

Undersøgelse af forseglingsperiodens længde hos honningbiyngel (*Apis mellifera* L.) med henblik på forbedring af resistens mod Varroa-miden (*Varroa jacobsoni* Oud.)

The duration of closed cell stage in worker brood of Danish honey-bees (Apis mellifera L.) in relation to increased resistance to the Varroa mite (Varroa jacobsoni Oud.)

Chr. Schousboe

Resumé

Varigheden af biyngels udviklingstid i forseglet celle undersøgtes ved at sætte dronninger af forskellig afstamning i observationsstader med arbejderbier fra én bifamilie. Tidspunktet for forsegling af celler med dronningernes afkom bestemtes ved sammenligning af fotografier taget gennem stadernes glasvægge. Efter forseglingen sattes tavlerne i rugekasse, og tidspunktet for klækning af de unge bier bestemtes ved sammenligning af en ny serie fotografier.

Da de faktorer, der vides at kunne påvirke længden af biyngels udviklingstid, holdtes konstante, anses de fundne forskelle i udviklingstid for at være arveligt betingede. Længden af den forseglede periode varierede med mere end 1,15 døgn mellem afkom af dronninger af forskellig afstamning og med mere end 0,72 døgn mellem afkom af søsterdronninger.

Det er sandsynligt, at selektion vil kunne forkorte perioden i forseglet celle så meget, at bifamiliernes resistens mod Varroa-miden øges.

Nøgleord: Honningbi, *Apis mellifera* L., udviklingstid, Varroa-resistens.

Summary

Queens were introduced into several observation hives containing workers taken from a single colony. The time of cell closing was recorded by photographing through the panes of the hives after which the combs were incubated at $34 \pm \frac{1}{2}$ °C and 40–60% RH. The time of emergence of the bees (i.e. first piercing of cell cappings) was recorded by photographing. As influences from variations in temperature, from quality and quantity of larval food and from number, age and type of nurse bees were kept constant, the variations in duration of closed cell stage are regarded as being determined by heredity. Duration of closed cell stage in offspring from queens of different lines varied more than 1.15 days and more than 0.72 days between offspring from sister queens. No queens were inseminated. The results indicate that selection for quick hereditary determined development is a possible solution in the struggle against the Varroa mite.

Key words: Honeybee, *Apis mellifera* L., brood development, Varroa resistance.

Indledning

Forskelle i arbejdersyngelens udviklingshastighed hos racer af den europæiske honningbi (*Apis mellifera* L.) har i de seneste år påkaldt sig opmærksomhed, fordi bier med hurtig yngeludvikling kan være helt eller delvis resistente over for den parasitiske Varroa-mide (*Varroa jacobsoni* Oud.). Miden parasiterer biyngelen i dennes forseglede periode, dvs. i tiden fra lukningen af larvecellerne og til de nye bier gnaver sig ud af cellerne (klækning). Parasiterede bier dør eller svækkes, og bifamilien dør i løbet af 3–4 år.

Den første Varroa-mide i Danmark blev fundet i 1984 (Als), og det frygtes, at miden kan være spredt til store dele af landet i løbet af få år.

Sædvanligvis sætter man varigheden af arbejdersyngels forseglede periode til 12 døgn, men nøjagtige undersøgelser af forskellige racer har vist, at der forekommer store forskelle. Moritz og Hänel (7) fandt hos Kap-bien (*Apis mellifera capensis*) en gennemsnitlig tid i forseglet celle på 9,6 døgn og 12,0 døgn hos carnica-bien (*Apis mellifera carnica*) (termostat 35°C). Fremuth (2) fandt, at tiden i forseglet celle varierede fra 12,7 døgn ved 30°C til 10,56 døgn ved 36°C (termostat), og at den var 10,7 døgn, hvis cellerne forblev hos bifamilien (race ukendt).

Hos den græske honningbi (*Apis mellifera cerropia*) går der ca. 10,0 døgn fra forsegling af en Varroa-inficeret arbejdercelle og til den første Varroa-dattermide er fuldvoksen; 2,5 og 3,7 døgn senere er henholdsvis 2. og 3. dattermide fuldvoksen (3). Jo hurtigere biyngelen udvikler sig, des mindre er midens formering og dermed skadevirkningen på bifamilien.

Hos den indiske honningbi (*Apis cerana* Fabr.), der er Varroa-midens naturlige vært, formerer miden sig kun i dronceller (5). Hos europæiske racer af europæisk honningbi kan miden formere sig både i drone- og arbejderceller. Da man ad biavlsteknisk vej kan hindre udvikling af droner i bifamilierne, kan eftersøgning af Varroa-resistens hos europæisk honningbi indskrænkes til undersøgelse af arbejderbier.

Ved brug af forsøgsopstillinger og -metoder, der eliminerer indflydelse fra variationer i tempe-

ratur, larvefoders mængde og kvalitet, samt ammebiens antal, alder og afstamning, undersøgte varigheden af udviklingstid i forseglet celle hos danske typer af europæisk honningbi.

Metodik

I en uopvarmet træbygning blev der opsat 15 observationsstader, hver med plads til 2 tavler. Den ene tavle var en yngeltavle med forseglet og i de fleste tilfælde også med åben yngel; den anden tavle var en jomfrutavle eller kunsttavle. Observationsstaderne forsynedes med 3/4–1/1 tavlefuld unge bier (ammebier) fra samme bifamilie og fra den samme bifamilie, som yngeltavlerne var taget fra.

Danske dronninger blev under CO₂-narkose undersøgt for Varroa-mider og ydre defekter, og indførtes derefter i observationsstaderne med netbure (curlere).

Bierne blev fodret med en dej af pollen og sukervand gennem et hul i stadernes bund. Pollenfodringen startedes inden dronningerne blev indført, og af hensyn til arbejderbiernes produktion af larvefoder var der hele tiden adgang til friskblandet pollenfoder og til sukker, enten i honningceller i tavlerne eller i foderglas med sukervand. Gennem et 5 mm stort hul i en af stadernes glassider placeredes 2 nipsenåle som målepunkter i hver yngeltavle.

Når et passende antal af den indførte dronnings afkom var næsten fuldvoksne larver, begyndte 1. fotografering: tobaksrøg blæstes ind gennem hullet i glassiden, således at bierne fjernedes fra et udvalgt tavlestykke, og inden de vendte tilbage, blev tavlestykket fotograferet gennem glasset. Fotograferingen gentoges hver tredje time et døgn igennem, mens cellerne i tavlestykket blev forseglet af bierne. Staderne blev ikke åbnet under opfostringen eller under 1. fotografering.

Efter 1. fotografering flyttedes yngeltavlerne (uden bier) til en rugekasse. Nyklækkede bier fjernedes fra rugekassen hver eller hver anden dag.

I løbet af 11. eller 12. døgn efter starten af 1. fotografering begyndte 2. fotografering: fotografier blev taget hver tredje time et døgn igennem,

mens de unge bier åbnede cellerne og kravlede ud. Ved hver fotografering var tavlerne fjernet fra rugekassen i 5–10 sekunder.

Efter 2. fotografering undersøgtes indholdet af de endnu ikke åbnede celler, og forskellige kategorier af indhold (levende puppe, levende bi, død puppe/bi) markeredes ved placering af forskellige typer nipsenåle i cellerne; derefter blev der taget endnu et fotografi (undersøgelsesfoto).

Ved sammenligning af fotos fra 1. fotografering blev det fastlagt, i hvilken periode (af 3 timers varighed) de enkelte celler var blevet forseglet. Ved sammenligning af fotos fra 2. fotografering fastlagdes det, i hvilken 3-timers periode de enkelte celler var blevet åbnet. Celler med selv et lille hul i låget betragtedes som endnu ikke lukkede eller som allerede åbnede. Ved sammenligning af perioder med forsegling og med celleåbning kunne det fastlægges, i hvilken 6-timers periode, f.eks. 11,5–11,75 døgn, varigheden af de enkelte cellers forseglede periode lå. Alle de celler, hvis periode som forsegllet lå inden for en af disse 6-timers perioder, ansås for at have været forsegllet i en tid svarende til tidspunktet midt i 6-timers perioden; i ovennævnte eksempel 11,63 døgn. Ved sammenligning med undersøgelsesfotos var det muligt at se bort fra celler, der ikke var blevet åbnet, fordi indholdet var dødt. Hvis ikke alle celler (med levende indhold) var åbne ved 2. fotografering, kunne den gennemsnitlige forseglingstid ikke beregnes; tilsvarende kunne beregning ikke ske hvis ingen celler var åbne ved 2. fotografering.

Dronningerne betegnedes med en kode bestående af et bogstav for afstamningstype og et tal for individet, f.eks. F-2. Der undersøgtes afkom af 9 afstamningstyper, hvoraf 6 typer (B, C, E, F, J og M) var danske dronningeavlernes linier af italiensk afstamning. Type H var en »skovbi« – en ukontrolleret krydsning mellem importerede typer og dansk brun bi. Afstamningstype P og Q var carnica-bier. Der blev anskaffet dronninger af flere typer end de nævnte (f.eks. dansk brun bi fra Læsø), men deres afkom kunne ikke undersøges på grund af den da fremskredne årstid (midt i september): dronningerne standsede æglægningen

eller arbejderbierne åd al yngel; begge dele er naturlige mekanismer til regulering af bifamiliens årsrytme. Alle dronningerne (undtagen H-1) var parrede på dronningeavlernes parringspladser.

Valg af bifamilier til levering af yngeltavler og ammebier til undersøgelserne foretoges ud fra bedømmelse af familiestørrelse og yngellejets størrelse. Typerne af ammebier betegnedes med farvenavne: grøn, blå, rød, hvid og sort, og de var alle af italiensk afstamning (cubitalindeks henholdsvis $2,59 \pm 0,11$; $2,37 \pm 0,07$; $2,32 \pm 0,06$; ikke målt; $1,92 \pm 0,05$).

I alt undersøgtes udviklingstiden hos afkom af 17 dronninger i 23 kombinationer med ammebier af forskellig type. I hver kombination sigtedes der mod undersøgelse af mindst 25 yngelindividers udvikling, men svag æglægning, ammebiers ædning af æg og smålarver, samt yngelsygdomme (sækengel og kalkengel), bragte i nogle tilfælde antallet længere ned. Undersøgelserne, dvs. 1. fotograferingerne, foretoges i tiden 4. juli til 30. august.

1. fotografering skete inden forsøgsdronningernes eget afkom klækkede og begyndte at producere larvefoder (undtagen, hvor dronninger undersøgtes i kombination med egne arbejderbier: dronning B-1 med grønne bier, samt dronning E-1).

I forsøgsserierne med blå og røde ammebier blev nogle observationsstadens ammebier brugt til opfostring af 2 dronningers afkom eller af 2 hold afkom af samme dronning. I disse tilfælde begyndte sidste 1. fotografering senest 19 døgn efter klækning af de sidste ammebier. Undtagelser herfra var 1) Q-1-afkom, der fotograferedes, da yngste ammebier var 24 døgn gamle og 2) afkom af E-1-II, J-2, J-3 og M-2, der fotograferedes, da yngste ammebier var 26 døgn gamle.

Klimaforholdene i rugekassen blev valgt med henblik på en normal yngeludvikling. Relativ luftfugtighed mellem 20 og 80% tillader normal udvikling (4), og i rugekassen lå luftfugtigheden mellem 40 og 60% RF (målt med bimetalhygrometer, Rüeget). Normal yngeludvikling finder sted i temperaturintervallet 32–37°C og udviklingen er hurtigst ved 36°C (optimum) (2,9). Under

forsøgene styrede en termostat rugekassetemperaturen til $34 \pm \frac{1}{2}^{\circ}\text{C}$ (én føler). En ventilator sikrede konstant luftbevægelse.

Resultater

Resultaterne af undersøgelserne fremgår af tabel 1 og fig. 1. Resultater fra forskellige forsøgsserier er ikke direkte sammenlignelige.

På grund af den valgte undersøgelsesmetodik kan forskelle i udviklingstid inden for de enkelte forsøgsserier betragtes som arveligt betingede.

I serien med grønne ammebier (fig. 1a) var største forskel i forseglede periode 0,58 døgn (forskel mellem afkom af dronning B-1 og C-2), i se-

rien med blå bier (fig. 1b) var største forskel mere end 0,72 døgn (dronning J-2 og M-2) og med røde bier (fig. 1c) mere end 1,15 døgn (dronning H-1 og bl.a. J-1).

Mellem søsterdronningers afkom var forskellen i forseglede periode 0,53 døgn (dronning C-2 og C-3) (fig. 1a) og mere end 0,72 døgn (dronning J-2 og J-3) (fig. 1b).

Afkom af carnica-dronningerne P-3 og Q-1 (fig. 1c) havde relativ stor forskel i forseglingsperiode, 0,75 døgn, og P-3-afkommet var forseglede i kortere tid end afkom af flere italienerdronninger.

De fundne forskelle i udviklingshastighed ty-

Tabel 1. Varighed af arbejdsryngens forseglede periode. E-1-I og E-1-II er første og andet hold afkom af dronning E-1 med de samme ammebier. * = ammebiers egen dronning (moder).

*Duration of closed cell stage. E-1-I and E-1-II are first and resp. second rearing by the same lot of nurses. * = queen and her own offspring as nurses.*

Ammebier <i>Nurse types</i>	Dronning <i>Queen</i>	Antal yngelindivider <i>Brood individuals</i>		Forseglede periode (døgn) <i>Duration of closed cell stage (days)</i>
		bier klækkede <i>bees emerged</i>	bier ikke klækkede <i>bees not emerged</i>	
Grøn <i>Green</i>	B-1*	68		11,25 ± 0,02
	C-2	11		11,83 ± 0,05
	C-3	97		11,30 ± 0,01
Blå <i>Blue</i>	B-1	16	89	> 12,0
	C-2	0	22	>>12,0
	C-3	0	56	>>12,0
	E-1-I*	0	19	>>12,0
	E-1-II*	0	29	>>12,125
	F-2	0	56	>>12,0
	F-3	5	123	> 12,0
	H-1	0	26	>>12,0
	J-2	11		11,78 ± 0,02
	J-3	3	9	> 12,5
M-2	0	37	>>12,5	
Rød <i>Red</i>	C-2	0	37	>>12,5
	H-1	43		11,35 ± 0,03
	J-1	0	6	>>12,5
	M-3	7		11,73 ± 0,17
	P-3	11		11,75 ± 0,05
Q-1	0	21	>>12,5	
Hvid <i>White</i>	P-2	0	72	>>12,5
Sort <i>Black</i>	Q-2	0	37	>>12,5
	Q-3	0	33	>>12,5

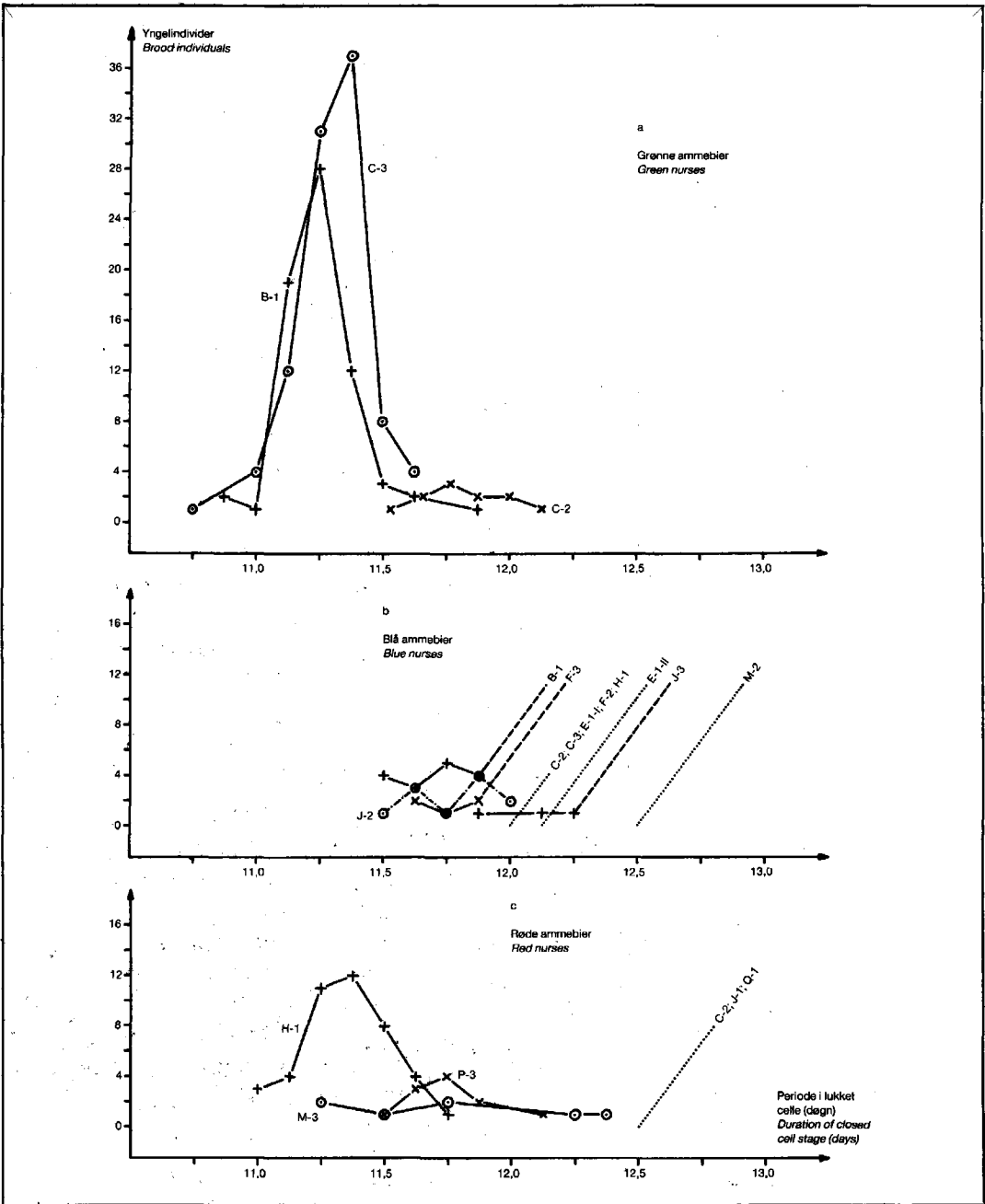


Fig. 1a, b og c. Varighed af forseglet periode hos afkom af dronninger i kombinationer med grønne ammebier (a), blå ammebier (b) og med røde ammer (c). Dronningerne er betegnet med et bogstav for afstamningstype og et tal for individet. Stiplet: hypotetisk kurve (kun få bier klækkede under forsøget). Prikket: imaginær kurve (ingen bier klækkede under forsøget).

Duration of closed cell stage in progeny of queens in combinations with 3 types of nurses: green (a), blue (b) and red (c). Queens are named with a letter for type and a figure for the individual. Dashed: hypothetical curve (few bees emerged during trial). Dotted: imaginary curve (no bees emerged during trial).

der på, at selektion vil kunne forkorte udviklings-tiden så meget, at det vil have virkning på Varroa-midens formering.

I forsøgsserien med blå bier var yngelens udviklingstid generelt længere end i serierne med grønne og røde bier. Dronningerne C-2 og C-3 undersøgtes i kombinationer med både blå og grønne bier, og i begge tilfælde var yngelens udviklingstid kortere med grønne end med blå ammebier. Dette tyder på en lavere rugekassetemperatur i serien med blå bier. En sådan lavere temperatur fremgår dog ikke af noteringerne af de rugekassetemperaturer, der lå uden for intervallet 33,5–34,5°C.

Diskussion

Honningbiernes yngel er normalt placeret i celler, der ligger ved siden af hinanden, således at der opstår sammenhængende yngelfelter på tavlerne. Yngelens udviklingshastighed vides at kunne variere lidt efter placeringen i yngelfeltet: midt i feltet, hvor temperaturen er højst, er udviklingen hurtigere end i feltets yderkanter (6). Da bierne opretholder en højere og mere konstant temperatur ved åben end ved forseglede yngel, antages denne forskel i udviklingstid at skyldes temperaturforskelle under den forseglede periode fremfor under den kortere tid som åben yngel. Under flytningen af tavlerne fra staderne til rugekassen, samt under fjernelserne af unge bier fra rugekassen, har afkølingen af cellerne i de små yngelfelters yderkant været kraftigere end afkølingen midt i felterne. Disse forskelle i afkøling antages at have været så små, at deres effekt på udviklingshastigheden ikke afspejler sig i resultaterne. Forskellig placering af yngelen i mere eller mindre sammenhængende felter (eller yngel på begge eller kun på den ene side af tavlerne) antages heller ikke at have påvirket resultaterne.

Resultaterne for afkom af dronningerne E-1-II, J-2, J-3 og M-2 (blå ammebier) og dronning Q-1 (røde ammebier) er næppe fuldt sammenlignelige med andre resultater i samme forsøgsserier, dels fordi det undersøgte afkom var opfostret af ældre ammebier, og dels fordi opfostringen skete så meget senere, at yngelens langsommere udvik-

ling senere på året (lavere respiration, 8) kan have indvirket på resultaterne.

Varroa-midens formering i en bifamilie afhænger ikke alene af den gennemsnitlige varighed af biyngelens forseglede periode, men også af hvor mange celler der er forseglede i længere tid end gennemsnittet, dvs. af variationen i cellernes forseglingsstid. Af 2 bifamilier med samme gennemsnitlige udviklingstid vil den med mindst variation have størst resistens mod miden. Muligvis forårsagede den suboptimale temperatur i rugekassen, at variationen var større, end den ville være, hvis yngeludviklingen var sket i bifamilier.

Endnu vides det ikke, om det er 1) sidste hudskifte, 2) den unge bis bevægelser i den lukkede celle, 3) den første gennembrydning af cellelåget eller 4) biens endelige udgravning af cellen, der standser Varroa-dattermidernes udvikling eller hindrer deres parring. De fundne forskelle i længde af den forseglede periode kan derfor ikke direkte omregnes til muligt antal dattermidler.

Undersøgelsen beskæftigede sig ikke med forskelle i bifamiliers yngeltemperatur, og de opnåede resultater bør ikke forveksles med yngelens faktiske udviklingstid i bifamilierne. Det vides, at bifamilier kan have mindst 2 graders forskel i den temperatur, arbejderbierne opretholder i klyngen (1), og ifølge *Fremuth* (2) vil 2 graders forskel i yngeltemperatur kunne betyde ca. 1 døgn's forskel i faktisk udviklingstid. De fundne forskelle i udviklingstid kan derfor tænkes at blive mindsket eller udlignet af forskelle i yngeltemperaturer i bifamilierne; tilsvarende er en forstærkende virkning også mulig.

Yderligere undersøgelser vil kunne vise, i hvilken grad udviklingstiden kan forkortes v.hj.a. avlssystemer, der giver bifamilierne en høj yngeltemperatur, nemlig selektion for høj temperatur, mindsning af indavl og udnyttelse af heterosis-effekt ved krydsning af indavlede linier.

Konklusion

Der er stor forskel i varigheden af biyngels udviklingstid i lukket celle. Forskellene anses for at være arveligt betingede og for at være så store, at selektion vil kunne frembringe bier med så kort

udviklingstid, at resistensen mod *Varroa*-miden øges.

Erkendtlighed

Undersøgelsen gennemførtes som et tværinstitutionelt samarbejde mellem Statens Bisygdomsnævn og Statens Biavlsforsøg og finansieredes af Tuborgfondet og Statens Jordbrugs- og Veterinærvidenskabelige Forskningsråd.

Litteratur

1. Brückner, D. 1975. Die Abhängigkeit der Temperaturregulierung von der genetischen Variabilität der Honigbiene (*Apis mellifera*). *Apidologie* 6, 361–380.
2. Fremuth, W. 1985. Einfluss der Temperatur auf die Wirts-Parasit Beziehung Biene-Varroa Milbe. *Apidologie* 16, 211–212.
3. Infantidis, M. D. 1983. Ontogenesis of the mite *Varroa jacobsoni* in worker and drone honeybee brood cells. *J. Apic. Res.* 22, 200–206.
4. Jay, S. C. 1961. Laboratory studies on the rearing, growth and development of the honey bee (*Apis mellifera* L.). Ph. D. Thesis, Univ. London.
5. Koeniger, N., Koeniger, G. & Delfinado-Baker, M. 1983. Observations on mites and Asian honeybee species (*Apis cerana*, *Apis dorsata*, *Apis florea*). *Apidologie* 14, 197–204.
6. Milum, V. G. 1930. Variation in time of development of the honey bees. *J. econ. Ent.* 23, 441–447.
7. Moritz, R. F. A. & Hänel, H. 1984. Restricted development of the parasitic mite *Varroa jacobsoni* Oud. in the Cape honeybee (*Apis mellifera capensis* Esch.). *Z. angew. Entomol.* 97, 91–95.
8. Nedoluzhenko, Y. B. 1981. The intensity of gaseous exchange in larvae and pupae of summer and autumnal populations of the honeybee *Apis mellifera*. *Apicultural Abstracts* 519/83.
9. Soose, E. 1954. Einfluss der Temperatur auf die Ausgestaltung von Flügelindex und Panzerfarbe der Honigbiene (*Apis mell.*). *Arch. Bienenk.* 31, 49–66.

Manuskript modtaget den 1. december 1986.