

Bičių selekcija (atsirinkimas)

Bitininkystė būdama santykinai smulkaus verslo sritis, daugeliu atvejų individualizuota, pasižymi palyginti didele bičių veisimo įvairove. Tam, kad bičių veisimas taptų verslu, o ne pomėgiu, kaip pavyzdžiui maisto gaminimas, reikia, kad iš bičių gaunami produktai būtų pakankamai gausūs ir paklausūs. Produktų gausa, iš pavyzdžiui vienos bičių šeimos nėra taip lengvai pasiekama: ji priklauso ne tik nuo bičių priežiūros bei klimatinių sąlygų, bet ir nuo pirminės veislinės medžiagos ypatybių bei jų atskleidimo.

Šiuo straipsniu norima panagrinėti galimybes ir kai kuriuos metodus padedančius veisti pageidaujamomis savybėmis pasižyminčias bičių šeimas. Tačiau visi pageidavimai negalimi, nes gamtos galimybės, nors ir nepamatuojamos, bet konkrečiomis sąlygomis vis tik turi ir ribas: kartais laikinas (jų įveikimui reikalingas laikas ir kryptingas darbas), kartais reikia turėti tam tikrą pradinės medžiagos rinkinį. Pažymėtina, kad esant gausiai bičių veisimo įvairovei neracionalu tą įvairovę dar gausinti, tačiau neskatinama ir ją siaurinti, nes tokiu atveju galima prarasti kai kurias pirmines savybes, kurios ateities bitininkams būtų vertingos veikiant pakitusiomis gamtos arba bičių laikymo sąlygomis, tinkamomis veisiamai bičių rasei. Šiuo atžvilgiu plėtojamas bičių genofondo konservavimas. Tačiau šių dienų bitininkams iškyla kitokių klausimų išsiaiškinant netipines sąlygas, o kartais ir sisteminės nuokrypas nuo logiškai tikėtino rezultato. Tam tenka pasirinkti arba keisti veisiamų bičių veislinę medžiagą.

Prieš selekciją arba veislinės medžiagos pasirinkimą pirmiausia atliekamas vertinimas, kurio kriterijai priklauso nuo tikslų ir siekių. Jeigu kalba eina apie bitininkavimą, kuris remiasi ne vien smalsumu ar domėjimusi, tai pagrindinis kriterijus yra naudos siekimas t.y. bičių pagalba gauti produktą, kuris tenkintų žmogiškuosius poreikius. Vis dėlto produkto gavimas yra pastangų reikalaujantis procesas, todėl siekiama, kad tos pastangos būtų minimalios ir kuo mažiau varginančios. Pagal naudos apimtį visi bičių laikytojai–veisėjai skirstomi į 1) mėgėjus, išgaunančius produktus tik sau, 2) plėtojančius bitininkystę kaip pagalbinį verslą, 3) vidutinį (šeimos) verslą ir 4) kooperatinio verslo (su samdomais darbuotojais) bitininkus. Šioms grupėms būdingi ir skirtingi vyraujantys interesai taip pat ir su tuo susiję laikymo metodai bei technologijos. Mėgėjai ir pagalbinio verslo bitininkai kaip veislinę medžiagą įsigyja kituose bitynuose išveistas bites ir atlieka komplektavimo atranką, kuri savo esme yra pasyvi ir priklauso nuo komercinės komunikacijos. Vidutinio ir kooperatinio verslo bitininkai dažniausiai patys užsiima tiksliniu bičių veisimu, kuris daugeliu atvejų tenkina savų bitynų kryptinį veisimą, o dalis pradinės veislinės medžiagos realizuojama mažesnių bitynų savininkams. Kai bites veisiamos pakankamai didelėmis apimtimis, bitininkai būna pajėgūs atrasti nuo patikimo vidurkio pagal pageidaujamą savybių kompleksą besiskiriančias geresnes bičių šeimas ir iš jų atlikdami patikrinamąjį išveisimą išskirti masiniam dauginimui skirtas šeimas. Jeigu bitininkui pavyksta bitėse išskirti naują savybių kompleksą, kuris pastoviai paveldimas, tuomet suformuojama nauja bičių veislės veislinė linija, kuriai suteikiamas vardas. Jei per eilę kartų pavyksta stabilizuoti savybes, linija įgauna ir komercinį populiarumą.

Matyti, kad bičių veislinė kokybė daugeliu atvejų priklauso nuo pirminę veislinę medžiagą gaminančių (išveisiančių) bitininkų bei jų gebėjimo suformuoti vienokį arba kitokį paveldimų savybių kompleksą. Dažniausiai tas kompleksas, išskaidžius jį į paveldimus genus ir aleles, apima visą vienoje bitėje telpančią paveldimą medžiagą - prigimtį. Tokios sudėties kompleksas nėra stabilus, nes susideda iš dviejų apvaisinime susijungusių dalių. Šis dalumas laiduoja kiekvienam genui 50% tikimybę patekti į kitą kartą, bet jo pasireiškimą dar lemia atmainų skaičius – alelės, kurių gali būti iki keliolikos. Tam tikrai to paties geno alelei (geno variantui) pasireikšti būtinos tam tikros sąlygos, kurios priklauso tiek nuo kitų genų tame pačiame individe, tiek ir nuo išorės t.y. veisimo sąlygų. Taigi kalbant apie šią situaciją, kuriai esant teoriškai sąlygojama vienoda biologinė genų sudėtis, individai gali skirtis daugeliu požymių vien dėl to, kad lerva buvo nevienodai maitinama pieneliu arba kad pienečio biocheminė sudėtis buvusi nevienoda (skirtingi jame esančių fermentų, vitaminų ir kitų medžiagų santykiai arba kiekiai). Tai lemia bičių auklių ypatybės bei avilio terminis režimas. Visos šios sąlygos iš dalies priklauso nuo bičių laikymo sąlygų ir konkretaus bitininko bitininkavimo nuostatų, jau nekalbant apie atskirų metų klimatinių sezonų ypatumus. Suprantama, kad minėtų faktorių įtaka yra nevienoda ir jie veikia prigimtį nevienodai. Siekiant nustatyti ir valdyti genų specifinį pasireiškimą, reikalinga iširti tūkstančius kartų (o vienai kartai reikia mažiausiai pusės metų). Tokių ilgalaikių tyrimų finansinės išlaidos tampa beprasmiškai didelės. Spartesnė yra genų inžinerija, tačiau ji sudėtingiems organizmams dar nėra pakankamai preciziška, nes genai veikia ne tik pirminėse organizmo fazėse, bet ir brandžiam organizme. Dabar šiomis priemonėmis atliekama tik brandžių individų genų poveikio korekcijos,

kai visas organizmas jau susiformavęs. Todėl gyvūnų veisėjui lieka tikrai išorinis tinkamos prigimties ieškojimas ir įtakojančių faktorių atkartojimas siekiant įtvirtinti naudingą prigimtinę savybių kompleksą. Jeigu taip bitininkaudamas bitininkas pastebi, kad kai kurios šeimos jo manymu turi žymiai parankesnę bičių savybių rinkinį nei kitos, tai šias savybes jis nori matyti ir kitose kartose. Tačiau dėl ankščiau minėtų priežasčių, tikimybė, kad tai pasireikš kitoje kartoje, yra labai nedidelė. Todėl iš tos šeimos veisiama kaip galima daugiau motinų ir kuriamos naujos šeimos, kurios lyginamos su motinine. Taip pradeda selekcija. Pradedant selekciją labai svarbu kuo daugiau apirašyti pirminės šeimos savybes. Tai išskirtinės svarbos aprašas, kuris kuo yra detalesnis, tuo sėkmingiau galima nustatyti įtakojančių veiksnių tikrąją įtaką paveldėjimui. Kad aprašas būtų sklandus, reikia jį struktūrizuoti t. y. susidaryti vieningą požymių sąrašą – klausimyną, išskiriant sezono klimatinės sąlygas ir aplinkos nektaro šaltinių charakteristikas, priežiūros - laikymo sąlygas, ypač motinų auginimo, apvaisinimo laikotarpyje, avilio priežiūros detales ir apžiūros kalendorių. Toliau - motinos ir ypač iš jos gaunamų bitelių išorės aprašymas: kūno proporcijos ir spalvingumas ir pagaliau, svarbiausios visos avilio šeimos savybės – piktumas, elgesio ypatumai, korių ir lizdo priežiūra, pikiavimas, avilio kvapas ir t.t.. Taip pat įvertinamas šeimos produktyvumas ir gausumas. Prie šio aprašo tiesiog privalu prijungti metinį šeimos vertinimą remiantis balų sistema (pvz., žiūrėkite lentelę). Toks vertinimas yra priimtas Europoje vertinant atrinktas veislines motinas ir skelbiamas jas registruojant internete¹.

Veisimui atrinktų motinėlių vertinimo 6 balų skale pavyzdys

Motinėlių veisėjas	Paul Jungel	Stasys Pluskys	Jos&Annette Guth
Veislinis Numeris	A243(PJ)	B02(SPL)	B150(JG)
Gimimo metai	2013	2014	2014
Motinėlės kilmė	A155(PJ)xA199(PJ)	B46(SPL)xB04(SPL)	B301(PJ)xB358(PJ)
Vertinimo metai	2014	2015	2015
Vislumas/sparta bičių	6	4	5
Spiečiaus didumas	6	5	5
Bičių piktumas ir elgsena	5	5	5
Polinkis spiesti	5	5	6
Darbštumas /žiedadulkės	5	5	5
Ankstyvas medus	4	-	5
Vasaros medus	5	5	5
Žiemojimas	4	-	5
Korių siuvimas	6	4	5
Pikiavimas	5	-	5
Atsparumas erkėms	5	4	-
Apsivalymas VHS+	-	5	-
Higieninis testas HYG+<24 val.	95%	100%	-

Šiuolaikinių tyrimų sudėtingos mokslinės hipotezės ir bičių tyrimai reikalauja kruopščios pradinių bandinių atrankos. Lygiagrečiai tyrimams analizuojama ir jų rezultatų panauda ūkiniam veisimui. Sheffieldo universiteto mokslininkai² sukūrė daugiapakopę bičių atrankos metodiką, kai veisiant siekiama pagerinti atsparumą ligoms, gebėjimą išvalyti iš korių ligų pažeistas, erkėtas arba žuvusias lervas.

Buvo atliekami tyrimai, kiek efektyvi yra dirbtinė atranka jei siekiama padidinti bičių atsparumą ligoms gerinant higienines savybes. Tuo tikslu sukurta daugiapakopė atrankos metodika, kuria vadovaujantis atlikus keturis pakopinius žingsnius pavyko padidinti atsparumą susirgimams, kuris galėtų būti išreikštas tikimybė nuo 0,15 iki 0,375.

Šios metodikos pirmuoju žingsniu iš viso turimo bityno atrenkamos šeimos, kurios pagal atrenkamą požymį viršija vidurkį. Paprastai tokios šeimos sudaro ne daugiau 15% viso bityno šeimų.

¹ <http://perso.fundp.ac.be/~jvandyck/homage/elver/archiv.html>

² Barron AB, Oldroyd BP, Ratnieks FLW. Worker reproduction in honey-bees (*Apis*) and the anarchic syndrome: A review. Behavior Ecological Sociobiology. 2001;50:199–208

Antruoju žingsniu atrinktos šeimos yra sužymima nuo 35% iki 24% bičių ir stebima jų elgsena (pvz. korių su žuvusiais perais valymo stropumas).

Trečiuoju žingsniu nustatomas stropių bičių ir jų motinos genotipas atlikus jų genų išsklotines. Nustatomi DNR anomalijų panašumai tarp atskirų šeimų iškeliant hipotezę, kad toji anomalija sąlygoja atrenkamąjį požymį. Ketvirtuoju žingsniu išskiriamos anomalijas turinčios motininės ir tėvinės linijos ir vykdomas naujų motinų auginimas bei dirbtinas jų apvaisinimas. Taip sudaromos dvi - trys poros, kuriose tėvų ir motinų vaidmenys yra keičiami. Iš kiekvienos poros išauginama po dešimt naujų motinų (5+5), o taip pat ir tranų variantų (5+5). Tada pereinama prie pirmo naujos kartos žingsnio. Šioje kartoje vėl pakartojami visi žingsniai ir ketvirtame žingsnyje nustatomas statistinis atrankos efektyvumas. Jeigu jis netenkina, tai keičiami atrankos kriterijai, o kartais ir metodai. Autoriai pripažįsta, kad esant sudėtingesniai atrankimui pageidaujimų požymių rinkiniui minėtą selekciją tenka atlikti iki keturių generacijų. Ypač sunkiai pasiekiami elgesio ant korio, švelnumo ir vislumo, derlingumo su atsparumo ligoms deriniai.

Sidnėjaus universiteto (Australija) mokslininkai Benjamin P Oldroyd ir Madeleine Beekman³ tyrė atrankos efektyvumą bičių vislumui ir žiedadulkių bei nektaro rinkimui.

Australų bitininkai savo bičių atrinkimo veisimui planus (RGPH) grindžia prielaida – hipoteze, kad bitės vislumo reguliavimo genetinį kompleksą paveldi iš savo protėvių. Tai įrodė Sidnėjaus universiteto biologai. Šio reguliavimo mechanizmas gali būti tiriamas stebint augimo hormonų ir vitellogenino (Vg) kiekį bitėse. Tyrimais nustatyta, kad Vg turi įtakos kiaušidžių aktyvumą moteriškos lyties individuose, tiek kiaušinėlius dedančiose bičių motinėlose, tiek ir jaunose bitėse. Be to, jo pėdsakų randama ir pas žiedadulkes renkančias bites, tuo tarpu, pas nektarą renkančias bites jo nebesutinkama. Tokiu būdu bitės intensyviai veisimosi sezono periodais kaupdamos žiedadulkes mažiau neša medaus. Minėti autoriai pastebėjo, kad Sidnėjaus universiteto mokomajame bityne pagal vislumą ir šeimų gausumą atrinktos bitės medų pradeda nešti žymiai vėliau, nei standartinės verslinių bitynų bičių šeimos, kurios ilgesnį laikotarpį gausindamos šeimą paprastai renka žiedadulkes. Tokiu būdu įmanoma išskirti augalų apdulkinimui skirtas bičių veislines linijas ir atvirksčiai, atrenkant bites pagal derlingumą, jų šeimos tampa mažiau vislios. Pasirodo, kad šias nuokrypas veislės ribose paprastai galima reguliuoti į medų nešančias šeimas įkeliant 1-2 dengtų perų korius iš gausių žiedadulkes renkančių šeimų.

Kaip vyksta vislumo pokyčiai intensyviai atrenkant bites veisimui pagal jų gebėjimą rinkti nektarą ir žiedadulkes tyrė Kalifornijos ir Arizonos universitetų (JAV) bei Norvegijos biologai – genetikai⁴. Pastebėti vislumo skirtumai atrenkant bites medui ir apdulkinimui (žiedadulkių rinkimui). Šiems reiškiniams išaiškinti atlikti tyrimai hormonų lygmenyje įgalino išaiškinti ir bičių funkcijų kaitą joms senėjant.

Daugianarės vabzdžių kolonijos, kokioms priskiriamos ir bitės (*Apis mellifera*) dažniausiai nusakomos ir vertinamos kaip sudėtingas organizmas, kuriame atskiros narių grupės turi savo socialines funkcijas. Straipsnio autoriai tyrė netiesioginius kolonijos lygmeniu atliktos atrankos (selekcijos) pagal produktyvumą efektus. Buvo stebima atskirų individų elgsena, jautrumo deramumas ir vislumo fiziologijos tarpusavio sąsajos. Šis savybių kompleksas, kaip jau minėta ankstesniame straipsnyje, iš dalies yra valdomas pleiotropinių (dvejopo užgožiančio veikimo) genų tinklo (ang. *Pleiotropic gene networks*), kuris laiduoja nuoseklią vystymosi fazių kaitą narių reprodukcijos cikle. Tyrėjų išmatavo, kad Vg koncentracija kaita tik išsiritusių darbininkių hemolimfoje yra nežymi ir maksimumą pasiekia 10-tą dieną, tuo tarpu kai jaunų tik išsiritusių motinėlių yra žymiai didesnė ir tokia išlieka ilgesnį laiką. Be to bičių šeimos, kurios per kelias kartas buvo atrinktos kaip geros žiedadulkių rinkėjos turėjo beveik dvigubai didesnę Vg koncentraciją minėtoje hemolimfoje. Pats vitellogeninas yra ląstelės branduolyje baltyminių medžiagų sintezės būdu gaunamas hormonas priskiriamas juvenalinių (brendimo) hormonų grupei ir veikia jautrius pleiotropiniams hormonams genus.

Panašius tyrimus atliko ir žymūs bičių elgsenos tyrėjai Olav Rueppel ir Robert Page, savo tyrimus 2012 m apibendrinę „Kasmetinėse genetikos mokslo apžvalgose“⁵

Šioje mokslinės genetikos studijoje jie nagrinėja bičių šeimos elgsenos evoliuciją: veisimąsi, mitybą, lizdo tvarkymą bei priežiūrą ir gynybą. Ankstesniuose darbuose autoriai yra įrodę, kad nėra šios elgsenos vieno geno valdymo, o bet yra genų grupė (genomas), kurios pakitimą gali veikti ir įtakoti atranka arba selekcija. Tuo tikslu 22 metus buvo atliekami tyrimai atrenkant pavienę socialinę savybę susijusią su maitinimusi: žiedadulkių ir nektaro

³ Oldroyd BP, Beekman M. Effects of Selection for Honey Bee Worker Reproduction on Foraging Traits.

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2270312/>

⁴ Amdam GV, Norberg K, Fondrk MK, Robert E. Page RE, Jr. Reproductive ground plan may mediate colony-level selection effects on individual foraging behavior in honey bees. PINAS vol. 101 No 31 2004, pp.11350-11355.

⁵ Rueppel O., Page R. Genetics of reproduction and regulation of honey bee (*Apis mellifera* L.) social behavior „Annu Rev Genet“ No 46 201, pp 119-297.

kaupimu ir talpinimu į korius. 42 generacijose buvo atliekama selekcija ir stebimi pokyčiai biologiniame lygmenyje nuo bičių šeimos iki genų.

Selekcija buvo atliekama dviem būdais dėl vienos elgsenos savybės avilyje - tai į korius sukrauto žiedadulkių kiekio. Nustatyta, kad ši savybė lemia pokyčius skirtinguose biologinės organizacijos lygmenyse, kurie pasireiškia skirtinga genų komplekso fenotipine architektūra ir kurią autoriai pavadino „žiedadulkių standinimo sindromu“. Genų žemėlapio tyrimas parodė, kad pakitusi fenotipinė jų architektūra yra išsivysčiusi iš epistatinių ir pleotropinių genetinių tinklų komplekso, taip pat sąlygojančio visumo (reprodukcijos) reguliavimo bitėms mechanizmą. Nuosekliai išdėsčius kokybinius bičių tyrimo duomenis pagal pasirinktų savybių genus, paaiškėjo, kad egzistuoja skirtumai tarp dirbtinai atrinktų „žiedadulkių efekto“ linijų ir neselekcionuotų „laukinių“ bičių laikytų ir prižiūrėtų tokiu pat būdu. Išsamios genetinės išryškėjusių genų studijos, naudojant geno dalių sąveikos analizės (RNA interface) metodus patvirtino, kad kai kuriems išskirtiems genams egzistuoja jų įtaka bičių elgsenai kaip ir veisimosi bei vystymosi reguliacinei sistemai.

Pastebėta, kad bičių elgsenos selekcija kolonijų lygmeniu turėjo įtakos ir pokyčiams hormonų lygmenyje, kur jie valdo kiaušidžių vystymąsi, kai bitės darbininkės yra dar lervos.

Šiuos tyrimus papildė Arizonos universiteto profesorius *R.E. Page* ir *K. S. Traynor* bei Prancūzijos Nacionalinio žemės ūkio tyrimo instituto mokslininko *Y.Le Conte* bendras darbas tiriant bičių motinėlių ir jaunų lervučių feromonų įtaką bičių vislumui⁶. Jų eksperimentai (lauko tyrimai) patvirtino, kad šie feromonai stimuliuoja žiedadulkių rinkimą ir šeimynos gausinimą avilyje per gana subtilų mechanizmą: minėti feromonai pleiotropiškai stimuliuoja hipoferingilinių liaukų (kai kurioje literatūroje tiesiog vadinamų seilių liaukų), kurios iš išorės pastebimos kaip pseudo akys bitės viršugalvyje, aktyvumą. Esant šioms liaukoms aktyvioms jos išskiria Vg hormoną, kurį tyrė aukščiau minėti autoriai.

Siekiant išvengti prigimtinių savybių užgožimo, stebint avilio bičių elgseną ilgesnį laiką, Luizianos valstijos (JAV) Žemės ūkio tyrimo instituto Bičių genetikos laboratorijoje buvo išbandyta veisti bites, jų motiną apvaisinant vienu tranu⁷. Šio metodu maždaug tris kartus padidintas kiekybinių stebėjimų raiškumas ir prigimtinės (genetinės) savybės atskyrimo galimybė. Tačiau šis metodas turi vieną nepatogumą, ribojantį platų jo taikymą. Iš vieno trano gautos spermos kiekis lemia apvaisintos bičių motinos ilgaamžiškumą, kuris palankiomis sąlygomis trunka nuo 4 iki 6 mėn. Tuo tarpu daugeliu atvejų motinos vertingosios savybės išryškėja po 12 -18 mėn. Tokiu atveju tolimesniam veisimui naudojant jos dukteris, tenka pasikliauti tik jaunos motinos sukurtos šeimos savybių vertinimu. Nors vienas tranas paruošia apie 10 milijonų spermatozoidų, tačiau dėl jų skiedimo iki standartinio apvaisinimo tūrio motinos ilgaamžiškumas nepadidėja. Spėjama, kad tinkamo apvaisinimo metu kartu su spermatozoidais reikiamu kiekiu patenka ir specifinės medžiagos, o gal ir hormonai, kurie stabilizuoja organizmo fiziologinius procesus palaikančius motinėlių ilgaamžiškumą.

Dirbtinio apvaisinimo vienu tranu metodika žinoma beveik nuo dirbtinio bičių apvaisinimo pradžios⁸, tačiau dėl aukščiau minėtų priežasčių bei tuometinio genetikos mokslo reikmių ribotumo plačiai nepaplito. Dabar selekcijoje taikant tikimybinius apibendrinimus reikšmingais tapo ir pradinėse atrankos fazėse beveik nepastebimi savybių skirtumai. Kita vertus, patobulėjo ir pati dirbtinio apvaisinimo technika bei metodas, skiriamų požymių lygmuo pasiekė hormonus, o genai išskleidžiami biocheminiu lygmeniu, kai genų alelės, jeigu jos yra pirminės, identifikuojamos kaip polimerinės grandinės izomerinės atkarpos. Nagrinėdamas šį apvaisinimo vienu tranu metodą lauko eksperimento sąlygomis *J.R. Harbo* atliko bandymus skirtingais sezono laikotarpiais: pavasarį (gegužės – birželio mėn.) ir rudenį (rugsėjo – rugsėjo mėn.). Pasirodo, kad didesnė savybių sklaida buvo stebima pas pavasarinę biteles, kurios po apvaisinimo išaugusiose šeimelėse (5 korių aviliukai) išgyveno 4 ÷ 7 mėn., gi rudeninio eksperimento požymių sklaida buvo maždaug trečdaliu menkesnė ir bitės teišgyveno 4 ÷ 6 mėn. Taip pat pažymima, kad eksperimentui geriau tiko pirmamečių motinų išaugintos jaunosios motinėlės nei antramečių. Tyrimai taip pat parodė, kad kai motina apvaisinta keliais tranais (lygiagrečiai dalis motinų buvo apvaisintos tuo pačiu 6 tranų spermos mišiniu), savybių sklaida tarp motinų aviluose sumažėjo ir šeimos išgyveno visą tyrimo laikotarpį. Deja autoriai nepateikia duomenų apie antruoju atrinkimu išskirtų savybių paveldimumą sekančiose kartose, nes atsakymai į šiuos, praktikai svarbius klausimus priklauso nuo to, kokios bičių savybės bus tiriamos ir kokia jų biocheminė prigimtis.

⁶ Traynor KS, Conte YL, Page RE. Queen and young larval pheromones impact nursing and reproductive physiology of honey bee (*Apis mellifera*) workers. *Behavior Ecological Sociobiology* vol. 68, 2014 pp. 2059-2073.

^{7,7} Harbo JR. The value of single-drone inseminations in selective breeding of honey bees: *honey bee breeding, genetics, & Laboratory Agricultural Research Service, USDA, Baton Rouge, LA 70820. Apiculture For 21st Century*

⁸ Rothenbuhler W.C. 1960. A technique for study genetics of colony behavior in honey bees. *Am. Bee J.* 100:176, 198