

Gefördert durch:



aufgrund eines Beschlusses
des Deutschen Bundestages

Schlussbericht zum Thema “ Erhalt genetischer Diversität bei der Honigbiene durch vereinfachte Paarungskontrolle“

FKZ: 2818BM040

Projektnehmer: Länderinstitut für Bienenkunde Hohen Neuendorf e.V.

Gefördert durch das Bundesministerium für Ernährung und Landwirtschaft (BMEL) auf Grund eines Beschlusses des Deutschen Bundestages gemäß der Richtlinie des BMEL zur Förderung von Modell- und Demonstrationsvorhaben im Bereich der Erhaltung und innovativen, nachhaltigen Nutzung der biologischen Vielfalt.

Abschlussbericht

Modell- und Demonstrationsvorhaben

„Erhalt genetischer Diversität bei der Honigbiene durch vereinfachte Paarungskontrolle“

Verbundpartner:

Länderinstitut für Bienenkunde Hohen Neuendorf e.V. (LIB)

Zuchtverband Dunkle Biene Deutschland e.V. (ZVDBD)

Landesverband Brandenburgischer Imker e.V. (LVBI)

Förderkennzeichen:

2818BM040 (LIB)

2818BM041 (ZVDBD)

2818BM042 (LVBI)

Laufzeit: 1.5.2019 bis zum 31.10.2022

1. Kurzfassung

Im Rahmen des Projektes wurde die Paarungskontrolle durch die Mondscheinbegattung, also die Kontrolle der natürlichen Begattung durch Freisetzung von Drohnen und den zu begattenden Königinnen erst nach der normalen Begattungszeit, sowohl im kleinen Maßstab einer Imkerei also auch im Rahmen einer etablierten Belegstelle realisiert und validiert. Die Methode wurde in einem praxisnahen Kontext erprobt, und zwar der inhärent problematischen Koexistenz verschiedener Bienenrassen in Brandenburg, die sich insbesondere an Belegstellen entspinnt.

Der Begattungserfolg wurde sowohl mit morphometrischen als auch molekularbiologischen Methoden überprüft. Die Ergebnisse konnten eine gute Paarungsreinheit nachweisen.

Dabei kamen bauliche Verbesserungen zum Einsatz, die die Methodik technologisch im Vergleich zu den bisherigen Bemühungen auf eine neue Stufe gehoben haben, insbesondere automatische Öffnungs- und Schließmechanismen, was sie auch auf großen Belegstellen anwendbar macht.

Das Wissen aus dem Projekt wurde innerhalb von Vorträgen und Schulungsmaßnahmen weitergegeben und zur weiteren Verbreitung wurden hochwertige Videoproduktionen über die Mondscheinpaarung an sich, das Belegstellenwesen und die künstlichen Besamung angefertigt.

2. Aufgabenstellung und Ziel des Vorhabens

Die westliche Honigbiene (*Apis mellifera*) kommt weltweit in ca. 30 verschiedenen Unterarten und zahlreichen Ökotypen vor. Viele davon sind akut vom Verlust ihrer genetischen Identität bedroht und einige bereits verschwunden (De la Rúa et al., 2009). Abgesehen von ihrem ideellen Wert ist die Honigbienen-Diversität auch von hoher ökologischer und ökonomischer Bedeutung, denn eine gute lokale Anpassung ist gerade bei der Honigbiene eine wichtige Voraussetzung für die Widerstandsfähigkeit gegenüber Krankheiten und Parasiten (Bienefeld, 2016a, Büchler et al., 2014, Meixner et al., 2015, Meixner et al., 2010). Zudem ist die Imkerei schon jetzt von den Folgen des Klimawandels betroffen (Le Conte and Navajas, 2008), und der Erhalt genetischer Vielfalt bietet die Grundlage für eine gegenüber Klimaveränderungen resiliente Bienenzucht. Eine Ursache für die Biodiversitäts-Krise im Bienensektor ist die fast flächendeckende Vernichtung wilder oder halbwilder Bienenbestände durch den eingeschleppten Brutparasiten *Varroa destructor* (Le Conte et al., 2010). Viel schwerwiegender dürfte aber die Verdrängung lokaler Bienen durch imkerlich bevorzugte Zuchttypen sein (De la Rúa et al., 2009, Zakour and Bienefeld, 2014). Honigbienen paaren sich ausschließlich im Flug und nur an zentralen „Drohensammelplätzen“, an denen Drohnen und Königinnen eines mehrere km² großen Areals zusammenkommen. Daher genügen wenige eingeführte Königinnen, um über die von ihnen erzeugten Drohnen den Genpool einer lokalen Population tiefgreifend zu verändern.

In Deutschland wird die Lage dadurch verkompliziert, dass die drei vorkommenden Unterarten/Zuchtformen praktisch gleichmäßig über das Territorium verteilt auftreten, also keine geographische Trennung vorliegt. Reinpaarungen zum Erhalt der Biodiversität oder auch zu Zuchtzwecken sind deshalb ohne Ergreifung besonderer Maßnahmen nicht möglich.

Da sich Deutschland aufgrund seiner Geographie und dichten Besiedlung für die Einrichtung von Reservaten einzelner Rassen kaum eignet, ist die Paarungskontrolle der einzige Weg, um verschiedenartige Bienen bei uns dauerhaft nebeneinander zu erhalten. Hierfür werden derzeit zwei Verfahren praktiziert, künstliche Besamung und Nutzung isolierter und/oder amtlich geschützter Reinpaarungsplätze („Belegstellen“). Künstliche Besamung ist teuer, erfordert umfangreiche Spezialkenntnisse und erheblichen technischen Aufwand. Sie steht daher nur einem Bruchteil der Bienenzüchter in Deutschland zur Verfügung. Die Einrichtung von Belegstellen ist an strenge geographische und administrative Vorgaben geknüpft. Nach dem Zuchtbericht des deutschen Imkerbundes werden nur etwa 7% der in Deutschland verwendeten Bienenköniginnen kontrolliert verpaart. Dies ist bei weitem nicht ausreichend, um dauerhaft und konfliktarm verschiedenartige Bienen in Deutschland zu erhalten.

Ein in mehreren Ländern erprobter Ansatz zur Einrichtung von gesicherten Paarungsplätzen ohne die Notwendigkeit einer geographischen Isolation ist die so genannte „Mondscheinpaarung“ (andere Bezeichnungen sind „Controlled Flight Time Mating“ (CFTM; (Kober, 2007)), „Horner-System“ (Oxley et al., 2010) und „Köhler'sches Verfahren“). Sie beruht darauf, die Paarungsflüge der Königinnen und Drohnen der Zuchtpopulation zeitlich von denen der umgebenden Population(-en) zu trennen.

Ziel unseres Vorhabens war, durch Etablierung eines zusätzlichen Weges der Paarungskontrolle die Haltung und Zucht verschiedener Bienen im selben Gebiet dauerhaft zu ermöglichen. Dazu wollten wir die „Mondscheinpaarung“ für deutsche Verhältnisse validieren und in der Praxis verankern. In einer zweiten Projektphase wollten wir das Verfahren zudem so weit vereinfachen, dass es ohne die bislang erforderliche Infrastruktur durchführbar wird. Es könnte dann von jedem Imker auf seinem eigenen Bienenstand

praktiziert werden. Dadurch würde die Erhaltung und Nutzung der natürlichen und züchterisch erzeugten Honigbienen-Biodiversität nachhaltig erleichtert. Zudem würde es möglich, die Bienenzucht in Deutschland auf eine breitere genetische Basis zu stellen, und so auch ihre Resilienz gegenüber aktuellen und zukünftigen Stressoren zu erhöhen.

2.1 Aufgabenstellungen

Aufgrund der beschriebenen Paarungsbiologie der Honigbiene kommt es bei gleichzeitiger Haltung mehrerer Unterarten oder Zuchtformen im selben Gebiet fast zwangsläufig zu einer Vermischung. Die entstehenden Hybriden sind naturgemäß in ihren Eigenschaften uneinheitlich, auch in der Ausprägung des Verteidigungs-Verhaltens (Ruttner, 1968). Das führt oft zu einer realen und wesentlichen Beeinträchtigung der betroffenen Imkereien. So ist zum Beispiel der Betrieb von Bienenständen in Siedlungsbereichen mit solchen Bienen häufig problematisch. Vor allem aber ist der Erhalt reiner Linien oder Unterarten ohne besondere Maßnahmen zur Paarungskontrolle schlicht unmöglich. Konflikte zwischen Züchtern oder Haltern sind daher sehr häufig und füllen ganze online-Foren. Ein zusätzlicher Weg der Paarungskontrolle wird daher nicht nur zur Erleichterung der In situ-Erhaltung genetisch diverser Bienenpopulationen beitragen, sondern zudem Konflikte verringern. Er ergänzt dabei unsere Bemühungen zur Einrichtung einer Ex situ-Reserve, die das LIB derzeit gemeinsam mit dem Bieneninstitut Kirchhain abschließt (Projekt ReBiS).

Die Honigbiene gilt als das wichtigste heimische Bestäuberinsekt. Die in Deutschland gehaltenen Honigbienen unterscheiden sich zum Teil erheblich im jahreszeitlichen Verlauf/der botanischen Streuung der Bestäubungsleistung (Ruttner, 1988; Ruttner, 2003). Der Erhalt dieser Vielfalt durch innovative Wege der Paarungskontrolle ist also auch ein Beitrag zum Erhalt der Ökosystemleistung Blütenbestäubung.

Die bislang etablierten Wege der Paarungskontrolle (isolierte Belegstellen, künstliche Besamung) sind technisch aufwändig und daher für den einzelnen Imker häufig unzugänglich. Die Einführung und vor allem die Vereinfachung der „Mondscheinpaarung“ könnten diese Hemmnisse entscheidend verringern.

Der Verbreitung der „Mondschein-Paarung“ stand vor Projektbeginn entgegen, dass viele Imker sie entweder nicht kannten, oder ihr aufgrund mangelnder praktischer Erfahrung skeptisch begegneten. Eine gründliche und wissenschaftlich fundierte Validierung sollte diese Bedenken zerstreuen helfen. Zudem war das Projekt als Kooperation zwischen praktischen Züchtern und Wissenschaftlern angelegt, sodass Berührungsängste von Seiten der Zielgruppe von vornherein minimiert wurden.

Belegstellen erfordern, dass alle sie nutzenden Züchter das gleiche Vatertier-Material verwenden, da in der Regel über eine ganze Saison hinweg dieselben Vatervölker genutzt werden. Bei sorgfältiger Auswahl der Drohnenspender fördert das zwar den genetischen Fortschritt auf Populations-Ebene, verringert aber dramatisch die genetische Vielfalt. Durch „Mondschein-Paarung“, vor allem in der im Projekt entwickelten vereinfachten Form, kann die Anzahl der Paarungs-Stände und der verwendeten Vatervölker erheblich erhöht und damit die Zucht genetisch diverser Bienen auf eine viel breitere Basis gestellt werden.

Ein zusätzliches Hemmnis für die Haltung unterschiedlicher Bientypen im gleichen Gebiet ist nach unserer Erfahrung auch die mangelnde Kommunikation zwischen Haltern/Züchtern und mangelnde Kenntnisse der Paarungsbiologie der Biene. In unserem Projekt arbeiten

Zuchtverbände verschiedener Unterarten direkt zusammen, und paarungsbiologische Zusammenhänge wurden u.a. auch in dem durchgeführten Züchter-Workshop erläutert.

Die Bundesregierung hat sich im Rahmen der internationalen Agenda 2030 dazu verpflichtet, den Erhalt der terrestrischen Biodiversität sicherzustellen. In dem im Juli 2018 veröffentlichten Bericht zum Peer Review der Nachhaltigkeitsstrategie der Bundesregierung wird ein verstärkter Biodiversitäts-Schutz ebenfalls gefordert (Bundesregierung, 2018). Diesem Ziel entspricht unser Vorhaben durch die Schaffung von Mitteln zum Erhalt der Honigbienen-Diversität. Weiterhin entspricht unser Vorhaben auch den Zielen der „Nationalen Strategie zur biologischen Vielfalt“ vom November 2007, nicht nur in Bezug auf die Diversität der Honigbiene, sondern auch im Hinblick auf den Erhalt der Ökosystemleistung Pflanzenbestäubung. Unser Konzept ist dabei so angelegt, dass insbesondere die „OnFarm-Nutzung“ der genetischen Ressourcen des Bienensektors erleichtert wird, was ebenfalls den Leitlinien der „Nationalen Strategie“ entspricht (Bundesregierung, 2007). Im „Strategiepapier Agrobiodiversität“ des BMEL schließlich ist die „Förderung einer hohen Diversität der Honigbiene“ konkret als „zu ergreifende Maßnahme“ aufgeführt (Bundesministerium für Ernährung, 2007).

2.2 Wissenschaftlich-technische Ziele

Eine systematische Validierung der Paarungskontrolle durch Verzögerung der Paarungsflüge wurde zuvor nur in Australien durchgeführt (Oxley et al., 2010). Um die Methode in Deutschland zu etablieren, musste den heimischen Züchterinnen und Züchtern die Nutzbarkeit unter lokalen Bedingungen vor Augen geführt werden. Der Erfolg der Paarungskontrolle ist im reinen Praxisbetrieb schwer zu beziffern, da Fehlpaarungen innerhalb derselben Rasse oder auch zwischen morphologisch ähnlichen Unterarten meist nur durch gezielte Untersuchungen nachzuweisen sind. Deshalb war eine wissenschaftliche Begleitung des Modellvorhabens essentiell, um die Glaubwürdigkeit der gewonnenen Erkenntnisse sicherzustellen. Erstes Ziel des Projekts war daher der Aufbau einer Modell-Belegstelle nach dem Prinzip der „Mondschein-Paarung“, verbunden mit der Überprüfung der Paarungssicherheit durch zeitgemäße wissenschaftliche Methoden. Darüber hinaus sollte geklärt werden, wie sich Störfaktoren wie eine hohe Fremddrohnen-Dichte im Umfeld oder widrige Wetterverhältnisse auf den Erfolg der Methode auswirken, und wie der Prozess optimiert werden kann. Schließlich sollten potentielle Nutzer an die Methoden herangeführt und in ihnen geschult werden. Dazu zählten Mitglieder der beteiligten sowie auch anderer Zuchtverbände.

Eine Mondschein-Belegstelle nach australischem Modell setzt elektrische Kühlanlagen/Dunkelräume und eine intensive Betreuung voraus. Der einzelne Züchter kann diesen Aufwand kaum betreiben. Der Betrieb der Belegstelle war deshalb als Dienstleistungs-Angebot geplant, das langfristig etwa von Zuchtverbänden wie den Projektpartnern ZdBD und LVBI für die eigenen Mitglieder getragen würde. Zwar bietet die Mondscheinpaarung die Möglichkeit, solche Belegstellen auch in Nachbarschaft zu Bienenständen mit anderen Rassen zu betreiben, und damit die Gesamtanzahl der Belegeinrichtungen gegenüber dem Ist-Zustand erheblich zu erhöhen - für eine breitflächige Erleichterung der Nebeneinander-Haltung von Rassen reicht dies jedoch kaum aus. Deshalb ist das zweite Ziel des Projekts, die Effizienz von Methoden zur Mondscheinpaarung direkt auf den Ständen individueller Züchter zu demonstrieren. Dabei sollten die physikalischen Bedingungen auf der Mondschein-Belegstelle mit einfachen Mitteln „gartentauglich“ nachgestellt werden. Zur weiteren Arbeitserleichterung werden Abläufe durch Einsatz

einfacher Consumer-Elektronik automatisiert. Wie auch für den Belegstellen-Ansatz soll der Wert der Methode durch eine wissenschaftliche Validierung glaubhaft gemacht und falls nötig durch Verbesserungen erhöht werden.

3. Stand des Wissens

3.1 Zustand der innerartlichen Biodiversität der Honigbiene in Deutschland

In Deutschland werden derzeit überwiegend zwei Typen von Honigbienen gehalten und gezüchtet. Dabei handelt es sich um die in Zentral-Europa natürlich entstandene Unterart *Apis mellifera carnica* und die aus Kreuzungszucht hervorgegangene so genannte „Buckfast-Biene“. Die einzige in Deutschland autochthone Biene *A. mellifera mellifera*, auch dunkle Biene genannt, ist derzeit kaum vertreten. Die aus Zentraleuropa stammende Carnica wurde aufgrund imkerlicher Vorlieben spätestens seit Beginn des 20. Jahrhunderts etabliert und verdrängte bis etwa 1970 die dunkle Biene weitgehend (Reinsch et al., 1991). Heute sind reine, auf die deutsche Ursprungspopulation zurückgehende Völker von *A. m. mellifera* nicht mehr anzutreffen. Haltung und Zucht der dunklen Biene sind in den letzten Jahren wieder im Aufbau begriffen, starten aber von einem sehr niedrigen Niveau (< 2% der Gesamtpopulation). Zurückgegriffen wird dabei vor allem auf (Re-)Importe aus Skandinavien und Österreich. Die dunkle Biene wird von der Gesellschaft alter und gefährdeter Haustierrassen als gefährdet eingestuft (<http://www.g-e-h.de/die-geh1/rote-liste>). Da die Carnica-Biene seit mindestens 1927 systematisch in Deutschland gezüchtet wird, würde auch sie heute wie die dunkle Biene bei Anwendung des Paragraphen 5 des Tierzuchtgesetzes auf die Honigbiene als „einheimische Rasse“ gelten.

Wesentliches Argument bei der „Verdrängungszucht“ (Reinsch et al., 1991) der Carnica-Biene in Deutschland war die Schwierigkeit der Getrennt-Haltung von Mellifera- und Carnica im gleichen Raum aufgrund der Paarungsbiologie der Art (s. II.1). Da eine Carnica-Reinzucht in Gegenden mit Restpopulationen der dunklen Bienen nicht möglich war und zudem die Hybriden beider Rassen als minderwertig (besonders im Hinblick auf Sanftmut) angesehen wurden, wurde eine möglichst vollständige Ausrottung der einheimischen Unterart angestrebt. Somit hat das Fehlen von einfachen Methoden der Paarungskontrolle in der Vergangenheit wesentlich zum Verlust eines großen Teils der autochthonen Honigbienen-Diversität beigetragen.

3.2 Wert der Honigbienen-Diversität in Deutschland

Der ideelle Wert der Honigbienen-Vielfalt liegt naturgemäß im Auge des Betrachters. Nach einer Umfrage des Bundesministeriums für Umwelt stimmen aber über 70% der Deutschen der Aussage zu, dass der Erhalt biologischer Vielfalt insgesamt eine „vorrangige gesellschaftliche Aufgabe“ sei (Bundesministerium für Umwelt, 2107).

Der Wert im Hinblick auf eine nachhaltige Bienenhaltung gründet sich darauf, dass ein vielfältiger Genpool ein Maximum an genetischen Antworten auf gegenwärtige oder zukünftige Stressoren bietet. Dies gilt natürlich insbesondere im Hinblick auf den Klimawandel, der schon jetzt deutliche Auswirkungen auf die Imkerei hat (LeConte and Navajas, 2008). Carnica und Buckfast sind dabei gut angepasst an gemäßigte Bedingungen mit durchgehend guter Trachtversorgung während der Sommermonate. Zudem ist bei diesen Rassen die Selektion auf Resistenz gegenüber dem ökonomisch hoch bedeutsamen Brutparasiten *Varroa destructor* am weitesten fortgeschritten (Spötter et al., 2016, Büchler, 2000, Bienefeld, 2016b). Völker der dunklen Biene hingegen eignen sich vor allem für eine

extensivere Imkerei; sie entwickeln sich bei uns etwas langsamer und erreichen auch im Sommer geringere Individuenzahlen. Der sparsame Umgang mit ihren Ressourcen macht sie dafür aber widerstandsfähig gegen Phasen geringer Tracht (Ruttner, 2003), wie sie zum Beispiel durch extreme Wetterverläufe immer häufiger hervorgerufen werden. Dunkle Bienen sind häufig extrem winterhart und fliegen bei niedrigeren Temperaturen zu Trachtflügen aus als andere Unterarten. Allgemein gilt, dass lokal gut angepasste Bienen oft eine deutlich höhere Krankheitsresistenz aufweisen (Meixner et al., 2015, Meixner et al., 2014). Umgekehrt sind Bienen, die in ihrem Herkunftsgebiet Resistenzen etwa gegen Varroose zeigen, nach Verbringung in andere Gebiete häufig dennoch anfällig (Neumann, 2018). Gleichzeitig bietet eine vielfältige Ausgangspopulation größere Chancen, durch gezielte oder natürliche Selektion Anpassungen auch an neue Stressoren zu erreichen. Die Fähigkeit zur Abwehr der bereits in Deutschland gesichteten Hornisse *Vespa velutina* zum Beispiel variiert innerhalb der europäischen Bienenpopulation erheblich (Arca et al., 2014).

Aus der Bedeutung genetischer Vielfalt für die Nachhaltigkeit der Bienenhaltung ergibt sich auch ihr Wert im Hinblick auf die Sicherung der Ökosystemleistung Blütenbestäubung. Etwa 80% aller Blütopflanzen sind auf Insektenbestäubung ganz oder Teilweise angewiesen (Ollerton et al., 2011). Auch wenn die Honigbiene nur eine von vielen Bestäuberarten ist, ist sie doch aufgrund der erreichten Individuendichte in vielen Ökosystemen die wichtigste (Delaplane and Mayer, 2000). Dabei unterscheiden sich verschiedene Unterarten z.T. ganz erheblich in der Wetterabhängigkeit von Bestäubungsleistungen sowie im Spektrum der aufgesuchten Pflanzenarten. So sind Carnica und Buckfast mit ihrer raschen Frühjahrsentwicklung speziell für die Bestäubung und Honigerzeugung an früh blühenden Massentrachten wie Raps und Löwenzahn sehr gut geeignet (Ruttner, 2003). Formen der dunklen Biene sind speziell an die Trachtverhältnisse in Heidegebieten adaptiert (Goetze, 1937).

Ein gelegentlich vertretenes Argument gegen Bemühungen zur Erhaltung reiner Bienenrassen ist, dass durch unkontrollierte Kreuzung doch eine Population mit maximaler genetischer Diversität entstünde. Richtig ist daran, dass eine möglichst diverse Basispopulation Allele bewahren kann, die in Hochleistungs-Reinzuchten möglicher Weise ausselektiert werden, wenn sie nicht dem aktuellen Zuchtziel entsprechen. Durch eine unkontrollierte Vermischung steigert sich jedoch nicht nur die genetische Diversität der Basispopulation, sondern es geht gleichzeitig die – wesentlich größere und züchterisch weit besser nutzbare - Diversität zwischen den reinen Ausgangspopulationen verloren (Bienenfeld, 2016a). Ziel muss daher sein, neben einer genetisch diversen Basispopulation die reine Zucht aller in Deutschland anzutreffenden Bientypen zu ermöglichen.

3.3 Bedeutung der Paarungskontrolle für den Erhalt der Honigbienen-Diversität

Der technische und logistische Aufwand, der mit der Paarungskontrolle nach bisherigen Methoden verbunden ist, führt dazu, dass nur ein geringer Bruchteil der in Deutschland gehaltenen Königinnen kontrolliert verpaart werden können. In den letzten 20 Jahren hat sich die Zahl der Imker, die andere als Carnica-Bienen halten, stark erhöht. Zwar sind entgegen anderslautenden Vorurteilen auch Hybriden aus Carnica-dominiertes „Landbiene“ und Buckfast nicht zwangsläufig stechlustig (Maul, 1998), aber die Uneinheitlichkeit vieler standbegatteter Königinnen bereitet vor allem in dicht besiedelten Lagen häufig Probleme, sodass der Bedarf an kontrolliert verpaarten Königinnen schon aus diesem Grund wächst. Ein weitaus größeres Problem ist jedoch die wachsende Schwierigkeit bei der Erhaltung reiner Zuchtlinien.

Aber auch die mit etwa 10.000 registrierten Zuchtköniginnen sicher nicht direkt als bedroht zu bezeichnende Carnica-Zucht hat mit zunehmenden Schwierigkeiten bei der Paarungskontrolle zu kämpfen. Aufgrund des wieder steigenden Anteils an nicht-Carnica-Völkern an der deutschen Bienenpopulation steht die Rassereinheit von Paarungen auf Landbelegstellen zunehmend in Frage. Damit sind auch die genetische Vielfalt innerhalb der Carnica und der erreichte Grad lokaler Anpassung innerhalb dieser Unterart unter Druck geraten.

3.4 Paarungsbiologie der Honigbiene und konventionelle Wege der Paarungskontrolle

Bienenköniginnen paaren sich nur ein bis wenige Male im Alter von ca. 5 – 20 Tagen, und verwenden den erhaltenen Spermavorrat für die restlichen 1-5 Jahre ihres Lebens. Wohl aufgrund ihrer großen Anfälligkeit gegenüber Inzuchtdefekten hat sich bei der Honigbiene ein Paarungsverhalten entwickelt, das das Risiko von Paarungen verwandter Drohnen und Königinnen minimiert. Die Paarung geschieht im freien Flug und in mindestens 5 Metern Höhe, wobei eine Königin von bis zu 20 Drohnen begattet wird (Koeniger et al., 2015). Zumindest in Landschaften mit deutlicher Strukturierung erfolgen fast alle Paarungen auf so genannten Drohnensammelplätzen, die sich oft über Jahre hinweg am selben Ort befinden und an denen sich die Drohnen in großer Anzahl (>10.000) und Dichte aufhalten (Koeniger et al., 2015). Königinnen fliegen im Mittel etwa 3 km bis zum Paarungsplatz, auch wenn sich große Mengen an Drohnen in geringerer Entfernung oder sogar auf dem gleichen Bienenstand befinden (RUTTNER and RUTTNER, 1972). Drohnen fliegen in der Regel eine etwas kürzere Strecke, können aber in Extremfällen mehr als 5 km zurücklegen (RUTTNER and RUTTNER, 1972). Das bedeutet, dass zur Erreichung einer kontrollierten Anpaarung in einem Radius von mindestens 10 km um den Standort der Begattungsvölkchen keine anderen als die gewünschten Drohnen aufgestellt sein dürfen. Dies ist in der Praxis außer auf festlandfernen Inseln schwer zu realisieren, weshalb zur Einrichtung von Belegstellen auf dem Land allen Imkern in einem entsprechenden Bereich die Haltung des auf der Belegstelle gezüchteten Materials durch Gesetze oder Verordnungen vorgeschrieben wird. Die Sicherstellung der Einhaltung dieser Vorschrift macht einen beträchtlichen Teil der Arbeit des Belegstellenleiters aus. Da entsprechende Vorschriften nicht in allen Bundesländern existieren, ist ein Betrieb von Landbelegstellen nicht überall möglich. Auf einer Belegstelle werden Drohnen der gewünschten Vatervolk-Sippe in starken Völkern, so genannten Drohnenpflegern/Drohnenvölkern aufgestellt. Die Jungköniginnen müssen zur Verpaarung in Kleinstvölkern auf die Belegstelle gebracht und nach ca. 3 Wochen wieder abgeholt werden.

Auf einer Belegstelle können im Jahr mehrere Hundert bis einige Tausend Königinnen angepaart werden. Da die Zonen kontrollierter Drohnenherkunft um die Belegstellen aber oft nicht ganz ausreichen, um Zuflug von außen zu verhindern, und außerdem die Durchsetzung des Gebots der Haltung des gleichen genetischen Materials durch die Imker oft nicht vollständig gelingt, liegt auf Landbelegstellen der Anteil rein angepaarter Königinnen oft deutlich unter 80% (RUTTNER and RUTTNER, 1972). Ein weiterer gravierender Nachteil der Paarungskontrolle durch Belegstellen ist, dass in der Regel in einer Saison auf einer Belegstelle nur Drohnen zum Einsatz kommen, die Nachkommen (zumeist Enkel) einer einzigen geprüften Königin sind. Dadurch wird die genetische Vielfalt in der Folgegeneration eingeschränkt und der Züchter kann die Anpaarungspartner nicht frei wählen. Deshalb und weil die Zahl der Belegstellen gering ist (in Deutschland insgesamt ca. 120) kommt in begrenztem Maß auch die künstliche Besamung zum Einsatz. Wie bei der Belegstellen-Begattung müssen auch hier die Königinnen in Kleinstvölkern gehalten werden. Das Sperma

wird durch künstlich herbeigeführte Ejakulation von 12-30-tägigen Drohnen gewonnen und in feine Glaskapillaren aufgenommen. Die Königinnen müssen vor oder nach der Besamung herausgefangen und zur Einleitung der Eibildung mit CO₂ behandelt werden. Zur Besamung werden sie erneut gefangen und narkotisiert, danach kommen sie zurück in ihre Völkchen. Die Fruchtbarkeit und Nutzbarkeits-Dauer künstlich besamter Königinnen ist derjenigen von natürlich begatteten Königinnen ebenbürtig (Cobey, 2007). Die Verbreitung der Methode ist aber begrenzt, denn Besamung erfordert einen geeigneten Raum sowie spezialisierte Ausrüstung im Neuwert von ca. 2.000 €. Die Pflege der Drohnen und Königinnen ist aufwändiger als im Fall der Belegstelle. Vor allem aber erfordert die Durchführung der Besamung viel Geschick und Erfahrung, und steht deshalb nur einer Minderheit der Bienenzüchter zu Gebote (Oxley et al., 2010). Der Deutsche Imkerbund als größte Imkervereinigung des Landes verfügte 2017 nur über 75 anerkannte Besamungsstellen (e.V., 2017). Am gravierendsten ist der Mangel an Möglichkeiten zur Reinpaarung im Fall der ursprünglich bei uns verbreiteten dunklen Biene, da für diese bundesweit nur eine einzige Belegstelle existiert und aufgrund der geringen Verbreitung eine auch nur annähernd rassenreine Standbegattung sonst nirgends in Deutschland möglich ist. Zugleich ist die Nachfrage an reingepaarten dunklen Königinnen in den letzten Jahren steil angestiegen, was das Interesse der Imkerschaft und den Willen zur Erhaltung dieser Bienen demonstriert. Der Engpass bei der Paarungskontrolle limitiert damit direkt den Erfolg der Bemühungen um den Schutz der dunklen Biene in Deutschland.

3.5 Methode der Mondscheinpaarung

Die Anfänge der „Mondscheinpaarung“ reichen bis zum Beginn des 20. Jahrhunderts zurück (Ludwig, 1937). Schon damals entdeckte man, dass Königinnen und Drohnen, die gemeinsam mit ihren jeweiligen Völkern während der Hauptpaarungszeiten (etwa 13-16 Uhr) in dunklen, kühlen Räumen aufbewahrt werden, bei Aufstellung zu späteren Uhrzeiten (ca. 17:00 Uhr) noch zu Begattungsflügen aufbrechen. Da dann im Normalfall die Geschlechtstiere der umgebenden Population bereits nicht mehr fliegen, sind Paarungen nur zwischen den spät freigesetzten Tieren möglich. Das Verfahren fand zunächst nur geringe Verbreitung, wohl vor allem aufgrund des hohen technischen Aufwandes (tägliches Ein- und Auslagern der Drohnen- und Begattungsvölker). Eine entscheidende Verbesserung brachte kürzlich aber die Verlagerung der Bienenkästen auf Schienen, auf denen sie schnell und einfach in und aus dem Dunkelraum gefahren und präzise positioniert werden können (Kober, 2007, Oxley et al., 2010). Zur Durchführung des Verfahrens werden die Begattungsvölkchen mit den geschlechtsreifen Königinnen für 2-3 Tage im Dunkeln und bei reduzierter Temperatur (14-18°C) aufbewahrt. Nur für ca. zwei Stunden täglich werden sie auf den Schienen aus der Kühlhalle gefahren. Die Fluglöcher werden geöffnet, sodass die Königinnen ausfliegen und sich nach einigen Orientierungsflügen mit Drohnen paaren können. Bei der Ausfahrt der Völker ist es wichtig, diese immer auf genau die gleiche Stelle zu fahren, da die Königin sich auf diese Stelle einfliegt und sonst nicht zurückfinden kann. Zur Abschätzung des richtigen Moments für die Freigabe des Flugloches werden auf dem gleichen Stand frei fliegende Völker mit zahlreichen Drohnen beobachtet. Kurz nachdem der Drohnenflug bei diesen endet, werden die Königinnen freigelassen. Die Zuchtdrohnen werden ebenso wie die Königinnen während der Hauptpaarungszeit am Ausflug gehindert, allerdings nicht durch Aufbewahrung in einem Kühlraum, sondern durch Verwendung Drohnen-undurchlässiger Absperrgitterböden unter den frei aufgestellten Völkern. Diese Böden sind so gestaltet, dass zur Hauptflugzeit nur Arbeitsbienen ein und aus fliegen können, und die Drohnen von der Wahrnehmung des Tageslichts durch eine spezielle Anordnung des Fluglochs abgeschirmt sind. Nach Ende der Flugzeit der unkontrollierten

Drohnen wird dann am Stock der Zuchtdrohnen ein alternatives, für Licht zugängliches Flugloch geöffnet.

Der erzielbare Anteil korrekter Anpaarungen mit dieser in Australien „Horner-System“ genannten Methode wurde dort mit molekulargenetischen Mitteln untersucht und auf >85% beziffert. Bei Standbegattung ohne gezielte Maßnahmen zur Paarungskontrolle beträgt der Anteil von Paarungen zwischen Tieren desselben Standes dagegen im Mittel nur etwa 15% (Jensen et al., 2005). Vor kurzem wurde das Horner-System auch vom griechischen Landwirtschafts-Institut etabliert und erfolgreich getestet (s. www.youtube.com/watch?v=V8jXQeScgVg für einen optischen Eindruck). Auch in Deutschland gibt es bereits seit einigen Jahren Züchter, die mit der Methode experimentieren. Diese werden wir im Rahmen des Projekts zum Erfahrungsaustausch einladen bzw. sind als Mitglieder der beteiligten Zuchtverbände direkt in das Projekt eingebunden. Eine Validierung des Ansatzes unter wissenschaftlicher Begleitung für deutsche Bedingungen fehlt bisher.

3.6 Bestehende und veränderte Rahmenbedingungen, unter denen das Projekt durchgeführt wurde

Die gesetzlichen Bedingungen zum Schutz von Belegstellen sind in eine Phase intensiver Neugestaltung eingetreten. So hat z.B. der Sächsische Landtag noch vor Projektbeginn am 28. Juni 2018 das „Gesetz zum Schutz von Belegstellen für Bienen im Freistaat Sachsen“ beschlossen. In anderen Bundesländern sind ähnliche Gesetzesvorhaben angestoßen worden oder sind in Vorbereitung. Hier wird den neuen wissenschaftlichen Erkenntnissen Rechnung getragen, dass der biologische Spielraum der Paarung der Honigbiene unterschätzt wurde, und unter anderem die Schutzradien ausgeweitet. Hierdurch steigen auch die Anforderungen für die Belegstellenbetreiber, und es besteht die Gefahr, dass manche Belegstellen unter den neuen Bedingungen nicht weitergeführt werden können.

Im Rahmen der Gesetzesnovellierungen wurde auch über die Verteilungssituation unter den Bienenrassen diskutiert, da die für Belegstellen geeigneten verfügbaren Flächen begrenzt sind und durch die verstärkten Schutzkriterien noch weiter eingeschränkt werden. Die meisten Belegstellen sind der Carnica-Zucht gewidmet, und die wünschenswerte Einrichtung von Mellifera- und Buckfast-Belegstellen ist zunehmend schwierig. Auf der anderen Seite würde die Umwidmung von Carnica-Belegstellen auch die genetische Vielfalt der Carnica-Population gefährden. Dieser Prozess ist noch nicht abgeschlossen, wie die Situation in Rheinland-Pfalz zeigt. Hier wurde am 3. Februar 2021 das „Landesgesetz zum Schutz von Belegstellen für Bienen“ beschlossen, in dessen Rahmen eine neu eingerichtete und behördlich genehmigte Belegstelle der dunklen Biene die Paarungssicherheit einer bestehenden Carnica-Belegstelle einschränkt.

Insofern hat sich der Bedarf an zusätzlichen Einrichtungen der Paarungskontrolle im Projektzeitraum noch erhöht.

4. Arbeitsverlauf

4.1 Darstellung der laut Arbeitsplan geplanten und tatsächlichen Arbeitsschritte

- Entwicklung, Aufbau und Betrieb der Mondschein-Belegstelle
 - Durchgeführt (eine Modell-Belegstelle für Validierungsversuche, eine Belegstelle und eine Testbelegstelle beim Praxispartner ZVDBD)

- Testung des Einflusses der Anzahl an Fremddrohnen auf die Paarungsreinheit auf der Mondschein-Belegstelle
 - Durchgeführt (Validierungsversuche im Jahr 2021; Varianten mit 5 oder 10 Völkern mit „Stördrohnen“)
- Testung des Einflusses des Freisetzung-Zeitraumes auf die Paarungsreinheit auf der Mondschein-Belegstelle
 - Durchgeführt (Versuche 2021 und 2022)
- Aufbau, Betrieb und Testung der Anlage zur Mondschein-Methode auf kleineren Imkerständen
 - Durchgeführt (Privatimkerei Skerka, Priort, 2019 & 2020; Privatimkerei Grune, Woltersdorf, 2021)
- Validierung der molekularbiologischen Methode zur Analyse der Paarungsreinheit aus dem Inhalt der Samenblase
 - Durchgeführt, in Zusammenarbeit mit Auftragnehmer Universität Braganca (Portugal)
- Planung der Demonstration der „Mondschein-Methode“ im Maßstab einer Belegstelle
 - Durchgeführt; Demonstration erfolgte unter anderem durch Besuch einer Imkergruppe im Rahmen der Validierungsversuche, sowie im Rahmen des Betriebs der Modellbelegstellen
- Austausch mit externen Experten
 - Durchgeführt (Besuche von Fani Hatjina (griechisches DEMETER-Institut, Gilbert Bast (Gemeinschaft europäischer Buckfast-Züchter; Funktion von Projektmitarbeiter Dr. Jakob Wegener als „Scientific Advisor“ des fachlich ähnlich ausgerichteten EU-Projekts BeeConSel)
- Aufbau und Betrieb einer Anlage zur „Mondschein-Paarung“ im Belegstellen-Maßstab (2. Versuchs-Saison)
 - Durchgeführt (aufgrund pandemiebedingter Einschränkungen erst im 3. Projektjahr)
- Optimierung des Freisetzung-Zeitpunktes der Drohnen und Königinnen zur Steigerung der Paarungsreinheit
 - durchgeführt
- Betreuung von Aufbau und Betrieb von „Mondschein“-Anlagen in privaten Imkereien von ZVDBD-Mitgliedern
 - Durchgeführt; beteiligte Imkereien F.-T. Ferse, Ch. Grune, H. Skerka und andere
- Analyse der Reinheit der erhaltenen Anpaarungen durch morphometrische und molekulare Methoden
 - durchgeführt
- Maßnahmen zur Demonstration der Methode und Ergebnisverbreitung
 - Durchgeführt; Darstellung der Ergebnisse in Vorträgen (Züchertagung DIB, Brandenburgischer Imkertag, diverse Imkervereine, Jahrestagung der Institute für Bienenforschung, ANERCEA-Tagung (Frankreich), etc.), Webinars, „Lange Nacht der Bienenwissenschaften“ des Deutschen Imkerbundes, SICAMM-Tagung, etc.)

4.2 Darstellung der geplanten und tatsächlich getätigten Ausgaben

Die Personalmittel wurden im Wesentlichen wie geplant verausgabt. Die in der Verlängerungsphase eingeplanten Mittel für eine Hilfskraft wurde abweichend für eine Verlängerung der angestellten Imkerin verwendet. Dies wurde notwendig, da nur eine ausgebildete Fachkraft die morphometrische Analyse von Bienenproben zu Ende führen konnte, die es noch abzuschließen galt.

Die Verbrauchsmittel wurden ebenfalls weitgehend wie geplant verausgabt.

Bei den Reisekosten wurden aufgrund des Pandemiegeschehens weniger Tagungsteilnahmen als geplant durchgeführt. Dies bedeutet aber keine Verringerung der Anstrengungen zur Ergebnisverbreitung, da stattdessen Online-Formate genutzt wurden. So konnte die Anzahl geplanter Tagungsteilnahmen sogar weit überschritten werden. Die eingesparten Reisekosten für Tagungsteilnahmen wurden für Autofahrten zur (ca. 40 km entfernten) Versuchsbelegstelle verausgabt.

Die Aufträge an Dritte wurden weitgehend antragsgemäß vergeben und abgerechnet.

5. Umgesetzte Methoden

5.1 Mondschein-Methode im Maßstab kleinerer Imkereien/Zuchtbetriebe

Ein Hauptproblem der Bienenzucht ist die Schwierigkeit der Paarungskontrolle – da Drohnen und Königinnen sich im freien Flug aus zentralen Sammelpunkten paaren, ist eine Zuchtwahl auf der männlichen Seite nur durch gezielte Vorkehrungen möglich. Bislang sind dies in Deutschland nahezu ausschließlich die Paarung an isolierten Plätzen, an denen nur bestimmte Drohnen-Herkünfte erlaubt werden (Belegstellen) sowie die künstliche Besamung. Da geeignete Orte für Belegstellen rar und die künstliche Besamung relativ aufwendig und schwer erlernbar ist, ist die mangelnde Möglichkeit zur kontrollierten Verpaarung häufig das Haupthindernis für die Weiterzucht und den Erhalt gerade kleinerer Bienenpopulationen (Unterarten/Zuchtlinien). Daher sollte im Projekt gerade auch Züchtern mit geringerer Völkerzahl ein Weg aufgezeigt werden, Paarungskontrolle auf dem eigenen Stand und mit den Vatervölkern der eigenen Wahl zu erreichen.

5.1.1 Methodenentwicklung am LIB 2019

Das Prinzip der „Mondschein-Paarung“ sieht vor, dass Drohnen und Königinnen während der natürlichen Paarungszeiten zurückgehalten und erst nach deren Ende freigesetzt werden, wenn also nur noch die freigesetzten Tiere als Paarungspartner zur Verfügung stehen. Während der Zeit der Flug-Restriktion sehen die am besten validierten Systeme in Australien und Griechenland eine Verbringung der Begattungsvölker in einen dunklen und gekühlten Raum vor. Mehrere deutsche Königinnen-Vermehrter arbeiten aber nach einem anderen System. Sie belassen die Völker ungekühlt am Aufstellungs-Ort und erlauben den Arbeitsbienen den Ein- und Ausflug. Nur die Königinnen werden durch ein Absperrgitter zurückgehalten und von Licht abgeschirmt. Für letztere Variante liegen keine Daten über die erreichbare Paarungsreinheit vor, sie ist aber natürlich viel leichter zu realisieren. Wir haben deshalb in unserer Umsetzung des „Mondschein“-Konzepts beide Ansätze berücksichtigt. Der Versuch beinhaltete zusammen mit der Kontrolle drei Gruppen:

- Variante A: Kühlung während der Flugrestriktions-Zeit. Für diese Variante wurde eine einfache Kiste aus Styrodur-Platten entworfen, in der die Begattungsvölker in sog. Kirchhainer Begattungskästchen aufgestellt wurden (Abbildung 1). Die Ausflug-Öffnungen wurden dabei durch über das Internet fernsteuerbare Klappen verschlossen. Die im Projektantrag vorgesehene Kühlung durch Brunnenwasser erwies sich als nicht durchführbar, da der auf dem Grundstück vorhandene Brunnen verschlammte war. Die Kühlung erfolgte deshalb in den ersten beiden Durchgängen durch einfache Kühleinheiten aus Peltierelementen und damit verbundenen Lüftern. Da sich dies, wohl auch aufgrund der Rekord-Temperaturen im Versuchszeitraum, als nicht ausreichend erwies, wurde im dritten Durchgang ein neues Kühlsystem aufgebaut. Es besteht aus einem ausrangierten Haushalts-Gefriergerät, in dem in den Nachtstunden Wasser

gefroren wird. Während des Tages wird die gespeicherte Kälte über ein Gebläse in die Bienen-Box geleitet. Ein einfacher Thermostat regelt die Temperatur im Innenraum auf 16-18°C.

- Variante B: Keine Kühlung, Freiaufstellung der Begattungsvölker. Für diese Variante wurde nach Rücksprache mit mehreren anderen Züchtern ein Umbau der Kirchhainer Begattungskästchen vorgenommen. Diese erhielten zwei getrennt absperrbare Fluglöcher. Das „Tages-Flugloch“ war nur für Arbeitsbienen zugänglich. Licht-Durchfall wurde durch ein sich anschließendes „Labyrinth“ aus Holzlätichen verhindert. Das „Abend-Flugloch“ hingegen war für Arbeiterinnen und Königinnen passierbar, und direkter Lichteinfall in das Volk war möglich (Abbildung 2).
- Kontrolle: Als Kontrolle wurden Königinnen in unveränderten Kirchhainer Begattungskästchen aufgestellt. Der Ausflug wurde nicht beschränkt.

Die für die Mondschein-Paarung vorgesehenen Drohnen wurden in zwei starken Völkern aufgestellt. Diese erhielten ähnlich wie die Begattungsvölkchen in Variante 2 zwei getrennte Fluglöcher für Tagesbetrieb (nur Arbeitsbienen) und „Mondschein“-betrieb (auch Drohnen) (Abbildung 3). Die Jungköniginnen und die aufgestellten Drohnen entstammten reinrassigen Völkern der Unterart *A. m. carnica*. Der Versuchsplatz war so gewählt, dass in der Nähe mehrere Imkereien mit einem hohen Anteil anders-rassiger Völker angesiedelt waren, um eine Abgrenzung der erwünschten von den unerwünschten Paarungen zu ermöglichen. Der Versuch wurde dreimal wiederholt, zum 17.06., 24.06. und 17.07.2019. Dabei wurden insgesamt 54 Begattungsvölker aufgestellt. Zur Arbeitserleichterung wurde der Aufbau mit einfacher Consumer-Technik teilautomatisiert. Dies betraf die Temperatur-Überwachung in der Bienen-Box, die Steuerung der Flugklappen der Bienenbox, sowie die Steuerung der Fluglöcher der Drohnenvölker. Zur Überwachung der Funktion aller Komponenten wurde eine einfache Webcam aufgestellt. Versuchsort war eine Waldlichtung etwa 4 km vom LIB entfernt. Für die Versorgung mit Strom sowie den Internetzugang wurde der benachbarten Waldschule eine pauschale Aufwandsentschädigung gezahlt.

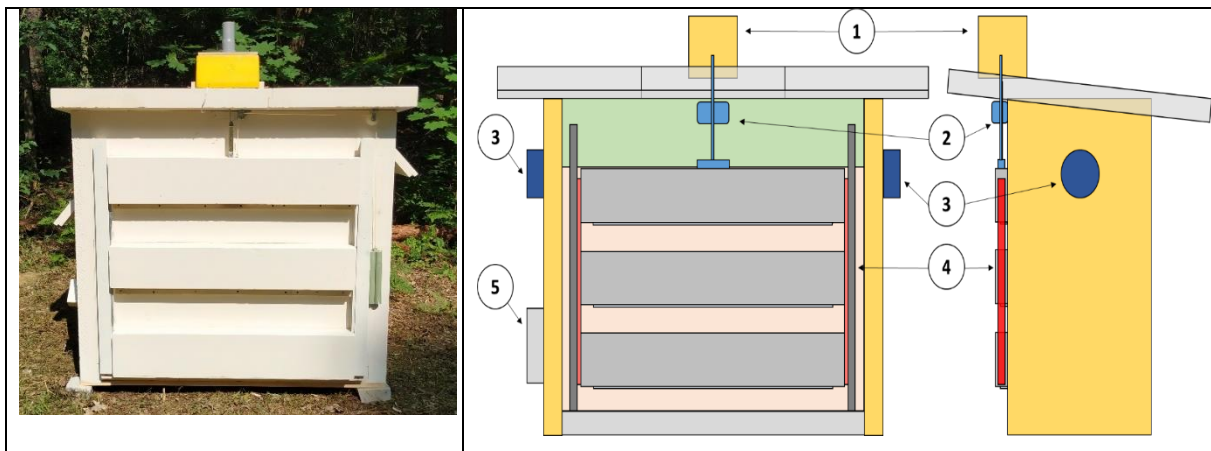


Abbildung 1: Bienen-Box zur gekühlten Aufbewahrung der Begattungsvölker während der natürlichen Paarungsflugzeit
Links: Aufbau am Versuchsstandort

Rechts: Schematische Darstellung (1,2: Servo zur Fluglochöffnung; 3: Öffnung für Kühlung; 4: Klappen zur Ausflugsteuerung)

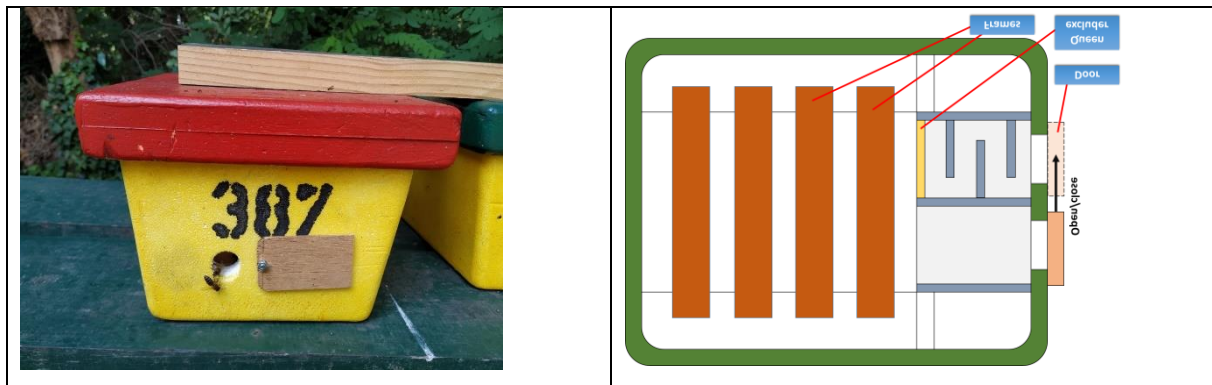


Abbildung 2: Begattungskästchen zur Freiaufstellung und Regulation des Königinnen-Ausflugs. Links: Vorderansicht in Stellung „nur Arbeiterinnen“; rechts schematische Ansicht des Begattungskästchens.



Abbildung 3: Aufstellung der Drohnenvölker mit Klappe zum Wechsel zwischen „Tages“- und „Mondschein“-Flugloch. Links Gesamtansicht, rechts Ausstrom der Drohnen nach Freigabe des „Mondschein“-Fluglochs.

5.1.2 Betrieb der Mondscheinbegattungseinrichtung in Kleinimkerei (Versuch 2020)

Ein Projektziel war die Testung der Mondschein-Methode im Maßstab einzelner Imkereien/kleinerer Zuchtbetriebe. Diese Methode war im Vorversuch 2019 getestet worden, wobei sich die Paarungsreinheit zwar als hoch erwies, allerdings nur wenige der spät freigesetzten Königinnen tatsächlich begattet worden waren.

Im Jahr 2020 fanden die Versuche zu dieser „kleinen“ Variante der Mondscheinpaarung wie im Antrag vorgesehen auf dem Stand einer privaten Kleinimkerei statt (Imkerei Hartmut Skerka, Priort bei Berlin). Der Imker, der auch Mitglied des ZVDBD ist, betreute die Anlage und die aufgestellten Völker in aufopferungsvoller Weise, und stellte auch einen Teil der verwendeten Drohnenvölker zur Verfügung. Das LIB stellte die übrigen Drohnenvölker, erzeugte die anzupaarenden Königinnen und Begattungsvölkchen, und stellte insbesondere die gesamte technische Ausrüstung. Für die Bildung der Begattungsvölker wurden größere Mengen Bienen („Kunstschwärme“) zugekauft.

Im Gegensatz zur Situation auf der Belegstelle wurden in diesem Versuch Anzahl und Genetik der „Fremddrohnen“ nicht kontrolliert. Dies war auch nicht möglich, da sich der Stand nicht in geographisch isolierter Lage befand. Es ist davon auszugehen, dass der „Fremddrohnen-Druck“ hoch war, denn ein Berufsimker hatte pünktlich zu Versuchsbeginn ca. 30 Völker der Buckfast-Rasse in nur etwa 800 m Entfernung aufgestellt. Der Versuch fand also unter Bedingungen statt, wie sie für die meisten Regionen Deutschlands typisch sein dürften.

Verwendet wurden hier, entsprechend den wirtschaftlichen Erfordernissen kleiner Imkereibetriebe, sehr kleine Begattungsvölker (ca. 1/7 der Bienenmasse der Belegstellen-Begattungsvölker). Wie schon 2019 wurden zwei Varianten getestet, gekühlt und ungekühlt. Bei der gekühlten Variante befanden sich die Begattungskästchen während des Tages in einem durch ein altes Haushaltsgerät temperierten Styropor-Kasten mit automatisch gesteuertem Temperaturverlauf und automatischer Öffnung seitlicher Ausflugklappen (Abb. 4). Bei der ungekühlten Variante wurden die Völkchen frei auf Getränkeboxen im Gelände postiert. Sie hatten zwei Fluglöcher, von denen eines nur für Arbeitsbienen passierbar und während des Tages offen war, das andere auch für Königinnen passierbar und in den „Mondschein“-Zeiten offen war. Das Tages-Flugloch war durch ein Labyrinth-artiges System vom Tageslicht abgeschirmt (Abb. 5).

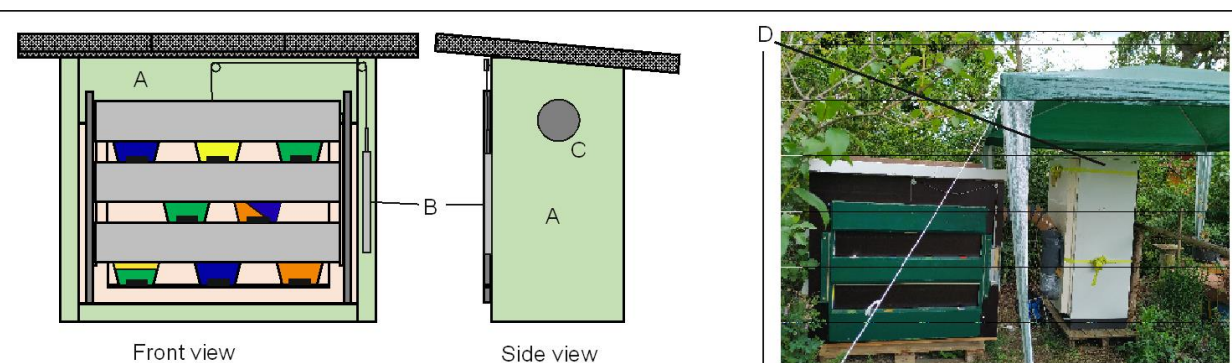


Abbildung 4: Styroporbox zur Kühlung kleiner Begattungseinheiten auf Imkerständen
 A: Styrodur-Korpus, B: Gegengewicht für Falltür; C: Loch für Kaltluftzufuhr; D: Gefrierschrank für Kälterzeugung

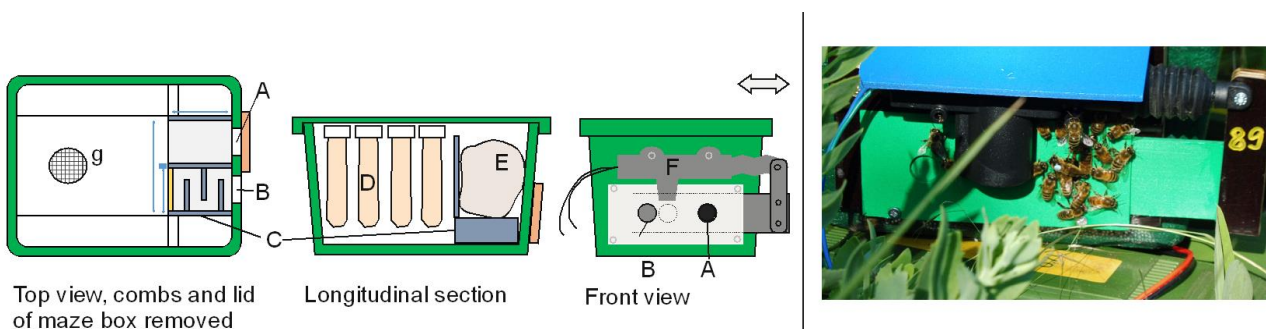


Abbildung 5: Begattungskästchen zur Mondscheinpaarung in Freiaufstellung
 A: Mondschein-Flugloch; B: Tages-Flugloch; C: Labyrinth zur Abschirmung von Tageslicht; D: Waben; E: Futter

Aufgestellt zur Mondschein-Paarung wurden Königinnen und Drohnen der *A. m. mellifera*. Zusätzlich zu den zwei Varianten der Mondscheinpaarung wurde erneut eine Gruppe von Völkern ohne Regulation des Königinnenflugs als Kontrolle aufgestellt.

Es wurden 2020 dreimal Königinnen aufgeführt, in einer Gesamtzahl von 72. Zusätzlich wurden einige Königinnen künstlich mit Sperma der für die Mondschein-Methode vorgesehenen Drohnenvölker belegt, um eine Aussage zum erwartbaren Ergebnis bei perfekter Paarungskontrolle zu ermöglichen. Die Bewertung der Paarungsreinheit erfolgte rein morphometrisch nach den für den Belegstellenversuch beschriebenen Methoden.

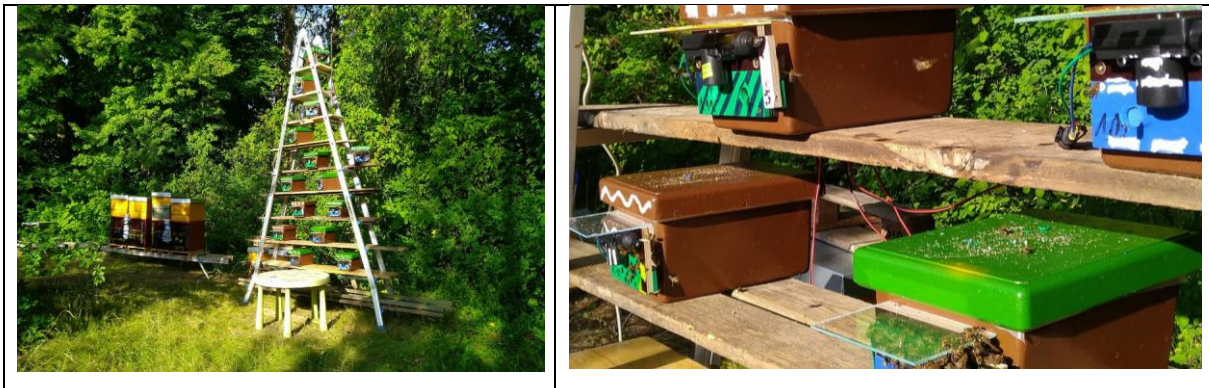


Abbildung 6: Aufbau in der Imkerei Grune

5.2 Umsetzung der „Mondschein“-Methode im Belegstellen-Maßstab

5.2.1 Saison 2020

Im Jahr 2020 wurde neben der Umsetzung der „Mondschein“-Methode auf einem Imkerstand der Betrieb einer „Mondschein“-Belegstelle getestet. Dazu stellte der Partner LVBI die Belegstelle Schorfheide-Chorin zur Verfügung. Die sonst auf der Belegstelle begatteten Königinnen wurden stattdessen durch Mitarbeiter des LIB mit Sperma der Belegstellen-Linie künstlich besamt (Eigenanteil des LIB am Projekt).

Im Dezember 2019 erfolgten erste Vorabsprachen zu den Planungen im Rahmen eines Treffens der Projektpartner (außer ZVDBD). Im Rahmen eines weiteren Projekttreffens am 28.02.2020 wurden die Planungen konkretisiert. Dabei war auch ein Vertreter der für den Standort zuständigen Forstverwaltung anwesend.

Die Begattungsvölker wurden 2020 antragsgemäß während der natürlichen Flugzeit in einem Kühlraum (Kühlanhänger) aufbewahrt und nach deren Ende auf einem Schienensystem ins Freie gezogen. Die isolierte Lage auf der Belegstelle ermöglichte es dabei, die Anzahl der verfügbaren Wunsch- und Fremddrohnen genau zu steuern. Variiert wurde außer dem Faktor „Anzahl der Wunsch-/Stödrohnen“ auch der Zeitpunkt der Freisetzung der Königinnen.

Die Forstamtliche Genehmigung für die Durchführung des Versuchs wurde eingeholt, und die Befahrerlaubnisse erteilt. Bienenweide für die Ernährung der Versuchsvölker wurde eingesät. Der anliegende Stromanschluss wurde ertüchtigt. Absprachen für die Beschaffung der Drohnenvölker wurden getroffen. Dabei stellte das LIB, z. T. aus Zukäufen, diejenigen der Unterart *A. m. carnica*. Der ZVLIB stellte diejenigen der Unterart *A. m. mellifera*, und zwar ebenfalls teilweise aus einem Zukauf.

Die für die Versuchsdurchführung erforderliche Kühleinrichtung wurde bestellt. Im Antrag war hierfür die Anmietung eines Kühlcontainers vorgesehen. Bei genauerer Planung ergab sich jedoch, dass sich mit dem gleichen finanziellen Aufwand auch ein etwas kleinerer, dafür frei umbaubarer Kühlanhänger kaufen lässt. Eine entsprechende Umwidmung der für die Mietung bewilligten Projektmittel wurde bei der BLE beantragt und genehmigt. Durch die ab März 2020 einsetzende Corona-Krise geriet die Hersteller-Firma des bestellten Anhängers in eine Notlage und war nicht mehr im Stande, den bestellten Anhänger fertigzustellen. Dem Partner LVBI gelang es kurzfristig, einen bereits fertiggestellten Anhänger von einem Zwischenhändler zu bestellen, der gerade noch rechtzeitig abgeholt werden konnte.

Die für die Erzeugung der Begattungsvölkchen erforderlichen Bienenkästen wurden beschafft, gestrichen und umgebaut. DA in 2020 Begattungsvölker auf Vollwaben verwendet wurden, war der Bedarf an Bienenbrut für deren Bildung groß und wurde teilweise durch Zukäufe (aus dem Verbrauchsmittel-Etat) realisiert.

Der Anhänger wurde am 14. Mai auf der Belegstelle aufgestellt. Die Räder wurden dabei demontiert, um Diebstahl vorzubeugen. Im Anhänger sowie auf der Fläche davor wurde ein Schienensystem für die erleichterte Ein- und Ausfahrt der Begattungsvölker montiert, welches durch LIB-Mitarbeiter aus C-Profilstahl geschweißt wurde (Abbildung 7). Die Kühlanlage des Hängers wurde auf 15°C eingestellt, und die tatsächliche Temperatur durch einen kalibrierten Datenlogger dokumentiert.

Um den täglichen Betrieb der Belegstelle sicherzustellen, fuhr während der Versuchszeiten von Ende Mai bis Anfang Juli täglich ein LIB-Mitarbeiter dorthin und öffnete die Fluglöcher. Der Verschluss am Abend erfolgte durch eine sehr engagierte Honorarkraft vor Ort, Herrn Preikschatt. Auch der LVBI-Vorsitzende, Herr Lucke, sowie weitere LVBI-Mitglieder (die Belegstellenleiter, Herr Bartsch und Herr Jost) beteiligten sich an den Arbeiten.



Abbildung 7. Der Kühlanhänger mit Schienensystem auf der Belegstelle



Abbildung 8. Die Carnica-Drohnenvolk-Gruppe nach Öffnung der Drohnen-Fluglöcher

Eine für den technischen Aufwand des Belegstellen-Betriebs wichtige Frage ist die der Größe der verwendeten Begattungs-Völker. Die Vorbilder in Australien und Griechenland arbeiten mit Völkern auf Ganzwaben, mit ca. 3-5000 Bienen pro Volk. Wir mussten zunächst davon ausgehen, dass sich die Kühlung im Anhänger auf Völker dieser Größe anders auswirkt als auf die in Deutschland üblichen, wesentlich kleineren Begattungseinheiten. Daher haben wir uns nach Rücksprache mit unserer externen Beraterin, Frau Hatjina (Demeter-Institut Griechenland) 2020 für größere Völker entschieden. Hierzu wurden Ableger-Beuten für 5 Ganzwaben und große Mengen an Brutwaben aus fremden Imkereien beschafft.

Alle verwendeten Königinnen waren Nachzuchten aus demselben, reinerbigen und Merkmalsuntersuchten Carnica-Volk. Die Aufzucht erfolgte im LIB.

Die Aufstellung der Drohnenvölker erfolgte in zwei Gruppen (*A. mellifera carnica* = „erwünschte“ Drohnen, *A. m. mellifera* = „unerwünschte“ Drohnen), die an gegenüberliegenden Seiten der Belegstellen-Lichtung angeordnet waren. Es wurden acht Carnica-Drohnenvölker und je nach Versuch 5 – 10 Mellifera-Drohnenvölker verwendet. Fünf der Mellifera-Völker wurden durch den ZVDBD von einem Berufsimker gemietet und durch LIB-Mitarbeiter dort abgeholt. Zur Rückhaltung der Carnica-Drohnen während der natürlichen Paarungszeiten wurde auf das in 2019 bewährte Bienenkasten-Modell zurückgegriffen. Dieses bietet zwei getrennte Fluglöcher, von denen das eine nur von Arbeitsbienen passiert werden kann (geöffnet während des Tages), das andere auch von Drohnen (geöffnet während der „Mondschein“-Paarungszeiten).

Zur besseren Pollenversorgung der Drohnenvölker wurde durch den LVBI die Aussaat von Phacelia auf einem Teil der Lichtung veranlasst, was sich vor allem gegen Ende der Versuche vorteilhaft auswirkte.

In der ersten Saison wurde die Belegstelle von 21. Mai bis 10. Juli 2020 betrieben, in der zweiten Saison von Mitte Mai bis zum 20. Juli 2021, das heißt über die gesamte Dauer der Drohnen-Verfügbarkeit. Die Drohnenvölker wurden wöchentlich durchgeschaut, um Abschwärmen zu verhindern und die Versorgung mit Pollen und Honig aufrecht zu erhalten. Es wurden vier Auffahrten von Begattungsvölkchen durchgeführt, die jeweils 10-11 Tage dauerten. Insgesamt wurden jeweils über 70 Begattungsvölker aufgestellt.

Wie im Antrag vorgesehen entschädigte das LIB den LVBI und seine Mitglieder für die Nutzung der Belegstelle durch künstliche Besamung der sonst auf der Belegstelle aufgestellten Königinnen. Hierfür war eine LIB-Mitarbeiterin insgesamt mehrere Wochen im Einsatz und besamte ca. 250 Weiseln.

5.2.2 Weitergehende Versuche auf der Belegstelle Schorfheide 2021

Die Mondschein-Methode der Paarungskontrolle beruht darauf, die zur kontrollierten Verpaarung vorgesehenen Drohnen und Königinnen erst nach Ende der natürlichen Paarungsflüge freizusetzen. Bis zu diesem Zeitpunkt müssen vor allem die Begattungsvölkchen mit den Königinnen kühl und dunkel gelagert werden. Bereits 2020 hatte sich gezeigt, dass die Mondschein-Methode im Prinzip die Durchführung reiner oder annähernd reiner Anpaarungen von Drohnen und Königinnen ermöglicht. Es waren jedoch nur etwa 50% der aufgestellten Königinnen begattet worden.

Um die Königinnen nach der Zeit der Flugrestriktion zum Ausflug anzuregen, sind Licht und Wärme entscheidend. Der im Vorjahr gewählte Aufstellungsort der Begattungsvölker innerhalb der Belegstelle hatte sich in dieser Hinsicht als nicht optimal erwiesen, da die Völker dort zur beabsichtigten Paarungszeit nur wenig Sonneneinstrahlung erhielten. Deshalb wurde 2021 ein anderer Standort mit freier Sicht nach Südwesten gewählt. Dies erforderte jedoch die Verlegung eines Stromkabels zur Überbrückung einer Distanz von etwa 60 m bis zum Stromanschluss (s. Mittelverwendung).

Ist eine Kühlung während der Restriktion notwendig oder vorteilhaft?

In den Versuchen aus 2020 hatten wir auf dem Imkerstand eine gekühlte und eine ungekühlte Variante der Völker-Aufbewahrung außerhalb der „Mondschein“-Paarungszeiten verglichen. Dabei schienen beide Vorteile zu besitzen – der Verzicht auf die Kühlung spart Kosten und Aufwand, dagegen war die erzielte Paarungsreinheit bei Kühlung homogener, und tendenziell fand sich auch eine höhere Anzahl Spermien in den Samenblasen der Königinnen. Um diese Ergebnisse zu überprüfen, wurde 2021 auch auf der Belegstelle ein Vergleich zwischen gekühlter und ungekühlter Aufbewahrung durchgeführt.

Die Begattungsvölker der ungekühlten Variante wurden wie schon beim Imkerversuch 2020 frei auf der Belegstelle aufgestellt und verblieben während des gesamten Aufenthalts am selben Standort. Für die Abschirmung der Königin vom Licht sorgte der nun bereits bewährte Labyrinth-Mechanismus (s. voriger Bericht). Der bereits 2020 entwickelte Automatisierungs-Mechanismus wurde dabei weiter vervollkommen, um die Notwendigkeit einer Nachkontrolle durch den Belegstellenbetreuer zu minimieren.

Im vorausgegangenen Versuchsjahr hatte der LVBI zum Zweck der Kühlung und Abdunklung der Begattungsvölkchen bereits einen Kühlanhänger erworben, der am LIB mit einem Schienensystem zum Ein- und Ausfahren der Völkchen versehen worden war. Diese Vorrichtung hatte sich auch bewährt und wurde 2021 wiederverwendet.

Zur zusätzlichen Arbeitersparnis wurde ein Mechanismus zur Automatisierung der Ein- und Ausfahrt eingebaut. Obwohl diese Vorrichtung im Testbetrieb am LIB gut funktioniert hatte, erwies sie sich nach Verbringung auf die Belegstelle als zu unzuverlässig (beim Einholen der Wagen über einen Schrittmotor kam es zu Ungenauigkeiten). Da keine Zeit mehr zur Nachbesserung blieb, wurde das Aus- und Einfahren der Völkchen in der Folge wieder von Hand bewerkstelligt.

Kostenersparnis durch kleinere Begattungsvölker

Im Belegstellenjahr 2020 hatten wir, unseren Vorbildern aus Australien und Griechenland folgend, auf der Belegstelle mit Begattungsvölkern auf 4-5 Vollwaben in Ablegerkästen gearbeitet, das heißt mit Völkern von immerhin etwa 5 – 7.000 Bienen. In den parallel durchgeführten Versuchen im kleineren Maßstab einer privaten Imkerei hatten wir dagegen probeweise wesentlich kleinere Völkchen von nur ca. 1500 Bienen in Kleinstbeuten („Begattungskästchen“) verwendet und damit gute Erfolge erzielt. Dies senkt die Kosten Pro Volk um ca. 80 %. Deshalb haben wir 2021 auch auf der Belegstelle Begattungskästchen verwendet.

Ermittlung des optimalen Zeitpunktes der Flugloch-Öffnung

Die Königinnen dürfen nicht zu früh freigesetzt werden, da dies die Paarungsreinheit beeinträchtigen würde. Sie dürfen aber auch nicht zu spät freigesetzt werden, da sie sonst keine Drohnen mehr antreffen. Wie bereits im Vorjahr wurde die Flugaktivität der Drohnen auf der Belegstelle im Zeitverlauf durch einen mit Pheromonködern versehenen Quadrokopter in ihrem zeitlichen Verlauf überprüft (Abbildung 3). Die Ergebnisse wurden verwendet, um den Zeitpunkt der Freisetzung der Königinnen zu optimieren.

Als zusätzliche Variante wurden in allen Durchgängen Begattungskästchen ohne Flugzeit-Restriktion (also mit freier Paarung) aufgestellt. Während im Vorjahr Königinnen und Drohnen der Unterart *Apis mellifera carnica* der Flugzeit-Regulation unterlagen und Drohnen der Unterart *A. m. mellifera* als „Störer“ eingesetzt wurden, wurde 2021 die umgekehrte Anordnung getestet. Von beiden Unterarten wurden 10 starke Drohnenvölker auf der Belegstelle installiert. Die Flugzeit-Regulierung der Mellifera-Drohnen erfolgte automatisiert. Dazu wurden die Kästen wie schon im Vorjahr mit zwei getrennten Fluglöchern für die Zeit des Drohnenfluges und diejenige der Drohnen-Restriktion ausgestattet. Diese wurden alternierend geöffnet und geschlossen durch einen Mikroprozessor-gesteuerten Linearmotor (Abbildung 9).

Zur Unterstützung der Nahrungsversorgung der Versuchsvölker auf dem extrem trockenen und botanisch wenig vielfältigen Standort säte der Partner LVBI einen Teil der Versuchsfläche erneut mit *Phacelia* ein.

Abbildung 10 zeigt die Gesamtansicht der Versuchsanordnung im Sommer 2021 auf der Belegstelle Schorfheide.



Abbildung 9. Die automatisierte Vorrichtung zur Flugzeit-Steuerung der Drohnen auf der Belegstelle Schorfheide 2021

5.4 Austausch mit Projekt-externen Experten

Wie im Projektantrag vorgesehen wurde im Dezember 2019 die griechische Bienen-Wissenschaftlerin Dr. Fani Hatjina eingeladen. Frau Hatjina führt in ihrem Land seit vielen Jahren kontrollierte Königinnen-Anpaarungen nach der „Mondschein“-Methode durch. Zum Austausch mit Frau Hatjina kamen Vertreter aller Projektpartner am LIB zusammen. Der Austausch verlief sehr fruchtbar. Da Frau Hatjina unter anderen klimatischen Bedingungen arbeitet und auch keine Überprüfung der Reinpaarung durchführt, ist der direkte Übertrag auf unsere Verhältnisse nicht möglich. Insbesondere hinsichtlich der Aufstelldauer sowie der Zusammenstellung der Begattungsvölker konnte Frau Hatjina jedoch viele wertvolle Hinweise leisten. Diese flossen in die Planungen für 2020 ein.

Weiterhin wurde der saarländische Buckfast-Züchter Gilbert Bast zum Erfahrungsaustausch am LIB begrüßt. Herr Bast arbeitet bereits seit vielen Jahren in seinem privaten Zuchtbetrieb mit der Mondschein-Methode. Er führt allerdings keine Untersuchungen zur erreichten Reinheit der Anpaarungen durch, da er keine Reinzucht betreibt. Dennoch verlief auch der Austausch mit Herrn Bast sehr fruchtbar. Vertreter aller Projektpartner trafen sich dazu mit ihm im Juli 2019 auf dem Versuchsstand des Projekts. Auf seine Anregung hin wurde die Freiaufstellung der Begattungseinheiten ohne Kühlung („Variante B“, Abschn. 2.1) in das Validierungsprogramm aufgenommen. Auch die Idee der Fluglochsteuerung mittels Stellmotoren aus der Autoindustrie stammt von ihm.

5.5 Einfluss des Fremddrohnen-Drucks auf die Paarungsreinheit

Zur Testung des Einflusses der Anzahl an Fremddrohnen auf die Paarungsreinheit auf der Mondschein-Belegstelle wurden in zwei aufeinander folgenden Durchgängen im Juni 2020 Gruppen von je 13 Königinnen in Begattungsvölkern auf der Belegstelle installiert. Von diesen wurden 7 nach dem „Mondschein“-Prinzip nur nach Ende der natürlichen Begattungszeiten fliegen gelassen, 6 durften sich frei verpaaren. Die frei Verpaarten dienten dabei als Kontrolle (zu Ermittlung der Paarungsreinheit ohne besondere Maßnahmen zur Paarungskontrolle). Um den Einfluss der Anzahl von „Fremd-Drohnen“ auf der Belegstelle zu variieren, wurden von den aufgestellten 10 Mellifera-Drohnenvölkern im ersten Fall alle frei fliegen gelassen, im zweiten Fall wurde in fünf der Drohnenflug durch untergeschobene Absperrgitter für die Versuchsdauer verhindert. Die Messung der real am Paarungsplatz verfügbaren Drohnen („Mondschein“ und „Stördrohnen“) ist schwierig, da sie nur ungefähr der Anzahl der Drohnen in den aufgestellten Völkern entspricht – zu jedem Zeitpunkt ist ein variabler Anteil der Drohnen im Volk noch zu jung für Paarungsflüge.

Die Paarungsreinheit wurde durch morphometrische Messungen an den Nachkommen (Arbeitsbienen) sowie durch quantitative Genotypisierung des Spermatheka-Inhalts überprüft.

Für die morphometrische Untersuchung wurden pro Königin 49 – 51 Arbeitsbienen untersucht (Cubitalindex sowie Haarlänge). Es ergaben sich keine wesentlichen Unterschiede zwischen den unter unterschiedlichem Fremddrohnen-Druck besamten Königinnen. Dies lässt darauf schließen, dass die Methode der Mondschein-Paarung im Rahmen der im Experiment erzeugten Variation von der Anzahl der vorhandenen Fremddrohnen weitgehend unabhängig ist.

5.5.1 Untersuchung der Drohnenwolke mit Quadrokopter

Wir haben ein Verfahren entwickelt, um die Häufigkeit der Drohnen wenigstens relativ vergleichen zu können. Dazu wurde für beide Durchgänge an einem Tag mit günstigem Paarungswetter in halbstündlichen Abständen eine Quadrokopter-Drohne mit angehängtem Pheromonköder auf der Mitte der Lichtung in 25 m Höhe schweben gelassen. Die sich unter dem Quadrokopter sammelnde, oft riesige Drohnenwolke wurde vom Boden aus hochauflösend gefilmt. Die Größe dieser Wolke (Anzahl der enthaltenen Drohnen) steht jetzt als relatives Maß der Flugaktivität zur Verfügung. Zusätzlich wurden, ebenfalls in halbstündlichen Abständen, die Fluglöcher aller aktiven Drohnenvölker für je 10 Sekunden gefilmt, um die Flugaktivität auf eine zweite Weise schätzen zu können. Diese Methoden wurden sowohl 2020 als auch 2021 angewandt, um die biologische Stichhaltigkeit der gewählten Freisetzung-Zeitpunkte zu überprüfen.

6. Ergebnisse des Vorhabens

6.1 Mondschein-Methode im Maßstab kleinerer Imkereien

6.1.1 Vorversuche am LIB 2019

Von insgesamt 22 Königinnen der Kontroll-Behandlung (keine „Mondschein“-Paarung) zeigte nach Abschluss der 5-tägigen Flugzeit 15 ein Brutnest mit beinahe ausschließlich weiblicher Brut. Zwei gingen auf dem Paarungsflug verloren, die übrigen Königinnen waren offenbar unbegattet. Die begatteten Königinnen wiesen im Mittel knapp unter 5 Millionen Spermien in ihrer Samenblase auf. Diese Zahl ist erfahrungsgemäß für eine mehrjährige Fruchtbarkeit ausreichend.

Von den 25 nach Variante A (mit Kühlung) aufgestellten Königinnen wurden nur 2 ausreichend begattet (>5 Millionen Spermien in der Spermatheka). Die übrigen gingen entweder auf den Paarungsflügen verloren oder erwiesen sich als unbegattet. Die erfolgreich angepaarten Königinnen wiesen gegenüber den frei verpaarten (Kontroll-)Königinnen eine erheblich gesteigerte Rassereinheit auf (Abbildung 11).

Von den 2019 lediglich sechs nach Variante B (keine Kühlung, zwei unterschiedliche Fluglöcher) aufgestellten Königinnen waren zwar alle nach Versuchsabschluss noch vorhanden, jedoch war keine von ihnen begattet.

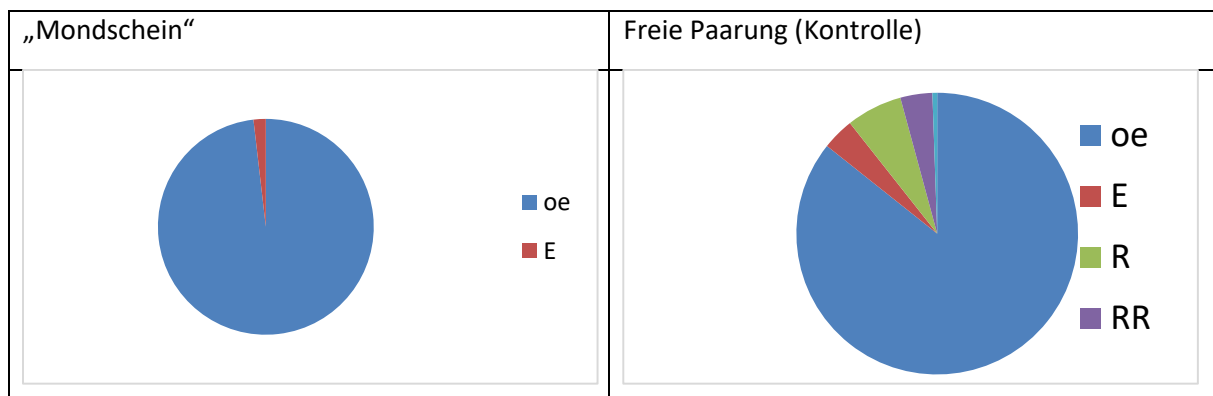


Abbildung 11: Anteil von Arbeitsbienen mit vom Rassetypus abweichender Panzerfärbung in der Nachkommenschaft der „Mondschein“-verpaarten und frei verpaarten Königinnen (Vorversuche 2019). Oe: ohne Farbeinschlag, E: helle Ecken; R, RR: helle Ringe

6.1.2 Validierung der Methode für kleinere Imkereien (2020)

Einige Ergebnisse der Versuche in der Privatimkerei Skerka sind in Abbildung 12 zusammengefasst. Es zeigt sich, dass

- gegenüber den Vorversuchen 2019 in den Behandlungen mit Mondschein-Methode (gekühlt oder ungekühlt) der Anteil begatteter (d.h. nicht unbegattet gebliebener oder verloreener) Weiseln gesteigert werden konnte. Dies ist vermutlich auf die höhere Anzahl an Drohnenvölkern zurückzuführen.
- in der gekühlten Variante der Mondschein-Paarung mehr Königinnen verloren gingen oder ungepaart blieben als in der ungekühlten. Worauf dies beruht, ist nicht ganz klar, das Ergebnis deckt sich aber mit den im Belegstellen-Versuch erhaltenen Vergleichswerten. Eventuell führt die Kühlung zu einer Schädigung/mangelhaften Pflege der Königinnen.
- die Paarungseinheit auch in kleinen Imkereien durch die Mondschein-Methode wesentlich erhöht werden kann, wobei mit beiden Varianten ein Anteil in Bezug auf die Unterart-Reinheit körfähiger Weiseln erzeugt wurde.

Da der Versuch nach Einarbeitung im Wesentlichen durch den Imker durchgeführt wurde, scheint auch die Kompatibilität mit den Praktiken einer kleineren Imkerei durch diese positiven Ergebnisse belegt.

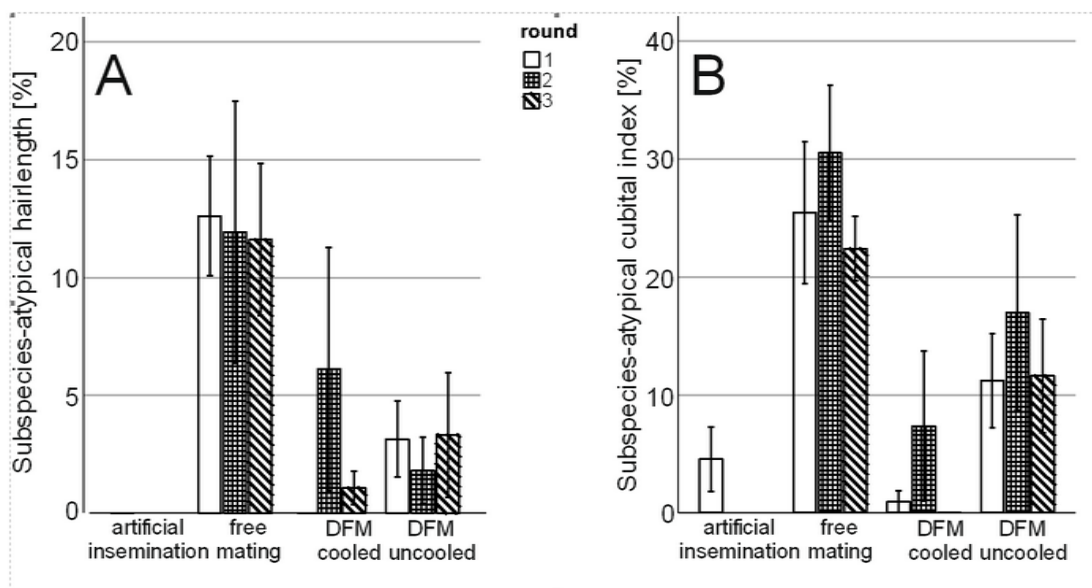


Abbildung 12: Effizienz der Paarungskontrolle im Versuch auf einem Imkerstand.

Dargestellt ist der Anteil an Arbeitsbienen in der Nachkommenschaft der begatteten Königinnen, die nicht dem gewünschten Unterart-Typus entsprechen. DFM = „Mondschein-Paarung“ (Delayed Flight Time Method)

6.1.3 Ermittlung des optimalen Freisetzung-Zeitpunktes der Königinnen (Versuch im Belegstellen-Maßstab, 2020)

Ziel war die Klärung der Frage, in welchem zeitlichen Abstand von der Freisetzung der für die Mondschein-Paarung bestimmten Drohnen die Königinnen aus dem Kühlcontainer gerollt und freigesetzt werden sollten. Da die abends freigesetzten Drohnen meist einen kurzen Aktivitäts-Schub gleich nach der Flugloch-Öffnung zeigen und die Königinnen nach dem

Ende der Kühlung im Hänger vermutlich noch einige Minuten bis zum Beginn der Ausflüge benötigen, ist eine genaue Kenntnis des optimalen Zeitabstands vermutlich für die erzielbare Paarungsreinheit und -zuverlässigkeit von großer Bedeutung. Hierzu wurden in zwei Durchgängen 20 bzw. 16 Königinnen in Begattungsvölkern auf die Belegstelle gebracht. Von diesen waren 6 bzw. 4 frei verpaarte Kontrollen, 7 bzw. 6 wurden 20 Minuten vor Freisetzung der Drohnen aufgestellt, 7 bzw. 6 weitere erst 5 Minuten nach Drohnenfreisetzung. Damit die früher freigesetzten Königinnen nicht durch die später dazukommenden Bienenkästen der zweiten Behandlungsgruppe in ihrer Orientierung verwirrt wurden, wurden die Kästen der 2. Gruppe zunächst durch Leerkästen gleicher Größe und Farbmarkierung ersetzt.

Von den insgesamt 10 Kontroll-Königinnen erwiesen sich 8 als angepaart, von den 13 20 Minuten vor den Drohnen freigesetzten Königinnen waren 8 angepaart, von den 5 Minuten nach den Drohnen aufgestellten waren ebenfalls 8 begattet. Die Auswertungen zur Paarungsreinheit ergaben keine Unterschiede zwischen den Königinnen der beiden Aufstellungs-Zeitpunkte (in beiden Fällen waren 4 von 8 der begatteten Weiseln in Bezug auf Haarlänge und Cubitalindex nach den Richtlinien des Deutschen Imkerbundes körfähig). Auffällig ist, dass auch von den ohne Mondschein-Methode aufgestellten Kontrollköniginnen zwei von 8 körfähig waren, was auf einen schwachen „Stördrohnen-Druck“ gegen Ende der Belegstellen-Saison hindeutet. Einige Nachkommen der Kontrollköniginnen wiesen zudem CI-Werte auf, die weder durch die aufgestellten Stör-, noch durch die aufgestellten Carnica-Drohnen erklärbar sind – hier müssen Drohnen anderer Imker im Umfeld der Belegstelle beteiligt gewesen sein.

Insgesamt kann gefolgert werden, dass offenbar beide verglichenen Zeitpunkte innerhalb der für die Mondscheinpaarung prinzipiell geeigneten Periode lagen.

6.1.4 Umsetzung der Mondschein-Methode in weiteren privaten Imkereien

Nach der erfolgreichen Testung der Mondschein-Methode für den Maßstab kleiner Imkereien wurde diese Variante 2021 an weiteren Ständen getestet. Konkret wurde sie in den Imkereien der ZVDBD-Mitglieder Christian Grune, Falk-Thilo Ferse und Hartmut Skerka umgesetzt. Dabei unterstützte das LIB die Imker beim Bau der notwendigen Gerätschaften. Es fand in Teilen auch eine Weiterentwicklung/Anpassung des Protokolls durch die Imker statt.

Auf dem Stand der Imkereien Skerka und Ferse wurden die im Jahr 2020 erprobten Methoden eingesetzt und durch eigene Konstruktionen einer manuellen Fluglochsteuerung für Begattungskästchen ergänzt. Insgesamt wurden auf beiden Ständen 24 Königinnen angepaart. Anhand der vorliegenden Zahlen wurde ein Begattungserfolg von 55% erreicht.

Auf dem Stand der Imkerei Grune wurden die im Frühjahr 2021 verbesserten Steuerungssysteme für eine zeitgesteuerte automatische Öffnung in Zusammenarbeit mit dem LIB eingebracht. Erprobt wurde auch eine Aufstellung, die auf kleinster Fläche die Unterbringung von 25-30 Begattungskästchen erlaubt, indem die notwendige Separierung in der Höhe und nicht wie üblich in der Fläche erreicht wurde. Geplant waren 3 Durchgänge á 30 Königinnen im Verlauf der Saison, von denen aufgrund der widrigen Witterungsbedingungen im Frühjahr nur 2 umgesetzt werden konnten. Die Ergebnisse der beiden Durchgänge bestätigen zum einen die Notwendigkeit einer kontrollierten Anpaarung unter normalen Standortbedingungen und zum anderen die grundsätzliche Eignung der angewandten Methode. Insgesamt wurden 42 Königinnen angepaart. Bei ähnlichem Begattungserfolg (Durchschnitt 55%) wiesen die Königinnen der Kontrollgruppen

erwartungsgemäß eine Paarungsreinheit von nur 24% auf, wohingegen die Paarungsreinheit der Mondscheinpaarung im Mittel bei 65% lag. Dieser relativ niedrige Wert ist wohl vor allem auf die hohen Verluste in der zweiten Serie zurückzuführen. Betrachtet man nur die erfolgreiche 2. Serie konnten 71% Paarungsreinheit erreicht werden. Der Begattungserfolg lag aber unter der Zielgröße von ca. 70%.

Serie	Start	Ende	Anz. Kg	Kg. begattet	Begattungserfolg	Reinheit MW	CI	DV	HI
K1	18.06.2021	02.07.2021	16	8	50%	35%	1,89	-0,24	0,92
M1	23.06.2021	03.07.2021	14	10	71%	65%	1,54	-2,56	0,88
K2	04.07.2021	20.07.2021	6	4	67%	13%	1,97	0,4	0,94
M2	04.07.2021	20.07.2021	6	1	17%	Verlust			
K			22	12	55%	24%	1,93	0,08	0,93
M			20	11	55%	65%	1,54	-2,56	0,88

Tabelle 1: Ergebnisse Mondscheinanpaarung Imkerei Grune 2021

CI: Cubitalindex

DV: Discoidalverschiebung

HI: Hantelindex

K – Kontrollgruppe / M – Mondscheinanpaarung

6.2 Mondschein-Methode im Maßstab von Belegstellen

6.2.1 Ergebnisse der ersten Saison auf der Belegstelle Schorfheide

In der ersten Saison Auf der Belegstelle Schorfheide wurden in der die Begattungen des gewöhnlichen Belegstellenbetriebs mit den Mondscheinbegattungen verglichen.

Summiert über alle Versuche wären nach den Kriterien Cubitalindex und Haarlänge 13 von 24 Mondschein-begatteten Königinnen nach den Regeln des Deutschen Imkerbundes körfähig (55 %). Ohne Mondschein-Methode lag die Quote bei 4 von 19 (21 %). Dies stellt eine deutliche Verbesserung dar. Allerdings war der Anteil der Königinnen, die während der Paarungsflüge verloren gingen, mit 45,5 % noch sehr hoch.

Ein Problem des Validierungsversuchs auf der Belegstelle war die – trotz der isolierten Lage – offenbar recht starke Beteiligung von Drohnen von außerhalb der Belegstelle an den Paarungen. Da im Umkreis der Belegstelle nur Carnica-Völker gehalten werden dürfen, führte dies zu einer relativen Seltenheit von „Fehlpaarungen“ (Carnica x Mellifera) auch bei den Kontrollen. Dieses Problem werden wir im laufenden Jahr umgehen, indem anstelle einer Carnica X Carnica-Paarung mit der Mondschein-Methode nun eine Mellifera x Mellifera-Paarung anstreben. So können dann Anpaarungen mit „versuchsfremden“ Drohnen als Fehlpaarungen erkannt werden.

6.2.2 Zweite Saison der Belegstelle Schorfheide

Abbildung 13 zeigt das Ergebnis des Vergleichs der Varianten „freie Paarung“, „gekühlt“ und „ungekühlt“ in Bezug auf den Cubitalindex der Nachkommen. Dargestellt sind nur die Königinnen derjenigen Durchgänge, die miteinander direkt vergleichbar waren, weil die getesteten Freisetzungzeiten übereinstimmten. Daraus geht hervor, dass die Mondscheinbegattung erneut eine eindeutige Erhöhung des Anteils „erwünschter“ Paarungen in den Anpaarungen der Königinnen erbrachte. Ein Teil der Anpaarungen kann vermutlich als rein angesehen werden (Überprüfung durch weitere Methoden ist noch in

Arbeit). Eine Kühlung ist nach diesen Ergebnissen nicht unbedingt erforderlich. Allerdings war die erzielte Paarungsreinheit bei Kühlung tendenziell etwas höher. Weiterhin stellte sich auch heraus, dass die Anzahl der in die Spermatheka einwandernden Spermien bei Kühlung höher war, was eventuell auf eine Hitzeschädigung der ungekühlten Begattungsvölker hindeuten könnte. Insgesamt schlussfolgern wir, dass auf eine Kühlung zwar verzichtet werden kann, dann aber auf einen ausreichenden Hitzeschutz der Völkchen zu achten ist, und die Paarungsreinheit vor Weiterzucht strenger kontrolliert werden sollte.

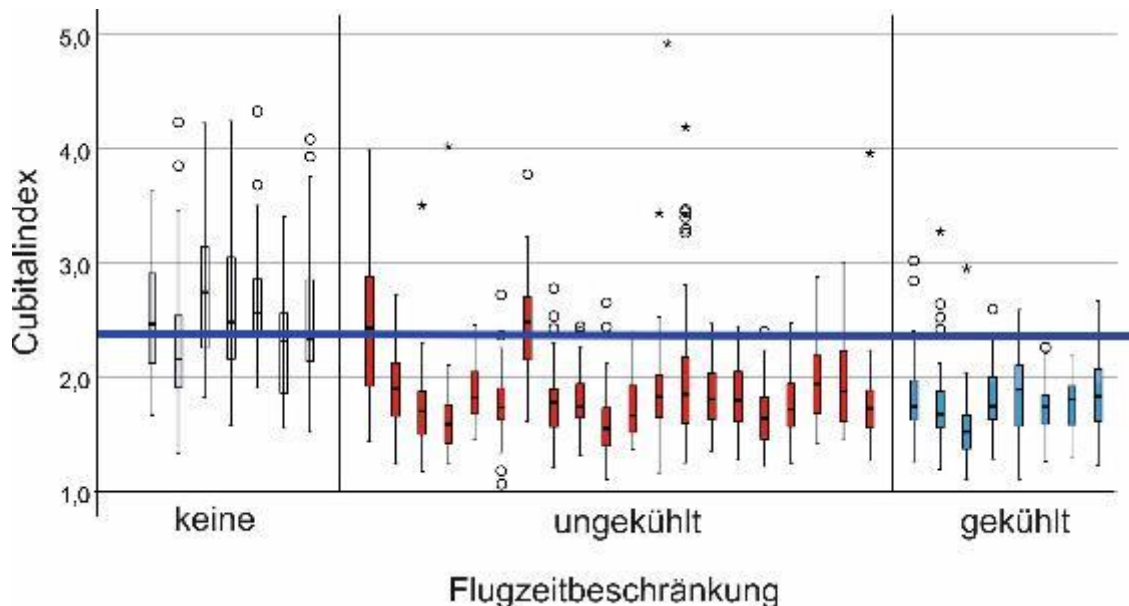


Abbildung 13: Cubitalindex von Nachkommen aus „Mondschein“-Paarung (Belegstelle Schorfheide, 2021)

Jeder Balken stellt die Messwerte von ca. 50 Arbeiterinnen dar, die Nachkommen aus den Testpaarungen waren. Für die im Versuch erwünschte Paarung (*A. m. mellifera* X *A. m. mellifera*) sind Cubitalindex-Werte von bis zu 2,3 typisch (blaue Linie). Werte darüber weisen auf Beteiligung anderer Unterarten/Rassen hin. Allerdings gibt es einen Überlappungsbereich zwischen *A. m. mellifera* und anderen Unterarten, weshalb wir an einer Bestätigung der Ergebnisse durch andere Methoden arbeiten.

Als optimaler Zeitpunkt zur Freisetzung der Drohnen erwies sich in den meisten Durchgängen 3 h 15 min vor Sonnenuntergang (s. auch Abb. 14 zum Drohnenflug im Zeitverlauf). Schwankungen durch unterschiedlichen Witterungsverlauf sind hier aber möglich.

Der Anteil der angepaarten (d.h. der nicht verschollenen oder unbegattet gebliebenen) Königinnen war in der Variante „gekühlt“ mit 52% ähnlich niedrig wie im Vorjahr. In der Variante „ungekühlt“ war sie jedoch mit 61% tendenziell höher und liegt im imkerlich akzeptablen Bereich. Bereits im letzten Jahr hatten wir im Versuch im Imkerei-Maßstab geringere Paarungseffizienz in der gekühlten Variante erhalten.

Die Automatisierung der Fluglochsteuerung von Drohnenvölkern und Begattungskästchen verlief 2021 Jahr nahezu völlig störungsfrei, sodass zumindest die ungekühlte Variante der Methode ohne tägliche Kontrollen durch den Belegstellenleiter auskommt. Die Steuerung der gekühlten Variante ist hingegen noch nicht automatisiert.

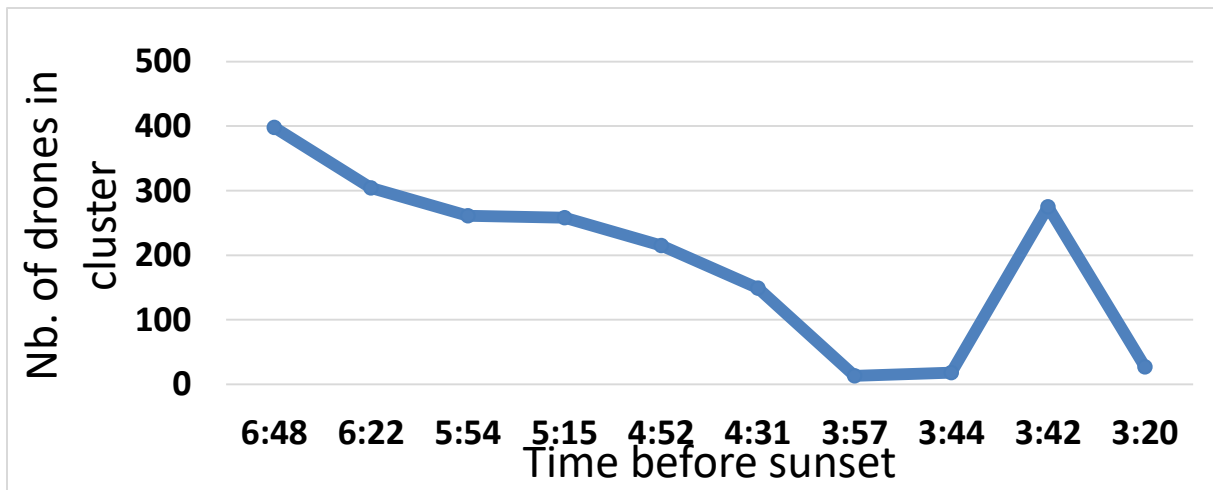


Abbildung 14. Überprüfung der Drohnen-Aktivität durch Pheromon-Anlockung (Beispiel: Messung vom 16.06.2021). Die Abbildung zeigt die Anzahl der anlockbaren Drohnen in Abhängigkeit von der Zeit. Die Flugzeit-regulierten Drohnen wurden gegen 3h 50 min vor Sonnenuntergang freigelassen.

Die Verringerung der Größe der Begattungsvölker erwies sich als machbar, sodass auf diese Weise Kosten gespart werden können. Allerdings konnte nicht abschließend geklärt werden, ob eine Verwendung etwas stärkerer Begattungsvölker die Problematik einer verminderten Spermatheka-Füllung abmildern könnte.

Insgesamt erwies sich die Flugzeit-Verzögerung als geeignete Methode der Paarungskontrolle, selbst wenn, wie im Versuch, zahlreiche Fremddrohnen zugegen sind. Der Aufwand konnte durch die kleineren Begattungskästen weiter reduziert werden. Die ungekühlte Variante der Methode erweist sich nach Optimierung der Freisetzungszeit in Bezug auf die Paarungsreinheit als ähnlich zuverlässig wie die gekühlte Variante, was Kosten und Arbeitsbedarf weiter senkt.

Die Ergebnisse für 2021 finden sich in Abb. 15. Da im Versuch die Durchführbarkeit von *Mellifera x Mellifera* – Reinpaarungen anhand der „Mondschein“-Methode getestet wurde, bedeutet ein hoher Anteil M-Allele in der Spermatheka eine gute Effektivität der Paarungskontrolle. Ohne Paarungskontrolle kamen durchweg praktisch reine *Carnica*-Begattungen vor (M-Anteil sehr ähnlich demjenigen reinen C-Spermas). Das bedeutet, dass ohne besondere Maßnahmen eine Reinpaarung mit *Mellifera*-Drohnen an diesem Standort unmöglich sein dürfte. Mit den verschiedenen Varianten der „Mondschein“-Methode liegen dagegen bei insgesamt 25 von 31 Proben (80,6%) mit hoher Wahrscheinlichkeit Reinpaarungen mit M-Drohnen vor. Damit wurden die positiven Ergebnisse der morphometrischen Untersuchungen zur Paarungsreinheit durch die molekularen Analysen erhärtet.

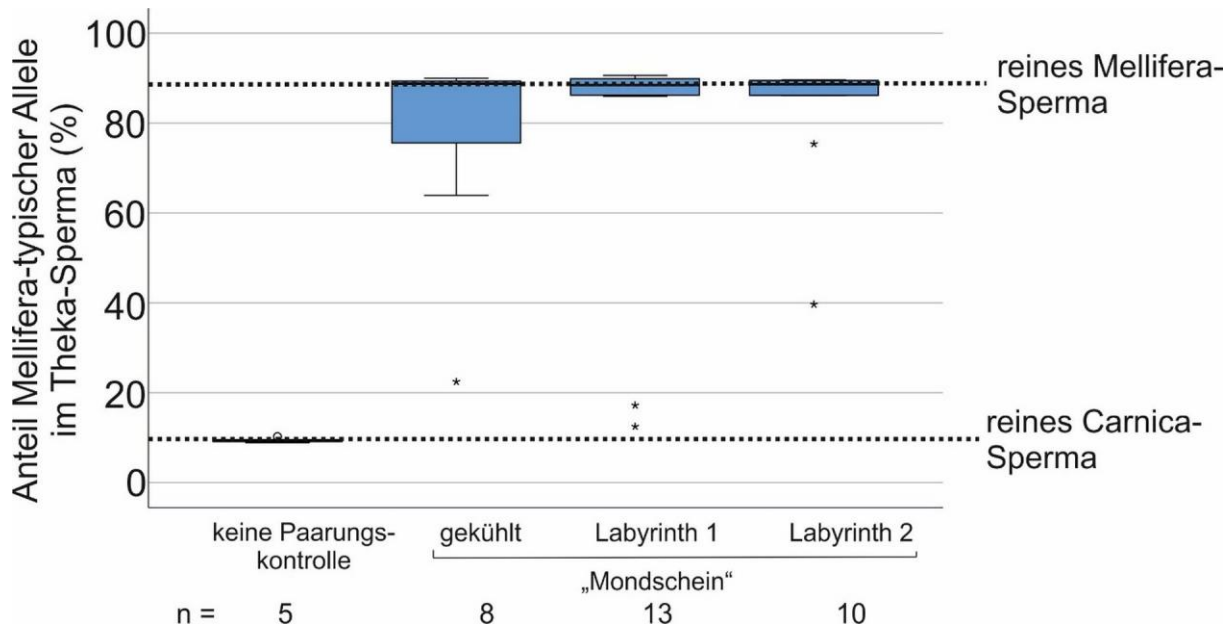


Abbildung 15: Paarungseinheit der mit und ohne „Mondschein-Methode“. Die Varianten „Labyrinth1“ und „Labyrinth2“ entsprechen verschiedenen Zeitpunkten der Königinnen-Freisetzung (Abstand 15 Min.). Auf der Y-Achse ist die relative Häufigkeit von *A. m. mellifera*-typischen Allelen in Spermien aus der Spermatheka angegeben. Die gepunkteten Linien entsprechen den Ergebnissen der Kalibrierung anhand reinen carnica- bzw. mellifera-Spermas.

6.3 Wissenstransfer der im Vorhaben gewonnen Erkenntnisse

6.3.1 Veranstaltungen

Aufgrund der Pandemielage haben wir die technische Durchführung der Paarungskontrolle durch Flugzeit-Verzögerung in einem online-Seminar interessierten Imkerinnen und Imkern aus dem In- und Ausland erläutert. Dieses fand am 20.12.2021 statt und hatte ca. 30 Teilnehmer. Weiterhin besuchte eine Gruppe von Mitgliedern des ZVDBD am 05.12.2021 das LIB. Auch dabei wurden die erarbeiteten und getesteten Methoden erläutert.

Auf der Herbsttagung des ZVDBD vom 6.-7.11.2021 wurden die Ergebnisse und bis dahin vorliegenden Auswertungen ausführlich vorgestellt und diskutiert. Auf dieser Tagung erfolgte auch die Rahmenplanung für die Zuchtaktivitäten im Jahr 2022.

Am 10.12.2021 führten Dr. Jakob Wegener und Christian Grune einen Online-Workshop mit ca. 20 Teilnehmern für Bioland e.V. durch, auf dem die Methoden und Ergebnisse vorgestellt wurden.

Das Projekt und die Ergebnisse daraus wurden unter anderem auf folgenden Veranstaltungen im Rahmen eines Vortrags (oder Vortragsteils) vorgestellt:

- Berliner Imkertag, Berlin, 20.10.2019
- Herbsttagung des Zuchtverbandes Dunkle Biene Deutschland e.V., Marktbreit, 02.11.2019
- Züchtertagung des Verbands Hannoverscher Imker/des Imkerverbandes Weser-Ems, Celle, 23.02.2020
- Journées d'Etude de l'ANERCEA (Versammlung der französischen Bienenzüchter)
- Jahrestagung des Zuchtverbandes Dunkle Biene Deutschland e.V.
- Süddeutscher Erwerbs- und Berufsimkertag
- Praxis-Schulung für Bioland-Imker

6.3.2 Veröffentlichungen

Die Ergebnisse des Versuchs zur Mondschein-Methode im Maßstab kleiner Imkereien wurden in Form einer wissenschaftlichen Publikation veröffentlicht (Musin et al., Journal of Apicultural Research 2021). Eine weitere Veröffentlichung zu der erstmals eingesetzten Methode der Paarungseinheits-Bestimmung aus Spermatheka-Inhalt befindet sich derzeit in Vorbereitung, ebenso wie ein dritter Artikel zu den Ergebnissen der Versuche im Belegstellen-Maßstab. Weiterhin finden sich Teilergebnisse in folgenden Veröffentlichungen:

- Büchler et al., Standard Methods for Rearing and Selection of *Apis mellifera* queens (eingereicht bei Journal of Apicultural Research)
- Yadrò et al., Scientific note: Genomic DNA-extraction from honey bee (*Apis mellifera*) queen spermathecal content (eingereicht bei Apidologie)

Weiterhin beschäftigte sich ein Artikel der Imkerzeitschrift „Deutsches Bienenjournal“ ausführlich mit dem Projekt und der Methode („Spätes Stelldichein“; DBJ 09/2021). Auf der Website und im Newsletter des ZVDBD wurden mehrere Berichte über die Aktivitäten des Jahres 2021 veröffentlicht.

Zahlreiche Imker erkundigten sich telefonisch nach den Fortschritten des Projekts, und mehrere haben angekündigt, die Methode auf ihrem Bienenstand zu erproben. Mittlerweile existieren verschiedene Nachbauten der im Projekt entwickelten Begattungskästen, und eine große Berufsimkerei hat angekündigt, diese in China in Serie produzieren zu lassen.

Die bisherigen Baupläne für die Fluglochsteuerungen wurden im ZVDBD aufgenommen und für die Herstellung im 3D-Druckverfahren optimiert (zusätzlich zu der bereits vorliegenden 3D-gedruckten Variante des LIB).

Innerhalb des Netzwerkes des ZVDBD führten die Ergebnisse der bisherigen Anpaarungen zu einem erhöhten Vertrauen in die Methodik. Die Mondscheinanpaarung wurde als zulässige Methode einer sicheren Anpaarung im Dezember 2021 in die Zuchtordnung des ZVDBD aufgenommen. Damit wird die Etablierung der Mondscheinanpaarung neben den herkömmlichen Methoden (Land-/Inselbelegstellen & künstliche Besamung) deutlich befördert.

Aufgrund der Veröffentlichungen aus dem Projekt wurde Herr Dr. Wegener zum „Scientific Advisor“ eines ungleich größeren, aus dem Norwegen-Lichtenstein-Fund finanzierten Forschungsprojekts („BeeConSel“) berufen, in dem die „Mondschein“-Methode ebenfalls getestet werden soll. Im Oktober 2021 sowie im Dezember 2022 stellte er den Partnern dieses Projekts die BieDiv-Ergebnisse vor. Daraus ergab sich unter anderem die Idee eines Ringversuchs in 5 europäischen Ländern, der 2022 durchgeführt wurde und derzeit ausgewertet wird.

Unter anderem auf folgenden Veranstaltungen hielten Vertreter der Projektpartner Vorträge oder zeigten Poster über das Thema:

- Jahrestagung der Institute für Bienenforschung, Geislingen/Steige
- „Lange Nacht der Bienenwissenschaft“ (Veranstalter DIB; online)
- Sitzung des Imkervereins Eberswalde

Es fanden zahlreiche Beratungen zur Umsetzung der „Mondschein“-Methode durch Mitarbeiter/Mitglieder der Projektpartner statt.

6.3.3 Publikumsoffene „Mondschein“-Belegstellen

Zur Verbreitung der „Mondschein“-Methode in der Praxis war für den Verlängerungs-Zeitraum des Projekts die Einrichtung von Mondschein-Belegstellen vorgesehen, auf die interessierte Züchter ihre Königinnen zur Begattung bringen konnten. Der ZVDBD, der diese Aufgabe leitete, betrieb deshalb von Mai bis Juli 2022 entsprechende Einrichtungen an zwei Standorten, Straußberg (Brandenburg) und im Schwarzwald.

- Belegstelle Strausberg: Auf dem Gelände der Jugendschule Strausberg wurde 6 Drohnenvölker aufgestellt und über einen Zeitraum von 3 Monaten 78 Königinnen begattet.
- im Eyachtal bei Pforzheim im Probebetrieb. Ziel war dort, die Aufstellung und Mondscheintechnik für die Anwendung im nächsten Jahr zu erproben. Beteiligt: 2 Imker, ca. 6 Drohnenvölker, ca. 20 Königinnen.

Das LIB nutzte die Belegstelle Strausberg auch für die Aufstellung einiger eigener Begattungskästchen im Rahmen der Dreharbeiten für das Lehrvideo.

Die Praxistauglichkeit für Imker hat sich insbesondere durch die verbesserte Technik der Fluglochsteuerung bewährt: Einfache, verbesserte Technik, zentral: Vorbereitung der Begattungseinheiten in Standardkästen durch die Imker bei sich, Anstecken der Steuerungstechnik vor Ort auf der Belegstelle. Das hat bestens funktioniert, war schnell vor Ort zu erledigen ohne Bienenflug und Öffnen der Kästen. Vorteil: Imker können vorhandene, eigene Kästen (Apidea) nutzen, Steuerungstechnik kann zentral vorbereitet werden.

Auch die Unabhängigkeit von einer Stromversorgung durch Anbindung von Solarmodulen ist ein Vorteil in der Anwendung in der Breite.

Durch die leichte Anpassbarkeit der Technik sind Züchter auch unabhängig von festen Auffuhrzeiten. Die entwickelte Technik ermöglicht es Imkern, auch Zwischenserien einzubinden oder im Falle eines Ausfalls innerhalb weniger Tage Ersatz zu stellen. Auch die Anpassung an Witterungsverhältnisse ist leicht möglich.

Die Nutzung der im Projekt entwickelten Technik wird durch den Zuchtverband in den kommenden Jahren in das Angebot für Züchter (neben Gebirgsbelegstelle und künstlicher Besamung) als eine bewährte Methode der Paarungskontrolle aufgenommen. Dazu werden die in Brandenburg und Baden-Württemberg und evtl. auch Bayern genutzten Standorte weiter genutzt.

Infos finden sich auf der Website des Zuchtverbandes: <https://www.dunklebiene.com/belegstellen/>

6.3.4 Multiplikatoren-Schulung zu „Mondschein“-Methode und anderen Methoden der Paarungskontrolle

Hauptanliegen des LVB in der Verlängerungsphase des Projekts war die Schulung von Interessierten als Multiplikatoren für die Verbreitung der „Mondschein“-Methode sowie der Nachwuchsgewinnung für die beiden herkömmlichen Kontroll-Verfahren. Diese war zunächst für den 2.+3. Juli 2022 geplant. Zugesagt hatten neben den Kollegen vom LIB (Mondschein) weitere hochrangige Referenten, unter anderen Herr J. Brauße, der derzeit vermutlich profilierteste Besamungstechniker, und Herr F.-K. Tiesler, Buchautor und Zuchtobmann des DIB zu Belegstellenfragen.

Die Veranstaltung musste auf den 16.10.2022 verschoben werden, wo sie im Märkischen Ausstellungs- und Freizeitzentrum (MAFZ) in Schönwalde/Glien stattfand. Bei dieser Gelegenheit wurden die Videoproduktionen erstaufgeführt.

6.3.5 Erzeugung von Lehrmaterialien für Methoden der Paarungskontrolle

Im Verlängerungsantrag des Projekts war die Schaffung von Videos, technischen Anleitungen und Materiallisten vorgesehen, die interessierten Züchtern die Implementierung der „Mondschein“-Methode zur Paarungskontrolle ermöglichen. Außerdem waren vergleichend auch Lehrvideos zu künstlicher Besamung und Belegstellenwesen geplant. Mit der Produktion der Lehrvideos wurde die Firma Thissen (Berlin) beauftragt, die sich mit großem Engagement dieser Aufgabe annahm. Mitarbeiter des LIB erarbeiteten Konzepte für alle drei Videos. Dasjenige zur Belegstellen-Arbeit wurde zudem von externen Experten des DIB bereichert. Auf Grundlage der Konzepte wurden dann gemeinsam mit der Produktionsfirma Drehbücher erstellt, und in zahlreichen Überarbeitungsrunden vervollkommen. Die Dreharbeiten fanden zwischen Mai und Juli 2022. Die Aufnahmen für das Lehrvideo zur Mondscheinmethode entstanden teilweise auf der Mondschein-Belegstelle des Partners LVB, teilweise auch am LIB. Zu einem kleineren Teil wurde auch Material verwendet, das bereits im Rahmen der Versuche im Sommer 2021 entstanden war. Für das Video zur künstlichen Besamung wurde ausschließlich am LIB gedreht. Zum Belegstellenwesen wurden Drehorte in Großschönebeck (Landbelegstelle) sowie auf Norderney (Inselbelegstelle) besucht. Die Leiter dieser beiden Belegstellen, Herr Bartsch und Herr Ottersbach, haben dabei viel Energie und Fachwissen eingebracht. Dank des hohen Engagements der Produktionsfirma konnten auch aufwendigere Techniken wie Mikroskopaufnahmen, Luftaufnahmen, Zeitraffer und animierte Grafiken eingesetzt werden. So entstanden hochwertige Schulungsvideos von 10 (Mondschein), 12 (künstliche Besamung) und 16 (Belegstellen-Wesen) Minuten Länge.

Um die Erfahrungen zur Mondscheinpaarung auch für ein internationales Publikum nutzbar zu machen, wurde gemeinsam mit Partnern ein entsprechender Abschnitt im Kapitel „Standard Methods for Rearing and Selection of *Apis mellifera* queens“ des BeeBook, der Online-Methodensammlung imkerlicher und bienenwissenschaftlicher Methoden eingefügt (Büchler et al., in Begutachtung).

7. Diskussion der Ergebnisse des Vorhabens

7.1 Technische Ergebnisse

Ein Aufbau zur Umsetzung der Mondschein-Methode auf individuellen Imkerständen wurde zunächst auf einem Versuchsstand des LIB entwickelt und getestet. Die prinzipielle Machbarkeit wurde hiermit gezeigt, allerdings war der erzielte Anpaarungserfolg vorerst nicht befriedigend. Die Vermutung, dass es an der zu geringen Drohnenzahl lag, wurde durch den verbesserten Anpaarungserfolg im Folgejahr nachgewiesen.

Im Jahr 2020 wurde die Methode in einer gewöhnlichen Imkerei mit gutem Erfolg angewendet. Damit und mit den erfolgreichen Übernahmen durch weitere Imkereien in 2021 ist gezeigt, dass sich die Methode für die Paarungskontrolle in kleineren Zuchtbetrieben grundsätzlich eignet.

Die Mondscheinpaarung im Belegstellen-Maßstab wurde etabliert und eine deutliche Verbesserung der Paarungskontrolle gegenüber der freien Verpaarung erreicht.

Der optimale Zeitpunkt zur Freisetzung der Geschlechtstiere für die „Mondschein“-Methode wurde ermittelt (ca. 3:15 – 3:45 h vor Sonnenuntergang).

Durch eine verbesserte Automatisierung der Öffnungs- und Schließvorgänge konnte die notwendige Handarbeit reduziert werden und dadurch die Effizienz gesteigert werden.

Durch die Verkleinerung von Begattungsvölkern und den Verzicht auf Kühlung, der durch technische Verbesserungen wie die Verdunkelung der Begattungskästchen durch einen Labyrinth-Aufbau ermöglicht wurde, konnten die Kosten für die Mondscheinpaarung gesenkt werden.

Die Fertigung der für die „Mondschein“-Paarung erforderlichen Flugloch-Vorrichtung für Begattungsvölkchen wurde durch Erarbeitung eines 3D-CAD-Modells erleichtert. Die Apparatur kann somit in hoher Qualität für einen sehr niedrigen Preis (Materialkosten <1€, zzgl. Stellmotor) durch 3D-Druck erzeugt werden.

Es wurde zusätzlich zur universell anpassbaren Vorrichtung für Begattungskästen verschiedener Bauart eine spezielle Variante für den sehr verbreiteten Kästchentyp „APIDEA“ erarbeitet und auch bereits erfolgreich getestet.

7.2 Auswirkungen auf die Belegstellenlandschaft

Da sich das Ringen um die verfügbaren Belegstellen in Zukunft absehbar noch weiter verschärfen wird, ist es sehr wichtig, zusätzliche Alternativen zu schaffen. In vielen Regionen können mit einem ausreichend großen Schutzradius keine neuen Belegstellen geschaffen werden. Es muss daher darum gehen, die bestehenden Belegstellen intensiver zu nutzen. Das kann mit der Doppelnutzung durch Mondscheinbegattung geschehen.

Von essenzieller Bedeutung ist hier, ob der erzielte Begattungserfolg und Anpaarungssicherheit ein mit den Belegstellen vergleichbares Niveau erreichen, andernfalls wird die Zustimmung bei den Imkern ausbleiben. Aus diesem Grund war ein Teil des Vorhabens auch der Überprüfung der Rassereinheit als Vorbedingung der Körfähigkeit gewidmet.

Die Anpaarungssicherheit der Mondscheinbegattung erreichte in einem der Versuche nahezu die Sicherheit der instrumentellen Besamung und ist erfüllt damit die Voraussetzungen der Linienzucht.

Der Begattungserfolg der Mondscheinpaarung reicht noch nicht an die Quote der freien Paarung an den Belegstellen heran. Das muss bei der Beschickung berücksichtigt werden und eine Reserve eingeplant werden, was aber ein vertretbarer Aufwand für den Züchter ist, der an einer besonderen väterlichen Abstammung oder der höheren Anpaarungssicherheit interessiert ist.

So kann die Mondscheinbegattung eine Zusatzleistung von Belegstellen sein und deren Attraktivität erhöhen.

7.3 Welche Verbesserungen konnten im Rahmen des Vorhabens auf den Praxisbetrieben erzielt werden?

Die Übernahme der Mondschein-Paarung als anerkannte Methode der Paarungskontrolle in die Zuchtrichtlinie des ZVDBD bedeutet, dass die Methode nunmehr für die Zucht der dunklen Biene in Deutschland genutzt werden kann.

Die etablierte Variante ohne Kühlungsbedarf bedeutet eine erhebliche Energie- und Zeitersparnis, und dürfte die Akzeptanz der Methode unter der Nutzerschaft erhöhen.

Erstmals liegen gesicherte Daten zur erzielbaren Paarungsreinheit vor, die beweisen, dass bei einem erheblichen Anteil der angepaarten Tiere Reinpaarungen erwartet werden können. Aus zahlreichen Gesprächen mit Züchtern über die Ergebnisse geht hervor, dass gerade dies ein oft entscheidender Ansporn zur Nachahmung ist.

Die geplante Übernahme der Methoden in zahlreichen weiteren Zuchtbetrieben im In- und Ausland (darunter mit der Imkerei Mandl die größte Berufsimkerei Österreichs) unterstreicht den praktischen Erfolg des Projekts.

7.4 Wurden ggf. Grenzen der Einsetzbarkeit der angewandten Methoden identifiziert?

Der Begattungserfolg, also der Anteil der wunschgemäß begatteten Königinnen, liegt mit 50-80% zwar schon in einem Bereich, der in vielen Anwendungsorten bereits als ausreichend gelten kann, liegt aber doch noch ein gutes Stück vom Bereich gewöhnlicher Belegstellen entfernt. Hier ergeben sich Grenzen, wenn Nutzer einen zu hohen Erwartungshorizont haben.

Die Begattungsreinheit liegt bereits in einem sehr hohen Bereich, wenn besondere Vorkehrungen (wie Kühlung) getroffen werden. Für manche Anwendungsbereiche könnte das jedoch zu aufwändig sein, beispielsweise wenn kein Stromanschluss vorhanden ist.

Insbesondere die Ergebnisse aus dem heißen Versuchsjahr 2020 weisen darauf hin, dass die Menge des bei Begattung übertragenen Spermias ein limitierender Faktor für den Erfolg der Methode sein kann. Es könnte daher sinnvoll sein, in heißeren Klimaten grundsätzlich mit stärkeren Begattungsvölkern zu arbeiten, die Temperatur-Extrema besser abpuffern können.

Der Fremddrohnen-Druck scheint hingegen kein grundsätzliches Hindernis für eine erfolgreiche Mondschein-Paarung zu sein (siehe Ergebnisse Imkerei Skerka).

Ein begrenzender Faktor ist der logistische Aufwand für tägliche Öffnung und Schließung der „Mondschein-Fluglöcher“. Dieser konnte jedoch durch die im Projekt implementierte Automatisierung stark verringert werden.

Bei weiterer Verbreitung der Methode kann es erforderlich werden, dass benachbarte Anwender sich untereinander bezüglich der Ausflugdaten ihrer Königinnen absprechen.

7.5 Bewertung der Umsetzbarkeit in anderen Regionen

Die Mondscheinbegattung ist prinzipiell auch in anderen Regionen und Ländern anwendbar, was sich nicht zuletzt darin zeigt, dass die im Projektverlauf als wissenschaftliche Beraterin eingeladene Fani Hatijna Elemente der Mondscheinbegattung wie die Kühlung und die Bewegung der Bienenvölker auf Schienen in Griechenland realisiert hat, welche sich auch in Brandenburg bewährt haben.

Es ist aber zu betonen, dass dabei die Fertigkeiten der Imker vor Ort unverzichtbar sind, um starke Drohnenvölker zur Verfügung zu stellen, die Begattungskästchen auf bewährte ortsübliche Weise vorzubereiten und vor allem die richtige Zeitpunkte der Begattung zu finden.

Im Projektverlauf wurde ermittelt, dass die Kühlung der Völker einen positiven Effekt sowohl auf den Begattungserfolg als auch die Anpaarungsreinheit hatte und generell empfohlen werden kann.

Durch die Veröffentlichung in einer internationalen Fachzeitschrift (Musin et al. 2021), den Vortrag von Dr. Wegener bei der Tagung der französischen Züchtervereinigung ANERCEA sowie die Kommunikation mit den europäischen Projektpartnern des Forschungsprojekts BeeConSel wurden die Ergebnisse des Projekts auch international stark wahrgenommen, was sich z.B. durch zahlreiche Anfragen per E-Mail zeigt. Besonders groß ist das Interesse dabei in Ländern, in denen ein organisiertes Belegstellenwesen nicht oder nur in geringem Umfang besteht (z.B. Frankreich).

7.6 Über das Vorhaben hinaus gewonnene Erkenntnisse

Neben den angestrebten technischen Ergebnissen erbrachte das Projekt einige interessante wissenschaftliche Erkenntnisse. So konnte erstmals ein Verfahren der quantitativen Genotypisierung aus Mischproben (Spermagemisch aus den Spermatheken) für Vaterschaftsanalysen bei Bienen eingesetzt werden. Weiterhin zeigte sich, dass die Flugperioden von Drohnen (Beobachtungen an den Fluglöchern der Völker) nicht mit der Periode der Paarungsbereitschaft identisch sind – dies zeigte sich darin, dass spät fliegende Drohnen nicht mehr durch Sexualpheromone angelockt werden konnten. Über den geplanten Umfang der Arbeiten hinaus geht auch der durchgeführte Ringversuch zur Mondscheinmethode, für den nach einem angenäherten Protokoll die Durchführbarkeit in fünf Ländern getestet wurden.

8. Abschließende Evaluierung des Vorhabens

8.1 Gegenüberstellung der ursprünglich geplanten zu den erreichten Zielen

Die Projektziele konnten vollständig erreicht werden – die Mondschein-Methode ist nunmehr technisch validiert, umfangreiche Informationsmaterialien stehen zur Verfügung, und die Übernahme in die Praxis ist an vielen Beispielen bereits heute belegbar. Ein wesentliches Ergebnis ist auch, dass durch die Zusammenarbeit im Projekt die häufig schwierige Verständigung zwischen Züchtern unterschiedlicher Rassen/Unterarten verbessert werden konnte. Die Zusammenarbeit an einem Thema, das an sich schon geeignet ist, Spannungen in Bezug auf unbeabsichtigte Hybridisierungen zu mindern, erwies sich als fruchtbar und konstruktiv.

Aufgrund der Pandemie wurden bei der Verbreitung der Erkenntnisse die Schwerpunkte verschoben und dabei verstärkt auf Online-Veranstaltungen und Videoproduktionen gesetzt. Aufgrund der Erfahrungen kam es zu einigen Erweiterungen der ursprünglich geplanten Aktivitäten.

8.2 Forschungsbedarfs, der sich aufgrund der Umsetzung des Vorhabens ergeben hat

Die Temperaturabhängigkeit, die sich im Zusammenhang mit der Kühlung als wichtig herausgestellt hat, bedarf weiterer Erforschung, damit beim Einrichten einer Belegstelle die richtige Entscheidung getroffen werden kann, d.h. ob eine Kühlung installiert werden muss oder ob darauf verzichtet werden kann.

Die Bewertung des Reinheitsgrades der Begattung ist derzeit noch zu aufwändig und teuer, so dass sie noch nicht regelmäßig im Praxisbetrieb angewendet werden kann. Die Erarbeitung einer billigeren molekularen Methode erscheint hier sehr wünschenswert.

Die Aufnahme der Mondscheinpaarung als mögliche Form der Paarungskontrolle solle in den Richtlinien weiterer Zuchtverbände Anerkennung finden – hierfür gilt es weitere Überzeugungsarbeit zu leisten und längerfristige Erfahrungen zusammenzutragen.

Die Verfügbarkeit einer kostengünstigen kommerziellen Lösung für die Fluglochsteuerung könnte die technische Hürde weiter verringern, hier wäre etwa ein Projekt im Bereich der Innovationsförderung wünschenswert.

8.3 Ausblick aus Sicht des Landesverbands Brandenburgischer Imker

Als Kooperationspartner des Projektes möchten wir feststellen, dass Beginn des Projektes und Thema absolut in die Zeit passten. Die Erhaltung der genetischen Vielfalt unserer Honigbiene bedarf aufgrund der natürlicherweise unkontrollierten Verpaarung besonderer Aufmerksamkeit und auch besonderer Aufwendungen, um genetische Unterschiede zu erhalten als Potential für aktuelle und zu erwartende Problemzustände. Auch unter Züchtern wird dieses Wissen nicht überall angetroffen, in der breiten Imkerschaft ist es noch weniger vorhanden.

Die zurückgehende Auslastung und Inanspruchnahme der Leistungen der noch vorhandenen sechs Belegstellen auf dem Territorium des Landes Brandenburg sind ein Ausdruck dafür und nicht steigend. Ein weiterer Rückgang dieser Orte für kontrollierte Verpaarungen war nur durch den Kauf von 2 dieser Belegstellen im Zeitraum der letzten 5 Jahre durch den Landesverband zu verhindern. Einer der Gründe für eine nicht sehr hohe Auslastung liegt in dem Aufwand zur Beschickung (geographische Entfernung etc.). Gerade an dieser Stelle stellt die sogenannte „Mondscheinbegattung“ eine echte Alternative dar. Das Wissen um diese Methode war bisher in der Imkerschaft nur bei Wenigen vorhanden. Die im Projekt gewonnenen Erfahrungen und Daten (z.B. Freilassung der Weiseln 3:30 vor Sonnenuntergang), sind Schlüsselinformationen und in Kombination mit den der Allgemeinheit zur Verfügung zu stellenden technischen Ausführungen zu Fluglochschiebern und deren Steuerung, der Gestaltung von Lichtlabirynthen und weiterem Zubehör, wird den Weg zur breiteren Anwendung ebnen und so als „gartentaugliche“ Methode der gewollten Verpaarung für Imker, die mehr als nur Honig ernten wollen, dienen.

Der Projektzeitraum war insgesamt etwas knapp bemessen und litt auch unter den Lockdown-Maßnahmen. Eine weiter in wissenschaftlicher Begleitung durchgeführte Saison hätte noch aussagekräftigere Werte hinsichtlich Methode (mit oder ohne Kühlung), Zeitpunkt der Drohnenfreilassung in Bezug zur Freilassung der Weiseln und erreichter Paarungssicherheit sowie technischer Ausführungen erbracht. Die Datensicherheit sollte unter Berücksichtigung verschiedener äußerer Faktoren erhöht werden. Auch das Verlassen des Länderinstitutes für Bienenkunde durch Herrn Dr. Jakob Wegener, eines Wissenschaftlers und imkerlichen Praktikers, hinterlässt Lücken, insbesondere bei der Verbreitung der gewonnenen Erkenntnisse.

Die erbrachten Leistungen und Daten rechtfertigen und beschleunigen die Verbreitung dieser Methode in der züchterischen Praxis. Oftmals unbegründete Vorbehalte unter manchen Repräsentanten der Imkerschaft und auch in dieser selbst, bezogen sowohl auf die Buckfast- als auch umgekehrt auf die Carnica-Biene oder die Dunkle Biene, konnten abgebaut werden.

Damit sind Wege zu einer Kooperation und menschlichem Frieden geebnet worden, einem nicht zu unterschätzenden Quell von Erfolgen und neuen Lösungen. Die Koexistenz der drei Methoden von kontrollierter Verpaarung bei der Honigbiene sollte von allen Anwendern Prinzip ihrer Betrachtungsweise sein.

8.4 Weiterführung der Belegstellen der dunklen Biene

Der gute Erfolg bei der Belegstelle Straußberg hat bei den beteiligten Imkern und Züchtern zu der Entscheidung geführt, die Belegstelle auch unabhängig von der Förderung oder Projektbegleitung durch das LIB weiterzuführen.

Weitere Belegstellen in Betreuung des Zuchtverbandes der Dunklen Biene werden auch in den kommenden Jahren die Technik der Mondscheinbegattung anwenden. So ist in der Planung, parallel zum Betrieb der Belegstelle Karwendel auf einem nicht im Schutzradius befindlichem Grundstück Angebote zur Mondscheinanpaarung zu machen.

Die Belegstelle im Eyachtal bei Pforzheim wird nach dem Probetrieb 2022 in den Folgejahren für turnusmäßige Anpaarungen genutzt.

9. Literaturliste

AL-LAWATI, H. & BIENEFELD, K. 2009. Maternal age effects on embryo mortality and juvenile development of offspring in the honey bee (Hymenoptera: Apidae). *Annals of the Entomological Society of America*, 102, 881-888.

AL-LAWATI, H., KAMP, G. & BIENEFELD, K. 2009. Characteristics of the spermathecal contents of old and young honeybee queens. *Journal of Insect Physiology*, 55, 116-121.

ARCA, M., PAPACHRISTOFOROU, A., MOUGEL, F., RORTAIS, A., MONCEAU, K., BONNARD, O., TARDY, P., THIÉRY, D., SILVAIN, J.-F. & ARNOLD, G. 2014. Defensive behaviour of *Apis mellifera* against *Vespa velutina* in France: Testing whether European honeybees can develop an effective collective defence against a new predator. *Behavioural Processes*, 106, 122-129.

BERNSTEIN, R., PLATE, M., HOPPE, A. & BIENEFELD, K. 2018. Computing inbreeding coefficients and the inverse numerator relationship matrix in large populations of honey bees. *Journal of Animal Breeding and Genetics*, 135, 323-332.

BIENEFELD, K. 2016a. Breeding Success or Genetic Diversity in Honey Bees? *Bee World*, 93, 40-44.

BIENEFELD, K. 2016b. Breeding success or genetic diversity in honey bees? *Bee World*, 93, 40-41.

BIENEFELD, K., EHRHARDT, K. & REINHARDT, F. 2007. Genetic Evaluation in the Honey Bee considering Queen and Worker Effects - A BLUP-Animal Model Approach. *Apidologie*, 38, 77-85.

BIENEFELD, K. & PIRCHNER, F. 1990. Heritabilities for several colony traits in the honeybee (*Apis mellifera carnica*). *Apidologie*, 21, 175-183.

BIENEFELD, K. & REINHARDT, F. A new concept in calculating genetic values in honeybees. 34th International Apimondia Congress, 1995 Lausanne. Apimondia Publishing House, 96-99.

- BÜCHLER, R. 2000. Design and success of a German breeding program for Varroa tolerance. *American Bee Journal*, ?, 662-665.
- BÜCHLER, R., COSTA, C., HATJINA, F., ANDONOV, S., MEIXNER, M. D., LE CONTE, Y., UZUNOV, A., BERG, S., BIENKOWSKA, M. & BOUGA, M. 2014. The influence of genetic origin and its interaction with environmental effects on the survival of *Apis mellifera* colonies in Europe. *Journal of Apicultural Research*, 53, 205-214.
- BUNDESMINISTERIUM FÜR ERNÄHRUNG, L. U. V. 2007. Agrobiodiversität erhalten, Potenziale der Land-, Forst- und Fischereiwirtschaft erschließen und nachhaltig nutzen. Bonn: BMELV.
- BUNDESMINISTERIUM FÜR UMWELT, N., UND NUKLEARE SICHERHEIT 2107. Naturbewusstsein 2017. BMU.
- BUNDESREGIERUNG. 2007. RE: Nationale Strategie zur biologischen Vielfalt.
- BUNDESREGIERUNG 2018. Deutsche Nachhaltigkeitsstrategie - Aktualisierung 2018. In: BUNDESREGIERUNG, P.-U. I. D. (ed.). Berlin.
- COBEY, S. W. 2007. Comparison studies of instrumentally inseminated and naturally mated honey bee queens and factors affecting their performance. *Apidologie*, 38, 390-410.
- DE LA RÙA, P., JAFFÉ, R., DALL'OLIO, R., MUNOZ, I. & SERRANO, J. 2009. Biodiversity, conservation and current threats to European honeybees. *Apidologie*, 40, 263-284.
- DELAPLANE, K. S. & MAYER, D. F. 2000. Crop pollination by bees, New York, CABI.
- E.V., D. I. 2017. Jahresbericht 2016/2017. Montabaur: DIB.
- GALLAI, N., SALLES, J.-M., SETTELE, J. & VAISSIÈRE, B. E. 2008. Economic valuation of the vulnerability of world agriculture confronted with pollinator decline. *Ecological Economics*, 68, 810-821.
- GOETZE, G. 1937. Die geographischen Rassen der Honigbiene und die Zuchtbestrebungen der Reichsfachgruppe "Imker". VII. Internationaler Kongreß für Entomologie. Berlin: G. Uschmann, Weimar.
- JENSEN, A. B., PALMER, K. A., CHALINE, N., RAINE, N. E., TOFILSKI, A., MARTIN, S. J., PEDERSEN, B. V., BOOMSMA, J. J. & RATNIEKS, F. L. W. 2005. Quantifying honey bee mating range and isolation in semi-isolated valleys by DNA microsatellite paternity analysis. *Conservation Genetics*, 6, 527-537.
- KOBER, T. 2007. Mondscheinbegattung - Paarungskontrolle durch eingeschränkte Flugzeit. *ADIZ*, 143, 26-28.
- KOENIGER, G., KOENIGER, N., ELLIS, J. D. & CONNOR, L. 2015. Mating biology of honey bees (*Apis mellifera*), Wicwas Press.
- LE CONTE, Y., ELLIS, M. & RITTER, W. 2010. Varroa mites and honey bee health: can Varroa explain part of the colony losses? *Apidologie*, 41, 1-11.
- LE CONTE, Y. & NAVAJAS, M. 2008. Climate change: impact on honeybee populations and diseases. *Rev Sci Tech*, 27, 485-497.

LECONTE, Y. & NAVAJAS, M. 2008. Climate change: impact on honeybee populations and diseases. *Rev Sci Tech*, 27, 485-497.

LUDWIG, A. 1937. *Unsere Bienen*, Berlin, Verlag von Fritz Pfennigstorff.

MAUL, V. 1998. Einfluss von Buckfastbienen und *Apis mellifera carnica* auf Verhaltenseigenschaften der Landbiene. *Apidologie*, 29, 464.

MEIXNER, M. D., COSTA, C., KRYGER, P., HATJINA, F., BOUGA, M., IVANOVA, E. & BÜCHLER, R. 2010. Conserving diversity and vitality for honeybee breeding. *Journal of Apicultural Research*, 49, 85-92.

MEIXNER, M. D., FRANCIS, R. M., GAJDA, A., KRYGER, P., ANDONOV, S., UZUNOV, A., TOPOLSKA, G., COSTA, C., AMIRI, E., BERG, S., BIENKOWSKA, M., BOUGA, M., BÜCHLER, R., DYRBA, W., GURGULOVA, K., HATJINA, F., IVANOVA, E., JANES, M., KEZIC, N., KORPELA, S., CONTE, Y. L., PANASIUK, B., PECHHACKER, H., TSOKTOURIDIS, G., VACCARI, G. & WILDE, J. 2014. Occurrence of parasites and pathogens in honey bee colonies used in a European genotype-environment interactions experiment. *Journal of Apicultural Research*, 53, 215-229.

MEIXNER, M. D., KRYGER, P. & COSTA, C. 2015. Effects of genotype, environment, and their interactions on honey bee health in Europe. *Current Opinion in Insect Science*, 10, 177-184.

MEIXNER, M. D., PINTO, M. A., BOUGA, M., KRYGER, P., IVANOVA, E. & FUCHS, S. 2013. Standard methods for characterising subspecies and ecotypes of *Apis mellifera*. *Journal of Apicultural Research*, 52, 1-28.

MUSIN, E., BIENEFELD, K., SKERKA, H., WEGENER, J. 2021. Delayed flight time of drones and queens as a method for mating control in small-scale honey bee breeding. *Journal of Apicultural Research*, DOI: 10.1080/00218839.2021.2006983.

NEUMANN, P. The Lord of the Rings: Genotype-environment interactions for honeybee colonies surviving *Varroa destructor* by means of natural selection. In: DE GRAAF, D. C., ed. *EURBEE 8*, 2018 Ghent. Ghent University, 75.

OLLERTON, J., WINFREE, R. & TARRANT, S. 2011. How many flowering plants are pollinated by animals? *Oikos*, 120, 321-326.

OXLEY, P. R., HINHUMPATCH, P., GLOAG, R. & OLDROYD, B. P. 2010. Genetic Evaluation of a Novel System for Controlled Mating of the Honeybee, *Apis mellifera*. *Journal of Heredity*, 101, 334-338.

REINSCH, N., SCHUSTER, H., BIENEFELD, K. & PIRCHNER, F. 1991. Morphologischer Vergleich von Völkern der "Landbiene" in Niedersachsen mit typischer *Apis mellifera carnica* und *Apis mellifera mellifera*. *Apidologie*, 22, 75-80.

RUTTNER, F. 2003. *Naturgeschichte der Honigbiene*, Stuttgart, Kosmos.

RUTTNER, H. & RUTTNER, F. 1972. UNTERSUCHUNGEN ÜBER DIE FLUGAKTIVITÄT UND DAS PAARUNGSVERHALTEN DER DROHNEN. V. - DROHNENSAMMELPLÄTZE UND PAARUNGSDISTANZ. *Apidologie*, 3, 203-232.

- SPÖTTER, A., GUPTA, P., MAYER, M., REINSCH, N. & BIENEFELD, K. 2016. Genome-Wide Association Study of a Varroa-Specific Defense Behavior in Honeybees (*Apis mellifera*). *Journal of Heredity*, 107, 220-227.
- TIESLER, F.-K., BIENEFELD, K. & BÜCHLER, R. 2016. Selektion bei der Honigbiene, Herten, Buschhausen Druck- und Verlagshaus.
- UZUNOV, A., BÜCHLER, R., BIENEFELD, K., HOPPE, A., MEIXNER, M. D., KRYGER, P. & DAHLE, B. 2017. Initiating breeding programs for genetic improvement and preservation of European honey bee populations. 45th APIMONDIA-Conference. Istanbul: Turkish Beekeeper Association and Apimondia.
- VON PAPE, W.-P. 2008. Temperatur des Grundwassers. In: JAHRESBERICHT DES HESSISCHES LANDESAMT FÜR NATURSCHUTZ, U. U. G. (ed.). HLNuG.
- WEGENER, J., AL-KAHTANI, S. & BIENEFELD, K. 2009. Collection of viable honey bee (*Apis mellifera*) larvae after hatching in vitro. *Journal of Apicultural Research*, 48, 115-120.
- WEGENER, J. & BIENEFELD, K. 2009. Methoden zur Zucht der Honigbiene unter Nutzung der Nachkommen von Arbeiterinnen. *Züchtungskunde*, 81, 265-278.
- WEGENER, J. & BIENEFELD, K. 2012. Toxicity of cryoprotectants to honey bee semen and queens. *Theriogenology*, 77, 600-607.
- WEGENER, J., LORENZ, M. W. & BIENEFELD, K. 2010. Differences between queen- and worker-laid eggs of the honey bee (*Apis mellifera*). *Apidologie*, 41, 116-126.
- WEGENER, J., MAY, T., KAMP, G. & BIENEFELD, K. 2014a. New methods and media for the centrifugation of honey bee (Hymenoptera: Apidae) drone semen. *Journal of Economic Entomology*, 107, 47-53.
- WEGENER, J., MAY, T., KAMP, G. & BIENEFELD, K. 2014b. A successful new approach to honeybee semen cryopreservation. *Cryobiology*, 69, 236-242.
- WEGENER, J., MAY, T., KNOLLMANN, U., KAMP, G. & BIENEFELD, K. 2012. In vivo validation of in vitro quality tests for cryopreserved honeybee semen. *Cryobiology*, 65, 126-131.
- WEGENER, J., ZSCHÖRNIG, K., ONISCHKE, K., FUCHS, B., SCHILLER, J. & MÜLLER, K. 2013. Conservation of honey bee (*Apis mellifera*) sperm phospholipids during storage in the bee queen - a TLC/MALDI-TOF MS study. *Experimental Gerontology*, 48, 213-222.
- ZAKOUR, K. & BIENEFELD, K. 2014. Basic considerations in the development of breeding plans for honey bees, illustrated by data on the indigenous Syrian honey bee (*Apis mellifera syriaca*). *Journal of Apicultural Research*, 52, 314-326.