

# INHALTSVERZEICHNIS

<b>INHALTSVERZEICHNIS</b>	1
<b>1. EINLEITUNG</b>	5
1. 1 Thema der Dissertation	5
1. 2 Die europäischen Honigbienen	6
1. 2. 1 Das Sozialleben der Honigbienen	6
1. 2. 2 Die Temperaturen von Bienen und Bienenvölkern	6
1. 2. 2. 1 Die Temperaturgrenzen einzelner Bienen	7
1. 2. 2. 2 Die Temperatur im Bienenstaat	8
1. 2. 3 Die Entwicklung der Brut und ihre Temperatur	9
1. 3 Mechanismen der Wärmeerzeugung	11
1. 3. 1 Definitionen zur Einteilung von Temperaturverhältnissen	11
1. 3. 2 Thorax und Flugmuskeln	11
1. 3. 3 Das Atmungssystem der Honigbiene	13
1. 4 Mechanismen der Temperaturregulierung	14
1. 4. 1 Vorteile der aktiven Wärmeproduktion	15
1. 4. 2 Temperaturrezeptoren auf den Antennen der Honigbiene	15
1. 4. 3 Pheromone im Inneren des Honigbienen-Nestes	18
1. 4. 4 Mechanische Signale im Inneren des Nestes	18
1. 5 Hypothesen zur Regulierung der Nesttemperatur	19
1. 6 Wärme als Waffe gegen übermächtige Eindringlinge	19
1. 7 Temperaturregulierung der Brut bei sozialen Hautflüglern – ein Vergleich	19
1. 7. 1 Ameisen	20
1. 7. 2 Hornissen	20
1. 7. 3 Hummeln	20
1. 7. 4 Asiatische Honigbienen	21
1. 8 Erhebung von Temperaturdaten	22
1. 9 Fragestellungen dieser Arbeit	23
1. 9. 1 Das (Wärme-)Verhalten von Arbeiterinnen im Brutbereich	23
1. 9. 2 Wärmeübertragung von den Arbeiterinnen auf die gedeckelte Brut	23
1. 9. 3 Zellbesuche von Arbeiterinnen im gedeckelten Brutbereich	23
1. 9. 4 Abdomenbewegungen der Arbeiterinnen	24
1. 9. 5 Informationsaustausch zwischen Arbeiterin und Puppe?	24
1. 9. 6 Die Antennen als Kontaktstelle zwischen Arbeiterin und Puppe	25

---

<b>2. MATERIAL UND METHODEN</b>	26
2. 1 Die Versuchstiere	26
2. 2 Die Thermovision	26
2. 2. 1 Radiance PM <sup>®</sup> (Raytheon Amber)	26
2. 2. 2 ThermaCAM <sup>™</sup> SC500 (FLIR Systems)	27
2. 3 Einfluss der Stockabdeckung auf die Temperaturmessung	28
2. 4 Beobachtungen von Arbeiterinnen im Brutbereich	28
2. 4. 1 Laufende und ruhig sitzende Arbeiterinnen im Vergleich	28
2. 4. 2 Verhaltensbeobachtung von ruhig sitzenden Bienen mit hoher Thoraxtemperatur	29
2. 4. 3 Wärmeübertragung von der Arbeiterin auf die gedeckelte Brut	30
2. 4. 4 Eine weitere Strategie der Wärmeübertragung – Zellbesuche im Brutbereich	30
2. 4. 5 Messung der Atemfrequenz von warmen Arbeiterinnen	31
2. 5 Auslöser des Brutwärmeverhaltens	33
2. 5. 1 Kommunikationswege zwischen Arbeiterinnen und gedeckelter Brut	33
2. 5. 2 Temperaturregulierung manipulierter Brutzellen	33
2. 5. 3 Temperaturregulierung toter gedeckelter Brut	34
2. 6 Die Bedeutung der Antennen beim Brutwärmen	36
2. 6. 1 Brutwärmeverhalten von Kontrollbienen und Bienen mit amputierten Antennen	36
2. 6. 2 Brutwärmeverhalten von Bienengruppen mit einheitlich amputierten Antennen	38
2. 6. 2. 1 Brutwärmeverhalten bei beidseitiger Antennenamputation	39
2. 6. 2. 2 Brutwärmeverhalten von Bienen mit asymmetrische abgetrennten Antennen	39
2. 6. 3 Graphische Darstellung des Brutwärmeverhaltens	40
<b>3. ERGEBNISSE</b>	41
3. 1 Beobachtungen von Arbeiterinnen im Brutbereich	41
3. 1. 1 Die Temperaturen von Bienen im Brutbereich	41
3. 1. 2 Die Temperaturen von laufenden und ruhig sitzenden Arbeiterinnen im Vergleich	41
3. 1. 3 Verhaltensbeobachtungen von Bienen auf gedeckelter Brut	44
3. 1. 4 Wärmeübertragung von der Arbeiterin auf die gedeckelte Brut	45
3. 2 Eine weitere Strategie der Wärmeübertragung - Zellbesuche im Brutbereich	49
3. 3 Atemfrequenzen von warmen Arbeiterinnen	52
3. 4 Auslöser des Brutwärmeverhaltens	54
3. 4. 1 Informationsaustausch zwischen Brut und Arbeiterinnen	54

3. 4. 2	Temperaturregulierung manipulierter Brut - mit Wachskegel gefüllte Brutzellen	54
3. 4. 3	Temperaturregulierung von Arbeiterinnen auf toter Brut	55
3. 4. 4	Die Temperatur von toter gedeckelter Brut im Beobachtungsstock	59
3. 5	Die Bedeutung der Antennen beim Brutwärmen	63
3. 5. 1	Bienen mit 5 abgetrennten Antennensegmenten	63
3. 5. 2	Bienen mit einem amputierten Antennenglied an beiden Antennen	65
3. 5. 3	Asymmetrische Abtrennung von Antennensegmenten	71
3. 6	Graphische Darstellung des Brutwärmens	73
3. 6. 1	Zeitlicher Aspekt	73
3. 6. 2	Räumlicher Aspekt	76
<b>4.</b>	<b>DISKUSSION</b>	<b>80</b>
4. 1	Brutwärmeverhalten im gedeckelten Brutbereich	80
4. 1. 1	Effizienz des Andrückens	80
4. 1. 2	Zellbesuche im Brutbereich	81
4. 1. 3	Aktives Brutwärmeverhalten	83
4. 1. 4	Abdominale Atembewegungen	85
4. 2	Ab welcher Thoraxtemperatur beteiligen sich Bienen aktiv am Brutwärmen?	85
4. 3	Graphische Darstellung des Wärmeverhaltens	87
4. 4	Auslöser des Brutwärmeverhaltens	88
4. 5	Wege der Informationsübermittlung	90
<b>5.</b>	<b>ANHANG</b>	<b>93</b>
5. 1	Abkürzungen und Symbole	93
5. 2	Abbildungsnachweis	94
5. 3	Geräte und Materialien	94
5. 4	Temperaturkurven von Bienen im Brutbereich (vgl. 3.1.2)	95

<b>LITERATUR</b>	96
<b>ZUSAMMENFASSUNG</b>	103
<b>CONCLUSION</b>	104
<b>LEBENS LAUF</b>	105
<b>PUBLIKATIONEN</b>	106
<b>DANKSAGUNG</b>	108
<b>ERKLÄRUNG</b>	109

# 1. EINLEITUNG

## 1. 1 Thema der Dissertation

Die Thermoregulation<sup>1</sup> im Honigbienenvolk (Hymenoptera, Familie Apidae, *Apis mellifera*) ist seit langem Gegenstand vieler Untersuchungen, die zum Teil sehr genaue Beschreibungen über die Temperaturverhältnisse im Bienenstock bei unterschiedlichen Bedingungen enthalten (Hess 1927, Heran 1952, Lindauer 1954). Dagegen beginnt man erst allmählich die verhaltensphysiologischen Grundlagen dieses komplexen und spannenden Phänomens zu verstehen. Problematisch ist dabei, dass die individuelle Wärmeproduktion einer Biene kein offensichtliches Verhalten darstellt. Deshalb wurde über die aktive Wärmeerzeugung der Bienenarbeiterinnen lange nur spekuliert. Lindauer (1952) sagte zwar, dass „die müßig scheinende Biene immer [...] direkt oder indirekt an der Feuchte- und Temperaturregulierung im Stock beteiligt“ sei, allerdings meinte er auch: „Inwieweit dann [...] aktiv von den einzelnen Bienen Wärme produziert wird, bedarf noch einer näheren Aufklärung.“ 1978 schrieb Koeniger vorausschauend: „Es erscheint daher nicht unmöglich, dass die Biene eine gewisse Zeitspanne ihres Lebens mit Wärmeerzeugung verbringt, und dass dieses Verhalten so wenig auffällig ist, dass es von einem Beobachter ohne Zuhilfenahme empfindlicher Temperaturfühler nicht bemerkt werden kann.“ Aber selbst 2001 schloss Heinrich ein aktives Brutwärmen, wie es zum Beispiel bei Hummelköniginnen vorkommt, für Honigbienen noch aus. Außerdem war man lange der Auffassung, dass die Brut sich selbst mit der für eine optimale Entwicklung nötigen Wärme versorgen kann. Obwohl diese Ansicht bereits in den Zwanziger Jahren des vergangenen Jahrhunderts geprüft und verneint wurde (Himmer 1927b), ist sie immer noch verbreitet.

Auch wenn seit diesen Beobachtungen wichtige aufschlussreiche Details über die Wärmeproduktion von einzelnen Bienen hinzugekommen sind (z. B. Esch 1960, Kronenberg und Heller 1982, Stabentheiner und Schmaranzer 1987) blieben und sind viele Fragen bezüglich der Thermoregulation im Brutnest der Honigbiene weiterhin ungeklärt. Die vorliegende Arbeit beschäftigte sich mit der Temperaturregulierung im Brutbereich der Honigbiene *Apis mellifera carnica* und mit der eventuell damit verbundenen Kommunikation. Es wurde hierbei nach Mechanismen gesucht, die für die erfolgreiche Regulation der Temperatur im Bienenstaate nötig sind. Die moderne Technik der Thermovision (Wärmebildtechnik) ermöglichte es, ohne große Beeinflussung des Bienenvolkes Temperaturdaten von Bienengruppen und von einzelnen Bienen aufzunehmen und so einen Eindruck von der Temperaturverteilung im Brutbereich zu erhalten. Manipulationsversuche wurden vorgenommen, um dem Regelmechanismus der Wärmeversorgung im Nest auf die Spur zu kommen und in den Brutbereich eingebrachte Temperaturfühler sollten Details über die Brutnesttemperatur aufzeigen.

Einführend soll das Leben der Honigbienen im Kontext des Themas dieser Dissertation erläutert werden.

---

<sup>1</sup> *Thermoregulation* wird von Heinrich (1993) als die „Aufrechterhaltung einer spezifischen Körpertemperatur (oder eines spezifischen Temperaturbereiches) definiert, die unabhängig von passiven Prozessen wie Radiation, Konvektion und Evaporation sowie unabhängig vom Körperstoffwechsel während unterschiedlicher Aktivitäten ist.“

## 1. 2 Die europäischen Honigbienen

### 1. 2. 1 Das Sozialleben der Honigbienen

Europäische Honigbienen wie die Bienenrasse *Apis mellifera carnica* (Abb. 1) leben in geschlossenen, heute meist künstlichen Nisthöhlen mit mehreren Zehntausend Tieren und bilden in ihrer Gemeinschaft drei verschiedene Kasten: eine Königin, mehrere Hundert Drohnen und einige zehntausend Arbeiterinnen. Wie bei den Honigbienen finden sich bei allen sozialen Insekten Formen der Arbeitsteilung. Sie ist ein wesentlicher Faktor, der diese Tiergruppe so erfolgreich macht. Durch die große Volksstärke vermag eine Kolonie gleichzeitig vielfältige Tätigkeiten auszuführen. Während die Königin meist als einziges Geschlechtstier die Fortpflanzung übernimmt, sind die Arbeiterinnen unter



**Abb. 1 Honigbiene (*Apis mellifera carnica*)**

Diese Bienenrasse zeichnet sich durch problemlose Überwinterung, ruhiges Temperament, zügige Frühjahrsentwicklung und gute Anpassungseigenschaften aus (Ruttner 1992). Foto: H. R. Heilmann

anderem dafür zuständig, die Brut zu versorgen, Futter einzutragen, das Nest zu vergrößern und auszubessern, Feinde abzuwehren und für die Klimatisierung des Nestes zu sorgen. Die unterschiedlichen Aufgaben werden von verschiedenen Arbeiterinnen-Gruppen durchgeführt, deren Einteilung zeitlebens gilt oder über einen gewissen Zeitraum aufrechterhalten wird. Bei den Honigbienenarbeiterinnen gilt grob: Innendienstarbeiten werden in der ersten Lebenshälfte und Außendienstarbeiten in der zweiten Lebenshälfte ausgeführt (Seeley 1997). Wenn verändernde Umweltbedingungen es erfordern, wechseln die Arbeiterinnen flexibel zu aktuell dringlichere Aufgabengebiete (Lindauer 1952, Seeley 1997).

Die Drohnen begatten die Jungköniginnen und sind bei den Honigbienen nur im Frühjahr im Stock zu finden. Sie übernehmen keine Aufgaben im Stock.

### 1. 2. 2 Die Temperaturen von Bienen und Bienenvölkern

Bienen vermögen ihre Körpertemperatur aktiv zu erhöhen. Das macht sie beim Sammelflug zu einem gewissen Grade unabhängig von der Außentemperatur. Sobald ihr Energievorrat aufgebraucht ist, fallen sie allerdings bei niedrigen Außentemperaturen (unter 10°C) schnell in eine Kältestarre, von der sie sich aus eigener Kraft nicht mehr erholen können.

In der Kolonie-Gemeinschaft sind die Bienen dagegen fast völlig unabhängig von den Außenbedingungen und können mit ihrem Honigvorrat Temperaturen wie sie zum Beispiel im Winter vorherrschen, ohne Schwierigkeiten durchstehen. Die Verteilung der Nährstoffe im Volk erfolgt zusätzlich zur individuellen Futteraufnahme durch Trophallaxis (Austausch und Weitergabe flüssiger Nahrung). So müssen nicht alle Tiere in den kühleren Randbereich des

Stockes vordringen, in dem der Honig gelagert wird. Die Gesamtheit aller Honigblasen<sup>2</sup> in einer Kolonie wird deswegen auch als „Gemeinschaftsmagen“ des Volkes bezeichnet (Lindauer 1993).

### 1. 2. 2. 1 Die Temperaturgrenzen einzelner Bienen

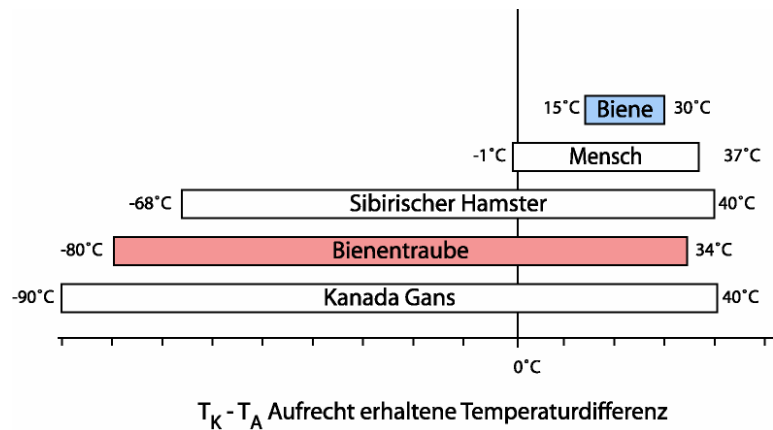
Der Temperaturbereich in dem eine Honigbiene aktiv ist, liegt etwa zwischen 10 und 49°C. Wenn die Körpertemperatur von Bienen unter 10°C sinkt, werden sie bewegungsunfähig.

Dies liegt vor allem daran, dass die Bienen ein großes Oberflächen-Volumen Verhältnis besitzen und damit nicht die nötige Stoffwechselwärme aus der Nahrung erzeugen können, um den schnellen Wärmeverlust über die Körperoberfläche auszugleichen (Southwick 1991). Von einer kurzzeitigen Hypothermie erholen sich die Tiere vollständig, wenn die Abkühlung zu lange vorherrscht (über 50 Stunden) sterben die Bienen (Free und Spencer-Booth 1960). Die Toleranzgrenzen der einzelnen Biene, wie sie in Abbildung 2 nach Southwick (1987) dargestellt ist, könnten also ein wenig erweitert werden, sie sind aber selbst dann nicht vergleichbar mit denen einer Bienentraube.

Die Tiere können eine sehr große Temperaturdifferenz zwischen Außen ( $T_A$ )- und Kerntemperatur ( $T_K$ ) aufrechterhalten, wenn sie sich in einer Traube zusammenfinden ( $T_{diff} = 114^\circ\text{C}$ ), während eine einzelne Biene eine Temperaturdifferenz von 15°C aufrechterhalten kann (nach Southwick 1987, verändert).

Die Tiere versuchen ihre Körpertemperatur auf 35 bis 36°C zu halten (Cahill und Lustick 1976). So beobachtete Esch (1960) „am Einzeltier einen Regelmechanismus, der in seiner Wirkung dem eines einfachen Thermostaten gleichkommt: Beim Absinken unter eine Grenztemperatur setzt eine Heizreaktion ein, die die Thoraxtemperatur um einige Grade über die Grenztemperatur anhebt. Nach Aussetzen der Heizung folgt ein langsames Absinken auf die Grenztemperatur.“

Auch Versuche mit einer Temperaturorgel zeigten, dass das Temperaturpräferendum von einzelnen Honigbienen bei ungefähr 35°C liegt. Das ist allerdings von Faktoren wie Alter, Hungerzustand und vorher ausgesetzter Temperatur abhängig: Bis zu 7 Tage alte Jungbienen bevorzugten 35,1-37,5°C, während Winterbienen ihr Präferendum bei 32,8°C hatten. Außerdem sank die Vorzugstemperatur der Bienen durch eine vorangegangene CO<sub>2</sub>-Behandlung (Heran 1952).



**Abb. 2 Toleranzgrenzen für einzelne Bienen (blau) und Bienentrauben (rot)**

Die Tiere können eine sehr große Temperaturdifferenz zwischen Außen ( $T_A$ )- und Kerntemperatur ( $T_K$ ) aufrechterhalten, wenn sie sich in einer Traube zusammenfinden ( $T_{diff} = 114^\circ\text{C}$ ), während eine einzelne Biene eine Temperaturdifferenz von 15°C aufrechterhalten kann (nach Southwick 1987, verändert).

<sup>2</sup> Die stark dehnbare *Honigblase* ist Bestandteil des Vorderdarmes und kann bis zu 70 mm<sup>3</sup> Flüssigkeit fassen. Der Nahrungsübertritt aus der Honigblase in den Mitteldarm wird durch den Proventriculus geregelt (Droege 1993).

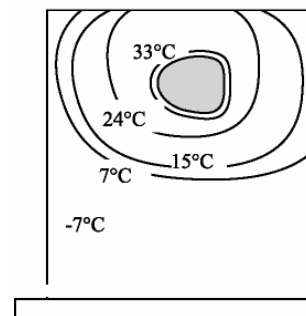
Die obere letale Temperaturgrenze liegt für Bienenindividuen bei etwa 49°C. Diese hohe Temperatur überleben die Tiere länger, wenn die Luftfeuchtigkeit gering ist, da sie sich dann besser durch Verdunstung von hervor gewürgter Flüssigkeit abkühlen können (Free und Spencer-Booth 1962).

Überschüssige Wärme, die beim Fliegen bei hoher Außentemperatur entsteht, wird über den Kopf abgeleitet. Die gezielte Wärmeabgabe ermöglicht es Bienen in Wüstengebieten selbst bei sehr hohen Temperaturen bis 46°C Lufttemperatur auszufliegen (Heinrich 1979a).

### 1. 2. 2. 2 Die Temperatur im Bienenstaat

Viel größer ist der Temperatur-Toleranzbereich für Bienen auf Kolonieebene (Abb. 2). Experimente unter extremen Temperaturbedingungen verdeutlichen wie unabhängig eine Kolonie von der Außentemperatur ist: Ein Bienenvolk mit 13000 bis 16000 Arbeiterinnen und Brut hielt ihre Kerntemperatur zwischen 33 und etwas über 35°C während die Außentemperatur für 12 Stunden auf minus 80°C gesenkt wurde (Southwick 1987). Die Manteltemperatur betrug zu jeder Zeit (Außentemperatur während des Absenkens der Temperatur zwischen +2°C und -80°C) mindestens 9°C. Im Versuch wurden unterschiedliche Volksgrößen getestet. Die gemessenen Metabolismusraten der Bientrauben verhielten sich indirekt proportional zur Traubengröße: Größere Trauben (13000-16000 Tiere) erzeugten maximal 54,5 W/kg, während kleinere Bientrauben (1300 Tiere) bis maximal 193,6 W/kg aufbrachten (Southwick 1987). Der Wert von 193,6 W/kg entspricht nach Jongbloed und Wiersma (1934) knapp der Hälfte der Metabolismusrate einer fliegenden Einzelbiene. Wärmeproduktion ist also ein sehr energieaufwändiger Prozess.

Unter normalen winterlichen Verhältnissen halten die Bienen ohne Brut eine Kerntemperatur von mindestens 18°C. Das ist die Temperaturgrenze bis zu der die Bienen noch Aktionspotentiale generieren und demzufolge aktiv Wärme produzieren können (Allen 1959, Esch und Bastian 1968). In der Peripherie der Wintertraube liegt die Temperatur mindestens bei 10°C (Free und Spencer-Booth 1960). In Abb. 3 ist die typische Temperaturverteilung in einer Bienenkolonie im Winter mit Brutbereich graphisch dargestellt.



**Abb. 3 Temperaturverteilung im Bienenstock**

Typische Temperaturverteilung in der Wintertraube, wenn Brut (grau) vorhanden ist. In diesem Beispiel eines Februartages lag die Außentemperatur bei -11°C (verändert nach Owens 1971 und Seeley 1985).

Auch mit hohen Temperaturen können sich Honigbienen einer Kolonie sehr gut arrangieren: Ein Bienenstock wurde in Süditalien inmitten einer Lavagestein-Aufschüttung aufgestellt, in der bis zu 60°C Lufttemperatur gemessen wurden. Der Stock erwärmte sich auf maximal 36°C, während das Thermometer in einem Kontrollstock ohne Bienen 41°C anzeigte (Lindauer 1954). Auch wenn Bienenwachs erst ab 62-65°C schmilzt, wird es schon bei niedrigeren Temperaturen von 46-48°C so weich und dehnbar, dass die nur 10µm dicken Zellenwände der Wachswaben den Honig und die Brut nicht mehr tragen können (Droege

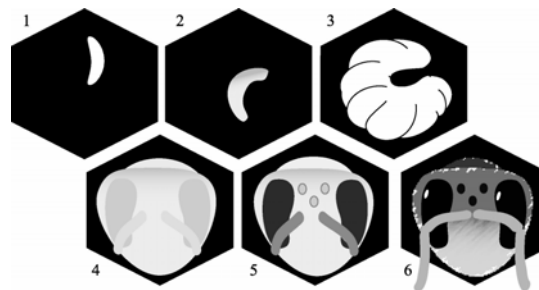


1993). Strategien gegen eine Stocküberhitzung sind deswegen für das Bienenvolk überlebensnotwendig. Der Kollaps der Waben käme einer Katastrophe gleich und muss unter allen Umständen vermieden werden.

Bei den verschiedenen Rassen ist die Fähigkeit zur Thermoregulation verschieden gut ausgeprägt. Bienenrassen, die harte Winter ertragen müssen und zum Beispiel in Norwegen und Russland zu finden sind wie *Apis mellifera mellifera* und *Apis mellifera carnica* können in der Regel auch besser aktiv wärmen (Ruttner 1992). Bienenrassen in den mediterranen und subtropischen Gebieten wie zum Beispiel *Apis mellifera sicula* aus dem Mittelmeergebiet und *Apis mellifera capensis* aus Südafrika haben dagegen wirkungsvolle Mechanismen gegen hohe Außentemperaturen entwickelt. Im Gegenzug halten diese Rassen kühleren Temperaturen weniger gut stand.

### 1. 2. 3 Die Entwicklung der Brut und ihre Temperatur

Die Königin legt am Tag bis zu 2000 Eier in leere Zellen, die zuvor von Arbeiterinnen sorgfältig gesäubert worden sind (Abb. 4). Aus den Eiern schlüpfen nach drei Tagen kleine Larven, die von Ammenbienen über 5 Tage mit einem Gemisch aus Pollen, Honig und dem Sekret der Futtersaftdrüsen gefüttert werden und dadurch ihr Gewicht bis auf das 500-fache erhöhen (Lindauer 1993). In dieser Zeit häutet sich die Larve mehrmals. Abschließend spinnt sich die Larve mit einem Seidenkokon ein und ihre Zelle wird von den Arbeiterinnen mit einem porösen Wachsdeckel verschlossen (Weippl 1934). In den folgenden Tagen (für die Arbeiterinnenlarven sind es 11 Tage, für Königinnen 8 und für Drohen 14 Tage) findet in der Zelle die Metamorphose zum Imago statt. In diesem Zeitraum wird die Brut auch als „gedeckelte Brut“ bezeichnet. Am Ende ihrer Entwicklungszeit beißt sich die junge Arbeiterin durch den Wachsdeckel und übernimmt fortan verschiedene Aufgaben im Kollektiv der Kolonie.



**Abb. 4 Die Entwicklung einer Arbeiterin**

Die Königin legt in eine Zelle ein Ei. Aus dem Ei schlüpft nach drei Tagen eine kleine Larve. Die Larve wird etwa 5 Tage lang gefüttert, bis sie sich streckt und sich in einen Kokon einspinnt. Dann verschließen die Bienen die Zelle zusätzlich mit einem Wachsdeckel. In den nächsten 11 Tagen findet in der geschlossenen Zelle die Metamorphose der Larve zum fertigen Insekt statt (hier in offener Zelle dargestellt). Am 21. Tag öffnet eine junge Arbeiterin den Zelleckel und kriecht aus der Zelle.

Die gedeckelte Brut entwickelt sich am besten bei Temperaturen um die 36°C (Tautz et al. 2003). Tatsächlich finden sich im Brutbereich Temperaturen zwischen 34 und 36°C (Himmer 1927b). Hess (1926) stellte in einem Volk trotz stark schwankender Außentemperaturen Abweichungen von nur maximal  $\pm 0,6^\circ\text{C}$  fest. Kleinhenz et al. (2003) fanden in Brutzellen Temperaturen von mindestens  $33,6 \pm 0,6^\circ\text{C}$  und maximal  $35,1 \pm 0,3^\circ\text{C}$ .

Diese genaue Temperaturregulierung im Stock und dabei vor allem im gedeckelten Brutbereich ist eine wichtige Voraussetzung für die Aufzucht, denn niedrigere Temperaturen

führen zum Beispiel zu Missbildungen der Flügel und Mundwerkzeuge (Himmer 1927b), zum Absterben der Brut und zu einer Verlängerung der Entwicklungszeit (Es'kov 1982). Neuste Untersuchungen zeigen, dass sich eine falsche Aufzuchttemperatur aber auch auf scheinbar unversehrte Bienen negativ auswirkt. Zum einen zeigten Bienen, die im Puppenstadium einer Temperatur von 32°C ausgesetzt waren unvollständige Tänze, zum anderen lernten Bienen, die bei 34,5 bzw. 32°C aufgezogen wurden signifikant schlechter als Bienen, die bei 36°C aufgezogen wurden (Tautz et al. 2003).

Auch zu hohe Temperaturen schaden der Brut. In TABELLE 1 sind die Auswirkungen der Temperatur auf die Entwicklungszeit und die Sterberate der Bienenbrut zusammengefasst. Diese Werte gelten, wenn die genannten Temperaturen während des gesamten Entwicklungszeitraumes auf die Brut eingewirkt haben. (Es'kov 1982), in TABELLE 2 ist eine genauere Untersuchung zur Entwicklungsdauer und Schlupfrate in Abhängigkeit von der Aufzuchttemperatur aufgeführt (Groh et al. 2004).

TABELLE 1

Entwicklungszeit in h und Sterberate in Prozent in Abhängigkeit von der Bruttemperatur (nach verschiedenen Autoren, nach Es'kov 1982).

Bruttemperatur	29°C	30°C	33°C	35°C	38°C
Entwicklungszeit	-	116h	-	78h	70h
Sterberate	95%	-	15%	3-4%	48%

TABELLE 2

Entwicklungsdauer der Puppen in Tagen und Schlupfrate in % in Abhängigkeit von der Aufzuchttemperatur (Groh et al. 2004). Die Entwicklungsdauer ist am kürzesten zwischen 34,5 und 37°C, die Schlupfrate ist am höchsten bei 32°C.

Aufzuchttemperatur in °C	Entwicklungsdauer der Puppen in Tagen	Schlupfrate in %
28	-	0
29	19 - 22	8 - 12
30	17 - 19	66 - 73
31	14 - 15	89 - 100
32	12 - 15	98 - 100
33,5	11 - 12	97 - 100
34,5	10 - 11	94 - 100
35	10 - 11	96 - 98
36	10 - 11	93 - 99
37	10 - 11	36 - 42
38	-	0

Wirken suboptimale Temperaturen über kürzere Zeit auf die Brut, kann es ebenfalls zu Schäden kommen (Himmer 1927a, Weiß 1962, Koeniger 1978).

Aber auch die Ausbildung von Gehirnstrukturen bei den Bienen ist temperaturabhängig. So ist die Anzahl der Microglomeruli in den Pilzkörpern am höchsten bei einer Aufzuchttemperatur von 34,5°C und sinkt sowohl bei höheren als auch bei niedrigeren Aufzuchttemperaturen (Groh et al. 2004).

Weitere Vorteile der hohen und konstanten Bruttemperatur liegen in der Abwehr von Krankheitserregern. Hohe Bruttemperaturen schützen die Brut zum Beispiel vor dem Erreger der Kalkbrut *Ascosphaera apis*. Werden Larven auch nur für kurze Zeit unter 30°C abgekühlt ermöglicht das dem Pilz sich auszubreiten und zu vermehren (Bailey 1967). Aus diesem Grund erhöhen die Bienen bei Bedarf die Temperatur der Larvenbrut aktiv, um gegen diesen Erreger anzukämpfen (Starks et al. 2000). Auch das Temperaturpräferendum der parasitischen Milbe *Varroa destructor* liegt unterhalb der Temperatur, die im Brutbereich zu finden ist (Rosenkranz 1988), die hohen Bruttemperaturen stellen also auch hier einen gewissen Abwehrmechanismus dar.

### 1. 3 Mechanismen der Wärmeerzeugung

#### 1. 3. 1 Definitionen zur Einteilung von Temperaturverhältnissen

Zur besseren Einteilung der Temperaturverhältnisse wurden einige Begriffe eingeführt, die allerdings idealisierte Extreme darstellen, da die meisten Organismen Zwischenstufen darstellen. *Homoiotherme* Tiere halten bei schwankenden Außentemperaturen ihre eigene Körpertemperatur dicht am Sollwert, indem sie ihre Wärmeerzeugung steigern bzw. ihre Wärmeabgabe senken. Als *Poikilotherme* fasst man solche Tiere zusammen, bei denen sich die Körpertemperatur mehr oder weniger der Umgebungstemperatur anpasst. In einer weiteren Klassifizierung wird die Herkunft der Körperwärme berücksichtigt. *Endotherme* Tiere erzeugen ihre Körperwärme selbst, während *ektotherme* Tiere weitgehend auf Wärmequellen aus der Umwelt angewiesen sind (Eckert 1993).

Honigbienen werden dementsprechend als homoiotherme Endotherme bezeichnet, da sie ihre Körperwärme selbst erzeugen und ihre Körpertemperatur konstant halten können. Die Honigbienen gehören damit in die gleiche Gruppe wie Säuger, Vögel und einige große Fische (Eckert 1993). Da dies vor allem für das gesamte Volk als Einheit und nicht für das Einzeltier gilt, nennt man Honigbienen einschränkend auch fakultativ homoiotherm.

#### 1. 3. 2 Thorax und Flugmuskeln

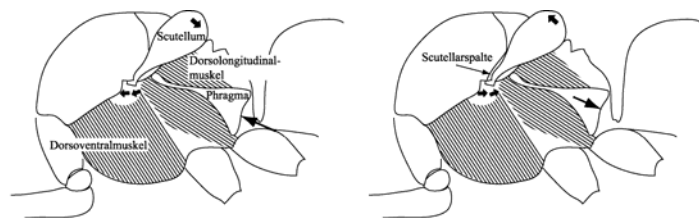
Wärme produzieren die Honigbienen als endotherme Tiere mit ihren Flugmuskeln, die fast den gesamten Thorax einnehmen. Der Dorsoventralmuskel reicht von oben bis unten durch den gesamten Thorax, der dorsale Longitudinalmuskel erstreckt sich vom oberen Bereich des Thorax bis zu einer frei beweglichen Struktur, die Phragma genannt wird und den so genannten Scutellararm antreibt. Die Flugmuskeln der Insekten zählen allgemein zu den metabolisch aktivsten Muskeln überhaupt im Tierreich (Bartholomew 1981). Eine fliegende Honigbiene verbraucht während des Fliegens eine Energierate von etwa 500 Watt pro

Kilogramm Körpergewicht (Jongbloed und Wiersma 1934, sowie Heinrich 1980 zitiert in Seeley 1985). Dabei werden auch große Mengen Körperwärme erzeugt (Seeley 1985), denn der Wirkungsgrad des Systems liegt nur bei etwa 10-20%, das restliche metabolische Brennmaterial wird in Wärme umgewandelt (Kammer und Heinrich 1978). Bei relativ großen Insekten wie der Honigbiene ist der Wärmeverlust so niedrig, dass die Körpertemperatur der Biene während des Fluges typischerweise 10-15°C über der Umgebungstemperatur liegt (bei Außentemperaturen von 15-25°C) (Esch 1960, Heinrich 1979b).

Bevor die Mechanismen der Wärmeproduktion näher erläutert werden, soll der Aufbau des Thorax und die Funktionsweise des Flügelapparates einer Biene dargestellt werden: Bei der Flugmuskulatur der Honigbiene handelt es sich um so genannte indirekte Flugmuskulatur, welche die Flügel durch Verformungen der Thoraxwände bewegt. Die mechanische Vorspannung der Thoraxkapsel führt zur Aktivierung der dorsalen Longitudinalmuskeln und der Dorsoventralmuskeln. Wenn sich die dorsalen Längsmuskeln kontrahieren, wölbt sich das Tergum des Thorax auf, die Flügel werden dadurch gesenkt und gleichzeitig werden die longitudinalen Muskeln gedehnt. Wenn die Kontraktion der Längsmuskeln aufhört, kontrahieren sich aufgrund ihrer vorausgegangenen Dehnung die Longitudinalmuskeln und flachen den Thorax, unterstützt durch die Elastizität der Thoraxwände, wieder ab. Die Flügel werden dadurch gehoben, ein Teil der Kontraktionsenergie wird in der Längsdehnung der Thoraxwände gespeichert und für den nächsten Abschlag aufgespart; die dorsalen Längsmuskeln werden gedehnt. Die Dehnung löst die Kontraktion der Längsmuskeln aus und der nächste Schlagzyklus beginnt (Heldmaier und Neuweiler 2003).

Erst wenn dieses System langsamer wird, wird es durch ein Aktionspotential erneut aktiviert. Eine eins-zu-eins Umwandlung von Aktionspotential und Kontraktion wie bei der so genannten direkten Flugmuskulatur ist nicht notwendig. Vielmehr wird durch die Muskelpotentiale das System nur angeregt, dass sich dann selbst aufrecht erhält.

Im Flug ist jeder Flügelschlagzyklus mit einer Auf- und Abdrehbewegung des Scutellums (der hintere Teil des Thorax, der als Scutellararm nach unten reicht) verbunden, entsprechend der Kontraktion des Dorsoventral- bzw. des dorsalen Longitudinalmuskels (Snodgrass 1956). Bei den Honigbienen drückt die Kontraktion des dorsalen Longitudinalmuskels den Scutellararm in



**Abb. 5 Funktionsweise des Scutellum**

Durch die Kontraktion des Dorsoventralmuskels dreht sich das Scutellum und die Scutellarspalte öffnet sich. Während des Aufwärmens wird die Rotation des Scutellums verhindert. (nach Esch et al. 1991, sowie Heinrich und Esch 1994)

die so genannte Scutellarspalte und verschließt diese. Dabei wird das Scutellum gegen ein horizontales elastisches Gelenk über das thorakale Notum gedreht. Dadurch wird Kraft auf das Notum ausgeübt und der Dorsoventrale Muskel gedehnt. Das wiederum führt durch die Kontraktion des Dorsoventralmuskels zu einer abwärts gerichteten Rotation des scutellaren Hebels zu einer kleinen Drehung des Scutellums während sich die Scutellarspalte öffnet.

Vor dem Aufwärmen sind die Flugmuskeln entspannt, so dass sich eine Scutellarspalte zwischen Scutellararm und dem vorderen Teil des Thorax bildet. Zu Beginn der aktiven Wärmeproduktion geschieht allerdings etwas Außergewöhnliches: dann nämlich werden die dorsalen Longitudinalmuskeln mittels Aktionspotentialen häufiger aktiviert. Dieses Ungleichgewicht der Muskelkontraktionen lässt das Scutellum rotieren bis es mechanisch gestoppt

wird, die Flügel werden dadurch „ausgeklinkt“, so dass die Wärmeproduktion ohne Flügelschlag erfolgt. Erst eine Anhäufung von Aktionspotentialen zu den Dorsoventralmuskeln befreit das Scutellum aus dem mechanischen Stopp und die Flugoszillation beginnt durch die erneute gleichmäßige Aktivierung der beiden Muskelgruppen (Heinrich und Esch 1994).

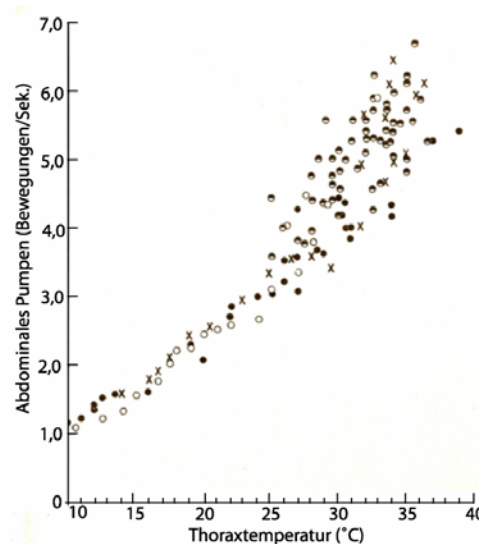
### 1. 3. 3 Das Atmungssystem der Honigbiene

Die energieaufwändige Wärmeproduktion ist nur durch eine ausreichende Sauerstoffversorgung möglich, die durch das effektive Atmungssystem der Bienen gewährleistet wird.

Das Atmungssystem der Bienen besteht aus fein verzweigten Hautausstülpungen (Tracheen), die an der Körperoberfläche mit verschließbaren Stigmen beginnen und blind in feinen Tracheolen im Gewebe enden. Im Gegensatz zu allen anderen Atmungsorganen gelangt der Sauerstoff ohne Transportmedium direkt zu den Sauerstoff-verbrauchenden Zellen. Die Tracheolen enden in der Flugmuskulatur an den Mitochondrien, den Orten des Sauerstoffverbrauchs. Dadurch erreichen Insekten „aerobe Stoffwechselraten, die höher als bei allen übrigen Tieren liegen. Bienen [...] können im Flug ihren Ruhestoffwechsel auf den 150fachen Wert anheben, ohne eine O<sub>2</sub>-Schuld eingehen zu müssen“ (Wehner und Gehring 1990). In denselben Röhren, nur in umgekehrter Richtung, fließt das Kohlendioxid aus dem Körper (Heinrich 2001).

Allerdings ist die Diffusion von Gasen ein langsamer Vorgang. Größere Insekten verfügen deswegen über Mechanismen Luftbewegungen in ihrem Tracheensystem zu erzeugen, indem sie die größeren Schläuche und Luftsäcke des Tracheensystems durch alternierendes Zusammendrücken und Ausdehnen der

Körperwandung, insbesondere des Abdomens durchlüften (Eckert 1993). Die abdominalen Atembewegungen sind auch bei den Bienen von außen sichtbar, Dauer, Amplitude und Frequenz der Pumpbewegungen geben Hinweise auf den Sauerstoffverbrauch und Energieaufwand des Tieres: „Eine ruhende Biene atmet 110-115 mal pro Minute. Beim Fächeln erhöht sich die Atemfrequenz auf 170 bis 220 Atembewegungen. Außerdem steigt die Atemintensität an, was aus der Zunahme des CO<sub>2</sub>-Gehaltes in der ausgeatmeten Luft hervorgeht. Bei steigender Temperatur wird die Atemfrequenz weiter erhöht“ (Droege 1993). Heinrich bestimmte die Abdomenbewegungen von Hummelköniginnen (Heinrich 2001). Bei einer Frequenz von 1,1 Pumpbewegungen pro Sekunde betrug die Thoraxtemperatur einer *Bombus-edwardsii*-Königin 10°C, bei der Frequenz von 2,2 betrug sie 20°C, bei 4,4 Atembewegungen 30°C (Abb. 6). Die Häufigkeit des Pumpens blieb bei gegebener Temperatur



**Abb. 6** Frequenz der abdominalen Pumpbewegungen einer *Bombus edwardsii*-Königin von 0,35g Körpergewicht (Kreise) und einer Arbeiterin (Kreuze) als Funktion der Thoraxtemperatur. Gemessen wurde, während die Thoraxtemperatur der Königin stieg (●), abnahm (○) und gleich blieb (◐). Abbildung aus Heinrich 2001.

gleich. Wenn sie passiv abkühlte, waren die Pumpbewegungen flach, es gab größere Pausen, oder die Bewegungen hörten ganz auf. Bei Thoraxtemperaturen weit über der Außentemperatur war das Pumpen tief und anhaltend.

#### 1. 4 Mechanismen der Temperaturregulierung

Die Arbeiterinnen haben vielfältige Mechanismen entwickelt um für gleich bleibende Bedingungen im Bienenstock zu sorgen: Zur Senkung der Temperatur im Nest tragen sie Wasser ein und nutzen dessen Verdunstungskälte. Das Wasser wird dazu in kleinen Tröpfchen auf der Wabenoberfläche verteilt. Einige Bienen ziehen das Wasser zum Verdunsten auch wiederholt im Mundfeld zu einem dünnen Film aus (Lindauer 1954). Andere Arbeiterinnen fächeln mit den Flügeln. Southwick und Moritz (1986) zeigten, dass fächelnde Bienen es durch geschickte Anordnung im Stock schaffen einen Luftstrom ähnlich atmender Säugetiere zu erzeugen und dadurch die Luft im Stock erneuern. Bei hohen Außentemperaturen verlässt ein Teil des Volkes das Nest und sammelt sich als so genannter „Bienenbart“ vor dem Nesteingang. Durch die geringere Bienendichte im Stock kann die Luft leichter ausgetauscht werden. Zusätzlich wird die Stoffwechselwärme der vor dem Stock wartenden Bienen an die Umgebung und nicht an das Nest abgegeben.

Bei zu niedrigen Temperaturen im Stock erzeugen die Bienen Wärme, indem sie ihre Körpertemperatur aktiv erhöhen. Die Wärmeproduktion findet im Thorax, wo sich die leistungsstarken Muskeln des Flugapparates befinden, statt. Ein Wärmeaustauscher im Petiolus der Biene verhindert den Abfluss der Thoraxwärme in das Abdomen (Heinrich 1979). So liegen zum Beispiel bei Tänzerinnen die Abdomentemperaturen 6-10°C unter den Thoraxtemperaturen und verändern sich auch mit der Außentemperatur. Die Abdomentemperatur wird also nicht weiter reguliert (Esch 1960). Die Flugmuskeln werden, wie oben beschrieben, zur Wärmeproduktion gegeneinander bewegt, wobei keine äußere Bewegung sichtbar wird (Esch et al. 1991). Wärme produzierende Arbeiterinnen können also nicht mit bloßem Auge an Hand von Flügelbewegungen als solche identifiziert werden. Untersuchungen zur Wärmeerzeugung erwiesen sich deswegen in der Vergangenheit als schwierig und waren mit störenden Eingriffen in den Bienenstock verbunden (Esch 1960). Erst der Einsatz der Thermovision von Stabentheiner und Schmaranzer 1987 und Bujok et al. 1999, 2002 zeigte neue Wege zur Beobachtung des Temperaturverhaltens im Bienenstock auf.

Zusätzlich zur aktiven Wärmeproduktion senken Bienen den allgemeinen Wärmeverlust in dem sie gegebene Außenbedingungen optimal nutzen und ihr Verhalten anpassen: Dies beginnt bereits bei der Wahl einer geeigneten Neshöhle mit relativ kleinem Nesteingang, der mit etwa 9 cm<sup>2</sup> als optimal angesehen wird (Seeley 1985). Löcher oder Ritzen werden mit Propolis (Kittharz) verschlossen (Winston 1987). Einige Rassen, die in besonders kalten Klimaten überwintern verkleinern den Nesteingang zusätzlich mit einem Propolisvorhang (Ruttner 1968, zitiert in Winston 1987). Zu den Verhaltensmaßnahmen zur Temperaturerhaltung gehört auch das Zusammendrängen (engl. cluster) der Bienen auf der Wabe. Die dichten Haare der Tiere wirken dabei so isolierend wie die Daunenfedern von Vögeln (Southwick und Heldmaier 1987) und wenn die Bienen einen dichten „Cluster“ bilden, verringert sich die der Außenluft exponierten Oberfläche jeder Biene erheblich (Southwick 1983, Seeley 1985).

Außerhalb des Bienenstockes wird die Fähigkeit der aktiven Wärmeproduktion zum Fliegen bei niedrigen Umgebungstemperaturen benötigt, da erst bei einer Thoraxtemperatur von etwa 27°C die erforderliche Flügelschlagfrequenz erreicht wird, um den Bienenkörper in der Luft zu halten (Esch 1976, Seeley 1985). Neben dem Flug und der Klimatisierung des Nestes (Esch 1960, Esch et al. 1991), wird die aktive Produktion von Wärme aber auch in der Winter- und Schwarmtraube (Heinrich 1981, Seeley et al. 2003) und als Kommunikationsmittel (Stabentheiner und Hagmüller 1991, Stabentheiner et al. 1995) genutzt.

Eine chemische Thermogenese wie sie bei Hummeln bekannt ist wurde bei den Bienen nicht gefunden (Esch et al. 1991).

#### **1. 4. 1 Vorteile der aktiven Wärmeproduktion**

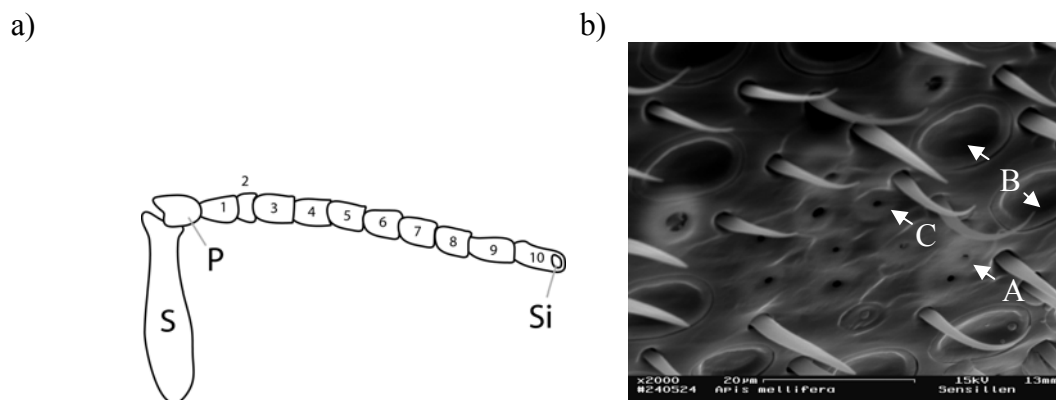
Dank ihrer Fähigkeit der Wärmeproduktion legen Honigbienen im Winter keine Diapause (= inaktives Überwinterungsstadium) ein. Im Winter, wenn keine Brut vorhanden ist, wird die Temperatur im Stock allerdings herab gesenkt. Dann drängen sich die Bienen im Cluster zusammen und halten im Inneren dieser Wintertraube die Temperatur wie weiter vorne beschrieben auf mindestens 18°C. In der Peripherie der Traube liegt die Temperatur bei etwa 9°C, damit die Arbeiterinnen nicht bewegungsunfähig werden (Southwick und Mugaas 1971). Voraussetzung für die anhaltende Wärmeproduktion ist der große Honigvorrat, der die Tiere über den Winter versorgt (wird der Honig vom Imker im Herbst geerntet, muss das abgeschöpfte Futter durch eine Zuckernahrung ersetzt werden). Der Vorteil dieser aufwändigen Überwinterungsstrategie liegt auf der Hand: Die risikoreiche Koloniegründungsphase entfällt für die Königin, neue Brut wird im Frühjahr in großer Zahl durch viele Ammenbienen versorgt und die Kolonie kann bereits sehr zeitig im Jahr auf Trachtsuche gehen und die ertragreiche Frühjahrsblüte nutzen.

#### **1. 4. 2 Temperaturrezeptoren auf den Antennen der Honigbiene**

Zur genauen Temperaturregulierung sind ebenso genaue Temperaturrezeptoren von Nöten. „Thermo- und Hygrorezeptoren wurden bei allen daraufhin untersuchten Insektenarten gefunden. Sie kommen besonders häufig auf den Antennen, aber auch am übrigen Körper vor (Lacher 1964). Bei der Honigbiene sind vor allem die fünf distalen Antennenglieder für die Orientierung in einem Temperaturgradienten wichtig (Heran 1952). Die Zahl antennaler thermo- bzw. hygrosensitiver Sensillen ist im Vergleich zu der von Mechano- und Chemo-rezeptoren relativ gering“ (Stabentheiner und Römer 1999).

Die Antennen der Honigbienen setzen sich aus Scapus, Pedicellus und Antennengeißel mit 10 (bei Drohnen 11) Segmenten zusammen (Abb. 7). Die ersten beiden Segmente nach dem Pedicellus sind etwas kleiner als die folgenden. Das Spitzensegment der Geißel endet in einer nach hinten außen gerichteten ovalen Fläche, die als Sinnesplatte bezeichnet wird und mit besonders vielen Sinneszellen besetzt ist (Martin und Lindauer 1966).

Auf der Antennengeißel liegen in großer Zahl Rezeptorzellen, die der Aufnahme von Umweltreizen dienen und auf unterschiedliche Reizmodalitäten abgestimmt sind. Man unterscheidet zwischen verschiedenen Sensillen- und Setatypen (Abb. 7): Sensilla placodeum, S. ampullaceum, S. coeloconicum, S. campaniforme und die 5 Haarsensillen S. tichodeum A, B1, B2, C und D sowie den Setatypen A1, A2, A3 und B. Die unterschiedlichen Sensillen- und Setatypen sind olfaktorische, gustatorische, Thermo-, Hygro-, CO<sub>2</sub>-, und Mechano-Rezeptoren. Die Funktion einiger Sensillen ist noch unbekannt bzw. uneindeutig.



**Abb. 7**

**a) Skizze einer Bienenantenne**

Antenne einer Bienenarbeiterin mit Scapus (S), Pedicellus (P) und 10 Geißelsegmenten (1-10). Auf dem distalen Segment ist die Sinnesplatte (Si) zu finden.

**b) Rasterelektronische Aufnahme eines Antennensegments (Ausschnitt)**

Auf dem Photo sind verschiedene Sensillentypen auszumachen: A = Sensilla ampullaceum, B = S. placodeum, C = S. coeloconicum (nach Esslen und Kaissling 1976)

Den Grubenorganen S. coeloconicum und S. ampullaceum wird die Aufgabe der Temperatur-, CO<sub>2</sub>-, und Feuchteperzeption zugeschrieben. Bei der Blattschneide-Ameise *Atta cephalotes* ist die S. ampullaceum für die CO<sub>2</sub>-Rezeption zuständig (Kleineidam und Tautz 1996). Eine genauere Zuordnung dieser Reizmodalitäten zu den Sensillentypen gelang bisher nicht (Esslen und Kaissling 1976). Die Verteilung dieser Sensillen auf den Geißel-Segmenten zweier Bienenarbeiterinnen zeigt TABELLE 3 (Esslen und Kaissling 1976):



TABELLE 3

Anzahl und Verteilung der temperaturempfindlichen Sensillen auf den Antennen zweier Arbeiterinnen (A und B). Je Segment ist die Anzahl der beiden Sensillentypen *S. ampullaceum* und *S. coeloconicum* angegeben. In der letzten Spalte ist die Gesamtanzahl (gesamt) des jeweiligen Sensillentypus auf einer Antenne summiert. Die Anzahl der Sensillen erhöht sich zur Antennenspitze.

Sensillentyp	Segment										gesamt
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
<i>S. ampullaceum</i> A	0	0	6	9	7	9	15	16	16	33	111
<i>S. ampullaceum</i> B	0	1	7	8	7	11	12	7	13	38	104
<i>S. coeloconicum</i> A	0	2	4	4	5	7	9	10	6	16	63
<i>S. coeloconicum</i> B	0	1	2	4	4	5	3	7	5	9	40

Allerdings wurde in einer neusten Arbeit gezeigt, dass die Anzahl und die Verteilung der Sensillen weitaus individueller und unterschiedlicher ist, als TABELLE 3 vermuten lässt (Borchardt unveröffentlicht). In TABELLE 4 ist zum Vergleich die Anzahl und Verteilung dieser Sensillen auf der Drohnenantenne aufgelistet.

TABELLE 4

Anzahl und Verteilung der temperaturempfindlichen Sensillen auf einer Drohnenantenne. Je Segment ist die Anzahl der beiden Sensillentypen *S. ampullaceum* und *S. coeloconicum* angegeben. In der letzten Spalte ist die Gesamtanzahl (gesamt) des jeweiligen Sensillentypus auf einer Antenne summiert.

Sensillentyp	Segment										gesamt	
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		
<i>S. ampullaceum</i>	0	0	4	8	8	8	9	11	14	13	6	81
<i>S. coeloconicum</i>	0	0	8	5	7	8	8	12	10	14	11	83

Auffällig ist die hohe Anzahl an Sensillen an der Antennenspitze. Die Temperatursensillen der Arbeiterinnenbiene sind allerdings nicht zentral auf der Antennenspitze zu finden, sondern sie treten seitlich gehäuft auf. Heran (1952) zeigte, dass Rezeptoren auf den fünf distalen Antennengliedern eine besonders hohe Empfindlichkeit auf Temperaturreize aufweisen. Unter bestimmten Bedingungen können die Bienenarbeiterinnen Unterschiede von 0,25°C wahrnehmen.

Außerdem fällt die unterschiedliche Verteilung und Menge der Sensillen bei der Arbeiterin und der Drohne auf. Dies könnte ein Hinweis sein, dass die Wärmeperzeption bei den Drohnen eine untergeordnete Rolle spielt.

In dieser Arbeit sollte untersucht werden, ob Pheromone oder mechanische Signale bei der Erkennung der Brut in Zusammenhang mit dem Brutwärmen eine Rolle spielen. Deswegen werden dazu einige Grundlagen im Folgenden kurz dargestellt.

### **1. 4. 3 Pheromone im Inneren des Honigbienen-Nestes**

Pheromone sind Botenstoffe, die der chemischen Kommunikation dienen und zwischen Organismen (meist artgleichen Individuen) wirken. Nahezu alle Pheromone bestehen aus einem Bouquet verschiedener chemischer Verbindungen, die erst in bestimmten Konzentrationsverhältnissen ihre spezifische Signalwirkung entfalten. Ein bekanntes Beispiel der Bienenwelt ist eine Komponente der so genannten Königinnensubstanz (C<sub>10</sub>-Molekül: 9-Oxo-2-Decansäure). Das Pheromon wird von der Königin in der Mandibeldrüse gebildet und sowohl beim Paarungsflug - zum Anlocken von Drohnen - als auch im Stock zur Information der Arbeiterinnen über die Präsenz der Königin eingesetzt (Wehner und Gehring 1990). Auch beim Erkennen der Bienenbrut sind Pheromone beteiligt. Koeniger und Veith (1964) fanden ein Brutpheromon (glyceryl-1,2-dioleate-3-palmitate) bei den Drohnen. Ein weiteres Brutpheromon, das aus 10 Komponenten besteht, veranlasst Arbeiterinnen zum Verschließen der Brutzellen (Le Conte et al. 1990). Die Brutpheromone werden auch von der parasitisch im Stock lebenden Milbe *Varroa destructor* genutzt, um die Brut zu finden.

### **1. 4. 4 Mechanische Signale im Inneren des Nestes**

Mechanische Signale sind in Kolonien allgegenwärtig. Bienen übertragen beim Schwänzeln Schwingungen in die Waben (Nieh und Tautz 2000, Tautz et al. 2001). Arbeiterinnen berühren sich mit den Antennen und kommunizieren auf diese Weise. Bienenarbeiterinnen unterscheiden leere Königinnenzellen von vollen wahrscheinlich weil die mechanischen Schwingungseigenschaften der Zelle durch das Ausräumen der Zelle verändert wurden. Aus demselben Grund wurden Königinnenlarven, die am Zellenboden der Weiselzellen festgeklebt waren häufiger ausgeräumt, als Larven, die nicht befestigt worden waren (Koeniger 1978).

Hornissenlarven (*Vespa crabro*) fordern die Arbeiterinnen mittels mechanischer Signale zum Wärmen und Füttern auf. Dazu vollführen sie „mit ihren Körpern rhythmische, schraubig rotierende Bewegungen in Richtung entgegen dem Uhrzeiger, das Dorsum gegen die Zellwand gekehrt. Der Kopf wird dabei relativ wenig bewegt, so dass der Bewegungsablauf wie ein kreisendes Pendeln aussieht. Ein Kreisumlauf [...] dauert etwa 2-5 sec, in der Minute werden 2-9 Kreisbewegungen ausgeführt.“ (Ishay und Ruttner 1971). Diese thermoregulatorischen Bewegungen sind vor allem im Imago-losen Nest zu beobachten. Der Bewegungstyp zur Futteraufforderung unterscheidet sich sehr deutlich von der Aufforderung zur Wärmeerzeugung: Die Larve verkürzt sich rhythmisch in ihrer Längsachse, dabei kratzt sie laut hörbar mit ihren Mandibeln an der Zellwand. Die Region mit der größten Bewegungsamplitude ist der Kopf (Ishay et al. 1968, zitiert in Ishay und Ruttner 1971). Ein ähnlicher Mechanismus ist bei Honigbienenpuppen denkbar wenn ihre Temperatur nicht optimal ist. „Rhythmische Schwankungen des Hämolympdruckes der Puppen in den gedeckelten Brutzellen sind danach für die Arbeiterinnen wahrnehmbar und werden für die Kontrolle einer

normalen Entwicklung der Puppe genutzt. Slama (pers. Mitteilung an Kirchner 1987) hat Hinweise, dass die Signale „auf Anfrage“ abgegeben werden“ (Kirchner 1987).

### **1. 5 Hypothesen zur Regulierung der Nesttemperatur**

Es ist seit langem umstritten, wie die konstanten Temperaturwerte um 35°C im Brutbereich zustande kommen. Im Gespräch stehen vor allem zwei kontrovers diskutierte Hypothesen: die erste Hypothese fordert, dass die Arbeiterinnen, die sich im Brutbereich aufhalten die Bruttemperatur aktiv regulieren. Die zweite Theorie behauptet, dass die Arbeiterinnen ihre eigene Temperatur konstant auf den bevorzugten 35°C halten und das Wärmen der Brut ein praktisches Beiprodukt dieses individuellen und eigennützigen Verhaltens ist (Winston 1987). Zur Einhaltung der ersten Hypothese wäre eine Kommunikation wahrscheinlicher als bei der zweiten Hypothese.

### **1. 6 Wärme als Waffe gegen übermächtige Eindringlinge**

Wärme optimiert also in vieler Hinsicht die Brutaufzucht. Darüber hinaus gebrauchen japanische Honigbienen (*Apis cerana japonica*) die Wärmeproduktion zur Verteidigung ihrer Kolonien. Diese Bienen werden von Hornissen (*Vespa mandarinia japonica*) angegriffen, beraubt und ausgerottet. Kundschafter-Hornissen suchen nach Bienennestern, jagen einzelne Bienen und bringen diese in ihr Nest als proteinreiche Nahrung für ihre Brut. Nach mehreren Besuchen hinterlassen sie eine Pheromonmarkierung am Bienennest. Andere Hornissen werden auf die Markierung aufmerksam und jagen ebenfalls nach Bienen. Haben sich mehrere Hornissen eingefunden ändern sie ihre Strategie und beginnen einen massiven Angriff auf die Bienenkolonie. Sie töten das Volk (bis zu 40 Tiere pro Minute) und rauben in den folgenden Tagen die Brut als Futter für ihre Larven. Nur wenn die Honigbienen die markierenden Hornissen abpassen können, ist ihr Stock sicher. Einzelne Bienen haben keine Chance gegen die viel größeren Hornissen, wenn aber etwa 500 Bienen einen Ball um die Hornisse bilden, und sich dabei aufwärmen, können sie eine Hornisse so stark erwärmen, dass diese an Überhitzung stirbt. Die Bienen produzieren in dem Ball eine Temperatur von etwa 47°C. Diese Temperatur ist für Hornissen bereits letal (Temperaturmaximum: 44-46°C) während Bienen 48-50°C aushalten können (Ono et al. 1995).

### **1. 7 Temperaturregulierung der Brut bei sozialen Hautflüglern – ein Vergleich**

„Bei sämtlichen Staatenbildenden Hymenopteren gibt es irgendeine Form der Beeinflussung des Wärmehaushaltes im Bereich des Nestes. Methoden und Wirkungsgrad erstrecken sich über eine breite Skala – von einer bloßen Ausnutzung und Steuerung der physikalischen Umweltbedingungen im Ameisenstaat bis zur Produktion und Regulation von Eigenwärme, die im Brutnestbereich der Honigbiene die Leistungen eines homoiothermen Organismus erreichen“ (Ishay und Ruttner 1971). Im Folgenden werden einige Beispiele genannt:

### 1. 7. 1 Ameisen

Ameisen (Formicaceae) besitzen nicht die starke Flugmuskulatur der fliegenden Insekten, sie müssen also andere Mechanismen zur Thermoregulation nutzen. Je nach Habitat ist es dabei wichtig zu hohen Temperaturen (z. B. in Wüstengebieten) oder zu niedrigen Temperaturen (in dichten Wäldern) entgegenzuwirken. Ein bedeutender Faktor bei der Temperaturregulierung im Ameisenstaat ist die Sonne. Ameisen, die wie Honigbienen den Winter als Kolonien überstehen, „schützen sich nur insofern vor den schroffen Temperatureinflüssen der Umgebung, als sie tiefer in die Erde gehen, dann aber bis zur Kältestarre abkühlen“ (Steiner 1924).

### 1. 7. 2 Hornissen

Hornissenarbeiterinnen (Vespidea, *Vespa crabro*) wärmen ihre Brut aktiv, wenn die Umgebungstemperatur zu niedrig ist (Ishay 1972). Dagegen konnte das Wärmen von Larven und Eiern nie beobachtet werden. Hornissenpuppen wurden im Experiment auch außerhalb ihrer Brutzelle gewärmt. Das Wärmeverhalten wurde sogar bei Wespen (*Paravespula vulgaris*) ausgelöst und erst beendet, wenn sich die Hornissenpuppe zum adulten Tier entwickelt hatte. Dann wurde die Hornisse als Feind erkannt und attackiert. Aus dieser Beobachtung wurde geschlossen, dass ein Pheromon das Wärmeverhalten auslöst (Ishay 1972).

### 1. 7. 3 Hummeln

Viele Hummelspezies (Bombinae, Bombus, z. B. *Bombus terrestris*, *Bombus edwardsii*) platzieren ihre Nester in hohlen Baumstämmen oder in verlassenen Behausungen von Nagetieren, wo dicke Außenwände Temperaturschwankungen abmildern (Heinrich 2001). Als zusätzlicher Isolierschutz wird über dem Brutnest ein Wachsaldachin gebaut (Heinrich 2001). Hummelköniginnen sind in der Koloniegründungsphase im Frühjahr auf sich alleine gestellt und können nicht auf die Hilfe von Arbeiterinnen zurückgreifen. Im Gegensatz zu Honigbienen haben sie allerdings zusätzlich zur Wärmeproduktion mittels Muskelzittern die Möglichkeit auf chemischen Weg Wärme zu erzeugen (Newsholme et al. 1972). Außerdem können sie den Wärmefluss zwischen Thorax und Abdomen nach Bedarf regulieren (während bei Honigbienen die Wärme im Thorax zurückgehalten wird). Eine koloniegründende Königin sitzt, wenn sie nicht auf Futtersuche ist, Tag und Nacht auf dem Brutnest, das am Anfang aus einer Brutzelle besteht, in der sich mehrere Larven befinden. Dabei nimmt sie eine charakteristische Körperhaltung ein: Sie streckt ihre Beine, verlängert ihr Abdomen und bedeckt die Brut vollständig mit ihrem Körper. Der Kopf weist zu einem Honigtopf, dessen ganzen Inhalt sie gewöhnlich im Laufe einer Nacht leert. Wenn es der Königin an Futter mangelt und sie die Brut nicht mehr wärmen kann, verzögert sich die Entwicklung des Nachwuchses, oder sie kommt sogar zum Stillstand. Die Wärmeübertragung auf die Brut findet über das Abdomen statt. Dazu pressen die Hummelköniginnen eine haarlose Partie der Abdomenunterseite (= Wärmefenster) an die Brutzelle. Im dunklen Stock findet die Königin die Brut, indem sie sie mit einem Pheromon markiert (Heinrich 2001). Später helfen die

Arbeiterinnen bei der Thermoregulation. Die Brutzellentemperatur kann dadurch bis 12°C über der Umgebungstemperatur (im Versuch lag die Umgebungstemperatur bei 22-23°C) ansteigen (Heinrich 1971). In dicht bevölkerten Hummelkolonien (große Kolonien erreichen Koloniestärken von durchschnittlich 400 Tieren, in Gefangenschaft bis 1600 Tiere (Horber 1961)) reicht die von den vielen Tieren erzeugte Stoffwechselwärme, um die Luft im Nest aufzuheizen und die Brut warm zu halten, ohne dass zusätzliche Bruthitze erzeugt werden müsste. Das ist ein großer Vorteil, da brütende Tiere während der Zeitspanne des Wärmens für andere Aufgaben im Nest nicht zur Verfügung stehen (Heinrich 2001).

#### 1. 7. 4 Asiatische Honigbienen

Aus dem asiatischen Raum sollen exemplarisch drei Honigbienenarten kurz dargestellt werden, die zum Teil in Höhlen nisten und zum Teil frei nistend sind. Bei der Vorstellung geht es vor allem um die unterschiedlichen Thermoregulationsleistungen der Bienenarten.

*Apis cerana* ist in vieler Hinsicht das asiatische Gegenstück ihrer euroafrikanischen Schwester *Apis mellifera*: Sie brütet ebenfalls auf mehreren Waben im Baum- oder Felshöhlen, besitzt ein ähnlich großes Verbreitungsgebiet und hat wie diese die Fähigkeit entwickelt, lange und kalte Winter zu überstehen und somit aus den Tropen in die kalt-gemäßigte Klimazone vorzudringen (Ruttner 2003). *Cerana*-Flugbienen nehmen ihre Tätigkeit bei 2 bis 3°C niedrigeren Temperaturen auf als *Mellifera*-Völker am selben Standort. „Deshalb kommt es bei diesen zu Räubereien durch *Cerana* in den Morgenstunden, während es tagsüber umgekehrt ist“ (Ruttner 2003).

Die Arbeiterinnen der Riesenhonigbiene *Apis dorsata* sind größer als unsere heimischen Hornissen (Lindauer 1993). Sie leben im Freien in riesigen Kolonien, meist in exponierter Lage. Während sich die anderen Bienenarten verborgen Nistplätze aussuchen, in dichten Büschen oder in hohlen Bäumen, verlässt sich die Riesenhonigbiene offensichtlich ganz auf ihre Verteidigungskraft. Die Bienen verharren an der Oberfläche der Traube bewegungslos in strikter Ordnung, dennoch sind sie jederzeit bereit einen vermuteten Feind innerhalb von Sekunden in wilden Massenattacken anzugreifen.

Brutnestmessungen bei *Apis dorsata* ergaben Temperaturen zwischen 30-32°C, während die Außentemperatur zwischen 20-28°C schwankte. „Der Bienenvorhang kann offensichtlich durch Änderung seiner Dichte und seines Abstandes von der Wabe die Temperatur in gewissen Grenzen regulieren. Wellenartig das Volk durchlaufende Zitterbewegungen, die auch von den europäischen Bienen bekannt sind, dienen der Wärmeproduktion. Die in den Tropen so wichtige Kühlung erfolgt durch Ventilation und durch Verdunstung von aus der Honigblase hervorgewürgten Tropfen“ (Ruttner 2003).

Auch *Apis florea* nistet auf einer frei hängenden einzelnen Wabe. Diese Wabe hat eine Verdickung an der Oberseite, so dass die Bienen auf einer fast waagrechten Plattform ihre Tänze direkt in Ausrichtung auf die Sonne ausführen können.

Die Bienen, kaum größer als eine gewöhnliche Stubenfliege (Lindauer 1993), besitzen die Fähigkeit in sehr heißen und trockenen Klimagebieten zu überleben. Am Persischen Golf erträgt sie Sommertemperaturen von 50°C und mehr, während im Winter nachts fast der Gefrierpunkt erreicht wird. Messungen haben ergeben, dass eine Nesttemperatur von 33-38°C

nur bei Umgebungstemperaturen über 18°C aufrechterhalten werden kann. Bleibt die Temperatur länger unter 20°C, so ist das Volk außerstande, die erforderliche Bruttemperatur aufrechtzuerhalten. Besser entwickelt ist die Fähigkeit zur Regulierung zu hoher Temperaturen. Lindauer maß bei einem Volk im prallen Sonnenschein – und einer Temperatur im Schatten von 42°C – eine Bruttemperatur von 34 bis 36°C. Die Kühlung wird durch Regelung von Dichte und Stellung des Bienenvorhangs, Reflexion der Flügel, Fächeln und Wasserverdunstung herbeigeführt. *Apis florea* ist ohne Zweifel die Bienenart mit der größten Hitzeresistenz (Ruttner 2003).

## 1. 8 Erhebung von Temperaturdaten

Temperaturdaten, die in Bienenvölkern und an Bienen gewonnen werden, wurden in den vergangenen Jahren durch verschiedene Methoden gemessen:

- In vielen Fällen wurde die Lufttemperatur im Stock mit Temperaturfühlern, Thermometern oder Thermistoren gemessen (Hess 1927, Heinrich 1971, Southwick und Mugaas 1971).
- Teilweise wurde mit Hilfe der Stoffwechselrate oder der Messung der CO<sub>2</sub>-Produktion der Bienen auf die Wärmeproduktion der Kolonie geschlossen (Kronenberg und Heller 1982).
- Es wurden Messungen mit implantierten Thermoelementen im Thorax von Arbeiterinnen durchgeführt. Allerdings waren die Bienen dann über einen hinderlichen Draht mit der Messstation verbunden. Diese Versuche zeigten, dass die Thoraxtemperatur einer Biene im Brutbereich nicht konstant ist und über einen längeren Zeitraum über 35°C liegen kann (Esch 1960). In anderen Fällen wurde ein Thermofühler auf den Thorax von Bienen geklebt (Kaiser 1988).
- Außerdem wurden die Tiere thermographisch beobachtet (Schmaranzer 1984, Stabentheiner und Schmaranzer 1987, Bujok et al. 2002, Kleinhenz et al. 2003). Vorteilhaft bei dieser Aufnahmetechnik ist, dass die Tiere bei der Datenerhebung nicht gestört werden. Zu den Aufnahmen ist nicht einmal eine Lichtquelle erforderlich. Viele Tiere können gleichzeitig und dennoch individuell auch über einen längeren Zeitraum hinweg beobachtet werden. Nachteilig ist, dass nur Oberflächentemperaturen gemessen werden und die Bienen immer von der Kamera erfasst werden müssen. Sobald ein Tier auch nur teilweise verdeckt ist oder das Visier der Kamera verlässt, können keine Temperaturdaten mehr ermittelt werden. Auch lässt die Glasscheibe eines Beobachtungsstocks keine Datenaufnahme zu, die Scheibe muss durch eine infrarot durchlässige Folie ersetzt werden. Um korrekte Temperaturdaten zu erhalten muss außerdem der Emissivitätskoeffizient des zu messenden Körpers bekannt sein. Der Koeffizient für den Bienenthorax ( $\epsilon = 0,97$ ) wurde von Stabentheiner und Schmaranzer (1987) ermittelt.

## **1. 9 Fragestellungen dieser Arbeit**

Die Thermoregulation im Brutbereich der Honigbiene umfasst ein großes Spektrum an Fragestellungen, die aus verschiedenen Blickwinkeln beleuchtet werden können. Insgesamt sollten neue Details über das Temperaturverhalten der Bienen im Brutbereich gefunden werden. Dabei wurde das Hauptaugenmerk auf Interaktionen zwischen Brut und Arbeiterin geworfen. Aber auch eine mögliche Kommunikation zwischen den Arbeiterinnen bei der Thermoregulation im Brutbereich sollte untersucht werden

Folgende Gesichtspunkte wurden in dieser Dissertation näher betrachtet.

### **1. 9. 1 Das (Wärme-)Verhalten von Arbeiterinnen im Brutbereich**

Es wurde beobachtet, welche Thoraxtemperaturen Arbeiterinnen im Brutbereich aufweisen und ob eine der beiden oben beschriebenen Hypothesen durch Verhaltensbeobachtungen weiter gefestigt werden kann. Die in Bujok 2000 dargestellten Beobachtungen wurden vertieft und quantitativ ausgewertet. Dazu wurden von Arbeiterinnen Thermovisionsaufnahmen und Videoaufnahmen angefertigt und das Verhalten von Tieren im Brutbereich beschrieben. Die Verhaltensweisen der Bienen wurden mit ihren Thoraxtemperaturen in Verbindung gebracht.

### **1. 9. 2 Wärmeübertragung von den Arbeiterinnen auf die gedeckelte Brut**

Bekannt ist, dass Honigbienenarbeiterinnen die Temperatur im Brutbereich konstant halten (Hess 1927, Heran 1952). Die physiologischen Mechanismen der Wärmeproduktion sind ebenfalls seit langem beschrieben: Zur Wärmeerzeugung arbeiten die Longitudinal- und Dorsoventralmuskeln des Flugapparates antagonistisch, die Flügel bleiben dabei arretiert, so dass keine Bewegung und stattdessen ausschließlich Wärme erzeugt wird (Esch et al. 1991).

Es wurde untersucht, ob die von den Bienen produzierte Wärme vom aufgewärmten Thorax der Biene effektiv auf die gedeckelte Brut übertragen werden kann. Dazu wurde die Temperatur der Brutdeckel mit der Thermovisionskamera gemessen und der Einfluss von warmen Bienen auf die Brut näher betrachtet. Auch hier wurden die Ergebnisse von Bujok 2000 ausgeweitet und quantifiziert.

### **1. 9. 3 Zellbesuche von Arbeiterinnen im gedeckelten Brutbereich**

Bienen verweilen über längere Zeiträume in leeren Zellen im gedeckelten Brutbereich. Dieses Verhalten wurde in der Vergangenheit meist mit „Müßiggang“ oder „Nichtstun“ in Verbindung gebracht (Lindauer 1952). Thermographie-Aufnahmen zeigten, dass Bienen auch in leeren Zellen oft hohe Thoraxtemperaturen aufweisen (Abb. 18b). Das Messen der genauen Temperatur solcher Bienen ist im normalen Beobachtungsstock allerdings unmöglich. In dieser Arbeit wurden deswegen die Thoraxtemperaturen der Bienen vor und nach einem Zellbesuch und die Dauer eines Aufenthaltes einer Biene in einer Zelle ermittelt. Es wurde untersucht, ob die Thoraxtemperatur der Bienen und die Dauer der Zellenaufenthalte mit der

Anzahl der gedeckelten, direkt benachbarten Brutzellen in Verbindung stehen. Würden vermehrt heiße Bienen in leeren Zellen gefunden werden, die von möglichst vielen gedeckelten Brutzellen umgeben sind, könnte gezieltes Brutwärmen zu der benachbarten gedeckelten Brut angenommen werden.

#### 1. 9. 4 Abdomenbewegungen der Arbeiterinnen

Esch (1960) beschrieb Bienen, die für die Konstanthaltung der Brutnesttemperatur sorgen, als „von unbeschäftigten“ Tieren kaum zu unterscheiden. „Selten beobachtet man bei ihnen ein leichtes Pumpen des Abdomens oder ein ruckartiges Spreizen der Flügel.“ Schlafende Bienen hingegen zeigen diskontinuierliche abdominale Atembewegungen mit langen Atempausen (Kaiser 1988).

Es wurde mit einer Hochgeschwindigkeitskamera und mit Hilfe der Thermovision geprüft, wie die Atemfrequenz einer Biene im Zusammenhang mit ihrer Thoraxtemperatur steht, da bei Hummeln an Hand der Frequenz und Art und Weise der Abdomenbewegungen Thoraxtemperaturen abgeleitet werden konnten (Heinrich 2001).

#### 1. 9. 5 Informationsaustausch zwischen Arbeiterin und Puppe?

Brutzellen werden im Volk von den Bienen auch ohne Kommunikation über Entfernung aufgefunden und die Arbeiterinnen patrouillieren ständig durch das Volk, so dass sie dabei zwangsläufig auf Brutzellen treffen (Lindauer 1952). Arbeiterinnen nehmen die Anwesenheit von gedeckelter Brut wahr und sammeln sich auf der gedeckelten Brut (Koeniger 1978). Nach Koeniger werden dafür chemische und mechanische Signale verantwortlich gezeichnet, so dass die Bienen zum Beispiel leere von vollen Königinnenzellen unterscheiden können. Die bei Hornissen fürs Wärmen verantwortlichen Pheromone wurden von Veith und Koeniger (1978) als *cis-9-Pentacosen* identifiziert. Bei den Honigbienen wurde ein Larvenpheromon gefunden, das die Arbeiterinnen dazu animiert die Zelle in der sich eine zur Metamorphose bereite Larve befindet zu verdeckeln (Le Conte et al 1990).

Ferner wurde eine mechanische Kommunikation zwischen den Imagines und der Brut beschrieben (Slama und Rembold 1986, in Kirchner 1987). Slama und Rembold (1986) fanden Hinweise auf eine Art der Kommunikation zwischen Arbeiterinnen und Puppen, dem ein periodischer, pulsierender Infraschall der Hämolymphe der (Prae)-Puppen zugrunde liegt und der von den Arbeiterinnen wahrgenommen wird.

In der vorliegenden Arbeit wurde untersucht, ob chemische und/oder mechanische Signale auch bei der Thermoregulation der Arbeiterinnenbrut eine Rolle spielen.

Falls *chemische Signale* in Form von Pheromonen, die zum Beispiel bei zu kalter Umgebungstemperatur von der Brut abgegeben werden eine wichtige Rolle bei der Thermoregulation spielen, sollte Brut, die diese Pheromone nicht mehr produzieren kann, auch nicht mehr gewärmt werden. Deswegen wurde gedeckelte Brut tief gefroren und das Wärmeverhalten der Arbeiterinnen auf der wieder erwärmten toten Brut mittels Thermovision beobachtet. Konkret sollte mittels Thermovision der Zeitpunkt gefunden werden, nach dem die Arbeiterinnen die Temperatur im vormals intakten gedeckelten Brutbereich nicht mehr im



optimalen Temperaturfenster zwischen 33° und 36°C halten (Himmer 1927b), also für die Arbeiterinnen eine irreparable Schädigung bzw. der Tod der Puppen feststeht.

Um der Frage nachzugehen, ob Bienenbrut mittels *mechanischer Signale* mit den Arbeiterinnen auf der Brutwabe kommunizieren kann (z. B. durch die oben erwähnten periodischen, pulsierenden Infrarot-Impulse der Hämolymphe der (Prae)-Puppen wurden Brutwaben mit intakter gedeckelter Brut mit Laser-Doppler-Vibrometrie auf Vibrationen hin untersucht.

### **1. 9. 6 Die Antennen als Kontaktstelle zwischen Arbeiterin und Puppe**

Heran (1952) zeigte, dass Bienen, denen 5 Antennenglieder amputiert worden waren, in einer Temperaturorgel ihr Temperaturpräferendum nicht mehr fanden und Temperaturen nicht mehr sicher wahrnehmen konnten (erhöhte Schreckzeit bei sehr heißen Temperaturgaben). Er folgerte daraus, dass sich die meisten Thermorezeptoren auf diesen 5 Antennengliedern befinden. Durch die Arbeit von Esslen und Kaissling (1976) ist bekannt, dass auf den Antennen tatsächlich viele Temperaturrezeptoren zu finden sind, wobei auf den ersten 5 Segmenten 73-80% der Rezeptoren liegen.

Beim Wärmen der Brut nehmen die Antennen der Arbeiterin eine typische Stellung ein, indem die Antennen auf die Brutdeckeln gerichtet sind und diese die meiste Zeit berühren oder langsam über die Brutdeckel bewegt werden (Bujok et al. 2002). Die Antennen sollten also auch bei der Erkennung und Überwachung der Brutnesttemperatur eine wichtige Rolle spielen. Diese Hypothese wurde in Ausschaltversuchen (Amputation unterschiedlicher Anzahl von Antennensegmenten) genauer untersucht.

Weiterhin wurde untersucht, ob die linke und rechte Antenne der Bienen zu gleichen Anteilen an der Perzeption der Bienenbrut beteiligt ist, ob also eine Lateralisierung bei den paarigen Bienenantennen ähnlich wie im menschlichen Gehirn vorhanden ist. Dazu wurden die Bienenantennen unterschiedlich stark gekürzt. Die Bienen wurden entweder aus gemischten Gruppen (unterschiedlich behandelte Bienen in einen Beobachtungskasten) oder aus einheitlichen Gruppen (alle Bienen wurde dieselbe Behandlungsform zuteil) zusammengesetzt. Das Thermoregulationsverhalten der Bienengruppen wurde mittels Thermovision und dem Aufnehmen der Bruttemperatur untersucht. Bei den gemischten Gruppen wurden zusätzlich Videoaufnahmen aufgezeichnet um die unterschiedlich behandelten Tier an Hand ihrer Markierung unterscheiden zu können.

Zusätzlich zu diesen Untersuchungen wurde das Temperaturverhalten dieser unterschiedlich behandelten Bienen in einem Graphikprogramm sichtbar gemacht. Die über einen längeren Zeitraum aufgenommen Thermobilder wurden übereinander gelegt. So konnte zum einen die Verteilung der warmen Bienen auf der Brut und zum anderen das Temperaturverhalten der Arbeiterinnen über längere Zeiträume sichtbar gemacht werden.

## 2. MATERIAL UND METHODEN

### 2. 1 Die Versuchstiere

In allen Versuchen und bei allen Beobachtungen wurden Honigbienen der Rasse *Apis mellifera carnica* verwendet (Abb. 8). Alle Beobachtungen fanden in den Labors und auf dem Gelände der Universität Würzburg (Deutschland) statt. Die Bienen, die Brut und die gedeckelten Brutwaben wurden den Universitatseigenen Kolonien entnommen. Jungbienen wurden von gedeckelten Brutwaben abgenommen, die bis zum Schlupf im Brutschrank (B5042; Heraeus, Hanau, Schweden) bei etwa 35°C Lufttemperatur gehalten worden waren.

Bei Bedarf wurde die gedeckelte Brut in einem handelsüblichen Gefrierschrank (Linde Kältetechnik, Köln) im „Superfrost“-Fach bei mindestens -18°C abgetötet.



**Abb. 8** *Apis mellifera carnica* auf einer Rosenblute mit Pollenhoschen.  
Foto: M. Kleinhenz

### 2. 2 Die Thermovision

#### 2. 2. 1 Radiance PM<sup>®</sup> (Raytheon Amber)

Für die meisten Thermovisionsaufnahmen in dieser Arbeit wurde die Radiance PM<sup>®</sup> Thermovisionskamera von Raytheon Amber eingesetzt (Abb. 9). Die Kamera mit interner Referenzquelle misst Wärmestrahlung im Wellenlangebereich von 3-5µm mittels eines Indium-Antimon (InSb) Detektors (Messgenauigkeit ±0,7°C, Ablesegenauigkeit 0,1°C). Die Auflösung der Echtzeit-Aufnahmen beträgt 256 x 256 Pixel.

Der Emmisivitatskoeffizient des Bienen-thorax  $\epsilon = 0,97$  (Stabentheiner und Schmaranzer 1987), die Umgebungstemperatur, die Entfernung zum aufgenommenen Objekt sowie der Temperaturbereich, der alle relevanten Temperaturen umfasste, die aufgenommen werden sollten, wurden vor jedem Versuch im Menü der Kamera eingestellt. Die Aufnahmen erfolgten mit einem kalibriertem 100mm Objektiv ohne Zwischenringe.



**Abb. 9** Thermovisionskamera Radiance PM von (Raytheon Amber) mit 100 mm Objektiv.  
Foto: M. Kleinhenz

Mit dieser Kamera aufgenommen Thermobilder können grundsätzlich wie folgt ausgewertet werden:

1. Einzelbilder werden auf eine PCMCIA-Karte, die in die Kamera eingesetzt wird, gespielt und anschließend in einen PC mit entsprechender Software (Ambertherm Version 1.28; Raytheon Amber) übertragen. Mit Hilfe der Software wird für jedes Pixel des Bildes die Temperatur automatisch angezeigt. Auf der Karte können gleichzeitig entweder 52 Bilder mit verringerter Auflösung (8 bit) oder 26 Bilder in bester Auflösung (16 bit) abgespeichert werden.
2. Einzelbilder werden direkt mit Hilfe einer Graphikkarte (hier Win/TV, Hauppauge) in den PC überspielt (maximale Übertragungsrate 1 Bild pro 2s) und als Graustufen-Bitmaps abgespeichert. Am Computer wird der Graustufenwert eines zu messenden Objekts – die Mitte des Thorax (dorsal) einer Arbeiterin – bestimmt. In einer nachfolgenden Auswertung können dann die Temperaturwerte aus den Graustufenwerten mit der im Bild befindlichen acht-stufigen Temperaturskala umgerechnet werden.
3. Eine Thermosequenz wird auf Videoband in Echtzeit aufgenommen. Von dem Band können ebenfalls Einzelbilder wie unter 2. beschrieben in den PC überspielt werden. Das ist dann nötig und sinnvoll, wenn zum Beispiel bestimmte Bienen über einen längeren Zeitraum verfolgt werden sollen, was bei einer Reihe von Einzelbildern nicht möglich ist.

In den vorliegenden Versuchen wurden die beiden unter 2. und 3. beschriebenen Methoden zur Temperaturbestimmung angewandt. In vielen Fällen nahmen entweder eine Digital-Videokamera (Panasonic NV-DS35EG) oder ein Camcorder (Grundig LC 560 SC) synchron das Realbild zum Thermographie-Bild auf, um individuell markierte Arbeiterinnen auf der Brut zu verfolgen, deren Markierung im Thermovisionsbild nicht sichtbar ist.

### 2. 2. 2 ThermaCAM™ SC500 (FLIR Systems)

Für einige Aufnahmen wurde die ThermaCAM™ SC500 (FLIR Systems) Thermovisionskamera verwendet (Abb. 10). Die Kamera ist ungekühlt und misst Wärmestrahlung im Wellenlängenbereich von 7,5-13µm. Mit Hilfe der zugehörigen Software AGEMA™ wurden die Temperaturen der Bienen (Thoraxtemperaturen) in Echtzeit ermittelt (Messgenauigkeit ±2% oder ±2°C, Ablesegenauigkeit 0,1°C).

Der Emmissivitätskoeffizient, die Umgebungstemperatur, die Entfernung zum aufgenommenen Objekt sowie der Temperaturbereich, der alle relevanten Temperaturen umfasste, wurde vor jedem Versuch mit Hilfe der Kamerasoftware angeglichen. Die Aufnahmen erfolgten mit einem kalibriertem 40mm Objektiv. Mit Hilfe der Kamerasoftware wurden Einzelbilder im Abstand von 10s aufgenommen. Die Thoraxtemperaturen konnten dann direkt am Bildschirm (Auflösung 320 x 240 Pixel) abgelesen und zur weiteren Analyse in gängige Software (z. B. Microsoft Office, Excel) übertragen werden.



**Abb. 10** Thermovisionskamera ThermaCAM™ SC500 von FLIR Systems  
Foto: FLIR Systems

## **2. 3 Einfluss der Stockabdeckung auf die Temperaturmessung**

An den verwendeten Beobachtungsstöcken und -kästen wurde die übliche Glasscheibe auf der Beobachtungsseite durch eine weitgehend infrarot durchlässige Folie ersetzt, die über einen schmalen Plexiglasrahmen straff gespannt und dann befestigt wurde. Der Einfluss der Folie auf die Temperaturmessung wurde wie folgt in Kalibrierungsversuchen ermittelt und in allen Berechnungen und bei allen von der Folie beeinflussten Temperaturangaben berücksichtigt: Ein kleiner Kohlefaserwiderstand ( $1,1\text{k}\Omega$ ,  $0,1\text{W}$ ) wurde vollständig in den Thorax einer frisch abgetöteten Biene eingeführt. Außen am Thorax wurde ein Messfühler (Almemo Datenlogger 2290-8 V5, Ahlborn, Messgenauigkeit  $0,1^\circ\text{C}$ , Ablesegenauigkeit  $0,01^\circ\text{C}$ ) mit Sekundenkleber (UHU) befestigt und mit Wärmeleitpaste umgeben. Der Draht des Widerstandes war über zwei leitende Stativklemmen mit einem Netzteil (AMREL LPS 301) verbunden. Durch die Regelung der Stromstärke am Netzteil wurde der Bienenthorax mit Hilfe des Widerstandes unterschiedlich stark erwärmt. Der auf diese Weise künstlich aufgewärmte Bienenthorax wurde in einem bienenleeren, auf  $35^\circ\text{C}$  erwärmten und auf diese Temperatur konstant gehaltenen Beobachtungsstock befestigt. Der Beobachtungsstock war auf der Aufnahme­seite mit Folie bespannt. Über dem Thorax der Biene befand sich ein kleines Fenster, das mit einem mit Folie bespannten Schieber auf und zu geschoben werden konnte. Die Oberflächen­temperatur des Thorax wurde – abwechselnd mit und ohne Folie – mit der Thermovisions­kamera aufgenommen. Die dabei ermittelten Temperaturen wurden mit den Temperaturdaten des Thermofühlers verglichen. Der Einfluss der Folie wurde für unterschiedliche Thorax­temperaturen im relevanten Temperaturbereich ermittelt. Dieses Verfahren wurde bei beiden Thermovisionskameras und bei allen verwendeten Folien angewandt.

## **2. 4 Beobachtungen von Arbeiterinnen im Brutbereich**

### **2. 4. 1 Laufende und ruhig sitzende Arbeiterinnen im Vergleich**

Zunächst wurde das Verhalten der Arbeiterinnen auf der gedeckelten, also auf der besonders temperaturempfindlichen Brut erfasst. Beobachtungen mit der Thermovisionskamera hatten gezeigt, dass Arbeiterinnen im gedeckelten Brutbereich sehr unterschiedliche Thorax­temperaturen aufweisen können (von Umgebungstemperatur bis über  $44^\circ\text{C}$ ). Deshalb wurde untersucht, ob die unterschiedlichen Thorax­temperaturen sich in verschiedenen Verhaltensweisen widerspiegeln. Dazu wurde eine grobe Einteilung in die Kategorien „Biene läuft“ und „Biene sitzt ruhig“ vorgenommen. Während der Verhaltensbeobachtungen wurden auch die Thorax­temperaturen der Bienen festgehalten.

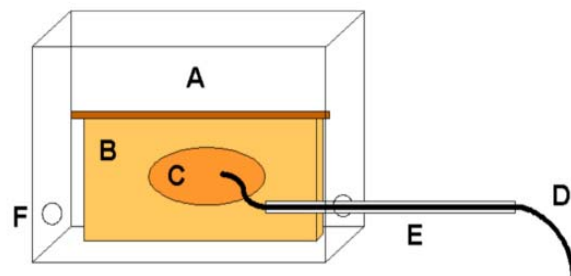
Zum Versuchshergang: In einem Begattungskasten wurde ein Volk mit 4000 Bienen mit gedeckelter Brut und einer Königin eingesetzt. Der Brutbereich wurde mit der Thermovisionskamera Radiance PM und einer Digitalkamera (Panasonic NV-DS35EG) gefilmt. Einzelbilder, die von der Thermovisionskamera aufgenommen worden waren, wurden im Abstand von etwa 5s in einen PC eingespielt und wie unter 2.2.1 beschrieben ausgewertet. Mit Hilfe der Aufnahmen, die von der Digitalkamera aufgenommen worden waren, wurden 15 Bienen im Brutbereich solange verfolgt und beobachtet, bis das jeweilige Tier den gedeckelten Brutbereich verlassen hatte oder bis es eine offene Zelle im gedeckelten Brutbereich besuchte. Bei jeder Biene wurde zwischen den Phasen unterschieden, in denen es umherlief oder ruhig saß. Es wurde der Test nach Wilcoxon durchgeführt, um zu sehen, ob

sich die Bienen, die herumliefen, in ihren Thoraxtemperaturen von den Bienen unterschieden, die ruhig auf einer Stelle saßen (Lamprecht 1992, Sachs 1999). War eine Biene zum Zeitpunkt der Temperatureaufnahme (Zeitraum zwischen zwei Temperaturwerten circa 5s) von einer anderen Biene verdeckt, konnte kein Temperaturwert angegeben werden. Zu jedem Temperaturwert wurde ermittelt, ob sich die Biene gerade und bis zum nächsten Zeitpunkt der Temperaturbestimmung – also in den nächsten 5s – bewegt hatte oder ob sie sich ruhig verhielt.

#### 2. 4. 2 Verhaltensbeobachtung von ruhig sitzenden Bienen mit hoher Thoraxtemperatur

Diese ersten Beobachtungen zeigten, dass die ruhig sitzenden Bienen im Vergleich zu Arbeiterinnen, die auf der Brutoberfläche herumliefen im Durchschnitt höhere Thoraxtemperaturen aufwiesen. Außerdem schienen die ruhigen Bienen mit hoher Thoraxtemperatur den Brutdeckeln angenähert zu sein. Diese Beobachtung konnte aber nicht eindeutig mit einer Kamera, die Bienen von dorsal filmt, bestätigt werden. Um die Distanz zwischen Thorax und Brutdeckeloberfläche sicher bestimmen zu können, mussten die Arbeiterinnen von der Seite her betrachtet werden. Deswegen wurde im nächsten Versuch eine Endoskopkamera in einem für diesen Zweck umgestalteten Beobachtungsstock eingebracht, die seitlich so nah an die Bienen herangeführt werden konnte, dass das Verhalten und die Körperposition der Bienen genau betrachtet werden konnte.

Zum Versuchsaufbau: Ein modifizierter Ein-Waben-Beobachtungsstock (Abb. 11, Breite circa 12cm) mit einer großen gedeckelten Brutfläche wurde mit einem Bienenvolk von etwa 2000 Arbeiterinnen und einer Königin bestückt und im Labor aufgestellt. Die Beobachtungsseite des Stockes war mit einer weitgehend infrarot durchlässigen Plastikfolie bespannt. Die Bienen hatten durch ein Flugloch Zugang ins Freiland. Außerhalb der Beobachtungszeiten war der Stock isoliert und abgedunkelt, es wurde nicht künstlich zugefüttert. Zur Datenaufnahme wurde vor dem Beobachtungsstock die Thermovisionskamera (Radiance PM) installiert. Die von der Kamera aufgenommenen Temperaturdaten wurden auf Videoband gespeichert. Zusätzlich wurde der flexible und lenkbare Schlauch einer Endoskopkamera (Olympus IV6C5-20, 35, Tokio, Japan) durch eine seitliche Öffnung im Beobachtungsstock gegenüber dem Flugloch eingeführt und mit Hilfe eines Führungsrohres in Position gehalten (Abb. 11,E). Die Endoskopkamera hatte eine interne regulierbare Lichtquelle, das Labor war abgedunkelt. Zwischen Folie und Wabenoberfläche war genügend Platz vorhanden, um den Kameraschlauch über die Wabe und die Bienen hin



**Abb. 11 Aufbau modifizierter Beobachtungsstock**

- A: Beobachtungsstock, auf der Beobachtungsseite mit Folie bespannt
  - B: Wabenrahmen mit Bienenvolk und Königin
  - C: gedeckelter Brutbereich
  - D/E: Führungsrohr mit flexiblem Endoskopkammeraschlauch
  - F: Flugloch ins Freiland
- Außerhalb der Beobachtungszeiten war der Stock abgedunkelt.

und her zu bewegen, ohne dass die Bienen gestört wurden. Sobald mit der Thermovisionskamera eine Arbeiterin mit warmen Thorax aufgespürt worden war, wurde diese Arbeiterin mit der Endoskopkamera von der Seite beobachtet. Diese Bilder wurden ebenfalls auf Videoband festgehalten. Aus dem Temperaturdaten-Videoband wurden die Thoraxtemperaturen der Bienen, die zum Zeitpunkt der Endoskopaufnahme entstanden waren, wie in 2.2.1 beschrieben ermittelt.

#### **2. 4. 3 Wärmeübertragung von der Arbeiterin auf die gedeckelte Brut**

Die Aufnahmen der Endoskopkamera zeigten eindeutig, dass Arbeiterinnen mit hoher Thoraxtemperatur sich an die Brutdeckel heranziehen und ihren Thorax auf die Brutdeckel pressen. Im folgenden Versuch sollte geklärt werden, ob diese Verhaltensweise ein aktives Brutwärmen darstellt und ob eine Wärmeübertragung von der Biene auf die Brut stattfindet. Wenn dies der Fall wäre, dann sollte eine Erwärmung der Brutdeckel messbar sein.

Der Aufbau zu diesem Versuch entsprach dem Aufbau wie in 2.4.2 dargestellt. Sobald eine Arbeiterin mit warmen Thorax mit der Thermovisionskamera entdeckt worden war, wurde die unter Beobachtung stehende Biene schnell mit der flexiblen Spitze des Endoskopkammerschlauches beiseite geschoben, wodurch der Blick auf die darunter liegenden Brutdeckel frei wurde. Die Thermovisionsaufnahmen wurden auf Videoband aufgezeichnet, so dass zur Auswertung die Temperaturen der Bienen sowie der Brutdeckel vor und gleich nach dem Wegschieben der Biene ermittelt werden konnten. Die Endoskopkamera war zu diesem Zeitpunkt nicht in Betrieb, um auszuschließen, dass die Wärme der Lichtquelle an der Kameraspitze die Temperaturmessung beeinflusste. Der Eingriff wurde an unterschiedlichen Tagen und Tageszeiten an vielen verschiedenen warmen Bienen wiederholt. 32 Beobachtungen wurden ausgewertet. Dazu wurden die Temperaturen der Wärmeabdrücke („hot spots“) mit den Wabendeckeltemperaturen in unmittelbarer Nähe verglichen. Zusätzlich wurde die Thoraxtemperatur der beobachteten Bienen mit den erzeugten Wärmeabdrücken in Beziehung gesetzt.

Zwischen den Aufnahmen wurde darauf geachtet, dass sich die Bienen auf der Wabe vom Eingriff beruhigt hatten. Es wurden nur solche Arbeiterinnen beiseite geschoben, die sich ruhig verhielten. Diese Tiere waren deutlich von solchen zu unterscheiden, die sich aufgrund des Eingriffs erwärmt hatten, aufgeregt über die Wabe liefen und die Endoskopkamera unverzüglich angriffen.

#### **2. 4. 4 Eine weitere Strategie der Wärmeübertragung – Zellbesuche im Brutbereich**

Durch die vorangegangenen Versuche konnte gezeigt werden, dass Bienen auf der Brutoberfläche die Brut aktiv wärmen. In den Thermovisionsaufnahmen wurden aber auch immer wieder Arbeiterinnen beobachtet, die mit warmen Thorax in leere Zellen inmitten der gedeckelten Brut verschwanden. Ebenso konnte beobachtet werden, dass warme Bienen solche offenen Zellen verließen. Durch den folgenden Versuchsaufbau sollte geklärt werden, ob diese warmen Bienen strategisch sinnvoll gelegene Zellen häufiger besuchen oder mit



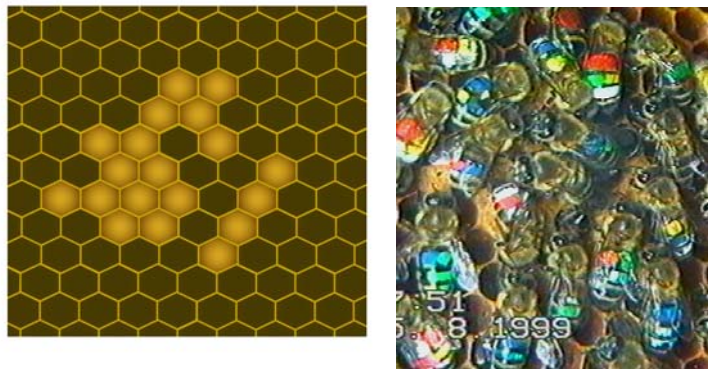
höheren Thoraxtemperaturen aufsuchen. Dies könnte ein Hinweis darauf sein, dass die Arbeiterinnen die Brut von den leeren Zellen aus von der Seite wärmen.

Bei diesem Versuch wurde folgender Aufbau gewählt:

In einem 2-Waben-Beobachtungsstock mit circa 2500 und einer gekäfigten Königin wurde ein kleiner gedeckelter Brutbereich (19 Zellen, Abb. 12) eingeschnitten. Die Arbeiterinnen waren am Abdomen individuell markiert worden (mit Farbtupfern aus Kreidestaub, Schelllack (Clou, Offenbach/Main) und Alkohol, nach von Frisch, 1923).

Der Brutbereich wurde mit der Thermovisionskamera Radiance PM und einem Camcorder (Grundig LC 560 SC) an drei Tagen (04., 05. und 07.08.1999) jeweils 60min lang gefilmt. Von allen markierten Bienen, die eine leere Zelle direkt benachbart zu gedeckelter Brut aufsuchten (insgesamt 30 Zellen) wurde die Thoraxtemperatur unmittelbar vor und nach dem Besuch sowie die Besuchsdauer (zeitliche Auflösung der Besuchsdauer 1s) ermittelt. Die untersuchten leeren Zellen waren von einer bis zu 5 gedeckelten Brutzellen umgeben (in diesem Brutbereich gab es keine leere Zelle, die zu den maximal möglichen 6 gedeckelten Brutzellen benachbart war). Bei der Analyse wurde auch das Alter der Bienen ermittelt. Die Bienen wurden in Abhängigkeit vom Alter in junge (<48h) und ältere Bienen (>48h) unterteilt. Mit Hilfe des Mann-Whitney-U-Testes wurde ermittelt, ob es Altersunterschiede bezüglich Thoraxtemperatur und Besuchsverhalten gibt (Statistica 0.7 für Windows, 2004)

Am dritten Versuchstag (07.08.1999) wurden außerdem Besuche in leeren Zellen, die genau eine Zellenreihe von der gedeckelten Brut entfernt waren und somit keine direkt benachbarten Brutwände besaßen untersucht (insgesamt ebenfalls 30 Zellen). Auch hier wurden die Thoraxtemperaturen der Bienen vor und nach dem Zellbesuch und die Besuchsdauer der Tiere ermittelt. Es wurde untersucht, ob die Besuchsdauer sowie die Thoraxtemperatur der Bienen vor und nach dem Zellbesuch mit der Anzahl der benachbarten Brutzellen korrelierten.



**Abb. 12 Kleiner Brutbereich** mit 19 gedeckelten Brutzellen. Es wurden die Besuche in leeren Zellen, die der gedeckelten Brut benachbart waren, untersucht. Rechts ist das Realbild mit individuell markierten Bienen zu sehen.

#### 2. 4. 5 Messung der Atemfrequenz von warmen Arbeiterinnen

In den vorangegangenen Versuchen waren die Thoraxtemperaturen der Bienen mit Hilfe der Thermovisionskamera analysiert worden. Im folgenden Versuch wurde nach einer weiteren Methode gesucht, warme von kühlen Bienen zu unterscheiden. Da die Wärmeproduktion sehr energieaufwändig ist, geht sie auch immer mit schnellen kontinuierlichen abdominalen Atembewegungen einher. Zur genauen Messung der Atemfrequenz wurden Bienen mit hohen Thoraxtemperaturen (überwacht mit der Thermovisionskamera) mit einer Hochgeschwindigkeitskamera beobachtet. Dabei wurde ermittelt, wie hoch die Atemfrequenzen der Bienen sind und ob die Atemfrequenzen mit den Thoraxtemperaturen der Bienen korrelieren.

Zum Versuchshergang: Bienenarbeiterinnen im Brutbereich, die sich ruhig verhielten wurden mit einer Hochgeschwindigkeitskamera (NAC HSV 400) und zeitgleich mit der Thermovisionskamera Radiance PM gefilmt. Die Thoraxtemperaturen der beobachteten Bienen wurden 30s vor und nach jeder Hochgeschwindigkeits-Sequenz im 2s-Takt aus den Aufnahmen der Thermovisionskamera ermittelt. Die Aufnahmen der Hochgeschwindigkeitskamera hatten eine Bildfrequenz von 50, in einigen Fällen von 125 Bildern pro Sekunde und dauerten mindestens 30s. Von einigen Bienen wurden mehrere Sequenzen in Reihe aufgezeichnet. Am Computer wurden sie Sequenzen mit Hilfe des Software-Programms Redlake Imaging *MotionScope*® so langsam abgespielt, dass jede einzelne abdominale Atembewegung der Bienen erfasst und mit Hilfe der Software Observer (Version 2.01 Noldus Information Technology, Wageningen, Niederlande) festgehalten werden konnte. Anschließend wurde die Frequenz der Abdomenbewegungen mit einem Excel-Makro<sup>3</sup> ermittelt und mit den separat ausgewerteten Temperaturdaten in Verbindung gebracht. Aus aufnahmetechnischen Gründen konnten nur Bienen erfasst werden, die sich über den genannten Zeitraum ruhig verhielten und sich nicht von der Stelle bewegten. Darum wurden vor allem Bienen mit relativ hohen Thoraxtemperaturen und typischem Brutwärmeverhalten berücksichtigt. Um den Einfluss von Aufwärm- und Abkühlphasen auf die Atembewegungen der Bienen näher zu betrachten, wurden von einzelnen Bienen längere Aufzeichnungen vorgenommen. Da die Speichertätigkeit längere Zeit in Anspruch nahm, lagen zwischen den Aufnahmen mit der Hochgeschwindigkeitskamera längere Pausen.

---

<sup>3</sup> Vielen Dank an Herrn Marco Kleinhenz für das eigens zu diesem Zweck angefertigte Makro.



## 2. 5 Auslöser des Brutwärmeverhaltens

### 2. 5. 1 Kommunikationswege zwischen Arbeiterinnen und gedeckelter Brut

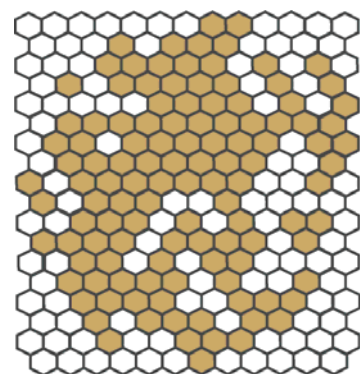
Im Weiteren wurde nach Auslösern des gefundenen Brutwärmeverhaltens gesucht. Die gedeckelte Brut muss als solche erkannt werden und die Arbeiterinnen müssen über Fähigkeiten verfügen, die „Ist-“ und „Solltemperatur“ der Brut zu ermitteln. Das sollte sehr genau geregelt sein, da die Wärmeerzeugung ein energieaufwändiger Prozess ist und der Verlust der Brut durch eine falsche Temperaturregulierung für das Volk fatal wäre. Bienen sollten also jederzeit in der Lage sein, solche Brutbereiche zu erkennen, die einer genauen Temperaturregulierung bedürfen. Dazu könnten die Bienen die von Slama und Rembold (1986) beschriebenen Hämolympdruckänderungen der Puppen nutzen. Im nächsten Versuch wurden diese Signale mittels Laser-Doppler-Vibrometrie untersucht.

Zum Versuchsverlauf: Von Waben mit gedeckelter Brut, die im Brutschrank (B5042; Heraeus, Hanau, Schweden; Temperatur 35°C) aufbewahrt worden waren, wurden Wabendeckel mit Hilfe eines Laser-Doppler-Vibrometers (Polytec, Waldbronn, Deutschland) auf durch die Brut verursachte Bewegungen überprüft. Bei dieser Methode wird die Frequenzverschiebung eines Laserstrahls registriert, der von einer schwingenden Oberfläche reflektiert wird. Dazu wurde ein stark reflektierendes kleines Plättchen (0,5 x 0,5mm) auf die Mitte eines Brutdeckels platziert und das Plättchen mit dem Laserstrahl erfasst. Eventuell auftretende Schwingungen des Wabendeckels wurden mit dem Laser-Doppler-Vibrometer aufgezeichnet. Zum Abschluss der Beobachtungen wurde die betreffende Brutzelle geöffnet und das Entwicklungsstadium der Puppe überprüft. Außerhalb der Beobachtungszeiten befand sich die Wabe im Brutschrank bei konstanter Temperatur.

### 2. 5. 2 Temperaturregulierung manipulierter Brutzellen

Da keine Vibrationssignale von der Puppenbrut gefunden wurden, wurde untersucht, ob bereits der Reiz eines gedeckelten Bereiches ausreicht um ein Heizverhalten bei den Arbeiterinnen auszulösen. Koeniger (1985) zeigte, dass die mechanische Spannung bei Königinnenzellen eine wichtige Rolle spielt, in seinen Versuchen wurden gefüllte Zellen signifikant besser gewärmt als leere Zellen. Aus diesem Grund wurden den Arbeiterinnen nicht leere gedeckelte Zellen, sondern mit Wachskegeln gefüllte gedeckelte Zellen zum Wärmen angeboten. Es sollte dabei beobachtet werden, wie die mit Wachskegel gefüllten Zellen von den Arbeiterinnen behandelt werden.

Zum Versuchshergang: Am 02. und 03.07.2002 wurden die Puppen eines gedeckelten Brutbereiches von hinten, also durch die Mittelwand der Wabe entfernt, so dass die Brutdeckel auf den Zellen verschlossen blieben (Abb. 13). In jede intakte nun leere gedeckelte Zelle wurde ebenfalls von hinten ein kleiner Wachskegel eingeführt, der in Größe und Gewicht einer Puppe entspricht (circa 100 mg). Dieser präparierte Brutbereich wurde in ein Wabenstück eingepasst und in



**Abb. 13 Gedeckelter Brutbereich, gefüllt mit Wachskegeln.**

Die Zellen waren ausgeräumt und von hinten mit Wachskegeln gefüllt worden.

einen Begattungskasten eingebracht. Der Kasten wurde 7 Tage später (am 10.07.2002) mit einem Volk mit Königin bestückt (circa 500 Tiere) und im Labor aufgestellt. Das vermeintliche Brutstück mit den Arbeiterinnen wurde mit der Thermovisionskamera Radiance PM und einer Videokamera (Panasonic NV-DS35EG) beobachtet.

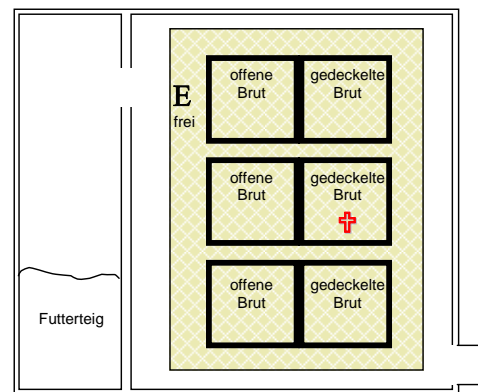
Die Thoraxtemperaturen der Tiere auf der vermeintlichen Brut wurden mit den Thoraxtemperaturen von Bienen auf einem unbehandelten Kontrollfeld mittels des Mann-Whitney-U-Tests verglichen (Statistica 0.7 für Windows, 2004).

### 2. 5. 3 Temperaturregulierung toter gedeckelter Brut

Die mit Wachskegel gefüllten Zellen wurden nicht von den Arbeiterinnen gewärmt, der Reiz der gedeckelten Brutzellen scheint also nicht ausreichend um das Wärmeverhalten auszulösen. Deswegen wurde nun untersucht, ob tote gedeckelte Brut Brutwärmeverhalten bei den Arbeiterinnen verursacht.

Zum Versuchsablauf: Zuerst wurde ein **Vorversuch** durchgeführt. Dazu wurden in einem Begattungskasten in einer Wabe mit offener Brut drei abgegrenzte Brutbereiche mit gedeckelten Brutzellen eingeschnitten (Abb. 14 linke Seite):

- 30 Zellen mit intakter gedeckelter Brut
- 30 Zellen mit toter gedeckelter Brut. Die Brut wurde 30min bei  $-18^{\circ}\text{C}$  im Gefrierschrank (Linde Kühltechnik, Köln) heruntergekühlt. Anschließend wurden die hart gefrorenen Puppen im Brutschrank (B5042; Heraeus, Hanau, Schweden) wieder auf  $35^{\circ}\text{C}$  erwärmt.
- 30 Zellen mit intakter gedeckelter Brut



**Abb. 14 Versuchsaufbau**

Verteilung der gedeckelten Brut und der Vergleichsfelder auf offener Brut. Das mit dem Kreuz (†) gekennzeichnete Brutfeld bestand aus abgetöteter Brut. Die Königin (E, frei) bewegte sich frei im Stock.

Die drei Brutstücke wurden untereinander mit einem Abstand von zwei Zellreihen in eine Brutwabe (offene Zellen mit größeren Larven) eingepasst, mit einem Volk (circa 1000 Bienen verschiedenen Alters) und einer Königin besetzt und im Labor aufgestellt. Die Königin konnte sich frei im Beobachtungskasten bewegen, die Bienen hatten durch das Flugloch Zugang ins Freiland. Aufnahmen vom gesamten Brutbereich wurden vom offenen und vom gedeckelten Brutbereich mit der Thermovisionskamera Radiance PM angefertigt. Die Bienenanzahl und die Thoraxtemperaturen der Bienen auf den Vergleichsfeldern (gedeckelte und offene Brut, sowie tote und lebende gedeckelte Brut) wurden ermittelt und untereinander verglichen (Mann-Whitney-U-Test, Statistica 0.7 für Windows, 2004).

Im Vorversuch behandelten die Bienen die tote Brut genauso wie die lebende gedeckelte Brut. Es folgten drei Beobachtungen über längere Zeiträume um zu untersuchen, wie die Bienen mit toter Brut umgehen, die sich längere Zeit in ihrem Stock befindet.

In den nun folgenden drei Versuchen wurde die gedeckelte Brut (12 x 12cm) jeweils durch Einfrieren für 60min bei  $-18^{\circ}\text{C}$  (Linde Gefriertechnik, Köln) abgetötet. Dadurch waren die Puppen hart durchgefroren. Das Brutstück wurde anschließend im Brutschrank (B5042; Heraeus, Hanau, Schweden) auf  $35^{\circ}\text{C}$  erwärmt und im ersten und zweiten Versuch in einen Begattungskasten (19 x 17 x 4cm) bzw. im dritten Versuch in einen Versuchskasten ohne Ausgang (16 x 13 x 4cm) eingesetzt. Der Brutbereich wurde zu mehreren Zeitpunkten mit einer Thermovisionskamera gefilmt, die Bruttemperatur wurde mit Hilfe von Temperaturfühlern (Almemo Datenlogger 2290-8 V5, Ahlborn, Holzkirchen, Messgenauigkeit  $0,1^{\circ}\text{C}$ , Ablesegenauigkeit  $0,01^{\circ}\text{C}$ ) kontinuierlich aufgenommen.

Zur Auswertung wurden in allen 4 Versuchen (der Vorversuch und den drei folgenden Versuchen) die Bruttemperaturen ausgewertet und die Thoraxtemperaturen der Arbeiterinnen auf der Brut ermittelt.

**1. Versuch:** Das abgetötete Brutstück wurde mit circa 1000 Bienen und einer gekäfigten Königin im Begattungskasten eingebracht. Der Kasten war mit einer Styroporisolierung (Dicke 4cm) umgeben, die nur für die Aufnahmen abgenommen wurde. Im Abstand von 6h wurden 5 Thermoaufnahmen (jeweils 30min) mit der Thermovisionskamera Radiance PM aufgezeichnet. Die Temperaturmessung mit den Temperaturfühlern begann am 03.10. 2002 und endete am 07.10.2002. Nach der letzten Thermovisionsaufnahme (05.10.2002) wurde der Stock mit der Styroporisolierung verschlossen und bis zum Ende der Temperaturaufzeichnung nicht mehr geöffnet.

**2. Versuch:** Das Wabenstück mit toter Brut wurde mit einem kleinen Volk (circa 1000 Tiere) und einer gekäfigten Königin im Begattungskasten eingesetzt. An den ersten 13 Versuchstagen wurden in 60-minütigen Thermovisionsaufnahmen (Radiance PM) die Thoraxtemperaturen der Bienen auf der abgetöteten gedeckelten Brut ermittelt. Der gesamte Versuchszeitraum verlief vom 08.05.2003 bis zum 10.06. 2003.

**3. Versuch:** Das Wabenstück mit toter Brut wurde mit mindestens 48h alten Bienen ohne Königin in einen abgeschlossenen Versuchskasten gegeben und in einem klimatisierten, fensterlosen Labor untergebracht. An den ersten 4 Versuchstagen (23.09.2003-26.09.2003) wurden täglich über einen Zeitraum von 2h Temperaturdaten mit der Thermovisionskamera ThermaCAM<sup>TM</sup> SC500 aufgezeichnet. Die Aufzeichnungen fanden im Dunkeln statt. Am 01.10.2003 erfolgte eine weitere Thermovisionsaufnahme für zwei Stunden. Ansonsten waren die Bienen ungestört.

Zusammenfassend wurden die Bienen an Hand ihrer Thoraxtemperaturen grob unterteilt. In den einzelnen Versuchen wurde unterschieden, ob die Bienen wärmer als  $35^{\circ}\text{C}$  waren (Annahme: die Bienen sind thermisch aktiv) oder ob sie kühlere Thoraxtemperaturen aufwiesen (Annahme: die Bienen sind thermisch passiv).

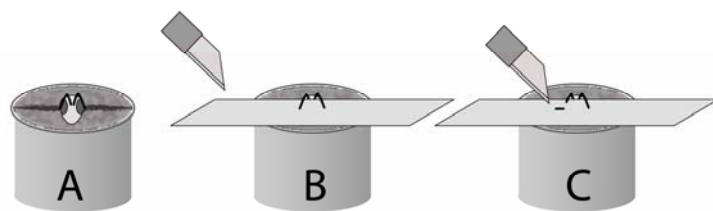
## 2. 6 Die Bedeutung der Antennen beim Brutwärmen

Die detaillierten Verhaltensbeobachtungen mit der Endoskopkamera zeigten, dass Bienen, die die Brut wärmten mit ihren Antennen die Brutdeckel berührten. Da Antennen Träger sehr empfindlicher Temperaturrezeptoren sind, ist zu vermuten, dass die Tiere so die Bruttemperatur wahrnehmen und überwachen.

Im folgenden Versuch sollte durch Ausschaltversuche (Amputation von Antennensegmenten) untersucht werden, welche Rolle die Antennen beim Brutwärmen spielen und ob sich die Amputation auf das Brutwärmeverhalten der Tiere auswirkt. Außerdem sollte der Einfluss der Anzahl der entfernten Segmente sowie die Seite der Amputation (linke oder rechte Antenne) auf das Brutwärmen untersucht werden. Zur Auswertung wurden die Thoraxtemperaturen der Bienen auf der Brut sowie die Lufttemperaturen des Brutbereiches im jeweiligen Durchlauf gemessen.

Zum Versuchablauf: In einer Versuchsreihe wurden Antennensegmente in unterschiedlicher Anzahl (entweder ein Segment oder 5 Segmente) von jungen, eben geschlüpften Arbeiterinnen abgetrennt. Die Bienen wurden in einem kleinen Gefäß mit einem weichen Schwamm fixiert, so dass nur noch der Kopf der Tiere herauschaute (Abb. 15A).

Dann wurde ein Metallstreifen zwischen den Kopf und die Antennen der Bienen geschoben (Abb. 15B). Mit einer Rasierklinge und zu Hilfenahme einer Stereolupe wurde die gewünschte Anzahl an Antennensegmenten abgetrennt (Abb. 15C). Die Biene wurde aus dem Gefäß entlassen und bis zum Versuchsbeginn im Abfangkästchen mit Futterteig versorgt.



**Abb. 15 Behandlung der jungen Bienen - Antennenamputation**

Die Biene wurde in einem weichen Schwamm fixiert, so dass nur der Kopf des Tieres herauschaute (A). Zwischen den Kopf der Biene und ihren Antennen wurde ein fester Metallstreifen geschoben (B).

Danach konnte mit Hilfe einer Stereolupe die Anzahl der abzutrennenden Antennensegmente ermittelt und diese Segmente mit einer Rasierklinge amputiert werden (C).

### 2. 6. 1 Brutwärmeverhalten von Kontrollbienen und Bienen mit amputierten Antennen

In einer ersten Versuchsreihe wurden gemischte Gruppen zusammengestellt, d. h. es wurden jeweils manipulierte Tiere zusammen mit Kontrollbienen auf der gedeckelten Brut beobachtet. Dabei sollte untersucht werden, ob sich die manipulierte Bienen wie die Kontrollbienen am Brutwärmen beteiligen.

Zum allgemeinen Versuchsaufbau der folgenden 4 Versuche: In den gemischten Gruppen waren die Bienen je nach Behandlung mit Farbe (aus Kreidestaub, Schellack (Clou, Offenbach/M) und Alkohol, nach von Frisch, 1923) am Abdomen markiert worden. Die Bienen wurden im Alter von ca. 48h in ein Begattungskästchen (19 x 17 x 4cm) mit gekäfigter Königin und ausreichend Futter auf ein gedeckeltes Brutstück (12 x 12cm) gesetzt. Der Begattungskasten stand im Labor, die Bienen hatten Zugang ins Freiland. Im Brutstück befanden sich Temperaturmessfühler (Almemo Datenlogger 2290-8 V5, Ahlborn, Mess-

genauigkeit 0,1°C, Ablesegenauigkeit 0,01°C), die die Temperatur der Brut im Minutentakt aufnahmen. Außerdem wurde die Labortemperatur ( $T_{\text{Raum}}$ ) gemessen. Bei den Aufnahmen wurde der Brutbereich mit der Thermovisionskamera Radiance PM und zeitgleich mit einer Digitalkamera (Panasonic NV-DS35) gefilmt. Einzelbilder von den Thermovisionsaufnahmen wurden in den PC überspielt und wie oben dargestellt ausgewertet. Dazu wurden aus den letzten 60min der Aufnahme Standbilder, die im 5-Minuten Abstand aufgenommen worden waren analysiert. Mit Hilfe der Videobänder, auf denen die Markierung der Bienen zu sehen war, wurden die Bienen den jeweiligen Gruppen zugeordnet. Die Thoraxtemperaturen der verschieden amputierten sowie der unbehandelten Bienen wurden miteinander verglichen.

Im ersten Durchgang (**Versuch A**) wurden 250 unbehandelte Bienen und 250 Bienen, denen an beiden Antennen 5 Segmente abgetrennt worden waren zusammengesetzt und beobachtet.

Im zweiten Durchgang (**Versuch B**) wurden eine Gruppe aus 250 unbehandelte Bienen, 250 Bienen, denen von beiden Antennen 5 Segmente abgetrennt worden waren und 75 Bienen von denen von beiden Antennen jeweils die Spitze abgetrennt worden war betrachtet.

Im dritten Durchgang (**Versuch C**) sollte ursprünglich eine ungemischte Gruppe von 400 Bienen, denen beide Antennenspitzen fehlten betrachtet werden. Da aber die Brut nicht optimal gewärmt wurde (siehe Ergebnisteil 3.5.2, Abb. 37), wurden zu einem späteren Zeitpunkt 120 Kontrollbienen zu den 400 Bienen hinzu gegeben.

Im vierten Durchgang (**Versuch D**) sollte ebenfalls eine ungemischte Gruppe von 400 Bienen, denen die Antennenspitzen fehlten betrachtet werden, aber die Bienen fanden sich gar nicht erst im Brutbereich ein. So wurden zusätzlich zu den 400 Bienen zuerst 100 Bienen zugegeben, denen nur an einer Antenne die Spitze fehlte. Da die Bienen weiterhin dem Brutbereich fern blieben wurden 15 unbehandelte Bienen eingebracht.

Insgesamt wurden in dieser Versuchsreihe folgende Ansätze analysiert (TABELLE 5):

TABELLE 5

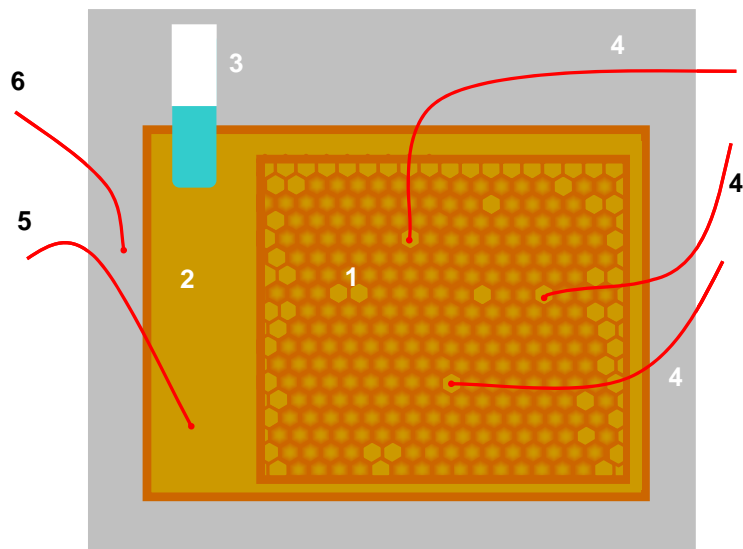
Versuche mit Bienen mit einer unterschiedlicher Anzahl abgeschnittener Antennensegmente. Insgesamt erfolgten 4 Durchgänge (A-D). Den Bienen fehlten entweder 5 Segmente an beiden Antennen (an beiden Antennen 5 Segmente), ein Segment an beiden Antennen (an beiden Antennen 1 Segment) oder ein Segment an einer Antenne (an einer Antenne 1 Segment). Außerdem befanden sich unbehandelte Tiere im Stock (Kontrolle, intakte Antennen). In jedem Durchgang ist die Anzahl der eingesetzten Bienen pro Kategorie angegeben. Rot dargestellt ist die Anzahl von Bienen, die nachfolgend in den Versuch eingebracht worden war (siehe Text oben).

Durchgang	Datum	an beiden Antennen 5 Segmente	an beiden Antennen 1 Segment	an einer Antenne 1 Segment	Kontrolle (intakte Antennen)
A	28.04.2002	250	0	0	250
	30.04.2002	250	0	0	250
B	08.08.2002	250	75	0	250
	10.08.2002	250	75	0	250
C	09.09.2002	0	400	0	120
	10.09.2002	0	400	0	120
D	26.09.2002	0	400	100	15
	27.09.2002	0	400	100	15

## 2. 6. 2 Brutwärmeverhalten von Bienengruppen mit einheitlich amputierten Antennen

In einer zweiten Versuchsreihe wurden einheitliche Gruppen untersucht, d. h. es wurden jeweils gleich behandelte Tiere je Versuchsdurchgang beobachtet. Dabei sollte untersucht werden, wie die Anzahl bzw. die Seite der entfernten Antennensegmente sich auf das Brutwärmeverhalten der Tiere auswirkt. Die Bienen waren in Versuchskästen ohne Königin untergebracht und hatten keinen Zugang ins Freie.

Zum allgemeinen Aufbau der folgenden Versuche: An zwei aufeinander folgenden Tagen wurden insgesamt 400 Jungbienen, die gerade im Brutschrank geschlüpft waren behandelt (Übersicht TABELLE 6).



**Abb. 16 Versuchsaufbau**

Die Bienen waren mit einer gedeckelten Brutwabe (1) in einem geschlossenen Beobachtungskasten (2) mit Futtersirup ad libitum (3) eingesetzt worden. Temperaturfühler zeichneten die Lufttemperatur der Brut (4), die Lufttemperatur im Beobachtungskasten (5) sowie die Lufttemperatur im Labor (6) auf.

Die Arbeiterinnen wurden am Abend des zweiten Tages in einen geschlossenen Beobachtungskasten (Innenmaße: 16 x 13 x 4cm) mit einem gedeckelten Brutstück und mit Futter ad libitum (Apiinvert<sup>®</sup>, Südzucker) in einen Brutschrank gesetzt. Die Brut auf der Wabenrückseite war ausgeräumt und mit einer Holzplatte verschlossen worden, die Bienen konnten also die gedeckelte Brut von hinten nicht erreichen. Innerhalb des Kastens wurden 4 Messfühler platziert (drei Fühler in leeren Zellen, die vollständig von gedeckelter Brut umgeben waren, ein Fühler am Rand des Brutbereiches). Ein 5. Fühler war außerhalb des Kastens angebracht und zeichnete die Raumtemperatur des Labors auf. Die Temperaturdaten wurden im 1min-Takt von einem Temperaturlogger (Almemo Datenlogger 2290-8 V5, Ahlborn, Messgenauigkeit 0,1°C, Ablesegenauigkeit 0,01°C) aufgezeichnet. Die Vorderseite des Kastens wurde mit einem Plexiglasrahmen, der mit weitgehend infrarot durchlässiger Folie bespannt war, abgeschlossen (Versuchsaufbau Abb. 16). Jeweils am folgenden Morgen (= 1. Tag der Aufnahme) wurde der Beobachtungskasten mit den Bienen in eine Klimakammer gebracht. Nach einer Eingewöhnungszeit von circa zwei Stunden wurden Aufzeichnungen mit der Thermovisionkamera ThermoCAM<sup>TM</sup> über jeweils zwei Stunden an drei aufeinander folgenden Tagen durchgeführt. Die Folie wurde bei Bedarf rechtzeitig vor einer Aufnahme erneuert. Das Wechseln der Folie störte die Bienen nicht, wenn der alte Rahmen langsam mit Hilfe des neuen Rahmens weg geschoben wurde. Jede Versuchsreihe wurde mit anderen Bienen, einem anderen Beobachtungskasten und neuer, frisch gedeckelter Brut (Streckmaden) durchgeführt.

### 2. 6. 2. 1 Brutwärmeverhalten bei beidseitiger Antennenamputation

In zwei Versuchen wurden Arbeiterinnen mit einem amputierten Antennensegment und Arbeiterinnen mit fünf amputierten Antennensegmenten wie unter 2.6.2 beobachtet. Außerdem wurde eine Kontrollgruppe unter gleichen Bedingungen untersucht. Die Versuchsdaten sind in TABELLE 6 zusammengefasst. Die statistische Auswertung der Thoraxtemperaturen der unterschiedlich behandelten Bienen erfolgte mittels Mann-Whitney-U-Test und Kruskal-Wallis-ANOVA (Statistica 0.7 für Windows, 2004).

### 2. 6. 2. 2 Brutwärmeverhalten von Bienen mit asymmetrische abgetrennten Antennen

Durch die asymmetrischen Abtrennung der Antennen sollte untersucht wurden, ob beide Antennen zur korrekten Thermoregulation nötig sind und ob es eine für die Temperaturregulierung prädestinierte Antennenseite gibt. Dazu wurde an der linken bzw. an der rechten Antenne entweder die Antennenspitze amputiert oder es wurden jeweils 5 Segmente entfernt. Die statistische Auswertung erfolgte mit einer ANOVA mit Post Hoc-Test: Tukey-HSD-Test, (Statistica 0.7 für Windows, 2004).

Insgesamt wurden folgende Bienengruppen untersucht:

TABELLE 6

Beschreibung der Versuchsdurchläufe. In den Spalten ist das Datum und die Anzahl der fehlenden Segmente, die Seite der Manipulation an den Antennen sowie die in der Arbeit verwendeten Bezeichnung der Versuchsdurchläufe aufgelistet.

Datum	Anzahl der fehlenden Segmente	Seite der fehlenden Segmente	Bezeichnung
14.08.-16.08.2003	1	links	links 1
21.08.-23.08.2003	1	rechts	rechts 1
31.08.-02.09.2003	5	links	links 5
04.09.-06.09.2003	5	rechts	rechts 5
11.09.-13.09.2003	1	links und rechts	beide 1
12.09.-14.09.2003	5	links und rechts	beide 5
19.09.-21.09.2003	0	-	Kontrolle



### 2. 6. 3 Graphische Darstellung des Brutwärmeverhaltens

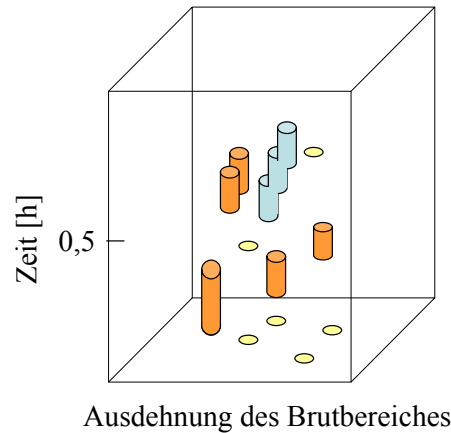
Das Brutwärmeverhalten der Arbeiterinnen auf der gedeckelten Brut ist in seiner Gesamtheit ein sehr dynamisches Verhalten und deswegen schwer darzustellen. Die Bienen ändern kontinuierlich ihre Temperatur und nach einigen Minuten ihren Standort.

Die Standbilder der Thermoaufnahmen von Bienen im Brutbereich, die unterschiedlich behandelt worden waren wurden am Computer mit Hilfe der Software Amira™ (Programm ursprünglich, zur Visualisierung für 3D-Volumen- und Oberflächendaten) in dreidimensionaler Weise bildhaft dargestellt. Dazu wurden alle Einzelbilder einer Aufnahmesequenz (n = 360) in ein für das Programm lesbare Dateiformat umgewandelt, in das Programm eingelesen und mit Hilfe der Darstellungsmöglichkeit des Programms „übereinander gelegt“.

Durch diese Vorgehensweise konnte die räumliche Verteilung von warmen Bienen (x und z-Achse = Ausdehnung des Brutbereiches) auf der gedeckelten Brut über den ganzen Versuchszeitraum (y-Achse) abgebildet werden (Abb. 17). Mit dieser Darstellung wurde untersucht, ob sich Bienengruppen in einer bestimmten Art und Weise über die Brut bewegen und ob warme Bienen bestimmten Mustern folgen.

Außerdem konnte der Zeitfaktor des Brutwärmens, der durch die Standbilder nicht darzustellen ist, anschaulich demonstriert werden.

In einer zweiten Darstellung wurden alle gefundenen Thoraxtemperaturwerte der Bienen übereinander gelegt und zweidimensional abgebildet. Dadurch kann die räumliche Verteilung der warmen Bienen im Brutbereich sichtbar gemacht werden.



**Abb. 17 Brutwärmeverhalten im Zeitverlauf dargestellt**

Mit Hilfe der Software wurden Bilder des Brutbereiches über einen Zeitraum von einer Stunde in einer dreidimensionalen Darstellung vereint. In der Skizze ist der Boden des Quaders das erste Thermovisionseinzelbild. Die Thoraxe aller Bienen, die mindestens 35°C aufwiesen, sind hier als gelbe Scheiben dargestellt. Werden nun alle weiteren Einzelbilder der Aufnahme deckend aufeinander gelegt, erscheinen die Bienen, die sich von Bild zu Bild über einen längeren Zeitraum nicht bewegten als Säulen (orange), während Bienen, die nur einmal in einem Einzelbild auftauchten, als Scheibe (gelb). Ist die Säule verschoben (blau), hatte sich die Biene mit warmen Thorax langsam vorwärts bewegt.

Das Bewegungsverhalten der Bienen kann so über einen längeren Zeitraum verfolgt werden.

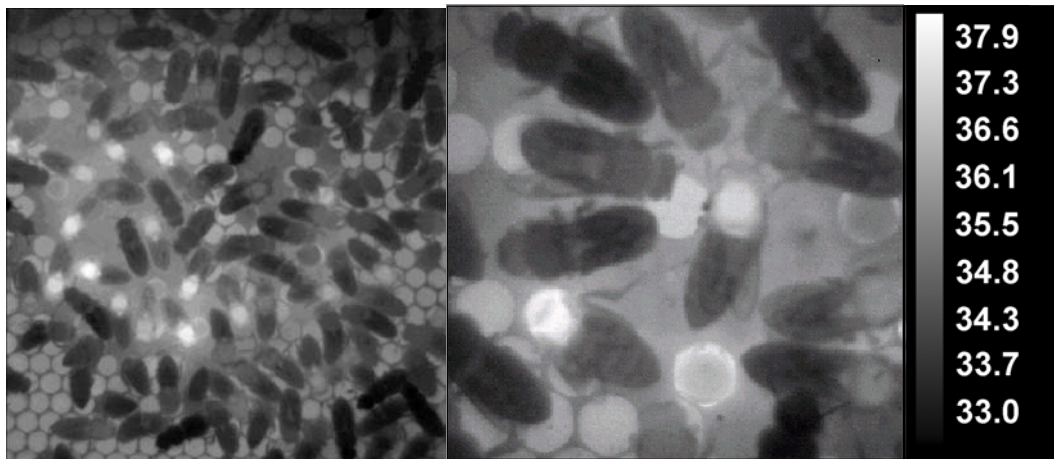


### 3. ERGEBNISSE

#### 3. 1 Beobachtungen von Arbeiterinnen im Brutbereich

##### 3. 1. 1 Die Temperaturen von Bienen im Brutbereich

Abbildung 18 zeigt zwei typische Thermovisionsaufnahmen aus dem Brutbereich. Die verschiedenen Graustufen<sup>4</sup> stellen im Bild die Temperaturen dar. Vor allem im gedeckelten Brutbereich sind die Arbeiterinnen unterschiedlich warm. Dort sind auch die wärmsten Tiere zu finden. In der rechten Detailaufnahme ist bei der Arbeiterin in der Mitte deutlich der Thorax als Ort der Wärmeproduktion zu erkennen. Das Abdomen der wärmeren Tiere ist durch den Wärmeaustauscher im Petiolus kühler als der Thorax. Bei Arbeiterinnen deren Körper Umgebungstemperatur angenommen hat sind der Thorax und das Abdomen gleich warm. Diese Tiere sind thermisch passiv.



**Abb. 18**

**a) Bienen im gedeckelten Brutbereich** haben hohe Thoraxtemperaturen, Arbeiterinnen auf offenen Zellen sind kühler. Der gedeckelte Brutbereich ist im Bild die zentrale Fläche, die im Hintergrund diffus grau erscheint, offene Zellen liegen in der Peripherie und sind erkennbar an der Wabenstruktur. Die hellen Graustufen verbildlichen hohe Temperaturen, dunkle Graustufen zeigen kühlere Temperaturen an.

**b) Nahaufnahme aus dem gedeckelten Brutbereich**

Die Tiere auf der Brut haben unterschiedliche Temperaturen, der Thorax von thermisch aktiven Bienen ist wärmer als ihr Abdomen. Einige Bienen stecken in leeren Zellen (zum Beispiel unten in der Mitte).

#### 3. 1. 2 Die Temperaturen von laufenden und ruhig sitzenden Arbeiterinnen im Vergleich

Arbeiterinnen im gedeckelten Brutbereich wurden mittels Thermovisionskamera und Digitalkamera beobachtet. Dabei wurden die Verhaltensweisen „Biene läuft über die Brutdeckel“

<sup>4</sup> In so genannten Falschfarbendarstellungen werden die Temperaturunterschiede nicht in Graustufen sondern in verschiedenen Farbnuancen wiedergegeben. Dabei werden oft Farben gewählt, die wir bereits mit einem bestimmten Temperaturempfinden assoziieren, z. B. Blautöne für niedrige Temperaturen und Rottöne für hohe Temperaturen (Abb. 22b, 24).

und „Biene sitzt ruhig“ in den Aufzeichnungen genau erfasst. Außerdem wurden die Thoraxtemperaturen der Tiere in kurzen Abständen während des Beobachtungszeitraums ermittelt. Während der Beobachtung wechselten 14 von 15 individuell erfassten Bienen im gedeckelten Brutbereich zwischen Perioden, in denen sie auf einer Stelle saßen und Perioden, in denen sie über die Brutdeckel liefen (Beobachtungsspannen zwischen 7,3 und 47,1min; MW =  $20,1 \pm 10,8$ min). Eine der beobachteten Bienen war während der gesamten Beobachtungszeit in Bewegung. Die Thoraxtemperaturen von Bienen, die auf der Stelle saßen war während dieser Zeit nicht konstant, aber signifikant höher (mittlere Thoraxtemperatur  $38,4 \pm 1,3^\circ\text{C}$ , n = 14 Bienen, insgesamt 1210 einzelne Temperaturwerte) als in Phasen, in denen sie umherliefen (mittlere Thoraxtemperatur  $36,6 \pm 1,3^\circ\text{C}$ , n = 15 Bienen, insgesamt 1781 einzelne Temperaturwerte; Wilcoxon,  $p < 0,002$ ). Von den 14 Bienen, die beide Verhaltensweisen zeigten, hatten 12 Tiere signifikant höhere Thoraxtemperaturen, wenn sie sich nicht bewegten (Mann-Whitney-U-Test,  $p < 0,05$ ). Die Dauer der ruhigen Phasen lag im Durchschnitt bei 9min (n = 14). Die Ergebnisse der einzelnen Tiere sind in TABELLE 7 dargestellt.

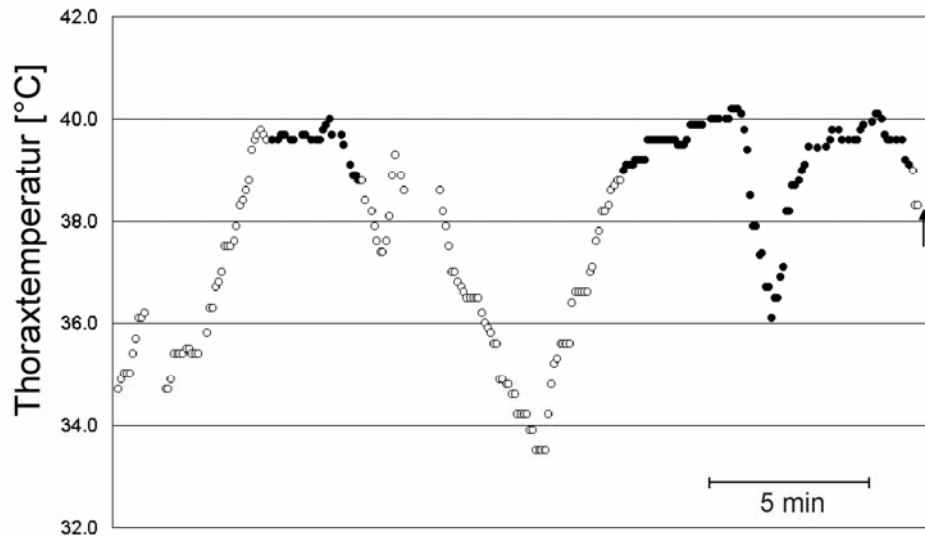
TABELLE 7

Verhaltensbeobachtungen von 15 individuellen Bienen im Brutbereich

Aufgeführt ist die Beobachtungsdauer jeder Biene „Zeit Gesamt“, der Zeitraum, in der die Bienen ruhig saßen „Zeit sitzend“, die mittlere Thoraxtemperatur in dieser Zeit „ $T_{\text{Thorax}} \text{ sitzend } [^\circ\text{C}]$ “ und in der Zeitspanne, in der die Bienen umherliefen „ $T_{\text{Thorax}} \text{ laufend } [^\circ\text{C}]$ “. Es wurde die Differenz dieser beiden Mittelwerte aufgelistet „ $T_{\text{Thorax}} \text{ Diff. } [^\circ\text{C}]$ “, des Weiteren ist die minimale und maximale Thoraxtemperatur der Bienen angegeben „ $T_{\text{Thorax}} \text{ min } [^\circ\text{C}]$ “ bzw. „ $T_{\text{Thorax}} \text{ max } [^\circ\text{C}]$ “. Biene 5 lief während der gesamten Beobachtungszeit über die Brut. Die Bienen, die signifikante Unterschiede der Thoraxtemperaturen in bewegten und ruhigen Phasen zeigten sind mit \*\* in der Spalte „ $T_{\text{Thorax}} \text{ Diff. } [^\circ\text{C}]$ “ gekennzeichnet.

Nr.	Zeit Gesamt [mm:ss]	Zeit sitzend [mm:ss]	$T_{\text{Thorax}} \text{ sitzend } [^\circ\text{C}]$	$T_{\text{Thorax}} \text{ laufend } [^\circ\text{C}]$	$T_{\text{Thorax}} \text{ Diff. } [^\circ\text{C}]$	$T_{\text{Thorax}} \text{ min } [^\circ\text{C}]$	$T_{\text{Thorax}} \text{ max } [^\circ\text{C}]$
1	16:18	03:07	$38,4 \pm 1,3$	$38,4 \pm 1,7$	0,0	34,7	41,8
2	19:51	05:14	$39,9 \pm 0,6$	$37,2 \pm 1,9$	2,7 **	34,0	41,2
3	12:24	02:18	$39,4 \pm 1,2$	$38,1 \pm 1,6$	1,3 **	35,3	40,7
4	25:25	11:49	$39,3 \pm 0,9$	$36,6 \pm 1,7$	2,7 **	33,5	40,3
5	17:10	00:00	--	$35,9 \pm 1,8$	--	33,3	39,9
6	25:01	09:52	$38,6 \pm 1,6$	$35,2 \pm 1,9$	3,4 **	33,4	40,4
7	17:41	07:42	$39,3 \pm 1,5$	$36,6 \pm 2,0$	2,7 **	33,5	41,5
8	17:41	08:56	$38,1 \pm 1,5$	$37,1 \pm 2,2$	1,0 **	32,2	40,4
9	47:03	15:31	$34,7 \pm 2,3$	$33,8 \pm 0,9$	0,9 **	32,3	40,8
10	11:42	05:07	$39,1 \pm 1,2$	$36,8 \pm 1,3$	2,3 **	34,3	40,9
11	39:03	26:14	$38,5 \pm 1,6$	$38,7 \pm 1,1$	-0,2	34,1	41,1
12	07:45	02:23	$37,8 \pm 1,8$	$36,8 \pm 1,4$	1,0 **	34,7	40,0
13	07:20	04:07	$37,2 \pm 2,8$	$35,7 \pm 2,3$	1,5 **	33,3	41,2
14	21:10	09:07	$39,1 \pm 1,4$	$36,8 \pm 2,9$	2,3 **	32,9	41,8
15	16:12	03:55	$37,8 \pm 1,4$	$35,7 \pm 1,7$	2,0 **	33,3	40,6

Abbildung 19 zeigt die Veränderung der Thoraxtemperatur einer Arbeiterin im Zeitverlauf. Die Temperaturkurven von weiteren Bienen sind im Anhang zu finden.



**Abb. 19 Thoraxtemperaturen einer Arbeiterin im Brutbereich**

Es sind die Thoraxtemperaturen der Biene im Zeitverlauf dargestellt. Leere Symbole (O) geben an, dass die Biene lief, die ausgefüllten Kreise (●) symbolisieren, dass sich die Arbeiterin ruhig verhielt. Der Pfeil am Ende der Zeitachse zeigt an, dass das Tier eine leere Zelle im Brutbereich aufsuchte. Damit endete die Beobachtungsphase. Die Biene war vor allem dann ruhig, wenn ihr Thorax hohe Temperaturen aufwies. Während des gesamten Zeitraums befand sich das Tier auf gedeckelter Brut.

Ruhig sitzende Arbeiterinnen mit hohen Thoraxtemperaturen schienen ihren Körper den Brutzelldeckeln anzunähern. Die straff über der gedeckelten Brut gespannten Folie lies es im Regelfall nicht zu, dass eine Arbeiterin über eine andere hinwegklettern konnte (um alle Bienen gleichzeitig beobachten zu können sollte die Brut im Optimalfall nur von einer Lage Bienen bedeckt sein). Diese ruhig sitzenden warmen Bienen wurden aber immer wieder von anderen, meist kühleren Bienen überklettert oder von auf der Folie sitzenden Bienen verdeckt. Die Bienen auf der Folie gehörten zu den kühlest im Brutbereich anzutreffenden Tieren. Um der Beobachtung, dass einige Bienen sich den Brutdeckeln annähern weiter nachzugehen, wurde eine Endoskopkamera in einen modifizierten Beobachtungsstock eingeführt. Dadurch konnten die Arbeiterinnen von der Seite beobachtet werden und der Abstand zwischen Bienenthorax und Brutdeckoberfläche präzise bestimmt werden. Gleichzeitig wurde die Thoraxtemperatur der beobachteten Biene mit der Thermovisionskamera festgehalten.

### 3. 1. 3 Verhaltensbeobachtungen von Bienen auf gedeckelter Brut

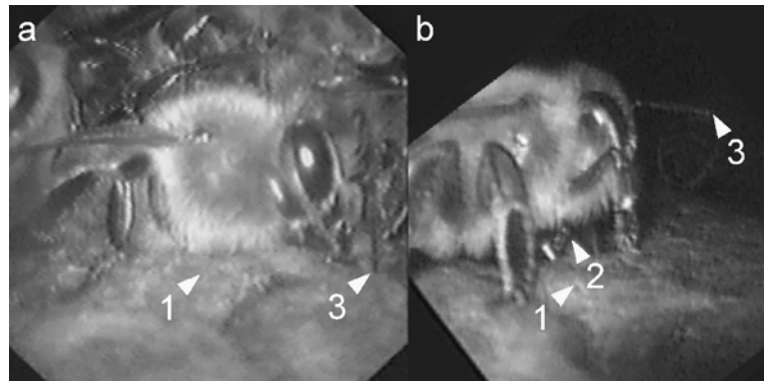
Bienen im Brutbereich konnten auf Grund ihres (Temperatur-)Verhaltens in drei unterschiedliche Gruppen eingeteilt werden. Dabei wurde eine neue Verhaltensweise, das so genannte *Brutwärmeverhalten* beobachtet:

Die Arbeiterinnen zeigten eine erstmals in Bujok 2000 beschriebene charakteristische Verhaltensweise, die ausschließlich auf gedeckelter Brut beobachtet wird:

Die Tiere *verharrten mit hoher Thoraxtemperatur auf der Stelle*, zogen ihren Thorax mit Hilfe der vorderen beiden Beinpaare nah an die Brutdeckeloberfläche und hielten diese Position über mehrere Minuten ein (Abb. 20a, 21c). Ein hinteres Bein stand oftmals nach hinten oben ab und wurde offenbar nicht zum Heranziehen an die Wabe benötigt. Während des Heranziehens berührten die Antennenspitzen die Wachsdeckel und wurden dabei meist völlig ruhig gehalten. Ab und zu wurden die Antennen auch langsam parallel zur Wabenoberfläche hin und her bewegt (Bujok et. al. 2002). Mit dem Abdomen führten die Bienen schnelle, kontinuierliche Atembewegungen aus. Manchmal konnte

ein kurzes Abkühlen des Thorax ohne Veränderung der Körperposition beobachtet werden, auch eine weitere Heizphase im Anschluss an eine Abkühlphase wurde wiederholt aufgezeichnet (siehe Abb. 19). Die Tiere vermieden während dieser Zeit Antennenkontakt mit anderen Arbeiterinnen, gelegentlich wurde auch ein schnelles Zurückzucken der warmen Biene gegenüber einer sich nähernden Stockgenossin beobachtet. Bienen, die mit hoher Thoraxtemperatur auf der Brut verharrten, hatten Thoraxtemperaturen bis 45,4°C (unter nicht in dieser Arbeit dargestellten Manipulationsbedingungen, wenn sich die Arbeiterinnen bemühten, künstlich gekühlte Brut zu wärmen. Unter nicht manipulierten Bedingungen wurden im unisoliertem Beobachtungsstock Thoraxtemperaturen bis 44,7°C gefunden).

Im Vergleich zu dieser neu beschriebenen Verhaltensweise standen *arbeitende oder patrouillierende Tiere* auf der Brutdeckeloberfläche oder liefen über die Brutdeckel. Dabei hatten nur die Tarsen und nicht der Bienenkörper Kontakt zur Wabenoberfläche (Abb. 21b). Der Thorax war, abhängig von der Tätigkeit, 2 bis 3mm über dem Untergrund erhoben. So waren die Tiere beim „Raspeln“ der Zellenränder vorn über gebeugt und dadurch naturgemäß mit dem Thorax näher an den Zelldeckeln als zum Beispiel bei der Trophallaxis. Die sichtbare



**Abb. 20 Verhaltensweisen von Bienen im Brutbereich**

Mit der Endoskopkamera beobachtete Bienen zeigten unterschiedliche Verhaltensweisen:

**a) Brutwärmende Biene**

Einzelne Bienen drückten sich auf die Brutdeckel (1) und generierten hohe Thoraxtemperaturen (hier  $T_{\text{Thorax}} = 41,6^{\circ}\text{C}$ ). Ihre Antennenspitzen (3) waren auf die Brutdeckel gerichtet.

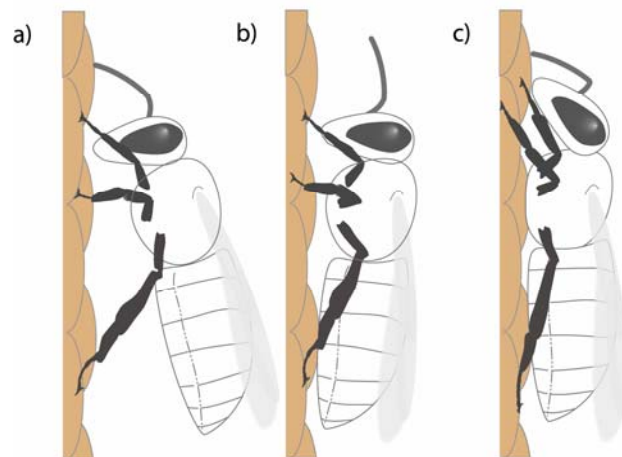
**b) Patrouillierende Biene**

Herumlaufende Tiere näherten sich mit dem Thorax nicht den Brutdeckeln an, (im Bild ist ein Bein der gegenüberliegenden Seite zu sehen (2)) und hatten niedrigere Thoraxtemperaturen (hier  $T_{\text{Thorax}} = 35,5^{\circ}\text{C}$ ). Die Antennen von herumlaufenden Tieren sind meist nach vorne gerichtet und in ständiger Bewegung (3).

Bedingt durch die Aufnahmetechnik der Endoskopkamera, erscheint die Wabe horizontal, tatsächlich war die Wabe vertikal orientiert.

Tätigkeit, die die Arbeiterin im Stock ausführte (Brutdeckelränder glätten, Brutdeckeloberfläche benagen, Larven versorgen, Trophallaxis, Wabenbau usw.) kennzeichnete die Biene offenkundig als arbeitendes Tier. Ihre Antennen waren während ihrer Tätigkeit ständig in Bewegung und konnten dabei nach vorne (Abb. 18b), zur Wabe oder auf ein Tier gerichtet sein. Die Thoraxtemperatur der Biene nahm eine große Spannweite ein, lag aber meist über der der Bruttemperatur (vergleiche Esch 1960).

*Ruhende Bienen* hingen an der vertikalen Wabe häufig nur an ihren beiden vorderen Beinpaaren, wobei ihr Körper oft die maximale Entfernung zur Wabe einnahm (Abb. 21a). Die Antennen waren bewegungslos und variierten in ihrer Stellung. Die abdominalen Atembewegungen waren diskontinuierlich. Die Thoraxtemperaturen ruhender Bienen waren immer niedrig und entsprachen der Umgebungstemperatur.



**Abb. 21 Körperhaltungen von Bienen im Brutbereich**

**a) Typische Körperhaltung einer schlafenden Biene** auf der senkrechten Wabe. Der Körper hängt meist an den vorderen Beinpaaren, die Antennen nehmen unterschiedliche Haltungen ein. Die Tiere verhalten sich sehr ruhig, die Atmung ist diskontinuierlich.

**b) Typische Körperhaltung einer patrouillierenden Biene**, die Stellung der Antennen ist sehr variabel.

**c) Typische Körperhaltung einer Brut wärmenden Biene** im gedeckelten Brutbereich. Diese Tiere atmen schnell und kontinuierlich.

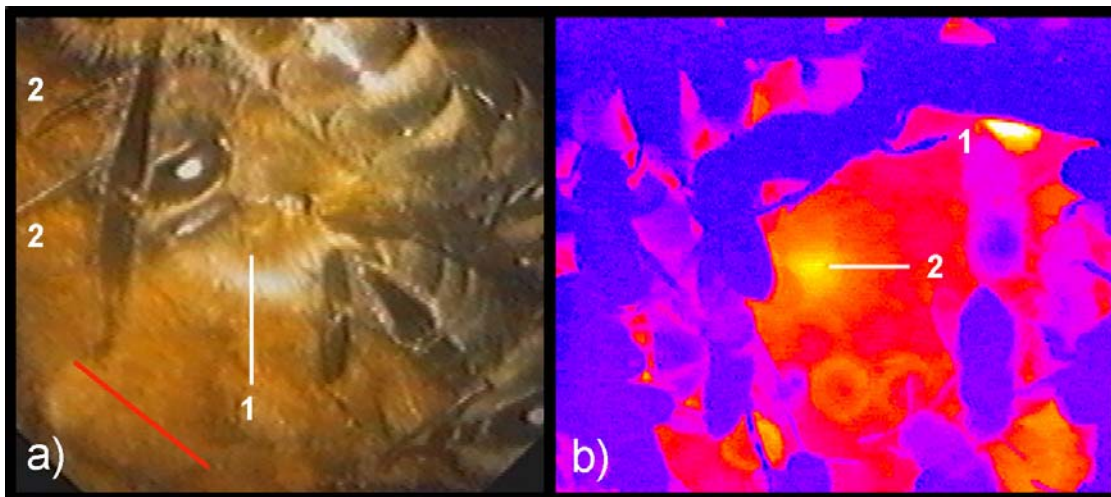
Zu beachten sind in den drei Teilabbildungen vor allem die Körperpositionen der Bienen zur Brutwabe, sowie die Stellung der Antennen.

### 3. 1. 4 Wärmeübertragung von der Arbeiterin auf die gedeckelte Brut

Bienen, die sich mit hoher Thoraxtemperatur an die Brutdeckel drückten wurden mit der beweglichen Spitze einer Endoskopkamera beiseite geschoben. Gleichzeitig wurde dieser Brutbereich mit der Thermovisionskamera beobachtet. Mit dem Wegschieben wurde ein deutlicher Wärmeabdruck („hot spot“) auf der Wabendeckeloberfläche sichtbar (Bujok 2000, Bujok et al. 2001).

Die noch ungestörten Bienen zeigten unmittelbar vor dem Eingriff Thoraxtemperaturen zwischen 36,4 und 40,2°C (Mittelwert =  $38,6 \pm 1,0^\circ\text{C}$ , n = 36 Bienen), der Abdruck war bis zu 3,2°C wärmer als die benachbarte Brutdeckeloberfläche und kühlte schnell aus.

Abbildung 22 zeigt links eine Biene, die sich auf die Brutdeckeloberfläche presst, rechts ist ein Wärmeabdruck im Thermovisionsbild zu sehen, der von einer sich andrückenden Biene verursacht wurde.



**Abb. 22 Brutwärmeverhalten im gedeckelten Brutbereich**

**a) Brutwärmende Biene**

Eine Biene (1) mit einer Thoraxtemperatur von  $41,8^{\circ}\text{C}$  drückt sich mit ihrem Thorax auf die Brutdeckel. Ihre Antennen (2) sind auf die Brutdeckeloberfläche gerichtet. Im Vordergrund hängt eine ruhende Arbeiterin an der Wabe mit weit von der Brutdeckeloberfläche entferntem Thorax und Abdomen,  $T_{\text{Thorax}} = 33,4^{\circ}\text{C}$ . Rote Linie: Orientierung der Wabe in der Abbildung (tatsächlich war die Wabe vertikal orientiert).

**b) Wärmeabdruck („hot spot“) auf der Wabe**

Nach dem Wegschieben einer Arbeiterin mit  $T_{\text{Thorax}} = 39,4^{\circ}\text{C}$  unmittelbar vor dem Eingriff (1) ist im Thermovisionsbild ein Wärmeabdruck (2) auf der Brutdeckeloberfläche zu erkennen. Der Temperaturunterschied zu benachbarten Zelldeckeln liegt bei  $2,6^{\circ}\text{C}$ .

Im Durchschnitt wurden die Brutdeckel um  $1,6 \pm 0,7^{\circ}\text{C}$  ( $n = 36$  Wärmeabdrücke) erwärmt. In TABELLE 8 sind die Temperaturwerte aller beobachteten Bienen sowie die Temperatur der Wärmeabdrücke aufgelistet. Kühlere Bienen zeigten kein Andrückverhalten. Da die Emmissivität der Brutdeckel nicht bekannt ist, sind die in TABELLE 8 dargestellten Temperaturwerte ( $T_{\text{Wärmeabdruck}} [^{\circ}\text{C}]$ ) als relative Temperaturwerte zu betrachten.

TABELLE 8

Wärmeübertragung auf die Brutdeckel

Aufgelistet sind die Thoraxtemperaturen ( $T_{\text{Thorax}} [^{\circ}\text{C}]$ ) von 36 untersuchten Arbeiterinnen, die Temperatur des Wärmeabdruckes ( $T_{\text{Wärmeabdruck}} [^{\circ}\text{C}]$ ), den sie hinterlassen haben, sowie die Differenz zwischen dem Wärmeabdruck und der umliegenden, nicht angewärmten Brutdeckeloberfläche (Differenz [ $^{\circ}\text{C}$ ]).

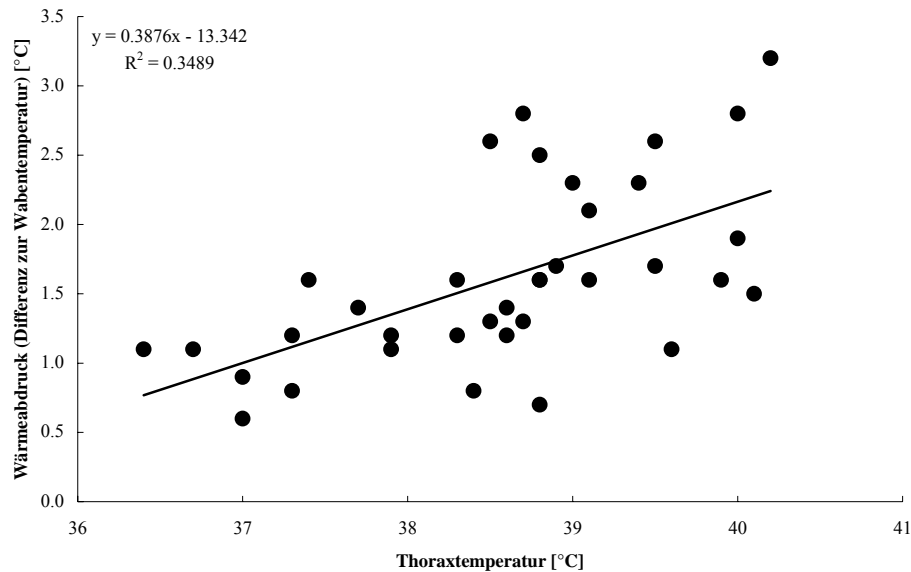
Nr.	$T_{\text{Thorax}} [^{\circ}\text{C}]$	$T_{\text{Wärmeabdruck}} [^{\circ}\text{C}]$	Differenz [ $^{\circ}\text{C}$ ]
1	39,5	36,3	2,6
2	38,8	36,0	2,5
3	37,4	34,8	1,6
4	37,3	34,2	1,2
5	39,0	35,2	2,3
6	38,6	34,5	1,4
7	37,7	34,5	1,4

8	39,1	35,1	2,1
9	39,1	34,4	1,6
10	38,8	35,0	1,6
11	38,8	35,2	0,7
12	39,6	34,5	1,1
13	38,4	35,3	0,8
14	40,1	35,4	1,5
15	36,7	34,3	1,1
16	37,3	34,5	0,8
17	37,0	34,5	0,6
18	39,9	35,3	1,6
19	39,4	35,2	2,3
20	38,3	34,4	1,6
21	38,6	33,7	1,2
22	36,4	34,7	1,1
23	37,0	34,5	0,9
24	38,3	35,5	1,2
25	40,0	36,3	2,8
26	40,2	37,8	<b>3,2</b>
27	40,0	36,3	1,9
28	38,8	35,7	1,6
29	38,5	34,7	1,3
30	37,9	34,2	1,2
31	38,7	34,9	1,3
32	37,9	35,1	1,1
33	38,5	35,6	2,6
34	38,9	34,9	1,7
35	38,7	35,4	2,8
36	39,5	35,3	1,7

In Abbildung 23 ist der Zusammenhang zwischen Thoraxtemperatur der beobachteten Bienen und Temperatur des Wärmeabdruckes wiedergegeben. Wie zu erwarten erzeugen wärmere Bienen Wärmeabdrücke mit höheren Temperaturen.

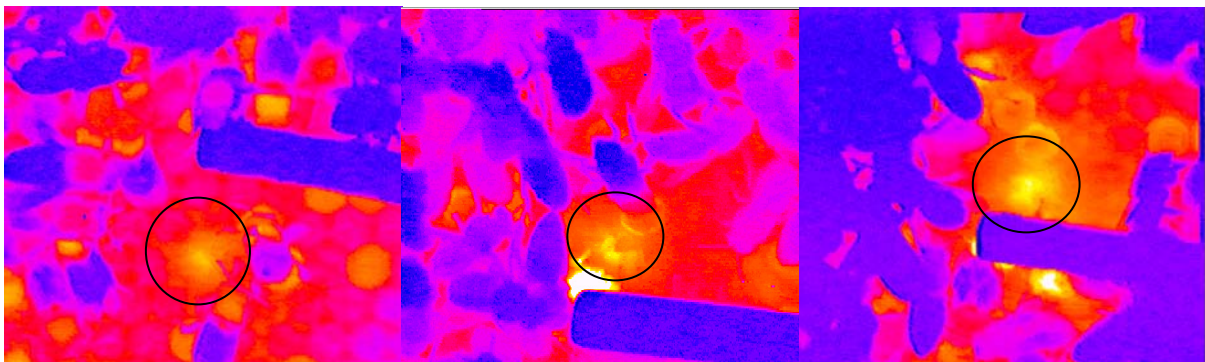
Abbildung 24 zeigt drei weitere Wärmeabdrücke, die die warmen Bienen auf der Brutdeckeloberfläche hinterlassen haben.





**Abb. 23 Beziehung zwischen Thoraxtemperatur und erzeugtem Wärmeabdruck**

Die Thoraxtemperaturen der Bienen korrelieren positiv mit den Temperaturen der auf der gedeckelten Brut erzeugten Wärmeabdrücke.



**Abb. 24 Wärmeabdrücke von drei Bienen auf der Brutwabe**

Die Wärmeabdrücke sind im Vergleich jeweils 2,1, 3,2 und 2,5°C wärmer als die umliegende Brutdeckeltemperatur. In den drei Teilabbildungen ist von rechts kommend der Endoskopkammerschlauch zu sehen, mit dem die warmen Bienen unmittelbar zuvor beiseite geschoben worden waren. Die Wärmeabdrücke sind durch einen schwarzen Kreis hervorgehoben.

Zusammenfassend lässt sich zu den Verhaltensbeobachtungen im gedeckelten Brutbereich sagen, dass einige Arbeiterinnen ein spezielles Verhalten aufzeigten, das eindeutig als Brutwärmeverhalten definiert werden kann. Die Arbeiterinnen generieren hohe Thoraxtemperaturen nicht als Nebenprodukt durch andere Tätigkeiten, sondern ausschließlich zum Brutwärmen. Zur besseren Wärmeübertragung ziehen sie ihren Thorax an die Brutdeckeloberfläche heran. Dass eine Wärmeübertragung stattfand, wurde durch das Entfernen der heißen Arbeiterinnen bewiesen - auf der Brutdeckeloberfläche blieb ein deutlicher Wärmeabdruck in der Größe eines Bienthorax zurück.

Aber es scheint noch eine zweite Strategie zum Brutwärmen zu geben:

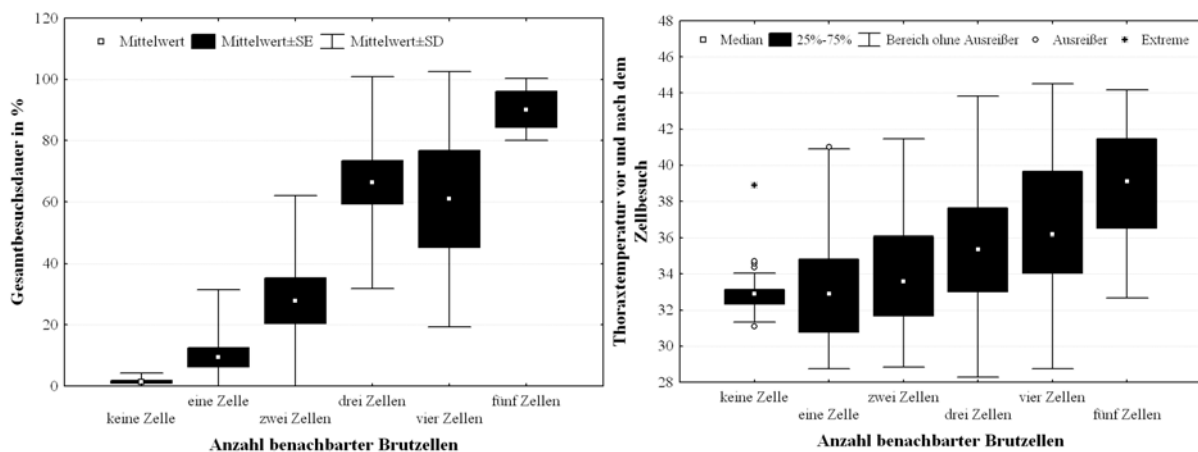


### 3. 2 Eine weitere Strategie der Wärmeübertragung - Zellbesuche im Brutbereich

Es wurde wiederholt beobachtet, dass sich warme Bienen in offenen Zellen innerhalb des gedeckelten Brutbereiches aufhalten (siehe Abb. 18b). Daher wurde vermutet, dass diese Bienen die Brut von der Seite her wärmen könnten. Im Versuch wurden die Parameter *Aufenthaltsdauer* von Bienen in leeren Zellen innerhalb des gedeckelten Brutbereiches in Abhängigkeit von der Anzahl benachbarter Brutzellen und die *Thoraxtemperaturen* der Bienen vor und nach einem Zellbesuch in offenen Zellen untersucht. Die Daten ergaben sich aus drei Beobachtungsphasen an drei Tagen von je 1h. Am letzten Tag wurde zusätzlich das Verhalten von Bienen in Zellen ohne benachbarte Brutzelle untersucht. Es zeigte sich, dass Bienen leere Zellen im gedeckelten Brutbereich insgesamt länger besuchten, wenn die Zellen von möglichst vielen gedeckelten Brutzellen (in diesem Versuch von maximal 5 Brutzellen) umgeben waren (Abb. 25). Dabei ergab sich eine gewisse Zweiteilung:

Die *Gesamtbesuchsdauer* in Zellen mit keiner und einer benachbarten Brutzelle war signifikant kürzer als die Besuchsdauer in Zellen die drei, vier oder fünf benachbarte Brutzellen aufwies. Bienen, die Zellen mit zwei benachbarten Brutzellen besuchten nahmen eine Mittelstellung ein und zeigten keine signifikanten Unterschiede in der Besuchsdauer zu Zellen mit mehr oder weniger benachbarten Brutzellen (Kruskal-Wallis-ANOVA, zweiseitig,  $p < 0,0001$ ).

Die *Thoraxtemperaturen* der Bienen waren vor und nach den Zellbesuchen umso höher, je mehr Brutzellen der Zelle benachbart waren (Abb. 25). War die Anzahl benachbarter Brutzellen gering (keine, eine oder zwei Brutzelle(n)), fanden sich keine signifikanten Unterschiede in den Thoraxtemperaturen der Bienen, die diese Zellen besuchten. Ab einer Anzahl von drei benachbarten Brutzellen stieg die Thoraxtemperatur der Bienen signifikant an. Zwischen den Thoraxtemperaturen der Bienen, die Zellen mit drei oder 4 benachbarten Brutzellen besuchten fanden sich wiederum keine signifikanten Unterschiede. Bienen, die Zellen mit 5 Nachbarbrutzellen besuchten, hatten nochmals signifikant höhere Thoraxtemperaturen vor und nach ihrem Zellbesuch, als Bienen, die Zellen mit weniger benachbarter Brut besuchten (Kruskal-Wallis-ANOVA, zweiseitig,  $p < 0,0005$ ). Zusammengefasst sind die Ergebnisse in TABELLE 9.



**Abb. 25 Besuch von leeren Zellen im Brutbereich**

**a) Aufenthaltsdauer in leeren Zellen:** Die Dauer der Besuche in leeren Zellen stieg mit der Anzahl der benachbarten gedeckelten Brutzellen.

**b) Thoraxtemperatur vor und nach den Zellbesuchen:** Auch die Thoraxtemperatur vor und nach dem Besuch einer leeren Zelle stieg mit der Anzahl der benachbarten Brutzellen an. Einzelheiten siehe Text und TABELLE 9 und 10.

TABELLE 9

Unterschiede in Besuchsdauer und Thoraxtemperatur der Bienen in Abhängigkeit von der Anzahl benachbarter Brutzellen.  $T_{Th}$  = mittlere Thoraxtemperatur der Bienen bei Ein- bzw. Austritt der Zellen einer bestimmten Kategorie, Zeit = Gesamtaufenthaltsdauer der Bienen in den Zellen der jeweiligen Kategorie, \*\* = es wurden signifikante Unterschiede zwischen den jeweiligen Kategorien gefunden, n.s. = es wurden keine signifikanten Unterschiede zwischen den jeweiligen Kategorien gefunden.

Anzahl benachbarter Brutzellen	keine Zelle		eine Zelle		zwei Zellen		drei Zellen		vier Zellen		fünf Zellen	
	$T_{Th}$	Zeit	$T_{Th}$	Zeit	$T_{Th}$	Zeit	$T_{Th}$	Zeit	$T_{Th}$	Zeit	$T_{Th}$	Zeit
keine Zelle	--	--	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	**	**	**	**	**	**
eine Zelle	n.s.	n.s.	--	--	n.s.	n.s.	**	**	**	**	**	**
zwei Zellen	n.s.	n.s.	**	n.s.	--	--	**	n.s.	**	n.s.	**	n.s.
drei Zellen	**	**	**	**	**	n.s.	--	--	n.s.	n.s.	**	n.s.
vier Zellen	**	**	**	**	**	n.s.	n.s.	n.s.	--	--	**	n.s.
fünf Zellen	**	**	**	**	**	n.s.	**	n.s.	**	n.s.	--	--

TABELLE 10

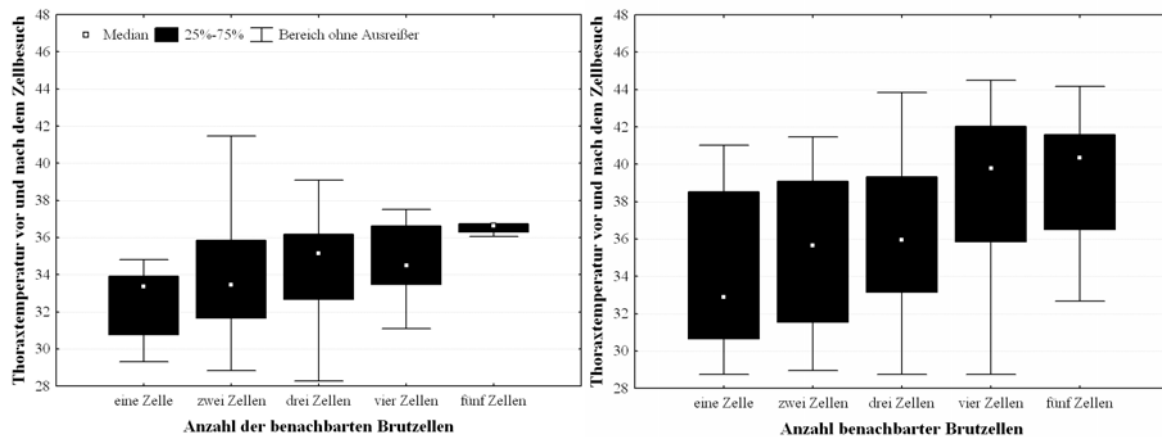
Besuchszeiten von Bienen in Zellen sowie Thoraxtemperaturen von Bienen (vor und nach Zellbesuchen) in Abhängigkeit von der Anzahl benachbarter, gedeckelter Brutzellen. Im Versuch waren keine Zellen von den sechs maximal möglichen Brutzellen umgeben (siehe Abbildung 28).

Anzahl benachbarter Brutzellen	Dauer des Zellaufenthaltes	Thoraxtemperatur Mittelwert $\pm$ SD
keine Zelle	1,4 $\pm$ 2,9%	32,9 $\pm$ 1,2°C
eine Zelle	9,4 $\pm$ 22,0%	33,1 $\pm$ 3,7°C
zwei Zellen	27,9 $\pm$ 34,2%	34,1 $\pm$ 3,5°C
drei Zellen	66,3 $\pm$ 34,6%	35,7 $\pm$ 3,5°C
vier Zellen	61,0 $\pm$ 41,6%	37,3 $\pm$ 4,2°C
fünf Zellen	90,4 $\pm$ 10,1%	39,2 $\pm$ 3,1°C

In der bisherigen Analyse flossen alle beteiligten Bienen ein. Wurde bei der Betrachtung der Thoraxtemperaturen allerdings zwischen jungen (max. 48h alt) und älteren Bienen (über 48h alt) unterschieden, zeigte sich ein signifikant unterschiedliches Wärmeverhalten dieser beiden Bienengruppen: Die Thoraxtemperaturen der älteren Bienen vor und nach Zellbesuchen mit mehreren benachbarten Brutzellen waren höher als die Vergleichswerte von jungen Bienen (Abb. 27).

Insgesamt hatten junge Bienen vor und nach den Zellbesuchen signifikant niedrigere Thoraxtemperaturen (Mittelwert = 34,0  $\pm$  2,4°C, n = 118) als ältere Bienen (Mittelwert = 36,5  $\pm$  5,4°C, n = 226; p < 0,05, Mann-Whitney-U-Test, zweiseitig). Die genauere Betrachtung der Ergebnisse zeigte, dass die Unterschiede durch die Zellbesuche mit vielen benachbarten Brutzellen zustande kamen. Bei Besuchen von Zellen, die wenige benachbarte Brutzellen hatten (keine, eine oder zwei Brutzelle(n)) ergeben sich keine signifikanten Unterschiede in den Thoraxtemperaturen, war die Anzahl der benachbarten Brutzellen größer (3, 4 oder 5 Brutzellen) hatten die älteren Bienen signifikant höhere Thoraxtemperaturen beim Ein- bzw.

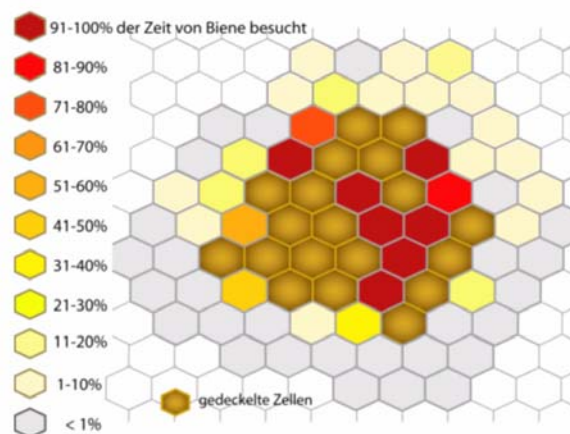
Austritt der Zellen (Mann-Whitney-U-Test,  $p < 0,05$ ) als die jüngeren Bienen. Außerdem wurden ältere Bienen etwa doppelt so oft in den Zellen beobachtet als junge Bienen.



**Abb. 26 Thoraxtemperaturen in Abhängigkeit vom Alter und von der Anzahl benachbarter Brutzellen**  
Ältere Bienen (über 48h alt) hatten beim Besuch leerer Zellen mit vielen benachbarten Brutzellen signifikant höhere Thoraxtemperaturen als jüngere Bienen (bis 48h alt) beim Besuch derselben Zellenkategorien. Waren die Zellen von wenigen Brutzellen umgeben, fanden sich keine signifikanten Unterschiede in den Thoraxtemperaturen zwischen jungen und älteren Bienen.

Die Aufschlüsselung der Gesamtbesuchsdauer in den einzelnen untersuchten Zellen ist in Abbildung 27 graphisch dargestellt: Während des Beobachtungszeitraums von insgesamt drei Stunden waren die leeren Zellen unterschiedlich lange besetzt. Vor allem innerhalb des Brutbereiches, wo die leeren Zellen von vielen Brutzellen umgeben waren, waren die Zellen mindestens 91% der Beobachtungszeit von Bienen besucht (Dunkelrot dargestellt), in den Randgebieten des Brutbereiches nahm die Gesamtbesuchsdauer ab (Orange- und Gelbtöne). Am letzten Versuchstag wurden zusätzlich Zellen ohne benachbarte Brutzellen (eine Zellreihe entfernt von gedeckelter Brut) auf Zellbesuche hin untersucht. Diese Zellen waren im Beobachtungszeitraum (1h) nur über kurze Zeiträume besetzt, die Gesamtbesuchsdauer setzte sich dabei oft aus mehreren sehr kurzen Besuchen (Inspektionen) zusammen. Alle untersuchten Zellen waren während der Beobachtungen leer.

Dieser Versuch zeigte, dass die Arbeiterinnen auch leere Zellen zwischen der gedeckelten Brut nutzen, um die Puppen mit Wärme zu versorgen. Dabei gingen die Bienen effektiv vor, denn sie bevorzugten Zellen, die von möglichst vielen Brutzellen umgeben waren. Die älteren Tiere spielten beim Brutwärmen eine wichtigere Rolle als die jungen Bienen.

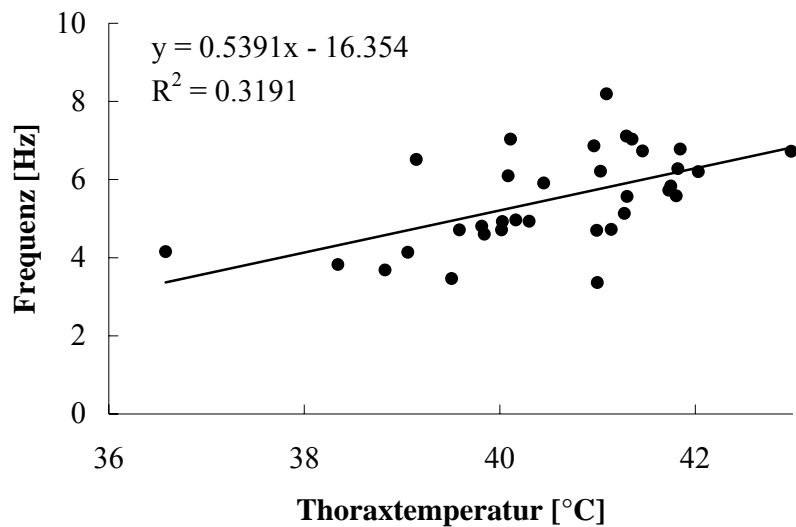


**Abb. 27 Zellbesuche im Brutbereich**

Die Farben geben nach dem Farbenschlüssel die Besuchsdauer in % von der gesamten Beobachtungsperiode (3h) von Bienen in den Zellen wider. Weiß dargestellte Zellen waren leer und wurden nicht genauer untersucht.

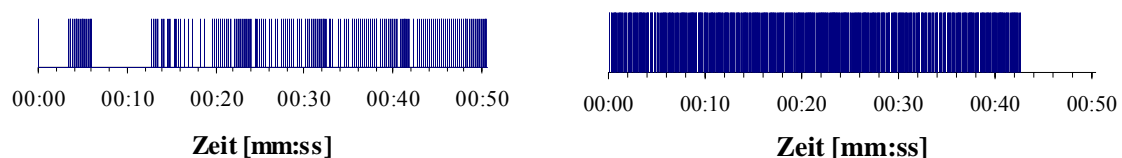
### 3.3 Atemfrequenzen von warmen Arbeiterinnen

Ein weiteres Kriterium von warmen Bienen, die Brutwärmeverhalten zeigen, sind ihre schnellen kontinuierlichen abdominalen Atembewegungen. Um das Brutwärmeverhalten weiter zu beschreiben wurden die Atemfrequenzen der warmen Arbeiterinnen gemessen und mit der jeweiligen Thoraxtemperatur der Bienen in Verbindung gebracht. Dabei zeigte sich, dass die Atemfrequenzen der warmen Tiere mit der Thoraxtemperatur direkt korrelierten. Die Frequenz der Abdomenbewegungen von 34 untersuchten Arbeiterinnen lag zwischen 3,4 und 8,2 Hz. Die untersuchten Tiere hatten Thoraxtemperaturen zwischen 36,6°C und 43,0°C (Abb. 28).



**Abb. 28** Abdominale Atemfrequenz in Hertz (Hz) von Arbeiterinnen beim Brutwärmen in Abhängigkeit ihrer jeweiligen Thoraxtemperatur.

Wurden die Atemmuster der einzelnen Bienen betrachtet, wurde erkennbar, dass kühlere Tiere kurze Atempausen machten. In Abbildung 29 links hatte die Arbeiterin während der Aufnahme eine Thoraxtemperatur von  $36,6 \pm 0,4^\circ\text{C}$ . Sehr warme Tiere wiesen sehr schnelle und vor allem kontinuierliche Atembewegungen auf. Die Arbeiterin rechts in Abbildung 29 hatte während der Aufzeichnung eine Thoraxtemperatur von  $41,1 \pm 0,3^\circ\text{C}$ .

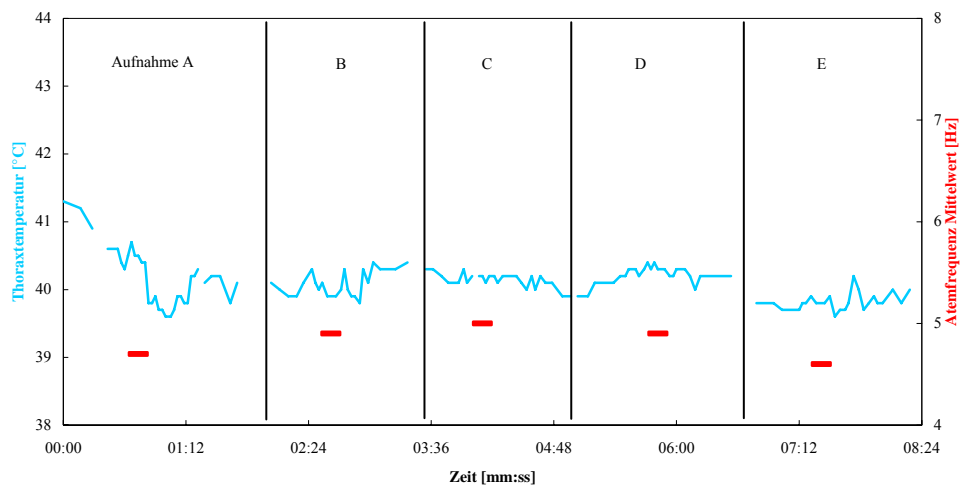


**Abb. 29** Abdominale Atemfrequenzen von Bienen im gedeckelten Brutbereich

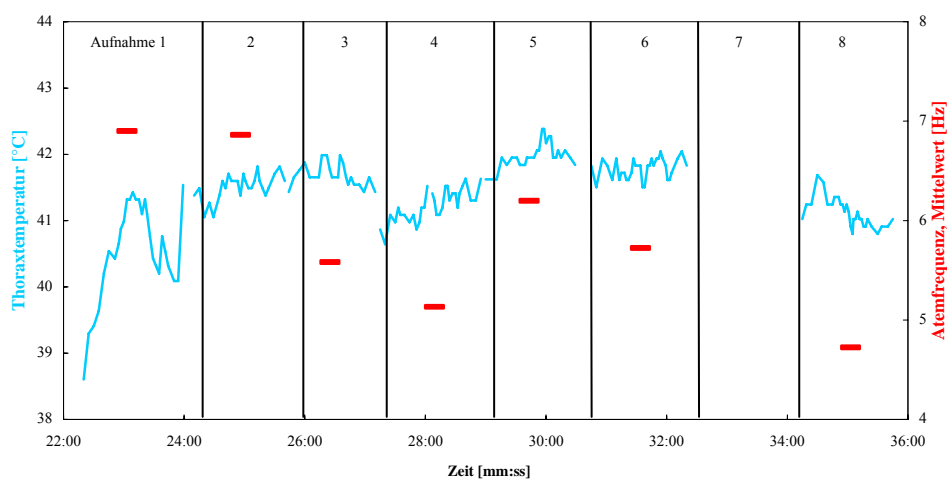
Die Atemfrequenz auf der linken Seite stammt von einer Biene, die während der Aufnahme eine Thoraxtemperatur von  $36,6 \pm 0,4^\circ\text{C}$  aufwies. Die Atmung bei dieser Thoraxtemperatur war diskontinuierlich, zu Beginn der Aufzeichnung war nur eine Atembewegung zu verzeichnen, nach etwa 3s Pause folgten 16 schnellen Pumpbewegungen, es gab eine weitere Atempause von 7s, dann zeigte die Biene eine relativ gleichmäßige Atmung. Ihre Atemfrequenz lag im Durchschnitt bei 4,2 Hz. Die rechte Abbildung zeigt die kontinuierliche Atmung einer Biene, die während der Aufzeichnung eine Thoraxtemperatur von  $41,1 \pm 0,3^\circ\text{C}$  hatte. Ihre durchschnittliche Atemfrequenz lag bei 8,2 Hz. Die Aufnahme war nur gut 40s lang, die Biene legte also keine Atempause am Ende ein, wie die Abbildung vermuten lassen könnte.

Die Aufzeichnung von Atemfrequenz und Thoraxtemperatur bei zwei Arbeiterinnen über einen längeren Zeitraum (Abb. 30a und b) zeigte bei Biene1 (Aufnahme A bis E) bei wenig schwankender Thoraxtemperatur um die 40°C relativ konstante Atemfrequenzen. Am Ende der Aufnahme sank die Thoraxtemperatur von 40,3 auf 39,8°C und die Atemfrequenz verringerte sich dabei um 0,3Hz, das entspricht 18 Atembewegungen pro Minute.

Biene2 (Aufnahme 1-8) zeigte stärkere Schwankungen ihrer Thoraxtemperatur und Atemfrequenz. Die Änderungen der Atemfrequenz schienen den Änderungen der Thoraxtemperatur voranzugehen, wobei die Atemfrequenz größere Schwankungen aufwies.



**Abb. 30a** Thoraxtemperaturen (blaue Linie) und abdominale Atemfrequenzen (roter Balken) von Biene1 über einen längeren Zeitraum (circa 8min) aufgenommen. Die Thoraxtemperatur änderte sich wenig und schwankte zwischen 39,6 und 40,7°C. Zu Beginn der Aufnahme hatte die Biene eine Thoraxtemperatur von über 41°C. Die durchschnittliche Atemfrequenz lag im aufgezeichneten Zeitraum zwischen 4,6 und 5Hz



**Abb. 30b** Thoraxtemperaturen (blaue Linie) und abdominale Atemfrequenzen (roter Balken) von Biene2 über circa 14min aufgenommen (mit einer Lücke von etwa 2min). Die Thoraxtemperatur stieg zu Beginn schnell an, die Biene zeigte dabei sehr hohe Atemfrequenzen um 7Hz. Dann blieb die Thoraxtemperatur bei hohem Niveau, während die Atemfrequenz erst abnahm und danach mit mäßig steigenden Thoraxtemperaturen aber wieder deutlich schneller wurde. Zum Ende sank die Thoraxtemperatur leicht, die Atemfrequenz deutlich.

### 3. 4 Auslöser des Brutwärmeverhaltens

#### 3. 4. 1 Informationsaustausch zwischen Brut und Arbeiterinnen

Bei der Messung mittels Laser-Doppler-Vibrometrie wurden keine von den Puppen erzeugten und über die Wabendeckel übertragenen mechanischen Signale entdeckt. Es fanden sich weder Schwingungen direkt nach der Entnahme der Wabe aus dem Brutwärmeschrank, der die Wabe auf 35°C gehalten hatte, noch bei der Abkühlung durch die Aufbewahrung der Brutwabe bei Raumtemperatur. Da die Untersuchungen rund um die Uhr erfolgten, wird die Abhängigkeit an eine bestimmte Tageszeit ausgeschlossen. Das Öffnen der Brutzellen direkt nach den Versuchen bestätigte, dass die Puppen in den Zellen intakt waren. Zum Teil wurden die untersuchten Zellen nur markiert und der Schlupf der Puppen in den folgenden Tagen beobachtet – ein sicheres Zeichen, dass die Puppen während der Aufnahmen am Leben und intakt waren.

Da keine mechanischen Signale, die von der Brut ausgehen, gefunden wurden, wurde im Weiteren untersucht, ob Bienen auch gedeckelte Brutbereiche ohne lebende Brut wärmen. Dazu wurden zunächst mit Wachskegel gefüllte gedeckelte Zellen verwendet, dann erfolgten Untersuchungen mit toter gedeckelter Brut.

In diesem Versuchskomplex wurden zwei Aspekte betrachtet: Zum einen wurden die Temperaturen der Bienen auf der vermeintlichen Brut untersucht, indem die durchschnittlichen Thoraxtemperaturen aller Arbeiterinnen im gedeckelten Bereich ermittelt wurden. Außerdem wurden die Arbeiterinnen auf der „Brut“ je nach Thoraxtemperatur grob in thermisch aktive ( $T_{\text{Thorax}} > 35^{\circ}\text{C}$ ) und thermisch passive Bienen ( $T_{\text{Thorax}} \leq 35^{\circ}\text{C}$ ) unterteilt.

Zum anderen wurde die Temperatur der „Brut“ selbst gemessen. Die Aufzeichnung der Lufttemperatur erfolgte mit einem Temperaturfühler in einer leeren Zelle innerhalb des gedeckelten Bereiches.

Beginnen wir mit der Analyse der Thoraxtemperaturen der Bienen:

#### 3. 4. 2 Temperaturregulierung manipulierter Brut - mit Wachskegel gefüllte Brutzellen

Im Durchschnitt hatten die Tiere auf den mit Wachskegel gefüllten Brutzellen eine Thoraxtemperatur von  $33,5 \pm 2,0^{\circ}\text{C}$  ( $n = 154$  Temperaturwerte). 77,3% der Bienen hatten Thoraxtemperaturen von maximal  $35,0^{\circ}\text{C}$ , nur 22,7% der Bienen hatten höhere Thoraxtemperaturen. Einige dieser Tiere zeigten Trophallaxis, was höhere Thoraxtemperaturen hervorruft. Andere waren mit dem Öffnen der Wachsdeckel beschäftigt, waren also durch diese Tätigkeit erwärmt. Es wurden Tiere beobachtet, die mit hoher Thoraxtemperatur in geöffneten Brutzellen steckten. Sie waren offensichtlich damit beschäftigt, die Wachskegel zu entfernen. Die Bienen zeigten von Beginn der Aufzeichnung an kein Brutwärmeverhalten, d. h. ruhig sitzende Bienen mit hoher Thoraxtemperatur wurden nicht beobachtet. Es waren gleich am Anfang Bienen zu erkennen, die sich mit warmen Thorax in Zellen aufhielten (ein heller Ring im Thermovisionsbild zeigte die hohe Thoraxtemperatur auch während des Aufenthaltes in der Zelle an, vergleiche Abbildung 18b).

Auf einem nicht manipulierten intakten gedeckelten Brutbereich hatten Bienen im Durchschnitt Thoraxtemperaturen von  $35,7 \pm 1,6^{\circ}\text{C}$  ( $n = 429$  Temperaturwerte). 31,7% der Arbeiterinnen hatten Thoraxtemperaturen bis  $35,0^{\circ}\text{C}$ , alle anderen Tiere (68,3%) waren wärmer. Die Thoraxtemperaturen der Bienen auf diesem unbehandelten Brutbereich unterschieden sich

signifikant von den Thoraxtemperaturen der Tiere auf der Brutfläche, die mit Wachskegel gefüllt war (Mann-Whitney-U-Test,  $p < 0,05$ ).

Mit Wachskegeln gefüllte gedeckelter Brutzellen reichten im Versuch also nicht aus, um flächendeckendes Brutwärmeverhalten bei den Arbeiterinnen auszulösen.

### 3. 4. 3 Temperaturregulierung von Arbeiterinnen auf toter Brut

Bevor die Ergebnisse von Bienen auf abgetöteter Brut näher betrachtet werden, sind zum Vergleich in TABELLE 11 die Daten von unbehandelten Bienen auf unbehandelter Brut dargestellt.

TABELLE 11

Thoraxtemperaturwerte mit Standardabweichung ( $T_{\text{Thorax}}$  [°C] MW  $\pm$  S.D.) von unbehandelten Bienen auf lebender gedeckelter Brut. Es sind die Ergebnisse aus zwei kleinen Brutbereichen 1 und 2 dargestellt. n gibt die jeweilige Anzahl gemessener Temperaturwerte an.

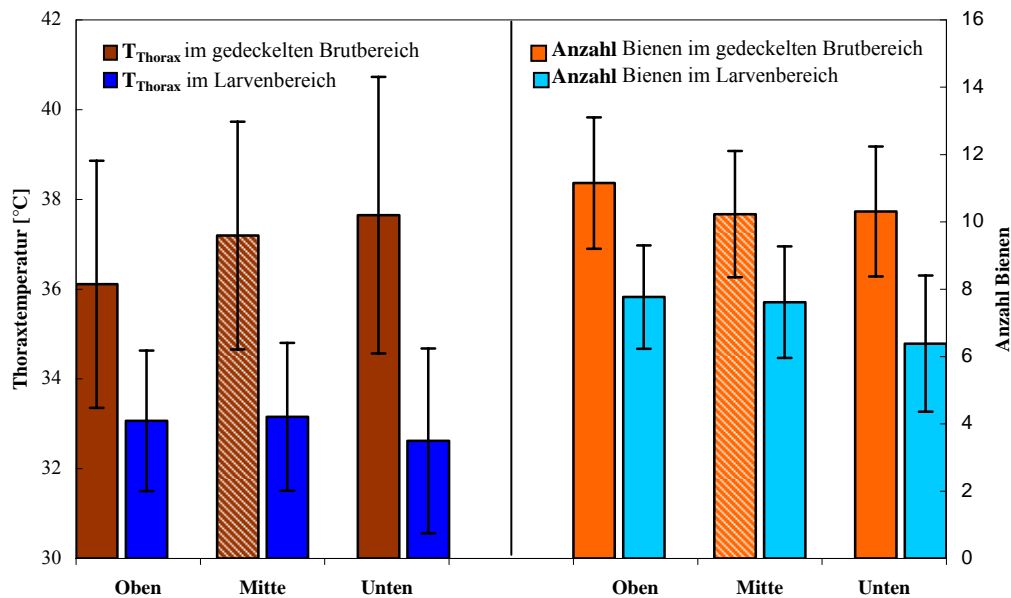
	Brutbereich 1	Brutbereich 2
$T_{\text{Thorax}}$ [°C] MW $\pm$ S.D.	36,1 $\pm$ 2,8 (n = 145)	37,6 $\pm$ 3,1 (n = 134)

Im Vergleich zu diesen Kontrolldaten wurden in einem Vorversuch die Thoraxtemperaturen der Arbeiterinnen auf offener Brut (Larven) und auf gedeckelten Brutbereichen (Puppen) analysiert. Ein Teil der gedeckelten Brut war abgetötet worden, so dass sowohl offene mit gedeckelter Brut als auch lebende gedeckelte mit abgetöteter gedeckelter Brut verglichen werden konnte:

Sowohl die Anzahl der Bienen als auch die Thoraxtemperatur der Tiere war auf gedeckelter Brut höher als auf offener Brut. (Abb. 31). Dabei korrelierten die Thoraxtemperaturen mit der Lage des Brutfeldes - je tiefer das Brutfeld im Beobachtungsstock lag, umso höher waren die Thoraxtemperaturen der Bienen auf dem Brutfeld. Es bestehen jeweils signifikante Unterschiede zwischen den Thoraxtemperaturen der Bienen auf gedeckelter und offener Brut (Mann-Whitney-U-Test,  $p < 0,05$ ). Die durchschnittlichen Thoraxtemperaturen lagen in den gedeckelten Brutbereichen immer über 36°C, nämlich von oben nach unten betrachtet bei 36,1  $\pm$  2,8°C, 37,2  $\pm$  2,5°C und 37,6  $\pm$  3,1°C und unterschieden sich signifikant zwischen „Oben“ und „Mitte“. Zwischen „Mitte“ und „Unten“ bestanden keine signifikanten Unterschiede (Mann-Whitney-U-Test,  $p < 0,05$ ).

Im Larvenbereich waren die durchschnittlichen Thoraxtemperaturen von oben nach unten gesehen 33,1  $\pm$  2,0°C, 33,2  $\pm$  1,9°C und 32,6  $\pm$  1,9°C. Zwischen den einzelnen Bereichen fanden sich keine signifikanten Unterschiede in Bezug auf die Thoraxtemperaturen der Bienen (Mann-Whitney-U-Test,  $p < 0,05$ ). Die Anzahl der Tiere war auf der gedeckelten Brut höher als im Larvenbereich. Während durchschnittlich 11 Tiere einen gedeckelten Brutbereich besuchten, waren es im Larvenbereich im Mittel 7 Tiere. Hier stieg die Zahl der Arbeiterinnen sowohl im Larvenbereich als auch im gedeckelten Bereich von oben nach unten. Der kontinuierliche Abfall der Temperatur von oben nach unten ist mit der zunehmenden Nähe

zum Flugloch zu erklären, das sich ganz unten auf der Seite der gedeckelten Brut befand (Abb. 14).



**Abb. 31 Thoraxtemperatur und Anzahl der Bienen in verschiedenen Brutbereichen.**

Die linke Seite zeigt die mittleren Thoraxtemperaturen mit Standardabweichung der Bienen auf den 6 untersuchten Brutbereichen ( $n = 411$  Temperaturwerte). Es wurden jeweils drei Bereiche mit offener und gedeckelter Brut beobachtet, die in Abhängigkeit von ihrer Lage im Stock mit „Oben“, „Mitte“ und „Unten“ bezeichnet wurden. Rechts ist die Anzahl der Tiere in den jeweiligen Brutbereichen aufgezeichnet. Die Balken in Brauntönen stellen die Daten von Bienen auf gedeckelter Brut dar, wobei der mittlere Brutbereich („Mitte“) abgetötet worden war (schraffiert), die Daten in Blautönen repräsentieren Bienen auf offener unbehandelter Brut.

In den folgenden drei Versuchen wurde den Arbeiterinnen keine lebende Brut neben toter angeboten, nun war das gesamte Brutstück mit gedeckelter Brut abgetötet worden.

Im **ersten Versuch** (03.10.2002 bis 10.10.2002) mit toter Brut wurden an den ersten drei Versuchstagen die Thoraxtemperaturen der Arbeiterinnen in fünf 30-minütigen Aufnahmen ermittelt (TABELLE 12).

TABELLE 12

Tiere auf abgetöteter gedeckelter Brut. Aufgezeichnet ist die mittlere Thoraxtemperatur der Bienen im Brutbereich mit der dazugehörigen Standardabweichung ( $T_{\text{Thorax}} [^{\circ}\text{C}] \text{ MW} \pm \text{S.D.}$ ). Da am 03. und 04.10.2002 jeweils zwei Aufnahmen pro Tag aufgezeichnet worden waren, sind die Aufnahmen zusätzlich mit den Buchstaben A und B gekennzeichnet.  $n$  = Anzahl der Temperaturmesswerte.

Datum	03.10.2002 A	03.10.2002 B	04.10.2002 A	04.10.2002 B	05.10.2002 A
$T_{\text{Thorax}} [^{\circ}\text{C}]$	$32,1 \pm 3,0$	$32,6 \pm 2,8$	$32, \pm 3,6$	$34,1 \pm 3,2$	$32,8 \pm 3,8$
MW $\pm$ S.D.	( $n = 531$ )	( $n = 578$ )	( $n = 633$ )	( $n = 633$ )	( $n = 401$ )



Im **zweiten Versuch** mit toter Brut (08.05.2003 bis 10.06.2003, insgesamt 34 Tage) wurden an den ersten 13 Versuchstagen die Thoraxtemperaturen der Arbeiterinnen auf der Brut aufgezeichnet (TABELLE 13).

TABELLE 13

Dargestellt ist der Mittelwert der Thoraxtemperaturen aller Bienen auf der toten Brut mit der dazugehörigen Standardabweichung ( $T_{\text{Thorax}}$  [°C] MW  $\pm$  S.D.). n = Anzahl der Temperaturmesswerte. Zu beachten ist die Fortführung der Datenreihe in der zweiten Tabellenzeile.

Datum	12.05.2003	13.05.2003	14.05.2003	15.05.2003	16.05.2003	17.05.2003 »
$T_{\text{Thorax}}$ [°C]	37,0 $\pm$ 2,4	36,8 $\pm$ 3,1	36,1 $\pm$ 3,4	36,1 $\pm$ 3,2	35,4 $\pm$ 3,1	35,8 $\pm$ 3,3
MW $\pm$ S.D.	(n = 557)	(n = 640)	(n = 579)	(n = 510)	(n = 595)	(n = 614)
» 18.05.2003	19.05.2003	20.05.2003	21.05.2003	22.05.2003	23.05.2003	24.05.2003
	34,9 $\pm$ 3,2	36,0 $\pm$ 2,4	36,4 $\pm$ 2,3	36,5 $\pm$ 2,6	35,0 $\pm$ 2,7	35,9 $\pm$ 2,0
	(n = 621)	(n = 662)	(n = 739)	(n = 731)	(n = 618)	(n = 681)
						(n = 599)

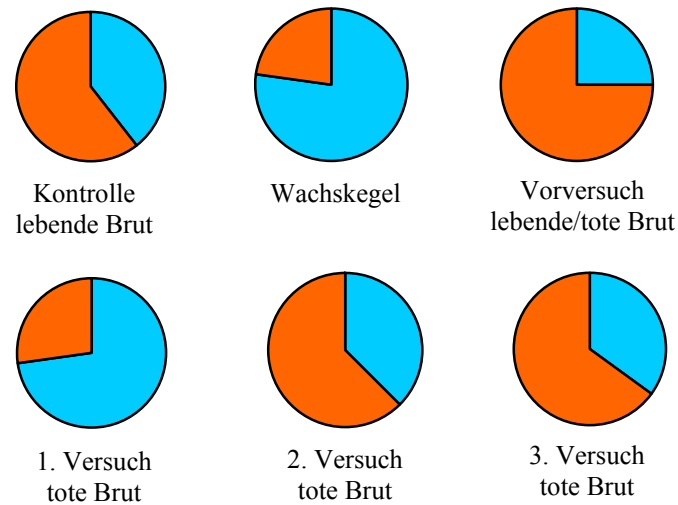
Im **dritten Versuch** (23.09.2003 bis 07.10.2003) wurden in 5 Aufnahmen die Thoraxtemperaturen der Bienen auf toter Brut aufgezeichnet und analysiert.

TABELLE 14

Dargestellt ist der Mittelwert der Thoraxtemperaturen aller Bienen im Brutbereich mit der dazugehörigen Standardabweichung ( $T_{\text{Thorax}}$  [°C] MW  $\pm$  S.D.). n = Anzahl der Temperaturmesswerte. Zu beachten ist das Zeitfenster zwischen der 4. und 5. Aufnahme.

Datum	23.09.2003	24.09.2003	25.09.2003	26.09.2003	01.10.2003
$T_{\text{Thorax}}$ [°C]	34,7 $\pm$ 2,3	36,5 $\pm$ 1,9	37,2 $\pm$ 1,9	37,0 $\pm$ 1,9	33,3 $\pm$ 1,6
MW $\pm$ S.D.	(n = 453)	(n = 385)	(n = 397)	(n = 401)	(n = 248)

In Abbildung 32 sind alle Thoraxtemperaturdaten eines Versuches in jeweils einem Kreisdiagramm zusammengefasst. In den Diagrammen wurde nur zwischen Bienen unterschieden, die Thoraxtemperaturen bis maximal 35,0°C aufwiesen und Bienen, die höhere Thoraxtemperaturen erreichten. Die prozentuale Verteilung der Thoraxtemperaturen der Tiere zeigen auf der toten Brut im zweiten und dritten Versuch keine signifikanten Unterschiede im Vergleich zu Bienen auf lebender Brut, im ersten Versuch unterschied sich die Verteilung der Thoraxtemperaturen von der der Kontrollgruppe (Kruskal-Wallis-ANOVA, 2-seitig,  $p < 0,001$ , n = 12950 Temperaturwerte).



**Abb. 32 Verteilung der Thoraxtemperaturen in den bis jetzt dargestellten Brutversuchen**

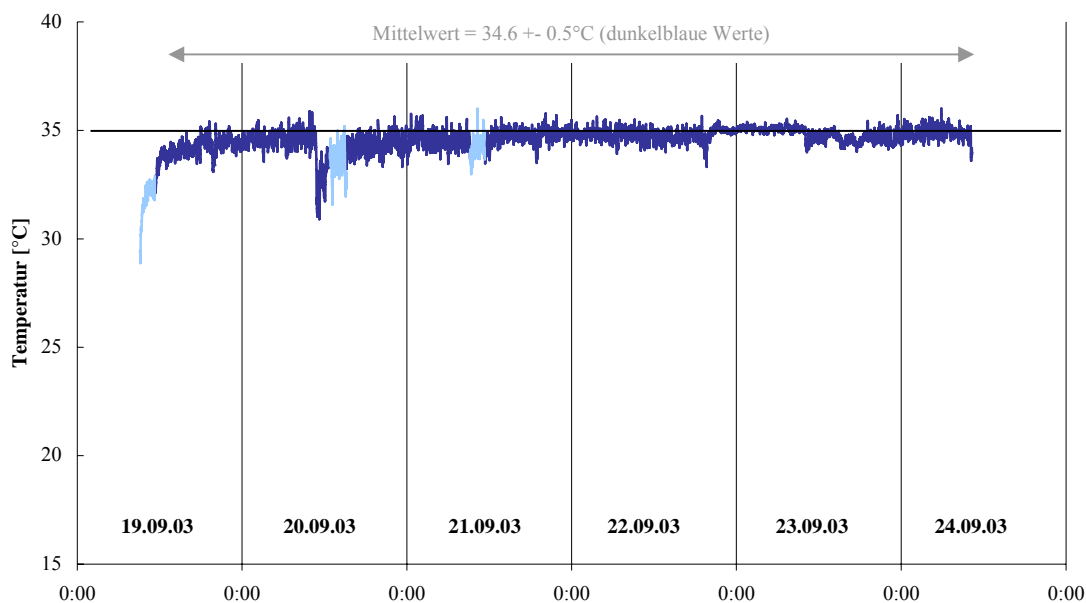
Dargestellt ist der prozentuale Anteil von Bienen, der Thoraxtemperaturen bis 34,5°C hatte (blau) und der Anteil an Bienen, der höhere Thoraxtemperaturen aufwies (orange). Das erste Kreisdiagramm zeigt die Temperaturverteilung von Bienen auf unbehandelter gedeckelter Brut (Kontrolle). Die Verteilung der Thoraxtemperaturen im 1. Versuch unterschied sich signifikant von der der Kontrolle, die Verteilung der Thoraxtemperaturen im 2. und 3. Versuch zeigten keine signifikanten Unterschiede zur Kontrolle.

Zusammenfassend zu der Analyse der Thoraxtemperaturen von Bienen auf toter Brut ist zu sagen, dass in drei von 4 Versuchen keine Unterschiede zu lebender Brut gefunden wurden. Etwa zwei Drittel der Tiere im Brutbereich halten höhere Thoraxtemperaturen als 35°C aufrecht. In einem Versuch (1.Versuch) wärmten die Bienen die Brut nicht, auch mit Wachskegel versehene gedeckelte Zellen wurden nicht gewärmt.

### 3. 4. 4 Die Temperatur von toter gedeckelter Brut im Beobachtungsstock

Als zweiter Aspekt wurde die Lufttemperatur der toten Brut gemessen.

Erneut ist zum Vergleich eine typische Bruttemperaturkurve mit intakten Bienen auf unbehandelte gedeckelte Brut abgebildet (Abb. 33). Der Mittelwert der Temperaturen des dargestellten Zeitraumes lag bei  $34,6 \pm 0,5^\circ\text{C}$  (dunkelblaue Werte). Durch das Entfernen der Isolierung bei den Thermovisionsaufnahmen sank die Bruttemperatur jeweils ab (diese Zeitspannen sind in den Abbildungen in hellblau dargestellt).



**Abb. 33 Lufttemperatur im gedeckelten Brutbereich in einem unmanipulierten Stock: Kontrolle**

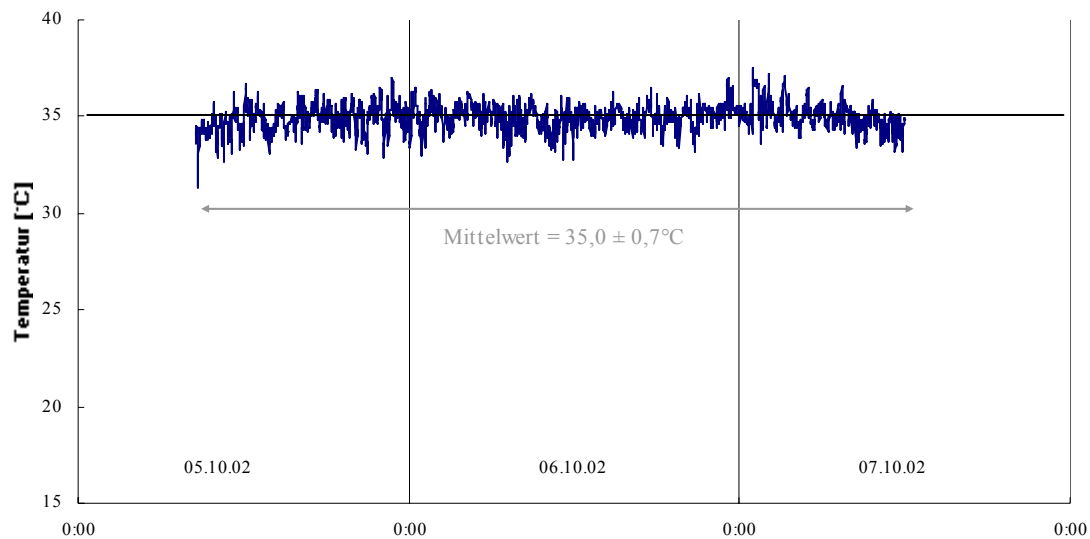
Die Arbeiterinnen und die Brut waren unmanipuliert, die Temperatur lag, solange der Stock isoliert war bei  $34,6 \pm 0,5^\circ\text{C}$  (Darstellung in dunkelblau). Die hellblauen Werte zeigen die Temperaturwerte während der Thermovisionsaufnahmen ohne Stockisolierung. Raumtemperatur  $T_{\text{Raum}} = 25,0 \pm 0,5^\circ\text{C}$ .

Zu den mit Wachskegeln gefüllten Zellen gibt es keine Aufzeichnung der Bruttemperatur, im Stock wurden  $31,1 \pm 0,4^\circ\text{C}$  gemessen.

Im Folgenden werden die drei bereits beschriebenen Versuche mit toter Brut erneut betrachtet, nun liegt das Augenmerk allerdings auf der gemessenen Temperatur der „Brut“:

Im **ersten Versuch** (03.10.2002 bis 10.10.2002) wurde die Lufttemperatur über 176 Stunden in einer leeren Zelle, die von sechs gedeckelten Brutzellen umgeben war gemessen.

Da der Stock in den ersten Tagen immer wieder für die Thermovisionsaufnahmen geöffnet worden war, zeigt Abbildung 34 die Messung der Lufttemperatur erst nach Abschluss der Aufnahmen. Sie lag über 51,5 Stunden lang bei  $35,0 \pm 0,7^\circ\text{C}$ . Danach sank die Temperatur innerhalb von 5 Stunden auf  $16,4^\circ\text{C}$  und innerhalb von 12 Stunden auf  $14^\circ\text{C}$  (nicht dargestellt). Daraufhin wurde die Messung abgebrochen.



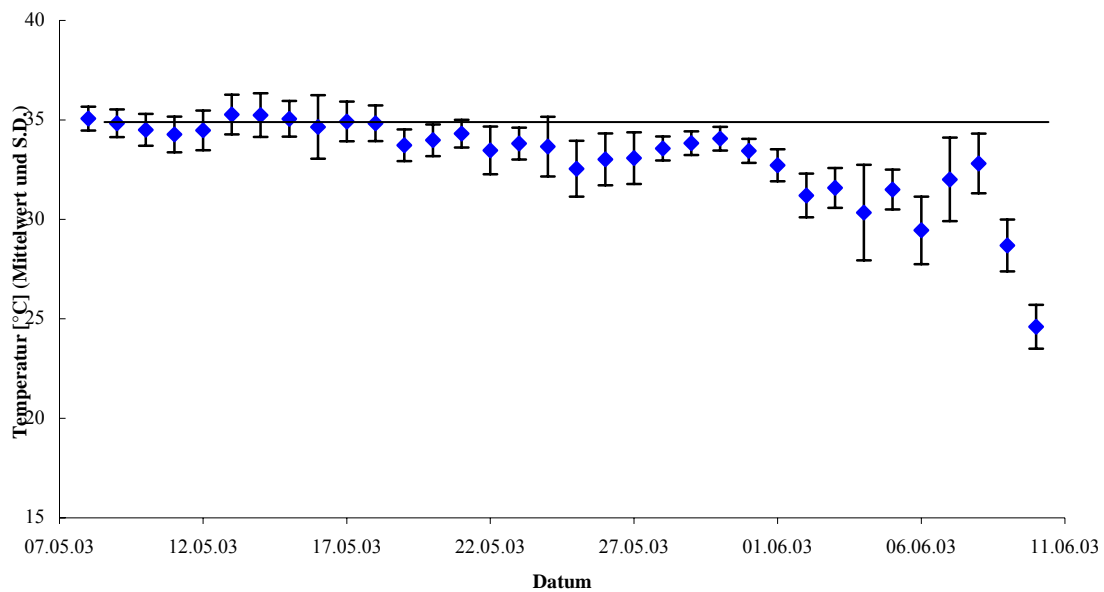
**Abb. 34 Lufttemperatur im abgetöteten gedeckelten Brutbereich: 1. Versuch**

Zwischen dem 05. und 07.10.2002 waren die Bienen nicht gestört worden. Die Lufttemperatur im Brutbereich wurde über 51,5 Stunden auf  $35,0 \pm 0,7^{\circ}\text{C}$  gehalten. Am 07.10.2002 sank die Lufttemperatur auf unter  $15^{\circ}\text{C}$  und stieg und sank im weiteren Verlauf auf Raumtemperaturniveau, was nicht in der Abbildung dargestellt ist. Die Raumtemperatur lag während der dargestellten Zeitspanne von 51,5 Stunden bei  $18,4 \pm 0,4^{\circ}\text{C}$ .

Die Lufttemperatur schwankte etwas stärker um den Temperaturbereich von  $35^{\circ}\text{C}$ , aber im Vergleich zur Temperaturkurve eines unbehandelten Volkes fanden sich keine signifikanten Unterschiede im dargestellten Zeitraum von Abbildung 34 (Mann-Whitney-U-Test,  $p < 0,05$ ).

Im **zweiten Versuch** (08.05.2003 bis 10.06.2003) wurden die Temperaturen im abgetöteten, gedeckelten Brutbereich über 34 Tage aufgenommen. Vom 12.05.2003 bis zum 24.05.2003 wurden zusätzlich täglich die Thoraxtemperaturen der Arbeiterinnen für eine Stunde auf der Brut aufgenommen (siehe vorne). Über den gesamten Zeitraum gesehen lag die mittlere Bruttemperatur bei  $33,1 \pm 2,3^{\circ}\text{C}$ . Da die Temperatur in den letzten Tagen bis auf Raumtemperatur absank, verfälschen die Messungen am Ende der Aufzeichnung die mittlere Bruttemperatur. Abbildung 35 gibt die mittlere Bruttemperatur der einzelnen Tage mit Standardabweichung wieder: Die Abbildung zeigt hohe und konstante Temperaturwerte zu Beginn der Aufzeichnung. In den ersten 10 Tagen lag sie bei  $34,8 \pm 1,0^{\circ}\text{C}$ . Die gefundenen Temperaturwerte in diesem Zeitraum unterscheiden sich nicht von der Temperatur eines unbehandelten Brutfeldes (Mann-Whitney-U-Test,  $p < 0,05$ ). Fasst man die ersten 20 Tage zusammen, so lag die Bruttemperatur bei  $34,2 \pm 1,3^{\circ}\text{C}$ , die Werte in diesem Zeitfenster unterschieden sich nun signifikant von einem unbehandelten Brutbereich (Mann-Whitney-U-Test,  $p < 0,05$ ).

Ausgehend von der Angabe, dass eine Bruttemperatur von  $33\text{--}36^{\circ}\text{C}$  optimal für die Entwicklung der Brut ist (Himmer 1927b, Groh et al. 2004), lagen die mittleren Bruttemperaturen in den ersten 17 Tagen im Optimum, am 18. Tag lagen sie darunter. Vom 19. bis zum 24. Versuchstag lag die Bruttemperatur nochmals im idealen Bereich bevor sie unregelmäßig abfiel und am letzten Versuchstag etwa Raumtemperatur (im gesamten Zeitraum  $T_{\text{Raum}} = 23,4 \pm 2,3^{\circ}\text{C}$ ) erreichte.

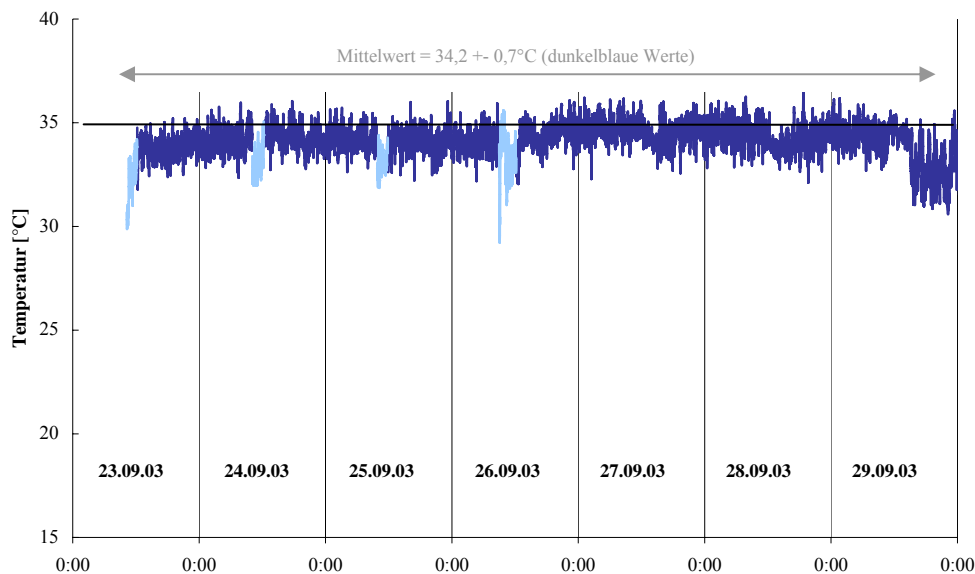


**Abb. 35 Lufttemperatur im abgetöteten, gedeckelten Brutbereich: 2. Versuch**

Es sind die mittleren Bruttemperaturen mit der jeweiligen Standardabweichung über einen Zeitraum von 34 Tagen dargestellt. Raumtemperatur =  $23,4 \pm 2,3^{\circ}\text{C}$ .

Nach der Aufnahme wurde das Brutstück entfernt und untersucht. Die durch Einfrieren abgetöteten Puppen in den gedeckelten Zellen war nach Abschluss es Versuches zusammengeschrumpft, ledern und runzlig, die meisten Puppen hatten eine schwarze Färbung angenommen.

Im **dritten Versuch** (23.09.2003 bis 07.10.2003) wurden die Temperaturen der toten Brut über 15 Tage aufgenommen. Abbildung 36 zeigt die ersten 7 Tage der Aufzeichnung, die mittlere Bruttemperatur lag in dieser Zeit bei  $34,2 \pm 0,7^{\circ}\text{C}$  (bei  $T_{\text{Raum}} = 25,2 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ ). Die gefundenen Temperaturwerte unterschieden sich signifikant von den Temperaturwerten eines unbehandelten Brutbereiches, der als Kontrolle diente (Mann-Whitney-U-Test,  $p > 0,05$ ). Aber auch hier lagen die Werte noch in dem für Puppen optimalen Temperaturbereich zwischen  $33$  und  $36^{\circ}\text{C}$  (Groh et al. 2004).



**Abb. 36 Lufttemperatur im abgetöteten, gedeckelten Brutbereich: 3. Versuch**

Die Temperatur lag, solange der Stock nicht für die Thermovisionsaufnahmen geöffnet worden war bei  $34,2 \pm 0,7^\circ\text{C}$ . Dunkelblaue Werte geben Temperaturen an, während der Stock isoliert war, die hellblauen Werte zeigen die Temperaturwerte, während der Thermovisionsaufnahmen ohne Stockisolierung.  $T_{\text{Raum}} = 25,2 \pm 0,5^\circ\text{C}$ .

Zusammenfassend kann zu diesem Ergebnisabschnitt folgende Aussage gemacht werden: Die Temperatur der toten Brut unterschied sich im **ersten Versuch** nicht von der Temperatur eines Kontrollstockes, im **zweiten Versuch** fanden sich in den ersten 10 Versuchstagen keine signifikanten Temperaturunterschiede zu lebender Brut. Im **dritten Versuch** lag die Bruttemperatur mit durchschnittlich  $34,2 \pm 0,7^\circ\text{C}$  signifikant unter der Bruttemperatur eines Kontrollstockes.

Insgesamt wurden folgende Ergebnisse zum Temperaturverhalten von Bienen auf toter Brut und zu den Temperaturen von toter Brut gefunden (TABELLE 15).

TABELLE 15

Zusammenfassung der Ergebnisse von 3.4.3 und 3.4.4

In drei von vier Fällen unterschieden sich die Thoraxtemperaturen der Bienen auf toter Brut („Thoraxtemperaturen“) nicht von Bienen auf lebender gedeckelter Brut. In zwei von drei Versuchen fanden sich auch keine signifikanten Temperaturunterschiede bei toter und lebender gedeckelter Brut („Bruttemperatur“). Im Vorversuch wurden keine Bruttemperaturen aufgenommen. n.s. = nicht signifikant, \*\* = signifikant, -- = keine Datenaufnahme.

	Thoraxtemperaturen	Bruttemperatur
Vorversuch – Kontrolle	n.s.	--
1. Versuch – Kontrolle	**	n.s.
2. Versuch – Kontrolle	n.s.	n.s.
3. Versuch – Kontrolle	n.s.	**

### 3. 5 Die Bedeutung der Antennen beim Brutwärmen

Die Verhaltensbeobachtungen zeigten, dass Bienen beim Brutwärmen ihre Antennen auf die Brutdeckel drückten. Um die Bedeutung der Antennen bei diesem Verhalten zu entschlüsseln wurden den Bienen Segmente ihrer Antennengeißeln in verschiedener Anzahl entfernt und das (Brutwärme-)Verhalten der Tiere im gedeckelten Brutbereich beobachtet.

#### 3. 5. 1 Bienen mit 5 abgetrennten Antennensegmenten

**Versuch A:** Bienen mit 5 abgetrennten Antennensegmenten hatten im gedeckelten Brutbereich signifikant niedrigere Thoraxtemperaturen ( $31,8 \pm 2,3^\circ\text{C}$  bzw.  $33,5 \pm 1,9^\circ\text{C}$ ) als gleich alte unbehandelte Arbeiterinnen ( $35,3 \pm 3,2^\circ\text{C}$  bzw.  $36,5 \pm 3,0^\circ\text{C}$ ) unter gleichen Bedingungen (Mann-Whitney-U-Test,  $p < 0,05$ ). Außerdem war die Anzahl der behandelten Tiere im Brutbereich niedriger als die Anzahl der unbehandelten Arbeiterinnen, obwohl gleich viele behandelte und unbehandelte Tiere eingesetzt worden waren. Im Durchschnitt befanden sich am 28.04.2002 2,8-mal mehr unbehandelte Tiere auf der Brut als behandelte Tiere, am 30.04.2002 waren es 1,75-mal mehr unbehandelte Bienen.

TABELLE 16

Durchschnittliche Thoraxtemperaturen ( $T_{\text{Thorax}}$ ) sowie Anzahl der Tiere auf gedeckelter Brut bei unterschiedlichen Behandlungsformen. An den beiden Beobachtungstagen, am 28. und 30.04.2002, wurde die Anzahl der Tiere und ihre Thoraxtemperaturen in Anhängigkeit von der Behandlungsform (Bienen mit 5 abgetrennten Antennensegmenten „minus 5“ oder unbehandelt „Kontrolle“ miteinander verglichen. Zu Versuchsbeginn waren von jeder Gruppe 250 Tiere in den Stock gegeben worden. n = Anzahl der Temperaturmesswerte.

Datum	28.04.2002		30.04.2002	
	minus 5	Kontrolle	minus 5	Kontrolle
$T_{\text{Thorax}}$ in $^\circ\text{C}$ MW $\pm$ S.D.	$31,8 \pm 2,3$	$35,3 \pm 3,2$	$33,5 \pm 1,9$	$36,5 \pm 3,0$
Anzahl Tiere auf Brut MW $\pm$ S.D.	$27,8 \pm 4,3$	$79,0 \pm 3,5$	$32,5 \pm 3,3$	$57,5 \pm 4,2$
Messwerte n	n = 362	n = 1027	n = 423	n = 747

Die Tiere, deren Antennen um 5 Glieder gekürzt worden waren, unterschieden sich deutlich in ihrem Verhalten von den unbehandelten Bienen: Sie waren zwar wie die unbehandelten Tiere am im Stock befindlichen Futterteig anzutreffen, versorgten aber nicht die gekäfigte Königin. Während einer zweistündigen Beobachtung befanden sich auf dem Königinnenkäfig zu jeder Zeit unbehandelte Bienen (kurzzeitig ein Tier, sonst zwei bis 6 Tiere). Die Arbeiterinnen hielten sich gewöhnlich über einen längeren Zeitraum auf dem Gitter auf und hielten mit der Königin Kontakt, indem sie Kopf und Antennen zum Gitter gerichtet hatten und ihre Antennen durch die Gitteröffnungen steckten. Während dieses Zeitraums liefen auch einige der

behandelten Bienen über das Gitter, aber nur eine einzige verweilte auf dem Königinnenkäfig für 130s. In dieser Zeit nahm sie allerdings keinen Kontakt zur Königin auf.

Am 30.04.2002 (nach den Aufnahmen, aus denen die oben beschriebenen Ergebnisse resultieren) flogen behandelte und unbehandelte Arbeiterinnen (5 bzw. 6 Tage nach ihrem Schlupf) aus. Die Tiere aus beiden Gruppen fanden zum Stock zurück. Vor dem Stockeingang lehnte eine durchsichtige Plexiglasscheibe (circa 11 x 14cm) als Windschutz. Um in den Stock zu gelangen mussten die Bienen links oder rechts um die Scheibe herumfliegen. Die behandelten Bienen flogen auf Höhe des Fluglochs gegen die Plexiglasscheibe und brauchten mehrere Minuten um den seitlichen Eingang zu finden. Ihrem Verhalten nach orientierten sie sich überwiegend optisch. Selbst hinter der Scheibe liefen sie oft noch ziellos umher, während unbehandelte Bienen direkt den seitlichen Eingang anfliegen und im Flugloch verschwanden. Am 02.05.2002 wurden die Bienen im Stock abgetötet und gezählt. Es wurden 248 unbehandelte und 139 behandelte Bienen gezählt. 77 Bienen waren unmarkiert und wahrscheinlich frisch geschlüpft. Es waren also nur zwei der zu Anfang in den Stock eingesetzten 250 Kontrolltiere verloren gegangen, während von den behandelten Tieren fast die Hälfte fehlte.

Im **Versuch B** waren zu den 250 Tieren mit 5 abgetrennten Antennensegmenten und den 250 unbehandelten Tieren 75 Tiere hinzugefügt worden, denen an jeder Antenne ein Segment fehlte. An den beiden Versuchstagen (08.08.2002 und 10.08.2002) hatten die Bienen mit 5 abgetrennten Segmenten und die Bienen mit einem abgetrennten Segment signifikant niedrigere Thoraxtemperaturen als gleich alte unbehandelte Arbeiterinnen, zwischen den Bienen der beiden behandelten Gruppen fanden sich keine signifikanten Temperaturunterschiede (Kruskal-Wallis-ANOVA, zweiseitig,  $p < 0,001$ ). Die Anzahl der Kontrolltiere war von allen eingesetzten Gruppen immer die höchste (relativ und prozentual zu der eingesetzten Anzahl gesehen).

TABELLE 17

Thoraxtemperaturen ( $T_{\text{Thorax}}$ ) und Anzahl der unterschiedlich behandelten Tiere auf der gedeckelten Brut. An den beiden Beobachtungstagen 08. und 10.08.2002 wurden die Anzahl der Tiere und ihre Thoraxtemperaturen in Abhängigkeit von der Behandlungsform (Bienen mit 5 abgetrennten Antennensegmenten „minus 5“, mit einem abgetrennten Antennensegment „minus 1“, oder unbehandelte Tiere „Kontrolle“) miteinander verglichen. Zu Versuchsbeginn waren von der „minus 5“-Gruppe und von den unbehandelten Bienen 250 Tiere zugesetzt worden, von der „minus 1“-Gruppe befanden sich 75 Tiere im Stock. Da die Gruppengröße unterschiedlich stark war, wurde zusätzlich die Anzahl der Tiere in % in Abhängigkeit von der Gesamtzahl der jeweiligen Gruppe angegeben (Anzahl der Tiere auf der Brut  $MW \pm S.D.$  in %).  $n$  = Anzahl der Temperaturmesswerte.

Datum	08.08.2002			10.08.2002		
	minus 5	minus 1	Kontrolle	minus 5	minus 1	Kontrolle
Anzahl Tiere auf Brut						
MW $\pm$ S.D.	16,5 $\pm$ 3,0	9,1 $\pm$ 2,6	50,5 $\pm$ 5,7	6,6 $\pm$ 1,2	12,1 $\pm$ 3,5	20,2 $\pm$ 2,3
MW $\pm$ S.D. in %	6,6 $\pm$ 1,2	12,1 $\pm$ 3,5	20,2 $\pm$ 2,3	5,5 $\pm$ 1,2	4,0 $\pm$ 2,8	15,7 $\pm$ 1,9
$T_{\text{Thorax}}$ in °C						
MW $\pm$ S.D.	33,8 $\pm$ 1,8	34,0 $\pm$ 1,4	36,9 $\pm$ 2,1	34,5 $\pm$ 1,7	34,3 $\pm$ 1,4	37,1 $\pm$ 2,1
Messwerte n	n = 214	n = 118	n = 656	n = 168	n = 50	n = 511



Bienen, denen an jeder Antenne ein Segment fehlte, waren nur in ihren Thoraxtemperaturen und nicht auf der Verhaltensebene von unbehandelten Tieren zu unterscheiden. Die Bienen versorgten die Königin, sie wurden beim Futtereintrag als Pollenträgerin und beim Schwänzeltanz beobachtet. Die Brut- und Raumtemperatur während dieses Versuches ist in TABELLE 18 dargestellt.

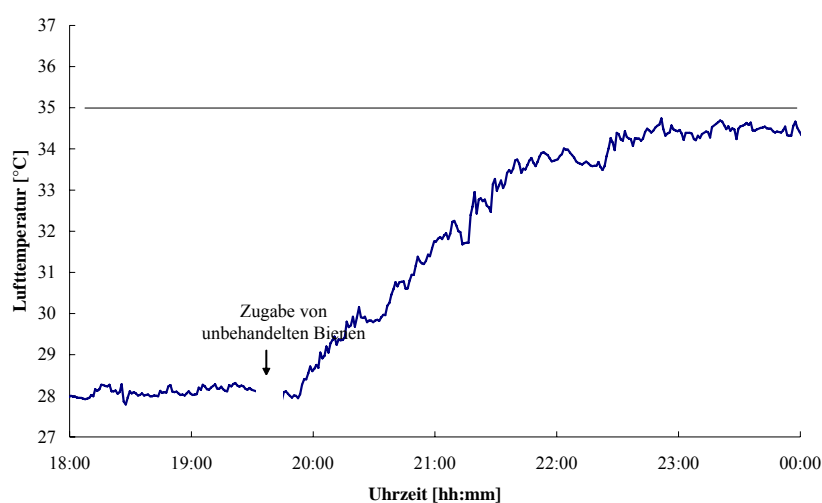
TABELLE 18

Mittlere Brut- ( $T_{\text{Brut}}$ ) und Raumtemperatur ( $T_{\text{Raum}}$ ) im Versuchszeitraum (es ist jeweils der Mittelwert mit Standardabweichung über 24h angegeben,  $n = 1440$  Temperaturwerte pro Tag). Die Bruttemperatur lag an allen Tagen im optimalen Bereich, die Raumtemperatur schwankte zwischen 22,5 und 24,3°C.

Datum	08.08.2002	09.08.2002	10.08.2002	13.08.2002
$T_{\text{Brut}}$ in °C	$34,4 \pm 0,5$	$34,6 \pm 0,6$	$35,0 \pm 0,5$	$34,6 \pm 0,5$
$T_{\text{Raum}}$ in °C	$24,3 \pm 0,3$	$23,3 \pm 0,4$	$22,5 \pm 0,4$	$23,2 \pm 0,6$

### 3. 5. 2 Bienen mit einem amputierten Antennenglied an beiden Antennen

**Versuch C:** Am 09.09 und 10.09.2002 wurde das Brutwärmeverhalten von Bienen getestet, denen an jeder Antenne ein Segment fehlte. Am 08.09.2002 wurden 400 behandelte Bienen in den Beobachtungsstock mit Brut eingesetzt. So behandelte Bienen hatten im Versuch B keine Verhaltensauffälligkeiten gezeigt, besaßen allerdings signifikant niedrigere Thoraxtemperaturen als Bienen der Kontrollgruppe. Nun wurde zu Beginn die Bruttemperatur von den Bienen so ungenügend reguliert (siehe TABELLE 19), dass am 08.09.2002 um 19:30Uhr 120 unbehandelte Bienen zugesetzt wurden. Abbildung 37 zeigt den Anstieg der Bruttemperatur durch die Zugabe der unbehandelten Bienen. Innerhalb von zwei Stunden stieg die Temperatur im Brutbereich über 34,5°C an und wurde in den folgenden 10,5 Stunden bei  $34,6 \pm 0,2^\circ\text{C}$  gehalten.



**Abb. 37 Lufttemperatur im Brutbereich nach Zugabe von unbehandelten Bienen am 08.09.2002**

Die Temperatur wurde in einer leeren Zelle im Brutbereich gemessen. Mit dem Zusetzen von unbehandelten Bienen um 19:30Uhr, stieg die Temperatur im Anschluss stetig an und verblieb auf hohem Niveau. Während der Zugabe der Bienen erfolgte keine Temperaturdatenaufnahme.

TABELLE 19

Mittlere Brut- ( $T_{\text{Brut}}$ ) und Raumtemperatur ( $T_{\text{Raum}}$ ) im Versuchszeitraum (es ist jeweils der Mittelwert mit Standardabweichung über 24h angegeben,  $n = 1440$  Temperaturwerte pro Tag; am 08.09.2002 ergeben entsprechend der angegebenen Uhrzeit weniger Temperaturwerte den Mittelwert). Vor Zugabe der unbehandelten Bienen um 19:30Uhr war die Bruttemperatur zu niedrig. Erst mit der Zugabe von unbehandelten Tieren am 08.09.2002 stieg die Bruttemperatur an.

Datum	08.09.2002 vor 19:30	08.09.2002 nach 19:30	09.09.2002	10.09.2002
$T_{\text{Brut}} [^{\circ}\text{C}]$	$27,5 \pm 0,5$	$32,6 \pm 2,1$	$34,7 \pm 0,5$	$34,7 \pm 0,3$
$T_{\text{Raum}} [^{\circ}\text{C}]$	$22,3 \pm 0,2$	$22,5 \pm 0,1$	$23,8 \pm 0,6$	$23,7 \pm 0,6$

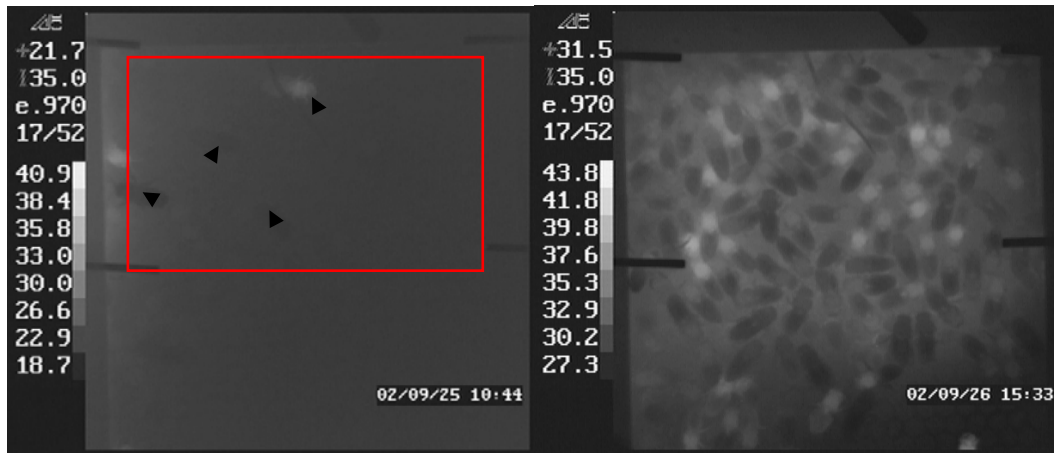
Erst als die Bruttemperatur im optimalen Bereich lag, wurden Thermovisionsaufnahmen von den Arbeiterinnen aufgenommen (siehe TABELLE 20). Die Analyse der Aufnahmen zeigte, dass die Bienen mit fehlender Antennenspitze sich in ihren Thoraxtemperaturen signifikant von unbehandelten Bienen unterschieden (Mann-Whitney-U-Test, zweiseitig,  $p < 0,05$ ).

TABELLE 20

An beiden Beobachtungstagen (09.10. und 10.09.2002) wurde die Anzahl und die Thoraxtemperatur der Tiere in Anhängigkeit von der Behandlungsform (mit einem abgetrennten Antennensegment „minus 1“ oder unbehandelt „Kontrolle“) miteinander verglichen. Es befanden sich 400 behandelte Bienen und 120 Kontrollbienen im Beobachtungsstock.

Datum	09.09.2002		10.09.2002	
	minus 1	Kontrolle	minus 1	Kontrolle
Anzahl Tiere auf Brut				
MW $\pm$ S.D.	$36,2 \pm 2,7$	$24,7 \pm 3,7$	$38,3 \pm 4,6$	$14,1 \pm 3,1$
MW $\pm$ S.D. in %	$9,1 \pm 0,7$	$20,6 \pm 3,1$	$9,6 \pm 1,1$	$11,7 \pm 2,6$
$T_{\text{Thorax}}$ in $^{\circ}\text{C}$				
MW $\pm$ S.D.	$35,0 \pm 1,4$	$37,5 \pm 1,6$	$35,1 \pm 1,2$	$37,0 \pm 1,6$
Messwerte n	n = 471	n = 321	n = 498	n = 183

Im **Versuch D** wurden zu den 400 Bienen, denen an beiden Antennen ein Segment fehlte, weitere 100 Bienen gegeben, denen nur an einer Antenne ein Segment fehlte, da die behandelten Bienen den Brutbereich mieden und die Bruttemperatur bei etwa  $26^{\circ}\text{C}$  lag (Abb. 38a). Die Bruttemperatur stieg aber auch nicht durch die Zugabe der 100 Bienen, denen ein Segment nur einer Antenne fehlte an. Deswegen wurden am 24.09.2002 noch 15 unbehandelte Tiere in den Beobachtungsstock gegeben. Wie sich dadurch die Bruttemperatur änderte ist in Abbildung 39 zu verfolgen. Abbildung 38a zeigt den nun besetzten Brutbereich nach Zugabe der unbehandelten Tiere.



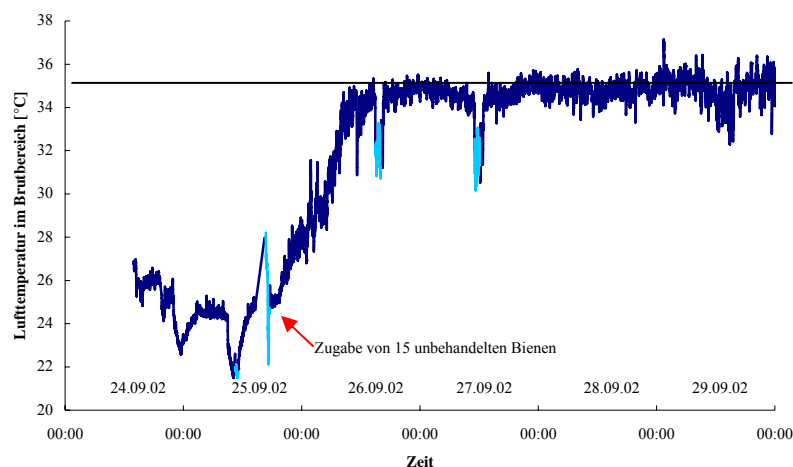
### Abb. 38a Unbesuchter gedeckelter Brutbereich

Das Thermovisionsbild zeigt den unterkühlten gedeckelten Brutbereich (grob mit rotem Rechteck gekennzeichnet,  $T_{\text{Brut}} = 21,7^\circ\text{C}$  bei  $T_{\text{Raum}} = 20,1^\circ\text{C}$ ), vereinzelt laufen kühle Bienen darauf herum (Pfeile).

### Abb. 38b Gedeckelter Brutbereich mit Arbeiterinnen

Der Brutbereich ist von Arbeiterinnen besucht, viele wärmen aktiv die Brut. Der Thorax der wärmsten Biene im Bild hat  $40,3^\circ\text{C}$ , die mittlere Thoraxtemperatur liegt hier bei  $34,6 \pm 2,4^\circ\text{C}$ .  $T_{\text{Brut}} = 31,9^\circ\text{C}$  (durch das Öffnen der Isolierung abgesunken). Zu beachten ist die höhere Maximaltemperatur im Vergleich zu Abbildung 38a, d. h. die gleichen Graustufen zeigen in Abbildung 38b höhere Temperaturen an.

Vor dem Zusetzen der unbehandelten Bienen besuchten die Arbeiterinnen mit gekürzten Antennen die Brut vorerst überhaupt nicht (Abb. 38a), unabhängig davon ob ihnen die Antennenspitze von nur einer Antenne oder von beiden Antennen entfernt worden waren. Sie gruppierten sich fast ausschließlich um die gekäfigte Königin (nicht in Abbildung 38 ersichtlich), nur einzelne Bienen liefen auf der Brut umher. Zwei Brutzellen wurden geöffnet. Die Temperatur stieg nach Zugabe von 15 unbehandelten Tieren an, und es dauerte 12 Stunden und 40min bis zum ersten Mal eine Bruttemperatur von über  $34^\circ\text{C}$  erreicht wurde. In den nächsten 90 Stunden wurde die Bruttemperatur bei  $34,7 \pm 0,7^\circ\text{C}$  gehalten.



**Abb. 39 Lufttemperatur im Brutbereich vom 24.09. - 29.09.2002.** Zu Beginn waren nur behandelte Bienen im Beobachtungsstock, dann wurden 15 unbehandelte Bienen zugegeben (roter Pfeil). Daraufhin stieg die Lufttemperatur im Brutbereich langsam an. Die hellblauen Werte geben die Bruttemperatur während der Thermovisionaufnahmen ohne Stockisolierung an.

Die Temperaturveränderung im Zeitverlauf durch die dazugegebenen unbehandelten Bienen ist in TABELLE 21 dargestellt.

TABELLE 21

Mittlere Brut- ( $T_{\text{Brut}}$ ) und Raumtemperatur ( $T_{\text{Raum}}$ ) im Versuchszeitraum (es ist jeweils der Mittelwert mit Standardabweichung über 24h angegeben,  $n = 1440$  Temperaturwerte pro Tag; am 24.09.2002 ergeben entsprechend der angegebenen Uhrzeit weniger Temperaturwerte den Mittelwert). Vor Zugabe der unbehandelten Bienen um 19:30Uhr war die Bruttemperatur zu niedrig. Erst die Zugabe der unbehandelten Tiere ließ die Bruttemperatur langsam ansteigen.

Datum	24.09.2002 vor 19.30	24.09.2002 nach 19:30	25.09.2002	26.09.2002	27.09.2002	28.09.2002
$T_{\text{Brut}}$ in °C	25,9 ± 0,3	24,3 ± 1,0	24,8 ± 1,6	32,7 ± 2,4	34,4 ± 0,9	34,8 ± 0,4
$T_{\text{Raum}}$ in °C	21,0 ± 0,4	20,7 ± 0,3	19,7 ± 0,6	20,0 ± 1,8	19,3 ± 0,8	18,2 ± 0,3

Am 26. und 27.09.2002 wurden Thermovisionsaufnahmen von den Arbeiterinnen auf der Brut aufgezeichnet. Die Analyse vom 26.09.2002 ergab, dass die Thoraxtemperaturen der Tiere mit fehlender Spitze an beiden Antennen „minus 1“ signifikant niedrigere Thoraxtemperaturen aufwiesen als die Kontrolltiere. Zwischen den Kontrollbienen und Bienen, denen nur die Spitze einer Antenne entfernt worden war „minus 1Spitze“ fanden sich keine signifikanten Unterschiede in den Thoraxtemperaturen. Zwischen der „minus 1“-Gruppe und der „minus 1Spitze“-Gruppe fanden sich wiederum signifikante Temperaturunterschiede (Kruskal-Wallis-ANOVA,  $p > 0,001$ ).

TABELLE 22

Thoraxtemperaturen ( $T_{\text{Thorax}}$ ) und Anzahl der unterschiedlich behandelten Tiere auf gedeckelter Brut. An den beiden Beobachtungstagen 26. und 27.09.2002 wurden die Anzahl der Tiere und ihre Thoraxtemperaturen in Abhängigkeit von der Behandlungsform (Bienen mit 1 abgetrennten Antennensegment „minus 1“ an beiden Antennen, mit einer abgetrennten Antennenspitze „minus 1Spitze“ an einer Antenne, oder unbehandelte Tiere „Kontrolle“ miteinander verglichen. Zu Versuchsbeginn waren von der „minus 1“-Gruppe 400 Tiere zugesetzt worden, von der „minus 1Spitze“-Gruppe befanden sich 100 Tiere im Stock. Wie beschrieben wurden dann noch 15 unbehandelte Tiere zugesetzt. Da die Gruppengröße unterschiedlich stark war, wurde zusätzlich die Anzahl der Tiere in % in Abhängigkeit von der Gesamtzahl der jeweiligen Gruppe angegeben (Anzahl der Tiere auf der Brut MW ± S.D. in %).

Datum	26.09.2002			27.09.2002		
	minus 1	minus 1Spitze	Kontrolle	minus 1	minus 1Spitze	Kontrolle
Anzahl Tiere auf Brut MW ± S.D.	32,1 ± 6,5	18,7 ± 3,1	3,3 ± 1,4	32,3 ± 7,7	14,3 ± 4,0	2,9 ± 1,5
MW ± S.D. in %	8,0 ± 1,6	18,7 ± 3,1	22,2 ± 9,1	8,1 ± 1,9	14,3 ± 4,0	19,4 ± 10,0
$T_{\text{Thorax}}$ in °C MW ± S.D.	33,2 ± 2,1	35,0 ± 2,3	35,7 ± 2,6	31,7 ± 2,6	33,8 ± 2,6	35,8 ± 2,9
Messwerte n	n = 412	n = 242	n = 46	n = 338	n = 171	n = 35

Am 27.09.2002 ergab die Analyse signifikante Temperaturunterschiede in allen Versuchsgruppen, wobei die Bienen mit beiden fehlenden Antennenspitzen die niedrigsten Thoraxtemperaturen aufwiesen und die unbehandelten Bienen die höchsten Thoraxtemperaturwerte innehatten (Kruskal-Wallis-ANOVA,  $p < 0,001$ ).

Die Brut wurde aber nur dann von Bienen mit amputierten Antennen vernachlässigt, wenn die Beobachtungsstöcke von Versuchsbeginn an bei Raumtemperatur gehalten wurden. In den weiteren Versuchen wurden die Tiere zu Versuchsbeginn mit dem Beobachtungsstock im Wärmeschrank aufbewahrt. Dann besetzten die Bienen die Brut. Wurde der Beobachtungsstock im Folgenden für die Thermovisionsaufnahmen bei Raumtemperatur aufbewahrt hielten die Bienen die Bruttemperatur meist im optimalen Bereich (Ausnahme: Bienen der Gruppe „beide 5“, siehe TABELLE 23).

TABELLE 23 zeigt die Ergebnisse von drei Versuchsreihen, die jeweils über drei Tage beobachtet wurden. Es wurde entweder an beiden Antennen ein Segment abgeschnitten (Versuch vom 11. bis 13.09.2003), es wurden an beiden Antennen fünf Segmente entfernt (Versuch vom 12. bis 14.09.2003) und es wurde eine Kontrollgruppe getestet (Versuch vom 19. bis 21.09.2003). Die Gruppen bestanden jeweils aus einheitlichen Gruppen mit 400 Individuen ohne Königin. Mit der Zunahme der fehlenden Antennensegmente sank die mittlere Thoraxtemperatur der Bienen. Die niedrigsten Thoraxtemperaturen hatten Tiere, deren Antennen jeweils um 5 Segmente gekürzt worden waren. Diese Tiere zeigten kein Brutwärmeverhalten mehr, am wärmsten waren die Kontrolltiere (Kruskal-Wallis-ANOVA,  $p < 0,001$ ).

TABELLE 23

Mittlere Thoraxtemperaturen von Bienen ( $T_{\text{Thorax}}$  [°C]), denen an beiden Antennen ein Segment „beide1“ oder an beiden Antennen 5 Segmente „beide5“ entfernt worden waren. Die Bienen der Kontrollgruppe „Kontrolle“ blieben unbehandelt. Je mehr Antennensegmente den Bienen fehlten, desto niedriger war ihre mittlere Thoraxtemperatur. n = Anzahl der Temperaturmesswerte.

Behandlungsform	beide1	beide5	Kontrolle
$T_{\text{Thorax}}$ [°C], Tag 1	$33,1 \pm 2,1$ (n = 531)	$28,8 \pm 2,0$ (n = 269)	$35,7 \pm 1,6$ (n = 797)
$T_{\text{Thorax}}$ [°C], Tag 2	$34,6 \pm 1,9$ (n = 621)	$30,2 \pm 2,7$ (n = 300)	$36,3 \pm 1,7$ (n = 647)
$T_{\text{Thorax}}$ [°C], Tag 3	$34,7 \pm 2,0$ (n = 564)	$30,1 \pm 2,2$ (n = 284)	$36,4 \pm 1,8$ (n = 590)

Zusammenfassend zu den Amputationsversuchen lässt sich bis jetzt sagen: Mit den Versuchen C und D wird deutlich, dass unbehandelten Bienen einen sehr großen Einfluss auf die Thermoregulation im Brutbereich haben.

Während im **Versuch A und B** noch 250 unbehandelte Bienen seit Versuchsbeginn dabei waren und die Temperatur im Brutbereich über die Versuchstage konstant und im optimalen Bereich lag, befanden sich zu Beginn von **Versuch C** nur manipulierte Bienen. Diese Tiere hielten die Bruttemperatur nicht im optimalen Bereich (mittlere Bruttemperatur  $27,5 \pm 0,5^\circ\text{C}$ ). Erst durch die Zugabe von 120 Bienen (etwa 23% der dann im Stock befindlichen Bienen) um 19:30Uhr stieg die Bruttemperatur kontinuierlich an (mittlere Bruttemperatur bis Mitternacht  $32,6 \pm 2,1^\circ\text{C}$ ) und erreichte eine optimale Bruttemperatur, die in den nächsten beiden Tagen bei  $34,7 \pm 0,5^\circ\text{C}$  und  $34,7 \pm 0,3^\circ\text{C}$  lag. Auch darüber hinaus wurde die Bruttemperatur hoch und konstant gehalten (nicht dargestellt). Zu Beginn von **Versuch D** waren wiederum nur manipulierte Bienen beteiligt, sie regulierten die Brut ebenfalls nicht optimal (Bruttemperatur

$25,9 \pm 0,3^{\circ}\text{C}$ ). Durch die Zugabe von 15 unbehandelten Bienen (das sind nicht einmal 3% der im Stock befindlichen Bienen) stieg die Temperatur langsam an und erreichte am 27.09.2002 eine optimale mittlere Bruttemperatur von  $34,4 \pm 0,9^{\circ}\text{C}$ , die auch in den folgenden Tagen gehalten wurde. Bereits im Laufe des Vormittags des 26.09.2002 erreichte die Brut optimale Temperaturwerte. Der oben angegebene Mittelwert von  $32,7 \pm 2,4^{\circ}\text{C}$  wurde vor allem durch die in der Nacht noch kühleren Temperaturen nach unten gedrückt.

Selbst der Verlust der Antennenspitze, der andere Verhaltensweisen nicht maßgeblich beeinflusst hat, führte bereits zu signifikanten Wärmeeinbußen. Wurden mehrere Segmente der Antennengeißel entfernt, waren auch andere sozial relevante Verhaltensweisen betroffen. Die Anzahl der verlorenen Antennensegmente korrelierte direkt mit dem Verlust der Fähigkeit zur Bruttemperierung.

Im Folgenden wurde weiter untersucht, ob die Bruttemperatur nicht von der *Anzahl* der abgetrennten Antennensegmente, sondern auch von der *Amputationsseite* abhing.

### 3. 5. 3 Asymmetrische Abtrennung von Antennensegmenten

Durch die asymmetrische Abtrennung von Antennensegmenten sollte ermittelt werden, ob eine einseitige Verkürzung entweder der linken oder rechten Antenne einer Biene unterschiedliche Auswirkungen auf das (Wärme-)Verhalten von Arbeiterinnen auf gedeckelter Brut hatte.

In verschiedenen Durchläufen wurden Bienengruppen mit fehlenden Antennensegmenten auf der linken oder auf der rechten Seite untersucht. Die Anzahl der amputierten Antennensegmente war entweder eins oder fünf. Außerdem wurde eine Gruppe mit intakten Antennen beobachtet und analysiert. Die gedeckelte Brut im Versuchskasten war jeweils unbehandelt. TABELLE 24 zeigt die durchschnittlichen Thoraxtemperaturen der verschieden behandelten Bienen auf der Brut.

TABELLE 24

Es sind die Thoraxtemperaturen  $T_{\text{Thorax}}$  der unterschiedlich behandelten Bienen aufgelistet (angegeben ist jeweils die Anzahl fehlender Antennensegmente der Versuchsbienen, MW  $\pm$  S.D. über drei Versuchstage).

Behandlungsform	links1	rechts1	links5	rechts5	Kontrolle
$T_{\text{Thorax}}$ [°C], Tag 1	35,7 $\pm$ 1,4	34,7 $\pm$ 2,0	35,2 $\pm$ 1,4	34,3 $\pm$ 1,8	35,7 $\pm$ 1,6
$T_{\text{Thorax}}$ [°C], Tag 2	35,4 $\pm$ 1,7	35,1 $\pm$ 1,6	35,9 $\pm$ 1,5	34,9 $\pm$ 1,8	36,3 $\pm$ 1,7
$T_{\text{Thorax}}$ [°C], Tag 3	35,1 $\pm$ 1,9	36,3 $\pm$ 1,8	35,4 $\pm$ 1,8	34,4 $\pm$ 1,7	36,4 $\pm$ 1,8

TABELLE 25 zeigt die statistische Auswertung des Versuches. Es wurden die Ergebnisse der unterschiedlichen Behandlungsformen untereinander verglichen (ANOVA mit Post Hoc-Test: Tukey-HSD-Test, Statistica 0.7 für Windows, 2004). Am ersten und zweiten Tag waren die Bienen, denen links Antennensegmente fehlten signifikant wärmer als Bienen, denen rechts Antennensegmente abgetrennt worden waren. Dieser Unterschied ist am dritten Tag nicht mehr vorhanden. In allen Fällen hatten die unbehandelten Bienen die höchsten durchschnittlichen Thoraxtemperaturen.

TABELLE 25

Vergleich der Thoraxtemperaturen der verschieden behandelten Bienen an den drei Versuchstagen. Die Bienen mit den verschiedenen Behandlungen wurden untereinander verglichen. Bienen, denen die linke Antenne gekürzt worden war, hatten an den ersten beiden Tagen jeweils signifikant höhere Thoraxtemperaturen als Bienen, denen die rechte Antenne gekürzt worden war. Am dritten Tag wurde dieser Unterschied nicht mehr gefunden. (ANOVA mit Post Hoc-Test: Tukey-HSD-Test  $p < 0,001$ ). n.s. = nicht signifikant, \*\* = signifikant, leere Tabellenfelder wurden nicht getestet.

Behandlungsform	links1 Tag1	links1 Tag2	links1 Tag3	links5 Tag1	links5 Tag2	links5 Tag3
rechts1 Tag1	**					
rechts1 Tag2		**				
rechts1 Tag3			n.s.			
rechts5 Tag1				**		
rechts5 Tag2					**	
rechts5 Tag3						n.s.
Kontrolle Tag1	**	**	**	n.s.	**	**
Kontrolle Tag2	**	**	**	**	**	**
Kontrolle Tag3	**	**	**	**	**	**

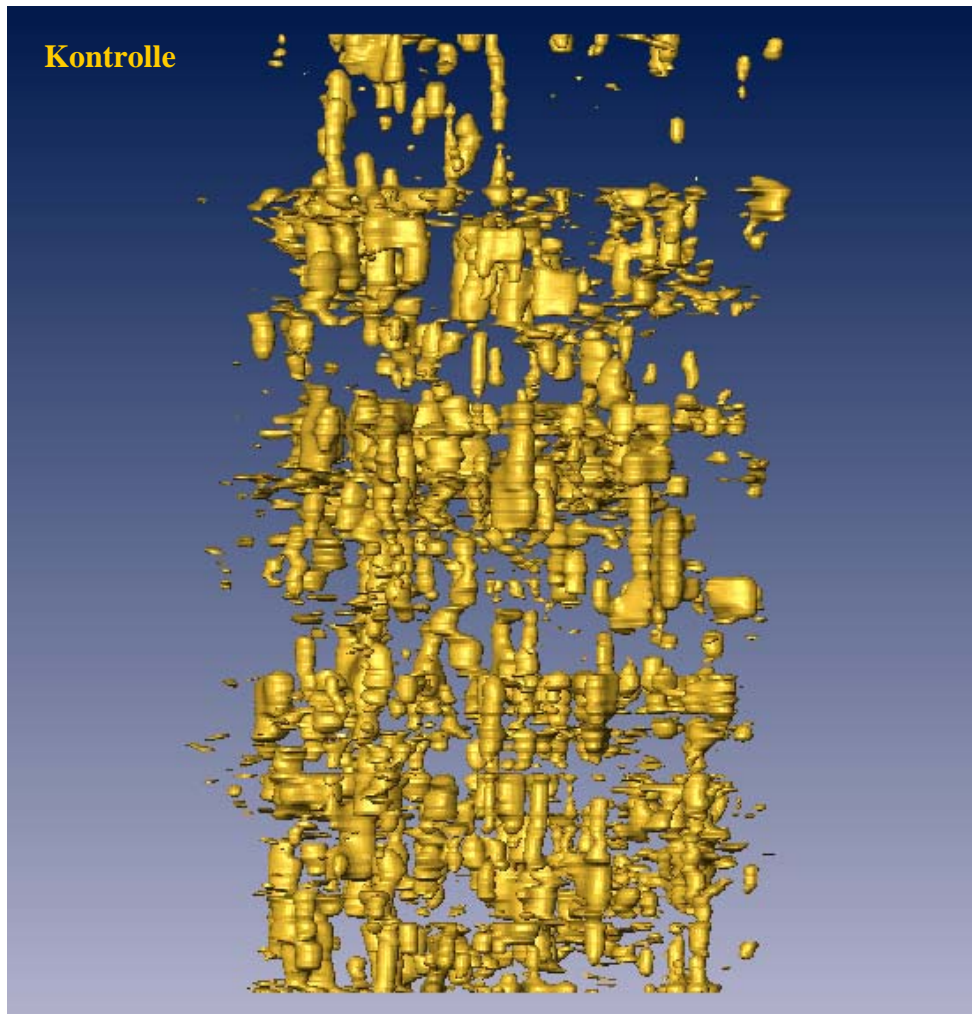
Bienen, denen eine Antennenspitze fehlte, verhielten sich ebenfalls ruhig auf der Brut und hatten ebenfalls hohe Thoraxtemperaturen, diese waren aber niedriger als bei den Kontrollbienen. Bienen, denen 5 Antennensegmente an beiden Antennen fehlten suchten die Brut kaum auf, und verweilten auch nicht über einen längeren Zeitraum auf der Brut. Verfolgt man das Verhalten einer Versuchsgruppe über drei Tage, wird deutlich, dass die Bienen mit zunehmendem Alter besseres Heizverhalten zeigen. Selbst die Bienen, denen an beiden Antennen 5 Segmente fehlten zeigten ansatzweise ein Brutwärmeverhalten am dritten Versuchstag. Die anderen Versuchsgruppen wurden mit dem Älterwerden der Bienen aber auch unruhiger, da die Bienen nicht die Möglichkeit des Ausfliegens hatten und auch keine Königin im Stock anwesend war.



### 3. 6 Graphische Darstellung des Brutwärmens

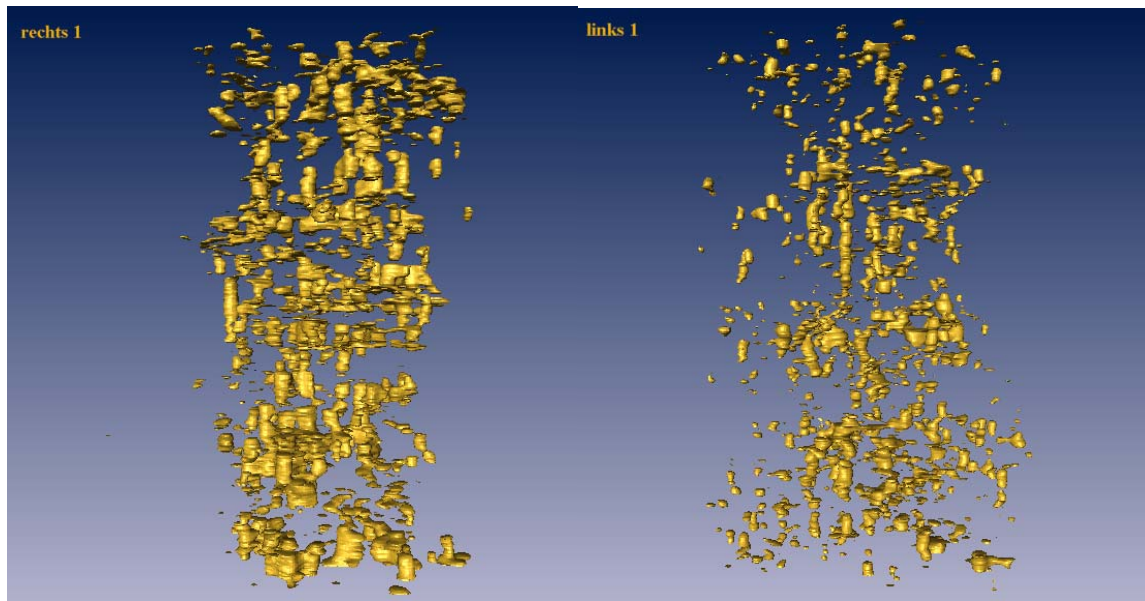
#### 3. 6. 1 Zeitlicher Aspekt

Die graphische Darstellung der Bienen, über eine längere Zeitspanne zeigte, dass sich viele der unbehandelten Kontrollbienen über einen längeren Zeitraum kaum bewegten und hohe Thoraxtemperaturen aufrecht hielten (in Abbildung 40 lange gerade Säulen, mit breitem Durchmesser). Die hohen Temperaturen sind nur im gedeckelten Brutbereich zu finden (im zentralen Bereich der Abbildung).



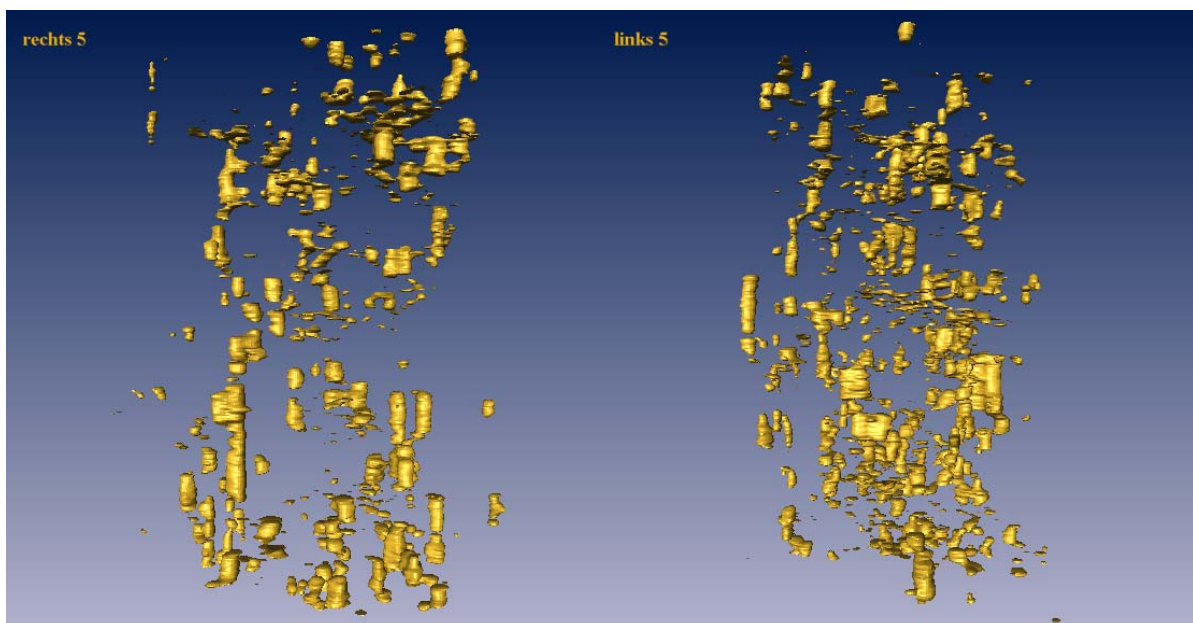
**Abb. 40 Illustration des Wärmeverhaltens: unbehandelte Bienen auf Brutwabe**

Dargestellt sind die Thoraxtemperaturen von Bienen über  $35^{\circ}\text{C}$  über einen Zeitraum von einer Stunde. Einzelne Säulen stammen von individuellen Bienen, die sich über einen längeren Zeitraum nicht bewegt haben und wahrscheinlich Brutwärmeverhalten zeigen. Bei dieser Darstellung von unbehandelten Bienen sind viele Säulen erkennbar, d. h. viele Arbeiterinnen waren mit Brutwärmern beschäftigt. Im gesamten Brutbereich befanden sich warme Bienen, besser ersichtlicher in Abbildung 45.



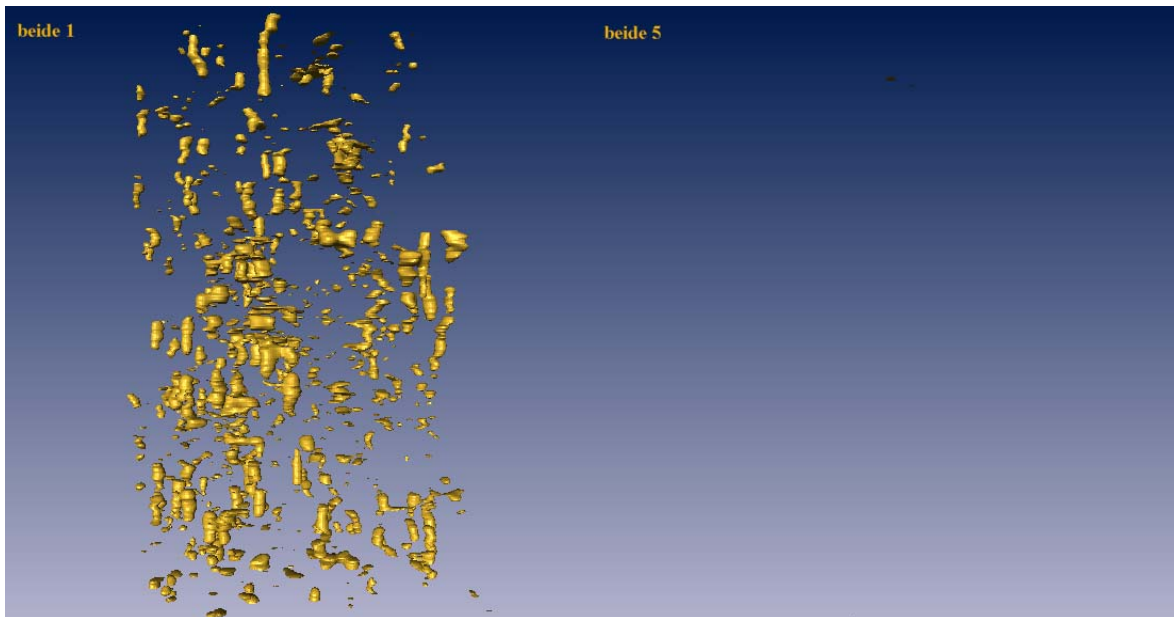
**Abb. 41 Illustration des Wärmeverhaltens: ein fehlendes Antennensegment einseitig**

Vergleich von Bienen, denen entweder rechts oder links ein Antennensegment fehlte. Aufzeichnung von jeweils einem Versuchstag. Links zeigten relativ viele Bienen Brutwärmeverhalten, die Zeiträume waren aber kürzer als bei den unbehandelten Bienen. Rechts wurden ebenfalls viele warme Bienen beobachtet, aber es konnte viel seltener als Brutwärmeverhalten definiert werden. Nur wenige Tiere verharrten länger warm an einem Platz.



**Abb. 42 Illustration des Wärmeverhaltens: 5 fehlende Antennensegmente einseitig**

Den Tieren fehlten in diesem Versuchsaufbau entweder rechts oder links 5 Antennensegmente. Die Zahl der warmen Tiere über 35°C ist in beiden Teilabbildungen geringer als in Abbildung 40 und 41. Trotzdem sind weiterhin Brut wärmende Arbeiterinnen auszumachen. In der rechten Teilabbildung sind außerdem mehr Bienen, die warm über den Brutbereich liefen, als Scheiben auszumachen. Diese Tiere zeigten kein Brutwärmeverhalten.



**Abb. 43 Illustration des Wärmeverhaltens: 1 bzw. 5 fehlende(s) Antennensegment(e) beidseitig**  
 Darstellung der Bienen mit Thoraxtemperaturen über 35°C. In der linken Teilabbildung hatten die Tiere an beiden Antennen ein Segment eingebüßt, rechts fehlten den Arbeiterinnen 5 Segmente. Brutwärmeverhalten ist bei „beide 1“ eingeschränkt, die Brut wärmenden Tiere verweilen kürzer als unbehandelte Bienen. Arbeiterinnen, denen je 5 Segmente fehlten zeigten kein aktives Brutwärmeverhalten, kaum ein Tier hatte Thoraxtemperaturen über 35°C.



**Abb. 44 Illustration des Wärmeverhaltens: unbehandelte Bienen auf leerer Wabe**  
 Obwohl viele warme Bienen mit Thoraxtemperaturen über 35°C über die Wabe liefen, zeigten die unbehandelten Bienen auf dieser leeren Wabe erwartungsgemäß kein Brutwärmeverhalten. Die vielen nicht zusammenhängenden Scheiben symbolisieren die Bienen, wie sie sich fortwährend in Bewegung befanden.

In dieser Animation sollte die Dynamik des Wärmeverhaltens über einen längeren Zeitraum graphisch dargestellt werden.

In den Abbildungen 40 bis 44 zeigt das Verhalten der Bienen mit unterschiedlich behandelten Antennen. Die meisten Tiere sind im Brutbereich der Kontrolltiere über 35°C warm. Hier sind viele Säulen zu erkennen, also zeigten viele Bienen Brutwärmeverhalten, in dem sie sich mit warmen Thorax über einen längeren Zeitraum an einer Stelle aufhalten. Die Säulenbildung nimmt mit der Anzahl der abgetrennten Antennensegmente ab. Auch die Anzahl der warmen Tiere sinkt allmählich und erreicht ihren tiefsten Stand bei den Arbeiterinnen, die an beiden Antennen 5 Segmente eingebüßt hatten. Da diese Tiere kaum Thoraxtemperaturen über 35°C aufwiesen erscheinen die vorhandenen Bienen in dieser Darstellung nicht.

### 3. 6. 2 Räumlicher Aspekt

In einer zweiten Darstellung (Abb. 45) wurden die 360 Einzelbilder eines Versuchsdurchganges übereinander projiziert und von „oben“ betrachtet. Dabei wurden alle Temperaturen über 35°C dargestellt, wodurch die räumliche Verteilung der Bienen sichtbar wurde.

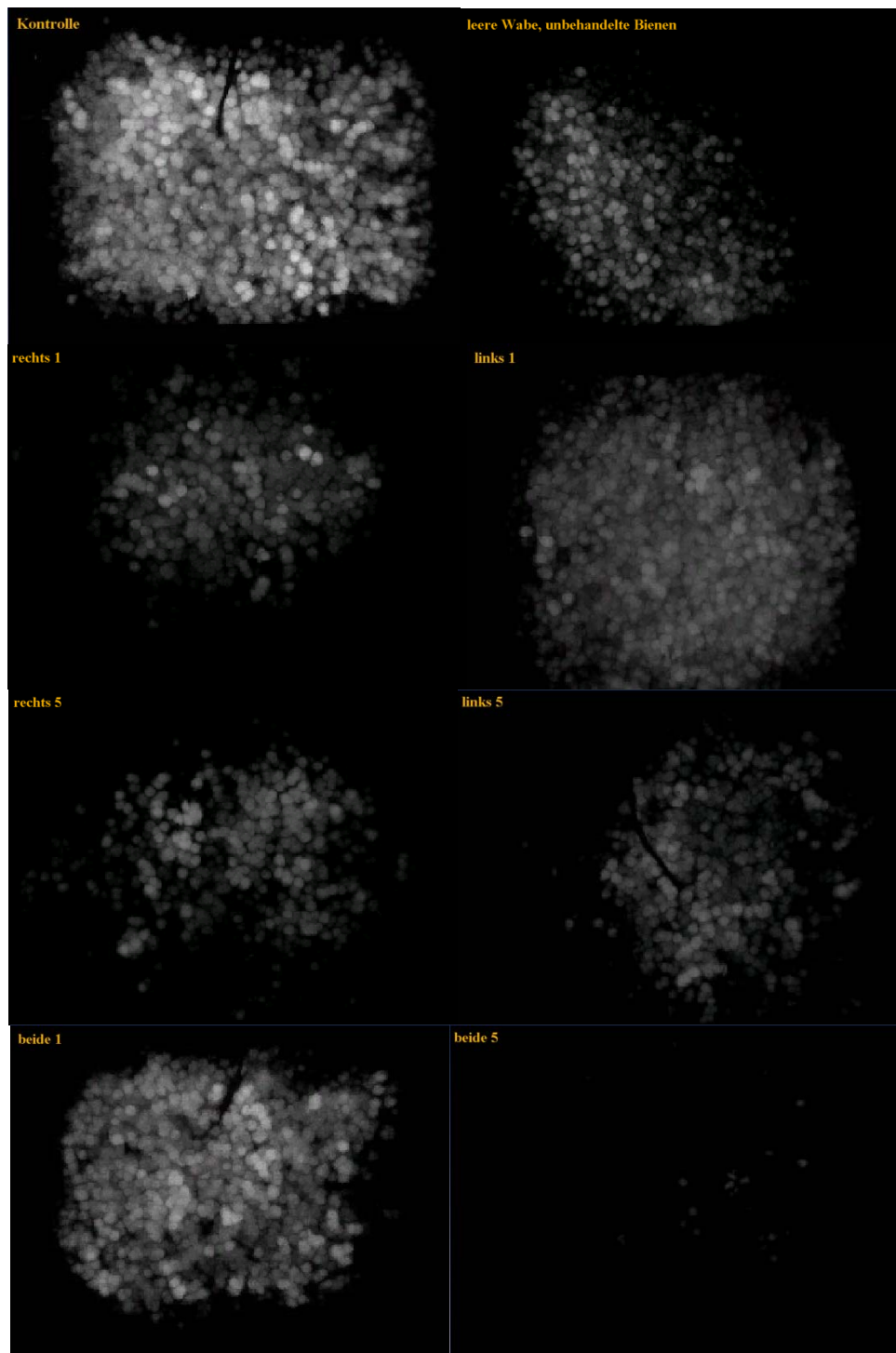
**Unbehandelte Bienen auf der gedeckelter Brut** wärmten den gesamten Brutbereich gleichmäßig und auf hohem Niveau. Die wärmsten Tiere waren oben links und unten rechts zu finden. Im Gegensatz dazu hatten **unbehandelte Bienen auf einer leeren Wabe** ebenfalls Thoraxtemperaturen über 35°C, die besetzten aber nicht den ganzen Bereich der leeren Wabe. Da sich das Futtergefäß auf der linken Seite befand sind die Arbeiterinnen vor allem links zu finden. Insgesamt erreichten die Tiere aber nicht so hohe Thoraxtemperaturen als die Tiere auf gedeckelter Brut.

Bienen, denen **ein Segment an der rechten Antenne fehlte** zeigten räumlich kein gleichmäßiges Brutwärmen der gesamten Brut. Einige wärmere Bienen befanden sich im oberen linken Bereich, unten hielten sich kaum warme Bienen auf. Vereinzelt erreichten die Tiere so hohe Thoraxtemperaturen wie unbehandelte Bienen. Arbeiterinnen, denen **ein Segment an der linken Antenne fehlte** verteilten sich zwar sehr gleichmäßig auf der Brut und viele Tiere hatten Thoraxtemperaturen über 35°C, aber insgesamt wurden kaum hohe Thoraxtemperaturen, wie sie für Brutwärmeverhalten typisch sind, gefunden.

Arbeiterinnen denen **rechts 5 Segmente fehlten** zeigten zum Teil hohe Thoraxtemperaturen. Die Tiere hielten sich lokal aber sehr beschränkt im oberen linken Teil des Brutbereiches auf. Insgesamt wurden weniger Tiere mit Thoraxtemperaturen über 35°C beobachtet. Arbeiterinnen, denen **links 5 Segmente fehlten**, hatten ebenfalls weniger hohe Thoraxtemperaturen, vergleichbar mit den Bienen der „links 1“-Gruppe. Die wärmsten Bienen befanden sich diesem unten in der Mitte.

Bienen, denen **an beiden Antennen ein Segment fehlte** zeigten ausgeprägtes Brutwärmeverhalten, die Tiere hatten hohe Thoraxtemperaturen der Brutbereich war bis auf die Randbereiche gleichmäßig mit warmen Bienen besetzt. Das Brutwärmeverhalten kommt dem Verhalten der unbehandelten Bienengruppe am nächsten. Im Gegensatz dazu zeigten Bienen, denen **an beiden Antennen 5 Segmente fehlten** überhaupt kein Brutwärmeverhalten mehr. Kaum ein Tier erreichte die 35°C-Grenze. Der Brutbereich wurde völlig unzureichend mit Wärme versorgt, was sich auch in der Bruttemperaturmessung (siehe vorne) widerspiegelte.





**Abb. 45 Räumliche Verteilung der Bienen mit Thoraxtemperaturen  $> 35^{\circ}\text{C}$  im gesamten Brutbereich**  
Am wärmsten sind die Bienen der Kontrollgruppe. Bei der asymmetrischen Kürzung der Antennen wurden weniger warme Tiere beobachtet, als bei einer symmetrischen Kürzung der Antennen um ein Segment. Wurden an beiden Antennen 5 Segmente entfernt, erreichten die Bienen nicht mehr Thoraxtemperaturen über  $35^{\circ}\text{C}$ . In einigen Teilabbildungen sind die Kabel von Temperaturfühlern zu sehen.

### 3. 7 Temperaturschwankungen im Brutbereich

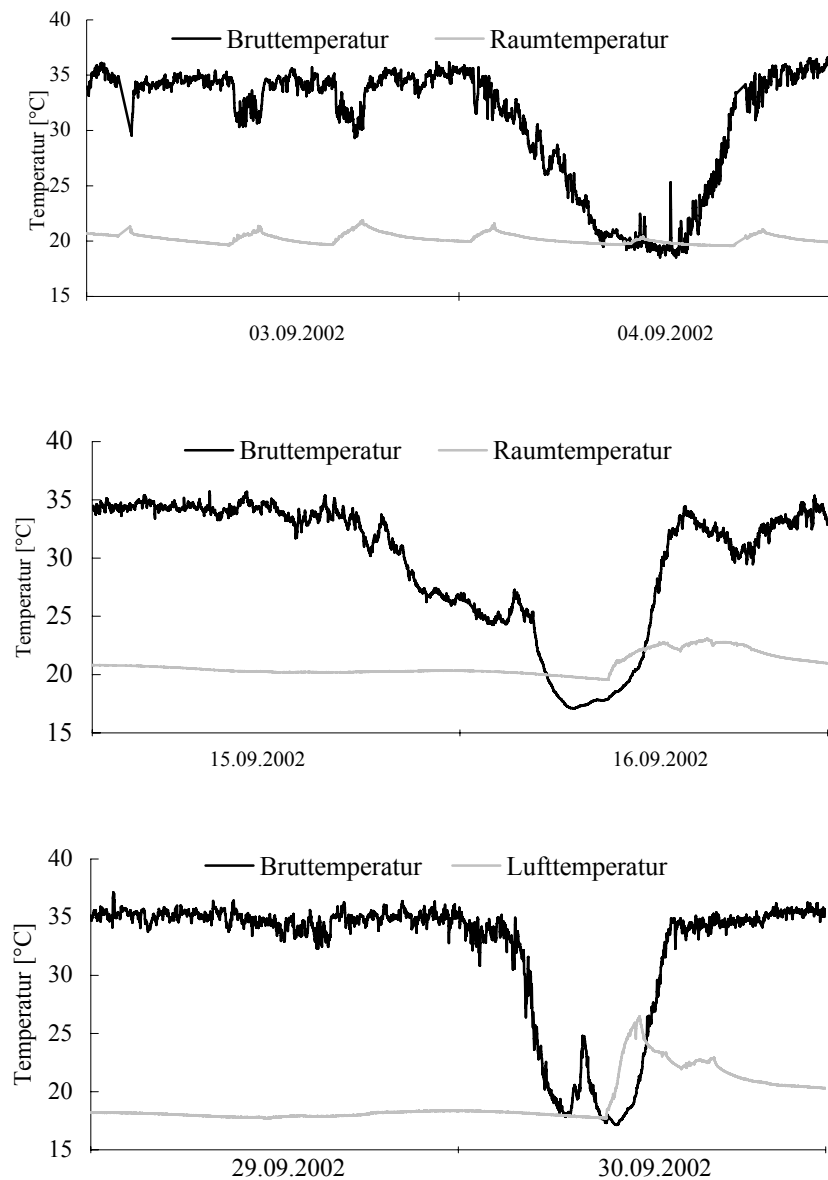
In drei der im Ergebnisteil vorgestellten Versuche sank die Bruttemperatur über einen relativ kurzen Zeitraum drastisch ab (siehe Abbildung 45). Danach und in den folgenden Tagen wurde die Temperatur dann wieder im optimalen Temperaturbereich geregelt.

Am **04.10.2002** (= 1.Versuch mit toter Brut) sank die Temperatur innerhalb von 12h auf 18,5°C bevor sie nach 4,5h wieder den optimalen Temperaturbereich für Brut (über 34,0°C) erreichte.

Am **16.09.2002** (Versuch C mit Bienen, denen die Antennenspitze fehlte und 120 unbehandelten Bienen) sackte die Temperatur innerhalb von zwei Stunden auf ein mittleres Niveau (um die 25°C) herunter bis sie weiter auf Raumtemperatur sank und als niedrigste Temperatur 17,1°C erreichte. Die Rückkehr zu einer optimalen Bruttemperatur (über 34,0°C) erfolgte innerhalb von 7 Stunden. Allerdings schwankte die Bruttemperatur im Folgenden noch. Insgesamt zeigte diese Temperaturschwankung mit 27 Stunden die längste Abweichung vom Optimalwert.

Am **30.09.2002** (Versuch D mit Bienen, denen die Antennenspitze fehlte und 15 unbehandelten Bienen) sank die Temperatur innerhalb von 7,3h auf 17,2°C bevor sie nach 3,5h zum ersten Mal wieder über 34,0°C anstieg.

Alle drei Erscheinungen folgten einem ähnlichen Muster und in allen drei Beobachtungen wurden nach dem Temperaturabfall erneut optimale Bruttemperaturen erreicht und konstant gehalten. Interessanterweise ereignete sich dieses Phänomen in verschiedenen Versuchsdurchgängen, es waren verschieden manipulierte und unbehandelte Bienen beteiligt und es wurde auf lebender und toter Brut beobachtet. Die kühleren Temperaturen wurden jeweils in den Morgenstunden erreicht, der Abstieg erfolgte entweder bereits am vorherigen Nachmittag oder in der Nacht. Äußere Umstände, wie das Öffnen der Isolierung oder Futtermangel lagen in keinem der drei Fälle vor.



**Abb. 45 Kurzzeitiger Temperaturabfall im Brutbereich in verschiedenen Versuchen**

In drei unabhängigen Versuchen wurde ein ähnliches Phänomen beobachtet. Nach einem relativ schnellen Absacken der Temperatur auf Raumtemperaturniveau stieg die Temperatur ähnlich schnell wie sie gesunken war auch wieder an. Die kältesten Temperaturen des Temperaturabfalls wurden jeweils in den Morgenstunden gemessen.

## 4. DISKUSSION

### 4. 1 Brutwärmeverhalten im gedeckelten Brutbereich

In der vorliegenden Arbeit wurde gezeigt, dass es bei Honigbienen ein spezielles Brutwärmeverhalten gibt, das sich nicht auf die Ausnutzung von Abfallwärme, die beiläufig bei anderen Tätigkeiten entsteht, stützt. Die Arbeiterinnen haben eine besondere Verhaltensweise entwickelt, die energieaufwändig (Arbeiterinnen erreichen Thoraxtemperaturen bis 45°C), zeitaufwändig (die Bienen sitzen bis zu einer Stunde bewegungslos im Brutbereich und verrichten in dieser Zeit keine anderen Aufgaben) und angepasst ist (die Körperhaltung unterstützt die Wärmeübertragung mittels Konduktion auf die Brutdeckel). Diese detaillierten Beobachtungen unterstützen also die in der Einleitung (1.5) vorgestellte erste Hypothese der aktiven Versorgung der Brut mit Wärme.

Bienen, die auf gedeckelter Brut beobachtet wurden und dabei in die Verhaltenskategorien „ruhig sitzend“ und „laufend“ eingeteilt worden waren, hatten „sitzend“ signifikant höhere mittlere Thoraxtemperaturen als „laufend“. Dies erscheint auf dem ersten Blick widersprüchlich, da bei jeder Bewegung, also auch beim Laufen Stoffwechselwärme entsteht. Das Ergebnis überraschte allerdings nicht mehr, als man die sitzenden Bienen durch die Thermovisionskamera betrachtete. Hier zeigte sich, dass diese ruhig erscheinenden Bienen thermoregulatorisch sehr aktiv waren. Die Beobachtungen offenbarten aber auch, dass nicht jede ruhig sitzende Biene im Brutbereich eine thermisch aktive Biene ist. Zum Beispiel befand sich Biene Nr. 9 (TABELLE 7) wahrscheinlich in einer Ruhephase, ihr Thorax hatte während sie saß eine mittlere Temperatur von 34,7°C. Trotzdem war ihre Thoraxtemperatur im Durchschnitt noch niedriger als sie über die Brutdeckel lief (33,8°C). Außerdem wärmte nicht jede beobachtete Biene die Brut: Biene Nr. 5 lief nur umher, zwei andere Bienen hatten keine signifikant erhöhten Thoraxtemperaturen, wenn sie sich ruhig verhielten. Und schließlich wird das Brutwärmeverhalten nur über einen gewissen Zeitraum gezeigt, durchschnittlich heizten die Bienen 9min lang.

Die Einteilung des Verhaltens der Bienen in die Kategorien „sitzend“ und „laufend“ lieferte nur eine grobe Annäherung an die näher zu beschreibende Verhaltensweise. Auch das vermutete Andrücken des Körpers konnte durch die Kameraposition bis dahin nicht zufrieden stellend genau beobachtet werden.

In der vorliegenden Arbeit wurden deswegen die einzelnen Merkmale von Bienen, die das Brutwärmeverhalten ausübten, genauer analysiert. Dabei wurden die Thoraxtemperaturen der Bienen, die Effizienz des Andrückens, die Atembewegungen und die Rolle der Antennen näher untersucht:

#### 4. 1. 1 Effizienz des Andrückens

Es konnte gezeigt werden, dass das Andrücken des aufgewärmten Thorax eine wirkungsvolle Methode der Wärmeübertragung ist. Die Messungen mit der Thermovisionskamera ergaben eine Erwärmung der Brutdeckel um über 3°C durch die heißen Bienen. Die Bienen hatten dabei im Durchschnitt Thoraxtemperaturen von 39°C. Diese Temperaturwerte konnten durch Kleinhenz et al. (2003) in Simulationsmessungen bestätigt werden. Dort wurden Temperatur-



erhöhungen bis 3°C gemessen, wenn die Biene Kontakt zur Brutdeckeloberfläche hatte. Am Zellenboden im Inneren der mit einer Puppe gefüllten Zelle war nach 30min eine Erwärmung um 1,1°C zu verzeichnen. Hatten die Tiere keinen Kontakt zur Wabenoberfläche (Abstand circa 2mm, entsprechend einer laufenden Biene) zeigten Kleinhenz et al., dass sich die Brutdeckel um 1,5°C erwärmten, während eine Temperaturerhöhung von 0,8°C am Zellenboden ermittelt wurde (gemessen wiederum nach 30min Wärmeeinwirkung). Da eine Temperaturdifferenz von 1,5°C bei der Brutaufzucht bereits einen signifikanten Unterschied im Lernverhalten zur Folge hat (Tautz et al. 2003), ist eine Temperaturerhöhung von 3°C durch einzelne Bienen ein effektives Mittel, den Wärmeverlust im Brutbereich, der durch das Entfernen der Isolierung entsteht, immer wieder aufs Neue auszugleichen und die Temperatur konstant zu halten.

#### 4. 1. 2 Zellbesuche im Brutbereich

Wärme wird außerdem gezielt auf die Brut von solchen Bienen übertragen, die leere Zellen im gedeckelten Brutbereich aufsuchen. Hier handelt es sich ebenfalls um ein aktives Brutwärmeverhalten, bei der keine durch andere Tätigkeiten produzierte Abfallwärme zum Temperieren der Brut verwendet wird. Hohe Thoraxtemperaturen kurz vor und nach dem Besuch einer offenen leeren Zelle lassen vermuten, dass die Arbeiterinnen auch während des Zellbesuchs hohe Thoraxtemperaturen hatten. Mindestens zwei Tage alte Bienen hatten signifikant höhere Thoraxtemperaturen als jüngere Bienen. Sie wärmten die benachbarte Brut während ihrer Zellbesuche wahrscheinlich von der Seite und zeigten damit aktives Wärmeverhalten. Dies bestätigten in der Zwischenzeit Kleinhenz und seine Mitarbeiter (2003) bei detaillierten Untersuchungen, in denen die Thoraxtemperaturen auch von Bienen in leeren Zellen ermittelt wurden. In ihren Beobachtungen hatten Bienen, die leere Zellen im gedeckelten Brutbereich besuchten signifikant höhere Thoraxtemperaturen als Bienen, die leere Zellen inmitten von Vorratzzellen besuchten. Außerdem zeigten sie, dass von diesen warmen Arbeiterinnen in offenen Zellen die günstigste Wärmeübertragung auf die Brut stattfindet.

Die Versuche von Kleinhenz et al. ergaben allerdings auch, dass die Thoraxtemperatur vor und nach einem Zellbesuch nicht die Thoraxtemperatur während des Zellbesuches widerspiegeln muss. Sie kann aber als Anhaltspunkt dienen, da Bienen, die Zellen mit hohen Thoraxtemperaturen betreten, oft über längere Zeit ihre hohen Thoraxtemperaturen aufrechterhalten (Kleinhenz et al. 2003). So ist die Eintritts- und Austrittstemperatur der Bienen zumindest ein guter Hinweis auf das Temperaturverhalten der Bienen innerhalb der Zelle.

Ein zweiter Anhaltspunkt für das Wärmeverhalten von Bienen in Zellen ist die Dauer des Aufenthaltes. In älterer Literatur wurden Besuche in Zellen, die bis zu zwei Minuten dauern als „Inspektionsbesuche“ oder Besuche zum Füttern der Larven gewertet, falls sich denn eine Larve am Grunde der Zelle befand. Ein längerer Aufenthalt fiel unter die Kategorie „Müßiggang“ oder „Faulheit“. Lindauer (1952) schrieb dazu: „Es hat sich auch wiederholt der Verdacht bestätigt, beschäftigungslose Bienen würden sich gerne in leeren oder bestifteten Zellen ein ungestörtes Ruheplätzchen suchen; es sind das immer solche Bienen, die sich besonders lange und ruhig, ohne sich irgendwie umzudrehen, in der Zelle aufhalten.“

Diese Kennzeichen würden auch zu Bienen passen, die leere Zellen zum Brutwärmen aufsuchen. Eine Fütterung von Larven konnte ausgeschlossen werden, da die beobachteten

Zellen leer waren und auch Inspektionen würden die häufigen und vor allem langen Zellenbesuche nicht erklären.

Die leeren Zellen könnten von den Bienen auch zum Reinigen besucht worden sein. Zur Vorgehensweise des Zellensäubern ist folgendes beschrieben: „von Zellen, aus denen eine Jungbiene geschlüpft ist [...] werden zunächst die Reste des Nymphenhäutchens mit den Wachsresten, die beim Aufnagen in der Zelle gefallen waren zusammengeknetet [...]. Danach werden alle Zellen in gleicher Weise sehr umständlich mit den Mandibeln bearbeitet [...]“ (Lindauer 1952). Typischerweise brauchen etwa 15 bis 30 Bienen insgesamt 41min um die Reinigung einer Zelle abzuschließen (Winston 1987). Winston meinte, dass diese Aufgabe von den eben geschlüpften Bienen schnell ausgeführt wird, da die Königin nur in gesäuberte Zellen ihre Eier legt.

Gegen das Reinigen der Zellen im vorliegenden Versuch spricht aber die unterschiedliche Gesamtbesuchsdauer in Abhängigkeit von der Anzahl benachbarter gedeckelter Brutzellen. Würden die Zellen gesäubert worden sein, müssten alle Zellen gleich lang und ähnlich oft besucht werden. Auch dürften nicht vor allem die älteren Tiere die Zellen besuchen und außerdem müsste die Anzahl der Besuche nach dem ersten Beobachtungstag drastisch zurückgehen. Die Rückgang der Besuche lässt sich tatsächlich beobachten: Während am 04.08.1999 noch 345 Bewegungen (Ein- und Austritt aus einer Zelle) zu verzeichnen sind, sind es am 05. und 07.08.1999 nur noch gut 90 Bewegungen pro Beobachtungszeitraum. Allerdings war bereits am 02.08.1999 der Status des Brutbereichs festgehalten worden. Bis auf zwei Zellen gab es in den folgenden Tagen keine Veränderungen und das Säubern der Zellen wäre bereits vor Versuchsbeginn abgeschlossen gewesen. Interessant ist in diesem Zusammenhang auch, dass die Dauer der Besuche vor allem vom ersten zum zweiten Versuchstag deutlich anstieg (nicht dargestellt). Einzelne Bienen blieben sehr lange in den Zellen, so dass häufigere Zellbesuche in den Zellen, die von vielen Brutzellen umgeben waren, gar nicht möglich waren. Am 05.08.1999 war eine Zelle, die von 4 Brutzellen umgeben war über die gesamte Besuchsdauer hinweg von einer Biene besetzt, in diesem speziellen Fall konnte keine Ein- und Austrittstemperatur gemessen werden.

In der Literatur werden vor allem die jungen eben geschlüpften Bienen für das Brutwärmen verantwortlich gemacht. Rösch (1925) argumentierte folgendermaßen: Jungbienen (bis drei Tage alt) übernehmen das Brutwärmen, da sie dafür am besten geeignet, da die älteren Bienen die Brutwabe verlassen, um ihren Tätigkeiten nachzugehen. Jungbienen sitzen dagegen fast unbeweglich auf der Brut. Gleichzeitig wird das unbewegliche Verweilen auf der Brut aber auch als „Warten auf den Zeitpunkt, in welchem die Biene durch ihre Organisation befähigt ist, zur nächsten Tätigkeit überzugehen“ bezeichnet (Rösch 1925).

Im Versuch der vorliegenden Arbeit wurde gezeigt, dass mindestens zwei Tage alte Arbeiterinnen die gedeckelte Brut zu wärmen suchten, während sich die jüngeren Bienen tatsächlich ruhten und sich kaum aktiv am Brutwärmen beteiligten. Auch Stabentheiner und Kovac zeigten mit Thermovisionsaufnahmen an Altersmarkierten Bienen, dass mindestens zwei Tage alte Tiere sich in allen Altersklassen gleichmäßig am Brutwärmen beteiligten (2002). Bei den Versuchen, die mit Gruppen aus gleich alten frisch geschlüpften Bienen durchgeführt wurden, übernahmen die Arbeiterinnen bereits nach gut 48h das Brutwärmen. Die Flexibilität beim Wechsel zu verschiedenen Aufgaben in Bienengruppen, die aus einheitlichen Altersgruppen bestehen wurde in der Vergangenheit bereits mehrfach untersucht (Kratky 1931, Haydak 1932, Öttingen 1949). Dabei wurde beobachtet, dass Bienenvölker, die nur aus Innendienstbienen bestanden früher als üblich Außendienstarbeiten erfüllten und dass Außendienstarbeiterinnen noch einmal die Aufgaben im Stock übernahmen, wenn junge Innendienstbienen fehlten. Diese Umorientierung beinhaltet auch, dass bereits reduzierte Drüsen-

systeme der Bienen reaktiviert wurden, zum Beispiel um die Larven mit Nahrung aus den Futtersaftdrüsen zu versorgen.

Interessanterweise scheinen, die Bienen, denen in den Manipulationsversuchen am ersten Tag nach ihrem Schlupf die Antennen gekürzt worden waren den Verlust in irgendeiner Art und Weise kompensieren zu können. In Laufe einer Versuchsreihe stieg sowohl die Anzahl der behandelten Tiere im Brutbereich, als auch die durchschnittliche Thoraxtemperatur der Tiere an.

Dass ältere Bienen höhere Thoraxtemperaturen aufwiesen wurde schon mehrfach untersucht (Allen 1959, Nijland und Hepburn 1985). Arbeiterinnen verbessern ihre thermogenetischen sowie thermoregulatorischen Fähigkeiten mit dem Alter und Außendienstbienen haben die besten thermogenetischen Fähigkeiten.

Ein eindeutiger Hinweis auf die Wärmetätigkeit in der Zelle wären die Abdomenbewegungen der Arbeiterinnen gewesen. Bei diesem Versuch wurde der Bildausschnitt allerdings so groß gewählt, dass die Abdomenbewegungen einzelner Bienen nicht beobachtet werden konnte. Zudem waren die offenen Zellen, die die Arbeiterinnen besuchten meist von den anderen Bienen auf der Brutdeckeloberfläche verdeckt.

Es wurden also zwei Heizstrategien von Bienen gefunden und näher untersucht: Zum einen ziehen sich Arbeiterinnen mit ihren Beinen an die Brutdeckeloberfläche heran, um mit ihren aufgeheizten Körpern die gedeckelten Brutzellen zu wärmen. Und zum anderen wärmen mindestens zwei Tage alte Bienen beim Besuch leerer Zellen, die von möglichst vielen gedeckelten Brutzellen umgeben sind ebenfalls die Brut, nun allerdings von der Seite.

#### **4. 1. 3 Aktives Brutwärmeverhalten**

In früheren Arbeiten wurde aktives Brutwärmen bei Honigbienen noch angezweifelt. Koeniger schrieb 1978: „Eine Regulation wird in erster Linie bei kleineren Temperaturschwankungen durch die Verteilung der Arbeiterinnen im Nest erreicht. Durch eine Erhöhung der Dichte der Arbeiterinnen wird die abgegebene Wärmemenge, bezogen auf die jeweilige räumliche Ausdehnung, gesteigert und eine bessere Isolierung erreicht. Eine Herabsetzung der Nesttemperatur wird durch die Verminderung der Arbeiterinnendichte erzielt. Diese Regulationsleistung beruht fast ausschließlich auf der Ausnutzung der durch den Stoffwechsel bedingten „Abfallwärme“.“

Selbstverständlich trägt auch die durch andere Tätigkeiten im Brutbereich erzeugte Stoffwechselwärme zur Stabilisierung der Bruttemperatur bei. Allerdings zeigten die Bienenbeobachtungen auf den Brutflächen mit Wachskegeln, dass die alleinige Anwesenheit der Bienen auf der Brut nicht ausreicht, um eine optimale Bruttemperatur aufrecht zu erhalten.

Das Zusammendrängen der Arbeiterinnen auf der Wabe wurde erst ab Temperaturen um 18°C gefunden (Winston 1987), die dichteste Packung wurde bei minus 5°C Lufttemperatur beobachtet (Free 1977, in Winston 1987). Bei Manipulationsversuchen wurde auch bei der niedrigsten verwendeten Manipulationstemperatur von 15°C keine signifikante Erhöhung der Bienendichte auf der gedeckelten Brut festgestellt (Bujok 2000). Diese Temperatur liegt so weit unter der optimalen Bruttemperatur, dass das Zusammendrängen der Bienen zum Speichern der Stoffwechselwärme als einziges Verhalten zur Aufrechterhaltung der Optimaltemperatur im Brutbereich nicht ausreichend sein kann.

2001 schrieb Heinrich im Nachdruck seines Klassikers „Der Hummelstaat“ von 1979 zum Brutwärmen in Bienenvölkern: „Honigbienen klimatisieren ihre Brutzellen auf etwa 30°C bis 33° C, aber es fehlt ihnen das typische Brutverhalten der Hummeln. Bei niedrigen Temperaturen drängen sie sich auf der Brutwabe zusammen und bedecken die Zellen mit ihren Körpern wie eine Decke, indem sie durch Zittern Wärme erzeugen. Sie bleiben aber nicht stetig dabei, sondern können während dieser Zeit im Stock auch noch andere Aufgaben übernehmen.“

Diese Aussagen von Heinrich konnten durch diese Arbeit nicht bestätigt werden. Bienen haben zum einen eine höhere als bei ihm angegebene Brutnesttemperatur – sie halten sie zwischen 33 und 36°C wie es bereits in älterer Literatur angegeben ist (Himmer 1927b, Hess 1926) und wieder in dieser Arbeit bestätigt wurde (Abb. 33). Zum anderen besitzen die Bienen ein typisches Brutwärmeverhalten, das dem der Hummeln gar nicht unähnlich ist, nur dass Bienen ihre Brut mit dem Thorax und nicht wie Hummeln mit dem Abdomen wärmen<sup>5</sup>. Auch die Bienen bedecken die Brutzellen und drücken sich mit dem erwärmten Thorax an die Brut. Bedingt durch die Körperhaltung können sie keine anderen Aufgaben im Stock übernehmen – eine weitere Parallele zum Wärmeverhalten der Hummeln.

Und auch Hornissen wärmen ihre Puppenbrut ganz ähnlich: Sie stecken ihren Kopf und ihren Thorax in leere Zellen, die den Puppenzellen direkt benachbart sind, legen ihr Abdomen auf dem Zelldeckel und beginnen mit der Wärmeproduktion, erkennbar an den abdominalen Atembewegungen. Temperaturmessungen zeigten, dass sie dadurch die Temperatur der Puppen bei einer Umgebungstemperatur von 20-22°C innerhalb von 5 bis 7min auf 30-32°C erhöhen (Ishay 1972). Diese Form des Brutwärmens nimmt gewissermaßen eine Zwischenstellung der beiden bei den Honigbienen gefundenen Verhaltensweisen ein: die Tiere wärmen zeitgleich von der Seite und von der Brutoberfläche.

Ohne technische Hilfsmittel ist das Brutwärmeverhalten der Bienen schwer zu festzustellen. So nehmen schlafende und heizende Bienen auf den ersten Blick und ohne die Hilfe der Thermovisionskamera ähnliche Körperhaltungen ein: heizende wie schlafende Bienen verhalten sich auf der Wabe sehr ruhig. Kaiser (1988) fand für schlafende Bienen folgende Merkmale: ein herabgesetztes Maß an Bewegung, herabgesetzte Reaktion auf visuelle Stimuli, die Tendenz einen bevorzugten Bereich im Stock aufzusuchen und die Tendenz eine bestimmte Körperposition einzunehmen. Außerdem zeigen schlafende Bienen eine erniedrigte Körpertemperatur und einen erniedrigten Muskeltonus, wodurch die Antennen manchmal auf der Brutdeckeloberfläche ruhen.

Mit der Thermovisionskamera ist es aber offensichtlich, welche Bienen ruhig sind und schlafen und welche Bienen nahezu bewegungslos die Brut wärmen.

So haben erst moderne Techniken wie Thermovision und Endoskopie es ermöglicht, das Brutwärmeverhalten im Detail zu beschreiben. Deswegen ist anzunehmen, dass Langzeitbeobachtungen von Einzelbienen wie die Betrachtung der Biene mit der Nummer 107 von Lindauer (1952) zeitweise auch Brutwärmeverhalten zeigte, dieses Verhalten aber zum Beispiel in der Kategorie „Müßig“ (etwa 39% der gesamten Beobachtungszeit) eingeordnet wurde.

---

<sup>5</sup> Durch den Wärmeaustauscher im Petiolus der Biene wird der Abfluss der Thoraxwärme in das Abdomen verhindert, das Abdomen hat also etwa Umgebungstemperatur (Heinrich 1979).

#### 4. 1. 4 Abdominale Atembewegungen

Ein auch ohne technische Hilfsmittel sichtbares und deutliches äußeres Kennzeichen thermisch aktiver Bienen sind die schnellen kontinuierlichen Abdomenbewegungen, die auf die hohe Stoffwechselrate der Tiere hinweisen.

Bei den erfassten Bienen korrelierte die Thoraxtemperatur der Tiere mit den Atembewegungen - je höher die Thoraxtemperatur, umso schneller das abdominale Pumpen. Die genaue Analyse der Atemfrequenz bei hohen Thoraxtemperaturen benötigte allerdings ebenfalls ein technisches Hilfsmittel, die dann sehr schnellen Abdomenbewegungen waren ohne Hochgeschwindigkeitskamera und entsprechender Software nicht mehr zu zählen.

Im Vergleich zu den Frequenzen, die Heinrich bei Hummeln gefunden hat, wurden sowohl höhere Thoraxtemperaturen als auch höhere Atemfrequenzen gemessen. Bei den Bienen wurden bei einer Atemfrequenz von etwa 8Hz Thoraxtemperaturen von über 40°C erreicht, während die Hummelarbeiterinnen bei Atemfrequenzen zwischen 6 und 7Hz Thoraxtemperaturen zwischen 30 bis 35°C aufwiesen (Heinrich 2001). In einem ähnlichen Frequenz- und Temperaturbereich lagen die Messungen für *Bombus-edwardsii*-Hummelköniginnen (vergleiche Abbildung 6, Heinrich 2001).

Bei Hornissen (*Vespa crabro*) wurden beim Brutwärmeverhalten Atemfrequenzen zwischen 3,2 und 3,5Hz gefunden (Ishay und Ruttner 1971). „Die Bewegungen halten etwa 41/2 min an; dann tritt eine Pause von 30 sec ein, auf die wieder eine Bewegungsphase folgt. Bei niedrigen Außentemperaturen sind die Bewegungen deutlich kräftige.“ Ruhende Tiere zeigten Atemfrequenzen zwischen 1,5 und 1,7Hz (Ishay und Ruttner 1971).

Da die Bienenarbeiterinnen ihre Thoraxtemperatur nicht über einen längeren Zeitraum konstant halten (siehe 3.1.2) ist das Zuordnen einer Temperatur zu einer bestimmten Atemfrequenz schwierig. Eine Änderung der Atemfrequenz scheint aber eine Änderung der Thoraxtemperatur voranzugehen, so zieht die Erhöhung der Atemfrequenz einen Anstieg der Thoraxtemperatur nach sich und umgekehrt. Außerdem kann die Pumpbewegung an sich variieren: Bienen mit sehr hohen Atemfrequenzen zeigten weniger tiefe Atembewegungen. Bei niedrigeren Thoraxtemperaturen konnten sowohl flache, also auch tiefe Atembewegungen beobachtet werden.

Es wurden vor allem Bienen aufgenommen, die Brutwärmeverhalten zeigten. Bienen, die umherliefen konnten nicht gleichzeitig mit der Hochgeschwindigkeitskamera und der Thermovisionskamera erfasst werden. Kühle Bienen zeigten zudem diskontinuierliche Abdomenbewegungen (vergleiche Abbildung 30). Während der Pumpphasen waren ihre Atemfrequenzen durchaus hoch, allerdings folgten Pausen, in denen sich das Abdomen überhaupt nicht bewegte. Diese Atemtechnik kann demzufolge nicht mit der bei hohen Thoraxtemperaturen verglichen werden.

#### 4. 2 Ab welcher Thoraxtemperatur beteiligen sich Bienen aktiv am Brutwärmen?

In Thermovisionsaufnahmen unterschieden sich warme und kühle Bienen eindeutig, die Tätigkeit, die die Tiere gerade ausübten spielte dabei keine Rolle. Vor allem die heißen Arbeiterinnen „leuchteten“ vor dem kühleren Hintergrund auf und waren sehr leicht zu erfassen. In den meisten Aufnahmen wurde ausschließlich die Thoraxtemperatur der Arbeiterinnen bestimmt. Das Verhalten der Tiere blieb unbeachtet, da im 10 x 10cm großen

Ausschnitt des Thermovisionsbildes keine Details der Bienenkörper zu erkennen waren und aus den einzelnen Standbildern das Verhalten der Tiere nicht ersichtlich wird (vergleiche Abbildung 38b). Merkmale des aktiven Brutwärmeverhaltens außer der erhöhten Thoraxtemperatur wie die Antennenhaltung, das Andrücken und die Abdomenbewegungen waren also nicht auszumachen. Können Bienen aber alleine an Hand ihrer Körpertemperatur in thermisch aktive und passive Bienen eingeteilt werden? Und kann damit auch bemessen werden, ab welcher Thoraxtemperatur sich Bienen am Brutwärmen beteiligen? Nach Groh et al. 2002 haben Puppen zwischen einer Bruttemperatur von 33,5 bis 35°C optimale Bedingungen. In einem Kontrollbienenstock hatte der gedeckelte Brutbereich eine mittlere Temperatur von  $34,6 \pm 0,5^\circ\text{C}$  (siehe Abbildung 33). Die kühlfte Biene, die einen Wärmeabdruck auf der Brutdeckeloberfläche hinterließ, hatte eine Thoraxtemperatur von  $36,4^\circ\text{C}$ .

Für diese Arbeit war willkürlich festgelegt worden, dass Bienen, die eine Thoraxtemperatur von über  $35,0^\circ\text{C}$  aufwiesen thermisch aktive Bienen sind. Diese Schwelle sollte nicht festsetzen, dass alle Bienen mit so hohen Thoraxtemperaturen tatsächlich das aktive Brutwärmeverhalten zeigten. Auch Bienen mit Thoraxtemperaturen über  $35^\circ\text{C}$ , die andere Aufgaben als die der Bruterwärmung erfüllen, würden in diesem Fall zu den Brut wärmenden Tieren gezählt werden, auch wenn sie durch das fehlende Andrücken des Thorax zu einem geringen Maß zur Konstanthaltung der Bruttemperatur beitragen würden<sup>6</sup>. Sicher wäre aber, dass sich diese Bienen nicht passiv im Brutbereich aufgewärmt haben.

Unter den gegebenen Umständen (Brutbereich unisoliert) zeigte sich, dass etwa zwei Drittel der Arbeiterinnen höhere Temperaturen als  $35^\circ\text{C}$  im unbehandelten Brutbereich aufwiesen. Dies war auch bei den Bienen auf toter Brut in drei von vier Versuchen der Fall.

Temperaturdaten wurden aus den Thermovisionsaufnahmen herausgelesen, in dem aus Einzelbildern alle Thoraxtemperaturen der Bienen analysiert wurden, die sich in einem vorher festgelegten Areal auf der gedeckelten Brut befanden. Wenn nicht anders angegeben, wurde bei der Auswertung nicht zwischen individuellen Tieren unterschieden. Da mehrere Einzelbilder eines Versuchsdurchgangs ausgewertet wurden überstieg die Zahl der Temperaturmesswerte meist die Anzahl eingesetzter Bienen. Meistens wurden die Einzelbilder im Abstand von 10min ausgewertet. Dieser Zeitabstand wurde gewählt, da die Bienen zum einen ihre Thoraxtemperatur sehr schnell ändern können (bis zu  $9,3^\circ\text{C}/\text{min}$ , Stone und Willmer 1989) und zum anderen, da festgestellt wurde, dass die Heizphasen beim Brutwärmeverhalten im Durchschnitt 9min andauern (Bujok et al 2001). Es sollte also eine Heizphase in der Regel im folgenden ausgewerteten Einzelbild abgeschlossen sein, bzw. eine neue Heizphase begonnen haben.

Zusätzlich zu den Thoraxtemperaturen der Bienen auf der Brut wurde die Bruttemperatur selbst analysiert, da diese Temperatur auch im ungestörten, isolierten Stock aufgenommen werden kann. Meist lief die Aufzeichnung aber auch während der Thermovisionsaufnahmen. Die Entfernung der Isolierung war dann deutlich am Abfallen der Temperatur auszumachen. In den Versuchen wurde die Lufttemperatur jeweils in leeren Zellen aufgezeichnet, die von 6 gedeckelten Zellen umgeben war. Aber auch hier können die Aufzeichnungen über Phasen hinweg stärker als gewöhnlich beeinflusst worden sein. Arbeiterinnen beeinflussten diese Lufttemperatur dann, wenn sie versuchten in die leere Zelle einzudringen, den Temperatur-

---

<sup>6</sup>Selbst Arbeiterinnen mit Thoraxtemperaturen unter  $35^\circ\text{C}$  beteiligen sich an der Aufrechterhaltung der Bruttemperatur, zum Beispiel durch Isolierung des Brutbereiches mit ihren Körpern.

fühler als Fremdkörper betrachteten und ihn entfernen wollten oder wenn sie besonders nahe am Temperaturfühler Brutwärmeverhalten zeigten. Während der Aufnahme konnte der Fühler verschoben oder in Wachs eingebaut werden. Die Temperaturschwankungen in einer offenen leeren Zelle sind also zwangsläufig größer als in einer geschlossenen Puppenzelle. In den Puppenzellen fanden Kleinhenz et al. (2003) Schwankungen zwischen  $33.6 \pm 0.6$  °C und  $35.1 \pm 0.3$  °C.

Dagegen war die Erfassung der Thoraxtemperaturen immer nur eine Momentaufnahme, die die Bienen in einer gewissen Stresssituation zeigte: Die Isolierung des Beobachtungsstockes war entfernt worden, wodurch die Brut auskühlte. Außerdem fiel in vielen Fällen Licht in den Beobachtungskasten, vor allem dann, wenn unterschiedlich behandelte Bienen zusätzliche Videoaufnahmen zum Erkennen der Farbmarkierungen nötig machten. Da die Bedingungen jedoch in allen Versuchen ähnlich waren, ist der Vergleich des Temperaturverhaltens der Arbeiterinnen auf der Brut aber durchaus aussagekräftig und ein wichtiger Zusatz zu den Bruttemperaturdaten. Die graphische Illustration des Wärmeverhaltens der Bienen ergänzt das Gesamtbild, das wir vom Treiben auf der Brut erhalten, denn hier konnten die warmen Bienen, die über längere Zeiträume Brutwärmeverhalten zeigten, von anderen Bienen, die mit warmen Thorax über die Brutfläche liefen unterschieden werden, was bei der Auswertung der Einzelbilder nicht möglich war.

#### 4. 3 Graphische Darstellung des Wärmeverhaltens

Bei der graphischen Darstellung des Brutwärmeverhaltens sollte die Dynamik der Bienen, die dieses Verhalten über einen längeren Zeitraum ausübten bildlich erfasst werden. Außerdem sollte es mit dem Wärmeverhalten von Bienen, die die Brut nicht wärmten verglichen werden. Um ein klareres Bild zu erhalten waren nur Temperaturen über 35°C wiedergegeben worden. Die Abbildungen 40 bis 44 zeigen das Bewegungsmuster von Brutwärmenden Bienen sehr plastisch. Die Tiere, die auf der Brutdeckeloberfläche über längere Zeiträume mit hoher Thoraxtemperatur verharrten, wurden als Säulen sichtbar, andere Arbeiterinnen mit hoher Thoraxtemperatur, die umherliefen wurden als Scheiben abgebildet. Beide Bienengruppen wären ohne weitere Unterscheidung im Standbild als warme Tiere definiert worden. Mit dieser Abbildungsweise wurde nun die zusätzliche Unterscheidung in die Verhaltensweise „unbewegt“ und „bewegt“ möglich. Die unbehandelten Bienen zeigten am häufigsten und längsten Brutwärmeverhalten, mit der Anzahl der entfernten Antennensegmente wurde das Brutwärmeverhalten seltener gezeigt, es hielten sich weniger warme Tiere im Brutbereich auf und viele der mäßig warmen Tiere liefen über die Brut ohne Brutwärmeverhalten zu zeigen. Die Thermovisionskamera kalibrierte die Temperatur in kontinuierlichen Zeitabständen. Das verursachte ein Schwanken der aufgenommenen Thoraxtemperaturen, die in den Abbildungen wieder zu finden ist. Da die Kalibrierung in allen Versuchen erfolgt, wird der entstehende Fehler kompensiert. Außerdem ging es in der graphischen Darstellung nicht um die genaue Analyse der Temperaturwerte, hier sollte nur die Dynamik des Verhaltens gezeigt werden.

In der Gesamtübersicht, die die räumliche Verteilung der warmen Bienen darstellte, war wieder bei den unbehandelten Bienen die Brut von warmen Bienen am gleichmäßigsten bedeckt. Aber auch in der „beide 1“-Gruppe und bei den „links 1“-Bienen war der Brutbereich gut und gleichmäßig mit Wärme versorgt worden. Interessanterweise zeigte die

„links 1“-Gruppe keine sehr hohen Thoraxtemperaturen an, obwohl viele Tiere mindestens 35°C innehatten. In den vier anderen Fällen erfolgte das Brutwärmen nur lokal, Bienen denen an beiden Antennen 5 Segmente fehlten zeigten kein Brutwärmeverhalten. Auf der leeren Wabe liefen die Tiere warm über die Wabenoberfläche und diese Darstellungsweise zeigt den Verhaltensunterschied zu Brutwärmenden Bienen nicht so eindeutig wie das Bewegungsmuster der anderen Darstellungsweise. Zur Illustration der Dynamik und räumlichen Verteilung der Bienen auf der Brut ergänzen sich somit beide Darstellungsformen ideal.

#### 4. 4 Auslöser des Brutwärmeverhaltens

Der Suche nach mechanischen Signalen der Puppenbrut in dieser Arbeit lag zugrunde, dass Slama Hinweise darauf hatte, dass sich die Puppen durch rhythmische Hämolympdruckänderungen bemerkbar machen können (pers. Mitteilung an Kirchner 1987). In der vorliegenden Arbeit wurden letztendlich keine Anzeichen mechanischer Signale der Puppenbrut gefunden. Von Slama wurde aber auch berichtet, dass die Puppenbrut die Vibrations-signale auf Anfrage abgibt. Da sich aufgrund der Aufnahmetechnik während des Versuches keine Arbeiterinnen auf der Brutwabe befanden, könnte demnach auch der Auslöser dieser Schwingungssignale gefehlt haben.

Der Versuch mit den mit Wachskegeln gefüllten Zellen zeigte, dass gedeckelte Brutflächen allein nicht als Auslöser für das Brutwärmeverhalten ausreichen. Der gedeckelte Bereich wurde zwar von den Bienen besetzt, der bloße Aufenthalt der Arbeiterinnen in diesem Bereich reichte aber nicht zur Aufrechterhaltung einer optimalen Bruttemperatur aus, zusätzliches Wärmen wäre unabdingbar. Dabei scheinen Signale der Brut nötig, um Brutwärmeverhalten auszulösen. Vibrationssignale, die von den Puppen ausgehen, spielen aber eher eine untergeordnete Rolle, da tote gedeckelte Brut in drei von vier Fällen wie gedeckelte lebende Brut gewärmt wurde (bezogen auf die gemessenen Thoraxtemperaturen der Bienen auf der Brut). Demnach muss die tote Brut von den Arbeiterinnen als Brut erkannt worden sein, denn ansonsten wäre die Temperaturverteilung im Bienenvolk ähnlich der eines Wintervolks ohne Brut. Koeniger (1978) schloss daraus, „dass die genaue Thermoregulation im Sommer direkt durch die Anwesenheit von Puppen ausgelöst wird“ und er erforschte in verschiedenen Versuchsansätzen den auslösenden Reiz zum Brutwärmeverhalten. In seinen Versuchen wurden unter anderem Königinnenzellen, die geleert worden waren, vernachlässigt, während Königinnenzellen mit einem Stein versehen gegenüber „normalen“ gedeckelten Arbeiterinnenzellen sogar bevorzugt aufgesucht wurden. Koeniger folgerte daraus, dass die Bienen in der Lage sind, leere Zellen von vollen zu unterscheiden. Weitere Versuche ließen vermuten, „dass der Druck des Zellinhalts auf die Zellwand von den Bienen für die nachgewiesene Unterscheidung zwischen leeren und vollen Königinnenzellen benutzt wird.“

In der vorliegenden Arbeit wurden Wachskegel verwendet, um den Druck auf die Zellwände zu verursachen und das Wärmeverhalten der Bienen auf dieser vermeintlichen Arbeiterinnenbrut zu beobachten. Die Bienen zeigten allerdings kein aktives Heizverhalten auf den mit Wachskegeln gefüllten Zellen, ihre Thoraxtemperaturen waren signifikant niedriger als die Thoraxtemperaturen von Tieren auf einem Kontrollbrutbereich. Es waren zwar wärmere Bienen anwesend (bis maximal 39,9°C), diese Tiere räumten aber Wachskegel aus und öffneten Wabendeckel und waren so durch ihre Tätigkeit aufgewärmt. Bienen, die mit warmen Thorax in Zellen steckten, waren wahrscheinlich ebenfalls mit Reinigungsarbeiten beschäftigt, denn nach dem Versuch waren viele Deckel angenagt und einige der Zellen geleert



worden. Temperaturmessungen fanden bei Koeniger nicht statt. Es ist also schwer zu interpretieren wie weit die Bienen in seinen Versuchen die vermutete Brut beim Belagern auch aktiv wärmten.

Versuche mit toter Brut wurden in der Vergangenheit vor allem durchgeführt, um das Hygiene-Verhalten eines Volkes oder einer Bienenrasse zu untersuchen. Dabei wurde darauf geachtet in welchem Zeitraum die eingesetzte, vorher tief gefrorene oder durch Anstechen abgetötete gedeckelte Brut aus den Zellen entfernt wurde. Wenn die Zellen zum größten Teil nach 24 bzw. 48 Stunden ausgeräumt worden waren, wurde das Volk als „hygienisch“ bezeichnet (Kefuss 1995), dauerte das Ausräumen länger als eine Woche, wurde das Volk als unhygienisch eingestuft (Spivak und Gilliam 1998). Auf das Brutwärmeverhalten der Tiere wurde dabei nie geachtet.

Das Erkennen und Ausräumen erkrankter Brut (Bruthygieneverhalten) stellt einen zentralen Abwehrmechanismus des Bienenvolkes gegenüber Brutkrankheiten wie Kalk- und Faulbrut dar (Woodrow und Holst 1942, Rothenbuhler 1964) und wird daher auch in der züchterischen Selektion berücksichtigt. Dieses Verhalten hat sich offensichtlich nur bei Honigbienen etabliert, vermutlich weil sie – im Gegensatz zu anderen sozialen Insekten - Brutzellen mehrfach verwenden (Michener 1974 zitiert in Arathi et al. 2000). Andere soziale Insekten lassen befallene oder kranke Zellen einfach verschlossen.

Unklar ist bisher, welche Signale der kranken bzw. abgetöteten Puppen die Bienen dazu veranlassen die Zelldeckel zu öffnen und die Brut zu entfernen. Versuche zeigten, dass Larven, die nur mit einem kleinen Pinsel gestreichelt worden waren, schon vermehrt entfernt wurden (Free und Winder 1983). Neben Bewegungen und Abgabe volatiler Substanzen durch die Brut könnten auch Temperaturunterschiede zwischen gesunder und kranker bzw. toter Brut eine Rolle spielen. In drei Messreihen wurde gezeigt, dass die durchschnittliche Körpertemperatur der toten Puppen mit  $0,3-0,7^{\circ}\text{C}$  signifikant niedriger als bei den Kontrollen war (Gramacho 1997). Für einen temperaturabhängigen Erkennungsmechanismus spricht auch, dass die Bienen bereits nach weniger als einer Stunde feststellen können, dass eine Puppe abgetötet wurde. In dieser kurzen Zeit wurde aber noch keine Veränderung volatiler Kutikularstoffe festgestellt (Gramacho unveröffentlicht, zitiert in Gramacho 1997).

Zur Quantifizierung des „Bruthygieneverhaltens“ werden Bienenpuppen durch Perforation (Nadeltest) und durch den Anteil der ausgeräumten Brutzellen bestimmt. Arathi et al. (2000) zeigten, dass vor allem Bienen mittleren Alters, also mit 15 bis 17 Tagen noch bevor sie ausfliegen hygienisches Verhalten zeigen. Aber auch in Anwesenheit von tot gefrorener Brut nutzen die Bienen 55% ihrer Zeit zu üblichen Tätigkeiten wie Selbstpflege, Herumlaufen und Zellinspektionen.

Im 3. Versuch von Kapitel 3.4.3 und 3.4.4 der vorliegenden Arbeit wurden Bienen nur einer Altersgruppe verwendet, die Bienen waren im Versuchszeitraum maximal 11 Tage alt. In diesem Fall entsprachen die Bienen nicht der Altersgruppe, die vor allem für das Ausräumen geschädigter Brut verantwortlich ist. Da die Brut aber auch in den anderen Versuchen, in denen die Völker aus Bienen allen Altersklassen stammten nicht ausgeräumt wurde, scheint das Alter der Bienen nicht der einzige Grund für die fehlende Bruthygiene zu sein.

In drei von vier Versuchen dieser Arbeit waren die Thoraxtemperaturen der Bienen auf toter Brut vergleichbar mit Thoraxtemperaturen von Bienen auf unbehandelter Brut. Nur in einem Versuch (1. Versuch) zeigten die Bienen kein Brutwärmeverhalten.

Für die optimale Versorgung der Brut mit Wärme ist aber die Bruttemperatur der entscheidende Parameter, da wie oben beschrieben in den Versuchen nur die Thoraxtemperatur der Bienen festgehalten wurde und diese allein kein Anzeichen für das eigentliche Brutwärme-

verhalten ist. Ausschlaggebend ist, dass die von den Bienen produzierte Wärme auf die Brut übertragen wird. Die Bruttemperatur unterschied sich im 1. Versuch nicht von der Temperatur einer unbehandelten Brutfläche. Dafür lag sie im 3. Versuch signifikant unter der eines unbehandelten Brutbereiches, sie befand sich aber mit durchschnittlich 34,2°C immer noch im optimalen Brutbereich zwischen 33 und 36°C (Kleinhenz et al. 2003, Groh et al. 2004). Möglicherweise ist auch der Temperaturfühler während der Aufnahme verrutscht. Zusammenfassend zeigten die Versuche, dass die Bienen den Tod der Brut nicht wahrgenommen haben. Wärmeproduktion ist zu energieaufwändig, als dass die Bienen die Brut versorgt hätten, wenn die tote Brut erkannt worden wäre.

#### 4. 5 Wege der Informationsübermittlung

Seeley (1997) argumentiert bei der Frage, wie Informationen im Bienenstock weitergegeben werden folgendermaßen: „*Signale* sind Handlungen oder Strukturen, die Informationen in sich tragen und von der natürlichen Selektion speziell geformt wurden, damit sie diese Informationen übermitteln. *Hinweise* sind Variable, die ebenfalls Informationen übermitteln, aber von der natürlichen Selektion nicht extra dafür gebildet wurden, daß sie diese Information ausdrücken. Beide Arten informativer Variablen liefern den Individuen, die sie bemerken, verlässliche Informationen; aber Signale tun dies ausdrücklich, Hinweise dagegen nur zufällig. Eine der wichtigeren Lehren, die wir aus der Untersuchung des Nahrungserwerbs von Honigbienenvölkern ziehen können, besteht darin, dass die Kommunikation innerhalb des Volkes in starkem Maße, vielleicht sogar zum ganz überwiegenden Teil, über Hinweise und nicht über Signale erfolgt.“

Im Kontext des Futtererwerbs bezeichnet Seeley Schwänzeltänze als Signale, ein Hinweis ist dagegen der Füllungszustand der Honigwaben.

Während Signale fast immer sehr auffällig gezeigt werden und starke eindeutige Botschaften an die Empfänger weitergeben, sind Hinweise oft völlig unauffällig, denn die Empfänger von Hinweisen reagieren auf Reize, die normale Bestandteile ihrer sozialen Umwelt sind und ein Großteil des Informationsflusses zwischen den Bienen nicht direkt, sondern auf indirektem Weg über einen Teil der gemeinsamen Umwelt verläuft (Seeley 1997).

Ein Beispiel dafür ist die Wärmeregulierung im Bienenstock. „Das koordinierte Erwärmen und Abkühlen des Brutnests erfolgt automatisch: Jede Ammenbiene reagiert auf die Temperatur in ihrer unmittelbaren Umgebung, indem sie das Brutnest entsprechend wärmt [...] oder kühlt [...]. So gesehen stellt die Temperatur der Luft und der Waben im Bienenstock ein Kommunikationsnetz für die Heiz- oder Kühlbedürfnisse eines Honigbienenvolkes dar.“

Bienen, denen die Antennen gekürzt worden waren, zeigten ein signifikant verändertes Brutwärmeverhalten. Durch den Verlust einiger Antennensegmente sind die Arbeiterinnen wahrscheinlich nicht mehr in der Lage, Signale oder Hinweise von der Brut, von anderen Bienen oder aus der Umwelt wahrzunehmen. Vibrationsmessungen der gedeckelten Brut ergaben, dass keine mechanischen Signale von der Brut an die Arbeiterinnen abgegeben wurden. Dieses Ergebnis wird dadurch unterstützt, dass auch tote Brut über einen langen Zeitraum gewärmt wurde (also auch hier ohne Signale der Brut das Brutwärmeverhalten aufrechterhalten wurde). Es ist zu vermuten, dass die Arbeiterinnen aufgrund von Hinweisen die gedeckelte Puppenbrut wärmen. Als Auslöser für das Brutwärmeverhalten wären Reize wie

die gedeckelte Brutoberfläche verbunden mit einer gewissen mechanischen Spannung der Zellwände, sowie chemischen Signalen (Koeniger 1978) möglich.

Der für das Brutwärmen entscheidende Hinweis könnte die bereits bestehende hohe Temperatur im Brutbereich sein, die während der Metamorphose der Larven auf einem hohen Niveau konstant gehalten werden muss. Vielleicht gelten einige besonders empfindliche Arbeiterinnen als Vorreiter, beginnen nach dem Verdeckeln der Brut mit dem Temperieren und ziehen die Masse der anderen Bienen mit. Dies zeigte sich in den Versuchen, als den manipulierten Bienen unbehandelte Tiere zur Seite gestellt worden waren. Dann stieg die Bruttemperatur innerhalb weniger Stunden (in Abhängigkeit von der Anzahl der zugefügten Kontrolltiere) an. Dies ist wiederum ein Anzeichen für die Vermutung, dass die Kooperation unter den Bienen ebenso eine wichtige Rolle für die Wärmeversorgung der Brut spielt. Die Zahl der zugegebenen Tiere war jeweils gering (120 bzw. 15 Tiere) und es ist nicht anzunehmen, dass diese Bienen allein das Brutnest optimal mit Wärme versorgt haben.

In den Versuchen, in denen die tote Brut vor dem Einsetzen in den Brutschrank auf 35°C aufgewärmt worden war, wurde die tote Brut auch weiterhin mit Wärme versorgt. Wurde die tote Brut kühl (Raumtemperatur) in den Beobachtungskasten eingesetzt (im 1. Versuch, der signifikante Unterschiede zur Kontrolle aufzeigte) wurde der Bereich nicht ausreichend gewärmt. Aus diesen Beobachtungen wird geschlossen, dass der entscheidende Hinweis zum Brutwärmen die bereits vorhandene hohe Temperatur im gedeckelten Brutbereich ist.

Schließlich könnte sich durch die fehlenden Antennensegmente und der damit verbundenen eingeschränkten Kommunikation das Brutwärmeverhalten reduzieren: eine wichtige Voraussetzung für das effektive Brutwärmen ist eine ausreichende Energieversorgung mittels Kohlenhydraten durch die Nestgenossinnen. Trophallaxis ist ein häufig zu beobachtendes Verhalten unter den Arbeiterinnen. Dabei ist sowohl das Anbieten von Nektar als auch das Betteln um Nektar ein wichtiger Bestandteil zur Einleitung der Futterübertragung. Free (1956) zeigte in diesem Zusammenhang, dass Bienen denen Teile ihrer Antennen oder die gesamten Antennen fehlten sowohl seltener um Futter bettelten, als auch weniger häufig Futter anboten, beziehungsweise Futter angeboten bekamen. Sollte also durch den Verlust einiger Antennensegmente der Energiefluss im Brutnest unterbrochen worden sein, so könnte alleine dieser Umstand dazu geführt haben, dass die Bruttemperatur aufgrund der fehlenden Energie absank.

Wobei auch das Zusammenwirken der Arbeiterinnen beim Brutwärmen eine gewisse Rolle spielen muss, da wie unter 3.7 beschrieben, das schnelle Aufwärmen des Brutbereiches nach einem Temperaturabfall, nur durch die gemeinsame Anstrengung vieler Bienen zustande kommen kann. Am 4.09.2002 sank die Temperatur innerhalb von 6,5h auf unter 20°C (Minimum = 17,1°C) um 3,5h später wieder in den für die Brut optimalen Temperaturbereich von über 34°C anzusteigen. Ähnliche Temperaturschwankungen wurden in zwei weiteren Versuchen unter anderen Umständen beobachtet. Jedes Mal sank die Temperatur relativ schnell und stieg dann auch schnell wieder an. Eine Erklärung für diese Temperaturveränderung war nicht auf Außenbedingungen (veränderte Raumtemperatur, Wettereinfluss, Entfernen der Isolierung am Beobachtungsstock, Futtermangel etc.) zu zurückzuführen. Diese extreme Temperaturveränderung zeigt eine aktive Teilnahme der Bienen an, die auf eine positive Rückkopplung (Wirkungskreislauf mit sich selbst verstärkenden Eigenschaften) basieren muss. Möglicherweise haben die Bienen in diesem Zeitraum die Brutzellen aber auch vollkommen aufgegeben, d. h. den Brutbereich verlassen, da die Temperatur in allen

Fällen bis auf Raumtemperatur absank, dann ist aber immer noch der Anstieg der Temperatur ein aktiver Prozess, der abhängig von der Bienengesamtheit ist.

Eine Kooperation unter den Arbeiterinnen würde auch den Temperaturanstieg im Brutbereich bei den Manipulationsversuchen (siehe 3.5.2) erklären. Während Bienen ohne Antennen unzureichend heizen könnte eine kleine Anzahl intakter Bienen die suboptimalen Bruttemperaturen wahrnehmen und die nicht intakten Bienen zum Brutwärmen anregen. Wie diese Anregung aussieht ist nicht bekannt.

Alle diese Phänomene würden eine Art Kommunikation in direkter oder indirekter Form benötigen. Beobachtungen zeigten allerdings, dass es vor dem Brutheizen zwischen den Arbeiterinnen keine Kommunikation durch Antennen- oder Körperkontakt gab. Vielmehr begannen alle beobachteten Tiere individuell mit dem Heizen, indem sie, nachdem sie unvermittelt unruhiger über die Brutdeckeloberfläche liefen plötzlich regungslos auf einer Stelle verweilten. Ihre Thoraxtemperatur war bereits vorher etwas gestiegen oder stieg sobald das Tier ruhig wurde. Teilweise befanden sich die Tiere schon vorher im gedeckelten Brutbereich, teils kamen sie aus den Randgebieten zum gedeckelten Brutbereich (Bujok 2000). Möglich wäre eine indirekte Aufforderung zum Brutwärmen, indem wärmende Bienen von weiteren Bienen umzingelt werden und diese ebenfalls mit dem Brutwärmen begannen. Dieser Mechanismus könnte auch den Temperaturanstieg im Brutbereich durch das Zusetzen von einzelnen unbehandelten Bienen erklären, als die Bienen mit gekürzten Antennen vorher kein Brutwärmeverhalten zeigten.

## 5. ANHANG

### 5. 1 Abkürzungen und Symbole

**	signifikant
Abb.	Abbildung
bzw.	beziehungsweise
°C	Grad Celsius
cm	Zentimeter
d. h.	das heißt
$\varepsilon$	Emissivitätskoeffizient
engl.	englisch
g	Gramm
h	Stunde
Hz	Hertz
k $\Omega$	Kilo-Ohm
min	Minute
mg	Milligramm
mm	Millimeter
MW	Mittelwert
n.s.	nicht signifikant
P	Pedicellus
PC	Personalcomputer
pers.	persönlich
S	Scapus oder Sensilla (je nach Zusammenhang)
Si	Sinnesplatte
s/ sec /Sek.	Sekunde(n)
S.D.	Standardabweichung
SE	Standardfehler
t	Zeit
T <sub>A</sub>	Außentemperatur
T <sub>diff</sub>	Temperaturdifferenz
T <sub>Luft</sub>	Lufttemperatur im gedeckelten Brutbereich
T <sub>K</sub>	Kerntemperatur
T <sub>Raum</sub>	Raumtemperatur
T <sub>Stock</sub>	Stocktemperatur
T <sub>Thorax</sub> /T <sub>Th</sub>	Thoraxtemperatur
W	Watt
vgl.	vergleiche
z. B.	zum Beispiel

## 5. 2 Abbildungsnachweis

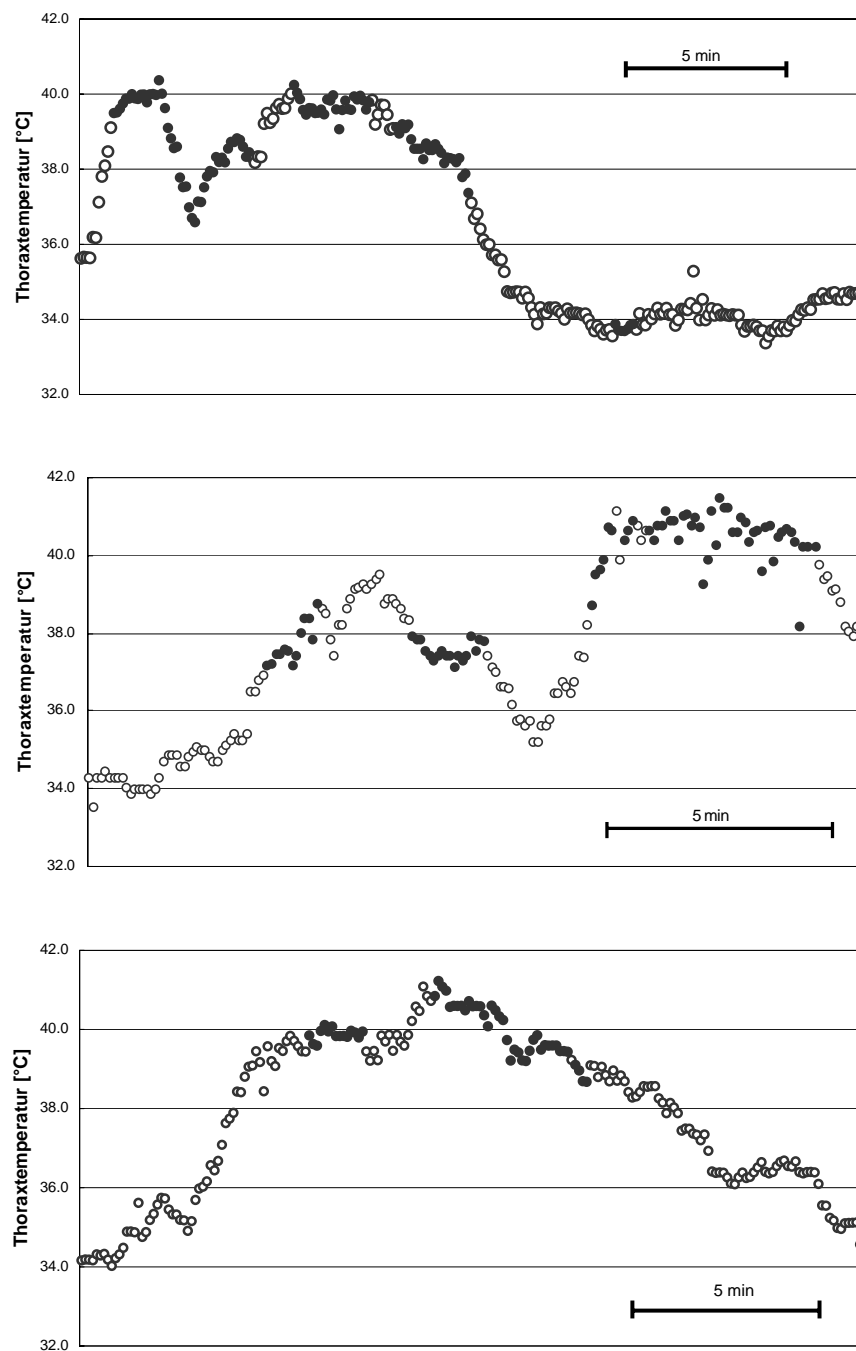
Abb. 1	H. R. Heilmann
Abb. 2	nach E. E. Southwick 1987, verändert
Abb. 3	nach Owens 1971 und T. D. Seeley 1985, verändert
Abb. 5	nach H. Esch 1991, verändert
Abb. 6	nach B. Heinrich 2001
Abb. 7	nach M. Lindauer 1993, verändert
Abb. 8	M. Kleinhenz
Abb. 9	M. Kleinhenz
Abb. 10	Flir Systems, Internetseite: <a href="http://www.join7.co.kr/">www.join7.co.kr/</a>
Abb. 18	M. Kleinhenz, B. Bujok

Alle weiteren Abbildungen stammen von B. Bujok

## 5. 3 Geräte und Materialien

- Brutschrank (B5042; Heraeus, Hanau, Schweden)
- Camcorder (Grundig LC 560 SC)
- Datenlogger (2290-8 V5, Almemo, Ahlborn, Messgenauigkeit 0,1°C, Ablesegenauigkeit 0,01°C)
- Digital-Videokamera (Panasonic NV-DS35EG)
- Endoskopkamera (Olympus IV6C5-20,35, Tokio, Japan)
- Gefrierschrank (Linde Kältetechnik, Köln)
- Hochgeschwindigkeitskamera NAC HSV 400
- Kohlefaserwiderstand (1,1k , 0,1W)
- Doppler-Laser-Vibrometer (Polytec, Waldbronn, Deutschland)
- Netzteil (AMREL LPS 301)
- Sekundenkleber UHU
- Schellack (Clou, Offenbach/M.)
- Thermovisionskamera Radiance PM<sup>®</sup> (Messgenauigkeit  $\pm 0,7^\circ\text{C}$ , Ablesegenauigkeit 0,1°C)
- Thermovisionskamera ThermaCAM<sup>™</sup> SC500 (FLIR Systems) (Messgenauigkeit  $\pm 2\%$  oder  $\pm 2^\circ\text{C}$ , Ablesegenauigkeit 0,1°C).

#### 5. 4 Temperaturkurven von Bienen im Brutbereich (vgl. 3.1.2)



**Abb. 46 Thoraxtemperaturen von Bienen im Brutbereich**

Temperaturkurven von drei weiteren individuell beobachteten Bienen, wie in 3.1.2 beschrieben. Hohe Thoraxtemperaturen zeigten die Arbeiterinnen vor allem dann, wenn sie sich ruhig verhielten. Alle drei Bienen hatten zwischenzeitlich Thoraxtemperaturen über 40°C inne.

---

## LITERATUR

Allen M. D. (1959) Respiration rates of worker honeybees at different ages and temperatures, *Journal of Experimental Biology* 36: 92-101.

Arathi H. S., Burns I. & Spivak M. (2000) Ethology of Hygienic Behaviour in the Honey Bee *Apis mellifera* L. (Hymenoptera: Apidae): Behavioural Repertoire of Hygienic Bees, *Ethology* 106: 365-379.

\*Bailey L. (1967) The effect of temperature on the pathogenicity of the fungus *Ascosphaera apis*, for larvae of the honey bee, *Apis mellifera*. In: *Insect Pathology and Microbial Control* (Ed. P. A. van der Laan) pp. 162-167. North Holland Publishing Company, Amsterdam.

\*Bartholomew G. A. (1981) A matter of size: an examination of endothermy in insects and terrestrial vertebrates, In Heinrich B (ed.) *Insect thermoregulation*, John Wiley & Sons, New York.

Bujok B., Kleinhenz M., Fuchs S. & Tautz J. (1999) Differentiation of Thoracic Temperatures of Honey Bee Workers (*Apis mellifera*) in the Capped Brood Region of a Colony. *Pszczelnicze Zeszyty Naukowe* 42 (2): 19-20.

Bujok B. (2000) Regulierung der Brutnesttemperatur bei der Honigbiene *Apis mellifera*, Diplomarbeit.

Bujok B., Kleinhenz M., Fuchs S., & Tautz J. (2002) Hotspots in the beehive, *Naturwissenschaften* 89: 299-301.

Cahill K. & Lustick S. (1976) Oxygen Consumption and Thermoregulation in *Apis mellifera* Workers and Drones. *Comp. Biochem. Physiol.* 55A: 355-357.

Eckert R. (1993) *Tierphysiologie*, 2. Auflage, Thieme, Stuttgart, New York.

Esch H. (1960) Über die Körpertemperaturen und den Wärmehaushalt von *Apis mellifica*, *Zeitschrift für vergleichende Physiologie* 43: 305-335.

Esch H. (1976) Body Temperature and Flight Performance of Honey Bees in a Servomechanically Controlled Wind Tunnel, *J. Comp Physiol.* 109: 265-277.

Esch H., Goller F. & Heinrich B. (1991) How Do Bees Shiver? *Naturwissenschaften* 78: 325-328.

Esslen J., & Kaissling K.-E. (1976) Zahl und Verteilung antennaler Sensillen bei der Honigbiene (*Apis mellifera* L.), *Zoomorphologie* 83: 227-251.

Droege G. (1993) *Die Honigbiene von A bis Z*, Ein lexikalisches Fachbuch, Ehrenwirth, Berlin.



- Fahrenholz L., Lamprecht I. & Schricker B. (1989) Thermal investigation of a honey bee colony: thermoregulation of the hive during summer and winter and heat production of members of different bee castes. *L. Comp. Physiol. B*: 551-560.
- Free J. B. (1956) A Study of the stimuli which release the food begging and offering responses of worker honeybees. *Brit. J. anim. Behav.* 4: 3.
- Free J. B. & Spencer-Booth Y. (1960) Chill-coma and cold death temperatures of *Apis mellifera* Ent. exp. & appl. 3: 222-230.
- Free J. B. & Spencer-Booth Y. (1962) The upper lethal temperature of honeybees, *Cnt. exp. & appl* 5: 249-254.
- Free J. B. (1977) The social organization of the honeybees, Arnold, London. In: Winston M.L. (1987).
- Free J. B. & Winder M. E. (1983) Brood recognition by honeybee (*Apis mellifera*) workers. *Animal Behaviour* 31: 539-545.
- Frisch K. von (1923) Über die Sprache der Bienen, eine tierphysiologische Untersuchung. *Zoologische Jahrbücher* 40 (1 und 2): 1-186.
- Gramacho K., Gonçalves L.S. & Rosenkranz P. (1997) Temperaturmessungen an lebender und abgetöteter (Nadeltest) Bienenbrut (*Apis mellifera*), *Apidologie* 28:205-207.
- Groh C., Tautz J. & Rössler W. (2004) Synaptic organization in the adult honey bee brain is influenced by brood-temperature control during pupal development. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA* 101: 4268-4273.
- \*Haydak M. (1932) Division of labor in the colony, *Wisc. Beekeep.* 8.
- Heinrich B. (1971) Patterns of Endothermy in Bumblebee Queens, Drones and Workers, *J. Comp. Physiol.* 77: 65-79.
- Heinrich B. (1979a) Keeping a Cool Head: Honeybee Thermoregulation, *Science* 205: 1269-1271.
- Heinrich B. (1979b) Thermoregulation of African and European honeybees during foraging, attack, and hive exits and returns, *Journal of Experimental Biology* 80: 217-229.
- Heinrich B. (1981) The mechanisms and energetics of honeybee swarm temperature regulation, *Journal of Experimental Biology* 91: 25-55.
- Heinrich B. (1993), *The Hot-Blooded Insects*, Springer, Berlin, Heidelberg, London Paris, Hong Kong, Barcelona, Budapest.
- Heinrich B. & Esch H. (1994) Thermoregulation in Bees. *American Scientist* 82: 164-170.

- Heinrich B. (2001) Der Hummelstaat, Überlebensstrategien einer uralten Tierart, Ullstein, München.
- Heldmaier G. & Neuweiler G. (2003) Vergleichende Tierphysiologie Band1, Neuro- und Sinnesphysiologie, Springer, Berlin, Heidelberg, New York, Hongkong, London, Mailand, Paris, Tokio.
- Heran H. (1952) Untersuchungen über den Temperatursinn der Honigbiene (*Apis mellifica*) unter besonderer Berücksichtigung der Wahrnehmung strahlender Wärme, Zeitschrift für vergleichende Physiologie 34: 179-206.
- Hess W. R. (1926) Die Temperaturregulierung im Bienenvolk, Zeitschrift für vergleichende Physiologie 4: 465-487.
- Himmer A. (1927a) Der soziale Wärmehaushalt der Honigbiene. II. Die Wärme der Bienenbrut, Erlanger Jahrbuch für Bienenkunde 5: 1-32.
- Himmer A. (1927b) Ein Beitrag zur Kenntnis des Wärmehaushalts im Nestbau sozialer Hautflügler, Zeitschrift für vergleichende Physiologie 5: 375-389.
- \*Horber E. (1961) Beitrag zur Domestikation der Hummeln, Vierteljahresschrift der Naturforschenden Gesellschaft Zürich 106: 425-447.
- Ishay J. & Ruttner F. (1971) Thermoregulation im Hornissennest, Zeitschrift für vergleichende Physiologie 72, 423-434.
- Ishay J. (1972) Thermoregulatory pheromones in wasps, Experientia 28 (10): 1185-1187.
- Jongbloed J. & Wiersma C. A. G. (1934) Der Stoffwechsel der Honigbiene während des Fliegens, Zeitschrift für vergleichende Physiologie 21: 519-533.
- Kaiser W. (1988) Busy bees need rest, too, Behavioural and electromyographical sleep signs in honeybees, J. Comp Physiol A 163: 565-584.
- \*Kammer A. E. & Heinrich B. (1978) Insect flight metabolism, Adv. Insect Physiol. 13: 133-228.
- Kefuss J.A. (1995) Hygiene-Verhalten von Honigbienen aus Frankreich, Tunesien und Chile, Apidologie 26: 325-327.
- Kirchner W.H. (1987) Tradition im Bienenstaat, Kommunikation zwischen den Imagines und der Brut der Honigbienen durch Vibrationssignale, Dissertation.
- Kleineidam C. & Tautz J. (1996) Perception of Carbon Dioxide and Other "Air-Condition" Parameters in the Leaf Cutting ant *Atta cephalotes*, Naturwissenschaften 83: 566-568.
- Kleinhenz M., Bujok B., Fuchs S. & Tautz J. (2003) Hot bees in empty broonest cells: heating from within, Journal of Experimental Biology 206 (23): 4217-4231.

- Koeniger N. & Veith H. J. (1964) Spezifität eines Brutpheromons und Bruterkennung bei der Honigbiene (*Apis mellifera* L.), *Apidologie* 15: 205-210.
- Koeniger N. (1978) Das Wärmen der Brut bei der Honigbiene (*Apis mellifera* L.), *Apidologie* 9 (4): 321-340.
- Koeniger N. & Veith H. J. (1983) Glyceryl-1,2-dioleate-3-palmitate, a brood pheromone of the honeybee (*Apis mellifera* L.) *Experientia* 39: 1051-1052.
- \*Kratky E. (1931) Morphologie und Physiologie der Drüsen in Kopf und Thorax der Honigbiene (*Apis mellifica* L.), *Z. Wiss. Biol.* 139: 120-200.
- Kronenberg F. & Heller H. C. (1982) Colonial Thermoregulation in Honey Bees (*Apis mellifera*) *J. Comp. Physiol.* 148: 65-76.
- Lacher V. (1964) Elektrophysiologische Untersuchungen an einzelnen Rezeptoren für Geruch Kohlendioxyd, Luftfeuchtigkeit und Temperatur auf den Antennen der Arbeitsbiene und der Drohne (*Apis mellifica* L.) *Zeitschrift für vergleichende Physiologie* 48: 587-623.
- Lamprecht J. (1992) Biologische Forschung: Von der Planung bis zur Publikation, „Pareys Studentexte“ Nr. 73. Paul Parey, Berlin, Hamburg.
- Le Conte Y., Arnold G., Trouiller J., Masson C. & Chappe B. (1990) Identification of a Brood Pheromone in Honeybees, *Naturwissenschaften* 77: 334-336.
- Lindauer M. (1952) Ein Beitrag zur Frage der Arbeitsteilung im Bienenstaat, *Zeitschrift für vergleichende Physiologie* 34: 299-345.
- Lindauer M. (1954) Temperaturregulierung und Wasserhaushalt im Bienenstaat, *Zeitschrift für vergleichende Physiologie* 36: 391-432.
- Lindauer M. (ed.) (1997) Karl von Frisch: Aus dem Leben der Bienen, 10. Auflage, Springer, Berlin, Heidelberg, New York.
- Martin H. & Lindauer M. (1966) Sinnesphysiologische Leistungen beim Wabenbau der Honigbiene, *Zeitschrift für vergleichende Physiologie* 53: 372-404.
- Nieh J. C. & Tautz J. (2000) Behaviour-locked signal analysis reveals weak 200-300 Hz comb vibrations during the honeybee waggle dance, *Journal of Experimental Biology* 203: 1573-1579.
- \*Nijland, M. J. M. & Hepburn H. R. (1985) Ontogeny of a circadian rhythm in the cluster temperature of honeybees. *South African Journal of Science* 81 (2): 100-101.
- \*Newsholme E. A., Crabtree B. Higgins S. J., Thornton S. D. & Start C. (1972) The activities of fructose diphosphatase in flight muscles from the bumble-bee and the role of this enzyme in heat generation. *Biochem. J.* 128: 89-97.

- Ono M., Igarashi T., Ohno E. & Sasaki M. (1995) Unusual thermal defence of a honeybee against mass attack by hornets, *Nature* 377 (6547): 334-336.
- Oster G. F. & Wilson E. O. (1978) *Caste and Ecology in the Social Insects*. Princeton University Press, Princeton, New Jersey.
- \*Öttingen T. von (1949) Über das Wesen der Suchbiene, *Zeitschrift für vergleichende Physiologie* 31: 454-489.
- \*Owens C. D. (1971) The thermology of wintering honey bee colonies. Technical Bulletin, United States Department of Agriculture 1429: 1-32.
- Rösch G. A. (1925) Untersuchungen über die Arbeitsteilung im Bienenstaat. *Zeitschrift für vergleichende Physiologie* 2: 571-631.
- Rosenkranz P. (1988) Temperaturpräferenz der Varroa-Milbe und Stocktemperaturen in Bienenvölkern an Tropenstandorten (Acarina: Varroidae Hymenoptera: Apidae). *Entomol. Generalis* 14: 123-132.
- \*Rothenbuhler, W. C. (1964) Behaviour genetics of nest cleaning in honey bees. IV. Responses of F<sub>1</sub> and backcross generations to disease-killed brood. *Am. Zool.* 4: 111-123.
- Ruttner F. (1992) *Naturgeschichte der Honigbienen*. 2. Auflage, Kosmos, Stuttgart.
- Sachs L. (1999) *Angewandte Statistik Anwendung statistischer Methoden*. 9. Auflage, Springer, Berlin, Heidelberg, New York.
- Schmaranzer S. (1984) Körpertemperaturmessungen mittels Thermovision bei Honigbienen während der Futtersuche und des Tanzes. Sonderdruck aus „International Symposium in Memory of Dr. Franz Sauberer“, Universität für Bodenkultur, Wien: 51-53.
- Seeley T. D. (1985) *Honeybee Ecology, A Study of Adaptation in Social Life*. Princeton University Press, Princeton.
- Seeley, T. D. (1997) *Honigbienen: Im Mikrokosmos des Bienenstocks*. Birkhäuser, Basel.
- Seeley T. D., Kleinhenz M., Bujok B. & Tautz. J. (2003) Thorough warm-up before take-off in honey bee swarms, *Naturwissenschaften* 90: 256-260.
- Slama K., Rembold H. (1986) Communication by infrasonic pulsations in the honey bee. IUSSI, 10<sup>th</sup> International Congress, München.
- Snodgrass R. E. (1956) *Anatomy of the Honey Bee*, Comstock Publishing Associates, Ithaka, New York.
- Southwick E. E. & Mugaas J. N. (1971) A hypothetical homeotherm: The Honeybee hive. *Comp. Biochem. Physiol.* 40A: 935-944.

- Southwick E. E. (1983) The Honey Bee Cluster as a Homeothermic Superorganism, *Comp. Biochem. Physiol.* 75A (4): 641-645.
- Southwick E. E. & Heldmaier G. (1987) Temperature Control in Honey Bee Colonies, Precise social cooperation permits adaptation to temperate climates, *Bioscience* 37: 395-399.
- Southwick E. E. & Moritz R. F. A. (1987) Social Control of Air Ventilation in Colonies of Honey Bees, *Apis mellifera*, *J. Insect Physiol.* 33 (9): 623-626.
- Southwick E. E. (1987) Cooperative Metabolism in Honey Bees: An Alternative to Antifreeze and Hibernation, *J. therm. Biol.* 12 (2): 155-158.
- Southwick, E. E. (1991). The colony as a thermoregulating superorganism. In: Goodman L. J., Fisher, R. C. (Eds.), *The behaviour and physiology of bees*. C.A.B. International, London, pp. 28-47.
- Spivak M., & Gilliam M. (1998) Hygienic behaviour of honey bees and its application for control of brood diseases and varroa. Part II. Studies on hygienic behaviour since the Rothenbuhler era, *Bee World* 79 (4): 169-186.
- Stabentheiner A. & Schmaranzer S. (1987) Thermographic Determination of Body Temperatures in Honey Bees in Hornets: Calibration and Applications, *Thermology* 2: 563-572.
- Stabentheiner A. & Hagmüller K. (1991) Sweet Food Means "Hot Dancing" in Honeybees, *Naturwissenschaften* 78: 471-473.
- Stabentheiner A., Kovac H., & Hagmüller K. (1995) Thermal behavior of round and wagtail dancing honeybees, *J. Comp Physiol B* 165: 433-444.
- Stabentheiner A. & Römer H. (1999) *Lehrbuch der Entomologie*, Kapitel 11.2, 2. Auflage, Dettner K. & Peters W., (Hrsg.), Spektrum, Heidelberg, Berlin.
- Stabentheiner A. & Kovac H. (2002) Beitrag unterschiedlich alter Arbeiterinnen zur Wärme-  
produktion im Brutnest von Bienenvölkern, *Apidologie* 33:499-500.
- Starks P. T., Blackie C. A. & Seeley T. D. (2000) Fever in honeybee colonies, *Naturwissenschaften* 87: 229-231.
- Steiner A. (1924) Über den sozialen Wärmehaushalt der Waldameise (*Formica rufa* var. *rufopratensis*). *Zeitschrift für vergleichende Physiologie* 2: 1.
- Stone G. N. und Willmer P. G. (1989) Warm-up rates and body temperatures in bees: the importance of body size, thermal regime and phylogeny, *J. exp. Biol.* 147: 303-328.
- Tautz J., Casas J. & Sandeman D.C. (2001) Phase reversal of vibratory signals in honeycomb may assist dancing honeybees to attract their audience, *Journal of Experimental Biology* 204: 3737-3746.

Tautz J., Maier S., Groh C., Rössler W. & Brockmann A. (2003) Behavioral performance in adult honey bees is influenced by the temperature experienced during their pupal development, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA* 100: 7343-7347.

Trouiller J., Arnold G., Le Conte Y., C. & Chappe B. (1991) Temporal pheromonal and kairomonal secretion in the brood of honey bees, *Naturwissenschaften* 78: 368-370.

Veith H. J. & Koeniger N. (1978) Identifizierung von cis-9-Pentosen als Auslöser für das Wärmen der Brut bei der Hornisse. *Naturwissenschaften* 65: 263.

Wehner R. & Gehring W. (1990) *Zoologie*. 22. Auflage, Thieme, Stuttgart.

Weippl T. (1934) Der Brutzeldeckel, *Archiv für Bienenkunde* 15: 46-50.

\*Weiß K. (1962). Über die Lebensfähigkeit von offener und gedeckelter Brut außerhalb des Bienenvolkes. *Z. Bienenforsch.* 6: 104-114.

Winston M. L. (1987) *The Biology of the Honey Bee*, Harvard University Press, Cambridge, London.

\*Woodrow A. W. & Holst E.C. (1942) The mechanism of colony resistance to American foulbrood, *J. Econ. Entomol.* 35(3): 327-330.

Mit einem \* gekennzeichnete Literaturangaben wurden aus anderer Literatur zitiert.

## ZUSAMMENFASSUNG

Honigbienen (*Apis mellifera carnica*) regulieren die Temperatur ihrer Brut in einem sehr engen Temperaturfenster, da vor allem die gedeckelte Brut sehr temperaturempfindlich reagiert (Groh et al. 2004). Die Thermoregulation ist nicht – wie lange angenommen – Beiprodukt von alltäglichen Arbeiten der Bienen im Brutbereich, sondern eine aktive und Energie- und Zeitaufwändige eigene Tätigkeit. Arbeiterinnen ziehen sich mit ihren Beinen an die Brutoberfläche, drücken ihren warmen Thorax auf die Brutdeckel und verharren so für einige Minuten um mit der eigenen Körperwärme die Brut zu temperieren (Bujok et al. 2002). Wie erwartet korrelierte die Thoraxtemperatur einer Arbeiterin mit der Frequenz der abdominalen Atembewegungen, bei sehr hohen Thoraxtemperaturen (über 40°C) erreichten die Bienen Atemfrequenzen von über 8Hz.

Eine weitere Methode die Brut effektiv zu wärmen übten Bienen aus, die leere Zellen im gedeckelten Brutbereich besuchen (Kleinhenz et al. 2003). Arbeiterinnen gingen dabei bevorzugt in Zellen, die von möglichst vielen gedeckelten Zellen umgeben waren. Sowohl die Dauer der Zellbesuche, als auch die mittlere Thoraxtemperatur bei Ein- und Austritt der Zelle korrelierten mit der Anzahl der benachbarten Brutzellen – je mehr Brutzellen eine leere Zelle in ihrer direkten Nachbarschaft hatte umso länger dauerte der Besuch einer Biene und umso höher ist die Ein- bzw. Austrittstemperatur der Biene. Mindestens 48 Stunden alte Bienen unterschieden sich signifikant in ihrem Wärmeverhalten von jüngeren Bienen.

Tote gedeckelte Brut wurde in manchen Fällen über viele Tage (durchgehend bis 10 Tage) gewärmt, sie unterschied sich in ihrer Temperatur nicht von unbehandelter gedeckelter Brut. In weiteren Versuchen lag die Bruttemperatur von toter Brut zwar unter der eines Kontrollbereiches, die Temperatur lag aber weiterhin im optimalen Bereich von 33,5 bis 35°C (Groh et al. 2004). In diesen Versuchen wurde die tote Brut vor dem Einsetzen in den Beobachtungsstock wieder auf 35°C erwärmt. Wachskegel in gedeckelten Zellen wurden erkannt und ausgeräumt. Aktive Signale, die von der Brut ausgehen scheinen also nicht notwendig für die effektive Bruttemperaturregulierung zu sein. Untersuchungen mittels Laser-Doppler-Vibrometrie zeigten auch keine Hinweise auf eine mechanische Kommunikation zwischen den Puppen und den Arbeiterinnen.

Das Brutwärmen scheint eine Aktion zu sein, die von den Bienen nur in Gemeinschaft sinnvoll durchgeführt werden kann. In einigen Fällen kam es während der Puppenphase zu unerklärlichen Abfällen in der Bruttemperatur, die nur durch einen positiven Rückkopplungseffekt seitens der Arbeiterinnen erklärt werden kann.

Beim Brutwärmen spielen die Antennen der Arbeiterinnen wahrscheinlich eine wichtige Rolle. Während sich die Bienen beim aktiven Brutwärmen den Brutdeckel annähern sind die Antennenspitzen immer auf die Brutdeckel gerichtet. Fehlen den Arbeiterinnen die Antennen, dann ist die Thermoregulation eingeschränkt oder unzureichend. Die Bruttemperatur korreliert mit der Anzahl der abgetrennten Antennensegmente, je mehr Antennensegmente fehlen, desto weniger gut wird die Temperatur im Brutbereich hoch und konstant gehalten. Zusätzlich scheint es eine Lateralität in der Antennenfunktion zu geben, wurde die rechte Antenne gekürzt wärmten die Bienen die Brut signifikant schlechter, als beim Kürzen der linken Antenne.

Durch das Kürzen der Antennen änderte sich auch das Verhalten der Tiere: Kontrollbienen verharren ruhig im Brutbereich, während Bienen mit gekürzten Antennen teilweise ähnlich warm waren, aber nicht mehr das oben beschriebene aktive Brutwärmeverhalten zeigten.

## CONCLUSION

Honey bees (*Apis mellifera carnica*) precisely regulate brood temperature in a range between 33 to 35°C, as the development of the larvae, especially the capped brood stages are very sensitive to temperature changes. The heat used for thermoregulation in the brood area is not a by-product of work, but an active time and energy consuming task called brood heating behaviour: worker bees pull their warm thoraces towards the brood caps and remain in that position for about 10 minutes to transfer their body heat to the brood caps and the brood (Bujok et al. 2002). As expected, thoracic temperatures of bees correlated with frequency of abdominal breathing movements; bees with high thoracic temperatures (above 40°C) showed abdominal movements of up to slightly over 8Hz.

Honey bee workers use empty cells neighbouring the capped brood cells for brood heating (Kleinhenz et al. 2003). Therefore, bees preferred visiting cells neighboured by numerous brood cells. Both duration of cell visits and thoracic temperature of the bee correlated with the number of neighboured brood cells. Older bees (at least 48h) showed significantly higher thoracic temperatures than younger bees (up to 48h old) immediately before and after their cell visits.

Dead capped brood were heated over several days and showed equivalent temperatures to living brood warmed by worker bees. In other cases, the brood temperature was lower, but still in the optimal temperature range of 33.5 to 35°C (Groh et al. 2004). In the experiments, the dead brood was killed by cold then warmed up again to 35°C before putting it into the observation hive. Capped brood cells filled with wax dummies were not heated and immediately cleared out. Mechanical signals from the brood seemed not to be important for the brood heating behaviour of the worker bees; observations with laser-vibrometry showed no signals coming from the brood demanding thermoregulation.

The antennae of the bees seem to be very important for effective brood heating, since during brood heating behaviour the antennae point to the capped brood surface. Worker bees with shortened antennae showed inferior brood heating behaviour, while brood temperature correlated with number of missing antenna segments. Additionally, the effectiveness of brood heating seems to be linked to a underlying laterality of the antennas function, when parts of the right antenna were amputated, brood heating was worse than when parts of the left antenna were amputated. With the amputation of the antenna the behaviour of the bees changed: control bees remained very quiet in the capped brood area, while bees with amputated antenna with similarly warm thoraces did not show the typical brood heating behaviour anymore.

In some observations brood temperature dropped for some hours and increased again in a way that can only be explained by positive feedback of brood heating of the worker bees. Brood heating appears to be a collective action.



## LEBENS LAUF

### Zur Person

Name	Brigitte Bujok
Anschrift	Otto-Hahn-Str. 43 97218 Gerbrunn
Geboren am	10.05.1972 in Werneck bei Schweinfurt

### Ausbildung

Aug. 2000 - heute	Promotion: Temperaturregulierung im Brutbereich der Honigbiene ( <i>Apis mellifera carnica</i> )
Aug. 2000 - Juli 2003	Stipendium des DFG Graduiertenkollegs "Grundlagen des Arthropodenverhalten"
Nov. 1994 - März 2000	Julius-Maximilians-Universität in Würzburg Studium der Biologie (Diplom), Diplomarbeit: Regulierung der Brutnesttemperatur bei der Honigbiene <i>Apis mellifera</i>
Sep. 1993 - Aug. 1994	Freiwilliges soziales Jahr
Sep. 1983 - Juli 1993	Alexander-von-Humboldt Gymnasium in Schweinfurt

## PUBLIKATIONEN

### Artikel in Zeitschriften

Tautz J., Kleinhenz M., **Bujok B.**, Bock F. & Fuchs S. (2004) Thermoregulation of the environment: a masterpiece of the honey bee - Heating bees and their behaviour in the brood nest, *Apoidea* 2 (1): 55-60.

Kleinhenz M., **Bujok B.**, Fuchs S. & Tautz J. (2003) Hot bees in empty broonest cells: heating from within, *Journal of Experimental Biology* 206 (23): 4217-4231.

Seeley T. S., Kleinhenz M., **Bujok B.** & Tautz J. (2003) Thorough warm-up before take-off in honey bee swarms, *Naturwissenschaften* 90: 256-260.

**Bujok B.**, Kleinhenz M., Fuchs S. & Tautz J. (2002) Hotspots in the beehive, *Naturwissenschaften* 89: 299-301.

### Beiträge auf Tagungen

52. Jahrestagung der Arbeitsgemeinschaft der Institute für Bienenforschung e.V. in Halle, 2005

Seeley T. S., Kleinhenz M., **Bujok B.** & Tautz J., Das Temperaturverhalten von Schwarmbienen vor dem Abflug

51. Jahrestagung der Arbeitsgemeinschaft der Institute für Bienenforschung e.V. in Münster/Haus Düsse, 2004

Basile R., **Bujok B.**, Hertenberg D., Schoop U. & Tautz J., Unterdurch„schnittlich“ Wie wichtig sind die Antennen bei der Thermoregulation im Brutbereich?

50. Jahrestagung der Arbeitsgemeinschaft der Institute für Bienenforschung e.V. in Schmitten, 2003

**Bujok B.** & Tautz J., Zellbesuche im gedeckelten Brutbereich der Honigbiene

95. Jahresversammlung der Deutschen Zoologischen Gesellschaft in Halle, 2002

**Bujok B.**, Kleinhenz M., Fuchs S. & Tautz J., Brood incubation strategies of individual honeybee workers (*Apis mellifera carnica*)

49. Jahrestagung der Arbeitsgemeinschaft der Institute für Bienenforschung e.V. in Celle, 2002

**Bujok B.**, Kleinhenz M., Fuchs S. & Tautz J., Beobachtungen zum Brutwärmen von Arbeiterbienen (*Apis mellifera carnica*)

IV. European Workshop of Invertebrate Ecophysiology in St. Petersburg, 2001

Kleinhenz M., **Bujok B.**, Fuchs S. & Tautz J., Regulation of brood nest temperature in honeybee colonies (*Apis mellifera carnica*)

48. Jahrestagung der Arbeitsgemeinschaft der Institute für Bienenforschung e.V. in Bad Neuenahr/ Ahrweiler 2001

Kleinhenz M., **Bujok B.**, Fuchs S. & Tautz J., Die Körpertemperaturen von Arbeitsbienen (*Apis mellifera*) beim Besuch von Wabenzellen

46. Jahrestagung der Arbeitsgemeinschaft der Institute für Bienenforschung e.V. in Marburg, 1999

**Bujok B.**, Kleinhenz M., Fuchs S. & Tautz J., Unterschiedliche Thoraxtemperaturen bei Honigbienen in der gedeckelten Brutregion

IV. Polnisch-Deutsches Symposium in Storkow, 1999

**Bujok B.**, Kleinhenz M., Fuchs S. & Tautz J., Differenzierung der Thoraxtemperaturen beim Brutwärmen von *Apis mellifera*

## DANKSAGUNG

Herrn **Prof. Dr. Jürgen Tautz** für die Betreuung und Unterstützung in allen Bereichen meiner Promotion. Herrn **Prof. Dr. Berthold Hölldobler** als Lehrstuhlinhaber für die Bereitstellung der Räumlichkeiten und Instrumente. Herrn **PD Dr. Stefan Fuchs** als Zweitgutachter, für die Betreuung und für die interessanten Diskussionen zu meinem Thema.

Herrn **Imkermeister Heinrich Demmel** für die kompetente Hilfestellung im praktischen Bereich am Anfang meiner Doktorarbeit und Herrn **Dirk Ahrens-Lagast** für die Hilfe im praktischen Bereich in der zweiten Hälfte meiner Promotion.

**Marco Kleinhenz** für die vielfältige Unterstützung in allen Bereichen, für die Frequenzauswertung, Zusammenarbeit auch bei der Kalibrierung der Folie und Umrechnung der Temperaturdaten, die Programme zum Markieren individueller Bienen. **Rebecca Basile** für die gute Zusammenarbeit bei den Versuchen mit der zweiten Thermovisionskamera. **Helga Heilmann** für die Bereitstellung einer Abbildung. **Deetje Hertenberg** für die Auswertung von Thermovisions-Einzelbildern im Rahmen eines Praktikums. **Dr. Christoph Kleineidam** für die Einarbeitung und Hilfe beim Programm Amira<sup>®</sup>. **Dr. Christian Pirk** für die große Hilfe bei statistischen Fragen. **Uta Schoop** für die Auswertung von Thermovisions-Einzelbildern. **Timothy Warner** für die Durchsicht der englischen Zusammenfassung. Und **meinen Eltern** und **meinen Freunden** für die Ermutigung und Unterstützung während meiner Arbeit.

## **ERKLÄRUNG**

Hiermit erkläre ich ehrenwörtlich, dass ich diese Doktorarbeit selbständig erarbeitet und keine anderen als die hier ausgeführten Quellen und Hilfsmittel verwendet habe.

Gleichfalls erkläre ich, dass diese Dissertation in dieser oder ähnlicher Form noch keinem anderen Prüfungsverfahren vorgelegt wurde.

Weiterhin erkläre ich, dass ich bis jetzt keine akademischen Grade erworben oder zu erwerben versucht habe.

Würzburg, 25. Juli 2005

---

Brigitte Bujok