

VORKOMMEN UND SYNTHESE VON DOTTER-PROTEINEN: BEZIEHUNGEN
ZUR OOGENESE BEI DEN WEIBLICHEN KASTEN DER REZENTEN APIS-
ARTEN IM HINBLICK AUF DIE EVOLUTION MONOGYNER STAATEN

Wolf Engels, Zoologisches Institut der Universität Münster/Westf.,
Deutschland.

Die Evolution volkreicher, monogynen Insekten-Staaten konnte nur unter bestimmten Voraussetzungen stattfinden. Bei den Hymenopteren waren es vor allem tiefgreifende Veränderungen vieler Verhaltensmuster:

1. In den aus Nestgemeinschaften von Geschwisterweibchen entstandenen Sozietäten war eine gegenseitige Aggressionshemmung wichtig.
2. Nestbau, Beschaffung und Verarbeitung der Nahrung, Brutpflege und Nestverteidigung mußten durch Arbeitsteilung und Spezialisierung mit der Effizienz eines Großbetriebes organisiert werden. Grundlage hierfür bildeten speziell entwickelte Kommunikationssysteme.
3. Zur Überbrückung von Schlechtwetterperioden und insbesondere für ein Perennieren mußten Dauervorräte geschützt angelegt werden.

Daneben mußten entwicklungs- und fortpflanzungsphysiologische Besonderheiten gegenüber dem solitären Status ausgebildet werden:

4. Auf plötzliche sowie jahreszeitliche Veränderungen von Tracht- und Witterungsverhältnissen mußte ein großes Volk mit Einschränkung oder Ausweitung des Brutgeschäftes reagieren können. Das machte eine weitgehende soziale Regulation der Fertilität erforderlich, vor allem bezüglich der Aufzucht von Geschlechtstieren.

Wegen der schon bei solitären Hymenopteren vorhandenen Arrhenotokie konnte die Zahl der Drohnen gesteuert werden. Die parthenogenetische Erzeugung von Männchen muß unter diesem Gesichtspunkt als Präadaptation für die Evolution einer hohen sozialen Stufe angesehen werden. Ihre volle soziale Kontrolle war aber erst nach der Herausbildung Kasten- und Sex-spezifischer Brutzellen möglich (vgl. Koeniger, 1970).

Die unter 1, 2 und 4 angeführten Forderungen begünstigten im Übrigen die Entstehung von Monogynie. Die Punkte 2 und 4 führten zu Kasten-spezifischen Differenzierungen bei den weiblichen Individuen. Die als Nr. 3 genannte Voraussetzung trifft besonders für Regionen mit Kaltem Winterklima zu. Zusammen mit den als Punkt 2 u. 4 formulierten Bedingungen ergibt sich daraus ein Trend, einen immer höheren Anteil von Arbeitsbienen mit reinen Sammelfunktionen zu versehen: Die Biene wurde zur Honigbiene und damit für den Menschen als Haustier interessant. Er domestizierte die Arten mellifica und z. T. cerana, denn nur diese beiden legen in zahlreichen Waben größere Vorräte an.

Im folgenden soll versucht werden, Vorkommen und Synthesemuster von Dotterproteinen bei weiblichen Honigbienen unter dem Gesichtspunkt eines Evolutionsdruckes in Richtung maximal und minimal fertiler Typen zu analysieren.

MATERIAL UND METHODEN:

Verwendet wurden lebende Bienen der 4 Apis-Arten mellifica (carnica-Hybriden), cerana (aus Pakistan), florea (aus Persien und Ceylon) und dorsata (aus Ceylon). Mellifica und cerana wurden freifliegend, florea und dorsata in Flugkäfigen im Klimaraum gehalten. Die Protein-Proben wurden elektrophoretisch auf Cellogele-Streifen getrennt und mit Amidoschwarz gefärbt. Quantitative Auswertungen erfolgten photometrisch bzw. radiometrisch nach vorheriger Injektion eines ^{14}C -Aminosäuren-Gemisches (vgl. Engels, 1972). Die Haemolymph-Proteine liefern 3 Fraktionen mit je 2 Unterbanden, von denen die am weitesten laufende, H3b, das Dottermaterial repräsentiert.

ERGEBNISSE

Aufgrund aller bisher durchgeführten verhaltensphysiologischen (Lindauer, 1956), cytogenetischen (Rothenbuhler et al, 1968), elektrophoretischen (Schabacker, 1973) und immunologischen (Hagmeister, 1973) Vergleiche muß Apis florea, die Kleinste der 4 Honigbienen-Arten, als die ursprünglichste angesehen werden. Leider standen erst wenige florea-Königinnen für Experimente zur Verfügung. Die Dotter-Fraktion H3b hatte bei ihnen folgende Anteile am Spektrum der Haemolymph-Proteine: 18% bei einer Jungkönigin, 44 bzw. 53% bei zwei nicht legenden Königinnen, 49% bei einer eierlegenden alten Königin. Der Dotterprotein-Titer einer sich im Volk aufhaltenden florea-Königin dürfte demnach bei 50% liegen. Bei einer Versuchsdauer von 1 Tag war die Markierung der Dotterproteine bei den nicht in Eilage stehenden Königinnen am höchsten, bei der Jungkönigin am niedrigsten; die eierlegende Königin nahm eine Mittelstellung ein.

Vergleicht man diese ersten Daten von florea mit der gebotenen Vorsicht mit dem umfangreichen Material, das über den Dotterprotein-Haushalt von mellifica-Königinnen zur Verfügung steht, so werden eine Reihe von Unterschieden deutlich:

Im Sommer haben eierlegende mellifica-Königinnen einen H3b-Titer von im Mittel 55%. Gegen Ende der Brutperiode, z. B. bei Heideköniginnen kurz vor dem Abtrommeln der Völker im Herbst, liegt er höher, nämlich bei 60%. Nicht eierlegende, eingeweiselte Sommer-Königinnen haben einen durchschnittlichen Anteil von sogar 75% Dotterproteinen. In ähnlicher Größenordnung liegen die Werte von Winter-Königinnen, aber auch von unbegatteten, paarungsbereiten Jung-Königinnen. Unmittelbar nach dem Schlüpfen ist bei mellifica-Königinnen bereits Dottermaterial in der Haemolymph zu finden. Der anfangs bei 15% liegende Titer steigt in den ersten 3-5 Imaginal-Tagen auf 60-65% und bis zum Hochzeitsflug weiter auf 75% an.

Bei nicht eierlegenden mellifica-Königinnen werden alle Haemolymph-Proteine mit übereinstimmenden Syntheseraten von Fettkörper gebildet. Dotter-Proteine werden auch synthetisiert, obwohl keine Vitellogenese und damit kein normaler Verbrauch stattfindet. Sobald dies der Fall ist, wird die Protein-Syntheserate gesteigert, und zwar nur die der Dotter-Fraktion. Dazu genügt schon die geringe Eiproduktion, mit der in der zweiten Winterhälfte noch vor Beginn der Flugperiode das

Brutgeschäft einsetzt. In der Hauptbrutsaison im Frühjahr und Sommer, wenn täglich 500 - 2.000 Eier abgelegt werden, ist die Syntheserate der Dotterproteine 2-3 mal so hoch wie die der übrigen Haemolymph-Fractionen. Das Dottermaterial stellt dann einen Anteil von 85-90% der laufend neu synthetisierten Blutproteine.

Cerana- und dorsata-Königinnen konnten noch nicht untersucht werden, wohl aber Arbeiterinnen beider Arten. Zunächst sollen jedoch wieder Zwerghonigbienen behandelt werden.

Bei frisch geschlüpften Arbeiterinnen von Apis florea ist bis Alter von 6 h nur die Haemolymph-Fraktion H1 vorhanden. Am Ende des 1. Tages taucht als nächstes die Bande H2 auf. Im Laufe des 3. Tages erscheinen dann die Dotterproteine. Sie machen am 4. Tag ca. 25%, am 5. Tag 50% und bei noch etwas älteren Bienen im Mittel 65% der löslichen Blutproteine aus. Die Fraktion H 1 stellt dann rd. 25% und H2 rd. 10%. Ein derartiges Haemolymph-Spektrum ist charakteristisch für die große Mehrzahl der Arbeiterinnen eines weiselrichtigen florea-Volkes. Offenbar handelt es sich um diejenigen Bienen, die dauernd die Wabe belagern. Die wenigen ausgesprochenen Flugbienen, die im Käfig ständig zwischen Wabe und Futterstelle pendelten und reine Sammelfunktionen ausübten, unterscheiden sich von der Menge der anderen älteren Arbeiterinnen durch das völlige Fehlen der Bande H3b. Bei ihnen ist dafür der Titer der Fraktion H1 auf fast 90% erhöht, so daß sie vom Haemolymph-Status wieder Jungbienen ähneln.

Bei älteren florea-Arbeiterinnen mit hohem H3b-Titer ist die Syntheserate für dieses Protein die niedrigste aller Haemolymph-Fractionen. Die Synthese der H2-Proteine läuft mit etwa doppelt so hoher Rate, die H1-Werte liegen etwas über den H3b-Mittelwerten. Dottermaterial wird also nur in relativ geringem Umfang synthetisiert.

Von Apis dorsata stand nur eine weisellose Gruppe von einigen Hundert von der Wabe abgefegten Arbeiterinnen zur Verfügung, deren Alter und Verhalten im Volk unbekannt waren. Da sie erstmals knapp eine Woche nach dem Fang untersucht wurden, konnten keine Jungbienen mehr darunter sein. Das Haemolymph-Spektrum dieser Bienen variierte ziemlich stark. Bei ca. 30 Arbeiterinnen wurden mehr als 10% Dotterproteine festgestellt, im Durchschnitt lag der H3b-Titer sogar bei 50%. Der H1-Anteil betrug 30%, der von H2 20%.

Die Syntheseraten streuten insgesamt ebenfalls stark. Bei Arbeiterinnen mit Dotterproteinen in der Haemolymph wurden keine signifikanten Unterschiede zwischen den einzelnen Fraktionen gefunden, d.h. dotterpflichtige und nicht dotterpflichtige Blutproteine wurden mit gleicher Rate synthetisiert. Dabei lagen die absoluten Daten durchaus in der bei Arbeiterinnen der anderen Apis-Arten gemessenen Größenordnung, woraus zu schließen ist, daß in der dorsata-Gruppe keine völlig abnormen Bedingungen herrschten.

Von Apis cerana konnten Arbeiterinnen definierten Alters untersucht werden. Auch hier fehlt nach dem Schlüpfen die Dotterbande H3b noch im Spektrum, es dominiert H1 mit fast 90% Anteil. Im Alter von 3 - 4 Tagen erscheint dann die Fraktion H3b. Bei 5 - 6 Tage alten

cerana-Arbeiterinnen macht sie im Mittel 25% aus. H1 bleibt die stärkste Fraktion. Bei Flugbienen von 15 - 30 Tagen Alter ist die Dotterbande H3b wieder verschwunden und der H1-Titer erneut auf ca. 85% angestiegen.

Am ausführlichsten wurden bisher die Veränderungen des Haemolymph-Spektrums von mellifica-Arbeiterinnen analysiert. Unmittelbar nach dem Schlüpfen überwiegt bei ihnen die Fraktion H1 mit über 60%, im Verlauf der ersten beiden Imaginal-Tage steigt dieser Wert noch auf durchschnittlich über 70% an. Korrespondierend hierzu sinkt der Anteil der Bande H2 von anfänglich rd. 35% auf etwa 20% ab. H3a macht nur um die 5% aus und verändert sich altersbedingt kaum, nur bei Flugbienen steigt der Titer dieser kleinen Fraktion auf. ca. 10% an. Die Dotterproteine fehlen zunächst völlig im Spektrum. Erst am 2. Tag erscheinen sie in Spuren. Vom 3. Tag an steigt ihr Titer jedoch rasch an und erreicht am 4. Tag im Mittel 40%, bei einigen Arbeiterinnen bis knapp 50%. Dieser hohe Pegel wird nur kurze Zeit aufrecht erhalten. Er sinkt schon am 6. Tag auf ca. 30% ab. Einhergehend ändert sich vor allem der Anteil der Fraktion H1; er liegt am 4. und 5. Tag während des H3b-Maximums bei 35% und damit nur halb so hoch wie 3 Tage zuvor. Der Titer der Bande H2 sinkt vergleichsweise nur wenig ab, nämlich auf gut 20%. - Diese Veränderungen der Protein-zusammensetzung der Arbeiterinnen-Haemolymph verlaufen in der frühen Imaginal-Phase recht einheitlich. Von der zweiten Woche an nimmt dann besonders der Anteil der Dotterproteine ungleichmäßig ab. Bei ca. 10 untersuchten Bienen lagen die Standardabweichungen der Mittelwerte für die einzelnen Fraktionen in der ersten Woche fast durchweg unter 5%. Bei 10 Tage alten Arbeiterinnen ist die Streuung der Einzelwerte dagegen so gross, daß bei 20 untersuchten Tieren z.B. der H3b-Anteil bei einem Mittelwert von knapp 30% eine Standardabweichung von rd. 15% aufweist. Dies ist offensichtlich durch unterschiedlichen physiologischen Zustand der Arbeiterinnen bedingt. Er vereinheitlicht sich bereits im Alter von 2 Wochen wieder. Bei 15 Tage alten Arbeiterinnen ist der H3b-Titer auf etwa 5% abgesunken und dafür der Anteil der Fraktion H1 wieder auf fast 70% gestiegen. Bei 20 - 30 Tage alten Bienen fehlt das Dotterprotein in der Haemolymph gänzlich; das Spektrum ist dem ganz jungen Imagines wieder recht ähnlich. Bei den wenigen Flugbienen, die im Schnitt ein Alter von 45 - 60 Tagen erreichen, wurde überraschenderweise wieder Dottermaterial im Blut gefunden, und zwar mit dem relativ hohen Anteil von 20 - 30%.

Die bisher behandelten ontogenetischen Titer-Schwankungen der einzelnen Haemolymph-Proteine gelten nur für mellifica-Arbeiterinnen unter Normalbedingungen. Darunter ist folgendes zu verstehen: Die Bienen müssen in ausreichend großen, weiselrichtigen Völkern leben, die während der Trachtperiode einen hohen Anteil offener Brut haben und sich gut entwickeln. Als Abweichung von diesem Normalzustand müssen angesehen werden: Längere Schlechtwetterperioden im Sommer, untypischer Altersaufbau eines Volkes, insbesondere Fehlen junger Larven, Schwarmverhältnisse, Weisellosigkeit, Winterbedingungen. Außerdem beeinflusst Käfighaltung den Zustand der Haemolymph stark.

Einige der bei anormalen Bedingungen zu beobachtenden Blutbilder von mellifica-Arbeiterinnen sollen noch kurz dargestellt werden.

Fehlt während des Sommers offene Brut, so taucht die Dotterfraktion H3b erst mit großer Verspätung im Spektrum auf. In den ersten 10 Tagen nach dem Schlüpfen kann sie völlig fehlen. Das normalerweise am 4. - 6. Tag auftretende Maximum kann dann z. B. vom 13. - 15. Tag festgestellt werden. Häufig kommt es anschließend auch nicht zu dem typischen Absinken des H3b-Titers bis auf 0%.

Im Winter sind im Volk keine Jungbienen vorhanden. Trotzdem findet man bei von der Kältetraube abgefangenen Arbeiterinnen nicht selten, d. h. bei 10 - 30% der Tiere, Dottermaterial in der Haemolymph, und zwar mit bis über 40% Anteil.

Werden Arbeiterinnen vom Imaginalschlupf an gekäfigt im Thermostaten in Gruppen gleichalter Individuen ohne Brut gehalten, so bleiben die normalen ontogenetischen Veränderungen des Blutbildes aus. Noch im Alter von 1 - 2 Wochen gleicht ihr Protein-Spektrum dem ganz junger Bienen. Die Bande H3b tritt überhaupt nicht auf, H1 liegt zwischen 60 und 90%, H2 zwischen 10 und 40%.

Bildet man im Thermostaten gekäfigte Kleinstvölker aus einer alten, vorher eierlegenden Königin und einer Gruppe von 20 - 30 Flugbienen, deren Haemolymph zunächst die Fraktion H3b nicht enthält, so beobachtet man innerhalb von 1 - 2 Tagen bei fast allen Arbeiterinnen folgende Veränderungen: Der Titer der anfänglich überwiegenden Fraktion H1 geht zurück, dafür erscheinen Dotterproteine. Schließlich wird ein Haemolymph-Spektrum erreicht, das weitgehend dem einer 5 - 10 Tage alten Biene entspricht.

Ein Sonderfall liegt schließlich in weisellosen Völkern vor. Hier entwickelt sich der Haemolymph-Status der Arbeiterinnen sehr diversifizierend. Wir haben uns vor allem für diejenigen Arbeiterinnen interessiert, deren Ovarien sich bis zur vollen Funktion entwickelten, so daß sie Eier legen konnten. Das Ingangkommen der Oogenese bei Bienenarbeiterinnen hängt von vielen Faktoren ab (Velthuis, 1970; Jay, 1972), im allgemeinen entstehen Afterweisel bevorzugt aus Jungbienen. 43 bei der Eiablage beobachtete mellifica-Arbeiterinnen hatten ausnahmslos Dotterproteine im Haemolymph-Spektrum, und zwar im Mittel 49%. Der niedrigste Wert betrug 27%, der höchste 64%. H1 und H2 lagen jeweils bei 25%. Damit entspricht der Haemolymph-Status eierlegender Arbeiterinnen weitgehend dem Protein-Spektrum von Königinnen. Alle eierlegenden mellifica-Arbeiterinnen wurden auf ihren Ovarzustand hin untersucht; sie hatten sämtlich Ovarien mit großen, z. T. ablagereifen Oocyten.

Drohnenbrütige Arbeiterinnen wurden außer bei mellifica bisher bei cerana untersucht. Nach Verlust der Königin begannen in einem kleinen Volk, das nur knapp 2 Waben belagerte, zahlreiche Arbeiterinnen binnen 1 - 2 Wochen Eier zu legen. Auch diese Bienen hatten alle einen hohen H3b-Titer von meist über 40%. Nach einigen Wochen der Weisellosigkeit waren in dem auf 1.000 - 2.000 Bienen zusammengeschmolzenen Völkchen keine Arbeiterinnen ohne Dotterproteine in der Haemolymph

mehr zu finden, obwohl nicht bei allen eine progressive Ovarveränderung festzustellen war.

Nach Beobachtungen von Ruttner und Koeniger beginnen in weisellosen florea-Völkern die Arbeiterinnen innerhalb weniger Tage mit der Eiablage. Wir prüften die Haemolymph einiger Bienen aus solch einem Volk und fanden einen sehr hohen H3b-Anteil von ca. 70%. Leider besaßen die untersuchten Arbeiterinnen keine entwickelten Ovarien. Da die gefundenen Dotterprotein-Werte noch im normalen Streuungsbereich der florea-Arbeiterinnen liegen, kann über das Haemolymphbild von Afterweiseln nichts ausgesagt werden.

Bei jungen mellifica-Arbeiterinnen mit hohem H3b-Titer werden alle Haemolymph-Proteine mit ungefähr gleicher Rate synthetisiert. Bei längerer Versuchsdauer liegt die spezifische Radioaktivität der Fraktion H2 am höchsten, die der Dotterbande am niedrigsten. Das deutet auf einen Verbrauch der dotterpflichtigen Haemolymph-Proteine auch bei solchen Arbeiterinnen hin, die keine Eier legen. Während bei älteren Arbeiterinnen, die als Flugbienen tätig sind, die Syntheseraten aller Haemolymph-Fraktion deutlich gegenüber den Jungbienen reduziert sind, entspricht das Proteinsynthese-Muster der Afterweisel etwa dem einwöchiger Arbeiterinnen. Vergleicht man die Markierungs-Zunahme nur der Dotterproteine, so liegt die Kurve der Jungbienen am höchsten, es folgen die Drohnenmütterchen und schließlich die wenigen älteren Flugbienen, bei denen überhaupt Dottermaterial in der Haemolymph zu finden ist.

Bei einem interspezifischen Vergleich der Dotterprotein-Syntheseraten derjenigen (nicht eierlegenden) Arbeiterinnen, die sich durch einen hohen H3b-Titer auszeichnen, erhält man folgendes Bild: Am intensivsten wird Dottermaterial von jungen mellifica-Tieren produziert, am niedrigsten liegt die Synthese bei florea.

DISKUSSION

Ahnlich wie bei Vertebraten wird auch bei Insekten die Entwicklung und Reifung von Keimzellen endocrin gesteuert. Als Oogenese-stimulierendes Hormon fungiert bei Insekten das Juvenil-Hormon, das also nicht nur zusammen mit dem Ecdyson die Larvalentwicklung steuert, sondern auch in der Imaginalphase eine wichtige Rolle spielt (vgl. Engelmann, 1970). Hier wirkt es synergistisch auf mehrere Organe und Funktionen ein: Von den Corpora allata an die Haemolymph abgegebenes Juvenil-Hormon beeinflusst einmal die Ovarien. Es bewirkt die Umwandlung von Prävitellogenese-Follikeln in Vitellogenese-Stadien durch Veränderungen des Follikelepithels (Masner, 1969), das u. a. breite Interzellularspalten ausbildet (Przelecka und Dutkowski, 1972), und durch Auslösen von Pinocytose-Aktivität in der Oocytenmembran (Bell und Barth, 1971). Aus der Haemolymph werden dann selektiv dotterpflichtige Proteine aufgenommen und in Dotterschollen im Ooplasma gespeichert (Engels, 1973). Voraussetzung für diese Vitellogenese ist das Vorhandensein von Dottermaterial in der Haemolymph, und dies wird ebenfalls durch Juvenil-Hormon bewirkt. Es steigert generell die Proteinsyntheserate,

ein Effekt, der sicher auch beim Wachstum von Insektenlarven wichtig ist. Darüber hinaus stimuliert Juvenil-Hormon im weiblichen Fettkörper spezifisch die Synthese von Dotterproteinen und ihre Abgabe an die Haemolymph (Engelmann, 1972). Das Vorkommen von Dotterproteinen ist daher bei Insekten streng auf weibliche Individuen beschränkt. Das gilt auch für Bienen: Den Drohnen fehlt die dotterpflichtige Haemolymph-Fraktion H3b (Fahrenhorst, 1973).

Bei weiblichen Bienen vorkommendes Dottermaterial dürfte ebenfalls unter dem Einfluß von Juvenil-Hormon synthetisiert werden. Betrachtet man den bei Königinnen und Arbeiterinnen der 4 Apis-Arten analysierten Titer der Dotterfraktion unter diesem Gesichtspunkt, so sind folgende Rückschlüsse auf die endocrine Situation möglich:

Ein niedriger Juvenil-Hormon-Spiegel stimuliert bei Honigbienen offensichtlich wohl noch die Synthese von Dotterproteinen, nicht mehr aber die Oogenese und speziell die Vitellogenese. Diesem Bild entsprechen vom Haemolymph-Spektrum und Ovarzustand her einerseits Jungköniginnen und mit der Eiablage pausierende alte Königinnen, andererseits junge Arbeiterinnen. Bei letzteren setzt in der Imago die Juvenil-Hormon-Wirkung vielleicht etwas langsamer ein als bei jungen Königinnen, so daß erst einige Tage nach dem Schlüpfen Dotterproteine in der Haemolymph auftauchen, während sie bei Jungköniginnen sofort vorhanden sind. Abgesehen von solchen kleineren kastenspezifischen Unterschieden stimmt der entwicklungsphysiologische Zustand der genannten weiblichen Bienen jedoch weitgehend überein; er soll als subfertil bezeichnet werden. Subfertile Königinnen legen keine Eier. Von Arbeiterinnen weiß man, daß sie im frühen Stockbienen-Alter Jungmaden und die Königin mit Futtersaft versorgen; subfertile Arbeiterinnen fungieren also als Ammen.

Bei Bienen führt offenbar eine Erhöhung des Juvenil-Hormon-Spiegels zusätzlich zur vollen Ovarfunktion. Bei Königinnen scheint die Paarung auf einem Hochzeitsflug der Stimulus für einen Anstieg des Juvenil-Hormon-Titers zu sein (Herrmann, 1969). Experimentell kann er bekanntlich durch CO₂-Behandlung ersetzt werden (Mackensen, 1947). Im fertilen Zustand legt die Königin Eier, außerdem produziert sie Pheromone (vgl. Butler, 1969; Pain, 1971) von denen wahrscheinlich 9-Mydroxy-trans-2-decensäure die Ovarentwicklung bei den Arbeiterinnen hemmt, sie also subfertil hält. Es muß angenommen werden, daß der Effekt dieses Königinnen-Pheromons II bei Arbeiterinnen in einer Absenkung des Juvenil-Hormon-Titers besteht. Fehlt der Inhibitor, so wird aus einer subfertilen Arbeiterin eine fertile: Aus einer Amme entwickelt sich eine eierlegende Arbeiterin. Der bei fertilen Arbeiterinnen gefundene Dotterprotein-Titer unterscheidet sich tatsächlich nicht von dem H3b-Titer in der Haemolymph einer eierlegenden Königin.

Für den Übergang zum fertilen Zustand ist bei Arbeiterinnen nicht ausschließlich der Wegfall der pheromonalen Hemmwirkung der Königin verantwortlich, sondern noch weitere Faktoren (Jay, 1972); Fertilitäts-fördernd wirkt besonders der Kontakt mit junger Brut.

Möglicherweise sind hierbei weitere Pheromone im Spiel. Jedenfalls ist diese soziale Situation auch notwendig, um Jungbienen in den subfertilen Status zu bringen, dem bei Haltung im Thermostaten erscheint die für Ammen charakteristische Dotterbande H3b nicht im Haemolymph-Spektrum.

Wahrscheinlich kommt es unter diesen Bedingungen überhaupt nicht zur Ausschüttung von Juvenil-Hormon. Die Entwicklung der Ovarien bleibt bei solchen Arbeiterinnen auf einem rudimentären Stadium stehen: sie repräsentieren also einen komplett infertilen Zustand. Sowohl vom Haemolymph - wie auch vom Ovar-Status her sind ältere Arbeiterinnen, die ausschließlich Sammeltätigkeiten ausüben, ebenfalls infertil. Es ist noch unklar, ob der infertile Zustand bei Honigbienen bei Wegfall bestimmter Stimuli eintritt oder durch Hemmwirkungen erzeugt wird. In jedem Fall wäre er sozial bedingt.

Vergleicht man die bei subfertilen und fertilen Königinnen und Arbeiterinnen der 4 Apis-Arten gemessenen Syntheseraten für Dottermaterial, bestätigen die Daten die angenommene endocrine Situation. Bei eierlegenden Bienen werden Dotterproteine verstärkt synthetisiert. Wegen des Verbrauchs durch die Vitellogenese kommt es allerdings nicht zu so hohen H3b-Titer-Werten, wie sie bei subfertilen Königinnen, aber auch z.B. bei der Mehrzahl älterer florea-Arbeiterinnen beobachtet werden. Beide können übrigens in sehr kurzer Zeit in den fertilen Zustand übergehen. - Auch bei subfertilen Bienen läuft eine Synthese von Dotterproteinen, sie ist aber gedrosselt. Dabei sind Syntheserate und Höhe des Dotter-Titers der Haemolympe negativ korreliert. Da die Syntheserate des Dottermaterials vom Juvenil-Hormon-Titer abhängt (Engelmann, 1971), bestehen offenbar zusätzlich rückkoppelnde Wechselwirkungen zwischen Dotterprotein-Gehalt der Haemolympe und der Hormon-Ausschüttung durch die Corpora allata.

Betrachtet man die normale Ontogenese der Haemolymph-Protein-Spektren, so entwickeln sich, nach dem H3b-Titer zu urteilen, junge Arbeiterinnen zunächst in der gleichen fortpflanzungsphysiologischen Richtung wie Königinnen. Im Ammenalter kommt es dann pheromonal zu einer physiologischen Kastration der Arbeiterin. Die Entwicklung wird auf einem subfertilen Niveau arretiert, wenn sie nicht im weiselosen Volk bis zum Erreichen der vollen Ovarfunktion weiterläuft. Nur dort kann die Bienenarbeiterin als eierlegendes Drohnenmütterchen begrenzte Fertilität und einen Königinnen-ähnlichen Status erlangen.

Vor Ausprägung des weiblichen Kastendimorphismus konnten bei den Vorfahren der heutigen Honigbienen die Vollweibchen sicher sowohl Eier legen wie die Brut mit Sekreten versorgen. Später erfolgte eine Trennung der beiden Funktionen: Es entstanden fertile Königinnen und subfertile Ammen, die außer der Brut auch die Königin füttern. Zuletzt in der Stammesgeschichte entstand offensichtlich die reine Sammlerinnen-Tätigkeit. Da die Flugbienen nun nichts mehr mit Fortpflanzungsaufgaben zu tun hatten, erlangten sie einen Zustand totaler Infertilität.

Die 4 rezenten Apis-Arten repräsentieren noch heute wichtige Etappen einer denkbaren phylogenetischen Stufenreihe mit dem Endpunkt

einer perfekten sozialen Regulation der Fertilität, die im weiblichen Geschlecht unter Normalbedingungen auf eine Königin beschränkt ist. Der Evolutionstrend zielt dabei auf einen immer größer werdenden Anteil von zunächst subfertilen und in der nächsten Stufe infertilen Arbeiterinnen ab. Bei floreana können nur wenige reine Flugbienen beobachtet werden. Bei dorsata machen die Sammelbienen je nach Wetter 5 - 15% der Arbeiterinnen aus, der Rest bildet einen lebenden Waben-Vorhang (Morse, 1969). Über cerana liegen keine genauen Daten vor, nach unseren Schätzungen machen die Flugbienen ca. 20 - 30% aus. Bei mellifica sind nach Sagakami und Fukuda (1968) bis zu 50% der Arbeiterinnen potentielle Sammlerinnen, das Verhältnis fertiler: subfertilen: infertilen Weibchen kann demnach in großen Völkern 1:50.000: 50.000 betragen.

Trotz klarer Monogynie ist bei der noch ursprünglichsten Apis-Art floreana der entwicklungsphysiologische Unterschied des fertilen und subfertilen Zustandes ebenfalls weniger krass als bei mellifica. Dies zeigt sich außer in dem hohen Dotter-Titer in der Haemolymph von Arbeiterinnen in ihrer Fähigkeit, bei Weisellosigkeit rasch selbst die Oogenese anlaufen zu lassen. In etwas eingeschränktem Maße gilt dies auch noch für dorsata -. Arbeiterinnen, die pro Ovar noch im Mittel 25 Ovariolen besitzen gegenüber nur 3-5 bei mellifica (Velt-huis et al., 1970). Morse und Laigo (1971) fanden auf den Philippinen jedes 4. dorsata-Volk weisellos mit einem hohen Anteil eierlegender Arbeiterinnen, wie er in ähnlicher Form von uns bei einem cerana-Volk nach Verlust der Königin festgestellt wurde.

ZUSAMMENFASSUNG:

Die trophogene Kastendifferenzierung bei Honigbienen ermöglicht Monogynie und damit eine wirksame Regulation der Fertilität nur im Sinne eines sozialen Gleichgewichtszustandes. Er ist bei mellifica am besten und bei floreana am wenigsten stabilisiert. Als Parameter für den effektiven fortpflanzungsphysiologischen Zustand weiblicher Bienen kann außer der Ovarentwicklung der über einen größeren Variationsbereich meßbare Titer von Dotterproteinen in der Haemolymph herangezogen werden, der zusammen mit der Syntheserate quantitative Aussagen erlaubt und Königinnen wie Arbeiterinnen als fertil, subfertil oder infertil einstufen läßt. Es wird angenommen, daß dies vom jeweiligen Juvenil-Hormon-Titer abhängt, dessen Pegel bei Arbeiterinnen wahrscheinlich über Pheromon-Wirkungen der Königin gesteuert wird. Dies nahmen bereits Lüscher und Walker (1963) an, die als Effekt der Königinnensubstanz eine Hemmung der Volumenzunahme der Corpora allata bei Arbeiterinnen beschrieben.

DANKSAGUNG

Die Untersuchungen wurden mit Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft durchgeführt. Die Beschaffung der tropischen Bienen finanzierte die Förderer-Gesellschaft der Universität Münster. Ein Teil der Untersuchungen wurde von meinen Mitarbeitern H. Fahrenhorst und H. Schabacker ausgeführt. Bei den Experimenten wirkten die technischen Assistentinnen B. Höltnen, A. Rath und M. Schürmann mit.

Für die Zusendung von 2 Apis florea-Völkern aus Persien bin ich Herrn Prof. Tirgari, Teheran, zu großem Dank verpflichtet. Die aus Ceylon stammenden A. florea und A. dorsata wurden in Zusammenarbeit mit dem Institut für Bienenkunde, Oberursel, beschafft (Prof. Ruttner, Dr. Koeniger). Beiden Herren verdanke ich außerdem das A. cerana-Material.

LITERATUR

- BELL, W.J., BARTH, R.H. (1971) Initiation of yolk deposition by Juvenile Hormone. Nature New Biology 230, 220-221
- BUTLER, C.G. (1969) Some pheromones controlling honeybee behaviour. Proc. Congr. IUSSI, Bern, 19-32
- ENGELMANN, F. (1970) The physiology of insect reproduction. Pergamon Press, Oxford
- ENGELMANN, F. (1971) Juvenile hormone-controlled synthesis of female-specific protein in the cockroach *Leucophaea maderae*. Archs. Biochem. Biophys. 145, 439-447
- ENGELMANN, F. (1972) Juvenile hormone-induced RNA and specific protein synthesis in an adult insect. Gen. Comp. Endocr. Suppl. 3, 168-173
- ENGELS, W. (1972) Quantitative Untersuchungen zum Dotterprotein-Haushalt der Honigbiene (*Apis mellifica*). Roux' Arch. 171, 55-86
- ENGELS, W. (1973) Das zeitliche und räumliche Muster der Dottereinlagerung in der Oocyte von *Apis mellifica*. Z. Zellforsch., 140 i. Dr.
- FAHRENHORST, H. (1973) Das Haemolymph-Protein-Spektrum imaginaler Drohnen und Gynander im Vergleich zu den weiblichen Kasten bei *Apis mellifica*. Proc. VIIth Congr. IUSSI, London, i. Dr.
- HAGMEISTER, A. (1973) Immunologischer Vergleich der Haemolymph-Proteine der 4 rezenten *Apis*-Arten *mellifica*, *cerana*, *florea* und *dorsata*. Proc. VIIth Congr. IUSSI, London i. Dr.
- HERRMANN, H. (1969) Die neurohormonale Kontrolle der Paarungsflüge und der Eilegetätigkeit bei der Bienenkönigin. Z. Bienenforsch. 9, 509-544
- JAY, S.C. (1972) Ovary development of worker honeybees when separated from worker brood by various methods. Can. J. Zool. 50, 661-664
- KOENIGER, N. (1970) Über die Fähigkeit der Bienenkönigin (*Apis mellifica* L.) zwischen Arbeiterinnen- und Drohnenzellen zu unterscheiden. Apidologie 1, 115-142
- LINDAUER, M. (1956) Über die Verständigung bei indischen Bienen. Z. vergl. Physiol. 38, 521-557
- LUSCHER, M., WALKER, I. (1963) Zur Frage der Wirkungsweise der Königinnen-pheromone bei der Honigbiene. Revue. suisse Zool. 70, 304-311
- MACKENSEN, O. (1947) Effect of carbon dioxide on initial oviposition of artificially inseminated and virgin queen bees. J. econ. Ent. 40, 344-349
- MASNER, P. (1969) The effect of substances with juvenile hormone activity on morphogenesis and function of gonads in *Pyrrhocoris apterus* (Heteroptera). Acta entom. bohemoslov. 66, 81-86
- MORSE, R.A. (1969) The biology of *Apis dorsata* in the Philippines. Proc. VIth Congr. IUSSI, Bern, 185-187

- MORSE, R.A., LAIGO, F.M. (1971) *Apis dorsata* in the Philippines.
Monogr. Philippin. Ass. Entom. 1
- PAIN, J. (1971) Pheromone und Verhalten bei einigen Hymenopteren.
Apidologie 2, 319-355
- PRZELECKA, A., DUTKOWSKI, A.B. (1972) Morphological basis of
follicle cells - oocyte interaction in normal pupae and isolated
pupal abdomina of *Galleria mellonella* L. *Experientia* 28,
556-558
- ROTHENBUHLER, W.C., KULINCEVIC, J.M., KERR, W.E. (1968)
Bee genetics. *Ann. Rev. Genet.* 2, 413-438
- SAGAKAMI, S.F. FUKUDA, H. (1968) Life tables for worker honeybees.
Res. Popul. Ecol. 10, 127-139
- SCHABACKER, H. (1973) Elektrophoretischer Vergleich der Haemolymph-
Protein-Spektren der 4 Arten von Honigbienen, *Apis florea*,
dorsata, *cerana* und *mellifica*. *Proc. VIIth Congr. IUSSI, London,*
i. Dr.
- VELTHUIS, H.H.W. (1970) Ovarian development in *Apis mellifera*
worker bees. *Entomologia exp. appl.* 13, 377-394
- VELTHUIS, H.H.W., CLEMENT, J., MORSE, R.A., LAIGO, F.M.
(1971) The ovaries of *Apis dorsata* workers and queens from
the Philippines. *J. apicult. Res.* 10, 63-66