

Lower performance in honeybee colonies of uniform paternity

S Fuchs, V Schade

Institut für Bienenkunde (Polytechnische Gesellschaft), Fachbereich Biologie der JW Goethe-Universität, Frankfurt a M, Karl-von-Frisch-Weg 2, 61440 Oberursel 1, Germany

Summary — During mating flights honeybee queens copulate with about 10–20 drones. A possible explanation why polyandry has evolved in honey bees is that colonies from single-mated queens are inferior to those from polyandrous queens. It was investigated whether the performance of full and small test colonies would be lower if workers were from queens artificially inseminated with semen from one drone opposed to equal amounts of mixed semen from several drones. Six colonies with queens inseminated with 1 μ l semen of a single drone, each of a different father colony, were compared with six colonies where queens had been inseminated with mixed semen of six drones from the same colonies. Colonies with single paternity showed at times lower drone brood production, lower pollen and honey storage, and fewer queen cells, while deviations in the opposite direction were small and not significant. Bee numbers and amount of sealed worker brood were not affected. Three short-time tests were performed involving a total of 75 small bee colonies kept in Kirchhainer mating boxes. Comb building, storage of honey and pollen, and brood rearing were lower in the colonies containing workers of only one patriline. The results support that a group advantage exists in performance of honeybee workers with mixed paternity, which might have promoted the evolution of polyandry in honeybee queens.

honey bees / polyandry / selection / colony performance

INTRODUCTION

A number of explanations have been proposed why polyandry of honeybee queens has evolved (reviewed by Crozier and Page, 1985; Moritz and Southwick, 1992). One argument proposes that increased genetic heterogeneity of workers might result in a group advantage in complex social systems. This view is supported by Cole's (1983) observation, that polyandrous species of social hymenoptera tend to have larger colonies. Group advantages were shown in

theoretical models which might arise from a broader distribution of reaction thresholds in the response to pathogens (Sherman *et al*, 1988) or in the performance of tasks (Robinson and Page, 1989). These models are supported by the fact, that within colonies the groups of workers fathered by different drones (patrilines) have been found to differ markedly in task performance (for review, see Robinson, 1992).

In earlier studies increased alarm reactions were found in groups composed of honey bee workers from two genetically different colonies. These were higher than

would be expected from adding the worker contribution of the two groups, indicating positive non-additive interactions (Moritz and Southwick, 1987). Interactions can also be negative, as shown in a hoarding test by Moritz and Hillesheim (1989). Recently, Oldroyd *et al* (1992) investigated performance in colonies containing workers of one or up to three patrines. Testing brood area and weight gain they found positive and negative interactions between patrines with no superiority of colonies with two patrines, but an apparent trend towards increased performance with a mix of three patrines.

As the effect of higher numbers of patrines is still not clear, we investigated whether full colonies or small bee colonies containing workers of only one patriline would show poorer group performance than those containing workers of 3–6 patrines.

MATERIALS AND METHODS

A m carnica queens used within experiments were highly related (supersisters) originating from a mother which had been inseminated with sperm of a single drone (except test 2b: daughters of a naturally mated queen). Drones were of colonies from several unrelated breeder lines. Queens were artificially inseminated with semen from a single drone (termed 'single', S) or with the same total amount of homogenized sperm from several drones (termed 'mixed', M). Always one drone from each drone colony used in single inseminations contributed sperm in mixed inseminations, except in test 3, where 250 drones contributed. Tests performed with workers produced by these queens are summarized in table 1.

Colonies

Six queens were inseminated each with 1 μ l sperm of a single drone and six control queens each with 1 μ l mixed sperm from six drones, one of each line. Queens were introduced into artificial swarms (2 kg) in August, and spring development was recorded the following year from April

to the end of June. At 14-d intervals each comb was inspected from both sides. Comb areas covered by bees, sealed worker and drone brood, stored pollen and stored honey were estimated to the nearest 1/10 of comb area. Numbers of swarm cells were recorded and destroyed at each inspection. Estimates were rescaled into numbers or weight using control measures (1/10 of a 20 x 40 cm comb side: 312 worker bees, 320 worker brood cells, 240 drone brood cells, 144 g honey, 42 g pollen).

Small test colonies

Three short-time tests were carried out using small groups (about 800–1600 workers) kept in mating boxes (Kirchhainer mating boxes, 2750 cm³). Each box contained a maximum of four combs attached to 17.5 x 2 x 0.7 cm top bars, and a surplus of candy.

Test 1

Each colony consisted of 100 g worker bees taken from the colonies used in full colony tests. Bees taken at the same time of one S and one M colony formed a test pair. Within 18 pairs, each colony was represented three times. Mated queens were added.

The boxes were stored in a dark room at 14°C for 3 d and were then placed outside, with the test pairs in adjacent positions at the same locations. Area and weight of combs was recorded at the 6th d. In the first 11 pairs (test 1a, one was removed due to queen loss) the production of wax, storage of pollen and honey, and numbers of sealed brood cells was recorded after 26 d. In the following six pairs (test 1b) the queen was caged at the 7th d and combs were removed. Pieces of brood combs (6 x 7 cm) with 150 eggs were introduced for testing brood rearing. Numbers of larvae and sealed brood cells were registered after 9 d.

Test 2

Two series of sister queens were inseminated with 0.5 μ l semen of one or with 0.5 μ l mixed semen of five or three drones, respectively. After 6 weeks, when these queens had produced workers, all combs were removed, and worker weight

was equalized to 104 g in test 2a and to 164 g in test 2b. In test 2a, four top bars were introduced for building and honey storing, and were removed after 6 d. Produced wax and stored honey was determined by weighing before and after honey extraction. Then a 6 x 7 cm comb piece containing 200–250 eggs was introduced, and raised larvae and sealed brood cells were counted after 7 d. In test 2b, two top bars and a comb piece with 200–250 eggs were introduced. Newly build combs were removed after 4 d and sealed brood cells were counted after 12 d.

Test 3

11 queens were inseminated with 1 μ l semen of one drone and 10 with 1 μ l mixed semen of 250 drones from each of three drone colonies. Five weeks after start of oviposition, queens were caged and all combs were replaced by new top bars. After 15 d, the constructed combs were removed. Wax production and honey storage was measured (test 3a). In a second test (3b) with the same bees, the colonies were equalized to 80 g worker bees and queens were released. Two top bars were introduced. After 12 d, all combs were removed and comb size, wax production, number of cells with larvae and sealed brood, amount of pollen and of stored honey was determined.

For statistical comparison non-parametrical tests were used (Sign-test, Wilcoxon rank-sum test for independent and for paired observations, SAS/STAT 6.03). Probabilities of alpha error are one-tailed.

RESULTS

Colonies

Means and standard errors of colony parameters for the 6 S and 6 M colonies are shown in table II for the six control periods. In 22 out of 30 comparisons between non-zero values, the S group showed lower values than the M group. This was more pronounced during the second half of the recorded time. Differences were often substantial (> 10% in 15 cases out of 22, maximum 59%), and were significant in at least one of the control periods in drone cells, queen cells and in pollen and honey storage ($P < 0.05$). Higher values of the S colonies occurred less frequently. They were mostly small (> 10% in two of eight cases, maximum 25%) and in no case significant.

Averages over the whole period of measurement were lower for all parameters in the S group. Differences were only slight (<10%) in worker and worker cell numbers, but substantial in pollen and honey (> 10%). They were largest for drone cells and queen cells (>30%), but none was statistically significant.

Considering the small sample size these results indicate a disadvantage of colonies from single-mated queens. This is expressed mainly in production of drone and queen cells and in storage of pollen and honey, while colony size as such, measured by numbers of bees and worker brood cells, was at no time markedly lower.

Considering the small sample size these results indicate a disadvantage of colonies from single-mated queens. This is expressed mainly in production of drone and queen cells and in storage of pollen and honey, while colony size as such, measured by numbers of bees and worker brood cells, was at no time markedly lower.

Small colonies

The results of tests with small colonies are summarized in table III showing means and standard deviations for the S and M groups, and statistical significances. For the first 6 d, treatment was equal in test 1a and test 1b and results were combined. Comb area after 6 d was 7% lower in the S group than in the M group ($P < 0.05$). Comb weight was 29% lower ($P < 0.005$). All parameters measured after 26 d in test 1a (pollen brood cells, honey and produced wax) were more than 8% lower in the S group. In test 1b, brood rearing had been tested with introduced combs. Numbers of brood cells were 19% lower in the S group, but none of these differences were significant.

In test 2a, wax weight of the combs produced during 6 d, honey stored in these combs, and numbers of raised larvae and

sealed brood cells on introduced test combs during the following 7 d was more than 18% lower in the S group compared to the M group. In test 2b, wax weight and stored honey after 4 d and numbers of sealed brood after 12 d were more than 24% lower. None of these differences was statistically significant, even if test 2a and b were combined.

In test 3a, the average of wax weight of the constructed combs, of stored honey and of pollen were 11%, 18% and 26%, respectively, lower in the S groups than in the M groups (all ns). In test 3b, comb area was 15% ($P < 0.05$) and wax weight 17% (ns) lower in the S groups. Stored honey was 52% ($P < 0.05$), stored pollen 69% ($P < 0.005$) and numbers of brood cells 50% ($P < 0.01$) lower.

The results of tests with small colonies thus consistently showed lower performance in the S groups compared to the M groups. Each of these tests was limited in sample size, but some differences were significant even within tests. For a combined evaluation, position of the S colonies was noted with regard to the medians of pairs in test 1 or the respective group medians in test 2 and 3, and were subjected to one-tailed sign tests. The S colonies were above or below the median: area of combs (test 1a, b and test 3b): 21 and 7, $P < 0.01$; weight of produced wax (test 1a, test 2a, b and test 3a, b): 30 and 13, $P < 0.01$; stored honey (test 1a, test 2a, b and test 3a, b): 27 and 16, $P < 0.05$; honey stored during the first 4–6 d (test 1a, b and test 2a, b): 20 and 7, $P < 0.02$ (comb weight is taken as measure of stored honey in test 1); stored pollen (test 1a and test 3a, b): 23 and 10, $P < 0.02$; brood cells (test 1a, b, test 2a, b and test 3b): 27 and 11, $P < 0.01$.

Evaluating all tests with small colonies together, all the measured parameters (comb area, comb weight, wax weight, stored honey, stored pollen and nursed brood cells) were significantly lower in the S group. In test 3b, results are likely to be

exaggerated by some degree of robbing, with the S group more prone to getting robbed. Omitting these results, lower performance of the S group was still significant for comb area, wax weight and number of brood cells ($P < 0.05$).

DISCUSSION

Small colonies with workers fathered by one drone thus showed lower performance than those with mixed paternity. Lower performance of full colonies with workers of only one opposed to six patriline was at times significant, indicating a similar difference. Although the causes are not known, these results are consistent with the hypothesis of lowered task performance in the S group. Explanations based on inbreeding and the production of diploid drones do not apply to the short-time tests with small colonies, but are also unlikely in the full colony tests where unrelated drones of different breeder lines had been used as fathers.

The results confirm the former findings of non-additive interactions between genetically different workers (Moritz and Southwick, 1987; Moritz and Hillesheim, 1989) in bioassays. In addition, they showed a distinct trend to increased performance. This is in line with the results of Oldroyd *et al* (1992), who found higher brood areas if three patriline were combined than would be expected from the single patriline colonies. However, they also found lower than expected performance in some combinations of two patrilines. Possibly negative effects on cooperativeness between patrilines may offset advantages on task performance if less than three patrilines are involved. The ability to discriminate between workers of the same and of other patrilines found in experiments with two patrilines seems to disappear if higher numbers of patrilines are involved (Hogendoorn and Velthuis, 1988; Moritz and Heisler, 1992).

Drones used in these experiments were of unrelated breeder lines from different areas. This might have increased the effects over those in natural matings, where drones originate from a restricted local area with some degree of relatedness. This aspect has to be further investigated, as higher colony performance with increased intra-colonial worker variability might constitute an important aspect in breeding programs.

The results support that multiple mating of honeybee queens gives a colony advantage over single-mating, which would ultimately lead to higher reproduction. It is interesting to note that lower performance of the single-patriline colonies was most marked in the production of sexuals, *ie* of drones and queen cells. A lower production of queen cells in colonies containing workers of only one patriline has already been pointed out by Woyciechowski (1990) to be the case in experiments on kin recognition.

Higher reproductive output of colonies with increased genetic worker diversity might be a major driving force for the evolution of polyandry. Strong colony-selection arguments are in accordance with the observation that polyandry is not only realized by the mating behavior of queens, but also by adaptations in the drones which promote additional matings by successor drones (Koeniger, 1990; Koeniger and Koeniger, 1990).

ACKNOWLEDGMENTS

We dedicate this work to Prof F Ruttner at his 80th birthday, who in his pioneering investigations in the mating biology of honey bees repeatedly pointed out the importance of polyandry to the functioning of bee colonies. We want to thank M Kühnert, who performed the insemination and assisted in the experiments, and G and N Koeniger for comments on an early draft of this paper.

Deutsche Version

Verringerte Leistungsfähigkeit von Bienenvölkern mit einfachgepaarten Königinnen

Zusammenfassung — Während des Paarungsfluges kopuliert die Bienenkönigin mit etwa 10–20 Drohnen. Die evolutiven Vorteile für die Mehrfachpaarung der Bienenköniginnen könnten unter anderem darin bestehen, daß Völker mit Arbeiterinnen von vielfach gepaarten Königinnen leistungsfähiger sind als solche, in denen die Arbeiterinnen von einem einzigen Vaterdrohn abstammen. Zur Untersuchung dieser Frage haben wir Königinnen entweder mit dem Sperma von nur einem Drohn oder mit der gleichen Menge von gemischtem Sperma mehrerer Drohnen künstlich besamt. Es wurde dann untersucht, ob die Leistung von Vollvölkern und von kleinen Testvölkern verringert ist, wenn die Arbeiterinnen einer einzigen Vaterlinie angehören. Die Königinnen von 6 Vollvölkern wurden mit jeweils 1 μ l Sperma von einzelnen Drohnen aus 6 verschiedenen Vatervölkern, 6 weitere Völker mit 1 μ l gemischtem Sperma von 6 Drohnen aus den gleichen Vatervölkern besamt. Im Vergleich waren bei Völkern mit einem Vaterdrohn die Produktion von Drohnenbrut und Weiselzellen sowie der Eintrag an Honig und Pollen an mindestens einem der 6 Kontrollzeitpunkte signifikant vermindert, während Abweichungen in umgekehrter Richtung gering und nicht signifikant waren. Bienenanzahlen und verdeckelte Brut waren dagegen nicht deutlich unterschiedlich. In 3 kurzzeitigen Tests wurden insgesamt 75 kleine Völker in Kichhainer Begattungskästen untersucht. Wabenbau, eingetragener Honig und Pollen, sowie die aufgezogene Arbeiterinnenbrut waren geringer, wenn die Völker Arbeiterinnen nur einer Vaterlinie statt solche aus mindestens drei Vaterlinien enthielten. Die Ergebnisse weisen darauf hin, daß Bienenvölker leistungsfähiger sind, wenn die Arbeiterinnen von verschiedenen Vätern abstammen. Dieser Vorteil könnte einen wesentlichen Grund für die Entwicklung der Mehrfachpaarung bei den Honigbienen darstellen.

EINLEITUNG

Für die Evolution der Polyandrie der Bienenköniginnen werden eine Anzahl verschiedener Ursachen diskutiert (Zusammenfassungen in Crozier und Page, 1985; Moritz und Southwick, 1992). Eine dieser Ursachen könnte sein, daß die hierdurch hervorgerufene höhere genetische Vielfalt der Arbeiterinnen für komplexe soziale Systeme vorteilhaft ist. Diese Sicht wird durch die Beobachtung von Cole (1983) unterstützt, daß polyandrische Arten der sozialen Hymenopteren tendenziell größere Kolonien bilden. Gruppenvorteile auf Grund breiter verteilter Verhaltensschwellen für die Reaktion auf Krankheiten (Sherman *et al*, 1988) oder für die Durchführung von anderen Arbeiten (Robinson und Page, 1989) konnten in theoretischen Modellen aufgezeigt werden. Diese Modelle werden durch die Tatsache unterstützt, daß die vom gleichen Vater abstammenden Gruppen von Arbeiterinnen (Vaterlinien) sich deutlich in ihrer Beteiligung an den verschiedenen Aufgaben im Bienenvolk unterscheiden (zusammengefasst in Robinson, 1992).

Frühere Untersuchungen hatten gezeigt, daß kleine, aus Arbeiterinnen von zwei genetisch unterschiedlichen Bienenvölkern zusammengesetzte Biengruppen höhere Alarmreaktionen zeigten, als durch Addition der Reaktionen von Arbeiterinnen allein aus den Ausgangsvölkern zu erwarten gewesen wäre (Moritz und Southwick, 1987). Dies deutet auf nicht-additive positive Interaktionen zwischen den Arbeiterinnen hin. Solche Interaktionen können allerdings auch negativ sein, wie Moritz und Hillesheim (1989) in einem Futtereintragstest feststellen konnten. In einer neueren Arbeit untersuchten Oldroyd *et al* (1992) die Volksentwicklung von Bienenvölkern mit Arbeiterinnen aus bis zu 3 Vaterlinien. Sie fanden für Brutflächen und Gewichtszunahme teils positive, teils negative Interaktionen zwischen den Vaterlinien. Während

Völker mit zwei Vaterlinien generell keine höheren Werte zeigten als nach der Leistung der Völker mit einer Vaterlinie zu erwarten wäre, zeigte sich ein Trend zu einer verbesserten Leistung bei Völkern mit drei Vaterlinien.

Da der Einfluss mehrerer Vaterlinien ungenügend geklärt ist, untersuchten wir, ob Vollvölker und kleine Testvölker mit Arbeiterinnen von nur einer Vaterlinie schlechtere Leistungen zeigen als solche mit Arbeiterinnen mehrerer Vaterlinien.

MATERIAL UND METHODEN

Die in den einzelnen Tests benutzten Königinnen stammten von jeweils einer Königin ab, die mit dem Sperma nur eines Drohns besamt worden war. Sie waren daher hoch verwandt (Superschwestern, ausser in Test 2b: Nachkommen einer natürlich verpaarten Königin). Die zur Besamung verwendeten Drohnen entstammten Vatervölkern aus unverwandten Zuchtlinien. Die Königinnen wurden mit dem Sperma einzelner Drohnen ('einzeln', S) oder der gleichen Menge homogenisiertem Sperma mehrerer Drohnen ('gemischt', M) künstlich besamt. Für die M Besamungen wurde das Sperma jeweils eines Drohns aus den für die E besamten Königinnen verwendeten Vatervölker gemischt, außer in Test 3, in dem aus jedem Vatervolk 250 Drohnen zum gemischten Sperma beitrugen. Die mit den von diesen Königinnen erzeugten Arbeiterinnen durchgeführten Tests sind in Tabelle I zusammengestellt.

Vollvölker

Sechs Königinnen wurden mit jeweils 1 µl Sperma einzelner Drohnen von sechs verschiedenen Zuchtlinien, weitere sechs Kontrollköniginnen mit jeweils 1 µl gemischtem Sperma von sechs Drohnen der gleichen Vatervölker künstlich besamt. Die Königinnen wurden im August in Kunstschwärme (2 kg) eingeweiselt und im folgenden Jahr von April bis Ende Juni die Frühjahrsentwicklung aufgezeichnet. Im Abstand von 14 Tagen wurde auf beiden Seiten jeder Wabe in Einheiten von 1/10 die Flächen geschätzt, die von verdeckelter Arbeiterinnen- und Drohnen-

brut, von Pollen und Honig und von Bienenarbeiterinnen bedeckt waren. Die Anzahlen von Schwarmzellen wurden erfasst, diese wurden bei jeder Kontrolle entfernt. Die Schätzungen wurden anhand von Kontrollmessungen in Anzahlen oder Gewicht umgerechnet (1/10 einer Waben-seite von 20 x 40 cm²: 312 Arbeiterinnen, 320 Arbeiterinnenbrutzellen, 240 Drohnenbrutzellen, 144 g Honig, 42 g Pollen).

Kleine Völker

Drei Testserien wurden mit in Kirchhainer Begattungskästen (2750 cm³) gehaltenen kleinen Testvölkern (zwischen 800 und 1600 Arbeiterinnen) durchgeführt. Die Kästen enthielten maximal 4 an Wabenträgern (17.4 x 5 x 0.7 cm) hängende Waben und Futterteig im Überschuss.

Test 1

Jedes Volk enthielt 100 g Arbeiterinnen aus den zuvor untersuchten Vollvölkern. Jeweils zwei zur gleichen Zeit aus einem S und einem M Volk gefüllte Begattungskästen bildeten ein Versuchspaar. Innerhalb von 18 Versuchspaaaren war jedes Volk 3mal vertreten. Den Völkern wurden begattete Königinnen zugefügt.

Die Begattungskästen wurden zunächst drei Tage bei 14°C in einem dunklen Raum, dann mit den Testpaaren in jeweils benachbarter Position im Freien aufgestellt. Bei den ersten 11 Paaren (eines der 12 entfiel wegen Königinnenverlustes) wurde die Wachsmenge, der eingelagerte Honig und Pollen und die Anzahl von verdeckelten Brutzellen nach 26 Tagen bestimmt. In den übrigen 6 Paaren wurde die Königin 7 Tage nach Füllung gekäfigt und die Waben entfernt. Danach wurden Stücke von Brutwaben mit 150 Eiern eingehängt. Die Anzahlen von Larven und verdeckelten Brutzellen wurden nach 9 Tagen registriert.

Test 2

Zwei Serien von Geschwisterköniginnen wurden mit 0.5 µl Sperma eines oder mit 0.5 µl gemischtem Sperma von 5 beziehungsweise 3 Drohnen besamt. Wenn diese Königinnen nach 6 Wochen eigene Arbeiterinnen erzeugt hatten, wurden alle Waben entfernt und das Gewicht der Arbeiterinnen auf einheitlich 104 g in Test 2a und 164 g in

Test 2b eingestellt. In Test 2a wurden 4 Wabenträger für Wabenbau und Honigeintrag eingesetzt und nach 6 Tagen ausgewertet. Die Wachsproduktion wurde durch Wägung vor und nach Ausschleudern des Honigs bestimmt. Danach wurde ein Brutwabenstück (6 x 7 cm) mit 200–250 Eiern eingesetzt und nach 7 Tagen aufgezogene Larven und verdeckelte Brutzellen bestimmt. In Test 2b wurden 2 Wabenträger und ein Brutwabenstück wie oben eingesetzt. Die neu gebauten Waben wurden nach 4 Tagen entnommen, die verdeckelten Brutzellen nach 12 Tagen ausgezählt.

Test 3

11 Königinnen wurden mit jeweils 1 µl Sperma von einem Drohn aus drei Drohnenvölkern, 10 weitere mit 1 µl gemischtem Sperma von jeweils 250 Drohnen aus den gleichen Völkern besamt. Die Königinnen wurden 5 Wochen nach Beginn der Eilage gekäfigt und alle Waben durch Wabenträger ersetzt. Nach 15 Tagen wurden die neuen Waben entnommen und die Wachsmenge und Honigmenge bestimmt (Test 3a). In einem zweiten Test (3b) mit den gleichen Arbeiterinnen wurden die Völker auf 80 g Bienen angeglichen, 2 Wabenträger eingesetzt und die Königinnen freigelassen. Nach 12 Tagen wurden alle Waben entnommen und die Wabengröße, die erzeugte Wachsmenge, die Anzahlen von Larven und verdeckelten Brutzellen sowie Honig- und Pollenmenge bestimmt.

Statistische Vergleiche wurden mit verteilungsfreien Tests durchgeführt (Zeichentest, Wilcoxon Rangsummen-Test für unabhängige und für gepaarte Beobachtungen, SAS/Stat 6.03). Die angegebenen Irrtumswahrscheinlichkeiten sind einseitig.

ERGEBNISSE

Vollvölker

Tabelle II gibt Mittelwerte und Standardabweichungen für die 6 S- und 6 M-Völker an den 6 Untersuchungszeitpunkten an. In 22 der 30 Vergleiche lagen die Mittelwerte der S-Gruppe unterhalb der M-Gruppe (nur Wertepaare > 0). Dies war während der zweiten Hälfte der Untersuchungszeit deutlicher.

Die Unterschiede waren zum Teil beträchtlich ($> 10\%$ in 15 von 22 Fällen, Maximum 59%), und waren für Drohnzellen, Weiselzellen, Pollen- und Honigmenge an mindestens einem der Untersuchungszeitpunkte statistisch sicherbar ($P < 0.05$). Höhere Werte der S-Völker waren seltener, zumeist geringer ($> 10\%$ in 2 von 8 Fällen, Maximum 25%) und zu keiner Zeit statistisch sicherbar. Die Mittelwerte über die Gesamtzeit lagen ebenfalls für alle gemessenen Parameter in der S-Gruppe unter der M-Gruppe. Dies war nur geringfügig ($< 10\%$) bei Arbeiterinnenanzahl und Arbeiterinnenbrutzellen, aber deutlich bei Pollen und Honig ($> 10\%$). Am deutlichsten war dies bei der Anzahl von Drohnzellen und Weiselzellen ($> 30\%$), allerdings war keiner dieser Unterschiede statistisch sicherbar.

Unter Berücksichtigung des geringen Testumfanges weisen diese Ergebnisse auf einen Nachteil von Völkern mit von einem Drohn besamten Königinnen hin, der sich insbesondere in der Produktion von Drohnen und Weiselzellen sowie dem Eintrag von Pollen und Honig auswirkt, während die Volksstärke, gemessen in Bienen- und Bienenbrutmenge, zu keinem Zeitpunkt deutlich geringer war.

Kleine Völker

Mittelwerte und Standardabweichung der Tests mit kleinen Völkern sind in Tabelle III für die S- und M-Gruppen zusammengestellt. Der Testverlauf in Test 1a und 1b war in den ersten 6 Tagen gleich, die Ergebnisse wurden daher zusammengefasst. Die Wabenfläche nach 6 Tagen war in der S-Gruppe im Vergleich zur M-Gruppe um 7% ($P < 0.05$), das Wabengewicht um 29% niedriger ($P < 0.005$). Alle in Test 1a nach 26 Tagen gemessenen Parameter (Pollen, Honig, Brutzellen, Wachs) waren in der S-Gruppe um mehr als 8% niedriger. In Test 1b war die Anzahl gepflegter Arbeiterin-

nenbrut auf eingestellten Brutstücken in der S-Gruppe 19% niedriger, allerdings war keiner dieser Unterschiede statistisch sicherbar.

In Test 2a war die in 6 Tagen produzierte Wachsmenge, der eingelagerte Honig in diesen Waben, sowie die Anzahl gepflegter Larven und verdeckelter Brutzellen in eingestellten Brutstücken während der folgenden 7 Tage in der S-Gruppe um mehr als 18% geringer. In Test 2b war das Wachstum und der eingelagerte Honig nach 4 Tagen sowie die Anzahl verdeckelter Brutzellen nach 12 Tagen in der S-Gruppe mehr als 24% geringer. Keiner dieser Unterschiede war statistisch sicherbar, auch wenn Test a und b zusammengefasst wurden.

In Test 3a waren Wachsmenge der erzeugten Waben, eingelagerter Honig und Pollen im Mittel bei der S-Gruppe um 11%, 18% bzw 26% geringer (nicht sicherbar). In Test 3b war die Wabenfläche um 15% ($P < 0.005$), das Wachstum um 17% (ns), der eingelagerte Honig um 52% ($P < 0.05$), Pollen um 69% ($P < 0.005$) und die Anzahl von Brutzellen um 50% ($P < 0.01$) geringer.

Tests mit Kleinvölkern zeigten damit in der S-Gruppe eine durchgehend geringere Leistung als in der M-Gruppe. Obwohl die Stichprobengröße innerhalb der einzelnen Tests zum Teil gering war, waren einige Unterschiede auch innerhalb dieser statistisch sicherbar. Für eine zusammenfassende Bewertung wurde die Leistung der S-Völker in Beziehung zum Median der Paare in Test 1 oder den jeweiligen Gruppenmedienen in Test 2 und 3 gesetzt und mit dem einseitigen Vorzeichentest untersucht. Die Parameter waren in den der S-Gruppe unterhalb bzw oberhalb der Medianwerte: Brutfläche (Test 1a, b und Test 3b): 21 und 7, $P < 0.01$; Wachstum (Test 1a, Test 2a, b und Test 3a, b): 30 und 13, $P < 0.01$; eingelagerter Honig (Test 1a, Test 2a, b und Test 3a, b): 27 und 16, $P < 0.05$; innerhalb der ersten 6 Tage eingelagerter Honig (Test 1a, b und Test 2a, b): 20 und 7,

$P < 0.02$ (in Test 1 wurde das Wabengewicht als Messung des eingelagerten Honigs verwendet); eingelagerter Pollen (Test 1a und Test 3a, b): 23 und 10, $P < 0.02$; Brutzellen (Test 1a, b, Test 2a, b und Test 3b): 27 und 11, $P < 0.01$.

Bei zusammenfassender Bewertung der Tests mit Kleinvölkchen waren alle gemessenen Parameter (Wabenfläche, Wabengewicht, Wachsgewicht, eingelagerter Honig und Pollen und aufgezogene Arbeiterinnenbrut) in der S-Gruppe gegenüber der M-Gruppe signifikant erniedrigt. In Test 3b sind die Ergebnisse zum Teil durch Räuberei verstärkt, mit einer offensichtlich höheren Empfindlichkeit der S-Gruppe. Auch ohne diese Resultate ist eine geringere Leistung der S-Gruppe bei Wabenfläche, Wachsgewicht und Anzahl aufzogener Brut statistisch sicherbar ($P < 0.05$).

DISKUSSION

Die untersuchten Kleinvölker, in denen die Arbeiterinnen von einem Vaterdrohn abstammten, zeigten im Vergleich zu solchen mit gemischter Vaterschaft verringerte Leistungen. In den Vollvölkern mit Arbeiterinnen einer Vaterlinie war ein Teil der Leistungsparameter zumindest an manchen Untersuchungszeiten signifikant geringer als in solchen mit Arbeiterinnen aus sechs Vaterlinien, was auf ähnliche Unterschiede hinweist. Obwohl über die Ursachen dieser Unterschiede nichts ausgesagt werden kann, sind sie mit der Vorstellung einer verschlechterten Arbeitsausführung vereinbar. Eine Erklärung auf Grund von Inzucht und damit verbundener Erzeugung diploider Drohnen ist auf die Kleinvölker nicht anwendbar. Sie ist auch für die Vollvölker wenig wahrscheinlich, da unverwandte Drohnen verschiedener Zuchtlinien als Väter eingesetzt wurden.

Die Untersuchungen bestätigen frühere Befunde über nicht-additive Interaktionen

zwischen genetisch verschiedenen Arbeiterinnen (Moritz und Southwick, 1987; Moritz und Hillesheim, 1989) in Biotests. Zusätzlich zeigten sie aber auch einen deutlichen Trend zu einer verbesserten Leistung. Dies trifft sich mit dem Befund von Oldroyd *et al* (1992), die größere Brutbereiche bei Kombination von drei Patrilinien fanden, als dies von den Völkern mit einer Vaterlinie zu erwarten gewesen wäre. Diese fanden allerdings auch verringerte Leistungen in einigen Kombinationen von zwei Vaterlinien. Es wäre vorstellbar, daß ungünstige Kooperationsbereitschaft zwischen Arbeiterinnen unterschiedlicher Vaterlinien eventuellen Vorteilen bei der Ausführung von Arbeiten entgegenwirkt, sobald weniger als drei Vaterlinien beteiligt sind. Die in Experimenten zur Verwandtschaftserkennung mit zwei Vaterlinien belegte Unterscheidungsfähigkeit von Arbeiterinnen verliert sich offensichtlich, wenn größere Anzahlen von Vaterlinien beteiligt sind (Hogendoorn und Velthuis, 1988; Moritz und Heisler, 1992).

Die in den Versuchen verwendeten Drohnen entstammten unverwandten Zuchtlinien aus verschiedenen Gegenden. Dies könnte deutlichere Effekte ergeben haben, als bei natürlichen Paarungen auftreten, bei denen die Drohnen einer Gegend entstammen und genetisch ähnlicher sind. Dieser Aspekt verdient weitere Beachtung in zukünftigen Untersuchungen, da eine günstigere Volksleistung bei höherer genetischer Variabilität der Arbeiterinnen in den Völkern einen wichtigen Aspekt für Zuchtprogramme darstellen könnte.

Die Resultate legen nahe, daß die Mehrfachpaarung der Bienenköniginnen einen Volksvorteil gegenüber einer Einfachverpaarung bewirkt. Dieser sollte sich letztlich in eine höhere Reproduktion umsetzen. In diesem Zusammenhang ist es interessant, daß die niedrigere Leistung der Völker mit einer Vaterlinie in der Produktion von Geschlechtstieren, von Drohnen und Königinnen, am deutlichsten war. Woyciecho-

wski (1990) hatte bereits darauf hingewiesen, daß in Experimenten über Verwandtenerkennung die Produktion von Königinnenzellen in Völkern mit nur einer Vaterlinie geringer war.

Die Ergebnisse unterstützen die Ansicht, daß ein erhöhter reproduktiver Erfolg von Völkern mit grösserer genetischer Unterschiedlichkeit der Arbeiterinnen eine der treibenden Kräfte für die Evolution der Polyandrie der Bienenköniginnen darstellt. Deutliche Vorteile auf der Ebene der Völker stimmen mit der Beobachtung überein, daß Polyandrie nicht nur durch das Paarungsverhalten der Königinnen selbst realisiert wird, sondern ebenfalls durch spezielle Anpassungen der Drohnen, die eine Paarung der Königin mit nachfolgenden Drohnen begünstigen (Koeniger, 1990; Koeniger und Koeniger, 1990).

DANKSAGUNG

Diese Arbeit ist Prof F Ruttner zum 80 Geburtstag gewidmet, der in seinen grundlegenden Arbeiten zur Paarungsbiologie der Honigbienen immer wieder auf die Bedeutung der Mehrfachpaarung für die Bienenvölker hingewiesen hat. Wir möchten Frau M Kühnert danken, die die Besamungen durchgeführt und bei den Versuchen geholfen hat, sowie G und N Koeniger für Verbesserungsvorschläge zu einer früheren Version des Manuskripts.

Résumé — Moindre performance des colonies d'abeilles (*Apis mellifera* L) avec des ouvrières de paternité uniforme. Au cours du vol nuptial la reine s'accouple avec environ 10 à 20 mâles. Un certain nombre d'explications ont été proposées quant à la raison pour laquelle la polyandrie s'est développée chez l'abeille. L'une d'elles est que la performance des colonies dont la reine ne s'est accouplée qu'une seule fois pourrait être inférieure aux colonies à reine polyandre. L'avantage des colonies renfermant

plusieurs lignées paternelles pourrait provenir d'une plus grande variabilité des ouvrières conduisant à une répartition des tâches plus efficace (Sherman et Seeley, 1988 ; Robinson et Page, 1988). L'effet de la variabilité des ouvrières sur la performance de la colonie a été étudiée sur des colonies complètes et de petites colonies expérimentales constituées d'ouvrières d'une seule ou de plusieurs lignées paternelles. Dans les tests sur les colonies complètes, 6 colonies R possédaient chacune une reine inséminée avec 1 µl de sperme d'un seul mâle. Les mâles provenaient de 6 colonies M différentes, chacune représentant une lignée non apparentée aux autres. Les 6 colonies R ont été comparées avec 6 autres, dont les reines avaient été inséminées avec 1 µl du mélange des spermés de 6 mâles issus respectivement des 6 colonies R. On a mesuré d'avril à fin juin, à intervalles de 14 j, la surface de rayon occupée par les abeilles, par le couvain operculé d'ouvrières et par celui de mâles, par les réserves de pollen et de miel, ainsi que le nombre de cellules royales. Les colonies à paternité unique ont fait des scores inférieurs pour la plupart des mesures (22 sur 30 étaient inférieurs, 8 supérieurs, tableau II). La production de couvain de mâles et de cellules royales et les réserves de miel et de pollen, mais pas le nombre d'abeilles ni le couvain operculé d'ouvrières, étaient significativement plus faibles pendant au moins une période d'observation. Trois tests de courte durée (maximum 26 j) ont été faits sur de petites colonies (800 à 1 600 ouvrières) maintenues dans des cages de fécondation de Kirchhain. Le premier test a utilisé des ouvrières provenant des colonies complètes ci-dessus. Dans le 2^e et le 3^e test les reines ont été inséminées avec du sperme provenant d'un ou de plusieurs mâles. Le calendrier d'insémination et les paramètres testés sont résumés dans le tableau II. Dans tous les tests les ouvrières issues d'insémination monoandre ont fait une performance moyenne moindre que

celles issues d'inséminations avec au moins 3 mâles (tableau II). À cause de la petitesse des échantillons, seules 6 de ces 21 différences étaient significatives au sein des tests. En combinant les 75 caractères, la moindre performance des colonies à une seule lignée paternelle (mono-paternelle) était significative pour la construction des rayons, le stockage du miel et du pollen et

l'élevage du couvain (test-clé). Les résultats confirment qu'il existe un avantage de groupe dans la performance des ouvrières d'abeille qui ont une paternité multiple. Ceci pourrait avoir favorisé l'évolution de la polyandrie chez l'abeille.

polyandrie / sélection / performance colonie

Table I. Tests and tested parameters. Queens were supersisters (except test 2b, daughters of a natural-mated queen) and were artificially inseminated with sperm of a single drone each from a different drone colony (S), or with the same amount of mixed sperm from several drones (M). N = number; DN = number of drones contributing to sperm; DC = number of drone colonies equally contributing to drones; V = sperm volume (μ l).

Table I. Tests und untersuchte Parameter. Die Königinnen waren Supergeschwister (ausser Test 2b, Töchter einer natürlich gepaarten Königin) und waren mit Sperma einer einzelnen Drohne aus verschiedenen Drohnenkolonien (S), oder mit einer gleichen Menge gemischtem Sperma von mehreren Drohnen aus den gleichen Völkern künstlich besamt (M). N = Anzahl; DN = Anzahl von am Sperma beteiligten Drohnen; DC = Anzahl von Drohnenkolonien, aus denen jeweils gleiche Anzahlen von Drohnen zum Sperma beitragen; V = Spermamenge (μ l).

Test	N	Insemination			Kind and duration of test
		DN	DC	V	
Full colonies:					
S	6	1	6	1	Workers, worker cells, drone cells, queen cells, pollen, honey 12.4–21.6 at 14 d intervals
M	6	6	6	1	
Small colonies:					
Test 1a *					
S	11				Comb area, comb weight (6 d); Wax, brood cells, honey and pollen (26 d)
M	11				
Test 1b *					
S	6				Comb area, comb weight (6 d) Worker brood on added brood combs (9 d)
Test 2a					
S	7	1	5	0.5	Wax, honey (6 d) Worker brood on added brood combs (7 d)
M	7	5	5	0.5	
Test 2b					
S	4	1	3	0.5	Wax, honey (4 d) Worker brood on added brood combs (12 d)
M	2	3	3	0.5	
Test 3a					
S	10	1	3	1	Wax weight, honey and pollen (15 d)
M	11	750	3	1	
Test 3b **					
S	10				Comb area, wax weight, honey, pollen, worker brood cells (15 d)
M	11				

* Workers taken from full colonies, with a new queen added. ** Same workers as in test 3a.
* Die Arbeiterinnen entstammten den Vollvölkern; ** Dieselben Arbeiterinnen wie in Test 3a.

Table II. Performance of 12 colonies composed of workers from 1 (S) or 6 (M) patrines. Means and standard deviation for the 6 S and 6 M colonies at the different observation times, and averages for the whole period.

Tabelle II. Volksentwicklung von 12 Völkern mit Arbeiterinnen einer (S) oder 6 Vaterlinien (M). Mittelwerte und Standardabweichung für die 6 S und die 6 M Völker an den 6 Beobachtungzeitpunkten und für die gesamte Beobachtungszeit.

Date	Type	Workers Means SD (N, thousands)	Worker cells Means SD (N, thousands)	Drone cells Means SD (N)	Queen cells Means SD (N)	Pollen Means SD (g)	Honey Means SD (kg)
12.4	S	28.7 ± 2.9	8.6 ± 2.2	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	—	3.9 ± 2.5
	M	28.1 ± 2.0	7.0 ± 1.9	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	—	3.9 ± 1.2
27.4	S	30.8 ± 2.0	8.1 ± 1.9	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	571.1 ± 193.0	5.6 ± 1.8
	M	31.5 ± 3.2	8.9 ± 2.7	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	697.2 ± 209.8	5.7 ± 1.1
11.5	S	37.8 ± 4.2	15.4 ± 3.4	176.0 ± 205.6**	0.0 ± 0.0	763.9 ± 365.5	7.0 ± 1.3
	M	40.6 ± 4.0	15.1 ± 2.8	241.0 ± 204.1	1.3 ± 3.0	845.5 ± 292.9	6.3 ± 0.7
24.5	S	35.6 ± 9.7	16.1 ± 2.6	146.5 ± 77.0	0.0 ± 0.0	1038.3 ± 531.9	10.0 ± 2.8*
	M	43.4 ± 4.0	19.0 ± 3.6	359.5 ± 206.0	0.0 ± 0.0	993.8 ± 310.1	13.5 ± 2.2
7.6	S	47.6 ± 7.9	18.3 ± 2.9	737.5 ± 363.1	2.5 ± 4.8*	259.6 ± 372.7	8.0 ± 2.6*
	M	47.4 ± 5.6	17.5 ± 4.2	908.0 ± 134.0	4.8 ± 4.1	252.2 ± 369.3	11.1 ± 3.0
21.6	S	42.5 ± 8.7	8.4 ± 4.5	188.0 ± 141.6	12.3 ± 3.3	867.8 ± 254.0**	15.6 ± 3.7
	M	49.0 ± 8.5	10.6 ± 2.1	338.5 ± 212.9	17.5 ± 7.7	1327.6 ± 305.5	17.5 ± 2.9
Whole period SD	S	37.2 ± 4.9	12.4 ± 2.2	208.0 ± 118.6	2.5 ± 1.3	700.0 ± 183.4	8.4 ± 1.9
	M	40.0 ± 4.1	13.0 ± 2.5	307.8 ± 82.3	3.9 ± 1.9	823.3 ± 233.1	9.7 ± 1.6

N = number, * = $P < 0.05$, ** = $P < 0.025$.

N = Anzahl, *P < 0.05, ** = P < 0.025.

Table III. Performance of small bee colonies with honey bee workers composed from one (S) or several (M) patrilines, giving means and standard deviations, N = number.

Tabelle III. Entwicklungsparameter kleiner Bienenvölker mit Arbeiterinnen einer (S) oder mehrerer (M) Vaterlinien, Mittelwerte und Standardabweichung, N = Anzahl.

Test	Type	N	Comb area (cm x cm)	Comb weight (g)	Wax weight (g)	Stored honey (g)	Stored pollen (g)	Brood cells (N)
1a+1b	S	17	174.2 ± 52.4	57.2 ± 34.4	25.90 ± 8.1	185.6 ± 128.5	5.85 ± 4.85	708.3 ± 137.3
	M	17	188.8 ± 41.4	80.6 ± 46.6	28.27 ± 7.8	202.1 ± 128.0	7.84 ± 6.9	798.9 ± 190.3
			$P < 0.05$	$P < 0.005$	NS	NS	NS	NS
1a	S	11						
	M	11						
1b	S	6						41.5 ± 22.8
	M	6						51.8 ± 8.6
								NS
2a	S	6			14.2 ± 4.9	74.7 ± 28.0		115.3 ± 61.4
	M	7			18.1 ± 8.1	91.5 ± 31.7		143.3 ± 23.1
					NS	NS		NS
2b	S	4			5.6 ± 2.2	29.5 ± 15.0		108.0 ± 31.3
	M	2			7.1 ± 2.0	38.9 ± 13.3		160.5 ± 26.5
					NS	NS		NS
3a	S	11			4.8 ± 1.2	34.7 ± 24.3	5.9 ± 4.7	
	M	10			5.4 ± 1.2	42.4 ± 12.6	8.0 ± 7.6	
					NS	NS		
3b	S	11	234.0 ± 40.3		8.2 ± 3.9	11.3 ± 16.4	1.1 ± 0.8	78.0 ± 91.8
	M	10	277.2 ± 22.9		9.9 ± 3.9	23.5 ± 19.5	3.5 ± 2.6	156.0 ± 52.5
			$P < 0.005$		NS	$P < 0.05$	$P < 0.005$	$P < 0.01$

REFERENCES

- Cole BJ (1983) Multiple mating and the evolution of social behavior in the Hymenoptera. *Behav Ecol Sociobiol* 12, 191-201
- Crozier RH, Page RE (1985) On being the right size: male contributions and multiple mating in social Hymenoptera. *Behav Ecol Sociobiol* 5, 143-150
- Hogendoorn K, Velthuis HHW (1988) Influence of multiple mating on kin recognition by worker honeybees. *Naturwissenschaften* 75, 412-413
- Koeniger G (1990) The role of the mating sign in honey bees, *Apis mellifera* L: does it hinder or promote multiple mating? *Anim Behav* 39, 444-449
- Koeniger G, Koeniger N (1990) Evolution of reproductive behavior in honey bees. In: *Social insects and the environment, Proceedings of the 11th International Congress of IUSSI* (GK Veeresch, B Mallik, CA Virakthamath, eds) Oxford & IBH Publishing Co Ltd, Bombay Delhi, 101-102
- Moritz RFA, Heisler T (1992) Super and half-sister discrimination by honey bee workers (*A mellifera* L) in a trophallactic bioassay. *Insectes Soc* 39, 365-372
- Moritz RFA, Hillesheim E (1989) Genotypic intra-group variance and hoarding behavior in honeybees (*A mellifera* L). *Apidologie* 20, 383-390
- Moritz RFA, Southwick EE (1987) Phenotype interactions in group behavior of honey bee workers (*A mellifera* L). *Behav Ecol Sociobiol* 21, 53-57
- Moritz RFA, Southwick EE (1992) *Bees as Superorganisms*. Springer, Berlin, 395 p
- Oldroyd BP, Rinderer TE, Harbo JR, Bucu SM (1992) Effects of intracolony genetic diversity on honey bee (Hymenoptera: Apidae) colony performance. *Ann Entomol Soc Am* 85 (3), 335-343
- Robinson GE (1992) Regulation of division of labour in insect societies. *Annu Rev Entomol* 37, 637-665
- Robinson GE, Page RE (1989) Genetic basis for division of labor in an insect society. In: *The genetics of social evolution* (MD Breed, RE Page, eds) Westview press, Boulder, 61-80
- Sherman PW, Seeley TD, Reeve HK (1988) Parasites, pathogens, and polyandry in social Hymenoptera. *Am Nat* 131, 602-610
- Woyciechowski M (1990) Do honey bee, *A mellifera* L, workers favour sibling eggs and larvae in queen rearing? *Anim Behav* 39, 1220-1222