

---

**Untersuchungen zu natürlicher und manipulierter  
Aufzucht von *Apis mellifera*: Morphologie,  
Kognition und Verhalten**

Dissertation zur Erlangung des  
naturwissenschaftlichen Doktorgrades  
der Bayerischen Julius-Maximilians-Universität Würzburg

vorgelegt von

**FIOLA BOCK**

PFORZHEIM

WÜRZBURG 2005

---

Eingereicht am:

---

Mitglieder der Promotionskommission:

Vorsitzender:

---

1. Gutachter : Prof. Dr. J. Tautz

---

2. Gutachter: PD Dr. S. Fuchs

---

Tag des Promotionskolloquiums:

---

Doktorurkunde ausgehändigt am:

---

# 1. Inhaltsverzeichnis

<b>1.</b>	<b>INHALTSVERZEICHNIS</b>	<b>3</b>
<b>2.</b>	<b>ABBILDUNGSVERZEICHNIS</b>	<b>6</b>
<b>3.</b>	<b>ZUSAMMENFASSUNG</b>	<b>7</b>
<b>4.</b>	<b>SUMMARY</b>	<b>9</b>
<b>5.</b>	<b>APIS MELLIFERA</b>	<b>10</b>
5.1	Die Entwicklung der Honigbiene <i>Apis mellifera</i>	13
5.2	Die Temperaturkontrolle	15
5.3	Lernen und Gedächtnis	20
<b>6.</b>	<b>KAPITEL I: VERHALTEN DER JUNGBIENEN IM BIENENSTOCK</b>	<b>22</b>
6.1	Zusammenfassung	23
6.2	Einleitung	24
6.3	Material und Methoden	26
6.4	Ergebnisse	30
6.5	Diskussion	34

---

<b>7.</b>	<b>KAPITEL II: “DELAY MATCHING TO SAMPLE” EXPERIMENTE: ZEITVERZÖGERTER MUSTERABGLEICH BEI <i>APIS MELLIFERA</i></b>	<b>37</b>
7.1	Zusammenfassung	38
7.2	Einleitung	39
7.3	Material und Methoden	41
7.4	Ergebnisse	50
7.5	Diskussion	58
<b>8.</b>	<b>KAPITEL III: LEBENSLANGE ERFASSUNG VON FLUGDATEN DER HONIGBIENE <i>APIS MELLIFERA</i> MITTELS RFID CHIPS</b>	<b>61</b>
8.1	Zusammenfassung	62
8.2	Einleitung	63
8.3	Material und Methoden	64
8.4	Ergebnisse	69
8.5	Diskussion	74
<b>9.</b>	<b>KAPITEL IV: EFFEKTE DER BRUTTEMPERATUR AUF DIE FLÜGELMORPHOLOGIE DER HONIGBIENE <i>APIS MELLIFERA</i></b>	<b>77</b>
9.1	Zusammenfassung	78
9.2	Einleitung	79
9.3	Material und Methoden	80
9.4	Ergebnisse	81
9.5	Diskussion	84

<b>10. LITERATURVERZEICHNIS</b>	<b>86</b>
<b>11. LEBENSLAUF</b>	<b>97</b>
<b>12. PUBLIKATIONEN</b>	<b>98</b>
<b>13. DANKSAGUNG</b>	<b>100</b>

## 2. Abbildungsverzeichnis

<i>Abbildung 1: Honigbienen bei der Nahrungssuche und -aufnahme</i>	10
<i>Abbildung 2: Bienenwabe mit Ei (a); schlüpfende Bienen (b, c, d)</i>	13
<i>Abbildung 3: Thermovisionsaufnahme einer sich aufheizenden Biene</i>	17
<i>Abbildung 4: Aufsicht auf ein geöffnetes Bienenvolk mit Absperrgitter</i>	26
<i>Abbildung 5: (a) Beobachtungsstock und (b) individuell markierte Biene während des Versuches</i>	27
<i>Abbildung 6: Training der individuell markierten Bienen zum Feeder</i>	41
<i>Abbildung 7: Schematische Darstellung des Versuchsaufbaus in Versuch 1</i>	42
<i>Abbildung 8: Schematische Darstellung des Versuchsaufbaus in Versuch 2</i>	45
<i>Abbildung 9: Schematische Darstellung des Versuchsaufbaus in Versuch 3</i>	46
<i>Abbildung 10: Verwendete Muster in den DMTS -Versuchen</i>	47
<i>Abbildung 11: Zusammenhänge der gemessenen Flugzeit und Flugdistanz</i>	50
<i>Abbildung 12: Zusammenhang des richtigen Wahlverhaltens in Abhängigkeit der Musterverzögerung</i>	51
<i>Abbildung 13: Häufigkeit des richtigen Wahlverhaltens bei den unterschiedlichen Tests</i>	53
<i>Abbildung 14: Häufigkeiten des richtigen Wahlverhaltens bei den beiden Teilversuchen</i>	56
<i>Abbildung 15: Karl von Frisch beim Markieren von Honigbienen an einer Futterstelle</i>	64
<i>Abbildung 16: Markierung einer Honigbiene mit einem Chip</i>	65
<i>Abbildung 17: Künstlicher Stockein- bzw. Ausgang mit den aufgesetzten Scannern</i>	66
<i>Abbildung 18: Aktivitätsprofile der verwendeten Bienengruppen während der Versuchszeit</i>	70
<i>Abbildung 19: Plot der drei Temperatur-Bienengruppen von den zwei Diskriminaten-Funktionen</i>	83

Bildernachweis:

1- 19: Fiola Bock

3: Fiola Bock und Thermosensorik Erlangen

### 3. Zusammenfassung

Ein noch immer unvollständig verstandenes Problem sind die exakten Mechanismen der Arbeitsteilung und Koordination innerhalb von Bienenvölkern *Apis mellifera*. Auf der einen Seite muss die sensorische und neuronale Ausstattung jedes Individuums das Potential zur Kommunikation und Aufgabenbewältigung enthalten, zum anderen müssen jedem Bienenvolk Mechanismen zur Steuerung zur Verfügung stehen, die auch so weit in die Zukunft reichenden Notwendigkeiten wie Wintervorbereitungen zuverlässig durchführen. Die vorliegende Arbeit beleuchtet daraus ausgewählte Aspekte.

Zum einen werden Aspekte der kognitiven Fähigkeiten der Einzelbienen untersucht, die im Hinblick auf ihre Rolle als sammelnde Arbeiterinnen eine wichtige Rolle spielen. Das Erkennen und Verarbeiten von Mustern spielt eine wichtige Rolle beim Auffinden von potentiellen Nahrungsquellen. Hier konnte mittels des DMTS – Paradigma ein hoher Abstraktionsgrad der Musterverarbeitung sowie eine Speicherung auch komplexer Muster gezeigt werden.

Zum anderen wird die Bruttemperatur als ein Einfluss auf die Puppenentwicklung und dessen mögliche Folgen auf kognitive Fähigkeiten und Lebenshistorie untersucht. Variation der Bruttemperatur wurde in verschiedenen Zusammenhängen als starker Einfluss auf unterschiedliche Aspekte der Entwicklung gezeigt. In der vorliegenden Arbeit kann diese Bruttemperatur als möglicher Faktor der nachfolgend unterschiedlichen Ausprägung von Verhaltensmustern gezeigt werden. Dabei wird ebenso auf die Unterschiede im Verhaltensmuster von täglichen Stocktätigkeiten wie auf die resultierenden Unterschiede in der Lebensgeschichte und –spanne eingegangen, die aus unterschiedlichen Brutaufzuchtstemperaturen resultieren können. Als Aufzuchtstemperaturen werden dabei 32°C, 35°C sowie 36°C verwendet, um eine Variation zwischen der an anderer Stelle berichteten mittleren, der niedrigsten und der höchsten Temperatur für morphologisch vollständig entwickelte Bienen zu erreichen und die daraus resultierenden Arbeiterinnen zu untersuchen.

Sowohl die Ergebnisse der Verhaltensuntersuchungen von Stockbienen wie auch der Vergleich von Lebensaktivität und –spanne zeigen dabei signifikante Unterschiede zwischen den bei unterschiedlichen Temperaturen aufgezogenen Arbeiterinnen in deren analysiertem Verhalten.



## 4. Summary

One of the still incompletely understood problems is the accurate mechanisms of work division and co-ordination within bee colonies *Apis mellifera*. On the one side the sensory and neural equipment of each individual must contain the potential for communication and task accomplishment that is viable for the daily organisation of a honeybee hive, on the other hand reliable mechanisms for planning and fulfilling future demands like winter preparations are vitally important.

This work investigates selected aspects of the underlying communication and regulation aspects of these demands. The cognitive abilities of the single worker bee regarding their role as foraging and collecting force for the beehive are examined. The process of recognizing and processing the visual cues found while foraging is examined by means of the DMTS – paradigm. A high degree of abstraction while processing the patterns as well as the memorisation of complex samples is shown.

Furthermore the breeding temperature as one factor influencing pupae development and its influence on subsequent behaviour and life history of the adult workers is analysed. The available work can link differences in the brood temperature with the resulting different patterns of behaviour and life history of worker bees. The temperature levels while raising the different groups of honeybees were chosen as 32°C, 35°C and 36°C to reach a variation between the from other groups reported as normal, the lowest and highest breeding temperature and to examine the resulting female workers.

Both the results of the behavioural observation of worker bees that are active inside the colony as well as the overall comparison of their life activity and lifespan show significant differences between these groups of bees that were raised on varying brood temperatures.

## 5. Apis mellifera

Der Erfolg sozialer Insekten basiert auf der Organisation ihrer Kolonien. Erst Arbeitsteilung und die Integration individuellen Verhaltens zu sinnvollen Aktionen führen zu den erfolgreichen Sozietäten, die dynamisch auf Veränderungen der Umwelt reagieren, Vorräte anlegen und tausende von Individuen bei den verschiedensten Aktivitäten wie Nahrungssuche oder Fortpflanzung koordinieren.



**Abbildung 1: Honigbienen bei der Nahrungssuche und -aufnahme**

Essentiell für Koordination und Organisation ist dabei der Informationsfluss innerhalb des Volkes, der die direkte Voraussetzung für jede Organisation bildet. Informationsfluss basiert auf zwei Notwendigkeiten, die wir für andere soziale Systeme wie zum Beispiel auch das menschliche als Notwendigkeit voraussetzen: (i) die Speicherung, Verarbeitung und Weitergabe der Information und (ii) die Möglichkeit der Reaktion auf Individuums- sowie auf Volkslevel. Information wie beispielsweise über das Versiegen einer externen Futterquelle, das Wechseln des Klimas oder das Nahen des Winters muss also

- auf der individuellen Ebene der Sammlerinnen aufgenommen
- auf der Ebene des Volkes verstanden
- auf der Ebene des Volkes Gegenstrategien entschieden werden
- die auf der Ebene wiederum der Einzelbienen umgesetzt werden müssen

Im Bienenvolk ist Entscheidungsfindung dabei immer ein induktiver Prozess, der eben unser Bild des „Superorganismus Bienenvolk“ entscheidend geprägt hat. Die Mechanismen der Informationsverarbeitung auf individueller und auch Volksebene, sowie die Möglichkeiten der Reaktion des Volkes als Antwort auf eingehende Information sind der Schwerpunkt der vorliegenden Arbeit. Die kaum überschaubare Komplexität des Themas soll eingegrenzt werden, indem verschiedene Aspekte dieses Themenkomplexes untersucht werden:

- die individuelle Informationsverarbeitung (durch Lernexperimente an Sammlerinnen)
- die Eigenmanipulationsmöglichkeiten des Stockes auf individueller Verhaltensebene (durch Variation der Bruttemperatur und dem resultierenden Einfluss auf das Verhalten)
- die Eigenmanipulationsmöglichkeiten des Stockes auf Stockebene (durch Variation der Bruttemperatur und dem resultierenden Einfluss auf die Lebensverläufe)

Die Notwendigkeit von Arbeiten auf diesem Gebiet ergibt sich aus zwei Bereichen:

- *„Wenn die Biene von der Erde verschwindet, dann hat der Mensch nur noch vier Jahre zu leben; keine Bienen mehr, keine Bestäubung mehr, keine Pflanzen mehr, keine Tiere mehr, keine Menschen mehr“* (Albert Einstein) - also der enormen Wichtigkeit der Bestäubungsleistung der Honigbiene für Ökonomie und Ökologie
- sowie der darüber hinaus gehenden Faszination für ein solch komplexes System aus scheinbar so einfachen Individuen.

Die unglaubliche organisatorische Leistung auf Volksebene, aber auch die kognitiven Leistungen auf Individuenebene faszinieren verschiedene wissenschaftliche Ansätze schon lange. Mit der Entdeckung des Schwänzeltanzes und die damit resultierende Rekrutierung der Stockgenossinnen zu lohnenden Trachtquellen (von Frisch 1965) war die Honigbiene *Apis mellifera* schon früh

wegen ihres Wahrnehmungs- und Lernvermögens zu einem der bedeutendsten Versuchstier avanciert. Im Folgenden werde ich die Entwicklung der Honigbiene und hier besonders die Kontrolle der Bruttemperatur vorstellen, die im weiteren Verlauf meiner Arbeit als ein Mechanismus der experimentellen Manipulation genutzt werden sollen.

## 5.1 Die Entwicklung der Honigbiene *Apis mellifera*

Die Entwicklung einer Honigbiene unterliegt einer vollständigen Metamorphose. Jede Honigbiene durchläuft die vier Entwicklungsstadien Ei, Larve, Puppe und Imago.



**Abbildung 2: Bienenwabe mit Ei (a); schlüpfende Bienen (b, c, d)**

In einem eusozialen Bienenstaat legt ausschließlich die Königin Eier, soweit deren Kontrolle dominiert. Die Entwicklungsdauer einer Honigbiene *Apis mellifera* vollzieht sich bei den Arbeiterinnen in 21 Tagen (Winston 1997, Rösch 1925). In jede Zelle einer Wabe wird von der Königin ein einzelnes Ei gelegt (Abbildung 2a). Nach 2-3 Tagen entwickelt sich daraus eine Larve. In den folgenden 5-6 Tagen entwickelt sich diese Larve weiter, die dann in der anschließenden Präpuppenzeit von Pflegebienen in der Zelle verdeckelt wird. Innerhalb dieser drei Tage ist die Zeit der Pflege, Hygiene und Fütterung vollendet und die Präpuppe verwandelt sich in eine Puppe. In den folgenden 8-9 Tagen wird die Metamorphose abgeschlossen und eine weitere Jungbiene schlüpft.

Nicht nur für die Fürsorge der tatsächlichen Brut wird von den Honigbienen viel Zeit investiert (Wilson 1972), sondern bereits die Vorbereitungen auf die potentiellen Nachkommen verlangen viel Arbeit durch zeitintensive Säuberungen der Brutzellen (Ribbands 1953). Die altersabhängige Arbeitsteilung (Lindauer 1952, Seeley 1985, Winston 1987) stellt ein hoch spezialisiertes Organisations- bzw.

Funktionssystem dar. In den ersten 18-20 Lebenstagen einer Biene werden in erster Linie Arbeiten wie zum Beispiel Putzen, Honigverarbeitung und Wabenbau verrichtet, die also ausschließlich im Stockinneren stattfinden (Rösch 1925, Seeley 1985, Nickel und Armbruster 1937). Nur in ihrem letzten Lebensabschnitt verlassen die Bienen den Stock, um als Sammelbienen in der Natur zu fungieren. Diese scheinbar strikte zeitliche Abfolge ist dabei aber hochflexibel - künstlich angesetzte Völker, die ausschließlich aus Jungbienen bestehen, bilden alle benötigten Arbeitsteilungen ohne gravierende Probleme aus.

Während den ersten Lebenstage sind die Jungbienen mit dem Reinigen der Zellen ausschließlich im Brutbereich eines Bienenvolkes zu finden, doch in den folgenden Tagen verändert sich ihr Aufgabenfeld komplett und sie sind mit den anfallenden Fütterungen - sowohl der Brut als auch der Königin – sowie mit sämtlichen Putzarbeiten und Ventilations- und Heizaufgaben betreut. Auch in ihrem nächsten Lebensabschnitt verlassen die Bienen den Stock nicht und sind im gesamten Stock mit der Verarbeitung der Nahrung und dem Bau von Zellen beschäftigt. Auch werden sie in dieser Zeit als Wächterbienen am Stockeingang eingesetzt. In den verbleibenden Lebenstagen, bei den Sommerbienen zwischen 4 und 22 Tagen (Lindauer 1952, Maurizio 1954, Woyke 1984, Neukirch 1982, Fluri und Bogdanov 1987) und bei den Winterbienen bis zu 200 Tagen (Fluri *et al.* 1982, Maurizio 1961, Nickel und Armbruster 1937, Merz 1979), werden diese Bienen ihr Volk mit Nektar, Pollen, Propolis und Wasser versorgen - wenn die Jahreszeit bzw. die Außentemperatur es zulässt. Wie viel Arbeit eine einzelne Biene zu leisten vermag, kann über deren Sammeleffizienz ermittelt werden. Jedes Tier handelt nach einer spezifischen lebensgeschichtlichen Strategie in seinem spezifischen Lebensraum. Für eine Biene ist es von größter Wichtigkeit, die Energieerträge im Verhältnis zur aufgewendeten Zeit und zum Energieverbrauch beim Sammeln zu optimieren. Honigbienen wollen den bestmöglichen Nutzen für den eigenen Profit, d.h. so viel Nahrung wie möglich pro investierte Sammelleistung (Heinrich 2001) erwirtschaften. Doch nicht nur die energetischen Gewinne spielen beim Sammelverhalten eine Rolle, von ebenso großer Bedeutung sind Motivation und der herrschende Konkurrenzdruck um die Ressourcen. Wie viele Sammelflüge eine Biene am Tag durchführen kann, hängt sowohl vom Angebot, dem Wetter und auch

der Leistungsbereitschaft ab (von Frisch 1935). Nach Ribbands (1953) kann eine Biene bei natürlichem Trachtangebot bis zu 24 Sammelflügen durchführen, bei künstlichen Futterstellen schwankt die Anzahl zwischen 3 und 150 Flügen täglich. Neuere Untersuchungen gehen dagegen von einer Sammelfrequenz von 10 Sammelflüge pro Tag aus (Thom *et al.* 2000). Die Dauer eines Sammelfluges beträgt nach Butler (1949) und Ribbands (1953) 26 Minuten. Gontarski (1935) und auch Beutler (1950) folgerten daraus, dass eine Biene bei gefülltem Honigmagen nahezu unermüdlich sei - bei einem Arbeitspensum von über 10 Stunden täglich. Die Honigbiene vermag nicht wie die Hummeln in der Nacht zu fouragieren (Chittka *et al.* 1999), sie sammelt dem Tagesrhythmus anpasst (Schuà 1952) mit einer mittäglichen Sammeldepression (Lindauer 1948). Unabhängig davon, ob eine Honigbiene wenige lange oder aber viele sehr kurz andauernde Sammelflüge vollführt - die Lernfähigkeit der Honigbiene ist eine Grundvoraussetzung für eine effektive Ausbeute der vorhandenen Trachtquellen (Kriston 1973).

## 5.2 Die Temperaturkontrolle

Poikilotherme Tiere werden direkt beeinflusst von der sie umgebenden Temperatur. Die Umgebungstemperatur hat Einfluss auf den Metabolismus, den Aktivitätslevel, die Fortpflanzung, die Entwicklung und das Wachstum. Die „bevorzugte Temperatur“, das Temperaturoptima, der kritische Temperaturlevel der Wachstumsphase sowie die letale, thermische Grenze hängen mit der geographischen Verbreitung der Spezies zusammen (Wilson & Elkaim 1991). Trotz der Wichtigkeit zu verstehen, wie die einzelnen Lebensstadien auf unterschiedliche Umgebungstemperaturen reagieren, ist ein Großteil der Untersuchungen fokussiert auf das Adultstadium. Die Temperatur, in der ektotherme Organismen aufwachsen, kann dieselben qualitativen Effekte auf die Lebensgeschichte haben wie die thermale Erfahrung bereits in der Entwicklung des Individuums (Atkinson 1996). Die thermische Umgebung, die ein Organismus während seiner Ontogenese erfährt, kann sehr häufig wechseln. Diese Veränderungen können sowohl eine saisonale

Erwärmung oder Abkühlung als auch eine Habitatsänderung darstellen wie bei zahlreichen Insekten der Wechsel von einem aquatischen Larvenstadium zum adulten terrestrischen Stadium (Johnston *et al.* 1996).

Bei der Libelle *Libellula pulchella* vollziehen sich zum Beispiel während ihrer Reifung große Veränderungen in den Flugmuskeln, wenn große thermische Änderungen in dieser Zeit stattfinden (Marden 1995). Die Aufzuchtstemperatur bei Heringen beeinträchtigt den Beginn der Entwicklung verschiedener Organe (Johnston *et al.* 1993), ebenso ist deren Flucht-Schwimmgeschwindigkeit beeinträchtigt (Batty *et al.* 1993). Auch bei der Japanischen Flunder *Paralichthys olivaceus* verschiebt sich mit der Aufzuchtstemperatur die Entstehung der Augenpigmentierung und die der Mundöffnung (Fukuhara 1990). Bei der Fruchtfliege *Drosophila melanogaster* sind deren Flügel als auch der ganze Körper kleiner, wenn die Aufzuchtstemperatur erhöht wird (Partridge *et al.* 1994). Temperaturabhängige Geschlechtsdetermination ist ein weit verbreitetes Phänomen bei Reptilien. So entscheidet die Aufzuchtstemperatur der Eier bei der Schildkröte *Trachemys scripta*, ob ein Männchen (Temperaturbereich unterhalb 29°C) oder ein Weibchen (Temperaturen über 29°C) schlüpft (Crews *et al.* 1994).

Die Sterberate steigt bei kritischen Temperaturen, sowohl bei hohen als auch geringen stark an, kann aber wie bei der Feldgrille *Gryllus bimaculatus* bei einer oszillierenden Aufzuchtstemperatur die Sterberate verringern (Ratte 1985). Bei vielen Insekten verkürzt sich die Entwicklungsdauer mit steigenden Temperaturen (Ratte 1985). Die Auswirkungen eines fluktuierenden Temperatureinflusses während der Entwicklungszeit können sowohl verkürzend wie bei *Drosophila melanogaster* (Siddiqui und Barlow 1973) als auch verlängernd wirken wie bei Wachsmotte *Galleria mellonella*. Bei den Weichpanzer-Schildkröten (*Pelodiscus sinensis*) sind die Jungtiere, die unter oszillierenden Temperaturen aufgezogen wurden signifikant schwerer, als die bei konstanten Temperaturen aufgezogenen (Du & Ji 2003). Die kritische maximale Temperatur kann auch zwischen den Juvenil- und Adultstadien verschieden sein wie bei den Skalaren *Pterophyllum scalare* (Pérez *et al.* 2003).



Sehr häufig ist die Entwicklungsdauer bei Weibchen deutlich kürzer als die der entsprechenden Männchen, wie auch bei der Honigbiene *Apis mellifera*. Die Dauer der Entwicklung ist bei der Honigbiene nicht nur geschlechtsabhängig, sondern auch bei Arbeiterinnen und Königin verschieden. Eine Bienenkönigin schlüpft bereits nach 16 Tagen, die Arbeiterin nach 20 Tagen, während die Entwicklungszeit eines Drohn 24 Tage dauert (Winston 2003, Seeley 1985) - bei optimalen Aufzuchtstemperaturen, die im Folgenden diskutiert werden.

Honigbienen zählen zwar zu den gemeinhin vereinfacht als „Kaltblütern“ bezeichneten Tieren, was aber nicht notwendigerweise bedeutet, dass sie nicht fähig sind, ihre Körpertemperatur zu kontrollieren. Aktive Bienen (Abbildung 3) verhalten sich endotherm, d.h. Sie halten ihre Körpertemperatur auf einem höheren Level als die Umgebungstemperatur (Goodman 2003).



**Abbildung 3: Thermovisionsaufnahme einer sich aufheizenden Biene (Ansicht ventral). Die gelb gefärbte Brustmuskulatur ist aufgeheizt, während von rot nach blau die Temperaturen abnehmen.**

Bienen bringen unmittelbar vor dem Fluge ihre Flugmuskulatur auf eine Betriebstemperatur von über 30°C, was unter Umständen eine Temperatur von mehr als 15°C über der Umgebungstemperatur bedeutet (Wehner & Gehring 1990). Fällt die die Biene umgebende Temperatur unter 18°C, so ist eine aktive Erwärmung durch Muskelzittern nicht mehr möglich. Sinkt die Temperatur weiter, so ist die Biene zu keiner Bewegung mehr fähig, sie fällt in Kältestarre. Während also die einzelne Honigbiene einen kalten Winter nicht überleben würde, ist der Sozialverband „Bienen Volk“ dazu befähigt; selbst in den kalten Wintermonaten fällt

die Temperatur im Zentrum einer Bienentraube nicht unter 21,3°C (Fahrenholz 1989).

In einem Bienenstock vorkommende Temperaturen sind im Brutbereich nach Milum (1930) von 24,6° bis zu maximal gemessenen 36,38°C ganzjährig, während der warmen Sommermonate wird eine Temperatur von 32°C nicht unterschritten. Innerhalb des Brutbereiches ist eine Temperatur von 34,5 bis 35,5°C vorzufinden (Hess 1926), laut Himmer (1927) liegt die optimale Temperatur für die heranwachsenden Bienen bei  $34,8 \pm 0,55^\circ\text{C}$ . Wird in einem Brutbereich die Temperatur zwischen 32° und 36°C gehalten, so sind die gesamten Imagines beim Schlupf normal entwickelt (Himmer 1927; Soose 1954, Seeley 1985). Unterschiedliche Temperaturen während der Embryonalentwicklung haben sehr großen Einfluss auf die Dauer der Entwicklung (Eskov 1981). Je wärmer die Umgebungstemperatur der Embryonen, desto schneller vollzieht sich die Entwicklung des Embryos. Selbst eine kurzzeitige Reduzierung der Temperatur schadet die Embryonen irreversibel (Koeniger 1978, Himmer 1927). In jedem Bienenstock wird folgerichtig die höchste Temperatur im Bereich der Brutzellen gemessen und dort von den Bienen konstant auf diesem hohen Niveau gehalten (Himmer 1927a; Hess 1926; Ritter 1982; Blaschon 1999).

Während der gesamten Entwicklungszeit einer Honigbiene - vom Ei bis zur Puppe - nimmt die Sterberate mit fallender Umgebungstemperatur zu (Koeniger 1978). Die Schlupfrate der Honigbienen, die ihre pupale Entwicklungsphase in Inkubatoren bei 31° bis 36°C überlebten, liegen laut Groh *et al.* (2004) zwischen 89 und 100%. Liegen die Temperaturen über oder unter diesem Bereich, so sinkt die Schlupfrate drastisch, bis bei der untersten Temperaturgrenze von 28°C bzw. Obergrenze von 38°C keine Brut mehr aufgezogen werden kann.

Eigene Untersuchungen bestätigen diese früheren Ergebnisse und zeigen, dass die Entwicklungsdauer der Bienenpuppen im Mittel

- 13 Tage bei einer Aufzuchtstemperatur von 32°C
- 11 Tage bei einer Aufzuchtstemperatur von 35°C
- 10 Tage bei einer Aufzuchtstemperatur von 36°C

betragen (nicht veröffentlichte Daten).

Nach Rosenkranz bedarf die gedeckelte Brut in den ersten Entwicklungstagen konstanter Temperatur. Kurzfristigen Temperaturerhöhungen bis hin zu 45°C für 4 Stunden sind für maximal 5% der Bienenbrut letal (Rosenkranz 1987). Nach Dauerwirkungen auf die Brut durch Temperaturerhöhung steigt die Sterberate stark an (Muralevskij 1933). Unterschreitet die Aufzuchtstemperatur 32°C, so treten vermehrt Missbildungen auf, insbesondere bei den Flügeln und dem Rüssel. Wird die Brut dauerhaft unterhalb 28°C ausgesetzt, so steigt die Sterberate über 50% an. Über einer Aufzuchtstemperatur von 36°C nimmt die Sterberate ebenfalls stark zu. Innerhalb der Brutregion schwankt die Temperatur weniger als 1°C über einen Tag verteilt (Hess 1926, Himmer 1927). Suboptimale Brutnesttemperaturen können auch dazu führen, dass eine schädigende Wirkung bestimmter Bienenkrankheiten erhöht wird (Seeley 1985, Flores 1996). Laut Seeley reduziert Wärme das Infektionsrisiko, während ein Kälteeinfluss Folgen in der verzögerten Entwicklungszeit aufweist.

Zusammenfassend erscheint also die Aufrechterhaltung einer konstanten Bruttemperatur für den sicheren Fortbestand morphologisch voll ausgebildeter Bienen für die gesamte Kolonie von höchster Priorität. Durch die Eroberung gemäßigter Klimazonen und den dort herrschenden großen Temperaturschwankungen erforderte die Notwendigkeit der exakten Sicherung konstanter Temperaturen innerhalb des Brutnestes besondere Organisations- und Verhaltensweisen der Honigbienengesellschaft. Schon vom Volk isolierte, eng aneinander gedrängte „Bienenkluster“ aus nur wenigen dutzend Einzelbienen versuchen ihre Temperatur bei 35°C (Cahill und Lustick 1976) zu halten. In diesem Zusammenhang besonders auffällig ist die spezialisierte Verhaltensweise, die Arbeiterinnen im Brutnestbereich bei ihrem Wärmeverhalten (Kronenberg und Heller 1982, Esch 1997) zeigen. Diese „Heizbienen“ (Abbildung 3) regulieren die Bruttemperatur durch das Andrücken ihres aufgeheizten Thorax an die Brutdeckel sowie des Beheizen strategisch verteilter leerer Brutzellen und sorgen so für ausreichende und vor allem konstante Wärme im Brutbereich (Kleinhenz *et al.* 2003). So sind die Bienen in der Lage, selbst bei extremen Bedingungen von minus 40°C die Brutnesttemperatur im optimalen Bereich von 32°-36°C bei zu halten (Winston 1987).

Dass die Brutaufzuchtstemperatur einen Einfluss auf die Lern- und Gedächtnisleistung hat, zeigen Untersuchungen von Tautz *et al.* (2003). Arbeiterinnen, die im Puppenstadium bei 32°C aufgezogen wurden, zeigten bei der Ausführung des Schwänzeltanzes eine durchschnittlich geringere Anzahl an Tanzkreisen und schlechtere Lern- und Gedächtnisleistungen bei der Durchführung des Proboscis-Extension Reflexes [PER] im Vergleich zu Bienen, die einer Bruttemperatur von 36°C herangewachsen sind. Groh *et al.* (2004) konnten zeigen, dass synaptische Verschaltungen in den Gehirnen adulter Bienen durch eine Temperaturkontrolle des Brutnestes beeinflusst werden können. Die temperaturbedingten Effekte sind orts- und modalitätsspezifisch, selbst bei benachbarten Gebieten des Mikroglomeruli-Calyx. Diese temperaturinduzierte Plastizität innerhalb synaptischer Verschaltungen könnte das Verhalten, oder den auslösenden Moment verhaltensspezifischer Veränderungen oder beides bedingen.

Diese Einflüsse der Temperatur auf das Verhalten von Einzelbienen und damit auf das Funktionieren des Gesamtsystems wird die vorliegende Arbeit instrumentalisieren und in Hinblick auf einzelne Verhaltensweise, bei der vor allem auch das Lernen ein große Rolle spielen wird, näher untersuchen.

### 5.3 Lernen und Gedächtnis

Lernen führt den Organismus unter Ausnutzung von Erfahrung zu einer Verhaltensänderung, die eine vollkommene Adaptation an wechselnde Umweltbedingungen zum Ziel hat (Lindauer 1970). Dazu erforderlich ist eine Speicherung von Informationen, ein Gedächtnis. Wie kann spezifische Information im zentralen Nervensystem für kürzere oder längere Zeit - ungestört durch den ständigen Einstrom anderer sensorischer Impulse - gespeichert, wie kann sie im passenden Moment wieder abgerufen werden? Die wichtigste Auswahl beim Lernen ist die geeignete Auswahl von Merkzeichen („Coding“) und ihre sinnvolle Zuordnung zu einem biologischen Ereignis („Conditioning“). Dies erfordert zum einen logische Instruktionen und zum anderen neue, organisierte Verschaltungen auf höherer

Ebene (Lindauer 1970). Welche Lernsignale ausgewählt werden, ist eine fakultative, individuelle Angelegenheit, die innerhalb bestimmter Grenzen geschieht.

Erstellt man anhand der benötigten Sammelflüge eine Lernkurve, so wird deutlich, dass bei Duft-Signalen lediglich ein Sammelflug notwendig ist, um ein Lernplateau von 98% zu erreichen. Bei Farb-Signalen werden 3-5 Sammelflüge benötigt und bei Muster-Signalen ist ein Lernprozess nach 20 Sammelflügen erfolgreich abgeschlossen (Koltermann 1969; Menzel 1969; Wehner 1967; Wehner & Lindauer 1966, Wehner & Lindauer 1967). Diese Rangordnung gilt jedoch auch innerhalb der Modalitätsbereiche (Kriston 1973). Von wichtiger Bedeutung ist die Farbe und Form während des Anfluges der Biene auf die Futterstelle (Opfinger 1931; Menzel 1967). Bereits 1969 sprach Mazochin-Porshnyakov über die Lernleistung der Honigbiene von vernünftigem Handeln, von der „Intelligenz der Bienen“. Wenn man die Definition „Intelligenz ist die Fähigkeit zur Erfassung und Herstellung von Bedeutungen, Beziehungen und Sinnzusammenhängen“ von Wenzl (1934) zugrunde legt, so muss man Mazochin-Porshnyakov hier zustimmen. Rohracher (1963) hingegen fordert von intelligentem Verhalten, dass bisherige Erfahrung für neue Aufgaben zu verwerten sei, was durch spätere Untersuchungen bewiesen wurde (Wehner 1971; van Hateren *et al.* 1990; Menzel 1990; Srinivasan 1994; Horridge und Zhang 1995; Menzel und Müller 1996; Wehner, 1997; Srinivasan und Zhang 1998; Menzel und Giurfa 2001; Collett und Collett 2002; Tautz *et al.* 2003; Giurfa 2003; Zhang und Srinivasan 2004).

Lindauer beschrieb 1970, dass die Lernprozesse bei der Honigbiene gut analysiert werden können, da bei diesen Insekten in gegebenen Situationen Schlüsselreize ein im genetischen Code fixiertes Handlungsprogramm abrufen. In der vorliegenden Arbeit werden in Kapitel 2 die Lern- und Gedächtnisleistungen als direkte Ableitung der biologischen Notwendigkeit der effizienten Futtersuche der Honigbiene *Apis mellifera* untersucht werden.

## **6. Kapitel I:**

### **Verhalten der Jungbienen im Bienenstock**

## 6.1 Zusammenfassung

Die Aufzuchtbedingungen der Bienenbrut werden in einem Bienenvolk sehr genau kontrolliert. Von der Synthese des verwendeten Materials über den Bau der Zellen bis hin zur genauen Futterzusammensetzung und der Aufzuchtstemperatur investieren Bienen viele Ressourcen, um die Bedingungen, unter denen die Brut aufgezogen wird, genau zu kontrollieren.

Eine stark Ressourcen beanspruchende Leistung ist dabei das Aufrechterhalten eines sehr engen Temperaturfensters bei der Aufzucht der Jungbienen. In diesem Kapitel wird aufgezeigt, dass die Aufzuchtstemperatur der Bienenpuppen als ein essentieller Bestandteil der Soziophysiologie der ganzen Kolonie ein Faktor sein kann, welcher das Tätigkeitsprofil der Innendienstbienen bestimmt und somit das Verhaltensspektrum der zukünftigen Schwestern mitgestalten kann. Dazu wurden Bienenpuppen in drei verschiedenen Temperaturbereichen (32°, 35° und 36°C) aufgezogen und nach dem Schlupf deren Verhalten nach einer Liste von Verhaltensweisen regelmäßig beobachtet und klassifiziert. Hierbei ergaben sich 9 Verhaltensweisen, bei denen ausreichend Beobachtungen für eine statistische Analyse gemacht werden konnten: Ruhen und laufen, sich selbst putzen, andere Bienen putzen, geputzt werden, antennieren, Honigzellen inspizieren, an Honigzellen nagen, Inspektion oder Fütterung der Larven und Bearbeiten des Wachses an Brutzellen. In einem weiteren Versuch wurden diese signifikanten Unterschiede zwischen den drei Temperaturgruppen untersucht. Dabei konnte eine signifikante Verschiedenheit innerhalb der bewerteten Gruppen bei den Verhalten „ruhen und laufen“, „Honigzellen inspizieren“, „Zellen inspizieren“ und „Wachsbearbeitung“ festgestellt werden.

## 6.2 Einleitung

Die Soziophysiologie eines eusozialen Honigbienenstaates wird hauptsächlich durch die Kombination mehrerer biologischer Merkmale ermöglicht. Die drei wesentlichen Merkmale hierfür sind die Brutführsorge, das Zusammenleben mehrerer Generationen und die Unterteilung in eine sterile Arbeiterinnenkaste und eine fortpflanzungsaktive „Königinnen“-Kaste (Hölldobler & Wilson 1994). Innerhalb der Arbeiterinnenkaste findet man eine weitere Aufteilung von Arbeiten. Diese Arbeitsteilung wird als herrschende Aufspaltung von Arbeitsprozessen in ein fest vorgelegtes Muster (Beshers *et al.* 2001) verstanden. Bei der bei den Honigbienen vorzufindenden altersabhängigen Arbeitsteilung ist das wesentliche Merkmal der kausale Zusammenhang zwischen dem Alter der Arbeiterinnen und den auszuführenden Aufgaben. Während junge Arbeiterinnen sich eher mit den anfallenden Aufgaben innerhalb des Stockes befassen, sind die älteren Bienen eher mit den Aufgaben außerhalb des Stockes beauftragt (Winston & Punnett 1982). Nach Oster *et al.* 1978 unterscheidet man bei der Honigbiene vier Lebensabschnitte, die jeweils gleichaltrige Arbeiterinnen umfassen und dieselben Arbeiten verrichten. Diese Aufteilung der unterschiedlichen Verhaltensweisen wurde auf einer Grundlage einer durchschnittlichen Lebenserwartung von 30 Tagen erhoben - wie die tatsächliche Arbeitsverteilung langlebiger Bienen aussieht, ist noch nicht in allen Punkten geklärt (Lindauer 1952; Ribbands 1953; Seeley 1985). Bisherige Angaben über die ersten Ausflüge der Jungbienen finden laut Winston (1987) irgendwann innerhalb der dritten bis siebten Lebenswoche statt. Entsprechend ihrem Alter sind unterschiedliche Verhaltensweisen bei den Honigbienen vorzufinden, die altersabhängige Arbeitsteilung (Ribbands 1953; Rösch 1925; Seeley 1985; Winston 1987). In ihren ersten vier Lebenstagen sind die Jungbienen mit Zellsäuberungen sowohl im Brutbereich als auch im Nestzentrum beschäftigt. In den anschließenden sieben Tagen sind diese Bienen im gesamten Nest mit Brut- und Königinpflege, Zellpräparation, Zellverdeckelung, ventilieren und heizen tätig. Der dritte Lebensabschnitt - vom 11ten bis zum 20sten Lebenstag - findet ebenfalls ausschließlich im Stockinneren statt. Dabei sind die Nahrungsaufbereitung, -versorgung und -



lagerung, der Zellbau, das Wachen am Stockeingang und das Entfernen toter Bienen die zentralen Aufgaben. Der letzte Lebensabschnitt der Honigbienen findet im Gegensatz zu den vorausgegangenen Abschnitten auch außerhalb des Stockes statt. Dort sind die Bienen ab dem 18ten Lebenstag mit Orientierungsflügen und dem Suchen, Finden und Heimbringen von Nektar, Pollen, Propolis und Wasser beschäftigt.

Doch auch innerhalb dieser altersabhängigen Arbeitsteilung muss ein Bienenvolk hochflexibel sein und auf wechselnde und sich verändernde Umweltfaktoren - wie Witterung, Koloniegröße, Nahrungsvorrat, Feinde – reagieren können (Robinson 1992; Franks *et al.* 1994). Unterschiedliches Verhalten kann auch auf die genetische Ausstattung der Bienen zurückgeführt werden (Arathi *et al.* 2001; Calderone *et al.* 1991; Fewell *et al.* 2000; Page *et al.* 2000; Robinson *et al.* 1989). Gezeigt wurde der genetische Einfluss hinsichtlich der gesammelten Produkte (Fewell *et al.* 2000; Page *et al.* 2000), das Eintrittsalter der Sammelaktivität (Ben-Shahar *et al.* 2002; Calderone *et al.* 1988; Giray *et al.* 1994; Page *et al.* 1992; Whitfield *et al.* 2003), das Hygieneverhalten (Arathi *et al.* 2001) und das spezifische Verteidigungsverhalten (Giray *et al.* 2000; Guzman-Novoa *et al.* 2002; Guzman-Novoa *et al.* 1994).

Neben einer genetischen Komponente können auch weitere angenommen werden, um die zu beobachtende Plastizität des Verhaltens von Bienensozietäten zu erklären. Die hier gezeigten Ergebnisse verdeutlichen, dass die Aufzucht von Puppen bei unterschiedlichen Bruttemperaturen unterschiedliche Verhaltenspräferenzen der geschlüpften Stockbienen ausbilden kann. Damit wird aber nicht nur eine weitere Möglichkeit der Bienen über die Kontrolle der Brutaufzuchtbedingungen Einfluss auf die Nachwuchsentwicklung zu nehmen beschrieben. Darüber hinaus wird eine weitere Sicht auf die Selektionsexperimente, die zu Stämmen verschiedener Verhaltensweisen geführt haben, nahe gelegt (Page *et al.* 1992; Robinson *et al.* 2000), da die dort gezeigten Selektionsmechanismen nicht auf das letztlich zu beobachtende Verhalten als die Brutpflegetätigkeit wirken könnten und so erst nachfolgend die gezeigten geänderten Verhaltenspräferenzen bewirkten.

## 6.3 Material und Methoden

### *Aufzucht der temperierten Bienen*

Die Aufzucht der verwendeten Bienen vollzog sich in zwei getrennten Abschnitten. Der erste Abschnitt umfasst die Entwicklungsdauer der Honigbiene bis hin zur Präpuppe (verdeckelter Zustand) innerhalb ihres Bienenvolkes, während der anschließende, zweite Abschnitt außerhalb des Nestes erfolgte. Ziel dieser räumlich voneinander getrennten Aufzuchten war die Gewährleistung kontrollierten Umweltbedingungen, vor allem konstante Temperaturen bei der Puppenaufzucht. Um solch gleichartige und auch gleich alte Bienen zu erhalten wurde die Königin (*Apis mellifera carnica*) des entsprechenden Volkes durch ein Absperrgitter auf eine leere Brutwabe innerhalb des Volkes gesperrt (Abbildung 4). Die dadurch „erzwungene“ Eiablage innerhalb eines Zeitfensters auf eine leere Brutwabe führt zu gleich alten und unter vergleichbaren Umweltbedingungen gelegten Eiern.



**Abbildung 4:** Draufsicht auf ein geöffnetes Bienenvolk mit eingesetztem Absperrgitter um eine Wabe.

Nach 24-stündiger Bestiftung wurde das Absperrgitter entfernt und die Waben verblieben für weitere 9 Tage im Volk. Direkt am Tag der Verdeckelung (Tag 10) wurden die Waben in Inkubatoren (Memmert IPP 500) überführt, wo sich die bereits verdeckelten Bienenpuppen entsprechend bei 32°, 35° oder 36°C für 13, 11 und 10 Tage zur Jungbiene weiter entwickelten. Am Schlupftag wurden von den drei

Temperaturgruppen jeweils 100 Bienen bei Versuch I bzw. je 150 Bienen bei Versuch II individuell mit Opalithplättchen markiert und in ein Pflegevolk in einen gemeinsamen Beobachtungsstock eingesetzt. Dort wurde bei beiden, zeitlich voneinander getrennten Versuchen das Verhalten der markierten Bienen während ihren Stockinnentätigkeiten beobachtet.

### *Der Beobachtungsstock*

Für die Durchführung der Verhaltensbeobachtungen der Honigbienen bei den „Innentätigkeiten“ ihrer ersten 21 Lebenstage wurde ein 2 Rahmen- Beobachtungsstock verwendet (Abbildung 5a). Auf beiden Plexiglas verkleideten Seiten des Stockes wurde ein Raster aufgezeichnet, welches jede Seite in neun Spalten (A bis I bzw. J bis R) und neun Reihen (jeweils 1 bis 9) einteilt- jede Beobachtungsstockseite besteht somit aus 81 Quadraten, die 5\*5 cm groß sind. Die beobachteten Verhaltensweisen wurden täglich (12:30Uhr) aufnotiert. Dazu wurden systematisch beide Seiten des Stockes beginnend mit dem Quadrat A1 bis hin zu R9 beobachtet und alle sich darin befindlichen Bienen mit Opalithplättchen und deren Verhalten notiert (Abbildung 5b).



**Abbildung 5: (a) Beobachtungsstock und (b) individuell markierte Biene während des Versuches**

*Die Tätigkeiten*

Versuch I: Im ersten Versuch wurden die 40 in der folgenden Tabelle aufgeführten Verhaltensweisen beobachtet. Diese Liste der Tätigkeiten wurde aus Beobachtungen aller optisch unterscheidbaren Tätigkeiten generiert und als Grundlage des einzuordnenden Verhaltens im Experiment verwendet.

**Tabelle 1: Verhaltenskatalog der Arbeiterinnen**

#	Verhalten	#	Verhalten
1	Ruhen, laufen	21	Hygieneverhalten
2	Ventilieren	22	Honig eintragen
3	Wärmen	23	Honigzelle inspizieren
4	Schwänzeltanz	24	Honigzelle verdeckeln
5	Tanzverfolgung	25	an Honigzelle nagen
6	Leere Zelle oder Ei inspizieren	26	Pollen in Zellen lagern
7	sich selbst putzen	27	Zelle mit Pollen gefüllt inspizieren
8	andere Arbeiterin putzen	28	Wachsbearbeitung an Honig- oder Pollenzellen
9	geputzt werden	29	Einflug, Sammeln von Pollen
10	Antennieren mit Arbeiterin	30	am Pollenhöschen einer Arbeiterin nagen
11	gefüttert werden	31	Brut verdeckeln
12	andere Arbeiterin füttern	32	Inspektion oder Fütterung der Larve
13	um Futter betteln	33	Verdeckelung der Brut entfernen
14	um Futter angebettelt werden	34	Bearbeiten des Wachses an Brutzellen
15	Ziel von Inspektion	35	Wabenbau
16	Ziel von Aggression	36	Königin betrillern
17	Aggression gegenüber Bienen	37	Füttern der Königin
18	Ein- oder Ausfliegen, Sammelaktivität	38	Antennieren mit Königin
19	tote Biene entfernen	39	Aggression gegenüber der Königin
20	Wachen am Eingang des Stocks	40	Putzen der Königin

Versuch II: Im zweiten Versuch wurden lediglich die Verhaltensweisen beobachtet und aufnotiert, die im ersten Versuch einen Erwartungswert größer 5 aufwiesen.

Dazu zählen

- ruhen und laufen (1)
- sich selbst putzen (7)
- andere Arbeiterin putzen (8)
- geputzt werden (9)
- antennieren (10)
- Honigzellen inspizieren (23)
- an Honigzellen nagen (25)
- Inspektion oder Fütterung der Larve (32)
- Bearbeiten des Wachses an Brutzellen (34)

Diese neun Verhaltensweisen wurden für die folgenden drei Wochen täglich beobachtet und aufnotiert und die gewonnenen Daten beider Versuche mittels Chi<sup>2</sup>- Tests statistisch ausgewertet (Statistica 6.0).

## 6.4 Ergebnisse

Versuch I:

Im ersten Schritt wurden die Häufigkeiten innerhalb der drei Temperaturgruppen gezählt und für alle beobachteten Verhaltensweisen gegenübergestellt. Es wurde unterschieden zwischen den tatsächlichen beobachteten Tieren einer Verhaltensweise und der erwarteten Verteilung aus den Anteilen der im gesamten Experiment beobachteten Tiere als Nullhypothese.

**Tabelle 2: Kreuztabelle mit erwarteter und tatsächlicher Anzahl der einzelnen Verhaltensweisen bei den drei Temperaturgruppen in Versuch I.**

Verhalten	Temperaturgruppe			$\Sigma$	
		32°C	35°C		36°C
Am Pollenhöschen einer Arbeiterin nagen	beobachtet	0	1	0	1
	erwartet	0,6	0,3	0,1	
Arbeiterin füttern	beobachtet	3	0	0	3
	erwartet	1,8	0,9	0,3	
Honig eintragen	beobachtet	21	7	0	28
	erwartet	17	8,4	2,6	
Honigzelle verdeckeln	beobachtet	2	0	0	2
	erwartet	1,2	0,6	0,2	
Königin antennieren	beobachtet	1	0	0	1
	erwartet	0,6	0,3	0,1	
Königin betrillern	beobachtet	6	1	0	7
	erwartet	4,2	2,1	0,7	
Königin füttern	beobachtet	1	0	0	1
	erwartet	0,6	0,3	0,1	
Königin putzen	beobachtet	2	0	0	2
	erwartet	1,2	0,6	0,2	
Larven inspizieren	beobachtet	103	40	13	156
	erwartet	94,5	47	14,5	
Pollensammeln	beobachtet	2	1	0	3
	erwartet	1,8	0,9	0,3	
Pollenzelle inspizieren	beobachtet	1	0	0	1
	erwartet	0,6	0,3	0,1	
Ruhem, laufen	beobachtet	1606	705	208	2519
	erwartet	1525,6	758,8	234,6	
Schwänzeltanz	beobachtet	5	3	3	11
	erwartet	6,7	3,3	1	
Tanzverfolgung	beobachtet	4	8	2	14
	erwartet	8,5	4,2	1,3	
Ventilieren	beobachtet	11	17	4	32
	erwartet	19,4	9,6	3	
Wachsbearbeitung an Brutzellen	beobachtet	107	64	29	200
	erwartet	121,1	60,2	18,6	
Zelle inspizieren	beobachtet	582	298	92	972
	erwartet	588,7	292,8	90,5	

Aggression zu Biene	beobachtet	1	0	0	1
	erwartet	0,6	0,3	0,1	
an Honigzelle nagen	beobachtet	75	23	6	104
	erwartet	63	31,3	9,7	
andere putzen	beobachtet	44	34	14	92
	erwartet	55,7	27,7	8,6	
angebettelt werden	beobachtet	8	11	5	24
	erwartet	14,5	7,2	2,2	
antennieren	beobachtet	147	86	37	270
	erwartet	163,5	81,3	25,2	
betteln	beobachtet	25	14	4	43
	erwartet	26	13	4	
geputzt werden	beobachtet	15	31	12	58
	erwartet	35,1	17,5	5,4	
Honigzellen inspizieren	beobachtet	404	185	14	603
	erwartet	365,2	181,6	56,2	
selbst putzen	beobachtet	402	248	102	752
	erwartet	455,4	226,5	70	
wärmen	beobachtet	3	3	0	6
	erwartet	3,6	1,8	0,6	
	Summe	3589	1785	552	5926

\*

\* die nicht in der Tabelle aufgelisteten Verhaltensweisen konnten während des Versuches nicht gesehen und registriert werden [15, 16, 18, 19, 20, 21, 26, 28, 31, 33, 35, 39]

Insgesamt würde sich eine signifikante Abweichung (Chi<sup>2</sup>-Test) von der Nullhypothese ergeben, würde jedoch kontrovers diskutiert werden, da viele Verhaltensgruppen einen erwarteten Wert unter 5 aufweisen. Daher wurde nachfolgend für jede Verhaltensweise berechnet, ob sich ein Temperatureffekt ergibt, wenn man sie der Summe aller anderen Verhaltensweisen gegenüberstellt. Gültige Tests mit einem Erwartungswert über 5 ergaben sich demnach bei folgenden Verhaltensweisen:

- Verhalten 1: ruhen und laufen p < 0,0030
- Verhalten 7: sich putzen p < 0,0001
- Verhalten 8: andere putzen p < 0,0240
- Verhalten 9: geputzt werden p < 0,0891
- Verhalten 10: antennieren p < 0,0190
- Verhalten 23: Honigzellen inspizieren p < 0,0001
- Verhalten 25: an Honigzellen nagen p < 0,0490

- Verhalten 32:       Inspektion oder Fütterung der Larven     $p < 0,0364$
- Verhalten 34:       Wachsbearbeitung an Brutzellen            $p < 0,0190$

#### Versuch II:

Auch im zweiten Versuch wurde für jede Verhaltensweise berechnet, ob sich ein Temperatureffekt ergibt, wenn man sie der Summe aller anderen Verhaltensweisen gegenüberstellt. Nun wurden lediglich die Verhaltensweisen untersucht, die einen Erwartungswert  $> 5$  aus dem Versuch I gezeigt haben. Insgesamt ergab sich ein signifikant gesicherter Unterschied aller Verhaltenshäufigkeiten mit einem Erwartungswert  $> 5$  mit 56,51,  $p < 0,0005$  (Chi<sup>2</sup> Test). Bei den Verhalten „andere putzen“ und „geputzt werden“ wurde in diesem Versuch der Erwartungswert nicht erreicht ( $< 5$ ). Der nun errechnete Wert (ohne die Verhalten „andere putzen“ und „geputzt werden“) ist  $\text{Chi}^2 = 48,7$  und  $p < 0,0005$ , es gibt also immer noch global einen gesicherten Unterschied der einzelnen Verhaltensweisen jeweils gegen den Rest der Registrierungen. Gültige Tests mit einem Erwartungswert über 5 ergaben sich bei folgenden Verhaltensweisen:

- Verhalten 1:       ruhen und laufen                    $p < 0,003$
- Verhalten 2:       sich putzen                            $p < 0,681$  ns
- Verhalten 3:       antennieren                            $p < 0,118$  ns
- Verhalten 4:       Larven inspizieren                $p < 0,849$  ns
- Verhalten 5:       Honigzellen inspizieren        $p < 0,005$
- Verhalten 6:       Zellen inspizieren\*                $p < 0,011$
- Verhalten 7:       Wachsbearbeitung                $p < 0,002$
- Verhalten 8:       an Honigzellen nagen            $p < 0,540$  ns

\* dieses Verhalten wurde im zweiten Versuch bewertet, trotz des Erwartungswertes  $< 5$  im ersten Versuch. Verhalten 9 „andere putzen“ und Verhalten 10 „geputzt werden“ zeigten hingegen innerhalb dieses zweiten Versuches einen Erwartungswert  $< 5$  und lieferten somit keine gültigen Testergebnisse. Für die Verhaltens-



weisen „ruhen und laufen“, „Honigzellen inspizieren“, „Zellen inspizieren“ und „Wachsbearbeitung“ die Nullhypothese ablehnen, diese Verhaltensweisen unterscheiden sich signifikant in den drei Temperaturgruppen voneinander.

## 6.5 Diskussion

Die Arbeiten von Tautz *et. al* (2003) und Groh *et. al* (2004) haben bereits gezeigt, dass das Verhalten der Honigbienen nicht ausschließlich durch deren Gene, sondern auch durch die Brutentwicklung mitbestimmt werden kann. Diese Studien zeigen einen Zusammenhang zwischen Puppenaufzucht und Entwicklung verschiedener Gehirnbereiche (Groh *et. al* 2004) sowie der Sammeleigenschaften der Honigbienen (Tautz *et. al* 2003) mit der gewählten Aufzuchtstemperatur der Bienenpuppen. In diesem Versuch stellte sich die Frage, ob die Bruttemperatur während der Puppenphase einen Einfluss auf einzelne Verhaltensweisen der Bienen in ihren ersten drei Lebensabschnitten haben könnte. Bestehen Lern- und Gedächtnisunterschiede der 32°C Bienen wie aus den Untersuchungen von Groh und Tautz gezeigt wurden auch bei der Ausführung der verschiedenen Stockaktivitäten?

Bei den beobachteten Verhaltensweisen ist im Verlauf der Datenerfassung eine beständige Minderung der Anzahl zu verzeichnen. Der generelle Rückgang an gezeigten Verhaltensweisen lässt sich auf Abnahme der Bienenanzahl zurückführen, da weniger Bienen auch weniger Verhaltensbeobachtungen generieren. Die 36°C-Bienen sind von diesem generellen Rückgang der Verhaltensweisen stärker betroffen, als die beiden anderen Gruppen. Dieser Rückgang zeigt sich besonders deutlich bei den Verhaltensweisen „Larven inspizieren“, „Wachsbearbeitung an Brutzellen“ und „an Honigzellen nagen“. Während, nach einer stock-bedingten kurzen Periode ohne Brut, die 32°C und die 35°C- Gruppen ihre Verhaltensweisen „Larven inspizieren“ und „an Honigzellen nagen“ nach sieben bzw. zehn Tagen wieder etablieren, zeigt die 36°C-Gruppe diese Verhaltensweisen auch später bis zum Ende des Beobachtungszeitraumes nicht mehr. Die Häufigkeit dieser Verhaltensweisen unterscheidet sich im Vergleich sämtlicher Gruppen untereinander nicht signifikant. Auch die Häufigkeit des Verhalten „an Honigzellen nagen“ der 32°C- und die 35°C-Bienen ist nicht signifikant verschieden. Die Aufzuchtstemperatur hat auf diese Verhaltensweisen keine Auswirkung.

Die beiden Verhaltensweisen „Honigzellen inspizieren“ und „Zellen inspizieren“ unterscheiden sich hoch signifikant bei den drei Temperaturgruppen. Während bei den 36°C-Bienen die Häufigkeit dieser Verhaltensweisen stetig abnahmen und nach zwei Wochen nicht mehr registriert werden konnte, zeigten die 32°C- und die 35°C-Bienen diese beiden Verhaltensweisen signifikant häufiger.

Bei den Verhaltensweisen „ruhen und laufen“, „sich putzen“ und „antennieren“ ist festzustellen, dass sich die 36°C-Biene prozentual stetig weniger beteiligten. „Ruhend und laufen“ wurde signifikant weniger bei der 36°C Gruppe gezeigt als bei den beiden anderen Gruppen. Die altersunabhängigen Tätigkeiten „ruhen und laufen“, „sich putzen“ und „antennieren“ nehmen im Vergleich zu den Brutfürsorge- und den Nahrungsbevorratungsverhalten, die alters- und situationsabhängig sind, zeitlich nicht so stark ab. Es könnte sein, dass die 36°C-Bienen sich zum einen an Notsituationen besser bzw. schneller anpassen und zum anderen ist gerade durch ihre verschiedene Aufzuchtstemperatur unterschiedliches Verhalten generiert worden. Diese Tiere sind bereits im jungen Alter zu den eigentlich für ältere Bienen vorgesehenen Tätigkeiten befähigt, unabhängig der Notsituationen. Sie sind vielleicht deswegen nicht mehr innerhalb des Stockes zu finden, da sie sich außerhalb des Nests aufhalten. Diesem Hinweis wird im weiteren Verlauf der Arbeit mittels eines RFID-Versuches gezielt nachgegangen werden.

Im ersten Versuch unterscheiden sich die Temperaturbienen-Gruppen in den Verhaltensweisen 1, 7, 8, 9, 10, 23, 25, 32 und 34 signifikant voneinander, während im zweiten Versuch vier von neun beobachteten Verhaltensweisen signifikant verschieden bei den drei Temperaturgruppen waren. Dazu zählen „ruhen und laufen“, „Honigzellen inspizieren“, „Zellen inspizieren“ und „Wachsbearbeitung“. Zusammenfassend ist feststellen, dass die 36°C-Bienen sich bei 44,45% der Verhaltensweisen signifikant von den 32°C- bzw. 35°C-Bienen in Versuch II unterscheiden. Die 32°C-Bienen unterscheiden sich von den 35°C-Bienen dagegen kaum. Diese Ergebnisse stimmen mit einer früheren Untersuchung von Tautz *et al.* (2003) überein. Mit Aufnahme der Fouragieraktivität wurde ein Verhaltensunterschied bei den sogenannten „Temperaturbienen“ bemerkbar. Die bei kälteren Temperaturen aufgezogenen Bienen zeigten weniger intensive Schwänzeltänze mit weniger

Umläufen als die bei 36°C aufgezogenen Bienen. In unserem Versuch konnten wir einen früheren Übergang der 36°C-Bienen zum Fouragierverhalten feststellen. Diese Tiere könnten dadurch ein größeres Erfahrungsgut als Sammlerinnen besitzen und somit präzisere Tänze ausführen.

Eine mögliche Erklärung dafür, dass „warm“ aufgezogene Bienen sich sehr früh zur Sammelbiene entwickeln, könnte mit der besonderen Empfindlichkeit für niedrige Temperaturen während der Verpuppungszeit zusammenhängen, weil in dieser Phase das Nervensystem komplett umstrukturiert wird. Eine Unterkühlung in dieser Periode könnte die Nervenentwicklung negativ beeinflussen – mit Konsequenzen für den Lebenslauf der betroffenen Biene: Da ihr bestimmte für die Nahrungssuche notwendige Höchstleistungen des Nervensystems fehlen, wird sie ihr Leben mit Hausarbeit verbringen - Ausflüge sind klügeren Bienen aus wärmerer Aufzucht vorbehalten. Es zeigte sich, dass die „warmen“ Bienen bereits in der zweiten Lebenswoche als Sammlerinnen tätig sind, während die „kalten“ Bienen erst in der 2- bis 3. Woche Außendiensttätigkeiten leisten. Die „warmen“ Bienen sind wahrscheinlich gerade in den ersten beiden Lebenswochen sehr gute „Lerner“ und „Lehrer“. Die hohe Temperatur während ihres Puppenstadiums geht vielleicht einher mit verfrühter Altersdemenz. Zum anderen können durch gezieltes Aufziehen von 32°, 35° oder 36°C Brut bestimmte Verhaltensweisen nachgezogen werden. Eine These, deren experimentelle Überprüfung noch aussteht.

Bei der Bewertung stellt der frühzeitige Beginn der 36°C Bienen in ihrer Sammlertätigkeit ein rechnerisches Problem dar. Vielleicht sind gerade deswegen Unterschiede in den Stockinnendienst-Aktivitäten zu finden, weil diese Bienen diese Arbeiten in einem anderen Rhythmus durchlaufen als ihre Schwestern, die ihre Puppenzeit in anderen Temperaturbereichen durchlebten. Vorsicht ist auch geboten in Hinsicht der Unabhängigkeit der Aktivitäten, die die Statistik hier vorgibt: einige Bienen könnten "spezialisiert" auf einzelne Arbeiten sein. Es wird daher nichts übrig bleiben, als diese Versuche, die die Aufteilung der Verhaltensweisen der Arbeitsbienen in noch nicht ausreichender Weise aufzeigen, durch mehrmaliges Wiederholen in den kommenden Jahren zu verifizieren.

## **7. Kapitel II:**

**“Delay matching to sample” Experimente:**

**zeitverzögerter Musterabgleich bei *Apis mellifera***

## 7.1 Zusammenfassung

In diesen Versuchsreihen wurde mit Hilfe des DMTS- Paradigma die Flexibilität und Plastizität des Kurzzeitgedächtnisses der Honigbiene *Apis mellifera* untersucht. Die Ergebnisse zeigen, dass die Leistung der Versuchstiere nachlässt, wenn sich die Dauer zwischen dem Sehen eines Beispielmusters und der Präsentation der Muster, aus denen die Biene eines auswählen muss, vergrößert. Diese Zunahme lässt sich mit einer exponentiellen Funktion beschreiben. Die Leistung ist signifikant besser als eine zufällige Auswahl - selbst wenn die Zeitspanne zwischen den Musterpräsentationen mehr als 5 Sekunden beträgt. Erst ab einer mittleren Verzögerungszeit von  $8,68 \pm 0,06$  Sekunden ist die Leistung bei Bienen zufällig. Weiterhin ist festzustellen, dass Bienen trainiert werden können, aus zwei verschiedenen Mustern bei einer späteren Auswahl das „richtige“ auszuwählen - wenn das „richtige“ an einer bestimmten Stelle fixiert ist oder es stets in einer bestimmten Reihenfolge - immer als erstes oder immer als zweites - präsentiert wird. Diese Bienen können das Erlernte generalisieren und auf andere noch nie gesehene Versuchssituationen übertragen, was auf das ausgesprochen robuste und auch plastische Kurzzeitgedächtnis der Honigbiene *Apis mellifera* schließen lässt.

## 7.2 Einleitung

Eine der wichtigsten Fähigkeiten der Honigbiene ist die Blütenerkennung anhand Farbe, Form und Geruch (Kevan & Baker 1983). Bereits 1793 postulierte Sprengel, dass die Blüten der Insekten wegen gefärbt sind und 1914 zeigte Karl von Frisch durch Dressurversuche an der Honigbiene, dass sie bestimmte Farben von beliebigen Graustufen unterscheiden können und diese Farben mit dem Vorhandensein von Futter assoziieren (Dettner & Petos 1999). Einige Blütenbestäuber haben angeborenen Präferenzen für bestimmte Farben (Lunau & Maier 1995), die den naiven Bienen bei den ersten Sammelflügen bei der Blütenerkennung helfen (Giurfa *et al.* 1995). Sehr rasch muss jede Bienen sicher erkennen können, ob es sich bei dem anfliegenden Objekt auch tatsächlich um eine Blüte handelt. Doch wie erkennen die Bienen die Blüten, d.h. die verschiedenen Farben?

Eine Honigbiene ist in der Lage, noch nie gesehene Muster anhand deren verschiedener Eigenschaften, wie Farbe, Ausrichtung oder Symmetrie zu abstrahieren und sie zur Unterscheidung von Stimuli zu verwenden (Wehner 1971; van Hateren *et al.* 1990; Horridge & Zhang 1995). Wie wir Menschen erleben Bienen optische Eindrücke (Srinivasan, *et al.* 1987; van Hateren *et al.* 1990). Sie sind in der Lage, Symbole als Gesetzmäßigkeiten bei der Navigation in Labyrinthen zu benutzen und diese Gesetze auch zu übertragen (Zhang *et al.* 1996; Zhang *et al.* 1999). Neuere Studien zeigen, dass Honigbienen neben Affen, Tauben und anderen Vertebraten (Herman *et al.* 1974; Zentall & Hogan 1978; D'Amato *et al.* 1985; Holmes 1979) befähigt sind, Aufgaben mit verzögertem Musterabgleich (delayed matching-to-sample tasks [DMTS]) durchzuführen und das Prinzip der „Mustergleichheit“ bzw. „Musterverschiedenheit“ übertragen zu können (Giurfa *et al.* 2001).

Die Honigbiene verdeutlicht, dass selbst Tiere mit einem relativ einfachen Nervensystem essentielle Elemente komplexen Verhaltens aufzeigen. Das DMTS Paradigma wurde bereits 1959 von D.S. Blough eingeführt zur Untersuchung des

Erinnerungsvermögens über relativ kurze Zeitabstände bei Tieren. Dem Versuchstier wird ein Muster, sei es ein Farb- und/oder ein Formmuster präsentiert, welches zeitverzögert unter einer Auswahl ähnlicher Muster wieder erkannt werden soll. Die Fähigkeit des Lernens bei Wiederholungen führt zu Leistungssteigerungen bei der Honigbiene. Dadurch dass verschiedene Muster zufällig in den einzelnen Versuchen abwechseln, wird die Information höchst wahrscheinlich als brauchbare Erinnerung gespeichert (Roitblat 1987). Das Erinnerungsvermögen der Tiere an gesehene, registrierte und erlernte Formen und Farben bedeutet das Langzeitgedächtnis zu gebrauchen und letztendlich eine Entscheidung zu treffen.



### 7.3 Material und Methoden

Die folgenden drei Experimente wurden in der National University's Research School of Biological Sciences in Canberra/ Australien in einem Gewächshaus durchgeführt. Dort ist eine computergesteuerte Temperaturregulierung in einem Bereich von  $24 \pm 5^\circ\text{C}$  während des Tages und  $17 \pm 3^\circ\text{C}$  bei Nacht möglich. Der dort aufgestellte Bienenstock verfügte über zwei Ein- bzw. Ausgang; der eine ermöglicht es den Bienen innerhalb des Gewächshauses zu foragieren, der andere führte ins Freie. Im Gewächshaus wurden die Bienen mit Zuckerwasser an aufgestellten Feedern gefüttert. Für die Experimente wurden jeweils 15-20 individuell markierte Bienen durch einen Tunnel mit einer angeschlossener Entscheidungskammer dressiert, während des Trainings wurde der Feeder schrittweise (ca. 20cm in 10min) vom Tunneleingang bis hin zur Entscheidungskammer verrückt (Abbildung 6). Die Bienen mussten durch diesen Tunnel fliegen und am Ende eine Entscheidung treffen, bei der richtigen Entscheidung wurden sie durch Zuckerwasser im anschließenden Zylinder belohnt. Die individuell markierten Bienen flogen regelmäßig zwischen dem Versuchsaufbau und ihrem Beobachtungsstock mit durchschnittlich 1,39 Flügen je fünf Minuten.

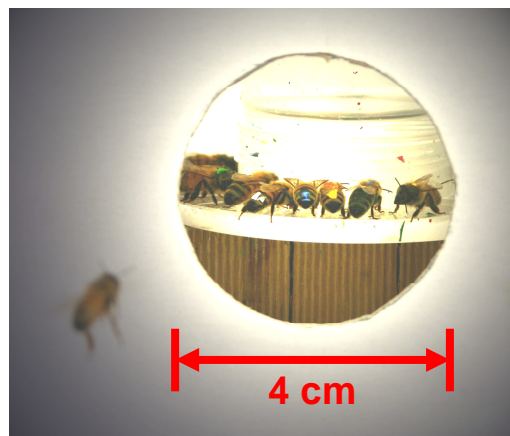
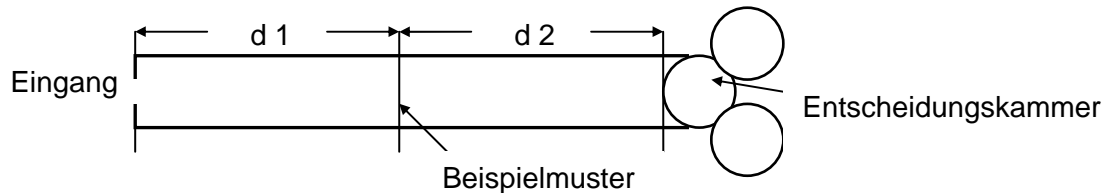


Abbildung 6: Training der individuell markierten Bienen zum Feeder

### Versuchsaufbau

Der Versuchsaufbau besteht aus einem Tunnel und einer Entscheidungskammer. Dieser Tunnel wurde zusammengesetzt aus mehreren Einzelstücken, wobei jedes 2,4m lang, 22,5cm breit und 21,5cm hoch ist.



**Abbildung 7: Schematische Darstellung des Versuchsaufbaus in Versuch 1**

Somit konnte die Tunnellänge variabel eingestellt werden. Die zu unterscheidenden Muster wurden im Tunnel bei  $d_1$  und  $d_2$  platziert. Dazu wurde eine Querwand mit einem zentrierten Loch, durch welches die Bienen fliegen mussten in den Tunnel eingelassen. Das hintere Ende des Tunnels mündet in ein dreiteiliges Zylinderlabyrinth, jeder mit einem Durchmesser von 22,5cm und einer Höhe von 25cm, abgedeckt mit einer transparenten Plexiglasplatte. Der erste Zylinder (die Entscheidungskammer) besitzt neben dem Einflugloch - vom Tunnel kommend - zwei weitere Ausflüglöcher, jeweils mit einem Durchmesser von 4cm in einer Höhe von 12,5cm positioniert. An beiden Ausgängen wurde eines der Musterpaare so angebracht, dass ein 18cm Durchmesser großes Muster zentrisch um ein Ausflüglloch geklebt wurde - die Versuchsbienen mussten durch dieses Muster hindurch fliegen, um den nächsten Zylinder zu erreichen (Abbildung 7). Die Bienen wurden darauf dressiert, eine Übereinstimmung des im Tunnel präsentierten Musters (=Beispielmuster) mit einem der beiden Muster in der Entscheidungskammer zu treffen. Dies bedeutet, dass eine Biene nur dann eine Belohnung erhält, wenn sie das Muster in der Entscheidungskammer auswählt, welches ihr auch im Tunnel bereits präsentiert wurde. Entscheidet sie sich für das „falsche“ Muster in der Entscheidungskammer, so findet sie in dem angeschlossenen Zylinder keinen Feeder mit Zuckerlösung.

Diese Aufgabenstellung stellt daher eine verzögerte Mustervergleichsaufgabe (delayed-matching to sample [DMTS] task) dar. Wenn eine Biene bei dieser Aufgabenstellung die richtige Entscheidung fällt, dann fliegt sie in den angeschlossenen Zylinder, indem ein Feeder gefüllt mit Zuckerwasser auf sie wartet - sie erhält eine Belohnung. Da dieser Zylinder nur ein Einflugloch besitzt, wird sie nach Beendigung des Trinkens aus dem Zylinder befreit, indem die Plexiglasabdeckung geöffnet wird. Bienen, die eine falsche Entscheidung getroffen haben, erreichten einen leeren Zylinder. Sie wurden ebenfalls durch Öffnen der Plexiglasdecke befreit, sodass sie erneut zum Tunneleingang fliegen und in der Entscheidungskammer eine Entscheidung treffen können.

### *Training und Versuche*

Für diese Versuchsreihe wurden drei Einzelversuche durchgeführt. In Versuch 1 wurde untersucht, für welche Zeitspanne die gesehenen Muster im Kurzzeitgedächtnis gespeichert werden können. Dazu wurde den Versuchsbienen ein Beispielmuster innerhalb des Tunnels präsentiert, während sie anschließend in der Entscheidungskammer dasselbe und ein zweites Vergleichsmuster antraf und sich für eines der beiden entscheiden musste. Wie lange die Versuchsbiene das im Tunnel gesehene Beispielmuster im Gedächtnis behalten musste, hängt von der Entfernung dieses Musters von der Entscheidungskammer ab. Je entfernter das Beispielmuster von der Entscheidungskammer positioniert, desto länger muss die Biene das gesehene Muster im Kurzzeitgedächtnis speichern. Während des Versuches wurde das Beispielmuster in verschiedenen Positionen im Tunnel präsentiert, um so herauszufinden, wie lange das Kurzzeitgedächtnis der Biene bei ihrer Entscheidungsfindung zur Verfügung steht. In Versuch 2 wurde das Beispielmuster an einer definierten Position im Tunnel installiert. Zusätzlich wurde ein zweites Muster im Tunnel positioniert, entweder davor oder dahinter. Somit mussten die Bienen schon im Tunnel ein Muster als das „richtige“ und eines als das „falsche“ Muster einstufen. Diese Einstufung konnte auch nicht in der gesehenen Reihenfolge - das richtige stets zuerst oder das falsche Muster immer zuerst - erfolgen. Mit diesem Versuch sollte herausgefunden werden, ob die Versuchstiere

das Beispielmuster, welches immer an derselben Stelle im Tunnel vorgefunden wird als „richtiges Muster“ bei ihrer Entscheidung in der Entscheidungskammer verwenden und somit das zweite zusätzliche Muster immer ignorieren. Im dritten Versuch wurden ebenfalls zwei Muster hintereinander im Tunnel präsentiert. Dadurch sollte untersucht werden, ob Bienen ein Stimulivergleich abstimmen können, indem sie immer denselben Stimulus - den ersten oder den zweiten - als Beispielmuster bei der Entscheidung in der Entscheidungskammer verwenden. Alle drei Tests wurden mit neuen, noch unerfahrenen Bienen durchgeführt.

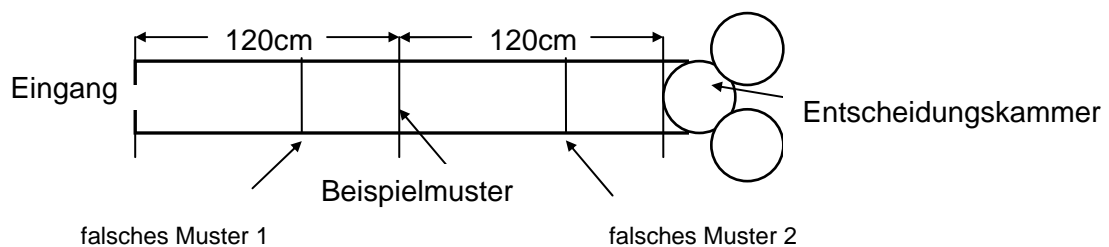
*Versuch 1: Wie lange können Bienen ein Muster im Kurzzeitgedächtnis speichern?*

Das verwendete Muster war ein blauweiß gestreiftes, 18\*18cm großes Quadrat mit einem zentrischen Loch (3cm Ø). Die Streifenmuster war entweder 35° oder 145° geneigt. Diese beiden Möglichkeiten wurden abwechselnd (20min Rhythmus) verwendet. Die Flugfrequenz der Bienen betrug durchschnittlich 6 Besuche pro Block. Jedes der im Tunnel angebrachten Beispielmuster war mit einem der beiden Vergleichsmuster in der Entscheidungskammer identisch. Die Position der beiden Vergleichsmuster wurde im Abstand von 10min gewechselt. Dieses Verfahren zwingt die Bienen, die Muster in der Entscheidungskammer zu betrachten und nicht deren Position zu erlernen. In diesem Versuch war der Tunnel bei fünf der verwendeten Distanzen 480cm lang und wurde für die letzten beiden Distanzen verlängert auf 720cm. Während des Trainings wurde das Beispielmuster im Tunnel 25cm entfernt von der Entscheidungskammer positioniert - die Versuchsbienen mussten lernen, 455cm durch den Tunnel zu fliegen bis sie auf das Beispielmuster trafen, dort hindurch zu fliegen und dann weitere 25cm bis zur Entscheidungskammer zu fliegen, wo sie zwei Muster vorfinden. Sollten sie sich hier für das bereits im Tunnel gesehene Beispielmuster entscheiden, so wurden sie nach Durchfliegen dieses Musters in dem angeschlossenen Zylinder durch einen Zuckerwasserfeeder belohnt. Nach einer Trainingszeit von zwei Tagen hatten die Versuchstiere eine ausreichende Lernerfahrung. Während des Versuches wurde

das Beispielmuster systematisch von der bereits erlernten und 25cm entfernten Position verändert. Der Abstand zwischen dem Beispielmuster und dem Eingang der Entscheidungskammer wurde folglich kontinuierlich vergrößert - von 25cm über 75cm, 125cm, 175cm, 374cm, 475cm bis hin zu 575cm. Bevor die Tiere bei einer neuen Distanz getestet wurden, wurde ihr Entscheidungsverhalten für zwei weitere Blöcke bei 25cm geprüft.

*Versuch 2: Können Bienen eine erlernte DMTS-Aufgabe auch dann ausführen, wenn ihnen zusätzlich zu dem Beispielmuster im Tunnel ein weiteres Muster präsentiert wird?*

Wie im vorausgegangenen Versuch wurden die Bienen auf eine DMTS-Aufgabe mit einem Beispielmuster im Tunnel trainiert. Dieses Muster wurde immer 120cm von der Entscheidungskammer entfernt installiert (Abbildung 8). Zusätzlich wurde im Tunnel ein zweites Muster präsentiert.

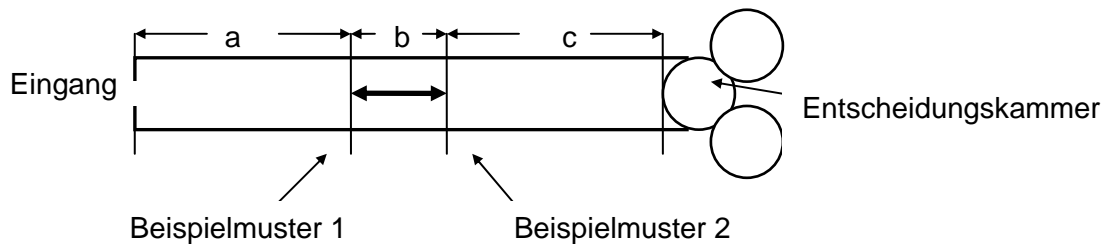


**Abbildung 8: Schematische Darstellung des Versuchsaufbaus in Versuch 2**

Das zweite Muster (im Folgenden als das falsche Muster bezeichnet [fM]) wurde alternativ in einer Entfernung von 170cm (fM1) oder 50cm (fM2) zur Entscheidungskammer präsentiert. Um dort die richtige Entscheidung zu treffen, mussten die Bienen das Beispielmuster als Landmarke im Gedächtnis abspeichern, während sie das andere Muster im Tunnel ignorieren sollten.

*Versuch 3: Können Bienen von zwei aufeinander folgende Mustern im Tunnel lernen, welches das richtige von zwei in der Entscheidungskammer präsentierten Mustern ist?*

In diesem Versuch wurden die Testbienen darauf trainiert, immer zwei Muster im Tunnel vorzufinden, die 50cm voneinander entfernt sind (Abbildung 9, Abstand b).



**Abbildung 9: Schematische Darstellung des Versuchsaufbaus in Versuch 3**

Sowohl das Beispiel- als auch das Alternativmuster waren blauweiß gestreift mit einer Ausrichtung von  $45^\circ$  oder  $135^\circ$ , was der spiegelbildlichen Ausrichtung entspricht. Auch hier stellte das Beispielmuster das „richtige“ Muster dar und das Alternativmuster das „Falsche“, für welches sie sich nicht in der Entscheidungskammer entscheiden sollten. Während des Trainings wurden die Positionen beider Muster nach jedem Block verändert, ihre relative Lage zueinander und die Reihenfolge aber beibehalten. Im ersten Teilversuch wurden die Tiere darauf dressiert, dass immer das zuerst gesehene Muster im Tunnel das „richtige“ darstellt und bei der Entscheidung für dieses Muster eine Belohnung wartet. Das als zweites im Tunnel präsentierte Muster stellte hier also immer das „Falsche“ dar und die Bienen mussten lernen, dieses zu ignorieren oder aber zu lernen, dass dieses Muster mit einer Negativerfahrung korreliert.

Im Teilversuch zwei war die Lernbedingung genau umgekehrt. Das von den Bienen beim Durchfliegen des Tunnels als erstes gesehene Muster war nun immer das „falsche“ und somit das unbelohnte Muster; das im Tunnel als zweites präsentierte Muster stellte jetzt immer das „richtige“ Beispielmuster dar. Nun mussten die Bienen lernen, das zuerst gesehene Muster zu ignorieren oder es als das „falsche“

Muster in der Entscheidungskammer zu identifizieren bzw. immer das zweite im Tunnel gesehene Muster als das „richtige“ zu betrachten. In beiden Teilversuchen war der aufgebaute Tunnel 480cm lang. Nach dem Training wurden die Bienen in den Lernversuchen daraufhin untersucht, wie präzise sie in der Entscheidungskammer eine richtige Auswahl treffen. Neben den verwendeten Streifenmustern (45° und 135° Ausrichtung; siehe Abbildung 10 oberes Musterpaar) wurde ein zweites Musterpaar für anschließende Transfertests benutzt: ein Ringmuster und ein Sektorenmuster. Dieses zweite Musterpaar soll im Versuch zeigen, dass Bienen die erlernten Regeln generalisieren (das zuerst gesehene Muster im Tunnel als Beispielmuster zu bewerten und das zweite zu ignorieren) und diese Regeln anwenden können, also auf noch nie gesehenen Stimuli übertragen. In diesem Versuch wurden die Muster zufällig in ihrer relativen Entfernung zur Entscheidungskammer positioniert - doch der Abstand zwischen den beiden im Tunnel präsentierten Mustern war immer 50cm. Die Ergebnisse der Teilversuche wurden gepoolt, um einen möglichst aussagekräftigen Mittelwert zu erhalten.

### *Die verwendeten Stimuli*

Die verwendeten Muster im Tunnel waren 18x18cm groß und wurden alle mit einem Laserdrucker (Tektronix Phaser 780 Graphics) ausgedruckt (Abbildung 10). Die blauweißen Streifen der 45° und der 135° geneigten Muster waren jeweils 4cm breit.



**Abbildung 10: Verwendete Muster in den DMTS -Versuchen**

Das Streifenmuster-Paar wurde in dem Training und im Versuch 1 und 2 verwendet. Ein radiärsymmetrisches Musterpaar - ein Radialmuster mit sechs blauen und sechs weißen Sektoren und ein Ringmuster mit je drei blauen und weißen Ringen - wurde in einem der Transfertests des Versuches 3 verwendet. Weiterhin wurde ein weiteres Streifenmuster-Paar in einem weiteren Transfertest des dritten Versuches verwendet, das aus blauweißen, 4cm breiten Streifen zum einen horizontal zum anderen vertikal ausgerichtet bestand.

### *Datenerfassung und Analyse*

Während des Trainings und der Versuche wurden die verwendeten Muster alternierend im Tunnel präsentiert, jeweils für 20min andauernden Versuchseinheiten, den Blocks. In der Entscheidungskammer wurden die Musterpaare in 10min Abständen ausgetauscht, d.h. jedes Muster wurde für 10min auf der linken und 10min auf der rechten Seite präsentiert. Die Bienen lernten, dass sie das Muster, welches sie bereits im Tunnel gesehen hatten, in der Entscheidungskammer auswählen sollten, da es mit einer Belohnung zu assoziieren ist. Durch das stetige Positionswechseln der Muster wurden Entscheidungen der Bienen durch eine mögliche Seitenpräferenz ausgeschlossen. Jede Entscheidung der Versuchstiere wurde in jedem Versuchsblock sowohl im Training als auch während der Versuche notiert. Für jeden Versuch wurden 4-8 Trainingsblocks durchgeführt. Die Leistung jeder Biene wurde berechnet, indem alle richtigen Entscheidungen dieser Biene in allen Blocks gepoolt und deren Anteil an den gesamt getroffenen Entscheidungen ausgerechnet wurde. Die Durchschnittsleistung innerhalb eines Versuchstypus erhält man dadurch, dass die berechnete richtige Wahl jeder Biene gemittelt wird. Die Stichprobe  $n$  ist in diesem Fall die Anzahl der Versuchsbienen und nicht die individuelle Anzahl an Entscheidungen. Dies gewährleistet, dass die Proben statistisch unabhängig sind. Mit Hilfe der Datenanalyse erhält man die mittleren Werte der richtigen Wahl, die Standardabweichungen und die Standardfehler der Mittelwerte. Ob das richtige Wahlverhalten signifikant besser als der Zufall ist, wurde mit dem Student t-Test ermittelt. Im Versuch 1 wurde die



ermittelte Zeitspanne vom Sehen des Beispielmusters im Tunnel bis zur Entscheidungskammer mit einer Stoppuhr gemessen.

### *Kontrollversuche*

Am Ende eines jeden Versuches wurden zwei verschiedene Kontrolltest mit den Versuchsbienen durchgeführt. Der eine Test zeigt an, ob die Versuchsbienen eine Seitenpräferenz entwickelt haben und somit ihre Entscheidungen beeinträchtigt wurden. Bei diesem Test waren das Beispielmuster im Tunnel und die beiden Vergleichsmuster in der Entscheidungskammer identisch und es erfolgte keine Belohnung. Beim Auswerten der Entscheidungen für die linke und die rechte Seite würde ein Ungleichgewicht beider Seiten auf eine Seitenpräferenz schließen lassen. Beim zweiten Test wurde untersucht, ob die von den Bienen getroffenen Entscheidungen mit einem dem Plastikfeeder ausströmenden Duft bzw. hinterlassenen Duftspuren der vorherigen Besuche oder aber der Zuckerlösung selbst zusammenhängen. Auch in diesem Kontrolltest waren die beiden Vergleichsmuster in der Entscheidungskammer identisch und gleich dem Beispielmuster im Tunnel. Einer der Entscheidungstunnel anschließenden Zylinder wurde nun mit einem Feeder belohnt. Sollten die Bienen sich nun mehrheitlich für das Muster mit der anschließenden Belohnung entscheiden, so kann eine Beeinflussung durch Duft nicht ausgeschlossen werden.

## 7.4 Ergebnisse

*Versuch 1: Wie lange können Bienen ein Muster im Kurzzeitgedächtnis speichern?*

Bevor diese Versuchsreihe startete, lernten die Bienen, ein Beispielmuster im Tunnel zu erkennen und in der Entscheidungskammer dieses von zwei zur Auswahl stehenden Vergleichsmustern auszuwählen, um anschließend mit Zuckerwasser belohnt zu werden. Innerhalb des Versuches wurden von 16 individuell markierten Bienen 286 Entscheidungen getroffen. Bei jedem verwendeten Muster konnte eine hochsignifikante richtige Entscheidung festgestellt werden (Abbildung 11).

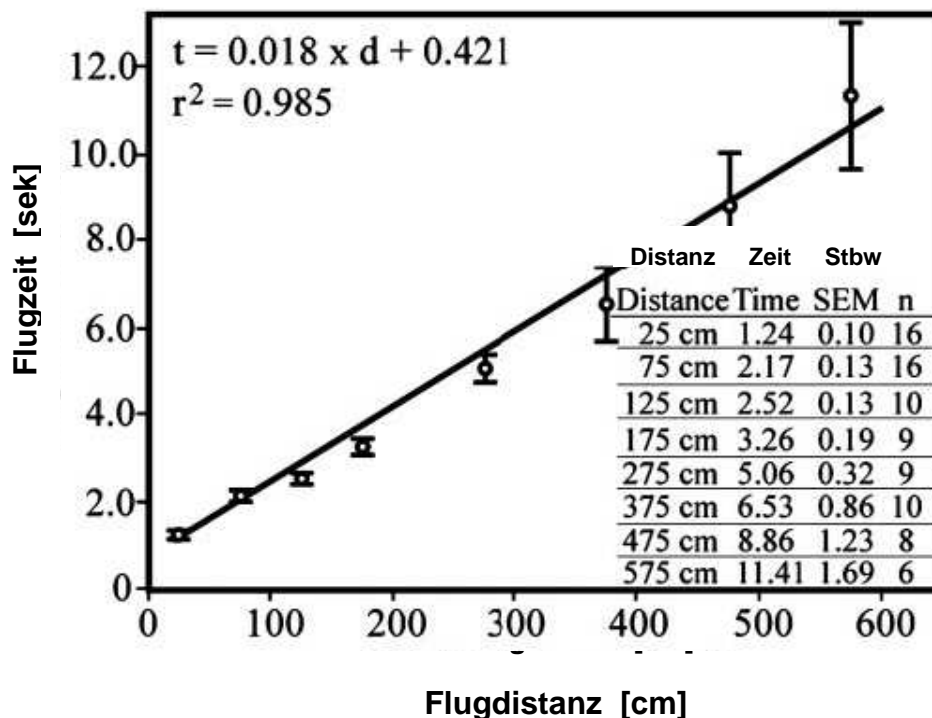
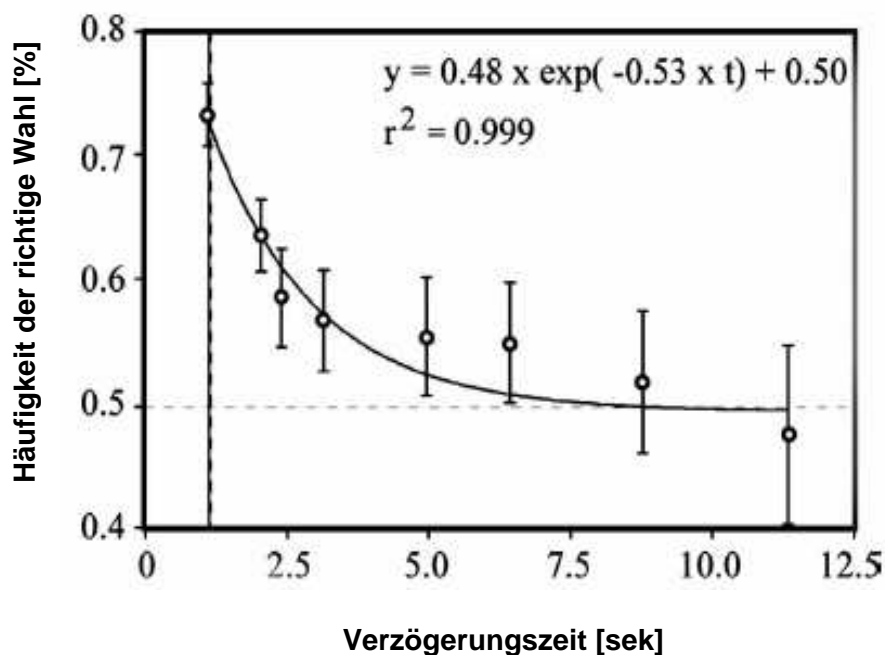


Abbildung 11: Zusammenhänge der gemessenen Flugzeit und Flugdistanz

Der ANOVA- Test zeigt, dass die gesamten Daten von allen Blöcken und allen Bienen homogen sind ( $P > 0,05$ ). Bei jedem Muster zeigten die Bienen eine signifikant richtige Wahl bei dem zum Beispielmuster gleichen Muster in der Entscheidungskammer. In den Lernversuchen wurde das Beispielmuster in einem Abstand von 25cm zu der Entscheidungskammer positioniert. Die durchschnittlich

richtige Wahl, das im Tunnel gesehene Muster in der Entscheidungskammer wieder zu erkennen und auszuwählen, liegt bei diesem Abstand bei  $0,75 \pm 0,03$ , was signifikant höher ist als eine zufällige Wahl von 50% ( $P < 0,001$ ) (Abbildung 12; erster Datenpunkt). die durchschnittliche Zeit vom Sehen des Musters bis hin zur Entscheidungskammer liegt bei  $1,24 \pm 0,10$ sek.

Während des Versuches wurde das Beispielmuster zuerst bei einem Abstand von 25cm zur Entscheidungskammer platziert und anschließend in den Abständen von 75cm, 125cm, 175cm, 375cm, 475cm und 575cm angebracht, was zu einem entsprechenden Zeitanstieg wegen der längeren Flugstrecke führte (Abbildung 11). Die Flugzeit zwischen dem Beispielmuster und der Entscheidungskammer wurde für alle Distanzen gemessen.



**Abbildung 12: Zusammenhang des richtigen Wahlverhaltens in Abhängigkeit der Musterverzögerung. Die Funktion  $y=0,48x \exp(-0,53xt)+0,50$  (=Funktion des Vergessens) nähert sich einer exponentiellen Abnahmefunktion.**

Die Ergebnisse in Abbildung 12 zeigen den nahezu linear-proportionalen Zusammenhang zwischen gemessener Zeitdauer und Flugstrecke. Der Korrelations-

koeffizient zwischen diesen beiden Variablen beträgt 0,9852. Folglich ist die Fluggeschwindigkeit durch den Tunnel annähernd konstant. Die Genauigkeit der richtigen Wahl des Musterabgleichs sinkt mit zunehmendem Abstand (und mit der einhergehenden Verzögerung, Abbildung 12). Die Leistung der Versuchsbienen war bis zu einem Musterabstand von 375cm signifikant besser als 50%, was mit einem durchschnittlichen Zeitabstand von  $6,53 \pm 0,86$ sek korreliert. Ab dem Musterabstand von 475cm sank die Leistung bis zu Zufallslevel von 50% ab, entsprechend einer durchschnittlichen Zeitspanne von  $8,86 \pm 1,23$ sek. Der Leistungsabfall pro Zeitverzug kann dargestellt werden durch die Exponentialfunktion  $y = 0,48x \exp(-0,53xt) + 0,5$  (Abbildung 12).

Versuch 2: Können Bienen eine erlernte DMTS-Aufgabe auch dann ausführen, wenn ihnen zusätzlich zu dem Beispielmuster im Tunnel ein weiteres Muster präsentiert wird?

Trainiert wurden die Versuchstiere mit einem Muster, das ihnen 120cm vor Eintritt in die Entscheidungskammer präsentiert wurde. Welches der beiden Vergleichsmuster sie in der Entscheidungskammer wählten, wurde im Versuch bewertet. Anschließend wurde ein zweites Beispielmuster im Tunnel platziert (Abbildung 13).

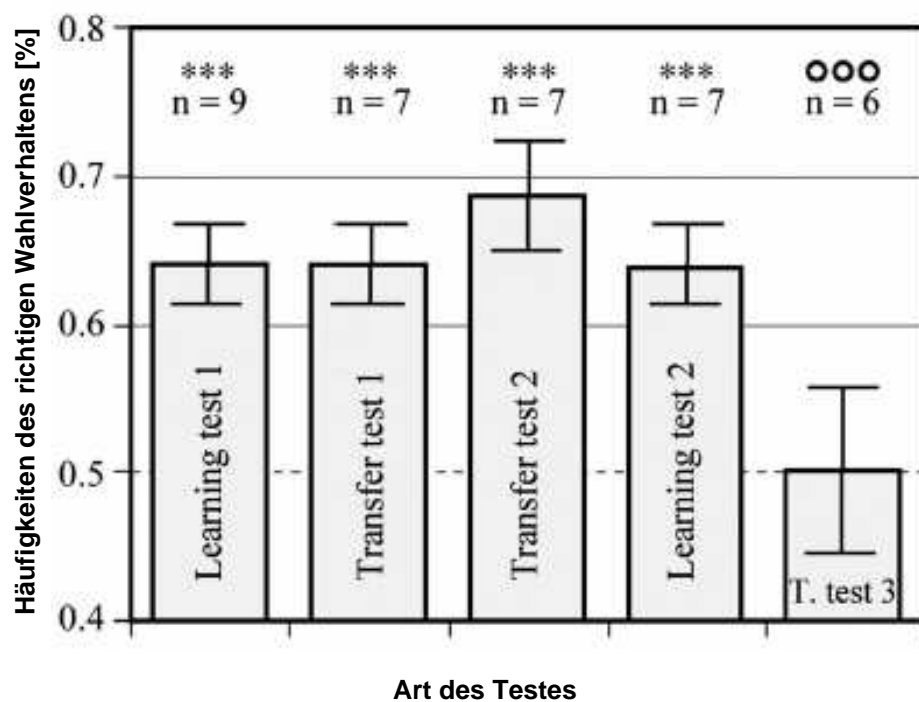


Abbildung 13: Häufigkeit des richtigen Wahlverhaltens bei den unterschiedlichen Tests

Das „richtige“ Beispielmuster blieb während des gesamten Versuches an derselben Position (120cm Abstand zur Entscheidungskammer) wie im Training, das „falsche“ Muster wurde an verschiedenen Stellen positioniert, entweder vor oder hinter dem „richtigen“ Muster. Innerhalb des ersten Lernversuches verwendeten die Bienen das „richtige“ Beispielmuster im Tunnel zum Musterabgleich in der Entscheidungskammer signifikant häufiger als eine zufällige Wahl ( $0,64 \pm 0,03$ ,  $n = 9$ ,  $P < 0,001$ ). Im anschließenden Transfertest wurde ein anderes Musterpaar verwendet, um die

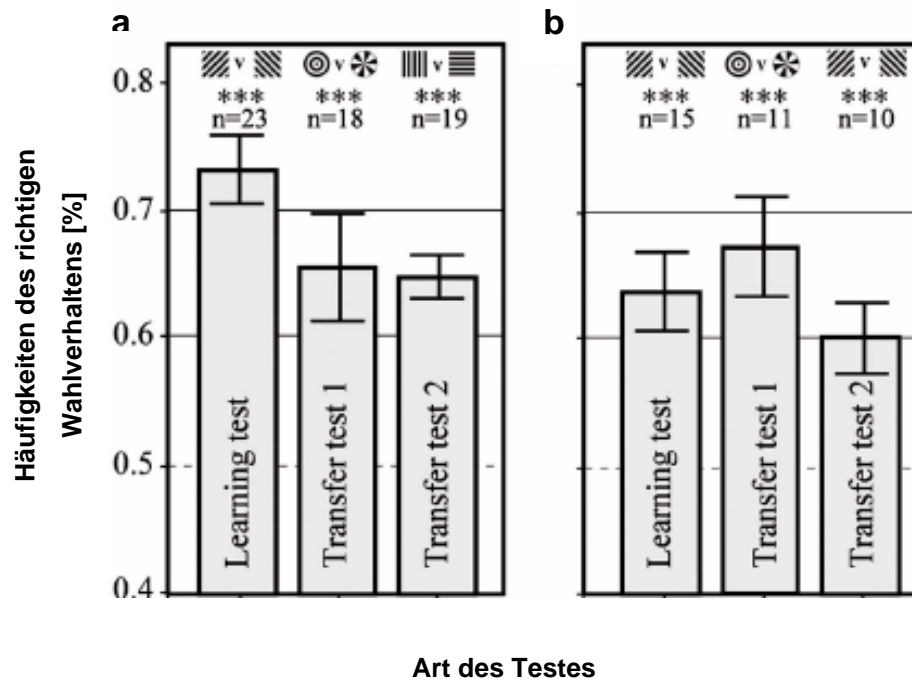
Transferleistung der Bienen bewerten zu können (Abbildung 10). Auch hier wurde das in der Entscheidungskammer als belohnendes Muster präsentierte, im Tunnel bei dem Abstand von 120cm angebracht. Wurde das „falsche“ Muster hinter dem „richtigen“ Beispielmuster (Abstand zur Entscheidungskammer: 50cm) positioniert, konnte ein signifikant richtiges Wahlverhalten von  $0,64 \pm 0,03$  ( $n = 7$ ,  $P < 0,001$ ) festgestellt werden (Abbildung 13, Transfer Test 1). Wurde das „falsche“ Muster vor dem „richtigen“ Muster angebracht (Abstand zur Entscheidungskammer 170cm) war die Leistung mit  $0,69 \pm 0,04$ ,  $n = 7$ ,  $P < 0,001$  signifikant besser (Abbildung 13, Transfer Test 2) als die zufällig Wahl mit 0,50. Vor dem dritten Transfertest mussten die Bienen erneut einen Lernversuch absolvieren, welcher mit dem Ergebnis von  $0,64 \pm 0,03$ ,  $n = 7$ ,  $P < 0,001$  (Abbildung 13, Learning Test 2) signifikant besser war als eine zufällige Wahl. Im dritten Transfertest wurden das „richtige“ Beispielmuster bei einem Abstand von 50cm und das „falsche“ Muster bei einem Abstand von 170cm vor der Entscheidungskammer angebracht. Kein Muster wurde in dem von den Bienen bekannten Abstand von 120cm platziert. Die Ergebnisse zeigen, dass die Bienen in diesem Versuch irritiert waren, was in einem Leistungsabfall zu  $0,50 \pm 0,06$ ,  $n = 6$ ,  $P > 0,90$  (Abbildung 13, Transfer Test 3) zum Ausdruck kommt. Daraus folgt, dass die Versuchsbienen aufgrund der Musterposition im Tunnel eine richtige Auswahl in der Entscheidungskammer für das „richtige“ Muster treffen können.

*Versuch 3: Können Bienen aufgrund der Reihenfolge zweier aufeinander folgende Mustern im Tunnel lernen, welches das richtige von zwei in der Entscheidungskammer präsentierten Mustern ist?*

Auch in diesem Versuch mussten die Bienen sowohl ein "richtiges" als auch ein "falsches" Beispielmuster im Tunnel durchfliegen, ehe sie in der Entscheidungskammer eine Abgleichs-Auswahl treffen konnten. Im Unterschied zum vorherigen Versuch wurde diesmal nicht eine fixe Position des „richtigen“ Beispielmusters erlernt, die Bienen mussten die relative Position beider Muster, des „richtigen“ und des „falschen“ Mustern zueinander erlernen. D.h., im ersten Teilversuch wurde das "richtige" Muster immer vor dem "falschen" Muster positioniert und im zweiten Teilversuch umgekehrt, um die Frage „Können die Bienen eine vorgegebene Musterreihenfolge von „falschen“ und „richtigen“ Mustern erlernen?“ beantworten zu können.

Die Ergebnisse des Teilversuchs a zeigen, dass die Bienen in der Lage waren, das zuerst gesehene Streifenmuster im Tunnel als Referenzmuster bei der Auswahl in der Entscheidungskammer zu benutzen, um eine richtige Wahl zu treffen (Abbildung 14 a, Learning Test).

Mit  $0,73 \pm 0,03$  ( $n = 23$ ,  $P < 0,001$ ) war das richtige Wahlverhalten signifikant höher als eine willkürliche Auswahl. In den anschließenden Transfertests wurden die Bienen wie auch im Versuch 2 mit neuen, noch nie gesehenen Musterpaaren konfrontiert. Hiermit soll getestet werden, ob die Versuchstiere das Erlernte auch auf andere Musterpaare übertragen können. Das richtige Wahlverhalten liegt mit dem Ring- und Sektormusterpaar bei  $0,66 \pm 0,04$ ,  $n = 18$ ,  $P < 0,001$  (Transfer Test 1) und bei dem Horizontal- und Vertikalstreifenpaar bei  $0,65 \pm 0,02$ ,  $n = 19$ ,  $P < 0,001$  (ebenfalls Abbildung 14 a, Transfer Test 2).



**Abbildung 14:** Häufigkeiten des richtigen Wahlverhaltens bei den beiden Teilversuchen. In Abbildung (a) ist immer das erste und in Abbildung (b) immer das zweite Muster das „richtige“, welches die Bienen in der Entscheidungskammer auswählen sollten, um eine richtige, belohnte Entscheidung zu treffen.

Für den Teilversuch b wurden neue Bienen trainiert und diese erlernten, dass das zuerst gesehene Muster im Tunnel nicht das „richtige“ Beispielmuster beim Abgleich in der Entscheidungskammer ist, sondern immer das zweite Muster. Auch in diesem Versuch war das richtige Wahlverhalten signifikant besser als eine zufällige Auswahl (Learning Test mit  $0,64 \pm 0,03$  ( $n = 15$ ,  $P < 0,001$ , Abbildung 14 b). Auch in dem anschließenden Transfertest 1 war die Leistung der Bienen mit  $0,67 \pm 0,04$ ,  $n = 10$ ,  $p < 0,001$  sehr gut (Abbildung 14 b, Transfer test 1). Im zweiten Transfertest wurde der Abstand zwischen den beiden Mustern im Tunnel auf 100cm vergrößert; es ergab sich eine Trefferquote von  $0,60 \pm 0,03$  ( $n = 10$ ,  $P < 0,001$ , Abbildung 14 b, Transfer test 2).



*Kontrolltests*

Beim anschließenden Kontrollversuch 1 lag die Häufigkeit einer der beiden identischen Vergleichsmuster bei 0,48, was von einer zufälligen Wahl von 0,50 signifikant nicht abweicht ( $n = 31$ ,  $P > 0,90$ ). Dies lässt schließen, dass die Versuchstiere keine Seitenpräferenz aufweisen. Im Kontrollversuch 2 wurden ebenfalls gleiche Vergleichsmuster verwendet, eines wurde aber mit einer Zuckerlösung im anschließenden Zylinder belohnt. Die Häufigkeit der „belohnten“ Seite lag bei 0,45, was einer zufälligen, willkürlichen Auswahl signifikant nicht abweicht ( $n = 90$ ,  $P > 0,3$ ). Dies zeigt, dass olfaktorische Marken in diesem Versuch keine Auswirkungen zeigen. Dies wird auch von den Ergebnissen aus dem ersten Versuch gestützt, wonach die Leistung der Bienen ab einer Entfernung von 475cm (oder einer zeitlichen Verzögerung von 8,9sek) bis zum zufälligen Level von 50% absinkt (Abbildung 11 und Abbildung 12). Falls die Bienen Duftspuren verwänden, würde ihre Leistung nicht bis auf eine zufällige Wahl, ein nicht signifikant differentes Level absinken.

## 7.5 Diskussion

Das Kurzzeitgedächtnis der Honigbiene ist, wie in den vorausgegangenen DMTS-Versuchen gezeigt wurde, sehr ausgeprägt und hoch flexibel. Die Ergebnisse des ersten Versuches legen dar, dass Bienen eine Information über ein gesehenes Muster für etwa fünf Sekunden im Kurzzeitgedächtnis behalten können, ehe sie es zur Entscheidungsfindung in der Entscheidungskammer verwenden. Die Präzision, mit der die Bienen das „richtige“ Muster bei den Vergleichsmustern in der Entscheidungskammer auswählen, lässt mit zunehmender Verzögerungszeit nach (Abbildung 12). Der Leistungsabfall kann durch eine exponentielle Fallfunktion dargestellt werden. Der Regressionskoeffizient dieser Kurve von 0,9989 zeigt, dass die Daten annähernd bei einer Exponentialfunktion liegen. Es scheint, dass die Informationsbeibehaltung im Kurzzeitgedächtnis exponentiell als eine Funktion der Zeit oder der Flugdistanz abfällt. Mathematisch ausgedrückt ist eine exponentiell abfallende Größe gleich einer Größe, deren Abnahmerate proportional ihres derzeitigen Wertes ist. Dies bedeutet, dass die Gedächtnisspur (entspricht MT für memory trace) proportional ihrer Größe abnimmt.

$$\frac{d(MT)}{dt} = \lambda \times MT$$

Wobei  $\lambda$  der konstante Abfall der Größe 0,53 ist und innerhalb der Kurve die Leistungsabnahme pro Zeit darstellt. Diese Ergebnisse stimmen mit den meisten DMTS Versuchsergebnissen überein, bei denen eine Leistungsabnahme mit Zeitverzug festgestellt wurde. Diese Abnahmefunktion wird auch als Funktion des Vergessens oder Rückhaltefunktion bezeichnet (White 1985; White & Wixted 1999; Wixted 1989; Ziegler & Wehner 1997).

Die Ergebnisse des zweiten Versuches weisen darauf hin, dass Bienen, denen ein Muster an einer definierten Stelle im Tunnel präsentiert und dieses später für eine Musterabgleichs-Entscheidung verwendet wurde, nicht nur diese Abgleichsgesetze erlernten, sondern auch Informationen erlernten und verwendeten bezüglich der

Entfernung dieses Musters bis zur Entscheidungskammer und der dort angebrachten Vergleichsmuster. Wurden die Bienen mit zwei Stimuli im Tunnel konfrontiert - eines an der erlernten Trainingsposition und das andere an unterschiedlichen Distanzen, verwendeten sie das Muster an der bereits von ihnen bekannten Stelle als das „richtige“ Muster, während das andere Muster als irrelevant missachtet wurde. Neuere Arbeiten haben gezeigt, dass Bienen zeitliche Flugdistanz unterwegs verwenden (Esch & Burns 1995; 1996 Srinivasan *et al.* 1996, 1997, 2000; Esch *et al.* 2001; Si *et al.* 2003; Tautz *et al.* 2004). In diesen Experimenten waren sowohl die Wände als auch der Boden weiß ausgekleidet, also ohne jegliche sichtbare Textur versehen. Es konnte dadurch eine Bilderbewegung von Seiten der Biene ausgeschlossen werden. Wie konnten die Versuchstiere die Position des „richtigen“ Beispielmusters im Tunnel erkennen? Es wäre möglich, dass sie sichtbare Landmarken außerhalb des Tunnels als Referenzmarken verwendeten. Eine Untersuchung von Terrace *et al.* (2003) zeigt, dass Affen hoch entwickelte Fähigkeiten besitzen und, wie der Mensch, Erfahrungen einer definierten Situation auf ähnliche Zusammenhänge übertragen können. Rhesusaffen können die Reihenfolge einiger Bilder lernen und anschließend dieses Wissen in neuen Zusammenhängen kombinieren.

Die Ergebnisse aus Versuch 3 zeigen, dass Honigbienen diese Fähigkeit in abgeschwächter Form besitzen. Die Bienen waren in der Lage, aufgrund der Reihenfolge zweier Muster im Tunnel deren Richtigkeit zu bewerten und dieses Wissen bei einer Musterabgleichs-Entscheidung anzuwenden. Dieses erlernte Wissen konnten sie auch auf neue Beispiel- und Abgleichsmusterpaare übertragen. Diese Aufgabe konnte nicht gelöst werden, indem sich die Tiere die Positionen der „richtigen“ Muster einprägten, da die Positionen der Muster in jeden einzelnen Blocks verändert wurde, lediglich ihre Distanz zueinander blieb immer gleich groß. Es ist möglich, dass die Bienen nicht nur lernten, welches Beispielmuster das „richtige“ bei der Auswahl der Vergleichsmuster ist, sondern auch, welches der beiden im Tunnel präsentierten Muster das „falsche“ ist und dass eben dieses in der Entscheidungskammer nicht gewählt werden sollte. Sie könnten also zeitgleich die Übereinstimmungs- und die Nichtübereinstimmungs-Aufgaben erlernt haben.

Tatsächlich zeigte Giurfa *et al.* 2001 bereits, dass Bienen eine Abgleichs- als auch eine Nicht-Abgleichsaufgabe ausführen können. Weitere Untersuchungen sind allerdings notwendig, um herausfinden zu können, ob Bienen Aufgaben mit mehr als zwei Mustern in einer bestimmten Reihenfolge lösen können. Ob die Bienen das erste, das zweite oder das dritte Muster als das Relevante zur Abgleichung zu einem späteren Zeitpunkt verwenden, wird von spezifischem Training der Honigbienen abhängen.

## **8. Kapitel III:**

### **Lebenslange Erfassung von Flugdaten der Honigbiene *Apis mellifera* mittels RFID Chips**

## 8.1 Zusammenfassung

Bei diesem Versuch wurden einzelne Honigbienen *Apis mellifera carnica* lebenslang mit Hilfe von RFID-chips (Radio Frequency Identification) ausgerüstet und ihre Aktivitäten dokumentiert. Dazu wurde an einem Beobachtungsstock-Ausgang ein spezieller Tunnel konstruiert und angebracht, der an einer definierten Passstelle mittels installierten Scannern sowohl die Zeit als auch die Richtung der RFID- Bienen einzeln erfasst und abspeichert. Die verwendeten Bienen wurden in drei Gruppen von Honigbienen -Arbeiterinnen unter verschiedenen Temperaturen (32°, 35° and 36°C) während ihrer Puppenzeit aufgezogen. Es konnte ein großer Effekt der Aufzuchtstemperatur auf die Flugaktivität und auch auf die Lebensspanne gezeigt werden. Bienen, die bei 32°C - was unter der normalen Brutnesttemperatur von 35°C liegt - aufgewachsen sind, zeigten eine sehr geringe Flugaktivität und eine relativ kurze Lebensspanne. Bienen, die bei 36°C heranwuchsen, zeigten ebenfalls eine geringere Flugaktivität als die bei 35°C aufgezogenen Bienen, jedoch ist deren Lebensspanne extrem lange. Nur Bienen aus dieser Gruppe überlebten den Winter und zeigten eine Flugaktivität im folgenden Frühjahr. Individuen, die eine sehr geringe Flugaktivität im ersten Jahr aufzeigten, werden langlebiger als solche, die eine hohe Flugaktivität aufweisen. Der Aktivitätslevel der Bienen, die den Winter überlebten, stieg im kommenden Frühjahr überdurchschnittlich hoch an.

## 8.2 Einleitung

In Kapitel 1 sind Untersuchungen vorgestellt worden, die mögliche Unterschiede der bei verschiedenen Temperaturen aufgezogenen Gruppen bei individuellem Lernen und Aufgabenverteilung aufzeigen sollen. In diesem Kapitel stehen Betrachtungen über den Lebenslauf von Bienengruppen im Vordergrund, die sich aus der Aufzucht bei unterschiedlichen Temperaturen ergeben. Mit der wenn auch flexiblen, dennoch vorgegebenen zeitlichen Einteilung der Arbeitsstadien bei Honigbienen existiert eine Art idealer Lebenslauf (Lindauer 1952; Ribbands 1953; Seeley 1985; Winston 1987; Hölldobler & Wilson 1994). Auf der anderen Seite wissen wir, dass diese klassische Einteilung der Arbeitsstadien von Bienen an die herrschenden Notwendigkeiten sehr flexibel angepasst werden kann: Auch eine künstlich neu gegründete Kolonie von Jungbienen wird die eigentlich in späteren Abschnitten des Alters vorgesehenen Sammlerbienen schon ab dem ersten Tag zur Verfügung stellen. Die Beobachtung, dass eine hohe Flugaktivität eine kürzere Lebensspanne bei Sommerbienen bedingt (Neukirch 1982), führte zu Deutungen, die die gesamte Lebensenergie als ein vorgegebenes Reservoir von insgesamt nutzbarer Lebensenergie gesehen haben, dessen Verbrauchsgeschwindigkeit direkt die Lebensspanne beeinflusst. Gerade die Bildung von Winterbienen, deren drastisch gesteigerte Lebensspanne um ein Mehrfaches über der der Sommerbienen liegt, ist noch nicht vollständig verstanden und soll hier beleuchtet werden. Bekannt sind hier Zusammenhänge mit der Abnahme der Brutaufzucht und der daraus resultierenden Abnahme von Brutpheromon (Fluri 1993).

Wie sich nun die Aufzucht bei verschiedenen Temperaturen auf diese Lebensgeschichte der verschiedenen Temperaturgruppen auswirkt, soll hier die zentrale Frage sein. Dabei werden, methodisch bedingt, vor allem die Lebensspanne und die Lebensaktivität der untersuchten Bienen im Mittelpunkt stehen.

### 8.3 Material und Methoden

Die klassischen Methoden zur Beobachtung einer Gruppe von Honigbienen bestehen meist aus einer Farbmarkierung auf dem Thorax und/ oder dem Abdomen der Bienen (Abbildung 15) und folgender manueller oder halbmanueller (Aufnahme per Video und anschließender manueller Auswertung) Beobachtung.



**Abbildung 15: Karl von Frisch beim Markieren von Honigbienen an einer Futterstelle**

Innerhalb dieses Versuches ist es das Ziel, drei Gruppen von Bienen über einen Zeitraum vom Schlupf bis ihrem Tode mit möglichst vielen relevanten Daten zu beobachten. Dabei kann die Lebensspanne der Honigbienen in Mitteleuropa bis zu 11 Monaten (Page & Peng 2001) betragen - eine Auswertung auf klassischen Weg wurde daher bei der zu erwartenden Datenmenge und dem resultierenden Zeitaufwand als nicht realistisch erkannt. Vielmehr soll hier ein Verfahren zur automatischen individuellen Identifikation bei Insekten der Größe von Honigbienen verwendet werden, wie beschrieben bei Streit *et al.* (2003).

#### *Die Bienen*

Die im Versuch verwendeten Bienen wurden kontrolliert aufgezogen. Ihre Entwicklung vollzog sich in zwei Abschnitten. Der Erste Abschnitt umfasst das Heranwachsen vom Ei hin zur Präpuppe (verdeckelter Zustand) innerhalb des



Bienenvolkes, während der anschließende, zweite Abschnitt außerhalb des Nestes in Inkubatoren erfolgte. Ziel dieser räumlich voneinander getrennten Aufzuchten war es, kontrollierte Umweltbedingungen, vor allem konstante Temperaturen innerhalb der puppalen Entwicklung zu gewährleisten. Um solch gleichartige und auch gleich alte Bienen „produzieren“ zu lassen, wurde die Königin (*Apis mellifera carnica*) des entsprechenden Volkes durch ein Absperrgitter auf eine leere Brutwabe innerhalb des Volkes gesperrt (Abbildung 4). Dadurch konnte sie diese Wabe nicht verlassen und somit gezwungen, ihre Eier nur dort legen zu können. Nach 24stündiger Bestiftung wurde das Absperrgitter wieder entfernt und die Waben verblieben für weitere 9 Tage im Volk. Direkt am Verdeckelungstag (Tag 10) wurden die Waben in Inkubatoren (Memmert IPP 500) überführt, wo sich die bereits verdeckelten Bienenpuppen entsprechend bei 32°, 35° oder 36°C für 13, 11 oder 10 Tage zur Jungbiene entwickelten. Am Schlupftag wurden von den drei Temperaturgruppen jeweils 300 Bienen individuell mit RFID-Chips markiert und in ein Pflegevolk in einen gemeinsamen Beobachtungsstock eingesetzt.

### *Die Markierung*

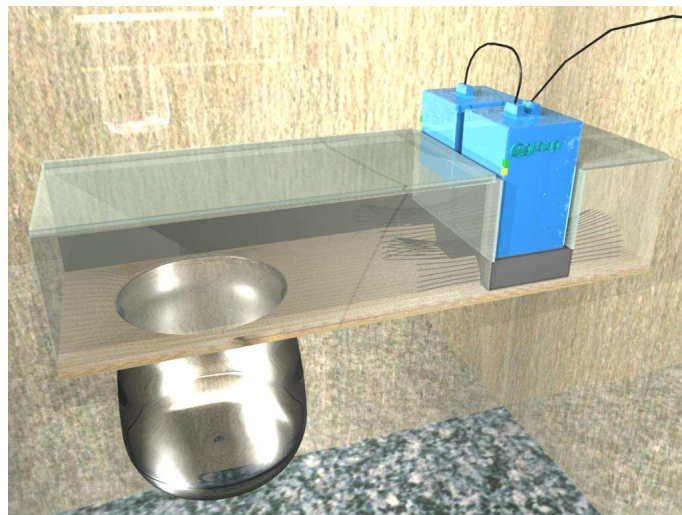
Die individuelle Markierung der Honigbienen mit RFID-Chips ist die Voraussetzung der automatischen Datenerfassung bei ihrem Verlassen des Stockes. Hierzu werden den zu beobachtenden Bienen mit Schellack Mikrochips auf den Thorax geklebt (Abbildung 16), die mit einem Gewicht von 2,4mg und einer Größe von 1.0 x 1.6 x 0.5mm in etwa Gewicht und Größe eines gewöhnlichen Opalithplättchens entsprechen.



**Abbildung 16: Markierung einer Honigbiene mit einem Chip**

Die zahlreichen mit Opalithplättchen in der Literatur beschriebenen Experimente haben den Konsens entstehen lassen, dass dieser markierende Eingriff nachfolgend kein artifizielles Verhalten der Bienen generiert, für die verwendeten Mikrochips wurde demnach dasselbe angenommen. Die verwendeten Mikrochips unterstützten zum Auslesen ihrer jeweils einmaligen ID Nummer RFID (Radio Frequency Identifikation) und hatten die folgenden technischen Daten:

- Microsensus™ mic3®-64-TAG
- Closed Coupling Read Only Transponder 64bit in mic3 Technologie
- Verwendete Frequenz: 13.56 MHz
- Speicher: 64 Bit Laser programmiert
- Abmessungen: 1.0 \* 1.6 \* 0.5 mm<sup>3</sup>



**Abbildung 17: Künstlicher Stockein- bzw. Ausgang mit den aufgesetzten Scannern**

Die Miniaturisierung dieses Verfahrens hat neben der unbestreitbar wünschenswerten Minimierung des artifiziiellen Einflusses der Markierung auf das Verhalten auch eine Miniaturisierung der Reichweite der RFID Scanner zur Folge. Zum Einlesen der Informationen beim Aus- und Einflug der Bienen wurde daher ein entsprechender Tunnel verwendet (Abbildung 17), der den zuverlässigen Auslese-

vorgang ermöglicht, gleichzeitig aber eine durch die Kanalisierung des Stockverkehrs eine gewisse Behinderung nach sich zieht.

Auch hier wurde wiederum versucht, möglichst wenig artifizielle Einflüsse auf das Experiment einwirken zu lassen. Daher wurde eine Größe der Tunnelöffnungen gewählt, die bei dem genutzten Beobachtungsstock sichtbar keine Staubbildung selbst an warmen heißen Tagen mit vielen Ausflugsbewegungen verursachen. Dies ist natürlich immer ein Kompromiss, der die Auslesewahrscheinlichkeit beeinflusst: Die geometrische Größe der Einzeltunnel beeinflusst direkt reziprok die Erkennungsrate des angeschlossenen RFID Systems sowie die Zeit, die eine Einzelbiene zum Durchqueren des Tunnels braucht.

In der aufgezeigten Konfiguration wurde eine Erkennungsrate von rund 80% erreicht, was hinreichend für eine detaillierte Aufschlüsselung der Lebensaktivität und Lebensspanne ist, aber nicht 100% den tatsächlichen Ausflügen entspricht, sondern leicht darunter liegt. Die genaue Erfassung der einzelnen Flüge und damit der genauen Flugdauer wäre wünschenswert, ist aber methodisch momentan noch nicht ausreichend gelöst. Erfasst wurden jeweils die eindeutige Identifikationsnummer des RFID Chips, die Richtung, in die sich die Biene bewegte und der genaue Zeitpunkt des Scans. Die resultierenden rund 300.000 Datensätze wurden in einer angeschlossenen Datenbank gespeichert. Die Lebensspanne wurde festgesetzt als der Zeitpunkt, an dem der letzte Eintrag für einen bestimmten Chip in die Datenbank erfolgte. Der Zeitpunkt des Schlupfes war für alle Gruppen einheitlich der 10. August 2003.

Es wurden drei Gruppen von Puppenbrut von *Apis mellifera* bei (32°, 35° and 36° C) aufgezogen und am Tag des Schlupfes markiert und in einen 2-Waben Beobachtungsstock verbracht. Das Experiment wurde am 10. August 2003 begonnen und endete mit dem letzten Eintrag in die resultierende Datenbank am 30. März 2004.

*Auswertung*

Die Unterschiede der Aktivitätslevel wurden mit nicht-parametrischen Tests untersucht (SPSS 10.0). Die Unterschiede zwischen den Temperaturgruppen wurden mittels des Kruskal-Wallis Test untersucht und paarweise korreliert mit dem Mann-Whitney U-Test. Korrelationen wurden mittels Spearman-Rho-Test untersucht.

## 8.4 Ergebnisse

### *Effekte der Aufzuchtstemperatur auf die Flugaktivität und die Lebensspanne*

Die bei verschiedenen Temperaturen aufgezogenen Bienen zeigten signifikant verschiedene Flugmuster (Tabelle 3, Abbildung 18). Die 262 Bienen, die bei einer normalen Nesttemperatur von 35°C aufgezogen wurden zeigten eine Summe von 47739 Aktivitäten, d.h. 182,21 Aktivitätsmessungen pro Biene im Mittel. Die 96 Bienen, die bei 32°C aufgezogen wurden generierten 7873 Aktivitäten oder 114,10 pro Biene. Die 100 Tiere, die bei 36°C aufgezogen wurden generierten insgesamt 9547 Aktivitäten oder 95,47 pro Biene. Die Lebensspanne, der Tag der ersten Aktivität, die Anzahl der aktiven Tage pro Biene, die durchschnittliche Aktivität pro Tag und Biene und die Summe der Lebensaktivität pro Biene wird in Tabelle 3 gezeigt.

**Tabelle 3: Übersicht der verschiedenen Temperaturgruppen und deren Flugaktivitäten.**

	N	Lebensspanne (Tage)	Tage bis zur ersten Aktivität	Aktive Tage pro Biene	Aktivität der aktiven Tage pro Biene	Gesamte Flugaktivität pro Biene
32°C	96	30.61±24.62	9.41±9.41	9.36±7.92	7.47±5.37	82.72±91.39
35°C	262	43.94±26.64	8.77±6.32	15.95±10.36	9.91±7.66	188.04±193.69
36°C alle Bienen	100	86.15±65.36	14.07±11.69	9.59±6.02	8.91±8.00	103.38±140.26
36°C Sommerbienen	77	52.16±19.82	11.81±8.62	9.13±6.43	8.65±8.43	102.06±155.58
36° Winterbienen	23	199.94±16.89	21.62±16.75	4.96±2.82* 6.17±3.85**	3.6±1.56* 17.35±17.26**	11.13±4.10* 85.65±66.35**

\* Werte im Sommer 2003, \*\* Werte im Frühjahr 2004

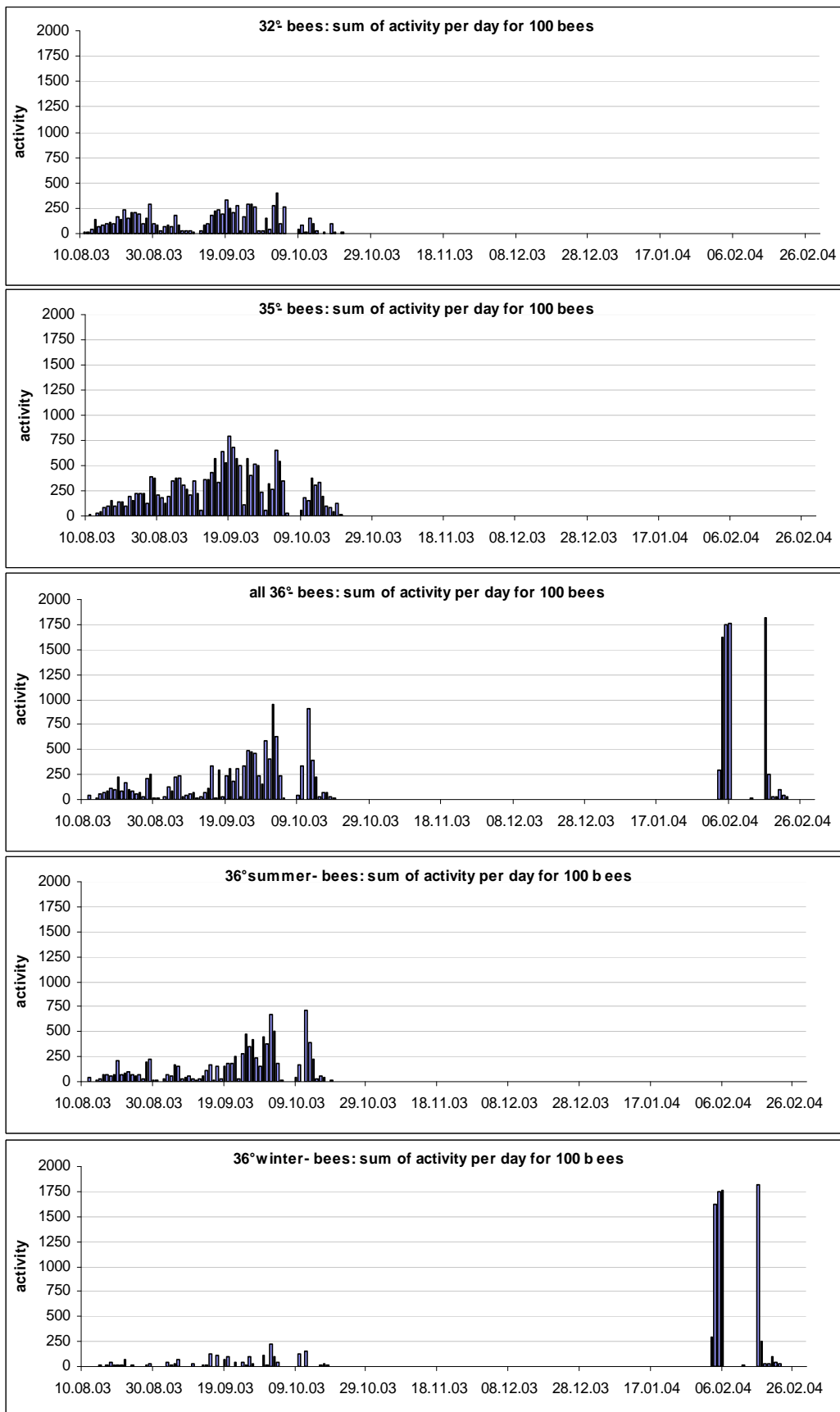


Abbildung 18: Aktivitätsprofile der verwendeten Bienengruppen während der Versuchszeit

Die Lebensspanne variiert abhängig von der Brutbehandlung sehr stark (Tabelle 3). Im Vergleich zu den normal aufgezogenen Bienen (35°C Aufzuchtstemperatur) war die durchschnittliche Lebensspanne rund 30% niedriger bei Bienen, die bei 32°C aufgezogen worden waren, aber 96% höher bei den bei 36°C aufgezogenen Bienen. Diese Unterschiede zwischen den Gruppen waren hoch signifikant ( $p < 0,0005$ ) und jede Gruppe war hoch signifikant unterschiedliche von jeder anderen ( $p < 0,0005$ ).

Die bei 32°C und die 35 °C aufgezogenen Bienen zeigten dabei alle Flugaktivität während des Jahres 2003 bis hin zum Anbruch der Winterpause am 24. Oktober 2003. Dagegen zeigten nur aus der Gruppe der bei 36°C aufgezogenen Bienen auch Aktivitäten während des Frühjahrs des folgenden Jahres. Daher wurde diese Gruppe unterteilt in die Gruppe der „kurzlebigen“ Bienen ( $n = 76$ , Sommerbienen), die nicht länger als dem angesprochenen Ende des aktiven Jahres 2003 am 24. Oktober lebten, und den „langlebigen Bienen“ ( $n = 24$ , Winterbienen), die bis hin zum 30. März 2004 Aktivität zeigten. Vergleicht man nur die durchschnittliche Lebensdauer der kurzlebigen Sommerbienen mit der Referenzgruppe der bei 35°C aufgezogenen Bienen, dann ergibt sich noch eine um 19% verlängerte Lebensspanne ( $p = 0,014$ ).

Auch das Auftreten der ersten erfassten Aktivität im Leben jeder einzelnen Bienen (also der Tag des ersten verlassen des Stockes) zeigten ebenfalls starke Unterschiede zwischen den drei untersuchten Temperatur Gruppen. Während Bienen, die bei 32°C aufgezogen wurden, ihre ersten Aktivitäten nur wenig (und nicht signifikant) später zeigten als die normal aufgezogenen Bienen (7% später,  $p = 0,33$ ), war im Vergleich das Auftreten der ersten Aktivität bei den bei 36°C aufgezogenen Bienen mit rund 60% substantiell verzögert ( $p < 0,0005$ ). Diese Verzögerung war schon gut sichtbar bei den Sommerbienen (35% Verzögerung,  $p < 0,0005$ ), erreichte aber extreme Ausmaße bei den späteren Winterbienen (147% Verzögerung,  $p < 0,0005$ ).

Die durchschnittliche Summe der Lebens-Aktivitäten war ebenfalls stark von der Aufzuchtstemperatur beeinflusst. Die Bienen, die bei 35°C aufgezogen wurden

zeigten im Jahr 2003 den höchsten Level der Aktivität, während die Aktivität der Bienen aus der 32°C Gruppe um 56% ( $p < 0,005$ ) und die der 36°C Gruppen um 45% ( $p < 0,0005$ ) niedriger war. Die insgesamt höchste Tagesaktivität zeigte aber die Gruppe der Winterbienen in den Frühlingstagen des Jahres 2004.

Diese Bienen aus der 32°C bzw. 36°C Gruppe waren ab solut an weniger Tagen aktiv als die Bienen, die bei normaler Temperatur aufgezogen wurden (41%,  $p < 0,0005$  bzw. 40%,  $p < 0,0005$ ). Innerhalb der 36°C-Gruppe waren im Jahr 2003 die Winterbienen um 46% weniger aktiv als die Sommerbienen ( $p = 0,002$ ).

Um ein Maß für die Aktivität über die Lebenszeit zu erhalten, wurde die Anzahl der Aktivitäten pro aktiven Tag für jede Bienen berechnet. Die Flugaktivität pro Tag liegt demnach mit 37% niedriger bei den Bienen, die bei 32°C aufgezogen wurden bzw. 52% niedriger bei den Bienen, die bei 36°C aufgezogen wurden (jeweils im Vergleich zu der 35°C Gruppe,  $p < 0,0005$ ). Die Aktivität der 36°C Gruppe war dabei niedriger als die der 32°C Gruppe ( $p < 0,002$ ).

Innerhalb der 36°C Gruppe war die Flugaktivität im Jahr 2003 extrem niedrig für die Gruppe der späteren Winterbienen und betrug nur rund 8% der Flugaktivität der Sommerbienen ( $p < 0,0005$ ). Nach der Winterpause allerdings wurde die Aktivität dieser Bienen nun sprunghaft höher und übertraf sogar die der Sommerbienen aus dem Jahr 2003 um 20% ( $p < 0,01$ ). Jetzt unterschied sich diese Aktivität nicht mehr signifikant von der der Bienen, die bei 32°C bzw. 35°C als der normalen Bruttemperatur aufgezogen wurden.

#### *Korrelationen zwischen Aktivität und Lebensspanne*

Im Folgenden soll untersucht werden, ob es tatsächlich eine Korrelation zwischen der Aktivität der Bienen und Ihrer Lebensspanne besteht, wie die Theorie eines festgesetzten Vorrats von verbrauchbarer Lebensenergie suggeriert. Wie oben zu sehen ist, zeigten die Sommerbienen aus der 36°C Gruppe eine signifikant höhere Aktivität im Jahr 2003 als die Winterbienen aus derselben Gruppe. Entsprechend gibt es innerhalb dieser Gruppe der bei 36°C aufgezogenen Bienen eine negative Korrelation zwischen der Lebensspanne und der Aktivität im Jahr 2003 (Spearman,  $r = -0,499$ ,  $p < 0,001$ ). Hinzu kommt eine starke Korrelation innerhalb dieser Gruppe



zwischen dem Alter der Bienen, an dem die erste Aktivität aufgenommen wurde und ihrer Lebensspanne ( $r=0,389$ ,  $p<0,0005$ ). Die beiden anderen Temperaturgruppen zeigten hier nicht signifikante Korrelationen zwischen Aktivität und Lebensspanne. Insgesamt korrelierten bei allen drei Gruppen der im Jahr 2003 aktiven Bienen die erreichten Lebensalter mit dem Tag des ersten Ausfluges (32°C:  $r=0,732$ ;  $p<0,0005$ ; 35°C:  $r=0,468$ ;  $p<0,0005$ , 36°C Sommerbienen:  $r=0,302$ ,  $P<0,008$ ).

## 8.5 Diskussion

Die Aufzucht der drei Bienengruppen bei unterschiedlichen Temperaturen ergab merklich unterschiedliche Aktivitätsverteilungen und resultierend daraus unterschiedliche Lebensläufe. Die Bienen, die bei 32°C aufgezogen wurden, weisen die geringsten Aktivitäten auf und hatten die durchschnittlich kürzeste Lebenszeit. Diese Ergebnisse sind nicht überraschend, wenn man den Beschreibungen von Himmer (1927) folgt, der diese Temperatur als die niedrigste zeigt, bei der Bienen ohne sichtbare Schädigungen produziert werden können. Bestätigt werden hier vielmehr andere Untersuchungen, die verminderte Verhaltensleistungen wie Duftlernen oder Schwänzeltanzen ebenfalls mit niedriger Aufzuchtstemperatur korrelieren konnten (Tautz *et al.* 2003).

Die Bienen, die bei 36°C aufgezogen wurden, zeigen die niedrigste Aktivität im Jahr 2003. Der Start ihrer aufgezeichneten Aktivität war hier der im Vergleich späteste, sie waren an absolut weniger Tagen aktiv als die anderen Gruppen und hatten den niedrigsten Aktivitätslevel pro Tag im Jahr 2003. Gleichzeitig war ihre mittlere Lebensspanne im Vergleich erkennbar größer.

Ein auffallendes und überraschendes Ergebnis sind die nur in dieser 36°C-Temperaturgruppe auftretenden Winterbienen - Bienen, deren Lebensspanne und Lebensgeschichte sich so extrem von der der anderen Gruppen unterscheidet, die aber nur um ein einziges Grad Celsius wärmer aufgezogen wurden als die bei normaler Bruttemperatur behandelten 35°C-Bienen. Dies könnte auf die höhere Bruttemperatur, die sich am oberen Limit der experimentell ermittelten (Kleinhenz *et al.* 2003) bewegt, als notwendige Voraussetzung für die Entstehung von Winterbienen hindeuten. Daneben wurden in der Vergangenheit schon verschiedenen Faktoren als wichtig für die Produktion der Winterbienen identifiziert, die meist an Kolonie-interne Faktoren wie das Zurückgehen der Brut (Maurizio 1954) oder ein niedriger JH Level (Fluri *et al.* 1977) gekoppelt sind. Die Temperatur, bei der die Brut aufgezogen wird und die ja von den Bienen sehr präzise und mit großem Aufwand reguliert und manipuliert wird, könnte eine Einflussgröße sein.

Alle Bienen, die bei 36°C aufgezogen wurden, zeigten eine vergleichsweise niedrige Aktivität im Jahr 2003. Dieser Effekt war sehr ausgeprägt bei den Bienen, die später die Winterbienen bildeten und immer noch gut sichtbar bei der Gruppe der Sommerbienen dieser Temperatur. Diese Winterbienen, die ein im Vergleich vielfaches Alter der Sommerbienen erreichten und innerhalb zweier aufeinander folgenden Jahre aktiv waren, begannen das erste Jahr mit geringer Aktivität, verließen die Kolonie an weniger Tagen und generierten so nur rund 11% der insgesamt aufgezeichneten Aktivität der kurzlebigen Bienen.

Die starke negative Korrelation zwischen der Flugaktivität und der Lebensspanne lässt beide verbunden erscheinen. Diese Ergebnisse unterstützen ähnliche, aber sehr viel weniger deutliche Untersuchungen an Sommerbienen nach Neukirch (1982). Eine rein mechanistische Erklärungsweise, die die Sammelleistung direkt negativ an die Lebensspanne im Sinne eines Energieverzehrenden und Risiken generierenden Prozesses koppelt, könnte nach diesen Daten durchaus vertreten werden. Andere Untersuchungen geben den Vorzug über diese einfache Kopplung hinaus aber eher einer Verbindung zwischen Aufzuchtverhalten und Lebensspanne (Mauermaier 1954).

Vermutlich werden eine Vielzahl von Faktoren die letztendliche Lebensspanne jeder einzelnen Bienen entscheiden und hier durchaus Effekte, die auf das hohe Prädations- und Unfallrisiko eines Aufenthalts außerhalb des Stockes zurückgehen und dadurch die Lebensspanne schnell vermindern werden (Visscher & Dukas 1997).

Die interessanteste Frage dieser Untersuchung ist zweifelsohne die nach den entscheidenden Einflüssen der Bildung von Winterbienen - also der Umstellung eines auf nur wenige Wochen ausgelegten Lebens auf ein Lebens in der extremen und sehr feindlichen Umgebung des mitteleuropäischen Winters mit einer jetzt benötigten Lebensspanne von vielen Monaten. Da die hier beobachteten Bienen aus der Temperaturgruppe der 36° Bienen stammten, könnte die Temperatur des Brutnestes tatsächlich einer der relevanten Faktoren zu sein. Da aber nur rund 30%

aus dieser Gruppe sich zu Winterbienen entwickelten, müssen noch ebenso gewichtige Faktoren eine Rolle spielen.

An dieser Stelle kann nicht entschieden werden, ob die niedrige Flugaktivität des Jahres 2003 und die verlängerte Lebensspanne unabhängig voneinander von der Aufzuchtstemperatur determiniert wurden, oder ob vielmehr die Aufzuchtstemperatur vor allem die Flugaktivität beeinflusst, die über einfache Risikoverminderung ein längeres Leben und nachfolgendes Überwintern möglich macht.

**9. Kapitel IV:**

**Effekte der Bruttemperatur auf die Flügelmorphologie  
der Honigbiene *Apis mellifera***

## 9.1 Zusammenfassung

Arbeiterinnen-Puppen der Honigbiene *Apis mellifera* wurden wie bereits in Kapitel 1 und 3 erläutert, zuerst in ihrem Bienenstock bis zur Verdeckelung und danach in Inkubatoren bis zum Schlupf bei verschiedenen Bruttemperaturen (32°, 35°, 36° C) aufgezogen. Verschiedene morphologische Standardmerkmale wie Flügelgröße, Flügelgelenkvenen und 11 verschiedene Winkel der Flügeläderung konnten bei den frisch geschlüpften Bienen vermessen werden. Die Ergebnisse zeigen einen signifikanten Einfluss der Temperatur auf die Flügelmorphologie der untersuchten Bienen.

## 9.2 Einleitung

Die Brutpflege der Honigbienen beinhaltet neben anderen bemerkenswerten Eigenschaften die Fähigkeit, die Bruttemperatur innerhalb eines engen Temperaturbereichs von 32 - 36° C zu halten (Himmer 1927; Soose 1954, Seeley 1985). Vor allem während der Puppenphase reagiert die Brut sensibel auf starke Abweichungen von dieser Temperatur und zeigt Fehl- bzw. Missbildungen, wenn die Bruttemperatur über einen längeren Zeitraum unter 32° C sinkt oder über 37° C gehalten wird (Himmer 1927, 1932).

Selbst äußerlich normal entwickelte Bienen können verschiedene negative Auswirkungen von nicht-optimaler Temperatur aufweisen. Bislang wurden negative Effekte auf die neuronalen (Gehirnentwicklung) und kognitiven Kapazitäten (Lernerhalten) (Groh *et al.* 2004, Tautz *et al.* 2003) gezeigt. Ebenso scheint die Pigmentierung temperatursensitiv zu sein: Puppen, die bei 34° C aufgezogen wurden entwickelten sich im Labor eher zu gelblichen, bei 30° C aufgezogene eher zu dunklen Adulttieren (Tsuruta *et al.* 1989). Unterschreitet die Aufzuchtstemperatur 32°C, so treten vermehrt Missbildungen auf, insbesondere bei den Flügeln und dem Rüssel. Über einer Aufzuchtstemperatur von 36°C nimmt die Sterberate ebenfalls stark zu. Wird die Brut dauerhaft unterhalb 28°C ausgesetzt, so steigt die Sterberate über 50% an. Honigbienen sind in der Lage, selbst bei extremen Bedingungen von minus 40°C die Brutnesttemperatur im optimalen Bereich von 32°-36°C bei zuhalten (Winston 1987). Die Aufrechterhaltung einer konstanten Bruttemperatur ist für den sicheren Fortbestand morphologisch voll ausgebildeter Bienen für die gesamte Kolonie von höchster Priorität. Die Eroberung gemäßigter Klimazonen und den dort herrschenden großen Temperaturschwankungen erforderte die Notwendigkeit der exakten Sicherung konstanter Temperaturen innerhalb des Brutnestes mittels besondere Organisations- und Verhaltensweisen der Honigbienen. Im Lichte dieser verschiedenen Auswirkungen der Bruttemperatur auf die Entwicklung zum adulten Tier wird in diesem Kapitel der Einfluss der Temperatur während der Puppenentwicklung auf morphologische Merkmale wie Flügelgröße, Flügelgelenkvenen und Flügeläderung untersucht.

### 9.3 Material und Methoden

Zur morphologischen Untersuchung der Bienenflügel wurden drei Waben aus nahe verwandten und gleich behandelten Stöcken von *Apis mellifera carnica* direkt nach Verdeckelung der Brut in Inkubatoren (Memmert IPP 500) bei Temperaturen von jeweils 32°, 35° und 36° C aufgezogen (die Vorgehen sweise ist bereits in Kapitel 1.3 und 3.3 beschrieben). Direkt nach dem Schlupf wurden die Bienen zur weiteren Analyse eingefroren. Die dreifache Wiederholung des Experimentes (Juli 2003, Juli 2004 und August 2004) ergab so 9 Proben zu je 20 Arbeiterinnen, die der morphologischen Analyse nach Ruttner (1978 und 1988) unterzogen wurden.

Diese Analysen wurden mit Hilfe eines Stereomikroskops und einem Computer unterstützten Analyseprogramm (Meixner 1994) durchgeführt. Von den 41 bei Ruttner (1978) aufgeführten morphometrischen Kennzeichen wurden 17 Flügelkennzeichen untersucht, darunter die Länge und Breite des Vorderflügels, der Vorderflügel Index, die Längen der Gelenkvenen 1 und 2, Gelenkindex und 11 Winkel definierter Flügeläderung.

Die Analyse der Daten wurden mittels multifaktorieller Analyse der Varianz sowie der Korrelation durchgeführt. Die Anzahl der Variablen wurde mittels Hauptkomponentenanalyse reduziert (principal component analysis) und die verschiedenen Temperaturgruppen mittels Diskriminanzanalyse bestätigt. Alle statistischen Berechnungen wurden mit SPSS 10 durchgeführt.



## 9.4 Ergebnisse

Die Analyse der Daten mittels ANOVA (multivariate Analyse der Varianz mit Gruppen und Temperaturen als statische Faktoren) zeigte signifikante Unterschiede für beide Variablen ( $P < 0,0005$ , Wilks Lambda). Die Mittelwerte der untersuchten Faktoren in jeder Temperaturgruppe zeigen signifikante Unterschiede ( $P < 0,05$ ) (Tabelle 4).

**Tabelle 4: Flügelkennzeichen der morphometrischen Messungen bei den drei Aufzuchtstemperaturen der Bienenpuppen.**

	32°C		35°C		36°C		P
	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	
Length forewing	921,03	± 1,11 <sup>ab</sup>	921,98	± 0,96 <sup>a</sup>	922,95	± 1,08 <sup>b</sup>	0,006
Width forewing	318,9	± 0,89 <sup>a</sup>	315,84	± 0,67	318,27	± 0,99 <sup>a</sup>	0,001
Cubital 1	64,48	± 0,83 <sup>a</sup>	64,94	± 0,79 <sup>a</sup>	64,24	± 1,07 <sup>a</sup>	0,001
Cubital 2	22,19	± 0,43 <sup>a</sup>	22,4	± 0,61 <sup>a</sup>	19,71	± 0,45	0,005
Angle A4	27,32	± 0,26 <sup>a</sup>	27,26	± 0,42 <sup>a</sup>	29,24	± 0,38	0,001
Angle B4	111,33	± 0,86 <sup>a</sup>	110,42	± 1,17 <sup>ab</sup>	108,19	± 1,08 <sup>b</sup>	0,001
Angle D7	94,89	± 0,67 <sup>ab</sup>	93,7	± 0,59 <sup>a</sup>	96,15	± 0,45 <sup>b</sup>	0,004
Angle E9	23,55	± 0,34	24,39	± 0,33 <sup>a</sup>	24,56	± 0,28 <sup>a</sup>	0,001
Angle G18	91,72	± 1,11 <sup>a</sup>	89,12	± 0,55 <sup>b</sup>	90,45	± 0,45 <sup>ab</sup>	0,014
Angle J10	52,24	± 0,58 <sup>a</sup>	51,8	± 0,65 <sup>a</sup>	54,17	± 0,80	0,001
Angle J16	92,39	± 0,63 <sup>a</sup>	92,5	± 0,62 <sup>a</sup>	92,27	± 0,60 <sup>a</sup>	0,001
Angle K19	80,57	± 0,55	77,81	± 0,42 <sup>a</sup>	76,48	± 0,54 <sup>a</sup>	0,001
Angle L13	13,02	± 0,24 <sup>a</sup>	12,64	± 0,22 <sup>ab</sup>	12,06	± 0,21 <sup>b</sup>	0,001
Angle N23	93,03	± 0,62 <sup>a</sup>	93,45	± 0,58 <sup>a</sup>	93,3	± 0,66 <sup>a</sup>	0,001
Angle O26	36,04	± 0,72 <sup>a</sup>	37,52	± 0,67 <sup>a</sup>	33,81	± 0,58	0,001
Cubital index	2,94	± 0,07 <sup>a</sup>	2,98	± 0,10 <sup>a</sup>	3,33	± 0,11 <sup>a</sup>	0,004
Forewing index	34,63	± 0,10 <sup>a</sup>	34,26	± 0,06	34,48	± 0,09 <sup>a</sup>	0,001
PC1	-0,23	<sup>a</sup>	-0,28	<sup>a</sup>	0,51		0,001
PC2	0,08	<sup>a</sup>	0,33	<sup>a</sup>	-0,41		0,001
PC3	-0,33	<sup>a</sup>	-0,16	<sup>a</sup>	-0,49		0,001

Der Vergleich von mehreren Merkmalen zeigt folgende signifikante Unterschiede:

- Merkmale zwischen der 32° und 35° C Gruppe (Breite des Vorderflügels, die Winkel E9, G18, K19 und Vorderflügel Index)
- 9 Merkmale zwischen der 35° und 36° C Gruppe (Länge und Breite des Vorderflügels, Länge der Flügelgelenkvene 2, die Winkel A4, D7, J10, O26, Gelenk- und Flügelindex)
- 9 Merkmale zwischen der 32° und 36° C Gruppe (Länge der Flügelgelenkvene 2, die Winkel A4, B4, E9, J10, K19, L13, O26 und Gelenkindex).

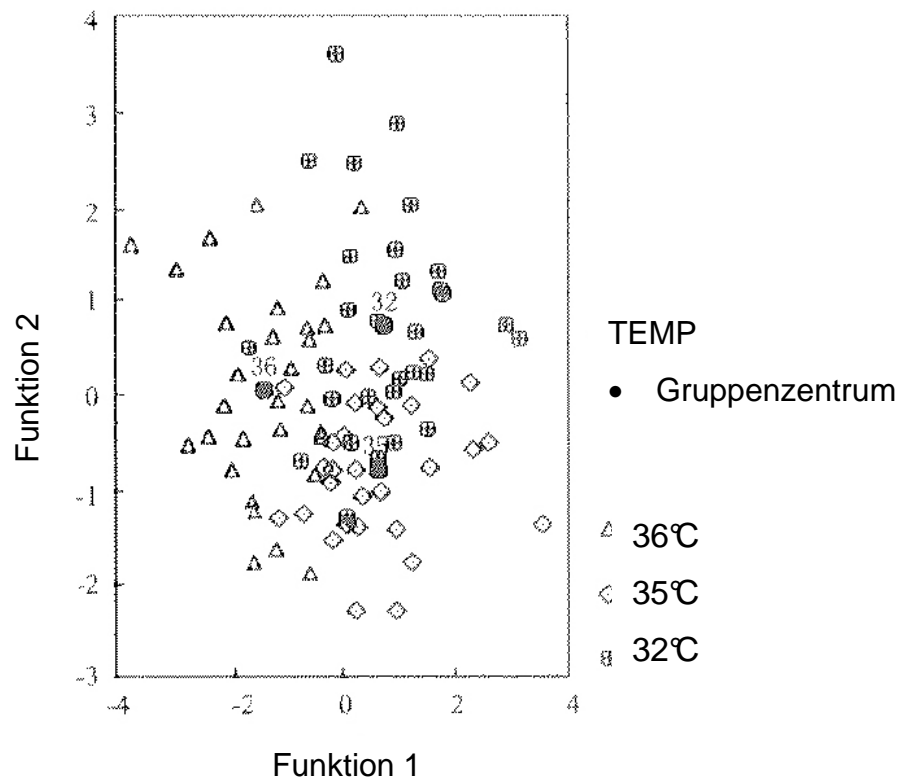
Signifikante positive Korrelationen zur Temperatur zeigten 3 der untersuchten Merkmale (E9, A4 und Gelenkindex), negative Korrelation dagegen 5 Merkmale (Gelenkvene 2, die Winkel B4, K19, L13 und O26). Bei den übrigen Faktoren waren dagegen keine oder unregelmäßige Korrelationen nachweisbar.

Um die auszuwertenden Informationen weiter zu reduzieren, wurden die Daten mittels Faktorenanalyse reduziert, wobei sich 3 Hauptkomponenten ergaben, die 40,7% der Variationen repräsentierten. Hauptkomponente I korrelierte dabei stark ( $|r| > 0,5$ ) mit den Winkeln A4, B4 und J10, Hauptkomponente II mit der Gelenkvene 1 und den Winkeln D7 und L13 und schließlich Hauptkomponente III mit der Gelenkvene 2 sowie den Winkeln E9 und J10.

Die Proben der 36°C- Gruppe unterscheiden sich signifikant in allen drei Hauptkomponenten von den anderen beiden Gruppen; die 35° und 32°C Gruppe allerdings unterscheiden sich nicht signifikant voneinander (Tabelle 4). Hauptkomponente 1 sowie Hauptkomponente 3 korrelierten positiv mit der Temperatur. Die Unterschiede zwischen den Temperaturgruppen wurden weiter mittels Diskriminanzanalyse untersucht. Die erste Funktion, die vor allem mit dem Winkel A4 und der Länge der Gelenkvene 2 korrelierte, repräsentierte dabei 36,4% der Daten.

Die zweite Funktion, die vor allem mit der Breite des Vorderflügels und dem Winkel G18 korrelierte, repräsentierte dabei 19,2% der Daten.

Eine graphische Darstellung der Werte zeigt die Verteilungsschwerpunkte aller drei Gruppen separat voneinander (Abbildung 19). Jede Gruppe unterscheidet sich dabei signifikant von den beiden anderen ( $p < 0,0005$ , Wilks Lambda).



**Abbildung 19: Plot der drei Bienengruppen (32°, 35° und 36°C) von den zwei Diskriminaten-Funktionen**

Die Proben zeigen dabei partielle Überlappungen und die Diskriminanzanalyse ordnet die meisten (74,4%) korrekt in ihre Temperaturgruppen ein (32°C Gruppe: 66,7%, 35°C Gruppe: 80,0% und 36°C Gruppe: 76,7%) .

## 9.5 Diskussion

Die Untersuchungen zeigen eindeutig, dass die Aufzucht der Puppen von *Apis mellifera* bei unterschiedlichen Temperaturen deren Flügelmorphologie beeinflusst. Diese Ergebnisse könnten einen Erklärungsansatz für die Beobachtung von saisonalen Einflüssen auf morphometrischen Untersuchungen (Mattu 1984, Gromisz 1962, Michailoff 1927a) liefern. Nur wenige der untersuchten Faktoren liefern dabei ein einheitliches Bild, einer der einheitlichen Faktoren ist aber die Länge des Vorderflügels, die bei allen drei durchgeführten Studien bei warmen Aufzuchtstemperaturen zunimmt. Dies bestätigt eine Studie von Michailoff (1927b), die eine Zunahme der Länge der Vorderflügel bei Bienen, die bei 35°C aufgezogen wurden im Vergleich zu bei 30°C aufgezogenen Bienen, fand. Mattu (1984) zeigte eine Zunahme der Winkelgrößen der Winkel A4 und E9 während des Sommers, eben diese Winkel zeigte eine dementsprechende Entwicklung in unserer Studie. Obwohl der Einfluss zwischen Umgebungs- und Bruttemperatur unklar ist, können Schwankungen der Bruttemperatur mit der Umgebungstemperatur - vor allem im eventuell stärker exponierten Randbereich des Brutnestes (Free 1977) - nicht ausgeschlossen werden. Ein Zusammenhang zwischen morphologischen und saisonalen Schwankungen erscheint damit möglich.

Bei morphologischen Studien der Honigbiene werden Charakteristika wie Flügelgröße und Flügeläderung oft in morphometrischen Studien der Taxonomie der *Apis* Arten genutzt (Ruttner 1988). Obwohl hier die erwähnten saisonalen Einflüsse durchaus einen Einfluss auf diese Messungen haben können (Mattu 1984), ist doch eine direkte phenotypische Determinierung durch die Umgebungstemperatur nicht zu belegen, die damit nicht als bestimmender Faktor der geographischen Verteilung der morphologischen Merkmale gesehen werden kann.

Die an die lokalen Bedingungen angepassten Bienen unterliegen einem starken Selektionsdruck in Richtung einer für die Entwicklung optimalen Bruttemperatur - selbst unter extremen klimatischen Bedingungen. Im Allgemeinen werden Bienen in höheren Lagen oder nördlicheren Klimazonen an Größe zunehmen (Ruttner 1988), wohingegen die Flügelgröße negativ mit der Umgebungstemperatur korreliert (Tan

Ken 2003). Ein Trend, der den hier vorgestellten Untersuchungen zum Einfluss der Bruttemperatur auf die Morphologie der Honigbiene eher gegensätzlich ist.

## 10. Literaturverzeichnis

- Arathi, H. S., Spivak, M. (2001). Influence of colony genotypic composition on the performance of hygienic behaviour in the honey bee *Apis mellifera* L. *Animal Behaviour* 62: 57- 66.
- Atkinson, A. (1996). Ectotherm life-history responses to developmental temperature. Cambridge Press.
- B. Blaschon, B., Guttenberger, H., Hrasnigg, N. & Crailsheim, K. (1999). Impact of bad weather on the development of the Broodnest and Pollen Stores in a Honeybee Colony (Hymenoptera: Apidae). *Entomologia Generalis* 24: 49-60.
- Batty, R. S., Blaxter, J. H. S. & Fretwell, K. (1993). Effect of temperature on escape responses of larval herring, *Clupea harengus*. *Marine Biology* 115: 523- 8.
- Beshers, S. N. & Fewell, J. H. (2001). Models of division of labor in social insects. *Annual Review of Entomology* 46: 413- 440.
- Beutler, R. (1950). Zeit und Raum im Leben der Sammelbiene. *Naturwissenschaften* 24: 486- 491.
- Blough, D. S. (1959). Delayed matching in the pigeon. *Journal of the Experimental Analysis of Behavior* 2: 151–160.
- Cahill, K. and Lustick, S. (1976). Oxygen consumption and thermoregulation in *Apis mellifera* workers and drones. *Journal of Comparative Physiology A*, 55: 355-357.
- Calderone, N. W. & Page, R. E. (1988). Genotypic variability in age polyethism and task specialization in the honey bee *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae). *Behavioral Ecology and Sociobiology* 22 (1): 17- 26.
- Calderone, N. W., Page, R. E. (1991). Evolutionary genetics of division of labor in colonies of the honey bee *Apis mellifera*. *American Naturalist* 138 (1): 69-92.
- Chen, L., Zhang, S., Srinivasan, M. (2003). Global perception in small brains: topological pattern recognition in honey bees. *PNAS* 100: 6884-6889.

- Chittka, L., Williams, N., Rasmussen, H., Thomson, J. D. (1999). Navigation without vision - bumble bee orientation in complete darkness, *Proceedings of the Royal Society London, Series B*, 266: 45- 50.
- Coelho, J. R (1991). Heat transfer and body temperature in honeybee (Hymenoptera: Apidae) drones and workers. *Env. Ent* 20: 1627-1638.
- Collett, T. S. & Collett, M. (2002). Memory use in insect visual navigation. *Nature reviews neuroscience* 3: 542- 552.
- Crews, D. *et al.* (1994). Temperature-dependent sex determination in reptiles: proximate mechanisms, ultimate outcomes, and practical applications. *Dev. Genet.* 15: 297- 312.
- D'Amato, M. R., Salmon, D. P. & Colombo, M. (1985). Extent and limits of the matching concept in monkeys (*Cebus apella*). *J. Exp. Psychol. Anim. Behav. Proc.* 11: 35-51.
- Dettner, K. & Peters, W. (2003). *Lehrbuch der Entomologie*. Heidelberg, Berlin, Spektrum Akademischer Verlag, 2. Auflage.
- Du, W.-G & Ji, X. (2003). The effects of incubation thermal environments on size, locomotor performance and early growth of hatchling soft-shelled turtles, *Pelodiscus sinensis*. *J. Thermal Biol.* 28, 4: 279-286.
- Esch, H. E., Zhang, S. W., Srinivasan, M. V., Tautz, J. (2001). Do honeybees share their worldview with Hive Mates? *Nature* 411: 581- 583.
- Eskov, E. K. and A. I. Toroptesv (1981). Influence of temperature on the embryonic development of the honeybee. *Soviet Agricultural Sciences* 6: 51-55.
- Fahrenholz, L., Lamprecht, I. & Schricker, B. (1989). Thermal investigations of a honey bee colony: thermoregulation of the hive during summer and winter and heat production of members of different bee castes. *J. Comp. Physiol. B* 159, 551- 560.
- Fewell, J. H., Page, R. E. (2000). Colony level selection effects on individual and colony foraging task performance in honeybees, *Apis mellifera* L. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 48: 173- 181.
- Flores, J.M., Ruiz, J.A., Ruz, J.M., Puerta, F., Bustos, M., Padilla, F. and Campano, F. (1996). Effect of temperature and humidity of sealed brood on

- chalkbrood development under controlled conditions. *Apidologie*, 27: 185-192.
- Fluri, A., Lüscher, M., Wille, H., Gerig, L. (1982). Changes in weight of the pharyngeal gland and haemolymph titres of juvenile hormone, protein and vitellogenin in worker honey bees. *J. Insect Physiol.* 28 (1): 61- 68.
- Fluri, P. & Bogdanov, S. (1987). Effects of artificial shortening of the photoperiod on honeybee polyethism. *J. Apicult. Res.* 26 (2): 83- 89.
- Fluri, P., Wille, H., Gerig, L. & Lüscher, M. (1977). Juvenile hormone, Vitellogenin and haemocyte composition in winter worker honey bees. *Experientia* 33: 1240-1241.
- Frisch, K. von (1927). *Aus dem Leben der Bienen*. Berlin, Heidelberg, New York, Springer Verlag, 10. Auflage 1993.
- Frisch, K. von (1914). Der Farbensinn und Formensinn der Biene, *Zool Jahrb. Physiol.* 35: 1- 188.
- Frisch, K. von (1921). Über den Sitz des Geruchsinns bei Insekten. *Zool. Jahrb. Physiol.* 38: 1- 68.
- Frisch, K. von (1923). Über die „Sprache“ der Bienen. Eine tierphysiologische Untersuchung. *Zool. Jahrb. Physiol.* 40: 1-186.
- Frisch, K. von (1965). *Tanzsprache und Orientierung der Bienen*. Berlin, Heidelberg, New York, Springer Verlag.
- Fukuhara, O. (1990). Effect of temperature on yolk utilization, initial growth, and behaviour of unfed marine fish larvae. *Marine Biology* 106: 169- 74.
- Giray, T. & Robinson, G. E. (1994). Effects of intracolony variability in behavioral development on plasticity of division of labor of labor on honeybee colonies. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 35 (1): 13- 20.
- Giray, T., Guzman-Novoa, E., Aron, C. W., Zelinsky, B., Fahrbach, S. E., Robinson, G. E. (2000). Genetic variation in worker temporal polyethism and colony defensiveness in the honey bee *Apis mellifera*. *Behavioral Ecology* 11 (1): 44- 55.
- Giurfa, M. (2003). Cognitive neuroethology: dissecting non - elemental learning in a honeybee brain. *Current Opinion in Neurobiology* 13: 726–735.



- Giurfa, M., Núñez, J., Chittka, L. & Menzel, R. (1995). Colour preferences of flower-naive honeybees, *J. Comp. Physiol. A*: 247- 259.
- Giurfa, M., Zhang, S. W., Jenett, A., Menzel, R. & Srinivasan, M. V. (2001). The concepts of „sameness“ and „difference“ in an insect. *Nature* 410: 930-933.
- Gontarski, H. (1935). Sammelleistungen von Bienen aus vergrößerten Brutzellen *Archiv für Bienenkunde* 16 (7), 278- 282.
- Groh, C., Rössler, W., Tautz, J. (2004). Synaptic organization in the adult honey bee brain is influenced by brood-temperature control during pupal development. *Proc Nat. Acad. Science* 101 (12): 4268- 4273.
- Groh, C., Tautz, J. & W. Rössler (2004). Synaptic organization in the adult honey bee brain is influenced by brood-temperature control during PNAS 101, 4268-4273.
- Gromisz, M. (1962). Season variations of wing measurements and cubital index of honey bees (*Apis mellifera L.*) *Rszczel. Zesz. Nauk.* 6: 113- 120.
- Guzman-Novoa, E., Hunt, G. J., Uribe, J. L., Smith, C., Arechavaleta-Velasco, M. E. (2002). Confirmation of QTL effects and evidence of genetic dominance of honeybee defensive behaviour: results of colony and individual behavioral assays. *Behavior Genetics* 32 (2): 95- 102.
- Guzman-Novoa, E., Page, R. E. (1994). Genetic dominance and worker interactions affect honeybee colony defence. *Behavioral Ecology* 5 (1): 91- 97.
- Harbo, J. R. and A. B. Bolten (1981). Development times of male and female eggs honey bee. *Annals of the Entomological Society of America* 74: 504-506.
- Harrison, J. M. (1987). Roles of individual honeybee workers and drones in colonial thermogenesis *J. Exp. Biol.* 129: 53-61.
- Heinrich, B. & Esch, H (1997). Honeybee Thermoregulation. *Science* 276: 1015- 1016.
- Heinrich, B. (1979). Keeping a cool head: Thermoregulation in honeybees. *Science* 205: 269-1271.
- Heinrich, B. (1993). *The Hot-Blooded Insects: Strategies and Mechanisms of Thermoregulation*, Springer, Berlin.
- Heinrich, B. (2001). *Der Hummelstaat*. List Verlag München, 1. Auflage.

- Herman, L. M. & Gordon, J. A. (1974). Auditory delayed matching in the bottlenose dolphin. *J. Exp. Anal. Behav.* 21: 19-26.
- Hess, W. R. (1926). Die Temperaturregulierung im Bienenvolk. *Z. Vgl. Physiol.* 4 (4): 465- 487.
- Himmer, A. (1925). Körpertemperaturmessungen an Bienen und anderen Insekten. *Erl. Jb. Bienenk.* 3: 44-115.
- Himmer, A. (1927b). Der soziale Wärmehaushalt der Honigbiene II. Die Wärme der Bienenbrut. *Erl. Jb. Bienenk.* 5: 1- 32.
- Himmer, A. (1927c). Ein Beitrag zur Kenntnis des Wärmehaushalts im Nestbau sozialer Hautflügler. *Zeitschrift für Vergleichende Physiologie* 5: 375-389.
- Himmer, A. (1932). Die Temperaturverhältnisse bei sozialen Hymenopteren. *Biol. Rev.* 7 (3): 224-253.
- Holmes, P.W. (1979) Transfer of matching performance in pigeons. *J. Exp. Anal. Behav.* 31: 103-114.
- Horridge, G. A. & Zhang, S. W. (1995). Pattern Vision in Honeybees (*Apis mellifera*): Flower-like Patterns with No Predominant Orientation. *J. Insect Physiol.* 41, 681- 688.
- Johnston, I. A. (1993). Temperature influences muscle differentiation and the relative timing of organogenesis in herring *Clupea harengus* larvae. *Marine Biology* 116: 363- 79.
- Johnston, I. A., Vieira, V. L. A. & Abercromby, M. (1995). Temperature and myogenesis in embryos of the Atlantic herring *Clupea harengus*. *Journal of Experimental Biology* 198: 1389- 403.
- Kleinhenz M., Bujok B., Fuchs S. & Tautz, J. (2003). Hot bees in empty broodnest cells: heating from within. *J. Exp. Biol.* 206: 4217-4231.
- Koeniger, N. (1978). Warming of honeybee (*Apis mellifera* L.) brood. *Apidologie* 9, 305-320.
- Koltermann, R. (1969). Lern- und Vergessensprozesse bei der Honigbiene— aufgezeigt anhand von Duftdressuren. *Z. Vergl. Physiol.* 63 (3): 310-334.
- Kriston, I. (1973). Die Bewertung von Duft- und Farbsignalen als Orientierungshilfen an der Futterquelle durch *Apis mellifera* L., *Comp. Physiol.* 84: 77- 94.

- Kronenberg, F. & Heller, H.C. (1982). Colonial thermoregulation in honeybees (*Apis mellifera*). J. Comp. Physiol. 148: 65- 76.
- Lindauer (1948). Über die Einwirkung von Duft- und Geschmackstoffen sowie anderer Faktoren auf die Tänze der Bienen. Z. vergl. Physiol. 31: 348–412.
- Lindauer, M. (1952). Ein Beitrag zur Frage der Arbeitsteilung im Bienenstaat. Z. vergl. Physiol. 34: 299- 345.
- Lindauer, M. (1954). Temperaturregulierung und Wasserhaushalt im Bienenstaat. Zeitschrift für Vergleichende Physiologie 36: 391-432.
- Lunau, K. & Maier, E. J. (1995). Innate colour preferences of flower visitors, J. Comp. Physiol. A 177: 1- 19.
- Marden, J.H. (1995). Large-scale changes in thermal sensitivity of flight performance during adult maturation in a dragonfly. Journal of Experimental Biology 198: 2095- 102.
- Mattu, V.K., Verma, L.R. (1984). Morphometric studies on the Indian honeybee *Apis cerana indica* F., Effect of seasonal variations. Apidologie 15: 63-74.
- Mauermaier, G. (1954). Untersuchungen über die Beziehungen zwischen Arbeitsleistung und Lebensdauer bei Arbeiterinnen der Honigbiene. Archiv für Bienenkunde 32, 31-41.
- Maurizio, A. (1954). Pollenernährung und Lebensvorgänge bei der Honigbiene. Landw. Jahrb. Schweiz 68 (2): 115- 182.
- Maurizio, A. (1954). Pollenernährung und Lebensvorgänge bei der Honigbiene. Landw. Jahrbuch Schweiz 68 (2), 115-182.
- Maurizio, A. (1961). Lebensdauer und Altern bei der Honigbiene. Gerontologia 5: 110-128.
- Mazochin-Porshnyakov, G. A. (1969). Z. vergl. Physiol. 65: 15.
- Menzel, R. & Blakers, M. (1976). Colour receptors in the bee eye: morphology and spectral sensitivity, J. Comp. Physiol. 108: 11- 33.
- Menzel, R. & Giurfa, M. (2001). The cognitive architecture of a mini-brain: the honeybee. Trends Cogn. Sci. 5, 62-71
- Menzel, R. & Müller, U. (1996) Learning and memory in honeybees: from behavior to neural substrates Annu. Rev. Neurosci. 19: 379-404.

- Menzel, R. (1967). Untersuchungen zum Erlernen von Spektralfarben durch die Honigbiene *Apis mellifica*. Z. vergl. Physiol. A 56: 22– 62.
- Menzel, R. (1968). Das Gedächtnis der Honigbiene für Spektralfarben. I. Kurzzeitiges und langzeitiges Behalten. Z. Vergl. Physiol. 60: 82 -102.
- Menzel, R. (1969). Das Gedächtnis der Honigbiene für Spektralfarben. II. Umlernen und Mehrfachlernen. Z. vergl. Physiol. 63: 290-309.
- Menzel, R. (1990) In Neurobiology of Comparative Cognition, eds. Kesner, R. P. & Olton, D. S. (IEA Publishers, Hillsdale, New Jersey), pp. 237-292.
- Menzel, R., Chittka, L., Eichmüller, S., Geiger, K., Peitsch, D., Knoll, P. (1990). Dominance of celestial cues over landmarks disproves map-like orientation in honey bees. Z. Naturforsch. 45c: 723-726.
- Merz, R., Gerig, L., Leuthold, R. (1979). Das Problem der Kurz- und Langlebigkeit bei der Ein- und Auswinterung im Bienenvolk. eine Verhaltensstudie. Rev. Suisse Zool. 86 (3): 663- 671.
- Michailoff, A.S. (1927a). Über die Saisonvariabilität der Honigbiene. Arch. Bienenkd. 8: 16-24.
- Michailoff, A.S. (1927b). Der Einfluss einiger Lebenslagefaktoren auf die Variabilität der Honigbiene. Arch. Bienenkd. 8: 1-15.
- Milum, V. G. (1930). Variations in time of development of the honey bee. Journal of Economic Entomology 23: 441-447.
- Muralevskij, B. M. (1933). USSR Arch. Bienenkunde 14: 146-152.
- Neukirch, A. (1982). Dependence of the life span of the honeybee (*Apis mellifera*) upon flight performance and energy consumption. J. Comp. Physiol. B, 146: 35- 40.
- Neukirch, A. (1982). Dependence of the life span of the honeybee upon flight performance and energy consumption J. Comp. Physiol. 146, 35-40.
- Nickel, K. H. & Armbruster, L. (1937). Vom Lebenslauf der Arbeitsbienen besonders auch bei Nosemaschäden. Arch. Bienenkunde 18 (7): 257- 287.
- Opfinger, E. (1931).Über die Orientierung der Biene an der Futterquelle. Z. Vergl. Physiol. 15: 431- 487.

- Page, R. E. and C. Y.-S. Peng (2001). Aging and development in social insects with emphasis on the honey bee, *Apis mellifera* L. *Experimental Gerontology* 36: 695-711.
- Page, R. E., Fondrk, M. K., Hunt, G. J., Guzman-Novoa, E., Humphries, M. A., Nguyen, K., Greene, A. S. (2000). Genetic dissection of honeybee (*Apis mellifera* L.) foraging behavior. *Journal of Heredity* 91 (6): 474- 479.
- Page, R. E., Robinson, G. E., Britton, D. S., Fondrk, M. K. (1992). Genotypic variability for rates of behavioral development in worker honeybees *Apis mellifera* L., *Behavioral Ecology* 3 (2): 173- 180.
- Partridge, L., Barrie, B., Fowler, K. & French, V. (1994). Evolution and development of body size and cell size in *Drosophila melanogaster* in response to temperature. *Evolution* 48: 1269- 76.
- Pérez, E., Díaz, F., Espinac, S. (2003). Thermoregulatory behavior and critical thermal limits of the angelfish *Pterophyllum scalare* (Lichtenstein) (Pisces: Cichlidae). *J. Thermal Biol.* 28: 8, 531- 537.
- Ratte, H. T. (1985) *Environmental Physiology and Biochemistry of Insects: Temperature and Insect Development*. Springer Verlag, Berlin Heidelberg, New York, Tokyo.
- Ribbands, C. R. (1953). *The Behaviour and Social Life of Honeybees*. Bee Research Association, London.
- Ritter, W. (1982). Varroatose, eine neue Krankheit der Honigbiene *Apis mellifera*. *Tierärztl. Umschau* 37: 344- 354.
- Robinson, G. E., Page, R. E., Strambi, C., Strambi, A. (1989). Hormonal and genetic control of behavioral integration in honey bee colonies. *Science* Washington 246 (4926): 109- 112.
- Rohracher, H. (1963). *Einführung in die Psychologie* (8. Aufl.) Wien und Innsbruck, Urban und Schwarzenberg.
- Roitblat, H. L. (1987). *Introduction to Comparative Cognition*. W. H. Freeman and Company, New York, pp. 146-189.
- Rösch, S. (1925). Untersuchungen über die Arbeitsteilung im Bienenstaat. *Z. vergl. Physiol.* 2: 571- 631.

- Rosenkranz, P. (1987). Temperature treatment of sealed worker brood as a method of controlling varroaosis. *Apidologie* 18:385-388.
- Ruttner, F., Tassencourt, L., Louveaux, J. (1978). Biometrical- statistical analysis of the geographic variability of *Apis mellifera*. *Apidologie* 9: 363-381.
- Schmaranzer, A. & Stabentheiner, S. (1987). Thermographic determination of body temperatures in honey bees and hornets: calibration and applications. *Thermology* 2, 563-572.
- Schuà, L. (1952). Untersuchungen über den Einfluss meteorologischer Element auf das Verhalten der Honigbiene. *Z. Vgl. Physiol.* 34: 258-277.
- Seeley, T. D. (1985). *Honeybee ecology, a study of adaptation in social life*, Princeton Univ. Press, Princeton, New Jersey.
- Seeley, T. D. (1995). *The wisdom of the hive*, Harvard Univ. Press, Cambridge, MA.
- Si, A., Srinivasan, M. V. & Zhang, S. W. (2003). Honeybee navigation: Properties of the visually driven 'odometer'. *J. Exp. Biol.* 206: 1265–1273.
- Siddiqui, W. H., Barlow, C. A. & Randolph, P. A. (1973). Effects of some constant and alternating temperatures on population growth of the pea aphid, *Acyrtosiphon pisum* (Homoptera: Aphididae). *Can. Entomologist* 105, 145– 156.
- Soose, E. (1954). Einfluss der Temperatur auf die Ausgestaltung von Flügelindex und Panzerfarbe der Honigbiene (*Apis Mell.*) *Archiv für Bienenkunde* 31 (2): 49- 65.
- Southwick, E. E. & Heldmaier, G. (1987). *Bioscience* 37: 395-399.
- Sprengel, C. K. (1793). *Das entdeckte Geheimnis der Natur in Blau und in der Befruchtung der Blumen*, Nachdruck: Verlag J. Cramer, Lehre 1972.
- Srinivasan, M. V. & Zhang, S.W. (1998). Analysis of Complex Systems *Zoology* 101: 246-259.
- Srinivasan, M. V. (1994) Pattern recognition in the honeybee: recent progress. *J. Insect Physiol.* 40: 183-194.
- Srinivasan, M. V., Zhang, S. W. & Bidwell, N. (1997). Visually mediated odometry in honeybees. *J. Exp. Biol* 200, 2513- 2522.

- Srinivasan, M. V., Zhang, S. W., Altwein, M., & Tautz, J. (2000). Honeybee navigation: Nature and calibration of the "odometer". *Science* 287: 281–283.
- Streit, S., Bock, F., Pirk, C. & Tautz, J. (2003). Automatic life-long monitoring of individual insect behaviour now possible. *Zoology* 106 (3): 169-171.
- Tautz, J., Maier, S., Groh, C., Rössler, W. and A. Brockmann (2003). Behavioral performance in adult honey bees is influenced by the temperature experienced during their pupal development. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 100 (12): 7343-7347.
- Tautz, J., Zhang, S. W., Spaethe, J., Brockmann, A., Si, A., & Srinivasan, M. V. (2004). Honeybee Odometry: Performance in Varying Natural Terrain. *PLOS (Biology)* 2 (7): 915- 923.
- Thorpe, W. H. (1979). *The Origins and Rise of Ethology*. New York, Praeger.
- Tsuruta, T., Matsuka, M., Saxaki, M. (1989). Temperature as a causative factor in the seasonal colour dimorphism of *Apis cerana japonica* workers. *Apidologie* 20 (3): 149-155.
- van Hateren, J. H., Srinivasan, M. V. & Wait, P. B. (1990). Pattern recognition in bees: Orientation discrimination. *J. Comp. Physiol. A* 167: 649- 654.
- Visscher P. K., Dukas R. (1997). Survivorship of foraging honey bees. *Insectes Soc* 44: 1-5.
- Wehner R (1967). Zur Physiologie des Formensehens bei der Honigbiene. II. Winkelunterscheidung an Streifenmustern bei variabler Lage der Musterebene im Schwerfeld. *Z. Vergl. Physiol.* 55:145-166.
- Wehner, R. & Gehring, W. (1990). *Zoologie*, Thieme Verlag Stuttgart, New York.
- Wehner, R. & Lindauer, M. (1966). Zur Physiologie des Formensehens bei der Honigbiene. I. Winkelunterscheidung an vertikal orientierten Streifenmustern. *Z. vergl. Physiol.* 52, 290– 324.
- Wehner, R. & Lindauer, M. (1967). *Zool. Anz., Suppl.- Bd.* 30, 239.
- Wehner, R. (1971). Generalization of directional visual stimuli in honey bee *Apis mellifera*. *J. Insect. Physiol.* 17 (8): 1579-1591.
- Wehner, R. (1997). *The Origin and Evolution of Intelligence*. Jones & Bartlett Publishers, Boston, London, Singapore, pp. 1-26.

- Weiss, K. (1962). Über die Lebensfähigkeit von offener und gedeckelter Brut außerhalb des Bienenvolkes. *Z. Bienenforschung* 6, 104-114.
- Wenzl, A. (1934). *Theorie der Begabung. Entwurf einer Intelligenzkunde*. Leipzig: Quelle & Meyer.
- Whitfield, C. W., Cziko, A.M., Robinson, G. E. (2003) Gene expression profiles in the brain predict behavior in individual honey bees. *Science* 302: 296- 299.
- Wilson, J.G. & Elkaim, B. (1991). Tolerances to high temperature of individual bivalves and the effect of geographic distribution, position on the shore and season. *J. Marine Biol. Association UK* 71 (1), 169- 177.
- Winston, M. L. & Punnett, E. N. (1982). Factors determining temporal division of labor in honeybees. *Canadian Journal of Zoology* 60: 2947-2952.
- Winston, M. L. (1987). *The biology of the honey bee*. Harvard University Press, London.
- Woyke, J. (1984). Correlations and interactions between population, length of worker life and honey production by honeybees in a temperate region. *J. Apicult. Res.* 23 (3): 148- 156.
- Zentall, T. R. & Hogan, D. E. (1978). Same/different concept learning in the pigeon: the effect of negative instances and prior adaptation to transfer stimuli. *J. Exp. Anal. Behav.* 30: 177-186.
- Zhang, S. W., & Srinivasan, M. V. (1994). Prior experience enhances pattern discrimination in insect vision. *Nature* 368: 330- 333.
- Zhang, S. W., & Srinivasan, M. V. (2004). *The Visual Neurosciences*, eds. Chalupa, L., & Werner, J. S. (MIT press), pp.1501-1513.
- Zhang, S. W., Bartsch, K., & Srinivasan, M. V. (1996). Maze Learning by Honeybees. *Neurobiol. Learn. Mem.* 66: 267-282.
- Zhang, S. W., Lehrer, M. & Srinivasan, M. V. (1999). Honeybee memory: Navigation by associative grouping of visual stimuli. *Neurobiology of Learning and Memory*. *Learn. Mem.* 72: 180- 201.
- Zhang, S. W., Srinivasan, M. V., Zhu, H., Wong, J. (2004). Grouping of visual objects by honeybees. *Journal of exp. Biol.* 207: 3289-3298.



## 11. Lebenslauf

Fiola Nicola Bock

20.09.1974	geboren in Pforzheim
06/ 1994	allgemeine Hochschulreife
10/ 1994- 08/ 2002	Studium Biologie an der Julius-Maximilians-Universität Würzburg
03/ 2000- 04/ 2002	Forschungsaufenthalt in València, Spanien
08/ 2001- 08/ 2002	Diplomarbeit „Sammelstrategien bei Hummeln“, betreut von Dr. L. Chittka
01/ 2003- 09/ 2005	Promotion „Untersuchungen zu natürlicher und manipulierter Aufzucht von <i>Apis mellifera</i> : Morphologie, Kognition und Verhalten“, betreut von Prof. Dr. J. Tautz
10/ 2003- 12/ 2003	Forschungsaufenthalt in Canberra, Australien

## 12. Publikationen

### Veröffentlichungen:

Chittka, L., Dyer, A. G., Bock, F. & Dornhaus, A. (2003). Bees trade off foraging speed for accuracy. *Nature* 424; 388.

Streit, S., Bock, F., Pirk, C. & Tautz, J. (2003). Automatic life-long monitoring of individual insect behaviour now possible. *Zoology* 106 (3): 169-171.

Zhang, S., Bock, F., Si, A., Tautz, J. & Srinivasan, M. (2005). Visual working memory in decision making by honey bees. *PNAS* 102 (14): 5250- 5255.

Tan Ken, Bock, F., Fuchs, S., Streit, S., Brockmann, A., Tautz, J. (2005). Effects of brood temperature on honey bee *Apis mellifera* wing morphology. *Acta Zoologica Sinica* (4) 51.

### In Vorbereitung:

Bock, F., Streit, S., Fuchs, S. & Tautz, J.: A flight activity-lifespan syndrome in honeybees: Warmest pupae start low and get old.

Fuchs, S., Bock, F., Tautz, J. & Streit, S.: Influence of *Nosema* to temperature reared bees.

**Konferenzbeiträge:**

Bock, F., Streit, S. & Tautz, J. (2004). Lebenslanges Monitoring von Honigbienen – Technik und Durchführung, AG Tagung, Düsse

Bock, F., Streit, S. & Tautz, J. (2004). RFID chips, a powerful tool for studying honeybee bahavior, EurBee Tagung, Udine

Kralji, J., Fuchs, S. Bock, F., Streit, S. Tautz, J. (2005). AG Tagung Halle  
Influence of infection by Nosema apis on flight activity of Apis mellifera automatically recorded by use of radio frequency identification tags (RFID)

Tautz, J, Kleinhenz, M., Bujok, B., Bock, F., Fuchs, S. (2004). La climatizzazione dell'ambiente: un capolavoro dell'ape. APOidea 2 (1): 55- 59.

**Vorträge:**

Bock, F. (2003). Centre for visual sciences, Research school of biological sciences, Australian National University, Australien

Bock, F. (2005). University of Lund, Schweden

Bock, F. (2005). Queen Mary University of London, England

## 13. Danksagung

Herzlich bedanken möchte ich mich bei meinem Doktorvater Prof. Dr. Jürgen Tautz, der mir die Faszination der Honigbiene näher brachte und dessen Hilfs- und Diskussionsbereitschaft mir immer zur Verfügung standen.

Vielen Dank geht an PD Dr. Stefan Fuchs, der mir immer mit Rat und Tat zur Seite stand.

Einen großen Dank geht auch an Dr. Shaowu Zhang, auf den ich immer zählen konnte und mir viel Unterstützung in der Durchführung der Experimente entgegen brachte und natürlich an Prof. Dr. Hölldobler, an dessen Lehrstuhl ich arbeiten und mitwirken konnte.

Sehr bedanken möchte ich mich bei Ruth Göbel, Franziska Grözing, Iris Oelmann, Alexander Kapustjanskij, Jeanette Lancé, Sven Meier, Sabine Quittenbaum, Sebastian Reitzensteiner, Julia Roller, Georg Schwesinger, Ina Vaeth-Rasmussen, Ralf Zöbelein ohne deren unermüdlichen Arbeits- und Tatendrang viele Experimente nicht hätten durchgeführt werden können und natürlich bei allen Mitarbeitern der Zoologie II der Universität Würzburg.

Herzlich bedanken möchte ich mich bei meinen Eltern, meinen Schwestern Daliah, Clivia und Carisma, Katharina Angerhausen, Dr. Lars Chittka, Steffie Döbler, Dr. Adrian Dyer, Dr. Aung Si, Prof. Dr. Mandyam Srinivasan, Hong Zhang und an Dr. Sebastian Streit.