ANNALES
UNIVERSITATIS MARIAE CURIE-SKŁODOWSKA
LUBLIN — POLONIA
VOL. XLVII, 10 SECTIO DD 1992

BAYERISCHE LANDESANSTALT FÜR BIENENZUCHT, BURGBERGSTRASSE 70, D-8520 ERLANGEN, DEUTSCHLAND

Peter ROSENKRANZ, Matthias STÜRMER

Ernährungsabhängige Fertilität der *Varroa*-Weibchen in Arbeiterinnen-Brut von *Apis mellifera carnica* und *Apis mellifera capensis*

Płodność samic *Varroa* w zależności od odżywiania się w czerwiu pszczelim krainki (*Apis mellifera carnica*) i pszczół południowoafrykańskich (*Apis mellifera capensis*)

Nutritionally Depended Fertility of *Varroa* in Worker Brood Cells of *Apis mellifera carnica* and *Apis mellifera capensis*

EINLEITUNG

Das Reproduktionsverhalten der *Varroa*-Weibchen in Arbeiterinnen-Brutzellen ist einer der wichtigsten Resistenzfaktoren im Verhältnis Honigbiene/*Varroa*-Milbe. Dafür spricht, daß in allen Fällen einer Varroatose-Toleranz die Fertilität der *Varroa*-Weibchen reduziert ist: Beim Ursprungswirt *Apis cerana* findet fast keine *Varroa*-Fortpflanzung in der Arbeiterinnenbrut statt und bei der afrikanisierten Bienen Südamerikas, dem bisher einzigen Fall einer langfristigen Varroatose-Toleranz bei *Apis mellifera*, bleiben immerhin knapp die Hälfte aller *Varroa*-Weibchen infertil. Bei den mitteleuropäischen *Apis mellifera*-Rassen dagegen scheinen derartige reproduktionshemmende Mechanismen nicht zu existieren. Unklar ist nach wie vor, welche Wirtsfaktoren die *Varroa*-Oogenese steuern und damit letztendlich für eine verringerte Milben-Fertilität verantwortlich sind.

In diesem Zusammenhang untersuchten wir den Einfluß der *Varroa*-Ernährung sowohl während der phoretischen Phase auf Adultbienen als auch während der Reproduktionsphase innerhalb der verdeckelten Brutzellen.

MATERIAL UND METHODEN

Die Versuche wurden ausschließlich mit künstlich infizierten Brutzellen durchgeführt. Dazu wurden *Varroa*-Weibchen von adulten Arbeiterinnen aus stark befallenen *Apis mellifera*-Völkern („Spendervölker") abgesammelt und in Arbeiterinnen-Brutzellen von „Empfängervölkern" eingesetzt. Die verdeckelten Brutzellen wurden mit einer spitzen Pinzette vorsichtig einen Spalt breit geöffnet, die Milbe eingesetzt und die Brutzelle anschließend mit einem flüssigen Tropfen

Bienenwachs wieder verschlossen. Nach 7 Tagen wurde der Anteil infertiler Milben, daß heißt Milben ohne Eiablage, erfaßt. Folgende Versuchsserien wurden durchgeführt:

1. Die *Varroa*-Weibchen wurden nach dem Absammeln sofort in frisch verdeckelte Arbeiterinnen-Brutzellen (0-4 h nach Zellverdeckelung) von *Apis mellifera carnica* und *Apis mellifera capensis*-Hybriden (*capensis* x *carnica* F1) eingesetzt. Die Völker beider Bienenrassen wurden am selben Standort gehalten.

2. Die *Varroa*-Weibchen wurden in Arbeiterinnen-Brutzellen von *Apis mellifera carnica* 8 h (6-10 h) nach der Zellverdeckelung eingesetzt. Dadurch sollte der Effekt einer verkürzten Ernährungsdauer auf frisch verdeckelten Larven erfaßt werden.

3. In weiteren Versuchen wurde der Einfluß einer Verlängerung der phoretischen Phase auf den Reproduktionserfolg der *Varroa*-Weibchen untersucht. Dazu wurde in den Spendervölkern die Königin 8 Wochen vor dem Absammeln der Milben ohne Möglichkeit zur Eiablage gesperrt; die Völker waren dadurch für mindestens 5 Wochen brutfrei. Die *Varroa*-Weibchen wurden anschließend in frisch verdeckelte *carnica*-Brutzellen eingesetzt.

4. Die *Varroa*-Weibchen wurden nach dem Absammeln für eine Hungerperiode von 7-18 h in einer feuchten Kammer bei 25°C (±2°C) ohne Wirt gehalten und danach in frisch verdeckelte Arbeiterinnen-Brutzellen von *Apis mellifera carnica* eingesetzt.

ERGEBNISSE

1. Von den in *Apis mellifera carnica*-Brutzellen eingesetzten *Varroa*-Weibchen blieben in 7 Versuchsserien ($n = 165$ Brutzellen) zwischen 0% und 19,8% infertil ($x = 10{,}3\%$). Zwischen den Frühjahrs-Versuchen ($x = 8{,}2\%$) und den Spätsommer-Versuchen ($x = 14{,}6\%$) wurden dabei geringe saisonale Schwankungen festgestellt. Bei den Parallelversuchen mit *Apis mellifera capensis* (8 Serien, $n = 229$) lag der Anteil infertiler *Varroa*-Weibchen mit durchschnittlich 34,1% (Min.: 23,5; Max.: 62,1) signifikant höher ($p < 0{,}001$ chi^2). Bei der Anzahl der abgelegten Eier pro fertilem Milben-Weibchen zeigten sich nur geringfügige rassenspezifische Unterschiede: In *Apis mellifera capensis*-Brutzellen wurden durchschnittlich 3,3 in *Apis mellifera carnica*-Brutzellen 3,9 *Varroa*-Eier abgelegt.

2. Von den *Varroa*-Weibchen, die erst 8 h nach der Zellverdeckelung in Arbeiterinnen-Brutzellen eingesetzt wurden, blieben 36,9% infertil (Abb. 1).

3. Nach einer künstlichen Verlängerung der phoretischen Phase auf mindestens 5 Wochen blieben 45,5% der in Brutzellen eingesetzten Milben-Weibchen ($n = 154$) ohne Reproduktion.

4. Eine Hungerphase der *Varroa*-Weibchen vor dem Einsetzen hatte einen erheblichen Einfluß auf die Milben-Fertilität. Bereits 7 h ohne Nahrungsaufnahme führten zu einem Anstieg der Infertilitätsrate auf 44%. Nach einer 12-18-stündigen Hungerphase blieben über 70% der Milben infertil (Abb. 2).

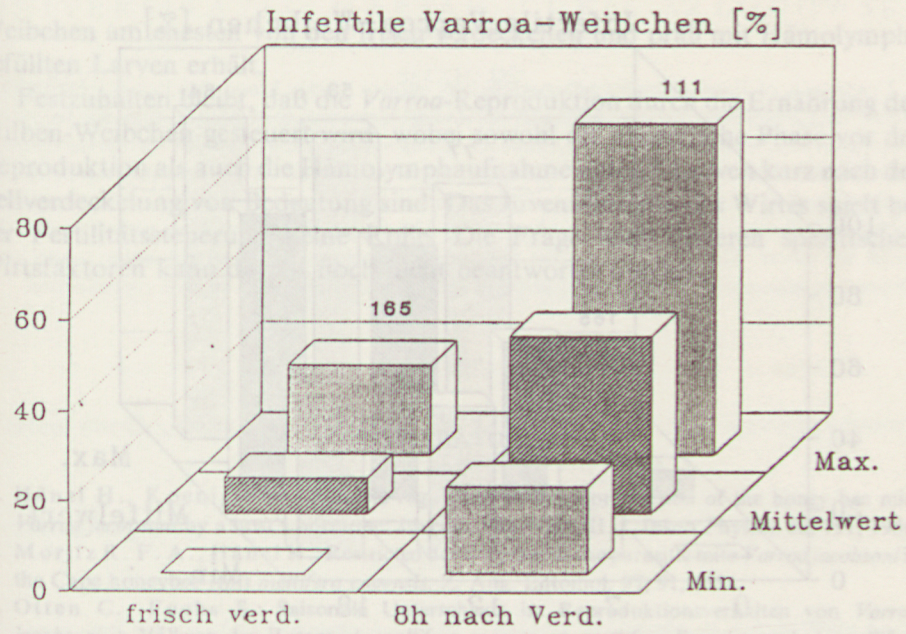

Abb. 1. Anteil der infertilen *Varroa*-Weibchen nach dem Einsetzen in Arbeiterinnen-Brutzellen, die frisch verdeckelt (linke Balken) bzw. bereits seit 8 h verdeckelt (rechte Balken) waren. Die Zahlen über den Balken geben die Anzahl an ausgewerteten Brutzellen an

Liczba niepłodnych samic *Varroa* po umieszczeniu w komórkach z czerwiem robotnic, krótko po zasklepieniu (lewy słupek) lub 8 godz. po zasklepieniu (prawy słupek). Liczby ponad słupkami oznaczają ilość przebadanych komórek

DISKUSSION

Eine reduzierte *Varroa*-Fertilität bei *Apis mellifera* wurde bisher fast ausschließlich von afrikanischen Bienenrassen beschrieben (4, 5). Unsere Einsetzversuche mit *Apis mellifera capensis*-Hybridvölker zeigen, daß auch die südafrikanische Kap-Biene über fertilitätshemmende Faktoren verfügt und daß diese Faktoren auch in der F1-Generation *capensis* x *carnica* noch wirksam sind. Neben der extrem kurzen Verdeckelungsdauer (2) ist dies ein weiterer Parameter, der diese Bienenrasse für Untersuchungen zur Varroatose-Resistenz interessant macht.

Bei den *carnica*-Völkern konnten dagegen in keinem einzigen Fall vergleichbar hohe Infertilitätsraten festgestellt werden. Allerdings ist auch hier der Reproduktionserfolg der *Varroa*-Weibchen relativ leicht zu beeinflussen und hängt offensichtlich von optimalen Ernährungsbedingungen vor und während der Reproduktionsphase ab. Eine Hungerphase direkt vor der Reproduktion führte ebenso zu einer Abnahme der *Varroa*-Fertilität wie eine Verlängerung der

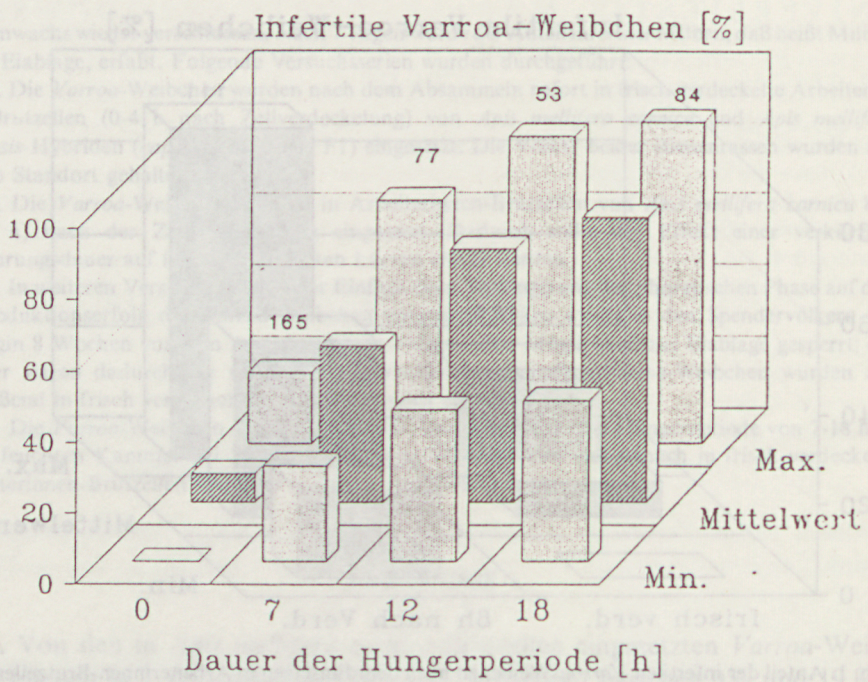

Abb. 2. Infertilitätsraten von *Varroa*-Weibchen, die vor dem Einsetzen in Arbeiterinnen-Brutzellen für 7-18 h gehungert hatten. Die Zahlen über den Balken geben die Anzahl an ausgewerteten Brutzellen an

Liczba niepłodnych samic *Varroa*, które przed umieszczeniem w komórkach poddano głodówce (7-18 godz.). Liczby ponad słupkami oznaczają ilość przebadanych komórek

phoretischen Phase auf den Adultbienen. Möglicherweise werden unter diesen Ernährungsbedingungen bei den *Varroa*-Weibchen Reservestoffe abgebaut, die sie für die Vitellogenese benötigen. Für die *Varroa*-Reproduktion wären adulte Bienen demnach suboptimale Wirtsstadien und lange phoretische Phasen der Milben-Weibchen würden den Reproduktionserfolg verringern. Dies könnte auch die niedrigen Fertilitätsraten der *Varroa*-Weibchen nach den brutlosen Wintermonaten erklären (3).

Für eine erfolgreiche *Varroa*-Reproduktion ist die Nahrungsaufnahme von frisch verdeckelten Larvenstadien essentiell (6). In unseren Versuchen führte bereits eine geringfügige Verkürzung der Parasitierungsdauer auf L5-Larven um weinige Stunden zu signifikant erhöhten Infertilitätsraten bei den *Varroa*-Weibchen. Welche Wirtsfaktoren dabei eine Rolle spielen, kann anhand unserer Versuche nur vermutet werden. Dem oft diskutierten Juvenilhormon der Wirtshämolymphe (1) kommt dabei mit Sicherheit keine Bedeutung zu, da in frisch verdeckelten Larvenstadien praktisch kein JH III nachweisbar ist (6). Denkbar wäre, daß für den Start der *Varroa*-Oogenese die Aufnahme einer bestimmten Menge an Wirtshämolymphe notwendig ist, die das *Varroa*-

Weibchen am ehesten von den frisch verdeckelten und prall mit Hämolymphe gefüllten Larven erhält.

Festzuhalten bleibt, daß die *Varroa*-Reproduktion durch die Ernährung der Milben-Weibchen gesteuert wird, wobei sowohl die phoretische Phase vor der Reproduktion als auch die Hämolymphaufnahme von L5-Larven kurz nach der Zellverdeckelung von Bedeutung sind. Das Juvenilhormon des Wirtes spielt bei der Fertilitätssteuerung keine Rolle. Die Frage nach anderen spezifischen Wirtsfaktoren kann derzeit noch nicht beantwortet werden.

LITERATUR

1. Hänel H., Koeniger N.: Possible regulation of the reproduction of the honey bee mite *Varroa jacobsoni* by a host's hormone: Juvenile Hormone III. J. Insect Physiol. **32**, 791, 1986.
2. Moritz R. F. A., Hänel H.: Restricted development of the parasitic mite *Varroa jacobsoni* in the Cape honeybee *Apis mellifera capensis*. Z. Ang. Entomol. **97**, 91, 1984.
3. Otten C., Fuchs S.: Saisonale Unterschiede im Reproduktionsverhalten von *Varroa jacobsoni* in Völkern der Rassen *A. mellifera carnica, A. mellifera ligustica* und *A. mellifera mellifera*. Apidologie **20**, 367, 1990.
4. Röpstorf P.: Vergleichende Untersuchungen zur Entwicklung der *Varroa*-Milbe an der ägyptischen Honigbiene *Apis mellifera lamarckii* und *Apis mellifera carnica*. Apidologie **19**, 512, 1989.
5. Rosenkranz P.: Der Einfluß larvaler Bienenhämolymphe auf die Fertilität von *Varroa jacobsoni* in europäischen und afrikanisierten Bienenvölkern. Apidologie **20**, 370, 1990.
6. Rosenkranz P., Rachinsky A., Strambi A., Strambi C., Röpsdorf P.: Juvenile hormone titer in capped worker brood of *Apis mellifera* and Reproduction in the bee mite *Varroa jacobsoni*. Gen. Comp. Endocrinol. **78**, 189, 1990.

STRESZCZENIE

Zebranymi z pszczół samicami *Varroa* porażono komórki z czerwiem robotnic. Po 7-10 dniach komórki te poddano badaniom w kierunku reprodukcji *Varroa*. Roztocze poddane w świeżo zasklepione komórki z czerwiem krainki wykazywały normalną reprodukcję. W czerwiu pszczół południowoafrykańskich stwierdzono niską płodność *Varroa*. U samic *Varroa*, które poddano do komórek z czerwiem kilka godzin po zasklepieniu, drastycznie malała wielkość reprodukcji. Stwierdzono wpływ na płodność roztoczy tzw. fazy głodowej, występującej między kolejnymi fazami rozwojowymi na czerwiu lub sztucznie przedłużonego czasu odżywiania się na pszczołach dorosłych. Tylko określone stadia gospodarza wykazują więc wpływ na „włączenie" wittelogenezy *Varroa*, charakteryzujące się krótszym okresem odżywiania się.

SUMMARY

The fertility of *Varroa* females within artificially infested worker brood cells varied according to bee race: in *A. mellifera capensis* hybrids a three fold higher percentage of infertile mites was recorded as compared to *A. mellifera carnica*. In *A. mellifera carnica* colonies the fertility of the *Varroa* females depended on their nutrition before and during the reproductive cycle. After a long phoretic period of 5 weeks as well as after starving phases of 7 to 18 hours the percentage of infertile mites increased significantly. Similar effects could be observed by shortening the parasitation period on freshly capped bee larvae. The results contradict the Juvenile hormone dependent regulation model and indicate a multifactorial influence of *Varroa* nutrition on the regulation of mite reproduction.