceci indique que l'activité de synthèse du corps gras suit un programme de développement lié à l'âge, comme cela se produit pour le comportement des abeilles adultes.

Des injections de 5 µl d'hormone juvénile III dissoute dans de l'huile d'olive n'a pas eu d'influence sur la synthèse des protéines totales de l'hémolymphe ni de la vitellogénine. La régulation de la synthèse de la vitellogénine est indépendante de la HJ III.

On a détecté la synthèse d'une nouvelle protéine de l'hémolymphe chez tous les mâles, 6 h à 3 jours après l'injection. Il peut s'agir d'une réaction à la blessure ou à une infection.

#### 40. ENTWICKLUNG UND STEUERUNG VON FETTKÖRPER-FUNKTIONEN : HÄMOLYMPHPROTEIN-SYNTHESE BEI BIENENKÖNIGINNEN

H.H. KAATZ

*Institut f. Biologie III (Zoologie), Lehrstuhl Entwicklungsphysiologie,  
Auf der Morgenstelle 28, D-7400 Tübingen*

Wie bei allen Insekten produziert der Fettkörper der Honigbiene den überwiegenden Anteil der in der Hämolymphe vorkommenden Proteine und bestimmt so die physiologische Aktivität anderer Gewebe mit. Durch Polyacrylamid-Gelelektrophoretische Auftrennung der Hämolymp- Proteine konnte gezeigt werden, daß im Laufe der Bienenentwicklung spezifisch larvale, spezifisch imaginale und solche Hämolymp- proteine gebildet werden, die in der Larve wie in der Imago vorkommen, während für die Puppenphase charakteristische Hämolymp- Proteine nicht nachgewiesen werden konnten.

Die Syntheseraten der Hämolymp- proteine wurden anschließend durch Tracer- Injektionen in verschiedenen Entwicklungsstadien der Königinnen ermittelt. Der Verlauf der Syntheseaktivität des Fettkörpers wurde anhand der Bildung zweier bekannter Hämolymp- Proteine, Arylphorin und Vitellogenin, exemplarisch verfolgt. Das Speicherprotein Arylphorin ist ein spezifisch larvales Hämolymp- Protein. Es dient während der Metamorphose als Aminosäuren- Reserve zum Aufbau adulter Gewebe. Das Arylphorin wird bei der Königin vorwiegend vom Fettkörper der L5- Larve und der jungen bis zu 44 h alten Puppe synthetisiert und in der Hämolymphe gespeichert. Im Laufe der Puppenentwicklung nimmt seine Synthese allmählich ab, bis der Fettkörper der Königin etwa ein Tag vor der Imaginalhäutung seine Hämolymp- Proteinsynthese temporär völlig einstellt. Diese Synthese- inaktive Phase dauert etwa 16 Stunden. Wahrscheinlich wird in dieser Metamorphosephase das larvale Funktionsprogramm des Fettkörpers abgeschaltet und ein imaginale Funktionsprogramm aktiviert. Denn wenige Stunden vor der Imaginalhäutung steigt die Syntheseaktivität des Fettkörpers wieder an. Er produziert dann eine Reihe spezifisch imaginaler Hämolymp- Proteine — u.a. das für die Eireifung wichtige Dotterprotein Vitellogenin.

Der Juvenilhormon- Titer in der Hämolymphe nimmt zur gleichen Zeit zu, in der auch die Syntheseaktivität des Fettkörpers ansteigt. Die naheliegende Vermutung, daß Juvenilhormon die imaginale Fettkörper- Hämolymp- proteinsynthese induziert, wurde durch Dekapitierungs- und Allatektomie- Experimente an Königinnen- Puppen verschiedenen Alters überprüft. In keinem Experiment konnte die Bildung von Vitellogenin verhindert werden. Das bedeutet, daß das imaginale Funktionsprogramm des Fettkörpers der Honigbiene von Juvenilhormon und Faktoren des Gehirns unabhängig exprimiert wird und offenbar ein autonomer, endogen gesteuerter Prozeß ist.

## SUMMARY

*Development and regulation of fat body functions :  
Synthesis of hemolymph proteins in honey bee queens*

As in all insects, the fat body of the honey bee is the predominant site of synthesis of hemolymph proteins. As shown by electrophoretic separation, proteins found in both the larval and imaginal stages occur, in addition to proteins specific to each stage.

The course of the synthetic activity of the queen fat body was pursued by tracer incorporation into two known hemolymph proteins: arylphorin and vitellogenin. The former is a storage protein and a specific larval protein, and is synthesized in the fat body of L5-larvae and young (up to 44 h old) pupae. During pupal development synthesis declines until the fat body temporarily ceases production of the hemolymph proteins for about 16 h. During this inactive phase, the fat body is switched from the production of larval-specific hemolymph proteins to the production of imaginal-specific ones. A few hours before the imaginal moult, the rate of synthesis of the fat body increases and a number of imaginal-specific hemolymph proteins, including the yolk protein precursor vitellogenin, are produced.

Decapitation and allatectomy experiments on honey bee pupae in different stages of development did not inhibit the production of vitellogenin. In other words, the hemolymph protein production in the imaginal fat body is expressed independent of juvenile hormone and factors from the brain. It is therefore probably an autogenous, endogenously controlled process.

## RÉSUMÉ

*Développement et régulation des fonctions du corps gras :  
synthèse des protéines de l'hémolymphe chez les reines d'abeille*

Comme chez tous les insectes, le corps gras de l'abeille est le lieu privilégié de la synthèse des protéines de l'hémolymphe. Comme le montre la séparation par électrophorèse, se forment au cours du développement de l'abeille des protéines de l'hémolymphe spécifiques des larves et des imagos, qui sont présentes à la fois chez les larves et les imagos, alors qu'aucune protéine de l'hémolymphe caractéristique de la phase nymphale n'a pu être mise en évidence.

Le déroulement de l'activité de synthèse du corps gras de la reine a été suivi en incorporant un traceur à 2 protéines connues de l'hémolymphe : l'arylphorine et la vitellogénine. La première est une protéine de stockage spécifique de la larve et synthétisée dans le corps gras des larves de 5<sup>e</sup> stade et des jeunes nymphes (jusqu'à l'âge de 44 h). Au cours du développement nymphal la synthèse diminue jusqu'à ce que le corps gras cesse temporairement la production de protéines de l'hémolymphe pendant 16 h environ. Durant cette phase d'inaction, le corps gras passe de la production de protéines de l'hémolymphe spécifiques des larves à celles spécifiques de l'imago. Quelques heures avant la mue imaginale, le taux de synthèse du corps gras augmente et un certain nombre de protéines de l'hémolymphe spécifiques de l'imago sont formées, y compris la vitellogénine précurseur de la protéine du vitellus.

Des expériences de décapitation et d'allotectomie réalisées sur des nymphes d'abeilles à divers stades de développement n'ont pas inhibé la production de vitellogénine. En d'autres termes, la production de protéines de l'hémolymphe par le corps gras de l'imago se manifeste indépendamment de l'hormone juvénile et des facteurs cérébraux. C'est donc probablement un processus autogène, possédant un contrôle endogène.