Gustav-von-Schlör-Schule
Staatliche Fachoberschule und Berufsoberschule
Campusallee 2
92637 Weiden

Schuljahr 2016/17

SEMINARARBEIT

Titel:

Varroa Sensitive Hygiene

Rahmenthema:
Biochemie in Serien
Fächer: Biologie; Chemie

Verfasser:
Samuel Hirmer
Hochdorf 32
92712 Pirk

Seminarleiter:
Christoph Schröck

Abgabetermin: 16.01.2017

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung 3

2. Varroa destructor 5

2.1. Einschleppung und Verbreitung 5

2.2. Lebenszyklus und Vermehrung 5

2.3. Schadwirkung 6

3. Theoretische Grundlagen des VSH-Projekts 7

3.1. Einführung in die behandlungsfreie Bienenhaltung 7

3.2. Varroa sensitive hygiene 8

3.3. Biologische und genetische Grundlagen 9

4. Materialien und Methoden 11

4.1. Auswahl der Zuchtlinien 11

4.2. Aufzucht und Insemination der Königinnen 13

4.3. Infizierung der Testvölkchen 14

4.4. Auszählen der Varroen in der Brut 15

4.5. Auswertung der Testergebnisse 17

5. Ergebnisse der Auszählung 18

6. Diskussion 21

7. Fazit und Ausblick 23

8. Literaturverzeichnis 24

9. Abbildungsverzeichnis 29

10. Anhang 30

1. Einleitung

„Wenn die Biene einmal von der Erde verschwindet, hat der Mensch nur noch vier Jahre zu leben. Keine Bienen mehr, keine Bestäubung mehr, keine Pflanzen mehr, keine Tiere mehr, kein Mensch mehr.“

Diese Albert Einstein untergeschobene Aussage musste schon für so manche Sonntagsrede bei der ein Loblied auf den Fleiß der Honigbiene, ihre wichtige Rolle im Ökosystem und die Arbeit der Imker gesungen wurde, herhalten. Nur leider helfen derlei Worte weder den Bienen noch den Imkern mit den immer neuen Herausforderungen fertig zu werden, die sich ihnen stellen.

Eine der größten Herausforderungen liegt dabei in einem kleinen Spinnentier, einem Neozoon aus dem asiatischen Raum, dem die europäischen Vertreter der westlichen Honigbiene Apis mellifera nahezu schutzlos ausgeliefert sind. Die Rede ist von Varroa destructor, allgemein bekannt als Varroamilbe.

Als Imker mit derzeit 40 Völkern gehört es zu meinen Zielen, Bienen zu züchten, die ohne eine Behandlung gegen Varroose überleben. Durch Kontakte zu langjährigen Varroaresistenzzüchtern stehen mir bereits vorselektierte Abstammungen zur Verfügung. Deren Zuchterfolg beruht auf dem Prinzip der Überlebensstände. Dazu werden Völker, deren Abstammungen sich durch einen besonders niedrigen Varroabefallsgrad ausgezeichnet haben, über Jahre nicht behandelt. Um den Varroabefallsgrad weiterhin niedrig zu halten, müssen die Bienen die exponentielle Vermehrung der Varroa hemmen oder sogar unterbinden und somit zu einem gesunden Parasit-Wirt-Verhältnis finden. Kolonien, denen das gelingt überleben, die anderen sterben. Allerdings ist dieses Prinzip mit dem Nachteil verbunden, dass im Zuge der natürlichen Auslese hohe Verlustraten hinzunehmen sind (vgl. Koller, 2005).

Um die dazu nötige Opferbereitschaft auf ein erträgliches Maß zu senken, werden zuverlässige, quantifizierbare Zuchtkriterien benötigt. Zu diesem Zweck sollen Nachkommen der, seit zum Teil über vier Jahre ohne Behandlung gegen Varroose überlebenden, Kolonien auf das Merkmal VSH geprüft werden. Varroa Sensitive Hygiene, kurz VSH, ist eine Verhaltensweise der Honigbiene, bei der Arbeiterinnen sich vermehrende Varroaweibchen in der Brut von außen olfaktorisch erkennen und die befallene Brut ausräumen. Sie ist Teil des Repertoires, dessen sich die Honigbiene in Form der sozialen Immunabwehr bedient und eignet sich als Zuchtmerkmal, da sie einerseits überwiegend genetisch bedingt ist und sich andererseits durch einen Test relativ einfach quantifizieren lässt (vgl. Mondet, et al., 2015). Könnte den erfolgreichen Linien der Überlebensstände ein hoher VSH-Anteil attestiert werden, wäre es möglich den Rückschluss zu ziehen, dass durch die Selektion auf den Überlebensständen das VSH-Verhalten intensiviert wurde. Auch wenn andere Ursachen für die

Varroaresitenz besagter Abstammungen nicht ausgeschlossen werden können, würde bewiesen, dass das VSH-Verhalten zumindest einen Anteil an deren Varroaresistenz hat. Die Aufnahme des VSH-Verhaltens in die Reihe der Selektionskriterien würde es ermöglich, aussichtsreiche Abstammungen vorzuselektieren, bevor sie auf einem Überlebensstand der natürlichen Auslese ausgesetzt werden. Dadurch ließen sich frustrierende Rückschläge vermeiden und der materielle und finanzielle Aufwand auf ein Minimum beschränken. Nicht zuletzt stiege die Bereitschaft in der Imkerschaft, sich an einer Zucht in diese Richtung zu beteiligen und dadurch einen wichtigen Beitrag zur Diversifizierung des Genoms varroaresistenter Herkünfte zu leisten.

Diese Arbeit wurde im Rahmen des Projektes „VSH-Toleranzzucht“, des Landesverbands Buckfastimker Bayern e.V. (LVBIB) angefertigt. Dieses wird durch die Stiftung „Arista Bee Research“ unterstützt. Primäres Ziel dieses Projekts ist die Züchtung einer varroaresistenten Biene. Ziel dieser Arbeit ist es, herauszufinden, ob die erfolgreichen Abstammungen der Überlebensstände das VSH-Verhalten an den Tag legen.

In dieser Arbeit soll zunächst auf den Bienenschädling Varroa destructor eingegangen werden. Um dem Leser ausreichend Hintergrundwissen zu vermitteln werden im darauffolgenden Kapitel die theoretischen Grundlagen des VSH-Projekts detailliert zu Papier gebracht. Anschließend werden die praktischen Vorbereitungen vom Umlarven, über die Besamung der Königinnen, bis hin zum Infizieren der Testvölkchen, Schritt für Schritt erklärt. Im Anschluss daran werden das Auszählen der Milben in der Brut, die Auswertung der Ergebnisse sowie die Ergebnisse selbst dargelegt. Zum Abschluss der Arbeit wird die angewendete Methodik kritisch betrachtet und die Arbeit nochmals in Form eines Fazits zusammengefasst.

2. Varroa destructor

2.1. Einschleppung und Verbreitung

Varroa destructor ist ein Neozoon, dessen ursprüngliches Verbreitungsgebiet sich auf die koreanische Halbinsel begrenzte (vgl. Moosbeckhofer, 2014) und das dort als harmloser Parasit der östlichen Honigbiene (Apis cerana) bekannt war. Dasselbe Spinnentier konnte, dank der Kombination aus Bienentransporten und einem Wirtswechsel von Apis cerana auf Apis mellifera - die westliche Honigbiene - sein Verbreitungsgebiet auf alle von Bienen besiedelten Kontinente, mit Ausnahme Australiens, ausdehnen. In Deutschland konnte es 1977 erstmals nachgewiesen werden. Die beiden Arten der Gattung Apis waren seit Jahrtausenden durch natürliche Barrieren voneinander getrennt (vgl. Boecking, 2014). Während Apis cerana und Varroa destructor einen evolutionäre Anpassungsprozess durchlaufen haben und so zu einem stabilen Parasit-Wirt-Verhältnis gekommen sind, steht die Art Apis mellifera erst seit - in evolutionären Zeiträumen gesehen – relativ kurzem in Kontakt mit Varroa destructor. Nicht zuletzt wegen der, dem Anpassungsprozess hinderlichen, imkerlichen Eingriffen konnte sie sich nicht an den Parasiten anpassen und keine wirkungsvollen Abwehrmechanismen entwickeln (vgl. Seeley, 2006). Zwar wäre dank der Mehrfachpaarung und der damit verbundenen hohen genetischen Diversität und Flexibilität eine schnelle Anpassung zu erwarten (vgl. Mikheyev, et al., 2015), allerdings wird durch die Behandlung gegen die Varroose auch jenen Kolonien das Überleben und die Weiterverbreitung ihrer Gene ermöglicht, die unter natürlichen Umständen nicht überlebensfähig wären und somit aus dem Genpool verschwänden.

2.2. Lebenszyklus und Vermehrung

Wenn von der Varroamilbe gesprochen wird, ist in der Regel das ausgewachsene Milbenweibchen gemeint. Dessen Lebenszyklus lässt sich in zwei Phasen unterteilen. Zunächst durchläuft es die phoretische Phase, während der es sich auf den adulten Arbeiterinnen oder Drohnen befindet und auch zwischen einzelnen Individuen wechselt (vgl. Ellis, et al., 2010). Es benutzt seinen Wirt dabei auf zweierlei Weise. Zum einen als Transportmittel und zum anderen als Nahrungsquelle. Um dabei dem hochentwickelten Hygieneverhalten der Bienen zu entgehen, kriecht die Milbe unter deren Abdominalsegmente (vgl. Rosenkranz, et al., 2010). Zwischen den einzelnen Abdominalsegmenten befindet sich zudem ein verletzliches Gewebe, das die Milbe durchdringen kann und somit an die Körperflüssigkeit der Biene - die Hämolymphe – gelangt. Diese dient der Milbe als Nahrung (vgl. Ellis, et al., 2010).In der zweiten Phase, der reproduktiven Phase, findet, wie der Name schon sagt, die Vermehrung statt. Die reproduktive Phase wird zur besseren Visualisierung in Abbildung 1; S.31 in Form einer Grafik dargestellt. Das Milbenweibchen begibt sich dabei in eine kurz vor der Verdeckelung befindliche Brutzelle. Während die Bienenpuppe die Metamorphose durchläuft, kann

die Milbe, vor den Arbeiterinnen durch einen Zelldeckel geschützt, an der wehrlosen Puppe Hämolymphe saugen und sich vermehren. Sie befindet sich dabei meist auf der Bauchseite, genauer gesagt auf dem fünften Abdominalsegment der Puppe, dort kotet sie, legt ihre Eier und saugt Hämolymphe. Die Milbe leitet die Reproduktionsphase durch das Legen eines unbefruchteten Eis ein, aus dem sich ein Männchen entwickelt. Alle weiteren Eier sind befruchtet und entwickeln sich über das Stadium der Protonymphe und der Deutonymphe zum ausgewachsenen Milbenweibchen. Diese müssen noch in der Zelle von dem Männchen begattet werden, um sich später selbst erfolgreich fortpflanzen zu können (vgl. Ellis, et al., 2010). Nach dem Schlupf der fertigen Biene stirbt das Männchen sowie die unreifen Milbenweibchen (vgl. Moore, et al., 2014). Der adulte, weibliche Milbennachwuchs und die Muttermilbe verlassen alsdann die Zelle und treten in die phoretische Phase ein.

Parallel dazu treten allerdings auch nicht reproduktive Milbenweibchen während der Reproduktionsphase auf. Deren natürlicher Anteil liegt bei fünf bis 20%. Dabei kann es sich um eine von Wirtsfaktoren ausgelöste temporäre Infertilität (Sterilität), oder um Komplikationen bei der Begattung des Milbenweibchens handeln. Diese können von einem frühzeitigen Tod des Männchens oder von Zeitmangel herrühren. Die Milbe kann somit keine diploiden, weiblichen Eier legen (vgl. Bessei, et al., 2014) (vgl. Martin, et al., 1997).

Eine weibliche Milbe kann unter Laborbedingungen maximal sieben Reproduktionszyklen durchlaufen, in der Regel sind es allerdings fünf oder sechs (vgl. Ruijter, 1987). Unter Feldbedingungen ist von zwei bis drei Zyklen auszugehen (vgl. Rosenkranz, et al., 2010). Pro Zyklus entstehen im Durchschnitt 1,3 fertile Töchter in Arbeiterinnen- und 2,6 in Drohnenbrut, allerdings mit sehr großer Varianz (vgl. Schulz, 1984).

2.3. Schadwirkung

Die Schädigung der Bienen durch das Parasitieren der Varroamilbe lässt sich in zwei Arten einteilen. Zum einen, die direkte Schädigung durch den Entzug von Hämolymphe, dabei werden die Puppe sowie die adulte Biene geschwächt, beziehungsweise ihre Lebenserwartung stark eingeschränkt (vgl. Ellis, et al., 2010) und die Puppe in ihrer Entwicklung gestört (vgl. De Jong, et al., 1981). Zum anderen die indirekte Schädigung durch Sekundärinfektionen. Um an die Hämolymphe zu gelangen beißt, wie oben bereits beschrieben, die Milbe ein Loch in den noch nicht ausgebildeten Panzer der Puppe, beziehungsweise in das Gewebe zwischen den Abdominalsegmenten der adulten Biene. Nicht nur heilen derlei Wunden im Exoskelett aufgrund von die Regeneration hemmenden Substanzen im Speichel der Milbe nicht mehr (vgl. Boecking, 2014), sondern es werden auch Bakterien (vgl. Glinski, et al., 1992) und Viren direkt in die Hämolymphe der Bienen übertragen. Darüber hinaus wird das Immunsystem von durch Varroamilben parasitierter Bienen geschwächt. Konkret konnte nachgewiesen werden, dass die Transkription von Genen, die antimikrobielle Peptide und mit dem

Immunsystem assoziierter Enzyme kodieren, reduziert wird (vgl. Yang, et al., 2005). Besonders zu erwähnen ist hierbei der DWV (deformed wing virus), ein Virus, das sich in Kombination mit der Varroamilbe zu einer tödlichen Bedrohung des gesamten Bienenvolks entwickelt hat. Erfolgt die Infektion über den Zwischenwirt Varroa destructor, redupliziert sich vornehmlich ein besonders virulenter Stamm der durch die Milbe injizierten verschiedenen Stämme des DWV. Dieses Phänomen tritt bei anderen Infektionswegen nicht auf, wie durch die künstliche Injektion im Labor unter Beweis gestellt werden konnte. Die auf diesem Weg infizierten Puppen weisen bereits ab einem niedrigerem Virenlevel Symptome wie verkrüppelte Flügel und ein verkürztes Abdomen (Abbildung 2; S.32) auf (vgl. Raybov, et al., 2014) (vgl. Moore, et al., 2014) und sterben im Durchschnitt innerhalb eines Tags. Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die Kombination des Parasitierens durch Milben, das Zusammenspiel von DWV und Mikroben und der Entwicklung einer Immuninkompetenz, zu einer verkürzten Lebensdauer der Arbeiterinnen beitragen und sich somit negativ auf die Gesundheit der Kolonie auswirken (vgl. Yang, et al., 2006).

Auf Volksebene lassen sich bis zu einer bestimmten Schadschwelle keine klinischen Symptome erkennen. Diese treten meist erst zutage, wenn im Zuge des Jahresrhythmus der Bienen ab der Sommersonnenwende die Anzahl der Brutzellen zurückgeht, während die Population der Varroa weiter zunimmt. Durch die Überlagerung der beiden Prozesse steigt die Infektionsrate und somit die Anzahl geschädigter Bienen. Visuell macht sich eine große Milbenpopulation zu diesem Zeitpunkt durch, auf den Bienen aufsitzende, adulte Milbenweibchen bemerkbar (Abbildung 3; S.32). Eine konkrete Schadschwelle kann dabei nicht festgemacht werden, sie ist variabel und hängt von der Bienen- und Brutpopulation, der Jahreszeit und der Präsenz von Bienenviren ab. Ist diese allerdings überschritten, geht der Volkszusammenbruch mit typischen Symptomen wie einem lückenhaften Brutnest, verkrüppelten Bienen, stiller Umweiselung[1] und einer rasanten Abnahme der Volksstärke einher (vgl. Rosenkranz, et al., 2010).

3. Theoretische Grundlagen des VSH-Projekts

3.1. Einführung in die behandlungsfreie Bienenhaltung

Selbstverständlich darf es nicht Ziel der Imkerei sein, ständig mittels Behandlungen, sei es mit organischen Säuren (Oxalsäure, Ameisensäure, Milchsäure) oder chemischen Wirkstoffen (Flumethrin, Coumaphos, Amitraz, …), die Symptome eines hohen Varroadrucks zu kaschieren. Derlei Maßnahmen führen unter anderem zu einem erhöhten Bienentotenfall, einer verkürzten

[1] Die Arbeiterinnen ziehen eine bis drei Königinnen heran, mit der, respektive denen, sie anstreben die alte Königin zu ersetzen

Lebensdauer der Königin und zu Brutausfällen. Auf Seiten der Milben findet zudem eine Resistenzbildung gegenüber den Behandlungsmitteln statt (vgl. Gregorc, et al., 2004) (vgl. Biosecurity, 2008). Das langfristige Ziel muss es daher sein, die Bienen soweit zu bringen, dass sie sich selbst gegen ihre Parasiten wehren.

Zwar kann eine Jahrtausende dauernde evolutionäre Anpassung nicht innerhalb von ein paar Jahren ersetzen werden, jedoch geben zahlreiche Berichte Grund zur Hoffnung auf eine schnelle Anpassung. Diese stammen überwiegend von Inseln und aus Gegenden, in denen nicht gegen die Varroamilbe behandelt wurde und die Bienenpopulation zwar nach ihrer Invasion zusammenbrach, sich jedoch nach wenigen Jahren wieder erholte (vgl. Büchler, et al., 2010). Derlei Projekte sind auf dem deutschen Festland nicht durchführbar, da es keine Möglichkeit gibt, die unbehandelte Population vor genetischen Fremdeinflüssen des weiter behandelten Umfelds zu schützen.

Abhilfe könnten die sogenannten Überlebensstände schaffen, auf denen Völker bestimmter Zuchtlinien, in ausreichendem Abstand zu anderen Bienenständen, sich selbst überlassen werden (vgl. Kefuss, et al., 2016) (vgl. Kefuss, et al., 2004). Dies erfolgt nachdem sich dieselben durch einen besonders niedrigen Varroabefallsgrad ausgezeichnet haben. Die Linien, die über mehrere Jahre ohne Behandlung überleben, einen niedrigen Befallsdruck haben und gleichzeitig andere wünschenswerte Eigenschaften wie Vitalität, Sanftmut, einen befriedigenden Honigertrag und Schwarmträgheit aufweisen, werden zur Weiterzucht verwendet. Kontrolliert werden die überlebenden Völker auch immer auf ihren Varroabefallsgrad. Völker, bei denen abzusehen ist, dass sie dem Varroadruck auf Dauer nicht standhalten, werden von den Überlebensständen entfernt, um eine allzu hohe Verlustrate zu vermeiden. Trotz allem gibt es bei dieser Art der natürlichen Auslese frustrierende Rückschläge, was wohl auch der Grund dafür ist, dass diese Methode in der Imkerschaft so wenig Zuspruch und Unterstützer hat (vgl. Koller, 2014). Um nun die Selektion zu beschleunigen und zu vereinfachen, sollen zwei der besagten Linien im Zuge des VSH-Projekts auf das Zuchtmerkmal VSH geprüft werden.

3.2. Varroa sensitive hygiene

Varroa Sensitive Hygiene, kurz VSH, ist eine Verhaltensweise der Honigbiene, bei der Arbeiterinnen sich vermehrende Varroaweibchen in der Brut von außen olfaktorisch erkennen und die befallene Brut ausräumen. Sie ist Teil des Repertoires, dessen sich die Honigbiene in Form der sozialen Immunabwehr bedient und eignet sich als Zuchtmerkmal, da sie einerseits überwiegend genetisch bedingt ist und sich andererseits durch einen Test relativ einfach quantifizieren lässt (vgl. Mondet, et al., 2015).

Dabei werden Brutzellen, in denen sich Varroa destructor reproduziert, identifiziert, geöffnet und ausgeräumt. Der Milbennachwuchs wird dabei eliminiert, während die Muttermilbe selbst meist

entkommt. Sie tritt in die phoretische Phase ein. Die Phase, in der die Milbe dem direkten Zugriff der Arbeiterinnen exponiert ist, wird dadurch verlängert, was die Überlebenschancen des Varroaweibchens herabsetzt. Von sterilen Milbenweibchen infizierte Brutzellen bleiben zumeist unangetastet (vgl. Khoei, et al., 2015).

Ziel der Selektion auf dieses Merkmal ist die vollständige Unterbindung der Reproduktion von Varroa destructor in der Arbeiterinnenbrut. Dadurch würde sich deren Reproduktion, ähnlich wie bei Apis cerana (vgl. Boecking, et al., 1999), auf die Drohnenbrut beschränken, wo sie weit weniger Schaden für die Volksgesundheit verursachen würde, zumal den Drohnen abgesehen von der Begattung der Königinnen nahezu keine Aufgaben zugesprochen werden (vgl. Roff, 1977). Es handelt sich folglich um eine Form der Resistenzzucht, da die Fähigkeit der Bienen, die Belastung durch die Varroamilbe zu limitieren, auf genetischen Weg intensiviert wird. Der in diesem Zusammenhang oft fälschlicher Weise verwendete Begriff Toleranzzucht beschreibt hingegen die Intensivierung der Fähigkeit der Bienen, den Schaden, der durch die Belastung durch die Varroamilbe entsteht, zu begrenzen (vgl. Kefuss, et al., 2016).

3.3. Biologische und genetische Grundlagen

Bei Apis mellifera gibt es einige Besonderheiten, auf die bei der Zucht Rücksicht genommen werden muss. Zunächst einmal ist nicht ein Einzeltier auf seine Eigenschaften zu beurteilen, sondern der Superorganismus Bien, der, je nach Jahreszeit, aus ca. 5000 bis 40000 Individuen besteht. Diese lassen sich wiederum in verschiedene Kasten untergliedern. Den Hauptanteil stellen die Arbeiterinnen. Sie sind weitestgehend sterile Weibchen und für sämtliche Arbeitsabläufe verantwortlich, so auch für das VSH-Verhalten. Neben ihnen gibt es noch die Geschlechtstiere: die Drohnen und die Königin. Letztere ist das einzige Individuum im Volk, das sich reproduziert indem es Eier legt (vgl. Rosenkranz, 2006) (vgl. Pirk, et al., 2004). Die von der Königin gelegten Eier wiederum lassen sich in diploide mit zwei mal 16 Chromosomen und haploide unterscheiden. Aus den diploiden Eiern entwickeln sich weibliche, aus den haploiden männliche Larven (vgl. Rosenkranz, 2006). Ob sich aus einer diploiden Larve eine Arbeiterin oder eine Königin entwickelt, entscheidet sich anhand einer Modifikation, die durch Botenstoffe im Futter ausgelöst wird (vgl. Weinstock, et al., 2006). Die Vererbung findet bei weiblichen Eiern wie bei den meisten Lebewesen statt. Der eine Chromosomensatz kommt von der Mutter, der andere vom Vater, bzw. von einem der Väter. Weitere Erläuterungen zur Verpaarung erfolgen im nächsten Absatz. Bei der Weitergabe von Genen an männliche Nachkommen (Drohnen), schlägt die Biene einen Sonderweg ein. Alle 16 Chromosomen stammen dabei von der Mutter. Die Verpaarung der Mutter hat also keinerlei Einfluss auf die Gene

des Drohns. Möchte man nun männliche Nachkommen einer Königin, die die Eigenschaften des gesamten Volkes wiederspiegeln, also auch die Gene der Drohnen, die diese begattet haben, so muss man auf die Drohnen einer ihrer Töchter zurückgreifen (vgl. Rosenkranz, 2006).

Eine weitere genetische Besonderheit der Honigbiene liegt in der Mehrfachpaarung. Die Königin verpaart sich dabei auf meist mehreren Hochzeitsflügen mit ca. 12, in Einzelfällen auch mehr als 30 Drohnen. Deren Sperma wird in ihrer Spermatheka konserviert. Auf die Auswahl der Drohnen hat der Züchter dabei keinen Einfluss, sie stammen aus Kolonien im Umkreis von mehreren Kilometern (vgl. von der Ohe, 2010). Das wiederum führt zu einer enormen genetischen Inhomogenität unter den weiblichen Larven. Diese lassen sich dadurch in Schwesterngruppen (Abbildung 4; S.33) unterteilen. Innerhalb einer Schwesterngruppe, bestehend aus Superschwestern mit derselben Mutter sowie demselben Vater, ist der Verwandtschaftsgrad mit 75% am höchsten. Zwischen den Schwesterngruppen liegt der Verwandtschaftsgrad deutlich niedriger. So liegt er bei Schwestern mit derselben Mutter, jedoch unterschiedlichen Vätern, wobei die Väter aber aus demselben Volk stammen, sogenannten Vollschwestern, nur mehr bei 50% und bei Halbschwestern, mit keinerlei Verwandtschaftsgrad väterlicherseits lediglich bei 25% (vgl. von der Ohe, 2006).

Diese Eigenheit erschwert die Durchführung des VSH-Projekts auf zweierlei Weise. Zum einen ist eine genetische Auslese nicht möglich, wenn die Nachzuchten einer Königin lediglich zu 25% miteinander verwandt sind. Zum anderen soll das VSH-Verhalten der Arbeiterinnen quantifizieren. Um einen bestimmten Genotyp herauszuselektieren wird der Phänotyp eines ganzen Volkes beobachtet. Dieser setzt sich aus den Phänotypen der verschiedenen Schwestergruppen zusammen. Entspricht der Phänotyp eines Volkes den gewünschten Anforderungen, zeigt das Volk also das VSH-Verhalten, lässt sich daraus lediglich schlussfolgern, dass mindestens eine der Schwestergruppen dem gesuchten Genotyp entspricht (Abbildung 5; S.33). Bei Nachzuchten ist es aber eher unwahrscheinlich, diesen Genotyp zu treffen (Abbildung 6; S.34).

Um diese Problematik zu umgehen müsste die Verpaarung der Königin kontrolliert und somit die genetische Homogenität unter den Arbeiterinnen erhöht werden.

Die dafür in Frage kommenden Verfahren in aufsteigender Reihenfolge hinsichtlich ihrer Eignung für die angestrebten Zuchtziele sind:

- die Mondscheinbegattung, wobei der Hochzeitsflug in Zeiten ohne natürlichen Drohnenflug verschoben wird,
- die Belegstellenbegattung, dabei werden genetische Fremdeinflüsse durch natürliche Barrieren wie Gebirge oder Wasser minimiert und
- die hier angewendete künstliche Besamung, mit deren Hilfe sich genetische Fremdeinflüsse zu nahezu 100% ausschließen lassen.

Im Zuge des VSH-Projekts wurden dazu zwei Wege gewählt. Zum einen die multi drone insemination (MDI), also die Besamung einer Königin mit dem Sperma mehrerer Drohnen derselben Mutter. Der Verwandtschaftsgrad der Arbeiterinnen untereinander lässt sich somit auf 50-75% einschränken. Zum anderen wurde die single drone insemination (SDI), also die Besamung einer Königin mit dem Sperma eines einzelnen Drohns, durchgeführt. Diese Methode ist die zu favorisierende, nur mit ihr lässt sich das Problem mit den Schwesterngruppen zufriedenstellend lösen. Der Verwandtschaftsgrad unter den Arbeiterinnen steigt, da ausschließlich Superschwestern auftreten, auf 75% (Abbildung 6; S.34).

Diese genetische Einengung wirkt sich jedoch direkt auf die Vitalität und Volksstärke der Völker aus, in die eine dieser SDI-Königinnen eingeweiselt[2] wird (vgl. Seeley, et al., 2007). Deshalb werden für das Projekt „Miniaturvölker“ (im Folgenden als Testvölkchen bzw. Völkchen bezeichnet) verwendet, die lediglich um die 2000 Individuen stark sind. Weisen die Arbeiterinnen dieser Testvölkchen nun im Phänotyp das VSH-Verhalten auf (Genotyp und Phänotyp stimmen bezüglich VSH weitestgehend überein (vgl. Jungels, 2015)), ist davon auszugehen, dass dieses Verhalten fest in dem Genom der Königin verankert ist und sie diese Anlagen auch an ihre Töchter weitergibt.

Aktuell sind weder die Anzahl der beteiligten Gene, noch exakte Genorte, oder der genaue Erbgang der Anlagen für VSH bekannt. Allerdings wurden mehrere Quantitative Trait Loci (QTL) auf verschiedenen Chromosomen mit diesem Verhalten assoziiert. Um die Ergebnisse der bisherigen Kreuzungen zu erklären, reichen jedoch zwei Gene, die additiv vererbt werden aus. Das heißt je mehr der VSH-Allele im Genom der Arbeiterinnen vorhanden sind, desto ausgeprägter ist deren VSH-Verhalten (vgl. Holloway, et al., 2013).

(An der Varroaresistenz beteiligte Genloci und deren Vererbung: siehe Anhang)

4. Materialien und Methoden

4.1. Auswahl der Zuchtlinien

Die hierbei verwendeten Zuchtlinien basieren auf dem Buckfaststamm und entstanden durch Einkreuzung potenziell varroaresistenter Bienen aus Gegenden, in denen nicht gegen die Varroamilbe behandelt wurde. Dazu gehören:

- die Primorski-Biene, sie stammt aus der Region Primorski (ost-sibirischen Pazifikküste) in Russland (vgl. Rinderer, et al., 1997)

[2] Weisel: imkerlicher Fachausdruck für Königin

- die Elgonbiene, sie stammt dem Grenzgebiet zwischen Kenia und Uganda und ist nach dem Berg Mount Elgon benannt. Ihre reine Form gehört der ostafrikanischen Bergbiene (Apis mellifera monticola) an (vgl. Österlund, 1991).

Beide sind mittlerweile in den Buckfaststamm integriert und wird unter dem Züchterkürzel „P“ respektive „EL“ geführt. Abstammungen von Überlebensständen werden seit einigen Jahren unter dem Kürzel Vt oder selten auch V geführt, was für varroaresistent steht.

In diesem Projekt wurden Königinnen folgender Abstammungen verwendet:

- Vt74, sie entstammt der Primorskilinie und hat bereits zwei Jahre ohne Behandlung überlebt. Ihr Stammbaum ist in Abbildung 7; S.34 hinterlegt.
- Vt101, sie ist eine Tochter der Vt74, die mit den Drohnen der Vt74 ingezüchtet wurde (MDI[3]).
- Vt14, sie entstammt der Elgonlinie und hat bereits drei Jahre ohne Behandlung überlebt. Ihr genauer Stammbaum ist in Abbildung 8; S.35 hinterlegt.

Den genauen Aufbau eines Pedigrees und die dazu nötigen Erklärungen zu beschreiben würde den Rahmen dieser Arbeit sprengen, ich verweise in diesem Zusammenhang auf die pdf-Datei „5PedigreeSchreibweise“ der Gemeinschaft der europäischen Buckfastimker (GdeB). Diese ist unter dem Link http://wp.gdeb.eu/wp-content/uploads/2015/11/5PedigreeSchreibweise.pdf zu finden.

Durch MDI und SDI[4] wurden nahezu alle möglichen Kombinationen erstellt:

[Mutter ins (Abkürzung für Insemination) Vater]

- Vt14 ins Vt14 (3x)
- Vt14 ins Vt74 (16x)
- Vt74 ins Vt14 (13x)
- Vt101(=Vt74 ins Vt74) ins Vt14 (6x)
- (V14 ins B71(SL) (1x))

[3] multi drone insemination
[4] single drone insemination

4.2. Aufzucht und Insemination der Königinnen

Im Folgenden werden die Arbeitsabläufe dargestellt, die zur Aufzucht der Testköniginnen durchlaufen wurden und deren zeitliche Abstände von höchster Bedeutung für den Erfolg dieses Projekts sind, weshalb auf die Angabe derselben nicht verzichtet wird.

07.05.2016 - Umlarven der Königinnen: Frisch geschlüpfte Larven (3. bzw. 4. Tag nach Eiablage) werden, von den gewöhnlichen Arbeiterinnenzellen (Abbildung 9; S.35) in künstliche Weiselnäpfchen (Abbildung 10; S.36) umgebettet.

- Erstellung eines Anbrüters: Die Honigzargen eines Volkes werden beiseite gestellt und im Brutraum die Wabe mit der Königin gesucht. Diese Wabe wird samt Königin und ansitzenden Bienen in einen leeren Kasten gehängt. Anschließend werden die verbleibenden neun Waben aus dem Brutraum herausgenommen und durch vier Futter- und Pollenwaben sowie dem Zuchträhmchen (Abbildung 11; S.36) ersetzt. Die an den entnommenen neun Rähmchen ansitzenden Bienen werden nun in den Brutraum abgeschlagen (Abbildung 12; S.37). Der Kasten wird geschlossen. Die nun bienenfreien Waben werden in den Kasten mit der Königin gehängt. Um genug Bienen zum Wärmen der Brut bereitzustellen erhält dieser Kasten, über einem Absperrgitter, die Honigzargen. Da die Bienen im ersten Kasten über keinerlei Brut verfügen, von der sie sich selbst eine Königin nachziehen könnten, müssen sie die ihnen angebotenen Weiselnäpfchen annehmen. Die Präsenz tausender Ammenbienen, die zuvor auf den Brutwaben für die Fütterung der Larven zuständig waren, begünstigt die Annahme der angebotenen Weiselnäpfchen zusätzlich. Diese produzieren in ihren Futtersaftdrüsen das zur Aufzucht der Königinnen nötige Gelee Royal. Das Zuchträhmchen wird die nächsten 12 Stunden im Anbrüter belassen.

08.05.2016 - Überführung der angepflegten Näpfchen in ein weiselrichtiges Volk: Die angepflegten Näpfchen (Abbildung 13; S.37) (Abbildung 14; S.38) werden in einem weiselrichtigen Volk über dem Absperrgitter – der Königin wird der Zutritt verwehrt um die Zerstörung der Zellen zu verhindern – weitergepflegt.

13.05.2016 - Überführung der verdeckelten Weiselzellen in den Brutschrank: Ab dem Zeitpunkt der Verdeckelung (Abbildung 15; S.38) (achter Tag nach der Eiablage) ist ein Verbleib im Bienenvolk nicht mehr nötig, die Zellen werden gekäfigt (Abbildung 16; S.39) und bei konstanter Temperatur (35°C +/-0,2°C) und Luftfeuchtigkeit (70%) im Brutschrank aufbewahrt und durchlaufen die Metamorphose.

23.05.2016 - Verschulung der Testköniginnen: Sobald die Königinnen geschlüpft sind (Abbildung 17; S.40) (15. bis 16. Tag nach der Eiablage) werden sie in Begattungskästchen - kleine Kästchen, die zur Beherbergung der Königin vom Schlupf bis zur Eiablage dienen – gegeben (Abbildung 18; S.40).

Aufgrund der besseren Transportierbarkeit werden die Begattungskästchen der Firma Apidea verwendet. Um zu verhindern, dass die Königinnen auf Hochzeitsflug gehen und damit die Zuchtbestrebungen vereiteln, wird am Flugloch des Kästchens ein Absperrgitter angebracht, so dass zwar die Arbeiterinnen passieren können, die Königin allerdings im Kästchen gefangen ist (Abbildung 19; S.41).

27.05.2016 - erstmalige Begasung der Königinnen mit Kohlenstoffdioxid

28.05.2016 - Insemination der Testköniginnen: Ab dem fünften Tag nach dem Schlupf, also wenn die natürliche Begattung stattfinden würde, findet die künstliche Insemination statt. Die Königinnen werden dazu unmittelbar vor der künstlichen Besamung zum zweiten Mal mit Kohlenstoffdioxid begast. Durch diese Maßnahmen beginnt die Königin früher mit der Eiablage. Ohne Begasung würden lediglich 20% der besamten Königinnen vor 30 Tagen nach der Besamung mit der Legetätigkeit beginnen. So aber beginnen sie mit der Eiablage, als wären sie auf natürlichem Weg begattet worden (vgl. Mackensen, et al., 1970). Das für die Insemination nötige Sperma wird von Drohnen gewonnen, die direkt von den Waben oder vom Flugloch des Zuchtvolks gefangen werden.

Durch Druck auf deren Hinterleib werden sie zum Ausstülpen des Geschlechtsapparats gebracht (Abbildung 20; S.41). Anschließend wird unter einem Stereomikroskop das dabei freigesetzte Sperma mit einer Besamungskanüle aufgenommen. Bei SDI kann jetzt mit dem Besamen begonnen werden, bei MDI wird der Vorgang so oft wiederholt, bis die Kanüle voll ist. Zur Besamung wird der mit Kohlenstoffdioxid betäubten Königin die Vaginalöffnung mit zwei Häkchen aufgespreizt und das Sperma injiziert. Die in den diesem Absatz geschilderten Arbeiten erfolgten durch den Leiter des tschechischen Bieneninstituts Dol, Dr. Dalibor Titera.

Die somit erhaltenen Königinnen wurden, nachdem sie in Eiablage gegangen waren, in etwas größere Einheiten (Abbildung 21; S.42) eingeweiselt.

4.3. Infizierung der Testvölkchen

Um beim Auszählen eine ausreichend große Zahl mit Varroen befallener Brutzellen zu finden, werden die Testvölkchen vorher künstlich mit 100 bis 150 adulten Varroaweibchen infiziert. Da das VSH-Verhalten der Arbeiterinnen quantifiziert werden sollte, die sich aus den Eiern der Testköniginnen entwickeln, muss damit gewarten werden, bis die Bienen, die beim Einweiseln der besagten Königin das Völkchen gebildet haben, weitgehend gestorben und durch eigene Nachkommen ersetzt worden sind. Aus diesem Grund wurde die Infizierung erst am 25.07.2016 durchgeführt. Um den Zuflug von Fremdbienen zu vermeiden, ist eine gesonderte Aufstellung der Testvölkchen dabei unabdingbar (Abbildung 22; S.43). Alle Eingriffe im Zeitraum zwischen der Einweiselung und der Infizierung beschränken sich auf die Zugabe von Futter in Form von Zuckerteig. Zur Infizierung werden Völker

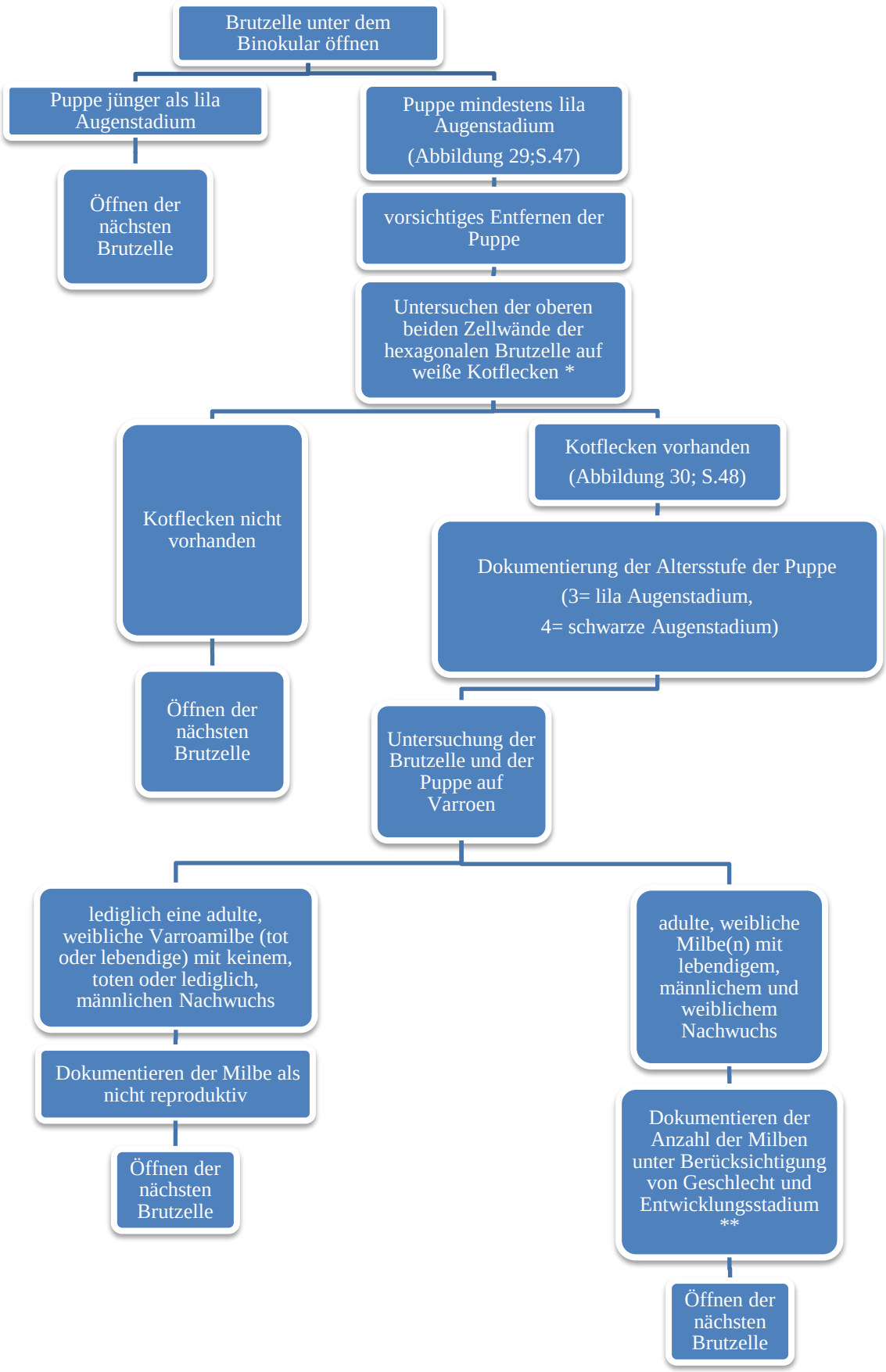
auf ihren Varroabefallsgrad (Spiritus-Auswasch-Methode (vgl. HBHC, 2016)) geprüft. Völker mit besonders hohem Befallsgrad (10 bis 20%) dienen als Milbenspender. Die ansitzenden Bienen von zwei bis drei Waben jener Völker werden auf eine mit Wachs/Propolis verklebte Folie abgestoßen. Die Folie wird gefaltet, und die Bienen in einen Eimer mit einem bienendichten Gitterboden geschüttelt. Der Zwischenschritt mit dem Abstoßen auf die Folie ist nötig, um zu verhindern, dass eventuell aus den Waben spritzender Nektar das Prozedere behindert. Der Eimer wird mit einem Deckel verschlossen, vertikal um 180° gedreht und durch das sich nun oben befindliche Gitter werden die Bienen mit Puderzucker bestreut (Abbildung 23; S.43) (Abbildung 24; S.44). Anschließend wird der Puderzucker mitsamt der von den Bienen gelösten Milben durch das Gitter in ein Doppelsieb geschüttelt. Bei dem Doppelsieb handelt es sich um ein handelsübliches Honigsieb mit einem grobmaschigen und feinmaschigen Gitter. Zu diesem Zweck wird das grobmaschige Gitter herausgenommen und die Milben mittels des feinmaschigen Siebs vom Großteil des Puderzuckers getrennt (Abbildung 25; S.45) (vgl. Bienenjournal, 2003). Daraufhin werden die Milben gezählt, in die Testvölkchen zugegeben (Abbildung 26; S.46) und ihre Anzahl dokumentiert, die Bienen werden wieder in ihrer Kolonie zurückgegeben. Die adulten Milbenweibchen suchen alsbald Brutzellen in den Testvölkchen auf, die kurz vor der Verdeckelung stehen (Abbildung 27; S.46) und dringen in diese ein. Sobald die adulte Milbe nun mit der Vermehrung (siehe 2.2. Lebenszyklus und Vermehrung) beginnt setzt das VSH-Verhalten der Arbeiterinnen (siehe *3.2 Varroa sensitive hygiene*) ein.

4.4. Auszählen der Varroen in der Brut

Vom fünften bis siebten August schließlich fand mit der Auszählaktion die eigentliche Arbeit statt, sämtliche bisherigen Maßnahmen waren zeitlich auf diesen Termin ausgerichtet.

Alle nun folgenden Arbeiten finden unter dem Binokular oder wahlweise mithilfe einer Lupenbrille statt (Abbildung 28; S.47). Um nun das VSH-Verhalten zu ermitteln, werden verdeckelte Arbeiterinnenbrutzellen der Testvölkchen mithilfe einer Pinzette unter dem Binokular geöffnet (Abbildung 29; S.47).

Das Auszählen der Milben folgte dem Schema auf der folgenden Seite. Die dabei erhobenen Daten wurden in einer Auswertungstabelle dokumentiert (Abbildung 33; S.50) (Abbildung 34; S.51) (Abbildung 35; S.52).


Brutzelle unter dem Binokular öffnen
Puppe jünger als lila Augenstadium
Öffnen der nächsten Brutzelle
Puppe mindestens lila Augenstadium
(Abbildung 29;S.47)
vorsichtiges Entfernen der Puppe
Untersuchen der oberen beiden Zellwände der hexagonalen Brutzelle auf weiße Kotflecken *
Kotflecken nicht vorhanden
Öffnen der nächsten Brutzelle
Kotflecken vorhanden
(Abbildung 30; S.48)
Dokumentierung der Altersstufe der Puppe
(3= lila Augenstadium,
4= schwarze Augenstadium)
Untersuchung der Brutzelle und der Puppe auf Varroen
lediglich eine adulte, weibliche Varroamilbe (tot oder lebendige) mit keinem, toten oder lediglich, männlichen Nachwuchs
Dokumentieren der Milbe als nicht reproduktiv
Öffnen der nächsten Brutzelle
adulte, weibliche Milbe(n) mit lebendigem, männlichem und weiblichem Nachwuchs
Dokumentieren der Anzahl der Milben unter Berücksichtigung von Geschlecht und Entwicklungsstadium **
Öffnen der nächsten Brutzelle

* Da die Bienenpuppen stets auf dem Rücken liegen, befindet sich dort ihre Bauchseite, auf der, wie in *2.2. Lebenszyklus und Vermehrung* bereits beschrieben, die Vermehrung und auch das Abkoten der Varroen stattfindet.

** Die Nachkommen der Muttermilbe/n werden nach dem Schema von (Abbildung 36; S.53) klassifiziert. Mögliche Kategorien sind:

- adulte(s) Varroaweibchen
  - Anzahl = 1 : single infested (Abbildung 32; S.49)
  - Anzahl > 1 : multi-infested (Abbildung 31; S.48)
- adulte Tochtermilbe
- Deutonymphe (kein ausgeprägter Chitinpanzer; keine Braunfärbung)
- Protonymphe
- Milbenmännchen (unterscheidet sich von der Deutonymphe durch sein unstetes Verhaltensmuster, wobei es ununterbrochen das vorderste Beinpaar bewegt)

Mit dem Auszählen infizierter Brutzellen wird so lange fortgefahren, bis entweder 30 infizierte Brutzellen ausgewertet wurden, 300 Brutzellen geöffnet wurden, oder keine brauchbaren Brutzellen mehr vorhanden sind. Gesetzt dem Fall, dass 300 Brutzellen geöffnet wurden und weniger als fünf davon infiziert waren, muss mit dem Zählen fortgefahren werden, da den Ergebnissen sonst keine verlässliche Zahlenbasis zugrunde liegt (vgl. Fernhout, 2016).

4.5. Auswertung der Testergebnisse

Die oben beschriebene Tabelle bildet die Zahlenbasis, mittels der der VSH-Anteil quantifiziert wird.

Der VSH-Anteil wird folgendermaßen bestimmt:

$$VSH\text{-}Anteil = \frac{Anzahl\ der\ ausgeräumten, reproduktiven\ Milbenweibchen}{Gesamtzahl\ der\ reproduktiven\ Milbenweibchen} * 100$$

Da beide Werte mit der angewendeten Methodik nicht erfasst werden, muss deren Höhe rechnerisch ermittelt werden. In einem Volk, ohne VSH-Verhalten liegt der Anteil nicht reproduzierender Milben zwischen 5 und 20%. In den folgenden Berechnungen wird von einer natürlichen Infertilitätsrate von 20% ausgegangen.

Für die weitere Argumentation werden folgende Abkürzungen eingeführt:

- GZ = Gesamtzahl der in die Brut eingedrungenen Milbenweibchen
- R = Anzahl der gefundenen reproduktiven, adulten Milbenweibchen
- AR = Anzahl der ausgeräumten reproduktiven, adulten Milbenweibchen
- NR = Anzahl der gefundenen nicht reproduktiven, adulten Milbenweibchen

In einem Volk ohne VSH-Verhalten gilt: GZ = R + NR

Wobei gilt: NR = 0,2* GZ

R = 0,8* GZ

In einem Volk mit VSH-Verhalten gilt: GZ = R + NR + AR

Wobei gilt: NR = 0,2* GZ => GZ = 5* NR

$$R + AR = 0{,}8 * GZ \xrightarrow{GZ = 5 * NR} R + AR = 4 * NR$$

$$AR = 4 * NR - R$$

$$R = 4 * NR - AR$$

$$VSH = \frac{AR}{R+AR} * 100 = \frac{4*NR-R}{4*NR} * 100 = \left(\frac{4*NR}{NR} - \frac{R}{NR}\right) * 25 = \left(4 - \frac{R}{NR}\right) * 25$$

Da diesen Ergebnissen keine 100%-ige Exaktheit zugesprochen werden kann, werden sie unter Berücksichtigung weicher Faktoren in ein Raster, mit Schritten von 12,5% eingeordnet und dazu entweder auf- oder abgerundet. Zu den weichen Faktoren gehören unter anderem die Infektionsrate und die Anzahl mehrfach infizierter Brutzellen. Alles was mit einem VSH-Anteil von 50% oder höher bewertet wird, ist als potenziell varroaresistent einzustufen. Nachzuchten dieser Königinnen haben eine hohe Überlebenschance, auch ohne Behandlung gegen Varroose.

5. Ergebnisse der Auszählung

Die Ergebnisse des Projekts sind in der folgenden Tabelle zusammengefasst.

Volk Nr.	Abstammung	Infektionsrate	VSH-Anteil
37-LS	V74 ins V14 (SDI)	20%	0%
41-LS	V74 ins V14 (SDI)	15%	12,5%
27-LS	V74 ins V14 (SDI)	17%	12,5%
17-LS	V74 ins V14 (SDI)	16%	75%
B01-LS	V14 ins V74 (MDI)	22%	62,5%
B09-LS	V14 ins V74 (MDI)	6%	87,5%
M1-LS	V14 ins V74 (MDI)	11%	62,5%
27-FZ	V14 ins V14 (SDI)	15%	0%
1-FZ	V14 ins V14 (SDI)	7%	0%
3-FZ	V74 ins V14 (SDI)	16%	50%
5-FZ	V74 ins V14 (SDI)	17%	87,5%
4-FZ	V74 ins V14 (SDI)	9%	0%
04-FZ	V74 ins V14 (SDI)	19%	25%
36-FZ	V14 ins V14 (SDI)	14%	12,5%
32-FZ	(SDI)	19%	62,5%
31-FZ	(SDI)	9%	75%
128-RHO	V14 ins V74 (SDI)	1%	0%
121-RHO	V14 ins V74 (SDI)	2%	0%
130-RHO	V14 ins V74 (SDI)	3%	0%
126-RHO	V14 ins V74 (SDI)	4%	75%
122-RHO	V14 ins V74 (SDI)	1%	87,5%
117-CHU	V14 ins V74 (MDI)	4%	37,5%
124-RHO	V14 ins V74 (SDI)	1%	50%
137-RHO	V14 ins V74 (SDI)	4%	75%
141-RHO	V14 ins V74 (SDI)	2%	75%
123-RHO	V14 ins V74 (SDI)	1%	25%
136-RHO	V14 ins V74 (SDI)	4%	87,5%
127-RHO	V14 ins V74 (SDI)	2%	87,5%
135-RHO	V14 iss V74 (SDI)	4%	62,5%
13-KK	V101 ins V14 (MDI)	2,1%	87,5%
8-KK	V101 ins V14 (SDI)	3,5%	87,5%
9-KK	V101 ins V14 (SDI)	1,9%	75%
10-KK	V101 ins V14 (SDI)	0,9%	87,5%
11-KK	V101 ins V14 (SDI)	0,7%	100%
12-KK	V101 ins V14 (SDI)	2,5%	0%
6-KK	V74 ins V14 (SDI)	2,7%	75%
5-KK	V74 ins V14 (SDI)	1,9%	25%
4-KK	V74 ins V14 (SDI)	3,9%	0%
1-KK	V74 ins V14 (SDI)	2,2%	62,5%

Tabelle 1: Zusammenfassung aller Ergebnisse des VSH-Projekts

Die Ergebnisse sind in ausführlicherer Form im Anhang zu finden (siehe Abbildung 38; S.55 / Abbildung 37; S.55)

Während bei anderen Projekten ein VSH-Anteil von 30% bereits als hoch gilt, ergaben sich für 23 der 39 Testköniginnen ein VSH-Anteil von 50% oder mehr, 59% der Testköniginnen sind somit nachzuchtwürdig. 75% kam dabei siebenmal vor, 87,5% achtmal und 100% einmal. Derlei Ergebnisse sind eigentlich erst in der dritten Generation, auf das VSH-Merkmal selektierter Bienen, zu erwarten (vgl. Fernhout, 2016). Die Testköniginnen der Abstammung Vt101 stechen dabei mit besonders hohen VSH-Anteilen hervor. Fünf der sechs Testköniginnen haben einen VSH-Anteil von 75% oder höher.

6. Diskussion

Zu guter Letzt sollen noch die Schwächen der Ergebnisse dargelegt werden. Zum einen sind sie lediglich eine Momentaufnahme eines bestimmten Tages. Es wäre denkbar, dass der VSH-Anteil an einem anderen Tag niedriger oder höher gelegen hätte, zumal externe Faktoren einen hohen Einfluss auf die Expression dieses Verhaltensmusters ausüben (vgl. Boecking, et al., 1999). Zum anderen ist die Zahlenbasis, auf der die Ergebnisse gründen, zum Teil sehr schmal. Auch nur eine Milbe in einer anderen Kategorie hätte bei einzelnen Testköniginnen das Ergebnis um mehr als 30% nach oben oder unten ausschlagen lassen.

Darüber hinaus wurden die Testköniginnen unter uneinheitlichen Bedingungen betreut. So waren dieselben über die Regierungsbezirke Oberbayern, Mittelfranken und die Oberpfalz verteilt. Dabei könnten, ob der unterschiedlichen klimatische Bedingungen, Faktoren zum Tragen gekommen sein, die sich auf die Populationsdynamik der Varroamilbe auswirken (vgl. Harris, et al., 2003).

Desweiteren waren die Zellgrößen uneinheitlich. Die Testvölkchen unter der Betreuung von Fritz Zieher/Stefan Luff wurden auf Waben mit einer Zellgröße von 5,4 mm gehalten, während die Testvölkchen unter der Betreuung von Carsten Hupfer/Dr. Ralf Höling, Josef Koller/Samuel Hirmer auf Waben mit einer Zellgröße von 4,9 – 5,0 mm gehalten wurden. Seit der Erfindung der Mittelwand ist es möglich, den Bienen die Größe, der von ihnen gebauten Zellen, vorzuschreiben. Dies wurde genutzt, um die Zell- und damit auch die Körpergröße, der in diesen Zellen aufgezogenen Arbeiterinnen, künstlich zu erhöhen. Die ursprüngliche Zellgröße im Brutraum mitteleuropäischer Bienen lag zwischen 5,0 und 5,2 mm (vgl. Gontarski, 1934). In der Frage, ob kleine Zellen den Bienen helfen, die Varroamilbe zu kontrollieren ist die Fachliteratur gespalten. Auf der einen Seite gibt es Stimmen, die keinen Einfluss der Zellgröße auf das Populationswachstum der Varroa festgestellt haben wollen (vgl. Seeley, et al., 2010) (vgl. Berry, et al., 2009), während andere einen klaren Vorteil in der Verwendung kleiner Zellen feststellen. So sei die Infektionsrate in kleinen Zellen deutlich geringer als in großen (vgl. Message, et al., 1995) (vlg. Piccirillo, et al., 2003). Darüber hinaus konnte ein höherer Anteil an nicht reproduktiven Milbenweibchen in kleinen Zellen

nachgewiesen werden (vgl. Maggi, et al., 2009), was eventuell ein Hinweis auf ein verstärktes VSH-Verhalten sein könnte. Diese Hypothese wird durch das verstärkte hygienische Verhalten, auf kleinen Zellen gehaltener Bienen, untermauert (vgl. Olszewski, et al., 2014). Auch konnte in der unbehandelten, wildlebenden Bienenpopulation des Arnot Forests nach der Invasion und der Ausprägung von Resistenzen gegen die Varroa ein Rückgang der Körpergröße der dortigen Bienen nachgewiesen werden (vgl. Mikheyev, et al., 2015).

Tatsächlich weisen die Testvölkchen, die auf kleinen Zellen gehalten wurden eine extrem niedrige Infektionsrate auf. Dies ist insofern problematisch, als zwischen der Infektionsrate und dem Ausräumverhalten eine Relation besteht. Steigt erstere, wird letzteres intensiviert (vgl. Boecking, et al., 1991). Dieselbe beträgt in zwei der vier getesteten Gruppen bei jedem Testvölkchen weniger als 5%. Obwohl die Völkchen mit einer relativ hohen Zahl adulter Varroaweibchen infiziert wurden, ist die Infektionsrate niedriger als in den meisten behandelten Völkern. Aus der Höhe der Infektionsrate ergibt sich ein züchterisches Dilemma, ist es sinnvoller von einer Königin mit einer Infektionsrate von 4% und einem VSH-Anteil von 75% (Nr. 126-RHO) nachzuziehen, oder sollte einer Königin mit 0% VSH-Anteil und 1% Infektionsrate (Nr. 128-RHO) der Vorzug gegeben werden?

In den folgenden Zyklen des Projekts muss bezüglich der Zellgröße eine Standardisierung erfolgen.

7. Fazit und Ausblick

Die Hypothese, dass bei Selektion der westlichen Honigbiene auf Überleben ohne Behandlung gleichzeitig auch eine Selektion auf Varroa Sensitive Hygiene (VSH) stattfindet, wurde in der vorliegenden Untersuchung bestätigt. Der Anteil an Völkern, die VSH-Verhalten in hoher Ausprägung zeigen übersteigt den in vergleichbaren Zuchtprogrammen deutlich (vgl. Fernhout, 2016). Somit ist anzunehmen, dass VSH eine für das Überleben von unbehandelten Völkern der westlichen Honigbiene relevante Verhaltensweise ist und somit der VSH-Test ein probates Mittel zur Varroaresistenzzucht darstellt.

Das VSH-Merkmal ist dabei keinesfalls das Nonplusultra, zumal es neben ihm noch andere Verhaltensweisen gibt, mit denen sich Apis mellifera gegen besagten Parasiten wehrt. Dazu gehören zum Beispiel das Autogrooming, dabei entledigen sich die Arbeiterinnen selbst ihrer aufsitzenden Milben, sowie das Allogrooming, wobei sich hochspezialisierte Arbeiterinnen damit beschäftigen, andere Bienen von aufsitzenden Varroen zu befreien (vgl. Rinderer, et al., 2010) (vgl. Boecking, et al., 1999). Varroaresistenz entsteht also durch das Zusammenspiel verschiedener Verhaltensmuster, das blinde Vertrauen auf die Aussagekraft eines einzelnen Merkmals kann folglich irreführen. Vielmehr müssen sich die Nachkommen der Testköniginnen erst auf einem Überlebensstand beweisen. Diese kritischen Worte sollen jedoch keinesfalls über den Wert des VSH-Merkmals hinwegtäuschen. Die Tatsache, dass die Linien der Überlebensstände einen derart hohen VSH-Anteil aufweisen, gibt Grund zu der Annahme, dass man mit beiden Methoden (VSH-Test und Überlebensstände) in dieselbe Richtung selektiert. Durch die im VSH-Test verwendete SDI wird zudem die Reproduzierbarkeit der Ergebnisse erhöht. Mithilfe deren Kombination dürfte sich die Effizienz und somit auch der Zuchtfortschritt der Selektion erhöhen, zumal es bisher kaum wissenschaftlich fundierte Ansatzpunkte gibt. Die Forschungsarbeit konzentrierte sich eher auf das Entwickeln von neuen chemischen oder biologischen Bekämpfungsstrategien.

Für dieses Jahr ist die Fortsetzung des diesjährigen VSH-Projekts geplant. Zwei Belegstellen, eine in Bayern und eine in Baden-Württemberg sollen mit Drohnenvölkern der oben beschriebenen Abstammung beschickt werden. Auch eine Besamungsaktion mit SDI und MDI ist wieder geplant.

8. Literaturverzeichnis

Behrens, D., et al. 2011. Three QTL in the honey bee Apis mellifera L. suppress reproduction of the parasitic mite Varroa destructor. *ncbi.nlm.nih.* [Online] 2011. [Zitat vom: 11. September 2016.] http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3287329/.

Berry, Jennifer A., Owens, Williams B. und Delaplane, Keith S. 2009. Small-cell comb foundation does not impede Varroa mite population growth in honey bee colonies. *www.apidologie.org.* [Online] 27. April 2009. [Zitat vom: 20. Februar 2017.] http://www.apidologie.org/articles/apido/abs/2010/01/m08138/m08138.html.

Bessei, W., Mackenstedt, Ute und Schmieder, Klaus. 2014. Der Einfluss von Wirtsfaktoren der Honigbiene (Apis mellifera L.) auf den Reproduktionserfolg der parasitischen Milbe Varroa destructor (Anderson & Trueman) und die Auswirkungen einer horizontalen Verbreitung des Parasiten auf den Befall der Bienenvölker. *opus.uni-hohenheim.de.* [Online] 2014. [Zitat vom: 02. Oktober 2016.] http://opus.uni-hohenheim.de/volltexte/2014/981/pdf/Diss_Eva_Frey_2014.pdf.

Bienenjournal. 2003. Milbenkontrolle durch ganzjährige Diagnose und Bekämpfung. *www.bienenjournal.de.* [Online] 10. Februar 2003. [Zitat vom: 21. Februar 2017.] https://www.bienenjournal.de/fileadmin/bj/Shop_Service/Basiswissen-Bienengesundheit-Varroa-Milbenkontrolle-klein.pdf.

Biosecurity, MAF. 2008. A Review of Treatment Options For Control of Varroa Mite in New Zealand. *www.biosecurity.govt.nz.* [Online] 22. Februar 2008. [Zitat vom: 22. Februar 2017.] http://www.biosecurity.govt.nz/files/pests/varroa/papers/varroa-treatment-options.pdf.

Boecking, O. und Drescher, W. 1991. Response of Apis mellifera L colonies infested with Varroa jacobsoni Oud. *hal.archives-ouvertes.fr.* [Online] Januar 1991. [Zitat vom: 08. September 2016.] https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-00890912/document.

Boecking, Otto. 2014. Die Varroa Milbe - vom Nobody zum weltweiten Imker-Schreck. *laves.niedersachsen.* [Online] 2014. [Zitat vom: 09. September 2016.] http://www.laves.niedersachsen.de/tiere/bienenkunde/die-varroa-milbe---vom-nobody-zum-weltweiten-imker-schreck-139116.html.

—. 2014. Die Varroa Milbe - vom Nobody zum weltweiten Imker-Schreck. *laves.niedersachsen.* [Online] 2014. [Zitat vom: 09. September 2016.] http://webcache.googleuwww.laves.niedersachsen.de/download/84123/Die_Varroa_Milbe_-_vom_Nobody_zum_weltweiten_Imker-Schreck.pdf+&cd=5&hl=de&ct=clnk&gl=de.

Boecking, Otto und Spivak, Maria. 1999. Behavioral defenses of honey bees against Varroa jacobsoni Oud. *apidologie.org.* [Online] 09. Februar 1999. [Zitat vom: 13. Januar 2017.] http://www.apidologie.org/articles/apido/abs/1999/02/Apidologie_0044-8435_1999_30_2-3_ART0005/Apidologie_0044-8435_1999_30_2-3_ART0005.html.

Büchler, Ralph, Berg, Stefan und Conte, Yves Le. 2010. Breeding for resistance to Varroa destructor in Europe. *sprintger.* [Online] 30. Januar 2010. [Zitat vom: 10. September 2016.] http://link.springer.com/article/10.1051%2Fapido%2F2010011.

Carlborg und Haley. 2004. Epistasis. *cs.cmu.* [Online] 2004. [Zitat vom: 11. September 2016.] http://www.cs.cmu.edu/~sssykim/teaching/s13/slides/Lecture_epistasis.pdf.

De Jong, D., De Jong, P. H. und Goncalves, L. S. 1981. Weight Loss and Other Damage to Developing Worker Honeybees from Infestation with Varroa Jacobsoni. *tandfonline.* [Online] 11. August 1981. [Zitat vom: 10. September 2016.] http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/00218839.1982.11100535.

Ellis, James D. und Nalen, C. M. Zettel. 2010. Varroa Mite, Varroa destructor Anderson and Trueman (Arachnida: Acari:Varroidae). *edis.ifas.ufl.edu.* [Online] 2010. [Zitat vom: 20. August 2016.] http://edis.ifas.ufl.edu/in855.

Fernhout, BartJan. 2016. *Bestprechung der Egebnisse des VSH-Projekts.* Arberg, 07. August 2016.

—. 2016. *Mündliche Anweisung im Zuge des VSH-Projekts.* Arberg, 05. August 2016.

Glinski, Z. und Jarosz, J. 1992. Varroa jacobsoni as a carrier of bacterial infections to a recipient bee host. *apidologie.org.* [Online] 1992. [Zitat vom: 07. November 2016.] http://www.apidologie.org/articles/apido/pdf/1992/01/Apidologie_0044-8435_1992_23_1_ART0003.pdf.

Gontarski, Hugo. 1934. Wabenzellmasze bei Apis mellifica. *link.springer.com.* [Online] 10. Dezember 1934. [Zitat vom: 20. Februar 2017.] http://link.springer.com/article/10.1007/BF00340915.

Gregorc, Ales, Pogacnik, Azra und Bowen, Ivor. 2004. Cell death in honeybee (Apis mellifera) larvae treated with oxalic or formic acid. *https://hal.archives-ouvertes.fr.* [Online] 01. Januar 2004. [Zitat vom: 22. Februar 2017.] https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-00891844/document.

Harris, J. W., et al. 2003. Variable Population Growth of Varroa destructor in Colonies of Honey Bees During a 10-Year Period. *www.beecoolventilators.com.* [Online] 2003. [Zitat vom: 20. Februar 2017.] http://www.beecoolventilators.com/varroamite.pdf.

HBHC. 2016. TOOLS FOR VARROA MANAGEMENT. *http://honeybeehealthcoalition.org.* [Online] 16. Februar 2016. [Zitat vom: 22. Februar 2017.] http://honeybeehealthcoalition.org/wp-content/uploads/2016/03/HBHC-Guide_Varroa_Interactive_18FEB2016.pdf.

Holloway, Beth, et al. 2013. Fine mapping for SNP markers associated with VSH behavior. *www.ars.usda.gov.* [Online] 01. November 2013. [Zitat vom: 13. Januar 2017.] https://www.ars.usda.gov/research/publications/publication/?seqNo115=290520.

Jungels, Paul. 2015. Varroaresistenz ist nicht länger Utopie! *apisjungels.* [Online] September 2015. [Zitat vom: 10. September 2016.] http://www.apisjungels.lu/varroaresistenz-ist-nicht-l%C3%A4nger-utopie.pdf.

Kefuss, John, et al. 2016. Selection for resistance to Varroa destructor under commercial beekeeping conditions. *www.tandfonline.com.* [Online] 24. Februar 2016. [Zitat vom: 14. Januar 2017.] http://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/00218839.2016.1160709.

—. 2016. Selection for resistance to Varroa destructor under commercial beekeeping conditions. *www.tandfonline.com.* [Online] 24. Februar 2016. [Zitat vom: 20. Februar 2017.] http://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/00218839.2016.1160709.

Kefuss, John, et al. 2004. Varroa Tolerance in France of Intermissa Bees From Tunisia And Their Naturally Mated Descendants: 1993-2004. *www.researchgate.net.* [Online] 29. April 2004. [Zitat vom: 20. Februar 2017.]

https://www.researchgate.net/publication/288620065_Varroa_tolerance_in_France_of_Intermissa_bees_from_Tunisia_and_their_naturally_mated_descendants_1993-2004.

Khoei, Amir Naji, Sepehri, Behzad und Golamzade, Pedram. 2015. Expression of Varroa Sensitive Hygiene (VSH) in Iranian honey Bee (Apis melifera meda). *soegra.* [Online] 03. Mai 2015. [Zitat vom: 08. September 2016.] http://soeagra.com/abr/abrmay2015/11.pdf.

Koller, Josef. 2005. Bienen eigener Zuchtrichtung. *www.josefkoller.de.* [Online] 2005. [Zitat vom: 18. Februar 2017.] http://www.josefkoller.de/prim-erfahrungenderletztenjahre.php.

—. 2014. *Mündliche Erläuterung des Konzepts der Überlebensstände im eigenen Betrieb.* Irchenrieth, 06. Juni 2014.

Lattorff, H. Michael G., et al. 2015. A selective sweep in a Varroa destructor resistant honeybee (Apis melifera) population. *ncbi.nlm.nih.gov.* [Online] April 2015. [Zitat vom: 11. September 2016.] https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25660040.

Locke, Barbara. 2015. Inheritance of reduced Varroa mite reproductive success in reciprocal crosses of mite-resistant and mite-susceptiblein reciprocal crosses of mite-resistant and mite-susceptiblein reciprocal crosses of mite-resistant and mite-susceptible honey bees. *springer.* [Online] 05. November 2015. [Zitat vom: 13. September 2016.] http://link.springer.com/article/10.1007/s13592-015-0403-9.

Mackensen, Otto und Tucker, Kenneth W. 1970. Instrumental insemination of queen bees. *naldc.nal.usda.gov.* [Online] Dezember 1970. [Zitat vom: 10. September 2016.] http://naldc.nal.usda.gov/download/CAT87209055/PDF.

Maggi, M., et al. 2009. Brood cell size of Apis mellifera modifies the reproductive behavior of Varroa destructor. *www.ncbi.nlm.nih.gov.* [Online] 19. September 2009. [Zitat vom: 21. Februar 2017.] https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19768560.

Martin, Stephen, Holland, Kay und Murray, Muzz. 1997. Non-reproduction in the honeybee mite Varroa jacobsoni. *springer.* [Online] August 1997. [Zitat vom: 09. September 2016.] http://link.springer.com/article/10.1023/A:1018492231639.

Message, D. und Goncalves, LS. 1995. Effect of the size of worker brood cells of Africanized honey bees on infestation and reproduction of the ectoparasitic mite Varroa jacobsoni Oud. *www.apidologie.org.* [Online] 28. März 1995. [Zitat vom: 21. Februar 2017.] http://www.apidologie.org/articles/apido/pdf/1995/05/Apidologie_0044-8435_1995_26_5_ART0003.pdf.

Mikheyev, Alexander S., et al. 2015. Museum samples reveal rapid evolution by wild honey bees exposed to a novel parasite. *nature.* [Online] 06. August 2015. [Zitat vom: 09. September 2016.] http://www.nature.com/ncomms/2015/150806/ncomms8991/full/ncomms8991.html#abstract.

Miles, Cecelia M. und Wayne, Marta. 2008. Quantitative Trait Locus (QTL) Analysis. *nature.* [Online] 2008. [Zitat vom: 11. September 2016.] http://www.nature.com/scitable/topicpage/quantitative-trait-locus-qtl-analysis-53904.

Mondet, Fanny, et al. 2015. Antennae hold a key to Varroa-sensitive hygiene behaviour in honey bees. *nature.com.* [Online] 22. 5 2015. [Zitat vom: 27. 11 2016.] http://www.nature.com/articles/srep10454#ref14. 10454 (2015).

Moore, Philip A., Wilson, Michael E. und Sinner, John A. 2014. Honey Bee Viruses, the Deadly Varroa Mite Associates. *articles.estension.* [Online] 21. August 2014. [Zitat vom: 09. September 2016.] http://articles.extension.org/pages/71172/honey-bee-viruses-the-deadly-varroa-mite-associates.

Moosbeckhofer, Rudolf. 2014. Varroa-Lebensweise. *ages.at.* [Online] Oktober 2014. [Zitat vom: 09. September 2016.] https://www.ages.at/fileadmin/_migrated/content_uploads/Varroa_Lebensweise.pdf.

Olszewski, Krzysztof, et al. 2014. Hygienic behaviour of colonies kept on small-cell combs. *medycynawet.edu.pl.* [Online] 17. Junli 2014. [Zitat vom: 21. Februar 2017.] http://medycynawet.edu.pl/images/stories/pdf/pdf2014/122014/201412774776.pdf.

Österlund, Erik. 1991. Exploring Monticola – Efforts to Find an Acceptable Varroa-Resistant Honey Bee. *http://beesource.com.* [Online] 1991. [Zitat vom: 22. Februar 2017.] http://beesource.com/point-of-view/erik-osterlund/exploring-monticola-efforts-to-find-an-acceptable-varroa-resistant-honey-bee/.

Piccirillo, Giancarlo A. und De Jong, D. 2003. The influence of brood comb cell size on the reproductive behavior of the ectoparasitic mite Varroa destructor in Africanized honey bee colonies. *funpecrp.com.* [Online] 10. März 2003. [Zitat vom: 21. Februar 2017.] http://funpecrp.com.br/gmr/year2003/vol1-2/gmr0057_full_text.htm.

Pirk, Christian W. W., et al. 2004. Egg viability and worker policing in honey bees. *pnas.org.* [Online] 8. Juni 2004. [Zitat vom: 5. November 2016.] http://www.pnas.org/content/101/23/8649.full.pdf.

Raybov, Eugene V., et al. 2014. A Virulent Strain of Deformed Wing Virus (DWV) of Honeybees (Apis mellifera) Prevails after Varroa destructor-Mediated, or In Vitro, Transmission. *journals.plos.org.* [Online] 26. Juni 2014. [Zitat vom: 30. Dezember 2016.] http://journals.plos.org/plospathogens/article?id=10.1371/journal.ppat.1004230.

Rinderer, T. E., et al. 1997. An improtation of potentially Varroa-resistant honey beees from far-eastern Russia. *josefkoller.* [Online] November 1997. [Zitat vom: 19. August 2016.] http://www.josefkoller.de/page-primorskistory.php.

Rinderer, Thomas E., et al. 2010. Breeding for resistance to Varroa destructor in North America. *apidologie.* [Online] 30. Januar 2010. [Zitat vom: 08. September 2016.] http://www.apidologie.org/articles/apido/full_html/2010/03/m09127/m09127.html#InR61.

Roff, C. 1977. The honey bee colony. *http://mrccc.org.au.* [Online] 1977. [Zitat vom: 14. Januar 2017.] http://mrccc.org.au/wp-content/uploads/2014/02/HONEYBEE%20COLONY.pdf.

Rosenkranz, Peter. 2006. Bau Funktion und Biologie der Honigbiene. *bienenkunde.uni-hohenheim.* [Online] 2006. [Zitat vom: 10. September 2016.] https://bienenkunde.uni-hohenheim.de/uploads/media/Skript_Biologie_Honigbiene.pdf.

—. 2006. Honigbienengenetik. *bienenkunde.uni-hohenheim.* [Online] 2006. [Zitat vom: 10. September 2016.] https://bienenkunde.uni-hohenheim.de/uploads/media/Skript_Honigbienengenetik.pdf.

Rosenkranz, Peter, Aumeier, Pia und Ziegelmann, Bettina. 2010. Biology and control of Varroa detructor. *ask-force.* [Online] 2010. [Zitat vom: 10. September 2016.] http://www.ask-force.org/web/Bees/Rosenkranz-Biology-Control-Varroa-2010.pdf.

Ruijter, Arie de. 1987. REPRODUCTION OF VARROA JACOBSONI DURING SUCCESSIVE BROOD CYCLES OF THE HONEYBEE. *apidologie.org.* [Online] 1987. [Zitat vom: 02. 10 2016.]

http://www.apidologie.org/articles/apido/pdf/1987/04/Apidologie_0044-8435_1987_18_4_ART0003.pdf.

Schulz, Alfred E. 1984. Reproduktion und Populationsentwicklung der parasitischen Milbe Varroa jacobsoni oud. In Abhängigkeit vom Brutzyklus ihres Wirtes Apis mellifera L. (1. Teil). *hal.archives-ouvertes.fr.* [Online] 01. Januar 1984. [Zitat vom: 02. Oktober 2016.] https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-00890637/document.

Seeley, Thomas D. 2006. Honey bees of the Arnot Forest: a population of feral colonies persisting with Varroa destructor in the northeastern United States. *hal.archieves-ouvertes.* [Online] 23. April 2006. [Zitat vom: 09. September 2016.] https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-00892236/document.

Seeley, Thomas D. und Griffin, Sean R. 2010. Small-cell comb does not control Varroa mites in colonies of honeybees of European origin. *www.researchgate.net.* [Online] 26. September 2010. [Zitat vom: 20. Februar 2017.] https://www.researchgate.net/publication/225570786_Small-cell_comb_does_not_control_Varroa_mites_in_colonies_of_honeybees_of_European_origin.

Seeley, Thomas D. und Tarpy, David R. 2007. Queen promiscuity lowers disease within honeybee colonies. *royalsocietypublishing.* [Online] 07. Januar 2007. [Zitat vom: 10. September 2016.] http://rspb.royalsocietypublishing.org/content/274/1606/67.short.

Tsuruda, Jennifer M., et al. 2012. High-Resolution Linkage Analyses to Identify Genes That Influence Varroa Sensitive Hygiene Behavior in Honey Bees. *extension.* [Online] November 2012. [Zitat vom: 11. September 2016.] https://extension.entm.purdue.edu/beehive/pdf/2012High_res.pdf.

von der Ohe, Werner. 2010. Anatomie Physiologie der Bienen. *llh.hessen.* [Online] März 2010. [Zitat vom: 10. September 2016.] https://www.llh.hessen.de/downloads/bieneninstitut/arbeitsblaetter/01_koerperbau/102%20-%20Anatomie_Physiologie_der_Bienen_10_Celle_Infoblatt.pdf.

—. 2006. Bienenbieologie - eine Einführung. *laves.niedersachsen.* [Online] Januar 2006. [Zitat vom: 17. August 2016.] www.laves.niedersachsen.de/download/.../Bienenbiologie_-_eine_Einfuehrung.pdf.

Weinstock, George M. und Robinson, Gene E. 2006. Insights into social insects from the genome of the honeybee Apis mellifera. *ncbi.nlm.nih.gov.* [Online] 26. Oktober 2006. [Zitat vom: 05. November 2016.] https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2048586/.

Yang, Xiaolong und Cox-Foster, Diana L. 2005. Impact of an ectoparasite on the immunity and pathology of an invertebrate: Evidence for host immunosuppression and viral amplification. *www.ncbi.nlm.nih.gov.* [Online] 16. Mai 2005. [Zitat vom: 04. Januar 2017.] https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1140434/.

Yang, Xiaolong. und Cox-Foster, Diana L. 2006. Effects of parasitization by Varroa destructor on survivorship and physiological traits of Apis mellifera in correlation with viral incidence and microbial challenge. *www.ncbi.nlm.nih.gov.* [Online] 02. November 2006. [Zitat vom: 2017. Januar 04.] https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17078903.

9. Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Reproduktive Phase der Varroamilbe http://www.imker-kv-erh.de/Dokumente/Varroabiologie_FZBienen2012.pdf 31
Abbildung 2: Frischgeschlüpfte Arbeiterbiene mit deformierten Flügeln (DWV) 32
Abbildung 3: Adultes Milbenweibchen in der phoretischen Phase auf einer Arbeiterbiene und einem Drohn 32
Abbildung 4: Genetische Zusammensetzung der weiblichen Nachkommen einer Königin, von Job van Praagh 33
Abbildung 5: Verteilung der VSH-Gene innerhalb des Genoms der weiblichen Nachkommen einer Königin, von Job van Praagh 33
Abbildung 7: Pedigree der Vt74, Europäische Buckfastimker, http://perso.fundp.ac.be/~jvandyck/homage/elver/event/Vt74(KK).14.GIF 34
Abbildung 6: Prinzip der Eindrohnbesamung auf genetischer Ebene, von Job van Praagh 34
Abbildung 8: Pedigree der Vt14, Europäische Buckfastimker, http://perso.fundp.ac.be/~jvandyck/homage/elver/reines/Vt14(RHO).13.html 35
Abbildung 9: Umlarven: drei Tage alte weibliche Larve auf Umlarvlöffel 35
Abbildung 10: Ablegen der Larve in die künstlichen Weiselnäpfchen von Nicot 36
Abbildung 11: Zuchtleisten in Zuchträhmchen 36
Abbildung 12: Erstellung eines Anbrüters 37
Abbildung 13: Angepflegte Weiselzellen mit ansitzenden Pflegebienen 37
Abbildung 14: Angepflegte Weiselzellen ohne Pflegebienen 38
Abbildung 15: Weiselzellen nach der Verdeckelung 38
Abbildung 16: Entnahme der verdeckelten Weiselzellen 39
Abbildung 17: Frisch geschlüpfte Königinnen 40
Abbildung 18: Erstellen von Begattungseinheiten 40
Abbildung 19: Schutz des Fluglochs mit einem Absperrgitter 41
Abbildung 20: Gestülpter Drohn 41
Abbildung 21: Testvölkchen mit ungefähr 2000 Bienen 42
Abbildung 22: Gesonderte Aufstellung der Testvölkchen 43
Abbildung 23: Bienen im Eimer mit Gitterboden 43
Abbildung 24: Bepuderte Bienen, Sicht durch den Gitterboden des Eimers 44
Abbildung 25: Ausgesiebte adulte Varroaweibchen 45
Abbildung 26: Infizierung der Testvölkchen 46
Abbildung 27: Arbeiterinnenbrutwabe mit kurz vor der Verdeckelung stehenden Larven 46
Abbildung 28: Eine Brutwabe eines Testvölkchens wird unter dem Binokular bearbeitet 47
Abbildung 29: Suche nach Puppen im richtigen Entwicklungsstadium 47
Abbildung 30: Geöffnete und ausgeräumte Brutzelle mit weißen Kotfelcken an der Zellwand 48
Abbildung 31: Mehrfach infizierte Brutzelle 48
Abbildung 32: Einfach infizierte Brutzelle mit adultem Milbenweibchen, Protonymphe und Männchen 49
Abbildung 33: Auswertungstabelle Vordruck, von BartJan Fernhout 50
Abbildung 34: Auswertungstabelle ausgefüllt 1 51
Abbildung 35: Auswertungstabelle ausgefüllt 2 52
Abbildung 36: Entwicklungsstufen der Arbeiterinnen- und Milbenbrut 53
Abbildung 38: Ergebnisse des VSH-Projekts Teil 2, von BartJan Fernhout 55
Abbildung 37: Ergebnisse des VSH-Projekts Teil 1, von BartJan Fernhout 55

10. Anhang

An der Varroaresistenz beteiligte Genloci und deren Vererbung

Wahrscheinlich spielen jedoch deutlich mehr Gene als eine Rolle, die auf mehrerlei Weisen vererbt werden. Dazu gehören dominante-rezessive und intermediäre Vererbung (vgl. Locke, 2015). Andere VSH-Gene werden epistatisch weitergegeben (vgl. Behrens, et al., 2011), die Wirkung eines Genlocus hängt also von einem anderen Genlocus ab (vgl. Carlborg, et al., 2004). Ferner ist es denkbar dass auch maternale Vererbung eine Rolle spielt.

Um QTL zu finden werden statistische Zusammenhänge zwischen phänotypischen Daten, bei uns das VSH-Verhalten bzw. Teile davon und genotypischen Daten, meist molekulare Marker, untersucht (vgl. Miles, et al., 2008).

Diese besagten QTL wurden in verschiedenen varroaresistenten Populationen weltweit gefunden. Dazu wurde beispielsweise die DNA konservierter Bienenproben von vor der Invasion der Varroa, bzw. von vor der Ausbildung von Resistenzen und Bienenproben, von nach der Ausbildung von Resistenzen, abgeglichen. So konnte in der varroaresistenten Population auf Gotland (Schweden) nach siebenjähriger Nichtbehandlung ein Rückgang der genetischen Diversität nachgewiesen werden, also ein genetischer Flaschenhals, wobei ein QTL auf dem siebten Chromosom auffällig wurde, der im Zuge der Studie mit einer reduzierten Varroareproduktion assoziiert wurde (vgl. Lattorff, et al., 2015). Eine weitere Studie mit Bienen derselben Population konnte auf den Chromosomen vier, sieben und neun QTL nachweisen, die einen hohen Einfluss auf die Wahrscheinlichkeit der Toleranzbildung gegenüber Varroa destructor besitzen. Bezeichnend dabei ist, dass diese drei Allele ihre volle Wirkung nur gemeinsam entfalteten und sich dabei als schwach additiv herausstellten, zumal deren Einfluss beim Fehlen eines Allels nahezu nicht messbar war. Es liegt offenbar ein Fall von Epistase vor (vgl. Behrens, et al., 2011). Des Weiteren konnte in der Population des USDA-VSH-Projekts (USA) auf den Chromosomen eins und neun QTL identifiziert werden, denen ein Einfluss auf die Fähigkeit der Arbeiterinnen, infizierte Brutzellen zu erkennen, zu öffnen und auszuräumen, zugesprochen wird (vgl. Tsuruda, et al., 2012). Auch in der wildlebenden Population des Arnot Forest (New York, USA) konnte ein weiterer QTL nachgewiesen werden. Dieser scheint auf das Lernen aversiver Gerüche Einfluss auszuüben und erleichtert somit den Bienen das Lernen des Aufspürens infizierter Brutzellen (vgl. Mikheyev, et al., 2015).

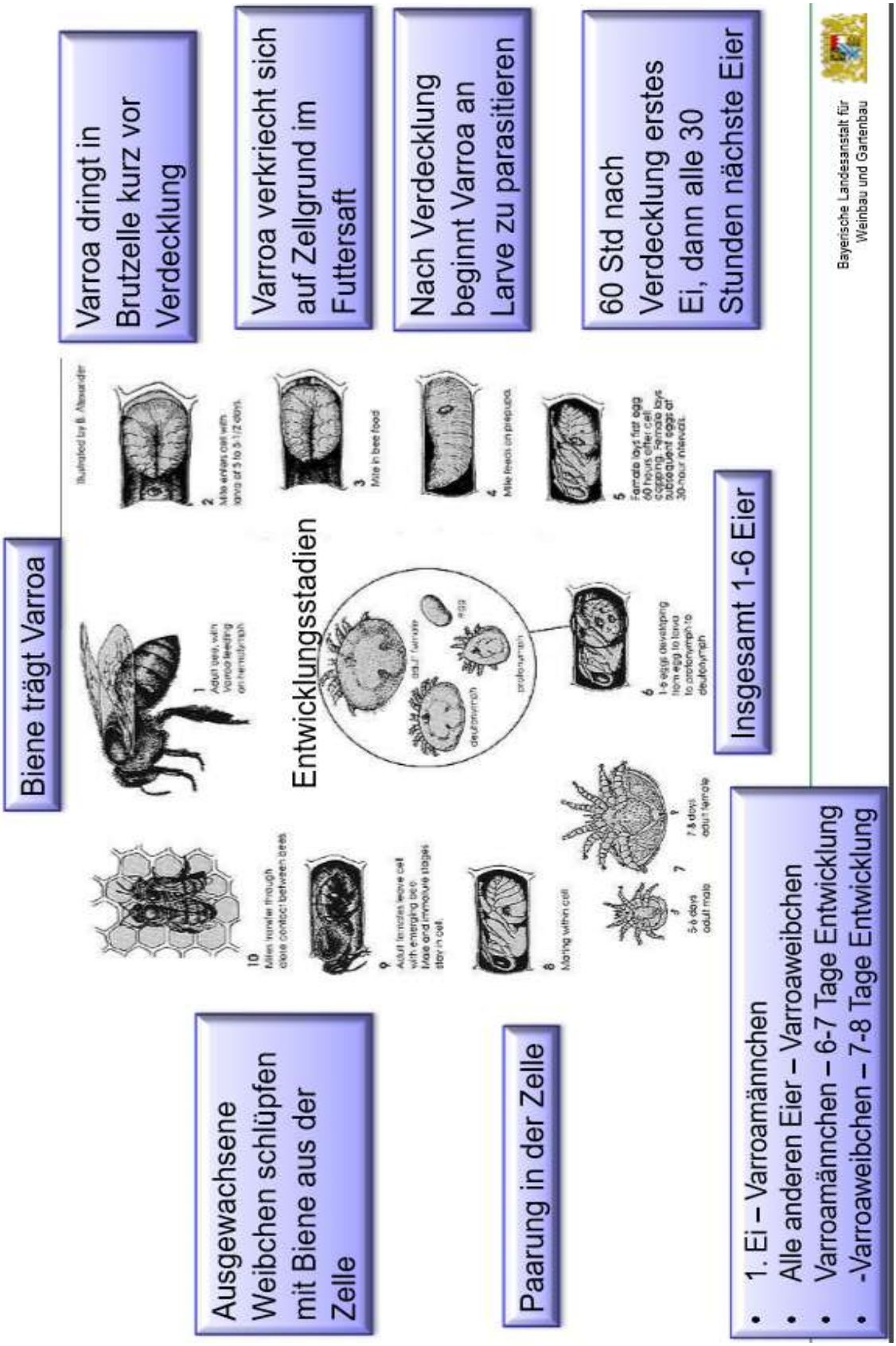


Abbildung 1: Reproduktive Phase der Varroamilbe

Abbildung 2: Frischgeschlüpfte Arbeiterbiene mit deformierten Flügeln (DWV)

Abbildung 3: Adultes Milbenweibchen in der phoretischen Phase auf einer Arbeiterbiene und einem Drohn

Abbildung 4: Genetische Zusammensetzung der weiblichen Nachkommen einer Königin

Abbildung 5: Verteilung der VSH-Gene innerhalb des Genoms der weiblichen Nachkommen einer Königin

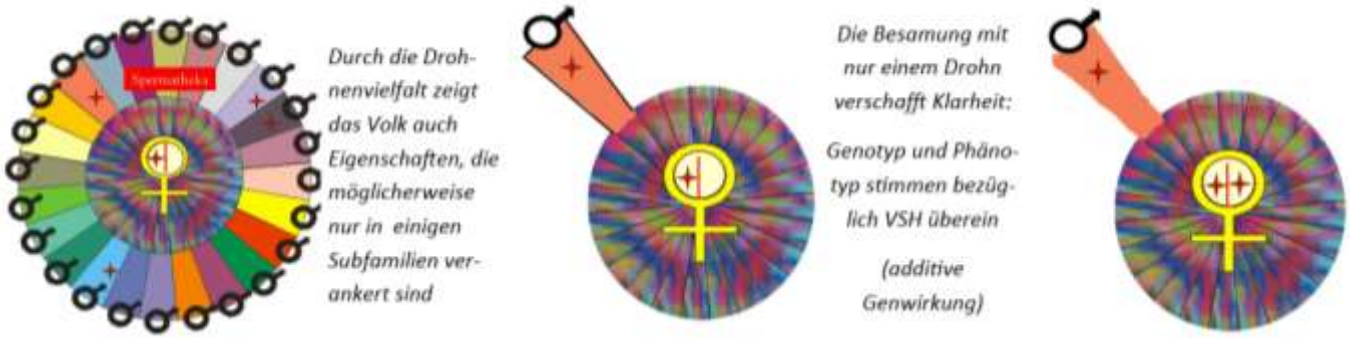


Abbildung 6: Prinzip der Eindrohnbesamung auf genetischer Ebene

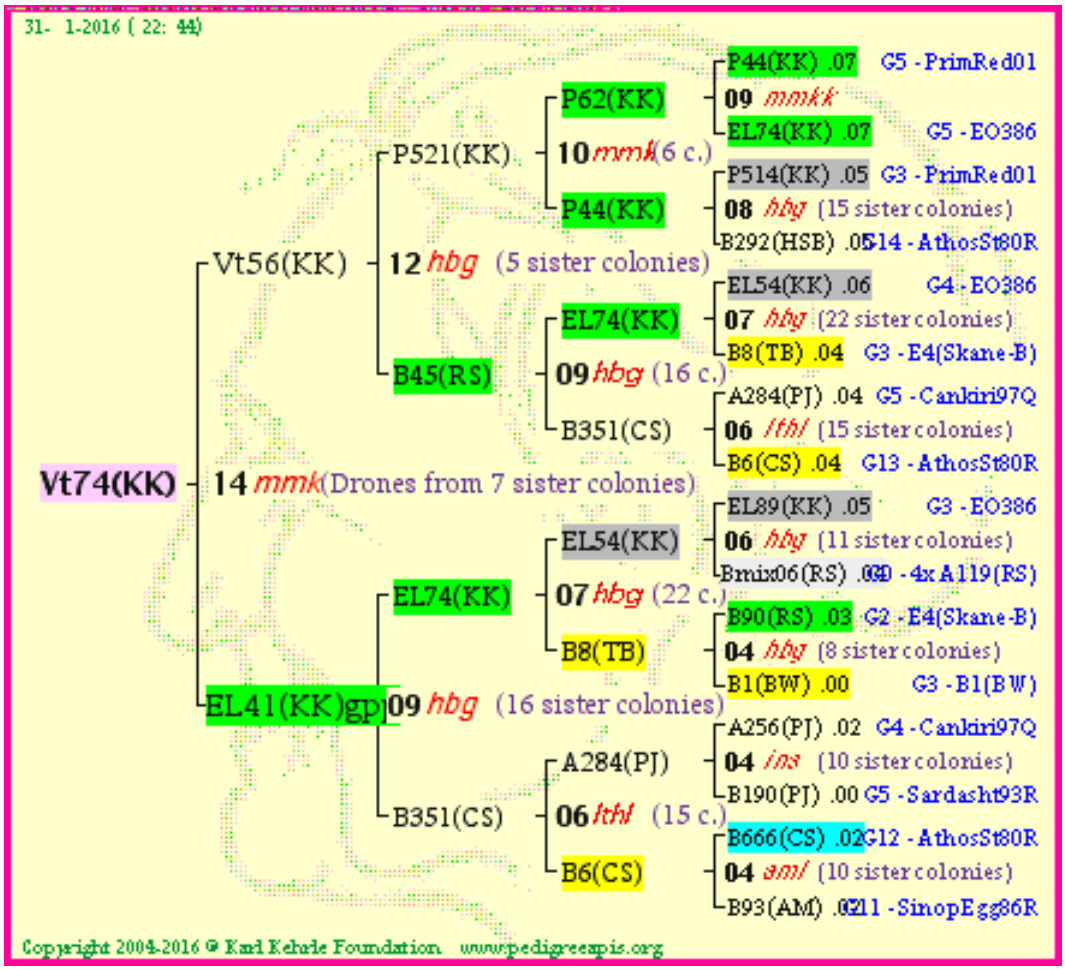


Abbildung 7: Pedigree der Vt74

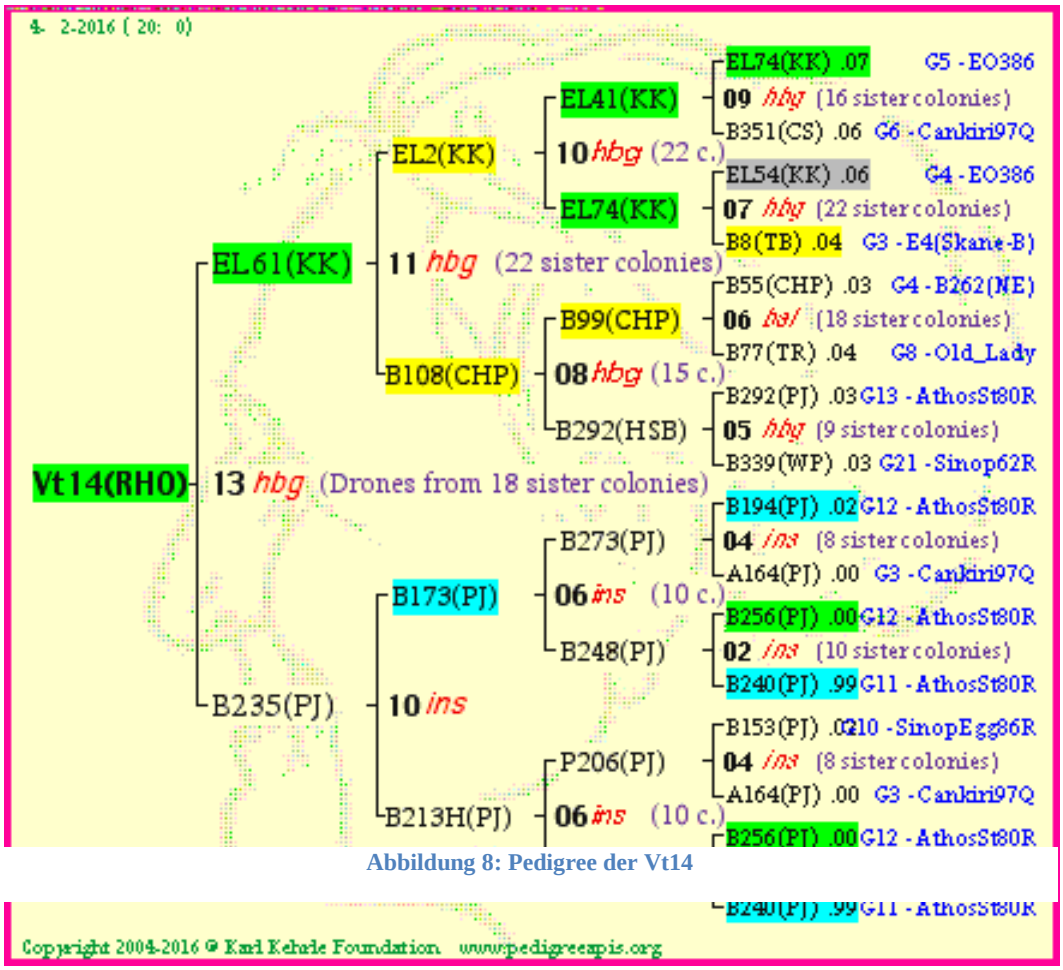


Abbildung 8: Pedigree der Vt14

Abbildung 9: Umlarven: drei Tage alte weibliche Larve auf Umlarvlöffel

Abbildung 10: Ablegen der Larve in die künstlichen Weiselnäpfchen von Nicot

Abbildung 11: Zuchtleisten in Zuchträhmchen

Abbildung 12: Erstellung eines Anbrüters

Abbildung 13: Angepflegte Weiselzellen mit ansitzenden Pflegebienen

Abbildung 14: Angepflegte Weiselzellen ohne Pflegebienen

Abbildung 15: Weiselzellen nach der Verdeckelung

Abbildung 16: Entnahme der verdeckelten Weiselzellen

Abbildung 17: Frisch geschlüpfte Königinnen

Abbildung 18: Erstellen von Begattungseinheiten

Abbildung 19: Schutz des Fluglochs mit einem Absperrgitter

Abbildung 20: Gestülpter Drohn

Abbildung 21: Testvölkchen mit ungefähr 2000 Bienen

Abbildung 22: Gesonderte Aufstellung der Testvölkchen

Abbildung 23: Bienen im Eimer mit Gitterboden

Abbildung 24: Bepuderte Bienen, Sicht durch den Gitterboden des Eimers

Abbildung 25: Ausgesiebte adulte Varroaweibchen

Abbildung 26: Infizierung der Testvölkchen

Abbildung 27: Arbeiterinnenbrutwabe mit kurz vor der Verdeckelung stehenden Larven

Abbildung 28: Eine Brutwabe eines Testvölkchens wird unter dem Binokular bearbeitet

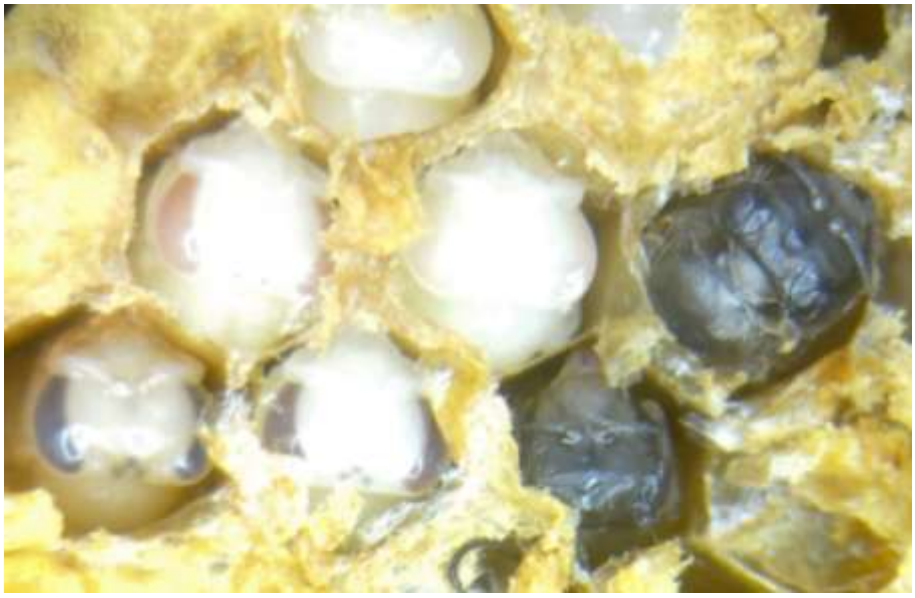


Abbildung 29: Suche nach Puppen im richtigen Entwicklungsstadium

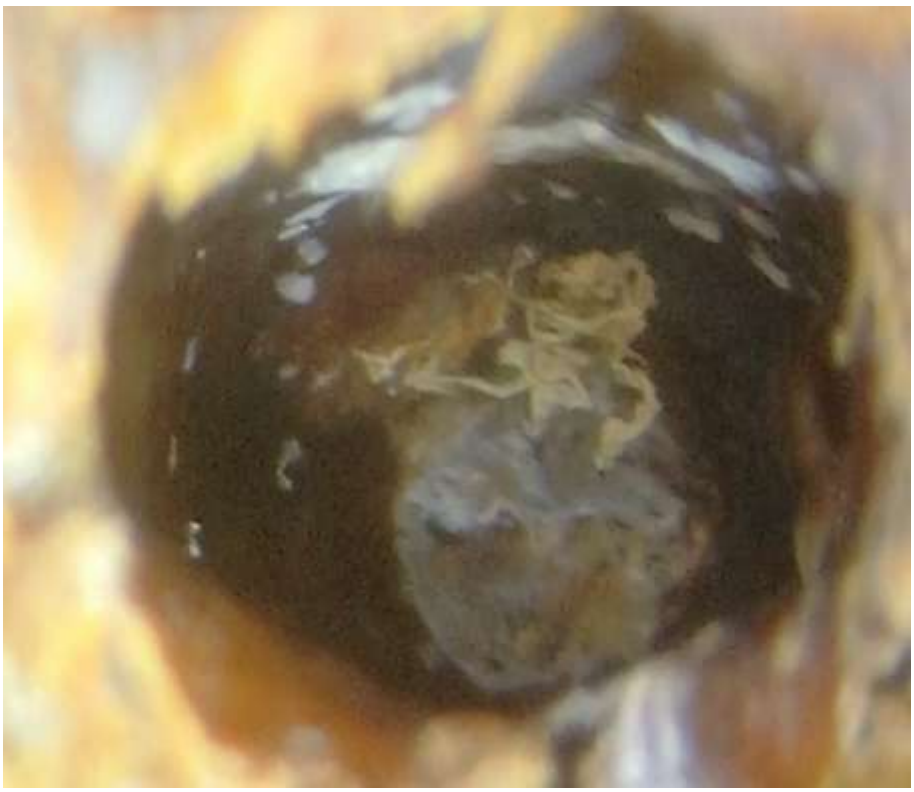


Abbildung 30: Geöffnete und ausgeräumte Brutzelle mit weißen Kotfelcken an der Zellwand

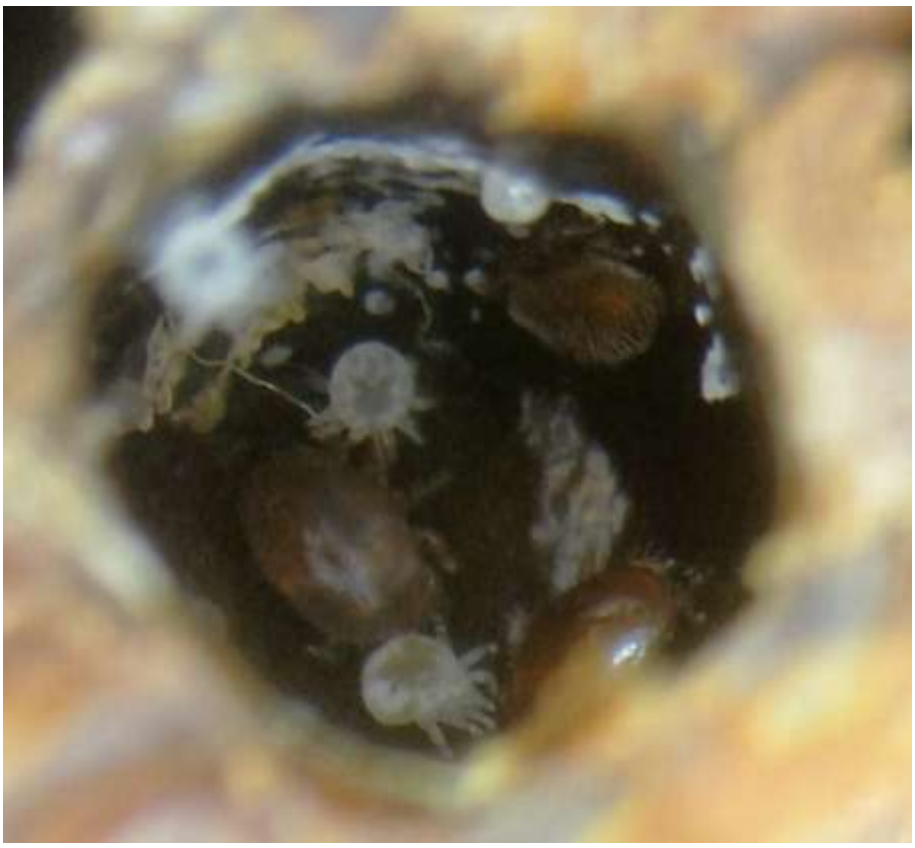


Abbildung 31: Mehrfach infizierte Brutzelle

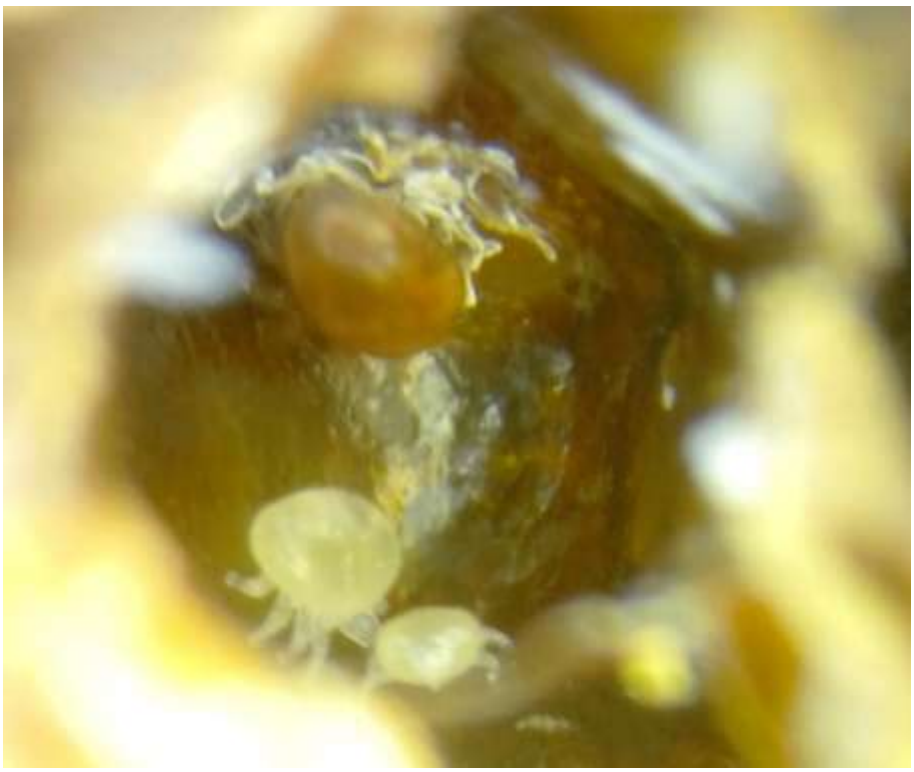


Abbildung 32: Einfach infizierte Brutzelle mit adultem Milbenweibchen, Protonymphe und Männchen

VSH Scoring form - Reproduction of Varroa								
Test colony:			Operator:		Date:			
Pedigree:								
Brood stage:		0 larva/prep.	1 white eyes	2 pink eyes	3 purple eyes	4 black eyes		
Infested cell	Investigated cell no	No of foundress mites	Adult daughters (no)	Deutonymph (no)	Protonymph female (no)	Male (no)	Brood stage (see above)	Single infested, non reproductive
1								
2								
3								
4								
5								
6								
7								
8								
9								
10								
11								
12								
13								
14								
15								
16								
17								
18								
19								
20								
21								
22								
23								
24								
25								
26								
27								
28								
29								
30								
Infest. Rate (inf. cells / investig. cells):		No of single infested cells (stage 3-4):		No of non reprod. Cells (stage 3-4):		Rate of non reproduction		

Abbildung 33: Auswertungstabelle Vordruck

VSH Scoring form - Reproduction of Varroa

Test colony: 5KK	Operator: Samuel Himes	Date: 6.8.
Pedigree: V74 × VA4		

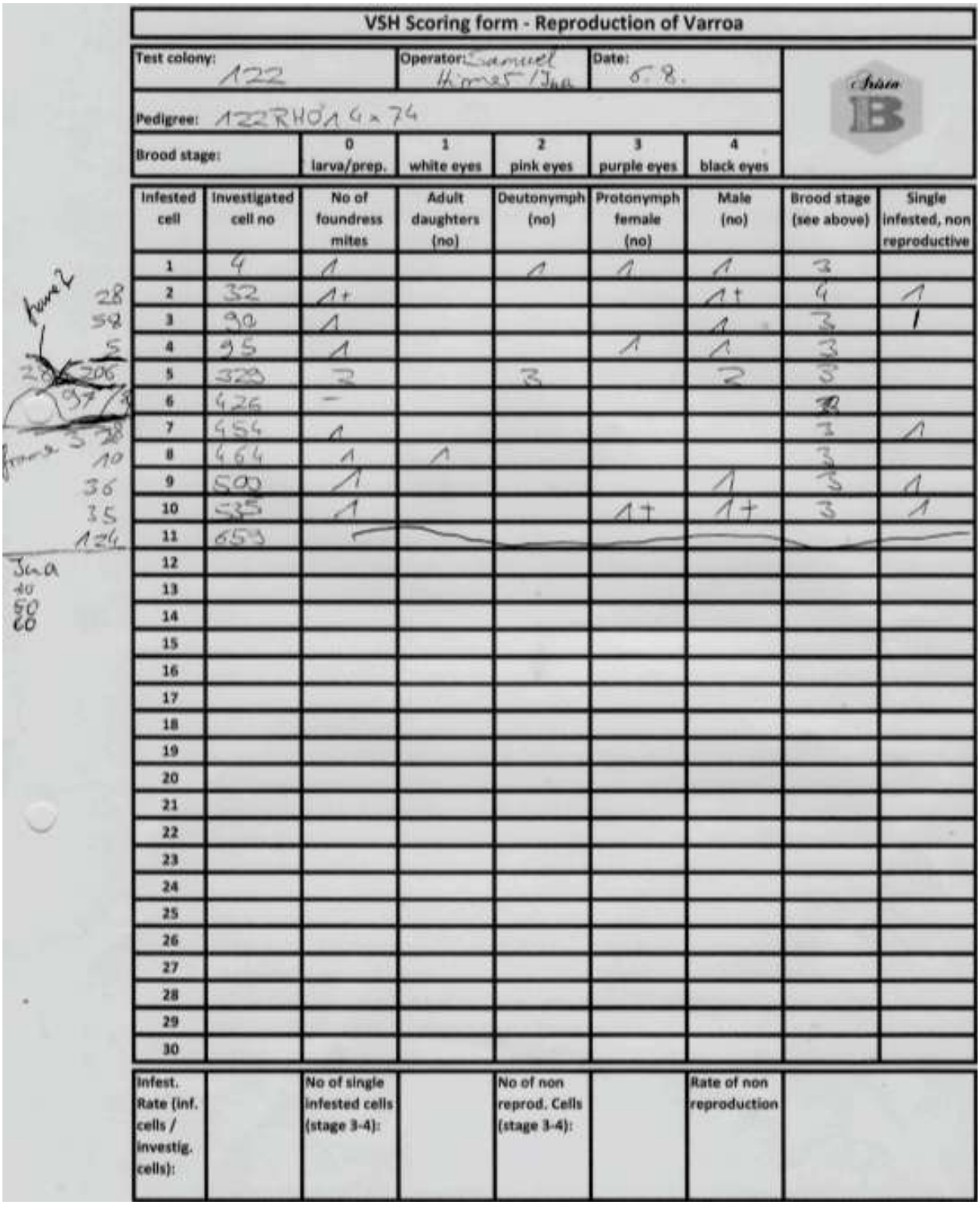
Brood stage:	0 larva/prep.	1 white eyes	2 pink eyes	3 purple eyes	4 black eyes

Infested cell	Investigated cell no	No of foundress mites	Adult daughters (no)	Deutonymph (no)	Protonymph female (no)	Male (no)	Brood stage (see above)	Single infested, non reproductive
1	214	1		1	1	1	3	
2	231	1+					3	1
3	256	1		1	1	1	1+4	
4	212	1		1	1	1	3	
5								
6								
7								
8								
9								
10								
11								
12								
13								
14								
15								
16								
17								
18								
19								
20								
21								
22								
23								
24								
25								
26								
27								
28								
29								
30								

Infest. Rate (inf. cells / investig. cells):		No of single infested cells (stage 3-4):		No of non reprod. Cells (stage 3-4):		Rate of non reproduction	

Brood frame 213
0 mites
2. frame
17
25
56
No Brood

Abbildung 34: Auswertungstabelle ausgefüllt 1



VSH Scoring form - Reproduction of Varroa

Test colony: A22 | Operator: Samuel Himmel / Jan | Date: 6.8.

Pedigree: A22RHOA 4x74

Brood stage:	0 larva/prep.	1 white eyes	2 pink eyes	3 purple eyes	4 black eyes

Infested cell	Investigated cell no	No of foundress mites	Adult daughters (no)	Deutonymph (no)	Protonymph female (no)	Male (no)	Brood stage (see above)	Single infested, non reproductive
1	4	1		1	1	1	3	
2	32	1+				1+	4	1
3	90	1				1	3	1
4	95	1			1	1	3	
5	323	3		3		3	3	
6	426	–					2	
7	454	1					3	1
8	464	1	1				3	
9	500	1				1	3	1
10	535	1			1+	1+	3	1
11	653							
12								
13								
14								
15								
16								
17								
18								
19								
20								
21								
22								
23								
24								
25								
26								
27								
28								
29								
30								

Infest. Rate (inf. cells / investig. cells):		No of single infested cells (stage 3-4):		No of non reprod. Cells (stage 3-4):		Rate of non reproduction	

Abbildung 35: Auswertungstabelle ausgefüllt 2

Days post capping	Brood stage	Eldest mite offspring	
3	prepupa		Varroa egg
4	pupa, white eyes		first proto-nymphe (male)
5	pupa, pink eyes		second proto-nymph (female)
7	pupa, purple eyes		first female deutonymph; adult male
10	pupa, brown head, black eyes		first adult daughter

Abbildung 36: Entwicklungsstufen der Arbeiterinnen- und Milbenbrut

Short comments	Hive	%VSH	Queen	Mother	Drone line	Single Inf.	Investigated	R cells	NR cells	NR rate	All inf.	**Inf. Rate**	Comments
	Stefan Luff												
	37	0	SDI	V74	V14	24	138	21	3	13%	27	20%	Two combs.
	41	12,5	SDI	V74	V14	17	144	13	4	24%	19	13%	
	27	12,5	SDI	V74	V14	18	119	14	4	22%	20	17%	
	16		SDI	V74	V14	25	77	16	9	36%	36	47%	Two combs. First comb 75% VSH, second comb 0% VSH...?Extreme high infestation - variable results combs. "Panic - VSH?".
	17	75	SDI	V74	V14	19	188	8	11	58%	30	16%	
	B01	62,5	**MDI**	V14	V74	18	134	11	7	39%	30	22%	Many mites added, but also 3 to 4 bodies.
	B06		**MDI**	V14	B71(SL)	2	230	2	0	0%	4	2%	5 dead foundress mites, no mites added, 3 to 4 bodies.
	B09	87,5	**MDI**	V14	V74	11	217	4	7	64%	12	6%	Many mites added, but also 3 to 4 bodies.
	M1	62,5	MDI	V14	V74	22	236	13	9	41%	26	11%	10 dead foundress mites, many mites in infestation. 3 to 4 bodies.Some other bees from other colony.

Short comments	Hive	%VSH	Queen	Mother	Drone line	Single Inf.	Investigated	R cells	NR cells	NR rate	All inf.	**Inf. Rate**	Comments
	Fritz Zieher												
	27-FZ	0	SDI	V14	V14	4	62	4	0	0%	9	15%	All 9 infested cells with complete families.
	1-FZ	0	SDI	V14	V14	6	114	5	1	17%	8	7%	
	3-FZ	50	SDI	V74	V14	19	154	12	7	37%	24	16%	
	5-FZ	87,5	SDI	V74	V14	17	146	6	11	65%	25	17%	
	4-FZ	0	SDI	V74	V14	8	152	7	1	13%	14	9%	
	34-FZ	25	SDI	V74	V14	24	157	18	6	25%	30	19%	
	36-FZ	12,5	SDI	V14	V14	22	215	17	5	23%	30	14%	
	32-FZ	62,5	SDI			21	113	13	8	38%	22	19%	
Aggressive, no recount.	31-FZ	75	SDI			12	170	5	7	58%	15	9%	

Short comments	Hive	%VSH	Queen	Mother	Drone line	Single Inf.	Investigated	R cells	NR cells	NR rate	All inf.	**Inf. Rate**	Comments
All 4.9 cellsize - 32 mm distance.	**Ralf Höling-Carsten Hupfer**												Most colonies 4.9 cellsize! 32 mm distance! All colonies had 100 mites added (sugar).
	128	0	SDI	V14	V74	3	447	3	0	0%	3	1%	Very low infestation - no VSH trigger?. No NR mites... ?? 4.9 ?!
	121	0	SDI	V14	V74	6	302	5	1	17%	6	2%	Very low infestation - no VSH trigger?. Just 1 NR mite... ?? 4.9 ?!
	130	0	SDI	V14	V74	3	230	2	1	33%	6	3%	Very low infestation - no VSH trigger?. Just 1 NR mite... ?? 4.9 ?!
	126	75	SDI	V14	V74	15	402	7	8	53%	15	4%	
	122	87,5	SDI	V14	V74	8	719	3	5	63%	9	1%	
	117 CHU	37,5	MDI	V14	V74	11	351	8	3	27%	15	4%	
	124	50	SDI	V14	V74	3	347	2	1	33%	3	1%	All brood counted.
	137	75	SDI	V14	V74	12	295	6	6	50%	12	4%	
	141	75	SDI	V14	V74	7	498	3	4	57%	9	2%	2 mites in 245 young brood (white eye and prepupa)
	123	25	SDI	V14	V74	4	525	3	1	25%	4	1%	
	136	87,5	SDI	V14	V74	21	556	5	16	76%	23	4%	
	127	87,5	SDI	V14	V74	8	513	2	6	75%	11	2%	
	135	62,5	SDI	V14	V74	14	382	8	6	43%	16	4%	

Short comments	Hive	%VSH	Queen	Mother	Drone line	Single Inf.	Investigated	R cells	NR cells	NR rate	All inf.	Inf. Rate	Comments
4.9 cellsize, 35 mm distance.	**Josef Koller**												Most colonies 4.9 cellsize! 35 mm distance.
	13	87,5	MDI	101 (V74*V74)	V14	7	425	1	6	86%	9	2,1%	3 dead foundress. 2 multi infested with R. Got 100 mites. All brood cour
	8	87,5	SDI	101	V14	6	260	2	4	67%	9	3,5%	Got 130 mites.
	9	75	SDI	101	V14	8	473	4	4	50%	9	1,9%	Got 140 mites.
Only 3 mites.	10	87,5	SDI	101	V14	3	345	1	2	67%	3	0,9%	Got 100 mites.
Only 4 mites - all dead.	11	100	SDI	101	V14	4	600	0	4	100%	4	0,7%	Got 120 mites. All 4 infested foundresses dead.
	12	0	SDI	101	V14	4	200	4	0	0%	5	2,5%	Got 100 mites. Only low VSH daughter from 101 (?).
	6	75	SDI	V74	V14	6	264	3	3	50%	7	2,7%	Got 140 mites.
	5	25	SDI	V74	V14	4	212	3	1	25%	4	1,9%	Got 140 mites.
	4	0	SDI	V74	V14	6	152	5	1	17%	6	3,9%	Got 120 mites.
	1	62,5	SDI	V74	V14	5	226	3	2	40%	5	2,2%	Got 110 mites.

Abbildung 38: Ergebnisse des VSH-Projekts Teil 1

Abbildung 37: Ergebnisse des VSH-Projekts Teil 2