

## Masterarbeit

**Beziehungen zwischen den Merkmalen SMR (Suppressed Mite Reproduction),  
Recapping und weiteren Resistenzmerkmalen gegen *Varroa destructor*  
(Varroamilbe) bei *Apis mellifera carnica* (westliche Honigbiene ssp. Carnica)**

Eingereicht von: **Martin Richard Buchegger, BSc.**

Matrikelnummer: **01440503**

Studienkennzahl: **H 066 456**

**Betreuer:**

**Dr. Ralph Büchler,**

Landesbetrieb Landwirtschaft Hessen (LLH), Bieneninstitut Kirchhain

**PD<sup>in</sup> Dr.<sup>in</sup> Birgit Fürst-Waltl,**

Universität für Bodenkultur Wien (BOKU), Department für Nachhaltige Agrarsysteme, Institut für  
Nutztierwissenschaften

**Dr. Alfons Willam,**

Universität für Bodenkultur Wien (BOKU), Department für Nachhaltige Agrarsysteme, Institut für  
Nutztierwissenschaften

Wien, Dezember 2018

„Der Löwe beeindruckt durch das,  
was er ist,  
die Biene durch das, was sie tut.“  
Waltraud Puzicha

### Danksagung:

Für diese Arbeit wurden über 19.000 Brutzellen sorgfältig geöffnet und begutachtet, 8550 Zellen mit dem Pin-Test auf Hygiene-Verhalten ausgewertet, bei 404 Bienenproben (über 28 kg Bienen) der Sommerbefall gemessen und der natürliche Milbenabfall im Frühjahr durch 315 Messungen ermittelt. An erster Stelle möchte ich mich daher für die tatkräftige Unterstützung bei der Datenerfassung, die Bereitstellung der Versuchsvölker und die unzähligen konstruktiven Gespräche bei

**Anselm Putz,**  
**Christoph Wurm,**  
**Mag.<sup>a</sup> Elisabeth Fuchs,**  
**Hubert Pölzl** und  
**Johann Zinggl**

vielmals und sehr herzlich bedanken.

Wobei ich mich bei **Anselm Putz** ganz besonders bedanken möchte. Er hatte die grundsätzliche Idee zu dieser Arbeit und er unterstützt mich seit ich Bienen halte, mit seinem Wissen aus seiner langjährigen Erfahrung als Berufsimker und als renommierter Züchter.

Für die besonders gute und nette Betreuung möchte ich mich bei

**Dr. Ralph Büchler,**  
**PD<sup>in</sup> Dr.<sup>in</sup> Birgit Fürst-Waltl** und  
**Dr. Alfons Willam**

vielmals und sehr herzlich bedanken. Ohne deren Unterstützung, wäre die Umsetzung der Arbeit in dieser Form nicht möglich gewesen.

Ein weiterer großer Dank gilt allen meinen

**Studienkollegen,**

die mich während des Studiums begleitet und mein Leben bereichert haben.

Insbesondere möchte ich mich bei

**Judith Himmelbauer, BSc** und  
**Christoph Steinbauer, BSc**

bedanken. Sie haben mit ihren wertvollen Ratschlägen an der Entstehung der Arbeit in dieser Form beigetragen.

**Mag. Ing. agr. Marin Kovačić**

möchte ich für die hilfreichen Konversationen und die Mitwirkung bei der Publikation von Ergebnissen ein herzliches Dankeschön aussprechen.

**Dr. Pim Brascamp** und

**Dr. Andreas Hoppe**

gilt ein großer Dank für die Unterstützung bei der Berechnung der Heritabilitätsschätzwerte.

Bei meinen

**Eltern**

will ich mich sehr herzlich bedanken. Waren sie es, die mich in meinem Ausbildungsweg immer unterstützt und viel Zeit in die Bienenhaltung am Betrieb investiert haben.

Ein großer Dank sei zuletzt noch an eine Person gerichtet, der diese nicht mehr erreicht.

**Dr. Hermann Pechhacker,**

(†10.07.2016), war Universitäts-Dozent an der BOKU. Im Zuge eines Vortrages über die Waldtracht durfte ich ihn noch persönlich kennenlernen. Ihm gilt für seine Verdienste um die Wissenschaft im Bereich der Bienenforschung, die Beteiligung an der Gründung der ACA und seinen Einsatz rund um die Bildung der internationalen Arbeitsgruppe von Zuchtexterten (heute RNSBB), ein großer Dank für seine wertvolle Arbeit.

### Eidesstattliche Erklärung

Hiermit versichere ich an Eides statt, dass ich die vorliegende Masterarbeit ohne fremde Hilfe und ohne Benutzung anderer als der angegebenen Quellen und Hilfsmittel angefertigt und die den benutzten Quellen wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen als solche kenntlich gemacht habe.

Diese Arbeit wurde in gleicher oder ähnlicher Form noch bei keiner anderen Prüferin/keinem anderen Prüfer als Prüfungsleistung eingereicht.

Wien, am \_\_\_\_\_  
Ort und Datum

\_\_\_\_\_  
Unterschrift

### Gleichheitsgrundsatz

Zugunsten der Lesbarkeit des folgenden Textes wird auf eine geschlechterspezifische Formulierung verzichtet. Es wird ausdrücklich darauf hingewiesen, dass sich sämtliche personenbezogenen Bezeichnungen auf Menschen beider Geschlechter beziehen.

## Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis.....	I
Abkürzungsverzeichnis.....	III
Abbildungsverzeichnis.....	IV
Tabellenverzeichnis.....	VI
Abstract.....	1
Kurzfassung.....	2
1 Einleitung und Problemstellung.....	3
2 Zielstellung und Forschungsfragen.....	5
3 <i>Varroa destructor</i> .....	6
3.1 Morphologie.....	7
3.2 Lebenszyklus.....	8
3.3 Orientierung und Befall des Wirtes.....	9
3.4 Reproduktion von <i>V. destructor</i> .....	10
3.5 Populationsdynamik.....	15
3.6 Schädigung des Wirtes.....	16
3.7 Behandlungsmöglichkeiten gegen <i>Varroa destructor</i> .....	17
3.8 <i>Varroa</i> -Resistenz versus <i>Varroa</i> -Toleranz.....	18
3.9 Resistenzmerkmale gegen <i>Varroa destructor</i> .....	19
3.9.1 Reduzierte Milben Reproduktion/Suppressed Mite Reproduction (SMR).....	19
3.9.2 <i>Varroa sensibiles</i> Hygiene-Verhalten/ <i>Varroa Sensitive Hygiene</i> (VSH).....	21
3.9.3 Recapping.....	23
3.9.4 Milben Populations-Entwicklung.....	23
3.9.5 Hygiene-Verhalten.....	24
3.9.6 Grooming Verhalten/Grooming behaviour.....	24
3.9.7 Reduzierte Volksstärke.....	25
3.9.8 Reduzierte Entwicklungszeit nach dem Verdeckeln.....	25
3.9.9 Entfernen von Milben aus dem Bienenvolk.....	25
3.10 Mechanismen, die in natürlichen Populationen zur Resistenz beitragen.....	26
4 Bedeutung der Resistenzzucht gegen <i>V. destructor</i> bei <i>A. mellifera</i> .....	27
4.1 Organisationen mit Resistenz-/Toleranzzuchtprogrammen: ACA, AGT.....	27
4.2 Zuchtprogramme die Resistenzeigenschaften berücksichtigen.....	28
4.3 Potenzial der Kreuzungszucht resistenterer Herkünfte mit lokalen Bienen.....	30
4.4 Leistungsprüfung in der AGT.....	30

4.5	Zuchtwertschätzung .....	30
4.6	Molekulargenetische Ansätze in der Resistenzzucht gegen <i>V. destructor</i> .....	31
5	Material und Methode .....	32
5.1	Datenerhebung: Völker und Zeitablauf .....	32
5.2	Methodenhandbuch der AGT .....	33
5.2.1	Pin-Test: Testmethode für das Hygiene-Verhalten .....	33
5.2.2	Natürlicher Milbenabfall zur Salweidenblüte/Frühjahr .....	35
5.2.3	Befallskontrolle von Bienenproben/Sommerbefallsmessung.....	35
5.3	Auswertung von SMR und Recapping/RNSBB-Protokoll .....	36
5.3.1	Probenentnahme.....	36
5.3.2	Brutuntersuchung-Ausstattung .....	37
5.3.3	Recapping .....	37
5.3.4	SMR-Untersuchung.....	38
5.4	Statistische Auswertung .....	45
5.4.1	Phänotypische Korrelationen .....	45
5.4.2	Zusammenhänge von Merkmalen.....	45
5.4.3	Heritabilitätsschätzung.....	46
5.5	Gruppierung der Völker aufgrund der Milbenpopulation.....	48
5.5.1	Stay under treatment treshold/Verbleiben unter Behandlungsschwelle (SUTT) .....	49
5.5.2	Milbenbefalls-Index (MIndex) .....	49
6	Ergebnisse .....	50
6.1	Deskriptive Statistik .....	50
6.2	Phänotypische Korrelationen .....	52
6.3	Einflüsse von SMR, REC, Pin-Test auf die Milbenpopulation in den Völkern.....	54
6.4	Regressionen von Merkmalen auf das Merkmal SMR und dessen Ausprägungsformen („unfruchtbar“, „verzögert“ und „kein Männchen“).....	56
6.5	Heritabilitäten.....	60
7	Diskussion.....	61
8	Schlussfolgerung und praktische Anwendung der Ergebnisse .....	67
9	Literaturverzeichnis.....	68
10	Anhang.....	80

## Abkürzungsverzeichnis

ACA ... Austrian Carnica Association

AGT ... Arbeitsgemeinschaft Toleranzzucht e.V.

BBR ... Brutbefallsrate

bzw. ... beziehungsweise

DIB ... Deutscher Imkerbund e.V.

DNA ... desoxyribonucleic acid (Desoxyribonukleinsäure)

etc. ... et cetera

FKB ... Freeze-Killed-Brood (Brut wird durch flüssigen Stickstoff abgetötet)

LLH ... Landesanstalt für Landwirtschaft Hessen

MAS ... Marker Assisted Selection

MIndex ... Milben-Index (kombinierter Index aus SUTT und der Gruppen von BBR)

MNHYG ... Minnesota hygienic program

QTL ... Quantitative Trait Locus

REC ... Recapping (Wiederverdecken von Brutzellen)

RHB ... Russian Honey Bees

RNSBB ... Research Network for Sustainable Bee Breeding

SD ... Standard deviation (Standardabweichung)

SEL ... Selektivität des Recappings

SmartBees ... Sustainable Management of resilient bee populations

SMR ... Suppressed Mite Reproduction (Unterdrückte Milben Reproduktion)

SNP ... Single Nucleotid Polymorphism

ssp. ... Subspezies

SUTT ... Stay under treatment threshold (Verbleiben unter der Behandlungsschwelle)

USDA ... United States Department for Agriculture

VSH ... Varroa Sensitive Hygiene (Varroa sensible Hygiene)

z. B. ... zum Beispiel

## Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: adultes <i>V. destructor</i> Weibchen, dorsal; Quelle: Eigene Fotografie .....	7
Abbildung 2: adultes <i>V. destructor</i> Weibchen, ventral; Quelle: Eigene Fotografie .....	7
Abbildung 3: adultes <i>V. destructor</i> Weibchen das kurz vor der Eiablage steht, die Intersegmentalhäute sind deutlich zu sehen; Quelle: Eigene Fotografie .....	7
Abbildung 4: adultes <i>V. destructor</i> Männchen, dorsal; Quelle: Eigene Fotografie .....	7
Abbildung 5: Vereinfachter Lebenszyklus von <i>Varroa destructor</i> ; Weibchen wechseln zwischen einer phoretischen und reproduktiven Phase. Die Nymphenstadien und Männchen sind kurzlebig und weisen keine phoretische Phase außerhalb der Brutzellen auf. Quelle: Eigene Fotografien/eigene Abbildung nach Rosenkranz et al. (2010).....	8
Abbildung 6: Entwicklung von <i>V. destructor</i> und dem Wirt <i>A. mellifera</i> ; Quelle: Verändert und übersetzt nach Dietemann et al. (2013) .....	10
Abbildung 7: faecal accumulation site; Stelle an der sich der Kot der Milben ansammelt; In der Nähe dieser Zone (am unteren Ende der Zelle) liegt die Futterzone für die Nymphenstadien und es wartet dort das adulte Männchen auf das erste geschlechtsreife Weibchen. Quelle: Eigene Fotografie.....	11
Abbildung 8: reproduktive Phase von <i>V. destructor</i> ; Quelle: Eigene Fotografien/eigene Abbildung nach Rosenkranz et al. (2010).....	13
Abbildung 9: Wunde an einer Biene die kurz vor dem Schlupf steht; Quelle: Eigene Fotografie .....	16
Abbildung 10: mehrfach befallene Brutzelle (4 Muttermilben und Nachkommen); Quelle: Eigene Fotografie .....	16
Abbildung 11: Ausprägungsformen von SMR; Quelle: Eigene Fotografien/eigene Abbildung nach Büchler et al. (2017) .....	20
Abbildung 12: VSH-Verhalten, Bienen räumen Puppen aus den mit <i>V. destructor</i> befallenen Zellen aus; Quelle: Eigene Fotografie.....	21
Abbildung 13: Unterschied SMR (Suppressed Mite Reproduction) – VSH (Varroa Sensitive Hygiene); Quelle: Eigene Fotografien .....	22
Abbildung 14: geöffnete und teilweise auch ausgeräumte Zellen; wird eine geöffnete Zelle wiederverdeckelt spricht man von Recapping-Verhalten; Quelle: Eigene Fotografie.....	23
Abbildung 15: Wiederverdeckelte Zelle (Recapping), erkennbar an der matten Innenseite des Zelldeckels; Quelle: Eigene Fotografie .....	23
Abbildung 16: Zeitablauf Leistungsprüfung und Probenauswertung, die Leistungsprüfung und Probenentnahme erfolgt im Jahr 2017, die Prüfköniginnen schlüpften im Jahr 2016.....	33
Abbildung 17: Schablone für den Nadeltest und Durchführung des Anstechens; Quelle: AGT, 2013.....	34
Abbildung 18: Pin-Test; 3 Ausprägungsformen wurden erhoben: vollständig ausgeräumt, teilweise ausgeräumt und Zellen nicht berührt; Das entspricht einer Erweiterung gegenüber der bisherigen Leistungsprüfung in der AGT, wo nur zwischen vollständig ausgeräumt und nicht vollständig ausgeräumt unterschieden wurde. Quelle: Eigene Fotografie .....	34

Abbildung 19: Ablauf der Auswertung einer Brutzelle für die Merkmale Recapping und SMR; Quelle: Eigene Abbildung übersetzt nach Büchler et al. (2017) .....	38
Abbildung 20: Vergleich der Entwicklung von <i>A. m.</i> Bienen und <i>V. destructor</i> (ersten 2 Eier), 7-12 Tage nach dem Verdeckeln; Quelle: Abbildung verändert nach Büchler et al. (2017), Fotografien: F. Mondet .....	39
Abbildung 21: Puppe mit rosa Augen; zu jung für die Auswertung (<7 Tage); Quelle: Eigene Fotografie .....	40
Abbildung 22: Puppe mit violetten Augen; (Brutstadium 1: 7-9 Tage n. V.); Quelle: Eigene Fotografie .....	40
Abbildung 23: wichtiges Merkmal beim Übergang von Brutstadium 1 auf 2 (9. auf 10. Tag nach dem Verdeckeln); 1: der graue Flügelansatz und 2: schwarze Fühler; Quelle: Eigene Fotografie .....	40
Abbildung 24: Muttermilbe mit Nachkommen bei funktionierender Reproduktion (Deutonymphe/Männchen) in einer Brutzelle im Brutstadium 1 (7 bis 9 Tage nach dem Verdeckeln); 1: Muttermilbe, 2: Männchen, 3: weibl. Deutonymphe, 4: sich häutende weibl. Deutonymphe, 5: weibl. Protonymphe, 6: faecal accumulation site; Quelle: Eigene Fotografie .....	41
Abbildung 25: Muttermilbe mit Nachkommen bei funktionierender Reproduktion (adulte Tochter/Männchen) in einer Brutzelle im Brutstadium 2 (10-12 Tage nach dem Verdeckeln); 1: Muttermilbe, 2: Männchen, 3: adulte Tochter, 4 und 5: weibl. Deutonymphe; Quelle: Eigene Fotografie .....	41
Abbildung 26: SMR-Zelle im Brutstadium 1, die querovale Deutonymphe (regulär das älteste Weibchen) fehlt; 1: Muttermilbe, 2: Männchen, 3: weibl. Protonymphe, 4: Ei/Larve, 5: faecal accumulation site; Quelle: Eigene Fotografie .....	42
Abbildung 27: SMR-Zelle im Brutstadium 2, adulte Tochter (regulär das älteste Weibchen) fehlt, adultes Männchen erkennbar an den ausgefärbten Beinen; 1: Muttermilbe, 2: Männchen, 3: weibl. Protonymphe, 4: faecal accumulation site, 5: Ausscheidungen der Bienenlarve; Quelle: Eigene Fotografie.....	42
Abbildung 28: verschlossene und geöffnete Zelldeckel von Brutzellen; Quelle: Eigene Fotografie .....	43
Abbildung 29: Kein Recapping, glänzende Innenseite des Zelldeckels (Kokon) vollständig erhalten; Quelle: Eigene Fotografie .....	43
Abbildung 30: Recapping, matte Oberfläche aus Wachs an der Innenseite des Zelldeckels, Zelle wurde geöffnet und wiederverdeckelt; Quelle: Eigene Fotografie.....	43
Abbildung 31: Recapping, oft nur als kleine Fläche vorhanden Quelle: Eigene Fotografie.....	43
Abbildung 32: 1 Männchen (eher dreieckig/birnenförmig) und 2 weibl. Protonymphe (eher rund/apfelförmig); Quelle: Eigene Fotografie.....	44
Abbildung 33: Stammbaum einer Prüfkönigin des Versuches; Quelle: beebreed.eu (LIB, 2018) .....	46
Abbildung 34: Aufteilung der Ausprägungsformen von SMR .....	51

## Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Behandlungsempfehlung für Vitalitätstestvölker nach Befallsgrad (Milben je 10 g Bienen) für den Zeitraum von Anfang August (Kalenderwoche 32) bis Mitte Oktober (Kalenderwoche 41); Quelle: AGT (2013).....	17
Tabelle 2: Resistenz-Merkmale, die in natürlich vorkommenden <i>V. destructor</i> überlebenden <i>A. mellifera</i> Populationen erforscht wurden. Ein „s.“ zeigt einen signifikanten Unterschied zu <i>V. destructor</i> anfälligen Bienen, ein „n.s.“ zeigt einen nicht-signifikanten Unterschied und ein „ - „ zeigt, dass das Merkmal noch nicht gemessen wurde. Quelle: Abbildung übersetzt nach Locke (2016) .....	26
Tabelle 3: Gruppen des Merkmals SUTT – Stay under treatment treshold.....	49
Tabelle 4: Arithmetisches Mittel (AM), Median, Standardabweichung (SD), Minimum (Min), Maximum (Max) und Anzahl der untersuchten Völker .....	50
Tabelle 5: Phänotypische Korrelationen nach Spearman .....	52
Tabelle 6: Partielle Regressionskoeffizienten der Modelle, bei denen Messungen der Milbenpopulation das abhängige und der Pin-Test, SMR und REC die alternativen einflussgebenden Merkmale darstellen (Modell 1) .....	54
Tabelle 7: Regressionskoeffizienten von Merkmalen auf SMR.....	56
Tabelle 8: Regressionskoeffizienten von Merkmalen auf die SMR-Ausprägungsform „unfruchtbar“ .....	57
Tabelle 9: Regressionskoeffizienten von Merkmalen auf die SMR-Ausprägungsform „verzögert“ .....	58
Tabelle 10: Regressionskoeffizienten von Merkmalen auf die SMR-Ausprägungsform „kein Männchen“ .....	59
Tabelle 11: Heritabilitätsschätzwerte berechnet durch eine Halbgeschwisteranalyse mit einem Muttermodell. Berücksichtigt wird der Einfluss der Mutter (2a). Dazu wurde Modell 5 verwendet. Angenommener Verwandtschaftskoeffizient: $r = 0,38$ (8 Drohnen, 10 Drohnenvölker) .....	60
Tabelle 12: Phänotypische Korrelationen nach Spearman erweitert .....	86

## Abstract

Ectoparasitic mite, *Varroa destructor*, is one of the main reasons for colony losses today. The traits SMR (Suppressed Mite Reproduction) and VSH (Varroa Sensitive Hygiene) contribute to resistance in naturally *Varroa destructor* infestation surviving *Apis mellifera* populations. They might be relevant to improve resistance against *V. destructor* in European populations. Observations on SMR selected bees and naturally surviving populations show that SMR is often linked to intensive opening and recapping of brood cells (REC behaviour).

This study deals with relationships between SMR, REC and further measurements of resistance characteristics against *V. destructor*. In total, 105 *Apis mellifera carnica* colonies were tested according to AGT breeding program (Arbeitsgemeinschaft Toleranzzucht). Data of hygienic behavior and mite population growth development were obtained. Further, they were evaluated for the traits SMR and REC according to the RNSBB (Research Network for Sustainable Bee Breeding) protocol. It was combined with an extension of the pin test (untouched, partially cleaned, completely cleaned cells) and up to five measurements of bee infestation during summer.

The analysis showed significant ( $p < 0,001$ ) correlations between SMR and REC. Further, significant ( $p < 0,05$ ) correlations between SMR, bee infestation during summer and brood infestation were observed. Significant influences of hygienic behavior, SMR and REC on the mite infestation values were considered.

Rough estimations of heritabilities suggest reasonable genetic variability that may be exploited in further research aiming at the implementation of the traits SMR and REC in breeding programs.

The results show that SMR and REC might be suitable selection traits to decrease the mite population growth within the colonies.

## Kurzfassung

Die ektoparasitische Milbe *Varroa destructor* ist zurzeit einer der Hauptgründe für Völkerverluste. Die Merkmale SMR (Suppressed Mite Reproduction) und VSH (Varroa Sensitive Hygiene) tragen in natürlich den Befall mit *Varroa destructor* überlebenden *Apis mellifera* Populationen zur Resistenz bei. Diese Merkmale könnten zur Steigerung der Resistenz gegen *V. destructor* bei europäischen Bienen beitragen. Bei der Untersuchung von auf SMR selektierten Bienen und den natürlich überlebenden Populationen wurde nachgewiesen, dass das SMR mit dem Öffnen und Wiederverdecken (REC) zusammenhängt.

Diese Untersuchung befasst sich mit den Beziehungen zwischen SMR, REC und weiteren Resistenzmerkmalen gegen *V. destructor*. Insgesamt 105 *Apis mellifera carnica* Völker wurden nach den Vorgaben des AGT Zuchtprogrammes (Arbeitsgemeinschaft Toleranzzucht) geprüft. Dabei wurden Daten zum Hygiene-Verhalten und der Befallsentwicklung von *V. destructor* erhoben. Die Völker wurden einer Analyse der Merkmale SMR (Suppressed Mite Reproduction) und REC nach der Vorgabe des RNSBB (Research Network for Sustainable Bee Breeding) Protokolls unterzogen. Die Daten wurden mit einer Erweiterung des Pin-Tests (nicht berührte, teilweise ausgeräumte, vollständig ausgeräumte Zellen) und bis zu fünf Messungen des Bienenbefalls während des Sommers, kombiniert.

Die Auswertung zeigte signifikante ( $p < 0,001$ ) Korrelationen zwischen SMR und REC. Weiters wurden signifikante ( $p < 0,05$ ) Korrelationen zwischen SMR, dem Bienenbefall während des Sommers und dem Brutbefall beobachtet. Ein signifikanter Einfluss des Hygiene-Verhaltens, SMR und REC auf den Milbenbefall wurde festgestellt.

Grobe Heritabilitätsschätzungen versprechen nutzbare Werte für weitere Forschungsarbeit, in Hinblick auf eine zukünftige Implementierung der Merkmale SMR und Recapping in Zuchtprogrammen.

Die Ergebnisse zeigen, dass SMR und REC nutzbare Merkmale für die Selektion auf verringerte Milbenpopulationsentwicklung in den Völkern sein könnten.

## 1 Einleitung und Problemstellung

*Varroa destructor* [ANDERSON und TRUEMAN, 2000] ist der Hauptparasit von *Apis mellifera* [LINNAEUS, 1758]. Seit ihrem Übertritt von *Apis cerana* [FABRICIUS, 1793] auf *Apis mellifera*, stellt die hämophage Milbe nach wie vor die größte Bedrohung für die Imkerei dar (Rosenkranz et al., 2010; Dietemann et al., 2013).

*Apis mellifera carnica* [POLLMANN, 1879] ist die südlich des Alpenhauptkammes bis nach Südtirol im Westen, auf der Balkanhalbinsel und vom östlichen Ende der Alpen nach Nord-Osten bis in die russische Steppe ursprünglich vorkommende Subspezies der Art *Apis mellifera* (Ruttner, 1988). Durch natürliche Selektion über lange Zeit, passten sich die ursprünglich vorkommenden Bienenrassen (Subspezies) an lokale Gegebenheiten an (De La Rúa et al., 2009). In den ursprünglichen Verbreitungsgebieten führte die Adaption vor allem dazu, dass *A. m. carnica* hinsichtlich der Trachtnutzung, vor allem bei der Waldtracht, einer besseren Anpassung der Brutaktivität an die Umweltbedingungen, besseren Überwinterungseigenschaften und einigen weiteren Eigenschaften, Vorteile gegenüber anderen Subspezies zeigt (Ruttner, 1988; Ruttner, 1996).

In einigen Bundesländern in Österreich ist zurzeit nur die Haltung von *A. m. carnica* erlaubt bzw. die Haltung anderer Rassen/Subspezies bewilligungspflichtig<sup>1234</sup> (Stmk. BZG, 1998; Haltung und Zucht von Bienen - Wien, 2000; BienenzuchtG NÖ, 1980; K-BiWG, 2008).

Durch die flächendeckende Bestäubungsleistung von Bienen wird ein enormer Wert erbracht, der den der Bienenprodukte weit übersteigt. Der Produktionswert der von Insekten bestäubten Nutzpflanzen wird in der EU 25 auf 14,2 Milliarden Euro geschätzt, wobei der Großteil dieser Bestäubungsleistung von Bienen erbracht wird (Gallai et al., 2009). Zum Beispiel konnten bei Versuchen in Österreich signifikante Mehrerträge durch den Einsatz von Honigbienen bei der Bestäubung, von Raps, Sonnenblume, Kirsche, etc. nachgewiesen werden (Mandl, 2006).

In Österreich gab es im Jahr 2016 ca. 354.000 Bienenvölker, die von ca. 26.000 Imkern gehalten wurden. Das entspricht im Durchschnitt 13,3 Völker pro Imker und zeigt, dass der Großteil der Imker die Bienenhaltung als Hobby betreibt. Nur ca. 1 % der Imker sind Berufsimker. Diese halten jedoch 20 % der Bienen (Biene Österreich, 2018). Insgesamt wurden in Österreich im Zeitraum 2015/2016 ca. 5000 Tonnen Honig jährlich produziert, was zu einem Selbstversorgungsgrad von 52 % führte (Statistik Austria, 2018). Bei der Erhebung von Winterverlusten traten in den letzten 7 Jahren Völkerverluste in der Höhe von 8,1 % bis 28,4 % jährlich auf (Mittelwert von 2011/12 bis 2017/18: 18,2 %) (Brodtschneider, 2018).

Bislang konnte sich zwischen dem eingeschleppten Parasiten und dem neuen Wirt keine balancierte Parasit-Wirt Beziehung entwickeln. Durch die derzeit noch notwendigen Behandlungen werden die Kosten für die Bienenhalter und das Risiko von Rückständen im Honig und in Bienenprodukten erhöht. *V. destructor* wird als ein Hauptfaktor für den Rückgang der Anzahl von Imkern und Bienenvölkern in Europa verantwortlich gemacht. In Kombination mit dem Rückgang der Anzahl natürlicher Bestäuber, kann *V. destructor* möglicherweise zukünftige Probleme bei der Bestäubung verschlimmern (De La Rúa et al., 2009; Rosenkranz et al., 2010).

<sup>1</sup> §22 Abs. 1 Satz 1 BZG (Steiermark)

<sup>2</sup> Art. 1 §7 Abs. 1 Satz 1,2 Haltung und Zucht von Bienen (Wien)

<sup>3</sup> Art. 1 Abs. 1 Satz 1 BienenzuchtG NÖ (Niederösterreich)

<sup>4</sup> §11 Abs. 1 Satz 1 K-BiWG (Kärnten)

Wie auch bei anderen Nutztieren stellt die Tierzucht Lösungsansätze für komplexe Anforderungen in der Bienenhaltung bereit. Der Großteil der Zuchtarbeit bei *A. m. carnica* findet durch eine kleine Anzahl von Züchtern statt. In Österreich gibt es zwei Zuchtorganisationen, die sich um eine Verbesserung von *A. m. carnica* annehmen.

Laut Fewson (1993) lautet eine allgemeine Definition des Zuchtziels: „Erstellung von vitalen Tieren, die unter zukünftigen Produktionsbedingungen einen höchstmöglichen Gewinn sicherstellen.“ Diese allgemein für die Tierzucht gültige Definition ist vor allem in Hinblick auf eine nachhaltige, als auch in Zukunft wirtschaftlich betriebene Imkerei von höchster Relevanz für die moderne Bienenzucht. Die Definition nimmt Bezug auf die große Bedeutung von Vitalitätsmerkmalen bei Nutztieren, die aus ökonomischer Sicht auf den ersten Blick weniger relevant erscheinen.

In Anbetracht hoher Winterverluste und der ökonomischen Bedeutung der Honigbienen, sollte die Selektion auf Resistenzeigenschaften verstärkt werden. Im Index des Gesamtzuchtwertes des AGT-Zuchtprogrammes stellt der Einzelzuchtwert Varroatoleranz mit 40 % Gewichtung das wichtigste züchterisch bearbeitete Merkmal dar. Zurzeit finden die Merkmale Befallsentwicklung und Bruthygiene (Hygiene-Verhalten) Eingang in die Zuchtwertschätzung des Einzelzuchtwerts Varroatoleranz (AGT, 2013).

Die amerikanischen Forscher Harbo und Harris (1999a) konnten Eigenschaften von Bienen identifizieren, die im Zusammenhang mit der Resistenz gegenüber *V. destructor* stehen. Durch diese Eigenschaften wird die Reproduktion von *V. destructor*, die in den Brutzellen der Bienen erfolgt, gestört, oder die Muttermilbe durch Ausräumen der Bienenpuppe gänzlich daran gehindert (Harbo und Harris, 2009).

Weltweit gibt es einige *A. mellifera* Populationen die ohne Eingreifen des Menschen dem Befall von *V. destructor* widerstehen. In diesen Populationen konnten verschiedene Mechanismen identifiziert werden, die einen möglichen Einfluss auf die Resistenz dieser Bienenvölker haben. In einigen dieser Populationen (Primorsky, Gotland, Avignon) ist das in dieser Arbeit beachtete Merkmal SMR bzw. die reduzierte Reproduktion von *V. destructor* ausgeprägt (Locke, 2016).

Das Öffnen und Wiederverdecken von Zellen (Recapping) spielt eine Rolle in natürlich *V. destructor* Befall überlebenden *A. mellifera* Populationen. Bei Völkern aus diesen Populationen ist dieses Verhalten stärker ausgeprägt als in *V. destructor* anfälligen Völkern (Oddie et al., 2018).

Eine effektive Auslese auf diese Eigenschaften (SMR/VSH) ist jedoch durch die allgemeinen Tests auf Hygiene-Verhalten (Pin-Test, Freeze-Killed-Brood-Test) nach bisherigen Erfahrungen nicht ausreichend möglich (Ibrahim und Spivak, 2006). Mittlerweile wurden verschiedene Methoden zur Erfassung dieser Merkmale entwickelt und durch Zucht eine verstärkte Ausprägung dieser Eigenschaften erreicht (Harris, 2007; Büchler et al., 2017; Villa et al., 2009). Die Erhebung von SMR/VSH ist aber bislang sehr zeitaufwändig.

Es wird vermutet, dass die Heritabilität von SMR über 0,25 liegen könnte (Harbo und Harris, 1999b). Am Bieneninstitut in Kirchhain, konnte die phänotypische Ausprägung des Merkmals SMR innerhalb von 4 Jahren von durchschnittlich 18,6 % im Jahr 2013 auf 35,2 % im Jahr 2017, gesteigert werden. Viele der dabei ausgewählten Zuchtvölker können bei guter Honigleistung und Volksentwicklung, nur mit einmaliger Brutpausen-Behandlung, ohne weitere Behandlungsmaßnahmen gut überleben (Büchler, 2018).

## 2 Zielstellung und Forschungsfragen

Ziel der Arbeit ist die Berechnung von Beziehungen zwischen den bislang nicht routinemäßig erfassten Merkmalen SMR und Recapping, zu bereits in der Zuchtwertschätzung berücksichtigten Merkmalen bei *A. m. carnica*. Zusätzlich sollen die Daten für Parameterschätzungen verwendet und grobe Heritabilitätsschätzwerte berechnet werden.

Folgende Forschungsfragen sollen mit dieser Arbeit beantwortet werden:

1. Welche phänotypischen Korrelationen treten zwischen den Resistenzmerkmalen SMR, Recapping und den in der AGT-Leistungsprüfung gemessenen Merkmalen auf?
2. Welche bisher in der Leistungsprüfung gemessenen Merkmale zeigen die stärksten Zusammenhänge zu SMR bzw. Recapping?
3. Gibt es einen Zusammenhang zwischen SMR und Recapping?
4. Welche Ausprägungsform des Pin-Tests, „nicht berührt“ oder „vollständig ausgeräumt“ zeigt engere Zusammenhänge zu den Merkmalen SMR bzw. Recapping?
5. Welche Zusammenhänge zeigen sich für exakt zu messende Merkmale (SMR, Recapping, Pin-Test) mit der Milbenpopulationsentwicklung in den Völkern?
6. In welcher Größenordnung sind die Heritabilitäten für die Merkmale SMR und Recapping einzuschätzen?

### 3 *Varroa destructor*

*Varroa destructor*, ist der Hauptparasit der westlichen Honigbiene (*Apis mellifera*) seit ihrem Übertritt vom ursprünglichen Wirt *Apis cerana* (Dietemann et al., 2013; Rosenkranz et al., 2010). Kein anderer Schädling hatte bisher solch eine Bedeutung für die Bienenhaltung, als auch für die Wissenschaft der Honigbiene (Rosenkranz et al., 2010).

Früher noch als *Varroa jacobsoni* [OUDEMANS, 1904] bezeichnet, definierten Anderson und Trueman (2000) sechs Haplotypen (Milben mit verschiedenen mitochondrialen DNA Gen-Sequenzen) als Art *Varroa destructor*. Zwei Haplotypen parasitieren den Wirt *Apis mellifera*. Beide gehören zur Art *Varroa destructor* und werden in den häufiger vorkommenden Korea-Haplotyp (Europa, mittlerer Osten, Afrika, Asien, Amerika) und den weniger häufig vorkommenden Japan/Thailand-Haplotyp (Japan, Thailand) eingeteilt (Anderson und Trueman, 2000).

In Deutschland wurde *V. destructor* zum ersten Mal 1977 am Bieneninstitut Oberursel in Hessen entdeckt, wobei die Einschleppung wahrscheinlich ein paar Jahre früher durch Studienvölker von *A. cerana* erfolgt ist. Man berichtete aber auch bereits 1971 in Moskau vom Auftreten der Milbe. Dort bezeichnete man die Milbe, (*V. destructor*) als: „ ... der größte Bienenschädling, der alle Bienenkrankheiten zusammen überträte“ (Ruttner, 1977). Der erste Nachweis von *V. destructor* in Österreich erfolgte 1983, wo sie sich in zwei bis drei Jahren im gesamten Bundesgebiet ausbreitete (Pechhacker, 2002). *V. destructor* ist heute nahezu weltweit verbreitet. In Australien ist ein Vorkommen von *V. destructor* noch nicht offiziell bestätigt (Department of Agriculture and Fisheries Queensland, 2018).

Die wichtigsten Gründe für den einzigartigen Status von *Varroa destructor* sind:

- *V. destructor* ist ein neuer Parasit auf *A. mellifera*, daher fehlt eine ausbalancierte Wirt-Parasit Beziehung
- *V. destructor* hat sich in kurzer Zeit weltweit, ausgenommen Australien ausgebreitet
- Ohne Behandlung würden die meisten Bienenvölker im gemäßigten Klima in 2 bis 3 Jahren zusammenbrechen
- Der ständige Einsatz chemischer Behandlungsmittel erhöht die Kosten für die Bienenhalter und erhöht das Risiko von Rückständen im Honig und in Bienenprodukten (Rosenkranz et al., 2010)
- *V. destructor* wird als ein Hauptfaktor für die sinkende Zahl von Bienenhaltern gesehen. Zusammen mit dem weltweiten Rückgang der bestäubenden Insekten, kann *V. destructor* daher ein Problem für die weltweite Bestäubung sein (Rosenkranz et al., 2010; De La Rúa et al., 2009).

Im Review Artikel von Rosenkranz et al. (2010) ist das Wichtigste zur Biologie und Kontrolle von *V. destructor* zusammengefasst. Des Weiteren sind in Dietemann et al. (2013) Methoden zur Forschung mit *V. destructor* detailliert dargestellt. Ebenso beschreibt Ritter (1994, 1996) die Biologie von *V. destructor*. In Kapitel 3 wird ein Überblick über die für die vorliegende Arbeit relevante Literatur zu *V. destructor* gegeben.

### 3.1 Morphologie

Die adulten Milbenweibchen sind quer oval, in etwa 1,5 x 0,5 mm groß und dunkelbraun gefärbt (siehe Abbildung 1). Der Körper beider Geschlechter ist in Idiosoma und Gnathosoma untergliedert, wobei das konvexe Idiosoma das Gnathosoma vollständig verdeckt. Durch die Körperform, und den zu Sauglappen ausgebildeten Tarsen kann sich die Milbe gut auf den Bienen festhalten (Ritter, 1996). Dabei halten sich die Milben am liebsten in den Segmenten des Abdomens auf der ventralen Seite der Bienen auf (Fernández et al., 1993).

*V. destructor* zeigt einen ausgeprägten Geschlechtsdimorphismus (Infantidis, 1983). Beim Weibchen sind die dorsalen und ventralen Platten stark sklerotisiert und haben eine rot-braune Farbe. Dünne und flexible Intersegmental-Membranen (siehe Abbildung 2) zwischen den Platten ermöglichen der Milbe während der Nahrungsaufnahme und der Phase der Eibildung (siehe Abbildung 3) sich auszuweiten (Rosenkranz et al., 2010).

Der Körper des Männchens ist birnenförmig und zeigt nur wenig Sklerotisierung (siehe Abbildung 4). Sklerotisiert sind vor allem die Beine und der dorsale Panzer. Die Männchen sind in allen Entwicklungsstufen deutlich kleiner als die Weibchen. Im Verhältnis zur Größe sind die Beine des Männchens länger als die der Weibchen (Rosenkranz et al., 2010).

Das Gnathosoma befindet sich ventral auf der Unterseite des Körpers. Es umfasst die Mundwerkzeuge Cheliceren und Pedipalpen. Die Cheliceren bestehen aus drei Segmenten, dem basalen, dem mittleren und dem distalen Teil. Der distale Teil ist bei Weibchen beweglich und besitzt zwei kleine Zähne. Bei den Männchen ist der bewegliche Teil zu einem Spermatodactyl umgebildet. Es ist ein Kanülen-ähnliches Gebilde, welches das Transferieren von Sperma in den weiblichen Genitaltrakt ermöglicht (Rosenkranz et al., 2010).

Der weibliche Genitaltrakt ist in zwei Teile untergliedert. Der erste Teil bildet sich aus einem Ovarium, einem Uterus und einer Vagina. Diese endet in einer Öffnung, aus der die Eier abgelegt werden und die zwischen dem zweiten Beinpaar situiert ist. Der zweite Teil ermöglicht die Aufnahme und Reifung des Spermas. Es ist aus zwei Poren gebildet, den Solenostomen. Von dort wird das Sperma bis in die Spermatheka geleitet. Diese ist ein größeres sack-ähnliches Organ, das als Reservoir für die Spermien bis zur Befruchtung dient (Alberti und Hänel, 1986). Die männlichen Genitalien bildet ein Hoden am hinteren Teil des Körpers. Von den Hoden führen zwei Ejakulationsöffnungen, die zwischen dem



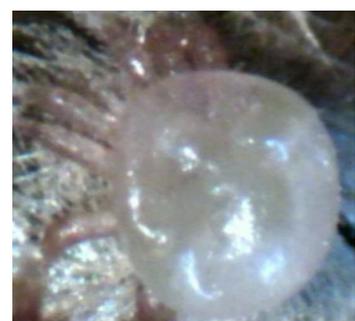
**Abbildung 1: adultes *V. destructor* Weibchen, dorsal**



**Abbildung 2: adultes *V. destructor* Weibchen, ventral**



**Abbildung 3: adultes *V. destructor* Weibchen das kurz vor der Eiablage steht, die Intersegmentalhäute sind deutlich zu sehen**



**Abbildung 4: adultes *V. destructor* Männchen, dorsal**

zweiten Beinpaar münden. Die Spermien unterlaufen 8 Reifungsstadien, 6 im Körper des Männchens und 2 nach der Befruchtung im Körper des Weibchens (Rosenkranz et al., 2010).

### 3.2 Lebenszyklus

*V. destructor* ist eng an das Leben ihres Wirtes Honigbiene gebunden. Ein freies Überleben ohne den Wirt Honigbiene ist nicht möglich. Es gibt zwei Phasen im Leben der weiblichen Milbe. Die phoretische Phase auf adulten Bienen und die reproduktive Phase in verdeckelten Brutzellen (siehe Abbildung 5). Männchen und Nymphenstadien sind kurzlebig und können nur in verdeckelten Brutzellen gefunden werden. Auf den adulten Bienen werden die *V. destructor* Weibchen zu den Brutzellen transportiert oder von Flugbienen oder Schwärmen verteilt (Kuenen und Calderone, 1997). Die Milbe saugt erhebliche Mengen an Hämolymphe von adulten Bienen wie den befallenen Bienenpuppen (Garedew et al., 2004).

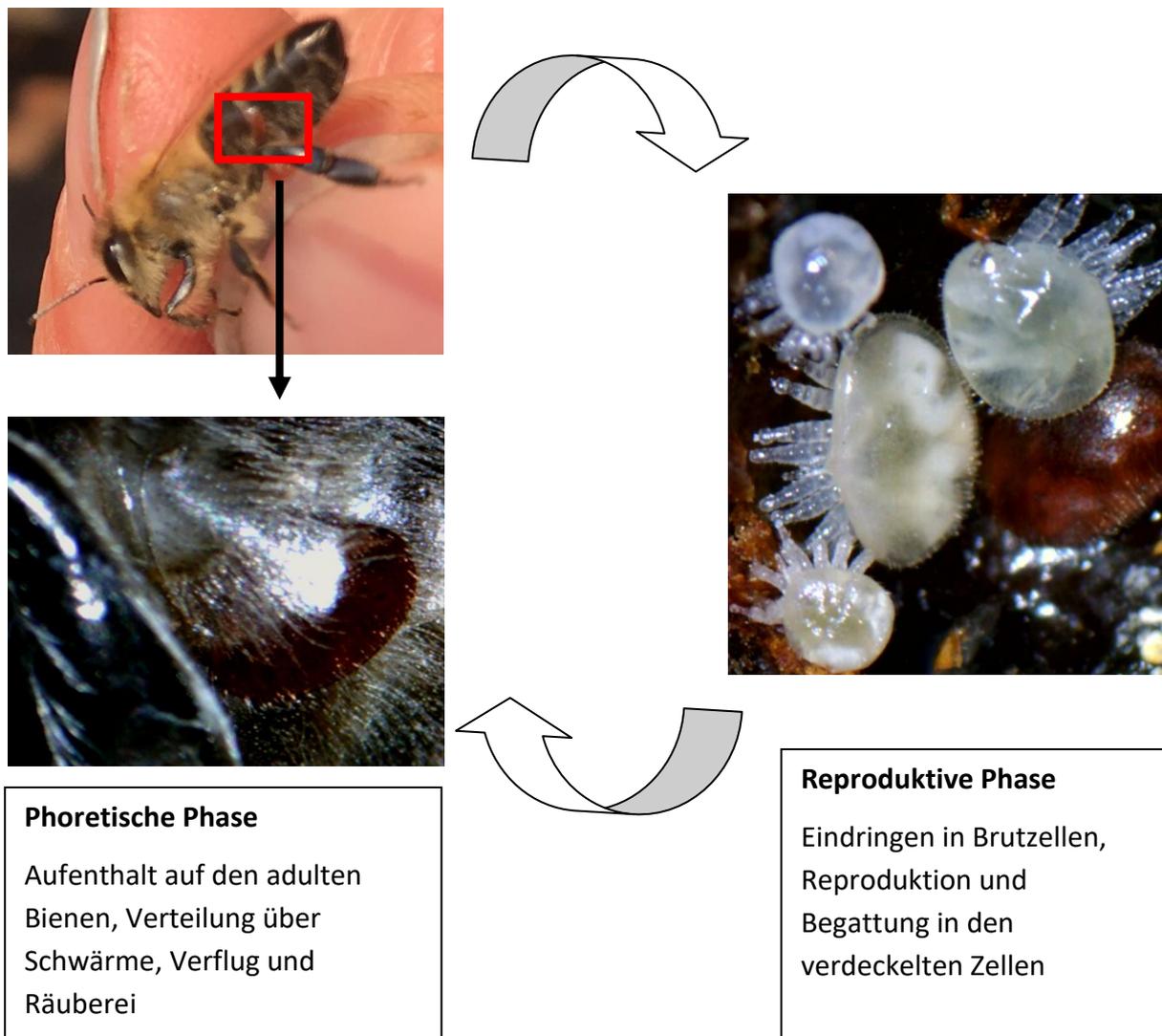


Abbildung 5: Vereinfachter Lebenszyklus von *Varroa destructor*; Weibchen wechseln zwischen einer phoretischen und reproduktiven Phase. Die Nymphenstadien und Männchen sind kurzlebig und weisen keine phoretische Phase außerhalb der Brutzellen auf. Quelle: Eigene Fotografien/eigene Abbildung nach Rosenkranz et al. (2010)

### 3.3 Orientierung und Befall des Wirtes

*V. destructor* kann Licht und Vibrationen wahrnehmen (Kirchner, 1993). Jedoch gibt es keine Anzeichen, dass diese Sinne zur Orientierung oder Wirtsfindung verwendet werden (Rosenkranz et al., 2010). Es wird auch vermutet, dass die Temperatur nur wenig Einfluss darauf hat (Dillier et al., 2006).

Chemische Reize spielen eine Hauptrolle im Lebenszyklus von *V. destructor*. Das wird deutlich, wenn das Weibchen bestimmte Brutstadien der Bienen bevorzugt. Als Parasit ohne eine Lebensphase außerhalb des Wirtes sitzt die Milbe entweder auf adulten Bienen oder befindet sich innerhalb von Brutzellen. Für den Reproduktionserfolg von *V. destructor* sind zwei Stadien des Wirtes von großer Bedeutung. Die adulte Biene, die das Milben Weibchen zur Brutzelle bringt und die in der Brutzelle befindliche Bienenpuppe kurz vor der Verdeckelung (Rosenkranz et al., 2010).

Die Milben sind in der Lage, die Funktionen der adulten Bienen zu erkennen. So werden Ammenbienen von den Milben bevorzugt, da diese sie zu den Brutzellen bringen (Kraus, 1993; Kuenen und Calderone, 1997). Frisch geschlüpfte Bienen sind weniger attraktiv als ältere Bienen und die Ammenbienen im mittleren Alter sind die Gruppe, die am stärksten befallen wird (Kraus et al., 1986; Steiner, 1993). Es wird angenommen, dass die alters- bzw. aufgabenbedingte spezifische Struktur der cuticularen Hydrocarbon-Struktur, ausschlaggebend für die Selektion des optimalen Wirtes ist. Altersbedingte Strukturen wurden für Drohnen (Wakonigg et al., 2000) und Arbeiterinnen beschrieben (Chiroudi et al., 1997 zit. nach Rosenkranz et al., 2010).

Zusätzliche Informationen die das Erkennen von passender Brut bestätigen, sind bekannt. Drohnenbrut wird 8 bis 10 Mal stärker befallen als Arbeiterinnenbrut (Boot et al., 1995). Im Bienenvolk wird Arbeiterinnenbrut 15 bis 20 Stunden vor dem Verdeckeln befallen, Drohnenbrut 40 bis 50 Stunden vor dem Verdeckeln (Boot et al., 1992; Infantidis, 1988). Ein weiterer Aspekt, der wahrscheinlich zum stärkeren Befall der Drohnenbrut beiträgt, ist die intensivere Pflege. Dadurch haben Milben, die auf Ammenbienen sitzen, mehr Chancen Drohnenbrut im passenden Entwicklungsstadium zu befallen als passende Stadien der Arbeiterinnenbrut. Es wurde untersucht, dass Arbeiterinnen 2,78 Mal mehr Zeit in für die Pflege der Drohnen als für die der Arbeiterinnen aufbrachten (Calderone und Kuenen, 2003).

Verschiedene Stoffe in der Cuticula der Larven lösen eine bestätigte Attraktivität für die Milben-Weibchen aus. Es handelt sich dabei um Methyl- und Ethyl-Ester (Le Conte et al., 1989). Diese Ester von geradlinigen Fettsäuren, agieren als Brutpheromone und lösen das Verdeckeln der Brutzellen aus (Le Conte et al., 1990). Die Sekretion dieser Ester hat einen ontogenetischen Verlauf, der sein Maximum im fünften Entwicklungsstadium der Larven während der Zeit des Verdeckelns erreicht (Trouiller et al., 1991). Drohnenbrut produziert auch etwas größere Mengen über einen längeren Zeitraum, was wiederum zum bevorzugten Befall der Drohnenbrut beiträgt.

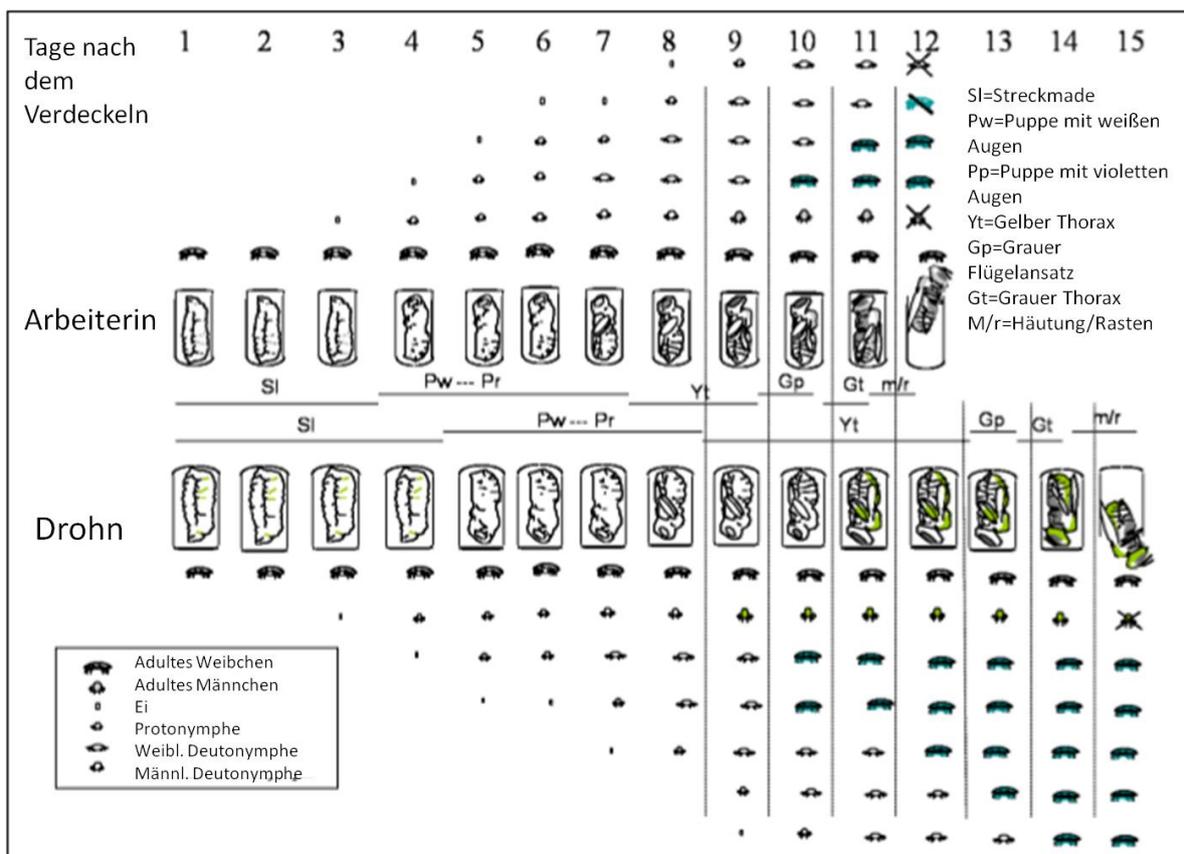
Nicht nur die Larve selbst, auch Stoffe im Kokon und im Larvenfutter haben eine anziehende Wirkung auf das Milben-Weibchen. Aliphatische Alkohole und Aldehyde mit Kettenlängen von C17 bis C22, extrahiert von Kokons, löste bei Milben-Weibchen ein starkes Ruhe-Verhalten aus (Calderone und Lin, 2001). Die Bienenbrut sondert aber auch natürliche Komponenten ab, die einen abstoßenden Effekt auf die *V. destructor* Weibchen haben. Königinnenlarven sind gegenüber Arbeiterinnenlarven und Drohnenlarven weniger interessant. Auch

Gelee Royale hat einen abstoßenden Effekt auf die Milben-Weibchen (Calderone und Lin, 2001; Calderone et al., 2002).

Im Artikel von Dillier et al. (2006) wird ein weiterer Überblick über das Orientierungsverhalten und die Ausstattung mit Sinnesorganen bei *V. destructor* gegeben.

### 3.4 Reproduktion von *V. destructor*

Nach dem Eindringen in eine Brutzelle mit einer Larve im fünften Entwicklungsstadium (kurz vor der Verdeckelung) bewegt sich die Milbe zwischen der Larve und der Zellwand durch auf den Boden der Zelle und setzt sich im Larvenfutter fest. Dieses Verhalten der Milben könnte ein Adaptionmechanismus gegen das Aufspüren und Ausräumen durch Hygiene-Verhalten sein (Rosenkranz et al., 2010).



**Abbildung 6: Entwicklung von *V. destructor* und dem Wirt *A. mellifera*; Quelle: Verändert und übersetzt nach Dietemann et al. (2013)**

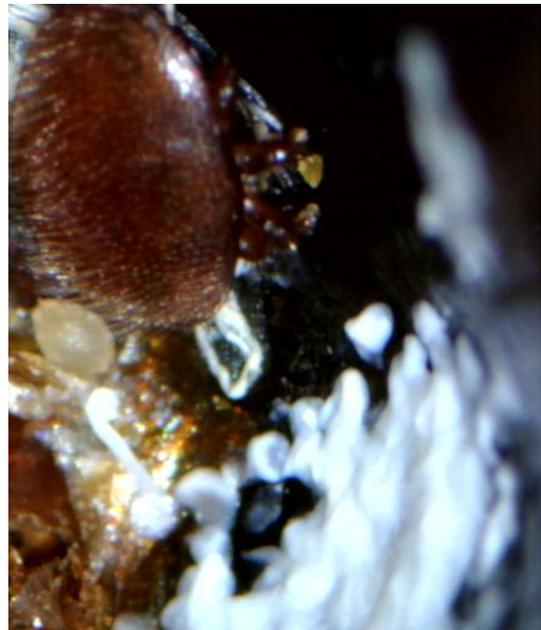
Nach etwa 5 Stunden hat die Larve den Rest des Larvenfutters aufgebraucht (Infantidis, 1988) und die Milbe beginnt Hämolymphe von der Bienenpuppe zu saugen (Rosenkranz et al., 2010). Innerhalb weniger Stunden beginnt die Oogenese, gefolgt von der Prävitellogenese, der Vitellogenese (Bildung der Eier), der Embryogenese und der Eiablage (Garrido Lüneburg, 2004).

Ungefähr 70 Stunden nach dem Verdeckeln wird das erste Ei abgelegt (Infantidis, 1983). Das erste Ei ist unbefruchtet und durch das haploid-diploid Geschlechtsbestimmungssystem wie bei der Biene, entwickelt sich daraus ein haploides Männchen. Nachfolgend wird ein befruchtetes Ei im Abstand von in etwa 30 Stunden gelegt, aus denen sich weibliche Nach-

kommen entwickeln (Rehm und Ritter, 1989; Martin, 1994). Bis zu fünf Eier in der Arbeiterinnenbrut und bis zu sechs Eier in der Drohnenbrut können durch ein Milben-Weibchen abgelegt werden (siehe Abbildung 6) (Martin, 1994; Martin, 1995).

Die Milbenlarve entwickelt sich innerhalb des Eies, in den Stunden nach der Eiablage (Nanelli, 1985 zit. nach Rosenkranz et al., 2010). Vom Schlupf aus dem Ei bis zur Häutung zur adulten Milbe, passiert die Milbe das Proto- und Deutonymphenstadium (Ritter, 1996). Die Entwicklungszeit beträgt ungefähr 154 Stunden bei den männlichen Milben und ungefähr 134 Stunden bei den weiblichen Milben (Martin, 1994). Beide Nymphenstadien werden in eine mobile und immobile Phase, kurz vor der Häutung eingeteilt (Infantidis, 1983). Die immobilen Stadien werden Proto- und Deuto-Chrysalis genannt. Die weibliche Milbe ändert ihr Äußeres von länglich zu quer-oval. Im Stadium Deuto-Chrysalis ist bereits die Körperform der adulten Milbe erreicht. Im Deuto-Chrysalis Stadium beginnt die Ausfärbung, die bis zu einer rot-braunen Farbe nach der letzten Häutung führt. Dagegen ist die endgültige Form des männlichen Körpers dreieckig mit einer gelben Farbe (Rosenkranz et al., 2010).

Die Muttermilbe macht Löcher in die Bienenpuppe, damit sich die Nymphenstadien ernähren können. Diese einzelne Futterzone liegt normalerweise zwischen dem fünften Segment der Bienenpuppe und nahe der sogenannten „faecal accumulation site“, wo sich der Kot ansammelt (siehe Abbildung 7). Dieses Verhalten ist Teil der elterlichen Fürsorge und notwendig, da die Cheliceren der weiblichen Nymphenstadien noch zu weich sind um ein Loch in die Bienenpuppe zu machen und die männlichen Cheliceren für den Spermatransfer umgebildet sind. Nach dem Fressen kehren die Milbennachkommen zur „faecal accumulation site“ zurück (Donzé und Guerin, 1994). *V. destructor* wird kurz nach der letzten Häutung geschlechtsreif. Männchen erreichen die Geschlechtsreife früher und warten bei der „faecal accumulation site“ auf das erste geschlechtsreife Weibchen, das nach ungefähr 20 Stunden sich zur Geschlechtsreife häutet. Da die Reproduktion nur innerhalb der Zelle erfolgen kann, beginnt das Männchen immer sofort mit der Begattung seiner geschlechtsreifen Schwestern (Donzé et al., 1996).



**Abbildung 7: faecal accumulation site; Stelle an der sich der Kot der Milben ansammelt; In der Nähe dieser Zone (am unteren Ende der Zelle) liegt die Futterzone für die Nymphenstadien und es wartet dort das adulte Männchen auf das erste geschlechtsreife Weibchen.**

Die Begattung (siehe Abbildung 8) kann als eine Abfolge von 4 Schritten interpretiert werden (Ziegelmann et al., 2013):

1. Der Ablauf startet mit der Attraktion des Männchens. Wenn das Männchen nahe genug beim jungen Weibchen ist, folgt es diesem und berührt es mit den vorderen Beinen.
2. Dann besteigt das Männchen das Dorsum des Weibchens und begutachtet den vorderen Teil des Dorsums mit den Tarsen. Darauf schlüpft es auf die ventrale Seite.
3. In der ventral-ventral Position untersucht das Männchen die Solenostomen, immer abwechselnd von einer Seite zur anderen.
4. Danach pausiert das Männchen, wahrscheinlich um die Spermatophoren abzusondern, um diese danach in die Solenostomen zu transferieren. Dann nimmt das Männchen die Spermatophoren aus seiner Genitalöffnung und überführt das Sperma in die Gonoporen des Weibchens (Rosenkranz, et al., 2010).

Eine mehrfache Begattung ist üblich, bis das nächste Weibchen geschlechtsreif ist und bei der „faecal accumulation site“ auftaucht. Auch um die Spermatheka mit 35 Spermatozoen zu füllen ist eine mehrfache Begattung notwendig (Donzé und Guerin, 1994; Donzé et al., 1996). Das Paarungsverhalten wird von weiblichen Sexualpheromonen eingeleitet. Aufgrund dieser flüchtigen Pheromone, sind frisch gehäutete Weibchen signifikant interessanter für Männchen als Deuto-Chrysalis' oder ältere Weibchen, was sicher stellt, dass sich das Männchen immer mit dem jüngsten Weibchen paart, nachdem sich eine Deuto-Chrysalis zu einem adulten Weibchen häutet (Ziegelmann et al., 2013).

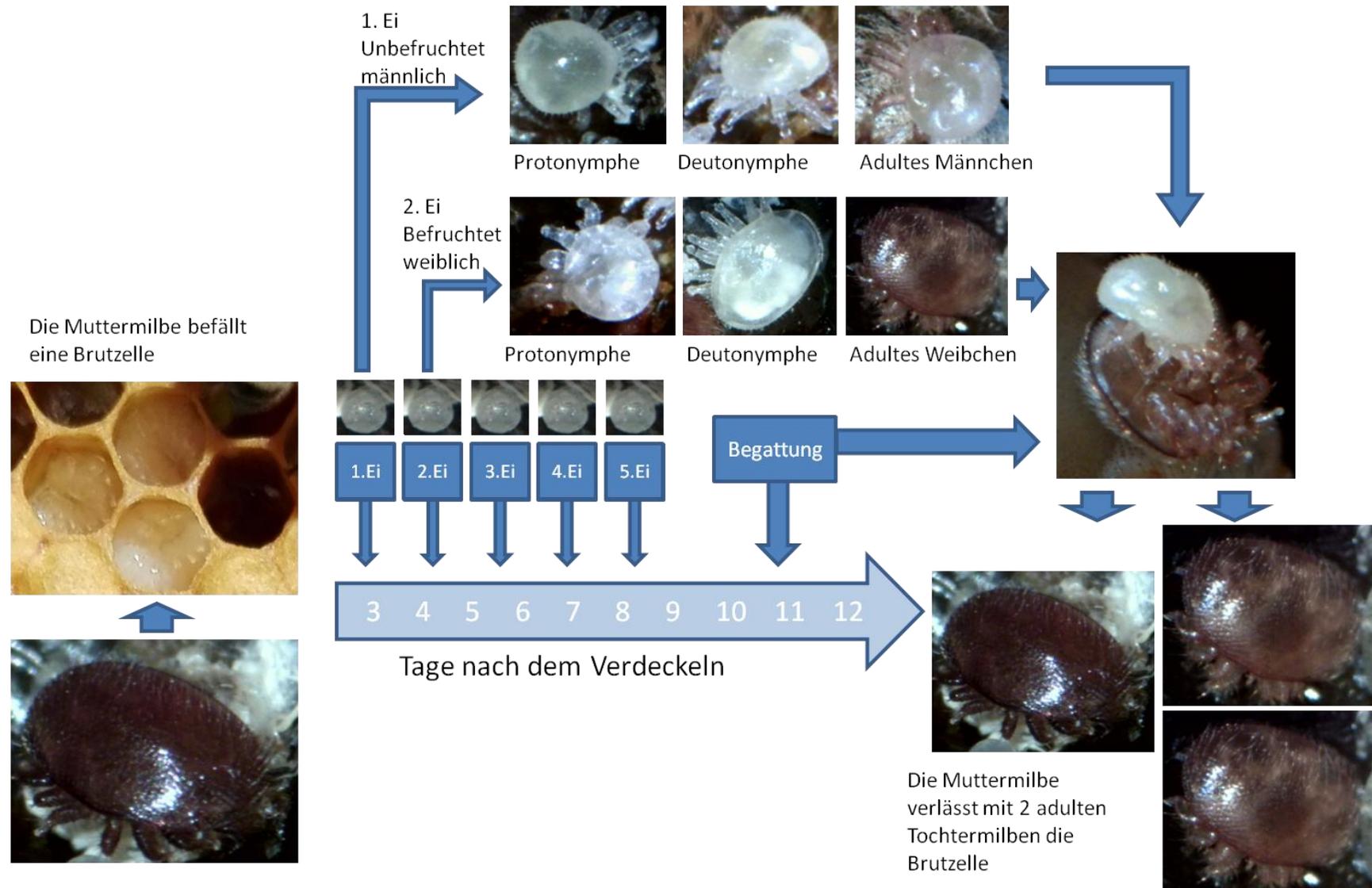


Abbildung 8: reproduktive Phase von *V. destructor*; Quelle: Eigene Fotografien/eigene Abbildung nach Rosenkranz et al. (2010)

Die tatsächliche Reproduktionsrate (sichtbare adulte weibliche Nachkommen/Muttermilbe) ist schwierig zu erheben. Diese hängt von der Milbenfertilität (Reproduktion ja/nein) sowie vom Reproduktionsvermögen (Anzahl von Nachkommen pro Reproduktionszyklus) ab. Unter natürlichen Bedingungen beträgt die Reproduktionsrate in Arbeiterinnenbrut in etwa 1,45 adulte weibliche Nachkommen pro Muttermilbe in einfach befallenen Zellen. Es ist möglich, dass 3 weibliche Nachkommen reproduziert werden, bevor die Biene schlüpft (Martin, 1994).

Bei Drohnenbrut beträgt die durchschnittliche Reproduktionsrate in etwa 2 bis 2,2 adulte weibliche Nachkommen in einfach befallenen Zellen. Während sich die Drohnenbrut entwickelt, ist genug Zeit, dass sich grundsätzlich alle 5 bis 6 abgelegten Eier entwickeln könnten. Muttermilben, die normal reproduzieren und 5 bis 6 Eier ablegen, bringen im Durchschnitt 4 adulte Weibchen als Reproduktionsleistung hervor. Viele *V. destructor* Weibchen bringen jedoch keine sichtbaren Nachkommen hervor (Martin, 1995). In ihrem Leben kann ein Milben-Weibchen unter Laborbedingungen bis zu 7 Reproduktionszyklen durchlaufen (De Ruijter, 1987). Unter natürlichen Bedingungen können zwei bis drei Reproduktionszyklen erwartet werden (Martin und Kemp, 1997; Fries und Rosenkranz, 1996).

Es wurde bislang angenommen, dass im ursprünglichen Wirt *A. cerana*, die Reproduktion der Varroa-Milben (*V. jacobsoni* und *V. destructor*) nur in der Drohnenbrut stattfindet, (Garrido Lüneburg, 2004; Rath, 1999). Dieses Phänomen wird als wichtiger Faktor für das balancierte Wirt-Parasit Verhältnis bei *A. cerana* betrachtet (Rath, 1999). Lin et al. (2018), berichten jedoch, dass die allgemein berichtete Abwesenheit von *V. destructor* in Arbeiterinnenbrut bei *A. cerana* wegen der fehlenden Attraktivität der Arbeiterinnenbrut nicht bestätigt werden konnte. Arbeiterinnenbrut von *A. cerana* wird grundsätzlich in ähnlichem Umfang befallen wie die Arbeiterinnenbrut von *A. mellifera*. Jedoch zeigen Puppen von *A. cerana*, dass sie stärkeren Schaden durch die Parasitierung nehmen, was wieder mit einem verstärkten Ausräumen zusammenhängen könnte. Auf Volksebene betrachtet, hängt der Reproduktionserfolg des Parasiten vom Anteil des sich vollständig entwickelnden Wirtes ab (Lin et al., 2018).

Die zwei Haplotypen von *V. destructor*, die sich auf *A. mellifera* finden, können dort sowohl in Arbeiterinnen- wie Drohnenbrut reproduzieren (Muñoz et al., 2008). Jedoch gibt es einen gewissen Anteil an weiblichen Milben, die nach dem Eindringen in Arbeiterinnen- oder Drohnenbrut nicht reproduzieren. Der Prozentsatz dieser nicht-reproduktiven Milben ist geringfügig variabel innerhalb einer Spezies oder Subspezies des Wirts und klimatischen Bedingungen. Daher trägt es zu Unterschieden in der Wirts-Toleranz innerhalb europäischer Bienen bei (Fries et al., 1994; Rosenkranz, 1999).

In europäischen Subspezies (Rassen), bleiben ungefähr 5 bis 20 % der Milben nach dem Befall von Arbeiterinnen- oder Drohnenbrut nicht-reproduktiv (reviewed in Rosenkranz et al., 2010). Das Verbringen von *V. destructor* auf verschiedene Honigbienen Subspezies bestätigte, dass die verringerte Milbenfertilität mehr ein Merkmal des Wirtes, als der des Parasiten ist (Rosenkranz, 1999).

Die Gründe für die Unfruchtbarkeit der Milben-Weibchen sind generell noch zu wenig bekannt. Da unbefruchtete Milben-Weibchen nicht reproduzieren können (Martin et al., 1997), wird angenommen, dass bei diesen Milben-Weibchen die Kopulation nicht funktioniert hat (Harris und Harbo, 1999). Fuchs (1994) vermutete, dass unfruchtbare Milben ihre Fähigkeit zur Reproduktion verloren haben. Jedoch widersprechen andere Beobachtungen diesen Annahmen. In der phoretischen Phase haben nahezu alle Milben-Weibchen gefüllte Sper-

matheken (Garrido Lüneburg, 2004). Auch unfruchtbare Milben aus der Bienenbrut, die künstlich in neue Brutzellen eingebracht wurden, waren noch fähig zu reproduzieren (Weller, 2008 zit. nach Rosenkranz et al., 2010).

Das spricht für eine durch den Wirt bedingte zeitweise Unfruchtbarkeit. Des Weiteren ist es von Bedeutung, nicht jedes Milben-Weibchen das zumindest ein Ei legt, als reproduktiv zu betrachten (Rosenkranz et al., 2010). Der Reproduktionserfolg ist definiert, als die Fähigkeit der Muttermilbe zumindest eine sichtbare, begattete weibliche Tochtermilbe zu reproduzieren, bevor die Bienenpuppe als adulte Biene schlüpft. Erfolgreiche Reproduktion benötigt daher die Entwicklung von zumindest zwei Eiern, die von der Muttermilbe innerhalb einer Brutzelle abgelegt werden, aus denen sich ein Männchen und ein Weibchen entwickeln. Diese müssen sich vor dem Schlupf der Biene paaren. Das Männchen stirbt wenn die Biene schlüpft, die begatteten Weibchen befallen zusammen mit der Muttermilbe die Bienen des Volkes, um wiederum in Brutzellen einzudringen und zu reproduzieren. Muttermilben, die keine Eier legen, nur ein Ei legen, nur männliche Nachkommen produzieren oder in Relation zur Bienenpuppe zu spät mit der Eiablage beginnen, steuern damit keinen Nachwuchs für die Milbenpopulation bei (Dietemann et al., 2013).

### 3.5 Populationsdynamik

Es gibt einen engen Zusammenhang zwischen der Populationsdynamik von *V. destructor* und der Brutaufzucht in den Völkern. Der Befall mit *V. destructor* ist im Frühjahr am geringsten und nimmt vor allem mit Beginn der Aufzucht von Drohnenbrut zu. Entscheidende Einflussgrößen für die Populationsentwicklung von *V. destructor* sind der Anfangsbefall im Frühjahr, sowie der Umfang und die Dauer der Aufzucht von Drohnen (Ritter, 1996).

Das Wachstum der Milbenpopulation ist von Volk zu Volk stark variabel. Es hängt ab von den Eigenschaften und Merkmalen des Wirtes und Parasiten, die möglicherweise die Reproduktionsrate und die Milbenmortalität beeinflussen. Vor allem verlängerte Brutperioden oder eine verhältnismäßige hohe Anzahl von Brutzellen können einen starken Einfluss auf ein schnelleres Populationswachstum haben. Des Weiteren wurde in Modellierungen zur Populationsentwicklung festgestellt, dass vor allem Änderungen im Reproduktionserfolg von *V. destructor* einen sehr starken Einfluss auf die Populationsentwicklung haben (Calis et al., 1999; Martin und Medina, 2004).

In Versuchen, bei denen die Datengrundlage Messungen von 10 Jahren darstellte, wurde bestätigt, dass der Anteil der nicht-reproduktiven Milben den stärksten Zusammenhang mit reduzierten Wachstumsraten des Befalls aufwies. Des Weiteren wurden signifikante Korrelationen zwischen dem Brutbefall und dem Wachstum der Milbenpopulation festgestellt (Harris et al., 2003). In anderen Versuchen konnten Zusammenhänge zwischen verletzten Milben auf den Bodeneinlagen (Grooming behaviour), dem Hygiene-Verhalten und dem Populationswachstum festgestellt werden (Arechavaleta-Velasco und Guzmán-Novoa, 2001). Vorhersagen, auf welches Ausmaß Milbenpopulationen über die Saison hinweg anwachsen, sind nach wie vor nicht möglich. Probleme dafür sind Verflug und Räuberei. Zu Zeiten geringer Tracht und höherer Räubereiaktivitäten, kommt es vor allem bei stärkeren Völkern oftmals dazu, dass Milben in die Völker getragen werden, die zu einem Anstieg der Milbenpopulation in diesen Völkern beitragen. Insgesamt sind stärkere und stark brütende Völker einer verstärkten Populationsentwicklung von *V. destructor* ausgesetzt (Rosenkranz et al., 2010).

### 3.6 Schädigung des Wirtes

Bei geringen Befallsraten sind klinische Symptome durch den Befall mit *V. destructor* nicht sichtbar. Ein geringer Befall kann das Wachstum des Bienenvolkes, einschließlich des Honigertrages einschränken. Trotzdem geht es schnell, dass es zu irreversiblen Schäden an den Völkern kommt (Rosenkranz et al., 2010). Vor allem dann, wenn im Herbst die Milbenpopulation noch ansteigt und Bienenanzahl in den Völkern weniger wird (Fries et al., 2003). Anzeichen für eine Schädigung durch *V. destructor* sind Bienen, die im Spätsommer und Herbst am Boden krabbeln. Vor dem Stock finden sich missgebildete Bienen und Drohnen, mit verkürztem Hinterleib oder verkümmerten Flügeln. Auch Puppen mit solchen Missbildungen werden aus dem Stock getragen. Auf den Bienen als auch in der Brut sind die Milben in diesem Fall bereits sichtbar (Ritter, 1994).



Abbildung 9: Wunde an einer Biene die kurz vor dem Schlupf steht

Der direkte Schaden, den eine einzelne Biene durch die Parasitierung mit einer Milbe nimmt (siehe Abbildung 9), ist vergleichsweise gering. Zwar verliert die Biene in 2 Stunden ca. 0,1 mg Hämolymphe, das kann die Biene jedoch meist ausgleichen (Ritter, 1996). Am meisten Schaden nehmen die sich entwickelnden Larven und Puppen. Der Entzug von Hämolymphe während der Entwicklung führt zu einer herabgesetzten Körpermasse der schlüpfenden Bienen. Der Masseverlust hängt von der Anzahl der Muttermilben und der Nachkommen in einer Brutzelle ab.

Ein Befall mit einer Muttermilbe resultiert in einer um durchschnittlich 3 bis 5 % herabgesetzten Körpermasse, bzw. einer bis zu 25 % herabgesetzten Körpermasse bei Mehrfachbefall (siehe Abbildung 10) (De Jong, et al., 1982). Dies trifft auch auf parasitierte Drohnen zu, die 11 bis 19 % Körpermasse, abhängig von der Befallsrate verlieren (Duay, et al., 2003).



Abbildung 10: mehrfach befallene Brutzelle (4 Muttermilben und Nachkommen)

Arbeiterbienen, die während ihrer Entwicklungszeit parasitiert wurden, weisen unterentwickelte Hypopharynxdrüsen und eine reduzierte Lebenszeit auf (Schneider und Drescher, 1987). Parasitierte Bienen zeigen herabgesetzte Fähigkeiten beim nicht-assoziierten Lernen, eine verlängerte Zeit in der sie vom Volk ausbleiben und eine herabgesetzte Rückkehrtrate zu ihren Völkern (Kralj und Fuchs, 2006).

*V. destructor* ist ein Vektor für viele Viren (Rosenkranz et al., 2010). Vireninfektionen tragen zur Schädigung von Völkern und in weiterer Folge zu Winterverlusten bei. Es wurde festgestellt, dass ein hoher Befall mit *V. destructor*, der Flügeldeformationsvirus (DWV), der akute Bienenparalysevirus und hohe Winterverluste zusammenhängen (Genersch et al., 2010).

Die Schadschwelle des Befalls mit *V. destructor* ist nicht mit einer fixen Milbenanzahl in den Völkern korreliert. Sie ist stark variabel und hängt von der Bienen- und Brutmenge, sowie der Saison und dem Virendruck in den Völkern ab (Rosenkranz et al., 2010).

Laut dem Vitalitätstest des AGT-Zuchtprogrammes werden die in Tabelle 1 enthaltenen Befallswerte für die Weiterführung der Befallsmessungen im Zuge des Vitalitätstests (Bienenproben ausgewertet mittels Puderzucker- oder Auswaschmethode) im Sommer empfohlen (AGT, 2013).

**Tabelle 1: Behandlungsempfehlung für Vitalitätstestvölker nach Befallsgrad (Milben je 10 g Bienen) für den Zeitraum von Anfang August (Kalenderwoche 32) bis Mitte Oktober (Kalenderwoche 41); Quelle: AGT (2013)**

Handlungsempfehlung	Ca. 10.08. (KW 32)	Ca. 31.08. (KW 35)	Ca. 21.09. (KW 38)	Ca. 12.10. (KW 41)
Volk (vorerst) nicht gefährdet	< 2	< 3	< 4	< 5
Volk kritisch beobachten	2-4	3-6	4-8	5-10
Behandeln oder Auflösen	> 4	> 6	> 8	> 10

### 3.7 Behandlungsmöglichkeiten gegen *Varroa destructor*

Ohne oder durch unzureichende Behandlungen würden die meisten Völker im gemäßigten Klima nach 2 bis 3 Jahren zusammenbrechen (Rosenkranz et al., 2010; Boecking und Genersch, 2008). Verschiedene chemische Behandlungsmittel fanden Anwendung in der Bekämpfung von *V. destructor*. Rückstände in Wachs und Honig, sowie Resistenzen gegen viele Mittel sprechen jedoch für Alternativen (Milani, 1999; Wallner, 1999).

Grundsätzlich kann man die Bekämpfung von *V. destructor* in drei Bereiche untergliedern (Rosenkranz et al., 2010):

1. Behandlung mit chemisch-synthetischen Wirkstoffen („harte synthetische Akarizide“)
2. Behandlung mit organischen Säuren oder ätherischen Ölen („weiche Akarizide“)
3. Behandlung durch biotechnische Maßnahmen

Um das Auftreten klinischer Symptome zu verhindern, ist es notwendig durch ein bestimmtes Konzept, das an die lokalen klimatischen Begebenheiten und die Form der Bienenhaltung angepasst ist, *V. destructor* zu bekämpfen (Rosenkranz et al., 2010).

Werden Mittel für die Bekämpfung von *V. destructor* eingesetzt, ist auf die gesetzliche Lage Rücksicht zu nehmen. Die Zulassung von in Österreich zugelassenen Behandlungsmitteln kann über das Arzneimittelspezialitätenregister abgerufen werden ([www.aspreregister.basg.gv.at](http://www.aspreregister.basg.gv.at)). Mit Stand 16.09.2018 sind in Österreich 13 Mittel zur Bekämpfung von *V. destructor* zugelassen, wobei 3 Präparate synthetische Wirkstoffe wie Amitraz und Flumethrin beinhalten (BASG, 2018).

Rückstände von chemisch-synthetischen Varroaziden sind zwar heute nur mehr in geringfügigen Mengen in Bienenprodukten festzustellen, jedoch sollten sie aufgrund des positiven und natürlichen Images, das dem Produkt Honig und anderen Bienenprodukten anhaftet, weitestgehend unterbleiben (Boecking und Genersch, 2008).

Organische Säuren und ätherische Öle, hauptsächlich Ameisensäure, Oxalsäure (Oxalsäure Dihydrat), Milchsäure und Thymol sind natürliche chemische Verbindungen, die zur Behandlung gegen *V. destructor* eingesetzt werden (Milchsäure ist zurzeit in keinem in Österreich zugelassenen Präparat als Wirkstoff enthalten (BASG, 2018)).

Viele Studien haben sich mit den Details der Anzahl der Anwendungen und der Methode der Applikation (bestäuben, füttern, verdunsten, vernebeln, sprühen) beschäftigt. Die grundsätzlichen Vorteile von organischen Säuren und ätherischen Ölen liegen in der hinlänglichen Wirksamkeit, dem geringen Risiko von Rückständen und der geringen Wahrscheinlichkeit der Ausbildung von Resistenzen gegen die Wirkstoffe. Die Nachteile sind, dass Milch- und Oxalsäure nur unter brutfreien Bedingungen ausreichend wirken. Des Weiteren sind die klimatischen Bedingungen, das Beutenklima und die Art der Applikation von großer Relevanz für die Wirksamkeit bzw. einen optimalen Effekt gegen *V. destructor*. Die Wirkstoffe können den Bienen schaden und die Spanne zwischen ausreichender Wirksamkeit und der Schädigung der Völker ist relativ gering (reviewed in Rosenkranz et al., 2010).

Biotechnische Maßnahmen, die Rücksicht auf die Biologie von Wirt und Parasit nehmen, sind die wirklich nachhaltigen Ansätze bei der Behandlung gegen *V. destructor*. Methoden zur Bekämpfung sind beispielsweise die Entfernung von Drohnen- oder Arbeiterbrut, das zeitweise Sperren der Königin auf einzelne Waben oder die Wärmebehandlung von Brut (Rosenkranz et al., 2010).

Der Einsatz von gegen *V. destructor* resistenteren Bienen bzw. in Zukunft eventuell resistenten Bienen könnte hier Abhilfe schaffen. Es würde den Einsatz von Akariziden reduzieren und könnte die Notwendigkeit von Varroa-Kontrollmessungen hinfällig werden lassen (Rinderer et al., 2010).

### **3.8 Varroa-Resistenz versus Varroa-Toleranz**

Wird von der Abwehrfähigkeit der Bienen gegen *Varroa destructor* gesprochen, so finden die Begriffe Varroa-Resistenz als auch Varroa-Toleranz Verwendung. Im wissenschaftlichen Bereich wird bei den meisten Publikationen zum Thema Abwehrfähigkeit gegen *V. destructor*, der Begriff Resistenz bzw. Varroa-Resistenz verwendet (Büchler et al., 2010; Rinderer et al., 2010; Harbo und Harris, 1999). In populärwissenschaftlichen Artikeln findet man des Öfteren den Begriff Toleranz bzw. Varroa-Toleranz (Büchler, 2018). Jedoch unterscheiden sich die zwei Begriffe in ihren Definitionen.

Resistenz des Wirtstieres ist definiert als die Fähigkeit, die Fitness des Parasiten zu reduzieren, indem die Anzahl an Parasiten reduziert wird (Schmid-Hempel, 2011; Råberg et al., 2007). Bei der Resistenz kommt es zu negativen Auswirkungen auf den Parasiten (Råberg et al., 2007).

Toleranz des Wirtstieres ist definiert als die Fähigkeit des Wirts, den Einfluss des Parasiten zu reduzieren. Toleranz beschreibt also wie gut der Schaden, der durch eine Parasitierung entsteht, durch den Wirt herabgesetzt wird (Schmid-Hempel, 2011; Råberg et al., 2007). Bei der Toleranz kommt es zu keinen negativen Auswirkungen auf den Parasiten (Råberg et al., 2007).

Als Resistenz der Honigbiene betrachtet man die Fähigkeit einer Bienen-Population, ohne therapeutische Behandlungsmittel, in einem gegebenen Umwelt- und Management-System zu überleben. Resistenz ist daher kein absolutes Merkmal, sondern muss als Ergebnis erfolgreicher Interaktionen in einer spezifischen Umwelt gesehen werden (Büchler et al., 2010). Harbo und Harris (1999a) definierten die Resistenz gegenüber *V. destructor*, als die Fähigkeit von Völkern das Wachstum der *V. destructor* Population zu behindern. Nach dieser Definition sollten resistente Bienen die *V. destructor* Population so verringern, dass diese entwe-

der verschwindet oder auf einem sehr geringen Level gehalten wird (Harbo und Harris, 1999a). Locke (2016) beschreibt, dass Bienen-Populationen die den Reproduktionserfolg von *V. destructor* herabsetzen können (also das Merkmal SMR zeigen), eine Resistenz gegen *V. destructor* ausgebildet haben.

### **3.9 Resistenzmerkmale gegen *Varroa destructor***

Verschiedene Resistenzmerkmale gegen *V. destructor* sind bekannt.

Durch die Ko-Evolution von *A. cerana* mit *V. destructor* konnte *A. cerana* Resistenzeigenschaften gegen den Parasiten aufbauen. *A. cerana* ist in der Lage den Befall mit *V. destructor* zu überleben, wogegen für den Großteil der Völker der Art *A. mellifera* der Befall letal ist (Lin et al., 2018).

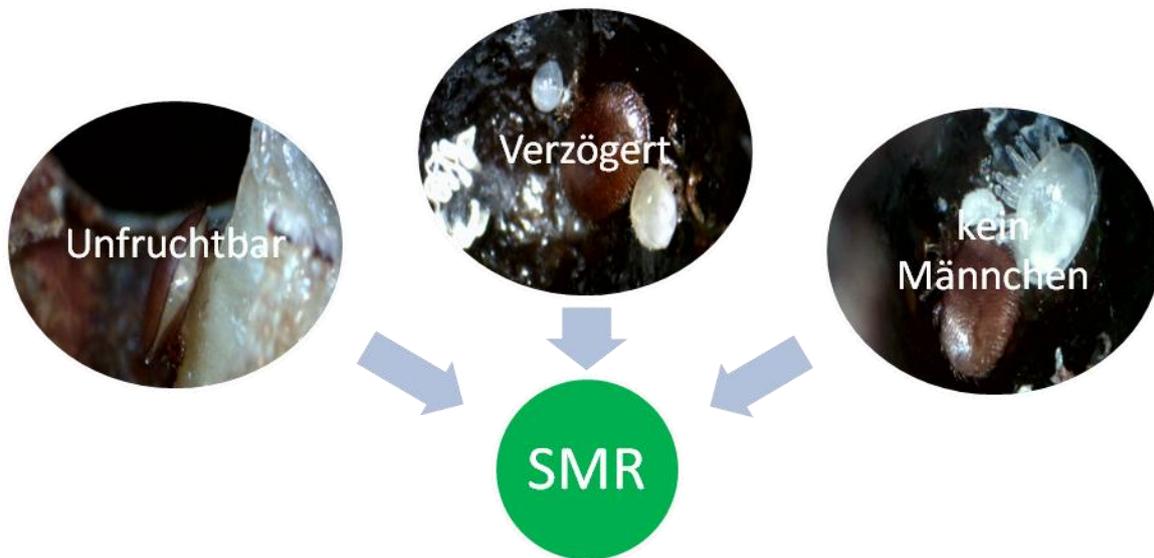
Die wichtigsten Eigenschaften von *A. cerana*, die als Hauptursache für die Resistenz gegen *V. destructor* gesehen werden, sind:

- Bislang angenommen: Keine Vermehrung in der Arbeiterinnenbrut (Garrido Lüneburg, 2004; Rath, 1999), diese Ergebnisse wurden jedoch von (Lin et al., 2018) nicht bestätigt
- Effektives Hygiene- und Grooming-Verhalten (Rath, 1999)
- Das „entombing“ von Brutzellen, bei dem mehrfach befallene Drohnenbrutzellen zu schwach sind um selbst den Zelldeckel zu öffnen und gewollt vernachlässigt werden. Bis zu einem Viertel der Milbenpopulation kann durch „entombing“ getötet werden (Rath, 1999).

#### **3.9.1 Reduzierte Milben Reproduktion/Suppressed Mite Reproduction (SMR)**

Als erste Resistenzeigenschaften von Bienen entdeckt wurden, stellte sich heraus, dass die Völker oft einen hohen Anteil an nicht-reproduzierenden *V. destructor* Weibchen in den Zellen aufwiesen (Ruttner et al., 1984). Bei der Parasitierung des ursprünglichen Wirtes *A. cerana*, zeigt *V. destructor* einen reduzierten Reproduktionserfolg (Lin et al., 2018). Reduzierte Milbenfertilität führte bereits bei Versuchen am ehemaligen Bieneninstitut in Lunz zu ersten Erfolgen hinsichtlich Varroa-Resistenz (Pechhacker, 1992). Suppressed Mite Reproduction (SMR) ist ein erbliches Merkmal von *A. mellifera*, das für die Unterdrückung der Reproduktion von *V. destructor* verantwortlich ist (Harbo und Harris, 1999b). Die Nicht-Reproduktivität wird verursacht durch zwei erbliche Eigenschaften, dem Effekt der adulten Bienen und dem Effekt der Brut (Harbo und Harris, 1999b). Die Brut von Königinnen mit Resistenz-Genen zeigt höhere Nicht-Reproduktivitätsraten. Der stärkere Effekt tritt jedoch erst in Erscheinung, wenn Arbeiterbienen von diesen Königinnen in den Völkern auftraten (Harris und Harbo, 2000). Die Zucht auf den Effekt der ausgewachsenen Arbeiterbienen wurde bislang bevorzugt, da er die größten Auswirkungen auf die Varroa-Resistenz zeigte (Harbo und Harris, 1999b). Es gibt verschiedene Ausprägungsformen von SMR (siehe Abbildung 11). Laut der angewendeten Methode nach dem RNSBB-Protokoll wurden Zellen, die durch nur eine Muttermilbe befallen waren, für die Beurteilung von SMR betrachtet. Dabei zählten Zellen in denen die Muttermilbe unfruchtbar war, der Milbennachwuchs eine verzögerte Entwicklung zeigte oder kein Männchen vorhanden war als nicht-reproduktive (SMR) Zellen (Büchler et al., 2017). Damit die Tochttermilbe begattet wird und somit reproduzieren kann, ist es not-

wendig, dass von der Muttermilbe mindestens ein männlicher Nachkomme produziert wird (Mondragon et al., 2005; Ibrahim und Spivak, 2006).



**Abbildung 11: Ausprägungsformen von SMR; Quelle: Eigene Fotografien/eigene Abbildung nach Büchler et al. (2017)**

Im Review-Artikel von Rosenkranz et al. (2010) ist zusammengefasst, dass verschiedene Studien zu Nicht-Reproduktivitätsraten von Milben in der durchschnittlichen Population bei ca. 5 bis 20 % liegen.

### **SMR-Effekt der adulten Bienen**

Es wurden Versuche durchgeführt, in denen stärker mit *V. destructor* befallene, verdeckelte Brut in Völker eingehängt wurde. Die Königinnen dieser Völker waren zuvor über 5 Generationen auf SMR selektiert oder waren Kontrollvölker. Nach 7 bis 9 Tage nach dem Einhängen, konnten Änderungen in diesen Brutzellen festgestellt werden. Die SMR Bienen reduzierten gegenüber Kontrollvölkern den Brutbefall auf 2,2 % gegenüber 9 % bei den Kontrollvölkern. Des Weiteren reduzierten die SMR-Völker den Reproduktionserfolg von *V. destructor*. In den SMR Völkern waren nach 7 bis 9 Tagen 20 % der Milben reproduktiv, in den Kontrollvölkern 71 % (Harbo und Harris, 2005). Ibrahim und Spivak (2006) vermuten, dass auf SMR selektierte Bienen eine höhere Sensitivität gegenüber olfaktorischen Reizen, die von befallenen Puppen ausgehen, haben. Außerdem vermuten sie, dass diese schneller und präziser auf die Reize ansprechen (Ibrahim und Spivak, 2006).

## SMR-Effekt der Brut

In Versuchen, bei denen Brut von auf SMR selektierten Linien in Brutschränken gegeben wurde, um den Effekt der adulten Bienen auszuschließen, wurden Unterschiede im Merkmal SMR festgestellt. Somit wurde bestätigt, dass es neben dem Effekt der adulten Bienen auch den separaten Effekt der Brut auf den Reproduktionserfolg der Milben gibt (Ibrahim und Spivak, 2006). Jedoch ist dieser im Vergleich zum Effekt der adulten Bienen weniger stark ausgeprägt (Harbo und Harris, 1999b).

### 3.9.2 *Varroa sensibiles* Hygiene-Verhalten/*Varroa Sensitive Hygiene* (VSH)

Nachdem entdeckt wurde, dass die Eigenschaften der Resistenz an verstärktes Ausräumen von Milben-befallenen Puppen gekoppelt sind, wurde der Begriff VSH (*Varroa Sensitive Hygiene*) eingeführt (Harris, 2007). VSH ist die Fähigkeit mit *V. destructor* befallene Brut zu erkennen und auszuräumen (siehe Abbildung 12) (Villa et al., 2009). Dieses Verhalten führt folgend zu höherer Unfruchtbarkeit bei den verbleibenden Milben (Harbo und Harris, 2005; Ibrahim und Spivak, 2006; Harbo und Harris, 2009). Die Bienen können abnormale Brut-Ester-Pheromone nutzen, um parasitierte Brutzellen zu erkennen. Dann besteht ein Trade-off zwischen dem Opfern von befallenen Individuen und dem Wachstum des Volkes im Ganzen (Mondet et al., 2016). Da VSH laut Harris (2007) der Hauptmechanismus von Resistenz gegen *V. destructor* ist, ersetzte dieser Begriff SMR (Rinderer et al., 2010). Dies wurde erkannt, als ausschließlich auf SMR selektierte Bienen beim Hygiene-Verhalten überdurchschnittliche Werte zeigten. Eine effektive Auslese auf SMR/VSH ist jedoch durch die allgemeinen Tests auf Hygiene-Verhalten (Pin-Test, FKB-Test) nach bisherigen Erfahrungen nicht ausreichend möglich (Ibrahim und Spivak, 2006; Danka et al., 2013). Die Selektion auf Resistenzeigenschaften, die zum Merkmal VSH führte, basierte vorwiegend auf Messungen des Milbenpopulationswachstums von Völkern, die aus einer einheitlichen Masse von Bienen gebildet wurden (Harbo und Harris, 1999b). Diese Methode beansprucht jedoch sehr viel Zeit und Arbeitseinsatz. Daher wurde begonnen nach einfacheren Methoden zur Erfassung des VSH-Merkmals zu suchen. Die vielversprechendsten „vereinfachten“ Methoden stellen zurzeit die Erfassung des Anteils wiederverdeckelter Zellen (Recapping) und das Zuhängen stärker befallener Brut in Testvölkern dar. Dabei kann man entweder nach ein paar Stunden den Anteil der darauf geöffneten Zellen erheben oder bei fortgeschrittener Stufe nach 2 bis 7 Tagen die Befallsveränderung durch Auszählen erheben (Villa et al., 2009).



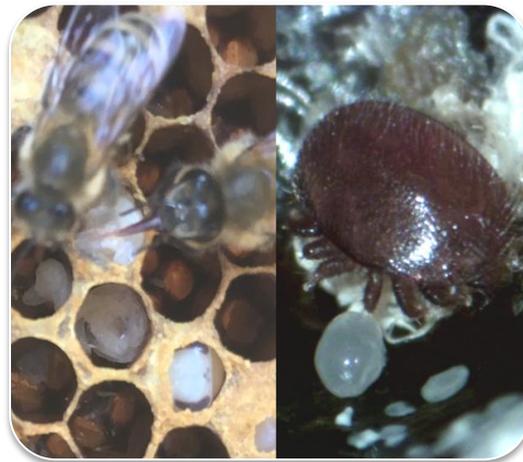
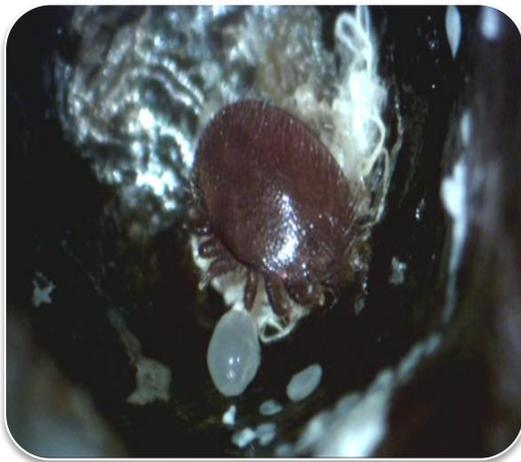
**Abbildung 12: VSH-Verhalten, Bienen räumen Puppen aus den mit *V. destructor* befallenen Zellen aus**

Da VSH laut Harris (2007) der Hauptmechanismus von Resistenz gegen *V. destructor* ist, ersetzte dieser Begriff SMR (Rinderer et al., 2010). Dies wurde erkannt, als ausschließlich auf SMR selektierte Bienen beim Hygiene-Verhalten überdurchschnittliche Werte zeigten. Eine effektive Auslese auf SMR/VSH ist jedoch durch die allgemeinen Tests auf Hygiene-Verhalten (Pin-Test, FKB-Test) nach bisherigen Erfahrungen nicht ausreichend möglich (Ibrahim und Spivak, 2006; Danka et al., 2013). Die Selektion auf Resistenzeigenschaften, die zum Merkmal VSH führte, basierte vorwiegend auf Messungen des Milbenpopulationswachstums von Völkern, die aus einer einheitlichen Masse von Bienen gebildet wurden (Harbo und Harris, 1999b). Diese Methode beansprucht jedoch sehr viel Zeit und Arbeitseinsatz. Daher wurde begonnen nach einfacheren Methoden zur Erfassung des VSH-Merkmals zu suchen. Die vielversprechendsten „vereinfachten“ Methoden stellen zurzeit die Erfassung des Anteils wiederverdeckelter Zellen (Recapping) und das Zuhängen stärker befallener Brut in Testvölkern dar. Dabei kann man entweder nach ein paar Stunden den Anteil der darauf geöffneten Zellen erheben oder bei fortgeschrittener Stufe nach 2 bis 7 Tagen die Befallsveränderung durch Auszählen erheben (Villa et al., 2009).

Lin et al. (2018), stellten bei Versuchen mit *A. cerana* fest, dass es einen kausalen Zusammenhang zwischen der Degeneration bzw. abnormalen Entwicklung der befallenen Puppe und der Initiierung der sozialen Immunität gibt. Das bedeutet, dass die Bienen eine Fähigkeit

zur Erkennung von Signalen der Bienenpuppe, die sich abnormal entwickelt, besitzen. Die Autoren betrachteten dieses Verhalten als ähnlich dem in *A. mellifera* beschriebenen VSH Verhaltens (Lin et al., 2018).

In Abbildung 13 wird ein Überblick über die Unterschiede zwischen SMR und VSH gegeben.



**SMR - Suppressed Mite Reproduction**

- Nicht-Reproduktivität
- Unfruchtbar, verzögert, kein Männchen
- Auswerten von Brutproben
- In dieser Arbeit Definition nach dem RNSBB - Protokoll (Büchler et al., 2017)
- Ausräumen von Zellen in denen normale Reproduktion stattfindet bedingt eine höhere Rate von Zellen mit unterdrückter Reproduktion (SMR) (Harbo und Harris, 2005), bei der Erhebung werden jedoch nur die verbleibenden, verdeckelten Brutzellen betrachtet (Büchler et al., 2017)

**VSH - Varroa Sensitive Hygiene**

- schließt in der direkten Erhebung im Gegensatz zu SMR das Varroa-spezifische Ausräumen mit ein (Harris, 2007)
- ersetzt laut Harris (2007) den Begriff SMR als wichtigstes Resistenzmerkmal
- neuere Selektionsmethoden sind das Einhängen fremder, Varroa - infizierter Brut für 40 Stunden oder einer Woche und das Auswerten der Veränderung (Villa et al., 2009)

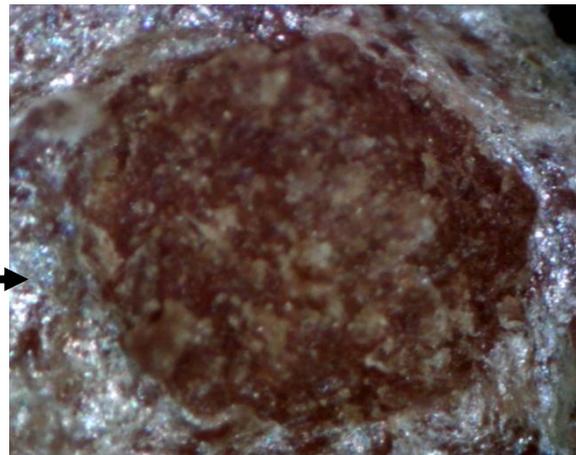
**Abbildung 13: Unterschied SMR (Suppressed Mite Reproduction) – VSH (Varroa Sensitive Hygiene)**

### 3.9.3 Recapping

Zellen, die bereits geöffnet wurden, können von Bienen wiederverdeckelt werden (Recapping). Wiederverdeckelte (recapped) Zellen zeigen am Zelleckel eine kreisförmige matte Fläche (siehe Abbildung 14 und Abbildung 15), die aus Wachs besteht und bei der der glänzende Kokon fehlt (Boecking und Spivak, 1999). Es wird vermutet, dass das zeitweise Öffnen und Wiederverdeckeln von Zellen (Recapping) einen Einfluss auf SMR haben könnte. In natürlichen, *V. destructor* überlebenden *A. mellifera* Populationen, hat sich gezeigt, dass Recapping einen entscheidenden Einfluss auf das Überleben dieser Völker hat. Bei diesen Völkern wurden höhere Recapping-Raten im Vergleich zu Varroa-anfälligen Völkern beobachtet (Oddie et al., 2018).



**Abbildung 14:** geöffnete und teilweise auch ausgeräumte Zellen; wird eine geöffnete Zelle wiederverdeckelt spricht man von Recapping-Verhalten



**Abbildung 15:** Wiederverdeckelte Zelle (Recapping), erkennbar an der matten Innenseite des Zelleckels

Der Anteil von verdeckelten Brutzellen, der wieder geöffnet wird, lässt möglicherweise auf einen Indikator für VSH schließen (Correa-Marques und De Jong, 1998; Villegas und Villa, 2006; Harris, 2008; Villa et al., 2009). Recapping Verhalten tritt in auf VSH-Verhalten selektierten Linien stärker auf. Es wurde festgestellt, dass die Mortalität des Milbennachwuchses in Recapping-Zellen höher ist, was insgesamt zu verringerten Reproduktionsraten beiträgt (Harris et al., 2012). Dieses Verhalten wird auch für die Vorselektion auf VSH in Betracht gezogen, da es eine hohe Variabilität zeigt und bei VSH-selektierten Linien bereits stärker in Erscheinung tritt (Villa et al., 2009).

### 3.9.4 Milben Populations-Entwicklung

Der verursachte Schaden durch den Befall mit *V. destructor*, wird bedingt durch die Höhe des Befallsgrades in den Völkern (Genersch et al., 2010). Daher ist ein langsamer und in Grenzen gehaltener Anstieg ein wichtiges Kriterium für resistente Völker. Es kann als Merkmal zur Selektion auf Varroa-Resistenz verwendet werden, wenn auch die dahinterliegenden Merkmale und Verhaltensweisen unbekannt sind. Messungen des Milbenpopulationswachstums werden im AGT-Zuchtprogramm verwendet (Büchler et al., 2010). Es gibt verschiedene Methoden zur Messung des *V. destructor* Befalls in Völkern. Im AGT-Zuchtprogramm wird zur

Leistungsprüfung die Puderzuckermethode (mehr Details in Kapitel 5.2.3) oder das Auswaschen toter Bienen mit Seifenlauge angewendet (AGT, 2013).

Verglichen mit anderen staubförmigen Substanzen zeigt Puderzucker die besten Ergebnisse, was daran liegen könnte, dass durch den Puderzucker Grooming-Verhalten bei den Bienen ausgelöst wird. Die Puderzucker-Methode ist eine billige, effiziente und rasche Methode zur Bestimmung des *V. destructor* Befallsgrades. Weiters bestehen keine Risiken einer Kontamination des Honigs und die Bienen können unbeschadet in das Volk zurückgegeben werden (Macedo et al., 2002). Um jedoch feine Unterschiede zu erkennen, wäre es besser mit exakt zu messenden Merkmalen zu arbeiten, um damit das Wachstum der Milbenpopulation in den Völkern zu beschreiben, was Fehler durch Reinfektion und Verflug aus anderen Völkern ausmerzen würde (Harbo und Harris, 1999a).

### 3.9.5 Hygiene-Verhalten

Das Hygiene-Verhalten wurde das erste Mal im Zusammenhang durch von Amerikanischer Faulbrut getöteten Puppen beschrieben. Der Begriff Hygiene-Verhalten beschreibt die genetisch verankerte Fähigkeit geschädigte Arbeiterinnen-Brut zu erkennen und zu entfernen (Rothenbuhler, 1964). Bienen die Hygiene-Verhalten zeigen, nützen olfaktorische Reize um abnormale Brutzellen aufzuspüren (Spivak et al., 2003). Man kann Hygiene-Verhalten gegenüber toter Brut und varroa-spezifisches Hygiene-Verhalten gegenüber Varroa-infizierter Brut unterscheiden (Boecking et al., 2000).

Hygiene-Verhalten gegenüber toter Brut kann mit verschiedenen Methoden erfasst werden. Die wichtigsten Methoden sind der Pin-Test, bei dem Puppen durch eine feine Nadel getötet werden und der Freeze-Killed-Brood Test (FKB-Test), bei dem die Puppen durch flüssigen Stickstoff getötet werden (Newton und Ostasiewski, 1986 zit. nach Büchler et al., 2010; Spivak und Downey, 1998), wobei in den meisten europäischen Zuchtprogrammen, wie auch im AGT-Zuchtprogramm der Pin-Test verwendet wird (Büchler et al., 2010; AGT, 2013).

Varroa-spezifisches Hygiene-Verhalten ist wahrscheinlich komplexer und beinhaltet ein wiederholtes Öffnen und Wiederverschließen von befallenen Brutzellen (Rosenkranz et al., 1993). Die genetische Korrelation zwischen dem Hygiene-Verhalten gegenüber toter Brut und dem Varroa-spezifischen Hygiene-Verhalten wurde mit  $r_g = 0,61 \pm 0,51$  berechnet (Boecking et al., 2000).

Da es die Widerstandsfähigkeit gegenüber der Infektion mit *Paenibacillus larvae ssp.* (Amerikanischer Faulbrut) erhöhen soll (Spivak und Gilliam, 1998) und es ein potentiell wichtiges Resistenzmerkmal gegen *V. destructor* ist, wäre es wichtig, dieses Merkmal durch Selektion zu fördern (Boecking et al., 2000). Das Hygiene-Verhalten gegenüber toter Brut ist ein wichtiges Selektionskriterium im AGT-Zuchtprogramm (AGT, 2013). Eine weitere und spezifischere Definition, die unter den Überbegriff „Hygiene-Verhalten“ eingeordnet werden kann, stellt das in Kapitel 3.9.2 erläuterte Varroa sensible Hygiene-Verhalten (VSH) dar.

### 3.9.6 Grooming Verhalten/Grooming behaviour

Grooming Verhalten ist bekannt als Resistenzmerkmal des ursprünglichen Wirts *A. cerana* (Rath, 1999). Grooming bezeichnet das Entfernen von Milben vom Körper der adulten Bienen. Dabei unterscheidet man auto-grooming, bei der sich eine Biene selbst gegen die Mil-

ben wehrt und allo-grooming bzw. nestmate-grooming, welches das gegenseitige Entfernen von Milben beschreibt (Schmid-Hempel, 2011). Dieses Verhalten ist jedoch bei *A. mellifera* in viel geringerem Ausmaß ausgeprägt als bei *A. cerana* (Peng et al., 1987; Büchler et al., 1992).

Ruttner und Hänel (1992) bestätigten dieses Verhalten bei *A. mellifera* in bereits auf dieses Merkmal selektierten Völkern und stellten einen Zusammenhang zwischen der Milbenmortalität im Winter und dem Anteil beschädigter Bienen fest. Die Beschädigung der Milben erfolgte durch ganzes oder teilweises Abtrennen einer oder mehrerer Beine, oder beinahe vollständiger Entfernung der ventralen Organe (Ruttner und Hänel, 1992). Grooming kann auch dazu führen, dass die Milbe auf eine andere Körperstelle der Biene wandert, auf einen anderen Wirt wechselt oder ohne sichtbare Beschädigungen vom Körper der Biene entfernt wird (Büchler et al., 1992).

Moosbeckhofer (1992) stellte bei Versuchen mit *A. m. carnica* in Österreich eine negative Korrelation zwischen dem prozentuellen Anteil beschädigter Milben und dem Bienen- und Brutbefall fest. Es wurde festgestellt, dass Grooming ein heritables Merkmal ist (Moretto et al., 1993). Jedoch wird die Heritabilität als zu gering für den Einsatz in größeren Zuchtprogrammen angesehen (Büchler et al., 2010). Zusätzlich stellt die Erfassung und die Sicherung gegenüber anderen beschädigenden Einflüssen (Ameisen, Wachsmotten) eine Herausforderung dar (Bienenfeld et al., 1999).

### **3.9.7 Reduzierte Volksstärke**

Eine reduzierte Volksstärke trägt in einigen natürlich *V. destructor* überlebenden *A. mellifera* Populationen zur Resistenz bei. Es scheint, dass es eine gemeinsame Eigenschaft von wilden oder mit geringem Management bearbeiteten *A. mellifera* Populationen ist (Locke, 2016).

### **3.9.8 Reduzierte Entwicklungszeit nach dem Verdeckeln**

Brutzellen werden üblicherweise ca. 8 Tage nach dem Legen des befruchteten Eies verdeckelt. Danach bleibt eine Arbeiterinnenzelle für 12 Tage verdeckelt bis die Arbeitsbiene ausgewachsen schlüpft (Harbo und Harris, 1999a). Eine reduzierte Entwicklungszeit nach dem Verdeckeln begrenzt die Vermehrung von *V. destructor* in verdeckelter Brut. Für dieses Merkmal wurde eine mittlere Heritabilität festgestellt. Dabei konnten Unterschiede von bis zu 9 Stunden zwischen verschiedenen Stämmen und bis zu 19 Stunden zwischen verschiedenen Völkern festgestellt werden. Jedoch gibt es nur eine geringe Variabilität innerhalb der europäischen Subspezies (Büchler und Drescher, 1990; Le Conte et al., 1994; Büchler et al., 2010).

### **3.9.9 Entfernen von Milben aus dem Bienenvolk**

Flugbienen, die zum Volk zurückkehren, sind weniger mit *V. destructor* befallen als jene die das Volk verlassen. Damit wurde bestätigt, dass ein gewisser Anteil an Milben im Flug verloren geht. Befallene Bienen brauchten längere Zeit, um zum Volk zurückzukehren und kehrten in geringerem Ausmaß zurück. Dieses Verhalten wird als ein Verhalten zur Entfernung von Parasiten und Krankheitserregern aus dem Volk betrachtet (Kralj und Fuchs, 2006).

### 3.10 Mechanismen, die in natürlichen Populationen zur Resistenz beitragen

In verschiedenen natürlich *V. destructor*-Befall überlebenden *A. mellifera* Populationen konnten Merkmale identifiziert werden, die in diesen zur Resistenz gegen *V. destructor* beitragen. Einige Populationen wurden erforscht und eine Vielzahl an möglichen Erklärungen für das Überleben mit *V. destructor* dokumentiert. Dazu wurden Populationen von *A. m. scutellata* in Brasilien und Südafrika, *A. m. ligustica* auf der Insel Fernando de Noronha an der brasilianischen Küste, die aus dem Osten Russlands stammenden Primorsky Bienen, die auf der Ostseeinsel Gotland erforschten Bienen (verschiedene Herkünfte um Schweden), Bienen aus der Gegend um Avignon und Le Mans und die vom amerikanischen Wissenschaftler Tom Seeley erforschten Bienen im Arnot Forest südlich von Ithaca, (USA) betrachtet (Locke, 2016). In Tabelle 2 wird ein Überblick über die relevanten Resistenzmerkmale bei den jeweiligen Populationen gegeben.

**Tabelle 2: Resistenz-Merkmale, die in natürlich vorkommenden *V. destructor* überlebenden *A. mellifera* Populationen erforscht wurden. Ein „s.“ zeigt einen signifikanten Unterschied zu *V. destructor* anfälligen Bienen, ein „n.s.“ zeigt einen nicht-signifikanten Unterschied und ein „-“ zeigt, dass das Merkmal noch nicht gemessen wurde. Quelle: Abbildung übersetzt nach Locke (2016)**

	A. m. scutellata Brasilien	A. m. scutellata Südafrika	Fernando de Noronha Brasilien	Primorsky Russland	Gotland Schweden	Avignon Frankreich	Arnot Forest USA
Hygiene- Verhalten	s.	s.	n.s.	s.	n.s.	-	-
Grooming Verhalten	s.	s.	n.s.	s.	n.s.	-	-
Reduzierte Volksstärke	s.	s.	n.s.	n.s.	s.	-	s.
Reduzierte Entwicklungszeit	s.	s.	-	-	n.s.	-	-
Reduzierte Milben Reproduktion (SMR)	n.s.	n.s.	n.s.	s.	s.	s.	-

## 4 Bedeutung der Resistenzzucht gegen *V. destructor* bei *A. mellifera*

Rinderer et al. (2010), beschreiben, dass die Zucht auf Resistenz gegen *V. destructor* die Langzeit-Lösung für die dadurch verursachten Einbußen darstellt. Durch die Erforschung von natürlich *V. destructor*-Befall überlebenden *A. mellifera* Populationen sind Resistenzmechanismen bekannt, die nachhaltig zu einem Überleben dieser Völker ohne Eingriff des Menschen führen (Locke, 2016). Verschiedene Eigenschaften werden bereits in europäischen Zuchtprogrammen zur Leistungsprüfung herangezogen. Einige Merkmale (Milbenpopulationswachstum, Hygiene-Verhalten) finden Anwendung in großen Zuchtprogrammen (z. B. AGT), wodurch bereits signifikante Zuchterfolge erreicht wurden (Büchler et al., 2010).

### 4.1 Organisationen mit Resistenz-/Toleranzzuchtprogrammen: ACA, AGT

Da die Datengrundlage für den Versuch Völker von Prüfbetrieben bildeten, die Mitglieder beim Verein Austrian Carnica Association (ACA) sind, wird diese Organisation beschrieben. Aufgrund der engen Zusammenarbeit wird die auch deutsche Arbeitsgemeinschaft für Toleranzzucht (AGT) beschrieben.

Die ACA wurde 1992 unter Dr. Hermann Pechhacker gegründet. Es handelt sich um eine Vereinigung von österreichischen Zucht- und Prüfbetrieben, die sich die Verbesserung von *A. m. carnica* nach populationsgenetischen Grundlagen zum Ziel gesetzt haben (Tiesler et al., 2016). Laut Satzungen der ACA dient der Verein zur Zucht und Förderung der in Österreich autochthonen Bienenrassen, es ist somit auch Ziel, sich um die Zucht von *A. m. mellifera* anzunehmen. Die Zuchtziele bei *A. m. carnica* sind eine Erhöhung/Verbesserung der Honigleistung, der Varroa-Toleranz, der Sanftmut-Ruhe und der geringen Schwarmneigung. Des Weiteren soll einhergehend eine Steigerung der Produktivität und eine Senkung der Kosten erreicht werden. Durch die Produktion von Königinnen und ein gutes Belegstellenmanagement (die öffentlich zugänglich sein müssen) muss der Zuchterfolg allen Imkern zugänglich gemacht werden. Ein weiteres Ziel ist, durch internationale Zusammenarbeit die Zuchterfolge zu optimieren und durch den Austausch direkt am internationalen wissenschaftlichen Fortschritt teil zu haben (ACA, 2018). In der Zuchtwertschätzung, die vom Länderinstitut für Bienenkunde in Hohen Neuendorf (Deutschland) durchgeführt wird, stehen im Prüfbjahr 2017, für Königinnen mit Schlupfbjahr 2016, geschätzte Zuchtwerte von 1294 Königinnen der ACA zur Verfügung (LIB, 2018).

Nach Vorbild der österreichischen ACA wurde 2003 in Deutschland die Arbeitsgemeinschaft Toleranzzucht (AGT) gegründet. Die AGT versteht sich als eine in die Strukturen des Deutschen Imkerbundes eingebundene Organisation, ist zugleich aber offen für ausländische Mitglieder und Kooperationen. In der AGT wird zwischen Zucht- und Prüfbetrieben zusammen gearbeitet, um die Auslese einer möglichst großen Population nach wissenschaftlich fundierten Methoden und einheitlichen Prüfkriterien zu realisieren. Dabei wird besonderer Wert auf die Kriterien zur Bewertung der Varroatoleranz und der Vitalität der Bienenvölker gelegt. Die Vermarktung und Verbreitung qualitativ hochwertigen Zuchtmaterials wird vom Zuchtverband gefördert (Tiesler et al., 2016). Die AGT arbeitet an der Selektion und Verbreitung von produktiven, sanftmütigen Bienen mit besserer Resistenz gegen *V. destructor* und anderen Krankheiten (Büchler et al., 2010).

## 4.2 Zuchtprogramme die Resistenzeigenschaften berücksichtigen

Weltweit gibt es wenige Zuchtprogramme, die sich schon längere Zeit und auf wissenschaftlicher Basis mit Resistenzeigenschaften von *A. mellifera* gegen *Varroa destructor* beschäftigen. In den meisten europäischen Ländern erfolgt die Selektion und Zucht durch wenige und kleine Zuchtbetriebe mit Unterstützung öffentlicher Institutionen. Überwiegend wurden dazu Zuchtorganisationen gegründet, welche die Zuchtaktivitäten koordinieren und das Ziel verfolgen, lokale Populationen zu verbessern und zu erhalten (Büchler et al., 2010).

In Europa stellt das AGT Selektionsprogramm ein wichtiges Selektionsprogramm dar. Die AGT arbeitet mit einer Selektionsstrategie auf Basis der Reinzucht von Populationen (Büchler et al., 2010). Im AGT Zuchtprogramm werden derzeit die Resistenzmerkmale unspezifisches Hygiene-Verhalten (Pin-Test) und die Milbenpopulationsentwicklung berücksichtigt (AGT, 2013).

Das Selektionsprogramm der AGT besteht aus drei Teilen (Büchler, et al., 2010):

1. Vorselektion aus einer großen Population: Dabei werden Umwelt- und genetische Effekte erfasst und unter der Zuhilfenahme der Zuchtwertschätzung eine Vergleichbarkeit der Zuchtvölker hergestellt.
2. Vitalitätstest von vorselektierten Zuchtvölkern: Dabei werden Völker, die bei der ersten Messung des Sommerbefalls Anfang Juli einen Befall unter 1 Milbe/10 g Bienen aufweisen, im ca. 3-wöchigen Abstand weiter gemessen und nicht behandelt. Völker die vor der Einwinterung einen Bienenbefall unter 10 % und eine Volksstärke über 10.000 Bienen aufweisen, haben eine hohe Wahrscheinlichkeit den Winter zu überleben. Völker, die im darauffolgenden Frühjahr eine positive Entwicklung zeigen, können unter Berücksichtigung der Zuchtwerte, als Zuchtvölker mit höherer *Varroa*-Resistenz herangezogen werden.
3. Drohnenselektion unter natürlichem *V. destructor* Befallsdruck: Drohnenbrut wird in etwa 8 Mal stärker parasitiert als Arbeiterinnenbrut (Fuchs, 1990). Der Befall mit *V. destructor* beeinträchtigt die Flugfähigkeit der Drohnen und die Entwicklung der Spermatozoen. Befallene Drohnen weisen weniger Spermien und eine herabgesetzte Paarungseffizienz auf (Bubalo et al., 2005). Daher hat der Befall mit *V. destructor* einen starken Effekt auf die Fitness der Drohnen in den Völkern. Ein höherer Befall in Völkern korreliert negativ mit der Volksentwicklung, der Anzahl der aufgezogenen Drohnen, dem Paarungserfolg der Drohnen, der Anzahl an Nachkommen pro Paarung und der Gesamtanzahl der Nachkommen (Büchler et al., 2006).

SmartBees ist ein weiteres europäisches Projekt, das vom Länderinstitut für Bienenkunde in Hohen Neuendorf (Deutschland) koordiniert wurde. Ziel war die Gesundheit, Anpassungsfähigkeit und genetische Vielfalt von lokalen Honigbienen nachhaltig zu schützen und zu verbessern. Mit dem Projekt SmartBees wurde versucht, die entscheidenden Resistenzfaktoren gegen *V. destructor* und Viren aufzuklären. SmartBees unterstützte lokale Zuchtinitiativen, die anpassungsfähige und stressresistente Bienenpopulationen bewahren. Dies sollte einen Gegenpart zur derzeitigen Konzentration der Bienenzucht auf wenige Rassen und die damit verbundene Problematik des Biodiversitätsverlustes darstellen. Es gab ein Netz von lokal tätigen Züchtern mit Testbienenständen auf denen Leistungsprüfung und die Messung von Resistenzeigenschaften durchgeführt wurde. Mit diesem Wissen sollte die optimale Zuchtstrategie für lokale Bienenpopulationen gefunden werden. Damit sollten zukünftige

Bedrohungen der Bienenvielfalt und Imkerei rechtzeitig erkannt werden (The SmartBees Consortium, 2018).

Ein weiteres neues europäisches Projekt um ein Team von Experten, Eurbest (European Honey Bee Breeding and Selection Team), nimmt sich zurzeit um den Aufbau von gegen *V. destructor* resistenten Bienen in kommerziellen Populationen, bei Erhalt des weiten Spektrums an verschiedenen europäischen Ökotypen an (Eurbest, 2018).

In Nordamerika wurde an verschiedenen Forschungseinrichtungen die Erstellung von Resistenzzuchtprogrammen initiiert. Im Jahr 1993 wurde an der Universität in Minnesota ein Selektionsprogramm für unspezifisches Hygiene-Verhalten, gemessen mit der FKB-Methode (Freeze-Killed-Brood-Test), mit *A. m. ligustica* abgeleiteten Bienen gestartet (Spivak und Downey, 1998). Völker die 95 % der Zellen innerhalb von 48 Stunden öffneten oder ausräumten wurden als hygienisch betrachtet. Durch selektive Auslese der Völker mit der schnellsten Ausräumrate und künstliche Besamung mit Mischsperma aus ebenfalls hygienischen Völkern wurde dieses Verhalten verstärkt (Spivak und Gilliam, 1998). Die Bienen des Programms Minnesota Hygienic (MNHYG) werden kommerziell in den USA verkauft (Rinderer et al., 2010).

Am USDA-ARS (United States Department of Agriculture, Agricultural Research Service) Honey Bee Breeding, Genetics and Physiology Laboratory in Baton Rouge (USA) wurden zwei weitere Programme gestartet. Diese werden als RHB- und SMR/VSH-Programm bezeichnet. Beide Programme brachten Bienen hervor, die kommerziell verkauft werden und bedeutend weniger Behandlungen gegen *V. destructor* bei Erhalt der imkerlich gewünschten Merkmale bringen (Rinderer et al., 2010).

In den 1990er Jahren wurde mit Bienen aus dem östlichen Russland ein Zuchtprogramm gestartet. Die Vorgänger dieser Bienen (*A. mellifera*) wurden in der Mitte des 19. Jahrhunderts von Pionieren von West- nach Ostrussland gebracht (Crane, 1978). Dieses Gebiet liegt im ursprünglichen Verbreitungsgebiet von *Apis cerana*, die der ursprüngliche Wirt von *V. destructor* ist. Diese Population stellt die, mit dem längsten Kontakt von *A. mellifera* mit *V. destructor* dar. Es wird angenommen, dass die lange Zeit eine natürliche Selektion ermöglichte (Danka et al., 1995 zit. nach Rinderer et al., 2010). Diese Annahme führte zur Entwicklung des RHB (Russian Honey Bee)-Programmes. Im Vergleich von RHB gegenüber *A. m. ligustica* Bienen, zeigten die RHB Bienen weniger Brutbefall und weniger mehrfach befallene Zellen in Arbeiter- und Drohnenbrut (de Guzman et al., 2007).

Harbo und Hoopingarner (1997) starteten mit der Selektion von Bienen die Resistenzeigenschaften gegen *V. destructor* zeigten. Dabei wurden verschiedene Merkmale gemessen, die das Wachstum der Milbenpopulation in den Völkern behinderten. Es wurden die Eigenschaften Hygiene-Verhalten, Grooming Verhalten (Entfernen von Milben vom Körper der adulten Bienen), verkürzte Verdeckelungszeit und die Rate der nicht reproduzierenden Milben (SMR) gemessen. Von allen Merkmalen hat nur das Merkmal SMR mit der Verringerung der Milbenpopulation in den Völkern korreliert (Harbo und Harris, 1999a). Zu Beginn des Programms stand lediglich die Nicht-Reproduktion (SMR – Suppressed Mite Reproduction) von *V. destructor* im Fokus. Nachdem entdeckt wurde, dass die Eigenschaften der Resistenz an ein verstärktes Ausräumen von Milben-befallenen Puppen gekoppelt sind, wurde der Begriff VSH (Varroa Sensitive Hygiene) eingeführt. Das Programm wurde, da der Hauptmechanismus für die Resistenz nun als VSH bezeichnet wurde, in das VSH Programm umbenannt (Harris, 2007). Das Programm ist aber nach wie vor unter den Namen SMR und VSH bekannt (Rinderer et al., 2010).

### 4.3 Potenzial der Kreuzungszucht resistenterer Herkünfte mit lokalen Bienen

Da es bereits resistenterere Bienen gegen *V. destructor* gibt, wäre es einfach, diese in die heimischen Populationen einzukreuzen. Dies wäre bei der Kreuzungszucht denkbar, bei der Reinzucht von z. B. *A. m. carnica* oder lokalen Subspezies jedoch nicht.

Versuche mit der Einkreuzung von RHB-Bienen haben gezeigt, dass diese etwas langsamere Befallsentwicklungen aufwiesen. In Hinblick auf Leistung und Sanftmut zeigten sie jedoch ungewünschte Eigenschaften, was beim Einsatz in Kreuzungszuchtprogrammen bedenklich ist (Büchler et al., 2010).

### 4.4 Leistungsprüfung in der AGT

Das Protokoll für die einheitliche Leistungsprüfung im AGT-Zuchtprogramm basiert auf den Apimondia-Empfehlungen nach (Ruttner, 1972 zit. nach Büchler et al., 2010). Dabei werden Honigleistung, Sanftmut, Wabensitz, Winterfestigkeit, Frühjahrsentwicklung, Volksstärke, Schwarmneigung und Krankheiten erfasst. Dies erfolgt durch Wiegung, Beurteilung auf einer Skala von 1 bis 4 bzw. durch Feststellung (AGT, 2013). Zusätzlich beinhaltet die AGT-Leistungsprüfung die Erhebung des Milbenpopulationswachstums während der Brutsaison, sowie wiederholte Messungen des Hygiene-Verhaltens (Pin-Test) (Büchler et al., 2010). Die für den Versuch relevanten Messungen werden im Kapitel 5.2 detailliert erklärt.

### 4.5 Zuchtwertschätzung

In der Zuchtdatenbank „beebreed“ (<http://www.beebreed.eu>) des Länderinstitutes für Bienenkunde in Hohen Neuendorf (Deutschland) sind zurzeit Datensätze der Leistungsprüfung von über 196.000 Völkern registriert. Davon sind über 177.000 Datensätze der Subspezies *A. m. carnica* zuzuordnen. Die Datenbank umfasst mehrere Subspezies, die wieder in verschiedene Populationen untergliedert sind. Die 3 hauptsächlich geprüften und geschätzten Subspezies sind *A. m. carnica*, *A. m. mellifera* und *A. m. ligustica*. Zurzeit wird die Zuchtwertschätzung für 24 Länder und 15 Teilnehmern des SmartBees-Zuchtprogrammes durchgeführt (persönliche Mitteilung Bienefeld, 2018).

Durch den Aufbau eines Zuchtwertschätzsystems, basierend auf dem aktuellsten in der Tierzucht verwendeten Schätzsystem, einem BLUP-Tiermodell (Best linear unbiased prediction) das an die Besonderheiten der Biene angepasst wurde, konnten signifikante Zuchterfolge erreicht werden. Dabei werden die genetischen Einflüsse der Königin sowie der Arbeitsbienen auf Volksebene simultan berücksichtigt und zur Berechnung der Zuchtwerte aller Prüfabschlüsse verwandter Völker verwendet (Bienefeld et al., 2007). Seit der Zuchtwertschätzung für das Prüfjahr 2017 kommt ein überarbeitetes Abstammungsmodell mit neuen genetischen Parametern zum Einsatz. Unter vielen möglichen Modellvarianten kommt jene zum Einsatz, die am besten den tatsächlichen Leistungen entspricht (persönliche Mitteilung Bienefeld, 2018).

Über die Datenbank (<http://www.beebreed.eu>) können verschiedenste Informationen zu geprüften Völkern abgefragt werden. Weiters besteht die Möglichkeit der individuellen Anpaarungsplanung mit Vorberechnung von Inzuchtkoeffizienten für geplante Nachkommen (LIB, 2018). Die Inzuchtkoeffizienten werden seit 2018 nach (Brascamp und Bijma, 2014) berechnet.

#### 4.6 Molekulargenetische Ansätze in der Resistenzzucht gegen *V. destructor*

Die geplante Einführung der genomischen Selektion in der Bienenzucht würde eine vielversprechende Neuerung in diesem Bereich darstellen. In anderen Bereichen der Tierzucht stellte die Implementierung der genomischen Selektion ein wichtiges Werkzeug dar.

Die genomische Selektion bietet z. B. in der Rinderzucht das Potential Zuchtfortschritte, auch im speziellen für Fitness und Gesundheitsmerkmale, schneller zu realisieren. Abhängig ist der Fortschritt jedoch immer von der Gewichtung des Gesamtzuchtwertes (Egger-Danner et al., 2012).

Am Länderinstitut für Bienenkunde in Hohen Neuendorf (Deutschland) wird zurzeit an der Etablierung der genomischen Selektion für die Bienenzucht geforscht (Projekt GeSeBi). Dazu wurden Proben von leistungsgeprüften Völkern gesammelt und die DNA aus Drohneneiern bzw. der Königin selbst analysiert. Die zukünftigen Vorteile für die Zucht von *A. m. carnica* sind, dass die Zuchtwerte für die Standardmerkmale der Leistungsprüfung (AGT) besser geschätzt werden können. Außerdem kann die Verwandtschaft präziser geschätzt bzw. die Rasse und auch die Abstammung überprüft werden. Ungeprüfte Königinnen können dadurch vorab einen Zuchtwert erhalten, was einen Zeitgewinn und eine Arbeitersparnis für die Züchter bedeutet. Zusätzlich soll durch die Genotypisierung eine Abschätzung über die genetische Variabilität in der Population möglich sein, um damit gezielt die genetische Variabilität zu erhalten. Weiters soll es möglich sein Resistenzgene für seltene Krankheiten wie z. B. Nosema oder den Akuten Bienen Paralyse Virus aufzuspüren (LIB, 2016).

Merkmale wie Grooming und VSH scheinen die wünschenswertesten Resistenzmerkmale zu sein, jedoch sind sie schwierig zu messen. Marker Assisted Selection (MAS) könnte hier in Zukunft eine aufwändige Leistungsprüfung aller Völker ersetzen und größere Zuchtfortschritte ermöglichen (Rinderer et al., 2010). Genotypisierungs-Mikroarrays können dazu genutzt werden um tausende SNPs aus einer Menge von einigen Hundert Individuen zu analysieren und daraus eine high-density QTL Map zu erstellen. SNPs in ausgewählten Genen, die durch dieses QTL Mapping identifiziert werden könnten, könnten darauf auf die Zusammenhänge mit verschiedenen Merkmalen getestet werden (Blangero, 2004; Anholt und Mackay, 2004).

## 5 Material und Methode

In diesem Kapitel werden die für die Datenerhebung verwendeten Völker, die Durchführung der Datenerhebung und die Vorgehensweise bei der statistischen Auswertung beschrieben.

### 5.1 Datenerhebung: Völker und Zeitablauf

Für den Versuch wurden Zuchtbetriebe ausgewählt, die sich für die Erfassung der Merkmale SMR und Recapping interessierten. Die Datenerhebung erfolgte als Feldversuch bei Prüfvölkern, die unter Leistungsprüfung des Zuchtverbandes ACA standen. Voraussetzung war, dass die Betriebe die vorgegebenen Messungen der standardisierten Leistungsprüfung durchführen. Von 105 Völkern konnten Brutproben entnommen und ausgewertet werden. Für die Auswertung waren nur Völker relevant, bei denen eine Messung der Merkmale SMR und Recapping möglich war. Es wurden alle Prüfvölker der 5 ausgewählten Betriebe in die Versuchsdurchführung mit einbezogen. Die Königinnen der Prüfvölker stammen überwiegend von gekörnten Zuchtmüttern ab bzw. wurden sie auch mit solchen auf der väterlichen Seite angepaart. Die Körnung beinhaltet eine morphologische Merkmalsbeurteilung nach den Zuchtrichtlinien des DIB (Deutscher Imkerbund e.V.), die die Zuordnung zur Subspezies *Apis mellifera carnica* (Merkmalsbeschreibung der anerkannten Zuchtpopulation) nach morphologischen Merkmalen nachweist (DIB, 2017). Des Weiteren sind genaue Abstammungs- und Anpaarungsverhältnisse bekannt. Viele Königinnen in den Prüfvölkern wurden mittels instrumenteller Besamung besamt, teilweise durch 1b Anpaarungen, das heißt Anpaarung mit Drohnen aus nur einem einzelnen bereits geprüften Drohnenvolk. Der andere Teil der Königinnen wurde auf Belegstellen begattet.

Die Leistungsprüfung erfolgte nach Vorgaben der AGT. Zusätzlich wurde beim Pin-Test eine 3. Ausprägungsform eingeführt und die Sommerbefallsmessungen mit der Puderzucker- methode bis zu 5 Mal durchgeführt. Diese erfolgte unter Berücksichtigung von Schadschwellen, so gewählt, dass es zu keinen Schäden an den Prüfvölkern kommt. Zur Versuchsdurchführung wurde ein Leitfaden erstellt, der die für die statistische Auswertung relevanten Messungen beschreibt. Des Weiteren wurde darin beschrieben, zu welchen Zeitpunkten die Brutproben zu entnehmen sind. Die Auswertung der Merkmale SMR und Recapping wurde nach dem RNSBB-Protokoll (Büchler et al., 2017) vom Zeitraum September bis Dezember 2017 (siehe Abbildung 16) durchgeführt.

Die Völker wurden einheitlich in Holzbeuten gehalten, wobei ein Betrieb innen isolierte Beuten zur Haltung verwendete. Beutenmaß und -system waren entweder Einheitsmaß Ganzzargen oder Zander-Flachzargen. Es wurden ganzjährig keine Absperrgitter verwendet. Auch wurden keine Brut und Bienen aus oder in die Völker gegeben und es wurden keine Schwarmverhinderungsmaßnahmen eingeleitet. Jedes Volk hatte einen Baurahmen für die Aufzucht von Drohnen zur Verfügung, die nicht entfernt wurden. 89 Völker blieben ganzjährig auf demselben Stand, mit 16 Völkern wurde gewandert. In diesem Fall blieben die Völker der einzelnen Stände immer als Gruppe zusammen. Die durchschnittliche Honigleistung lag bei 49,6 kg pro Volk. Bei allen Völkern wurde im vorangegangenen Herbst/Winter eine Restentmilbung mit dem Wirkstoff Oxalsäure durchgeführt.

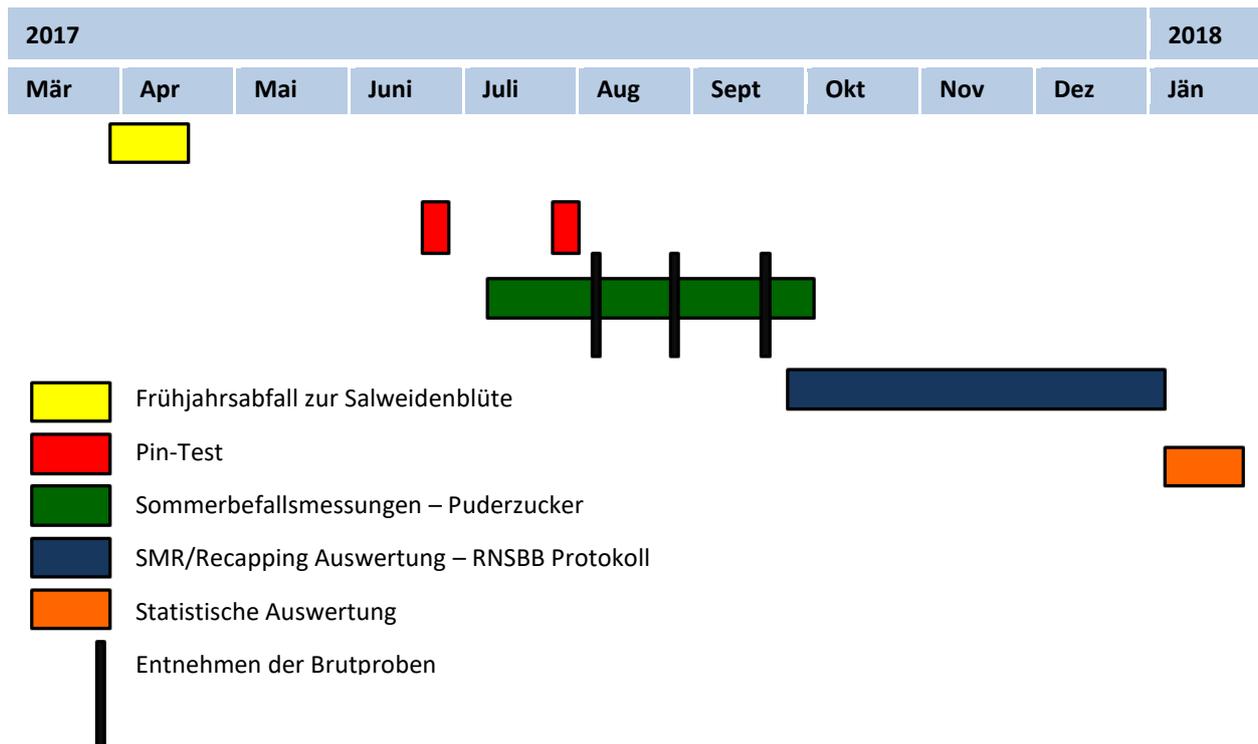


Abbildung 16: Zeitablauf Leistungsprüfung und Probenauswertung, die Leistungsprüfung und Probenentnahme erfolgt im Jahr 2017; die Prüfköniginnen schlüpfen im Jahr 2016

## 5.2 Methodenhandbuch der AGT

In diesem Kapitel werden die wichtigsten Punkte des AGT-Methodenhandbuchs (AGT, 2013), das die Grundlage für die Leistungsprüfung der Versuchsvölker darstellte, erläutert. Nach der Zucht- und Prüfordnung der AGT sollen folgende Merkmale beurteilt werden, die auch Eingang in die Zuchtwertschätzung finden: Honigleistung, Sanftmut, Wabensitz, Schwarmneigung, Krankheiten, Befallsentwicklung und Bruthygiene (Hygiene-Verhalten). Des Weiteren werden die Merkmale Winterfestigkeit, Frühjahrsentwicklung und die Volksstärke beurteilt, diese finden jedoch keinen Eingang in die Zuchtwertschätzung (AGT, 2013).

Beschrieben werden nur die für den Versuch und die Auswertung relevanten Messungen.

### 5.2.1 Pin-Test: Testmethode für das Hygiene-Verhalten

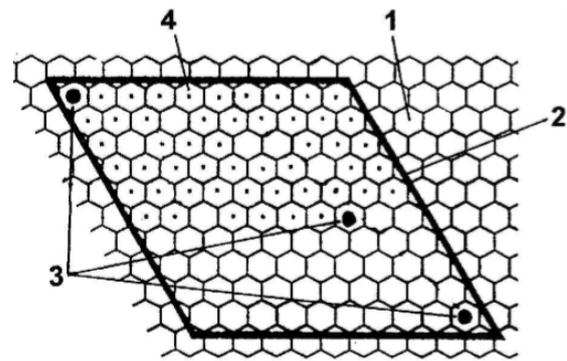
Im Kapitel 3.9.5 sind die Hintergründe und Mechanismen des Hygiene-Verhaltens beschrieben. Der Pin-Test sollte zweimal im Zeitraum zwischen April und Juli durchgeführt werden. Es wird Brut mit weißen, rosa oder braun ausgefärbten Augen gesucht. In diesem Stadium werden die Puppen sicher getroffen und kontinuierlich ausgeräumt. Jüngere Stadien würden zu schnell ausgeräumt, ältere durch die begonnene Chitinbildung hingegen langsamer.

Das benötigte Material für die Prüfung sind: Schablone (10 x 10 Zellen), schwarzer Marker, Insektennadeln der Stärke 2, Feuerzeug, spitze Pinzette, Ergebnisprotokoll.

Zur Durchführung wird eine Brutwabe mit größerem verdeckelten Bereich entnommen und das Stadium der Puppen mit der Pinzette bestimmt. Liegt das passende Puppenstadium vor, werden die Bienen abgeschüttelt oder abgefegt. Die Schablone wird auf einen geeigneten Bereich gelegt und mit dem Marker die linke obere und die rechte untere Ecke markiert.

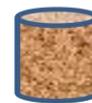
Dies ermöglicht das Auflegen der Schablone bei späterer Kontrolle des Ausräumens. Des Weiteren wird der Oberträger des Rähmchens markiert um die richtige Wabe bei der Kontrolle schnell zu finden. Mit der Nadel wird mittig bis zum Zellboden durchgestochen. Von links nach rechts werden insgesamt 50 Zellen genadelt, leere unverdeckelte Zellen werden übersprungen. Die 51. Zelle wird mit dem Marker markiert (siehe Abbildung 17). Die Nadel wird nach jedem Volk mit dem Feuerzeug abgeflammt, um einer Übertragung von Krankheiten vorzubeugen. Die Kontrolle findet einheitlich nach 8 bis 12 Stunden für alle Völker eines Standes statt, im Mittel sollen etwa 50 % der Zellen ausgeräumt sein. Die Kontrolle findet immer in der gleichen Reihenfolge wie das Stechen statt, um eine gleiche Zeitspanne zu gewährleisten. Für die Auszählung wird die Schablone auf die markierte Stelle gelegt und die Zellen mit Brutresten erfasst (AGT, 2013).

Im Versuch wurde eine Zeit zwischen Stechen und Kontrolle von 8 Stunden für alle Völker und Messungen gewählt. Im Versuch wurde bei der Kontrolle des Ausräumens um die Ausprägungsformen teilweise ausgeräumt bzw. nicht berührt erweitert. Es wurden nach 8 Stunden die Zellen, die nicht berührt wurden (Zelldeckel verschlossen) und die teilweise ausgeräumten Zellen gezählt (siehe Abbildung 18). Rechnerisch wurde die Anzahl der vollständig ausgeräumten Zellen ermittelt. Das entspricht einer Erweiterung der bisherigen AGT-Leistungsprüfung wo bislang laut Methodenhandbuch nur zwischen vollständig ausgeräumt und nicht vollständig ausgeräumt unterschieden wurde. Diese Werte wurden in das Ergebnisprotokoll eingetragen. Der Pin-Test wurde bei 66 Völkern 2x durchgeführt und der Mittelwert gebildet, bei 39



**Abbildung 17: Schablone für den Nadeltest und Durchführung des Anstechens**

1. Schablone für den Nadeltest auf verdeckelter Brut;
2. Der dicke Rahmen stellt den Ausschnitt der Schablone dar. Mit einer Kantenlänge von 5,4 cm umgrenzt er  $10 \times 10 = 100$  Brutzellen innerhalb der Schablone.
3. Die dicken Punkte sind die mit dem Marker aufgebrauchten Markierungen, die den Versuchsbereich begrenzen.
4. Die angestochenen Versuchszellen sind mit einem kleinen Punkt markiert. Quelle: (AGT, 2013)



**Abbildung 18: Pin-Test; 3 Ausprägungsformen wurden erhoben: vollständig ausgeräumt, teilweise ausgeräumt und Zellen nicht berührt; Das entspricht einer Erweiterung gegenüber der bisherigen Leistungsprüfung in der AGT, wo nur zwischen vollständig ausgeräumt und nicht vollständig ausgeräumt unterschieden wurde.**

Völkern wurde der Pin-Test nur einmal durchgeführt. Der Zeitraum in dem der erste Pin-Test auf den 5 Betrieben durchgeführt wurde lag zwischen dem 8.6.2017 und dem 16.6.2017. Der zweite Pin-Test wurde im Zeitraum vom 5.7.2017 bis 29.7.2017 durchgeführt.

## **5.2.2 Natürlicher Milbenabfall zur Salweidenblüte/Frühjahr**

Der natürliche Milbenabfall zur Zeit der Salweidenblüte wird zur Erhebung des Anfangsbefalls in den Völkern herangezogen. Dieser Zeitpunkt wird als phänologischer Indikator für die beginnende Bruttätigkeit herangezogen. Zur Messung werden Bodeneinlagen benötigt, die mindestens 90 % der Bodenfläche abdecken. Diese werden mit Beginn der Messung vom Wintertotenfall gereinigt. Der Zeitpunkt von Einlage/Reinigung und Auszählen wird im Erhebungsprotokoll vermerkt. Nach dem Einlegen/Reinigen wird dreimal im Abstand von einer Woche kontrolliert. Dabei wird die Anzahl dunkel ausgefärbter Milben erhoben und die Bodeneinlage wieder gereinigt. Nach dieser Zeit wird die Anzahl der natürlich abgefallenen Milben addiert und durch die Anzahl der Tage, über die die Milben gezählt wurden dividiert (AGT, 2013).

Für die Auswertung wurde die Einheit Milben pro Tag verwendet. Der Zeitraum des Beginns der Messungen des natürlichen Milbenabfalls im Frühjahr lag zwischen dem 11.3.2017 und dem 22.3.2017. Der Zeitraum des Endes der Messungen des natürlichen Milbenabfalls im Frühjahr lag zwischen dem 2.4.2017 und dem 11.4.2017.

## **5.2.3 Befallskontrolle von Bienenproben/Sommerbefallsmessung**

Später im Jahr, wenn sich in den Völkern ein höherer Milben-Befall befindet, führen Bienenproben zu zuverlässigeren Befallsschätzungen, als die Kontrolle von Bodeneinlagen. Es wird mit dieser Methode der relative Befallsgrad von Milben auf Bienen, auch als Bienenbefall bezeichnet, erhoben. Um gute Messergebnisse und eine gute Vergleichbarkeit zu erhalten, sollte die letzte Messung soweit hinausgeschoben werden, dass dabei im Durchschnitt zumindest 1 Milbe/10 g Bienen Befall erreicht ist. In der Praxis wird dabei Ende Juni/Anfang Juli mit den Messungen begonnen und bei niedrigen Befallswerten im Abstand von 3 Wochen wiederholt, bis ein aussagekräftiger Befallsgrad erreicht ist. Die Feststellung des Bienenbefalls erfolgt entweder durch Einpudern lebender Bienen mit Puderzucker oder durch Auswaschen abgetöteter Bienen mit Seifenwasser. Werden die Messungen richtig durchgeführt, liefern beide Methoden zuverlässige Ergebnisse und werden als gleichwertig eingestuft (AGT, 2013).

Im Versuch wurde bei allen Prüfbetrieben mit der Puderzuckermethode gearbeitet.

Die Bienenprobe wird aus dem obersten Raum von einer gut besetzten Futterwabe entnommen. Die Bienen werden auf eine saubere, trockene Deckelfolie abgestoßen und damit ca. 50 g der Bienen in den mind. 750 ml fassenden Schüttelbecher mit Gitterboden gefüllt. Vor dem Befüllen muss die Leermasse des Probenbeckers ermittelt werden, um nach der Befüllung die Nettomasse ermitteln zu können. Dazu ist eine Küchenwaage Teil der Messausstattung. Nach dem Einfüllen der Bienen werden ca. 5 leicht gehäufte Eszlöffel Puderzucker, durch das Gitter auf die Bienen hinzugegeben. Darauf sollen die Bienen sich gegenseitig ca. 3 Minuten mit dem Puderzucker bedecken, damit die Milben ihren Halt verlieren. In dieser Zeit wird der Probenbecher gegebenenfalls 2 bis 3 Mal geschüttelt um den Puderzucker besser zu verteilen. Während dieser Zeit kann bereits eine weitere Probe aus dem nächsten

Volk entnommen werden. Nach 3 Minuten wird der Schüttelbecher mit dem Gitterdeckel nach unten kräftig über einem Feinsieb für ca. 1 Minute ausgeschüttelt. Dabei sollen alle Milben aus dem Becher fallen und können mithilfe des Feinsiebes vom Puderzucker getrennt werden. Danach können die Milben im Feinsieb oder auf eine helle Unterlage geschüttet, gezählt werden. Die Bienen werden danach wieder in das Volk zurückgegeben und werden von den anderen Arbeitsbienen geputzt. Im Erhebungsprotokoll werden das Datum der Probenname, die Nettomasse der Bienenprobe und die Anzahl der Milben notiert (AGT, 2013).

Für die Auswertung wurde die Einheit Milben pro 10 g Bienen verwendet, was in etwa dem prozentuellen Befall entspricht, da eine Arbeitsbiene in etwa 0,1 g wiegt und daher 10 g Bienen in etwa 100 Bienen entsprechen. Im Versuch wurden Völker die zu verschiedenen Zeitpunkten, ansteigende Befallsschwellen überschritten aus dem Versuch genommen und behandelt. Der Rest der unter der Schwelle lag, wurde im Versuch gehalten und weitere Messungen durchgeführt. Die Prüfbetriebe nahmen grundsätzlich die in Tabelle 3 (Seite 49) abgebildeten Befallswerte als Behandlungsschwellen an. Da es sich um einen Feldversuch handelte und die Messungen vorab nicht im Versuchsplan definiert waren, wurden einzelne Völker aus anderen Gründen vor Erreichen der Schwelle behandelt. Die Zeiträume in denen die Messungen durchgeführt wurden sind folgend angeführt: 1. Messung (30.6.-5.7.2017), 2. Messung (21.7.-30.7.2017), 3. Messung (16.8.-27.8.2017), 4. Messung (7.9.-16.9.2017). Die 5. Messung welche nur mehr auf einem Betrieb durchführt wurde, erfolgte am 28.9.2017.

### **5.3 Auswertung von SMR und Recapping/RNSBB-Protokoll**

SMR und Recapping wurden nach dem RNSBB-Protokoll, Stand 01.09.2017 ausgewertet (Büchler et al., 2017).

Im Kapitel 5.3 werden die für den Versuch und die Auswertung relevanten Punkte des Auswertungsprotokolls beschrieben. Mit Vor- und Nachbereitung sind für eine Probe ca. 3 bis 4 Stunden aufzuwenden. Durch die Auswertung der Züchter, welche die Prüfvölker zur Verfügung stellten, konnten 51 Proben ausgewertet werden und durch die eigene Auswertung 54 Proben. Alle Proben wurden in der Tiefkühltruhe konserviert, vor der Auswertung aufgetaut und danach bearbeitet. Vor der Probenauswertung wurden alle Personen die eine Auswertung durchführten am Bieneninstitut Kirchhain eingeschult.

#### **5.3.1 Probenentnahme**

Die Testvölker sollten für wenigstens 30 Tage vor dem Entnehmen der Brutprobe eine ungestörte Brutentwicklung aufweisen (keine Brutunterbrechung, kein Königinnentausch). Die gesammelte Brut sollte hauptsächlich ältere Puppen beinhalten, rosa Augen bis kurz vor dem Schlüpfen, also Puppen 7 bis 12 Tage nach dem Verdeckeln. Da die Effizienz und Dauer der Auswertung von der Brutbefallsrate abhängt, muss das Entnahmedatum eventuell auf einen Zeitpunkt verschoben werden, bei dem eine Behandlung gegen die Varroose durchgeführt werden muss. Nach den Erfahrungen soll der Bienenbefall mindestens 2 % zum Zeitpunkt der Entnahme der Brutprobe für die SMR Auswertung betragen. Die Brutproben werden entweder sofort ausgewertet, oder bei -18°C tiefgekühlt bis zur Auswertung gelagert (Büchler et al., 2017).

Bei der Untersuchung handelt es sich um die Brut von Arbeiterbienen. Völker, die bei der 2. Messung einen Bienenbefall über 1,5 Milben/10 g Bienen (Milben/10 g Bienen in etwa %

Bienenbefall) aufwiesen, wurden aus dem Versuch genommen, behandelt und zuvor eine Brutprobe entnommen. Bei der 3. Messung wurde der Grenzwert mit 2,5 Milben/10 g Bienen als Grenze für das Ausscheiden verwendet. Bei der 4. Messung wurde der Rest der Brutproben entnommen. Wie in Tabelle 3 (Seite 49) ersichtlich ist, wurde zu dieser Zeit bei vielen Völkern 2 % Bienenbefall nicht erreicht.

### 5.3.2 Brutuntersuchung-Ausstattung

Die Untersuchung der Brutzellen erfordert Sorgfalt und Vorsicht. Es wird ein Stereomikroskop oder eine funktionierende Vergrößerungseinrichtung benötigt. Diese unterstützt die Identifizierung der Muttermilben und der Nachkommen. Des Weiteren hilft eine feine Pinzette, ein Skalpell oder ein feiner Pinsel zusammen mit einer guten-LED Beleuchtung (Büchler et al., 2017).

Für die Auswertung wurden verschiedene Stereomikroskope verwendet: ein relativ einfaches Gerät mit 10-facher Vergrößerung und Beleuchtung, sowie zwei Mikroskope, die sonst für die instrumentelle Besamung von Königinnen verwendet werden. Besonders wichtig ist, dass genug Platz für ganze Rähmchen ist, um alle Flächen untersuchen zu können (Abstand zum Tubusträger). Des Weiteren ist eine gute Tiefenschärfe von Vorteil, sowie die Möglichkeit der Scharfstellung bei genügend Abstand zwischen Wabe und Objektiv, um mit der Pinzette gut arbeiten zu können. Für die Fotos wurde eine Mikroskop-Kamera und zum Mitzählen wurden einfache Handzähler verwendet.

### 5.3.3 Recapping

Recapping, das Öffnen und Wiederverdeckeln von Brutzellen kann einfach bestimmt werden. Dazu wird die Oberfläche der Innenseite des Wachsdeckels betrachtet. Mit der Spitze der Pinzette, oder dem Skalpell wird der Zelldeckel vorsichtig an 5 Seiten abgetrennt. Danach wird die Unterseite nach oben gedreht. Besonders wichtig ist, dass der gesamte Deckel dabei erhalten bleibt. Wiederverdeckelten Zellen fehlt ein Teil des von der Puppe gesponnenen Kokons, was durch eine matte Oberfläche im normalerweise glänzenden Deckel erkennbar ist. Das Loch kann in der Größe variieren, von einem kleinen Punkt bis zum gesamten Ausmaß des Deckels. Es ist der Indikator dafür, dass die Zelle geöffnet und wiederverdeckelt wurde (Büchler et al., 2017).

Die Anzahl an Zellen mit dem Merkmal Recapping wurde während der Auswertung der Proben durch einen Handzähler erfasst. Für jede befallene Zelle erfolgte ein Eintrag im Protokoll, wodurch die Anzahl der befallenen und recappten Zellen festgestellt wurde.

Die Selektivität des Recappings (SEL) stellt die Differenz Anteil Recapping an befallenen Zellen abzüglich des Anteils Recapping an nicht befallenen Zellen dar. Dieses Merkmal bringt die Fähigkeit zur treffsicheren Identifizierung befallener Zellen vor dem Öffnen und Wiederverdeckeln zum Ausdruck.

### 5.3.4 SMR-Untersuchung

Für die Untersuchung von SMR werden nur einfach befallene Brutzellen (eine Muttermilbe) im Entwicklungsstadium zwischen „violetten Augen“ (7 Tage nach der Verdeckelung) und „Puppenentwicklung fertig“ (12 Tage nach der Verdeckelung) herangezogen. Im „violetten Augen“ Stadium (Brutstadium 1: 7 bis 9 Tage nach der Verdeckelung), findet man in Zellen in denen die Muttermilbe normal reproduziert hat, zumindest eine Deutonymphe sowie ein Männchen. In Zellen mit Puppen mit „grauen Flügelansätzen“ (Brutstadium 2: 10 bis 12 Tage nach dem Verdecken), findet man zumindest eine adulte Tochtermilbe und ein adultes Männchen. Das Hauptkriterium für die Unterscheidung zwischen dem 9. und 10. Tag nach der Verdeckelung, die zwei definierte Entwicklungsstadien trennt, ist das Vorhandensein von grauen Flügelansätzen ab dem Tag 10. Einfach befallene Zellen ohne Nachkommen (unfruchtbar), mit zu jungen Entwicklungsstadien der Milbennachkommen (verzögert) oder ohne Männchen (kein Männchen) werden als SMR-Zellen gezählt, da sie keine reproduktiven Nachkommenstadien der Milben beinhalten (Büchler et al., 2017). Bei der Auswertung wurde Zelle für Zelle vorsichtig geöffnet und das Schema nach Abbildung 19 für die Protokollierung angewendet.

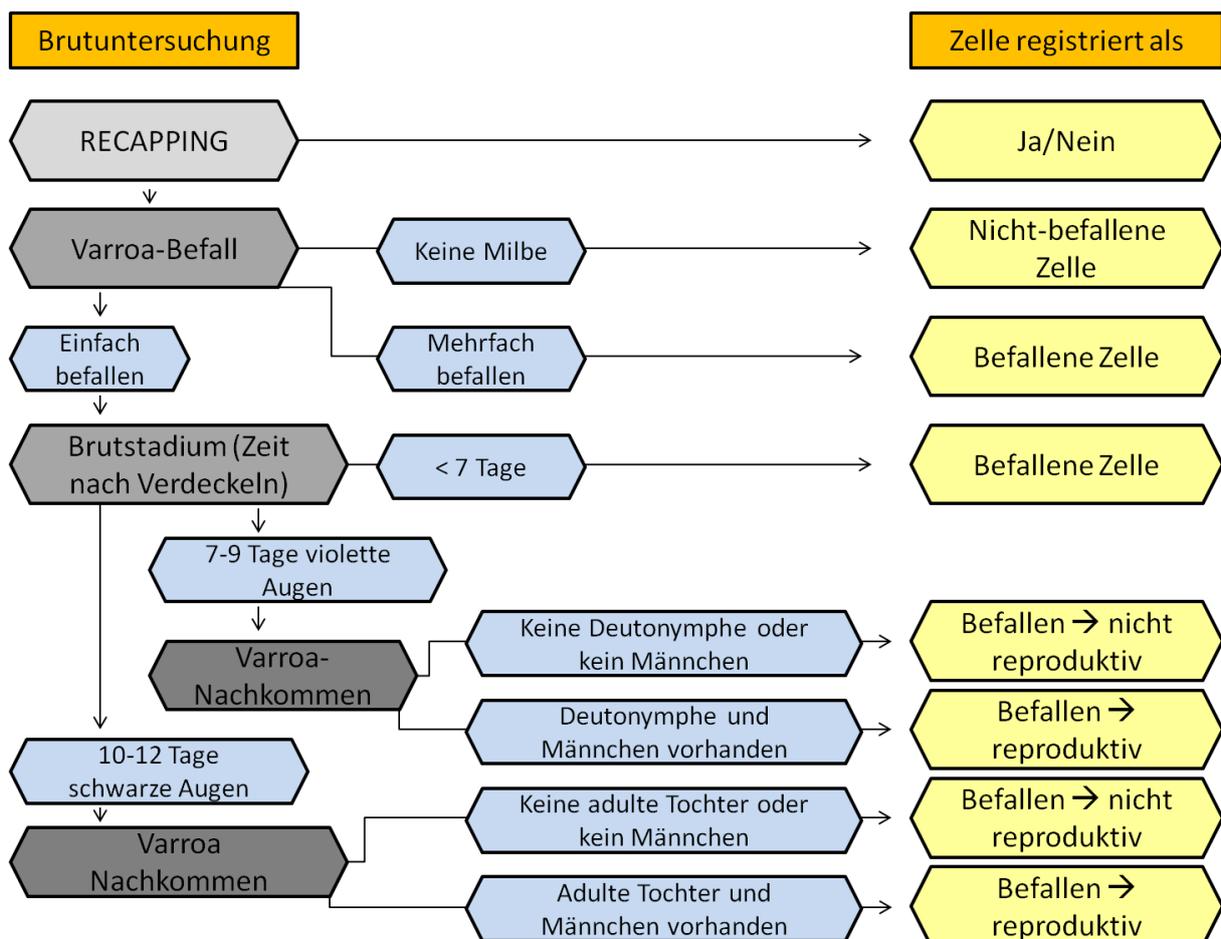


Abbildung 19: Ablauf der Auswertung einer Brutzelle für die Merkmale Recapping und SMR; Quelle: Eigene Abbildung übersetzt nach Büchler et al. (2017)

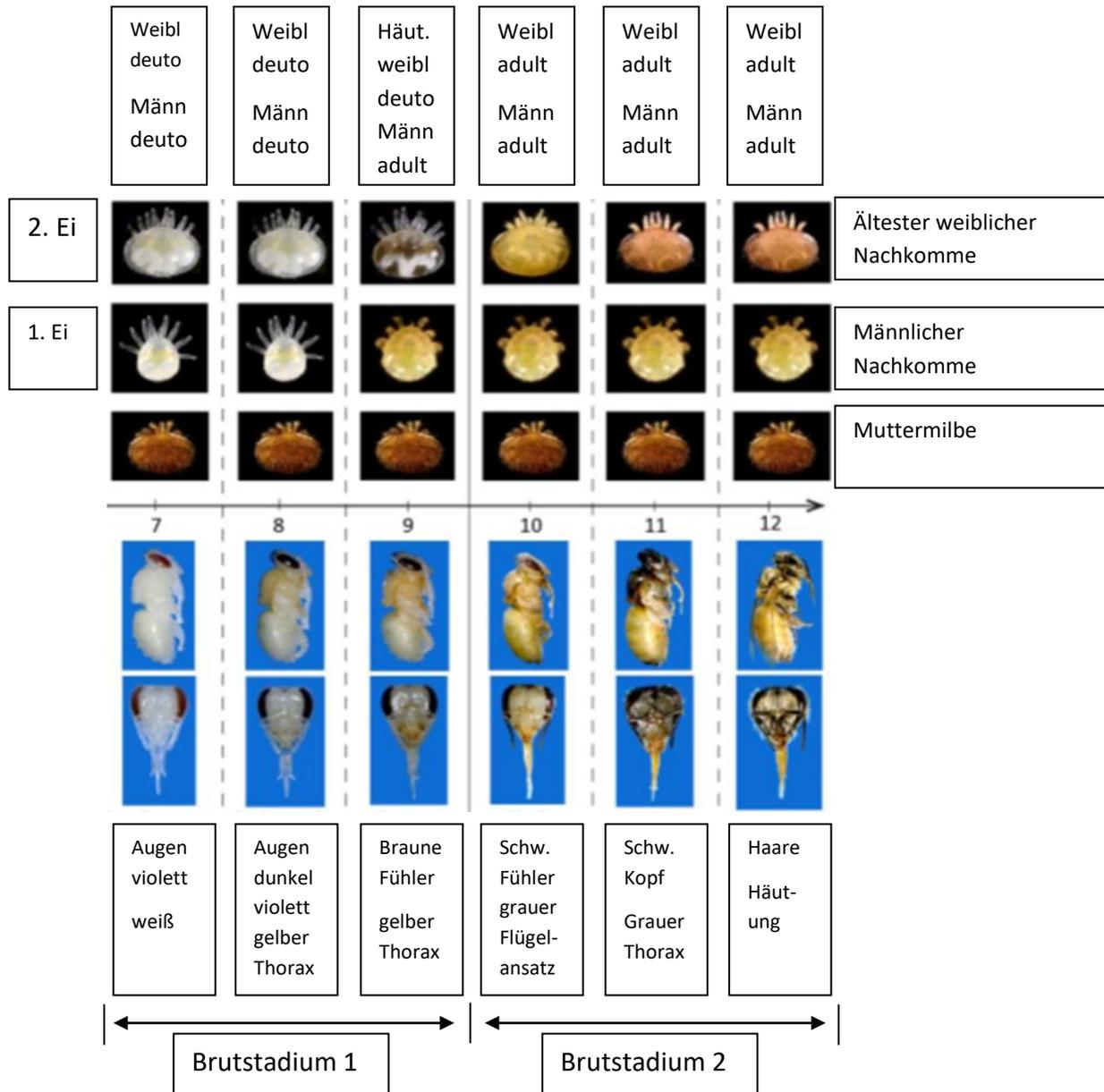


Abbildung 20: Vergleich der Entwicklung von *A. m.* Bienen und *V. destructor* (ersten 2 Eier), 7-12 Tage nach dem Verdeckeln; Quelle: Abbildung verändert nach Büchler et al. (2017), Fotografien: F. Mondet

Die Fotos in Abbildung 20 zeigen das durchschnittliche Auftreten von Entwicklungsstadien des Milbennachwuchses (erste 2 Eier) in Relation zum Entwicklungsstadium der befallenen Bienenpuppe. Die Hauptmerkmale zum Erkennen der Stadien der Bienen sind unter den Bildern zu sehen. Die zu erwartenden Stadien der Milben sind auf den Fotos abgebildet. Wenn der älteste Nachwuchs der Milben für ein jeweiliges Puppenstadium der Bienen jünger als der abgebildete ist, dann wird die Muttermilbe als nicht-reproduktiv eingestuft, bzw. die Zelle als SMR-Zelle gezählt. Die durchgezogene Linie zwischen dem 9. und 10. Tag nach dem Verdeckeln trennt die Stadien in jene vor und jene nach dem Erwarten von adulten weiblichen Nachkommen (Büchler et al., 2017).

### Entwicklungsstadien und deren Übergänge bei der Biene

Auf Abbildung 21, Abbildung 22 und Abbildung 23 sind die Entwicklungsstadien und die wichtigsten Erkennungsmerkmale der Übergänge bei der Biene zu sehen. Diese sind für die Einteilung in das jeweilige Brutstadium von Relevanz. Von Bedeutung für die Auswertung des Merkmals SMR ist das Entwicklungsstadium zwischen „violetten Augen“ (7 Tage nach der Verdeckelung) und „Puppenentwicklung fertig“ (12 Tage nach der Verdeckelung) von Bedeutung. Sind die Augen wie in Abbildung 21 rosa, so ist die Puppe < 7 Tage nach dem Verdeckeln alt und somit zu jung für die Auswertung. Im „violetten Augen“ Stadium (siehe Abbildung 22) (Brutstadium 1: 7 bis 9 Tage nach der Verdeckelung), beginnt man mit der Suche nach einer Deutonymphe sowie einem Männchen. In Zellen mit Puppen mit „grauen Flügelansätzen“ (Brutstadium 2: 10 bis 12 Tage nach dem Verdeckeln), sucht man zumindest eine adulte Tochtermilbe und ein adultes Männchen. Das Hauptkriterium für die Unterscheidung zwischen dem 9. und 10. Tag nach der Verdeckelung, die zwei definierte Entwicklungsstadien trennt, ist das Vorhandensein von grauen Flügelansätzen ab dem Tag 10 Abbildung 23 (Büchler et al., 2017).



Abbildung 21: Puppe mit rosa Augen; zu jung für die Auswertung (<7 Tage)



Abbildung 22: Puppe mit violetten Augen; (Brutstadium 1: 7-9 Tage n. V.)

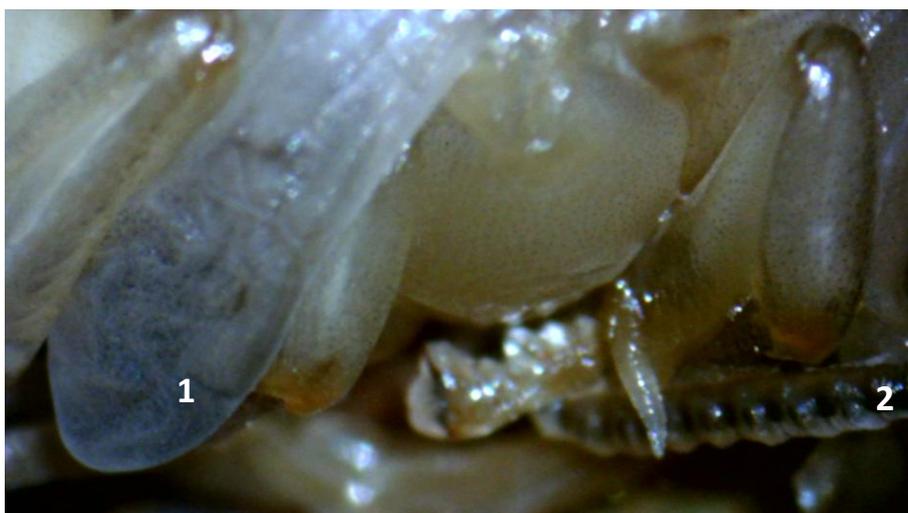


Abbildung 23: wichtiges Merkmal beim Übergang von Brutstadium 1 auf 2 (9. auf 10. Tag nach dem Verdeckeln); 1: der graue Flügelansatz und 2: schwarze Fühler

### Normale Reproduktion von *V. destructor*

Abbildung 24 und 25 zeigen Zellen, in denen eine normale Reproduktion von *V. destructor* erfolgt ist. Es sind jeweils die notwendigen Altersstadien der Milbennachkommen in den Zellen mit dem jeweiligen Stadium der Bienenpuppe vorhanden.



Abbildung 24: Muttermilbe mit Nachkommen bei funktionierender Reproduktion (Deutonymphe/Männchen) in einer Brutzelle im Brutstadium 1 (7 bis 9 Tage nach dem Verdeckeln); 1: Muttermilbe, 2: Männchen, 3: weibl. Deutonymphe, 4: sich häutende weibl. Deutonymphe, 5: weibl. Protonymph, 6: faecal accumulation site;



Abbildung 25: Muttermilbe mit Nachkommen bei funktionierender Reproduktion (adulte Tochter/Männchen) in einer Brutzelle im Brutstadium 2 (10-12 Tage nach dem Verdeckeln); 1: Muttermilbe, 2: Männchen, 3: adulte Tochter, 4 und 5: weibl. Deutonymphe;

### SMR – Suppressed Mite Reproduction (verringerte Milben-Reproduktion)

Abbildung 26 und 27 zeigen Zellen, in denen die Reproduktion von *V. destructor* nicht normal verlaufen ist und die Muttermilbe als nicht-reproduktiv (SMR) eingestuft wird. Es fehlen die jeweils notwendigen Altersstadien der Milbennachkommen für das jeweilige Brutstadium.



Abbildung 26: SMR-Zelle im Brutstadium 1, die querovale Deutonymphe (regulär das älteste Weibchen) fehlt; 1: Muttermilbe, 2: Männchen, 3: weibl. Protonymphe, 4: Ei/Larve, 5: faecal accumulation site;

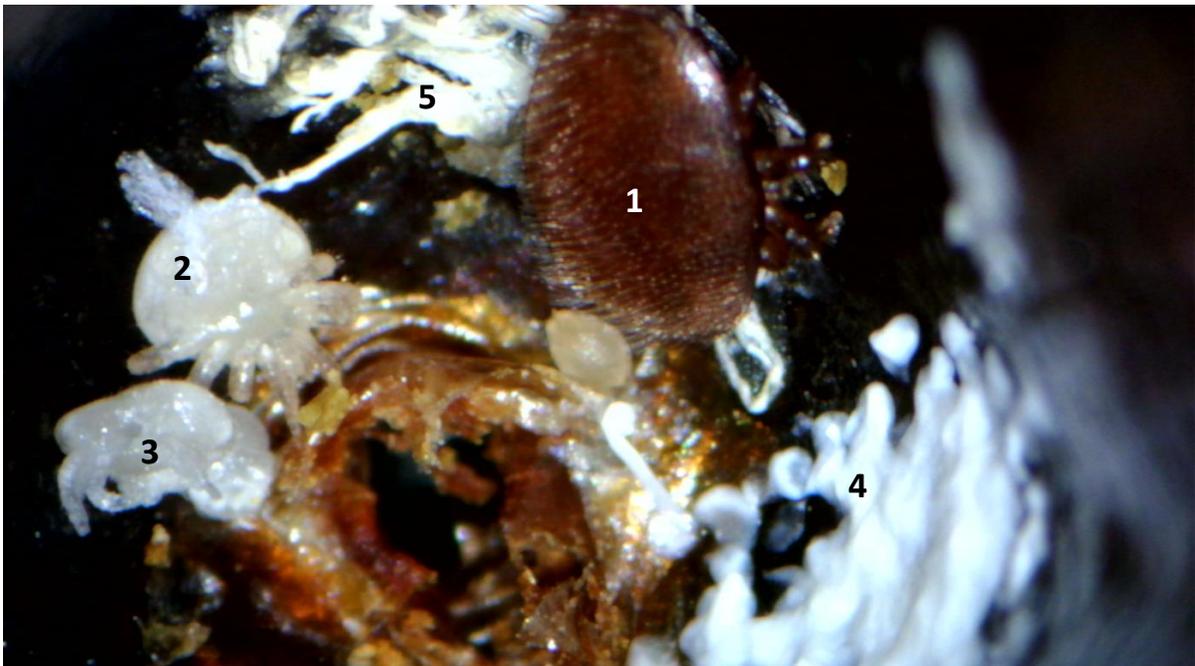


Abbildung 27: SMR-Zelle im Brutstadium 2, adulte Tochter (regulär das älteste Weibchen) fehlt, adultes Männchen erkennbar an den ausgefärbten Beinen; 1: Muttermilbe, 2: Männchen, 3: weibl. Protonymphe, 4: faecal accumulation site, 5: Ausscheidungen der Bienenlarve;

## Recapping

Abbildung 28 zeigt die Oberfläche einer Brutwabe. Darauf sind geöffnete Zellen zu sehen. Werden diese Zellen wieder verschlossen, handelt es sich um Zellen mit Recapping. Schematisch zeigt der linke Kreis in der Abbildung 28 auf eine verschlossene Zelle. In der Abbildung wird davon ausgegangen, dass diese nicht geöffnet wurde und sich somit an der Innenseite ein unbeschädigter, vollständiger Kokon findet (Abbildung 29). Dieser ist als glänzende Fläche zu erkennen. Wird die Zelle geöffnet und wiederverdeckelt (Recapping), so ist an der Innenseite eine matte Oberfläche zu erkennen. Diese kann in der Größe von kleinen punktförmigen, gerade noch erkennbaren Flächen bis zum Durchmesser der ganzen Zelle reichen (Abbildungen 30 und 31).



Abbildung 28: verschlossene und geöffnete Zelldeckel von Brutzellen

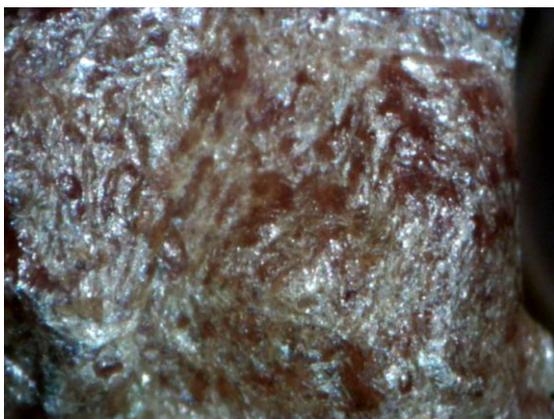


Abbildung 29: Kein Recapping, glänzende Innenseite des Zelldeckels (Kokon) vollständig erhalten

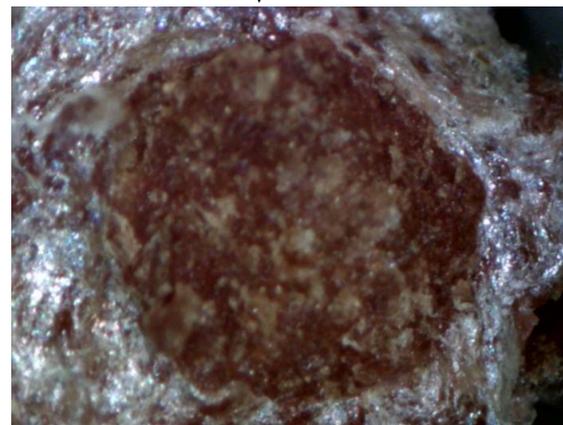


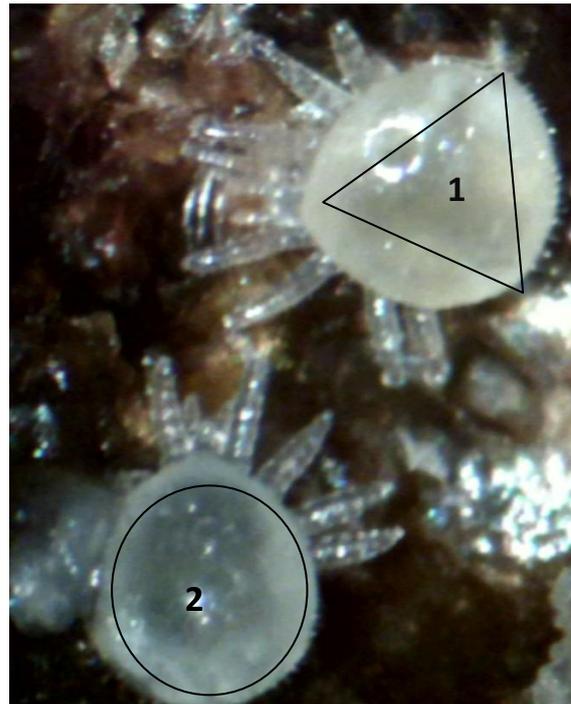
Abbildung 30: Recapping, matte Oberfläche aus Wachs an der Innenseite des Zelldeckels, Zelle wurde geöffnet und wiederverdeckelt



Abbildung 31: Recapping, oft nur als kleine Fläche vorhanden

Die Unterscheidung von männlichen Nachkommen und weiblichen Protonymphen kann schwierig und zeitaufwändig sein. Es gibt Schlüsselmerkmale zur Unterscheidung bei jüngeren Stadien ca. bis zum 8. Tag nach dem Verdeckeln. Die wichtigsten sind, dass die Männchen längere und dünnere Beine als die weiblichen Protonymphen haben. Des Weiteren weisen Männchen im hinteren Teil des Körpers eine eher dreieckige Form (birnenförmig) auf, wogegen die weiblichen Protonymphen eine runde Form (apfelförmig) aufweisen (Abbildung 32). Ein ausgewachsenes Männchen zeigt eine leicht orange Ausfärbung (Büchler et al., 2017).

Bei der Auswertung wurde grundsätzlich solange untersucht, bis 25 einfach befallene Zellen gefunden wurden. Bei einer Probe, die einen Brutbefall von 1% aufwies, wurden nur 10 einfach befallene Zellen gezählt. Dieser Umfang ist laut dem RNSBB-Protokoll der geringste, bei dem ein Ergebnis in weitere Auswertungen einfließen kann (Büchler et al., 2017). Im Durchschnitt mussten ca. 184 Zellen geöffnet werden um die 25 einfach befallenen Zellen zu finden und nach dem Schema auswerten zu können. Des Weiteren war zu beobachten, dass des Öfteren im Brutstadium 1 (7 bis 9 Tage nach dem Verdeckeln) die älteste Tochtermilbe, anstatt dem laut RNSBB-Protokoll Deutonymphen-Stadium, bereits dem Stadium eines adulten Weibchens zuzuordnen war.



**Abbildung 32: 1 Männchen (eher dreieckig/birnenförmig) und 2 weibl. Protonymphe (eher rund/apfelförmig)**

## 5.4 Statistische Auswertung

Für die statistische Auswertung wurde das Programm SAS (Statistical Analysis System) verwendet (Version 9.4) (SAS, 2012). Die Daten wurden im Programm Microsoft Excel erfasst. Für die Auswertung wurden verschiedene Prozeduren von SAS 9.4 benötigt. Die für die deskriptive Statistik relevanten Werte (Mittelwert, Median, Minimum, Maximum) wurden mit der Prozedur „univariate“ berechnet. Die Prozedur „univariate“ eignet sich, um die Datenverteilung verschiedener Variablen zu überprüfen (SAS, 2018).

### 5.4.1 Phänotypische Korrelationen

Für die Berechnung der Korrelationen nach Spearman wurde die Prozedur „corr“ verwendet. Ein Korrelationskoeffizient ist ein relatives dimensionsloses Maß zur Darstellung der Art und Enge eines linearen stochastischen Zusammenhangs zwischen 2 Zufallsvariablen. Der Korrelationskoeffizient kann Werte zwischen -1 und 1 annehmen. Die Spearman'schen Rangkorrelationen sind eine nicht parametrische Messung von Zusammenhängen, die auf den Rängen der Werte aus den Daten resultieren (Kronthaler, 2016). Sie wird ebenfalls durch die Prozedur „corr“ berechnet, indem die Werte rangiert werden und die Ränge der Formel für die Pearson'schen Korrelationen verwendet werden (SAS, 2018).

### 5.4.2 Zusammenhänge von Merkmalen

Zur Ermittlung von Zusammenhängen zwischen verschiedenen Merkmalen unter Berücksichtigung von verschiedenen Effekten wurde die Prozedur „glm“ verwendet. Die Prozedur „glm“ basiert auf der Methode der kleinsten Quadrate um generalisierte lineare Modelle zu erstellen (SAS, 2018).

Für die Berechnung der Einflüsse von SMR, REC und dem Pin-Test auf die Milbenpopulation in den Völkern wurde folgendes Modell verwendet:

$$\text{Modell 1: } Y_i = \mu + b_1 * FjB + b_2 * eMk + e_i$$

$Y_i$  = Merkmale welche die Milbenpopulation in den Völkern darstellen (SUTT, MIndex, S1-S3, S1, S2, S3, S4, S5, BBR)

$\mu$  = gemeinsame Konstante (Intercept)

$b_1$  und  $b_2$  = Regressionskoeffizienten

FjB = Effekt des natürlichen Milbenabfalls im Frühjahr

eMk = einflussgebendes Merkmal (Pin vollständig ausgeräumt, Pin teilweise ausgeräumt, Pin nicht berührt, SMR, REC an befallenen Zellen, REC gesamt, Selektivität REC)

$e_i$  = Restkomponente (Residuen)

Es wurde auf den natürlichen Milbenabfall im Frühjahr korrigiert, da die Völker mit unterschiedlichen Befallswerten starteten. Durch diese Korrektur sollten die Völker mit einem konstant gehaltenen Befall im Frühjahr betrachtet werden.

Für die Berechnung der Zusammenhänge von verschiedenen Merkmalen mit SMR bzw. dessen Ausprägungsformen unfruchtbar, verzögert, kein Männchen wurden folgende Modelle verwendet:

$$\text{Modell 2: } Y_{ijk} = \mu + \text{Bet}_i + \text{Ent}_j + b_1 * \text{FjB} + b_2 * \text{eMk} + e_{ijk}$$

$$\text{Modell 3: } Y_{ij} = \mu + \text{Bet}_i + b_1 * \text{FjB} + b_2 * \text{eMk} + e_{ij}$$

$$\text{Modell 4: } Y_i = \mu + b_1 * \text{FjB} + b_2 * \text{eMk} + e_i$$

$Y_{ijk}$ ,  $Y_{ij}$ ,  $Y_i$  = jeweiliges Merkmal (SMR, unfruchtbar, verzögert, kein Männchen)

$\mu$  = gemeinsame Konstante (Intercept)

$b_1, b_2$  = Regressionskoeffizienten

$\text{Bet}_i$  = fixer Effekt des Betriebes ( $i = 1$  bis  $5$ )

$\text{Ent}_j$  = fixer Effekt des Entnahmezeitpunktes ( $j = 1$  bis  $3$ )

FjB = Effekt des natürlichen Milbenabfalls im Frühjahr

eMk = einflussgebendes Merkmal (Betrieb\*Entnahmezeitpunkt, S1-S3, S1, S2, S3, S4, S5, Pin vollständig ausgeräumt, Pin teilweise ausgeräumt, Pin nicht berührt, Brutbefallsrate, REC an befallenen Zellen, REC gesamt, Selektivität REC)

$e_{ijk}$ ,  $e_{ij}$ ,  $e_i$  = Restkomponente (Residuen)

### 5.4.3 Heritabilitätsschätzung

Für die Schätzung der Heritabilitäten wurden Varianzkomponenten mit der Prozedur „mixed“ berechnet. Die Prozedur „mixed“ ermöglicht die Berechnung einer Vielzahl von gemischten linearen Modellen (SAS, 2018).

Da die Abstammungsverhältnisse der im Versuch geprüften Königinnen (siehe Abbildung 33) sowohl mütterlicherseits (2a) als auch väterlicherseits (4a) bekannt waren, konnte eine Schätzung von Heritabilitäten durchgeführt werden.

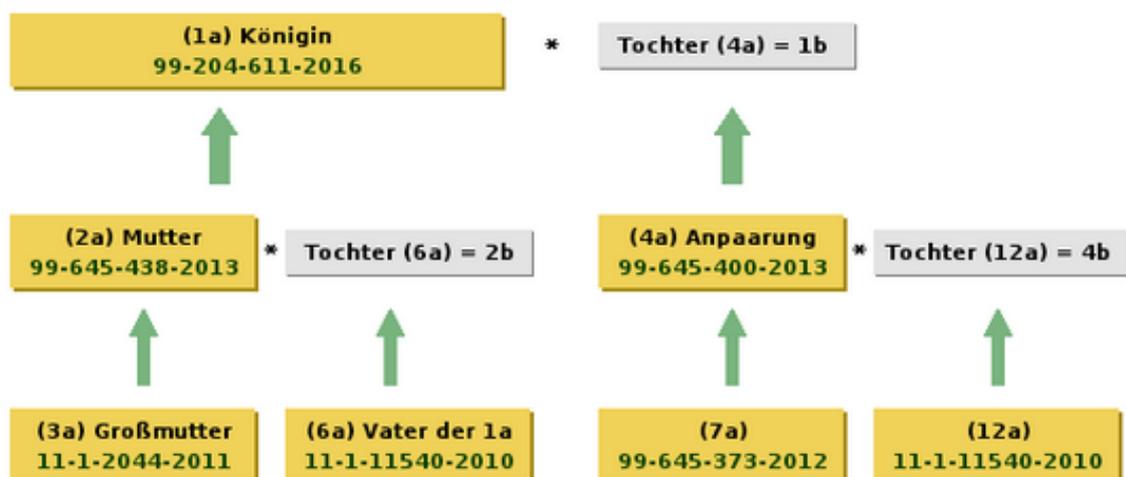


Abbildung 33: Stammbaum einer Prüfkönigin des Versuches, Quelle: beebreed.eu (LIB, 2018)

Da die Schätzwerte für die genetische Varianz der Anpaarungspartner (4a) nahe 0 lagen, erfolgte die Berechnung der Heritabilität in dieser Arbeit ausschließlich auf Basis der mütterlichen genetischen Varianz wobei die durchschnittliche Verwandtschaft von Königinnen, die dieselbe Mutter aufweisen, berücksichtigt wurde. Diese Schätzung beruht damit auf einem relativ einfachen Ansatz einer Halbgeschwisteranalyse mit einem Muttermodell. Dazu wurde Formel [1] von Harbo und Harris (1999) mit angepasstem Verwandtschaftsverhältnis herangezogen:

$$h^2 = \frac{(\sigma^2_{2a})/0,38}{\sigma^2_{2a} + \sigma^2_{\text{Residual}}}$$

[1]

wobei

$h^2$  = Heritabilität,

$\sigma^2_{2a}$  = Varianz die durch die Abstammung von der Mutter (2a) bedingt ist,

0,38 = durchschnittliche Verwandtschaft von Königinnen, die dieselbe Mutter aufweisen (durchschnittlich ca. 10 Drohnenvölker, angenommen 8 Drohnen),

$\sigma^2_{\text{Residual}}$  = Residualvarianz (Restvarianz).

Zusammen ergeben  $\sigma^2_{2a}$  und  $\sigma^2_{\text{Residual}}$  die phänotypische Varianz für das jeweilige Merkmal. Die Standardfehler wurden nach Formel [2] (Swiger et al., 1964) berechnet. Die Varianzkomponente, die durch die Mutter bedingt ist, dividiert durch 0,38 kommt dadurch zustande, dass die durchschnittliche Verwandtschaft von Königinnen, die dieselbe Mutter aufweisen in etwa bei 0,38 liegt. Dazu wurde angenommen, dass die Drohnen aus 10 Drohnenvölkern stammen und die Königin von 8 Drohnen begattet wird (Willam und Essl, 1993). Die Mütter der Königinnen im Versuch waren jedoch unterschiedlich angepaart, die einen auf Belegstellen mit 12 bis 18 Drohnenvölkern. Andere wurden mittels instrumenteller Besamung besamt, entweder mit nur einem (1b Anpaarung) oder mit wenigen Drohnenvölkern. Mütter (2a's) der Königinnen (1a's) im Versuch, die mehr als eine Tochter (1a) im Versuch hatten, sind mit durchschnittlich 12,5 Drohnenvölkern angepaart worden, daher wurde einfacherweise die Anzahl von 10 Drohnenvölkern angenommen.

Für die Berechnung des Standardfehlers (SE) wurde Formel [2] nach Swiger et al. (1964) verwendet:

$$SE = \sqrt{\sigma t} = \sqrt{\frac{2(N-1)(1-t)^2 [1 + (k-1)t]^2}{k^2(N-s)(s-1)}}$$

wobei

$$k = \frac{1}{s-1} \left( N - \frac{\sum n_i^2}{N} \right)$$

[2]

und

SE = Standard Error (Standardfehler),

N = Gesamtanzahl der Beobachtungen,

t = Intraklassen-Korrelation, in diesem Fall  $t = h^2$ ,

s = Anzahl Gruppen (in diesem Fall Anzahl Mütter (2a's)),

$n_i$  = Summe der Beobachtungen in der i-ten Gruppe/Summe Töchter pro Mutter (2a).

Wobei t der Intraklassen-Korrelation entspricht, die zur Schätzung der Heritabilität durch die mütterliche Halbgeschwisteranalyse verwendet wurde.

Verwendet wurde ein gemischtes Modell, das mit der Prozedur „mixed“ im Programm SAS berechnet wurde. Das Modell berücksichtigt den Stand als fixen Effekt und die Mutter (2a) als zufälligen Effekt. Der Schätzung der Varianzkomponenten liegt die Methode Restricted Maximum Likelihood (REML) zugrunde.

$$\text{Modell 5: } Y_{ijk} = \mu + St_i + Mut_j + e_{ijk}$$

$Y_{ijk}$  = jeweiliges Merkmal (SMR, Recapping, Pin-Test)

$\mu$  = gemeinsame Konstante (Intercept)

$Mut_j$  = zufälliger Effekt der Mutter (2a) (j bzw. i = 1-33)

$St_i$  = fixer Effekt des Standes (i = 1-11)

$e_{ijk}$  = Restkomponente (Residuen)

## 5.5 Gruppierung der Völker aufgrund der Milbenpopulation

Zur Berechnung von Zusammenhängen wurden Merkmale gebildet, welche die einzelnen Befalls-Messwerte kombinieren. Das Merkmal SUTT (Stay under treatment treshold) ist eine Kombination der Sommerbefallsmessungen (mit Puderzucker). Das Merkmal MIndex (Milben-Index) ist eine Kombination aus den Sommerbefallsmessungen (mit Puderzucker) und der Brutbefallsrate.

### 5.5.1 Stay under treatment threshold/Verbleiben unter Behandlungsschwelle (SUTT)

Für das Merkmal SUTT wurden die Informationen aus der 2., 3. und 4. Sommerbefallsmessung herangezogen. Dieses Merkmal ist in 6 Gruppen untergliedert (siehe Tabelle 3). Gruppe 1 bis 4 stellen die unterschiedlichen Befallswerte der 4. Sommerbefallsmessung zusammengefasst dar, wobei zur Gruppe 4 auch Völker gezählt werden, die bei der 3. Sommerbefallsmessung unter 2,5 Milben/10 g Bienen lagen und aus sonstigen Gründen keine 4. Messung erfolgte. Gruppe 5 beinhaltet Völker, die bei der 3. Sommerbefallsmessung über 2,5 Milben/10 g Bienen aufwiesen. Gruppe 6 beinhaltet Völker, die bei der 2. Messung über 1,5 Milben/10 g Bienen aufwiesen. Diese Grenzwerte sind angelehnt an die Vorgaben des Vitalitätstests der AGT, bzw. an die Durchführung der Behandlung in den Prüfbetrieben. Die Gruppen 1 bis 3 stellen danach Völker dar, die bis zur 4. Sommerbefallsmessung (ca. 10. September) keinen für das Volk gefährlichen Milbenbefall aufwiesen. Die Gruppen 4 bis 6 sind jene Völker, die einen Milbenbefall aufwiesen, der laut Empfehlungen kritisch beobachtet werden sollte, aber von den Prüfbetrieben vorsorglich behandelt wurden.

**Tabelle 3: Gruppen des Merkmals SUTT – Stay under treatment threshold**

Gruppe	Kriterium	Anzahl der Völker	
1	S4 < 0.72 M/10 g B.	18	Unter der Behandlungsschwelle Stay under treatment threshold (SUTT)
2	S4 < 1.49 M/10 g B.	19	
3	S4 < 3.4 M/10 g B.	18	
4	S4 > 3.4 M/10 g B. od. S3 < 2,5 M/10 g B. und nicht weiter gemessen	25	Über der Behandlungsschwelle
5	S3 > 2,5 M/10 g B.	10	
6	S2 > 1,5 M/10 g B.	15	

S1-S4: 1.-4. Sommerbefallsmessung, M/10 g B.: Milben pro 10 g Bienen

### 5.5.2 Milbenbefalls-Index (MIndex)

Um die Gesamtpopulation an Milben in den Völkern zu beschreiben, wurde ein Index gebildet, der den Bienen- mit dem Brutbefall kombiniert. Die Berechnung des Index erfolgt durch Summieren der Gruppennummer des Merkmals SUTT (6 Gruppen) und der in 4 Gruppen geteilten Brutbefallsrate, wobei Gruppe 1 das am niedrigsten befallene Quantil und Gruppe 4 das am höchsten befallene Quantil darstellt. Der Index zeigt daher eine Abstufung von 2 bis 10. Nachteil dieser einfachen Gruppierung ist, dass keine Rücksicht auf den Brutumfang bzw. die Volksstärke genommen wird. Genauere Informationen über die Stärke der Völker hätten durch die Erhebung der Gesamtbienenanzahl, sowie des Gesamtbrutumfanges erhalten werden können. Pechhacker (2002) nahm bei seinem Versuch an, dass sich der Milbenbefall im Sommer aus Brut- und Bienenmilben im Verhältnis von 80:20 zusammensetzt. Bei der Brutentnahme im vorliegenden Versuch, die überwiegend zu einem späteren Termin durchgeführt wurde (ca. 10. September), konnten oft nur mehr geringe Brutmengen festgestellt werden. Oft reichte die letzte Brut gerade für die Auswertung und bei einigen Völkern konnte aufgrund von Brutfreiheit keine Brutprobe entnommen werden. Es wurde die Gewichtung Brutbefall zu Bienenbefall 40:60 gewählt, da diese eine Schätzung des Anteils der reproduzierenden Milben in der Brut zu den in der phoretischen Phase befindlichen Milben auf den Bienen darstellte.

## 6 Ergebnisse

Im Kapitel 6.1 „Deskriptive Statistik“ wird eine Übersicht über die gemessenen Werte gegeben. Diese gliedern sich in die Messungen, die aus der Auswertung nach dem RNSBB-Protokoll erhalten wurden, beziehungsweise den Werten, die in der Leistungsprüfung mit den vorgenommenen Erweiterungen gemessen wurden. In den Kapiteln 6.2 bis 6.4 sind Korrelationen und Ergebnisse der Analysen mit der SAS-Prozedur „glm“ abgebildet. Kapitel 6.5 stellt die Ergebnisse der Heritabilitätsschätzung dar. Bei der Erläuterung der Ergebnisse wird aufgrund der Vereinfachung anstatt des Artnamens *V. destructor* von „Milben“ und anstatt *A. m. carnica* von „Bienen“ gesprochen.

### 6.1 Deskriptive Statistik

Das Merkmal SMR bzw. Nicht-Reproduktivität wurde im Durchschnitt bei 26 % der einfach befallenen Zellen gemessen (siehe Tabelle 4). Das Merkmal Recapping war in der Ausprägungsform Recapping an befallenen Zellen im Mittel bei 55 % vorhanden. Recapping gesamt trat im Mittel bei 30 % der Zellen auf.

**Tabelle 4: Arithmetisches Mittel (AM), Median, Standardabweichung (SD), Minimum (Min), Maximum (Max) und Anzahl der untersuchten Völker**

	Merkmal	AM	Median	SD	Min	Max	Anzahl
Auswertung	SMR	0,26	0,24	0,13	0,00	0,68	105
RNSBB	Recapping befallen	0,55	0,55	0,31	0,00	1,00	105
Protokoll	Recapping gesamt	0,30	0,24	0,23	0,00	0,92	105
	Brutbefallsrate	0,25	0,20	0,17	0,01	0,79	105
Leistungs-	natürlicher Milbenabfall Frühjahr	0,19	0,10	0,23	0,00	1,19	105
prüfung	Pin-Test vollständig ausgeräumt	0,40	0,38	0,24	0,00	0,94	105
mit	Pin-Test teilweise ausgeräumt	0,47	0,42	0,22	0,60	0,96	105
Erweiterung	Pin-Test Zellen nicht berührt	0,13	0,08	0,14	0,00	0,64	105
	Sommerbefallsmessung 1. Messung	0,29	0,12	0,49	0,00	3,14	105
	Sommerbefallsmessung 2. Messung	0,73	0,33	1,08	0,00	5,00	105
	Sommerbefallsmessung 3. Messung	1,78	0,90	2,77	0,00	17,74	98
	Sommerbefallsmessung 4. Messung	2,67	1,49	3,33	0,00	20,49	73
	Sommerbefallsmessung 5. Messung	2,11	1,65	1,32	0,18	5,25	23

(Einheiten der Werte: SMR, Recapping, Brutbefallsrate, Pin-Test : relativer Anteil 0-1; natürlicher Milbenabfall Frühjahr: Milben pro Tag; Sommerbefallsmessung: Milben pro 10 g Bienen)

Die Brutbefallsrate lag im Mittel bei 25 %. Der natürliche Milbenabfall im Frühjahr liegt im Durchschnitt bei 0,19 Milben pro Tag und Volk. Der Pin-Test zeigte in der Ausprägungsform vollständig ausgeräumt einen Mittelwert von 40 %. Im Mittel waren 47 % teilweise ausgeräumt und 13 % der Zellen nicht berührt. Bei der 1. Sommerbefallsmessung konnten im Mittel 0,29 Milben/10 g Bienen festgestellt werden, bei der 2. Messung 0,73 Milben/10 g Bienen, bei der 3. Messung 1,78 Milben/10 g Bienen, bei der 4. Messung 2,67 Milben/10 g Bienen und bei der 5. Messung 2,11 Milben/10 g Bienen.

Es gab bei SMR eine relativ hohe Variabilität der Werte, das Minimum lag bei 0 % SMR und das Maximum bei 68 % SMR. Auch Recapping an befallenen Zellen wies eine Streuung von 0 % bis 100 % auf. Bei Recapping gesamt lag das Minimum bei 0 % und das Maximum bei 92 %. Die Spanne der Brutbefallsrate reichte von 1 % bis 79 %.

Von den im Durchschnitt 26 % SMR an einfach befallenen Zellen, entfielen wiederum 72 % auf die Ausprägungsform „verzögert“, 13 % auf die Ausprägungsform „unfruchtbar“ und 15 % auf die Ausprägungsform „kein Männchen“ (siehe Abbildung 34).

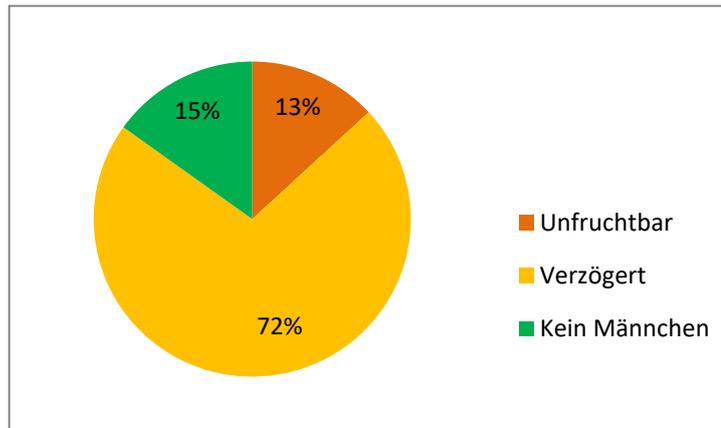


Abbildung 34: Aufteilung der Ausprägungsformen von SMR

## 6.2 Phänotypische Korrelationen

Tabelle 5: Phänotypische Korrelationen nach Spearman

	REC b.	REC g.	SEL	FJ Bef	Pin v.	Pin n.b.	S1	S2	S3	S4	S5	BBR	SUTT	M Index
SMR	<b>0,42***</b>	<b>0,37***</b>	<b>0,32***</b>	0,09	<b>0,22*</b>	<b>-0,26**</b>	-0,15	-0,15	-0,19	<b>-0,36**</b>	-0,33	<b>-0,23*</b>	<b>-0,29**</b>	<b>-0,32***</b>
REC b.		<b>0,87***</b>	<b>0,71***</b>	<b>0,22*</b>	<b>0,24*</b>	<b>-0,23*</b>	-0,04	-0,13	<b>-0,21*</b>	<b>-0,24*</b>	-0,01	<b>-0,34***</b>	<b>-0,23*</b>	<b>-0,32***</b>
REC g.			<b>0,43***</b>	<b>0,19*</b>	<b>0,21*</b>	<b>-0,27**</b>	-0,05	-0,02	-0,06	-0,07	0,04	-0,03	-0,09	-0,08
SEL				0,10	<b>0,26**</b>	-0,14	-0,12	<b>-0,26**</b>	<b>-0,31**</b>	<b>-0,44***</b>	-0,17	<b>-0,47***</b>	<b>-0,37***</b>	<b>-0,51***</b>
FJ B.					-0,10	-0,01	-0,03	-0,08	-0,04	-0,13	-0,08	-0,12	0,03	-0,03
Pin v.						<b>-0,37***</b>	-0,18	<b>-0,25*</b>	<b>-0,22*</b>	-0,21	0,26	-0,05	<b>-0,34***</b>	<b>-0,31**</b>
Pin n.b.							0,19	0,05	0,10	0,07	0,23	-0,05	<b>0,24*</b>	0,15
S1								<b>0,56***</b>	<b>0,52***</b>	<b>0,44***</b>	-0,02	0,10	<b>0,61***</b>	<b>0,49***</b>
S2									<b>0,73***</b>	<b>0,44***</b>	0,27	<b>0,30**</b>	<b>0,72***</b>	<b>0,71***</b>
S3										<b>0,65***</b>	0,06	<b>0,24*</b>	<b>0,84***</b>	<b>0,74***</b>
S4											<b>0,67***</b>	<b>0,53***</b>	<b>0,97***</b>	<b>0,85***</b>
S5												<b>0,59**</b>	<b>0,63**</b>	<b>0,63**</b>
BBR													<b>0,29**</b>	<b>0,70***</b>
SUTT														<b>0,87***</b>

Nicht signifikant  $p \geq 0,05$ ; signifikant \*  $p < 0,05$ , \*\*  $p < 0,01$ , \*\*\*  $p < 0,001$ ;

Abkürzungen: SMR: Suppressed Mite Reproduction, REC b.: Recapping an befallenen Zellen; REC g.: Recapping gesamt, SEL: Selektivität des Recappings, FJ B.: natürlicher Milbenabfall im Frühjahr, Pin v.: Pin-Test vollständig ausgeräumte Zellen, Pin n.b.: Pin-Test Zellen nicht berührt, S1-S5: 1.-5. Sommerbefallsmessung (Puderzuckermethode), BBR: Brutbefallsrate, SUTT: Stay under treatment threshold (Verbleiben unter der Behandlungsschwelle), MIndex: Milben-Index (kombinierter Index aus SUTT und der Gruppen von BBR);

In Tabelle 5 sind phänotypische Korrelationen nach Spearman abgebildet. Die in dieser Arbeit besonders beachteten Merkmale SMR und Recapping zeigen zueinander hoch signifikante ( $p < 0,001$ ), positive Korrelationen (SMR – REC b.  $r = 0,42$ ; SMR – REC g.  $r = 0,37$ ; SMR – SEL  $r = 0,32$ ). Es zeigte sich eine signifikante ( $p < 0,05$ ) positive Korrelation zwischen dem Merkmal SMR und dem Pin-Test in der Ausprägungsform vollständig ausgeräumt (SMR – Pin v.  $r = 0,22$ ). Zwischen SMR und der Pin-Test Ausprägungsform nicht berührt zeigte sich eine negative Korrelation (SMR – Pin n. b.  $r = -0,26$ ). Weitere signifikante negative Korrelationen waren zwischen SMR und dem Bienenbefall im Sommer bei der 4. Messung (SMR – S4  $r = -0,36$ ) als auch zwischen SMR und der Brutbefallsrate gegeben (SMR – BBR  $r = -0,23$ ). Die Merkmale SUTT und MIndex, die den Milbenbefall in den Völkern darstellen, korrelierten signifikant bzw. hoch signifikant negativ mit SMR ( $r = -0,29$  bzw.  $r = -0,32$ ). Diese Ergebnisse zeigen, dass bei höher ausgeprägtem SMR ein geringerer Gesamtmilbenbefall in den Völkern zu beobachten war.

Ähnlich wie bei SMR, zeigten sich bei Recapping an befallenen Zellen merkliche Zusammenhänge zum Pin-Test (REC b. – Pin v.  $r = 0,22$ ; REC b. – Pin n.b.  $r = -0,26$ ). Zwischen Recapping an befallenen Zellen und den Sommerbefallsmessungen sind bei der 3. und der 4. Messung signifikante negative Korrelationen aufgetreten ( $r = -0,21$  bzw.  $r = -0,24$ ). Die Brutbefallsrate korrelierte hoch signifikant ( $p < 0,001$ ) negativ mit dem Merkmal Recapping an befallenen Zellen ( $r = -0,34$ ). Die erstellten Merkmale SUTT und MIndex zeigten ebenso signifikante, bzw. hoch signifikante negative Korrelationen mit dem Merkmal Recapping an befallenen Zellen (REC b. – SUTT  $r = -0,23$ ; REC b. – MIndex  $r = -0,32$ ). Die Ergebnisse zeigen, dass bei höherer Ausprägung von Recapping an befallenen Zellen, es zu einem geringeren Gesamtmilbenbefall in den Völkern kam.

Die Selektivität des Recappings war zu allen Sommerbefallsmessungen negativ korreliert, wobei die Korrelationen im Verlauf des Sommers von  $r = -0,12$  (S1,  $p > 0,05$ ) bis  $r = -0,44$  (S4,  $p < 0,001$ ) anstiegen. Ab der 4. Sommerbefallsmessung war die Korrelation hoch signifikant negativ und höher als die Korrelation zwischen SMR und der 4. Sommerbefallsmessung. Auch die Brutbefallsrate, SUTT und MIndex zeigten hoch signifikante negative Korrelationen zum Merkmal Selektivität des Recappings (SEL – BBR  $r = -0,47$ ; SEL – SUTT  $r = -0,37$ ; SEL – MIndex  $r = -0,51$ ). Laut den phänotypischen Korrelationen hätte die Selektivität von Recapping den stärksten Einfluss auf die Milbenpopulation in den Völkern, gegenüber allen anderen exakt zu messenden Merkmalen inklusive SMR.

Der Pin-Test war in der Ausprägungsform vollständig ausgeräumt, signifikant negativ zur 2. und 3. Sommerbefallsmessung korreliert (Pin v. – S2  $r = -0,25$ ; Pin v. – S3  $r = -0,22$ ). Des Weiteren waren eine hoch signifikante negative Korrelation zum Merkmal SUTT und eine signifikante negative Korrelation zum Merkmal MIndex gegeben (Pin v. – SUTT  $r = -0,34$ ; Pin v. – MIndex  $r = -0,31$ ). Zwischen Pin vollständig ausgeräumt und der Selektivität war eine signifikante positive Korrelation vorhanden ( $r = 0,26$ ).

Der Pin-Test in der Ausprägungsform nicht berührt zeigte gegenüber der Ausprägungsform vollständig ausgeräumt höhere Korrelationskoeffizienten zu den Merkmalen SMR und Recapping gesamt (Pin n. b. – SMR  $r = -0,26$ ; Pin n. b. – REC g.  $r = -0,27$ ). Pin nicht berührt zeigt jedoch keine signifikanten Korrelationen zu den Merkmalen Selektivität des Recappings, den Sommerbefallsmessungen (2. und 3.) und MIndex, wogegen bei Pin vollständig ausgeräumt signifikante Korrelationen auftraten. Des Weiteren zeigte nicht berührt nur eine signifikante  $p < 0,05$  Korrelation zum Merkmal SUTT, wogegen bei Pin vollständig ausgeräumt zu SUTT hoch signifikante  $p < 0,001$  Korrelationen auftraten.

### 6.3 Einflüsse von SMR, REC, Pin-Test auf die Milbenpopulation in den Völkern

**Tabelle 6: Partielle Regressionskoeffizienten der Modelle, bei denen Messungen der Milbenpopulation das abhängige und der Pin-Test, SMR und REC die alternativen einflussgebenden Merkmale darstellen (Modell 1)**

	SUTT	MIndex	S1-S3	S1	S2	S3	S4	S5	BBR
Pin vollständig ausgeräumt	<b>-0,05***</b>	<b>-0,05**</b>	<b>-0,03**</b>	<b>-0,01*</b>	<b>-0,03**</b>	<b>-0,05*</b>	<b>-0,06*</b>	0,02	0,00
Pin teilweise ausgeräumt	0,03	0,04	0,00	0,00	0,01	-0,01	0,06	-0,03	0,00
Pin nicht berührt	<b>0,07**</b>	<b>0,07*</b>	<b>0,09***</b>	<b>0,03***</b>	<b>0,06***</b>	<b>0,19***</b>	0,06	0,06	0,00
SMR	<b>-2,76*</b>	<b>-4,63**</b>	<b>-1,98*</b>	-0,57	-1,16	<b>-4,46*</b>	<b>-8,79**</b>	<b>-5,62*</b>	<b>-0,26*</b>
REC an befallenen Zellen	<b>-1,19*</b>	<b>-2,30**</b>	-0,63	-0,18	-0,57	-1,24	<b>-3,08*</b>	-0,25	<b>-0,18***</b>
REC gesamt	0,14	0,54	-0,24	-0,13	-0,08	-0,53	-0,52	0,67	0,01
Selektivität REC	<b>-3,08***</b>	<b>-5,70***</b>	-1,23	-0,29	<b>-1,18*</b>	-2,43	<b>-7,14***</b>	-1,40	<b>-0,35***</b>

Nicht signifikant  $p \geq 0,05$ ; signifikant \*  $p < 0,05$ , \*\*  $p < 0,01$ , \*\*\*  $p < 0,001$ ;

Abkürzungen: SUTT: Stay under treatment treshold (Verbleiben unter der Behandlungsschwelle), MIndex: Milben-Index (kombinierter Index aus SUTT und 4 Gruppen von BBR); S1-S5: 1.-5. Sommerbefallsmessung (Puderzuckermethode), BBR: Brutbefallsrate, SMR: SMR (Suppressed Mite Reproduction), REC: Recapping;

Einheiten der Werte: SMR, Recapping, Brutbefallsrate, Pin-Test: relativer Anteil 0-1; Sommerbefallsmessung: Milben pro 10 g Bienen; SUTT: Gruppe von 1 bis 6; MIndex: Gruppe von 2 bis 10;

In Tabelle 6 sind die partiellen Regressionskoeffizienten der exakt zu messenden Merkmale Pin-Test und SMR/REC zu den Merkmalen, die den Milbenbefall repräsentieren, dargestellt. Im Modell wurde auf den Effekt des unterschiedlichen natürlichen Milbenabfalls im Frühjahr korrigiert. Die Zusammenhänge zeigen, dass alle Merkmale, ausgenommen der Ausprägungsformen Pin teilweise ausgeräumt und Recapping gesamt, signifikante Zusammenhänge zu den Milbenbefallswerten aufwiesen. Der Pin-Test zeigte vor allem bei den früheren Messungen stärkere Zusammenhänge, wobei die Ausprägungsform nicht berührte Zellen bis zur 3. Messung hoch signifikante Zusammenhänge zeigte. SMR zeigte ab der 3. Messung signifikante Zusammenhänge. Beim Brutbefall zeigte das Merkmal SMR einen signifikanten und die Merkmale Recapping an befallenen und Selektivität einen hoch signifikanten Zusammenhang.

Am Beispiel Einfluss von SMR auf S4 hätte die Änderung um eine Einheit (0 zu 1 = 0 % zu 100 %) einen Einfluss von -8,79 Milben/10 g Bienen bei der Sommerbefallsmessung. Das Beispiel Einfluss von Selektivität auf Brutbefall ist so zu interpretieren, dass sich bei der Änderung um eine Einheit der Selektivität (0 zu 1 = 0 % zu 100 %), der Brutbefall unter Konstanthaltung des natürlichen Milbenabfalls im Frühjahr, um 35 % reduziert ist.

#### 6.4 Regressionen von Merkmalen auf das Merkmal SMR und dessen Ausprägungsformen („unfruchtbar“, „verzögert“ und „kein Männchen“)

In Kapitel 6.4 sind Regressionen von Merkmalen auf SMR bzw. seinen Ausprägungsformen „unfruchtbar“, „verzögert“ und „kein Männchen“ dargestellt.

**Tabelle 7: Regressionskoeffizienten von Merkmalen auf SMR**

Modell	Einflussgebendes Merkmal	DF	b	Standardfehler	p-Wert	R <sup>2</sup>
2	Betrieb*Entn.zeitpunkt	5	-	-	0,322	0,196
2	S1-S3	1	-0,01	0,02	0,510	0,148
2	S1	1	0,01	0,03	0,695	0,146
2	S2	1	0,01	0,02	0,770	0,145
2	S3	1	-0,01	0,01	0,253	0,135
3	S4	1	-0,01	0,01	0,061	0,154
4	S5	1	-0,05*	0,02	0,014	0,269
2	BBR	1	-0,25**	0,08	0,002	0,228
2	SUTT	1	-0,01	0,01	0,487	0,149
2	MIndex	1	-0,02*	0,01	0,016	0,195
2	Pin v.	1	0,00	0,00	0,140	0,164
2	Pin tw.	1	0,00	0,00	0,797	0,145
2	Pin n.b.	1	-0,01**	0,00	0,001	0,233
2	REC b.	1	0,18***	0,04	< ,001	0,315
2	REC g.	1	0,22***	0,05	< ,001	0,279
2	SEL	1	0,18**	0,06	0,005	0,211

Nicht signifikant  $p \geq 0,05$ ; signifikant \*  $p < 0,05$ , \*\*  $p < 0,01$ , \*\*\*  $p < 0,001$ ;

Abkürzungen: S1-S5: 1.-5. Sommerbefallsmessung (Puderzuckermethode), BBR: Brutbefallsrate, SUTT: Stay under treatment threshold (Verbleiben unter der Behandlungsschwelle), MIndex: Milben-Index (kombinierter Index aus SUTT und der Gruppen von BBR), Pin v.: Pin-Test vollständig ausgeräumte Zellen, Pin n.b.: Pin-Test Zellen nicht berührt, REC b.: Recapping an befallenen Zellen; REC g.: Recapping gesamt, SEL: Selektivität des Recappings, DF: Freiheitsgrade, b: Regressionskoeffizient, R<sup>2</sup>: Bestimmtheitsmaß;

(Einheiten der Werte: SMR, Recapping, Brutbefallsrate, Pin-Test: relativer Anteil 0-1; Sommerbefallsmessung: Milben pro 10 g Bienen; SUTT: Gruppe von 1 bis 6; MIndex: Gruppe von 2 bis 10)

In Tabelle 7 werden die Einflüsse verschiedener Messungen auf das Merkmal SMR dargestellt. Bei den Sommerbefallsmessungen zeigte sich ab der 5. Messung ein signifikanter negativer ( $b = -0,05$ ) Zusammenhang mit SMR. Der Regressionskoeffizient der 4. Messung war nicht signifikant ( $p = 0,06$ ), kann jedoch aufgrund der Nähe zum Signifikanzniveau als Tendenz betrachtet werden. Die Brutbefallsrate zeigte ebenfalls einen signifikanten negativen ( $b = -0,25$ ) Regressionskoeffizienten auf das Merkmal SMR. Es bestand ein signifikanter negativer Einfluss ( $b = -0,02$ ) des Merkmals MIndex, das die Milbenpopulation in den Völkern abbilden soll. Der Pin-Test zeigte in den Ausprägungsformen vollständig und teilweise ausgeräumt keine signifikanten Einflüsse. Bei Betrachtung der Ausprägungsform nicht berührt, zeigte sich ein signifikanter negativer Regressionskoeffizient in geringer Höhe auf das Merkmal SMR ( $b = -0,01$ ). Das Merkmal Recapping zeigte in beiden Ausprägungsformen (gesamt und befallen) einen hoch signifikanten ( $p < 0,001$ ) Einfluss auf bzw. Zusammenhang mit SMR

(REC befallen  $b = 0,18$ , REC gesamt  $b = 0,22$ ). Die rechnerisch ermittelte Größe Selektivität des REC, zeigte ebenfalls einen signifikanten Einfluss auf bzw. Zusammenhang mit SMR ( $b = 0,18$ ).

**Tabelle 8: Regressionskoeffizienten von Merkmalen auf die SMR-Ausprägungsform „unfruchtbar“**

Modell	Einflussgebendes Merkmal	DF	b	Standardfehler	p-Wert	R <sup>2</sup>
2	Betrieb*Entn.zeitpunkt	5	-	-	0,964	0,256
2	S1-S3	1	0,00	0,00	0,588	0,250
2	S1	1	0,00	0,01	0,746	0,249
2	S2	1	0,00	0,01	0,533	0,251
2	S3	1	0,00	0,00	0,655	0,232
3	S4	1	0,00	0,00	0,131	0,144
4	S5	1	-0,01	0,01	0,515	0,039
2	BBR	1	<b>-0,06**</b>	0,02	0,009	0,300
2	SUTT	1	-0,01	0,00	0,207	0,261
2	MIndex	1	0,00	0,00	0,066	0,274
2	Pin v.	1	0,00	0,00	0,154	0,264
2	Pin tw.	1	0,00	0,00	0,351	0,255
2	Pin n.b.	1	0,00	0,00	0,249	0,259
2	REC b.	1	<b>0,03**</b>	0,01	0,009	0,300
2	REC g.	1	0,03	0,02	0,105	0,269
2	SEL	1	<b>0,04*</b>	0,02	0,029	0,285

Nicht signifikant  $p \geq 0,05$ ; signifikant \*  $p < 0,05$ , \*\*  $p < 0,01$ , \*\*\*  $p < 0,001$ ;

Abkürzungen: S1-S5: 1.-5. Sommerbefallsmessung (Puderzuckermethode), BBR: Brutbefallsrate, SUTT: Stay under treatment threshold (Verbleiben unter der Behandlungsschwelle), MIndex: Milben-Index (kombinierter Index aus SUTT und der Gruppen von BBR), Pin v.: Pin-Test vollständig ausgeräumte Zellen, Pin n.b.: Pin-Test Zellen nicht berührt, REC b.: Recapping an befallenen Zellen; REC g.: Recapping gesamt, SEL: Selektivität des Recappings, DF: Freiheitsgrade, b: Regressionskoeffizient, R<sup>2</sup>: Bestimmtheitsmaß; (Einheiten der Werte: SMR, Recapping, Brutbefallsrate, Pin-Test: relativer Anteil 0-1; Sommerbefallsmessung: Milben pro 10 g Bienen; SUTT: Gruppe von 1 bis 6; MIndex: Gruppe von 2 bis 10)

In Tabelle 8 wird dargestellt, wie verschiedene Merkmale die SMR-Ausprägungsform „unfruchtbar“ beeinflussten. Es zeigte sich ein signifikanter Einfluss bzw. Zusammenhang mit der Brutbefallsrate. Der Regressionskoeffizient ( $b = -0,06$ ) war dabei negativ, was bedeutet, dass bei einem niedrigeren Brutbefall höhere Werte der Ausprägungsform „unfruchtbar“ festzustellen waren. Recapping bei befallenen Zellen zeigte einen signifikanten Einfluss und einen positiven Regressionskoeffizienten ( $b = 0,03$ ). Das Merkmal Selektivität des Recappings zeigte einen signifikanten positiven Einfluss auf „unfruchtbar“ ( $b = 0,04$ ).

Tabelle 9: Regressionskoeffizienten von Merkmalen auf die SMR-Ausprägungsform „verzögert“

Modell	Einflussgebendes Merkmal	DF	b	Standardfehler	p-Wert	R <sup>2</sup>
2	Betrieb*Entn.zeitpunkt	5	-	-	0,125	0,171
2	S1-S3	1	0,00	0,01	0,838	0,091
2	S1	1	0,03	0,03	0,394	0,098
2	S2	1	0,02	0,02	0,327	0,100
2	S3	1	-0,01	0,01	0,336	0,099
3	S4	1	0,00	0,01	0,757	0,106
4	S5	1	<b>-0,03*</b>	0,01	0,032	0,220
2	BBR	1	-0,05	0,07	0,518	0,095
2	SUTT	1	0,01	0,01	0,467	0,096
2	MIndex	1	0,00	0,01	0,734	0,092
2	Pin v.	1	0,00	0,00	0,335	0,100
2	Pin tw.	1	0,00	0,00	0,487	0,096
2	Pin n.b.	1	<b>-0,01**</b>	0,00	0,003	0,171
2	REC b.	1	<b>0,11**</b>	0,04	0,003	0,171
2	REC g.	1	<b>0,16**</b>	0,05	0,001	0,188
2	SEL	1	0,08	0,06	0,206	0,106

Nicht signifikant  $p \geq 0,05$ ; signifikant \*  $p < 0,05$ , \*\*  $p < 0,01$ , \*\*\* $p < 0,001$ ;

Abkürzungen: S1-S5: 1.-5. Sommerbefallsmessung (Puderzuckermethode), BBR: Brutbefallsrate, SUTT: Stay under treatment threshold (Verbleiben unter der Behandlungsschwelle), MIndex: Milben-Index (kombinierter Index aus SUTT und der Gruppen von BBR), Pin v.: Pin-Test vollständig ausgeräumte Zellen, Pin n.b.: Pin-Test Zellen nicht berührt, REC b.: Recapping an befallenen Zellen; REC g.: Recapping gesamt, SEL: Selektivität des Recappings, DF: Freiheitsgrade, b: Regressionskoeffizient, R<sup>2</sup>: Bestimmtheitsmaß; (Einheiten der Werte: SMR, Recapping, Brutbefallsrate, Pin-Test: relativer Anteil 0-1; Sommerbefallsmessung: Milben pro 10 g Bienen; SUTT: Gruppe von 1 bis 6; MIndex: Gruppe von 2 bis 10)

In Tabelle 9 wird dargestellt wie verschiedene Merkmale die SMR-Ausprägungsform „verzögert“ beeinflussten. Die 5. Sommerbefallsmessung zeigte einen signifikanten negativen Einfluss auf bzw. Zusammenhang mit der Ausprägungsform „verzögert“ ( $b = -0,03$ ). Es zeigte sich ein signifikanter negativer Einfluss bzw. Zusammenhang des Merkmals Pin-Test in der Ausprägungsform nicht berührt. Der Regressionskoeffizient ( $b = -0,01$ ) war signifikant und negativ. Recapping bei befallenen Zellen zeigte einen Zusammenhang mit der Ausprägungsform „verzögert“. Der Regressionskoeffizient lag bei  $b = 0,11$ . Recapping gesamt zeigte einen signifikanten Einfluss auf die Ausprägungsform „verzögert“. Bei dieser Ausprägungsform lag der Regressionskoeffizient bei  $b = 0,16$ .

**Tabelle 10: Regressionskoeffizienten von Merkmalen auf die SMR-Ausprägungsform „kein Männchen“**

Modell	Einflussgebendes Merkmal	DF	b	Standardfehler	p-Wert	R <sup>2</sup>
2	Betrieb*Entn.zeitpunkt	5	-	-	0,803	0,110
2	S1-S3	1	-0,01	0,01	0,377	0,095
2	S1	1	-0,02	0,01	0,183	0,105
2	S2	1	-0,01	0,01	0,245	0,101
2	S3	1	0,00	0,00	0,702	0,061
3	S4	1	<b>-0,01**</b>	0,00	0,001	0,168
4	S5	1	-0,01	0,01	0,176	0,160
2	BBR	1	<b>-0,14***</b>	0,03	< ,001	0,302
2	SUTT	1	<b>-0,01**</b>	0,00	0,005	0,161
2	MIndex	1	<b>-0,01***</b>	0,00	< ,001	0,263
2	Pin v.	1	0,00	0,00	0,619	0,090
2	Pin tw.	1	0,00	0,00	0,788	0,089
2	Pin n.b.	1	0,00	0,00	0,621	0,090
2	REC b.	1	<b>0,04**</b>	0,01	0,004	0,163
2	REC g.	1	0,03	0,02	0,147	0,108
2	SEL	1	<b>0,06**</b>	0,02	0,006	0,158

Nicht signifikant  $p \geq 0,05$ ; signifikant \*  $p < 0,05$ , \*\*  $p < 0,01$ , \*\*\*  $p < 0,001$ ;

Abkürzungen: S1-S5: 1.-5. Sommerbefallsmessung (Puderzuckermethode), BBR: Brutbefallsrate, SUTT: Stay under treatment threshold (Verbleiben unter der Behandlungsschwelle), MIndex: Milben-Index (kombinierter Index aus SUTT und der Gruppen von BBR), Pin v.: Pin-Test vollständig ausgeräumte Zellen, Pin n.b.: Pin-Test Zellen nicht berührt, REC b.: Recapping an befallenen Zellen; REC g.: Recapping gesamt, SEL: Selektivität des Recappings, DF: Freiheitsgrade, b: Regressionskoeffizient, R<sup>2</sup>: Bestimmtheitsmaß; (Einheiten der Werte: SMR, Recapping, Brutbefallsrate, Pin-Test: relativer Anteil 0-1; Sommerbefallsmessung: Milben pro 10 g Bienen; SUTT: Gruppe von 1 bis 6; MIndex: Gruppe von 2 bis 10)

In Tabelle 10 wird dargestellt, wie verschiedene Merkmale die SMR-Ausprägungsform „kein Männchen“ beeinflussten. Die 4. Sommerbefallsmessung zeigte einen signifikanten Einfluss auf bzw. Zusammenhang mit der Ausprägungsform „kein Männchen“ ( $b = -0,01$ ). Die Brutbefallsrate zeigte einen hoch signifikanten Einfluss auf bzw. Zusammenhang mit der Ausprägungsform „kein Männchen“. Der Regressionskoeffizient der Brutbefallsrate auf „kein Männchen“ war hoch signifikant negativ ( $b = -0,14$ ). Das Merkmal SUTT zeigte einen signifikanten Einfluss auf bzw. Zusammenhang mit „kein Männchen“ ( $b = -0,01$ ). MIndex, das Merkmal das die Milbenpopulation in den Völkern beschreiben soll, zeigte einen hoch signifikanten negativen Einfluss bzw. Zusammenhang zu „kein Männchen“ ( $b = -0,01$ ). Recapping an befallenen Zellen hatte einen signifikanten Einfluss auf „kein Männchen“ ( $b = 0,04$ ). Die Selektivität des Recappings zeigte einen signifikanten Regressionskoeffizienten auf die Ausprägungsform „kein Männchen“ ( $b = 0,06$ ).

## 6.5 Heritabilitäten

In Tabelle 11 sind die Ergebnisse für einzelne Merkmale nach der im Methodenteil beschriebenen Vorgehensweise der Heritabilitätsschätzung mit einem Muttermodell dargestellt.

**Tabelle 11: Heritabilitätsschätzwerte berechnet durch eine Halbgeschwisteranalyse mit einem Muttermodell. Berücksichtigt wird der Einfluss der Mutter (2a). Dazu wurde Modell 5 verwendet. Angenommener Verwandtschaftskoeffizient:  $r = 0,38$  (8 Drohnen, 10 Drohnenvölker)**

Merkmals	Modell	$h^2$	Standardfehler	n
SMR	5	0,13	0,11	105
REC gesamt	5	0,09	0,10	105
REC an befallenen Zellen	5	0,11	0,11	105
Pin vollständig	5	0,41	0,11	105
Pin Zellen nicht berührt	5	0,18	0,11	105

Abkürzungen: SMR: Suppressed Mite Reproduction, REC: Recapping;

Mithilfe der vereinfachten Formeln für Heritabilitätsschätzwerte und Standardfehler, konnten Heritabilitätsschätzwerte für SMR von  $0,13 \pm 0,11$ , für Recapping gesamt von  $0,09 \pm 0,10$ , für Recapping an befallenen Zellen von  $0,11 \pm 0,11$ , für den Pin-Test (vollständig ausgeräumt) von  $0,41 \pm 0,11$  und für den Pin-Test (nicht berührter Zellen) von  $0,18 \pm 0,11$  festgestellt werden.

## 7 Diskussion

Der Fokus der Bienenzucht richtet sich derzeit sehr stark auf Gesundheits- bzw. Resistenzmerkmale gegen Parasiten und Krankheiten. Eine zentrale Stellung nehmen dabei Strategien zur Verbesserung der Resistenz gegenüber dem Parasiten *Varroa destructor* ein. Diese Arbeit soll einen Beitrag zur Erforschung von Resistenzmerkmalen gegen *V. destructor* leisten.

Die Messung von Resistenzmerkmalen verursacht aber nach wie vor einen großen Zeit- und Arbeitsaufwand, der über jenen für die Messung von Leistungsmerkmalen hinausgeht. Deshalb ist bei einer Implementierung von zusätzlichen Prüfmethode in die routinemäßige Leistungsprüfung die „Praxistauglichkeit“ von großer Relevanz für die Prüfbetriebe.

Nicht alle bisher erforschten Resistenzmerkmale gegen *V. destructor* entsprechen züchterischen Vorstellungen bzw. sind mit Zuchtzielen vereinbar. Das Merkmal reduzierte Volksstärke trägt in natürlich überlebenden *A. mellifera* Populationen zur Resistenz bei. Die Wirkung des Merkmals ist damit zu begründen, dass stärkere und stark brütende Völker auch einer stärkeren Entwicklung der Population von *V. destructor* ausgesetzt sind (Rosenkranz et al., 2010). Jedoch kann von der geringen Volksstärke auch eine geringere Honigleistung dieser Völker erwartet werden. Dies könnte sich auch negativ auf die Bestäubungsleistung auswirken.

Bei der Erhebung des Hygiene-Verhaltens gegenüber toter Brut mit dem Pin-Test wurden im Durchschnitt 40 % der Zellen nach 8 Stunden ausgeräumt. Laut dem Methodenhandbuch der AGT wäre die Zeitspanne so zu wählen, dass im Mittel etwa 50 % der Zellen ausgeräumt sind (AGT, 2013). Demnach hätte die Zeitspanne etwas länger angesetzt werden können, jedoch erschien die Zeitspanne von 8 Stunden zweckmäßig für die Standardisierung. Des Weiteren wäre es von Vorteil gewesen, bei allen Völkern mindestens zweimal den Pin-Test durchzuführen. Ein direkter Vergleich mit Ergebnissen aus früherer Literatur ist aufgrund der oft unterschiedlichen Zeitspannen zwischen töten und auswerten nicht möglich. Dabei wurde das unspezifische Hygiene-Verhalten entweder durch den Pin-Test oder den FKB-Test getestet. Bei den in den USA durchgeführten Versuchen zum MNHYG Programm wurde 48h nach dem Töten die Ausräumrate festgestellt. Völker, die nach dieser Zeit mehr als 95 % der Zellen ausräumten, wurden als hygienisch betrachtet (Ibrahim und Spivak, 2006).

Bei der Versuchsdurchführung wurde der Sommerbefall mit der Puderzuckermethode ermittelt. Vorteile dieser Methode sind, dass die Bienen dabei überleben, die Ergebnisse sofort erhalten werden und gegebenenfalls direkt eine Behandlung durchgeführt werden kann. Dies ist vor allem bei größeren Entfernungen zu den Ständen relevant. Nachteile sind der zeitliche Mehraufwand und dass die Auszählung nicht zeitlich unabhängig erfolgen kann.

Bei der Berechnung der phänotypischen Korrelationen wurden die Spearman'schen Korrelationen berechnet. Die Verwendung der Spearman'schen Rangkorrelationskoeffizienten wird damit begründet, dass es bei den Sommerbefallsmessungen Ausreißer gibt und die Werte SUTT und MIndex gruppiert sind. Die Korrelationskoeffizienten wurden auch nach Pearson berechnet, zeigten jedoch keine relevanten Unterschiede zu denen nach Spearman.

Für die Berechnung der Regressionskoeffizienten der weiteren Auswertungen wäre eine Transformation der Daten einzelner Merkmale auf Normalverteilung in Frage gekommen. Es wurde jedoch mit den approximativen Werten gerechnet, da sich die Interpretation der Ergebnisse schwieriger gestaltet hätte. Da einige Merkmale nicht normalverteilt waren, gelten die berechneten p-Werte nur approximativ.

Bei der Erstellung der Modelle wurden verschiedene Effekte berücksichtigt. Die Effekte, auf die korrigiert wurde, wurden aus folgenden Gründen gewählt: Der natürliche Milbenabfall im Frühjahr wurde ins Modell aufgenommen, da die Völker im Frühjahr unterschiedliche Befallswerte aufwiesen. Der Effekt des natürlichen Milbenabfalls im Frühjahr war nicht signifikant, sowohl bei SMR als auch seinen Ausprägungsformen. Durch diese Korrektur sollten die Völker mit einem konstant gehaltenen Befall im Frühjahr betrachtet werden.

Der Effekt des Betriebes war signifikant, wenn als abhängiges Merkmal SMR und die Ausprägungsformen „unfruchtbar“ und „verzögert“ getestet wurde. Bei „kein Männchen“ war der Effekt des Betriebes nicht signifikant. Jedoch war es nicht auszuschließen, dass die Unterschiede durch die unterschiedliche Genetik bedingt waren. Es war keine gleichmäßige Verteilung der Töchter von den verschiedenen Müttern (2a) gegeben. Der Effekt des Entnahmezeitpunktes war nicht signifikant bei SMR bzw. allen seinen Ausprägungsformen. Dieser Effekt wurde jedoch aufgrund der Möglichkeit eines Einflusses berücksichtigt. Der Effekt des Beurteilers bei der Auswertung von SMR und Recapping wurde nicht berücksichtigt. Da die von den Betrieben selbst ausgewerteten Proben ihre eigenen Völker betrafen, ist mit der Berücksichtigung von Betrieb bzw. Stand ein Teil dieses Effektes mitberücksichtigt. Da alle Personen für die Auswertung am Bieneninstitut in Kirchhain eingeschult wurden und nach dem standardisierten Protokoll nach Büchler et al. (2017) vorgegangen wurde, wurde von keinem Beurteilereffekt ausgegangen und dieser nicht in das Modell aufgenommen.

Es wurde ein Modell für die Berechnung der Einflüsse von SMR, Recapping und dem Pin-Test auf die Milbenpopulation in den Völkern erstellt. Für die Berechnung der Zusammenhänge der verschiedenen Merkmale mit SMR bzw. dessen Ausprägungsformen wurden 3 Modelle erstellt. Diese waren notwendig, da bei den Merkmalen 4. und 5. Sommerbefallsmessung nur ein Entnahmezeitpunkt möglich war (jeweils bei der 4. Messung entnommen) und darauf nicht korrigiert werden konnte. Des Weiteren hat nur ein Betrieb die 5. Sommerbefallsmessung durchgeführt, weswegen bei diesem Merkmal auch keine Korrektur auf den Betrieb möglich war. Ein weiteres Modell wurde für die Schätzung der Varianzkomponenten für die Heritabilitätsschätzung verwendet. Bei diesem Modell 5 wurde anstatt der Korrektur auf den Betrieb, auf den Stand (von denen es wieder mehrere innerhalb der Betriebe gab) korrigiert. Die Korrektur den Stand-Effekt wurde gewählt, da in der Arbeit von Brascamp (2018) auf den Effekt des Standes korrigiert wurde und um für die Diskussion der eigenen Berechnung eine bessere Vergleichbarkeit zu ermöglichen.

Die Ausprägung der Merkmale SMR und Recapping wies eine hohe Variabilität auf (Minimum 0 % SMR, Maximum 68 % SMR). Im Durchschnitt der europäischen Bienen-Subspezies wird eine durchschnittliche Nicht-Reproduktivität von 5 bis 20 % der Milben nach dem Befall von Arbeiterinnen- oder Drohnenbrut angenommen (Rosenkranz et al., 2010). Betrachtet man das arithmetische Mittel des Merkmals SMR (26 %), kann dieser erhöhte Wert vermutlich durch die langjährige und intensive Selektion vor allem auf Hygiene-Verhalten, als auch Milbenbefallsentwicklung und die vorhandenen Korrelationen erklärt werden. Einige natürlich überlebende *A. mellifera* Populationen zeigen Nicht-Reproduktivitätsraten von 40 bis 50 % (Locke, 2016). Die erhöhten SMR bzw. Nicht-Reproduktivitätsraten, die in der Studie von Locke (2016) festgestellt wurden, deuten auf die hohe Relevanz des Merkmals SMR bei resistenten Populationen hin.

Die Ergebnisse der Untersuchungen zeigten, dass zwischen SMR, Recapping und einigen bisher durch die Leistungsprüfung (AGT) erfassten Merkmalen, signifikante phänotypische Korrelationen auftraten. Die höchste signifikante ( $p < 0,01$ ) phänotypische Korrelation zwischen

SMR und einem bisher durch die Leistungsprüfung erfassten Merkmal, stellte die Messung des Sommerbefalls von *V. destructor* bei der 4. Messung (Anfang September) ( $r = 0,36$ ) dar. Der Zusammenhang zwischen dem Bienenbefall bei späteren Messungen und SMR wurde auch in anderen Studien bestätigt (Harbo und Harris, 2000; Harris et al., 2003). In Modellen zur Populationsentwicklung zeigte sich, dass eine herabgesetzte Reproduktionsfähigkeit einen starken Einfluss auf die Entwicklung der Milbenpopulation hat (Calis et al., 1999). Diese Zusammenhänge konnten auch durch Auswertung dieses Datensatzes bestätigt werden, vor allem bei Betrachtung der Zusammenhänge zwischen Merkmalen der Milbenpopulationsentwicklung und SMR. Demnach wurde vor allem bei späteren Messungen des Sommerbefalls festgestellt, dass höhere SMR-Werte niedrigere Befallswerte mit *V. destructor* bedingen.

Die höchste signifikante ( $p < 0,05$ ) phänotypische Korrelation zwischen Recapping bei befallenen Zellen und einem bisher durch die Leistungsprüfung erfassten Merkmal, stellte auch wie bei SMR, die Messung des Sommerbefalls von *V. destructor* bei der 4. Messung (Anfang September), sowie der Pin-Test bei Betrachtung der Ausprägungsform „vollständig ausgeräumt“ (jeweils  $r = 0,24$ ) dar. In der Ausprägungsform vollständig ausgeräumt war die Korrelation positiv, in der Ausprägungsform nicht berührt negativ, was auf einen logisch begründbaren Zusammenhang zwischen dem unspezifischen Hygiene-Verhalten und dem Merkmal Recapping hindeutet. Recapping gesamt zeigte wiederum die höchste signifikante ( $p < 0,01$ ) Korrelation zum Pin-Test in der Ausprägungsform „Zellen nicht berührt“. Die Zusammenhänge zwischen Recapping und einer verringerten Reproduktionsfähigkeit wurden bereits von Harris et al. (2012) bestätigt. Auch der Zusammenhang zwischen verringerter Reproduktivität und dem Milbenpopulationswachstum wurden von Harbo und Harris (2000) bzw. Harris et al. (2003) bestätigt. Untersuchungen an natürlich *V. destructor* überlebenden *A. mellifera* Populationen zeigten höhere Recapping-Werte in diesen Populationen im Vergleich zu Milben-anfälligen Populationen. Nach Oddie et al. (2018) könnte Recapping zu einem geringerem Milbenbefall führen.

Durch die statistische Auswertung konnten hoch signifikante ( $p < 0,001$ ) phänotypische Korrelationen zwischen SMR und Recapping (SMR-REC an befallenen Zellen  $r = 0,42$ , SMR-REC gesamt  $r = 0,37$ , SMR- Selektivität des REC  $r = 0,32$ ) festgestellt werden. Ähnliche Korrelationen wurden auch von Harris et al. (2012), festgestellt. Auch bei getrennter Betrachtung der einzelnen Ausprägungsformen von SMR (unfruchtbar, verzögert, kein Männchen) fanden sich stets signifikante Zusammenhänge zum Merkmal Recapping. Unter Berücksichtigung verschiedener Effekte konnte der stärkste Einfluss von Recapping auf die Ausprägungsform „verzögert“ festgestellt werden. Villa et al. (2009), stellten höhere Recapping Werte bei auf SMR/VSH selektierten Völkern fest und zogen Recapping als vereinfachte Selektionsmethode für das Merkmal VSH in Erwägung.

Im Versuch konnten Beziehungen zwischen dem Hygiene-Verhalten gegenüber toter Brut (Pin-Test) und SMR festgestellt werden. Hier zeigte sich vor allem bei Betrachtung der Ausprägungsform „nicht berührt“ ein stärkerer Zusammenhang. Danka et al. (2013) bestätigten auch ähnliche Ergebnisse. Des Weiteren fanden sie heraus, dass auf VSH/SMR ausgelesene Bienen, die nie auf Hygiene-Verhalten, gemessen mit dem Freeze-Killed-Brood-Test, selektiert waren, bei diesem Merkmal sehr gute Werte zeigten.

Bei Betrachtung der von den Bienen manipulierten Zellen (Gegenteil von „nicht berührt“) in kürzerer Zeit (6h, 12h, 24h) zeigten diese sogar bessere Werte, als die direkt auf das Merkmal selektierten Bienen, obwohl diese nie auf Hygiene-Verhalten (FKB-Test) selektiert wa-

ren. Durch diese Ergebnisse vermutete man, dass es genetische Zusammenhänge zwischen dem Hygiene-Verhalten und VSH/SMR gibt (Danka et al., 2013).

Die guten Ergebnisse beim Hygiene-Verhalten durch auf SMR selektierte Bienen wurden auch von Ibrahim und Spivak (2006) bestätigt. Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit zeigten stärkere Zusammenhänge zwischen der Ausprägungsform „nicht berührt“ zu SMR, als „vollständig ausgeräumt“ zu SMR. Auch die Ergebnisse von Danka et al. (2013) zeigten einen engeren Zusammenhang von SMR und Pin-Test „nicht berührt“, gegenüber SMR und Pin-Test „vollständig ausgeräumt“. Daher kann die Ausprägungsform „nicht berührt“ des Pin-Tests für den Eingang in eine zukünftige Vorselektion, bzw. die allgemeine Leistungsprüfung empfohlen werden. Die zusätzliche Erfassung würde zudem einen sehr geringen Mehraufwand gegenüber der Erfassung der „vollständig ausgeräumten“ Zellen darstellen. Bei alleiniger Erfassung wäre „nicht berührt“ sogar schneller zu erheben als die bisherige Erfassung von „vollständig ausgeräumt“. Zusätzlich bestehen auch höher signifikante ( $p < 0,001$ ) Zusammenhänge und höhere Regressionskoeffizienten zwischen „nicht berührt“ und der Milbenpopulationsentwicklung bis zur dritten Messung in den Völkern des Versuches.

Völker, die auf VSH, beziehungsweise SMR selektiert wurden, schafften es, den Brutbefall und die Milbenfertilität in stark befallenen Waben herabzusetzen (Villa et al., 2009). Im Versuch wurde nicht überprüft, ob Völker dazu in der Lage sind, den Brutbefall in stark befallenen Waben herabzusetzen. Es wurde jedoch ein negativer Einfluss auf die Brutbefallsrate durch die Merkmale SMR und Recapping festgestellt. Besonders erhöhte Werte von Recapping an befallenen Zellen und der Selektivität des Recappings zeigten hoch signifikante ( $p < 0,001$ ) negative Zusammenhänge mit dem Brutbefall. Die insgesamt relativ hohe Brutbefallsrate konnte dadurch bedingt sein, dass bei vielen Völkern bei der Entnahme sehr geringe Brutumfänge vorhanden waren und sich die Milben in den verbleibenden Brutzellen stärker konzentrierten.

Des Weiteren zeigten die Ergebnisse, dass die Bienen öfter mit Milben befallene Zellen als nicht befallene Zellen öffneten. Das Merkmal Selektivität des Recappings bringt die Fähigkeit der Identifikation dieser Zellen durch die Bienen zum Ausdruck. Die Selektivität des Recappings hatte einen starken Einfluss darauf, die Milbenpopulation in den Völkern niedriger zu halten. Die Selektivität des Recappings zeigte die stärksten Zusammenhänge von allen betrachteten Merkmalen mit dem Merkmal SUTT, welches das Verbleiben der Völker unter der Behandlungsschwelle beschreibt. Enge Beziehungen bestanden auch zum Merkmal MIndex, das den Bienen- und Brutbefall kombiniert. Ibrahim und Spivak (2006), stellten die Hypothese auf, dass Bienen mit höheren SMR-Werten eine größere Sensitivität zum Erkennen mit Milben befallener Brut haben. Betrachtet man den signifikanten Einfluss von SMR auf den Milbenbefall in den Völkern, die signifikante Korrelation zwischen SMR und Recapping und die signifikanten Zusammenhänge zwischen der Selektivität des Recappings und dem reduzierten Milbenbefall in den Völkern, würde diese Hypothese unterstützt. Ibrahim und Spivak (2006) machten olfaktorische Reize, ausgelöst durch den Befall mit *V. destructor*, für die Erkennung der Zellen verantwortlich.

Die Sommerbefallsmessungen von der 1. bis zur 5. Messung zeigten interessante Ergebnisse. Zum einen wurden durch die Berechnung der phänotypischen Korrelationen Zusammenhänge ab der 2., 3. bzw. 4. Sommerbefallsmessung zu den Merkmalen SMR, Recapping, dem Pin-Test und dem Brutbefall festgestellt. Bei Betrachtung des Einflusses, den exakt zu messende Merkmale (Pin-Test, SMR, Recapping) auf die Entwicklung des Sommerbefalls haben, waren die signifikanten aber relativ niedrigen Regressionskoeffizienten ausgelöst durch das

Merkmal Hygiene-Verhalten (Pin-Test) festzustellen. Besonders interessant erschienen die signifikanten und relativ hohen Regressionskoeffizienten, wenn die Merkmale SMR, Recapping an befallenen Zellen und der Selektivität des Recappings als einflussgebende Merkmale berücksichtigt wurden. Nach diesen Ergebnissen könnte man SMR und Recapping (vor allem die Selektivität des Recappings) als feinere Werkzeuge zur Selektion auf eine geringere Befallsentwicklung in den Völkern betrachten. Die Ergebnisse deckten sich somit mit Erkenntnissen, dass das Merkmal SMR die Populationsentwicklung von *V. destructor* verlangsamt (Harris und Harbo, 2000).

Die Befallsentwicklung bei den Messungen im Sommer war grundsätzlich ansteigend. Es wurden jedoch Völker vorzeitig ausgeschieden und behandelt. Daher ergab es sich, dass der Mittelwert bei der 5. Messung weniger Milben/10 g Bienen aufwies als bei der 4. Messung.

Die Prüfungen des Milbenbefalls im Sommer könnten in Zukunft zu noch späteren Zeitpunkten durchgeführt werden, zumindest solange bis die Brutfreiheit erreicht wird. Daher könnten bei weiteren Zuchtfortschritten und immer späteren Messungen die Merkmale SMR und Recapping stärker an Bedeutung gewinnen, da laut Harbo und Harris (1999a) genau und exakt zu messende Merkmale für die Identifikation von geringfügig besseren Völkern notwendig sind.

Es wurden auch Korrelationen zwischen den hier beschriebenen Resistenzmerkmalen und den anderen in der Leistungsprüfung gemessenen Leistungs- und Verhaltensmerkmalen (Honigleistung, Sanftmut, Wabensitz, Schwarmneigung) untersucht. Alle Korrelationen waren niedrig und nicht signifikant (unpublizierte Ergebnisse des vorliegenden Versuches).

Wie auch von der AGT (2018) empfohlen, bestätigt der vorliegende Versuch, vorrangig Prüf-völker, die eine geringe Befallsentwicklung und gute Ergebnisse beim Pin-Test zeigen, auf SMR bzw. Recapping nach dem RNSBB-Protokoll zu testen.

Die Heritabilität für SMR, die mit der angewendeten Methode mit  $0,13 \pm 0,11$  geschätzt wurde, muss als grobe Vorschätzung interpretiert werden. Die Heritabilität von SMR wird in der Literatur noch sehr vage angegeben und wurde bisher mit 0,06 bis 0,46, mit hohen Standardfehlern berechnet (Harbo und Harris, 1999b). Brascamp (2018) berechnete aus dem Datensatz des Versuchs einen Schätzwert für die Heritabilität von SMR von  $0,20 \pm 0,62$ . Die Berechnung berücksichtigte Verwandtschaftsbeziehungen bis zum Jahr 2000 und beinhaltete im Modell den Stand als fixen Effekt und die Arbeitergruppe als zufälligen Effekt. Im Vergleich zur eigenen Berechnung liegt der Schätzwert in einem ähnlichen Bereich, jedoch mit einem sehr viel größeren Standardfehler. Diese Berechnung ist genauer, als die dargestellten eigenen Berechnungen mit den approximativen Gleichungen, vor allem bei der Berechnung der Standardfehler. Insgesamt war der Datensatz für genetische Auswertungen mit annehmbaren Genauigkeiten zu klein (persönliche Mitteilung Brascamp, 2018).

Hoppe (2018) berechnete auch unter Berücksichtigung der paternalen Seite Heritabilitäten und genetische Korrelationen aus diesem Datensatz. Er stellte hohe genetische Korrelationen zwischen SMR und Recapping fest und beurteilte diese als bereits realistisch. Die Heritabilität wurde mit einem anderen Modell, ohne Berücksichtigung des Standeffektes, jedoch mit Berücksichtigung der paternalen Seite berechnet. Dabei wies die Heritabilität von SMR eine Größenordnung ähnlich der des Pin-Tests von ca. 0,4 auf. Recapping hatte auch bei dieser Berechnung eine geringere Heritabilität als SMR, wobei die Heritabilitätsschätzwerte nicht verlässlich bestimmbar waren (persönliche Mitteilung Hoppe, 2018). Es kann durch diese Berechnungen eine Heritabilität in mittlerer Höhe vermutet werden. Am Bieneninstitut

in Kirchhain (Deutschland) konnte die durchschnittliche phänotypische Ausprägung des Merkmals SMR von 2013 bis 2017 von 18,6 % auf 35,2 % durch Selektion gesteigert werden (Büchler, 2018). Eine Heritabilität in mittlerer Höhe würde die Erfolge des am USDA-ARS (United States Department of Agriculture, Agricultural Research Service) Honey Bee Breeding, Genetics and Physiology Laboratory in Baton Rouge (USA) initiierten SMR/VSH-Programmes und die Selektionserfolge am Bieneninstitut in Kirchhain (Deutschland) erklären (Ibrahim und Spivak, 2006; Büchler, 2018). Für das Merkmal Hygiene-Verhalten (Pin-vollständig) wurde ein Heritabilitätsschätzwert in der Höhe von  $0,41 \pm 0,11$  berechnet. In der Literatur finden sich Heritabilitätsschätzwerte für den Pin-Test in der Höhe von 0,29 bis 0,65, wobei der Wert 0,29 von Boecking et al. (2000) einen geringen Standardfehler von  $\pm 0,03$  aufwies und über 11.000 Völker in die Berechnung eingingen (Boecking et al., 2000; Harbo und Harris, 1999). Die vorliegende Datengrundlage ist für Parameterschätzungen mit annehmbaren Genauigkeiten zu klein und muss daher als eine grobe Vorschätzung interpretiert werden. Die Ergebnisse liefern eine Grundlage für eine mögliche zukünftige Implementierung der Merkmale SMR und Recapping in Zuchtprogrammen. Für das Verständnis und eine genauere Erfassung dieser Merkmale ist weitere Forschungsarbeit notwendig.

Es besteht die Annahme, dass die Merkmale SMR und Recapping (vor allem die Selektivität) zur Verringerung der Milbenpopulation in den Völkern beigetragen haben könnten, da die Zusammenhänge jeweils signifikant waren. Speziell bei Völkern mit weniger Milben scheinen vor allem SMR und die Selektivität von Recapping von größerer Bedeutung zu sein, da bei den späteren Messungen stärkere Zusammenhänge und rechnerisch höhere Regressionskoeffizienten gegeben waren. Hier wäre ebenfalls weitere Forschungsarbeit zur Entwicklung einfacher und verlässlicher Prüfmethode notwendig, um auch bei größeren Umfängen an Prüfvölkern diese Merkmale erfassen zu können.

## 8 Schlussfolgerung und praktische Anwendung der Ergebnisse

Die Resistenzzucht gegen *V. destructor* hat eine große Aufgabe und Verantwortung gegenüber der Umwelt und Gesellschaft. Das vorrangige Ziel der Bienenzucht die Resistenzmerkmale berücksichtigt, ist, Bienen zu prüfen, zu selektieren und gezielt anzupaaren. Diese sollen die Population von *V. destructor* nachhaltig und verlässlich unter Schadschwellen halten können.

Dazu ist in erster Linie die Messung der Befallsentwicklung im Sommer relevant. Man könnte in Zukunft versuchen, erst später mit der Messung des Sommerbefalls zu beginnen um damit Zeit und Kosten der Leistungsprüfung einzusparen. Dieses Merkmal scheint auch für eine Vorselektion der Merkmale SMR und Recapping zurzeit am besten geeignet zu sein. Somit besteht über die Mehrfachmessungen im Sommer die Möglichkeit, Völker mit höheren SMR-Werten vorab ausfindig zu machen. Diese würden dann der aufwändigen Auswertung unterzogen. Damit könnten wiederum bessere Zuchterfolge im Merkmal Populationsentwicklung erwartet werden, als bei alleiniger Betrachtung und Selektion nach der direkten Ausprägung des Merkmals. Die vorgeschlagene Vorgehensweise wird damit begründet, dass exakt zu messende Merkmale gegenüber von Befallsmessungen für Selektionsentscheidungen zu bevorzugen sind.

Der Pin-Test zeigte in der Ausprägungsform „nicht berührt“ höhere Korrelationen zum Merkmal SMR. Da die Ausprägungsform „nicht berührt“ bei alleiniger Erhebung schneller und einfacher (mögliche Verkürzung des Intervalls zwischen anstecken und auswerten) zu erheben wäre, kann die Erhebung dieser Ausprägungsform in Zuchtprogrammen aus Sicht der vorliegenden Ergebnisse angedacht werden.

Beim Treffen der Regionalgruppensprecher und Belegstellenleiter der AGT am 21.10.2018 in Görlitz (Deutschland), wurde die vorliegende Arbeit präsentiert. Aufgrund der Ergebnisse der vorliegenden Arbeit und der Ergebnisse der Leistungsprüfung aus Kirchhain (2016-2018), berichtet von Dr. Ralph Büchler, wurde die Änderung der Leistungsprüfung für den Pin-Test diskutiert. Im AGT-Zuchtprogramm sollen in Zukunft die „nicht berührten Zellen“, im Gegensatz zu den bisher „vollständig ausgeräumten Zellen“ erfasst werden. Dazu wird die Erhebung, Dateneingabe in beebreed und die darauf aufbauende Zuchtwertschätzung an diese Erkenntnisse angepasst.

Für eine Vorselektion könnte zukünftig ein Selektionsindex eingeführt werden. Zudem scheint der Einfluss von Recapping auf SMR, auch unter Berücksichtigung der Literatur, bestätigt zu sein. Vor allem die Selektivität des Recappings, also die treffsichere Identifizierung von befallenen Zellen, scheint einen großen Einfluss auf eine verringerte Milbenpopulation in den Völkern (wenn Bienen- und Brutbefall kombiniert werden) zu haben. Somit stellen die Merkmale SMR und Recapping feinere Werkzeuge für eine Selektion auf geringeren Milbenbefall in den Völkern gegenüber den bisher in der Leistungsprüfung gemessenen Merkmalen dar. Trotzdem bleibt die Erhebung der Merkmale SMR und Recapping sehr zeitaufwändig.

Zukünftige Forschung sollte sich auf die Untersuchung verlässlicher und einfacher Prüfmethoden für diese Resistenzmerkmale fokussieren. Dazu wäre weiterer Forschungsbedarf zur Erfassung genetischer Parameter erforderlich, vor allem, wenn es um eine zukünftige Implementierung der Merkmale SMR und Recapping in Zuchtprogrammen geht.

## 9 Literaturverzeichnis

ACA (2018) ACA-Austrian Carnica Association.

Online verfügbar: <http://www.aca.at/index.php?seitenId=47>

[Zugriff am 08 05 2018].

AGT (2013) AGT-Arbeitsgemeinschaft Toleranzzucht e.V.. Methodenhandbuch.

Online verfügbar:

[www.toleranzzucht.de/fileadmin/websitedateien/pdf/Methodenhandbuch\\_2. Auflage\\_2013-03-13.pdf](http://www.toleranzzucht.de/fileadmin/websitedateien/pdf/Methodenhandbuch_2._Auflage_2013-03-13.pdf)

[Zugriff am 31 10 2018].

AGT (2018) AGT-Arbeitsgemeinschaft Toleranzzucht e.V.. Untersuchung der Reproduktion von Varroamilben zur Auslese auf varroasensitive Hygiene (VSH).

Online verfügbar: <http://www.toleranzzucht.de/zuchtprogramm/vsh-untersuchung/>

[Zugriff am 19 09 2018].

Alberti, G. und Hänel, H. (1986) Fine Structure of the Genital System in the bee parasite, *Varroa Jacobsoni* (Gamasida: Dermanyssina) with Remarks on Spermiogenesis, Spermatozoa and Capacitation. *Experimental and Applied Acarology* 2, 63-104.

Anderson, D. L. und Trueman, J. W. (2000) *Varroa jacobsoni* (Acari: Varroidae) is more than one species. *Experimental and Applied Acarology* 24, 165–189.

Anholt, R. R. H. und Mackay, T. F. C. (2004) Quantitative Genetic Analyses of Complex behaviours in *Drosophila*. *Nature Reviews Genetics* 5, 838-849.

Arechavaleta-Velasco, M. E. und Guzmán-Novoa, E. (2001) Relative effect of four characteristics that restrain the population growth of the mite *Varroa destructor* in honey bee (*Apis mellifera*) colonies. *Apidologie* 32, 157-174.

BASG (2018) BASG - Bundesamt für Sicherheit im Gesundheitswesen  
Arzneispezialitätenregister.

Online verfügbar:

[https://aspregister.basg.gv.at/aspregister/faces/aspregister.jspx?\\_afLoop=86479571973263071&\\_afWindowMode=0&\\_adf.ctrl-state=2czl0sb5v\\_4](https://aspregister.basg.gv.at/aspregister/faces/aspregister.jspx?_afLoop=86479571973263071&_afWindowMode=0&_adf.ctrl-state=2czl0sb5v_4)

[Zugriff am 16 09 2018].

Biene Österreich (2018) Struktur der Bienenhaltung in Österreich.

Online verfügbar: <https://www.biene-oesterreich.at/daten-und-zahlen+2500++1000247>

[Zugriff am 12 04 2018].

Bienefeld, K. (2018) Aktueller Zuchtwertschätzbericht, persönliche Mitteilung. Hohen Neuendorf.

- Bienefeld, K., Ehrhardt, K. und Reinhardt, F. (2007) Genetic evaluation in the honey bee considering queen and worker effects- A BLUP-Animal Model approach. *Apidologie* 28, 77-85.
- Bienefeld, K., Zautke, F., Pronin, D. und Mazeed, A. (1999) Recording the proportion of damaged *Varroa jacobsoni* Oud. in the debris of honey bee colonies (*Apis mellifera*). *Apidologie* 30, 249-256.
- BienenzuchtG NÖ (1980) Niederösterreichisches Bienenzuchtgesetz (BienenzuchtG NÖ), Fassung vom 30.05.1980, LGBl. Nr.6320/1-0.  
Online verfügbar:  
<https://www.ris.bka.gv.at/Dokumente/Landesnormen/LNO40003666/LNO40003666.pdf>  
[Zugriff am 21.06.2018].
- Blangero, J. (2004) Localization and identification of human quantitative trait loci: King Harvest has surely come. *Current Opinion in Genetics and Development* 14, 233–240.
- Boecking, O., Bienefeld, K. und Drescher, W. (2000) Heritability of the *Varroa*-specific hygienic behaviour in honey bees (Hymenoptera: Apidae). *Journal of Animal Breeding and Genetics* 117, 417-424.
- Boecking, O. und Genersch, E. (2008) Varroosis – the ongoing crisis in bee keeping. *Journal of Consumer Protection and Food Safety*, 3 (2), 221-228.
- Boecking, O. und Spivak, M. (1999) Behavioral defenses of honey bees against *Varroa jacobsoni* Oud.. *Apidologie* 30, 141-158.
- Boot, W. J., Calis, J. N. M. und Beetsma, J. (1992) Differential periods of *Varroa* mite invasion into worker and drone cells of honey bees. *Experimental and Applied Acarology* 16, 295-301.
- Boot, W. J., Schoenmaker, J., Calis, J. N. M. und Beetsma, J. (1995) Invasion of *Varroa jacobsoni* into drone brood cells of the honey bee, *Apis mellifera*. *Apidologie* 26, 109-118.
- Brascamp, E. W. (2018) persönliche Mitteilung zur Heritabilitätsschätzung. Wageningen.
- Brascamp, E. W. und Bijma, P. (2014) Methods to estimate breeding values in honey bees. *Genetics Selection Evolution* 46:53.
- Brodtschneider, R. (2018) Winterverluste 2016/2017.  
Online verfügbar: <http://bienenstand.at/winterverluste/winterverluste-201617/>  
[Zugriff am 12.04.2018].
- Bubalo, D., Pechhacker, H., Licek, E., Kezic, N. und Sulimanovic, D. (2005) The effect of *Varroa* destructor infestation on flight activity and mating efficiency of drones (*Apis mellifera* L.). *Vet. Med. Austria/Wien. Tierärztliche Monatsschrift* 92, 11-15.

- Büchler, R. (2018) Zuchtziel Varroatoleranz - Auslese auf geringe Milbenvermehrung (SMR) zeigt Fortschritte. *Bienen und Natur* 07/2018, 10.
- Büchler, R., Berg, S. und Le Conte, Y. (2010) Breeding for resistance to *Varroa destructor* in Europe. *Apidologie* 41, 393-408.
- Büchler, R., Costa, C., Mondet, F., Kezic, N. und Kovacic, M. (2017) RNSBB Research Network for Sustainable Beebreeding. New SMR Protocol. Online verfügbar: [https://dev.rescol.org/rnsbbweb/wp-content/uploads/2017/11/RNSBB\\_SMR-recapping\\_protocol\\_2017\\_09\\_11.pdf](https://dev.rescol.org/rnsbbweb/wp-content/uploads/2017/11/RNSBB_SMR-recapping_protocol_2017_09_11.pdf) [Zugriff am 29.04.2018].
- Büchler, R. und Drescher, W. (1990) Variance and Heritability of the capped developmental stage in European *Apis mellifera* L. and its correlation with increased *Varroa jacobsoni* Oud. infestation. *Journal of Apicultural Research* 29(3), 172-176.
- Büchler, R., Drescher, W. und Tornier, I. (1992) Grooming behaviour of *Apis cerana*, *Apis mellifera* and *Apis dorsata* and its effect on the parasitic mites *Varroa jacobsoni* and *Tropilaelaps clareae*. *Experimental and Applied Acarology*, 16, 313-319.
- Büchler, R., Moritz, R., Garrido, C., Bienefeld, K. und Ehrhardt, K. (2006) Male fitness in relation to colony development and varroosis infection. *Proceedings of the 2nd European conference of apidology 10.-14.09. Prague*, 44-45.
- Calderone, N. und Lin, S. (2001) Arrestment activity of extracts of honey bee worker and drone larvae, cocoons and brood food on female *Varroa destructor*. *Physiological Entomology* 26, 341-350.
- Calderone, N., Lin, S. und Kuenen, L. P. S. (2002) Differential infestation of honey bee, *Apis mellifera*, worker and queen brood by the parasitic mite *Varroa destructor*. *Apidologie* 33, 389-398.
- Calderone, N. W. und Kuenen, L. P. (2003) Differential tending of worker and drone larvae of the honey bee, *Apis mellifera*, during the 60 hours prior to cell capping. *Apidologie* 34, 543-552.
- Calis, J. N. M., Fries, I. und Ryrie, S. C. (1999) Population modelling of *Varroa jacobsoni* Oud.. *Apidologie* 30, 111-124.
- Chiroudi, E., Rosenkranz, P. und Aumeier, P. (1997) Altersabhängige und rassenspezifische Duftstoffmuster bei Arbeiterinnen der Honigbiene (*A. mellifera*). *Mitteilungen der Deutschen Gesellschaft für Allgemeine und Angewandte Entomologie* 11, 179-182.
- Correa-Marques, M. H. und De Jong, D. (1998) Uncapping of worker bee brood, a component of the hygienic behaviour of Africanized honey bees against the mite *Varroa jacobsoni* Oudemans.. *Apidologie* 29, 283-289.
- Crane, E. (1978) The *Varroa* mite. *Bee World* 59, 164-167.

- Danka, R. G., Harris, J. W., Villa, J. D. und Dodds, G. E. (2013) Varying congruence of hygienic responses to *Varroa destructor* and freeze-killed brood among different types of honeybees. *Apidologie* 44, 447-457.
- Danka, R. G., Rinderer, T. E., Kuznetsov, V. N. und Delatte, G. T. (1995) A USDA-ARS project to evaluate resistance to *V. jacobsoni* by honey bees of far eastern Russia. *American Bee Journal* 135, 746-748.
- de Guzman, L. I., Rinderer, T. E. und Frake, A. M. (2007) Growth of *Varroa destructor* (Acari: Varroidae) populations in Russian Honey Bee (Hymenoptera: Apidae) Colonies. *Annals of the Entomological Society of America* 100(2), 187-195.
- De Jong, D., De Jong, P. H. und Gonçalves, L. S. (1982) Weight loss and other damage to developing worker honeybees from infestation with *V. jacobsoni*. *Journal of Apicultural Research* 21, 165-216.
- De La Rúa, P. et al. (2009) Biodiversity, conservation and current threats to European honeybees. *Apidologie* 40, 263-284.
- De Ruijter, A. (1987) Reproduction of *Varroa jacobsoni* during successive brood cycles. *Apidologie* 18, 321-326.
- Department of Agriculture and Fisheries Queensland (2018) The State of Queensland (Department of Agriculture and Fisheries) 2010–2018. *Varroa mites*.  
Online verfügbar: <https://www.daf.qld.gov.au/business-priorities/animal-industries/bees/diseases-and-pests/asian-honey-bees/general-information-on-varroa-mites>  
[Zugriff am 02 09 2018].
- DIB (2017) DIB-Deutscher Imkerbund e.V.. Richtlinien für das Zuchtwesen des Deutschen Imkerbundes (ZRL).  
Online verfügbar:  
[https://deutscherimkerbund.de/userfiles/Wissenschaft\\_Forschung\\_Zucht/Zuchtrichtlinien\\_06\\_2017\\_docx.pdf](https://deutscherimkerbund.de/userfiles/Wissenschaft_Forschung_Zucht/Zuchtrichtlinien_06_2017_docx.pdf)  
[Zugriff am 31 10 2018].
- Dietemann, V., Nazzi, F., Martin, S. J., Anderson, D. L., Locke, B., Delaplane, K. S., Wauquiez, Q., Tannahill, C., Frey, E., Ziegelmann, B., Rosenkranz, P. und Ellis, J. D. (2013) Standard methods for varroa research. *Journal of Apicultural Research* 52(1).
- Dillier, F. X., Fluri, P. und Imdorf, A. (2006) Review of the orientation behaviour in the bee parasitic mite *Varroa destructor*: Sensory equipment and cell invasion behaviour. *Revue Suisse de Zoologie* 113(4), 857-877.
- Donzé, G. und Guerin, P. (1994) Behavioral attributes and parental care of *Varroa mites* parasitizing honeybee brood. *Behavioral Ecology Sociobiology* 34, 305-319.

- Donzé, G., Herrmann, M., Bachofen, B. und Guerin, P. M. (1996) Effect of mating frequency and brood cell infestation rate on the reproductive success of the honeybee parasite *Varroa jacobsoni*. *Ecological Entomology* 21, 17-26.
- Duay, P., De Jong, D. und Engels, W. (2003) Weight loss in drone pupae (*Apis mellifera*) multiply infested by *Varroa destructor* mites. *Apidologie* 34, 61-65.
- Egger-Danner, C., Willam, A., Fürst, C., Schwarzenbacher, H. und Fürst-Waltl, B. (2012) Hot topic: Effect of breeding strategies using genomic information on fitness and health. *Journal of Dairy Science* 95, 4600–4609.
- Eurbest (2018) Eurbest - European honey Bee breeding and Selection Team.  
Online verfügbar: <https://eurbest.eu/>  
[Zugriff am 18 08 2018].
- Fernández, N., Eguaras, M. und Hernández, D. (1993) Distribution patterns of *Varroa jacobsoni* Oud on *Apis mellifera* L during winter in Argentina. *Apidologie* 24, 397-401.
- Fewson, D. (1993) Definition of breeding objective. Design of livestock breeding programs, 53-58.
- Fries, I., Camazine, S. und Sneyd, J. (1994) Population dynamics of *Varroa jacobsoni*: a model and a review. *Bee World* 75, 5-28.
- Fries, I., Hansen, H., Imdorf, A. und Rosenkranz, P. (2003) Swarming in honey bees (*Apis mellifera*) and *Varroa destructor* population development in Sweden. *Apidologie*, 34, 389-398.
- Fries, I. und Rosenkranz, P. (1996) Number of reproductive cycles of *Varroa jacobsoni* in honey-bee (*Apis mellifera*) colonies. *Experimental and Applied Acarology*, 20, 103-112.
- Fuchs, S. (1990) Preference for drone brood cells by *Varroa jacobsoni* Oud in colonies of *Apis mellifera carnica*. *Apidologie* 21, 193-199.
- Fuchs, S. (1994) Non-reproducing *Varroa jacobsoni* Oud in honey bee worker cells – status of mites or effect of brood cells?. *Experimental and Applied Acarology* 18, 309-317.
- Gallai, N., Salles, J.-M., Settele, J. und Vaissiére, B. E. (2009) Economic valuation of the vulnerability of world agriculture confronted with pollinator decline. *Ecological economics* 68, 810-821.
- Garedew, A., Schmolz, E. und Lamprecht, I. (2004) The energy and nutritional demand of the parasitic life of the mite *Varroa destructor*. *Apidologie* 35, 419-430.
- Garrido Lüneburg, C. (2004) Reproduktionssteuerung bei der parasitischen Bienenmilbe *Varroa destructor* Anderson & Trueman 2000 (ehemals *Varroa jacobsoni* Oudemans).

- Hohenheim: Dissertation an der Fakultät Naturwissenschaften der Universität Hohenheim.
- Genersch, E., von der Ohe, W., Kaatz, H., Schroeder, A., Otten, C., Büchler, R., Berg, S., Ritter, W., Mühlen, W., Gisder, S., Meixner, M., Liebig, G. und Rosenkranz, P. (2010) The German bee monitoring project: a long term study. *Apidologie* 41, 332-352.
- Haltung und Zucht von Bienen – Wien (2000) Haltung und Zucht von Bienen-Wien, Fassung vom 20.10.2000, LGBL. Nr. 56/2000, Art. 1 § 7.  
Online verfügbar:  
<https://www.ris.bka.gv.at/Dokumente/Landesnormen/LWI40007303/LWI40007303.pdf>  
[Zugriff am 21.06.2018].
- Harbo, J. R. und Harris, J. W. (1999a) Selecting honey bees for resistance to *Varroa jacobsoni*. *Apidologie* 30, 183-196.
- Harbo, J. R. und Harris, J. W. (1999b) Heritability in Honey Bees (Hymenoptera: Apidae) of Characteristics Associated with Resistance to *Varroa jacobsoni* (Mesostigmata: Varroidae). *Journal of Economic Entomology* 92 (2) Band 2, 261-265.
- Harbo, J. R. und Harris, J. W. (2000) Changes in reproduction of *Varroa destructor* after honey bee queens were exchanged between resistant and susceptible colonies. *Apidologie* 31, 689-699.
- Harbo, J. R. und Harris, J. W. (2005) Suppressed mite reproduction explained by the behaviour of adult bees. *Journal of Apicultural Research* 44 (1), 21-23.
- Harbo, J. R. und Harris, J. W. (2009) Responses to *Varroa* by honey bees with different levels of *Varroa Sensitive Hygiene*. *Journal of Apicultural Research and Bee World* 48(3), 156-161.
- Harbo, J. R. und Hoopgarner, R. W. (1997) Honey bees (Hymenoptera: Apidae) in the United States that express resistance to *Varroa jacobsoni* (Mesostigmata: Varroidae). *Journal of Economic Entomology* 90, 893-898.
- Harris, J. und Harbo, J. (2000) Changes in reproduction of *Varroa destructor* after honey bee queens were exchanged between resistant and susceptible colonies. *Apidologie* 31, 689-699.
- Harris, J. W. (2007) Bees with *Varroa Sensitive Hygiene* preferentially remove mite infested pupae aged  $\leq$  five days post capping. *Journal of Apicultural Research and Bee World* 46 (3), 134-139.
- Harris, J. W. (2008) Effect of brood type on *varroa-sensitive hygiene* by worker honey bees (Hymenoptera: Apidae). *Annals of the Entomological Society of America* 101, 1137-1144.

- Harris, J. W., Danka, R. G. und Villa, J. D. (2012) Changes in Infestation, Cell Cap Condition, and Reproductive Status of *Varroa destructor* (Mesostigmata: Varroidae) in Brood Exposed to Honey Bees With *Varroa* Sensitive Hygiene. *Annals of the Entomological Society of America* 105(3), 512-518.
- Harris, J. W. und Harbo, J. R. (1999) Low sperm counts and reduced fecundity of mites in colonies of honey bees (Hymenoptera: Apidae) resistant to *Varroa jacobsoni* (Mesostigmata: Varroidae). *Journal of Economic Entomology* 92, 83-90.
- Harris, J. W., Harbo, J. R., Villa, J. D. und Danka, R. G. (2003) Variable Population Growth of *Varroa destructor* (Mesostigmata: Varroidae) in Colonies of Honey bees (Hymenoptera: Apidae) During a 10-Year Period. *Environmental Entomology* 32(6), 1305-1312.
- Hoppe, A. (2018) persönliche Mitteilung zur Heriabilitätsschätzung und Berechnung genetischer Korrelationen. Hohen Neuendorf.
- Ibrahim, A. und Spivak, M. (2006) The relationship between hygienic behaviour and suppression of mite reproduction as honey bee (*Apis mellifera*) mechanisms of resistance to *Varroa destructor*. *Apidologie* 37, 31-40.
- Infantidis, M. D. (1983) Ontogenesis of the Mite *Varroa Jacobsoni* in Worker and Drone Honeybee Brood Cells. *Journal of Apicultural Research* 22(3), 200-206.
- Infantidis, M. D. (1988) Some aspects of the process of *Varroa jacobsoni* mite entrance into honey bee (*Apis mellifera*) brood cells. *Apidologie* 19, 387-396.
- K-BiWG (2008) Kärntner Bienenwirtschaftsgesetz (K-BiWG), Fassung vom 01.01.2008, LGBl. Nr. 63/2007, §11.  
Online verfügbar:  
<https://www.ris.bka.gv.at/Dokumente/Landesnormen/LKT40005224/LKT40005224.pdf>  
[Zugriff am 21.06.2018].
- Kirchner, W. H. (1993) Lichtsinn und Vibrationssinn der *Varroa*-Milbe. *Apidologie* 24, 490-491.
- Kralj, J. und Fuchs, S. (2006) Parasitic *Varroa destructor* mites influence flight duration and homing ability of infested *Apis mellifera* foragers. *Apidologie* 37, 577-587.
- Kraus, B. (1993) Preferences of *Varroa jacobsoni* for honey bees (*Apis mellifera* L.) of different ages. *Journal of Apicultural Research* 32(2), 57-64.
- Kraus, B., Königer, N. und Fuchs, S. (1986) Unterscheidung zwischen Bienen verschiedenen Alters durch *Varroa jacobsoni* Oud, und Bevorzugung von Ammenbienen im Sommerbienenvolk. *Apidologie* 17, 257-266.
- Kronthaler, F. (2016) *Statistik angewandt*. Berlin Heidelberg: Springer Spektrum.

- Kuenen, L. P. S. und Calderone, N. W. (1997) Transfers of Varroa Mites from Newly Emerged Bees: Preferences for Age- and Function-Specific Adult Bees (Hymenoptera: Apidae). *Journal of Insect Behavior* 10(2), 213-228.
- Le Conte, Y., Arnold, G., Trouiller, J., Masson, C., Chappe, B. und Ourisson, G. (1989) Attraction of the parasitic mite Varroa to the drone larvae of honey bees by simple aliphatic esters. *Science* 245, 638-639.
- Le Conte, Y., Arnold, G., Trouiller, J. und Masson, C. (1990) Identification of a Brood Pheromone in Honeybees. *Naturwissenschaften* 77, 334-336.
- Le Conte, Y. et al. (1994) Heritability of the queen brood post-capping stage duration in *Apis mellifera mellifera* L.. *Apidologie* 25, 513-519.
- LIB (2016) LIB Länderinstitut für Bienenkunde Hohen Neuendorf, Beebreed: präzisere Zuchtwertschätzung, Aufruf zur Einsendung von LP-Königinnen (2015 und älter), Hohen Neuendorf: s.n.
- LIB (2018) LIB-Länderinstitut für Bienenkunde Hohen-Neuendorf e.V., beebreed. Online verfügbar: <https://www2.hu-berlin.de/beebreed/ZWS/> [Zugriff am 08 05 2018].
- Lin, Z., Qin, Y., Page, P., Wang, S., Li, L., Wen, Z., Hu, F., Neumann, P., Zheng, H. und Dietemann, V. (2018) Reproduction of parasitic mites *Varroa destructor* in original and new honey bee hosts. *Ecology and Evolution* 8, 2135-2145.
- Locke, B. (2016) Natural Varroa mite-surviving *Apis mellifera* honeybee populations. *Apidologie* 47, 467-482.
- Macedo, P. A., Wu, J. und Ellis, M. D. (2002) Using inert dusts to detect and assess varroa infestations in honey bee colonies. *Journal of Apicultural Research* 40(1-2), 3-7.
- Mandl, S. (2006) Bestäubungsleistung der Honigbiene. Wien: Dissertation an der Universität für Bodenkultur Wien.
- Martin, S., Holland, K. und Murray, M. (1997) Non-reproduction in the honeybee mite *Varroa jacobsoni*. *Experimental and Applied Acarology* 21, 539-549.
- Martin, S. J. (1994) Ontogenesis of the mite *Varroa jacobsoni* Oud. in worker brood of the honeybee *Apis mellifera* L. under natural conditions. *Experimental and Applied Acarology* 18, 87-100.
- Martin, S. J. (1995) Ontogenesis of the mite *Varroa jacobsoni* Oud. in drone brood of the honeybee *Apis mellifera* L. under natural conditions. *Experimental and Applied Acarology* 19, 199-210.

- Martin, S. J. und Kemp, D. (1997) Average number of reproductive cycles performed by *Varroa jacobsoni* in honey bee (*Apis mellifera*) colonies. *Journal of Apicultural Research* 36(3-4), 113-123.
- Martin, S. J. und Medina, L. M. (2004) Africanized honeybees have unique tolerance to *Varroa* mites. *Trends in Parasitology* 20, 112-114.
- Milani, N. (1999) The resistance of *Varroa jacobsoni* Oud. to acaricides. *Apidologie* 30, 229-234.
- Mondet, F., Kim, S. H., de Miranda, J. R., Beslay, D., Le Conte, Y. und Mercer, A. R. (2016) Specific Cues Associated With Honey Bee Social Defence against *Varroa destructor* Infested Brood. *Scientific Reports* 6:25444.
- Mondragon, L., Spivak, M. und Vandame, R. (2005) A multifactorial study of the resistance of honeybees *Apis mellifera* to the mite *Varroa destructor* over one year in Mexico. *Apidologie* 36, 345–358.
- Moosbeckhofer, R. (1992) Beobachtungen zum Auftreten beschädigter Varroamilben im natürlichen Totenfall bei Völkern von *Apis mellifera carnica*. *Apidologie* 23, 523-531.
- Moretto, G., Goncalves, L. S. und De Jong, D. (1993) Heritability of Africanized and European honey bee defense behaviour against the mite *Varroa jacobsoni*. *Genetics and Molecular Biology* 16, 71-77.
- Muñoz, I., Garrido-Bailón, E., Martín-Hernández, R., Meana, A., Higes, M. und De la Rúa, P. (2008) Genetic profile of *Varroa destructor* infesting *Apis mellifera iberiensis* colonies. *Journal of Apicultural Research* 47(4), 310-313.
- Nanelli, R. (1985) Ulteriori conoscenze sulla morfologia e lo sviluppo, della larva e delle ninfe di *Varroa jacobsoni* Oud (Mesostigmata: Varroidae). Estratto da REDIA LXVII, 287-303.
- Newton, D. C. und Ostasiewski, N. J. (1986) A simplified bioassay for behavioral resistance to American Foulbrood in honey bees (*Apis mellifera* L.). *American Bee Journal* 126, 278-281.
- Oddie, M., Büchler, R., Dahle, B., Kovacic, M., Le Conte, Y., Locke, B., de Miranda, J. R., Mondet, F. und Neumann, P. (2018) Rapid parallel evolution overcomes global honey bee parasite. *Scientific Reports* 8:7704.
- Pechhacker, H. (1992) Methoden und Erfahrungen in der Varroaresistenzucht in Lunz. *Bienenvater* 113, 313-315.
- Pechhacker, M. (2002) Beurteilung alternativer Selektionskriterien zur Varroatoleranzucht. Wien: Diplomarbeit an der Universität für Bodenkultur Wien.

- Peng, Y.-S., Fang, Y., Xu, S. und Ge, L. (1987) The resistance mechanism of the Asian honey bee, *Apis cerana* Fabr., to an ectoparasitic mite *Varroa jacobsoni* Oudemans. *Journal of Invertebrate Pathology* 49, 54-60.
- Råberg, L., Sim, D. und Read, A. F. (2007) Disentangling Genetic Variation for Resistance and Tolerance to Infectious Diseases in Animals. *Science* 318, 812–814.
- Rath, W. (1999) Co-adaptation of *Apis cerana* Fabr. and *Varroa jacobsoni* Oud.. *Apidologie* 30, 97-110.
- Rehm, S.-M. und Ritter, W. (1989) Sequence of the sexes in the offspring of *Varroa jacobsoni* and the resulting consequences for the calculation of the developmental period. *Apidologie* 20, 339-343.
- Rinderer, T. E., Harris, J. W., Hunt, G. J. und de Guzman, L. I. (2010) Breeding for resistance to *Varroa destructor* in North America. *Apidologie* 41, 409-424.
- Ritter, W. (1994) *Bienenkrankheiten*. Stuttgart: Ulmer.
- Ritter, W. (1996) *Diagnostik und Bekämpfung der Bienenkrankheiten*. Stuttgart: Gustav Fischer Verlag Jena.
- Rosenkranz, P. (1999) Honey bee (*Apis mellifera* L.) tolerance to *Varroa jacobsoni* Oud. in South America. *Apidologie* 30, 159-172.
- Rosenkranz, P., Aumeier, P. und Ziegelmann, B. (2010) Biology and control of *Varroa destructor*. *Journal of Invertebrate Pathology* 103, 96-119.
- Rosenkranz, P., Tewarson, N. C., Singh, A. und Engels, W. (1993) Differential hygienic behaviour towards *Varroa jacobsoni* in capped worker brood of *Apis cerana* depends on alien scent adhering to the mites. *Journal of Apicultural Research* 32, 89-93.
- Rothenbuhler, W. C. (1964) Behavior genetics of nest cleaning behavior in honeybees I. Response of four inbred lines to disease killed brood. *Animal Behaviour* 12, 578-583.
- Ruttner, F. (1988) *Biogeography and Taxonomy of Honeybees*. Berlin Heidelberg: Springer Verlag.
- Ruttner, F. (1996) *Zuchttechnik und Zuchtauslese bei der Biene*. 7. neubearbeitete Auflage. München: Ehrenwirth Verlag.
- Ruttner, F. und Hänel, H. (1992) Active defense against *Varroa* mites in a Carniolan strain of honeybee (*Apis mellifera carnica* Pollmann). *Apidologie* 23, 173-187.
- Ruttner, F., Marx, H. und Marx, G. (1984) Beobachtungen über eine mögliche Anpassung von *Varroa jacobsoni* an *Apis mellifera* L. in Uruguay. *Apidologie* 15, 43-62.

- Ruttner, H. (1972) Technical Recommendations for methods of evaluating performance of bee colonies. Ruttner F. (Ed.), Controlled mating and selection of the honey bee Bucharest, Apimondia, 87-92.
- Ruttner, H. (1977) Die Milbe *Varroa jacobsoni* Oudem., ein neuer Bienenparasit. Anzeiger für Schädlingskunde, Pflanzenschutz, Umweltschutz 50:11, 165-169.
- SAS (2012) SAS Version 9.4 TS Level 1M2 Copyright (c) 2002-2012. Cary, NC, USA.: SAS Institute Inc..
- SAS (2018) SAS Customer Support.  
Online verfügbar: <https://support.sas.com/en/support-home.html>  
[Zugriff am 08 05 2018].
- Schmid-Hempel, P. (2011) Evolutionary parasitology: the integrated study of infections, immunology, ecology and genetics. Oxford: Oxford University Press.
- Schneider, P. und Drescher, W. (1987) Einfluss der Parasitierung durch die Milbe *Varroa jacobsoni* auf das Schlupfgewicht, die Gewichtsentwicklung, die Entwicklung der Hypopharynxdrüsen und die Lebensdauer von *Apis mellifera*. Apidologie 18, 101-106.
- Spivak, M. und Downey, D. L. (1998) Field assays for hygienic behaviour in honey bees (*Apidae*: Hymenoptera). Journal of Economic Entomology 91, 64-70.
- Spivak, M. und Gilliam, M. (1998) Hygienic behaviour and resistance to American foulbrood. Bee World 79(3), 124-134.
- Spivak, M., Masterman, R., Ross, R. und Mesce, K. A. (2003) Hygienic Behavior in the Honey Bee (*Apis mellifera* L.) and the Modulatory Role of Octopamine. Journal of Neurobiology banner 55(3), 341-354.
- Statistik Austria (2018) Versorgungsbilanz für Honig 2010/11 bis 2015/16.  
Online verfügbar:  
[https://www.statistik.at/web\\_de/statistiken/wirtschaft/land\\_und\\_forstwirtschaft/pr\\_eise\\_bilanzen/versorgungsbilanzen/022329.html](https://www.statistik.at/web_de/statistiken/wirtschaft/land_und_forstwirtschaft/pr_eise_bilanzen/versorgungsbilanzen/022329.html)  
[Zugriff am 12 04 2018].
- Steiner, J. (1993) Verteilung von *Varroa jacobsoni* im drohnenfreien Bienenvolk (*Apis mellifera carnica*). Apidologie 24(1), 45-50.
- Stmk. BZG (1998) Steiermärkisches Bienenzuchtgesetz (BZG), Stammfassung vom 17.03.1998, LGBl. Nr. 18/1998 (WV), §22.  
Online verfügbar:  
<https://www.ris.bka.gv.at/GeltendeFassung/LrStmk/20000846/BZG%2c%20Fassung%20vom%2005.06.2018.pdf>  
[Zugriff am 05 06 2018].

- Swiger, L. A., Harvey, W. R., Everson, D. E. und Gregory, K. E. (1964) The variance of Intraclass correlation involving groups with one observation. Publications from USDA-ARS / UNL Faculty 60, 818-826.
- The SmartBees Consortium (2018) The SmartBees Consortium, Sustainable management of resilient bee populations. Overview.  
Online verfügbar: <http://www.smartbees-fp7.eu/Overview/>  
[Zugriff am 15 10 2018].
- Tiesler, F. K., Bienefeld, K. und Büchler, R. (2016) Selektion bei der Honigbiene. 1. Auflage 2016 Hrsg. Herten: Buschhausen Druck- und Verlagshaus.
- Trouiller, J., Arnold, G., Le Conte, Y. und Masson, C. (1991) Temporal pheromonal and kairomonal secretion in the brood of honeybees. *Naturwissenschaften* 78, 368-370.
- Villa, J. D., Danka, R. G. und Harris, J. W. (2009) Simplified methods of evaluating colonies for levels of Varroa Sensitive Hygiene (VSH). *Journal of Apicultural Research and Bee World* 48 (3), 162-167.
- Villegas, A. und Villa, J. D. (2006) Uncapping of pupal cells by European bees in the United States as responses to Varroa destructor and Galleria mellonella. *Journal of Apicultural Research* 45, 203-206.
- Wakonigg, G., Eveleigh, L., Arnold, G. und Crailsheim, K. (2000) Cuticular hydrocarbon profiles reveal age-related changes in honey bee drones (*Apis mellifera carnica*). *Journal of Apicultural Research* 39, 137-141.
- Wallner, K. (1999) Varroacides and their residues in bee products. *Apidologie* 30, 235-248.
- Weller, S. (2008) Populationsdynamik der parasitischen Bienenmilbe Varroa destructor in vorselektierten Bienenvölkern (*A. mellifera* L.) unter besonderer Berücksichtigung der Reproduktion. Hohenheim: Masterarbeit an der Fakultät Biologie der Universität Hohenheim.
- Willam, A. und Essl, A. (1993) Schätzung von Populationsparametern für verschiedene Merkmale bei der Honigbiene (*Apis mellifera carnica*). *Apidologie* 24, 355-364.
- Willam, A. und Simianer, H. (2011) Tierzucht. Grundwissen Bachelor. Stuttgart: Verlag Eugen Ulmer KG.
- Ziegelmann, B., Steidle, H., Lindenmayer, A. und Rosenkranz, P. (2013) The mating behavior of Varroa destructor is triggered by a female sex pheromone Part 1: Preference behavior of male mites in a laboratory bioassay. *Apidologie* 44(3), 314–323.

## 10 Anhang

Bei der 65. Jahrestagung der Arbeitsgemeinschaft der Institute für Bienenforschung e.V. von 20.-22.03.2018 auf der Festung Ehrenbreitstein in Koblenz (Deutschland) wurden die ersten Ergebnisse der Masterarbeit präsentiert. Der Titel des Tagungsbeitrages lautete: „Korrelationen zwischen SMR (Suppressed Mite Reproduction), Recapping und Resistenzmerkmalen gegen *Varroa destructor* in einer österreichischen *Apis mellifera carnica* Population“.

Im Anhang ist ein beim Journal of Central European Agriculture (JCEA) eingereichtes Manuskript eingefügt, das bei den 26. Animal Science Days in Piestany (Slowakei) am 27.09.2018 präsentiert wurde. Die im Manuskript „Relationships between resistance characteristics of honey bees (*Apis mellifera*) against Varroa mites (*Varroa destructor*)“ beschriebenen Messungen des Bienenbefalls (1st bee und 2nd bee) beziehen sich auf die 4. und 5. Messung des Bienenbefalls aus dem Versuch der vorliegenden Masterarbeit.

Weitere Präsentationen der vorliegenden Arbeit erfolgten am 22.09.2018 bei der ACA-Tagung in Gmünd (Kärnten), sowie beim Treffen der Regionalgruppensprecher und Belegstellenleiter der AGT am 21.10.2018 in Görlitz (Deutschland).

In Tabelle 12 ist die Erweiterung der phänotypischen Korrelationen gegenüber der Tabelle 5 abgebildet.

# Relationships between resistance characteristics of honey bees (*Apis mellifera*) against Varroa mites (*Varroa destructor*)<sup>5</sup>

Martin BUCHEGGER<sup>1\*</sup>, Ralph BUECHLER<sup>2</sup>, Birgit FUERST-WALTL<sup>1</sup>, Marin KOVACIC<sup>3</sup> and Alfons WILLAM<sup>1</sup>

<sup>1</sup>University of Natural Resources and Life Sciences Vienna (BOKU), Department of Sustainable Agricultural Systems, Division of Livestock Sciences; Gregor-Mendel-Straße 33, AT-1180 Wien, Austria, \*correspondence: buchegger29@gmail.com

<sup>2</sup>LLH Bee Institute, Erlenstraße 9, DE-35274, Kirchhain, Germany,

<sup>3</sup>J.J. Strossmayer University of Osijek, Faculty of Agriculture, HR-31000, Osijek, Croatia

## Abstract

Ectoparasitic mite, *Varroa destructor*, today is one of the main reasons for colony losses worldwide. This study deals with relationships between measurements of resistance characteristics and measurements of bee infestation. During the trial, 105 *Apis mellifera carnica* colonies were tested according to AGT (Arbeitsgemeinschaft Toleranzzucht) breeding program. Data of hygienic behavior and mite population growth development were obtained. Further, they were evaluated for the traits SMR (Suppressed Mite Reproduction), recapping behavior and brood infestation. Significant influences of hygienic behavior, SMR and recapping on the mite infestation were considered. SMR and recapping showed relatively high coefficients of regression on mite infestation values. The results show, that SMR and recapping might be suitable selection traits to decrease the mite population growth within the colonies.

**Keywords:** *A. m. carnica*, hygienic behaviour, recapping, SMR, *V. destructor*

## Introduction

The ectoparasitic mite *Varroa destructor* is the major threat for apiculture. It switched from the original host *Apis cerana* (Eastern honey bee) to *Apis mellifera* (Western honey bee). On the new host, a balanced host-parasite relationship is lacking. *V. destructor* is a hemophagous parasite and reproduces in brood cells. It weakens the host through deprivation of haemolymph and it is a major vector of different viruses (Rosenkranz et al., 2010). In the AGT breeding program, mite population development and hygienic behavior are measured in the performance test (AGT, 2013). It was considered that there are correlations between mite population growth

---

<sup>5</sup> Buchegger, M., Buechler, R., Fuerst-Waltl, B., Kovačić, M. und Willam, A. (2018) Relationships between resistance characteristics of honey bees (*Apis mellifera*) against Varroa mites (*Varroa destructor*). *Journal of Central European Agriculture. Im Druck.*

and higher rates of non-reproduction of mites (Harbo and Harris, 1999). In naturally surviving *A. mellifera* populations, the traits SMR (Suppressed Mite Reproduction) and VSH (Varroa Sensitive Hygiene) contribute to resistance against *V. destructor* (Locke, 2016). SMR is the main part of VSH, which is a more broadly defined trait that includes removal of infested pupae (Harris, 2007). The traits SMR, respectively VSH were used to select bees, which show resistance to *V. destructor* (Harbo and Harris, 2005; Ibrahim and Spivak, 2006). The traits might be relevant to improve resistance against *V. destructor* in European populations (Büchler et al., 2010). Observations on SMR selected bees show, that this trait is often linked to intensive uncapping and recapping of brood cells, but the biological interactions are unknown yet (Villa et al., 2009). Recent research has shown that recapping of brood cells plays a major role in surviving populations of bees in Europe (Oddie et al., 2018).

## Materials and methods

### Field measures of resistance characteristics

In this study, 105 Carniolan (*Apis mellifera carnica*) colonies were tested according to the AGT breeding program. Hygienic behavior was measured with the PIN-Test method, where 50 brood cells were pierced with a fine insect pin and removal of pupae was checked 8 hours later. The performance test was extended, so there were three characteristic forms (complete cleaned cells, partially cleaned cells and untouched cells) which were noted. 1<sup>st</sup> Pin-Test was performed between June 8<sup>th</sup> and June 16<sup>th</sup>, 2017, 2<sup>nd</sup> Pin-Test was performed between July 5<sup>th</sup> and July 29<sup>th</sup>, 2017. Mite population was measured through natural mite fall in spring and the adult bee infestation during summer. To measure the infestation rate of the bee samples, the powdered sugar method was used (Macedo et al., 2002). Mentioned measurements of bee infestation were performed from September 7<sup>th</sup> to September 16<sup>th</sup>, 2017 (1<sup>st</sup> measurement, n = 73) and on September 28<sup>th</sup>, 2017 (2<sup>nd</sup> measurement, n = 23). The traits SMR and recapping were measured according to the RNSBB-protocol (Büchler et al., 2017). Brood samples (worker brood) were gathered when 1<sup>st</sup> measurement was performed, or 3 or 6 weeks before respectively, when a treatment threshold was transcended by a colony in earlier measurements (n = 32). These colonies which leave the test earlier, contribute data except bee infestation measurements for this analysis. Brood cells, at a minimum development stage of 7 days post capping, were examined under a stereo microscope. The capping of the cell was removed carefully, brood cell was checked for infestation with *V. destructor* and it was noted, if part of the pupae's spun cocoon were lacking on the inner side of the cell capping. This is an indication whether a brood cell was opened and recapped by bees during the development of the pupae. When there was a single foundress mite in the brood cell, the development stages of the offspring were noted. If the foundress mite was infertile, the offspring was too late to mature (development delay) or the male was absent, the mite was noted as non-reproductive. Together with this examination, data on brood infestation were collected (Büchler et al., 2017).

### Statistical analyses

Data were analyzed with the statistic program SAS, Version 9.4. (SAS Institute Inc., 2012). The following model was used for testing the influence of PIN-test, SMR, and REC results on mite infestation:

$$Y_i = \mu + b_1 * nmf + b_2 * it + e_i$$

where are  $Y_i$  - measurements which represent mite population in the colonies (1<sup>st</sup>, 2<sup>nd</sup> bee; brood),  $\mu$  - intercept,  $b_1$  and  $b_2$  - regression coefficients, nmf<sub>i</sub> - natural mite fall in spring, it - influencing trait (PIN complete cleaned, PIN partially cleaned, PIN untouched, SMR, REC of infested cells, REC total, targeted REC) and  $e_i$  - residual.

## Results

As shown in Table 1, there was a significant ( $P < 0.05$ ) negative influence of PIN-Test complete cleaned on the 1<sup>st</sup> measurement of bee infestation, but the coefficient of regression was relatively low ( $b = -0.06$ ). The results for SMR indicated significant negative effects on both measurements of bee infestation and brood infestation, where coefficients of regression were relatively high ( $b = -8.79$ ;  $b = -5.62$ ;  $b = -0.26$ ). REC of infested cells also showed a significant negative influence on bee infestation at the 1<sup>st</sup> measurement ( $b = -3.08$ ) and a highly significant ( $P < 0.001$ ) negative influence on brood infestation ( $b = -0.18$ ). Targeted REC showed a highly significant influence on the 1<sup>st</sup> measurement of bee infestation and brood infestation, with relatively high coefficients of regression ( $b = -7.14$ ,  $b = -0.35$ ).

Table 1. Influence of resistance traits on adult bee infestation/Coefficient of regression

Measured trait <sup>1</sup>	Date of sampling bees for infestation rate assessment		
	1 <sup>st</sup> bee	2 <sup>nd</sup> bee	Brood
PIN complete cleaned	-0.06*	0.02	0
PIN untouched	0.06	0.06	0
SMR	-8.79*	-5.62*	-0.26*
REC infested	-3.08*	-0.25	-0.18***
REC total	-0.52	0.67	0.01
Targeted REC	-7.14***	-1.4	-0.35***

\* Significant  $P < 0.05$ ; \*\*\* highly significant  $P < 0.001$ ; 1<sup>st</sup>, 2<sup>nd</sup> (bee) - measurements of bee infestation in summer (powdered sugar method); PIN - hygienic behavior (PIN-Test); SMR - suppressed mite reproduction; REC - recapping. Units of values: SMR, REC, PIN, brood - relative 0-1; 1<sup>st</sup>, 2<sup>nd</sup> bee - Mites per 10 gram bees.

## Discussion

The relationship between bee infestation and SMR was also confirmed by other studies (Harbo and Harris, 2000; Harris et al., 2003). In models of population growth dynamics, reduced mite reproduction (SMR) would have a strong influence on mite population growth (Calis et al., 1999). This relationship can be confirmed by the analysis of this data set, where relationships of SMR to bee and brood infestation were considered. Colonies selected for VSH, respectively SMR, are able to reduce brood infestation and mite fertility in highly infested combs (Villa et al., 2009). In this test it was not proven if colonies are able to reduce infestation of highly infested combs, but the significant negative correlation of SMR and recapping to brood infestation was confirmed. Recapping of infested brood cells can have an effect on non-reproduction of mites (Villa et al., 2009). Research on naturally surviving A.

mellifera populations in Europe, (Oddie et al., 2018) show higher values of recapping in contrast to susceptible colonies. A significant relationship between recapping of infested cells and 1st measurement of bee infestation was found in this research. Bees selected for SMR showed higher rates of hygienic behavior (Ibrahim and Spivak, 2006). Accurate measurements are needed to identify colonies with a slightly better resistance against *V. destructor* (Harbo and Harris, 1999), because mite population will also be influenced by environmental factors. However, measurements of VSH, SMR and recapping are demanding and time consuming and future research should focus on finding reliable and simple methods to test the colonies for these resistance traits. As recapping is probably easier to measure than SMR, it might be an interesting trait for large scale selection programs against *V. destructor*.

## Conclusions

In this study, SMR and recapping had the strongest influence on the decrease of mite population growth. They are promising resistance characteristics, which can be important for selective breeding of bee resistance against *V. destructor*.

## References

AGT (2013) Methodenhandbuch. Kirchhain: Arbeitsgemeinschaft Toleranzzucht.

Büchler, R., Berg, S., Le Conte, Y. (2010) Breeding for resistance to *Varroa destructor* in Europe. *Apidologie*, 41, 393-408.  
DOI: <https://dx.doi.org/10.1051/apido/2010011>

Büchler, R., Costa, C., Mondet, F., Kezic, N., Kovacic, M. (2017) RNSBB research network for sustainable beekeeping. New SMR Protocol. [Online] Available at: <https://www.beebreeding.net/index.php/2017/09/01/new-smr-protocol/> [Accessed 29 April 2018].

Calis, J. N. M., Fries, I., Ryrie, S. C. (1999) Population modelling of *Varroa jacobsoni* Oud. *Apidologie*, 30, 111-124.  
DOI: <https://dx.doi.org/10.1051/apido:19990203>

Harbo, J. R., Harris, J. W. (1999) Selecting honey bees for resistance to *Varroa jacobsoni*. *Apidologie*, 30, 183-196.  
DOI: <https://dx.doi.org/10.1051/apido:19990208>

Harbo, J. R., Harris, J. W. (2000) Changes in reproduction of *Varroa destructor* after honey bee queens were exchanged between resistant and susceptible colonies. *Apidologie*, 31, 689-699.  
DOI: <https://dx.doi.org/10.1051/apido:2000153>

Harbo, J. R., Harris, J. W. (2005) Suppressed mite reproduction explained by the behaviour of adult bees. *Journal of Apicultural Research*, 44 (1), 21-23.  
DOI: <https://dx.doi.org/10.1080/00218839.2005.11101141>

- Harris, J. W., Harbo, J. R., Villa, J. D., Danka, R. G. (2003) Variable population growth of *Varroa destructor* (Mesostigmata: Varroidae) in Colonies of Honey bees (Hymenoptera: Apideae) during a 10-year period. *Environmental Entomology*, 32 (6), 1305-1312.  
DOI: <https://dx.doi.org/10.1603/0046-225X-32.6.1305>
- Harris, J. W. (2007) Bees with *Varroa* sensitive hygiene preferentially remove mite infested pupae aged  $\leq$  five days post capping. *Journal of Apicultural Research and Bee World*, 46 (3), 134-139.  
DOI: <https://dx.doi.org/10.1080/00218839.2007.11101383>
- Ibrahim, A., Spivak, M. (2006) The relationship between hygienic behaviour and suppression of mite reproduction as honey bee (*Apis mellifera*) mechanisms of resistance to *Varroa destructor*. *Apidologie*, 37, 31-40.  
DOI: <https://dx.doi.org/10.1051/apido:2005052>
- Locke, B. (2016) Natural *Varroa* mite-surviving *Apis mellifera* honeybee populations. *Apidologie*, 47, 467-482.  
DOI: <https://dx.doi.org/10.1007/s13592-015-0412-8>
- Macedo, P. A., Wu, J., Ellis, M. D. (2002) Using inert dusts to detect and assess varroa infestations in honey bee colonies. *Journal of Apicultural Research*, 40 (1-2), 3-7.
- Oddie, M., Büchler, R., Bjørn, D., Kovacic, M., Le Conte, Y., Locke, B., de Miranda, J. R., Mondet, F., Neumann, P. (2018) Rapid parallel evolution overcomes global honey bee parasite. *Scientific Reports*, 8, 7704.  
DOI: <https://dx.doi.org/10.1038/s41598-018-26001-7>
- Rosenkranz, P., Aumeier, P., Ziegelmann, B. (2010) Biology and control of *Varroa destructor*. *Journal of Invertebrate Pathology*, 103, 96-119.  
DOI: <https://dx.doi.org/10.1016/j.jip.2009.07.016>
- SAS Institute Inc. (2012) SAS Version 9.4 TS Level 1M2 2002-2012. Cary, NC, USA: SAS Institute Inc.
- Villa, J. D., Danka, R. G., Harris, J. W. (2009) Simplified methods of evaluating colonies for levels of *Varroa* sensitive hygiene (VSH). *Journal of Apicultural Research and Bee World*, 48 (3), 162-167.  
DOI: <https://dx.doi.org/10.3896/IBRA.1.48.3.03>

Tabelle 12: Phänotypische Korrelationen nach Spearman erweitert

	Unfr.	Verz.	kMänn	REC b.	REC g.	SEL	FJ Bef	Pin v.	Pin tw.	Pin n.b.	S1- S3	S1	S2	S3	S4	S5	BBR	SUTT	M Index	
SMR	<b>0,36</b>	<b>0,85</b>	<b>0,37</b>	<b>0,42</b>	<b>0,37</b>	<b>0,32</b>	0,09	<b>0,22</b>	-0,05	<b>-0,26</b>	<b>-0,22</b>	-0,15	-0,15	-0,19	<b>-0,36</b>	-0,33	<b>-0,23</b>	<b>-0,29</b>	<b>-0,32</b>	
Unfr.		0,01	0,17	<b>0,28</b>	<b>0,26</b>	0,13	0,15	0,05	0,06	-0,14	-0,16	-0,11	-0,05	-0,19	-0,14	-0,17	-0,01	-0,14	-0,10	
Verz.			0,00	<b>0,26</b>	<b>0,22</b>	<b>0,22</b>	0,01	<b>0,22</b>	-0,07	<b>-0,24</b>	-0,15	-0,07	-0,11	-0,14	<b>-0,30</b>	-0,32	-0,17	<b>-0,21</b>	<b>-0,23</b>	
kMänn				<b>0,31</b>	<b>0,25</b>	<b>0,30</b>	0,11	0,05	0,02	-0,10	-0,14	-0,17	-0,14	-0,09	<b>-0,27</b>	-0,26	<b>-0,38</b>	<b>-0,21</b>	<b>-0,35</b>	
REC b.					<b>0,87</b>	<b>0,71</b>	<b>0,22</b>	<b>0,24</b>	-0,09	<b>-0,23</b>	<b>-0,19</b>	-0,04	-0,13	<b>-0,21</b>	<b>-0,24</b>	-0,01	<b>-0,34</b>	<b>-0,23</b>	<b>-0,32</b>	
REC g.						<b>0,43</b>	<b>0,19</b>	<b>0,21</b>	-0,04	<b>-0,27</b>	-0,08	-0,05	-0,02	-0,06	-0,07	0,04	-0,03	-0,09	-0,08	
SEL							0,10	<b>0,26</b>	-0,19	-0,14	<b>-0,29</b>	-0,12	<b>-0,26</b>	<b>-0,31</b>	<b>-0,44</b>	-0,17	<b>-0,47</b>	<b>-0,37</b>	<b>-0,51</b>	
FJ Bef								-0,10	0,14	-0,01	-0,08	-0,03	-0,08	-0,04	-0,13	-0,08	-0,12	0,03	-0,03	
Pin v.										<b>-0,81</b>	<b>-0,37</b>	<b>-0,27</b>	-0,18	<b>-0,25</b>	<b>-0,22</b>	-0,21	0,26	-0,05	<b>-0,34</b>	<b>-0,31</b>
Pin tw.										-0,09	0,13	0,05	0,14	0,10	0,20	-0,32	0,09	<b>0,22</b>	<b>0,24</b>	
Pin n.b.											0,15	0,19	0,05	0,10	0,07	0,23	-0,05	<b>0,24</b>	0,15	
S1-S3												<b>0,68</b>	<b>0,85</b>	<b>0,96</b>	<b>0,67</b>	0,09	<b>0,25</b>	<b>0,86</b>	<b>0,76</b>	
S1													<b>0,56</b>	<b>0,52</b>	<b>0,44</b>	-0,02	0,10	<b>0,61</b>	<b>0,49</b>	
S2														<b>0,73</b>	<b>0,44</b>	0,27	<b>0,30</b>	<b>0,72</b>	<b>0,71</b>	
S3															<b>0,65</b>	0,06	<b>0,24</b>	<b>0,84</b>	<b>0,74</b>	
S4																<b>0,67</b>	<b>0,53</b>	<b>0,97</b>	<b>0,85</b>	
S5																	<b>0,59</b>	<b>0,63</b>	<b>0,63</b>	
BBR																		<b>0,29</b>	<b>0,70</b>	
SUTT																			<b>0,87</b>	

Nicht signifikant  $p \geq 0,05$ ; signifikant  $p < 0,05$ ,  $p < 0,01$ ,  $p < 0,001$ ;

Abkürzungen: SMR: Suppressed Mite Reproduction, Unfr.: Unfruchtbare Muttermilbe, Verz.: Verzögerte Entwicklung der Milbennachkommen, kMänn: kein Männchen, REC b.: Recapping an befallenen Zellen; REC g.: Recapping gesamt, SEL: Selektivität des Recappings, FJ B.: natürlicher Milbenabfall im Frühjahr, Pin v.: Pin-Test vollständig ausgeräumte Zellen, Pin tw.: Pin teilweise ausgeräumte Zellen, Pin n.b.: Pin-Test Zellen nicht berührt, S1-S5: 1.-5. Sommerbefallsmessung (Puderzuckermethode), BBR: Brutbefallsrate, SUTT: Stay under treatment threshold (Verbleiben unter der Behandlungsschwelle), MIndex: Milben-Index (kombinierter Index aus SUTT und der Gruppen von BBR);