

Peter Schley

**Einführung in die Technik
der instrumentellen Besamung
von Bienenköniginnen**

**

2. erweiterte Neuauflage

Gießen 1987

Privatexperten Georg Scholl

Georg Scholl
Sommerau
8414 Maxh.
Tel.: 09471/

09471-4432

Georg Sokoll

Sommerau 1

8414 Maxhütte 3

Tel.: 09471/4432

Peter Schley

Ersatzteil (Hedlins) R86 u.
Folienbedarf 43473

Einführung in die Technik
der instrumentellen Besamung

I M K E R E I

Besamungs-Station - Reinzuchtbetrieb

Georg Sokoll

Sommerau 1, Tel. 09471/4432 + FAX

93142 Maxhütte-Birkenhöhe

Georg Sokoll
Lagerplatz
38142 Maxhütte-Bronnigau
38142 Maxhütte-Bronnigau

38142 Maxhütte-Bronnigau

IMKEREI
Besatzungs-Staats-Planwirtschaft
Georg Sokoll
Bismarckstr. 1, 38142 Maxhütte-Bronnigau
38142 Maxhütte-Bronnigau

Vorwort

Peter Schley

**Einführung in die Technik
der instrumentellen Besamung
von Bienenköniginnen**

mit 46 Abbildungen

**

Gießen 1987

Peter Schley

Einführung in die Technik
der instrumentellen Besamung
von Bienenköniginnen

mit 46 Abbildungen

Dr. Peter Schley:

Einführung in die instrumentelle Besamung von Bienenköniginnen/
von Peter Schley,
- Privatdozent für Kleintierzucht an der Universität Gießen -

Völlig neu überarbeitete 2. Auflage
Erscheinungsjahr : 1987

Satz: Dr. Schley, Apple® PC Macintosh™

Druck und Verlag: Köhler Offset KG, Kiesweg 23, 6300 Gießen

0641 | 952200

Anschrift: Dr. Schley, Heinestraße 6, 6301 Pohlheim 1, Tel. 06403-62386

Vorwort

Die künstliche Besamung, in der Bienenzucht treffender als instrumentelle Besamung bezeichnet, hat in der Nutztierzucht weltweit Anwendung und Anerkennung gefunden. In der Rinderzucht der Bundesrepublik werden z.B. 80% aller Kühe künstlich besamt. Bei den Schweinen sind es bereits regional 5–20%. Für die Bienenzucht bietet die instrumentelle Besamung ebenfalls große Vorteile, auch wenn sie hier - bedingt durch den anatomischen Bau und die geringe Körpergröße - weit schwieriger als bei anderen Nutztierarten zu handhaben ist. Die Methode wurde in mehreren kleinen und größeren, international bekannt gewordenen Schriften beschrieben. Im deutschsprachigem Raum hat zweifellos das von RUTTNER 1975 herausgegebene Kompendium "Die instrumentelle Besamung von Bienenköniginnen" zur Verbreitung des Verfahrens beigetragen. Die vorliegende Anleitung baut auf diese Arbeit auf. Wie in anderen Spezialgebieten geht die Entwicklung weiter, und die Techniken werden ständig verfeinert. Das vorgestellte Geräteprogramm wie auch die Handhabung entsprechen dem derzeitigen Stand und tragen dem vielfach geäußerten Bedürfnis nach einer leicht verständlichen Einführung in die Methodik und nach mehr Information Rechnung. Bei der vorliegenden Fassung handelt es sich um den vollständig überarbeiteten Text der 1982 erschienenen Erstauflage, die vornehmlich als reine Arbeitsanweisung herausgebracht wurde. Am bewährten Grundkonzept hat sich nichts geändert. Einige Kapitel und Abschnitte wurden neu aufgenommen. So z.B. die Ausführungen über die Brutbox, die für viele Besamungspraktiker zum festen Bestandteil der Ausrüstung geworden ist. Theoretische Ausführungen wurden aber wiederum weitgehend ausgeklammert und die Arbeitsgeräte selbst, ihre praktische Handhabung und die Einbettung der instrumentellen Besamung in das ganze Zuchtssystem in den Mittelpunkt der Betrachtung gestellt. Die zum Themenkreis erschienene Literatur findet aus rein praktischen Erwägungen im Text nur insoweit Berücksichtigung, als sie zum besseren Verständnis der Methode, zur Darstellung des Entwicklungsweges und zum Aufzeigen neuer Möglichkeiten beiträgt. Im Literaturanhang sind darüber hinaus noch zahlreiche Arbeiten genannt, die ein weiterführendes Literaturstudium erlauben.

Der Wunsch des Verfassers ist es, daß die Neufassung sowohl bei den Züchtern, den an der Thematik allgemein Interessierten und nicht zuletzt bei den Besamungspraktikern eine gute Aufnahme findet und eine nützliche Hilfe in Sachfragen der Königinnenbesamung sein kann.

Neuentwicklungen, deren Erprobung und Einführung in die Praxis sind stets ein Ergebnis gemeinsamer Anstrengungen. Von Fachleuten erhielt der Verfasser manche Anregung und nützlichen Rat. Es sei an dieser Stelle all denen gedankt, die ihre Erfahrungen mitgeteilt oder direkt behilflich waren. Dank gebührt nicht zuletzt Herrn Bernhard Möbus (Schottland), der die englische Übersetzung vorliegender Ausgabe übernahm und fachliche Ergänzungen beisteuerte.

Peter Schley, Frühjahr 1987

Inhaltsverzeichnis

5	Vorwort
10	1. Entwicklung der Methode
11	2. Gerätschaften und Zubehör
12	Besamungsgerät mit Spritze
16	Grundeinstellungen
18	Häkchen
19	Bedienung der Spritze
23	Dosiermöglichkeiten
24	Auswechseln gefüllter Kanülen
25	Glasspitzen
25	Pflege und Behandlung
26	Stereomikroskop
27	Stereomikroskop D
29	Stereokörper S 890
30	Beleuchtungseinrichtung
30	Kaltlicht aus Dia-Projektor
30	Glasfaserlampe
32	Lichtleiterbefestigung
32	Narkoseeinrichtung
36	Spitzenausziehgerät
36	Rohmaterial
37	Geräteaufbau und Funktionen
39	Ausziehen von Rohspitzen
40	Zurichten der Rohspitzen
40	Brutschrank und Flugkäfig
42	Heizkabel
42	Justierung der Regelung
45	Reinigungsgeräte
45	Wasserstrahlpumpe
46	Ultraschallreiniger

Inhaltsverzeichnis

47	3. Vorbereitung des Tiermaterials
47	Drohnen
	Vorbereitung
48	Kennzeichnung
49	Königinnen
54	Arbeitsplan
56	Zwischenstation Brutschrank
56	Temperaturansprüche
56	Feuchtigkeit
56	Schlupfkäfige und Fütterung
57	Drohnen und Begleitbienen
58	Unterbringunsdauer
59	Züchterische Gesichtspunkte
59	Fortpflanzungsbesonderheiten
60	Kreuzungszucht
62	4. Reinigung, Desinfektion, Sterilisation
62	Reinigung
63	Desinfektion
63	Sterilisation
65	Bakterienfilterung
65	Praktische Handhabung kurz gefaßt
66	Vor der Besamung
67	Während der Besamung
68	Nach der Besamung
69	5. Sperma und Kontrolluntersuchungen
69	Spermagewinnung
71	Spermamenge und Spermaqualität
73	Aufziehen des Spermas mit der Spritze
75	Spermabehandlung und -untersuchung
76	Verdünnung
77	Spermakonservierung
78	Zentrifugation und Spermamischung
78	Kontrollen
79	Dichtebestimmung mit der Zählkammer
80	Dichtebestimmung in der Samenblase

Inhaltsverzeichnis

82	6. Besamung
82	Vorbereitungen
86	Kohlensäurebehandlung
87	Aufspannen der Königin
87	Einfangen
87	Königin ins Halteröhrchen
88	Narkose
88	Häkchen setzen
90	Aufspannen zusammengefaßt
91	Blick in die Stachelkammer
94	Spermainjektion
94	Scheidenklappe und Handsonde
95	Kanüle einführen und entleeren
98	Nach der Besamung
100	Register
103	Literatur

1. Entwicklung der Methode

Die Einführung der Spermien in die Geschlechtswege der Königin stellt ein biotechnisches Verfahren dar, das sowohl biologische Kenntnisse als auch technische Hilfsmittel zur Voraussetzung hat. Biologie und Technik sind unmittelbar miteinander verknüpft. Versuche, die Samenübertragung ohne spezielle Geräte zu vollbringen, blieben letzten Endes erfolglos. Eine positive Entwicklung zeichnete sich erst nach den erfolgreichen Besamungen WATSONS im Jahre 1927 ab. Im gelingen die Spermaübertragungen mit Mikromanipulator, Spritze und Stereomikroskop. Mit den Vorarbeiten Watsons war zweifellos die Grundlage für die weitere Entwicklung geschaffen. NOLAN (1937) verbesserte die Apparatur in wesentlichen Punkten und schuf eine Vorrichtung, die als Vorläufer heutiger Gerätschaften unverkennbar ist. Die Besamungsergebnisse ließen seinerzeit aber noch zu wünschens übrig. Zunächst mußten die Besonderheiten der Fortpflanzungsbiologie geklärt werden. LAIDLAW machte 1944 auf den besonderen Bau der Scheide aufmerksam, die bei der Bienenkönigin nicht gerade verläuft, sondern einen Knick aufweist. Im deutschen Sprachgebrauch ist von der "Scheidenklappe" die Rede. Unter Berücksichtigung der inzwischen erarbeiteten Erkenntnisse gelang MACKENSEN und ROBERTS (1948) mit erfolgreichen Serienbesamungen der Durchbruch. Die praxisorientierte Veröffentlichung ihrer Ergebnisse fand starke Beachtung und wirkte anregend auf viele Versuchsansteller. Es folgten dann bis in die jüngste Zeit hinein konstruktive Verbesserungen im Detail (MACKENSEN [1954], VESELY [1961], RUTTNER [1964], RUTTNER et al. [1974], WINKLER [1981], SCHLEY [1982, 1984a] u.a.).

Besonders zu erwähnen ist die mit 7 Zahnstangentrieben technisch aufwendige Bauart des Besamungsgerätes nach LAIDLAW (1949, 1957). Das aufgrund langjähriger Erfahrungen 1948 fertiggestellte Gerät gestattet neben der Spritzenführung die Feinverstellung der eingespannten Königin wie auch der Hähchen. Das Ganze ist auf einer Kugel gelagert und bietet hinsichtlich der Verstellmöglichkeiten Vorteile gegenüber dem Nolan- bzw. Mackensen-System.

Als ein wichtiges Bestandteil des Besamungsgerätes erwies sich die Besamungsspritze. Von ihrer Funktionstüchtigkeit hängt in starkem Maße die Arbeitsfähigkeit der ganzen Apparatur ab. Auch hier sind im Laufe der Jahre eine ganze Reihe von Bauarten zum Einsatz gekommen. Weite Verbreitung fanden die Spritzen von MACKENSEN (1954), die später mit einem Adapter von Laidlaw versehen wurden (LAIDLAW u. LORENZEN 1957) sowie die Spritzen von SCHLEY (1982) und HARBO (1979). Da die Kolben wegen mangelnder Qualität anfänglich Schwierigkeiten bereiteten, benutzte MACKENSEN (1954) in seiner Spritze eine Membran. Als nachteilig erwies sich die geringe Füllmenge. In der Spritze von HARBO wird die Flüssigkeits-

säule mit Hilfe einer Mikrometerschraube über eine längere Schlauchverbindung gesteuert. SCHLEY (1982) wie auch LAIDLAW (1985) benutzen Kolben und Zylinder von 1ml - Tuberculin-Einwegspritzen aus der Massenfertigung. Als Spitzen dienen heute fast ausschließlich aus Mikropipetten angefertigte Glas-Besamungskanülen. Sie lassen sich besser desinfizieren und sind auch kostengünstiger herzustellen. Nach SCHLEY(1981) mit dem Ziehgerät hergestellte Besamungsspitzen können als Einwegspitzen benutzt werden.

In der Gerätetechnik stecken inzwischen 60 Jahre Erfahrung. Unter Berücksichtigung der vorgeschlagenen und inzwischen eingeführten Verbesserungen stand Anfang der 80er Jahre ein weiterentwickeltes Besamungsgerät zur Verfügung. Der weit verbreitete "Standardtyp" des Besamungsgerätes nach RUTTNER (1975) auf der Grundlage des Nolan-Mackensen-Systems konnte im Detail verbessert werden, ohne daß die Grundabmessungen des Gerätes verändert werden mußten. Alle wichtigen Funktionsteile bleiben weiterhin austauschbar. Die von RUTTNER (1975) veröffentlichten Konstruktionszeichnungen regten darüber hinaus auch zahlreiche Hobbybastler zu Eigenbauten an, die jedoch nur in den wenigsten Fällen den hohen Anforderungen gerecht werden.

Eine Fortentwicklung ist auch bei den erforderlichen Nebenapparaten festzustellen. Die Kohlensäureanlage zur Betäubung ist kleiner und handlicher geworden und läßt sich sowohl an Einwegkapseln wie auch an Großflaschen anschließen (SCHLEY 1982). Der moderne Laborhandel bietet Geräte zur Reinigung, Desinfektion usw. an. Die heutigen Stereomikroskope besitzen mit ihren lichtstarken Optiken eine hervorragende Sicht. Bei der Beleuchtung haben insbesondere die kaltes Licht abgebenden Glasfaserleuchten eine Verbesserung gebracht. Alles in allem stehen heute Geräte zur Verfügung, die als ausgereift zu bezeichnen sind.

2. Gerätschaften und Zubehör

Das Besamungsgerät stellt einen Mikromanipulator dar, mit dessen Hilfe die Königin in einer ganz bestimmten Lage festgehalten, narkotisiert und mittels einer Spritze unter Mikroskopbetrachtung besamt werden kann. Neben der eigentlichen Besamungsapparatur mit der Besamungsspritze ist somit ein Stereomikroskop zur optischen Kontrolle erforderlich. Notwendig ist eine Beleuchtungseinrichtung ohne Wärmeeinwirkung. Ferner gehört eine Narkosevorrichtung zur Betäubung der Königin zur Grundausstattung. Beachtung verdienen ferner die Maßnahmen der Reinigung und Sterilisation. Hierfür kommen für Besamungslabors mehrere sogenannte "Nebenapparate" in Betracht. Schließlich ist geeignetes Tiermaterial mit guten Eigenschaften eine unabdingbare Grundvoraussetzung aller Bemühungen. Nur mit gene-

tisch hochwertigem und geeignetem Tiermaterial ist der technische Aufwand zu rechtfertigen.

In der folgenden grafischen Darstellung sind die Schwerpunkte der instrumentellen Besamung aufgezeigt (siehe Abb. 1).

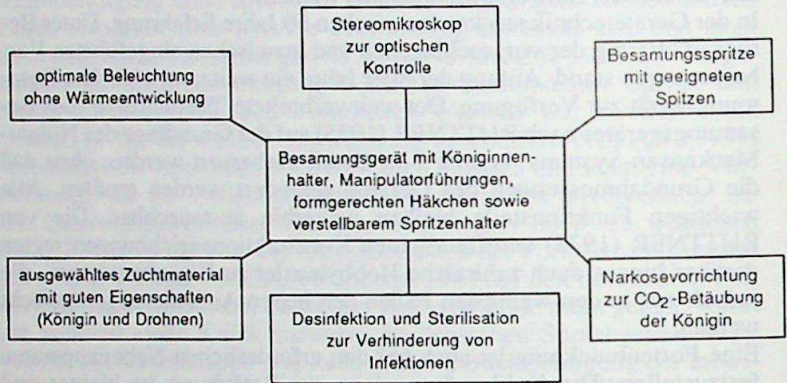


Abb. 1: Schwerpunkte im System der instrumentellen Besamung

Besamungsgerät mit Spritze

Das Besamungsgerät besteht aus einem stabilen Unterbau mit Grundplatte, der als Stativfuß bezeichnet wird. Rechts und links befinden sich zwei angeschraubte Säulen, die die Lagerblöcke für die Häkchenhalter tragen. An der rechten Säule (vom Besamer aus gesehen) ist über dem Lagerblock der Spritzenhalter angebracht, der die Besamungsspritze aufnimmt. Zwischen beiden Stativsäulen ist der Königinnenhalter plaziert. Die Säulen wie auch der Königinnenhalter werden in dem 6 mm breiten Schlitz der Grundplatte befestigt, der über die ganze Länge reicht. Die folgende Abb. 2 zeigt das Besamungsgerät mit seinen einzelnen Funktionselementen.

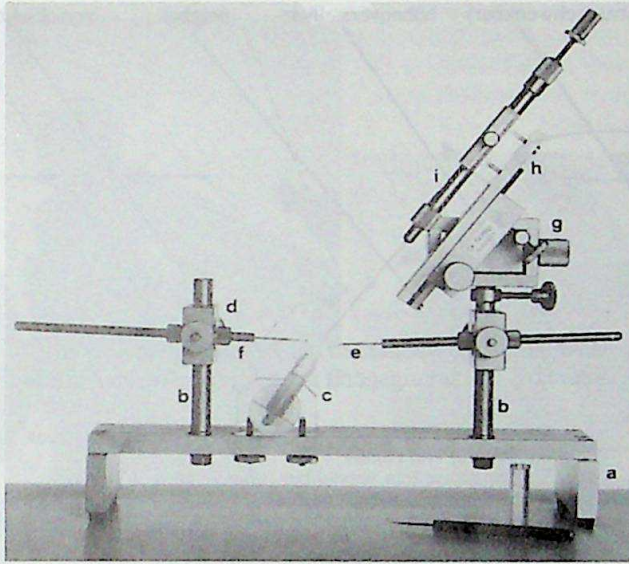


Abb. 2: Das Standard-Besamungsgerät mit zusätzlicher Seitenverstellung nach dem Verfasser

Das Gerät setzt sich aus folgenden Einzelteilen zusammen:

- a) Stativfuß
- b) linke und rechte Stativsäule
- c) Königinnenhalter mit Kohlensäure-Gaszuführung
- d) Lagerblöcke mit Kugelführungen auf beiden Seiten
- e) Dorsalhäkchen mit Haltegriff (Stachelhäkchen, greift von der Rückenseite der Königin)
- f) Ventralhäkchen mit Haltegriff (bauchseitig der Königin)
- g) Lagerblock für den Spritzenhalter. Im Bild ist er in "gekäfigter" Ausführung mit zusätzlicher Seitenverstellung ausgebildet. Die Querverstellung anstelle des Stellringes ist nicht eingezeichnet (Sonderausstattung)
- h) Spritzenhalter mit Zahnstangentrieb, in der Neigung verstellbar durch Stellschraube
- i) Besamungsspritze mit Besamungsspitze (Schafstdurchmesser 8 mm)

Das Heranführen der Spritze erfolgt wie aus Abb. 2 ersichtlich mittels Zahn und Trieb. Der gewünschte Neigungswinkel läßt sich einstellen, so daß bereits in der Grundausstattung eine begrenzte Bewegung der Spritze in allen Ebenen möglich wird.

In Abb. 3 sind die möglichen Bewegungsabläufe der Besamungsspritze bzw. ihrer Spitze aufgezeigt.

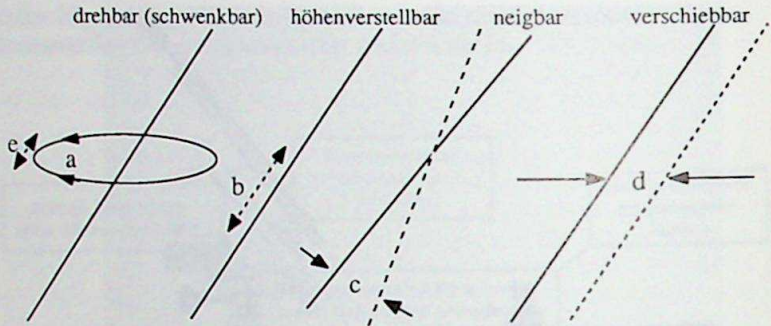


Abb. 3: Bewegungsmöglichkeiten der Besamungsspritze am Standard-Besamungsgerät in mehreren Ausbaustufen

a - in horizontaler Ebene 360° drehbar, davon ca. 120° nutzbar (Grobverstellung von Hand)

b - in Spritzenachse fein verstellbar (über Zahn und Trieb)

c - Neigung der Spritze fein regulierbar (mittels Feinstellschraube)

Ausbaustufe 1: d - Spritzenachse parallel präzise verschiebbar (Seitenverstellung)

Ausbaustufe 2: e - Feinverstellung der Drehbewegung

in begrenztem Teilbereich (Querverstellung)

Wie aus Abb. 3 ersichtlich, wird mit der zusätzlich anbaubaren Seitenverstellung die Parallelverschiebung des Spritzenhalters in Längsrichtung der Hakenhalter ausführbar (d). Das Besamungsgerät mit Seitenverstellung ist dadurch gekennzeichnet, daß der an der rechten Stativsäule befindliche Lagerblock für den Spritzenhalter in einem Rahmen gekäfigt ist und axial in Richtung der Hakenhalter verstellbar werden kann. Die Arbeitshöhe wird nach Anbringung der Seitenverstellung nicht verändert. Der bewegbare Lagerblock und seine ihn umschließenden Bauteile sind so ausgebildet, daß keine weiteren baulichen Veränderungen am Standardgerät notwendig werden und die betreffende bauliche Einheit mit dem starren Lagerblock des üblichen Standardgerätes austauschbar ist.

Mit diesem Bauteil läßt sich auch die Scheidenklappe der Königin beiseite drücken, was besonders für den Anfänger hilfreich ist, weil sich die einzelnen Bewegungsabläufe in voneinander getrennte Arbeitsabschnitte aufteilen lassen.

Die Querverstellung als Zusatzteil der Sonderausstattung erleichtert die Feinjustierung der Besamungsspitze zu Beginn der Einführung und ermöglicht darüber hinaus Korrekturen noch nach Einführen der Besamungsspitze in die Scheide (e). Dieses Bauteil kommt anstelle des einfachen Stellrings zwischen Kugellagerblock und Spritzenhalterblock.

Die Funktionsweise der Zusatzbauteile Seiten- und Querverstellung wird abschließend in den Abb. 4 und 5 ausschnittsweise verdeutlicht.

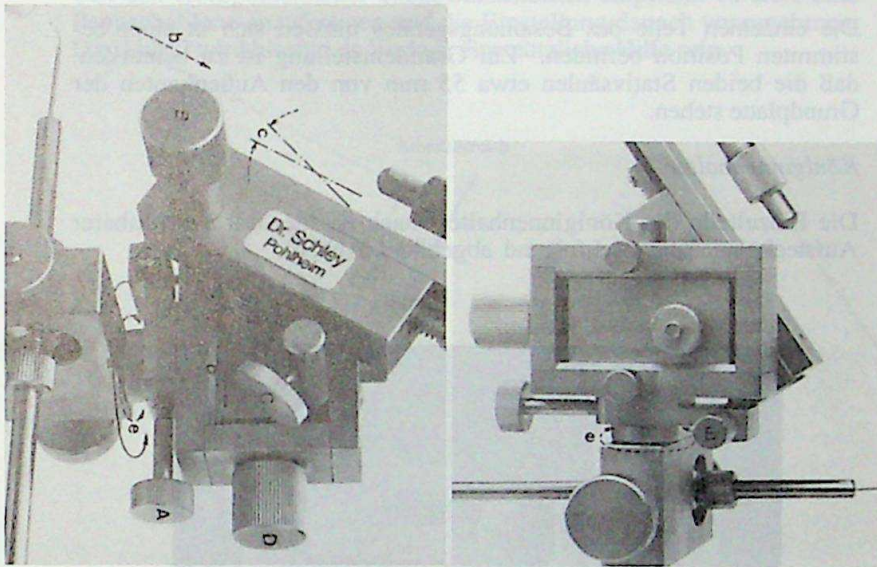


Abb. 4: Seitentrieb und Querverstellung in Nahaufnahme
 links - von der Seite des Besamers gesehen
 rechts - Rückseite
 Anmerkung: Die Bedienungsknöpfe A-E entsprechen den eingezeichneten Bewegungen a-e

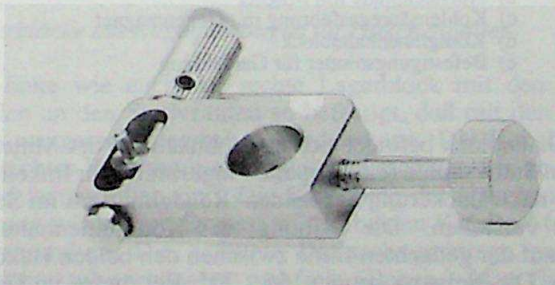


Abb. 5: Die Querverstellung

Grundeinstellungen am Besamungsgerät

Stativ

Die einzelnen Teile des Besamungsgerätes müssen sich in einer bestimmten Position befinden. Zur Grundeinstellung ist zu bemerken, daß die beiden Stativsäulen etwa 55 mm von den Außenkanten der Grundplatte stehen.

Königinnenhalter

Die Einzelteile des Königinnenhalters nach Ruttner mit abnehmbarer Aufsteckplatte sind nachfolgend abgebildet (Abb. 6).

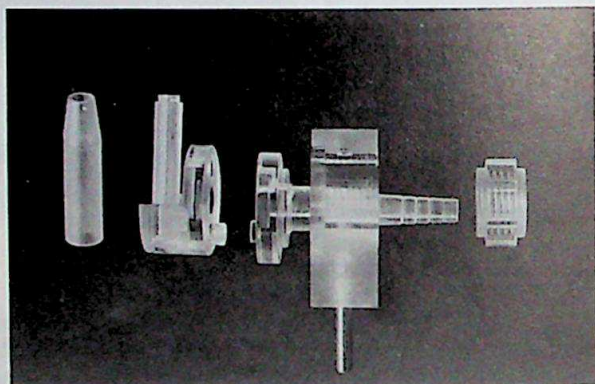


Abb. 6: Königinnenhalter in seinen Einzelteilen

- von links nach rechts:
- a) Halterröhrchen
- b) Aufsteckplatte mit Magnet
- c) Kohlendioxidgasführung mit Gegenmagnet
- d) Königinnenhalteblock
- e) Befestigungsmutter für Gasführung

Der Königinnenhalteblock befindet sich etwas links von der Mitte zwischen den beiden Stativsäulen (ca. doppelte Fingerbreite zur linken Säule). Er läßt sich nach Lockerung der beiden Rändelmuttern im Schlitz der Grundplatte verstellen. Die Öffnung des Königinnenhalterröhrchens soll sich auf der gedachten Linie zwischen den beiden Hakenhaltern befinden. Die Neigung beträgt 66 - 72°. Bei dieser im Gegensatz zu früheren Empfehlungen steileren Stellung des Königinnenhalterröhrchens hat man einen besseren Einblick in die Stachelkammer der Königin und in die Scheidenöffnung. Die Spritze muß gegebenenfalls zusätzlich etwas geneigt werden, damit man nicht mit der Spritze an

das Objektiv anstößt. RUTTNER (1975) empfiehlt die 60°- (1 Uhr-Stellung des kleinen Zeigers), wobei zu bemerken ist, daß verschiedene Stereomikroskoptypen eine steilere Stellung nicht zulassen. Um den Königinnenhalter exakt einzustellen, empfiehlt es sich, eine Pappschablone anzufertigen und die Einstellung danach vorzunehmen. Die Abb. 7 wird hierfür als Vorlage eine nützliche Hilfe sein.

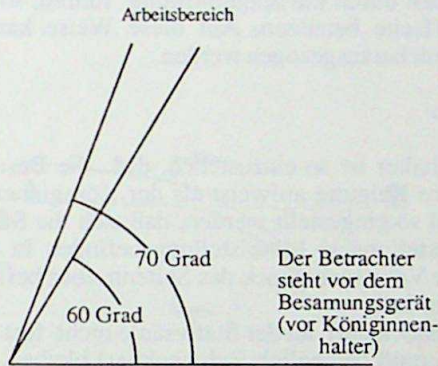


Abb. 7: Die 70°- Neigung des Königinnenhalters als Vorlage für eine Schablone

Die Teile des Königinnenhalters dürfen nicht über 80° C erhitzt werden. Die Säuberung erfolgt mit kunststoffverträglicher Reinigungslösung (gegebenenfalls mit Desinfektionswirkung). Zur besseren Abdichtung der Dichtungsflächen kann etwas Siliconfett auf die betreffenden Stellen aufgetragen werden. Mit Siliconfett wird auch die Innenfläche des Halteröhrchens behandelt, wenn dieses zu locker sitzt.

Lagerblöcke mit Kugelführungen für Häkchenhalter

Der linke wie auch der rechte Lagerblock mit den Kugelführungen werden an den Stativsäulen so befestigt, daß mit den Häkchenhaltern etwa waagrecht gearbeitet werden kann. Die Häkchenhalter sollten bei leichter Berührung nicht gleich ausschwenken, so daß sie entsprechend festzustellen sind. Die Bewegung der Häkchenhalter in Längsrichtung wird durch Drehen an den beiden Kugeln - Überwurfmuttern vorgenommen. Die gefettete Dichtschnureinlage garantiert das gewünschte schwergängige ruckfreie Gleiten. Man findet die richtige Einstellung leicht heraus, wenn die Überwurfmuttern an der Kugel angezogen oder gelockert werden. Die Umgebungstemperatur spielt dabei eine Rolle. Bei Temperaturen unter 20° C ist das Lagerfett nicht so

geschmeidig, und die Hakenhalter lassen sich am unterkühlten Gerät nicht so gut hin- und herschieben.

Die Hakenhalter verbleiben mit den Haken immer in der Kugelführung. Die Reinigung erfolgt am Gerät. Nur bei Inspektionen oder Hakenaustausch werden sie herausgenommen. Die Haken sind zwar, wie schon ausgeführt, mit einer spitzen Zange ohne weiteres herauszuhebeln und wieder einzusetzen, sie bleiben aber in der Regel am Halter. Beim Herausziehen der Hakenhalter darf man nicht die empfindlichen Haken durch die Kugelöffnung führen, sondern muß immer die Handgriffseite benutzen. Auf diese Weise kann auch nicht die Gleitschnur mit herausgezogen werden.

Spritzenhalter

Der Spritzenhalter ist so einzustellen, daß die Besamungsspritze eine etwas stärkere Neigung aufweist als der Königinnenhalter. Der Spritzenhalter soll so eingestellt werden, daß sich die Stellschraube für die Neigungsverstellung in Mittelstellung befindet. In Mittelstellung soll sich auch der Verschiebblock des Seitentriebes befinden, falls ein solcher eingebaut ist.

Der Spritzenblock darf an der Stativsäule nicht fest angeschraubt werden, sondern muß beweglich (schwenkbar) bleiben. Er sitzt direkt auf dem Stelling in gewünschter Höhe (oder bei Vorhandensein der Querverstellung auf dieser). Die 10 mm-Bohrung des Spritzenhalteblocks sowie dessen Unterseite ist leicht zu fetten.

Haken

Die Haken werden in den Kunststoffeinsatz des jeweiligen Hakenhalters gesteckt, was am besten mit einer spitzen Flachzange geschieht. Die Bohrung ist so bemessen, daß der 1 mm-Schaft des Stahlhakens festgeklemmt wird. Sollten die Haken zwecks Austausches herausgenommen werden, so wird die Zange auf den Halter aufgesetzt und die Haken durch mehrmaliges kurzes Hebeln der Zange herausgezogen. Auf diese Weise wird einer etwaigen Beschädigung durch Abrutschen vorgebeugt (nicht versuchen, mit einem Ruck herauszuziehen).

Der Anschliff der Haken verdient besondere Beachtung. Während an die Form und Größe des Ventralhakens keine sonderlichen Anforderungen zu stellen sind, erfordert das Dorsalhaken größte Aufmerksamkeit. Formgerecht muß sich das schmale Halsteil in die Stachelscheide unter dem Stachelapparat einpassen. Dadurch erfährt das Löffelchen des Dorsalhakens einen festen Sitz und kann die Geschlechtsöffnung freihalten. Dabei darf es keinen Druck ausüben, sondern eher hochziehend wirken. Das kann es nur, wenn es sich wirklich gut einpaßt und nicht zu groß ist. Der ziehende Effekt ist sehr wichtig! Als Material kommt für die Haken als empfindliche Präzi-

sionsteile und wegen der erforderlichen Widerstandsfähigkeit gegen Oxidation nur rostfreier Edelstahl in harter Ausführung in Betracht. Es sei erwähnt, daß die Hähchen auf keinen Fall in einer Flamme erhitzt werden dürfen, weil dadurch der Stahl brüchig wird.

In Abb. 8 sind das Ventral- und Dorsalhähchen mit Maßangaben abgebildet.

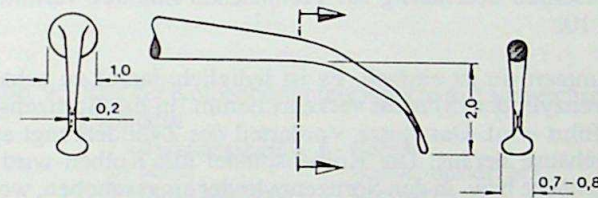


Abb. 8: Maßangaben für Dorsal- und Ventralhähchen

Die Formgestaltung des Dorsalhähchens ist für die Durchführung des Besamungsvorganges außerordentlich wichtig. Mit ungeeignetem Dorsalhähchen wird das Arbeiten derart erschwert, daß eine einwandfreie Besamung nicht möglich ist.

Bedienung der Spritze

Die nachfolgenden Ausführungen beziehen sich auf die Kolbenbesamungsspritze mit auswechselbaren Zylindern. Ein Vorteil dieser Spritze ist, daß für Besamungsbedingungen relativ große Flüssigkeitsmengen von 1 ml aufgenommen werden können und die austauschbaren elastischen Gummikolben und bruchfesten Zylindereinsätze bis 120°C erhitzbar sind. Das Sichtfenster erlaubt die Kontrolle des Kolbenstandes.

Es werden drei Sprizentypen gebaut, die sich lediglich in der Spindel und Überwurfmutter unterscheiden. Während beim Normalverschluß

die Überwurfmutter auf der Spindel nur durch Drehen bewegt werden kann, erlaubt die als Schnellverschluß ausgebildete Überwurfmutter zusätzlich das Verschieben, wenn sie durch Kippen aus dem Gewinde herausgenommen wird. Das ermöglicht ein schnelleres Füllen der Spritze und ist eine Arbeitserleichterung.

Darüber hinaus steht eine Spindelausführung mit Dosierkopf zur Verfügung, die für Serienbesamungen in Betracht kommt. Die Spindelüberwurfmutter enthält eine Gewindehülse mit Innen- und Außengewinde. Die Drehbewegung der Überwurfmutter wird durch einen Anschlagstift begrenzt, der in eine Ausfräsung der Gewindehülse hineinreicht. Der Dosierhub beträgt ca. 8 μ l und kann durch Auswechseln der Innenhülse verändert werden. Die Gewindesteigung der Dosierkopfausführung ist aus technischen Gründen größer, weshalb ein Schnellverschluß überflüssig ist. Technischen Einblick vermitteln die Abb. 9 u. 10.

Der Zusammenbau ist einfach. Es ist lediglich darauf zu achten, daß der Spritzenzylinder (5) nicht verkehrt herum in das Spritzengehäuse (4) eingeführt wird. Das spitze Vorderteil des Zylinders ragt aus dem Spritzengehäuse heraus. Die Kolbenspindel mit Kolben wird in das Spritzengehäuse bzw. in den Spritzenzylinder eingeschoben, wobei mit dem Daumen der haltenden Hand auf den Sichtfensterschnitt zu drücken ist, damit der Spritzenzylinder nicht aus dem Gehäuse geschoben wird.

Füllen der Spritze

Die Spritze wird mit Verdünnungslösung gefüllt. Empfohlen wird die Eberverdünnungsmischung II von MERCK (Darmstadt), die vom Fachhandel angeboten wird. Die Beutelchen sind nach Gebrauchsanweisung in sterilem Aqua dest. aufzulösen. Es empfiehlt sich, kleine Portionen in Plastikspritzen einzufrieren. Frische Lösungen sind bis zu einer Woche im Kühlschrank haltbar.

Die beste Füllmethode ist, wie in Abb.11 gezeigt, folgende: Mit Hilfe einer Füllspritze (= gewöhnliche Einwegspritze 10 - 50 ml, möglichst in Gummikolbenausführung), wird die Verdünnungslösung direkt umgefüllt. Die Kanüle der Füllspritze ist abzustumpfen (Spitze abschleifen), damit der Kolben nicht beschädigt wird. Die Kanüle wird bis zum Kolben eingeführt. Die Besamungsspritze wird dabei senkrecht mit der Öffnung nach oben gehalten. Bei Betätigung der angedrückten Füllspritze, die zweckmäßigerweise noch mit einem Bakterienfilter versehen wird, senkt sich der Kolben der Besamungsspritze nach unten, und der Zylinder füllt sich blasenfrei (wenn Verdünnungsflüssigkeit danebenläuft, muß für entsprechende Abdichtung durch Aufstecken eines kleinen Quetschdichtungsstückes gesorgt werden).

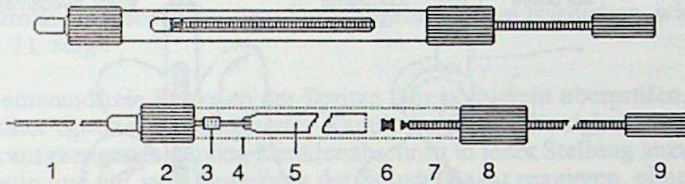


Abb. 9: Bau der Kolbenbesamungsspritze mit auswechselbarem Zylinder

- | | |
|----------------------|-------------------------|
| 1 - Besamungskanüle | 6 - Kolben |
| 2 - Muffe | 7 - Edelstahlspindel M3 |
| 3 - Quetschdichtung | 8 - Überwurfmutter |
| 4 - Spritzengehäuse | 9 - Drehknopf |
| 5 - Spritzenzylinder | |

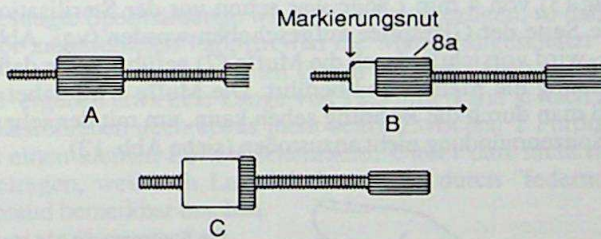


Abb. 10: Die unterschiedlichen Typen der Überwurfmutter

- A - Überwurfmutter in Normalausführung
(Spindel M3/0,35)
- B - Überwurfmutter in Schnellspannausführung
(Spindel /M3/0,5)
- C - Überwurfmutter mit Dosiervorrichtung
(Spindel M4/0,7)

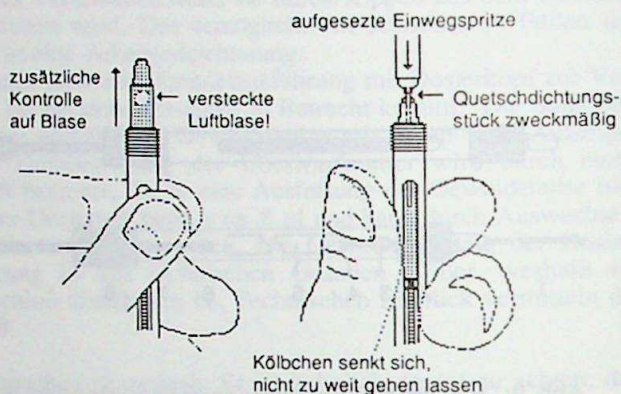
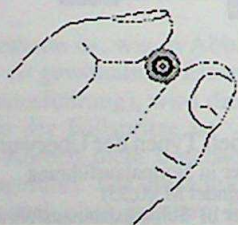


Abb. 11: Füllen der Spritze mit einer Füllspritze

Anmerkung: Zwischen Füllspritze und Kanüle wird zweckmäßigerweise ein Bakterienfilter geschaltet

Nun wird die Spitze befestigt. Man legt das gefüllte Gehäuse so beiseite, daß es nicht wegrollen kann. Die Besamungskanüle (1) im \varnothing von 1,5 mm wird befestigt. Das Siliconschlauchstück bzw. die Quetschdichtung (3) von 4 mm Länge war schon vor der Sterilisation auf die stumpfe Seite der Glasspitze aufgeschoben worden (vgl. Abb. 9). Die Kanüle wird vorsichtig durch die Muffe (2) geführt, ohne daß die Spitzenmündung die Metallwand berührt. Die Muffe wird dabei so gehalten, daß man durch die Bohrung sehen kann, um mit der sehr empfindlichen Spitzenmündung nicht anzustoßen (siehe Abb. 12)



Die Spritzenmuffe hält man gegen das Licht. Die Besamungskanüle mit Quetschdichtung wird von hohler Seite hereingeführt.

Abb. 12: Einstecken der Kanüle

Das stumpfe Schaftende der Glaskanüle wird nun etwa 1 mm in den Spritzenzylinder (5) eingesteckt, wobei man ganz unten an der Kanüle

anfaßt, weil das Glasröhrchen sehr schnell abbrechen kann und die Spitze aus hygienischen Gründen mit den Fingern nicht in Kontakt kommen darf. Danach wird die Muffe festgedreht.

Wichtig für die einwandfreie Funktion ist, daß sich im gefüllten Spritzenzylinder keine Luftblase befindet. Um ganz sicher zu gehen, daß jetzt keine Luftblase mehr vorhanden ist, kann man den Zylinder zur Kontrolle auch etwas aus dem Spritzengehäuse herauschieben, wie die Abb. 11 zeigt.

Die einwandfreie Funktion der Spritze läßt sich leicht überprüfen. Bei gefüllter Spritze und befestigter Kanüle muß die Flüssigkeitssäule in dem ausgezogenen dünnen Kanülenabschnitt in jeder Stellung anzuhalten sein und auf jede Bewegung der Spindel exakt reagieren, ohne daß die Flüssigkeitssäule nachwandert. Wenn am Knopf schnell gedreht wird, tritt ein sehr feiner Strahl in gerader Richtung aus der Spritze aus. Bei beschädigter Spitzenmündung wird er schief abgehen. Die Flüssigkeitssäule muß sich also in der ausgezogenen dünnen Spitzenmündung auf jeden Fall sehr fein steuern lassen, ohne daß ruckhafte Sprünge auftreten.

Dosiermöglichkeiten

Dosierung mit Papierstreifen

Die aufgesaugte Spermamenge wird etwas hochgezogen, so daß mit einem zuvor zugerichteten Pappstreifen die Menge abgeschätzt werden kann. In die Besamungskanüle im \varnothing von 1,5 mm gehen gut 2 Portionen. 8 μ l ergeben etwa eine Länge von 12,5 mm (kann je nach Hersteller der Glasröhrchen auch etwas mehr sein). Zwischen 2 Portionen beläßt man einen kleinen Luftzwischenraum. Dieser darf nicht mehr als 2 mm betragen, weil sich Luftzwischenräume durch "federnde Wirkung" störend bemerkbar machen.

Dosierung mit Dosierkopf

Die Dosierspindel erlaubt die exakte Abgabe der vorgegebenen Spermamenge. Vor der Spermaabgabe muß die Überwurfmutter bis zum Anschlag nach links gedreht werden. Die Spermasäule wird dann bis zur Spitze geführt. Durch Rechtsdrehung der Spindel bis zum Anschlag wird der Kolben ein Stück nach vorn bewegt. Dabei muß die Spindel blockiert werden, damit das volle Volumen erreicht wird. Das geschieht, indem mit Daumen und Zeigefinger so gedreht wird, daß der Daumen auf die Überwurfmutter greift, während mit dem Zeigefinger die Spindel umfaßt wird und einen Gegendruck auf den

so gedreht wird, daß der Daumen auf die Überwurfmutter greift, während mit dem Zeigefinger die Spindel umfaßt wird und einen Gegendruck auf den Daumen ausübt. In Abb. 13 wird die Bedienung des Dosierkopfes gezeigt. Spindel und Dosierkopf müssen also gleichzeitig gedreht werden. Es ist darauf zu achten, daß gleichmäßig gedreht wird (nicht einmal schnell, das andere Mal langsam).

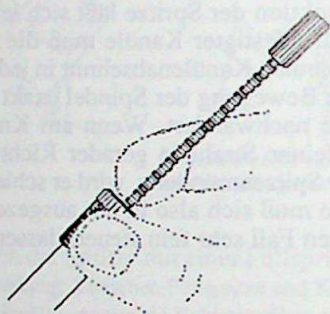


Abb. 13: Bedienung des Dosierkopfes

Anmerkung: Mit dem Zeigefinger wird ein Gegendruck gegen den Daumen ausgeübt. Die Daumenkuppe wird nach vorn geschoben und dreht dabei die Überwurfmutter bis zum Anschlag

Auswechseln gefüllter Kanülen

Sollen Spermaportionen zu einem späteren Zeitpunkt Verwendung finden, konserviert oder verschickt werden, so können die gefüllten Kanülen aus der Spritze genommen werden.

In eine Besamungsspitze gehen gut 2 Portionen (1 Portion von $8 \mu\text{l} = \text{ca. } 12,5 \text{ mm}$). Die volle Besamungsspitze kann nach Lösen und Abschrauben der Muffe herausgenommen werden. Damit sich die Spermasäule nicht zu stark beim Herausziehen bewegt, darf die Quetschdichtung nicht zu weit aufgeschoben werden (Quetschdichtungslänge ca. 4,5 - 5 mm Länge).

Die Spitzen können auch nach Lockerung der Muffe einfach umgesteckt werden. Die Basis der Spitze darf dann aber nicht scharfkantig sein, damit die Quetschdichtung nicht beschädigt wird. Die Kante der Glaskanüle muß deshalb vorher auf feinem Glaspapier gebrochen werden.

Glasspitzen

Die beschriebene Spritze ist für Glaskanülen mit einem Außendurchmesser von 1,5 mm ausgelegt. Die aufgezoogene Spermasäule der 8 µl-Portion nimmt wie schon gesagt etwa 12,5 mm in Anspruch. Da beim Ausziehen der Glasspitzen die Glaswandstärke und der Röhrendurchmesser zueinander in Beziehung stehen, eignet sich diese Abmessung zur Erzielung optimaler Kanülen besonders gut. Der vordere Abschnitt hat dann in einer Länge von ca. 1,5 mm bei einem Innendurchmesser von ca. 0,17 mm und einem Außendurchmesser von 0,26 mm die gewünschte Zylinderform. Diese schlanke Kanülerspitze läßt sich bis 1,5 - 2,0 mm in den mittleren Eileiter einführen und nimmt auch wenig von der Sicht.

Pflege und Behandlung

Die Spritzenteile sollen nach Gebrauch gesäubert und trocken aufbewahrt werden. Besondere Pflege ist nicht notwendig. Die rostfreie Edelstahlspindel ist vor Beschädigungen zu schützen. Die Schnellspannmutter ist mit Gefühl zu bedienen (keine Gewalt beim Kippen anwenden, sondern die Mutter etwas drehen). Sollte sich etwas Spiel zwischen Überwurfmutter und Spindel zeigen, so wird die Spindel leicht mit Siliconfett bestrichen.

Kolben: Man prüft ihn mit dem Fingernagel. Wenn ein Riß vorhanden sein sollte, so wird das leicht feststellbar sein. Er soll immer mit Siliconfett versehen werden (nicht zu viel Fett!).

Zylinder: Der Spritzenzylinder kann ebenso wie der Kolben lange Zeit benutzt werden. Im Gegensatz zum Kolben soll er jedoch möglichst fettfrei sein, denn eine Fettschicht behindert das Entfernen von Luftblasen. Selbstverständlich bringt der Kolben auf die Gleitflächen einen Fettfilm in den Zylinder, es dürfen sich jedoch keine Fettablagerungen bilden.

Kanülen: Nach Gebrauch sofort in Reinigungslösung geben, nicht antrocknen lassen.

Wenn mit der Kolbenbesamungsspritze Schwierigkeiten auftreten sollen, so liegt ein Fehler vor. Um Bedienungsfehler weitgehend auszuschließen, seien in Tab.1 noch einige Hinweise auf Fehlermöglichkeiten gegeben.

Tab. 1: Ruckhafte Bewegungen der Flüssigkeitssäule
und ihre Ursachen

Ursache	Abhilfe
1. Luftblase	Fremdluft, Luftblase entfernen, Dichtheit prüfen
2. Kolben weist schlechte Gleiteigenschaften auf	Kolben prüfen, mit Siliconfett geschmeidig machen
3. Quetschdichtungsstück zu kurz und undicht	längeres Stück einsetzen
4. Überwurf-/ Schnellspannmutter haben zu viel Spiel	Spindel mit Siliconfett einfetten
5. Verunreinigung der Glasspitzen durch Fettspuren, Silicongummibrösel u.a.	Besamungskanüle reinigen (z.B. mit Tickopur) und durchspülen

Stereomikroskop

Stereomikroskope weisen für jedes Auge voneinander getrennte Strahlengänge auf, so daß räumliches Sehen möglich ist. Sie liefern ein aufrechtes und seitenrichtiges Bild. Der Vergrößerungsbereich liegt normalerweise zwischen 10 - 60facher Vergrößerung. Standardmäßig werden die Geräte mit Okularen 10facher Vergrößerung ausgerüstet. Die Objektive werden je nach Vergrößerungsbedarf ausgewählt, so daß der genannte Vergrößerungsbereich auch unter- wie überschritten werden kann. Damit kann sich allerdings auch der Arbeitsabstand ändern, was zu berücksichtigen ist. Gewünscht wird ein Arbeitsabstand von 70-90 mm. Für die instrumentelle Besamung kommt eine Vergrößerung von 15-25 x in Betracht (Okular 10 x, Objektiv 1 - 2,5 x). Für manuelle Arbeiten wie z.B. Häkchenschleifen sind niedrigere, für Körungen wie auch für Kanülenmessungen höhere Vergrößerungen angebracht.

Grundsätzlich wird zwischen zwei optisch verschiedenen Systemen unterschieden, nämlich zwischen dem Greenough -Typ und dem Teleskop -Typ. Der erstgenannte Typ wurde erstmals 1895 bei Carl Zeiss auf Vorschlag des amerikanischen Zoologen Greenough gefertigt und besteht praktisch aus zwei getrennten Mikroskophälften, die in einem Winkel von 11° auf das Objekt gerichtet sind. Beim Teleskop -Typ, nach einem Zeiss - Patent 1946 erstmals gebaut, befindet sich unter

dem Prismenfernrohr für beide Strahlengänge ein gemeinsames Vorsatzobjektiv. Dazwischen kann ein Vergrößerungswechsler oder ein Zoom - System eingebaut werden. Letzteres ist aufwendig und somit teurer. Es läßt sich z.B. auch eine Irisblende einbauen, die eine wesentliche Steigerung der Tiefenschärfe erlaubt. Man gewinnt damit eine bessere Überschaubarkeit in der Stachelkammer, was bei der Besamung von Königinnen sehr angenehm ist. Der Lichtbedarf wird dabei allerdings größer.

Das Angebot von Stereomikroskopen auf dem Markt ist groß. Die Geräte finden Einsatz in den unterschiedlichsten Anwendungsgebieten, angefangen von der biologisch - medizinischen Forschung bis hin zur Materialprüfung in der Industrie. Bei der Auswahl für die Besamung ist jedoch zu bedenken, daß das Besamungsgerät und insbesondere die Besamungsspritze Raum beanspruchen. Der Objektivbereich muß schmal sein und möglicherweise vorhandene Objektivwechsler dürfen nicht stören. Mehrere Modelle von Stereomikroskopen sind aus diesem Grunde für unsere Zwecke ungeeignet.

Aus dem Angebot wurden zwei Fabrikate im Greenough - Typ als Standardgeräte ausgewählt, die sich seit Jahren in der Praxis der instrumentellen Besamung bewährt haben:

- 1) Stereomikroskop D von Zeiss
- 2) Stereokörper S 890 von Euromex mit Stativ in Sonderanfertigung

Stereomikroskop D

Das Modell D wird vorzugsweise in technischen Labors und in Produktionsbetrieben eingesetzt. Für die instrumentelle Besamung wurde es mit einer großflächigen Arbeitsplatte und Schiebeführungen für das Besamungsgerät ausgerüstet (Abb.14).

Als Vergrößerung reicht 16 x sowohl für die Spermaaufnahme als auch für die Spermaeinführung in die Königin vollkommen aus (Okular 10 x, Objektiv 1,6 x mit Blickfeld \varnothing 12,5 mm). Als gleichwertig ist die 20fache Vergrößerung anzusehen (Okular 10 x, Objektiv 2 x mit Blickfeld \varnothing 10 mm). Die Okulare gibt es sowohl in der Normal- als auch in der Weitwinkelausführung.

Verlangen die Augen unterschiedliche Schärfeneinstellungen, so wird ein Okular mit Hilfe eines preiswerten Stellringes etwas angehoben oder es wird ein hochwertigeres nachstellbares (fokussierbares) Okular auf einer Seite eingesetzt. Ein solches gibt es nur für die Weitwinkelausführung. Weitwinkelokulare sind besonders für Brillenträger geeignet, da man mit den Augen nicht so nahe an das Gerät zu kommen braucht (Blickfeld \varnothing 16mm). In dieses fokussierbare Okular läßt sich auch die Strichplatte zum Messen und Kören einsetzen. Man braucht

das Okular nur vom Tubus abzuziehen und einen Ring mit der Strichplatte im Durchmesser von 26 mm einzudrehen. Strich- und Bildschärfe können nach Bedarf aufeinander abgestimmt werden. Das wäre nicht möglich, wenn die Nachstellung am Tubus vorgenommen würde.

Zusätzlich kann das Objektiv 4 x empfohlen werden, das eine 40fache Vergrößerung ergibt. Es eignet sich gut für Flügelindexbestimmungen. Sollten manuelle Arbeiten ausgeführt werden, so ist das Objektiv 1 x nützlich (Vergrößerung 10 x, Blickfeld \varnothing 30 mm).

Die großflächige Arbeitsplatte läßt sich leicht sauberhalten. Die angebrachten Führungsleisten gestatten ein müheloses Wiederfinden des eingestellten Objektfeldes nach Verrücken des Besamungsgerätes. Bei diesem Zeiss-Modell handelt es sich um ein Gerät, das allen Anforderungen für die Besamungsarbeit genügt und das weiter ausbaufähig ist (Fotografie u.a.).

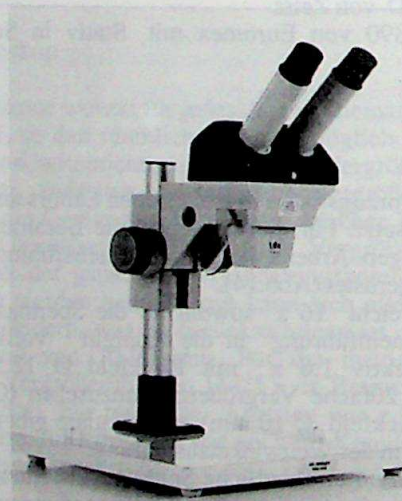


Abb. 14: Zeiss-Stereomikroskop D mit Arbeitsplatte
Anmerkung: Stativ und Tisch Konstruktion des Verfassers

Stereokörper S 890

Bei dem Stereokörper S 890 handelt es sich um eine preiswerte Optik 20facher Vergrößerung, die sich aufgrund ihrer günstigen Abmessungen zum direkten Anbau an eine Stativsäule am Besamungsgerät eignet. Der Stereotubus und das Besamungsgerät bilden dann eine leistungsfähige Einheit. Hierdurch wird nicht nur viel Platz gespart, sondern die Arbeitsfähigkeit als Kompaktgerät wesentlich verbessert. Das Blickfeld hat einen Durchmesser von 10 mm. Die Einblickhöhe ist geringer als bei anderen Geräten, weshalb es auch nicht als störend empfunden wird, daß dieses Gerät keinen Schrägeinblick hat. Die gesamte Gerätschaft läßt sich darüber hinaus mit Stellschrauben ankippen, was einen bequemen Einblick garantiert (siehe Abb. 15).

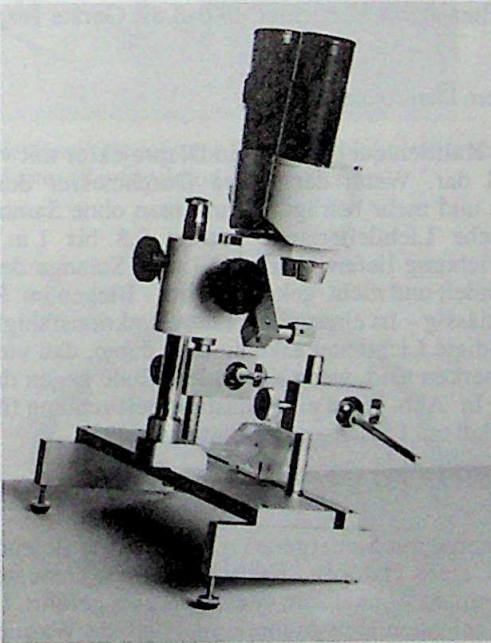


Abb. 15: Kompaktgerät mit integriertem Stereotubus und Neigungsverstellung

Beleuchtungseinrichtung

Eine funktionsgerechte Beleuchtung ist für die Durchführung der Besamung unbedingt notwendig. Da das Besamungsgerät mit der Spritze viel Platz unter dem Mikroskop beansprucht, erweist es sich als gar nicht so einfach, zusätzlich noch eine Lampe unterzubringen, deren Lichtkegel in die geöffnete Stachelkammer der Königin hineinzielt. Soweit die Raumverhältnisse es zulassen, ist eine Ausrichtung der Lichtquelle parallel zur Spritze anzustreben. Wichtig dabei ist, daß die Schleimhäute keiner Wärme ausgesetzt werden. Sie würden zu schnell antrocknen und ihre Geschmeidigkeit einbüßen. Die von den Mikroskopherstellern erhältlichen Anbauleuchten eignen sich deshalb für unsere Zwecke nur bedingt, auch wenn sie mit Wärmeschutzfilter versehen sind. Für höhere Ansprüche wird man der Glasfaserleuchte den Vorzug einräumen, die von mehreren Herstellern angeboten wird.

Vom Verfasser wurden verschiedene Kaltlichtquellen speziell für die instrumentelle Besamung entwickelt. Auf besondere Regelvorrichtungen und Farbfilter wurde verzichtet, so daß die Geräte vergleichsweise preiswert sind.

Kaltlicht aus dem Diaprojektor

Die einfachste Kaltlichtquelle stellt ein Diaprojektor mit vorgesetztem Glasfaserkabel dar. Wenn der aktive Durchmesser des Glasfaserbündels 4 mm und mehr beträgt, kommt man ohne Sammellinse aus. Die erforderliche Lichtleiterlänge beträgt 0,8 bis 1 m. Diese Beleuchtungseinrichtung liefert genügend Licht. Solange der Lichtleiter pfleglich behandelt und nicht geknickt wird, - Biegen im Radius von 5 cm ist noch zulässig - ist eine unbegrenzte Funktionsfähigkeit gewährleistet. Beschädigte Lichtleiter erkennt man daran, daß viele schwarze Punkte zu bemerken sind, wenn das andere Ende gegen das Tageslicht gerichtet wird. In Abb. 16 ist eine Glasfaserbeleuchtung für einen Diaprojektoranschluß mit Linsenadapter abgebildet.

Glasfaserlampe

Die Glasfaserlampe mit Steuergerät stellt die ideale Beleuchtungsquelle dar. Das von einer Halogen - Kaltspiegellampe erzeugte Licht wird in einem bestimmten Winkel zum Glasfaserkabel geführt. Die Kaltspiegelreflektoren zeichnen sich dadurch aus, daß sie Wärme auch rückwärtig abstrahlen, so daß die Wärmestrahlung im Lichtkegel wesentlich geringer ist. Zusätzlich wird ein Wärmeschutzfilter zwischengeschaltet. Die Wärmeentwicklung am Lichtleiterausgang ist trotzdem beachtlich. Bei Lampenleistungen von mehr als 50 Watt werden deshalb Kühlgebläse eingebaut. In Abb. 17 ist eine Glasfaserlampe abgebildet, die es in verschiedenen Ausführungen mit und ohne Gebläse

Lichtleiterbefestigung

Lichtleiter gibt es in selbsttragender wie auch in flexibler Ausführung. Letztere ist für die instrumentelle Besamung wegen ihrer Lenkfähigkeit besser geeignet, verlangt jedoch spezielle Befestigungen. Der Lichtleiter wird deshalb in eine Haltevorrichtung gesteckt, die sich am Besamungsgerät im Stativschlitz befestigen läßt. Beim Zeiss-Mikroskop wird die Haltevorrichtung in einer extra dafür vorgesehenen Aussparung am Stereokörper angeschraubt. Mit Hilfe des Doppelgelenkes läßt sich jede beliebige Lage des Lichtleiters einstellen (Abb. 18 u. 19).

Narkoseeinrichtung

Die Ruhigstellung der Königin während des Besamungsvorganges erfolgt mit Kohlendioxid (CO₂). Es handelt sich um Kohlensäuregas wie es auch für die Bierabfüllung Verwendung findet. Das Gas wird über eine Waschflasche in das Königinnenhalteröhrchen geleitet und führt zur sofortigen Narkotisierung. Dabei tritt ein Nebeneffekt auf, der seit den Anfängen der instrumentellen Besamung gut bekannt ist: Mit Kohlendioxid behandelte Königinnen gehen schneller in Eiablage als unbehandelte. Dieser Sachverhalt ist nicht nur bei besamten Königinnen festzustellen, sondern auch bei unbesamten bzw. unbegatteten. Durch eine CO₂ - Narkose kann demzufolge auch ohne Hochzeitsflug innerhalb weniger Tage das Eilegen ausgelöst werden. Es findet sozusagen eine über Hormonausschüttung ausgelöste Reifebeschleunigung statt. Die genauen Wirkungsmechanismen sind noch nicht bekannt. Hierbei spielen auch die Narkosedauer sowie die CO₂-Konzentration eine Rolle. Überdosierungen führen zu Schädigungen, die sich in herabgesetzter Leistungs- und Lebensfähigkeit der Königin äußern. Bei zu geringer Dosierung werden die Wartezeiten bis zur Eiablage verlängert. Dieser Sachverhalt deutet darauf hin, daß der natürliche Begattungsvorgang und die damit verbundenen Paarungsflüge Stimulationseffekte bewirken.

Laborversuche zeigten, daß langandauernde intensive CO₂-Behandlungen die Bildung von Königinnensubstanz als auch die Einwanderung von Spermien in die Spermatheka herabsetzen. Nach dem gegenwärtigen Stand der Kenntnis empfiehlt sich eine zweimalige Behandlung bis zu 5 Minuten, wobei der Königinnenhalter so beschaffen sein sollte, daß kein reines Kohlensäuregas, sondern ein Luftgemisch in die Tracheen der Königin gelangt. Das bedeutet, daß angesaugte Fremdluft keinesfalls stört und daß das Abdomen weit aus dem Königinnenhalteröhrchen herausragen darf. Dadurch werden auch die durchzuführenden Manipulationen erleichtert.

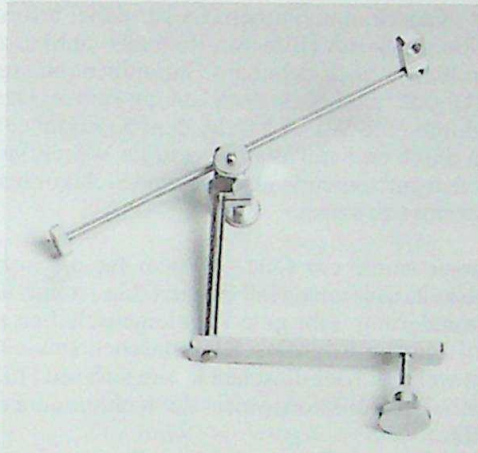


Abb. 18: Halterung für den Lichthalter mit Doppelgelenk

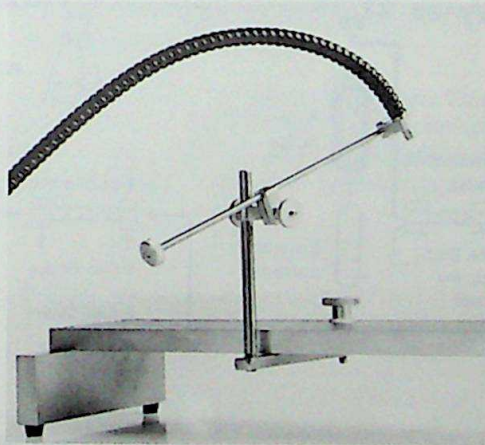


Abb. 19: Anbringung der gleichen Halterung am Stativ des Besamungsgerätes

Das zur Narkose der Königin benötigte Kohlendioxidgas wird Druckflaschen oder -Kapseln entnommen. Es ist dabei erforderlich, den vorhandenen Überdruck mit Hilfe von Reduzierventilen zu mindern. Notfalls können hierfür auch dehnbare Gummibehälter wie Luftkissen, Fußballblasen oder ähnliches Verwendung finden. Das entspannte Gas wird dann durch eine Waschflasche dem Königinnenhalter zugeleitet. Die Leitung durch eine mit Wasser gefüllte Waschflasche verfolgt den Zweck, mit den aufsteigenden Blasen eine Sichtkontrolle über die Stärke des Gasstromes zu haben.

Vom Verfasser wurde ein CO₂-System für die instrumentelle Besamung entwickelt, das universell einsetzbar ist und über eine zweistufige Druckminderung sehr gute Regeleigenschaften aufweist. Es können sowohl Einweg-Kapseln, Kleinflaschen sowie Großflaschen angeschlossen werden. Kleinflaschen lassen sich mit Hilfe einer Füllbrücke nachfüllen. Die Funktionsweise der Kohlendioxidanlage ist in Abb. 20 dargestellt.

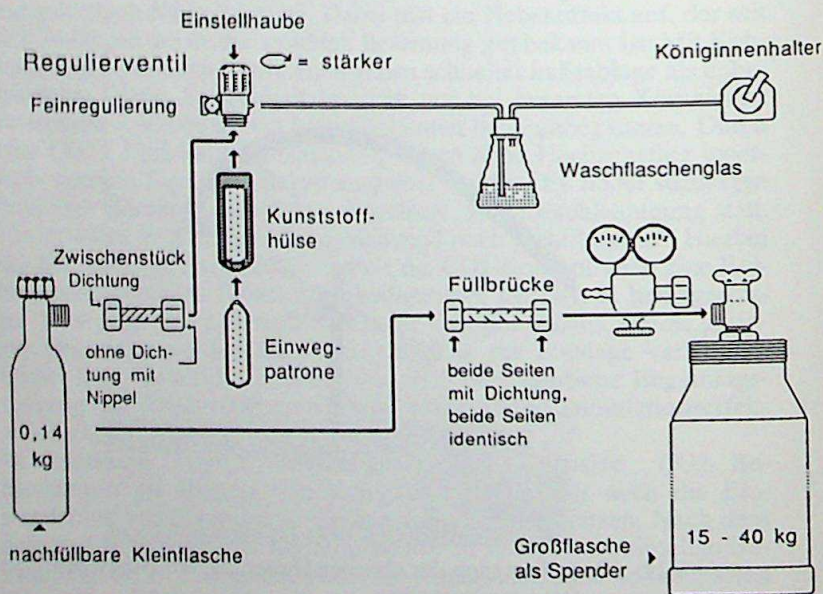


Abb. 20: Funktionsweise und Kombinationsmöglichkeiten der Kohlendioxidanlage

Wie aus der Abb. 20 ersichtlich ist, ergeben sich mehrere Anschlußmöglichkeiten und es bietet sich ein universeller Einsatz an. Die Möglichkeiten seien nachfolgend zusammengefaßt:

1. Normalbetrieb mit 16-Gramm-Einwegkapseln. Mit einer Kapsel lassen sich bis zu 10 Königinnen besamen. Die separate Begasung wird in durchsichtigen Plastiktüten vorgenommen, wobei mehrere Königinnen gleichzeitig der CO₂-Behandlung unterzogen werden können.
2. Verwendung der nachfüllbaren Kleinflaschen. Hierzu ist das Zwischenstück Nr. 4.20 erforderlich, das zwischen Regelventil und Kleinflasche geschaltet eine Großflasche anschließen und über Druckausgleich füllen.
wird (Achtung, die Nippelseite ans Regelventil).
3. Die nachfüllbare Kleinflasche läßt sich mit Hilfe der Füllbrücke Nr. 4.30

Hinweise

Bei Betrieb ist das Regulierventil aufrecht zu stellen bzw. die Kleinflasche senkrecht an die Tischkante zu hängen, damit das CO₂ in der Gasphase entnommen werden kann (z.B. Hineinstellen in ein Honnigglas, Befestigung der Kleinflasche mit Hilfe einer Zwinge). Bevor die Einwegkapsel eingesetzt wird, darf die schwarze Einstellhaube des Regulierventils nicht eingedreht sein, weil sonst sofort Gas ausströmen würde. Das hätte zur Folge, daß sich im Regulierventil Feuchtigkeit ansetzt oder sogar Vereisungen auftreten. Bei unregelmäßigem Gasstrom ist die Einstellhaube notfalls abzdrehen, die Feder mit Kolben herausziehen und das Ventildruckstück auf Leichtigängigkeit zu prüfen, eventuell mit dünnem Öl leicht einölen.

Beim Hantieren mit Druckflaschen ist Vorsicht geboten. Der Druckausgleich mit Hilfe der Füllbrücke ist erst dann vorzunehmen, wenn die Anschlüsse in Ordnung sind (Unfallgefahr!). Die Großflasche ist dabei auf den Boden zu legen, damit möglichst viel Flüssiggas übergeleitet wird.

Spitzenausziehgerät

An Besamungsspitzen für Bienenköniginnen werden hohe Anforderungen gestellt. Von ihrer Güte hängt in hohem Maße der Besamungserfolg ab. Mit ungeeigneten Spitzen wird die Besamung erschwert oder gar unmöglich. Bei den Spitzen handelt es sich um empfindliche Glasröhrchen in der Länge von ca. 70 - 85 mm. Ein Ende ist zugespitzt und sollte im vordersten Abschnitt des ausgezogenen Glases annähernd zylindrisch sein. Das erforderliche Außenmaß der Spitzenmündung liegt zwischen 0,25 und 0,30 mm. Der innere Durchmesser beträgt dann 0,16 - 0,18 mm. Scharfe Kanten dürfen nicht vorhanden sein. Mit Hilfe des vom Verfasser entwickelten Ausziehgerätes ist man in der Lage, geeignete Spitzen mit den erforderlichen Abmessungen in gleichbleibender Qualität herzustellen. Das Anspitzen bzw. Ausziehen des Glasröhrchens geschieht in senkrechter Stellung mit Hilfe des Ziehgewichtes. Als Wärmequelle dient eine elektrisch geheizte Glühspule, deren Wärmeabgabe besser als die einer Flamme zu regulieren ist. Nach beendetem Ausziehprozeß wird das in der Mitte verjüngte Glasröhrchen aus dem Gerät genommen, in zwei Teile zerbrochen, die Spitze geschnitten und anschließend geschliffen. Es fallen bei einem Arbeitsgang somit zwei Rohspitzen an. In der Regel wird man aber nur die eine Hälfte in der gewünschten Länge verwenden, das kürzere Stück wird verworfen. In Abb. 21 sind die Abmessungen der Besamungsspitze angegeben.

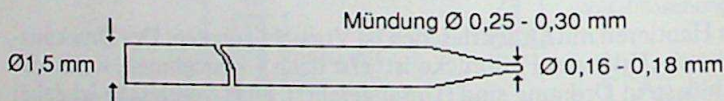


Abb. 21: Maßangaben für die Besamungsspitze

(bei 1,5 mm \varnothing beträgt die Spermastäule bei 8 μ l = ca. 14,5 mm; es können auch 12,5 mm sein, je nach Hersteller des Rohlinges)

Rohmaterial

Als Rohmaterial für die Besamungsspitzen dienen handelsübliche Einweg-Mikropipetten mit Ringmarke, die in verschiedenen Volumengrößen und Längen vom Laborhandel angeboten werden. Das Ausziehgerät ist für die lange Ausführung von 50 μ l - Pipetten mit einem Außendurchmesser von 1,5 mm ausgelegt. 50 μ l - Pipetten sind mit einem grünen Farbstreifen gekennzeichnet. Allerdings können die Röhrendurchmesser bzw. die Glaswandstärken bei den einzelnen Herstel-

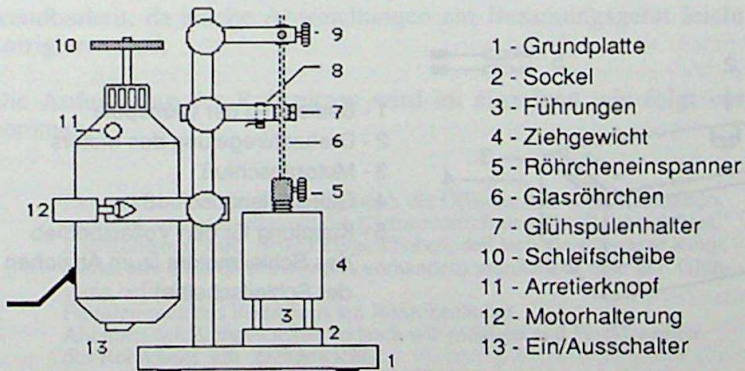
lern etwas voneinander abweichen. Der Außendurchmesser ist ungeachtet der Bohrungen im Ausziehgerät insofern von Interesse, weil der Innendurchmesser des Glases in einem günstigen Verhältnis zum Außendurchmesser stehen soll. Wenn das Verhältnis günstig ist, fällt weniger Schleifarbeit an. Auch die Glasqualität übt einen Einfluß auf den Ausziehprozeß aus.

Die Sperrnamenge von beispielsweise 8 μ l nimmt etwa 14,5 mm Raum ein, so daß bequem 2 Portionen in eine Spitze hineingehen. Sollten dickere Röhrchen mit mehr Rauminhalt Verwendung finden, so müssen größere Aufnahmebuchsen bzw. Röhrchenfeststeller in das Gerät eingesetzt werden.

Geräteaufbau und Funktionen

Die nachstehenden Zeichnungen vermitteln die Arbeitsweise des Gerätes. Es besteht aus dem eigentlichen Ziehgerät, dem Transformator mit Regeleinrichtung sowie dem Schleifmotor.

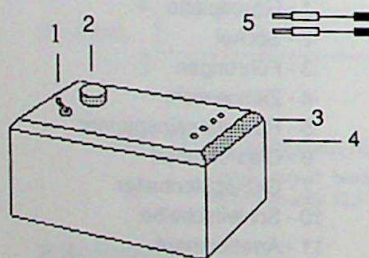
Wie aus Abb. 22 ersichtlich, besteht das Ziehgerät im wesentlichen aus den Teilen Grundplatte mit Stativsäule, Röhrchenhalter, Glühspulenhalter und Ziehgewicht.



- 1 - Grundplatte
- 2 - Sockel
- 3 - Führungen
- 4 - Ziehgewicht
- 5 - Röhrcheneinspanner
- 6 - Glasröhrchen
- 7 - Glühspulenhalter
- 10 - Schleifscheibe
- 11 - Arretierknopf
- 12 - Motorhalterung
- 13 - Ein/Ausschalter

Abb. 22: Spitzenausziehgerät mit Schleifvorrichtung
(nach dem Verfasser)

Ein Transformator dient als Stromquelle sowohl für die Glühspule als auch für den Schleifmotor. Der 5V-Transformator (6A) ist auf 50% Dauerbetrieb ausgelegt. Bei starker Erwärmung des Gehäuses sollte eine Pause eingelegt werden. Die Regelung ist speziell auf den geringen Kraftbedarf des Spitzenschleifens abgestimmt. Als Schleifscheibe dient eine geeignete gummigebundene Spezi­alscheibe. Die Steckverbindungen sind so beschaffen, daß Verwechslungen ausgeschlossen sind. Die zusätzliche Kupplung wird für den Vollastbetrieb der Schleifmaschine benutzt. Volle Kraft wird nur zum Abziehen der Schleifscheibe benötigt, was in regelmäßigen Abständen erfolgen soll. Man macht das ganz einfach mit einem Abziehstein oder einem Stück Schmirgelpapier. Der Motor läuft in die andere Richtung, wenn der Stecker der Zuleitung verdreht wird (die richtige Drehrichtung ist von oben gesehen links herum). Für den Glühvorgang ist der Kippschalter zu bedienen. Sobald das Ziehgewicht nach unten absinkt, wird er rechtzeitig losgelassen. Das Ziehgewicht soll langsam absinken und nicht aufschlagen.



- 1 - Bedienung der Glühspule
- 2 - Drehzahlregelung des Motors
- 3 - Motoranschluß
- 4 - Glühspulenanschluß
- 5 - Kupplung für den Vollastbetrieb des Schleifmotors (zum Abziehen der Schleifscheibe)

Abb. 23: Der Transformator

(umklemmbar von 220 V auf 110 V)

Ausziehen der Rohspitzen

Eine optimale Funktion des Gerätes ist gewährleistet, wenn sich das Glasröhrchen im Zentrum der Glühspule befindet und diese Lage während des Ausziehprozesses nicht mehr verändert wird. Der Keramikmantel der Glühspule dient nur der Zentrierung während der Spulmontage. Nach längerem Gebrauch wird der Mantel Sprünge aufweisen und irgendwann herausfallen, was die Funktion jedoch in keiner Weise beeinträchtigt. Im Gegenteil, die Erwärmung des Glühspulenhalters ist sogar ohne Keramikmantel wesentlich geringer. Es ist nach Herausnahme nur darauf zu achten, daß die jetzt weniger geschützte Spule nicht verbogen wird.

Für die richtige Einstellung ist die Anordnung Glühspulenhalter - Sockel von entscheidender Bedeutung. Verstellungen des Sockels können nach Lockerung der Innensechskantschraube unter der Grundplatte durch Verdrehen oder notfalls durch Zwischenlegen von Unterlagsfolien vorgenommen werden. Wichtig ist also die Einstellung unterhalb der Glühspule! Das von oben in das Gerät eingeführte Glasröhrchen braucht deshalb nicht unbedingt genau in die Aufnahmeöffnung des Ziehgewichtes zu zielen.

Das Gerät ist bei Auslieferung arbeitsfähig eingestellt. Geringste, kaum wahrnehmbare Abweichungen der Geometrie bzw. ungleichmäßiges Erwärmen des Röhrchens werden zu ungleichförmigen Spitzen führen. Sollten die Spitzen aufgrund mangelhafter Feineinstellung etwas "Unwucht" haben, so hat das jedoch keinen Einfluß auf ihre Verwendbarkeit, da solche Abweichungen am Besamungsgerät leicht zu korrigieren sind.

Die Anfertigung der Rohspitzen wird im einzelnen wie folgt vorgenommen:

1. Einstecken des Glasröhrchens durch die Öffnung des Röhrchenhalters und Einführen desselben in die Klemmvorrichtung des Ziehgewichtes. Das Röhrchen wird soweit eingeschoben, daß sich die schwarze Ringmarke am Glasröhrchen (wenn vorhanden) unmittelbar über der Glühspule befindet.
2. Festklemmen des Röhrchens am Röhrchenhalter.
3. Anheben des Ziehgewichtes so hoch wie möglich und Festklemmen des Röhrchens am Ziehgewicht.
4. Lösen der Feststellschraube unten am Ziehgewicht, Lösen der Befestigung oben und Herausnahme des ausgezogenen Glasröhrchens in zwei Teile.

Zurichten der Rohspitzen

Das Zurichten erfolgt am besten durch Anritzen mit Hilfe eines Einweg-Hartmetallmessers bei leichter Drehbewegung des Glasröhrchens (gut geeignet sind z.B. Falzmesser für Holzbearbeitungsfräsköpfe). Nach gefühlvollem Anritzen wird das Röhrchen gebrochen. Die Brechkante darf nicht splintern. Hier muß also sorgfältig gearbeitet werden, denn sonst wird der Ausschub unvertretbar hoch. Die optische Kontrolle wird mit dem Stereomikroskop unter Verwendung des Strichplatteneinsatzes vorgenommen (Vergrößerung 40 bis 60 x). Anschließend wird die Kante der Mündung geschliffen. Das Schleifen wird bei kleiner Geschwindigkeit ausgeführt. Die Hand kann dabei auf der Stativsäule oder dem Röhrchenhalter abgestützt werden. Bei schlank ausgezogenen Spitzen braucht lediglich die Mündung bearbeitet zu werden. Es ist darauf zu achten, daß die Spitzenmündung nicht gegen die Schleifeinrichtung gehalten wird. Das Röhrchen wird zu Beginn mit geringstem Andruck steil, danach flach gehalten, wobei zwischen Daumen und Zeigefinger drehende Bewegungen ausgeführt werden. Während des Drehens wird die Lage des Röhrchens bei ganz leichtem Andruck geändert. Der im Röhrchen befindliche trockene Schleifstaub wird am besten mit Druckluft ausgeblasen. Zuletzt wird die Spitze kontrolliert und vermessen.

Brutschrank und Flugkäfig

Die zeitweilige Unterbringung von Königinnenzellen, Brutwaben, Königinnen wie auch Drohnen kann im Brutschrank recht vorteilhaft sein. Vor allem ist eine bessere Kontrollmöglichkeit gegeben, und der Arbeitsaufwand ist unter Umständen geringer. Das Gehäuse des Brutschrankes kann dabei so gestaltet werden, daß ein universell einsetzbares Gerät speziell für das Besamungslabor zur Verfügung steht, das nicht nur als Brutschrank, sondern z.B. auch als Flugkäfig genutzt werden kann. Der Aufwand für den Schrank bzw. den Kasten braucht nicht hoch zu sein. Als Gehäuse kann eine gewöhnliche Holzkiste voll ihren Dienst tun. Die moderne Regeltechnik ermöglicht es, darin ein optimales Kleinklima zu schaffen, ohne daß hierfür besonders hohe Aufwendungen notwendig wären. Da keine geeigneten Geräte dieser Art im Handel sind und zudem Steueranlagen keinesfalls billig sind, wurde vom Verfasser eine vollelektronische Temperaturregelung speziell für Brutschränke nach dem Impulsprinzip geschaffen* und eine Bauanleitung für Brutschränke (SCHLEY 1984b) ausgearbeitet, die gehobenen Anforderungen gerecht wird. Die Steuerung arbeitet nicht wie ein gewöhnlicher Thermostat, so dem paßt sich mit dosierten Stromstößen an den jeweiligen Heizstrombedarf an. Das Gerät ist fun-

* zu beziehen im Fachhandel (Fa. Seip, 6308 Butzbach - Ebersgöns)

Die Box läßt sich somit universell einsetzen, ohne daß eine Tür vorhanden sein muß. Die seitliche Zugrifföffnung wird von innen mit einem drehbaren Pappschieber versehen. Der Schieber reicht für gewöhnliches Hantieren vollkommen aus. Das Innenklima wird dabei nicht beeinträchtigt.

Bei der Verwendung als Brutschrank sind zweckmäßigerweise die Wände zusätzlich zu isolieren. Sowohl innen als auch außen lassen sich Styroporplatten anbringen (gegebenenfalls nur lose einstellen).

Heizkabel

Als Heizkabel dient eine isolierte und mit Silicongummi ummantelte Heizspirale. Die Ummantelung weist eine hohe Temperaturfestigkeit auf. Bei einer Länge von 5,5 m und 120 Ohm pro Meter wird eine Leistung von über 70 Watt erzielt. Diese Leistung ist auch für eine Box vorgestellter Größe mit einer Grundfläche von 50 x 50 cm ausreichend. Bei größerem Wärmebedarf - eventuell bei niedrigen Raumtemperaturen - kann mit Hilfe eines Kippschalters eine parallel zu verlegende und anzuschließende 2. Heizschnur zugeschaltet werden.

Damit der Heizraum sich im Boden während der Aufheizperiode nicht zu stark erwärmen kann, wird sicherheitshalber ein Bimetallthermostat zwischengeschaltet, der den Stromkreis bei Erreichen von 70° C unterbricht. Das Heizkabel verträgt eine Temperatur von über 80° C. Überprüfungen zeigten, daß die Bodentemperaturen auch bei Ausfall der Regelung nicht über 65° C anstiegen.

Justierung der Regelung

Trotz der sehr genauen Temperatursteuerungen ist der Regelvorgang nicht isoliert zu betrachten, sondern in Zusammenhang mit den örtlichen Gegebenheiten zu sehen. Ist der Temperaturfühler z.B. von der Heizquelle zu weit entfernt, so kommt das ganze System leicht in Eigenschwingungen. Wird der Temperaturfühler hingegen zu nahe an die Heizung gelegt, so haben wir praktisch eine gleichbleibende Wärmequelle mit dem Nachteil größerer Umgebungsabhängigkeit. Schwankungen der Umgebungstemperatur werden sich jetzt mehr oder weniger auf die Innentemperatur unserer Brutbox auswirken. Das System ist aber dafür sehr stabil, wenn die Umgebungstemperaturschwankungen nicht zu groß sind. Jeder Brutschrank ist deshalb vorher zu testen, und der Temperaturfühler ist vorerst noch nicht fest anzuschrauben. Probe- und Einlaufzeiten sind unbedingt nötig. Der Temperaturfühler soll sich übrigens nicht an die Wand anlehnen, sondern frei hängen (Fühlerbefestigung 150 mm über Bodenfläche mit Wandabstand von über 30 mm).

Treten große Temperaturschwankungen von 10° C und mehr im

Raum auf, in dem die Brutbox aufgestellt ist, so werden trotz isolierter Brutboxwände Abweichungen von $\pm 1^\circ\text{C}$ nicht zu vermeiden sein. Die Schwankungen lassen sich völlig ausschalten, wenn ein Heizlüfter aufgestellt wird, dessen Thermostat auf das Maximum der Raumtemperaturschwankung eingestellt wird.

Bezüglich der Heizplattenherstellung wäre anzuführen, daß zuerst die Astloch-Querholzplättchen $\text{Ø } 25 \times 10 \text{ mm}$ auf der rauhen Seite der Platte befestigt werden. Sie dienen als Abstandhalter zur Bodenplatte (vgl. Abb. 25). Ebenso kann man sich aus Leisten entsprechende Abstandsplättchen selbst herstellen. Am besten wird die Heizschnur zuerst mit gut haftendem Isolierband angeheftet und anschließend mit dem elastisch bleibenden Saxit - Plattenkleber von Henkel punktweise betupft. Die Heizschnur wird schlaufenartig auf der Pappe befestigt. Lüftungszwischenräume oder Luftlöcher nach oben sind sehr wichtig, damit die erwärmte Luft ungehindert aufsteigen kann. Gelochte Pappen sind besonders gut geeignet. Damit die Wärme der Heizung nicht durch den Boden nach unten abstrahlt und verlorengeht, ist eine gute Isolierung unterhalb der Heizung erforderlich. Als bevorzugte Baumaterialien bieten sich Hartfaserplatten und 20 mm starkes Styropor an. Die Heizschnur wird so verlegt, daß sie gut auf der Pappe anliegt (Lochpappe). Ein Zwischenraum zwischen Heizkabel und der unteren Bodenplatte ist wichtig, damit sich der Unterboden nicht so stark erwärmt. Er sollte von der Unterseite nur leicht handwarm werden. Für einen Luftaustausch ist zu sorgen, damit das Heizkabel nicht luftdicht abgekapselt ist. Die komplette Box zeigt Abb. 26.

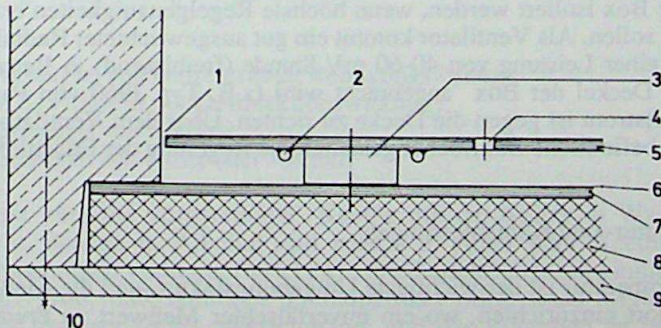


Abb. 25: Schnitt durch den Boden der Brutbox
 1 - Wandabstand, 2 - Heizkabel, 3 - Abstandsklötzchen,
 4 - Luftlöcher, 5 - Preßpappe, 6 - Alufolie, 7 - Zwischenpappage, 8 - Styroporisolierung, 9 - Boden, 10 - Schraube

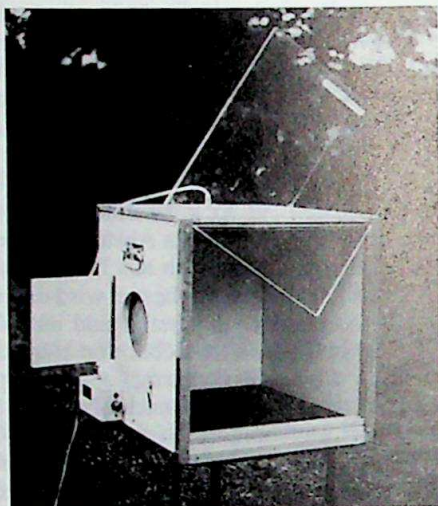


Abb. 26: Brutboxmodell aus Spanplatte mit Ventilator und abnehmbarem Deckel

Ventilator

Die Wärmeverteilung und die Schaltgenauigkeit werden verbessert, wenn im Gerät eine Luftumwälzung vorgenommen wird und der Temperaturfühler im Luftstrom des Ventilators liegt. Je größer die Raumtemperaturschwankungen um die Box herum sind, um so besser muß also die Box isoliert werden, wenn höchste Regelgenauigkeiten erzielt werden sollen. Als Ventilator kommt ein gut ausgewuchteter Radiallüfter mit einer Leistung von 40-60 m³/ Stunde (freiblasend) in Betracht, der am Deckel der Box angebracht wird (z.B. Typ 3960 von Papst). Der Luftstrom ist gegen die Decke zu richten. Über dem Ventilator im Deckel befindliche Bohrlöcher gestatten die Regelung der Frischluftzufuhr.

Temperatur- und Klimamessungen

Die Temperatur ist der wichtigste Umgebungsfaktor, und die Meßstelle ist dort einzurichten, wo ein unverfälschter Meßwert zu erwarten ist. Auszubrütende Königinnenzellen sind deshalb in einem Abstand von mindestens 10 cm von der Frontscheibe, möglichst zentral aufzustellen. Als Thermometer reicht ein Laborthermometer von 0 bis 50° C mit 1 Grad - Teilung. Nützlich ist ein Maximum - Minimum - Thermometer, das eventuell aufgetretene Störungen nachträglich festhält. Die Feuchtigkeit wird mit einem einfachen Hygrometer gemessen.

Wasserschälchenoberfläche vorliegen, sind später keine Messungen mehr erforderlich.

Bei der Verwendung als Flugkäfig werden die zur Besamung bestimmten Königinnen zwischenzeitlich in die Box gebracht und können dort auch abkoten. Nach der Besamung sind sie ebenfalls dort in Zusatzkäfigen aufzubewahren.

Reinigungsgeräte

Wasserstrahlpumpe

Wasserstrahlpumpen gehören zur Standardausrüstung jedes biologisch-chemischen Labors. Mit Hilfe einer Injectordüse wird in ihnen ein Unterdruck erzeugt, der zum Ansaugen von Wasser und Reinigungslösungen über ein dickwandiges Schlauchstück benutzt wird. Die Bezeichnung "Pumpe" sollte jedoch nicht den Anschein eines komplizierten Gerätes erwecken. Wasserstrahlpumpen haben keine beweglichen Teile und lassen sich an jeden Wasserhahn anbringen. Die Firma Brand bietet solche aus Kunststoff mit Schlauchtülle oder 1/2 Zollanschluß an (3/4 Zoll Adapterring wird mitgeliefert). Das Saugschlauchende wird mit einem Aufnahmestück für die Besamungskanülen versehen (Gummikorken mit entsprechendem Loch oder Mundstück von Mundsaugschlauch wie sie von Herstellern für Mikropipetten erhältlich sind). Durch das Durchspülen der Reinigungslösung lassen sich vor allem Glasröhren wie Pipetten u.a. säubern. In unserem Falle erweist sich eine im Waschbecken installierte Wasserstrahlpumpe zur Säuberung von Besamungsspitzen überaus nützlich. Die Säuberung wird wie folgt vorgenommen:

1. Ansaugen von konzentrierter Reinigungslösung
(z.B. Tickopur mit Desinfektionswirkung)
2. Ansaugen von Alkohol
3. Ansaugen von Äther oder Azeton

Zuerst wird die vorgereinigte Kanüle mit der Spitze in Wasser getaucht, danach in Alkohol und zuletzt in Äther oder Aceton (Verschmutzungen vorher aufweichen). Die Durchflußgeschwindigkeit ist derart groß, daß sämtliche Fremdpartikel mitgerissen werden. Der Äther trocknet sofort rückstandsfrei, und das Röhrchen ist inwändig vollkommen trocken. Der Verbrauch an Alkohol und Äther ist wegen der engen Spitzenöffnung unbedeutend. Die Gefäße haben entsprechend kleine Abmessungen. Die in den Labors vielfach verwendeten 10 ml - Schnappdeckelgläschen eignen sich hierfür gut. Notfalls nimmt man Eierbecher.

In Abb. 27 ist das Arbeitsprinzip dargestellt.

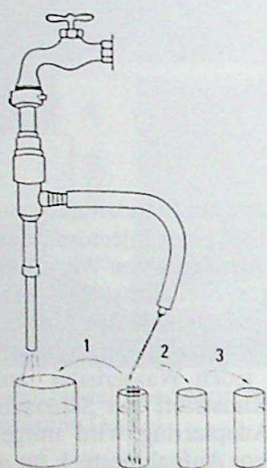


Abb. 27: Säuberung und Trocknung von Besamungskanülen

Ultraschallreiniger

In den Besamungslabors werden mitunter Ultraschallreinigungsgeräte eingesetzt. Es handelt sich um Geräte mit Edelstahlwannen vergleichbar eines Küchentopfes, die mit einer Reinigungslösung gefüllt werden. Unterhalb der Wanne elektronisch erzeugte mechanische Schwingungen außerhalb des Hörbereichs bringen die Reinigungslösung zum Vibrieren, so daß die Schmutzteilchen regelrecht abgesprengt werden. Es handelt sich um eine porentiefe Intensivreinigung aller, auch schwer zugänglicher Oberflächen, was eine bedeutende Arbeitserleichterung mit sich bringt. Von den Herstellern werden spezielle Reinigungs- und Desinfektionslösungen u.a. mit Desinfektionswirkung angeboten. Zum Teil sind die Geräte mit zusätzlichen Heizaggregaten ausgerüstet, was die Reinigungs- und Desinfektionsleistung noch verstärkt. Mit solchen Ultraschallreinigern lassen sich neben Besamungskanülen, Teilen des Königinnenhalters, Spritzenzylindern auch andere Gegenstände wie Brillen usw. gründlich reinigen. Die Geräte kosten das Vielfache einer Wasserstrahlpumpe.

3. Vorbereitung des Tiermaterials

Drohnen

Es besteht völlige Einstimmigkeit darüber, daß der Besamungserfolg an das Vorhandensein geeigneter Drohnen gebunden ist. Äußerlich sieht man es jedoch den Tieren keinesfalls an, ob sie die in sie gesetzten Erwartungen erfüllen.

Viele Drohnen in der Beute bedeuten noch lange nicht, daß die für die Besamung erforderlichen Spermamengen zu gewinnen sind. Diese Feststellung sollte nicht übersehen werden! Steht kein Sperma zur Verfügung, so sind alle Vorarbeiten umsonst gewesen.

Vorbereitung

Zwischen Drohnenbrut im Volk und der später zu erwartenden Anzahl geschlechtsreifer Drohnen besteht eine krasse Diskrepanz. Nach der angelegten Drohnenbrut müßte z.B. in Mitteleuropa die Zahl reifer Drohnen im Juli am größten sein. Tatsächlich nimmt die Drohnenzahl aber rapide ab und steht in keinem Verhältnis zur ursprünglichen Drohnenneierzahl. Die starke Abnahme ist nur dadurch zu erklären, daß sehr viele Drohnen zugrundegehen und die Geschlechtsreife nicht erreichen. Viele, die sie noch erlangen, sind für die Besamung wegen zu geringer Spermabildung nicht geeignet.

Daß ein Großteil der vorhandenen Drohnen zu einem gegebenen Zeitpunkt für die Begattung bzw. Besamung untauglich ist, wird erst offensichtlich, wenn Drohnensperma gewonnen werden soll. Wir kommen deshalb nicht daran vorbei, neben den Königinnen auch noch geeignete Drohnen zu ziehen!

Versuche haben ergeben, daß bereits vor dem Verdeckeln der Zelle auf die Potenz des Drohns Einfluß ausgeübt wird. Die Drohnenaufzucht bzw. Drohnenpflege beginnt deshalb schon unmittelbar nach dem Schlupf aus dem Ei. Dabei ist das Pflegevolk rechtzeitig auf seine Aufgabe vorzubereiten. Reizfütterungen, enger Sitz und Jungbienenüberschuß sorgen für die notwendige Pflegestimmung. Stimulierend sollen sich Pollenvorräte in Brutnähe auswirken. In großer Volksstärke eingewinterte Völker besitzen die genannte Voraussetzung eher als schwache. In Kleinvölkern werden kaum Drohnen gepflegt, es sei denn, man macht sie weisellos. Weisellose Völker, die laufend gefüttert werden, eignen sich zur Weiterpflege gut.

Wird aus einem Zuchtvolk nur die bestiftete Drohnenwabe entnommen, ist zu berücksichtigen, daß die Königin oft mehrere Tage für die Eiablage benötigt und die Wabe zeitweise verläßt. Die zu bestiftende

Drohnenwabe ist eine Woche vorher einzuhängen. Ganz sicher geht man, wenn aus einer Wabe des gleichen Volkes ein Keil herausgeschnitten wird und diese Wabe an das Brutnest gehängt wird. Der in Arbeit genommene Drohnenbau wird sofort bestiftet. Einzukalkulieren ist auch, daß die Drohnen vom Ei bis zur Geschlechtsreife 36 Tage und mehr benötigen, so daß Ende April mit den Vorbereitungen begonnen werden muß, wenn Mitte Juni besamt werden soll. Dieser Termin wird bei schlechtem Wetter allzuleicht verpaßt. Es dürfen dem Drohnenpflegevolk auch nicht zu viele Drohnen zugemutet werden. Lieber bereitet man mehrere Völker zur Drohnenpflege vor, als daß später ein Engpaß auftritt.

Kennzeichnung

Die Praxis hat gezeigt, daß es vorteilhaft ist, wenn das Alter der Drohnen bekannt ist. In Frage kommt die farbliche Kennzeichnung der einzelnen Altersklassen, die eine einwandfreie Identifizierung erlaubt und in ihrer Anwendung nicht aufwendig sein braucht. Außerdem kann den Drohnen Gelegenheit zum Ausflug gegeben werden, obwohl dies allerdings nicht unbedingt erforderlich ist.

Die Fluktuation ist aber sehr hoch, so daß die gezeichneten Drohnen in großer Zahl in anderen Standvölkern anzutreffen sind. Drohnen, die ausfliegen konnten, sollen sich zur Spermagewinnung besser eigenen. Vorteilhaft ist es, wenn nur die zur Besamung vorgesehenen Drohnenvölker am Platz aufgestellt werden. Die Drohnen fliegen nach Belieben aus und bleiben in den Drohnenvölkern. Ist die getrennte Drohnenhaltung nicht möglich, so sind die Drohnenvölker zumindest von den übrigen Standvölkern wegzustellen. Begrenzter Flugraum läßt sich auch mit einem vorgebauten Anflugkäfig schaffen. Das ist nützlich, denn aus der Beute am Nachmittag vordringende Drohnen können das mit einem Absperrgitter gesicherte Flugloch völlig blockieren.

Potente Drohnen befinden sich vorzugsweise in Fluglochnähe, wo sie von Hand abgelesen werden. Bei der Magazinbeute läßt sich auch eine Platte mit einem Loch auflegen. Wenn die Platte genügend Abstand von der Rähmchenoberkante hat und das eintretende Licht alle Wabengassen erreicht, so werden die herausdrängenden Drohnen am besten abgefangen, indem man einen Fangkorb aus Absperrgitterblech über die Öffnung stellt.

Die Kennzeichnung kann mit einem Pinsel von Hand erfolgen. Als Farbe eignet sich wasserlösliche Plaka-Farbe der Firma Pelikan. Wenn Plaka-Farbe mit ca. 25 % Plaka - "Malmittel" vermischt wird, ist eine vorzügliche Haftfähigkeit auf Bienen gewährleistet. Auch andere wasserlösliche Farben auf Acrylbasis sind geeignet. Diese Farben lassen sich bis zur Sprühfähigkeit mit Leitungswasser verdünnen. Alle drei

Tage wird die Farbe gewechselt.

Nach KRUBER (1979) lassen sich Drohnen in einem Siebeinsatz im Sprühverfahren kennzeichnen. Die Bienen werden in einem am Magazin befestigten Trichter gekehrt. Sie gelangen in den Siebeinsatz, der rückseitig in den hohen Unterboden geschoben wird und die Öffnung ausfüllt. Während die Bienen durch das Absperrgitter in das Volk zurückkehren, verbleiben die Drohnen im Siebkasten und können später durch das Gitter mit Farbe besprüht werden. Das Absperrgitter muß großflächig sein. Runde Stäbe eignen sich besser als gestanztes Blech.

In Abb. 28 ist das Arbeitsprinzip schematisch dargestellt. Die Farbe ist sehr fein zu zerstäuben, da die Drohnen sonst verkleben. Frisch gezeichnete Drohnen sollen nach Möglichkeit auch keiner hohen Luftfeuchte ausgesetzt werden. Die Behandlung bei nassem Wetter ist deshalb nicht zu empfehlen. In diesem Falle ist die Zeichnung von Hand vorzunehmen, was keinesfalls so viel Zeit in Anspruch nimmt, wie man annehmen könnte.

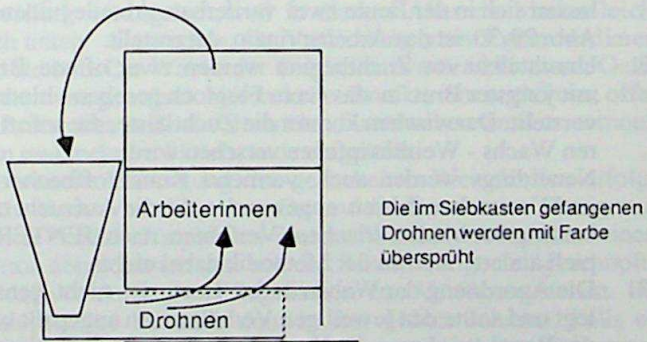


Abb. 28: Kennzeichnung von Drohnen mittels Farbsprühverfahren

Königinnen

Königinnen zu produzieren darf für denjenigen, der die instrumentelle Besamung anwenden möchte, kein Problem darstellen. Es gibt eine ganze Reihe Möglichkeiten der Königinnenaufzucht. Oft geben rein betriebliche Gesichtspunkte den Ausschlag für die Anwendung eines bestimmten Verfahrens. Eines ist jedoch immer sicherzustellen: den Eiern und Larven sind von Anfang an optimale Entwicklungs- und

Aufzuchtbedingungen zu gewähren. Vom Verfasser wurden gute Erfahrungen mit der Aufzucht im weiselrichtigen Volk gemacht. Nachstehend sei das Verfahren, das im Gießener Bienenzuchtverein von Belegstellenleiter Lotz seit Jahren mit Erfolg angewendet wird, in seinen Grundzügen kurz beschrieben.

Für die Aufzucht eignen sich Trogbeuten gut. Das Arbeiten in einer Etage bedeutet eine Erleichterung, und die Abtrennung des Zuchtanteils gestaltet sich einfach und übersichtlich. Es wird in unmittelbarer Nähe der Zuchtlatte flüssig gefüttert, nicht, weil es ohne Futter nicht ginge, sondern weil dadurch für Jungbienen dieser Beutenabschnitt attraktiv wird und gefütterte Bienen mehr Futtersaft und Wachs absondern. Die Fütterung veranlaßt somit auch den zügigen Ausbau zugegebener Mittelwände. Die Pflegebienen spezialisieren sich rechtzeitig und sind auf ihre Pflegearbeit vorbereitet.

Die einzelnen Arbeitsabschnitte lassen sich wie folgt beschreiben:

1. Vorbereitung des Pflegevolkes, gegebenenfalls Zugabe auslaufender Brutwaben aus anderen Völkern, damit die Beute voll besetzt ist. Mit einer Trennwand, die im oberen Teil nur einen Ausschnitt von ca. 15 x 7 cm aus Rund-Absperrgitter freigibt, lassen sich in der Beute zwei variierbare Abteile bilden. In den Abb. 29-30 ist das Arbeitsprinzip dargestellt.
2. Unmittelbar vor Zuchtbeginn werden zwei offene Brutwaben mit jüngster Brut in das (vom Flugloch gesehen) hintere Abteil verstellt. Dazwischen kommt die Zuchtleiste, die sofort mit leeren Wachs - Weiselnapfchen versehen wird. Neuerdings werden auch vermehrt Kunststoffbecher benutzt und Umsteckverfahren angewendet, die die Aufzucht ohne Umbettung der Maden erlauben (Verfahren nach JENTER). Prinzipiell ändert sich an der Methodik dabei nichts.
3. Die Anordnung der Waben in der Beute ist nicht genau festgelegt und sollte den jeweiligen Verhältnissen angepaßt werden. In der Regel wird man die Hauptmasse des Volkes hinter das Absperrgitter setzen. In das vordere Abteil kann auch ein starker Ableger einquartiert werden.
4. An der Bearbeitung der zugegebenen Zellen können wir schon die Pflegebereitschaft ablesen. Deutlich wird das, wenn probeweise vorgelarvt wird oder Probezellen hineingegeben werden. Mit dem Einbringen von Zellen wird sofort ständig gefüttert. Der praktischerweise über der Latte befindliche Futterbehälter faßt ca. 0,5 Liter. Der obere Zugang wird mit Drahtgeflecht eingeeengt, um die Futteraufnahme zu bremsen und einen kontinuierlichen Futterstrom sicherzustellen. Die Bauweise ist aus Abb. 32 ersichtlich. Sollte der "Test" unbefriedigend ausfallen, so muß die Ursache mangelnder Pflegebereitschaft geklärt werden. Sollten im Königinnenabteil bereits Weiselzel er-

richtet, so ist mit einem schlechten Annahmergebnis zu rechnen. Das Pflegevolk ist auszuwechseln.

5. Ist das Annahmergebnis befriedigend, werden aus den angebrüteten Zellen die Maden entfernt und der darin befindliche Weiselsaft auf alle Zellen der Zuchtserie verteilt. Vorher gesammelter und im Kühlschrank aufbewahrter Weiselsaft ist gleichfalls verwendbar. Auch mit Gelee Royal aus dem Handel konnte eine Stimulierung erzielt werden. Wie anzunehmen, werden nach den beschriebenen Vorbereitungen in der Regel bessere Annahmergebnisse erzielt (In der kommerziellen Königinnenaufzucht wird wegen des damit verbundenen Aufwandes kein Gebrauch davon gemacht wird. Züchterische Vorteile bietet das doppelte Umlarven nicht). Sollten wider Erwarten von 15 - 17 Zellen weniger als 10 in Pflege genommen werden, so wird die ganze Serie verworfen und eine Wiederholung angestrebt. Unter Umständen muß das Pflegevolk ausgewechselt werden. Eine gelungene Zuchtserie ist in Abb.31 abgebildet.
6. Nach dem Verdeckeln der Zellen kann bei Bedarf sofort mit einer neuen Serie begonnen werden. Es wird eine neue Zuchtlatte eingehängt, ebenso offene Brut. Dabei sind nach Möglichkeit Pausen zu vermeiden. Bei der Herausnahme der Zellen ist sehr vorsichtig vorzugehen, weil in diesem Alter die Maden leicht nach unten abrutschen, die Verbindung zum Futter verlieren und sterben. Die Waben der Trogbeute werden bei dieser Gelegenheit neu geordnet. Verdeckelte Brut kommt nach vorn, offene Brutwaben in Zuchtlattennähe, Futterwaben werden entnommen und mehrere Mittelwände eingestellt.
7. Die weitere Versorgung der gedeckelten Weiselzellen erfolgt nach dem Verschulen an Ort und Stelle oder im Honigraum starker Völker. Jungbienen einiger Waben werden über einen Karton abgeschüttelt und mit den Schlupfkäfigen eingeschöpft, so daß von Anfang an Pflegebienen zur Verfügung stehen. Die Schlupfkäfige kommen dann in den Hürdenrahmen. Falls ein Brutschrank verwendet werden kann, so ist das sehr bequem und zeitsparend, erfordert aber lückenlose Überwachung. Auf diese Möglichkeit wird noch gesondert eingegangen.
8. Nach Beendigung der Königinnenaufzucht kann das Pflegevolk aufgelöst und zum Befüllen der Begattungskästchen bzw. zur Ablegerbildung verwendet werden. Es stehen nicht nur Brutwaben zur Ablegerbildung zur Verfügung, sondern auch ausgebauten Mittelwände mit Futterhonig. Für die Ablegerbildung sind solche Futterwaben sehr gut zu verwenden.
Mit dem beschriebenen Aufzuchtverfahren wurden gute Ergebnisse erzielt. Der aufgezeigte Weg stellt nur eine von vielen Möglichkeiten dar. Das Verfahren kann modifiziert, vereinfacht und auf betriebliche Belange sowie auf Jahreszeit oder Witterung bzw. Klima abgestimmt werden. Sollten genügend Erfahr-

rungen vorliegen, so kann z.B. auf das Vorlarven, auf die Weiselsaftverteilung und unter Umständen kurzzeitig auch auf die Zugabe von Pflegebienen u.a. verzichtet werden. Zu bedenken ist aber, daß die instrumentelle Besamung Planungen voraussetzt. Es müssen Königinnen wie auch Drohnen zum vorher bestimmten Zeitpunkt in genügender Anzahl und guter Qualität zur Verfügung stehen. Das gilt auch für ungünstige Wetterverhältnisse. RUTTNER (1980) gibt einen umfassenden Überblick über das Thema Königinnenzucht und die Vielzahl der in der Welt praktizierten Verfahren.

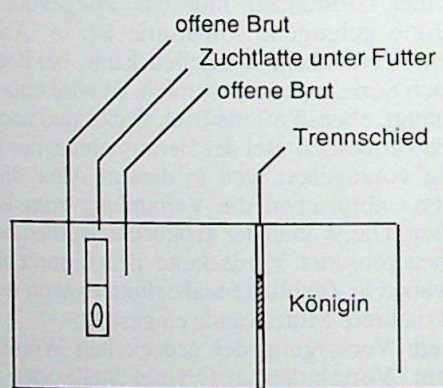


Abb. 29: Königinnenaufzucht im weiselrichtigen Volk

Futterbehälter wie Zuchtplatte lassen sich für das zuvor beschriebene Verfahren wie folgt herstellen: Ein Rähmchen des Standmaßes wird oben mit ca. 6 cm breiten Hartpappestreifen beiderseits versehen. Dabei ist eine Rähmchenleiste passender Länge als Boden gleich mit angeheftet. Jetzt wird aus der oberen Leiste ca. 8 cm herausgesägt (Futterloch). Da durch die Benagelung der Pappe der Zuchtrahmen dicker wird, darf die herausnehmbare Zuchtleiste, die unter dem Futterraum 20 mm tiefer angebracht ist, breiter sein. Dadurch können die Zuchtpfropfen versetzt angebracht werden. Die Beute wird mit Zwischenbrettchen abgedeckt. Über den Zuchtrahmen kommt ein Brettchen mit einer Öffnung, durch die die Zucker-Honiglösung eingegossen werden kann. Gute Erfahrungen wurden mit Nektarin gemacht.

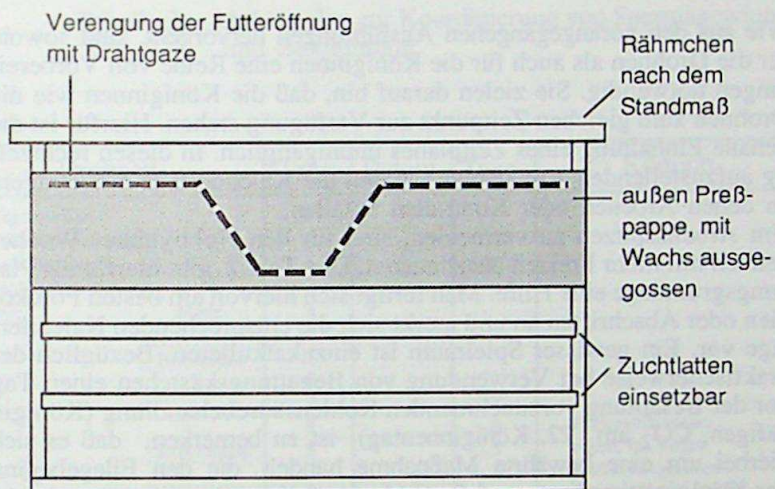


Abb. 30: Anordnung der Zuchtlatte unter dem Futterbehälter
(individuelle Gestaltung je nach Bedarf)

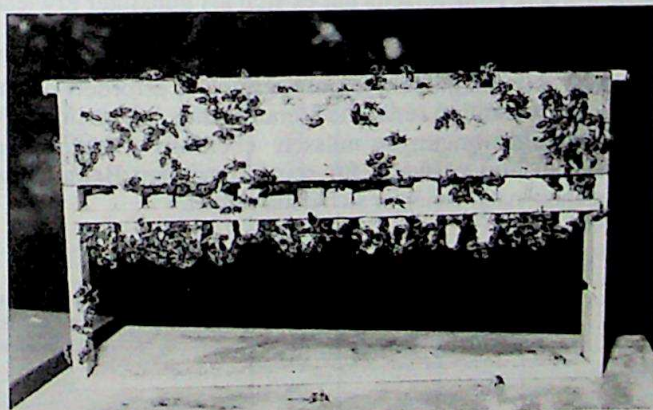


Abb. 31: verdeckelte Zuchtserie mit ansitzenden Pflegeebenen

Arbeitsplan

Wie aus den vorangegangenen Ausführungen hervorgeht, sind sowohl für die Drohnen als auch für die Königinnen eine Reihe von Vorbereitungen notwendig. Sie zielen darauf hin, daß die Königinnen wie die Drohnen zum gleichen Zeitpunkt zur Verfügung stehen. Hierfür ist die genaue Einhaltung eines Zeitplanes unumgänglich. In diesen rechtzeitig aufzustellenden Arbeitsplan werden die Kalendertage eingetragen, an denen Arbeiten oder Kontrollen anfallen.

Um Arbeitsspitzen zu vermeiden, sind für den Hobbyimker Wochenenden mit mehr Freizeit auszunutzen. Die Tab. 2 gibt hierfür als Planungsgrundlage eine Hilfe. Man fertigt sich hiervon am besten Fotokopien oder Abschriften an und merkt sich die entsprechenden Kalendertage vor. Ein gewisser Spielraum ist einzukalkulieren. Bezüglich der praktischerweise bei Verwendung von Begattungskästchen einen Tag vor der Besamung vorzunehmenden Kohlensäurebehandlung (Königin käfigen, CO₂ am 22. Königinnentag) ist zu bemerken, daß es sich hierbei um eine bewährte Maßnahme handelt, die den Eilegebeginn der Königin stimuliert, so daß mit der natürlichen Begattung vergleichbare Resultate erzielt werden.

Unterbleibt diese zusätzliche Begasung von ca. 5 - 7 minütiger Dauer, so reicht die eine mit der instrumentellen Besamung verbundene Narkose in den meisten Fällen nicht aus, diesen Effekt allein zu bewerkstelligen. Der Eilegebeginn kann stark verzögert werden. Andere Möglichkeiten der Ruhigstellung wie z.B. eine Temperaturniedrigung haben sich nicht bewährt.

Was den Besamungstag angeht, so ist zu bemerken, daß dieser Zeitpunkt nicht exakt festlegbar ist. Es sind gute Erfahrungen im 5/6-Tagealter gemacht worden. Andererseits hat es sich als günstiger erwiesen, wenn die Königinnen 7-8 Tage alt waren. Das 7-Tagealter kann als Richtwert angenommen werden. Die Königinnen müssen auf jeden Fall physiologisch reif und aufnahmefähig sein. Das erfordert optimale Konstitution und Kondition (erbliche Veranlagung, körperliche Verfassung). Die Umweltbedingungen müssen ebenfalls stimmen. Dem Besamer werden Erfahrungswerte für seine speziellen Bedingungen zur Verfügung stehen, nach denen er sich dann richtet.

Tabelle 2: Arbeitsplan zur Koordinierung von Spermagewinnung und Besamung

Drohnen	Tage	Datum	Tage	Königin
14 Tage vorher	- 14			
Drohnenwabe einhängen, für Jungbienenüberschuß sorgen	0			
Ei	1			
Made	2			
Rundmade	3			
	4			
	5			
	6			
	7		- 7	
	8		- 6	Pflegevolk vorbereiten, für Volksstärke, Jungbienenüberschuß und Zuchtstimmung sorgen
Streckmade	9		- 5	
	10		- 4	
Verdeckeln	11		- 3	
gegebenenfalls Wabe entnehmen u. Drohnenpflegevolk ohne Drohnen bilden, Absperrgitter	12		- 2	
Vorpuppe	13		- 1	
	14		0	
	15		1	Ei
	16		2	
Puppe	17		3	
	18		4	Made umlarven
	19		5	
	20		6	
	21		7	Rundmade
	22		8	
	23		9	Streckmade
Schlupf	24		10	Verdeckeln in Brutschrank geben?
	25		11	
	26		12	Puppe
Durchsieben, im Siebkasten mit Farbe besprühen, Absperrgitter entfernen	27		13	
	28		14	verschulen, Kästchen füllen u. zulaufen lassen
	29		15	Schlupf
	30		16	
	31		17	Kellerhaft
	32		18	Kellerhaft
	33		19	Kellerhaft
	34		20	} Sp. Kästchen aufstellen, Absperrgitter
	35		21	
Sperma von gekennzeichneten Drohnen aufziehen	36		22	käfigen, 1. CO ₂
Geschlechtsreife	37		23	Besamung 8 µl
	38		24	
	39		25	
	40		26	
	41		27	
	42		28	
	43		29	Eilagebeginn
	44		30	
	45		31	1. Kontrolle

Zwischenstation Brutschrank

Temperaturansprüche

Das Temperaturoptimum für die Eientwicklung liegt bei der Biene im engen Bereich von 32-35° C. Diese Temperaturspanne gilt auch für die Königinnenentwicklung. Als Brutschranktemperatur wählt man für den Schlupf der Königinnen am besten 34° C, die konstant eingehalten werden sollte. Es schadet aber nicht, wenn kurzfristig Schwankungen auftreten (z.B. nach Öffnen der Tür). Die Temperaturabweichungen sollten aber nach Möglichkeit $\pm 0,5^\circ$ C nicht übersteigen. Bei großer Sommerhitze sind die Temperaturen aber schon auf 40° C gestiegen, ohne daß es zu merklichen Ausfällen beim Schlupf kam. Wissenswert ist, daß im Brutschrank bei optimaler Temperatur die Königinnen mehrere Stunden bis 1 Tag zeitiger ausschlüpfen als in Pflegevölkern. Nach dem Schlupf ist die Brutschranktemperatur auf 28 - 30° C zu senken, denn 34° C erweisen sich für die Königinnen mit Begleitbienen als zu hoch.

Ein besonderer Temperaturanspruch besteht nach dem Schlupf allerdings nicht, und auch an die Regelgenauigkeit werden hier keine hohen Anforderungen gestellt. Die Temperatur sollte allerdings nicht unter 25° C absinken.

Feuchtigkeit

Gegenüber Feuchtigkeitsschwankungen der Umgebungsluft sind Bienen wie Brutzellen weitgehend unempfindlich. Im Bienenvolk werden im Sommer zwischen 35 - 50 % Feuchte gemessen, Werte von 50-90% werden gut vertragen. Die Einstellung der gewünschten Luftfeuchte bereitet an sich keine Probleme. Es ist lediglich ein Wasserschälchen einzustellen (Schwunddeckel von Honigglas). Höhere Werte von 70% und darüber lassen den Verdacht, daß das Futter nicht festtrocknet und die Königin nicht vertragen. Nach dem Schlupf ist der Wasserbedarf herabzusetzen. Die Richtspanne können wir generell 60 - 70 % Luftfeuchtigkeit als geeignet ansehen, wobei es keinesfalls schädlich ist, wenn die Werte über 70% überschritten werden.

Schlupfkäfige und Fütterung

Die Schlupfkäfige dürfen nicht zu klein sein. Innenabmessungen von 70 x 50 x 30 mm eignen sich am besten. Der Deckel besteht aus Kästchen mit den Abmessungen 50 x 50 x 30 mm und gibt es. Der abnehmbare Deckel erhält 2 Öffnungen. Die eine Öffnung ist für den Zuchtstempel bestimmt, in die andere wird eine 10 ml Einwegspritze als Füllbehälter gesetzt. Die Spritze kann mit Hilfe eines Gummiringes in jeder benötigten Höhe gehalten werden. Der Kanülenspitzen ist zu kürzen, damit die Futterlösung nachlaufen kann bzw. die Bienen

mit ihrem Rüssel an das Futter gelangen können. Gefüttert wird mit Futterteig. Zu der täglichen Futterteigabgabe durch das Drahtgitter wird zusätzlich etwas Wasser eingesprüht. Als Baumaterial für die Schlupfkäfige wird in der Regel Holz genommen. Geeignet sind auch Kunststoffschachteln mit Klarsichtdeckel. In der Rückwand wird mit einer Lochsäge eine Lüftungsöffnung von $\varnothing 5$ cm angebracht, die mit einem Lochblech verschlossen wird. Das Blech läßt sich mit einer Klebestole anbringen.

Um negative Begleitumstände bei der Haltung in kleinen Einheiten weitgehend auszuschalten, wurde von verschiedener Seite versucht, den Komfort durch Anbringung von Wabenstückchen und Verfütterung von Blütenpollen zu erhöhen. Ergebnisse von STÄSCH (1986)* zufolge beeinflussen die Faktoren Pollen und Mittelwand die Größe der Samenblase und ihre Füllung nicht. Lediglich das Gewicht der unter diesen Bedingungen gehaltenen Königinnen war signifikant höher.

Begleitbienen und Drohnen

Drohnen

Falls der Drohnenbedarf nicht zu hoch ist, eignen sich Brutschränke zur Erzeugung von Drohnen, die nach dem Schlupf gezeichnet werden können. Danach werden sie den Vollvölkern mit wenig eigenen Drohnen zurückgegeben.

Königinnen

Die deckelten Königinnenzellen können vom Zeitpunkt des Verdeckelns bis zum 11. Tag nach dem Umlarven dem Brutschrank zugeführt werden. Um eine möglichst naturnahe Haltung im Brutschrank zu gewährleisten, sollten der schlüpfenden Königin zur Schlupfzeit Pflegebienen zur Seite stehen (zumindest unmittelbar nach dem Schlupf). Die hierfür erforderlichen Jungbienen können ebenfalls in einem Brutschrank erzeugt werden, wenn schlupf reife Waben in die Brutbox gebracht werden. In den ersten drei Lebenstagen sind die jungen Bienen gut zu handhaben, weil sie sehr ruhig sind und auf der Wabe bleiben. Wenn keine Honigzellen vorhanden sind, ist zuzufüttern (Bestreichen der oberen Wabenleiste mit etwas Honig). Nach außen ist die Brutbox nach Möglichkeit abzudunkeln, denn die Begleitbienen streben zum Licht, sind sehr unruhig und die Königin bleibt dadurch sich selbst überlassen. Die Fütterung der Königin ist aber auf jeden Fall zu vermeiden.

* STÄSCH, BEGUNA | Diplomarbeit Gießen
Diplomarbeit Gießen

Gegen Licht sind bei schlupffreien Zellen die Bewegungen der Königin schon gut zu erkennen. Wenn darauf geachtet wird, daß beim Umlarven gleichaltrige Larven Verwendung finden, wird der Schlupf recht einheitlich ausfallen. 100 - 150 junge Begleitbienen reichen aus, die der frisch geschlüpften Königin bzw. der schlupffreien Zelle zugegeben werden (das entspricht etwa einem gehäuften Eßlöffel). Die Entnahme der Königin ist ganz einfach zu handhaben, indem das Kästchen in eine durchsichtige Plastiktüte gesteckt und Kohlensäure eingeleitet wird. Sämtliche Bienen einschließlich der Königin fallen in Narkose. Der Inhalt wird auf ein gefaltetes Papier geschüttet und die Königin ausgelesen. Es muß dabei schnell gearbeitet werden, weil die betäubten Bienen sehr schnell lebendig werden und sich dann nicht mehr ins Kästchen zurückschütten lassen.

Unterbringungsdauer

Die kurzzeitige Unterbringung kann sich auf Minuten und Stunden beschränken, ist aber auch mit Begleitbienen auf mehrere Tage ausdehnbar. Die auf diese Weise aufbewahrten Königinnen kommen auf Abruf zum Verkauf oder werden Ablegern oder Kunstschwärmen zugeführt. Nach der Besamung sollten die Umgebungstemperaturen 24 Stunden lang nicht unter 30° C liegen. Die Brutbox ist entsprechend nachzuregeln. Bei Brutnesttemperaturen konnten bessere Einwanderungsraten von Spermien in die Samenblase festgestellt werden. Zu beachten ist, daß die Begleitbienen keine Gelegenheit zum Abkoten haben und deshalb der Langzeitaufenthalt im Brutschrank auf 7 bis maximal 8 Tage zu beschränken ist. Lange Aufenthalte machen ständige Kontrollen erforderlich und setzen Einfühlungsvermögen voraus. Sind längere Aufenthalte unvermeidlich, so besteht die Möglichkeit, die Tiere zur Abendzeit im Freien aufzustellen und fliegen zu lassen (mit Absperrgitter). Es muß genügend Abstand zwischen den Kästchen vorhanden sein, weil sich sonst ein starker Verflug bemerkbar machen kann.

Normalerweise füllt man Begattungskästchen mit einer Viertelliter-Schöpfkelle. Dabei werden ca 200 - 250 g Bienenmaterial erfaßt, was einer Anzahl von 2000 - 3000 Stück entspricht. Diese Bienen gehören meist verschiedenen Altersstufen an. Durch die geringe Anzahl der im Brutschrank benötigten Bienen läßt sich viel Bienenmaterial einsparen.

Züchterische Gesichtspunkte

Fortpflanzungsbesonderheiten

Das Fortpflanzungsgeschehen weicht bei der Biene in wesentlichen Punkten von anderen Nutztieren ab. Dieser Sachverhalt ist zwar hinlänglich bekannt, doch macht man sich im allgemeinen wenig Gedanken über die Hintergründe und praktischen Konsequenzen für die Auswahl der Drohnen. Die Biene besitzt nämlich keine speziellen Geschlechtschromosomen. Vielmehr ist nur an einer bestimmten Stelle eines Chromosoms die Anlage für die Geschlechtsbestimmung vorhanden, die in einer Stufenreihe, einer sogenannten Allelreihe, vorliegt. Es handelt sich um insgesamt etwa 12 solcher "Geschlechtsfaktoren". Wenn das neu entstehende Bienenwesen nach Vereinigung der Geschlechtszellen Verschiedenartigkeit (Heterozygotie) hinsichtlich der Geschlechtsfaktoren aufweist, so wird daraus ein weibliches Wesen. Bei Gleichförmigkeit (Homozygotie) entsteht ein Drohn. Letzteres ist der Fall, wenn das Ei unbefruchtet bleibt. Bei der instrumentellen Besamung ist es leicht möglich, daß gleichartige Geschlechtsfaktoren häufig zusammentreffen. Besonders groß ist die Wahrscheinlichkeit, wenn wir Drohnen aus einem Volk nehmen würden. Die Königin besitzt zwar zwei verschiedene Geschlechtsfaktoren und gibt diese auch an die Drohnen weiter, die einzelnen Drohnen haben aber jeweils nur "eine Sorte". Das Geschlechtsgewebe des Drohns behält somit den einfachen mütterlichen Chromosomensatz wie er aus dem Ei gekommen ist. Es handelt sich um 16 Stück. Im Körpergewebe findet zwar während des Larvenstadiums wieder eine Verdopplung auf 32 Chromosomen statt, damit wieder ein vollwertiges Wesen zustande kommt. Im Hoden bleibt es aber bei der Hälfte. Wichtig ist dabei die Tatsache, daß beim einfachen (halben) Chromosomensatz keine Neuverteilung von Erbanlagen stattfinden kann, weil eben nur eine Garnitur vorhanden ist. Ein Drohn kann demzufolge auch nur eine Sorte Geschlechtsfaktoren weitergeben. Wenn wir Drohnen aus einem einzigen Volk nehmen würden, so kann es der Zufall wollen, daß diese die gleichen Faktoren wie die zu besamende Königin haben. Die Variationsmöglichkeit ist wesentlich eingeengt. Es kommt dann zu der oben angesprochenen Homozygotie und es entstehen die sogenannten diploiden Drohnen. Sie werden von den Pflegebienen als abartig erkannt und beseitigt. Der Verlust an Brutfläche ist beachtlich. Die Folge sind lückenhafte Brutnester, die bei engerer Verwandtschaft auch ohne instrumentelle Besamung auftreten können. Bei der instrumentellen Besamung ist die Gefahr aber besonders groß. Um den geschilderten Nachteil zu umgehen, sollten die Drohnen unbedingt von mehreren Geschwisterköniginnen herangezogen werden. Die Wahrscheinlichkeit, daß dann immer noch die gleichen Geschlechtsfaktoren zusammentreffen, ist wesentlich geringer.

Kreuzungszucht

Oft zeichnen sich Kreuzungsnachkommen durch überragende Leistungen aus, die wesentlich über denen der Elterntiere liegen können. Dieser Sachverhalt ist als Heterosis bekannt. Diese Überlegenheit der Kreuzungsnachkommen ist aus der gegenseitigen Ergänzung der Erbfaktoren sowie durch wechselseitige Effekte zwischen den Erbfaktoren der verschiedenen Genorte zu erklären. Bei planmäßigem Vorgehen bietet die Kreuzungszucht die Gewähr, daß höhere Leistungen nicht dem Zufall überlassen bleiben. Wenn geeignetes Tiermaterial zur Verfügung steht, erhöhen bestimmte Kreuzungen zwischen einzelnen Zuchtlinien die Rentabilität. Die erste Nachkommengeneration hat bei geeigneter Kombination, die auf jeden Fall zu testen ist, in der Regel mehr Vitalität und höhere Leistungen vorzuweisen.

Die instrumentelle Besamung ermöglicht die Anwendung der in der Tierzucht erarbeiteten Zuchtverfahren auch bei der Biene. Neben der wichtigen Aufgabe der Reinerhaltung eines Zuchtbestandes und dessen Verbesserung können somit auch ertragssteigernde Zuchtprogramme in Angriff genommen werden. Es liegen inzwischen genügend Beispiele für eindrucksvolle Ergebnisse aus der Bienenzucht vor. Nach RUTTNER (1979) wäre bei optimaler Gestaltung z.B. in folgenden Etappen zu verfahren:

1. Eine objektive Selektion auf Prüfständen
2. Mehr oder weniger starke Inzucht bei strenger Selektion während einiger Generationen zur Erzeugung genetisch stabiler Linien.
3. Die Kreuzung dieser Linien zur Schaffung vitaler Linien, Stammes- oder Rassehybriden.

Für deutsche Verhältnisse verspricht die Erstellung von Linienhybriden, d.h. die Kreuzung von Linien aus derselben Rasse, am ehesten Erfolg. Der Einzelimker oder die kleine Zuchtgemeinschaft ist mit solchen Vorhaben aber überfordert. Schon die unter Punkt 1 genannte objektive Selektion auf Prüfständen wird auf Schwierigkeiten stoßen. Nicht der Aufwand für die instrumentelle Besamung ist es, der hier die Grenzen setzt, sondern die erforderlichen Prüfkapazitäten und versuchstechnischen Auswertungen erweisen sich als nicht realisierbar.

Sehr erschwerend wirkt sich aus, daß, wie dargelegt, mit zunehmender Reinerbigkeit keine großen Völker aufzubauen sind. Die Volkentwicklung wird wegen der lückenhaften Brutnester empfindlich geschwächt. Solche Inzuchtdepressionen können bereits auftreten, wenn die Königinnen mit Drohnen eines einzelnen Volkes vom gleichen Stand besamt werden.

Praktischer und leichter durchführbar als die Linienhybridkreuzung dürfte eine Rotationspaarung verschiedener, untereinander nicht verwandter Herkünfte der gleichen Rasse im Rahmen der Reinzucht sein. Es wäre ein einfacher Weg, leistungsfähige und robuste Gebrauchsbienen mit gewünschten Merkmalen zu erzeugen, die mit ihrer Leistung über den Elternvölkern liegen. Hierbei wird unterstellt, daß der Homozygotiegrad für die einzelnen Leistungsmerkmale sich im ausgewählten Material der beteiligten Züchter voneinander unterscheidet, so daß es sich praktisch um eine Rotationskreuzung mit Heterosiserwartung handelt.

Das Paarungsgeschehen könnte z.B. nach folgendem Rotationsprinzip bei jährlichem Wechsel folgendermaßen ablaufen:

Töchter der Königin aus eigenem Bestand mit Drohnen von Imker A, beste Tochter nach Leistungskontrolle mit Drohnen von Imker B, beste Tochter mit Drohnen von Imker C. Danach Drohnen von A usw. (jeweils Drohnen der besten Muttervölker des Reinzüchters). Dieses Verfahren ist im Kreis interessierter Besamungspraktiker in Zusammenarbeit mit Züchtern zum gegenseitigen Nutzen möglich und verspricht Aussicht auf Erfolg, wenn man sich miteinander abspricht und eng zusammenarbeitet. Derjenige, der keinen anerkannten Reinzuchbestand führt oder anstrebt, braucht nur die instrumentell besamten Königinnen im 1. Lebensjahr auf Leistung zu testen. Von der besten wird nachgezogen. Morphologische Merkmale wie der Cubitalindex dienen dann nicht mehr als Indiz für rassenreine Paarungen, sondern beschreiben und charakterisieren lediglich die jeweilige Zuchtlinie bzw. Herkunft. Die Selektion soll sich ausschließlich auf Leistungsmerkmale stützen. Dem Imker eröffnet sich hierdurch ein interessantes Betätigungsfeld, das tiefere Einblicke in das Vererbungsgeschehen erlaubt.

4. Reinigung, Desinfektion, Sterilisation

Reinigung

Bei der instrumentellen Besamung ist es notwendig, Infektionsgefahren nach Möglichkeit von vornherein auszuschließen oder durch Abtötung der Krankheitserreger abzuwenden. Eine wichtige Vorbedingung für keimfreies oder zumindest keimarmes Arbeiten ist die Reinhaltung von Arbeitsplatz und Gerätschaften. Durch die Reinigung sollen Keime aus ihrer Trägersubstanz gelöst und nach Möglichkeit entfernt werden. In der Besamungspraxis reicht die Wasserreinigung mit Zusätzen üblicher Haushaltsreiniger für eine ganze Reihe von Teilen vollkommen aus. Nur diejenigen Teile, die Übertragungsmöglichkeiten von Keimen auf die Königin bieten, bedürfen der sorgfältigen Sonderbehandlung. Hierfür kommen auch besondere Geräte wie Wasserstrahlpumpe, Ultraschallreinigungsgeräte und Spezialreinigungsmittel in Betracht (vgl. Kapitel 2). Wir können drei Reinhaltungsstufen unterscheiden:

- Reinhaltungsstufe 1 - Reinigung mit Haushaltsreinigungsmitteln: Kleidung, Arbeitsplatz, Besamungsgerät u.a. Gerätschaften usw.
- Reinhaltungsstufe 2 - Feuchtreinigung mit Desinfektions - Laborreinigungsmitteln: Arbeitsplatte, Aufsteckplatte des Königinnenhalters mit Halteröhrchen, Einlauföhrchen, Spritzenhülse, Häkchen, Drohnenstülpglas, Waschflasche und Hände
- Reinhaltungsstufe 3 - Hitzebehandlung im Dampfkochtopf: Besamungskanülen mit Quetschdichtung, Kolbenspindel, Spritzenzylinder, Petrischalen, Zellstofftupfer, Pinzette, Handsonde, Füllspritze, Verdünnerlösung (letztere nicht unter Druck sterilisieren und nur bis zum Siedebeginn erhitzen, nicht kochen, dafür Bakterienfilter vorschalten)

Anmerkung: Die obigen Ausführungen sind aus dem Blickwinkel der instrumentellen Besamung gesehen. Die hygienischen Vorsichtsmaßregeln sind jedoch weiter zu fassen, wenn beispielsweise Nosemainfektionen der Königin in Betracht zu ziehen sind. Unfruchtbarkeit wird man stets auf Fehler bei der Besamung zurückführen wollen, obwohl auch andere Ursachen hierfür in Frage kommen.

Desinfektion

Während für die Reinhaltungsstufe 1 die einfache Sauberhaltung der Oberflächen ausreicht, erfordern die Stufen 2 und 3 zusätzliche Maßnahmen. Zur Anwendung kommen chemische Desinfektionsmittel sowie die Hitzebehandlung. Eine gute Desinfektionswirkung besitzt Alkohol, mit dem verschiedene Teile abgewaschen oder eingetaucht werden können. Hierbei ist zu berücksichtigen, daß 70%iger Alkohol leichter in die lebende Zelle eindringt als höherprozentiger und deshalb eine bessere Desinfektionsleistung entwickelt als beispielsweise 98%iger. Wichtig zu wissen ist, daß der technische Isopropylalkohol die gleiche Wirkung hat, jedoch wesentlich billiger ist als der in alkoholischen Getränken enthaltende Äthylalkohol.

Der aus Acrylglasteilen zusammengesetzte Königinnenhalter darf jedoch nicht mit Alkohol in Berührung kommen, da das Material geschädigt wird. Es treten Risse und Sprünge auf. Diese Teile werden mit speziellen kunststoffverträglichen Reinigungslösungen behandelt, die sowohl reinigen als auch desinfizieren (z.B. eiweißauflösendes Tickopur u.a. Präparate). Da es sich praktisch um eine Seifenlösung handelt, muß anschließend mit Leitungswasser nachgespült bzw. mit einem angefeuchteten Zellstofftuch abgewischt werden.

Die Reinigung und Desinfektion der unter Reinhaltungsstufe 2 aufgezählten Dinge erfolgt in regelmäßigen Abständen und richtet sich auch nach dem Verschmutzungsgrad. Die Finger sind verständlicherweise öfters abzuwischen als die Aufsteckplatte des Königinnenhalters. Bei der Reinhaltungsstufe 3 steht die Keimfreiheit im Vordergrund. Selbstverständlich werden die der Sterilisation zugeführten Teile vorher gründlich gereinigt.

Sterilisation

Diejenigen Gegenstände und Teile, die Keime auf die zu besamende Königin direkt übertragen können, bedürfen besonderer Desinfektion und Sterilisation. Das gleiche gilt für das "Handwerkzeug", zu dem auch Wattestäbchen und Tupfer zählen. Das Hauptproblem stellen nicht irgendwelche Keime schlechthin, sondern bienenpathogene Keime dar oder solche, die unter bestimmten Bedingungen krankheitsauslösend werden. Der Sporenbildner *Bacillus cereus* konnte z.B. für das Königinnensterben ganzer Serien verantwortlich gemacht werden. An und für sich ist dieser Keim nicht krankheitsauslösend. Er ist auch im Kot gesunder Königinnen und Drohnen anzutreffen. Gelangt der Keim aber in den Geschlechtstrakt der Königin, so kommt es zur raschen Vermehrung von *Bacillus cereus*. Durch Ausscheidung giftiger Stoffwechselprodukte treten starke Vergiftungserscheinungen auf. *Ba-*

cillus cereus ist in der Erde und Staub zu finden und hat in Bau und Lebensmilieu große Ähnlichkeit mit Milzbrandbazillen.

Übertragungsmöglichkeiten bieten besonders die unter Reinhaltungsstufe 3 aufgezählten Objekte. Größte Aufmerksamkeit verdienen die Besamungskanülen. Das Mittel der Wahl ist für die Stufe 3 die Hitzeesterilisation. Bei Anwendung hoher Temperaturen ist allerdings zu berücksichtigen, daß feuchte Hitze materialschonender ist und sich zur Sterilisation für unsere Zwecke besser eignet als trockene Hitze. Letztere kommt nur für das Abflammen von Pinzetten u. Handsonden in Betracht: Die Pinzettenspitze wird kurz durch eine Spiritusflamme gezogen. Die Haken des Besamungsgerätes dürfen jedoch auf keinen Fall abgeflammt werden (insbesondere das empfindliche Dorsalhäkchen würde schnell überhitzt werden, und der Stahl verliert an Festigkeit). Das Abflammen beschränkt sich somit nur auf die genannten Teile. Trotzdem ist die ständige Verfügbarkeit der Spiritusflamme am Arbeitsplatz empfehlenswert, da die Pinzette (zum Ergreifen der sterilen Tupfer) sowie die Handsonde (zum Aufspreizen der Stachelkammer) ständig in Gebrauch sind und praktisch mit jedem Handgriff der Verunreinigung ausgesetzt sind.

Die sicherste Methode mit vertretbarem Aufwand ist die Sterilisation im Autoklaven bzw. Dampfkochtopf, so daß sie generell zu empfehlen ist. Mit dem gewöhnlichen Haushaltsdampfkochtopf läßt sich eine einwandfreie Sterilisation erzielen. Bei einem Überdruck von 1 bar (atü) herrscht eine Temperatur von ca. 120° C. Nach einer effektiven Behandlungsdauer von 10 Minuten (ohne Aufheizzeit gerechnet) sind die eingelegten Teile steril. Da kein unterer Luftablaß vorhanden ist, sollten nach Möglichkeit sämtliche mitgelieferten Einsätze darin bleiben, damit das zu behandelnde Gut möglichst hoch zu liegen kommt (in der Dampfzone). Dampfkochtöpfe weisen bekanntlich verschiedene Ringmarken auf, die den Druck anzeigen. Bei dem Fabrikat Fissler (6580 Idar-Oberstein II) herrscht z.B. bei der ersten Ringmarke ein Überdruck von 0,5 bar, bei Ringmarke zwei einer von 0,8 bar. Werden 1,2 bar Druck erreicht, so erfolgt der Dampfablaß. Das zur Verhinderung von Unfällen angebrachte Sicherheitsventil öffnet sich erst bei 2,5 bar. Da sich die technischen Werte an DIN-Vorschriften orientieren, haben die gemachten Angaben auch auf andere Fabrikate Gültigkeit. Temperaturen von mehr als 120°C treten übrigens nach Auskunft von FISSLER bei technisch einwandfreien Geräten nicht auf, so daß auch Spritzenzylinder und Spritzenspindeln mit Gummikolben sterilisiert werden können.

Wenn Flüssigkeiten in Behältnissen sterilisiert werden, ist einmal zu be-

achten, daß die Sterilisationsdauer zu verlängern ist (z.B. bei 100 ml Fläschchen um etwa 10 Minuten), zum anderen ist in Rechnung zu stellen, daß sich nach Beendigung des Sterilisationsprozesses der Dampfraum schneller abkühlt als der Inhalt der eingestellten Fläschchen.

Wird nach Behandlungsende der Topf von der Herdplatte genommen und der Druck plötzlich abgebaut, so kommt es zum Siedeverzug in der Flasche, weil 120°C heißes Wasser unter normalem Druck sofort in Dampf übergeht. Unter diesen Umständen können geschlossene Gefäße explodieren, offene kochen über.

Die Arbeit mit dem Dampfkochtopf ist einfach und keinesfalls aufwendig. Steht ein solcher nicht zur Verfügung, muß die Entkeimung durch Behandlung mit Tickopur (oder anderen geeigneten Mitteln) und anschließendem 10minütigem Abkochen vorgenommen werden.

Bakterienfiltration

Die Klar- und Sterilfiltration der Spermaverdünnung stellt eine zusätzliche Sicherheitsmaßnahme dar, zumal eine Hitzesterilisation für die Eberspermaverdünnung nicht vorgesehen ist (Wirksubstanz Sulfanilamid ist nicht hitzebeständig). Die Durchführung der Filtration ist denkbar einfach und angesichts der geringen Kosten sehr empfehlenswert. Es braucht lediglich vor die Füllspritze ein Einwegfilter angedreht zu werden. Die Stahlkanüle kommt jetzt auf den Filter. Es gibt verschiedene Filtergrößen im Medizinalhandel. Zur Sterilfiltration wählt man den Typ mit Porengröße 0,2 μm . Der Filterdurchmesser beträgt 30 mm mit einer Fläche von 5,7 cm^2 . Die Durchflußrate wird mit 60 ml/min bei 1 bar angegeben, so daß die Füllspritze mit einer Hand leicht zu bedienen ist. Der Filter kann für einige Spritzenfüllung mehrere Tage lang benutzt werden, sollte aber nicht länger als eine Woche in Gebrauch sein (Aufbewahrung im Kühlschrank). 0,2 μm -Filterplättchen im \varnothing von 30 mm sind auch einzeln für wiederverwendbare Kapselhalter aus Kunststoff oder Edelstahl erhältlich.

Praktische Handhabung kurz gefaßt

Die Durchführung hygienischer Maßnahmen bereitet insbesondere dem Anfänger Schwierigkeiten, da er mit einer ganzen Reihe von Empfehlungen und Möglichkeiten konfrontiert wird. Gutgemeinte Ratschläge für Alternativlösungen verunsichern aber mehr als daß sie nützlich sind, da dadurch die Übersichtlichkeit verlorengeht. Andererseits wirken sich Fehler auf diesem Sektor gravierend aus. Um Mißerfolge von

vornherein auszuschalten, ist es notwendig, sehr sauber zu arbeiten, nach einem genauen Schema vorzugehen und eher zusätzliche Maßnahmen zur doppelten Sicherheit mit einzubeziehen. Die folgenden Ausführungen sollen Unzulänglichkeiten von vornherein ausschließen. Die beschriebenen Handgriffe entsprechen der allgemeinen Besamungspraxis und sind ohne besondere Anstrengungen durchführbar.

Vor der Besamung

Säuberung des Arbeitsplatzes und der Gerätschaften
- *Reinhaltungsstufe 1 und 2* -

Arbeitsplatz und Geräte:

Abwischen mit feuchtem Tuch (gegebenenfalls Tuch mit Tickopur oder ähnlichem benetzen).

Es wird eine "schmutzige" Seite und eine "saubere" Seite am Arbeitsplatz eingerichtet (letztere für sterile Sachen wie Besamungskanülen, Tupfer, Pinzette usw. reservieren).

Arbeitsplatte:

Behandlung wie zuvor, ebenso mit Tickopur (oder gleichwertigem Mittel).

Aufsteckplatte des Köginnenhalters mit Röhrrchen:

Nach mehrmaligem Gebrauch mit feuchtem Wattestäbchen abwischen, Röhrrchen nach mehrtägigem Gebrauch in Tickopurlösung 5%ig eine Stunde einlegen, auf keinen Fall Hitzesterilisation anwenden!

Einlaufröhrrchen: wie zuvor

Spritzenhülse:

Gewöhnliches Abwaschen, kann mit anderen Teilen im Dampfkochtopf sterilisiert werden.

Häkchen:

Die Häkchen bleiben am Gerät, werden ausgeschwenkt, in Alkohol getaucht und mit Wattestäbchen abgewischt. Als Tauchgefäß kann man Kunststoff - Kanülenhütchen von Einwegspritzen verwenden. Sie werden in den Schlitz des Besamungsgerätes gesteckt und sind immer greifbar. Das Arbeiten mit dem "Alkohohlütchen" ist sehr zu empfehlen! Auf keinen Fall soll man die Häkchen abflammen (Wertminderung des Stahls).

Drohnenstülpglas:

Geeignet sind Honiggläser, die sauber zu halten sind (öfters erneuern). Als Einlage gewöhnlichen Zellstoff verwenden.

Waschflasche:

Normales Spülen, Abwaschen und Sauberhalten.

Hände:

Vor Arbeitsbeginn Hände seifen und gründlich reinigen.

*- Reinhaltungsstufe 3 -*Besamungskanülen mit Quetschdichtung:

Auf gereinigte Kanülen Quetschdichtung aufziehen, locker in Alufolie einschlagen und in Dampfkochtopf geben.

Kolbenspindel, Spritzenzylinder, Pinzette, Handsonde, Füllspritze mit Kanüle:

Zusammen in Alufolie einschlagen und wie zuvor im Dampfkochtopf behandeln.

Petrischalen, Zellstofftupfer:

Schälchen mit Zellstoffstückchen $< 10 \times 10$ mm oder Wattestäbchen (Holzstreichhölzer) in Alufolie einschlagen und im Dampfkochtopf sterilisieren.

Verdünerlösung:

Destilliertes Wasser im Dampfkochtopf mit eingestelltem Gefäß sterilisieren (Löffel zum Rühren gleich mitbehandeln), abkühlen lassen und Pulver auflösen. Danach wird wieder erhitzt, jedoch vor Kochbeginn abbrechen (keine Sterilisation, da Lösung Sulfonamide enthält). Später Portionen in sterile Einwegspritzen abfüllen.

Montage der Spritze und Füllen:

Der Arbeitsablauf wurde in Kap. 2 ausführlich beschrieben. Die fertig aufgezoogene Spritze ist so abzulegen (oder am Gerät zu montieren), daß keine Berührung der Spitzenmündung stattfinden kann. Die Spritzenmuffe darf vorn beim Zusammenbau nicht mit der Haut in Kontakt kommen. Locker in Alufolie einschlagen. Unbeabsichtigte Berührungen mit fabrikneuer Folie sind unbedenklich.

Während der Besamung

*- Reinhaltungsstufe 2 bis 3 -*Aufsteckplatte des Königinnenhalters mit Halteröhrchen und Einlauföhrchen:

Kotspritzer mit feuchtem Tuch entfernen, Finger am Alkoholtuch abreiben.

Besamungskanüle:

Bei Pfropfenbildung in der Spitzenmündung mit steriler Pinzette aus abgedecktem Petrischälchen Tupfer oder Wattestäbchen ergreifen und sofort Spitzenmündung abwischen, gegebenenfalls mit Verdüner benetzen (aus steriler Füllspritze) und Spitzenmündung freimachen. Dabei nicht sprechen (Tröpfcheninfektion durch Speichel). Tupfer wie Wattestäbchen werden nur 1 x benutzt. Wenn die Fingerkuppe des den Drohnen haltenden Fingers dessen Körperhaar oder die Spermakugel berührte, darf das Sperma nicht verwendet werden. Beim Sperma ausdrücken vom Gerät abwenden!

Bereits benutzte Kanülen, die aus der Spritze genommen wurden, werden sofort in ein Schälchen mit Reinigungslösung abgelegt (Tickopur 5%ig). Dort können sie mehrtägig aufbewahrt werden.

Pinzette und Handsonde:

Nach Gebrauch durch Spiritus-Dochtflamme ziehen, auf steriler Unterlage ablegen oder in steriles Glas bzw. Schälchen legen. Es ist kein Fehler, wenn vor dem Abflammen in Alkohol getaucht wird.

Häkchen:

Spätestens nach 3 - 4 Besamungen werden die Häkchen ausgeschwenkt und ins Alkoholhütchen getaucht und danach mit sterilem Tupfer bzw. Wattestäbchen abgewischt (bleiben dabei mit dem Halter im Gerät).

Drohnenstülpglas:

Verschmutzte Zellstoffeinlage erneuern, Hände säubern.

Nach der Besamung

Nach Beendigung der Arbeit wird der Arbeitsplatz sauber verlassen. Das Besamungsgerät ist mit angefeuchtetem Tuch abzuwischen. Die Häkchen sind am Gerät in das Alkoholhütchen zu tauchen und abzuwischen. Die auszuführenden Arbeiten entsprechen hinsichtlich der Hygiene den Vorbereitungen vor der Besamungsarbeit. Die Besamungsspritze wird demontiert und die Metallteile gesäubert und abgetrocknet.

5. Sperma und Kontrolluntersuchungen

Spermagewinnung

Die Spermagewinnung stellt bei Bienen im allgemeinen kein Problem dar. Sie ist wesentlich einfacher als bei Haustieren. Voraussetzung ist jedoch, daß die Drohnen geschlechtsreif sind und ihre Samenblase gefüllt ist. Vor allem muß das Sperma reif sein. Reifes Sperma ist von cremegelber Farbe, vermischt sich nicht mit Schleim und läßt sich mit der Besamungsspritze mühelos aufziehen. Solches Sperma haben jedoch nur Drohnen, die älter als 12 Tage sind und sich in einer guten Verfassung befinden. Im übrigen wird man nur bewegungsaktive Drohnen nehmen, die keine körperlichen Mängel aufweisen.

Stehen keine geeigneten Drohnen zur Verfügung, so wird der Anfänger stark verunsichert sein. Auf jeden Fall sollte man der Versuchung widerstehen, von halbreifen Drohnen Sperma aufziehen zu wollen. Es ist in solchen Fällen immer noch besser und geht schneller, wenn nur jeder 3. Drohn genommen wird und schlechte sofort verworfen werden. Auf diesen Sachverhalt kann nicht eindringlich genug hingewiesen werden. Noch nicht geschlechtsreife Tiere im Alter von 8 -10 Tagen können zwar zur Ausstülpung des Begattungsschlauches gebracht werden, allerdings besteht das vermeintliche Sperma überwiegend aus Schleim. Der Schleim ist an sich unschädlich, verstopft aber zu leicht die Besamungskanüle. Schleimpfropfen können auch später zu Störungen im Eileiter der Königin führen.

Um die Ejakulation künstlich auszulösen, gibt es mehrere Möglichkeiten. Zu nennen sind das Rollen und Drücken des Hinterleibes mit der Hand ohne weitere Hilfsmittel, die Narkose mit Chloroform oder Äther sowie das Köpfen der Drohnen. Auch eine elektrische Reizung ist bekannt. Bewährt hat sich in der Praxis die Chloroformnarkose, die eine teilweise Ausstülpung des Begattungsschlauches bewirkt, und das anschließende Ausdrücken von Hand. Der Drohn wird an Kopf und Bruststück zwischen Daumen und Zeigefinger gehalten, seine Rückseite zeigt nach oben. Dabei kann er vor dem Ausdrücken zwischen den Fingern leicht gerollt oder seine Rückseite etwas gedrückt werden. Dies wirkt sich günstig auf die nötige Kontraktion der Hinterleibsmuskulatur aus, deutlich fühlbar am Hartwerden des Abdomens. Nur Drohnen mit hartem Hinterleib werden sich als brauchbar erweisen.

Die Ejakulation findet bereits vor der vollständigen Ausstülpung des Begattungsschlauches statt. Kurz nach der Spermaabgabe erfolgt die Schleimabsonderung, was auch sinnvoll ist, denn der Schleim hat die Aufgabe, bei der natürlichen Begattung den Verschlusspfropf zu bilden. Gewaltames Auspressen in einem Zug ist aus diesem Grund zu vermeiden, denn nur bei vorsichtigem Ausdrücken, wobei die Fingerkuppen eine abrollende Bewegung zu den Fingernägeln hin ausführen, kann eine große Portion ohne Schleimbeimengungen gewonnen werden. Erstrebenswert ist es, wenn sich nur eine kleine gelbe Spermaku-

gel auf dem Bulbus zeigt, die sich vollständig absaugen läßt. Wie der Drohn zwischen den Fingern zu halten ist, zeigt die Abb. 32.

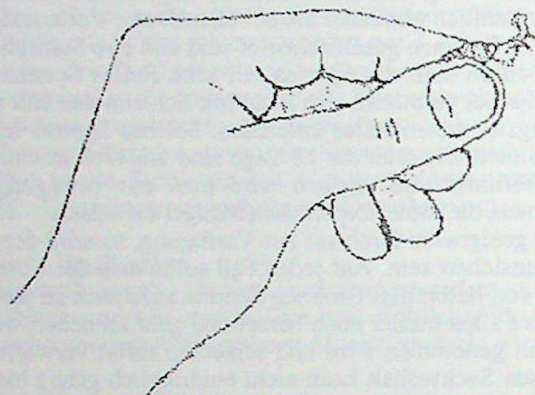


Abb. 32: Die Haltung des Drohns während der Spermaabnahme

Die kleine erwünschte, glasig-gelb marmorierte bzw. wolkige Kugel erhält man oft nur, wenn mit den Fingern nochmals nachgefaßt und sehr langsam ausgedrückt wird. Der Spermavorrat befindet sich nämlich an der Basis des Penis. Diesen Bezirk muß man mit den Fingerspitzen gefühlvoll pressen. Das Hinterteil des bereits toten Drohn wird dabei völlig platt gequetscht.

Positiv auf Stülpung und Ejakulation wirkt sich nach Ansicht vieler Autoren ein vorheriges Fliegenlassen der Drohnen aus. Dadurch wird der Stoffwechsel gesteigert, wodurch die Drohnen in einen Erregungszustand versetzt werden, der sie besonders befähigt, auf entsprechende Reize mit der Ausstülpung leichter zu reagieren. Dabei wird auch das Volumen durch Einpressen von Luft in die Luftsäcke im Innern des Hinterleibes etwas vergrößert. Außerdem hat man die Gewähr, daß das Flugvermögen in Ordnung ist. Die frühen Nachmittagsstunden eignen sich bei gutem Wetter zur Spermagewinnung besonders gut. Die Drohnen weisen dann ihre höchste Aktivitätsphase auf. Erfahrene Besamer wissen das und ziehen Sperma nach Möglichkeit nur während dieser Zeit auf.

Tägliches Fliegenlassen ist aber eigentlich nicht notwendig. Empfohlen wird auch eine kurze Flugbetätigung wie das Anfliegen gegen die Fensterscheibe. Häufig verzichtet man vollständig auf das Fliegenlas-

sen und greift die Drohnen aus Gründen der Arbeitersparnis direkt von den Waben ab.

Wichtig ist, daß zwischen dem Abfangen der Drohnen und der Spermaentnahme keine längeren Pausen entstehen. Die Drohnen sollten innerhalb weniger Minuten verarbeitet werden. Ist das nicht möglich, so werden sie im Brutschrank untergebracht (28 - 30°C).

Zu erwähnen ist, daß der Transport von Drohnen auf längere Distanz ohne Bienen nicht möglich ist. Sie verfallen schnell in Apathie. Wenn Drohnen eines anderen Standes Verwendung finden, empfiehlt es sich, die abgefangenen Drohnen zusammen mit möglichst jungen Bienen und einigen Brutwaben zu transportieren. Das Völkchen wird in der Nähe des Arbeitsplatzes aufgestellt, und die Drohnen können nach Belieben entnommen werden. Der Flugbetrieb hält sich dann in Grenzen.

Für den Anfänger ist es schwierig, die Brauchbarkeit des Spermas richtig einzuschätzen. Problematisch sind besonders solche Drohnen, die zwar marmoriertes Sperma mit Schleimanteilen vorweisen. Wird der zähe Schleim angesaugt, so ist das rechtzeitig zu erkennen und die Aufnahme ist sofort abzubrechen.

Spermamenge und Qualität

Die mittlere Spermamenge eines Drohns beträgt 1,7 μl (mm^3), sie schwankt zwischen 1,5 - 1,75 μl . Die Menge an Sperma, die von einem Drohn gewonnen werden kann, bewegt sich von 0,5 - 1,25 μl , in Ausnahmen bis zu 1,5 μl . Die Schleimmenge übertrifft die Spermamenge um das Mehrfache.

Die Zahl der Spermien pro μl ist im Vergleich zu anderen Nutztieren sehr hoch. Die Anzahl der Spermien pro μl Ejakulat beträgt bei den Bienen etwa 6 Millionen, beim Rind 1,6 und beim Schwein zwischen 100 000 bis 400 000. Ein Drohn bildet im Durchschnitt insgesamt mehr als 10 Millionen Spermien. Die Anzahl der Spermien, die ein Drohn ausbildet, wird schon in den ersten Tagen der Larvenphase festgelegt.

Die Spermaqualität wird im Gegensatz zu anderen Nutztieren bei der Biene nicht routinemäßig überprüft. Dies ist allein schon durch die geringe Menge, die ein Drohn an Sperma liefert, schlecht möglich. Die Spermaqualität scheint auch nicht von so ausschlaggebender Bedeutung zu sein, da eine ganze Reihe von Drohnen für die Besamung einer Königin Verwendung finden und das einzelne Vatertier in der Regel keine Rolle spielt.

Als Qualitätskriterien werden vor allem die Bewegungsfähigkeit und die Überlebensdauer herangezogen. Beides läßt sich nur mit Hilfe bestimmter Labormethoden ermitteln. Wichtig erscheint aber auch die Spermiedichte. Eigene Feststellungen deuten darauf hin, daß hier offensichtlich größere Unterschiede bestehen als allgemein angenommen. Jedenfalls ergab eine Untersuchung wesentliche Abweichungen für das Merkmal Spermiedichte. Der niedrigste Wert betrug 1,8 Mio. Spermien pro μl , der höchste 8,5 Mio. pro μl Sperma. Der Durchschnitt bewegte sich im Bereich von 4-5 Millionen. Aus der Überprüfung geht hervor, daß einzelne Drohnen nur über ein Viertel an Spermien verfügten als andere. 8 μl Besamungssperma reichen unter diesen Umständen zur Füllung der Spermatheka nicht aus. Die Häufigkeitsverteilung der Spermadichte ist aus Abb. 33 zu ersehen.

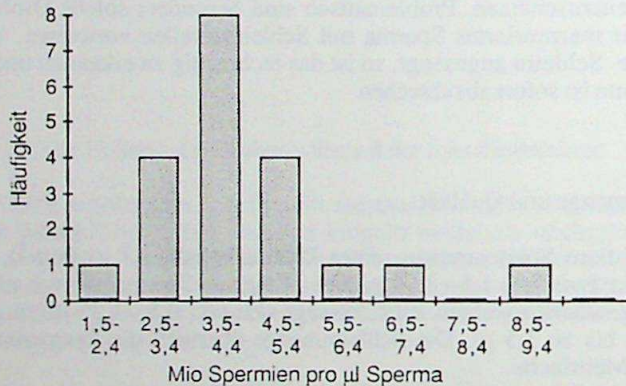


Abb. 33: Häufigkeitsverteilung der Spermienkonzentrationen einer Stichprobe von Drohnen (eingeteilt in Klassen)

Anmerkung: Auszählung mit Hilfe einer geeichten Objektträger-Zählkammer nach Fuchs-Rosenthal mit $0,0625 \text{ mm}^2$ -Quadraten, Verdünnung 1:10000).

Wie aus Abb. 33 zu ersehen ist, hatte ein Viertel der Drohnen eine Spermiedichte von weniger als 3,5 Mio. Das Ergebnis braucht nicht repräsentativ für andere Herkünfte zu sein, es weist jedoch deutlich darauf hin, daß die Spermiedichte keine feststehende Größe darstellt und daß die Werte wesentlich niedriger liegen können als in der Literatur angegeben (z.B. 7,5-9,4 Mio bei RUTTNER, 1975). Falls die Möglichkeit zur Überprüfung von Spermastichproben besteht, so sollte davon Gebrauch gemacht werden.

Aufziehen des Spermas

Die vorbereitete und auf einwandfreie Funktionsfähigkeit geprüfte Spritze wird in den Spritzenhalter des Besamungsgerätes eingespannt und das Blickfeld des Mikroskops auf die Spitzenmündung eingestellt (15 - 20fache Vergrößerung). Die Aufsteckplatte mit dem Halteröhrchen wird vorsichtig abgezogen, damit mehr Raum zur Verfügung steht (Beim Abziehen nicht am Halteröhrchen anfassen, sondern an der Aufsteckplatte!). Auf die Spritzenmündung ist auch der Lichtkegel der Beleuchtung ausgerichtet. Die Verdünnerrlösung der Spritze wird etwas zurückgezogen, damit in der Glaskapillare zwischen Verdünnerrlösung und dem aufzunehmenden Sperma ein kleiner Luftzwischenraum entsteht. Dieser kleine Luftblase von 2-4 mm ist im Gegensatz zu einer solchen, die sich im Spritzenzylinder bilden kann, erwünscht. Der Luftzwischenraum hat die Aufgabe, beide Medien zu trennen. Er soll aber nicht über 5 mm betragen, da er sich sonst wegen seiner federnden Wirkung nachteilig auf die Bewegbarkeit der Spermasäule auswirkt. (Unter Umständen ermöglicht diese Trennwirkung den Verzicht auf die Verdünnerrlösung und erlaubt notfalls das Füllen der Spritze mit sterilem Aqua dest. ohne jeglichen Zusatz. Das erfordert allerdings die Beherrschung der Spermaaufnahme, denn sonst kommt es unweigerlich zur Vermischung mit Wasser und zur Schädigung des Spermas).

Die Drohnen werden unmittelbar vor der Spermaentnahme in das Stülpglas gebracht, in dem zuvor die Zellstoffeinlage mit Chloroform beträufelt wurde. Als Glas dient ein Honig- oder Marmeladenglas. Sobald sich die Drohnen im Glas befinden, wird der Deckel aufgeschraubt und das Glas geschüttelt. Reife Drohnen fallen in einen Krampfzustand und stülpen nun ihr Begattungsorgan aus. Das Sperma wird danach wie beschrieben zwischen Daumen und Zeigefinger ausgedrückt. Mit dem Ausstülpen ist der sofortige Tod des Drohn verbunden, da lebenswichtige Nervenstränge bei der Ausstülpung abreißen. Das ist auch bei der natürlichen Begattung der Fall.

Da einige Drohnen im Glas abkoten, ist auf peinliche Sauberkeit zu achten (Gläser reinigen oder austauschen, neuen Zellstoff verwenden). Von KAZIDROGA (Konstanz) werden deshalb die Drohnen mit einer Metall - Haarklammer am Bruststück ergriffen und mittels Magnethaftung an der Unterseite des Stülpglases fixiert. Der Magnet befindet sich auf der Oberseite des Schraubdeckels. Die hygienischen Vorteile liegen auf der Hand.

Die erste Spermaportion muß bei der neu angefangenen Besamungskanüle so reichhaltig sein, damit ein guter Anfang gefunden wird. Das erste aufgezogene Sperma muß eine reichliche Portion sein, sonst vermischt sich nämlich das Sperma mit der Verdünnerrlösung und es läßt sich kein Luftzwischenraum zwischen Sperma und Verdünnerr in der Besamungskanüle herstellen. Schlank ausgezogene Besamungskanülen erweisen sich in dieser Beziehung als vorteilhaft. Beim Aufsaugen

wird die Spermaoberfläche mit der äußersten Spitze nur leicht berührt. Durch die Adhäsionswirkung nimmt die Kapillare das Sperma sofort an. Der Drohn muß während des Aufsaugens sogar etwas zurückgezogen werden. Die haltende Hand ist während der Arbeit unbedingt an das Besamungsgerät anzulehnen. Auch der Ellenbogen des rechten Armes wird auf der Tischplatte abgestützt. Reifes Sperma ist marmoriert und läßt sich mühelos mit der Spritze aufziehen. In Abb. 34 ist reifes und unreifes Sperma abgebildet.

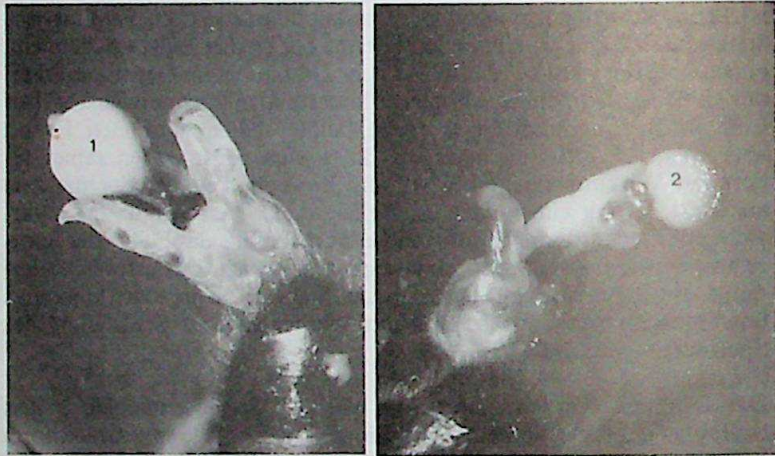
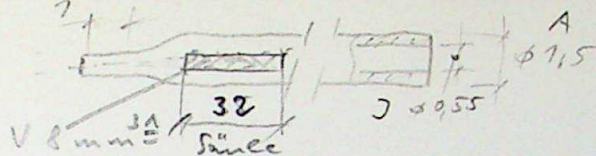


Abb. 34: Die Spermakugel

links: Unreifes Sperma ist einfarbig weiß, zäh und hat hohe Schleimanteile.
rechts: Reifes Sperma ist glasig/ gelblich marmoriert (wie wolzig) und läßt sich besonders gut aufziehen, wenn es in Gestalt einer kleinen Kugel austritt.

Falls zäher Schleim angesaugt wird, sollte dieser gleich wieder herausgedrückt werden. Das ist gar nicht so einfach. Wenn man den Schleim gleich wieder am Penis abstreifen möchte, so ist zu bedenken, daß nur "saubere" Bezirke berührt werden dürfen. Die beiden Hörnchen des Penis sind z.B. keinesfalls sauber, denn sie waren ja schon im Chloroformglas zur Ausstülpung gelangt und mit Schadkeimen in Berührung gekommen. Es wird am besten ein steriles Wattestäbchen benutzt. Handelt es sich um eine hartnäckige Verstopfung, so kann versucht werden, mit einem feuchten Wattestäbchen zu arbeiten (befeuchtet mittels Verdünnerspritze). Im ungünstigen Fall geht die gesamte bis zu dieser Zeit aufgenommene Menge verloren, weil der Pfropf mit der Kolbenspindel herausgepresst werden muß.

Insgesamt werden 8 µl (mm³) Sperma aufgezogen. Dieses Quantum



hat sich in der Praxis bei einmaliger Besamung als ausreichend erwiesen. Voraussetzung ist allerdings eine gute Spermiedichte (vgl. S. 72, Abb. 33). Höhere Dosen sind nicht angebracht, da die Menge zu groß wird und deshalb die Ausfälle bei den Königinnen zunehmen. In diesem Falle ist es besser, die Portion zu teilen und 2 x zu besamen. Wird so verfahren, entfällt die vor der Besamung durchzuführende Kohlen säurebegasung. Die 2malige Begasung wird dann mit der Besamung gekoppelt. Die Königin ist 5 - 7 Minuten im Halteröhrchen zu belassen, falls der Besamungsvorgang schon nach 2 - 3 Minuten abgeschlossen sein sollte.

8 µl entsprechen bei einer Glaskapillare von 1,5 mm im Außen- und etwa 0,8 mm im Innendurchmesser ca. 15 mm. Die erforderliche Strecke errechnet sich z.B. wie folgt:

Werden Glasröhrchen (Mikropipetten) mit Markierungen verwendet, so errechnet sich die notwendige Spermasäule ganz einfach, indem man das vorgegebene Volumen auf 8 oder 10 µl umrechnet (z.B. bei 50 µl - Pipetten mit 76 mm bis zum Strich ergibt sich die Rechnung $76 : 50 \times 8 = 12,2$ mm).

Man fertigt sich einen Pappstreifen dieser Breite an und hat damit immer das gewünschte Maß für die hochgezogene Spermasäule. Bei der Besamungsspritze mit Dosierkopf erübrigt sich die Abmessung der Dosis mittels Pappstreifen.

In eine Kanüle lassen sich bequem 2 Portionen aufziehen. Ist genügend Sperma aufgezogen worden, so kann danach besamt werden. Wenn nur ein Spritze zu Verfügung steht und mehrere Königinnen zur Besamung anstehen, so kann die mit Sperma gefüllte Besamungskanüle abmontiert und eine neue Kanüle befestigt werden.

Spermabehandlung u. Spermauntersuchung

In der Besamungspraxis wird in der Regel nur mit unverändertem Frischsperma gearbeitet. Der weiteren Behandlung sind enge Grenzen gesetzt, und es werden weitere apparative Einrichtungen notwendig, wenn das Bienensperma einer weitergehenden Bearbeitung unterzogen werden soll. Benötigt wird z.B. ein Labormikroskop zur Kontrolle des Spermas. Eine Phasenkontrasteinrichtung am Mikroskop ist hilfreich, weil damit eine bessere Beurteilung möglich ist. In der Regel wird eine Vergrößerung von 40, 100 und 400x gewählt. Werden Auszählungen von Spermien vorgenommen, so ist hierfür eine Zählkammer zu benutzen. Das Labormikroskop sowie die Zählkammer können für den Praktiker interessante Anschaffungen darstellen. Darüber hinausgehende Einrichtungen dürften ausschließlich Instituten mit geschultem Personal vorbehalten bleiben. Die nachfolgenden Ausführungen sollen nur eine Übersicht über vorhandene Möglichkeiten vermitteln.

Verdünnung

Die Spermamenge eines einzelnen Drohns könnte theoretisch mit über 10 Millionen Spermien vollkommen ausreichen, die Königin vollständig zu besamen. Eine ausreichende Füllung der Samenblase wird aber bekanntlich erst nach einer Paarung mit 8 - 10 Drohnen erreicht. Bei der instrumentellen Besamung rechnet man bei einer einmaligen Besamung mit ca. $8 \mu\text{l}$ (8 mm^3). Das ist das zehnfache des Samenblasenvolumens der Königin. Das meiste Sperma wird demnach nicht verwertet. Nur der 10. bis 20. Teil wird tatsächlich aufgenommen und gelangt in die Samenblase. Die vorhandene Flüssigkeitsmenge hat dabei eine untergeordnete Bedeutung, denn bei verdünntem Sperma bleibt der Anteil der verwertbaren Spermien prozentual etwa gleich. Das bedeutet, daß trotz Verdünnung dieselbe Spermamenge aufgewendet werden muß. Die Verdünnung macht sich darüber hinaus nachteilig bemerkbar, weil verdünntes Sperma zum Teil unmittelbar nach der Besamung aus der Vagina herausläuft und verlorengeht. Die Arbeit mit verdünntem Sperma kommt demzufolge nur für wissenschaftliche Versuche in Betracht. Ein geeigneter Verdünner für Bienensperma ist jedoch für die Funktion der Besamungsspritze notwendig, da diese mit Verdünnerlösung zu füllen ist.

In der Literatur wurde über verschiedene Verdünner berichtet. Als brauchbar erweisen sich die sogenannten Tris-Puffer, mit denen eine reversible bzw. umkehrbare Hemmung der Spermienbeweglichkeit zu erreichen ist. Von VERMA (1978) wurden verschiedene Rezepturen mitgeteilt. Verwendbar ist auch Kokosmilch mit einem Antibiotikazusatz. Die verträgliche Wirkung wurde auf die komplexe Zusammensetzung der Kokosmilch zurückgeführt.

In der Praxis wird nach wie vor mit unverdünntem Sperma gearbeitet. Der Verdünner dient sozusagen nur als Verpackung. Zwischen dem aufgezogenen Sperma und der Verdünnerlösung wird sogar ein Luftzwischenraum in der Besamungskanüle belassen, um eine Vermischung zu verhindern. Beim Anfänger kommt es aber doch meistens zum Kontakt zwischen Sperma und Verdünnerlösung, weshalb diese keine negative Wirkung auf das Bienensperma haben darf. Medien, die das Sperma schädigen oder die Spermien gar abtöten, sind nicht verwendbar.

Geeignet als Verdünnermischung ist nach RUTTNER (1975) die physiologische Salzlösung nach Hyes, die in der Apotheke zubereitet werden kann. Das Rezept: Natriumchlorid 9,0 g, Calciumchlorid 0,2 g, Kaliumchlorid 0,2 g, Natriumhydrogencarbonat 0,1 g, gelöst in 1 Liter steriles destilliertes Wasser. Der gewünschte pH-Wert von 8,5 wird mit Natron- oder Kalilauge mittels Indikatorstreifen für diesen Bereich eingestellt. Da keine organischen Bestandteile enthalten sind, ist eine mehrwöchige Haltbarkeit der angesetzten Lösung gewährleistet.

Nur in sterilem destilliertem Wasser aufzulösen in der jeweiligen angegebenen Erberverdünnungsmischung II von der Firma MERK & Co. die in Kapitel 2 bereits eingegangen wurde (vgl. Abschnitt "Füllen" der Spritze). Da nur relativ wenig von der angesetzten Lösung benötigt wird friert man kleinere Portionen in sterilen Plastikspritzen aus Nylon vorrätig ein.

Spermakonservierung

In der Samenblase werden die Spermien für die gesamte Lebensdauer der Königin bei einem pH-Wert von 9 gespeichert, in Ausnahmefällen bis zu 5 Jahren. Bei Ameisenköniginnen sollen Spermien sogar bis zu 15 Jahren befruchtungsfähig bleiben.

Die ersten Versuche zur Spermakonservierung wurden durch die Tatsache erschwert, daß Drohnensperma nach ca. 1 Stunde keine Bewegung der Spermien mehr erkennen läßt. Dies wurde anfänglich mit dem Absterben der Spermien verwechselt. Wie sich herausstellte, handelte es sich aber nur um ein Ruhestadium, die Spermien waren keinesfalls abgestorben. Spermien können nämlich unter Zimmertemperaturen durchaus mehrere Tage ohne Schaden aufbewahrt werden. Völlig unbedenklich ist es, das Drohnensperma bis zum nächsten oder übernächsten Tag in der Besamungsspritze zu belassen. Werden die Besamungskantilen einzeln aufbewahrt, so sind sie beidseitig mit Verdünnungslösung vor Austrocknung und Sonnenlicht zu schützen. Die Quetschdichtung bleibt auf den Besamungskanülen. Sie darf auch nicht zu weit aufgeschoben werden, weil sonst bei der Montage in der Kapillare eine Sogwirkung entstehen würde. Die Spritze bzw. die Kanülen dürfen mit den Fingern an den Enden nicht berührt werden. Sie werden locker in steriler Alufolie eingeschlagen. Da die Verdünnungslösung ebenfalls verdunstet, ist für höhere Luftfeuchtigkeit unter der Abdeckfolie zu sorgen (mit angefeuchtetem Tuch umwickeln).

Mit Antibiotikazusätzen (Streptomycin) zum Sperma sind Lagerungszeiten unter Zimmertemperaturen von mehreren Wochen praktikierbar.

Bei "sauberem" Sperma reichen Antibiotikazusätze für den Verdünnerverschluß. Wegen des hohen Arbeitsaufwandes und der Begleitumstände kommen diese Methoden nur für besondere Vorhaben in Betracht. Allgemein gültige Regeln sind diesbezüglich nicht anwendbar. Das gleiche gilt für die Konservierung durch Tiefgefrieren, was inzwischen ebenfalls durchführbar ist. Es zeigt sich dabei, daß es nicht möglich ist, die Konservierungstechnik von anderen Nutztierweigen einfach zu übernehmen und auf Bienensperma zu übertragen. Die Arbeiten stecken noch in den Anfängen.

Trotz der gemachten Einschränkungen läßt sich Bienensperma ohne weiteres bei Bedarf mit der Post verschicken. Die Verschickungstechnik entspricht der Lagerung von Bienensperma bei Raumtempera-

turen. Wenn die Besamungskanüle gleichzeitig Lagerungsgefäß ist, bieten sich hier interessante Möglichkeiten des Austausches von Zuchtmaterial, zumal die Versendung von lebenden Tieren immer problematisch ist. Die äußeren Enden der Glaskapillare werden in diesem Falle zusätzlich mit Paraffinöl oder Vaseline verschlossen und in steriler Alufolie umgewickelt und sorgfältig verpackt. Wenn an Luftfracht gedacht ist, so ist sicherzustellen, daß das Sperma keinen tiefen Temperaturen ausgesetzt wird.

Zentrifugation und Spermamischung

Auf der Suche nach einer geeigneten Methode, auf einfache und schnelle Weise große Mengen an Drohnensperma zu gewinnen, entwickelten KAFTANOGLU und PENG (1980) die sogenannte Waschmethode. Hierbei wird das Sperma vieler Drohnen über einem kleinen Auffangtrichter abgespült bzw. abgeschabt. Der Auffangtrichter wird mittels eines Siliconschlauchstückes mit dem Auffangglas verbunden. Die Sammlung des Spermas kann auch durch Absaugen mit der Wasserstrahlpumpe vorgenommen werden. Der Auffangtrichter ist für diesen Fall oben zu schließen und mit einem Sperma- sowie einem Luftabsaugstutzen zu versehen (Sonderanfertigung durch einen Glasbläser). Der Spermaabsaugstutzen hat die Länge von ca. 10 mm und einen Durchmesser von ca. 1,5 mm. Die Trennung der Bestandteile wird durch anschließende Zentrifugation des Auffangglases bei 2500 Umdrehungen pro Minute für 10 Minuten erzielt. Nach der Zentrifugation befindet sich der Schleim am Grund des Spermasammelglases (zugeschmolzene Mikropipette). Über dem Schleim setzt sich das Sperma ab, darüber steht die Verdünnungslösung. Wenn das Spermasammelglas an der Trennstelle Schleim-Sperma mit Hilfe eines Hartmetallmessers angeritzt, getrennt und mittels einer Schlauchmuffe an die Besamungsspritze montiert wird, können jeweils 12 Königinnen mit einer Portion von 100 µl Sperma hintereinander besamt werden. Die genannte Menge ist von 80 - 100 Drohnen realisierbar.

Die Zentrifugation von Bienensperma beeinträchtigt die Befruchtungsfähigkeit nicht, und es besteht die Möglichkeit, das Sperma verschiedener Drohnen in einem gewünschten Verhältnis homogen zu mischen. Das Mischen hat z.B. für spezielle Züchtungsprogramme praktische Bedeutung. Wie MORITZ (1984) zeigen konnte, eignet sich jedoch der Standard-Verdüner (Eberverdünnung II) für die Waschmethode weniger gut. Es wurde ein beträchtlicher Anteil drohnenbrütiger Königinnen beobachtet. Besser geeignet schien der Verdüner nach Hyes.

Kontrollen

Spezielle Labormethoden zur Qualitätsbestimmung von Bienensperma sind nicht verfügbar. Die Überprüfung des Spermas beschränkt sich

entweder auf die Feststellung der Beweglichkeit oder es werden Kontrollbesamungen durchgeführt, deren Ausgang Aufschlüsse über die Spermaqualität geben.

Dichtebestimmung mit der Zählkammer

Die Bestimmung der Spermienzahl erfolgt mit Hilfe der Zählkammer bei 400facher Vergrößerung unter einem Mikroskop mit Phasenkontrasteinrichtung. Durch die Phasenkontrasteinrichtung können Strukturen, die bei der normalen Hellfeld-Durchlicht-Mikroskopie nicht oder nur wenig Kontraste zeigen, verdeutlicht werden.

Als Zählkammer ist eine Objektträger-Zählkammer nach Fuchs-Rosenthal geeignet. Das Raster dieser Zählkammer ist in Quadrate eingeteilt. Jeweils 16 kleine Quadrate mit einer Einzelfläche von 0,0625 mm² bilden ein Gruppenquadrat. Die Spermienzahl errechnet sich wie folgt:

$$\text{Spermien}/\mu\text{l} = \frac{\text{Gesamtzahl ausgezählter Spermien}}{\text{ausgezählte Fläche} \times \text{Kammerhöhe} \times \text{Verdünnungsgrad}}$$

Für die Untersuchung wird z.B. eine handelsübliche 2- μl -Mikropipette mit Hilfe eines Siliconschlauchstückes an der Besamungsspritze befestigt. Auf der Mikropipette läßt sich mit einem feinem Folienschreiber ein Eichstrich bei 8 mm (0,5 μl) anbringen und das Sperma der einzelnen Drohnen nach der üblichen Methode bis zu dieser Markierung aufziehen. Danach wird das Sperma in ein Dappenglas gebracht (oder Eierbecher mit spitzem Grund) und mit 49,5 μl Spermaverdünner sorgfältig gemischt, was eine Verdünnung von 1 : 100 ergibt. Davon werden 10 μl entnommen und nochmals mit 90 μl Verdünner gemischt, davon wieder 10 und wiederum mit 90 μl verdünnen. Das ergibt ein Verdünnungsverhältnis von 1 : 10 000. Zur Abmessung werden 50 μl -Mikropipetten mit entsprechend angebrachten Markierungen benutzt, aus denen auch die Besamungsspitzen gefertigt werden. Um eine hinreichende Zählgenauigkeit zu erzielen, sollten 30 kleine Felder aus der Gesamtfläche ausgezählt und davon der Durchschnitt gebildet werden. In Abb. 35 ist eine Zählkammer abgebildet. Abb. 36 zeigt ein Spermium im Raster der Zählkammer.

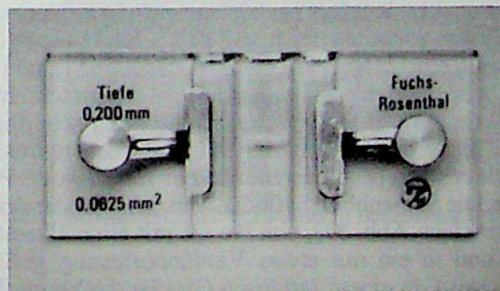


Abb. 35: Zählkammer nach Fuchs - Rosenthal

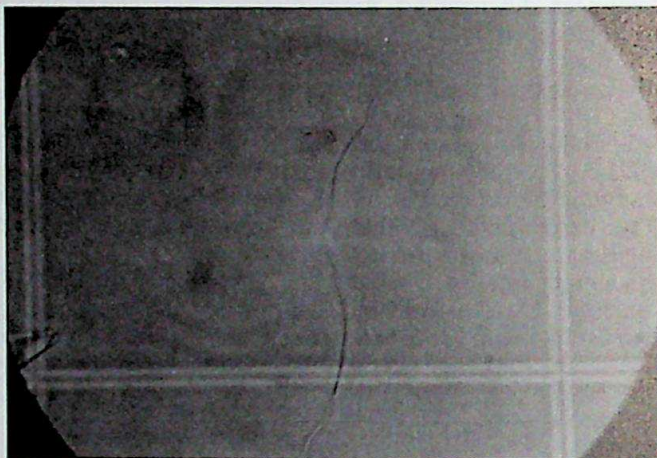


Abb. 36: Spermium im Raster der Zählkammer
(Verdünnung 1 : 5000, 400fache Vergrößerung)

Dichtebestimmung in der Samenblase

Die Auszählung der in die Samenblase eingewanderten Spermien bietet die Möglichkeit, abgängige Königinnen zu untersuchen wie auch die eigene Arbeit zu kontrollieren. Die Herauspräparierung der Samenblase und die Auszählung der darin befindlichen Spermien ist keinesfalls schwierig. Zur Vorbereitung wird flüssiges Wachs in ein Petrischälchen gefüllt, auf das der Hinterleib mit Stecknadeln festgeheftet werden kann (Wachsschicht ca. 1 cm hoch). Für eine rutschfeste Unterlage ist zu sorgen. Das Herauspräparieren wird unter dem Stereomikroskop bei 8 - 10facher Vergrößerung vorgenommen und wie folgt ausgeführt: Nach dem Abtrennen von Kopf, Flügeln und Beinen wird der Hinterleib mit dem Rücken nach oben auf dem Wachs fixiert. Eine Stecknadel wird zwischen der 1. und 2. Rückenschuppe (vom Kopf an gerechnet) und eine 2. Nadel in die letzte Schuppe (letzte Bauchschuppe) eingestochen und das Abdomen auf der Wachsschicht festgeheftet. Auf der linken Seite ist ein Längsschnitt mit einer scharfen Schere über die 3.-5. Rückenschuppe anzubringen und die untere linke Körperhälfte ist mit einer Pinzette niederzudrücken. Eine zweite Pinzette öffnet den Schnitt. Die Samenblase befindet sich in Höhe der drittletzten Rückenschuppe (siehe Abb. 37), von wo sie mit einer Pinzette von hinten her erfaßt und in ein mit etwas Verdünnungslösung gefülltes farbiges Glas gelegt wird. In einem farblosen Glas ist die kleine Blase nicht so gut zu erkennen. Der Arbeitsabschnitt der Präparation nimmt nach ei-

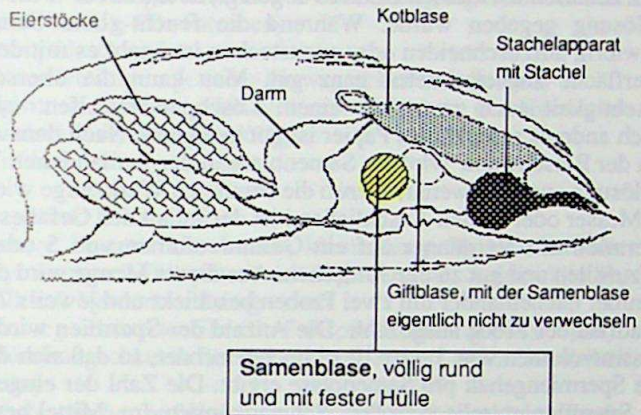


Abb. 37: Anatomische Lage der Samenblase bei der Königin
- vereinfachte Darstellung des Hinterleibes -



Abb. 38: Samenblase der Königin herauspräpariert

ner gewissen Übung nur noch 1 - 1,5 Minuten pro Königin in Anspruch.

Die entnommene Samenblase wird an den Innenrand eines nach unten spitz zulaufenden kleinen Gefäßes abgelegt, in das zuvor 1 ml Verdünnungslösung gegeben wurde. Während die feucht-glatte Samenblase schwierig aufzuschneiden oder anzustechen ist, geht es mit der an der Oberfläche angetrockneten ganz gut. Man kann die überschüssige Feuchtigkeit auch zuvor mit einem Löschpapierstreifen absaugen (auch anderes saugfähiges Papier ist gut geeignet). Nach dem Auftrennen der Blasenwand wird die Samenblase in der vorhandenen Verdünnungslösung ausgeschwenkt, ebenso die benutzten Werkzeuge wie Pinzette, Messer oder Nadel. Anschließend ist der Inhalt des Gefäßes mit den Spermien mit Verdünnung auf ein Gesamtvolumen von 5 oder 10 ml aufzufüllen und gut zu durchmischen. Aus dieser Menge wird die Zählkammer nacheinander mit zwei Proben beschickt und jeweils 25 kleine Quadrate der Probe ausgezählt. Die Anzahl der Spermien wird auf das Gesamtvolumen von 5 oder 10 μ l hochgerechnet, so daß sich der absolute Spermiengehalt pro Samenblase ergibt. Die Zahl der eingewanderten Spermien unterliegt großen Schwankungen. Im Mittel beträgt sie 4-5 Mio. Diese Werte sind auch mit Hilfe der instrumentellen Besamung zu erzielen.

6. Besamung

Vorbereitungen

Die Einführung der Besamungsspitze in die Geschlechtswege der Königin und die Einspritzung des Samens stellt den Höhepunkt der ganzen Bemühungen dar. Spätestens an diesem Punkt zeigt sich, ob man die Sache im Griff hat. Bisher galt dies als der schwierigste Abschnitt, und man sollte demjenigen Respekt, der die Technik mühelos beherrscht. Ist man aber richtig vorbereitet und steht das richtige Instrumentarium zur Verfügung, so ist plötzlich alles ganz einfach. Wenn es soweit ist, darf aber nichts mehr fehlen. Am besten ist, wenn man sich eine regelrechte Checkliste anfertigt. In der Tab. 3 ist eine solche Liste zusammengestellt worden.

Tab. 3: Checkliste für die instrumentelle Besamung
Gerätschaften und Nebengeräte

- 1) Besamungsgerät funktionsfähig und richtig eingestellt
- 2) Besamungsspritze (mit Ersatzkolben und Zylinder sowie Besamungskanülen mit Quetschdichtung - steril)
- 3) Stereomikroskop in Ordnung (Vergrößerung 15-20 x)
- 4) Lichtleitergerät anschlussbereit

Fortsetzung der Tab. 3: Checkliste für die instrumentelle Besamung

- 5) Kohlensäureanlage komplett und funktionsfähig (mit Einstellglas für das Regelventil bzw. Tischbefestigung für die nachfüllbare Flasche, CO₂-Patronen)
- 6) Dampfdrucktopf
- 7) Wasserstrahlpumpe (oder Einwegspritze zum Spülen)
- 8) Spiritusflamme zum Abflammen von Pinzette und Handsonde
- 9) Brutschrank, Warmfluggäßig
- 10) Luftbefeuchtungsanlage

Werkzeuge und Hilfsmittel

- 11) Schere, Pinzette, Handsonde, kleine Zange für Häkchenhalter
- 12) Nylonspritze (Füllspritze) mit abgestumpfter Stahlkanüle, gefüllt mit Verdünnerlösung - steril
- 13) Einweg - Bakterienfilter für Füllspritze (Porengröße 0,2 µm)
- 14) Mundsaugschlauch für Besamungskanülen (oder Gummibällchen)
- 15) Wattestäbchen auf Holzkern (Zahnstocher) oder kleine Tupfer in abgedecktem Gefäß - steril
- 16) Zellstofftücher (Kleenex) für Handreinigung und Drohnenausstülpung,
- 17) Glas zur Drohnenausstülpung
- 18) Aluminiumfolie (Haushaltsfolie)
- 19) Petrischälchen für Besamungskanülenbad mit Tickopur
- 20) Putzdraht für Besamungskanülen
- 21) Schnappdeckelgläschen (in Verbindung mit Wasserstrahlpumpe)
- 22) Pappschablone zum Einstellen des Königinnenhalters

Chemikalien

- 23) Verdünnerlösung
- 24) Alkohol 70%ig (Isopropylalkohol)
- 25) 100 ml Chloroform in Tropfflasche
- 26) 100 ml Aceton oder Äther
- 27) Spiritus
- 28) Reinigungslösung Tickopur
- 29) Siliconfett für Spritze

Ersatzteile

- 30) Ersatzhäkchen (insbesondere Dorsalhäkchen)
- 32) Ersatzbirne für Lampe
- 33) Ersatzsicherung für Lampe

Es wurde bewußt ein großes Sortiment aufgeführt. Nicht alle in der Checkliste aufgeführten Sachen sind deshalb unbedingt notwendig. Um

dem Anfänger eine Hilfe zu geben, seien die einzelnen Punkte erläutert:

- zu 1 Besamungskanüle zielt in den Königinnenhalter. Es ist darauf zu achten, daß der Königinnenhalter dicht ist (feststellen durch Hineinblasen). Notfalls wird die Fläche der Aufsteckplatte mit Vaseline oder Siliconfett leicht eingerieben. Es ist zu berücksichtigen, daß das Halteröhrchen mit der Königin höher steht. Die Winkeleinstellung des Königinnenhalters beträgt 66-72° C.
- zu 2 Vorbereitet wie im Kap. 2 beschrieben
- zu 3 Vorbereitet wie in Kap. 2 beschrieben. Vorteilhaft ist, wenn eine Optik zur Verfügung steht, die ein übersichtliches Bild liefert. Die Blickrichtung muß immer senkrecht auf das Besamungsgerät fallen. Das Blickfeld soll nicht kleiner als 10 mm sein. Ausschnittvergrößerungen durch Objektivwechsel bringen deshalb keine Vorteile, denn das Blickfeld wird bei stärkerer Vergrößerung wesentlich eingeengt.
- zu 4 Der Lichtleiter wird in Spritzenrichtung so nahe wie möglich an den Königinnenhalter gebracht.
- zu 5 Funktionsprüfung, Reservepatronen stehen bereit
- zu 6 Ein Dampfdrucktopf ist sehr empfehlenswert, auf ihn sollte nicht verzichtet werden.
- zu 7 Die Wasserstrahlpumpe ist zur Reinigung der Besamungskanülen sehr nützlich, wenn ein Waschbecken mit fließendem Wasser und ausreichendem Wasserdruck zur Verfügung steht. Bei wenigen Kanülen reicht eine Spritze zum Durchspülen aus.
- zu 8 Die Spiritusflamme wird zum Abflammen von Pinzette und Handsonde benutzt. Letzere nimmt man bei modernem Gerät nur noch zum Aufspreizen der Stachelkammer. Arbeitet der Besamer mit sterilen Wattestäbchen und benutzt keine Pinzette zum Ergreifen steriler Tupfer, so ist eine Spiritusflamme nicht mehr erforderlich.
- zu 9 Ein kleiner Brutschrank ist sehr empfehlenswert. Er wird unter anderem zur Warmhaltung der Drohnen und zur Aufbewahrung der Königinnen benutzt. Viele Besamer arbeiten sogar mit zwei Brutschränken bzw. -boxen.
- zu 10 Ist ein Luftbefeuchter verfügbar, so sollte ihn der Anfänger in Betrieb setzen, denn bei trockener Luft (bei Zentralheizungen oft weniger als 40% rel. Feuchte) verlieren die Schleimhäute der Königin sehr schnell ihre Geschmeidigkeit, und das Sperma trocknet in der Besamungsspritze im Handumdrehen an. Die mit Sperma gefüllte Besamungsspritze ist selbst bei kleinen Arbeitspausen stets mit etwas Verdünnungslösung zu verschließen.
- zu 11 Unverzichtbar ist entweder eine Handsonde zum Öffnen der Stachelkammer oder eine spitze Pinzette (ebenso zum Öffnen der

- Stachelkammer sowie zur Entnahme der sterilen Tupfer aus dem abgedeckten Petrischälchen. Eine gebogene Pinzette läßt sich gut unter den Deckel des Schälchens schieben; bei dieser Arbeitsweise ist eine Spiritusflamme notwendig. - vgl. Punkt 8).
- zu 12 Vorbereitet wie im Kap. 2 beschrieben.
 - zu 13 Sehr zu empfehlen, da geringe Kosten und hohe Sicherheit. Der Filter wird auf die Füllspritze aufgesetzt und kann 1 - 2 Tage lang benutzt werden (Aufbewahrung im Kühlschrank).
 - zu 14 Zur Reinigung von Besamungskanülen. Der Saugschlauch wird in den Mund genommen, um auf bequeme Art Reinigungslösung anzusaugen und Luftblasen zu entfernen. Danach kommen die Kanülen ins Reinigungsbad.
 - zu 15 Mit Wattestäbchen ist sehr gut zu arbeiten, wenn sie dünn ausgedreht werden (max. 3 - 4 mm Ø). Sie werden für vielfältige Reinigungszwecke eingesetzt. Wenn die Wattestäbchen mit etwas Verdünnungslösung aus der Füllspritze benetzt werden, so lassen sich Besamungskanülen sehr gut damit reinigen (ebenso die Häkchen usw.). Für sterile Aufgaben werden sie nur 1 x benutzt!
 - zu 16 Auf Zellstofftücher kann praktisch nicht verzichtet werden. Für den Haushaltsbedarf gibt es auch Material in Rollen.
 - zu 17 Hierfür kommen Honig- oder Marmeladengläser in Betracht.
 - zu 18 Alufolie wird zum Einschlagen von Sterilgut für den Dampfkochtopf verwendet.
 - zu 19 Petrischälchen mit Deckel werden in den Labors vielseitig benutzt. Gegebenenfalls lassen sich auch andere Glasbehältnisse verwenden.
 - zu 20 Mit Hilfe des Putzdrahtes sind grob verschmutzte und verstopfte Besamungskanülen wieder brauchbar zu machen. Der Draht darf jedoch nicht von der Spitze her eingeschoben werden! Im Spitzenbereich darf nur unter Mikroskopbeobachtung gearbeitet werden, da die dünne Glaswand sehr empfindlich ist.
 - zu 21 Bei Schnappdeckelgläschen handelt es sich um Massenware, die in Labors benutzt werden. Es gibt verschiedene Größen. Die Größen 5 ml eignen sich für die Benutzung der Wasserstrahlpumpe gut (zum Füllen mit Reinigungslösung, Alkohol und Azeton). Ein Schnapsgläschen erfüllt den gleichen Zweck.
 - zu 22 Die Winkeleinstellung mit der Schablone gibt die Gewähr, daß immer mit derselben Einstellung gearbeitet wird.
 - zu 23 Zubereitet wie beschrieben.
 - zu 24 Notwendig für Desinfektions- und Reinigungsaufgaben. Kunststoffteile des Königinnenhalters dürfen nicht damit in Berührung kommen. Der technische Isopropylalkohol ist billiger.
 - zu 25 Notwendig für die Behandlung der Drohnen zwecks Ausstülpung

- zu 26 Verwendet beim letzten Arbeitsgang der Besamungskanülenreinigung mit Hilfe der Wasserstrahlpumpe.
- zu 27 Für den Spiritusbrenner.
- zu 28 Empfohlen wird Tickopur. Im Handel gibt es eine Reihe von Produkten. Auf Desinfektionswirkung und Kunststoffverträglichkeit ist zu achten.
- zu 29 Mit dem hitzebeständigen (farblosen) Siliconfett wird die Gleitfähigkeit des Kolbens der Besamungsspritze sichergestellt. Es ist vor der Behandlung im Dampfkochtopf dünn aufzutragen.
- zu 30 Während das Ventralhäkchen (befindet sich links vom Besamer betrachtet) recht unempfindlich ist, ist das Dorsalhäkchen (befindet sich im rechten Halter) wesentlich empfindlicher und kann nach mehrmaligem Richten brechen. Ein Ersatzhäkchen ist daher sehr zu empfehlen.
- zu 32 Halogen-Kaltspiegel-Birnen haben als Hochleistungslampen nur eine begrenzte Lebensdauer. Eine Ersatzbirne sollte bereitstehen.
- zu 33 Der Ausfall einer Sicherung kann immer vorkommen. An der Rückwand des Steuergerätes befindet sich eine Schutzkappe, die mit dem Fingemagel geöffnet werden kann. Hier befindet sich die Aufnahme für eine Ersatzsicherung. Sollte keine Ersatzsicherung vorhanden sein, so ist der Einsatz einer solchen zu empfehlen.

Kohlensäurebehandlung

Zur Vorbereitung gehört die laut Arbeitsplan vorzunehmende zusätzliche 5 - 7minütige Begasung mit Kohlensäuregas, die bei einmaliger Besamung am besten am Vortage ausgeführt wird. Die zusätzliche Begasung verfolgt den Zweck, eine Stimulierung der Eierstöcke zu bewirken. Die einmalige Narkose während der Besamung reicht zur Stimulierung nicht aus. Bei Teilung der Spermadosis und doppelter Besamung ist der Besamungsvorgang mit der Kohlensäurebehandlung praktischerweise verbunden und es entfällt die gesonderte Behandlung. Die zusätzliche Begasung kann übrigens auch 1 - 2 Tage nach der Besamung vorgenommen werden. Die Begasung läßt sich gut in einer durchsichtigen Plastiktüte ausführen, wobei gleich mehrere Königinnen samt ihrer Zusetzkäfige eingebracht werden. Der hineingeführte Gasschlauch wird von der Tüte nicht fest umschlungen, damit auch Luft hineingelangen kann. Da Kohlensäuregas schwerer als Luft ist, reicht eine gedrosselte Gaszufuhr aus und der Verbrauch hält sich in Grenzen. Während der Prozedur sind die Königinnen zu beobachten. Die Arbeit darf nicht unter direktem Sonnenlicht ausgeführt werden, da es sehr schnell zu einem Wärmestau und damit zu Verlusten kommt.

Nach Möglichkeit wird man alle Arbeiten an der Königin zweck-

mäßigerweise vor der Besamung vornehmen, denn jedes Anfassen der Königin ist immer mit einem gewissen Risiko behaftet. Das gilt auch für das Zeichnen der Königinnen. Das Königinnenhalteröhrchen am Besamungsgerät ist so bemessen, daß das Zeichnungsplättchen nicht hinderlich ist. Die Besamung ist ein aufwendiger und teurer Prozeß und jeder Verlust danach sollte so weit wie möglich von vornherein ausgeschlossen werden.

Aufspannen der Königin

Das Aufspannen der Königin im Besamungsgerät ist ein ganz wichtiger Arbeitsabschnitt. Befindet sich die Königin in einer ungünstigen Position, so wird die Besamung erschwert oder unmöglich. Es ist zweckmäßig, die Arbeit nicht gleich mit Zuchtköniginnen zu beginnen, sondern erst einmal an weniger wertvollem Material zu üben.

Die einzelnen Arbeitsabschnitte sollen erläutert werden:

Einfangen

Die in der Regel am Vortage bereits mit Kohlendioxidgas behandelte und gekäfigte Königin gibt man in den Flugkäfig. Auch das Fliegen gegen die Fensterscheibe wird praktiziert, wobei es sehr stören kann, wenn die Königinnen hinter Gardinenleisten, Lampen usw. gelangen oder zu Boden gehen. Führt die Königin pumpende Bewegungen mit dem Hinterleib aus und unterstützt diese mit den Hinterbeinen, so ist damit zu rechnen, daß sie abkottet. Das ist vorteilhaft, weil sie danach entspannt ist und Kot eine Infektionsgefahr darstellt. Wenn genügend Zeit zur Verfügung steht, sollte man hierfür einige Minuten Geduld aufbringen. Die Königin wird genau beobachtet. Nur gesund erscheinende Tiere werden der Besamung zugeführt.

Kommen die Königinnen mit ihren Begleitbienen direkt aus dem Brutschrank, so wird das ganze Kästchen in einer Tüte mit Kohlendioxidgas behandelt und die Königin herausgelesen. Sie kann direkt in das Halteröhrchen gesteckt werden.

Königin ins Haltröhrchen

Nach der üblichen Methode wird die Königin lebend eingefangen. Sie wird zunächst in das zur Apparatur mitgelieferte Einlaufröhrchen dirigiert. Man drückt die Königin am besten in Brusthöhe mit Daumen und Zeigefinger vorsichtig gegen die Unterlage (Scheibe, Wand des Flugkäfigs etc.) und hält das Einlaufröhrchen direkt vor den Kopf. Am anderen Ende des Einlaufröhrchens befindet sich nur eine kleine Öffnung, durch die die Königin nicht hindurch kann. Sie kriecht deshalb auf jeden Fall zurück, mit ihrem Hinterteil voran in das bereitge-

haltene Halteröhrchen des Königinnenhalters, das man jetzt direkt vorhält. Will sie nicht so recht, so pustet man einfach in das Einlauföhrchen. Das Halteröhrchen ist das Röhrchen, mit dem die so gefangene Königin auf den Königinnenblock des Besamungsgerätes gesteckt wird. Damit die Königin auch tief genug in das Röhrchen gelangt, muß oft nachgeholfen werden, indem man einfach hineinbläst (auf die gleiche Art pustet man sie übrigens nach erfolgter Besamung in die hohle Hand umgekehrt wieder heraus). Bei sehr kleinen Königinnen kann es passieren, daß sie zurückrutschen oder gar rückwärts aus dem Röhrchen schlüpfen. Solche Königinnen sollten eigentlich nicht zur Zucht gelangen.

Das Halteröhrchen mit der Königin wird sogleich auf die Aufsteckplatte des Königinnenhalters gesteckt. Dabei kann das Röhrchen auch noch etwas nach unten geschoben werden, so daß die Königin mit dem Kopf bzw. den Fühlern anstößt und sich selbst in die richtige Position mit ihrem Hinterteil hocharbeitet. Hierbei ist selbstverständlich sehr behutsam vorzugehen. Die Rückenlinie der Königin befindet sich vom Besamer aus betrachtet rechts.

Narkose

Nachdem sich die Königin am Gerät befindet, wird die Kohlensäureanlage in Betrieb gesetzt. Die Königin wird mit Kohlensäuregas betäubt, das zur besseren Kontrolle zuvor durch eine Wasserflasche geleitet wird. Die durch das Wasser perlenden Blasen sollen nicht zu stark sprudeln. Der Gasstrom muß aber kräftig genug sein, damit die Königin ruhig gestellt wird. Anfänglich bewegt sie noch stark den Hinterleib, wird dann aber zusehends ruhiger.

Die letzten drei Bauchringe sollen aus dem Halteröhrchen herausragen. Die Königin darf aber auch etwas niedriger oder höher sitzen. Es macht nichts aus, wenn einmal die Hinterbeine aus dem Röhrchen herausragen sollten.

Häkchen setzen

Mit dem links am Besamungsgerät befindlichen Ventralhäkchen (greift von der Bauchseite der Königin) wird begonnen. Zunächst wird das Häkchen ohne Mikroskopkontrolle an die Königin herangeführt. Das Ventralhäkchen läßt sich meistens ohne Schwierigkeiten gut von oben hinter die letzte Bauchschuppe ganz am Ende des Hinterleibes einhaken, zumal diese Bauchschuppe an ihrem äußersten Ende eine Einkerbung aufweist, so daß man hier schon eine kleine Öffnung vorfindet. Manchmal spreizt die narkotisierte Königin auch von selbst die Stachelkammer.

Sitzt das linke Häkchen, das nur leicht oder gar nicht anzuziehen ist, so wird von der rechten Hand das löffelartige Stachelhäkchen (Dorsalhäk-

chen) bedient und damit die Stachelkammer gespreizt, d.h. ihr Hinterteil am Ende offen gehalten. Um dieses rechte Häkchen bequemer einsetzen zu können, schiebt man am besten die letzte Rückenschuppe am Ende mittels der Handsonde, der Pinzettenspitze oder eines anderen spitzen Gegenstandes mit der linken Hand und von der linken Seite kommend etwas auf. Bei diesem Arbeitsabschnitt ist Konzentration notwendig. Es kann dabei nämlich leicht passieren, daß unbeabsichtigt das linke Häkchen bewegt wird und die bereits geöffnete Stachelkammer wieder zuklappt und der ganze Vorgang zu wiederholen ist. Sitzen jedoch beide Häkchen und die Stachelkammer ist gespreizt, so ist unter dem Stereomikroskop deutlich zu sehen, daß der rechts im Blickfeld liegende Stachel der Königin aus einer kräftigen Gabelung hervorgeht. Der schmale Halsteil des Stachelhäkchens muß sich nun in diese Gabelung des Stachelapparates einpassen. Das gibt dem Häkchen einen guten Halt.

Die Stachelkammer wird somit mehr mit dem rechten Häkchen auseinandergezogen, weniger mit dem linken. Die Spitze der Besamungskanüle wird dann später nicht an das rechte Häkchen anstoßen.

Am Anfang ist es nicht immer zu vermeiden, daß das linke Häkchen während der Arbeit wieder herausrutscht. Auch das rechte Häkchen verliert häufig seinen festen Sitz. Hat es nicht die richtige Form, so bestehen überhaupt Schwierigkeiten, daß es sich gut einpaßt. Die Neigung des Königinnenhalters ist hierbei auch von Einfluß. Bei einem steilen Neigungswinkel von beispielsweise 70° darf das rechte Dorsalhäkchen am Löffel stärker angewinkelt werden. Hierdurch ergibt sich ein besserer Halt! Ist das Halteröhrchen nur etwa 60° geneigt - nach älterer Empfehlung -, so darf es nur wenig nach unten abgewinkelt sein. Die Folge davon ist, daß der Löffel allzuleicht zu tief in die Stachelkammer gedrückt wird. Das ist auf jeden Fall zu vermeiden. Das rechte Häkchen soll ebenfalls eine "ziehende" Wirkung ausüben. Der Anfänger muß auf jeden Fall vermeiden, mit dem Dorsalhäkchen einen Druck auf den Stachelkammergrund auszuüben. Das wirkt sich nämlich bis zur Vagina hin aus, die hierdurch praktisch zugeschoben wird. Damit während der Arbeit die Häkchen nicht bei der geringsten Berührung der Häkchenhalter aus ihrer Lage gebracht werden, dürfen die Lagerkugeln am Gerät nicht zu locker eingestellt werden. Das Gewebe der Königin ist übrigens sehr elastisch und wird nicht so schnell verletzt. Man muß die Häkchen nach dem Verrutschen wieder neu setzen, wobei darauf zu achten ist, daß sich die Königin immer in völliger Symmetrie befindet. Rücken- und Bauchseite liegen exakt auf der gedachten Verbindungslinie zwischen beiden Kugelführungen der Häkchenhalter.

Korrekturen

Sollte die Königin während der Manipulation einmal zurückschlüpfen

und nun zu tief im Halteröhrchen sitzen, so nimmt man die Hähchen wieder heraus und zieht das Halteröhrchen mitsamt der Aufsteckplatte vom Königinnenhalter ab. Nun wird das Halteröhrchen mit der darin befindlichen Königin in den Mund genommen und die Königin in die richtige Position einfach "hochgeblasen". Das Halteröhrchen wird in die richtige Stellung gedreht. Die Rückenseite befindet sich wie bereits erwähnt rechts. Die Prozedur des Hähcheneinsetzens beginnt von neuem. Sitzen beide Hähchen richtig, so bietet sich unter Mikroskopbeobachtung ein Bild völliger Symmetrie. Sollte das nicht der Fall sein, so muß das Halteröhrchen gegebenenfalls wieder etwas gedreht und die Stellung der Hähchen möglicherweise etwas verändert werden. An der Grundeinstellung braucht in der Regel nichts mehr verstellt zu werden.

Die Ausführungen bezüglich der Königinnenaufspannung, als wesentliche Voraussetzung zur erfolgreichen Besamung, wurden bewußt ausführlich gehalten. Wenn man weiß, wie es gemacht wird, sind es nur einige Handgriffe. Diese müssen aber stimmen. Damit der Leser das Gesagte leichter nachvollziehen kann, wird das Einsetzen der Hähchen und das Aufspannen der Königin in Form einer kurzen Zusammenfassung nochmals wiederholt und zur besseren Anschaulichkeit anhand einer Zeichnung verdeutlicht (Abb. 39).

Aufspannen zusammengefaßt

Wir fassen zusammen:

- 1) Königin ins Einlauföhrchen dirigieren.
- 2) Königin ins Halteröhrchen laufen lassen.
- 3) Halteröhrchen mit der Königin auf die Aufsteckplatte schieben und so drehen, daß die Rückenseite rechts liegt. Aufsteckplatte an den Königinnenhalter ansetzen.
- 4) Kohlendioxidgas einströmen lassen.
- 5) Linkes Hähchen setzen.
- 6) Rechtes Hähchen setzen. Von linker Hand wird vorher die Stachelkammer schon etwas aufgeschoben.
- 7) Hähchen so setzen, daß die Scheidenregion für die Besamung zugänglich ist.

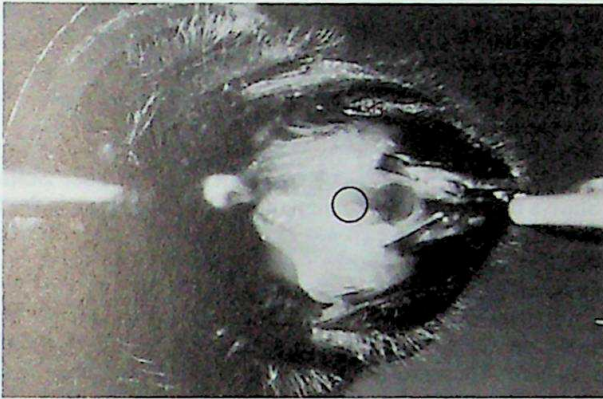


Abb. 39: Aufgespannte Königin von oben betrachtet

Blick in die Stachelkammer

Die geöffnete Stachelkammer bietet dem Betrachter in natura ein Bild runzlicher Haut mit mehreren Hauteinfaltungen und Vertiefungen. Der unvorbereitete Betrachter kann mitunter die Geschlechtsöffnung nur erraten. Erschwerend wirkt, daß die Tiefenschärfe des Mikroskops nicht ausreicht, die gespreizte Stachelkammer von oben bis unten scharf abzubilden. Es muß also am Stellknopf nachgeregelt werden. Die Geschlechtsöffnung liegt genau auf der schon erwähnten Verbindungslinie zwischen beiden Haken und ist besser zu erkennen, wenn die Haut gestrafft ist und der Königinnenhalter nicht zu stark geneigt ist. Bei gestraffter Haut entstehen zwei deutliche Hautfalten auf dem Grund der Stachelkammer. Sie bilden ein Dreieck, dessen Spitze nach links gerichtet ist. In Abb. 39 ist das durch den Zug der Haken entstandene Faltendreieck deutlich eingezeichnet.

Bei symmetrischer Lage kann die Geschlechtsöffnung, die in der Mitte des Dreiecks liegt, eigentlich nicht mit Hauteinfaltungen verwechselt werden. Solche befinden sich z.B. in gewissem Abstand beidseitig ober- und unterhalb links von der Geschlechtsöffnung. Bei der Geschlechtsöffnung handelt es sich nämlich nicht um eine klar abgegrenzte Öffnung, sondern ebenso um eine faltige Einmündung. Je nach Aufspannung der Königin kann sie ein unterschiedliches Aussehen haben. Ist die Geschlechtsöffnung als solche für den Betrachter nicht deutlich erkennbar und bestehen Zweifel, so tastet man am besten den in Frage kommenden Bezirk mit der Besamungskanüle vorsichtig ab. Die Öff-

nung ist dann unschwer auszumachen und eindeutig zu identifizieren. Es kann nun das Problem entstehen, daß die Geschlechtsöffnung zu weit rechts liegt, so daß die Spitzenmündung zu dicht an das Stachelhäkchen zu liegen kommt. Dies kann daran liegen, daß zu wenig gesperrt wurde oder das Stachelhäkchen kein Original-Häkchen ist, nicht die passende Form hat und dabei viel zu viel Haut unter sich wegzieht. In diesem Fall ist es flacher anzusetzen bzw. etwas aufzubiegen. Auf den Zusammenhang mit der Neigung des Königinnenhalters wurde schon hingewiesen. Wenn die Besamungsspitze nicht mehr die richtige Winkelstellung haben sollte, so ist der Königinnenhalter in der Schlitzführung des Stativs nach rechts zu verschieben. Die Häkchen sind während solcher Einstellarbeiten natürlich aus der Stachelkammer herauszunehmen. Wenn die Grundeinstellung stimmt, so wird später am Gerät nichts mehr verstellt.

Die Abb. 40 demonstriert den Gebrauch der Handsonde bei veralteter Methode. In Abb. 41 ist die eingespannte Königin von der Seite zu sehen. In Abb. 42 ist die Geschlechtsöffnung vergrößert abgebildet. Sie ist in dieser Zeichnung besonders hervorgehoben. Wie aus dem vergrößerten Ausschnitt hervorgeht, dürften bei symmetrischer Aufspannung Verwechslungen mit Hautfaltenvertiefungen nicht vorkommen.



Abb. 40: Die Handhabung der Handsonde

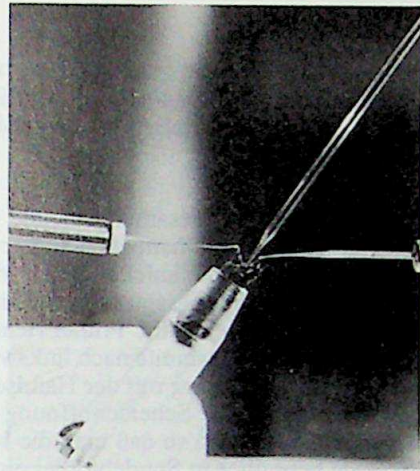


Abb. 41: Aufgespannte Königin von der Seite

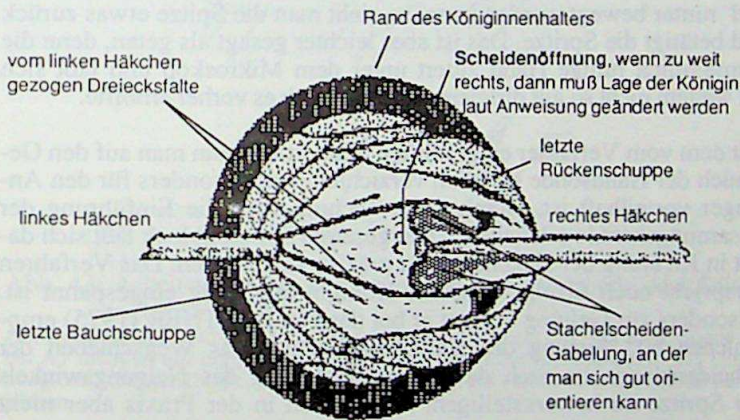


Abb. 42: Die Geschlechtsöffnung der Königin

Es empfiehlt sich, Probeeinführungen mit abgängigen Königinnen erst einmal zu üben. Es können auch ältere Königinnen verwendet werden. Hierbei ist zu beachten, daß diese sich nicht in Eiablage befinden dürfen, weil die funktionsfähigen Eierstöcke zu Verspannungen im Geschlechtsapparat führen, die das Einführen der Besamungskanüle unmöglich machen. Die vorgesehene Altkönigin ist deshalb eine Woche vorher zu käfigen und aus dem Brutnest zu nehmen. Sie wird in einer Wabengasse am Rande untergebracht. Mit einer solchen Königin kann geübt werden. Mit jungen Königinnen ist das Arbeiten aber leichter.

Spermainjektion

Scheidenklappe und Handsonde

Beim Einführen der Spritze bzw. der Besamungskanüle ist die Scheidenklappe der Königin zu umgehen. Es handelt sich hier um keine eigentliche "Klappe", sondern um eine knickartige Verlagerung der Scheide. Beim Einführen der Besamungsspitze ist damit zu rechnen, daß die Kanüle an dieser Stelle hängenbleibt. Früher richtete man deshalb die Spitze um etwa eine Mündungsbreite nach links von der Scheidenöffnung aus und machte sich den Weg mit der Handsonde frei. Mit Hilfe der Handsonde wird dabei die Scheidenöffnung mitsamt der "Scheidenklappe" nach links gedrückt, so daß man die Kanülenspitze an der noch in der Scheide befindlichen Sonde vorbei einführen kann. Die linke Hand, die die Sonde hält, ist gut abzustützen. Jetzt wird die Sonde zurückgezogen und die Spitze dann 1 - 1,5 mm tief eingeführt. Dabei dürfen keine sichtbaren Spannungen im umgebenden Gewebe zu bemerken sein. Wenn dies nicht zutrifft und die Spitze müheelos hoch und runter bewegt werden kann, so zieht man die Spitze etwas zurück und betätigt die Spritze. Das ist aber leichter gesagt als getan, denn die vermeintlich ruhige Hand zittert unter dem Mikroskop und läßt sich bei weitem nicht so gut dirigieren wie man sich es vorher erhoffte.

Mit dem vom Verfasser eingeführten Seitentrieb kann man auf den Gebrauch der Handsonde gänzlich verzichten, was besonders für den Anfänger vorteilhaft ist. Durch diese Technik wird die Einführung der Besamungskanüle erleichtert. Der gesamte Spritzenblock läßt sich damit in Richtung der Häkchenhalter präzise verschieben. Das Verfahren verspricht noch Erfolg, wenn die Königin ungünstig eingespannt ist. Besonders zur Geltung kommt er bei der von RUTTNER (1975) empfohlenen 60°-Neigung des Königinnenhalters. Das Wegschieben der Scheidenklappe ist auch durch die Verstellung des Neigungswinkels der Spritze zu bewerkstelligen, konnte sich in der Praxis aber nicht voll durchsetzen. In diesem Falle wird streng genommen ein Kreisbogen der Kanülenmündung ausgeführt, so daß die Spitze wieder leicht angehoben wird. Bei steiler Stellung* des Königinnenhalters ist allerdings das Herausheben unbedeutend. Für den Anfänger ist der Seitentrieb jedoch von Nutzen und auch routinierte Besamer möchten ihn am Gerät nicht missen. Beim Seitentrieb wird nur geschoben, und es besteht angesichts der sehr fein zu dosierenden Bewegung weniger die Gefahr an Schleimhautfalten hängen-zubleiben.

* geht auf jahrelange positive Erfahrungen von Franz Schafferhans (Würzburg) zurück

In Abb. 43 ist in Anlehnung an eine Zeichnung von LAIDLAW und ECKERT (1962) die Arbeitsweise mit dem Seitentrieb im Vergleich zur Handsonde schematisch dargestellt.

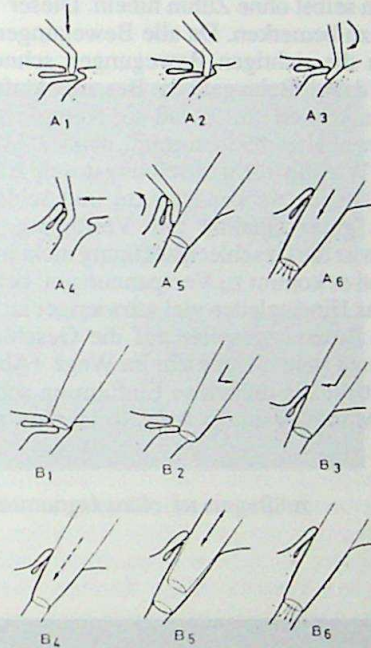


Abb. 43: Arbeitsweise bei der Besamung mit Handsonde oder Seitentrieb

Anmerkung: A1 - A5 Vorbereitung mit Sonde. Es reicht aus, wenn die Sonde wie bei A1 nicht so tief eingreift und zieht. A6 - bereit zur Injektion, B1 - B3 Umgehung der Scheidenklappe, B4 - Probeeinführung, B5 - Kontrolle, B6 - bereit zur Injektion

Kanüle einführen und entleeren

Wie aus der Abb. 43 hervorgeht, ist es bei der Arbeit mit dem Seitentrieb wie auch bei Bedienung der Neigungsverstellungsschraube wichtig, daß die Mündung nicht links auf die Basis der Scheidenklappe aufsetzt. Es besteht die Gefahr, daß die Spitzenmündung hängenbleibt. Die Spitze muß von der rechten Seite herangeführt werden. Logischerweise ist es vorteilhaft, wenn die Stachelkammer ordentlich gespreizt wird und das Gewebe nicht zu locker liegt. Es ist dann nicht notwendig, zu Beginn jedesmal die Spritze erst in die Gegenrichtung zu lenken. Man hält sich also beim Einführen etwas rechts, führt die Spritze so weit ein, daß sich das umliegende Gewebe ganz leicht zu spannen beginnt, nimmt die Spritze etwas zurück, bewegt nun den gesamten Spritzenhal-

ter bzw. die Besamungskanüle nach links und probiert in gewissen Abständen das Einführen in die Scheide. Spannt das Gewebe, so zieht man zurück und schiebt noch etwas weiter. Ist der richtige Punkt gefunden, läßt sich die Spritze plötzlich mühelos 1,5 mm tief einführen. Sie gleitet geradezu wie von selbst ohne Zutun hinein. Dieser Vorgang ist ganz klar und eindeutig zu bemerken. Da alle Bewegungen gut kontrollierbar sind, wird man die richtigen Bewegungen schnell herausfinden. Lassen Sie sich Zeit dabei! Beim geübten Besamer läuft der Besamungsvorgang meistens zu schnell ab, so daß die Königin sogar noch etwas länger im Königinnenhalter bleiben muß, denn 2 Minuten Begasung wären zu wenig. Wichtig für den reibungslosen Ablauf ist, daß ein geeignetes Dorsalhäkchen verwendet wird und schlank ausgezogene Besamungskanülen guter Qualität zur Verfügung stehen. Mit ungeeigneten Häkchen ist die Geschlechtsöffnung nicht in die optimale Position zu bringen und es kommt zu Verspannungen; bei zu starken Besamungskanülen ist das Hineingleiten viel schwieriger zu erkennen. In Abb. 44 ist die Besamungsspitze auf die Geschlechtsöffnung gerichtet. Der Einführung steht nichts mehr im Wege (Abb. 45). Eine gute Spitze ist für die mühelose Einführung sehr wichtig. Dabei kommt es auf die Mündung an. In Abb. 46 ist eine gute Spitzenmündung abgebildet.

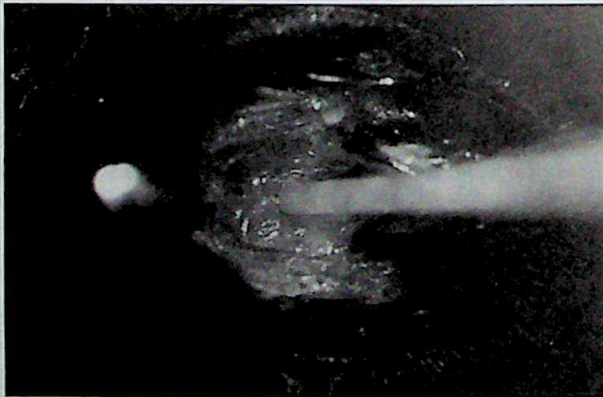
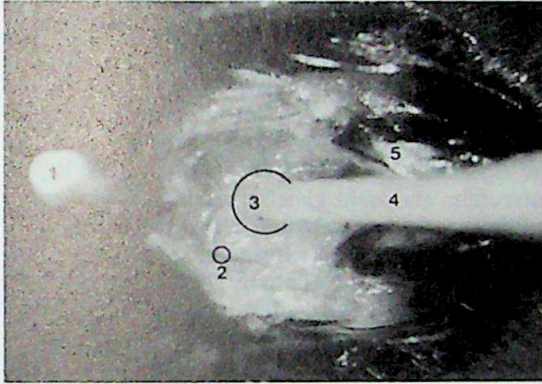
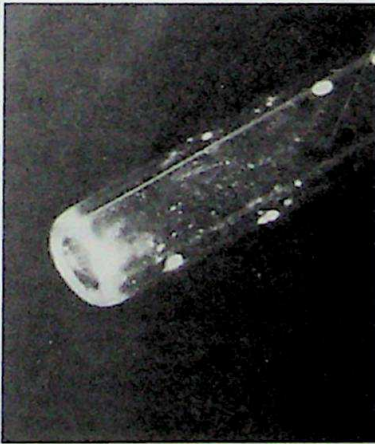


Abb. 44: Besamungskanüle vor der Scheidenöffnung



- 1 - linkes Häkchen
- 2 - Hautfalten
- 3 - Geschlechtsöffnungsregion markiert
- 4 - Besamungskanüle
- 5 - Gabelung der Stachel-scheide, an welcher man sich gut orientieren kann

Abb. 45: Die Besamungskanüle ist eingeführt



Die Kanten der Mündung sind innen und außen gerundet und poliert

Abb. 46: Schlank ausgezogene Glasspitzen mit maximaler Öffnung erleichtern die Arbeit

Ist der Weg frei für die Spermainjektion, so wird die ca. 1,5 - 1,8 mm tief eingeführte Besamungskanüle ein ganz wenig zurückgezogen und das Sperma injiziert. (Zuvor wurde die Verdünnungslösung, die sich als Verschuß vor dem Sperma befindet, mit dem sterilen Wattestäbchen abgenommen). Vorsichtig wird am Drehknopf der Spritze gedreht. Der Ellenbogen ist aufgestützt. Das Fließen des Spermas ist unter dem Mikroskop sehr gut zu erkennen. Sollt aber das Sperma aus der Scheidenöffnung sofort hervorquellen, so ist der Vorgang sofort zu stoppen, und wir versuchen, das verlorengegangene Sperma wieder mit der Spritze aufzusaugen. Gelingt dies nicht, so wird abgebrochen. Am folgenden Tag ist mit dieser Königin ein erneuter Versuch anzustellen. Es gibt Königinnen, die schwerer als andere zu besamen sind. Sehr leicht sind Königinnen der italienischen Rasse zu besamen.

Wenn die notwendige Spermamenge von 8 - 10 μ l erreicht ist, so stoppt man die Spermazufuhr und zieht gleichzeitig die Spritze etwas hoch, nimmt sie daraufhin ganz heraus, hebt vorsichtig die Häkchen heraus und schwenkt sie nach hinten weg. Der Besamungsvorgang ist abgeschlossen. Die Spritze wird aus der Halterung genommen, und die Glasspitze ist durch Betätigung der Spindel sofort durchzuspülen. Man dreht am Knopf der Spritze wechselseitig hin und her und nimmt mit einem sterilen Wattestäbchen Verdünnungslösung von der Spitze ab und putzt dabei auch gleich die Außenwand der Mündung ab. Danach ist die Spritze für die erneute Spermazufuhr bereit. Vorher kann man sie noch in Alkohol eintauchen und ebenso abwischen. Damit keine Alkoholreste an der Spitze bleiben, wird nochmals durchgespült. Beim "Durchspülen" gehen höchstens einige Tropfen Verdünnung verloren. Ist an eine sofortige Wiederbenutzung nicht gedacht und sollen möglicherweise vorbereitete Spermakanülen montiert werden, so ist die abmontierte Besamungskanüle in eine Schale mit Reinigungslösung zu legen.

Nach der Besamung

Die besamte Königin wird in den Zusatzkäfig gelegt, kommt in den Brutschrank oder an einen anderen warmen Platz, wo sie bald wieder zu sich kommt und sich normal bewegt. Sicherheitshalber wird die Königin unter Zuckerteigverschluß dem Ablegervölkchen wieder zurückgegeben.

Das Füllen der Samenblase ist übrigens das Ergebnis aktiver Mitwirkung seitens der Königin wie auch passiver Vorgänge, was ca. 24 Stunden in Anspruch nimmt. Da die Zeitspanne der Füllung und die Anzahl der Spermien, die in die Samenblase gelangen, stark von der Temperatur beeinflußt werden, ist es sehr wichtig, daß der Königin nach der Besamung Brutnesttemperaturen gewährt werden. Das ist ein überaus wichtiger Punkt, der auch für die natürliche Begattung seine Gültigkeit hat. Die Königinnen sind nach der Besamung demzufolge warm zu halten. Bei unzureichenden Temperaturen und fehlender Sti-

X ohne
Zuckerteig

mulation seitens der Bienengemeinschaft kann es zu Pfropfenbildungen von Sperma kommen, was Unfruchtbarkeit oder Legestörungen zur Folge haben kann. Auf keinen Fall dürfen die besamten Königinnen längere Zeit sich selbst überlassen bleiben. Nur in der funktionsfähigen Bienengemeinschaft werden sie sich voll entwickeln können!

Es besteht auch die Möglichkeit, die Königinnen vom Schlupfbeginn an bis zur Einweisung im Brutschrank zu halten. Ob und inwieweit die Qualität der auf diese Weise erzeugten Königinnen leidet, ist noch nicht völlig geklärt. Die Arbeitsergebnisse sind diesbezüglich nicht einheitlich. Die Besamung erfolgt am 5. - 6. Lebensstag. Die 2. Begasung findet nicht wie gewöhnlich vor der Besamung, sondern erst vor dem Einweiseln statt, wobei die Königin nicht aus dem Kästchen genommen zu werden braucht. Die ausschließliche Haltung im Brutschrank erfordert zweifellos Fingerspitzengefühl und hat optimales Bienenmaterial zur Voraussetzung.

Sachregister

- Abflammen 64
 Alkohol, Desinfektionswirkung 63
 Allele 58
 Anflugkäfig 48
 Arbeitsplan 54, 55
 Arbeitsplatte 28
 Arbeitsplatz, Sauberhaltung 66
 Aufsteckplatte 16
 Aufziehen des Spermas 73
 Aufzucht von Königinnen 50
 Ausbaustufen 14
 Ausstülpung 70, 74
 Auswechseln gefüllter Kanülen 24
 Autoklav 64
 Bakterienfilterung 63
 Bazillus cereus 63
 Bedienung der Spritze 19
 Begasung 54
 Begattungskästchen, Füllen von 58
 Begleitbienen 57
 Begleitbienenzahl 58
 Behandlung der Spritze 25
 Beleuchtungseinrichtung 30
 Besamung, Vorbereitungen 82
 Besamung, wichtige Hinweise 94
 Besamungsgerät 12
 Besamungskanüle, Säuberung 46
 Besamungsspitzen ausziehen 36
 Besamungsspritze 21
 Besamungsspritze, Fehler 26
 Besamungsvorgang 96
 Besamungszeitpunkt 54
 Bienenmaterial für Begattungsk. 58
 Blickfeldgröße des Mikroskops 73
 Blütenpollen, Verfütterung 57
 Brut, lückenhafte 60
 Brutschrank 40, 56
 Brutschrankhaltung 99
 CO₂-Narkose 32
 Checkliste für Besamung 82
 Chemikalien 82
 Chloroform 73
 Chromosomenzahl 58
 CO₂-Behandlung 54
 Cubitalindex 61
 Dampfkochtopf 64
 Dauer der CO₂-Behandlung 86
 Desinfektion 63, 66
 Dichtebestimmung, Samenblase 80
 Dichtebestimmung, Sperma 79
 Diploide Drohnen 58
 Dosiermöglichkeiten der Spritze 23
 Drohenwabe 48
 Drohnen abfangen 48
 Drohnen, Alter 48
 Drohnen, Aufbewahrung 57
 Drohnen, Geschlechtsreife 48
 Drohnen, Kennzeichnung 48
 Drohnen, Qualität 69
 Drohnen, Vorbereitung 46
 Drohnenpflege 46
 Drohnenstülpglas 66
 Drohnenvölker 48
 Drohenwabe einhängen 55
 Druckflaschen für Kohlensäure 35
 Eilagebeginn 55
 Einfangen der Königin 86
 Einführen der Kanüle 94
 Ejakulation 70
 Ersatzteile 82
 Farbe zur Drohnenkennzeichnung 48
 Farbsprühverfahren 49
 Fehler der Besamungsspritze 26
 Feinverstellung 14
 Feuchtigkeit 56
 Fliegenlassen der Drohnen 70
 Flugkäfig 40
 Fortpflanzungsbesonderheiten 58
 Füllen der Spritze 20, 22
 Füllen von Begattungskästchen 58
 Geschlechtsbestimmung 58
 Geschlechtsöffnung der Königin 86,93
 Geschlechtsreife der Drohnen 48
 Glasfaserlampe 30
 Glasspitzen 25
 Glühspule des Ausziehgerätes 38
 Greenough-Typ des Mikroskops 26
 Grobverstellung von Hand 14
 Häkchen 18
 Häkchen auswechseln 18
 Häkchenhalter 18
 Halterröhrchen 16
 Handsonde, Gebrauch der 94
 Haushaltsreiniger 62
 Heizkabel 42
 Hilfsmittel 82
 Hitzesterilisation 64
 Inzuchtdepressionen 60

Sachregister

- Jungbienen im Brutschrank 57
 Justierung des Brutschrankes 42
 Kaltlicht aus Diaprojektor 30
 Kanüle einführen 94
 Kanüle, Einstecken der 22
 Kanülen 25
 Kanülen ausziehen 36
 Kellerhaft 55
 Kennzeichnung der Drohnen 48
 Klimamessung 44
 Königin, Aufspannung der 92
 Königin, Einfangen der 86
 Königinnen 49
 Königinnen im Brutschrank 57
 Königinnenaufzucht 50
 Königinnenhalter 16
 Kohlensäureanlage 34
 Kohlensäurebehandlung 54, 86
 Kohlensäurenarkose 32
 Kolben der Spritze 25
 Kolbenbesamungsspritze 21
 Kompaktgerät 29
 Kontrolluntersuchungen, Sperma 69
 Kreuzungszucht 60
 Kugelführungen 17
 Kugellagerblock 14
 Kunststoffeinsatz für Hähchen 18
 Lagerblock 13
 Lagerblöcke mit Kugelführungen 17
 Lagerungsdauer von Sperma 77
 Lichtleiter 30
 Lichtleiterbefestigung 32
 Linienhybriden 60
 Lückenhafte Brut 60
 Luftbefeuchter 82
 Maßangaben für Hähchen 19
 Maßangaben für Spitzen 36
 Narkose der Königin 86
 Narkoseeinrichtung 32
 Neigung Königinnenhalter 16
 Nosemainfektionen 62
 Objektive 26
 Okulare 26
 Pflege der Spritze 25
 Pflegestimmung 46
 Pflegevolk vorbereiten 55
 Phasenkontrasteinrichtung 75
 Pipetten für Besamungsspitzen 36
 Planung der Besamung 54
 Pollenfütterung 57
 Präparation der Samenblase 80
 Qualitätskriterien des Spermas 72
 Querverstellung 13
 Reinerbigkeit 60
 Reinhaltungsstufen 62
 Reinigung 62
 Reinigungsgeräte 45
 Reinigungslösung 45
 Rohspitzen, Ausziehen der 39
 Rotationspaarung 61
 Samenblase, Füllung der 57, 98
 Samenblase, Spermiedichte 80
 Samenblase herauspräparieren 80
 Schablone für Königinnenhalter 17
 Scheidenklappe umgehen 94
 Schleifen von Spitzen 36
 Schleim 74
 Schleimabsonderung beim Drohn 69
 Schlupfkäfig 56
 Seiten- u. Querverstellung 13
 Seitentrieb verwenden 94
 Selektion 60
 Serienbesamungen, Spritze für 20
 Sex-Allele 58
 Sonderausstattung 13
 Sperma aufziehen 55
 Spermaabhandlung 75
 Spermaentnahme 71
 Spermagewinnung 69
 Spermajektion 94
 Spermakonservierung 77
 Spermakugel 74
 Spermamenge 71
 Spermamenge für die Besamung 72
 Spermamischen 78
 Spermaportion 73
 Spermaqualität 71
 Spermareife 74
 Spermatheka, siehe Samenblase
 Spermatransport 77
 Spermauntersuchung 75
 Spermaverdünnung 20
 Spermiedichte 72
 Spermienzahl 71
 Spiritusflamme 64
 Spitzenausziehgerät 36
 Spritzenbedienung 19
 Spritzenbewegung 14
 Spritzenhalter 13, 18
 Spritzenkolben 25
 Spritzenzylinder 25
 Sprühverfahren 49
 Stachelkammer der Königin 86
 Standard-Besamungsgerät 13
 Stativ 16
 Stativsäule 13
 Stelling 14
 Stereokörper 29

Sachregister

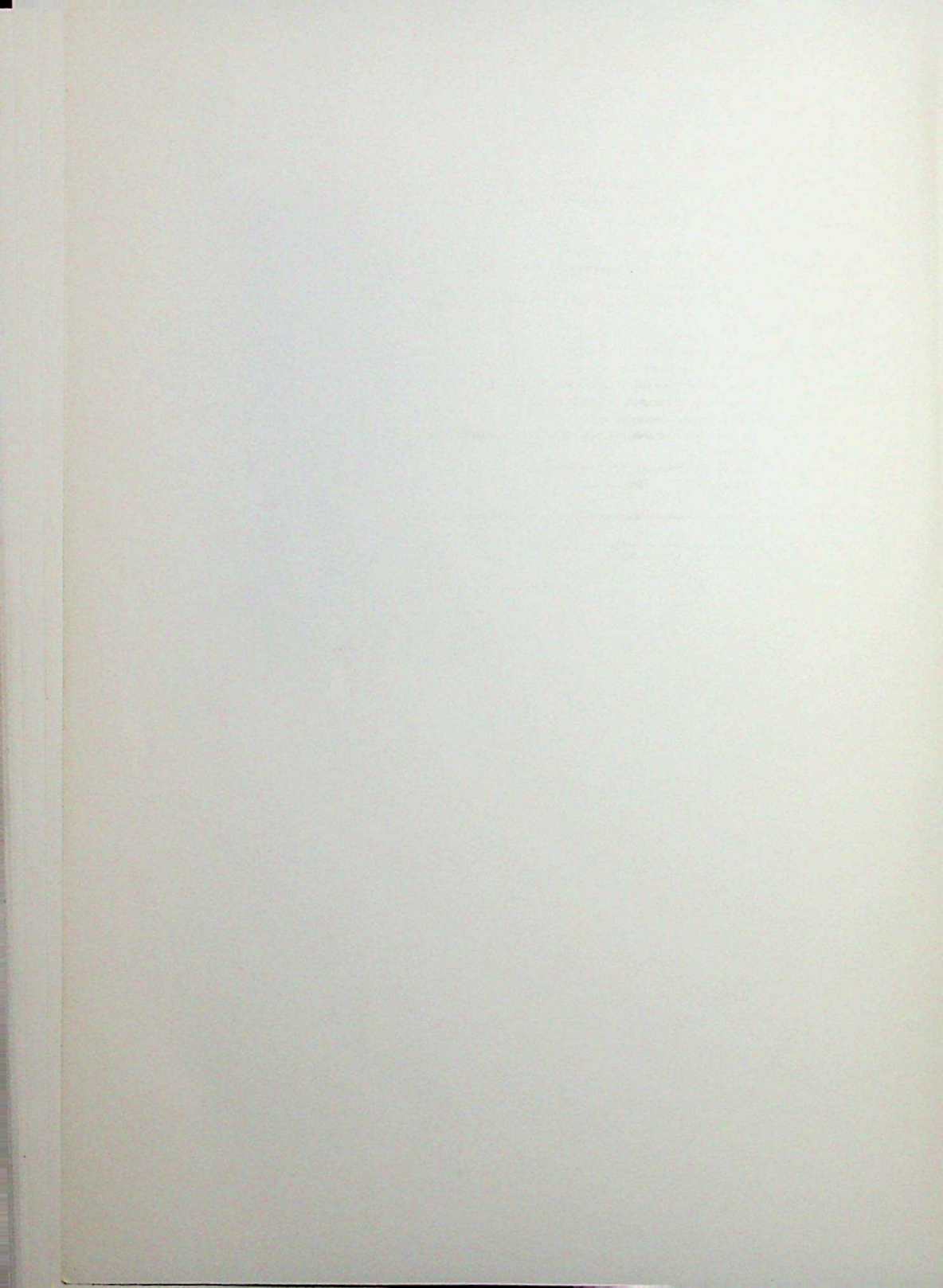
- Stereomikroskop 26
Sterilisation 63
Stülpglas 73
Teleskoptyp des Mikroskops 26
Temperaturansprüche 56
Temperaturfühler 42
Temperaturmessung 44
Temperaturregler 40
Thermostat 40
Tickopur 45
Ultraschallreiniger 46
Umgebungstemperatur, Königin 58
umlarven 55
Ventilator für Brutschrank 44
Verdünnertlösung 20
Verdünnung von Sperma 75
Vergrößerung des Mikroskopes 26
Vergrößerung für Spermien 75
Wärmeschutzfilter 30
Wartung der Spritze 25
Wasserstrahlpumpe 45
Werkzeuge 82
Zählkammer 72, 75, 79
Zahnstangentrieb 13
Zellen im Brutschrank 57
Zentrifugation von Sperma 78
Zuchtlatte 53
Zuchtprogramme 60
Zuchtserie 53
Zylindereinsatz für Spritze 19, 25

Literatur

- BURMEISTER, K. (1984):
Vom Anfänger zum DLG-anerkannten Zuchtbetrieb. Selbstverlag, Bönnebütteler Weg 12, 2350 Neumünster
- HARBO, J. R. (1979):
Storage of Honey Bee Spermatozoa at -196° C.
J. Apic. Res. 18, 57-63.
- KAFTANOGLU, O. und PENG, Y. (1980):
A new Syringe for Semen Storage and instrumental Insemination of Queen Honeybees.
J. Apic. Res. 19 (1), 73-76.
- KRUBER, W. (1979):
Die Markierung von Drohnen zur Verwendung bei der instrumentellen Besamung.
Biene 12, 493-496.
- LAIDLAW, H. H. (1944):
Artificial Insemination of the Queen Bee (*Apis mellifera* L.): Morphological Basis and Results.
J. of Morphology 74, 429-465.
- LAIDLAW, H. H. (1949):
New Instruments for artificial Insemination of Queen Bees.
Amer. Bee J. 89 (12), 566-567.
- LAIDLAW, H. H. (1957):
Microsyringe Adapter.
J. Econ. Ent. 50 (2), 218.
- LAIDLAW, H. H. (1985):
Disposable Syringe for Shipment of Bee Semen.
Amer. Bee J. 125 (5), 368-369.
- LAIDLAW, H.H. und ECKERT, J. E. (1962):
Queen Rearing.
University of California Press, Berkeley, 2nd ed.
- LAIDLAW, H. H. u. LORENZEN, C. (1977):
Laidlaw Instrumental Insemination Instrument.
Amer. Bee J. 117 (7), 428-432.
- MACKENSEN, O. (1954):
Some Improvements in Method and Syringe Design in artificial Insemination of Queen Bees.
J. Econ. Ent. 47 (5), 765-768.
- MACKENSEN, O. und ROBERTS, W. C. (1948):
A Manual for the artificial Insemination of Queen Bees. U.S. Bur. Ent. and Plant Quar. Et-250.
- MORITZ, R. F. A. (1984):
The Effect of different Diluents on Insemination success in the Honeybee using mixed Semen.
J. Apic. Res. 23 (3), 164-167.
- NOLAN, W. J. (1937):
Improved Apparatus for Inseminating Queen Bees by the Watson Method.
J. Econ. Ent. 30 (5), 700-705.
- RUTTNER, F. (1964):
Zur Technik und Anwendung der künstlichen Besamung der Bienenkönigin.
Zeitschrift für Bienenforschung, Band 7, Heft 2.
- RUTTNER, F. (1975):
Die instrumentelle Besamung der Bienenkönigin.
Apimondia - Verlag, Bukarest, 2. Auflage.
- RUTTNER, F. (1979):
Selektion und Hybridisierung als Grundlage der Bienenzucht.
Apiacta XIV(1), 1-3.
- RUTTNER, F. (1980):
Königinnenzucht.
Apimondia-Verlag, Bukarest.
- RUTTNER, F., SCHNEIDER, H., FRESNAYE, J. (1974):
Standardapparat zur künstlichen Besamung der Bienenkönigin. Apimondia-Verlag, Bukarest.
- SCHLEY, P. (1981):
Anbau-Schleifvorrichtung zum Besamungsspitzenausziehgerät.
Allgem. Deutsche Imkerzeitung 15 (12), 371-372.
- SCHLEY, P. (1982a):
Verbesserte Kugelführungen für das Besamungsgerät.
Die Biene 5, 218.
- SCHLEY, P. (1982b):
Neue Kolbenbesamungsspritze mit Sichtkontrolle und auswechselbaren Einsätzen.

Literatur

- Allgemeine Deutsche Imkerzeitung
16 (4), 107-108.
- SCHLEY, P. (1984a):
Die Möglichkeit der Feinverstellung
quer zum Stachelhäkchenhalter beim
Standard - Besamungsgerät.
Allgem. Deutsche Imkerzeitung 18
(5), 162-163.
- SCHLEY, P. (1984b):
Brutschränke und andere Wärmevor-
richtungen in der Imkerei.
Allgem. Deutsche Imkerzeitung 18
(11), 350-355.
- VERMA, L. R. (1978):
Biology of Honeybee Spermatozoa.
Apidologie 9, 3, 167-174.
- VESELY, V. L. (1961):
Towards the Problem of artificial In-
semination of Queen
Bees. Zool. Listy X, 203-210.
- WATSON, L. R. (1927):
Controlled Mating of Honeybees.
Amer. Bee J. LXVII, 5-7, 235-236;
300-302; 364-365.
- WINKLER, CHR. (1981):
Gerät für die künstliche Besamung
von Weiseln weiter vervollkommenet.
Garten und Kleintierzucht C, 13, 7.



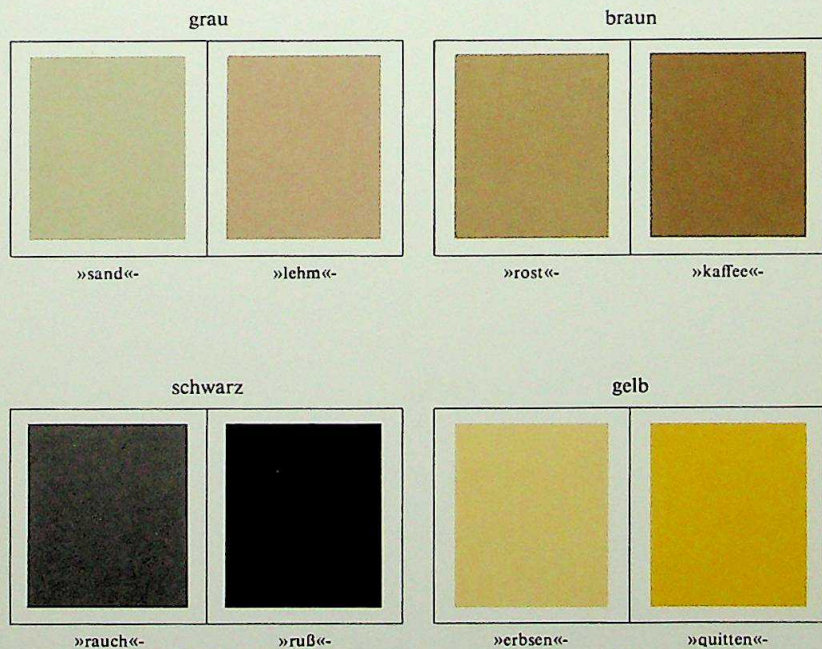
Korrekturnachtrag

(Bei dem Laserausdruck sind leider nach der Korrektur einige programmbedingte Unstimmigkeiten aufgetreten, die nicht vorauszusehen waren)

- S. 24 *1. bis Anfang 3. Zeile streichen*
- S. 35 *10. Zeile streichen, dafür Absatz 3 hinter Nr. 4.30 als neue Zeile nachtragen:*
an eine Großflasche anschließen und über Druckausgleich füllen.
- S. 37 *In die Legende zu Abb. 22 einfügen:*
8 - Stromanschluß für Glühspule
9 - Röhrenhalter
- S. 39 *Vorletzte Zeile hinter Glasröhrchen einfügen:*
... in einem Stück und durchbrechen ...
- S. 44 *Unter letzter Zeile einfügen:*
Wenn einmal die entsprechenden Feuchtigkeitswerte bei bekannter...
- S. 51 *1. Zeile am Anfang:* richtet werden, ...
- S. 57 *Anfang des letzten Absatzes:*
Die gedeckelten ...
- S. 75 *13. Zeile, Formel einsetzen nach: ...errechnet sich wie folgt:*

$$\frac{8}{\pi \times r^2} = \frac{8}{3,14 \times 0,42^2} = 14,5 \text{ mm}$$

Vergleichsreihe zur Farbstufen-Ermittlung der Drohnenbrusthaare nach Goetze



Zur Ermittlung der Haarfarbe bringt man den Drohn in Seitenlage und verschiebt ihn von Farbfeld zu Farbfeld bis sich sein Rückenhaar nicht mehr vom Untergrund abhebt. Die ermittelte Farbstufe bezeichnet man als grau = gr, gelb = ge, braun = br und schwarz = schw.

Arbeitsplan

Wie aus den vorangegangenen Ausführungen hervorgeht, sind sowohl für die Drohnen als auch für die Königinnen eine Reihe von Vorbereitungen notwendig. Sie zielen darauf hin, daß die Königinnen wie die Drohnen zum gleichen Zeitpunkt zur Verfügung stehen. Hierfür ist die genaue Einhaltung eines Zeitplanes unumgänglich. In diesen rechtzeitig aufzustellenden Arbeitsplan werden die Kalendertage eingetragen, an denen Arbeiten oder Kontrollen anfallen.

Um Arbeitsspitzen zu vermeiden, sind für den Hobbyimker Wochenenden mit mehr Freizeit auszunutzen. Die Tab. 2 gibt hierfür als Planungsgrundlage eine Hilfe. Man fertigt sich hiervon am besten Fotokopien oder Abschriften an und merkt sich die entsprechenden Kalendertage vor. Ein gewisser Spielraum ist einzukalkulieren. Bezüglich der praktischerweise bei Verwendung von Begattungskästchen einen Tag vor der Besamung vorzunehmenden Kohlensäurebehandlung (Königin käfigen, CO_2 am 22. Königinnentag) ist zu bemerken, daß es sich hierbei um eine bewährte Maßnahme handelt, die den Eilegebeginn der Königin stimuliert, so daß mit der natürlichen Begattung vergleichbare Resultate erzielt werden.

Unterbleibt diese zusätzliche Begasung von ca. 5 - 7 minütiger Dauer, so reicht die eine mit der instrumentellen Besamung verbundene Narkose in den meisten Fällen nicht aus, diesen Effekt allein zu bewerkstelligen. Der Eilegebeginn kann stark verzögert werden. Andere Möglichkeiten der Ruhigstellung wie z.B. eine Temperaturemniedrigung haben sich nicht bewährt.

Was den Besamungstag angeht, so ist zu bemerken, daß dieser Zeitpunkt nicht exakt festlegbar ist. Es sind gute Erfahrungen im 5/6-Tagealter gemacht worden. Andererseits hat es sich als günstiger erwiesen, wenn die Königinnen 7-8 Tage alt waren. Das 7-Tagealter kann als Richtwert angenommen werden. Die Königinnen müssen auf jeden Fall physiologisch reif und aufnahmefähig sein. Das erfordert optimale Konstitution und Kondition (erbliche Veranlagung, körperliche Verfassung). Die Umweltbedingungen müssen ebenfalls stimmen. Dem Besamer werden Erfahrungswerte für seine speziellen Bedingungen zur Verfügung stehen, nach denen er sich dann richtet.

Tabelle 2: Arbeitsplan zur Koordinierung von Spermagewinnung und Besamung

Drohnen	Tage	Datum	Tage	Königin
14 Tage vorher	- 14			
Drohnenwabe einhängen, für Jungbienenüberschuß sorgen	0			
Ei	1			
Made	2			
	3			
	4			
Rundmade	5			
	6			
	7		- 7	
	8		- 6	Pflegevolk vorbereiten, für Volksstärke, Jungbienenüberschuß und Zuchtstammung sorgen
Streckmade	9		- 5	
	10		- 4	
Verdeckeln	11		- 3	
	12		- 2	
gegebenenfalls Wabe entnehmen u. Drohnenpflegevolk ohne Drohnen bilden, Absperrgüter	13		- 1	
Vorpuppe	14		0	
	15		1	Ei
	16		2	
Puppe	17		3	
	18		4	Made umlarven
	19		5	
	20		6	
	21		7	Rundmade
	22		8	
	23		9	Streckmade
Schlupf	24		10	Verdeckeln in Brutschrank geben?
	25		11	
	26		12	Puppe
Durchsieben, im Siebkasten mit Farbe besprühen, Absperrgüter entfernen	27		13	
	28		14	verschulen, Kästchen füllen u. zulaufen lassen
	29		15	Schlupf
	30		16	
	31		17	Kellerhaft
	32		18	Kellerhaft
	33		19	Kellerhaft
	34		20	Kästchen aufstellen, Absperrgüter
Sperma von gekennzeichneten Drohnen aufziehen	35		21	käfigen, 1. CO ₂ Besamung 8 µl
	36		22	
Geschlechtsreife	37		23	
	38		24	
	39		25	
	40		26	
	41		27	
	42		28	Eilagebeginn
	43		29	
	44		30	1. Kontrolle
	45		31	

