



# Darren

**Interessanter en belangrijker dan men denkt**



Darren.....	1
Interessanter en belangrijker dan men denkt.....	1
Inleiding .....	2
1.1 Opkomst en regeling van de productie van darren in een volk.....	3
1.2 Ontwikkeling van ei tot bij.....	3
1.3 Voedselbehoefte .....	7
1.4 Levensduur .....	8
1.5 Hoeveelheid darren in een volk.....	9
1.6 Darrenslacht .....	12
2.1 Anatomie .....	12
2.2 Spermatogenese.....	14
2.3 Vitaliteit van de dar en kwaliteit van het sperma .....	20
3.1 Het leven van een dar .....	23
3.2 Vlieggedrag .....	24
3.3 Vervliegen .....	25
3.4 Darrenverzamelplaatsen .....	27
3.5 Paring .....	29
4.1 Genetische aspecten van de dar in de voorplanting. ....	46
4.2 Aantal darren waarmee een koningin paart. ....	47
4.3 Verwantschapsrelaties .....	50
4.4 Zustergroepen.....	54
5.1 Teeltkwaliteit van een dar .....	54
5.2 Darrenteelt.....	56
6.Bevruchtings- en koninginneteeltstations .....	59
7.Kunstmatige inseminatie .....	60
Literatuur .....	61

## Inleiding

Darren zijn geslachtelijk volmaakte mannetjes. Ze zijn bestemd om te paren met onbevuchte moeren en dragen aldus bij tot de voortzetting van de soort.

Darren worden vaak gezien als waardeloze wezens, omdat ze geen bijdrage leveren aan de produktie. Ze worden beschouwd als overbodige mee-eters, die zich daarbij laten helpen door de werksters, en hen daarmee bovendien alleen maar van het werk afhouden. Het darrenbroed werd vaak gekopt, en wordt sinds het bekend is geworden dat varoamijten een voorkeur hebben voor darrenbroed, (mis-)(ge-) bruikt in varoa-bestrijdingsmethodes. Er werd verder weinig aandacht geschonken aan de aanwezige darren in een volk en de koningin op bruidsvlucht komt wel een dar tegen. In de koninginneteelt levert de teelt van darren een belangrijk aandeel in het nagestreefde resultaat. De belangstelling voor het gedrag van darren is toegenomen sinds de ontdekking van feromonen bij de koningin door Butler en Callow (1959) in Engeland en door Pain en Barbier (1960,1961) in Frankrijk en door de ontdekking dat de aanwezigheid van deze feromonen op bepaalde hoogte boven de grond darren aantrekt. Deze tweede ontdekking is gedaan door Gary (1962) en is een onmiddelijk gevolg van het bekend worden van het bestaan van feromonen. In boeken geschreven voor imkers komt de biologie van de dar nog steeds weinig aanbod en komen ook voor de imker interessante feiten omtrent de ontwikkeling en gedrag van een dar zeer verspreid voor in de voorhanden literatuur. Er zal daarom aandacht worden besteed aan, vele aspecten die met het voorkomen van darren in een bijenvolk, zoals: de ontwikkeling van ei tot volwassen dar, de anatomie en fysiologie, ontwikkeling van spermacellen, (voortplantings-)gedrag, vlieggedrag, darrenverzamelplaatsen en paring. Ook de genetische aspecten zijn zeer interessant, zoals de

consequenties van het haploïde\ diploïde voortplantingssysteem, en van de meervoudige paring, tot uiting komend in verschillend sterke verwantschaprelaties tussen de verschillende bijen in een volk, die een verklaring kunnen zijn voor de taakuitoefening van de werkster met het voortschrijden van haar leeftijd, de werkverdeling binnen een volk, en zelfs de weerstand en gezondheid van een volk.

Ook de ontwikkeling van de kunstmatige inseminatie heeft een verhoogde aandacht voor darren veroorzaakt. Mede door deze kennis over darren, was men instaat om koninginnen kunstmatig te bevruchten. Door de snelle ontwikkeling van genetische technieken is men in staat om de betrouwbaarheid van bevruchtungsstations vast te stellen, verwantschapsrelaties binnen een volk, het aantal darren waarmee een koningin heeft gepaard, en de genetische variabiliteit in een populatie van bijenvolken, precieser vast te stellen. Zelfs is men erin geslaagd de positie en werking van bepaalde genen op de chromosomen vast te stellen. Niet alle kennis is van direct praktisch belang voor de koninginneteelt, maar levert wel de achtergrondkennis waarom de praktische handelingen resultaat opleveren.

### **1.1 Opkomst en regeling van de productie van darren in een volk**

Darrenbroed wordt in een bijenvolk voor het eerst aangezet nadat de zomerbijen de plaats van de winterbijen hebben ingenomen. Dit kantelpunt ligt voor elk volk verschillend en wisselt ook per jaar. Bij grote volken ligt dit punt in het jaar vroeger dan voor kleine volken. De dracht in het voorjaar en de weersomstandigheden hebben hierop invloed. Ook de gezondheidstoestand in het bijenvolk heeft op de aanzet van darren broed invloed. Volken die lijden aan Nosema of sterk besmet zijn met Varoamijt, zullen minder snel darrenbroed aanzetten. Er moeten voldoende voedsterbijen in het nest aanwezig zijn, om de darrenlarven te voeden. De koningin moet de gebouwde darrencellen beleggen en een oude koningin zal hiermee sneller starten dan een jonge koningin. Werksters bouwen darrencellen, afhankelijk van het aantal aanwezige darren.

De aanzet van darrenbroed gaat vooraf aan het verschijnen van zwermcellen. De piek in broedzorg van darren is ongeveer 4 weken voordat de voorzwerm afkomt, zodat zodra er onbevruchte koninginnen verschijnen er rijpe darren aanwezig zijn om haar te bevruchten. Zowel in de april, mei als in augustus worden darren aangezet. De tweede piek in augustus valt samen met de najaarszwermen. De periode van productie en onderhoud van darren in een normaal volk is beperkt tot het actieve seizoen dat ongeveer 2 tot 5 maanden kan duren. De overlevingskans van darrenbroed is gelijk in moergoede als in moerloze volken, maar de overlevingskans is hoger in moerloze volken in de nazomer en herfst.

Er zijn ook darren in een bijenvolk die afkomstig zijn van werksters. In een moergoed volk heeft ongeveer 1 op de 5000 werksters goed ontwikkelde eierstokken. (Ratnieks 1993, Visscher 1996). De eitjes die deze werksters leggen worden voor een groot deel binnen 24 uur verwijderd. De hoeveelheid eitjes die door werksters gelegd wordt is sterk afhankelijk van het seizoen, temperatuur, en voedselcondities. Tot 7 % van de darreneitjes kan van werksters afkomstig zijn. Visscher geeft in 1989 al aan dat 0,12 % van de darren in een moergoed volk afkomstig zijn van eierleggende werksters.

Het zijn deze eitjes die je boven het moerrooster vindt

### **1.2 Ontwikkeling van ei tot bij**

Een dar komt uit een niet-bevrucht ei gelegd door een koningin of een eierleggende werkster.

Het verschijnsel dat uit onbevuchte eitjes mannetjes komen wordt parthenogenese genoemd, een verschijnsel wat door Dzierzon in 1845 voor het eerst is beschreven in de Eichstädter Bienenzeitung. (Nachtsheim 1913).

Von Berlepsch deed in 1852 al onderzoek aan de ongeslachtelijke voortplanting van de dar. Dzierzon voert in 1853 (gele) Italiaanse bijen in en bemerkt door de verschillende kleurschakeringen in de nateelt dat darren door parthenogenese ontstaan.

De bekendmaking van dit verschijnsel heeft geleid tot veel onderzoek naar de ontwikkeling van de larve van de bij vanuit het ei tot en met het uitlopen. In 1861 toonden Siebold en Leuckart de aanwezigheid aan van zaadcellen in eitjes die in werkstercellen zijn gelegd, en het afwezig zijn van sperma in eitjes die in darrencellen voorkomen. Vervolgens ontstaat dan het probleem waarom uit onbevuchte eitjes een dar ontstaat en uit bevruchte eitjes een werkster.

Doordat een dar haploïde celkernen bezit kan het verschil tussen sexen niet veroorzaakt worden door een sex-chromosoom. (Waarom niet ?)

Darren en werksters bezitten dezelfde chromosomen, alleen bij de werksters komen deze dubbel voor en bij darren enkelvoudig. De chromosomen zijn allen gelijk van vorm. Werkster bezitten chromosomen van de koningin en één van de darren waarmee ze gepaard heeft, terwijl de dar alleen chromosomen heeft doorgekregen van de koningin. In de situatie waarin zowel het mannelijke als het vrouwelijke organisme diploid zijn wordt de sexe van het organisme bepaald door een evenwicht aan mannelijk en vrouwelijke genen op de sex-chromosomen. Elke cel heeft een geslachtschromosoom plus een aantal autosomen. Het mannelijk individu heeft een Y-chromosoom als geslachtschromosoom en het vrouwelijk individu heeft een X-chromosoom als geslachtschromosoom en elke lichaamscel bezit twee X-chromosomen. De mannelijke lichaamscel bezit zowel een X- als een Y-chromosoom. De eicellen bevatten alleen X-chromosomen en de mannelijk zaadcellen voor 50% X-chromosomen en voor 50% Y-chromosomen. Bij de bevruchting ontstaan dus 50% mannelijke individuen en 50% vrouwelijke. Deze verklaring van de sexe uit de aanwezigheid van geslachts-chromosomen gaat niet op voor een dar met haploïde lichaamscellen. P.W. Whiting toonde in 1918 bij een parasitaire wesp aan dat sex-allelen op de sex-locus van één van de 16 chromosoom bepalend is. Na genetische studies met kunstmatige inseminatie kon O. Mackensen in 1951 aantonen dat ook honingbijen het geslacht bepaald wordt door het voorkomen van sex-allelen op een specifieke plaats op een chromosoom. Wanneer in een bevrucht eitje beide sex-allelen gelijk zijn (homozygoot) ontstaat een diploïde dar. Bij ongelijke sex-allelen op de sex-locus van de chromosomen (heterozygoot) ontstaat uit een bevrucht eitje een werkster. Diploïde darren worden als larve door de werksters opgeruimd. Uit hemizygote (onbevuchte) haploïde eitjes ontstaan darren. Als een koningin geïnsemineerd wordt met het sperma van haar eigen zoon ontstaat broed met 50% diploïde darren en 50% werksters. Mackensen kon deze paring als volgt uitvoeren. Eerst produceerde hij een onbevuchte koningin die in een kernvolkje eieren kon leggen. Nadat voldoende darren zijn verkregen wordt de koningin gedurende drie dagen in een kooitje in het volk opgesloten. De derde dag wordt ze geïnsemineerd en op de vijfde dag nog een keer. In de tussentijd wordt ze in een kooitje gehouden, en op de vijfde dag vrijgelaten.

Bij broer zuster paringen valt 1/3 van het broed uit. Het experiment verloopt dan als volgt.

Als bij een eerste paring een koningin uit kast 1 en een dar uit kast 2 gebruiken, hebben we te maken met 4 sex-allelen. Als de koningin met 1 dar gepaard heeft dan zijn 3 sex – allelen in het volk aanwezig van de koningin A, B en van de dar C die in de volgende combinaties AB, AC en BC voorkomen. Wanneer we vervolgens een jonge koningin uit dat volk laten paren met een broer uit dezelfde kast is de dar A, B of C en de koningin AB, AC, of BC. Als we een

dar gebruiken bijvoorbeeld A dan zijn de combinaties , AA, of AB, AA, of AC en AB en AC, De combinaties met dar B of C is gelijk, zodat gemiddeld 1/3 van het werksterbroed uitvalt.

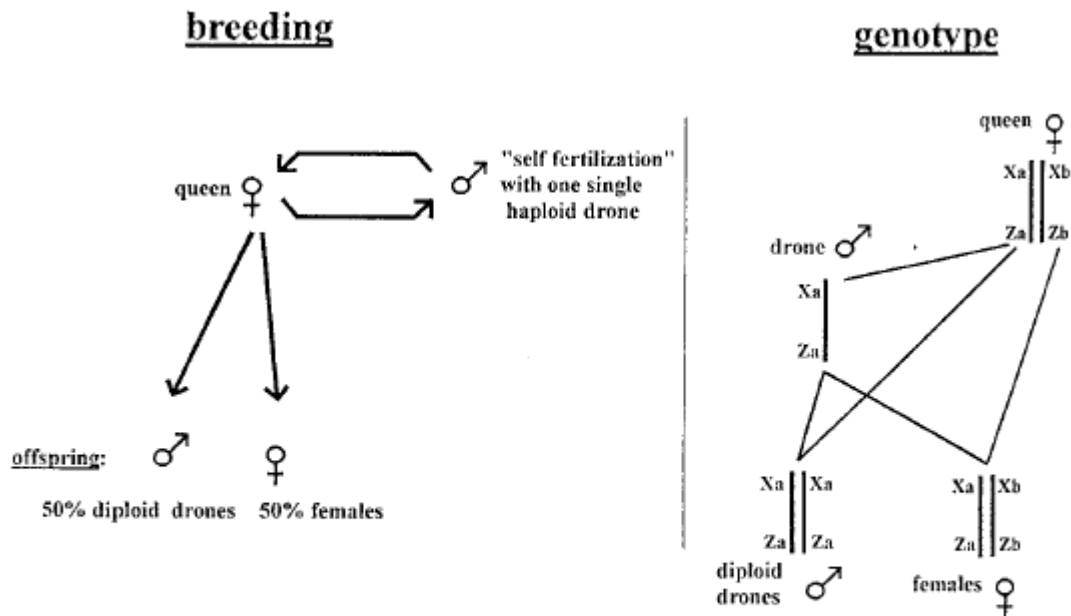
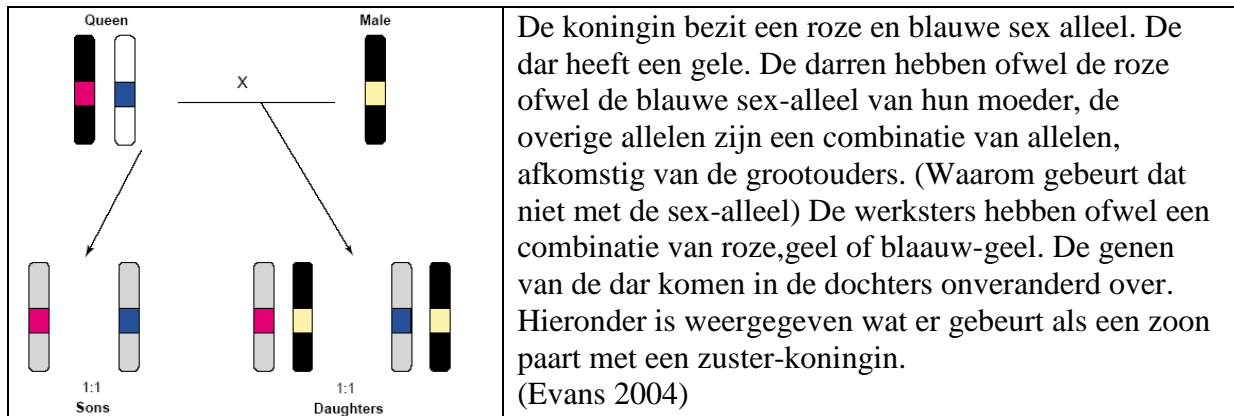


Fig. 1. Breeding scheme and the corresponding genotypes of females and haploid/diploid drones at the Z- and X-locus. The queen was inseminated with one of her own sons, resulting in 50% diploid drones and 50% females in the diploid brood. The Z-marker alleles, which are closely linked to X, show the same segregation as the X-alleles (Beye 1994)

ing in 50% diploid drones and females in the diploid brood. The Z-marker alleles, which are closely linked to X, show the same segregation as the X-alleles

Woyke stelde in 1963 vast dat het broed van een koningin die gepaard heeft met nauwverwante darren hagelschot vertoont, veroorzaakt door lege cellen waaruit de diploide larve door werksters is opgeruimd. Verschillende onderzoekers toonden in die periode aan dat het aantal verschillende sex-allelen tussen de 11 en 17 ligt. In 1995 vonden Hunt en Page de positie van het sex-gen op de chromosomen van de bij. In 1999 vond men de exacte grenzen van het sex-gen op het chromosoom.

De koninginnen geïnsemineerd met een dar werden door gebruikt voor het bepalen van het aantal sex-allelen die voorkomen in een populatie, door Laidlaw. De nakomelingen van deze koninginnen worden gebruikt om de genetische component van gedrag te onderzoeken. Vooral bij eigenschappen die weinig voorkomen zoals resistentie tegen varroamijten is het

belangrijk om bijenvolken bestaande uit één zustergroep te onderzoeken, op het voortplanting van mijten in het broed. Deze eigenschap kan in volken met meerdere zustergroepen volledig gemaskeerd worden. De koningin met nakomelingen voortkomend uit een dar zijn 75% verwant aan de koningin dus ook een dochter koningin. De kans dat de gezochte eigenschap ook in de dochter koningin aanwezig is, is groter dan bij een dochter koningin die voortkomt uit een bijenvolk met meer zustergroepen. De verwantschap met de dochterkoningin zakt dan al snel naar 30% tot 25% waardoor de kans dat de nieuwe koningin de gewenste eigenschap bezit kleiner is.

De duur van ei tot uitlopende dar is 24 dagen, maar aan de buitenranden van het nest kan de ontwikkeling 25 dagen in beslag nemen.(Currie 1987)

In het onderstaande overzicht (Goetze 1940) is de gewichtstoename met de leeftijd weergegeven van werkster, koningin en dar. Bovendien is in dit overzicht vastgelegd welke opeenvolging van kleuren de ogen krijgen in het popstadium.

Gewicht in mg.			Tijd	Stadium tijdens Metamorfose			
Dar	Werkster	Koningin	Dagen	Koningin	Werkster	Dar	
	0,13	0,13	1				
			2				ei
	0,10	0,10	3	x	x	x	
	0,65	1,02	4				
	4,70	7,20	5				
	25	63,46	6				
	95	115,15	7				larve
		250	8	x			
384	158		9		x		
			10	o		x	verzegelen
			11				gestrekte
			12		o		larve
			13				nymf
			14			o	verpoppen
	135		15				
		190	16	+			pop
			17				stadium
			18				
			19				
			20				
	120		21		+		
			22				
			23				
277,1			24			+	uitlopen

Volgens Page (1984) is het gewicht van een uitlopende

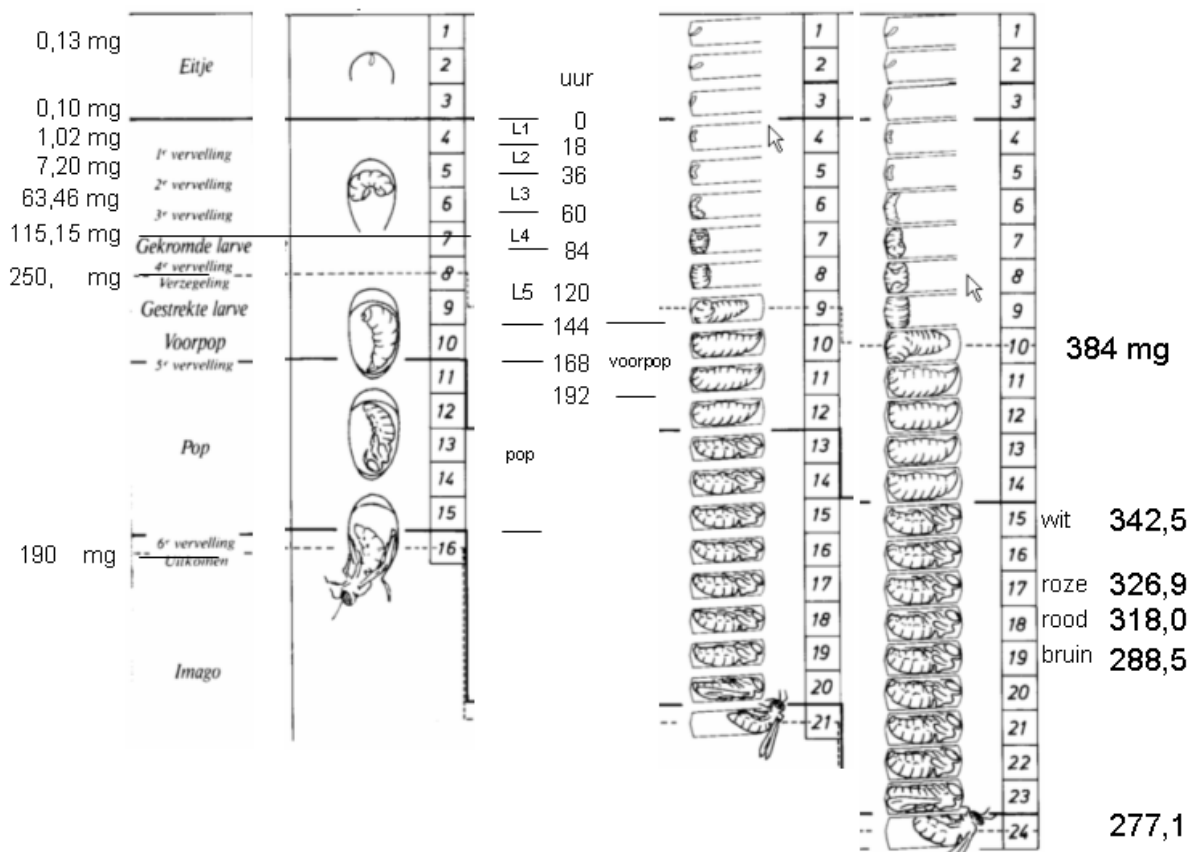
dar  $235,8 \pm 28,08$  mg.

werkster  $99,7 \pm 9,12$  mg

Uit hetzelfde onderzoek komen ook gewichten voor

Darrenraat  $0,052 \pm 0,0071$  g / cm<sup>2</sup>

Werksterraat  $0,038 \pm 0,0055$  g / cm<sup>2</sup>



Het prepop stadium is geen duidelijk afgebakende fase. Deze fase wordt gekarakteriseerd door het zichtbaar worden van popstructuren binnen de huid van de larve nadat de cocon is gesponnen. De tijdsduur van de verschillende larvestadia zijn ontleend aan gegevens van Bertholf opgenomen in Wirtz 1973.

Ook vinden we hier een grafiek waarin de gewichtstoename tijdens het larvestadium is uitgezet. De gewichten van de dar zijn overgenomen uit Duay 2003.

### 1.3 Voedselbehoefte.

Voor het bijenvolk is het opkweken van darren zeer arbeidsintensief en krachten verslindend. Een darrenlarve weegt ongeveer 2,5 maal het gewicht van een werksterlarve op het tijdstip van sluiten van de cel.(1) en zullen daardoor meer voedsel nodig hebben, waardoor werksters meer tijd zullen spenderen in het grootbrengen van darrenlarven dan van werksterlarven. De verzorging van darrenlarve blijkt ongeveer 2.8 maal zoveel tijd te vergen dan de tijd benodigd voor de verzorging van een werksterlarve.(1)

Eéndags darrenlarven krijgen per dag 776, zes dagen oude larven 1507 bezoeken van voedster bijen. Ze worden vijf tot veertien maal per uur gevoerd. Een werksterlarf wordt daar tegenover op de eerste dag elke vijf uur, vanaf dag vier twee keer per uur gevoerd. In totaal krijgt de werksterlarve tot het verzegelen van de cel 2069 bezoeken met voedingen van de voedster bijen.

Uit deze bezoekcijfers kan je uitrekenen dat een dar gemiddeld 1141 bezoeken per dag ontvangt verdeeld over 6 dagen en een werkster gemiddeld 414 bezoeken per dag ontvangt verdeeld over 5 dagen. De verhouding in het totale aantal bezoeken is 3,3 en de verhouding in het gemiddelde aantal bezoeken is 2,7 in overeenstemming met het genoemde getal 2,8. De opgegeven aantallen bezoeken per uur zijn echter niet in overeenstemming met de opgegeven aantallen bezoeken per dag.

## **Ter verduidelijking: 1 Gram stuifmeel is nodig voor het opkweken van 7 gram bijen, voor 10000 bijen 1,4 kg stuifmeel ?**

Een darrenlarve weegt bij sluiten 384 mg en een werkster 160 mg. (verhouding 2,4)

Hoeveel stuifmeel is nodig om darren te kweken uitgaande van de gewichtsverhouding tijdens uitlopen van een werkster en een dar ? (Trip 2004)

Terwijl de werkbijen zich direct na het uitlopen zelf voeden, worden de darren door de werksters gevoerd, met een mengsel van stuifmeel, honing en voedersap, hetgeen ook aan oudere werksterlarven gevoerd wordt. Pas uitgelopen darren worden 25 keer per uur, 2 dagen oude 16 keer per uur gevoerd.

Het opkweken van darren vergt 5 keer zoveel stuifmeel als het opkweken van werksters en het energieverbruik van darren is 3 keer zo groot als dat van werksters.

Deze grote aanslag op de voedselvoorraad en de extra aandacht die darren nodig hebben maakt het verklaarbaar dat een bijenvolk aan het opkweken van darren pas begint als er voedsel en werksters in overvloedige hoeveelheid aanwezig zijn. Hieruit kan niet worden afgeleid dat darren opvreter zijn, omdat het aantal darren in verhouding tot het aantal opgekweekte werksters gering is.

De eiwitrijke voeding heeft een versterkende en levensverlengende werking en bovendien nog een aanmerkelijke invloed op het geslachtsrijp worden van de darren. Pas na de eerste levensweek nemen de darren koolhydraat rijk voer, b.v. honing, zelf op, maar proberen steeds nog door te bedelen gevoerd te worden.

### **1.4 Levensduur**

Over de levensduur van darren bestaat groot verschil van mening die uiteenlopen van 13-14 dagen, 21-24 dagen tot 54 dagen. Waarschijnlijk is de levensduur afhankelijk van het tijdstip van het jaar waarin een dar uitloopt, een zijn vluchtgedrag en omgeving waarin gevlogen wordt. De levensduur is korter in de zomer dan in het voorjaar en herfst. De levensduur is het kortst in de zwermtijd wanneer darren veel paringsvluchten maken. Net als bij werksters is de levensduur afhankelijk vlieggedrag en energieconsumptie tijdens de vlucht. De grote verschillen in levensduur kunnen daarom veroorzaakt zijn door geografische verschillen tot uiting komend in temperatuurverschillen, andere windsnelheden en het voorkomen van predatoren, (Currie 1978)

De levensduur van een dar verschilt naargelang van het tijdstip van geboorte en de omstandigheden waarin deze is opgegroeid. De levensduur loopt uiteen van 70 dagen tot een gemiddelde levensduur van 23 dagen in de maand juli. De toevoer van voedsel heeft een belangrijke invloed op het aantal darren, de kwaliteit van de darren en op hun levensduur. Een sterk verkortend effect op de levensduur is opgegeten worden, wat vooral plaatsvindt wanneer sterk gevlogen wordt. (Currie 1978)

### **Wisselwerking darren en werksters**

Ook darren produceren een feromoon in hun kaakklieren. Dit feromoon wordt aangemaakt tijdens de eerste 9 dagen van hun bestaan en sparen dit op tot het ogenblik dat ze op paringsvlucht gaan. Het feromoon oefent een aantrekkingskracht uit op andere darren en helpt ze om de darrenverzamelplaats te bereiken. Het is niet bekend of darren een signaalstof



gebruiken om werksters te bewegen hun voedsel te verstrekken. Darrenlarven scheiden een specifiek broedferomoon af die voedslerbijen ertoe aanzetten gepast voedsel aan te voorzien. Darrenlarven krijgen immers een ander dieet dan werksters en koninginnenlarven. Datzelfde broedferomoon lokt de varroamijt naar de darrencel die op het punt staat verzegeld te worden. (Maandblad van de Vlaamse Imkerbond 2003 /10 blz 249,250) En de darren hoe gedragen zij zich thuis? Alois Schotanus.

## 1.5 Hoeveelheid darren in een volk

De hoeveelheid darrenbroed dat wordt aangezet en het aantal darren dat in stand gehouden wordt is beperkt en, verschilt per volk en blijkt afhankelijk van verschillende factoren:

- erfelijke aanleg
- sterkte van het volk
- soort volk: overwinterd volk, voorzwerm, nazwerm, afgezwermd volk
- tijdstip van het jaar
- weersomstandigheden
- dracht

### Soort volk

In de loop van het seizoen en door activiteiten in het volk kunnen we de volgende toestanden in het volk onderscheiden. Elke toestand heeft invloed op het aantal darren die erin voorkomen.

Overwinterd volk	Bouwen extra darrencellen in het voorjaar tot een percentage tussen de 13%-17% van het cellenbestand.
Voorzwerm	Start gemiddeld 22 dagen en stopt 64 dagen na afkomen van de zwerm Sterk afhankelijk van de grootte van de zwerm en tijdstip van zwermen
Nazwerm	Is kleiner dan de voorzwerm en komt op een later tijdstip en produceert daarom minder darrencellen
Afgezwermd volk	Na de zwerm overblijvend volk met een nieuwe koningin

Voorzwermen produceren meer darren dan nazwermen en afgezwermde volken.

Voorzwermen bezitten meer werksters dan afgezwermde volken en starten direct met het aanzetten van broed vanwege de aanwezigheid van een bevruchte koningin. De laatste twee typen volken produceren beide gemiddeld evenveel darren.

Om darren uit te broeden moet er voldoende darrenraat aanwezig zijn. De constructie van nieuw darrenraat is omgekeerd evenredig aan de reeds aanwezige hoeveelheid (Free 1967).

De nestopbouw van wilde nesten is als volgt:

55% voedsel (stuifmeel+honing)

25% broed

20% leeg

(Seeley 1976)

Het percentage darrenraat oppervlak ten op zichte van het totale raatoppervlak is  $17\% \pm 3,0\%$ . Deze verhouding komt bij verschillende onderzoekers naar voren kan als een redelijk constante verhouding worden gezien. Darrenbroed zit meestal aan de buitenranden van de inwendige raten en het raatoppervlak van het broednest bestaan vaak geheel uit darrenraat. Door deze concentratie van darrenraat hoeft de koningin niet continue over te schakelen tussen het leggen van bevruchte en onbevruchte eitjes.

Verder blijkt het aantal darrencellen, de hoeveelheid darrenbroed, het aantal volwassen darren en het aantal rijpe darren sterk van elkaar te verschillen, d.w.z niet aan elkaar gerelateerd.

Oppervlakte darrenraat	10-17% (1500 cm <sup>2</sup> ofwel 4500 cellen)		
Maximaal aantal cellen met darrenbroed in verhouding tot het totale aanwezige broed (eind mei begin juni)	8-19%	14% Weiss	
Jaarlijkse verzorging van darrenlarven	3.600-10.900	5000 Weiss	
Jaarlijkse verzorging van werksterlarven	110.000-170.000		
Totaal aantal darrenlarven per jaar	4,6%		
Maximaal aantal darren in een volk	871-2.110	900-2000 Weiss	
Overwinterd volk	660-3960	2400	0-1600 550
Overwinterde zwerm	0-8200		
Voorzwerm	3690 gemiddeld		
Nazwerm	830 gemiddeld		
Volken met onbeperkt darrenraat	45000.		

Uit onderzoek van Page komen wat hoger getallen naar voren.

Jaarproductie (larven ?)	
Darren	Werksters
18969±7267	226596±62584
Niet zwermdende volken	
22560±8280	261911±33100

Deze aantallen zijn in vergelijking met Weiss veel hoger ?

Het aantal uitgelopen werksters en darren (steekproef van 6 kasten) is veel lager.

Darren	Werksters
841 ± 602	15000 ± 8600

De verhouding tussen darren en werksters is 4,8% ± 2,41%

De verhouding tussen het totale aantal bebroede darrencellen en werksterstellen is:

$$\frac{\text{Darrenbroed}}{\text{Werksterbroed}} = 0,167 \pm 0,0028$$

Deze verhouding van nagenoeg 17% is gelijk aan de verhouding darren en werkster cellen van wilde bijennesten die Seeley vond

Ook heeft Page de verhouding in het bebroede oppervlak op een bepaald moment berekend. Dat blijkt  $0,140 \pm 0,0431$  te zijn en wanneer deze metingen gemiddeld over het jaar bekijkt dan ligt deze verhouding wat lager  $0,121 \pm 0,0396$ . Deze verhoudingen kloppen met bovenstaande percentage van Weiss van 14%.

Volgens Ratniek2003 blijken in een moergoed volk tussen de 50 en 100 darren per dag geproduceerd te worden en er blijken ongeveer 2000 darren in een volk aanwezig te zijn. Dus een dar leeft ongeveer tussen 20 dagen en 40 dagen.

De ouderdom van de koningin heeft zeer veel invloed op het begin van het leggen van darreneitjes. Eenmaal overwinterde koninginnen hebben nog geen noodzaak om vroeg in het voorjaar darren aan te zetten. Dit ligt anders bij volken met wat oudere koninginnen. Het is onduidelijk onder invloed van welke factoren de koningin start met het leggen van darreneitjes en wanneer werksters starten met de broedzorg. Uitgebouwde darrenraat wordt namelijk niet direct belegd en darrenlarven worden niet altijd direct opgenomen in de broedzorg..

We zien een sterke wanverhouding tussen het aanwezige broed en het aantal volwassen darren, namelijk 25% van de larven bereikt het volwassen stadium. (Currie 1987 geeft een percentage van 50%-56% op)

### **Regulering**

Er is een relatie tussen darrenbroed en volwassen darren. Verwijderen van darrenbroed of darren geeft aanleiding tot het aanzetten van darrenbroed of het aantrekken van darren uit andere kasten. Omgekeerd leidt het toevoegen van darrenbroed of darren tot het afstoten van darrenbroed of het migreren van darren naar andere volken. De dracht in de vorm van stuifmeel heeft veel invloed op de aanzet of trekken van darrenbroed, aantrekken of afstoten van darren. De aanwezige voedselvoorraad heeft hierop geen invloed. Zowel de koning als de werkster hebben invloed op de hoeveelheid aanwezig darrenbroed, omdat een leggende koningin het aantal eitjes in darrencellen bepaald, en werksters een teveel aan darrelarfje opruimt.

Het aantal volwassen darren in een volk is positief gecorreleerd met het aantal aanwezige werksters. Grote volken bezitten gemiddeld 1500 darren.(Currie 1978)

Darren verspreiden zich over de omliggende volken. Moerloze of volken met nog onbevuchte koninginnen trekken meer darren aan.

Ongunstige klimatologische omstandigheden beïnvloeden niet alleen het leggen en het verder verzorgen van de darren, maar vertragen ook het rijpingsproces van de uitgelopen darren. Later in het jaar is de verzorging van darrenlarven en de uitgelopen darren voor het volk minder problematisch. Dat kan plotseling veranderen als een goede dracht begint. Dan zijn alle "vleugels" nodig om de rijke dracht binnen te halen, de zwermduft stopt, de jonge voedsterbijen springen hun verouderingsproces over, darrenbroed en darren worden niet meer verzorgd, darrencellen worden vol honing gedaan.

Het is belangrijk voor het voortbestaan van een vitale bijenpopulatie dat elk volk een voldoende aantal volwassen en geslachtsrijpe darren voortbrengt. Als je weet dat een goede koningin gemiddeld met 25 darren heeft gepaard en een bijenvolk ongeveer 500 darren produceert, dan weet je dat de darren uit 1 volk 20 koninginnen kunnen bevruchten. In American Beejournal febr 1999, aangehaald in Bijen07/08-1999, wordt uitgegaan van de volgende getallen; het aantal darren dat nodig is om een koningin te bevruchten is ongeveer 60: 20 voor de paring en 40 als reserve wegens een vroege dood of het ten prooi vallen aan insekteneters. Omdat in deze 60 darren het verlies wordt meegenomen, moet je bij de berekening uitgaan van 1500 darren per volk zodat hier  $1500/60 = 150/6 = 25$  koninginnen per darrenvolk.

Uitgaande van 20 darren zou 1 volk 25 koninginnen kunnen bevruchten. De consequentie van onvoldoende darren is het ontstaan van een bijenpopulatie met verminderde vitaliteit.

Algemeen wordt gedacht dat het uitbroeden en onderhouden van darren veel honing kost en een aanslag is op de reserves van een volk. Er zijn echter geen verschillen geconstateerd in de hoeveelheid werksterbroed, en de honingopbrengst van volken die vrij darren kunnen produceren en die waarbij de darrenproductie beperkt werd. Hoewel het produceren van darren veel energie kost functioneren volken met een vrije darrenproductie beter dan andere volken. (Ruttner 1965)

Waarom zetten bijenvolken zoveel een surplus aan darren aan ? Als reserve voedsel in perioden van grote tekorten. Drones deel 2 door Steve Taber in American Bee Journal januari 1999. blz 30-31.

## 1.6 Darrenslacht

Afhankelijk van de omstandigheden, worden de darren eind juli of in de loop van augustus uitgestoten. Sommige bijenvolken behouden hun darren zelfs tot in het najaar. De darrenslacht vindt plaats zodra de nektardracht verminderd en een bevruchte koningin in het volk rondloopt. De darrenslacht blijft uit als er een onbevruchte, darrenbroedige, danwel geen koningin in het volk rondloopt. De werkster verdrijven de darren eerst uit het broednest naar de wanden toe en vervolgens naar de vliegplank, waar zij vanaf worden gedreven. Sommige werksters hebben zich gespecialiseerd in agressief gedrag tegen darren. (Currie 1987) Het uitdrijven van darren vindt geleidelijk plaats en duurt gemiddeld enkele weken met een gemiddelde van 10-15 darren per dag.

Percentage uitgedreven darren in verschillende omstandigheden

Goede moeder	100 %
Goede moeder maar met verminderde dracht	90%
Moerloos	61%
Moerloos met verminderde dracht	58%

Het verminderen van het aantal darren is sterk afhankelijk van de toevoer van stuifmeel en nectar.

--.Zijn alle broedstadia van de darren aanwezig: goede stuifmeelverzorging;

--.Geen darrenlarven: sinds 48 uur weinig stuifmeel;

--.Geen darren eitjes: sinds minstens 7 dagen te weinig stuifmeel;

--.“Er uit werken” van uitgelopen darren: stuifmeel gebrek sinds 2-4 weken.

In tijden van nood (groot gebrek aan alles) stopt de koningin met het leggen van darren eitjes en de werksters verwaarlozen het darrenbroed.

Het uitdrijven van darren kan enige weken tot maanden duren. Hiervoor lopen gespecialiseerde werkster in het volk rond, die dan voortdurend agressief gedrag vertonen tegen darren. Het verdwijnen van darren uit een volk zal mede veroorzaakt worden door de wachtbijen die darren tegenhouden.

Het verhaal in Bijen dat het uitdrijven van darren samenhangt met de geur die darren zouden verspreiden, en de wijziging in de appreciatie van deze geur door werksters in de loop van het seizoen ben ik verder in literatuur niet tegengekomen.

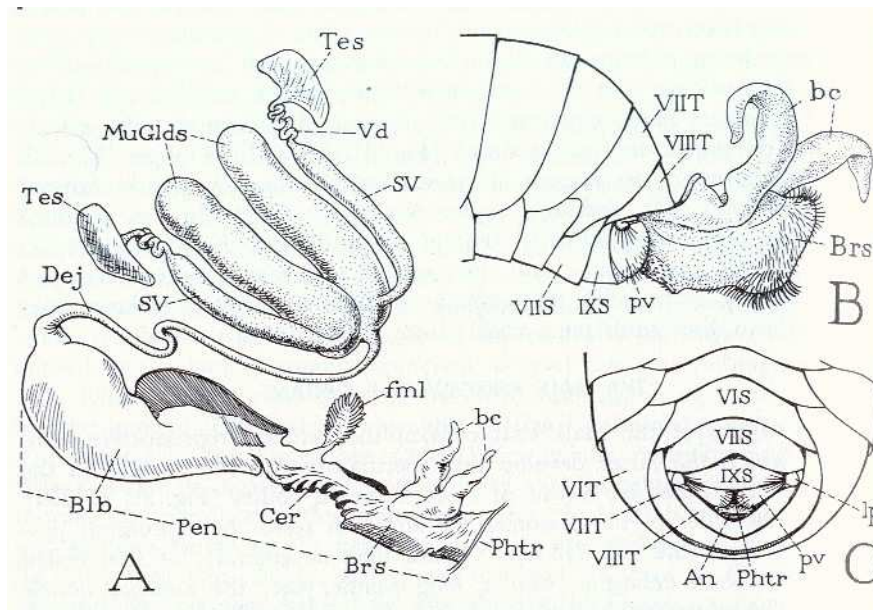
## 2.1 Anatomie

Zowel inwendig als uitwendig verschilt een dar aanzienlijk van een werkster en koningin.

Uitwendig vallen de omvang van de ogen op. De antenne bevat meer feromoongevoelige sensoren. De kaken zijn onderontwikkeld. De stuifmeelkorfjes ontbreken. De vliegsperen zijn sterk ontwikkeld.

Inwendig verschilt een dar van een werkster natuurlijk door zijn geslachtsorganen, maar ook door het onderontwikkeld zijn van de voedersapklier. De neus is beter ontwikkeld, maar ook de hersenen direct gekoppeld aan de verwerking van zichtprikkel is omvangrijker dan bij de werkster en koningin.

### Anatomie van het geslachtsorgaan



A Overzicht van het inwendige voortplantingsorgaan van een dar.

B Gedeeltelijk uitgestulpte penis

C Onder aanzicht van het achterlijf van een dar.

Tes	testis	An	Anus
Vd	vas deferens	pv	penis klep
SV	vesicula seminalis	lp	paramerale plaat
MuGlds	glandula mucosa	V11T	tergale plaat achterlijf
Dej	ductus ejaculatorius		
Blb	bulbus	V11S	sternale plaat achterlijf
Pen	penis		
Cer	cervix (nek)		
Fml	geribbelde lob		
Brs	bursa van de penis		
Bc	bursal cornua (bursale hoorntjes)		
Phtr	phalotreme:uitwendige opening voor de uitstulpende penis		

Figuur uit The Hive and the Honeybee 8<sup>ste</sup> druk 1986 pag 122.

In het algemeen hebben mannetjes van insecten een harde uitwendige penis (ectophallus), maar darren hebben een inwendige penis (endophallus) met nog twee plaatjes zijn overgebleven van de chitine huid. Bij de paring liggen deze plaatjes (Parameral-, Aedeagalplaatje) tegen de lichaamswand aan. Deze plaatjes hebben geen functie meer bij de overdracht van het sperma. De endophallus is een witte, met huid bedekte zak met meerdere aanhangsels en op een beperkt aantal plekken behaard. Door de grote lengte van de endophallus en zijn totale grootte, ligt het gehele mannelijke geslachtsapparaat in een S-vorm

geplooid in het achterlijf. De testes (Tes) of teelballen bestaan uit zaadvormend weefsel, waar de spermatozoa geproduceerd worden. De teelballen bereiken hun maximale grootte tijdens het larvenstadium tot vlak na het uitlopen van de volwassen dar. Ze zijn dan ongeveer 5 mm groot. Bij geslachtsrijpe darren (ongeveer 12 dagen na uitlopen) zijn de testes gereduceerd tot een verschrompeld groenachtig-geel weefsel, nog amper 1/3 van de aanvankelijke grootte. De testes monden via een kanaal, de vas deferens (Vd), uit in het zaadblaasje of vesicula seminalis (SV). Hier wordt de ontwikkeling van de spermatoïden voltooid. Het zaadblaasje mond weer uit in het uiteinde van de mucusklier (MuGlds) (glandula mucosa). Vanuit de mucusklier loopt een gemeenschappelijk kanaal, de zaadleider (Dej) naar de endophallus (Pen). De endophallus is het eigenlijke copulatieorgaan. In niet-uitgestulpte toestand ligt deze aan de buikzijde van het achterlijf (abdomen)

De endophallus is in drie delen verdeeld:

- bulbus (Bib) waarin het spermakanaal uitmondt. De omgekeerde chitineplaatjes liggen aan de bovenkant met de punten naar voren wijzend, terwijl deze in rusttoestand naar voren wijzen.
- hals of cervix (Cer)
- basisgedeelte of vestibulum (Vst) met de twee hoorntjes (Bc)

Bij de paring stulpt de penis binnenste naar buiten uit. Dit is voor te stellen als een vinger van een rubber handschoen die in rust naar binnen is gedrukt. Aan de top van de ingedrukte vinger mondt de zaadleider uit. De opening van de naar binnen gestulpte vinger komt overeen met de phallosome van de endophallus. Blaas lucht in de handschoen en knijp hem dicht en zet er druk op. Hetzelfde gebeurt in het achterlichaam van de dar door een krachtige contractie van de spieren van de abdomen. Hierbij komt de bulbus door de hals (Cervix) naar buiten en steekt in de bursa copulatrix van de koningin. (Darren 2) (Davis 2004)

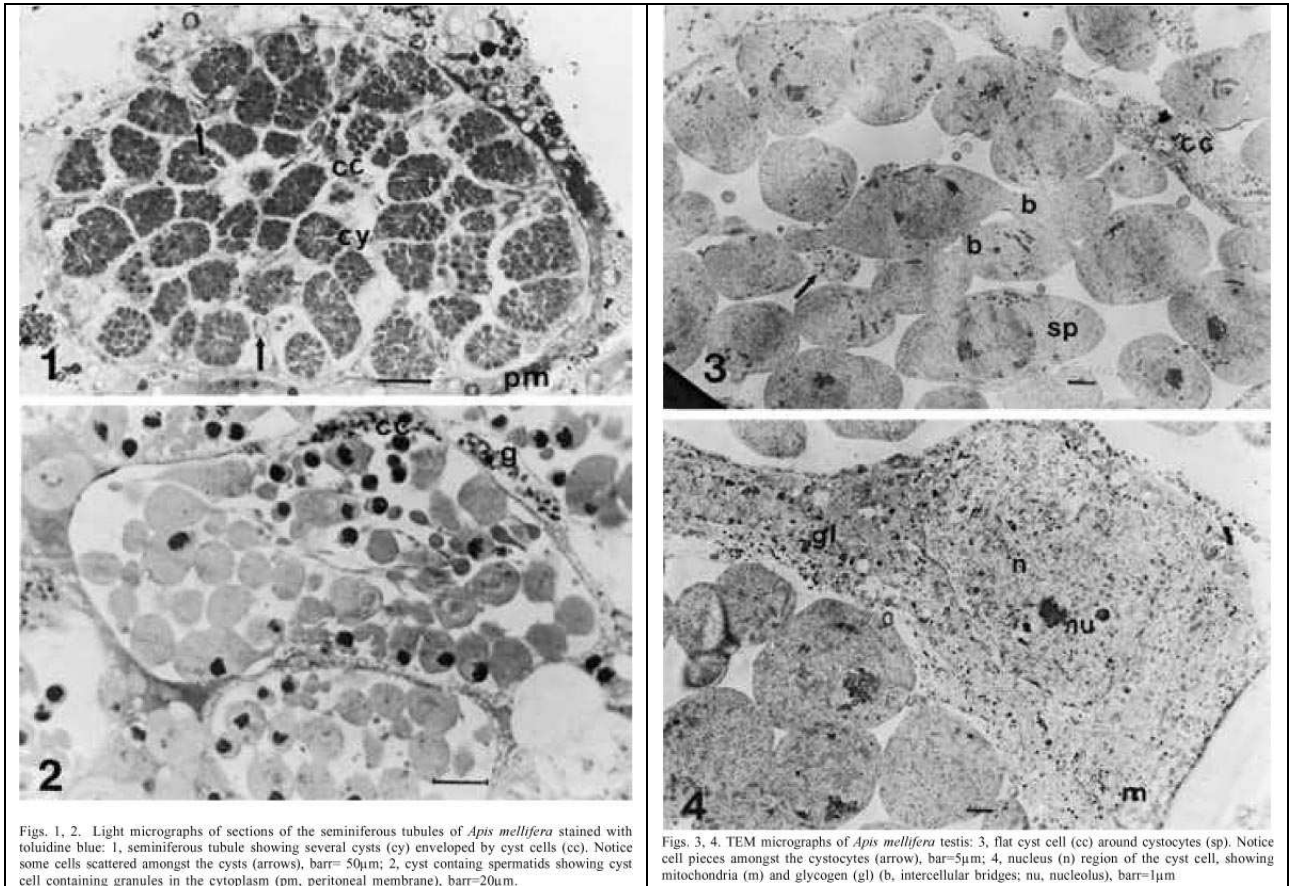
De uitgestulpte penis is doorzichtig en met lucht of haemolymfe gevuld. In het inwendige is het spermakanaal (Dej=ductus ejaculatorius) zichtbaar. Tijdens de uitstulping wordt het spermakanaal uit het achterlijf in de endophallus getrokken en mondt uit in de bulbus.

Omdat het spermakanaal korter is dan de endophallus, worden ook de mucusklier en teelballen uit het lichaam in het brede begindeel van de endophallus getrokken. (Ruttner 1975) In afbeeldingen wordt dit echter niet als zodanig weergegeven.

## 2.2 Spermatogenese

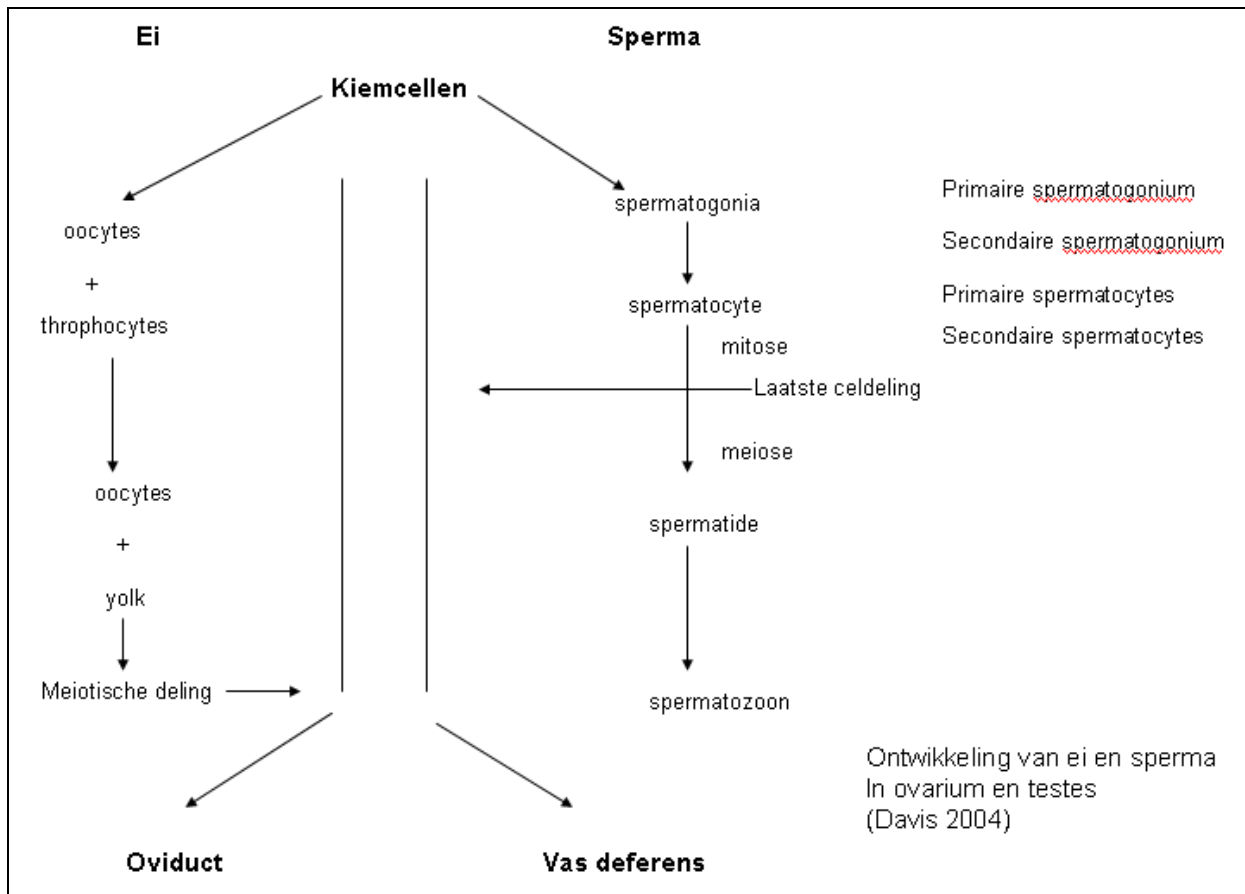
De testes van de dar bestaat uit een bundel buisjes, follicles genoemd. Elke follicles bevat een aantal lagen waarin de voortplantingscellen zich in opeenvolgende stadia van ontwikkeling bevinden. In de top van elk buisje bevinden zich primaire spermatogonia en follikelcellen omgeven door een epitheel. Uit elk primaire spermatogonium ontwikkelt zich door deling een secundair spermatogonium. De doorsnede van elk buisje telt vijf secundaire spermatogonia. De follikelcellen leveren een schede om elk secundair spermatogonium. Door deling ontstaat uit elk secundair spermatogonium een primaire spermatocyt. Dan volgt de reductiedeling, waarbij twee secundaire spermatocyt en uiteindelijk vier spermatiden ontstaan. De celvormige spermatiden krijgen een filament en worden spermatozoiden.

Een secundair spermatogonium is een driehoekig celletje die met de brede zijde naar de wand toegekeerd ligt, en vormen met de toppen tegen elkaar een rozet. Deze rozet van secundaire spermatogonia wordt spermatocyst genoemd. Een spermatocyst heeft een wand gevormd door een cystcel. De wand van een secundair spermatogonium wordt gevormd door een follikelcel. Elk secundair spermatogonium deelt zich in meerdere primaire spermatocyt



Gedurende het popstadium van de dar worden in de testes de spermatocytes gevormd. De testes bestaan uit talrijke buisjes. De ongedifferentieerde kiemcellen (primaire spermatogonia) bevinden zich aan het begin van de buisjes waaruit de testes zijn opgebouwd. Elke kiemcel deelt zich in een groep secundaire spermatogonia, die omgeven worden door een fijn membraan, cyst en ontwikkelen zich verder tot spermatocyten, die er uitzien als gewone cellen. Deze ontwikkelen zich dan verder tot spermatiden en uiteindelijk tot spermatozoa.

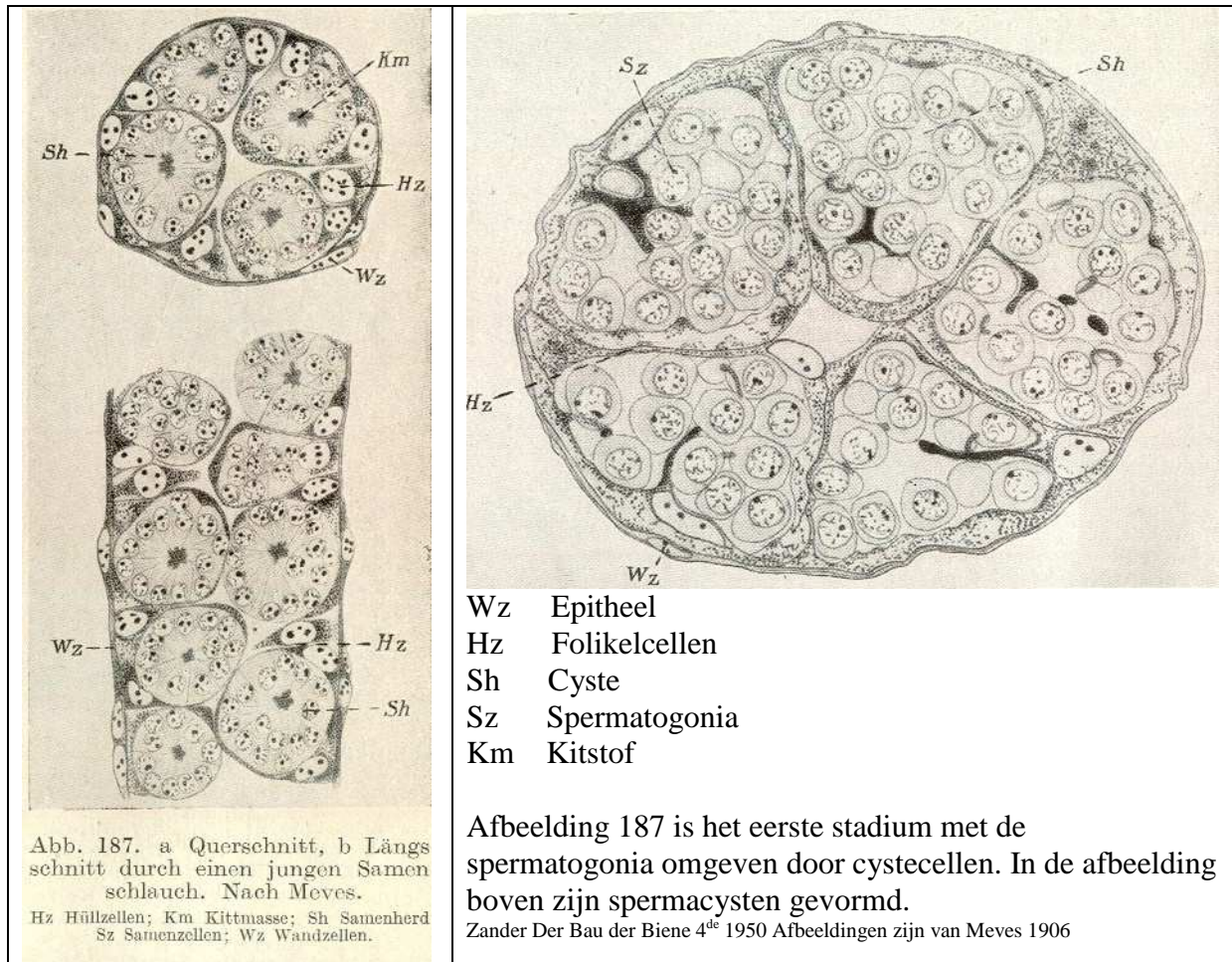
In een schema zijn de verschillende stappen in de vorming van sperma-cellen aangegeven.



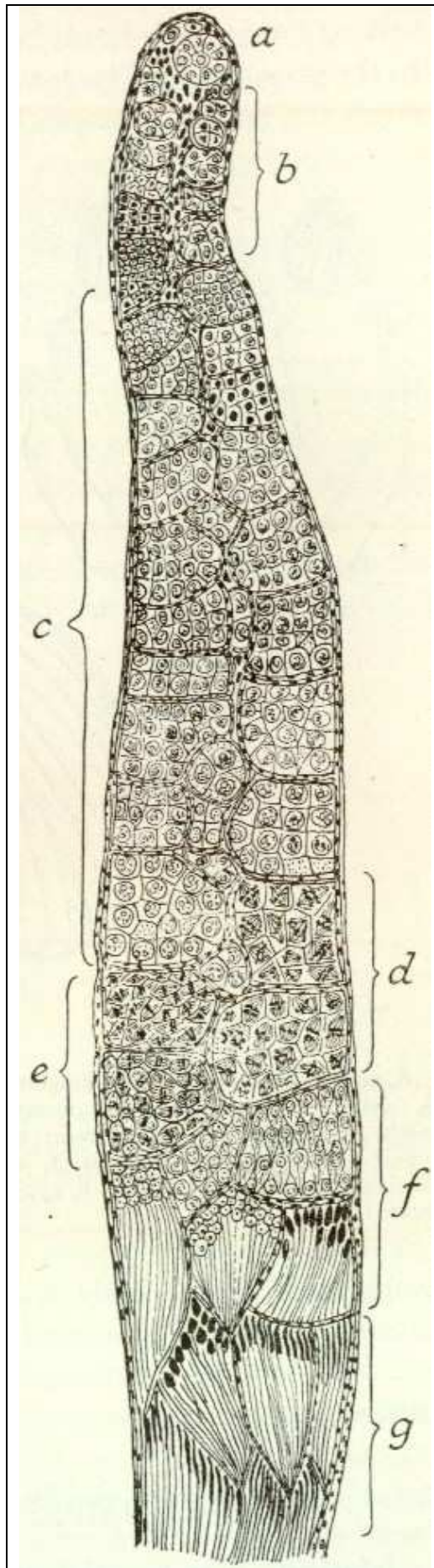
Spermatogonia zijn nog ongedifferentieerde geslachtscellen die dicht opeen gepakt omgeven door somatische mesodermale cellen. Elke spermatogonium wordt vervolgens bedekt door een mantel van somatische cellen. Deze worden primaire spermatocyten genoemd. In eerste instantie zijn de cystes rond maar krijgen een piramide-achtige vorm doordat het aantal spermatocyten toeneemt. Een groepje van spermatocyten worden opnieuw omgeven door cystecellen en vormen secundaire spermatocyten. De spermatocyten deelt zich in 2 en vervolgens opnieuw in uit eindelijk 4 spermatiden. (d en e) Bij de eerste deling vindt bij de meeste insecten een meiose plaats maar bij de hymenoptera niet. In het volgende stadium van ontwikkeling zijn de spermatiden nog opgesloten in de cyte maar ontwikkelen een flagellum (f) Daarna breekt de spermacel door de cyte wand

Bij de vorming van de spermatozoa treden geen reductiedelingen op omdat de lichaamscel van een dar reeds 16 chromosomen bevat. Omdat bij de reductiedeling uitwisseling van genetisch materiaal plaatsvindt en deze bij de vorming van zaadcellen uitblijft bevat elke zaadcel dezelfde 16 chromosomen. Vandaar de opvatting dat een dar een vliegende zaadcel is. Maar twee darren van dezelfde koningin dragen wel verschillend genetisch materiaal !





Vervolgens moet duidelijk gemaakt worden hoe de cellen in de buisjes testes zijn gerangschikt.



- a apicale cellen omgeven door spermatogonia
- b zone met spermatogonia
- c zone met spermatocyten
- d cysten met mitose delingen als eerste stap in het rijpingsproces
- e cysten met de tweede mitose deling uit de tweede stap in het rijpingsproces
- f zone met spermatiden
- g zone met spermatozoa.

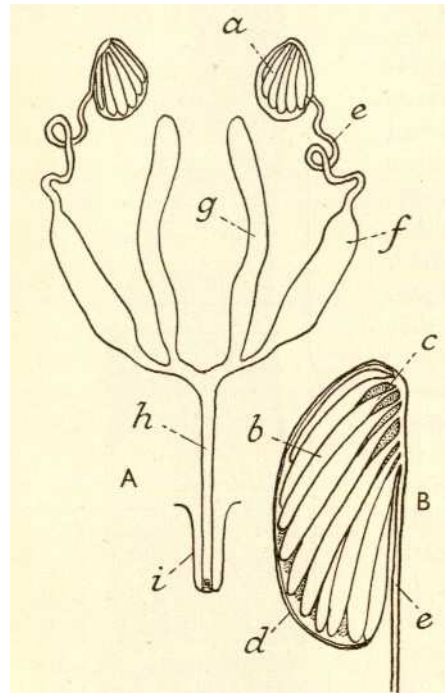


FIG. 337

A, male reproductive system, diagrammatic. B, detail of testis (after SNODGRASS). a, testis; b, follicles; c, vas efferens; d, peritoneal sheath; e, vas deferens; f, vesicula seminalis; g, accessory glands; h, ejaculatory duct; i, penis.

Uit Wigglesworth The Principles of Insect Physiology 4<sup>de</sup> 1950

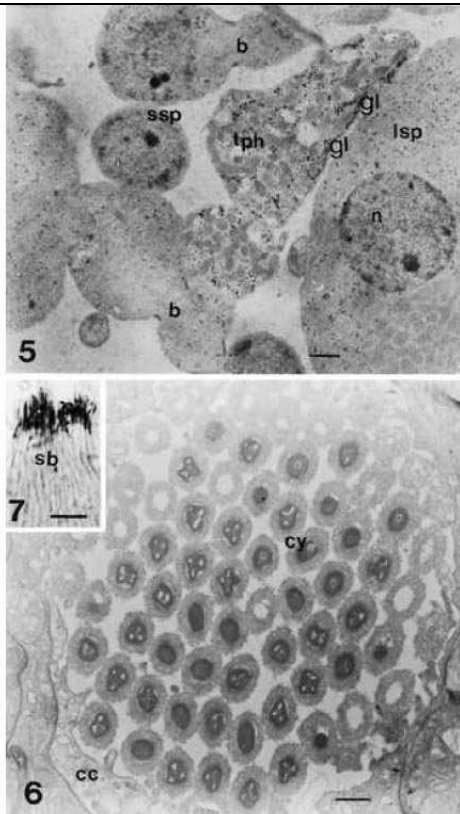


Fig. 5-7. TEM micrograph *Apis mellifera*: 5, trophocyte (tph) fragments containing glycogen (gl) into the cyst, barr=1µm. *Melipona bicolor bicolor* testis: 6, a cross section of a cyst (cy) containing immature spermatozoa, barr=1µm; 7, a light micrograph of a sperm bundle (sb) (b, intercellular bridge, cc, cyst cell; lsp, large spermatid; n, nucleus; ssp, small spermatid).

Vanaf het begin is de verzameling cytocyten omgeven door cyste-cellen. De primaire spermatocyten delen zich en vormen piramidalen cellen die met de brede basis tegen de cystcel aanliggen en de toppen vormen een roset. De cyste-cel levert aan de spermatocyte voedingsstoffen. Deze zijn rijk aan mitochondria en glycogencellen. Zolang de spermatozoa in de buisjes van de testes verblijven, zijn ze in bundels bijeengepakt. De afwijkende meiose die aan het einde van de vermenigvuldigingsfase optreedt, produceert twee spermatiden. Alleen de grootste met een volledige uitrusting aan cytoplasmatische organellen ontwikkelt zich tot een spermatozoon

Een spermatozoon ziet er uit als een lange draad met aan het uiteinde een klein kopje waarin het genetisch materiaal zich bevindt. Ze zijn ongeveer een ¼ mm lang. Op het ogenblik dat een dar uitloopt, is de ontwikkeling van de spermatozoa voltooid, en migreren door een buisje ( vas deferens) naar het zaadbuisje (vesicula seminalis). Deze migratie duurt ongeveer een week en begint op de 4<sup>de</sup> dag. Onder invloed van kliersecretie in het zaadblaasje rijpen de spermatozoa zodat zij steeds beweeglijker worden. Tijdens deze fase staan de spermatozoa met de kop gerangschikt tegen de wand van het zaadblaasje met klierzellen waaruit de wand is opgebouwd. De wand van het zaadbuisje wordt door de secretie van de klierzellen dunner waarbij de holte van het blaasje steeds groter wordt. Uiteindelijk bevat het blaasje een kleine hoeveelheid lympfachtig vocht met ongeveer  $11 \cdot 10^6$  spermatozoa. Kort na uitlopen van de dar uit de cel, start de mucusklier met de productie van een witte vloeistof die bij het vorderen van de leeftijd meer en meer stroperig (viskeus) wordt. De mucusklier heeft zijn werk afgerond als de dar 6-7 dagen oud is, terwijl voedsterbijen de dar voeden.

**(Trip 2004) Tussen de 8e en 10e levensdag is het sperma nog onrijp en witachtig van kleur. Het is dun vloeibaar en het mengt zich nog gemakkelijk met de mucus. Rijp sperma wint men van darren die 16 tot 18 dagen oud zijn. Het is crème kleurig en niet met slijm vermengd, maar duidelijk daarvan gescheiden (en goed op te nemen.) Hoe hoger het gehalte aan spermatozoiden is, zoveel sterker is de kleuring en zoveel hoger de viscositeit. Bij een rijpe dar zijn de zo genaamde horentjes van het uitgestulpte geslachtsorgaan oranje kleurig. Zijn ze helder dan is de dar te jong.**

### 2.3 Vitaliteit van de dar en kwaliteit van het sperma

De omstandigheden waaronder een dar volwassen is geworden is niet voor elke dar gelijk. De voedselvoorziening kan gestoord zijn geweest, veroorzaakt door niet voldoende werksters of door een tekort aan stuifmeel. Darren die in het larvestadium, geïnfecteerd zijn geweest door varroamijten blijven als volwassen dar in gewicht achter bij darren die niet geïnfecteerd zijn geweest in het larvestadium. Dit resulteert in een verminderde vliegcapaciteit maar ook in een kleinere hoeveelheid aangemaakt sperma.

Factoren die leiden tot een slechte aanname van koninginnen is het geringe hoeveelheid sperma aanwezig in de spermatheca. Een koningin met minder dan 3 miljoen spermatozoa niet langer dan een jaar in een volk meekunnen. (Taber) Een goed bevruchte koningin heeft minstens 4,5 miljoen spermatozoa in haar spermatheca opgeslagen. (Harizanis 1984) (Severson 1989)

Aantal spermacellen	% Koningin
3	60%
3.0-4.5	25%
> 4,5	15%

Het probleem van slecht bevruchte koninginnen kan men zoeken bij de koninginnen maar kan ook veroorzaakt worden doordat er weinig darren aanwezig zijn tijdens de bruidsvluchten, ofwel de slechte kwaliteit van de darren op de darrenverzamelplaatsen of een combinatie van deze factoren.

Ruttner (1983) vond dat de grootte van het oppervlak aan darrenbroed geen relatie vertoont met het aantal volwassen darren die onderhouden worden. Ongeveer 25% van het aantal darrencellen resulteren in volwassen darren. Hieruit concludeerde hij dat veel darren sterven gedurende de eerste dagen van hun leven en nooit seksueel volwassen worden. Hij vond ook dat de productie van darren afhankelijk is van een constante toevoer van nectar en stuifmeel en onafhankelijk van de aanwezige voedselvoorraad. Werksters zijn niet meer bereid voedsel te delen zodra de inkomende stuifmeel voorraad stopt, en dit resulteert in een snelle vermindering van het aantal darren in het volk. Er blijkt een sterk verband te bestaan in de beschikbaarheid van stuifmeel en de productie en aanhouden van darren in een volk. (Van Niem 1995) vond dat het seksueel volwassen worden van darren sterk afhankelijk is van voldoende aanwezigheid van eiwitten in de voeding. Als er voldoende stuifmeel binnen komt worden meer darren aangezet, met meer spermatozoa en worden in kortere tijd rijp (14-17 dagen) wat 1-2 dagen eerder is dan voor darren die minder eiwitten in hun voeding aantreffen.

Taber (1987)

Kwaliteit van de spermatozoa wordt bepaald door de chemische samenstelling van het sperma en mucus, de leeftijd van de dar tijdens de paring, viscositeit van de zaadvloeistof, en de levensvatbaarheid van de spermatozoa.

Novak (1960) onderzocht de aanwezigheid van de aminozuren en vond 15 verschillende aminozuren, met hoge concentraties aan arginine, lysine, leusine en glutamine zuur in verhouding tot de overige 11 aminozuren. Een tekort aan deze 5 belangrijke aminozuren zou een verminderde kwaliteit sperma opleveren. De leeftijd van de dar op het tijdstip van paring heeft invloed op de kwaliteit van het sperma.

Vesely bestudeerde in 1970 het vasthouden van sperma in de lateral oviduct van kunstmatig geïnsemineerde koninginnen en stelde vast dat onvruchtbaarheid en plotselinge dood vaak veroorzaakt werd door het vasthouden van sperma in de lateral oviduct.

Dit vasthouden zou veroorzaakt worden doordat het sperma afkomstig is van darren die 2 tot 9 weken oud zijn. Hoe ouder de darren hoe minder sperma in de spermatheca terecht komt. (Woyke 1978) Het percentage koninginnen met achterblijvend sperma in de lateral oviduct stijgt van 0-14% bij koninginnen geïnsemineerd met sperma van darren die 2 weken oud zijn naar 43-67% van de koninginnen die geïnsemineerd werden met sperma van 4 weken oud. Koninginnen die het sperma niet uit hun oviduct kunnen verwijderen gaan waarschijnlijk dood.

De levensvatbaarheid van sperma daalt met de leeftijd van de dar: Locke et al. (1993)

Leeftijd	Levensvatbaar
2 weken	86%
6 weken	80%

### Invloed van de varroa op de kwaliteit van het sperma

Varroamijten stappen 40uur tot 60 uur voorafgaande aan het tijdstip dat een darrencel wordt gesloten bij een larve in, terwijl dat voor een werkster 15-30uur voor het sluiten van de cel is. Het sluiten van een darrencel duurt 48 uur en dat van een werkstercel 12-24uur (1). Darrenbroed is 5-9 keer vaker besmet met varroamijten dan werksterbroed.

Ook al verwacht men dat darren na de 12<sup>de</sup> dag geslachtsrijp zijn, dan nog leveren zij niet allemaal voldoende sperma. Gemiddeld beschikt een dar over 1,7 µl sperma. Dat volume aan sperma bevat dan 11 miljoen spermatozoa ofwel een dichtheid van 7,5 miljoen spermatozoa per µl.

(Trip 2004) De sperma hoeveelheid van een dar schommelt tussen 1,5 en 1,75 mm<sup>3</sup>. Eén mm<sup>3</sup> bevat gemiddeld 7,5 tot 9,4 miljoen spermatozoïden. Dit is in overeenstemming met hierboven omschreven hoeveelheden.

Het onderstaand overzicht uit (Darren 2) levert het volgende beeld genomen uit een steekproef van 489 darren, dat 31,5% van de geslachtsrijpe darren sperma bezitten en slechts 11% veel.

Darren ouder dan 21 dagen zijn niet meer geschikt om sperma te leveren om te insemineren. Of deze darren nog een koningin kunnen bevruchten is niet bekend.

Ouderdom darren	Alleen mucus	Weinig sperma	Veel sperma	Viskeus sperma	Totaal sperma
14 dagen	74%	14%	12%		26%
16	75%	14%	11%		25%
18	58%	31%	9%	2%	42%
20	63%	27%	10%		37%
Totaal	68,5%	20%	11%	0,5%	31,5%

Het aantal spermatozoa per µl blijkt ook zeer uiteenlopend te zijn, maar is ook in opeenvolgende jaren verschillend. De voedselsituatie in een volk en het aantal aanwezige voedsterbijen zullen hierop invloed hebben maar ook de aanwezigheid van mijten heeft een

belangrijke invloed op de spermadichtheid. Het aantal spermatozoa kan teruglopen tot 30% en minder van het gemiddelde aantal

Darrenbroed wordt door Varroamijten bijvoorkeur gebruikt om zich voort te planten. Volken die ten onder gaan door een sterke Varroadruk hebben sterk geïnfecteerd werksterbroed gehad. De infectie van het darrenbroed is veel hoger dan dat van werksterbroed. Door deze infectie zullen er minder volwassen darren in een volk voorkomen maar ook zullen de uitgelopen darren schade hebben opgelopen, wat tot uitdrukking komt in een lager gewicht

Oogkleur pop	Niet geïnfecteerd	Besmet met 1-3 vrouwelijk mijten	Besmet met 4-6 vrouwelijk mijten
Wit	342,5 mg	345,5 mg	339,4 mg
Roze	326,9 mg	328,5 mg	335,3 mg
Rood	318,0 mg	313,3 mg	307,3 mg
Bruin	288,5 mg	275,6 mg	271,9 mg
Volwassen uitgelopen	277,1 mg sd = 16,0 mg	245,2 mg sd=28,0 mg	223,9 mg sd=33,5 mg

(Duay 2003) Opvallend is, in vergelijking tot werksters, dat darren nog blijken uit te lopen als in de cel 20 vrouwelijke mijten worden gevonden. Dit zijn dan wel minidarren. Werksters lopen niet meer uit wanneer 4-6 mijten in de cel aanwezig zijn. Het verlies aan gewicht treedt vooral op in het late pop stadium, omdat dan de ouder mijten ook het nageslacht haemolympe zuigt van de pop.

De grootte van een dar is niet alleen afhankelijk van het besmet zijn geweest door Varroamijten, maar blijkt ook afhankelijk van de voedingstoestand in het volk, waar kleinere darren ontstaan in volken die in slechte conditie verkeren vanwege te weinig inkomend stuifmeel en nectar. Ook blijven de darren kleiner in volken waarvan de koningin is ingeteeld. Kleine darren produceren 37% minder spermatozoa dan grote darren. (Schlüns 2003) terwijl uit de gegevens van Duay 2002 een vermindering van wel 50% is gemeten bij een besmetting met 2 mijten in de cel.

Behandelen van volken met Apistan, en Mierenzuur heeft grote invloed op de levensvatbaarheid van darren

(Trip 2004) Darren verliezen n.l. zeer snel hun vitaliteit. Al door een kortstondige vermindering van hun verzorging kan dit gebeuren.

B.v. reageren ze zeer gevoelig op afkoeling. Vervoer van darren moet altijd bij broednest temperatuur plaatsvinden. Het overbrengen uit het pleegvolk in een koude kast met maar weinig bijen, of het afvliegen van de darren in een koude ruimte of tegen een koud raam is voldoende, om bij het uitstulpen de indruk te wekken, dat het "lege" darren zijn. Dezelfde uitwerking heeft het oponthoud in een honingkamer op volle honingraten. Als er geen broed meer te verzorgen is, begeven de jonge bijen zich naar het broednest en de darren lopen onverzorgd in het broednest rond. Ze blijven weliswaar in leven, maar hun lichamelijke gesteldheid is zo slecht, dat het ondanks alle manipulaties het niet lukt, om het samentrekken van de buikspieren en daardoor het uitpersen van sperma en slijm te bereiken. Bij te oude darren (meer dan 3 weken) heb ik hetzelfde waargenomen. Jonge darrenbroedstadia in het broednest zijn dan meestal verantwoordelijk voor het verwaarlozen van de "oude heren". Een uitgelopen dar heeft voor zijn verzorging drie tot vier verzorgingsbijen nodig.

(Burmeister) Dit aantal moet men op letten.

Het verlies van vitaliteit is tot een bepaalde mate omkeerbaar. Door jonge bijen toe te voegen, een raam open broed, voer en warmte of boven op een broedbak plaatsen, kan de volgende dag van deze darren sperma gewonnen worden. Ook Woyke houdt de voor KI bestemde darren tot aan het KI-tijdstip in een arrestbak op open broed.

Op grond van deze waarnemingen kan ik het onder KI-technicie dikwijls uitgesproken vermoeden waar het om “lege” darren gaat, dit de uitkomst van inteelt is, niet delen. Inteelt uit zich eerder, doordat er geen darren geproduceerd worden.

Uit deze gegevens blijkt hoe belangrijk een goede verzorging van darrenbroed is voor de productie van voldoende vitale darren in een volk, die tot paring in staat zijn, en een voldoende hoeveelheid aan sperma van goede kwaliteit bezitten, doordat een voldoende aantal jonge werksters in het volk aanwezig zijn, die instaat zijn het broednest op voldoende hoge en gelijkmatige temperatuur te houden, en waarbij de besmetting met *Varroa* laag is. Een verklaring voor slechte bevruchtingsresultaten van jonge koninginnen kan zijn, een onvoldoende aanwezig zijn van vitale en kwalitatief goede darren.

### 3.1 Het leven van een dar

Darrencellen komen in meerderheid voor aan de rand van het broednest zodat zij gevoeliger zijn voor verkleumen als de werksters bij koud weer het broednest inkrimpen.

Darren die net uit de cel gekropen zijn worden de eerste vier dagen gevoerd door de werksters en beginnen daarna zelf te eten.

De ontwikkeling van de spermatozoa gaat door tot 12 dagen na het uitlopen, waarna de dar geslachtsrijp is. (de rijpingstijd voor sperma is 16-18 dagen, omdat het mucusbestanddeel ook een rijpingstijd vergt ) In beginperiode na uitlopen bevinden de darren zich in het centrum van het broednest, (gesloten broed) waar de temperatuur 35°C is en voedsterbijen hen van voedsel kunnen voorzien. Op oudere leeftijd verhuizen de darren meer naar de rand van het nest waar de honing is opgeslagen om zichzelf daarmee te kunnen voeden, waar het koeler is.

Voedselverbruik (Mindt in Ruttner 1966) (The Hive and The Honeybee 1968 blz 131)

Jonge darren	1 mg/uur
Vliegende darren tijdens rustperiode	3 mg/uur
Vliegende darren	14 mg / half uur vlucht

Vliegende werkster	10 mg/ uur
--------------------	------------

Het voedselverbruik van een uitgelopen dar is drie keer het verbruik van een werkster. Omdat de honingmaag van een terugkerende dar bijna altijd leeg is, kan men afleiden dat een dar gedurende de vlucht geen voedsel opneemt. Darren blijken tijdens hun verblijf in het volk niet deel te nemen aan de voedseluitwisseling tussen de werksters en doen 70%-80% van de tijd helemaal niets. De resterende tijd lopen ze rond in het volk en maken zichzelf schoon.

### Energieverbruik

### The effect of drone comb on a honey bee colony's production of honey\*

Apidologie 33 (2002) 75–86

Imkers maken zich druk over de verliezen in honingopbrengst ten behoeve van het kweken van darren. Er valt te berekenen, en er is onderzocht wat de kosten zijn in honing uitgedrukt om darren op te kweken. Er zijn imkers die menen dat een volk zonder darren niet goed functioneert. Een Fransman beweert zelfs dat broed en in het bijzonder darrenbroed essentieel is voor het binnenhalen van de dracht.

Ongeveer 5-15% van het broed bestaat uit darrenbroed, waarbij (Weiss 1962) ongeveer 5000-15000 darren per jaar worden geproduceerd. Uitgaande van het gewicht van een dar van 220mg kan geschat worden dat de jaarlijkse kosten aan honing om dit aantal darren te produceren gelijk is aan 2,2-6,6 kg honing, daarbij ervan uitgaande dat de efficiëntie bij de omzetting van honing naar darren 50% is. De berekening is dan als volgt voor te stellen:  $(5000-15000 \text{ darren}) \times 0,220 \text{ g/dar} \times 2 = (2,2-6,6 \text{ kg})$  Bij deze productiekosten komen nog de onderhoudskosten in het bijzonder de energiekosten voor het maken van paringsvluchten. Elke dar leeft ongeveer 20 dagen nadat deze rijp is geworden en stel dat een dar in zijn rijpe periode ongeveer 4 vluchten per dag maakt, dan kunnen we uitgaande van 10.000 darren berekenen dat er 800.000 vluchten per jaar worden gemaakt.

De energie die hiervoor benodigd is kan worden berekend uit de allometrische vergelijkingen van Wolf die uitgaan van de zuurstof behoefte van een vliegende bij. De verbrandingsverhouding (respirationrate) van honingbijen is bijna 1.0 (Rothe en Nachtigall, 1989) Deze allometrische vergelijkingen voor zuurstof verbruik in (ml O<sub>2</sub>/h) kunnen direct worden omgezet in vergelijkingen voor energie verbruik (J/s) gebruikmakend van de omrekeningsfactor van 1 ml O<sub>2</sub> overeenkomt met 20,1 J. De geconverteerde vergelijking voor een vliegende bij wordt dan  $MR = 0.00287 M^{0.629}$ , waarin MR de metabolische omzetting in J/s is en M het lichaamsgewicht in mg. Dus een dar van 220 mg verbruikt voor zijn vlucht 0,085 J/s. Dus de energie benodigd voor een vlucht van 30 min (1800s) is ongeveer 153 J. Omgerekend naar suiker met een verbrandingswarmte van 17J/mg verbruikt een gemiddelde paringsvlucht ongeveer 9.0 mg suiker of ongeveer 10,5 mg honing (een 86% suiker oplossing) Blijkbaar zijn de jaarlijkse onderhoudskosten voor darren ongeveer 8 kg honing, zodat de jaarlijkse kosten voor het aanhouden van darren tussen de 15-20 kg honing ligt. Seeley vond proefondervindelijk gemiddeld een gewicht aan 23.6 kg honing tussen volken met darren en die zonder darren.

In het Vlaamse Imkersblad komt men volgens een voor mij niet te volgen berekening tot een verbruik van ??? kg.

### 3.2 Vlieggedrag

Darren vliegen om zich te oriënteren, te ontlasten en om te paren. Vanaf 6-8 dagen oud (met een spreiding van 4 tot 14 dagen) starten zij met het maken van oriëntatievluchten die ongeveer 6 tot 16 minuten (Currie 1987- 1 tot 6 minuten) duren en overwegend plaatsvinden tussen 14.00 en 16.00 uur. (Ook deze tijdstippen en de duur van de vlucht variëren sterk). (98% van de darren maken hun eerste vlucht voordat zij 6-12 dagen oud zijn en 100% op de 18<sup>de</sup> dag (Currie 1987) Deze oriëntatievluchten gaan vanaf de 12<sup>de</sup> dag over in voortplantingsvluchten wanneer de dar geslachtsrijp is. Deze vluchten duren gemiddeld 25-32 min maar kunnen ook 60 minuten duren, afhankelijk van het weer. De duur van de vluchten neemt toe met de leeftijd van de dar. Als de dar 31-40 dagen is maakt deze zijn langste vluchten. Tussen de vluchten door verblijven de darren ongeveer 15 minuten in het nest om zich te voeden. Een dar maakt gemiddeld 2-4 vluchten per dag, maar het aantal vluchten kan oplopen tot 17 vluchten. (Currie 1987) Whiterell (1972) meldt dat een dar gedurende zijn hele levensduur in totaal 25 vluchten maakt over gemiddeld 21 dagen en dat 96% steeds



terugkeerde naar het volk waar het vandaan kwam. (Dit feit is dus in tegenspraak met de bewering dat darren van het ene volk naar het andere hoppen) Tijdens de voortplantingsvluchten worden de darrenverzamelplaatsen bezocht.

De tijd van de dag waarop een dar vliegt en hoelang is afhankelijk van het seizoen (hoogte en positie van de zon, en daglengte), de weersomstandigheden (temperatuur, vochtigheid, windsnelheid, lichtintensiteit) en waarschijnlijk de orientatie van de vliegopening.

De vluchtduur is 4 uur in het hoogseizoen en 2,5 uur in de herfst.

Een dar begint eerder met vliegen als de vliegopening op het ZO is gericht in vergelijking tot een vliegopening op het ZW. De vliegactiviteit van koninginnen en darren zou beïnvloed worden door een biologische klok; een koningin begint gemiddeld 20 uur na zonsondergang met haar bruidsvlucht.

Bij ongunstige weersomstandigheden vliegt een dar niet of veel korter. De beste vliegtemperatuur is 18°C -20°C, maar kunnen ook bij 15°C vliegen, maar de vlucht duurt dan 1-2 minuten. Darren kunnen bij windsnelheden van 25km/h vliegen maar tijdens bevruchtingsvluchten mag de windsnelheid niet boven de 18km/h liggen. Bij bewolkt weer vliegen darren nauwelijks. De duur van de vluchten is ook afhankelijk van het seizoen, in de lente duurt een vlucht gemiddeld 26 minuten in de zomer 36 minuten.

De hoogte waarop werksters, darren en koninginnen vliegen is verschillend

	Vlieghoogte
Werkster	< 8m
Dar	> 8m 15-25m < 60m

### 3.3 Vervliegen

Zowel werksters als darren vervliegen, d.w.z. komen na hun vlucht in andere volken terecht als waar ze vandaan komen. Darren maken vluchten tot 7 km afstand van het nest en keren terug, maar weinig is bekend over de herkenningspunten die een dar gebruikt om zich te oriënteren. Vliegproeven waarbij darren met toenemende afstand van het nest werden losgelaten, lieten zien dat een afnemend aantal darren terugkeerden.

Darren blijken echter niet sterk te vervliegen tijdens orientatievluchten. Slechts 0.8-1,7% van de darren in een volk is vervlogen. Verder blijken darren te vervliegen van zwakke naar sterke volken en als ze eenmaal vervlogen zijn dat ze daarna hun verder leven niet nog eens vervliegen. (The Hive and The Honeybee 1968(blz 255)

De oorzaak van het vervliegen heeft twee kanten: desoriëntatie van de terugkerende bij en falen van het herkenningsmechanisme door wachtbijen bij de vliegopening.

Darren oriënteren zich net als werksters op de zon. Op jonge leeftijd met weinig vliegervaring raken ze sneller gedesoriënteerd dan oudere darren.

Het herkenningsmechanisme van geuren heeft een genetische component, die tot uiting komt in verschillen in samenstelling van koolhydraten en vetten in de chitinehuid van de bij, die een verschillende lichaamsgeur veroorzaken en wordt beïnvloed door geurstoffen afkomstig van binnenkomende nectar, stuifmeel en propolis. Dit laatste wordt in twijfel getrokken.

Darren blijken vooral aan hun lichaamsgeur herkend te worden, terwijl werksters voornamelijk herkend worden aan de geur van de binnenkomende dracht in combinatie met de nestgeur. Het aantal in een volk voorkomende vreemde darren is steeds groter dan het aantal vreemde werksters, zodat darren sterker vervliegen dan werksters. De herkenning van werksters door wachtbijen werkt beter dan die van darren. Dit wordt waarschijnlijk

veroorzaakt doordat vreemde werksters, een grotere bedreiging vormen voor het volk doordat deze kunnen roven, dan binnendringende vreemde darren.

Een volk met veel zuster groepen blijkt minder vreemde darren te bevatten dan een volk waar de koningin met minder darren heeft gepaard. In volken waar een onbevuchte koningin of geen koningin aanwezig is, zijn veel darren aanwezig. Dit verband, gaat niet op tussen het aantal vreemde werksters in een volk en het aantal zuster groepen. Over het algemeen komen veel minder vreemde werksters een volk binnen dan vreemde darren.

Een wachtbij uit een volk met meer zuster groepen bezit een uitgebreider aantal geurschablonen om vreemde darren niet toe te laten net als werksters. Daarom lijkt het erop dat darren volgens andere herkenning principes bekeken worden dan werksters. De herkenning principes voor werksters lijken onafhankelijk van de genetische component

Wel blijken naar verhouding meer werksters uit volken met veel zuster groepen te vervliegen dan werksters uit volken met weinig zuster groepen. Een terugkerende werkster gebruikt geur om zijn eigen volk te herkennen. Dit is moeilijker bij volken die uit veel zuster groepen bestaan, waardoor de terugkerende werkster sneller gedesoriëteerd raakt, als vorm en kleurkenmerken in de omgeving ontbreken. Het vertrek van darren uit een volk heeft geen relatie met het aantal darren waarmee de koningin heeft gepaard.

(Moritz 2004)

Hoe werkt een wachtbij? Heeft een genetisch bepaalde neus opgebouwd voor geuren van de chitinehuid. Ten tweede kent de wachtbij de geuren van het nest, die bestaan uit de geur van raten vermengt met de geuren van de daarin verzamelde nectar, stuifmeel en propolis. Ten derde dragen werksters voedsel vermengt met feromonen bij zich. Een volk met veel zuster groepen bezitten wachtbijen gerecrueteerd uit de voorkomende zuster groepen, zodat bij de vliegopening meerdere genetisch verschillende wachtbijen, binnenkomende bijen kunnen selecteren op vreemd of eigen.

Op herkenning volgt toelating en om niet bekend volgt versperring.. Zodra een binnenkomende bij herkend wordt door ten minste één wachtbij wordt deze toegelaten. Dit zou betekenen dat wachtbijen met dezelfde genetisch achtergrond weinig bijen zullen herkennen en dus nauwelijks een bij toelaten. Dit is voor darren nou juist niet het geval.

Hoe kan een selectie nu werken. Stel een wachtbij herkent een bij als eigen en laat haar door, maar een tweede herkent haar niet en houdt deze tegen. Komt de bij er nu wel of niet in

De situatie is voor darren anders dan voor werksters.

Toelating van binnenkomende In de onderstaande situaties	Dar	Werkster
Veel zuster groepen	nauwelijks	Grotere kans op herkenning Veel desorientatie op geur
Weinig zuster groepen	veel	Minder kans op herkenning Weinig desorientatie

We zien hieruit dat de situatie voor darren precies omgekeerd is als voor werksters, waardoor het mechanisme voor het herkennen van darren anders werkt dan voor werksters.

Zou het zo zijn dat darren bij de ingang niet worden geselecteerd en dat darren aangetrokken worden door de afwezigheid van veel verschillende genetische geuren en juist aangetrokken door de afwezigheid van koninginnestof. Waarschijnlijk heeft de aan- of afwezigheid van feromonen invloed op de werking van de neus van de wachtbijen. De afwezigheid zou dan tot

een slechter functionerende neus zorgen, waardoor een vreemde dar toch als eigen herkend wordt. Het reuksjabloon is minder passend en er vindt een snellere passing plaats en dus toelating.

Bij vervliegen\toelating moet je ook kijken naar de toevliegende bij (dar of werkster) Een werkster met bekend ruikend voer wordt al snel toegelaten.(dit blijkt geen sterke factor te zijn) Een werkster niet behorend tot een van de zuster groepen en aanvliegend zonder voer wordt gezien als indringer en niet toegelaten. Een bij met onbekend voer, cq vergif wordt niet toegelaten ook al behoort ze tot een zuster groep. Dit zou betekenen dat de geur van bekend voer een belangrijker herkenningfactor is dan lichaamsgeur. De herkenning van lichaamsgeur wordt versterkt door de aanwezigheid van koninginpheromoon. Moerloze volken laten meer darren toe dan moergoede volken, maar volken met een onbevuchte koningin trekken de meeste darren. Het aantal aangetrokken darren is groter bij onbevuchte koninginnen van oudere leeftijd dan bij jonge koninginnen. Dit heeft te maken met de hoeveelheid sex-pheromoon (9-ODA) wat een jonge koningin bij toenemende leeftijd in grotere hoeveelheden produceert.

Darren vervliegen sterker dan werksters 2 tot 3 maal meer. Als cijfers worden vermeld 0%-12% van de darren vervliegen, maar ook komen cijfers van 50%-80% zijn gemeld (Currie 1987)

Het vervliegen van darren heeft geen invloed op de productie van honing, zoals het vervliegen van werksters daar wel invloed op heeft, maar vervliegende darren kunnen ziektes verspreiden, zoals zakbroed, Nosema, Acarapis en Varroa.

### **3.4 Darrenverzamelplaatsen**

De paring van darren met koninginnen vindt plaats bij darrenverzamelplaatsen. Het bestaan van deze plaatsen is voor het eerst in 1957 door Jean-Prost vastgesteld. Op deze plaatsen verzamelen de darren in zwermen waar zij wachten op onbevuchte koninginnen.

Darren verzamelplaatsen traceerde men met behulp van balonnen waar aan een draadje een onbevuchte koningin was bevestigd. Op deze manier kon in Lunz Oostenrijk gebieden met concentraties van darren aantreffen, en buiten dat gebied bleken veel minder darren op de koningin af te komen. Met behulp van radar konden in de woestijn bij Tucson in Amerika niet alleen darrenverzamelplaatsen worden aangetoond maar ook de vliegstraten ernaartoe. De vliegstraten kwamen overeen met geulen in het landschap.

Het onderscheid tussen een vliegstraat en een verzamelplaats was de vlieghoogte waarop darren vlogen. Bij de verzamelplaats stegen zij 30 m en hoger, terwijl op de aanvliegroutes de vlieghoogte geringer was. Buiten de vliegstraten en verzamelplaatsen kwamen slechts een gering aantal darren voor.

Koninginnen vliegen niet naar de dichtstbijzijnde plaatsen maar naar verderweg gelegen plaatsen, waar de kans op paring met vreemde darren groter is.

Hoe ver een dar en de koningin weg vliegt blijkt volgens verschillende bronnen sterk af te wijken.

Darren vliegen gemiddeld over een afstand van 12-17 km naar een plaats waar de paring plaatsvindt en koninginnen vliegen gemiddeld 2-3 km. Voor darren komt Rutner niet verder dan 5-7 km en voor koninginnen tot maximaal 5 km en gemiddeld 2 km.

Maar ook dat een koningin tot 6 km wegvliegt en een dar niet verder gaat dan 3 km (Gary in The Hive and the honeybee 1986)blz 253)

Darrenverzamelplaatsen kunnen jaren achtereen op dezelfde plaats zijn, en het is nog steeds niet duidelijk hoe dat komt. Opvallend is dat darren wel de weg ernaar toe weten te vinden. Omdat darren niet overwinteren en deze kennis aan hun jongere broeders kunnen overdragen, moeten de factoren waarmee een dar een verzamelplaats vindt in het terrein gezocht worden. Volgens Gerig 1972 zouden darren deze plaatsen en de wegen ernaartoe met pheromonen markeren. (Gary in *The Hive and the honeybee* 1986) blz 255)

Darrenverzamelplaatsen zouden vanuit volken in rechte lijn aan te vliegen zijn. Het zouden windbeschutte plekken zijn, waar thermiek optreedt. Men denkt ook aan ijzerrijke groepjes cellen in het achterlijf die magnetiet bevatten, overeenkomstig die welke gevonden worden bij werksters die behulpzaam zouden zijn bij de orientatie in het aard magnetisch veld. Deze cellen zijn ook bij wespen gevonden in het nest en zouden ertoe bijdragen dat nestbouw horizontaal plaatsvindt en de cellen loodrecht naar beneden. Bij darren ontstaan deze cellen op een leeftijd van 6 dagen en bij darren van 0-3 dagen oud ontbreken deze cellen, zodat jonge darren de weg naar de darrenverzamelplaatsen niet weten te vinden. De darren verzamelplaatsen zouden kunnen liggen op plaatsen met specifieke magnetische of elektrische condities.

Ook zou de lichthelderheidsverdeling boven darrenverzamelplaatsen afwijkend zijn van de omgeving. (J.P. van Praagh *Apimondia* 1972 )

Butler in Engeland probeerde eveneens darrenverzamelplaatsen te vinden, maar vond slechts een geleidelijke afname van darrenconcentraties bij toenemende afstand met de standplaats van twee bijenvolken die op 10 km van elkaar stonden in een vlak terrein. De darren van het ene volk waren genetisch gemarkeerd met Cordovan darren, die opvallend lichtbruin gekleurd zijn.

Waarschijnlijk moet het landschap aanknopingspunten bieden voor het ontstaan van darrenverzamelplaatsen en dat in monotone landschappen de darren gelijkmatig in de omgeving verspreid voorkomen. (Bijen 2003-03)

Als resultaat van de vele darrenverzamelplaatsen of meer gelijkmatige verspreiding van de darren in de omgeving van elk bijenvolk, zien we een behoorlijke vermenging optreden van darren en koninginnen over een groot oppervlak. Deze vermenging wordt bevorderd doordat darren en koninginnen niet naar de dichtstbijzijnde verzamelplaats vliegen.

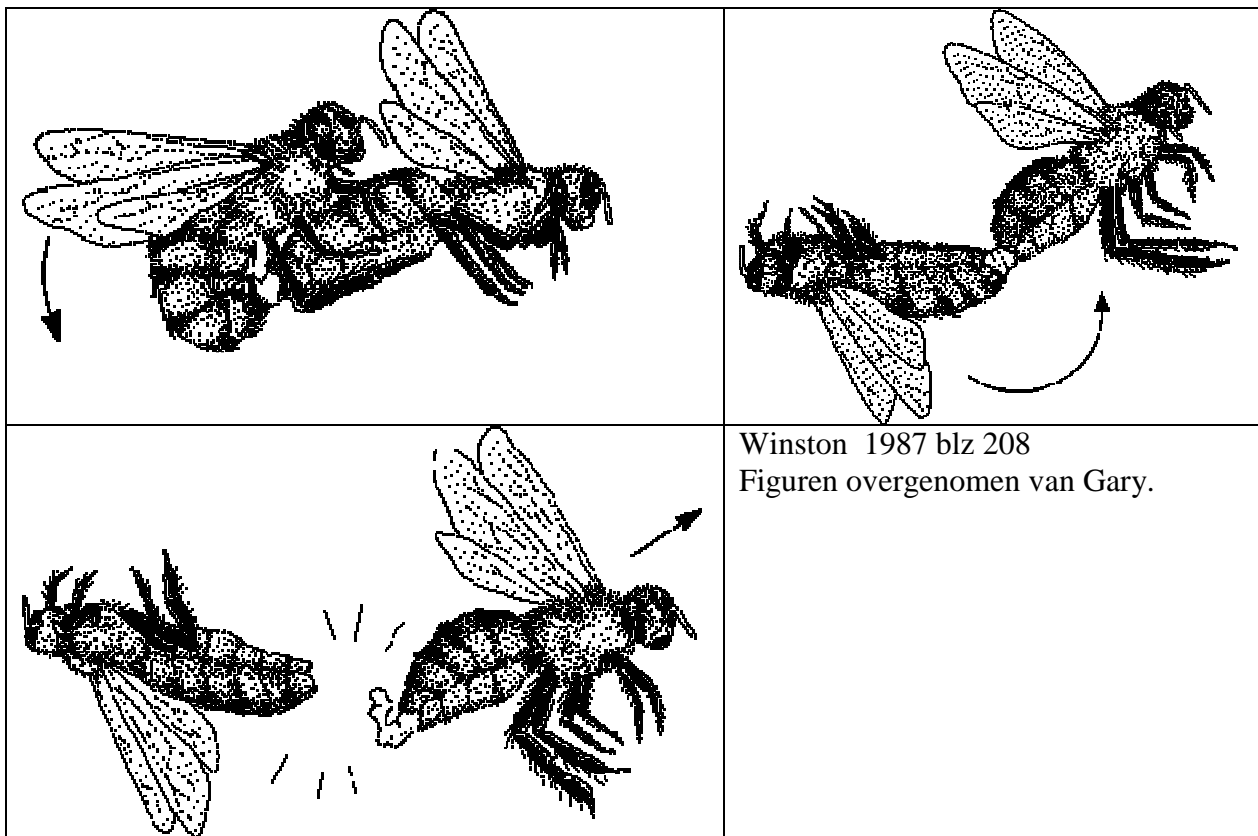
Een darrenverzamelplaats heeft een doorsnede van 30-200 m en een hoogte tussen de 10-40m (Winston 1987) Ruttner vond ook langgerekte verzamelplaatsen met afmetingen van 80x 150 m. die dan in door bomen omringde open vlakten voorkomen. Cilindrische verzamelplaatsen komt men tegen boven komvormige dalen in een hellend oppervlak.

Op een darrenverzamelplaats in Duitsland werd een verhouding van 1:10 kleine en grote darren gevonden. (citaat in Schlüns 2003), dus kleine darren komen vaak genoeg voor om een rol te spelen in de competitie bij de paring. Want vliegsnelheid, noch vlieghoogte zijn sterk verschillend bij grote en kleine darren. Alleen zou een dar met een groter gewicht makkelijker kleinere darren kunnen verdringen, terwijl het aantal spermatozoa bij kleine darren lager is dan bij grote darren. De *Varroa* besmetting kan van invloed zijn op inteeltverschijnselen binnen een bijenpopulatie, omdat de darren van enkele sterke volken met weinig *Varroa* besmetting een voordeel hebben bij de paring.

Toch blijken tijdens de ontwikkeling geïnfecteerde darren minder vliegvermogen te bezitten waardoor deze het minder lang volhouden en daardoor minder ver kunnen vliegen. (Duay 2002)

### 3.5 Paring

Het beklimmen en paren van een dar met een koningin is snel en spectaculair. Zodra een dar contact heeft gemaakt met een koningin vindt de paring binnen 5 seconde plaats. Omdat de koningin eerst haar angelkamer moet openen, kan niet elke dar die haar beklimt met haar paren. Een dar benadert de koningin van onderen af, met hangende poten. Zodra de dar boven haar vliegt pakt hij haar eerst met de voorpoten beet en vervolgens klemt hij haar vast met alle 6 poten. Vervolgens wordt de endophallus ingebracht, en de dar verstart en valt achterover.



Er bestaan interessante opnamens van een paring die rechtstreeks zonder dat de koningin aan een draadje hangt, opgenomen schijnen te zijn. Waarvan hier een afbeelding is opgenomen.

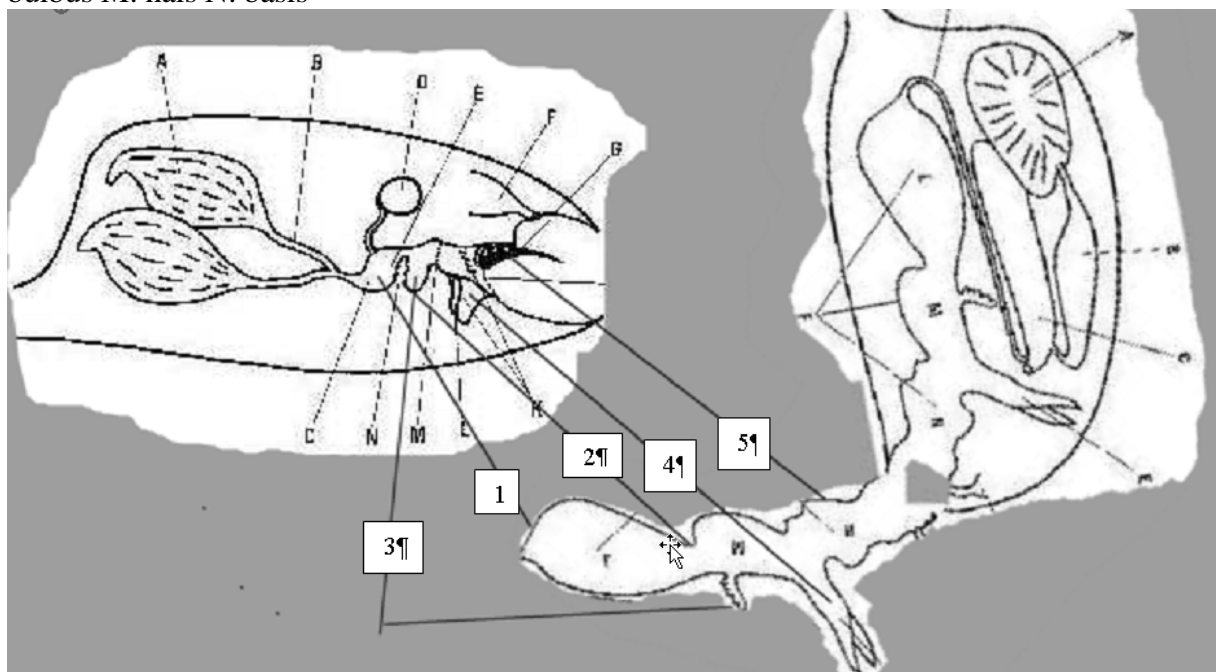


Op de foto lijkt de koningin op een dar, maar de ogen zijn kleiner en door de geopende angelkamer is het achterlijf stomper en korter waardoor de gelijkenis met het achterlijf van de dar groter wordt.

Begin 2001 is er een interessante discussie geweest op het imkerforum tussen Piet Jager en Hennie Kroese over de passing van de endophallus in de vagina. Op tekeningen in Winston, Goetze en Ruttner zien we de hoorntjes altijd buiten de vagina getekend, terwijl in de vagina twee holtes voorkomen waarin deze hoorntjes voor de hechting tijdens de ejakulatie zouden kunnen zorgen. Hieronder volgen de figuur van Kroese met zijn argumentatie.

KONINGIN: A. eierstok B. gepaarde eileider C. niet gepaarde eileider D. zaadblaasje of spermatheek E. vaginale kamer F. einddarm G. angel H. angelkamer K. zijzakjes L. vaginale opening M. vaginale doorgang N. vaginale klep

DAR: A. teelbal B. zaadblaasje C. mucusklier D. zaadleider E. hoorntjes F. endophallus L. bulbus M. hals N. basis



Naar de bovenstaande anatomische plaatjes van de moer en de dar kijkend, zouden de volgende punten wel eens als puzzelstukjes in elkaar kunnen passen.

- [1] Bulbus past in het oviduct. Uiteindelijk moet het sperma ook in het oviduct terecht komen.
- [2] De vaginale klep (N) past in de engte achter de Bulbus
- [3] Het geribbelde uitsteeksel aan de penis, past mooi in de holte voor de Vaginale klep.
- [4] De hoorntjes passen in de zijzakjes naast de vaginale opening.
- [5] De angel en de gifblaas worden door een harig vlakje op de hals naar boven tegen de rugplaat gedrukt.

Door het explosief (binnenstebuiten) uitstulpen van de penis wordt de vaginale klep waarschijnlijk gepasseerd.

Hierbij is het mogelijk dat het ribbelige uitsteeksel achter de bulbus ook nog een functie heeft. De hoorntjes kunnen zich verankeren in de beide zijzakjes naast de vaginale opening. Daarna breekt de penis af, en de dar stort dood ter aarde. De koningin komt bij de kast terug met een zogenaamde witte vlag.

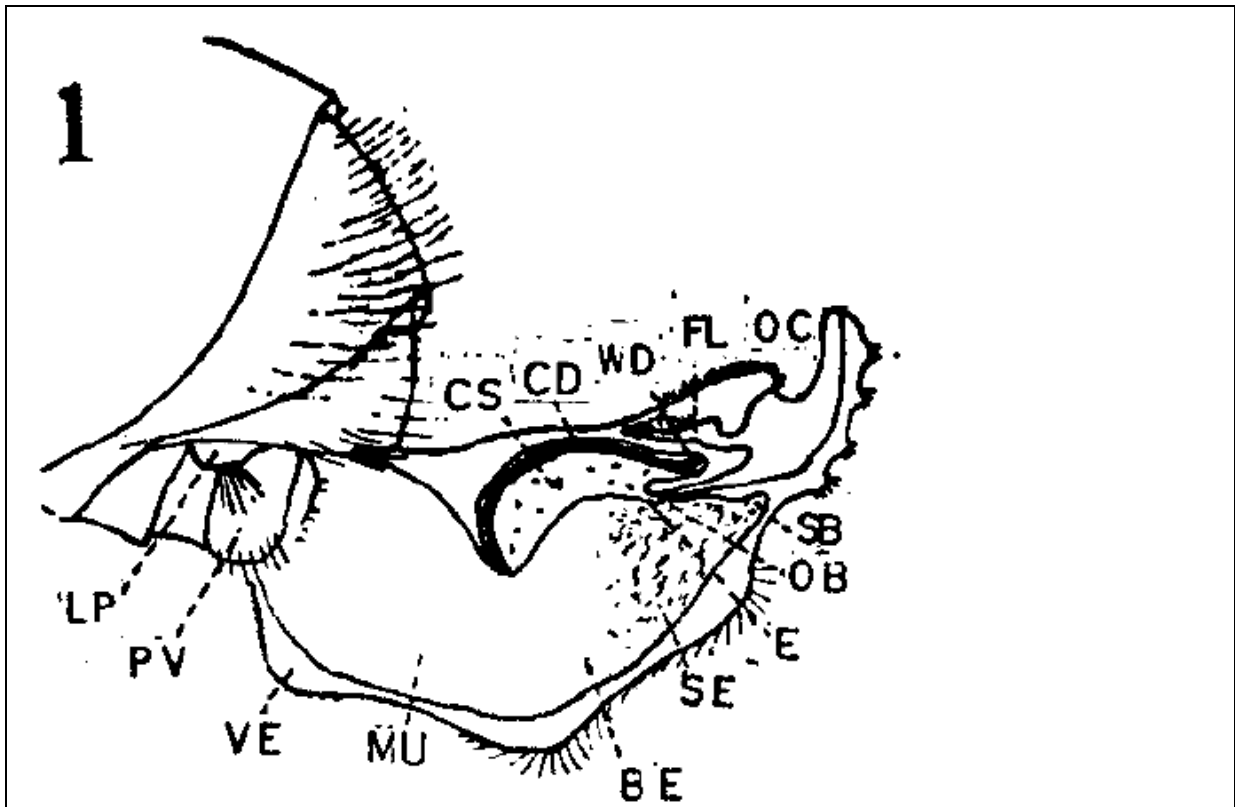
Dit kan de penis zijn, maar er wordt in de literatuur ook al beweert dat het mucus resten kunnen zijn. Ook wordt er beweert, dat de koningin in 1 vlucht door meerdere darren bevrucht kan worden. De vraag is dan, of de penis door de opvolgende darren verwijderd wordt, of door de moeder zelf.

Snelgrove (1946) komt tot eenzelfde gedachte, over de functie van de hoornachtige aanhangsels die tijdens de coitus uitgespreid staan, en passen in de corresponderende uitsparingen in de vagina van de koningin, die het uitstulpen van de penis vergemakkelijken en zo mogelijk de penis in positie houdt, op het moment dat de penis afbreekt. (blz 90)

Ook in Velthuis, Duchateau (1987, blz 33) staat vermeld, dat het voorste verwijde gedeelte van de vagina (bursa copulatrix) twee zijdelingse uitstulpingen heeft, waarin de hoorntjes van de penis zich vasthaken.

In het dictaat "Bijenkunde" van J. Beetsma worden de hoorntjes bursale hoorntjes genoemd, en stelt ook dat deze passen in de bursa copulatrix. (blz 29)

Woyke stelt uitdrukkelijk dat de bulbus niet verder dan de angelkamer komt en niet voorbij de vaginale opening zodat de hoorntjes niet in de bursa copulatrix komen. Hij betoogt dat de afmeting en vorm van de bursa, en de gespreide hoorntjes van dien aard zijn dat deze niet passen in de angelkamer met uithollingen.



Hij komt tot deze conclusie door het bevruchtingsteken waarmee de koningin thuis komt te vergelijken met de penis van de dar. Verder trekt Woyke uit de moeite waarmee werksters het bevruchtingsteken verwijderen uit de angelkamer van de koningin, dat tijdens op een volgende paringen in een paringsvlucht een dar ook niet in staat moet worden geacht, om het aanwezige bevruchtingsteken tijdens de vlucht te verwijderen. Het is er volgens Woyke ook niet, alleen bij de laatste paring sluit de koningin haar angelkamer waardoor het topje van de penis afgesnoerd wordt en in de angelkamer achterblijft, maar tussen de opeenvolgende paringen blijft de angelkamer geopend.



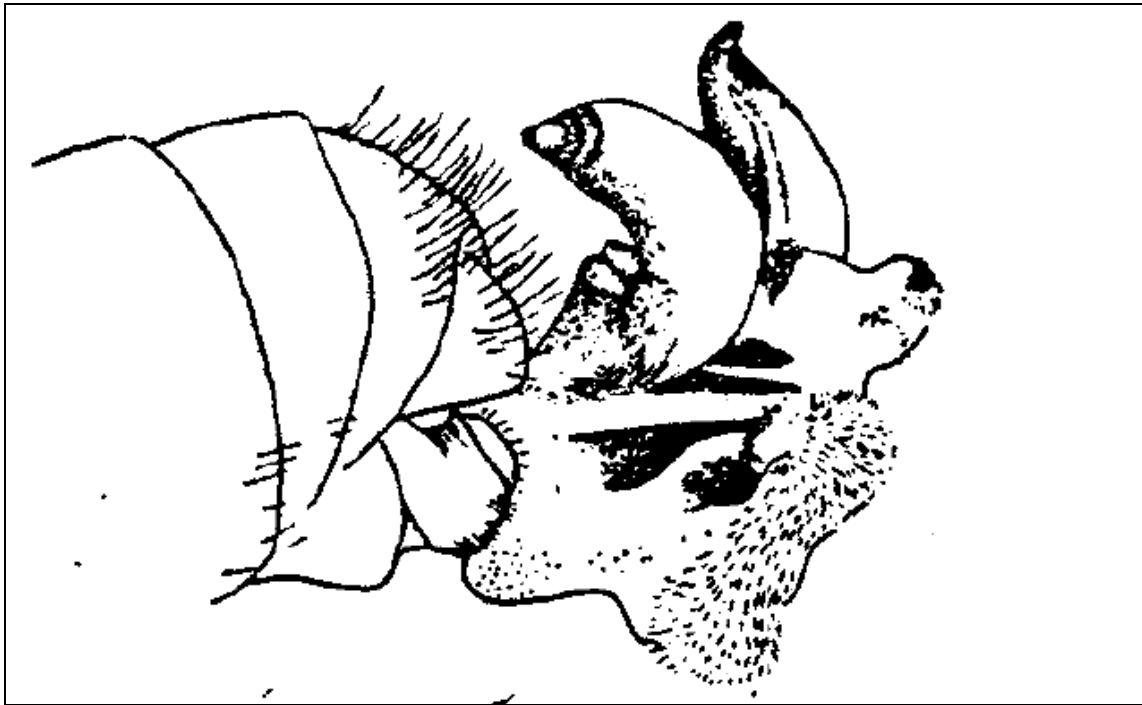


Fig 1 Woyke 1955

Als eerste stulpen de bursa van de endophallus tot aan de nek en de bursal cornua uit. De cornua zijn eerst opwaarts gericht

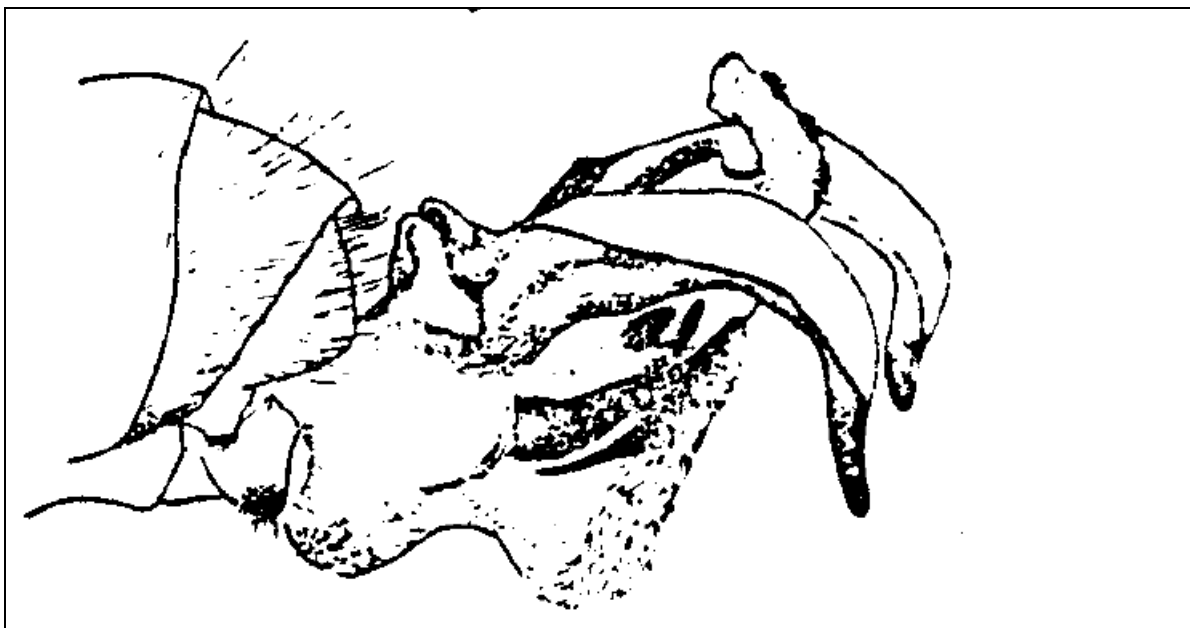


Fig 2 Woyke 1955

De cornua buigen vervolgens naar beneden en zijwaarts (fig 3)  
Op dit moment is de endophallus gedeeltelijk uitgestulpt, en treedt alleen op bij jonge onrijpe darren, wanneer een lichte druk op het borststuk wordt uitgeoefend.

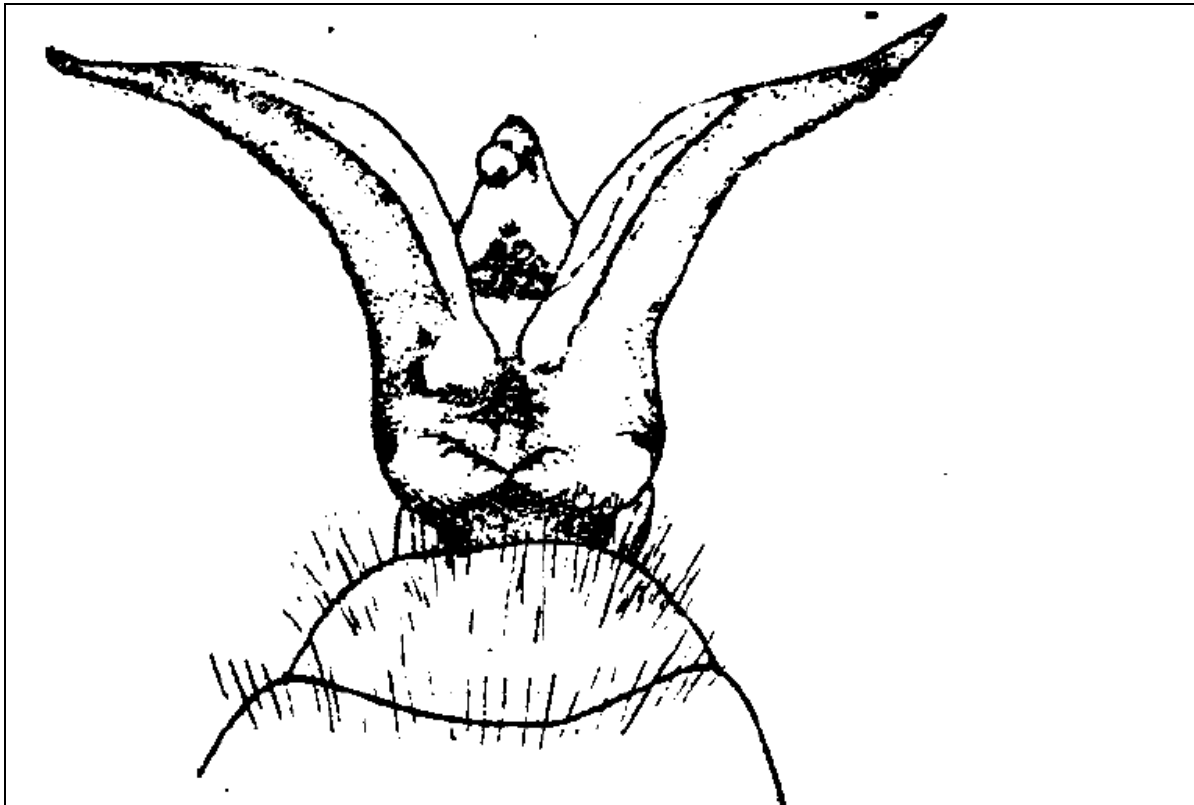


Fig 3 Woyke 1955

Cornua bovenaanzicht op het moment dat de cornua naar boven wijzen en zich spreiden.

De cornua bezitten geen spieren, maar zij buigen doordat de buitenste elastische laag die de cornua bedekt open barst, door de verhoogde druk binnen het orgaan. De laag barst over een kloof in de langsrichting op de binnen wand van de cornua (zie figuur 1 en 3) De kloof wordt wijder en de laag glijdt naar buiten toe af, (figuur 2 en 4) waardoor de beweging van de cornua veroorzaakt wordt.

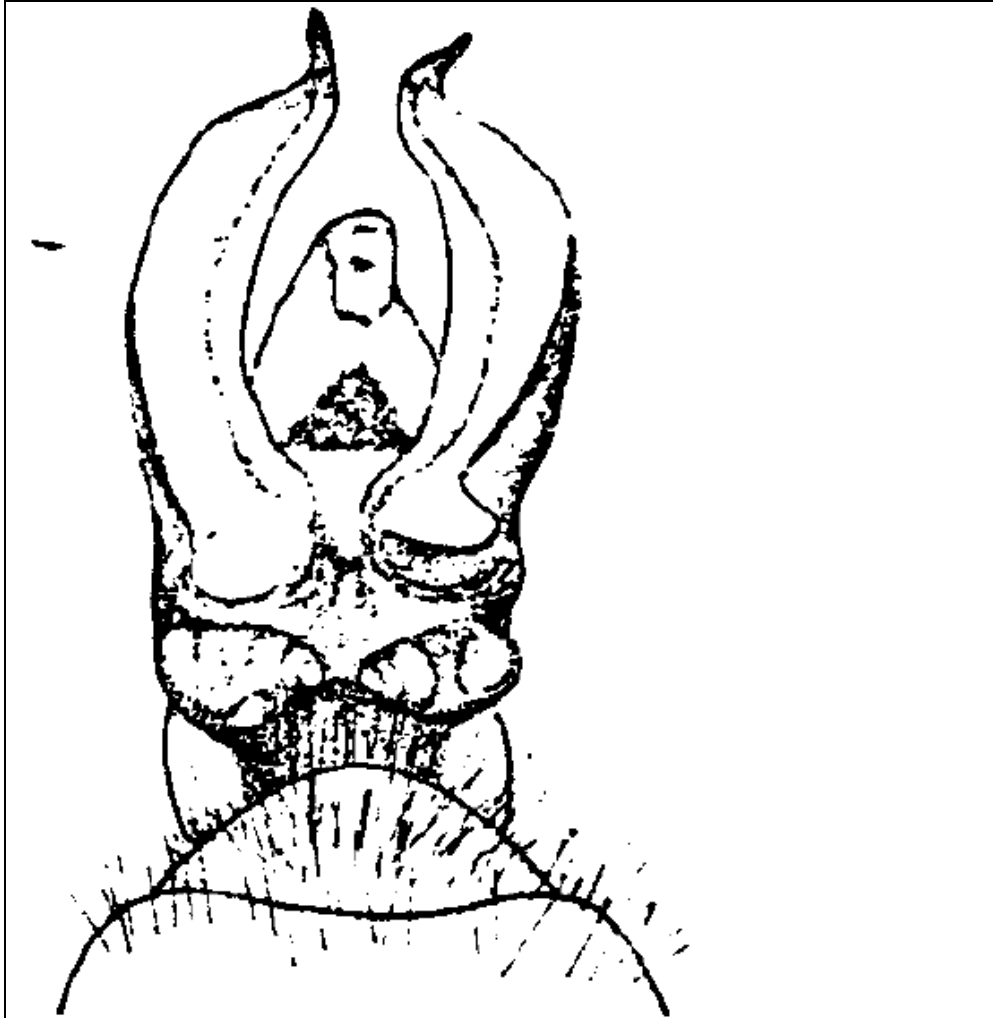


Fig 4 Woyke 1955

Als de cornua naar beneden gericht zijn krullen de uiteinden naar buiten.

Het geribbeld uitsteeksel, de bulbus van de endophallus schuiven tegelijk met de gechitiniseerde plaatjes in de uitgestulpte bursa. Normaal is op het moment van uitstulping geen sperma en mucus in de bulbus van de endophallus aanwezig. Deze onvolledige uitstulping wordt na een korte tijdsonderbreking gevolgd door een volledige uitstulping die alleen bij geslachtrijpe darren optreedt.

Eerst draait de bulbus van de endophallus over een hoek van  $90^\circ$  binnen de bursa, zodat de chitine plaatjes aan de rugzijde komen te liggen, daarna worden de fimbriate lobe en de bulbus van de endophallus door de nek van de endophallus naar buiten geperst. De fimbriate lob stulpt dan nog niet uit.

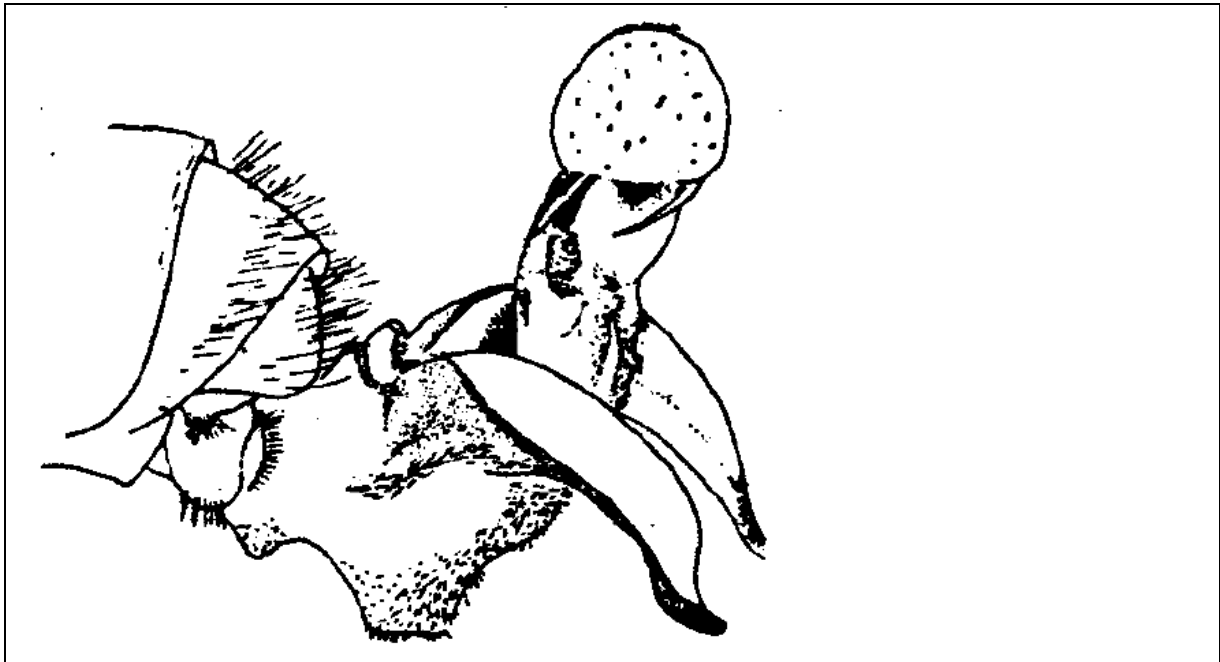


Fig 5 Woyke 1955

Het geribbelde uitsteeksel is nog niet uitgestulpt en de chitine plaatjes zitten nog juist aan de rand van de bursa. In dit stadium van uitstulping vindt de ejaculatie plaats. Het bevruchtingsteken waarmee de koningin terugkeert is altijd een gedeeltelijk uitgestulpte penis en nooit een volledig uitgestulpte.

Als het copulatie-orgaan binnenste buiten is gekeerd tot zover dat de chitineplaatjes van de bulbus aan het einde ervan zitten, maar nog niet uitgestulpt zijn, komt het eerste sperma uit de opening van het orgaan (figuur 5) Dit sperma passeert nog niet de seminal vesicles naar de bulbus op het moment van de uitstulping van de endophallus.



Fig 6 Woyke 1955

Hier zijn de chitineplaatjes en de rest van de endophallus uitgestulpt plus het geribbelde uitsteeksel

De mucus wordt na het sperma uitgedreven. Het uitdrijven van de mucus door de ductus ejaculatorius (zaadleider) gebeurt door het epithelium die als geheel van de wand van de mucusklier wordt afgetrokken. Bijna de hele zaadleider is dan gevuld met dit epithelium. De mucusklier en de seminal vesicles en zelfs de darmen worden in de bursa van de endophallus getrokken. Op dit moment is de penis volledig uitgestulpt. (figuur 6)

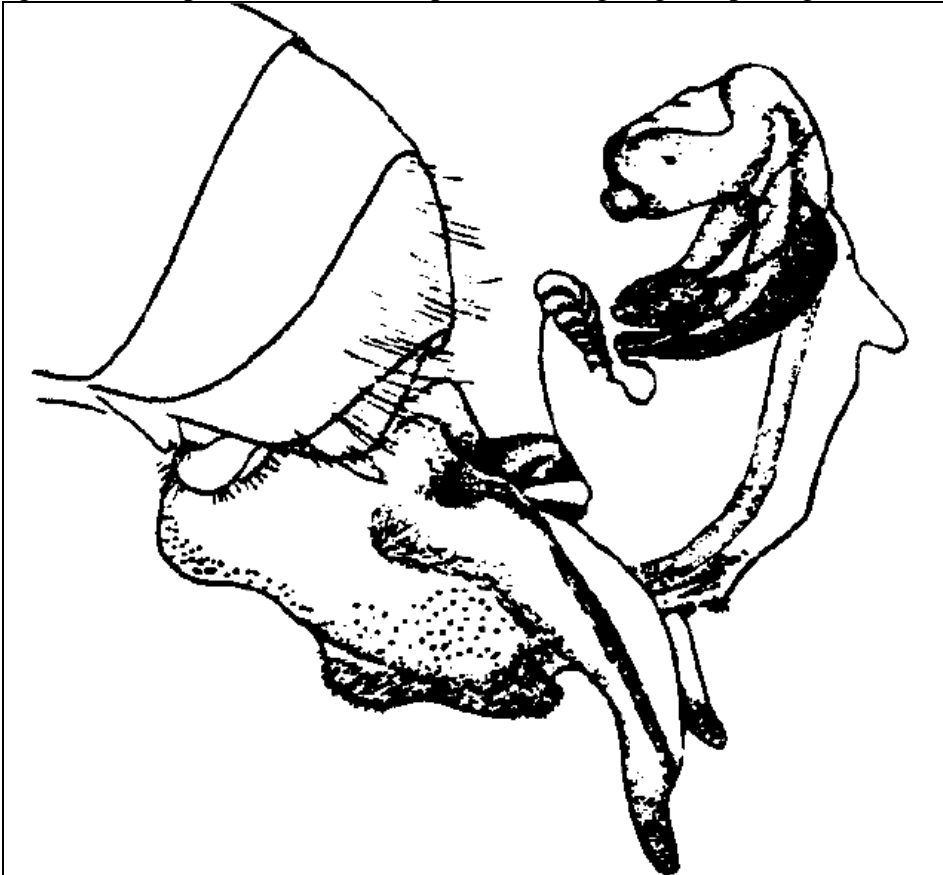


Fig 7 Woyke 1955

Een verdere verhoging van de interne druk laat de penis barsten; het uiteinde krimpt (figuur 7) tot aan de chitineplaatjes, een elastische laag zet op en omklemt het orgaan. Deze laag bedekt het hele oppervlak van de penis.

Darren minder dan 9 dagen oud kunnen de penis slechts gedeeltelijk uitstulpen. Darren die geen vluchten hebben kunnen maken zijn vaak niet in staat hun penis uit te stulpen.

Een dar ejaculeert 1.5-3.0 ml sperma met een gemiddelde van 2,2 ml.

Gezien de omvang en het functioneren van de voortplantingsorganen van de koningin en dar, komt Woyke tot de conclusie dat de penis van de dar bij de paring niet verder dan tot de nek van de endophallus in de vagina van de koningin brengt en de hoorntjes blijven buiten de vagina. Het gedeeltelijk uitgestulpte endophallus (figuur 4) komt overeen met copulatieorganen van andere insecten. Het stadium weergegeven in figuur 5 is het enige moment waarin de sperma geëjaculeerd kan worden zonder dat dit samengaat met de uitstulping van de bulbus van de endophallus waarmee de koningin terugkeren van de bevruchtingsvluchten. De ejaculatie vindt al plaats voordat de penis volledig is uitgestulpt. Dit kon Woyke experimenteel nabootsen met een glazen buisje van 1,2 mm doorsnede tegen het achterlijf van een dar te houden. De penis stulpte gedeeltelijk uit, en er vond een ejaculatie plaats.

Als dan in gedeeltelijke uitstulping de penis van de dar, door de koningin wordt samengedrukt kan de bulbus van de endophallus worden afgescheurd zoals de koningin met het bevruchtingsteken terugkeert. De vagina van de koningin sluit zich alleen om de penis van de laatste dar waarmee ze paart, waardoor deze afscheurt. Tijdens de vlucht is zij namelijk niet in staat deze te verwijderen zodat een tweede dar die paart eveneens hiertoe niet in staat is en dat de koningin tijdens de bruidsvlucht de angelkamer niet afsluit tijdens de paring maar dat na het inbrengen van het sperma door het verder uitstulpen van de bulbus van de endophallus met het geribbelde uitsteeksel de penis wordt uitgeworpen. Door deze extra uitstulping na de ejaculatie zou de endophallus zichzelf uitwerpen. Deze uitverwijdering wordt nog ondersteund door het barsten en krimpen van het laatste deel van de endophallus. Achtereenvolgend kunnen darren met de koningin paren, die voortdurend de angelkamer openhoudt. Bij de paring met de laatste dar sluit de angelkamer waardoor de endophallus afscheurt.

Als een koningin meerdere bruidsvluchten maakt wordt na de vlucht het bevruchtingsteken verwijderd plus het teveel aan sperma in de angelkamer. In deze tussentijd is de spermatheca al voor een deel gevuld met spermatozoa

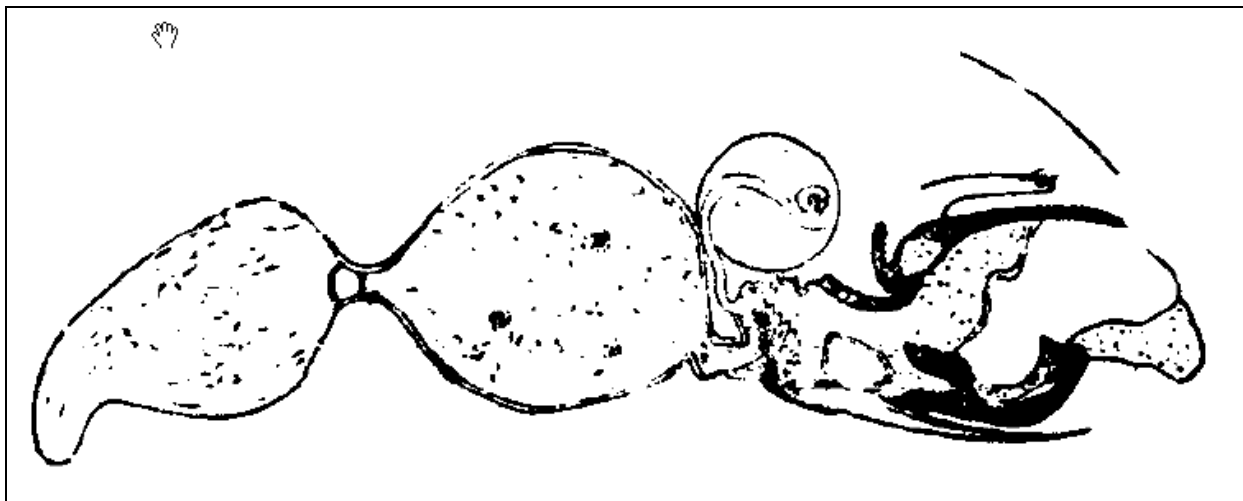
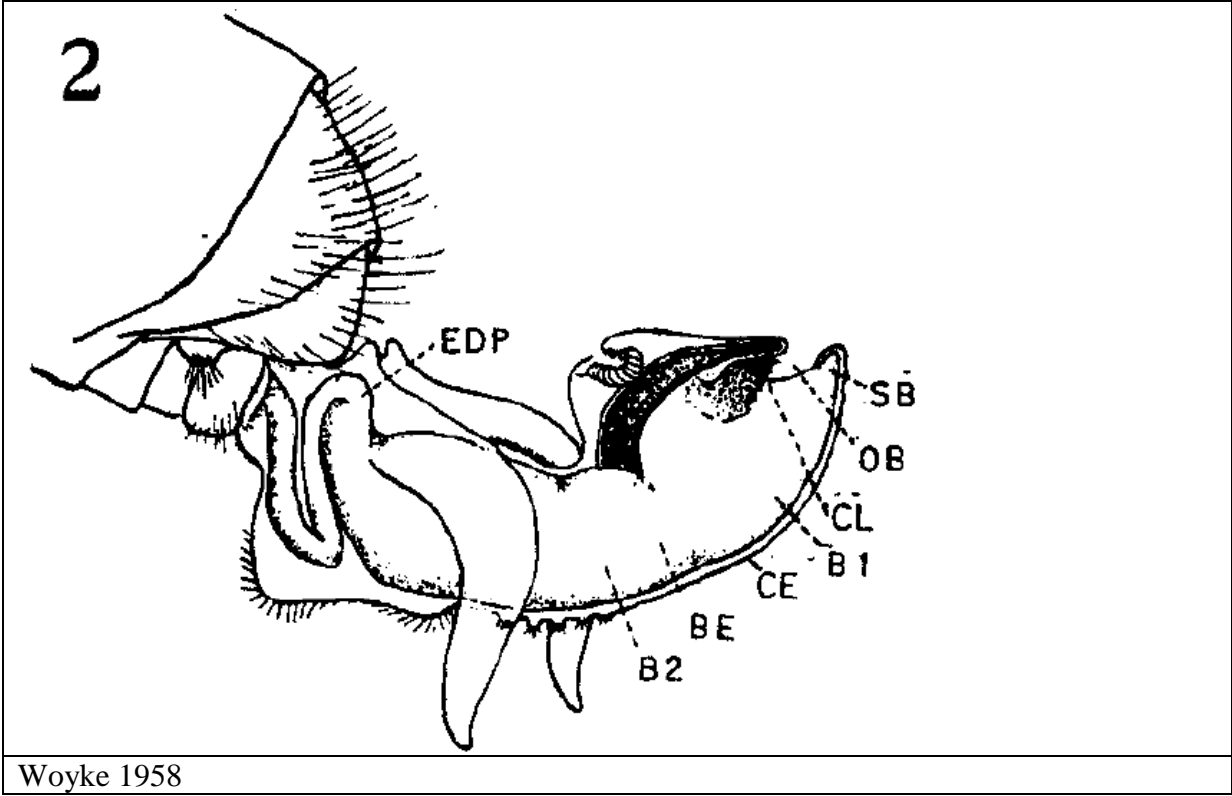


Fig 8 Woyke 1955

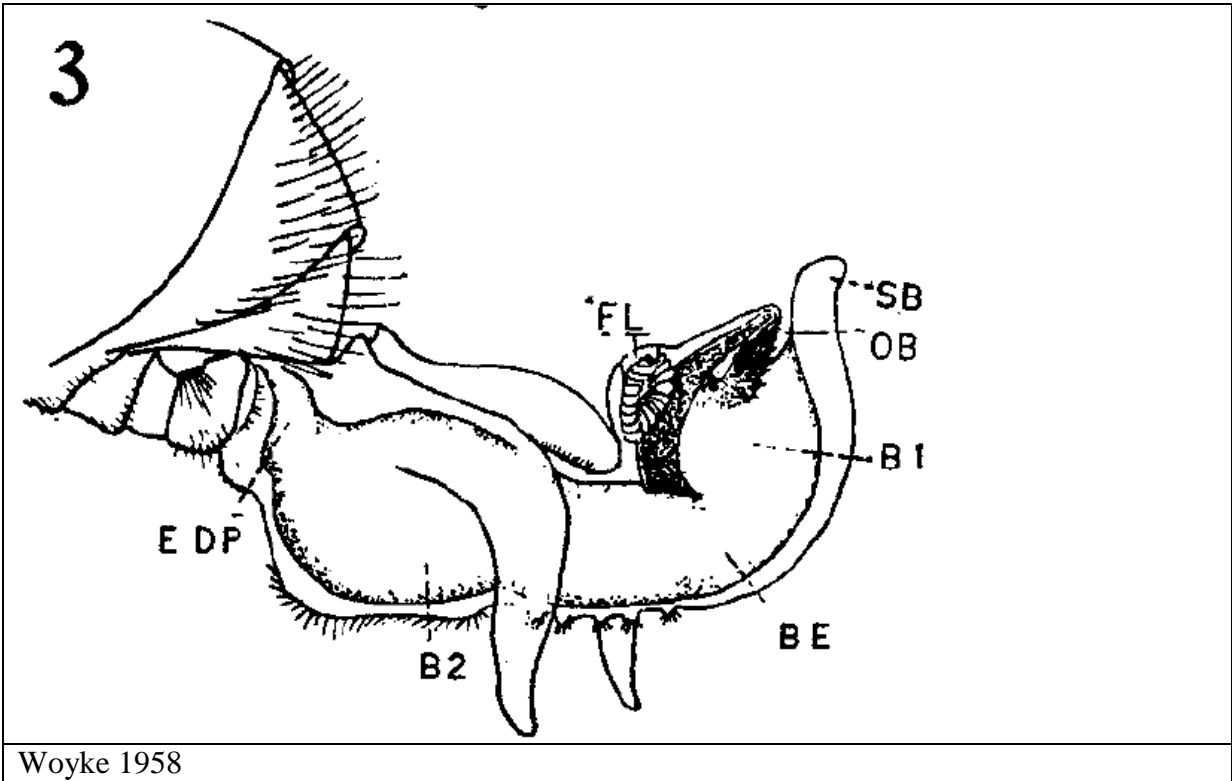
Het inwendige van een koningin die is teruggekeerd van een paringsvlucht.

De gepaarde oviducts zijn behoorlijk uitgezet en gevuld met sperma, en niet vermengd met mucus. Slechts sporadische klompjes mucus zijn te vinden in de oviducts, maar deze zijn niet gemengd met sperma. In de oviducts bevindt zich 6-20 ml sperma. De hele oviduct is samengedrukt door sterke spieren. De spermatheca is dan vaak nog niet gevuld. Het sperma zit ook nog in het eerste deel van de vagina en de mucus vult het overige deel van de vagina tot aan de rugose aanhangsel. De angelkamer van de koningin bevat het afgescheurde deel van de bulbus van de endophallus. De chitineplaatjes en een klein deel van de wand van de penis zitten in de angelkamer. De bulbus is volledig gevuld met mucus en op de bulbus is geen sperma meer te vinden. Nadat de koningin is teruggekeerd naar het nest begint ze de bulbus te verwijderen. Door de bewegingen van de angelkamer wordt geen sperma getransporteerd van de bulbus naar de vagina en oviducts. Als de koningin voor een tweede bevruchtingsvlucht uitvliegt is de spermatheca reeds gevuld met spermatozoa.

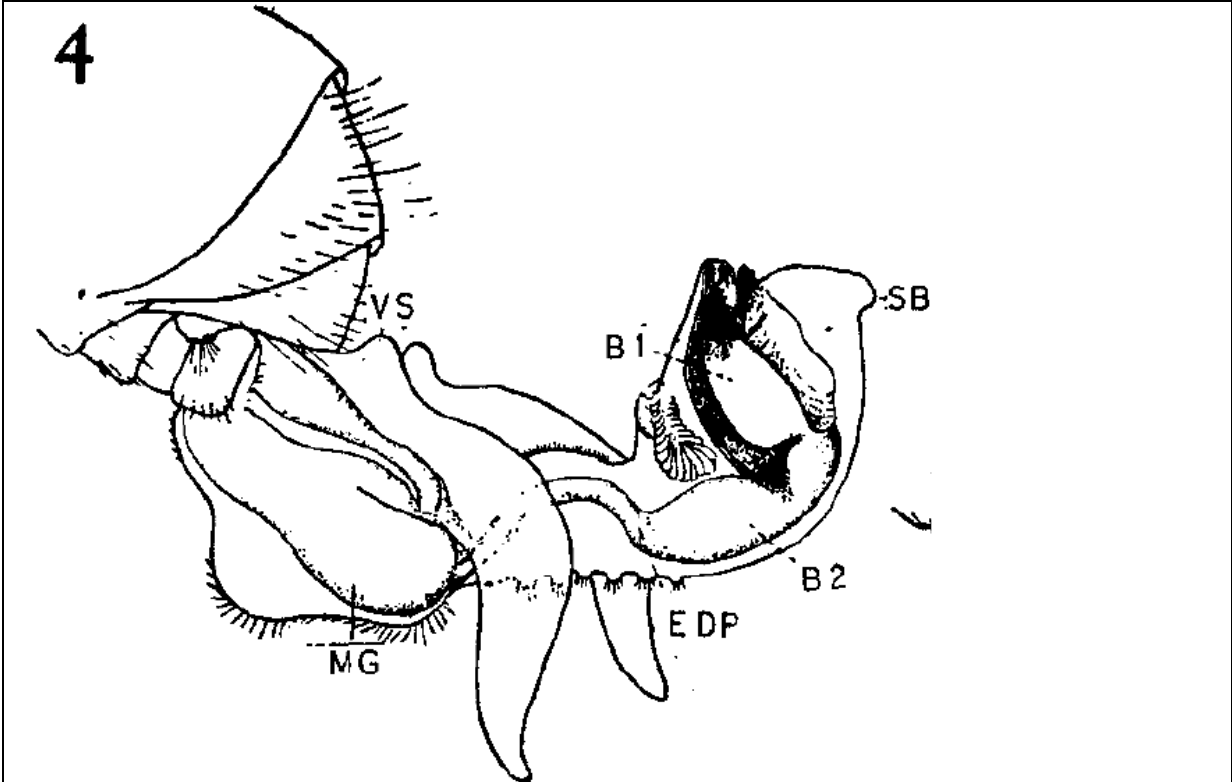
Woyke 1958



Woyke 1958



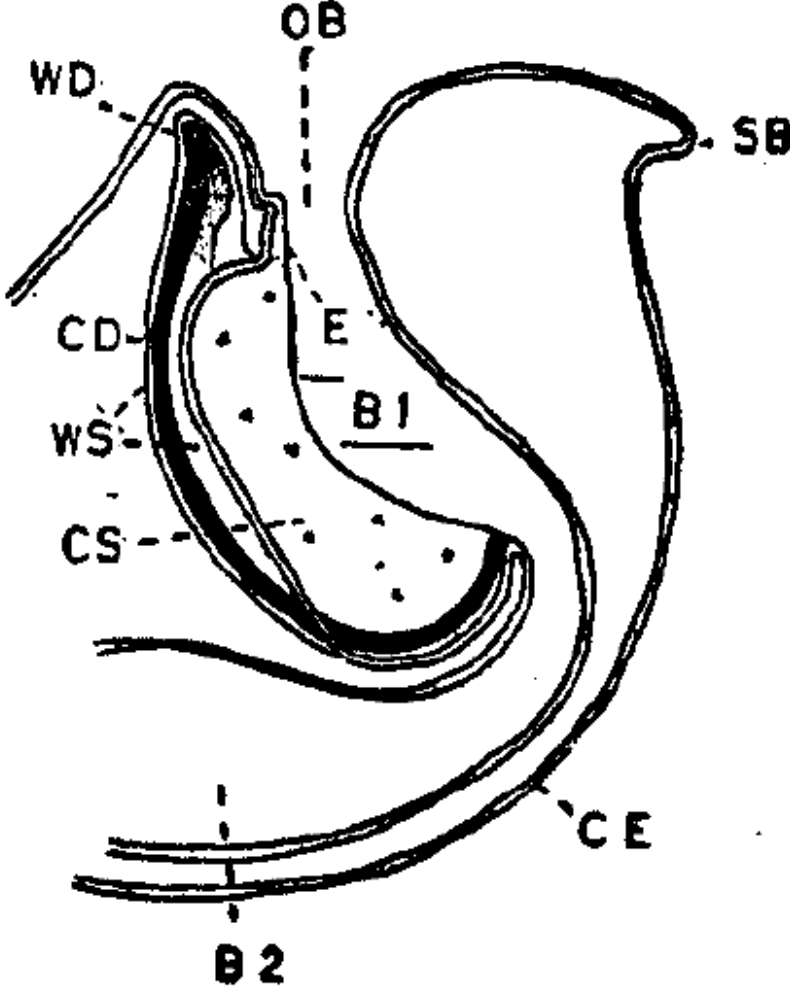
Woyke 1958



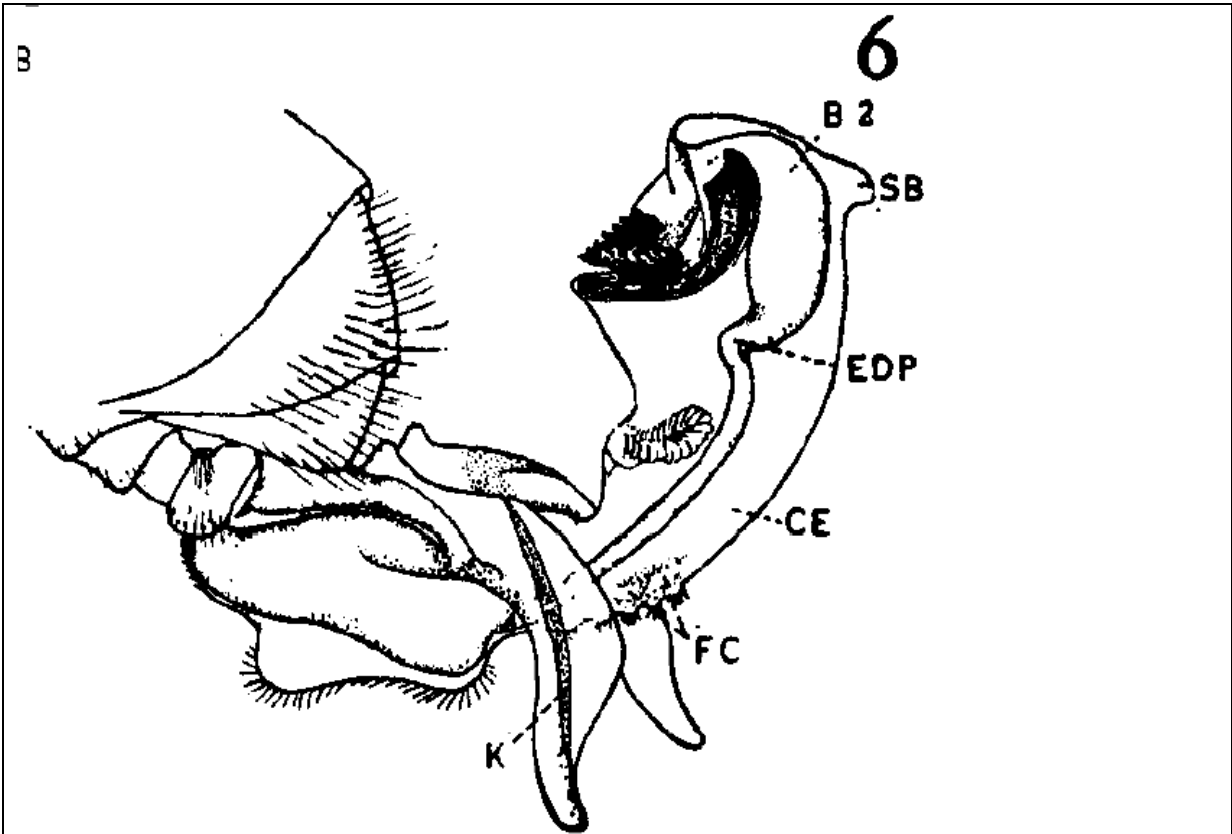
Woyke 1958



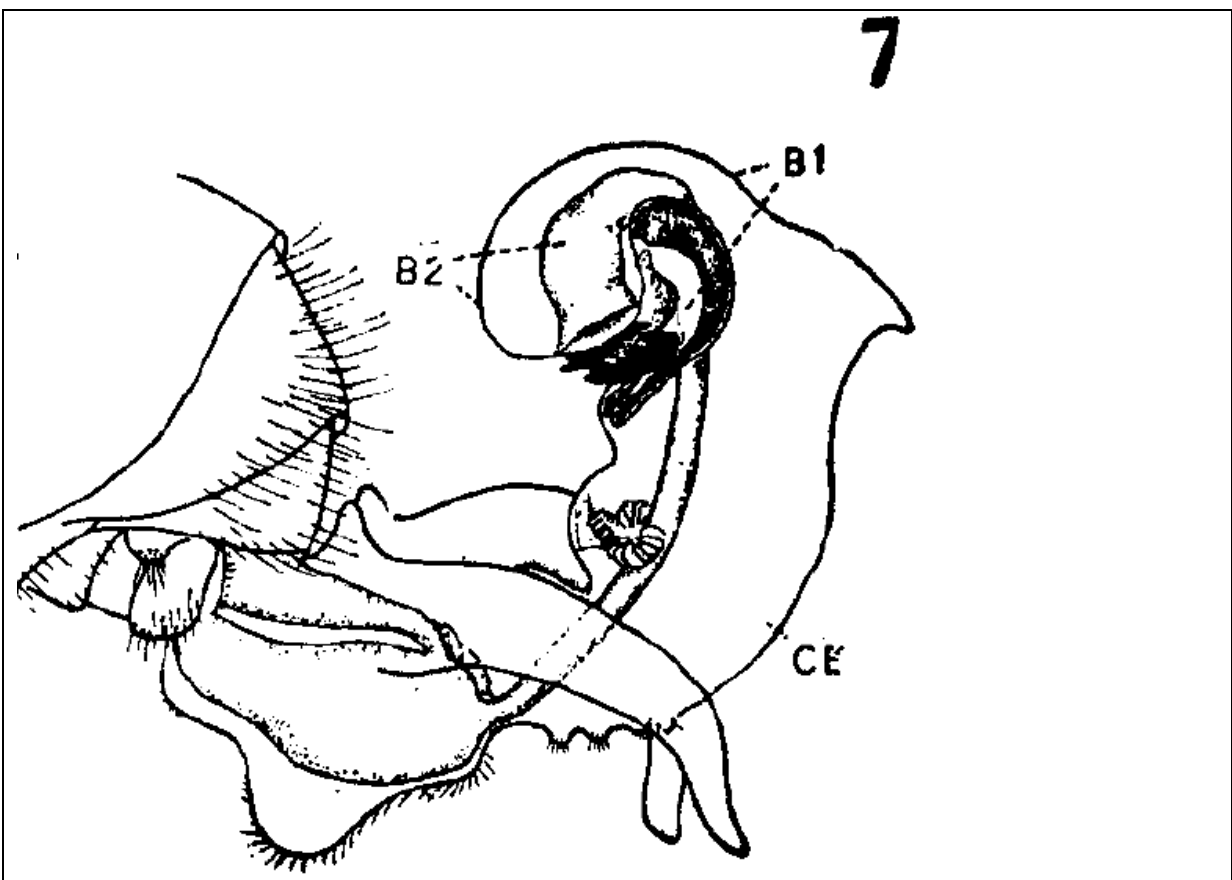
5



Woyke 1958

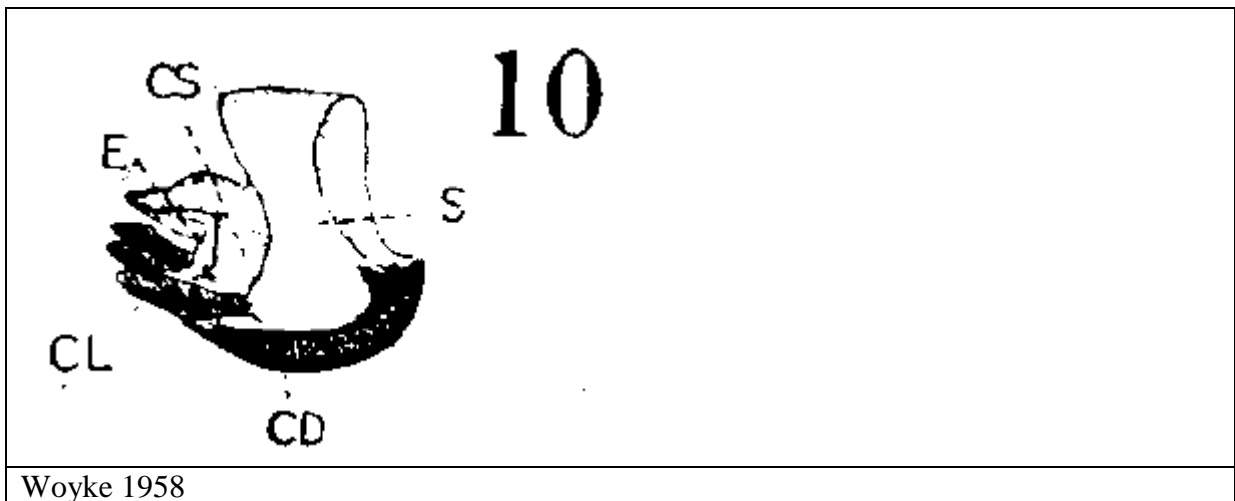
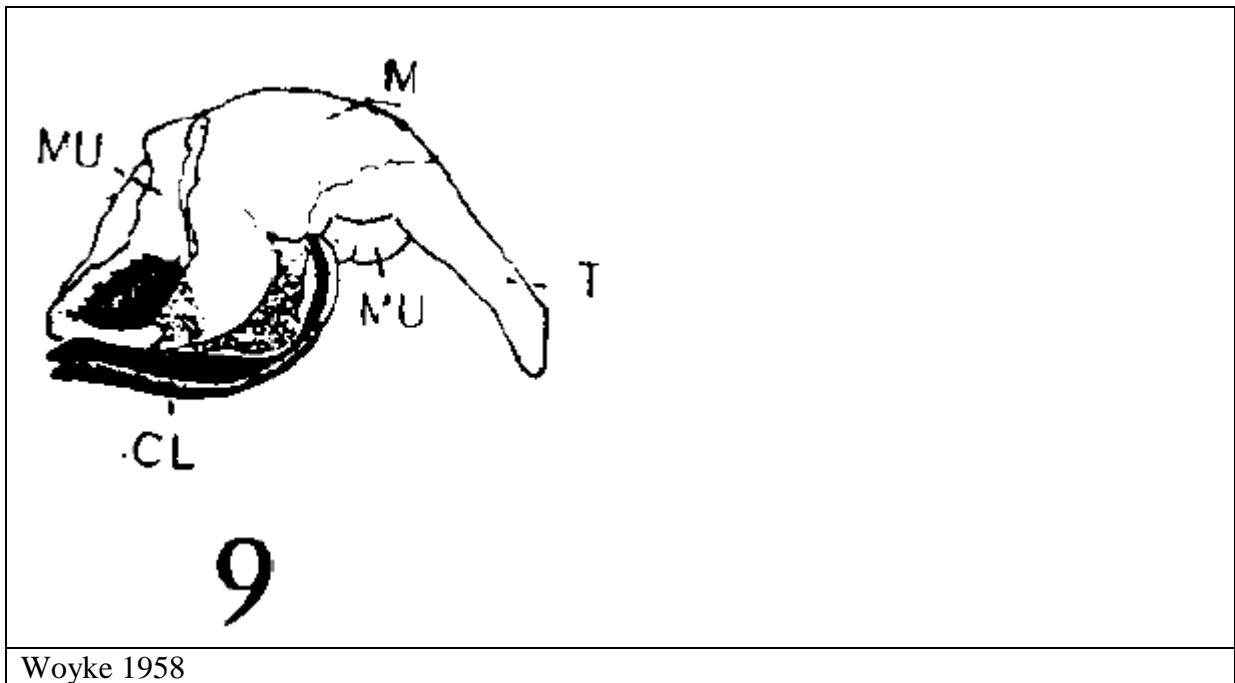
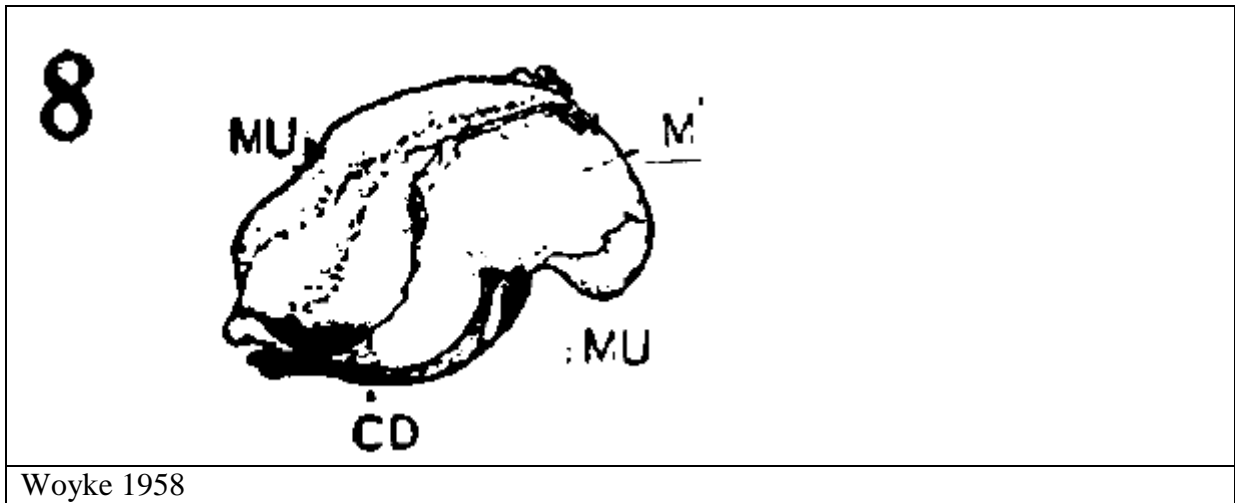


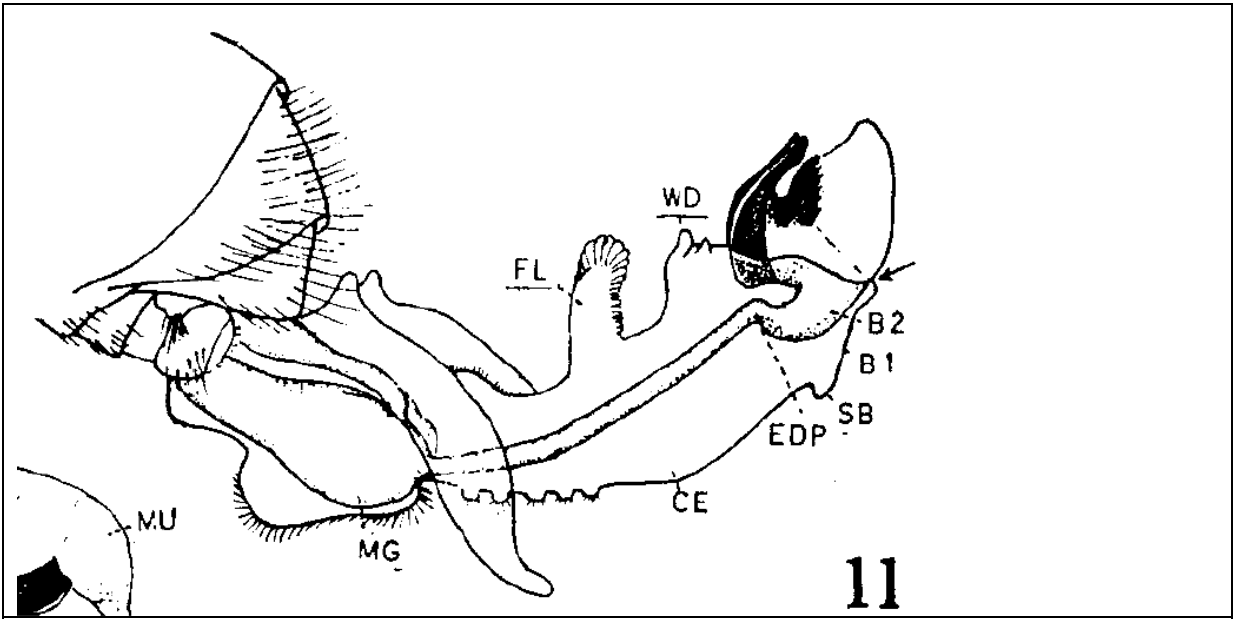
Woyke 1958



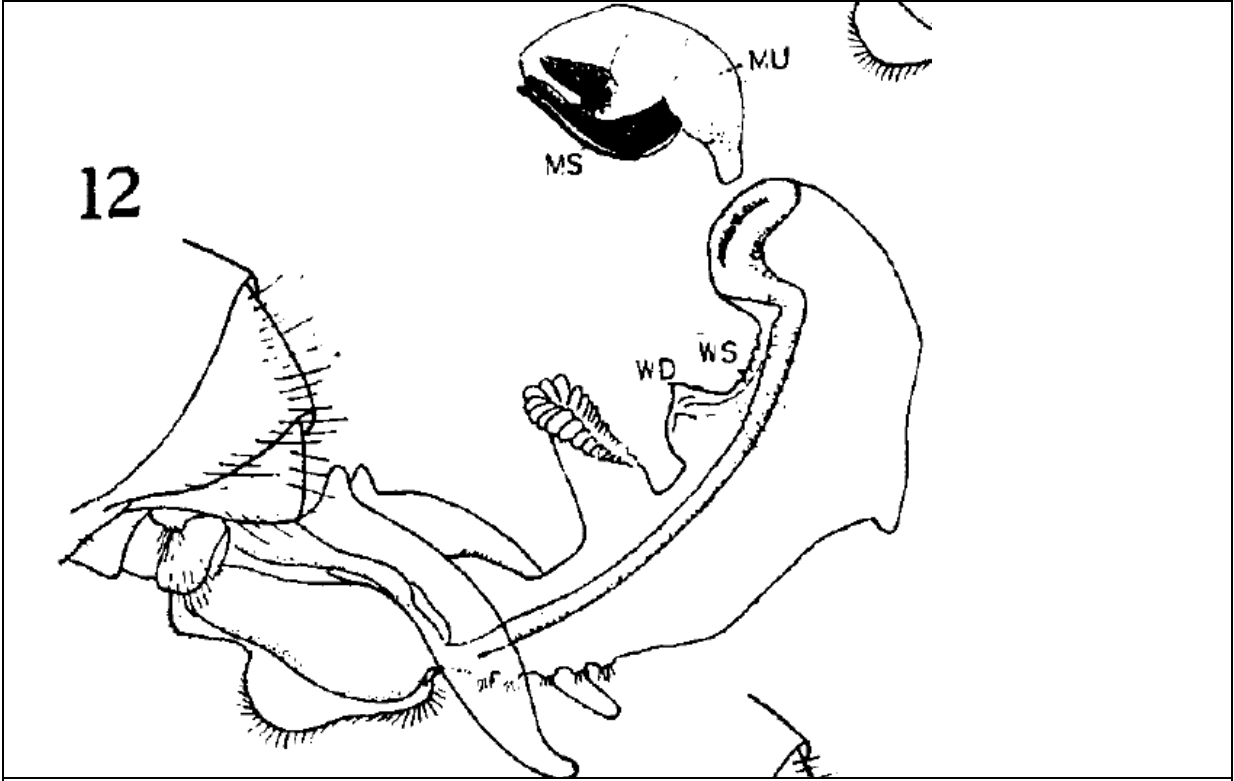
Woyke 1958

Bevruchtingsteken

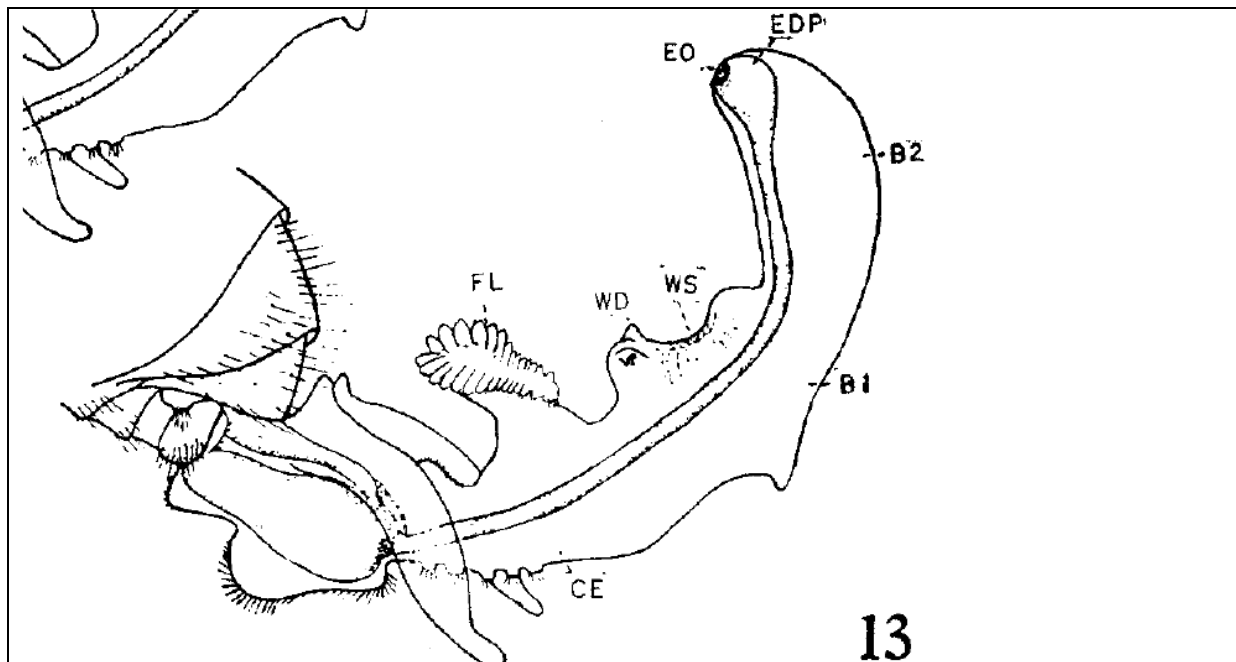




Woyke 1958



Woyke 1958



Woyke 1958

English	German
BE bulb of endophallus ; penis bulb	Zwiebel ; Bulbus
B1 the part of the bulb which is strengthened by the chitinized plates and the bow of the bulb	Teil der Zwiebel verstärkt durch die Chitinplatten und die Bulbusschleife
B2 thin-walled part of the bulb	dünnwandiger Teil des Bulbus
BC bursa copulatrix	Begattungstasche
BP bursal pouch	Seitentasche der Begattungskammer
C pneumophyses of endophallus ; bursal cornua	Hörnchen
CD dorsal chitinized plates*	lange Chitinplatten
CE cervix of endophallus	Mittelstück des Begattungsschlauches
CL lateral chitinized plates*	breite Chitinplatten
CS connective substance ; 'semi-transparent thickening of the cuticular intima' (Snodgrass 1956, p. 296)	Verbindungsmaße
D ejaculatory duct	Ductus ejaculatorius ; Spritzkanal
E edge of connective substance partly concealing the posterior opening of the bulb of the endophallus	Rand der Verbindungsmaße, die hintere Zwiebelöffnung teilweise verdeckend
EDP posterior end of the ejaculatory duct	hinteres Ende des Ductus ejaculatorius
EO opening of the ejaculatory duct ; gonopore	Öffnung des Ductus ejaculatorius ; Gonopore
FC fissures in the outer layer of the cervix	Risse in der äusseren Schicht der Cervix
FL fimbriate lobe	gefiederter Anhang
K sticky surface layer pushed back from the pneumophysis	klebrige Schicht, von der Pneumophyse heruntergeschoben
LO lateral oviduct	lateraler Eileiter
LP lamina parameralis ; upper clasper	Deckschuppe
M covering of the mating sign	Hülle des Begattungszeichens
MG mucous glands	Schleimdrüsen
MO median oviduct	medianer Eileiter
MS mating sign	Begattungszeichen
MU mucus	Schleim
OB posterior opening of the bulb	hintere Öffnung der Zwiebel
OC external opening of the cervix	äussere Öffnung des Mittelstückes
PV penis valve ; lower clasper	Deckplatte
S bow of the bulb	Bulbusschleife
SB sac of the bulb	Bulbussack
SE semen	Samen
SP spermatheca	Samenblase
ST sting	Stachel
T thread-like end of the mating sign (mucus)	fadenartiges Ende des Begattungszeichens (Schleim)
VE vestibulum or base of the endophallus	Basis des Begattungsschlauches
VS seminal vesicle ; vesicula seminalis	Samenblase
WD doming of the bulb wall, surrounding the pointed ends of the dorsal plates	Vorwölbung der Zwiebelhülle, die spitzen Enden der dorsalen Chitinplatten umfassend
WS stretching of the bulb wall for the chitinized plates	Einbuchtung in der Zwiebelhülle für die Chitinplatten

\*For the sake of consistency the terms used by Snodgrass (1956) are retained here ; we should however prefer *long, broad plates* for *dorsal, lateral plates*, since the 'dorsal' plate becomes the ventral one when the endophallus is in the queen.

## 4.1 Genetische aspecten van de dar in de voorplanting.

Een verklaring van het verschijnsel hagelschot in het broednest werd door Mackensen in 1951 gegeven. Doordat een koningin  $s_1s_2$  heeft gepaard met darren  $s_1$  en  $s_2$  en dit zijn de enige darren dan zijn er eitjes  $s_1s_2$  en  $s_2s_1$  maar daarnaast zijn er eitjes  $s_1s_1$  en  $s_2s_2$ . Dit betekent dat er 50% broeduitval door hagelschot ontstaat. Dit verschijnsel was reeds ontdekt bij Habrecon en Mackensen vermoedde dat  $s_1s_1$  en  $s_2s_2$  darren zouden zijn. Als een van de darren  $s_1$  of  $s_2$  als sex-alleel bezit en het is de enige dar dan is eveneens 50% uitval. Bij 10 darren waarvan er geen  $s_1$  of  $s_2$  bezit dan is er 0% uitval. Er is in de jaren 50 gezocht naar de frequentie van het voorkomen van de verschillende sex-allelen als de populatie in evenwicht verkeerd. Dit wil zeggen de frequentie van elke sex-alleel is even groot. Stel de populatie heeft  $n$  verschillende sex-allelen ( $s_1, s_2, \dots, s_n$ ) dan is de som van de frequenties  $x_1, x_2, \dots, x_n$ , waarin de sex-allelen in de populatie voorkomen gelijk aan  $\sum x_i = 1$  ( $i = 1, 2, \dots, n$ ). Als alle frequenties veronderstelt, gelijk zijn aan elkaar is  $x_i = 1/n$ . Elke sex-alleel heeft hetzelfde kans om aanwezig te zijn in een populatie die in evenwicht is. Want als een alleel meer dan  $1/n$  keer voorkomt dan is de kans ook groter dat er een combinatie  $s_i s_i$  ontstaat ook groter. Deze combinatie komt in de volgende generatie niet meer voor, want valt uit. Zowel Adams als Laidlaw hebben schattingen gemaakt van het aantal darren waarmee een koningin heeft gepaard door te kijken naar de hoeveelheid broed wat uitvalt. Laidlaw maakte een steekproef van uiteindelijk 61 koninginnen die hij met darren uit een volk insemineerde. Deze darren hebben  $s_1$  of een  $s_2$  alleel. Hij ging ervan uit dat deze in gelijke mate in het volk voorkomt. Daarna leidde hij een schatter af voor het gemiddelde en een variantie middels de methode van Maximale waarschijnlijkheid.

Er vallen verschillende interessante genetische aspecten aan het gedrag van darren te onderscheiden. Het aantal darren waarmee een koningin heeft gepaard is hetzelfde als de vraag naar het aantal zustergruppen in een bijenvolk, en uit zich in de gemiddelde verwantschap tussen werksters in een bijenvolk.

Crozier heeft hiervoor de volgende vergelijking opgesteld.

$$m_c = \frac{2}{4R - 1}$$

$m$  is aantal darren waarmee gepaard is  
 $R$  gemiddelde verwantschap tussen werksters.

Deze vergelijking is om te zetten in de volgende

$$R = \frac{1}{2m} + \frac{1}{4}$$

$m$  wordt bepaald uit het voorkomen van hagelschot, maar ook door meting van de hoeveelheid sperma voorkomend bij een koningin die terugkomt van een bruidsvlucht. Het aantal zustergruppen in een volk kan ook rechtstreeks bepaald worden. Deze laatste techniek is betrouwbaarder en leidde tot hogere aantallen darren.

Bij  $m$  is 8 wordt  $R=31\%$  een getal wat gemeld wordt in Van Praagh

Het aantal zustergruppen in een bijenvolk blijkt invloed te hebben op het functioneren van het bijenvolk, zoals op temperatuur houden van het nest, ziektebestendigheid en haalgedrag.

Verder is het interessant te weten hoe het komt dat een koningin met meer darren paart, en waarom werksters niet zelf eitjes leggen en eigen broed groot brengen maar een koningin bij voorkeur uit de eigen zustergroep ondersteunen. Vanwege het haploide/diploide

voortplantingsgedrag is de verwantschap tussen werksters in zuster groepen dan tussen de koningin en haar eigen broed. Elke individu is erop uit om eigen genetisch zoveel mogelijk door te geven. Doordat zusters meer verwant zijn aan elkaar is het helpen van een koningin om de zuster groep groter te maken een verklaarbaar gedrag. Altruïstisch gedrag veronderstelt herkenning van nest-\soortgenoten, die weer invloed heeft op de mate van vervliegen. Uit de evolutie theorie van Darwin is het groot brengen van broed in zuster groepen niet verklaarbaar. Want deze theorie voorspelt juist egoïstisch gedrag, zoveel mogelijk eigen broed ten koste van andermans broed.

Altruïstisch gedrag van werksters is wel verklaarbaar uit de regel van Hamilton.

C = risico's kosten nemen toe met het aantal keren dat een koningin paart  
 $\frac{C}{B} < R$  R = gemiddelde verwantschap tussen werksters in een volk  
 B = (Benefits) voordelen van betere fitness als meerdere keren gepaard wordt

Als een volk beter functioneert is B groot ten opzichte van C, maar de risico's dat een koningin niet terugkeert van een bruidsvlucht worden groter, maar leiden tot een lagere R.

De verwantschaps relaties worden beïnvloed door het haploïde/diploïde voortplantingsgedrag. Het aantal darren (m) waarmee gepaard wordt heeft directe invloed op de verwantschap R.

$$\frac{C}{B} < \frac{1}{2m} + \frac{1}{4}$$

De genetische variabiliteit komt tot uiting in het voorkomen van een zo groot mogelijk aantal verschillende sex-allelen binnen een populatie van bijenvolken. Hoe meer sex-allelen hoe kleiner de kans op diploïde darren wat resulteert in het optreden van hagelshot. Dit is een gevaar bij koninginneteeit in gesloten populaties. Genetische variabiliteit maakt de kans op heterosis effecten eveneens groter.

## 4.2 Aantal darren waarmee een koningin paart.

Schattingen van het aantal darren waarmee een koningin heeft gepaard zijn gebaseerd op:

- 1 Directe waarneming (Roberts 1944, Gary 1963)
- 2 Tellen van de hoeveelheid sperma (volume, gewicht, spermatozoa) (Woyke 1962, Koeniger 1990)
- 3 Schattingen middels technieken ontwikkeld in de populatie genetica (Taber 1954, Taber en Wendel 1958, Adams 1977)
- 4 Bepalingen van het aantal verschillende vaderlijnen in het genotype van de werksters
- 5 Tellingen van het aantal voorkomende diploïde darren. Adams 1977 (=3)

(Woyke 1955) Omdat darren 1,5-3,0 ml sperma ejaculeren en de bevruchte koninginnen bij terugkeer van een bevruchtingsvlucht 6,0-20,0 ml sperma in de oviducts hebben opgeslagen niet vermengd met mucus, moet geconcludeerd worden dat een koningin op een bevruchtingsvlucht paart met meerdere darren.

Schattingfouten met technieken uit de populatiegenetica worden veroorzaakt door afwijkingen in het Hardy-Weinberg evenwicht.

Schattingen gemaakt door vergelijking van het aantal vaderlijnen in het genotype van de werksters zijn vanaf 2000 veelvuldig gemaakt.

Onderstaande statistische formules komen uit Tarpay en Nielsen 2002

Het aantal keren dat een koningin gepaard heeft is een vaag en onnauwkeurig begrip. Het effectieve aantal keren waarop een koningin gepaard heeft wordt gedefinieerd door het aantal darren waarmee ze gepaard heeft, rekeninghoudend met grootte van de zuster groepen.

$$\frac{1}{N} = \frac{\hat{m}_{e(s)}}{\sum_{i=1} p_i^2} \quad \begin{array}{l} N \text{ is het aantal darren die teruggevonden wordt in de werksters} \\ p_i \text{ is de relatieve verhouding van de dar } i \text{ in de werkster populatie} \end{array} \quad (1)$$

Deze schatter voor de effectieve aantal paringen (matings) is voor eindige steekproeven niet zuiver. De meest gebruikte zuivere schatter voor het aantal effectieve paringen is

$$\frac{n-1}{N} = \frac{\hat{m}_{e(p)}}{n \sum_{i=1} p_i^2} \quad \begin{array}{l} n \text{ is het aantal werkster in de steekproef} \\ p_i \text{ is de relatieve verhouding van de dar } i \text{ in de werkster populatie} \end{array} \quad (2)$$

Uit deze zuivere schatter kan de gemiddelde genetische verwantschap tussen werksters in een bijenvolk afgeleid worden.

$$\hat{G} = \frac{1}{4} + \frac{1}{2 * \hat{m}_e} \quad \begin{array}{l} G \text{ is de gemiddelde genetische verwantschap tussen werksters in een} \\ \text{volk.} \end{array} \quad (3)$$

Als hierin  $m_e$  gelijk is aan 1 (monandry) dan is  $G = 0.75$

Bij  $m_e$  gelijk aan 8 is  $G = 0.31$  een waarde die we ook op andere manieren zullen gevonden.

Het blijkt ook mogelijk om  $G$  direct uit de steekproef te bepalen en daaruit een schatter voor  $m_e$  hieruit af te leiden. Een schatter voor  $G$  is ook direct uit  $p_i$  te bepalen en wel als volgt (Laidlaw en Page 1984)

$$\hat{G} = \sum_{i=1}^N p_i [0.75 p_i + 0.25(1 - p_i)] \quad (4)$$

Door de vergelijking (3) om te zetten kan met  $\hat{G}$  ook voor

$$\hat{m}_e = \frac{2}{4\hat{G} - 1} \quad (5)$$

Omdat in vergelijking (4) de werkelijke frequenties van voorkomen van de vaderlijnen is de schatter voor  $m_e$  in feite gelijk aan  $m_{e(s)}$  in vergelijking (1)



Gemiddeld blijken de werksters in een volk afkomstig te zijn van 10 verschillende darren. De werksters in een volk met dezelfde dar als vader wordt zustergroep genoemd en over het algemeen zijn de zustergroepen in een bijenvolk niet even groot, maar de gemiddelde verhouding van de aantallen werksters in de zustergroepen blijkt door de tijd heen gelijk te blijven, zodat de koningin niet alleen het sperma van de verschillende darren in haar spermatheca bewaard maar ook dat de spermacellen in willekeurige volgorde en gelijkmatig afkomstig zijn van de darren waarmee ze gepaard heeft en dat dit sperma homogeen gemengd is in de spermatheca. Hierover bestaan echter nog veel onduidelijkheden. Want uit het gedrag van een volk door de tijd kan zo verschillend zijn dat je daaruit zou kunnen afleiden dat de gemiddeld 10 in een volk aanwezige zustergroepen door de tijd heen niet gelijk zijn. Verder heeft niet elke dar een gelijke hoeveelheid sperma afgeleverd, waardoor het niet waarschijnlijk is dat elke zustergroep even groot is.

## H

Omdat elke werkster van haar moeder een willekeurige helft van de erfelijke eigenschappen krijgt en van een van de 10 darren levert de andere helft. De erfelijke eigenschappen opgeslagen in de chromosomen van een spermacel van een dar zijn voor elke sperma cel gelijk. Twee werkster met dezelfde dar als vader zijn van die kant voor 100% gelijk en van moederskant voor 50% zodat de verwantschap tussen twee werkster  $(100+50)/2 = 75\%$  is. Dus de verwantschap van twee werksters afkomstig van verschillende darren is  $25\% \times 90\% = 67,5\%$ .

Deze getallen zijn van puur theoretische aard. Want het is goed mogelijk dat de verwantschap tussen twee werksters in een zustergroep groter is dan 75% omdat genen DNA reeksen kunnen bezitten die op subtiele manier kunnen verschillen maar toch hetzelfde eiwit produceren.

Gedacht werd dat werksters uit dezelfde zustergroep als de koningin bij voorkeur zouden meegaan met de nazwerm. Hoewel er verschillen in samenstelling tussen moedervolk en de voor- en nazwermen zijn geconstateerd is dit verschil niet significant en worden gemiddeld toch alle zustergroepen teruggevonden in de voor- en nazwerm die ook voorkomen in het volk waarvan gezwerm is. De verdeling van de werkster naar zustervolken in een zwerm blijkt willekeuriger tot stand te komen dan gedacht werd.

De leeftjidsverdeling van de werksters in een zwerm is wel verschillend van die in het hoofdvolk. De jongste bijen en de oudste werksters zijn ondervertegenwoordigd in een zwerm.

Uit een steekproef van 13 zwermen blijkt dat 18% van de darren uit een volk meegaat met een zwerm en 65% van de volwassen werksters (niet de jonge huisbijen) in de zwerm meegaat. Deze percentages gelden voor zowel voor als na-zwermen

Het genoemde gemiddelde van 10 blijkt onderhevig te zijn aan een grote spreiding. Zowel het gemiddelde als de spreiding is per soort en ras verschillend.

Aantal zustergroepen bij	Aantal in steekproef	standaardafwijking +/-
<i>Apis mellifera mellifera</i>	11,5	0,7
<i>Apis mellifera carnica</i>	13,0	8,5
<i>Apis mellifera ligustica</i>	20	1 volk
<i>Apis andreniformis</i>	13,5	4,5

Apis dorsata	26,8	10,8
Apis florea	8,0	3,7
Apis mellifera	13,8	5,5

De steekproefgrootte was 20-200 werkster. De steekproeffout kan bij lage aantallen groot zijn geweest en daarom moeten de gemiddelde als minimum worden gezien.

(Michael Haberl 29 jan 1998 op internet [BEE-L@CNSIBM.ALBANY.EDU](mailto:BEE-L@CNSIBM.ALBANY.EDU))

#### 4.2.4 Vingerafdrukken

Of verschillende bijen verwant aan elkaar zijn kan onderzocht worden door DNA uit cellen met elkaar te vergelijken. Het gewonnen DNA bevat niet alleen voor eiwitten coderende stukken maar ook niet-coderende stukken, zoals de zogenaamde microsattelieten, die bijzonder belangrijk zijn voor het maken van onderscheid.

Door middel van de Polymerase Ketting Reactie kunnen hele specifieke stukken DNA vermenigvuldigd worden.

Middels der

sogenannten Polymerase-Ketten-Reaktion (PCR) können gezielt DNA-Stücke vervielfältigt werden. Die DNA-Stücke mit Mikrosatelliten unterscheiden sich bei den Individuen häufig in ihrer Länge. Mit Hilfe einer elektrochemischen Technik, der Gel-Elektrophorese, werden diese DNA-Stücke ihrer Größe entsprechend aufgetrennt und anschließend sichtbar gemacht. So entsteht das charakteristische Bandenmuster einzelner Individuen.

Da die Erbsubstanz nach den bekannten Mendel'schen Vererbungsregeln von den Eltern an die Nachkommen weitergegeben wird, kann aus diesen Banden-Mustern der DNA-Stücke auf die Identität der Individuen bzw. auf ihre Verwandtschaft untereinander, geschlossen werden.

(Als DNA steekproeven afkomstig van koninginnen en darren met elkaar kunnen worden vergeleken ten behoeve van een bevruchtingsprogramma, dan kunnen de resultaten in de toekomst wellicht gebruikt worden als hulpmiddel bij de selectie.)

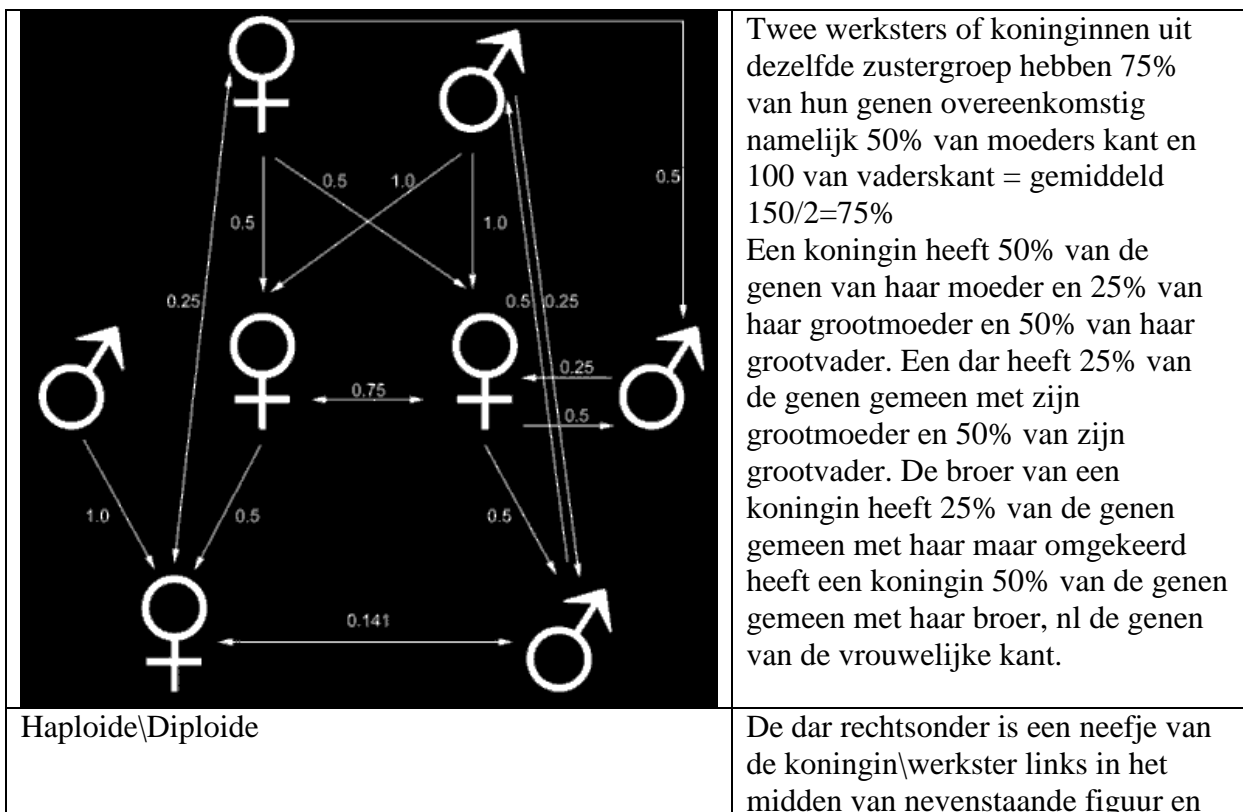
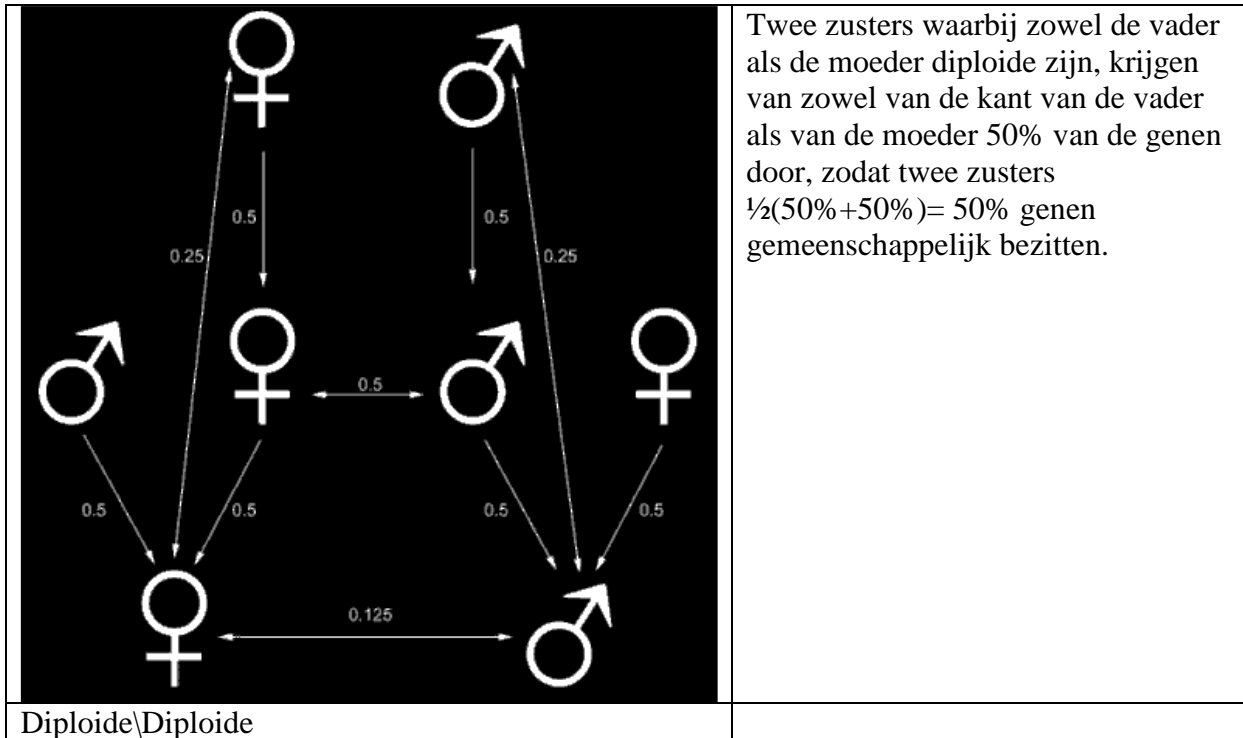
We spreken over DNA –vingerafdrukken en –voetafdrukken en genotypering door plaats (locus) specifiek PCR amplificatie DNA vingerafdrukken zijn te vergelijken met bar-codes. Elk streepje vertegenwoordigt een DNA fragment van een specifieke lengte. DNA-voetafdrukken zijn DNA-reeksen met gaten op specifieke plaatsen die veroorzaakt worden door een eiwit molecuul verbonden ter herkenning van een reeks in DNA streng. DNA –vingerafdrukken worden gebruikt om genetische verwantschap te onderzoeken, terwijl DNA-voetafdrukken worden gebruikt hoe de wisselwerking van een DNA reeks met een eiwit plaats heeft.

De stamboom

### 4.3 Verwantschapsrelaties

In een bijenvolk zijn werksters, darren en koningin(nen) niet gelijk aan elkaar verwant. Ten eerste komt dit doordat een dar haploid is en ten tweede paart de koningin met meer dan één dar en bovendien kunnen twee of meer darren eenzelfde moeder hebben. Hierdoor zijn de

werksters in een bijenvolk afkomstig van een dar zusters van elkaar, maar halfzuster van de werksters met een andere dar als 'ouder'. Werksters met dezelfde vader vormen een zustergroep. Overigens hebben werksters uit twee verschillende zustergroepen waarvan de twee ouderdaren eenzelfde koningin als moeder hebben gehad een grotere verwantschap dan wanneer de ouderdaren afkomstig zijn van verschillende koninginnen. Nauwere verwantschappen ontstaan wanneer koningin en darren voortkomen uit hetzelfde volk.



<p>is <math>0,5 * 0,75 = 0,375</math> verwant met volle zusters van zijn moeder maar <math>0,5 * 0,25 = 0,125</math> verwant met half zusters van zijn moeder.</p>
--

Darren die van de koningin stammen zijn broers, hebben geen vader, hebben 50% van de genen gemeen met hun moeder, omdat het eitje ook voor een dar via een meiotische reductie deling tot stand komt, zodat gemiddeld 50% van hun genen overeen komen met die van de andere darren van de koningin. Dit geldt ook voor 'moersdarren' en 'werksterdarren'.

Verder zien we dat de verwantschaprelaties niet symmetrisch zijn. De dochter heeft 100% van de genen van haar vader met hem gemeen, maar omgekeerd heeft de vader 50% van de genen van zijn dochter met haar gemeen. Als we de volgende schrijfwijze  $G_{A(B)} = x$  interpreteren als het deel  $x$  van de genen van individu A is Gemeenschappelijk met individu B.

Algemeen geldt dat

$G_{\text{moeder}(\text{zoon of dochter})} = \frac{1}{2}$  (de zoon of dochter heeft de helft van de genen gemeen met de moeder)

$G_{\text{zoon}(\text{moeder})} = 1$  (de moeder heeft alle genen gemeen met de zoon)

$G_{\text{dochter}(\text{moeder})} = \frac{1}{2}$

$G_{\text{dochter}(\text{vader})} = \frac{1}{2}$

$G_{\text{vader}(\text{dochter})} = 1$

$G_{\text{mannetje}(\text{broer of zus})} = \frac{1}{2}$

$G_{\text{vrouwje}(\text{broer})} = \frac{1}{4}$

Uit bovenstaande drie paar regels zie je de volgende algemene regel

$G_{\text{vrouwje A}(\text{mannetje B})} = \frac{1}{2} G_{\text{mannetje B}(\text{vrouwje A})}$

$G_{\text{vrouwje}(\text{zuster, van dezelfde vader})} = \frac{3}{4}$  (volle zuster)

$G_{\text{vrouwje}(\text{zuster, van andere vader})} = \frac{1}{2}$  (halfzuster)

**Samengestelde relaties**

$G_{\text{dochter}(\text{moeder})} * G_{\text{moeder}(\text{dochter})} = G_{\text{kleindochter}(\text{moeder})} = \frac{1}{2} * \frac{1}{2} = \frac{1}{4}$

$G_{\text{moeder}(\text{dochter})} * G_{\text{dochter}(\text{moeder})} = G_{\text{moeder}(\text{kleindochter})} = \frac{1}{2} * \frac{1}{2} = \frac{1}{4}$

$G_{\text{moeder}(\text{kleinzoon})} = \frac{1}{2} G_{\text{kleinzoon}(\text{moeder})}$

$G_{\text{vader}(\text{dochter})} * G_{\text{moeder}(\text{zoon})} = 1 * \frac{1}{2} = \frac{1}{2}$

$G_{\text{moeder}(\text{zoon})} = \frac{1}{2}$

$G_{\text{kleindochter}(\text{kleindochter})} = \text{kleindochter}(-\text{zoon})$  met verschillende moeders en vaders

Een andere wijze waarop verwantschap wordt aangeduid is in menselijke termen van menselijke verwantschap.

Het gebruiken van menselijke aanduidingen voor verwantschap bij bijen leidt vaak tot misverstanden. De darren die de moer voortbrengt zijn wat betreft verwantschap (in

menselijke termen) genetisch broertjes van hun moeder. De meeste werksters in een volk zijn halfzusters van elkaar, een beperkt aantal volle zusters. Mensenkinderen die dezelfde vader en moeder hebben zijn 100% aan elkaar verwant, hun kinderen (neven en nichtjes) zijn voor de helft aan elkaar verwant. De bijenheffjes zijn voor de helft aan elkaar verwant, maar hun moeders zijn geen zusjes, en hun vaders bijna nooit broers. De werksters en de darren van de koningin zijn dus geen volle broer en zus. De darren hebben geen vader, de werksters wel. Ze zijn wel degelijk halfbroers en halfzussen.

Dat wil zeggen, wat is de verwantschap tussen de werksters onderling en werksters en darren bij een nieuwe zwermcel koningin ten opzichte van de oorspronkelijke teelmoeren van de oude koningin

## Verwantschap in getallen

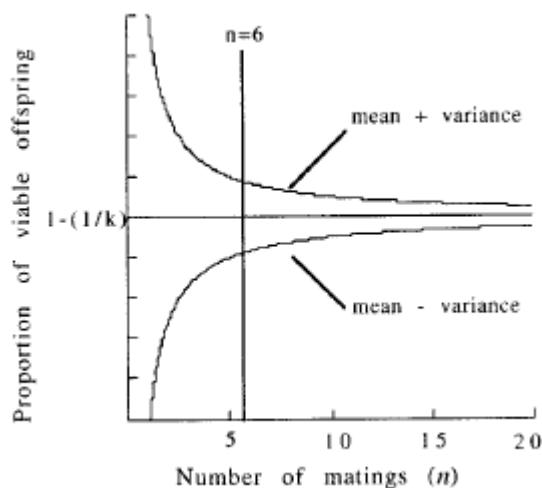
Het is interessant om de mate van verwantschap, die tussen de verschillende dieren in een bijenvolk bestaat, in een getal te kunnen uitdrukken.

(Palmer 2000)

Met hoeveel darren paart een koningin ?

Waarom paart een koningin met zoveel darren ? Op deze vraag zijn een tweetal groepen van veronderstellingen gemaakt die in vele gevallen ook experimenteel aangetoond zijn.

1 Bij een Haploid/Diploid systeem van voortplanting is de bepaling van de sexe geregeld door een aantal sex allelen. Omdat het aantal sex-allelen in een populatie beperkt is moet een koningin met meerdere darren paren zodat het aantal eitjes dat niet levensvatbaar is beperkt blijft. Het aantal levensvatbare eitjes is een functie van het aantal paringen ( $n$ ) en het aantal sex-allelen ( $k$ ). Het verwachte percentage levensvatbare eitjes is alleen afhankelijk van het aantal sex-allelen:  $(1-1/k)$ . De variantie in het levensvatbaarheid van de eitjes wordt gegeven door:  $1/2n(1/k)(1-2/k)$



2 Verwantschapsrelaties zijn van invloed op het functioneren van het volk.

In een volk met veel zuster groepen en dus een grotere genetische variatie is de werkverdeling automatisch beter geregeld. (SimulationModelGeneticVariability.pdf)

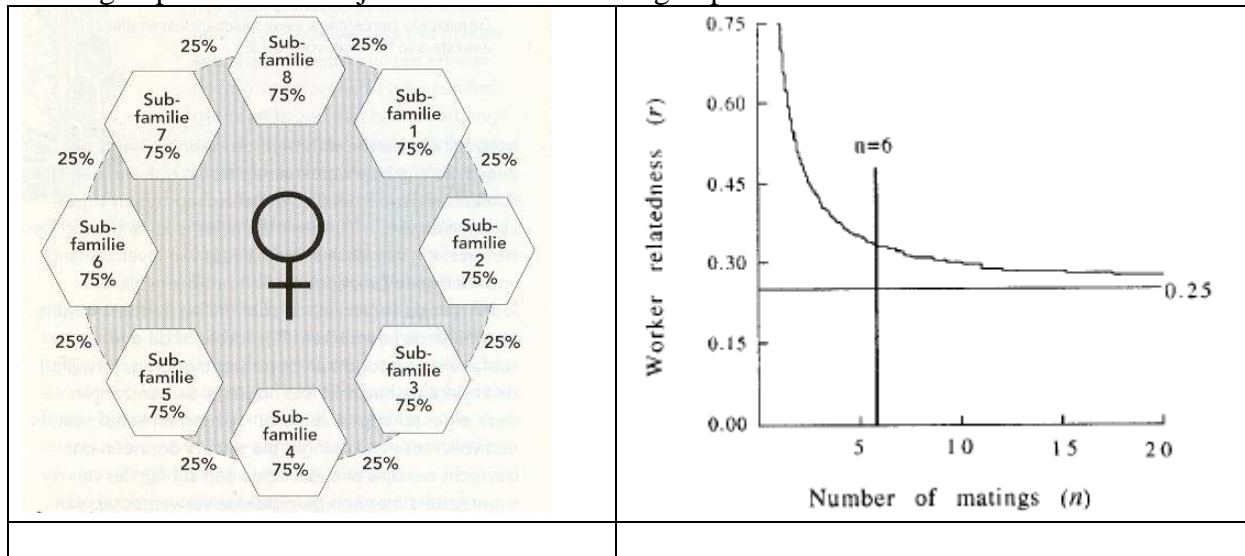
Het inspelen en juist reageren op wijzigingen in de omgeving is in een volk beter

HoneyBeeNestThermoregulation.pdf

De weerstand tegen ziekten en plagen is groter

#### 4.4 Zustergruppen

Doordat een koningin met meerdere darren paart zijn er in een bijenvolk evenzoveel groepen werksters met dezelfde dar als vader. De werksters binnen een groepen hebben een verwantschap van 75%, maar de gemiddelde verwantschap van werksters uit verschillende zustergruppen is afhankelijk van het aantal zustergruppen.



De verwantschap tussen werksters in een volk waarin de koningin met  $n$  darren heeft gepaard wordt aangegeven door:  $r = (1/n) + 0.25$ . Voor  $n=1$  is de verwantschap tussen werksters 0.75 en voor  $n=2$  is  $r=0.5$ , voor  $n=8$  is  $r=0,31$  Voor  $n \rightarrow \infty$  is  $r=0,25$ .

#### ***Consequenties verwantschapsrelaties binnen een volk.***

##### **Samenwerking en altruïstisch gedrag**

In het licht van de evolutietheorieën van Darwin is het opmerkelijk dat werksters in een volk de koningin ondersteunen in het uitbroeden van haar eitjes in plaats van zelf gelegde eitjes uit te broeden. Dit op van Darwinistisch oogpunt opmerkelijke gedrag is te verklaren uit het haplodiploïde voortplantingssysteem van hymenoptera, waarin werksters onderling meer verwant zijn dan

**Er bestaat een concurrentiestrijd tussen de verschillende zustergruppen, die tot uitdrukking komt in de verzorging van koninginncellen en de samenstelling van zwermen. Het altruïstisch gedrag van werkster uit een zustergroep jegens een koningin uit dezelfde zustergroep is groter, dan jegens koninginnelarven uit andere zustergruppen.**

**Verwantschapsrelaties zijn verder van betekenis om begrip te krijgen van verschillende gehanteerde teeltprogramma's**

## Werkstertoezicht

In moergoede volken oefenen werksters binnen een zustergroep toezicht uit op gelegde eitjes dat deze niet afkomstig zijn van werksters uit andere zustergroepen. Eitjes van werksters uit andere zustergroepen worden opgeruimd.

Eitjes van werksters worden door andere werksters opgeruimd.

In moergoede volken heeft ongeveer 99,8% van de werksters onontwikkelde eierstokken, maar 0,2% van de werksters legt eitjes in darrencellen. Hiervan komt de helft echt uit. Dus ongeveer 0,1% van darren blijkt afkomstig van werksters. In moerloze volken kunnen 50% van de werksters ontwikkelde eierstokken bezitten. Een werkster heeft een verwantschap van 25% met haar broer. Wanneer zij echter een eigen eitje legt komt hieruit een dar die 50% verwantschap met haar vertoont. De verwantschap tussen werksters en darren van volle zusters is 0,375 tussen werksters en darren van halfzuster is 0,125.

Het is dus voor een werkster beter voor het overdragen van haar eigen genen om een eigen eitje te leggen dan het darreneitje van de koningin te verzorgen. De gemiddelde verwantschap tussen werksters onderling is ongeveer 30%. De verwantschap tussen een werkster en een zoon van een andere werkster is dan ongeveer  $30\%/2 = 15\%$  (d.w.z een neefje) Dus een werkster is meer verwant aan de zonen van een koningin 25% dan aan de zonen van een andere werksters 15%. Het is daarom genetisch voordeliger om andere werkster te beletten eitjes te leggen.

Een tweede conflict ontstaat binnen een bijenvolk welke

Eitjes gelegd door een koningin worden met stoffen uit de Dufourklier gemerkt te worden. Hierdoor kunnen werksters eitjes van de koningin onderscheiden van eitjes gelegd door werksters. Op deze onderkenning is de controle en opruiming van door werkster gelegde eitjes gebaseerd. De herkenning van eitjes van de koningin bevrucht door de dezelfde vader als van de werkster zelf is nog niet aangetoond. Ook kan een werkster geen onderscheid maken tussen darrenlarfjes afkomstig van werkster of van koninginnen, zodat werksters eitjes opruimen en geen larfjes.

## Nepotisme

In moerloze volken zijn werksters uit een zustergroep niet in staat om bijvoorkeur een larfje uit hun eigen zustergroep op te voeden tot redcelkoningin. Als dit wel het geval zou zijn verwacht je dat de verhouding in aantallen koninginnen per zustergroep, overeenkomt met de frequenties in de zustersgroepen binnen het bijenvolk.

Werksters en koninginnen van verschillende darren hebben een chitine huid die een klein beetje afwijkt in chemische samenstelling. Werkster en koninginnen van eenzelfde dar (volle zusters) blijken veel overeenkomsten in chemische samenstelling van de chitine huid te bezitten. Men vermoed daarom dat werksters verwante soort genen aan de chemische samenstelling van de chitinehuid kan ontdekken.

Vanuit deze gedachtegang redeneerde men dat de verhouding redcelkoninginnen overeen zou komen met het de verhoudingsgetallen in de voorkomende de werkstergroepen. Dat zou betekenen dat werksters binnen een werkstergroep gezamenlijk een larfje uit dezelfde groep zou opkweken tot koningin. Hoe groter de groep hoe meer redcelkoninginnen van die groep zouden moeten uitlopen. Dit bleek niet duidelijk het geval. Men denkt nu dat er larfjes zijn met koninklijke allelen.

## **Sex-allokatie.**

Een koningin heeft geen voorkeur voor een onbevucht eitje waar een dar uitkomt of een bevrucht eitje want darren en werksters zijn voor 0,5 verwant met haar, maar een werkster heeft de voorkeur voor een bevrucht eitje waar een werkster uit komt. De werkster is voor 0,25 verwant met haar broer, maar  $0,25 + 1/2n$  (ongeveer 30%) met haar medewerksters. Dit verschil zou de oorzaak zijn dat er meer werksters worden uitgebroed dan darren. Dit verschil wordt bij bijen veroorzaakt door het opeten van darren eitjes en niet van darren larfjes.

### **5.1 Teeltkwaliteit van een dar**

Met kwaliteit bedoelen we nu de kwaliteit van de koningin waar de darren van afkomstig zijn. Deze kwaliteit openbaart zich aan de ontwikkeling en gedrag van het volk. Omdat darren pas worden aangezet indien er voldoende nectar en stuifmeel aanvoer is. Deze aanvoer wordt niet alleen bepaald door het aanwezige aanbod, maar ook door het haalgedrag van het volk. Een goed volk zet eerder darren aan dan een minder (haal)krachtig volk.

De darrenpopulatie verschilt daarom door het jaar heen in kwaliteit en samenstelling. De eerste golf darren komt vooral van volken die in alle opzichten in topconditie zijn. Deze darren zijn afkomstig van volken die door hun ontwikkeling als eerste darren aanzetten en deze volken zetten het hele seizoen darren aan. De tweede golf darren komt van de wat mindere volken en van volken met een grote zwermrust.

Daarna komen veel darren los van volken die niet helemaal in orde zijn.

Aan het einde van het seizoen zijn er vooral darren van heel sterke volken, vermengd met darren van volken die dringend aan een stille moerwisseling toe zijn en darren van volken die extreem zwermrustig zijn.

Dus de enige tijd van het jaar dat je zeker kunt zijn van de beste topdarren is het vroege voorjaar (mits er geen darrenbroedige moeren in het spel zijn).

Je kunt dat nog vervroegen door de beste volken vroeg in het voorjaar extra aan te moedigen tot groeien en het aanzetten van darren.

### **5.2 Darrenteelt**

Om darren te telen moet een darrenraat midden in het broednest worden gehangen op het moment dat het eerste darrenbroed wordt aangezet. De ontwikkeltijd van een dar is 24 dagen plus 16-18 dagen ( $\pm 40$  dagen) nodig voor het rijpen. De koningin doet er 16 dagen plus 6 dagen ( $\pm 22$  dagen) over voordat zij bronstig is. Dus met de darrenteelt moet je 3 weken eerder beginnen dan met de koninginneteelt. Om zo vroeg mogelijk in het voorjaar met de darrenteelt te kunnen beginnen in een volk moet daar in het voorafgaande jaar rekening mee worden gehouden.

In de nazomer moeten deze volken naar goede stuifmeel drachten gebracht worden, zoals rode klaver, lucerne, phacelia, heide, zonnebloemen, gele mosterd. De koningin moet blijven leggen, er mag geen schaarste zijn. Tot een goede wintervoorraad in de bijenvolken behoort stuifmeel in de raten en goede vet/eiwitreserve in het lichaam van de winterbijen.

De darrenteelt in het vroege voorjaar leidt tot een inspannende situatie in het volk. Het voornaamste werk (broed verzorgen en broednest temperatuur in stand houden) moet door de winterbijen geleverd worden, de aanwas van jonge bijen is nog gering. Alleen sterke, op 2 bakken overwinterde volken hebben voldoende bijen, zodat door de oude bijen nog darrenbroed verzorgd kan worden. Dat kan al tijdens de eerste wilgen bloei plaats vinden.



(Trip 2004) Voor een tijdige darrenteelt wordt een lege, één keer bebroede darrenraat van het vorige jaar, direct tegen het broednest gehangen. Daarnaast komt een goed stuifmeel raam. Als men geen stuifmeelraam heeft, wordt door Weiss aanbevolen, het bovenste deel van de darrenraat met stuifmeel vervangmiddel te vullen. Aansluitend wordt deze met honingwater, tot op de celbodem gevuld. In noodgeval werkt een voederdeeg met stuifmeel vervangmiddel ook goed. (Poedersuiker, stuifmeelvervanging en honing 1:1:1). Het deeg moet links en rechts van de darrenraat tussen de ramen gedrukt worden. Beter is vanzelfsprekend natuurlijk stuifmeel. De teler kan stukken raat met stuifmeel uitsnijden, in glazen in elkaar stampen en met honing overgieten. Indien nodig wordt de massa in warm suikerwater vloeibaar gemaakt en als drijfvoer gegeven.

Bij late teelten (tweede helft juli/augustus) is het beschikbaar hebben van darren even moeilijk als in het voorjaar. Het hoogtepunt in de ontwikkeling is voorbij, en met het afnemen van de dracht begint de darrenslacht. “In augustus is het gemakkelijker, 100 koninginnen te telen, dan 1 dar.” (Sklenar) Daarom moeten die omstandigheden geschapen worden, die met de situatie voor het zwermen overeen komen: Het volk kleiner zetten of rijkelijk bijen uit andere volken erbij geven, drijfvoeren en zeer goede stuifmeelverzorging. De verdere opkweek en het bewaren moet in een moerloos volk plaats vinden, want door moereloosheid, moerdoppen of een onbevuchte koningin wordt de darren opkweek versterkt. De darrenraat met broed moet steeds tussen open werkster broed hangen. Daardoor is steeds, ook in ongunstige klimatologische omstandigheden, de verzorging van het darrenbroed door voedsterbijen zeker. Deze eis geldt steeds, het maakt daarbij niet uit hoe de verdere verzorging van de uitgelopen darren wordt gedaan. De tijdsduur om de darren te laten rijpen stelt, zoals reeds eerder opgemerkt, hoge eisen aan de voedselverzorging.

Er zijn verschillende mogelijkheden om de darren verder te verzorgen.

### **In de honingkamer.**

Het is aan te raden, de raat na het uitkomen van de darrenlarven, in de honingkamer van het darrenvolk of een pleegvolk te hangen, van de broedruimte gescheiden door een koninginnerooster.

De verdere verzorging in het pleegvolk zal men dan kiezen, als van het darrenvolk nog een grote hoeveelheid darren geproduceerd moet worden. Om de twee à drie dagen worden de belegde raten uitgenomen en een nieuwe darrenraat in gehangen.

De honingkamer van het pleegvolk moet darrenvrij zijn. (Zekerheid voor de juiste afstamming) Er mogen zich daarin ook geen raten met ouder darrenbroed bevinden, want de verschillende leeftijdsgroepen worden verschillend verzorgd. Als ongunstige omstandigheden ontstaan, b.v. voedselschaarste of te grote darrenconcentratie, worden de verzorging van de oudere darren verwaarloosd ten gunste van de jongeren. Daarom moet het pleegvolk ook niet de gelegenheid gegeven worden darrenbroed in de broedruimte op te kweken. De verdere verzorging van het darrenbroed gaat gemakkelijker als de larven reeds uitgelopen zijn.

Het uitlopen van de darren in de honingkamer geeft de zekerheid dat ze niet uitvliegen.

Darren zijn niet trouw aan de eigen kast. Ze vliegen al de eerste keren uit, voor ze geslachtsrijp zijn (vanaf dag 7) en keren niet allemaal terug. Of ze gaan bij andere volken naar binnen of ze komen onderweg om. Het koninginnerooster behoedt voor het verlies van gewenste darren en het aanvliegen van niet gewenste. Om de verzorging en het voeren van de uitgelopen darren zeker te stellen moet voor open broed in de honingkamer gezorgd worden. Bij slechte dracht moeten we, ondanks aanwezige stuifmeel- en honingvoorraad, drijfvoeren.

### **In een aflegger.**

De verdere verzorging van de darren kan ook in een aflegger plaatsvinden. Kort voor het uitlopen van de darren hangt men de raat in een sterke aflegger. Deze moet volgens Ruttner bestaan uit minstens vier à vijf broedramen met erop zittende bijen en extra daarbij nog de bijen van drie ramen afgeschud. De bijen moeten gezeefd worden. In de voorzomer kan de aflegger moergoed zijn, tegen het einde van het seizoen is het beter de moer weg te nemen. Het afvliegen van de darren moet door een moerrooster verhinderd worden. Slechte ervaring hebben wij er mee als deze voor het vlieggat is aangebracht. Als de darren geslachtsrijp zijn en het weer ideaal om uit te vliegen, verdringen ze zich voor het koninginnerooster en het gevaar van warmlopen is groot. Een groot deel van de darren sterft door het gedrang aan het vlieggat.

Een andere oplossing is om de oppervlakte koninginnerooster te vergoten, b.v. onder de onderste broedbak op de randen van de bodem. Hierdoor wordt gedrang aan het vlieggat voorkomen, terwijl de vliegbijen nauwelijks hinder ondervinden om de kast binnen te komen. Een bescherming tegen de zon, die tevens het binnenste van de kast donker houdt, levert aanvullend goede diensten. Bij extreme hitte kan het koelen van de kast d.m.v. vochtige afdekking de darren ook rustig houden.

Moerloze afleggers moeten in de nazomer steeds weer door raten met jong werkster broed worden versterkt. Deze werkzaamheden moeten in de vroege morgen worden gedaan, om afvliegen van de darren bij het openen van de kast te voorkomen. Vele telers brengen aan de kasten voorzetstukken met darrenrooster aan. De darren hebben daarin de mogelijkheid tot begrensde vliegactiviteit. Door het rooster een beetje opzij te schuiven en voor de opening een doorzichtige kooi te houden, kan men gedurende de activiteits fase de darren gemakkelijk afvangen. Het afvangen van de darren uit de honingkamer of uit een afleggerkast gaat het gemakkelijkst binnen. ("im Bienenhaus") Bij het openen van de kast vliegen de darren naar het raam (naar het licht) en kunnen daar gemakkelijk verzameld worden. Denkbaar is ook dat men alleen een plankje opzij schuift en de darren in een doorzichtige kooi laat lopen. Deze manier van afvangen is echter alleen tijdens de vliegactiviteit van de darren mogelijk, dus bij vliegweer. Bij koele weersgesteldheid blijven ze op de raten zitten. Daar echter niet vanwege het weer, maar op het vastgesteld KI-moment de darren nodig zijn, moet men in dit geval van de raten af verzamelen. Het vliegen van de darren is voor het winnen van sperma beter. De darren ontlasten zich daarbij voor het grootste deel, en door de vliegactiviteit verbetert het uitstulpen.

### **In een arrestraam.**

Nog een andere methode leerde ik bij Otto Ewald kennen. Deze is in vele opzichten voordelig en aan te bevelen. Twee spekraat ramen worden tot één arrestraam samengevoegd, aan beide kanten van (draad) koninginnerooster voorzien. Aan de voor/achterkant komt een afsluitbare opening voor het afvliegen van de darren.

In deze arrestbak komt op een gegeven ogenblik slechts een deel van een gesloten darrenraat, terwijl er veel meer ruimte is.

De ervaring heeft geleerd, dat het te vol doen van de arrestbak met uitgelopen darren, grote verliezen aan darren oplevert.

De darrenbak plaatst Otto Ewald tegen het broednest, zodat steeds voldoende voedsterbijen aanwezig zijn, die de uitgelopen darren voeren. Om de bijen aan de arrestbak te laten wennen wordt er in het begin wat voederdeeg in gedaan. De voordelen van deze manier van darren houden zijn:

Op het tijdstip van de KI is het gemakkelijk de darren, zonder verlies door wegvliegen, af te nemen en naar een andere plek te brengen. In het voorportaal van de KI ruimte kunnen ze naar het raam vliegen.

### **In een stapelkast.** (im Magazin)

De vierde mij bekende manier van darren verzorging is die in een stapelkast. In de tweede broedkamer, naar onder en naar boven naar de honingkamer door koninginnerooster gescheiden, treffen we voor de darren goede verzorgingsmogelijkheid aan. Men kan de hele bak naar een afgesloten ruimte brengen en daar de darren afvangen.

## **6.Bevruchtungs- en koninginneteeltstations**

Dit onderwerp heeft alles met darren te maken omdat de problemen bij het opzetten van bevruchtungsstations voornamelijk te maken hebben met het beheersen van de darren die aan de paring mogen deelnemen. We spreken van koninginneteeltstations indien er sprake is van een gesloten systeem van volken die zowel koninginnen als darren leveren.

We spreken dan van koninginnenteelt binnen gesloten populaties. Wanneer naar bevruchtungsstations, bevruchtungskastjes met onbevuchte koninginnen worden gezonden waarin geen darren mogen voorkomen, heeft men geen gesloten populatie en spreekt men over een bevruchtungsstation.

Problemen die koninginneteeltstations oproepen hangen samen met het voorkomen van inteelt bij gesloten populaties, en de problemen van bevruchtungsstations is de betrouwbaarheid van het stations, de teelt- en selectie van de darren volken.

Een darrenvolk wordt geselecteerd uit volken met jonge zusterkoninginnen, waarvan de moeder goed is bevallen en waarvan in het jaar daarvoor is nageteeld. (Fehrenbach )

Een volk wat als darrenvolk dienst doet, brengt darren voort die alle gewenste eigenschappen van haar stam zuiver vererven. (Kobel 1968 blz 86)

Koninginnen in darrenvolken kunnen het beste zusters van elkaar zijn, van een moederkoningin met de gewenste eigenschappen.

Wanneer de koningin 2 tot 3 jaar oud is dan kan deze in het eerste jaar respectievelijk het tweede jaar getest zijn, voordat deze volken ingezet worden als darrenvolk.

Wat is een darrenlijn ?

Welke volken worden gebruikt om van over te larven ?

Op Carnica bevruchtungsstations wordt elk jaar een andere darrenlijn geplaatst om inteelt te voorkomen en het heterosis-effect te verkrijgen.

Hoe de betrouwbaarheid van een teeltstation te testen ?

- 1) Door bevruchtungsvolkjes te plaatsen op een station zonder darrenvolken. Alle koninginnen moet dan onbevucht blijven.
- 2) Door de vaderlijnen bij de werksters in een volk genetisch te vergelijken met de darren uit de darrenvolken. (Estoup 1994)

Wat is en hoe kom je aan een darrenvolk ?

Maatregelen om betrouwbare paringen te krijgen

Waar in Nederland zijn bevruchtungs- en koninginneteeltstations aanwezig en waar zijn deze geweest.

## 7. Kunstmatige insemenatie

Op het eerste gezicht hoort dit onderwerp veel meer tot de wereld van de koningin die hier een behandeling ondergaat, maar de mislukkingen in de periode waarin deze techniek tot ontwikkeling kwam hadden voornamelijk te maken met het onbegrip van het aandeel van de dar in de voortplantingsbiologie. Vandaar dat we hier de ontwikkelingsgeschiedenis in de van de techniek laten volgen en het verhaal van de eigenlijke techniek bij de koningin aan de orde laten komen. Ook moet daar aandacht worden geschonken aan het waarom van deze techniek en wanneer het zinvol is om KI uit te voeren, want er zijn genoeg imkers die KI-cursussen hebben gevolgd maar daar niets meer aan doen, niet alleen omdat ze de slag niet te pakken hebben gekregen.

Vanaf de tijd dat Huber geprobeerd had om koningin kunstmatig te bevruchten met een penseeltje in 1791 zijn er pogingen ondernomen om gecontroleerde paringen tot stand te brengen. Alle methoden die in de 19<sup>de</sup> eeuw zijn toegepast zijn, vallen onder twee principes te omschrijven. 1.) Opsluiten van een koningin met geselecteerde darren in afgesloten ruimten of de koningin onder controle te houden door haar aan een lijntje te binden in een omgeving waar een overmaat aan gewenste darren aanwezig is. 2.) Door directe inseminatie

In 1857 probeerde Lewis Shrimplin uit Wellsboro een koningin aan een zijden draadje verbonden aan een van haar poten te laten paren, in een omgeving waarvan hij zeker was dat er alleen darren van zijn keuze vlogen. In 1882 werden deze experimenten door Shuck herhaald en in 1924 door Watson. Het lukte niet om koninginnen hierdoor bevrucht te krijgen. Men zag wel dat ze achtervolgd werd door darren. Nelson W. McLain insemineerde in 1885 koninginnen door een druppeltje sperma in de angelkamer van de koningin te laten vallen, waarbij de koningin in een blokje geplaatst was tijdens de injectie, en beweerde dat hij bij een aantal koninginnen succes had. De drijfveer achter al deze verwoede pogingen in Amerika om paringen gecontroleerd te laten verlopen, kwam met de introductie van gele italiaanse koninginnen uit Europa. Imkers met italiaanse bijen wilde deze zuiver houden, terwijl hun buurman met zwarte bijen werkten. Om koninginnen te beletten ver weg te vliegen, knipte een bijenhouder uit Michigan in 1897 een deel van de vleugels af. Hierdoor paarden 11 op de 12 koninginnen met italiaanse darren, terwijl ongeknipte koninginnen 75% kans op een gewenste paring hadden. Deze handelswijze was gestoeld op het idee dat darren niet ver weg vlogen om te paren en dat eigen darren rondom de eigen bijenstal in de meerderheid zouden zijn. Proeven met vliegtenten werden reeds genomen in 1901, maar deze mislukten eveneens. In 1914 werden door Jager en Howard pogingen ondernomen om koninginnen te insemineren. Deze proeven werden in 1915, 1916 herhaald door Howard en French, maar hadden weinig succes. Men verklaarden de mislukkingen uit de moeilijkheid om langs de S-vormige buiging en de spieren van de spermapomp van de spermatheca te komen. Bij pogingen om toch deze vernauwing te passeren werden de koninginnen dusdanig beschadigd dat zij vrij laat begonnen met het leggen van eieren.

In 1917 werden er door het bedrijf van A.I Root in 1917 uitgebreide proeven in grote glazen kassen genomen. Ook dit experiment leidde niet tot bevruchte koninginnen.

Geo. D. Shafer probeerde in dezelfde tijd een koningin in de hand te laten paren met een dar. Hoewel de copulatie lukte bleek bij controle de spermatheca geen sperma te bevatten.

Geo. H. Bishop probeerde de uitstulping van penis in de bursa copulatrix van de koningin te laten plaatsvinden, en op een tweede manier door met een pipette sperma uit de dar over te brengen in de koningin. Hoewel deze pogingen geen resultaat hadden bleken de verslagen over deze experimenten (1920) zoveel feitenkennis te bevatten over de functionele aspecten van de bevruchting bij de koningin, dat zijn opvolgers bij hun pogingen op ideeën werden gebracht.

Een geheel andere manier om een gecontroleerde paring tot stand te brengen is door een darren eitje met een penseel te bevruchten. (Gilbert Baratt uit Engeland 1919). Het idee was dat de micropyle, de opening waardoor het sperma bij de bevruchting passeert, bij een pasgelegd onbevrucht eitje een paar uur geopend blijft. Hoewel Barratt en een navolger Charles Quinn in 1924 claimde succes hiermee te hebben, lukte het Watson niet. Het is waarschijnlijk dat zodra het eitje met de buitenlucht in aanraking komt, het vochtige filmachtige laagje uitdroogt en daarmee de opening direct afsluit. Misschien lukt het wel met in vitro-vertilisatie, waarvan ik niet weet of dit wel eens geprobeerd is.

De moderne techniek van de KI begon met het werk van Watson (1927) Deze introduceerde een microsputje, die aan een micromanipulator bevestigd was. De koningin werd met zijden draadjes aan een houten blokje gebonden. De angelkamer werd met een pincet geopend. Met deze techniek lukte het om koninginnen te bevruchten. Nolan ontwikkelde een nieuw KI-apparaat en insemineerde de koningin met sperma van meerdere darren in een aantal opeenvolgende inseminaties, waardoor niet alleen meer sperma in de spermatheca terecht kwam, maar ook van meerdere darren. In 1944 ontdekte Laidlaw de rol van het vaginale klepje. Het sperma moet achter dit klepje worden ingebracht waar de gezamenlijke eileider begint. Mackensen en Roberts (1948) hebben het apparaat van Nolan verder ontwikkeld. Hierbij werd de angelkamer open gehouden met twee haakjes verbonden aan een statief. Het klepje werd met een sonde weggedrukt en met een spuitje kon het sperma in de gecombineerde eileider ingebracht worden. Laidlaw maakte de haakjes nauwkeurige beweegbaar middels microschraven. Ook gebruikte men sinds 1930 CO<sub>2</sub> om de koningin te gedwelmen en Mackensen stelde vast dat na tweemaal een behandeling met CO<sub>2</sub> de koningin startte met het leggen van eieren. Vanaf 1943 realiseerde men opeenvolgende kleinere verbetering aan de verschillende onderdelen van het KI-apparaat dat in essentie hetzelfde bleef.

## Literatuur

Camerlinckx, Jean;Darren en kweken van darren (1)

Betere bijen op onze standen, Jaargang 1 nr 3, juli 1995 (64-77)

Camerlinckx, Jean;Darren en kweken van darren (2)

Betere bijen op onze standen, Jaargang 1 nr 4, oktober 1995 (97-100)

Camerlinckx, Jean;Darren en kweken van darren (3)

Betere bijen op onze standen, Jaargang 2 nr 1, februari 1996 (3-7)

Camerlinckx, Jean;Darren en kweken van darren (4)

Betere bijen op onze standen, Jaargang 2 nr 3, augustus 1996 (3-6)

Calderone W, L.P.S. Kuenen: Differential tending of worker and drone larvae of the honey bee, *Apis mellifera*, during the 60 hours prior to cell capping, *Apidologie* 34 (2003) 543-552 (lit 1)

Winston M., *The Biology of the Honey Bee* 1987.

Duay P, D. de Jong, W. Engels: Weight loss in drone pupae (*Apis mellifera*) multiply infested by *Varroa destructor* mites. *Apidologie* 34 (2003) 61-65

Duay P, D. de Jong, W. Engels: Decreased flight performance and sperm production in drones of the honey bee (*Apis mellifera*) slightly infested by *Varroa destructor* mites during pupal development. *Genetics and Molecular Research* 1(3) (2002) – 227-232

Schlüns H, E.A. Schlüns, J. van Praagh, R.F.A. Moritz: Sperm numbers in drone honeybees (*Apis mellifera*) depend on body size. *Apidologie* 34 (2003) 577-584.

Snelgrove L.E., *Queen Rearing* 1946

Weiss K. *Zuchtpraxis des Imkers in Frage und Antwort* 1997

Ruttner F, *Die Instrumentelle Besamung der Bienenkönigin* 1975

Trip Jan; vertaling van een stuk uit de bijlage van “Garten und Kleintierzucht”  
Lesbrief voor imkers geplaatst op imkerforum.(mei 2004)

Ruttner F. The life and flight activity of drones , *Bee World* 47:93-100 1966

Ruttner F. Aufzucht und Pflege der Drohnen (285-294) in: Ruttner F, *Königinnenzucht biologische Grundlagen und technische Anleitungen*. 1980.

Wirtz P. Differentiation in the honeybee larva, A histological, electron-microscopical and physiological study of caste induction in *Apis mellifera mellifera* L. Proefschrift als Mededelingen Landbouwhogeschool Wageningen 73-5(1973)

Laere Dr.Ir. O. van; Veredeling, Koninginneteelt en kunstmatige inseminatie bij de Honingbij 1982 Rijksstation voor Nematologie en Entomologie.

Moritz R.F.A., P. Neumann, Differences in nestmate recognition for drones and workers in the honeybee, *Apis mellifera* (L); *Animal Behaviour*, 2004,67, 681-688

Currie R.W., The biology and behaviour of drones; *Bee World* 1978 129-143

Nachtsheim H., Cytologische über die Geschlechtsbestimmung bei der Honigbiene (*Apis mellifica* L.); *Studien Archiv für Zellforschung* 11 band 2 heft 1913. (169-241)

Beye M.,R.F.A.Moritz, Sex-linkage in the honeybee (*Apis Mellifera*), Detected by multi-locus DNA fingerprinting; *Naturwissenschaften* 81, 460-462, 1994

Davis, Celia F.; *The HoneyBee Inside Out*. Bee Craft Limited 2004

Palmer K.A., B.P. Oldroyd, Evolution of multiple mating in the genus *Apis*, *Apidologie*,31 (2000) 235-248.

Woyke J. Multiple mating of the honeybee queen in one nuptial flight, *Bulletin de l'academie polonaise des science* Vol 3 nr 5 1955 (175-180)

Woyke J.,F. Ruttner, An anatomical study of the mating process in the honeybee, *Bee World* 39(1) 3-18 (1958)

Zander Prof. Dr. E. Der Bau der Biene. Handbuch der Bienenkunde in Einzeldarstellungen 4<sup>de</sup> druk 1951.

Currie R.W. The biology and behaviour of drones, *Bee World* 1987 (129-143)

Tarpy D.R., D.I.Nielsen, Sampling Error, Effective Paternity, and Estimating the Genetic Structure of Honey Bee Colonies (Hymenoptera: Apidae) *Anal. of the Entomological Society of America* Vol 95 nr 4 (513-528) 2002

Kobel Fritz, Josef Krieg, Die Rassenzucht bei der Honigbiene 11de uitgave 1979. Fachschriftenverlag des Vereins Deutschschweizerischer Bienenfreunde Verlag Sauerländer Aarau und Frankfurt am Main.

Apimondia 1972 Paarungskontrolle und Selektion bei der Honigbiene, Internationales Symposium Lunz an See, Österreich.

Fehrenbach F.J. "De Buckfastbij is de "Beste" als de imker dit toestaat. Voordracht gebundeld in Lezingenbundel "Laat de bijen het je maar vertellen" van Buckfast Belangen Verenigd van lezingen gehouden te Dornstadt (1986) en Bordersholm (1989) Molenhoek-uitgave.

Estoup A., Michel Solignac en J. Cornuet, Precise assessment of the number of patriline and of genetic relatedness in honeybee colonies, *Proc Royal Society Lond. B* (1994) 258, 1-7

Laidlaw H.H., F.P.Gomes en W.E. Kerr, Estimation of the number of lethal alleles in a panmitic population of *Apis Mellifera*., 1955 *Genetics* 41 (179-188)

Evans J.D., D.C.A Shearman, B.P. Oldroyd, Molecular basis of sex determination of haplo-diploids, *Trends in Ecology and Evolution* vol 19 nr 1 (2004)