

**COMPARISON OF THE NUMBER OF SPERMATOOA ENTRING THE  
SPERMATHECA OF INSTRUMENTALLY INSEMINATED QUEENS  
KEPT IN NUCLEI AND IN NORMAL HONEYBEE COLONIES**

J. Woyke and Z. Jasiński

Zakład Pszczelnictwa, SGGW-AR, 02-766 Warszawa 13,  
Nowoursynowska 166, Polska

**INTRODUCTION**

Attempts are made to increase the number of spermatozoa entering the spermatheca of instrumentally inseminated queens. Woyke (1979) showed, that the access of worker bees to instrumentally inseminated queens, increased the number of spermatozoa entering the spermatheca. The easiest was the access to the queen, the more spermatozoa entered the spermatheca. Woyke and Jasiński (1979) showed, that 250 workers were sufficient to attend instrumentally inseminated queens, kept in small boxes in an incubator at 34°C. More workers up to 350 were necessary, to attend instrumentally inseminated queens kept in those boxes in room temperature (Woyke and Jasiński 1980). But since the queen breeders keep their queens in mating nuclei, Woyke and Jasiński (1982) compared one and four comb mating nuclei, kept outdoors in the apiary. Surprisingly, an increase of the number of attendant workers from 350 up to 1000, resulted in only very low, and not significant increase of the number of spermatozoa entering the spermatheca of queens kept during the two first days after insemination in closed nuclei. A little more spermatozoa entered the spermatheca of queens kept in one comb protected nuclei, than in four comb wooden nuclei.

Since some scores of thousands of worker bees are present in normal hives, there is important for practical beekeepers to compare the results of instrumental insemination of queens kept in different types of nuclei and in normal colonies.

## MATERIAL AND METHODS

Altogether 40 queens were instrumentally inseminated with 8 mm<sup>3</sup> of semen. They were divided in four groups per 10 queens each. Queens of three groups were kept after insemination with 1000 workers in the following types of nuclei: 1.) one comb nuclei (size of comb 16.5 cm × 12 cm) protected by styrofoam box, 2.) four comb nuclei of Kirchheim type, with trapezoid combs (13 cm and 8 cm × 9 cm) made up, of 3 cm thick wooden board, and 3.) this same type of four comb nuclei, but made up of styrofoam. Ten normal colonies in one body hive with 10 combs (36 × 26 cm) served as control group.

Instrumentally inseminated queens were introduced to aslept workers of different age, treated with CO<sub>2</sub>. The nuclei were placed in the beeyard. The bottom ventilation holes of the nuclei were opened, but the entrances were closed for two days. Queens in the control group were introduced before insemination into queen excluder isolators containing one comb (Woyke 1979). After insemination the queens were returned to the same isolators.

The air temperature as well as temperature inside the bee cluster was measured with a thermocouple thermometer trice a day, at: 9 hr, 14 hr and 20 hr. Since insemination of queens was conducted in two different dates, temperature averages presented in table 2 concern the means of measurements in 5 nuclei or colonies.

The queens were killed two days after insemination, and the number of spermatozoa in the spermatheca was counted by the method described many times (Woyke 1979).

Analysis of variance was applied, and new multiple range test was used to find out significant differences between the means, at  $P < 0.05$ .

## RESULTS

Table 1 shows, that the lowest average number of spermatozoa (3.364 million) entered the spermathecae of queens kept after insemination with 1000 attendant workers in four comb wooden nuclei. This number of spermatozoa was significantly lower, than the highest average of 4.027 million of spermatozoa found in spermathecae of queens kept after insemination in normal colonies.

Almost identical numbers of spermatozoa (3.638 and 3.629 million) entered the spermathecae of queens kept after instrumental insemination in one or four comb nuclei protected by, or constructed from the styrofoam. These averages were little higher (but not significantly), than those for queens kept in wooden nuclei, and little lower (also not significantly), than those for queens kept in normal colonies.

Number of spermatozoa (in million) in spermatheca of instrumentally inseminated queens  
(10 queens per combination)  
Liczba plemników (w milionach) w zbiorniczku nasiennym sztucznie unasienionych matek  
pszczelich (po 10 matek w kombinacji)

Type of nucleus Typ ulika	Range Zakres	Mean $\pm$ stand. deviation średnia $\pm$ średnie odchy- lenie
One comb styrofoam nucleus Ulik jednoplastrowy styropianowy	3,295—4,213	3,638 $\pm$ 0,318 ab*
Four comb wooden nucleus Drewniany ulik czteroplastrowy	2,767—3,806	3,364 $\pm$ 0,371 a
Four comb styrofoam nucleus Styropianowy ulik czteroplastrowy	2,437—4,802	3,629 $\pm$ 0,577 ab
Normal bee hive Normalny ul	3,680—4,686	4,027 $\pm$ 0,463 b

\* — Different letters indicate statistically significant differences between means  $P < 0,05$

Table 2 shows, that 1000 workers rose the temperature in all three nuclei to about 30°C, which was 12°C over the outside air temperature. Temperature in the wooden nucleus was not really lower, as could be expected after analysing the results of instrumental insemination. Temperature in normal colonies was 2.5—3.0°C higher than in the nuclei.

## CONCLUSIONS

When the queens were kept after instrumental insemination in four comb wooden unprotected nuclei, then the numbers of spermatozoa entering the spermathecae of queens attended even by 1000 workers, were lower, than those of queens kept in normal colonies.

But when queens were attended by 1000 workers and were kept in styrofoam protected nuclei, then similar numbers of spermatozoa entered the spermathecae no matter whether the queens were placed in one or four comb nuclei.

Numbers of spermatozoa entering spermathecae of queens attended by 1000 workers and kept after instrumental insemination in styrofoam protected nuclei, were similar to those of queens kept in normal colonies.

T a b e l a 2

Average temperature (°C) of outdoors air and inside bee cluster of 1000 workers in 3 types of nuclei and in normal bee colony

Średnia zewnętrzna temperatura powietrza (w °C) oraz wewnątrz kłębu 1000 pszczół w 3 typach ulików weselných i w normalnej rodzinie

Date Data	Outdoors Na zewnątrz			One comb protected nucleus Ulik 1-no plastrowy w styropianie			Four comb woo- den nucleus Ulik 4-ro plastr. drewniany			Four comb styro- foam nucleus Ulik 4-ro plastr. styropianowy			Normal colony Normalny pień		
	Morn. Rano	Noon. Połudn.	Even. Wiecz.	Morn. Rano	Noon. Połudn.	Even. Wiecz.	Morn. Rano	Noon. Połudn.	Even. Wiecz.	Morn. Rano	Noon. Połudn.	Even. Wiecz.	Morn. Rano	Noon. Połudn.	Even. Wiecz.
I 6.08.80	22,1	22,2	16,0	30,0	30,0	29,1	30,8	30,8	28,7	30,9	30,7	29,7	33,5	33,0	32,9
7.08.80	14,0	19,0	18,0	29,2	29,8	28,5	30,1	29,9	27,9	30,0	29,9	30,1	33,0	32,6	32,3
II 16.08.80	18,9	20,9	16,4	30,4	30,9	29,6	29,1	31,0	28,7	30,8	31,9	30,1	33,2	32,8	32,8
17.08.80	14,2	18,1	15,8	30,4	31,4	29,2	30,0	30,5	29,7	30,4	30,9	29,8	32,8	33,2	32,7
Mean Średnia	17,3	20,0	16,6	30,0	30,5	29,1	30,0	30,5	29,0	30,5	30,9	29,9	33,1	32,9	32,7
Daily mean Średn. dzienna		18,0		29,9		29,8					30,4			32,9	

## REFERENCES

- Woyke, J. 1979.-Effect of the access of worker honeybees to the queen on the result of instrumental insemination *J. apic. Res.* 19(2) : 136—143.
- Woyke, J., Jasiński, Z. 1979. Number of worker bees necessary to attend instrumentally inseminated queens kept in an incubator. *Apidologie* 10(2) : 149—155.
- Woyke, J., Jasiński, Z. 1980. Influence of the number of attendant workers on the results of instrumental insemination of honeybee queens kept at room temperature. *Apidologie* 11(2) : 173—180.
- Woyke, J., Jasiński, Z. 1982. Influence of the number of attendant workers on the number of spermatozoa entering the spermatheca of instrumentally inseminated queens kept outdoors in mating nuclei. *J. apic. Res.* 21 (3) : 129—133.

### СРАВНЕНИЕ ЧИСЛА СПЕРМАТОЗОИДОВ ПРОНИКАЮЩИХ В СЕМЯПРИЕМНИК ИСКУССТВЕННО ОСЕМЕНЕННЫХ ПЧЕЛИНЫХ МАТОК СОДЕРЖАЕМЫХ В НУКЛЕУСАХ И ОБЫКНОВЕННЫХ ПЧЕЛИНЫХ СЕМЬЯХ

Ю. Войке и З. Ясиньский

#### Краткое содержание

Каждую из сорока пчелиных маток искусственно осеменено спермой в 8 мм<sup>3</sup>. Эти матки поделены на 4 группы по 10 штук. Три из этих групп помещено совместно с 1000 пчелами в следующих типах нуклеусов для оплодотворения маток: 1. однорабочий нуклеус типа Калиновского (размер рамки 16,5 × 12 см) помещенный в защитном ящике из стиропена, 2. нуклеус с четырьмя сотами типа Кирхгейм с трапециевидными сотами (13 и 8 × 9 см) изготовленными из досок толщиной в 3 см, 3. Такой же нуклеус, но изготовленный из стиропена. Четвертую группу маток помещено в обыкновенных пчелиных семьях имеющих по 10 сотов типа Велькопольского (26 × 36 см), она служила контролем.

Пчелиные матки были убиты через два дня после осеменения и исследовано количество сперматозоидов в их семяприёмниках.

Полученные результаты показали, что самое малое количество сперматозоидов (в среднем 3,364 миллионов) проникло в семяприёмники маток содержащихся в неотделённых деревянных четырёхсотовых нуклеусах. Немного больше и почти такое же число сперматозоидов (3,638 млн. и 3,629 млн.) обнаружено в семяприёмниках маток содержащихся в отеплённых нуклеусах или выполненных из стиропена. Самое большое количество сперматозоидов (4,027 млн) обнаружено в семяприёмниках маток содержащихся в обыкновенных пчелиных семьях. Однако, учитывая статистическим методом, существенную разницу установлено только между средним количеством сперматозоидов в семяприёмниках маток содержащихся в досчатых нуклеусах и обыкновенных пчелиных семьях.

Из этого следует, что если матки после искусственного осеменения содержатся в неотеплённых нуклеусах то даже если с ними находится 1000 рабочих пчёл, то в семяприёмники проникает меньше сперматозоидов чем у маток содержащихся в обыкновенных пчелиных семьях. Однако если пчелиные матки после искусственного осеменения находятся вместе с 1000 рабочими пчелами и содержатся в отеплённых нуклеусах или нуклеусах из стиропена, то в их семяприёмники проникает почти такое же количество сперматозоидов неза-

висимо от того являются ли это одно или четырёхсотовые улья. Числа сперматозидов не отличаются от обнаруженных у пчелиных маток, содержащихся в обыкновенных пчелиных семьях.

## PORÓWNANIE LICZBY PLEMNIKÓW WCHODZĄCYCH DO ZBIORNICZKA NASIENNEGO SZTUCZNIE UNASIENIONYCH MATEK PSZCZELICH PRZETRZYMYWANYCH W ULIKACH WESELNYCH I NORMALNYCH RODZINACH PSZCZELICH

J. Woyke i Z. Jasiński

### Streszczenie

Każdą z czterdziestu matek pszczelich unasieniono sztucznie 8 mm<sup>3</sup> nasienia. Matki te podzielono na 4 grupy po 10 szt. Trzy z tych grup umieszczono w towarzystwie 1000 pszczół w następujących typach ulików weselnych: 1.) ulik jednoramkowy Kalinowskiego (wymiar ramki 16.5×12 cm) umieszczony w skrzynce ochronnej ze styropianu, 2.) ulik weselny czteroplastrowy typu Kirchheim z plasterkami trapezowymi (13 i 8×9 cm) wykonany z deski 3 cm grubości, oraz 3.) taki sam ulik lecz wykonany ze styropianu. Czwartą grupę matek umieszczono w normalnych pniach obsiadających 10 plastrów typu wielkopolskiego.

Matki zabijano 2 dni po unasienieniu i badano liczbę plemników w ich zbiorniczkach nasiennych.

Otrzymane wyniki wykazały, że najmniejsza liczba plemników (średnio 3,364 milionów) weszła do zbiorniczków matek przetrzymywanych w drewnianych czteroplastrowych ulikach weselnych. Nieco większe i prawie identyczne liczby plemników (3,638 mil. i 3,629 mil.) stwierdzono w zbiorniczkach matek przetrzymywanych w ulikach ocieplanych lub wykonanych ze styropianu. Największa liczba plemników (4,027 mil.) znajdowała się w zbiorniczkach matek przetrzymywanych w normalnych pniach. Jednakowoż statystycznie istotne różnice stwierdzono jedynie między średnią liczbą plemników w zbiorniczkach matek przetrzymywanych w ulikach drewnianych i w normalnych pniach.

Widać więc, że gdy matki po sztucznym unasienieniu są przetrzymywane w nieocieplanych ulikach, to nawet gdy towarzyszy im 1000 pszczół robotnic, do zbiorniczków nasiennych wchodzi mniej plemników niż ma to miejsce u matek przetrzymywanych w normalnych rodzinach. Jednakowoż, gdy matkom po unasienieniu towarzyszy 1000 pszczół robotnic i są one przetrzymywane w styropianowych ulikach to do zbiorniczków przechodzą podobne ilości plemników niezależnie od tego czy uliki są jedno czy czteroplastrowe. Liczby plemników przechodzące do zbiorniczków nasiennych matek przetrzymywanych po unasienieniu w towarzystwie 1000 pszczół w styropianowych ulikach weselnych są podobne do stwierdzanych u matek przetrzymywanych w normalnych pniach.